



T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**YENİ SENTEZLENMİŞ FLOR VE METOKSİ SÜBSTİTÜE
KALKON BİLEŞİKLERİNİN OLASI ANTİKANSER
ETKİSİNİN FARKLI HÜCRE HATLARINDA
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Gamze Ceren BEBEK

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Kübra Gizem ÖZKEMAHLI

**FARMASÖTİK BİLİMLER
ANABİLİM DALI**

ERZİNCAN
Ocak 2023
Her Hakkı Saklıdır.

Gamze Ceren BEBEK FARMASÖTİK BİLİMLER ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS

2023

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**YENİ SENTEZLENMİŞ FLOR VE METOKSİ SÜBSTİTÜE
KALKON BİLEŞİKLERİNİN OLASI ANTİKANSER ETKİSİNİN
FARKLI HÜCRE HATLARINDA DEĞERLENDİRİLMESİ**

Gamze Ceren BEBEK

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Kübra Gizem ÖZKEMAHLI

FARMASÖTİK BİLİMLER
ANABİLİM DALI

ERZİNCAN
Ocak 2023
Her Hakkı Saklıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YENİ SENTEZLENMİŞ FLOR VE METOKSİ SÜBSTİTÜE KALKON BİLEŞİKLERİNİN OLASI ANTİKANSER ETKİSİNİN FARKLI HÜCRE HATLARINDA DEĞERLENDİRİLMESİ

Gamze Ceren BEBEK

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Bilimler Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Kübra Gizem ÖZKEMAHLI

Amaç: Kalkon bileşikleri, 1,3-diaril-2-propen-1-on yapısı taşır ve antikanser aktivite olmak üzere pek çok biyolojik aktiviteye sahiptir. Kalkon ailesi, hücre döngüsü bozma, otofaji düzenleme, apoptoz indüksiyonu gibi birçok mekanizma yoluyla kansere karşı in vivo ve in vitro aktivite göstermektedir. Bu bilgiler ışığında gerçekleştirilen tez kapsamında, A549, MCF7, HEPG2 ve HDFa hücre hatlarında bir seri flor ve metoksi türevi kalkonların farklı konsantrasyonlarda antikanser aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Sentezi gerçekleştirilmiş bir seri flor ve metoksi türevi kalkon bileşiklerinin farklı konsantrasyonlarının A549, MCF7, HEPG2 ve HDFa hücre hatları üzerinde hücre canlılığına etkisi kolorimetrik bir yöntem olan MTT yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca pozitif kontrol olarak doksorubisin etken maddesi kullanılmıştır.

Bulgular: Elde edilen sonuçlar doğrultusunda 7 no'lu bileşiğin tüm hücre hatlarında canlılığı önemli ölçüde azalttığı görülmektedir. 2 no'lu bileşik MCF-7 hücre hattında sitotoksik (IC_{50} : $44,8 \pm 4,5 \mu M$) bulunmuştur ancak, A549 ve HEPG2 hücreleri üzerinde etkili bir sitotoksik aktiviteye sahip olmadığı gözlenmiştir. 7 no'lu bileşiğin dışındaki test maddelerinin HEPG2 hücreleri üzerinde etkili bir sitotoksik etkiye sahip olmadığı bulgular arasındadır.

Sonuç: Daha önce sentezi gerçekleştirilmiş bir seri flor ve metoksi türevi kalkon bileşiklerinin antikanser etkileri daha önce çalışmamış olup, bu tez çalışması ile biri sağlıklı hücre hattı olmak üzere üç farklı kanser hücresi üzerinde canlılığa etkileri araştırılmıştır. MTT yöntemi uygulanmış ve bileşiklerin inhibitör konsantrasyon 50 (IC_{50}) değerleri elde edilmiştir. Bu verilerin yayınlanması ile mevcut bilimsel birikim için önemli düzeyde katkı elde edilmesi beklenmektedir.

2023, 62 Sayfa

Anahtar kelimeler: Antikanser aktivite, A549, HEPG2, Kalkon bileşikleri, MCF-7

ABSTRACT

MSc Thesis

EVALUATION OF THE POSSIBLE ANTICANCER EFFECT OF NOVEL SYNTHESIZED FLUORO- AND METHOXY-SUBSTITUTED CHALCONE COMPOUNDS IN DIFFERENT CELL LINES

Gamze Ceren BEBEK

Erzincan Binali Yıldırım University
Graduate School of Health Sciences
Department of Pharmaceutical Sciences

Supervisor: Asst. Prof. Kübra Gizem ÖZKEMAHLI

Aim: Chalcone compounds are compounds with 1,3-diaryl-2-propen-1-one structure, which have various biological activities, including anticancer activity. The chalcone family has shown activity against cancer through multiple mechanisms, including cell cycle disruption, autophagy regulation, apoptosis induction, and immunomodulatory properties. In the light of this information, it was aimed to investigate the anticancer activities of fluorine and methoxy-derived chalcones at different concentrations in A549, MCF7, HepG2 and HDFa cell lines.

Material and Method: The effects of different concentrations of a series of synthesized fluorine and methoxy derivative chalcone compounds on cell viability on A549, MCF7, HepG2 and HDFa cell lines were determined using the MTT method, which is a colorimetric method. In the study, the active ingredient doxorubicin was also used as a positive control.

Result: In line with the results obtained, it is seen that compound no. 7 significantly reduced viability in all cell lines. Compound 2 was found to be cytotoxic (IC_{50} : $44.8 \pm 4.5 \mu M$) in the MCF-7 cell line, but it was observed that it did not have potent cytotoxic activity on A549 and HEPG2 cells.

Conclusion: The anticancer effects of a series of synthesized fluorine and methoxy derivative chalcone compounds have not been studied before, and their effects on viability on different cells were investigated in this thesis. MTT method was applied and inhibitory concentration 50 (IC_{50}) values of the compounds were obtained. With the publication of these data, it is expected to make a significant contribution to the current scientific knowledge.

2023, 62 pages

Keywords: Anticancer activity, A549, HEPG2, Chalcone compounds, MCF-7

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Kabul ve Onay.....	i
Bilimsel Etiğe Uygunluk.....	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kalkon Bileşikleri Hakkında Genel Bilgiler	3
2.1.1. Kalkon Bileşiklerinin Sentezi	8
2.2. Kanser	9
3. MATERYAL VE METOD.....	12
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	12
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	12
3.3. Kullanılan Hücre Hattı	13
3.4. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	13
3.4.1. Hücre Kültüründe Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması	13
3.4.2.3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum Yöntemi ile Sitotoksitenin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler.....	14
3.4.3. Test Maddelerin Hazırlanışı.....	14
3.5. Kullanılan Test Maddeleri.....	14
3.6. Deneysel işlemler ve yöntemler	16
3.6.1. Hücre Kültürü	16
3.6.2. Çalışma Grupları	17
3.6.3. Uygun Hücre sayılarının belirlenmesi	18
3.6.4. HEPG2, A549, MCF-7 ve HDFa hücrelerinde 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)- 2,5-difeniltetrazolyum Bromür Yöntemi ile Sitotoksitenin Belirlenmesi	19
3.6.4.1. Yöntemin Esası	19
4. BULGULAR.....	21

4.1. Sitotoksisite Tayini	21
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇ.....	43
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	49



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Flavonoidlerin Başlıca Üyeleri.....	4
Şekil 3.1. 1 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	14
Şekil 3.2. 2 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	14
Şekil 3.3. 3 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	15
Şekil 3.4. 4 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	15
Şekil 3.5. 5 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	15
Şekil 3.6. 6 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	15
Şekil 3.7. 7 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	16
Şekil 3.8. 8 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	16
Şekil 4.1. A549 Hücre Hattında 1 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	22
Şekil 4.2. A549 Hücre Hattında 2 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	22
Şekil 4.3. A549 Hücre Hattında 3 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	23
Şekil 4.4. A549 Hücre Hattında 4 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	23
Şekil 4.5. A549 Hücre Hattında 5 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	24
Şekil 4.6. A549 Hücre Hattında 6 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	24
Şekil 4.7. A549 Hücre Hattında 7 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	25
Şekil 4.8. A549 Hücre Hattında 8 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	25
Şekil 4.9. A549 Hücre Hattında Doksorubisinin 0-1 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	26
Şekil 4.10. MCF-7 Hücre Hattında 1 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	26

Şekil 4.11. MCF-7 Hücre Hattında 2 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	27
Şekil 4.12. MCF-7 Hücre Hattında 3 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	27
Şekil 4.13. MCF-7 Hücre Hattında 4 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	28
Şekil 4.14. MCF-7 Hücre Hattında 5 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	28
Şekil 4.15. MCF-7 Hücre Hattında 6 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	29
Şekil 4.16. MCF-7 Hücre Hattında 7 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	29
Şekil 4.17. MCF-7 Hücre Hattında 8 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	30
Şekil 4.18. MCF-7 Hücre Hattında Doksorubisinin 0-1 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	30
Şekil 4.19. HEPG2 Hücre Hattında 1 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	31
Şekil 4.20. HEPG2 Hücre Hattında 2 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	31
Şekil 4.21. HEPG2 Hücre Hattında 3 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	32
Şekil 4.22. HEPG2 Hücre Hattında 4 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	32
Şekil 4.23. HEPG2 Hücre Hattında 5 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	33
Şekil 4.24. HEPG2 Hücre Hattında 6 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	33
Şekil 4.25. HEPG2 Hücre Hattında 7 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	34
Şekil 4.26. HEPG2 Hücre Hattında 8 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi	34

Şekil 4.27. HEPG2 Hücre Hattında Doksorubisinin 0-2.5 μ M Konsantrasyonda	
Canlılığa Etkisi	35
Şekil 4.28. HDFa Hücre Hattında 1 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda	
Canlılığa Etkisi	35
Şekil 4.29. HDFa Hücre Hattında 2 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda	
Canlılığa Etkisi	36
Şekil 4.30. HDFa Hücre Hattında 3 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda	
Canlılığa Etkisi	36
Şekil 4.31. HDFa hücre hattında 4 no'lu bileşiğin 0-100 μ M konsantrasyonda canlılığa etkisi	37
Şekil 4.32. HDFa Hücre Hattında 5 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda	
Canlılığa Etkisi	37
Şekil 4.33. HDFa Hücre Hattında 6 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda	
Canlılığa Etkisi	38
Şekil 4.34. HDFa Hücre Hattında 7 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda	
Canlılığa Etkisi	38
Şekil 4.35. HDFa Hücre Hattında 8 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda	
Canlılığa Etkisi	39
Şekil 4.36. HDFa Hücre Hattında Doksorubisinin 0-100 μ M Konsantrasyonda	
Canlılığa Etkisi	39

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	12
Tablo 3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	12
Tablo 3.3. Uygulanan test maddeleri, dozları ve inkübasyon süreleri	18
Tablo 4.1. Test Maddelerinin IC ₅₀ Değerleri (IC ₅₀ µM±SS).....	21



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	Yüzde
μM	Mikromolar
°C	Santigrad derece
SS	Standart sapma

Kısaltmalar

A549	İnsan akciğer kanser hücreleri
D-PBS	Dulbecco'nun fosfat tamponlu serum fizyolojik
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	Dimetil sülfoksit
EDTA	Etildiamin tetraasetik asit
FBS	Fetal bovin serum
HDFa	İnsan dermal fibroblast hücreleri
HEPG2	İnsan hepatosellüler karsinoma hücreleri
IC ₅₀	Medyan inhibitör konsantrasyon
MCF-7	İnsan meme kanseri hücre hattı
MTT	3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5 difenil tetrazolyum bromür
RPMI	Roswell Park Memorial Institute

1. GİRİŞ

Flavonoidler, bilinen 8000'den fazla farklı bileşik ile çeşitli bitkilerden izole edilen fenolik maddelerdir. Birçok çalışma bu fenolik maddelerin antikanser, antioksidan, antimikrobiyal, vazodilatör, antialerjik ve antiinflamatuvar biyolojik aktivite gösterdiğini ileri sürmüştür (Pengelly ve Bone, 2020; Hertog ve Hollman, 1996). Serbest radikal oluşumunu azalttığından ve serbest radikal süpürücü özelliğinden dolayı en çok çalışma flavonoidlerin antioksidan aktivitesi üzerinde yapılmıştır (Pietta, 2000).

Kalkon bileşiklerinin birçoğu antioksidan aktiviteye sahip olan bitkilerin flavonoid yapıda polifenolik sekonder metabolitleridir (Jadhav ve ark., 2020). Doğal veya sentetik kökenli kalkonlar (1,3-difenil-2-propen-1-on), biyolojik olarak aktif bileşiklerin önemli bir sınıfını oluşturur. Kimyasal açıdan kalkon yapısı, aromatik halkalar üzerinde farmakomodülasyon yoluyla bağlanma bölgelerinin araştırılmasına izin veren moleküler bir yapı iskeleti olarak görülebilir. Kalkonlar ayrıca, biyolojik nükleofilleri, özellikle tiyoller modüle etme veya inhibe etme yeteneğine sahip olduklarından hücresel fonksiyonların küçük molekülle etkileşimleri olarak kabul edilirler (Stepanic ve ark., 2019). Özellikle küçük moleküler yapıda olmaları flavonoidleri, yeni antikanser ajanlar arasında ilgi çekici hale getirmiştir. Yukarıda bahsedildiği üzere kalkon bileşikleri tüm flavonoidlerin öncüsüdür. Bu bileşikler pek çok biyolojik aktiviteye sahiptir. Biyolojik aktivitelerinden biri olan antikanser aktiviteleri bu bileşiklerin birçok hedef üzerinde etki gösterebilme yeteneklerinden kaynaklanmaktadır. Bu bileşiklere örnek olarak likokalkonlar, ksantohumol, panduretin ve lonkokarpin gibi doğal kalkonlar ve modifiye edilmiş şekilleri verilebilir. Güçlü sitotoksik etkili bileşikler meydana getirmek için kalkonların temel yapılarının modifikasyonu, heterosikliklerle aromatik yapıların değiştirilmesi ve hibrit bileşiklerin elde edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Sülfonamid, diaril eter ve amin gibi sübstitüentlere sahip çok sayıda kalkon türevi bileşik elde edilmiştir ve bu bileşiklerin antikanser aktivite gösterdikleri bilinmektedir (Contantinescu ve Lungu, 2021).

Son yıllarda flor içeren birçok ilaç bileşiği ortaya çıkmıştır. C-F bağı içeren bileşikler, küçük atom yarıçapı, yüksek elektronegatiflik, ½'lik nükleer spin ve flor atomunun düşük polarizasyonu nedeniyle araştırmalar bu bileşikler üzerinde yoğunlaşmıştır. Ayrıca flor atomları içeren bileşiklerin, daha yüksek metabolik stabiliteleri nedeniyle genellikle hedef moleküllere daha kolay bağlandıkları bildirilmektedir (Bégué ve Bonnet-Delpon, 2006; Kirk, 2006; Ojima, 2009). Yine bu moleküllerin yüksek lipofilik özellikleri ve membran penetrasyonlarının kolay olması nedeniyle C-F bağı, C-H ve C-O bağlarına kıyasla biyolojik olarak aktif hale gelmektedir. Bu bilgiler ışığında F taşıyan kalkon türevlerinin olası antikanser özellikte olabileceği düşünülmektedir.

Kanser az sayıda tedaviye, kötü prognoza ve yüksek ölüme sahip bir halk sağlığı sorunudur (Yang ve ark., 2020). Kardiyovasküler hastalıklardan sonra en çok görülen hastalık çeşididir (El-Sherief ve ark., 2018). Kanser, birçok faktör (genetik, immunolojik, oksidatif stres faktörleri ve inflamasyon) ile meydana gelen, kompleks bir prosestir. Kanser tedavisi, kanserli hücrenin büyümesini durdurmayı ve yok etmeyi amaçlar. Tedavide direnç gelişimi ve meydana gelen ciddi yan etkiler, mevcut standart tedavilerin verimsiz olmasının en büyük nedenleridir. Hedeflendirilmiş antikanser etkili ilaç adayı moleküllerin sentezi giderek önem kazanmaktadır. Yukarıda bahsedildiği üzere biyoaktif olabilecek kalkon türevi bileşiklerin antikanser özelliklerinin araştırılmasının gerekliliği ortaya çıkmıştır. Sentezi gerçekleştirilen bir seri flor- ve metoksi- sübstitüe kalkon türevi 8 bileşiğin olası antikanser aktivitelerinin belirlenmesi ve ilaç adayı olabilecek potansiyele sahip olup olmadıklarının gösterilmesi tez çalışmasının amacını oluşturmaktadır.

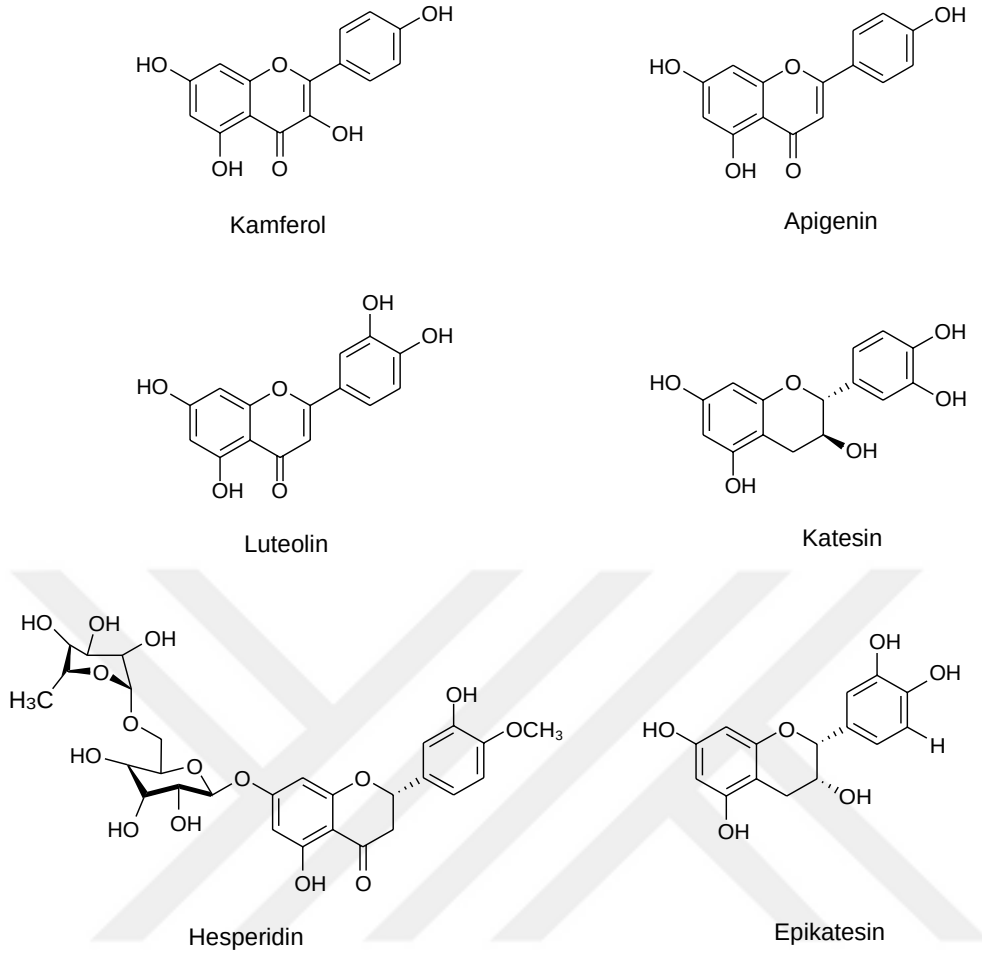
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalkon Bileşikleri Hakkında Genel Bilgiler

Bitkiler metabolizmaları sayesinde sınırsız şekilde sentez yapabilme yeteneği olan canlılardır ve bu özelliklerini kullanarak oluşturdukları bileşiklerin çoğu fenolik yapıda bileşiklerdir. 8000'den fazla fenolik bileşiğin kimyasal yapısı bilinmektedir (Wollgast ve Anklam, 2000).

Fenolik bileşiklerinin alt üyelerinden olan flavonoidler, doğanın en önemli canlılarından olan bitkilerin bünyelerinde (tohum, yaprak, çiçek, meyve, dal) yüksek oranda bulunan ve canlıların üzerinde biyolojik aktivite gösterdikleri belirlenen bileşiklerdir. Flavonoidler aynı zamanda bitki fizyolojisinde pek çok önemli rol oynar: enzim inhibisyonu, bitki dokusunu ultraviyole ışınının zararlı etkilerinden koruma, enfeksiyona karşı savunma ve antioksidan olarak görev alma gibi (Pengelly ve Bone, 2020). Flavonoidler ilk kez Albert Szent-Györgyi (1936) tarafından limondan elde edilmiştir. Kılcal damarların geçirgenliklerini azalttıkları, bir nevi kan sızıntısını önledikleri belirlenmiştir. Bu özellikleri sebebi ile ilk kez elde edilen iki flavonoid, P-2 vitamini olarak adlandırılmışlardır (Hertog ve Hollman, 1996).

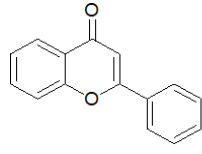
Çay, soya fasülyesi, soğan, turunçgiller, üzüm gibi bitkilerde bulunan flavonoid yapısına sahip olan bileşiklere örnek olarak; apigenin, kamferol, kateşin, luteolin, hesperidin, naringin ve epikateşin verilebilirken; üzüm çekirdeği, kakao, siyah çay, tarçın ve elmada bulunan flavonoidlere örnek olarak; prodelfinidinler ve prosiyanidinler verilebilir (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999).



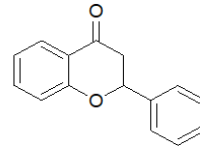
Şekil 2.1. Flavonoidlerin Başlıca Üyeleri

Bitkilerden elde edilen ve birçok faydalı biyolojik aktiviteye sahip olan flavonoidlerin (Şekil 2.1) kimyasal yapıları genel anlamda iki fenil halkasının bir propan zinciriyle birleşiminden oluştuğu bir yapı olarak tanımlanabilir. Oluşan bu yapı 15 karbon içermektedir ve 1,3-difenilpropan yapısındadır.

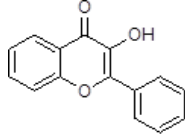
Flavonoidlerin gösterilen kimyasal yapıları üzerinde çeşitli değişiklikler yapılarak, sübstitüentler eklenerek ve düzenlenerek flavonoid ailesinin yeni üyeleri oluşturulabilir. Kalkon bileşiklerinin de aralarında bulunduğu üyelerden bazıları şunlardır; Flavon, flavonon, flavonol, flavonolol, auron, antosiyanidin, lökosiyanidin, katekin, dihidrokalkon ve kalkon (Şekil 2.2).



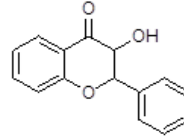
Flavon



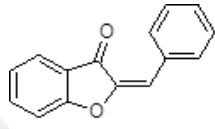
Flavonon



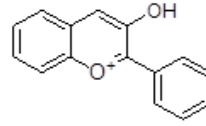
Flavonol



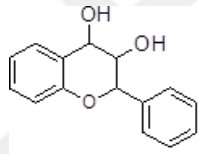
Flavanolol



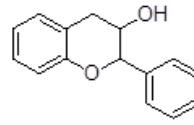
Auron



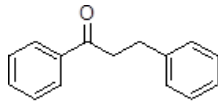
Antosiyanidin



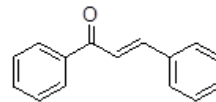
Lökosiyanidin



Katekin



Dihidroalkon



Alkon

Şekil 2.2. Alkon Bileşikleri Örnekleri

Alkon bileşikleri, flavonoid ailesinin heterosiklik bir yapı olan C halkasının bulunmadığı üyesidir. Flavonoidlerin temel iskeletinin propan zinciri üzerinde α,β -doymamış karbonil grubuna sahip olması sonucunda alkonlar oluşur. Alkonlar, 1,3-diaril-2-propen-1-on yapısına sahip, doymamış keton grubunu oluşturan ve flavonoid ailesinin bir alt grubunu oluşturan bileşiklerdir (Boumendjel ve ark., 2009). Alkonların yapısında oluşturulabilecek olan değişiklikler ve farklı süstitütentlerin

bağlanması ile çeşitli yeni farmakolojik özelliklerde olan farklı bileşikler elde edilmektedir (Nowakowska, 2007). Kalkonlar antiinflamatuvar özelliklerini serbest radikalleri ve reaktif oksijen türlerini temizlemek yoluyla ve aldoz redüktaz enzimini inhibe etme özelliği sayesinde göstermektedirler (Kucerova-Chlupacova ve ark., 2018). Kalkonlar rahat sentezlendikleri için ve kolay bir kimyasal yapıya sahip oldukları için araştırmacıların dikkatini çekmiştir (Kamiloğlu, 2021).

Kalkonlar, antibakteriyel, antiülser, antiprotozoal, antihelmintik, böcek öldürücü, amip öldürücü, immünosupresif, sitotoksik ve antikanser olmak gibi birçok biyolojik özelliğe sahiptir (Herencia ve ark., 1998; Rao ve ark., 2004; Satyanarayan ve ark., 2004; Buolamwini ve ark., 2005; Ouyang ve ark., 2021). Ayrıca kalkonların HIV1 virüsünü inhibe ederek ve hücre öldürücü etki göstererek lösemi hastalığının tedavisinde de kullanılabileceği tespit edilmiştir (Nam ve ark., 2003; Deng ve ark., 2007). Ayrıca kalkonlar flavonlar, tiazidler, izoksazoller, kinolinonlar, benzodiazepinler ve benzofuranların sentezinde kullanılmaktadır (Kamiloğlu ve ark., 2020). Tıbbi tedavide kullanılmaları dışında polimerlerde ultraviyole-absorbsiyon filtresi olarak çeşitli tipteki holografik kayıt teknolojilerinde, optik materyallerde ve yemek endüstrisi gibi çeşitli uygulama alanlarında da kullanılırlar (Fayed ve Awad, 2004).

Kalkonların çeşitli biyolojik özelliklerinin arasında sitotoksik etkileri de bulunmaktadır. Nam ve arkadaşları, bir seri 2',5'-dihidroksikalkon türevlerinin çeşitli tümör hücre kültürlerine (B16 fare cilt tümörü, A31 insan epitelium tümörü, HCT 116 insan kalın bağırsak kanseri) karşı ve insan göbek dokusuna ait olan endotel hücreleri (HUVEC) üzerinde sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. İncelenen kalkon türevlerinden bazılarının, düşük dozlarda IC50 değerleri ile sadece kanser hücre kültürlerine karşı değil, HUVEC hücrelerine karşı da bariz bir sitotoksikite gösterdiği rapor edilmiştir. Anjiyogenez (var olan damarlardan tomurcuklanma yolu ile yeni damarların oluşması ve gelişmesi), tümör gelişmesinin ön şartıdır ve anjiyogenezin inhibe edilmesi gelişmeyi ve kanserli hücrelerin çoğalmasını sınırlayacaktır. Bu verilere dayanarak Nam ve arkadaşları kalkon bileşiklerinin potansiyel anjiyogenez inhibitörü olabileceğini düşünnüşlerdir (Nam ve ark., 2003).

Antikanser özellikteki kalkon bileşiklerine örnek olarak (E)-1-(4'hidroksifenil)but-1-

en-3-on bileşiği verilebilir ve bu bileşiğin MCF-7 hücre hattı üzerinde etkili ve tüberkülozda hücrelerin inhibisyona neden olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (Lin ve ark. 2002; Rao ve ark., 2004).

Öte yandan kalkonların, sahip oldukları iki aromatik halka üzerinde farklı pozisyonlarda bulunan farklı sübstitüentler (metoksi, amino, nitro, halojen ve hidroksil grupları) sayesinde özellikle antikanser etkide artış olduğu bildirilmiştir. Kalkonlar hücrede farklı yolaklarda, farklı mekanizmalar ile etki göstererek sitotoksositeye neden olurlar. Yapılan pek çok çalışmada kalkonların, sadece hücresel bölünme sürecini bloke etmede değil, aynı zamanda farklı hücre ölüm yolaklarında da etkili bir sitotoksik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Boumendjel ve ark., 2009).

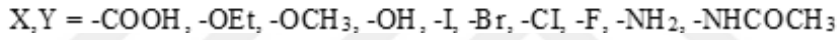
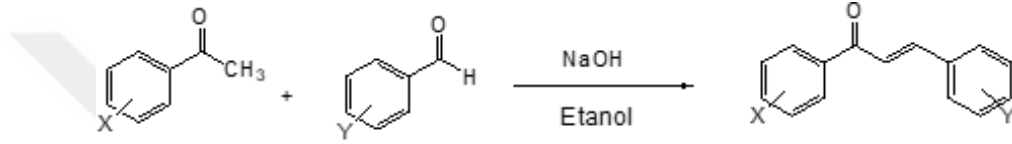
Flor kimyası, floropolimerler, malzeme bilimi, farmasötikler ve tarım ürünleri alanları dahil olmak üzere çeşitli teknolojik gelişmelerde önemli bir rol oynamıştır (Dolbier, 2005). İlaç kimyasında karşılaşılan sentetik zorlukların yanı sıra flor içeren bileşiklerde gözlenen yapı-reaktivite ilişkilerinin aşılması bu alandaki çalışmalara olan ilgiyi artırmıştır (Shah ve Westwell, 2007). Özellikle, organoflor kimyasının temel yapı taşı olan C-F bağının bir sübstitüent olarak sergilediği kimyasal özelliklerin yanı sıra yapıların ve konumların türü de dikkatle incelenir. Bu yapıların en önemlisi sayılabilecek aromatik benzen halkasında flor içeren arenler, özellikle elektrofilik özellikleri nedeniyle nükleofilik saldırılara karşı hidrojen bazlı arenlere göre daha uygundur. Bu nedenle, flor ikameli arenler, nükleofilik aromatik ikame reaksiyonları nedeniyle tıbbi açıdan önemli olabilecek bileşiklerin sentezinde yeni yaklaşımlar sunmaktadır (Uneyama, 2007).

Son yıllarda Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından tıbbi olarak onaylanan ve hem organik hem de tıbbi kimya açısından büyük önem taşıyan flor içeren birçok ilaç bileşiği ortaya çıkmıştır. C-F bağı içeren bileşikler, küçük atom yarıçapı, yüksek elektronegatiflik, ½'lik nükleer spin ve flor atomunun düşük polarizasyonu nedeniyle araştırmacılar için daha çekici hale gelmiştir. Ayrıca flor atomları içeren bileşiklerin, daha yüksek metabolik stabiliteleri nedeniyle genellikle hedef moleküllere daha kolay bağlandıkları bildirilmektedir (Bégué ve Bonnet-Delpon, 2006; Kirk, 2006; Ojima, 2009). Yine bu moleküllerin yüksek lipofilik özellikleri ve membran penetrasyonlarının kolay olması nedeniyle C-F bağı,

C-H ve C-O bağlarına kıyasla biyolojik olarak aktif hale gelmektedir.

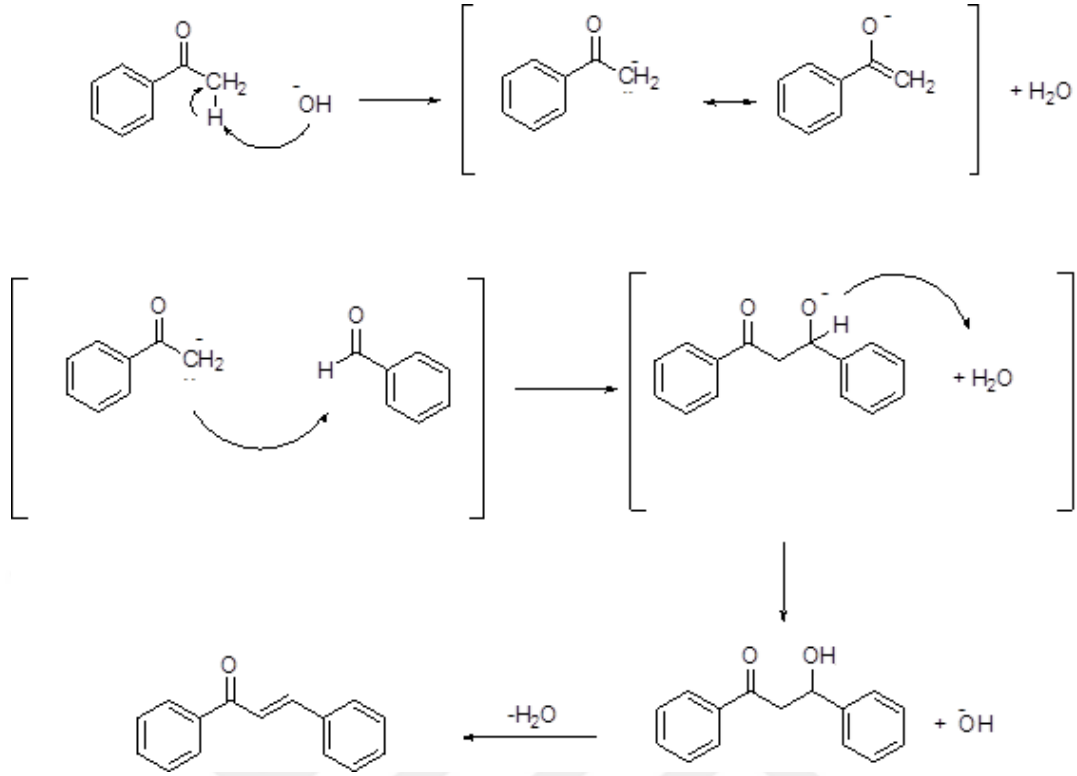
2.1.1. Kalkon Bileşiklerinin Sentezi

Kalkon bileşiklerinin sentezinde sıklıkla kullanılan Claisen-Schmidt yöntemi, asetofenon ve benzaldehit türevlerinin bazik bir ortamda aldol kondenzasyonu ile kolay bir şekilde elde edilmesine dayanan en klasik sentez yöntemlerinden birisidir. Bu yöntem, keton ve aldehitin metanol veya etanol içinde çözülerek KOH, NaOH gibi farklı bazlarla reaksiyona sokulmasıyla gerçekleştirilir. Farklı katalizörler kullanılarak da kalkon türevleri elde edilebilir.



Şekil 2.3. Claisen-Schmidt Kondenzasyonu ile Kalkonların Genel Sentez Yöntemi

Kalkonların Claisen-Schmidt kondenzasyonu yöntemiyle elde edilmeleri, Şekil 2.3'teki gibi açıklanabilir. Asetofenon, reaksiyon ortamına eklenen baz ile etkileşime girer ve anyon oluşturmak suretiyle proton koparır. Oluşan anyonun aldehit karbonuna bağlanmasıyla katılım reaksiyonu gerçekleşmiş olur. Kalkon eldesi, bu katılma reaksiyonu sonucunda oluşan alkol'den 1 mol su çıkışıyla gerçekleşir.



Şekil 2.4. Kalkonların Claisen-Schmidt Kondenzasyonu ile Eldesinin Reaksiyon Mekanizması

Kalkon Bileşiklerinin Diğer Sentez Yöntemleri

Kalkon bileşiklerinin Claisen-Schmidt Kondenzasyonu dışında sentezlendiği yöntemlerden bazıları; doğal fosfat katkılı kataliz ile sentez, ultrasonik ışınlama yöntemiyle sentez, SOCl_2 katalizörlüğünde sentez, substitüe sinnamoil klorür ve substitüe aromatik bileşiklerden sentez, doğal fosfat katkılı sodyumnitrat (NaNO_3 / NP) ile sentez, mikrodalga yöntemi kullanılarak sentez, hidroksiapatit aracılığıyla sentez yöntemleridir (Batt ve ark., 1993; Powers ve ark., 1998; Sebtı ve ark., 2001; Lin ve ark., 2002; Yadav ve ark., 2003; Zahouily ve ark., 2003; Hu ve ark., 2004; Yarishkin ve ark., 2008).

2.2. Kanser

Çok hücreli canlılarda hücrelerin kendi yaşama döngüleri içerisinde birçok faaliyet bulunmaktadır. Hücrelerin bölünerek çoğalmasından veya ölümünden hücre içerisindeki birçok farklı yolak sorumludur. Hücre bölünmesi, hücrelerin tam ve doğru şekilde bölünebilmesi için birçok kontrol noktasına sahiptir. Bu kontrol noktalarında

hücrenin bölünme için yeterince besine sahip olduğu, yeterince büyüdüğü, kromozomların doğru şekilde kopyalandığı gibi birçok durum kontrol edilmektedir. Herhangi bir sorunun bulunması durumunda ise hücrenin bölünme süreci bu kontrol noktalarında durdurulur. Tüm bu hayat sürecinin belirli kuralları vardır. Hücre kendi içerisinde herhangi bir bozukluk fark ettiğinde apoptoz mekanizması ile kendini yok eder. Ancak bölünme sürecindeki kontrol noktalarında oluşan sorunlar veya apoptoz mekanizması yanıt vermez hale geldiğinde hücre kanser hücresine dönüşmüş olur (Williams, 2001; Cabadak, 2008; Baykara, 2016).

Kanser oldukça karmaşık bir proses sonucu meydana gelmektedir. DNA’da oluşan mutasyonlar sebebiyle oluştuğu bilinmekte ve mutasyonlar genetik kaynaklı olabileceği gibi kimyasal maddelere maruziyet sonucu, beslenme alışkanlıkları farklılıklarına, çevredeki radyasyon seviyesine, daha önce etkileşimde bulunulmuş olan bakteri veya virüslere bağlı olarak da oluşabilmektedir. Bu etmenler sebebi ile mutasyonlu DNA’ya sahip hücrelerde, hücrenin bölünme mekanizmaları bozularak hücrenin kontrolsüzce bölünmesi süreci başlar. Oluştugu bölgedeki besin ve oksijeni hızla tüketmeye başlayan kanser hücreleri köken aldıkları ve büyüdüğü organa ve özelliklerine göre türlere ayrılır ve isimlendirilir. Her kanser türünün kendine ait özellikleri, buna bağlı olarak tedavi yaklaşımları bulunmaktadır (Williams, 1992; Yokus ve ark., 2008).

Kanser hastalığı insidansının 65 yaş ve üzeri popülasyonda daha yüksek olduğu bilinmektedir. Bunun ilerleyen yaşlarla birlikte vücutta oluşan hücresel ve moleküler değişiklikler olduğu düşünülmektedir (Gültekin ve Boztaş, 2014; Mete ve ark., 2019).

Kanser hastalığı tedavisi için birçok farklı yöntem denenmektedir. Geliştirilmiş olan bu tedavi şemaları yan etkiler ve toksik etkiler açısından ciddi sorunlara sahip olmalarına rağmen hastalık üzerinde istenilen düzeyde etki sağlanmamaktadır. Bu durum yeni antikanser ilaçların geliştirilmesi gerekliliğini doğurmaktadır.

Antikanser özelliğe sahip kalkon bileşikler elde etmek için doğal kalkonlar üzerinde üç yöntem uygulanmıştır: aromatik yapıların heterosikliklerle değiştirilmesi, kalkonları antitümör moleküllerle birleştirilerek hibrit moleküllerin elde edilmesi ile aldehit ve asetofenonların modülasyonu (Constantinescu ve Mihis, 2022).

Tez çalışması kapsamında yeni geliştirilen kalkon türevi moleküllerin farklı hücre hatlarında çalışmaları yapılarak olası antikanser etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Sentezi gerçekleştirilen yeni moleküllerin olası antikanser aktivitelerinin belirlenmesi ve ilaç adayı olabilecek potansiyele sahip olup olmadıklarının gösterilmesi çalışmanın en önemli amacını oluşturmaktadır. Tez çalışmasında kontrol gruplarında negatif kontrol grubu olarak herhangi bir uygulama yapılmamış, pozitif kontrol grubu olarak doksorubisin etken maddesi uygulanmış ve çalışma konusu moleküllerin farklı dozlarda uygulanmış olduğu; meme kanseri, karaciğer kanseri ve akciğer kanseri hücre hatları üzerinde çalışmalar yapılarak bu kanser türleri üzerinde etkili olup olmadığı incelenmiştir.



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tablo 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Maddenin Adı	Marka
3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum Bromür(MTT)	Sigma – Aldrich
Dimetil Sülfoksit (DMSO)	Honeywell
Fötal Sığır Serum (FBS)	Biowest
Penisilin-Streptomisin	Biological Industries
Tripsin-EDTA	Sigma – Aldrich
DMEM (Besiyeri)	Biowest
F-12K	Sigma – Aldrich

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Tablo 3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Kullanılan Araç ve Gereçler	Marka
96 kuyucuklu plak	Sarstedt
Biyogüvenlik kabini	Bilser BLF 2000
Buzdolabı	Arçelik 2 kapılı
Derin dondurucu (-80°C)	Haier DW-86L628
Distile su cihazı	MP Minipure SuperM
Hassas Terazî	Ohaus PA214C
Hücre kültürü uyumlu flask (25/75 cm ²), pipet (1-25 ml), falcon tüpü (15, 50 ml), eppendorf tüp	Labsolute
Işık ve Faz Kontrast Mikroskobu	Nikon Eclipse Ti-U
İnkübatör (CO ₂ 'li)	Nüve EC160
Mikropipet (10 – 100 µl, 100 – 1000 µl, 1 – 5 ml)	Eppendorf
Neubauer Lamı (Hücre sayım lamı)	Süperior
Pipet ucu (0,5 – 10, 10 – 200 µl, 100 – 1000 µl'lik)	Eppendorf, Top-Line
Santrifüj	Hermle Z326K
Spektrofotometre	Epoch™, BioTek Ins
Su Banyosu	Nüve ST30-22
Vorteks	Wisd. WiseMix

3.3. Kullanılan Hücre Hattı

Çalışmada insan hepatoselüler karsinoma (HEPG2) hücre hattı (ATCC®HB-8065™), insan akciğer kanseri (A549) hücre hattı (ATCC CCL-185), insan meme kanseri (MCF-7) hücre hattı (ATCC HTB-22) ve insan fibroblast (HDFa) hücre hattı (ATCC PCS-201-012™) kullanılmıştır.

HEPG2 hücre hattı bir adölesanın (15 yaşında erkek) hepatoselüler karsinoma dokusundan elde edilen adherent epitel hücrelerden oluşmaktadır. A549 hücre hattı 58 yaşında yetişkin bir erkek akciğer dokusundan alınan hücrelerden oluşmaktadır. MCF-7 hücre hattı 69 yaşında yetişkin bir kadın meme hücrelerinden alınan hücrelerden oluşmaktadır. İnsan fibroblast hücre hattı ise yetişkin bir insanın deri dokusundan alınan hücrelerden oluşmaktadır.

3.4. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

3.4.1. Hücre Kültüründe Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması

Hücre hatlarının çoğaltılabilmesi için kullanılmış olan besiyerleri HEPG2 için, Dulbecco's Modified Eagle Medyum (DMEM, 500 ml) içerisine %10 (50 ml) fetal sığır serumu (FBS), %1 (5 ml) penisilin streptomisin eklenerek hazırlanmış, +4°C'de saklanmıştır.

A549 hücre hattı için F-12K besiyeri kullanılmıştır ve içerisine %10 (50 ml) fetal sığır serumu (FBS), %1 (5 ml) penisilin streptomisin eklenerek hazırlanmış, +4°C'de saklanmıştır.

MCF-7 için DMEM içerisine %10 FBS, %1 penisilin streptomisin eklenerek besiyeri hazırlanmıştır. Besiyeri +4°C'de saklanmıştır.

HDFa hücre hattı için DMEM içerisine %10 FBS, %1 penisilin streptomisin ve 2 mM L-glutamin eklenerek hazırlanarak +4°C'de saklanmıştır.

3.4.2. 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum Yöntemi ile Sitotoksitenin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler

3.4.2.1. Dimetil Sülfoksit

Dimetil sülfoksit (C_2H_6OS) yoğunluğu 1,1 g/ml'dir. Oda sıcaklığında saklanabilir.

3.4.2.2. 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum Bromür Çözeltisi

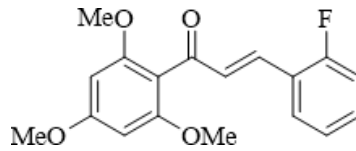
Her bir plak için 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür 2,5 mg tartılmış, 500 µl D-PBS içerisinde çözüldükten sonra 4,5 ml DMEM eklenerek nihai konsantrasyon 0,5 mg/ml olacak şekilde çözelti elde edilmiştir. MTT çözeltisi ışıktan korunmak zorundadır ve 24 saat dayanıklıdır.

3.4.3. Test Maddelerin Hazırlanışı

Test maddeleri ve doksorubisin dimetil sülfoksit ile çözülmüş ve besiyeri ile seyreltilerek DMSO oranı % 0,1'den az olacak şekilde hazırlanmıştır.

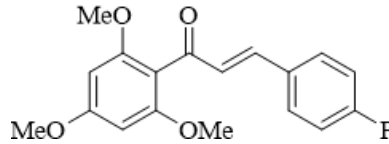
3.5. Kullanılan Test Maddeleri

1 No'lu Bileşik: (E)-3-(2-Florofenil)-1-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on



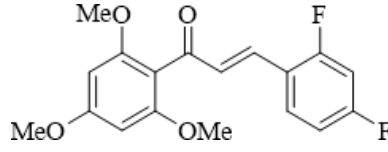
Şekil 3.1. 1 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı

2 No'lu Bileşik: (E)-3-(4-Florofenil)-1-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on



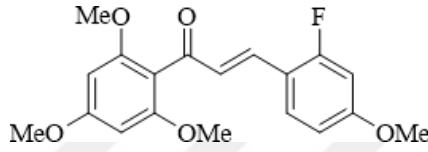
Şekil 3.2. 2 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı

3 No'lu Bileşik: (E)-3-(2,4-Diflorofenil)-1-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on



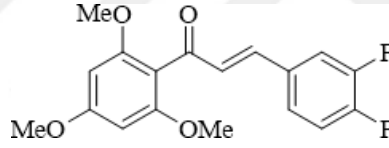
Şekil 3.3. 3 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı

4 No'lu Bileşik:(E)-3-(2-Floro-4-metoksifenil)-1-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on



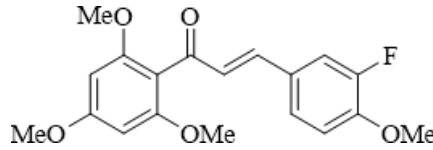
Şekil 3.4. 4 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı

5 No'lu Bileşik:(E)-3-(3,4-Diflorofenil)-1-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on



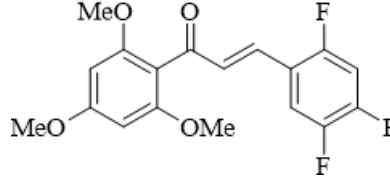
Şekil 3.5. 5 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı

6 No'lu Bileşik:(E)-3-(3-Floro-4-metoksifenil)-1-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on



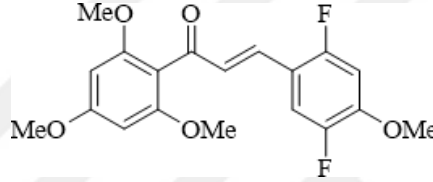
Şekil 3.6. 6 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı

7 No'lu Bileşik:(E)-3-(2,4,5-Triflorofenil)-1-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on



Şekil 3.7. 7 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı

8 No'lu Bileşik:(E)-3-(2,5-Difloro-4-metoksifenil)-1-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on



Şekil 3.8. 8 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı

3.6. Deneysel İşlemler ve Yöntemler

3.6.1. Hücre Kültürü

Çalışmada HEPG2 hücre hattı kullanılmıştır. HEPG2 hücre hattı epitel kökenli ve adherent hücre hattıdır. Hücre ekim işlemi DMEM (%10 fetal bovine serum, FBS ve %1 penisilin-streptomisin içeren) içerisinde 75 cm²'lik kültür plaklarına yapılmıştır. Sıcaklığı 37°C'de olan ve %5 CO₂ içeren inkübatörde çoğaltılmıştır. İnkübatör içerisinde kültür ortamında bulunan hücrelerin uygun aralıklarla besiyerileri değiştirilmiş, pasajlanarak hücreler çoğaltılmıştır.

Çalışmada A549 hücre hattı kullanılmıştır. A549 hücre hattı F-12K besiyeri (%10 FBS ve % 1 penisilin-streptomisin içeren) ile 37°C de ve %5 CO₂ içeren ortamda inkübe edilmiştir, Ortam 2-3 günde bir değiştirilerek hücreler çoğaltılmıştır(Jiang ve ark., 2010).

Çalışmada MCF-7 hücre hattı kullanılmıştır. MCF-7 hücre hattı tutunan, epitel kökenli

ve luminal hücre hattıdır (Welsh, 2013). Hücreler %10 FBS ve %1 penisilin-streptomisin içeren besiyeri (DMEM) ortamında çoğaltılmıştır. Hücreler %5 CO₂ ile 37°C'de inkübe edilerek çoğaltılmış ve hücrelerin besiyerleri gün aşırı değiştirilmiştir (Huang ve ark., 2013).

Çalışmada son olarak HDFa hücre hattı kullanılmıştır. Bu hücre hattı tutunan ve epitel kökenli bir hücre hattıdır. Hücreler %10 FBS, %1 penisilin streptomisin ve 2 mM L-glutamin içeren besiyeri (DMEM) ile 37°C ve %5 CO₂ içeren ortamda kültüre edilmiştir.

3.6.2. Çalışma Grupları

Tez çalışması kapsamında HEPG2, A549, MCF-7 ve HDFa hücre hattında aşağıdaki yer alan çalışma grupları oluşturulmuştur (Tablo 3.3.).

Negatif Kontrol Grubu 1: Bir uygulama yapılmamış MCF-7 hücre hattı

Negatif Kontrol Grubu 2: Bir uygulama yapılmamış HEPG2 hücre hattı

Negatif Kontrol Grubu 3: Bir uygulama yapılmamış A549 hücre hattı

Negatif Kontrol Grubu 4: Bir uygulama yapılmamış HDFa hücre hattı

Pozitif Kontrol Grubu 1: Doksorubisin uygulanan MCF-7 hücre hattı (0–10 µM)

Pozitif Kontrol Grubu 2: Doksorubisin uygulanan HEPG2 hücre hattı (0–10 µM)

Pozitif Kontrol Grubu 3: Doksorubisin uygulanan A549 hücre hattı (0–10 µM)

Pozitif Kontrol Grubu 4: Doksorubisin uygulanan HDFa hücre hattı (0–100 µM)

1-8 No'lu Bileşikler-Çalışma Grubu 1: Bileşiklerin farklı dozlarının uygulandığı MCF-7 hücre hattı (0–100 µM)

1-8 No'lu Bileşikler-Çalışma Grubu 2: Bileşiklerin farklı dozlarının uygulandığı HEPG2 hücre hattı (0–100 µM)

1-8 No'lu Bileşikler-Çalışma Grubu 3: Bileşiklerin farklı dozlarının uygulandığı A549 hücre hattı (0–100 µM)

1-8 No'lu Bileşikler-Çalışma Grubu 4: Bileşiklerin farklı dozlarının uygulandığı HDFa hücre hattı (0–100 µM)

Tablo 3.3. Uygulanan test maddeleri, dozları ve inkübasyon süreleri

Test Maddesi	Doz	İnkübasyon Süresi
Kontrol grubu (MCF-7, HEPG2, A549, HDFa hücre hatları)	Herhangi bir maddeye maruz bırakılmamış hücreler	24 saat
Pozitif kontrol grubu (doksorubisin)	0; 1,25; 2,5; 5; 10 μ M	24 saat
Test maddeleri (1-8 No'lu Bileşikler) (MCF-7, HEPG2, A549, HDFa hücre hatları)	0, 10, 25, 50, 75, 100 μ M	24 saat

3.6.3. Uygun Hücre Sayılarının Belirlenmesi

1. 75 cm²'lik flaskta tutunmuş MCF-7, HEPG2, A549 ve HDFa hücreleri üzerinden besiyerleri çekilerek uzaklaştırılmıştır.
2. Tutunan hücreler 3 ml D-PBS çözeltisi ile ikişer kez yıkanmıştır.
3. Flaska 5 ml tripsin eklenmiş, hücreler 3–5 dk inkübatörde bırakılmıştır.
4. Hücrelerin ışık mikroskobu altında flask tabanından ayrılıp ayrılmadıkları kontrol edilmiştir.
5. Flask üzerine 5 ml besiyeri eklenerek tripsinin etkisi bloke edilmiştir.
6. Steril falkon tüp içerisine 5 ml besiyeri eklenmiştir.
7. Tripsin ile kaldırılan hücreler steril falkon tüpe aktarılıp, besiyeri 12 ml'ye tamamlanmıştır.
8. Hücre süspansiyonu 5 dakika boyunca 1200 devir/dak hızda santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra tüpteki süpernatant uzaklaştırılmıştır. Hücre pelleti 7 ml besiyeriyle süspande edilmiştir.
9. Süspande edilmiş hücre çözeltisinden 100 μ l alınarak bir ependorf tüpe

aktarılmıştır. Üzerine 100 µl %0,4'lük tripan mavisi çözeltisi eklenerek hücreler süspansiyon haline getirilmiştir.

10. Işık mikroskobu altında hücre süspansiyonu Neubauer hücre sayım lamı üzerinde incelenmiştir. Lamın alt ve üst kısımlarında bulunan dört adet karenin kenar çizgileri üzerinde bulunan hücreler hariç, karelerde yer alan hücreler sağdan sola ilerleyerek sayılmıştır. Sekiz ayrı kareden elde edilen hücre sayılarının ortalamaları alınmış ve 1 ml'deki canlı hücre sayısı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

Toplam hücre/ml = Sayılan toplam hücre sayısı x (dilüsyon faktörü/*8) x 10.000
hücre/ml

*8: hücre sayım lamında sayılan kareler.

11. Canlı hücre konsantrasyonları hesaplandıktan sonra hücre süspansiyonu, HEPG2 için her bir kuyucukta 7.000 hücre/100 µl; A549 için 7.000 hücre/100 µl; MCF-7 için 5.000 hücre/100 µl ve HDFa hücre hattı için ise 7.000 hücre/100 µl olacak şekilde seyreltilmiştir. 96 kuyucuklu kültür plağına hücre ekimi yapılmıştır.

12. Hücrelerin kuyucuk yüzeyine tutunması ve çoğalması için 24 saat inkübasyon sağlanmıştır.

3.6.4. HEPG2, A549, MCF-7 ve HDFa hücrelerinde 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum Bromür Yöntemi ile Sitotoksitenin Belirlenmesi

3.6.4.1. Yöntemin Esası

Kolorimetrik, non-radyoaktif ve radyoaktif izotoplar kullanmadan hücre büyümesi ve canlılığın spektrofotometrik olarak tayin edilebildiği bu yöntemde 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür kullanılmaktadır. Sitokinler, büyüme faktörleri ve besin öğeleri cevap olarak hücre proliferasyonunun ölçümü için kullanılmaktadır. MTT aynı zamanda, sitotoksite ve hücre aktivasyonunun ölçümü için de kullanılmaktadır.

MTT yöntemi, proliferasyona uğrayan hücrelerin artan dehidrojenaz enzim aktivitesi ile sarı renkteki tetrazolyum tuzunun kullanılarak mor renge dönüştürülmesi ve oluşan renk şiddetinin spektrofotometre ile 570 nm'de ölçülmesi esasına dayanır.

3.6.4.2. Yöntemin Uygulanışı

1. Besiyeri steril şartlarda uzaklaştırılıp, hücreler ilgili besiyeri (%1 penisilin streptomisin ve %10 FBS içeren) içinde 10 μ M, 25 μ M, 50 μ M, 75 μ M ve 100 μ M konsantrasyonlarda test maddelerine 24 saat maruziyet gerçekleştirilmiştir.
2. Herhangi bir uygulama yapılmamış hücre hatları kontrol grubu olarak (HEPG2, A549, MCF-7 ve HDFa hücre hattı) kullanılmıştır.
3. Pozitif kontrol olarak doksorubisin seçilmiş ve 1,25 μ M, 2,5 μ M, 5 μ M ve 10 μ M konsantrasyonlarda doksorubisin ile hücreler 24 saat inkübe edilmiştir.
4. İnkübasyon süresinin sonunda uygulama çözeltileri uzaklaştırılarak her bir kuyucuğa hazırlanmış olan MTT çözeltisinden (0,5 mg/ml) 50 μ l eklenmiştir. 3 saat inkübasyon gerçekleştirilmiştir.
5. İnkübasyonun sonunda MTT çözeltisi kuyucuklardan uzaklaştırılmıştır. Hücrelerin oluşturduğu formazan kristallerini çözmek için her bir kuyucuğa 150 μ l DMSO eklenmiştir. Çözeltiler çalkalayıcıda 10-15 dk süre ile çalkalanmıştır.
6. Kuyucuklardaki çözelti absorbans değerleri 570 nm’de ölçülmüştür.
7. MTT çözeltisinin ışık ile bozulmasını önlemek için karanlık ortamda çalışılmıştır.
8. Kontrol grubu olarak kullanılan hücrelerin absorbans değerleri %100 olarak kabul edilmiştir. IC₅₀ değerleri buna göre hesaplanmıştır.
9. Çalışma üç tekrarlı yapılmış ve sonuçlar ortalama alınarak hesaplanmıştır.

3.6.4.3. Hücre Canlılığının Hesaplanması

Kontrol hücrelerinin canlılığı %100 kabul edilmiş, diğer hücrelerin canlılığı kontrole kıyasla % olarak hesap edilerek grafikler oluşturulmuştur. Graphpad uygulaması kullanılmıştır.

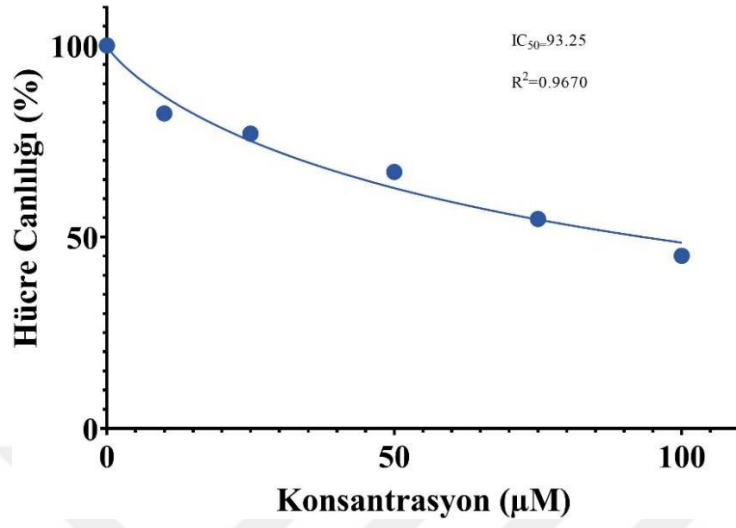
4. BULGULAR

4.1. Sitotoksisite Tayini

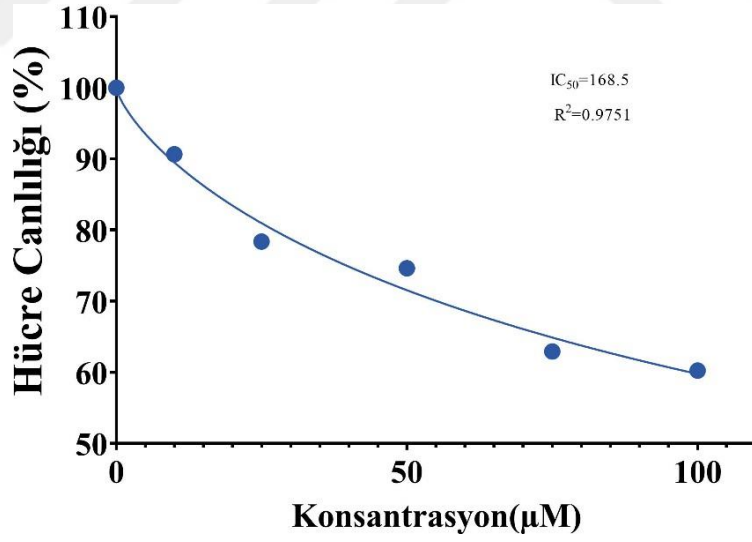
A549, HEPG2, MCF-7 ve HDFa hücreleri 1-8 no'lu bileşiklere 24 saat süre ile farklı dozlara (0-100 μ M) maruz bırakılmıştır. Test maddelerinin MTT yöntemi ile hücre canlılığı üzerine etkileri belirlenmiştir. Sitotoksisite deneyleri, gün içi iki tekrar ile üç farklı zamanda yapılmıştır. Hücre canlılıkları negatif kontrol hücrelerine göre % olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre hücre canlılığında %50 azalmaya neden olan konsantrasyon (medyan inhibitör konsantrasyon, IC₅₀) değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Test Maddelerinin IC₅₀ Değerleri (IC₅₀ μ M $\pm$ SS)

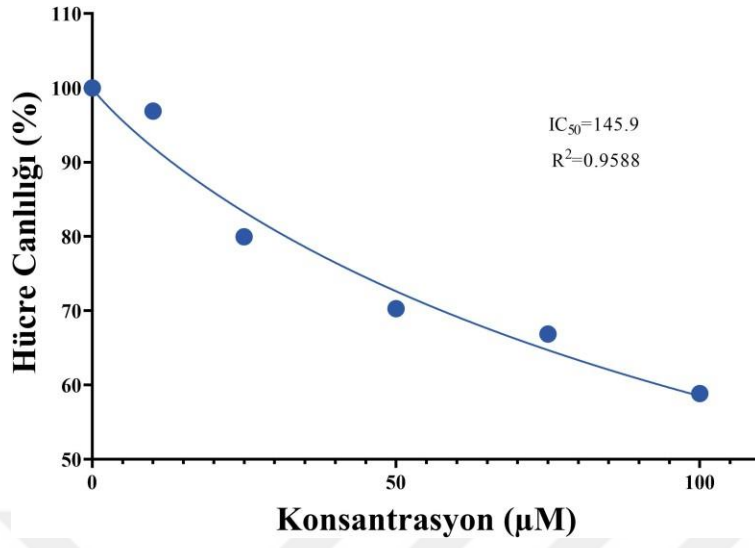
Molekül	A549	HEPG2	MCF-7	HDFa
1	93,3 $\pm$ 3,6	144,4 $\pm$ 5,4	86,1 $\pm$ 6,3	69,2 $\pm$ 4,7
2	168,5 $\pm$ 2,5	117,4 $\pm$ 5,4	44,8 $\pm$ 4,5	82,4 $\pm$ 4,1
3	145,9 $\pm$ 3,4	>150	>150	91,6 $\pm$ 7,4
4	>150	>150	124,1 $\pm$ 4,3	>150
5	>150	>150	>150	78,9 $\pm$ 7,2
6	>150	>150	78,5 $\pm$ 5,2	>150
7	49,1 $\pm$ 4,4	66,4 $\pm$ 4,5	69,4 $\pm$ 6,2	48,9 $\pm$ 4,0
8	>150	>150	>150	>150
DOX	1,0 $\pm$ 0,2	2,5 $\pm$ 0,9	0,3 $\pm$ 0,1	78,4 $\pm$ 7,3



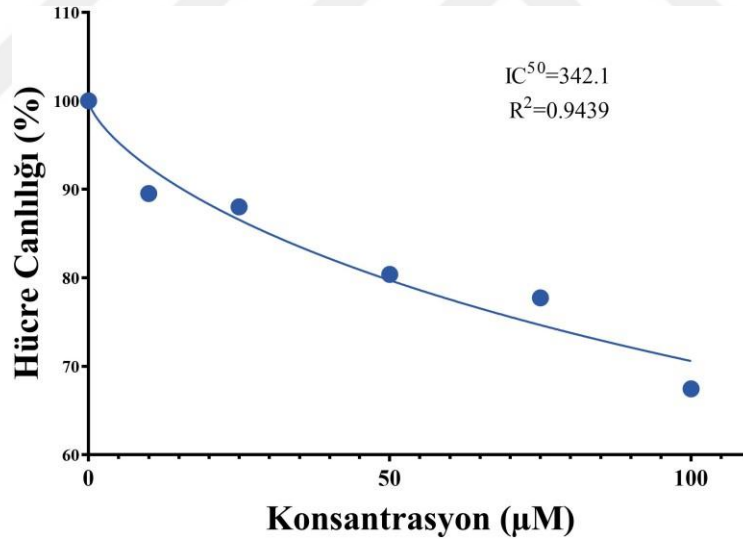
Şekil 4.1. A549 Hücre Hattında 1 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



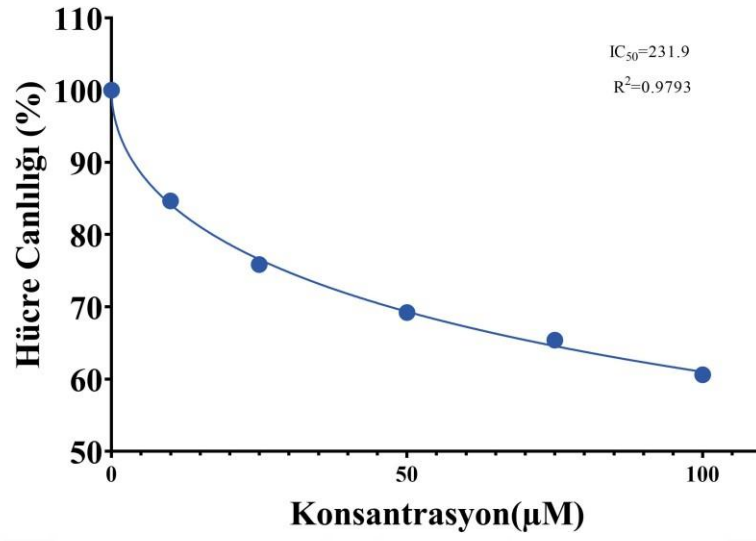
Şekil 4.2. A549 Hücre Hattında 2 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



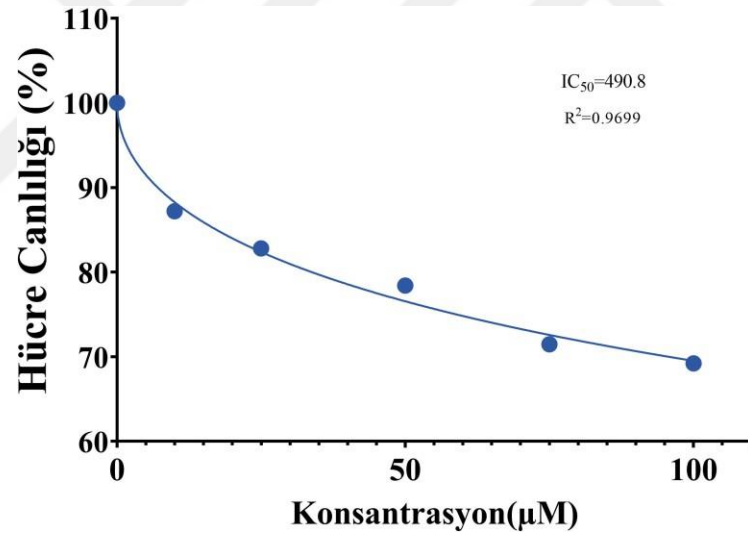
Şekil 4.3. A549 Hücre Hattında 3 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



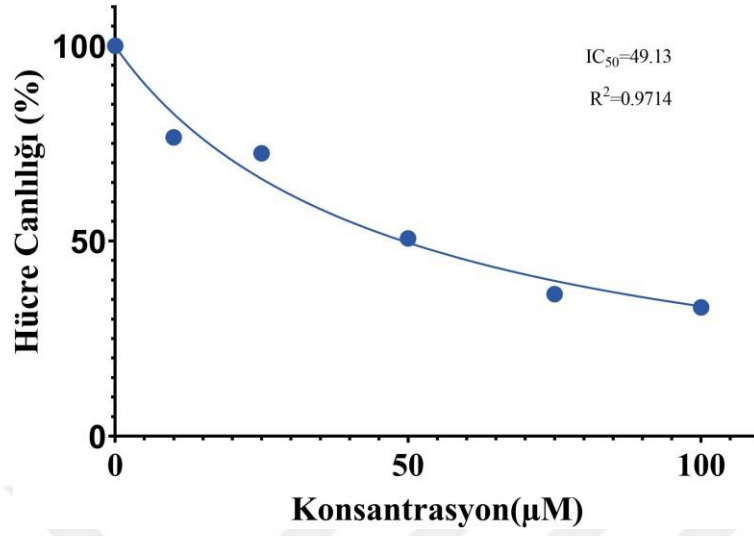
Şekil 4.4. A549 Hücre Hattında 4 Numaralı Bileşiğin 0-100 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



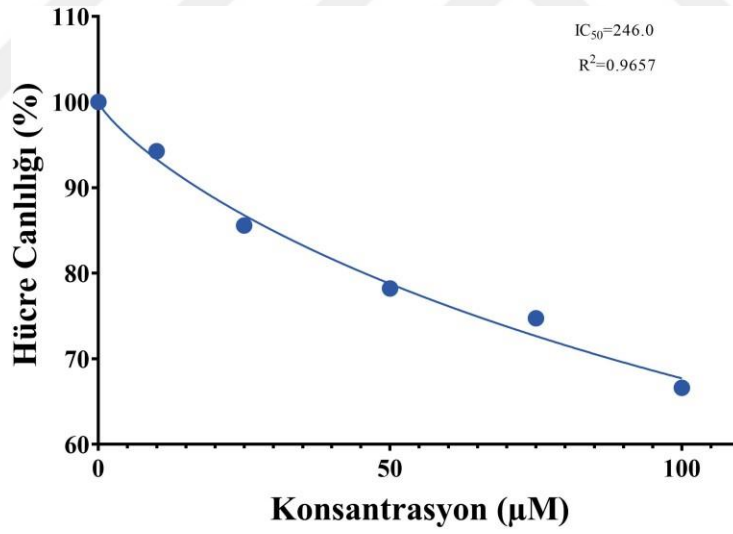
Şekil 4.5. A549 Hücre Hattında 5 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



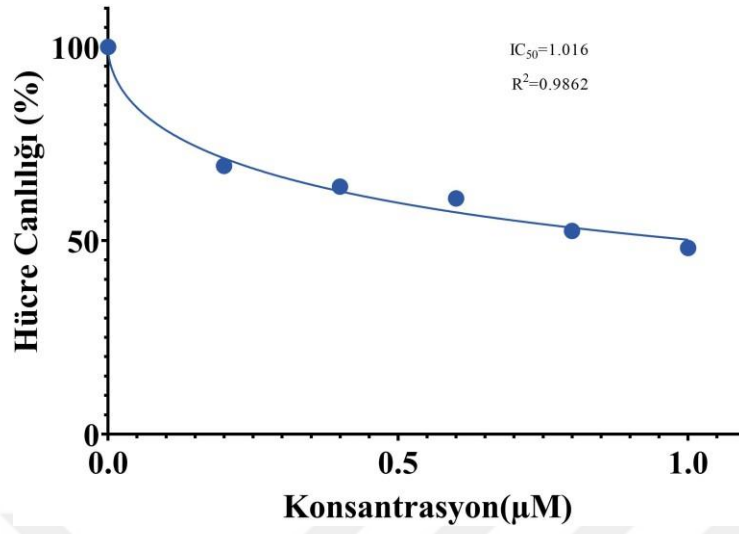
Şekil 4.6. A549 Hücre Hattında 6 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



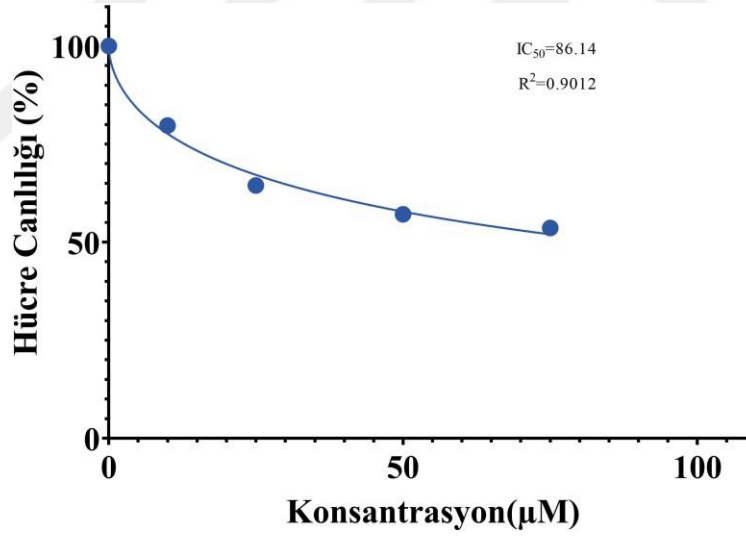
Şekil 4.7. A549 Hücre Hattında 7 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



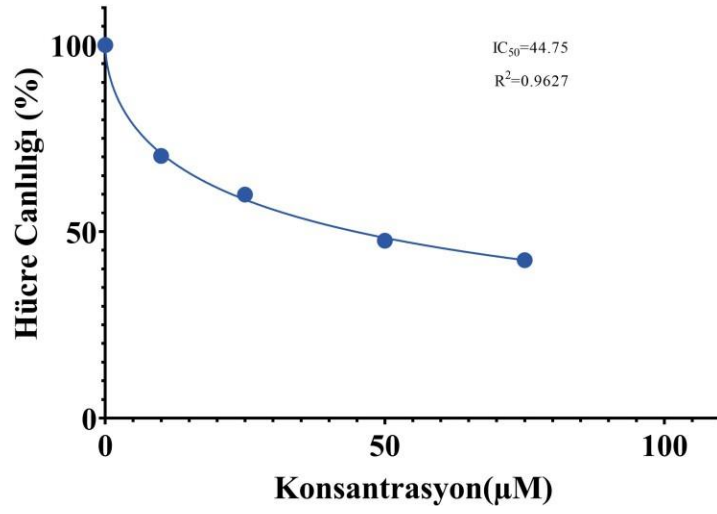
Şekil 4.8. A549 Hücre Hattında 8 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



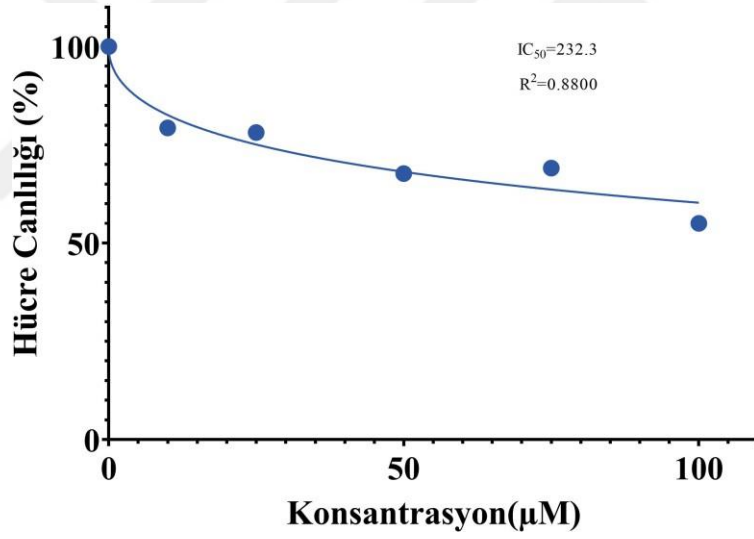
Şekil 4.9. A549 Hücre Hattında Doksorubisinin 0-1 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



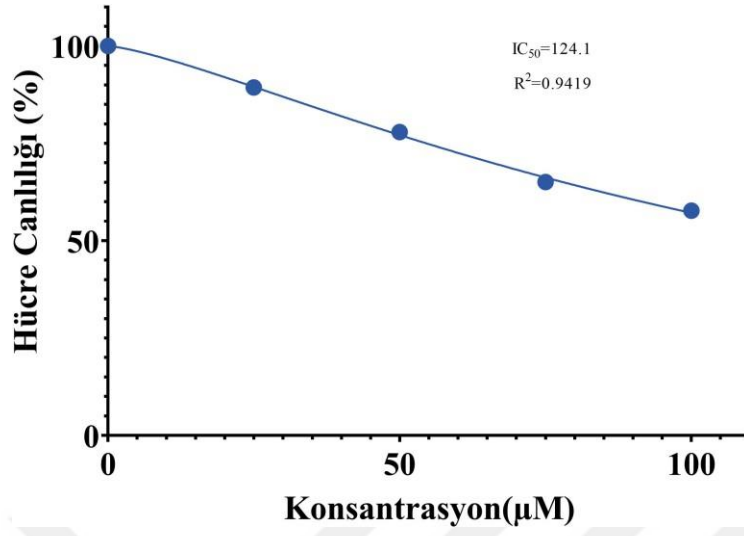
Şekil 4.10. MCF-7 Hücre Hattında 1 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



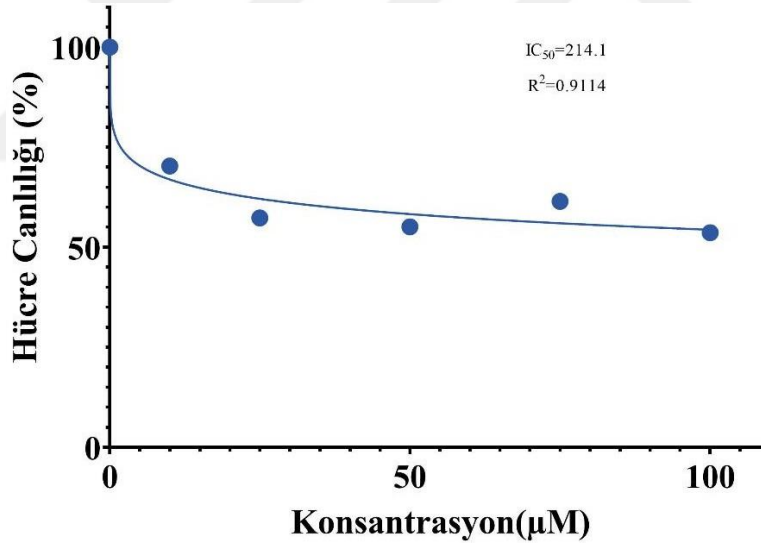
Şekil 4.11. MCF-7 Hücre Hattında 2 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



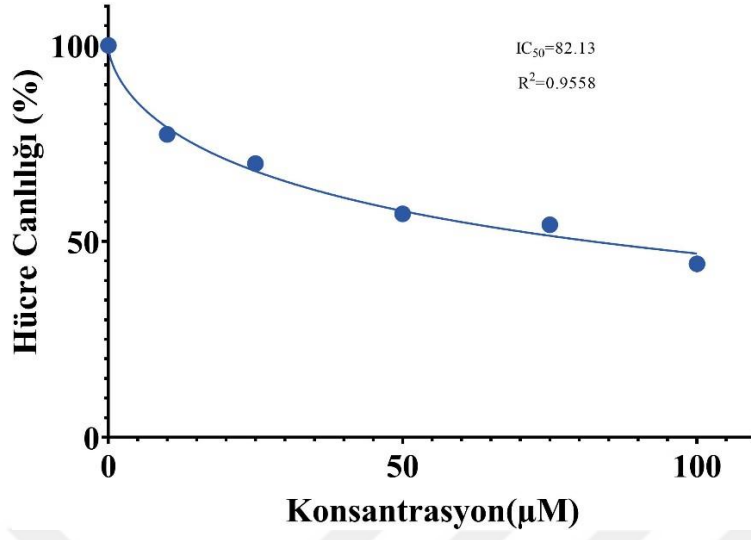
Şekil 4.12. MCF-7 Hücre Hattında 3 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



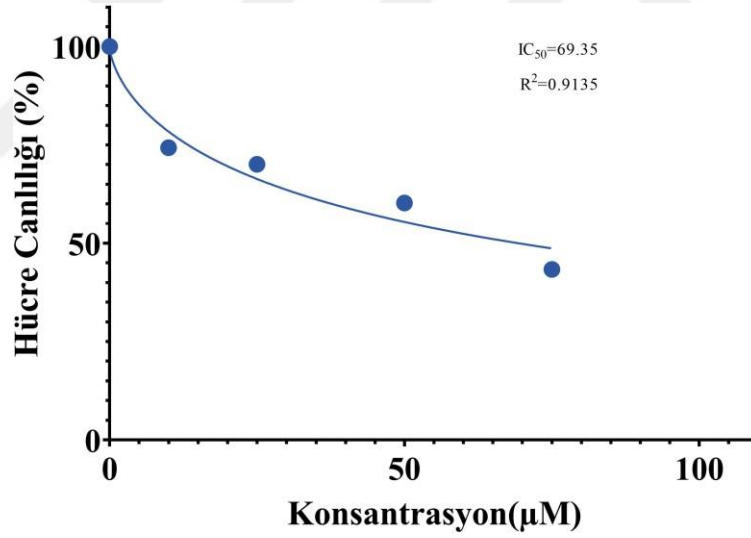
Şekil 4.13. MCF-7 Hücre Hattında 4 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



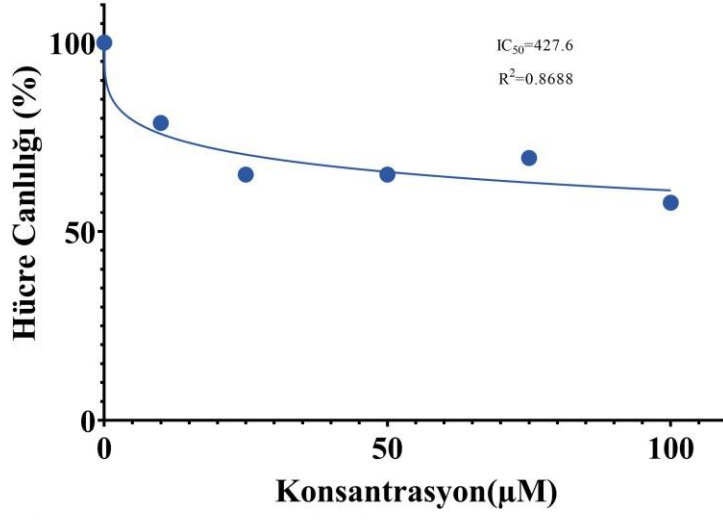
Şekil 4.14. MCF-7 Hücre Hattında 5 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



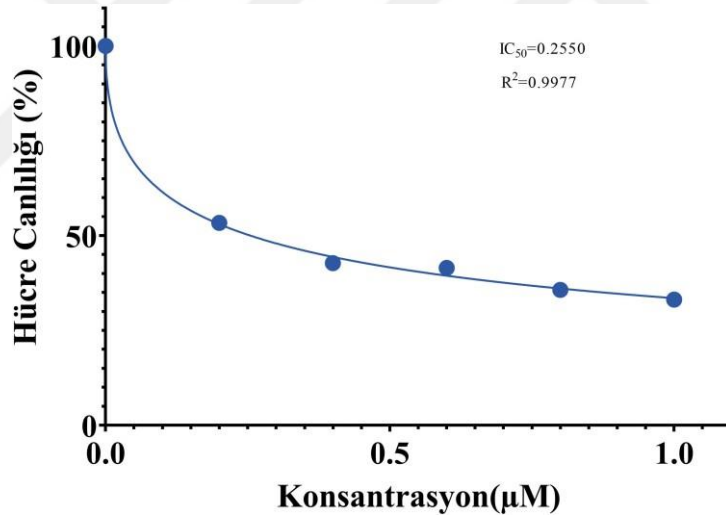
Şekil 4.15. MCF-7 Hücre Hattında 6 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



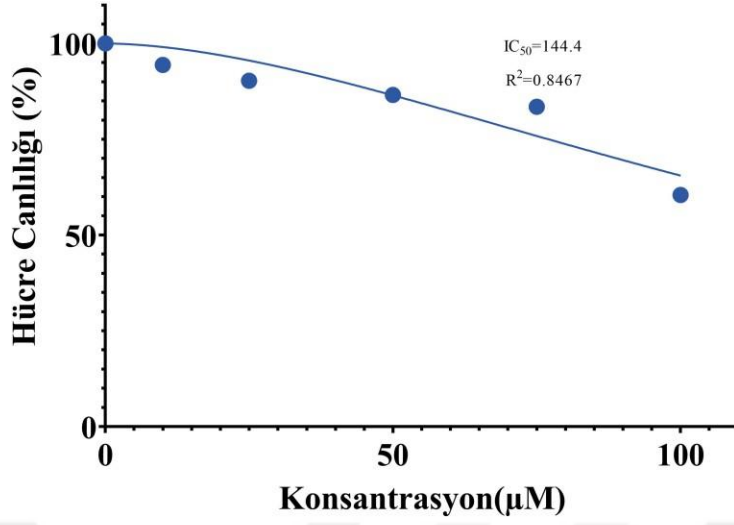
Şekil 4.16. MCF-7 Hücre Hattında 7 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



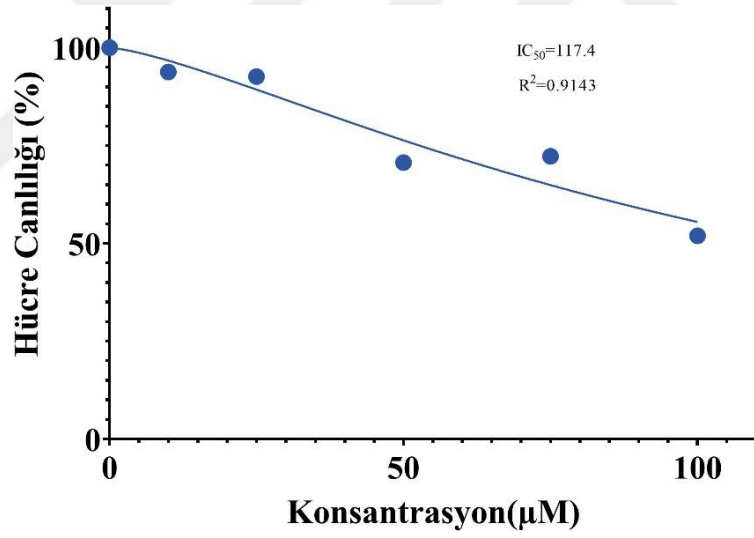
Şekil 4.17. MCF-7 Hücre Hattında 8 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



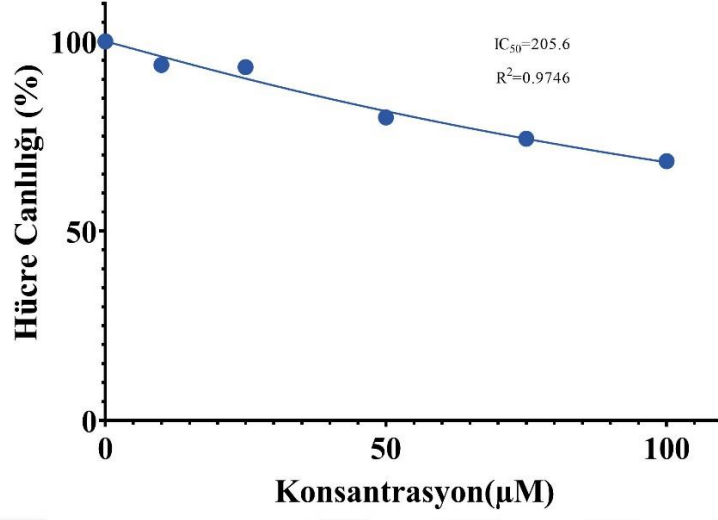
Şekil 4.18. MCF-7 Hücre Hattında Doksorubisinin 0-1 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



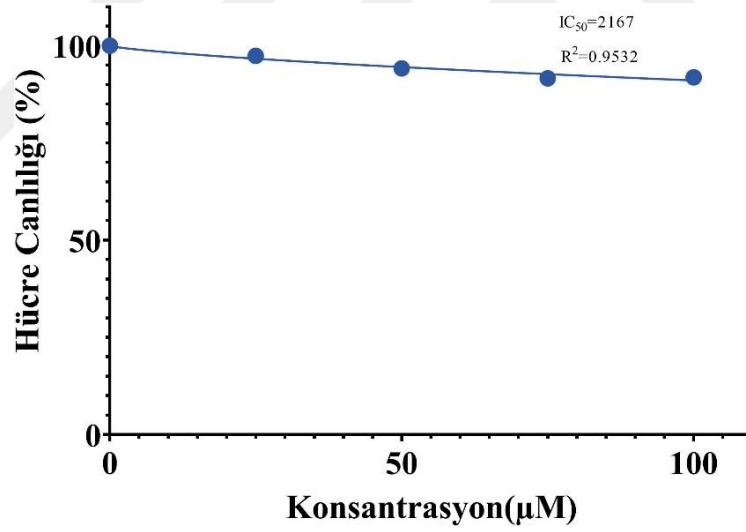
Şekil 4.19. HEPG2 Hücre Hattında 1 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



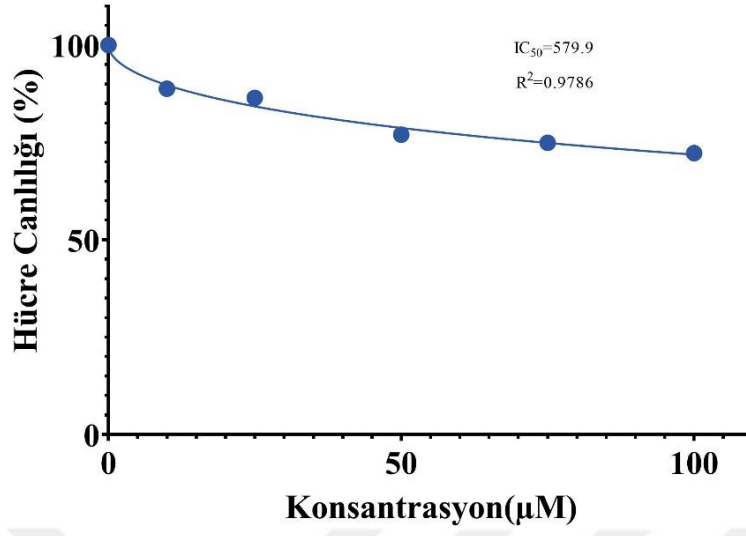
Şekil 4.20. HEPG2 Hücre Hattında 2 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



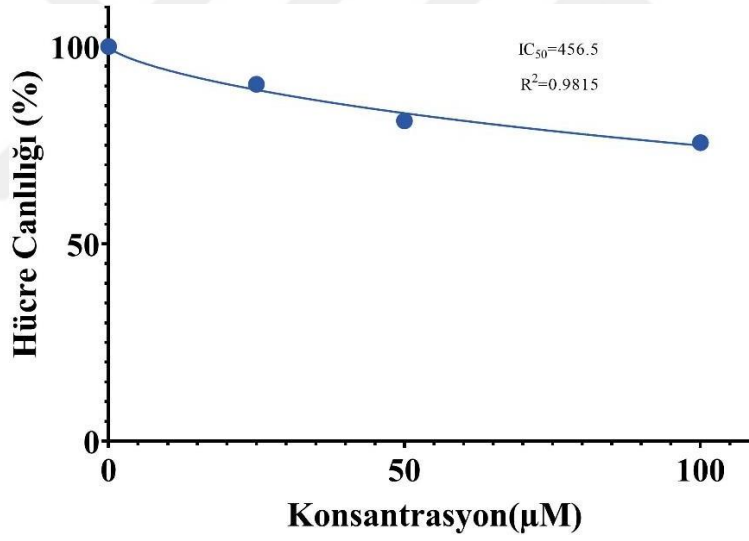
Şekil 4.21. HEPG2 Hücre Hattında 3 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



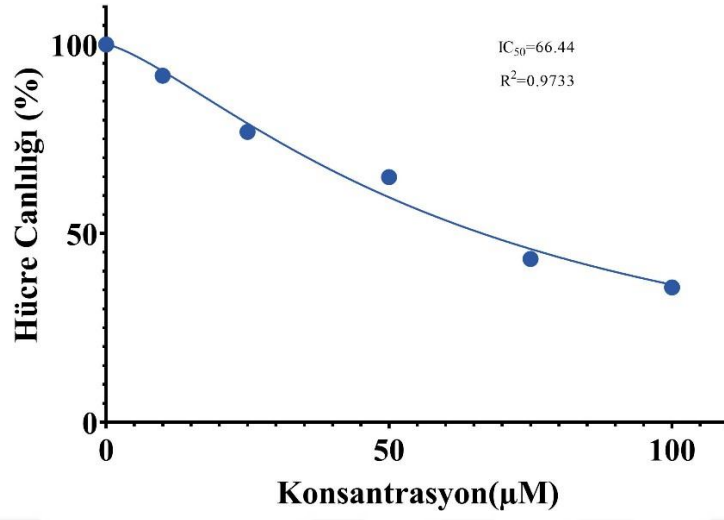
Şekil 4.22. HEPG2 Hücre Hattında 4 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



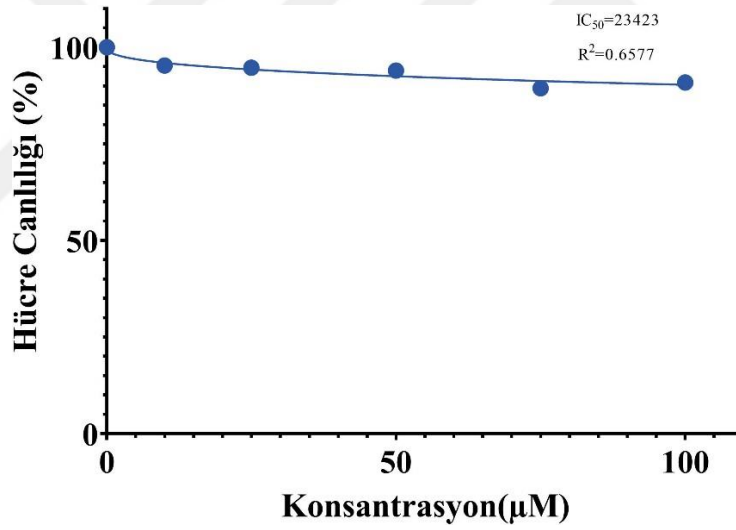
Şekil 4.23. HEPG2 Hücre Hattında 5 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



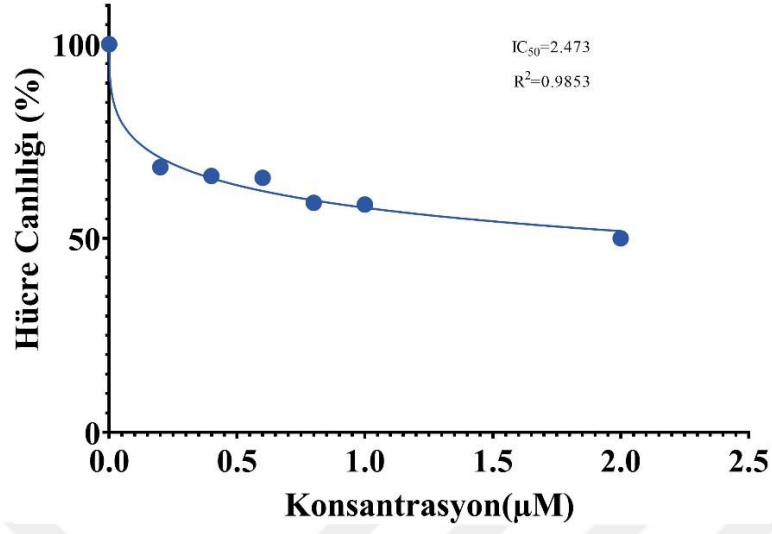
Şekil 4.24. HEPG2 Hücre Hattında 6 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



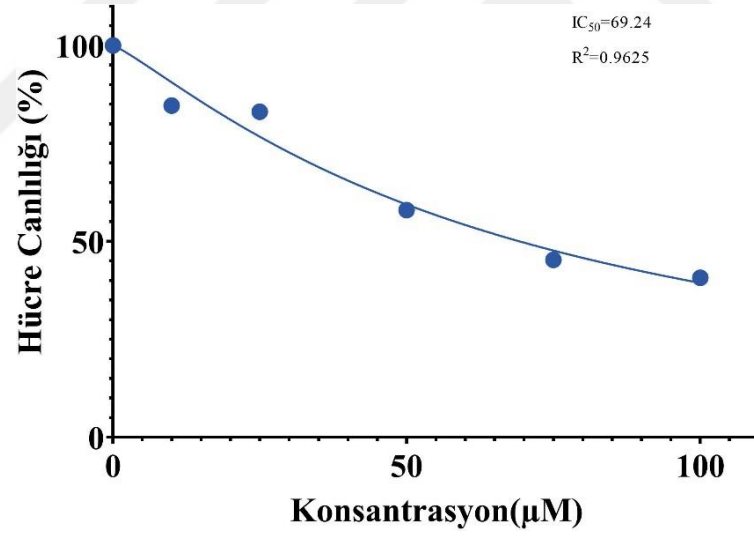
Şekil 4.25. HEPG2 Hücre Hattında 7 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



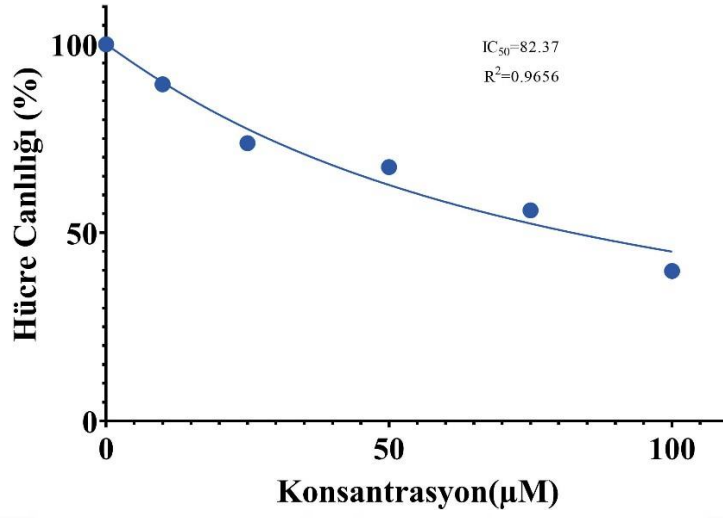
Şekil 4.26. HEPG2 Hücre Hattında 8 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



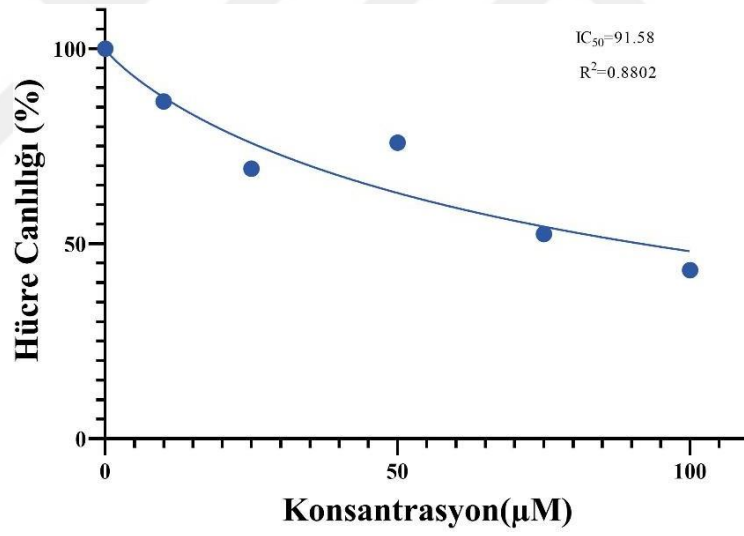
Şekil 4.27. HEPG2 Hücre Hattında Doksorubisinin 0-2.5 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



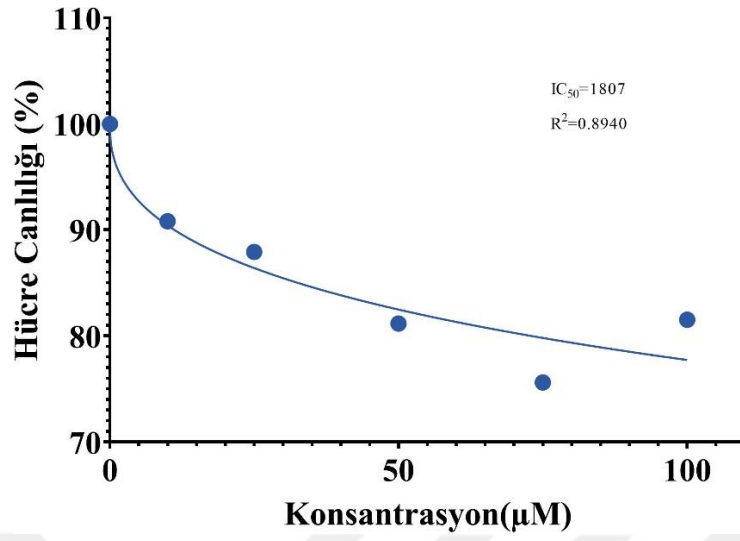
Şekil 4.28. HDFa Hücre Hattında 1 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



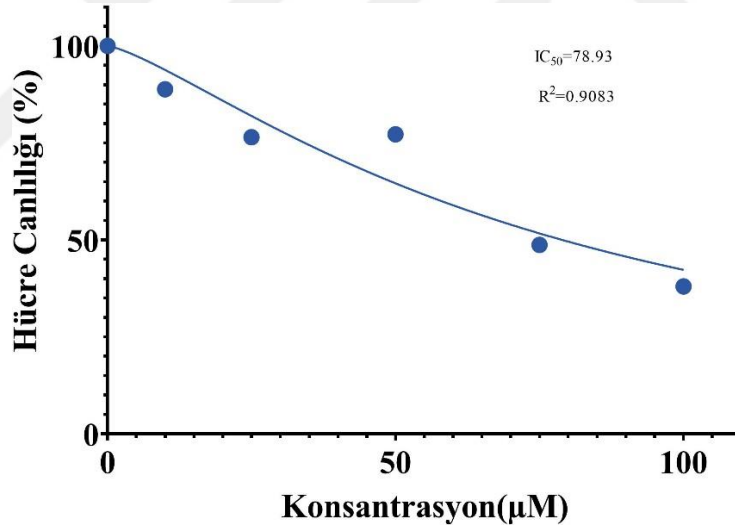
Şekil 4.29. HDFa Hücre Hattında 2 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



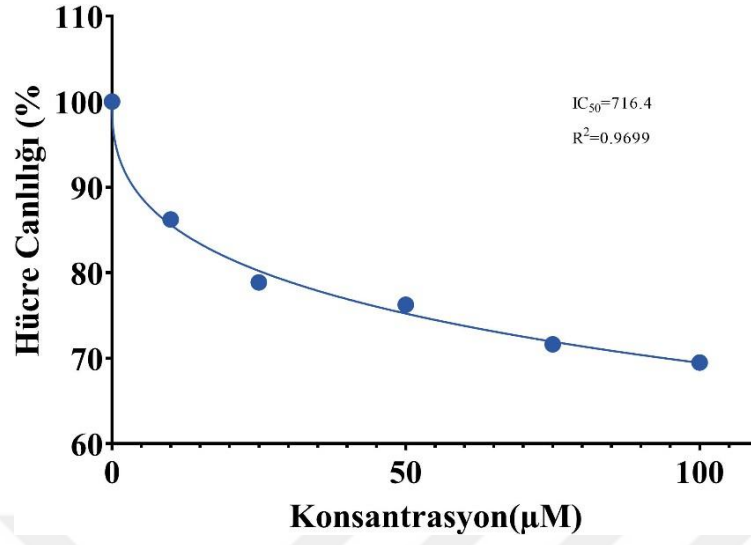
Şekil 4.30. HDFa Hücre Hattında 3 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



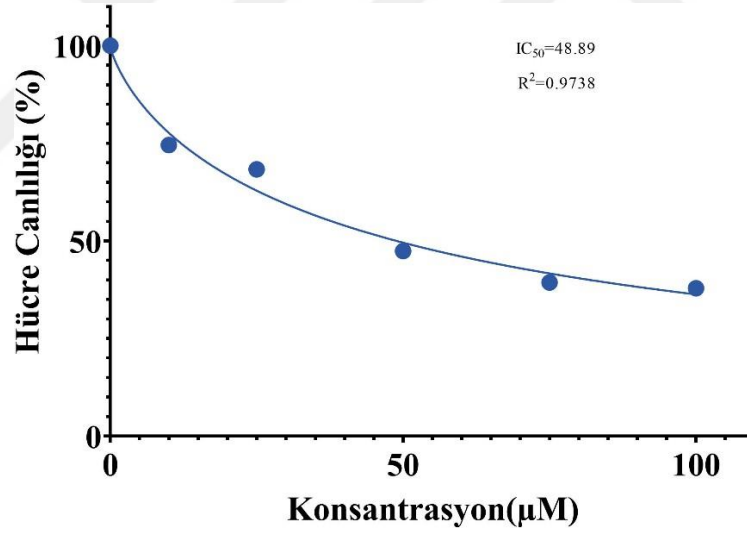
Şekil 4.31. HDFa hücre hattında 4 no'lu bileşiğin 0-100 μM konsantrasyonda canlılığa etkisi



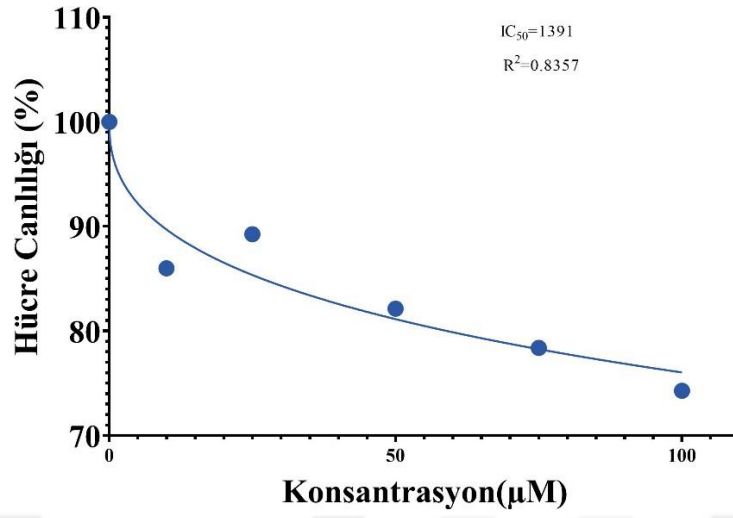
Şekil 4.32. HDFa Hücre Hattında 5 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



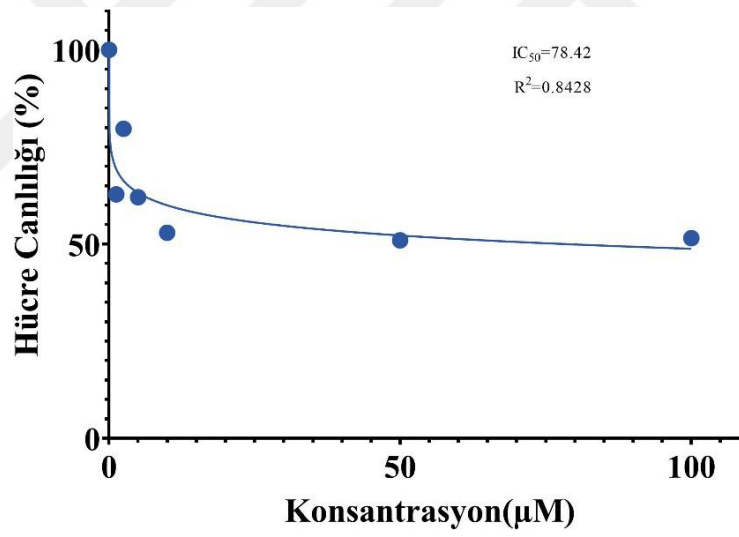
Şekil 4.33. HDFa Hücre Hattında 6 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



Şekil 4.34. HDFa Hücre Hattında 7 Numaralı Bileşiğin 0-100 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



Şekil 4.35. HDFa Hücre Hattında 8 Numaralı Bileşiğin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



Şekil 4.36. HDFa Hücre Hattında Doksorubisinin 0-100 μ M Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi

5. TARTIŞMA

Kalkon bileşikleri diğer tüm flavonoidlerin ve diğer birçok heterosiklik bileşiklerin öncüsüdür. Bu bileşiklerin avantajları, sayısız biyolojik özellikleri, yan etkilerinin az olması, kolayca elde edilebilmeleri ve temel yapılarını modüle ederek çok sayıda biyolojik olarak aktif bileşikler oluşturabilmeleri ile ilgilidir. Bu etkilerden bazıları şunlardır: antibakteriyel, antiülser, antiprotozoal, antihelmintik, böcek öldürücü, amip öldürücü, immünosupresif, sitotoksik ve antikanser aktivite (Herencia ve ark., 1998; Rao ve ark., 2004; Satyanaranaya ve ark., 2004; Buolamwini ve ark., 2005; Constantinescu ve Lungu, 2021; Ouyang ve ark., 2021). Kalkon bileşiklerinin sahip oldukları iki aromatik halka üzerinde farklı pozisyonlarda bulunan farklı süstitüentler (metoksi, amino, nitro, halojen ve hidroksil grupları) sayesinde özellikle antikanser etkide artış olduğu bildirilmiştir. Kalkonlar hücrede farklı yollarda, farklı mekanizmalar ile etki göstererek sitotoksikiteye neden olurlar. Yapılan pek çok çalışmada kalkonların, sadece hücresel bölünme sürecini bloke etmede değil, aynı zamanda farklı hücre ölüm yollarında da etkili bir sitotoksik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Boumendjel ve ark., 2009).

Flor içeren bileşiklerde gözlenen yapı-reaktivite ilişkileri ile birlikte C-F bağı içeren bileşiklerin küçük atom yarıçapı, yüksek elektronegatiflik, $\frac{1}{2}$ 'lik nükleer spin ve flor atomunun düşük polarizasyonu nedeniyle oldukça dikkat çekicidir. Flor atomları içeren bileşiklerin, daha yüksek metabolik stabiliteleri nedeniyle genellikle hedef moleküllere daha kolay bağlandıkları bildirilmektedir (Bégué ve Bonnet-Delpon, 2006; Kirk, 2006; Ojima, 2009). Yine bu moleküllerin yüksek lipofilik özellikleri ve membran penetrasyonlarının kolay olması nedeniyle C-F bağı, C-H ve C-O bağlarına kıyasla biyolojik olarak aktif hale gelmektedir. Bu yapıların en önemlisi sayılabilecek aromatik benzen halkasında flor içeren arenler, özellikle elektrofilik özellikleri nedeniyle nükleofilik saldırılara karşı hidrojen bazlı arenlere göre daha uygundur. Bu nedenle, flor ikameli arenler, nükleofilik aromatik ikame reaksiyonları nedeniyle tıbbi

açından önemli olabilecek bileşiklerin sentezinde yeni yaklaşımlar sunmaktadır (Uneyama, 2007).

Tez kapsamında yeni sentezlenmiş ve antikanser aktivitesi daha önce belirlenmemiş bir seri flor- ve metoksi- sübstitüe kalkon türevi 8 bileşiğin olası antikanser etkileri A549, HEPG2 ve MCF-7 hücreleri üzerinde çalışılmıştır. Bahsi geçen hücre hatları bileşiklerin farklı dozlarına (0-100 μ M) 24 saat maruz bırakılmış ve bu maddelerin MTT yöntemi ile hücre canlılığı üzerine etkileri incelenmiş, IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. Tüm hücre hatlarında etkili olduğu görülen bileşik 7'de dikkat çeken taraf bileşikler içerisinde en fazla flor içeren kalkon olmasıdır. Tez bileşiklerinde flor ve metoksi sübstitüsyonlarının aktivitede farklılıklara neden olduğu görülmüştür. Bu sonuçlardan en çarpıcı olanı bileşiklerde flor yerine metoksi grubunun girmesiyle aktivitede azalma olmasıdır. Ayrıca mono sübstitüent olarak para pozisyonunda flor olan bileşik 2 de sitotoksik aktivitede artış görülürken bileşik 8'de para pozisyonunda flor yerine metoksi bulunması bileşik 8'in, bileşik 7'ye göre aktivitesinde önemli ölçüde azalmaya neden olmuştur.

Ayrıca kalkonlar, yeni antikanser bileşiklerinin tanımlanması için bir başlangıç noktasıdır. Doğal ve sentetik kalkonlar, *in vivo* ve *in vitro* antitümör özelliklere sahiptir ve ilaca dirençli kanserlerde de aktiftir (Constantinescu ve Lungu, 2021). Literatürde kalkon iskeletine sahip birçok bileşiğin antikanser etkileri bildirilmiştir. Burmaoğlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada flor sübstitüe biskalkonların sentezlendiği ve bu bileşiklerin MCF-7 ve Caco-2 hücre hatlarına karşı antikanser aktiviteleri araştırılmıştır. Sentezi gerçekleştirilen 4g bileşiğinin MCF-7 ve Caco-2 hücreleri üzerinde sırasıyla $IC_{50}=1,9 \mu$ M ve $IC_{50}=7,3 \mu$ M değerleriyle iyi antikanser aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Burmaoglu ve ark., 2019).

Antikanser özellikteki kalkon bileşiklerine örnek olarak (E)-1-(4'hidroksifenil)but-1-en-3-on bileşiği verilebilir. Bu bileşiğin MCF-7 hücre hattı üzerinde etkili ve tüberküloza karşı inhibe edici özellikte olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (Lin ve ark., 2002; Rao ve ark., 2004).

Bir başka çalışmada diaril eter grubu içeren bir seri yeni kalkon bileşiğinin antikanser aktivitelerinin değerlendirilmiş ve 5b bileşiğin MCF-7 ($IC_{50}=3.44 \pm 0.19 \mu$ M), HepG2 ($IC_{50}=4.64 \pm 0.23 \mu$ M) ve insan kalın bağırsak kanseri (HCT116) ($IC_{50}=6.31 \pm 0.27$

μM) kanser hücre hatlarına karşı en etkili bileşik olduğu raporlanmıştır (Wang ve ark., 2020).

Nam ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, bir dizi 2',5'-dihidroksikalkon türevi bileşiklerin farklı tümör hücre hatlarına (B16 fare cilt tümörü, A31 insan epitelium tümörü, HCT 116 hücrelerine karşı ve insan göbek dokusuna ait olan endotel hücrelerine (HUVEC) karşı sitotoksik etkilerini incelenmiştir. İncelenen kalkon türevlerinden bazılarının, düşük mikromolar IC_{50} değerleri ile sadece tümör hücrelerine karşı değil, HUVEC hücrelerine karşı da bariz bir sitotoksik seçicilik gösterdiği rapor edilmiştir. Anjiyogenez; var olan damarlardan tomurcuklanma yolu ile yeni damarların oluşması ve gelişmesi, tümör gelişmesinin ön şartıdır ve anjiyogenezin inhibe edilmesi gelişme prosesini ve kanserli hücrelerin çoğalmasını inhibe edecektir. Bu veriler ışığında Nam ve arkadaşları kalkonların potansiyel anjiyogenez inhibitörü olabileceğini düşünmüşlerdir (Nam ve ark., 2003).

6. SONUÇ

Tez kapsamında yeni sentezlenmiş ve antikanser aktivitesi daha önce belirlenmemiş bir seri flor- ve metoksi- sübstitüe kalkon türevi 8 bileşiğin olası antikanser etkileri A549, HEPG2 ve MCF-7 hücreleri üzerinde çalışılmıştır. Tez çalışmasında kontrol gruplarında negatif kontrol grubu olarak herhangi bir uygulama yapılmamış, pozitif kontrol gurubu olarak doksorubisin etken maddesi uygulanmıştır. Bahsi geçen hücre hatları bileşiklerin farklı dozlarına (0-100 μ M) 24 saat maruz bırakılmış ve bu maddelerin MTT yöntemi ile hücre canlılığı üzerine etkileri incelenmiş, IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

- Bileşik 7'nin tüm hücre hatlarında en etkili madde olduğu gözlenmiştir.
- A549 hücre hattında en etkili bileşik olan 7'nin yanı sıra, 1 no'lu bileşiğin de bu hücre hattında sitotoksik aktivite gösterdiği bulgular arasında yer almıştır.
- HEPG2 hücrelerinde 1 ve 2 no'lu bileşiklerin IC₅₀ değerleri sırasıyla 144,4 $\pm$ 5,4 μ M ve 117,4 $\pm$ 5,4 μ M olarak belirlenmiştir. Aynı hücre hattında 7 no'lu bileşik en yüksek sitotoksiteyi göstermiştir (IC₅₀: 66,4 $\pm$ 4,5 μ M).
- 2 no'lu bileşik MCF-7 hücre hattında en etkili bileşik olarak saptanmıştır (IC₅₀: 44,8 $\pm$ 4,5 μ M). Bileşik 7, bileşik 6 ve bileşik 1'in sırasıyla 2 no'lu bileşikten sonra en etkili bulunan maddeler olduğu da çalışmada yer alan bulgular arasındadır.
- 7 no'lu bileşikte dikkat çeken taraf bileşikler içerisinde en fazla flor içeren kalkon türevi olmasıdır.
- Bileşiklerde yapılan sübstitüsyonlar sonrası flor yerine metoksi girmesiyle aktivitede azalma gözlenmiştir.
- Mono sübstitüent olarak para pozisyonunda flor olan bileşik 2 de, sitotoksik aktivitede artış belirlenmiştir.
- Bileşik 8'de para pozisyonunda flor yerine metoksi bulunması bileşik 8'in, bileşik 7'ye göre aktivitesinde önemli ölçüde azalmaya neden olduğu gözlenmiştir.

Bileşiklerin tümü 2,4,6-trimetoksifenil yapısı taşımakta olup, aktivite farklarının ihtiva ettikleri flor sayısına, flor ve metoksi konumuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Elde

edilen verilerin yayınlanması ile literatüre önemli düzeyde katkı sağlanması beklenmektedir.



KAYNAKLAR

- Aktas Kamiloglu, A. (2021). Photochemical properties of fluoro-chalcone substituted peripherally tetra Zn (II) Pc and Mg (II) Pc. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 99(3), 185-196.
- Batt, D. G., Goodman, R., Jones, D. G., Kerr, J. S., Mantegna, L. R., McAllister, C., and Covington, M. B. (1993). 2'-Substituted chalcone derivatives as inhibitors of interleukin-1 biosynthesis. *Journal of medicinal chemistry*, 36(10), 1434-1442.
- Baykara, O. (2016). Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(3), 154-165.
- Bégué, J. P., and Bonnet-Delpon, D. (2006). Recent advances (1995–2005) in fluorinated pharmaceuticals based on natural products. *Journal of Fluorine Chemistry*, 127(8), 992-1012.
- Bilaloğlu, G. V., ve Harmandar, M. (1999). Flavonoidler, Bakanlar Matbaacılık Ltd. Şti., İstanbul, 336.
- Boumendjel, A., Ronot, X., and Boutonnat, J. (2009). Chalcones derivatives acting as cell cycle blockers: potential anti cancer drugs?. *Current cancer drug targets*, 10(4), 363-371.
- Buolamwini, J. K., Addo, J., Kamath, S., Patil, S., Mason, M., and Ores, M. (2005). Small molecule antagonists of the MDM2 oncoprotein as anticancer agents. *Current cancer drug targets*, 5(1), 57-68.
- Burmaoglu, S., Ozcan, S., Balcioglu, S., Gencel, M., Noma, S. A. A., Essiz, S., Ates, B., ve Algul, O. (2019). Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of bis-chalcone derivatives as xanthine oxidase inhibitors and anticancer agents. *Bioorganic chemistry*, 91, 103149. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103149>
- Cabadak H.(2008).Hücre siklusu ve kanser. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(3),51-61.
- Constantinescu, T., and Lungu, C. N. (2021). Anticancer activity of natural and synthetic chalcones. *International journal of molecular sciences*, 22(21), 11306.
- Constantinescu, T., and Lungu, C. N. (2021). Anticancer Activity of Natural and Synthetic Chalcones. *International journal of molecular sciences*, 22(21), 11306. <https://doi.org/10.3390/ijms222111306>
- Constantinescu, T., and Mihis, A. G. (2022). Two Important Anticancer Mechanisms of Natural and Synthetic Chalcones. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11595.

- Deng, J., Sanchez, T., Al-Mawsawi, L. Q., Dayam, R., Yunes, R. A., Garofalo, A., and Neamati, N. (2007). Discovery of structurally diverse HIV-1 integrase inhibitors based on a chalcone pharmacophore. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(14), 4985-5002.
- Dolbier Jr, W. R. (2005). Fluorine chemistry at the millennium. *Journal of Fluorine Chemistry*, 126(2), 157-163.
- El-Sherief, H. A., Youssif, B. G., Bukhari, S. N. A., Abdelazeem, A. H., Abdel-Aziz, M., and Abdel-Rahman, H. M. (2018). Synthesis, anticancer activity and molecular modeling studies of 1, 2, 4-triazole derivatives as EGFR inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*, 156, 774-789.
- Fayed, T. A., and Awad, M. K. (2004). Dual emission of chalcone-analogue dyes emitting in the red region. *Chemical Physics*, 303(3), 317-326.
- Gültekin, M., ve Boztaş, G. (2014). Türkiye kanser istatistikleri. *Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu*, 43, 12-32.
- Herencia, F., Ferrandiz, M. L., Ubeda, A., Domínguez, J., Charris, J. E., Lobo, G. M., and Alcaraz, M. J. (1998). Synthesis and anti-inflammatory activity of chalcone derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 8(10), 1169-1174.
- Hertog, M. L., and Hollman, P. H. (1996). Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. *European Journal of Clinical Nutrition*, 50(2), 63-71.
- Hu, Z., Liu, J., Dong, Z., Guo, L., Wang, D., and Zeng, P. (2004). Synthesis of chalcones catalysed by SOCl₂/EtOH. *Journal of Chemical Research*, 2004(2), 158-159.
- Huang, H., Ding, Y., Sun, X. S., and Nguyen, T. A. (2013). Peptide hydrogelation and cell encapsulation for 3D culture of MCF-7 breast cancer cells. *PloS one*, 8(3), e59482.
- Jadhav, R. L., Magdum, C. S., and Patil, M. V. Sequential Cytotoxicity: A Theory Examined Using 2, 6 diphenyl Piperidine-4-one scaffold. *Asian Journal of Chemistry*, 24 (7), 3263, 2012.
- Jiang, R. D., Shen, H., and Piao, Y. J. (2010). The morphometrical analysis on the ultrastructure of A549 cells. *Rom. J. Morphol. Embryol*, 51(4), 663-667.
- Kamiloglu, A. A., Karaca, H., Celik, G., Acar, I., ve Kantekin, H. (2020). New chalcone-substituted metallophthalocyanines: Synthesis, characterization, and investigation of their properties. *Journal of Chemical Research*, 44(7-8), 367-375.
- Kirk, K. L. (2006). Fluorine in medicinal chemistry: Recent therapeutic applications of fluorinated small molecules. *Journal of Fluorine Chemistry*, 127(8), 1013-1029.
- Kucerova-Chlupacova, M., Dosedel, M., Kunes, J., Soltesova-Prnova, M., Majekova, M., and Stefek, M. (2018). Chalcones and their pyrazine analogs: synthesis, inhibition of aldose reductase, antioxidant activity, and molecular docking study. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 149(5), 921-929.

- Lin, Y. M., Zhou, Y., Flavin, M. T., Zhou, L. M., Nie, W., and Chen, F. C. (2002). Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 10(8), 2795-2802.
- Mete, B., Söyler, V., ve Pehlivan, E. (2019). Bingölde Yaşayan Yaşlılarda Kanser İnsidansı ve Sağkalım Analizi. In 3. International 21. National Public Health Congress.
- Nam, N. H., Kim, Y., You, Y. J., Hong, D. H., Kim, H. M., and Ahn, B. Z. (2003). Cytotoxic 2', 5'-dihydroxychalcones with unexpected antiangiogenic activity. *European journal of medicinal chemistry*, 38(2), 179-187.
- Nowakowska, Z. (2007). A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *European journal of medicinal chemistry*, 42(2), 125-137.
- Ojima, I. (2009). Fluorine in Medicinal Chemistry and Chemical Biology. *Fluorine in Medicinal Chemistry and Chemical Biology*, 1-624.
- Ouyang, Y., Li, J., Chen, X., Fu, X., Sun, S., and Wu, Q. (2021). Chalcone derivatives: Role in anticancer therapy. *Biomolecules*, 11(6), 894.
- Pengelly, A., and Bone, K. (2020). *The constituents of medicinal plants: an introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine*, UK, Routledge.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.
- Powers, D. G., Casebier, D. S., Fokas, D., Ryan, W. J., Troth, J. R., and Coffen, D. L. (1998). Automated parallel synthesis of chalcone-based screening libraries. *Tetrahedron letters*, 54(16), 4085-4096.
- Rao, Y. K., Fang, S. H., and Tzeng, Y. M. (2004). Differential effects of synthesized 2'-oxygenated chalcone derivatives: modulation of human cell cycle phase distribution. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 12(10), 2679-2686.
- Satyanarayana, M., Tiwari, P., Tripathi, B. K., Srivastava, A. K., and Pratap, R. (2004). Synthesis and antihyperglycemic activity of chalcone based aryloxypropanolamines. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 12(5), 883-889.
- Sebti, S., Solhy, A., Tahir, R., Boulaajaj, S., Mayoral, J. A., Fraile, J. M., and Oumimoun, H. (2001). Calcined sodium nitrate/natural phosphate: an extremely active catalyst for the easy synthesis of chalcones in heterogeneous media. *Tetrahedron Letters*, 42(45), 7953-7955.
- Shah, P., and Westwell, A. D. (2007). The role of fluorine in medicinal chemistry. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 22(5), 527-540.
- Stepanić, V., Matijašić, M., Horvat, T., Verbanac, D., Kučerová-Chlupáčová, M., Saso, L., and Žarković, N. (2019). Antioxidant activities of alkyl substituted pyrazine derivatives of chalcones—in vitro and in silico study. *Antioxidants*, 8(4), 90.
- Suzuki R, Matsuno S, Sakagami H, Okada Y, Shirataki Y. Search of new cytotoxic crude materials against human oral squamous cell carcinoma using ¹H NMRbased metabolomics. *Anticancer Res*, 2014, 34: 4117-4120.

- Uneyama, K. (2007). Fundamentals in Organic Fluorine Chemistry. *Organofluorine Chemistry*, 1-100.
- Wang, G., Liu, W., Gong, Z., Huang, Y., Li, Y., and Peng, Z. (2020). Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of new chalcone derivatives containing diaryl ether moiety as potential anticancer agents and tubulin polymerization inhibitors. *Bioorganic chemistry*, 95, 103565.
- Welsh, J. (2013). Animal Models for the Study of Human Disease: Chapter 40. *Animal Models for Studying Prevention and Treatment of Breast Cancer*. Elsevier Inc. Chapters.
- Williams, G. M. (1992). DNA reactive and epigenetic carcinogens. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 44(8), 457-463.
- Williams, G. M. (2001). Mechanisms of chemical carcinogenesis and application to human cancer risk assessment. *Toxicology*, 166(1-2), 3-10.
- Wollgast, J., and Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423-447.
- Yadav, J. S., Anuradha, K., Reddy, B. S., and Eeshwaraiah, B. (2003). Microwave-accelerated conjugate addition of aldehydes to α , β -unsaturated ketones. *Tetrahedron letters*, 44(50), 8959-8962.
- Yang, L., Shi, P., Zhao, G., Xu, J., Peng, W., Zhang, J., and Cui, H. (2020). Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy. *Signal transduction and targeted therapy*, 5(1), 1-35.
- Yarishkin, O. V., Ryu, H. W., Park, J. Y., Yang, M. S., Hong, S. G., and Park, K. H. (2008). Sulfonate chalcone as new class voltage-dependent K⁺ channel blocker. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 18(1), 137-140.
- Yokus, B., Akdag, M. Z., Dasdag, S., caki' r, D. L. U., and Ki' Zi' l, M. (2008). Extremely low frequency magnetic fields cause oxidative DNA damage in rats. *International journal of radiation biology*, 84(10), 789-795.
- Zahouily, M., Abrouki, Y., Bahlaouan, B., Rayadh, A., and Sebti, S. (2003). Hydroxyapatite: new efficient catalyst for the Michael addition. *Catalysis Communications*, 4(10), 521-524.

