T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOAKTİF İLAÇ ADAYI YENİ MOLEKÜL SENTEZLERİ

Öznur EYİLCİM

DOKTORA TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Organik Kimya Programı

Danışman

Doç. Dr. Ömer Tahir GÜNKARA

Ocak, 2024

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOAKTİF İLAÇ ADAYI YENİ MOLEKÜL SENTEZLERİ

Öznur EYİLCİM tarafından hazırlanan tez çalışması 04.01.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Organik Kimya Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ömer Tahir GÜNKARA
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Ömer Tahir GÜNKARA, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Feray AYDOĞAN, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi İrem KULU, Üye
Gebze Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Zühal TURGUT, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Turan ÖZTÜRK, Üye
İstanbul Teknik Üniversitesi _____

Danışmanım Doç. Dr. Ömer Tahir GÜNKARA sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "Biyoaktif İlaç Adayı Yeni Molekül Sentezleri" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Öznur EYİLCİM

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'nün FBA-2022-4683 numaralı projesi ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun 117Z307 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Aileme

ve

Nüket hocam'a

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans çalışmamda danışmanlığımı yapan, doktora eğitimime başlamamda beni destekleyen, değerli bilgileriyle aydınlandığım, desteğini her zaman hissettiğim, kendisiyle geçirdiğimiz her anın bana çok şey kattığına inandığım, çalışma disiplini, azmi, kendisini bilime adamışlığı ile her zaman örnek aldığım ve yerinin doldurulamayacağına inandığım çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nüket Öcal'ı minnetle anıyor, sonsuz şükran ve sevgilerimi sunuyorum.

Lisansüstü eğitimim boyunca benden desteğini esirgemeyen, çalışmaktan çok keyif aldığım, çalışmalarım boyunca benimle yakından sabırla ve titizce ilgilenen, doktora tez çalışmamın hazırlanmasında tecrübe ve bilgi birikimi ile bana yol gösteren sevgili hocam Doç. Dr. Ömer Tahir Günkara'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında değerli bilgi ve görüşlerini benimle paylaşan, yardım ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli sayın hocalarım Prof. Dr. Zuhal Turgut, Prof. Dr. Feray Aydoğan ve Prof. Dr. Çiğdem Yolaçan'a teşekkürlerimi sunarım.

Gösterdikleri özveri, anlayış ve destekle bana her zaman yanımda olduklarını hissettiren sevgili annem Fadime Eyilcim'e, babam Memed Eyilcim'e, ablalarım Özlem Tomruk ve Özgen Sabuncuoğlu'na, yeğenlerim Defne Tomruk, Miray Sabuncuoğlu, Yiğit Efe Tomruk ve Deniz Sabuncuoğlu'na, sevgili eniştelerime, aileme ve ayrıca emeği geçen, çalışmalarımın her aşamasında yanımda olan tüm arkadaşlarım ve hocalarıma sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Hem laboratuvar hem de yaşamımda büyük yeri olan, desteğini her zaman hissettiğim arkadaşım Sevcan Balta'ya, laboratuvar çalışmalarımda bana her zaman destek olan, dostluğunu her daim hissettiğim değerli arkadaşım Sevinç Gülyüz'e, doktora tez çalışmamın ilk aşamalarında yanımda olan ve sonraki süreçlerde desteği ile hep yanımda olan arkadaşım Elif Başak Ersoy'a ve üyesi olmaktan büyük zevk aldığım Günkara Research Group üyesi tüm arkadaşlarıma ve öğrencilerime teşekkür ederim.

Biyolojik aktivite çalışmaları ile teze katkıda bulunan Dr. Öğr. Üyesi Yuk Yin Ng ve Dr. Fulya Günay'a, moleküler kenetleme çalışmaları ile teze katkıda bulunan Dr. Öğr. Üyesi Özlem Ulucan Açan'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam boyunca bana maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Araştırma Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK Proje no: 117Z307) ve Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'ne (GAP Proje no: FBA-2022-4683) teşekkür ederim.

Öznur EYİLCİM

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR **v**
KISALTMA LİSTESİ **ix**
ŞEKİL LİSTESİ **x**
TABLO LİSTESİ **xix**
ÖZET **xx**
ABSTRACT **xxii**
1 GİRİŞ **1**
1.1 Literatür Özeti……1
1.2 Tezin Amacı…….. 5
1.3 Hipotez…….. 6
2 HETEROHALKALI BİLEŞİKLER **7**
2.1 Giriş……... 7
2.2 İndol……...8
2.3 Maleimid ve Kimyası…….. 14
3 GLİKOJEN SENTAZ KİNAZ-3 (GSK-3) **30**
3.1 Glikojen Sentaz Kinaz-3 Enzimi……. 30
3.2 Glikojen Sentaz Kinaz-3 İnhibitörleri ile İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar…….... 33
3.3 Maleimid Türevi Glikojen Sentaz Kinaz-3 İnhibitörleri……. 36
4 AZA-OKSİALLİL KATYONLAR **40**
4.1 Giriş……. 40
4.2 Aza-oksiallil Katyonların 1,3-Dipolar Olarak Siklokatılma Reaksiyonları…….41
4.3 Aza-oksiallil Katyonların 1,4-Dipolar Olarak Siklokatılma Reaksiyonları…….73
5 DENEYSEL ÇALIŞMALAR VE BULGULAR **75**
5.1 GSK-3β İnhibitörü ile İlgili Yapılan Deneysel Çalışmalar…….75
5.2 Aza-oksiallil Katyonlar ile İlgili Yapılan Deneysel Çalışmalar…… 173
6 MOLEKÜLER KENETLEME ÇALIŞMALARI **227**
6.1 Giriş……... 227
6.2 GSK-3β İnhibitörü ile İlgili Moleküler Kenetleme Çalışmaları……228
6.3 Aza-oksiallil Katyonlarla ile İlgili Moleküler Kenetleme Çalışmaları……. 230
7 MTT ÇALIŞMALARI **242**
7.1 MTT Analiz Yöntemi…… 242
7.2 MTT Tahlil Yönteminin Maleimid Türevlerine Uygulanması……. 243

7.3 MTT Tahlil Yönteminin 1,2,3,4-Tetrazin Türevleri Uygulanması…….... 248
8 SONUÇ **254**
KAYNAKÇA **280**
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **310**

KISALTMA LİSTESİ

IC_{50}	%50 İnhibisyon Konsantrasyonu
HFIP	1,1,1,3,3,3-Hekzafloroizopropanol
MTT	3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
APT	Attached proton test
DHFR	Dihidrofolat redüktaz
DCM	Diklorometan
DMF	Dimetilformamid
DMSO	Dimetilsülfoksit
FTIR	Fourier Transformu Kırmızı Ötesi Spektroskopisi
GSK-3β	Glikojen Sentaz Kinaz-3 Beta
HCl	Hidroklorik asit
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
MS	Kütle Spektroskopisi
LC	Likit kromatografisi
MeOH	Metil alkol
NMR	Nükleer Magnetik Rezonans
t-BuOK	Potasyum tersiyerbütoksit
Q-TOF	Quadrupole Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi
NaH	Sodyum hidrür
THF	Tetrahidrofuran
TEA	Trietilamin
HRMS	Yüksek Ayrımlı Kütle Spektroskopisi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1 Biyolojik aktif bazı heterohalkalı ilaç türevleri 1
Şekil 1.2 İndol halkası içeren önemli farmasötik bileşikler 2
Şekil 1.3 Maleimid yapılı doğal bileşikler 3
Şekil 1.4 GSK-3β inhibitor özelliğine sahip bazı bileşik yapıları 4
Şekil 2.1 İlaçlarda bulunan azot heterohalkalı yapılar 7
Şekil 2.2 İndol, benzen ve pirol yapıları 8
Şekil 2.3 İndolün rezonans yapısı 8
Şekil 2.4 (a) İndolün reaktif bölgeleri ve (b) indolün biyoaktif özellikleri 9
Şekil 2.5 Triptofan, seratonin ve melatonin 10
Şekil 2.6 Doğal indol türevleri 11
Şekil 2.7 İndol-3-karbinol bileşiği 11
Şekil 2.8 İndol türevi biyolojik bileşikler 12
Şekil 2.9 Biyolojik aktif indol türevleri 13
Şekil 2.10 İndol içeren ilaç örnekleri 14
Şekil 2.11 İmid yapısı 14
Şekil 2.12 Maleimid yapısı 15
Şekil 2.13 Maleimidin mezomerik yapısı 15
Şekil 2.14 Maleimidlerin hazırlanması için klasik yöntemler 16
Şekil 2.15 Temel maleimidlerin sentezi 17
Şekil 2.16 Faul yöntemi ile maleimid sentezi 17
Şekil 2.17 3-Aril-4-(indol-3-il)-maleimid türevleri sentezi 18
Şekil 2.18 Kombretastatin A-4 (**38**) analogları 3,4-diarilmaleimidler (**39-41**) 19
Şekil 2.19 3,4-Disubstitue maleimide türevleri sentezi 19
Şekil 2.20 Baylis-Hilmann yöntemi ile maleimid sentezi 20
Şekil 2.21 Alkinlerden Paladyum katalizörlüğünde maleimid sentezi 20
Şekil 2.22 Desülfitatif arilasyon ile maleimid sentezi 21
Şekil 2.23 Maleimidlerin *N*-nükleofillerle reaksiyonu 21
Şekil 2.24 Maleimidlerin çapraz bağlama reaksiyonu 22
Şekil 2.25 Camforataimid (**62**) bileşiğinin Stille reaksiyonu ile sentezi 22
Şekil 2.26 Paladyum katalizörlü Heck reaksiyonu ile maleimid sentezi 23
Şekil 2.27 *N*-Substitue maleimidlerin aldehitlerle kondenzasyon reaksiyonu 23
Şekil 2.28 Maleimidin Diels-Alder reaksiyonu 24

Şekil 2.29 Maleimidlerin 1,3-siklokatılma reaksiyonu 25

Şekil 2.30 Organokatalizörlü ortamda maleimid bileşiklerinin α,α-disubstitue aldehit bileşikleri ile enantiyoselektif reaksiyonu 25

Şekil 2.31 Farinomalein yapısı 26

Şekil 2.32 Showdomycinin, psödouridin ve üridin yapılarına benzerliği 26

Şekil 2.33 Biyolojik aktif maleimid türevleri 27

Şekil 2.34 Topoizomeraz I inhibitörü rebeccamycin yapısı 27

Şekil 2.35 Bazı biyoaktif maleimid türevleri..... 28

Şekil 2.36 Antifungal aktivite gösteren maleimid türevleri 29

Şekil 3.1 GSK-3 yapısı 30

Şekil 3.2 Memeli GSK-3 izoformları α ve β 'nın şematik gösterimi 31

Şekil 3.3 GSK-3β'nın (*Homo sapiens*) fonksiyonel alanları ve üçüncül yapıları..... 31

Şekil 3.4 Preklinik ve klinik çalışmalarda değerlendirilen GSK-3 inhibitörleri 35

Şekil 3.6 Maleimid türevi GSK-3 inhibitörleri..... 38

Şekil 3.7 PET'de değerlendirilen maleimid türevi GSK-3 inhibitörleri..... 39

Şekil 4.1 Aza-oksiallil katyon 40

Şekil 4.2 [3+4]-Siklokatılma reaksiyonu mekanizması..... 41

Şekil 4.3 C-3 Substitue antranil ile [3+4]-siklokatılması 42

Şekil 4.4 1,4-Amfoterik reaktifler ile [3+4] siklokatılma reaksiyonu 43

Şekil 4.5 Aza-o-kinon metidler ile [3+4] siklokatılma reaksiyonu 43

Şekil 4.6 1-Azabutadienlerin aza-oksiallil katyonlarla [3+4]-siklokatılma..... 43

Şekil 4.7 1-Azabutadienlerin aza-oksiallil katyonlarla [3+4]-siklokatılma..... 44

Şekil 4.8 2-Aminofenil-α,β-doymamış karbonillerle [3+4] siklokatılma..... 45

Şekil 4.9 Aza-oksiallil izotoik anhidritlerle [3+4]-siklokatılması 45

Şekil 4.10 Orto-hidroksifenil-substitue para-kinon metitler (p-QMS) ile aza-oksialil katyonunun [3+4]-siklokatılma reaksiyonu ve uygulaması..... 46

Şekil 4.11 Benzodiazepinonlar ile [3+4]-siklokatılma reaksiyonu 47

Şekil 4.12 4-Aminosiklopentenonlar ile [3+3]-siklokatılma reaksiyonu 47

Şekil 4.13 Azidlerle aza-oksiallil katyonların [3+3]-siklokatılma reaksiyonu..... 48

Şekil 4.14 Nitron ve nitril oksitlerle aza-oksiallil katyonların [3+3]-siklokatılma reaksiyonları..... 49

Şekil 4.15 C,N-Siklik azometin iminlerle [3+3]-siklokatılma reaksiyonu..... 49

Şekil 4.16 Aza-oksiallil katyonların 1,4-ditiyan-2,5-diollerle [3+3]-siklokatılma reaksiyonu..... 50

Şekil 4.17 1,3-Amfoterik reaktiflerle [3+3]-siklokatılma 51

Şekil 4.18 (1,3)-Amfoterik reaktiflerle katalitik [3+3]-siklokatılma..... 51

Şekil 4.19 Aza-oksiallil katyonların *N*-vinilflorenon nitronlarla [3+3]-siklokatılma reaksiyonu 52

Şekil 4.20 [3+3]-Siklokatılma reaksiyonu yoluyla aza-oksialil katyonu ve o-nitro alkinlerden one-pot indolin-3-on oluşumu..... 53

Şekil 4.21 2-Alkenilindollerle [3+3]-siklokatılma reaksiyonu..... 53

Şekil 4.22 Aza-oksiallil katyonların indollerle [3+2]-siklokatılma reaksiyonu 54

Şekil 4.23 Dien bileşikleri ile aza-oksiallil katyonların [3+2] siklokatılma reaksiyonu ve uygulaması 54

Şekil 4.24 Sülfür ilidlerle [3+2]-siklokatılma reaksiyonu 55

Şekil 4.25 Aza-oksiallil katyonlarla aldehitlerin [3+2]-siklokatılması 56

Şekil 4.26 Esterler, amidler ve ketonlarla [3+2]-siklokatılma reaksiyonu 57

Şekil 4.27 α,β-Doymamış aldehitler, izatinler ve benzofuranonlar ile aza-oksiallil katyonların siklokatılma reaksiyon şeması gösterimi 58

Şekil 4.28 Nitriller ve siyanamidler ile [3+2]-siklokatılma reaksiyonu 59

Şekil 4.29 İzotiyosiyanatlarla [3+2]-siklokatılma reaksiyonu..... 59

Şekil 4.30 Aza-oksiallil katyonların alkinlerle [3+2]-siklokatılma reaksiyonu 60

Şekil 4.31 Arinlerin aza-oksiallil katyonlarla [3+2]-siklokatılma reaksiyonu 61

Şekil 4.32 İzosiyanatlarla [3+2]-siklokatılma reaksiyonu..... 62

Şekil 4.33 (E)-*N*-Aril aminlerin ile [3+2]-siklokatılma reaksiyonu 62

Şekil 4.34 Hekzahidro-1,3,5-triazin ile [3+2]-siklokatılma reaksiyonu..... 63

Şekil 4.35 Sülfamat türevi siklikiminlerle [3+2]-siklokatılma reaksiyonu 63

Şekil 4.36 Aromatik etilenler ve barbitürat türevli alkenlerle siklokatılma 64

Şekil 4.37 Tiyokarbonillerle [3+2] siklokatılma reaksiyonu..... 65

Şekil 4.38 Siklopropenonlar ve siklopropentionlarla [3+2]-siklokatılması..... 66

Şekil 4.39 Olası bir mekanizma ile 1,2-benzizoksazollerle [3+2]-siklokatılması..... 67

Şekil 4.40 Benzoksazinanonlarla [3+2]-siklokatılma reaksiyonu 67

Şekil 4.41 İsatin azametineiminlerin [3+2]-siklokatılma reaksiyonu..... 68

Şekil 4.42 Aza-oksiallil katyonlarının benziodazolon çekirdeğinin karbonil grubu ile [3+2]-siklokatılma reaksiyonu 69

Şekil 4.43 2-Arilidensikloalkanonların [3+2]-siklokatılma reaksiyonu 69

Şekil 4.44 Karbon sülfürün [3+2]-siklokatılma reaksiyonu 69

Şekil 4.45 Kükürt ilidlerle [3+1]-siklokatılma reaksiyonu..... 70

Şekil 4.46 Aza-oksiallil katyonların troponlarla [3+8]-siklokatılma reaksiyonu 71

Şekil 4.47 Aza-oQMs ile [2+4]-siklokatılma reaksiyonu..... 72

Şekil 4.48 *N*-Sülfonil-1-aza-1,3-bütadienler ile [2+4]-siklokatılma reaksiyonu 72

Şekil 4.49 1,4-Dipolar aza-oksiallil katyonların alkenlerle [4+2]-siklokatılması 74

Şekil 5.1 Dörtlü zincir içeren bileşik yapıları..... 78

Şekil 5.2 Altılı zincir içeren bileşik yapıları 79
Şekil 5.3 Bileşik **1**'in FTIR spektrumu (ATR) 81
Şekil 5.4 Bileşik **2**'nin FTIR spektrumu (ATR) 82
Şekil 5.5 Bileşik **3**'ün FTIR spektrumu (ATR) 83
Şekil 5.6 Bileşik **4**'ün FTIR spektrumu (ATR) 85
Şekil 5.7 Bileşik **4**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 86
Şekil 5.8 Bileşik **4**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$) 86
Şekil 5.9 Bileşik **4**'ün HRMS (QTOF) spektrumu 87
Şekil 5.10 Bileşik **5**'in FTIR spektrumu (ATR) 89
Şekil 5.11 Bileşik **5**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 89
Şekil 5.12 Bileşik **5**'in APT-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 90
Şekil 5.13 Bileşik **5**'in HRMS (QTOF) spektrumu 90
Şekil 5.14 Bileşik **6**'nın FTIR spektrumu (ATR) 92
Şekil 5.16 Bileşik **7**'nin FTIR spektrumu (ATR) 94
Şekil 5.17 Bileşik **7**'nin HRMS (QTOF) spektrumu 94
Şekil 5.19 Bileşik **8**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 97
Şekil 5.20 Bileşik **8'**in APT spektrumu ($CDCl_3$) 97
Şekil 5.21 Bileşik **8**'in HRMS (QTOF) spektrumu 98
Şekil 5.22 Bileşik **9**'un FTIR spektrumu (ATR) 100
Şekil 5.23 Bileşik **9**'un ^{1}H NMR spektrumu ($CDCl_3$) 100
Şekil 5.24 Bileşik **9'**un APT spektrumu ($CDCl_3$) 101
Şekil 5.25 Bileşik **9**'un HRMS (QTOF) spektrumu 101
Şekil 5.26 Bileşik **10**'un FTIR spektrumu (ATR) 103
Şekil 5.27 Bileşik **10**'un ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 104
Şekil 5.28 Bileşik **10**'un APT spektrumu ($CDCl_3$) 104
Şekil 5.29 Bileşik **10**'un HRMS (QTOF) spektrumu 105
Şekil 5.30 Bileşik **11**'in FTIR spektrumu (ATR) 107
Şekil 5.31 Bileşik **11**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 108
Şekil 5.32 Bileşik **11**'in APT spektrumu ($CDCl_3$) 108
Şekil 5.33 Bileşik **11**'in HRMS (QTOF) spektrumu 109
Şekil 5.34 Bileşik **12**'nin FTIR spektrumu (ATR) 112
Şekil 5.35 Bileşik **12**'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 112
Şekil 5.36 Bileşik **12**'nin APT spektrumu ($CDCl_3$) 113
Şekil 5.37 Bileşik **12**'nin HRMS (QTOF) spektrumu 113
Şekil 5.38 Bileşik **13**'ün FTIR spektrumu (ATR) 115

Şekil 5.39 Bileşik **13**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 116
Şekil 5.40 Bileşik **13**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$)..... 116
Şekil 5.41 Bileşik **13**'ün HRMS (QTOF) spektrumu 117
Şekil 5.42 Bileşik **14**'ün FTIR spektrumu (ATR) 119
Şekil 5.43 Bileşik **14**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 120
Şekil 5.44 Bileşik **14**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$)..... 120
Şekil 5.45 Bileşik **14**'ün HRMS (QTOF) spektrumu 121
Şekil 5.46 Bileşik **15**'in FTIR spektrumu (ATR) 123
Şekil 5.47 Bileşik **15**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 124
Şekil 5.48 Bileşik **15**'in APT spektrumu ($CDCl_3$) 124
Şekil 5.49 Bileşik **15**'in HRMS (QTOF) spektrumu 125
Şekil 5.50 Bileşik **16**'nın FTIR spektrumu (ATR) 127
Şekil 5.51 Bileşik **16**'nın ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 128
Şekil 5.52 Bileşik **16**'nın APT spektrumu ($CDCl_3$) 128
Şekil 5.53 Bileşik **16**'nın HRMS (QTOF) spektrumu 129
Şekil 5.54 Bileşik **17**'nin FTIR spektrumu (ATR) 132
Şekil 5.55 Bileşik **17**'nin ^{1}H NMR spektrumu ($CDCl_3$)..... 132
Şekil 5.56 Bileşik **17**'nin ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 133
Şekil 5.57 Bileşik **17**'nin HRMS (QTOF) spektrumu 133
Şekil 5.58 Bileşik **18**'in FTIR spektrumu (ATR) 136
Şekil 5.59 Bileşik **18**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 136
Şekil 5.60 Bileşik **18**'in APT spektrumu ($CDCl_3$) 137
Şekil 5.61 Bileşik **18**'in HRMS (QTOF) spektrumu 137
Şekil 5.62 Bileşik **19**'un FTIR spektrumu (ATR) 140
Şekil 5.63 Bileşik **19**'un ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 140
Şekil 5.64 Bileşik **19**'un APT-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 141
Şekil 5.65 Bileşik **19**'un HRMS (QTOF) spektrumu 141
Şekil 5.66 Bileşik **20**'nin FTIR Spektrumu (ATR) 143
Şekil 5.67 Bileşik **20**'nin ^{1}H NMR Spektrumu ($CDCl_3$) 143
Şekil 5.68 Bileşik **20**'nin APT Spektrumu ($CDCl_3$)..... 144
Şekil 5.69 Bileşik **21**'in FTIR Spektrumu (ATR) 145
Şekil 5.70 Bileşik **21**'in ^{1}H NMR Spektrumu ($CDCl_3$) 146
Şekil 5.71 Bileşik **21**'in APT Spektrumu ($CDCl_3$)..... 146
Şekil 5.72 Bileşik **22**'nin FTIR Spektrumu (ATR) 148
Şekil 5.73 Bileşik **22**'nin ^{1}H-NMR Spektrumu ($CDCl_3$)..... 148

Şekil 5.74 Bileşik **22**'nin APT Spektrumu ($CDCl_3$) 149
Şekil 5.75 Bileşik **22**'nin LC-MS Spektrumu 149
Şekil 5.76 Bileşik **23**'ün FTIR Spektrumu (ATR) 151
Şekil 5.77 Bileşik **23**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 151
Şekil 5.78 Bileşik **23**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$) 152
Şekil 5.79 Bileşik **23**'ün LC-MS Spektrumu 152
Şekil 5.80 Bileşik **24**'ün FTIR Spektrumu (ATR) 154
Şekil 5.81 Bileşik **24**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 154
Şekil 5.82 Bileşik **24**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$) 155
Şekil 5.83 Bileşik **24**'ün lC-MS Spektrumu 155
Şekil 5.84 Bileşik **25**'in FTIR Spektrumu (ATR) 157
Şekil 5.85 Bileşik **25**'in ^{1}H-NMR Spektrumu ($CDCl_3$) 158
Şekil 5.86 Bileşik **25**'in APT Spektrumu ($CDCl_3$) 158
Şekil 5.87 Bileşik **25**'in LC-MS Spektrumu 159
Şekil 5.88 Bileşik **26**'nın FTIR Spektrumu (ATR) 161
Şekil 5.89 Bileşik **26**'nın ^{1}H-NMR spektrumu 161
Şekil 5.90 Bileşik **26**'nın APT spektrumu 162
Şekil 5.91 Bileşik **26**'nın LC-MS Spektrumu 162
Şekil 5.92 Bileşik **27**'nin FTIR Spektrumu (ATR) 164
Şekil 5.93 Bileşik **27**'nin ^{1}H-NMR Spektrumu ($CDCl_3$) 165
Şekil 5.94 Bileşik **27**'nin APT Spektrumu ($CDCl_3$) 165
Şekil 5.95 Bileşik **27**'nin LC-MS Spektrumu 166
Şekil 5.96 Bileşik **28**'in FTIR Spektrumu (ATR) 168
Şekil 5.97 Bileşik **28**'in ^{1}H NMR Spektrumu ($CDCl_3$) 168
Şekil 5.98 Bileşik **28**'in APT Spektrumu ($CDCl_3$) 169
Şekil 5.99 Bileşik **28**'in LC-MS Spektrumu 169
Şekil 5.100 Bileşik **29**'un FTIR Spektrumu (ATR) 171
Şekil 5.101 Bileşik **29**'un ^{1}H NMR Spektrumu ($CDCl_3$) 172
Şekil 5.102 Bileşik **29**'un APT Spektrumu ($CDCl_3$) 172
Şekil 5.103 Bileşik **30**'un FTIR spektrumu (ATR) 176
Şekil 5.104 Bileşik **30**'un ^{1}H-NMR spektrumu 176
Şekil 5.105 Bileşik **41**'in FTIR spektrumu (ATR) 182
Şekil 5.106 Bileşik **41**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 182
Şekil 5.107 Bileşik **41**'in APT spektrumu ($CDCl_3$) 183
Şekil 5.108 Bileşik **41**'in HRMS (QTOF) spektrumu 183

Şekil 5.109 Bileşik **42**'nin FTIR spektrumu (ATR) 185
Şekil 5.110 Bileşik **42**'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 185
Şekil 5.111 Bileşik **42**'nin APT spektrumu ($CDCl_3$) 186
Şekil 5.112 Bileşik **42**'nin HRMS (QTOF) spektrumu 186
Şekil 5.113 Bileşik **43**'ün FTIR spektrumu (ATR) 188
Şekil 5.114 Bileşik **43**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 188
Şekil 5.115 Bileşik **43**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$) 189
Şekil 5.116 Bileşik **43**'ün HRMS (QTOF) spektrumu 189
Şekil 5.117 Bileşik **44**'ün FTIR spektrumu (ATR) 191
Şekil 5.118 Bileşik **44**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 191
Şekil 5.119 Bileşik **44**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$) 192
Şekil 5.120 Bileşik **44**'ün HRMS (QTOF) spektrumu 192
Şekil 5.121 Bileşik **45**'in FTIR spektrumu (ATR) 194
Şekil 5.122 Bileşik **45**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 194
Şekil 5.123 Bileşik **45**'in APT spektrumu ($CDCl_3$) 195
Şekil 5.124 Bileşik **45**'in HRMS (QTOF) spektrumu 195
Şekil 5.125 Bileşik **46a**'nın FTIR spektrumu (ATR) 198
Şekil 5.126 Bileşik **46a**'nın ^{1}H-NMR spektrumu 198
Şekil 5.127 Bileşik **46a**'nın APT spektrumu 199
Şekil 5.128 Bileşik **46a**'nın HRMS (QTOF) spektrumu 199
Şekil 5.129 Bileşik **46b**'nin FTIR spektrumu (ATR) 200
Şekil 5.130 Bileşik **46b**'nin ^{1}H-NMR spektrumu 200
Şekil 5.131 Bileşik **46b**'nin APT spektrumu 201
Şekil 5.132 Bileşik **46b**'nin HRMS (QTOF) spektrumu 201
Şekil 5.133 Bileşik **47**'nin FTIR spektrumu (ATR) 203
Şekil 5.134 Bileşik **47**'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 203
Şekil 5.135 Bileşik **47**'nin APT-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 204
Şekil 5.136 Bileşik **47**'nin HRMS (QTOF) spektrumu 204
Şekil 5.137 Bileşik **48**'in FTIR spektrumu (ATR) 206
Şekil 5.138 Bileşik **48**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 206
Şekil 5.139 Bileşik **48**'in APT spektrumu ($CDCl_3$) 207
Şekil 5.140 Bileşik **48**'in HRMS (QTOF) spektrumu 207
Şekil 5.141 Bileşik **49**'un FTIR spektrumu (ATR) 209
Şekil 5.142 Bileşik **49**'un ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 209
Şekil 5.143 Bileşik **49**'un APT-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 210

Şekil 5.144 Bileşik **49**'un HRMS (QTOF) spektrumu 210
Şekil 5.145 Bileşik **50**'nin FTIR spektrumu (ATR) 212
Şekil 5.146 Bileşik **50**'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 212
Şekil 5.147 Bileşik **50**'nin APT spektrumu ($CDCl_3$) 213
Şekil 5.148 Bileşik **50**'nin HRMS (QTOF) spektrumu 213
Şekil 5.149 Bileşik **51**'in FTIR spektrumu (ATR) 215
Şekil 5.150 Bileşik **51**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 215
Şekil 5.151 Bileşik **51**'in APT spektrumu ($CDCl_3$) 216
Şekil 5.152 Bileşik **52**'nin FTIR spektrumu (ATR) 217
Şekil 5.153 Bileşik **52**'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 218
Şekil 5.154 Bileşik **52**'nin APT spektrumu ($CDCl_3$) 218
Şekil 5.155 Bileşik **53**'ün FTIR spektrumu (ATR) 220
Şekil 5.156 Bileşik **53**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 220
Şekil 5.157 Bileşik **53**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$) 221
Şekil 5.158 Bileşik **54**'ün FTIR spektrumu (ATR) 222
Şekil 5.159 Bileşik **54**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 223
Şekil 5.160 Bileşik **54**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$) 223
Şekil 5.161 Bileşik **55**'in FTIR spektrumu (ATR) 225
Şekil 5.162 Bileşik **55**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$) 225
Şekil 5.172 Bileşik **55**'in APT spektrumu ($CDCl_3$) 226
Şekil 6.1 GSK-3β'nin katalitik alanının genel yapısı 230
Şekil 6.2 R sürüm 3.6.3'ten grafik paketi kullanılarak oluşturulan DHFR geni için log2 ile dönüştürülmüş ve normalleştirilmiş ifade değerlerinin kutu grafiği 235
Şekil 6.3 Varsayılan hedef DHFR'ye yerleştirilmiş konformasyonlar 237
Şekil 6.4 Metotreksat ve trimetreksat yapıları 238
Şekil 6.5 İnsan DHFR'sinin metotreksat (a) ve bileşik **41** (b) ile birlikte ayrıntılı etkileşimlerinin gösterimi 241
Şekil 7.1 Canlı hücrelerde bulunan MTT tetrazolyum tuzunun formazana indirgenmesi (Buranaamnuay, 2021) 243
Şekil 7.2 Bileşik **8-19**'un MCF-7 tipi meme kanseri hücre hattı üzerindeki etkisi 246
Şekil 7.3 Bileşik **8-19**'un MDA-MB-231 tipi meme kanseri hücre hattı üzerindeki etkisi 248
Şekil 7.4 Bileşik **41-50** ve imatinibin Hek293T hücre hattı üzerindeki etkisi 250
Şekil 7.5 Bileşik **41-50** ve imatinibin Jurkat hücre hattı üzerindeki etkisi 251
Şekil 7.6 Bileşik **41-50** ve imatinibin Nalm-6 hücre hattı üzerindeki etkisi 251
Şekil 7.7 Bileşik **41-50** ve imatinibin Reh hücre hattı üzerindeki etkisi 252

Şekil 7.8 Bileşik **41-50** ve imatinibin K562 hücre hattı üzerindeki etkisi..... 252
Şekil 7.9 Bileşik **41-50** ve imatinibin Molt-4 hücre hattı üzerindeki etkisi 253
Şekil 8.1 Biyolojik aktif çeşitli maleimid türevleri 254
Şekil 8.2 Bileşik **3**'e ait sentez şeması..... 256
Şekil 8.3 Bileşik **4** ve **5**'in S_N2 reaksiyonu ile elde edilme mekanizması 257
Şekil 8.4 Bileşik **8**'in sentez şeması 258
Şekil 8.5 Bileşik **9**, bileşik **10** ve bileşik **11**'in yapısı..... 258
Şekil 8.6 Bileşik **14**, bileşik **15**, bileşik **16** ve bileşik **17** yapıları..... 259
Şekil 8.7 Bileşik **6**'nın oluşum mekanizması ve bileşik **7** reaksiyonu 260
Şekil 8.8 Bileşik **12** ve bileşik **18**'in sentez şeması..... 261
Şekil 8.9 Bileşik **13** ve bileşik **19**'un katalitik çevrimi..... 263
Şekil 8.10 Bileşik **22**, bileşik **24**, bileşik **26** ve bileşik **28**'in sentez şeması..... 266
Şekil 8.11 Bileşik **23**, bileşik **25**, bileşik **27** ve bileşik **29**'un sentez şeması..... 267
Şekil 8.12 Bileşik **31**'in sentez mekanizması 269
Şekil 8.13 Bileşik **32**, **33**, **34** ve **35**'in yapıları 269
Şekil 8.14 Bileşik **37** mekanizması ve bileşik **36**, **38**, **39** ve **40**'ın yapısı 270
Şekil 8.15 Aza-oksiallil katyon oluşum şeması..... 270
Şekil 8.16 1,2,3,4-Tetrazin sentez mekanizmasının genel gösterimi 271
Şekil 8.17 Bileşik **41**, **42**, **43**, **44** ve **45**'in sentezi 272
Şekil 8.18 Bileşik **46a**, **46b**, **47**, **48**, **49** ve **50**'nin sentezi 273
Şekil 8.19 Bileşik **51** için önerilen sentez mekanizması 277
Şekil 8.20 Bileşik **51**, **52**, **53**, **54** ve **55**'in sentez şeması..... 278

TABLO LİSTESİ

Tablo 5.1 Kullanılan kimyasal maddeler 75

Tablo 5.2 Kullanılan kimyasal maddeler 173

Tablo 6.1 Lösemi hücre hatlarındaki DHFR ekspresyon seviyesinin normal hematopoietik hücrelerle karşılaştırılması..... 235

Tablo 6.2 Yerleştirme sonuçları ve yakınsama değerlendirmesi 236

Tablo 6.3 Stabilite değerlendirmeleri ve bağlayıcı serbest enerji hesaplamaları..... 239

Tablo 7.1 MCF-7 Tipi meme kanseri hücre hattı üzerindeki maleimid türevi **8-19**'un IC_{50} değerleri……...245

Tablo 7.2 MDA-MB-231 Tipi meme kanseri hücre hattı üzerindeki maleimid türevi **8-19**'un IC_{50} değerleri. 247

Tablo 8.1 Sentezlenen yeni maleimid türevlerinin meme kanseri hücre hatları (MCF-7 ve MDA-MB-231) üzerinde IC_{50} değerleri 264

Tablo 8.2 Moleküler yerleştirme sonuçları ve moleküler dinamik simülasyonlardan hesaplanan RMSF değerleri. 265

Tablo 8.3 1,2,3,4-Tetrazin türevlerinin (**41-50**), 5 lösemi hücre dizisine (Jurkat, Nalm-6, Reh, K562, Molt-4) ve insan embriyonik böbrek hücre dizisine (Hek293T) karşı test verileri..... 274

ÖZET

Biyoaktif İlaç Adayı Yeni Molekül Sentezleri

Öznur EYİLCİM

Kimya Anabilim Dalı

Organik Kimya Programı

Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ömer Tahir GÜNKARA

Siklokatılma reaksiyonları çeşitli halkalı organik moleküllerin yapımı için önemli dönüşümlerdir. Azot atomu içeren heterohalkalı bileşikler, birçok doğal yapılarda ve tıbbi açıdan önemli bileşiklerde yaygın olarak bulunmaktadırlar. Farmasötik bileşiklerin sentezinde karbon-azot bağı oluşumunun sıklıkla gerekli olduğu düşünüldüğünde, etkili yeni C-N bağı oluşumu yöntemleri geliştirmek önemlidir.

Organik kimyanın temel yapıtaşlarından biri olan maleimid bileşiklerinin antibakteriyel, antifungal ve antikanser gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Bu amaçla karakteristik N-C-O bağına sahip olan bu bileşik türevlerinin sentezi son yıllarda büyük ilgi görmektedir. Özellikle glikojen sentaz aktivitesini düzenleyen glikojen sentaz kinaz-3 inhibitörü olarak geliştirilen moleküller içerisinde önemli rol oynamaktadır.

Bitişik çoklu azot atomları içeren heterohalkalı bileşikler, çeşitli doğal ürünlerde, ilaçlarda ve biyolojik olarak aktif moleküllerde yer alan çok önemli motiflerdir. Aza-oksiallil katyon olarak bilinen yeni bir ara ürün aracılığıyla [3+3]-siklokatılma reaksiyonları, son zamanlarda azot içeren 6 üyeli heterohalkalı bileşiklerin sentezinde önemli rol oynamaktadır. Önemli bir nitrojen kaynağı sınıfı olarak azidler ise, bu çerçeveleri oluşturmak için organik sentez çalışmalarında çokça kullanılmışlardır.

Bu tez çalışmasının ilk bölümünde indol substitue maleimid bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen indol substitue maleimid bileşiklerinin azot atomlarına alkil zincir yapıları eklenmiş ve çeşitli gruplarla türevlendirilmiştir.

Bu tez çalışmasının ikinci bölümünde ise bir dizi yeni 1,2,3,4-tetrazin türevleri ile 4-oksazolidinon türevlerine ait sentez çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Azidler ve *in situ* aza-oksiallil katyonlar arasında [3+3]-siklokatılma reaksiyonu gerçekleştirilmiş ve yeni 1,2,3,4-tetrazin ve 4-oksazolidinon bileşikleri sentezlenmiştir.

Sentezi gerçekleştirilen tüm bileşiklerin yapıları FTIR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR (APT) ve HRMS (QTOF) gibi spektral verilerle aydınlatılmıştır. Ayrıca sentezlenen yeni moleküllerin biyolojik aktivite (antikanser/MTT) ve moleküler kenetleme çalışmaları İstanbul Bilgi Üniversite'sinde gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antikanser aktivite, heterohalkalı bileşik, maleimid bileşikleri, siklokatılma reaksiyonu, 1,2,3,4-tetrazin,

ABSTRACT

Bioactive Drug Candidate New Molecule Synthesis

Öznur EYİLCİM

Department of Organic Chemistry

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ömer Tahir GÜNKARA

Cycloaddition reactions are important transformations for the construction of various cyclic organic molecules. Heterocyclic compounds containing nitrogen atoms are widely found in many natural structures and medically important compounds. Considering that carbon-nitrogen bond formation is often required in the synthesis of pharmaceutical compounds, it is important to develop effective new methods of C-N bond formation.

Maleimide compounds, one of the basic building blocks of organic chemistry, are known to have many biological activities such as antibacterial, antifungal and anticancer. For this purpose, the synthesis of these compound derivatives with characteristic N-C-O bonds has attracted great attention in recent years. It plays an important role especially among molecules developed as glycogen synthase kinase-3 inhibitors that regulate glycogen synthase activity.

Heterocyclic compounds containing multiple adjacent nitrogen atoms are very important motifs involved in a variety of natural products, drugs, and biologically active molecules. [3+3]-cycloaddition reactions via a new intermediate known as aza-oxyallyl cation have recently played an important role in the synthesis of nitrogen-containing 6-membered heterocyclic compounds. Azides, as an important class of nitrogen sources, have been widely used in organic synthesis studies to create these frameworks.

In the first part of this thesis study, the synthesis of indole substituted maleimide compounds was carried out. Alkyl chain structures were added to the *N* atoms of the synthesized indole substituted maleimide compounds and derivatized with various groups.

In the second part of this thesis, synthesis studies of a series of new 1,2,3,4-tetrazine derivatives and 4-oxazolidinone derivatives were carried out. [3+3]-cycloaddition reaction was carried out between azides and in situ aza-oxyallyl cations and new 1,2,3,4-tetrazine and 4-oxazolidinone compounds were synthesized.

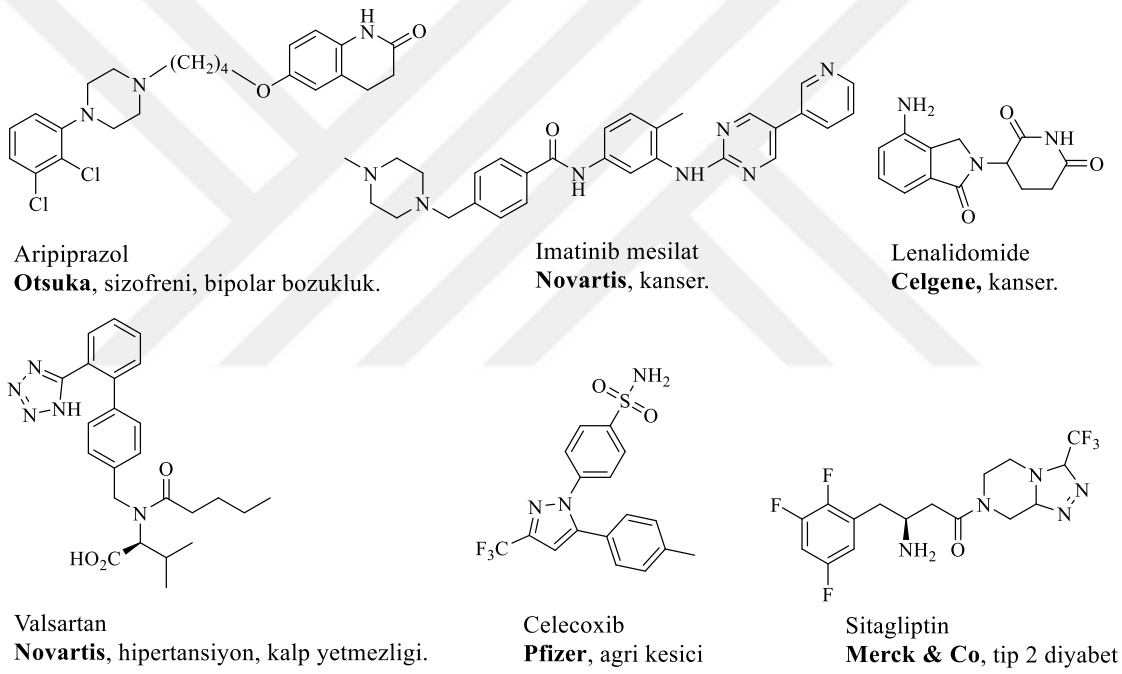
The structures of all synthesized compounds were elucidated with spectral data such as FTIR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR and HRMS (QTOF). In addition, biological activity (anticancer/MTT) and molecular docking studies of synthesized new molecules were carried out at Istanbul Bilgi University.

Key Words: Anticancer activity, cycloaddition reaction, heterocyclic compound, maleimide compounds, 1,2,3,4-tetrazine,

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

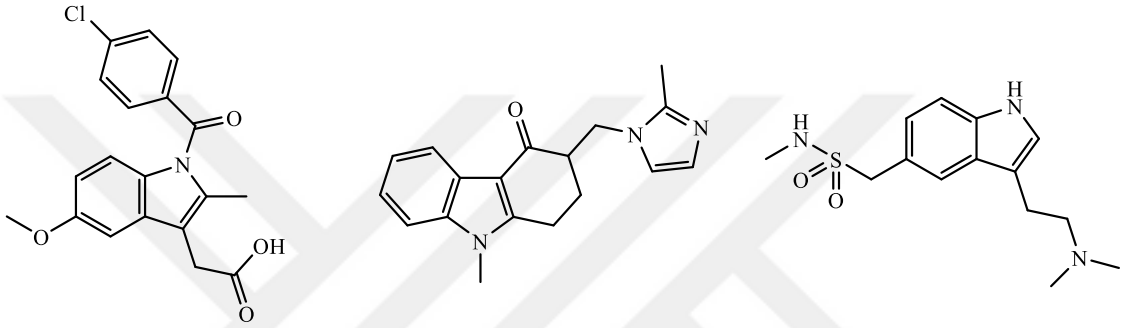
Heterohalkalı bileşikler, halka sisteminde en az bir hetero atoma sahip olan organik bileşikler sınıfıdır. En yaygın heteroatomlar nitrojen (N), oksijen (O) ve sülfürdür (S). Heterohalkalı bileşikler, bitkilerde ve hayvansal ürünlerde sıklıkla bol miktarda bulunur; bilinen doğal organik bileşiklerdir ve insan vücudunun çeşitli biyolojik süreçlerinde önemli rol oynarlar. Heterohalkalı bileşikler, çeşitli kimyasal ve biyolojik özelliklerinden dolayı klinik kullanımdadırlar (Şekil 1.1) (Kumar vd., 2020).



Şekil 1.1 Biyolojik aktif bazı heterohalkalı ilaç türevleri

Heterohalkalı bileşikler arasında indol farmakolojik olarak en umut verici aktif moleküllerden biridir. İndol, bir pirol halkasıyla kaynaşmış bir benzen halkasından oluşan bisiklik bir yapıya sahip aromatik heterosiklik bir organik bileşiktir. Kimyasal reaktivitesi nedeniyle indol türevleri, farklı farmakolojik hastalıkların tedavisi ve yeni ilaç adayları elde etmek için sıkça kullanılmaktadır. İndol bazlı bileşikler, tıbbi ve farmakolojik öneme sahiptir. Biyolojik önemleri, antiinflamatuar, antifungal, anti-Alzheimer, anti-Parkinson ve antikanser potansiyellerini içerir. İndol türevlerinin çoğu, yüksek afinite ile çoklu reseptörlere bağlanır, bu nedenle çeşitli yaklaşımlar yoluyla yeni biyolojik olarak aktif

bileşiklerin geliştirilmesine yönelik araştırmaları hızlandırır. Triptamin, alstonin, reserpin, ergotamin ve vinkristin gibi indol alkaloidleri, sırasıyla nörotransmitter, antipsikotik, kan basıncını düşürme, migren ve kanser kemoterapisi için kullanılmaktadırlar. İndol yapısını içeren önemli farmasötiklerden bazıları indometazin, ondansetron, sumatriptandır (Şekil 1.2) (Thanikachalam vd., 2019). Ayrıca indol türevlerinin antiviral, antiinflamatuar, antikanser, anti-HIV, antioksidan, antimikrobiyal, antitüberküler, antidiyabetik, antimalarial, antikolinesteraz vb. gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu bilindiğinden, çeşitli indol türevlerinin sentezi araştırmacıların ilgisini çekmektedir.



Indometazin
Antienflamatuar ilaç

Ondansetron
Antiemetik

Sumatriptan
Migren tedavisi

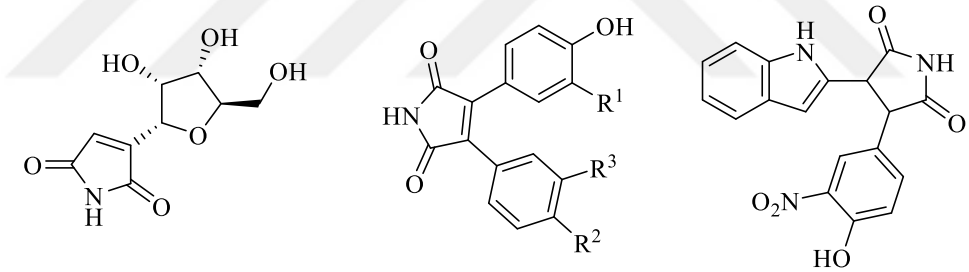
Şekil 1.2 İndol halkası içeren önemli farmasötik bileşikler

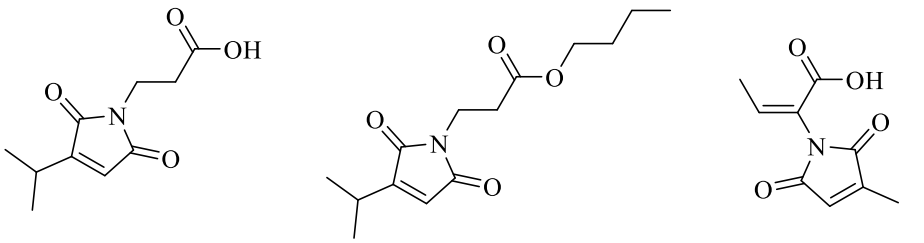
Biyoaktif bileşiklerin bir sınıfını oluşturan halkalı imidler antibakteriyel, antifungal, antiviral, analjezik, antikanser, androjen reseptör antagonisti, antiinflamatuar, antidepresif olarak geniş biyolojik özelliğe sahiptir (Patil, 2014; Khalil vd., 2010; Azzawi, 2016; Dhivare, 2015; Yunes vd., 2008; Noldin, 2015; Hassanzadeh, 2012; Wang vd., 2017).

Halkalı imidler ve bunların *N*-substitue türevlerinin hidrofobik ve nötr yapıları onların biyolojik memrandan kolayca geçişini sağlar (Patil, 2014). İmid halkası üzerindeki substituent grupların boyutuna ve elektrofilik özelliklerine bağlı olarak yapıda oksijen ve azot atomlarının varlığı bazı farmakolojik etkilere neden olmaktadır (Sultana, 2014; Prado vd., 2004).

Maleimid gibi halkalı imidler potansiyel biyolojik aktivite ve farmasötik kullanımlar sağlayan yapısal özelliklere sahiptir (Coghlan vd., 2000; Curtin vd., 2002; Warnecke vd., 2004). Bu heterosiklik bileşikler bir imid halkası ve hücre zarını kolayca geçme yetenekleri ile hidrofobik ve nötr özellik gösteren "-CO-N(R)-CO-" gibi fonksiyonel grup içermektedir (Şekil 1.3). Maleimid yapılarını içeren bileşikler, biyomateryaller (Darling

vd., 2016; Jansen vd., 2018; Kalaoglu-Altan vd., 2019), kimyasal problar (Tsuruta vd., 1991; Youziel vd., 2014; Zhang vd., 2015) ve organik boyalar (Xie vd., 2018) alanlarında sıklıkla araştırılmaktadır. Ayrıca maleimid bileşikleri çeşitli biyolojik aktivitelerinden dolayı farmakofor ve pestisit olarak etkilidirler. Maleimid yapıya sahip doğal bileşiklerin (Şekil 1.3) çeşitli biyolojik aktiviteler gösterdiği ve yeni antifungal ajanların, enzim inhibitörlerinin ve herbisitlerin geliştirilmesinde önemli roller oynadığı kanıtlanmıştır (Hosoya vd., 2005; Lam vd., 2001; Osada vd., 1992; Sánchez vd., 2006; Yamashita vd., 1992). Ayrıca, çeşitli maleimid türevleri yapay olarak sentezlenmiştir ve *N*-metilmaleimid, *N*-etilmaleimid, *N*-oktil-3-metilmaleimid ve *N*-arilsiklik imidler gibi dikkate değer antifungal, antibakteriyel ve herbisidal aktiviteler göstermiştir (Chen vd., 2015; Hassan, 2016; Kirino vd., 1985). Ek olarak, *N*-adamantilsitrakonimid, 4-maleimidbenzoik asit hidrazid hidroklorür ve bis-indolilmaleimidler gibi belirli maleimid bileşikleri, antitümör aktivite (Wang vd., 1997), antiinflamatuar aktivite (Hamelin-Morrissette vd., 2015), protein kinaz G (PKG) aktivitesi üzerinde inhibitör etki (Bridges, 2001) ve glikojen sentez kinaz-3 (GSK-3) aktivitesi üzerine inhibitor etki (Gunosewoyo vd., 2013) sergiledikleri belirlenmiştir.

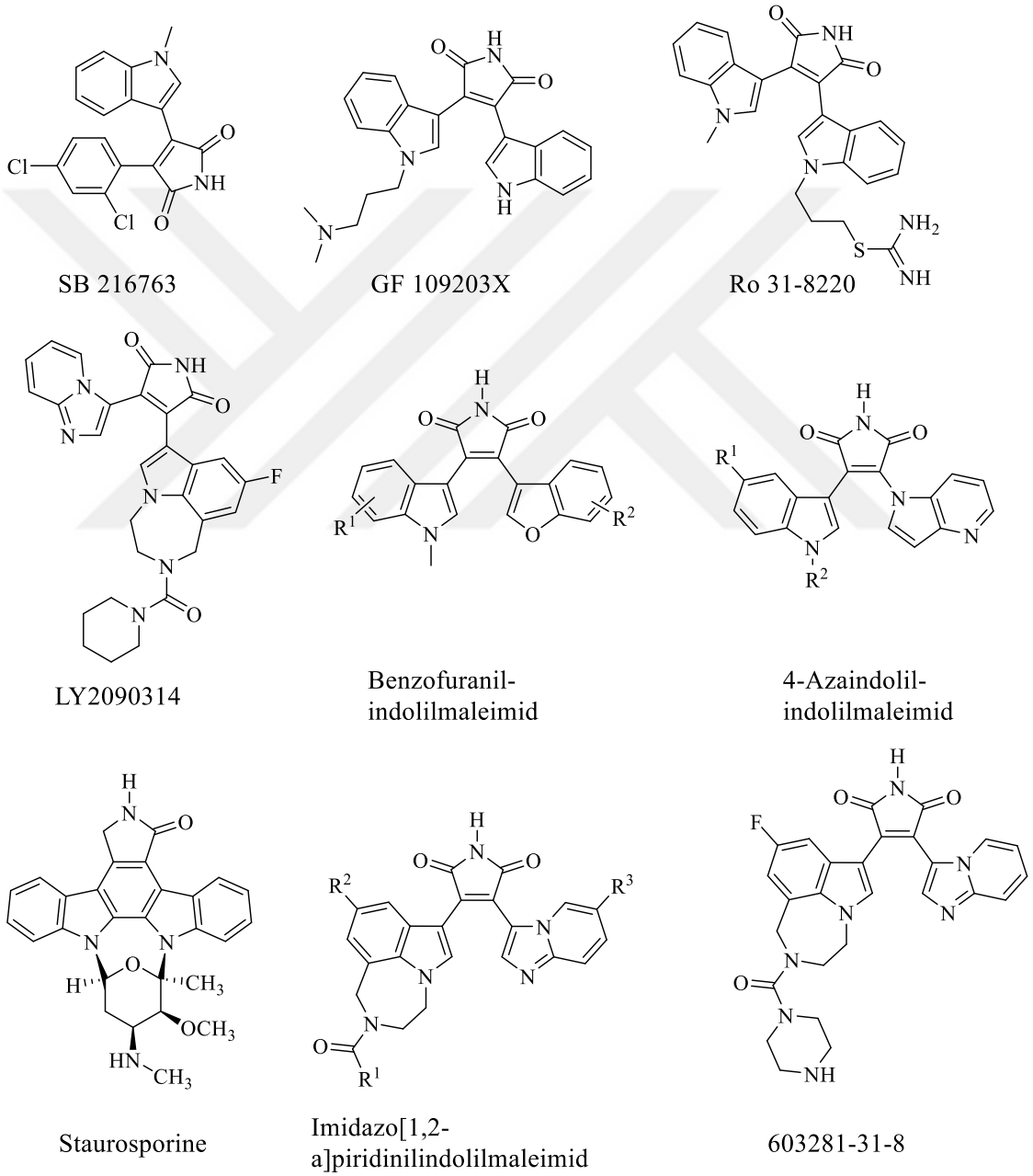




Şekil 1.3 Maleimid yapılı doğal bileşikler

GSK-3, GSK-3α ve GSK-3β'dan oluşan bir kinaz ailesidir. GSK-3 ailesi üyeleri, birçok farklı hücre tipinde ve dokuda yüksek oranda bulunurlar (Embi vd., 1980; Woodgett ve Waterfield, 1990). Serin (S) ve treonin (T) kalıntıları üzerindeki çoklu proteinleri fosforile ederler (McCubrey, Davis, vd., 2014; McCubrey, Steelman, vd., 2014).

Proteinler GSK-3 tarafından fosforile edildikten sonra genellikle inaktive edilirler. GSK-3'ün yaşlanma, diyabet, inflamasyon, metabolizma, nöral iletim, nörolojik bozukluklar, obezite, kanser kök hücrelerinin (CSC) gelişimi ve ilaç direnci gibi birçok biyolojik süreçte rolü vardır. Uzun yıllardır çeşitli sentez yöntemleriyle elde edilmiş GSK-3β inhibitör bileşikleri günümüzde de hala detaylı bir biçimde incelenmektedir. GSK-3β inhibitor özelliğine sahip bazı bileşikler Şekil 1.4'te gösterilmiştir (Duda vd., 2018; McCubrey, Davis, vd., 2014; Nagini vd., 2019; Sokolosky vd., 2014; Sutherland, 2011).



Şekil 1.4 GSK-3β inhibitor özelliğine sahip bazı bileşik yapıları

1.2 Tezin Amacı

Kanser, doğal olmayan hücrelerde kontrol edilemeyen hücre bölünmesini tanımlamak için kullanılan bir ifadedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) bu ifadeyi, yaşamı tehdit eden bir durum olarak tanımlamaktadır. Kanser, kalp hastalığı, AIDS gibi önemli hastalıkların yanı sıra uzun zamandır dünyadaki başlıca ölüm nedenlerinden biridir. Kanser vakaları hızla artmakta ve aynı zamanda insan hayatını ciddi şekilde tehlikeye atmaktadır. Mevcut ilaçlar artan vakalara karşın gerekli ihtiyacı karşılayamamaktadır. Bu nedenle, hastaları tedavi etmek için yeni ilaçlarının geliştirilmesi acilen gerekli görülmektedir.

Heterosiklik bileşikler yaşamda ve biyokimyasal süreçlerde önemli rol oynarlar. Sahip oldukları biyolojik ve tıbbi özelliklerinden dolayı bu bileşiklerin ve türevlerinin sentezi birçok araştırmacı tarafından hedeflenmektedir. Bir heterosiklik bileşik olan tetrazin molekülü, 1,2,3,4-tetrazin, 1,2,3,5-tetrazin ve 1,2,4,5-tetrazin gibi üç izomerli altı üyeli aromatik halkada dört nitrojen atomu içeren bileşiklerdir. Bunlar arasında 4 azot bağlı 1,2,3,4-tetrazin bileşiklerinin antikanser ve antimikrobiyal gibi geniş biyolojik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir.

GSK-3, çok çeşitli proteinleri fosforile eden bir serin/treonin (S/T) kinazdır. Bir kinaz olarak sıra dışı özelliklerinden dolayı yapısal aktivitesi de dahil olmak üzere çok fazla dikkat çekmiştir. GSK-3α ve GSK-3β olarak tanımlanan iki farklı izoform, birçok ortak substrata sahip olmalarına, geniş çapta eksprese edilmelerine ve yüksek düzeyde koruma sergilemelerine rağmen, aynı zamanda farklı hedef proteinlere ve ayrı biyolojik rollere sahiptirler. GSK-3α ve GSK-3β, enflamatuvar hastalıklar, neoplastik süreçler ve nörodejeneratif bozukluklar dahil olmak üzere birçok hastalık süreciyle ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, en son araştırmalar kanserle ilgili GSK-3β üzerinde yoğunlaşmıştır. GSK-3β üzerinde etkisi olduğu bilinen iki ana sinyal yolu olan insülin ve Wnt yolları uyarıldığında aktive etmek yerine inhibe etmesiyle ön plana çıkmıştır.

Yıllar boyunca yapılan araştırmalar GSK-3β inhibitörlerinin farmakolojik açıdan önemini göstermektedir. Son yıllarda sanal tarama ve moleküler modelleme gibi hesaplamalı yöntemlerin ortaya çıkmasıyla öncü tanımlama ve optimizasyon prosedürleri büyük ölçüde geliştirilmiştir. Bu durum GSK-3β inhibitörleri için ilaç geliştirme çalışmalarının hızlanmasını sağlamıştır. GSK-3β inhibitörü olarak geliştirilen moleküllerle yapılan

çalışmalarda heterosiklik yapıda olan maleimid türevlerinin etkili olduğu da bilinmektedir.

Bu tez çalışmasında, biyoaktif ilaç adayı ve heterosiklik yapılı tetrazin ve maleimid türevlerinin sentezi amaçlanmıştır. 1,2,3,4-Tetrazin türevlerinin sentezinin gerçekleştirilerek, yapısının spektroskopik yöntemlerle aydınlatılması sonrasında antikanser aktivite çalışmalarının yapılması hedeflenmiştir. Ayrıca GSK-3β inhibitör özelliğine sahip olacağı düşünülen yeni indol substitue maleimid türevlerinin sentezi gerçekleştirilerek, yapılarının spektroskopik yöntemlerle aydınlatılması ve antikanser özelliğinin belirlenmesi için biyolojik aktivite çalışmalarının yapılması amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Heterosiklik bileşikler, farmasötik kimyada çok sayıda uygulamaya sahiptir ve biyokimyasal fonksiyonlarda önemli bir rol oynarlar. Tıpta çeşitli rahatsızlıkları ve yaralanmaları tedavi etmek için ilaç olarak birçok heterosiklik bileşik türevi kullanılmaktadır. Antifungal, herbisidal, antiinflamatuar, antibakteriyel, antiviral, antioksidanlar, antikanser, antiepileptik, antihelmintik, antipiretikler, antialerjik, antihistamin ve antihipertansif ajanlar gibi ilaçlar heterosiklik çekirdek iskeletlerini içermektedirler. Ayrıca bu bileşikler, enzimler, vitaminler, doğal ürünler ve biyolojik olarak aktif kimyasallar gibi makromoleküllerde bol miktarda bulundukları için farmasötik kimyada önemli bir bileşen olarak kabul edilmişlerdir.

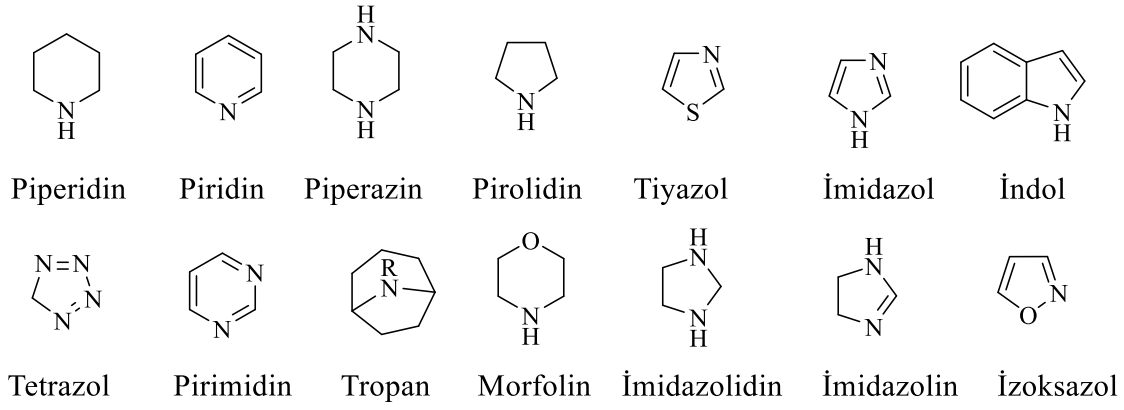
Bu veriler ışığında, yeni sentezlenecek indol substitue maleimid türevlerinin GSK-3β inhibitör özelliği göstermesinin yanında antikanser aktivite özelliği göstereceği düşünülmektedir. Yine çalışma kapsamında sentezlenecek yeni 1,2,3,4-tetrazin türevlerinin de çeşitli kanser hücrelerine karşı aktivite özelliği göstereceği beklenmektedir.

2
HETEROHALKALI BİLEŞİKLER

2.1 Giriş

Organik kimyadaki en geniş araştırma alanlarından biri de heterohalkalı bileşikler olmuştur. Bilinen kimyasalların kabaca yarısı heterohalkalıdır. Bu bileşikler, geniş biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri nedeniyle farmasötik ve tarım endüstrilerinde önemli bir organik bileşik sınıfıdır. Genellikle ilaçların fizikokimyasal özelliklerini geliştirir ve onları sentetik olarak daha erişilebilir hale getirir. Vitamin, nükleik asit, alkaloid, heme, klorofil gibi doğal yapılar da bulunurlar. Azot içeren doğal ve sentetik heterohalkalılar, antimikrobiyal, antifungal, antiinflamatuar aktiviteler dahil olmak üzere umut verici biyolojik aktiviteler göstermiştir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan ilaçların büyük miktarı azot atomu taşıyan heterohalkalı bileşiklerdir. İlaçlardaki en yaygın azot heterohalkalı bileşikler piperidinler, piridinler, piperazin, pirolidin, tiyazoller, imidazoller, indoller, tetrazoller, pirimidin, tropan, morfolin, imidazolidin, imidazolin, izoksazollerdir (Şekil 2.1) (Ruiz-Sanchis vd., 2011; Steven ve Overman, 2007; Takase vd., 1986).

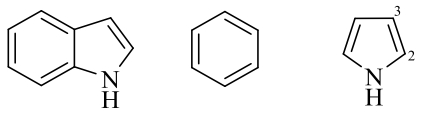
Farmasötik açıdan oldukça önemli olan bu azotlu bileşikler, reaksiyona giren iki terminal grup arasındaki halkalaşma reaksiyonuyla sıklıkla sentezlenir. Birçok araştırmacı için oldukça ilginç hedefler olmasına rağmen, beş ve yedi üyeli heterohalkalı bileşiklerin sentezinde zorluklar yaşanmaktadır. Doğal ürünlerde ve farmasötiklerde belirtilen mimariye sahip iskelelerin oluşturulması için daha uygun ve sentetik yöntemler gerekmektedir. Bu amaçla araştırmacılar tarafından birçok çalışma yapılmaktadır.



Şekil 2.1 İlaçlarda bulunan azot heterohalkalı yapılar

2.2 İndol

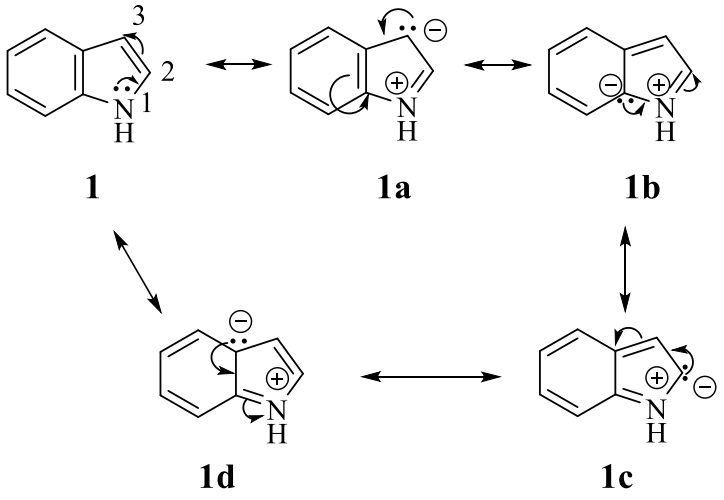
İndol (**1**), benzen (**2**) ve pirol halkasının (**3**) kaynaşmasıyla oluşan aromatik heterohalkalı bir bileşiktir (Şekil 2.2).



1 İndol **2** Benzen **3** Pirol

Şekil 2.2 İndol, benzen ve pirol yapıları

İndol, çift bağlardan kaynaklanan 10 π elektrona ve indol halkası çevresinde delokalize olan azot üzerindeki elektron çiftine sahiptir. Şekil 2.3'te indole ait rezonans yapısı gösterilmektedir. Bu rezonans yapısı incelendiğinde, aromatik halka akımında sadece azot çifti yer aldığı görülür. Bu durum indolün pirol gibi zayıf baz olarak davranmasına ve indol türevlerinin güçlü asitlere karşı oldukça reaktif olmasına neden olur. İndolün sahip olduğu 9 atomda (sekiz karbon ve bir nitrojen) 10 tane elektron delokalize olduğu için, indol bileşiği π-aşırı heterosiklik (π-excessive heterocycle) olarak adlandırılır. Sahip olduğu bu özelliği nedeniyle de benzene kıyasla elektrofilik aromatik yer değiştirme reaksiyonlarında daha yüksek reaktivite gösterir (Lakhdar vd., 2006). Yine indole ait rezonans yapısı incelendiğinde, en yüksek elektron yoğunluğu C-3 bölgesindedir ve bu bölge elektrofilik yer değiştirme reaksiyonlarına karşı en reaktif konumdur. Bir diğer elektrofillere karşı reaktif bölge ise C-2 pozisyonudur.



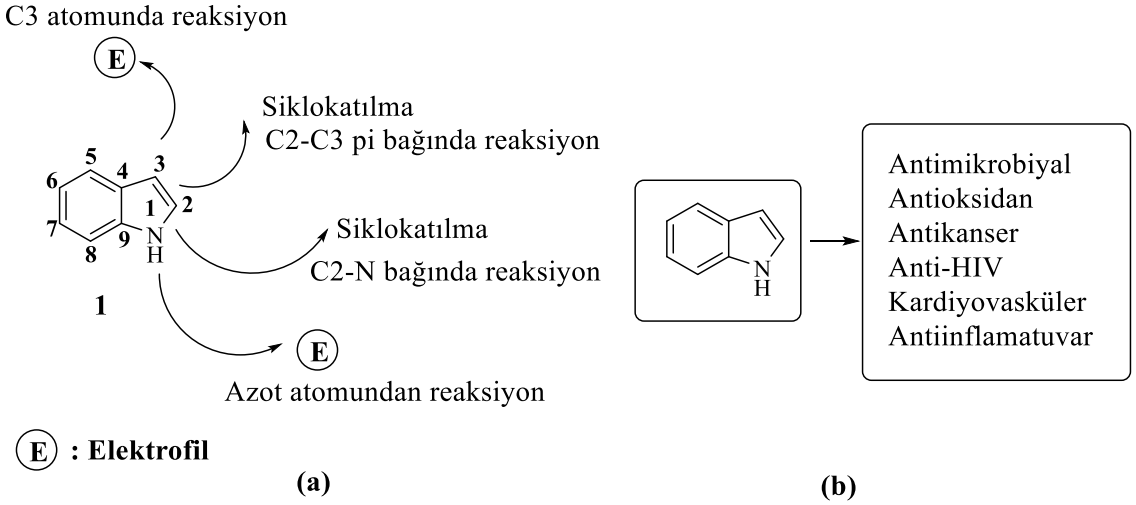
1 **1a** **1b** **1d** **1c**

Şekil 2.3 İndolün rezonans yapısı

İndol iskeletindeki N-H bağı zayıf asidiktir. N-H protonunu deprotonlamak için güçlü bazlar kullanılabilir. Böylece, bazik koşullar altında, alkilasyonlar, açilasyonlar ve geçiş metali katalizli arilasyonlar gibi *N*-substitue reaksiyonları gerçekleşir (Barluenga ve Valdés, 2011).

2.2.1 Biyolojik Aktif İndol Bileşikleri

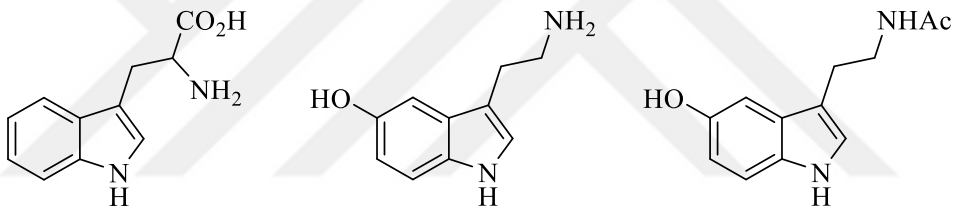
Heterohalkalı bileşiklerin çok yönlülüğü, doğal ürünlere doğrudan dahil olmalarından bu yana yüzyıldan beri bilinmektedir (Vitaku vd., 2014). Azot içeren heterohalkalı bileşiklerin (*N*-heterohalkalılar) farmakolojik açıdan önemli rolü olduğu yapılan araştırmalarla kanıtlanmıştır (Gomtsyan, 2013; Mitchell vd., 2012; Nicolaou ve Chen, 2008; Vo ve Bode, 2014) Proteinlerin, amino asitlerin, biyoaktif alkaloidlerin ve ilaçların yapısını oluşturan çeşitli *N*-heterohalkalı bileşikler araştırmacılar tarafından büyük ilgi görmektedir (Bähn vd., 2010; Knölker ve Reddy, 2002; Rahman vd., 2022; Sharma vd., 2010; Sravanthi ve Manju, 2016; Zhang vd., 2015). Hastalar tarafından kullanılan indol yapısına sahip birçok ilaç bulunmaktadır. Bu bağlamda antimikrobiyal, antiviral, antikanser, antiinflamatuar, inhibitörler ve antioksidan gibi çeşitli farmakolojik özelliklere sahip yeni verimli biyoaktif moleküllerin geliştirilmesinde indol yapısına sahip çok sayıda araştırma yapılmıştır (Abdel-Gawad vd., 2010; Biersack ve Schobert, 2012; Gali vd., 2015; Gordon vd., 2013; Khan vd., 2017; Liu vd., 2016; Mohamed vd., 2014; Patil vd., 2016; Roy vd., 2006; Zhang vd., 2013). Şekil 2.4'te indole ait reaktif bölgeler ve indolün biyoaktif özellikleri gösterilmektedir.



Şekil 2.4 (a) İndolün reaktif bölgeleri ve (b) indolün biyoaktif özellikleri

En önemli indol türevlerinden ve doğal olarak oluşan 22 amino asitten biri olan triptofan esansiyel bir amino asittir (**4**) (Şekil 2.5). Bu aminoasit insan vücudunda sentezlenemez ve dışarıdan sağlanması gerekmektedir (Sainio vd., 1996). Birçok metabolik fonksiyonda önemli rol oynamaktadır. Seratonin (5-hidroksitriptamin (5-HT)) (**5**) ve melatonin (**6**) sentezi ile ilgili ilişkisi nedeniyle depresyon ve uyku bozukluklarının tedavisinde bu amino asitten yararlanılır. Ayrıca bilişsel bozuklukların, kaygının, nörodejeneratif hastalıkların tedavisine yardımcı olmak için de kullanılmaktadırlar (Hibino ve Choshi, 2002; Kałużna-Czaplińska vd., 2019).

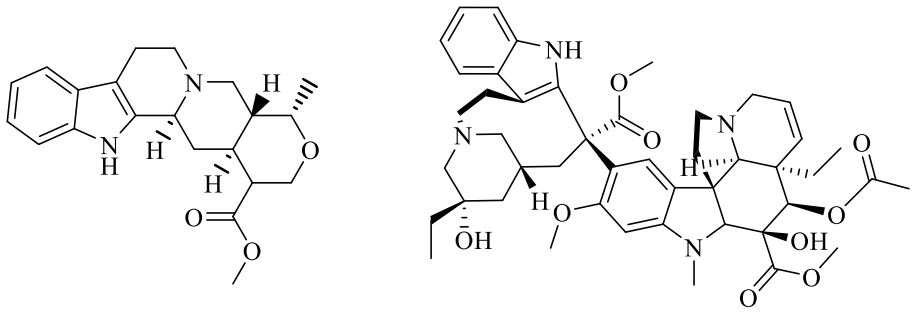
Bir indol türevi olan serotonin (**5**) bir monoamin nörotransmiterdir. Davranış, ruh hali, öğrenme, hafıza, kusma ve damar daralması gibi çok sayıda fizyolojik süreçler dahil olmak üzere çeşitli işlevlere katılmaktadır (Berger vd., 2009; Layunta vd., 2022). Bir diğer indol türevi olan melatonin (**6**) ise bakteri ve ökaryotlar da dahil olmak üzere farklı organizmalar tarafından üretilen ve bunlarda bulunan doğal bileşiktir (Şekil 2.5) (Amaral ve Cipolla-Neto, 2018).



4 Triptofan **5** Serotonin **6** Melatonin

Şekil 2.5 Triptofan, seratonin ve melatonin

İndol ünitesi ilaç keşfinde önemli parçalardan biri olarak kabul edilmekte ve nesiller boyunca araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Çeşitli bitkilerde bulunan bir indol alkaloidi olan ajmalisin (**7**), yüksek tansiyon tedavisinde kullanılan antihipertansif bir ilaçtır (Kurz vd., 1981). Bunun yanı sıra yine bir indol türevi olan vinblastin (**8**), Hodgkin hastalığı, Hodgkin dışı lenfoma ve testis veya meme kanseri gibi çeşitli kanser türlerinin tedavisinde uygulanmaktadır (Şekil 2.6) (Ishikawa vd., 2008).

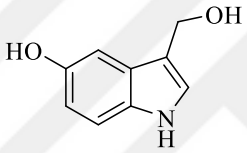


7 **8**

Ajmalisin Vinblastin

Şekil 2.6 Doğal indol türevleri

İndol yapısı brokoli, lahana, karnabahar, lahana türleri gibi sebzelerde nispeten yüksek seviyelerde bulunan indol-3-karbinolde (**9**) de mevcuttur (Şekil 2.7). İndol-3-karbinol insan kanser hücrelerine karşı antikanser/proliferatif aktiviteler sergiler. Meme kanseri, kolon kanseri ve diğer kanser türlerinin önlenmesinde kullanılır (Karimabad vd., 2019).

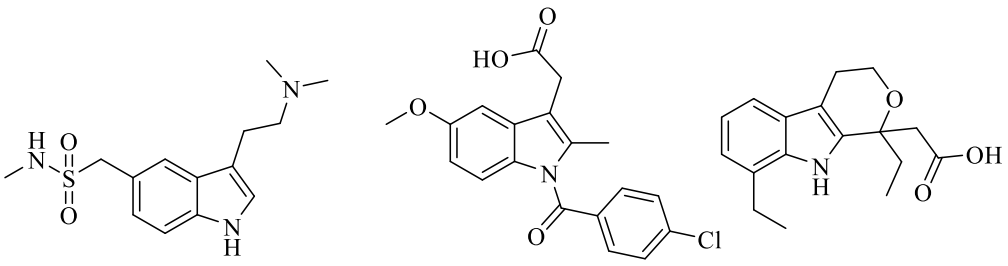


9

İndol-3-karbinol

Şekil 2.7 İndol-3-karbinol bileşiği

Bir indol türevi olan sumatriptan (**10**) migren gibi baş ağrılarının tedavisinde kullanılmaktadır. Molekül olarak serotonine (**5**) benzemektedir ve 5-HT reseptör agonistidir (Juhasz vd., 2005). Ateş, ağrı, sertlik ve iltihaptan kaynaklanan şişkinliği azaltmak için yaygın olarak kullanılan, nonsteroid antiinflamatuar ilaç olan indometasin (**11**) etkili bir ilaçtır. Bu semptomlara neden olduğu bilinen endojen sinyal molekülleri olan prostaglandinlerin üretimini engelleyerek çalışır. Bunu, prostaglandin üretimini katalize eden bir enzim olan siklooksijenazı inhibe ederek yapar (Shekhar vd., 2022). İndometasin (**11**) belirli neoplastik hastalıklar, prematüre doğum, baş ağrısı ve hiperkalsemi tedavisi dahil olmak üzere birçok endikasyonlar için kullanılmıştır. Günümüzde osteoartrit, romatoid ve gut artriti, ankilozan spondilit veya akut ağrılı omuz için kullanılan FDA onaylı bir ilaçtır (Şekil 2.8) (Villar-Martínez vd., 2021).

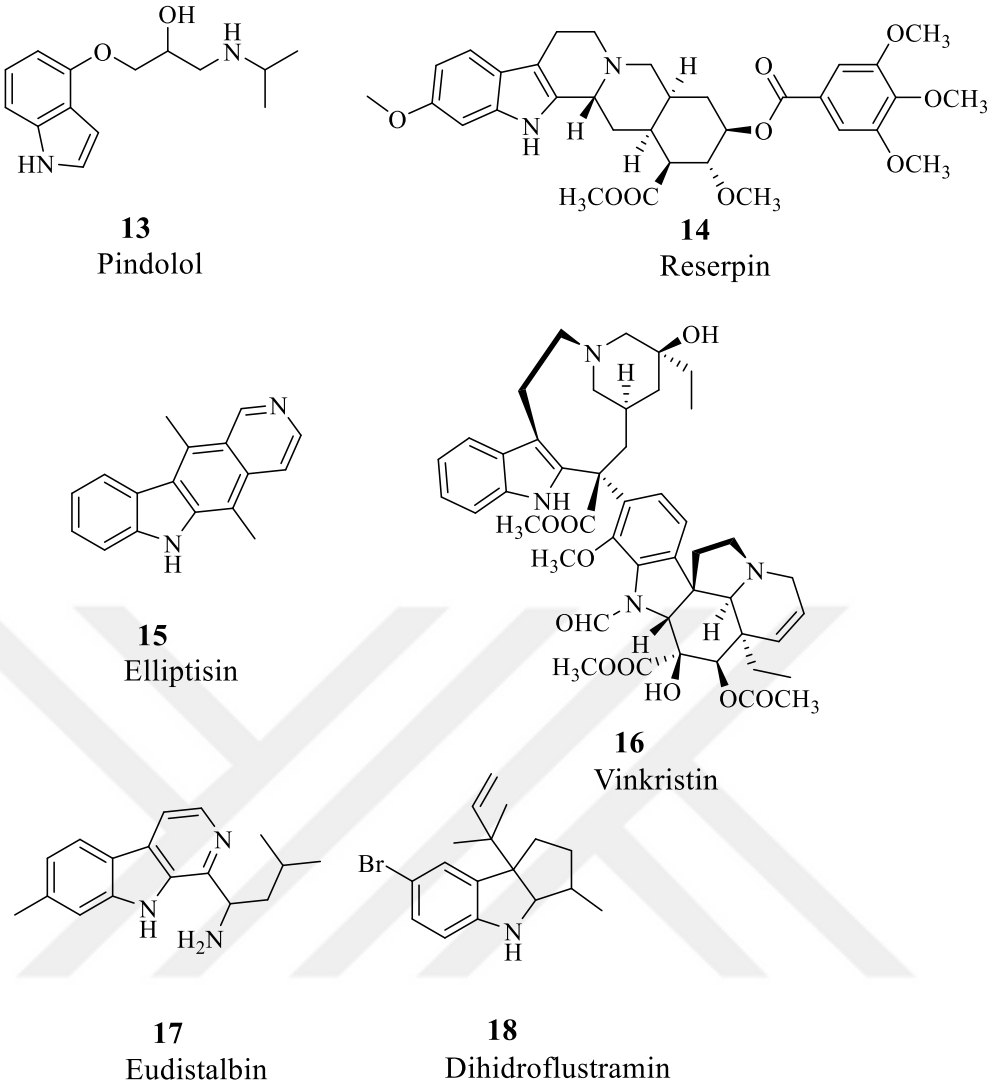


10 Sumatriptan **11** İndometasin **12** Etodolak

Şekil 2.8 İndol türevi biyolojik bileşikler

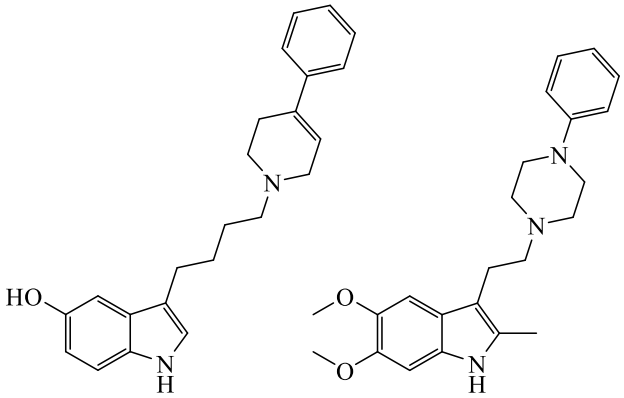
Artritik durumların tedavisinde kullanılan steroidal olmayan antiinflamatuar ilaçlar, dünya çapında en sık reçete edilen ilaç grubudur. Temelde aspirinden türetilirler ve prostaglandinlerin ve diğer antiinflamatuar ajanların biyosentezini azaltarak terapötik etkilerini tetikledikleri gösterilmiştir. Etodolak (**12**), romatoid artrit ve osteoartrit tedavisinde etkili olduğu gösterilen steroidal olmayan bir antiinflamatuar ilaçtır (NSAID) ve diğer NSAID'lerle doğrudan karşılaştırmalarda klinik açıdan anlamlı geniş bir yelpazedeki analizlerde seçici bir COX-2 inhibitörüdür (Şekil 2.8) (Jones, 1999).

Pindolol (**13**), antihipertansif bir ilaçtır. β-adrenerjik reseptörlere bağlanarak β-adrenerjik aktivitelerde azalmaya neden olur. Ayrıca bu ajan serotonin 5-HT_{1A} reseptörlerini bloke ederek beyindeki kullanılabilir serotonini arttırır. Artan serotonin seviyeleri, seçici serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSRI) ve monoamin oksidaz inhibitörlerinin antidepresan etkisini arttırır (Celada vd., 2013). Reserpin (**14**), *Rauwolfia serpentina* (Hint yılan kökü) türünün köklerinden elde edilen bir indol alkoloididir. 1955 yılından beri FDA'nın onayına sahiptir ve klinik uygulamalarda hipertansiyonu tedavi etmek için geliştirilen ilk ajanlardan biridir (Griebenow vd., 1997; Li vd., 2020). Yine *Ochrosia elliptica* türlerinin yapraklarından izole edilen bir piridoindol alkoloid olan elliptisin (**15**) biyolojik aktif indol türevidir. Güçlü antikanser özelliklere sahip olmasının yanı sıra, yüksek toksik etkisinden dolayı medikal amaçlarla kullanılanımı sınırlıdır (Miller ve McCarthy, 2012). Vinkristin (**16**), akut lenfositik lösemi, akut miyeloid lösemi, Hodgkin hastalığı, nöroblastoma ve küçük hücreli akciğer kanseri dahil olmak üzere, kanser türlerini tedavi etmede kullanılan bir kemoterapi ilacıdır (Agrawal, 2007). Ayrıca, antimikrobiyal ve antiparazitik aktivitelere sahip olan sitotoksik eudistalbin (**17**) ve dihidroflustramin (**18**), deniz organizmalarından izole edilmektedirler (Şekil 2.9) (Gul ve Hamann, 2005).



Şekil 2.9 Biyolojik aktif indol türevleri

Şekil 2.10'da indol yapısına sahip bazı ilaç örnekleri verilmiştir. Roksindol (**19**), orjinal olarak şizofrenik sendromların tedavisi için geliştirilmiş güçlü otoreseptör "seçici" dopamin antagonistidir. İlaç ayrıca 5-HT alımını engeller ve 5-HT_{1A} agonistik etkileri vardır (Gründer vd., 1993). Oksipertin (**20**), nöroleptik bir ilaçtır ve başlangıçta 1960'larda şizofreni tedavisi olarak piyasaya sürülmüştür. Şizofreni, mani, rahatsız davranış ve şiddetli anksiyete dahil olmak üzere çeşitli psikozların tedavisinde kullanılmıştır (Bak vd., 1969).



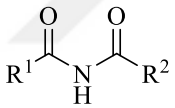
19
Roksindol
Şizofren ilacı

20
Oksipertin
Antipsikotik ilaç

Şekil 2.10 İndol içeren ilaç örnekleri

2.3 Maleimid ve Kimyası

İmid, nitrojen atomunun iki karbonil grubuna bağlı olduğu amid formudur. "R^1-C(=O)-NH-C(=O)-R^2" (**21**) fonksiyonel grubuna sahip olan bu bileşikler, organik kimyanın en önemli bileşiklerinden biridir (Şekil 2.11).

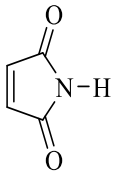


21

Şekil 2.11 İmid yapısı

Birçok imid, karboksilik asitlerden türetilen halkalı bileşiklerdir ve aldıkları isimler asidin ismini yansıtmaktadır (Martynov, 2005). Yüksek derecede polar olan imidler, polar ortamlarda iyi çözünürlük sergilerler. Amonyaktan türetilen imidler için -NH merkezi asidiktir ve hidrojen bağına katılabilirler. İmidlerin özel reaktivitesi, -NH grubu ve iki karbonil grubunun kısmi asitliğinin bir sonucudur (Chiriac vd., 2007).

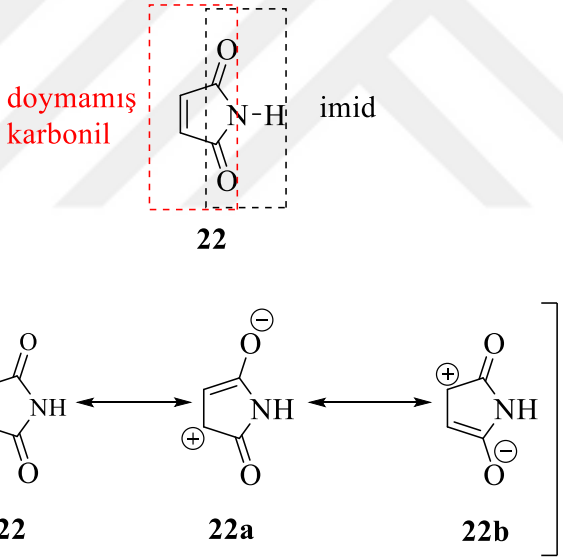
Maleimid (**22**), beşli halkada iki karbonil grubu ve azotun bir 1*H*-pirol-2,5-dion yapısı oluşturduğu pirol tipi α,β-doymamış siklik bir dikarboksimittir. Maleimid ve türevleri, maleik anhidritten, aminler ve ardından dehidrasyon yoluyla işlenerek hazırlanır (Bırkınshaw vd., 1963).



22

Şekil 2.12 Maleimid yapısı

Maleimid türevleri kimyasal reaktivite açısından çok dikkat çekici bileşiklerdir. Dienler ile Diels-Alder reaksiyonu ve vinilene tiyol veya aminlerin nükleofilik katılması gibi bazı özel reaksiyonları verirler. Ayrıca yapısındaki -NH grubunun metil veya fenil gibi alkil veya aril grubu ile değiştirilmesi onu kuvvetli maleimid türevi haline getirmektedir (Hamad ve Abed, 2014). Maleimidin rezonans yapısı incelendiğinde ise sahip olduğu çifte bağın halka içinde yer değiştirmesi hem anyonik hem de radikal katılmalarda elektron alıcı ve dienofil özelliklerini kazandırmaktadır (Şekil 2.13).

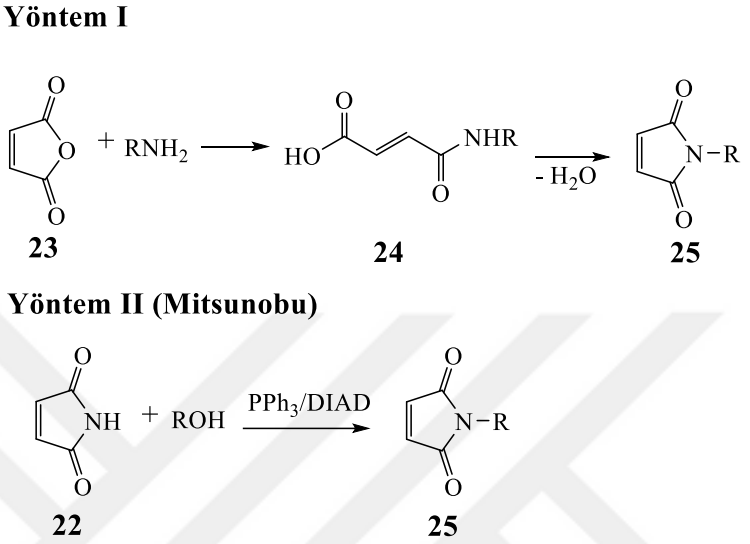


Şekil 2.13 Maleimidin mezomerik yapısı

2.3.1 Maleimid Halka Oluşumu

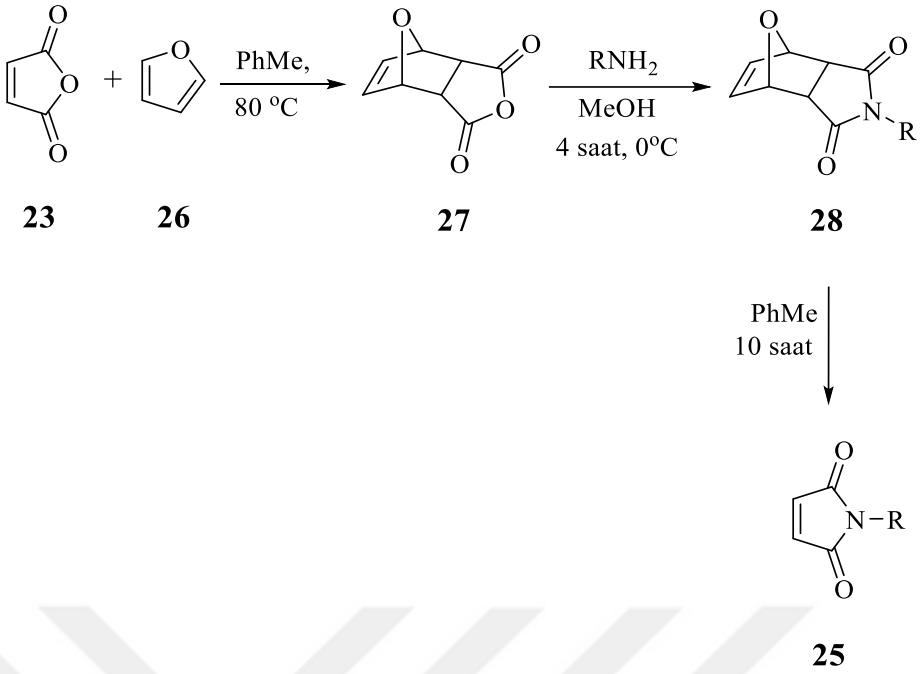
Maleimid halka oluşumu için en klasik yöntem substitue amin ile maleik anhidritin (**23**) kondenzasyon reaksiyonu ardından genellikle asitler tarafından desteklenen ara maleamik asidin (**24**) dehidrasyonunu içerir (Şekil 2.14, yöntem I). Bu yöntemde başlangıç maddeleri aminlerle sınırlıdır ve elde edilen verimler genelde düşüktür (Corrie, 1994; Deshpande vd., 2010; Heitz vd., 1968; Mehta vd., 1960; Nielsen ve Buchardt, 1991; Reddy vd., 1997; Wang, 1990; Zentz vd., 2002) *N*-Substitue maleimidler Mitsunobu

reaksiyon koşulları altında uygun bir alkol ile maleimidlerin (**22**) doğrudan alkilasyonu ile elde edilebilir (Şekil 2.14, yöntem II) (Dastrup vd., 2003; Mitsunobu, 1981; Sammes ve Thetford, 1989). Ancak bu yöntem sadece basit alkil sistemlerine uygulanabilir bir reaksiyondur, ilave aktive edici reaktifler gerektirmektedir ve bu da son aşamada yan ürünlerin oluşmasına neden olmaktadır (Walker, 1994).



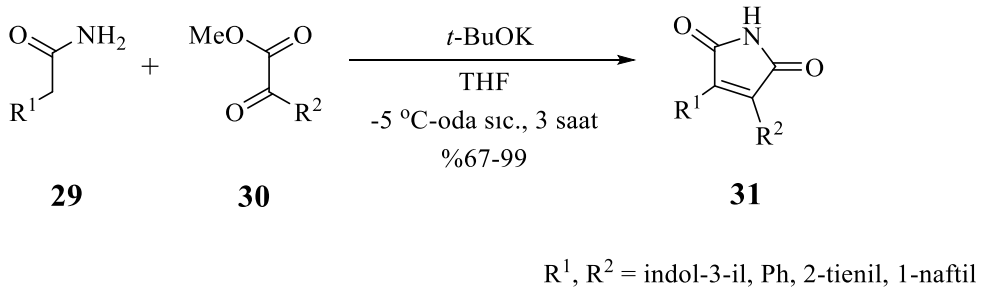
Şekil 2.14 Maleimidlerin hazırlanması için klasik yöntemler

Maleimid bileşiklerini elde etmek için kullanılan bir diğer yöntem ise üç aşamalı bir yöntemdir. İlk aşamada maleik anhdrit (**23**) ve furanın (**26**) Diels-Alder kondenzasyonu meydana gelir, ikinci aşamada reaksiyonu üzerine uygun amin eklenerek *N*-substitue imidin (**28**) oluşumu gerçekleşir. Üçüncü aşama ise maleik karbon-karbon çifte bağının son bir retro Diels-Alder rejenerasyonunu içerir (Şekil 2.15) (Salewska ve Milewska, 2014). Bu yöntem ılımlı koşullar altında, yüksek verim ve katalizöre gerek kalmadan gerçekleştirilir.



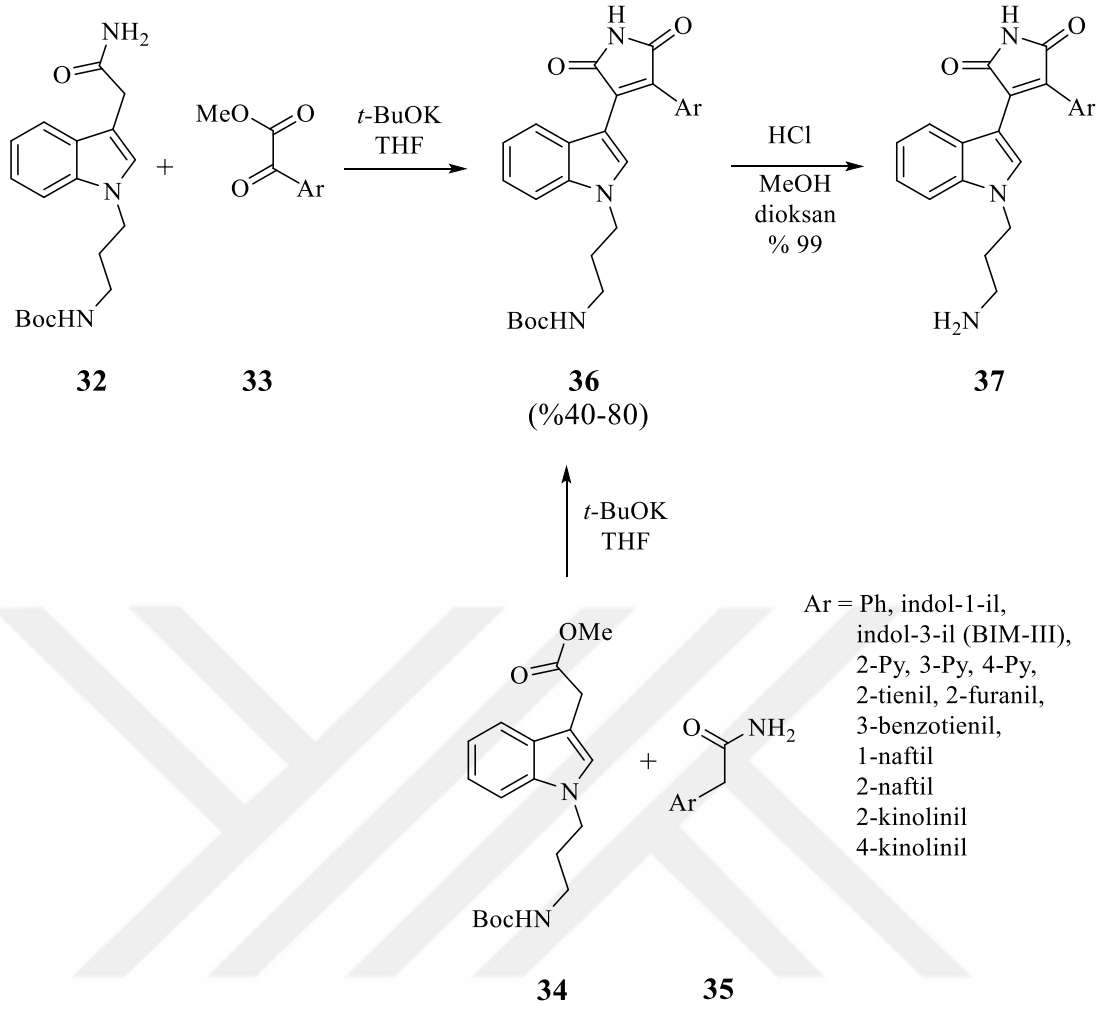
Şekil 2.15 Temel maleimidlerin sentezi

Maleimidler Faul yöntemi olarak adlandırılan 2-substitue asetamidlerin ve α-keto asitlerin halkalaşma reaksiyonu sonucu da sentezlenebilirler. Margaret Faul tarafından 1998'de keşfedilen yöntem, asetamidler (**29**) ve α-keto esterlerin (**30**) kondenzasyonunu içerir (Şekil 2.16) (Faul vd., 1998, 1999). Hedeflenen maleimidler (**31**) yüksek verimlerle elde edilirler (Ye vd., 2013).



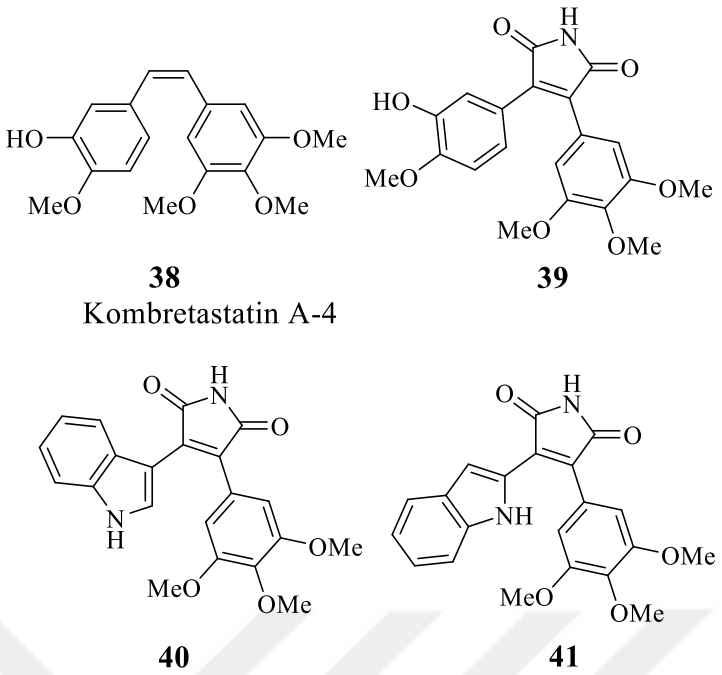
Şekil 2.16 Faul yöntemi ile maleimid sentezi

Faul tarafından geliştirilen yöntem, çeşitli 3-aril-4-(indol-3-il)-maleimidlerin, 3-(indol-1-il)-4-(indol-3-il)maleimid ve 3,4-bis(indol-3-il)maleimidlerin sentezi için de başarıyla kullanılmıştır. Örneğin literatür incelendiğinde, asetamid türevleri **32** ve **35** ile esterler **33** ve **34** ara ürün **36**'yı oluşturarak bir dizi 3-aril-4-(indol-3-il)-maleimid türevleri (**37**) bu yöntemle sentezlenmiştir (Şekil 2.17) (Levy vd., 2008; Levy vd., 2008; Lu vd., 2009).



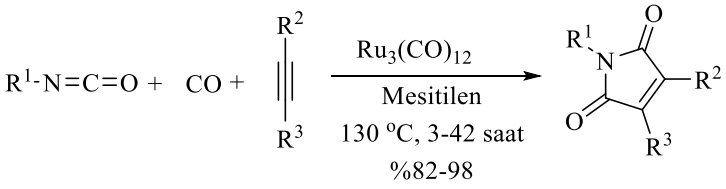
Şekil 2.17 3-Aril-4-(indol-3-il)-maleimid türevleri sentezi

Kombretastatin A-4 (**38**) Güney Afrika ağacı *Combretum caffrum*'un kabuğundan izole edilen, antitübülin aktivitesine sahip bir antikanser ajandır. Yine Faul yöntemi kullanılarak 2006 yılında Peifer ve arkadaşları tarafından kombretastatin A-4 analogları olan 3,4-di(aril)maleimidler (**39-41**) sentezlenmiştir (Şekil 2.18) (Peifer vd., 2006).



Şekil 2.18 Kombretastatin A-4 (**38**) analogları 3,4-diarilmaleimidler (**39-41**)

Disubstitue (ya da bazen monosubstitue) alkinlerden maleimid türevlerinin sentezini mümkün kılan çeşitli yaklaşımlar bilinmektedir. 2006 yılında Kondo ve arkadaşları izosiyanat **42**, alkin **43** ve karbon monoksitin [2+2+1] siklokatılmasıyla simetrik 3,4-disubstitue maleimidler olan **44**'ü sentezlemişlerdir. Polisubstitue maleimid sentezi için hızlı ve ekonomik olan bu reaksiyonda katalizör olarak $Ru_3(CO)_{12}$ kullanılmıştır (Şekil 2.19) (Kondo vd., 2006).

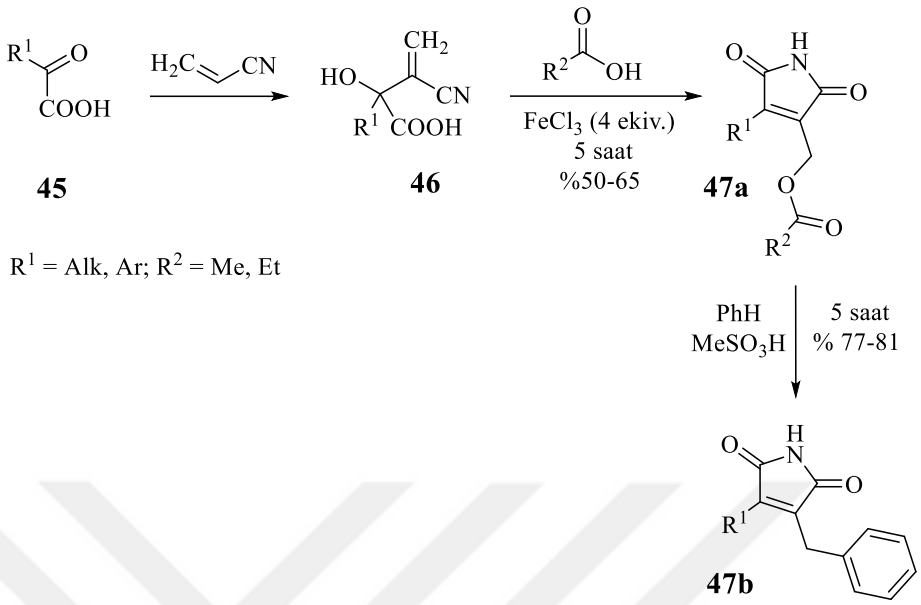


R^1 = Ph, 4-MeC_6H_4, 4-$MeOC_6H_4$, 4-ClC_6H_4, 4-$CF_3C_6H_4$, PhC_6H_4, Cy, Ad, *t*-Bu
R^2, R^3 = *n*-Pr, TMS, Ph, 4-MeC_6H_4

Şekil 2.19 3,4-Disubstitue maleimide türevleri sentezi

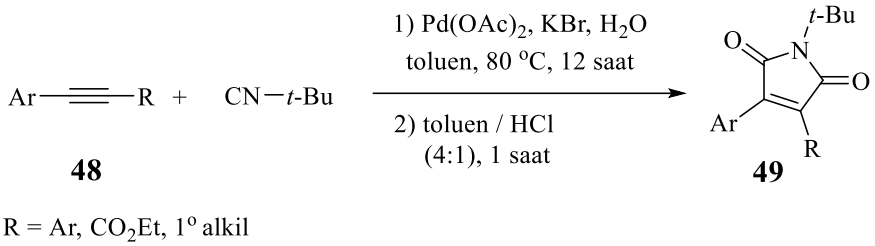
Baylis-Hillman reaksiyon yöntemi 1972'den beri organik kimyada karbon-karbon bağını meydana getirmek için çoğu kez kullanılmıştır (Basavaiah vd., 2010). Karboksilik asit ve siyano grubu içeren alkenin reaksiyou sonucu oluşan, elektron çekici bir nitril grubuna sahip Baylis-Hillman bileşiğinin (**46**) belirli koşullar altında maleimidlere **47a** dönüştürülebildiği ve ardından metansülfonik asit ile benzen içinde geri soğutucu sistem

altında 3-benzilmaleimid türevlerine **47b** dönüştürülebildiği bildirilmiştir (Şekil 2.20) (Basavaiah, 2011).



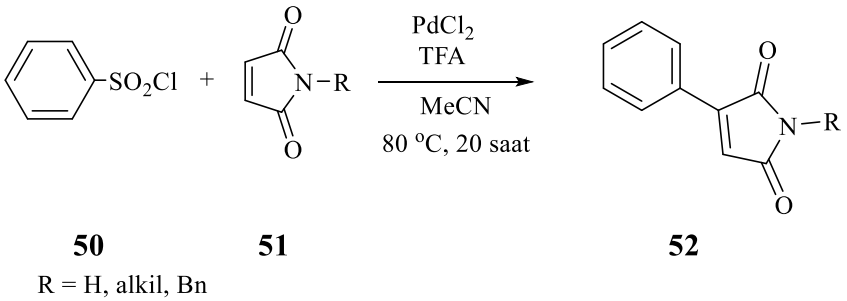
Şekil 2.20 Baylis-Hilmann yöntemi ile maleimid sentezi

2016 yılında Hu ve grubu tarafından yapılan bir çalışmada, alkinlerin (**48**) izosiyanürlerle paladyum katalizörü varlığında reaksiyonu ve ardından hidroliz sonucu ılımlı koşullar altında çeşitli polisubstitue maleimid türevleri (**49**) sentezlenmiştir. Bu reaksiyonda izosiyanür hem C hem de N kaynakları olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.21) (Hu vd., 2016).



Şekil 2.21 Alkinlerden Paladyum katalizörlüğünde maleimid sentezi

2020 yılındaki bir çalışmada Abbasnia ve çalışma grubu hem mono- hem de diaril maleimidlerin seçici sentezine yönelik yeni yollar geliştirmişlerdir. Sıcaklığa bağlı olarak desülfitatif arilasyon yoluyla hem mono- hem de diaril ve simetrik/simetrik olmayan maleimidler (**52**) bildirilmiştir (Şekil 2.22) (Abbasnia vd., 2020).



50 **51** **52**

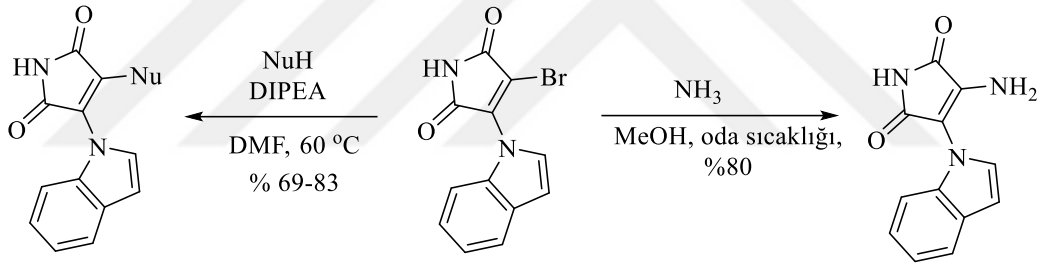
R = H, alkil, Bn

Şekil 2.22 Desülfitatif arilasyon ile maleimid sentezi

2.3.2 Maleimid Halkasının Reaksiyonları

2.3.2.1 Maleimidlerin *N*-Nükleofillerle Reaksiyonu

4-Substitue 3-(indol-1-il)maleimid türevleri (**54**), 3-bromo-4-(indol-1-il)maleimid **53**'ün *N*,*N*-diisopropiletilamin (DIPEA) varlığında ve *N*,*N*-dimetilformamid (DMF) çözücüsü içinde aminler ile ısıtılması sonucu meydana gelmiştir. Bileşik **54**'ün oda koşullarında metanol çözücüsü ve amonyak varlığında reaksiyonu sonucunda 3-amino-4-(indol-1-il)-maleimid (**55**) sentezlenmiştir (Şekil 2.23) (Lakatosh vd., 2011).

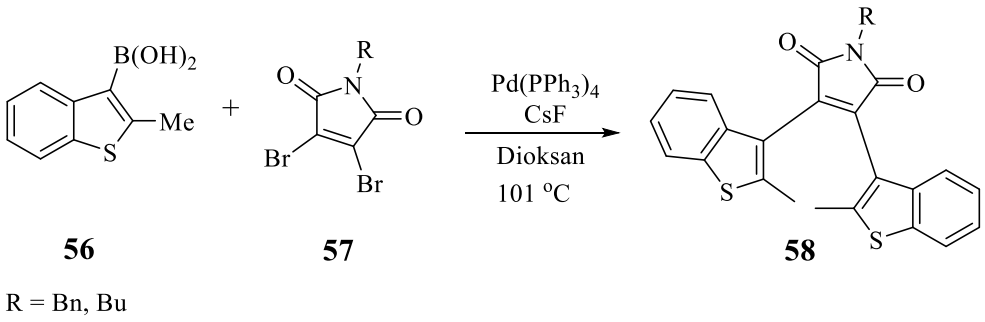


54 **53** **55**

Şekil 2.23 Maleimidlerin *N*-nükleofillerle reaksiyonu

2.3.2.2 Maleimidlerin Cross-Coupling Reaksiyonları (Çapraz Bağlama Reaksiyonları)

N-substitue 3,4-dibromomaleimidlerin (**57**) $Pd(Ph_3P)_4$ ve CsF varlığında aril(hetaril)boronik asitlerle (**56**) çapraz bağlanmasıyla 3,4-diaril (veya hetaril) maleimidlerin (**58**) sentezi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonda yüksek ürün verimi elde edilmiştir ve reaksiyon nispeten az miktarda katalizör gerektirmektedir (Şekil 2.24) (Shorunov vd., 2006).

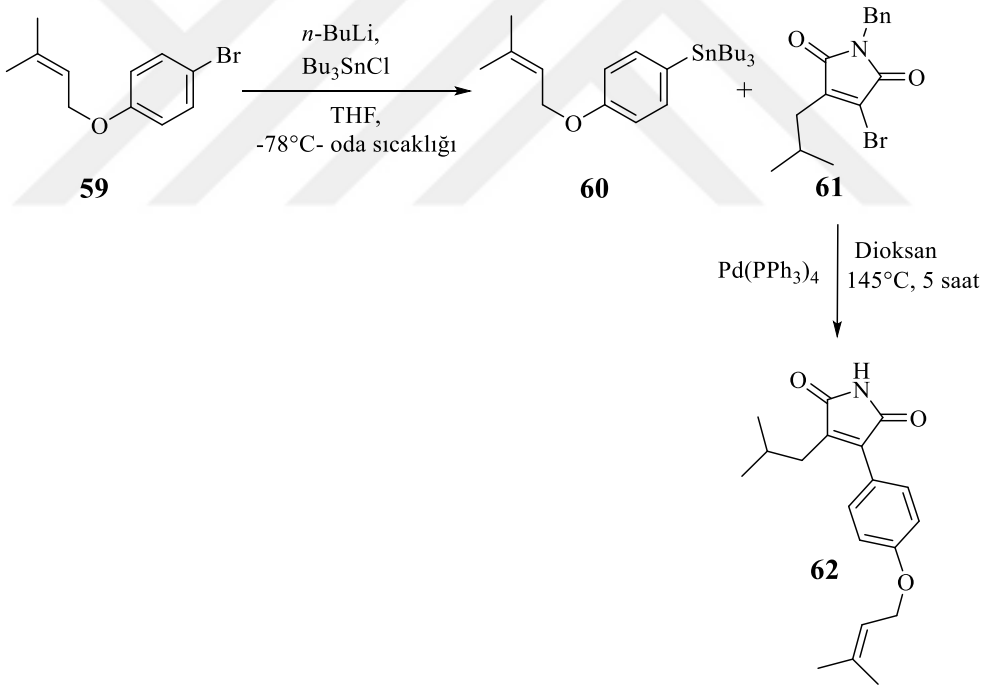


56 **57** **58**

R = Bn, Bu

Şekil 2.24 Maleimidlerin çapraz bağlama reaksiyonu

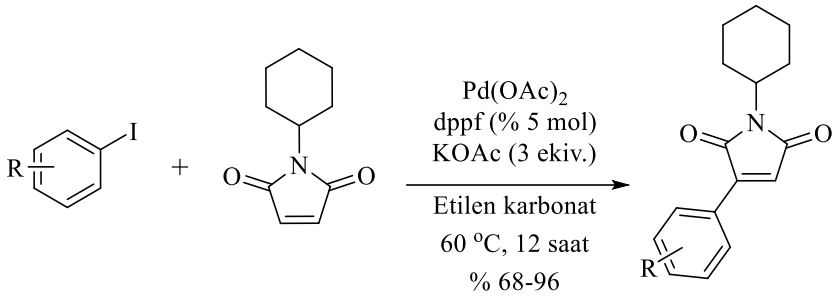
Camforataimid (**62**) bileşiği güçlü antitümör aktivitesi ve insan immün yetmezliği virüsüne karşı aktivite gösterir. Bu bileşiğin stereoselektif olarak eldesinin Stille reaksiyon koşulları altında gerçekleştirildiği rapor edilmiştir (Cheng vd., 2008; Stewart vd., 2007). Sentez, bromür **59**'dan elde edilen tributil[4-(3-metilbutil-2-eniloksi)fenil]kalayın (**60**) paladyum katalizörü kullanılarak *N*-benzil-3,4-dibromomaleimid (**61**) ile reaksiyona girmesi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.25).



59 **60** **61** **62**

Şekil 2.25 Camforataimid (**62**) bileşiğinin Stille reaksiyonu ile sentezi

İyodobenzen türevleri (**63**) ve 1-sikloheksilmaleimid (**64**) ile etilen karbonat ortamında 1-sikloheksil-3-fenilmaleimidler (**65**) Heck reaksiyonuyla elde edilmişlerdir. Bu reaksiyonda 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene (dppf) katalizör olarak kullanılmış ve ayrıca başka asitlerin ve çözücülerin kullanılması verimlerin düşmesine neden olmuştur (Şekil 2.26) (Lim ve Zhou, 2015).



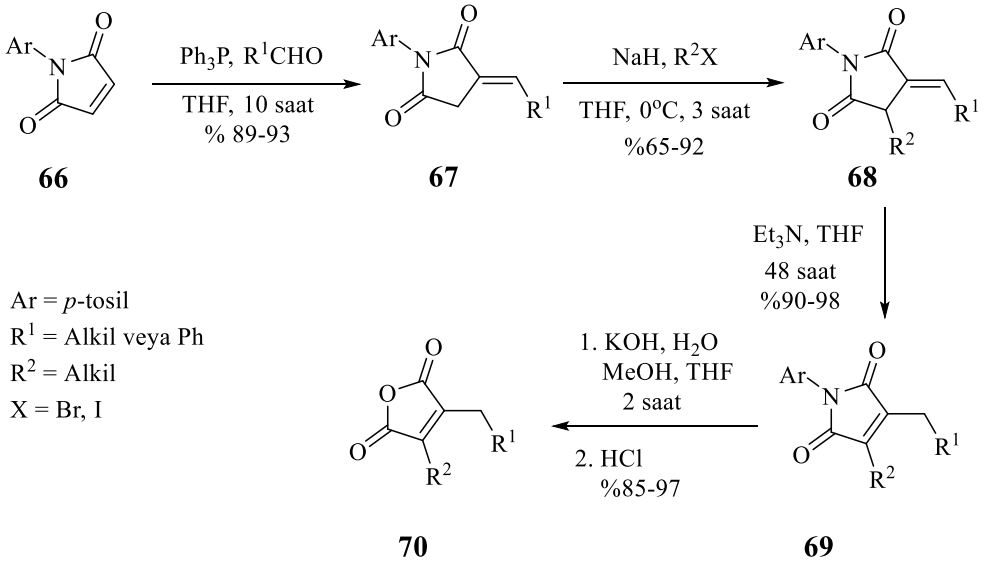
63 **64** **65**

R = H, 2-Me, 2-MeO, 2-COMe, 2-CO_2Me, 4-Cl, 4-MeO, 4-CO_2Me

Şekil 2.26 Paladyum katalizörlü Heck reaksiyonu ile maleimid sentezi

2.3.2.3 *N*-Substitue Maleimidlerin Aldehitler ile Kondenzasyon Reaksiyonları

Doğal kaynaklardan izole edilen 3,4-dialkilmaleimidler (**69**) ve ilgili maleik anhidritler (**70**) sentetik olarak elde edilebilmektedir. Ph_3P varlığında başlangıç maddesi olan *N*-arilmaleimidler (**66**), benzaldehit veya alifatik aldehitler ile kondenzasyon reaksiyonu vererek 3-alkilidinsüksinimidlerin (**67**) oluşumuna yol açmaktadır. Bileşik **67**'nin tetrahidrofuran (THF) çözücüsünde ve NaH bazı kullanılarak alkil ve benzil halojenürler ile alkilasyonu sonucu 4-substitie-3-alkilidinsüksinimitleri (**68**) meydana gelmektedir. Elde edilen bileşiklerin trietilamin ile ısıtılmasından sonra meydana gelen izomerizasyon, 3,4-dialkilmaleimidlerin (**69**) oluşmasına neden olmaktadır. Bileşik **69**'un alkali hidrolizi ve ardından HCl ilavesi sonucunda maleik anhidrit türevleri (**70**) elde edilmektedir (Şekil 2.27) (Haval ve Argade, 2008).

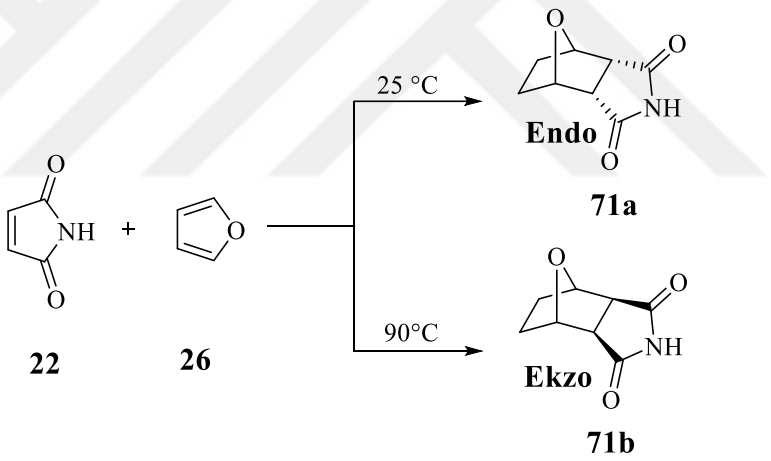


66 **67** **68** **69** **70**

Şekil 2.27 *N*-Substitue maleimidlerin aldehitlerle kondenzasyon reaksiyonu

2.3.2.4 Maleimidlerin Diels-Alder Reaksiyonu

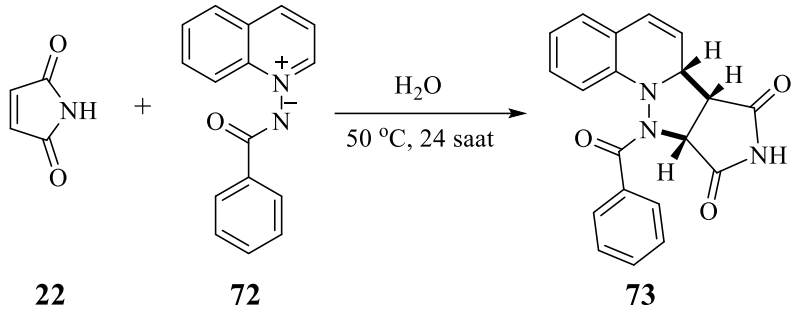
Diels-Alder reaksiyonu bir dienofil olan maleimid (**22**) ile bir dien olan furan (**26**) arasında [4+2] siklo katılma reaksiyonu yoluyla gerçekleşir. Maleimid ve furan arasındaki reaksiyon, genellikle oda sıcaklığından 100 °C'ye kadar olan ılımlı sıcaklıklarda meydana gelir. Bu reaksiyonda biri endo (**71a**) diğeri ekzo (**71b**) olarak adlandırılan iki diastereomer karışımı meydana gelmektedir. Bazı reaksiyon parametrelerinin endo/ekzo Diels-Alder oranı üzerindeki etkisi mevcuttur. Örneğin elektron çeken substituentlere sahip furan ya da maleimid türevleri tercihen endo ürün oluşumunu indüklemektedir. Ayrıca furan üzerinde elektron çeken bir substituentin ve/veya maleimid üzerinde elektron çeken bir mezomerik substituentin olması endo ürünün daha hızlı tersine çevirilebilirliği ile sonuçlanmıştır (Şekil 2.28) (Froidevaux vd., 2015). Bunun dışında endo/ekzo oluşumu için sıcaklık da belirli bir parametredir. Diels-Alder reaksiyonunda endo ürün verimi her zaman daha fazladır, fakat sıcaklığın artması ile ekzo ürün verimi de artmaktadır (Ehrhardt vd., 2020).



Şekil 2.28 Maleimidin Diels-Alder reaksiyonu

2.3.2.5 Maleimidlerin 1,3-Siklokatılma Reaksiyonu ([3+2] Siklokatılma)

Kinolinyum imidlerin (**72**) maleimidler ile katalizör kullanılmadan ılımlı koşullar altında 1,3-dipolar siklokatılma reaksiyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.29). Yüksek verimde elde edilen ürünler diastereoselektif özellikte ve çevre dostudur (Kumar vd., 2018).

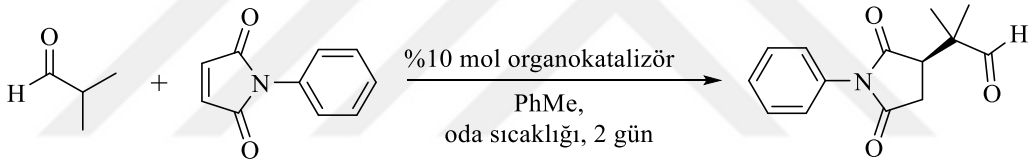


22 **72** **73**

Şekil 2.29 Maleimidlerin 1,3-siklokatılma reaksiyonu

2.3.2.6 Maleimidlerin Michael Katılması Reaksiyonu

Yapılan çalışmalar, maleimidlerin ilgili bileşiklerin hazırlanmasında birçok asimetrik organokatalitik dönüşümde yapı taşları olarak başarıyla kullanıldığını göstermektedir (Chauhan vd., 2013). 2018 yılında Torregrosa-Chinillach ve arkadaşları tarafından organokatalizör varlığında *N*-substitue maleimidlerin (**75**) α,α-disubstitue aldehitler (**74**) ile enantiyoselektif Michael katılma reaksiyonu gerçekleştirilmiştir (Torregrosa-Chinillach vd., 2018).

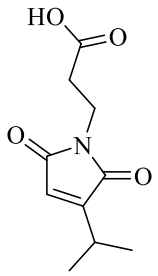


74 **75** **76**

Şekil 2.30 Organokatalizörlü ortamda maleimid bileşiklerinin α,α-disubstitue aldehit bileşikleri ile enantiyoselektif reaksiyonu

2.3.3 Biyolojik Aktif Maleimid Türevleri

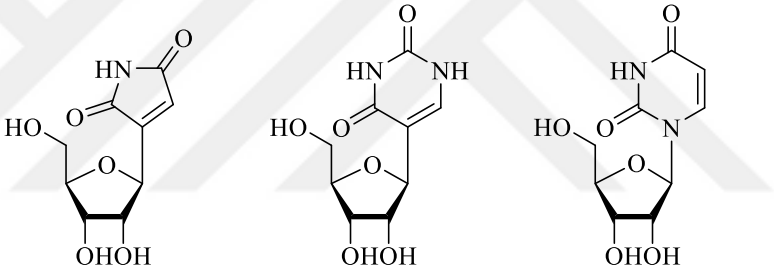
Bazı doğal maleimid ürünleri bulunmaktadır ve bunların birçoğu farklı biyolojik aktivite göstermektedir. Örneğin, Şekil 2.31'de gösterilen farinomalein (**77**) $C_{10}H_{13}NO_4$ formülüne sahip doğal maleimiddir. Entomopatojenik mantar *Paecilomyces farinosus*'tan maleimid izole edilmiştir. Bu maleimid türevinin *Phytophthora sojae* P6497 bitki patojenine karşı güçlü ve seçici aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Putri vd., 2009).



77

Şekil 2.31 Farinomalein yapısı

Sitotoksik showdomisin (**78**), *Streptomycin showdoenesis*'ten izole edilen bir doğal maleimid ürünüdür. Showdomisin, psödouridin (**79**) ve üridin (**80**) yüksek yapısal benzerlik gösteren güçlü bir C-glikozil nükleosit antibiyotiktir ve aktivitesi maleimid parçasının alkilleyici özelliğine bağlıdır. İnsan bağırsağında, solunum yolunda ve derisinde bulunan *Staphylococcus aureus* bakteri türüne karşı antibiyotik etkisi mevcuttur (Şekil 2.32) (Böttcher ve Sieber, 2010).



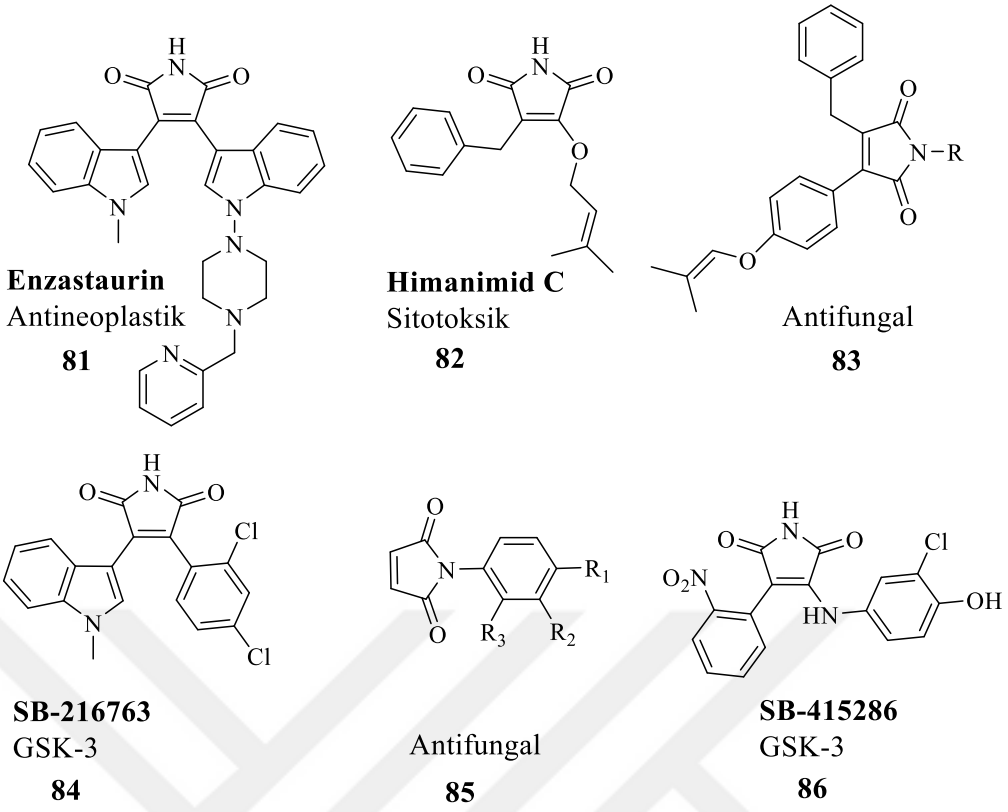
78 Showdomycin

79 Psödouridin

80 Üridin

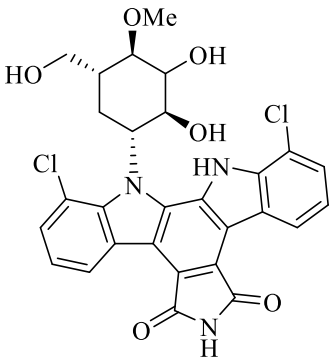
Şekil 2.32 Showdomycinin, psödouridin ve üridin yapılarına benzerliği

Çoğu maleimid, insanlar ve tüm canlı organizmalarda anahtar rol oynayan birçok enzimin aktif inhibitörleri şeklinde belirlenmiştir. Bu bağlamda çeşitli maleimid türevleri oluşturulmuş ve antibakteriyel antitumor, antifungal, analjezik, tüberkülostatik gibi aktiviteler ile ilgili çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.33) (Fabbro vd., 2012; Kumar vd., 2014; Sintesis vd., 2016).



Şekil 2.33 Biyolojik aktif maleimid türevleri

Maleimid yapılı *Nocardia aerocolonigenes* adlı bakteriden izole edilen antibiyotik rebeccamycin (**87**), sadece protein kinazlara karşı aktif olmakla kalmamış, aynı zamanda başka bir enzim olan DNA topoizomeraz I'in inhibitörü olarak tanımlanmıştır (Şekil 2.34). Hücre büyümesi ve proliferasyonunda DNA topoizomeraz I'in önemi nedeniyle potansiyel bir antikanser ajanı olarak görülmektedir. Bu bileşiğin analogları renal hücreli kanser ve löseminin tedavisi için klinik deneylerde çokça kullanılmaktadır (Anizon vd., 2009; Nettleton vd., 1985; Yamashita vd., 1992).



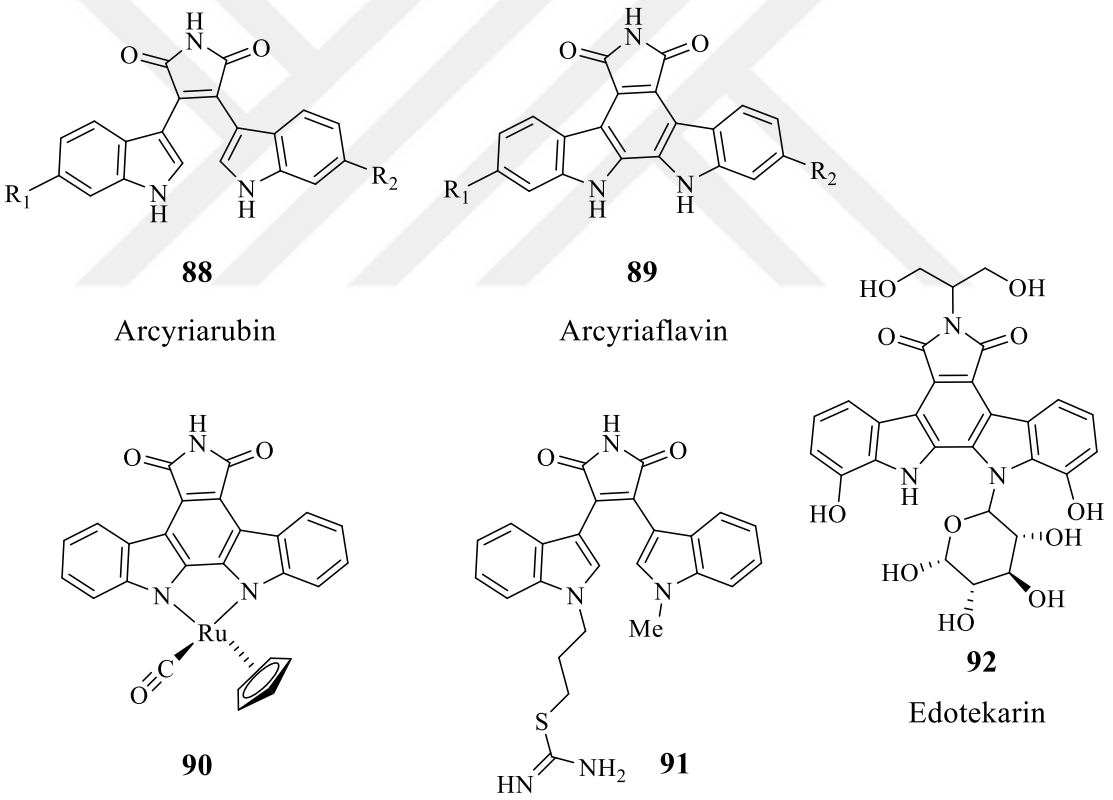
87

Rebeccamycin

Şekil 2.34 Topoizomeraz I inhibitörü rebeccamycin yapısı

İndolo[2,3-*a*]-karbazol kromofor grubu içeren arcyriarubin (**88**) ve arcyriaflavin (**89**) türevlerinin protein kinaz C'nin güçlü inhibitörleri olduğu bulunmuştur (Panov vd., 2018). Şekil 2.35'te gösterilen indolilmaleimid türevleri olan **90** ve **91** kanser hücresinin büyümesini ve göçünü bloke edebileceği bildirilmiştir. Bu moleküller çeşitli onkojenik yolları düzenleyen serin/treonin kinaz sınıfına ait PIM1'in inhibitörleri olarak tanımlanmıştır. Ortaya çıkan durum ise bu ve benzeri moleküllerin antikanser ilaçlar için potansiyel model olarak düşünülmesine sebep olmaktadır (Merkel vd., 2012).

Topoizomeraz I inhibitörü olan maleimid türevi edotekarin (**92**) beyin veya omurilikte oluşabilen primer kötü huylu beyin tümörü olan glioblastoma karşı aktivite göstermiştir. Ayrıca 1999 yılında Tomoko ve çalışma arkadaşları tarafından sentezlenen edotekarin güçlü DNA Top inhibitör etkinliğiyle klinikte kullanılmaktadır (Gani ve Engh, 2010; Sherer ve Snape, 2015; Yoshinari vd., 1999).

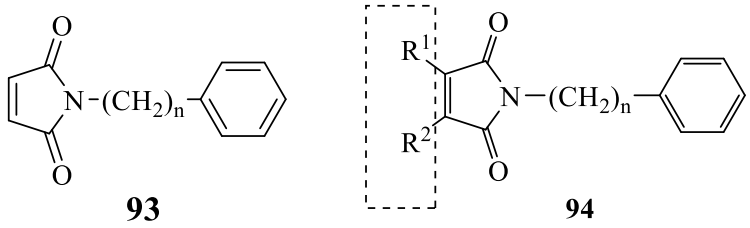


Şekil 2.35 Bazı biyoaktif maleimid türevleri

Lityum, bipolar bozukluğun tedavisinde oldukça etkilidir ve embriyonik gelişim, glikojen sentezi, hematopoez ve diğer süreçler üzerinde çok sayıda etkiye sahiptir (Phiel ve Klein, 2001). Yapılan çalışmalar bazı maleimid türevlerinin klinik açıdan etkin lityum tuzlarına benzer şekilde, bipolar bozuklukların tedavisinde kullanılan psikotrop ilaçların elde

edilmesi için önemli potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (Panov vd., 2018; Wada, 2009).

Sortino ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 3- ve 4- konumuna bağlı substituentlerin antifungal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Gerçekleştirilen çalışmada alkil zincir uzunluğunun antifungal aktivite üzerine bir etkisi olduğu belirlenmiştir (Şekil 2.36) (Sortino vd., 2011).

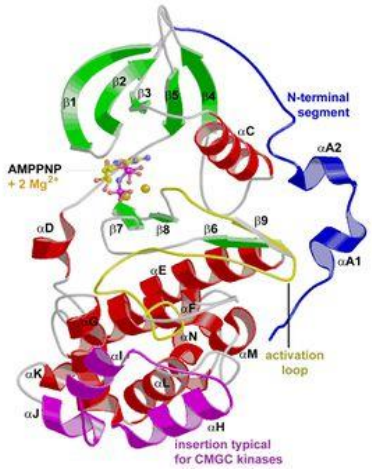


Şekil 2.36 Antifungal aktivite gösteren maleimid türevleri

3
GLİKOJEN SENTAZ KİNAZ-3 (GSK-3)

3.1 Glikojen Sentaz Kinaz-3 Enzimi

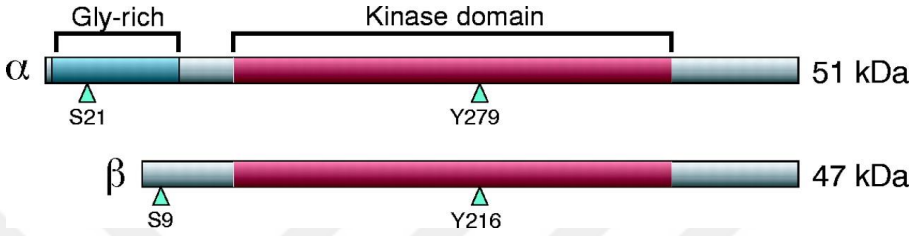
GSK-3, glikojen sentaz enzimini fosforile etme ve inaktive etme yeteneğine sahip bir enzim olarak ilk kez izole edilen ve saflaştırılan bir serin/treonin kinazdır (Embi vd., 1980; Woodgett ve Cohen, 1984). İlk olarak 1980 yılında aynı adı taşıyan glikojen sentaz için bir düzenleyici kinaz olarak keşfedilmiştir. Keşfedilen bu enzimin özellikleri iskelet kasındaki iki iyi karakterize edilmiş glikojen sentaz kinaz olan hem siklik adenozin monofosfata (siklik-AMP ya da cAMP) bağlı protein kinazdan hem de fosforilaz kinazdan farklı olduğunu göstermiştir ve bu nedenle bu enzim glikojen sentaz kinaz-3 olarak isimlendirilmiştir (Şekil 3.1) (Embi vd., 1980).



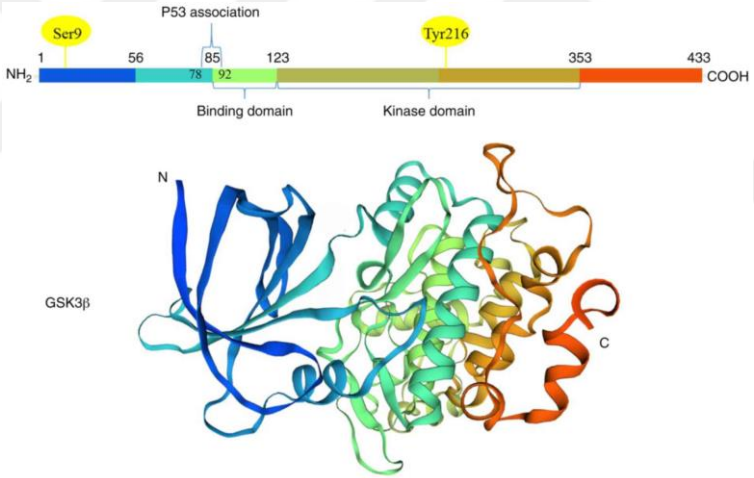
Şekil 3.1 GSK-3 yapısı

Mitojenle aktive olan protein kinaz ailesinin bir üyesi olan GSK-3, GSK-3α (51 kDa) ve GSK-3β (47 kDa) şeklinde yüksek oranda korunmuş iki homolog izoforma sahiptir. 1980'de keşfedilen bu iki izoformun her ikisi de çok işlevli serin ve treonin protein kinazlarıdır ve tüm ökaryotlarda yaygın olarak görülür (Doble ve Woodgett, 2003; Grimes ve Jope, 2001). İnsan kromozomu tarafından kodlanan GSK-3α ve GSK-3β, kinaz alanlarında %98 oranında özdeş dizileri paylaşır ancak GSK-3α (52 kDa), *N*-terminalindeki glisin açısından zengin bir uzantı nedeniyle GSK-3β'den (47 kDa) 5 kDa daha büyüktür. GSK 3β, insanda 433 amino asitten oluşan bir proteindir ve bir *N*-terminal alanı, kinaz alanı ve C-terminal alanı içerir. Ayrıca yapısal benzerliklerine rağmen,

işlevlerinin farklı olduğu yerlerde fosforilasyon ile de farklıdır (Thotala ve Yazlovitskaya, 2011; Woodgett ve Waterfield, 1990). GSK-3α ve GSK-3β'nın aktivasyonu için, sırasıyla tirozin 279 (Y279) ve tirozin 216 (Y216) sinyal molekülleri tarafından fosforile edilir ve bu iki bölge, GSK 3'ün T-lobunda (aktivasyon alanı) bulunur. Şekil 3.2'de inhibitör serin fosforilasyon bölgeleri (GSK-3α'da S9 ve GSK-3β'de S21) ve aktive edici tirozin fosforilasyon bölgeleri (GSK-3α'da Y279 ve GSK-3β'de Y216) gösterilmiştir. GSK-3α'daki glisin bakımından zengin bölge ve her iki izoform tarafından paylaşılan kinaz alanı, sırasıyla mavi ve kırmızı renkle vurgulanmıştır.



Şekil 3.2 Memeli GSK-3 izoformları α ve β 'nın şematik gösterimi



Şekil 3.3 GSK-3β'nın (*Homo sapiens*) fonksiyonel alanları ve üçüncül yapıları

GSK-3'ün her iki izoformu da beyin ve birçok dokuda çoğunlukla bulunur fakat GSK-3β izoformunun tüm beyin hücrelerinde bulunduğu bilinmektedir. Yapılan araştırmalar, beta izformunun beyin hipokampus ve neokorteks bölgelerinde yoğunlaştığını göstermektedir.

GSK-3'ün en bilindik sinyal yolları insülin ve Wnt sinyal yollarıdır. Sahip olduğu bu özellikler GSK-3'ü diğer kinazlara göre daha kendine özgü yapsa da başta ilgi ile karşılanmamıştır. Fakat meydana gelen iki önemli gelişme GSK-3'e olan ilgiyi arttırmıştır. Bu gelişmelerden biri GSK-3'ün, Alzheimer hastalığında nörofiber yumaklara neden olduğu düşünülen süreçte mikrotübül bağlayıcı tau proteinin anormal fosforilasyonuna katkıda bulunan anahtar bir kinaz olduğunun keşfedilmesidir (Hanger

vd., 1992; Mandelkow vd., 1992). Elde edilen bu keşif, GSK-3'ü Alzheimer hastalığı için terapötik hedefler arayan birçok araştırmacının yanı sıra ilaç şirketlerinin de dikkatine sunulmuştur. Bir diğer gelişme ise GSK-3'ün lityum tarafından inhibe edildiğinin bulunmasıdır. (Klein ve Melton, 1996; Stambolic vd., 1996). Lityum, bipolar bozukluğun tedavisinde kullanılan klasik bir ruh hali dengeleyicisidir ve bu nedenle elde edilen bulgu GSK-3'ün bipolar bozuklukta merkezi bir role sahip olabileceği ihtimalini arttırmıştır. Elde edilen bu bulgular GSK-3'ün diğer hedeflerinin keşfi için de öncü olmuştur. Böylece son 25 yılda yapılan çalışmalar, GSK-3'ün hücresel sinyalleşmenin neredeyse her yönüne dokunduğu ve benzersiz sayıda hastalık sürecine dahil olmasının yanı sıra terapötik bir hedef olarak da değerlendirilmeye başlanmasıyla birçok ilave GSK-3 inhibitörünün geliştirildiğini göstermektedir (Beurel vd., 2015).

GSK 3, glikojen metabolizmasındaki rolünün ötesinde, çeşitli uyaranlar tarafından başlatılan çok sayıda sinyal yolunun çıktısını belirleyen bir düzenleyici anahtar görevi görür. GSK-3 birçok hücresel olaylarda çeşitli uygulamalara sahiptir ve glikojen sentaz kinazın anormal aktivitesi, kardiyovasküler bozukluklar, psikiyatrik bozukluklar, diyabet, Alzheimer hastalığı, enflamatuar hastalıklar, bipolar bozukluk ve kanser gibi insan hastalıklarının gelişiminde rol oynamıştır. GSK-3, farklılaşma, hayatta kalma, glikojen metabolizması, protein sentezi ve bağışıklık tepkileri gibi çeşitli hücresel işlevlerde yer alan çok fonksiyonlu bir monomerik proteindir (Beurel ve Jope, 2006; Cho vd., 2009; Maurer vd., 2014; Nikoulina vd., 2002; Shin vd., 2014). Glikojen sentazını düzenlemesinin yanında bazı biyolojik faaliyeti düzenleyen çeşitli substratları da fosforile ettiği belirlenmiştir. Wnt/β katenin sinyal yolu, Hedgehog sinyal yolu, insülin yolu gibi birçok yolun merkezi bir bileşeni olmasının yanında hücre olaylarında da rol oynamaktadır (Frame ve Cohen, 2001; Grimes ve Jope, 2001; Woodgett, 2001).

GSK 3β, bir *N*-terminal alanı, kinaz alanı ve C-terminal alanı içerir. GSK 3β'nın *N*-terminal bölgesindeki Tirozin'de fosforilasyon bu kinazı aktive eder. GSK-3β'nın *N*-terminal bölgesindeki Serin'de fosforilasyon, bu kinazın inaktivasyonuna yol açar. Bağlanma alanı (Binding domain), substratlar ve protein kompleksleri için GSK 3β'ya özgü bağlanma bölgelerini içerir (Şekil 3.3).

3.2 Glikojen Sentaz Kinaz-3 İnhibitörleri ile İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar

Psikiyatrik hastalıkların, GSK-3 inhibitörü terapötiklerine uygun olan ana sınıflardan biri olduğu düşünülmektedir. Manik-depresif olarak adlandırılan bipolar bozukluğa sahip hastalar lityum ile etkili bir şekilde tedavi edilmektedir ve Alzheimer, Parkinson ve Huntington hastalıkları gibi kronik nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde olası bir ilaç olarak kabul edilir. Lityumun bir GSK-3 inhibitörü olduğu bilinmektedir (Stambolic vd., 1996). Lityumun terapötik etki mekanizması kesin olarak belirlenmemiş olsa da önemli kanıtlar GSK-3'ün inhibisyonunun lityumun ruh hali dengeleme kapasitesinin önemli bir bileşeni olduğunu göstermektedir (Jope, 2011; O'Brien-Klein, 2009).

Magnezyum (Mg^{2+}) hem yapısal hem de katalitik rollere hizmet eden, hücresel biyokimyadaki çok yönlü metal kofaktörlerinden biridir ve doğa tarafından çeşitli protein yapılarını, nükleik asitleri ve biyolojik zarları stabilize etmek için kullanılır. Ayrıca, adenozin trifosfatı (ATP) kullanan/sentezleyen çok sayıda enzimatik süreçte ve ayrıca kısıtlama nükleazları, ligazlar ve topoizomerazlar gibi nükleik asitlerin biyokimyasını düzenleyen enzimlerde çok önemli bir rol oynar. Yapılan çalışmalar, lityumun Mg^{2+} bağlanma bölgesi için rekabetçi bir şekilde GSK-3'ü doğrudan bağladığını ve inhibe ettiğini göstermektedir (Klein ve Meltont, 1996; Stambolic vd., 1996). 2011 yılında yapılan bir çalışmada ise, lityumun Mg^{2+} ile başarılı bir şekilde rekabet etmesi için gerekli olan GSK-3 dahil birkaç Mg^{2+} bağlayıcı proteininin nadir özellikleri tanımlanmıştır (Dudev ve Lim, 2011). GSK-3'ü doğrudan inhibe etmenin yanı sıra, terapötik olarak ilgili seviyelerde (yani, serumda 1 mM lityuma yakın) lityum uygulaması, kemirgen beyninde *in vivo* ve diğer birçok hücre tipinde GSK3'ün inhibe edici serin fosforilasyonunu da arttırdığı görülmektedir (Jope, 2003).

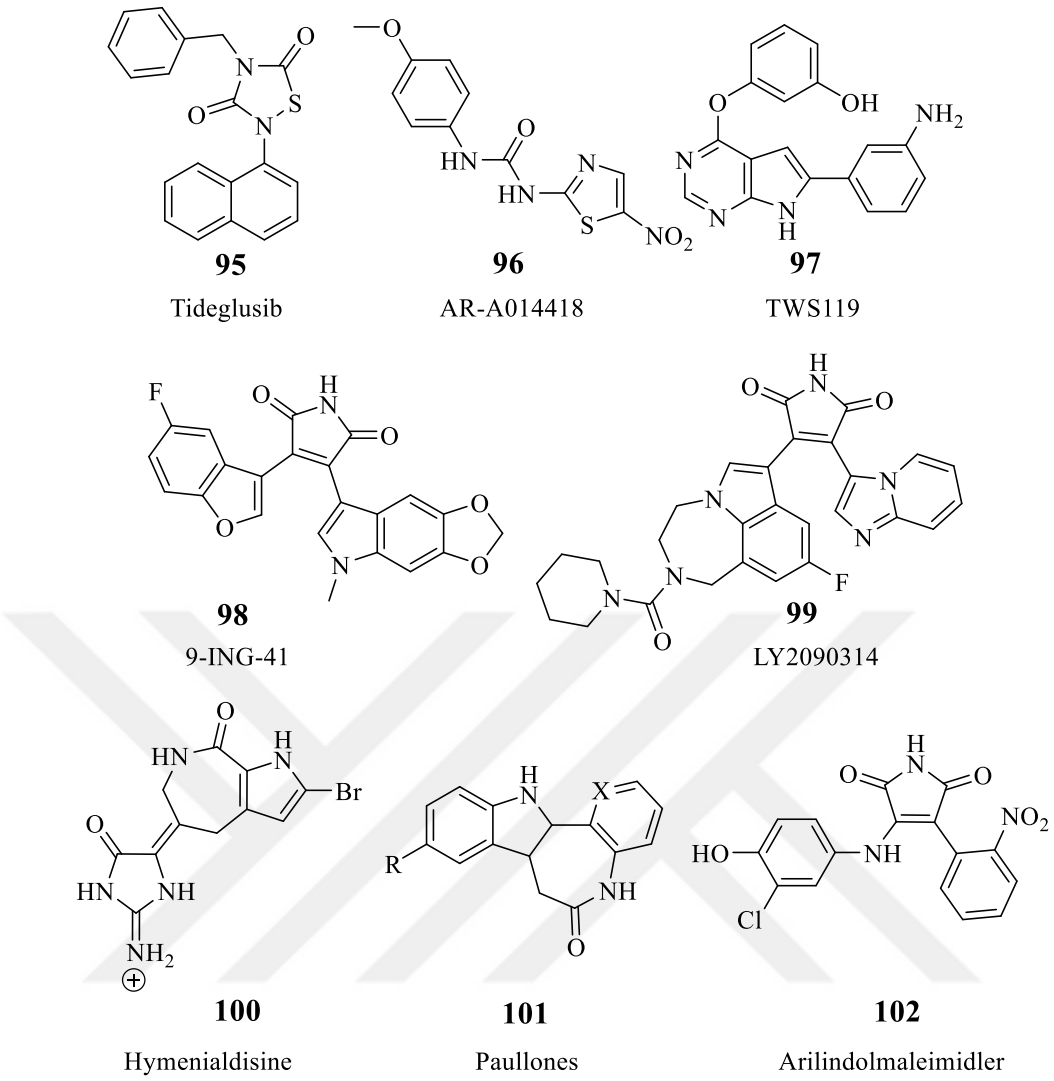
GSK-3 inhibisyonunun başta Alzheimer olmak üzere bir dizi nörolojik bozukluk için terapötik olabileceğine yönelik çokça çalışma mevcuttur. (King vd., 2014; Martinez ve Perez, 2008; Medina ve Avila, 2010). Alzheimer hastalığında GSK-3'ün, sırasıyla Alzheimer hastalığının iki ayırt edici özelliği olan amiloid plakları ve nörofibriler yumaklara yol açan amiloid β peptit üretimi ve tau fosforilasyonu dahil olmak üzere her büyük patolojik süreci desteklediği gösterilmiştir (Himmelstein vd., 2012; Phiel vd., 2003). GSK3, bu ve diğer eylemler yoluyla, muhtemelen Alzheimer hastalığında nöronal kayba katkıda bulunan apoptozu da teşvik eder. Pek çok kanıt, GSK-3 inhibitörlerinin,

Alzheimer hastalığının kemirgen modellerinde birçok bilişsel işlevi iyileştirdiğini de göstermektedir (Jope vd., 2011; King vd., 2014)

Pek çok GSK-3 inhibitörü tanımlanmış olup, bunların birçoğu preklinik çalışmalarda test edilmiştir ve bazıları klinik çalışmalarda değerlendirilmektedir. Şekil 3.4'te bazı preklinik çalışmalar ve klinik deneylerdeki GSK-3 inhibitörleri gösterilmiştir.

Hücre büyüme sinyali ve apoptoz kontrolünde önemli bir faktör olan GSK-3β, kanserde potansiyel bir teröpatik hedeftir. Bazı GSK-3 inhibitörleri, tek başlarına veya kemoterapötik ilaçlarla kombinasyon halinde hayvan tümör modellerinde kullanılmıştır. Alzhemier gibi çeşitli nörolojik bozuklukların tedavisinde kullanılan bir ilaç olan tideglusib (**95**), insan glioblastomunda test edilmiştir. Mathuram ve çalışma grubunun yaptığı çalışmada, tideglusib ile tedavi edildiğinde insan IMR32 nöroblastom hücrelerinin canlılığında bir azalma olduğunu ve umut verici bir apoptotic indükleyici olarak önemini bildirmişlerdir (Mathuram vd., 2016).

ATP-rekabetçi ve seçici bir GSK-3β inhibitörü olan AR-A014418'in (**96**) mide kanseri, sinovyal sarkom (eklem yumuşak dokusu kaynaklı kanser) ve fibrosarkom (fibröz doku kaynaklı kanser) hücrelerinin *in vitro* ve *in vivo* proliferasyonunu baskıladığı ve apoptozu indüklediği bildirilmiştir (Abe vd., 2020; Mai vd., 2009). TWS119 (**97**) bileşiğinin üçlü-meme kanserinde epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) ve kanser kök hücre özelliklerini düzenlerken, hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ve insan alveoler rabdomiyosarkom hücrelerinin apoptozunu indüklediği gösterilmiştir (Vijay vd., 2019; Zeng vd., 2010).



Şekil 3.4 Preklinik ve klinik çalışmalarda değerlendirilen GSK-3 inhibitörleri

9-ING-41 (**98**), *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda önemli antikanser aktivitesine sahip olduğu bildirilen hem GSK-3α hem de GSK-3β izoformlarının ATP-rekabetçi bir inhibitörüdür. Lenfoma gibi hematolojik malignitelerde, nöroblastom, pankreatik, glioblastom ve mesane gibi bir dizi katı tümörde hem tek bir ajan olarak hem de standart sitotoksik kemoterapiler ve yeni hedefe özgü ajanlar ile kombinasyon halinde test edilmiştir (Augello vd., 2020).

LY2090314 (**99**), hem GSK α hem de β izoformlarını inhibe eden ATP-rekabetçi bir GSK-3 inhibitörüdür. 2018 yılında yapılan bir *in vitro* çalışmada, Kunnimalaiyaan ve çalışma grubu ilk kez bir nöroblastom (NB) modelinde LY2090314'ün insan MYCN geni ile güçlendirilmiş ve çoğaltılmamış NB hücrelerinin büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir (Kunnimalaiyaan vd., 2018) .

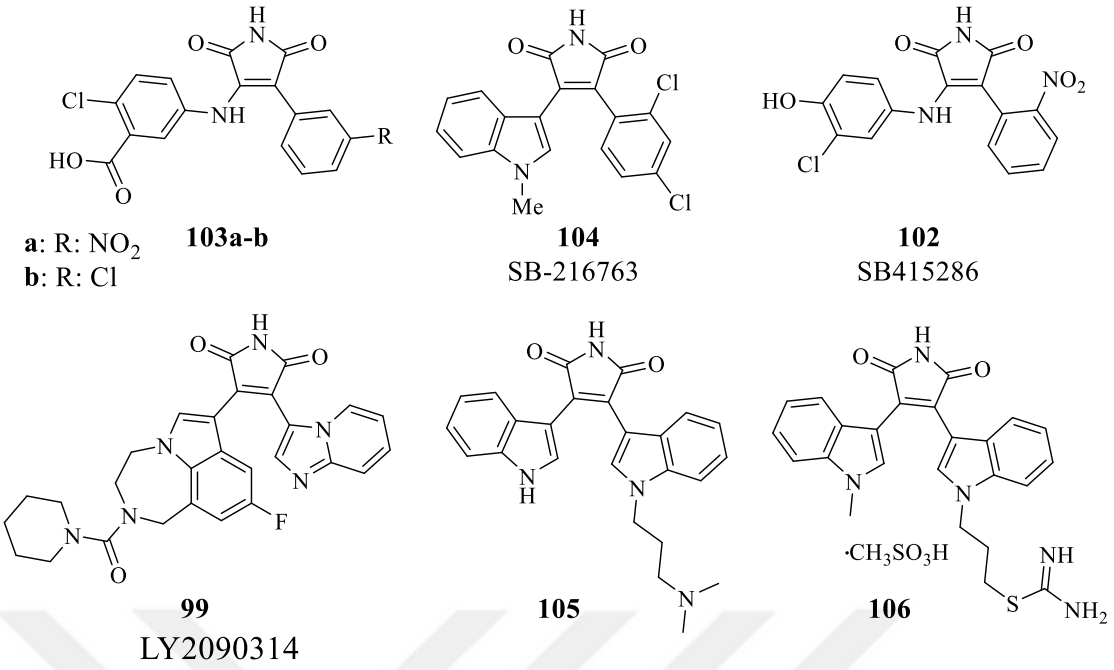
Hymenialdisin (**100**), paullon türevleri (**101**), arilindolemaleimidler (**102**) preklinik çalışmalarda değerlendirilen diğer bileşiklerdir.

3.3 Maleimid Türevi Glikojen Sentaz Kinaz-3 İnhibitörleri

Yapılan çalışmalar maleimid türevlerinin antibakteriyel, antifungal, Protein Kinaz C'yi inhibe etme yeteneği, GSK-3 inhibitör, analjezik ve antitümör gibi çeşitli biyolojik aktif özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Bansode vd., 2009; Mahle vd., 2010; Ye vd., 2009). Smith ve çalışma grubu 2001 yılında 3-anilino-4-arilmaleimid bileşiklerini (**103a-b**) güçlü ve seçici GSK-3 inhibitörleri olarak bildirmişlerdir (Şekil 3.5). Bileşikler düşük nanomolar konsantrasyonlarda GSK-3 (lC_{50}) inhibisyonu sergilemişlerdir (Smith vd., 2001). Maleimid türevi SB216763 (**104**), güçlü ve seçici bir hücre geçirgen GSK-3 inhibitörüdür. Peptid bazlı protein kinaz tahlillerini kullanan araştırma çalışmaları, SB216763'ün (**107**), 34 nM'lık bir IC_{50} ile ATP rekabetçi bir şekilde GSK-3α'yı inhibe ettiğini ve eşit derecede etkili bir GSK-3β inhibitörü olduğunu göstermektedir (Coghlan vd., 2000). Arilindolmaleimid türevi olan SB415286 (**102**), bir diğer GSK-3α inhibitör potansiyeline sahip bileşiktir. GSK-3α'yı 31 nM'lık bir K_i ile inhibe eder ve GSK-3β'ya karşı benzer bir güç gösterir (Coghlan vd., 2000). Ayrıca 2010 yılında yapılan bir çalışmada, GSK-3'ün SB 415286 tarafından ATP-rekabetçi inhibisyonunun, intrinsik yolun aktivasyonu yoluyla multipl miyelom (MM, bir tür kemik iliği kanseri) hücre büyümesinin durmasına ve apoptoza neden olduğu bildirilmiştir (Piazza vd., 2010).

2015 yılında Atkinson ve çalışma grubu, GSK3α ve GSK3β izoformlarına karşı aktiviteye sahip bisarilmaleimid türevi olan LY2090314 (**99**) bileşiğini melanom hücre hatlarında Wnt yolunu aktive eden güçlü, seçici bir GSK-3 inhibitörü olarak bildirmişlerdir (Şekil 3.5). *İn vitro* aktiviteye sahip bu bileşiğin lC_{50} değerleri GSK-3α için 1.5 nM ve GSK-3β için 0.9 nM olarak bulunmuştur (Atkinson vd., 2015).

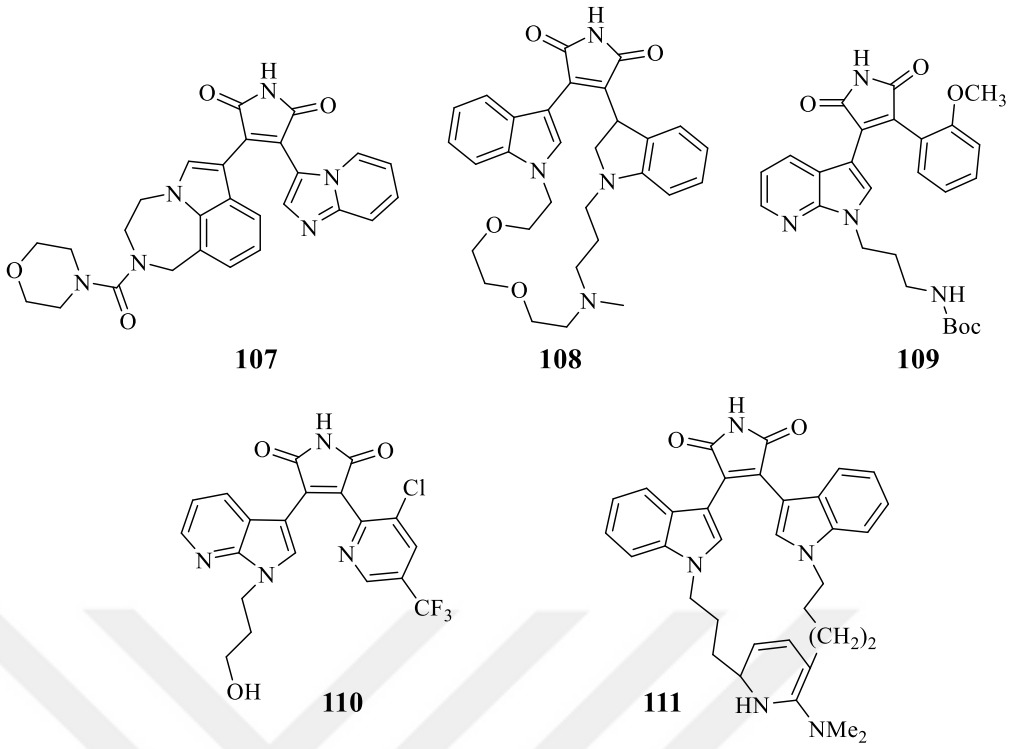
Öte yandan Hers ve çalışma grubu, yaygın olarak kullanılan protein kinaz C inhibitörleri olan bisindolmaleimid **105** ve **106**'nın güçlü GSK-3 inhibitörleri olabileceğini de rapor etmişlerdir. Her iki bisindolilmaleimid türevinin, doğrudan hücre lizatlarına (lC_{50} değerleri sırasıyla 360 nM ve 6.8 nM) ve GSK-3β immünopresipitatlarına (lC_{50} değerleri sırasıyla 170 nM ve 2.8 nM) eklendiğinde GSK-3 aktivitesini güçlü bir şekilde inhibe ettiği görülmüştür. Bisindolilmaleimid **106**, bisindolilmaleimid **105**'ten yaklaşık 100 kat daha düşük IC_{50} değerine sahiptir ve daha güçlü GSK-3 inhibitörüdür (Hers vd., 1999).



Şekil 3.5 Maleimid türevi bazı GSK-3 inhibitörleri

Bir Amerikan ilaç şirketi olan Eli Lilly & Co tarafından geliştirilen GSK-3β inhibitörü olan **107** bileşiği, diyabet tedavisi için preklinik çalışmalara ulaşmış ve şeker hastalığı bulunan yağlı sıçanlarında etkinliği kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmaya göre bu bileşiğin *in vivo* tip II diyabet modelinde oral aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Engler vd., 2004).

Benzer şekilde Zhang ve çalışma grubu **108**, **109**, **110** ve **111** bileşikleri GSK-3 inhibitörleri olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.6). 2003 yılında yapılan çalışmada, Protein Kinaz C ve GSK-3 inhibe edici aktivitesi gösterdiği bildirilen makrosiklik bisindolilmaleimidin sentezi gerçekleştirilmiş ve bileşik **111**'in 0.004 μM'lık IC_{50} değeri gösterdiği bulunmuştur. 2007 yılındaki çalışmada, 3-(7-azaindolil)-4-arilmaleimid türevleri sentezlenmiş, bileşik **109** ve **110**'un sırasıyla 0.007 ve 0.026 μM IC_{50} değerlerine sahip güçlü inhibitörler olduğu rapor edilmiştir (Zhang vd., 2003, 2004, 2007).

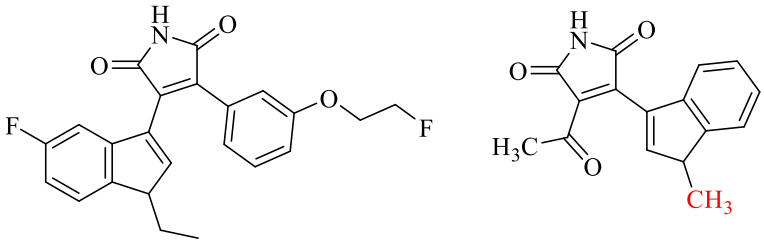


Şekil 3.6 Maleimid türevi GSK-3 inhibitörleri

GSK-3β'nın düzensizliği, nörodejeneratif ve psikiyatrik bozuklukların patogenezinde rol oynamaktadır. Bu nedenle, pozitron emisyon tomografisi (PET) görüntüleme için GSK-3β radio izleyicilerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Çünkü bu tür invaziv olmayan bir görüntüleme tekniği, GSK-3β aktivitesi ile canlı organizmalardaki merkezi sinir sistemi bozuklukları arasındaki bağlantının daha iyi anlaşılmasına ve enzimin anormal aktivitesinin erken saptanmasını olanak sağlamaktadır. Bu amaçla Hu ve grubu tarafından, *in vivo* PET görüntüleme için aday bir floroetil grubu içeren bir dizi maleimid bazlı ve yüksek afiniteli GSK-3β inhibitörlerini sentezlemişlerdir. 1.7 nM IC_{50} değerine sahip potansiyel bir GSK-3β izleyici [^{18}F] **112** bileşiğinin bir modül üzerine radyosentezi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7). Kemirgenlerde yapılan *in vivo* PET-CT görüntüleme çalışmaları, bu bileşiğin kemirgen beynine girdiğini göstermiştir (Hu vd., 2017).

2022 yılında Alzheimer hastalığı ile ilişkili GSK-3'ün PET görüntülemesi için radyoizleyiciler olarak ^{11}C-işaretli-maleimidler değerlendirilmiştir. Giglio ve çalışma grubu sağlıklı hayvanlarda **113** bileşiğinin *ex vivo* biyolojik dağılımlarının bozulmamış kan-beyin bariyerini geçme yeteneğini göstererek, önemli beyin alımı ve tutulması gösterdiğini bildirmişlerdir (Şekil 3.7). Alzheimer hastalığı taşıyan farelerde *in vivo* PET görüntüleme, normal hayvanlara göre hipotalamus, striatum ve amigdalada önemli

farklılıklar ve patolojinin sonraki aşamalarında amigdalada önemli bir artış gösterdiği bulunmuştur (Giglio vd., 2022).



112 **113**

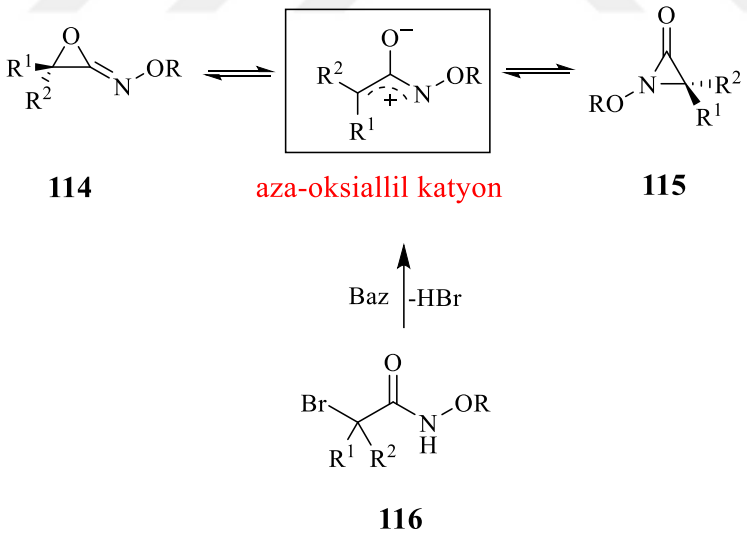
Şekil 3.7 PET'de değerlendirilen maleimid türevi GSK-3 inhibitörleri

4
AZA-OKSİALLİL KATYONLAR

4.1 Giriş

Nitrojen içeren heterohalkalı bileşikler, organik sentez, farmasötik, zirai kimyasallar ve malzeme bilimi alanındaki yaygın uygulamaları nedeniyle büyük ilgi toplamaktadır. Bu nedenle, ılımlı reaksiyon koşulları altında çok çeşitli nitrojen içeren heterohalkalı çerçeveler oluşturmak için yeni ve pratik yaklaşımlar geliştirmek, modern sentetik organik topluluğun ana odak noktasıdır.

Siklo katılma reaksiyonları, heterohalkalı bileşiklerin oluşumuna yol açan yüksek regio- ve stereokimyasal kontrol ile çoklu bağ oluşumu sağlama yetenekleri nedeniyle organik sentezdeki en güçlü yöntemler arasındadır (Deeksha ve Singh, 2022). 1968'de Sheehan ve Lengyel, α-laktam türevlerinin izolasyonu üzerine yaptıkları araştırmalarda, *N*-fenil veya aril substitue α-laktamları izole etmek yerine, daha sonra "aza-oksiallil katyonlar" olarak adlandırılan, siklik uçucu bir reaktif ara ürün bildirdiler (Şekil 4.1) (Lengyel ve Sheehan, 1968).



Şekil 4.1 Aza-oksiallil katyon

1993 yılında Kikugawa ve grubu tarafından, bu ara türün varlığına dair önemli kanıtlar rapor edilmiştir. Bu çalışmada, α-haloamid üzerindeki solvoliz deneyleri sırasında azot atomu üzerindeki alkoksi verici grubun önemini belirtmişlerdir (Kikugawa vd., 1993). Bununla birlikte, 2011 yılına kadar aza-oksiallil katyonların organik sentezde önemli bir

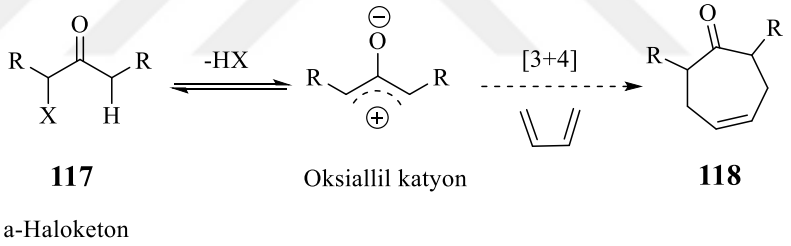
rol oynamadığı görülmektedir. 2011 yılına gelindiğinde, Jeffrey ve çalışma grubu, α-halohidroksamatlar ve siklik dien arasındaki [4+3]-siklokatılma reaksiyonu ile aza-oksiallil katyonlarının alternatif olarak ele alınması konusunda öncü bir deney gerçekleştirmişlerdir (Jeffrey vd., 2011). 2011'de siklokatılma/alkilasyon reaksiyonları kullanılarak keşfedilen bu yöntem, azot içeren yapıların metalsiz ve ılımlı reaksiyon koşullarında sentezi için yeni bir yol açmıştır.

4.2 Aza-oksiallil Katyonların 1,3-Dipolar Olarak Siklokatılma Reaksiyonları

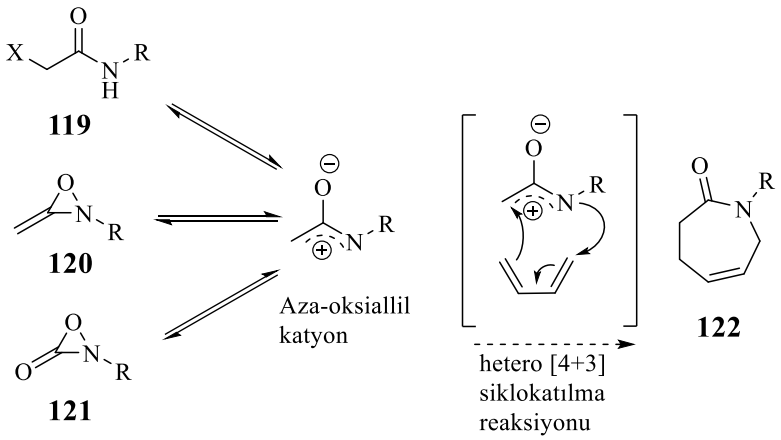
4.2.1 Azaoksi-allil Katyonların [3+4] Siklokatılma Reaksiyonları

2011 yılında Jeffrey ve çalışma grubu aza-oksiallil katyonlarla siklik dienlerin aza-[3+4] siklokatılma reaksiyonu ile gerçekleştirilen yedi üyeli azasiklik bileşikleri (**118**) rapor etmişlerdir (Şekil 4.2). Ara ürün olan aza-oksiallil katyon, R-haloamidlerin dehidrohalojenasyonu ile üretilmiştir. Yüksek verimle gerçekleştirilen reaksiyon, çeşitli R-haloamidler için geneldir ve diastereoseçicidir (Jeffrey vd., 2011).

- Oksiallil Katyon Çalışması



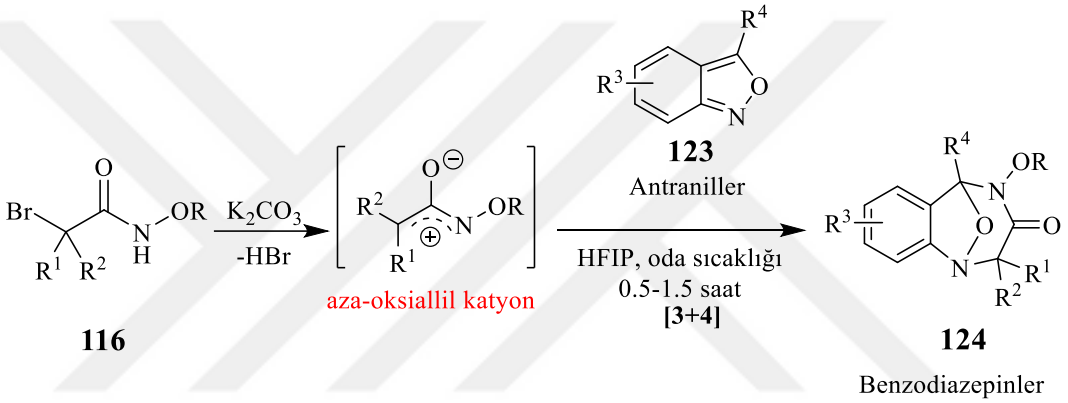
- Aza-oksiallil Katyon Çalışması



Şekil 4.2 [3+4]-Siklokatılma reaksiyonu mekanizması

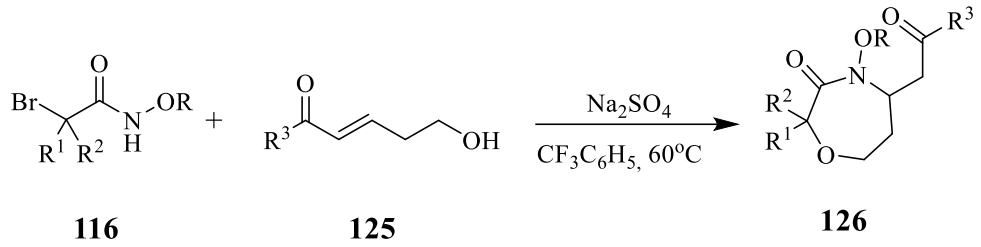
Daha sonra Jeffrey ve grubu tarafından siklik dienlerin ve diaza-oksiallil katyonik ara maddelerin aza-[3+4] siklokatılma reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem diaminasyon için oldukça seçicidir (Jeffrey vd., 2012).

Benzodiazepin türevler farmasötik kimyada önemli yapısal motiflerdir (Ashton, 1994; Donoghue ve Lader, 2010). 2019 yılında Feng ve çalışma grubu 1,3-dipolar aza-oksiallil katyonların C-3 substitue antranil bileşikleri (**123**) ile [3+4]-siklokatılma reaksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Metal içermeyen reaksiyon koşulları altında iyi verimle multi-substitue oksa köprülü benzodiazepine türevleri (**124**) sentezlenmiştir (Şekil 4.3). Reaksiyon oda sıcaklığında, K_2CO_3 bazı varlığında ve 1,1,1,3,3,3-hekzafloro-2-propanol (HFIP) çözücüsü içerisinde gerçekleştirilmiştir (Feng, Zhou, vd., 2019).



Şekil 4.3 C-3 Substitue antranil ile [3+4]-siklokatılması

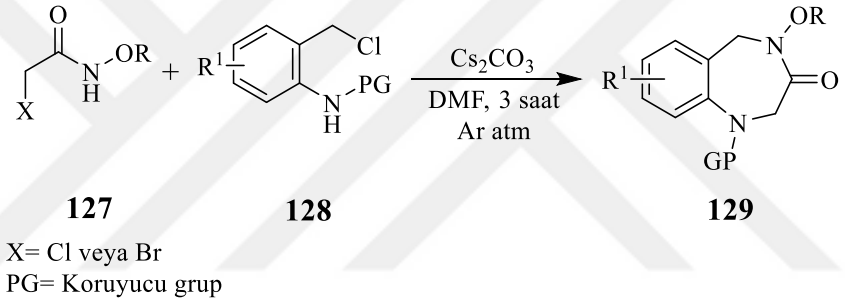
1,4-Oksazepan, morfolinin bir karbon homoloğu olan azot ve oksijen içeren yedi üyeli bir heterosikliktir. Saha ve çalışma grubunun 2019 yılındaki 1,3- ve 1,4-amfoterik reaktifler olarak hidroksi enonlar üzerindeki çalışmaları sırasında, 1,3-dipolar aza-oksialil katyonları ile 1,4-amfoterik reaktiflerin (**125**) [3+4]-siklokatılma reaksiyonunu bildirmişlerdir (Şekil 4.4). Optimal koşullar altında (60°C) orta ila iyi verimle, HFIP içerisinde baz olarak Na_2CO_3 kullanılarak 1,4-oksazepan türevleri (**126**) sentezini gerçekleştirmişlerdir (Bera vd., 2019). 2020 yılına gelindiğinde Kimet ve çalışma grubu aza-oksiallil katyonların aynı reaktivitesini δ-hidroksi enonlarla farklı reaksiyon koşullarında rapor etmişlerdir. Bu reaksiyonu koşulları Cs_2CO_3 bazı varlığında, oda sıcaklığında ve aprotik bir çözücü olan $CF_3C_6H_5$ (triflorotoluen) içinde gerçekleştirmişler ve **126** türevlerini elde etmişlerdir (Son vd., 2020).



116 **125** **126**

Şekil 4.4 1,4-Amfoterik reaktifler ile [3+4] siklokatılma reaksiyonu

Jin ve çalışma grubunun 2019 yılında yaptıkları bir çalışmada, substitue edilmemiş haloamidler (**127**) ve *N*-(2-klorometilaril) amidlerden (**128**) *in situ* oluşturulmuş aza-*o*-kinon metidler (aza-oQMs) arasında aza-Mannich ilavesi/molekül içi S_N2 domino reaksiyonu hakkında yeni bir fikir ortaya atmışlardır. Argon atmosferi altında, Cs_2CO_3 bazı varlığında ve DMF solventi ile 1,2,4,5-tetrahidro-1,4-benzodiazepin-3-on türevleri (**129**) orta ile mükemmel verim arasında elde edilmiştir (Şekil 4.5) (Jin vd., 2019).

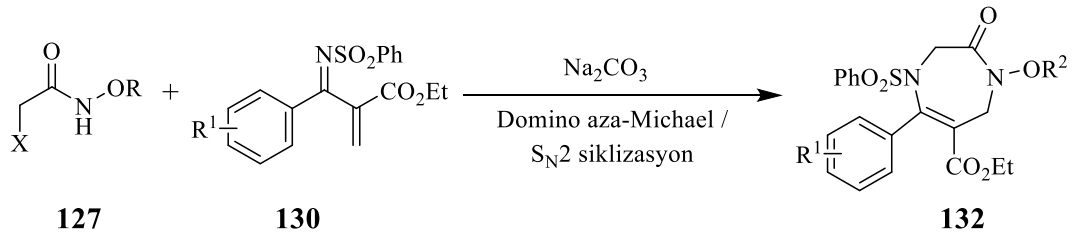


127 **128** **129**

X= Cl veya Br
PG= Koruyucu grup

Şekil 4.5 Aza-o-kinon metidler ile [3+4] siklokatılma reaksiyonu

2020 yılında iki farklı çalışma grubu aynı anda 1,3-dipolar aza-oksiallil katyonların 1-azabutadienler (**130** ve **131**) ile siklokatılma reaksiyonlarını önermişlerdir. Yuan ve çalışma grubu, geçiş metali içermeyen reaksiyon koşulları altında *N*-sülfonil-1-aza-1,3-butadienler (**130**) ve substitute edilmemiş α-haloamidlerin Michael katılmasını takiben S_N2 siklizasyonu sonucu monosiklik 1,4-diazepinonların (**132**) oluşumunu rapor etmişlerdir (Şekil 4.6) (Yuan vd., 2020).

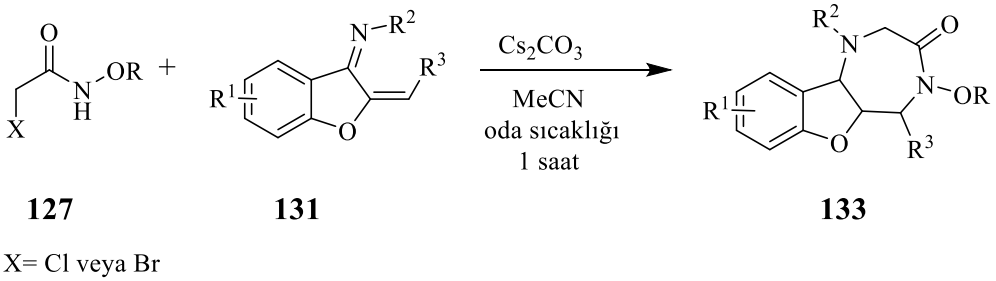


127 **130** **132**

X= Cl veya Br

Şekil 4.6 1-Azabutadienlerin aza-oksiallil katyonlarla [3+4]-siklokatılma

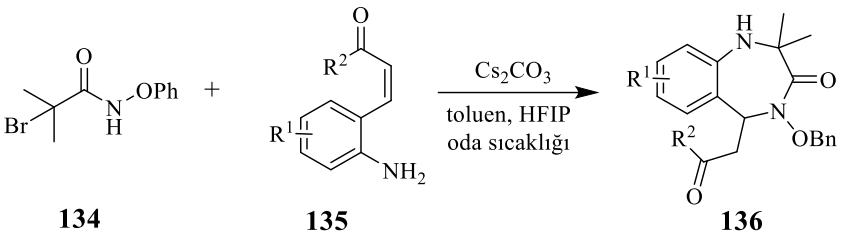
Benzer şekilde Fang ve çalışma grubu da benzofuran türevi azadienler (**131**) ile substitue edilmemiş α-halohidroksamatların (**127**) [3+4]-siklokatılma reaksiyonlarını bildirmişlerdir. Cs_2CO_3 bazı ile CH_3CN çözücüsü içinde iyi verimle gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda yedi üyeli **133** oluşmuştur (Şekil 4.7) (Fang ve Zhao, 2020).



127 **131** **133**

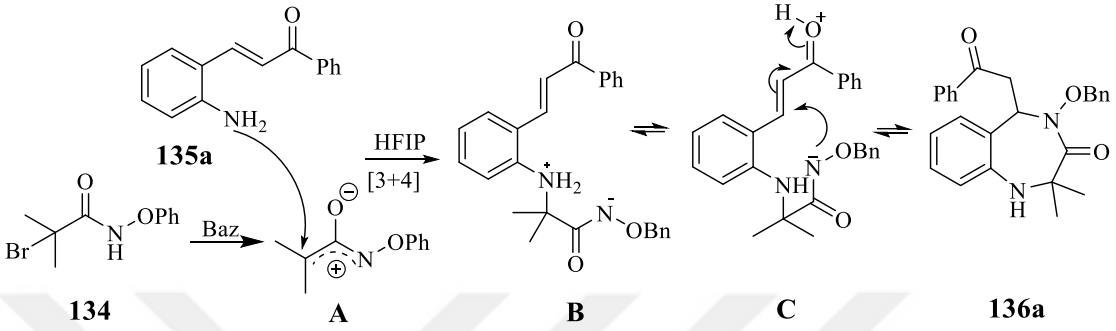
Şekil 4.7 1-Azabutadienlerin aza-oksiallil katyonlarla [3+4]-siklokatılma

2020 yılında Kim ve çalışma grubu, 2-aminofenil-α,β-doymamış karbonillerle (**135**) ve α-halohidroksamatlar (**134**) arasında [3+4]-siklokatılma reaksiyonu göstermişlerdir. Reaksiyon, *in situ* oluşturulan aza-oksiallil katyonlarına aza-katılmanın domino reaksiyonu ve ardından aza-Michael reaksiyonu yoluyla gerçekleşir. Sonuçta ise biyolojik olarak da önemli 1,4-benzodiazepin-3-on (**136**) türevleri elde edilmiştir. Reaksiyonun mekanizması, 2-aminofenil-α,β-doymamış karbonil bileşiğinin (**135**) bazik koşullar altında *in situ* oluşan aza-oksiallil katyonun (**A**) elektrofilik karbonuna *N* atağında bulunması, ara ürünler **B** ve **C**'nin oluşması sonucunda, ara ürün **C**'ye intramoleküler aza-Michael katılmasıyla istenen ürün **136a** meydana gelmiştir (Şekil 4.8) (Kwon vd., 2020).



134 135 136

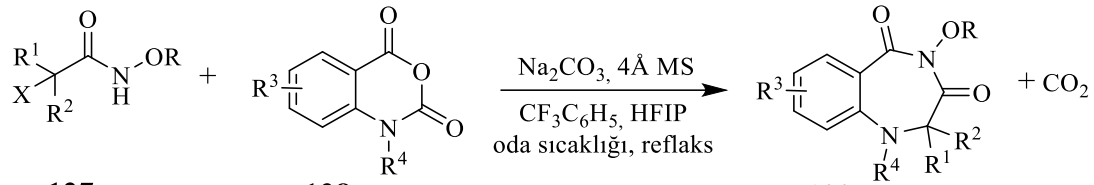
Mekanizma



134 A B C 136a

Şekil 4.8 2-Aminofenil-α,β-doymamış karbonillerle [3+4] siklokatılma

Kim ve grubunun 2020 yılında yaptıkları bir çalışmada, izotoik anhidrit (**138**) ile *in situ* oluşturulan aza-oksiallil katyonların (**127**) [3+4]-annülasyon reaksiyonu ile tek adımda gerçekleşen reaksiyonda Na_2CO_3 bazı ve $CF_3C_6H_5$ kullanılarak 1,4-benzodiazepindion (**139**) sentezi gerçekleştirilmiştir. Burada HFIP'nin izotoik anhidrite dekarboksilatif katılması, ardından oda sıcaklığında aza-oksiallil katyonun katılması ve 80°C'de intramoleküler yer değiştirme reaksiyonu sonucu 1,4-benzodiazepindionların reaksiyonu gerçekleşmektedir (Şekil 4.9) (Kim vd., 2020).



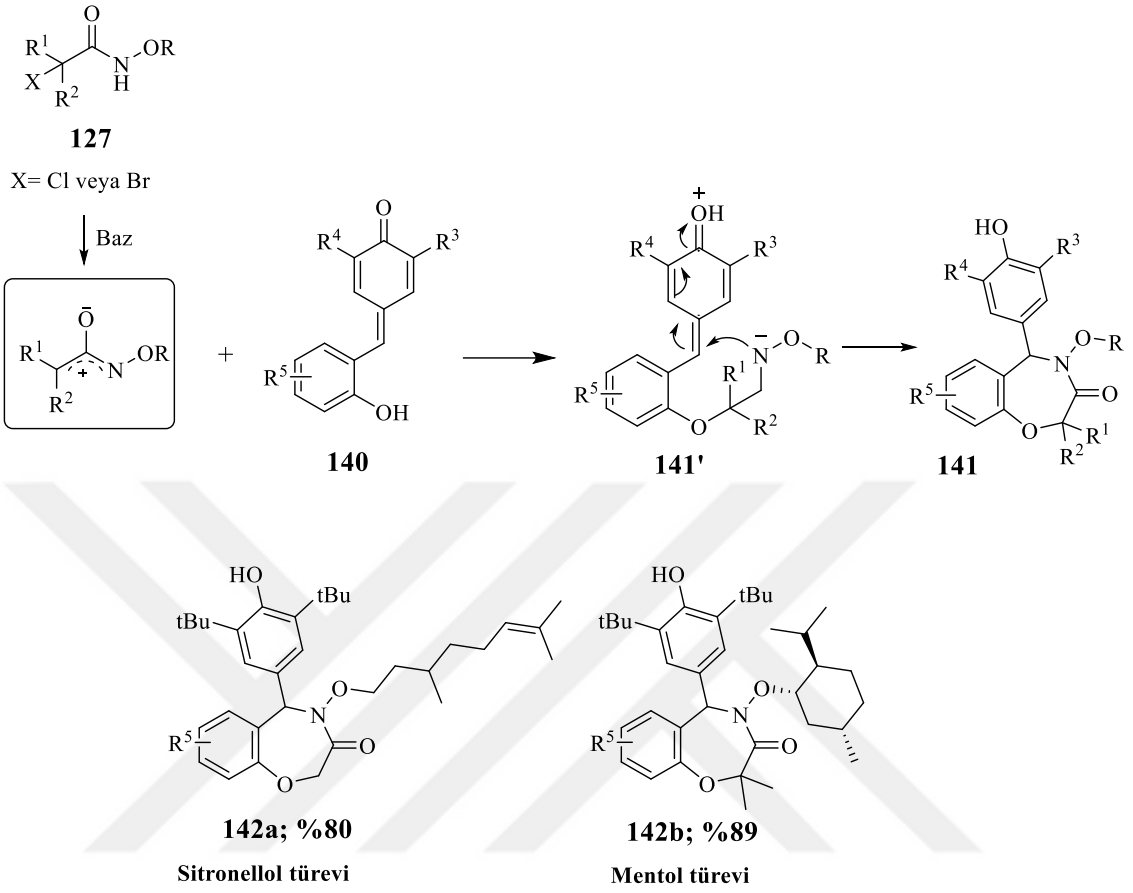
127 **138** **139**

X= Cl veya Br

Şekil 4.9 Aza-oksiallil izotoik anhidritlerle [3+4]-siklokatılması

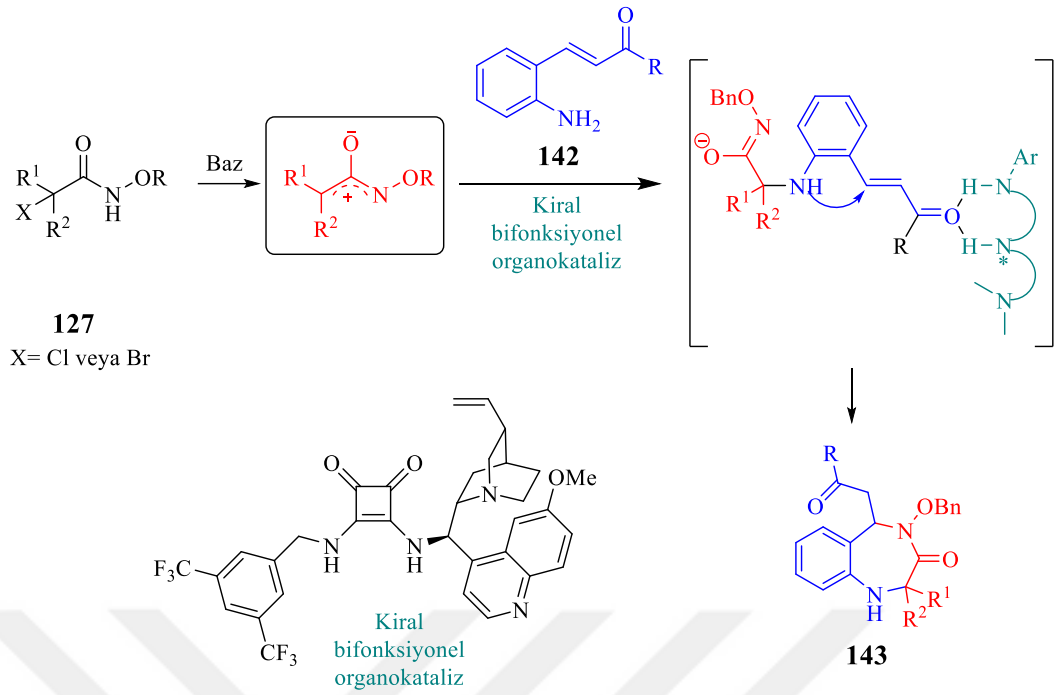
Hem farmasötik kimya hem de sentetik organik kimyada kullanılan heterosiklik yapı iskelesi olan yedi üyeli 1,4-benzoksazepin (**141**) sentezi, 2021 yılında Xuan ve grubu tarafından [3+4]-siklokatılma reaksiyonu ile orto hidroksifenil substitue para-kinon metitler (**140**, p-QMS) ve α-halohidroksamatlarla (**127**) gerçekleştirilmiştir. En önemlisi E vitamini, sitronellol (**142a**), D-galaktopiranoz, sesamol ve mentol-türevli α-

halohidroksamatların (**142b**) eldesinde iyi verimlerle reaksiyon gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.10) (Zhou vd., 2021).



Şekil 4.10 Orto-hidroksifenil-substitue para-kinon metitler (p-QMS) ile aza-oksialil katyonunun [3+4]-siklokatılma reaksiyonu ve uygulaması

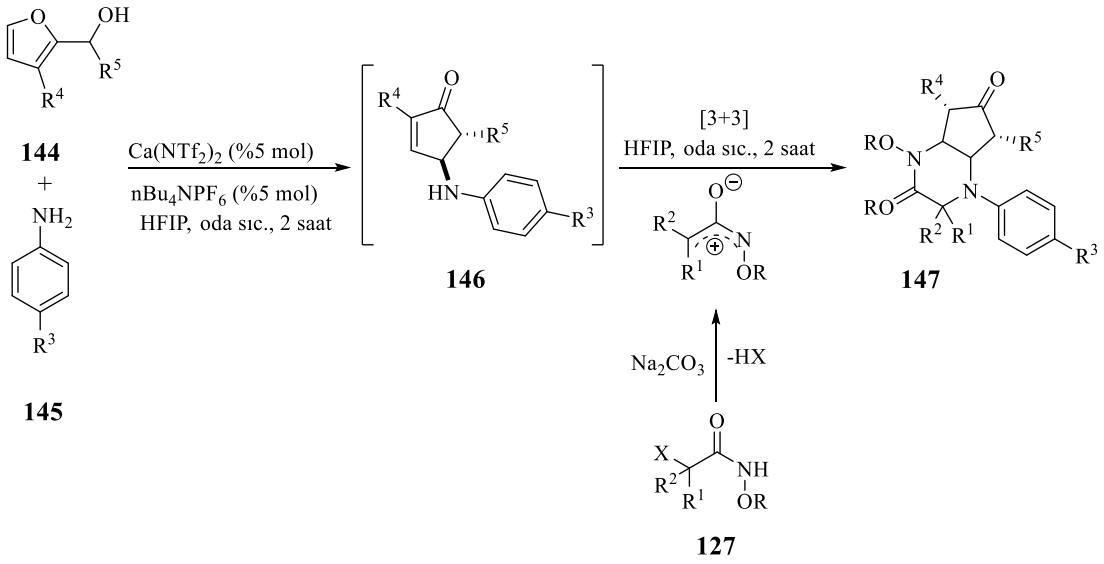
2021 yılında Kim ve grubu, birçok doğal üründe yapı iskelesi olan yedi üyeli 1,4-benzodiazepine-3-on (**143**) bileşiklerinin sentezini enantiyoseçici olarak rapor etmişlerdir. Kiral skuaramid bazlı organokatalizör kullanılarak 2-amino fenil α,β-doymamış karbonil bileşikleri (**142**) ile aza-oksiallil katyonların asimetrik [3+4]-siklokatılma reaksiyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.11) (Lee vd., 2021).



Şekil 4.11 Benzodiazepinonlar ile [3+4]-siklokatılma reaksiyonu

4.2.2 Azaoksi-allil Katyonların [3+3] Siklokatılma Reaksiyonları

Piperazinon gibi heterohalkalılar birçok doğal ürün ve farmakolojik olarak aktif bileşiklerde bulunur ve genellikle biyolojik olarak önemli piperiazinlerin sentezi olarak kullanılır (Bell vd., 2010; Zaretsky vd., 2015).

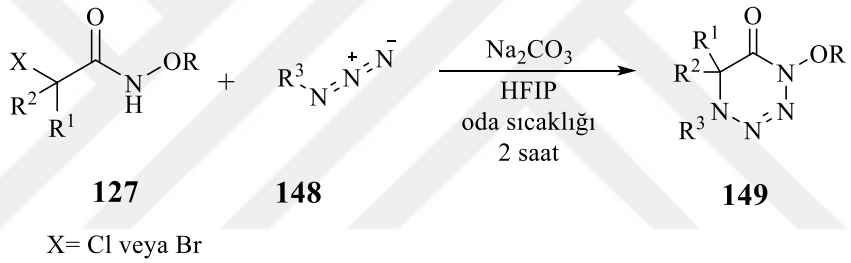


Şekil 4.12 4-Aminosiklopentenonlar ile [3+3]-siklokatılma reaksiyonu

2018 yılında Schulz ve çalışma grubu 4-aminosiklopentenonlar (**146**) ile aza-oksiallil katyonlar arasındaki [3+3]-siklokatılma reaksiyonu sonucu siklopenta[b]piperazinon

(**147**) eldesini rapor etmişlerdir. Bu reaksiyonda öncelikle uygun koşullar altında 2-furilkarbinol ve anilin substratları ile aza-piancatelli siklizasyonu gerçekleştirilmiştir. Sonrasında elde edilen aza-piancatelli ürünü ve aza-oksiallil katyon arasında HFIP çözücüsü içerisinde, Na_2CO_3 bazı varlığında ve oda sıcaklığında [3+3]-siklokatılma reaksiyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.12) (Baldé vd., 2018).

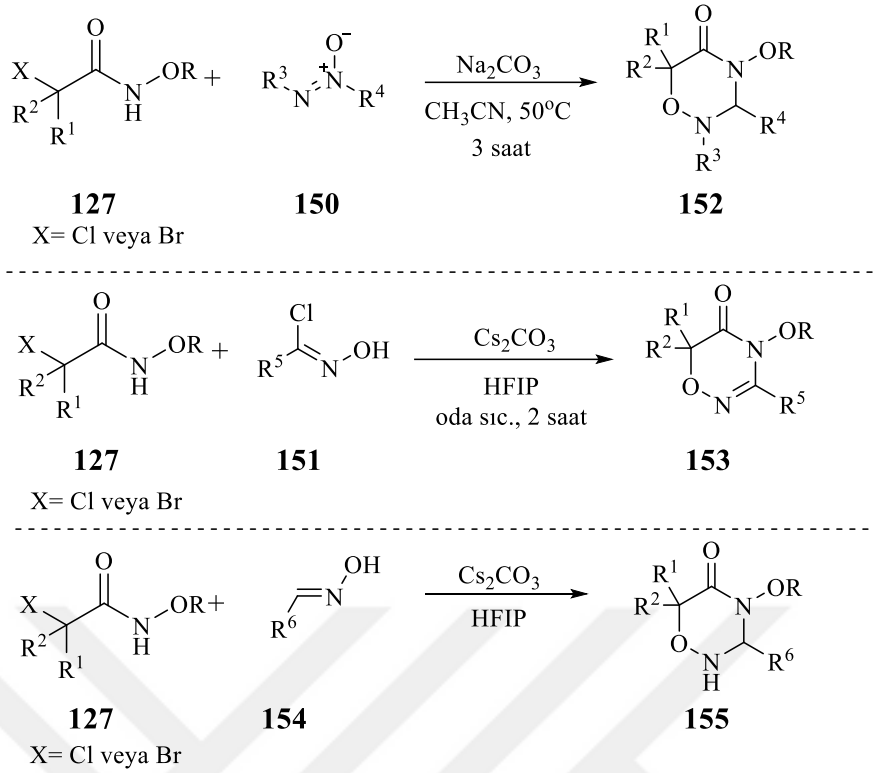
Bitişik çoklu azot atomlarına sahip heterohalkalıların çeşitli uygulamaları vardır. Bu amaçla Xu ve çalışma grubu 2018 yılında yaptıkları bir çalışmada, dört azot bağlantısına sahip 1,2,3,4-tetrazinlerin sentezini rapor etmişlerdir. Bu reaksiyon Na_2CO_3 bazı varlığında ve HFIP çözücüsü içinde azid (**148**) ile aza-oksiallil katyonlar arasında, [3+3]-siklokatılma reaksiyonu sonucu gerçekleşmektedir. Reaksiyonda α-disubstitue ve monofenil hidroksimatlar (**149**) çok iyi verimler gösterirken; α-monoalkil ve substituentsiz halohidroksimatlar ile reaksiyonunun gerçekleşmediği belirtilmiştir (Şekil 4.13) (Xu vd., 2018).



Şekil 4.13 Azidlerle aza-oksiallil katyonların [3+3]-siklokatılma reaksiyonu

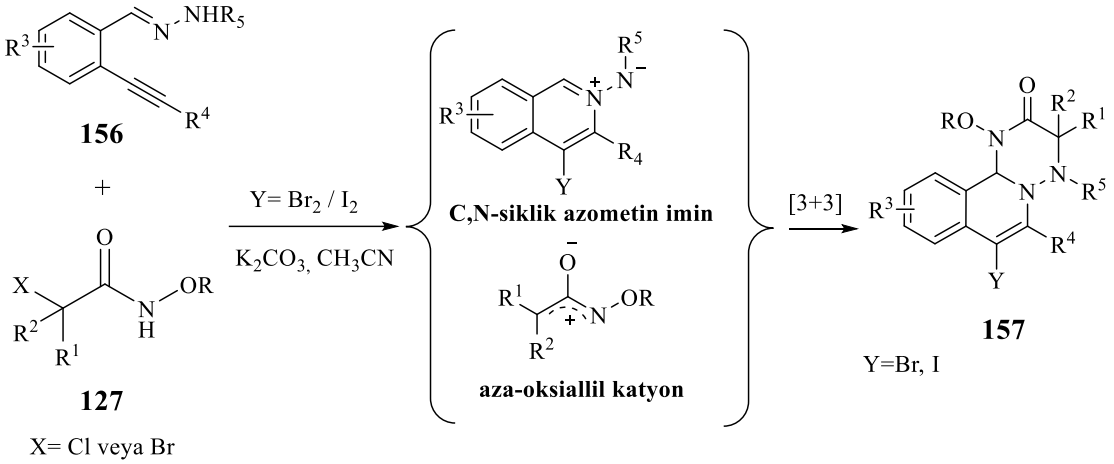
1,2,4-Oksadiazin-5-on bileşikleri heterohalkalı pestisit moleküllerinde, antagonistlerde ve diğer biyoaktif moleküllerde bulunmaktadır (Wolff, 2005). 2018'de Chen ve çalışma grubu 1,2,4-oksadiazin-5-on bileşiklerini (**152** ve **153**) nitronlar (**150**) ve nitril oksitleri (**151**) kullanarak α-halohidroksimatlarla [3+3]-siklokatılma reaksiyonu ile sentezlemişlerdir. Her iki bileşik de metal kullanılmadan elde edilmiştir. Aza-oksiallil katyon bileşiği Na_2CO_3 bazı ile CH_3CN çözücüsü içerisinde ve 50 ^oC'de nitron ile tepkimeye girerek diastereoseçici olarak **152** bileşiğini meydana getirmiştir. Benzer şekilde Cs_2CO_3 bazı ve HFIP çözücüsü içerisinde nitril oksitlerle aza-oksiallil katyonların tepkimesinden ise **153** bileşiği sentezlenmiştir (Şekil 4.14) (Chen vd., 2018; Wang vd., 2018).

2019 yılında Zhiyong ve grubu 2-*N*-unsubstitue 1,2,4-oksadiazin-5-on türevlerinin (**155**) oksim (**154**) ve aza-oksiallil katyonlarla [3+3]-siklokatılma reaksiyonu sonucu sentezini rapor etmişlerdir (Şekil 4.14) (Zhang vd., 2019).



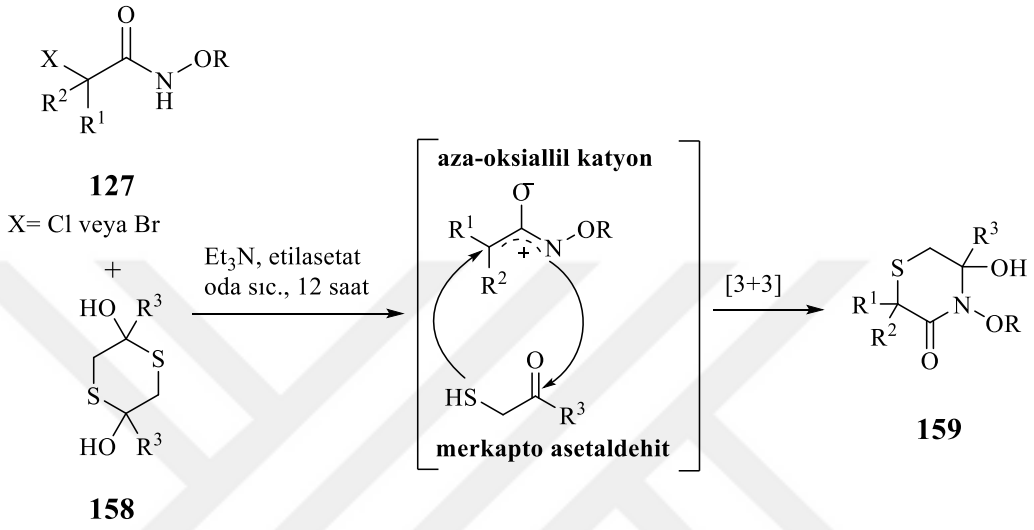
Şekil 4.14 Nitron ve nitril oksitlerle aza-oksiallil katyonların [3+3]-siklokatılma reaksiyonları

İzokinolin içeren 1,2,4-triazin yapı iskeleleri önemli biyolojik aktivite sergilemektedirler (Kumar vd., 2014). Cheng ve çalışma grubu 2018 yılındaki çalışmada izokinolin içeren 1,2,4-triazin türevlerinin (**157**) sentezini raporlamışlardır. Halojen varlığında hidrazid türevlerinin (**156**) C,N-siklik azometin iminlerine dönüştükten sonra 1,3-dipolar aza-oksiallil katyonlarla [3+3]-siklokatılma reaksiyonu sonucunda **157** elde edilmiştir (Şekil 4.15) (Cheng vd., 2019).



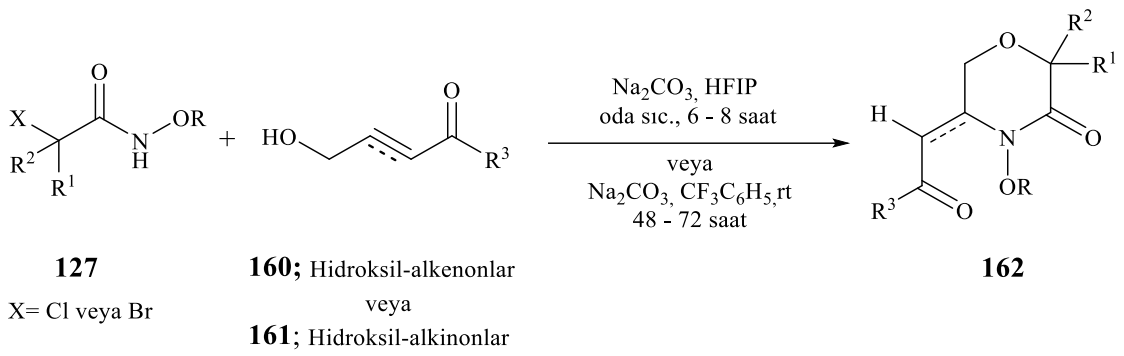
Şekil 4.15 C,N-Siklik azometin iminlerle [3+3]-siklokatılma reaksiyonu

2019 yılında He ve çalışma grubu tiyomorfolin-3-on türevlerinin (**159**) one-pot sentezini çalışmışlardır. 1,4-Ditiyan-2,5-diolün (**158**) ayrışması sonucu oluşan merkaptoaldehit ve aza-oksiallil katyonların [3+3]-siklokatılma reaksiyonunu iyi verimle gerçekleştirmişlerdir (He vd., 2019). 2020 yılında benzer şekilde Xie ve çalışma grubu da farklı reaksiyonu koşulları altında tiyomorfolin-3-on türevlerinin (**159**) sentezini bildirmişlerdir (Şekil 4.16) (Xie vd., 2020).



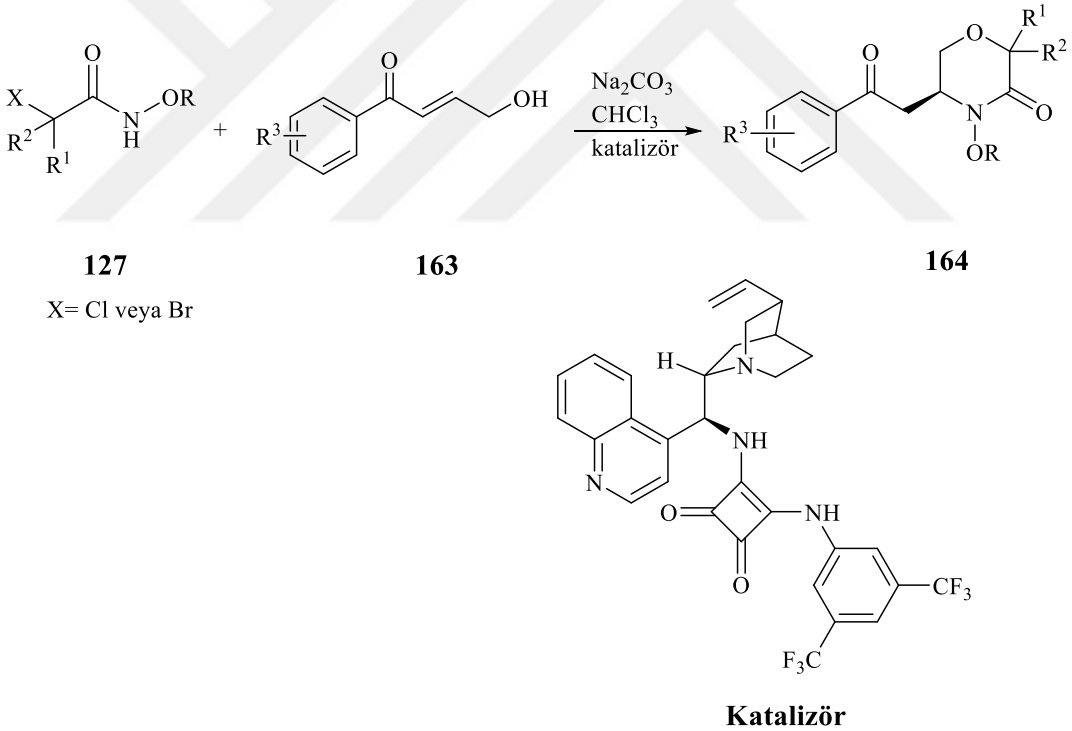
Şekil 4.16 Aza-oksiallil katyonların 1,4-ditiyan-2,5-diollerle [3+3]-siklokatılma reaksiyonu

Morfolin gibi doymuş *N,O*-heterohalkalılar çok çeşitli biyolojik aktivite sergilemektedirler (Wijtmans vd., 2004). 2019 ve 2020 yıllarında iki farklı grup morfolin-3-on bileşiğinin (**162**) aza-oksiallil katyon ara ürünü ile sentezini bildirmişlerdir (Bera vd., 2019; Son vd., 2020). 2019 yılında Saha ve çalışma grubu, nükleofilik bir heteroatom ve π-elektrofilik bölgeye sahip 1,3-amfoterik reaktifle (γ-hidroksi-α,β-doymamış karbonillerle) florinli çözücüler içerisinde baz destekli [3+3]-siklokatılma reaksiyonunu rapor etmişlerdir (Bera vd., 2019). Daha sonra Kim ve çalışma grubu 2020'de Na_2CO_3 bazı ve aprotik florlu solvent $CF_3C_6H_5$ ile aynı [3+3]-annulasyon reaksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada monoalkil ve monoaril substitue α-haloamidlerin yanı sıra α-diklorohidroksamatlarla iyi verimli [3+3]-siklokatılma reaksiyonu belirtilmiştir (Son vd., 2020).



Şekil 4.17 1,3-Amfoterik reaktiflerle [3+3]-siklokatılma

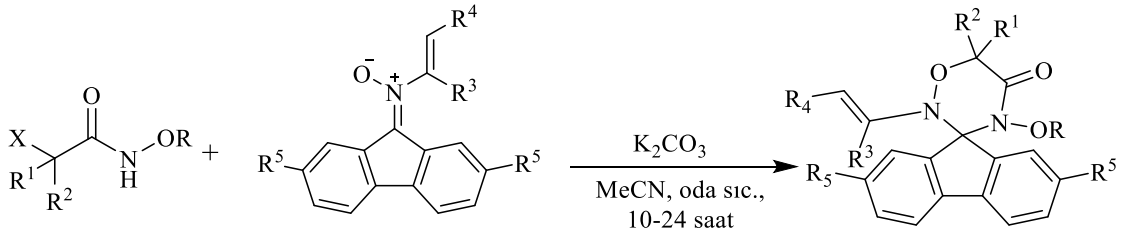
Daha sonra 2021'de Kim ve grubu, γ-hidroksi-α,β-doymamış ketonlar ve α-bromohidroksamatlar kullanılarak [3+3] katalitik siklokatılma reaksiyonu ile morfolin-3-on sentezini rapor etmişlerdir. Reaksiyonda organokatalizör olarak sinkonidin türevli skuaramid Na_2CO_3 bazı ve $CHCl_3$ çözüsü kullanılmıştır (Şekil 4.18) (Sun Jang ve Kim, 2021).



Şekil 4.18 (1,3)-Amfoterik reaktiflerle katalitik [3+3]-siklokatılma

Kuarterner karbon merkezinin yüksek rijitliği ve sterik engelinden dolayı, florenil grup özel özellikler sergiler (Fan vd., 2019). *N*-vinil florenon nitronların (**165**) aza-oksiallil katyonlarla [3+3]-siklokatılma reaksiyonu biyolojik aktif spiro-1,2,4-oksadiazinan-5-on bileşiklerinin (**166**) oluşmasına neden olmuştur. Bu reaksiyonu K_2CO_3 bazı varlığında CH_3CN çözücüsü içerisinde oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Aza-oksiallil

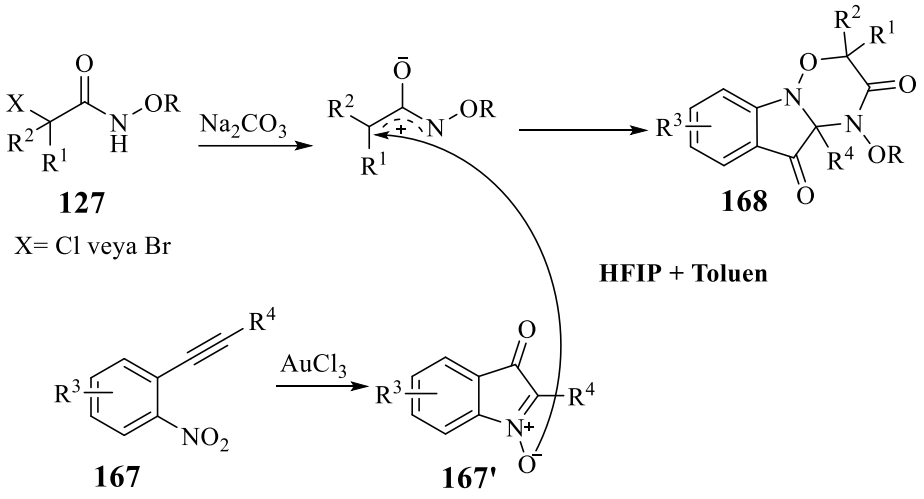
katyonların stabilizasyonu için iyi bilenen solvent olan HFIP, eser miktarda istenen ürünün oluşmasına neden olmuştur. Aza-oksiallil katyonlar ile gerçekleştirilen [3+3]-siklokatılma reaksiyonunda *N*-vinil florenon nitronlar *N*-alkil/aril florenon nitronlardan daha yüksek reaktivite göstermiştir (Şekil 4.19) (Luo vd., 2020).



127 **165** **166**

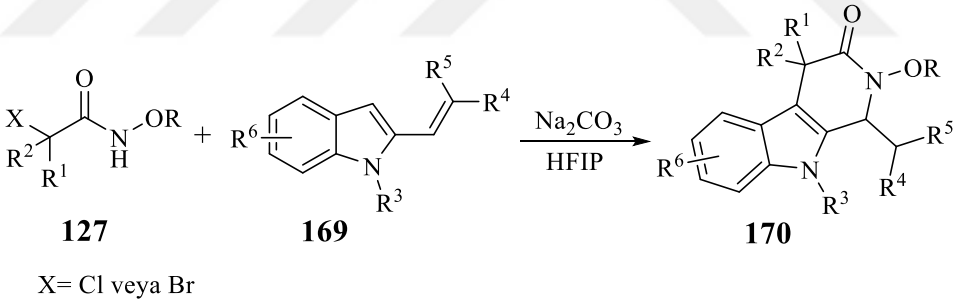
Şekil 4.19 Aza-oksiallil katyonların *N*-vinilflorenon nitronlarla [3+3]-siklokatılma reaksiyonu

2021 yılında Cui'nin grubu aza-oksiallil katyon ve o-nitro alkinlerden (**167**) indolin-3-onun (**168**) [3+3]-siklokatılma reaksiyonu yoluyla one-pot sentezini bildirmişlerdir (Şekil 4.20). Bu reaksiyon koşulları Na_2CO_3 bazında, HFIP ve toluen çözücü karışımında, $AuCl_3$ katalizörlüğünde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon çeşitli fonksiyonel gruplar kullanılarak iyi verimlerle elde edilmiştir. Bunun yanı sıra, farklı α-halohidroksamatlar istenilen ürünü orta verimle sağlarken, mono-substitue α-halohidroksamatlar istenilen ürünü meydana getirmemiştir. Daha da önemlisi trisiklik indolin-3-onların çeşitli floresans ve hücre boyama uygulamalarında potansiyel faydaya sahip olduğunu göstermişlerdir (Huang vd., 2021).



Şekil 4.20 [3+3]-Siklokatılma reaksiyonu yoluyla aza-oksialil katyonu ve o-nitro alkinlerden one-pot indolin-3-on oluşumu

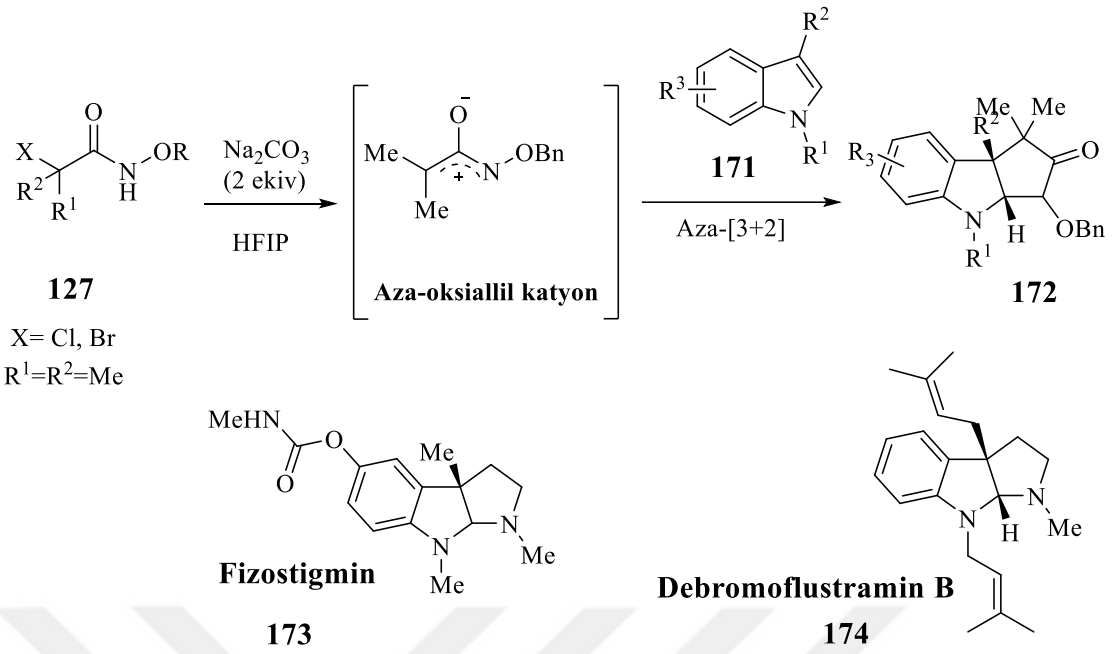
Tetrahidro-β-karbolinonlar potansiyel antitümör aktiviteye sahip en önemli indol alkaloidlerinden biridir ve kolay hazırlanmalarından dolayı büyük ilgi görmektedirler (Kitajima vd., 2013; Williams vd., 2008). Huang, Lin ve çalışma grubu aza-oksiallil katyonlarla 2-alkenilindollerin (**169**) [3+3]-siklokatılma reaksiyonu sonucu tetrahidro-β-karbolinon türevlerinin (**170**) sentezini rapor etmişlerdir (Şekil 4. 21) (Zhang vd., 2017).



Şekil 4.21 2-Alkenilindollerle [3+3]-siklokatılma reaksiyonu

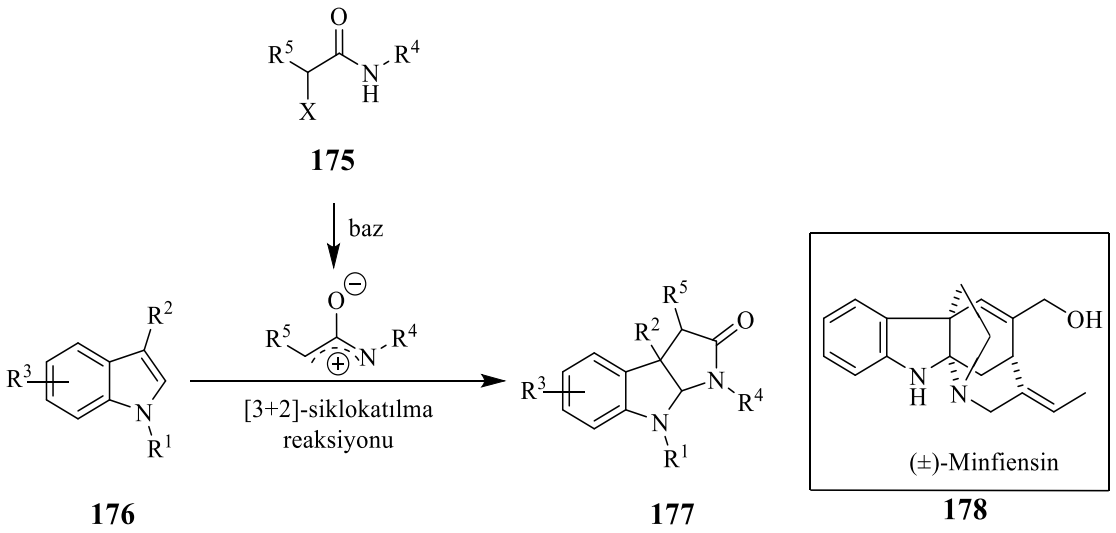
4.2.3 Azaoksi-allil Katyonların [3+2] Siklokatılma Reaksiyonları

2015 yılında Jeffrey ve çalışma grubu ile Wu ve çalışma grubu aynı zamanlarda α-halohidroksamatlarla substitue indollerin (**171**) regioselektif dearomatik aza-[3+2]-siklokatılma reaksiyonu geliştirilmiştir. Bu reaksiyon, birçok biyolojik aktif bileşikteki yüksek düzeyde işlevselleştirilmiş piroloindolinlere (**172**) hızlı erişim sağlamaktadır. Doğal ürün olan fizostigmin (**173**) ve debromoflustramin B (**174**) bu yöntem kullanılarak iyi verimlerle sentezlenmiştir (Şekil 4.22) (Acharya vd., 2015; DiPoto vd., 2015).



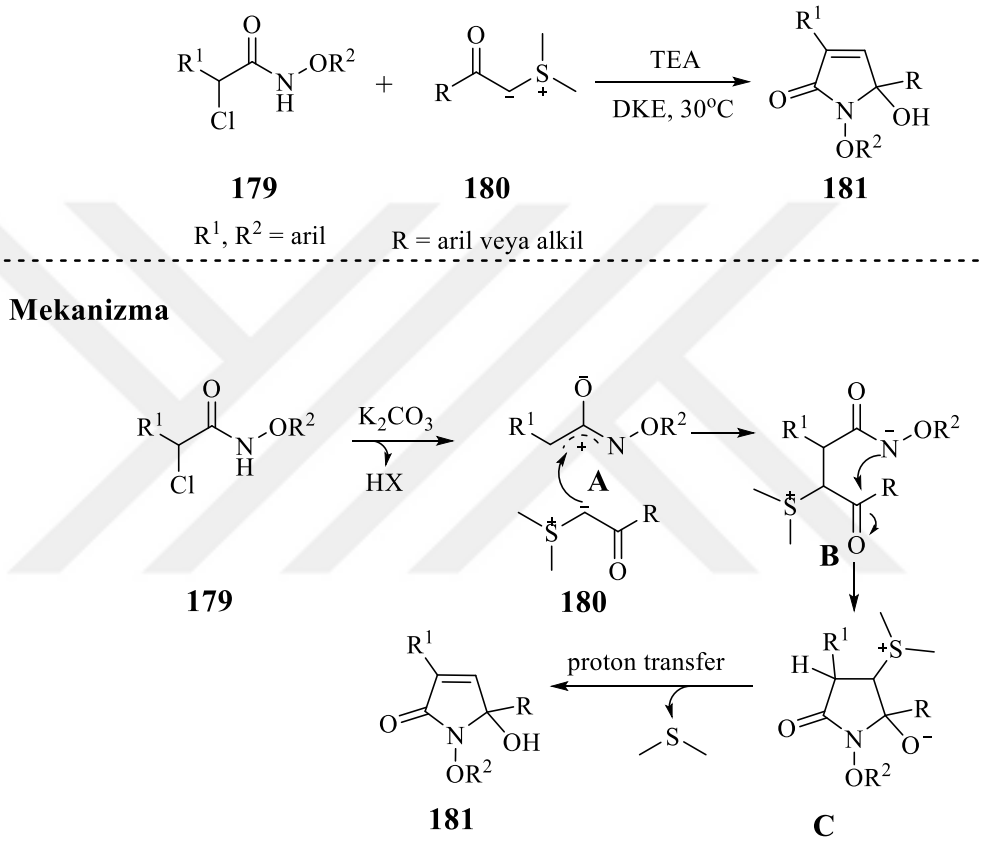
Şekil 4.22 Aza-oksiallil katyonların indollerle [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

Daha sonra Liao ve grubu, piroloindolün sentezini [3+2]-siklokatılma yoluyla aza-oksiallil katyonlar (**175**) ve C-3-substitue indol türevleriyle (**176**) gerçekleştirmişlerdir. Gerçekleştirilen yeni metod ile farklı C3-substitue indol bileşikleri oda sıcaklığında ve farklı çözücüler kullanılarak piroloindolin (**177**) türevleri basit bir şekilde sentezlenmiştir. Bu metodun yararı (±)-minfiensin (**180**) bileşiğinin sentezinde de kullanılmıştır. (Şekil 4.23) (Ji vd., 2016).



Şekil 4.23 Dien bileşikleri ile aza-oksiallil katyonların [3+2] siklokatılma reaksiyonu ve uygulaması

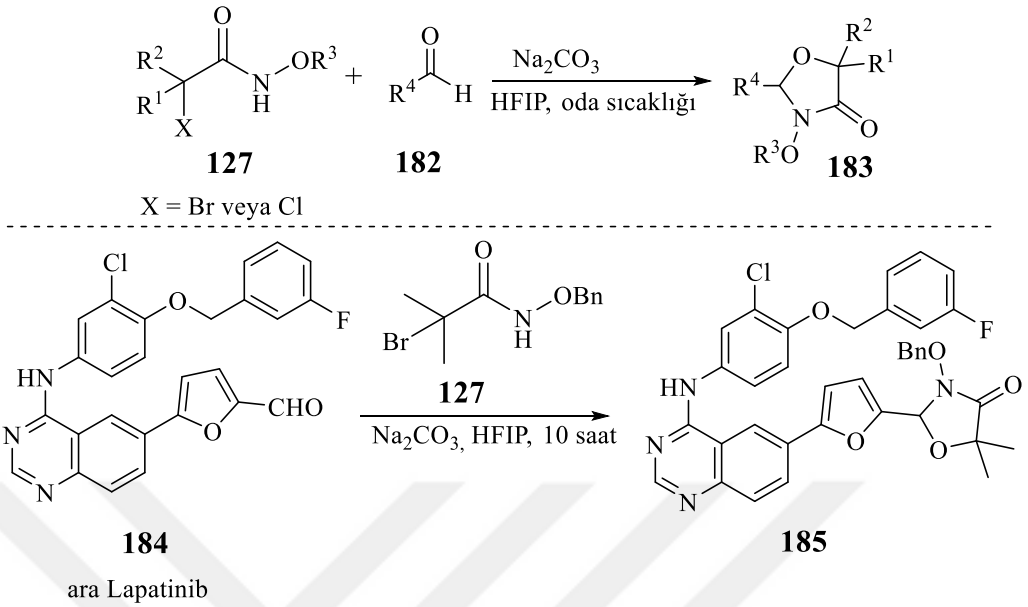
Azaoksiallil katyonlarının kükürt ilidlerle (**180**) siklokatılma reaksiyonu üzerindeki araştırmaları sırasında, Chen ve grubu α-fenil substitue α-kloro hidroksamat (**179**) kullanıldığında formal bir [3+2]-siklokatılma reaksiyonunun oluştuğunu keşfetmişlerdir (Şekil 4.24) (Li vd., 2016). Bu durumda, keton gruplarına sahip kükürt ilidler (**180**), iki karbon birimi olarak işlev görmüş ve böylece γ-laktam türevlerinin (**181**) eldesi için iyi bir yol sağlamıştır. En iyi verim dikloroetan (DKE) ve trietilamin (TEA) varlığında elde edilmiştir.



Şekil 4.24 Sülfür ilidlerle [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

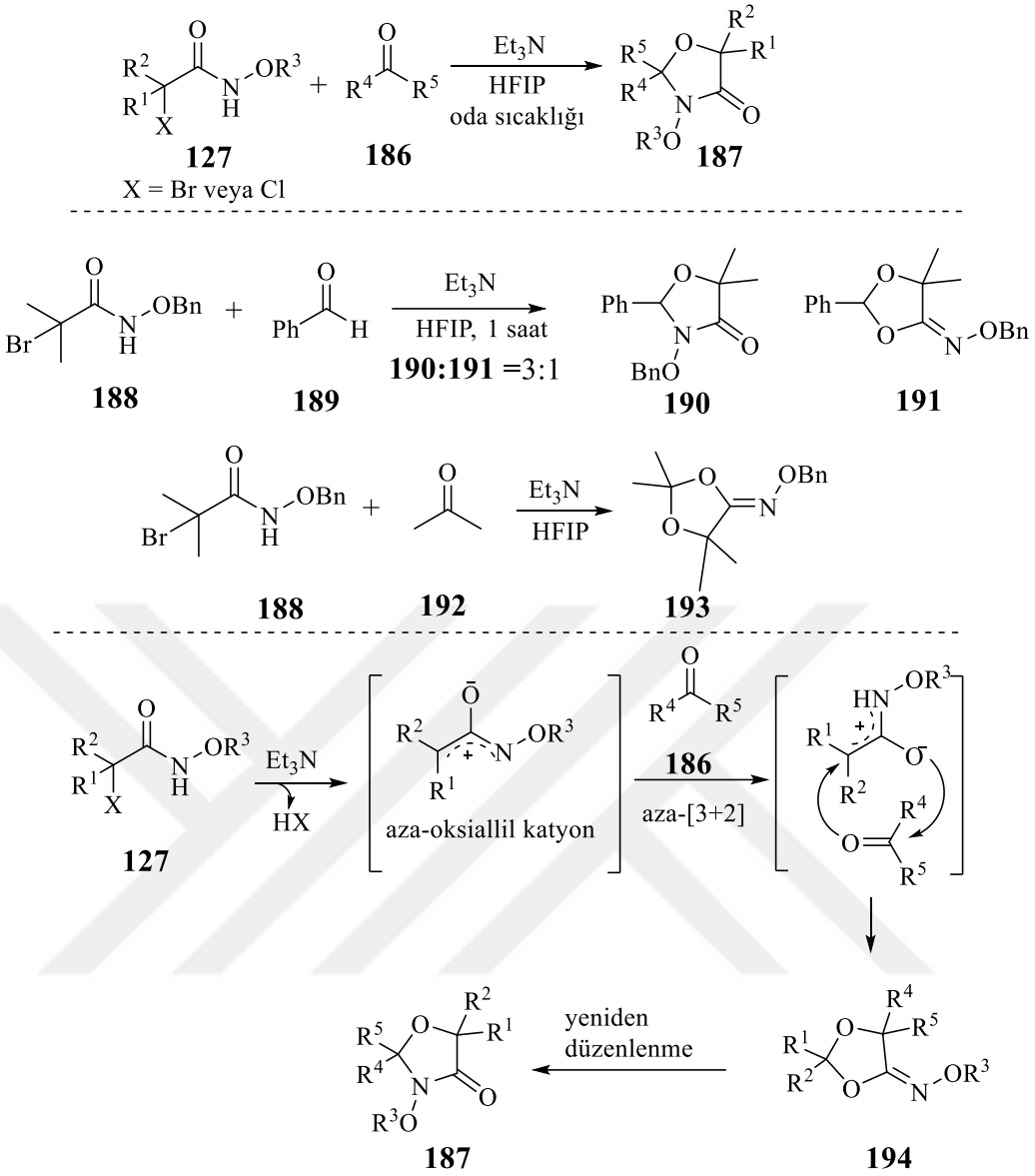
Oksazolidin-4-on (**183**) bileşikleri çeşitli biyoaktif moleküller ve önemli doğal ürünlerde bulunan temel heterosiklik motiflerdir (Macherla vd., 2007; Shymanska vd., 2015; Tadesse vd., 2010). Bu amaçla bu ürünlerin hazırlanması için etkili metotların geliştirilmesine büyük çaba harcanmaktadır. 2016 yılında Yao, Lin ve çalışma grubu oksazolidin-4-on (**183**) türevlerinin sentezi için *in situ* aza-oksiallil katyonlarının (**127**) aldehitlerle (**182**) [3+2]-siklokatılma reaksiyonu ile etkili bir yöntem bildirmişlerdir (K. Zhang vd., 2016). Şekil 4.25'te gösterilen reaksiyon, oda sıcaklığında baz olarak Na_2C0_3 ile HFIP içinde iyi verimlerle gerçekleştirilmiştir. Daha da önemlisi, elde edilen iyi

sonuçlarla ilaç moleküllerinin ileri aşamadaki modifikasyonları, sürecin potansiyel faydasını daha da vurgulamıştır.



Şekil 4.25 Aza-oksiallil katyonlarla aldehitlerin [3+2]-siklokatılması

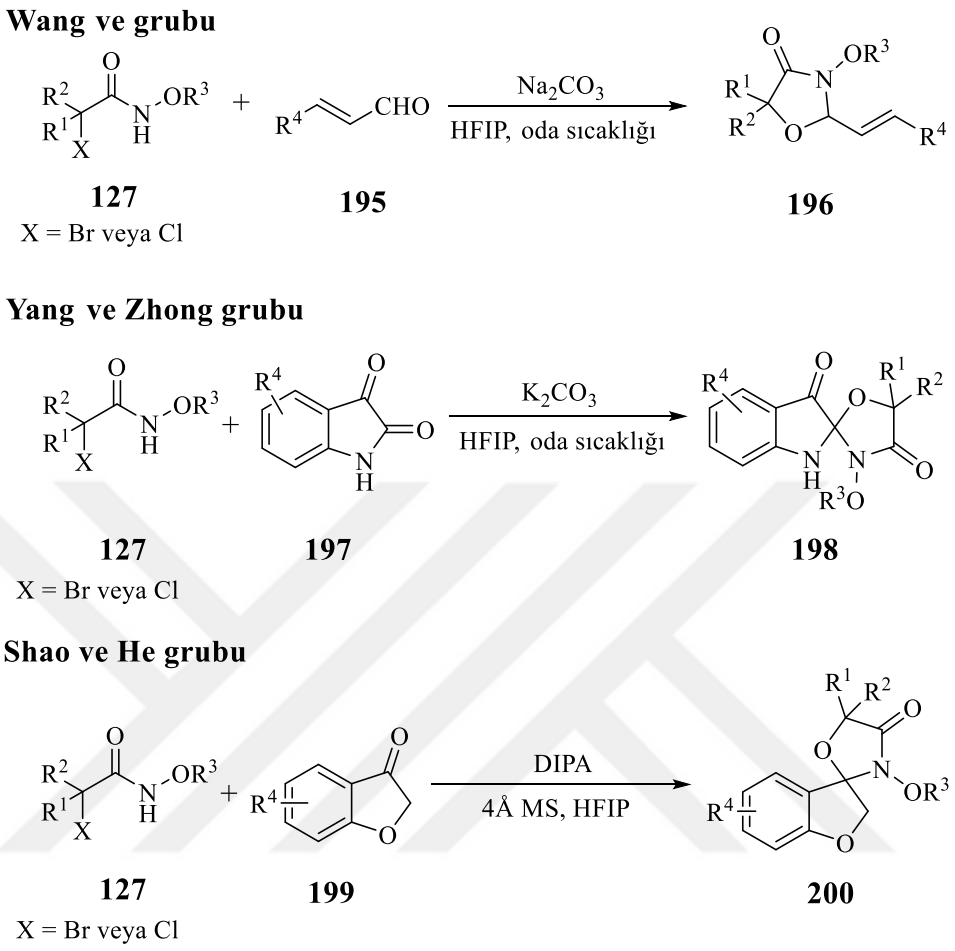
Benzer şekilde, aynı zamanda Jeffrey'nin grubu da oksazolidin-4-on türevlerini sentezlemek için aynı [3+2]-siklokatılma reaksiyonunu gerçekleştirmiştir (Acharya vd., 2016). Farklı işlevselleştirilmiş aldehitlerin (**189**) yanı sıra, esterler, amidler ve ketonlar (**186**) dahil olmak üzere diğer karbonil bileşik türlerinin Jeffrey'nin çalışmasında uygun reaksiyon yapıları olduğu kanıtlanmıştır. Reaksiyon optimizasyonu sırasında, reaksiyonun 1 saat sonra durdurulması imidat (**191**) ürününün izole edilebileceğini göstermiştir. Eğer süre uzatılırsa da kademeli olarak **190** ürününün arttığı gözlenmiştir. Bazı kararlı imidatlar durumunda ise 4-oksazolidinon (**187**) ürünlerinin oluşumu, yeniden düzenlemeyi zorlamak için asit çalışmasını gerektirmiştir. Reaksiyon mekanizması incelendiğinde, aza-oksiallil katyonun ilk siklokatılması imidat bileşiğini vermek üzere C ve O bağı oluşumuyla meydana gelmiştir. Daha sonra reaksiyonu süresinin uzatılması ya da çalışma sırasında asit katalizörü yardımıyla oksazolidin-4-on (**187**) türevleri yeniden düzenlenmiştir (Şekil 4.26).



Şekil 4.26 Esterler, amidler ve ketonlarla [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

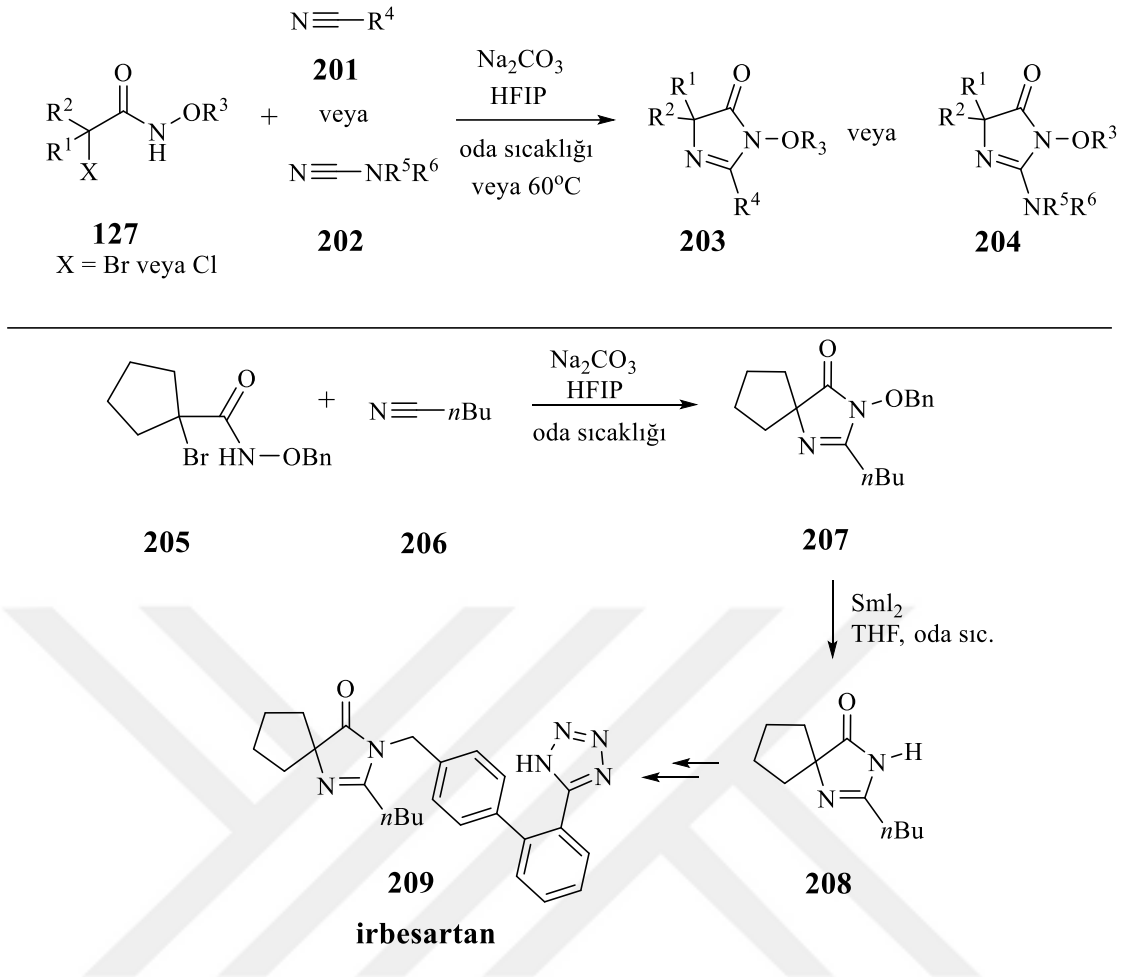
Önceki çalışmalardan ilham alan bazı gruplar yapısal olarak farklı karbonillere sahip aza-oksiallil katyonların [3+2]-siklokatılma reaksiyonu üzerine birkaç makale yayınlamışlardır. Wang ve çalışma grubu α,β-doymamış aldehitlerle (**195**) aza-oksiallil katyonların [3+2]-siklokatılmasını gerçekleştirmişlerdir (Şekil 4.27) (Jia vd., 2016). Yang, Zhong ve çalışma grubu spiro[indolin-2,2'-oksazolidin]-3,4'-dion çekirdeği içeren izatinlerle (**197**) ilgili heterosiklik halka yapılarını sağlayan aza-oksiallil katyonların [3+2]-siklokatılma reaksiyonunu bildirmişlerdir (Jiang vd., 2017). 2017 yılında Shao ve He, [3+2]-siklokatılma reaksiyonu için aza-oksiallil katyonlar ile benzofuranonların (**199**) reaksiyonlarını gerçekleştirmiştir (Şekil 4.27) (Shao vd., 2017). Tüm bu elde edilen dönüşümler aza-oksiallil katyonlarının reaksiyon türlerini büyük ölçüde

zenginleştirmekle kalmamış, aynı zamanda çeşitli işlevselleştirilmiş oksazolidin-4-on bileşiklerinin (**196**, **198**, **200**) eldesi için yöntemler sağlamıştır.



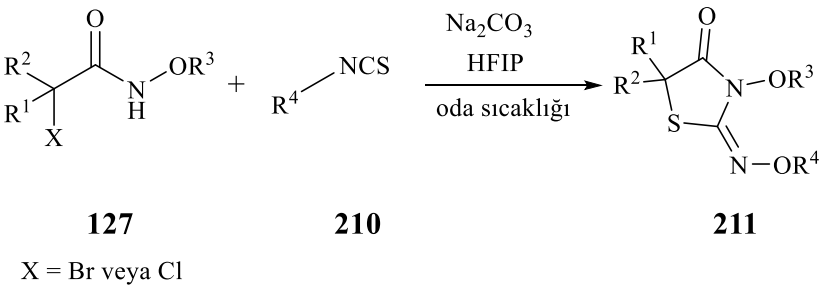
Şekil 4.27 α,β-Doymamış aldehitler, izatinler ve benzofuranonlar ile aza-oksiallil katyonların siklokatılma reaksiyon şeması gösterimi

Wu ve çalışma grubu 2018 yılında aza-oksiallil katyonların nitrillerle (**201**) ve siyanamidlerle (**202**) ilk annulasyon reaksiyonunu bildirmişlerdir ve 2-aminoimidazolonlar (**203** veya **204**) orta ile iyi verimle elde edilmiştir (Şekil 4.28) (DiPoto ve Wu, 2018). İşlem sırasında yapılan kontrol deneyleri Lewis asitlerinin siklokatılma için gerekli olmadığını ve Na_2CO_3'ün bu reaksiyonlar için en uygun baz olduğunu ortaya koymuştur. Reaksiyonda HFIP dışında MeOH ve *i*-PrOH dahil olmak üzere diğer alkol çözücülerin nispeten düşük verimliliğe rağmen siklokatılma ürünü oluşumunu desteklediği de bildirilmiştir. Daha önemlisi bir antihipertansif ilaç olan irbesartanın (**209**) sentezi anahtar adım olarak geliştirilen siklokatılma yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mekanik olarak, reaksiyonun mekanizmasının ilk *O*-alkilasyon yoluyla, ardından termodinamik olarak daha fazla tercih edilen *N*-alkillenmiş ürüne yeniden düzenlendiği görülmektedir.



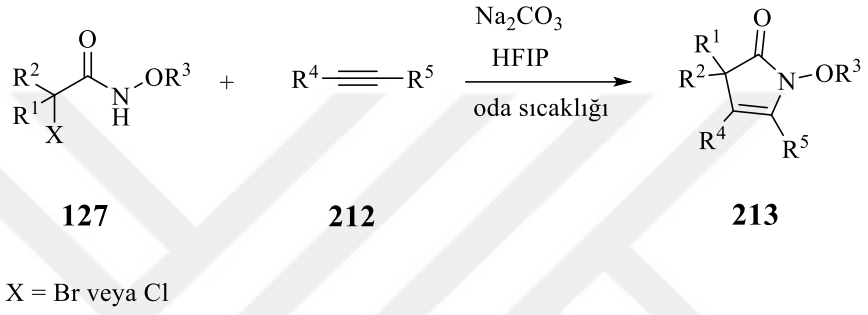
Şekil 4.28 Nitriller ve siyanamidler ile [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

İzotiyosiyanatlar (**210**), heterohalkalı bileşiklerin sentezi için [3+2]-siklokatılma reaksiyonlarında yaygın olarak uygulanan sentonlardır. 2017'de Zhao ve çalışma grubu, izotiyosiyanatlarla *in situ* aza-oksialil katyonların [3+2]-siklokatılmasının ilk örneğini göstermişlerdir ve çok çeşitli (*Z*)-2-iminotiyazolidin-4-onları (**211**) elde etmişlerdir (Zhao vd., 2017). Daha sonra, Xing, Sun ve çalışma grubu, aynı [3+2]-sikloekleme sürecini, CH_3CN çözücüsünü optimum reaksiyon ortamı olarak kullanarak bildirmişlerdir (Şekil 4.29) (Shi vd., 2019).



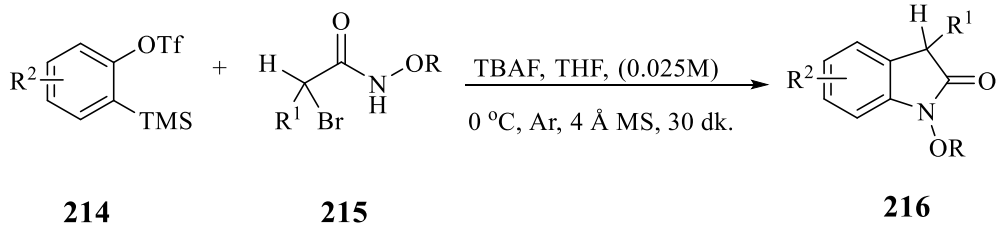
Şekil 4.29 İzotiyosiyanatlarla [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

2017'de Xing ve çalışma grubu, *in situ* aza-oksiallil katyonlarının, alkinlerin (**212**) karbon-karbon üçlü bağı tarafından verimli bir şekilde reaksiyon verebileceğini keşfetmişlerdir (Şekil 4.30). Gerçekleştirdikleri reaksiyon çok ılımlı koşullar altında meydana gelmiştir ve türevlendirilmiş 1,3-dihidro-2*H*-pirol-2-on türevlerini (**213**) iyi verimlerle elde etmişlerdir. Aril alkinlerin fenil halkalarında bulunan metil, *ter*-butil, metoksil, floro ve kloro gibi çeşitli fonksiyonel grupların verimi olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, piridin ve basit alkil substitue alkinler ve hacimli iç alkinler aza-oksiallil katyonlarla [3+2]-siklokatılma reaksiyonu için uygun olmadığı ortaya koyulmuştur (Wang vd., 2017).



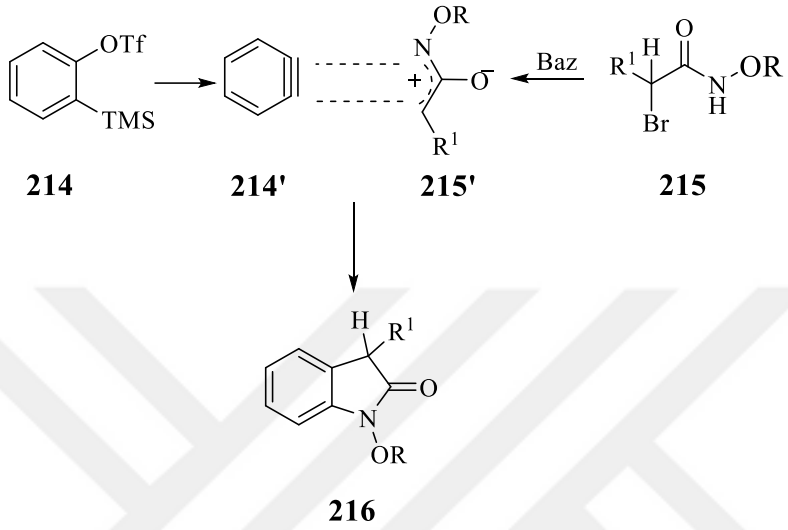
Şekil 4.30 Aza-oksiallil katyonların alkinlerle [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

Singh ve çalışma grubu metal ve oksidansız reaksiyon koşulları altında *in situ* oluşturulan iki elektrofilik tür arasında yeni [3+2] [2π-2π]-siklokatılma reaksiyonunu rapor etmişlerdir. 2-(Trimetilsilil)aril triflattan *in situ* oluşturulan arin (**214**) ile α-unsubstitutue ve α-monoalkil haloamidlerden *in situ* oluşturulan aza-oksiallil katyonlarla (**215**) C-3 unsubstitue ve monosubstitue *N*-alkoksi oksindolün (**216**) sentezini gerçekleştirmişlerdir. Reaksiyon standart reaksiyon koşulları altında, F kaynağı ve baz olarak tetra-n-bütilamonyum florid (TBAF), 4 Å moleküler siv ile THF çözücüsü içinde 0°C'de Argon atmosferi altında 30 dakikada yapılmıştır. Özellikle, aza-oksiallil katyon stabilizasyonu için köklü bir çözücü olan HFIP, reaksiyonu başlatmada başarısız olmuştur. Ayrıca α-halohidroksamatlar üzerindeki *N*-substituentler (-OMe, OEt, -O^{t}Bu, OBn ve O-allil) son ürün olan 175'in elde edilmesinde tatmin edici verimler ortaya koymuştur. Ayrıca farklı konumlarda difloro, mono-florür, metil, OMe gibi farklı substituentlere sahip arinlerin (**214**) son ürün **216** ürününü iyi verimle verdiği belirtilmiştir (Şekil 4.31) (Singh vd., 2018).



214 **215** **216**

Olası Mekanizma

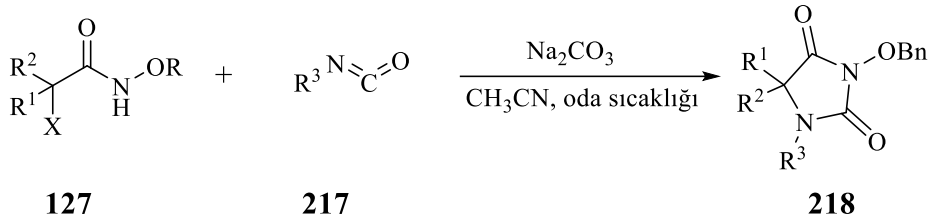


214 **214'** **215'** **215**

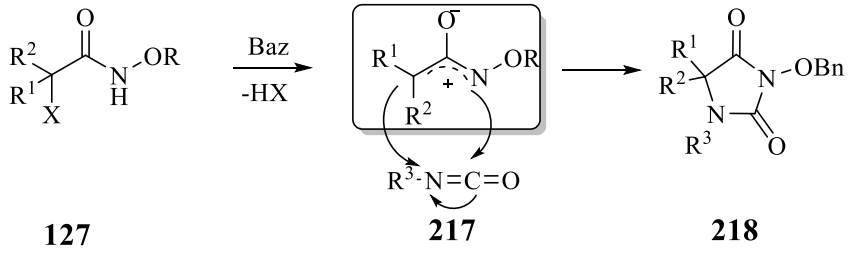
216

Şekil 4.31 Arinlerin aza-oksiallil katyonlarla [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

Hidantoin çekirdeği anti-konsülvan, anti-androjen, antibakteriyel gibi çok önemli tıbbi özellik sergilemektedir (Ware, 1950). 2018 yılında Wang ve çalışma grubu hidantoin çekirdeğini (**218**) CH_3CN içinde Na_2CO_3 bazı varlığında ve oda sıcaklığında izosiyanat (**217**) ve aza-oksiallil katyonların (**127**) [3+2]-siklokatılma reaksiyonları ile sentezlemişlerdir. Bu reaksiyonu dialkil ve diaril α-halo amidlerle olduğu kadar monohalo, monoalkil, mono arillerin geniş substrat alanı göstermiştir ve istenilen ürün **218** yüksek verimle oluşturulmuştur (Şekil 4.32) (Sun vd., 2018).

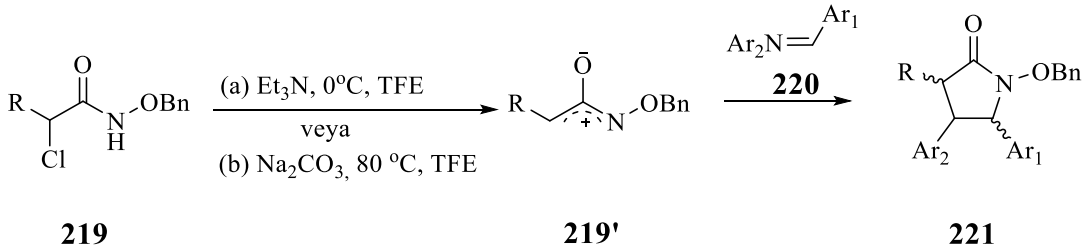


Olası Mekanizma



Şekil 4.32 İzosiyanatlarla [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

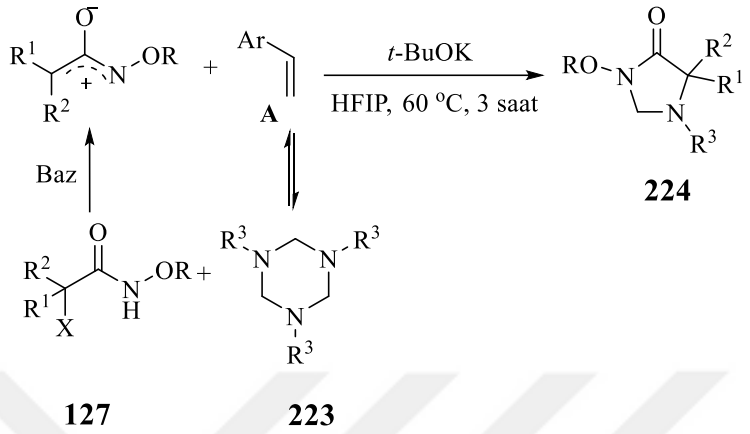
2018 yılında grubumuz tarafından aza-oksiallil katyonların *N*-aril iminlerle (Schiff bazları) (**220**) reaksiyonu sonucu regioseçici imidazolidin-4-on (**221**) bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullar altında imidazolidin-4-on (**221**) bileşiklerini oluşturmak için *N*-benziloksi-2-kloro amidlerden oluşturulan *in situ* aza-oksiallil katyonlarının (**219**) regioseçici [3+2]-siklokatılma reaksiyonunu bildirilmiştir. Bu reaksiyonu ilki 0ºC'de TFE çözücüsü ve TEA bazı varlığında, ikincisi 80 ºC'de aynı çözücü içinde ve Na_2CO_3 bazı varlığında olmak üzere iki farklı koşullarda denenmiştir. Yapılan tarama çalışmaları bazı durumlarda trans-izomerinin oluştuğu, bazı durumlarda ise cis/trans isomer karışımlarının oluştuğu tarafımızca gösterilmiştir. Ek olarak M062x/6-311+G** düzeyinde DFT kullanan hesaplamalı modelleme, trans imidazolidin-4-on bileşiklerinin oluşumunun tercih edildiği sonucuna varılmıştır (Şekil 4.33) (Eyilcim vd., 2018).



Şekil 4.33 (E)-*N*-Aril aminlerin ile [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

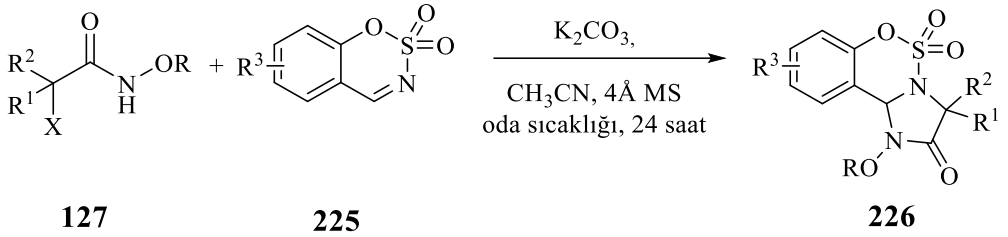
Aynı zamanda Sun ve çalışma grubu da di-substitue α-haloamidlerden *in situ* oluşturulmuş aza-oksiallil katyonlar ile hekzahidro-1,3,5-triazinlerden (**223**) *in situ*

oluşturulmuş *N*-aril imin motiflerinin (**A**) reaksiyonu sonucu 5,5-disubstitute 1-arilimidazolidin-4-on (**224**) bileşiklerinin sentezi raporlandırılmıştır. Reaksiyon koşulları 60 °C, HFIP içerisindeki *t*-BuOK bazı varlığında olarak belirtilmiştir (Şekil 4.34) (Ji ve Sun, 2018).



Şekil 4.34 Hekzahidro-1,3,5-triazin ile [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

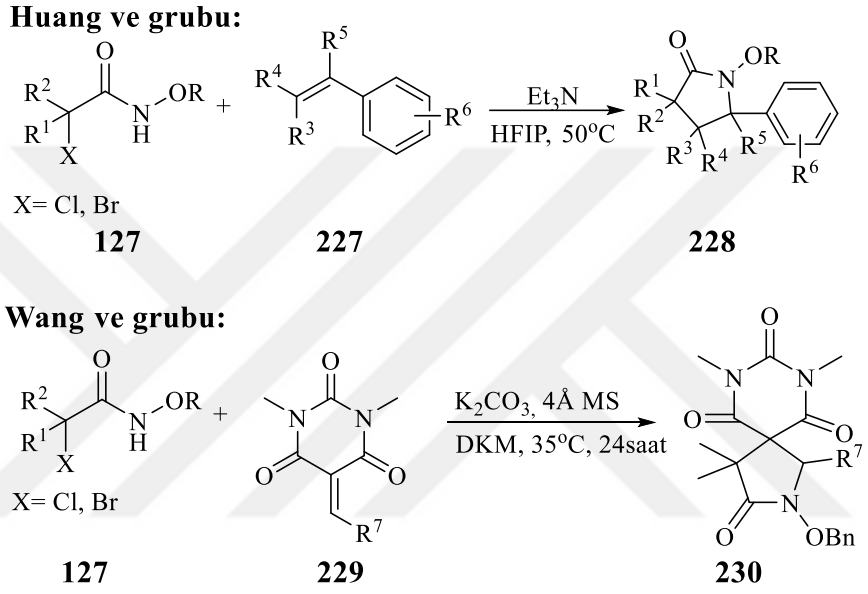
2019 yılında Zhou ve grubu, 4-imidazolidinonların (**226**) sentezi için unsubstitue veya mono substitue α-halohidroksimatlarla (**127**) sülfamattan türetilmiş siklisinlerin (**225**) [3+2]-siklokatılma reaksiyonlarını önermişlerdir. Bu reaksiyonun geçiş serbest metal koşulu altında domino aza-Mannich/SN_2 siklizasyonuyla yeni regioseçici ve diastereoselektif yöntemini rapor etmişlerdir. En iyi reaksiyon sonucu baz olarak K_2CO_3 içeren CH_3CN'de, oda sıcaklığında ve 24 saatte 4Å moleküler siv varlığında elde edilmiştir (Şekil 4.35) (Zhou vd., 2019).



Şekil 4.35 Sülfamat türevi siklikiminlerle [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

Huang ve çalışma grubu 2018'de, optimum reaksiyonu koşulları altında diastereoselektif pirrolidinon (**228**) türevlerini elde etmek için mono metil α-haloamidler ile aromatik etilenin (**227**) baz aracılı regioselektif [3+2]-siklokatılma reaksionunu göstermişlerdir. Bildirilen bu reaksiyonu metal içermeyen ılımlı koşullar altında, TEA bazı varlığında ve HFIP çözücüsü içerisinde 50°C'de gerçekleştirilmiştir. Yapılan optimizasyon işleminden sonra çeşitli substitue fenil etilen (farklı pozisyonlarda -F, -Cl, -Br, -Me, -OMe, -CF_3, -

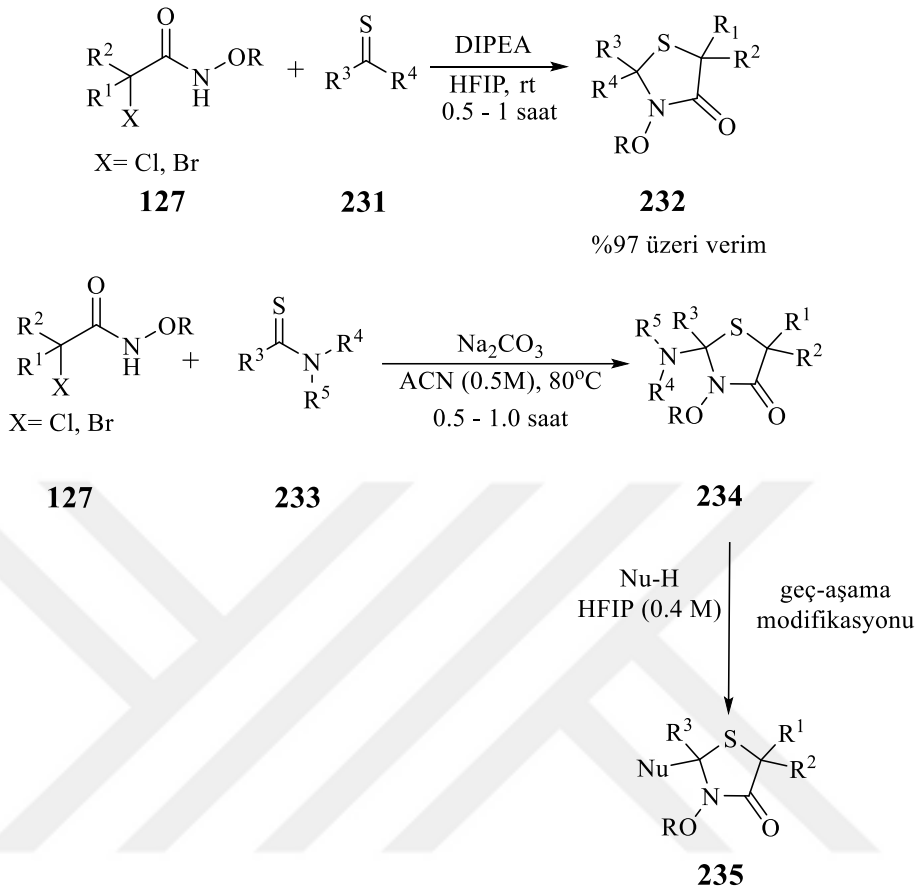
NH_2, -*ter*-Bu substituentleri), 2-vinil naftalen ve 2-vinil tiyofenin standart koşullarda uygun olabileceği sonucuna varılmıştır (Şekil 4.36) (Zhang vd., 2018). Huang grubunun çalışmalarından esinlenerek, 2019 yılıda Wang ve çalışma grubu, çok çeşitli spirobarbitürat-pirolidinon (**230**) bileşiğini elde etmek için barbitürat türevi alkenlerle (**229**) aza-oksiallil katyonların domino aza-Michael/SN_2 halkalaşma reaksiyonu yoluyla [3+2]-siklokatılma reaksiyonlarının sentezini amaçlamışlardır. Metal içermeyen bu reaksiyon standart koşullar altında, K_2CO_3 bazı varlığında ve diklorometan çözücüsü içerisinde 35°C'de gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.36) (Wang vd., 2019).



Şekil 4.36 Aromatik etilenler ve barbitürat türevli alkenlerle siklokatılma

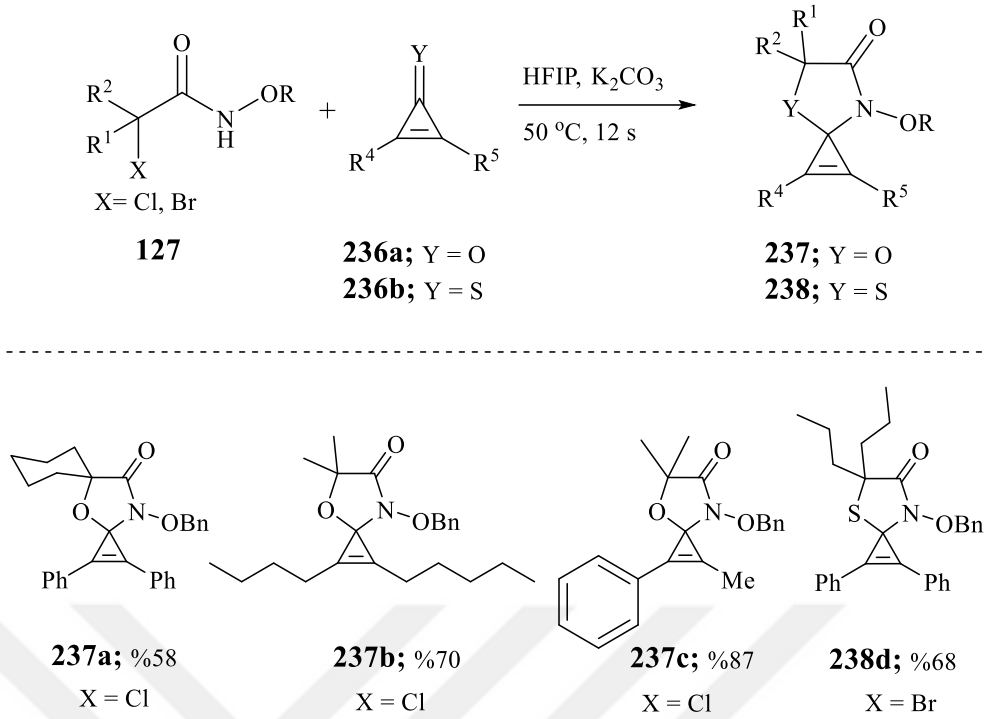
Tiyokarboniller (**231**), karbonillerin aza-oksialil katyonları ile muazzam reaktivitesinden esinlenerek farklı siklokatılma yoluyla çeşitli heterosikliklerin sentezi için yaygın olarak kullanılan karbonil analoglarıdır (el Bouakher vd., 2019; Jaiswal vd., 2020; Xuan vd., 2018). 2019 yılında Saha ve arkadaşları, çok çeşitli kükürt içeren heterosiklikler olan tiyazolidin-4-on türevlerini (**232** ve **235**) sentezlemek için tiyokarbonil (**231**) ve varyant tiyoamidlerin (**233**) aza-oksiallil katyonlarla baz destekli [3+2]-siklokatılma reaksiyonlarını bildirmişlerdir. Tiyokarboniller için HFIP çözücüsü içerisinde 0.5–1.0 saatte oda sıcaklığında baz olarak DIPEA kullanılarak ve varyant tiyoamidleri için 80°C'de CH_3CN içinde baz olarak Na_2CO_3 kullanılarak en uygun reaksiyon koşulu belirlenmiştir. Optimizasyon sonuçları, alifatik tiyokarbonillerin yanı sıra naftil, tiyofen ve furan ile diaril tiyoketonların aromatik halkası üzerindeki elektron verici ve elektron çekici grupların iyi tolere edildiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, *N*,*N*-dialkil tiyobenzamidler ve sekonder *N*-ariltiyoamidler gibi tiyoamidler, verilen reaksiyon

koşulları altında iyi verim sağlasa da, tersiyer *N*-ariltiyoamid standart reaksiyon koşulları altında sonuçsuz kalmıştır (Şekil 4.37) (Jaiswal vd., 2019).



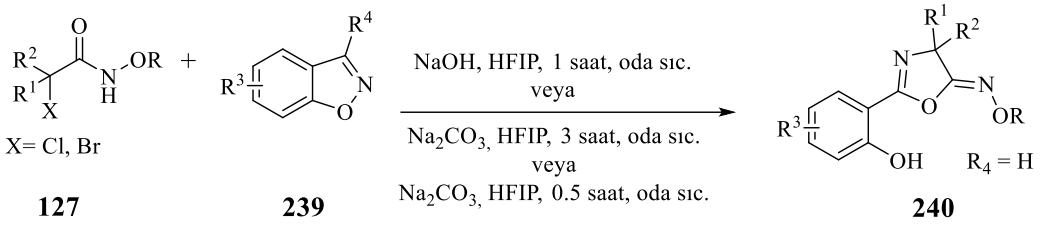
Şekil 4.37 Tiyokarbonillerle [3+2] siklokatılma reaksiyonu

Biyolojik olarak aktif spirosiklik oksazol (**237**) ve tiyazol türevlerinin (**238**) [3+2]-siklokatılma reaksiyonları 2019 yılında Xuan ve grubu tarafından rapor edilmiştir. Aza-oksiallil katyon ile siklopropenon (**236a**) ve siklopropentiyonların (**236b**), HFIP çözücüsü içerisindeki K_2CO_3 bazı varlığında 50°C'de 12 saat reaksiyonu gerçekleştirilerek istenilen ürün elde edilmiştir (Şekil 4.37). Çeşitli siklopropenon ve diarilsiklopropention türevleri denenmiştir ve aril halkası üzerinde farklı substituentler taşımanın standart reaksiyon koşulları altında uyumlu olduğu bulunmuştur. Ayrıca, α-mono- ve di-substitue hidroksamatların verilen reaksiyon koşulları altında düzgün bir şekilde reaksiyona girmesine rağmen, α-unsubstitue halohidroksamatların başarısız kaldığı kaydedilmiştir (Zhou vd., 2019).



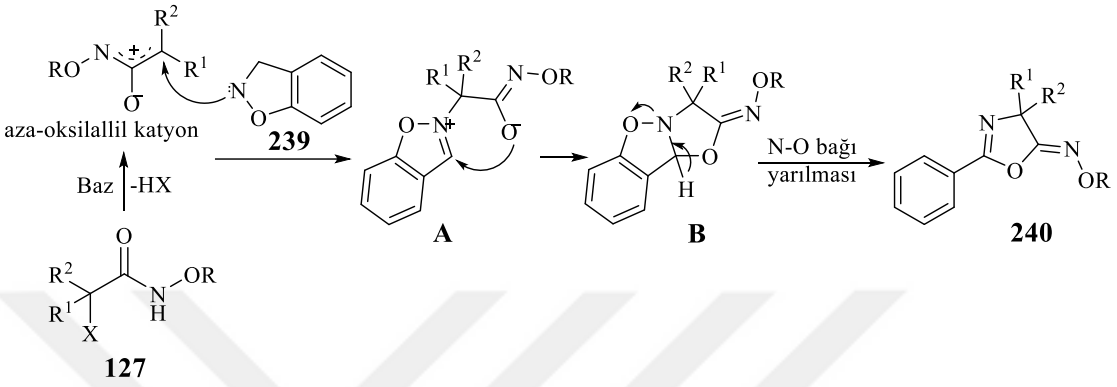
Şekil 4.38 Siklopropenonlar ve siklopropentionlarla [3+2]-siklokatılması

Farmasötikte antitümör, antibiyotik, antitripanozomal alkoloit olarak oksazolin türevlerinin önemi nedeniyle farklı araştırma grupları tarafından basit sentezlerine büyük çaba harcanmıştır (Frump, 1971; Tilvi ve Singh, 2016). 2019 yılında Lin ve çalışma grubu, Liu ve çalışma grubu ve ayrıca 2020 yılında Cui ve çalışma grubu birbirlerinden bağımsız olarak *O*-alkillenmiş oksazolini oluşturmak (**240**) için, [3+2]-siklokatılma reaksiyonu yoluyla 1,2-benzisoksazol türevleri (**239**) ile aza-oksiallil katyonlarının (**127**) C ve N terminalleri yerine C ve O terminalleri ile reaktivitesini bildirmişlerdir. Aril halkasının farklı pozisyonlarında bulunan elektron çekici ve verici grupların iyi verimlerle sonuç ürününü elde etmede etkili olduğu belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, α-disubstitue halohidroksamatların mükemmel reaktivite sergilediği ve α-monosubstitue halohidroksamatların yüksek sıcaklıklarda bile düşük reaktivite gösterdiğini görülmüştür. Ancak α-unsubstitue haloamidler, standart reaksiyon koşulları altında istenen ürünleri verememiştir (Şekil 4.39) (Feng, Zhao, vd., 2019; He vd., 2020; Sun vd., 2019).



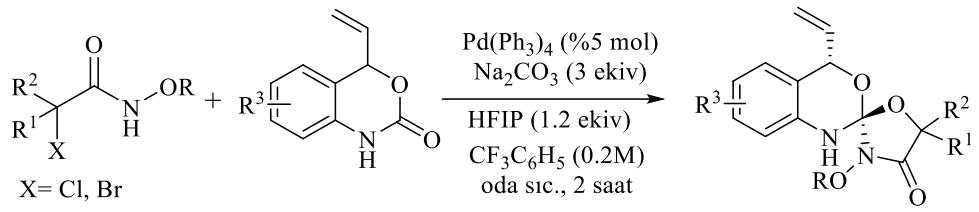
127 **239** **240**

Olası Mekanizma



Şekil 4.39 Olası bir mekanizma ile 1,2-benzizoksazollerle [3+2]-siklokatılması

Kim ve çalışma grubu 2019'da vinilbenzoksazinanonlar (**241**) ile aza-oksiallil katyonların [3+2]-siklokatılma reaksiyonlarını gerçekleştirerek dihidrobenzoksazinle bağlı spirooksazolin-4-onların (**242**) sentezini bildirmişlerdir. Bu reaksiyonu HFIP katkılı $CF_3C_6H_5$ çözücü içinde Na_2CO_3 bazı ve $Pd(PPh_3)_4$ (%5 mol) katalizör kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Aza-oksiallil katyonların stabilizasyonu yoluyla ürün verimlerinde iyileşme için metal katalizörlerini göstermişlerdir. $Pd(PPh_3)_4$, $Pd_2(dba)_3$ veya $Pd(OAc)_2$ katalizörlerini reaksiyonlarda deneyerek sırasıyla verimin yavaşça azaldığını belirtmişlerdir (Şekil 4.40) (Kim vd., 2019).

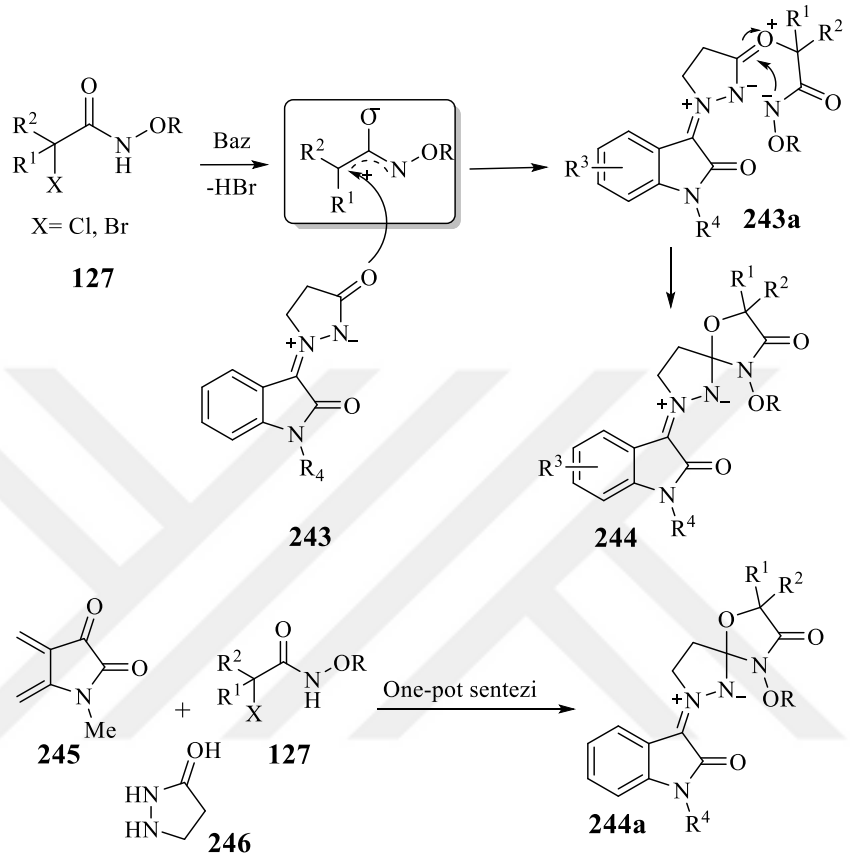


127 **241** **242**

Şekil 4.40 Benzoksazinanonlarla [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

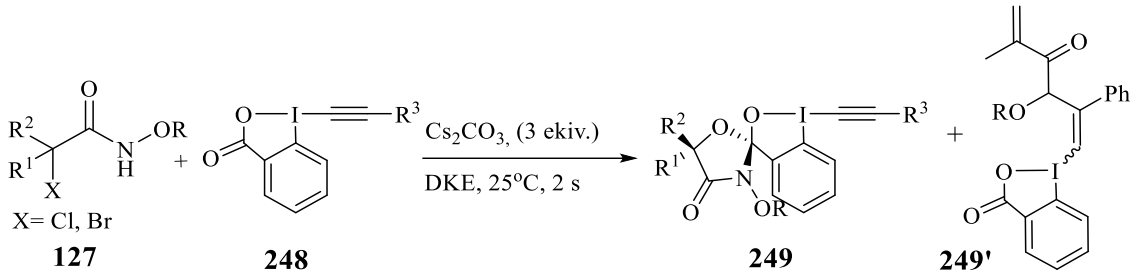
2020'de Zhao ve grubu aza-oksiallil katyonlarla isatin azametineiminlerin (**243**) [3+2]-siklokatılma reaksiyonlarını gerçekleştirerek spiroheterohalkalıların (**244**) sentezini bildirmişlerdir. Koruyucu gruplar olarak Bn, allil, metil, vs. ile oksindollerin benzen halkası üzerindeki farklı substituentleri, istenen ürünü vermiştir. Ayrıca yapılan

çalışmalarda, azot içermeyen oksindollerin reaksiyonunun karışımla sonuçlandığı görülmüştür. Reaksiyonun uygulanabilirliğini göstermek için istenen ürün, one-pot senteziyle *N*-metilizatin (**245**), 3-pirazolidinon (**246**) ve α-halohidroksamatlardan elde edilmiştir (Şekil 4.41) (Fang vd., 2020).



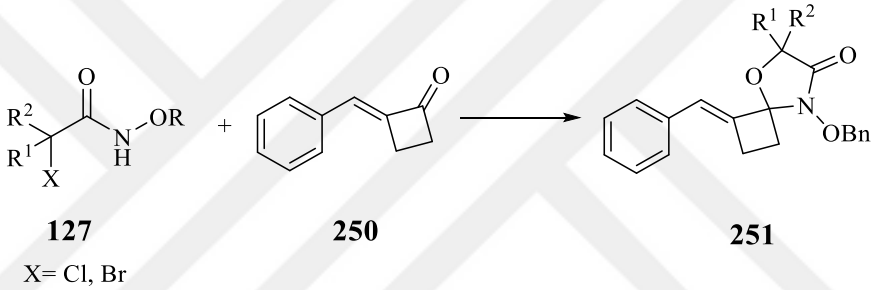
Şekil 4.41 İsatin azametineiminlerin [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

2021 yılında Kang ve çalışma grubu dikloroetan solventindeki Cs_2CO_3 bazı varlığında aza-oksiallil katyonlarla benziodazolon çekirdeğinin karbonili (**248**) arasında 4-oksazolidinon halkası içeren spirosiklik iyodanları (**249**) vermek üzere [3+2]-siklokatılma reaksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Reaksiyon sonucunda ayrıca çok yönlü elektrofilik grup transfer reaktifi olan etinilbenziyodoksolonlar (EBXs)'da (**249'**) eser miktarda oluşmuştur (Şekil 4.42) (Sun vd., 2021).



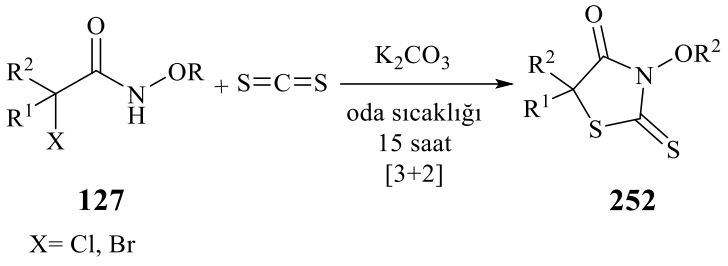
Şekil 4.42 Aza-oksiallil katyonlarının benziodazolon çekirdeğinin karbonil grubu ile [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

Birçok doğal ürün ve ilacın anahtar yapı birimi olan spirosiklik oksazolün (**251**) 2-ariliden sikloalkanonlar (**250**) ve aza-oksialil katyondan sentezi Wang ve çalışma grubu tarafından 2022 yılında çalışılmıştır. Reaksiyonun en iyi HFIP içinde oda sıcaklığında Na_2CO_3 ile gerçekleştirildiği saptanmıştır (Şekil 4.43) (Wan vd., 2022).



Şekil 4.43 2-Arilidensikloalkanonların [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

İki heteroatom (S ve N) içeren heterohalkalı grubu rhodaninler (**252**) ve türevleri, yaygın solvent olan karbon sülfürden [3+2]-siklokatılma yoluyla 2022'de Shi ve çalışma grubu tarafından sentezlenmiştir (Şekil 4.44) (Lei vd., 2022).

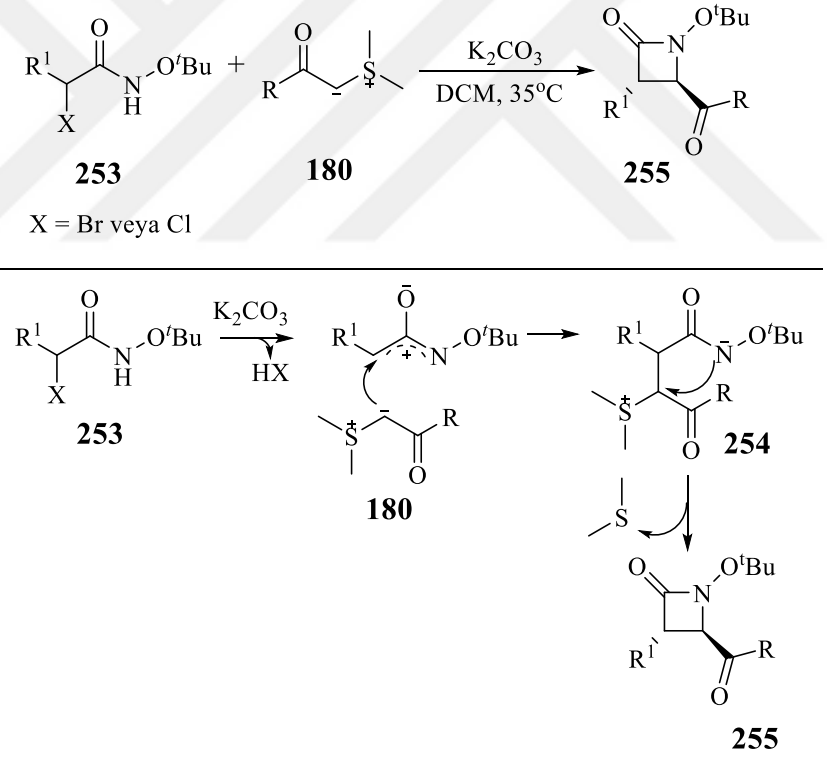


Şekil 4.44 Karbon sülfürün [3+2]-siklokatılma reaksiyonu

4.2.4 Azaoksi-allil Katyonların [3+1] Siklokatılma Reaksiyonları

β-laktamlar, bakteriyel enfeksiyonlara ve diğer hastalıklara karşı kullanılan çok çeşitli biyolojik olarak aktif bileşiklerde sıklıkla bulunan en önemli heterohalkalılardan biridir (Pitts ve Lectka, 2014). 2016'da Liu, Chen ve çalışma çalışma grubu, azaoksialil

katyonlarının kükürt ilidlerle [3+1]-siklokatılma reaksiyonunun diastereoseçici olarak çeşitli yararlı β-laktamlar (**255**) meydana getirdiğini bildirmişlerdir (Li vd., 2016). Ayrıca, başlangıç maddesi olarak kiral bir kükürt ilid substratı eklendiğinde orta düzeyde bir enantiyomerik ekses (*ee*) değeri elde edilebildiği belirtilmiştir. α-halohidroksamatlar üzerindeki R^1 grubunun reaksiyon verimliliği üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. R^1 bir alkil olduğunda, karşılık gelen β-laktamları temin etmek üzere reaksiyon [3+1]-siklokatılma yoluyla düzgün bir şekilde ilerlemekteyken; R^1 bir aril grubuysa, bir [3+2]-siklokatılma reaksiyonunun meydana geldiği rapor edilmiştir. Bu reaksiyonu ait makul bir mekanizma Şekil 4.45'te gösterilmiştir. Temel reaksiyon koşulları altında α-halohidroksamat **253** azaoksialil katyon ara maddesine meydana getirmiştir. Daha sonra, kükürt ilidin azaoksiallil katyonu ile reaksiyonu ile zwitter iyonik ara ürün **254** oluşturulmuştur. Son olarak, azot anyonu sülfonyumu substitue ederek β-laktam **255** meydana gelmiştir.



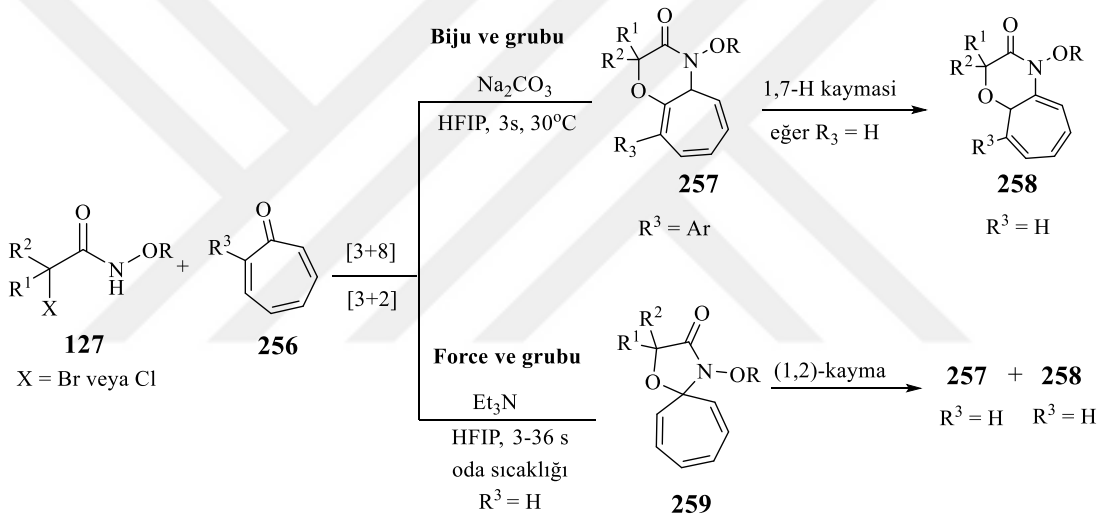
Şekil 4.45 Kükürt ilidlerle [3+1]-siklokatılma reaksiyonu

4.2.5 Azaoksi-allil Katyonların [3+8] Siklokatılma Reaksiyonları

Yedi üyeli tropon halka sistemi benzenoid olmayan aromatik bileşiklerin önemli bir sınıfıdır ve biyolojik olarak faydalı doğal ürünlerde bulunabilir (Liu vd., 2014). İki farklı araştırma grubu Biju ve grubu (2019) (Roy vd., 2019) ile Force ve grubu (2020) (Force

vd., 2020), metal içermeyen koşullar altında baz destekli [3+8]-siklokatılma reaksiyonu yardımıyla troponlar (**256**) ile aza-oksiallil katyonların reaksiyonlarını gerçekleştirmişlerdir. Biju ve grubu 3 saat içinde, 30°C'de, HFIP içerisinde, optimal baz Na_2C0_3 (2.6 ekiv.) varlığında [3+8]-siklokatılma reaksiyonunu gerçekleştirmiş ve **257**'yi elde etmişlerdir. Daha sonra 1,7-*H* kayması sonucunda 1,4-oksazinonlar ile kaynaşmış sikloheptatrien **258** nihai ürünü oluşturulmuştur (Şekil 4.46).

Force ve çalışma arkadaşları **257** ve **258** ürünlerinin sentezini, [3+2]-siklokatılma sonucu **259**'da meydana gelen 1,2-kayma yoluyla, TEA (2.5 eşdeğeri) bazı varlığında, HFIP'de oda sıcaklığında 3–36 saat içinde elde ettiklerini rapor etmişlerdir. Bu reaksiyonda sadece -OBn substitue aza-oksiallil katyonları değil aynı zamanda metoksi, *ter*-bütiloksi ve alliloksi substitue aza-oksiallil katyonlarla da reaksiyon gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.46).

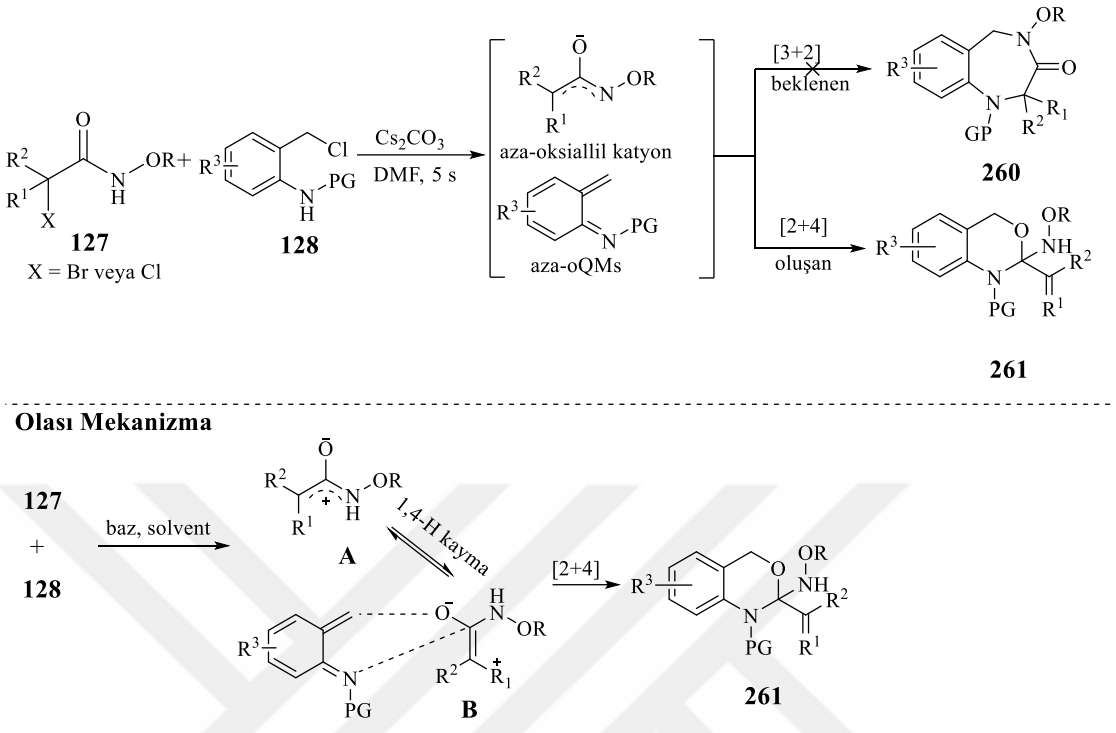


Şekil 4.46 Aza-oksiallil katyonların troponlarla [3+8]-siklokatılma reaksiyonu

4.2.6 Azaoksi-allil Katyonların [2+4] Siklokatılma Reaksiyonları

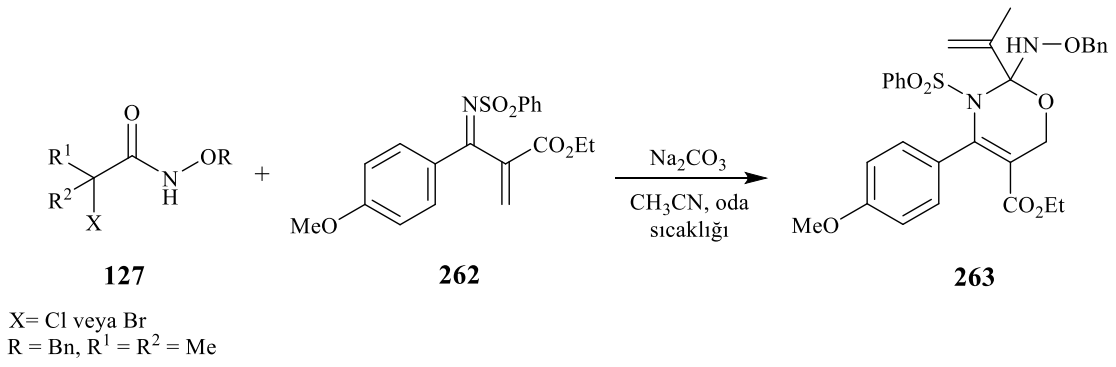
2018'de Jin ve çalışma grubu aza-oQM'ler ve aza-oksiallil katyonları arasında öngörülen [3+4]-siklokatılma reaksiyonu sırasında [3+4]-siklokatılma ürünü olan **260** bileşiğinin elde edilemediğini gözlemlemişlerdir. Bunun yerine beklenmedik bir [2+4]-siklokatılma ürünü olan **261** bileşiğinin elde edildiğini raporlamışlardır (Şekil 4.47) (Jin vd., 2018). Bu reaksiyon oda sıcaklığında inert atmosferi altında DMF çözücüsü içerisinde ve Cs_2CO_3 bazı varlığındaki optimum koşullar altında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon mekanizması incelendiğinde, aza-oksiallil katyonların (**A**) oluşması üzerine 1,4-kayması sonucu ara madde **B** oluşmuştur ve daha sonra *N*-(2-klorometilaril) amidler **128**'den

üretilen *in situ* aza-oQMs ile reaksiyona girmiştir. Sonuç olarak da nihai ürün [2+4]-siklokatılma reaksiyonu sonucu elde edilmiştir.



Şekil 4.47 Aza-oQMs ile [2+4]-siklokatılma reaksiyonu

Daha sonra 2020 yılında Yuan ve çalışma grubu, [3+4]-siklokatılma reaksiyonu yoluyla 1,4-diazepinon türevlerinin (**263**) sentezi sırasında da benzer tipte bir reaktivite gözlemlemişlerdir. Dimetil grubu taşıyan α-bromoasetamidin *N*-sülfonil-1-aza-1,3-bütadienler **262** ile [2+4]-siklokatılma reaksiyonu gerçekleştirildiğini rapor etmişlerdir. Oda sıcaklığında CH_3CN çözücüsü içinde ve Na_2CO_3 bazı varlığında denenen bu reaksiyonun %89 verimle [2+4]-siklokatılma reaksiyonu sonucu **263**'ü verdiği belirtilmiştir (Şekil 4.48) (Yuan vd., 2020).

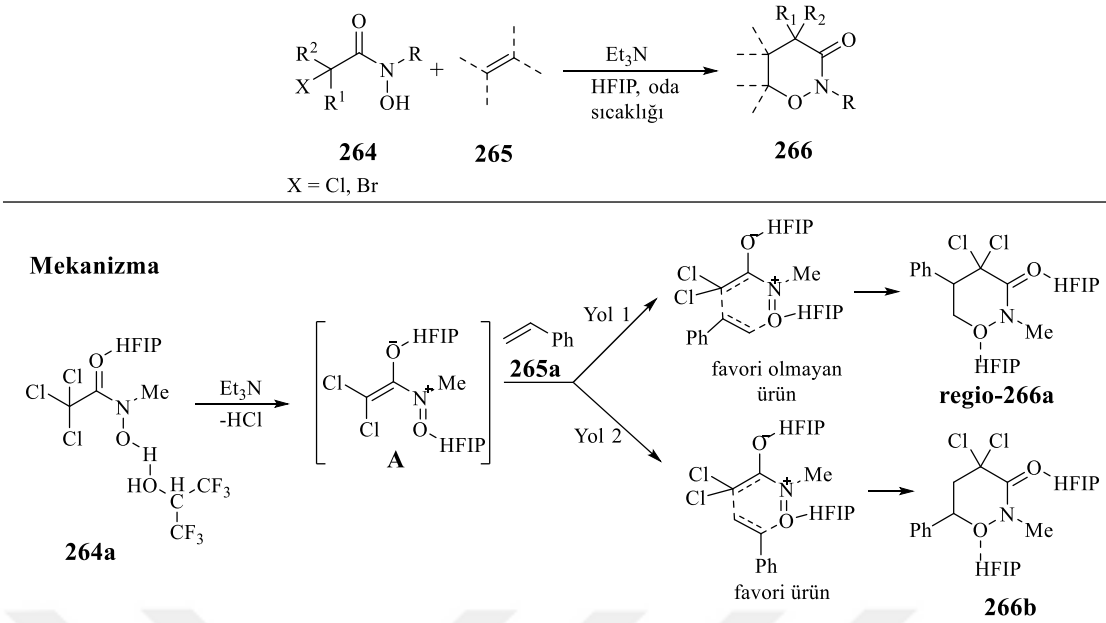


Şekil 4.48 *N*-Sülfonil-1-aza-1,3-bütadienler ile [2+4]-siklokatılma reaksiyonu

4.3 Aza-oksiallil Katyonların 1,4-Dipolar Olarak Siklokatılma Reaksiyonları

4.3.1 Azaoksi-allil Katyonların [4+2] Siklokatılma Reaksiyonları

Geleneksel olarak 1,3-dipolar aza-oksiallil katyon türlerinin alkoksi grubunun oksijen atomu, serbest bir nükleofilik bölge olarak hareket edemezler (el Bouakher vd., 2019; Xuan vd., 2018). Ji ve çalışma grubu geleneksel alkoksi grubu yerine azot atomunda -OH ve alkil grubuna sahip 1,4-dipolar türler geliştirmişlerdir. α-Halo-*N*-alkil hidroksamik asitlerin dehidrohalojenasyonundan yeni bir zwitter iyonik nitrosoalken tipi tasarlanmıştır. Bu şekilde hidroksil grubunun bir oksijen atomu serbest nükleofilik bölge görevi görebilmektedir (Şekil 4.49) (Ji vd., 2019). α-Halo-*N*-alkil hidroksamik asitler **264**'ten *in situ* oluşturulmuş 1,4-dipolar ara ürün heterodin ve alkenlerle (**265**) [4+2]-siklokatılma reaksiyonu florlu HFIP içinde gerçekleştirilmiştir ve sonuç olarak hidroksil ve asetamid grubu ile 6 üyeli heterohalkalı 1,2-oksazinan-3-onları **266** içeren NO bağının kurulmasına yol açmıştır. Mekanistik yönünü incelemek için DFT hesaplamaları yapılmıştır. Bu hesaplamalardan elde edilen verilere göre, Şekil 4.50'de gösterildiği gibi makul bir mekanizma önerilmiştir. İki HFIP molekülü ile bağlanmış α-halo-*N*-alkil hidroksamik asitler **264a**, 1,4-dipolar heterodien ara maddesi olan **A**'ya dönüşmüş ve iki farklı yoldan **266a**'yı oluşturmak üzere **265a** ile reaksiyona girmektedir. Elde edilen verilere göre favori olmayan ürün üzerinden geçen yol 1 üzerinden regio-**266a** ürünü meydana gelirken; yol 2 favori ürün üzerinden **266b** ürününü oluşmaktadır. Favori olmayan ürün bölgesinden geçen yol 1'in, favori ürün bölgesinden geçen yol 2'den 1,5 kkal/mol oranında tercih edilmediği sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.49 1,4-Dipolar aza-oksiallil katyonların alkenlerle [4+2]-siklokatılması

5
DENEYSEL ÇALIŞMALAR VE BULGULAR

5.1 GSK-3β İnhibitörü ile İlgili Yapılan Deneysel Çalışmalar

5.1.1 Materyal ve Yöntem

5.1.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler, Araç ve Gereçler

Tablo 5.1 Kullanılan kimyasal maddeler

KİMYASAL ADI	MARKA ADI	CAS NUMARASI
1,1,1,3,3,3-Hekzafloro-2-propanol	Merck	105228
1,4-Dibromobütan	Sigma-Aldrich	140805
1,6-Dibromohekzan	Merck	802921
2-Bromoizobütiril bromid	Sigma-Aldrich	252271
4A moleküler siv	Merck	105708
4-Benzilpiperidin	Merck	142360
Amonyak çözeltisi	Merck	105423
Amonyum klorür	Sigma-Aldrich	213330
Aseton	Merck	100014
Bakır (II) sülfat pentahidrat	Merck	102790
Benzoik asit	Merck	100136
Dietil eter	Merck	100921
Diklorometan	Merck	106049
Fenil asetilen	Sigma-Aldrich	807044
Fenilasetik asit	Sigma-Aldrich	820993
Hekzan	Merck	104367
İndol	Sigma-Aldrich	822281
Metanol	Merck	106009
Morfolin	Sigma-Aldrich	394467
N,*N*-Dimetil formamid	Merck	103053
N-Metilpiperazin	Sigma-Aldrich	805859
Petrol eteri	Merck	101775
Potasyum karbonat	Merck	104928
Potasyum *t*-bütoksit (*t*-BuOK)	Merck	659878
Selit	Merck	102693

Tablo 5.1 Kullanılan kimyasal maddeler (devamı)

Sodyum metali	Sigma-Aldrich	822284
Sodyum askobat	Merck	PHR1279
Sodyum azid	Merck	S2002
Sodyum hidrür	Sigma-Aldrich	452912
Sodyum sülfat	Merck	106649
O-Benzilhidroksilamin hidroklorür	Merck	B22984
Okzalil klorür	Sigma-Aldrich	807066
Tetrahidrofuran	Merck	108110
Tiyonil klorür	Sigma-Aldrich	808154
Trietil amin	Merck	808352
Trimetazidin dihidroklorid	Sigma-Aldrich	653322
Toluen	Merck	108325

Tüm reaksiyonlar, aksi belirtilmedikçe inert atmosfer altında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada elde edilen maddelerin sentezi sonrasında saflaştırılmasını takiben çözücülerin uçurulmasında "Heidolph" marka döner buharlaştırıcı kullanılmıştır.

Erime noktası tayini için "Gallenkamp" dijital termometreli cihaz kullanılmıştır.

Maddelerin saflaştırılması için yararlanılan kolon kromatografisi tekniğinde "Merck Silikajel 60" (70-230 mesh) kullanılmıştır. Ayrıca reaksiyonu ilerleyişini izlemek amacıyla ince tabaka kromatografisi (TLC) için F_{254} flouresans indikatörlü "Merck" marka silikajel 60 alüminyum tabakalardan ve tabakaların görüntülenmesi için "Camag" (254/366 nm) UV lambadan yararlanılmıştır.

FTIR spektrumları için Yıldız Teknik Üniversitesi'nde bulunan "Perkin Elmer, FT-IR (ATR)" spektrofotometresi kullanılarak analiz ölçümü yapılmıştır.

Nükleer magnetik rezonans spektrumları (^{1}H NMR ve ^{13}C NMR(APT)) Bezmialem Vakıf Üniversite'sinde "Bruker-500 MHz NMR" cihazıyla $CDCl_3$ çözücüsü içerisinde alınmıştır.

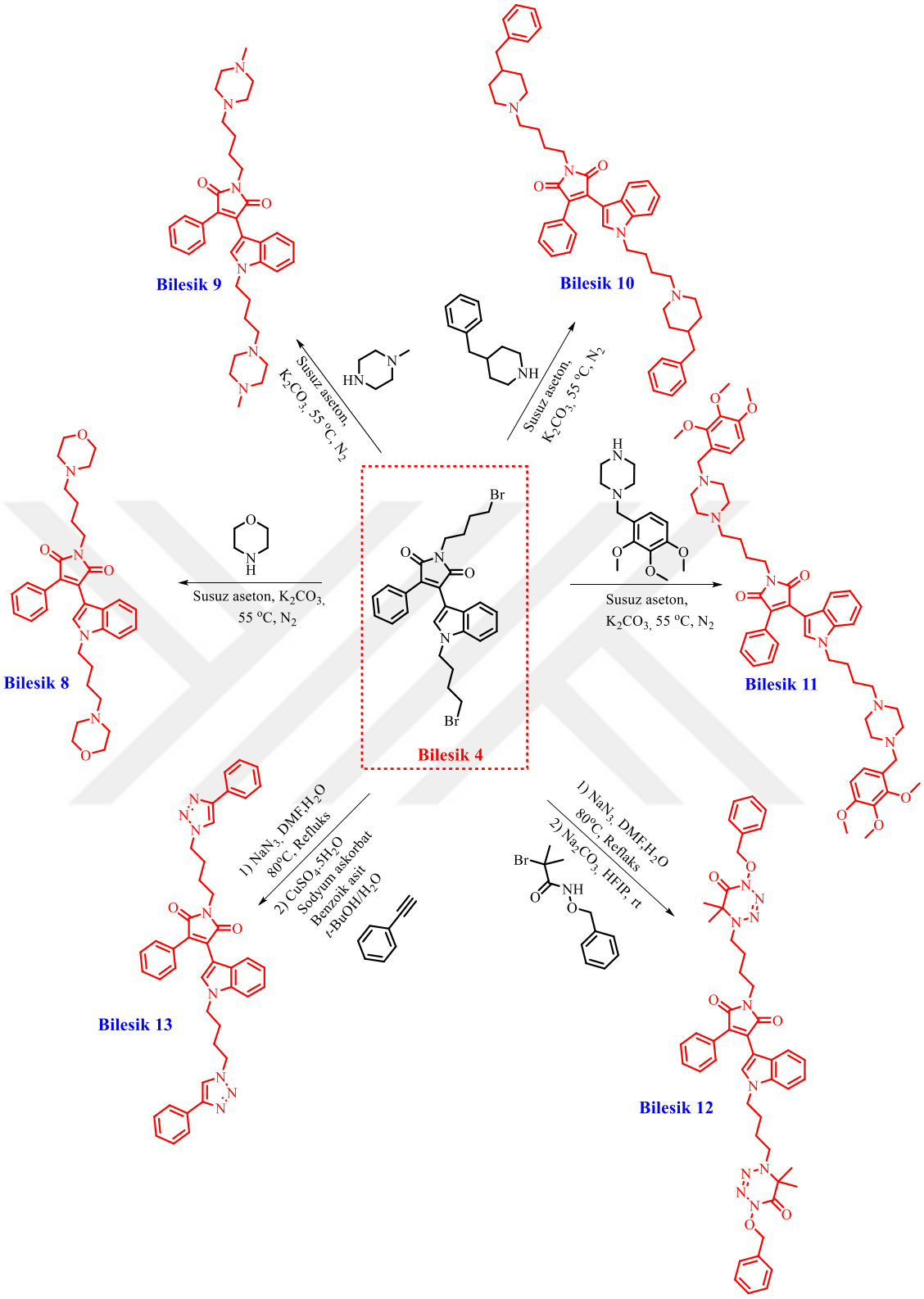
Yıldız Teknik Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan "Agilient" marka cihaz kullanılarak HRMS (QTOF) analiz ölçümü gerçekleştirilmiştir.

İnert atmosferde yapılması gereken tüm reaksiyonlar için schlenk sistemi kullanılmıştır.

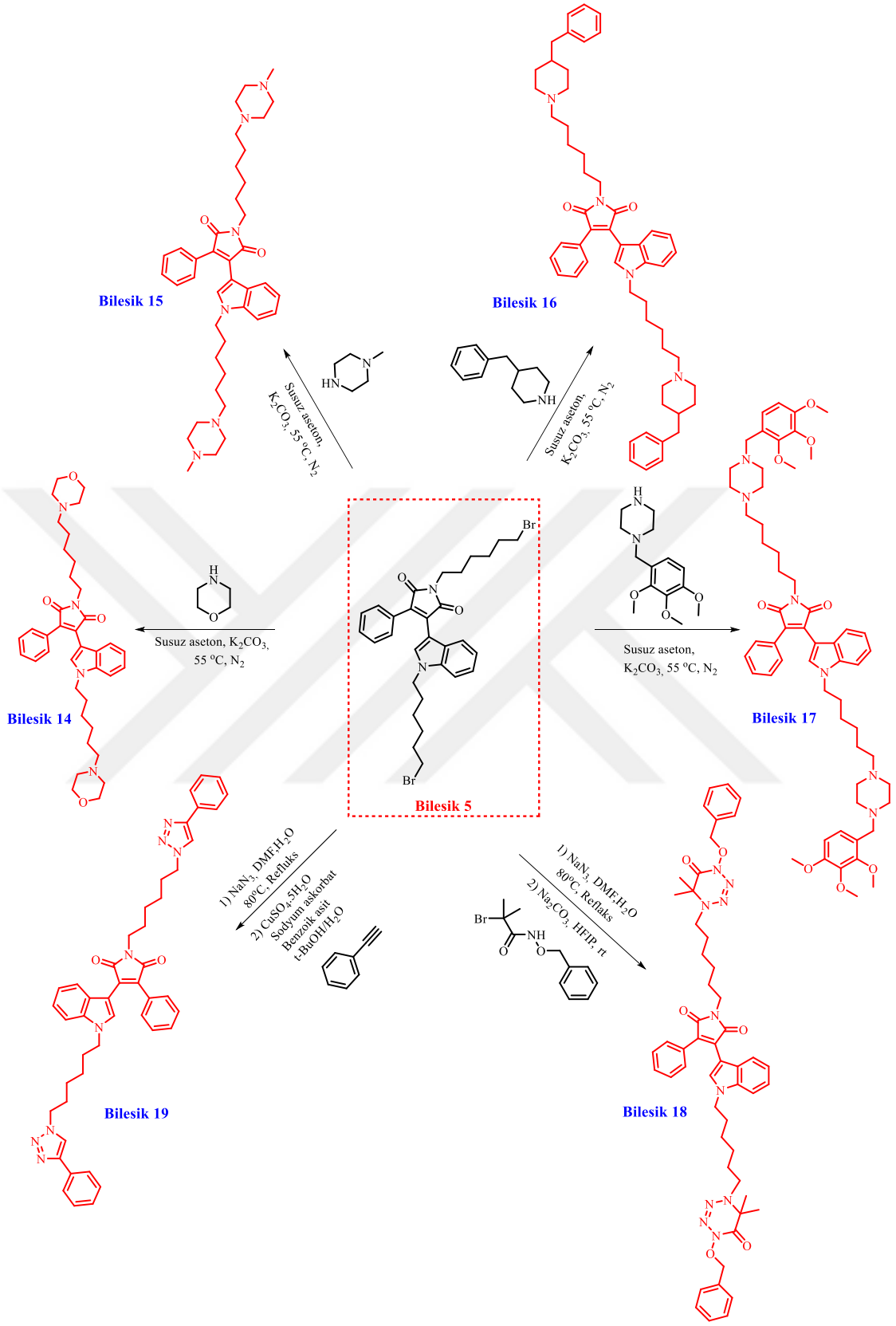
Susuz DMF, 4Å moleküler siv üzerinden bir gece bekletilip kurutma işlemi uygulanmasını takiben, moleküler sivin uzaklaştırılması sonrası vakum destilasyonu ile damıtma (~20 mmHg) ile hazırlandı. 4Å moleküler siv içerisinde saklanmıştır (Armarego, 2017).

250 mL THF için bir gece boyunca sodyum metali içinde tutulmuş ve bir gece sonunda içerisine benzofenon eklenerek destilasyon işlemi uygulanmıştır. Elde edilen susuz THF reaksiyonlarda taze olarak kullanılmıştır (Armarego, 2017).

250 mL Aseton kalsiyum hidrür ile N_2 atmosferinde distillenmiştir. Distillenen aseton 4Å moleküler siv içerisinde saklanmıştır (Armarego, 2017).

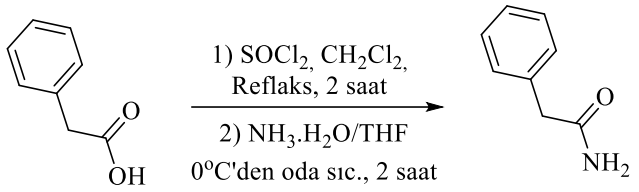


Şekil 5.1 Dörtlü zincir içeren bileşik yapıları



Şekil 5.2 Altılı zincir içeren bileşik yapıları

5.1.2 2-Fenilasetamid Bileşiğinin Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 1, C_8H_9NO)



Bileşik 1

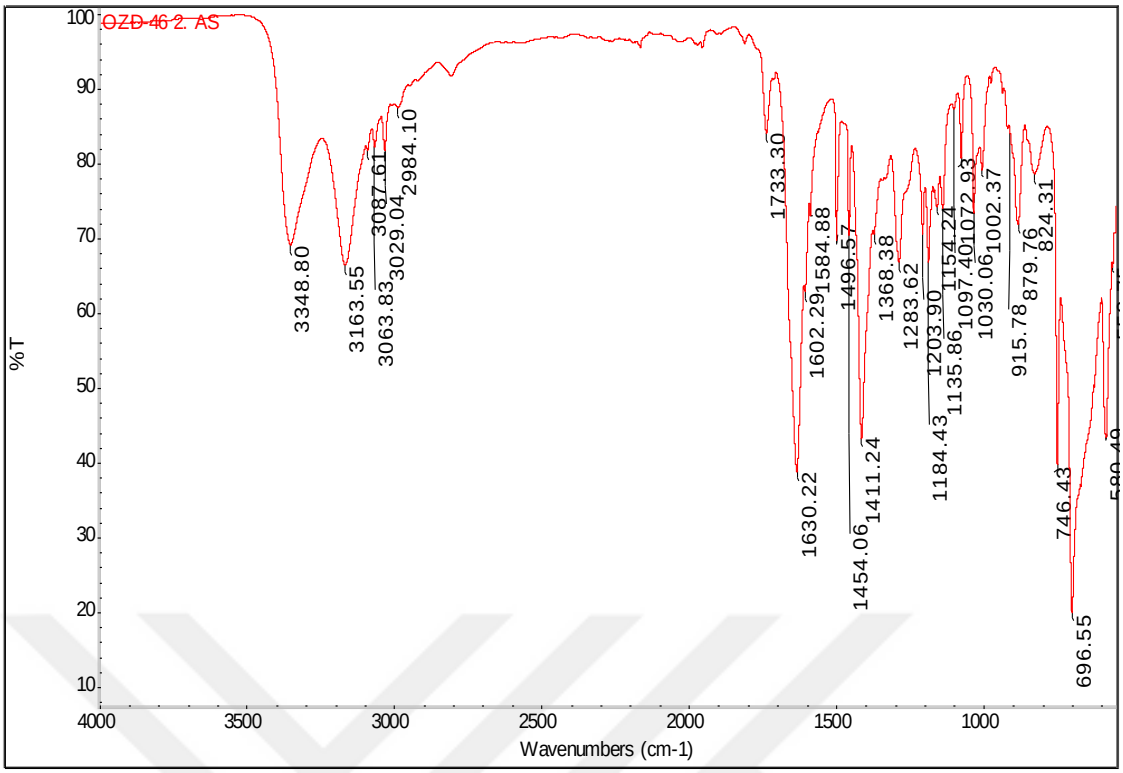
Fenilasetik asidin (3.00 g, 22.0 mmol) kuru diklorometan (CH_2Cl_2) (70.0 mL, 0.314 M) içerisindeki çözeltisi 0°C'ye soğutuldu ve üzerine tiyonil klorür (19.2 mL, 264 mmol) konur ve reaksiyon karışımı 2 saat boyunca azot atmosferi altında kaynatıldı. Daha sonra çözücü uzaklaştırıldı, toluen ile (2×5 mL) azeotrop oluşturuldu ve tekrar çözücü uzaklaştırıldı. Karışım tetrahidrofuran (THF) (30.0 mL) içerisinde çözüldü ve 0°C'ye soğutuldu. Reaksiyon ortamına damla damla amonyak çözeltisi ($NH_3 \cdot H_2O$) (40.0 mL, 28-30%) ilave edildi. Reaksiyon ısısının oda sıcaklığına gelmesi sağlandı ve 2 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Reaksiyon çözücüsü uçurulur, üzerine su (20.0 mL) eklendi ve ısıtırken 10 dk daha karışması sağlandı. Süspansiyon tekrar 0°C'ye soğutuldu ve süzüldü. Katı madde soğuk su (20.0 mL) ile yıkandı. Ürün bir gece boyunca vakumda kurutuldu.

Beyaz katı madde (2.66 g, 19.6 mmol); en. 156-158 °C; % 89 verim.

Lit. en.155-158 °C (Hu vd., 2017).

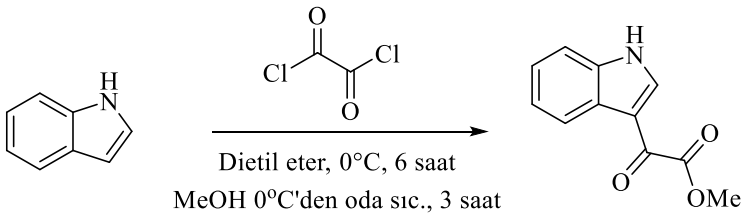
5.1.2.1 Bileşik 1'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): ν= 3349 (NH gerilimi), 3164 (aromatik, =C-H gerilimi), 2984 (alifatik C-H gerilimi), 1630 (C=O gerilimi), 1499 (aromatik, C=C gerilimi), 1411 ve 1368 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1283 (C-N salınımı), 1072 (C-O gerilimi) cm^{-1}.



Şekil 5.3 Bileşik **1**'in FTIR spektrumu (ATR)

5.1.3 Metil 2-(1*H*-indol-3-il)-2-oksoasetat Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 2, $C_{11}H_9NO_3$)



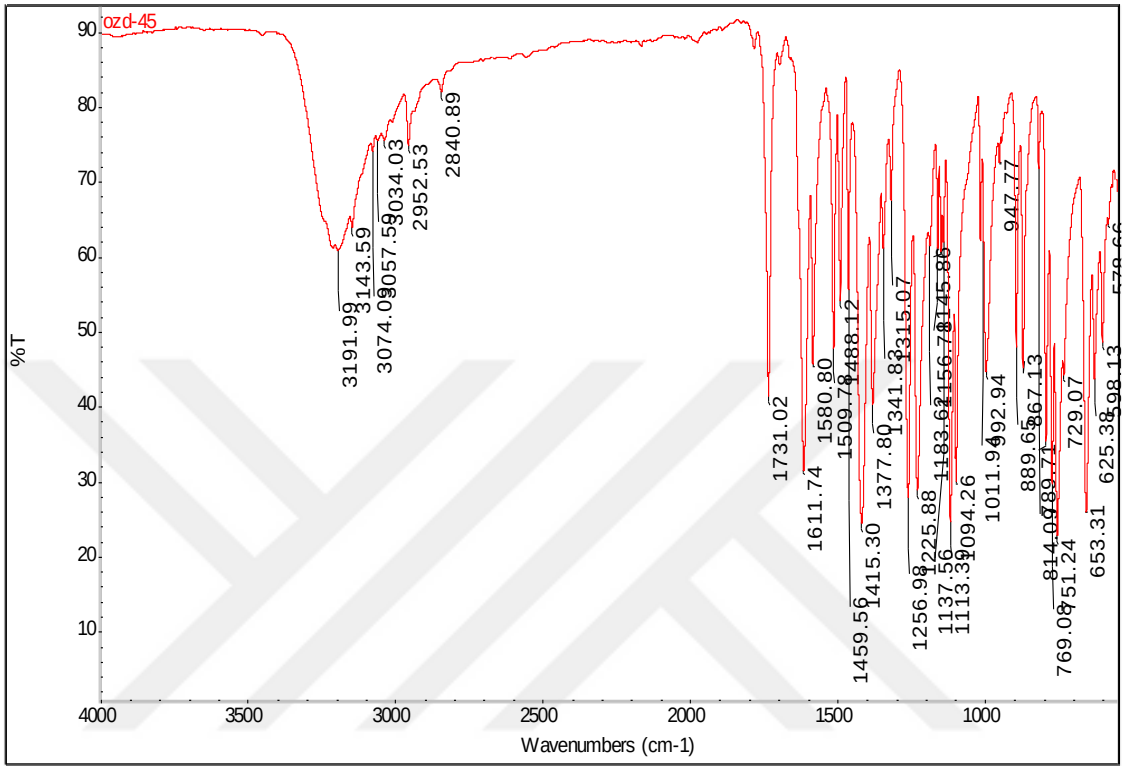
Bileşik 2

Reaksiyon balonuna sırasıyla 7 g (60 mmol) indol ve 300 mL kuru dietil eter eklendi ve reaksiyon karışımının sıcaklığı 0°C'ye getirildi. Reaksiyon ortamına 16.1 mL okzalil klorür damla damla ilave edildi. Reaksiyon 6 saat boyunca sarı süspansiyon oluşturana kadar oda sıcaklığında karıştırıldı. Reaksiyon karışımı tekrar 0°C'ye alındı, 12 mL metanol karışıma damla damla ilave edildi ve 30 dk daha karıştırıldı. Oluşan katı süzüldü ve soğuk su ile yıkandı (Guo vd., 2019).

Sarı katı madde (10.93 g, 53,8 mmol); en. 219-221 °C; % 90 verim.

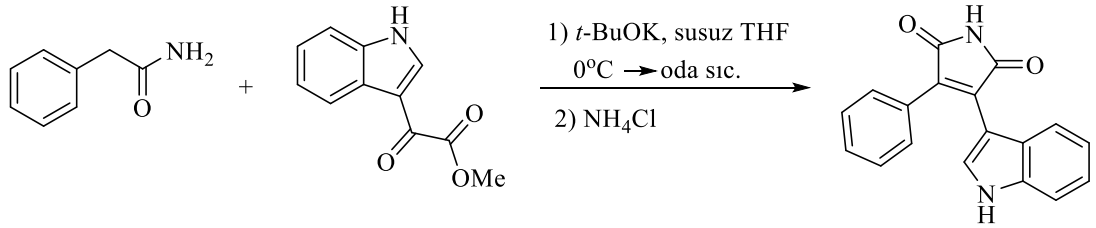
5.1.3.1 Bileşik 2'ye Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): ν= 3192 (N-H gerilimi), 3144 ve 3034 (aromatik, =C-H gerilimleri), 2953 ve 2841 (alifatik, C-H gerilimleri), 1731 (C=O gerilimi), 1415 ve 1378 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1257 (C-N salınımı), 1094 (C-O gerilimi) cm^{-1}.



Şekil 5.4 Bileşik **2**'nin FTIR spektrumu (ATR)

5.1.4 3-(1*H*-İndol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 3, $C_{18}H_{12}N_2O_2$)



Bileşik 1 **Bileşik 2** **Bileşik 3**

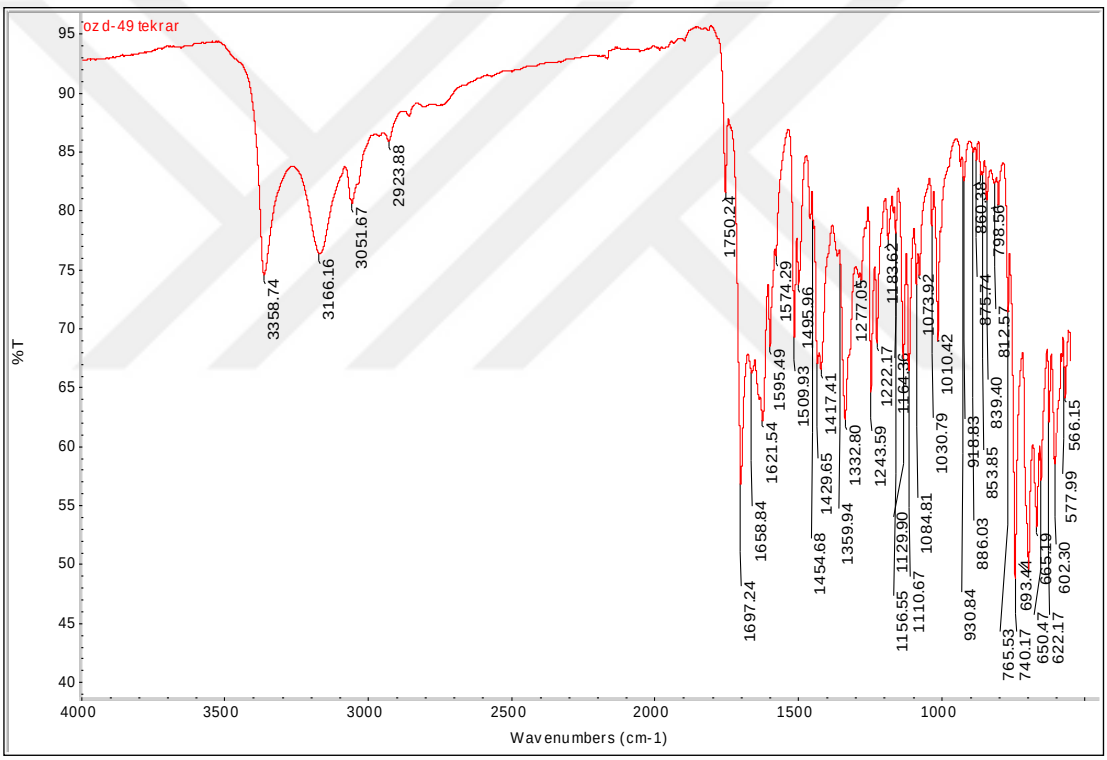
Çift boyunlu bir balona bileşik **1** (226 mg, 1.1 mmol) ve bileşik **2** (135 mg, 1 mmol) eklendi ve azot atmosferi altında 4.33 mL susuz THF'de çözülerek reaksiyon sıcaklığı 0°C'ye getirildi. Daha sonra reaksiyon ortamına *t*-BuOK (3.03 mL, 1M THF içerisinde bulunan) damla damla ilave edildi. İlave işleminin tamamlanmasının ardından reaksiyonun oda sıcaklığına gelmesi sağlandı ve oda sıcaklığında 15 saat boyunca

karışmaya bırakıldı. 15 saat sonunda reaksiyon üzerine 10 mL doymuş NH_4Cl eklendi ve yaklaşık 30 dakika boyunca karıştırıldı. Reaksiyon etil asetat (3x12 mL) ile ekstrakte edildi. Organik fazlar birleştirildi, doymuş tuzlu su ile yıkandı. Organik faz Na_2SO_4 ile kurutuldu ve çözücü uzaklaştırıldı. Ürün bir gece boyunca vakumda kurutuldu (Zhao vd., 2008).

Turuncu katı madde (285 mg, 0,99 mmol); en. 246-248 ^oC, %99 verim.

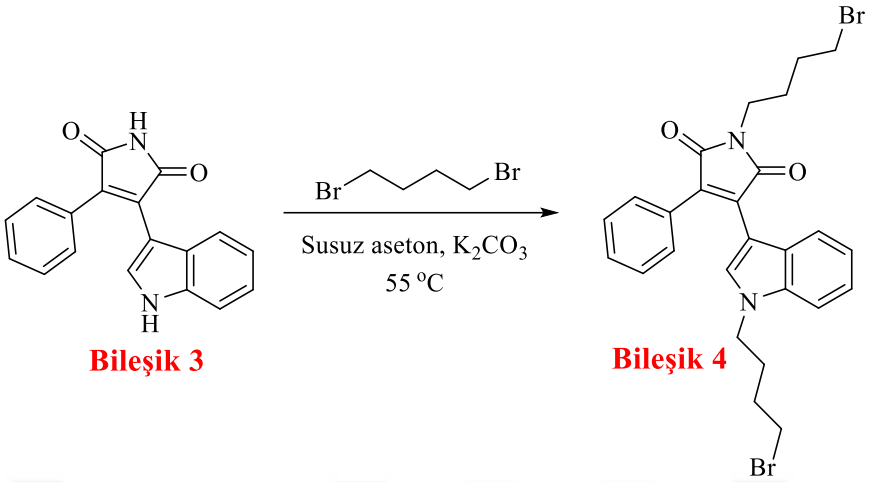
5.1.4.1 Bileşik 3'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): ν = 3359 ve 3166 (N-H gerilimleri), 3051 (aromatik, =C-H gerilimi), 2923 (alifatik, C-H gerilimi), 1750 ve 1697 (C=O gerilimleri), 1429, 1417 ve 1332 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1243 (C-N salınımı), 1129 (C-O gerilimi) cm^{-1}.



Şekil 5.5 Bileşik **3**'ün FTIR spektrumu (ATR)

5.1.5 1-(4-Bromobutil)-3-(1-(4-bromobutil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 4, $C_{26}H_{26}Br_2N_2O_2$)



Bileşik 3 **Bileşik 4**

İnert atmosfer altında 8 mL kuru aseton içerisinde çözünmüş 0.6 mmol (172.98 mg) bileşik **3** manyetik karıştırıcı ile donatılmış reaksiyon balonuna alındı. Üzerine kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 6 mmol (829.3 mg) K_2CO_3 ve damla damla 2.4 mmol (518.18 mg) 1,4-dibromobütan ilave edildi. Reaksiyon karışımından N_2 gazı geçirildikten sonra 55°C sıcaklıkta 18 saat geri soğutucu altında kaynatılarak karıştırılması sağlandı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra reaksiyon sonlandırılarak soğumaya bırakıldı ve çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntı etil asetat ile çözüldü ve tuzlu su ile ekstrakte edilip susuz Na_2SO_4 ile kurutuldu. Filtreleme işlemi sonrasında organik çözücü vakum altında uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (1:3 etil asetat/*n*-hekzan; R_f: 0.42) uygulanarak saflaştırıldı.

Turuncu yağımsı madde; %51 verim.

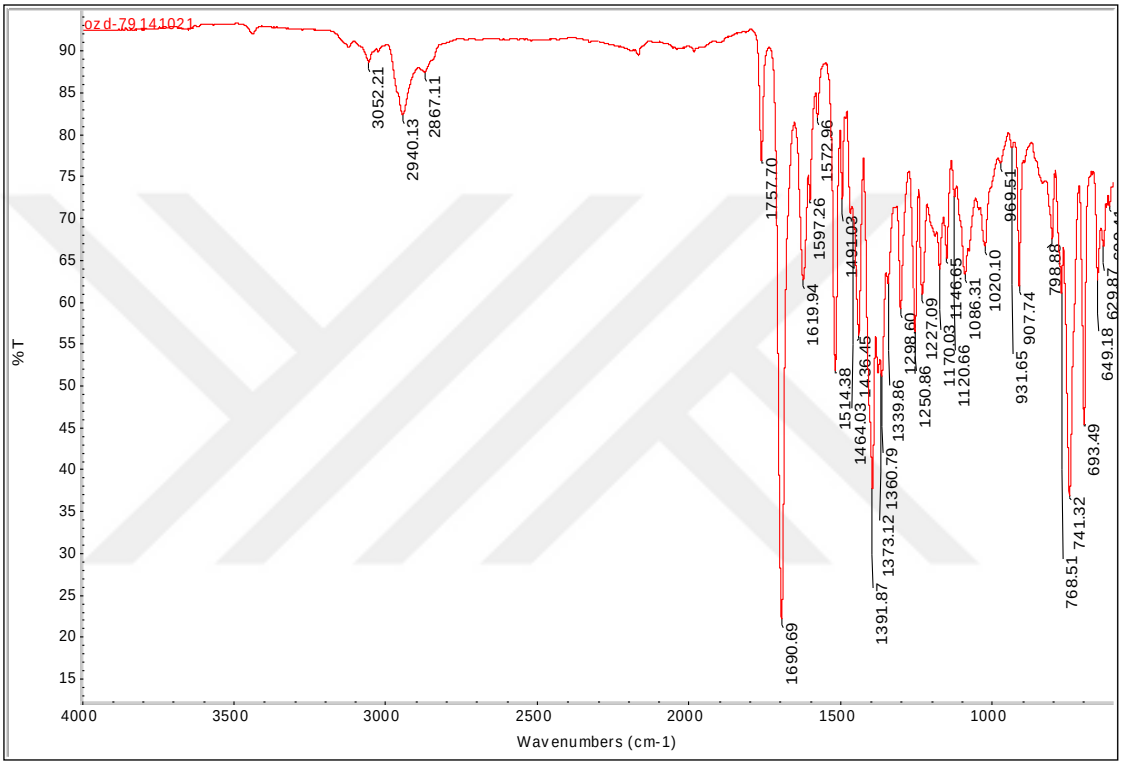
5.1.5.1 Bileşik 4'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): *ν*= 3052 (aromatik, =C-H gerilimi), 2940 ve 2867 (alifatik, C-H gerilimleri), 1757 ve 1690 (C=O gerilimleri), 1597 ve 1514 (aromatik, C=C gerilimleri), 1391, 1373, ve 1360 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1250 (C-N salınımı) cm^{-1}.

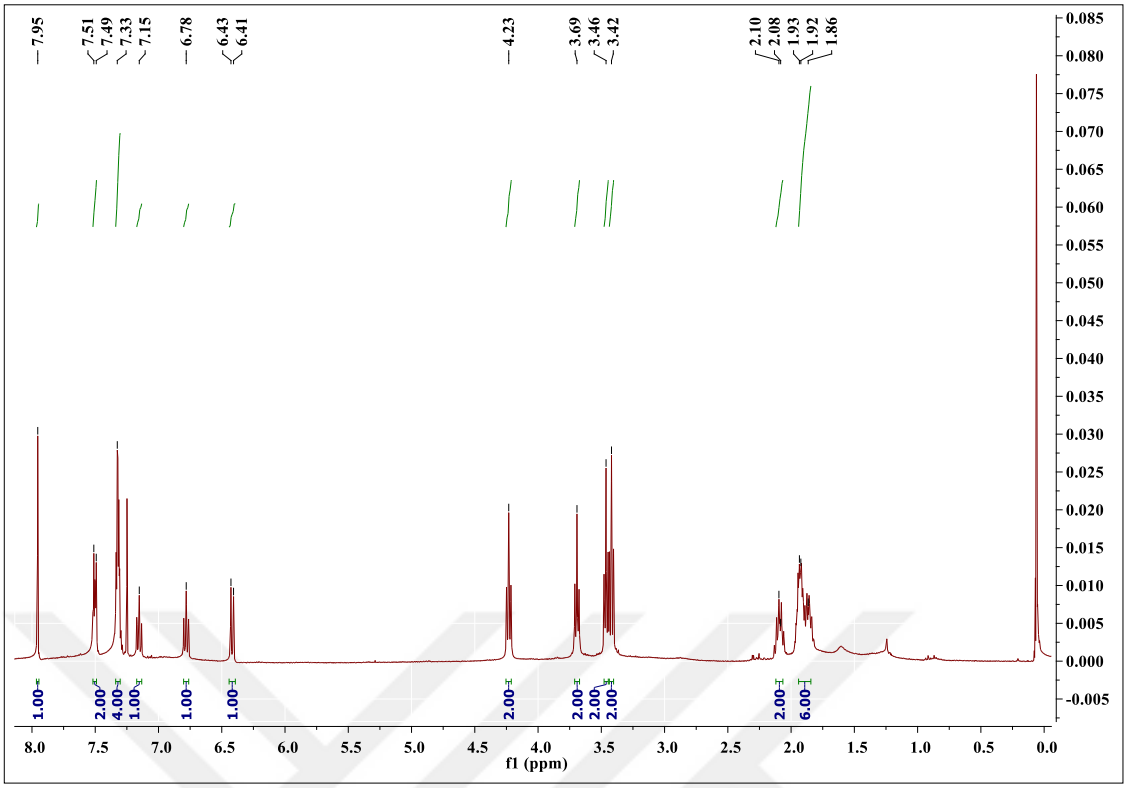
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.95–1.84 (m, 6H, 3xCH_2), 2.13–2.05 (m, 2H, CH_2), 3.42 (t, *J*= 6.4 Hz, 2H, Br-CH_2), 3.46 (t, *J*= 6.4 Hz, 2H, Br-CH_2), 3.69 (t, *J*= 6.7 Hz, 2H, *N*-CH_2), 4.23 (t, *J*= 7.0 Hz, 2H, *N*-CH_2), 6.42 (d, *J*= 8.2 Hz, 1H, ArH), 6.78 (t, *J*= 7.3 Hz, 1H, ArH), 7.15 (t, *J*= 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.34–7.30 (m, 4H, ArH), 7.52-7.48 (m, 2H, ArH), 7.95 (s, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 26.33 (CH_2), 27.51 (CH_2), 28.83 (CH_2), 28.87 (CH_2), 31.69 (CH_2), 31.98 (CH_2), 36.22 (*N*-CH_2), 45.11 (*N*-CH_2), 103.79 (Cq), 108.69 (CAr), 119.59 (CAr), 121.57 (CAr), 121.75 (CAr), 123.99 (Cq), 127.21 (2xCAr), 127.42 (Cq), 127.96 (CAr), 128.90 (2xCAr), 129.50 (Cq), 130.49 (Cq), 132.27 (CAr), 135.55 (Cq), 170.79 (C=O), 170.82 (C=O) ppm.

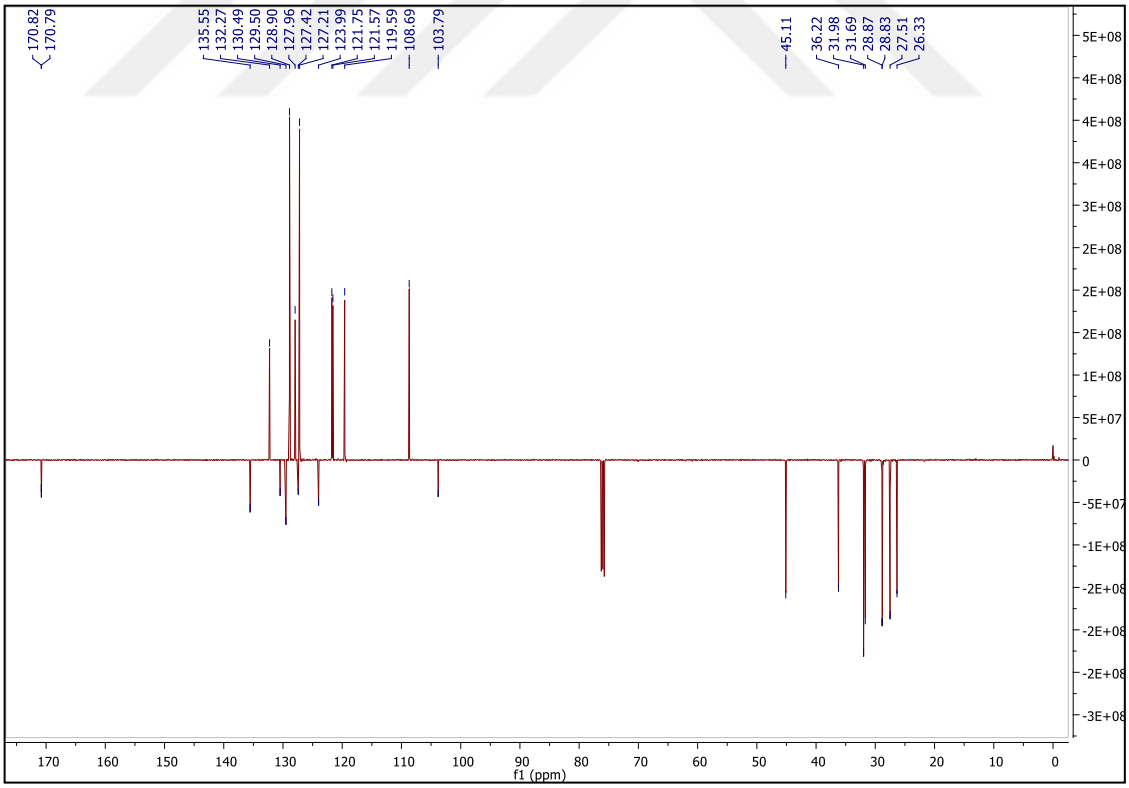
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{26}H_{26}Br_2N_2O_2]+H)^+$ için hesaplanan 559.3220, bulunan 559.0410.



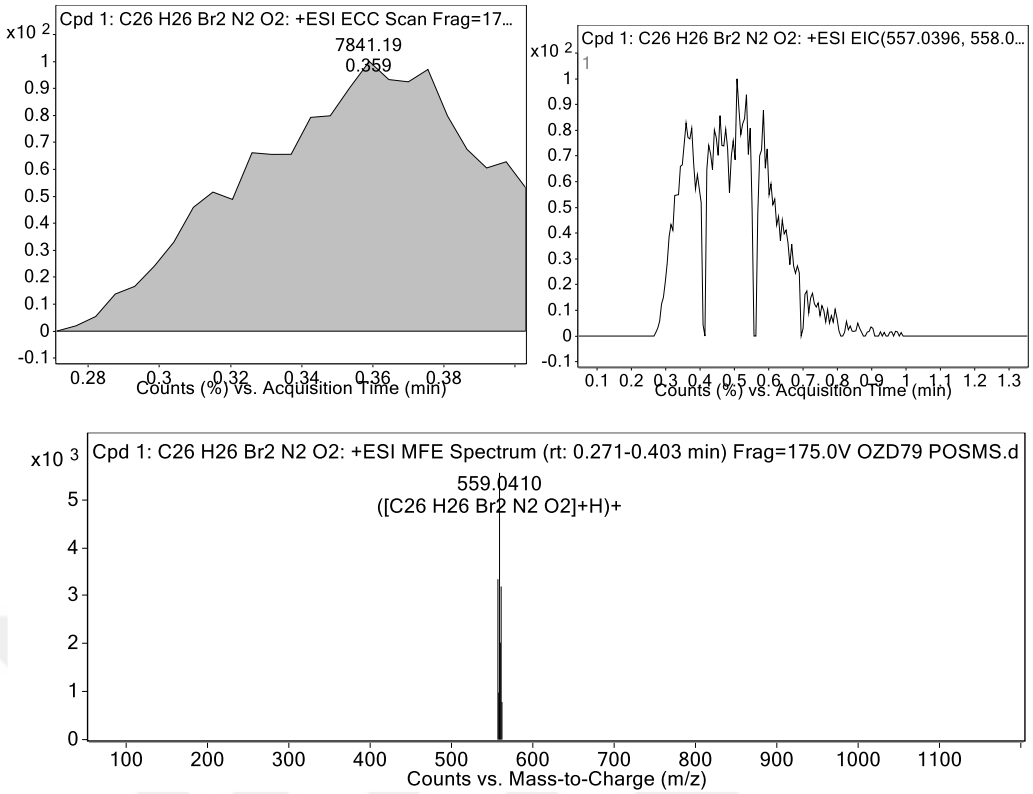
Şekil 5.6 Bileşik **4**'ün FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.7 Bileşik **4**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

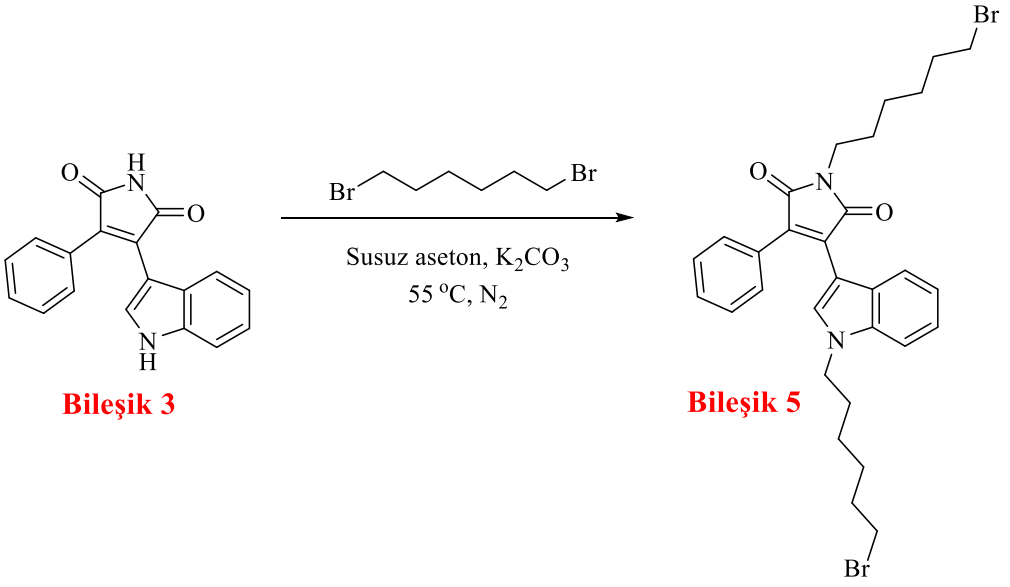


Şekil 5.8 Bileşik **4**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.9 Bileşik **4**'ün HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.6 1-(6-Bromohekzil)-3-(1-(6-bromohekzil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 5, $C_{30}H_{34}Br_2N_2O_2$)



8 mL Susuz aseton içerisinde çözülmüş 0.6 mmol (172.9 mg) Bileşik **3** manyetik karıştırıcı ile donatılmış bir balona alındı. Daha sonra kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 6 mmol (829.3 mg) K_2CO_3 ve damla damla 2.4 mmol (585.5 mg) 1,6-dibromohekzan ortama ilave edildi. Reaksiyon karışımından N_2 gazı geçirildikten sonra

55°C sıcaklıkta 18 saat geri soğutucu altında kaynatılarak karışması sağlandı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra reaksiyon sonlandırılarak soğumaya bırakıldı ve çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımı etil asetat ile çözüldü ve tuzlu su ile ekstrakte edildikten sonra, susuz Na_2SO_4 ile kurutuldu. Filtreleme işlemi sonrasında organik çözücü vakum altında uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (1:3 etil asetat/*n*-hekzan, R_f: 0.48) uygulanarak saflaştırıldı.

Turuncu yağımsı madde; %88 verim.

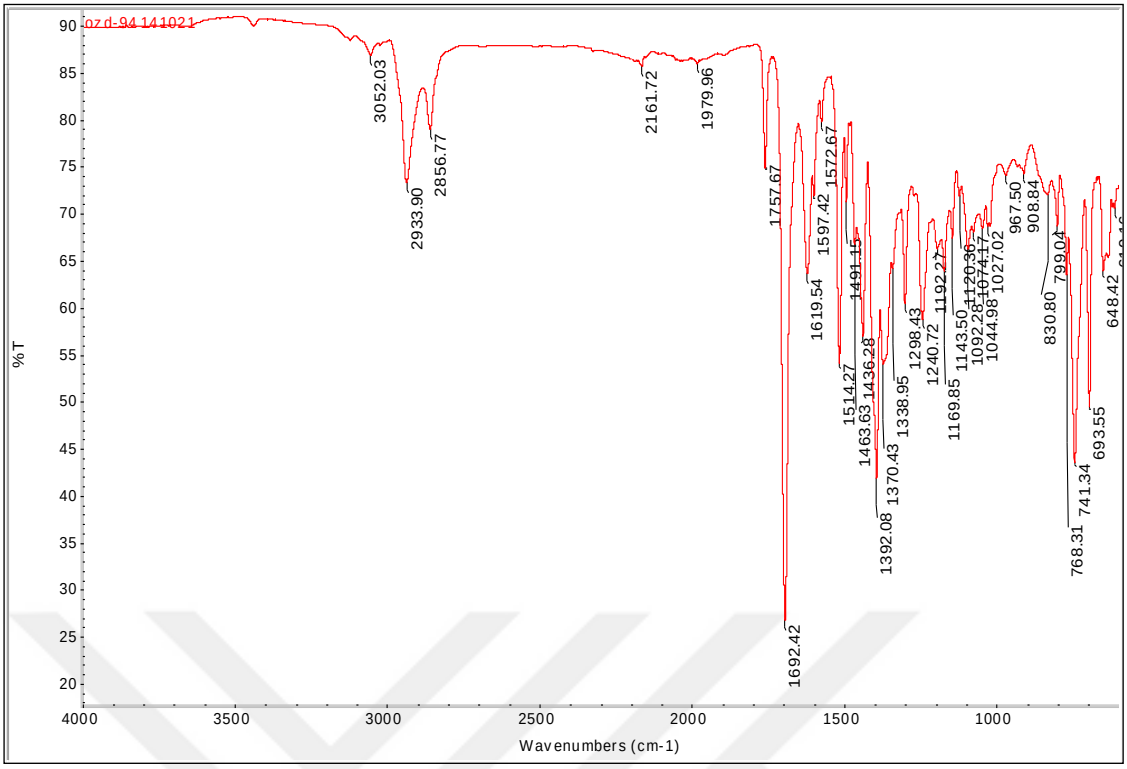
5.1.6.1 Bileşik 5'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν**= 3052 (aromatik =C-H gerilimi), 2933, ve 2856 (alifatik C-H gerilimleri), 1757 ve 1692 (C=O gerilimleri), 1514 ve 1491 (aromatik, C=C gerilimleri), 1436, 1392 ve 1370 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1298 (C-N salınımı) cm^{-1}.

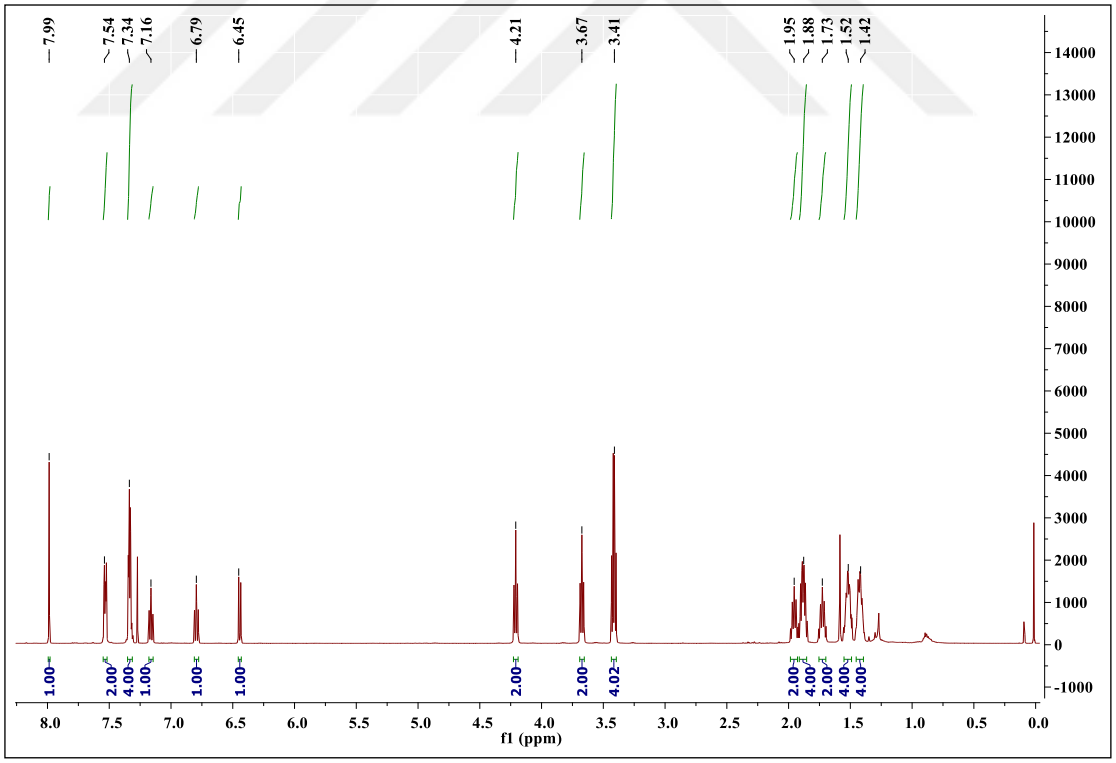
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.43 (dt, *J*=8.5, 6.6 Hz, 4H, 2xCH_2), 1.56–1.49 (m, 4H, 2xCH_2), 1.73 (dt, *J*=14.9, 7.4 Hz, 2H, CH_2), 1.92–1.85 (m, 4H, 2xCH_2), 1.95 (dt, *J*=14.8, 7.3 Hz, 2H, CH_2), 3.41 (td, *J*=6.7, 4.7 Hz, 4H, 2x*Br*-CH_2), 3.67 (t, *J*=7.2 Hz, 2H, *N*-CH_2), 4.21 (t, *J*=7.1 Hz, 2H, *N*-CH_2), 6.44 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, ArH), 6.79 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.16 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.35–7.31 (m, 4H, ArH), 7.53 (dd, *J*=7.2, 2.4 Hz, 2H, ArH), 7.99 (s, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 26.0 (CH_2), 26.1 (CH_2), 27.7 (CH_2), 27.8 (CH_2), 28.5 (CH_2), 29.7 (CH_2), 32.4 (CH_2), 32.6 (CH_2), 33.6 (CH_2), 33.8 (CH_2), 38.1 (*N*-CH_2), 46.8 (*N*-CH_2), 104.6 (Cq), 109.7 (CAr), 120.4 (CAr), 122.4 (CAr), 122.7 (CAr), 125.0 (Cq), 128.2 (2xCAr), 128.8 (CAr), 129.9 (2xCAr), 130.7 (2xCq), 131.6 (Cq), 133.4 (CAr), 136.6 (Cq), 171.9 (C=O), 172.0 (C=O) ppm.

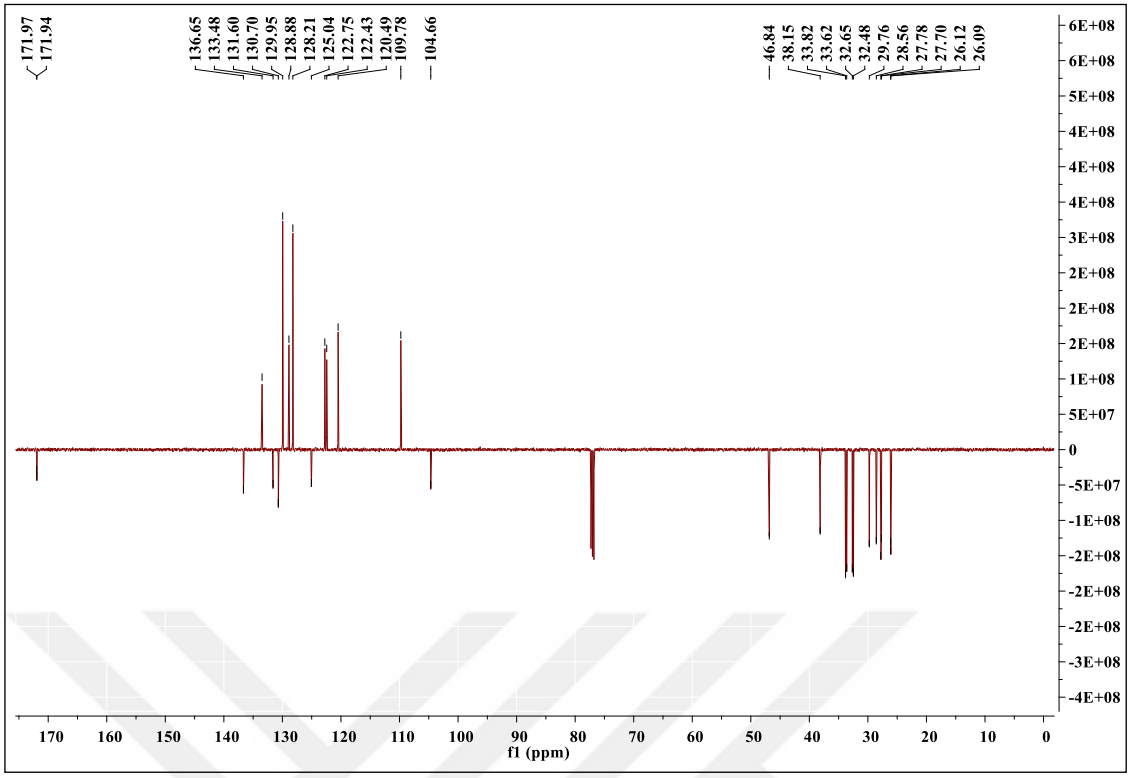
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{30}H_{34}Br_2N_2O_2]+H)^+$ için hesaplanan 615.4300, bulunan: 615.1037.



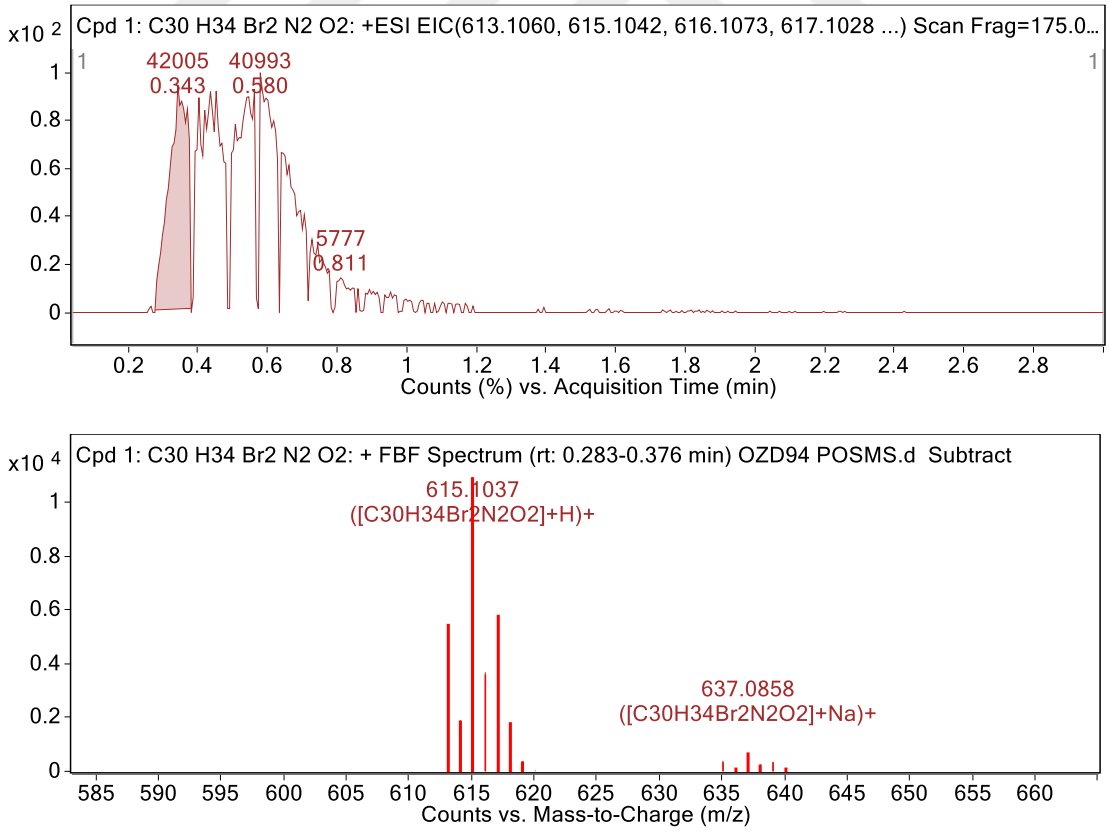
Şekil 5.10 Bileşik **5**'in FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.11 Bileşik **5**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

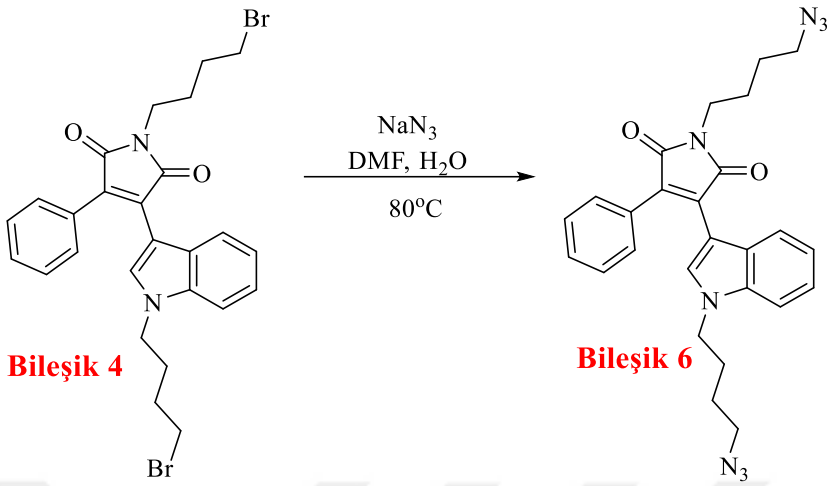


Şekil 5.12 Bileşik **5**'in APT-NMR spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.13 Bileşik **5**'in HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.7 1-(4-Azidobutil)-3-(1-(4-azidobutil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 6, $C_{26}H_{26}N_8O_2$)

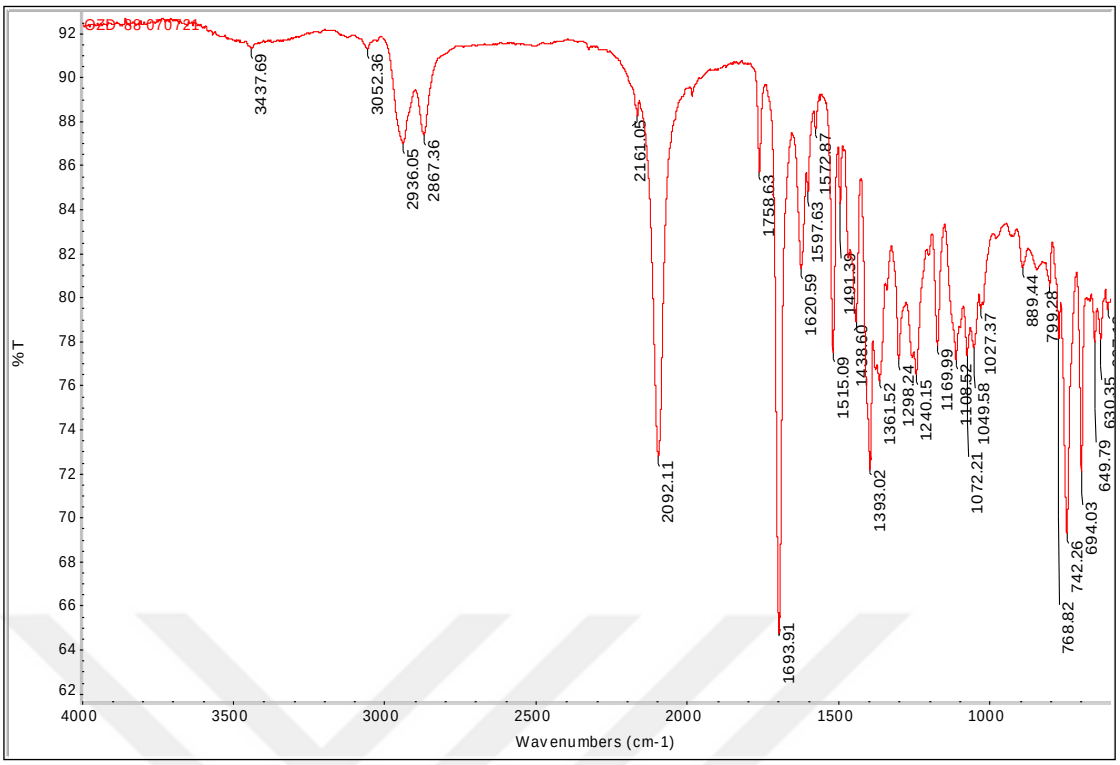


Manyetik karıştırıcı ile donatılmış bir reaksiyon balonuna 9 mL DMF'te çözülmüş 0.28 mmol (158 mg) Bileşik **4** alındı. Üzerine ayrı bir beherde 0.9 mL distile su içerisinde çözülmüş 1.38 mmol (90 mg) NaN_3 eklendi. Reaksiyonun 80°C'de 18 saat boyunca karıştırılması sağlandı. Yapılan TLC kontrolü sonucunda reaksiyon sonlandırıldı. Oda sıcaklığına getirilip tuzlu buzlu suya döküldükten sonra eter ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu, filtreleme işlemi sonrasında organik çözücü düşük basınç altında ortamdan uzaklaştırıldı. Turuncu yağımsı madde (R_f: 0.47 (1:2 *n*-hekzan/etil asetat)) %99 verimle elde edildi.

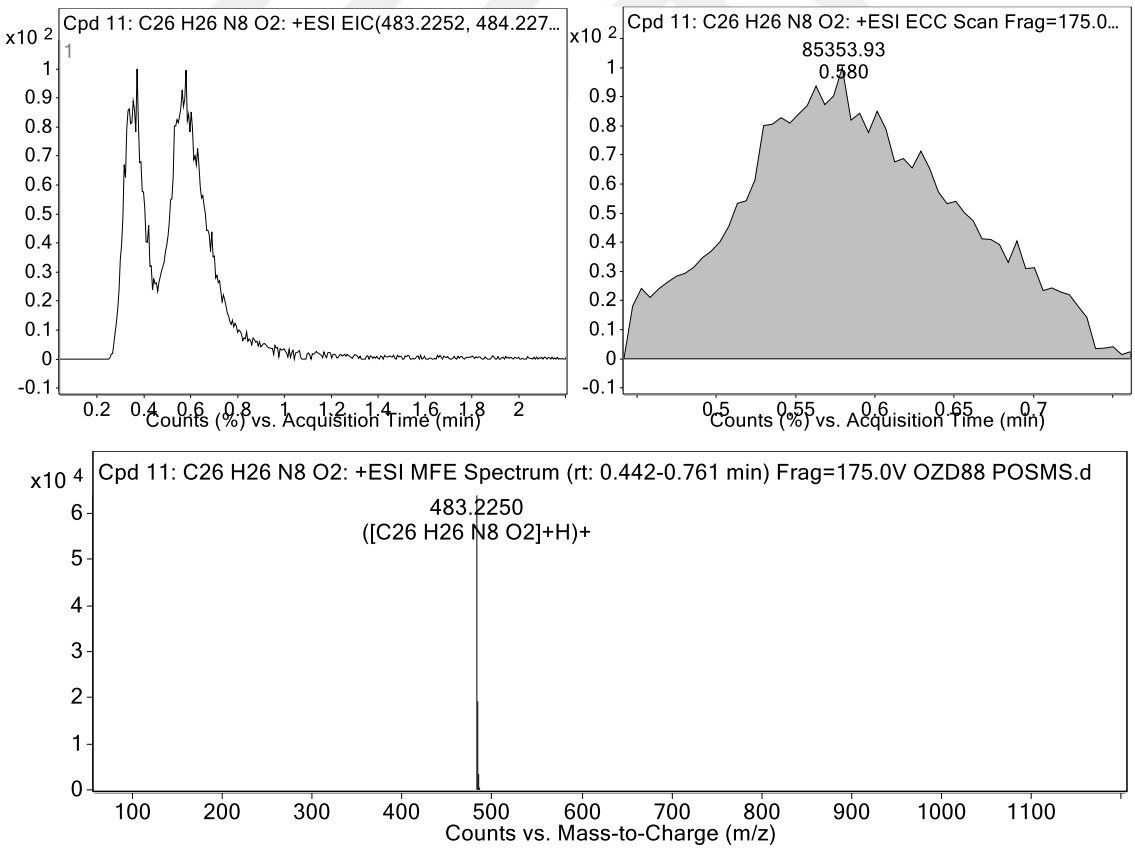
5.1.7.1 Bileşik 6'ya Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): ***ν***= 3052 (aromatik, =C-H gerilimi), 2936 ve 2867 (alifatik, C-H gerilimleri), 2092 (N≡N gerilimi), 1693 ve 1620 (C=O gerilimleri), 1515 ve 1491 (aromatik, C=C gerilimi), 1393 ve 1361 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1240 (C-N salınımı), 1108 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{26}H_{26}N_8O_2]+H)^+$ için hesaplanan 483.2257, bulunan 483.2250.

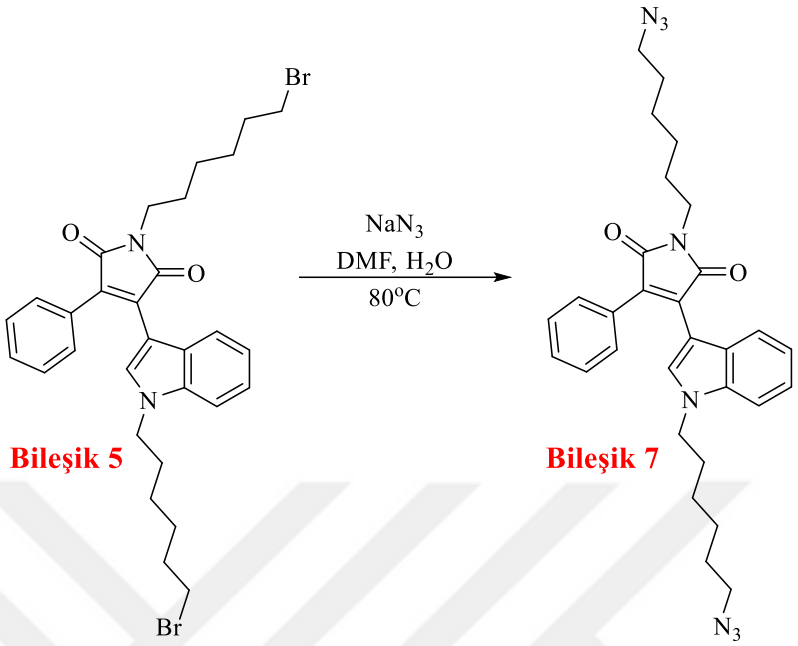


Şekil 5.14 Bileşik **6**'nın FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.15 Bileşik **6**'nın HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.8 1-(6-Azidohekzil)-3-(1-(6-azidohekzil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenill-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 7, $C_{30}H_{34}N_8O_2$)

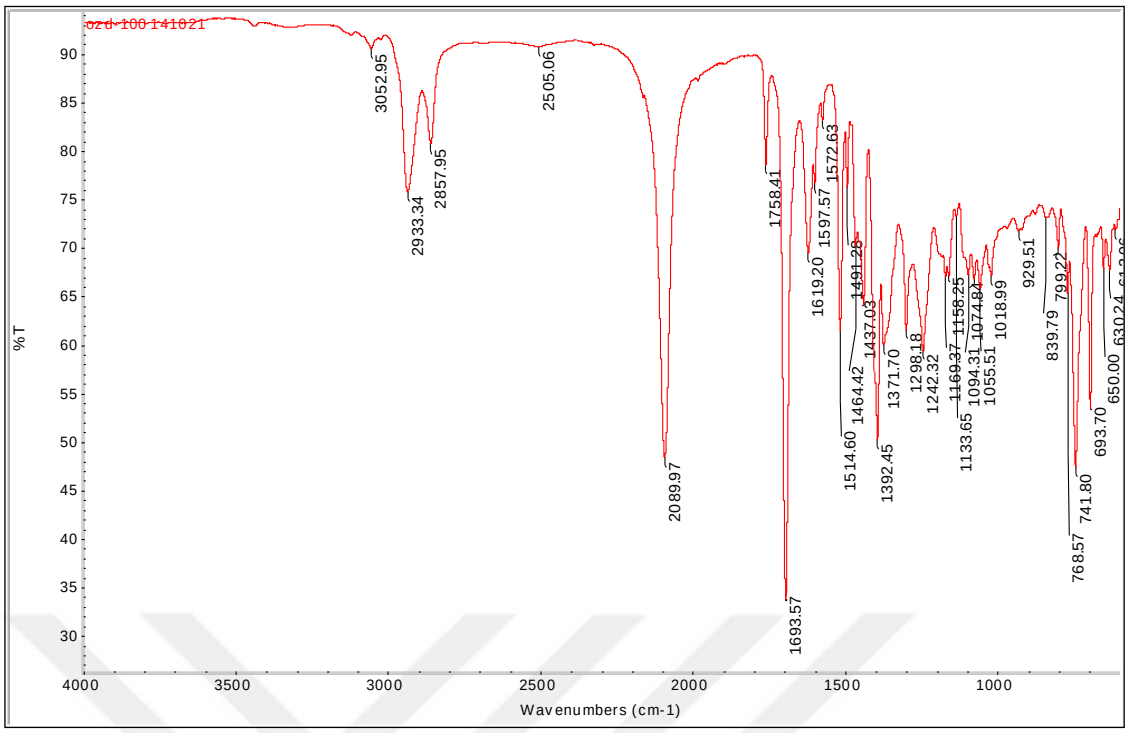


Manyetik karıştırıcı ile donatılmış bir reaksiyon balonuna 20 mL DMF içerisinde çözülmüş 0.43 mmol (266 mg) Bileşik **5** alındı. Ayrı bir beherde 2 mL distile suda çözülen 4.3 mmol (281.45 mg) NaN_3 çözeltisi reaksiyon balonuna eklendi. Reaksiyon 80°C sıcaklıkta 18 saat boyunca karışmaya bırakıldı. 1:1 Etil asetat/*n*-hekzan sistemi yardımıyla TLC kontrolü yapıldı, başlangıç maddesinin bittiği gözlemlendikten sonra reaksiyon oda sıcaklığına getirildi ve tuzlu buzlu su içerisine aktarılarak eter ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu, filtreleme işlemi sonrasında organik faz düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Turuncu yağımsı madde (R_f: 0.8 (1:2 *n*-hekzan/etil asetat) %99 verimle elde edildi.

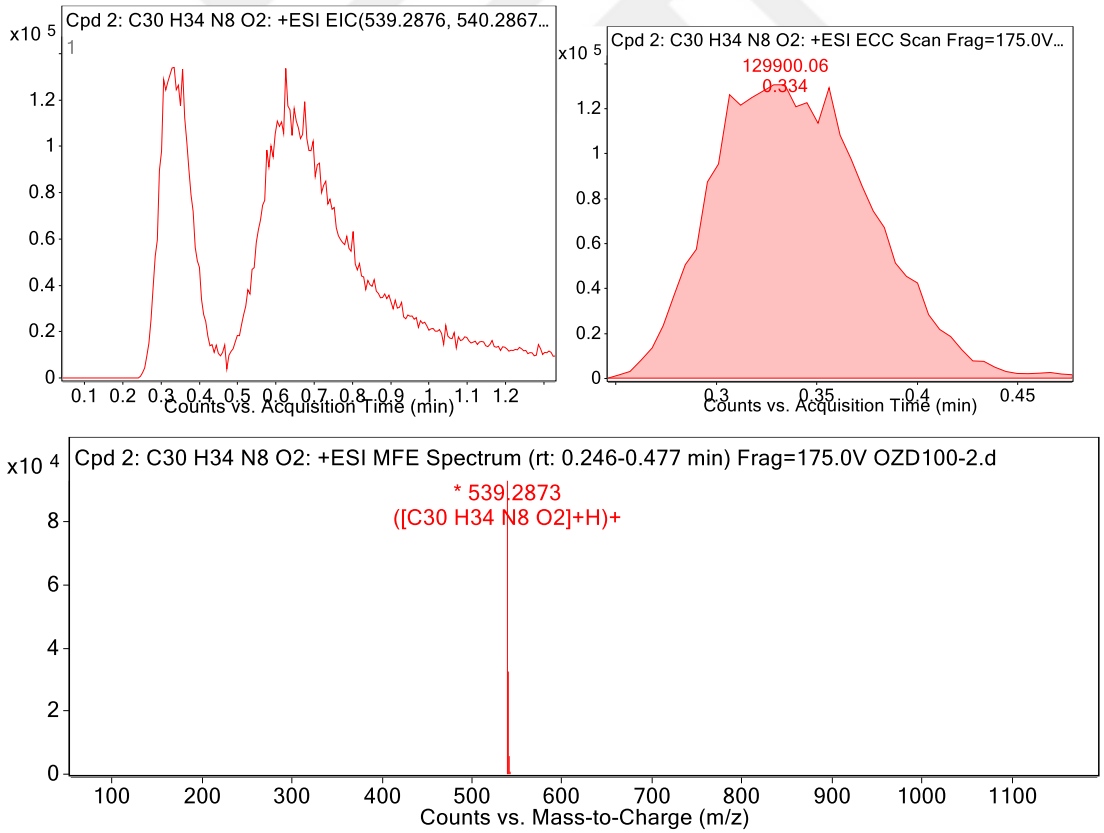
5.1.8.1 Bileşik 7'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): v= 3052 (aromatik, =C-H gerilimi), 2933 ve 2857 (alifatik, C-H gerilimleri), 2089 (N≡N gerilimi), 1693 ve 1619 (C=O gerilimleri), 1514 ve 1491 (aromatik, C=C gerilimi), 1392 ve 1371 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1242 (C-N salınımı) cm^{-1}.

HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{30}H_{34}N_8O_2]+H)^+$ için hesaplanan 539.2883, bulunan 539.2873.

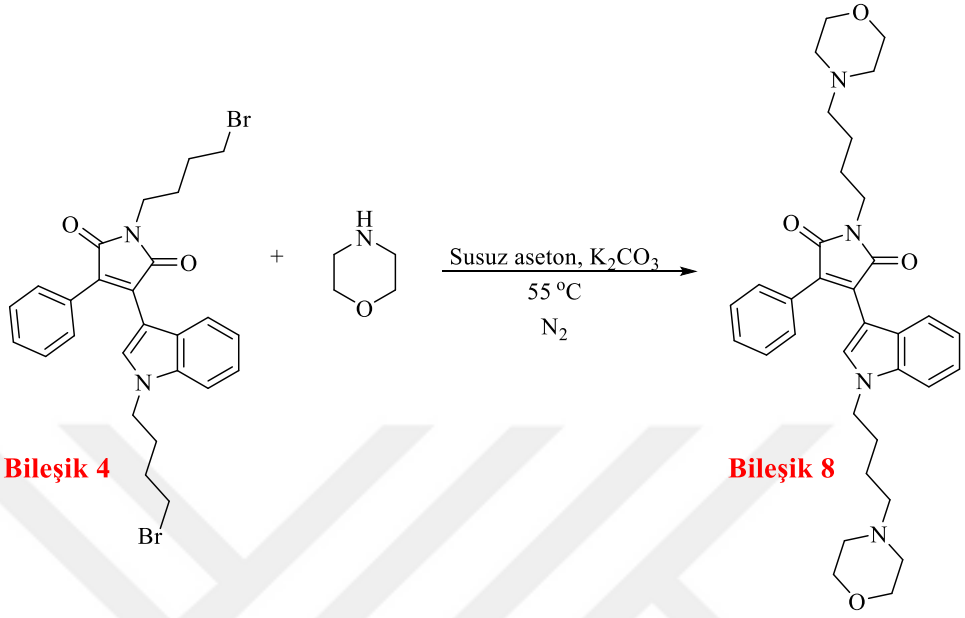


Şekil 5.16 Bileşik **7**'nin FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.17 Bileşik **7**'nin HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.9 1-(4-Morfolinbutil)-3-(1-(4-morfolinbutil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 8, $C_{34}H_{42}N_4O_4$)



Tek boyunlu bir balona 0.33 mmol (183 mg) Bileşik **4** tartılarak azot atmosferine alındı. Azot atmosferi altında 15 mL kuru asetonda çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine 1.71 mmol (149 mg) morfolin ve kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 3.8 mmol (526 mg) K_2CO_3 eklendi. Reaksiyon 55°C sıcaklıkta 18 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılarak karışması sağlandı. TLC kontrolü sonrasında çözücü uzaklaştırıldı ve etil asetat-tuzlu su karışımı ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Na_2SO_4 üzerinden kurutulduktan sonra çözücü döner buharlaştırıcı yardımıyla düşük basınç altında uçuruldu. Kalıntıya kolon kromatografisi (1:1 etil asetat/metanol; R_f: 0.33) yardımıyla saflaştırma işlemi uygulandı.

Turuncu yağımsı madde; %86 verim.

5.1.9.1 Bileşik 8'e Ait Spektral Veriler

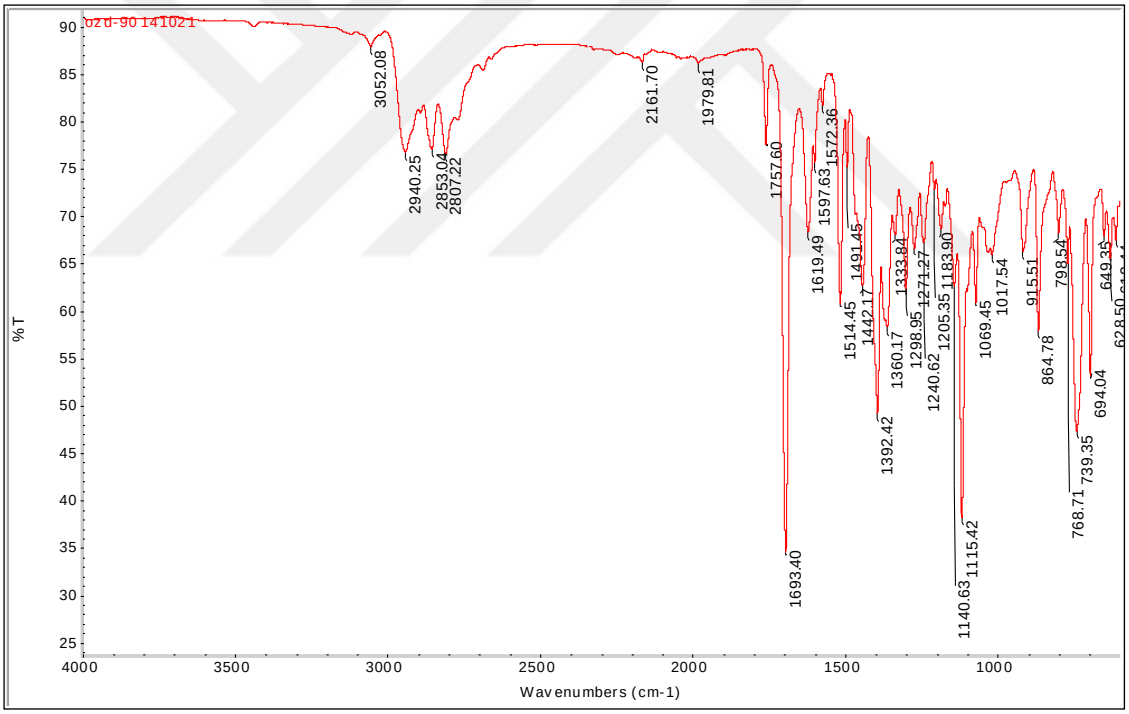
FTIR (ATR): ***ν***= 3052 (aromatik C-H gerilimi), 2940, 2853 ve 2807 (alifatik, C-H gerilimleri), 1693 ve 1619 (C=O gerilimleri), 1514 ve 1491 (aromatik, C=C gerilimi), 1442, 1392 ve 1360 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1298 (C-N salınımı), 1115 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.41–1.37 (m, 2H, CH_2), 1.74 (dt, *J*=14.9, 7.4 Hz, 2H, CH_2), 1.97 (dd, *J*=15.0, 7.4 Hz, 2H, CH_2), 2.49 – 2.36 (m, 10H, CH_2 ve 4x*N*-CH_2), 3.49

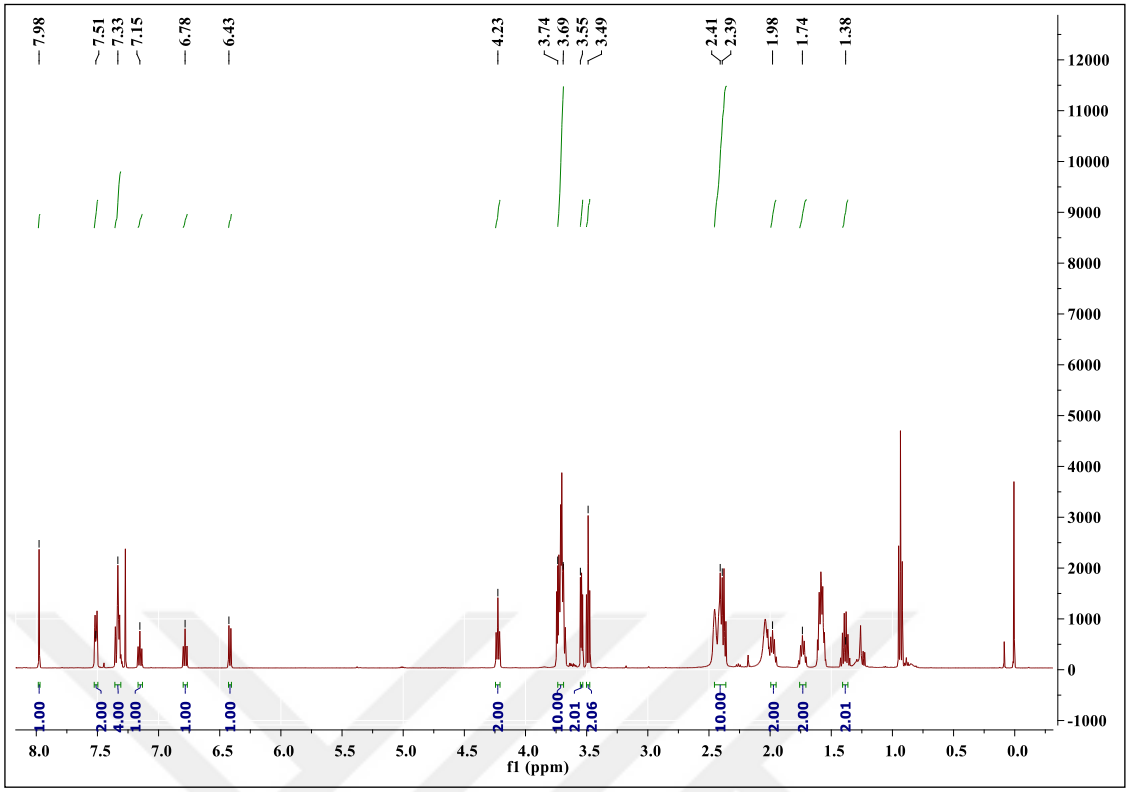
(t, *J*=6.7 Hz, 2H, *O*-CH_2), 3.55–3.53 (m, 2H, *O*-CH_2), 3.71–3.69 (m, 10H, 3x*N*-CH_2 ve 2x*O*-CH_2), 4.23 (t, *J*=7.1 Hz, 2H, *N*-CH_2), 6.42 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, ArH), 6.78 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.15 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.36–7.31 (m, 4H, ArH), 7.52–7.50 (m, 2H, ArH), 7.98 (s, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 23.7 (CH_2), 23.8 (CH_2), 26.6 (CH_2), 27.7 (CH_2), 31.7 (*N*-CH_2), 38.0 (*N*-CH_2),46.8 (*N*-CH_2), 53.68 (2x*N*-CH_2), 58.1 (*N*-CH_2), 58.4 (*N*-CH_2), 61.7 (*N*-CH_2), 66.8 (2x*O*-CH_2), 71.0 (*O*-CH_2), 71.7 (*O*-CH_2), 104.6 (Cq), 109.8 (CAr), 120.4 (CAr), 122.4 (CAr), 122.7 (CAr), 125.0 (Cq), 128.1 (Cq), 128.2 (2xCAr), 128.8 (CAr), 129.9 (2xCAr), 130.6 (Cq), 131.5 (Cq), 133.4 (CAr), 136.6 (Cq), 171.8 (C=O), 171.9 (C=O) ppm.

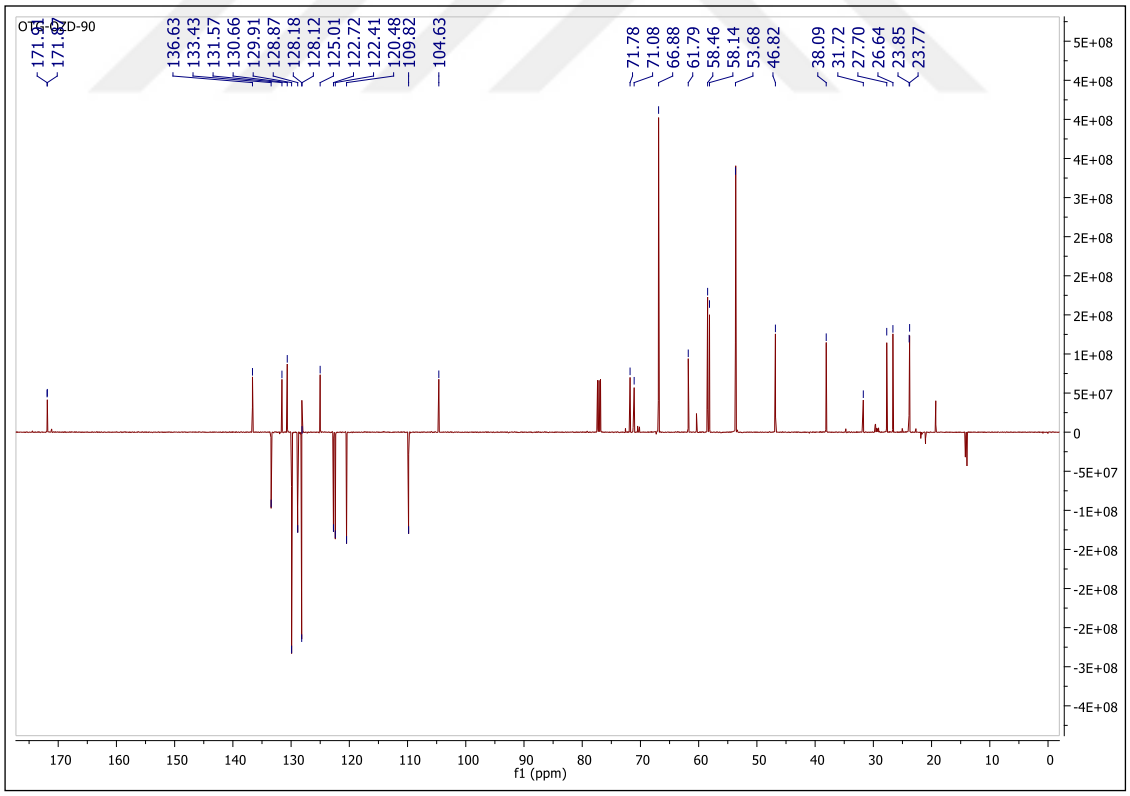
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{34}H_{42}N_4O_4]+H)^+$ için hesaplanan 571.3284, bulunan 571.3272.



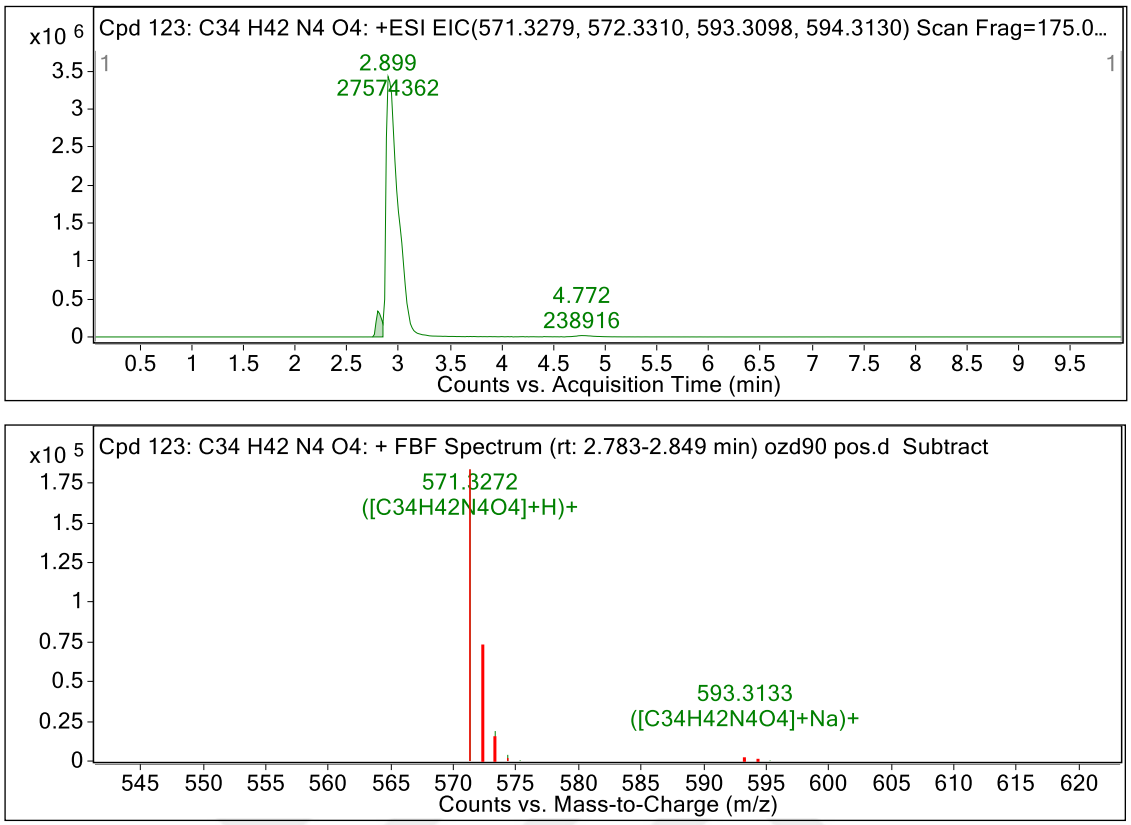
Şekil 5.18 Bileşik **8**'in FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.19 Bileşik **8**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

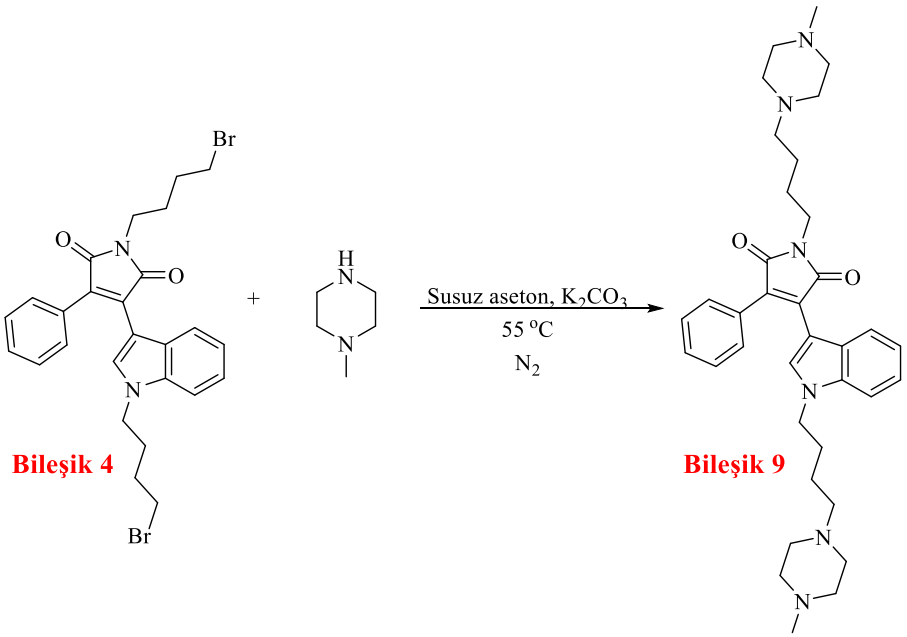


Şekil 5.20 Bileşik **8'**in APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.21 Bileşik **8**'in HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.10 1-(4-(4-Metilpiperazin-1-il)butil)-3-(1-(4-(4-metilpiperazin-1-il)butil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 9, $C_{36}H_{48}N_6O_2$)



Tek boyunlu bir balona 0.47 mmol (262 mg) Bileşik **4** tartılarak alındı. Azot atmosferi altında 21 mL kuru asetonda çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine 2.17 mmol (217.53

mg) *N*-metil piperazin ve kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 5.4 mmol (746 mg) K_2CO_3 eklendi. Reaksiyonun 55°C sıcaklıkta 18 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılarak karışması sağlandı. TLC kontrolü sonrasında çözücü uzaklaştırıldı ve etil asetat-tuzlu su karışımı ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Na_2SO_4 üzerinden kurutulduktan sonra organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (3:1 kloroform/metanol; R_f: 0.22) yardımıyla saflaştırıldı.

Turuncu yağımsı madde; %70 verim.

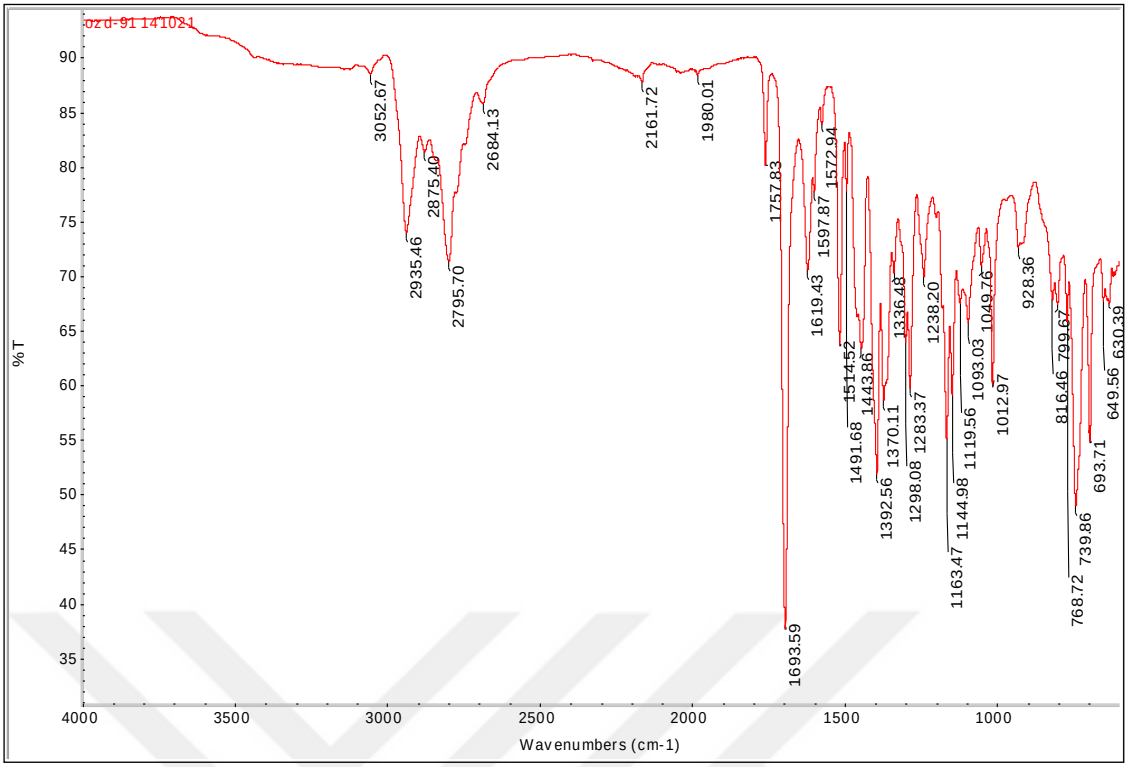
5.1.10.1 Bileşik 9'a Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν**= 3052 (aromatik =C-H gerilimi), 2935, 2875 ve 2795 (alifatik C-H gerilimleri), 1693 ve 1619 (C=O gerilimleri), 1514 ve 1491 (aromatik, C=C gerilimleri), 1443, 1392 ve 1370 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1298 ve 1283 (C-N salınımları) cm^{-1}.

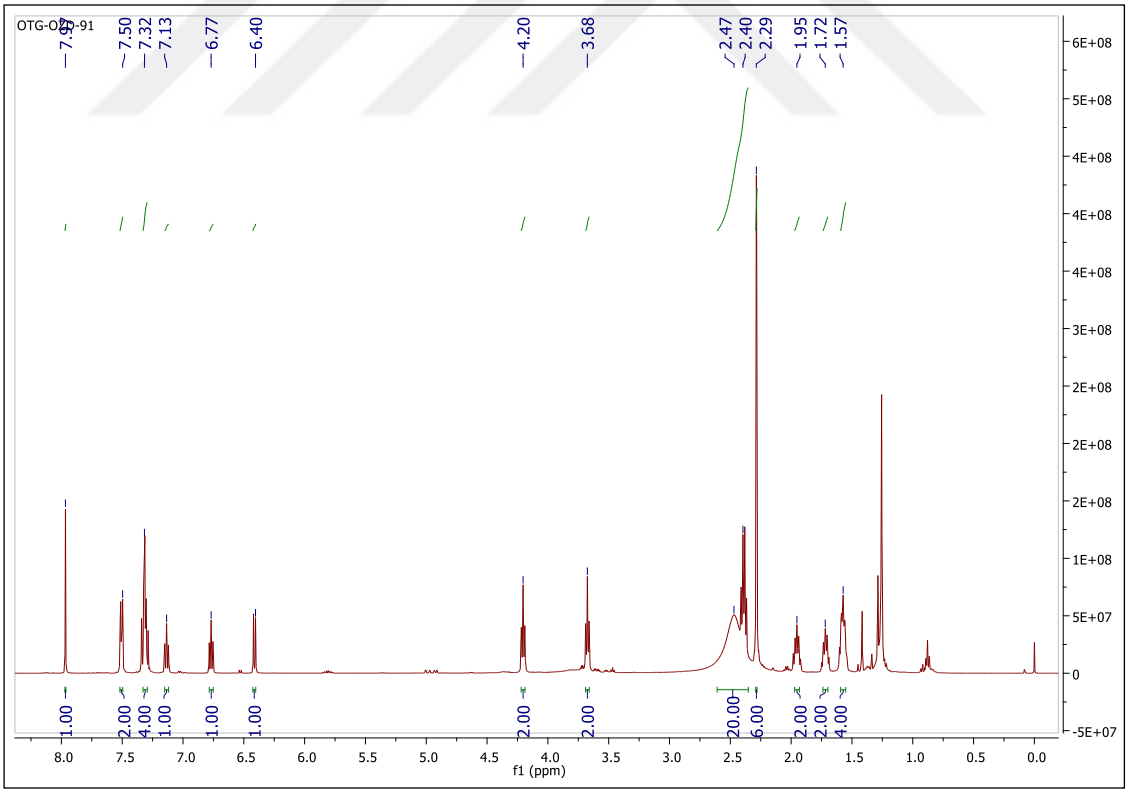
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.60–1.54 (m, 4H, 2xCH_2), 1.71 (dd, *J* = 14.9, 7.4 Hz, 2H, CH_2), 1.94 (dd, *J*= 15.0, 7.4 Hz, 2H, CH_2), 2.29 (s, 6H, 2xCH_3), 2.61–2.35 (m, 20H, 10 x *N*-CH_2), 3.68 (t, *J*= 7.0 Hz, 2H, *N*-CH_2), 4.20 (t, *J*= 7.2 Hz, 2H, *N*-CH_2), 6.41 (d, *J*= 8.1 Hz, 1H, ArH), 6.77 (t, *J*= 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.14 (t, *J*= 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.33–7.30 (m, 4H, ArH), 7.52–7.48 (m, 2H, ArH), 7.97 (s, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 24.2 (CH_2), 26.7 (CH_2), 27.8 (CH_2), 29.6 (CH_2), 38.12 (*N*-CH_2), 45.9 (2x *N*-CH_3), 46.8 (*N*-CH_2), 53.0 (4x*N*-CH_2), 54.9 (4x*N*-CH_2), 57.7 (*N*-CH_2), 58.0 (*N*-CH_2), 104.6 (Cq), 109.8 (CAr), 120.4 (CAr), 122.3 (CAr), 122.7 (CAr), 125.0 (Cq), 128.1 (Cq), 128.2 (2xCAr), 128.8 (CAr), 129.9 (2xCAr), 130.6 (Cq), 131.5 (Cq), 133.4 (CAr), 136.6 (Cq), 171.8 (C=O), 171.9 (C=O) ppm.

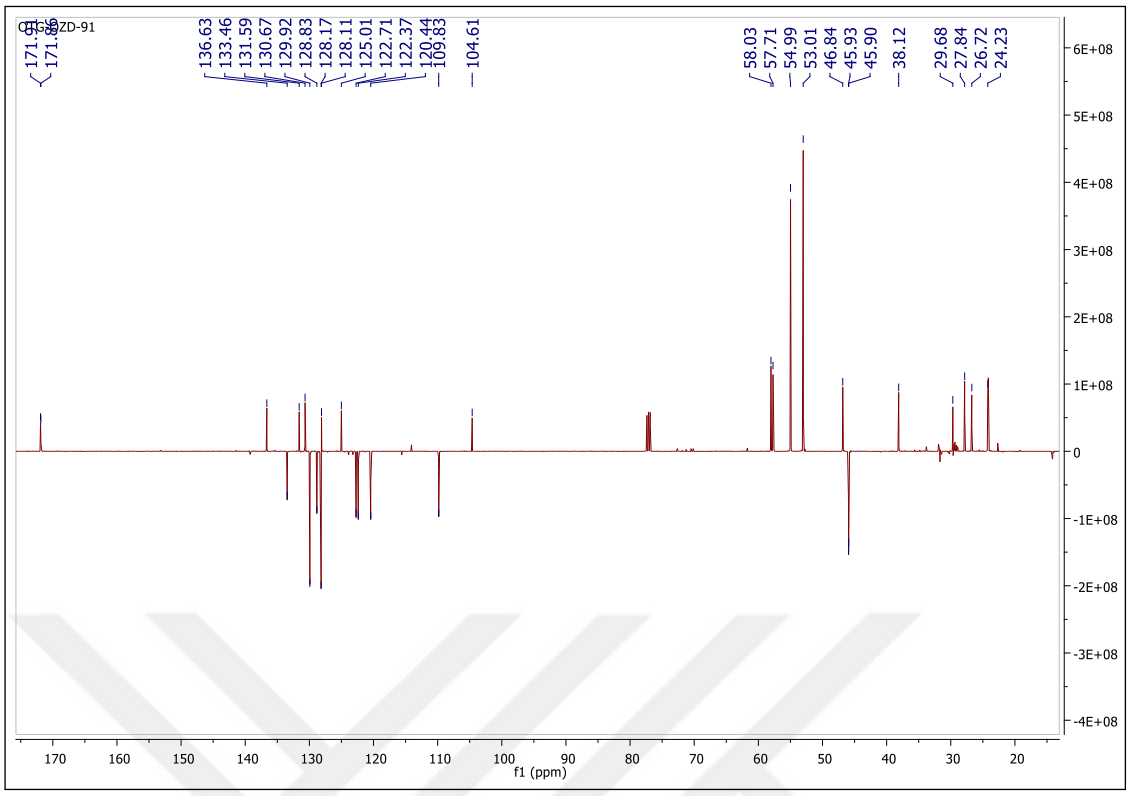
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{36}H_{48}N_6O_2]+H)^+$ için hesaplanan 597.3917, bulunan 597.3905.



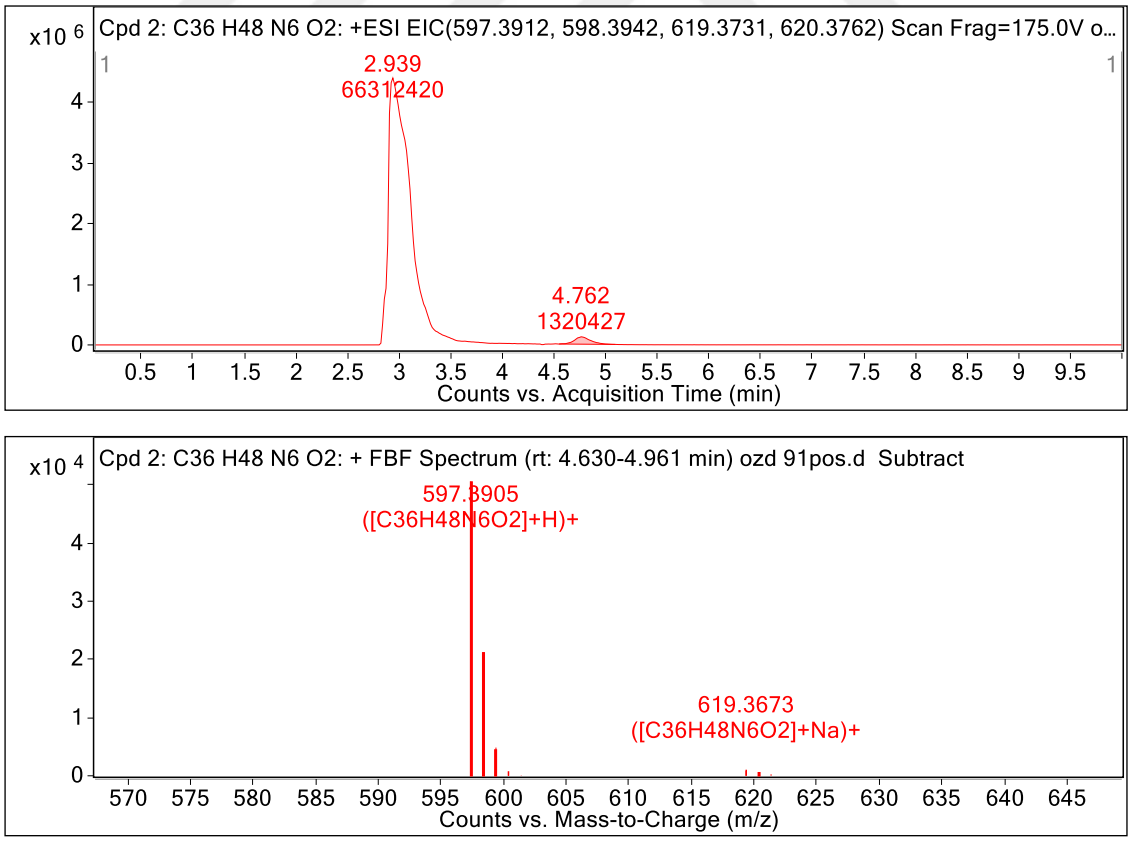
Şekil 5.22 Bileşik **9**'un FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.23 Bileşik **9**'un ^{1}H NMR spektrumu ($CDCl_3$)

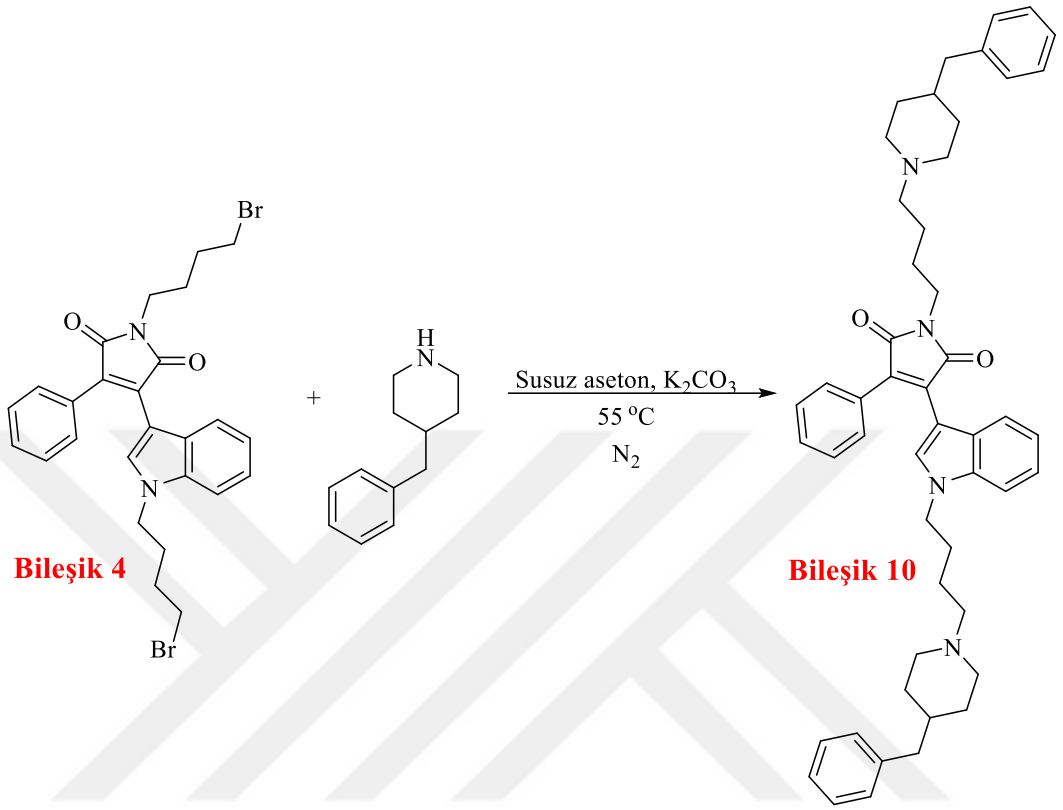


Şekil 5.24 Bileşik **9'**un APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.25 Bileşik **9**'un HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.11 1-(4-(4-Benzilpiperidin-1-il)butil)-3-(1-(4-(4-benzilpiperidin-1-il)butil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 10, $C_{50}H_{58}N_4O_2$)



Tek boyunlu bir balona 0.28 mmol (157 mg) Bileşik **4** tartılarak alındı. Azot atmosferi altında 12 mL kuru asetonda çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine 1.32 mmol (231 mg) 4-benzil piperidin ve kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 3.3 mmol (455.4 mg) K_2CO_3 eklendi. Reaksiyonun 55°C sıcaklıkta 18 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılarak karışması sağlandı. TLC kontrolü sonrasında çözücü uzaklaştırıldı ve etil asetat-tuzlu su karışımı ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Na_2SO_4 üzerinden kurutulduktan sonra organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımı kolon kromatografisi (1:1:1 *n*-hekzan/etil asetat/metanol; R_f: 0.18) yardımıyla saflaştırıldı.

Turuncu yağımsı madde; %72 verim.

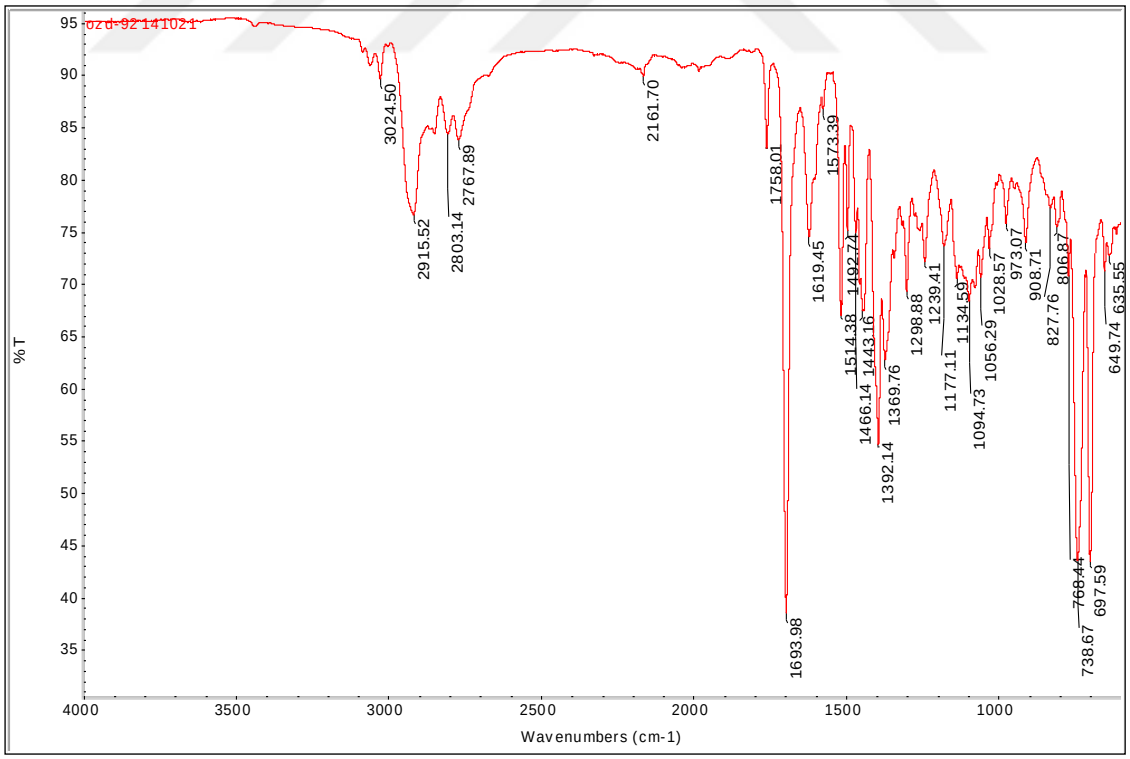
5.1.11.1 Bileşik 10'a Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν**= 3024 (aromatik =C-H gerilimi), 2915 ve 2803 (alifatik C-H gerilimleri), 1693 ve 1619 (C=O gerilimleri), 1514 ve 1492 (aromatik, C=C gerilimleri), 1443, 1392 ve 1369 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1298 (C-N salınımı) cm^{-1}.

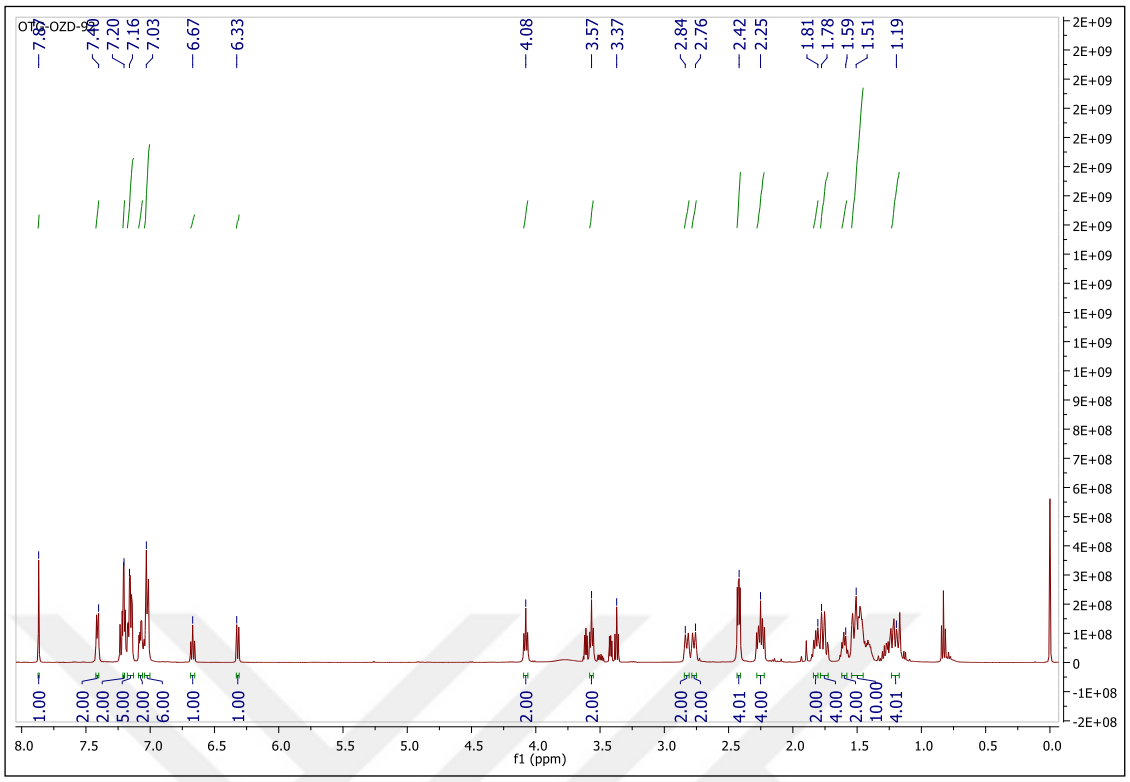
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.25–1.16 (m, 4H, 2xCH_2), 1.55–1.46 (m, 10H, 5xCH_2), 1.60 (m, 2H, CH_2), 1.78 – 1.72 (m, 4H, 2xCH_2), 1.84–1.80 (m, 2H, 2xCH), 2.28–2.21 (m, 4H, 2x*N*-CH_2), 2.42 (dd, *J*=7.1, 4.0 Hz, 4H, 2x*N*-CH_2), 2.77 (d, *J*=11.5 Hz, 2H, *N*-CH_2), 2.83 (d, *J*=11.5 Hz, 2H, *N*-CH_2), 3.57 (t, *J*=7.0 Hz, 2H, *N*-CH_2), 4.08 (t, *J*=7.2 Hz, 2H, *N*-CH_2), 6.32 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, ArH), 6.67 (t, *J*=7.3 Hz, 1H, ArH), 7.04–7.01 (m, 6H, ArH), 7.08 (dd, *J*=7.4, 3.7 Hz, 2H, ArH), 7.16 (td, *J*=7.4, 3.3 Hz, 5H, ArH), 7.21 (dd, *J*=6.0, 4.2 Hz, 2H, ArH), 7.43–7.40 (m, 2H, ArH), 7.87 (s, 1H) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 23.3 (CH_2), 23.4 (CH_2), 25.9 (CH_2), 27.0 (CH_2), 31.0 (2xCH_2), 31.1 (2xCH_2), 36.9 (2xCH), 37.1 (CH_2), 42.2 (CH_2), 45.9 (CH_2), 52.9 (2x*N*-CH_2), 53.0 (2x*N*-CH_2), 57.2 (*N*-CH_2), 57.4 (*N*-CH_2), 60.8 (*N*-CH_2), 103.6 (Cq), 108.9 (CAr), 119.5 (CAr), 121.4 (CAr), 121.8 (CAr), 124.0 (Cq), 124.8 (2xCAr), 124.9 (2xCAr), 127.1 (Cq), 127.2 (4xCAr), 127.8 (CAr),128.1 (4xCAr), 129.0 (2xCAr), 129.7 (Cq), 130.7 (Cq), 132.5 (CAr), 135.3 (Cq), 139.6 (Cq), 139.7 (Cq), 170.9 (C=O), 171.0 (C=O) ppm.

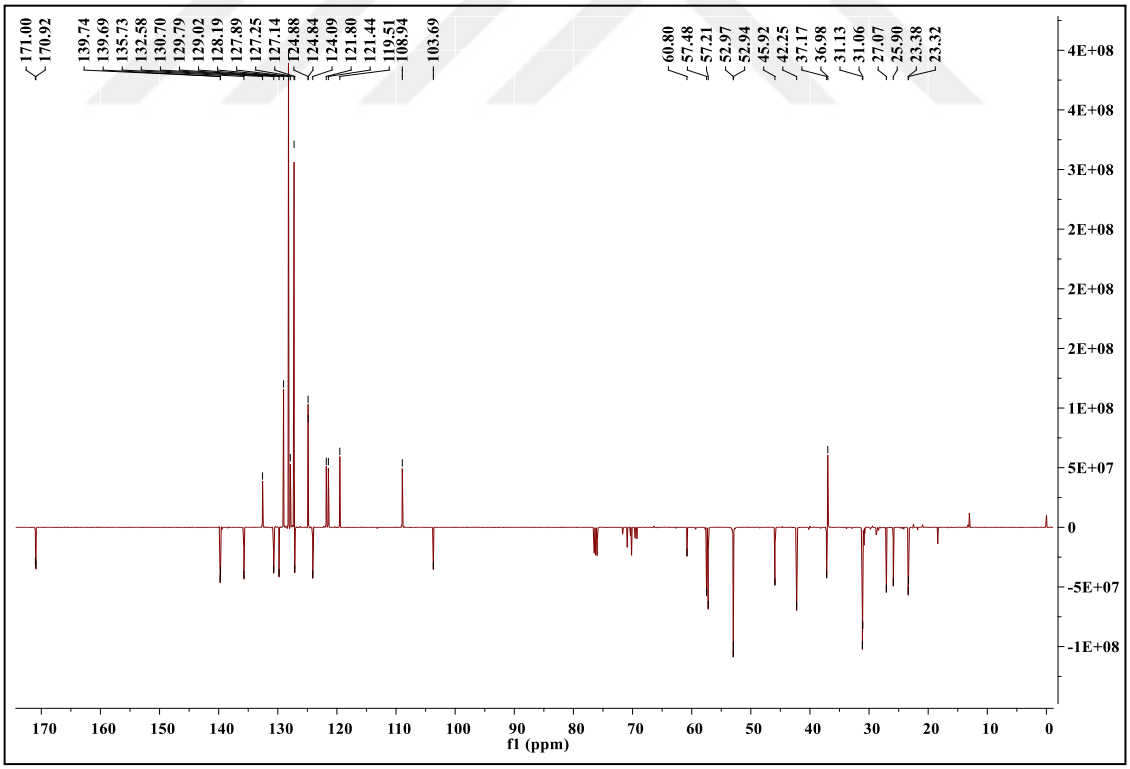
HRMS (ESI-QTOF): m/z: ($[C_{50}H_{58}N_4O_2]+H)^+$ için hesaplanan 747.4633, bulunan 747.4625.



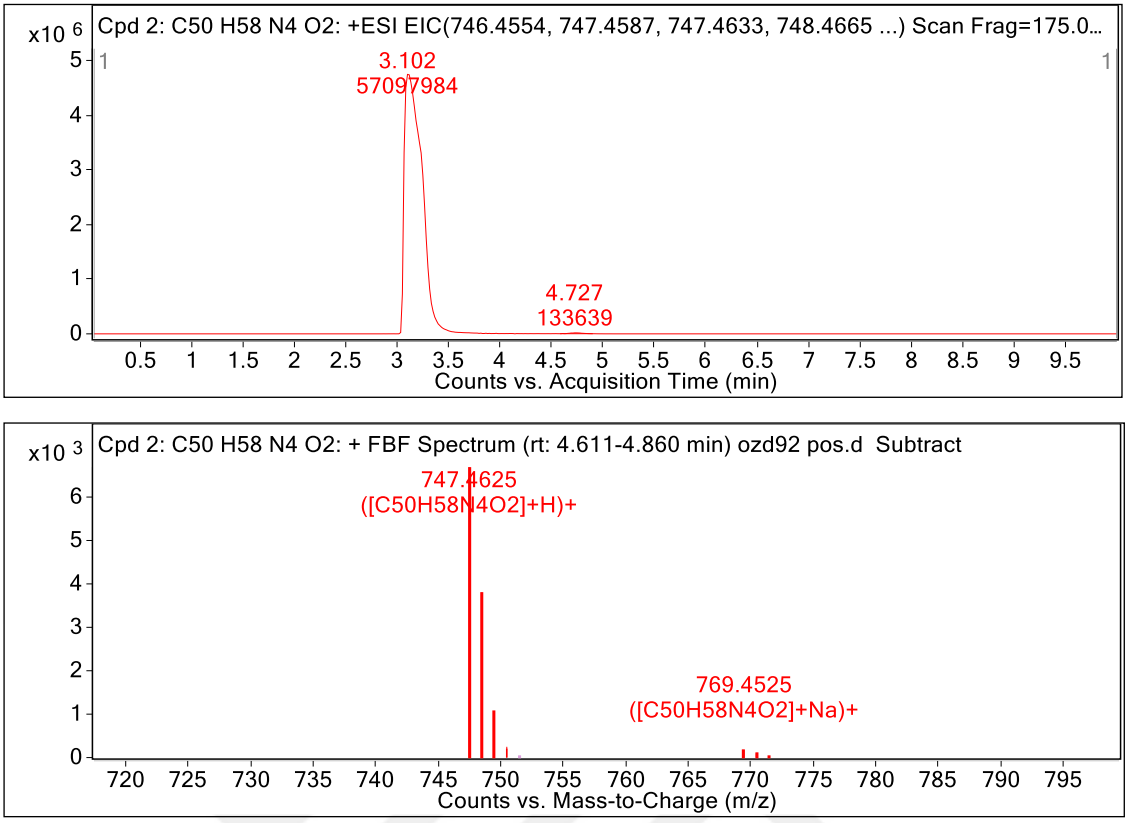
Şekil 5.26 Bileşik **10**'un FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.27 Bileşik **10**'un ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

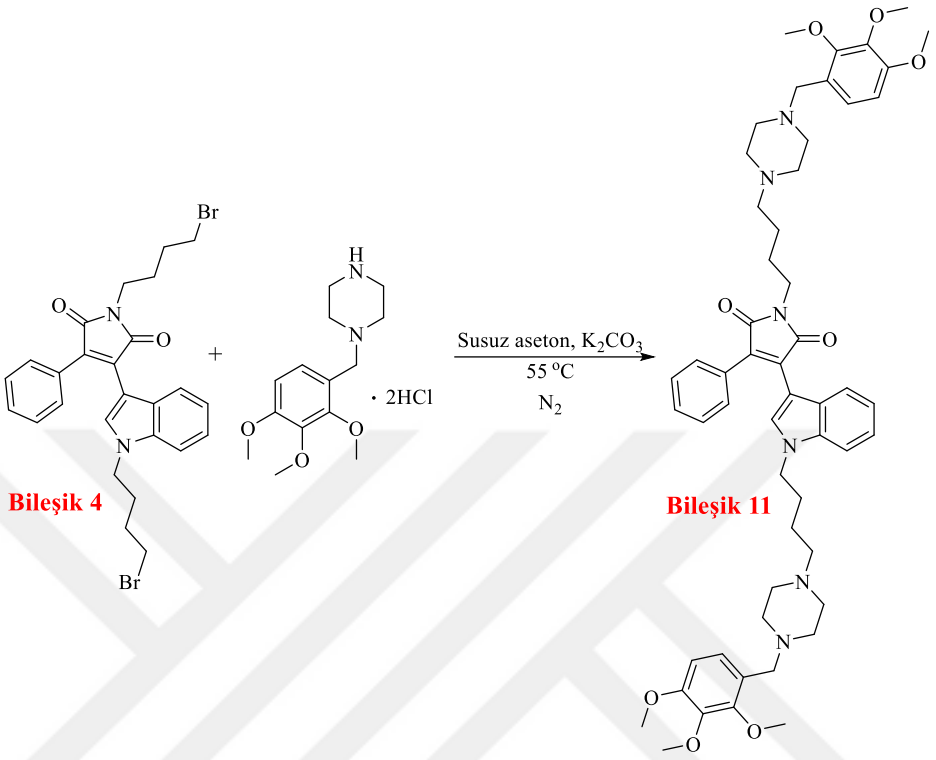


Şekil 5.28 Bileşik **10**'un APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.29 Bileşik **10**'un HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.12 3-Fenil-1-(4-(4-(2,3,4-trimetoksibenzil)piperazin-1-il)butil)-4-(1-(4-(4-(2,3,4-trimetoksibenzil)piperazin-1-il)butil)-1*H*-indol-3-il)-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 11, $C_{54}H_{68}N_6O_8$)



Tek boyunlu bir balona 0.32 mmol (181 mg) Bileşik **4** tartılarak alındı. Azot atmosferi altında 15 mL kuru asetonda çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine 1.5 mmol (510 mg) trimetazidin dihidroklorid ve kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 3.8 mmol (525 mg) K_2CO_3 eklendi. Reaksiyonun 55°C sıcaklıkta 18 saat boyunca geri soğutucu altında karıştırılarak karışması sağlandı. TLC kontrolü sonrasında çözücü uzaklaştırıldı ve etil asetat-tuzlu su karışımı ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Na_2SO_4 üzerinden kurutulduktan sonra organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımı kolon kromatografisi (1:1:1 *n*-hekzan/etil asetat/metanol; R_f: 0.24) yardımıyla saflaştırıldı.

Turuncu yağımsı madde; %48 verim.

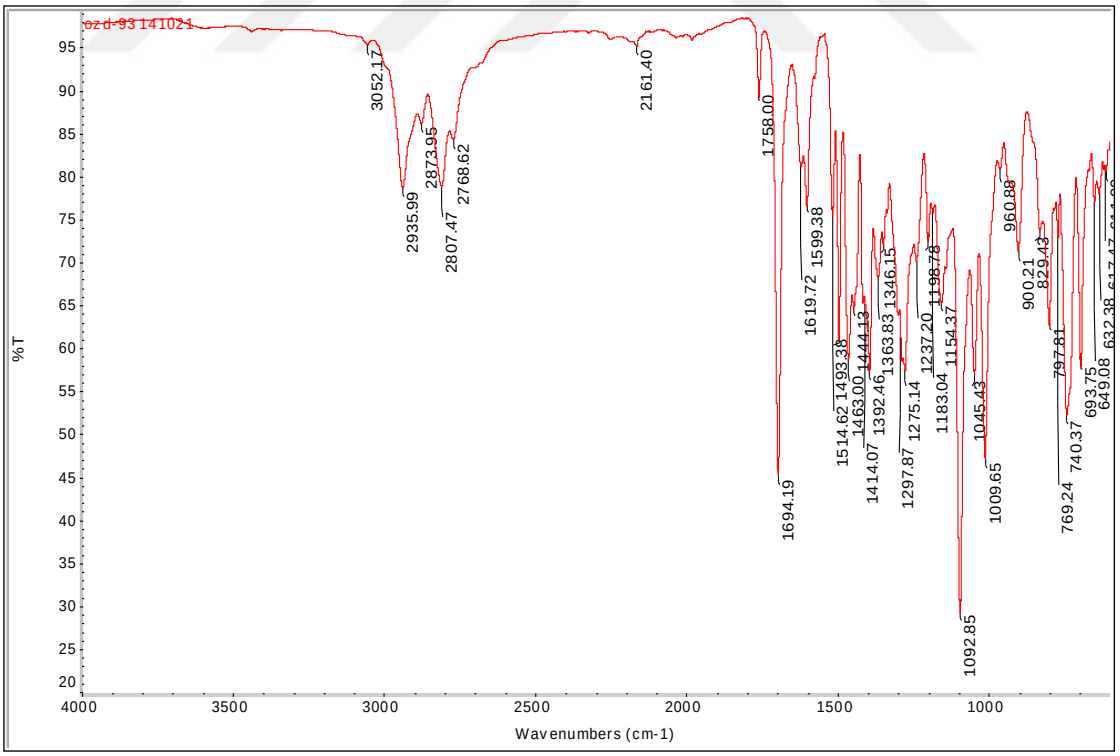
5.1.12.1 Bileşik 11'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν=** 3052 (aromatik =C-H gerilimi), 2935, 2873, 2807 ve 2768 (alifatik C-H gerilimleri), 1694 ve 1619 (C=O gerilimleri), 1514 ve 1493 (aromatik, C=C gerilimleri), 1444, 1392 ve 1363 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1297 (C-N salınımı), 1045 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

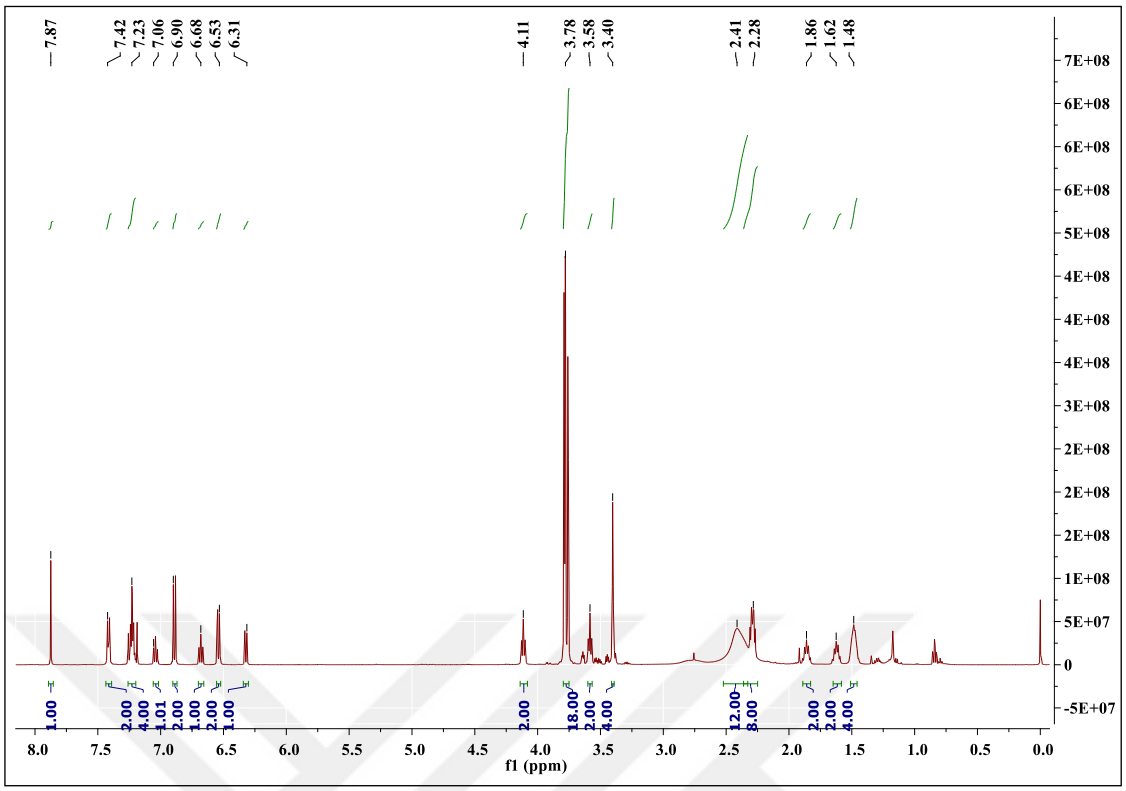
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.51–1.45 (m, 4H, 2xCH_2), 1.62 (dt, *J*=14.8, 7.3 Hz, 2H, CH_2), 1.89–1.82 (m, 2H, CH_2), 2.29 (dd, *J*=13.8, 6.6 Hz, 8H, 4x*N*-CH_2), 2.41 (s, 12H, 6x*N*-CH_2), 3.40 (s, 4H, 2x*N*-CH_2), 3.58 (t, *J*=7.1 Hz, 2H, *N*-CH_2), 3.81–3.74 (m, 18H, 6x*O*-CH_3), 4.11 (t, *J*=7.2 Hz, 2H, *N*-CH_2), 6.32 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, ArH), 6.54 (dd, *J*=8.6, 1.7 Hz, 2H, ArH), 6.68 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 6.89 (d, *J*=8.5 Hz, 2H, ArH), 7.04 (t, *J*=7.4 Hz, 1H, ArH), 7.23 (dd, *J*=7.2, 5.6 Hz, 4H, ArH), 7.42 (dd, *J*=6.4, 3.2 Hz, 2H, ArH), 7.87 (s, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 23.1 (CH_2), 23.2 (CH_2), 25.7 (CH_2), 26.8 (CH_2), 37.1 (*N*-CH_2), 45.8 (*N*-CH_2), 51.7 (4x*N*-CH_2), 52.2 (4x*N*-CH_2), 54.9 (2x*O*-CH_3), 55.3 (*N*-CH_2), 55.4 (*N*-CH_2), 56.7 (*N*-CH_2), 57.0 (*N*-CH_2), 59.7 (2x*O*-CH_3), 60.1 (2x*O*-CH_3), 103.5 (Cq), 105.8 (2xCAr), 118.8 (CAr), 119.3 (CAr), 121.3 (CAr), 121.6 (CAr), 122.7 (Cq), 112.3 (Cq), 123.9 (Cq), 124.1 (2xCAr), 127.0 (Cq), 127.1 (2xCAr), 127.7 (CAr), 128.9 (2xCAr), 129.6 (2xCq), 130.5 (Cq), 132.4 (CAr), 135.6 (2xCq), 141.2 (Cq), 151.6 (Cq), 151.8 (Cq), 151.8 (Cq), 170.8 (C=O), 170.9 (C=O) ppm.

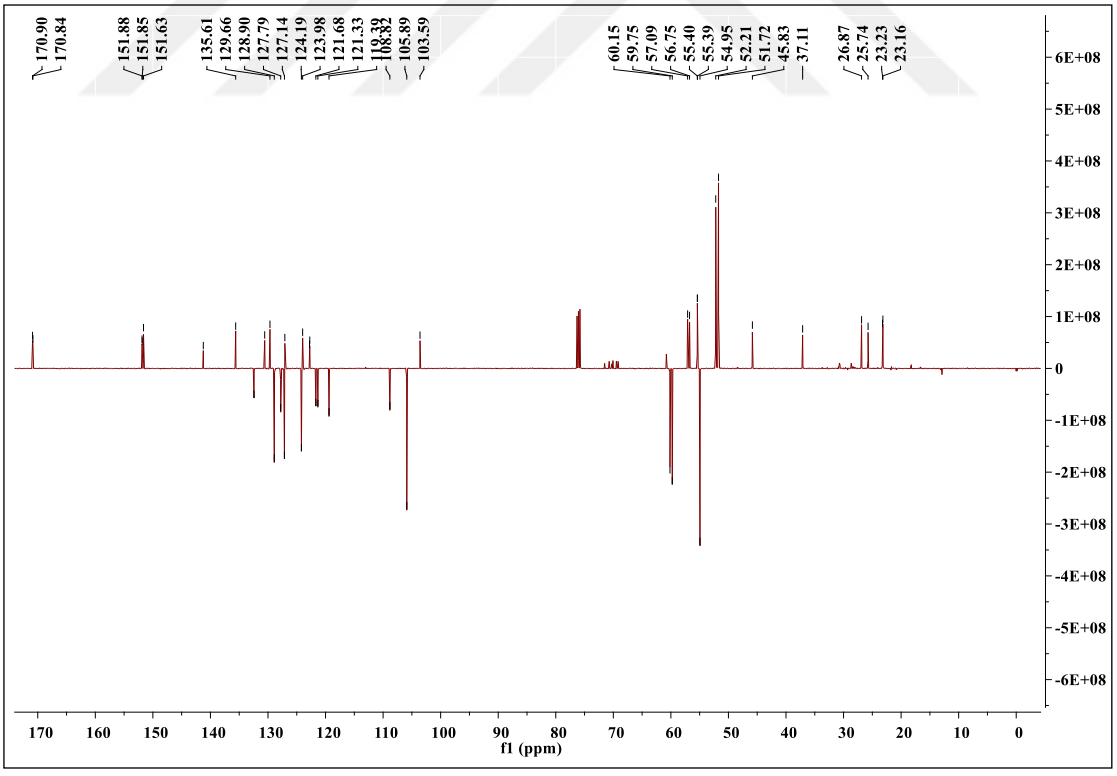
HRMS (ESI-QTOF): m/z: ($[C_{54}H_{68}N_6O_8]+H)^+$ için hesaplanan 929.5171, bulunan 929.5140.



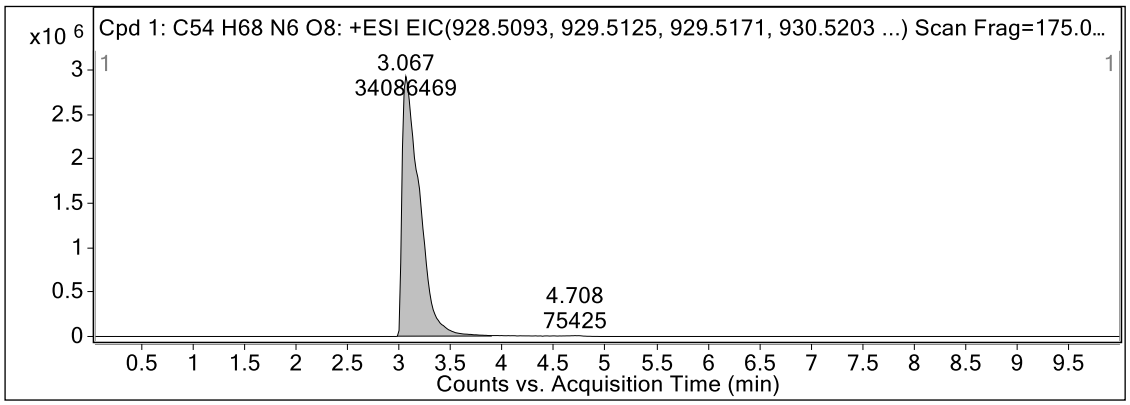
Şekil 5.30 Bileşik **11**'in FTIR spektrumu (ATR)

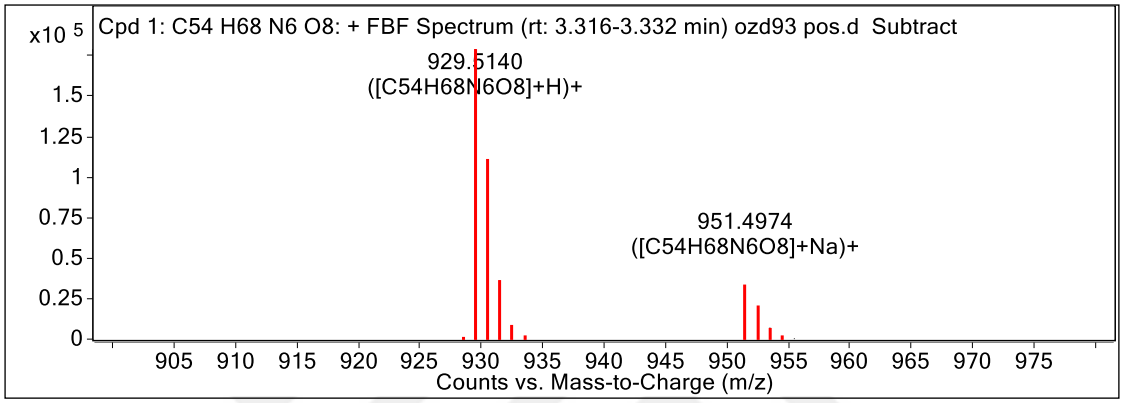


Şekil 5.31 Bileşik **11**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)



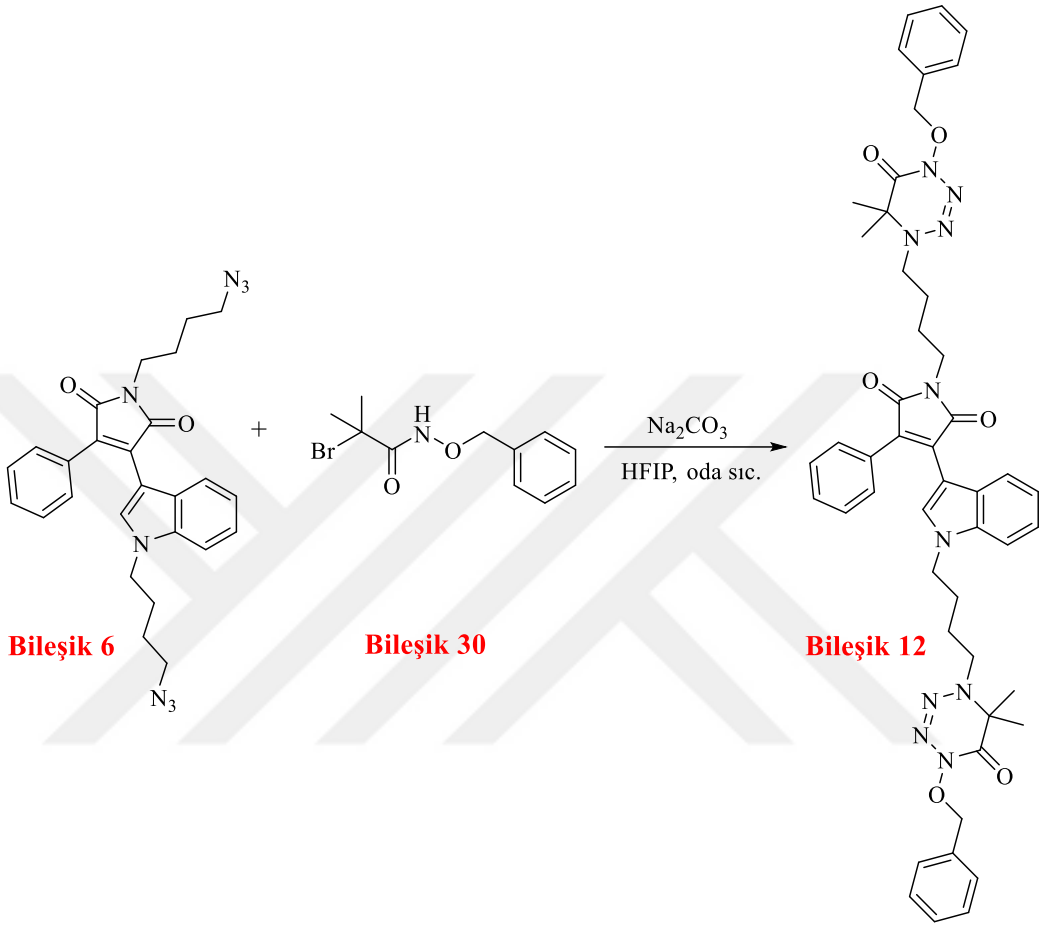
Şekil 5.32 Bileşik **11**'in APT spektrumu ($CDCl_3$)





Şekil 5.33 Bileşik **11**'in HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.13 1-(4-(4-(Benziloksi)-6,6-dimetil-5-okso-5,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-1(4*H*)-il)butil)-3-(1-(4-(4-(benziloksi)-6,6-dimetil-5-okso-5,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-1(4*H*)-il)butil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 12, $C_{48}H_{52}N_{10}O_6$)



***N*-(Benziloksi)-2-bromo-2-metilpropanamid (Bileşik 30) Sentezi**: 2.5 mmol (399.03 mg) *O*-benzilhidroksilamin hidroklorür çift boyunlu bir balona alındı. Balon içerisine 2.5 mmol (252.95 mg) susuz TEA eklendikten sonra çözecek kadar susuz CH_2Cl_2 ilave edilerek 0°C'de karışmaya bırakıldı. Bir enjektör yardımıyla 2.5 mmol (574.75 mg) 2-bromoizobutiril bromid damla damla eklendi ve bu sırada beyaz çökelti oluşumu gözlendi. 18 saat sonra TLC kontrolü (1:1 etil asetat/n-hekzan) yapılıp karışıma su ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Kurutma için $MgSO_4$ kullanıldı ve solvent uçuruldu. Petrol eteri ve eter karışımı yardımıyla yağımsı maddenin çöktürülerek saflaştırılması sağlandı. Beyaz katı (R_f: 0.2 (3:1 *n*-hekzan/etil asetat) %87 verimle elde edildi, e.n. 88.6-91.1°C. (Zhang vd., 2019).

Elde edilen 2 mmol (544 mg) bileşik **30** ve 1 mmol (482 mg) bileşik **6** bir schlenk tüpüne alınır ve üzerine 6 mmol (636 mg) susuz Na_2CO_3 eklenir. schlenk tüpü içerisine vakum

uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırılır, ardından tüp azot gazı ile doldurulur. Üzerine bir enjektör yardımıyla 3 mL HFIP çözücüsü eklenerek çözünmesi sağlanır. Reaksiyon azot atmosferi altında 12 saat boyunca karışmaya bırakılır. Reaksiyon karışımı selitten süzülür ve düşük basınç altında çözücü uzaklaştırılır. Kalıntı kolon kromatografisi (1:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.56) yardımıyla saflaştırılır.

Turuncu yağımsı madde; %35 verim.

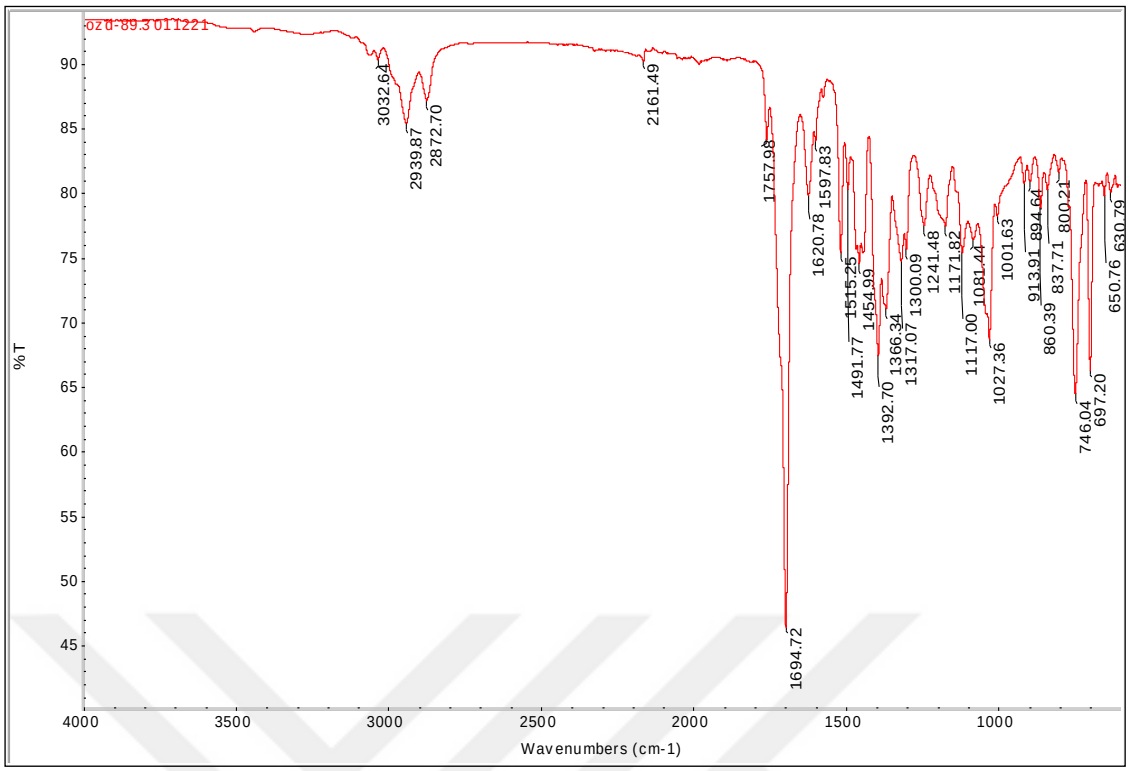
5.1.13.1 Bileşik 12'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): *ν*= 3032 (aromatik, =C-H gerilimi), 2939 ve 2872 (alifatik, C-H gerilimleri), 1694 ve 1620 (C=O gerilimleri), 1515 ve 1491 (aromatik, C=C gerilimi), 1392 ve 1366 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1241 (C-N salınımı), 1081 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

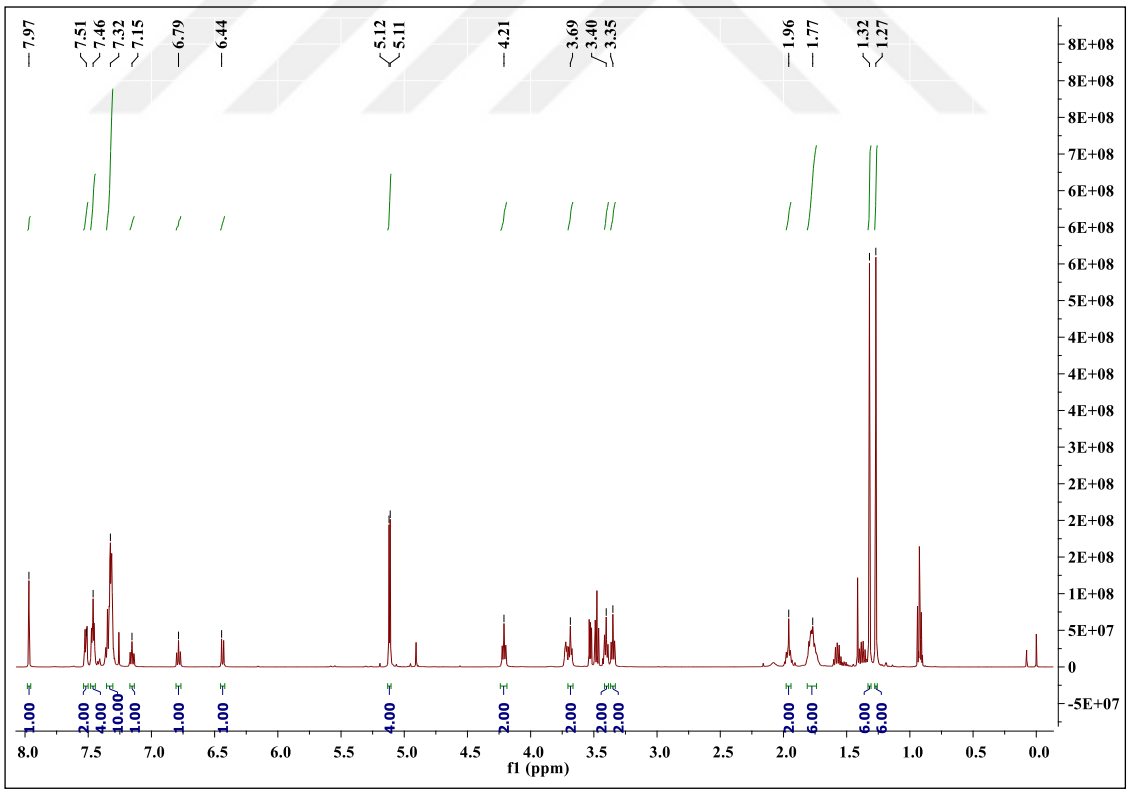
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.27 (s, 6H, 2xCH_3), 1.32 (s, 6H, 2xCH_3), 1.78 (m, 6H, 3xCH_2), 1.96 (t, *J*=7.7 Hz, 2H, CH_2), 3.35 (t, *J*=6.9 Hz, 2H, *N*-CH_2), 3.40 (t, *J*=6.8 Hz, 2H, *N*-CH_2), 3.69 (t, *J*=6.5 Hz, 2H, *N*-CH_2), 4.21 (t, *J*=7.0 Hz, 2H, *N*-CH_2), 5.11 (s, 2H, *O*-CH_2), 5.12 (s, 2H, *O*-CH_2), 6.44 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, ArH), 6.79 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, ArH), 7.15 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.36 – 7.31 (m, 10H, ArH), 7.48 – 7.44 (m, 4H, ArH), 7.52 (dd, *J*=7.4, 2.3 Hz, 2H, ArH), 7.97 (s, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 20.4 (2xCH_3), 20.5 (2xCH_3), 25.7 (CH_2), 27.0 (CH_2), 31.7 (CH_2), 37.6 (CH_2), 46.5 (*N*-CH_2), 48.1 (*N*-CH_2), 59.8 (*N*-CH_2), 61.8 (*N*-CH_2), 71.0 (*O*-CH_2), 71.7 (*O*-CH_2), 78.4 (2xCq), 104.8 (Cq), 109.7 (CAr), 120.6 (CAr), 122.6 (CAr), 122.8 (CAr), 125.0 (Cq), 125.8 (Cq), 128.2 (2xCAr), 128.4 (3x CAr), 129.0 (2xCAr), 129.1 (2xCAr), 129.4 (CAr), 129.7 (2xCAr), 129.8 (2xCAr), 129.9 (2xCAr), 130.5 (Cq), 131.5 (Cq), 133.8 (Cq), 133.9 (Cq), 136.6 (Cq), 162.1 (C=O), 162.2 (C=O), 171.8 (C=O), 171.9 (C=O) ppm.

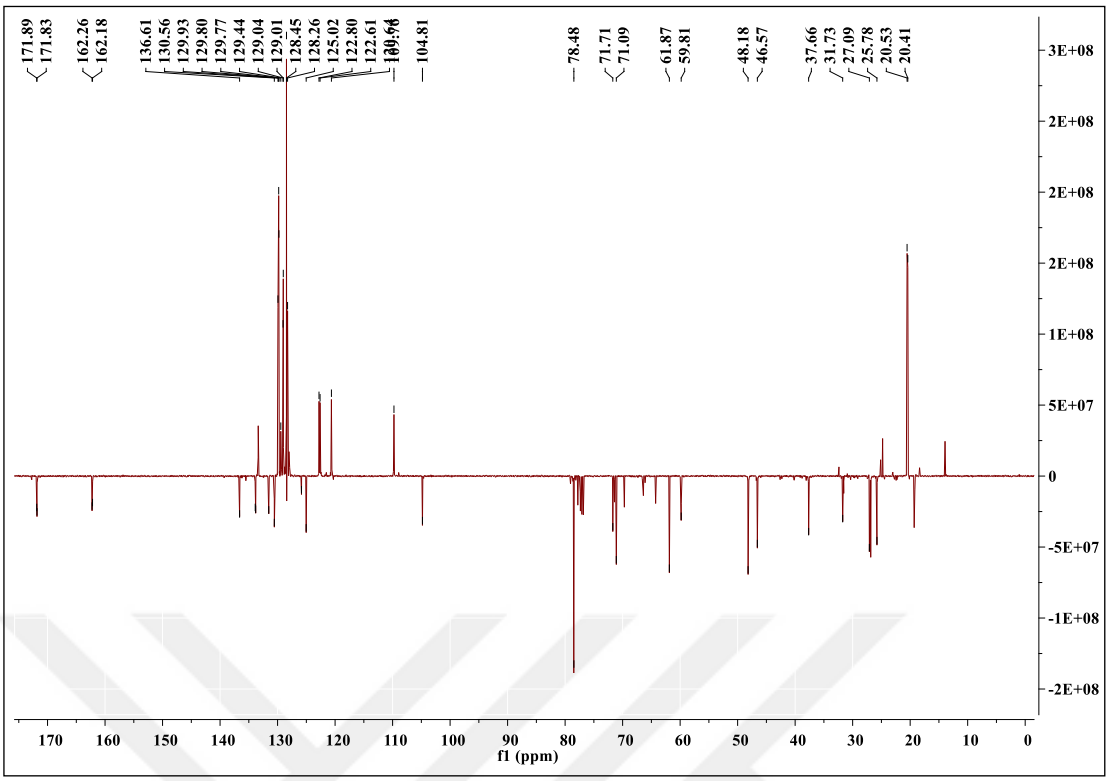
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{48}H_{52}N_{10}O_6]+Na)^+$ için hesaplanan 887.3964, bulunan 887.3962.



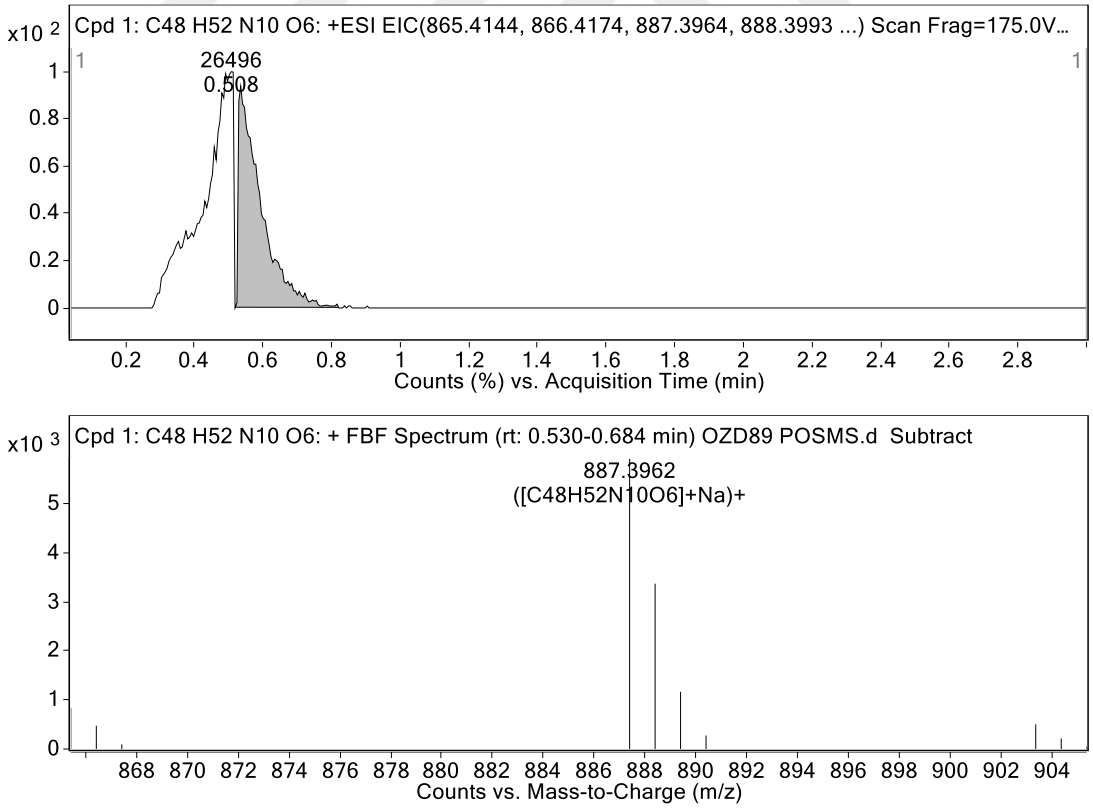
Şekil 5.34 Bileşik **12**'nin FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.35 Bileşik **12**'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

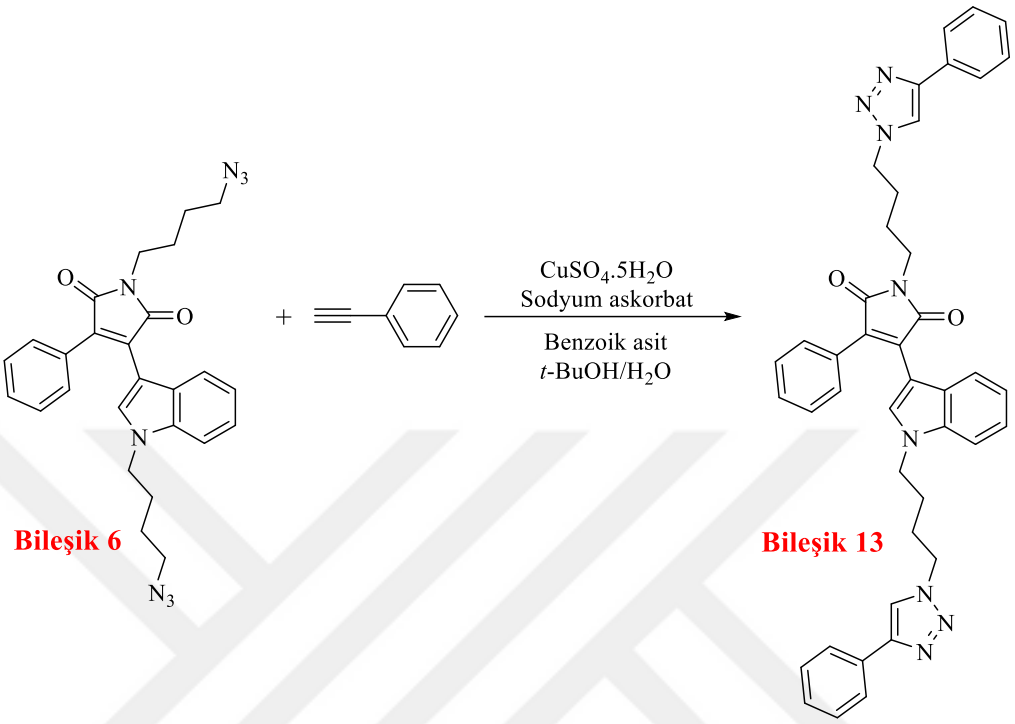


Şekil 5.36 Bileşik **12**'nin APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.37 Bileşik **12**'nin HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.14 3-Fenil-1-(4-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)butil)-4-(1-(4-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)butil)-1*H*-indol-3-il)-1H-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 13, $C_{42}H_{38}N_8O_2$)



Tek boyunlu bir balona 0.28 mmol (135 mg) Bileşik **6** tartılarak alındı. Üzerine 0.6 mmol (61.28 mg) fenil asetilen, 0.006 mmol (1.5 mg) $CuSO_4.5H_2O$, 0.012 mmol (2.37 mg) sodyum askorbat, 0.06 mmol (7.28 mg) benzoik asit ve 1:2 (0.2:0.4 mL) *t*-BuOH:H_2O ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığında 18 saat boyunca karıştırıldı. TLC kontrolü sonucunda reaksiyon sonlandırılarak diklorometan ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Na_2SO_4 ile kurutulduktan sonra çözücü uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (1:2 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.3) yardımıyla saflaştırıldı.

Turuncu yağımsı madde; %65 verim.

5.1.14.1 Bileşik 13'ün Spektroskopik Analiz Verileri

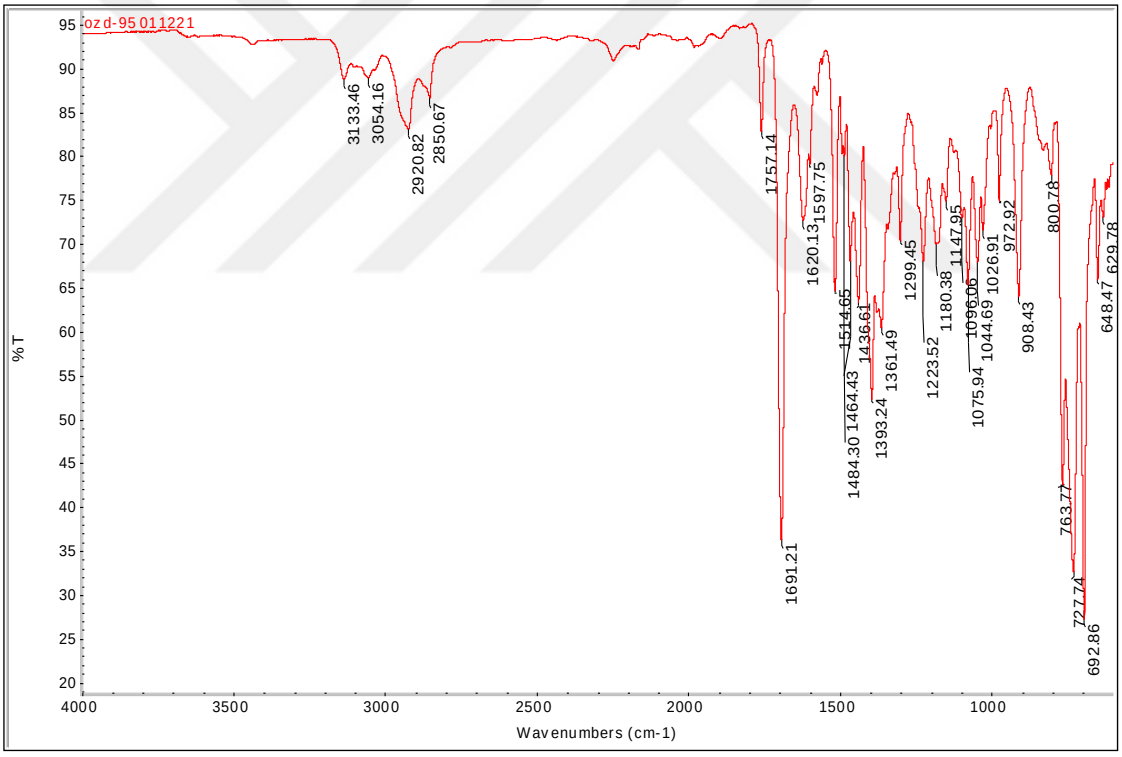
FTIR (ATR): **ν=** 3133 ve 3054 (aromatik =C-H gerilimleri), 2920ve 2850 (alifatik C-H gerilimleri), 1691 ve 1620 (C=O gerilimleri), 1514 ve 1484 (aromatik, C=C gerilimleri), 1464, 1436, 1393 ve 1361 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1299 (C-N salınımı) cm^{-1}.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.80–1.74 (m, 2H, CH_2), 2.07–1.94 (m, 6H, 3xCH_2), 3.73 (t, *J*=6.7 Hz, 2H, *N*-CH_2), 4.24 (t, *J*=6.3 Hz, 2H, *N*-CH_2), 4.35 (t, *J*=6.5 Hz, 2H, *N*-

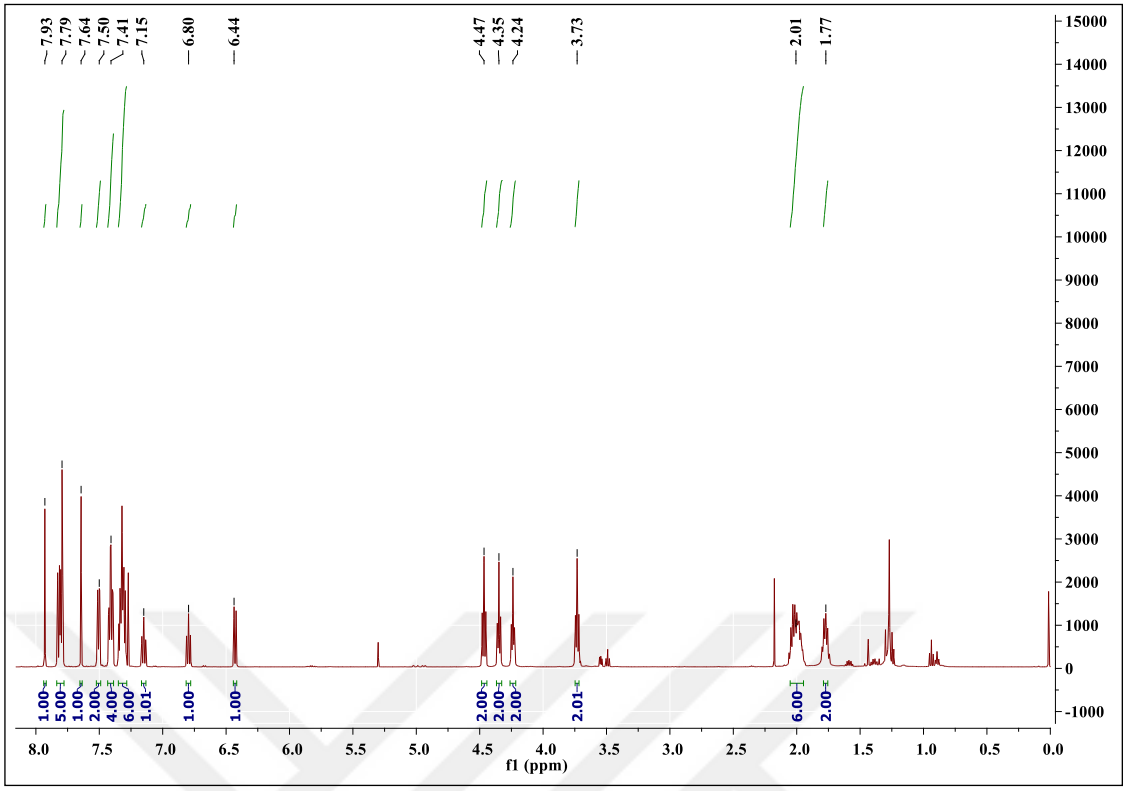
CH_2), 4.47 (t, *J*=7.1 Hz, 2H, *N*-CH_2), 6.43 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, ArH), 6.80 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.15 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.32 (ddd, *J*=12.8, 7.7, 5.0 Hz, 6H, ArH), 7.41 (td, *J*=7.6, 2.4 Hz, 4H, ArH), 7.51 (dd, *J*=7.7, 1.6 Hz, 2H, ArH), 7.64 (s, 1H, ArH), 7.81 (dt, *J*=7.2, 1.6 Hz, 5H, ArH), 7.93 (s, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 25.6 (CH_2), 26.6 (CH_2), 27.6 (CH_2), 27.7 (CH_2), 37.1 (*N*-CH_2), 46.2 (*N*-CH_2), 49.5 (*N*-CH_2), 49.6 (*N*-CH_2), 104.8 (Cq), 109.8 (CAr), 119.6 (CAr), 119.7 (CAr), 120.7 (CAr), 122.7 (CAr), 122.8 (CAr), 124.9 (Cq), 125.7 (2xCAr), 125.8 (2xCAr), 128.1 (CAr), 128.2 (CAr), 128.3 (2xCAr), 128.6 (Cq), 128.8 (2xCAr), 128.9 (2xCAr), 129.1 (CAr), 129.9 (2xCAr), 130.4 (Cq), 130.5 (Cq), 130.6 (Cq), 131.5 (Cq), 133.3 (CAr), 136.4 (Cq), 147.7 (Cq), 147.9 (Cq), 171.7 (C=O), 171.8 (C=O) ppm.

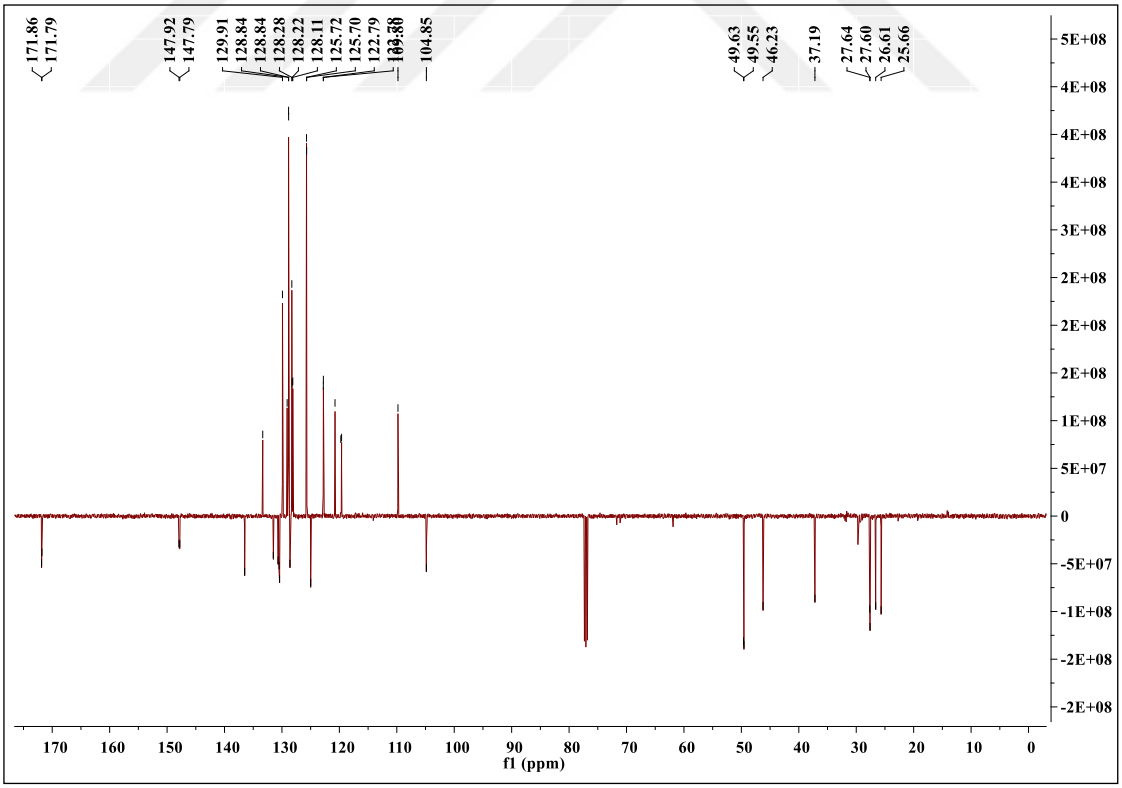
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{42}H_{38}N_8O_2]+H)^+$ için hesaplanan 687.3190, bulunan 687.3182.



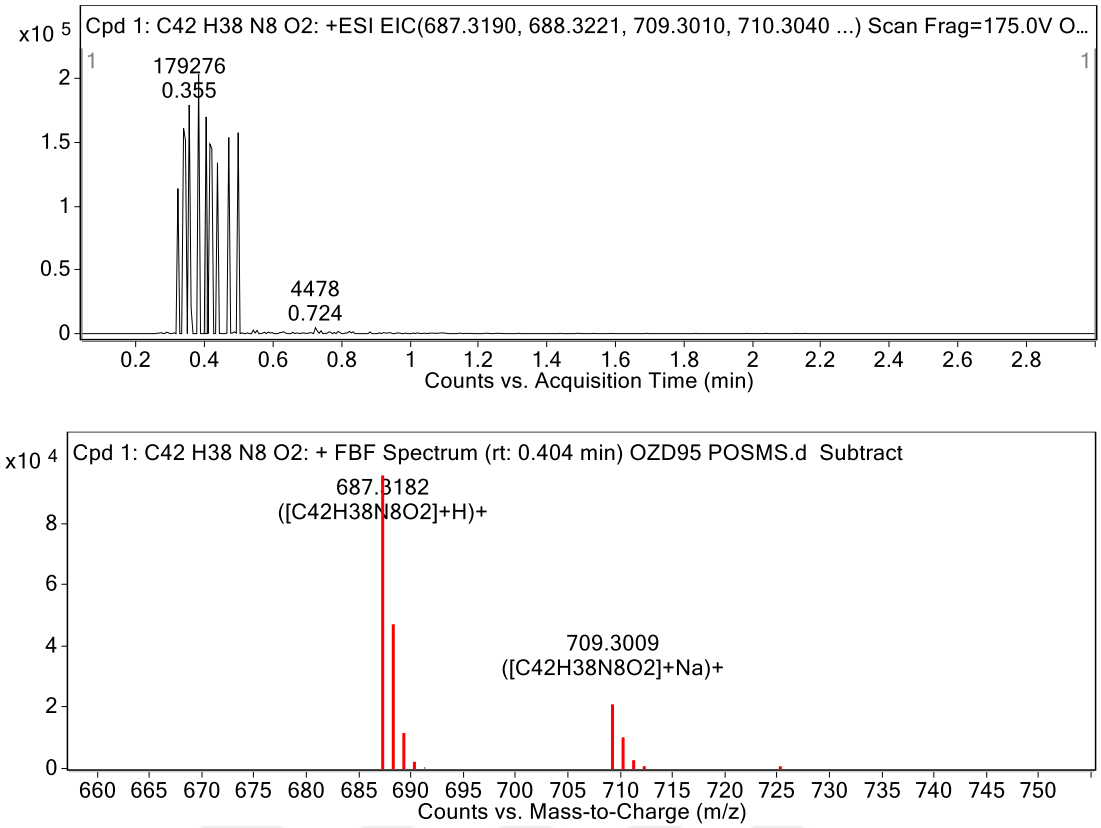
Şekil 5.38 Bileşik **13**'ün FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.39 Bileşik **13**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

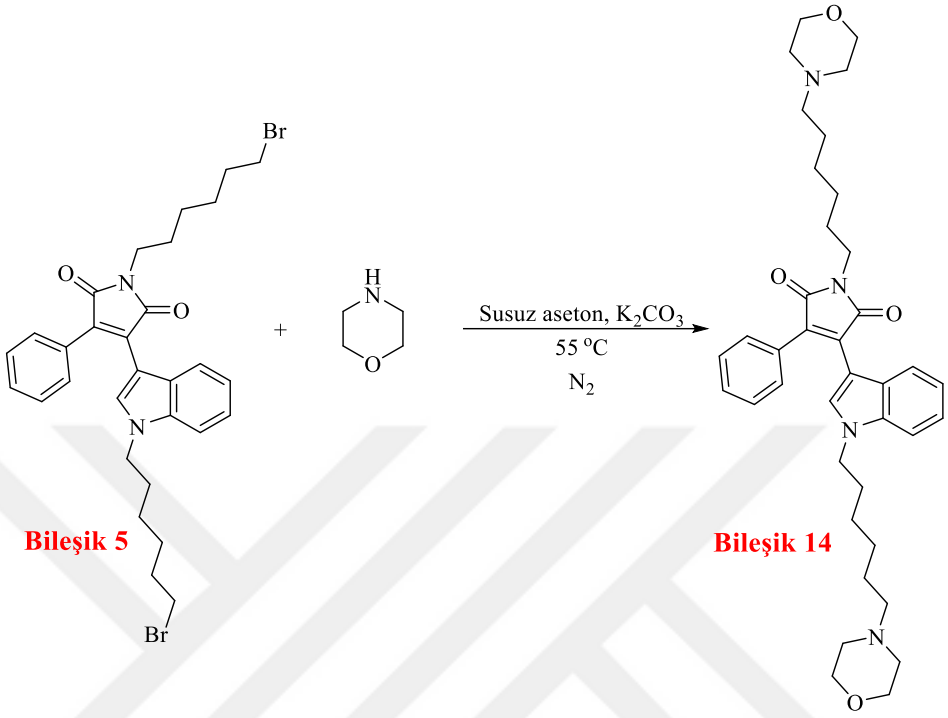


Şekil 5.40 Bileşik **13**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.41 Bileşik **13**'ün HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.15 1-(6-Morfolinohekzil)-3-(1-(6-morfolinohekzil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 14, $C_{38}H_{50}N_4O_4$)



Tek boyunlu bir balona 0.4 mmol (243 mg) Bileşik **5** tartılarak alındı. Azot atmosferi altında 18 mL kuru asetonda çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine 1.78 mmol (155 mg) morfolin ve kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 4 mmol (553 mg) K_2CO_3 eklendi. Reaksiyon 55°C sıcaklıkta 18 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılarak karışması sağlandı. TLC kontrolü sonrasında çözücü uzaklaştırıldı ve etil asetat-tuzlu su karışımı ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Na_2SO_4 üzerinden kurutulduktan sonra organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntıyı saflaştırmak için 1:1 etil asetat/metanol sisteminde (R_f: 0.24 (1:1:1 *n*-hekzan/etil asetat/metanol)) kolon kromatografisi uygulandı.

Turuncu yağımsı madde; %82 verim.

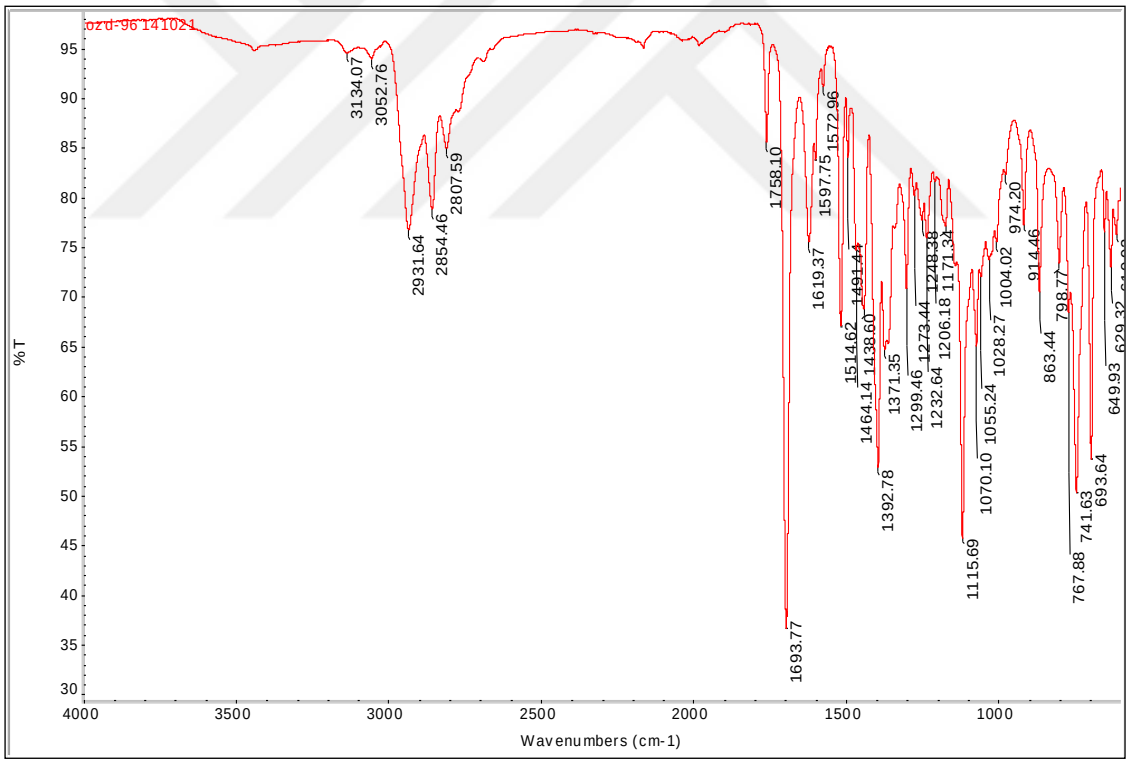
5.1.15.1 Bileşik 14'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν**= 3134 ve 3052 (aromatik =C-H gerilimleri), 2931, 2854 ve 2807 (alifatik C-H gerilimleri), 1693 ve 1619 (C=O gerilimleri), 1514, 1491 ve 1464 (aromatik, C=C gerilimleri), 1438, 1392 ve 1371 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1299 (C-N salınımı), 1055 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

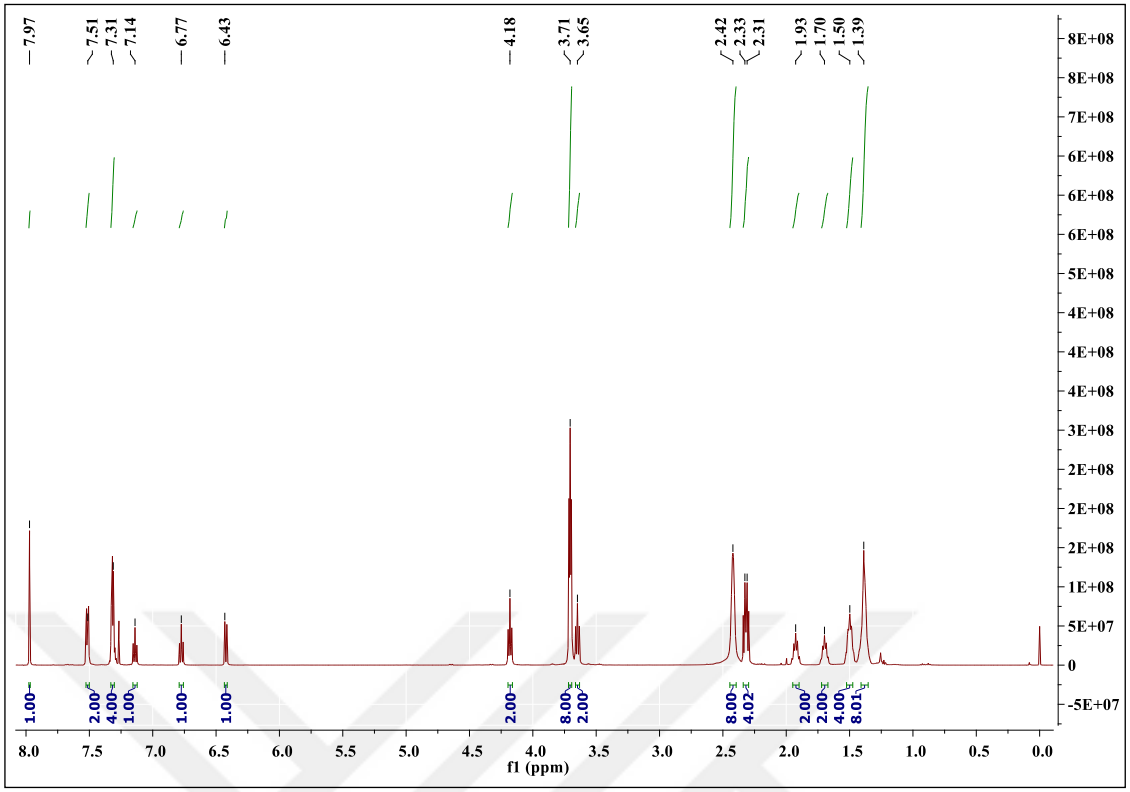
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.42–1.35 (m, 8H, 4xCH_2), 1.53–1.46 (m, 4H, 2xCH_2), 1.73–1.66 (m, 2H, CH_2), 1.96–1.89 (m, 2H, CH_2), 2.32 (dd, *J*=15.2, 6.4 Hz, 4H, 2x*N*-CH_2), 2.42 (s, 8H, 4x*N*-CH_2), 3.65 (t, *J*=7.2 Hz, 2H, *N*-CH_2), 3.73–3.69 (m, 8H, 4x*O*-CH_2), 4.18 (t, *J*=7.2 Hz, 2H, *N*-CH_2), 6.42 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, ArH), 6.77 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.14 (d, *J*=15.3 Hz, 1H, ArH), 7.32 (dt, *J*=5.3, 2.6 Hz, 4H, ArH), 7.52 (dd, *J*=7.3, 2.4 Hz, 2H, ArH), 7.97 (s, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 26.3 (CH_2), 26.4 (CH_2), 26.8 (CH_2), 26.9 (CH_2), 27.0 (CH_2), 27.1 (CH_2), 28.6 (CH_2), 29.8 (CH_2), 38.2 (*N*-CH_2), 46.9 (*N*-CH_2), 53.7 (4x *N*-CH_2), 58.9 (*N*-CH_2), 59.0 (*N*-CH_2), 66.9 (4x*O*-CH_2), 104. 5 (Cq), 109.8 (CAr), 120.4 (CAr), 122.3 (CAr), 122.7 (CAr), 125.0 (Cq), 128.0 (Cq), 128.1 (2xCAr), 128.8 (CAr), 129.9 (2xCAr), 130.7 (Cq), 131.5 (Cq), 133.5 (CAr), 136.6 (Cq), 171.9 (C=O), 172.0 (C=O) ppm.

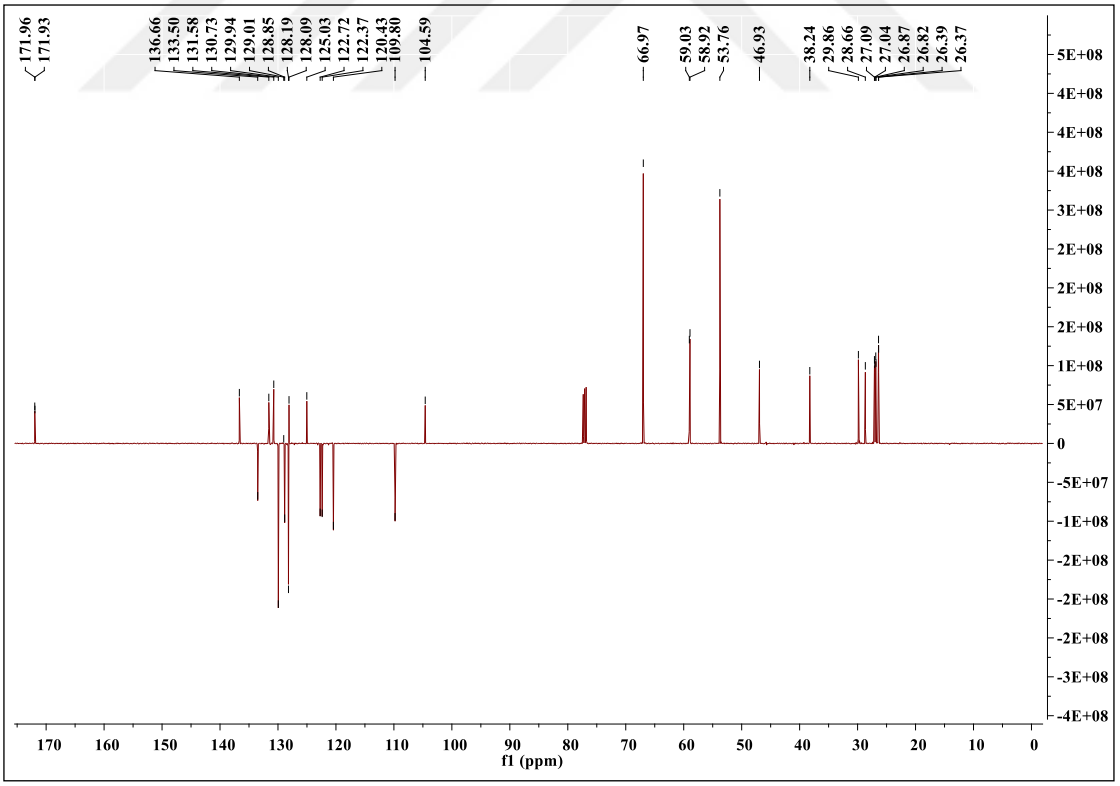
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{38}H_{50}N_4O_4]+H)^+$ için hesaplanan 627.3905, bulunan 627.3914.



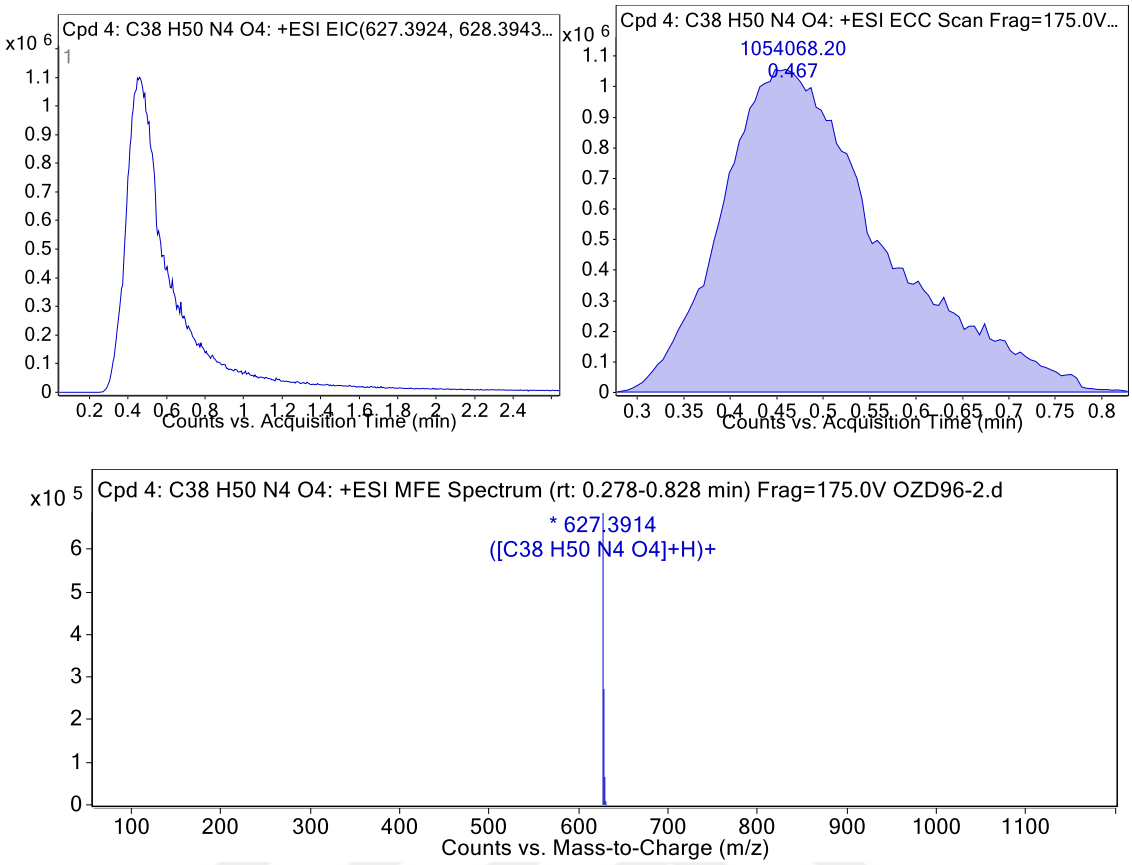
Şekil 5.42 Bileşik **14**'ün FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.43 Bileşik **14**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

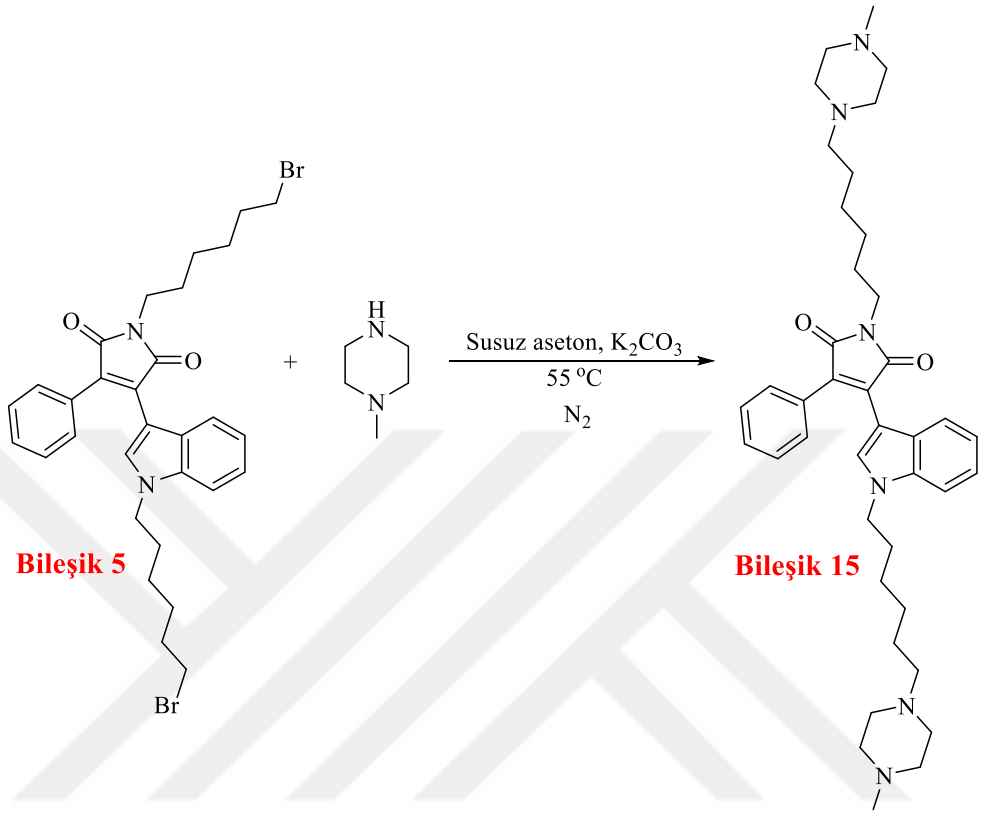


Şekil 5.44 Bileşik **14**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.45 Bileşik **14**'ün HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.16 1-(6-(4-Metilpiperazin-1-il)hekzil)-3-(1-(6-(4-metilpiperazin-1-il)hekzil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 15, $C_{40}H_{56}N_6O_2$)



Tek boyunlu bir balona 0.17 mmol (102 mg) Bileşik **5** tartılarak alındı. 10 mL Kuru asetonda çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine 0.68 mmol (68.11 mg) *N*-metil piperazin ve kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 2 mmol (276 mg) K_2CO_3 eklendi. Reaksiyonun 55°C sıcaklıkta 18 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılarak karışması sağlandı. TLC kontrolü sonrasında çözücü uzaklaştırıldı ve etil asetat-tuzlu su karışımı ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Na_2SO_4 üzerinden kurutulduktan sonra organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntıya kolon kromatografisi (3:1 kloroform/metanol; R_f: 0.16) uygulanarak saflaştırma işlemi gerçekleştirildi.

Turuncu yağımsı madde; %75 verim.

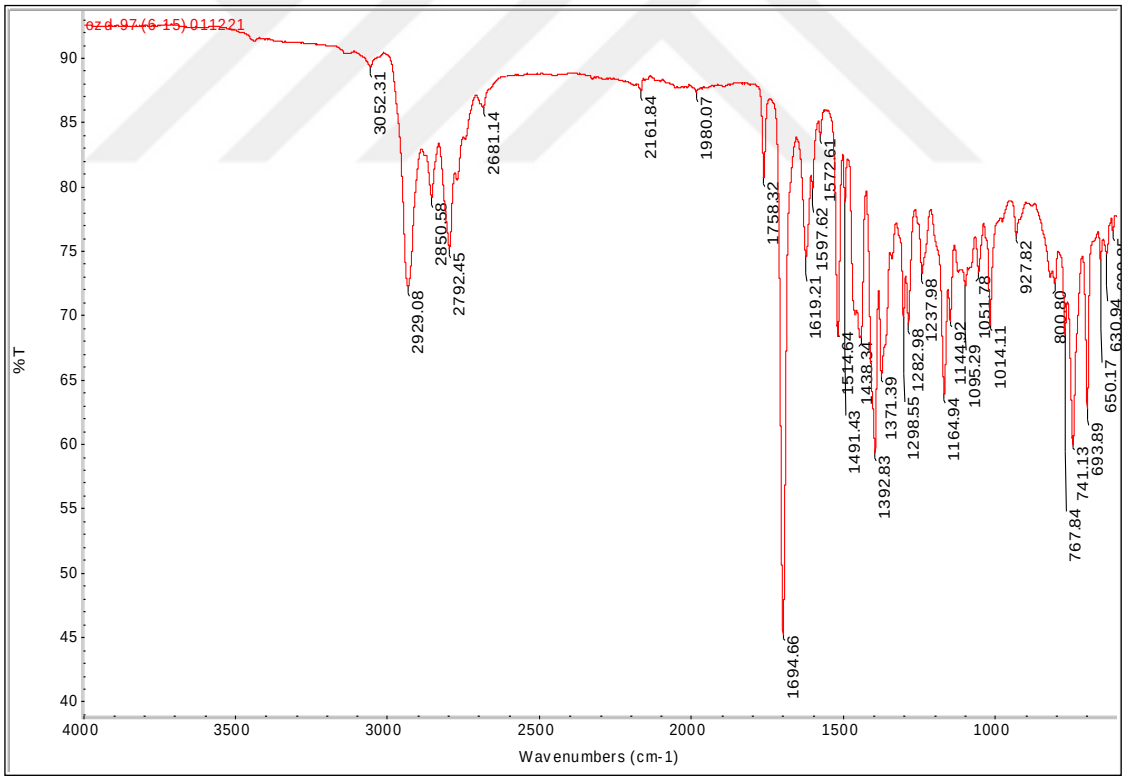
5.1.16.1 Bileşik 15'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): ν= 3052 (aromatik =C-H gerilimi), 2929, 2850 ve 2792 (alifatik C-H gerilimleri), 1694 ve 1619 (C=O gerilimleri), 1514 ve 1491 (aromatik, C=C gerilimleri), 1438, 1392 ve 1371 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1298 (C-N salınımı), 1051 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

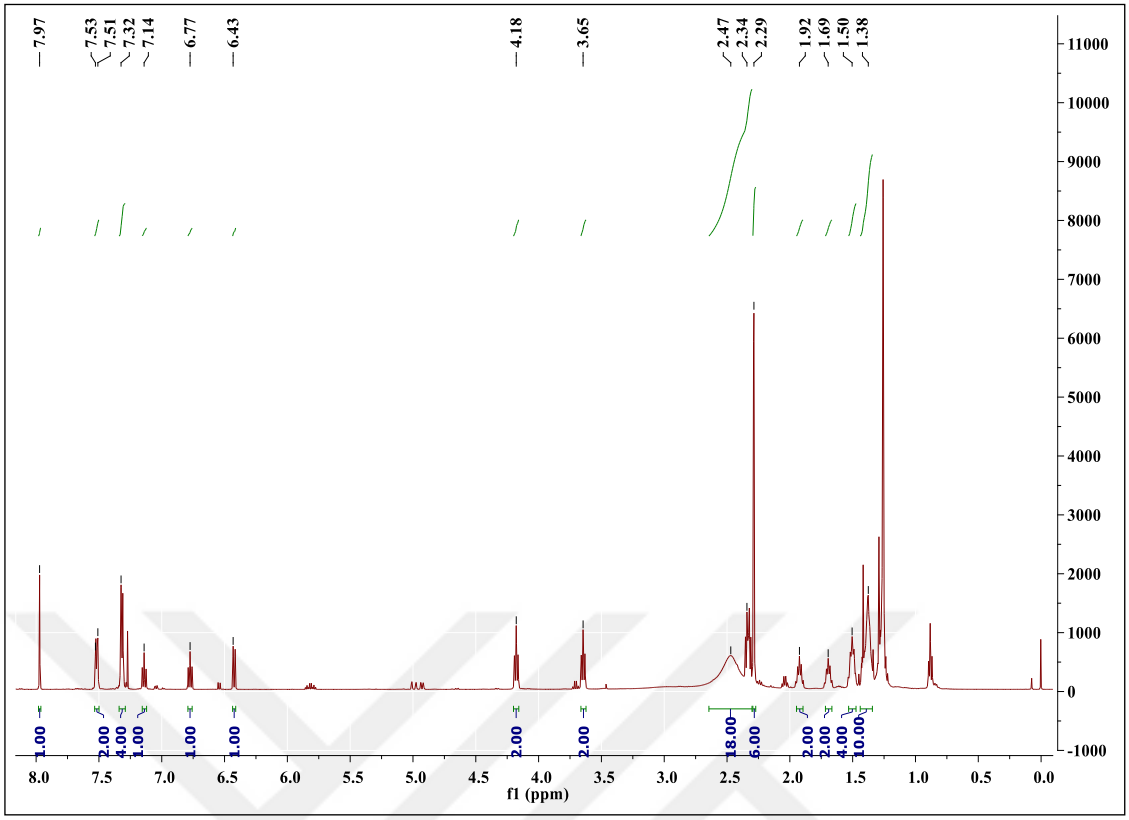
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.44–1.33 (m, 10H, 5xCH_2), 1.50 (dt, *J*=13.6, 6.8 Hz, 4H, 2xCH_2), 1.69 (dt, *J*=14.5, 7.3 Hz, 2H, CH_2), 1.92 (dt, *J*=14.6, 7.3 Hz, 2H, *N*-CH_2), 2.29 (d, *J*=1.6 Hz, 6H, 2x *N*-CH_3), 2.65–2.30 (m, 18H, 9x*N*-CH_2), 3.65 (t, *J*=7.2 Hz, 2H, *N*-CH_2), 4.18 (t, *J*=7.2 Hz, 2H, *N*-CH_2), 6.42 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, ArH), 6.77 (t, =7.6 Hz, 1H, ArH), 7.14 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.31 (dd, *J*=8.1, 3.2 Hz, 4H, ArH), 7.53–7.50 (m, 2H, ArH), 7.97 (s, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 26.7 (2xCH_2), 26.8 (2xCH_2), 27.1 (CH_2), 27.2 (CH_2), 28.6 (2xCH_2), 29.7 (*N*-CH_2), 29.8 (*N*-CH_2), 38.2 (*N*-CH_2), 45.9 (2xCH_3), 46.9 (*N*-CH_2), 53.1 (2x*N*-CH_2), 55.0 (4x*N*-CH_2), 58.4 (*N*-CH_2), 58.5 (*N*-CH_2), 104.5 (Cq), 109.7 (CAr), 120.4 (CAr), 122.3 (CAr), 122.7 (CAr), 125.0 (Cq), 128.0 (Cq), 128.1 (2xCAr), 128.8 (CAr), 129.9 (2xCAr), 130.7 (Cq), 131.5 (Cq), 133.5 (Cq), 136.6 (Cq), 171.9 (C=O), 172.0 (C=O) ppm.

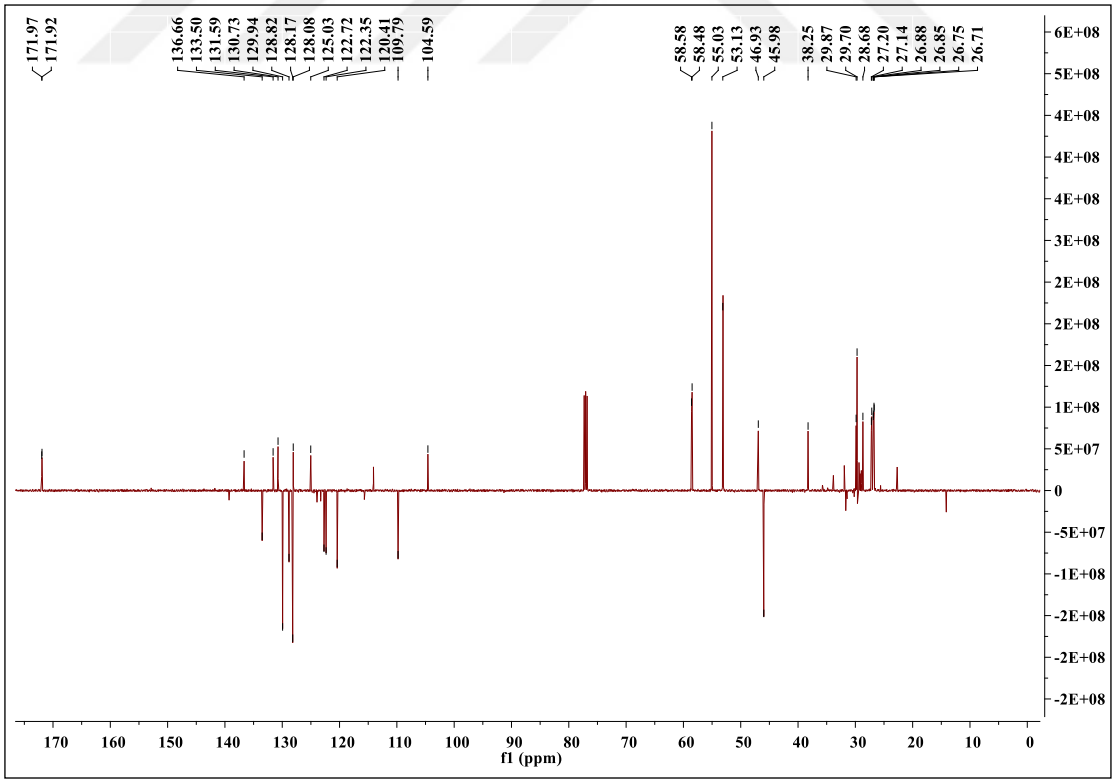
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $[C_{40}H_{56}N_6O_2]+H)^+$ için hesaplanan 653.4538, bulunan 653.4533.



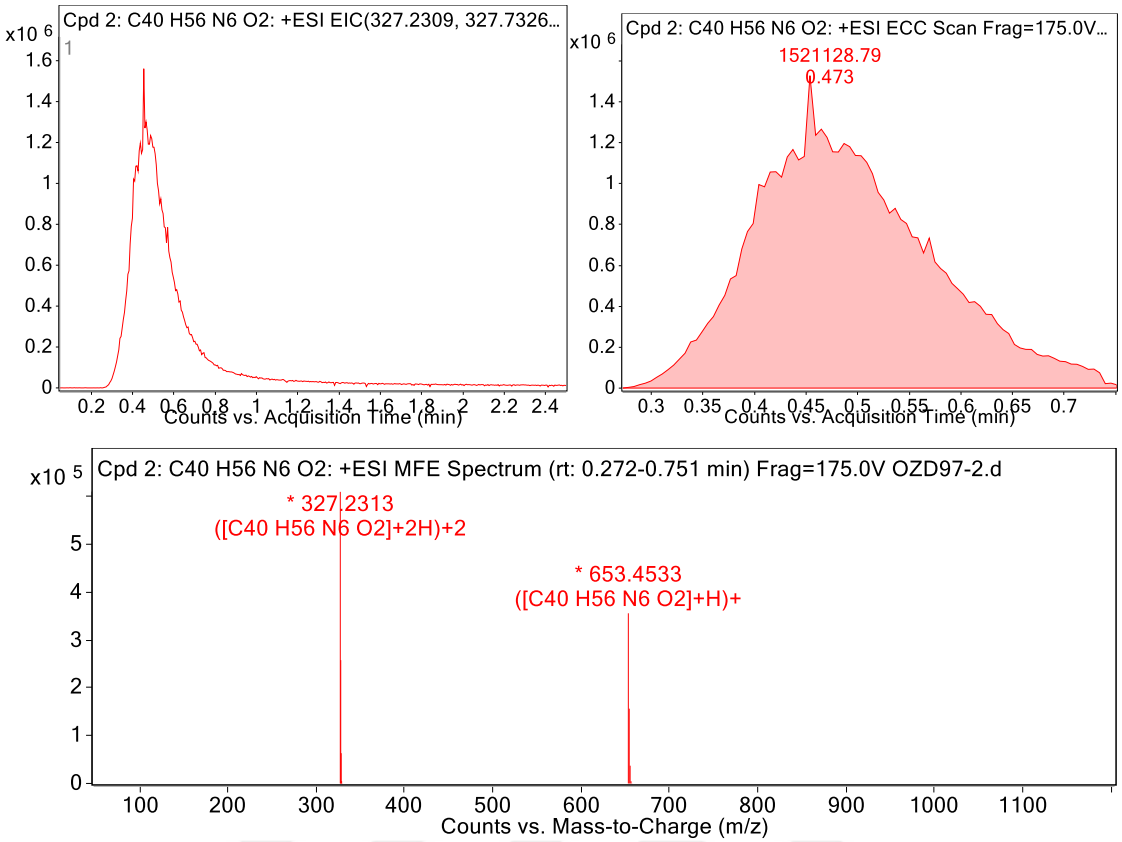
Şekil 5.46 Bileşik **15**'in FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.47 Bileşik **15**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

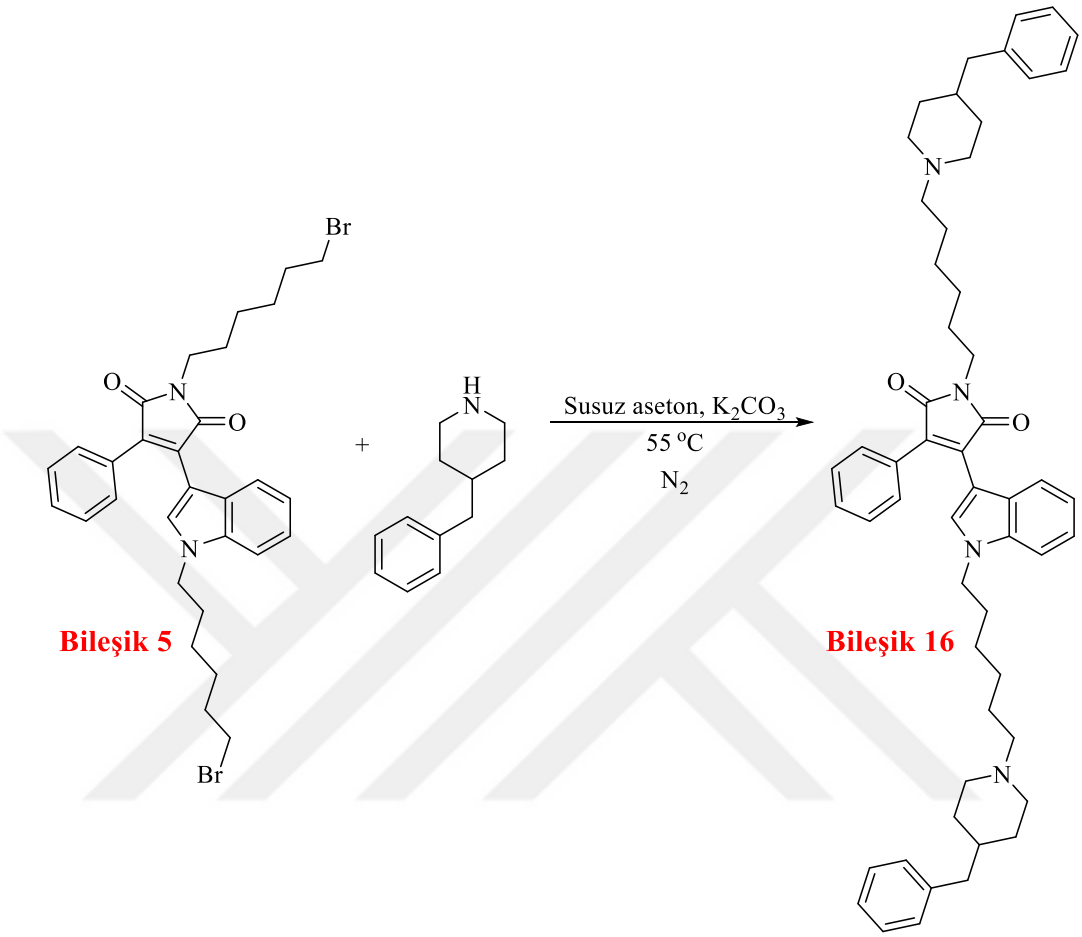


Şekil 5.48 Bileşik **15**'in APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.49 Bileşik **15**'in HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.17 1-(6-(4-Benzilpiperidin-1-il)hekzil)-3-(1-(6-(4-benzilpiperidin-1-il)hekzil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 16, $C_{54}H_{66}N_4O_2$)



Tek boyunlu bir balona 0.24 mmol (140 mg) Bileşik **5** tartılarak alındı. 10 mL Kuru asetonda çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine 1.14 mmol (200 mg) 4-benzil piperidin ve kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 3.6 mmol (496 mg) K_2CO_3 eklendi. Reaksiyonun 55°C sıcaklıkta 18 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılarak karışması sağlandı. TLC kontrolü sonrasında çözücü uzaklaştırıldı ve etil asetat-tuzlu su karışımı ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Na_2SO_4 üzerinden kurutulduktan sonra organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntıya kolon kromatografisi (1:1:1 etil asetat/*n*-hekzan/metanol; R_f: 0.18) uygulanarak saflaştırma işlemi gerçekleştirildi.

Turuncu yağımsı madde; %84 verim.

5.1.17.1 Bileşik 16'ya Ait Spektral Veriler

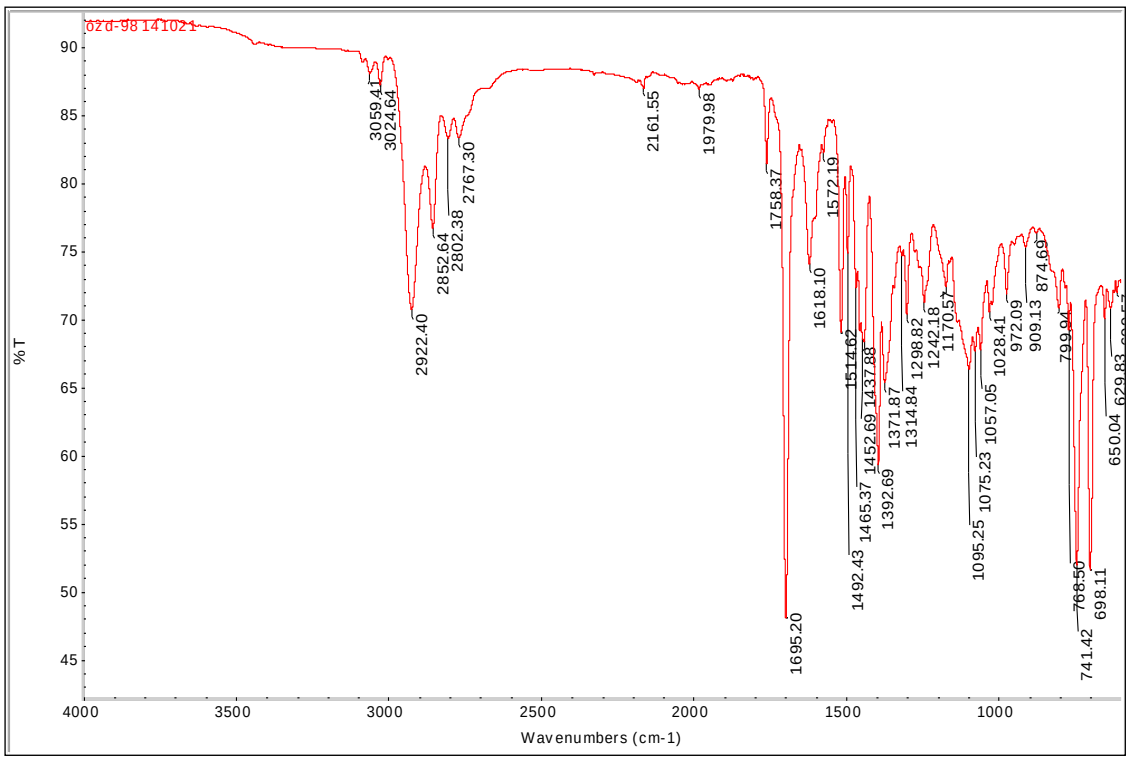
FTIR (ATR): **ν**= 3059 ve 3024 (aromatik =C-H gerilimleri), 2922, 2852, 2802 ve 2767 (alifatik C-H gerilimleri), 1695 ve 1618 (C=O gerilimleri), 1514 ve 1492 (aromatik, C=C

gerilimleri), 1452, 1392 ve 1371 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1298 (C-N salınımı) cm^{-1}.

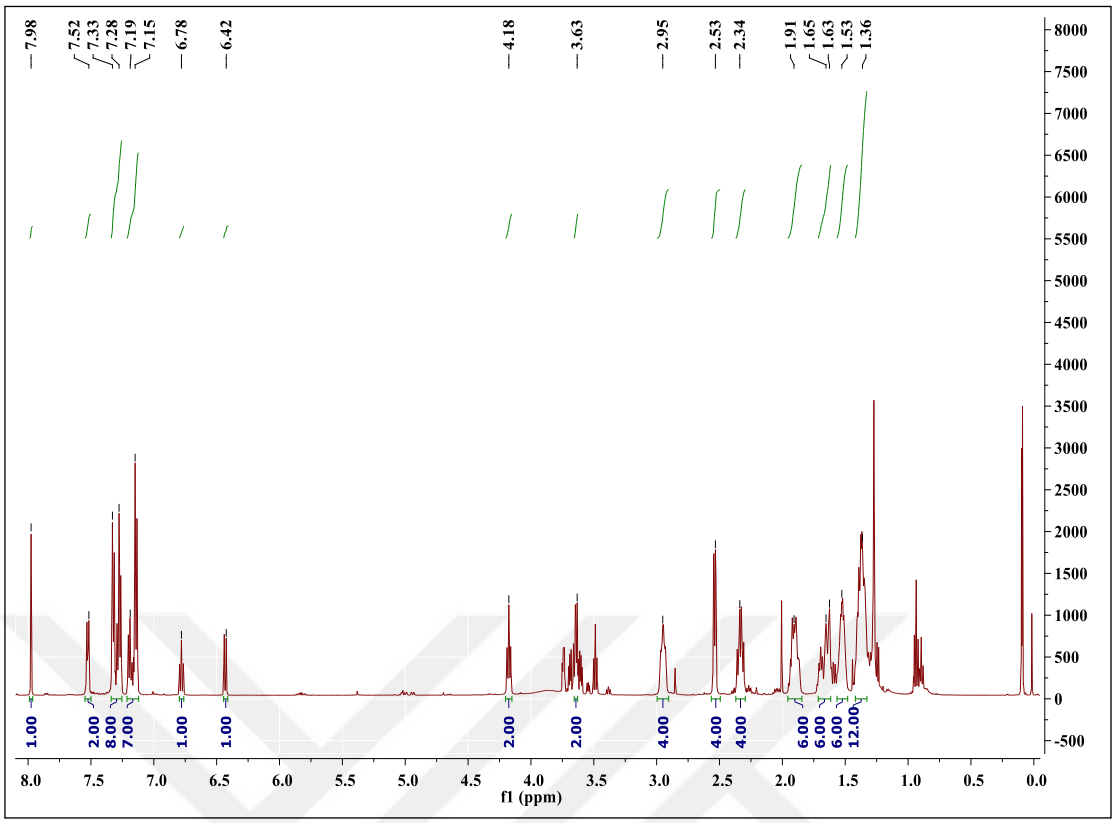
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.42–1.33 (m, 12H, 6xCH_2), 1.57–1.48 (m, 6H, 3xCH_2), 1.71–1.62 (m, 6H, 3xCH_2), 1.96–1.84 (m, 6H, 2xCH ve 2x*N*-CH_2), 2.33 (dd, *J*=15.8, 10.1 Hz, 4H, 2x *N*-CH_2), 2.54 (d, *J*=7.0 Hz, 4H, 2xCH_2), 3.00–2.90 (m, 4H, 2x*N*-CH_2), 3.64 (d, *J*=7.2 Hz, 2H, *N*-CH_2), 4.18 (t, *J*=7.2 Hz, 2H, *N*-CH_2), 6.43 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, ArH), 6.78 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.21–7.12 (m, 7H, ArH), 7.34–7.25 (m, 8H, ArH), 7.53 (d, *J*=9.6 Hz, 2H, ArH), 7.98 (s, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 25.5 (CH_2), 25.6 (CH_2), 25.8 (CH_2), 26.1 (CH_2), 26.2 (CH_2), 27.6 (CH_2), 28.6 (CH_2), 28.8 (CH_2), 30.7 (CH_2), 30.8 (CH_2), 36.8 (2xCH), 37.2 (CH_2), 42.0 (CH_2), 45.8 (*N*-CH_2), 52.6 (*N*-CH_2), 52.7 (*N*-CH_2), 57.6 (*N*-CH_2), 57.7 (*N*-CH_2), 60.7 (*N*-CH_2), 69.1 (*N*-CH_2), 69.4 (*N*-CH_2), 70.2 (*N*-CH_2), 71.5 (*N*-CH_2), 103.5 (Cq), 108.7 (CAr), 119.3 (CAr), 121.3 (CAr), 121.6 (CAr), 123.9 (Cq), 124.7 (2xCAr), 127.0 (Cq), 127.1 (5xCAr), 127.7 (CAr), 128.0 (5xCAr), 128.9 (2xCAr), 129.7 (2xCq), 130.5 (Cq), 132.4 (CAr), 135.6 (2xCq), 170.8 (C=O), 170.9 (C=O) ppm.

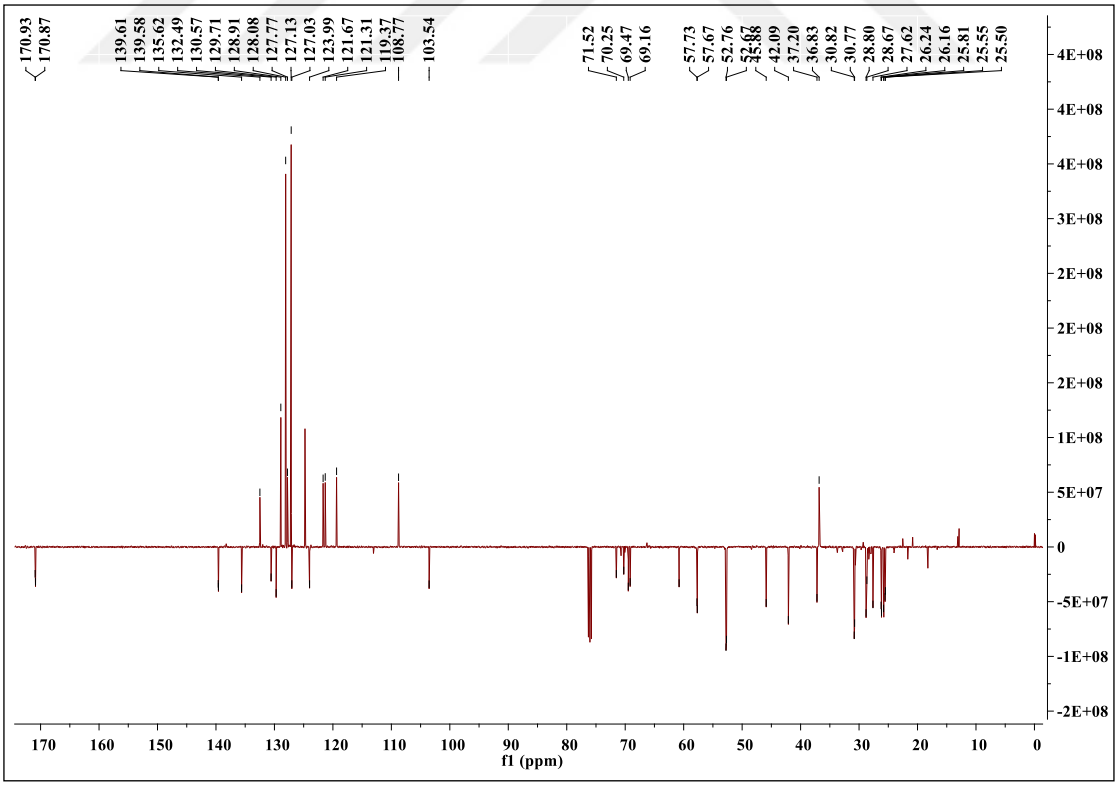
HRMS (ESI-QTOF): m/z: ($[C_{54}H_{66}N_4O_2]$+2H)$^{+2}$ için hesaplanan 402.2666, bulunan 402.2658.



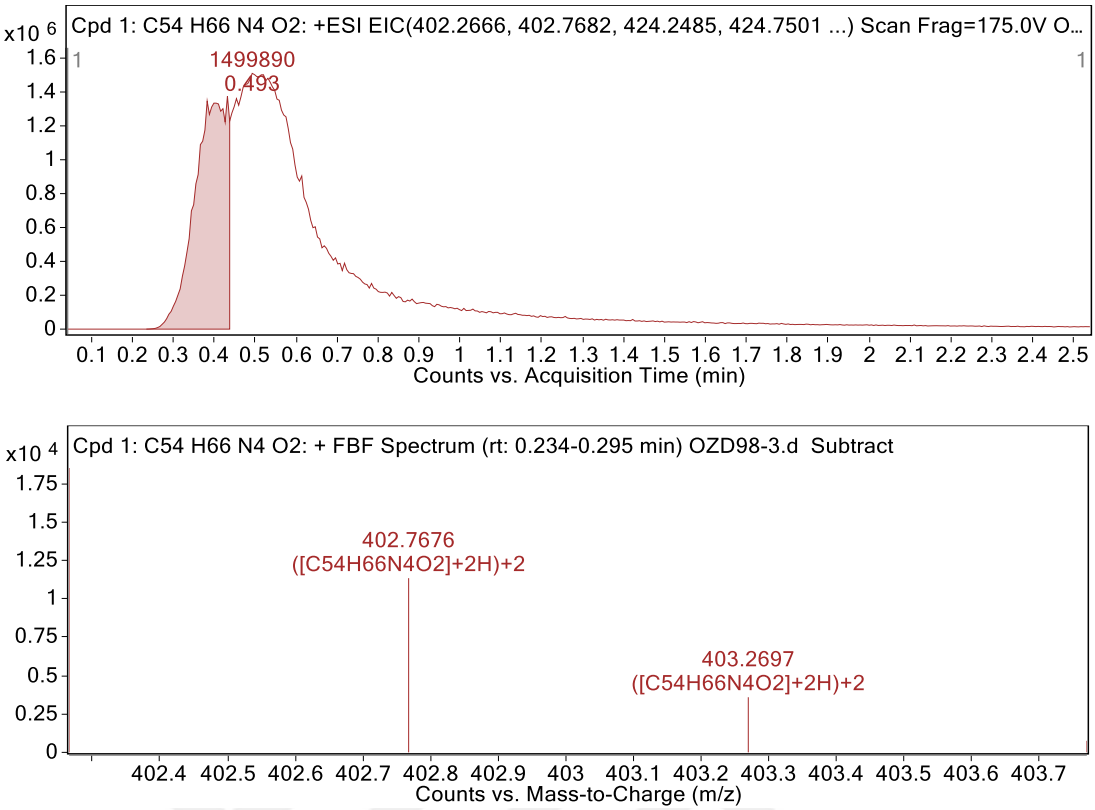
Şekil 5.50 Bileşik **16**'nın FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.51 Bileşik **16**'nın ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

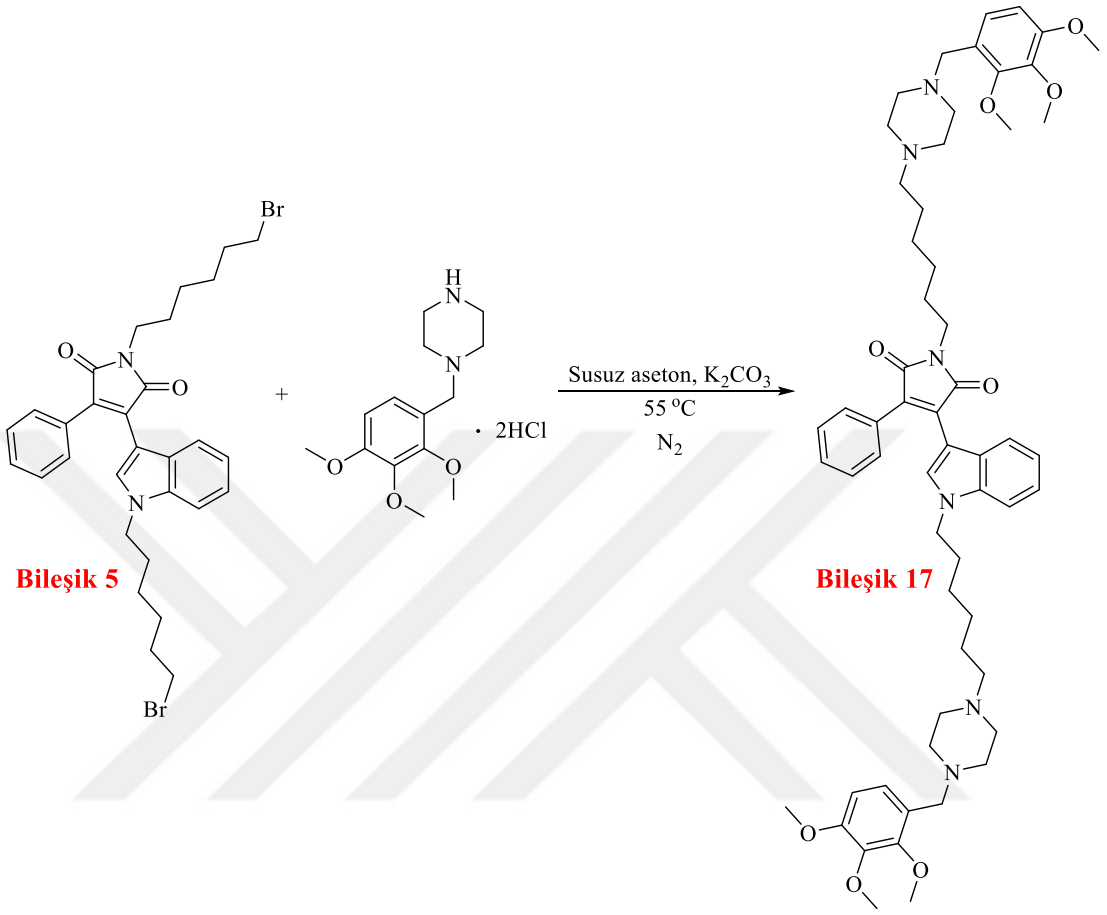


Şekil 5.52 Bileşik **16**'nın APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.53 Bileşik **16**'nın HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.18 3-Fenil-1-(6-(4-(2,3,4-trimetoksibenzil)piperazin-1-il)hekzil)-4-(1-(6-(4-(2,3,4-trimetoksibenzil)piperazin-1-il)hekzil)-1*H*-indol-3-il)-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 17, $C_{58}H_{76}N_6O_8$)



Tek boyunlu bir balona 0.21 mmol (132 mg) Bileşik **5** tartılarak alındı. Azot atmosferinde 10 mL kuru asetonda çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine 1 mmol (339.3 mg) trimetazidin dihidroklorid ve kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 2.1 mmol (290 mg) K_2CO_3 eklendi. Reaksiyonun 55°C sıcaklıkta 18 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılarak karışması sağlandı. TLC kontrolü sonrasında çözücü uzaklaştırıldı ve etil asetat-tuzlu su karışımı ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Na_2SO_4 üzerinden kurutulduktan sonra organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntıya kolon kromatografisi (1:1:1 etil asetat/*n*-hekzan/metanol; R_f: 0.42) uygulanarak saflaştırma işlemi gerçekleştirildi.

Turuncu yağımsı madde; %76 verim.

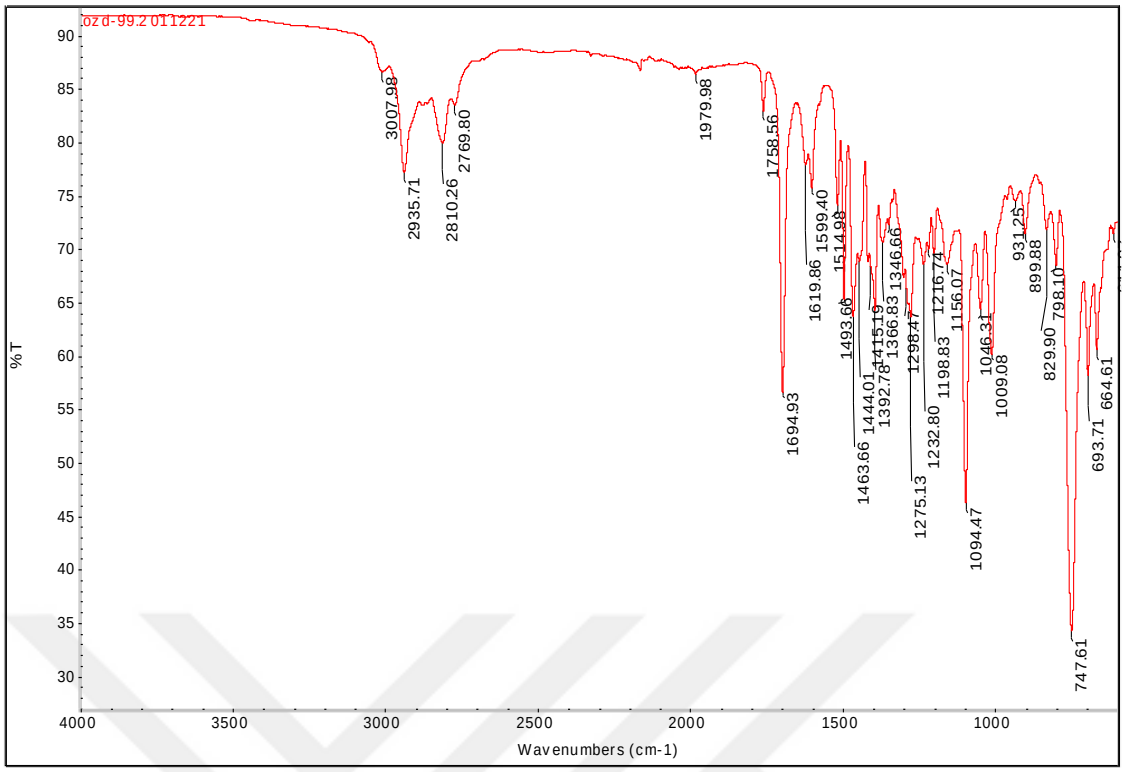
5.1.18.1 Bileşik 17'ye Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): ν= 3007 (aromatik =C-H gerilimi), 2935, 2810 ve 2769 (alifatik C-H gerilimleri), 1694, 1619 ve 1599 (C=O gerilimleri), 1514 ve 1493 (aromatik, C=C gerilimleri), 1463, 1444 ve 1392 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1298 (C-N salınımı), 1046 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

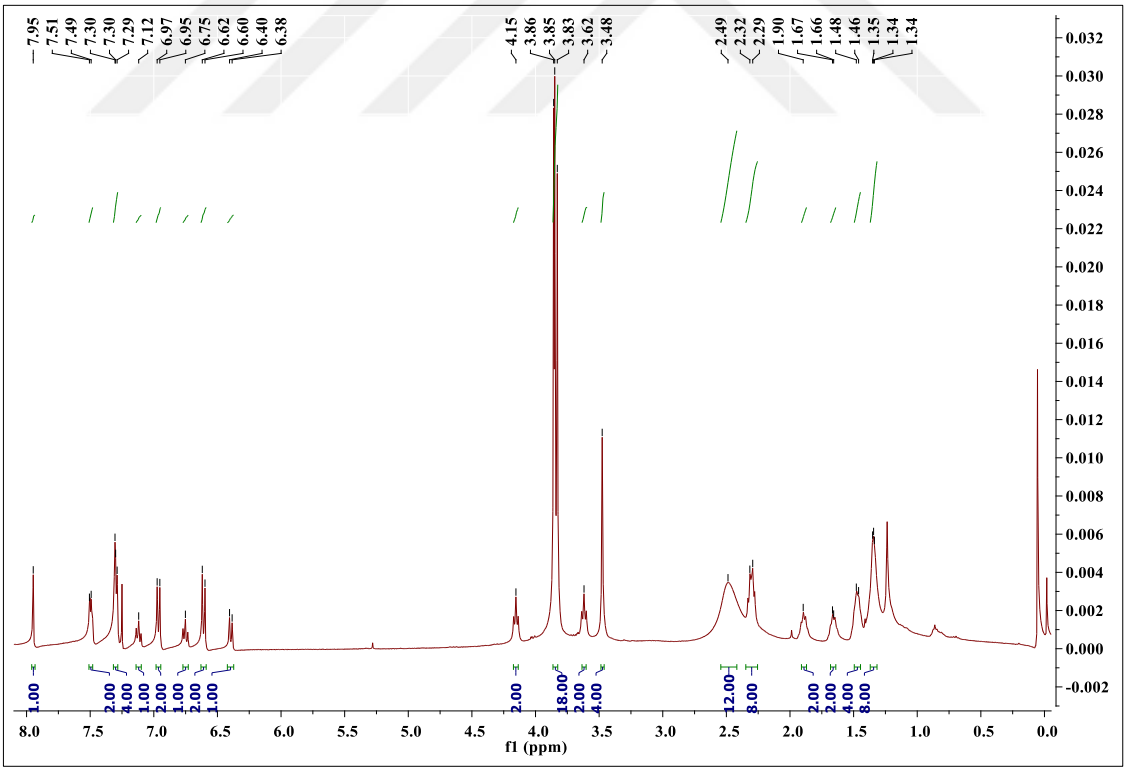
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.35 (dd, *J* = 9.3, 6.1 Hz, 8H, 4xCH_2), 1.47 (m, 4H, 2xCH_2), 1.66 (dt, *J*=16.4, 8.5 Hz, 2H, CH_2), 1.94–1.85 (m, 2H, CH_2), 2.30 (dd, *J*=15.0, 6.4 Hz, 8H, 4x*N*-CH_2), 2.48 (s, 12H, 6x*N*-CH_2), 3.48 (s, 4H, 2x*N*-CH_2), 3.64-3.59 (t, *J*=7.1 Hz, 2H, *N*-CH_2), 3.88–3.82 (m, 18H, 6x*O*-CH_3), 4.15 (t, *J*=7.2 Hz, 2H, *N*-CH_2), 6.39 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, ArH), 6.61 (d, *J*=8.5 Hz, 2H, ArH), 6.75 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 6.96 (d, *J*=8.4 Hz, 2H, ArH), 7.12 (t, *J*=7.48 Hz, 1H, ArH), 7.30 (dd, *J*=7.2, 5.3, 1.4 Hz, 4H, ArH), 7.53 – 7.46 (m, 2H, ArH), 7.95 (s, 1H, ArH) ppm.

^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 26.7 (CH_2), 26.9 (CH_2), 27.0 (CH_2), 27.2 (CH_2), 27.3 (CH_2), 28.7 (CH_2), 29.7 (CH_2) 29.9 (CH_2), 38.3 (*N*-CH_2), 47.0 (*N*-CH_2), 52.7 (4x*N*-CH_2), 53.3 (4x*N*-CH_2), 53.4 (2x*O*-CH_3), 56.0 (*N*-CH_2), 56.5 (*N*-CH_2), 58.6 (*N*-CH_2), 58.7 (*N*-CH_2), 60.8 (2x*O*-CH_3), 61.2 (2x*O*-CH_3), 104.6 (Cq), 106.9 (2xCAr), 109.8 (CAr), 120.4 (CAr), 122.4 (CAr), 122.7 (CAr), 123.8 (Cq), 125.0 (Cq), 125.3 (2xCAr), 128.1 (Cq), 128.2 (2xCAr), 128.9 (CAr), 130.0 (2xCAr), 130.7 (2xCq), 131.6 (Cq), 133.6 (CAr), 136.7 (Cq), 142.3 (2xCq), 152.7 (2xCq), 152.9 (2xCq), 172.0 (C=O), 172.1 (C=O) ppm.

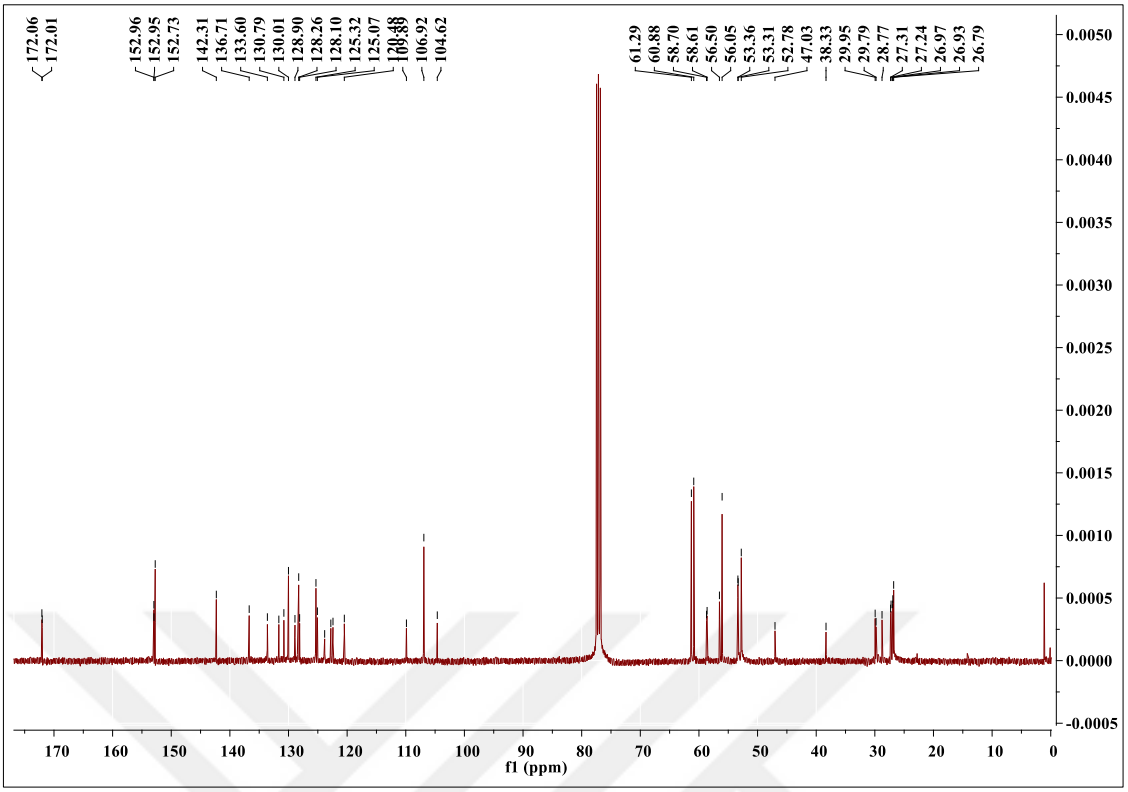
HRMS (ESI-QTOF): m/z: ($[C_{58}H_{76}N_6O_8]+2H)^{+2}$ için hesaplanan 493.2935, bulunan 493.2945.



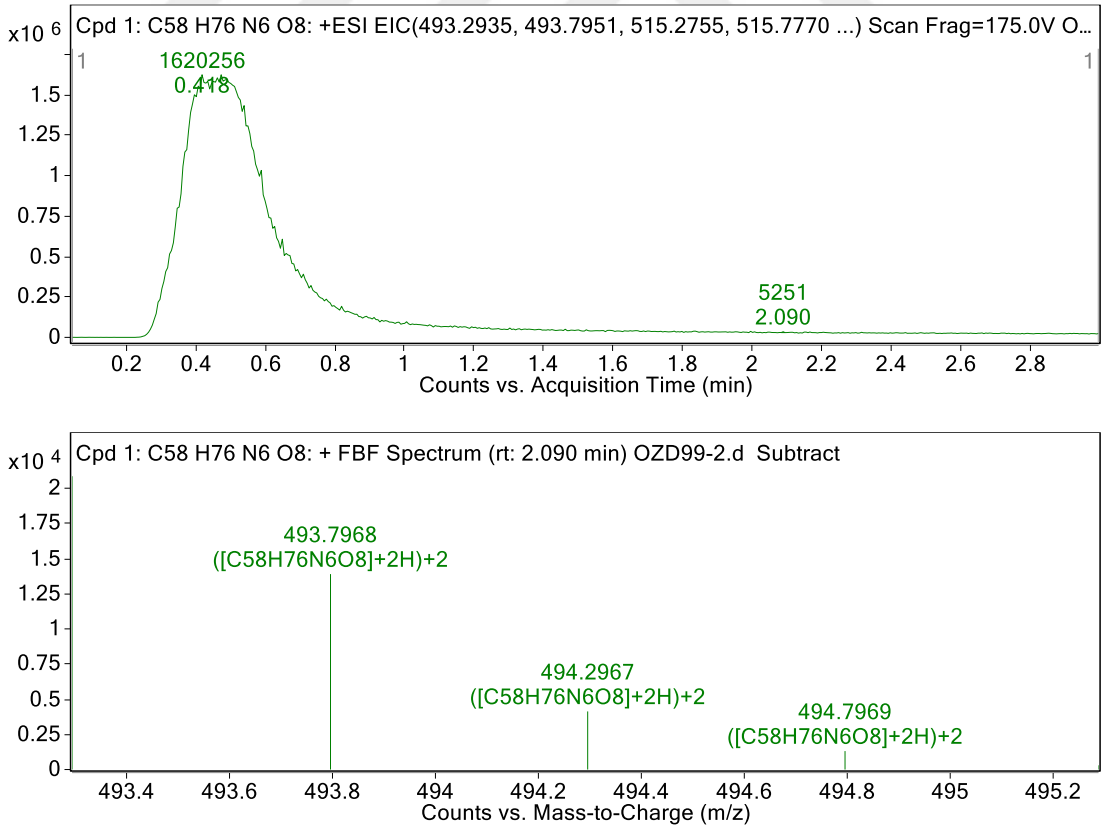
Şekil 5.54 Bileşik **17**'nin FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.55 Bileşik **17**'nin ^{1}H NMR spektrumu ($CDCl_3$)

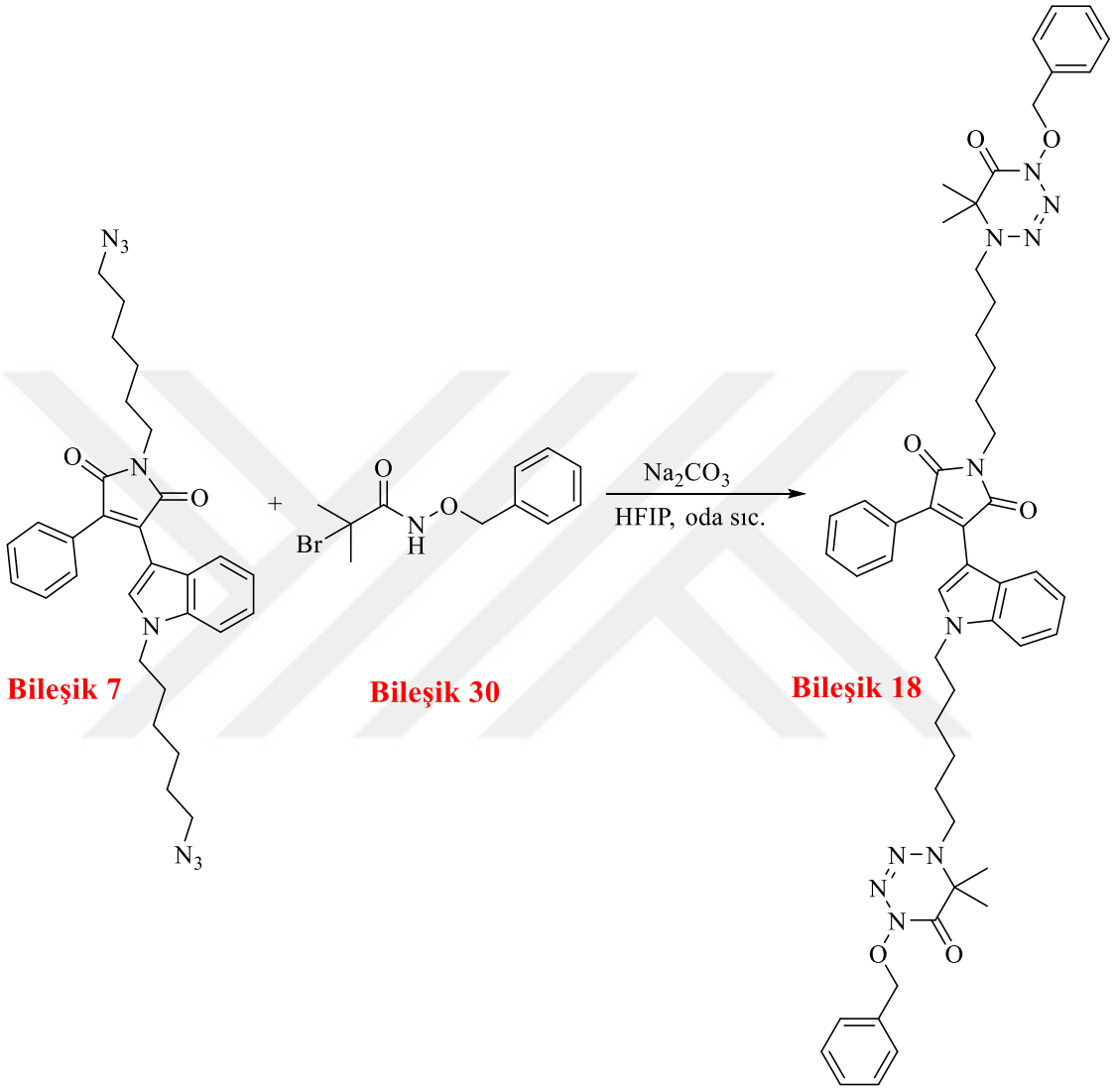


Şekil 5.56 Bileşik **17**'nin ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.57 Bileşik **17**'nin HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.19 1-(6-(4-(Benziloksi)-6,6-dimetil-5-okso-5,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-1(4*H*)-il)hekzil)-3-(1-(6-(4-(benziloksi)-6,6-dimetil-5-okso-5,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-1(4*H*)-il)hekzil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 18, $C_{52}H_{60}N_{10}O_6$)



***N*-(Benziloksi)-2-bromo-2-metilpropanamid (Bileşik 30) Sentezi**: 2.5 mmol (399.03 mg) *O*-benzilhidroksilamin hidroklorür çift boyunlu bir balona alındı. Balon içerisine 2.5 mmol (252.95 mg) susuz TEA eklendikten sonra çözecek kadar susuz CH_2Cl_2 ilave edilerek 0°C'de karışmaya bırakıldı. Bir enjektör yardımıyla 2.5 mmol (574.75 mg) 2-bromoizobutiril bromid damla damla eklendi ve bu sırada beyaz çökelti oluşumu gözlendi. 18 saat sonra TLC kontrolü (1:1 etil asetat/n-hekzan) yapılıp karışıma su ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Kurutma için $MgSO_4$ kullanıldı ve solvnet uçuruldu. Petrol eteri ve eter karışımı yardımıyla yağımsı maddenin çöktürülerek saflaştırılması

sağlandı. Beyaz katı (R_f: 0.2 (3:1 *n*-hekzan/etil asetat) %87 verimle elde edildi, e.n. 88.6-91.1°C. (Zhang vd., 2019).

Elde edilen 2 mmol (544 mg) bileşik **30** ve 1 mmol (534.64 mg) bileşik **7** bir schlenk tüpüne alınır ve üzerine 6 mmol (636 mg) susuz Na_2CO_3 eklenir. schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırılır, ardından tüp azot gazı ile doldurulur. Üzerine bir enjektör yardımıyla 3 mL HFIP çözücüsü eklenerek çözünmesi sağlanır. Reaksiyon azot atmosferi altında 12 saat boyunca karışmaya bırakılır. TLC kontrolü sonrasında reaksiyon karışımı selitten süzülür ve düşük basınç altında çözücü uzaklaştırılır. Kalıntı kolon kromatografisi (1:2 etil asetat/*n*-hekzan; R_f: 0.18) uygulanarak saflaştırılır.

Turuncu yağımsı madde; %48 verim.

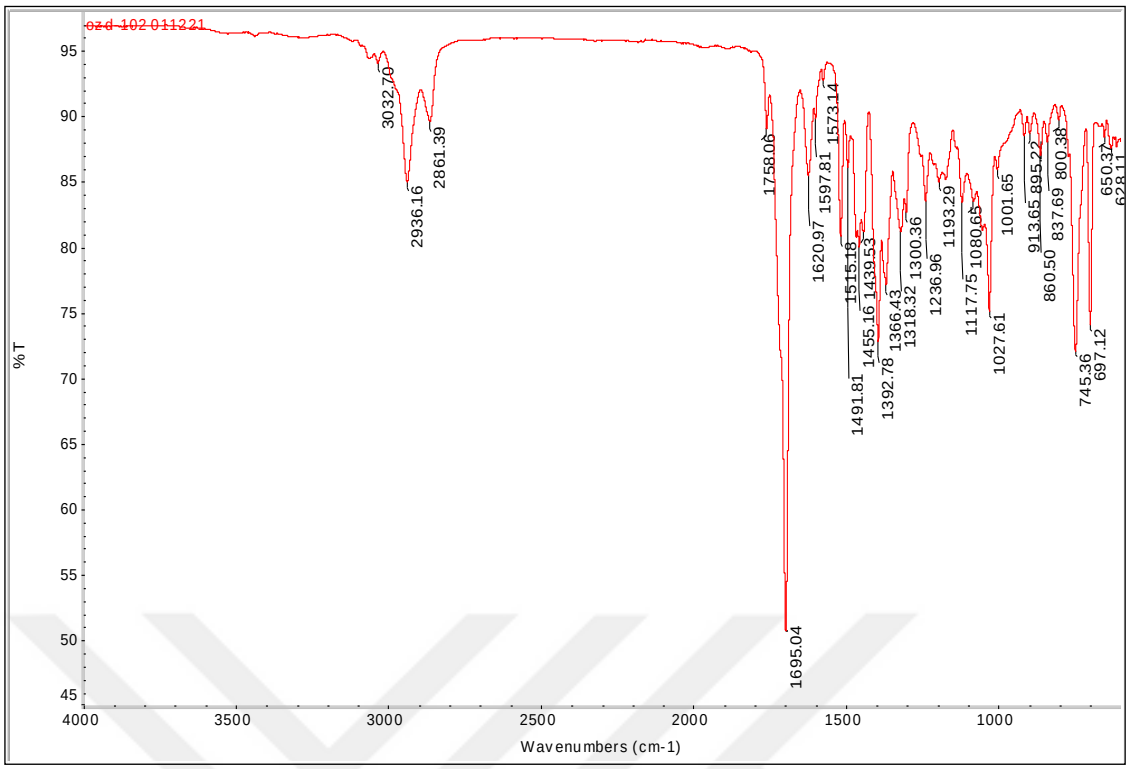
5.1.19.1 Bileşik 18'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): *ν*= 3032 (aromatik, =C-H gerilimi), 2936 ve 2861 (alifatik, C-H gerilimleri), 1695 ve 1620 (C=O gerilimleri), 1515 ve 1491 (aromatik, C=C gerilimi), 1392 ve 1366 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1236 (C-N salınımı), 1080 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

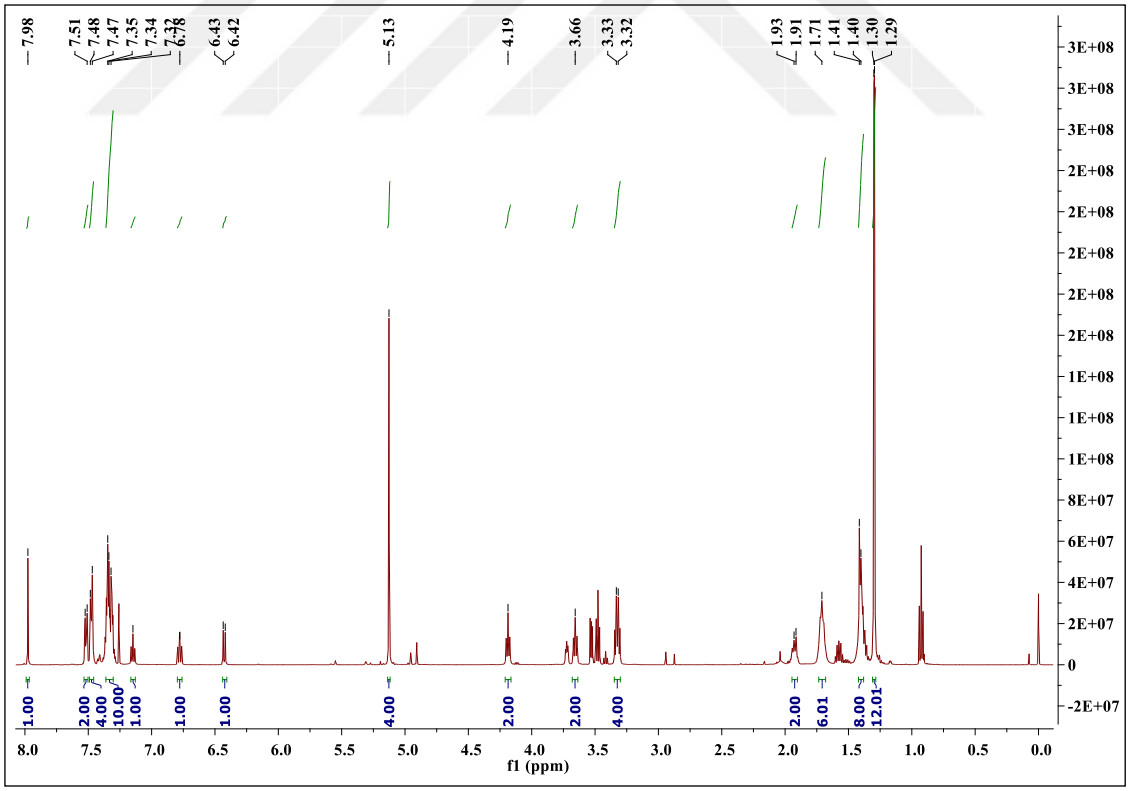
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.30 (d, *J* = 2.6 Hz, 12H, 4xCH_3), 1.40 (m, 8H, 4xCH_2), 1.70 (m, 6H, 3xCH_2), 1.96–1.89 (m, 2H, CH_2), 3.32 (dd, *J*=13.9, 6.5 Hz, 4H, 2x*N*-CH_2), 3.66 (t, *J*=7.1 Hz, 2H, *N*-CH_2), 4.19 (t, *J*=7.1 Hz, 2H, *N*-CH_2), 5.13 (s, 4H, 2x*O*-CH_2), 6.43 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, ArH), 6.78 (t, *J*=7.2 Hz, 1H, ArH), 7.15 (t, *J*=7.7 Hz, 1H, ArH), 7.37 – 7.30 (m, 10H, ArH), 7.47 (dd, *J*=7.3, 2.0 Hz, 4H, ArH), 7.52 (dd, *J*=7.4, 2.2 Hz, 2H, ArH), 7.98 (s, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 20.5 (4xCH_3), 26.2 (CH_2), 26.5 (CH_2), 26.6 (CH_2), 28.6 (CH_2), 29.5 (CH_2), 29.6 (CH_2), 29.8 (CH_2), 38.1 (CH_2), 46.8 (*N*-CH_2), 48.8 (*N*-CH_2), 59.8 (*N*-CH_2), 61.8 (*N*-CH_2), 71.1 (*O*-CH_2), 71.6 (*O*-CH_2), 78.4 (2xCq), 109.7 (CAr), 120.5 (CAr), 122.4 (CAr), 122.7 (CAr), 125.0 (Cq), 125.8 (Cq), 128.2 (2xCAr), 128.4 (4xCAr), 128.9 (CAr), 129.0 (2xCAr), 129.7 (2xCAr), 129.8 (2xCAr), 129.9 (2xCAr), 130.6 (Cq), 131.5 (Cq), 133.5 (CAr), 133.8 (Cq), 133.9 (2xCq), 136.6 (Cq), 162.0 (C=O), 162.1 (C=O), 171.9 (C=O), 172.0 (C=O) ppm.

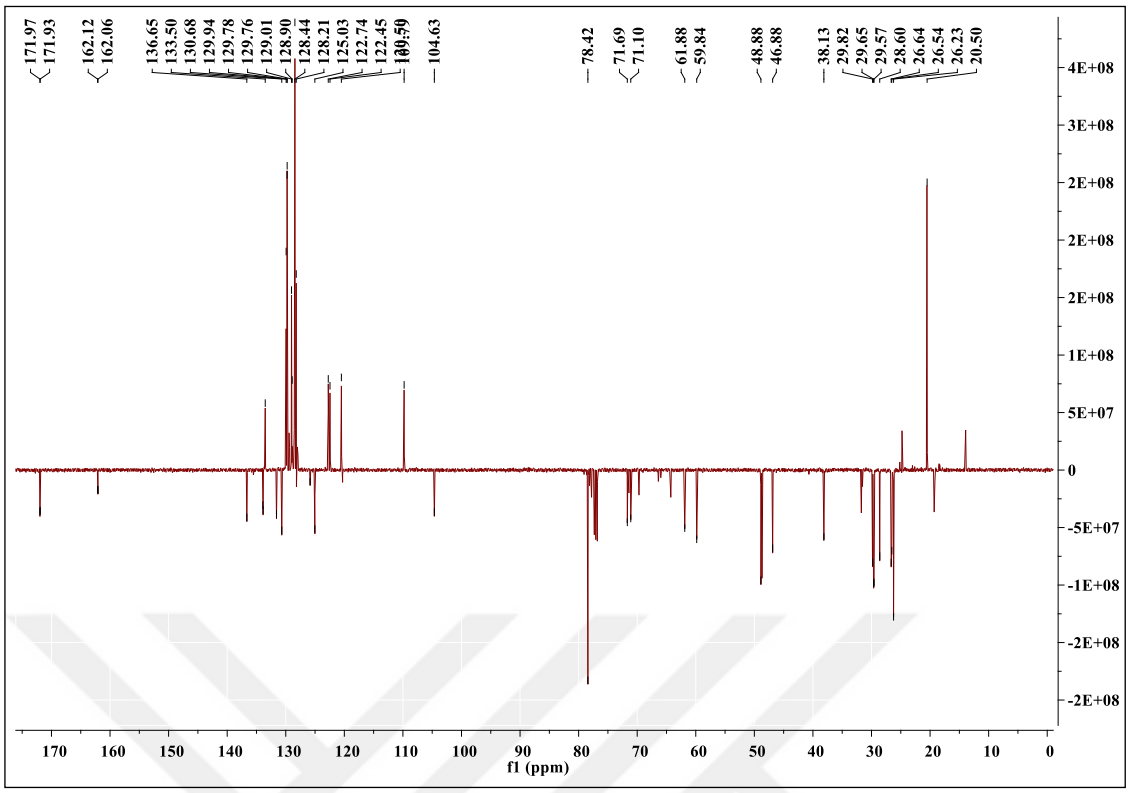
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{52}H_{60}N_{10}O_6]+H)^+$ için hesaplanan 921.4776, bulunan 921.4742.



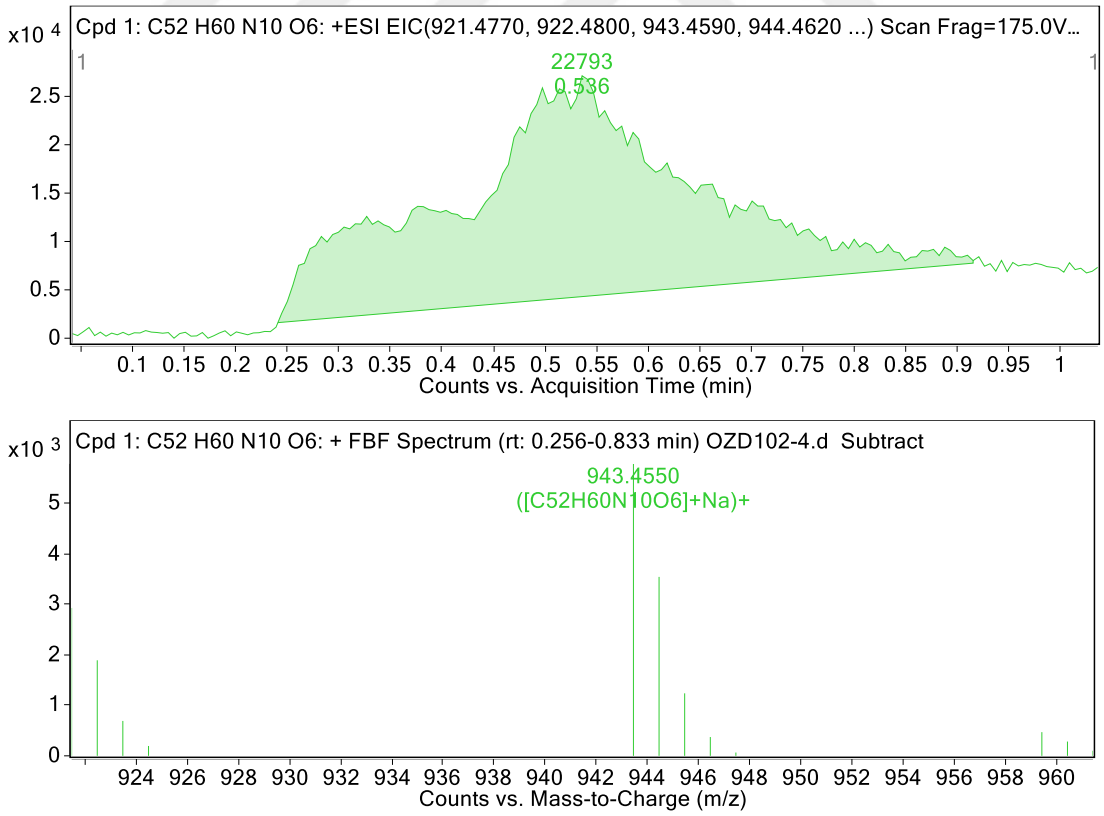
Şekil 5.58 Bileşik **18**'in FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.59 Bileşik **18**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

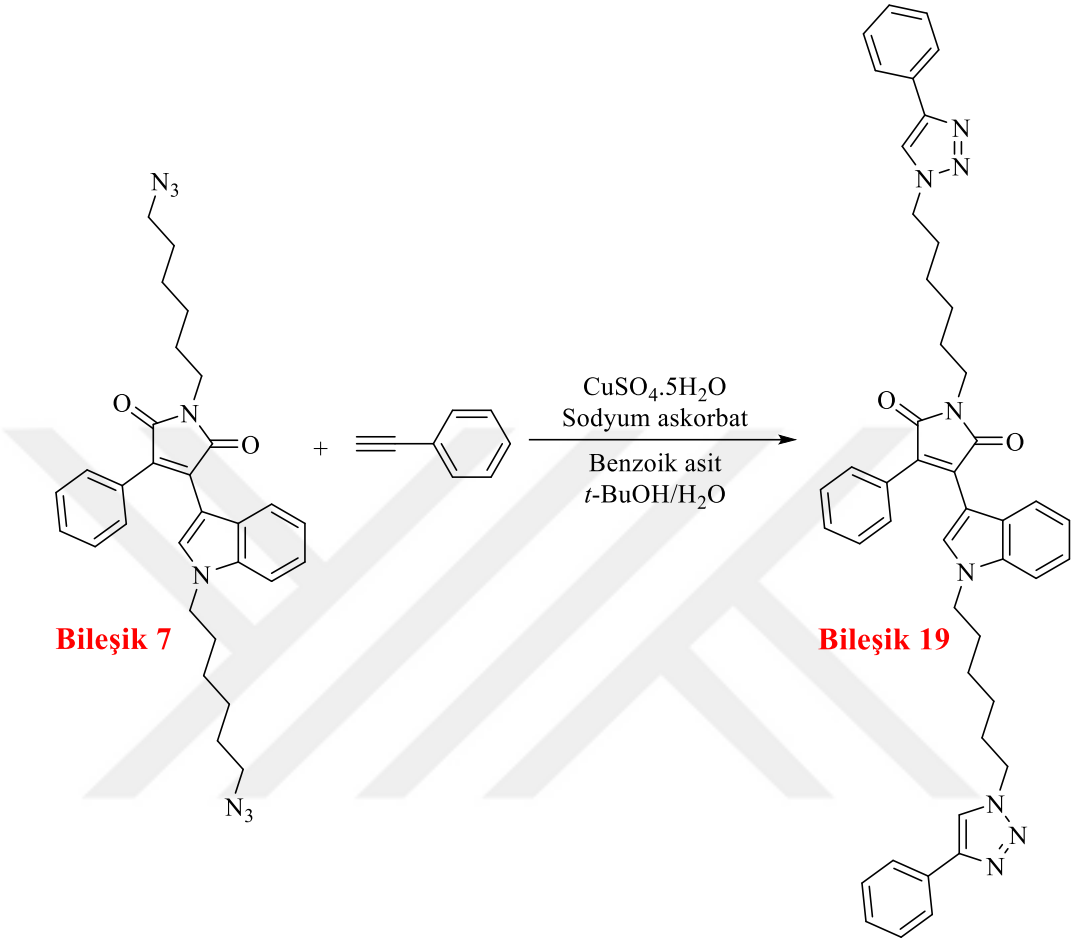


Şekil 5.60 Bileşik **18**'in APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.61 Bileşik **18**'in HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.20 3-Fenil-1-(6-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)hekzil)-4-(1-(6-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)hekzil)-1*H*-indol-3-il)-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 19, $C_{46}H_{46}N_8O_2$)



Tek boyunlu bir balona 0.44 mmol (236 mg) bileşik **7** tartılarak alındı. Üzerine 1 mmol (102.12 mg) fenil asetilen, 0.01 mmol (2.50 mg) $CuSO_4.5H_2O$, 0.02 mmol (3.96 mg) sodyum askorbat, 0.1 mmol (12.14 mg) benzoik asit ve 1:2 (0.4:0.8 mL) *t*-BuOH:H_2O konuldu ve oda sıcaklığında 16 saat karışmaya bırakıldı. TLC kontrolü sonrasında reaksiyon diklorometan-su karışımı ile ile ektrakte edildi. Na_2SO_4 üzerinden kurutulduktan sonra organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (1:2 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.46) yardımıyla saflaştırma işlemi uygulandı.

Turuncu yağımsı madde; %68 verim.

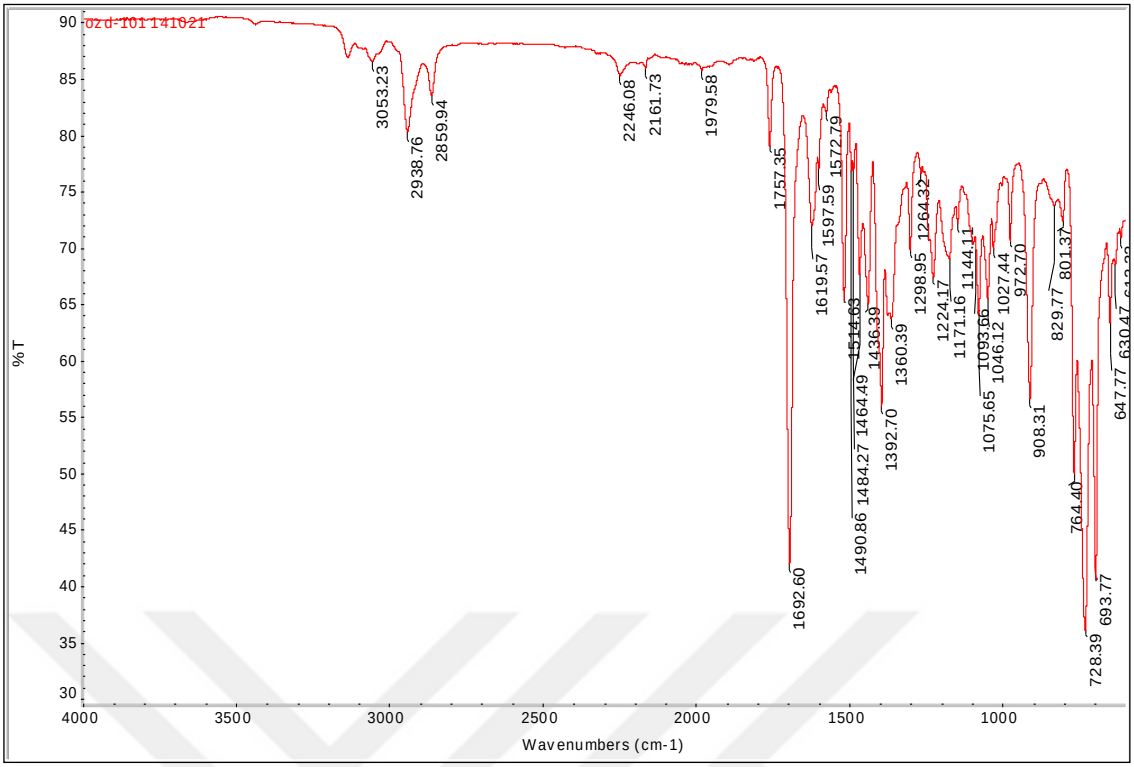
5.1.20.1 Bileşik 19'a Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν**= 3053 (aromatik =C-H gerilimi), 2938 ve 2859 (alifatik C-H gerilimleri), 1692 ve 1619 (C=O gerilimleri), 1514 ve 1490 (aromatik, C=C gerilimleri), 1436, 1392 ve 1360 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1298 (C-N salınımı) cm^{-1}.

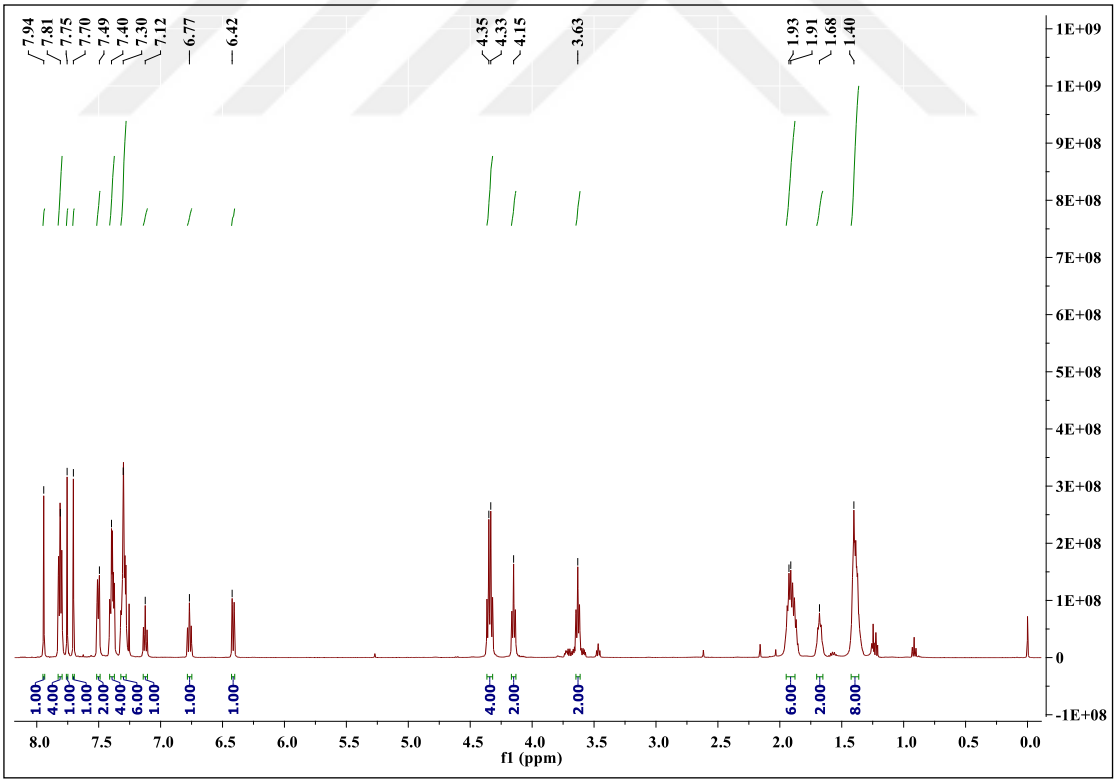
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.39 (m, 8H, 4xCH_2), 1.70–1.65 (m, 2H, CH_2), 1.95–1.88 (m, 6H, 3xCH_2), 3.63 (t, *J*=7.1 Hz, 2H, *N*-CH_2), 4.15 (t, *J*=7.0 Hz, 2H, *N*-CH_2), 4.34 (dd, *J*=15.2, 7.4 Hz, 4H, 2x*N*-CH_2), 6.41 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, ArH), 6.77 (t, *J*=7.4 Hz, 1H, ArH), 7.12 (t, *J*=7.9 Hz, 1H, ArH), 7.32–7.28 (m, 6H, ArH), 7.39 (td, *J*=7.6, 3.5 Hz, 4H, ArH), 7.50 (dd, *J*=7.5, 2.0 Hz, 2H, ArH), 7.70 (s, 1H, ArH), 7.75 (s, 1H, ArH), 7.81 (dd, *J*=7.6, 6.5 Hz, 4H, ArH), 7.94 (s, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 26.0 (2xCH_2), 26.2 (CH_2), 26.3 (CH_2), 28.4 (CH_2), 29.5 (CH_2), 30.0 (CH_2), 30.1 (CH_2), 37.98 (CH_2), 46.7 (CH_2), 50.1 (CH_2), 50.2 (CH_2), 104.6 (Cq), 119.5 (CAr), 120.5 (CAr), 122.4 (CAr), 122.7 (CAr), 125.0 (Cq), 125.6 (3xCAr), 125.7 (2xCAr), 128.0 (CAr), 128.1 (2xCAr), 128.2 (2xCAr), 128.8 (CAr), 128.6 (3xCAr), 128.9 (CAr), 129.9 (2xCAr), 130.6 (2xCq), 130.7 (Cq), 130.8 (Cq), 131.5 (Cq), 133.5 (CAr), 136.6 (Cq), 147.7 (Cq), 147.8 (Cq), 171.9 (C=O), 172.0 (C=O) ppm.

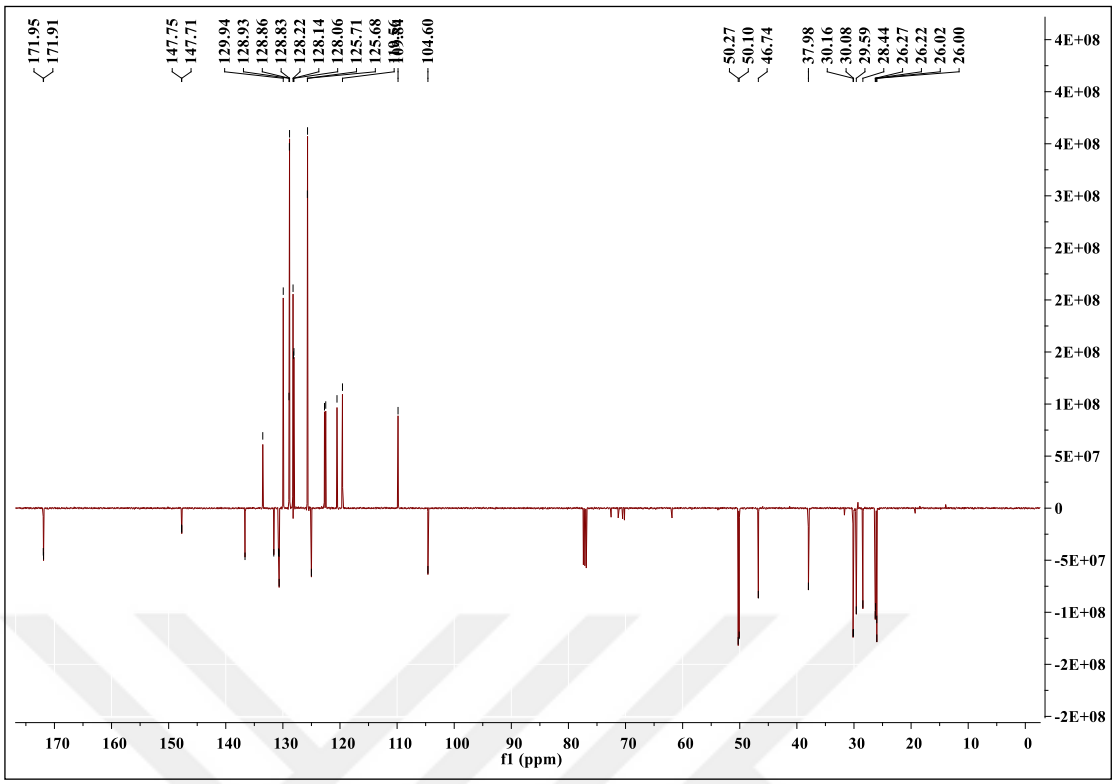
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{46}H_{46}N_8O_2]+H)^+$ için hesaplanan 743.3822, bulunan 743.3817.



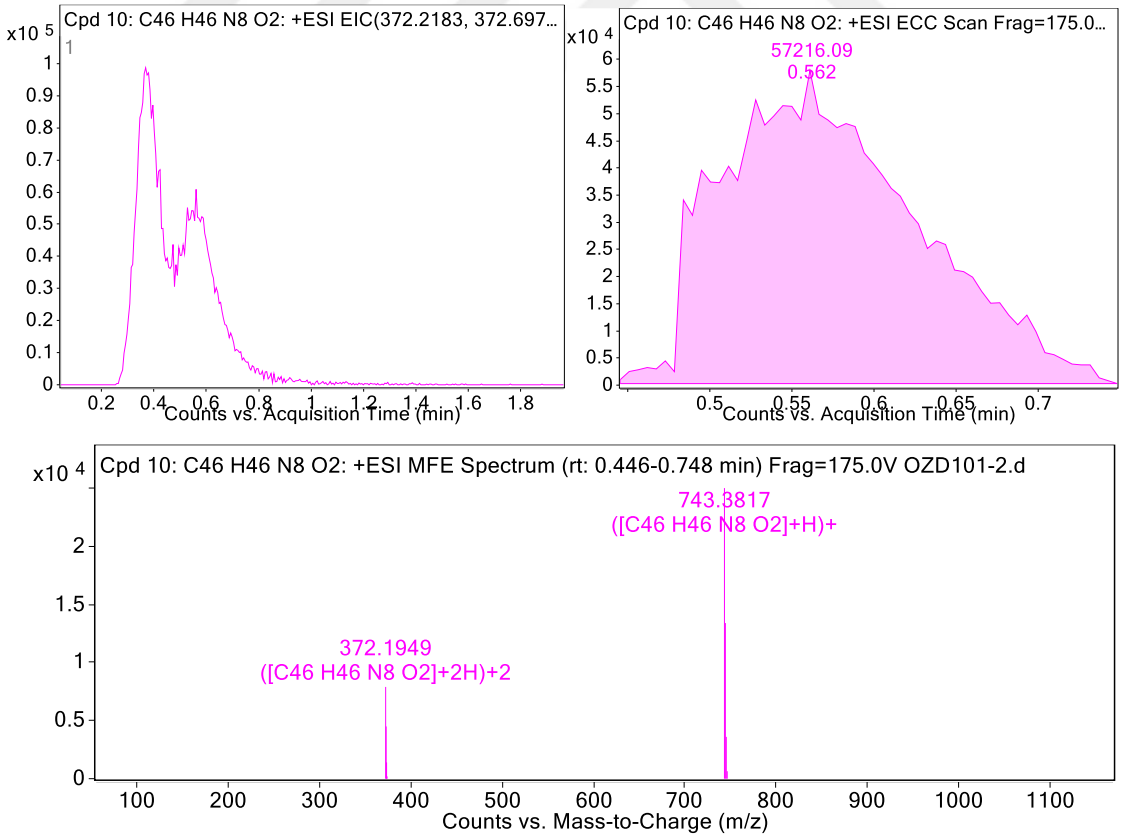
Şekil 5.62 Bileşik **19**'un FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.63 Bileşik **19**'un ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

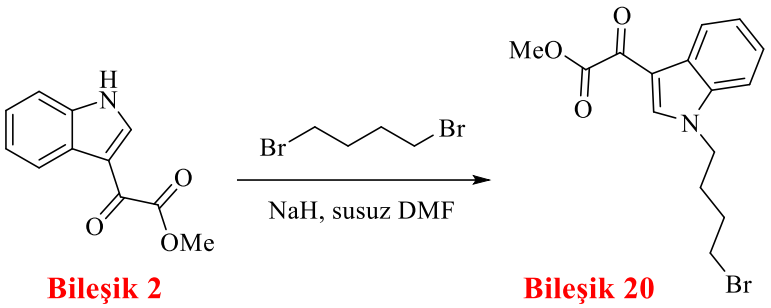


Şekil 5.64 Bileşik **19**'un APT-NMR spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.65 Bileşik **19**'un HRMS (QTOF) spektrumu

5.1.21 Metil 2-(1-(4-bromobutil)-1*H*-indol-3-il)-2-oksoasetat Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 20, $C_{15}H_{16}BrNO_3$)



Bileşik 2 **Bileşik 20**

Reaksiyon balonuna Bileşik **2** (983 mg, 4.84 mmol) tartılarak alındı ve susuz DMF (20.0 mL, 0.242 M) ile çözünmesi sağlandı. Azot atmosferindeki reaksiyon 0°C'ye getirildi ve üzerine sodyum hidrür (NaH) (57-63% mineral yağında süspansiyon, 213 mg, 5.32 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 0°C'de 30 dk karıştırıldıktan sonra üzerine 1,4-dibromobütan (1253,2 mg, 5.81 mmol) kondu. 18 saat oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. Reaksiyon soğuk su (40.0 mL) ile sonlandırıldı ve su fazı etil asetat (6 × 30.0 mL) ile ekstrakte edildi. Organik fazlar birleştirildi, doygun tuzlu su (5.00 mL) çözeltisi ile tekrar çalkalandı ve Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu. Düşük basınç altında organik çözücüsü uzaklaştırılan ham ürün flash kromatografisi (R_f: 0.57 (1:1 etilasetat/*n*-hekzan)) kullanılarak saflaştırıldı.

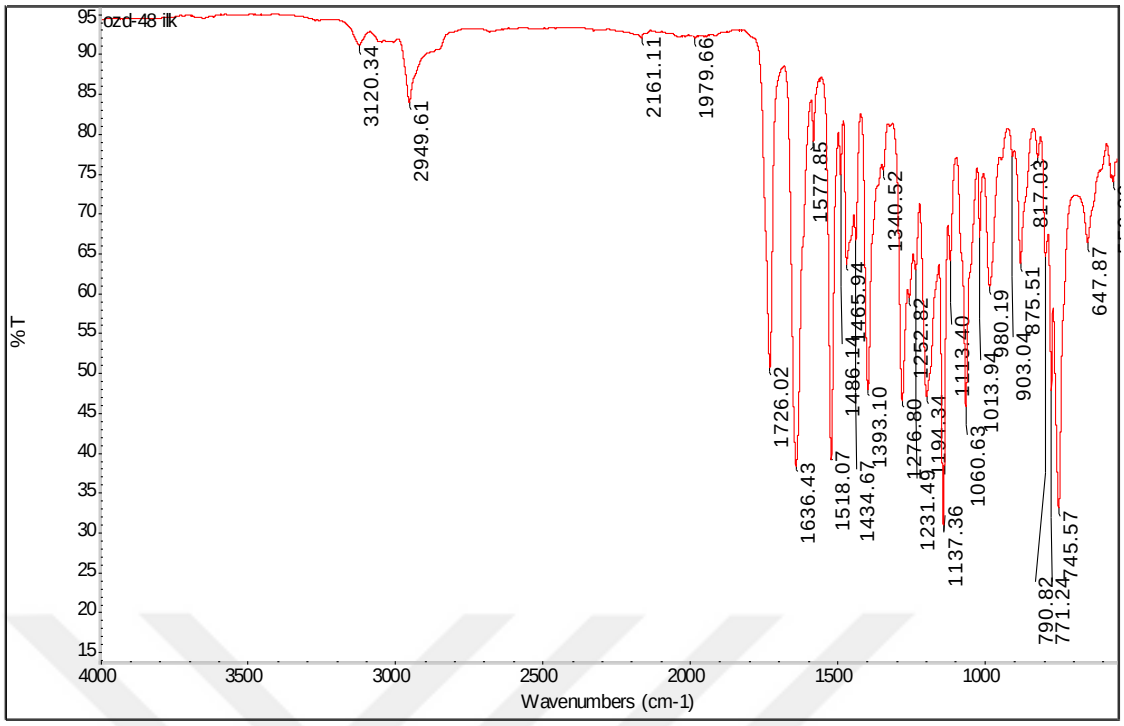
Sarı yağımsı madde; %80 verim.

5.1.21.1 Bileşik 20'e Ait Spektral Veriler

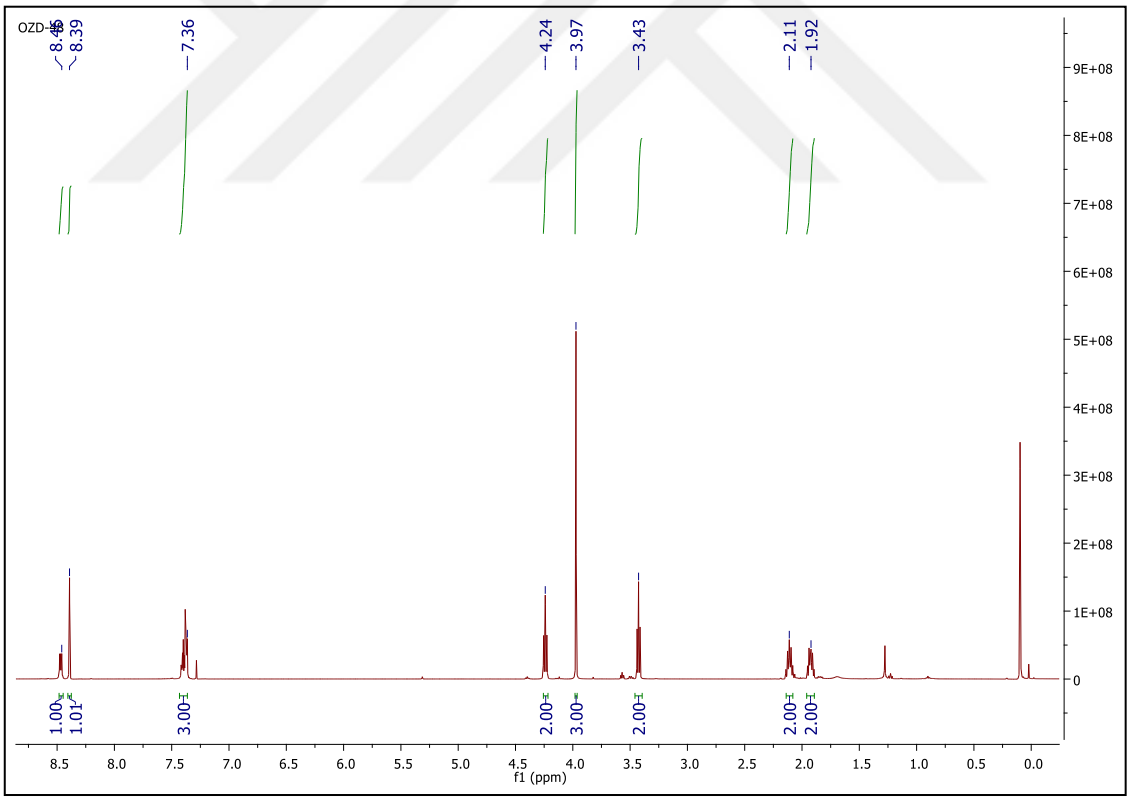
FTIR (ATR): *ν*= 3120 (aromatik C-H gerilimi), 2949 (alifatik, C-H gerilimi), 1726 (C=O gerilimi), 1636 (aromatik, C=C gerilimi), 1393 ve 1276 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1231 (C-N salınımı), 1137 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.92 (pent, *J*= 6.5 Hz, 2H, CH_2), 2.11 (pent, *J*= 7.3 Hz, 2H, CH_2), 3.43 (t, *J*= 6.4 Hz, 2H, Br-CH_2), 3.97 (s, 3H, *O*-CH_3), 4.24 (t, *J*= 7.1 Hz, 2H, CH_2), 7.36-7.42 (m, 3H, ArH), 8.39 (s, 1H, ArH), 8.46-8.49 (m, 1H, ArH) ppm.

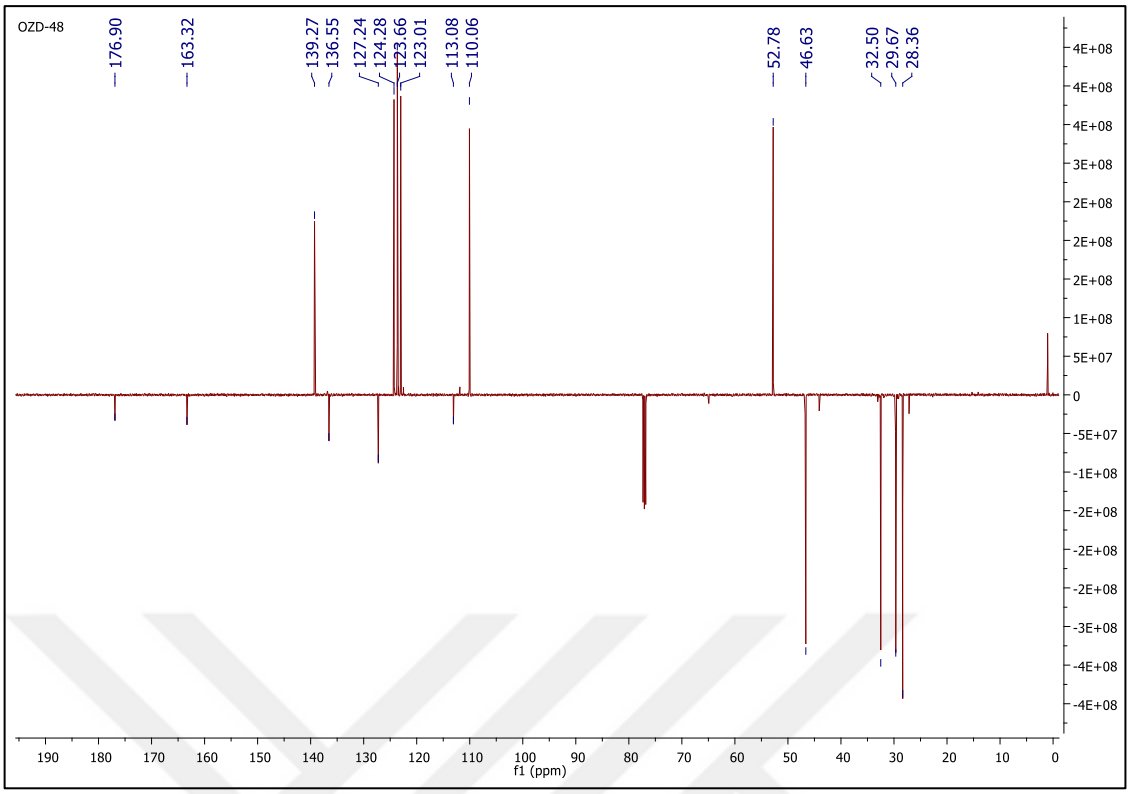
APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 28.4 (CH_2), 29.7 (CH_2), 32.5 (Br-CH_2), 46.6 (CH_2), 52.8 (*O*-CH_3), 110.1 (CAr), 113.1 (Cq), 123.0 (CAr), 123.7 (CAr), 124.3 (CAr), 127.3 (Cq), 136.5 (Cq), 139.3 (CAr), 163.3 (C=O), 176.9 (C=O) ppm.



Şekil 5.66 Bileşik **20**'nin FTIR Spektrumu (ATR)

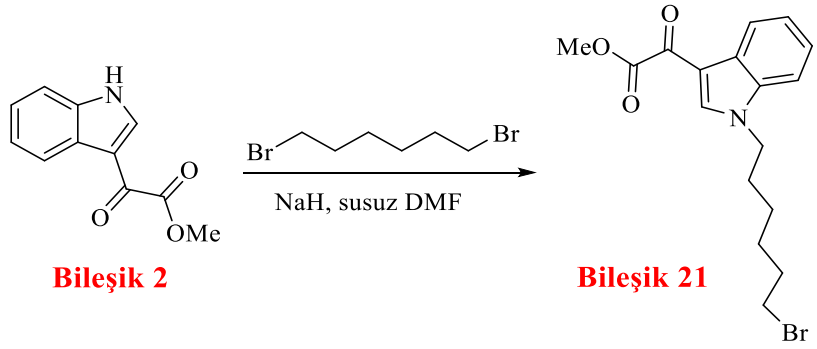


Şekil 5.67 Bileşik **20**'nin ^{1}H NMR Spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.68 Bileşik **20**'nin APT Spektrumu ($CDCl_3$)

5.1.22 2-(1-(6-Bromohekzil)1-*H*-indol-3-il)-2-oksoasetat Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 21, $C_{17}H_{20}BrNO_3$)



Bileşik 2 **Bileşik 21**

Reaksiyon balonuna Bileşik **2** (983 mg, 4.84 mmol) tartılarak alındı ve susuz DMF (20.0 mL, 0.242 M) ile çözünmesi sağlandı. Azot atmosferindeki reaksiyon 0°C'ye getirildi ve üzerine sodyum hidrür (NaH) (57-63% mineral yağında süspansiyon, 213 mg, 5.32 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 0°C'de 30 dk karıştırıldıktan sonra üzerine 1,6-dibromobütan (1420 mg, 5.82 mmol) kondu ve 18 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Reaksiyon soğuk su (40.0 mL) ile sonlandırıldı ve su fazı etil asetat (6 × 30.0 mL) ile ekstrakte edildi. Organik fazlar birleştirildi, doygun tuzlu su (5.00 mL) çözeltisi ile tekrar çalkalandı ve Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu. Düşük basınç altında çözücüsü

uzaklaştırılan reaksiyon karışımına flash kromatografinden (R_f: 0.68 (1:1 etilasetat/*n*-hekzan)) yararlanılarak saflaştırma işlemi uygulandı.

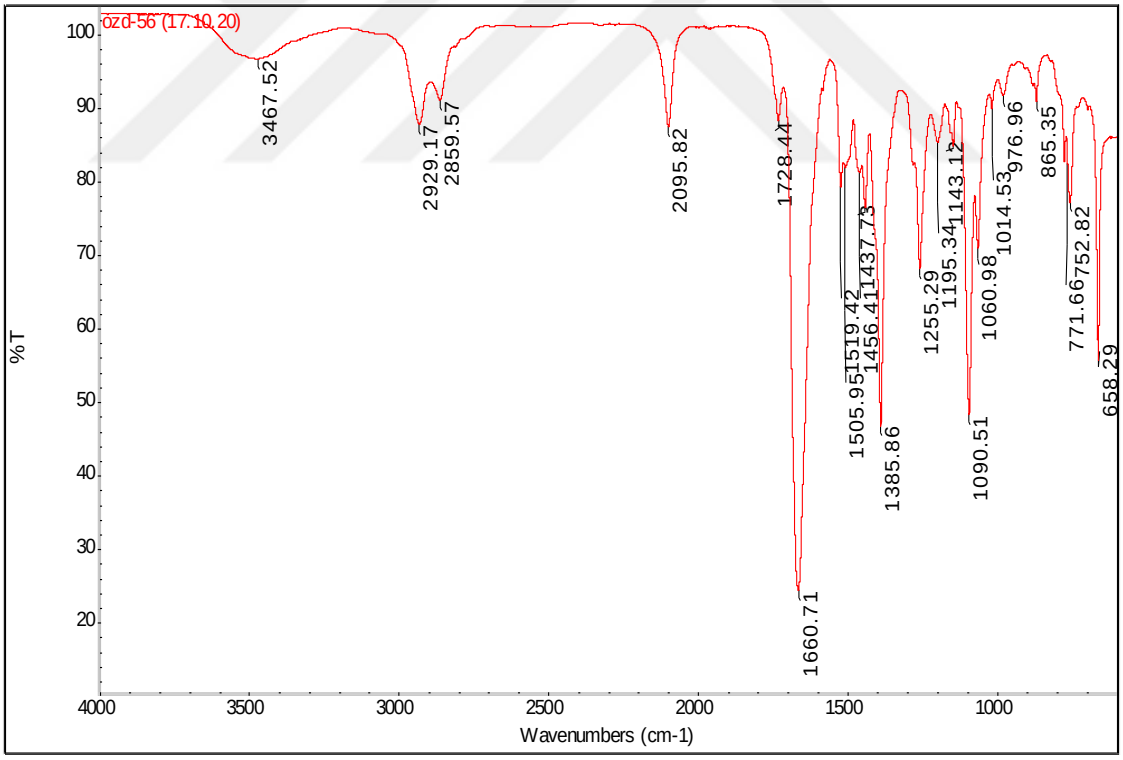
Beyaz yağımsı madde; %76 verim.

5.1.22.1 Bileşik 21'ye Ait Spektral Veriler

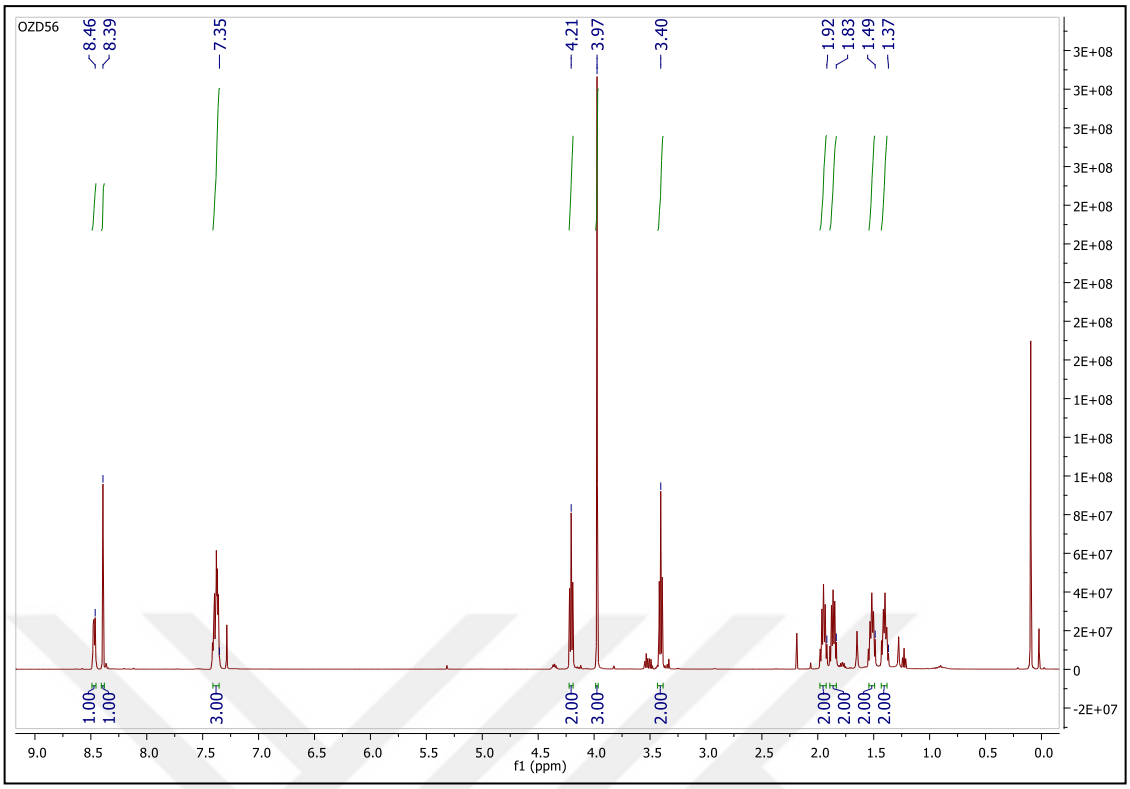
FTIR (ATR): *ν*= 2929 ve 2860 (alifatik, C-H gerilimleri), 1728 (C=O gerilimi), 1661 (aromatik, C=C gerilimi), 1385 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimi), 1255 (C-N salınımı), 1091 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.37 (pent, *J= 7.2* Hz, 2H, CH_2), 1.59 (pent, *J= 7.6* Hz, 2H, CH_2), 1.83 (pent, *J= 7.6* Hz, 2H, CH_2), 1.92 (pent, *J= 7.2* Hz, 2H, CH_2), 3.40 (t, *J= 6.6* Hz, 2H, Br-CH_2), 3.97 (s, 3H, OCH_3), 4.21 (t, *J= 7.2 Hz*, 2H, CH_2), 7.35-7.41 (m, 3H, ArH), 8.39 (s, 1H, ArH), 8.46-8.49 (m, 1H, ArH) ppm.

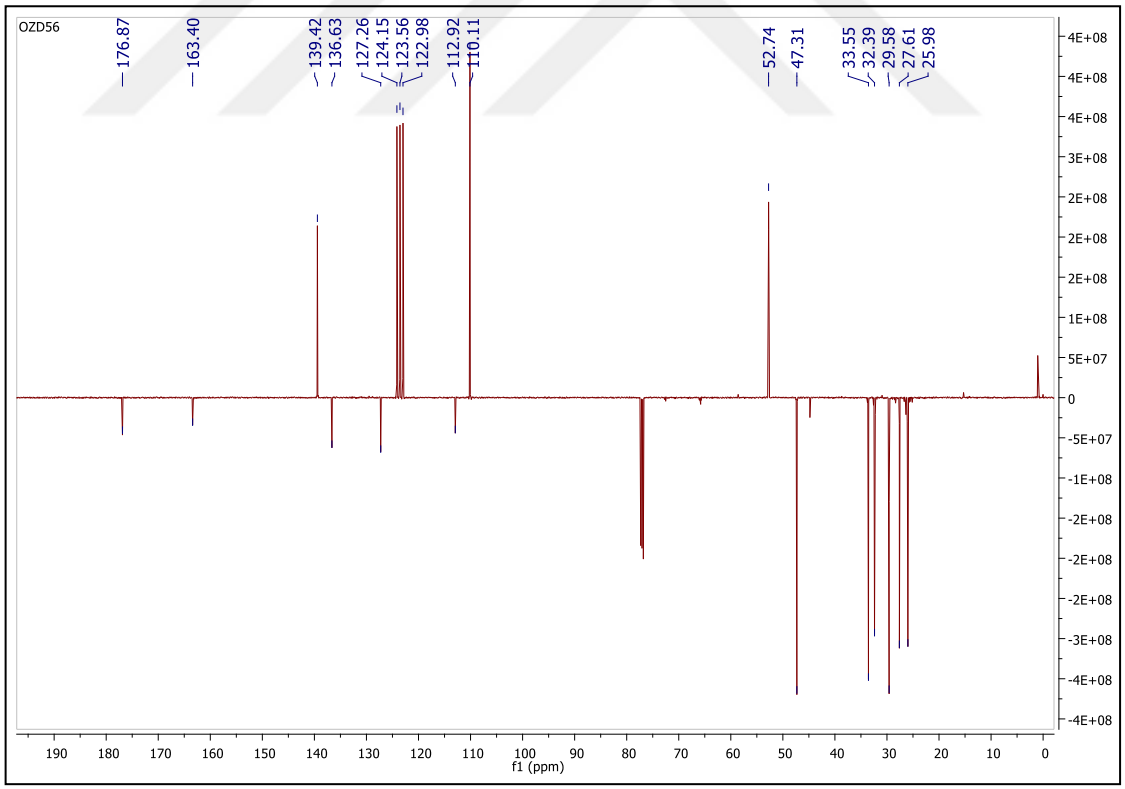
APT (125 MHz. $CDCl_3$): δ: 25.9 (CH_2), 27.6 (CH_2), 29.6 (CH_2), 32.4 (CH_2), 33.5 (Br-CH_2), 47.3 (CH_2), 52.7 (*O*-CH_3), 110.1 (CAr), 112.9 (Cq), 123.0 (CAr), 123.6 (CAr), 124.2 (CAr), 127.3 (Cq), 136.6 (Cq), 139.4 (CAr), 163.4 (C=O), 176.9 (C=O) ppm.



Şekil 5.69 Bileşik **21**'in FTIR Spektrumu (ATR)

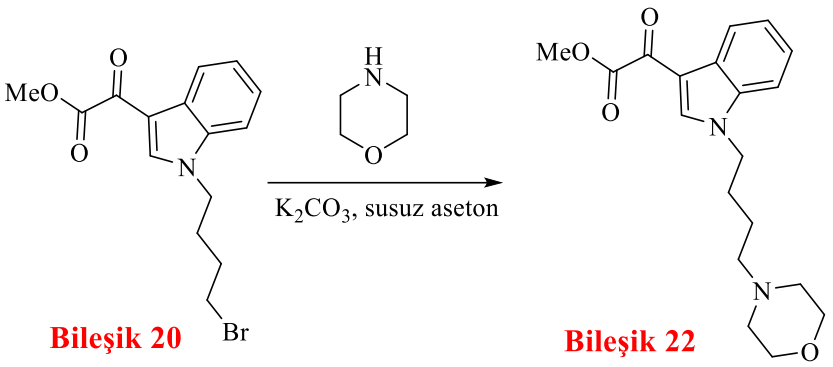


Şekil 5.70 Bileşik **21**'in ^{1}H NMR Spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.71 Bileşik **21**'in APT Spektrumu ($CDCl_3$)

5.1.23 Metil 2-(1-(4-morfolinbutil)-1*H*-indol-3-il)-2-oksoasetat Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 22, $C_{19}H_{24}N_2O_4$)



Bileşik 20 **Bileşik 22**

Tek boyunlu bir balona 0.22 mmol (74.4 mg) Bileşik **20** tartılarak azot atmosferine alındı. 5 mL Susuz aseton içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 1.1 mmol (152 mg) K_2CO_3 ve 0.66 mmol (59 mg) morfolin ilave edildi ve 55°C sıcaklıkta 18 saat boyunca geri soğutucu altında karışması sağlandı. TLC kontrolü sonrasında çözücü uzaklaştırıldı ve etil asetat-tuzlu su yardımıyla ekstrakte edilmesi sağlandı. Kurutucu olarak Na_2SO_4 kullanıldıktan sonra organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntıyı saflaştırmak için flash kromatografisinden (R_f:0.1 (1:1 etil asetat/*n*-hekzan)) yararlanıldı.

Beyaz yağımsı madde; %76 verim.

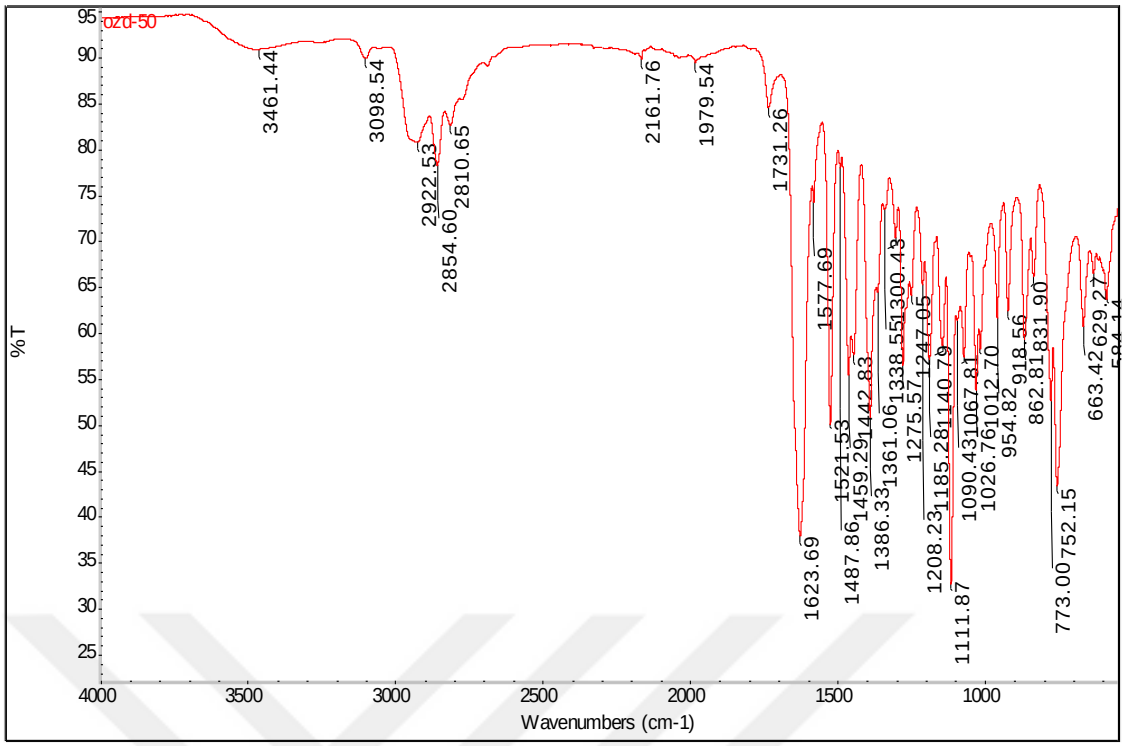
5.1.23.1 Bileşik 22'ye Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): *ν*= 3098 (aromatik C-H gerilimi), 2922, 2854 ve 2810 (alifatik, C-H gerilimleri), 1731 (C=O gerilimi), 1623 (aromatik, C=C gerilimi), 1386 ve 1361 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1208 (C-N salınımı), 1111 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

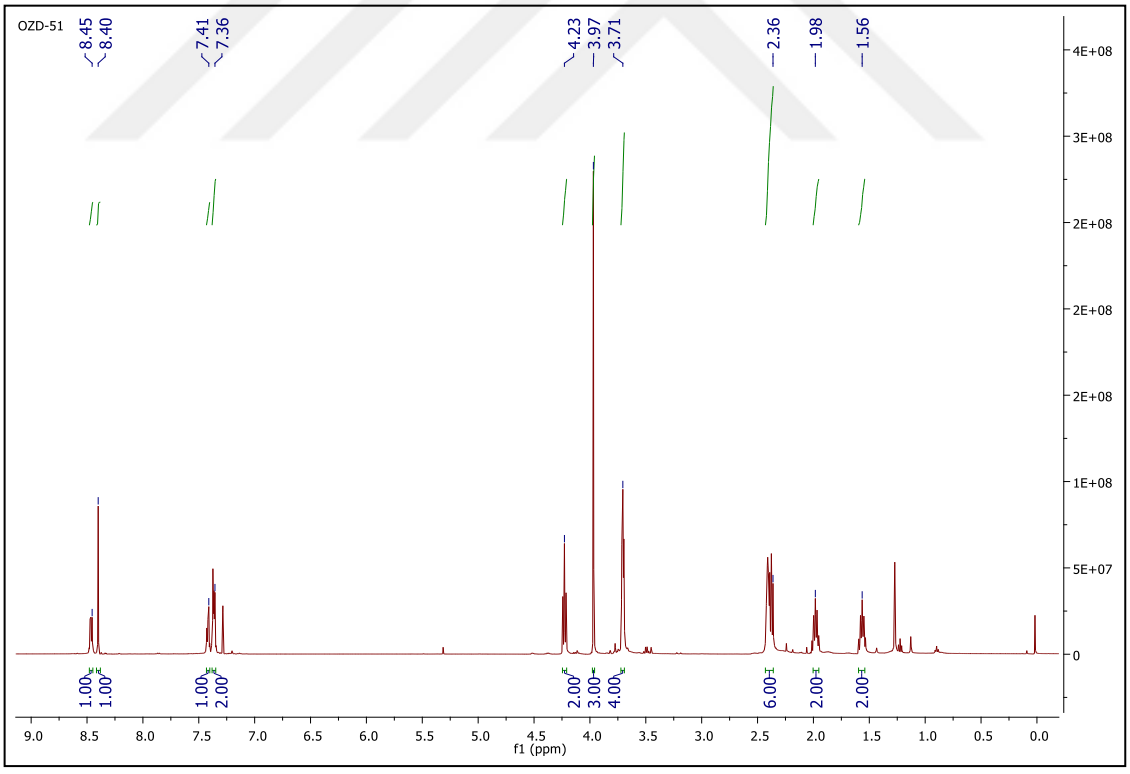
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.56 (pent, *J*= 7.4 Hz, 2H, CH_2), 1.98 (pent, *J*= 7.3 Hz, 2H, CH_2), 2.36-2.40 (m, 6H, CH_2 ve 2x*N*-CH_2), 3.71 (t, *J*= 7.2 Hz, 4H, 2x*O*-CH_2) 3.97 (s, 3H, *O*-CH_3), 4.23 (t, *J*= 7.2 Hz, 2H, CH_2), 7.36-7.37 (m, 2H, ArH), 7.41-7.43 (m, 1H, ArH), 8.40 (s, 1H, ArH), 8.45-8.47 (m, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 23.6 (CH_2), 27.5 (CH_2), 47.3 (CH_2), 52.7 (OCH_3), 53.7 (2x*N*-CH_2), 58.0 (CH_2), 66.9 (2x*O*-CH_2), 110.2 (CAr), 113.0 (Cq), 123.0 (CAr), 123.6 (CAr), 124.1 (CAr), 127.3 (Cq), 136.6 (Cq), 139.4 (CAr), 163.4 (C=O), 176.8 (C=O) ppm.

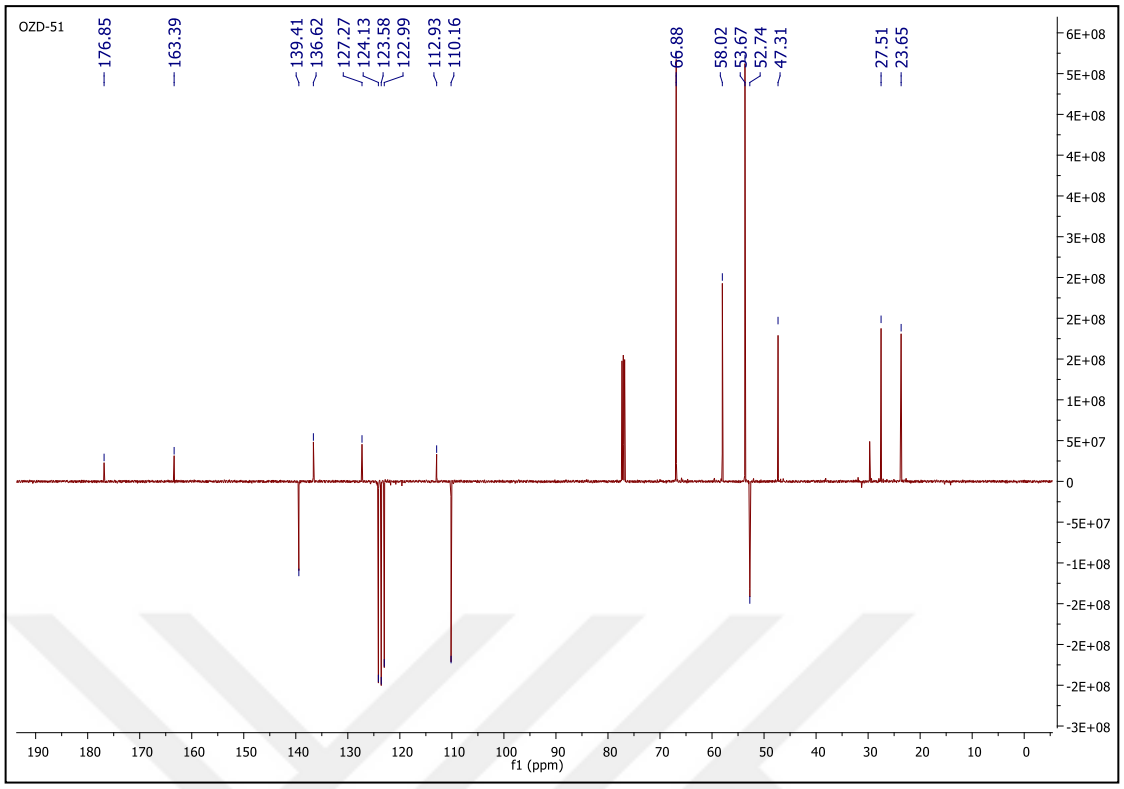
LC-MS (ESI): m/z: $([C_{19}H_{24}N_2O_4]+H)^+$ için hesaplanan 345.1814, bulunan 345.3000.



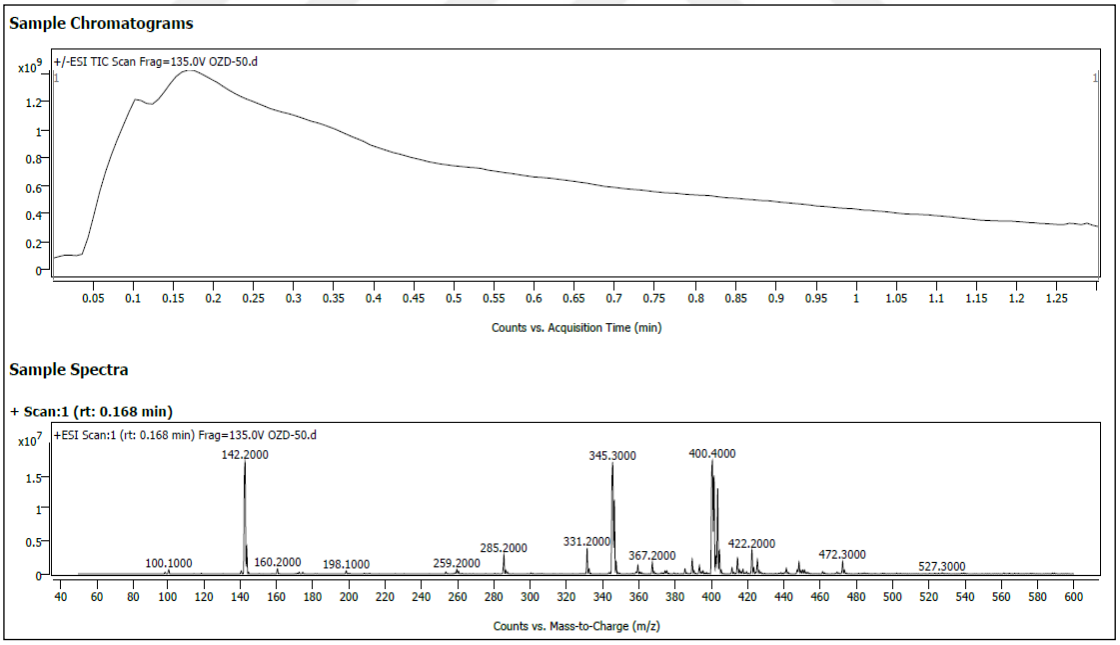
Şekil 5.72 Bileşik **22**'nin FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 5.73 Bileşik **22**'nin ^{1}H-NMR Spektrumu ($CDCl_3$)

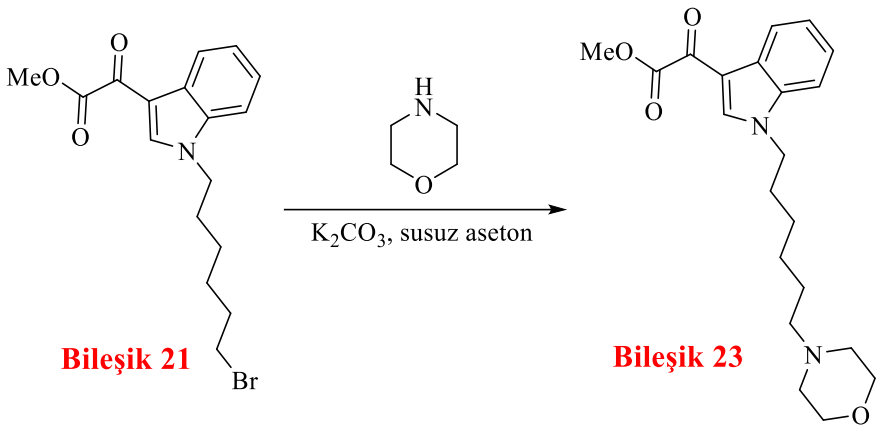


Şekil 5.74 Bileşik **22**'nin APT Spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.75 Bileşik **22**'nin LC-MS Spektrumu

5.1.24 Metil 2-(1-(6-morfolinhekzil)-1*H*-indol-3-il)-2-oksoasetat Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 23, $C_{21}H_{28}N_2O_4$)



Bileşik 21 Bileşik 23

Tek boyunlu bir balona 0.4 mmol (146.5 mg) Bileşik **21** tartılarak azot atmosferine alındı. 12 mL susuz aseton içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 2 mmol (276.4 mg) K_2CO_3 ve 1.2 mmol (107.3 mg) morfolin eklendi. Reaksiyonun 55°C sıcaklıkta 18 saat boyunca geri soğutucu altında karışması sağlandı. TLC kontrolü sonrasında çözücü uzaklaştırıldı ve etil asetat-tuzlu su karışımı ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Na_2SO_4 üzerinden kurutulduktan sonra organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Ham ürünü saflaştırmak için 1:1 *n*-hekzan/etil asetat (R_f: 0.1) sisteminde kolon kromatografisi uygulandı.

Beyaz yağımsı madde; %77 verim.

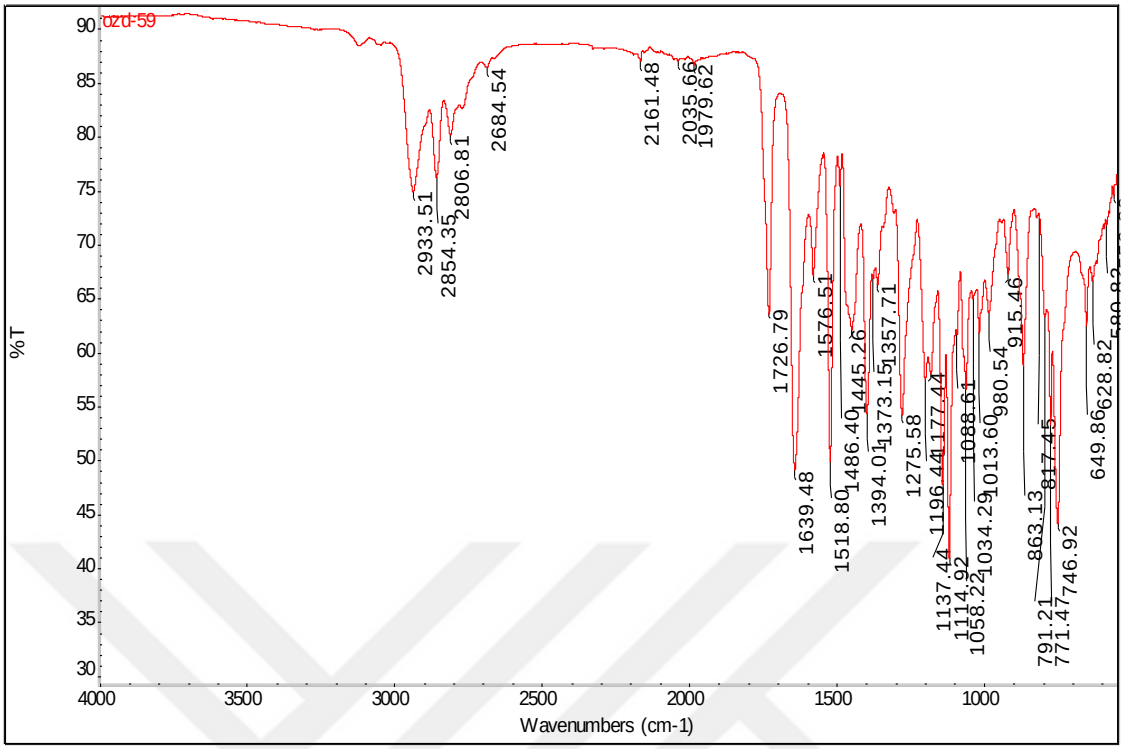
5.1.24.1 Bileşik 23'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): *ν*= 2933, 2854 ve 2806 (alifatik, C-H gerilimleri), 1727 (C=O gerilimi), 1639 (aromatik, C=C gerilimi), 1394 ve 1373 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1275 (C-N salınımı), 1115 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

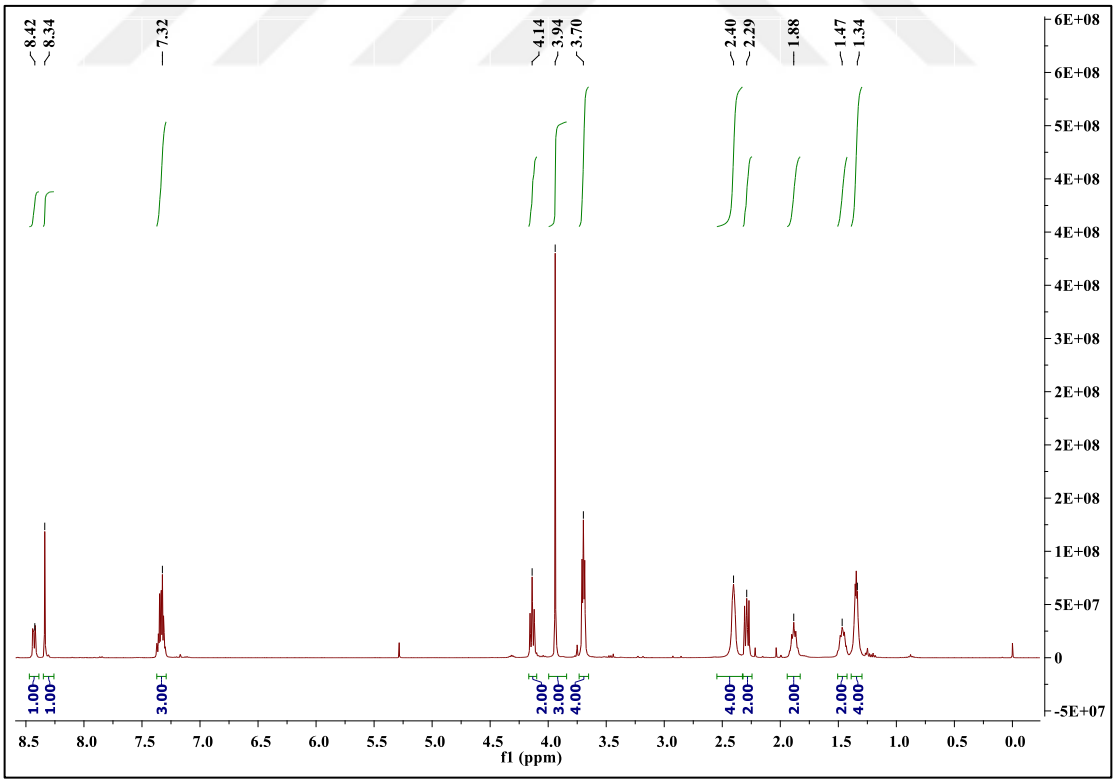
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.38-1.27 (m, 4H, 2xCH_2), 1.47 (p, *J= 7.4* Hz, 2H, CH_2), 1.94-1.79 (m, 2H) 2.33-2.23 (m, 2H, CH_2), 2.40 (s, 4H, 2x*N*-CH_2), 3.72-3.65 (t, *J= 7.2* Hz, 4H, 2x*O*-CH_2) 3.94 (s, 3H, *O*-CH_3), 4.14 (t, *J= 7.2* Hz, 2H, CH_2), 7.39-7.25 (m, 3H, ArH), 8.34 (s, 1H, ArH), 8.48-8.39 (m, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 26.3 (CH_2), 26.7 (CH_2), 26.9 (CH_2), 29.6 (CH_2), 47.4 (CH_2), 52.7 (*O*-CH_3), 53.7 (2x*N*-CH_2), 58.8 (CH_2), 66.9 (2x*O*-CH_2), 110.2 (CAr), 112.7 (Cq), 122.8 (CAr), 123.5 (CAr), 124.1 (CAr), 127.2 (CAr), 136.6 (Cq), 139.5 (CAr), 163.4 (C=O), 176.8 (C=O) ppm.

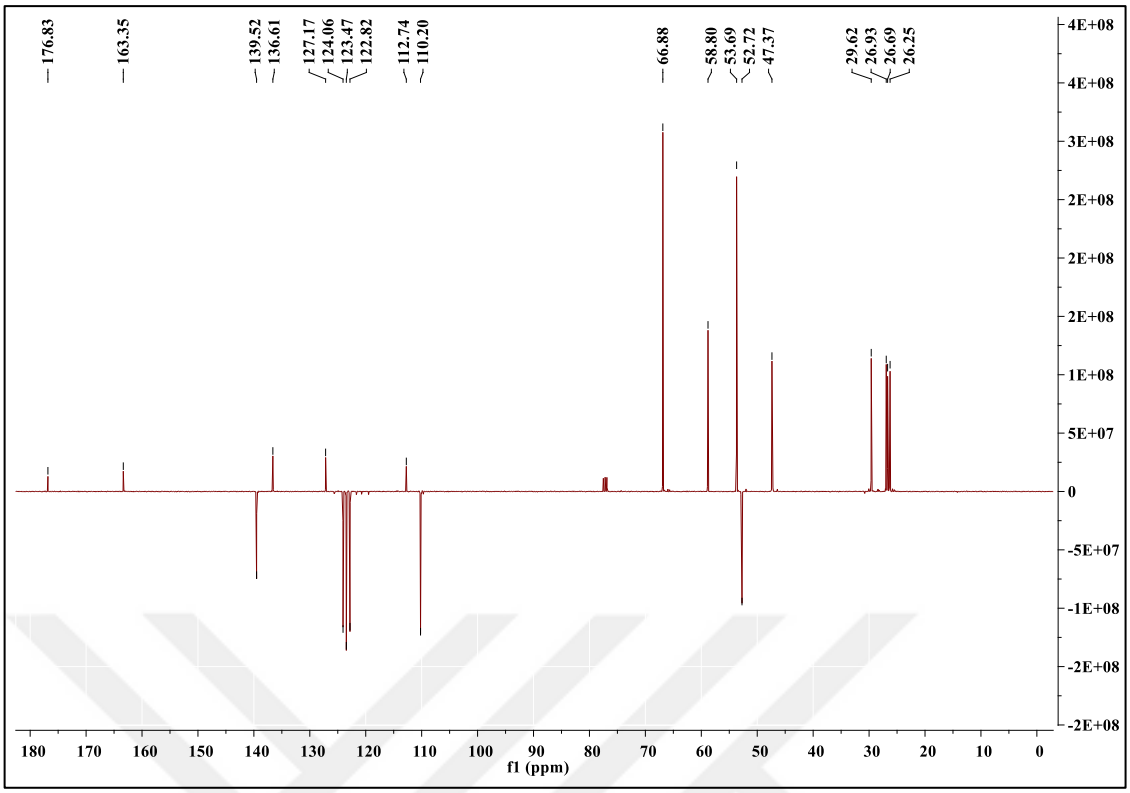
LC-MS (ESI): m/z: ($[C_{21}H_{28}N_2O_4]+H)^+$ için hesaplanan 373.2127, bulunan 373.3000.



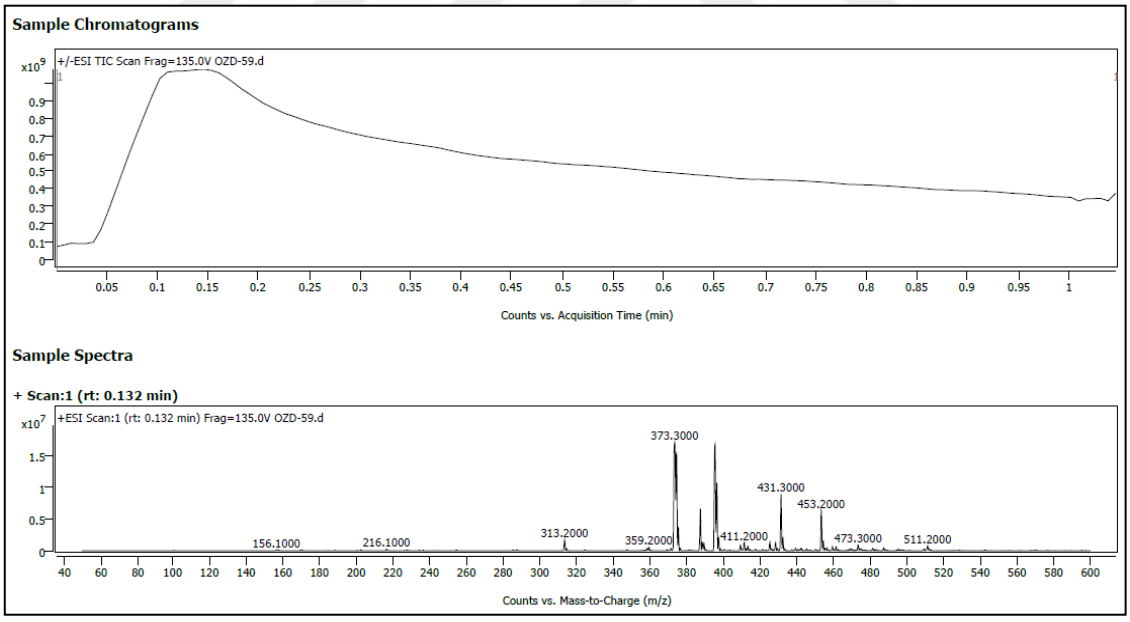
Şekil 5.76 Bileşik **23**'ün FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 5.77 Bileşik **23**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

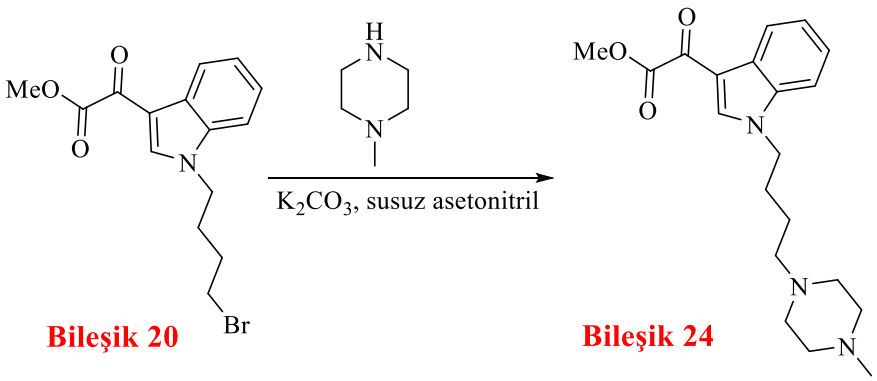


Şekil 5.78 Bileşik **23**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.79 Bileşik **23**'ün LC-MS Spektrumu

5.1.25 Metil 2-(1-(4-(4-metilpiperazin-1-il)bütil)-1*H*-indol-3-il)-2-oksoasetat (Bileşik 24, $C_{20}H_{27}N_3O_3$)



Bileşik 20 Bileşik 24

Tek boyunlu balona 5 mL susuz asetonitril içerisinde çözünmüş 0.5 mmol (169.1 mg) Bileşik **20** alındı. Üzerine kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 5 mmol (676 mg) K_2CO_3 ve 1 mmol (100.2 mg) *N*-metilpiperazin ilave edildi. Reaksiyon karışımının 80°C sıcaklıkta 18 saat boyunca geri soğutucu altında karışması sağlandı. TLC kontrolü sonrasında çözücü uzaklaştırıldı ve etil asetat-tuzlu su karışımı ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Na_2SO_4 üzerinden kurutulduktan sonra organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Ham ürünün saflaştırılması için kolon kromatografisinden (5:5:1 *n*-hekzan/etil asetat/diklorometan; R_f: 0.1) yararlanıldı.

Beyaz yağımsı madde; %54 verim.

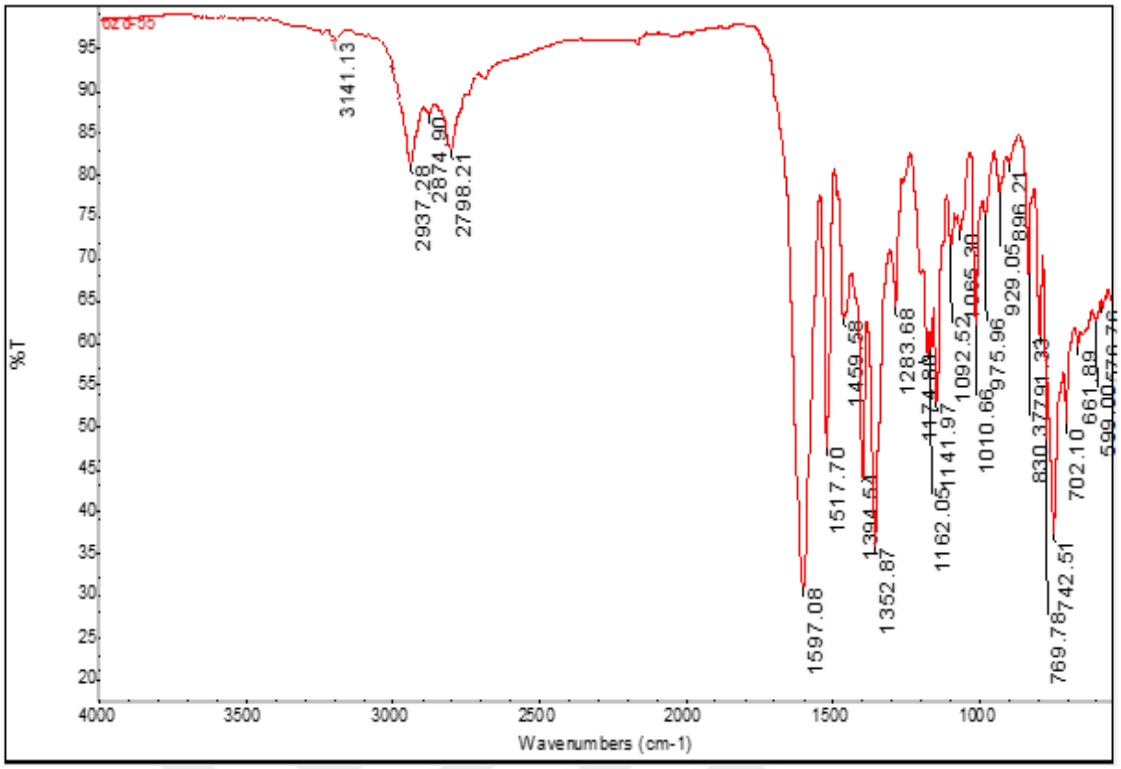
5.1.25.1 Bileşik 24'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν=** 3141 (Aromatik =C-H gerilimi), 2937, 2875 ve 2798 (alifatik C-H gerilimleri), 1597 (C=O gerilimi), 1517 (aromatik, C=C gerilimi), 1459, 1394 ve 1353 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1283 (C-N salınımı), 1011 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

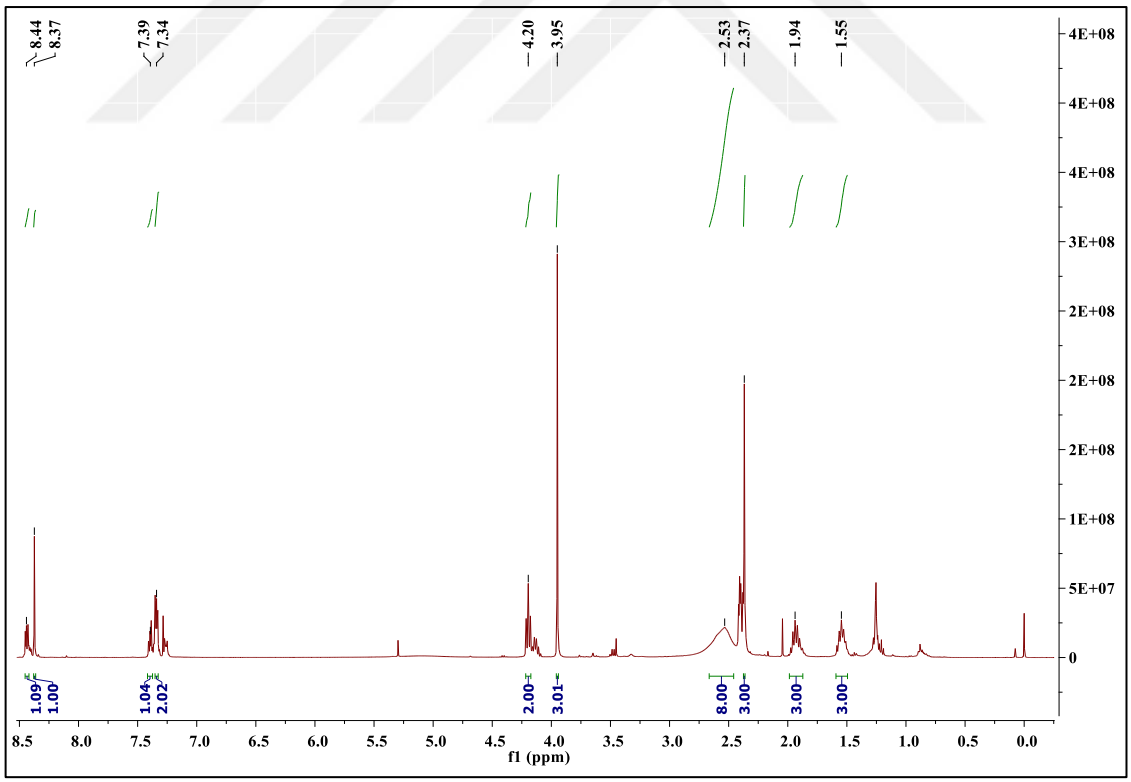
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): **δ:** 1.59-1.49 (m, 3H, CH_2), 1.97-1.88 (m, 3H, CH_2), 2.37 (s, 3H, CH_3), 2.53 (brds, 8H, CH_2), 3.9s (s, 3H, *O*-CH_3), 4.20 (t, *J*= 7.2 Hz, 2H, CH_2), 7.36-7.32 (m, 2H, ArH), 7.41-7.38 (m, 1H ArH), 8.37 (s, 1H, ArH), 8.45-8.42 (m, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): **δ:** 23.9 (CH_2), 27.6 (CH_2), 45.5 (CH_3), 47.3 (CH_2), 52.5 (2x*N*-CH_2), 52.8 (*O*-CH_3), 54.7 (2x*N*-CH_2), 57.4 (CH_2), 110.2 (CAr), 112.9 (Cq), 122.9 (CAr), 123.6 (CAr), 124.1 (CAr), 127.2 (Cq), 136.5 (Cq), 139.5 (CAr), 163.4 (C=O), 176.9 (C=O) ppm.

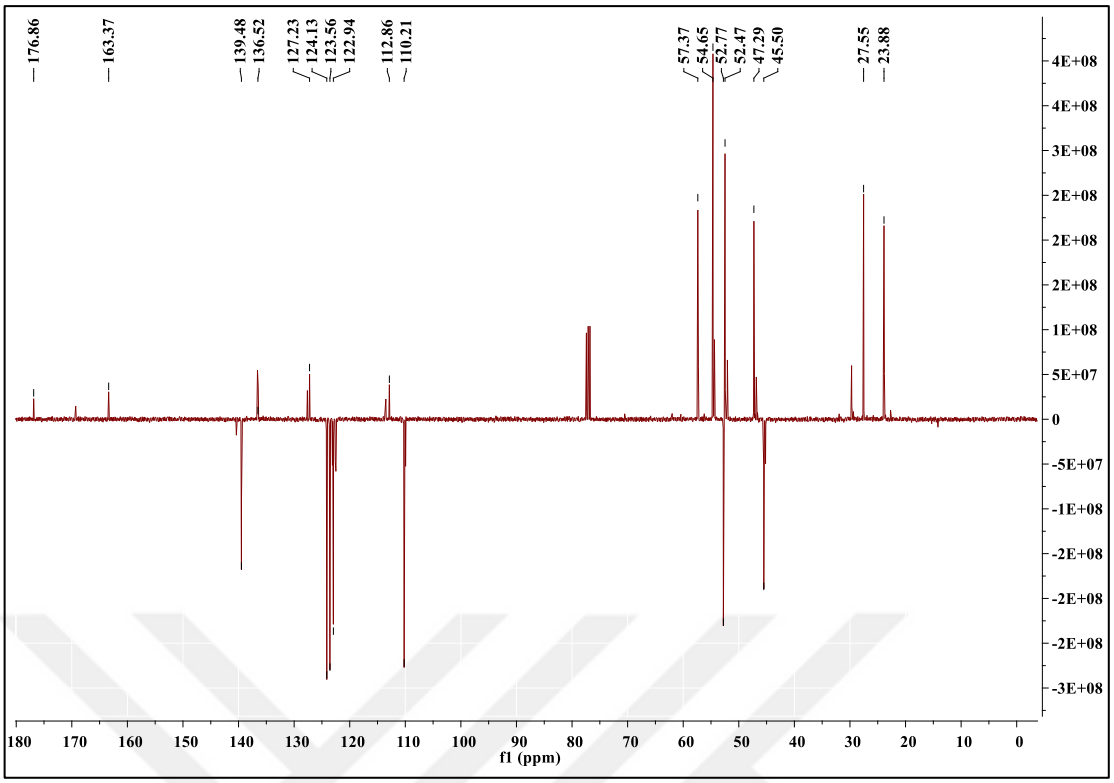
LC-MS (ESI): m/z: $([C_{20}H_{27}N_3O_3]+H)^+$ için hesaplanan 358.2131, bulunan 358.4000.



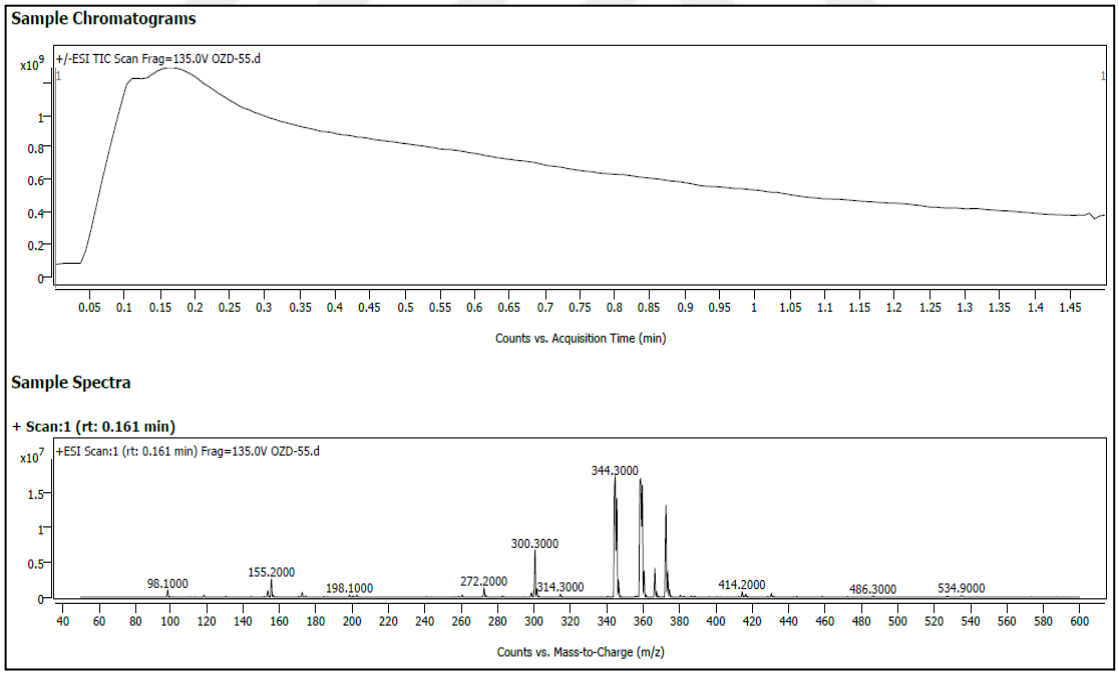
Şekil 5.80 Bileşik **24**'ün FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 5.81 Bileşik **24**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

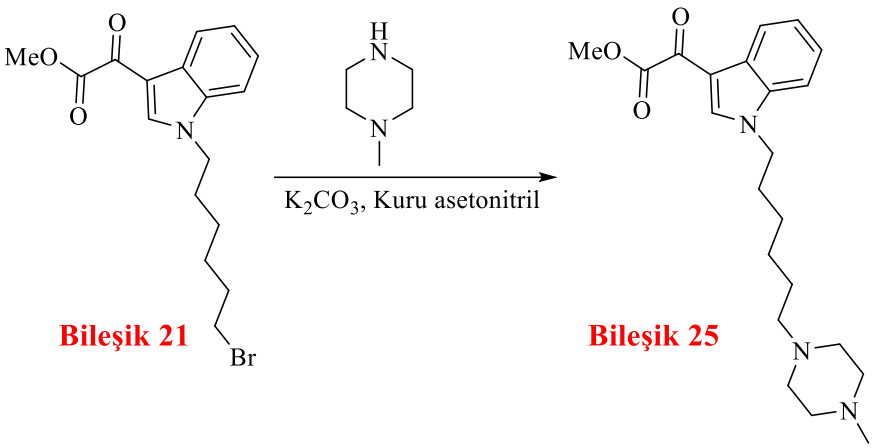


Şekil 5.82 Bileşik **24**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.83 Bileşik **24**'ün lC-MS Spektrumu

5.1.26 Metil 2-(1-(6-(4-metilpiperazin-1-il)hekzil)-1*H*-indol-3-il)-2-oksoasetat Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 25, $C_{22}H_{31}N_3O_3$)



Bileşik 21 Bileşik 25

Tek boyunlu bir balona 0.5 mmol (183.1 mg) bileşik **21** tartılarak azot atmosferi altına alındı. 5 mL Susuz asetonitril içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine kızdırılarak toz haline getirilmiş susuz 5 mmol (676 mg) K_2CO_3 ve 1 mmol (100.2 mg) *N*-metilpiperazin ilave edildi. Reaksiyonun 80°C sıcaklıkta 18 saat boyunca geri soğutucu altında karışması sağlandı. TLC kontrolü sonrasında çözücü uzaklaştırıldı ve etil asetat-tuzlu su karışımı ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Na_2SO_4 üzerinden kurutulduktan sonra organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Ham ürünün saflaştırılması için kolon kromatografisinden (5:5:1 *n*-hekzan/etil asetat/diklorometan; R_f: 0.08) yararlanıldı.

Beyaz yağımsı madde; %48 verim.

5.1.26.1 Bileşik 25'e Ait Spektral Veriler

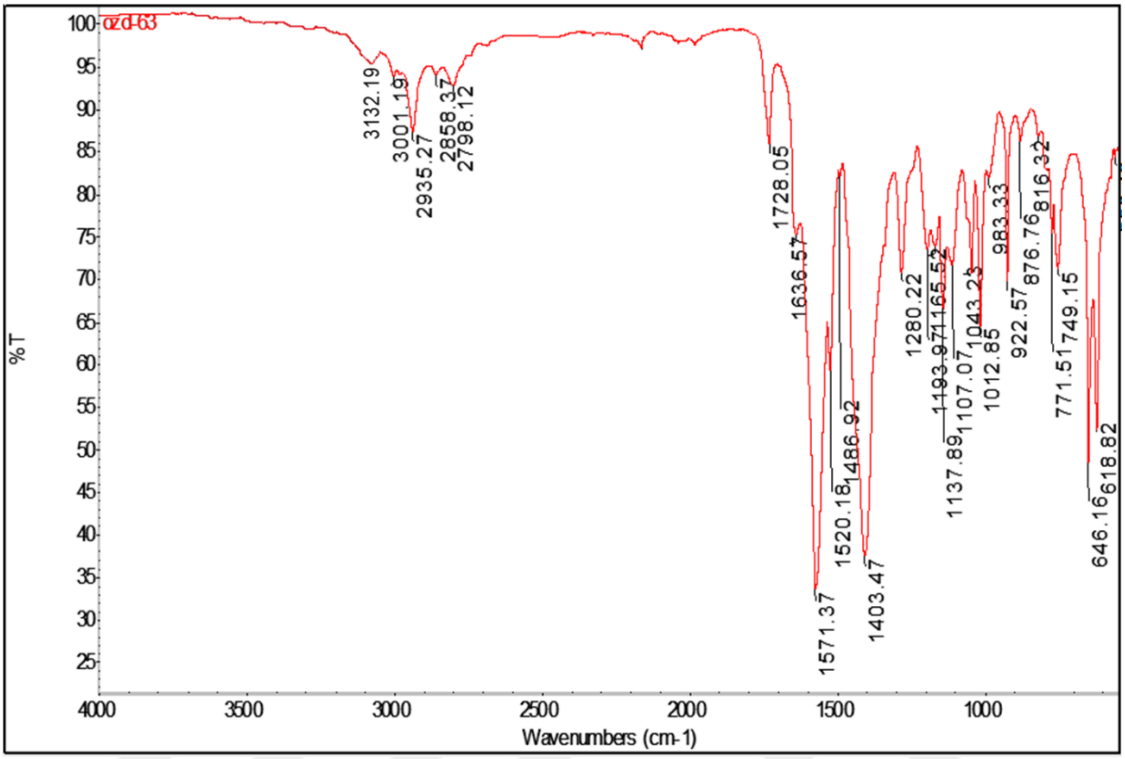
FTIR (ATR): **ν=** 3132 (aromatik =C-H gerilimi), 2935, 2858 ve 2798 (Alifatik C-H gerilimleri), 1728 ve 1636 (C=O gerilimleri), 1520 (aromatik, C=C gerilimi), 1487 ve 1403 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1280 (C-N salınımı), 1013 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): **δ:** 1.37 (brds, 4H, CH_2), 1.50 (brds, 2H, CH_2), 1.92 (brds, 2H, CH_2), 2.34-2.39 (m, 5H, CH_2 ve CH_3), 2.55 (brds, 8H, CH_2), 3.96 (s, 3H, *O*-CH_3), 4.20 (t, *J*= 6.6 Hz, 2H, CH_2), 7.36-7.41 (m, 3H, ArH), 8.38 (s, 1H, ArH), 8.45 (brds, 1H, ArH) ppm.

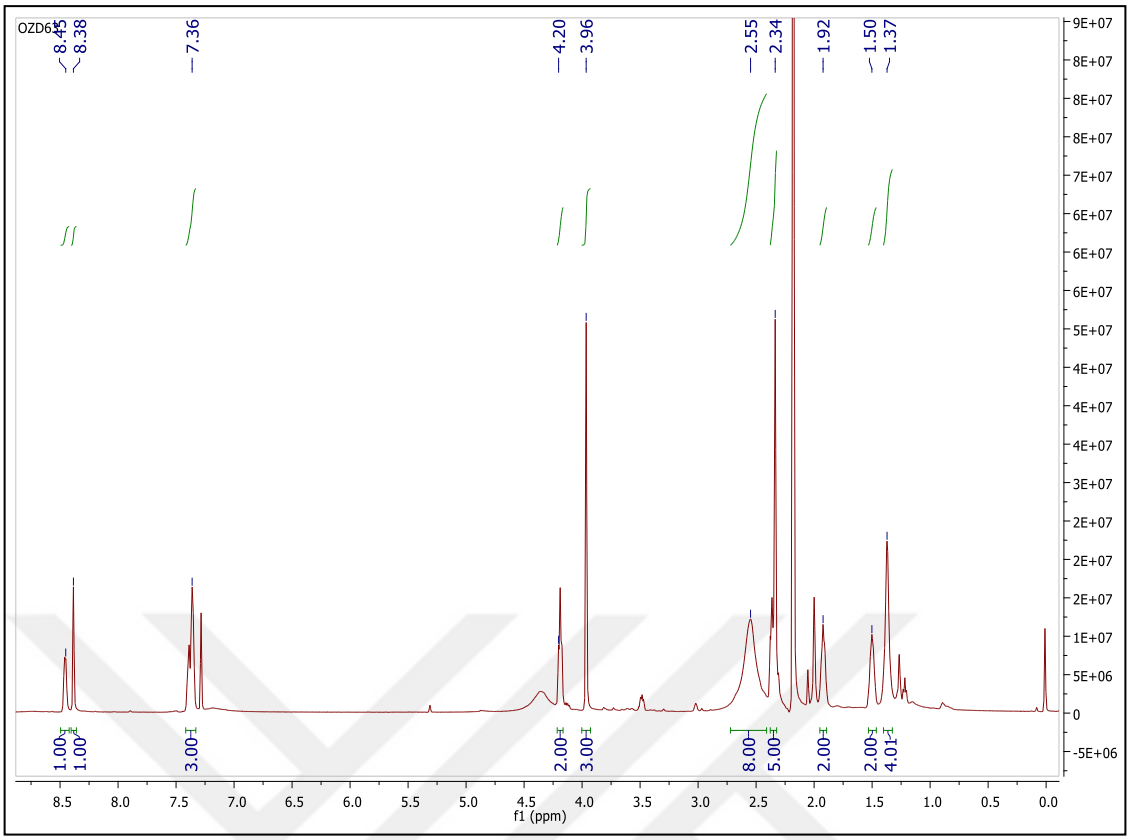
APT (125 MHz, $CDCl_3$): **δ:** 26.3 (CH_2), 26.7 (CH_2), 27.00 (CH_2), 29.7 (CH_2), 45.5 (CH_3), 47.4 (CH_2), 52.5 (2x*N*-CH_2), 52.7 (*O*-CH_3), 54.4 (2x*N*-CH_2), 58.1 (CH_2), 110.1

(CAr), 112.9 (Cq), 122.9 (CAr), 123.5 (CAr), 124.1 (CAr), 127.2 (Cq), 136.6 (Cq), 139.5 (CAr), 163.4 (C=O), 176.8 (C=O) ppm.

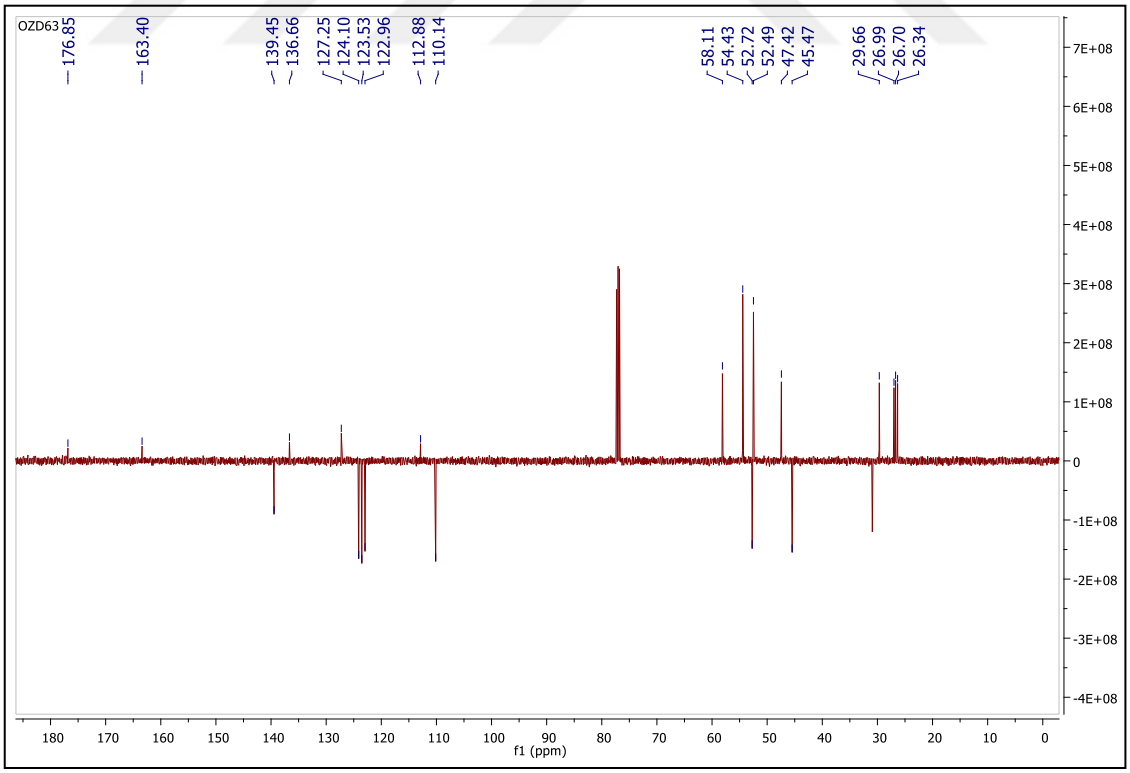
LC-MS (ESI): m/z: ($[C_{22}H_{31}N_3O_3]+H)^+$ için hesaplanan 386.2444, bulunan 386.4000.



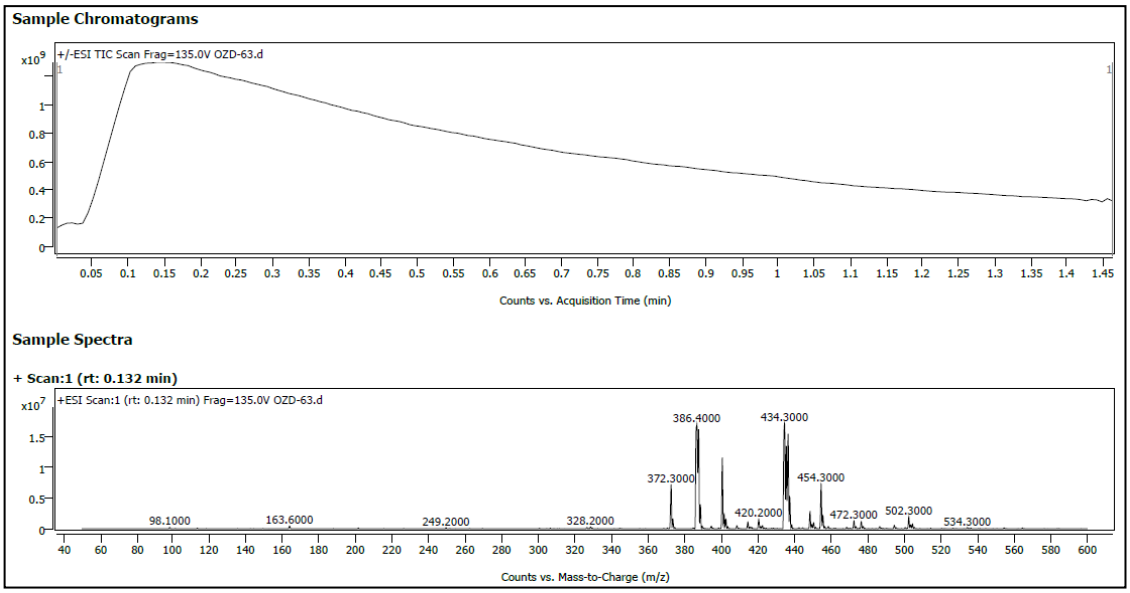
Şekil 5.84 Bileşik **25**'in FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 5.85 Bileşik **25**'in ^{1}H-NMR Spektrumu ($CDCl_3$)

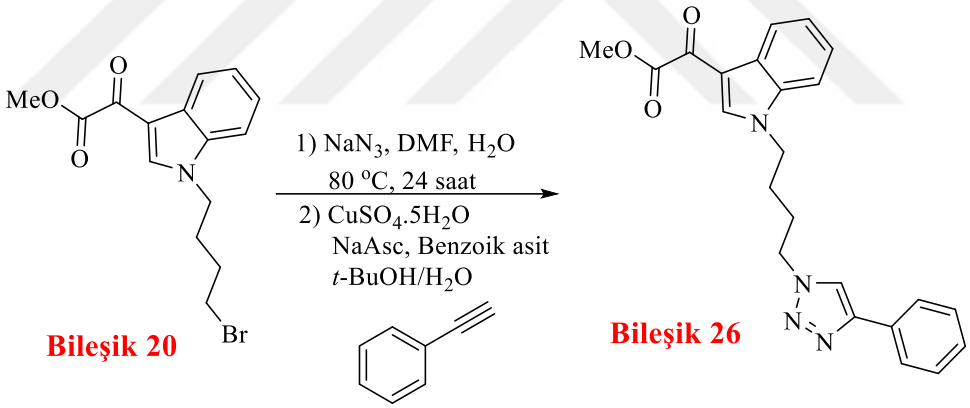


Şekil 5.86 Bileşik **25**'in APT Spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.87 Bileşik **25**'in LC-MS Spektrumu

5.1.27 Metil 2-okso-2-(1-(4-(4-fenill-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)bütil)-1*H*-indol-3-il)asetat Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 26, $C_{23}H_{22}N_4O_3$)



Tek boyunlu bir balona 10 mL DMF'te çözülmüş 1 mmol (338.2 mg) bileşik **20** alındı. Üzerine 1 mL distile su içerisinde çözülmüş 5 mmol (325 mg) NaN_3 eklendi. Reaksiyonun 80°C sıcaklıkta 18 saat boyunca karıştırılması sağlandı. Yapılan TLC kontrolü sonrasında reaksiyon sonlandırıldı ve soğumaya bırakıldı. Buzlu suya dökülerek eter-tuzlu su ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Kurutucu olarak Na_2SO_4 kullanıldı, filtreleme işlemi yapılarak organik çözücünün düşük basınç altında uçurulması sağlandı. 200 mg (0.67 mmol) sarı yağımsı madde elde edildi (R_f:0.56; %68 verim).

Elde edilen 0.67 mmol (200 mg) madde üzerine 0.0064 mmol (1.6 mg) $CuSO_4.5H_2O$, 0.013 mmol (2.53 mg) sodyum askorbat, 0.064 mmol (7.78 mg) benzoik asit, 0.635 mmol

(64.76 mg) fenilasetilen ve hacimce 0.6 mL (0.2:0.4 *t*-BuOH:H_2O) kondu ve karışım oda sıcaklığında 18 saat karışmaya bırakıldı ve TLC kontrolü ile reaksiyon sonlandırılarak çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (1:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.18) yardımıyla saflaştırılma işlemi gerçekleştirildi.

Sarı yağımsı madde; %71 verim.

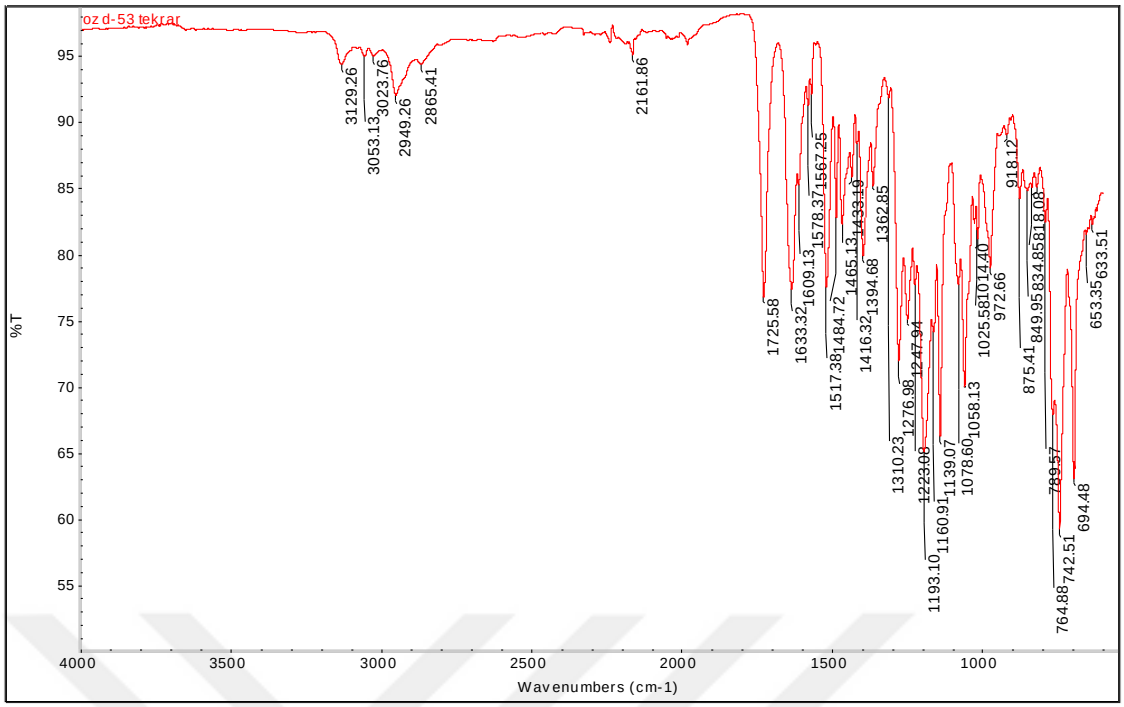
5.1.27.1 Bileşik 26'ya Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν=** 3129 ve 3053 (aromatik, =C-H gerilimleri), 2949 ve 2864 (alifatik, C-H gerilimleri), 1725 ve 1633 (C=O gerilimleri), 1517 (aromatik, C=C gerilimi), 1484, 1465 ve 1395 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1277 (C-N salınımı), 1058 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

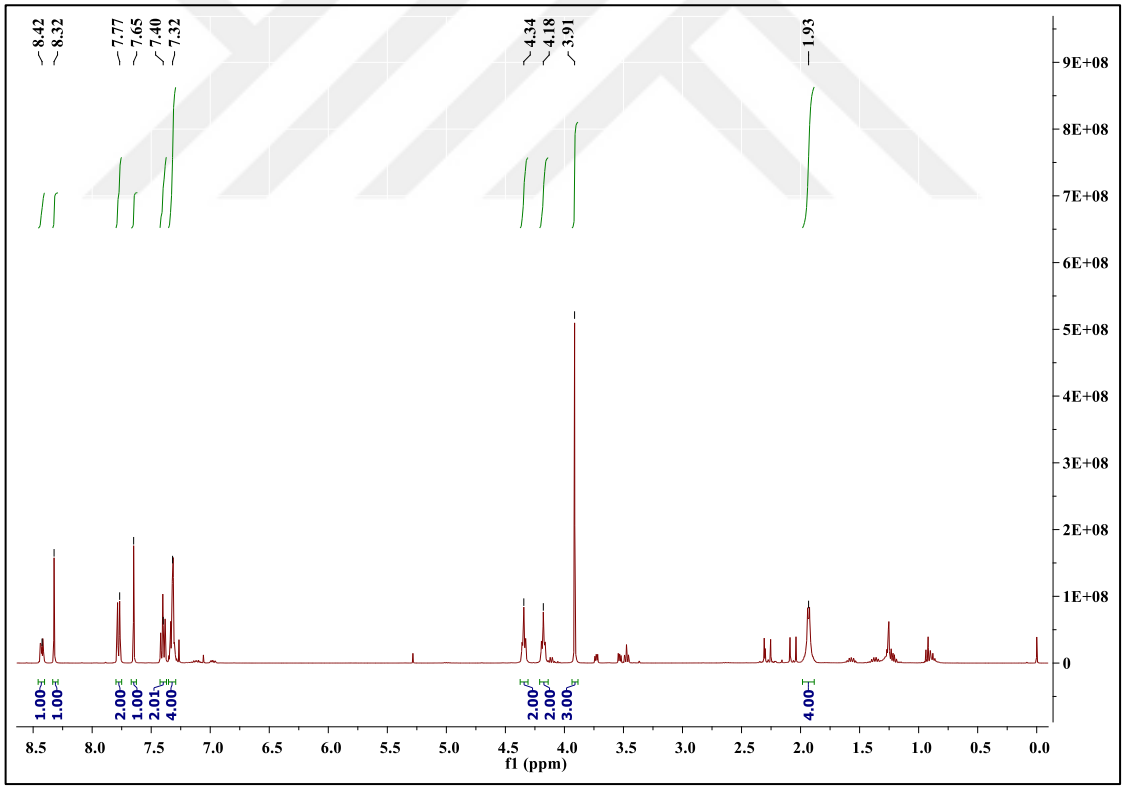
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): **δ:** 1.93 (brds, 4H, CH_2), 3.91 (s, 3H, *O*-CH_3), 4.18 (t, *J*= 6.2 Hz, 2H, CH_2), 4.34 (t, *J*= 6.2 Hz, 2H, CH_2), 7.35-7.28 (m, 4H, ArH), 7.46-7.37 (t, *J*= 7.4 Hz, 2H, ArH), 7.65 (s, 1H, ArH), 7.78 (d, *J= 5.2 Hz*, 2H ArH), 8.32 (s, 1H, ArH), 8.42 (d, *J= 2.6 Hz*, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): **δ:** 26.6 (CH_2), 27.5 (CH_2), 46.7 (CH_2), 49.5 (CH_2), 52.8 (*O*-CH_3), 110.1 (CAr), 113.0 (Cq), 119.7 (CAr), 122.9 (CAr), 123.7 (CAr), 124.4 (CAr), 125.7 (2xCAr), 127.2 (Cq), 128.3 (2xCAr), 128.9 (CAr), 130.4 (CAr), 136.4 (Cq), 139.8 (CAr), 147.9 (Cq), 163.3 (C=O), 176.9 (C=O) ppm.

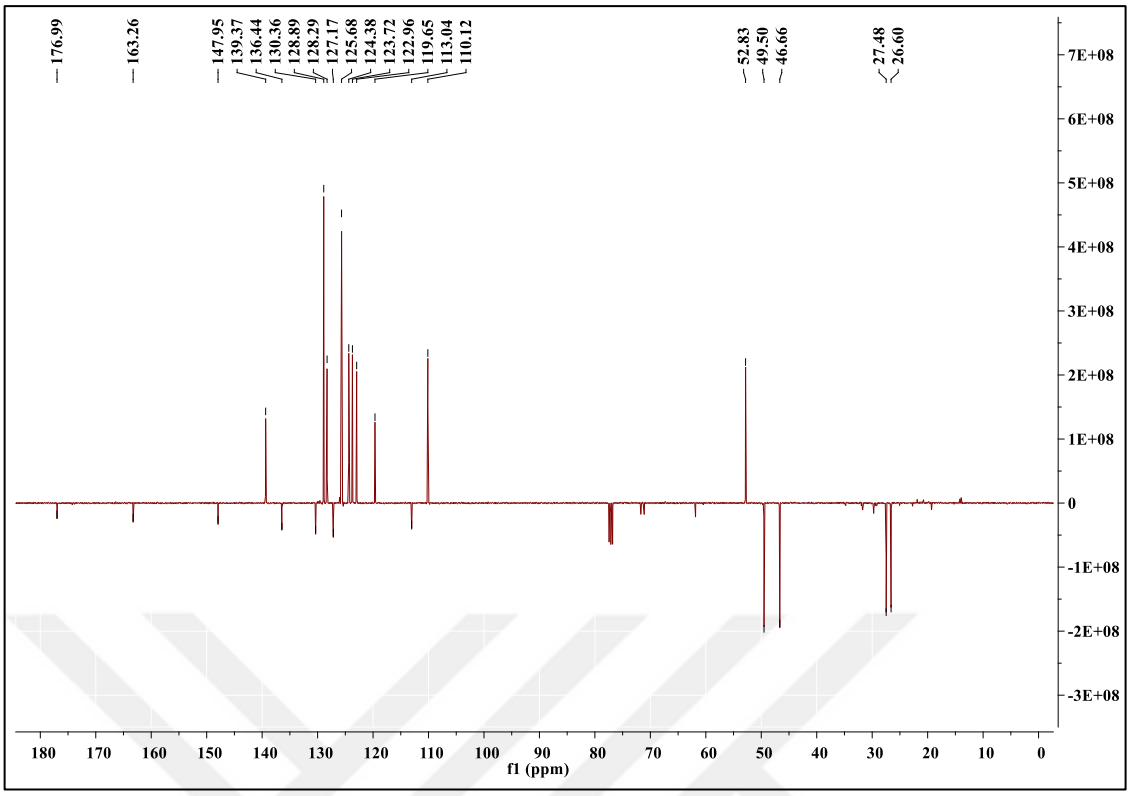
LC-MS (ESI): m/z: $([C_{23}H_{22}N_4O_3]+H)^+$ için hesaplanan 403.1770, bulunan 403.0000.



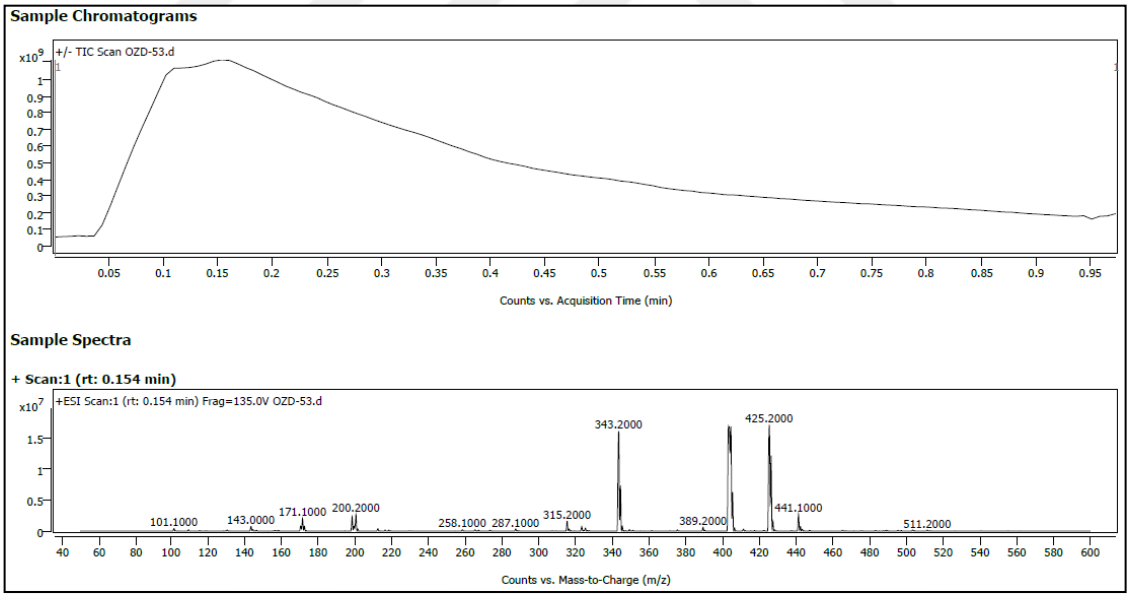
Şekil 5.88 Bileşik **26**'nın FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 5.89 Bileşik **26**'nın ^{1}H-NMR spektrumu

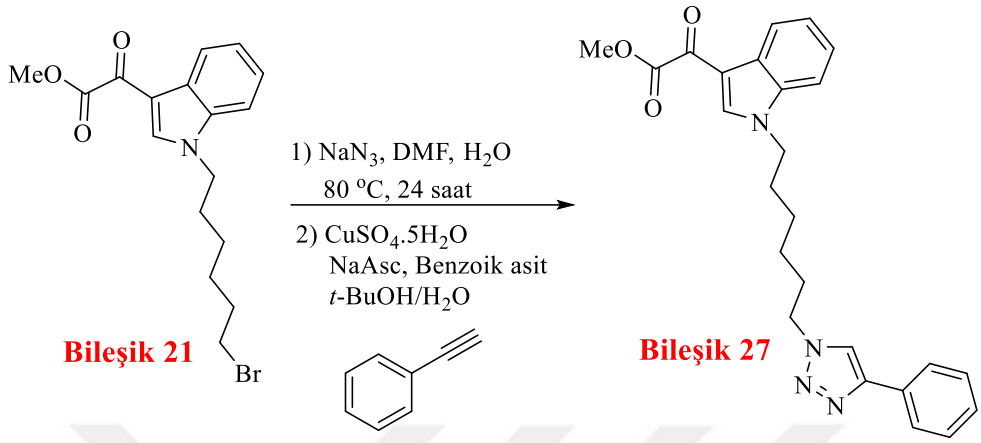


Şekil 5.90 Bileşik **26**'nın APT spektrumu



Şekil 5.91 Bileşik **26**'nın LC-MS Spektrumu

5.1.28 Metil 2-okso-2-(1-(6-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)hekzil)-1*H*-indol-3-il)asetat Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 27, $C_{25}H_{26}N_4O_3$)



Tek boyunlu bir balona 5 mL DMF'te çözülmüş 0.5 mmol (183.1 mg) Bileşik **21** alındı. Üzerine 0.5 mL distile su içerisinde çözülmüş 2.5 mmol (163 mg) NaN_3 eklendi. Reaksiyon 80°C sıcaklıkta 18 saat boyunca karıştırıldı. TLC kontrolü sonrasında reaksiyon sonlandırıldı ve soğumaya bırakıldı. Buzlu tuzlu suya döküldükten sonra eter ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Kurutucu olarak Na_2SO_4 kullanıldı, filtreleme işlemi sonrasında organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. 262 mg (0.80 mmol) sarı yağımsı madde elde edildi (R_f:0.56; %80 verim).

Elde edilen 0.80 mmol (262 mg) madde üzerine 0.0076 mmol (1.9 mg) $CuSO_4.5H_2O$, 0.01 mmol (1.94 mg) sodyum askorbat, 0.049 mmol (5.98 mg) benzoik asit, 0.76 mmol (77.8 mg) fenilasetilen ve hacimce 0.75 mL (0.25:0.5 *t*-BuOH:H_2O) konur ve karışım oda sıcaklığında 18 saat karışmaya bırakıldı. Bir gece sonunda sonlandırılan reaksiyona ait çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (1:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.16) yardımıyla saflaştırıldı.

Sarı yağımsı madde; %54 verim.

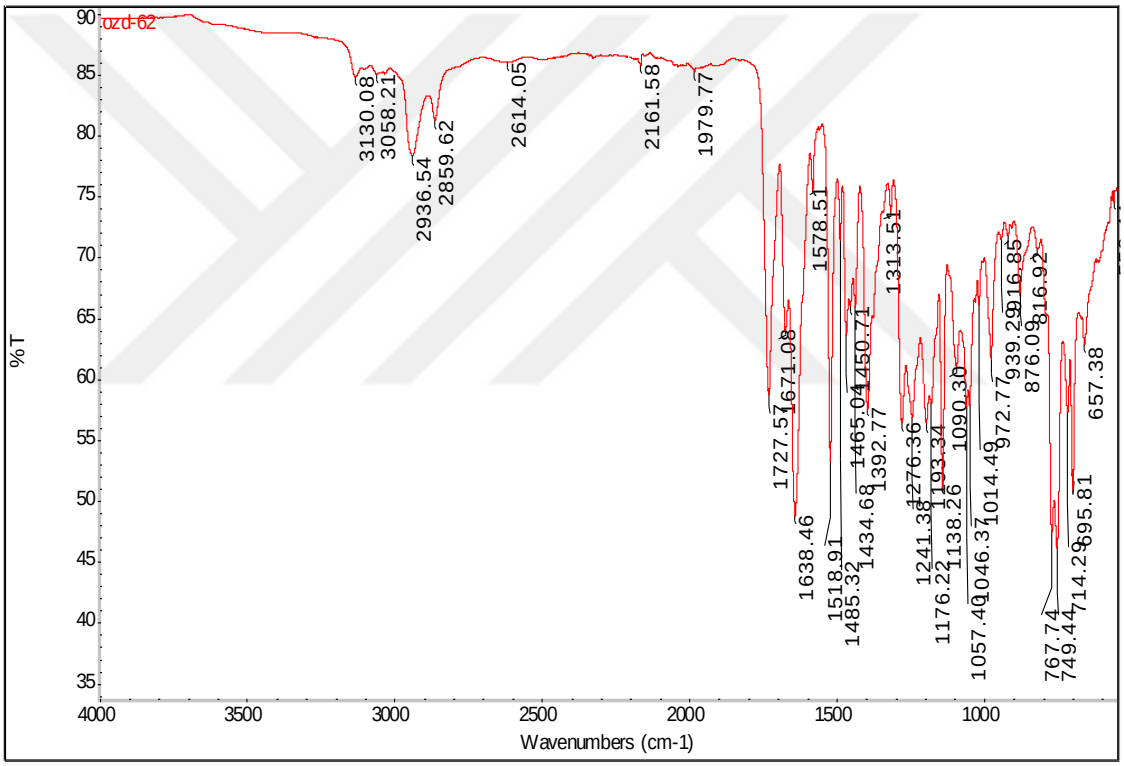
5.1.28.1 Bileşik 27'ye Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν=** 3130 ve 3058 (aromatik, =C-H gerilimleri), 2937 ve 2860 (alifatik, C-H gerilimleri), 1728 ve 1671 (C=O gerilimleri), 1519 (aromatik, C=C gerilimi), 1465, 1435 ve 1393 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1241 (C-N salınımı), 1057 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

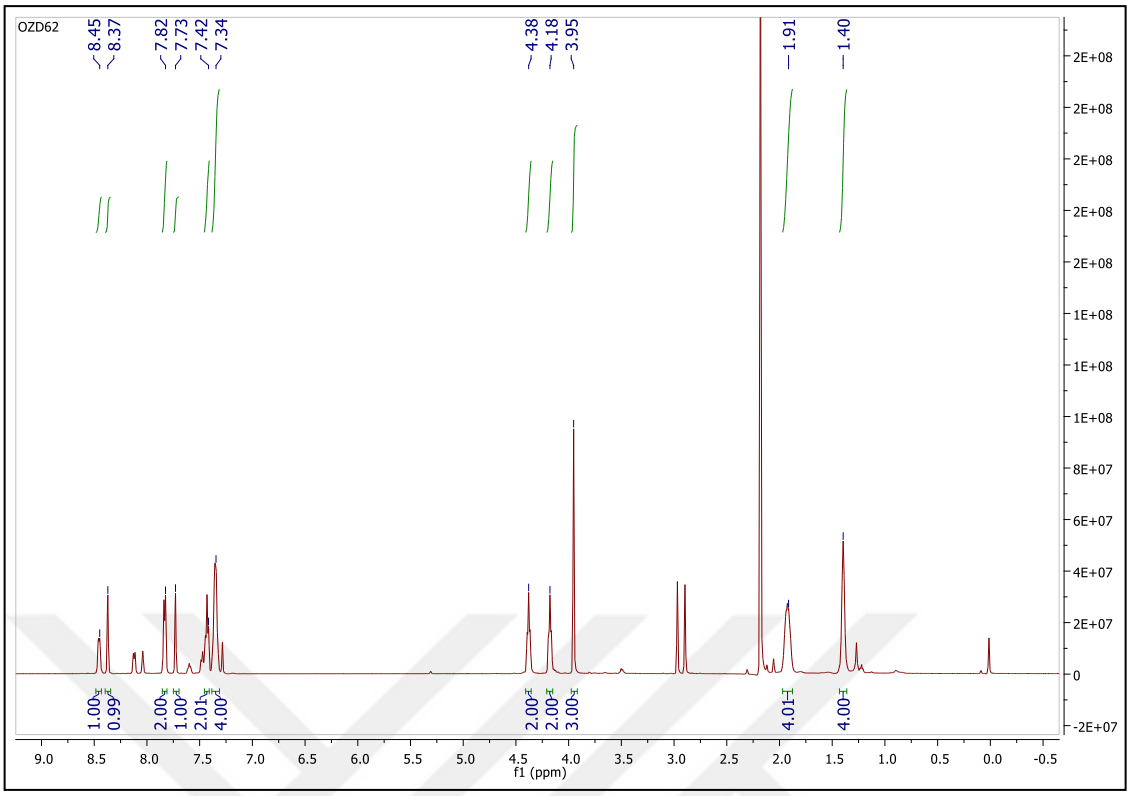
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): **δ:** 1.40 (brds, 4H, CH_2), 1.91 (brds, 4H, CH_2), 3.95 (s, 3H, *O*-CH_3), 4.18 (t, *J*= 6.6 Hz, 2H, CH_2), 4.38 (t, *J*= 6.7 Hz, 2H, CH_2), 7.34-7.39 (m, 4H, ArH), 7.42-7.45 (m, 2H, ArH), 7.73 (s, 1H, ArH), 7.82 (d, *J*= 7.0 Hz, 2H ArH), 8.37 (s, 1H, ArH), 8.45 (d, *J*= 6.6 Hz, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): **δ:** 26.0 (CH_2), 26.2 (CH_2), 29.5 (CH_2), 30.1 (CH_2), 47.2 (CH_2), 50.10 (CH_2), 52.7 (*O*-CH_3), 110.1 (CAr), 112.9 (Cq), 119.5 (CAr), 122.9 (CAr), 123.6 (CAr), 124.2 (CAr), 125.7 (CAr), 127.2 (Cq), 128.2 (CAr), 128.4 (CAr), 128.9 (CAr), 130.1 (CAr), 130.6 (Cq), 136.6 (Cq), 139.4 (CAr), 147.8 (Cq), 163.4 (C=O), 176.9 (C=O) ppm.

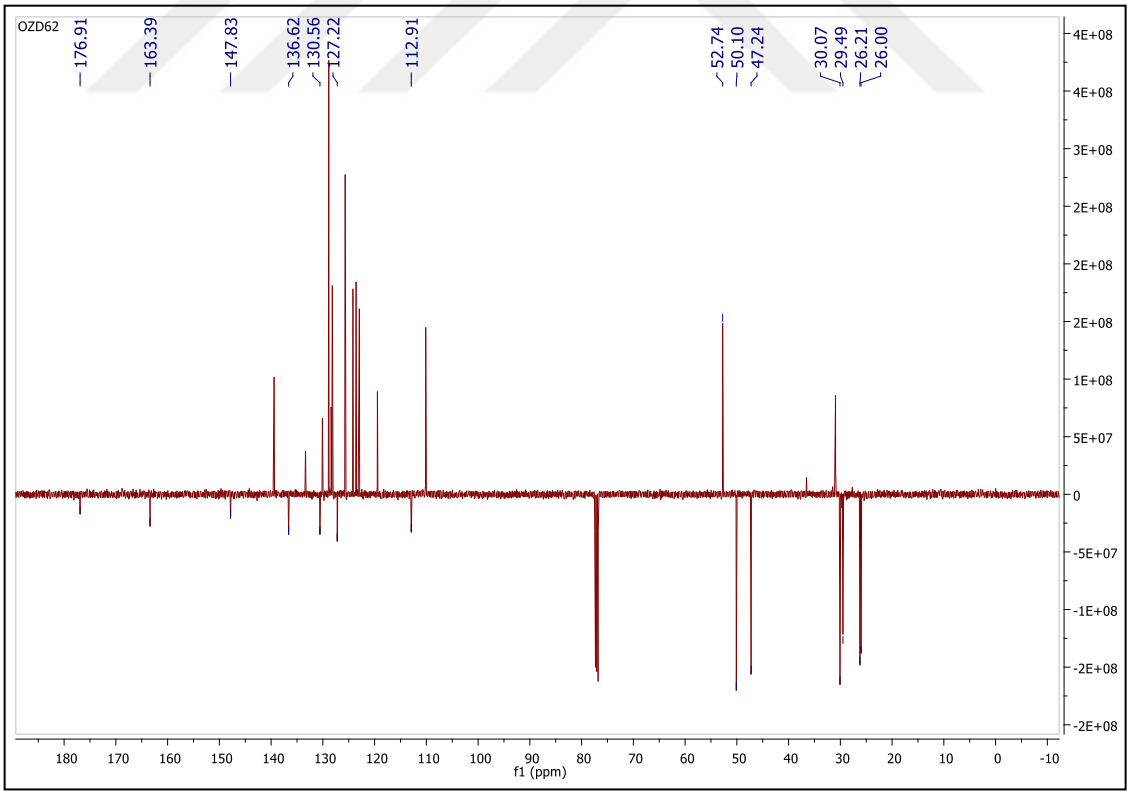
LC-MS (ESI): m/z: $([C_{25}H_{26}N_4O_3]+H)^+$ için hesaplanan 431.2083, bulunan 432.3000.



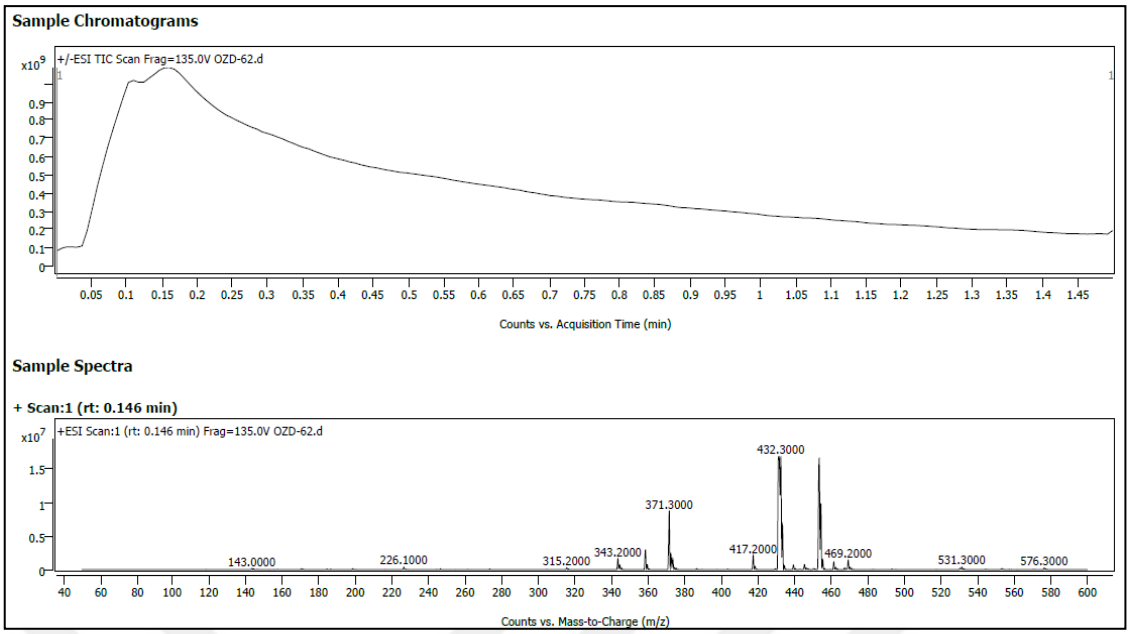
Şekil 5.92 Bileşik **27**'nin FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 5.93 Bileşik **27**'nin ^{1}H-NMR Spektrumu ($CDCl_3$)

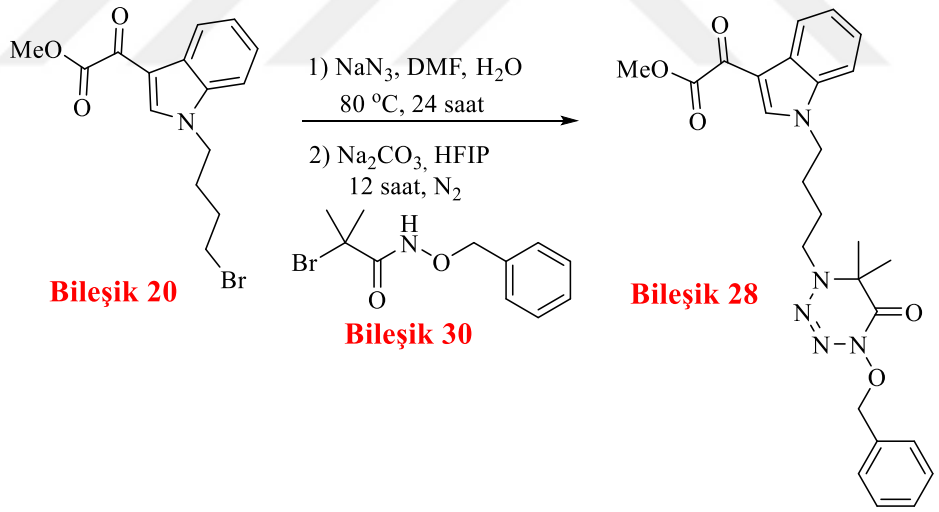


Şekil 5.94 Bileşik **27**'nin APT Spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.95 Bileşik **27**'nin LC-MS Spektrumu

5.1.29 Metil 2-(1-(4-(4-(benziloksi)-6,6-dimetil-5-okso-5,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-1(4*H*)-il)bütil)-1*H*-indol-3-il)-2-oksoasetat Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 28, $C_{26}H_{29}N_5O_5$)



Tek boyunlu bir balona 10 mL DMF'te çözülmüş 1 mmol (338.2 mg) Bileşik **20** alındı. Üzerine 1 mL distile suda çözülmüş 5 mmol (325 mg) NaN_3 eklendi. Reaksiyon 80°C sıcaklıkta 18 saat boyunca karıştırıldı. TLC kontrolü sonrasında reaksiyon sonlandırıldı ve soğumaya bırakıldı. Buzlu tuzlu suya dökülerek eter ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Kurutucu olarak Na_2SO_4 kullanıldı, filtreleme işlemi sonrasında organik çözücü düşük basınç altında uçuruldu. 200 mg (0.67 mmol) sarı yağımsı madde elde edildi (R_f: 0.56; %68 verim).

Elde edilen 0.67 mmol (200 mg) madde ve 0.67 mmol (182.3 mg) *N*-(benziloksi)-2-bromo-2-metilpropanamid bileşiği (bileşik **30**) bir schlenk tüpüne alındı ve üzerine 2.5 mL HFIP çözücüsü eklenerek çözünmesi sağlandı. Daha sonra üzerine 1.34 mmol (185.2 mg) susuz K_2CO_3 ilave edildi. Reaksiyon azot atmosferi altında 12 saat boyunca karışmaya bırakıldı. TLC kontrolü sonrasında reaksiyon sonlandırıldı ve selitten süzüldü. Organik faz düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (1:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.40) yardımıyla saflaştırıldı.

Beyaz yağımsı madde; %58 verim.

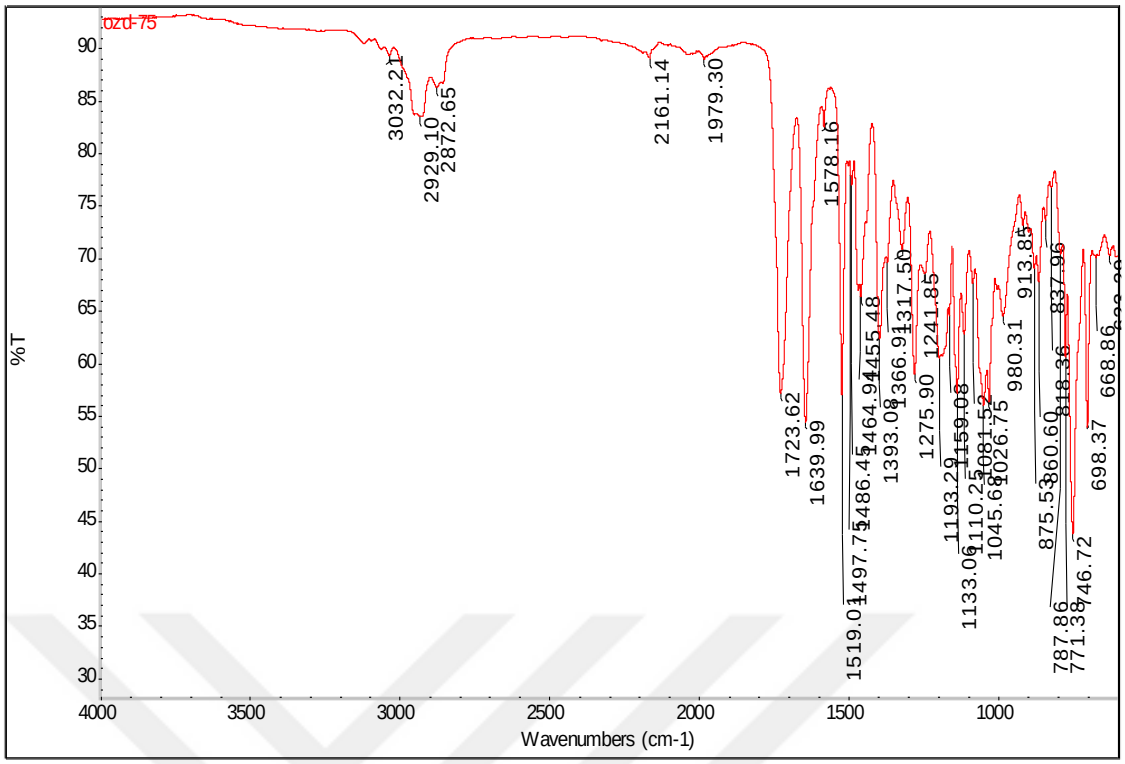
5.1.29.1 Bileşik 28'in Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): **ν=** 3032 (aromatik, =C-H gerilimi), 2929 ve 2873 (alifatik, C-H gerilimleri), 1724 ve 1640 (C=O gerilimleri), 1519 ve 1498 (aromatik, C=C gerilimleri), 1465, 1455 ve 1393 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1193 (C-N salınımı), 1081 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

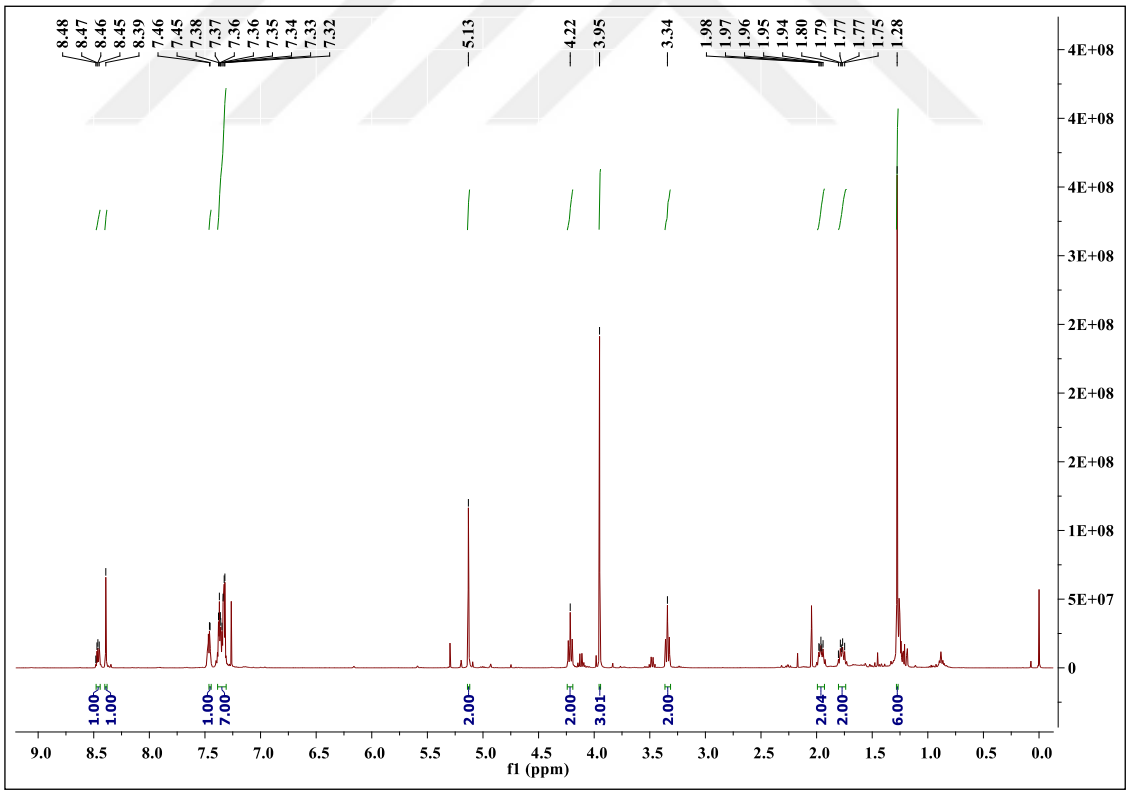
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.28 (s, 6H, 2xCH_3), 1.80-1.74 (p, 2H, CH_2), 1.98-1.94 (p, 2H, CH_2), 3.34 (t, *J*=6.8 Hz, 2H, N- CH_2), 3.95 (s, 3H, *O*-CH_3), 4.22 (t, *J*= 7.1 Hz, 2H, *N*-CH_2), 5.13 (s, 2H, *O*-CH_2) 7.39-7.31 (m, 7H, ArH), 7.46 (d, *J*= 2.2 Hz, 1H, ArH), 8.39 (s, 1H, ArH), 8.48-8.45 (m, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 20.4 (2xCH_3), 26.8 (CH_2), 26.9 (CH_2,), 47.1 (*N*-CH_2), 47.9 (*N*-CH_2), 52.8 (*O*-CH_3), 59.7 (Cq), 78.5 (*O*-CH_2), 110.0 (CAr), 113.0 (Cq), 123.0 (CAr), 123.7 (CAr), 124.3 (CAr), 127.3 (Cq), 128.5 (2xCAr), 129.1 (CAr), 129.8 (2xCAr), 133.8 (Cq), 136.5 (Cq), 139.4 (CAr), 162.2 (C=O), 163.3 (C=O), 176.8 (C=O) ppm.

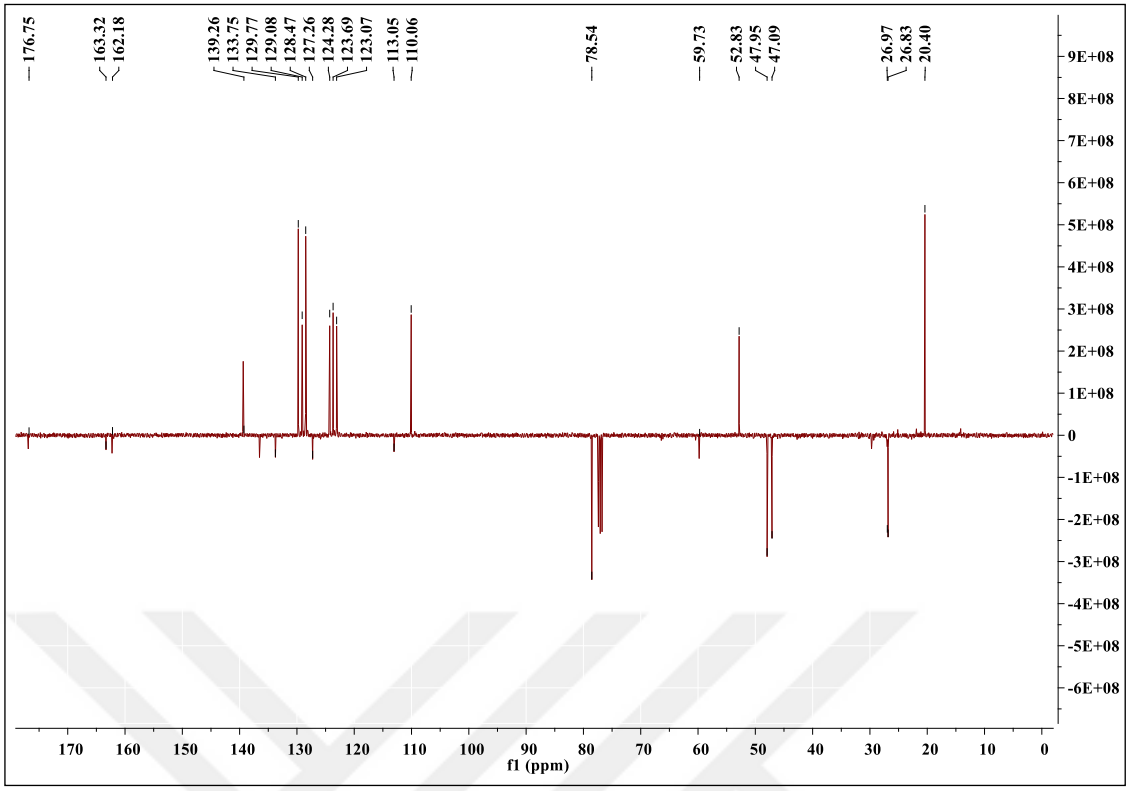
LC-MS (ESI): m/z: $([C_{26}H_{29}N_5O_5]+H)^+$ için hesaplanan 491.2247, bulunan 492.3000.



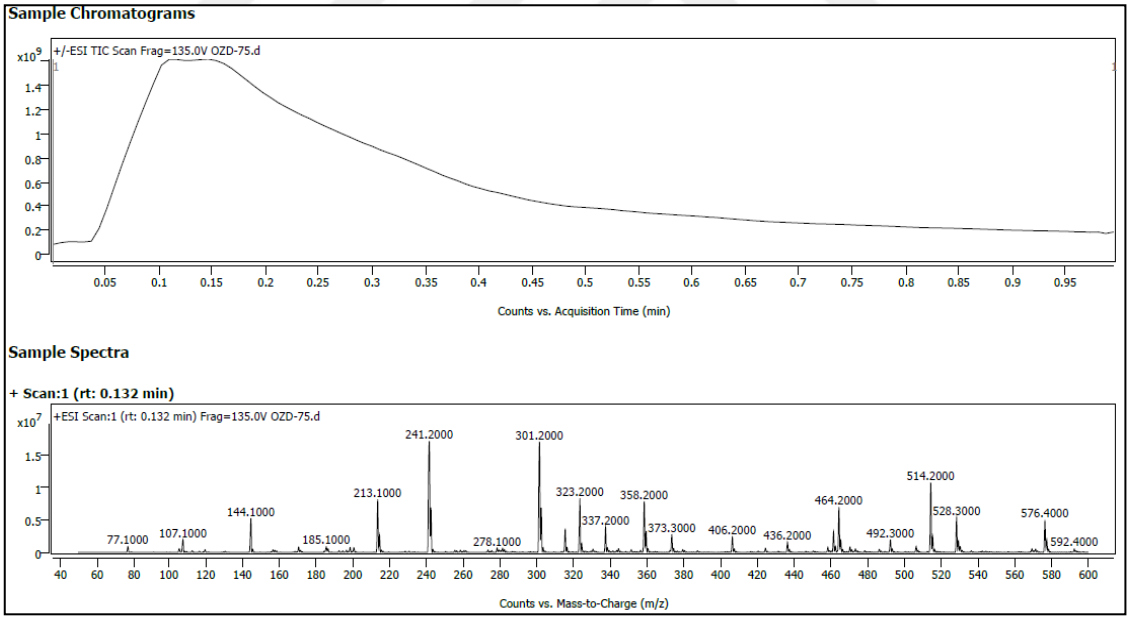
Şekil 5.96 Bileşik **28**'in FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 5.97 Bileşik **28**'in ^{1}H NMR Spektrumu ($CDCl_3$)

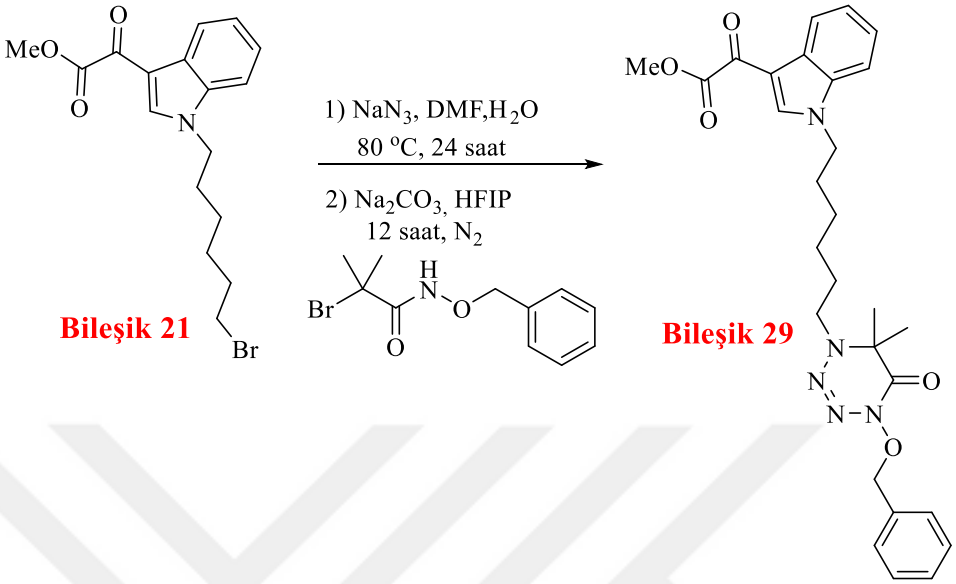


Şekil 5.98 Bileşik **28**'in APT Spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.99 Bileşik **28**'in LC-MS Spektrumu

5.1.30 Metil 2-(1-(6-(4-(benziloksi)-6,6-dimetil-5-okso-5,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-1(4*H*)-il)hekzil)-1*H*-indol-3-il)-2-oksoasetat Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 29, $C_{28}H_{33}N_5O_5$)



Tek boyunlu bir balona 5 mL DMF'te çözülmüş 0.5 mmol (183.1 mg) Bileşik **21**, alındı. Üzerine 0.5 mL distile suda çözülmüş 2.5 mmol (163 mg) NaN_3 eklendi. Reaksiyon karışımı 80°C sıcaklıkta 18 saat boyunca karıştırıldı. TLC kontrolü sonrasında reaksiyon sonlandırıldı ve soğumaya bırakıldı. Tuzlu buzlu suya dökülerek eter ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Kurutucu olarak Na_2SO_4 kullanıldı, filtreleme işlemi sonrasında organik çözücü düşük basınç altında uçuruldu. 262 mg (0.80 mmol) sarı yağımsı madde elde edildi (R_f:0.56; %80 verim).

Elde edilen 0.80 mmol (262 mg) madde ve 0.8 mmol (218 mg) *N*-(benziloksi)-2-bromo-2-metilpropanamid bileşiği (bileşik **30**) bir schlenk tüpüne alındı ve üzerine 3 mL HFIP çözücüsü eklenerek çözünmesi sağlandı. Daha sonra üzerine 1.6 mmol (221.1 mg) susuz K_2CO_3 ilave edildi. Reaksiyon azot atmosferi altında 12 saat boyunca karışmaya bırakıldı. Reaksiyon karışımı selitten süzüldü, organik çözücü düşük basınç altında uçuruldu. Kalıntı kolon kromatografisi (1:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.40) uygulanarak saflaştırıldı.

Beyaz yağımsı madde; %42 verim.

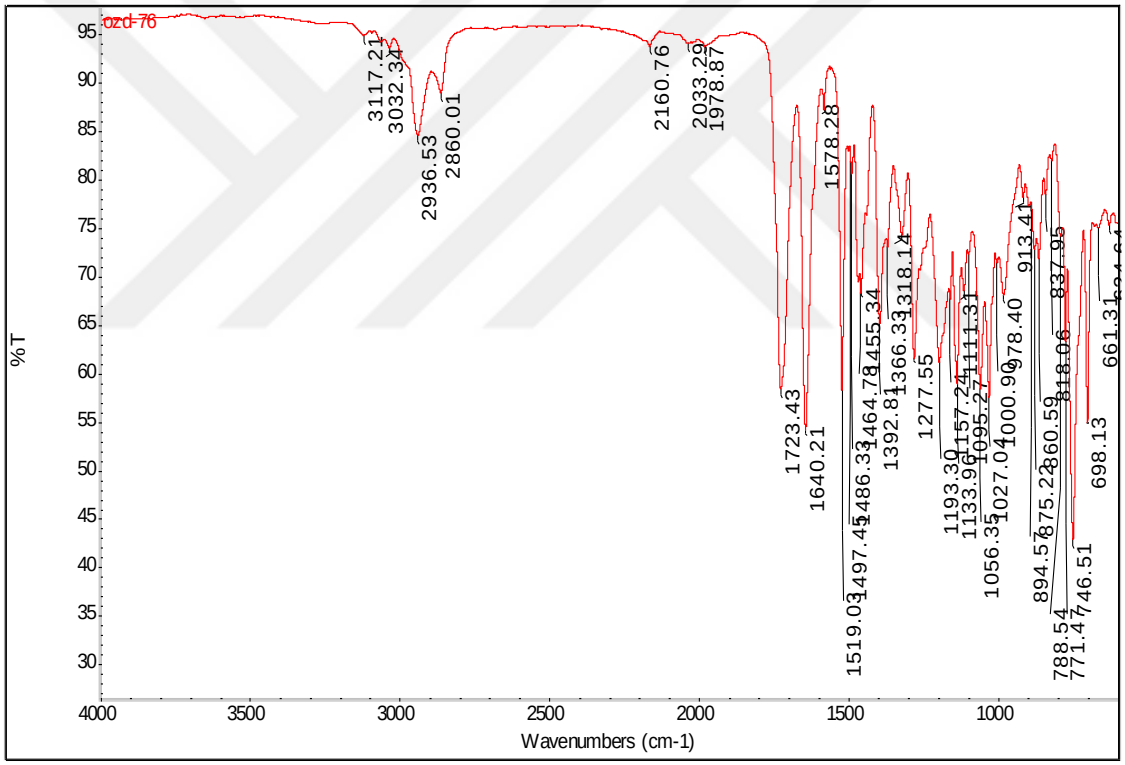
5.1.30.1 Bileşik 29'a Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν=** 3117 ve 3032 (aromatik, =C-H gerilimleri), 2937 ve 2860 (alifatik, C-H gerilimleri), 1723 ve 1640 (C=O gerilimleri), 1519 ve 1497 (aromatik, C=C

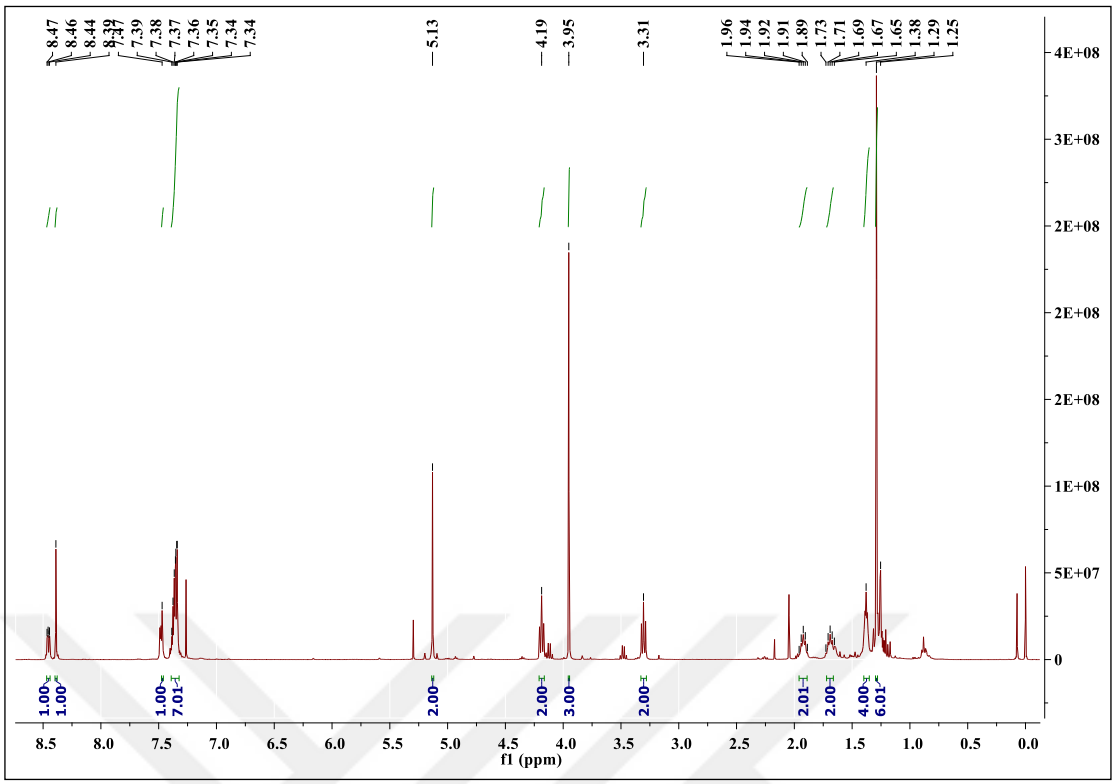
gerilimleri), 1465, 1455 ve 1393 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1193 (C-N salınımı), 1056 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.29 (s, 6H, 2xCH_3), 1.38 (dd , *J= 4.2, 3.3* Hz, 4H, 2x CH_2), 1.73-1.65 (p, 2H, CH_2), 1.96-1.89 (p, 2H, CH_2) 3.31 (t, *J=7.2* Hz, 2H, N-CH_2), 3.95 (s, 3H, OCH_3), 4.19 (t, *J= 7.1* Hz, 2H, N-CH_2), 5.13 (s, 2H, O-CH_2) 7.39-7.32 (m, 7H, ArH), 7.47 (d, *J= 1.9* Hz, 1H, ArH), 8.39 (s, 1H, ArH), 8.48-8.45 (m, 1H, ArH) ppm.

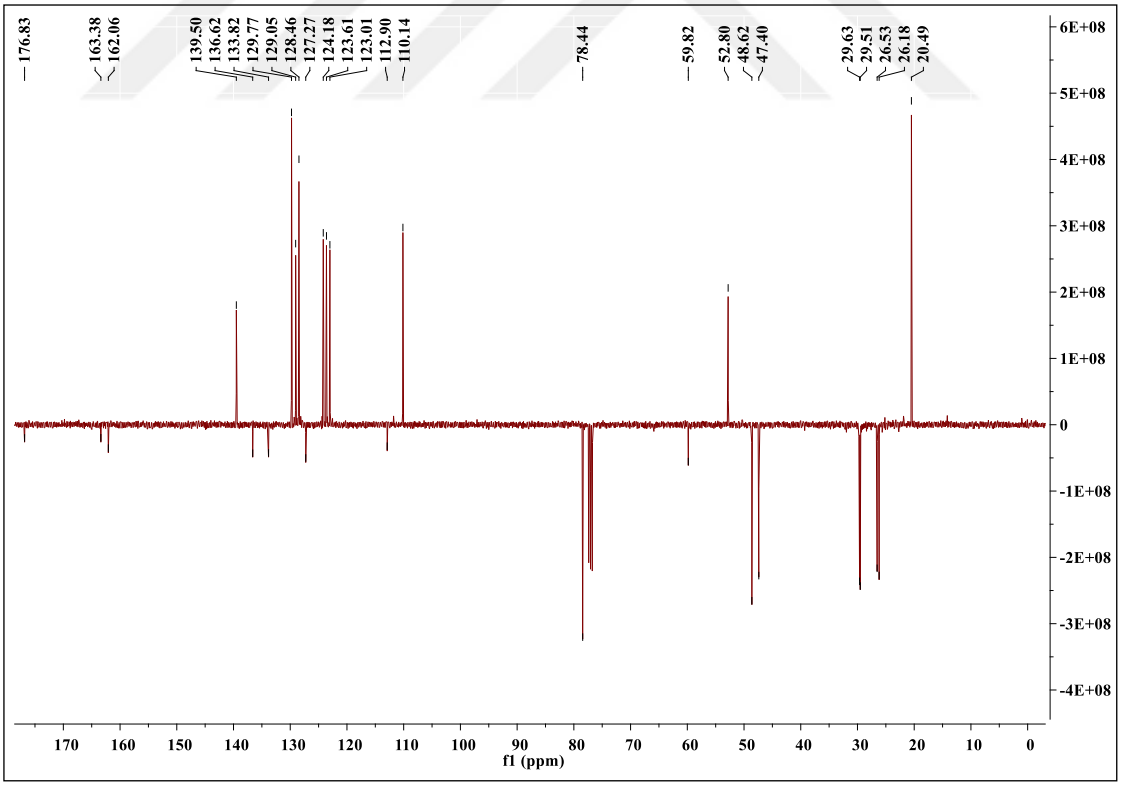
APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 20.5 (2xCH_3), 26.2 (CH_2), 26.5 (CH_2), 29.5 (CH_2,), 29.6 (CH_2), 47.4 (*N*-CH_2), 48.6 (*N*-CH_2), 52.8 (*O*-CH_3), 59.8 (Cq), 78.4 (*O*-CH_2) 110.1 (CAr), 112.9 (Cq), 123.0 (CAr), 123.6 (CAr), 124.2 (CAr), 127.3 (Cq), 128.5 (2xCAr), 129.1 (CAr), 129.8 (2xCAr), 133.8 (Cq), 136.6 (Cq), 139.5 (CAr), 162.1 (C=O), 163.4 (C=O), 176.8 (C=O) ppm.



Şekil 5.100 Bileşik **29**'un FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 5.101 Bileşik **29**'un ^{1}H NMR Spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.102 Bileşik **29**'un APT Spektrumu ($CDCl_3$)

5.2 Aza-oksiallil Katyonlar ile İlgili Yapılan Deneysel Çalışmalar

5.2.1 Materyal ve Yöntem

5.2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler, Araç ve Gereçler

Tablo 5.2 Kullanılan kimyasal maddeler

KİMYASAL ADI	MARKA ADI	CAS NUMARASI
1,4-Dibromobütan	Sigma-Aldrich	140805
1,1,1,3,3,3-Hekzafloro-2-propanol	Merck	105228
1,2-Dibromoetan	Sigma-Aldrich	800952
1-Bromo-4-klorobütan	Merck	B60800
1-Bromohekzan	Merck	B68240
2-Bromoizobütiril bromid	Sigma-Aldrich	252271
3,5-Dimetoksibenzaldehit	Merck	126292
4-Bromo-1-büten	Sigma-Aldrich	841642
4-Bromoanilin	Merck	100900
4-Floro-3-kloroanilin	Sigma-Aldrich	818752
4-Floroanilin	Merck	F3800
4-Hidroksibenzaldehit	Merck	144088
4-İzopropilbenzaldehit	Sigma-Aldrich	135178
4-Kloroanilin	Merck	C22415
5-Metiltiyofen-2-karbaldehit	Sigma-Aldrich	M84410
Anilin	Sigma-Aldrich	822256
Diklorometan	Merck	106049
Etil asetat	Merck	100864
Floren-2-karbaldehit	Sigma-Aldrich	150142
Hidroklorik asit	Merck	100317
Hekzan	Merck	104367
O-Benzilhidroksilamin	Merck	B22984
Sodyum azid	Sigma-Aldrich	S2002
Sodyum karbonat	Merck	106392
Sodyum nitrit	Merck	237213
Tetrahidrofuran	Merck	108110

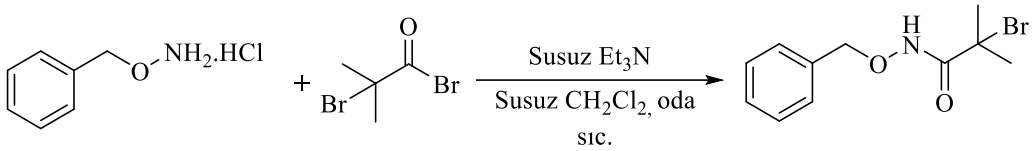
Tüm reaksiyonlar, aksi belirtilmedikçe manyetik karıştırıcı ile donatılmış ve fırında kurutulmuş cam kaplarda, inert atmosfer altında gerçekleştirildi.

İnert atmosferde yapılması gereken tüm reaksiyonlar için schlenk sistemi kullanıldı.

Reaksiyonda kullanılan HFIP Sigma Aldrich firmasından temin edildi ve herhangi bir işlem görmeden direk kullanıldı.

Bileşikler, $CDCl_3$ veya DMSO-d_6 çözücüleri içerisinde çözünmesi sağlandu ve bileşiklerin ^{1}H ve ^{13}C-NMR (APT) spektrumları, Bruker Avance III-500 MHz NMR spektrometre cihazı kullanılarak alındı.

5.2.2 *N*-(Benziloksi)-2-bromo-2-metilpropanamid Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 30, $C_{11}H_{14}BrNO_2$)



Bileşik 30

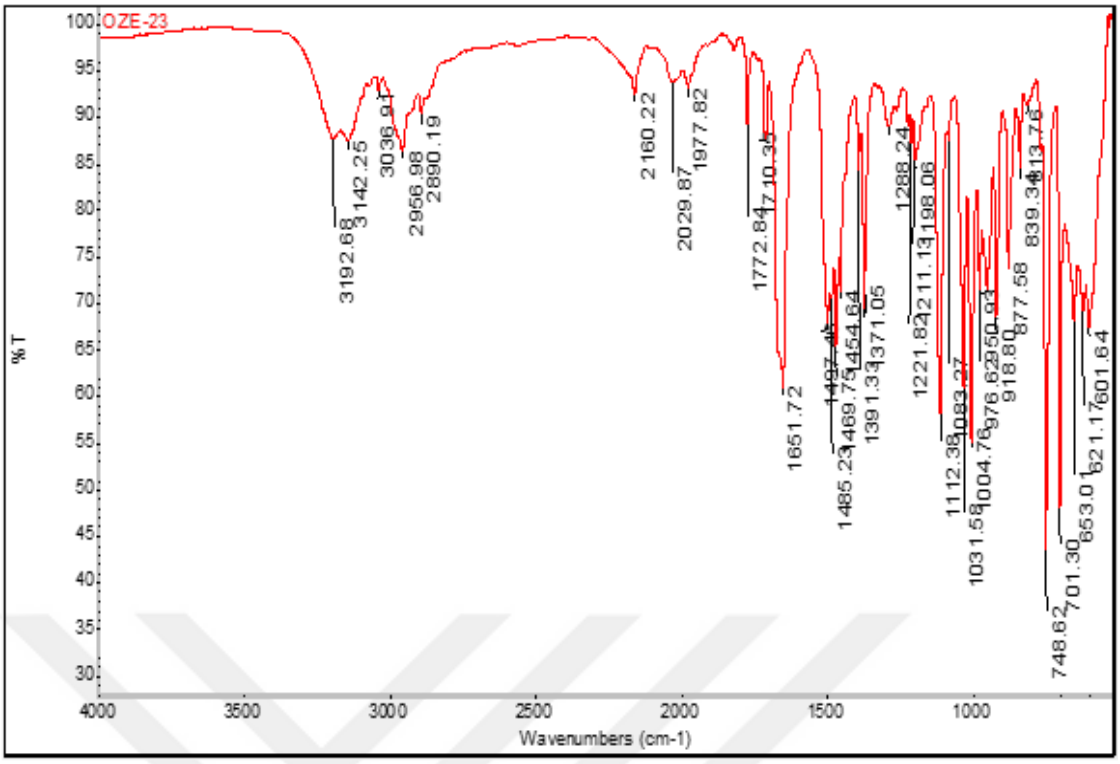
2.5 mmol (399.03 mg) *O*-benzilhidroksilamin hidroklorür çift boyunlu bir balona alındı. Balon içerisine 2.5 mmol (252.95 mg) susuz TEA eklendikten sonra çözecek kadar susuz CH_2Cl_2 ilave edilerek 0°C'de karışmaya bırakıldı. Bir enjektör yardımıyla 2.5 mmol (574.75 mg) 2-bromoizobutiril bromid damla damla eklendi ve bu sırada beyaz çökelti oluşumu gözlendi. 18 saat sonra TLC kontrolü (1:1 etil asetat/n-hekzan) yapılıp karışıma su ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Kurutma için $MgSO_4$ kullanılır ve solvnet uçuruldu. Petrol eteri ve eter karışımı yardımıyla yağımsı maddenin çöktürülerek saflaştırılması sağlandı.

Beyaz katı; e.n. 88.6-91.1°C, R_f: 0.2 (3:1 *n*-hekzan/etil asetat), %87 verim (Zhang vd., 2019).

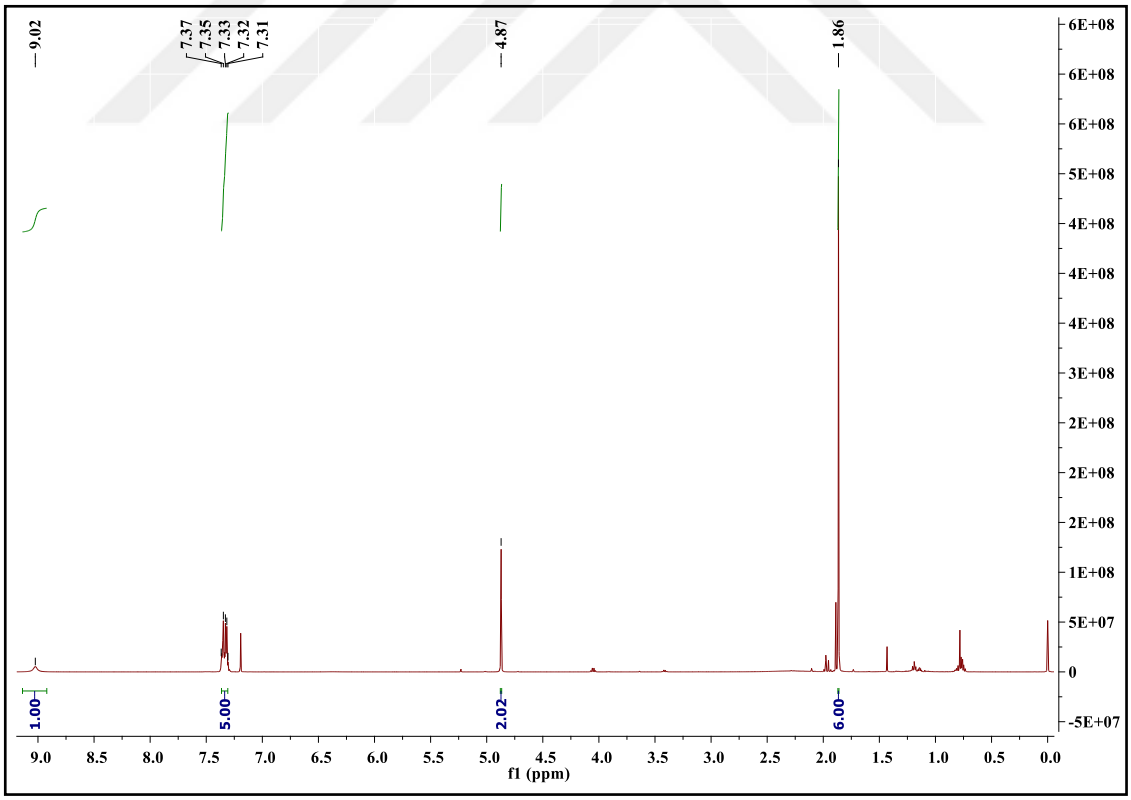
5.2.2.1 Bileşik 30'a Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): ν = 3192 (N-H gerilimi), 3036 (aromatik, =C-H gerilimi), 2956 ve 2890 (alifatik, C-H gerilimleri), 1651 (C=O gerilimi), 1497, 1469 ve 1454 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1031 (C-N salınımı), 748 ve 701 (monosubstituearomatik halka, düzlem dışı C-H eğilimleri) cm^{-1}.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.86 (s, 6H, 2xCH_3), 4.87 (s, 2H, CH_2), 7.31-7.37 (m, 5H, ArH) ve 9.02 (brs, 1H, NH).

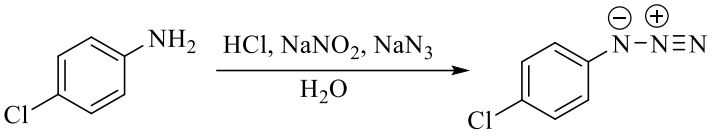


Şekil 5.103 Bileşik **30**'un FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.104 Bileşik **30**'un ^{1}H-NMR spektrumu

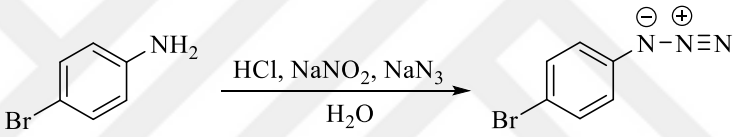
5.2.3 1-Azido-4-klorobenzen Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 31, $C_6H_4ClN_3$)



Bileşik 31

5 mmol 4-Kloroanilin tartılarak balona konuldu ve üzerine 6N 5 mL HCl ilave edildi. Reaksiyon karışımını 0°C'de karıştırıldı. Reaksiyon karışımına $NaNO_2$'nin (7.5 mmol) sudaki (12.5 mL) çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımının 30 dk boyunca buz banyosunda karışması sağlandı. Daha sonra üzerine NaN_3'ün (20 mmol) sudaki çözeltisi (25 mL) damla damla ilave edildi. 1-2 saat sonra CH_2Cl_2 ile ekstraksiyon yapıldı ve organik faz $MgSO_4$ ile kurutuldu. Bileşik **31** %100 verimle elde edildi (Dai vd., 2015).

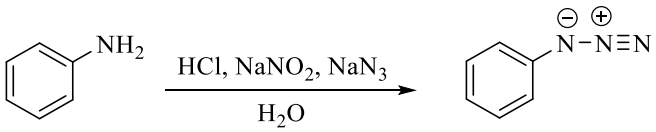
5.2.4 1-Azido-4-bromobenzen Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 32, $C_6H_4BrN_3$)



Bileşik 32

5 mmol 4-Bromoanilin tartılarak balona konuldu ve üzerine 6N 5 mL HCl ilave edildi. Reaksiyon karışımı 0°C'de karıştırıldı. Reaksiyon karışımına $NaNO_2$'nin (7.5 mmol) sudaki (12.5 mL) çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımının 30 dk boyunca buz banyosunda karışması sağlandı. Daha sonra üzerine NaN_3'ün (20 mmol) sudaki çözeltisi (25 mL) damla damla ilave edildi. 1-2 saat sonra CH_2Cl_2 ile ekstraksiyon yapıldı ve organik faz $MgSO_4$ ile kurutuldu. Bileşik **32** %95 verimle elde edildi (Dai vd., 2015).

5.2.5 Azidobenzen Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 33, $C_6H_5N_3$)

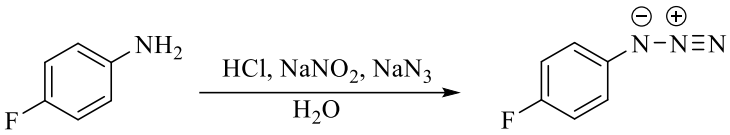


Bileşik 33

5 mmol Anilin tartılarak balona konuldu ve üzerine 6N 5 mL HCl ilave edildi. Reaksiyon karışımı 0°C'de karıştırıldı. Reaksiyon karışımına $NaNO_2$'nin (7.5 mmol) sudaki (12.5 mL) çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımının 30 dk boyunca buz

banyosunda karışması sağlandı. Daha sonra üzerine NaN_3'ün (20 mmol) sudaki çözeltisi (25 mL) damla damla ilave edildi. 1-2 saat sonra CH_2Cl_2 ile ekstraksiyon yapıldı ve organik faz $MgSO_4$ ile kurutuldu. Bileşik **33** %99 verimle elde edildi (Dai vd., 2015).

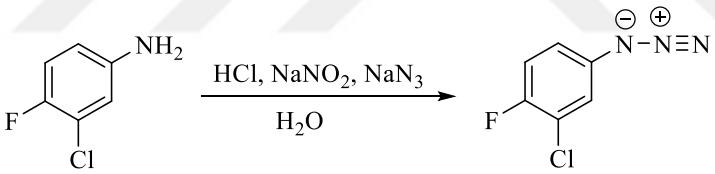
5.2.6 1-Azido-4-florobenzen Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 34, $C_6H_4FN_3$)



Bileşik 34

5 mmol 4-Floroanilin tartılarak balona konuldu ve üzerine 6N 5 mL HCl ilave edildi. Reaksiyon karışımı 0°C'de karıştırıldı. Reaksiyon karışımına $NaNO_2$'nin (7.5 mmol) sudaki (12.5 mL) çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımının 30 dk boyunca buz banyosunda karışması sağlandı. Daha sonra üzerine NaN_3'ün (20 mmol) sudaki çözeltisi (25 mL) damla damla ilave edildi. 1-2 saat sonra CH_2Cl_2 ile ekstraksiyon yapıldı ve organik faz $MgSO_4$ ile kurutuldu. Bileşik **34** %90 verimle elde edildi (Dai vd., 2015).

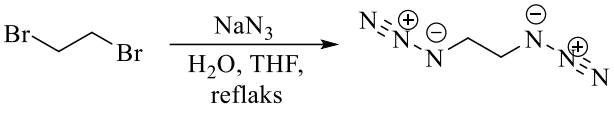
5.2.7 4-Azido-2-kloro-1-florobenzen Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 35, $C_6H_3ClFN_3$)



Bileşik 35

5 mmol 4-Floro-3-kloroanilin tartılarak balona konuldu ve üzerine 6N 5 mL HCl ilave edildi. Reaksiyon karışımı 0°C'de karıştırıldı. Reaksiyon karışımına $NaNO_2$'nin (7.5 mmol) sudaki (12.5 mL) çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımının 30 dk boyunca buz banyosunda karışması sağlandı. Daha sonra üzerine NaN_3'ün (20 mmol) sudaki çözeltisi (25 mL) damla damla ilave edildi. 1-2 saat sonra CH_2Cl_2 ile ekstraksiyon yapıldı ve organik faz $MgSO_4$ ile kurutuldu. Bileşik **35** %85 verimle elde edildi (Dai vd., 2015).

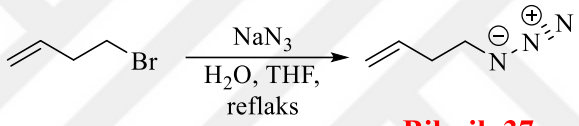
5.2.8 1,2-Diazidoetan Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 36, $C_2H_4N_6$)



Bileşik 36

NaN_3'ün (14.3 g, 0.22 mol) sudaki (28 mL) çözeltisi bir balona konuldu ve geri soğutucu altında kaynaması sağlandı. Daha sonra reaksiyon ortamına 1,2-dibromoetanın (0.15 mol) THF (5.8 mL) içerisindeki çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı 12 saat soyunca refluks edildi. TLC kontrolü sonucunda reaksiyon sonlandırıldı. Oda sıcaklığına gelen reaksiyon karışımı bir ayırma hunisine alınarak organik faz ayrıldı ve su ile (2x10mL) yıkandı. $MgSO_4$ ile kurutuldu ve vakum altında çözücüsü uzaklaştırıldı. Bileşik **36** %76 verimle elde edildi (Swetha vd., 2011).

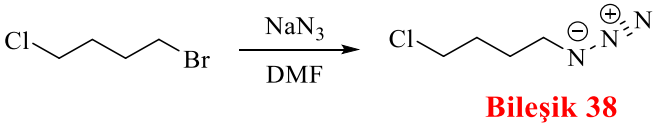
5.2.9 4-Azido-1-büten Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 37, $C_4H_7N_3$)



Bileşik 37

NaN_3'ün (14.3 g, 0.22 mol) sudaki (28 mL) çözeltisi bir balona konuldu ve geri soğutucu altında kaynaması sağlandı. Daha sonra reaksiyon ortamına 4-bromo-1-butenin (0.15 mol) THF (5.8 mL) içerisindeki çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı 12 saat soyunca reflaks edildi. TLC kontrolü sonucunda reaksiyon sonlandırıldı. Oda sıcaklığına gelen reaksiyon karışımı bir ayırma hunisine alınarak organik faz ayrıldı ve su ile (2x10mL) yıkandı. $MgSO_4$ ile kurutuldu ve vakum altında çözücüsü uzaklaştırıldı. Bileşik **37** %86 verimle elde edildi (Swetha vd., 2011).

5.2.10 1-Azido-4-klorobütan Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 38, $C_4H_8ClN_3$)

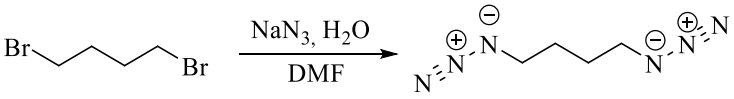


Bileşik 38

1-Bromo-4-klorobütan'ın (2.63 g, 15.4 mmol) DMF içerisindeki (20 mL) çözeltisi bir balona konuldu. Daha sonra reaksiyon ortamına NaN_3 (1.0 g, 15.4 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 20 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC kontrolü sonucunda reaksiyon sonlandırıldı. DMF bozularak eter ile ekstraksiyon işlemi

uygulandı, organik faz su ile (2x10mL) yıkandı. $MgSO_4$ ile kurutuldu ve vakum altında uzaklaştırıldı. Bileşik **38** %94 verimle elde edildi (Lowery vd., 2008).

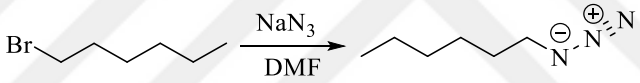
5.2.11 1,4-Diazidobütan Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 39, $C_4H_8N_6$)



Bileşik 39

1,4-Dibromobütan'ın (15.4 mmol) DMF içerisindeki (20 mL) çözeltisi bir balona konuldu. Daha sonra NaN_3'ün (1.0 g, 15.4 mmol) sudaki (10 mL) çözeltisi reaksiyon ortamına ilave edildi. Reaksiyon karışımının 18 saat 80ºC sıcaklıkta karıştırılması sağlandı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra oda sıcaklığına getirildi ve DMF bozularak eter ile ekstraksiyon işlemi uygulandı, organik faz su ile (2x10mL) yıkandı. $MgSO_4$ ile kurutuldu ve vakum altında uzaklaştırıldı. Bileşik **39** %99 verimle elde edildi (Lowery vd., 2008).

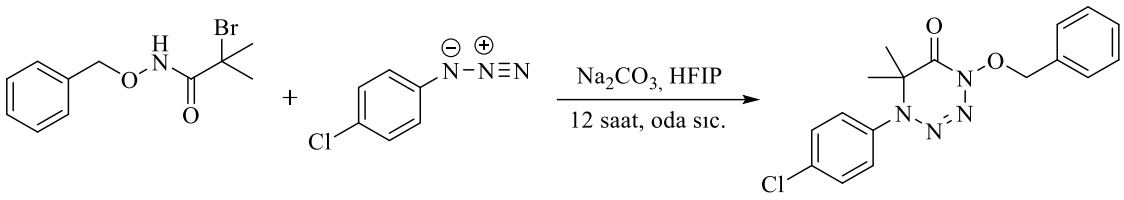
5.2.12 1-Azidohekzan Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 40, $C_4H_8N_6$)



Bileşik 40

1-Bromohekzan'ın (15.4 mmol) DMF içerisindeki (20 mL) çözeltisi bir balona konuldu. Daha sonra reaksiyon ortamına NaN_3 (1.0 g, 15.4 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 20 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC kontrolü sonucunda reaksiyon sonlandırıldı. DMF bozularak eter ile ekstraksiyon işlemi uygulandı, organik faz su ile (2x10mL) yıkandı. $MgSO_4$ ile kurutuldu ve vakum altında uzaklaştırıldı. Bileşik **40** %88 verimle elde edildi (Lowery vd., 2008).

5.2.13 4-(Benziloksi)-1-(4-klorofenil)-6,6-dimetil-1,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-5(4*H*)-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 31, $C_{17}H_{17}ClN_4O_2$)



Bileşik 30 **Bileşik 31** **Bileşik 41**

Bileşik **30** (0.375 mmol), bileşik **31** (0.25 mmol) ve Na_2CO_3 (2.0 ekivalent) tartılarak schlenk tüpüne yerleştirildi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile dolduruldu. Reaksiyon ortamına 1.0 mL HFIPk kondu ve 12 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC sonucuna göre reaksiyon sonlandırıldı, selitten süzüldü. Vakum altında organik çözücü uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (2:1 (*n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.35) uygulanarak saflaştırıldı.

Sarımtırak yağımsı madde; %56 verim.

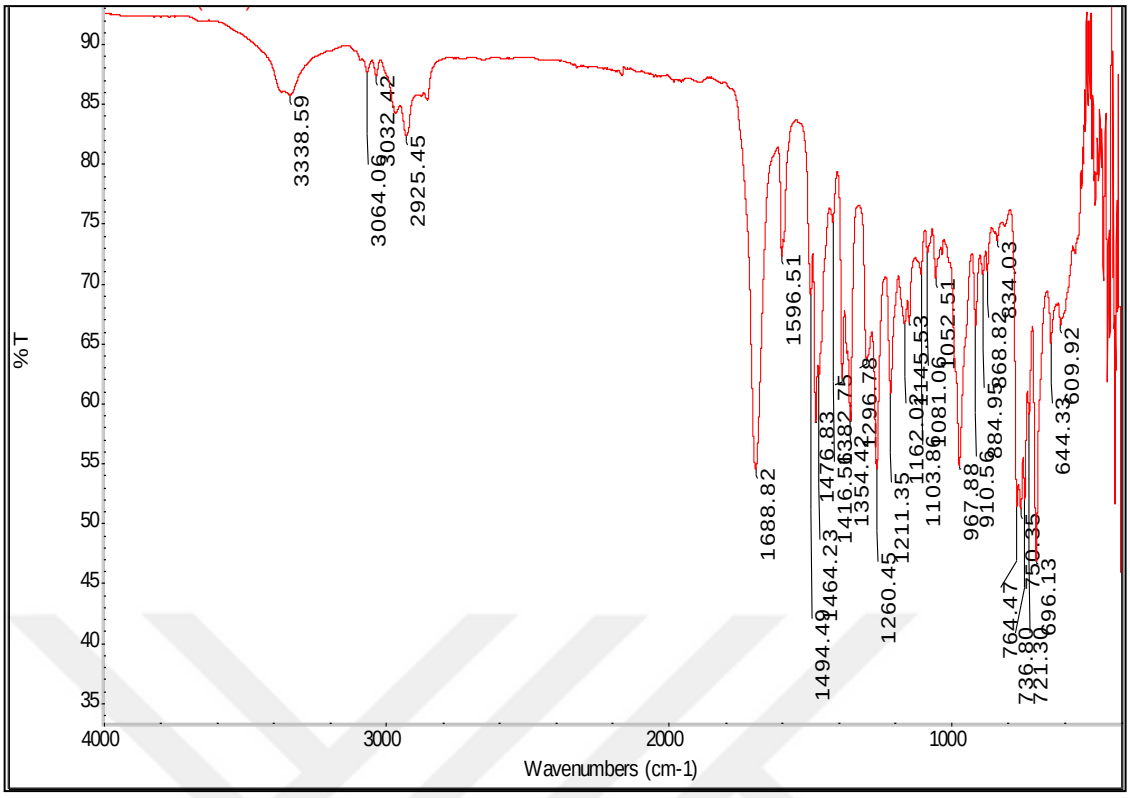
5.2.13.1 Bileşik 41'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): ν = 3064 ve 3032 (aromatik C-H gerilimleri), 2925 (alifatik, C-H gerilimi), 1688 (C=O gerilimi), 1596 (aromatik, C=C gerilimi), 1464 ve 1354 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1260 (C-N salınımı), 1103 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

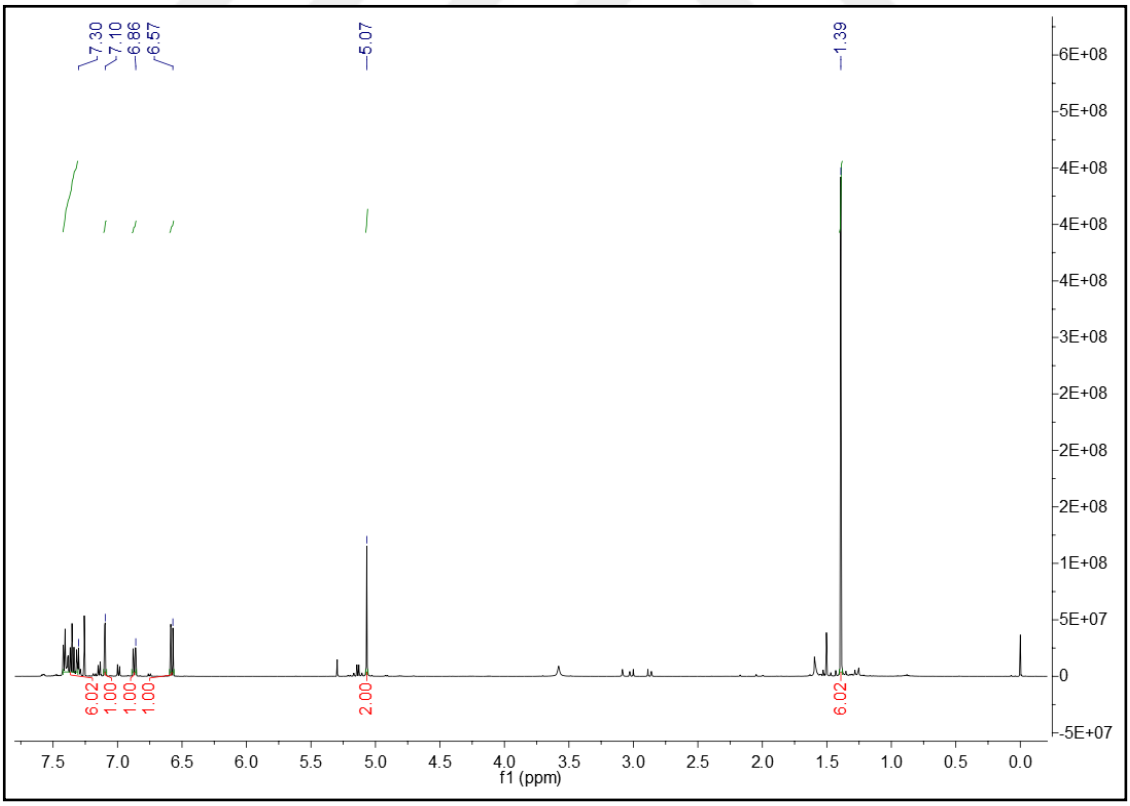
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.39 (s, 6H, 2xCH_3), 5.07 (s, 2H, *O*-CH_2), 6.57 (d, *J*= 8.2 Hz, 1H, ArH), 6.86 (dd, *J*= 2.2;8.2 Hz, 1H, ArH), 7.10 (d, *J*= 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.30-7.42 (m, 6H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 26.1 (2xCH_3), 50.6 (CH_2), 67.6 (Cq), 116.5 (CAr), 123.5 (CAr), 124.4 (Cq), 127.8 (CAr), 128.3 (2xCAr), 128.4 (2xCAr), 128.7 (CAr), 131.4 (CAr), 137.6 (Cq), 141.5 (Cq), 151.1 (C=O) ppm.

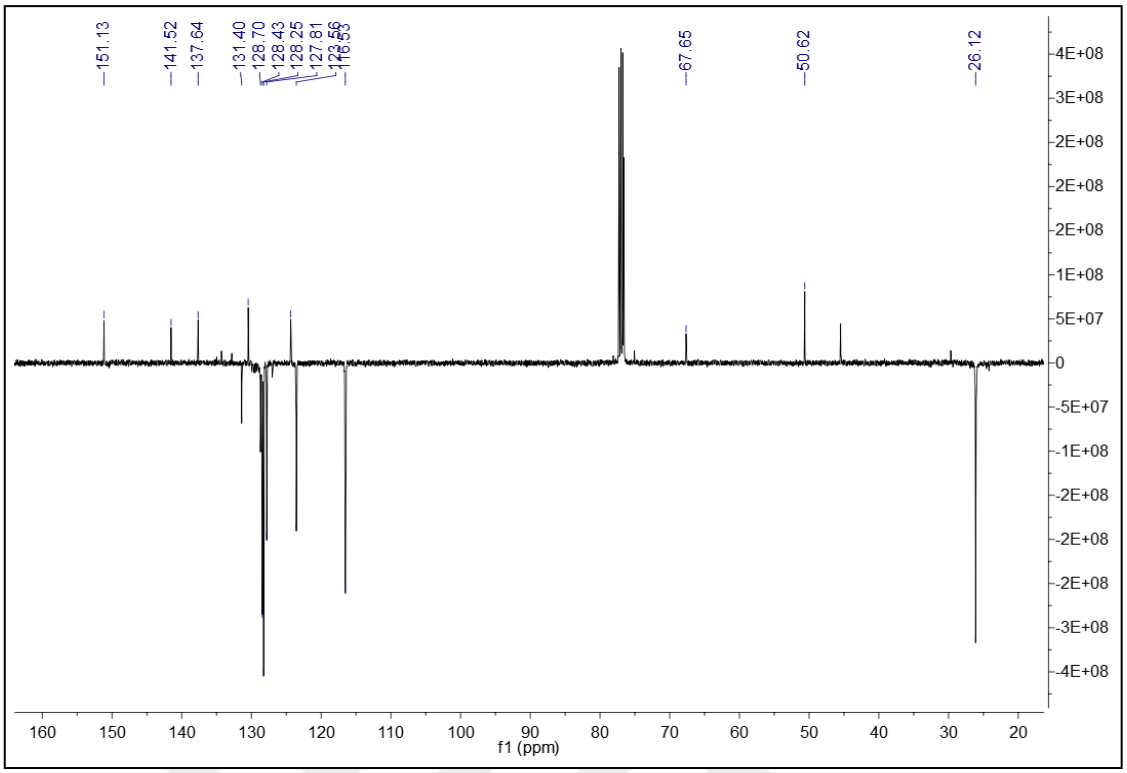
HRMS (ESI-QTOF): m/z: ($[C_{17}H_{17}ClN_4O_2]$-N_2+H)$^+$ için hesaplanan 317.1057, bulunan 317.1043.



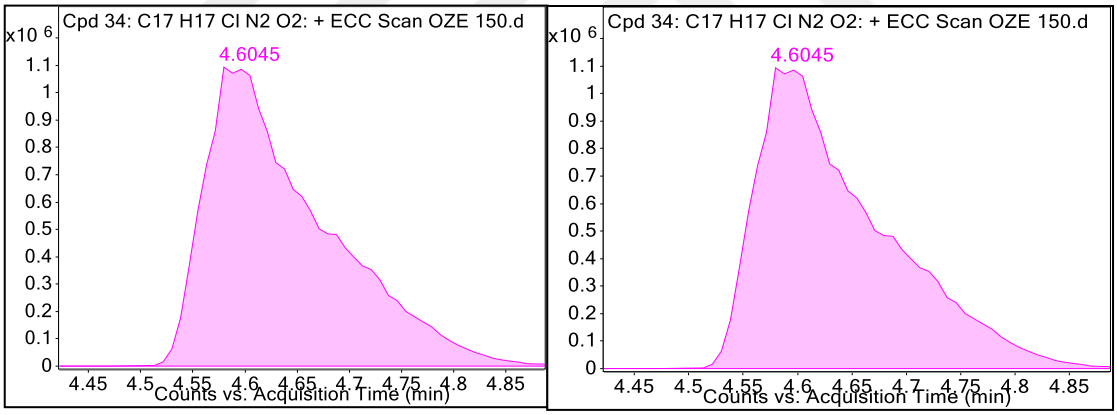
Şekil 5.105 Bileşik **41**'in FTIR spektrumu (ATR)

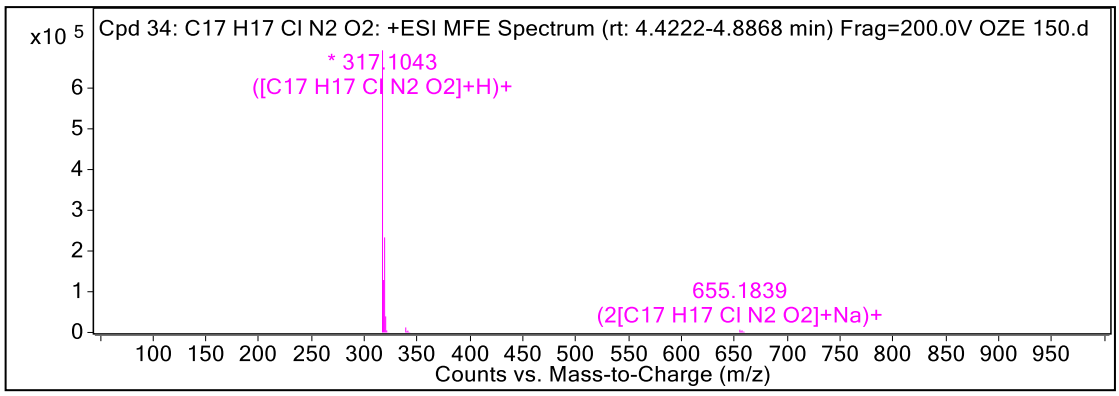


Şekil 5.106 Bileşik **41**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)



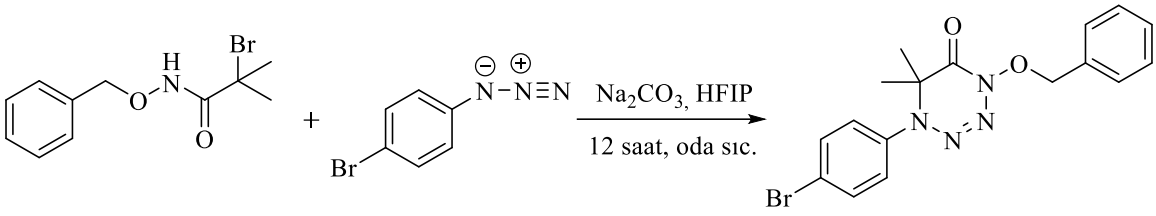
Şekil 5.107 Bileşik **41**'in APT spektrumu ($CDCl_3$)





Şekil 5.108 Bileşik **41**'in HRMS (QTOF) spektrumu

5.2.14 4-(Benziloksi)-1-(4-bromofenil)-6,6-dimetil-1,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-5(4*H*)-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 42, $C_{17}H_{17}BrN_4O_2$)



Bileşik 30 **Bileşik 32** **Bileşik 42**

Bileşik **30** (0.25 mmol), bileşik **32** (0.25 mmol) ve Na_2CO_3 (2.0 ekivalent) tartılarak schlenk tüpüne yerleştirildi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile dolduruldu. Reaksiyon ortamına 1.0 mL HFIP kondu ve karışım 12 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC sonucuna göre reaksiyon sonlandırıldı, selitten süzüldü. Düşük basınçlı vakum altında organik çözücü uzaklaştırıldı. Kalıntıya kolon kromatografisi (3:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.55) uygulanarak saflaştırma işlemi gerçekleştirildi.

Sarımtırak yağımsı madde; %54 verim.

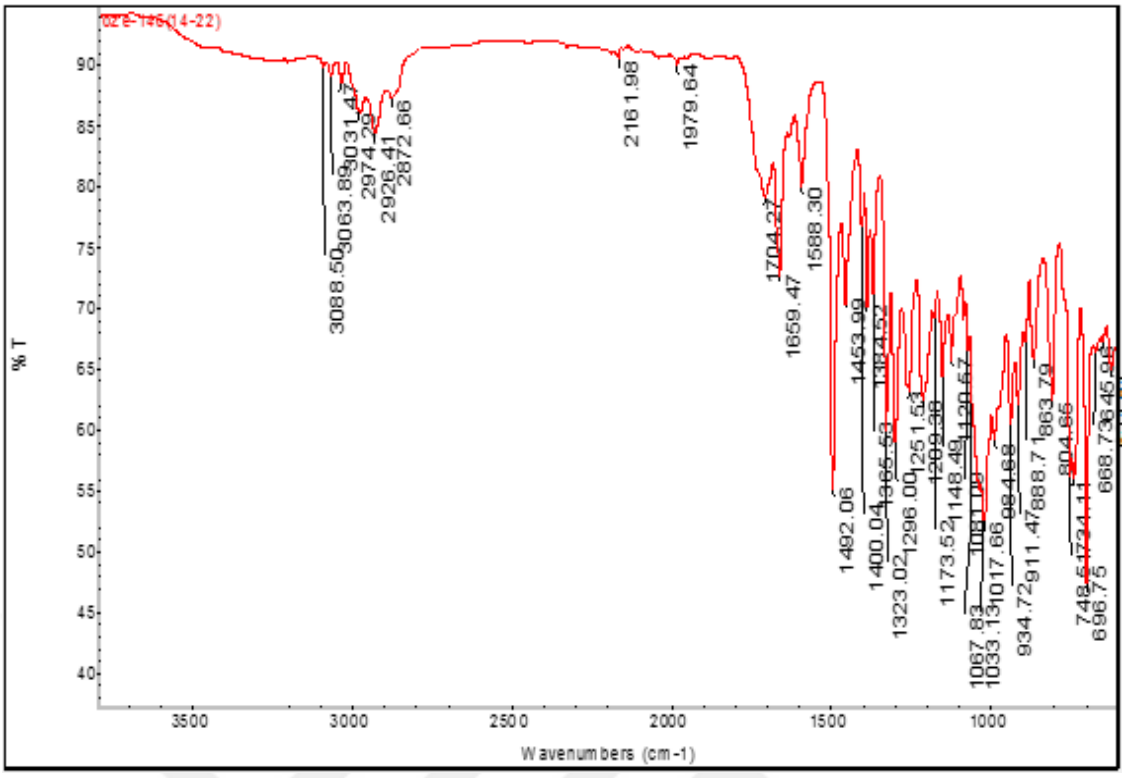
5.2.14.1 Bileşik 42'ye Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): ν = 3088, 3063 ve 3031 (aromatik C-H gerilimleri), 2974, 2926 ve 2872 (alifatik, C-H gerilimleri), 1704 (C=O gerilimi), 1588 (aromatik, C=C gerilimi), 1453, 1400 ve 1385 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1251 (C-N salınımı), 1067 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

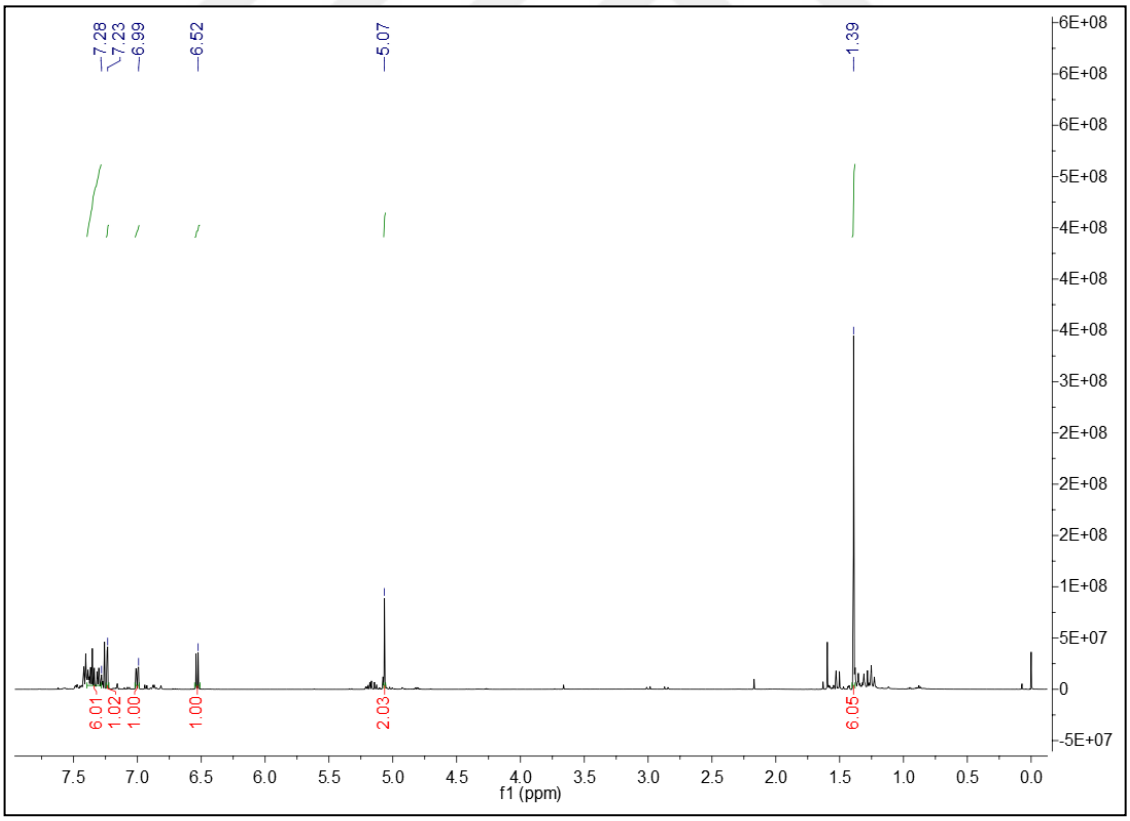
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 1.39 (s, 6H, 2xCH_3), 5.07 (s, 2H, *O*-CH_2), 6.52 (d, *J*= 8.2 Hz, 1H, ArH), 6.99 (dd, *J*= 2.2; 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.23 (d, *J*= 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.28-7.38 (m, 6H, ArH).

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 26.1 (2xCH_3), 50.6 (CH_2), 63.0 (Cq), 111.0 (Cq), 116.9 (CAr), 119.3 (CAr), 126.4 (CAr), 127.8 (CAr), 128.3 (CAr), 128.4 (CAr), 128.7 (2xCAr), 129.7 (CAr), 130.9 (Cq), 141.7 (Cq), 151.1 (C=O).

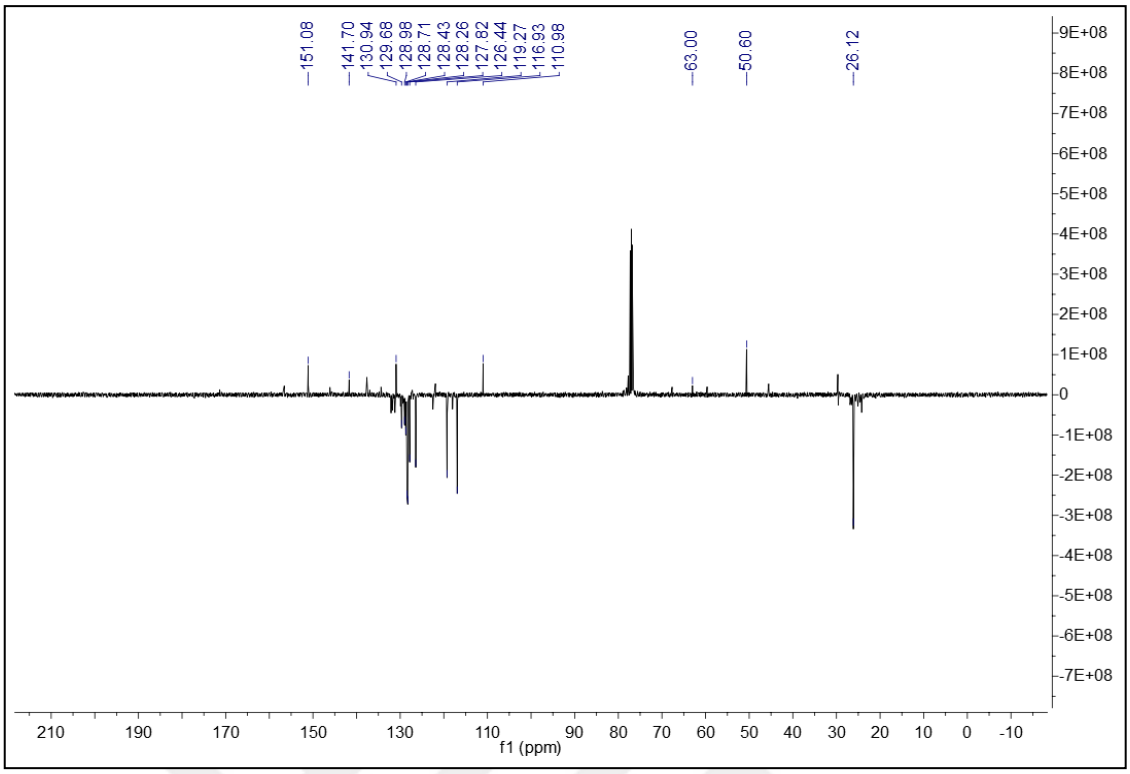
HRMS (ESI-QTOF): m/z: ($[C_{17}H_{17}BrN_4O_2]$-N_2+H]$^+$ için hesaplanan 361.0552, bulunan 361.0543.



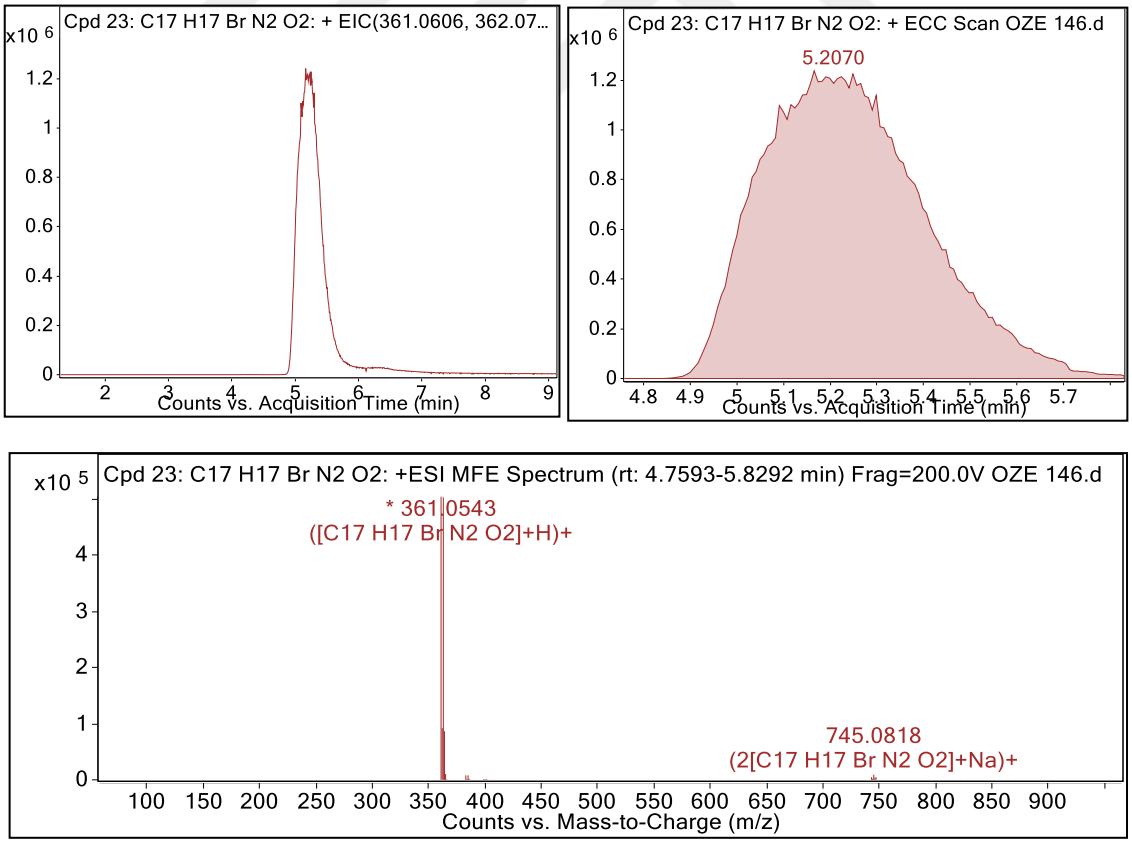
Şekil 5.109 Bileşik **42**'nin FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.110 Bileşik **42**'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

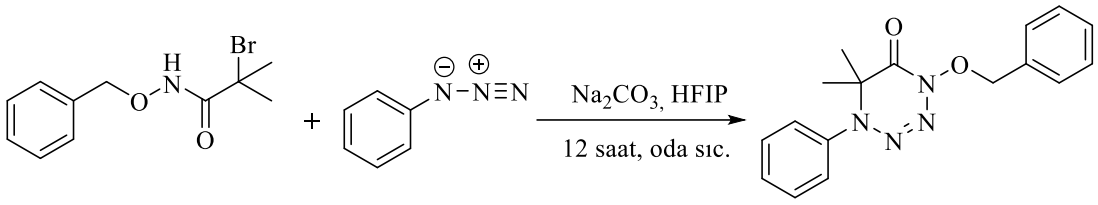


Şekil 5.111 Bileşik **42**'nin APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.112 Bileşik **42**'nin HRMS (QTOF) spektrumu

5.2.15 4-(Benziloksi)-6,6-dimetil-1-fenil-1,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-5(4*H*)-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 43, $C_{17}H_{18}N_4O_2$)



Bileşik 30 **Bileşik 33** **Bileşik 43**

Bileşik **30** (0.25 mmol), bileşik **33** (0.25 mmol) ve Na_2CO_3 (2.0 ekivalent) tartılarak schlenk tüpüne yerleştirildi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile dolduruldu. Reaksiyon ortamına 1.0 mL HFIP kondu ve karışım 12 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC sonucuna göre reaksiyon sonlandırıldı, selitten süzüldü. Düşük basınçlı vakum altında organik çözücü uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (3:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.6) uygulanarak saflaştırıldı.

Sarımtırak yağımsı madde; %41 verim.

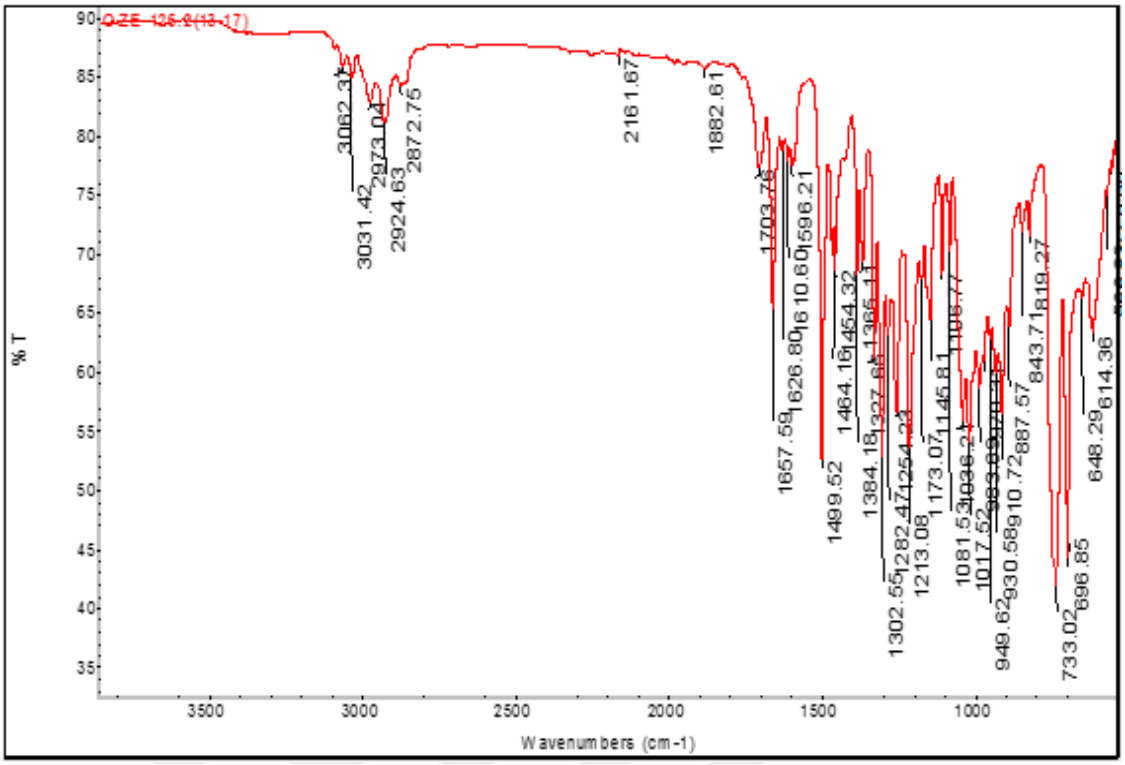
5.2.15.1 Bileşik 43'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν=** 3062 ve 3031 (aromatik C-H gerilimleri), 2973, 2924 ve 2872 (alifatik, C-H gerilimleri), 1703 (C=O gerilimi), 1499 (aromatik, C=C gerilimi), 1454, 1384 ve 1365 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1213 (C-N salınımı), 1081 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

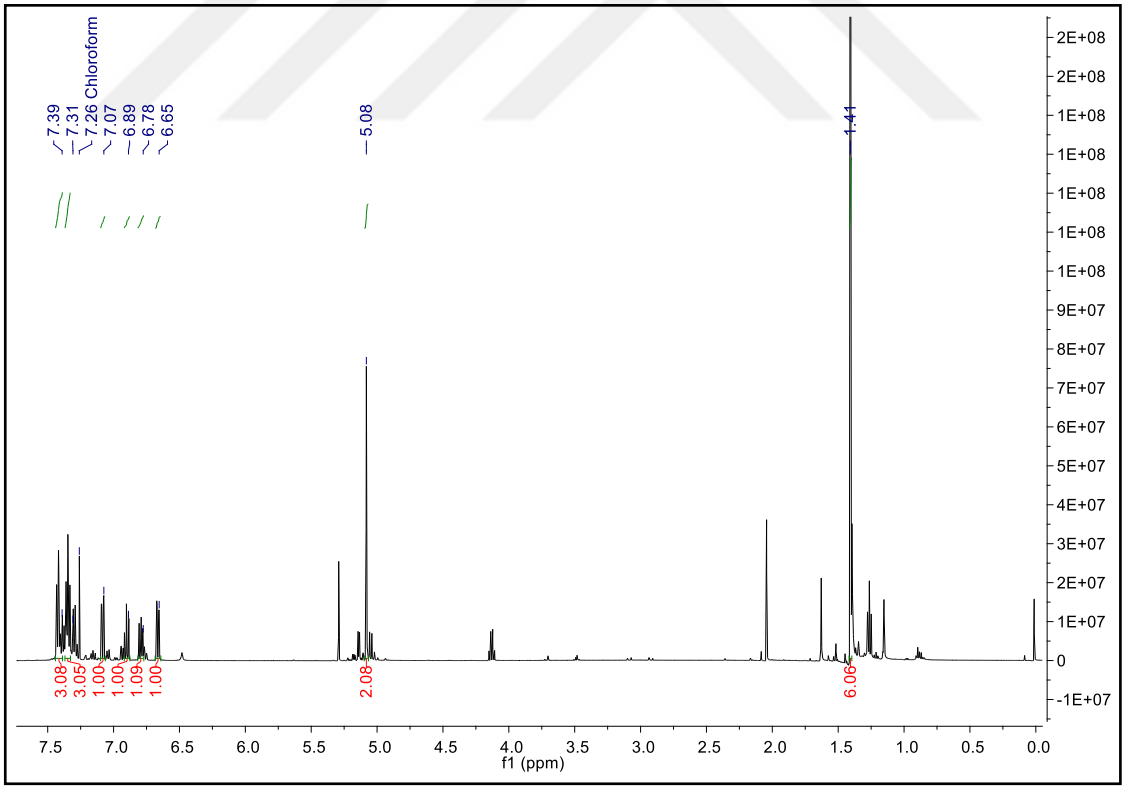
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.41 (s, 6H, 2xCH_3), 5.08 (s, 2H, CH_2), 6.65 (dd, *J*= 1.5; 7.8 Hz, 1H, ArH), 6.78 (dt, *J*=1.5; 7.8 Hz, 1H, ArH), 6.89 (dt, *J*= 1.56; 7.56 Hz, 1H, ArH), 7.07 (dd, *J*= 1.26; 8.19 Hz, 1H, ArH), 7.31 (m, 3H, ArH), 7.39 (m, 3H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 26.2 (CH_3), 26.2 (CH_3), 50.7 (CH_2), 61.2 (Cq), 115.9 (CAr), 116.1 (CAr), 120.0 (CAr), 123.6 (CAr), 127.7 (CAr), 128.2 (2xCAr), 128.36 (2xCAr), 128.4 (CAr), 131.7 (Cq), 137.9 (Cq), 170.5 (C=O) ppm.

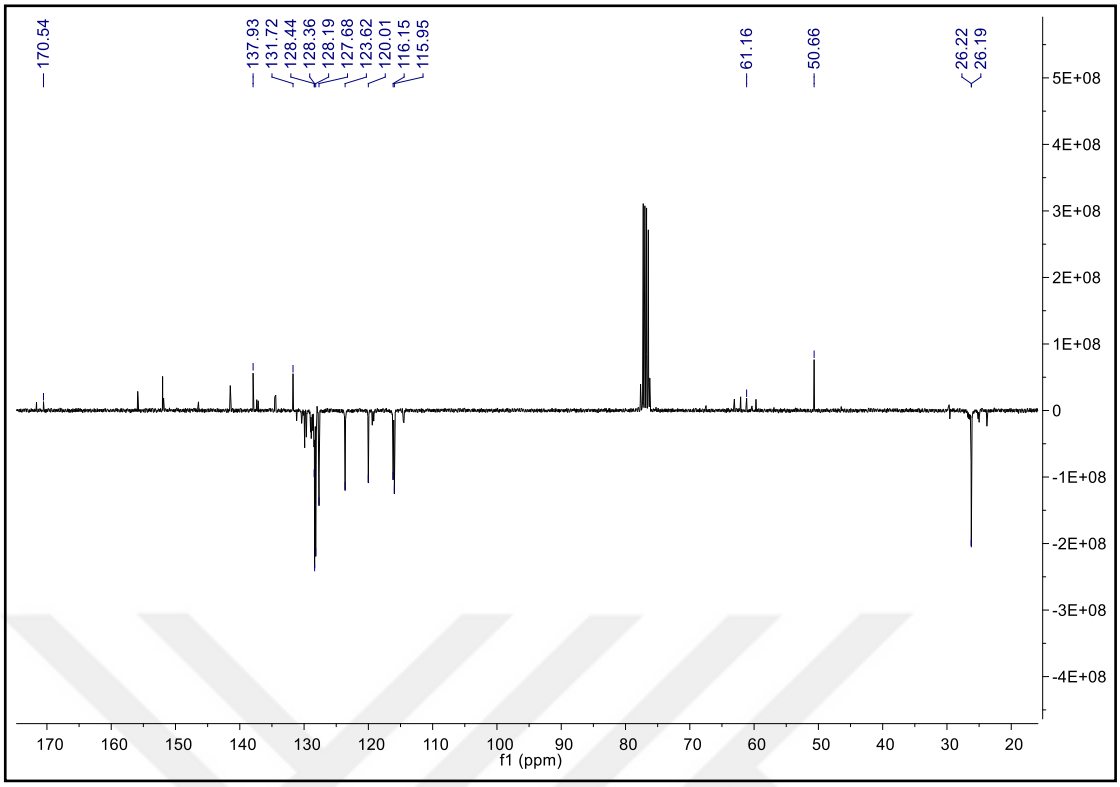
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{17}H_{18}N_4O_2]-N_2+H)^+$ için hesaplanan 283.1447, bulunan 283.1437.



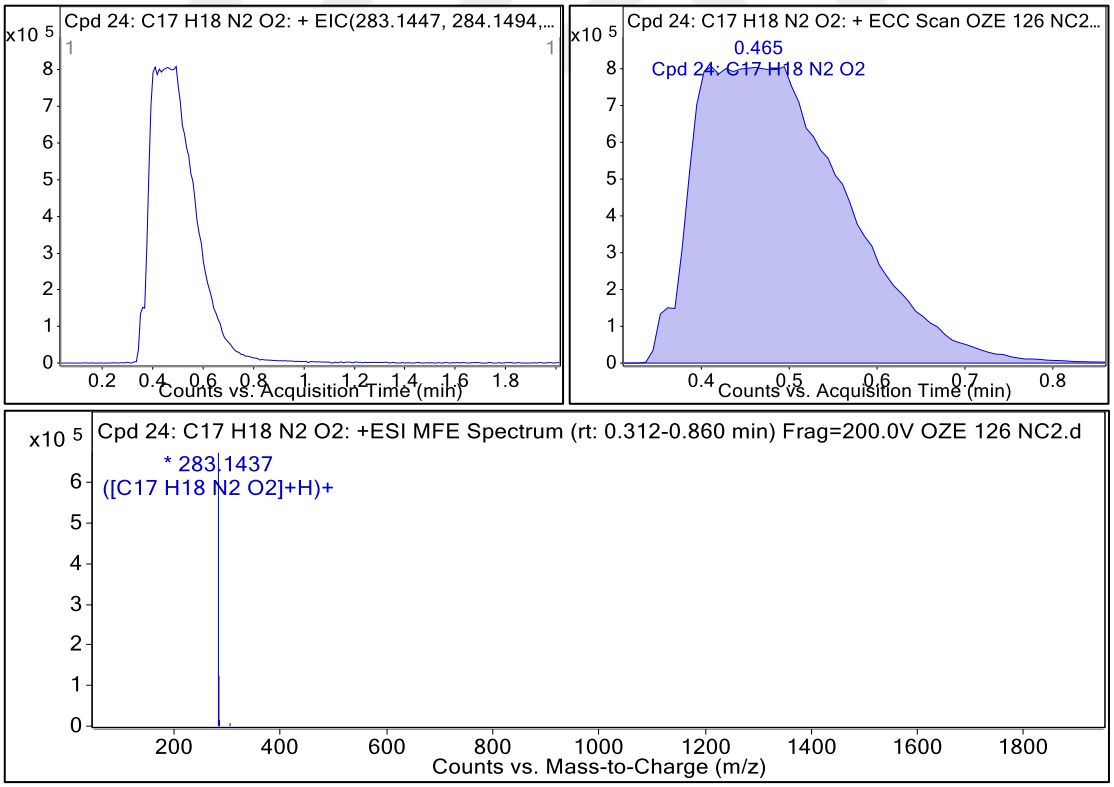
Şekil 5.113 Bileşik **43**'ün FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.114 Bileşik **43**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

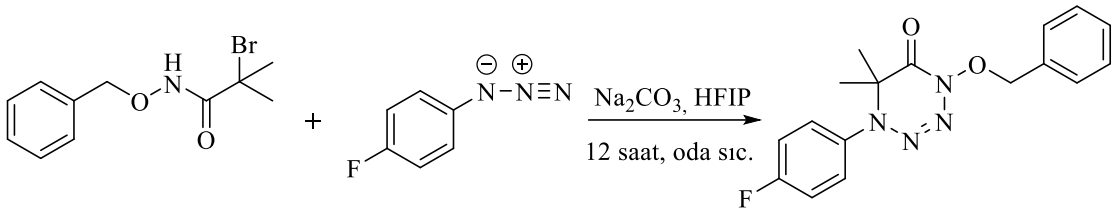


Şekil 5.115 Bileşik **43**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.116 Bileşik **43**'ün HRMS (QTOF) spektrumu

5.2.16 4-(Benziloksi)-1-(4-florofenil)-6,6-dimetil-1,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-5(4*H*)-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 44, $C_{17}H_{17}FN_4O_2$)



Bileşik 30 **Bileşik 34** **Bileşik 44**

Bileşik **30** (0.25 mmol), bileşik **34** (0.25 mmol) ve Na_2CO_3 (2.0 ekivalent) tartılarak schlenk tüpüne yerleştirildi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile dolduruldu. Reaksiyon ortamına 1.0 mL HFIP kondu ve karışım 12 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC sonucuna göre reaksiyon sonlandırıldı ve selitten süzüldü. Organik çözücü düşük basınçlı vakum altında uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (3:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.44) uygulanarak saflaştırıldı.

Sarımtırak yağımsı madde; %62 verim.

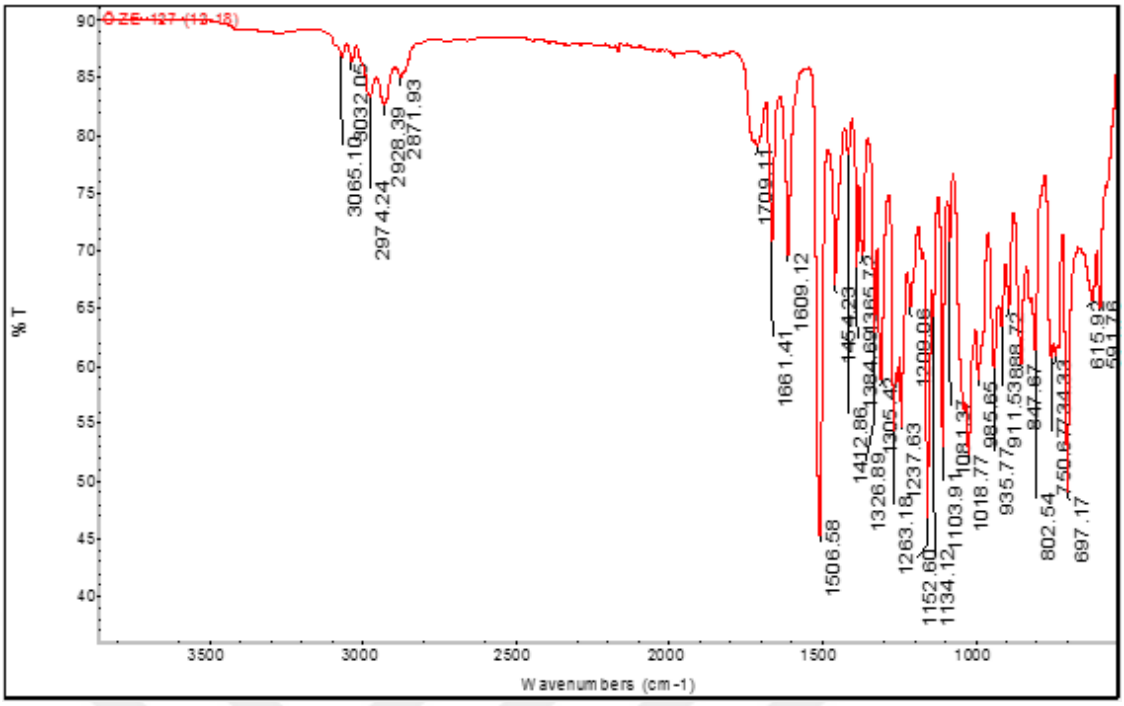
5.2.16.1 Bileşik 44'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν=** 3065 ve 3032 (aromatik C-H gerilimleri), 2974, 2928 ve 2871 (alifatik, C-H gerilimleri), 1709 (C=O gerilimi), 1506 (aromatik, C=C gerilimi), 1454, 1384 ve 1326 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1263 (C-N salınımı), 1134 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

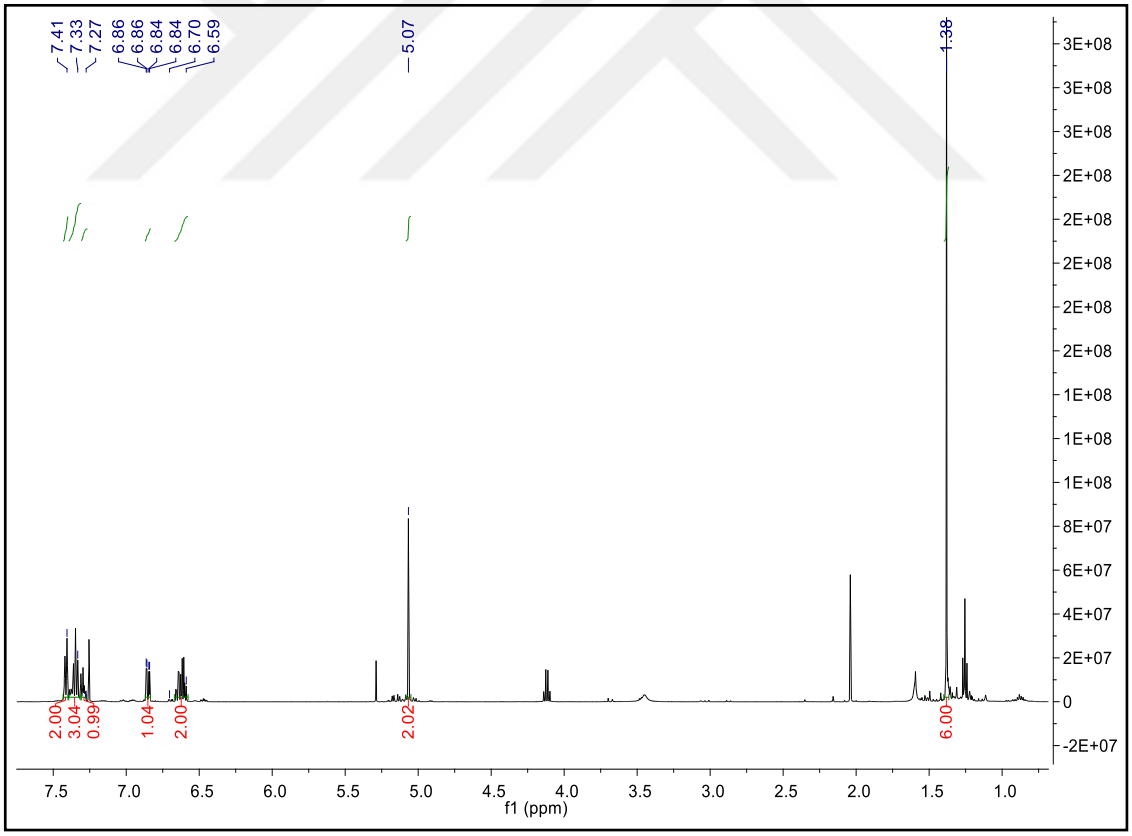
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.38 (s, 6H, 2xCH_3), 5.06 (s, 2H, CH_2), 6.58 – 6.66 (m, 2H, ArH), 6.84 (dd, *J*= 2.6; 9.1 Hz, 1H, ArH), 7.27 – 7.31 (m, 1H, ArH), 7.33 – 7.38 (m, 3H, ArH), 7.40 – 7.43 (m, 2H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 25.9 (2xCH_3), 50.6 (CH_2), 59.7 (Cq), 103.9 (CAr), 110.0 (CAr), 116.6 (CAr), 127.9 (CAr), 128.3 (2xCAr), 128.5 (2xCAr), 129.7 (CAr), 137.6 (Cq), 153.3 (Cq), 157.7 (Cq), 171.4 (C=O) ppm.

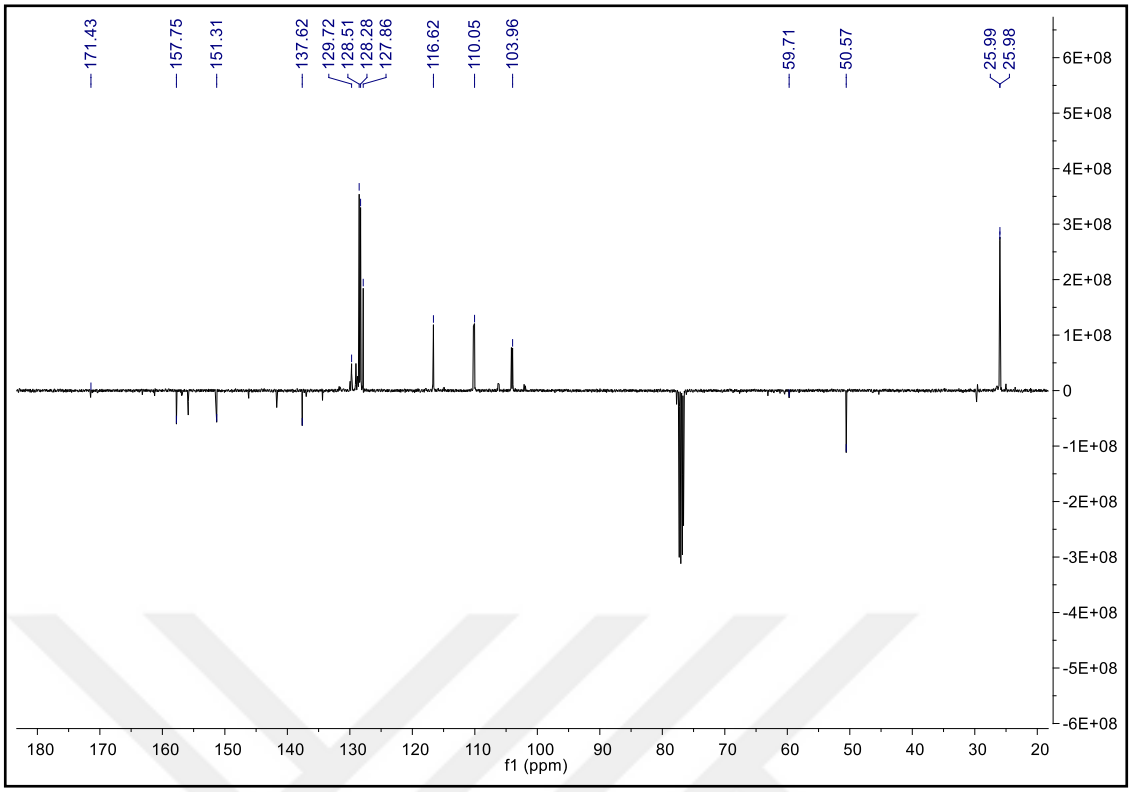
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{17}H_{17}FN_4O_2]-N_2+H)^+$ için hesaplanan 301.1352, bulunan 301.1350.



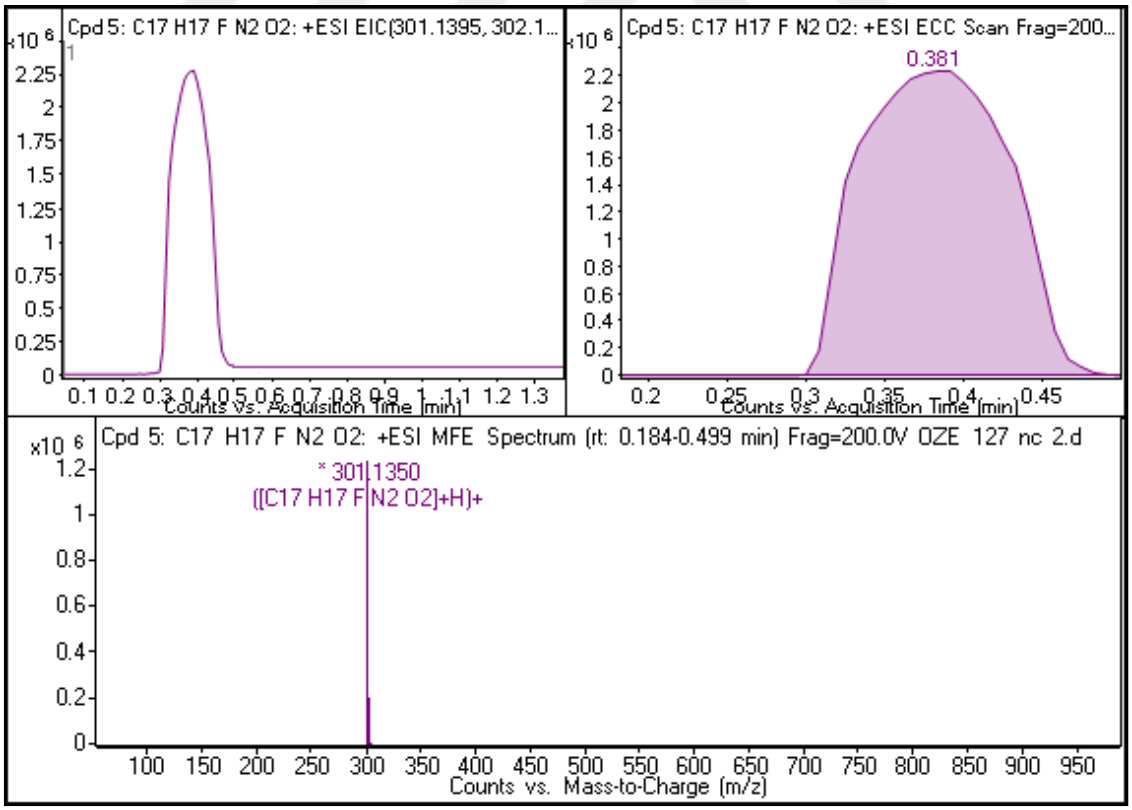
Şekil 5.117 Bileşik **44**'ün FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.118 Bileşik **44**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

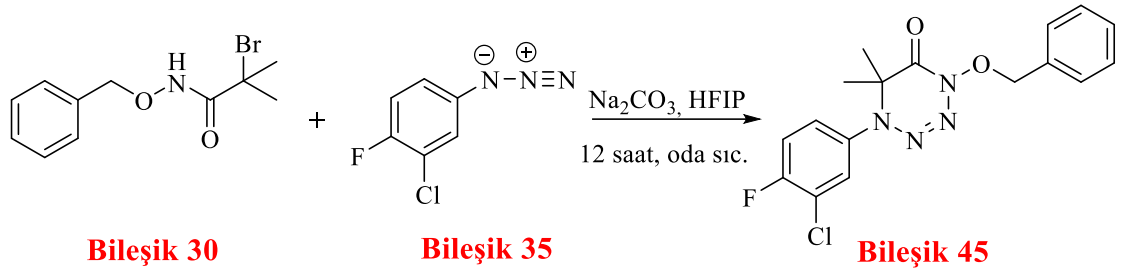


Şekil 5.119 Bileşik **44**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.120 Bileşik **44**'ün HRMS (QTOF) spektrumu

5.2.17 4-(Benziloksi)-1-(3-kloro-4-florofenil)-6,6-dimetil-1,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-5(4*H*)-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 45, $C_{17}H_{16}ClFN_4O_2$)



Bileşik 30 **Bileşik 35** **Bileşik 45**

Bileşik **30** (0.25 mmol), bileşik **35** (0.25 mmol) ve Na_2CO_3 (2.0 ekivalent) tartılarak schlenk tüpüne yerleştirildi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile dolduruldu. Reaksiyon ortamına 1.0 mL HFIP kondu ve karışım 12 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC sonucuna göre reaksiyon sonlandırıldı, selitten süzüldü. Organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (3:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.42) uygulanarak saflaştırıldı.

Sarımtırak yağımsı madde; %32 verim.

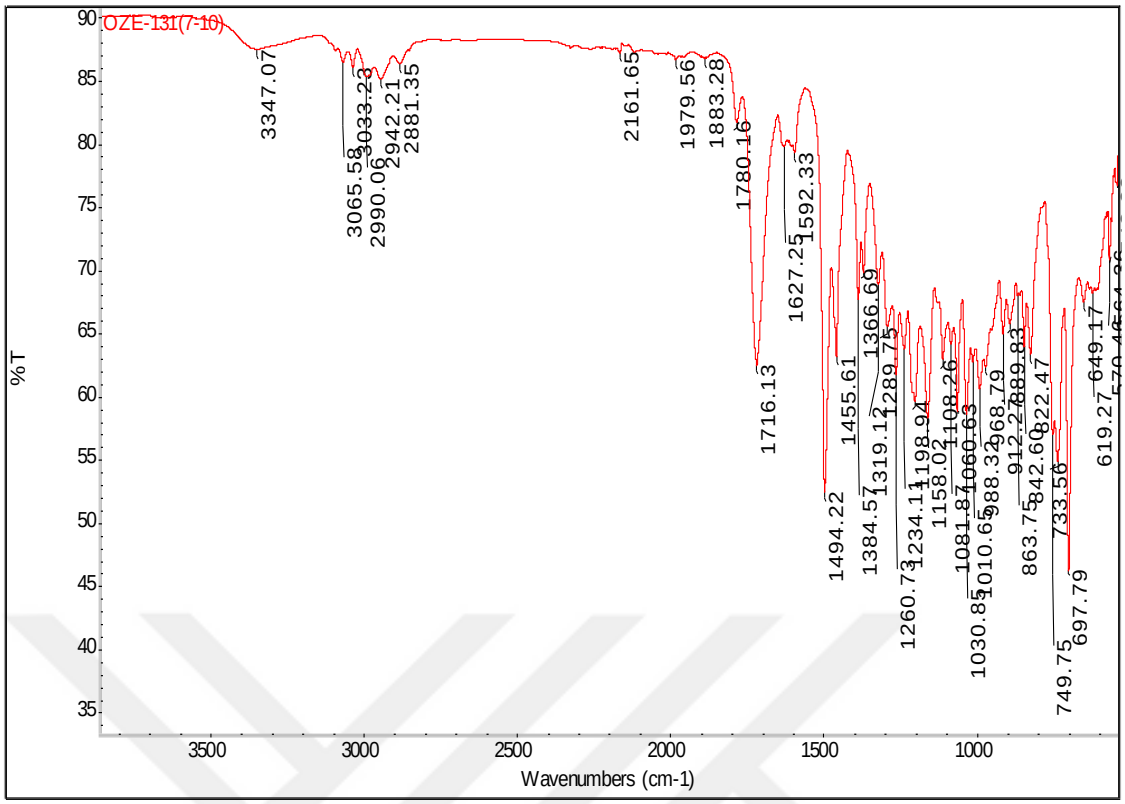
5.2.17.1 Bileşik 45'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν=** 3065 ve 3033 (aromatik C-H gerilimleri), 2990, 2942 ve 2881 (alifatik, C-H gerilimleri), 1716 (C=O gerilimi), 1592 (aromatik, C=C gerilimi), 1494, 1455 ve 1384 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1263 (C-N salınımı), 1030 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

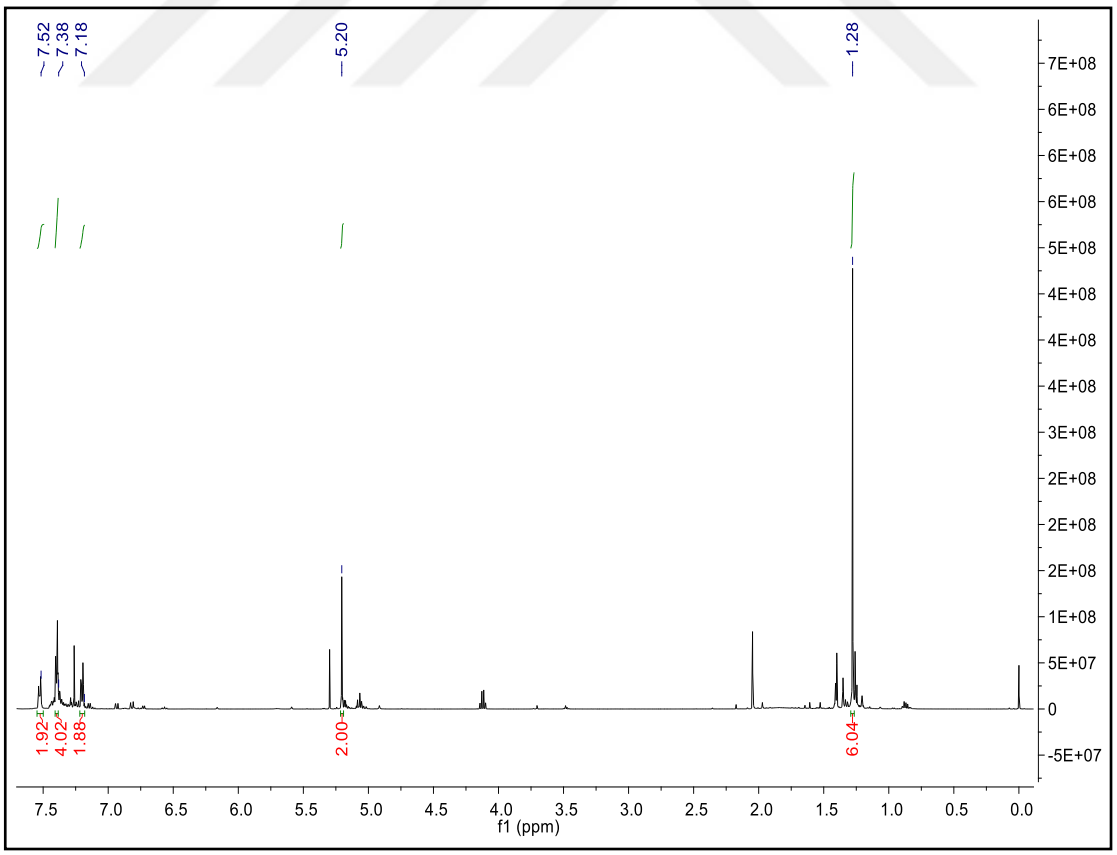
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.27 (s, 6H, 2xCH_3), 5.20 (s, 2H, CH_2), 7.18 – 7.21 (m, 2H, ArH), 7.38 – 7.40 (m, 4H, ArH), 7.51 – 7.53 (m, 2H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 20.9 (2xCH_3), 60.9 (CH_2), 66.4 (Cq), 116.6 (CAr), 116.8 (CAr), 128.5 (2xCAr), 129.2 (CAr), 129.8 (2xCAr), 130.5 (CAr), 133.6 (Cq), 137.5 (Cq), 158.7 (Cq), 162.1 (Cq), 171.0 (C=O) ppm.

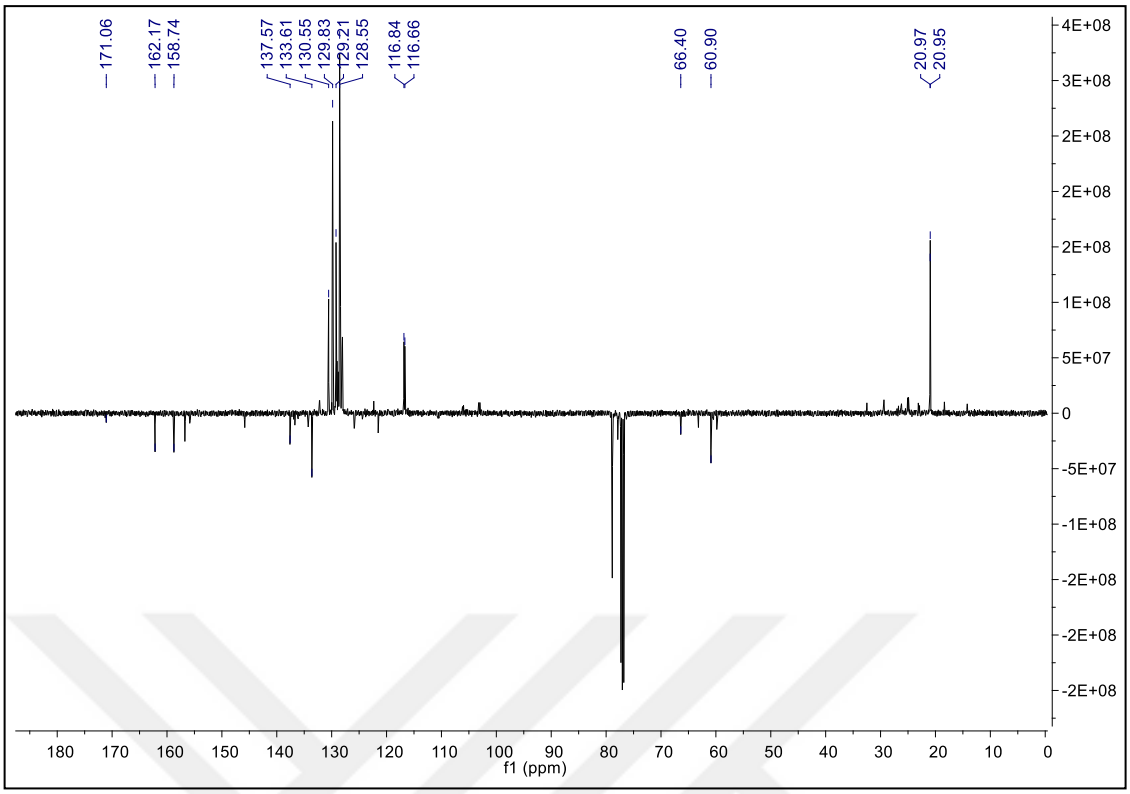
HRMS (ESI-QTOF): m/z: ($[C_{17}H_{16}ClFN_4O_2]$-N_2+H)$^+$ için hesaplanan 335.0963, bulunan 335.0937.



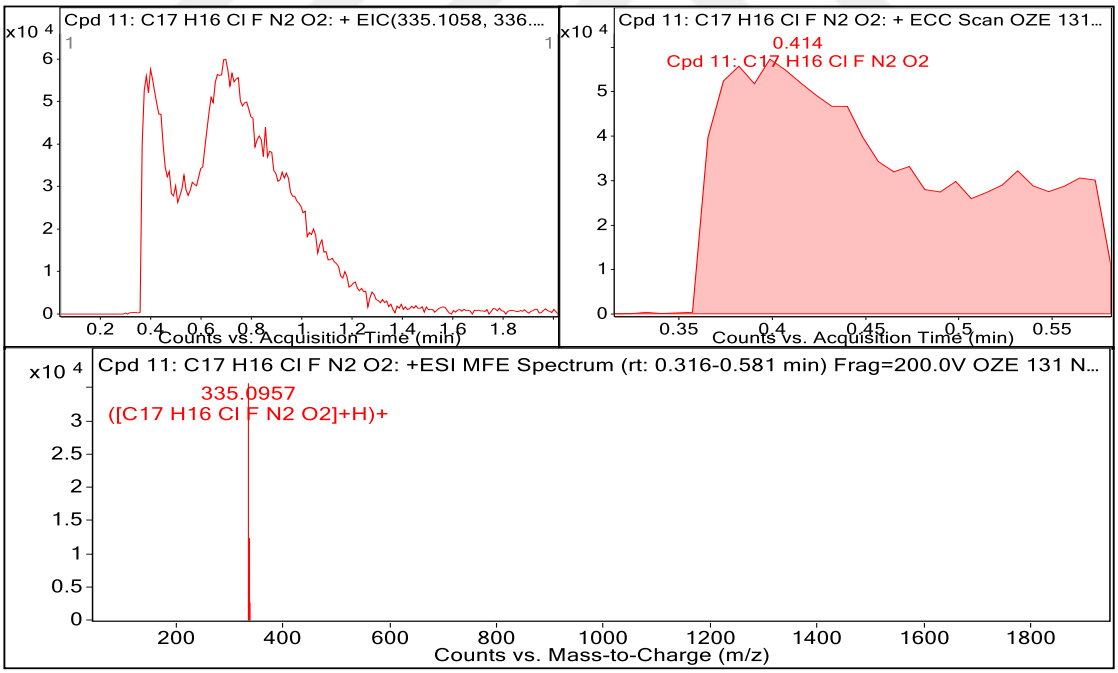
Şekil 5.121 Bileşik **45**'in FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.122 Bileşik **45**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

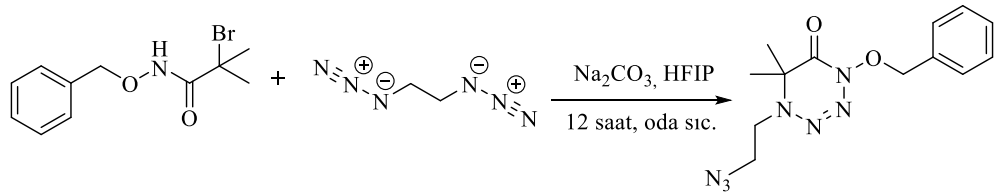


Şekil 5.123 Bileşik **45**'in APT spektrumu ($CDCl_3$)

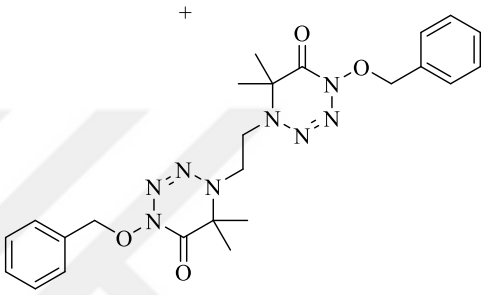


Şekil 5.124 Bileşik **45**'in HRMS (QTOF) spektrumu

5.2.18 1-(2-Azidoetil)-4-(benziloksi)-6,6-dimetil-1,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-5(4*H*)-on (Bileşik 46a, $C_{13}H_{17}N_7O_2$) ve 1,1'-(ethan-1,2-diil)bis(4-(benziloksi)-6,6-dimetil-1,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-5(4*H*)-on (Bileşik 46b, $C_{24}H_{30}N_8O_4$) Bileşiklerinin Hazırlanması ve Spektral Verileri



Bileşik 30 **Bileşik 36** **Bileşik 46a**



Bileşik 46b

Bileşik **30** (0.75 mmol), bileşik **36** (0.25 mmol) ve Na_2CO_3 (4.0 ekivalent) tartılarak schlenk tüpüne yerleştirildi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile dolduruldu. Reaksiyon ortamına 1.0 mL HFIP kondu ve karışım 12 saat boyunca oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. TLC sonucuna göre reaksiyon sonlandırıldı, selitten süzüldü. Organik çözücü düşük basınçlı vakum altında uçuruldu ve kolon kromatografisi (3:1 *n*-hekzan/etil asetat) uygulanarak saflaştırıldı.

Bileşik **46a**; Sarımtırak yağımsı madde, R_f: 0.26 (3:1 *n*-hekzan/etil asetat), %36 verim.

Bileşik **46b**; Sarımtırak yağımsı madde, R_f: 0.68 (1:3 *n*-hekzan/etil asetat), %44 verim.

5.2.18.1 Bileşik 46a'nın Spektroskopik Verileri

FTIR (ATR): ν= 3064 ve 3033 (aromatik C-H gerilimleri), 2936, 2875 (alifatik, C-H gerilimleri), 2097 (N≡N bağ gerilimi), 1715 (C=O gerilimi), 1454 (aromatik, C=C gerilimi), 1367 ve 1349 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1196 (C-N salınımı), 1034 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.34 (s, 6H, 2xCH_3), 3.51-3.53 (m, 2H, CH_2), 3.56-3.59 (m, 2H, CH_2), 5.13 (brds, 2H, *O*-CH_2), 7.34-7.38 (m, 3H, ArH), 7.47-7.49 (m, 2H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 20.6 (2xCH_3), 48.0 (CH_2), 50.0 (CH_2), 59.9 (Cq), 78.7 (*O*-CH_2), 128.5 (2xCAr), 129.1 (CAr), 129.8 (2xCAr) 133.7 (Cq), 162.5 (C=O) ppm.

HRMS (ESI-QTOF): m/z: ($[C_{13}H_{17}N_7O_2]$-N_2+H)$^+$ için hesaplanan 276.1460, bulunan 276.1442.

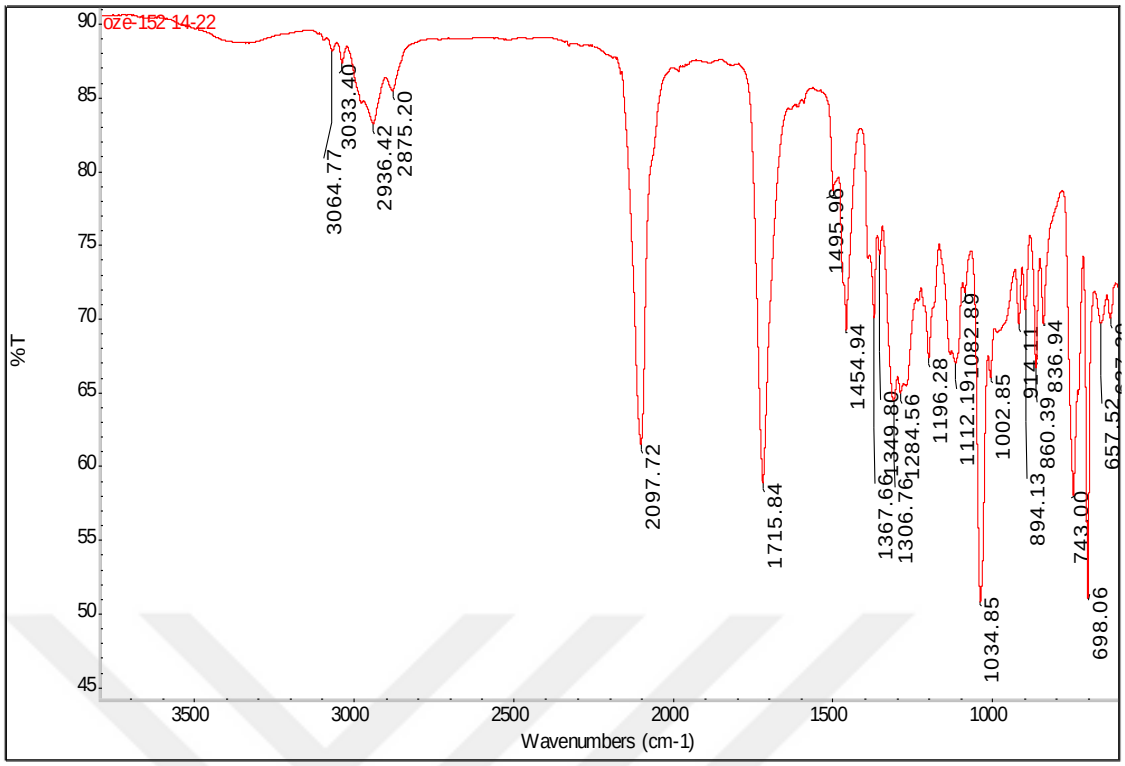
5.2.18.2 Bileşik 46b'nin Spektroskopik Verileri

FTIR (ATR): **ν=** 3066 ve 3048 (aromatik C-H gerilimleri), 2991, 2956, 2937 ve 2894 (alifatik, C-H gerilimleri), 1713 (C=O gerilimi), 1491 (aromatik, C=C gerilimi), 1468, 1389 ve 1318 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1195 (C-N salınımı), 1058 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

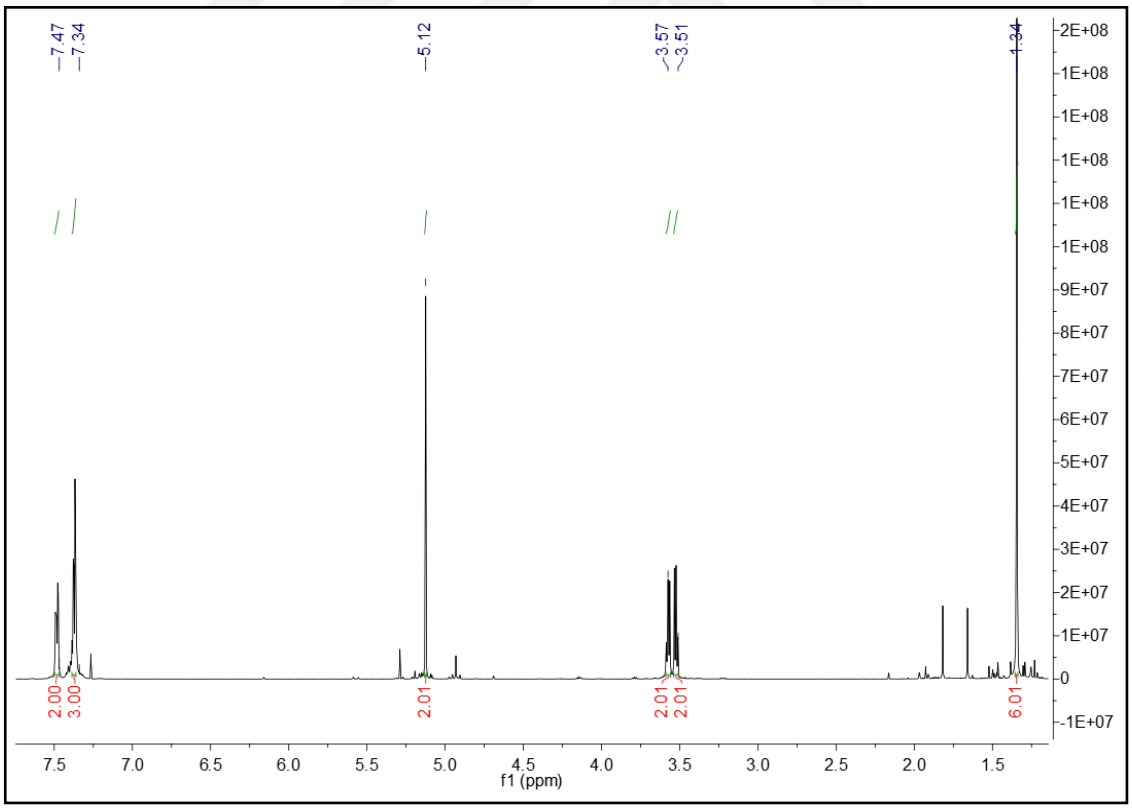
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.27 (s, 12H, 4xCH_3), 3.63 (s, 4H, 2xCH_2), 5.12 (brds, 4H, 2x*O*-CH_2), 7.35-7.38 (m, 6H, Ar), 7.46-7.49 (m, 4H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 20.7 (4xCH_3), 47.6 (2xCH_2), 60.0 (2xCq), 78.5 (2x*O*-CH_2), 128.5 (4xCAr), 129.1 (2xCAr), 129.6 (4xCAr) 133.8 (2xCq), 162.6 (2xC=O) ppm.

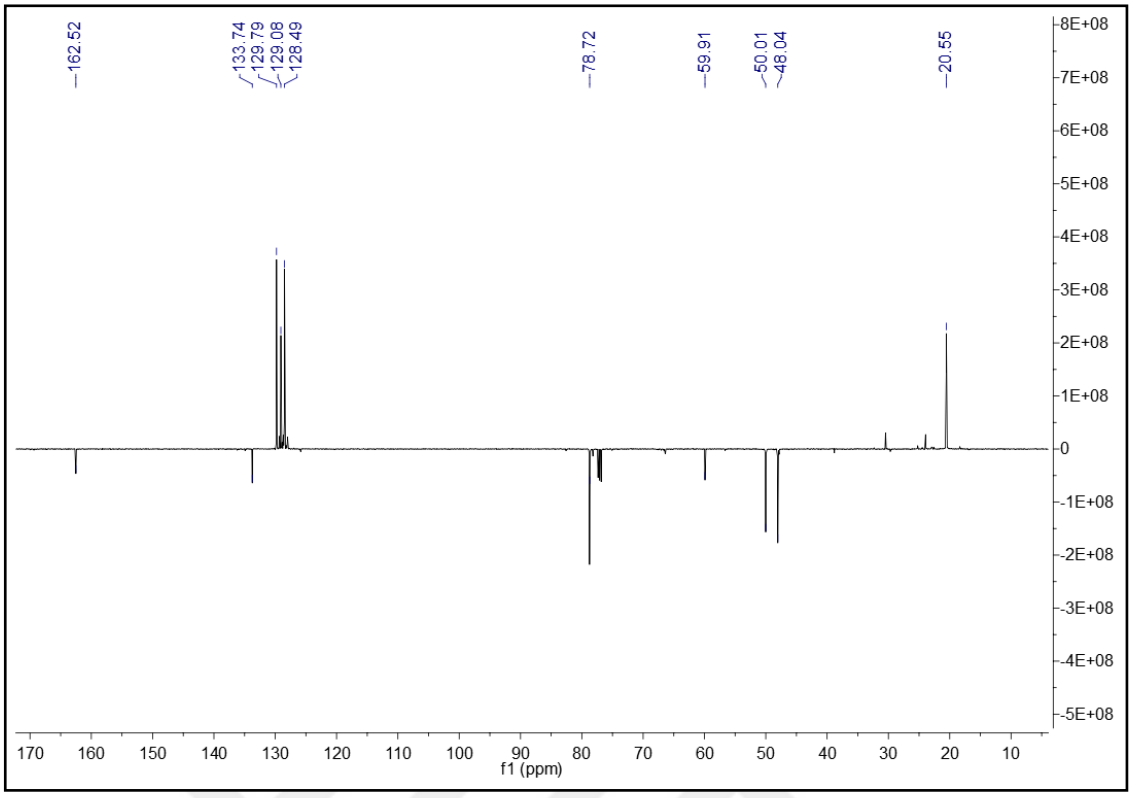
HRMS (ESI-QTOF): m/z: ($[C_{24}H_{30}N_8O_4]$+H)$^+$ için hesaplanan 495.2468, bulunan 495.2454.



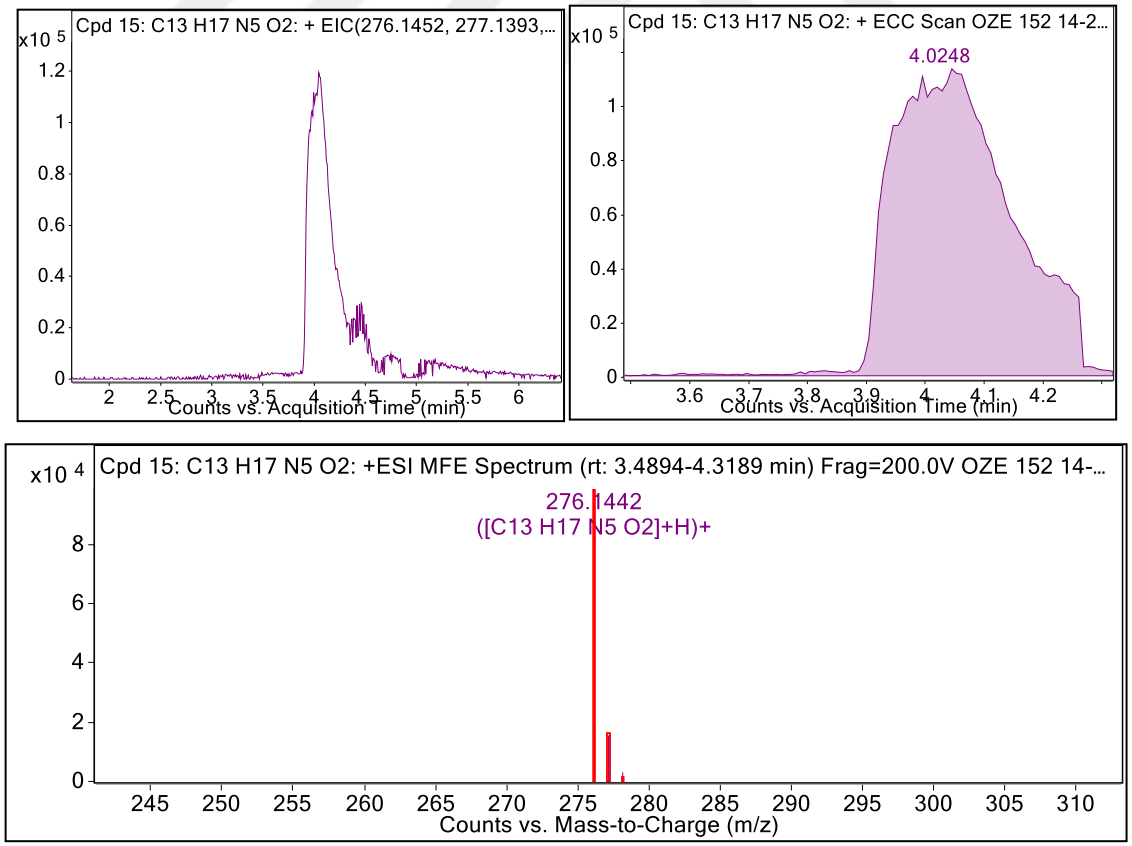
Şekil 5.125 Bileşik **46a**'nın FTIR spektrumu (ATR)



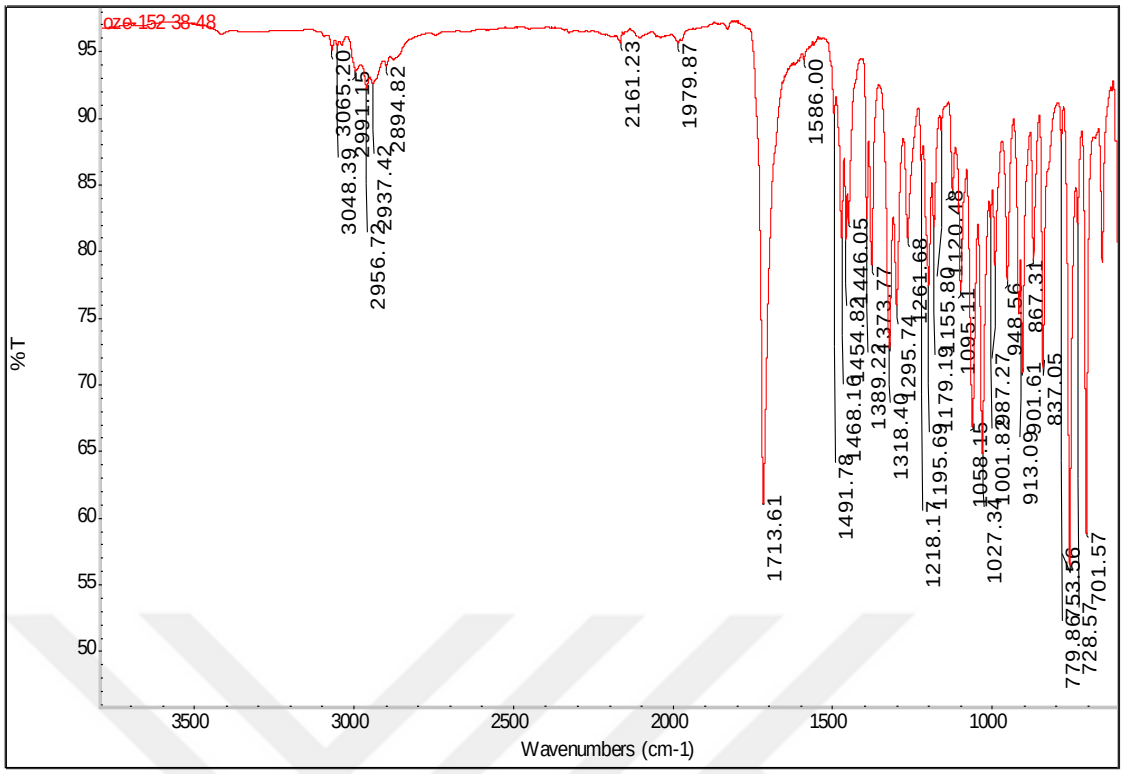
Şekil 5.126 Bileşik **46a**'nın ^{1}H-NMR spektrumu



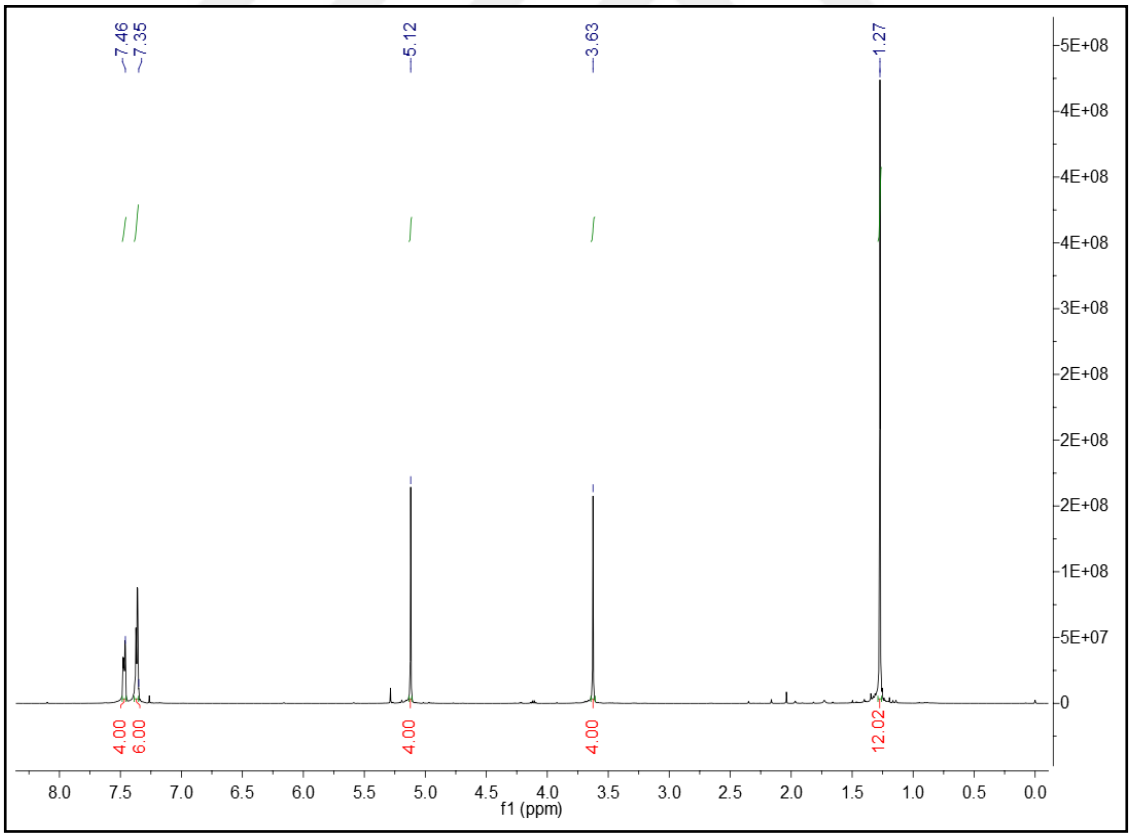
Şekil 5.127 Bileşik **46a**'nın APT spektrumu



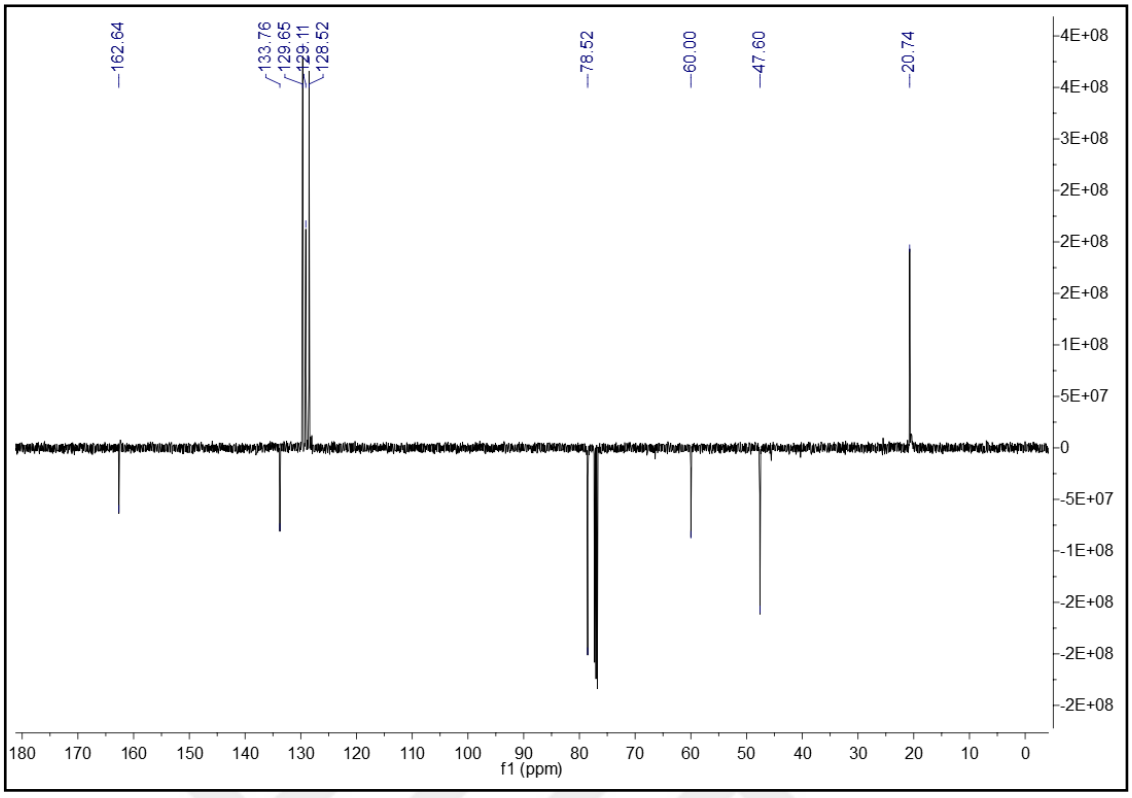
Şekil 5.128 Bileşik **46a**'nın HRMS (QTOF) spektrumu



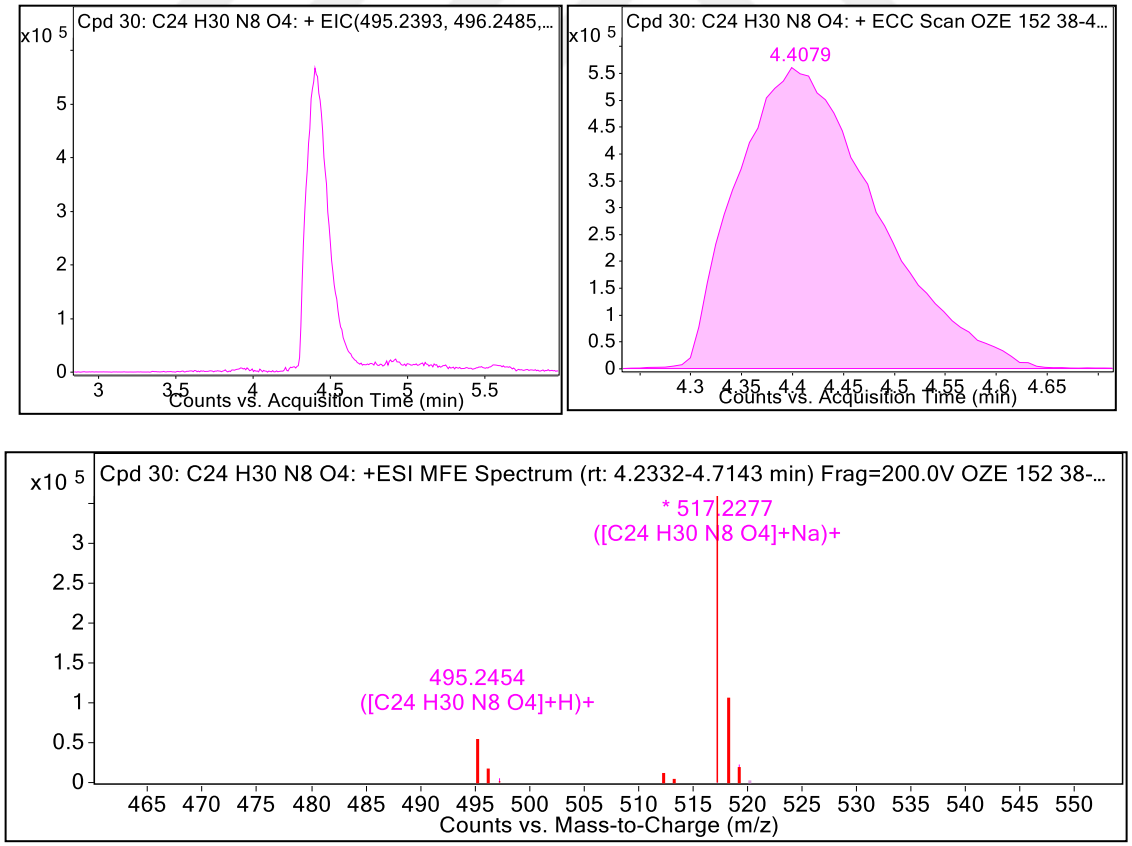
Şekil 5.129 Bileşik **46b**'nin FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.130 Bileşik **46b**'nin ^{1}H-NMR spektrumu

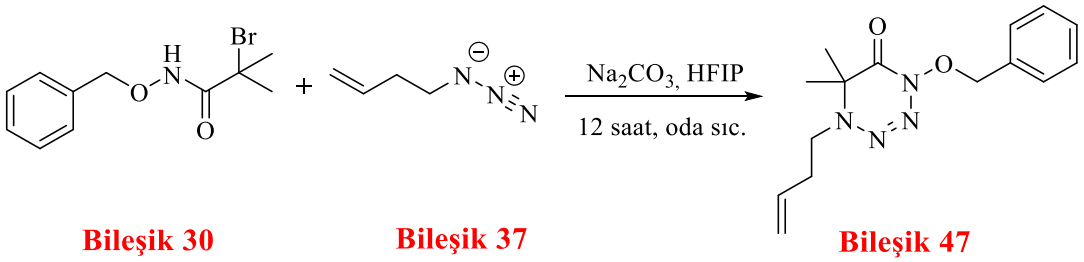


Şekil 5.131 Bileşik **46b**'nin APT spektrumu



Şekil 5.132 Bileşik **46b**'nin HRMS (QTOF) spektrumu

5.2.19 4-(Benziloksi)-1-(büt-3-enil)-6,6-dimetil-1,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-5(4*H*)-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spekktral Verileri (Bileşik 47, $C_{15}H_{20}N_4O_2$)



Bileşik 30 **Bileşik 37** **Bileşik 47**

Bileşik **30** (0.25 mmol), bileşik **37** (0.25 mmol) ve Na_2CO_3 (2.0 ekivalent) tartılarak schlenk tüpüne yerleştirildi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile dolduruldu. Reaksiyon ortamına 1.0 mL HFIP kondu ve karışım 12 saat boyunca oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. TLC sonucuna göre reaksiyon sonlandırıldı, selitten süzüldü. Organik çözücü düşük basınçlı vakumda uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (1:3 etil asetat/*n*-hekzan; R_f: 0.68) uygulanarak saflaştırıldı.

Sarımtırak yağımsı madde; %34 verim.

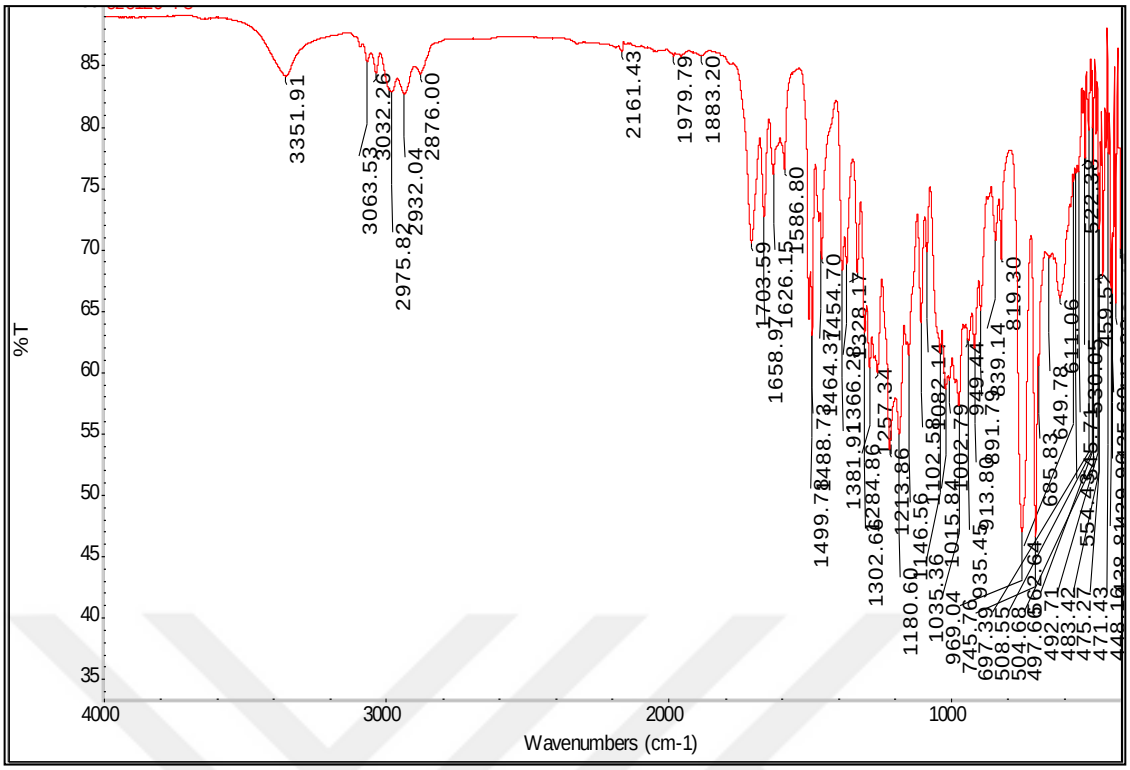
5.2.19.1 Bileşik 47'nin Spektroskopik Verileri

FTIR (ATR): **ν=** 3063 ve 3032 (aromatik C-H gerilimleri), 2975, 2932 ve 2876 (alifatik, C-H gerilimleri), 1703 (C=O gerilimi), 1586 (aromatik, C=C gerilimi), 1464, 1381 ve 1328 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1213 (C-N salınımı), 1180 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

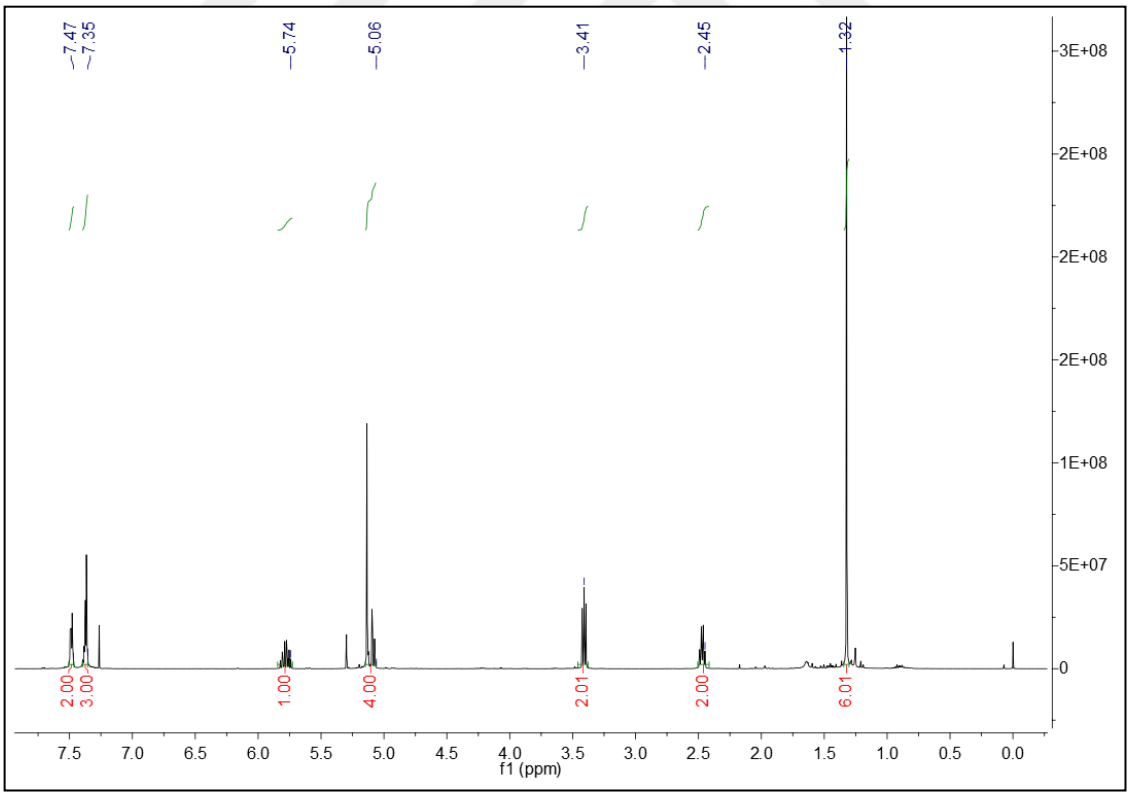
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.32 (s, 6H, 2xCH_3), 2.45-2.49 (m, 2H, CH_2), 3.41 (t, *J*= 5.8 Hz, 2H, *N*-CH_2), 5.06-5.13 (m, 4H, *O*-CH_2 ve =CH_2), 5.74-5.82 (m, 1H, =CH-), 7.35-7.39 (m, 3H, ArH), 7.46-7.50 (m, 2H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ = 20.5 (CH_3), 20.6 (CH_3), 34.1 (CH_2), 48.4 (CH_2), 59.8 (Cq), 78.4 (*O*-CH_2), 117.26 (=CH_2), 128.4 (2xCAr), 129.0 (CAr), 129.8 (2xCAr) 133.8 (Cq), 134.6 (=CH), 162.1 (C=O) ppm.

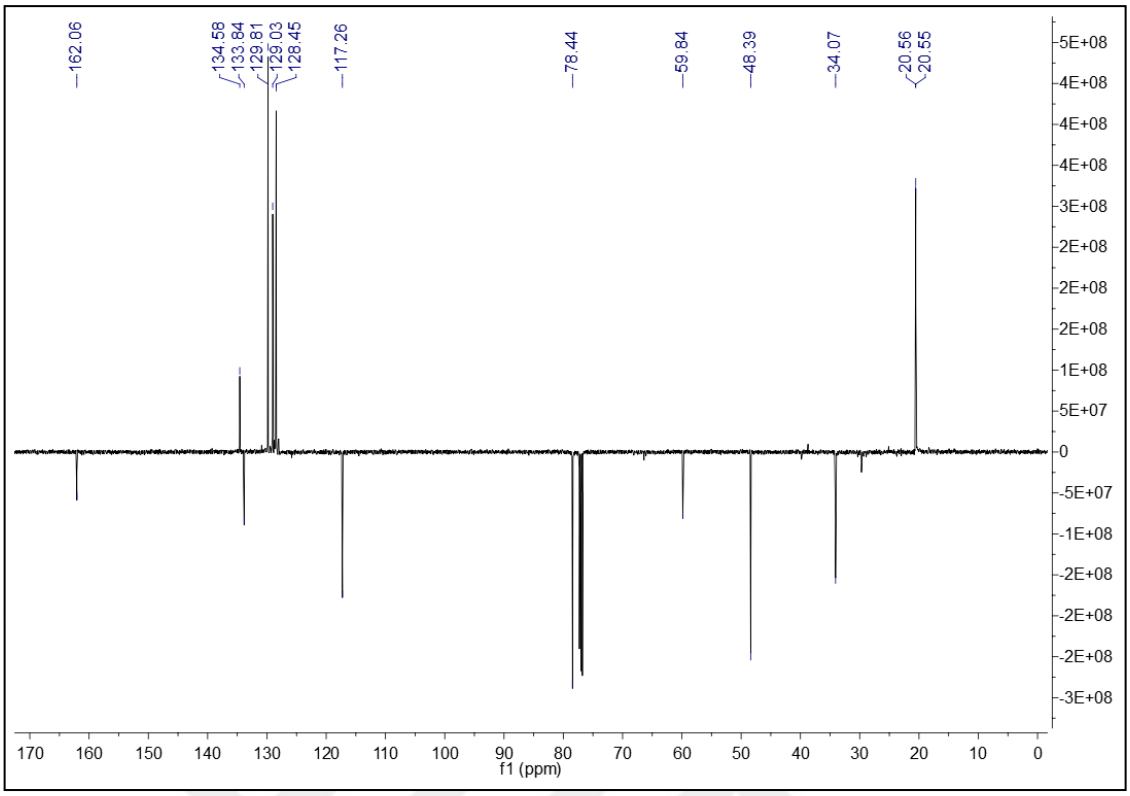
HRMS (ESI-QTOF): m/z: ($[C_{15}H_{20}N_4O_2]$-N_2+H)$^+$ için hesaplanan 261.1603, bulunan 261.1587.



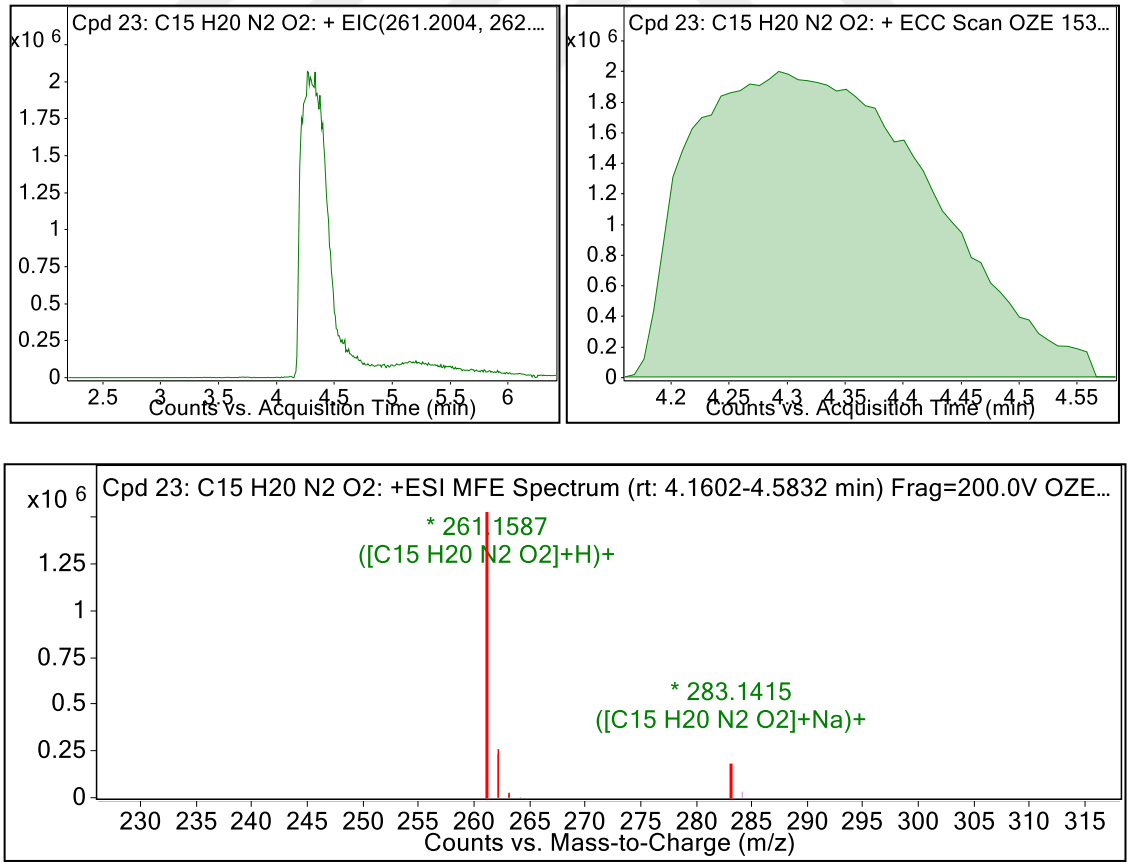
Şekil 5.133 Bileşik **47**'nin FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.134 Bileşik **47**'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

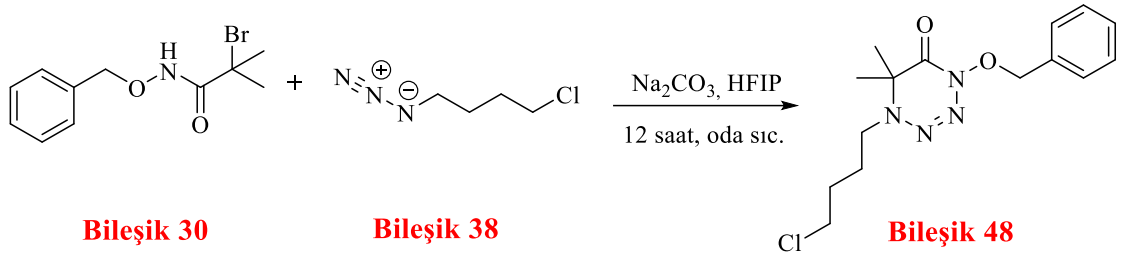


Şekil 5.135 Bileşik **47**'nin APT-NMR spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.136 Bileşik **47**'nin HRMS (QTOF) spektrumu

5.2.20 4-(Benziloksi)-1-(4-klorobutil)-6,6-dimetil-1,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-5(4*H*)-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 48, $C_{15}H_{21}ClN_4O_2$)



Bileşik 30 **Bileşik 38** **Bileşik 48**

Bileşik **30** (0.25 mmol), bileşik **38** (0.25 mmol) ve Na_2CO_3 (2.0 ekivalent) tartılarak schlenk tüpüne yerleştirildi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile dolduruldu. Reaksiyon ortamına 1.0 mL HFIP kondu ve karışım 12 saat boyunca oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. TLC sonucuna göre reaksiyon sonlandırıldı, selitten süzüldü. Organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (3:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.54) yardımıyla saflaştırıldı.

Sarımtırak yağımsı madde; %52 verim.

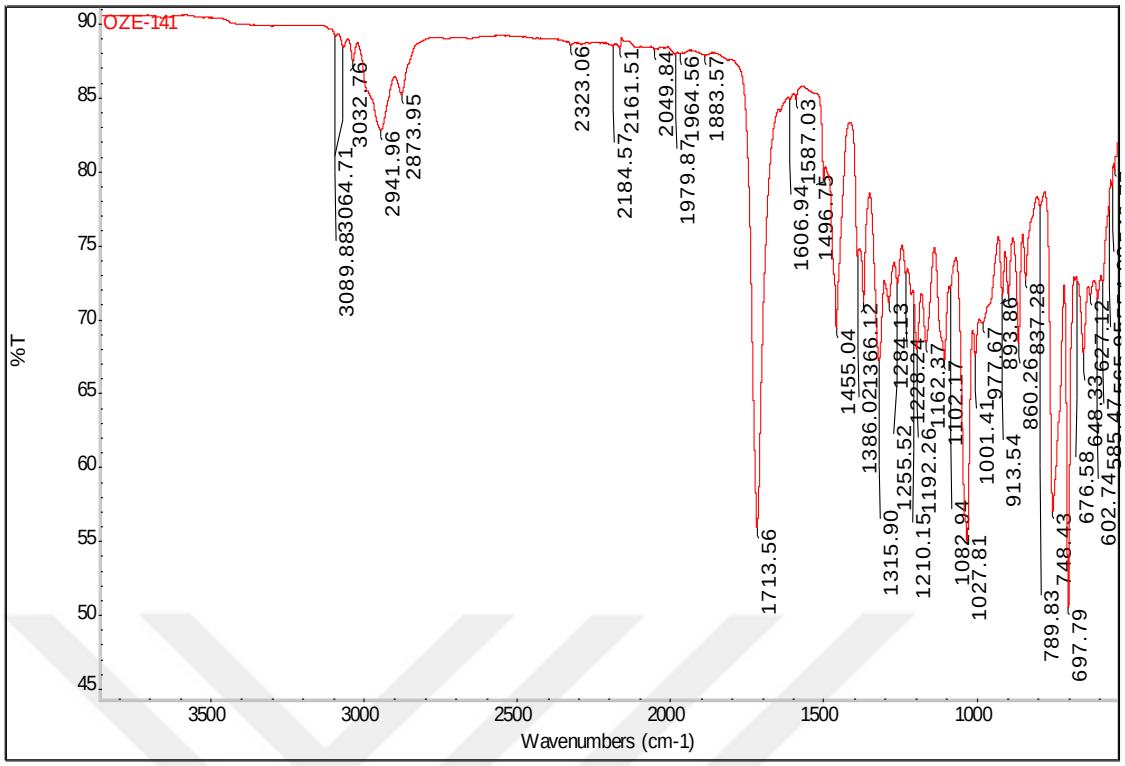
5.2.20.1 Bileşik 48'e Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): ν= 3089, 3064 ve 3032 (aromatik C-H gerilimleri), 2941 ve 2873 (alifatik, C-H gerilimleri), 1713 (C=O gerilimi), 1455 (aromatik, C=C gerilimi), 1386 ve 1315 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1210 (C-N salınımı), 1082 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

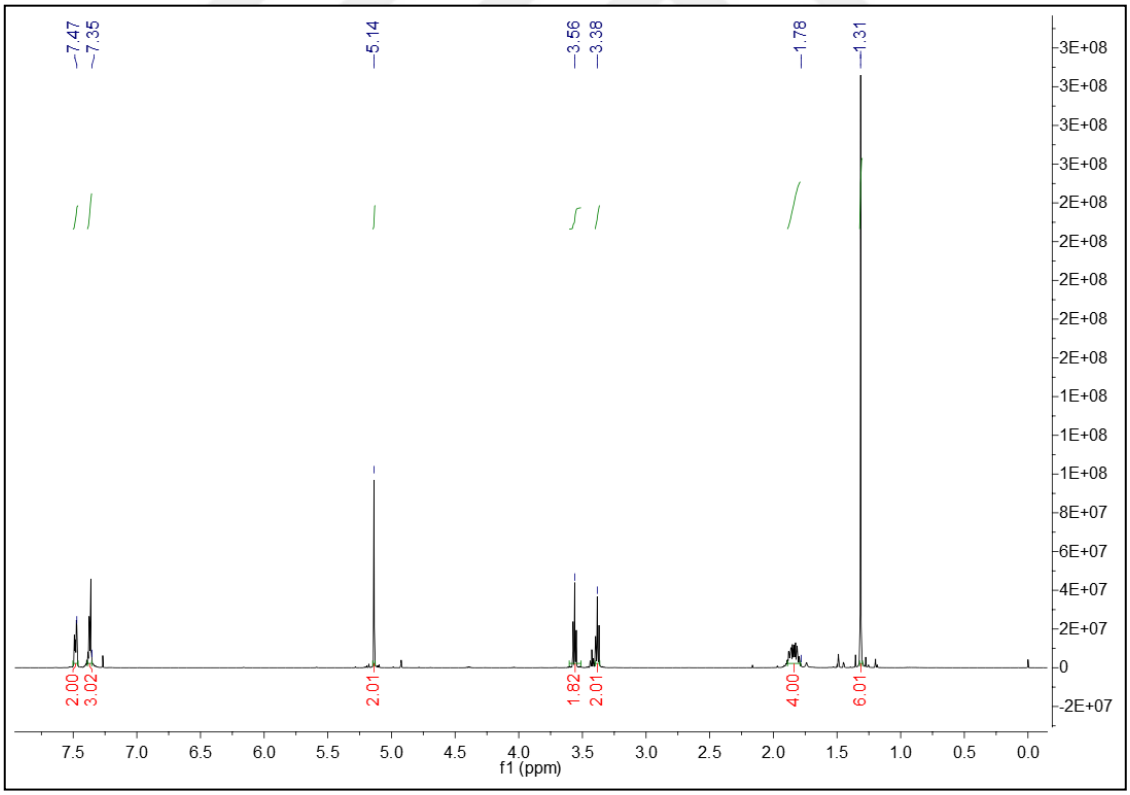
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.38 (s, 6H, 2xCH_3), 1.78-1.89 (m, 4H, 2xCH_2), 3.38 (t, *J*= 7.3 *Hz*, 2H, *N*-CH_2), 3.56 (t, *J*= 7.2 Hz, 2H, Cl-CH_2), 5.14 (s, 2H, *O*-CH_2), 7.35-7.38 (m, 3H, ArH), 7.47-7.50 (m, 2H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 20.4 (CH_3), 20.5 (CH_3), 27.0 (CH_2), 29.5 (CH_2), 44.5 (CH_2), 48.1 (CH_2), 59.8 (Cq), 78.5 (*O*-CH_2), 128.5 (2xCAr), 129.1 (CAr), 129.8 (2xCAr), 133.8 (Cq), 162.2 (C=O) ppm.

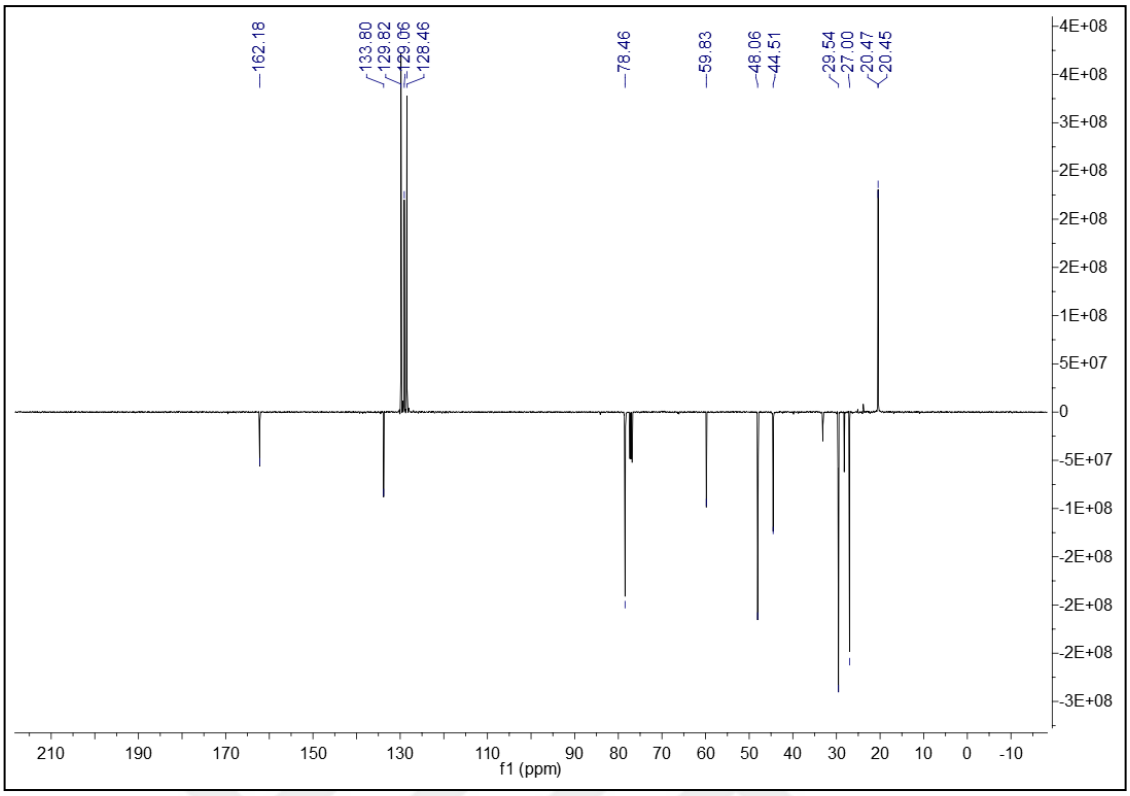
HRMS (ESI-QTOF): m/z: $([C_{15}H_{21}ClN_4O_2]+Na)^+$ için hesaplanan 347.1251, bulunan 347.1242.



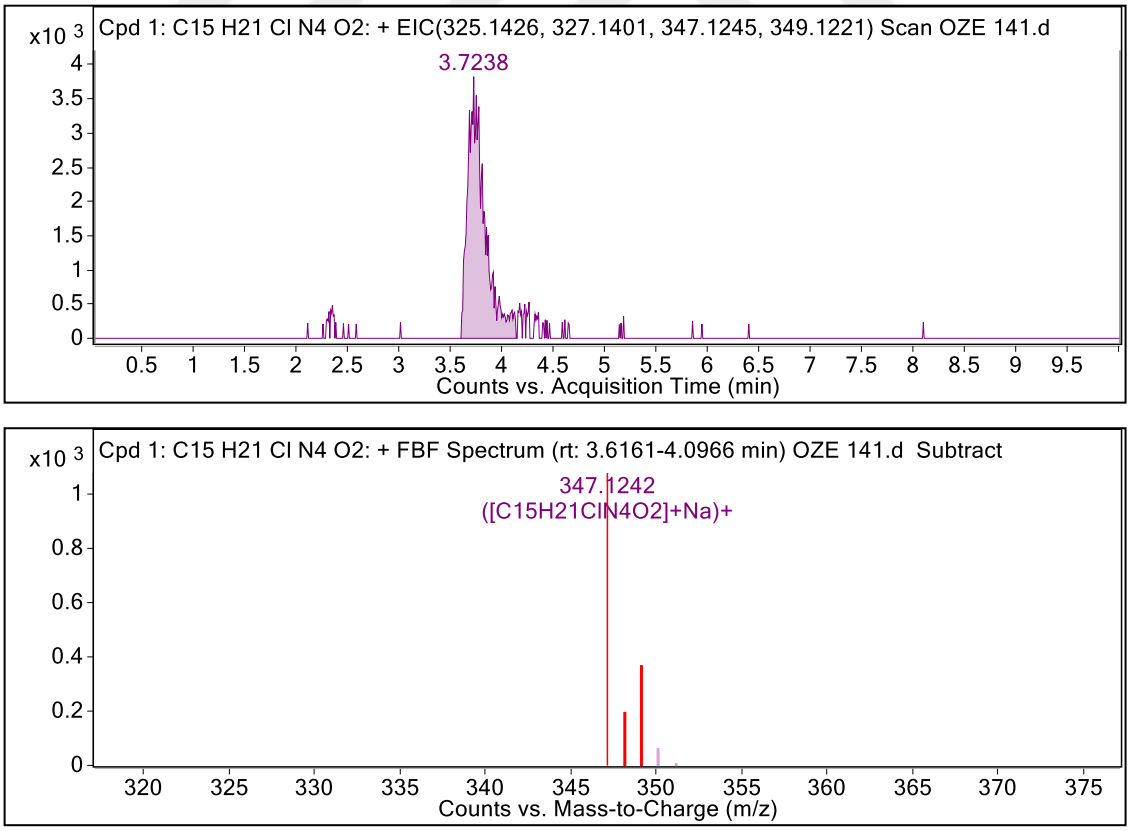
Şekil 5.137 Bileşik **48**'in FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.138 Bileşik **48**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

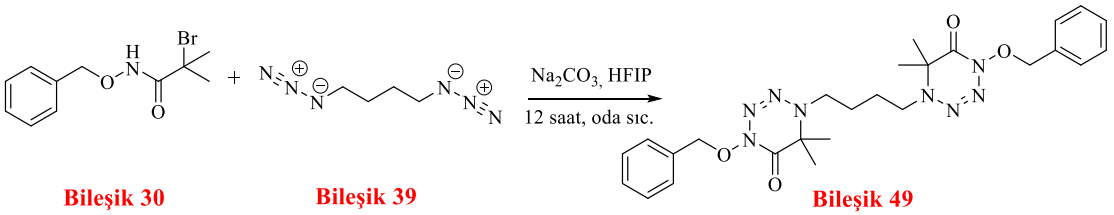


Şekil 5.139 Bileşik **48**'in APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.140 Bileşik **48**'in HRMS (QTOF) spektrumu

5.2.21 1,1'-(Bütan-1,4-diil)bis(4-(benziloksi)-6,6-dimetil-1,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-5(4*H*)-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 49, $C_{26}H_{34}N_8O_4$)



Bileşik 30 **Bileşik 39** **Bileşik 49**

Bileşik **30** (0.25 mmol), bileşik **39** (0.25 mmol) ve Na_2CO_3 (2.0 ekivalent) tartılarak schlenk tüpüne yerleştirildi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile dolduruldu. Reaksiyon ortamına 1.0 mL HFIP kondu ve karışım 12 saat boyunca oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. TLC sonucuna göre reaksiyon sonlandırıldı, selitten süzüldü. Organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (3:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.34) yardımıyla saflaştırıldı.

Sarımtırak yağımsı madde; %31 verim.

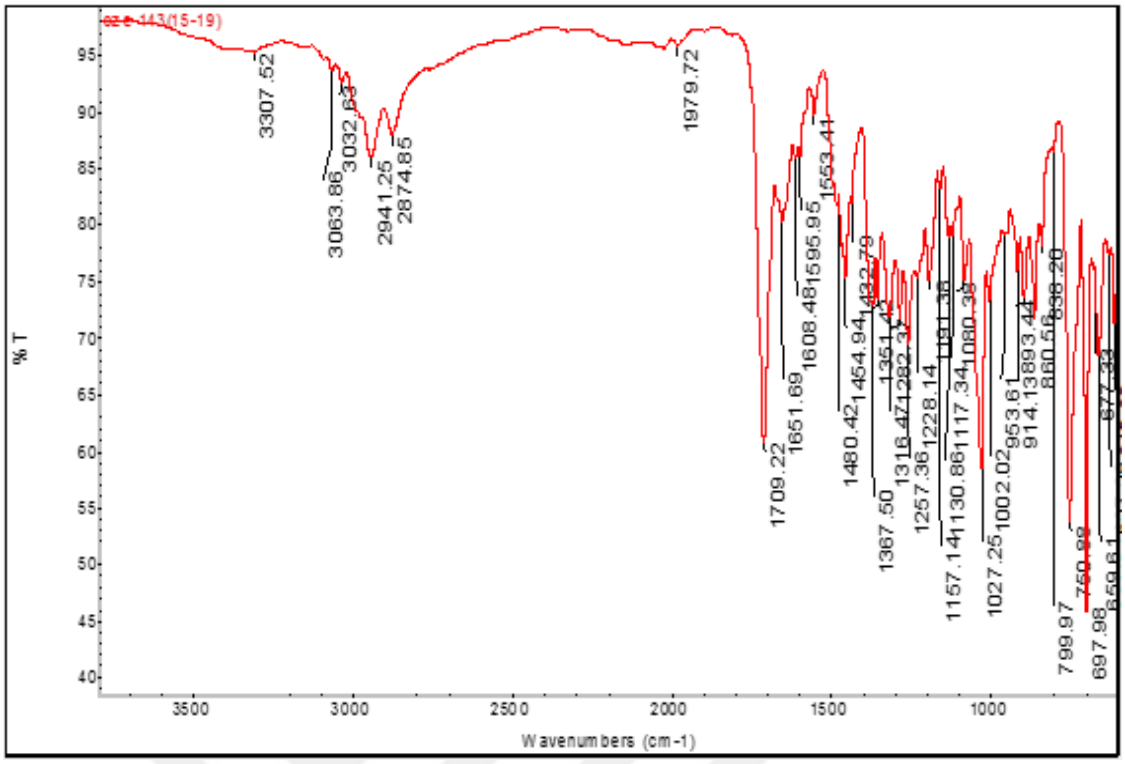
5.2.21.1 Bileşik 49'a Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): **ν=** 3063 ve 3032 (aromatik C-H gerilimleri), 2941 ve 2874 (alifatik, C-H gerilimleri), 1709 (C=O gerilimi), 1553 (aromatik, C=C gerilimi), 1480, 1454 ve 1367 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1257 (C-N salınımı), 1027 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

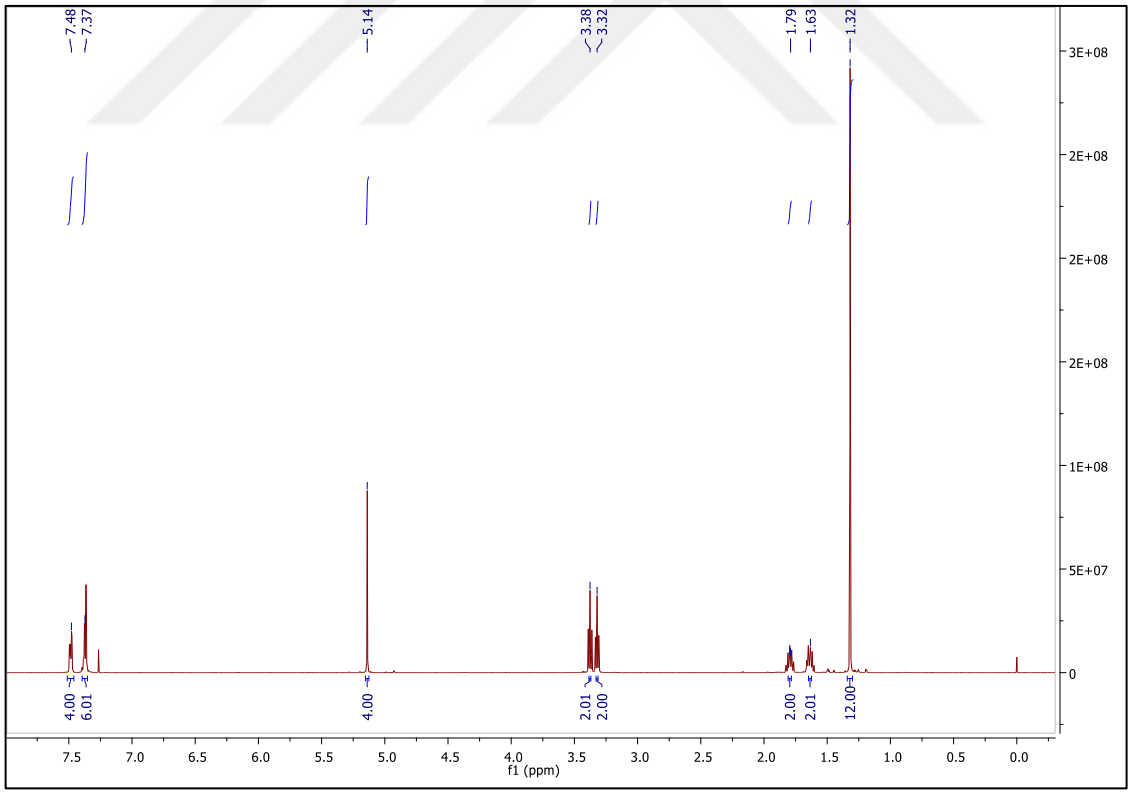
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.32 (s, 12H, 4xCH_3), 1.62-1.66 (m, 2H, CH_2), 1.80 (pent, *J*= 7.4 Hz, 2H, CH_2), 3.32 (t, *J*= 7.0 Hz, 2H, *N*-CH_2), 3.38 (t, *J*= 7.0 Hz, 2H, *N*-CH_2), 5.14 (s, 4H, 2x*O*-CH_2), 7.35-7.39 (m, 6H, ArH), 7.47-7.49 (m, 4H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 20.5 (4xCH_3), 26.0 (CH_2), 26.9 (CH_2), 48.2 (*N*-CH_2), 51.1 (*N*-CH_2), 59.8 (2xCq), 78.5 (2x*O*-CH_2), 128.5 (4xCAr), 129.1 (2xCAr), 129.8 (4xCAr), 133.8 (2xCq), 162.2 (2xC=O) ppm.

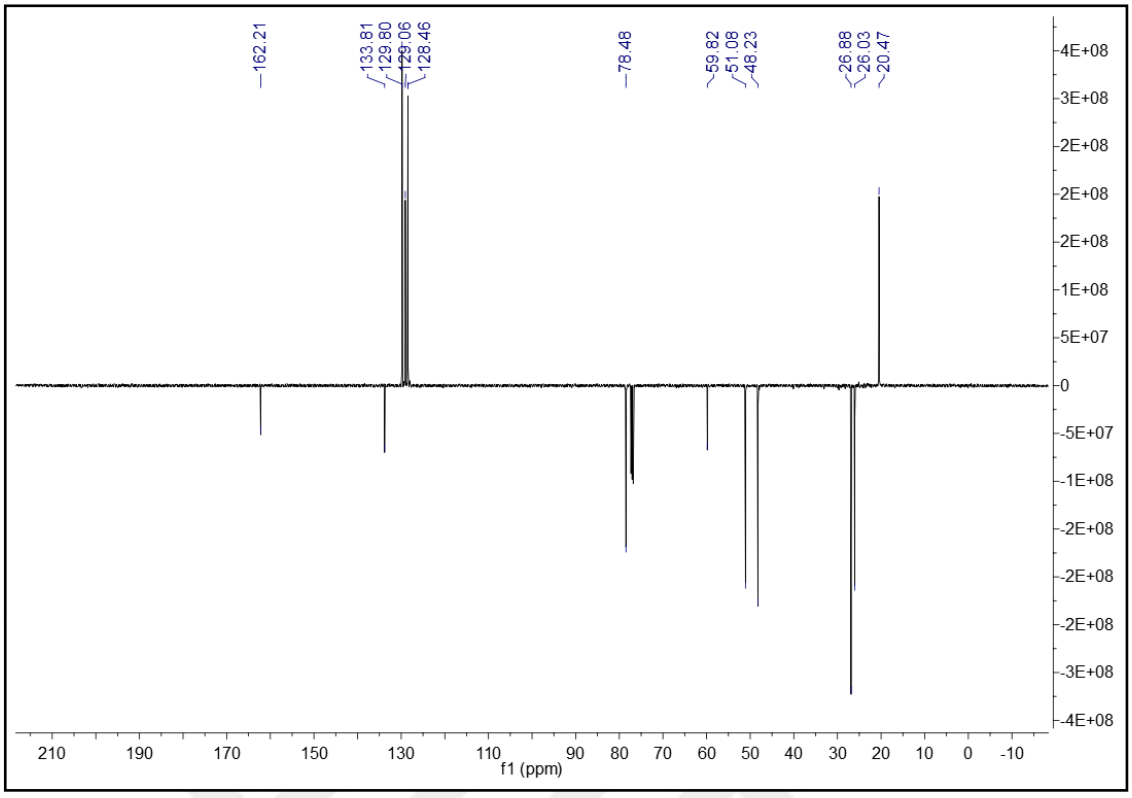
HRMS (ESI-QTOF): m/z: ($[C_{26}H_{34}N_8O_4]$-N_4+Na)$^+$ için hesaplanan 489.2478, bulunan 489.2472.



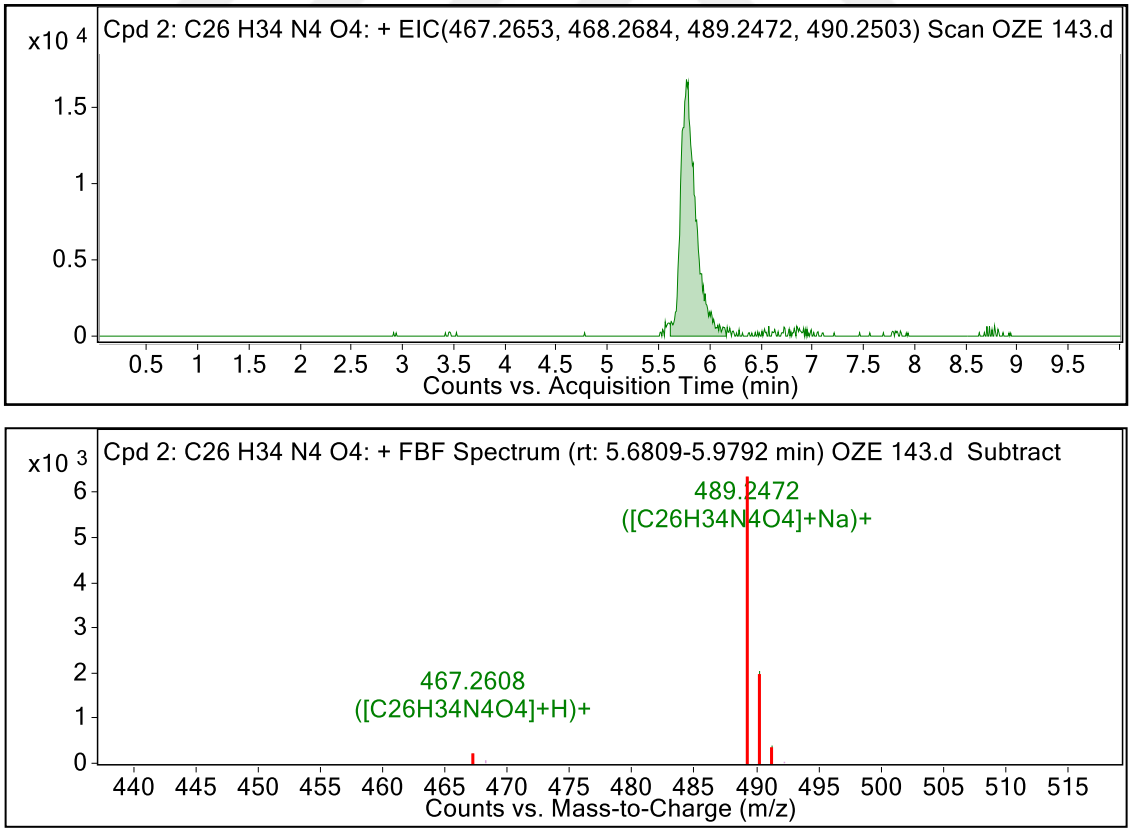
Şekil 5.141 Bileşik **49**'un FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.142 Bileşik **49**'un ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

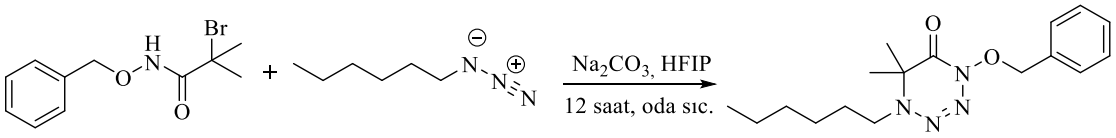


Şekil 5.143 Bileşik **49**'un APT-NMR spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.144 Bileşik **49**'un HRMS (QTOF) spektrumu

5.2.22 4-(Benziloksi)-1-hekzil-6,6-dimetil-1,6-dihidro-1,2,3,4-tetrazin-5(4*H*)-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 50, $C_{17}H_{26}N_4O_2$)



Bileşik 30 **Bileşik 40** **Bileşik 50**

Bileşik **30** (0.25 mmol), bileşik **40** (0.25 mmol) ve Na_2CO_3 (2.0 ekivalent) tartılarak schlenk tüpüne yerleştirildi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile dolduruldu. Reaksiyon ortamına 1.0 mL HFIP kondu ve karışım 12 saat boyunca oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. TLC sonucuna göre reaksiyon sonlandırıldı, selitten süzüldü. Organik çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalıntı kolon kromatografisi (3:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.5) yardımıyla saflaştırıldı.

Sarımtırak yağımsı madde; %42 verim.

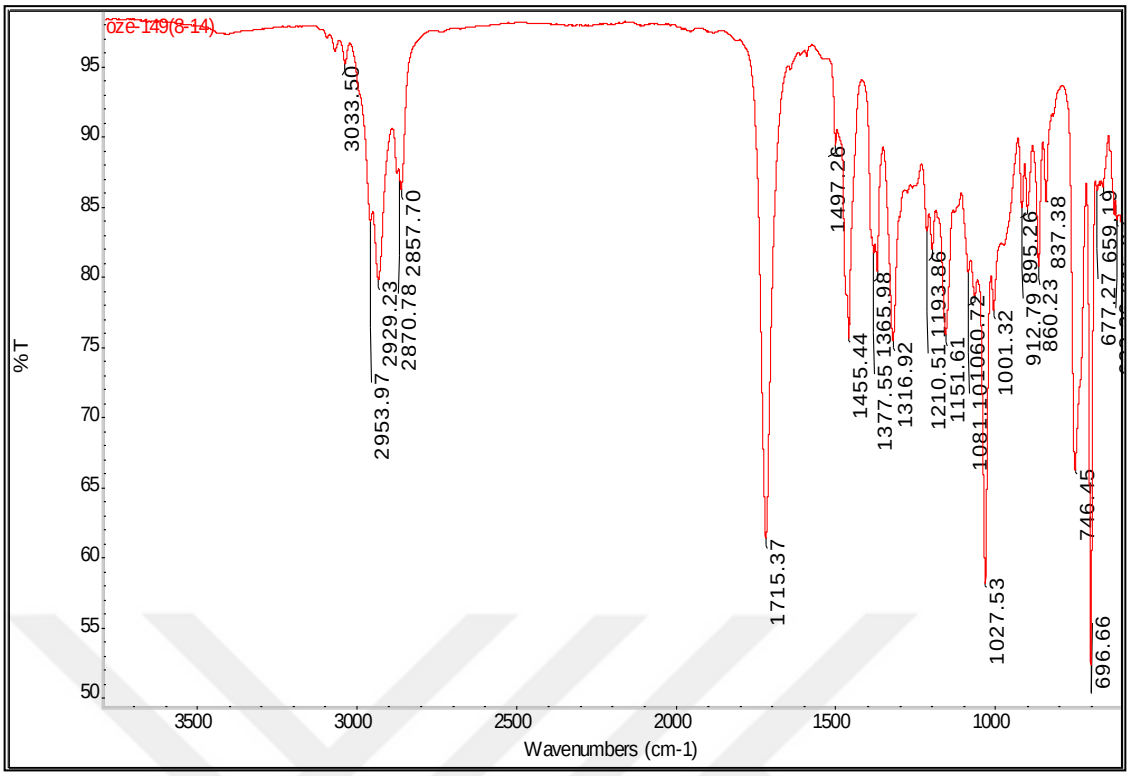
5.2.22.1 Bileşik 50'ye Ait Spektral Veriler

FTIR (ATR): ν= 3033 (aromatik C-H gerilimi), 2953, 2929 ve 2870 (alifatik, C-H gerilimleri), 1715 (C=O gerilimi), 1497 (aromatik, C=C gerilimi), 1455, 1377 ve 1316 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1151 (C-N salınımı), 1027 (C-O gerilimi) cm^{-1}.

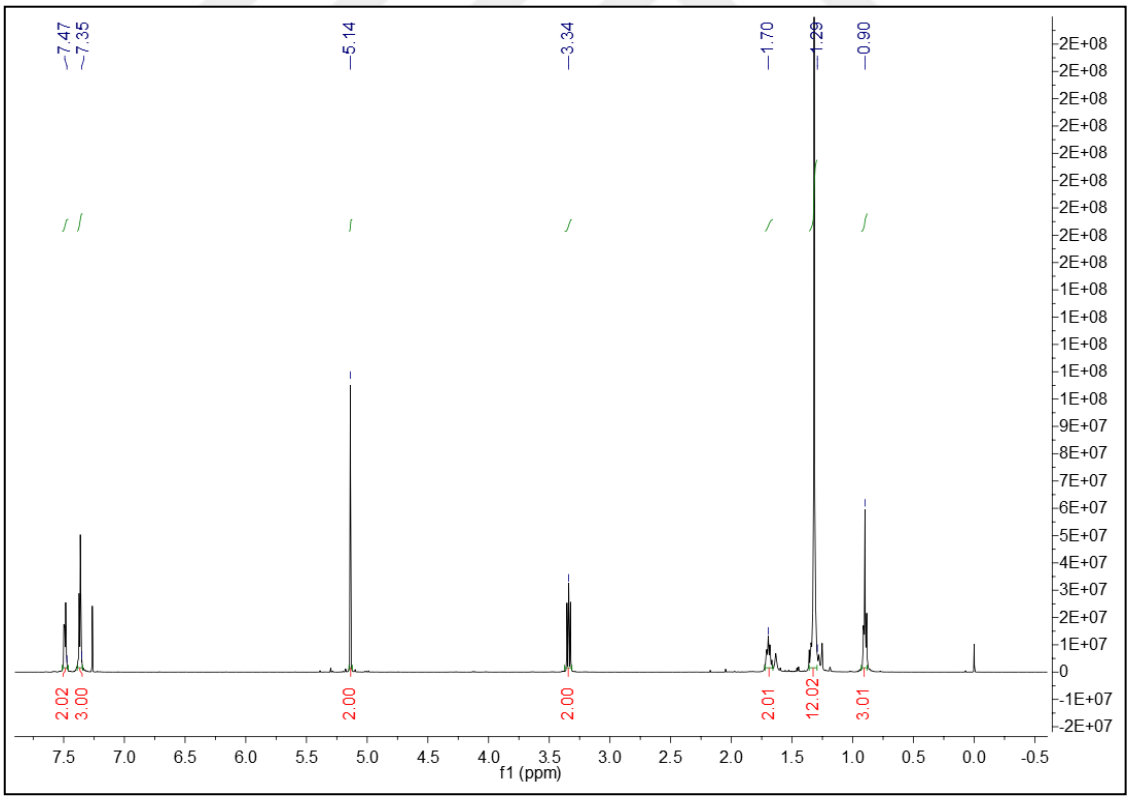
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 0.90 (t, *J*= 6.9 *Hz*, 3H, CH_3), 1.29-1.36 (m, 12H, 2xCH_3 ve 3xCH_2), 1.70 (pent, *J*= 8.2 *Hz*, 2H, CH_2), 3.34 (t, *J*= 7.6 *Hz*, 2H, *N*-CH_2), 5.14 (s, 2H, *O*-CH_2), 7.35-7.39 (m, 3H, ArH), 7.47-7.50 (m, 2H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 14.0 (CH_3), 20.6 (2xCH_3), 22.5 (CH_2), 26.3 (CH_2), 29.8 (CH_2), 31.5 (CH_2), 49.0 (CH_2), 59.8 (Cq), 78.4 (*O*-CH_2), 128.4 (2xCAr), 129.0 (CAr), 129.8 (2xCAr), 133.9 (Cq), 162.0 (C=O) ppm.

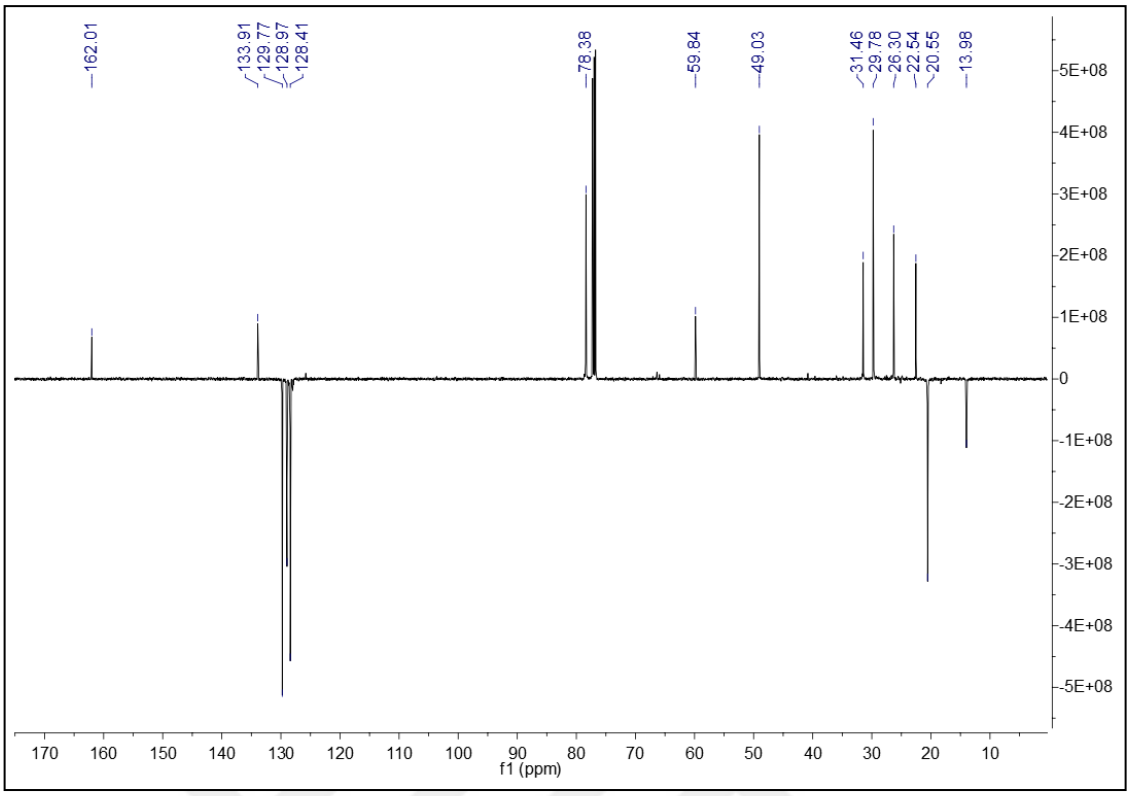
HRMS (ESI-QTOF): m/z: ([$C_{17}H_{26}N_4O_2$]-N_2+H)$^+$ için hesaplanan 291.2073, bulunan 291.2063.



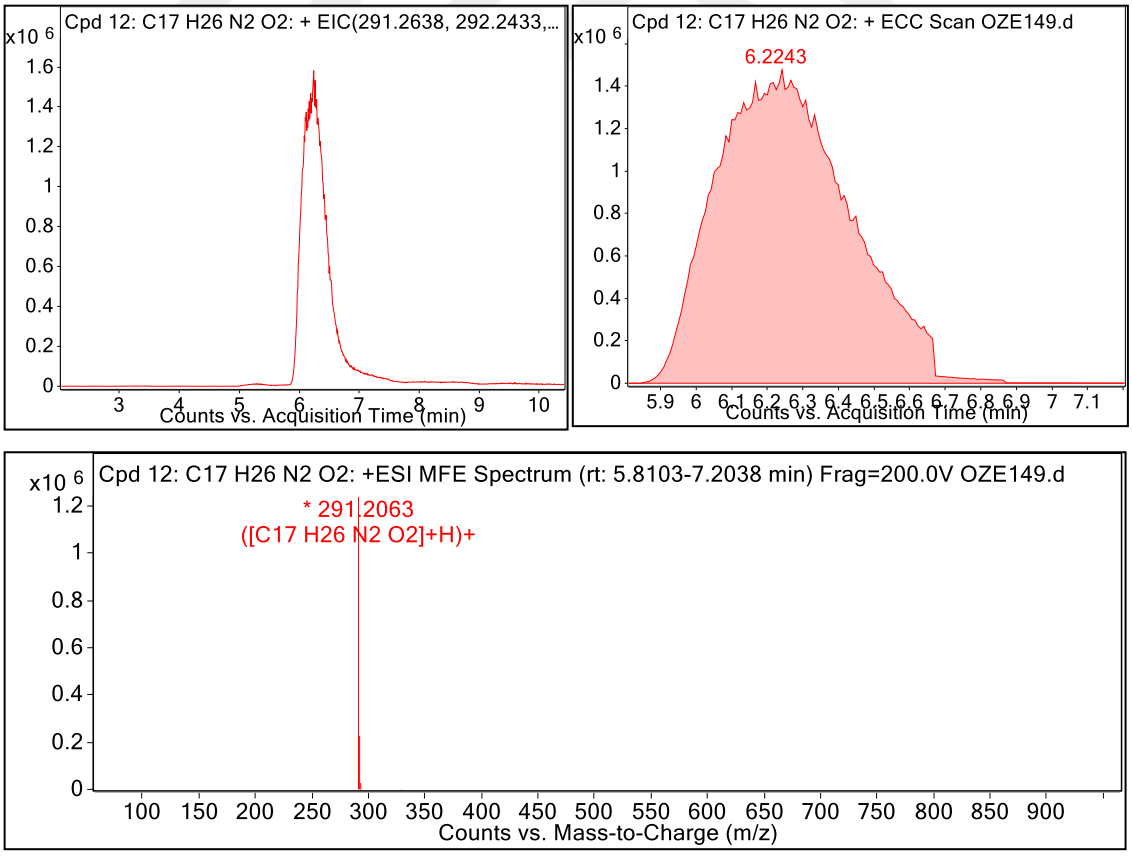
Şekil 5.145 Bileşik **50**'nin FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.146 Bileşik **50**'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)

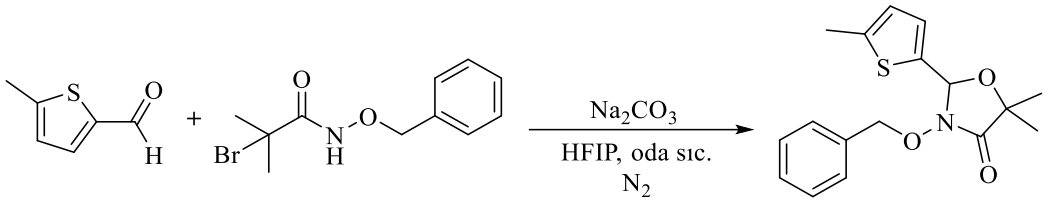


Şekil 5.147 Bileşik **50**'nin APT spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.148 Bileşik **50**'nin HRMS (QTOF) spektrumu

5.2.23 3-(Benziloksi)-5,5-dimetil-2-(5-metiltiyofen-2-il)oksazolidin-4-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 51, $C_{17}H_{19}NO_3S$)



Bileşik 30 **Bileşik 51**

0.375 mmol (102 mg) bileşik **30** bileşiği ve 0.25 mmol (31.54 mg) 5-metiltiyofen-2-karbaldehit schlenk tüpüne alındı ve üzerine 0.75 mmol (79.50 mg) susuz Na_2CO_3 eklendi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile dolduruldu. Üzerine bir enjektör yardımıyla 1 mL HFIP çözücüsü eklenerek çözünmesi sağlandı. Reaksiyon azot atmosferi altında 12 saat boyunca karışmaya bırakıldı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra karışım selitten süzüldü ve organik çözücü düşük basınç uçuruldu. Kalıntıya kolon kromatografisi (2:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.60) uygulanarak saflaştırma işlemi gerçekleştirildi.

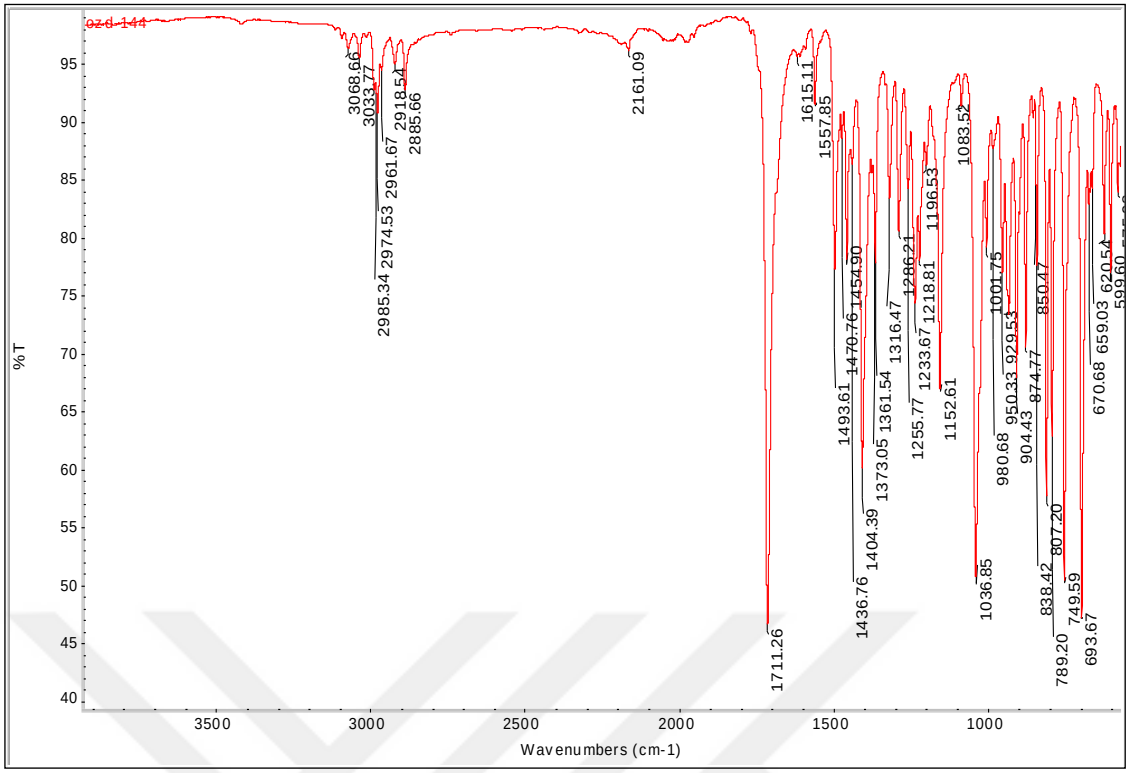
Beyaz katı madde; %84 verim.

5.2.23.1 Bileşik 51'e Ait Spektral Veriler

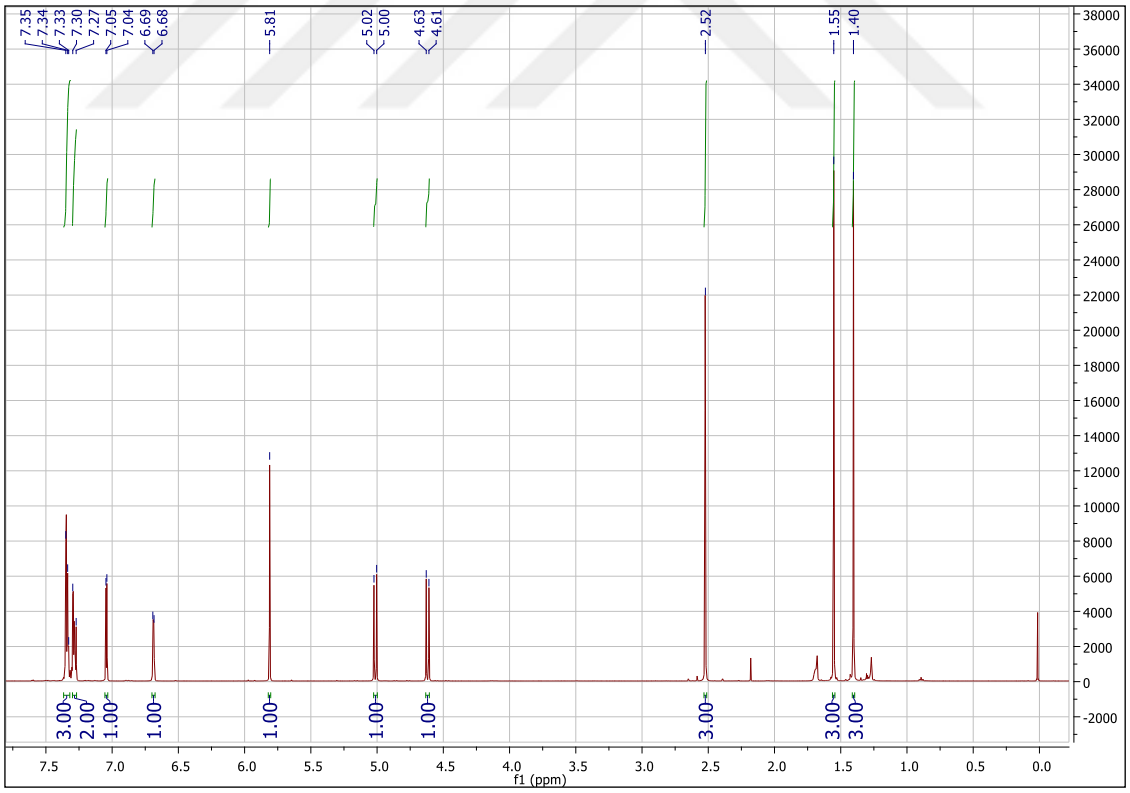
FTIR: ν= 3068 ve 3033 (aromatik, =C-H gerilimleri), 2985 ve 2974 (alifatik, C-H gerilimleri), 1711 (C=O gerilimi), 1557 ve 1493 (aromatik, C=C gerilimleri), 1470 ve 1436 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1152 (C-O gerilimi), 1036 (C-N gerilimi) cm^{-1}.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.40 (s, 3H, CH_3), 1.55 (s, 3H, CH_3), 2.52 (s, 3H, CH_3), 4.62 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, CH_2), 5.01 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, CH_2), 5.81 (s, 1H, CH), 6.70 – 6.68 (m, 1H, ArH), 7.04 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, ArH), 7.30 – 7.27 (m, 2H, ArH), 7.36 – 7.32 (m, 3H, ArH) ppm.

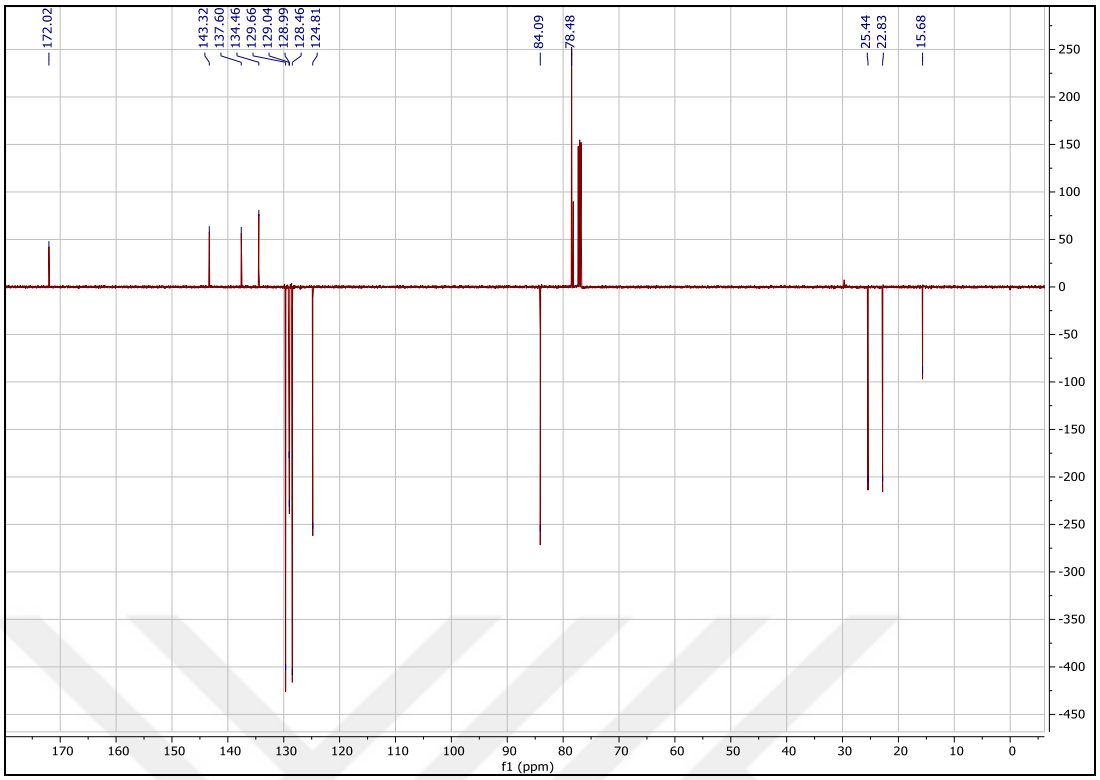
APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 15.68 (CH_3), 22.83 (CH_3), 25.44 (CH_3), 78.48 (CH_2), 84.09 (2xCH), 124.81 (CAr), 128.46 (2xCAr), 128.99 (CAr), 129.04 (CAr), 129.66 (2xCAr), 134.46 (Cq), 137.60 (Cq), 143.32 (Cq), 172.02 (C=O) ppm.



Şekil 5.149 Bileşik **51**'in FTIR spektrumu (ATR)

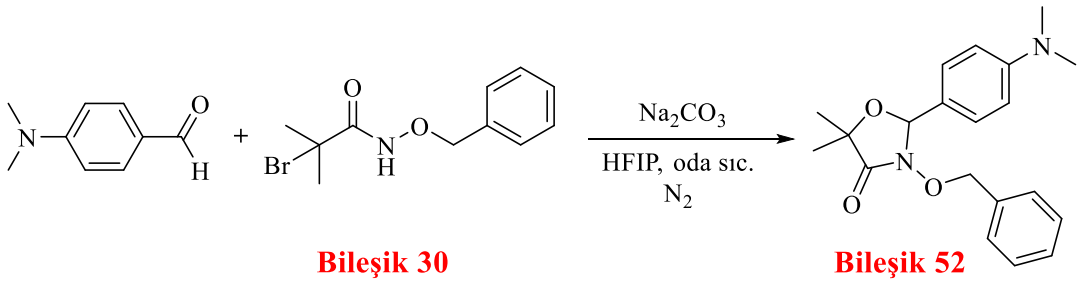


Şekil 5.150 Bileşik **51**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.151 Bileşik **51**'in APT spektrumu ($CDCl_3$)

5.2.24 3-(Benziloksi)-2-(4-(dimetilamino)fenil)-5,5-dimetiloksazolidin-4-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 52, $C_{20}H_{24}N_2O_3$)



Bileşik 30 **Bileşik 52**

0.375 mmol (102 mg) Bileşik **30** ve 0.25 mmol (37.05 mg) 4-dimetilaminobenzaldehit Schlenk tüpüne alındı ve üzerine 0.75 mmol (79.50 mg) susuz Na_2CO_3 eklendi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile doldurulduru. Üzerine bir enjektör yardımıyla 1 mL HFIP çözücüsü eklenerek çözünmesi sağlandı. Reaksiyon azot atmosferi altında 12 saat boyunca karışmaya bırakıldı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra karışım selitten süzüldü ve organik çözücü düşük basınç altında uçuruldu. Kalıntıya kolon kromatografisi (2:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.35) uygulanarak saflaştırma işlemi gerçekleştirildi.

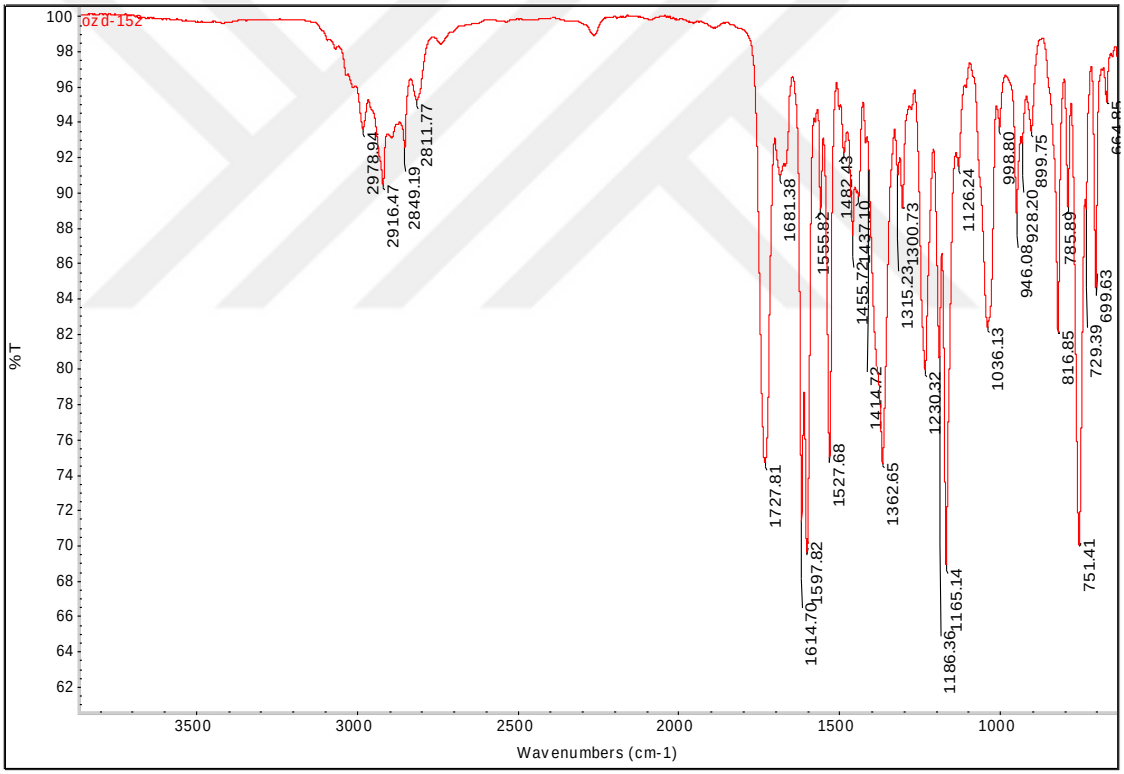
Beyaz katı madde; %78 verim.

5.2.24.1 Bileşik 52'ye Ait Spektral Veriler

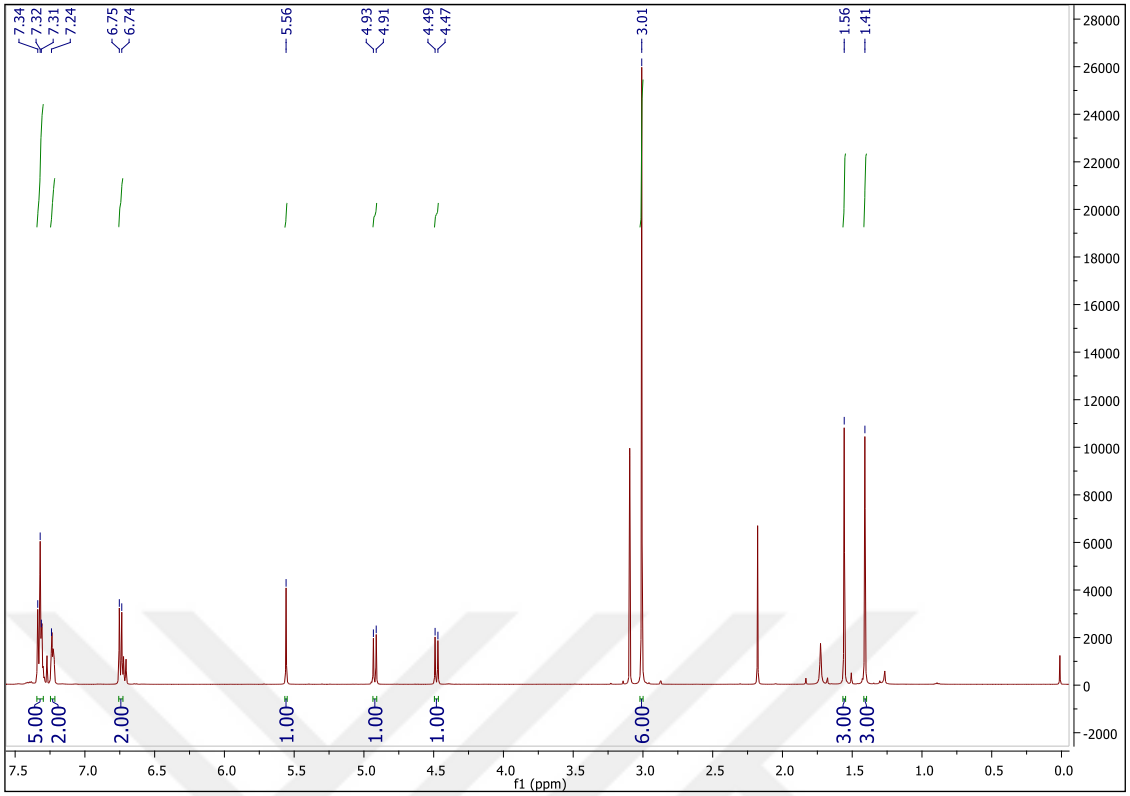
FTIR: ν= 2978 ve 2849 (alifatik, C-H gerilimleri), 1727 (C=O gerilimi), 1555 ve 1527 (aromatik, C=C gerilimleri), 1455 ve 1437 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1186 ve 1165 (C-O gerilimleri), 1036 (C-N gerilimi) cm^{-1}.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.41 (s, 3H, CH_3), 1.56 (s, 3H, CH_3), 3.01 (s, 6H, 2x CH_3), 4.48 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, CH_2), 4.92 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, CH_2), 5.56 (s, 1H, CH), 6.74 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, ArH), 7.23 (dd, *J* = 6.8, 2.5 Hz, 2H, ArH), 7.35 – 7.29 (m, 5H, ArH) ppm.

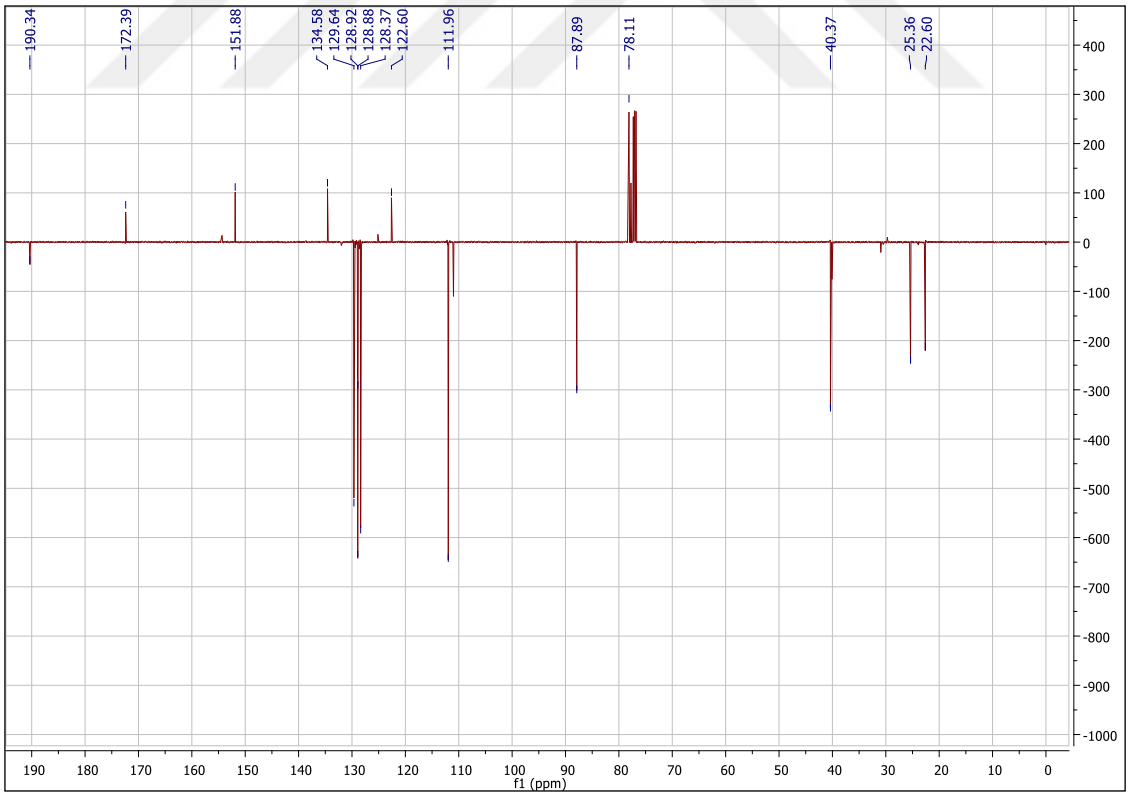
APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 22.60 (CH_3), 25.36 (CH_3), 40.37 (2x*N*-CH_3), 78.11 (CH_2), 87.89 (CH), 111.96 (2xCAr), 122.60 (Cq), 128.37 (2xCAr), 128.88 (CAr), 128.92 (2xCAr), 129.64 (2xCAr), 134.58 (Cq), 151.88 (Cq), 172.39 (Cq), 190.34 (C=O) ppm.



Şekil 5.152 Bileşik **52**'nin FTIR spektrumu (ATR)

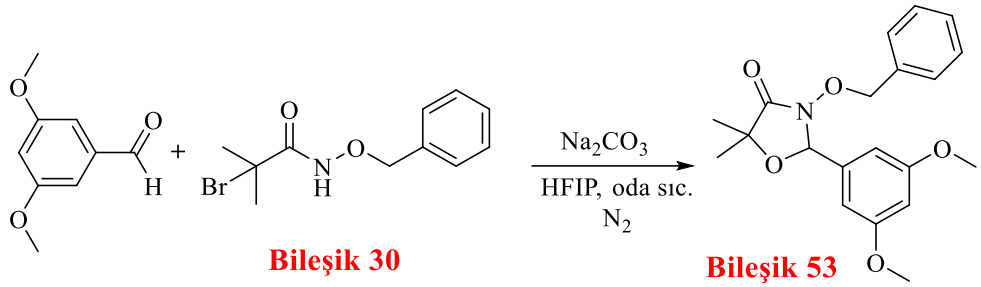


Şekil 5.153 Bileşik **52**'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.154 Bileşik **52**'nin APT spektrumu ($CDCl_3$)

5.2.25 3-(Benziloksi)-2-(3,5-dimetoksifenil)-5,5-dimetiloksazolidin-4-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 53, $C_{20}H_{23}NO_5$)



Bileşik 30 **Bileşik 53**

0.375 mmol (102 mg) Bileşik **30** ve 0.25 mmol (41.55 mg) 3,5-dimetoksibenzaldehit Schlenk tüpüne alındı ve üzerine 0.75 mmol (79.50 mg) susuz Na_2CO_3 eklendi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile doldurulduu. Üzerine bir enjektör yardımıyla 1 mL HFIP çözücüsü eklenerek çözünmesi sağlandı. Reaksiyon azot atmosferi altında 12 saat boyunca karışmaya bırakıldı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra karışım selitten süzüldü ve organik çözücü düşük basınç altında uçuruldu. Kalıntıya kolon kromatografisi (1:2 etil asetat/*n*-hekzan) uygulanarak saflaştırma işlemi gerçekleştirildi.

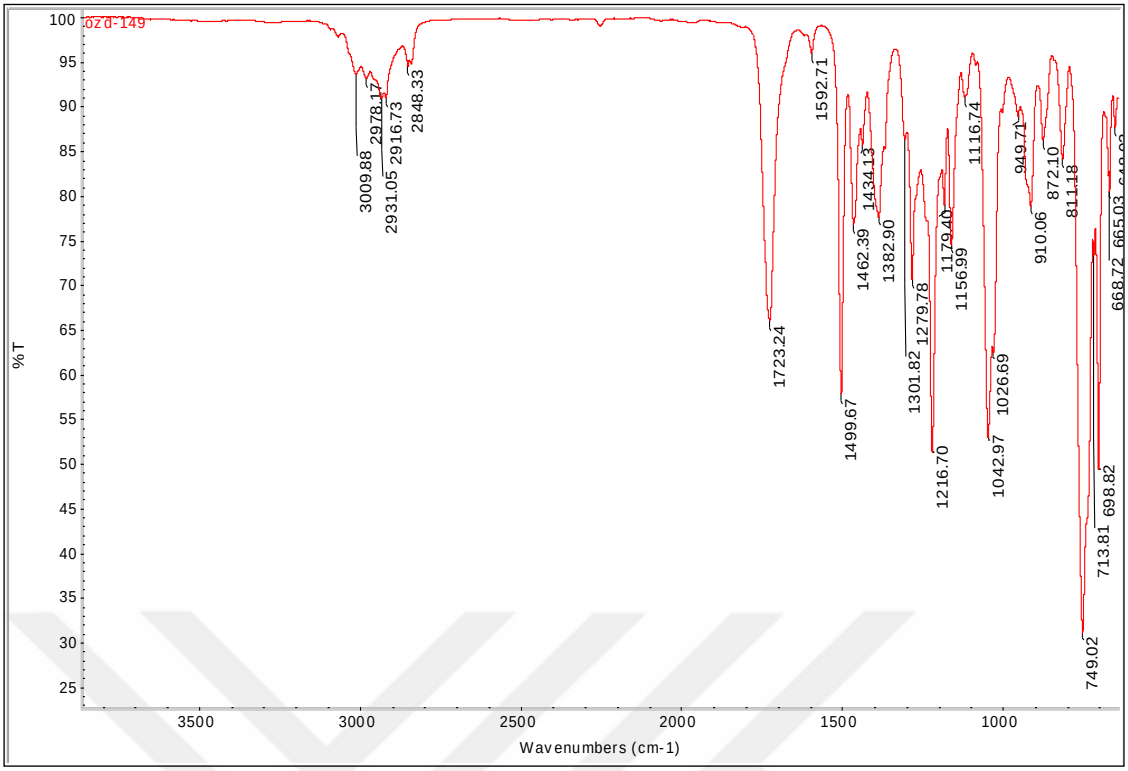
Beyaz katı madde; %74 verim.

5.2.25.1 Bileşik 53'e Ait Spektral Veriler

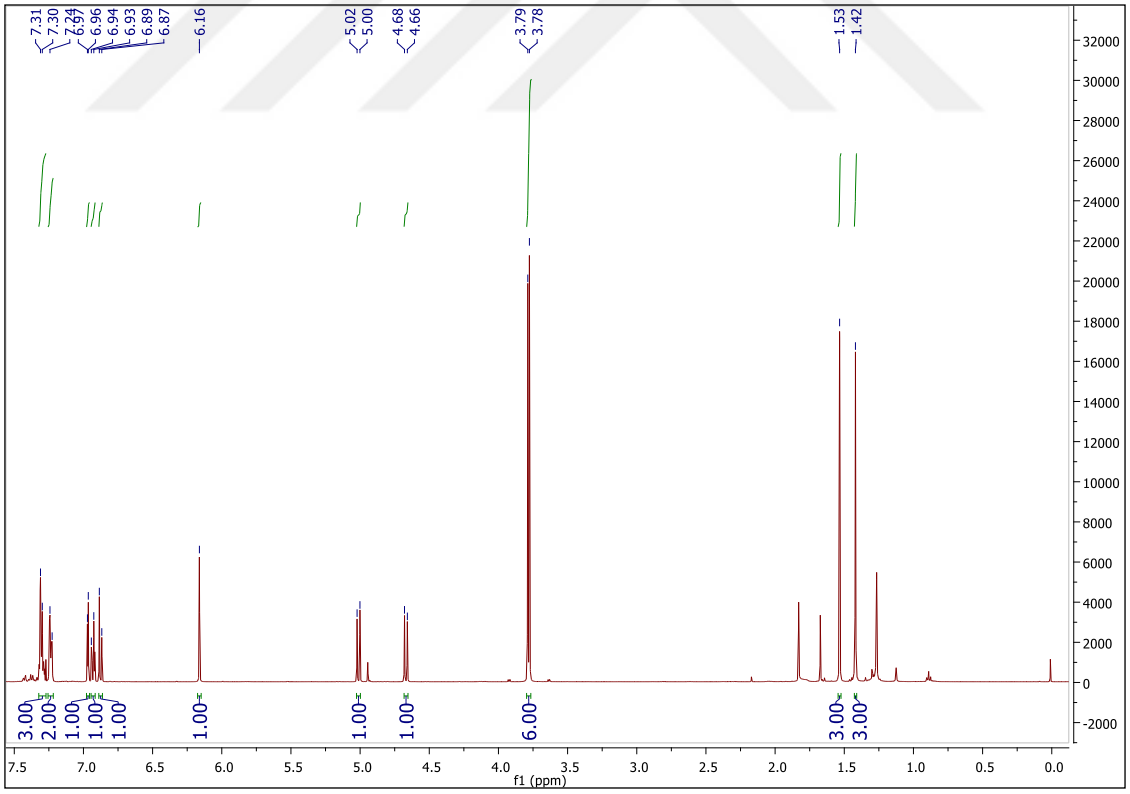
FTIR: ν= 3009 (aromatik, =C-H gerilimi), 2978 ve 2931 (alifatik, C-H gerilimleri), 1723 (C=O gerilimi), 1499 (aromatik, C=C gerilimi), 1462 ve 1434 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1156 (C-O gerilimi), 1042 (C-N gerilimi) cm^{-1}.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.42 (s, 3H, CH_3), 1.53 (s, 3H, CH_3), 3.78 (d, *J*= 5.9 Hz, 6H, 2x*O*-CH_3), 4.67 (d, *J*= 10.3 Hz, 1H, CH_2), 5.01 (d, *J*= 10.3 Hz, 1H, CH_2), 6.16 (s, 1H, CH), 6.88 (d, *J*= 8.9 Hz, 1H, ArH), 6.93 (dd, *J*= 8.9, 3.1 Hz, 1H, ArH), 6.97 (d, *J*= 3.1 Hz, 1H, ArH), 7.25 – 7.22 (m, 2H, ArH), 7.32 – 7.27 (m, 3H, ArH) ppm.

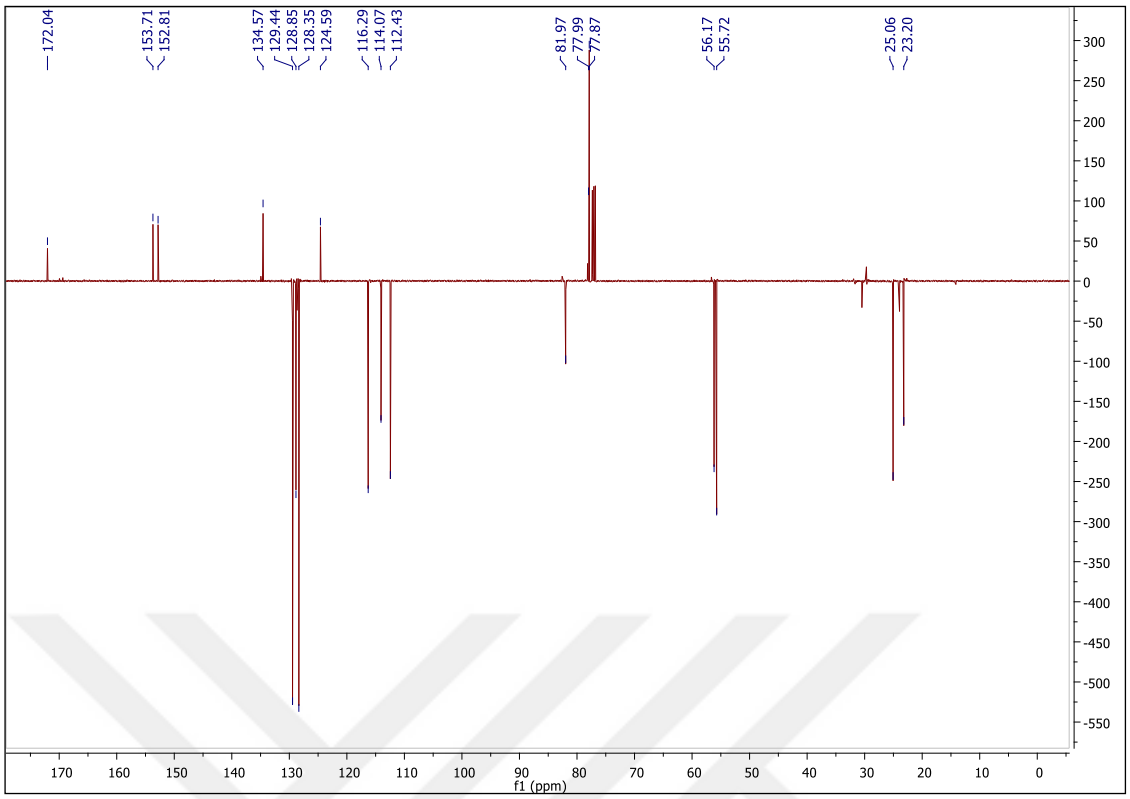
APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 23.20 (CH_3), 25.06 (CH_3), 55.72 (*O*-CH_3), 56.17 (*O*-CH_3), 77.87 (CH_2), 77.89 (Cq), 81.97 (CH), 112.43 (CAr), 114.07 (CAr), 116.29 (CAr), 124.59 (Cq), 128.35 (2xCAr), 128.85 (CAr), 129.44 (2xCAr), 134.57 (Cq), 152.81 (Cq), 153.71 (Cq), 172.04 (C=O) ppm.



Şekil 5.155 Bileşik **53**'ün FTIR spektrumu (ATR)

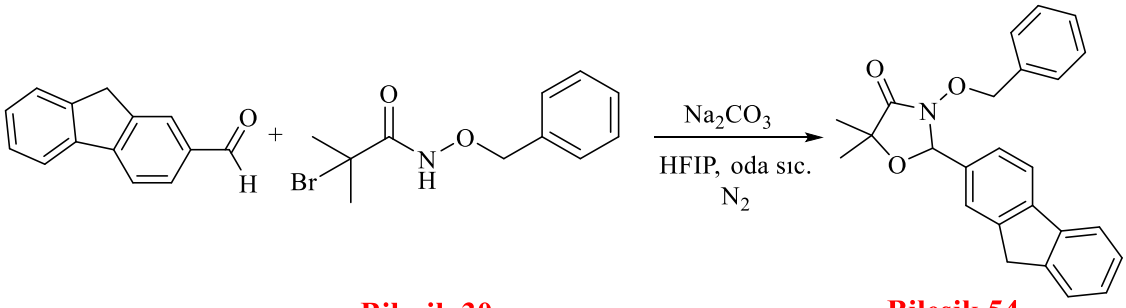


Şekil 5.156 Bileşik **53**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.157 Bileşik **53**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$)

5.2.26 3-(Benziloksi)-2-(9*H*-floren-2-il)-5,5-dimetiloksazolidin-4-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 54, $C_{25}H_{23}NO_3$)



Bileşik 30 **Bileşik 54**

0.375 mmol (102 mg) Bileşik **30** ve 0.25 mmol (48.56 mg) floren-2-karbaldehit Schlenk tüpüne alındı ve üzerine 0.75 mmol (79.50 mg) susuz Na_2CO_3 eklendi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile doldurulduru. Üzerine bir enjektör yardımıyla 1 mL HFIP çözücüsü eklenerek çözünmesi sağlandı. Reaksiyon azot atmosferi altında 12 saat boyunca karışmaya bırakıldı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra karışım selitten süzüldü ve organik çözücüsü düşük basınç altında uçuruldu. Kalıntıya kolon kromatografisi (2:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.59) uygulanarak saflaştırma işlemi gerçekleştirildi.

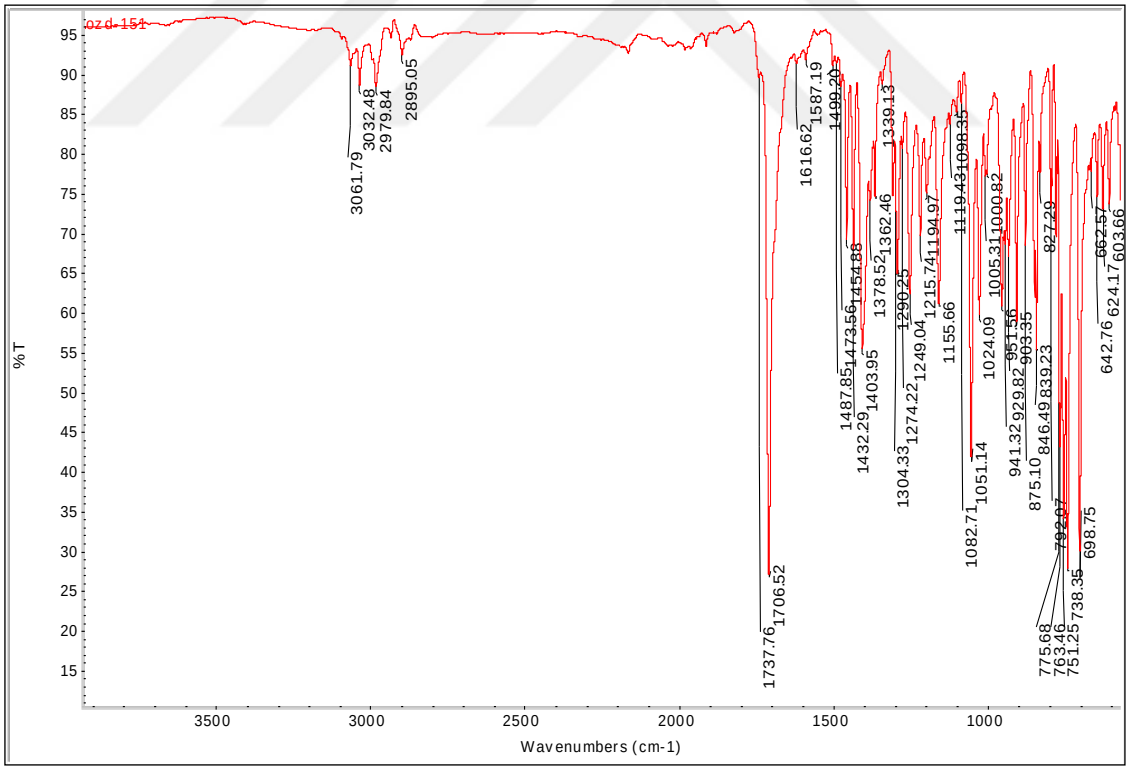
Beyaz katı madde; %82 verim.

5.2.26.1 Bileşik 54'e Ait Spektral Veriler

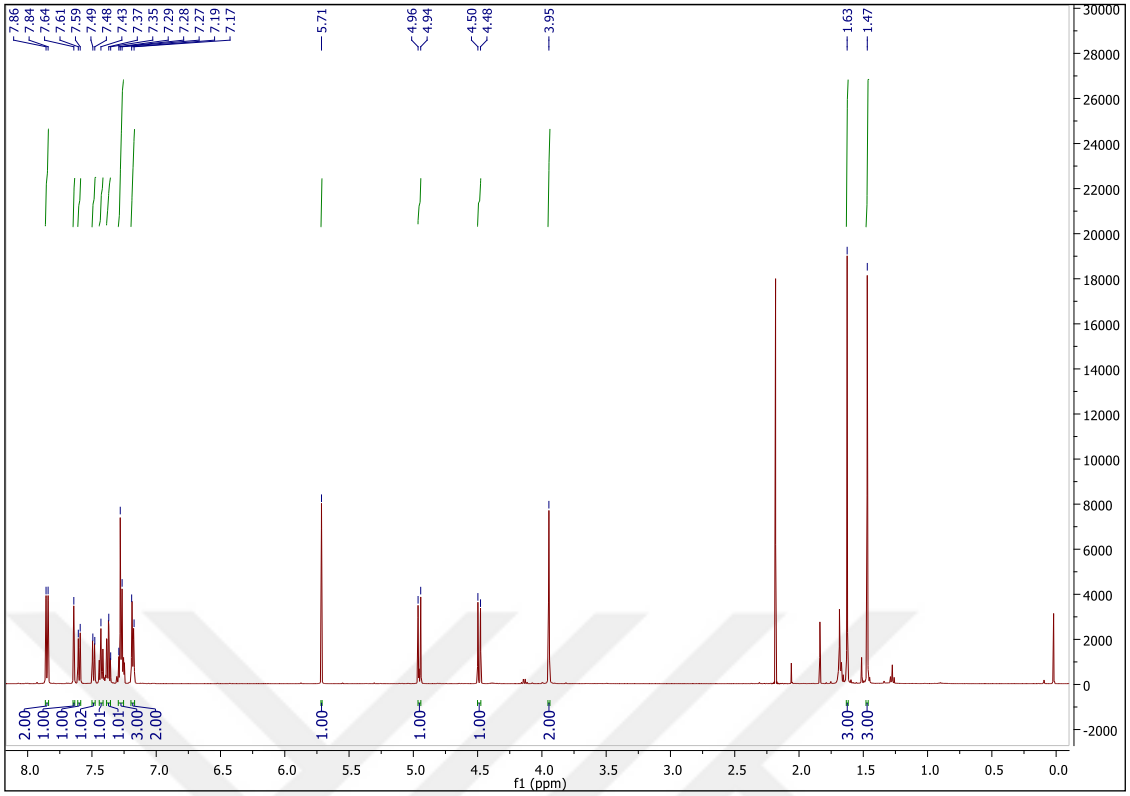
FTIR: ν= 3061 ve 3032 (aromatik, =C-H gerilimleri), 2979 (alifatik, C-H gerilimleri), 1706 (C=O gerilimi), 1587 ve 1499 (aromatik, C=C gerilimleri), 1487 ve 1432 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1155 (C-O gerilimi), 1024 (C-N gerilimi) cm^{-1}.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.47 (s, 3H, CH_3), 1.63 (s, 3H, CH_3), 3.95 (s, 2H, CH_2), 4.49 (d, *J*= 10.2 Hz, 1H, CH_2), 4.95 (d, *J*= 10.2 Hz, 1H, CH_2), 5.71 (s, 1H, CH), 7.18 (dd, *J*= 7.7, 1.7 Hz, 2H, ArH), 7.29 – 7.25 (m, 3H, ArH), 7.37 (dt, *J* = 8.6, 4.3 Hz, 1H, ArH), 7.43 (t, *J*= 7.0 Hz, 1H, ArH), 7.49 (d, *J*= 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.60 (d, *J*= 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.64 (s, 1H, ArH), 7.85 (d, *J*= 8.0 Hz, 2H, ArH) ppm.

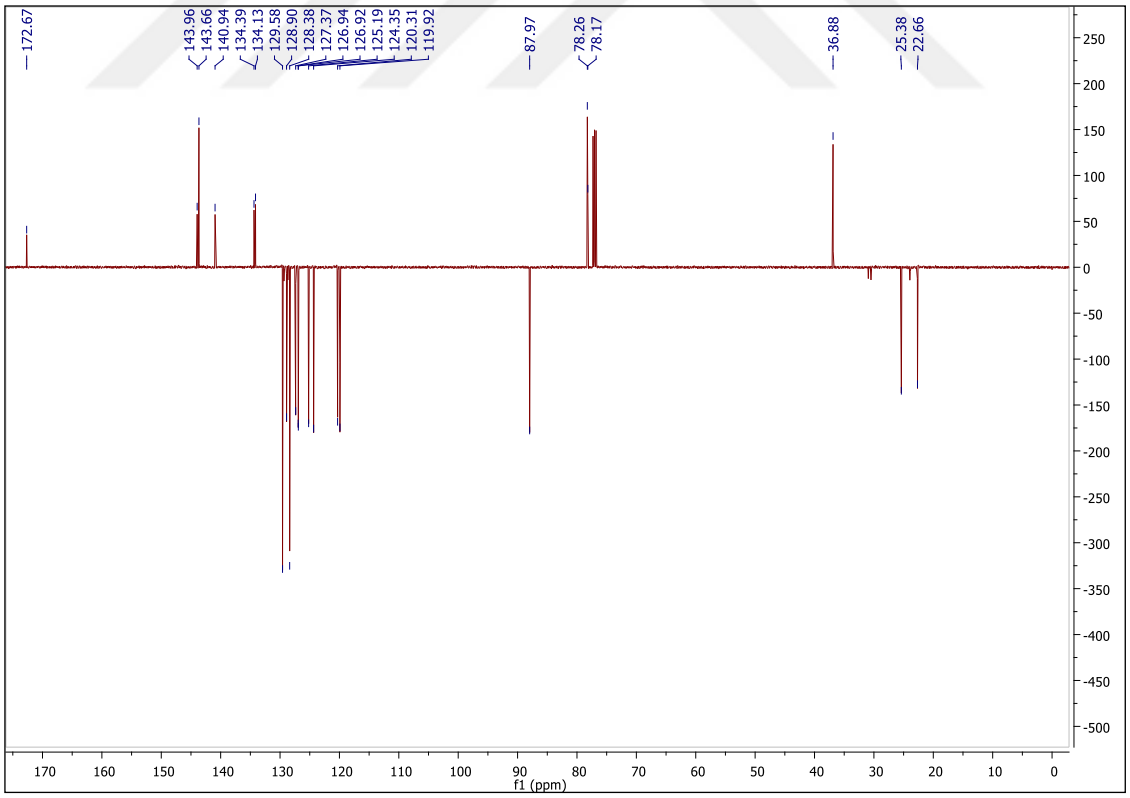
APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 22.56 (CH_3), 25.38 (CH_3), 36.88 (CH_2), 78.12 (CH_2), 78.17 (Cq), 87.97 (CH), 119.92 (CAr), 120.31 (CAr), 124.35 (CAr), 125.19 (CAr), 126.92 (CAr), 126.94 (CAr), 127.37 (CAr), 128.38 (2xCAr), 128.90 (CAr), 129.58 (2xCAr), 134.13 (Cq), 134.39 (Cq), 140.94 (Cq), 143.66 (2xCq), 143.96 (Cq), 172.67 (C=O) ppm.



Şekil 5.158 Bileşik **54**'ün FTIR spektrumu (ATR)

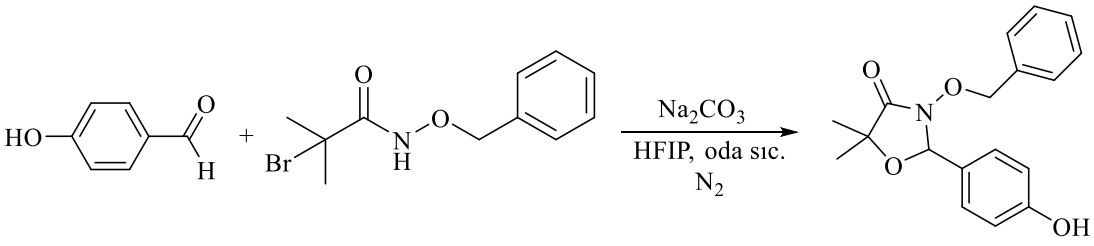


Şekil 5.159 Bileşik **54**'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.160 Bileşik **54**'ün APT spektrumu ($CDCl_3$)

5.2.27 3-(Benziloksi)-2-(4-hidroksifenil)-5,5-dimetiloksazolidin-4-on Bileşiğinin Hazırlanması ve Spektral Verileri (Bileşik 55, $C_{18}H_{19}NO_4$)



Bileşik 30 **Bileşik 55**

0.375 mmol (102 mg) Bileşik **30** ve 0.25 mmol (30.53 mg) 4-hidroksibenzaldehit Schlenk tüpüne alındı ve üzerine 0.75 mmol (79.50 mg) susuz Na_2CO_3 eklendi. Schlenk tüpü içerisine vakum uygulanarak tüp içindeki hava uzaklaştırıldı, ardından tüp azot gazı ile dolduruldu. Üzerine bir enjektör yardımıyla 1 mL HFIP çözücüsü eklenerek çözünmesi sağlandı. Reaksiyon azot atmosferi altında 12 saat boyunca karışmaya bırakıldı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra karışım selitten süzüldü ve organik çözücü düşük basınç altında çözücü uçuruldu. Kalıntıya kolon kromatografisi (2:1 *n*-hekzan/etil asetat; R_f: 0.34) uygulanarak saflaştırma işlemi gerçekleştirildi.

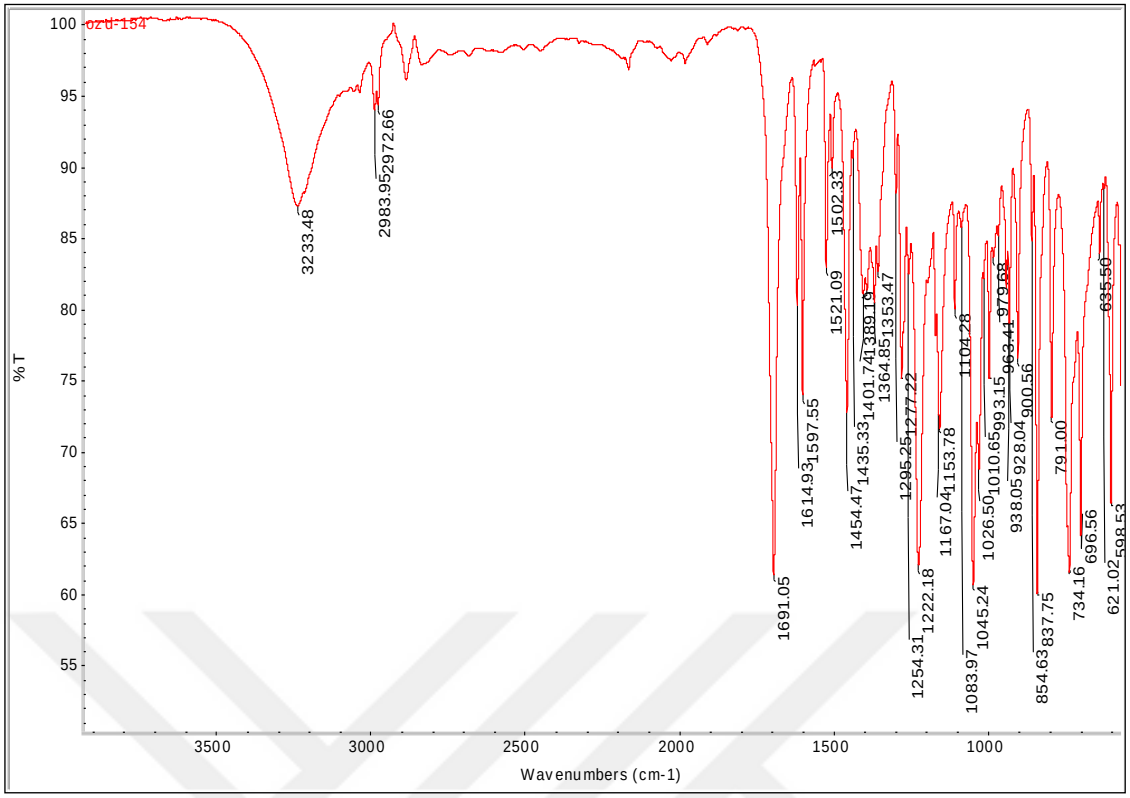
Beyaz katı madde; % 90 verim.

5.2.27.1 Bileşik 55'e Ait Spektral Veriler

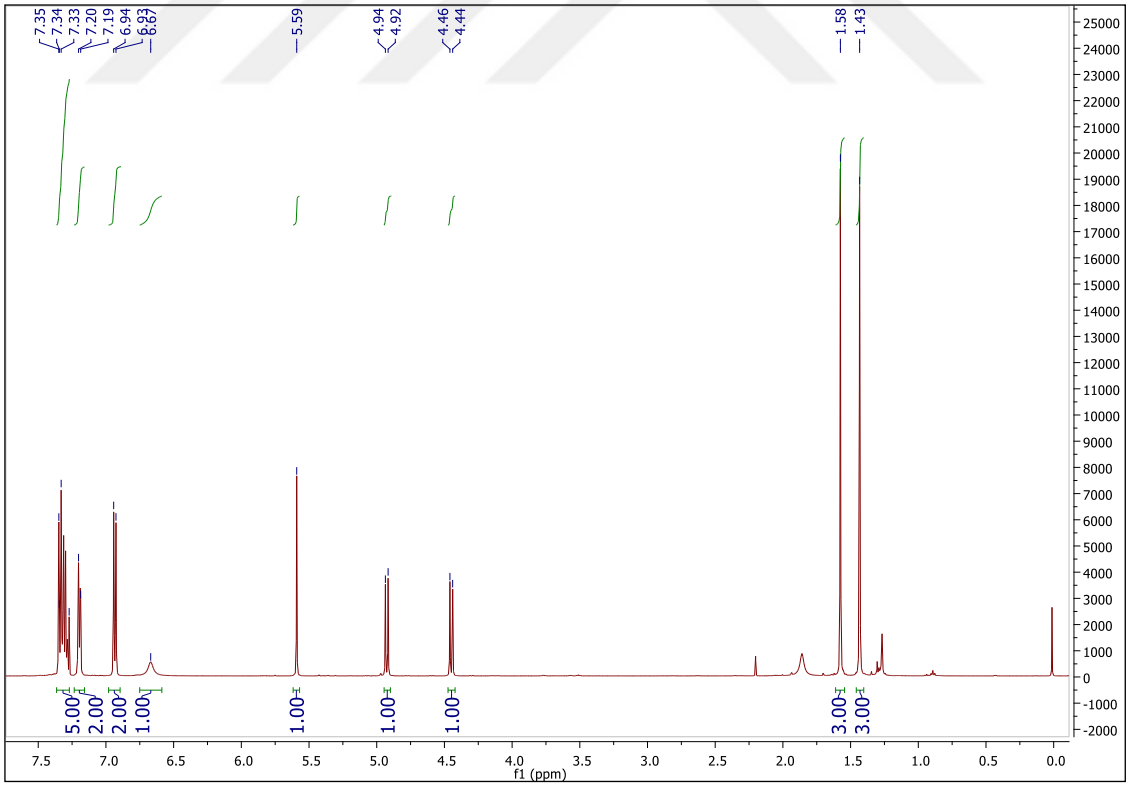
FTIR: ν= 3233 (alifatik, O-H gerilimi), 2983 ve 2972 (alifatik, C-H gerilimleri), 1691 (C=O gerilimi), 1614 ve 1597 (aromatik, C=C gerilimleri), 1502 ve 1454 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1167 (C-O gerilimi), 1026 (C-N gerilimi) cm^{-1}.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ: 1.43 (s, 3H, CH_3), 1.58 (s, 3H, CH_3), 4.45 (d, *J*= 10.1 Hz, 1H, CH_2), 4.93 (d, *J*= 10.0 Hz, 1H, CH_2), 5.59 (s, 1H, CH), 6.67 (s, 1H, ArH), 6.93 (d, *J*= 8.5 Hz, 2H, ArH), 7.20 (dd, *J*= 7.6, 1.3 Hz, 2H, ArH), 7.37 – 7.26 (m, 5H, ArH) ppm.

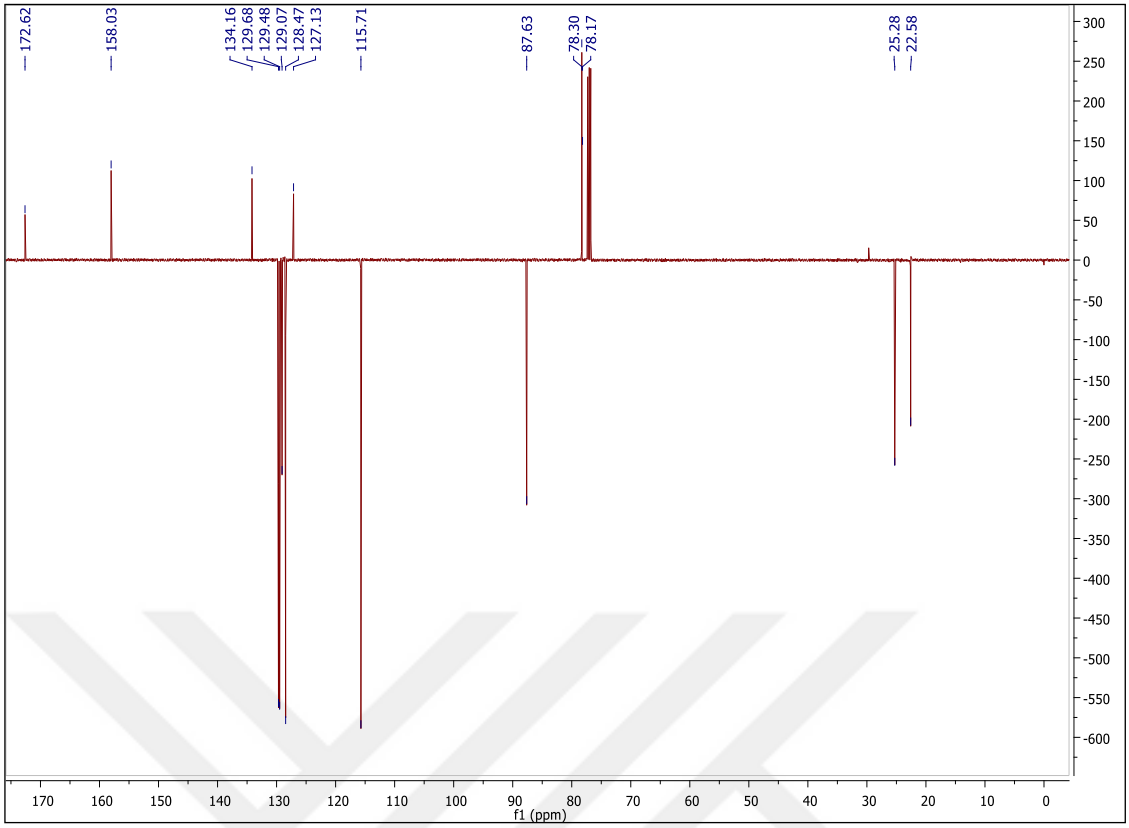
APT (125 MHz, $CDCl_3$): δ: 22.58 (CH_3), 25.28 (CH_3), 78.17 (CH_2), 78.30 (Cq), 87.63 (CH), 115.71 (2xCAr), 127.13 (Cq), 128.47 (2xCAr), 129.07 (CAr), 129.48 (2xCAr), 129.68 (2xCAr), 134.16 (Cq), 158.03 (Cq), 172.62 (C=O) ppm.



Şekil 5.161 Bileşik **55**'in FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 5.162 Bileşik **55**'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.163 Bileşik **55**'in APT spektrumu ($CDCl_3$)

6
MOLEKÜLER KENETLEME ÇALIŞMALARI

6.1 Giriş

Moleküler kenetleme, en yaygın hesaplamalı yapıya dayalı ilaç tasarımı yöntemidir ve 1980'lerin başından beri yaygın olarak kullanılmaktadır (Kuntz vd., 1982). Protein hedefinin üç boyutlu yapısı mevcut olduğunda tercih edilen bir araçtır. Bu yöntemin popülaritesi bilgisayarların kullanılabilirliği ile küçük molekül ve protein yapılarının artan sayısı ve ulaşılabilirliği ile kolaylaştırılmıştır. Moleküler kenetleme yaklaşımı, küçük bir molekül ile bir protein arasındaki etkileşimi atomik düzeyde modellemek için kullanılabilir; bu, hedef proteinlerin bağlanma bölgesindeki küçük moleküllerin davranışını karakterize etmemizin yanı sıra temel biyokimyasal süreçleri aydınlatmamıza izin verir (Meng vd., 2011). Moleküler kenetleme çalışmasının temel amacı, moleküler tanımayı hem yapısal (yani olası bağlanma modlarını bulma) hem de enerjisel olarak (yani bağlanma afinitesini tahmin etme) anlamak ve tahmin etmektir.

Moleküler yerleştirme başlangıçta küçük bir molekül (ligand) ile bir hedef makromolekül (protein) arasında gerçekleştirilmek üzere tasarlanmıştır. Ancak, son on yılda protein-protein kenetlenmesi, nükleik asit (DNA ve RNA)-ligand kenetlenmesi ve nükleik asit-protein-ligand kenetlenmesine artan bir ilgi olmuştur.

İlaç keşfindeki moleküler yerleştirme uygulamaları, yapı-aktivite çalışmaları, sanal tarama yoluyla potansiyel ipuçları bulma ve mutagenez çalışmaları için tahminleri kolaylaştırmada bağlayıcı hipotezler sağlama dahil olmak üzere birçok çeşidi bulunmaktadır.

Yerleştirme çalışmalarının, yapı bazlı ilaç tasarımında son derece başarılı olduğu kanıtlanmıştır, bu nedenle uzun yıllar boyunca geliştirilmiştir. Son 20 yılda, akademik ve ticari ortamlarda 60'tan fazla farklı yerleştirme aracı geliştirilmiştir.

Moleküler kenetleme işlemi iki temel adımı içermektedir. Bunlardan ilki ligandın (genellikle küçük bir molekül) konformasyonunun yanı sıra protein bağlama bölgesi (genellikle poz olarak alınır) içindeki konumu ve yöneliminin tahminidir. İkinci temel adım ise, bir puanlama işlevi kullanılarak pozun kalitesinin (bağlanma afinitesinin) değerlendirilmesidir. İdeal olarak, örnekleme algoritması deneysel bağlama modunu

yeniden üretebilmelidir ve puanlama işlevi de oluşturulan tüm pozlar arasında en üst sırayı almalıdır.

Kenetleme prosedürünün başka bir görevi, aktif bileşikleri bilinen aktif olmayanlardan daha yüksek puanlamak olacaktır. Bununla birlikte, bu doğruluk düzeyine ulaşmak zordur ve genellikle proteinin dışındaki birçok faktörden etkilenir. Bu nedenle öncelikle kenetleme algoritması yalnızca ligand pozunun tahmini ve pozun kalitesinin doğru bir şekilde değerlendirilmesini sağlamayı amaçlar. Yine de birçok puanlama işlevi, aktif/aktif olmayan sıralaması da dikkate alınarak geliştirilmiştir (Stanzione vd., 2021).

Tasarlanan ve sentezlenen bileşiklerin moleküler kenetleme çalışmaları İstanbul Bilgi Üniversitesi'nde Dr. Öğr. Üyesi Özlem Ulucan Açan tarafından gerçekleştirilmiştir.

6.2 GSK-3β İnhibitörü ile İlgili Moleküler Kenetleme Çalışmaları

6.2.1 Moleküler Kenetleme Simülasyonları

Moleküler yerleştirme hesaplamaları Autodock 4.2 programı kullanılarak yapılmıştır (Morris vd., 1998, 2009). Her ligand için 100 bağımsız hesaplama yapılmıştır. Izgara kutusunun boyutları (80 x 60 x 60), AutoDockTools (Morris vd., 2009) kullanılarak GSK-3β'nin (PDB ID: 4NMO) katalitik yarığını kapsayacak şekilde seçilmiştir. Maksimum enerji değerlendirmesi sayısı (ga_num_evals) için 50 milyon değeri kullanılmıştır. Diğer parametreler için varsayılan değerler kullanılmıştır.

6.2.2 Moleküler Dinamik Simülasyonları

Antechamber (Wang vd., 2001, 2006) küçük moleküllerin topolojilerini ve parametrelerini elde etmek için Python Ayrıştırıcı Arayüzü (ACPYPE) (Sousa da Silva ve Vranken, 2012) kullanılmıştır. Her küçük molekülün koordinatları en düşük enerji konformasyonundan elde edilmiştir ve daha sonra yarı ampirik Hamiltonyen AM1 kullanılarak optimize edilmiştir (Pettersen vd., 2004). AM1-BCC yükleri optimize edilmiş yapıya dayanarak türetilmiştir (Jakalian vd., 2000; Walker vd., 2008). Küçük moleküller için bağ uzunlukları, açıları ve dihedral kuvvet sabitleri Genel Amber Kuvvet Alanından (GAFF) alınmıştır (J. Wang vd., 2004).

Moleküler dinamik simülasyonları için başlangıç yapıları, moleküler yerleştirme hesaplamalarının en düşük enerji konformasyonlarından elde edilmiştir. Gromacs paketi (Van Der Spoel vd., 2005), sürüm 2021.2 (Abraham ve diğerleri, 2015) kullanılarak, geleneksel moleküler dinamik simülasyonları, 100 ns'lik bir süre boyunca açık çözücüde

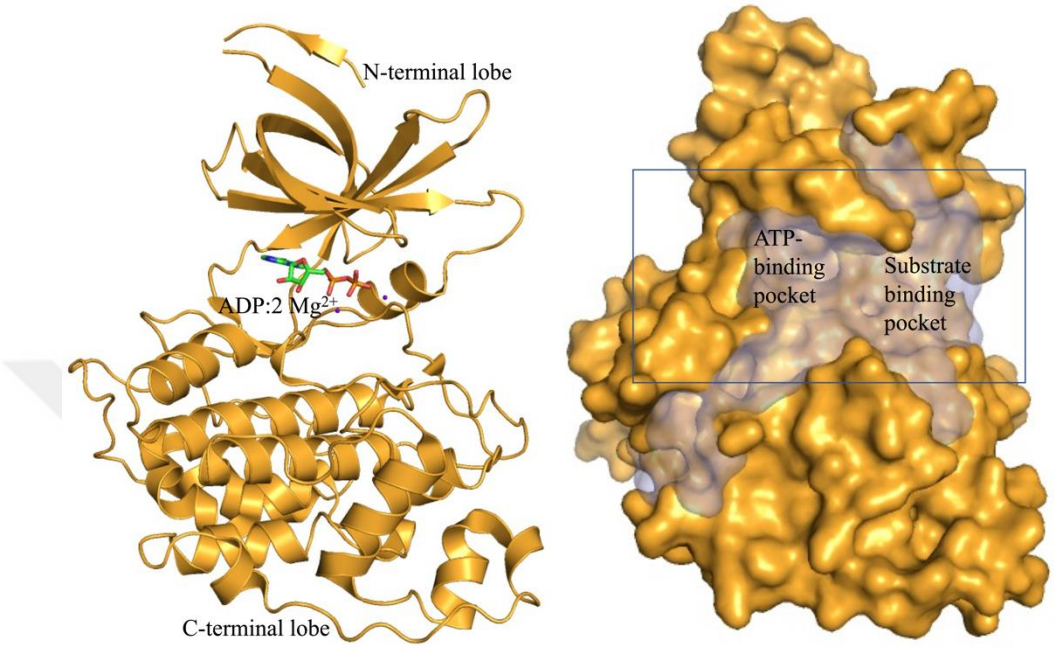
gerçekleştirilmiştir. Protein-ligand kompleksi, TIP3P su içeren kübik bir kutuya yerleştirilmiştir (Jorgensen, 1981) ve gerektiğinde karşı iyonlar eklenerek sistem nötrleştirilmiştir. Protein kalıntıları ve iyonlar, Amber kuvvet alanı F14SB (Maier vd., 2015) kullanılarak modellenmiştir. Kısa mesafeli bağlanmamış etkileşimler 1,2 nm'lik bir kesme değerinde kesilirken, uzun menzilli elektrostatik etkileşimler parçacık ağı Ewald (PME) (Essmann vd., 1995) yöntemi kullanılarak onarılmıştır. Hem enerjiye hem de basınca dağılım düzeltmesi uygulanmış ve periyodik sınır koşulları her yöne uygulanmıştır.

Başlangıç yapıları, eşlenik gradyan algoritmasının 1000 adımı kullanılarak en aza indirilmiş ve her 10 adımda bir en dik inişin bir adımı gerçekleştirilmiştir. Minimizasyonun ardından her sistem, NVT topluluğundaki 100 ps'lik moleküler dinamik simülasyonları aracılığıyla dengelemeye tabi tutulmuş; bu sırada proteinin ağır atomları, 1000 kJ mol^{-1} nm^{-2}'lik bir kuvvet sabiti kullanılarak harmonik olarak sınırlandırılmıştır. Sıcaklık, hız yeniden ölçeklendirme algoritması (Bussi vd., 2007) kullanılarak 0,5 ps'lik bir birleştirme süresiyle 300 K'de tutulmuştur. Çözünen madde ve çözücü atomları ayrı ayrı sıcaklık banyolarına bağlanmıştır. Newton'un hareket denklemlerini entegre etmek için 2 fs'lik zaman adımlı sıçrama algoritmasını kullanılmış, tüm bağlar ise LINCS algoritması kullanılarak sınırlandırılmıştır (Hess, 2008). NPT topluluğu, herhangi bir kısıtlama olmaksızın, 0.5 ps zaman sabitiyle Parrinello-Rahman barostatı (Parrinello ve Rahman, 1981) kullanılarak 1 barda tutulan basınçla veri toplamak için kullanılmıştır. Referans sıcaklığın ve zaman sabitinin sırasıyla 300 K ve 0,5 ps'ye ayarlandığı sıcaklığı düzenlemek için Nose-Hoover sıcaklık birleştirme yöntemi (Hoover, 1985; Nosé, 1984) kullanılmıştır.

Yörüngelerin ilk 5 ns'sini bir gevşeme aşaması olarak hariç tutulmuştur ve yalnızca protein konformasyonlarını hizaladıktan sonra ligand konformasyonlarını kullanarak RMSF değerlerini hesaplanmıştır.

2 Mg^{2+} iyonunun yardımıyla koordine edilen GSK-3β'nin ATP'ye bağlı formu, fizyolojik koşullar altında baskın formdur (Beurel vd., 2015). Fakat Protein Veri Bankası'nda bu forma ait kristal yapı mevcut değildir. Bu nedenle, ligandların enzimin katalitik yarığına yerleştirildiği hesaplamalarda GSK-3β olarak 4NMO'nun (GSK-3β + ADP + $2Mg^{2+}$) mevcut en yakın yapısı kullanılmıştır. Bu bölge Şekil 6.1'de sağ panelde dikdörtgen ile gösterilmiştir. GSK-3β'nin N- ve C-terminal lobları arasında yer alan bu katalitik yarık, Şekil 6.1'de gösterildiği gibi iki önemli cepten, yani ATP bağlama cebi ve substrat

bağlama cebinden oluşmaktadır. Büyük yarığın hacmini hesaplamak için PROPORES (Lee ve Helms, 2012) programı kullanılmış ve 3195 $Å^3$ değeri elde edilmiştir. Cepler, PROPORES kullanılarak ADP ve 2 Mg^{2+} iyonlarının çıkarılmasından sonra kristal yapı (PDB ID: 4NMO) kullanılarak tespit edilmiştir.



Şekil 6.1 GSK-3β'nin katalitik alanının genel yapısı

6.3 Aza-oksiallil Katyonlarla ile İlgili Moleküler Kenetleme Çalışmaları

6.3.1 Hedef Protein Tahmini

Yeni tetrazin türevleri için varsayılan hedefleri tahmin etmek amacıyla California Üniversitesi Farmasötik Kimya Bölümü'ndeki Shoichet Laboratuvarı tarafından sağlanan Benzerlik Topluluğu Yaklaşımı (SEA, www.sea.bkslab.org) çevrimiçi arama aracı kullanılmıştır (Keiser vd., 2007). Bileşikler için SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry Specification) dizileri, kimyasal benzerliğe dayalı protein hedeflerini aramak için Benzerlik Topluluğu Yaklaşımı (SEA) sunucusuna yüklenmiştir.

6.3.2 DHFR İfade Analizi

Normal (granülositler, monositler, T-hücreleri ve B-hücreleri) ve habis hematopoetik hücreler için ham veriler, GSE48558 erişim numarası kullanılarak Gene Expression Omnibus'tan (GEO) elde edilmiştir. Affymetrix Human Gene 1.0 ST Array kullanılarak üretilen Molt-4 hücre dizisi için ham veri bulunamadığından, Molt-4 hücre hattının

türetildiği aynı hastadan elde edilen Molt-3 hücre hattından ham verileri dahil edilmiştir (Greenberg vd., 1988). Ham veriler, R paketi oligo'nun bir parçası olan Sağlam Çoklu Dizi Ortalama (RMA) yöntemi kullanılarak normalleştirilmiştir (Carvalho ve Irizarry, 2010). Dihidrofolat Redüktaz (DHFR) geni için normalleştirilmiş ve log2 ile dönüştürülmüş ifade değerleri, Ensembl ID ENSG00000228716 kullanılarak ekstre edilmiştir. DHFR geninin her bir lösemi hücre hattındaki ekspresyon seviyesi, log katlama değişimi ve iki taraflı Welch t-testi kullanılarak normal hücrelerde genin ekspresyon seviyesi ile karşılaştırılmıştır.

6.3.3 Kenetleme Prosedürü

Bileşiklerin başlangıç konformasyonları, Open Babel 2.4.1 kullanılarak SMILES temsillerinden oluşturulmuştur (O'Boyle vd., 2011). AutoDock Tools sürüm 1.5.6, hedef protein DHFR (PDB ID: 2W3M) ve bileşikleri yerleştirmek için kullanılmıştır (Morris vd., 2009). Bileşiklerin torsiyonları, AutoDock Tools'un AutoTors yardımcı programı kullanılarak tanımlanmıştır. Amit ve halka torsiyonları dışında tüm torsiyonlar esnek kabul edilmiştir. Hem proteine hem de bileşiklere Gasteiger atomik yükleri verilmiştir (Gasteiger ve Marsili, 1978). Daha sonra polar olmayan hidrojen atomları birleştirilmiştir.

Kapsamlı kenetleme hesaplamaları için AutoDock 4.2 programı kullanılmıştır (Morris vd., 2009). 0.375Å aralıklı ızgara haritaları oluşturmak için AutoGrid programı kullanılmış ve ızgara merkezi, PROPORES programı ile tanımlanan kanalın merkezi ile çakışacak şekilde seçilmiştir (Lee ve Helms, 2012). Izgara boyutları (60Å x 60Å x 70Å), kanal alanını temsil etmek üzere PROPORES tarafından yerleştirilen araştırma kürelerine dayalı olarak hesaplanmıştır (Şekil 6.1a). Kenetleme hesaplamalarında, daha güvenilir sonuçlar elde etmek için artırılan başlangıç popülasyon boyutu, enerji değerlendirme sayısı ve bağımsız çalışma sayısı dışında varsayılan ayarlarla standart Lamarckian genetik algoritma protokolü uygulanmıştır. Burada amaç, yerleşik sonuçların yakınsamasını sağlamak için düşük enerjili, yüksek nüfuslu tek bir küme elde etmektir. Bildirilen sonuçlar için, **46b** ve **49** bileşikleri hariç, rastgele yerleştirilmiş 300 bireyden oluşan bir başlangıç popülasyon büyüklüğü ve maksimum 20 milyon enerji değerlendirmesi ile 100 bağımsız hesaplama yapılmıştır. **46b** ve **49** Bileşikleri için maksimum enerji değerlendirmesi sayısını kademeli olarak 40 milyona çıkarılmıştır. Tüm yerleştirme hesaplamalarında ligandın başlangıç noktası rastgele oluşturulmuştur.

6.3.4 Moleküler Dinamik Simülasyonları

Küçük moleküller için parametreler ve topolojiler, Antechamber (Wang vd., 2001, 2006) Python Parser Interface (ACPYPE)(Sousa da Silva ve Vranken, 2012) yardımıyla türetilmiştir. Her küçük molekülün koordinatları, en büyük kümenin en yüksek dereceli yapısından alınmıştır. Geometri, yarı ampirik Hamiltoniyen AM kullanılarak optimize edilmiştir (Pettersen vd., 2004). Daha sonra optimize edilmiş yapıdan AM1-BCC ücretleri türetilmiştir (Jakalian vd., 2000; Walker vd., 2008). Küçük moleküller için bağ uzunlukları, açılar ve dihedraller için denge değerleri ve kuvvet sabitleri General Amber Force Field'dan (GAFF) alınmıştır (Wang vd., 2004)

Gromacs paketi (Van Der Spoel vd., 2005), sürüm 202 (Pronk vd., 2013) kullanılarak açık çözücüde 10 protein-ligand kompleksinin 100 ns uzunluğundaki geleneksel moleküler dinamik simülasyonlarını gerçekleştirilmiştir. Moleküler dinamik simülasyonları için başlangıç yapıları olarak moleküler yerleştirme hesaplamalarından elde edilen en büyük kümelerin en üst sıradaki uyumları kullanılmıştır. Kompleksi kübik bir TIP3P su (Jorgensen, 1981) kutusuna yerleştirilmiş ve gerektiğinde karşı iyonlar yardımıyla sistemi etkisiz hale getirilmiştir. Protein kalıntıları ve iyonların etkileşimleri Amber kuvvet alanı F14SB ile modellenmiştir (Maier vd., 2015). Kısa menzilli bağlanmamış etkileşimler için 1,2 nm'lik bir kesme değeri kullanılmıştır. Uzun menzilli elektrostatik etkileşimler için partikül ağı Ewald (PME) (Essmann vd., 1995) yöntemi kullanılmıştır. Dispersiyon düzeltmesi hem enerjiye hem de basınca uygulanmıştır. Periyodik sınır koşulları tüm yönlerde uygulanmıştır.

Enerji minimizasyonu için, her 10 adımda bir en dik iniş adımının gerçekleştirildiği 1000 adımlık eşlenik gradyan algoritması gerçekleştirilmiştir. Küçültmeden sonra, 1000 kJ $mol^{-1}nm^{-2}$'lik bir kuvvet sabiti kullanarak proteinin ağır atomlarını harmonik olarak sınırlanan NVT topluluğunda 100 ps moleküler dinamik simülasyonları kullanarak her sistem dengelenmiştir. Sıcaklık, 0.5 ps'lik bir bağlantı süresi ile hız yeniden ölçekleme algoritması (Bussi vd., 2007) kullanılarak 300 K'de tutulmuştur. Çözünen ve çözücü atomları ayrı ayrı sıcaklık banyolarına bağlanmıştır. Tüm bağlar, LINCS algoritması kullanılarak kısıtlanmıştır (Hess, 2008). Newton'un hareket denklemlerini entegre etmek için 2 fs'lik bir zaman adımlı bir sıçrama algoritması kullanılmıştır. Veri toplama için herhangi bir kısıtlama olmaksızın NPT topluluğu kullanılmıştır. Basınç, 0,5 ps'lik bir zaman sabiti ile Parrinello-Rahman barostat (Parrinello ve Rahman, 1981) kullanılarak 1 bar'da tutulmuştur. Sıcaklık, referans sıcaklığın ve zaman sabitinin sırasıyla 300 ve 0.5

ps olarak ayarlandığı Nose-Hoover sıcaklık birleştirme yöntemi (Hoover, 1985; Nosé, 1984) kullanılarak düzenlenmiştir.

Ortaya çıkan yörüngeler, ilk 3 ns'nin gevşeme aşaması olduğu varsayıldığı ve ihmal edildiği ileri analizler için kullanılmıştır.

6.3.5 Bağlayıcı Serbest Enerji Hesaplamaları

MM(PB/GB)SA yaklaşımı, gaz fazı enerji katkılarını, kompleks, reseptör ve ligand için kapalı bir solvent modelinden hesaplanan solvasyonsuz enerji bileşenlerini birleştiren bir son nokta yöntemidir (Kollman vd., 2000). Toplam serbest enerjiye çözünen entropi katkıları, daha fazla iyileştirme olarak eklenir.

Bu çalışmada, moleküller için bağlanma serbest enerjilerini hesaplamada tek yörünge yaklaşımını izlenmiştir. Her yörüngenin ilk 3 ns'si denge olarak alınmış ve bu nedenle ihmal edilmiştir. Açık çözücü ve iyonlar, serbest enerji hesaplamalarından önce yörünge dosyalarından çıkarılmıştır. Karmaşık topoloji dosyaları, AmberTools'un tleap modülü, sürüm 22 kullanılarak oluşturulmuştur. Her tür için topoloji dosyası, ante-MMPBSA.py komut dosyasıyla oluşturulmuştur. Hesaplamalar, AmberTools22'nin MMPBSA.py betiği (Miller vd., 2012) kullanılarak yapılmıştır. Gaz fazı serbest enerji katkıları, AmberTools22 içindeki Sander programı kullanılarak hesaplanmıştır.

Solvasyon serbest enerjisinin polar katkısını hesaplamak için Onufriev ve diğerleri (Onufriev vd., 2000) tarafından geliştirilen ve α, β, γ parametrelerinin sırasıyla 1.0, 0.8 ve 4.85 olarak ayarlandığı GB-OBC sürekli çözücü modelini kullanılmıştır (Onufriev vd., 2004). Etkili Born yarıçapları için Onufriev ve diğerleri tarafından önerilen mbondi2 yarıçapları kullanılmıştır (Weiser vd., 1999). Çözünme serbest enerjisine polar olmayan katkı, ikili örtüşmelerin doğrusal kombinasyonları (LCPO) yöntemiyle yaklaşık olarak hesaplanmıştır (Laskowski ve Swindells, 2011). Öteleme, dönme ve titreşim entropileri ayrı ayrı hesaplanmış ve çözünen maddenin konfigürasyonel entropisine yaklaşmak için bir araya getirilmiştir.

Öteleme ve dönme entropileri, gaz fazı bölme fonksiyonlarından hesaplanmıştır. Titreşim modlarının frekansları, anlık görüntülerin enerji minimizasyonundan sonra normal mod analizi kullanılarak elde edilmiştir. Entropi katkılarının ortalaması 100 anlık görüntünün üzerinde olduğu gözlenmiştir.

Moleküler Mekanik-Genelleştirilmiş Doğan Yüzey Alanı (MM-GBSA) etkin enerjisi ve çözünen entropi için standart hatalar, bağlanma serbest enerjisi için standart hata elde

etmek üzere karelemede birleştirilmiştir. Daha sonra, serbest bağlanma enerjisi için %95 Welch-Satterthwaite güven aralığı oluşturmak üzere hesaplanan standart hata kullanılmıştır.

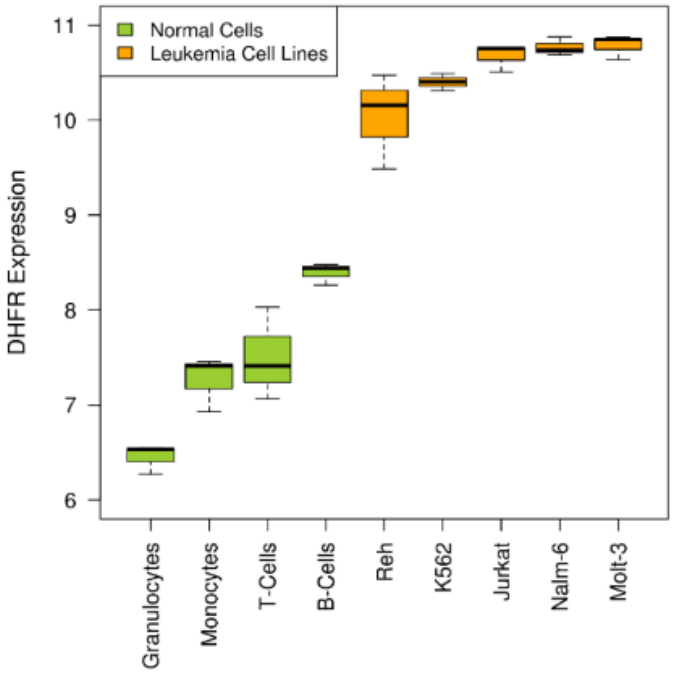
6.3.6 Yeni Tetrazin Türevleri İçin Protein Hedefi

Arama aracı, SEA (Keiser vd., 2007) tarafından birkaç protein hedef olarak tanımlanmıştır. SEA sunucusu tarafından listelenen tüm proteinler arasında en uygun hedef proteini bulmak için, aynı anda karşılanması gereken birkaç kriter tanımlanmıştır:

i) protein bir insan proteini olmalı veya insanda yakın bir analoğa sahip olmalıdır,
ii) ii) lösemide rolü bulunan protein birkaç yayın tarafından bildirilmelidir,
iii) iii) protein, tüm bileşikler arasında en etkili bileşik olduğu için bileşik **41** listesinde yer almalıdır,
iv) iv) protein veya homologları SEA sunucusu tarafından birkaç kez listelenmelidir.

DHFR, yukarıda listelenen kriterleri karşılayan tek proteindir. DHFR, folat metabolizmasında anahtar bir enzimdir ve lösemideki rolü uzun zamandır bilinmektedir (Banerjee vd., 2002; Dulucq vd., 2008; Matheson vd., 2007; Organista-Nava vd., 2018). Tetrahidrofolat kofaktörlerinin biyosentezinde önemli bir rol oynayan, her yerde bulunan bir enzimdir. Dihidrofolatın NADPH'ye bağlı olarak tetrahidrofolata indirgenmesini katalizler. Ayrıca, bilinen bir ilaç hedefidir ve DHFR inhibitörleri olan birkaç onaylı ilaç mevcuttur. Bunlar arasında metotreksat, trimetreksat ve pemetreksed insan DHFR proteinini bağlar ve antineoplastik ajanlar olarak kullanılır (Wishart, 2006)

Şekil 6.2, normal ve habis hematopoietik hücrelerde DHFR geninin ekspresyon seviyesini göstermektedir. Şekilde görüldüğü gibi Reh hücre dizisi, lösemi hücre dizileri arasında DHFR geni için en düşük ekspresyon seviyesini göstermektedir. Farkın önemli olup olmadığını belirlemek için her lösemi hücre hattındaki genin ekspresyon seviyesi normal hematopoietik hücrelerle karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar için P değerleri ve log2 kat değişim değerleri Tablo 6.1'de tablolaştırılmıştır. Normal hücrelerle karşılaştırıldığında, lösemi hücre dizileri DHFR genini önemli ölçüde eksprese ettiğini göstermektedir (P değerleri $< 1.0x10^{-3}$). Bu sonuçlar, DHFR'nin yeni tetrazin türevleri için varsayılan hedef olduğu tahminini güçlendirmektedir.



Şekil 6.2 R sürüm 3.6.3'ten grafik paketi kullanılarak oluşturulan DHFR geni için log2 ile dönüştürülmüş ve normalleştirilmiş ekspresyon değerlerinin kutu grafiği

Tablo 6.1 Lösemi hücre hatlarındaki DHFR ekspresyon seviyesinin normal hematopoietik hücrelerle karşılaştırılması

Hücre hattı	log kat değişimi	P-değeri
Jurkat	3.3	$4.0x10^{-9}$
Nalm-6	3.4	$3.9x10^{-9}$
Reh	2.6	$1.0x10^{-3}$
K562	3	$1.6x10^{-8}$
Molt-3	3.2	$2.8x10^{-9}$

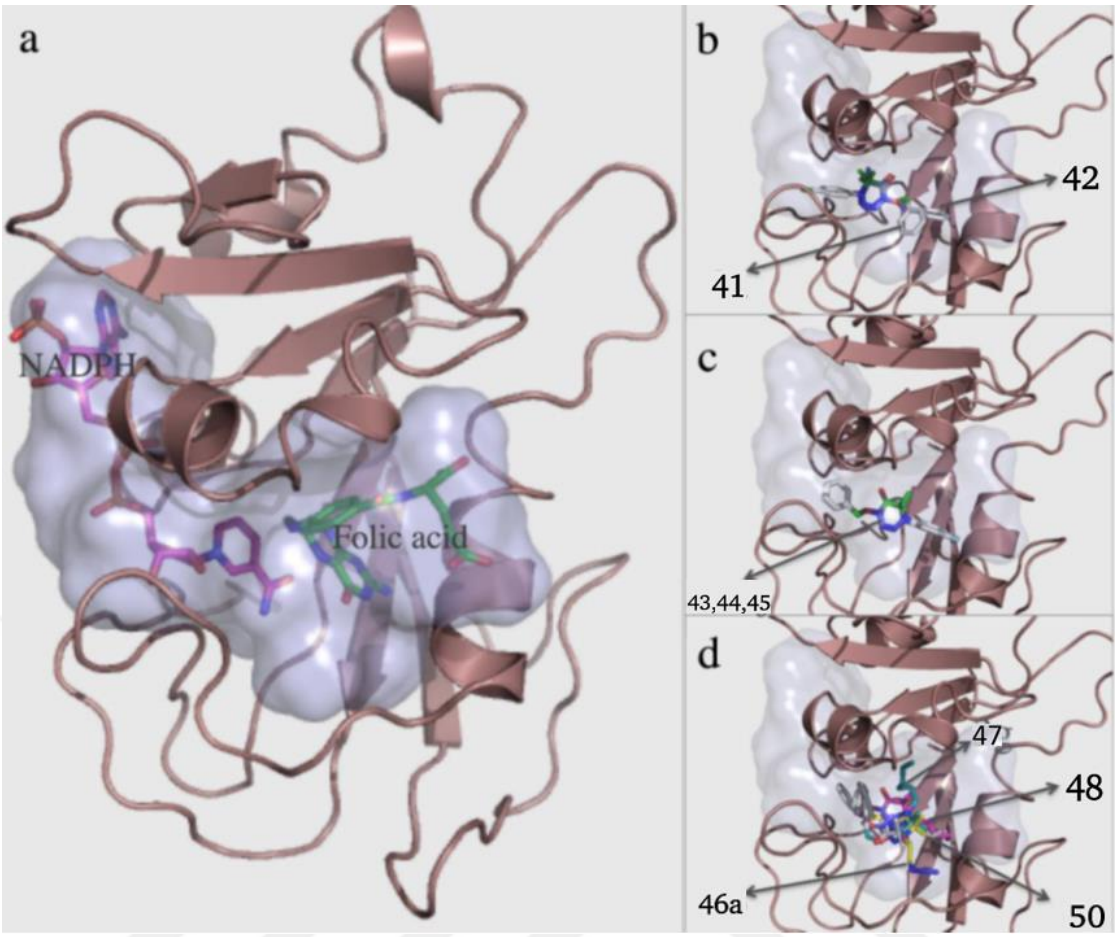
Tablo 6.2, DHFR kanalına yerleştirilmiş 11 bileşiğin sonuçlarını özetlemektedir. Her bileşik için 3 ila 54 arasında değişen farklı sayıda küme elde edilmiştir. Bağlanma serbest enerjileri **46b** ve **49** bileşikleri için daha yüksek olmasına rağmen, en büyük kümenin küçük boyutu ile yüksek küme sayısı, bu iki bileşik için sonuçları daha az güvenilir hale getirmektedir. Bileşik **41**, **42**, **43** ve **44** için sonuçlar yakınsamış gibi görünmektedir ve bu nedenle daha güvenilir olmaktadır. Bu bileşikler için tek bir küme elde edilmemiş olunsa da çalışmaların çoğu çok yakın konformasyonlar üretmiştir ve bu da tek bir yüksek nüfuslu kümeyle sonuçlanmıştır. Yüksek nüfuslu kümenin en yüksek dereceli yapısı için bu bileşiklerin bağlanma serbest enerjileri bileşik **41**, **42**, **43** ve **44** için sırasıyla -9.6, -9.4, ve -9.1 -8.8 kcal/mol olarak bulunmuştur.

Tablo 6.2 Yerleştirme sonuçları ve yakınsama değerlendirmesi

Bileşik	Burulma sayısı	Küme sayısı	En büyük kümenin boyutu (%)	ΔG (kkal/mol)
41	4	3	74	-9.6
42	4	4	58	-9.4
43	4	5	79	-9.1
44	4	4	49	-8.8
45	4	7	33	-9.4
46a	6	6	62	-8.9
46b*	9	37	16	-9.8
47	6	8	42	-8.1
48	7	13	50	-8.4
49*	11	54	9	-10.3
50	8	10	69	-7.9
metotreksat	11	12	67	-11.9
trimetreksat	8	12	31	-9.3

*Bu bileşikler için yakınsama sağlanamamıştır.

ΔG, en büyük kümenin en yüksek dereceli konformasyonunun bağlanma serbest enerjisine karşılık gelmektedir.



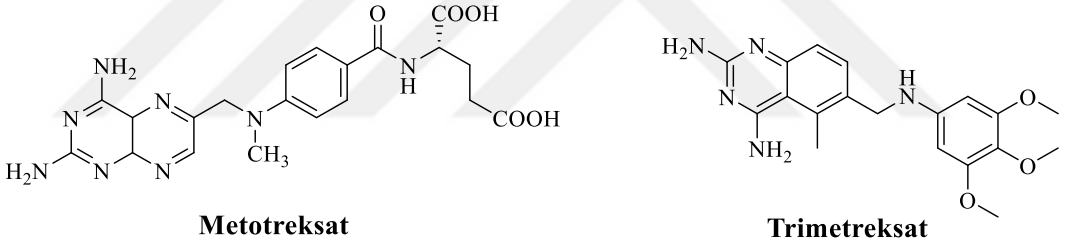
Şekil 6.3 Varsayılan hedef DHFR'ye yerleştirilmiş konformasyonlar

Şekil 6.3'te DHFR'nin genel yapısı ve PROPORES programı tarafından algılanan kanal (açık mavi yüzeyde gösterilmiştir) gösterilmektedir. (a) NADPH ve folik asit, çubuk şeklinde gösterilmiştir. (b) Bileşik **41** ve **42**, (c) bileşik **43**, **44** ve **45** ve (d) bileşik **46a**, **47**, **48** ve **50** bileşikleri için en büyük kümenin en yüksek dereceli konformasyonu gösterilmektedir.

Kenetleme prosedüründeki geniş arama alanı ve rastgelelik göz önüne alındığında, tüm bağımsız çalıştırmaların aynı bağlama konformasyonuna yakınsaması beklenmemelidir. Buna rağmen, DHFR'deki bağlanma bölgesini bulmak için en büyük konformasyonel küme kullanılmıştır. Şekil 6.3, **46b** ve **49** bileşikleri hariç tüm bileşikler için bağlanma yapılarını göstermektedir. Bu iki bileşik için maksimum enerji değerlendirme sayısının kademeli olarak 40 milyona çıkarılmasına rağmen, yakınsamada herhangi bir gelişme gözlemlenmemiştir. **41**, **42**, **43**, **44**, **45**, **46a**, **47**, **48**, **49** ve **50** bileşikleri için; 10 milyon maksimum enerji değerlendirmesi bile yüksek nüfuslu tek bir küme elde etmek için yeterli olduğu düşünülmüştür. Bağlanma konformasyonlarının analizi **43**, **44** ve **45** bileşiklerinin aynı bölgeyi aynı oryantasyonda bağladığını göstermiştir (Şekil 6.3c), bu,

moleküllerin ne kadar benzer olduğu göz önünde bulundurulduğunda beklenmektedir. Bileşik **41** ve **42** ayrıca, **43**, **44** ve **45** bileşiklerinin bağlandığı aynı bölgede kısmen eşleşen oryantasyonu (Şekil 6.3b) benimsemiştir. Bileşik **46a**, **47**, **48** ve **50** de diğer bileşikler gibi aynı bölgeye (Şekil 6.3d) bağlansa da, her biri farklı bir yönelim benimsemiştir. Yerleştirme konformasyonlarının analizi, bileşiklerin aynı bölgeye bağlanma eğiliminde olduğunu göstermektedir. Bağlanma bölgesi, kanalın ortasına yakındır ve hem NADPH hem de folik asitin bağlanma bölgeleri ile kısmen örtüşmektedir (Şekil 6.3a).

Karşılaştırma için, Şekil 6.4'te yapıları gösterilen onaylanmış iki ilaç olan folat türevi metotreksat ve insan DHFR'sine bağlanan klasik olmayan bir folik asit antagonisti olan trimetreksat kullanılarak moleküler kenetlenme simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Metotreksat ve trimetreksat için sırasıyla -11.9 ve -9.3 kcal/mol bağlanma serbest enerjileri elde edilmiştir. Yeni sentezlenen moleküller için elde edilen serbest bağlanma enerjileri ile karşılaştırıldığında, metotreksatın daha elverişli bağlanma serbest enerjisine sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 6.4 Metotreksat ve trimetreksat yapıları

Ek olarak, yeni sentezlenen 9 bileşiğin ve DHFR ile kompleks halinde referans molekül metotreksatın moleküler dinamik simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Simülasyonlar boyunca tüm moleküller proteine bağlı kalmıştır. Protein yapılarını hizaladıktan sonra kenetlenme yapılarının stabilitesi moleküllerin RMSD değerleri ile değerlendirilmiştir. Tablo 6.3, standart sapmalarla birlikte ortalama RMSD değerlerini göstermektedir. VdW ve EEL, Van der Waals ve elektrostatik etkileşim enerjilerini temsil ederken, EGB ve ESURF polar ve polar olmayan çözünme serbest enerjilerini temsil eder. Toplam, MM/GBSA etkin enerjisi anlamına gelir ve çözünen entropi katkısını içerir. Parantez içinde verilen değerler standart sapmalardır. Açıklandığı gibi serbest bağlanma enerjisi için %95 Welch-Satterthwaite güven aralığı oluşturulmuştur.

Ortalama RMSD değerleri göz önüne alındığında, **41**, **43** ve metotreksat bileşiklerinin ilk konformasyonlarına yakın konformasyonları (RMSD<3,0 Å) koruduğu, diğer bileşiklerin biraz farklı (**47**, rmsd:3,5 Å) ila oldukça farklı konformasyonlar (**42**, rmsd: 7.7 Å) benimsediği görülmektedir.

Tablo 6.3 Stabilite değerlendirmeleri ve bağlayıcı serbest enerji hesaplamaları

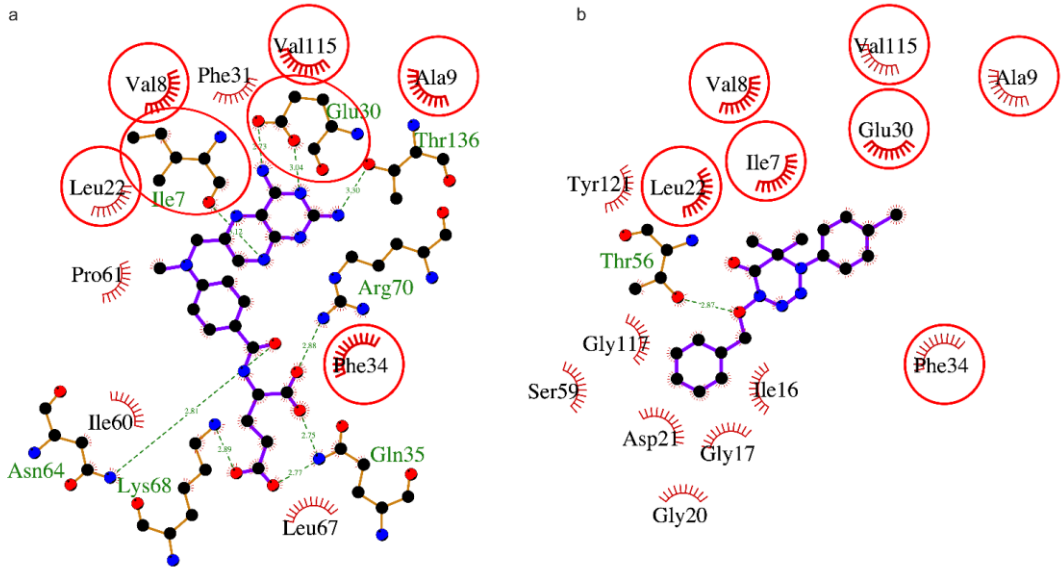
Molekül	**RMSD (Å)**	**MM/GBSA**					**Entropi**	**Serbest bağlanma enerjisi (kkal/mol)**
		VdW	**EEL**	**EGB**	**ESURF**	**Toplam**		
41	2.2 (0.8)	-40.5	-19.0	29.8	-5.0	-34.7 (4.6)	-19.9 (3.6)	-14.7 [-16.6, -12.8]
42	7.7 (1.5)	-40.6	-4.0	15.8	-4.7	-33.5 (4.4)	-19.8 (4.4)	-13.7 [-16, -11.4]
43	2.4 (1.3)	-36.4	-19.7	30.8	-4.5	-29.8 (4.2)	-19.1 (6.5)	-10.7 [-14.2, -7.2]
44	4.2 (1.0)	-36.1	-19.7	29.7	-4.6	-30.7 (4.0)	-18.5 (5.1)	-12.2 [-15, -9.4]
45	4.2 (2.3)	-43.6	-12.5	23.5	-5.2	-37.8 (3.8)	-21.0 (5.3)	-16.8 [-19.6, -14]
46a	6.4 (2.2)	-32.5	-5.1	17.2	-4.2	-24.6 (3.2)	-21.5 (5.3)	-3.1 [-5.9, -0.3]
47	3.5 (0.5)	-34.4	-18.1	29.4	-4.3	-27.4 (3.8)	-16.1 (5.7)	-11.3 [-14.4, -8.2]
48	5.2 (1.1)	-37.8	-14.4	25.9	-4.8	-31.1 (4.9)	-20.5 (4.5)	-10.6 [-13, -8.2]
50	4.2 (2.2)	-38.3	-6.4	18.2	-4.9	-31.4 (4.2)	-22.1 (5.4)	-9.4 [-12.3, -6.5]
metotreksat	2.6 (0.5)	-41.2	-357.8	360.0	-6.5	-45.5 (8.0)	-27.2 (12.5)	-18.3 [-26, -10.6]

Moleküllerin DHFR'ye afinitelerini daha fazla ele almak için, yaygın olarak kullanılan son nokta yöntemi MM/GBSA (Molecular Mechanics/Generalized Born Surface Area) kullanılmıştır. Yöntem, çözünen entropi katkısı için bir yöntemle birlikte yaygın olarak

kullanılmakta ve moleküler yerleştirmede kullanılan puanlama işlevlerine kıyasla daha doğru sonuçlar sağlamaktadır. Tablo 6.3, MM/GBSA etkin enerjisinin bileşenlerini ve çözünen entropiye bağlı katkıyı göstermektedir. Bileşik **46a** dışındaki moleküller için hesaplanan serbest bağlanma enerjileri -9,4 kcal/mol ile -18,3 kcal/mol arasında değişmektedir. Referans molekül metotreksat en uygun bağlanma serbest enerjisine sahiptir, bunu **45** (-16,8 kcal/mol), **41** (-14,7 kcal/mol), **42** (13,7 kcal/mol) ve **44** (-12,2 kcal/mol) takip etmektedir. Metotreksat ortalama olarak en uygun bağlanma serbest enerjisine sahip olmasına rağmen, MM/GBSA etkin enerjisi ve entropik katkıyla ilişkili büyük hata, molekülün net yükü dikkate alındığında beklenen %95 güven aralığını oldukça büyük kılar. Belirsizliğin büyük olduğu böyle bir durumda, bağlayıcı serbest enerji için üst sınırı dikkate almak mantıklıdır. Buna göre bileşik bileşik **45** (<-14 kcal/mol), **41** (<-12,8 kcal/mol) ve bileşik **42** (<-11,4 kcal/mol) referans molekül metotreksattan (<-10,6 kcal/mol) daha uygun bağlanma serbest enerjisine sahiptir.

Moleküler kenetleme sonuçları, bağlı konformasyonların kararlılık analizleri ve bağlanma serbest enerji hesaplamaları düşünüldüğünde, bileşik **41**'in en umut verici molekül olarak öne çıktığını görülmektedir. Bu nedenle, referans molekül metotreksatın insan DHFR'si ile etkileşimlerinin ve bileşik **41**'in insan DHFR'si ile etkileşimlerinin ayrıntılı olarak karşılaştırılmıştır. Şekil 6.5'te gösterildiği gibi, metotreksat ve bileşik **41**, sırasıyla DHFR üzerindeki 16 ve 15 kalıntı ile etkileşime girmektedir. İki molekül ortak olarak 7 etkileşen kalıntıya (Ile 7, Val 8, Ala 9, Leu 22, Glu 30, Phe 34, Val 115) sahiptir. Metotreksat ve bileşik **41**, Val 8, Ala 9, Leu 22, Phe 34, Val 115 kalıntılarıyla aynı tipte etkileşime sahiptir. Hidrojen bağlanması açısından, moleküller oldukça farklıdır. Metotreksat, protein ile 9 farklı hidrojen bağı oluştururken, bileşik **41** sadece bir hidrojen bağı oluşturur.

Şekil 6.5'te insan DHFR'sinin metotreksat ve bileşik **41** ile ayrıntılı etkileşimleri gösterilmektedir. Ortak temas kalıntıları kırmızı dairelerle vurgulanmıştır. Hidrojen bağları kesikli çizgilerle gösterilirken, hidrofobik etkileşimler parmaklıklı bir yay ile gösterilir. Şekil 6.5, yerleştirilmiş konformasyonun enerji minimizasyonundan sonra LigPlot+ v.2.2 kullanılarak oluşturulmuştur.



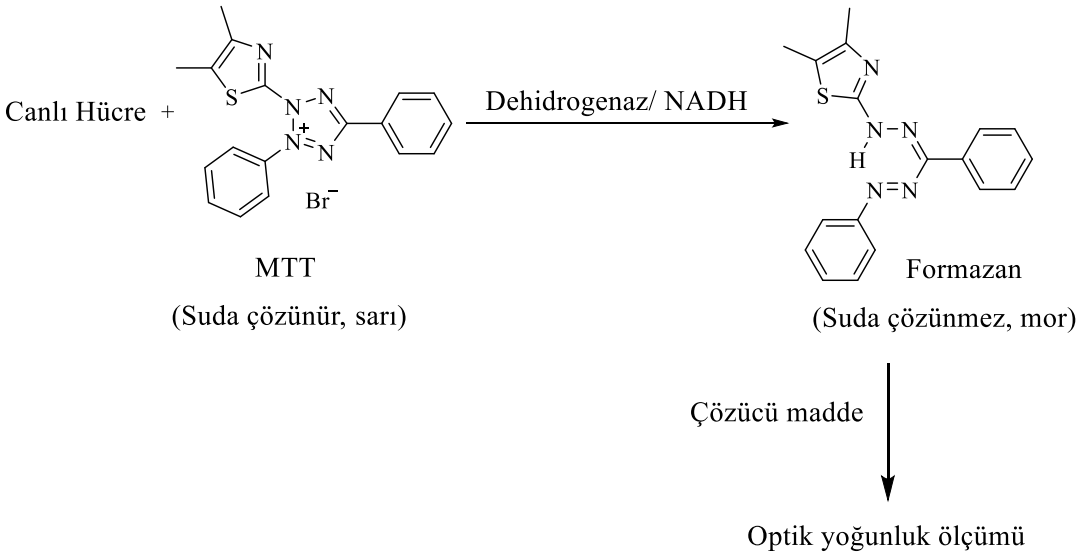
Şekil 6.5 İnsan DHFR'sinin metotreksat (a) ve bileşik **41** (b) ile birlikte ayrıntılı etkileşimlerinin gösterimi

7
MTT ÇALIŞMALARI

7.1 MTT Analiz Yöntemi

MTT reaktifi [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür] bir mono-tetrazolyum tuzudur. Orjinal olarak 1983 yılında Mosmann tarafından tanımlanan kalorimetrik bir tahlildir (Mosmann, 1983). Hücre canlılığının, çoğalmasının ve sitotoksisitenin bir göstergesi olarak, canlı hücrelerde metabolik aktiviteyi ölçmek için yapılır. Bu tahlil, suda çözünür sarı renkli tetrazolyum tuzu MTT'nin metabolik olarak aktif hücreler ekleyerek suda çözünmeyen mor formazan kristallerine indirgenmesine dayanır (Şekil 7.1). Aktif mitokondrinin süksinat dehidrojenaz sistemi bu dönüşümden sorumludur (Altman, 1976; Kalina ve Palmer, 1968). Bununla birlikte, son zamanlarda, sitoplazmada glikoliz ve mitokondride oksidatif fosforilasyonun ürünü olan ko-enzim nikotinamid adenin dinükleotidin (indirgenmiş form) (NADH), MTT indirgemesinden sorumlu ana indirgeyici ajan olduğu öne sürülmüştür (Diaz vd., 2007; van den Berg, 2015). Canlı hücrelerde bulunan NAD(P)H'ye bağlı oksidoredüktaz enzimleri MTT'yi formazana indirger. Çözünmeyen formazan kristalleri, bir çözündürme solüsyonu (dimetil sülfoksit veya asitleştirilmiş etanol solüsyonu veya seyreltilmiş hidroklorik asit içinde deterjan sodyum dodesil sülfat solüsyonu) kullanılarak çözülür ve elde edilen renkli solüsyon, çok kaynaklı bir spektrofotometre kullanılarak 500-600 nanometrede absorbans ölçülerek nicelendirilir. Çözelti ne kadar koyu olursa, canlı, metabolik olarak aktif hücrelerin sayısı o kadar fazla olur (Lin vd., 2019). Formazan renginin yoğunluğu canlı, metabolik olarak aktif hücrelerin sayısıyla orantılıdır. Canlı hücreler tarafından MTT'nin formazan tuzlarına metabolik reaksiyonunu açıklayan bir şematik Şekil 7.1'de gösterilmiştir (Buranaamnuay, 2021).

Tasarlanan ve sentezlenen bileşiklerin moleküler MTT tahlil çalışmaları İstanbul Bilgi Üniversitesi'nde Dr. Öğr. Üyesi Yuk Yin Ng ve Dr. Fulya Günay tarafından gerçekleştirilmiştir.



Şekil 7.1 Canlı hücrelerde bulunan MTT tetrazolyum tuzunun formazana indirgenmesi (Buranaamnuay, 2021)

7.2 MTT Tahlil Yönteminin Maleimid Türevlerine Uygulanması

7.2.1 Hücre Hatları ve Kültür Durumu

MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre çizgileri, %10 ısıyla inaktive edilmiş fetal sığır serumu ve %1 penisilin ve streptomisin ile desteklenmiş kültür ortamında (RPMI) kültürlenmiştir. Tüm hücreler %5 CO_2 ve 37 °C'de inkübe edilmiştir. Tüm hücre hatları, Acıbadem Üniversitesi'nden Dr. M. Sayıtoğlu ve Dr. O. Hatırnaz-Ng tarafından sağlanmıştır.

7.2.2 Hücre Proliferasyonu Analizi

Bileşiklerin meme kanseri hücre hatları (MDA-MB-231 ve MCF-7) üzerindeki büyüme inhibisyon etkisini değerlendirmek için MTT analizi (Cory vd., 1991) kullanılmıştır. Hücreler, ilaç inkübasyonundan 24 saat önce 96 gözlü plakalar üzerinde $1x10^5$ hücre/ml yoğunluğunda kaplanmıştır. DMSO'da hazırlanan tüm bileşiklerin stok solüsyonları (33.3 – 10 – 5 – 1 mM ve 300 µM) hücrelere eklenmeden önce seyreltilmiştir. Nihai çözeltinin DMSO yüzdesi, toksisitesinden dolayı %1,2'nin altında tutulmuştur. Her bir bileşiğin artan konsantrasyonları (0.3-0.5-1-3-5-10-15-20-30-50-70-100-150-200 µM) 6 tekrarlı hücrelere uygulanmıştır ve 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra her bir oyuktan 100 µl süpernatan çıkarılmış ve her bir oyuğa 10 µl MTT solüsyonu (5 mg/mL) ilave edilerek 37 °C'de 4 saat inkübe edilmiştir. Her bir oyuktan 50 µl süpernatan atılmış ve formazan kristallerini çözmek için 100 µl DMSO ilave edilmiştir. Plakalar oda

sıcaklığında 45 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra her bir kuyunun optik yoğunluğu 570 nm dalga boyunda (Thermo VarioSkan Flush Multimode Reader Quantum kullanılarak) ölçülmüştür. IC_{50} değerleri Graphpad Prism kullanılarak hesaplanmıştır. Canlılık oranını belirlemek için spektrofotometrik sonuçlardan aşağıdaki formülle (7.1) hesaplanmıştır:

$$\%VR = 100 - \frac{(OD_{(kontrol)} - OD_{(örnek)})}{OD_{(kontrol)}} x100 \quad (7.1)$$

OD: Optik yoğunluk

7.2.3 IC_{50} İçin İstatiksel Analizler

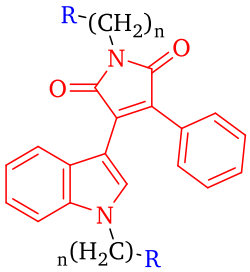
IC_{50} değerleri GraphPad Prism uygulaması kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm veriler 6 tekrarın ortalaması olarak sunulmuştur. Sonuçlar Graph Pad Prism (versiyon 5; GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) ile analiz edilmiş ve gösterilmiştir. İstatistiksel analiz, doz-tepki inhibisyonu, log(inhibitör) ile tepki-değişken eğimi, en küçük kareler (sıradan) uyumu kullanılarak yapılmıştır.

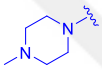
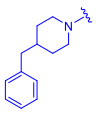
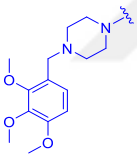
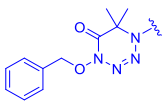
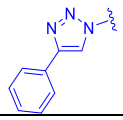
7.2.4 MCF-7 Tipi Meme Kanser Hücresi İçin MTT Tahlil Çalışmaları

MCF-7 östrojen, progesteron ve glukokortikoid reseptörlerine sahip bir insan meme kanseri hücre dizisidir (Horwitz vd., 1975). 1970 yılında Michigan Kanser Vakfı'ndan 69 yaşındaki bir kadının metastatik meme kanserinden elde edilmiştir. MCF-7 hücreleri *in vitro* meme çalışmaları için faydalıdır çünkü hücre sitoplazmasındaki östrojen reseptörleri yoluyla östrojenin estradiol formunda işlenmesi gibi meme epiteline özgü birçok ideal özelliği muhafaza etmişlerdir. Meme kanserine yanıt veren ilk hormondur. Eşsiz özellikleri deneysel terapötikler için faydalıdır. Ayrıca sitokeratin'e duyarlıdırlar. *İn vitro* olarak büyütüldüklerinde hücreler kubbe oluşturma yeteneğine sahiptir ve epitel benzeri hücreler tek katman halinde büyümektedir (Camarillo vd., 2014).

Tablo 7.1'de yeni sentezlenen maleimid türevleri olan bileşik **8**-**19**'un MCF-7 tipi meme kanseri hücre hattı üzerindeki IC_{50} değerleri gösterilmektedir. Bu değerlere ait standart sapmalar da yine tabloda belirtilmiştir.

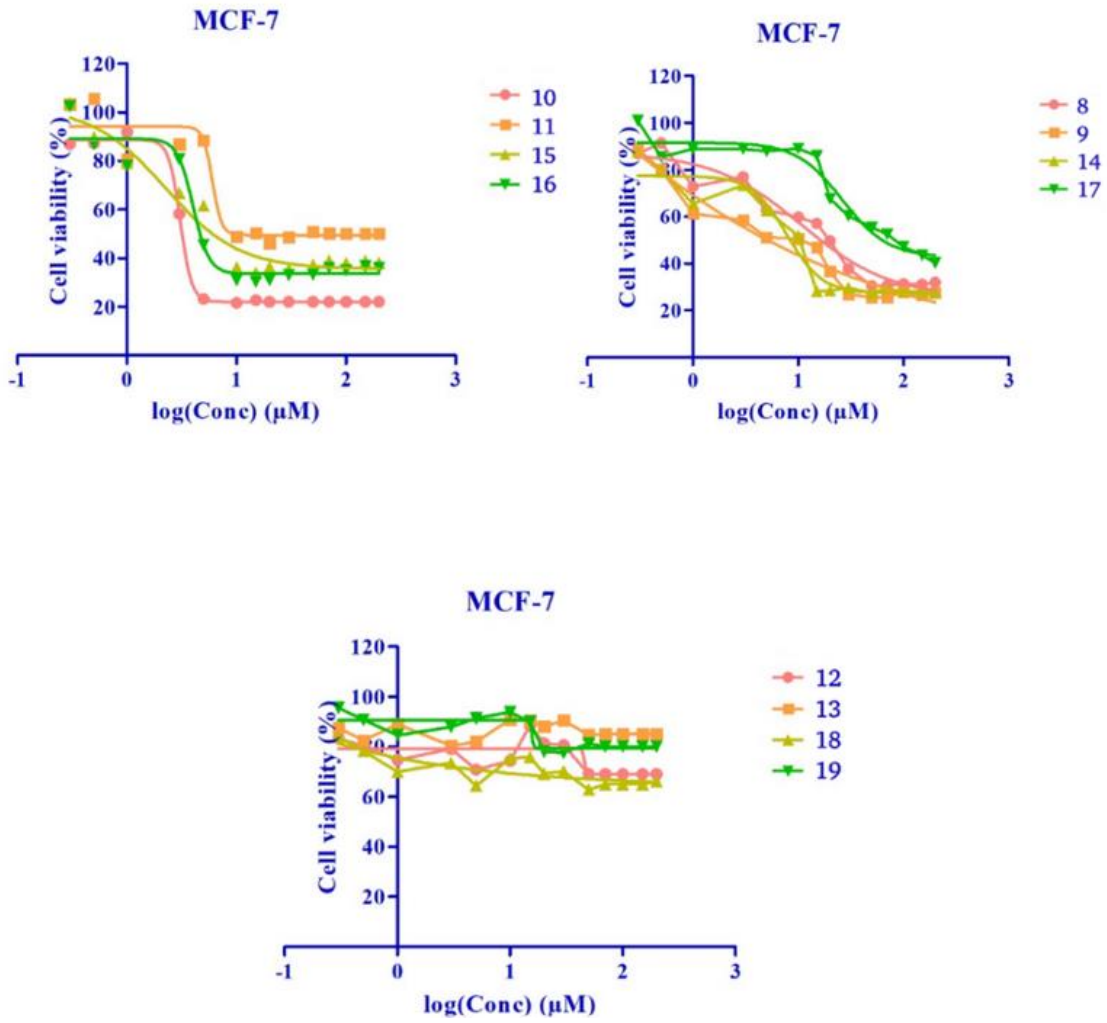
Tablo 7.1 MCF-7 Tipi meme kanseri hücre hattı üzerindeki maleimid türevi **8-19**'un IC_{50} değerleri



R	Bileşik	MCF-7 IC_{50} (µM)[a]	MCF-7 IC_{50} (µM)[b]
	**8[a], 14[b]**	16.94±0.3088	7.418±0.2127
	**9[a], 15[b]**	16.80±0.0958	5.331±0.3882
	**10[a], 16[b]**	3.209±0.0535	4.000±0.1065
	**11[a], 17[b]**	6.215±0.5805	29.28±0.2464
	**12[a], 18[b]**	>200	>200
	**13[a], 19[b]**	>200	>200

[a] n=4, [b] n=6

Çalışma kapsamında yapılan *in vitro* çalışmalar sonucunda maleimid türevleri olan bileşik **8-19**'un MCF-7 tipi meme kanseri hücre hattı üzerindeki etkisi Şekil 7.2'de gösterilmektedir.



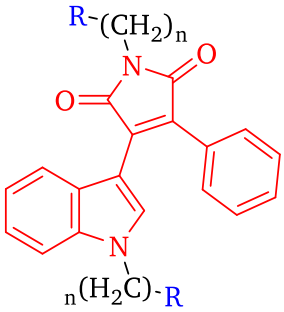
Şekil 7.2 Bileşik **8-19**'un MCF-7 tipi meme kanseri hücre hattı üzerindeki etkisi

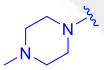
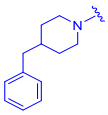
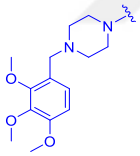
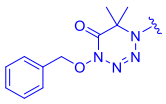
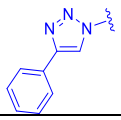
7.2.5 MDA-MB-231 Tipi Meme Kanser Hücresi İçin MTT Tahlil Çalışmaları

MDA-MB-231 hücre dizisi, metastatik meme adenokarsinomu olan 51 yaşındaki bir kadının plevral efüzyonundan oluşturulmuş bir epitelyal insan meme kanseri hücre dizisidir ve tıbbi araştırma laboratuvarlarında en sık kullanılan meme kanseri hücre dizilerinden biridir (Cailleau vd., 1978). MDA-MB-231, östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) ekspresyonunun yanı sıra insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) amplifikasyonundan yoksun olduğundan son derece agresif, invaziv ve az farklılaşmış üçlü negatif meme kanseri (TNBC) hücre dizisidir. Diğer istilacı kanser hücre dizilerine benzer şekilde, MDA-MB-231 hücrelerinin istilacılığı, hücre dışı matrisin proteolitik bozunması aracılığıyla gerçekleşir (Chavez vd., 2011; Liu vd., 2003).

Tablo 7.2'de yeni sentezlenen maleimid türevleri olan bileşik **8-19**'un MDA-MB-231 tipi meme kanseri hücre hattı üzerindeki IC_{50} değerleri gösterilmektedir. Bu değerlere ait standart sapmalar da yine tabloda belirtilmiştir.

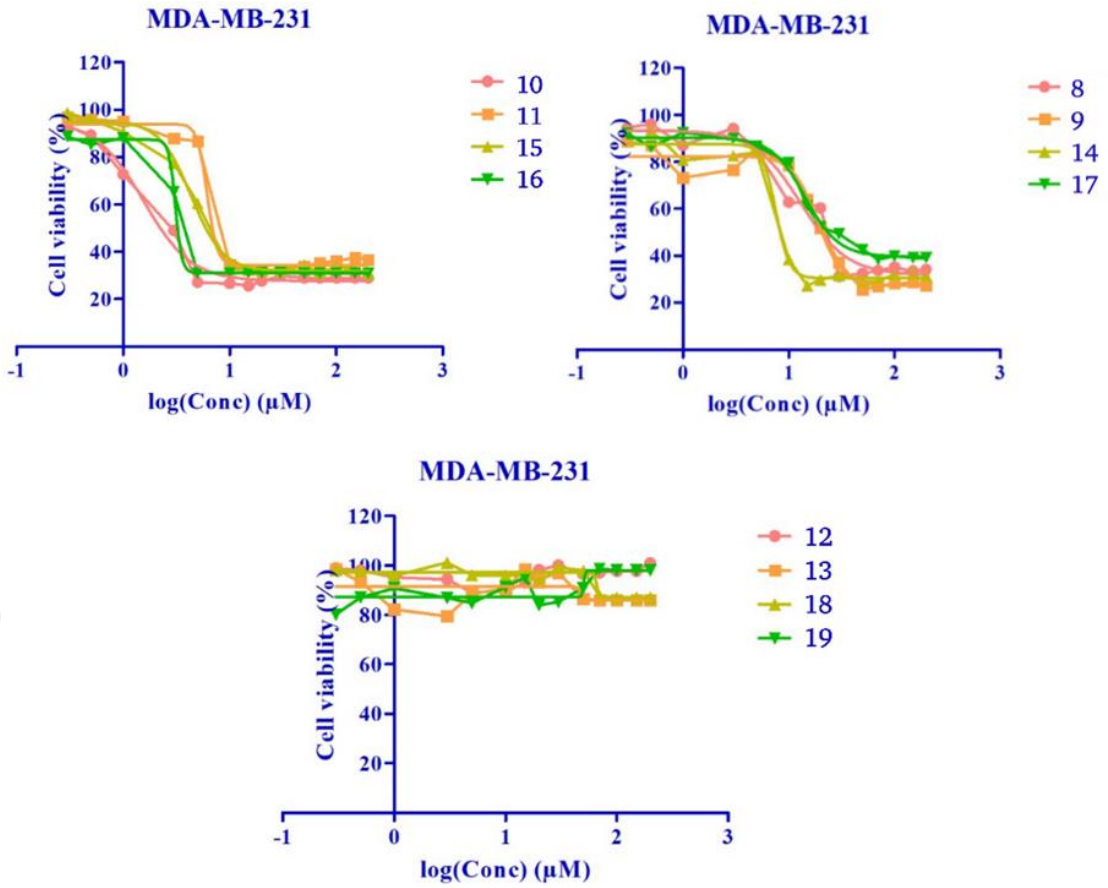
Tablo 7.2 MDA-MB-231 Tipi meme kanseri hücre hattı üzerindeki maleimid türevi **8-19**'un IC_{50} değerleri.



R	Bileşik	MDA-MB-231 IC_{50} (µM)[a]	MDA-MB-231 IC_{50} (µM)[b]
	**8[a], 14[b]**	12.95±0.1637	7.579±0.1143
	**9[a], 15[b]**	18.71±0.0793	4.367±0.0568
	**10[a], 16[b]**	1.651±0.3973	3.055±3.811
	**11[a], 17[b]**	6.571±0.1727	14.35±0.0592
	**12[a], 18[b]**	>200	>200
	**13[a], 19[b]**	>200	>200

[a] n=4, [b] n=6

Çalışma kapsamında yapılan *in vitro* çalışmalar sonucunda maleimid türevleri olan bileşik **8-19**'un MDA-MB-231 tipi meme kanseri hücre hattı üzerindeki etkisi Şekil 7.3'te gösterilmektedir.



Şekil 7.3 Bileşik **8-19**'un MDA-MB-231 tipi meme kanseri hücre hattı üzerindeki etkisi

7.3 MTT Tahlil Yönteminin 1,2,3,4-Tetrazin Türevleri Uygulanması

7.3.1 Hücre Hatları ve Kültür Durumu

1,2,3,4-Tetrazin türevlerinin MTT tahlil yöntemiyle antikanser aktivitesinin belirlenmesi amacıyla beş farklı lösemi kanser hücre hattı (Jurkat, Nalm-6, Reh, K562 ve Molt-4) ve bir kanserli olmayan sağlıklı böbrek hücre hattı (Hek293T) kullanılmıştır.

Jurkat hücre dizisi, orijinal olarak T hücreli lösemili bir çocuğun periferik kanından elde edilen, ölümsüzleştirilmiş bir T lenfosit hücre dizisidir. Jurkat hücre çizgisi T hücresi sinyallemesi ve HIV enfeksiyonu yaşam döngüsündeki moleküler olaylar dahil olmak üzere, T hücresi biyolojisindeki birçok olayı incelemek için sıklıkla prototip bir T hücre dizisi olarak kullanılmaktadır (Montano, 2014). Nalm-6, B hücresi öncül akut lenfoblastik lösemi hücre hattıdır. Ergen bir erkekten başlatılan bu lösemi hücre hattı, B hücresi farklılaşması, metastaz gibi olaylarda önemli bir modeldir (Hartmann vd., 2008; Kinjyo vd., 2019). Reh, bir akut lenfositik lösemi (ALL) hastasından alınan dokudan izole edilen, lenfoblastik morfoloji sergileyen bir insan hücre dizisidir. Bağışıklık sistemi

bozukluğu ve kanser araştırmalarında sıkça kullanılmaktadır (Greaves ve George, 1978). K-562, 53 yaşındaki kronik miyeloid lösemi hastasının kemik iliğinden izole edilen lenfoblast hücreleridir. K-562 hücre dizisi, bağışıklık sistemi bozukluğu ve immünoloji araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Koeffler ve Golde, 1980; Lozzio ve Lozzio, 1979). Molt-4, Molt-3 hücre dizisiyle aynı hastadan türetilmiş bir T lenfoblast hücre dizisidir. Hat, nüksetme döneminde olan Akut lenfoblastik lösemili (ALL) 19 yaşındaki erkek hastadan alınan hücrelerden oluşturulmuştur. Bu hücre dizisi immünoloji ve bağışıklık sistemi bozukluğu araştırmalarında kullanılabilmektedir (Greenberg vd., 1988). Hek293T, bir hastanın böbreğinden izole edilen epitel benzeri bir hücredir. Hek293T simian virüs 40 (SV40) DNA'nın HEK-293 hücrelerine eklenmesiyle üretilmiş bir hücre hattıdır. 293T hücreleri, SV40 genomunun stabil şekilde entegre edilmiş bir kopyasını taşımaktadır (Pear vd., 1993).

K562 ve Nalm-6 hücre hatlarının RPMI ortamında kültürlenmesi, Jurkat ve Molt4 hücre hatlarının DMEM ortamında kültürlenmesi ve Hek293T hücre hattının Iscove Basal ortamında kültürlenmesi gerçekleştirilmiştir. Tüm ortam tipleri, %10 ısı ile inaktive edilmiş fetal sığır serumu, %1 penisilin ve streptomisin ile desteklenmiş ve tüm hücreler, %5 CO_2 ve 37°C'de inkübe edilmiştir.

7.3.2 Hücre Proliferasyonu Analizi

Bileşiklerin çeşitli hücre hatları üzerindeki büyümeyi önleme etkisini değerlendirmek için MTT tahlili kullanılmıştır (Cory vd., 1991). Hücreler ortamda tekrar süspanse edilmiş, Biorad TC20 Automated Cell Couter cihazında sayılmıştır ve 96 kuyucuklu plakalara lösemik hücre hatları için $5x10^5$ hücre/ml ve lösemik olmayan hücre dizisi için $1x10^5$ hücre/ml olarak ekilmiştir ve gece boyunca inkübe edilmiştir.

Tüm bileşiklerin stok solüsyonları (33.3 – 10 – 5 – 1 mM ve 300 µM) moleküler ağırlıklarına göre önce DMSO içerisinde çözündürülmüştür ve daha sonra hücrelere eklenmeden önce istenilen konsantrasyonun ayarlanması için ilgili ortam ile seyreltilmiştir. Toplam çözeltinin DMSO oranı, toksisitesi nedeniyle %1,2'yi geçmemektedir. Artan konsantrasyonlarda (1-3-5-10-15-20-30-50-70-100-150-200 µM) bir proliferasyon deneyi, altı tekrarlı olarak hücrelere uygulanmıştır. Daha sonra hücreler, 24 saat boyunca çeşitli konsantrasyonlarda bileşiklerle inkübe edilmiştir.

İnkübasyondan sonra, her kuyudan 100 µl süpernatan çıkarılmış ve her kuyucuğa 10 µl MTT solüsyonu (5 mg/mL) ilave edilmiş ve 37 °C'de 4 saat inkübe edilmiştir. Her

oyuktan 50 µl süpernatan atılmış ve canlı hücreler tarafından üretilen formazanı çözmek için 100 µl DMSO ilave edilmiştir. Plakalar, çözünmesi için 45 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra her kuyucuğun optik yoğunluğu 570 nm dalga boyunda Thermo VarioSkan Flush Multimode Reader Quantum ST5-1100 kullanılarak ölçülmüştür. IC_{50} değerleri Graphpad Prism kullanılarak hesaplanmıştır. Canlılık oranı (VR), spektrofotometrik sonuçlardan aşağıdaki formülle (7.1) hesaplanmıştır:

$$\%VR = 100 - \frac{(OD_{(kontrol)} - OD_{(örnek)})}{OD_{(kontrol)}} x100 \qquad (7.1)$$

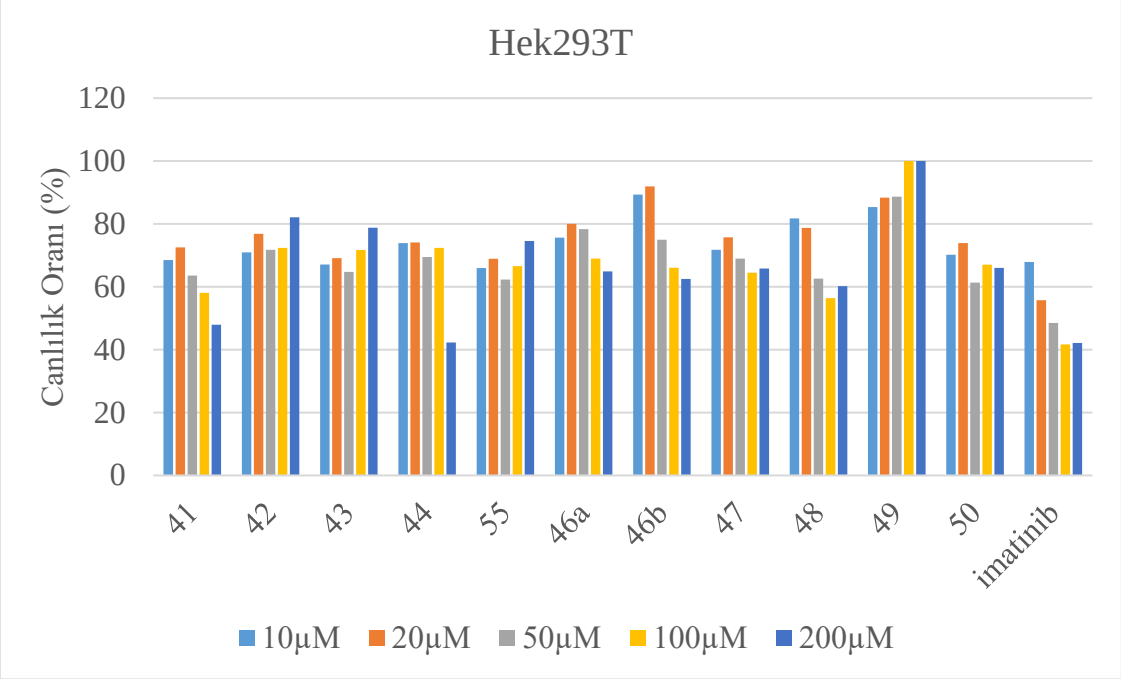
OD: Optik yoğunluk

7.3.3 IC_{50} İçin İstatiksel Analizler

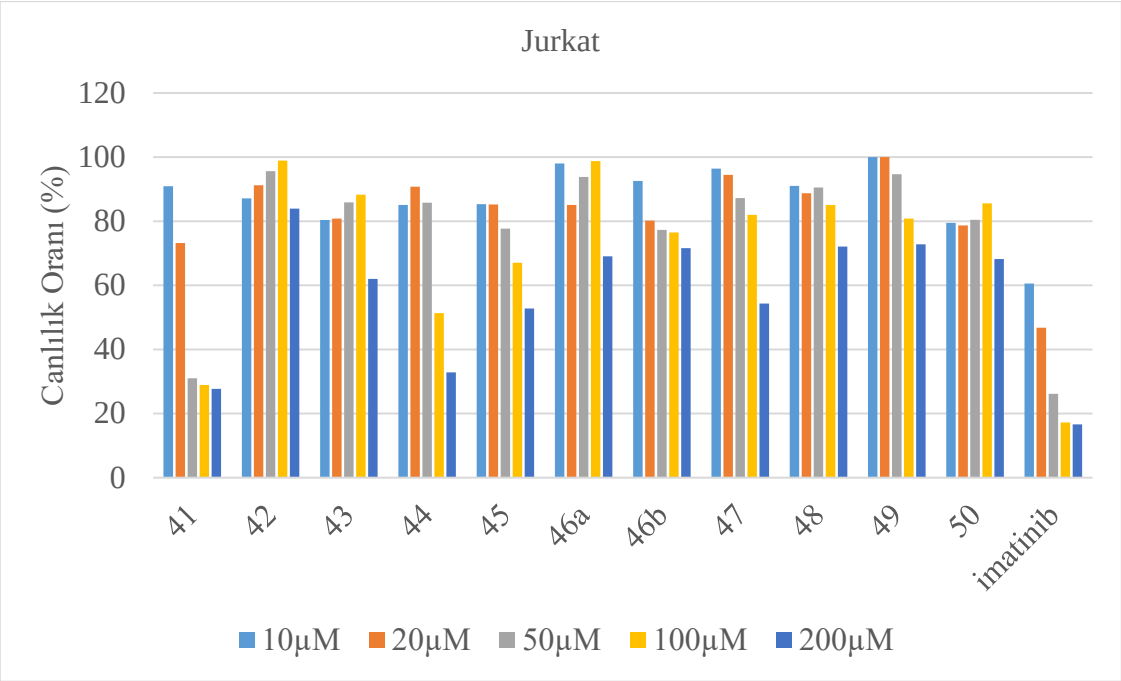
IC_{50} değerleri GraphPad Prism kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm veriler 6 tekrarlı deneylerin ortalaması olarak sunulmuştur. Sonuçlar, Graph Pad Prism (sürüm 5; GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) ile analiz edilmiş ve gösterilmiştir. İstatistiksel analiz, doz-yanıt inhibisyonu, log(inhibitör)- yanıt-değişken eğimi, en küçük kareler (sıradan) uyumu kullanılarak yapılmıştır.

7.3.4 Beş Farklı Lösemi Kanser Hücre Hattı İçin MTT Tahlil Çalışmaları

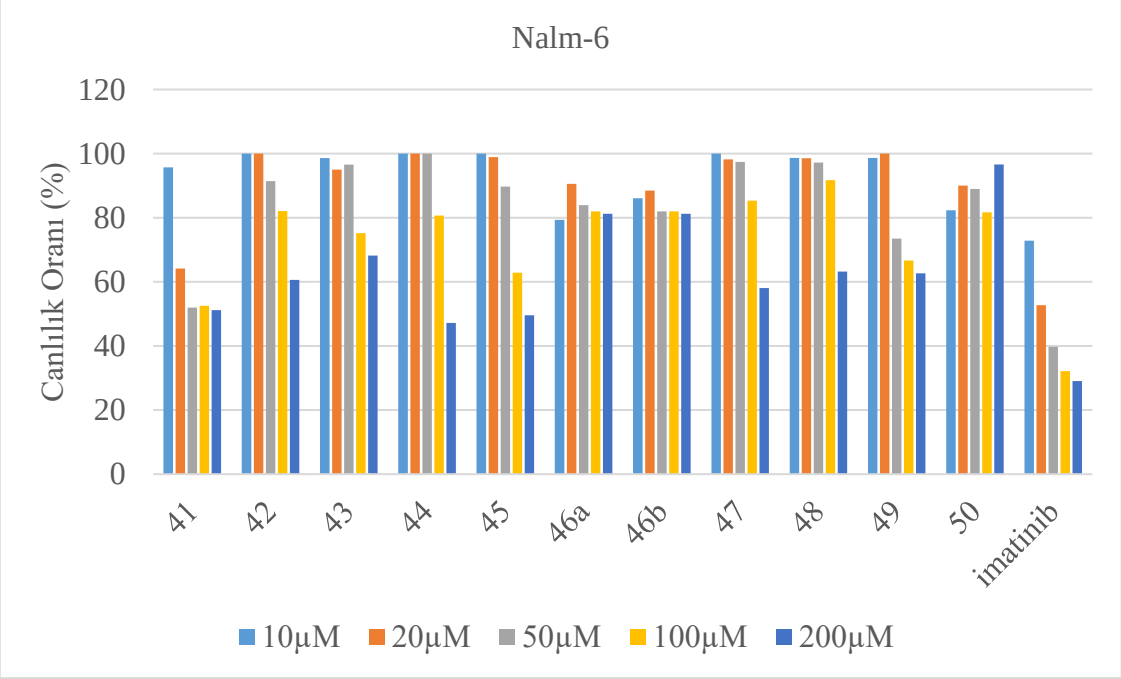
Sentezlenen 1,2,3,4-tetrazin türevi bileşiklerin 5 farklı lösemi kanser hücreler ve bir lösemi olmayan hücre hatları üzerindeki etkisi incelenmiş ve her bileşiğin farklı konsantrasyonlardaki % canlılık oranı Şekil 7.4 - Şekil 7.9 arasında gösterilmiştir.



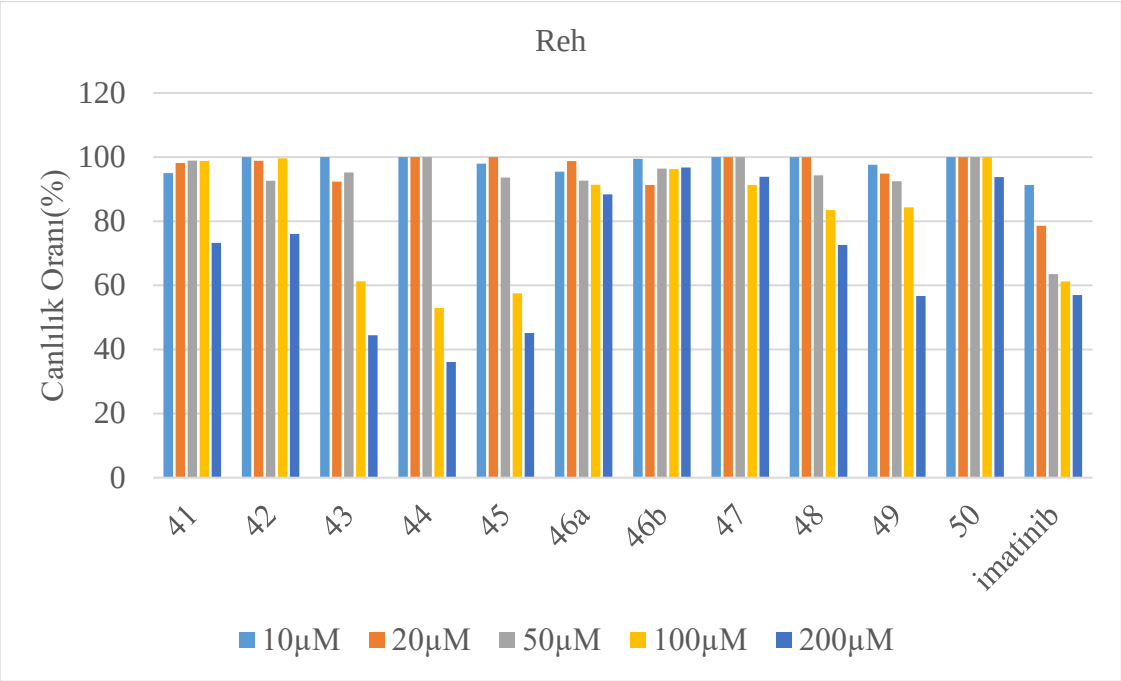
Şekil 7.4 Bileşik **41-50** ve imatinibin Hek293T hücre hattı üzerindeki etkisi



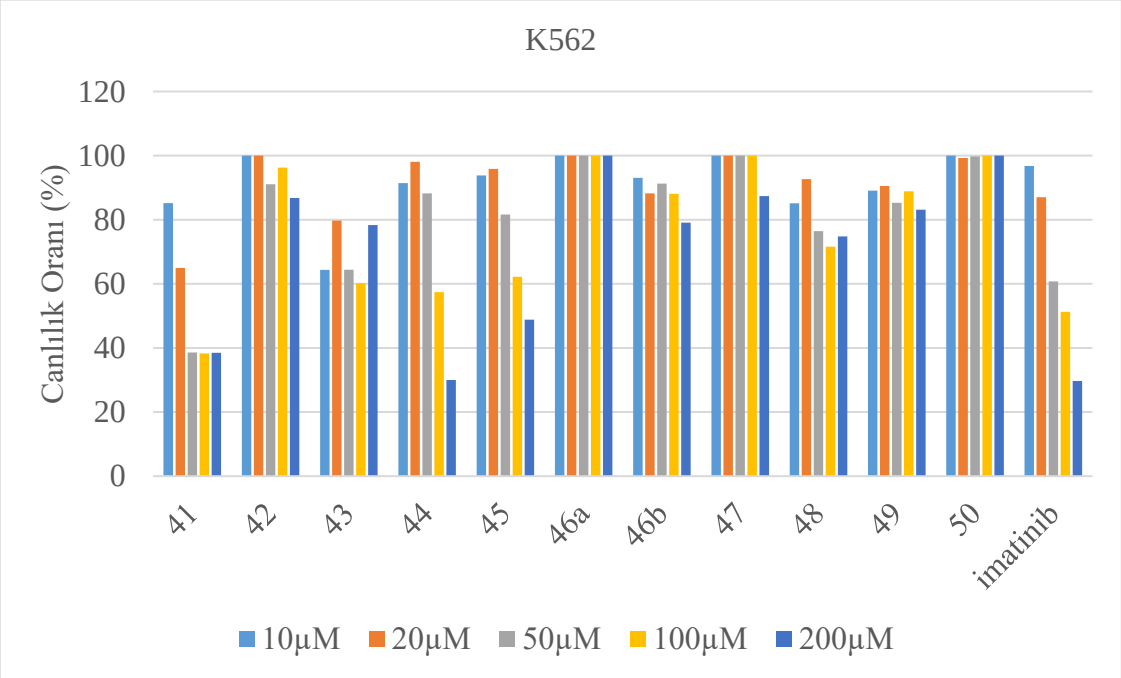
Şekil 7.5 Bileşik **41-50** ve imatinibin Jurkat hücre hattı üzerindeki etkisi



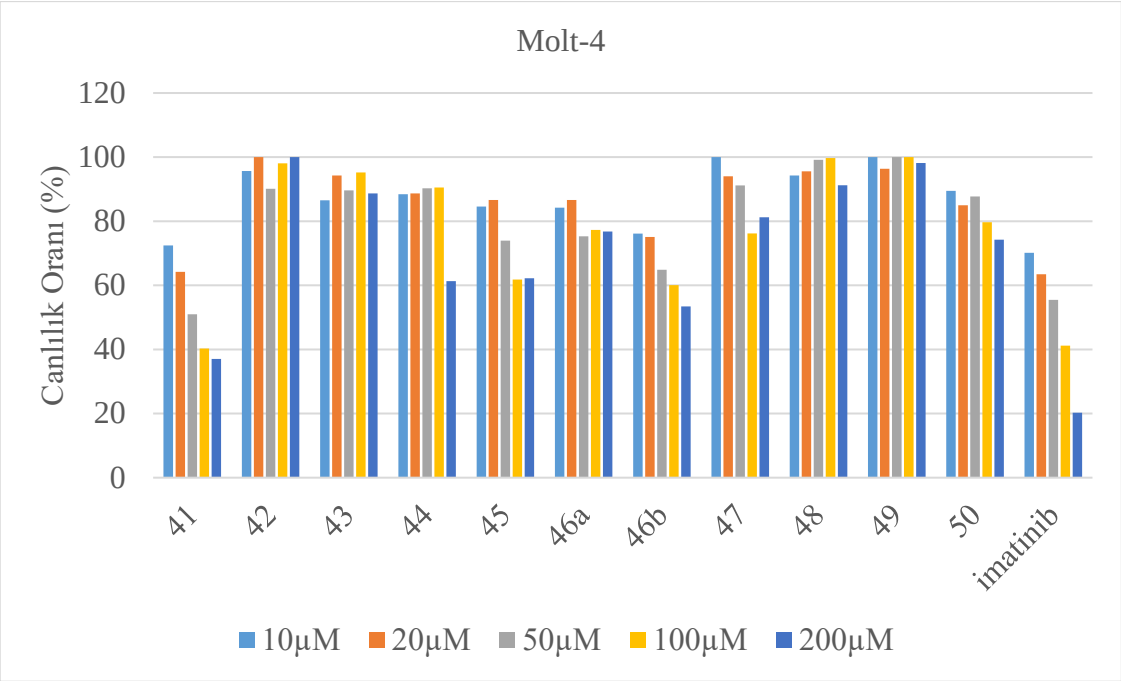
Şekil 7.6 Bileşik **41-50** ve imatinibin Nalm-6 hücre hattı üzerindeki etkisi



Şekil 7.7 Bileşik **41-50** ve imatinibin Reh hücre hattı üzerindeki etkisi



Şekil 7.8 Bileşik **41-50** ve imatinibin K562 hücre hattı üzerindeki etkisi

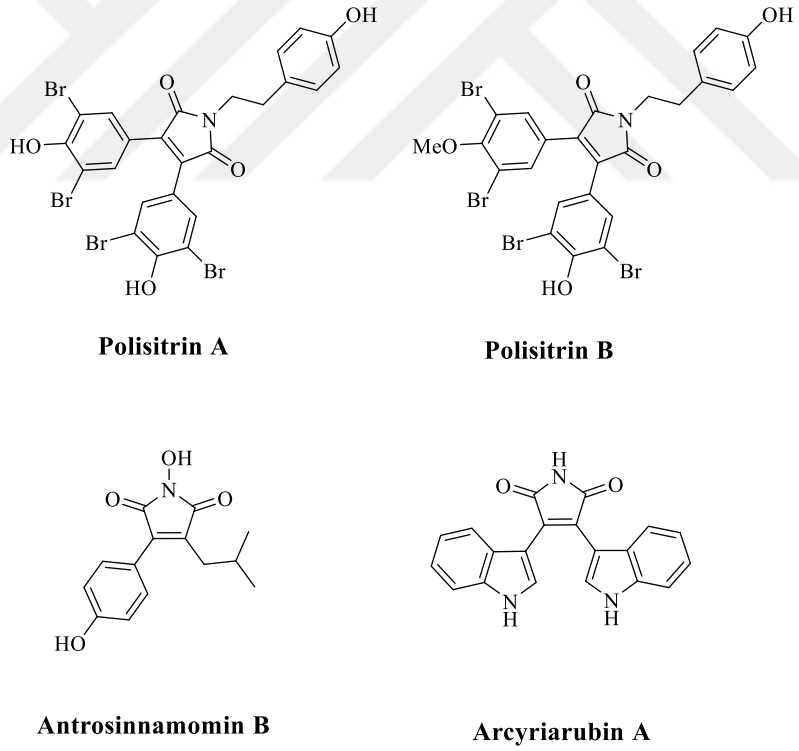


Şekil 7.9 Bileşik **41-50** ve imatinibin Molt-4 hücre hattı üzerindeki etkisi

8
SONUÇ

Heterosiklik bileşikler yaşamda ve biyokimyasal süreçlerde önemli rol oynarlar. Farmasötik kimyanın büyük bölümünün heterohalkalı yapıda olduğu bilinmektedir. Bunun nedenlerinden biri bu yapıların sentetik olarak elde edilmesi ve bir diğeri ise bu yapıların bazı fonksiyonel gruplarla yer değişimi sonucu daha iyi biyolojik aktivite gösterebilmesidir. Bu nedenle bu heterohalkalı bileşiklerin sentezi organik kimyacıların hedefi haline gelmiştir.

Heterohalkalı bileşiklerden olan maleimidlerle yapılan çalışmalar türevlerinin antifungal, analjezik, antitümör, GSK-3 inhibitör gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 8.1) (Bansode vd., 2009; Mahle vd., 2010; Ye vd., 2009).



Şekil 8.1 Biyolojik aktif çeşitli maleimid türevleri

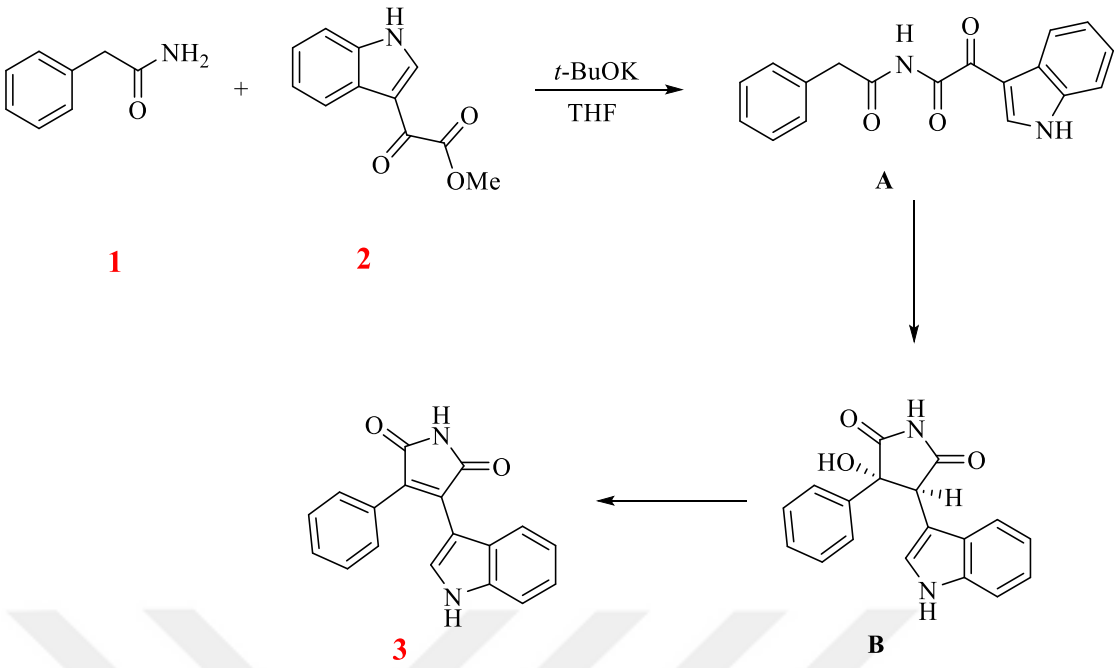
Doğal olarak elde edilen indol türevlerinin çoğunun biyolojik aktif olduğu bilinmektedir. Piyasada bulunan indol bazlı ilaç türevleri antimikrobiyal, antiviral, antikanser, antiinflamatuar, inhibitörler ve antioksidan gibi çeşitli farmakolojik özellikler açısından incelenmekte ve geliştirilmektedir (Abdel-Gawad vd., 2010; Biersack ve Schobert, 2012;

Gali vd., 2015; Gordon vd., 2013; Khan vd., 2017; Z. Liu vd., 2016; Mohamed vd., 2014; Patil vd., 2016; Roy vd., 2006; Zhang vd., 2013). Bu bileşikler arasında olan roksindol (Gründer vd., 1993), oksipertin (Bak vd., 1969), pindolol (Celada vd., 2013), indometasin (Villar-Martínez vd., 2021), reserpin (Tsioufis ve Thomopoulos, 2017) indol türevi olan ve günümüzde ilaç olarak kullanılan indol türevleridir. Bu bileşiklere ait yapılar çalışmanın literatür özeti kısmında belirtilmiştir.

GSK-3 çok işlevli bir serin/treonin kinazdır. Bu enzimin anormal aktivitesi kanser dahil olmak üzere birçok hastalık ile ilişkilidir. Ayrıca protein sentezi, glikojen metabolizması, hücre hareketliliği, proliferasyonu, protein translasyonu, apoptoz, hücre döngüsü ilerlemesi ve hayatta kalmanın düzenlenmesinde rol oynar (Cohen ve Frame, 2001; Doble ve Woodgett, 2003; Grimes ve Jope, 2001). GSK-3'ün iki farklı izoformundan biri olan GSK-3β düzensizliğinin diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, bazı nörolojik hastalıklar ve bipolar bozukluk gibi çeşitli insan hastalıklarının gelişiminde rol oynadığı rapor edilmiştir (Cohen, 2001; Kim ve Kimmel, 2000; Sasaki vd., 2001; Wagman ve Nuss, 2001). Buna göre GSK-3β inhibitörleri hem akademik alanda hem de ilaç alanında oldukça etkindir. Çeşitli indol substitue malemid yapıları potansiyel GSK-3β inhibitörleri olarak geliştirilmektedir (Bertrand vd., 2003; Hers vd., 1999; Kuo vd., 2003; Zhang vd., 2003, 2007).

Bu bilgiler ışığında indol substitue maleimid yapılarını sentezlemek amacıyla, öncelikle literatürden de yararlanılarak bir asetamid olan bileşik **1** ile bir oksoasetat olan bileşik **2**'nin sentezi sonucunda maleimid halkası içeren bileşik **3**'ün sentezi gerçekleştirilmiştir (Şekil 8.2) (Zhao vd., 2008). Bileşik **3**'ün hazırlanmasına ait sentez aşamaları bölüm 5'teki deneysel çalışmalarda detaylı bir şekilde gösterilmiştir. Bileşik **3**'ün yapısı FTIR spektrumu ile aydınlatılmıştır. Bileşik **3**'e ait FTIR spektrumu incelendiğinde N-H gerilim bandı 3359 cm^{-1} ve karbonil grubu gerilim bantları 1697 ve 1621 cm^{-1} de yer almaktadır.

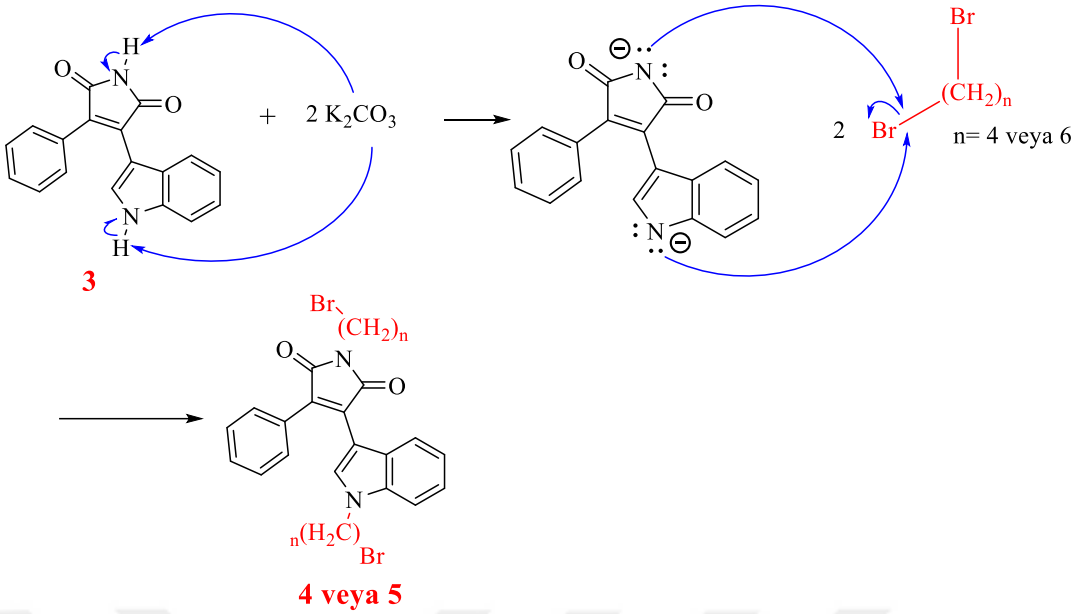
Bileşik **3**'e ait Şekil 8.2'de verilen sentez şeması incelediğinde, THF içinde karıştırılan bir arilasetamid (**1**) ve arilglioksilester (**2**) çözeltisine *t*-BuOK'in ilavesiyle amid, tri-karbonil ara maddesi **A**'yı verecek şekilde açillenir ve daha sonra hidroksi imid **B**'ye intramoleküler Perkin tipi kondenzasyon gerçekleşir. Fazla miktarda *t*-BuOK kullanılması, B'nin eliminasyon sonucu bileşik **3**'ün dehidrasyonuna neden olur.



Şekil 8.2 Bileşik **3**'e ait sentez şeması

Bir sonraki aşamada bileşik **3**'ün 1,4-dibromobütan ile S_N2 reaksiyonu ile literatürde yer almayan 1-(4-bromobütil)-3-(1-(4-bromobütil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion (**4**) ve bileşik **3**'ün 1,6-dibromobütan ile nükleofilik yer değiştirme reaksiyonu sonucu yine literatürde yer almayan 1-(6-bromohekzil)-3-(1-(6-bromohekzil)-1*H*-indol-3-il)-4-fenil-1*H*-pirol-2,5-dion (**5**) bileşikleri sentezlenmiştir (Şekil 8.3).

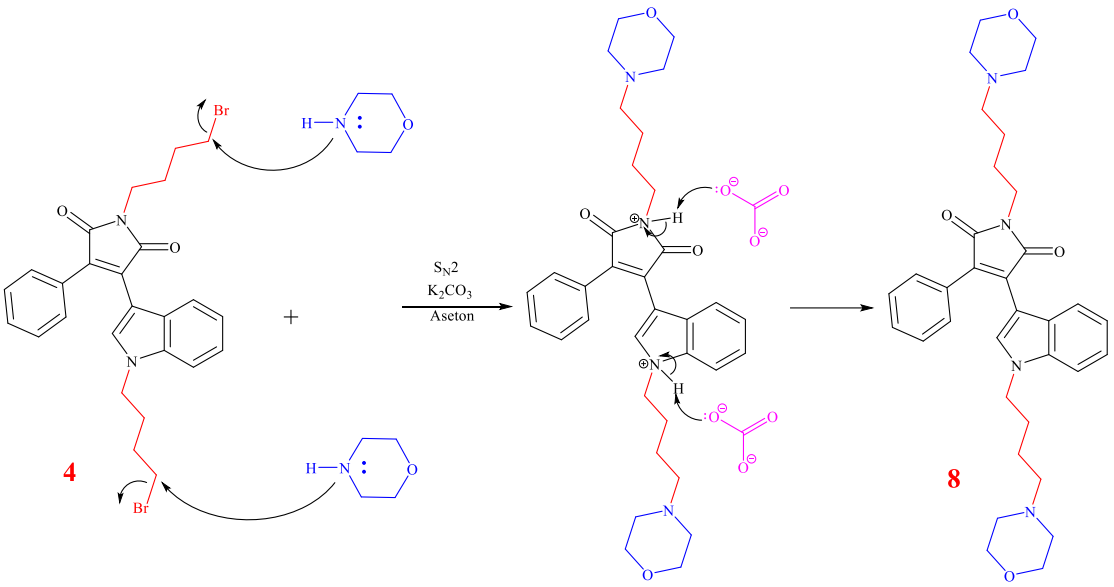
Bileşik **4** ve bileşik **5**'in yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır. Her iki bileşiğinde FTIR spektrumu incelendiğinde, N-H gerilim bantları gözlenmemektedir. Yapılara ait karbonil gerilim bantları bileşik **4** için 1757 ve 1690 cm^{-1} ve bileşik **5** için 1757 ve 1692 cm^{-1} de yer almaktadır. Bileşiklerin ^{1}H-NMR spektrumlarında yine N-H a ait proton pikine rastlanmamıştır, yapıya ait -CH_2 ve aromatik proton pikleri beklenen bölgede ve sayıda rezonans göstermiştir. Daha sonra APT analizi ile karbon rezonansı incelenmiş ve ardından HRMS (QTOF) spektrumları moleküler iyon pikine ait sinyaller yapıların doğruluğunu kanıtlamıştır.



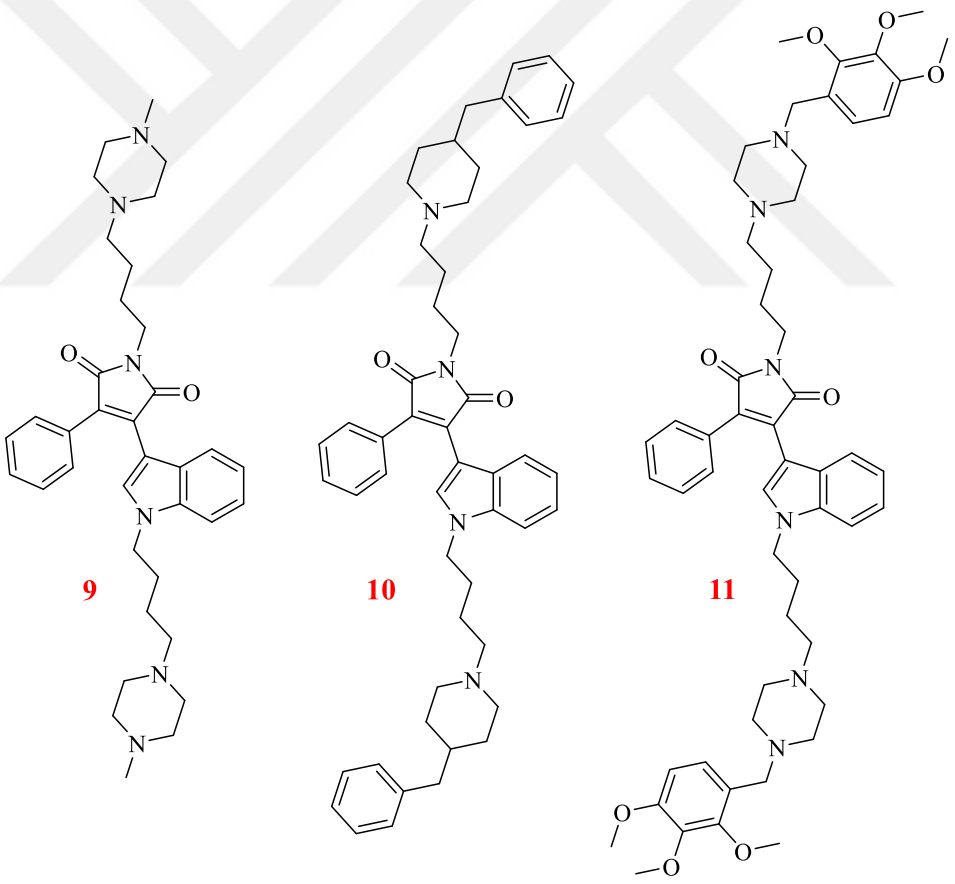
Şekil 8.3 Bileşik **4** ve **5**'in S_N2 reaksiyonu ile elde edilme mekanizması

Bileşik **4**'ün sırasıyla morfolin, *N*-metil piperazin, 4-benzil piperidin ve trimetazidin dihidroklorid ile yer değiştirme reaksiyonu sonucu bileşik **8**, **9**, **10** ve **11** sentezlenmiştir. Bileşik **8**'in sentez şeması Şekil 8.4'te gösterilmiştir. Bileşik **9**, **10** ve **11**'e ait mekanizma benzer şekildedir.

Bileşik **8**, **9**, **10** ve **11**'in ^{1}H-NMR spektrumu incelendiğinde, bileşik **4**'te bulunan Br-CH_2 gruplarına ait 3.42 ve 3.46 ppm'deki triplet pikleri kaybolarak yerine yeni *N*-CH_2 pikleri gözlenmiştir. Bunun yanı sıra *N*-metil piperazin ile oluşturulan bileşik **9**'un ^{1}H-NMR'ında gözlenen 2.29 ppm'deki altı protonluk singlet pik, *N*-metil piperazin grubunun yapıya bağlandığını kanıtlamaktadır. Ayrıca bileşik **11**'in ^{1}H-NMR spektrumunda 3.81–3.74 ppm arasında gözlenen on sekiz protonluk multiplet piki *O*-CH_3'e ait rezonans sinyalini göstermektedir ve yapıyı kanıtlamaktadır. Bileşik **8**, **9**, **10** ve **11**'in APT spektrumları yapıları desteklemekte ve tüm karbon atomları beklenilen bölgede rezonans olmaktadır. HRMS (QTOF) spektrumlarında belirlenen iyon pikleri yapılara kesinlik kazandırmıştır.



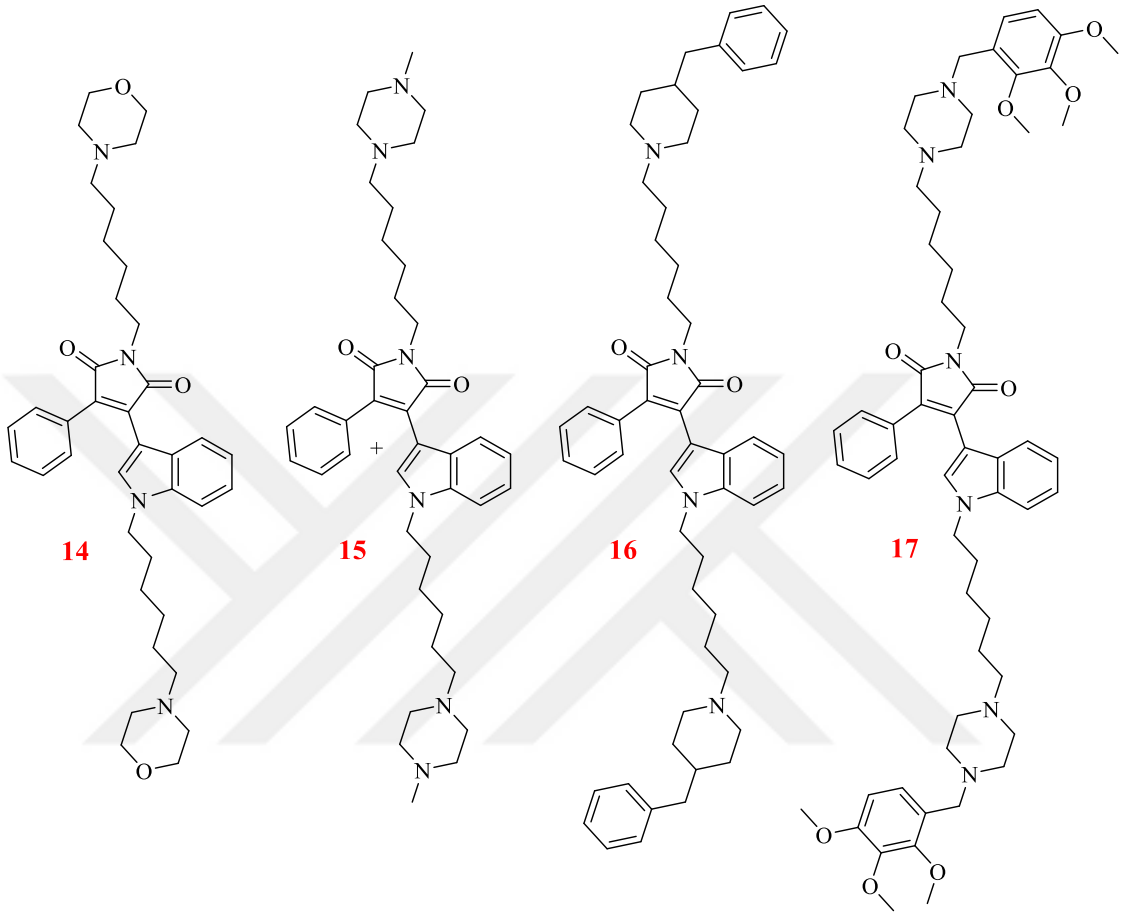
Şekil 8.4 Bileşik **8**'in sentez şeması



Şekil 8.5 Bileşik **9**, bileşik **10** ve bileşik **11**'in yapısı

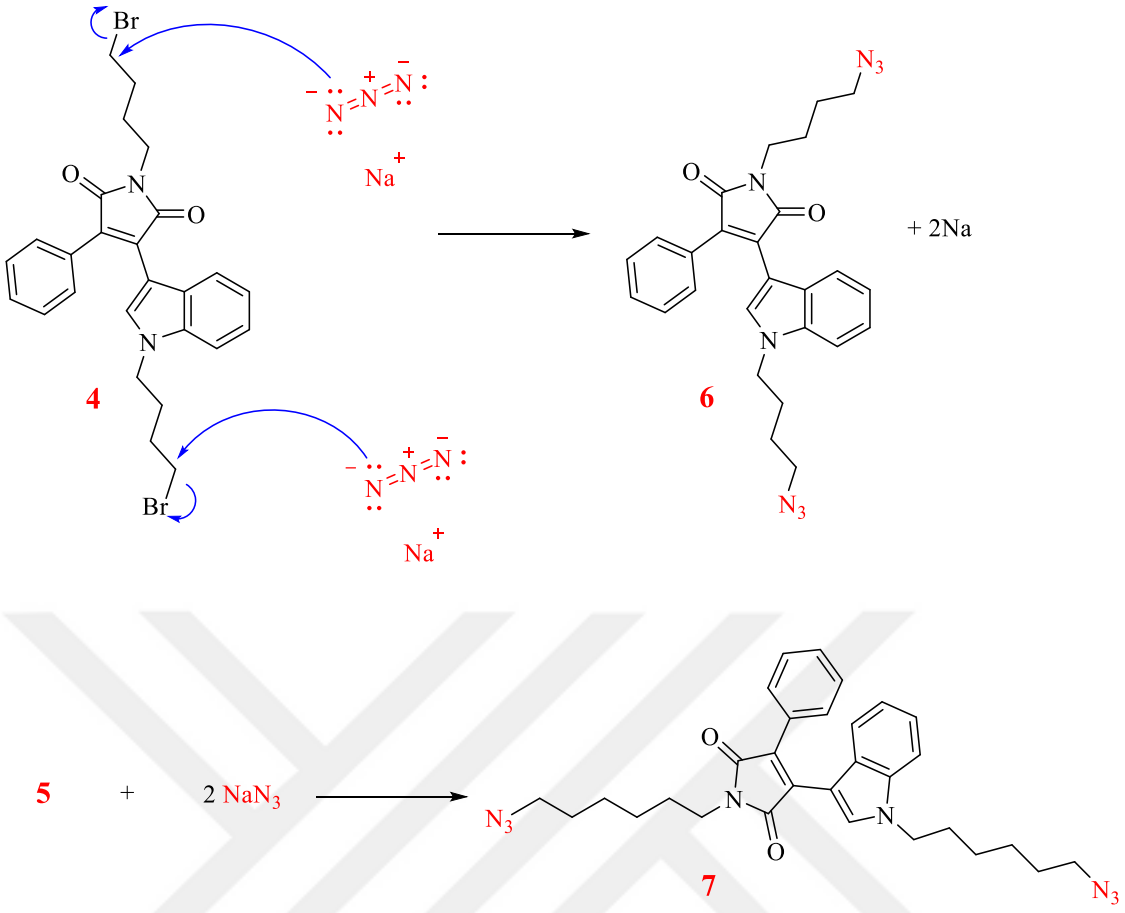
Bileşik **4**'ten farklı olarak altılı alkil zincirine sahip olan Bileşik **5**'in, sırasıyla morfolin, *N*-metil piperazin, 4-benzil piperidin ve trimetazidin dihidroklorid ile nükleofilik yer değiştirme reaksiyonu sonucu bileşik **14**, **15**, **16** ve **17** sentezlenmiştir (Şekil 8.6).

Kromatografik çalışmalar sonrasında saf olarak elde edilen ürünlerin yapısını aydınlatmak amacıyla FTIR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR (APT) ve HRMS (QTOF) gibi spektroskopik yöntemler kullanılmıştır. Elde edilen veriler beklenildiği gibidir ve bu sayede yapıların doğruluğu kanıtlanmıştır.



Şekil 8.6 Bileşik **14**, bileşik **15**, bileşik **16** ve bileşik **17** yapıları

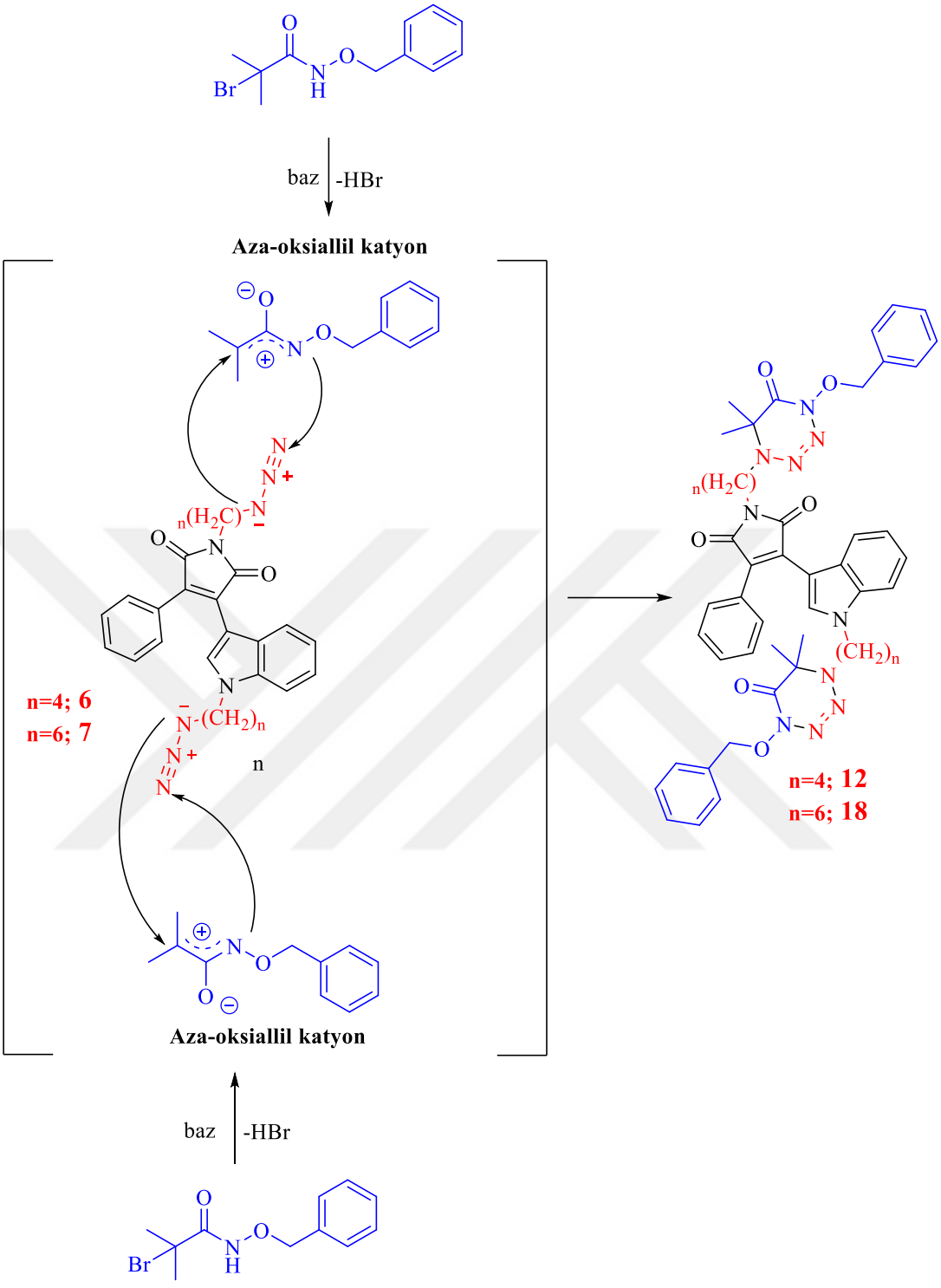
Bileşik **4** ve bileşik **5**'in sodyum azid ile reaksiyonu bileşik **6** ve **7**'yi vermiştir. Şekil 8.7 bileşik **6**'nın sentez mekanizmasını göstermektedir. Aynı mekanizma bileşik **5**'ten bileşik **7**'nin sentezi için de geçerlidir. Bileşik **6** ve bileşik **7**'nin FTIR spektrumu incelendiğinde, sırasıyla 2092 ve 2089 cm^{-1} de gözlenen N≡N gerilimi pikleri azidleme reaksiyonunun gerçekleştiğini göstermektedir. Yapıların doğruluğu QTOF analizleri ile kanıtlanmıştır.



Şekil 8.7 Bileşik **6**'nın oluşum mekanizması ve bileşik **7** reaksiyonu

Bitişik çoklu azot atomları içeren heterohalkalı bileşikler, çeşitli doğal ürünlerde, ilaçlarda ve biyolojik olarak aktif moleküllerde öne çıkan önemli motiflerdir (Gomtsyan, 2013). Dört azot bağlantılı tetrazinlerin antikanser ve antimikrobiyal özelliklere benzer geniş biyolojik aktivite içerdiği gösterilmiştir (Almerico vd., 2005; Churakov ve Tartakovsky, 2004; Ratnikov vd., 2002). Bu nedenle basit başlangıç materyallerinden ılımlı koşullar altında 1,2,3,4-tetrazin yapılarını oluşturmak önemlidir.

Çalışma kapsamında bileşik **6** ve bileşik **7**'nin *N*-(benziloksi)-2-bromo-2-metilpropanamid (bileşik **30**) ile [3 + 3] siklokatılma reaksiyonu sonucu bileşik **12** ve **18**'in sentezi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonda öncelikle ortama Na_2CO_3 bazı katılarak bileşik **30**'un aza-oksiallil katyon adı verilen forma gelmesi sağlanmıştır, sonrasında ise azid bileşiklerinin ortama eklenmesi ile inert atmosfer altında [3 + 3]-siklokatılma reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.



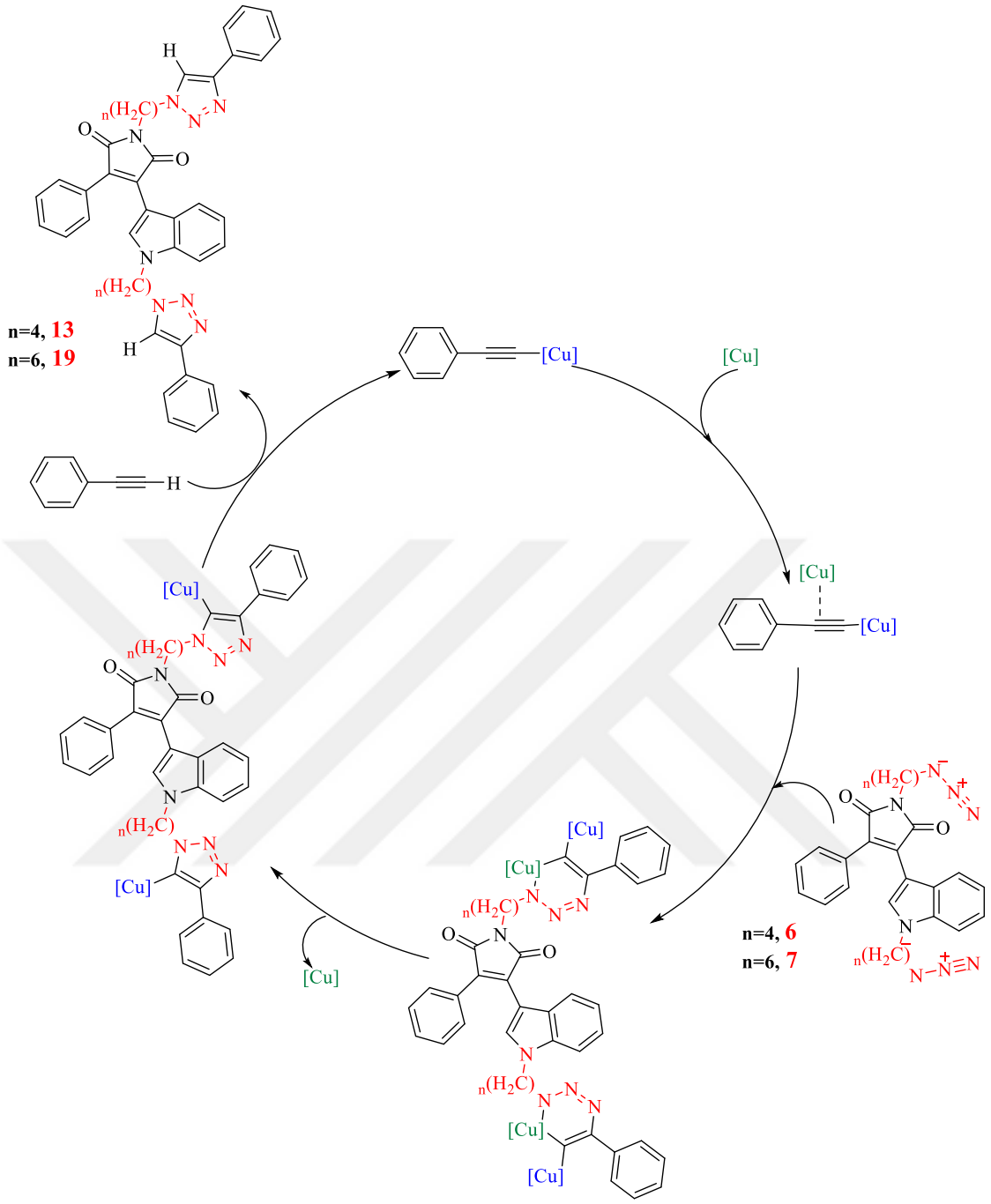
Şekil 8.8 Bileşik **12** ve bileşik **18**'in sentez şeması

Bileşik **12** ve bileşik **18**'in FTIR spektrumu incelendiğinde, başlangıç maddeleri olan bileşik **6** ve **7**'de bulunan azid grubuna ait N≡N gerilimi piklerinin olmadığı görülmüştür ve her iki bileşiğin de oluştuğunu göstermektedir. Yeni sentezlenen bu bileşiklerin ^{1}H-NMR spektrumlarında beklenen 12 protonluk metil pikleri beklenildiği bölge ve sayıda rezonans göstermiştir. Haloamid yapısının yapıya bağlanmasıyla eklenen karbon

atomlarının sayısı ve rezonans durumu da APT spektrumu ile kontrol edilmiştir. Yapıların moleküler iyon pikine ait sinyalleri de HRMS (QTOF) analizi ile kontrol edilerek yapıların doğruluğu kanıtlanmıştır.

Bileşik **6** ve **7**'nin fenil asetilen ile bakır katalizli azid-alkin reaksiyonu sonucunda bileşik **13** ve **19**'un sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen yeni bileşiklerin FTIR spektrumunda başlangıç maddelerinde bulunan azid grubuna ait N≡N gerilimi piklerinin olmadığı görülmüştür ve her iki yeni bileşiğin de oluştuğunu göstermektedir. Bileşik **13** ve **19**'un ^{1}H-NMR spektrumu incelendiğinde, aromatik bölgeye ait pik sayılarında da artış gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra APT spektrumunda gözlenen karbon pikleri istenilen bölgede rezonans olmuştur. HRMS (QTOF) analizleri ise yapıların doğruluğunu kanıtlamaktadır.

Bileşik **13** ve bileşik **19**'a ait Şekil 8.9'da verilen bakır katalizli azid-alkin reaksiyon mekanizması incelendiğinde, bu reaksiyon için katalizör olarak $CuSO_4$, Cu^{II} tuzunu Cu^{I} e indirgemek için ise sodyum askorbat kullanılmıştır. Mekanizma bu indirgeme işlemi ile başlamaktadır. Gerçek katalitik döngü ise, ikinci Cu^{I} kompleksine koordine olan Cu^{I}-alkinil kompleksi ile başlamaktadır. Bu mekanizmanın en önemli özelliği azidin elde edilen ikili bakır türlerine siklokatılmasının adım adım gerçekleşen bir süreç olmasıdır. İlk önce altı üyeli bir metal halkada ilk C-N bağını veren ikili bakır çekirdeğe azid koordinasyonu gerçekleşmektedir. Ardından triazolil-Cu^{I} ara maddesini veren ve iki bakırdan birinin ayrışmasını sağlayan molekül içi C-N bağı oluşumu meydana gelmektedir. Son aşamada ise, alkinden triazolil ligandına proton transferi, alkinil Cu^{I} kompleksinin yenilenmesi ve yeni ürünlerin salınması gerçekleşmektedir.



Şekil 8.9 Bileşik **13** ve bileşik **19**'un katalitik çevrimi

Sentezlenen bileşiklerin antikanser (antiproliferatif) aktiviteleri iki tip meme kanseri hücre hattında (MDA-MB-231 ve MCF-7) MTT analizi ile *in vitro* olarak İstanbul Bilgi Üniversitesi'nde değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar hücrelerin sentezlenen 12 yeni bileşikten 8'ine duyarlı olduğunu göstermektedir. Tablo 8.1'de gösterilen IC_{50} değerlerine göre, bu aromatik grupların meme kanseri hücrelerinin proliferasyonunu inhibe etme potansiyeli en etkiliden en az etkiliye doğru şöyle sıralanabilir: 4-benzil piperidin (**10, 16**), *N*-metil piperazin (**9, 15**), 2-(3,4,5-trimetoksifenil)metil piperazin (**11,**

17) ve morfolin (**8, 14**) yan zincirleri. Bunlar arasında **8**, **9** ve **17**'nin IC_{50} değerleri 30 µM'nin altındadır (MCF-7 için sırasıyla 16,94 µM, 16,80 µM ve 29,28 µM; MDA-MB- için sırasıyla 12,95 µM, 18,71 µM ve 14,35 µM). 231). Bileşik **10**, **11**, **14**, **15** ve **16**'nın IC_{50} değerleri MCF-7 için 10 µM'nin (MCF-7 için sırasıyla 3,21 µM, 6,215 µM, 7,418 µM, 5,331 µM ve 4,000 µM; MDA-MD-231 için sırasıyla 1,651 µM, 3,055 µM, 4,367 µM, 6. 571 µM ve 7.579 µM) altında bulunmuştur. Tetrazin (**12, 18**) ve fenil triazol (**13, 19**) yan zincirlerinin incelenen meme kanseri hücrelerine karşı herhangi bir etki göstermediği belirlenmiştir.

Tablo 8.1 Sentezlenen yeni maleimid türevlerinin meme kanseri hücre hatları (MCF-7 ve MDA-MB-231) üzerinde IC_{50} değerleri

Bileşik	**MCF-7 IC_{50} (µM)**	**MDA-MB-231 IC_{50} (µM)**	**Bileşik**	**MCF-7 IC_{50} (µM)**	**MDA-MB-231 IC_{50} (µM)**
8	16.94	12.95	**14**	7.418	7.579
9	16.80	18.71	**15**	5.331	4.367
10	3.209	1.651	**16**	4.000	3.055
11	6.215	6.571	**17**	29.28	14.35
12	>200	>200	**18**	>200	>200
13	>200	>200	**19**	>200	>200

Sentezlenen morfolin (**8, 14**) ve *N*-metil piperazin (**9, 15**) grupları arasında, ara hidrokarbon zincirinin uzunluğu arttıkça meme kanseri hücrelerini inhibe etme etkisinin daha düşük konsantrasyonlarda arttığı görülmüştür. 4-Benzil piperidin (**10, 16**) grubu için, ara hidrokarbon zincir uzunluğundaki varyasyon sonuçları etkilememiştir. 2-(3,4,5-Trimetoksifenil)metil piperazin (**11, 17**) grubunu taşıyan bileşikler için, ara hidrokarbon zincirinin uzunluğu arttıkça meme kanserini önleme yeteneğinin azaldığı görülmüştür. Dönebilen bağların sayısındaki artıştan dolayı molekülün hücre ile etkileşiminin azaldığı düşünülmektedir.

Çalışma kapsamında Bilgi Üniversitesi'nde yapılan moleküler kenetleme çalışmaları incelendiğinde, GSK-3β ile kompleks halinde **10**, **11**, **14**, **15** ve **16**'nın moleküler dinamik

simülasyonlarını gerçekleştirilmiştir. Bu bileşikler MTT analizinden elde edilen IC_{50} değerlerine (IC_{50} < 10 μM) göre seçilmiştir. Simülasyonlar sırasında beş bileşiğin tümünün proteine bağlı kaldığı görülmüştür. Yerleştirme konformasyonlarının stabilitesini belirlemek için, protein konformasyonları hizaladıktan sonra moleküllerin RMSF değerleri değerlendirilmiştir. Tablo 8.2'de verilen ΔG en yüksek dereceli konformasyona karşılık gelmektedir. RMSF (ortalama kare dalgalanması karekökü) değerleri ligandların ağır atomları kullanılarak hesaplanmıştır ve standart sapmalar parantez içinde verilmiştir.

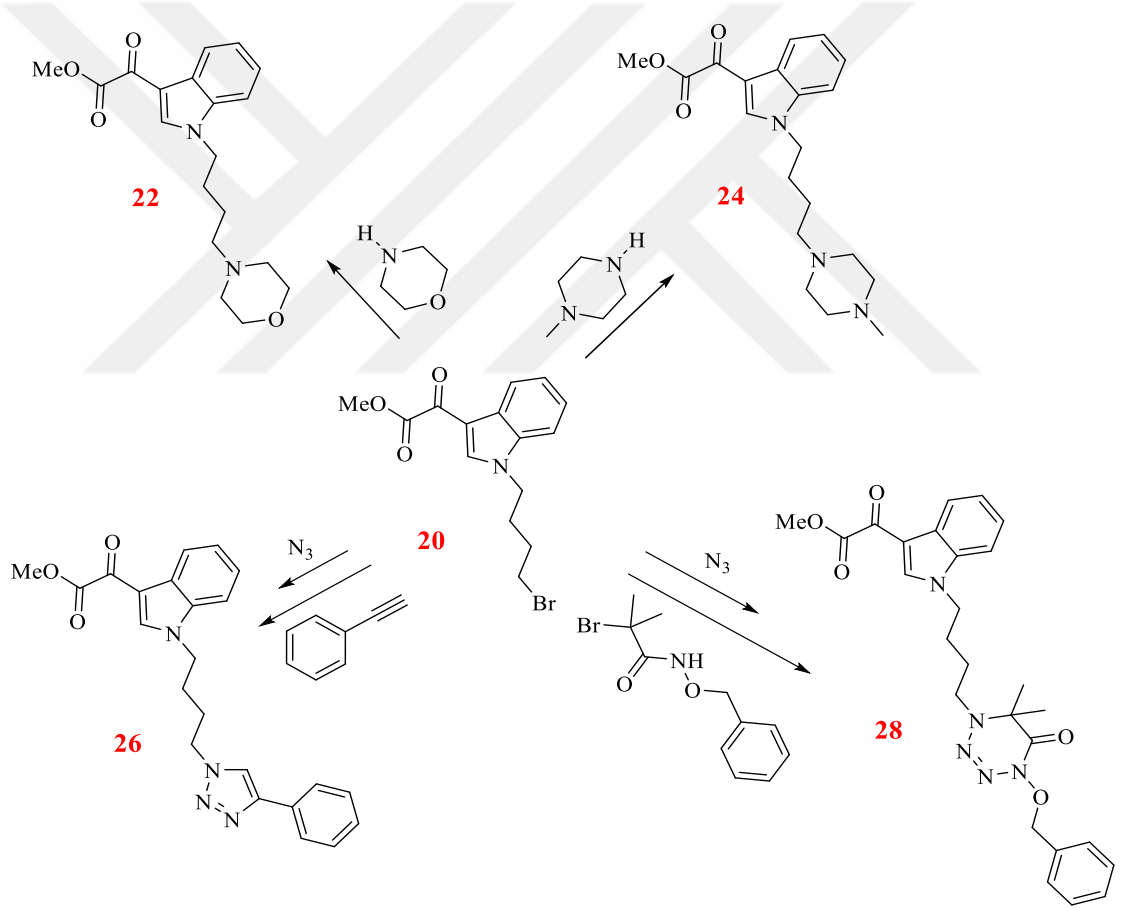
Tablo 8.2, standart sapmalarıyla birlikte RMSF değerlerini göstermektedir. RMSF değerini inceleyerek bileşik **10**, **14** ve **15**'in, nispeten orta düzeyde RMSF değerleri (> 2,0 Å) sergileyen bileşikler **11** ve **16** ile karşılaştırıldığında daha düşük RMSF değerleri (< 2,0 Å) sergilediği açıkça ortaya çıkmaktadır.

Tablo 8.2 Moleküler yerleştirme sonuçları ve moleküler dinamik simülasyonlardan hesaplanan RMSF değerleri.

Bileşik	ΔG (kkal/mol)	Burulma Sayısı	RMSF (Å)
10	-8.6	16	1.60 (0.70)
11	-7.2	16	2.10 (0.90)
14	-8.7	16	1.10 (0.06)
15	-7.5	18	1.50 (0.80)
16	-8.7	20	2.50 (0.90)

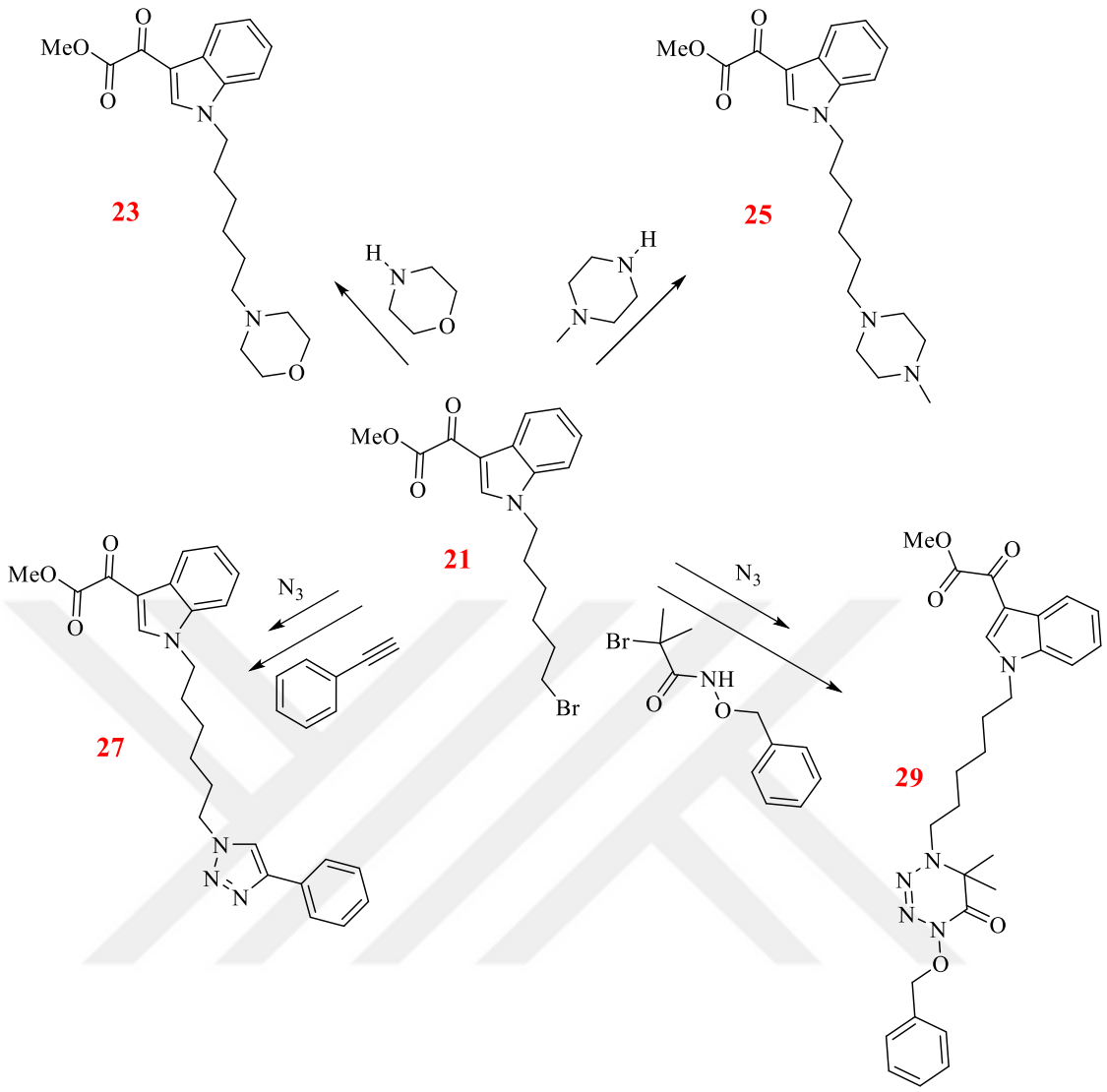
Bir protein-ligand kompleksi için stabil bir konformasyon, protein kalıntıları ve bir ligand arasındaki etkileşimlere dayanmaktadır ve bu stabilite, bir ölçü olarak RMSF kullanılarak değerlendirilebilmektedir. Bir ligandda gözlemlenen dalgalanmalar, onun sergilediği esnekliğin boyutunu göstermektedir. Bu nedenle, bir ligand için daha düşük RMSF dalgalanmaları, daha az esneklik anlamına gelir; bu da protein ortağıyla stabil etkileşimlere işaret etmektedir. Bunu dikkate alarak, IC_{50} değeri 10 μM'den küçük olan bileşikler arasında GSK-3β ile en kararlı etkileşimi bileşik **14**'ün gösterdiği sonucunu çıkarılmaktadır.

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen sentezlerde alkilasyon hem maleimide ait azot hem de indole ait azot atomundan gerçekleştirilmiştir. Literatürde malemid azotundan alkilasyonun gerçekleştirilmediği GSK-3β inhibitör özelliği gösteren yapılar da mevcuttur. Çalışmanın literatür özeti kısmında da yapıları belirtilen GF 109203X ve Ro 31-8820 bileşikleri, GSK-3β inhibitörü olarak tanımlanan mikrobiyal bir alkaloid olan staurosporin bileşiğine dayalı güçlü GSK-3β inhibitörleri olarak geliştirilmiştir (Bertrand vd., 2003; Kuo vd., 2003; Zhang vd., 2003). Bu bağlamda grubumuzca sadece indol azotundan alkilasyonun gerçekleştirilerek, GSK-3β inhibitör özelliğinin de araştırılması planlanmıştır. Öncelikle literatürde de bulunmayan başlangıç maddelerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Başlangıç maddesi bileşik **2** kullanılarak nükleofilik yer değiştirme reaksiyonu ile dört zincirli bileşik **20** ve altı zincirli bileşik **21** sentezlenmiştir.



Şekil 8.10 Bileşik **22**, bileşik **24**, bileşik **26** ve bileşik **28**'in sentez şeması

Şekil 8.10 ve Şekil 8.11'deki sentezlenmiş tüm ürünlerin FTIR, ^{1}H-NMR, APT, LC-MS analizleri yapılmıştır ve elde edilen sonuçlar yapıların doğruluğunu kanıtlamaktadır.



Şekil 8.11 Bileşik **23**, bileşik **25**, bileşik **27** ve bileşik **29**'un sentez şeması

Planlanan bileşiklerin sentezi için başlangıç maddesi bileşik **1** ile yeni sentezlenen başlangıç maddelerinin (**22**, **23**, **24**, **25**, **26**, **27**, **28** ve **29**) *t*-BuOK ve THF varlığında reaksiyonu denenmiş fakat istenilen sonuçlara ulaşılamamıştır. Bu alandaki çalışmalara devam edilmekte ve yeni reaksiyon şartları denenmektedir.

Aza-oksiallil katyonlar heterohalkalı bileşik sentezi için önemli bir ara ürün olarak görev almaktadır. Benzersiz kimyasal özellikleri ve reaksiyonlardaki aktivitesinden dolayı bu önemli ara ürün ile ilgili gerçekleştirilen birçok siklokatılma reaksiyonu literatürde yer almaktadır.

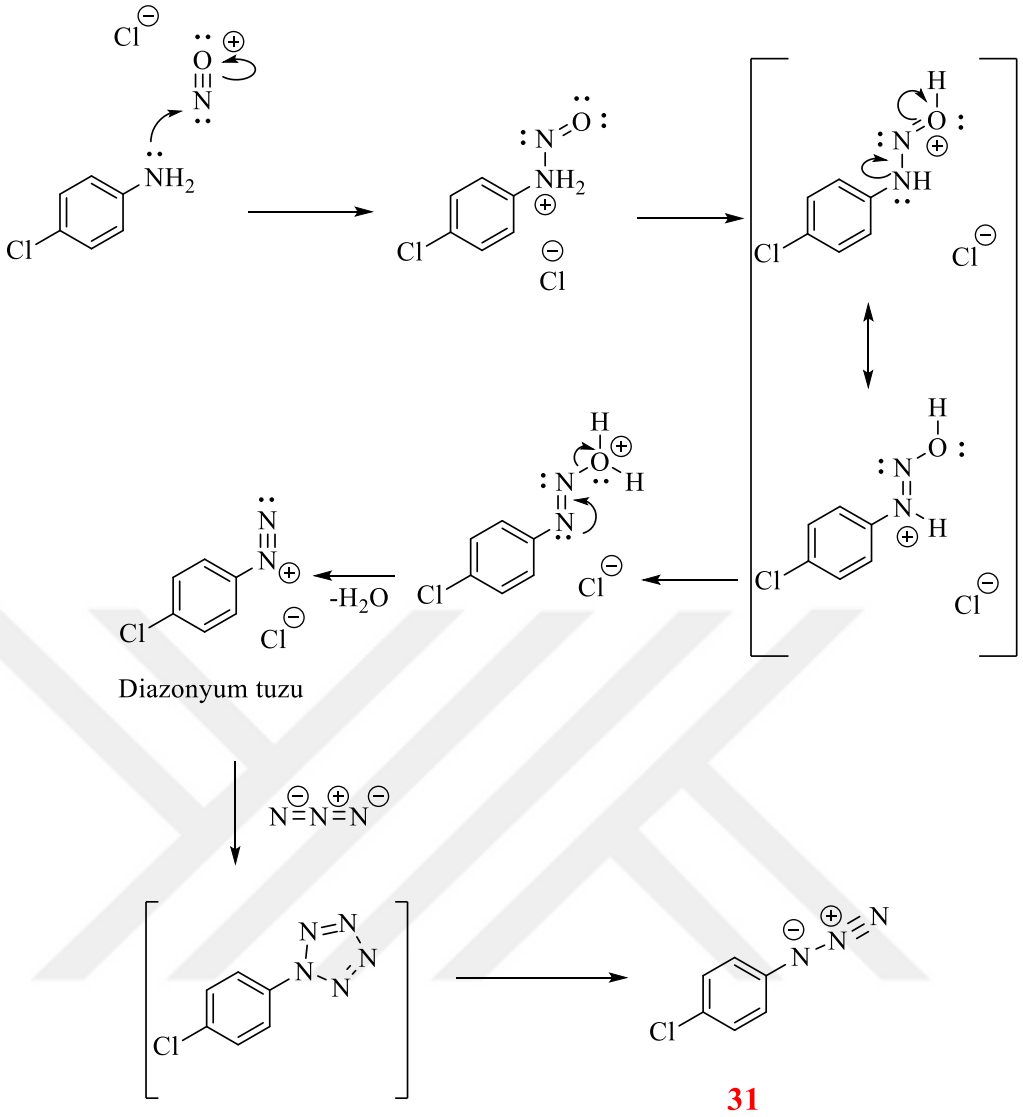
Heterohalkalı yapı ve türevleri biyolojik açıdan önemli birçok molekülde yaygın olarak bulunur. Bu bileşiklerin sentezi çeşitli biyolojik ve tıbbi özelliklerinden dolayı arzu edilen sentetik hedeflerdir ve bunlardan çok yönlü yapıya sahip olanlarından biri de tetrazindir

(Hu vd., 2004; Wan vd., 2019). Literatürde 1,2,3,4-tetrazin iskeletine sahip bileşiklerin farmasötik kullanımıyla ilgili çalışmalar da bulunmaktadır (Hu vd., 2005).

Mevcut kemoterapi yöntemlerinde uygulanabilecek ve toksik yan etkilere neden olmayacak yeni anti-lösemi ajanlarına olan ihtiyaç giderek artmaktadır. Bunu tez çalışmasının ikinci kısmında, olası antikanser ajanları olarak bir ara ürün olan aza-oksiallil katyonlarla azid bileşiklerinin [3+3]-siklokatılma reaksiyonu sonucunda yeni tetrazin türevleri sentezlenmiştir.

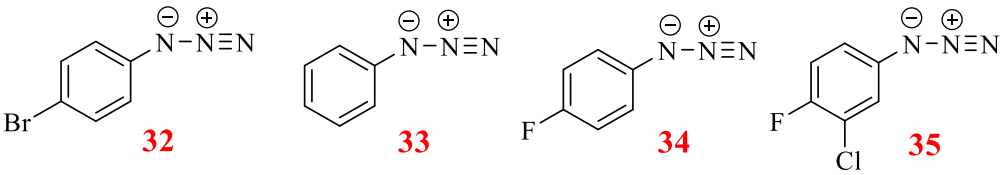
Çalışma kapsamında ilk olarak başlangıç maddesi α-halohidroksamat (**30**) bileşiğinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Yapı FTIR ve ^{1}H-NMR spektroskopik yöntemleriyle aydınlatılmıştır. FTIR spektrumunda 3192 cm^{-1} amid karboniline ait N-H gerilimi, 1651 cm^{-1} de yine amid karboniline ait C=O gerilimi ve 1031 cm^{-1} de ise C-N salınımı görülmektedir. ^{1}H-NMR spektrumunda yapıdaki altı protonluk metil piki 1.86 ppm, NH protonu 9.02 ppm ve beş aromatik proton 7.31-7.37 ppm'de rezonans göstermiştir.

Literatürden yararlanılarak tetrazin molekülünün sentezi için gerekli diğer başlangıç maddeleri olan azid bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Bileşik **31**'in sentezine ait mekanizma Şekil 8.12'de gösterilmiştir. Mekanizma aromatik amin kullanılarak $NaNO_2$/HCl varlığında diazonyum tuzu üzerinden gerçekleşmektedir ve ortama NaN_3 bileşiğinin eklenmesiyle istenilen azid bileşikleri elde edilmiştir.



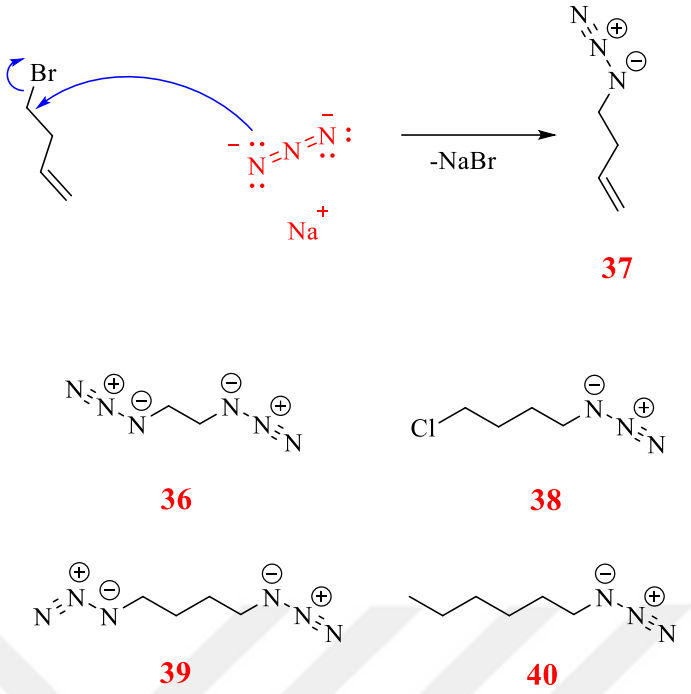
Şekil 8.12 Bileşik **31**'in sentez mekanizması

Şekil 8.12'de gösterilen mekanizma bileşik **32**, **33**, **34** ve **35** sentezi için de geçerlidir. Bu yapılar Şekil 8.13'te gösterilmiştir.



Şekil 8.13 Bileşik **32**, **33**, **34** ve **35**'in yapıları

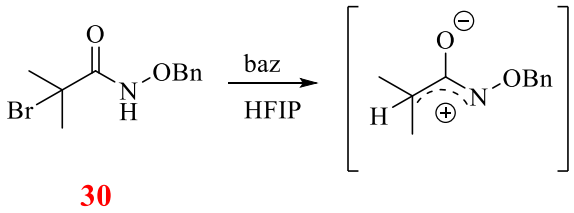
Alifatik aminlerden elde edilen azid bileşikleri (**36**, **37**, **38**, **39** ve **40)** için farklı reaksiyon yöntemi denenmiştir. Şekil 8.14'te bileşik **37**'nin sentezine ait mekanizma ve bileşik **36**, **38**, **39** ve **40**'ın yapıları gösterilmiştir.



Şekil 8.14 Bileşik **37** mekanizması ve bileşik **36**, **38**, **39** ve **40**'ın yapısı

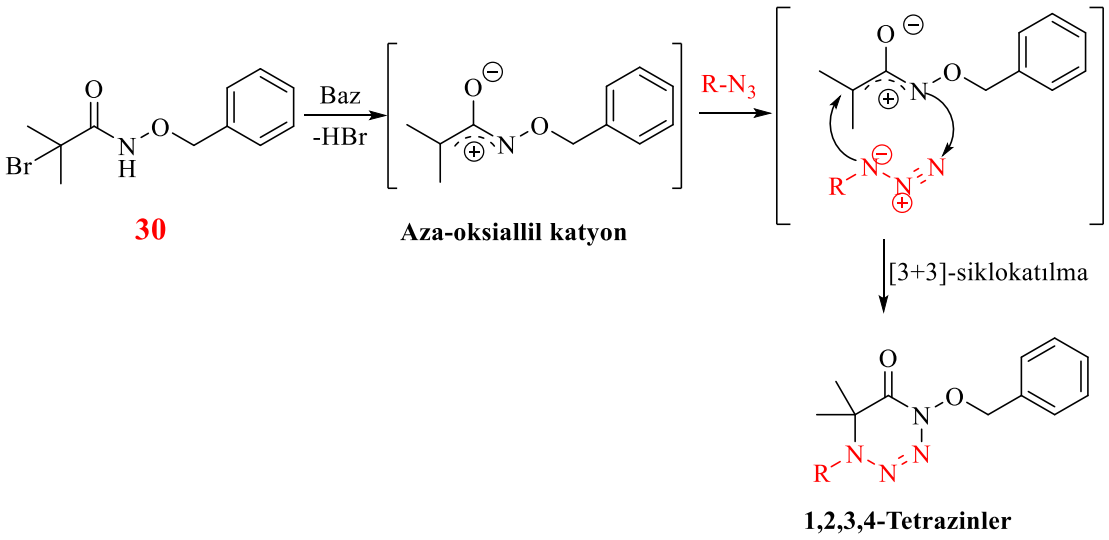
Başlangıç maddesi olarak sentezlenen tüm azid bileşikleri karakteristik N≡N gerilimine ait piklere sahiptir. Bu yüzden tüm bu bileşikler FTIR spektrumu ile takip edilmiştir.

Bir ara ürün olan aza-oksiallil katyonlar, α-halohidroksamatların bazik ortamdaki dehidrohalojenasyonu ile meydana gelirler.



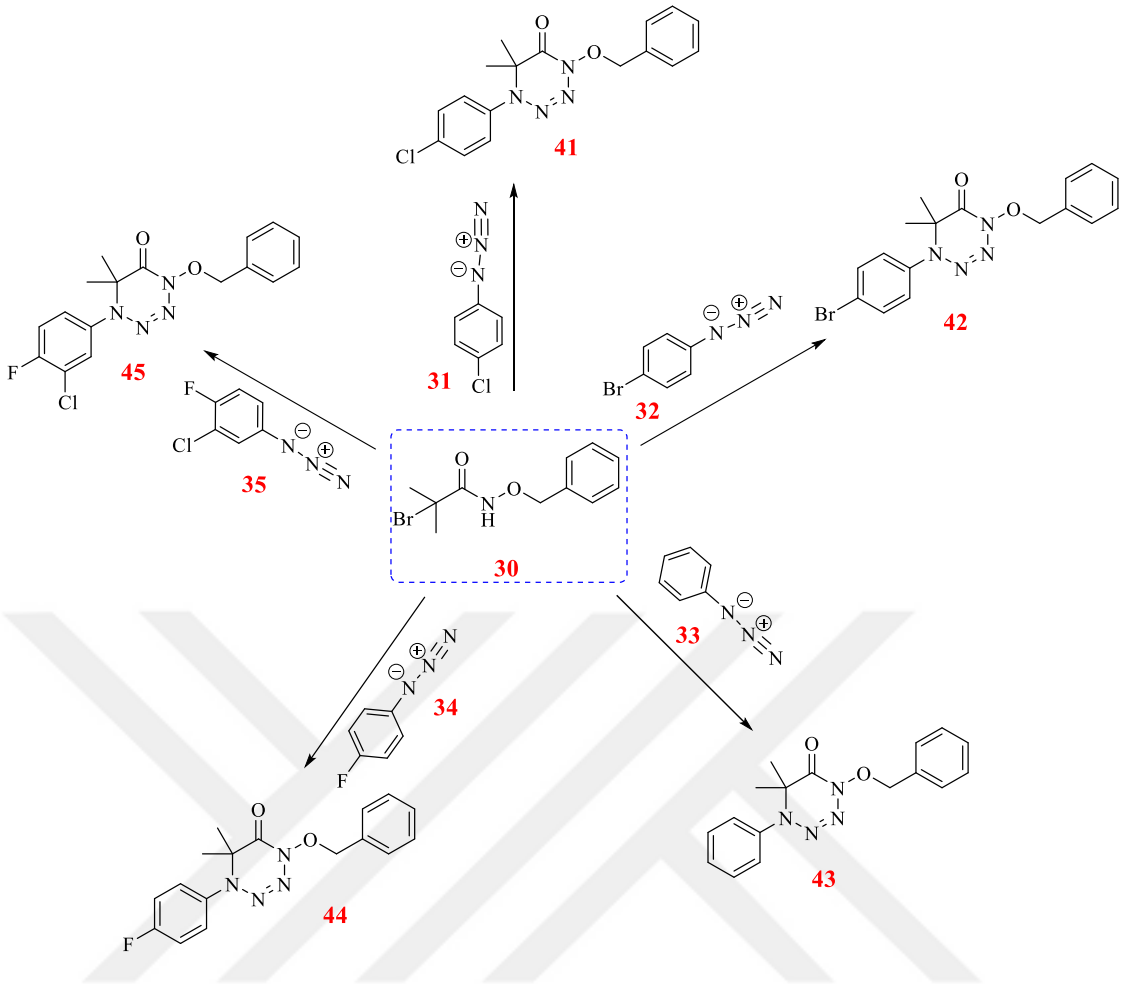
Şekil 8.15 Aza-oksiallil katyon oluşum şeması

Ilımlı koşullar altında bazik ortamda α-halohidroksamat ve azid bileşikleri reaksiyona girerek [3+3]-siklokatılma reaksiyonu sonucu 1,2,3,4-tetrazin bileşiklerini oluşturmuştur. Mekanizma bazik ortamdaki α-halohidroksamatlardan *in situ* oluşturulan aza-oksiallil katyon ara ürünü üzerinden gitmektedir (Şekil 8.16). Tüm bu yeni bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır.



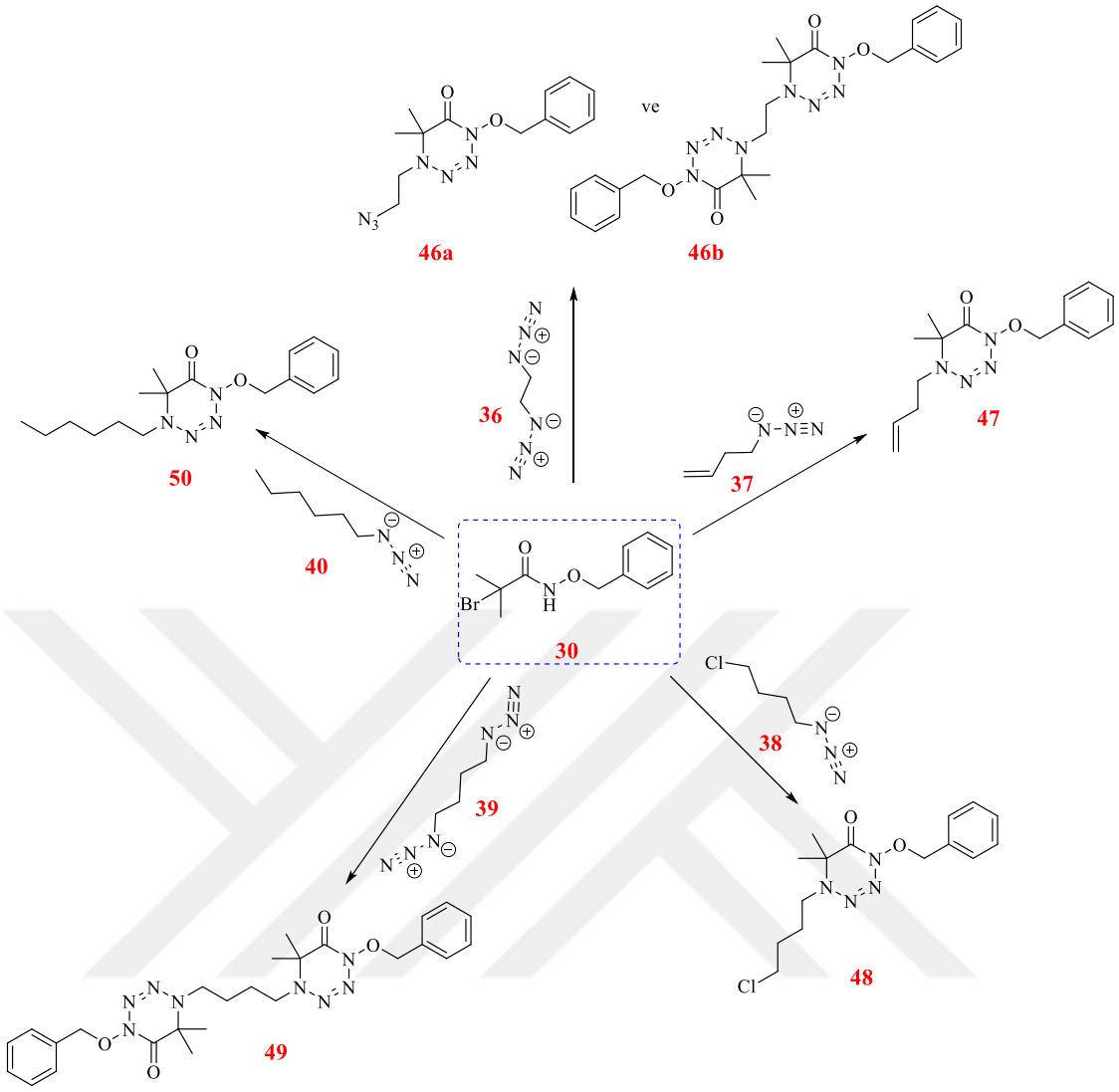
Şekil 8.16 1,2,3,4-Tetrazin sentez mekanizmasının genel gösterimi

Şekil 8.17'de bileşik **41**, **42**, **43**, **44** ve **45**'in sentezi genel olarak gösterilmiştir. Sentez koşulları ile ilgili detaylı bilgi deneysel çalışmalar kısmında verilmiştir. Sentezlenen tetrazin bileşiklerinin FTIR spektrumlarında azid bileşiklerine ait karakteristik N≡N gerilimleri ve bileşik **30**'a ait -NH gerilim bandı piki bulunmamaktadır. Bu da siklokatılma reaksiyonunun oluştuğunu saptamada yardımcı olmaktadır. Bu veriler doğrultusunda her bir bileşiğin yapısının aydınlatılması için ^{1}H-NMR analizleri gerçekleştirilmiştir. Spektrumlar ele alındığında, yapılarda bulunan metil gruplarına ait altı protonluk singlet piki beklenildiği bölgede rezonans göstermiştir. Ayrıca yapıda α-halohidroksamata (**30**) ait 9.02 pmm'de rezonans olan -NH pikinin kaybolduğu görülmektedir. Aromatik bölge protonları da beklenen bölge ve sayıda rezonans göstermiştir. Tüm yapıların karbon MNR spektrumu göz önüne alındığında beklenen bölgelerde sinyaller göstermişlerdir. Tüm sentezlenen yapıların karbon atomlarının yeri saptanmıştır. Ayrıca yeni moleküllerin HRMS (QTOF) analizi incelendiğinde, yapılara ait molekül ağırlıklarında 28,014 g/mol bir azalma olduğu görülmektedir. Bu analiz sırasında azot gazının ortamdan uzaklaşmasından kaynaklıdır. Bu bilgiler ışığında yapılara ait molekül ağırlıkları da net olarak gözükmekte ve doğrulukları kanıtlanmaktadır.



Şekil 8.17 Bileşik **41**, **42**, **43**, **44** ve **45**'in sentezi

Şekil 8.18'de bileşik **46a**, **46b**, **47**, **48**, **49** ve **50**'nin sentezi genel olarak gösterilmektedir. Bu moleküllerin sentezi için alifatik zincir yapısına sahip azid bileşikleri kullanılmıştır. Bileşik **30**'un bileşik **36** ile [3+3]-siklokatılama reaksiyonu sonucu iki ayrı bileşik olan **46a** ve **46b** meydana gelmiştir. Bu moleküllere ek olarak sentezlenen tüm yeni bileşiklerin FTIR spektrumları incelenerek, azid pikine ait N≡N gerilimlerinin ve bileşik **30**'a ait -NH gerilim bandı piki bulunmadığı görülmüştür. Bu veriler doğrultusunda yapıların doğruluğunu kanıtlamak amacıyla ^{1}H-NMR analizleri ele alındığında, α-halohidroksamata (**30**) ait -NH protonunun kaybolduğu gözlenmiştir. Ayrıca alifatik bölgeye ait -CH_2 protonları ve aromatik -CH protonları beklenilen bölgede rezonans göstermiştir. Buna ilaveten APT spektrumlarında incelendiğinde tüm karbonların beklenen bölgelerde sinyaller verdiği gözlenmiştir. Yapılara ait HRMS (QTOF) spektrumlarından elde edilen moleküler ağırlık değerleri yapıların doğruluğunu kanıtlamaktadır.



Şekil 8.18 Bileşik **46a**, **46b**, **47**, **48**, **49** ve **50**'nin sentezi

Çalışma kapsamında azidler ve *in situ* oluşturulmuş aza-oksiallil katyonlar arasında [3+3]-siklokatılma reaksiyonu sonucunda 1,2,3,4-tetrazin bileşikleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bu bileşiklerin antikanser aktiviteleri beş farklı lösemi kanser hücre hattına (Jurkat, Nalm-6, Reh, K562 ve Molt-4) karşı *in vitro* MTT testi ile İstanbul Bilgi Üniversitesi'nde değerlendirilmiştir. Toksisite kontrolü amacıyla tüm bileşiklerin aktiviteleri kanserli olmayan, sağlıklı böbrek hücre hattı (Hek293T) üzerinde de belirlenmiştir. Ayrıca burada kontrol ilacı olarak imatinib kullanılmıştır.

Sonuçlar Tablo 8.3'te gösterilmektedir. Bileşik **41**, Reh hücre hattı hariç tüm türevler arasında önemli ölçüde yüksek büyüme inhibisyonu göstermiştir. Şaşırtıcı bir şekilde bileşik **41**, K562 hücreleri için 19.12 µM olarak imatinib'e göre daha düşük IC_{50} değeri sergilemiştir. Tasarlanan bileşik (**41**) yapısında *p*-klorofenil halkası taşıyan bileşiğin, *p*-bromofenil halkası (**42**) taşıyan bileşiğe göre çok daha etkili olduğu görülmektedir. Yeni

türev bileşik **41**, **44** ve **45** ise Jurkat hücrelerine karşı sırasıyla 23.15, 97.94, 97.98 µM IC_{50} değerleriyle etkili olmuştur. Bileşik **41** ve imatinib'in, Nalm-6'ya karşı benzer etki gösterdiği ve genel olarak diğer türevlerden daha etkili olduğu görülmektedir. **44** ve **45** türevlerinin de **41** dışındaki diğer türevlerden daha etkili olduğu bulunmuştur. Bileşik **43**, **44** ve **45**, Reh hücre hattına karşı yüksek konsantrasyonlarda en iyi etkileri göstermiştir (IC_{50} değerleri sırasıyla 84.06, 69.93 ve 76.54). İlginç bir şekilde bu üç bileşik, Reh hücrelerine karşı pozitif kontrol kanser ilacı imatinib'den daha yüksek etkinlik göstermiştir.

Yapı-aktivite ilişkilerine bakıldığında aromatik halkada (**41**) klor atomunun bulunmasının özellikle K562, Jurkat ve Molt-4 hücre hatlarında etkili olduğu görülmektedir. Grupların aromatik halka üzerindeki etkileri karşılaştırıldığında, para pozisyonunda klor atomunun varlığı, aynı pozisyondaki brom veya flor atomlarının varlığına göre aktiviteyi arttırmaktadır. Ayrıca aromatik halka üzerinde para pozisyonunda bulunan flor atomunun varlığında bileşiklerin Reh hücre hattına karşı etkili olduğu gözlenmiştir. Alifatik yan zincir taşıyan türevlerin aromatik olanlara göre daha düşük potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 8.3 1,2,3,4-Tetrazin türevlerinin (**41-50**), 5 lösemi hücre dizisine (Jurkat, Nalm-6, Reh, K562, Molt-4) ve insan embriyonik böbrek hücre dizisine (Hek293T) karşı test verileri

	IC_{50} (µM)					
Bileşik	**Jurkat**	**Nalm-6**	**Reh**	**K562**	**Molt-4**	**Hek293T**
41	23.15 ±0.0294	15.98 ±0.0008	149.8 ±0.1116	19.12 ±0.0069	25.8 ±0.1286	190.0 ±0.0125
42	>200	99.97 ±0.0272	>200	>200	>200	>200
43	143.4 ±0.0406	97.37 ±0.0378	84.06 ±0.0557	>200	>200	>200
44	97.94 ±0.0276	101.6 ±0.0247	69.93 ±0.0260	101.7 ±0.0601	153.8 ±0.0458	195.0 ±0.010

Tablo 8.4 1,2,3,4-Tetrazin türevlerinin (**41-50**), 5 lösemi hücre dizisine (Jurkat, Nalm-6, Reh, K562, Molt-4) ve insan embriyonik böbrek hücre dizisine (Hek293T) karşı test verileri (devamı)

45	97.98 ±0.0205	73.55 ±0.0159	76.54 ±0.0256	81.48 ±0.0452	62.61 ±0.0327	>200
46a	>200	56.99 ±0.0774	>200	>200	>200	>200
46b	>200	>200	>200	>200	>200	>200
47	>200	127.9 ±0.0089	>200	>200	>200	>200
48	>200	180.2 ±0.0156	>200	>200	>200	>200
49	>200	38.4 ±0.0490	151.5 ±0.0090	>200	>200	>200
50	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Imatinib*	12.52 ±0.0096	21.74 ±0.0046	>200	78.37 ±0.0184	64.42 ±0.0533	33.60 ±0.0547

Veriler, 6 tekrarlı halde (**41-50**) yürütülen deneylerden elde edilen ortalama değerlerin ± standart sapmaları hesaplanarak olarak sunulmuştur; *imatinib pozitif kontrol ilacıdır.

Tetrazin molekülleri üzerine yapılan hesaplamalı yaklaşımlar, DHFR'nin potansiyel bir hedef protein olarak değerlendirilebileceğini öne sürmüştür. DHFR'yi potansiyel bir hedef protein olarak değerlendirmek için kapsamlı moleküler dinamik simülasyonları ve ardından moleküler yerleştirme simülasyonları kullanılmış ve ardından bağlanma serbest enerji hesaplamaları yapılmıştır.

Yeni sentezlenen bileşiklerin ve DHFR ile kompleks halde referans molekül metotreksatın moleküler dinamik simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Kenetleme yapılarının stabilitesi moleküllerin RMSD değerleri ile değerlendirilmiştir. Bu değerler göz önüne alındığında **41**, **43** ve metotreksat bileşiklerinin ilk konformasyonlarına yakın

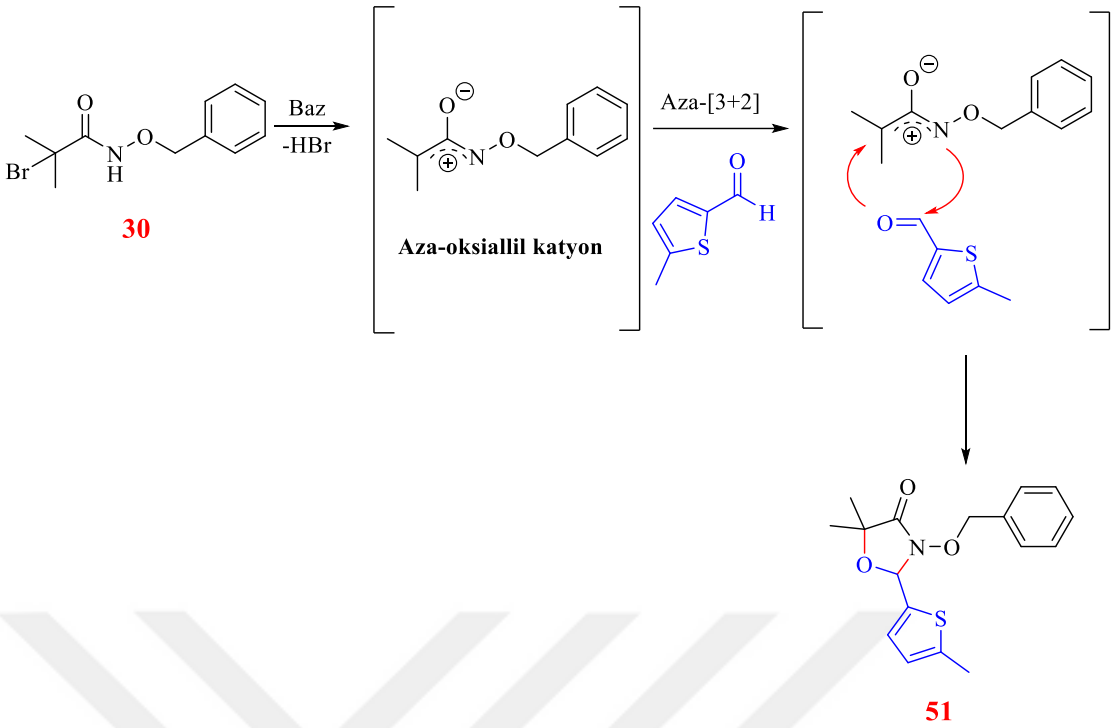
konformasyonları (RMSD<3,0 Å) koruduğu, diğer bileşiklerin biraz farklı (**47**, rmsd:3,5 Å) ila oldukça farklı konformasyonlar (**42**, rmsd: 7.7 Å) benimsediği görülmektedir.

DHFR'deki bağlanma bölgesini bulabilmek için yapılan çalışmada yerleştirme konformasyonları analizi, **41**, **42**, **43**, **44**, **45**, **46a**, **47**, **48** ve **50**'nin aynı bölgeye bağlanma eğiliminde olduğunu göstermektedir. Bağlanma bölgesinin hem NADPH hem de folik asidin bağlanma bölgesi ile kısmen örtüştüğü görülmüştür. Karşılaştırma yapılabilmesi için, folat türevi olan metotreksat ilacı ve insan DHFR'sine bağlanan bir folik asit antagonisti olan trimetreksat ilacı kullanılmıştır. Moleküler kenetleme simülasyonları ile serbest bağlanma enerjileri hesaplanmış ve yeni sentezlenen moleküller için elde edilen serbest bağlanma enerjileri ile kıyaslanarak metotreksat kontrol grubu olarak seçilmiştir. Daha sonra bileşiklere ait serbest bağlanma enerjileri hesaplanmıştır. Metotreksatın en uygun bağlanma enerjisine sahip olduğu göz önüne alınarak; sırasıyla **45** (-16,8 kkal/mol), **41** (-14,7 kkal/mol), **42** (13,7 kkal/mol) ve **44** (-12,2 kkal/mol) bileşiklerinin en iyi olduğu bulunmuştur.

Hesaplamalı analizden elde edilen sonuçlar bileşik **41**'in en umut verici molekül olduğunu ortaya koymuştur.

4-Oksazolidinonlar, yakın zamanda keşfedilen bir dizi antimikrobiyal doğal üründe bulunan benzersiz heterosiklik motiflerdir (Macherla vd., 2007; Tadesse vd., 2010). Bu doğal ürünler çeşitli deniz kaynaklarından izole edilmişlerdir ve antibiyotiklere karşı direnci olan bazı hastalıklara karşı etki gösterebilmektedirler. Bu hastalıklardan biri de birçok kişiyi etkileyen, genellikle ameliyat sonrası hastanedeki hastaları enfekte eden bir bulaşıcı hastalık olan MRSA (Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*)'dır (Weems, 2001). İşte bu tür hastalıklara karşı mücadele edebilmek adına yeni molekül keşfi önem kazanmıştır.

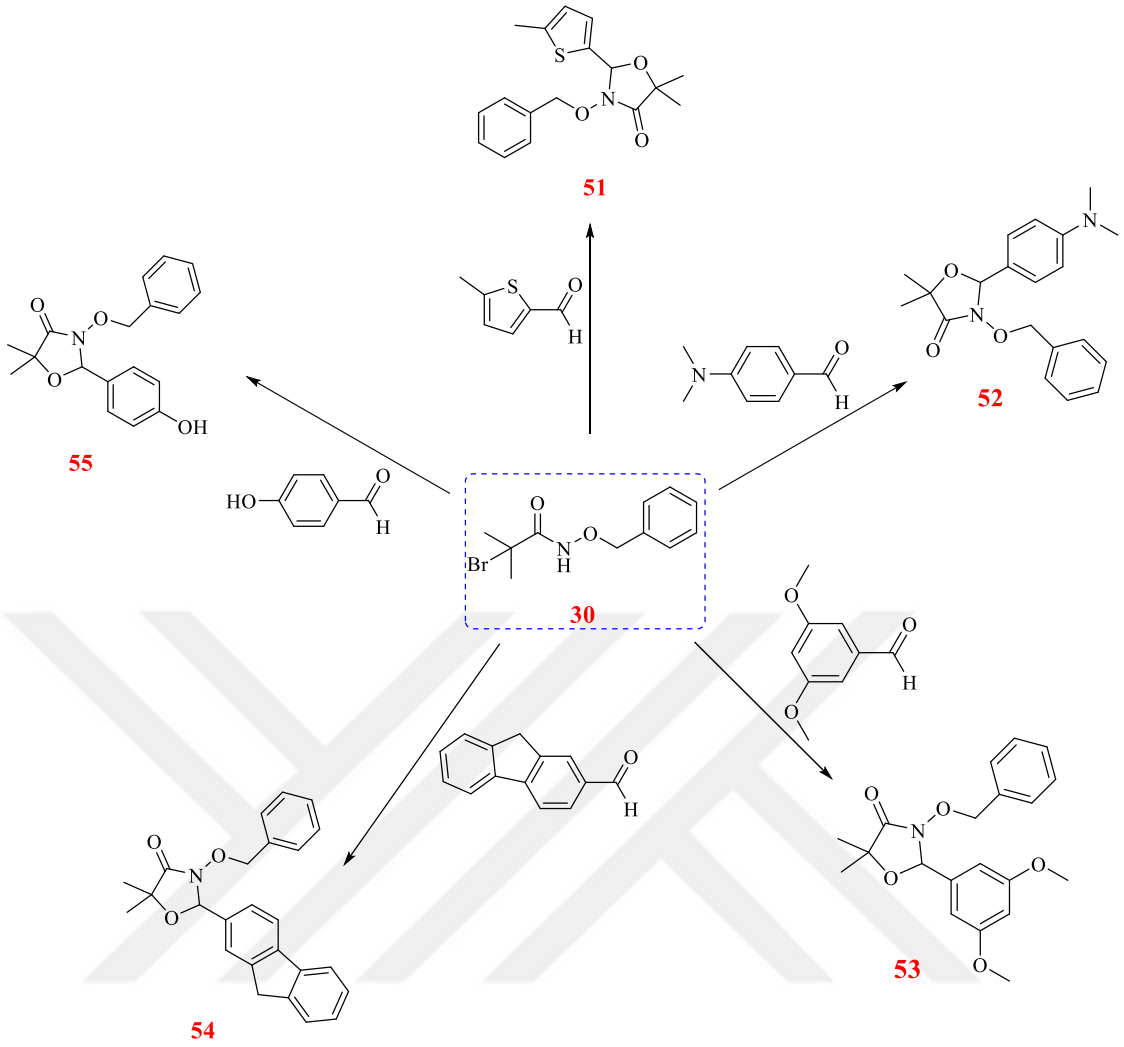
Çalışma kapsamında, *in situ* oluşturulmuş aza-oksiallil katyonlar ile aldehitler arasında bir dizi [3+2]-siklokatılma reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.



Şekil 8.19 Bileşik **51** için önerilen sentez mekanizması

Şekil 8.19'daki mekanizma incelendiğinde, ılımlı ve zayıf bazik koşullar altında, ara ürün olan aza-oksiallil katyon *in situ* olarak üretilmiştir. Yapıda bulunan elektron veren grup (−OBn), stabilizasyonu sağlamak için önemlidir. Aldehit molekülünün aza-oksiallil katyonu ile [3+2]-siklokatılma reaksiyonu sonunda yeni ürün olan **51**'i oluşmuştur.

Şekil 8.20'deki bileşik **51**'e ait mekanizma diğer yeni sentezlenen 4-oksazolidinon bileşikleri olan **52**, **53**, **54** ve **55** için de geçerlidir.



Şekil 8.20 Bileşik **51**, **52**, **53**, **54** ve **55**'in sentez şeması

Tüm bu bileşiklerin FTIR spektrumları incelendiğinde, bileşik **30**'a ait -NH gerilim bandı piki kaybolduğu görülmüştür. Bu bileşiklerin ^{1}H-NMR spektrumları incelendiğinde, α-halohidroksamata (**30**) ait 9.02 pmm'de rezonans olan -NH pikinin kaybolduğu görülmektedir. Buna ilaveten bileşik yapılarına ait tüm protonlar beklenilen bölge ve sayıda rezonans göstermektedir. Bileşiklere ait APT spektrumlarında aldehite ait C=O piki bulunmamaktadır. Spektrumda beklenen tüm karbonların beklenen alanlarda sinyaller verdikleri saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında sentezlenen yeni 4-oksazolidinon bileşiklerinin yapıları aydınlatılmış ve doğruluğu kanıtlanmıştır. İleriki aşamalarda sentezi gerçekleştirilen bu yeni beş molekülün antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Sonuç olarak; biyolojik aktivite gösteren ve gösterme potansiyeline sahip moleküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu moleküllerden on ikisi maleimid yapısına, on biri 1,2,3,4-tetrazin yapısına sahiptir. Bunların dışında beş adet 4-oksazolidinon bileşiği biyolojik

aktivite çalışmalarının yapılması amacıyla sentezlenmiştir. Bu çalışmamızın bir kısmı Chemical Biology & Drug Design'da basılmıştır (Eyilcim vd., 2023).

KAYNAKÇA

Abbasnia, M., Sheykhan, M., Ghaffari, T., & Safari, E. (2020). Approach to the Synthesis of Unsymmetrical/Symmetrical Maleimides via Desulfitative Arylation at Different Temperatures. *The Journal of Organic Chemistry*, *85*(18), 11688-11698. https://doi.org/10.1021/ACS.JOC.0C01323

Abdel-Gawad, H., Mohamed, H. A., Dawood, K. M., & Badria, F. A. R. (2010). Synthesis and antiviral activity of new indole-based heterocycles. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, *58*(11), 1529-1531. https://doi.org/10.1248/CPB.58.1529

Abe, K., Yamamoto, N., Domoto, T., Bolidong, D., Hayashi, K., Takeuchi, A., Miwa, S., Igarashi, K., Inatani, H., Aoki, Y., Higuchi, T., Taniguchi, Y., Yonezawa, H., Araki, Y., Aiba, H., Minamoto, T., & Tsuchiya, H. (2020). Glycogen synthase kinase 3β as a potential therapeutic target in synovial sarcoma and fibrosarcoma. *Cancer science*, *111*(2), 429-440. https://doi.org/10.1111/CAS.14271

Acharya, A., Anumandla, D., & Jeffrey, C. S. (2015). Dearomative Indole Cycloaddition Reactions of Aza-Oxyallyl Cationic Intermediates: Modular Access to Pyrroloindolines. *Journal of the American Chemical Society*, *137*(47), 14858-14860. https://doi.org/10.1021/JACS.5B10184/SUPPL_FILE/JA5B10184_SI_001.PDF

Acharya, A., Montes, K., & Jeffrey, C. S. (2016). Access to 4-Oxazolidinones: A (3 + 2) Cycloaddition Approach. *Organic Letters*, *18*(23), 6082-6085. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.6B03069/SUPPL_FILE/OL6B03069_SI_001.PDF

Agrawal, K. (2007). Vincristine. *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* içinde (ss. 1-4). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.62853-3

Almerico, A. M., Mingoia, F., Diana, P., Barraja, P., Lauria, A., Montalbano, A., Cirrincione, G., & Dattolo, G. (2005). 1-Methyl-3*H*-pyrazolo[1,2-*a*]benzo[1,2,3,4]tetrazin-3-ones. Design, Synthesis, and Biological Activity of New Antitumor Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, *48*(8), 2859-2866. https://doi.org/10.1021/jm049075u

Altman, F. P. (1976). Tetrazolium salts and formazans. *Progress in histochemistry and cytochemistry*, *9*(3), 3-6. https://doi.org/10.1016/S0079-6336(76)80015-0

Amaral, F. G. D., & Cipolla-Neto, J. (2018). A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, *62*(4), 472-479. https://doi.org/10.20945/2359-3997000000066

Anizon, F., Golsteyn, R. M., Léonce, S., Pfeiffer, B., & Prudhomme, M. (2009). A three-step synthesis from rebeccamycin of an efficient checkpoint kinase 1 inhibitor. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *44*(5), 2234-2238. https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2008.05.023

Armarego, W. L. F. (2017). Purification of Organic Chemicals. *Purification of Laboratory Chemicals* içinde (ss. 95-634). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805457-4.50003-3

Ashton, H. (1994). Guidelines for the rational use of benzodiazepines. When and what to use. *Drugs*, *48*(1), 25-40. https://doi.org/10.2165/00003495-199448010-00004

Atkinson, J. M., Rank, K. B., Zeng, Y., Capen, A., Yadav, V., Manro, J. R., Engler, T. A., & Chedid, M. (2015). Activating the Wnt/β-Catenin Pathway for the Treatment of Melanoma--Application of LY2090314, a Novel Selective Inhibitor of Glycogen Synthase Kinase-3. *PloS one*, *10*(4). https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0125028

Augello, G., Emma, M. R., Cusimano, A., Azzolina, A., Montalto, G., McCubrey, J. A., & Cervello, M. (2020). The Role of GSK-3 in Cancer Immunotherapy: GSK-3 Inhibitors as a New Frontier in Cancer Treatment. *Cells*, *9*(6). https://doi.org/10.3390/CELLS9061427

Azzawi A.M., & Al-Obiadi K. K. H. (2016). Synthesis and antimicrobial screening of new bis schiff bases and their acetyl oxadiazole azetidinone derivatives from pyromelliticdiimid. *International Journal Of Research In Pharmacy And Chemistry*, *6*, 1-8.

Bähn, S., Imm, S., Mevius, K., Neubert, L., Tillack, A., Williams, J. M. J., & Beller, M. (2010). Selective ruthenium-catalyzed N-alkylation of indoles by using alcohols. *Chemistry−A European Journal*, *16*(12), 3590-3593. https://doi.org/10.1002/CHEM.200903144

Bak, I. J., Hassler, R., & Kim, J. S. (1969). Differential monoamine depletion by oxypertine in nerve terminalsGranulated synaptic vesicles in relation to depletion of norepinephrine, dopamine and serotonin. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, *101*(3), 448-462. https://doi.org/10.1007/BF00335580/METRICS

Baldé, B., Force, G., Marin, L., Guillot, R., Schulz, E., Gandon, V., & Lebœuf, D. (2018). Synthesis of Cyclopenta[b]piperazinones via an Azaoxyallyl Cation. *Organic Letters*, *20*(23), 7405-7409. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.8B03103/SUPPL_FILE/OL8B03103_SI_001.PDF

Banerjee, D., Mayer-Kuckuk, P., Capiaux, G., Budak-Alpdogan, T., Gorlick, R., & Bertino, J. R. (2002). Novel aspects of resistance to drugs targeted to dihydrofolate reductase and thymidylate synthase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, *1587*(2-3), 164-173. https://doi.org/10.1016/S0925-4439(02)00079-0

Bansode, T. N., Shelke, J. V., & Dongre, V. G. (2009). Synthesis and antimicrobial activity of some new *N*-acyl substituted phenothiazines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *44*(12), 5094-5098. https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2009.07.006

Barluenga, J., & Valdés, C. (2011). Five-Membered Heterocycles: Indole and Related Systems. *Modern Heterocyclic Chemistry* içinde (ss. 377-531). Wiley. https://doi.org/10.1002/9783527637737.ch5

Basavaiah, D., Lenin D. V., & Veeraraghavaiah, G. (2011). Synthesis of substituted maleimide derivatives using the Baylis-Hillman adducts. *Current Science*, *7*, 888-893.

Basavaiah, D., Reddy, B. S., & Badsara, S. S. (2010). Recent contributions from the Baylis−Hillman reaction to organic chemistry. *Chemical Reviews*, *110*(9), 5447-5674. https://doi.org/10.1021/CR900291G/ASSET/CR900291G.FP.PNG_V03

Bell, I. M., Gallicchio, S. N., Wood, M. R., Quigley, A. G., Stump, C. A., Zartman, C. B., Fay, J. F., Li, C. C., Lynch, J. J., Moore, E. L., Mosser, S. D., Prueksaritanont, T., Regan, C. P., Roller, S., Salvatore, C. A., Kane, S. A., Vacca, J. P., & Selnick, H. G. (2010). Discovery of MK-3207: A Highly Potent, Orally Bioavailable CGRP Receptor Antagonist. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, *1*(1), 24-29. https://doi.org/10.1021/ML900016Y

Bera, T., Singh, B., Hamlin, T. A., Sahoo, S. C., & Saha, J. (2019). One-Step Assembly of Functionalized Morpholinones and 1,4-Oxazepane-3-ones via [3+3]- And [3+4]-Annulation of Aza-Oxyallyl Cation and Amphoteric Compounds. *Journal of Organic Chemistry*, *84*(23), 15255-15266. https://doi.org/10.1021/ACS.JOC.9B02269/SUPPL_FILE/JO9B02269_SI_002.CIF

Berger, M., Gray, J. A., & Roth, B. L. (2009). The Expanded Biology of Serotonin. *Annual Review of Medicine*, *60*(1), 355-366. https://doi.org/10.1146/annurev.med.60.042307.110802

Bertrand, J. A., Thieffine, S., Vulpetti, A., Cristiani, C., Valsasina, B., Knapp, S., Kalisz, H. M., & Flocco, M. (2003). Structural Characterization of the GSK-3β Active Site Using Selective and Non-selective ATP-mimetic Inhibitors. *Journal of Molecular Biology*, *333*(2), 393-407. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2003.08.031

Beurel, E., Grieco, S. F., & Jope, R. S. (2015). Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): regulation, actions, and diseases. *Pharmacology & Therapeutics*, *0*, 114. https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2014.11.016

Beurel, E., & Jope, R. S. (2006). The paradoxical pro- and anti-apoptotic actions of GSK3 in the intrinsic and extrinsic apoptosis signaling pathways. *Progress in neurobiology*, *79*(4), 173-189. https://doi.org/10.1016/J.PNEUROBIO.2006.07.006

Biersack, B., & Schobert, R. (2012). Indole compounds against breast cancer: recent developments. *Current drug targets*, *13*(14), 1705-1719. https://doi.org/10.2174/138945012804545551

Birkinshaw, J. H., Kalyanpur, M. G., & Stickings, C. E. (1963). Studies in the biochemistry of micro-organisms. 113. Pencolide, a nitrogen-containing metabolite of Penicillium multicolor Grigorieva-Manilova and Poradielova. *Biochemical Journal*, *86*(2), 237. https://doi.org/10.1042/BJ0860237

Böttcher, T., & Sieber, S. A. (2010). Showdomycin as a versatile chemical tool for the detection of pathogenesis-associated enzymes in bacteria. *Journal of the American Chemical Society*, *132*(20), 6964-6972. https://doi.org/10.1021/JA909150Y/SUPPL_FILE/JA909150Y_SI_001.PDF

Bridges, A. J. (2001). Chemical Inhibitors of Protein Kinases. *Chemical Reviews*, *101*(8), 2541-2572. https://doi.org/10.1021/cr000250y

Buranaamnuay, K. (2021). The MTT assay application to measure the viability of spermatozoa: a variety of the assay protocols. *Open Veterinary Journal*, *11*(2), 251. https://doi.org/10.5455/OVJ.2021.v11.i2.9

Bussi, G., Donadio, D., & Parrinello, M. (2007). Canonical sampling through velocity rescaling. *The Journal of Chemical Physics*, *126*(1), 014101. https://doi.org/10.1063/1.2408420

Cailleau, R., Olivé, M., & Cruciger, Q. V. J. (1978). Long-term human breast carcinoma cell lines of metastatic origin: Preliminary characterization. *In Vitro*, *14*(11), 911-915. https://doi.org/10.1007/BF02616120

Camarillo, I. G., Xiao, F., Madhivanan, S., Salameh, T., Nichols, M., Reece, L. M., Leary, J. F., Otto, K., Natarajan, A., Ramesh, A., & Sundararajan, R. (2014). Low and high voltage electrochemotherapy for breast cancer: an in vitro model study. *Electroporation-Based Therapies for Cancer* içinde (ss. 55-102). Elsevier. https://doi.org/10.1533/9781908818294.55

Carvalho, B. S., & Irizarry, R. A. (2010). A framework for oligonucleotide microarray preprocessing. *Bioinformatics*, *26*(19), 2363-2367. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq431

Celada, P., Bortolozzi, A., & Artigas, F. (2013). Serotonin 5-HT1A receptors as targets for agents to treat psychiatric disorders: Rationale and current status of research. *CNS Drugs*, *27*(9), 703-716. https://doi.org/10.1007/S40263-013-0071-0/FIGURES/4

Chauhan, P., Kaur, J., & Chimni, S. S. (2013). Asymmetric organocatalytic addition reactions of maleimides: a promising approach towards the synthesis of chiral succinimide derivatives. *Chemistry, an Asian journal*, *8*(2), 328-346. https://doi.org/10.1002/ASIA.201200684

Chavez, K. J., Garimella, S. V., & Lipkowitz, S. (2011). Triple negative breast cancer cell lines: One tool in the search for better treatment of triple negative breast cancer. *Breast Disease*, *32*(1-2), 35-48. https://doi.org/10.3233/BD-2010-0307

Chen, R., Sun, S., Wang, G., & Guo, H. (2018). A highly diastereoselective [3+3] annulation reaction of aza-oxyallyl cations and nitrones. *Tetrahedron Letters*, *59*(20), 1916-1920. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2018.03.085

Chen, X.-L., Zhang, L.-J., Li, F.-G., Fan, Y.-X., Wang, W.-P., Li, B.-J., & Shen, Y.-C. (2015). Synthesis and antifungal evaluation of a series of maleimides. *Pest Management Science*, *71*(3), 433-440. https://doi.org/10.1002/ps.3824

Cheng, C.-F., Lai, Z.-C., & Lee, Y.-J. (2008). Total synthesis of (±)-camphorataimides and (±)-himanimides by NaBH4/Ni(OAc)2 or Zn/AcOH stereoselective reduction. *Tetrahedron*, *64*(19), 4347-4353. https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.02.077

Cheng, X., Cao, X., Zhou, S. J., Cai, B. G., He, X. K., & Xuan, J. (2019). Transition-Metal Free Construction of Isoquinoline-fused Triazines Containing Alkenyl C−X Bonds. *Advanced Synthesis & Catalysis*, *361*(6), 1230-1235. https://doi.org/10.1002/ADSC.201801181

Chiriac, C. I., Nechifor, M., & Tanasă, F. (2007). Formamide, A Novel Challenging Reagent For The Direct Synthesis Of Non-*N*-Substituted Cyclic Imides. *Revue Roumaine de Chimie*, *52*(9), 883-886.

Cho, J., Rameshwar, P., & Sadoshima, J. (2009). Distinct roles of glycogen synthase kinase (GSK)-3alpha and GSK-3beta in mediating cardiomyocyte differentiation in murine bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *The Journal of biological chemistry*, *284*(52), 36647-36658. https://doi.org/10.1074/JBC.M109.019109

Churakov, A. M., & Tartakovsky, V. A. (2004). Progress in 1,2,3,4-Tetrazine Chemistry. *Chemical Reviews*, *104*(5), 2601-2616. https://doi.org/10.1021/cr020094q

Coghlan, M. P., Culbert, A. A., Cross, D. A., Corcoran, S. L., Yates, J. W., Pearce, N. J., Rausch, O. L., Murphy, G. J., Carter, P. S., Roxbee Cox, L., Mills, D., Brown, M. J., Haigh, D., Ward, R. W., Smith, D. G., Murray, K. J., Reith, A. D., & Holder, J. C. (2000). Selective small molecule inhibitors of glycogen synthase kinase-3 modulate glycogen metabolism and gene transcription. *Chemistry & Biology*, *7*(10), 793-803. https://doi.org/10.1016/S1074-5521(00)00025-9

Cohen, P. (2001). The role of protein phosphorylation in human health and disease. *European Journal of Biochemistry*, *268*(19), 5001-5010. https://doi.org/10.1046/j.0014-2956.2001.02473.x

Cohen, P., & Frame, S. (2001). The renaissance of GSK3. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *2*(10), 769-776. https://doi.org/10.1038/35096075

Corrie, J. E. T. (1994). Thiol-reactive fluorescent probes for protein labelling. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, *20*, 2975-2982. https://doi.org/10.1039/P19940002975

Cory, A. H., Owen, T. C., Barltrop, J. A., & Cory, J. G. (1991). Use of an Aqueous Soluble Tetrazolium/Formazan Assay for Cell Growth Assays in Culture. *Cancer Communications*, *3*(7), 207-212. https://doi.org/10.3727/095535491820873191

Curtin, M. L., Garland, R. B., Heyman, H. R., Frey, R. R., Michaelides, M. R., Li, J., Pease, L. J., Glaser, K. B., Marcotte, P. A., & Davidsen, S. K. (2002). Succinimide hydroxamic acids as potent inhibitors of histone deacetylase (HDAC). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *12*(20), 2919-2923. https://doi.org/10.1016/S0960-894X(02)00622-4

Dai, Z.-C., Chen, Y.-F., Zhang, M., Li, S.-K., Yang, T.-T., Shen, L., Wang, J.-X., Qian, S.-S., Zhu, H.-L., & Ye, Y.-H. (2015). Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole phenylhydrazone derivatives. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *13*(2), 477-486. https://doi.org/10.1039/C4OB01758G

Darling, N. J., Hung, Y.-S., Sharma, S., & Segura, T. (2016). Controlling the kinetics of thiol-maleimide Michael-type addition gelation kinetics for the generation of homogenous poly(ethylene glycol) hydrogels. *Biomaterials*, *101*, 199-206. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.05.053

Dastrup, D. M., VanBrunt, M. P., & Weinreb, S. M. (2003). Preparation of bis(beta-trimethylsilylethanesulfonyl)imide and its use in the synthesis of protected amine derivatives. *The Journal of Organic Chemistry*, *68*(10), 4112-4115. https://doi.org/10.1021/JO020754R

Deeksha, & Singh, R. (2022). Aza-oxyallyl Cations and Their Applications in (3+m) Cycloaddition Reactions. *European Journal of Organic Chemistry*, *2022*(47). https://doi.org/10.1002/ejoc.202201043

Deshpande, S. R., Maybhate, S. P., Likhite, A. P., & Chaudhary, P. M. (2010). Note A facile synthesis of *N*-substituted maleimides. *Indian Journal of Chemistry*, *49*, 487-488.

Dhivare R., & Rajput S. S. (2015). Synthesis and antimicrobial activity of five membered cyclic imide derivatives of mono, di and tri substituted aromatic amines and napthyl amine. *World Journal of Pharmaceutical Research*, *4*(6), 1650-1658.

Diaz, G., Melis, M., Musin, A., Piludu, M., Piras, M., & Falchi, A. M. (2007). Localization of MTT formazan in lipid droplets. An alternative hypothesis about the

nature of formazan granules and aggregates. *European Journal of Histochemistry*, *51*(3), 213-218.

DiPoto, M. C., Hughes, R. P., & Wu, J. (2015). Dearomative Indole (3+2) Reactions with Azaoxyallyl Cations - New Method for the Synthesis of Pyrroloindolines. *Journal of the American Chemical Society*, *137*(47), 14861-14864. https://doi.org/10.1021/JACS.5B10221/ASSET/IMAGES/LARGE/JA-2015-10221V_0005.JPEG

DiPoto, M. C., & Wu, J. (2018). Synthesis of 2-Aminoimidazolones and Imidazolones by (3+2) Annulation of Azaoxyallyl Cations. *Organic Letters*, *20*(3), 499-501. https://doi.org/10.1021/acs.orglett.7b03719

Doble, B. W., & Woodgett, J. R. (2003). GSK-3: tricks of the trade for a multi-tasking kinase. *Journal of cell science*, *116*(Pt 7), 1175-1186. https://doi.org/10.1242/JCS.00384

Donoghue, J., & Lader, M. (2010). Usage of benzodiazepines: A review. *International journal of psychiatry in clinical practice*, *14*(2), 78-87. https://doi.org/10.3109/13651500903447810

Duda, P., Wiśniewski, J., Wójtowicz, T., Wójcicka, O., Jaśkiewicz, M., Drulis-Fajdasz, D., Rakus, D., McCubrey, J. A., & Gizak, A. (2018). Targeting GSK3 signaling as a potential therapy of neurodegenerative diseases and aging. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, *22*(10), 833-848. https://doi.org/10.1080/14728222.2018.1526925

Dudev, T., & Lim, C. (2011). Competition between Li+ and Mg2+ in metalloproteins. Implications for lithium therapy. *Journal of the American Chemical Society*, *133*(24), 9506-9515. https://doi.org/10.1021/JA201985S

Dulucq, S., St-Onge, G., Gagné, V., Ansari, M., Sinnett, D., Labuda, D., Moghrabi, A., & Krajinovic, M. (2008). DNA variants in the dihydrofolate reductase gene and outcome in childhood ALL. *Blood*, *111*(7), 3692-3700. https://doi.org/10.1182/blood-2007-09-110593

Ehrhardt, D., Mangialetto, J., Bertouille, J., Van Durme, K., Van Mele, B., & Van den Brande, N. (2020). Self-Healing in Mobility-Restricted Conditions Maintaining Mechanical Robustness: Furan–Maleimide Diels–Alder Cycloadditions in Polymer Networks for Ambient Applications. *Polymers*, *12*(11), 2543. https://doi.org/10.3390/polym12112543

El Bouakher, A., Martel, A., & Comesse, S. (2019). α-Halogenoacetamides: versatile and efficient tools for the synthesis of complex aza-heterocycles. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *17*(37), 8467-8485. https://doi.org/10.1039/C9OB01683J

Embi, N., Rylatt, D. B., & Cohen, P. (1980). Glycogen synthase kinase-3 from rabbit skeletal muscle. Separation from cyclic-AMP-dependent protein kinase and phosphorylase kinase. *European Journal of Biochemistry*, *107*(2), 519-527.

Engler, T. A., Henry, J. R., Malhotra, S., Cunningham, B., Furness, K., Brozinick, J., Burkholder, T. P., Clay, M. P., Clayton, J., Diefenbacher, C., Hawkins, E., Iversen, P. W., Li, Y., Lindstrom, T. D., Marquart, A. L., McLean, J., Mendel, D., Misener, E., Briere, D., & Vaughn, R. (2004). Substituted 3-Imidazo[1,2- *a*]pyridin-3-yl-4-(1,2,3,4-tetrahydro-[1,4]diazepino-[6,7,1-*hi*]indol-7-yl)pyrrole-2,5-diones as

Highly Selective and Potent Inhibitors of Glycogen Synthase Kinase-3. *Journal of Medicinal Chemistry*, *47*(16), 3934-3937. https://doi.org/10.1021/jm049768a

Essmann, U., Perera, L., Berkowitz, M. L., Darden, T., Lee, H., & Pedersen, L. G. (1995). A smooth particle mesh Ewald method. *The Journal of Chemical Physics*, *103*(19), 8577-8593. https://doi.org/10.1063/1.470117

Eyilcim, O., Gunay, F., Gunkara, O. T., Ng, Y. Y., Ulucan, O., & Erden, I. (2023). Design and synthesis of novel 1,2,3,4-tetrazines as new anti-leukemia cancer agents. *Chemical Biology & Drug Design*, *102*(5), 1186-1201. https://doi.org/10.1111/cbdd.14328

Eyilcim, O., Issever, S., Ocal, N., Gronert, S., & Erden, I. (2018). Imidazolidin-4-ones via (3+2) cycloadditions of aza-oxyallyl cations onto (E)-*N*-arylideneanilines. *Tetrahedron Letters*, *59*(41), 3674-3677. https://doi.org/10.1016/J.TETLET.2018.08.056

Hassanzadeh, F., Jafari, E., Hakimelahi, G. H., Rahmani Khajouei, M., Jalali, M., & Khodarahmi, G. A. (2012). Antibacterial, antifungal and cytotoxic evaluation of some new quinazolinone derivatives. *Research in Pharmaceutical Sciences*, *7*(2), 87-94.

Fabbro, D., Cowan-Jacob, S. W., Möbitz, H., & Martiny-Baron, G. (2012). *Targeting Cancer with Small-Molecular-Weight Kinase Inhibitors* (ss. 1-34). https://doi.org/10.1007/978-1-61779-337-0_1

Fan, S., Lai, J., Burn, P. L., & Shaw, P. E. (2019). Solid-State Fluorescence-based Sensing of TATP via Hydrogen Peroxide Detection. *ACS Sensors*, *4*(1), 134-142. https://doi.org/10.1021/ACSSENSORS.8B01029/SUPPL_FILE/SE8B01029_SI_001.PDF

Fang, Q. Y., Jin, H. S., Wang, R. B., & Zhao, L. M. (2020). A Role for Isatin Azomethine Imines as a Dipolarophile in Cycloaddition Reactions. *Organic Letters*, *22*(18), 7358-7362. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.0C02705/SUPPL_FILE/OL0C02705_SI_001.PDF

Fang, Q.-Y., & Zhao, L.-M. (2020). A [4+3] annulation of benzofuran-derived azadienes and α-bromohydroxamates for the synthesis of benzofuran-fused 1,4-diazepinones. *Chemical Communications*, *56*(90), 14079-14082. https://doi.org/10.1039/D0CC06061E

Faul, M. M., Winneroski, L. L., & Krumrich, C. A. (1998). A New, Efficient Method for the Synthesis of Bisindolylmaleimides. *The Journal of organic chemistry*, *63*(17), 6053-6058. https://doi.org/10.1021/JO980513C

Faul, M. M., Winneroski, L. L., & Krumrich, C. A. (1999). A new one step synthesis of maleimides by condensation of glyoxylate esters with acetamides. *Tetrahedron Letters*, *40*(6), 1109-1112. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(98)02594-5

Feng, J., Zhao, M., & Lin, X. (2019). [3 + 2]-Cycloaddition of Azaoxyallyl Cations with 1,2-Benzisoxazoles: A Rapid Entry to Oxazolines. *Journal of Organic Chemistry*, *84*(15), 9548-9560. https://doi.org/10.1021/ACS.JOC.9B01166/SUPPL_FILE/JO9B01166_SI_002.ZIP

Feng, J., Zhou, M., Lin, X., Lu, A., Zhang, X., & Zhao, M. (2019). Base-Mediated [3+4]-Cycloaddition of Anthranils with Azaoxyallyl Cations: A New Approach to

Multisubstituted Benzodiazepines. *Organic Letters*, *21*(16), 6245-6248. https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b02118

Force, G., Pérot, A., Guillot, R., Gandon, V., & Leboeuf, D. (2020). Formal [8+3]-Annulation between Azaoxyallyl Cations and Tropones. *Synthesis*, *52*(04), 553-564. https://doi.org/10.1055/S-0039-1690745

Frame, S., & Cohen, P. (2001). GSK3 takes centre stage more than 20 years after its discovery. *The Biochemical journal*, *359*(Pt 1), 1-16. https://doi.org/10.1042/0264-6021:3590001

Froidevaux, V., Borne, M., Laborbe, E., Auvergne, R., Gandini, A., & Boutevin, B. (2015). Study of the Diels–Alder and retro-Diels–Alder reaction between furan derivatives and maleimide for the creation of new materials. *RSC Advances*, *5*(47), 37742-37754. https://doi.org/10.1039/C5RA01185J

Frump, J. A. (1971). Oxazolines. Their preparation, reactions, and applications. *Chemical Reviews*, *71*(5), 483-505. https://doi.org/10.1021/CR60273A003/ASSET/CR60273A003.FP.PNG_V03

Gali, R., Banothu, J., Gondru, R., Bavantula, R., Velivela, Y., & Crooks, P. A. (2015). One-pot multicomponent synthesis of indole incorporated thiazolylcoumarins and their antibacterial, anticancer and DNA cleavage studies. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, *25*(1), 106-112. https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2014.10.100

Gani, O. A. B. S. M., & Engh, R. A. (2010). Protein kinase inhibition of clinically important staurosporine analogues. *Natural Product Reports*, *27*(4), 489. https://doi.org/10.1039/b923848b

Gasteiger, J., & Marsili, M. (1978). A new model for calculating atomic charges in molecules. *Tetrahedron Letters*, *19*(34), 3181-3184. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)94977-9

Giglio, J., Fernandez, S., Martinez, A., Zeni, M., Reyes, L., Rey, A., & Cerecetto, H. (2022). Glycogen Synthase Kinase-3 Maleimide Inhibitors As Potential PET-Tracers for Imaging Alzheimer's Disease: ^{11} C-Synthesis and *In Vivo* Proof of Concept. *Journal of Medicinal Chemistry*, *65*(2), 1342-1351. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00769

Gomtsyan, A. (2013). Heterocycles in Drugs and Drug Discovery. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, *0*(1), 12-15. https://doi.org/10.1007/1282

Gordon, C. P., Venn-Brown, B., Robertson, M. J., Young, K. A., Chau, N., Mariana, A., Whiting, A., Chircop, M., Robinson, P. J., & McCluskey, A. (2013). Development of second-generation indole-based dynamin GTPase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, *56*(1), 46-59. https://doi.org/10.1021/JM300844M/SUPPL_FILE/JM300844M_SI_001.PDF

Greaves, M., & George, J. (1978). Patterns of gene expression and the cellular origins of human leukaemias. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, *516*(2), 193-230. https://doi.org/10.1016/0304-419X(78)90008-2

Greenberg, J., Gonzalez-Sarmiento, R., Arthur, D., Wilkowski, C., Streifel, B., & Kersey, J. (1988b). Immunophenotypic and cytogenetic analysis of Molt-3 and Molt-4: human T- lymphoid cell lines with rearrangement of chromosome 7. *Blood*, *72*(5), 1755-1760. https://doi.org/10.1182/blood.V72.5.1755.1755

Griebenow, R., Pittrow, D. B., Weidinger, G., Mueller, E., Mutschler, E., & Welzel, D. (1997). Low-dose Reserpine/Thiazide Combination in First-line Treatment of Hypertension: Efficacy and Safety Compared to an ACE Inhibitor. *Blood Pressure*, *6*(5), 299-306. https://doi.org/10.3109/08037059709062086

Grimes, C. A., & Jope, R. S. (2001). The multifaceted roles of glycogen synthase kinase 3beta in cellular signaling. *Progress in neurobiology*, *65*(4), 391-426. https://doi.org/10.1016/S0301-0082(01)00011-9

Gründer, G., Wetzel, H., Hammes, E., & Benkert, O. (1993). Roxindole, a dopamine autoreceptor agonist, in the treatment of major depression. *Psychopharmacology*, *111*(1), 123-126. https://doi.org/10.1007/BF02257418/METRICS

Gul, W., & Hamann, M. T. (2005). Indole alkaloid marine natural products: An established source of cancer drug leads with considerable promise for the control of parasitic, neurological and other diseases. *Life Sciences*, *78*(5), 442-453. https://doi.org/10.1016/J.LFS.2005.09.007

Gunosewoyo, H., Midzak, A., Gaisina, I. N., Sabath, E. V., Fedolak, A., Hanania, T., Brunner, D., Papadopoulos, V., & Kozikowski, A. P. (2013). Characterization of Maleimide-Based Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK-3) Inhibitors as Stimulators of Steroidogenesis. *Journal of Medicinal Chemistry*, *56*(12), 5115-5129. https://doi.org/10.1021/jm400511s

Guo, Z., Xu, Y., Peng, Y., Rashid, H., Quan, W., Xie, P., Wu, L., Jiang, J., Wang, L., & Liu, X. (2019). Design, synthesis and evaluation of novel (S)-tryptamine derivatives containing an allyl group and an aryl sulfonamide unit as anticancer agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *29*(9), 1133-1137. https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2019.02.023

Hamad, A., & Abed, F. S. (2014). Synthesis of some new maleimide derivatives. *Journal of Applicable Chemistry*, *3*(1), 56-63.

Hamelin-Morrissette, J., Cloutier, S., Girouard, J., Belgorosky, D., Eiján, A. M., Legault, J., Reyes-Moreno, C., & Bérubé, G. (2015). Identification of an anti-inflammatory derivative with anti-cancer potential: The impact of each of its structural components on inflammatory responses in macrophages and bladder cancer cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *96*, 259-268. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.026

Hanger, D. P., Hughes, K., Woodgett, J. R., Brion, J. P., & Anderton, B. H. (1992). Glycogen synthase kinase-3 induces Alzheimer's disease-like phosphorylation of tau: generation of paired helical filament epitopes and neuronal localisation of the kinase. *Neuroscience letters*, *147*(1), 58-62. https://doi.org/10.1016/0304-3940(92)90774-2

Hartmann, T. N., Leick, M., Ewers, S., Diefenbacher, A., Schraufstatter, I., Honczarenko, M., & Burger, M. (2008). Human B cells express the orphan chemokine receptor CRAM-A/B in a maturation-stage-dependent and CCL5-modulated manner. *Immunology*, *125*(2), 252-262. https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2008.02836.x

Hassan, N. I. (2016). Synthesis and antimicrobial activities of eleven *n*-substituted maleimides. *Malaysian Journal of Analytical Science*, *20*(4), 741-750. https://doi.org/10.17576/mjas-2016-2004-06

Haval, K. P., & Argade, N. P. (2008). General strategy for the synthesis of natural and unnatural dialkylmaleic anhydrides. *The Journal of organic chemistry*, *73*(17), 6936-6938. https://doi.org/10.1021/JO801284R

He, Y., Pi, C., Wu, Y., & Cui, X. (2020). Ring opening [3+2] cyclization of azaoxyallyl cations with benzo[d]isoxazoles: Efficient access to 2-hydroxyaryl-oxazolines. *Chinese Chemical Letters*, *31*(2), 396-400. https://doi.org/10.1016/J.CCLET.2019.09.025

He, Z. L., Chen, Y., Wang, X., Ni, M., & Wang, G. (2019). Access to thiomorpholin-3-one derivatives: [3+3]-cycloadditions of α-chlorohydroxamates and 1,4-dithiane-2,5-diol. *Tetrahedron*, *75*(34), 130461. https://doi.org/10.1016/J.TET.2019.07.019

Heitz, J. R., Anderson, C. D., & Anderson, B. M. (1968). Inactivation of yeast alcohol dehydrogenase by *N*-alkylmaleimides. *Archives of biochemistry and biophysics*, *127*(1), 627-636. https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90271-3

Hers, I., Tavaré, J. M., & Denton, R. M. (1999). The protein kinase C inhibitors bisindolylmaleimide I (GF 109203x) and IX (Ro 31-8220) are potent inhibitors of glycogen synthase kinase-3 activity. *FEBS Letters*, *460*(3), 433-436. https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)01389-7

Hess, B. (2008). P-LINCS: A Parallel Linear Constraint Solver for Molecular Simulation. *Journal of Chemical Theory and Computation*, *4*(1), 116-122. https://doi.org/10.1021/ct700200b

Hibino, S., & Choshi, T. (2002). Simple indole alkaloids and those with a nonrearranged monoterpenoid unit. *Natural Product Reports*, *19*(2), 148-180. https://doi.org/10.1039/b007740m

Himmelstein, D. S., Ward, S. M., Lancia, J. K., Patterson, K. R., & Binder, L. I. (2012). Tau as a therapeutic target in neurodegenerative disease. *Pharmacology & therapeutics*, *136*(1), 8-22. https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2012.07.001

Hoover, W. G. (1985). Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. *Physical Review A*, *31*(3), 1695-1697. https://doi.org/10.1103/PhysRevA.31.1695

Horwitz, K. B., Costlow, M. E., & McGuire, W. L. (1975). MCF-7: A human breast cancer cell line with estrogen, androgen, progesterone, and glucocorticoid receptors. *Steroids*, *26*(6), 785-795. https://doi.org/10.1016/0039-128X(75)90110-5

Hosoya, T., Yamamoto, Y., Uehara, Y., Hayashi, M., Komiyama, K., & Ishibashi, M. (2005). New cytotoxic bisindole alkaloids with protein tyrosine kinase inhibitory activity from a myxomycete Lycogala epidendrum. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *15*(11), 2776-2780. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.03.103

Hu, K., Patnaik, D., Collier, T. L., Lee, K. N., Gao, H., Swoyer, M. R., Rotstein, B. H., Krishnan, H. S., Liang, S. H., Wang, J., Yan, Z., Hooker, J. M., Vasdev, N., Haggarty, S. J., & Ngai, M.-Y. (2017). Development of [18F] Maleimide-Based Glycogen Synthase Kinase-3β Ligands for Positron Emission Tomography Imaging. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, *8*(3), 287-292. https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.6b00405

Hu, W., Shi, H., Yuan, Q., & Sun, Y. (2005). Synthesis and Antitumor Activity of *N*,*N*′-Bis(substitutedphenyl)-3,6-dialkyl-1,4-dihydro-s-tetrazine-1,4-dicarboxamide. *ChemInform*, *36*(36). https://doi.org/10.1002/chin.200536168

Hu, W., Zheng, J., Li, J., Liu, B., Wu, W., Liu, H., & Jiang, H. (2016). Assembly of Polysubstituted Maleimides via Palladium-Catalyzed Cyclization Reaction of Alkynes with Isocyanides. *Journal of Organic Chemistry*, *81*(24), 12451-12458. https://doi.org/10.1021/ACS.JOC.6B02227/SUPPL_FILE/JO6B02227_SI_002.CIF

Hu, W.-X., Rao, G.-W., & Sun, Y.-Q. (2004). Synthesis and antitumor activity of s - tetrazine derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *14*(5), 1177-1181. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2003.12.056

Huang, L., Yao, Z., Huang, G., Ao, Y., Zhu, B., Li, S., & Cui, X. (2021). One-Pot Synthesis of Fused Indolin-3-Ones via a [3+3] Cycloaddition Reaction. *Advanced Synthesis & Catalysis*, *363*(22), 5092-5098. https://doi.org/10.1002/adsc.202100842

Ishikawa, H., Colby, D. A., & Boger, D. L. (2008). Direct Coupling of Catharanthine and Vindoline to Provide Vinblastine: Total Synthesis of (+)- and *ent* -(−)-Vinblastine. *Journal of the American Chemical Society*, *130*(2), 420-421. https://doi.org/10.1021/ja078192m

Jaiswal, V., Mondal, B., & Saha, J. (2020). Recent Developments on the Synthesis of Various Sulfur-Containing Heterocycles via [3+2]- and [4+2]-Cycloaddition Reactions with Thiocarbonyls. *Asian Journal of Organic Chemistry*, *9*(10), 1466-1477. https://doi.org/10.1002/AJOC.202000238

Jaiswal, V., Mondal, B., Singh, K., Das, D., & Saha, J. (2019). -Annulation of Azaoxyallyl Cations and Thiocarbonyls for the Assembly of Thiazolidin-4-ones. *Organic Letters*, *21*(15), 5848-5852. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.9B01933/SUPPL_FILE/OL9B01933_SI_001.PDF

Jakalian, A., Bush, B. L., Jack, D. B., & Bayly, C. I. (2000). Fast, efficient generation of high-quality atomic charges. AM1-BCC model: I. Method. *Journal of Computational Chemistry*, *21*(2), 132-146. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(20000130)21:2<132::AID-JCC5>3.0.CO;2-P

Jansen, L. E., Negrón-Piñeiro, L. J., Galarza, S., & Peyton, S. R. (2018). Control of thiol-maleimide reaction kinetics in PEG hydrogel networks. *Acta Biomaterialia*, *70*, 120-128. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.01.043

Jeffrey, C. S., Anumandla, D., & Carson, C. R. (2012). 1,4-diamination of cyclic dienes via a (4 + 3) cycloaddition of diaza-allyl cationic intermediates. *Organic Letters*, *14*(22), 5764-5767. https://doi.org/10.1021/OL302771Z/SUPPL_FILE/OL302771Z_SI_001.PDF

Jeffrey, C. S., Barnes, K. L., Eickhoff, J. A., & Carson, C. R. (2011). Generation and reactivity of aza-oxyallyl cationic intermediates: aza-[4+3] cycloaddition reactions for heterocycle synthesis. *Journal of the American Chemical Society*, *133*(20), 7688-7691. https://doi.org/10.1021/JA201901D

Ji, D., & Sun, J. (2018). [3+2]-Cycloaddition of Azaoxyallyl Cations with Hexahydro-1,3,5-triazines: Access to 4-Imidazolidinones. *Organic Letters*, *20*(9), 2745-2748. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.8B00951/SUPPL_FILE/OL8B00951_SI_001.PDF

Ji, W., Li, C. L., Chen, H., Yu, Z. X., & Liao, X. (2019). A newly designed heterodiene and its application to construct six-membered heterocycles containing an N–O bond.

Chemical Communications, *55*(80), 12012-12015. https://doi.org/10.1039/C9CC05694G

Ji, W., Yao, L., & Liao, X. (2016). Access to the pyrroloindoline core via [3+2] annulation as well as the application in the synthetic approach to (±)-minfiensine. *Organic Letters*, *18*(3), 628-630. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.5B03421/SUPPL_FILE/OL5B03421_SI_001.PDF

Jia, Q., Du, Z., Zhang, K., & Wang, J. (2016). [3+2] Cycloaddition of aza-oxyallyl cations with aldehydes. *Organic Chemistry Frontiers*, *4*(1), 91-94. https://doi.org/10.1039/C6QO00526H

Jiang, S., Li, K., Yan, J., Shi, K., Zhao, C., Yang, L., & Zhong, G. (2017). Synthetic Access to Oxazolidin-4-ones via Elimination/[3+2] Cycloaddition Reaction. *Journal of Organic Chemistry*, *82*(18), 9779-9785. https://doi.org/10.1021/ACS.JOC.7B00547/SUPPL_FILE/JO7B00547_SI_003.CIF

Jin, Q., Gao, M., Zhang, D., Jiang, C., Yao, N., & Zhang, J. (2018). Base-mediated [2 + 4] cycloadditions of in situ formed azaoxyallyl cations with N-(2-chloromethyl)aryl amides. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *16*(40), 7336-7339. https://doi.org/10.1039/C8OB02176G

Jin, Q., Zhang, D., & Zhang, J. (2019). Facile synthesis of 1,2,4,5-tetrahydro-1,4-benzodiazepin-3-ones via cyclization of N-alkoxy α-halogenoacetamides with N-(2-chloromethyl)aryl amides. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *17*(45), 9708-9711. https://doi.org/10.1039/C9OB02260K

Jones, R. A. (1999). Etodolac: An overview of a selective COX-2 inhibitor. *InflammoPharmacology*, *7*(3), 269-275. https://doi.org/10.1007/s10787-999-0010-3

Jope, R. S. (2003). Lithium and GSK-3: one inhibitor, two inhibitory actions, multiple outcomes. *Trends in pharmacological sciences*, *24*(9), 441-443. https://doi.org/10.1016/S0165-6147(03)00206-2

Jope, R. S. (2011). Glycogen synthase kinase-3 in the etiology and treatment of mood disorders. *Frontiers in molecular neuroscience*, *4*. https://doi.org/10.3389/FNMOL.2011.00016

Jope, R. S., Mines, M. A., & Beurel, E. (2011). Regulation of cell survival mechanisms in Alzheimer's disease by glycogen synthase kinase-3. *International journal of Alzheimer's disease*, *2011*. https://doi.org/10.4061/2011/861072

Jorgensen, W. L. (1981). Quantum and statistical mechanical studies of liquids. 10. Transferable intermolecular potential functions for water, alcohols, and ethers. Application to liquid water. *Journal of the American Chemical Society*, *103*(2), 335-340. https://doi.org/10.1021/ja00392a016

Juhasz, G., Zsombok, T., Jakab, B., Nemeth, J., Szolcsanyi, J., & Bagdy, G. (2005). Sumatriptan Causes Parallel Decrease in Plasma Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Concentration and Migraine Headache During Nitroglycerin Induced Migraine Attack. *Cephalalgia*, *25*(3), 179-183. https://doi.org/10.1111/j.1468-2982.2005.00836.x

Kalaoglu-Altan, O. I., Sanyal, R., & Sanyal, A. (2019). Orthogonally "Clickable" Biodegradable Nanofibers: Tailoring Biomaterials for Specific Protein

Immobilization. *ACS Omega*, *4*(1), 121-129. https://doi.org/10.1021/acsomega.8b03041

Kalina, M., & Palmer, J. M. (1968). The reduction of tetrazolium salts by plant mitochondria. *Histochemie. Histochemistry. Histochimie*, *14*(4), 366-374. https://doi.org/10.1007/BF00304260

Kałużna-Czaplińska, J., Gątarek, P., Chirumbolo, S., Chartrand, M. S., & Bjørklund, G. (2019). How important is tryptophan in human health? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *59*(1), 72-88. https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1357534

Karimabad, M. N., Mahmoodi, M., Jafarzadeh, A., Darekordi, A., Hajizadeh, M. R., & Hassanshahi, G. (2019). Molecular Targets, Anti-cancer Properties and Potency of Synthetic Indole-3-carbinol Derivatives. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, *19*(7), 540-554. https://doi.org/10.2174/1389557518666181116120145

Keiser, M. J., Roth, B. L., Armbruster, B. N., Ernsberger, P., Irwin, J. J., & Shoichet, B. K. (2007). Relating protein pharmacology by ligand chemistry. *Nature Biotechnology*, *25*(2), 197-206. https://doi.org/10.1038/nbt1284

Khalil, A., Berghot, M., & Gouda, M. (2010). Synthesis and study of some new N-substituted imide derivatives as potential antibacterial agents. *Chemical Papers*, *64*(5). https://doi.org/10.2478/s11696-010-0049-z

Khan, G. A., War, J. A., Kumar, A., Sheikh, I. A., Saxena, A., & Das, R. (2017). A facile synthesis of novel indole derivatives as potential antitubercular agents. *Journal of Taibah University for Science*, *11*(6), 910-921. https://doi.org/10.1016/J.JTUSCI.2016.09.002

Kikugawa, Y., Shimada, M., Kato, M., & Sakamoto, T. (1993). A New Synthesis of *N*-Alkoxy-2-ethoxyarylacetamides from *N*-Alkoxy-*N*-chloroarylacetamides with Triethylamine in Ethanol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *41*(12), 2192-2194. https://doi.org/10.1248/cpb.41.2192

Kim, E., Lee, C. Y., & Kim, S. (2020). HFIP-Mediated Decarboxylative [4+3]-Annulation of Azaoxyallyl Cations with Isatoic Anhydride. *Advanced Synthesis & Catalysis*, *362*(17), 3594-3603. https://doi.org/10.1002/adsc.202000439

Kim, E., Mun, D., & Kim, S. G. (2019). Synthesis of Dihydrobenzoxazine-Fused Spirooxazoline-4-ones via [3+2] Cycloaddition of Azaoxyallyl Cations with Vinyl Benzoxazinanones. *Asian Journal of Organic Chemistry*, *8*(11), 2037-2041. https://doi.org/10.1002/AJOC.201900517

Kim, L., & Kimmel, A. R. (2000). GSK3, a master switch regulating cell-fate specification and tumorigenesis. *Current Opinion in Genetics & Development*, *10*(5), 508-514. https://doi.org/10.1016/S0959-437X(00)00120-9

King, M. K., Pardo, M., Cheng, Y., Downey, K., Jope, R. S., & Beurel, E. (2014). Glycogen synthase kinase-3 inhibitors: Rescuers of cognitive impairments. *Pharmacology & therapeutics*, *141*(1), 1-12. https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2013.07.010

Kinjyo, I., Bragin, D., Grattan, R., Winter, S. S., & Wilson, B. S. (2019). Leukemia-derived exosomes and cytokines pave the way for entry into the brain. *Journal of Leukocyte Biology*, *105*(4), 741-753. https://doi.org/10.1002/JLB.3A0218-054R

Kirino, O., Rubin, B., & Casida, J. E. (1985). *N* -Phenyl-maleimides, -isomaleimides and -maleamic Acids as Selective Herbicide Antidotes. *Agricultural and Biological Chemistry*, *49*(1), 267-268. https://doi.org/10.1080/00021369.1985.10866715

Kitajima, M., Ohara, S., Kogure, N., Santiarworn, D., & Takayama, H. (2013). β-Carboline-type indole alkaloid glycosides from Ophiorrhiza trichocarpon. *Tetrahedron*, *69*(45), 9451-9456. https://doi.org/10.1016/J.TET.2013.08.070

Klein, P. S., & Melton, D. A. (1996). A molecular mechanism for the effect of lithium on development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *93*(16), 8455-8459. https://doi.org/10.1073/PNAS.93.16.8455

Klein, P. S., & Meltont, D. A. (1996). *Developmental Biology This contribution is a part of the special series of Inaugural Articles by members of the National Academy of Sciences ekcted on*. *93*, 8455-8459. https://www.pnas.org

Knölker, H. J., & Reddy, K. R. (2002). Isolation and synthesis of biologically active carbazole alkaloids. *Chemical Reviews*, *102*(11), 4303-4427. https://doi.org/10.1021/CR020059J/ASSET/CR020059J.FP.PNG_V03

Koeffler, H., & Golde, D. (1980). Human myeloid leukemia cell lines: a review. *Blood*, *56*(3), 344-350. https://doi.org/10.1182/blood.V56.3.344.344

Kollman, P. A., Massova, I., Reyes, C., Kuhn, B., Huo, S., Chong, L., Lee, M., Lee, T., Duan, Y., Wang, W., Donini, O., Cieplak, P., Srinivasan, J., Case, D. A., & Cheatham, T. E. (2000). Calculating Structures and Free Energies of Complex Molecules: Combining Molecular Mechanics and Continuum Models. *Accounts of Chemical Research*, *33*(12), 889-897. https://doi.org/10.1021/ar000033j

Kondo, T., Nomura, M., Ura, Y., Wada, K., & Mitsudo, T. A. (2006). Ruthenium-catalyzed [2+2+1] cocyclization of isocyanates, alkynes, and CO enables the rapid synthesis of polysubstituted maleimides. *Journal of the American Chemical Society*, *128*(46), 14816-14817. https://doi.org/10.1021/JA066305G/SUPPL_FILE/JA066305GSI20061012_062944.PDF

Kumar, D., Sharma, S., Kalra, S., Singh, G., Monga, V., & Kumar, B. (2020). Medicinal Perspective of Indole Derivatives: Recent Developments and Structure-Activity Relationship Studies. *Current Drug Targets*, *21*(9), 864-891. https://doi.org/10.2174/1389450121666200310115327

Kumar, M. M. K., Naik, J. D., Satyavathi, K., Ramana, H., Varma, P. R., Nagasree, K. P., Smitha, D., & Rao, D. V. (2014). Denigrins A-C: New antitubercular 3,4-diarylpyrrole alkaloids from Dendrilla nigra. *Natural Product Research*, *28*(12), 888-894. https://doi.org/10.1080/14786419.2014.891112/SUPPL_FILE/GNPL_A_891112_SM8465.PDF

Kumar, R., Chaudhary, S., Kumar, R., Upadhyay, P., Sahal, D., & Sharma, U. (2018). Catalyst and Additive-Free Diastereoselective 1,3-Dipolar Cycloaddition of Quinolinium Imides with Olefins, Maleimides, and Benzynes: Direct Access to Fused *N,N′*-Heterocycles with Promising Activity against a Drug-Resistant Malaria Parasite. *The Journal of Organic Chemistry*, *83*(19), 11552-11570. https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b01520

Kumar, R., Sirohi, T. S., Singh, H., Yadav, R., Roy, R. K., Chaudhary, A., & Pandeya, S. N. (2014). 1,2,4-triazine analogs as novel class of therapeutic agents. *Mini reviews in medicinal chemistry*, *14*(2), 168-207. https://doi.org/10.2174/1389557514666140131111837

Kunnimalaiyaan, S., Schwartz, V. K., Jackson, I. A., Clark Gamblin, T., & Kunnimalaiyaan, M. (2018). Antiproliferative and apoptotic effect of LY2090314, a GSK-3 inhibitor, in neuroblastoma in vitro. *BMC cancer*, *18*(1). https://doi.org/10.1186/S12885-018-4474-7

Kuntz, I. D., Blaney, J. M., Oatley, S. J., Langridge, R., & Ferrin, T. E. (1982). A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of molecular biology*, *161*(2), 269-288. https://doi.org/10.1016/0022-2836(82)90153-X

Kuo, G.-H., Prouty, C., DeAngelis, A., Shen, L., O'Neill, D. J., Shah, C., Connolly, P. J., Murray, W. V., Conway, B. R., Cheung, P., Westover, L., Xu, J. Z., Look, R. A., Demarest, K. T., Emanuel, S., Middleton, S. A., Jolliffe, L., Beavers, M. P., & Chen, X. (2003). Synthesis and Discovery of Macrocyclic Polyoxygenated Bis-7-azaindolylmaleimides as a Novel Series of Potent and Highly Selective Glycogen Synthase Kinase-3β Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, *46*(19), 4021-4031. https://doi.org/10.1021/jm030115o

Kurz, W., Chatson, K., Constabel, F., Kutney, J., Choi, L., Kolodziejczyk, P., Sleigh, S., Stuart, K., & Worth, B. (1981). Alkaloid Production in Catharanthus roseus Cell Cultures VIII. *Planta Medica*, *42*(05), 22-31. https://doi.org/10.1055/s-2007-971541

Kwon, Y., Choi, S., Jang, H. S., & Kim, S. G. (2020). Rapid Access to Hindered α-Amino Acid Derivatives and Benzodiazepin-3-ones from Aza-Oxyallyl Cations. *Organic Letters*, *22*(4), 1420-1425. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.0C00023/SUPPL_FILE/OL0C00023_SI_001.PDF

Lakatosh, S. A., Bykov, E. E., & Preobrazhenskaya, M. N. (2011). Synthesis of 2-hetaryl-3-(indol-1-yl)-and -(3-pyrrol-1-yl)maleimides and study of their conversions under the action of protic acids. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, *46*(10), 1224-1232. https://doi.org/10.1007/S10593-011-0656-9/SCHEMES/5

Lakhdar, S., Westermaier, M., Terrier, F., Goumont, R., Boubaker, T., Ofial, A. R., & Mayr, H. (2006). Nucleophilic Reactivities of Indoles. *The Journal of Organic Chemistry*, *71*(24), 9088-9095. https://doi.org/10.1021/jo0614339

Lam, K. S., Schroeder, D. R., Veıtch, J. M., Colson, K. L., Matson, J. A., Rose, W. C., Doyle, T. W., & Forenza, S. (2001). Production, Isolation and Structure Determination of Novel Fluoroindolocarbazoles from Saccharothrix aerocolonigenes ATCC 39243. *The Journal of Antibiotics*, *54*(1), 1-9. https://doi.org/10.7164/antibiotics.54.1

Laskowski, R. A., & Swindells, M. B. (2011). LigPlot+: Multiple Ligand–Protein Interaction Diagrams for Drug Discovery. *Journal of Chemical Information and Modeling*, *51*(10), 2778-2786. https://doi.org/10.1021/ci200227u

Layunta, E., Latorre, E., Grasa, L., Arruebo, M. P., Buey, B., Alcalde, A. I., & Mesonero, J. E. (2022). Intestinal serotonergic system is modulated by Toll-like receptor 9. *Journal of Physiology and Biochemistry*, *78*(3), 689-701. https://doi.org/10.1007/s13105-022-00897-2

Lee, C. Y., Kwon, Y., Jang, H. S., Lee, S., Chun, Y. L., Jung, J., & Kim, S. G. (2021). Organocatalytic Enantioselective [4+3]-Cycloadditions of Azaoxyallyl Cations with 2-Aminophenyl Enones. *Advanced Synthesis & Catalysis*, *363*(17), 4197-4203. https://doi.org/10.1002/ADSC.202100676

Lee, P.-H., & Helms, V. (2012). Identifying continuous pores in protein structures with PROPORES by computational repositioning of gating residues. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, *80*(2), 421-432. https://doi.org/10.1002/prot.23204

Lei, X., Feng, J., Guo, Q., Xu, C., & Shi, J. (2022). Base-Promoted Formal [3+2] Cycloaddition of α-Halohydroxamates with Carbon Disulfide to Synthesize Polysubstituted Rhodanines. *Organic Letters*, *24*(15), 2837-2841. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.2C00736/SUPPL_FILE/OL2C00736_SI_001.PDF

Lengyel, I., & Sheehan, J. C. (1968). α-Lactams (Aziridinones). *Angewandte Chemie International Edition in English*, *7*(1), 25-36. https://doi.org/10.1002/ANIE.196800251

Levy, D. E., Wang, D. X., Lu, Q., Chen, Z., Perumattam, J., Xu, Y., Higaki, J., Dong, H., Liclican, A., Laney, M., Mavunkel, B., & Dugar, S. (2008). Aryl-indolyl maleimides as inhibitors of CaMKIIdelta. Part 2: SAR of the amine tether. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *18*(7), 2395-2398. https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2008.02.058

Levy, D. E., Wang, D. X., Lu, Q., Chen, Z., Perumattam, J., Xu, Y., Liclican, A., Higaki, J., Dong, H., Laney, M., Mavunkel, B., & Dugar, S. (2008). Aryl-indolyl maleimides as inhibitors of CaMKIIdelta. Part 1: SAR of the aryl region. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, *18*(7), 2390-2394. https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2008.02.059

Li, C., Jiang, K., Ouyang, Q., Liu, T. Y., & Chen, Y. C. (2016). [3 + 1] - and [3 + 2]-Cycloadditions of Azaoxyallyl Cations and Sulfur Ylides. *Organic Letters*, *18*(11), 2738-2741. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.6B01194/SUPPL_FILE/OL6B01194_SI_003.CIF

Li, S., Liu, X., & Li, L. (2020). A Multicenter Retrospective Analysis on Clinical Effectiveness and Economic Assessment of Compound Reserpine and Hydrochlorothiazide Tablets (CRH) for Hypertension. *ClinicoEconomics and Outcomes Research*, *Volume 12*, 107-114. https://doi.org/10.2147/CEOR.S231210

Lim, L. H., & Zhou, J. (2015). A challenging Heck reaction of maleimides. *Organic Chemistry Frontiers*, *2*(7), 775-777. https://doi.org/10.1039/C5QO00015G

Lin, H. L., Liaw, R. B., Chen, Y. H., Kang, T. C., Lin, D. Y., Chen, L. R., & Wu, M. C. (2019). Evaluation of cockerel spermatozoa viability and motility by a novel enzyme based cell viability assay. *British poultry science*, *60*(4), 467-471. https://doi.org/10.1080/00071668.2018.1426832

Liu, H., Zang, C., Fenner, M. H., Possinger, K., & Elstner, E. (2003). PPARγ Ligands and ATRA Inhibit the Invasion of Human Breast Cancer Cells in vitro. *Breast Cancer Research and Treatment*, *79*(1), 63-74. https://doi.org/10.1023/A:1023366117157

Liu, N., Song, W., Schienebeck, C. M., Zhang, M., & Tang, W. (2014). Synthesis of naturally occurring tropones and tropolones. *Tetrahedron*, *70*(49), 9281-9305. https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.07.065

Liu, Z., Tang, L., Zhu, H., Xu, T., Qiu, C., Zheng, S., Gu, Y., Feng, J., Zhang, Y., & Liang, G. (2016). Design, Synthesis, and Structure-Activity Relationship Study of Novel Indole-2-carboxamide Derivatives as Anti-inflammatory Agents for the Treatment of Sepsis. *Journal of Medicinal Chemistry*, *59*(10), 4637-4650. https://doi.org/10.1021/ACS.JMEDCHEM.5B02006/SUPPL_FILE/JM5B02006_SI_002.CSV

Lowery, C. A., Park, J., Kaufmann, G. F., & Janda, K. D. (2008). An Unexpected Switch in the Modulation of AI-2-Based Quorum Sensing Discovered through Synthetic 4,5-Dihydroxy-2,3-pentanedione Analogues. *Journal of the American Chemical Society*, *130*(29), 9200-9201. https://doi.org/10.1021/ja802353j

Lozzio, B. B., & Lozzio, C. B. (1979). Properties and usefulness of the original K-562 human myelogenous leukemia cell line. *Leukemia Research*, *3*(6), 363-370. https://doi.org/10.1016/0145-2126(79)90033-X

Lu, Q., Chen, Z., Perumattam, J., Wang, D. X., Liang, W., Xu, Y., Do, S., Bonaga, L., Higaki, J., Dong, H., Liclican, A., Sideris, S., Laney, M., Dugar, S., Mavunkel, B., & Levy, D. E. (2009). Aryl-indolyl maleimides as inhibitors of CaMKIIdelta. Part 3: Importance of the indole orientation. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, *18*(7), 2399-2403. https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2008.02.057

Luo, Y., Chen, C.-H., Zhang, J.-Q., Liang, C., & Mo, D.-L. (2020). Synthesis of Spirofluorenyl-1,2,4-oxadiazinan-5-ones through Metal-Free [3+3] Cycloaddition of *N*-Vinyl Fluorenone Nitrones with Aza-oxyallyl Cations. *Synthesis*, *52*(03), 424-432. https://doi.org/10.1055/s-0039-1691490

M. M. Patil, S. S. R. (2014). Succinimides: Synthesis, reaction, and biological activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *6*, 8-14.

Macherla, V. R., Liu, J., Sunga, M., White, D. J., Grodberg, J., Teisan, S., Lam, K. S., & Potts, B. C. M. (2007). Lipoxazolidinones A, B, and C: antibacterial 4-oxazolidinones from a marine actinomycete isolated from a Guam marine sediment. *Journal of natural products*, *70*(9), 1454-1457. https://doi.org/10.1021/NP0702032

Mahle, F., da Rosa Guimarães, T., Vergilina Meira, A., Corrêa, R., Bella Cruz, R. C., Bella Cruz, A., Nunes, R. J., Cechinel-Filho, V., & de Campos-Buzzi, F. (2010). Synthesis and biological evaluation of *N*-antipyrine-4-substituted amino-3-chloromaleimide derivatives. *European journal of medicinal chemistry*, *45*(11), 4761-4768. https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2010.07.040

Mai, W., Kawakami, K., Shakoori, A., Kyo, S., Miyashita, K., Yokoi, K., Jin, M., Shimasaki, T., Motoo, Y., & Minamoto, T. (2009). Deregulated GSK3{beta} sustains gastrointestinal cancer cells survival by modulating human telomerase reverse transcriptase and telomerase. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, *15*(22), 6810-6819. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0973

Maier, J. A., Martinez, C., Kasavajhala, K., Wickstrom, L., Hauser, K. E., & Simmerling, C. (2015). ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB. *Journal of Chemical Theory and Computation*, *11*(8), 3696-3713. https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00255

Mandelkow, E. M., Drewes, G., Biernat, J., Gustke, N., Van Lint, J., Vandenheede, J. R., & Mandelkow, E. (1992). Glycogen synthase kinase-3 and the Alzheimer-like state of microtubule-associated protein tau. *FEBS letters*, *314*(3), 315-321. https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)81496-9

Martinez, A., & Perez, D. I. (2008). GSK-3 inhibitors: a ray of hope for the treatment of Alzheimer's disease? *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, *15*(2), 181-191. https://doi.org/10.3233/JAD-2008-15204

Martynov, A. V. (2005). New Approach to the Synthesis of trans-Aconitic Acid Imides. *ChemInform*, *36*(49), no-no. https://doi.org/10.1002/CHIN.200549068

Matheson, E. C., Hogarth, L. A., Case, M. C., Irving, J. A. E., & Hall, A. G. (2007). DHFR and MSH3 co-amplification in childhood acute lymphoblastic leukaemia, in vitro and in vivo. *Carcinogenesis*, *28*(6), 1341-1346. https://doi.org/10.1093/carcin/bgl235

Mathuram, T. L., Ravikumar, V., Reece, L. M., Karthik, S., Sasikumar, C. S., & Cherian, K. M. (2016). Tideglusib induces apoptosis in human neuroblastoma IMR32 cells, provoking sub-G0/G1 accumulation and ROS generation. *Environmental toxicology and pharmacology*, *46*, 194-205. https://doi.org/10.1016/J.ETAP.2016.07.013

Maurer, U., Preiss, F., Brauns-Schubert, P., Schlicher, L., & Charvet, C. (2014). GSK-3 - at the crossroads of cell death and survival. *Journal of cell science*, *127*(Pt 7), 1369-1378. https://doi.org/10.1242/JCS.138057

McCubrey, J. A., Davis, N. M., Abrams, S. L., Montalto, G., Cervello, M., Basecke, J., Libra, M., Nicoletti, F., Cocco, L., Martelli, A. M., & Steelman, L. S. (2014). Diverse roles of GSK-3: Tumor promoter–tumor suppressor, target in cancer therapy. *Advances in Biological Regulation*, *54*, 176-196. https://doi.org/10.1016/j.jbior.2013.09.013

McCubrey, J. A., Steelman, L. S., Bertrand, F. E., Davis, N. M., Abrams, S. L., Montalto, G., D'Assoro, A. B., Libra, M., Nicoletti, F., Maestro, R., Basecke, J., Cocco, L., Cervello, M., & Martelli, A. M. (2014). Multifaceted roles of GSK-3 and Wnt/β-catenin in hematopoiesis and leukemogenesis: opportunities for therapeutic intervention. *Leukemia*, *28*(1), 15-33. https://doi.org/10.1038/leu.2013.184

Medina, M., & Avila, J. (2010). Glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Current pharmaceutical design*, *16*(25), 2790-2798. https://doi.org/10.2174/138161210793176581

Mehta, N. B., Phillips, A. P., Florence Fu, L., & Brooks, R. E. (1960). Maleamic and Citraconamic Acids, Methyl Esters, and Imides. *Journal of Organic Chemistry*, *25*(6), 1012-1015. https://doi.org/10.1021/JO01076A038/ASSET/JO01076A038.FP.PNG_V03

Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided-Drug Design*, *7*(2), 146-157. https://doi.org/10.2174/157340911795677602

Merkel, A. L., Meggers, E., & Ocker, M. (2012). PIM1 kinase as a target for cancer therapy. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, *21*(4), 425-436. https://doi.org/10.1517/13543784.2012.668527

Miller, B. R., McGee, T. D., Swails, J. M., Homeyer, N., Gohlke, H., & Roitberg, A. E. (2012). *MMPBSA.py* : An Efficient Program for End-State Free Energy

Calculations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, *8*(9), 3314-3321. https://doi.org/10.1021/ct300418h

Miller, C. M., & McCarthy, F. O. (2012). Isolation, biological activity and synthesis of the natural product ellipticine and related pyridocarbazoles. *RSC Advances*, *2*(24), 8883. https://doi.org/10.1039/c2ra20584j

Mitchell, E. A., Peschiulli, A., Lefevre, N., Meerpoel, L., & Maes, B. U. W. (2012). Direct α-Functionalization of Saturated Cyclic Amines. *Chemistry – A European Journal*, *18*(33), 10092-10142. https://doi.org/10.1002/CHEM.201201539

Mitsunobu, O. (1981). The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products. *Synthesis*, *1981*(01), 1-28. https://doi.org/10.1055/s-1981-29317

Mohamed, M. S., Youns, M. M., & Ahmed, N. M. (2014). Novel indolyl-pyrimidine derivatives: Synthesis, antimicrobial, and antioxidant evaluations. *Medicinal Chemistry Research*, *23*(7), 3374-3388. https://doi.org/10.1007/S00044-014-0916-1/FIGURES/3

Montano, M. (2014). Model systems. *Translational Biology in Medicine* içinde (ss. 9-33). Elsevier. https://doi.org/10.1533/9781908818652.9

Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K., & Olson, A. J. (1998). Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*, *19*(14), 1639-1662. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B

Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, *30*(16), 2785-2791. https://doi.org/10.1002/jcc.21256

Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, *65*(1-2), 55-63. https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4

Nagini, S., Sophia, J., & Mishra, R. (2019). Glycogen synthase kinases: Moonlighting proteins with theranostic potential in cancer. *Seminars in Cancer Biology*, *56*, 25-36. https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.12.010

Nettleton, D. E., Doyle, T. W., Krishnan, B., Matsumoto, G. K., & Clardy, J. (1985). Isolation and structure of rebeccamycin - a new antitumor antibiotic from nocardia aerocoligenes. *Tetrahedron Letters*, *26*(34), 4011-4014. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)89280-1

Nicolaou, K. C., & Chen, J. S. (2008). Total synthesis of complex heterocyclic natural products. *Pure and Applied Chemistry*, *80*(4), 727-742. https://doi.org/10.1351/pac200880040727

Nielsen, O., & Buchardt, O. (1991). Facile Synthesis of Reagents Containing a Terminal Maleimido Ligand Linked to an Active Ester. *Synthesis*, *1991*(10), 819-821. https://doi.org/10.1055/s-1991-26579

Nikoulina, S. E., Ciaraldi, T. P., Mudaliar, S., Carter, L., Johnson, K., & Henry, R. R. (2002). Inhibition of glycogen synthase kinase 3 improves insulin action and glucose

metabolism in human skeletal muscle. *Diabetes*, *51*(7), 2190-2198. https://doi.org/10.2337/DIABETES.51.7.2190

Noldin, V., Locatelli, C., Cordova, C. A. S., Noldin, A. T., Vanzin, F., Faé, J., Buzzi, F. C., Pilati, C., Filho, V. & Creczynski-Pasa, T. (2015). Citotoxicity of N-phenylmaleimide Derivatives and Inhibition ofMelanoma Growth in a Preclinical Mouse Melanoma Model. *Research & Reviews in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *4*, 32-42.

Nosé, S. (1984). A unified formulation of the constant temperature molecular dynamics methods. *The Journal of Chemical Physics, 81*(1), 511-519. https://doi.org/10.1063/1.447334

O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics, 3*(1), 33. https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33

O'Brien, W. T., & Klein, P. S. (2009). Validating GSK3 as an in vivo target of lithium action. *Biochemical Society transactions, 37*(Pt 5), 1133-1138. https://doi.org/10.1042/BST0371133

Onufriev, A., Bashford, D., & Case, D. A. (2000). Modification of the Generalized Born Model Suitable for Macromolecules. *The Journal of Physical Chemistry B, 104*(15), 3712-3720. https://doi.org/10.1021/jp994072s

Onufriev, A., Bashford, D., & Case, D. A. (2004). Exploring protein native states and large-scale conformational changes with a modified generalized born model. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, *55*(2), 383-394. https://doi.org/10.1002/prot.20033

Organista-Nava, J., Gómez-Gómez, Y., Illades-Aguiar, B., Rivera-Ramírez, A., Saavedra-Herrera, M., & Leyva-Vázquez, M. (2018). Overexpression of dihydrofolate reductase is a factor of poor survival in acute lymphoblastic leukemia. *Oncology Letters*. https://doi.org/10.3892/ol.2018.8429

Osada, H., Koshino, H., Kudo, T., Onose, R., & Isono, K. (1992). A new inhibitor of protein kinase C, RK-1409 (7-oxostaurosporine). I. Taxonomy and biological activity. *The Journal of Antibiotics*, *45*(2), 189-194. https://doi.org/10.7164/antibiotics.45.189

Panov, A. A., Simonov, A. Yu., Lavrenov, S. N., Lakatosh, S. A., & Trenin, A. S. (2018). 3,4-Disubstituted maleimides: synthesis and biological activity. *Chemistry of Heterocyclic Compounds, 54*(2), 103-113. https://doi.org/10.1007/s10593-018-2240-z

Parrinello, M., & Rahman, A. (1981). Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. *Journal of Applied Physics, 52*(12), 7182-7190. https://doi.org/10.1063/1.328693

Patil, R., Patil, S. A., Beaman, K. D., & Patil, S. A. (2016). Indole molecules as inhibitors of tubulin polymerization: potential new anticancer agents, an update (2013–2015). *Future Medicinal Chemistry, 8*(11), 1291-1316. https://doi.org/10.4155/FMC-2016-0047

Pear, W. S., Nolan, G. P., Scott, M. L., & Baltimore, D. (1993). Production of high-titer helper-free retroviruses by transient transfection. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 90*(18), 8392-8396. https://doi.org/10.1073/pnas.90.18.8392

Peifer, C., Stoiber, T., Unger, E., Totzke, F., Schächtele, C., Marmé, D., Brenk, R., Klebe, G., Schollmeyer, D., & Dannhardt, G. (2006). Design, synthesis, and biological evaluation of 3,4-diarylmaleimides as angiogenesis inhibitors. *Journal of medicinal chemistry*, *49*(4), 1271-1281. https://doi.org/10.1021/JM0580297

Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera−A visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, *25*(13), 1605-1612. https://doi.org/10.1002/jcc.20084

Phiel, C. J., & Klein, P. S. (2001). Molecular targets of lithium action. *Annual review of pharmacology and toxicology*, *41*, 789-813. https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHARMTOX.41.1.789

Phiel, C. J., Wilson, C. A., Lee, V. M. Y., & Klein, P. S. (2003). GSK-3alpha regulates production of Alzheimer's disease amyloid-beta peptides. *Nature*, *423*(6938), 435-439. https://doi.org/10.1038/NATURE01640

Piazza, F., Manni, S., Tubi, L. Q., Montini, B., Pavan, L., Colpo, A., Gnoato, M., Cabrelle, A., Adami, F., Zambello, R., Trentin, L., Gurrieri, C., & Semenzato, G. (2010). Glycogen Synthase Kinase-3 regulates multiple myeloma cell growth and bortezomib-induced cell death. *BMC cancer*, *10*. https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-526

Pitts, C. R., & Lectka, T. (2014). Chemical synthesis of β-Lactams: Asymmetric catalysis and other recent advances. *Chemical Reviews*, *114*(16), 7930-7953. https://doi.org/10.1021/CR4005549/ASSET/IMAGES/CR4005549.SOCIAL.JPEG_V03

Prado, S. R. T., Cechinel-Filho, V., Buzzi, F. C., Corrêa, R., Cadena, S. M. C. S., & de Oliveira, M. B. M. (2004). Biological Evaluation of Some Selected Cyclic Imides: Mitochondrial Effects and in vitro Cytotoxicity. *Zeitschrift für Naturforschung C*, *59*(9-10), 663-672. https://doi.org/10.1515/znc-2004-9-1010

Pronk, S., Páll, S., Schulz, R., Larsson, P., Bjelkmar, P., Apostolov, R., Shirts, M. R., Smith, J. C., Kasson, P. M., van der Spoel, D., Hess, B., & Lindahl, E. (2013). GROMACS 4.5: a high-throughput and highly parallel open source molecular simulation toolkit. *Bioinformatics*, *29*(7), 845-854. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt055

Putri, S. P., Kinoshita, H., Ihara, F., Igarashi, Y., & Nihira, T. (2009). Farinomalein, a maleimide-bearing compound from the entomopathogenic fungus Paecilomyces farinosus. *Journal of Natural Products*, *72*(8), 1544-1546. https://doi.org/10.1021/NP9002806/SUPPL_FILE/NP9002806_SI_001.PDF

Rahman, M. T., Tiruveedhula, V. V. N. P. B., Stephen, M. R., Rallapalli, S. K., Pandey, K. P., & Cook, J. M. (2022). Completion of the Total Synthesis of Several Bioactive Sarpagine/Macroline Alkaloids including the Important NF- κB Inhibitor N_4-Methyltalpinine. *Molecules 2022, Vol. 27, Page 1738*, *27*(5), 1738. https://doi.org/10.3390/MOLECULES27051738

Ratnikov, M. O., Lipilin, D. L., Churakov, A. M., Strelenko, Y. A., & Tartakovsky, V. A. (2002). Release of Nitrosating Species in the Course of Reduction of Benzo-1,2,3,4-tetrazine 1,3-Dioxides. *Organic Letters*, *4*(19), 3227-3229. https://doi.org/10.1021/ol026437o

Reddy, P. Y., Kondo, S., Toru, T., & Ueno, Y. (1997). Lewis Acid and Hexamethyldisilazane-Promoted Efficient Synthesis of *N*-Alkyl- and *N*-Arylimide Derivatives. *The Journal of organic chemistry*, *62*(8), 2652-2654. https://doi.org/10.1021/JO962202C

Roy, S., Eastman, A., & Gribble, G. W. (2006). Synthesis of bisindolylmaleimides related to GF109203x and their efficient conversion to the bioactive indolocarbazoles. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *4*(17), 3228-3234. https://doi.org/10.1039/B607504E

Roy, T., Jacob, A., Bhattacharjee, S., & Biju, A. T. (2019). [8+3]-Cycloaddition of Tropones with Azaoxyallyl Cations. *Chemistry – An Asian Journal*, *14*(24), 4748-4753. https://doi.org/10.1002/ASIA.201901198

Ruiz-Sanchis, P., Savina, S. A., Albericio, F., & Álvarez, M. (2011). Structure, Bioactivity and Synthesis of Natural Products with Hexahydropyrrolo[2,3-b]indole. *Chemistry – A European Journal*, *17*(5), 1388-1408. https://doi.org/10.1002/CHEM.201001451

Sainio, E.-L., Pulkki, K., & Young, S. N. (1996). L-Tryptophan: Biochemical, nutritional and pharmacological aspects. *Amino Acids*, *10*(1), 21-47. https://doi.org/10.1007/BF00806091

Salewska, N., & Milewska, M. J. (2014). Efficient Method for the Synthesis of Functionalized Basic Maleimides. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, *51*(4), 999-1003. https://doi.org/10.1002/jhet.1651

Sammes, P. G., & Thetford, D. (1989). ChemInform Abstract: Stereocontrolled Preparation of Cyclohexane Amino Alcohols Utilizing a Modified Mitsunobu Reaction. *ChemInform*, *20*(25), 46-47. https://doi.org/10.1002/CHIN.198925110

Sánchez, C., Méndez, C., & Salas, J. A. (2006). Indolocarbazole natural products: occurrence, biosynthesis, and biological activity. *Natural Product Reports*, *23*(6), 1007-1045. https://doi.org/10.1039/B601930G

Sasaki, C., Hayashi, T., Zhang, W. R., Warita, H., Manabe, Y., Sakai, K., & Abe, K. (2001). Different expression of glycogen synthase kinase-3 β between young and old rat brains after transient middle cerebral artery occlusion. *Neurological Research*, *23*(6), 588-592. https://doi.org/10.1179/016164101101199054

Shao, P. L., Li, Z. R., Wang, Z. P., Zhou, M. H., Wu, Q., Hu, P., & He, Y. (2017). [3+2] cycloaddition of azaoxyallyl cations with cyclic ketones: Access to spiro-4-oxazolidinones. *Journal of Organic Chemistry*, *82*(19), 10680-10686. https://doi.org/10.1021/ACS.JOC.7B01728/SUPPL_FILE/JO7B01728_SI_002.CIF

Sharma, V., Kumar, P., & Pathaka, D. (2010). Biological importance of the indole nucleus in recent years: A comprehensive review. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, *47*(3), 491-502. https://doi.org/10.1002/JHET.349

Shekhar, N., Kaur, H., Sarma, P., Prakash, A., & Medhi, B. (2022). Indomethacin: an exploratory study of antiviral mechanism and host-pathogen interaction in COVID-19. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, *20*(3), 383-390. https://doi.org/10.1080/14787210.2022.1990756

Sherer, C., & Snape, T. J. (2015). Heterocyclic scaffolds as promising anticancer agents against tumours of the central nervous system: Exploring the scope of indole and

carbazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *97*(1), 552-560. https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2014.11.007

Shi, Y., Wang, G., Chen, Z., Wu, M., Wang, J., Trigoura, L., Guo, H., Xing, Y., & Sun, S. (2019). 1,3-Dipolar Cycloadditions of Isatin *N*,*N*′-Cyclic Azomethine Imines with Alkynes for the synthesis of spiro[indoline-3,1'-pyrazolo[1,2-a]pyrazoles]. *Beilstein Archives*, *2019*(1), 63. https://doi.org/10.3762/BXIV.2019.63.V1

Shin, S., Wolgamott, L., Tcherkezian, J., Vallabhapurapu, S., Yu, Y., Roux, P. P., & Yoon, S. O. (2014). Glycogen synthase kinase-3β positively regulates protein synthesis and cell proliferation through the regulation of translation initiation factor 4E-binding protein 1. *Oncogene*, *33*(13), 1690-1699. https://doi.org/10.1038/ONC.2013.113

Shorunov, S. v., Krayushkin, M. M., Stoyanovich, F. M., & Irie, M. (2006). A convenient synthesis of 3,4-diaryl(hetaryl)-substituted maleimides and maleic anhydrides. *Russian Journal of Organic Chemistry*, *42*(10), 1490-1497. https://doi.org/10.1134/S1070428006100162/METRICS

Shymanska, N. v., An, I. H., Guevara-Zuluaga, S., & Pierce, J. G. (2015). Rapid synthesis and antimicrobial activity of novel 4-oxazolidinone heterocycles. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, *25*(21), 4887-4889. https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2015.06.003

Singh, R., Nagesh, K., Yugandhar, D., & Prasanthi, A. V. G. (2018). Metal- and Oxidant-Free Modular Approach to Access *N*-Alkoxy Oxindoles via Aryne Annulation. *Organic Letters*, *20*(16), 4848-4853. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.8B01972/SUPPL_FILE/OL8B01972_SI_001.PDF

Sintesis, (, Antimikrob, K., Sebelas, T., Maleimida, T., Tang,), Chin, S., Nasir, I., & Hassan, I. (2016). Malaysian Journal of Analytical Sciences Synthesis and Antimicrobial Activities of Eleven *N*-Substituted Maleimides. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, *20*, 741-750. https://doi.org/10.17576/mjas-2016-2004-06

Smith, D. G., Buffet, M., Fenwick, A. E., Haigh, D., Ife, R. J., Saunders, M., Slingsby, B. P., Stacey, R., & Ward, R. W. (2001). 3-Anilino-4-arylmaleimides: Potent and selective inhibitors of glycogen synthase kinase-3 (GSK-3). *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, *11*(5), 635-639. https://doi.org/10.1016/S0960-894X(00)00721-6

Sokolosky, M., Chappell, W. H., Stadelman, K., Abrams, S. L., Davis, N. M., Steelman, L. S., & McCubrey, J. A. (2014). Inhibition of GSK-3β activity can result in drug and hormonal resistance and alter sensitivity to targeted therapy in MCF-7 breast cancer cells. *Cell Cycle*, *13*(5), 820-833. https://doi.org/10.4161/cc.27728

Son, E. C., Lee, J., & Kim, S. G. (2020). Base-Promoted Cycloaddition of γ-Hydroxy- and δ-Hydroxy-α,β-Unsaturated Carbonyls with Azaoxyallyl Cations: Rapid Synthesis of *N*,*O*-Heterocycles. *European Journal of Organic Chemistry*, *2020*(20), 3090-3100. https://doi.org/10.1002/EJOC.202000368

Sortino, M., Garibotto, F., Cechinel Filho, V., Gupta, M., Enriz, R., & Zacchino, S. (2011). Antifungal, cytotoxic and SAR studies of a series of *N*-alkyl, *N*-aryl and *N*-alkylphenyl-1,4-pyrrolediones and related compounds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *19*(9), 2823-2834. https://doi.org/10.1016/J.BMC.2011.03.038

Sousa da Silva, A. W., & Vranken, W. F. (2012). ACPYPE - AnteChamber PYthon Parser interfacE. *BMC Research Notes*, *5*(1), 367. https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-367

Sravanthi, T. v., & Manju, S. L. (2016). Indoles - A promising scaffold for drug development. *European journal of pharmaceutical sciences: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, *91*, 1-10. https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2016.05.025

Stambolic, V., Ruel, L., & Woodgett, J. R. (1996). Lithium inhibits glycogen synthase kinase-3 activity and mimics wingless signalling in intact cells. *Current biology: CB*, *6*(12), 1664-1669. https://doi.org/10.1016/S0960-9822(02)70790-2

Stanzione, F., Giangreco, I., & Cole, J. C. (2021). Use of molecular docking computational tools in drug discovery, *Progress in Medicinal Chemistry* içinde, 60, 273-343. https://doi.org/10.1016/bs.pmch.2021.01.004

Steven, A., & Overman, L. E. (2007). Total Synthesis of Complex Cyclotryptamine Alkaloids: Stereocontrolled Construction of Quaternary Carbon Stereocenters. *Angewandte Chemie International Edition*, *46*(29), 5488-5508. https://doi.org/10.1002/ANIE.200700612

Stewart, S. G., Polomska, M. E., & Lim, R. W. (2007). A concise synthesis of maleic anhydride and maleimide natural products found in Antrodia camphorata. *Tetrahedron Letters*, *48*(13), 2241-2244. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.01.169

Sultana, K., Khan, H., & Shahid, K. (2014). Synthesis, characterization and in vitro antibacterial evaluation of Sn, Sb, and Zn coordination complexes of 2-(2-methoxyphenyl)-1*H*-isoindole-1,3(2h)-dione. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, *28*(2), 1-5.

Sun Jang, H., & Kim, S. G. (2021). Asymmetric catalytic [3+3]-cycloaddition of γ-hydroxy-α,β-unsaturated ketones with azaoxyallyl cations. *Tetrahedron Letters*, *82*, 153394. https://doi.org/10.1016/J.TETLET.2021.153394

Sun, L., Liu, Y., Wang, Y., Li, Y., Liu, Z., Lu, T., & Li, W. (2019). An efficient synthesis of oxazolines via a cascade reaction between azaoxyallyl cations and 1,2-benzisoxazoles. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *17*(32), 7526-7530. https://doi.org/10.1039/C9OB01366K

Sun, S., Chen, R., Wang, G., & Wang, J. (2018). Sodium carbonate promoted [3+2] annulation of α-halohydroxamates and isocyanates. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *16*(43), 8011-8014. https://doi.org/10.1039/C8OB02321B

Sun, X., Guo, X. Q., Chen, L. M., & Kang, T. R. (2021). Synthesis, Characterization of Spirocyclic λ3 -Iodanes and Their Application to Prepare 4,1-Benzoxazepine-2,5-diones and 1,3-Diynes. *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, *27*(13), 4312-4316. https://doi.org/10.1002/CHEM.202005124

Sutherland, C. (2011). What Are the *bona fide* GSK3 Substrates? *International Journal of Alzheimer's Disease*, *2011*, 1-23. https://doi.org/10.4061/2011/505607

Swetha, M., Ramana, P. V., & Shirodkar, S. G. (2011). Simple and Efficient Method for the Synthesis of Azides in Water-THF Solvent System. *Organic Preparations and Procedures International*, *43*(4), 348-353. https://doi.org/10.1080/00304948.2011.594002

Tadesse, M., Strøm, M. B., Svenson, J., Jaspars, M., Milne, B. F., Tørfoss, V., Andersen, J. H., Hansen, E., Stensvåg, K., & Haug, T. (2010). Synoxazolidinones A and B: Novel bioactive alkaloids from the ascidian synoicum pulmonaria. *Organic Letters*, *12*(21), 4752-4755. https://doi.org/10.1021/OL101707U/SUPPL_FILE/OL101707U_SI_001.PDF

Takase, S., Uchida, I., Tanaka, H., & Aoki, H. (1986). Synthesis of debromo-8,8a-dihydroflustramine c1, a model synthesis toward amauromine. *Tetrahedron*, *42*(21), 5879-5886. https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)96069-7

Thanikachalam, P. V., Maurya, R. K., Garg, V., & Monga, V. (2019). An insight into the medicinal perspective of synthetic analogs of indole: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *180*, 562-612. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.07.019

Thotala, D. K., & Yazlovitskaya, E. M. (2011). GSK3B (glycogen synthase kinase 3 beta). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, *15*, 7-10.

Tilvi, S., & S. Singh, K. (2016). Synthesis of Oxazole, Oxazoline and Isoxazoline Derived Marine Natural Products: A Review. *Current Organic Chemistry*, *20*(8), 898-929. https://doi.org/10.2174/1385272819666150804000046

Torregrosa-Chinillach, A., Moragues, A., Pérez-Furundarena, H., Chinchilla, R., Gómez-Bengoa, E., & Guillena, G. (2018). Enantioselective Michael Addition of Aldehydes to Maleimides Organocatalyzed by a Chiral Primary Amine-Salicylamide. *Molecules*, *23*(12), 3299. https://doi.org/10.3390/molecules23123299

Tsioufis, C., & Thomopoulos, C. (2017). Combination drug treatment in hypertension. *Pharmacological Research*, *125*, 266-271. https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2017.09.011

Tsuruta, Y., Date, Y., & Kohashi, K. (1991). (2-Phthalimidyl)benzoyl Azides as Fluorescence Labeling Reagents for Alcohols in High Performance Liquid Chromatography. *Analytical Sciences*, *7*(3), 411-414. https://doi.org/10.2116/analsci.7.411

Van Den Berg, B. M. (2015). Microscopic analysis of MTT stained boar sperm cells. *Open Veterinary Journal*, *5*(1), 58-63.

Van Der Spoel, D., Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A. E., & Berendsen, H. J. C. (2005). GROMACS: Fast, flexible, and free. *Journal of Computational Chemistry*, *26*(16), 1701-1718. https://doi.org/10.1002/jcc.20291

Vijay, G. V., Zhao, N., den Hollander, P., Toneff, M. J., Joseph, R., Pietila, M., Taube, J. H., Sarkar, T. R., Ramirez-Pena, E., Werden, S. J., Shariati, M., Gao, R., Sobieski, M., Stephan, C. C., Sphyris, N., Miura, N., Davies, P., Chang, J. T., Soundararajan, R., Rosen, J. M., & Mani, S. A. (2019). GSK3β regulates epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell properties in triple-negative breast cancer. *Breast cancer research: BCR*, *21*(1). https://doi.org/10.1186/S13058-019-1125-0

Villar-Martínez, M. D., Moreno-Ajona, D., Chan, C., & Goadsby, P. J. (2021). Indomethacin-responsive headaches-A narrative review. *Headache*, *61*(5), 700-714. https://doi.org/10.1111/HEAD.14111

Vitaku, E., Smith, D. T., & Njardarson, J. T. (2014). Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among U.S. FDA

approved pharmaceuticals. *Journal of medicinal chemistry*, *57*(24), 10257-10274. https://doi.org/10.1021/JM501100B

Vo, C. V. T., & Bode, J. W. (2014). Synthesis of saturated N-heterocycles. *Journal of Organic Chemistry*, *79*(7), 2809-2815. https://doi.org/10.1021/JO5001252/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JO-2014-001252_0023.GIF

Wada, A. (2009). Lithium and Neuropsychiatric Therapeutics: Neuroplasticity via Glycogen Synthase Kinase-3β, β-Catenin, and Neurotrophin Cascades. *Journal of Pharmacological Sciences*, *110*(1), 14-28. https://doi.org/10.1254/jphs.09R02CR

Wagman, A., & Nuss, J. (2001). Current Therapies and Emerging Targets for the Treatment of Diabetes. *Current Pharmaceutical Design*, *7*(6), 417-450. https://doi.org/10.2174/1381612013397915

Walker, M. A. (1994). The Mitsunobu reaction: A novel method for the synthesis of bifunctional maleimide linkers. *Tetrahedron Letters*, *35*(5), 665-668. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)75785-6

Walker, R. C., Crowley, M. F., & Case, D. A. (2008). The implementation of a fast and accurate QM/MM potential method in Amber. *Journal of Computational Chemistry*, *29*(7), 1019-1031. https://doi.org/10.1002/jcc.20857

Wan, H., Xia, S., Liu, X., Jian, Y., An, Y., & Wang, Y. (2022). Synthesis of spirocyclic oxazole derivatives from 2-arylidene cycloalkanones and α-halohydroxamates. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *20*(21), 4293-4297. https://doi.org/10.1039/D2OB00701K

Wan, Y., Li, Y., Yan, C., Yan, M., & Tang, Z. (2019). Indole: A privileged scaffold for the design of anti-cancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *183*, 111691. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111691

Wang, C. C., Zhou, J., Ma, Z. W., Chen, X. P., & Chen, Y. J. (2019). Synthesis of spirobarbiturate-pyrrolidinones via a domino aza-Michael/S_N2 cyclization of barbiturate-derived alkenes with *N*-alkoxy α-haloamides. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *17*(41), 9200-9208. https://doi.org/10.1039/C9OB01992H

Wang, G., Chen, R., Wu, M., Sun, S., Luo, X., Chen, Z., Guo, H., Chong, C., & Xing, Y. (2017). Efficient one-pot synthesis of 1,3-dihydro-2*H*-pyrrol-2-one derivatives via aza-oxyallylic cations. *Tetrahedron Letters*, *58*(9), 847-850. https://doi.org/10.1016/J.TETLET.2017.01.048

Wang, G., Chen, R., Zhao, S., Yang, L., Guo, H., Sun, S., Wang, J., Domena, J., & Xing, Y. (2018). Efficient synthesis of 1,2,4-oxadiazine-5-ones via [3+3] cycloaddition of in situ generated aza-oxyallylic cations with nitrile oxides. *Tetrahedron Letters*, *59*(21), 2018-2020. https://doi.org/10.1016/J.TETLET.2018.04.025

Wang, J., Wang, W., Kollman, P. A., & Case, D. A. (2001). Antechamber: An accessory software package for molecular mechanical calculations. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, *222*, 403-403.

Wang, J., Wang, W., Kollman, P. A., & Case, D. A. (2006). Automatic atom type and bond type perception in molecular mechanical calculations. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, *25*(2), 247-260. https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2005.12.005

Wang, J., Wolf, R. M., Caldwell, J. W., Kollman, P. A., & Case, D. A. (2004). Development and testing of a general amber force field. *Journal of Computational Chemistry*, *25*(9), 1157-1174. https://doi.org/10.1002/jcc.20035

Wang, J.-J., Wang, S.-S., Leeb, C.-F., Chung, M.-A., & Chern, Y.-T. (1997). In vitro Antitumor and Antimicrobial Activities of *N*-Substituents of Maleimide by Adamantane and Diamantane. *Chemotherapy*, *43*(3), 182-189. https://doi.org/10.1159/000239557

Wang, Y., Zhang, J., Li, M., Li, M., Xie, S., & Wang, C. (2017). Synthesis and evaluation of novel amonafide-polyamine conjugates as anticancer agents. *Chemical Biology & Drug Design*, *89*(5), 670-680. https://doi.org/10.1111/cbdd.12888

Wang, Z. Y. (1990). Syntheses of Some *N*-Alkylmaleimides. *Synthetic Communications*, *20*(11), 1607-1610. https://doi.org/10.1080/00397919008053079

Ware, E. (1950). The chemistry of the hydantoins. *Chemical Reviews*, *46*(3), 403-470. https://doi.org/10.1021/CR60145A001/ASSET/CR60145A001.FP.PNG_V03

Warnecke, A., Fichtner, I., Garmann, D., Jaehde, U., & Kratz, F. (2004). Synthesis and Biological Activity of Water-Soluble Maleimide Derivatives of the Anticancer Drug Carboplatin Designed as Albumin-Binding Prodrugs. *Bioconjugate Chemistry*, *15*(6), 1349-1359. https://doi.org/10.1021/bc049829j

Weems, J. J. (2001). The many faces of *Staphylococcus aureus* infection. *Postgraduate Medicine*, *110*(4), 24-36. https://doi.org/10.3810/pgm.2001.10.1042

Weiser, J., Shenkin, P. S., & Still, W. C. (1999). Approximate atomic surfaces from linear combinations of pairwise overlaps (LCPO). *Journal of Computational Chemistry*, *20*(2), 217-230. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19990130)20:2<217::AID-JCC4>3.0.CO;2-A

Wijtmans, R., Vink, M. K., Schoemaker, H. E., van Delft, F. L., Blaauw, R. H., & Rutjes, F. P. (2004). Biological Relevance and Synthesis of C-Substituted Morpholine Derivatives. *Synthesis*, *2004*(05), 641-662. https://doi.org/10.1055/s-2004-816003

Williams, D. E., Davies, J., Patrick, B. O., Bottriell, H., Tarling, T., Roberge, M., & Andersen, R. J. (2008). Cladoniamides A-G, tryptophan-derived alkaloids produced in culture by Streptomyces uncialis. *Organic Letters*, *10*(16), 3501-3504. https://doi.org/10.1021/OL801274C/SUPPL_FILE/OL801274C-FILE004.PDF

Wishart, D. S. (2006). DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. *Nucleic Acids Research*, *34*(90001), D668-D672. https://doi.org/10.1093/nar/gkj067

Wolff, M. E. (2005). Frontiers in Medicinal Chemistry. Volume 2 Edited by Atta-ur-Rahman and Allen B. Reitz. Bentham Science Publishers, Ltd., Hilversum, The Netherlands. 2005. xii + 606 pp. ISBN 90-77527-01-X. $130.00. *Journal of Medicinal Chemistry*, *48*(19), 6166-6167. https://doi.org/10.1021/jm0582470

Woodgett, J. R. (2001). Judging a protein by more than its name: GSK-3. *Science's STKE: signal transduction knowledge environment*, *2001*(100). https://doi.org/10.1126/STKE.2001.100.RE12

Woodgett, J. R., & Cohen, P. (1984). Multisite phosphorylation of glycogen synthase. Molecular basis for the substrate specificity of glycogen synthase kinase-3 and casein kinase-II (glycogen synthase kinase-5). *Biochimica et biophysica acta*, *788*(3), 339-347. https://doi.org/10.1016/0167-4838(84)90047-5

Woodgett, J. R., & Waterfield, M. (1990). Molecular cloning and expression of glycogen synthase kinase-3/factor A. *The EMBO Journal*, *9*(8), 2431. https://doi.org/10.1002/J.1460-2075.1990.TB07419.X

Xie, L., Guo, S. nan, Wu, P., Gao, Z., Liu, F., & Yuan, C. (2020). [3+3] Cycloaddition of aza-oxyallyl cations with 1,4-dithiane-2,5-diols for the construction of 3-thiomorpholinones. *Synthetic Communications*, *50*(9), 1375-1387. https://doi.org/10.1080/00397911.2020.1740738/SUPPL_FILE/LSYC_A_1740738_SM0890.DOC

Xie, Y., Husband, J. T., Torrent-Sucarrat, M., Yang, H., Liu, W., & O'Reilly, R. K. (2018). Rational design of substituted maleimide dyes with tunable fluorescence and solvafluorochromism. *Chemical Communications*, *54*(27), 3339-3342. https://doi.org/10.1039/C8CC00772A

Xu, X., Zhang, K., Li, P., Yao, H., & Lin, A. (2018). [3+3] Cycloaddition of Azides with in Situ Formed Azaoxyallyl Cations To Synthesize 1,2,3,4-Tetrazines. *Organic Letters*, *20*(7), 1781-1784. https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b00280

Xuan, J., Cao, X., & Cheng, X. (2018). Advances in heterocycle synthesis via [3+m]-cycloaddition reactions involving an azaoxyallyl cation as the key intermediate. *Chemical Communications*, *54*(41), 5154-5163. https://doi.org/10.1039/C8CC00787J

Yamashita, Y., Fujii, N., Murakata, C., Ashizawa, T., Okabe, M., & Nakano, H. (1992). Induction of mammalian DNA topoisomerase I mediated DNA cleavage by antitumor indolocarbazole derivatives. *Biochemistry*, *31*(48), 12069-12075. https://doi.org/10.1021/bi00163a015

Ye, Q., Cao, J., Zhou, X., Lv, D., He, Q., Yang, B., & Hu, Y. (2009). Synthesis and evaluation of novel 7-azaindazolyl-indolyl-maleimide derivatives as antitumor agents and protein kinase C inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*, *17*(13), 4763-4772. https://doi.org/10.1016/J.BMC.2009.04.043

Ye, Q., Li, M., Zhou, Y. B., Cao, J. Y., Xu, L., Li, Y. J., Han, L., Gao, J. R., Hu, Y. Z., & Li, J. (2013). Design, Synthesis, and Evaluation of 3-Aryl-4-pyrrolyl-maleimides as Glycogen Synthase Kinase-3β Inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, *346*(5), 349-358. https://doi.org/10.1002/ARDP.201300008

Yoshinari, T., Ohkubo, M., Fukasawa, K., Egashira, S. I., Hara, Y., Matsumoto, M., Nakai, K., Arakawa, H., Morishima, H., & Nishimura, S. (1999). Mode of action of a new indolocarbazole anticancer agent, J-107088, targeting topoisomerase I. *Cancer Research*, *59*(17), 4271-4275.

Youziel, J., Akhbar, A. R., Aziz, Q., Smith, M. E. B., Caddick, S., Tinker, A., & Baker, J. R. (2014). Bromo- and thiomaleimides as a new class of thiol-mediated fluorescence 'turn-on' reagents. *Org. Biomol. Chem.*, *12*(4), 557-560. https://doi.org/10.1039/C3OB42141D

Yuan, C., Zhang, H., Yuan, M., Xie, L., & Cao, X. (2020). Synthesis of 1,4-diazepinone derivatives via a domino aza-Michael/SN2 cyclization of 1-azadienes with α-halogenoacetamides. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *18*(6), 1082-1086. https://doi.org/10.1039/C9OB02626F

Yunes, J. A., Cardoso, A. A., Yunes, R. A., Corrêa, R., de Campos-Buzzi, F., & Filho, V. C. (2008). Antiproliferative Effects of a Series of Cyclic Imides on Primary

Endothelial Cells and a Leukemia Cell Line. *Zeitschrift für Naturforschung C*, *63*(9-10), 675-680. https://doi.org/10.1515/znc-2008-9-1011

Zaretsky, S., Hickey, J. L., Tan, J., Pichugin, D., St. Denis, M. A., Ler, S., Chung, B. K. W., Scully, C. C. G., & Yudin, A. K. (2015). Mechanistic investigation of aziridine aldehyde-driven peptide macrocyclization: the imidoanhydride pathway. *Chemical Science*, *6*(10), 5446-5455. https://doi.org/10.1039/C5SC01958C

Zeng, F. Y., Dong, H., Cui, J., Liu, L., & Chen, T. (2010). Glycogen synthase kinase 3 regulates PAX3-FKHR-mediated cell proliferation in human alveolar rhabdomyosarcoma cells. *Biochemical and biophysical research communications*, *391*(1), 1049-1055. https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2009.12.017

Zentz, F., Valla, A., le Guillou, R., Labia, R., Mathot, A. G., & Sirot, D. (2002). Synthesis and antimicrobial activities of *N*-substituted imides. Il *Farmaco (Societa chimica italiana : 1989)*, *57*(5), 421-426. https://doi.org/10.1016/S0014-827X(02)01217-X

Zhang, H.-C., Boñaga, L. V. R., Ye, H., Derian, C. K., Damiano, B. P., & Maryanoff, B. E. (2007). Novel bis(indolyl)maleimide pyridinophanes that are potent, selective inhibitors of glycogen synthase kinase-3. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *17*(10), 2863-2868. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.02.059

Zhang, H.-C., White, K. B., Ye, H., McComsey, D. F., Derian, C. K., Addo, M. F., Andrade-Gordon, P., Eckardt, A. J., Conway, B. R., Westover, L., Xu, J. Z., Look, R., Demarest, K. T., Emanuel, S., & Maryanoff, B. E. (2003). Macrocyclic bisindolylmaleimides as inhibitors of protein kinase C and glycogen synthase kinase-3. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *13*(18), 3049-3053. https://doi.org/10.1016/S0960-894X(03)00644-9

Zhang, H.-C., Ye, H., Conway, B. R., Derian, C. K., Addo, M. F., Kuo, G.-H., Hecker, L. R., Croll, D. R., Li, J., Westover, L., Xu, J. Z., Look, R., Demarest, K. T., Andrade-Gordon, P., Damiano, B. P., & Maryanoff, B. E. (2004). 3-(7-Azaindolyl)-4-arylmaleimides as potent, selective inhibitors of glycogen synthase kinase-3. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *14*(12), 3245-3250. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.03.090

Zhang, K., Xu, X., Zheng, J., Yao, H., Huang, Y., & Lin, A. (2017). Cycloaddition of in Situ Formed Azaoxyallyl Cations with 2-Alkenylindoles: An Approach to Tetrahydro-β-carbolinones. *Organic Letters*, *19*(10), 2596-2599. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.7B00914/SUPPL_FILE/OL7B00914_SI_003.CIF

Zhang, K., Yang, C., Yao, H., & Lin, A. (2016). [3+2]-Cycloaddition Reaction of in Situ Formed Azaoxyallyl Cations with Aldehydes: An Approach to Oxazolidin-4-ones. *Organic Letters*, *18*(18), 4618-4621. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.6B02254/SUPPL_FILE/OL6B02254_SI_001.PDF

Zhang, M. Z., Chen, Q., & Yang, G. F. (2015). A review on recent developments of indole-containing antiviral agents. *European journal of medicinal chemistry*, *89*, 421-441. https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2014.10.065

Zhang, M. Z., Mulholland, N., Beattie, D., Irwin, D., Gu, Y. C., Chen, Q., Yang, G. F., & Clough, J. (2013). Synthesis and antifungal activity of 3-(1,3,4-oxadiazol-5-yl)-indoles and 3-(1,3,4-oxadiazol-5-yl)methyl-indoles. *European journal of medicinal chemistry*, *63*, 22-32. https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2013.01.038

Zhang, Y., Huo, F., Yin, C., Yue, Y., Hao, J., Chao, J., & Liu, D. (2015). An off–on fluorescent probe based on maleimide for detecting thiols and its application for bioimaging. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *207*, 59-65. https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.09.091

Zhang, Y., Ma, H., Liu, X., Cui, X., Wang, S., Zhan, Z., Pu, J., & Huang, G. (2018). The synthesis of multi-substituted pyrrolidinones via a direct [3 + 2] cycloaddition of azaoxyallyl cations with aromatic ethylenes. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *16*(24), 4439-4442. https://doi.org/10.1039/C8OB00899J

Zhang, Z., Wang, Q., Zhang, H., Chen, Y., Wang, X., Ge, Z., & Li, R. (2019). [3+3]-Cycloaddition Reactions of Aza-oxyallyl Cations with Oximes: Synthesis of 2-N-Unsubstituted 1,2,4-Oxadiazinan-5-ones. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, *39*(7), 1970. https://doi.org/10.6023/cjoc201901030

Zhao, H. W., Zhao, Y. di, Liu, Y. Y., Du, J., Pang, H. L., Chen, X. Q., Song, X. Q., & Feng, N. N. (2017). Base-Promoted [3+2] Cycloaddition of In Situ Formed Azaoxyallyl Cations with Isothiocyanides. *European Journal of Organic Chemistry*, *2017*(24), 3466-3472. https://doi.org/10.1002/EJOC.201700278

Zhao, S.-Y., Shao, Z.-Y., Qin, W.-M., & Zhang, D.-Q. (2008). Recent progress in indolylmaleimide derivatives as protein kinase C inhibitors. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, *28*(10), 1676-1684.

Zhou, J., Zhang, H., Chen, X. L., Qu, Y. L., Zhu, Q., Feng, C. G., & Chen, Y. J. (2019). Regio- and Diastereoselective Access to 4-Imidazolidinones via an Aza-Mannich Initiated Cyclization of Sulfamate-Derived Cyclic Imines with α-Halo Hydroxamates. *Journal of Organic Chemistry*, *84*(14), 9179-9187. https://doi.org/10.1021/ACS.JOC.9B01128/SUPPL_FILE/JO9B01128_SI_003.PDF

Zhou, S. J., Cheng, X., Hu, C. X., Xu, G. Y., Xiao, W. J., & Xuan, J. (2021). Transition-metal-free synthesis of 1,4-benzoxazepines via [4+3]-cycloaddition of para-quinone methides with azaoxyallyl cations. *Science China Chemistry*, *64*(1), 61-65. https://doi.org/10.1007/S11426-020-9832-9/METRICS

Zhou, S.-J., Cheng, X., & Xuan, J. (2019). [3+2]-Cycloaddition of Azaoxyallyl Cations with Cyclopropenones and Cyclopropenethiones: Synthesis of Spirocyclic Oxazole and Thiazole Derivatives. *Asian Journal of Organic Chemistry*, *8*(8), 1376-1379. https://doi.org/10.1002/AJOC.201900272

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Eyilcim, O., Gunkara, O. T., Gunay, F. Ng, Y. Y., Ulucan, O., & Erden, I. (2023, Mart). Design and Synthesis of 1,2,3,4-Tetrazines as New Anti-leukemia Cancer Agents, *4th Anatolian Conference on Organic Chemistry* (ACOC4) (58 ss.), Antalya, Türkiye.

2. Eyilcim, O., Gunay, F., Ng, Y. Y., Ulucan, O., Turgut, Z., & Gunkara, O. T. (2022, Aralık). Bioactive Drug Candidate New Molecule Synthesis. *8th Internatıonal Bau Drug Desıgn Congress* (57-58 ss.), İstanbul, Türkiye.

Makaleler

1. Eyilcim, O., Gunay, F., Gunkara, O. T., Ng, Y. Y., Ulucan, O., & Erden, I. (2023). Design and synthesis of novel 1,2,3,4-tetrazines as new anti-leukemia cancer agents. *Chemical Biology & Drug Design*, *102*(5), 1186-1201. https://doi.org/10.1111/cbdd.14328

Projeler

1. Synthesis and Activity Studies of New Heterocyclic Molecules That May Be Anti-Cancer Agents or Gsk 3β Inhibitors, TÜBITAK 1001 (proje numarası: 117Z307), 383000 TL, Bursiyer: Öznur Eyilcim, Bursiyer: Elif Başak Ersoy, Araştırmacı: Yuk Yin NG, Yürütücü: Ömer Tahir Günkara. 01.10.2017-01.11.2019 (Ulusal).

2. GSK3 İnhibitörü Olabilecek Yeni Maleimid Türevlerinin Sentezlenmesi, Docking Çalışmaları ve MTT test yöntemi ile Antikanser Aktivitelerinin Belirlenmesi, YTÜ BAP, Genel Araştırma Projesi (proje numarası: FBA-2022-4683), 74243,75 TL, Araştırmacı: Öznur Eyilcim, Araştırmacı: Ömer Tahir Günkara, Araştırmacı: Yuk Yin NG, Araştırmacı: Özlem Ulucan Açan, Yürütücü: Zuhal Turgut. 12.01.2022- 24.08.2023 (Ulusal)

Ödüller

1. 2014 Yılı Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Bölümü Lisans Birinciliği