



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



BİYOLOJİK ETKİLİ YENİ BAZI KİNAZOLİN BİLEŞİKLERİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Işıl YÜCEİLYAS

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Oya BOZDAĞ DÜNDAR

ANKARA

2020

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİK ETKİLİ YENİ BAZI KİNAZOLİN
BİLEŞİKLERİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

Işlay YÜCEİLYAS

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Oya BOZDAĞ DÜNDAR

Bu Yüksek Lisans Tez çalışması TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje No: 217S489).

ANKARA

2020

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum **“Biyolojik Etkili Yeni Bazı Kinazolin Bileşikleri Üzerinde Çalışmalar”** başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Işıl YÜCEİLYAS

Tarih:

İmza:

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	vii
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Epigenetik	3
1.2. Bromodomainler	7
1.3. Kinazolinonlar	12
1.4. Flavonoidler	14
1.4.1. Flavonoidlerin kimyasal yapısı	15
1.4.2. Flavonoidlerin Sınıflandırılması	16
1.4.3. Doğada Bulunan Flavonoidler	18
1.4.4. Flavonoidlerin Biyolojik Etkileri	19
2. GEREÇ VE YÖNTEM	25
2.1. Gereç	25
2.1.1. Sentez Edilen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Uygulanan Yöntemler	25
2.1.1.3. Spektral Analizler	26
2.1.2. Sentez, Saflaştırma ve Analiz işlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
2.1.3. Yeni bazı kinazolin bileşikleri üzerinde docking çalışmaları	27
2.2. Yöntem	28
2.2.1. Tasarlanan Bileşiklerin Sentezi	28
2.2.2. Yeni bazı kinazolin bileşikleri üzerinde docking çalışmaları	33
3. BULGULAR	34
3.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi	34
3.1.1. 6-amino-3-metil -3,4-dihidrokinazolin-2(1H)-on sentezi	34
3.1.2. Flavon sülfonil klorürlerin sentezi	35
3.2. Dihidrokinazolinil sülfonil flavon sonuç ürünlerinin sentezi	44

3.3. Yeni bazı kinazolin bileşikleri üzerinde docking çalışmaları	59
3.4.Biyolojik aktivite deneyleri	60
3.4.1.Sitotoksosite Tayini ve Sonuçları	60
3.4.2. Bromodomain 4 inhibisyonu ve analiz sonuçları	74
4. TARTIŞMA	75
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	77
ÖZET	79
SUMMARY	80
KAYNAKLAR	82
ÖZGEÇMİŞ	96



ÖNSÖZ

Kanser, hücrelerin aşırı ve kontrolsüz bölünmesi ile ortaya çıkan, diğer dokuları istila edebilen hastalıklar grubudur. Kanser önemli bir sağlık sorunudur. Bu çalışmada; bugüne kadar yaptığımız çalışmalar ve mevcut bilgi ve deneyimlerimizle, son zamanlarda yapılan çalışmalarla antikanser farmakofor grup olabilecek, flavon ile bromodomain inhibitör özelliği gözlemlenen kinazolin halkası, antikanser özelliği artırıcı yönü olan sülfonamid köprüsü ile birleştirilmesi sonucunda, bromodomain (BRD) proteinlerine karşı özgün inhibitör aktiviteye sahip, yeni bazı kinazolinil flavon bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilerek, bu bileşiklerin çeşitli kanser hücrelerinde antikanser ve BRD inhibitör aktivitelerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca kişiliği, deneyimi, bilgi birikimi ile daima yanımda olan ve bu çalışmanın ortaya çıkarılmasında büyük emeği geçen tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Oya BOZDAĞ DÜNDAR' a,

Bu günlere ulaşmamı sağlayan, maddi manevi her türlü destekle yanımda olan ve bana hep güvenen canım aileme,

Sonsuz teşekkürler...

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADP	Adenozin difofat
BET	Bromodomain Ekstra Terminal
BRD	Bromodomain
DCM	Diklorometan
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
EGCG	Epigallocatechin-3-gallate
HAT	Histon Asetiltransferaz enzimi
HDAC	Histon Deasetilaz enzimi
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
Mass	Kütle Analizleri
NF _κ B	Nükleer Faktör Kappa B
NF-Y	Nükleer Faktör Y
NIII	Ulusal Sağlık Enstitüleri
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
PDB	Protein Data Bank
PTM	Translasyon sonrası modifikasyon
RNA	Ribonükleik asit
THF	Tetrahidrofuran
UV	Ultraviyole
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
μM	Mikromolar

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. İnsan BET Proteinlerinin yapısı	8
Şekil 1.2. Nükleozom yapısı-bromodomainler	9
Şekil 1.3. Bromodomain (BRD) inhibitörleri	11
Şekil 1.4. Kinazolin türevi bileşikler	13
Şekil 1.5. Flavonoid sınıflarının kimyasal yapıları	15
Şekil 1.6. Flavonoidler	16
Şekil 1.7. Flavonoidlerin alt grupları.	17
Şekil 1.8. Flavonoidlerin yapı-aktivite ilişkileri	20
Şekil 1.9. Antikanser aktiviteye sahip flavonoid örnekleri	22
Şeki 1.10. Sitotoksik/sitostatik etki ve bromodamain inhibitörü olarak tasarlanan kinazolin sülfonamid bileşikleri	24
Şekil 2.1. 6-amino-3-metil-3,4-dihidrokinazolin-2(1 <i>H</i>)-on sentezi	29
Şekil 2.2. Flavon sülfonil klorürlerin sentezi	31
Şekil 2.3. Dihidrokinazolinil sülfonil flavon bileşiklerinin sentezi	32
Şekil 3.1. N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(4-okso-4 <i>H</i> -kromen-2-il)benzensülfonamid (SQZM) bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	46
Şekil 3.2. N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(4-okso-4 <i>H</i> -kromen-2-il)benzensülfonamid (SQZM) bileşiğinin kütle spektrumu	46
Şekil 3.3. 2-Metil-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-5-(4-okso-4 <i>II</i> -kromen-2-il)benzensülfonamid (4MQZM) bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	48
Şekil 3.4. 2-Metil-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-5-(4-okso-4 <i>II</i> -kromen-2-il)benzensülfonamid (4MQZM) bileşiğinin kütle spektrumu	48

Şekil 3.5. N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(5-metoksi-4-okso-4 <i>H</i> -kromen-2-il)benzensülfonamid (5OMQ) bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	50
Şekil 3.6. N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(5-metoksi-4-okso-4 <i>H</i> -kromen-2-il)benzensülfonamid (5OMQ) bileşiğinin kütle spektrumu	50
Şekil 3.7. 3-(6-Metoksi-4-okso-4 <i>II</i> -kromen-2-il)-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinoksalin-6-il)- benzensülfonamid (6QZM) bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	52
Şekil 3.8. 3-(6-Metoksi-4-okso-4 <i>II</i> -kromen-2-il)-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinoksalin-6-il)- benzensülfonamid (6QZM) bileşiğinin kütle spektrumu	52
Şekil 3.9. 3-(6-Kloro-4-okso-4 <i>H</i> -kromen-2-il)-N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)- benzensülfonamid (6CQZM) bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	54
Şekil 3.10. N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(6-klor-4-okso-4 <i>H</i> -kromen-2-il)benzensülfonamid (6CQZM) bileşiğinin kütle spektrumu	54
Şekil 3.11. 2-metil-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-4-(4-okso-4 <i>H</i> -kromen-2-il)benzensülfonamid (4SMQN) bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	56
Şekil 3.12. 2-metil-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-4-(4-okso-4 <i>H</i> -kromen-2-il)benzensülfonamid (4SMQN) bileşiğinin kütle spektrumu	56
Şekil 3.13. 2-Metoksi-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-5-(4-okso-4 <i>H</i> -kromen-2-il)benzensülfonamid (4OQZM) bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	58
Şekil 3.14. 2-Metoksi-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-5-(4-okso-4 <i>H</i> -kromen-2-il)benzensülfonamid (4OQZM) bileşiğinin kütle spektrumu	58
Şekil 3.15. SQZM bileşiğinin BRD4 proteini ile etkileşimi (PDB:4IIBW)	59
Şekil 3.16. 6QZM bileşiğinin BRD4 proteini etkileşimi (PDB:4HBW)	59
Şekil 3.17. SQZM kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	62
Şekil 3.18. 4MQZM kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	62

Şekil 3.19. 5OMQ kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	63
Şekil 3.20. 6QZM kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	63
Şekil 3.21. 4SMQN kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	64
Şekil 3.22. 6CQZM kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	64
Şekil 3.23. 4OQZM kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	65
Şekil 3.24. SQZM kodlu maddenin insan MCF-7 meme karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	66
Şekil 3.25. 4MQZM kodlu maddenin insan MCF-7 meme karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	66
Şekil 3.26. 6QZM kodlu maddenin insan MCF-7 meme karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	67
Şekil 3.27. 4SMQN kodlu maddenin insan MCF-7 meme karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi.	68
Şekil 3.28. 6CQZM kodlu maddenin insan MCF-7 meme karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	68
Şekil 3.29. 4OQZM kodlu maddenin insan MCF-7 meme karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	69
Şekil 3.30. 5OMQ kodlu maddenin insan MCF-7 meme karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi	69
Şekil 3.31. SQZM kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi	70

Şekil 3.32. 4MQZM kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi 70

Şekil 3.33. 5OMQ kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi 71

Şekil 3.34. 6QZM kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi 71

Şekil 3.35. 4SMQN kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi 72

Şekil 3.36. 6CQZM kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi 72

Şekil 3.37. 4OQZM kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi 73

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Flavonoidlerin diyetle yer aldığı besinler 18

Çizelge 3.1. Sentezlenen ‘kinazolin sülfonamid’ türevi bileşiklerin A549 insan akciğer karsinoma, MCF-7 insan meme karsinoma ve K562 insan myeloid lösemi hücre hatlarındaki IC₅₀ konsantrasyonları (μM) 73

Çizelge 3.2. Sentezlenen bileşiklerin ([SQZM] ve [6QZM]) bromodomain 4 inhibitör aktivite sonuçları (IC₅₀ değerleri, μM) 74

1. GİRİŞ

Kanser, trilyonlarca hücreden oluşan insan vücudunun hemen hemen her yerinde başlayabilir. Normal insan hücreleri, yaşlandıkça veya hasar gördüğünde ölürler. Normal hücreler büyüyüp bölünerek ölen hücrelerin yerlerini alırlar. Ancak kanser geliştiğinde, yaşlı veya hasarlı hücreler hayatta kalır veya ihtiyaç duyulmadığı halde kontrolsüz şekilde çoğalır ve büyür (NIH, 2015).

Kanser, dünyada ikinci ölüm nedeni olarak gösterilmektedir. Dünyada 2018 yılında tahmini 9,6 milyon kişinin kanser nedeni ile yaşamını kaybettiği kaydedilmiştir. Her altı ölümden biri kansere bağlıdır. WHO verilerine göre, 2018 yılında dünya genelinde ölüme neden olan en yaygın kanser tipleri;

Akciğer (1.76 milyon ölüm),

Kolorektal (862000 ölüm),

Mide (783000 ölüm),

Karaciğer (782000 ölüm),

Göğüs (627000 ölüm)'tür.

Erkeklerde akciğer, prostat, kolorektal, mide ve karaciğer kanseri görülen en yaygın kanser türleridir. Kadınlarda ise kolorektal, akciğer, servikal ve tiroid kanserleridir (WHO, 2018).

Kansere, kanserojen maddelere maruz kalma, yaşı ve kalıtsal genetik mutasyonlar dahil olmak üzere birçok etken yol açabilir. Karsinogenez sürecini anlamak ve kanser için genetik, çevresel ve davranışsal risk faktörlerini belirlemek önemlidir. Bu bilgi, hastalığı önlemenin ve tedavi etmenin yeni yollarına fırsat sağlayabilir (NIH,2015).

Tarihsel olarak araştırmalar; kanserin genetik temelli, özellikle onkogenlerin aktivasyonu veya tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu üzerine odaklanmıştır. 1990’lardan bu yana yapılan araştırmalar da epigenetik değişikliklerle düzenlenen kalıtsal değişiklikler, kanser türlerinin evrimi için önem kazanmıştır (Baylin ve Jones, 2011).

1.1. Epigenetik

Epigenetik terimi ilk olarak 1942’de Conrad H. Waddington tarafından, DNA sekansındaki değişikliklerden kaynaklanmayan, ancak kalıtsal olan, genetik olmayan fenotipik varyasyonları belirtmek için kullanılmıştır (Lin ve ark. 2009).

Epigenetik, yetişkin dönem kalıtımı ya da somatik hücre kalıtımı olarak tanımlanabilir. Hücreler gen ifadesini kontrol etmek için nükleozomları kullanır. Nükleozomlar, globüler histon proteinlerinin DNA ile etrafının çevrelenerek oluşturdukları yapılardır ve kromatini oluştururlar. Kromatin yapısındaki değişiklikler gen ifadesini kontrol eder (Jenuwein ve Allis, 2001). İnsan genomunda, gen transkripsiyonunun aktivasyonu ya da baskılanması, DNA ve histon proteinlerinin oluşturduğu kromatin yapısındaki değişikliklerle yakından ilişkilidir (Sanchez ve ark., 2014).

Epigenetik;

- DNA modifikasyonları,
- histon modifikasyonları,
- histon varyantları,
- kodlamayan RNA’lar ve
- nükleozom yeniden modelleme gibi moleküler seviyelerde kromatin deęişikliklerini içerir (Mai,2014).

Vücuttaki hücrelerin çoğunluğu aynı genoma sahiptir. Hücrelerin kendine özgü işlevini yerine getirebilmesi için her hücrenin ayırt edici özelliklerini morfolojik ve işlevsel olarak düzenlemek, hücrelerin epigenetik sisteminin işlevidir. Bozulmuş epigenetik sistemlerle ortaya çıkan hastalıklar arasında kanserler (Jones ve ark., 2007), diyabet (Villeneuve ve ark., 2010), lupus (Javierre ve ark., 2010), astım (Adcock ve ark., 2005) ve nörolojik hastalıklar bulunmaktadır (Egger ve ark., 2004).

Günümüzde, neoplastik fenotip ile ilişkili epigenetik değişiklikler;

- DNA metilasyonundaki değişiklikler,
- küçük kodlamayan mikroRNA (miRNA)'lar tarafından gen regülasyonu ve
- histon proteinlerinin yapısındaki değişiklikler olarak çalışılmıştır (Biswas ve Rao, 2017).

DNA metilasyonu, ökaryotik hücrelerde gen ifadesini susturmak için yaygın görülür (Robertson, 2005). Kanserde DNA'nın hipometilasyonu, diğer bölgelerde sitozin-guanin dinükleotit promotör hipermetilasyonu meydana gelir. Anormal hipometilasyon, onkojenler gibi bazı genlerin ifadesine neden olurken hipermetilasyon tümör baskılayıcı genlerin inhibisyonuna yol açar (Feinberg ve ark., 1983; Esteller ve ark., 2001; Eden ve ark., 2003).

miRNA'lar, kodlayıcı olmayan RNA'lar (non coding RNA (ncRNA)) sınıfıdır. Hedef mRNA'nın 3'UTR bölgesine bağlanarak, mRNA ve protein üretiminin translasyonunu önlemektir. miRNA'lar hücrelerin işlevlerini düzenlemede kritik roller oynadığından yapılarında herhangi bir bozulma, hastalıklara neden olabilir (Nam ve ark.,2009). Örneğin; kronik lenfositik lösemi (chronic lymphocytic leukemia (CLL)), miRNA bozuklukları ile ilişkili bir hastalıktır. Onkojenik olan bu miRNA'lara oncomiR'ler de denir (Musilova ve ark., 2015).

Histonların yapısındaki değişiklikler, öncelikle translasyon sonrası modifikasyonlar (post translation modification (PTM)) ve bu modifikasyonları kontrol eden epigenetik mekanizmalar ile çok sayıda kanserin oluşumu bağlantılıdır (Dawson ve Kouzarides, 2012).

PTM'ler ile ilgili çalışmaların büyük bir kısmı **asetilasyon, metilasyon ve fosforilasyon** üzerine odaklanmıştır. Bunlara ek olarak **sitrüllinasyon, ubikutinasyon, ADP-ribozilasyon, deaminasyon, formilasyon, O-GlcNAzilasyon, propiyonilasyon, bütirilasyon, krotonilasyon ve prolin izomerizasyonu** bulunur (Chen ve ark., 2007; Martin ve Zhang 2007; Ruthenburg ve ark., 2007; Tan ve ark., 2011; Herranz ve ark., 2012; Tweedie-Cullen ve ark., 2012).

Histon proteinlerinin N-terminal kuyrukları oldukça esnektir ve çok sayıda hücresel sistem tarafından modifiye edilebilen lizin ve arjinin kalıntılarından zengindir (Ramakrishnan,1997).

DNA'nın ve histon kuyruklarının PTM'leri, DNA'nın transkripsiyonel mekanizmalara erişebilmesi için çok önemlidir. Çünkü PTM'ler kromatin yapısının açık hali –genellikle gen transkripsiyonu için elverişli hali- ve yoğunlaşmış hali –gen baskılanmasını teşvik eden hali- olarak değişiminc neden olur (Tsukiyama ve Wu, 1997).

Kanserde, histon asetilasyon kalıplarının düzenlenmemesi genellikle kanserojenlerin anormal şekilde ifadesine yol açarak proliferasyon ve tümörjenez neden olur. Lizin asetilasyonu geri dönüşümlü bir PTM'dir. Histonlardaki lizin asetilasyonunu düzenleyen enzimler (Histon asetiltransferaz, Histon deasetilaz (histon deacetylase (HDAC)'lar gibi), kanser tedavisinde hedef yolak olarak ilgi çekicidir (Bolden ve ark., 2006; Garber, 2007; Xu ve ark., 2007; Kazantsev ve Thompson, 2008; Thurn ve ark., 2011; Wagner ve Payne, 2013).

1.2. Bromodomainler

Bromodomain (BRD)'ler, kromatin yeniden modelleme ve transkripsiyonel düzenlemede yer alan histon asetilasyonunun epigenetik okuyucularıdır (Ferri ve ark., 2016), asetilenmiş lizin kalıntılarını özel olarak tanır (Tamkun ve ark., 1992).

BRD'ler asetillenmiş lizine bağlanan domainler olarak fonksiyon verirler ve lizin asetilasyonunu sağlayan histon asetil transferaz (HAT)'ların tamamında, kromatinle birleşmiş proteinlerde bulunurlar (Sanchez ve ark., 2014).

BRD'ler, kromozomal yüzeylere spesifik transkripsiyonal HAT'lara bağlanarak histon asetilasyonuna katılabilirler (Barbieri ve ark. 2013). Bu nedenle BRD'ler, lizin asetilasyonu ile enzim aktivitelerini, protein bütünlüğünü, protein-protein etkileşimleri (PPE)' ni değiştirirler, transkripsiyonal aktivasyon ve gen transkripsiyonunun epigenetik regülasyonu gibi yaygın hücresel olayların mekanizmalarında etkin rol oynarlar (Jenuwein ve Allis, 2001; Zhang ve ark., 2012; Filippakopoulos ve Knapp, 2014; Brand ve ark., 2015).

Gen transkripsiyonunun epigenetik deregülasyonu, tümörce neden olan onkojenlerin aşırı ifadesine ve proenflamatuvar sitokinlerin aktivasyonuna neden olan kanser ve enflamatuvar hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların ilerlemesinde rol oynar (Chen ve ark., 2015).

Bromodomainler ilk kez 1992'de *Drosophila melanogaster* tarafından oluşturulan *brhma* geninde tanımlanmıştır (Haynes ve ark., 1992; Tamkun ve ark., 1992). İnsan genomunda başlıca 8 aileden (Grup I-VIII) oluşan, 46 farklı proteinde 61 adet BRD saptanmıştır (Filippakopoulos ve ark., 2012).

En çok üzerinde araştırma yapılan 2. ailenin alt üyesi olan 4 adet bromodomain ekstra terminal (BET) proteini içerir;

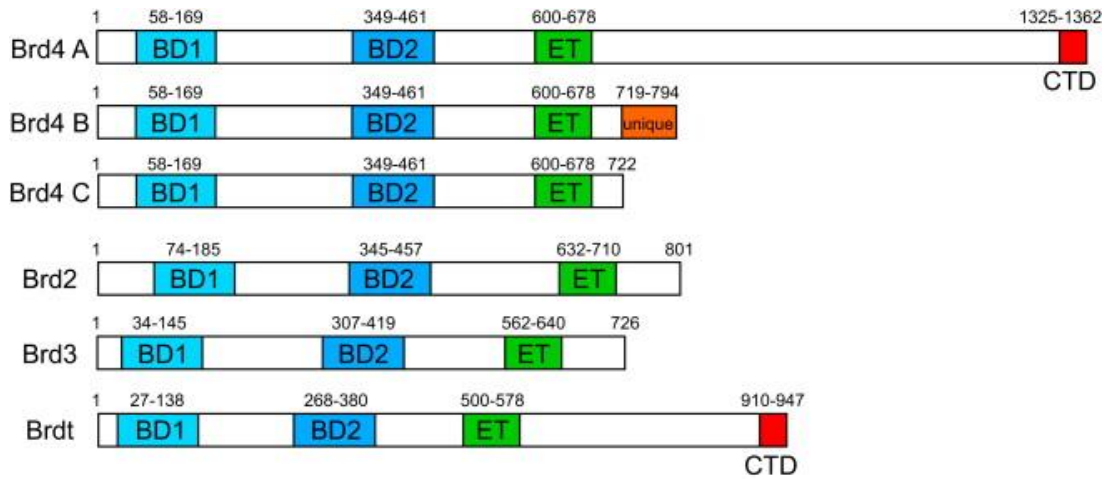
1-BRD2,

2-BRD3,

3-BRD4 ve

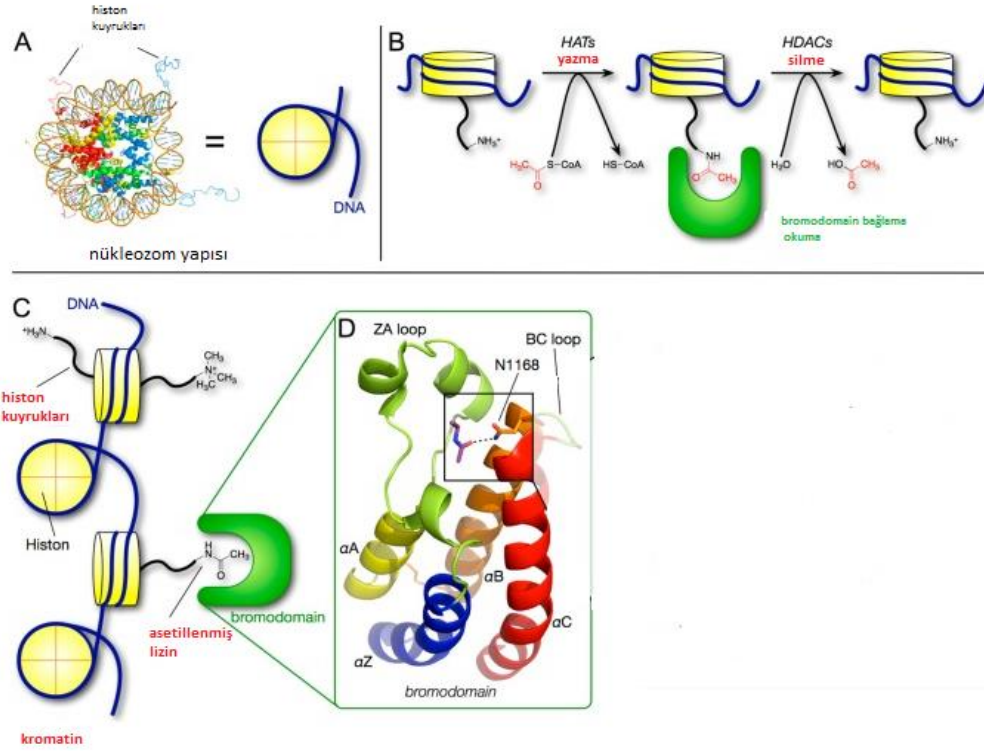
4-BRDT (Shi ve Vakoc, 2014; Fu ve ark., 2015; Padmanabhan ve ark., 2016).

Bu BET proteinlerin herbiri histon kuyrukları üzerinde asetilenmiş lizin kalıntılarını tanımlayan (okuyucu olarak da adlandırılan) iki bromodomain (BD1 ve BD2) ve bir ekstra terminal domain yapısı içerir (Şekil 1.1) (Shi ve Vakoc, 2014; Brand ve ark. 2015).



Şekil 1.1. İnsan BET Proteinlerinin yapısı. BRD4'ün 3 izoformu bulunmaktadır (BRD4 A, B, C). ET, ekstraterminal domain. CTD, C-terminal domain. BRD4'ün B izoformu C uç noktasına sahiptir ve kondensin II kompleksiyle etkileşir.

BRD yapısı dört sarmaldan (αZ , αA , αB , αC) oluşur (Jung ve ark. 2014; Shi ve Vakoc, 2014). Bu sarmallarda αZ - αA sarmalı arasında oluşan ZA bölgesinde ve αB - αC sarmalı arasında oluşan BC bölgesinde asetil lizin tanıyan hidroforbik substrat bağlama cepleri yer alır (Şekil 1.2) (Jung ve ark. 2014).



Şekil 1.2. Nükleozom yapısı-bromodomainler: (A) DNA'nın paketlendiği histonlar. Histon H2A, sarı; histon H2B, kırmızı; histon H3, mavi; ve histon H4, yeşil (PDB kod: 1KX5). (B) Histon asetil-transferaz (HAT)'lar histon lizinine asetil grubu ilave eder ve "yazıcı-writers" olarak adlandırılır; bromodomainler, asetillenmiş lizine bağlanırlar, lizin asetillenmesini "okuma" işlemi yaparlar, ve histone deasetilazlar (HDACs), "silici-erasers" dir, asetil grubunu kaldırır. (C) Bromodomainler, KAc-tanıyan domain, asetillenmiş lizinin "readers-okuyucu"ları olarak adlandırılırlar. (D) Bromodomainler, karakteristik αZ , αA , αB ve αC sarmalları.

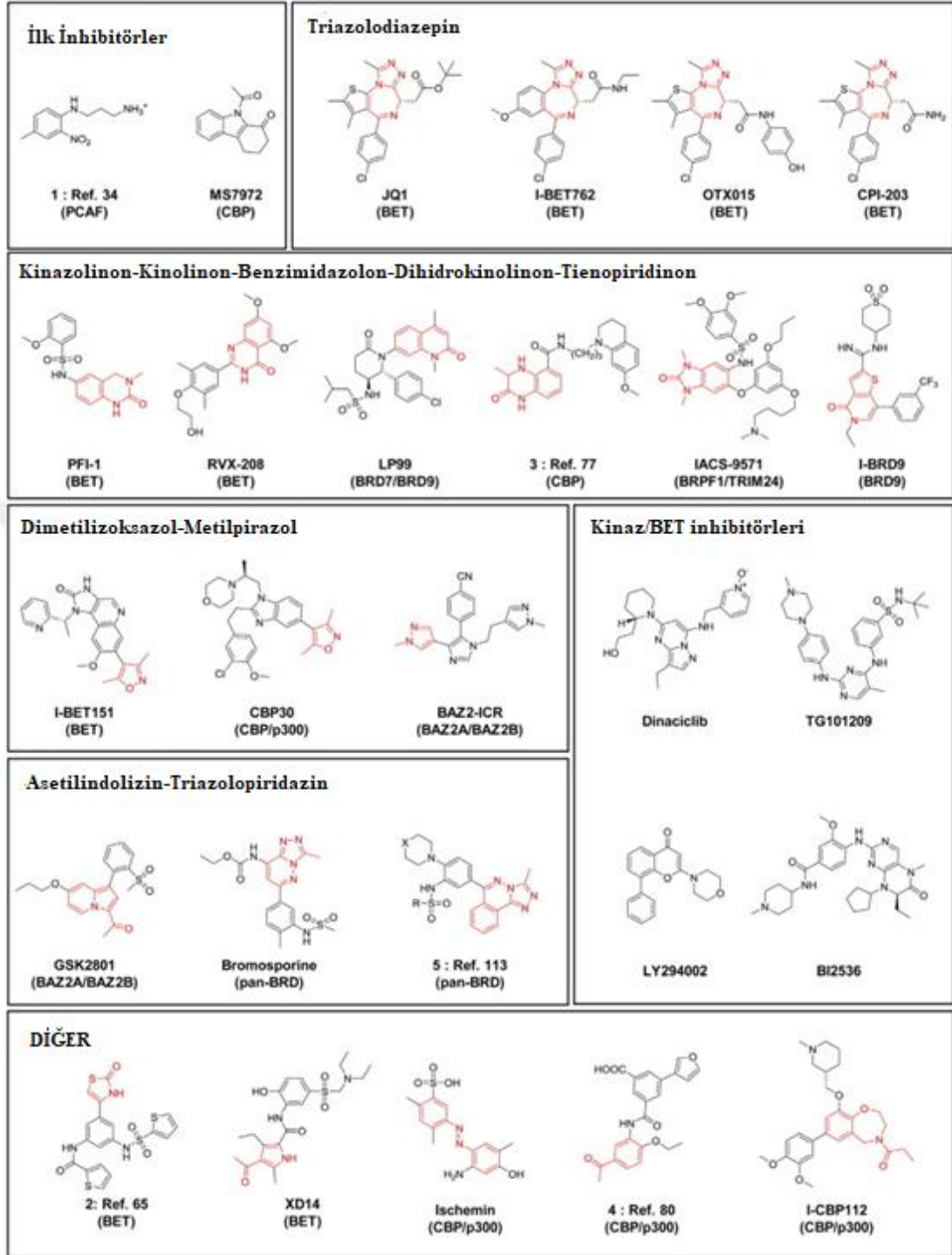
İnsan hücrelerinde çalışılan ilk BET proteini BRD2'dir. Asetillenmiş histonu bağlayarak, RNA polimeraz II ile transkripsiyonun regülasyonunda rol oynar (Shi ve Vakoc, 2014). BRD2'nin aşırı ifade edilmesiyle, B-hücreli lenfoma ve lösemiye yol açabileceği belirtilmiştir (Belkina ve ark. 2014).

BRD3, proliferatif, olgunlaşmamış durumla ilişkili genleri bastırırken bilinen tüm eritroide özgü genleri uyaran transkripsiyon faktörü (GATA1) ile doğrudan etkileşim sonucu eritropoetinde rol oynar (Gamsjaeger ve ark., 2011; Lamonica ve ark., 2011). BRD3 üzerinde daha az çalışılmıştır.

BRDT sadece testislerde ifade edilmektedir ve spermatogenez sırasında gen ifadesini sağlar, bu nedenle erkek kontracepsiyonu için hedef olarak önerilmektedir (Matzuk ve ark. 2012).

BRD4, transkripsiyon uzaması için kritik öneme sahiptir. BRD4'ün gen ifade seviyelerindeki değişiklikler ve diğer nükleer proteinlerle füzyon proteinleri oluşturma kabiliyeti, BRD4'ün kanser ilerlemesindeki hayati rolünü gösterir. Bu nedenle BET inhibitörleri (BETi) özellikle de BRD4, kanser tedavisinde ilgi çekici olmuştur (Hewings ve ark., 2015; Ramadoss ve Mahadevan, 2018).

BET inhibisyonuna dayalı, asetil lizin-mimetik ve BET BRD proteinlerini seçici olarak inhibe eden küçük molekül arayışı kapsamında yapılan çalışmalarla I-BET762, I-BET-151 ve JQ1 (Şekil 1.2.3) gibi güçlü BETi'ler geliştirilmiştir (Zeng ve Zhou, 2002; Vidler ve ark., 2012; Shi ve Vakoc, 2014).



Şekil 1.3. Bromodomain (BRD) inhibitörleri. Moleküllerin asetil-lizin-mimetik kısmı kırmızı renkle vurgulanmıştır. Parantez içinde hedef BRD'ler gösterilmiştir (Ferri ve ark., 2016).

BRD inhibitörlerinin kimyasal yapısı temel olarak, **triazolo-** ve **izoksazolodiazepinler**, **arilizoksazoller**, **kinazolinonlar** ve **kinolinonlar** gibi hidrojen bağı alıcıları taşıyan aromatik iskeletler içerir (Ferri ve ark., 2016).

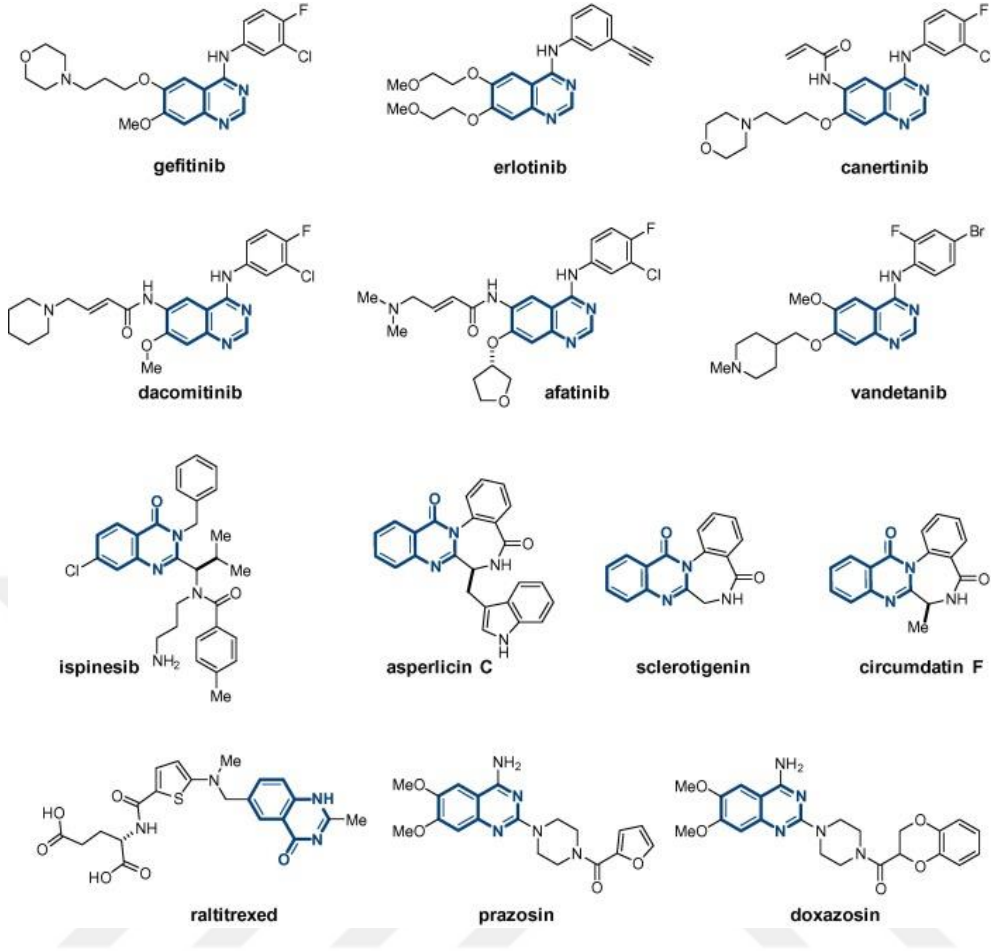
BET inhibitörlerinin etkinliği, prostat, meme, kolon, bağırsak, pankreas, karaciğer ve beyin tümörleri de dahil olmak üzere sayısız tümör modelinde gösterilmiştir (Sahai ve ark., 2016). Kanser hücre dizilimindeki çalışmalar, bu farklı tümörlerin belirli bir alt grubunun BET inhibitörlerine olağanüstü hassasiyet taşıdığını göstermektedir (Rathert ve ark., 2015). BETi'ye dayalı çalışmalar farklı malignitelerde yaygın olarak devam etmektedir (Xu ve Vakoc, 2017).

1.3. Kinazolinonlar

Kinazolinonlar, bitkilerde ve mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunan azot içeren heterosiklik bileşiklerdir (Zhang ve ark., 2016).

Kinazolinon bileşikleri doğada birçok bitkide (*Polygonum tinctorium* Lour., *Strobilanthes cusia*, *Isatistinctoria* ve diğer mavi boya üreten bitkilerde) ve mikroorganizmada (*Fusarium lateritium* nees, deniz bakterisi *Bacillus cereus*, deniz tortusundan türetilen mantar *Penicillium paneum*) bulunmaktadır (He ve ark., 2017).

Yapılan çalışmalarda kinazolinon türevi bileşiklerin antibakteriyel, antienflamatuvar, antikanser (örn. Gefitinib, afatinib), antiromatizmal, antikonvülsan, antifungal gibi aktivitelere sahip oldukları gözlemlenmiştir (Ohta ve ark., 1996; Bedi ve ark., 2004; Chandrika ve ark., 2008; Mohamed ve ark., 2010; Qazi ve ark., 2015). Yapılan çalışmalarla elde edilen etkili çeşitli kinazolin türevleri Şekil 1.4 (Khan ve ark., 2016)'de verilmiştir.



Şekil 1.4. Kinazolin türevi bileşikler

Kinazolinon türevi bileşikler, antikanser aktivitelerini,

- tirozin kinaz,
- dihidrofolat redüktaz,
- folat timidilat sentaz,
- siklik GMP fosfodiesteraz ve

-DNA tamir enzimleri gibi çeşitli enzimler ile etkileşerek ilgili yolak üzerinden gerçekleştirirler. Bu nedenle kinazolinon yapısı, antikanser ilaçların tasarımında, sentezinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Cao ve ark., 2005).

Sülfonamidler, çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir ve bazıları tedavide önemli, yaygın olarak kullanılan antikanser ajanlardır (Bano ve ark., 2011; Mert ve ark., 2014). Sülfonamidler, G1 fazındaki hücre döngüsünün bozulması, mikrotübül dzeneginin bozulması, transkripsiyonel aktivatör NF-Y'nin fonksiyonel baskılanması ve karbonik anhidraz (carbonic anhydrase (CA)) enziminin inhibisyonu gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla antikanser ajanlar olarak işlev görür (Stawinski ve ark., 2013; Xu ve ark., 2014).

1.4. Flavonoidler

Flavonoid kelimesi, latince açık ve saf sarı anlamına gelen “Flavous”tan türetilmiştir. Anlamına rağmen flavonoidlerin mor, kırmızı, mavi hatta çoğu beyaz renklidir (Rana ve Gulliya, 2019).

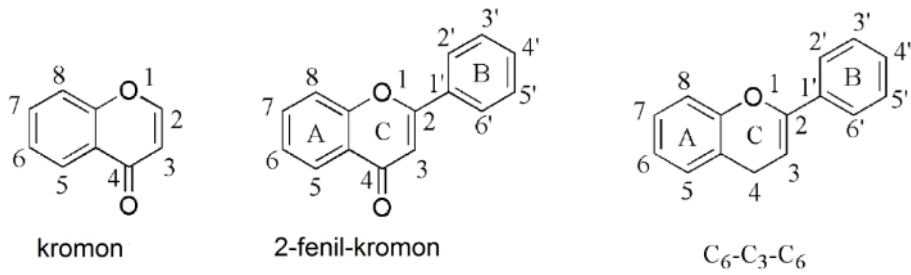
1930’da, *Citrus sinensis* (portakal)’den elde edilen yeni bir vitamin sınıfının üyesi olduğu varsayılan, P vitamini olarak adlandırılan, ancak daha sonra ‘rutin’ adlı bir flavonoid olduğu tespit edilen yeni bir madde elde edilmiştir (Tapaş ve ark., 2008). Kılcal damar geçirgenliği ve kırılgenliğini düşürmede kullanılması flavonoidlere verilen önemi artırmıştır ve sonraki süreçte flavonoidlere olan ilgi artmıştır (Ryzsnyak ve Szent-Greorgy, 1936).

1970’li yıllarda flavonoidlerle yapılan çalışmalar daha da artmış, çeşitli flavonoid bileşikleri izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır (Kittakooop, 2015). Bugüne kadar 9000’den fazla flavonoid bileşiği bildirilmiş (Wang ve ark., 2011) olup günlük alımları 20 mg ile 500 mg arasında değişmekte, özellikle çay, kırmızı şarap, elma, soğan ve domateste bulunmaktadır (Giuliani ve ark., 2014; Rakers ve ark., 2014).

Flavonoidler, bitkilerin çeşitli kısımlarında bulunurlar. Çiçek kısmında bulunan flavonoidler renginden ve aromasından dolayı tozlaşmaya yardımcı olur. Çiçeğin mavi rengi genellikle antosiyaninlerin, yani tozlaşmada yardımcı olan, arılar için çekici madde olan delphinidin varlığından kaynaklanır. Flavonoidler, bitkileri çeşitli biyotik ve abiyotik streslerden korurlar. Flavonoidlerin dona karşı dayanıklılığı, kuraklığa karşı direnci vardır. Dolayısıyla, bitkilerin iklim şartlarına dayanıklılık göstermesinde rol oynarlar (Harborne ve Williams, 2000; Takahashi ve Ohnishi, 2004; Griesbach, 2005; Samanta ve ark., 2011).

1.4.1. Flavonoidlerin kimyasal yapısı

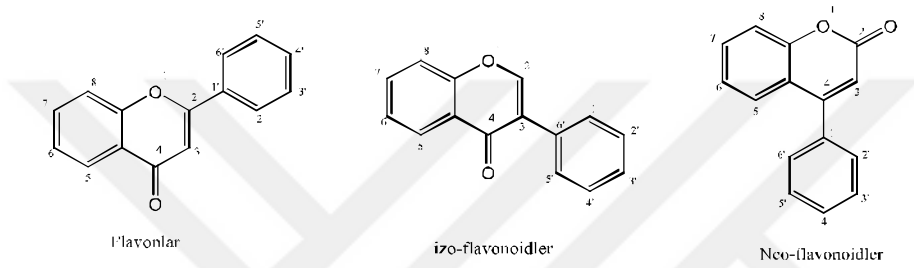
Flavonoidler, yapısal olarak, iki benzen halkasından (A ve B) oluşan, bir heterosiklik 4*H*-piran halkası (C) vasıtasıyla bağlanan, C₆-C₃-C₆ karbon iskeletine (15 karbonlu) sahiptir (Chahar ve ark., 2011; Pancahc ve ark., 2016, Raffa ve ark., 2017, Wang ve ark., 2018) (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Flavonoid sınıflarının kimyasal yapıları.

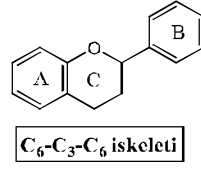
1.4.2. Flavonoidlerin Sınıflandırılması

Flavonoidler, B halkasının bağlı olduğu C halkasının karbonuna, doymamışlık ve oksidasyon derecesine bağlı olarak farklı alt gruplara ayrılırlar. Flavonoidler, B halkası C halkasının 3. pozisyonuna bağlandığında **izoflavonoid**, C halkasının 4. pozisyonuna bağlandığında, **neoflavonoid** olarak adlandırılır (Şekil 1.6) (Alseekh ve ark., 2020).

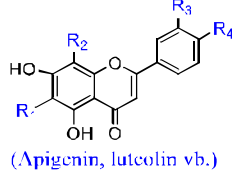


Şekil 1.6. Flavonoidler

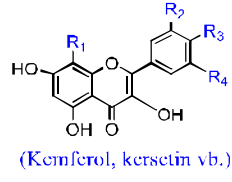
Flavonoidler, B halkası C halkasının 2. pozisyonuna bağlandığında yapısal özelliklerine göre birkaç alt gruba ayrılır (Şekil 1.7) (Alseekh ve ark., 2020):



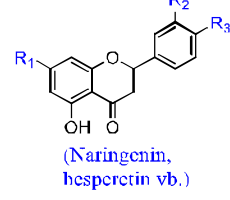
1.Flavonlar



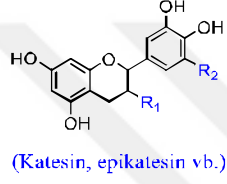
2.Flavonoller



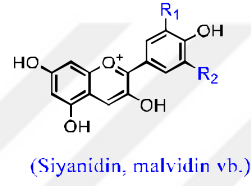
3.Flavanonlar



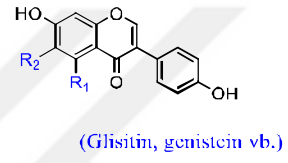
4.Flavanoller



5.Antosiyanidinler



6.izoflavonlar



Şekil 1.7. Flavonoidlerin alt grupları.

1.4.3. Doğada Bulunan Flavonoidler

Flavonoidler doğada -meyve, sebze, tahıl, kabuk, kök, çiçek, çay ve şarap, ... vb- çok yaygın olarak bulunur (Çizelge 1.1.) (Nijeveldt ve ark., 2001; Jaganath ve ark., 2011; Saito ve ark., 2013).

Çizelge 1.1. Flavonoidlerin diyetle yer aldığı besinler

FLAVANONLAR	Portakallar, Limon, Kireç, Greyfurt, Kurutulmuş Kekik
FLAVONLAR	Kereviz, Maydanoz, Enginar, Yeşil biber
İSOFLAVONOİDLER	Soya sütü, Soya fasulyesi, Tofu
FLAVONOLLER	Brokoli, Sarımsak, Soğan, Kuzukulağı, Taze kapari, Taze incir
FLAVANOLLER	Koyu çikolata, Kakao, Böğürtlen, Pişmiş fasulye
ANTOSİYANİNLER	Yabanmersini, Kiraz, Şarap, Nohut, Kırmızı lahana, Sarmaşık
KATEŞİN	Elma, Şeftali, Çay

Flavonoidlerin ana diyet kaynakları, **flavanoller** - kakao ürünleri (1589-3410 mg/100 g) ve yeşil çay (7.93-27.16 mg/100 ml), **antosiyantinler** -böğürtlen (595-1316 mg/100 g), **izoflavonoidler** - soya ürünleri (148-466 mg/100 g), **flavanoller** - ıspanak ve soğan (119-158 mg/100 g), **flavonlar** - siyah zeytin ve enginar (27-58 mg/ 100g), **flavanon** - portakal ve greyfurt sularıdır (38-51 mg/100 ml) (Perez-Jimenez ve ark., 2010; Peluso ve ark., 2017). Çeşitli çalışmalarda farklı ülkelerde tüketilen gıdaların flavonoid içeriğinde farklılık olduğu belirtilmiştir. Genel olarak çay (Hertog ve ark., 1993; Knekt ve ark., 1996; Chun ve ark., 2007; Bai ve ark., 2014; Grosso ve ark., 2014; Taguchi ve ark., 2015; Zamora-Ros ve ark., 2016;) ve meyveler (Chun ve ark., 2007; Perez-Jimenez ve ark., 2011; Tresserra-Rimbau ve ark., 2013; Bai, 2014; Zamora-Ros ve ark., 2016) flavonoidlerin en önemli kaynaklarıdır. ABD, Polonya, Brezilya'daki başlıca gıda kaynağı sırasıyla; bira (Chun ve ark., 2007; Bai, 2014),

kakao ürünleri (Grosso ve ark., 2014) ve fasulyedir (Nascimento-Souza ve ark., 2018). Finlandiya’da (Knekt ve ark., 1996) ve Hollanda’da (Hertog ve ark.,1993); soğan ve elmadır. Akdeniz ülkelerinde zeytin ve zeytinyağıdır (Tresserra-Rimbau ve ark., 2013). İtalya’da enginar ve zeytin (flavonlar), ıspanak ve fasulye (flavonoller) ve kirazlar (antosiyantinler) yanı sıra turunçgiller (flavanonlar) ve kırmızı şarap (flavanoller) gibi çeşitli sebzeler vardır (Godos ve ark., 2017).

1.4.4. Flavonoidlerin Biyolojik Etkileri

Şifalı bitkiler ve bitkisel ilaçların kullanımı günlük yaşamda önemli bir rol oynamaktadır. Reçeteli ilaçların yaklaşık %25-30’u şifalı bitkilerden üretilir ve çeşitli bulaşıcı hastalık türlerinin tedavisinde hayati rol oynar (Prakasha ve ark, 2010).

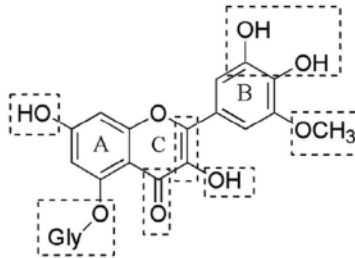
Geleneksel Çin ilaçlarından biri olan ‘Qianggu’ adıyla pazarlanan, *Rhizoma drynariae*’nin kurutulmuş kökünden elde edilen bitkisel ürün, çeşitli flavonoidleri içermektedir (Liu ve ark., 2012a,b). Bu flavonoidlerin, kemik rezorpsiyonunu inhibe edip kemik oluşumunu uyararak **antiosteoporoz** aktiviteye sahip olduğu (Wang ve ark., 2011) görülmüş, insanlarda ve sıçan modelinde denenerek osteoporozun önlenmesi ve tedavisinde önemli bir rolü olduğu kanıtlanmıştır (Song ve ark., 2016).

Yapılan araştırmalarda yeşil çayın (*Camellia sinensis* L.) yapraklarından elde edilen kateşin türü olan epigallokateşin gallat, DNA virüslerinin replikasyon döngüsüne müdahale ederek **antiviral** etki, malvaceae familyasına ait olan *Hibiscus rosa sinensis* bitkisinin koyu sarı çiçeklerinden, yapraklarından izole edilen, quersetin-3-glukozit, quersetin-3,7-diglukozit, siyanidin-3,5-diglukozit, hibiscetin-3-glukozit gibi farklı fitokimyasal bileşikler, **antikanser** ve **antioksidan** aktivite (Rastogi ve Mehrotra, 1991; Ghani, 2003; Sharma ve Sultana, 2004; Rengarajan ve ark., 2020) göstermiştir.

Ayrıca flavonoidlerin **anti-inflamatuar aktivite, kilo kontrolü, kardiyovasküler hastalıklardan korunma, alerji, vasküler kırılgenlik, bakteriyel enfeksiyon, yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi, platelet agregasyon inhibitörü** etkileri de vardır (Raffa ve ark., 2017).

Çok sayıda epidemiyolojik çalışma, flavonoid tüketimiyle çeşitli hastalıkların gelişimi arasında negatif bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Balasuriya ve Rupasinghe, 2012; Shibata ve ark., 2014; Gao ve ark., 2015).

Belirli yapılara sahip flavonoidler farklı kritik yollardaki enzimlerle etkileşime girerek çoklu farmakolojik etki gösterebildiğinden (Krych ve Gebicka, 2013; Giuliani ve ark., 2014; Rakers ve ark., 2014), kimyasal yapıları ve farmakolojik etkileri arasındaki ilişkiler detaylı olarak incelenmiştir (Şekil 1.8) (Wang ve ark., 2018).



Grup	Aktivite	Anti-viral/ Bakteriyel	Anti- kanser	Anti-nöro- patoloji	Kardiyo- protektif	Anti- inflamatuar	Anti- diyabetik	Anti- oksidan
Kateşol		↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
-OH sayısı		↓	↑	↑	-	↑	↑	↓
O-Me		↓	↑	↑	↑	-	↓	↑
C ₂ =C ₃		↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
3-OH		↑	↑	↑	↑	↑	↓	↑
4-karbonil		↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Glikozilasyon		↑	↓	↓	↓	↓	↑	↓

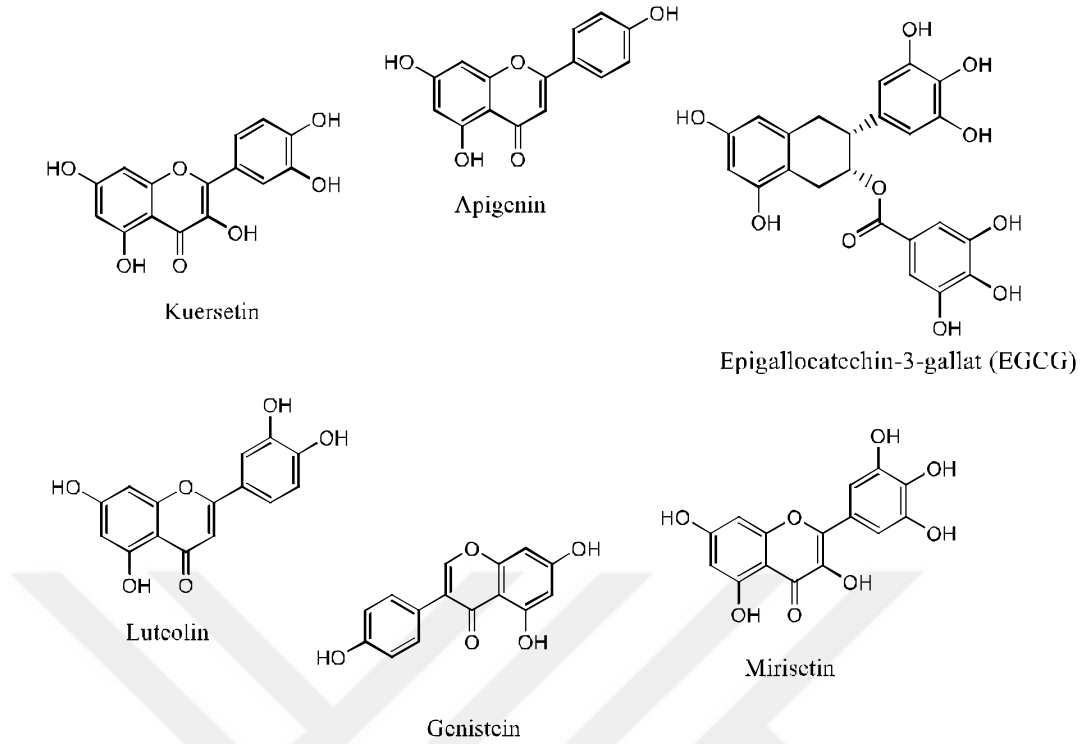
Şekil 1.8. Flavonoidlerin yapı-aktivite ilişkileri

Paklitaksel ve vinka alkaloidleri gibi antikanser ilaçların keşfi ile bitkilerin önemi artmıştır (Newman ve Cragg, 2016; Farooqi ve ark., 2018). Flavonoidler çok güçlü anti-tümör ajanlardır, antioksidan ve anti-proliferatif fonksiyonları nedeniyle hücre apoptozunu indüklemek, hücre farklılaşmasını ve hücre döngüsünü düzenleme yeteneklerine sahiptirler (Choi, 2007; Lee ve ark., 2008; Sghaiera ve ark., 2011).

Flavonoidlerin kanser üzerinde biyolojik etkisi 5 farklı şekilde görülür:

- 1) Anti-tümörjenik aktivite,
- 2) Antioksidan aktivite,
- 3) Tirozin kinaz inhibisyonu,
- 4) Östrojenik/anti-östrojenik aktivite,
- 5) DNA hasarının indüklenmesi ve DNA topoizomeraaz II'nin katalitik aktivitesinin inhibisyonu (Strissel ve ark., 2005).

Flavonoid bileşiklerinin kanser kemoprovensiyonunda ve kemoterapide önemli etkilerinin olması (Şekil 1.9) (Sherbet, 2017), yeni kemoterapötik bileşiklerin geliştirilmesine katkı sağlayabilecektir.



Şekil 1.9. Antikanser aktiviteye sahip flavonoid örnekleri.

Kuersetin'in antioksidan aktivite ve kanser hücrelerinin büyümesi, proliferasyonu ve metastazında rol alan birçok kinazı baskılamasıyla kanseri önleyebileceği belirtilmiştir (Gibellini ve ark., 2011; Baghel ve ark., 2012).

Luteolin'in, hem in vitro hem de in vivo, kanser hücrelerinin gelişimini geciktirdiği veya önlediği, DNA'yı kanserojen uyarandan korumakta ve hücre döngüsü durmasını sağladığı, intrinsik ve ekstrinsik sinyal yolları yoluyla apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Seelinger ve ark., 2008).

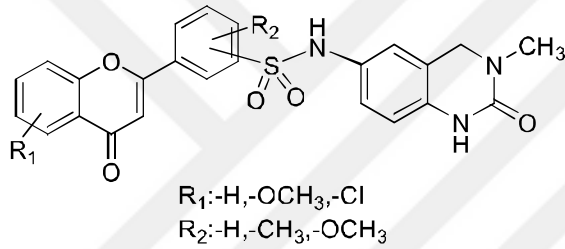
Apigenin'in, farklı kanser hücrelerinde (monositik ve lenfositik lösemi, rahim ağzı kanseri, akciğer kanseri, meme kanseri, kolon kanseri gibi) apoptozu indükleyerek antiproliferatif özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Wu ve ark., 2006; Vargo ve ark., 2006; Li ve ark., 2007; Lee ve ark., 2008).

Genistein'in protein kinaz, topoizomerez 2, ribozomal S6 kinaz aktivitelerini inhibe ettiği, apoptozu modüle ettiği, serbest oksijen radikallerini temizlediği anlaşılmıştır (Barnes, 1995; Barnes ve Greg, 1994). Ayrıca in vitro kanser hücrelerinde (Davis, 1999) ve insan kan lenfositlerinde (Davis, 2001) NF- κ B'nin aktivasyonunu önlediği gözlenmiştir.

Epigallokateşin-3-gallat (EGCG), yeşil çayda bulunan antikanser aktiviteye sahip önemli bir fitokimyasal bileşiktir (Negri ve ark., 2018). Bu bileşimin yalnızca başlangıç evresinde değil aynı zamanda ileri evresinde ve metastaz evresinde de kanserin ilerlemesini durdurduğu in vivo ve in vitro deneylerle gözlenmiştir (Singh ve ark.,2011). Son yapılan çalışmalarda pankreas kanseri hücre gelişimini durdurmak için **gemsitabin** ile birlikte kullanıldığında sinerji oluşturduğu gösterilmiştir (Wei ve ark., 2019; Wei, Penso ve ark., 2019).

Yapılan çalışmalardan yola çıkılarak flavonoidlerin; potansiyel, ümit verici antikanser bileşikler olabileceği önerilebilir.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, antikanser ilaç geliştirme kapsamında üzerinde çalışılan bromodomain inhibitörü ‘kinazolin sülfonamid’ grubu bileşiklerin yapısını esas alarak, binlerce yıldır terapötik özelliği nedeniyle halk arasında yaygın olarak kullanılan bitkilerin etkinliğinden sorumlu bileşiklerin ana yapısını oluşturan flavon halkasını, sülfonil grubu üzerinden kinazolin yapısı ile birleştirerek etkin bileşik geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu şekilde oluşturulacak kinazolinil flavon bileşikleri (Şekil 1.10), in vitro koşullarda, farklı kanser hücre hatlarında (**A549**, **MCF-7**, **K562**) sitotoksik/sitostatik etkileri bakımından test edilecektir. Sonraki aşamada ise antikanser aktivite mekanizması için bromodomain inhibisyon potansiyelleri aydınlatılacaktır.



Şekil 1.10. Sitotoksik sitostatik etki ve bromodomain inhibitörü olarak tasarlanan kinazolinil flavon bileşikleri

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Sentez Edilen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Uygulanan Yöntemler

2.1.1.1. Kromatografik Analizler

Sentez çalışmaları sırasında reaksiyonlardaki gelişmeyi izlemek, elde edilen bileşiklerin saflık kontrolünü yapmak ve Rf değerlerini belirlemek amacıyla ince tabaka kromatografisi (ITK)'nden yararlanılmıştır. Adsorban olarak Kiesclgel-60 GF254 (Merck) kaplı alüminyum plaklar kullanılmış ve lekelerin belirlenmesi için 254 nm dalga boyundaki UV ışığından (Camag UV Lambası) yararlanılmıştır.

Elde edilen ürünleri saflaştırmak için gerektiğinde kolon kromatografisi yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla sabit faz olarak Silicagel 60, 0,040-0,063 mm (230-400 mesh ASTM, Merck) hareketli faz olarak ise İTK için belirlenen solvan sistemi kullanılmıştır.

İTK ve kolon kromatografisinde kullanılan solvan sistemleri:

Solvan A: kloroform:metanol:amonyak (10:1:0,5)

Solvan B: kloroform:etilasetat:metanol (20:3:1)

2.1.1.2. Erime Noktası Tayinleri

Sentezlenen bileşiklerin erime noktaları Büchi Melting Point B-540 cihazında, kapiller yöntemle tayin edilmiştir.

2.1.1.3. Elementel Analizler¹

Elementel analizler, Leco CHNS 932 Analyzer cihazı ile yapılmıştır.

2.1.1.3. Spektral Analizler²

2.1.1.3.1. Nükleer Manyetik Rezonans Analizleri (¹H-NMR Spektrumları)

¹H-NMR Spektrumları, Varian Mercury-400 / 500 FT-NMR ,

2.1.1.3.2. Kütle Analizleri (MASS Spektrumları)

Kütle (Mass) analizleri, Waters ZQ mikromass LC-MS Spektrometresinde, Elektrospray iyonizasyon (ESI) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

¹ Ankara Univ.Ecz.Fak.Merkez Laboratuvarında yapılmıştır. Doç.Dr.Mehmet ALP'e teşekkür ederiz.

² Tüm spektral analizler Ankara Univ.Ecz.Fak.Merkez Laboratuvarında yapılmıştır. Prof. Dr. A.Hakan GÖKER'e teşekkür ederiz.

2.1.2. Sentez, Saflaştırma ve Analiz işlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler

3-metil-3,4-dihidrokinazolin-2(1*H*)-on, o-Hidroksi asetofenon, 2-hidroksi-6-metoksi asetofenon, 2-hidroksi-5-metoksi asetofenon, 2-hidroksi-5-kloro asetofenon, benzoil klorür, m/p-toluil klorür, piridin, potasyum nitrat, susuz sodyum sülfat, sodyum karbonat, sodyum bikarbonat, potasyum hidroksit, sülfürik asit, klorosülfonik asit, kloroform, etanol, metanol, hekzan, palladyum karbon (**Aldrich**), amonyak, etil asetat, diklorometan (DCM), trietilamin, tetrahidrofuran, dimetil formamid, sodyum nitrat (**Merck**).

2.1.3. Yeni bazı kinazolin bileşikleri üzerinde docking çalışmaları

Başlangıçta, ligand hazırlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin 2D yapıları ChemDraw Ultra 8.0'da çizilmiştir. Bileşiklerin optimizasyonu için avogadro yazılımı kullanılmış, bu yazılımda Molecular Mechanics Force Field (MMFF) ve semi-empirik metodları kullanılmıştır. Yük ve torsiyon özellikleri AutoDockTools 1.5.6 ile eklenmiştir. BRD4 3 boyutlu kristal yapısı (PDB ID: 4HBW) protein data bank'tan alınmıştır. Suları silmek için ve bağlanma için uygun zincir UCSF Chimera ile belirlenmiştir. Makromoleküle polar hidrojenler ve Gasteiger yükleri AutoDockTools 1.5.6 ile eklenmiştir. Grid kutusu AutoDockTools 1.5.6 ile hazırlanmıştır. Hazırlanan ligandlar Autodock Vina ile kenetlenmiştir, etkileşim diyagramları ve bağlanma modları Discovery Studio Visualizer kullanılarak oluşturulmuştur.

2.2. Yöntem

2.2.1. Tasarlanan Bileşiklerin Sentezi

Tasarlanan bileşiklerin sentezi 2 genel basamak altında gerçekleştirilmiştir.

-Başlangıç maddelerinin sentezi (Şema 2.1, Şema 2.2)

-Başlangıç maddelerinden hareketle sonuç bileşiklerinin sentezi (Şema 2.3)

2.2.1.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi

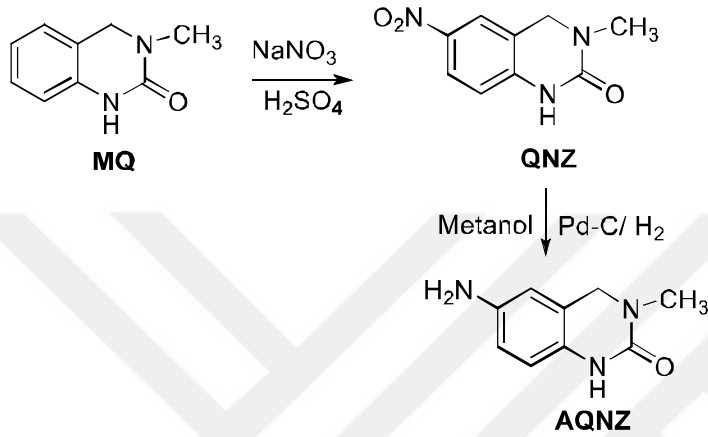
a) 6-amino-3-metil -3,4-dihidrokinazolin-2(1*H*)-on (AQNZ) sentezi (Şema 2.1)

a1) 3-metil-6-nitro-3,4-dihidrokinazolin-2(1*H*)-on (QNZ) sentezi

Buzlu suda soğutulmuş H_2SO_4 içinde çözülmüş 3-metil-3,4-dihidrokinazolin-2(1*H*)-on'a $NaNO_3$ ilavesi sonrası reaksiyon ortamının oda sıcaklığında karıştırılması ile sentez edilmiştir.

a2) 6-amino-3-metil-3,4-dihidrokinazolin-2(1*H*)-on (AQNZ) sentezi

Etanolde çözülen 3-metil-6-nitro-3,4-dihidrokinazolin-2(1*H*)-on'un %10 Pd/C'lu ortamda H₂ gazı altında muamele edilmesi ile elde edilmiştir.



Şekil 2.1. 6-amino-3-metil-3,4-dihidrokinazolin-2(1*H*)-on sentezi

b)Flavon sülfonil klorürlerin sentezi (Şema 2.2)

b1) 2-Benzoil-oksi-asetofenon türevi bileşikler (Ia-g)'in sentezi

Süstitüe benzoil klorür ile süstitüe o-hidroksiasetofenonun, kuru piridin içinde, 100°C'de ısıtılmasıyla **Ia-g** 'nin sentezi gerçekleştirilmiştir.

b2) 2-Hidroksi-dibenzoil metan türevi bileşikler (IIa-g)'in sentezi

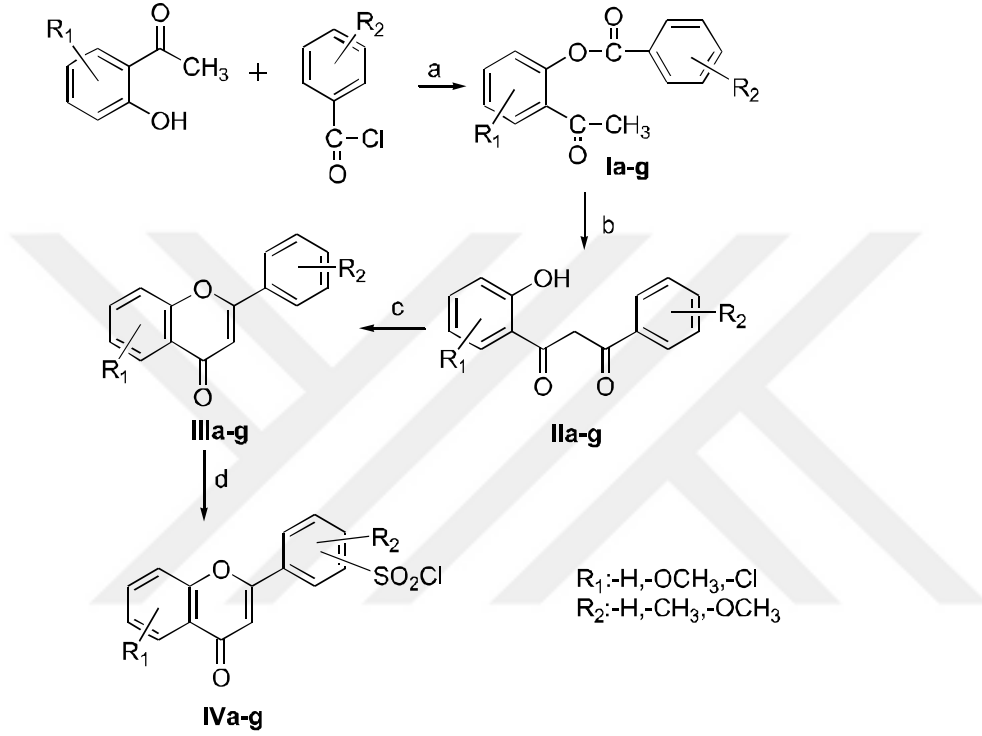
Süstitüe 2-benzoil-oksi-asetofenon (**Ia-g**) 'un piridin ve potasyum hidroksit varlığında baz katalizli intra-moleküler Claisen rearranjmanına dayalı reaksiyonu takiben 6N HCl ile çöktürülmesiyle **IIa-g** elde edilmiştir.

b3) 4H-1-Benzopiran-2-fenil-4-on (FLAVON) bileşikleri (IIIa-g)'nin sentezi

Süstitüe 2-hidroksi-dibenzoil metan (**IIa-g**)'ın konsantre H₂SO₄ içinde oda sıcaklığında reaksiyonu ile **IIIa-g** bileşikleri sentez edilmiştir.

b4) Flavon sülfonil klorür (IVa-g) bileşiklerinin sentezi

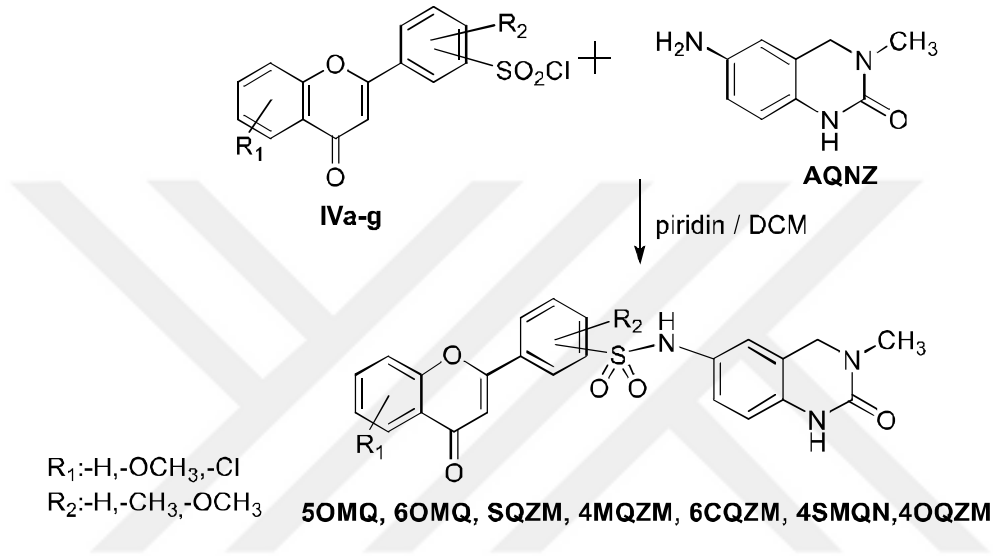
0-5 °C' ye soğutulmuş klorosülfonik asit üzerine flavon (**IIIa-g**) ilave edilip oda sıcaklığında karıştırılmasıyla **IVa-g** bileşikleri sentez edilmiştir.



Şekil 2.2. Flavon sülfonil klorürlerin sentezi: a) Piridin; b) Piridin: KOH; c) H₂SO₄; d) ClSO₃H

2.2.1.2. Dihidrokinazolinil Sülfonil Flavon Sonuç Bileşiklerinin Sentezi

Bileşiklerin sentezi, 6-amino-3-metil-3,4-dihidrokinazolin-2(1*H*)-on (0,7 mmol) (AQNZ)'in, susuz tetrahidrofuran (THF) içinde çözülüp piridin ilavesini takiben flavon sülfonil klorür (IVa-g) (1,01 mmol) ile muamele edilmesi sonucu gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Dihidrokinazolinil sülfonil flavon bileşiklerinin sentezi

2.2.2. Yeni bazı kinazolin bileşikleri üzerinde docking çalışmaları

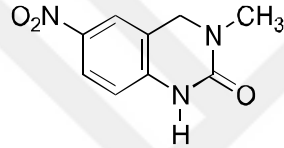
Başlangıçta, ligand hazırlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin 2D yapıları ChemDraw Ultra 8.0'da çizilmiştir. Bileşiklerin optimizasyonu için avogadro yazılımı kullanılmış, bu yazılımda Molecular Mechanics Force Field (MMFF) ve semi-empirik metodları ile minimize edilmiştir ve ligand dosyaları pdb formatına dönüştürülmüştür. Yük ve torsiyon özellikleri AutoDockTools 1.5.6 ile eklenmiştir. BRD4 3 boyutlu kristal yapısı (PDB ID: 4HBW) protein data bank'tan alınmıştır. Suları silmek için ve bağlanma için uygun zincir UCSF Chimera ile belirlenmiştir. Makromoleküle polar hidrojenler ve Gasteiger yükleri eklemek için AutoDockTools 1.5.6 kullanılmıştır. Ligandın proteince bağlanma cebi, protein data bank'taki protein-ligand kompleksinden yola çıkılarak tespit edilerek grid kutusu AutoDockTools 1.5.6 ile hazırlanmıştır. Hazırlanan ligandlar Autodock Vina ile kenetlenmiş, etkileşim diyagramları ve bağlanma modları Discovery Studio Visualizer kullanılarak oluşturulmuştur.

3. BULGULAR

3.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi

3.1.1. 6-Amino-3-metil -3,4-dihidrokinazolin-2(1H)-on sentezi

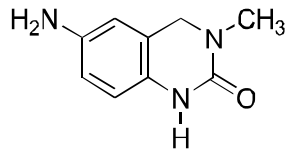
-3-Metil-6-nitro-3,4-dihidrokinazolin-2 (1H) –on (QNZ):



2 ml H₂SO₄ 0-5 °C'ye soğutuldu, üzerine 0,5 g 3,4-dihidro-3-metil-kinazolin-2 (1H) –on (MQ) ilave edilip reaksiyon ortamı, çözünene kadar karıştırıldı. Üzerine 0,21 g sodyum nitrat eklendi. Reaksiyon ortamı oda sıcaklığına getirilerek 5 saat karıştırıldı. Reaksiyon ortamı buz üzerine döküldü, sarı katı çökelek süzülerek alındı. 0,43 g ürün elde edildi. Verim: %86.

MS (ESI+) m/z (%bağıl bolluk) : 207,06 (M+H, %100) (Fish ve ark. 2013).

-3-Metil-6-amino-3,4-dihidrokinazolin-2 (1H) –on (AQNZ):



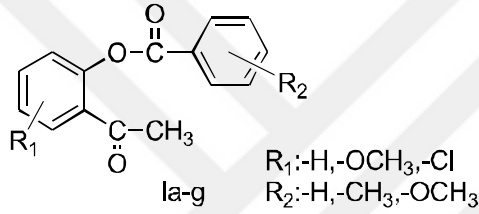
0,21 g 3-Metil-6-nitro-3,4-dihidrokinazolin-2 (1H) –on (QNZ) bileşiği, 25 ml etanolde çözüldü. 16 Saat süre ile 40 atmosfer basınç altında, Pd-C varlığında, hidrojen

gazı ile muamele edildi. Reaksiyon ortamı selitten süzöldü, etanol uçuruldu, 0,168 g katı çökelek elde edildi. Verim: %80.

MS (ESI+) m/z (%bağıllı bolluk) : 178,11 (M+H, %100) (Fish ve ark. 2013).

3.1.2. Flavon sülfonil klorürlerin sentezi

a) 2-Benzoil-oksi-asetofenon türevi bileşikler (Ia-g)' in sentezi:



Süstitüe benzoil klorür (0,071 mol) ile o-hidroksiasetofenon (0,071 mol), kuru piridin (0,055 mol) içinde 100°C 'de 15 dakika ısıtıldı. Reaksiyon ortamı oda sıcaklığına kadar soğutuldu, 40 ml %15'lik HCl ilave edilerek kloroform ile tüketildi. Kloroform fazı, distile su ile 3 kez yıkandı ve susuz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak döner buharlaştırıcıda yoğunlaştırıldı. Kalıntı, etanolden kristallendirildi.

2-Benzoiloksi-asetofenon (Ia):

Beyaz kristalize madde elde edildi. Verim %77,90. E.N.:87°C (E.N.: 87-88°C – (Baker, 1933)).

2-((4'-Metil)-benzoil oks)-asetofenon (Ib):

Beyaz kristalize madde elde edildi. Verim: %66,19. E.N.: 98 °C (E.N.: 98 °C, (Beutner, 2007)).

2-Benzoil oks-6-metoksi asetofenon (Ic):

Beyaz kristalize madde elde edildi. Verim: %74,097. E.N.: 62-64°C.

Kütle Spektrumu (ESI+) m/z (%100)= 271.2 (M+II)

¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃, 400 MHz, δ, ppm): 2.50 (s, 3H, -CH₃), 3.84 (s, 3H, -OCII₃), 6.84 (dd, 2H, 3,5-II), 7.37 (t, 1H, 4-II), 7.46 (t, 2H, 3',5'-II), 7.59 (t, 1H, 4'-II), 8.12 (d, 2H, 2',6'-II).

2-Benzoil oks-5-metoksi asetofenon(IId):

Beyaz kristalize madde elde edildi.. Verim: %74,390. E.N.: 61°C (E.N.: 61-62 °C. (Vyas, 1951)).

2-Benzoil oks-5-kloro asetofenon(Ie):

Beyaz kristalize madde elde edildi. Verim: %73,804. E.N.:54 °C (E.N.: 52,4-53,5 °C. (Roller , 1961)).

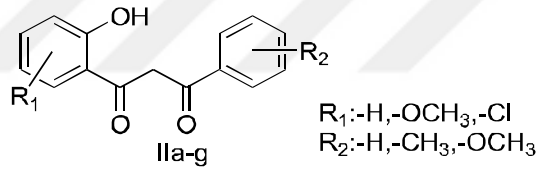
2-((3'-Metil)-benzoil oksi)-asetofenon(If)

Beyaz kriticalize madde elde edildi. Verim: %74,120 E.N.: 62 °C (E.N.: 63 °C. (Mayank, 2007)).

2-((4'-Metoksi)-benzoil oksi)-asetofenon (Ig)

Beyaz kriticalize madde elde edildi. Verim: %77,320. E.N.: 112°C (E.N.: 113-114 °C. (Baker, 1950)).

b) 2-Hidroksi-dibenzoil metan (IIa-g) bileşiklerinin genel sentezi



KOH (0,057 mol) havanda toz edildikten sonra 2-benzoil-oksi-asetofenon türevi bileşik (0,055 mol) ile 60 ml piridin içinde 60°C'de su banyonsunda döner buharlaştırıcıda karıştırılarak 30 dakika ısıtıldı. Süre sonunda reaksiyon ortamına 150 ml distile su ilave edildikten sonra pH= 5 olana kadar 6N HCl ilave edildi, ortam soğutulduktan sonra süzülerek çökelti alındı. Alınan çökelti önce %5'lik HCl ile sonra distile su ile yıkandı ve kurutuldu.

2-Hidroksi-dibenzoil metan (IIa):

Sarı renkli madde elde edildi. Verim: %87,51. E.N.: 121°C (E.N.: 121°C (Baker,1933)).

2-Hidroksi-4'-metil dibenzoil metan (IIb):

Sarı renkli madde elde edildi. Verim: %85,28. E.N.: 87 °C (E.N.: 87 °C, NL 6413996 1965).

2-Hidroksi- 6-metoksi-dibenzoil metan (IIc):

Sarı renkli madde elde edildi. Verim: %85,30. E.N.: 102 °C (102 °C (Rao, 1964)).

2-Hidroksi-5-metoksi- dibenzoil metan (IId):

Sarı renkli madde elde edildi. Verim: %86,41. E.N.: 42 °C (E.N.: 42-44 °C (Sharma, 2009)).

2-Hidroksi -5-kloro- dibenzoil metan (IIc):

Sarı renkli madde elde edildi. Verim: %79,62. E.N.: 109 °C (E.N.: 107-108 °C (Wittig, 1925)).

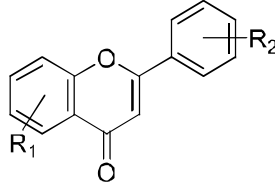
2-Hidroksi-3'-metil dibenzoil metan (IIf):

Sarı renkli madde elde edildi. Verim: %78,83. E.N. : 64 °C (E.N.: 63 °C (Cramer, 1956)).

2-Hidroksi-4'-metoksi dibenzoil metan (IIg):

Sarı renkli madde elde edildi. Verim: %86,28. E.N.: 100 °C (E.N.: 101-102 °C (Schmid, 1954)).

c) 4*H*-1-Benzopiran-2-fenil-4-on (FLAVON (IIIa-g)) sentezi



IIIa-g

R₁: -H, -OCH₃, -Cl

R₂: -H, -CH₃, -OCH₃

2-Hidroksi-dibenzoil metan türevi bileşikler (0,0465 mol), 110 ml konsantre H₂SO₄ içinde oda sıcaklığında 15 dakika karıştırıldı. Reaksiyon ortamı buz içine boşaltıldı, çökelti süzülerek alındı ve distile su ile iki defa yıkandı, kurutuldu, etanolden kristallendirildi.

2-Fenil-4*H*-kromen-4-on (IIIa):

Açık krem renkli ürün elde edildi. Verim: %96,53. E.N.: 97 °C (E.N.: 98°C (Bakcr, 1933)).

2-(*p*-Tolil)-4*H*-kromen-4-on (IIIb):

Açık krem renkli ürün elde edildi. Verim: %94,3. E.N.: 115 °C (E.N.: 116 °C (Cramer, 1956)).

5-Metoksi-2-fenil-4*H*-kromen-4-on (IIIc):

Açık krem renkli ürün elde edildi. Verim: %86,36 E.N.: 135 °C (E.N.: 135 °C (Simonis, 1926)).

6-Metoksi-2-fenil-4*H*-kromen-4-on (III d):

Açık krem renkli ürün elde edildi. Verim: %90,53. E.N.: 154 °C (E.N.: 154 °C (Lamba ve Mandecp, 2008)).

6-Kloro-2-fenil-4*H*-kromen-4-on (IIIe):

Açık krem renkli ürün elde edildi. Verim: %92,73. E.N. : 183 °C (E.N.: 183-184°C (Zhongzhen, 2006)).

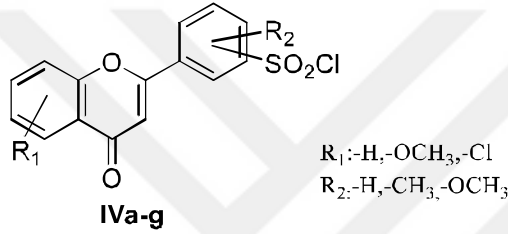
2-(*m*-Tolil)-4*H*-kromen-4-on (III f):

Açık krem renkli ürün elde edildi. Verim: %91,74. E.N.: 106 °C (E.N.: 107 °C (Cramer, 1956)).

2-(4-Metoksi-fenil)-4H-kromen-4-on (IIIg):

Açık krem renkli ürün elde edildi. Verim: %91,51. E.N.: 158 °C (E.N.: 157-158 °C (Auwers, 1921)).

d) Flavon sülfonil klorür (IVa-g) bileşiklerinin sentezi



25 ml Klorosülfonik asit (0,376 mol), 0-5 °C' ye soğutulduktan sonra üzerine flavon (IIIa-g) (0,01 mol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı oda sıcaklığında 2 gün karıştırıldı. Karışım, 150 ml kırılmış buzlu su üzerine damla damla boşaltıldı. Çökelek, süzülerek alındı, kurutuldu.

3'-Flavon sülfonil klorür (IVa):

3,00 g Açık krem renkli ürün elde edildi. Verim: %83,12. E.N.: 160-162 °C (160-162 °C (Bozdağ ve ark. 1999)).

4'-Metil-3'-flavon sülfonil klorür (IVb):

3,82 g açık krem renkli ürün elde edildi. Verim: %80,72. E.N.: 175-177°C.

5-Metoksi-3'-flavon sülfonil klorür (IVc):

2,02 g açık krem renkli toz ürün elde edildi. Verim: %81,01. E.N.: 116-119 °C .

6-Metoksi-3'-flavon sülfonil klorür (IVd):

2,76 g turuncu renkli ürün elde edildi. Verim: %79,12. E.N.: 180-181°C.

6-Kloro-3'-flavon sülfonil klorür (IVe):

2,80 g açık yeşil renkli ürün elde edildi. Verim: %80,01. E.N.:167-171°C .

3'-Metil-4'-flavon sülfonil klorür (IVf):

2,77 g açık krem renkli toz ürün elde edildi. Verim: % 79,15. E.N.:143-145°C .

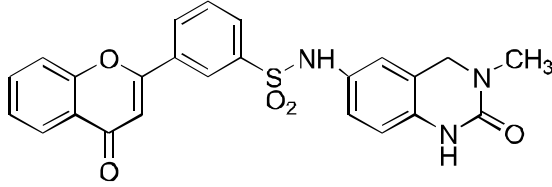
4'-Metoksi-3'-flavon sülfonil klorür (IVg):

2,84 g Açık krem renkli ürün elde edildi. Verim: %81,25. E.N.: 188-190°C.

3.2. Dihidrokinazolinil sülfonil flavon sonuç ürünlerinin sentezi

6-Amino-3,4-dihidrokinazolin-2(1*H*)-on (0,7 mmol) (**AQNZ**), THF içinde çözülerek 1.0 ml piridin ilave edildi ve flavon sülfonil klorür (**IVa-g**) (1,0 mmol) eklendi, oda sıcaklığında 24 saat karıştırıldı. Reaksiyon ortamı, döner buharlaştırıcıda uçurulduktan sonra su ilave edilerek kloroform ile 3 kez tüketildi. Kloroformlu faz, susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarıldı ve döner buharlaştırıcıda uçuruldu.

N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(4-okso-4H-kromen-2-il)benzensülfonamid (SQZM)



Ham ürün kloroform:etilasetat:metanol (20:3:1) solvan sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Bunun için silica gel 60 (230-400 mesh ASTM) kullanıldı. 0,11 gram saf ürün elde edildi. Verim: %33,84, E.N.:175-177°C.

R_f Değeri: R_f= 0,224 (Solvan B)

Molekül Ağırlığı: 461,49

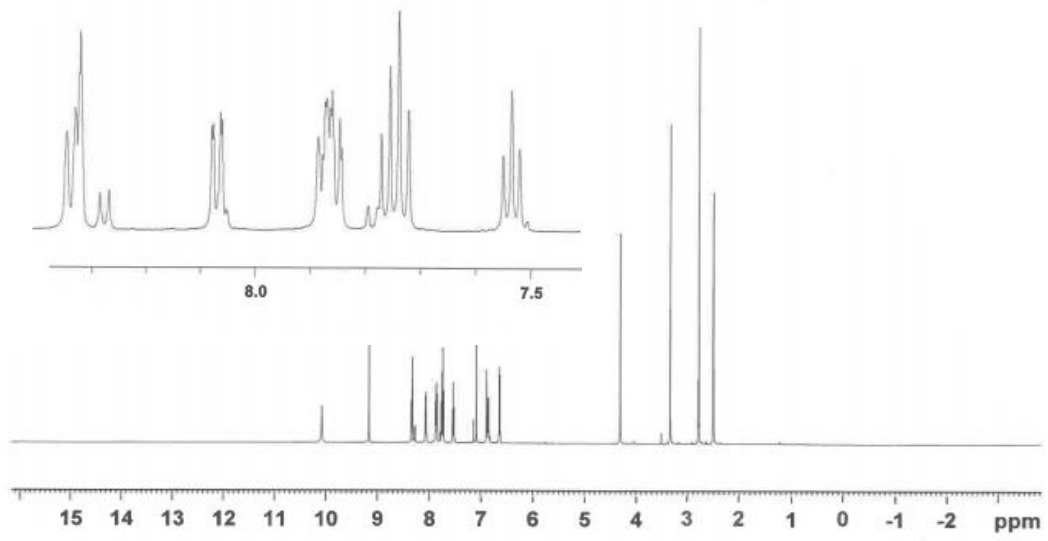
Kütle Spektromu (ESI+) m/z (%bağıl bolluk)= 484,30 (M+Na, %100)

Elementel Analiz: C₂₄H₁₉N₃O₅S.0.1H₂O

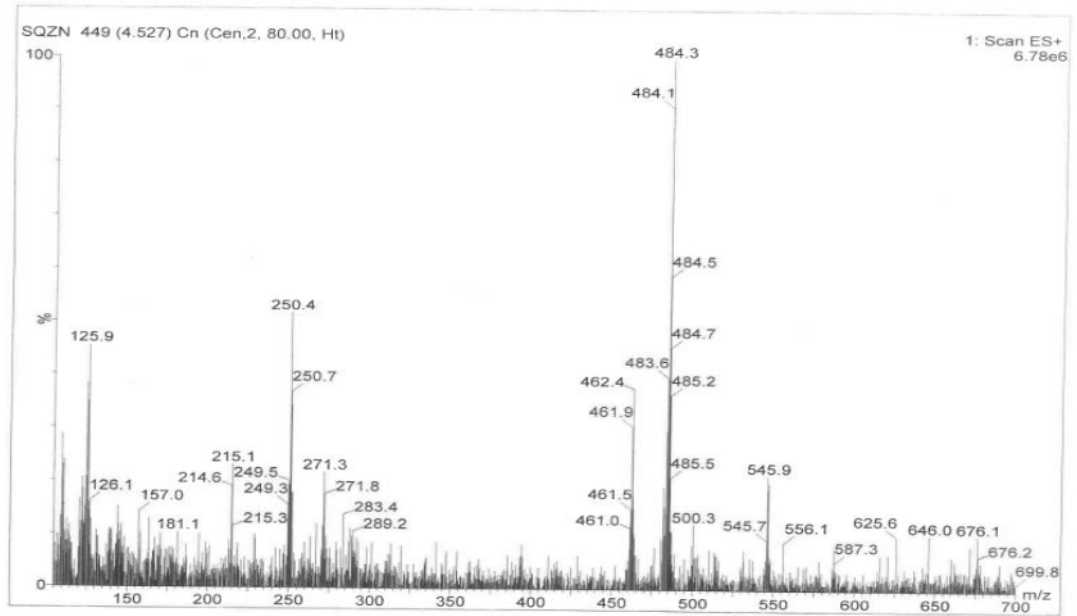
Hesaplanan: %C 62,16; %H 4,14; %N 9,07; %S 6,91

Bulunan: %C 61,96; %H 4,18; %N 9,19; %S 6,97

¹H-NMR Spektromu (DMSO-d₆, 500 MHz, δ, ppm): 2.78 (s, 3H, CH₃), 4.29 (s, 2H, N-CH₂), 6.62 (d, 1H, Qnz-H), 6.84-6.87 (m, 2H, Qnz-H), 7.07 (s, 1H, 3-H), 7.53 (t, 1H, 6-H), 7.71-7.78 (m, 2H, 5', 8-H), 7.84-7.87 (m, 2H, 6', 7-H), 8.06 (d, 1H, 4'-H), 8.26-8.34 (m, 2H, 5, 2'-H), 9.15 (s, 1H, N-H), 10.07 (s, 1H, N-H).

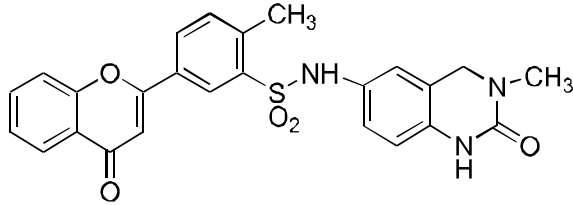


Şekil 3.1. N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(4-okso-4H-kromen-2-il)benzen-sülfonamid (SQZM) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.2. N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(4-okso-4H-kromen-2-il)benzen-sülfonamid (SQZM) bileşiğinin kütle spektrumu.

2-Metil-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-5-(4-okso-4H-kromen-2-il)benzensülfonamid (4MQZM)



Ham ürün, DMF/H₂O'dan kristallendirildi. 0,102 g saf ürün elde edildi. Verim: % 44,93, E.N: 303-305°C.

R_f Değeri: R_f=0,212 (Solvan B)

Molekül Ağırlığı: 475.52

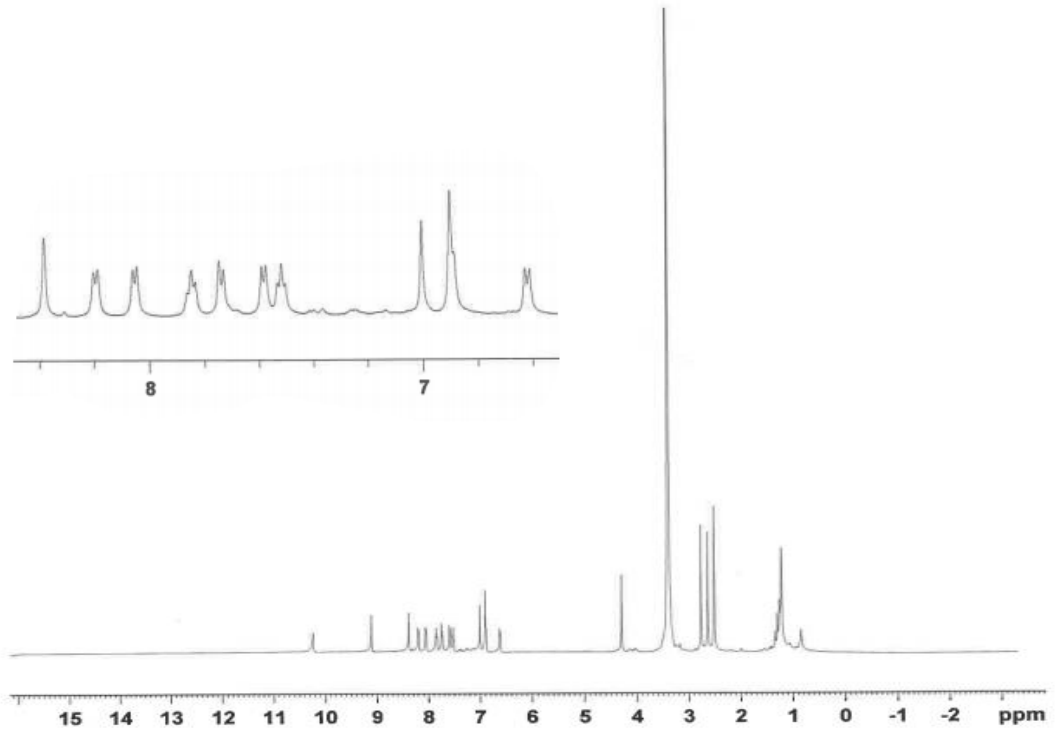
Kütle Spektromu (ESI+) m/z (%bağıl bolluk)= 476,9 (M+H, %100).

Elementel Analiz: C₂₅H₂₁N₃O₅S

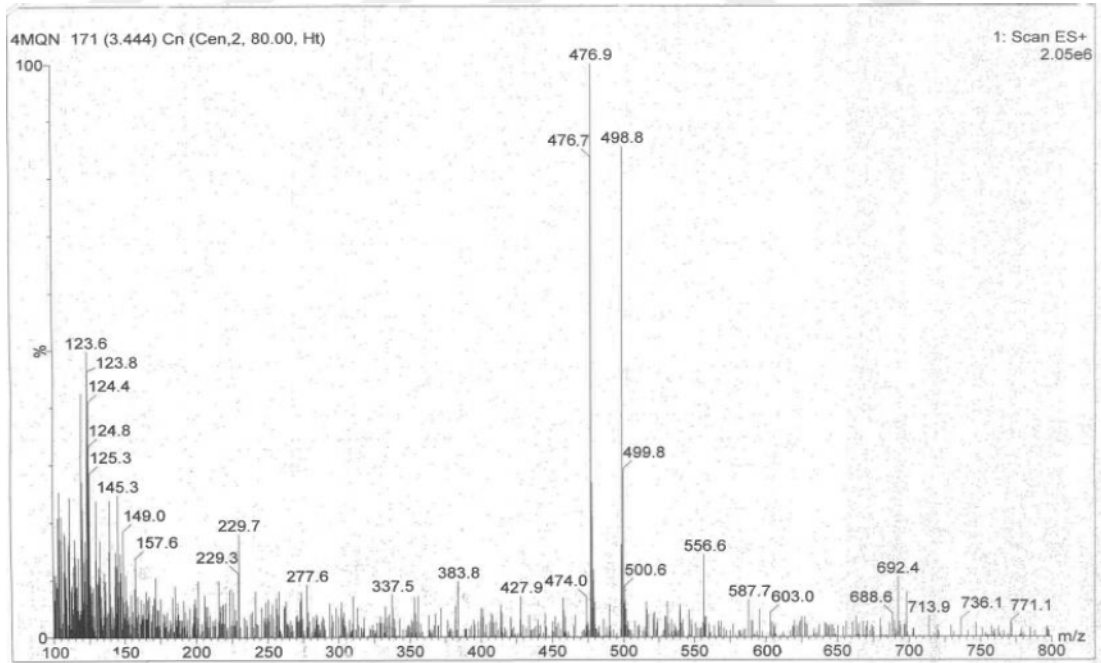
Hesaplanan: %C 63,15; %H 4,45; %N 8,84; %S 6,74

Bulunan: %C 63,04; %H 5,07; %N 8,81; %S 6,34

¹H-NMR Spektromu (DMSO-d₆, 500 MHz, δ, ppm): 2.60 (s, 3H, 4'-CH₃), 2.74 (s, 3H, N-CH₃), 4.26 (s, 2H, N-CH₂), 6.59 (d, 1H, Qnz-II), 6.85-6.87 (m, 2H, Qnz-II), 6.99 (s, 1H, 3-II), 7.49 (t, 1H, 6-II), 7.56 (d, 1H, 5'-II), 7.72 (d, 1H, J_{8,7}=8.4, 8-II), 7.82 (t, 1H, 7-II), 8.03 (d, 1H, 6'-II), 8.18 (d, 1H, J_{5,6}=7.6 Hz, 5-II), 8.36 (s, 1H, 2'H), 9.08 (s, 1H, N-H) 10.19 (s, 1H, N-H).

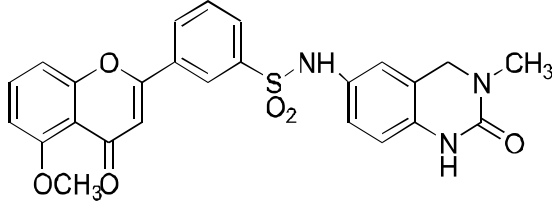


Şekil 3.3. 2-Metil-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-5-(4-okso-4H-kromen-2-il)benzensülfonamid (4MQZM) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.4. 2-Metil-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-5-(4-okso-4H-kromen-2-il)benzensülfonamid (4MQZM) bileşiğinin kütle spektrumu.

N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(5-metoksi-4-okso-4H-kromen-2-il)benzensülfonamid sentezi (5OMQ)



Ham ürün kloroform:metanol:amonyak (10:1:0.5) solvan sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Bunun için silica gel 60 (230-400 mesh ASTM) kullanıldı. 0.102 gram saf ürün elde edildi. Verim %30.76, E.N. 197-199 °C.

R_f Değeri: R_f=0.213 (Solvan A)

Molekül Ağırlığı: 491.52

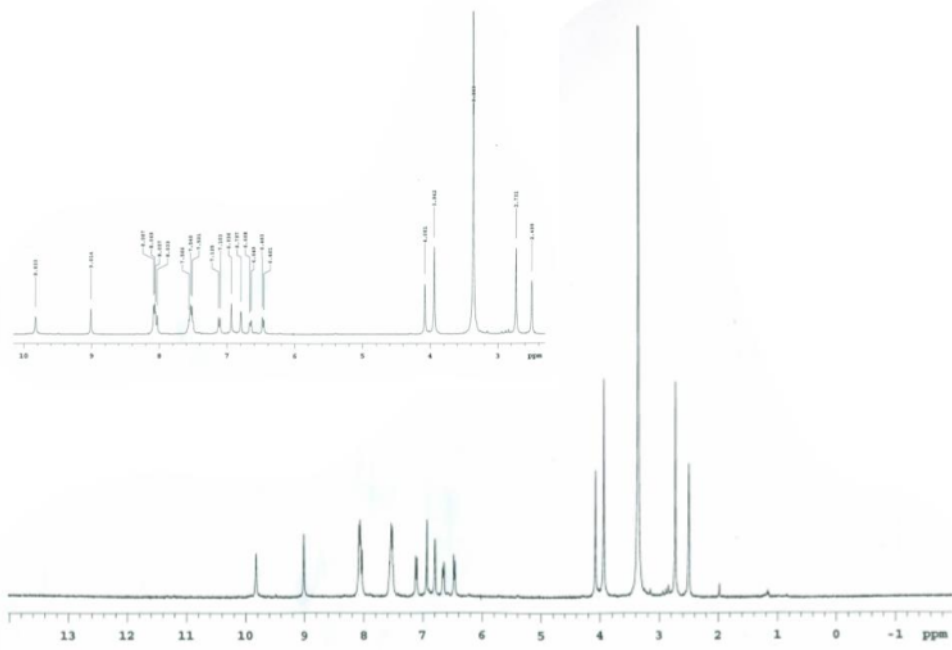
Kütle Spektrumu (ESI+) m/z (%bağıl bolluk)= 492,91 (M+H, %100).

Elementel Analiz: C₂₅H₂₁N₃O₆S.0,2CHCl₃.0,5H₂O

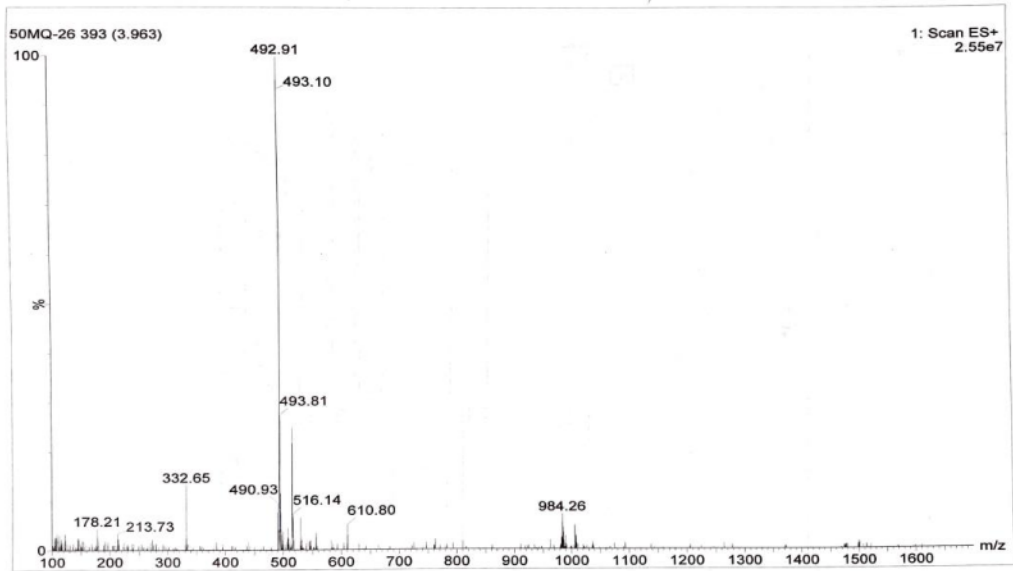
Hesaplanan: %C 57,66; %H 4,23; %N 8,01; %S, 6,10

Bulunan: %C 58,00; %H 4,69; %N 8,40; %S 6,15

¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆, 400 MHz, δ, ppm): 2.71 (s, 3H, NCH₃), 3.92 (s, 3H, OCH₃) 4.06 (s, 2H, N-CH₂), 6.45 (d, 1H, Qnz-H), 6.64 (d, 2H, Qnz-H), 6.77 (s, 1H, QN-H), 6.91 (s, 1H, 3-H), 7.09 (d, 1H, 6-H), 7.48-7.55 (m, 3H, 5',7,8-H), 7.93-8.06 (m, 3H, 2',4',6'-H), 8.98 (s,1H,N-H), 9.79 (s,1H, N-H).

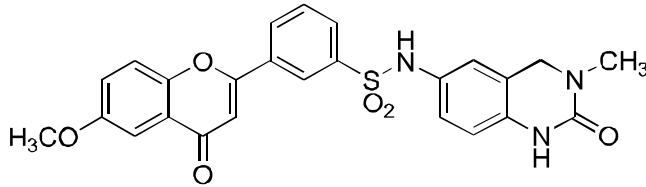


Şekil 3.5. N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(5-metoksi-4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensülfonamid (5OMQ) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.6. N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(5-metoksi-4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensülfonamid (5OMQ) bileşiğinin kütle spektrumu.

3-(6-Metoksi-4-okso-4H-kromen-2-il)-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinoksalin-6-il)- benzensülfonamid sentezi (6QZM)



Ham ürün kloroform:etilasetat:metanol (20:3:1) solvan sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Bunun için silica gel 60 (230-400 mesh ASTM) kullanıldı. 0,109 gram saf ürün elde edildi. Verim: %33,53; E.N: 198-200°C.

R_f Değeri: R_f=0.208 (Solvan B)

Molekül Ağırlığı: 491.52

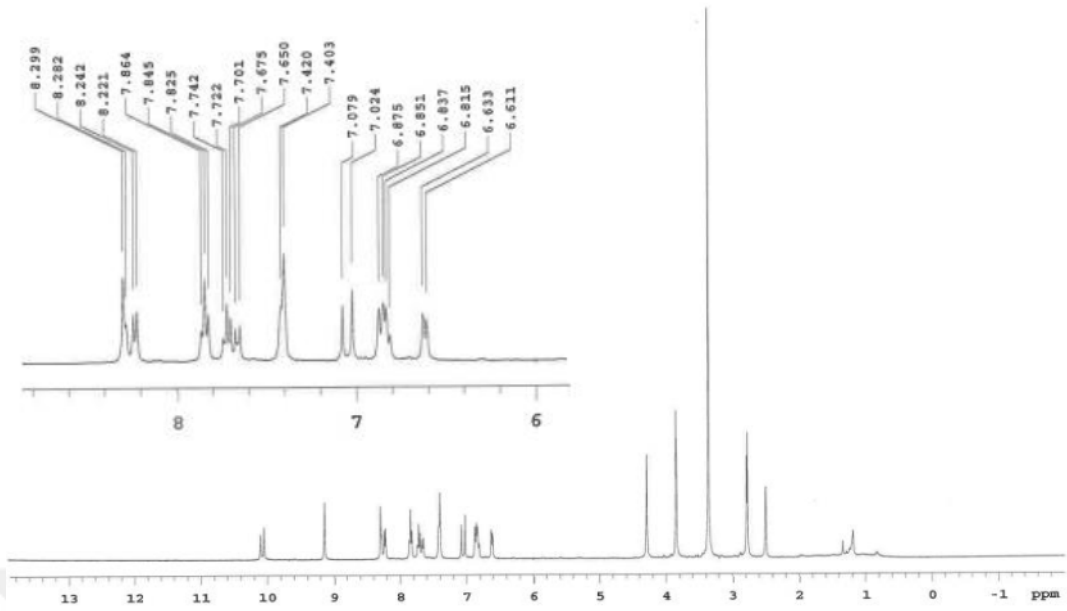
Kütle Spektromu (ESI+) m/z (%bağlı bolluk)= 492,97 (M+H, %100).

Elementel Analiz: C₂₅H₂₁N₃O₆S.1.2H₂O

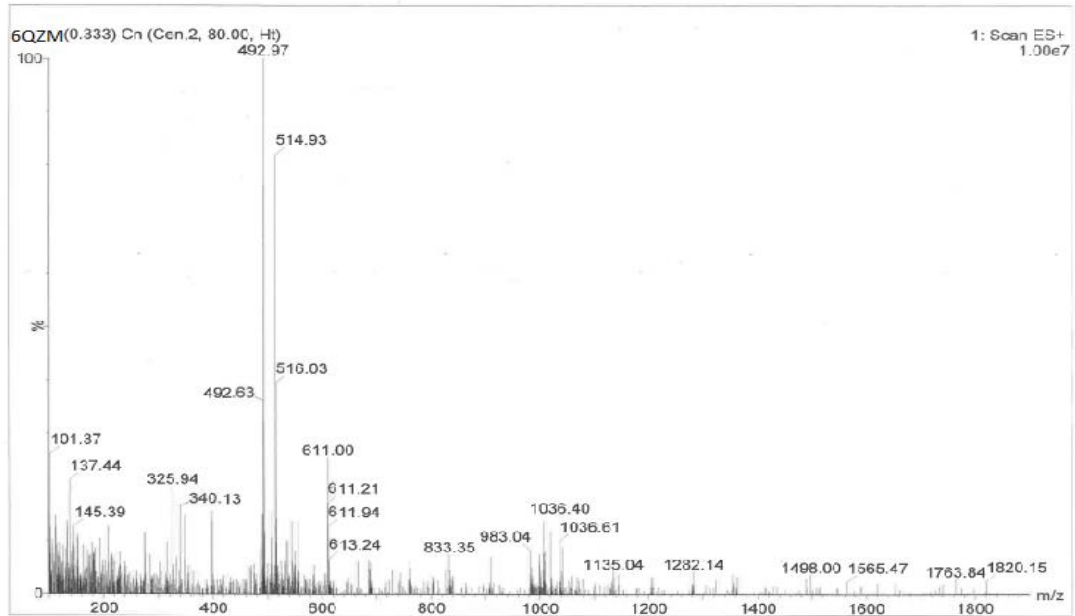
Hesaplanan: %C 58,46; %H 4,56; %N 8,18; %S 6,23

Bulunan: %C 58,21; %H 4,71; %N 8,03; %S 6,17

¹H-NMR Spektromu (DMSO-d₆, 400 MHz, δ, ppm): 2.77 (d, 3H, N-CH₃), 3.85 (s, 3H, O-CH₃), 4.28 (s, 2H, N-CH₂), 6.60 (dd, 1H, Qnz-H), 6.79-6.85 (m, 2H, Qnz-H), 7.03 (s, 1H, 3-II), 7.41-7.44 (m, 2H, 8,5'-II), 7.66-7.74 (m, 2H, 5,7-II), 7.81-7.85 (m, 1H, 6'-II), 8.22-8.30 (m, 2H, 2', 4'-II), 9.13 (s, 1H, NII), 10.06 (d, 1H, N-II).

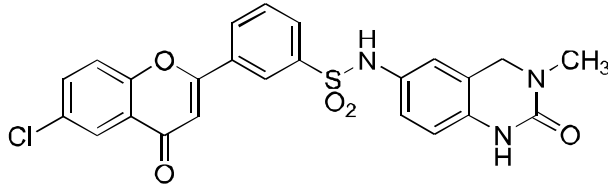


Şekil 3.7. 3-(6-Metoksi-4-okso-4*H*-kromen-2-il)-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinoksalin-6-il)-benzensülfonamid (6QZM) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu



Şekil 3.8. 3-(6-Metoksi-4-okso-4*H*-kromen-2-il)-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinoksalin-6-il)-benzensülfonamid (6QZM) bileşiğinin kütle spektrumu

3-(6-Kloro-4-okso-4H-kromen-2-il)-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)benzensülfonamid sentezi (6CQZM)



Ham ürün kloroform:metanol:amonyak (10:1:0,5) solvan sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Bunun için silica gel 60 (230-400 mesh ASTM) kullanıldı. 0,102 gram saf ürün elde edildi. Verim %30,77. E.N.: 285-286 °C.

R_f Değeri: R_f= 0,198 (Solvan A)

Molekül Ağırlığı: 495.93

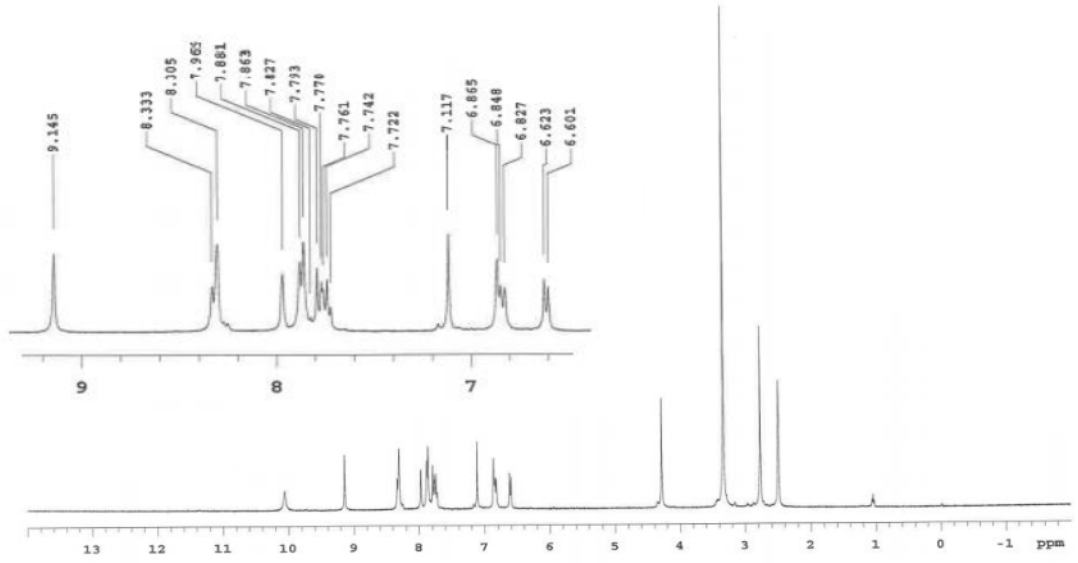
Kütle Spektrumu (ESI+) m/z (%bağıl bolluk)= 518,56 (M+Na, %100).

Elementel Analiz: C₂₄H₁₈ClN₃O₅S.0,15CHCl₃.H₂O

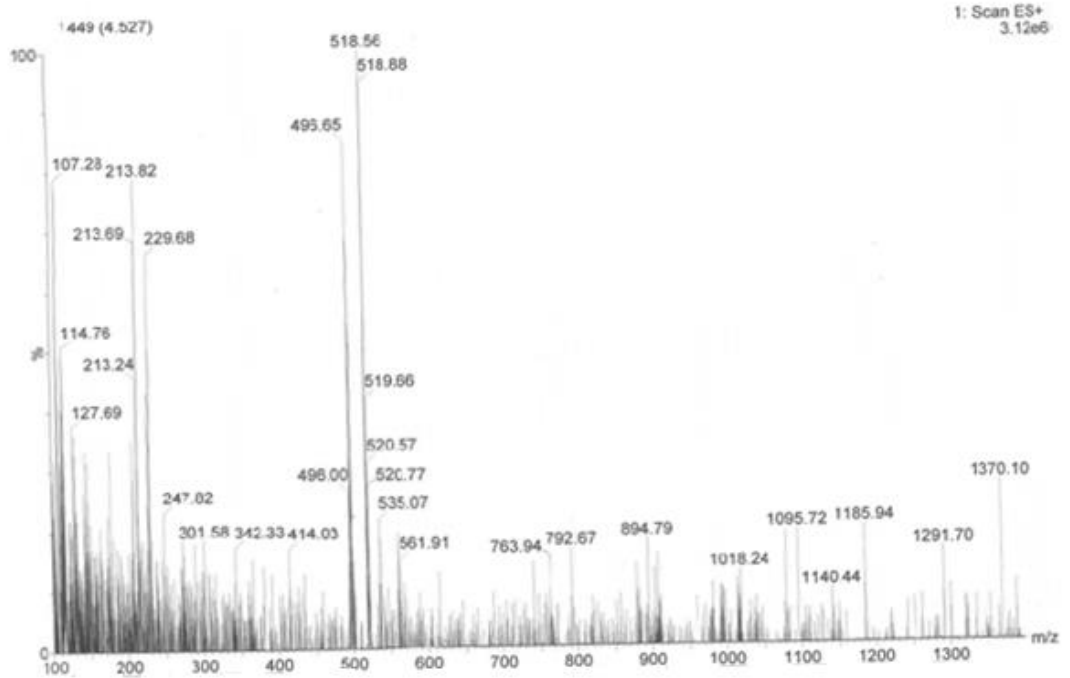
Hesaplanan: %C 54,49; %H 3,78; %N 7,90; %S 6,02

Bulunan: %C 54,51; %H 3,56; %N 8,20; %S 6,10

¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆, 400 MHz, δ, ppm): 2.65 (s, 3H, CH₃) 2.77 (s, 3H, NCH₃), 4.27 (s, 2H, N-CH₂), 6.58 (d, 1H, J_o=9.20Hz, Qnz-H), 6.79-6.81 (m, 2H, Qnz-H), 7.12 (s, 1H, 3-H), 7.50 (td, 1H, 6-H), 7.77 (d, 1H, J_o=7.60Hz, 8-H), 7.84 (td, 1H, 7-H), 7.89 (d, 1H, J_o=8.80Hz, 5'-H), 8.01-8.04 (m, 2H, 5, 6'-H), 8.12 (s, 1H, 2'-H), 9.09 (s, 1H, N-H), 10.19 (s, 1H, N-H).

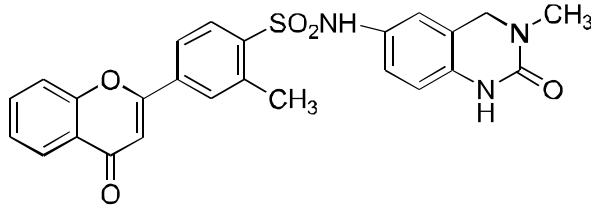


Şekil 3.9. 3-(6-kloro-4-okso-4H-kromen-2-il)-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-benzensülfonamid (6CQZM) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.10. 3-(6-Kloro-4-okso-4H-kromen-2-il)-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-benzensülfonamid (6CQZM) bileşiğinin kütle spektrumu.

2-Metil-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-4-(4-okso-4H-kromen-2-il)benzensulfonamid (4SMQN)



Ham ürün kloroform:metanol:amonyak (10:1:0,5) solvan sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Bunun için silica gel 60 (230-400 mesh ASTM) kullanıldı. 0,101 gram saf ürün elde edildi. Verim % 30,77 E.N.: 273-275 °C.

R_f Değeri: R_f=0,207 (Solvan A)

Molekül Ağırlığı: 475.52

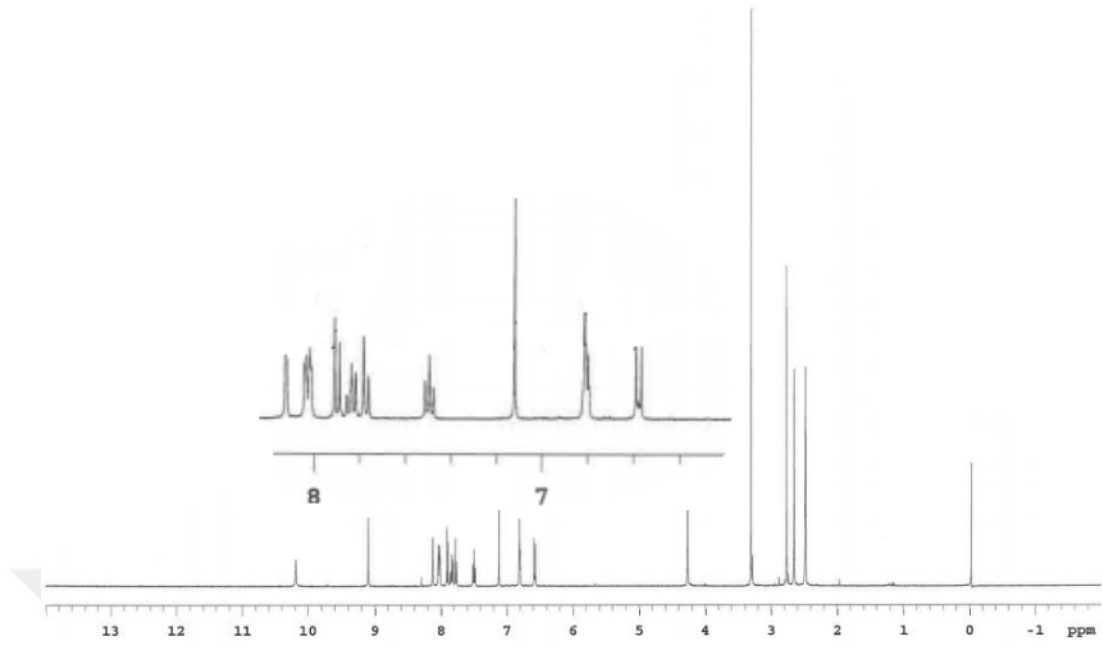
Kütle Spektrumu (ESI+) m/z (%bağıl bolluk)= 476,79 (M+H, %100).

Elementel Analiz: C₂₅H₂₁N₃O₅S.0.4H₂O

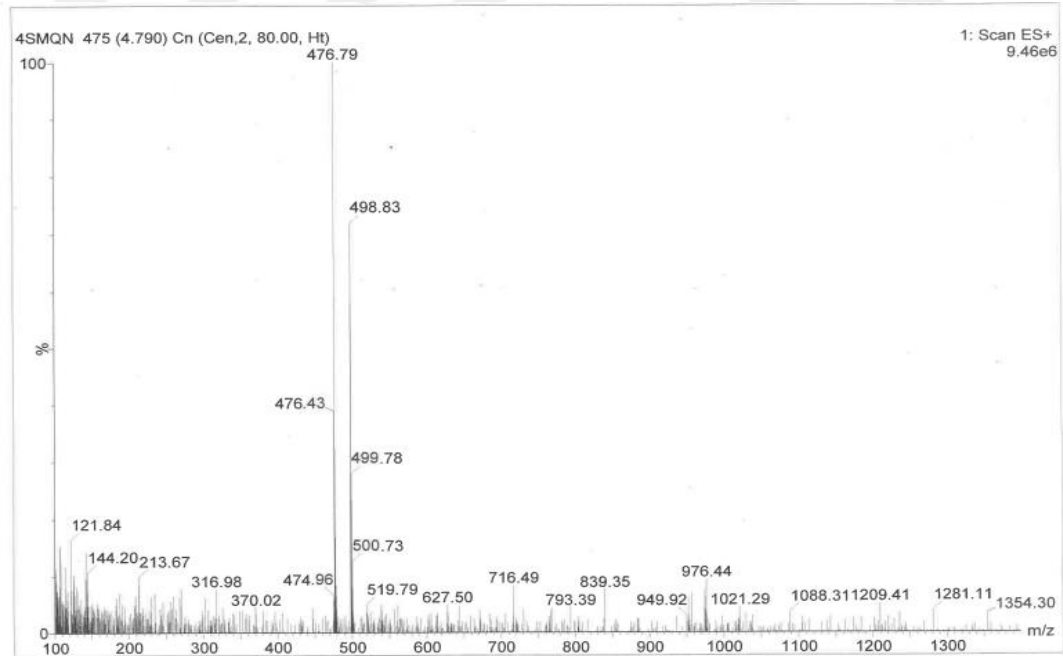
Hesaplanan: %C 62,14; %H 4.51; %N 8.70; %S 6.62

Bulunan: %C 61,97; %H 4,44; %N 8,84; %S 6,61

¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆, 400 MHz, δ, ppm): 2.65 (s, 3H, CH₃) 2.77 (s, 3H, NCH₃), 4.27 (s, 2H, N-CH₂), 6.58 (d, 1H, J_o=9.20Hz, Qnz-H), 6.79-6.81 (m, 2H, Qnz-H), 7.12 (s, 1H, 3-H), 7.50 (td, 1H, 6-H), 7.77 (d, 1H, J_o=7.60Hz, 8-H), 7.84 (td, 1H, 7-H), 7.89 (d, 1H, J_o=8.80Hz, 5'-H), 8.01-8.04 (m, 2H, 5, 6'-H), 8.12 (s, 1H, 2'-H), 9.09 (s, 1H, N-H), 10.19 (s, 1H, N-H).

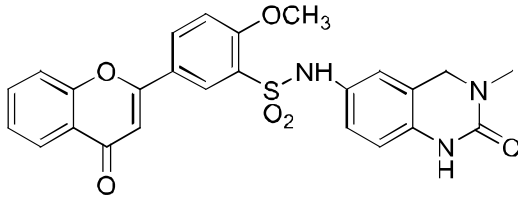


Şekil 3.11. 2-Metil-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-4-(4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensulfonamid (4SMQN) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.12. 2-Metil-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-4-(4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensulfonamid (4SMQN) bileşiğinin kütle spektrumu.

2-Metoksi-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-5-(4-okso-4H-kromen-2-il)benzensulfonamid (4OQZM)



Ham ürün kloroform:metanol:amonyak (10:1:0,5) solvan sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Bunun için silica gel 60 (230-400 mesh ASTM) kullanıldı. 0,103 gram saf ürün elde edildi. Verim % %30,81 E.N.: 297-299°C.

R_f Değeri: R_f= 0,203 (Solvan A)

Molekül Ağırlığı: 491.52

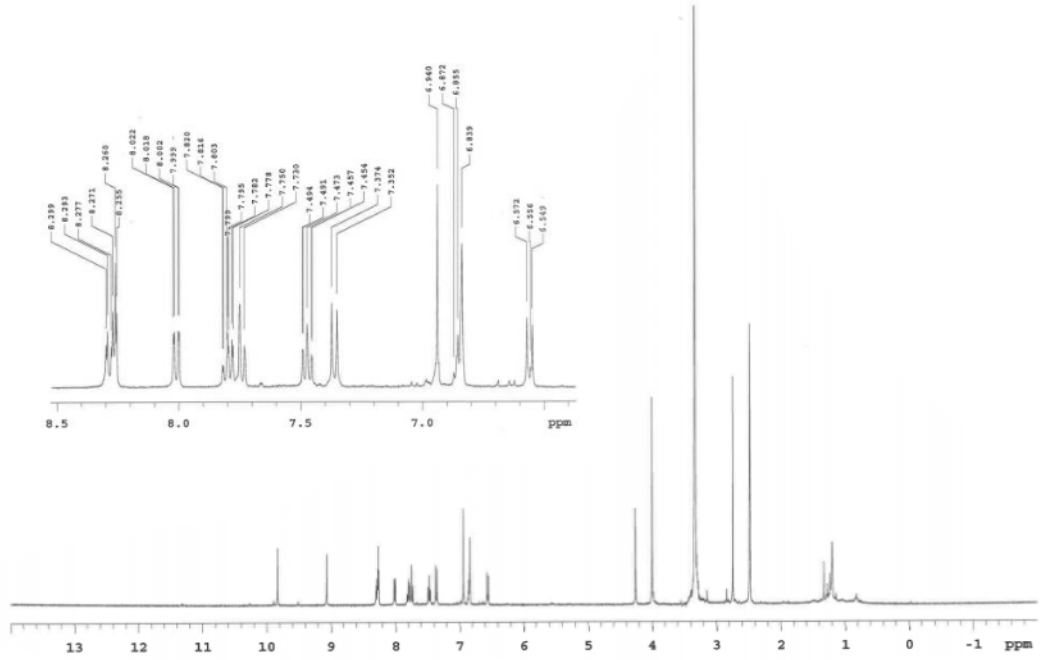
Kütle Spektrumu (ESI+) m/z (%bağıl bolluk)= 492,93 (M+II, %100).

Elementel Analiz: C₂₅H₂₁N₃O₆S.0.3CHCl₃.H₂O

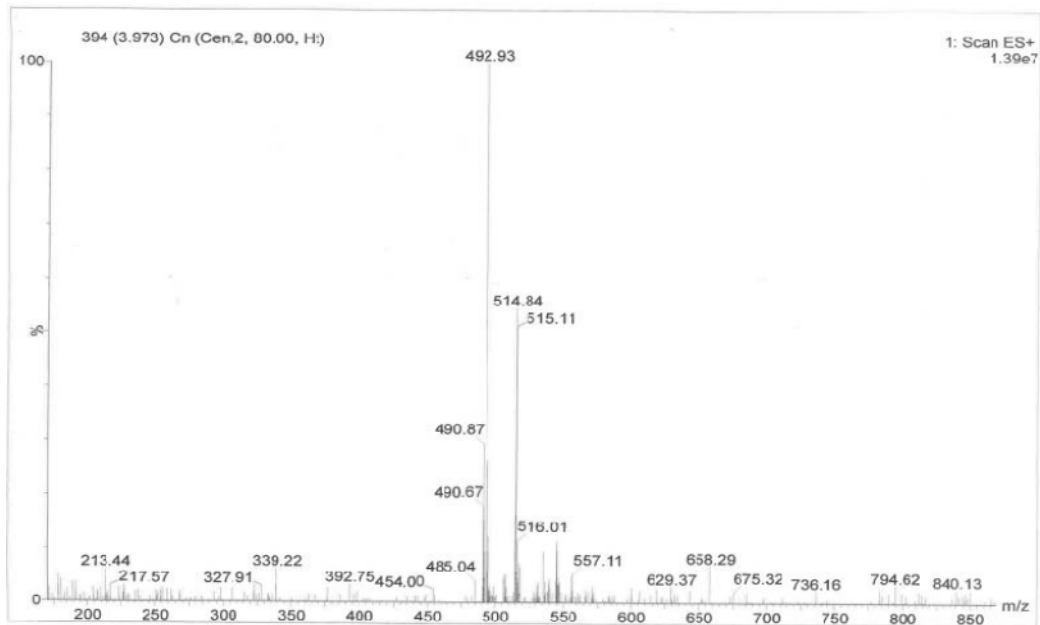
Hesaplanan: %C 55,66; %H 4,27; %N 7,70; %S 5,86

Bulunan: %C 55,34; %H 4,533; %N 7,921; %S 5,763

¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆, 400 MHz, δ, ppm): 2.75 (s, 3H, NCH₃), 3.99 (s, 3H, OCH₃), 4.26 (s, 2H, N-CH₂), 6.56 (d, 1H, J_o=9.20Hz, Qnz-H), 6.84-6.87 (m, 2H, Qnz-H), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.36 (d, 1H, J_o=8.80Hz, 5'-H), 7.47 (td, 1H, 6-H), 7.74 (d, 1H, J_o=8.00Hz, 8-H), 7.79 (td, 1H, 7-H), 8.01 (dd, 1H, J_o=8.00Hz, J_m=1.60Hz, 6'-H), 8.26-8.29 (m, 2H, 2',5-II), 9.06 (s, 1H, N-II), 9.83 (s, 1H, N-II).



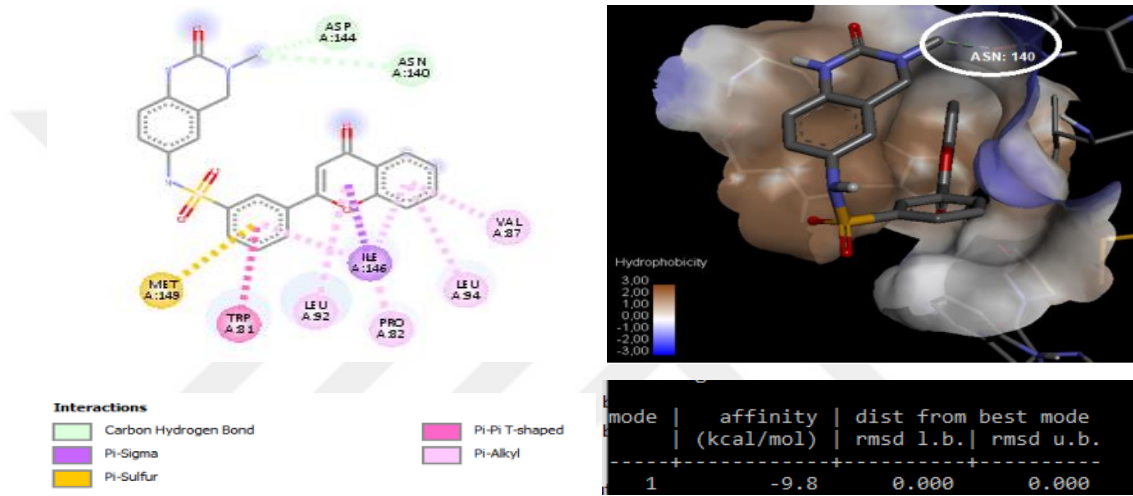
Şekil 3.13. 2-Metoksi-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-5-(4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensulfonamid (4OQZM) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



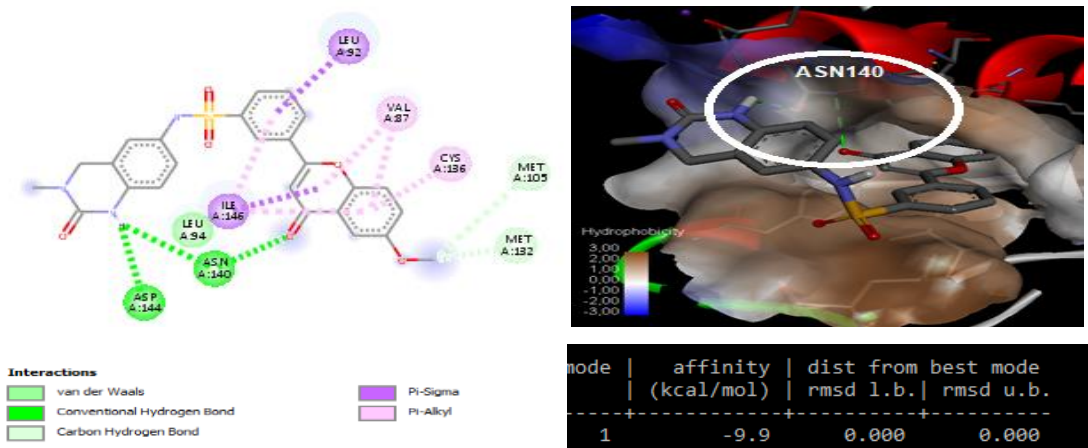
Şekil 3.14. 2-Metoksi-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-5-(4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensulfonamid (4OQZM) bileşiğinin kütle spektrumu.

3.3. Yeni bazı kinazolin bileşikleri üzerinde docking çalışmaları

SQZM (Şekil 3.15) ve 6QZM (Şekil 3.16), sitotoksisteleri en yüksek bileşikler oldukları için BRD4 inhibitör aktivite deneyleri için seçilmiştir. Bu bileşikler için yapılan docking çalışmalarında (PDB:4HBW) BRD4 inhibitörü aday bileşiklere benzer (ASN140 temel etkileşim) bağlanma şekilleri göstermiştir.



Şekil 3.15. SQZM bileşiğinin BRD4 potcini ile etkileşimi (PDB:4HBW) .



Şekil 3.16. 6QZM bileşiğinin BRD4 proteini ile etkileşimi (PDB:4HBW).

3.4.Biyolojik aktivite deneyleri³

3.4.1.Sitotoksiste Tayini ve Sonuçları

Hücre Serileri ve Hücre Kültürü

Bu çalışmada, A549 insan akciğer kanseri, MCF-7 insan meme kanseri ve K562 insan myeloid lösemi hücre hatları kullanılmıştır. Söz konusu hücreler %10 fetal sığır serumu ve %1 antibiyotik içeren Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM) besiyerinde kültüre edilmiştir.

Test Materyallerinin Hazırlanışı

Sentezlenen maddeler, dimetilsülfoksit (Sigma, Almanya) içinde çözülerek 1 mM stok çözeltileri hazırlanmış ve hazırlanan stok çözelti diluc edilerek kuyucuklardaki son konsantrasyon 0,1-100 μ M olacak şekilde hücre kültürü çalışmalarında kullanılmıştır. Çalışmada, DMSO'nun kültür ortamındaki son konsantrasyonu hücrelere sitotoksik etkinliğinin olmadığı % 0,01'in altında tutulmuştur.

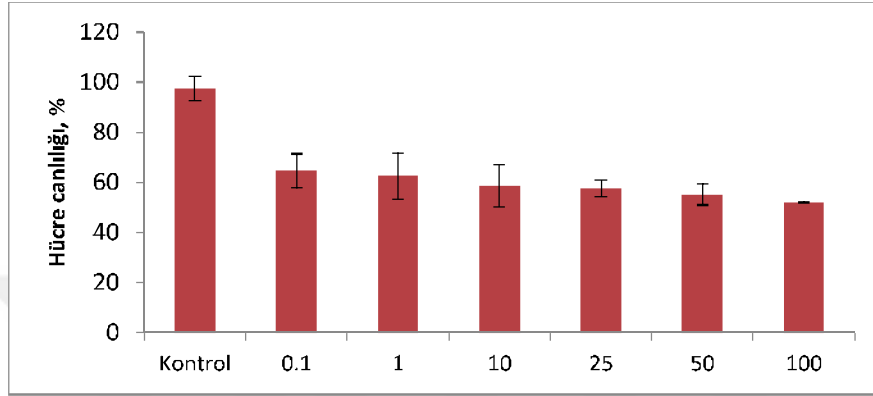
³Biyolojik aktivite deneyleri analiz Ankara Üniv. Ecz. Fak. Biyokimya Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Doç. Dr. Filiz Bakar Ateş ve ekibine teşekkür ederiz.

Sitotoksisite Tayini

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan test maddelerinin hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi 3-(4,5-dimetiltriazol-2-il).2,5-difeniltetrazolium bromür (MTT) testi ile saptanmıştır. Hücreler, test maddelerinin 0,1, 1, 10, 25, 50, 100 μ M konsantrasyonlarında 24 saat inkübe edilmiştir. Hücrelerin üzerindeki besiyeri atıldıktan sonra, 96'lık plakta her kuyuya 20 μ l MTT çözeltisi eklenerek 37°C'de %5 CO₂'li inkübatörde inkübasyon yapılmış ve inkübasyon sonunda hücrelerin üzerindeki besiyeri-MTT karışımı atılarak canlı hücrelerde oluşan formazan kristalleri, DMSO eklenerek çözülmüştür. Hücre canlılığı, kuyucuklardaki çözeltilerin absorbans değerleri 540 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek ve kontrol grubundaki hücreler referans alınarak belirlenmiştir (Şekil.3-17-Şekil.3-37, Çizelge 3.1).

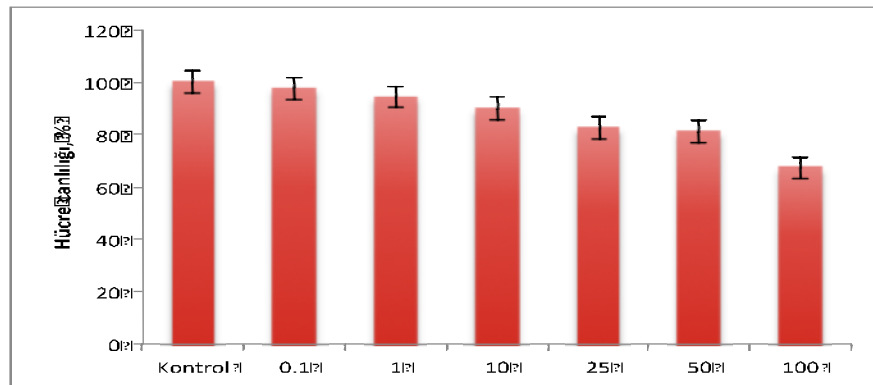
3.4.1.1. A549 İnsan Akciğer Kanseri Hücrelerinde Sitotoksisite Analizi Sonuçları

- SQZM kodlu maddenin A549 hücre canlılığı üzerine etkisi



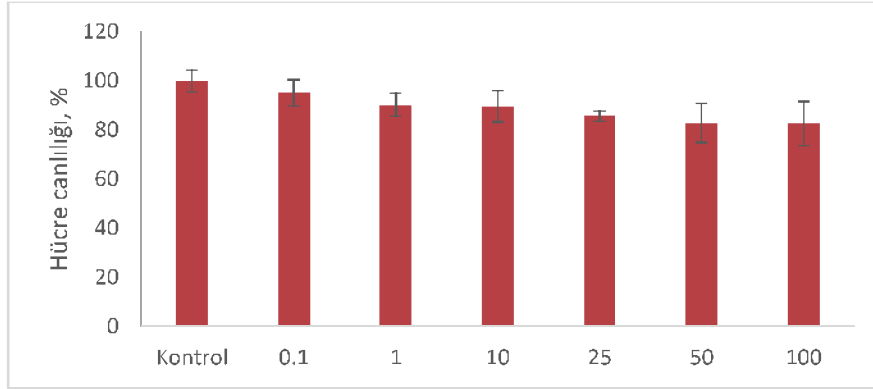
Şekil 3.17. SQZM kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM –100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

- 4MQZM kodlu maddenin A549 hücre canlılığı üzerine etkisi



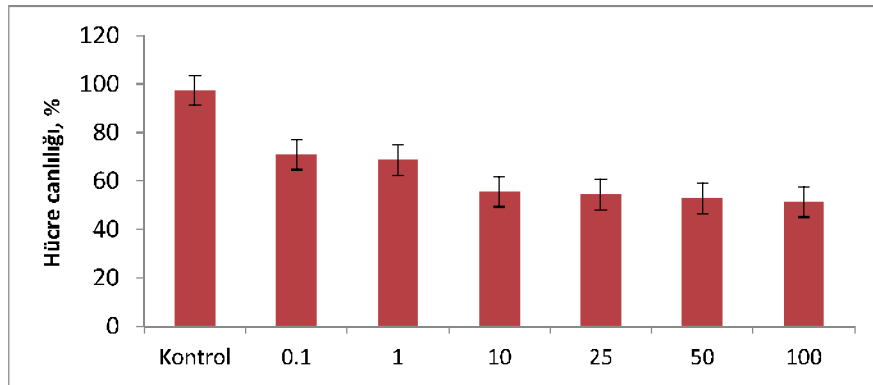
Şekil 3.18. 4MQZM kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi – standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

-5OMQ kodlu maddenin A549 hücre canlılığı üzerine etkisi



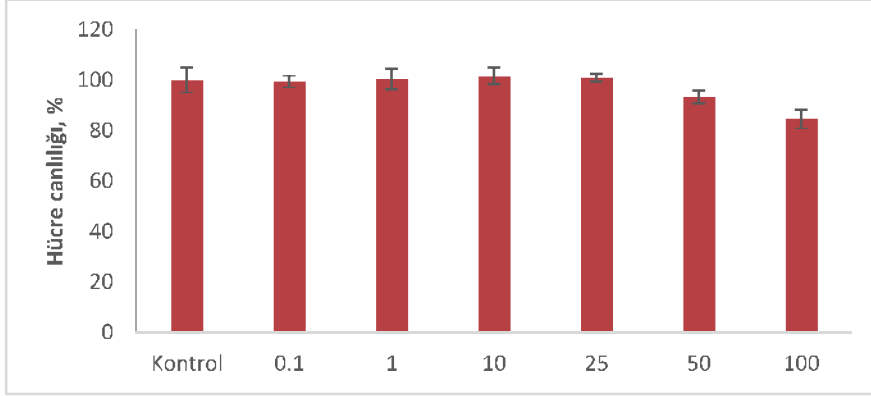
Şekil 3.19. 5OMQ kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

- 6QZM kodlu maddenin A549 hücre canlılığı üzerine etkisi



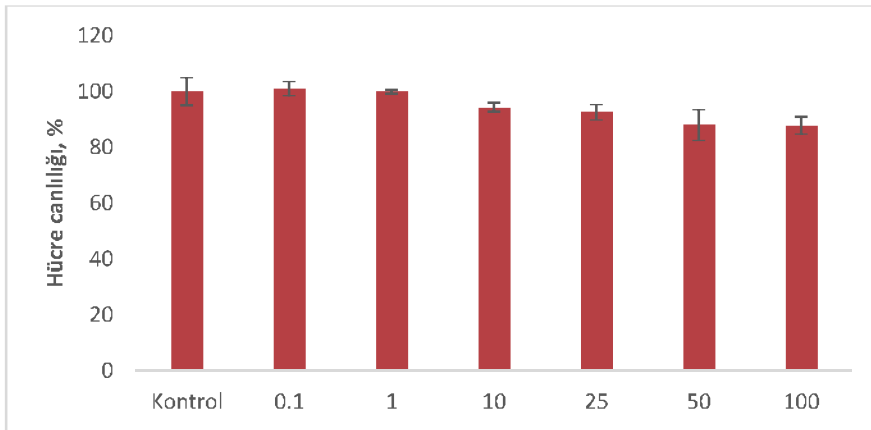
Şekil 3.20. 6QZM kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

- 4SMQN kodlu maddenin A549 hücre canlılığı üzerine etkisi



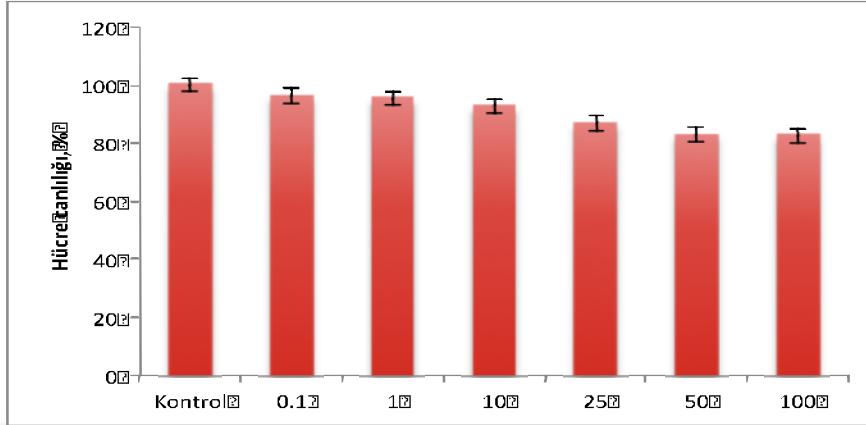
Şekil 3.21. 4SMQN kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

- 6CQZM kodlu maddenin A549 hücre canlılığı üzerine etkisi



Şekil 3.22. 6CQZM kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

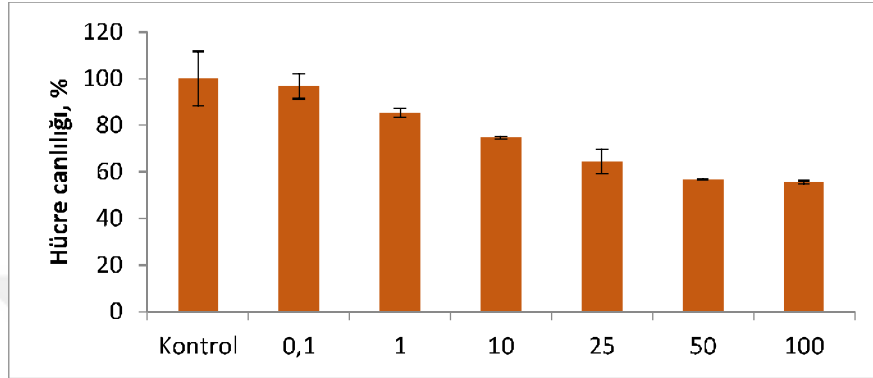
- 4OQZM kodlu maddenin A549 hücre canlılığı üzerine etkisi



Şekil 3.23. 4OQZM kodlu maddenin insan A549 akciğer karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

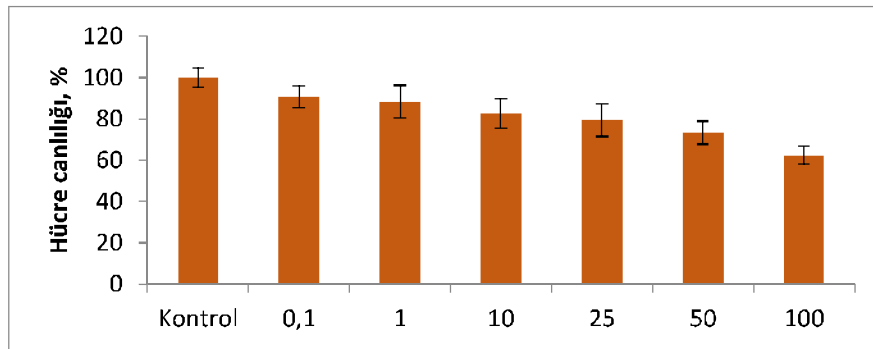
3.4.1.2.MCF-7 İnsan Meme Kanseri Hücrelerinde Sitotoksisite Analizi Sonuçları

- SQZM kodlu maddenin MCF-7 hücre canlılığı üzerine etkisi



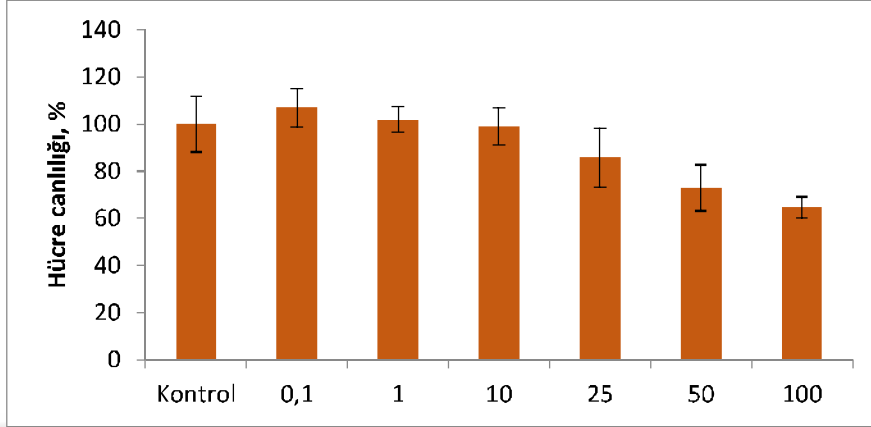
Şekil 3.24. SQZM kodlu maddenin insan MCF-7 meme kansinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

-4MQZM kodlu maddenin MCF-7 hücre canlılığı üzerine etkisi



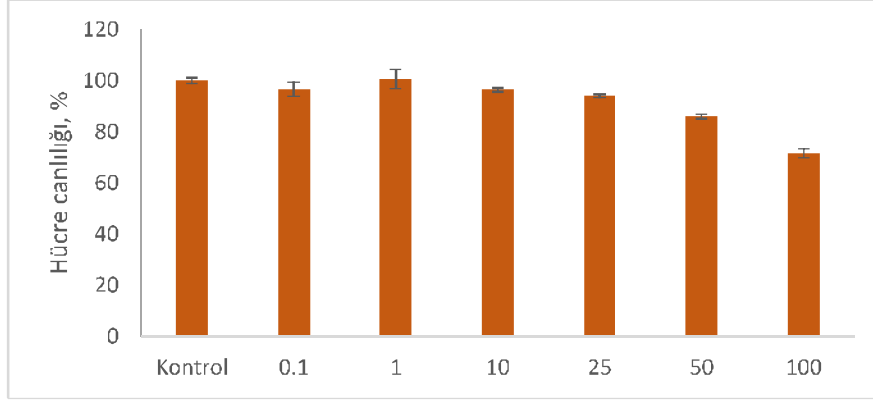
Şekil 3.25. 4MQZM kodlu maddenin insan MCF-7 meme kansinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

- 6QZM kodlu maddenin MCF-7 hücre canlılığı üzerine etkisi



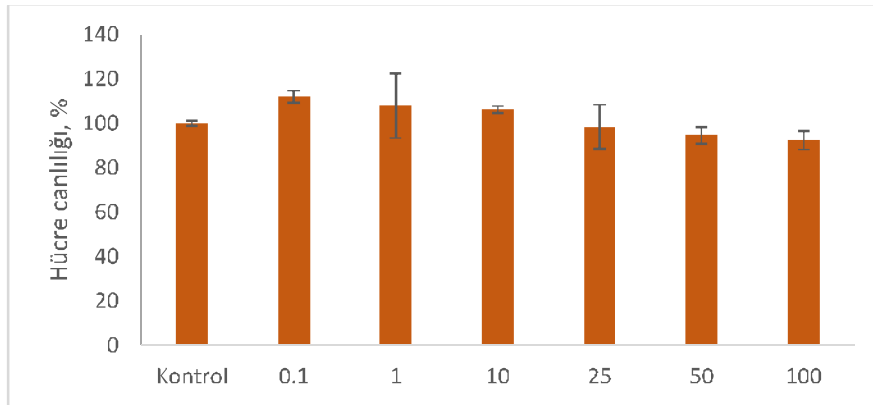
Şekil 3.26. 6QZM kodlu maddenin insan MCF-7 meme karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

- 4SMQN kodlu maddenin MCF-7 hücre canlılığı üzerine etkisi



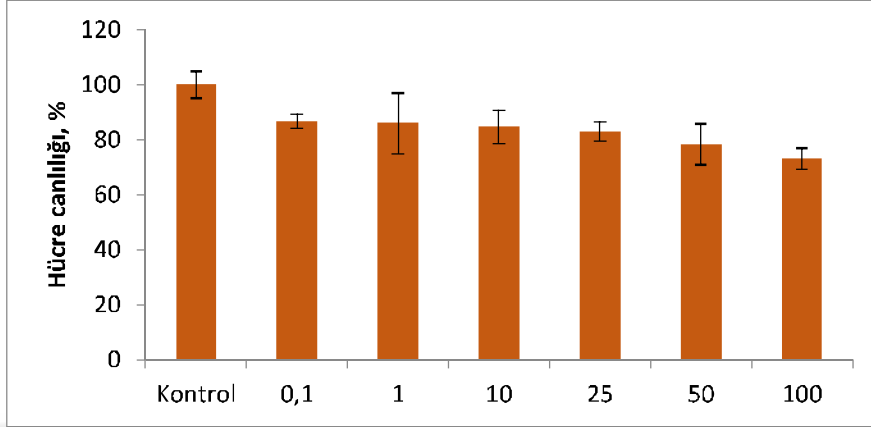
Şekil 3.27. 4SMQN kodlu maddenin insan MCF-7 meme kansinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

- 6CQZM kodlu maddenin MCF-7 hücre canlılığı üzerine etkisi



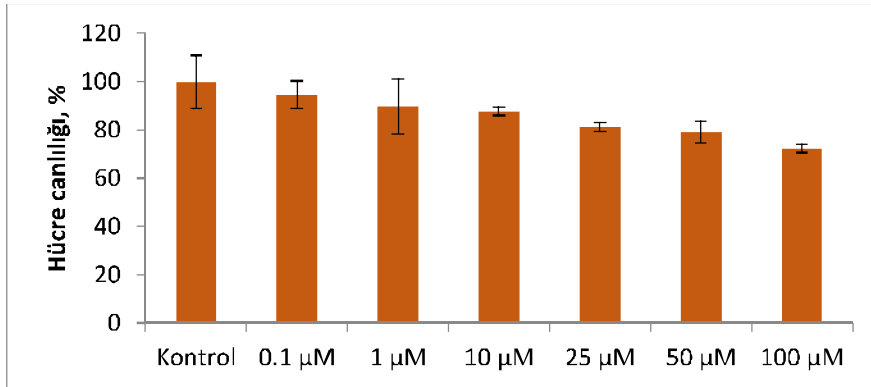
Şekil 3.28. 6CQZM kodlu maddenin insan MCF-7 meme kansinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

- 4OQZM kodlu maddenin MCF-7 hücre canlılığı üzerine etkisi



Şekil 3.29. 4OQZM kodlu maddenin insan MCF-7 meme karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

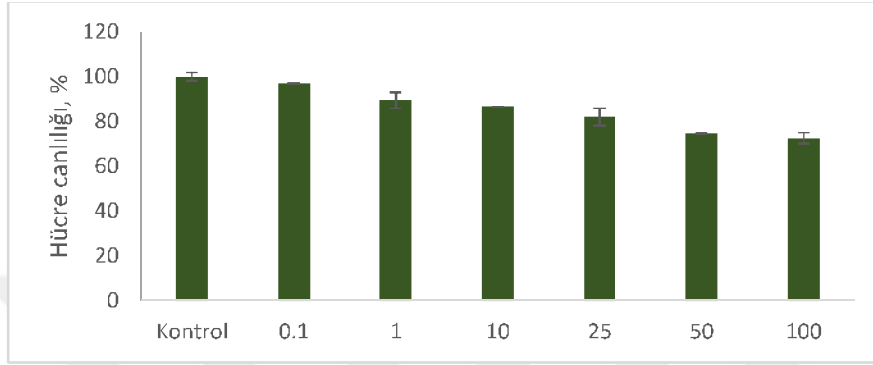
- 5OMQ kodlu maddenin MCF-7 hücre canlılığı üzerine etkisi



Şekil 3.30. 5OMQ kodlu maddenin insan MCF-7 meme karsinoma hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

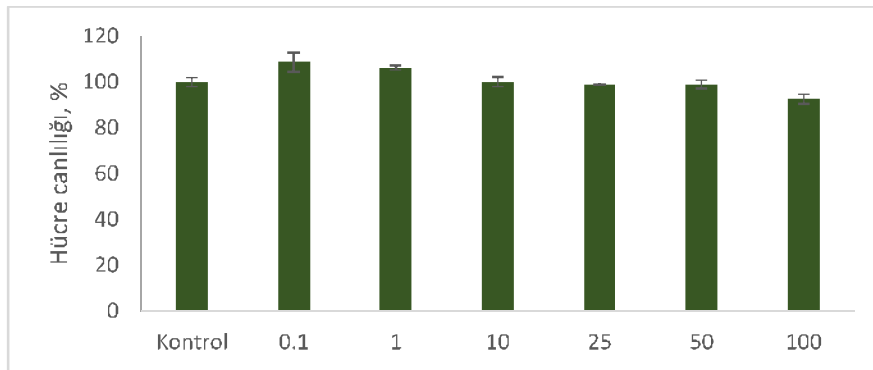
3.4.1.3. K562 Myeloid Lösemi Hücrelerinde Sitotoksisite Analizi Sonuçları

-SQZM kodlu maddenin K562 hücre canlılığı üzerine etkisi



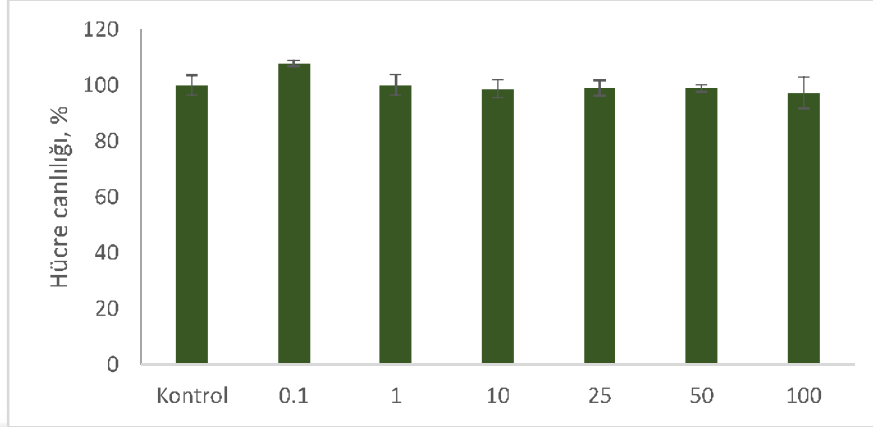
Şekil 3.31. SQZM kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

-4MQZM kodlu maddenin K562 hücre canlılığı üzerine etkisi



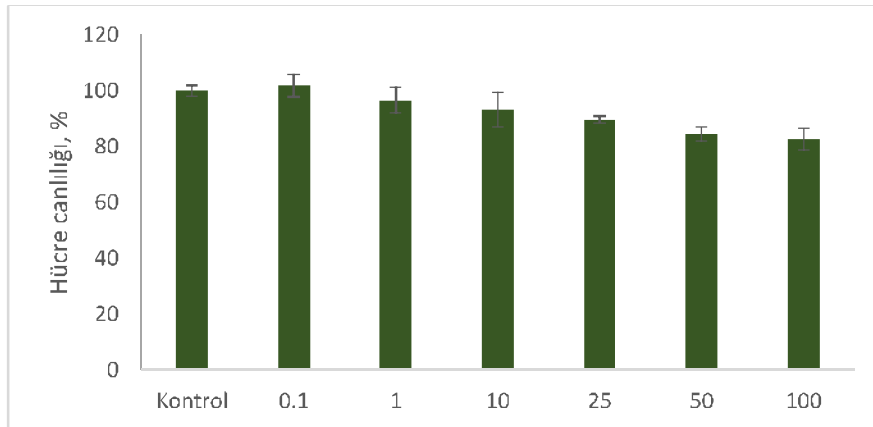
Şekil 3.32. 4MQZM kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi – standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

-5OMQ kodlu maddenin K562 hücre canlılığı üzerine etkisi



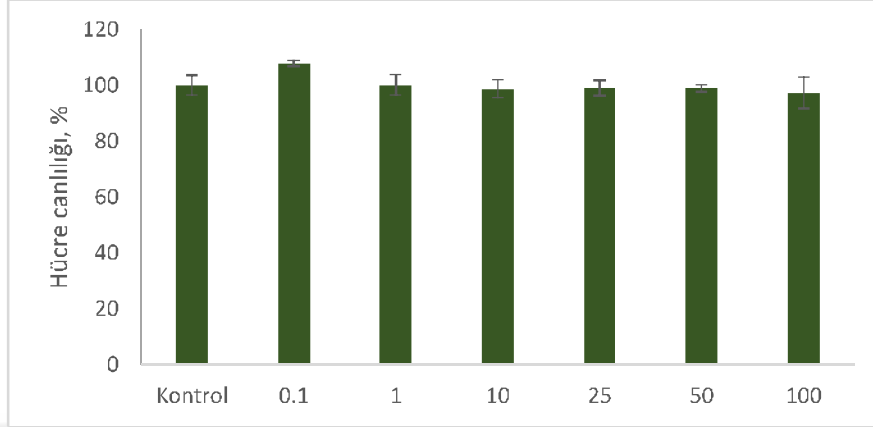
Şekil 3.33. 5OMQ kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

-6QZM kodlu maddenin K562 hücre canlılığı üzerine etkisi



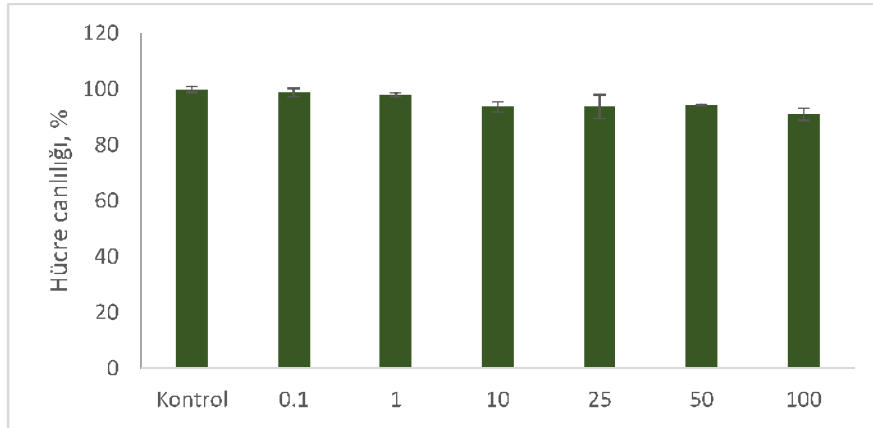
Şekil 3.34. 6QZM kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

-4SMQN kodlu maddenin K562 hücre canlılığı üzerine etkisi



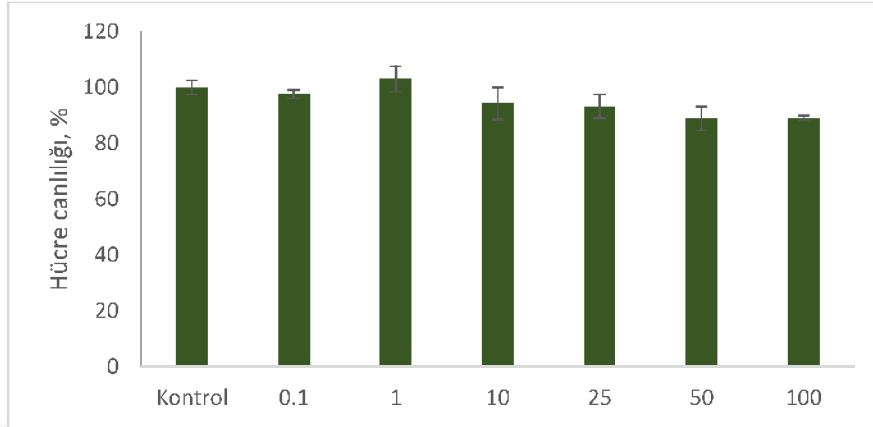
Şekil 3.35. 4SMQN kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

-6CQZM kodlu maddenin K562 hücre canlılığı üzerine etkisi



Şekil 3.36. 6CQZM kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi = standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

-4OQZM kodlu maddenin K562 hücre canlılığı üzerine etkisi



Şekil 3.37. 4OQZM kodlu maddenin insan K562 myeloid lösemi hücre canlılığı üzerine etkisi. 5×10^4 hücre/ml üzerine, 0,1 μM – 100 μM arasında değişen konsantrasyonlarda madde uygulanmıştır. Sonuçlar, canlı hücre yüzdesi $\pm$ standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

Çizelge 3.1. Sentezlenen ‘kinazolin sülfonamid’ türevi bileşiklerin A549 insan akciğer karsinoma, MCF-7 insan meme karsinoma ve K562 insan myeloid lösemi hücre hatlarındaki IC_{50} konsantrasyonları (μM)

Bileşikler	IC ₅₀ değerleri (μM)		
	A549	MCF-7	K562
[SQZM]	97.271	91.175	174.814
[4MQZM]	154.298	132.630	409.851
[5OMQ]	322.087	312.757	1959.254
[6QZM]	80.848	119.825	265.499
[4SMQN]	325.778	180.591	238.070
[6CQZM]	364.674	357.289	640.384
[4OQZM]	282.262	219.743	250.752

3.4.2. Bromodomain 4 inhibisyonu ve analiz sonuçları

Sentezlenen maddelerin BRD4 inhibitör etkinlikleri BRD4 (BD1+BD2) TR-FRET Assay Kit (BPS Bioscience, Amerika) ile belirlenmiştir. BRD4 deneyi 384 reaksiyonluk plak kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneye başlamadan önce tüm kit komponentleri üretici firmanın önerdiği şekilde dilüe edilerek hazır hale getirilmiştir. Öncelikle tüm kuyucuklara 5 µl Tb (terbiyum) ile etiketlenmiş donör ve 5 µl boya ile etiketlenmiş akseptör uygulanmıştır. Daha sonra örnekler için ayrılmış olan kuyucuklara değişen konsantrasyonlarda olmak üzere (100, 50, 25, 10, 1 µM) her bir örnekten 2 µl, pozitif ve negatif kontrol gruplarına ayrılmış olan kuyucuklara ise 2 µl %10 DMSO ilave edilmiştir. 5 µl BET bromodomain ligandı pozitif kontrol ile örneklerin yer aldığı kuyucuklara, 5 µl non-acetylated ligand 1 ise negatif kontrol grubunun yer aldığı kuyucuklara eklenmiştir. Son olarak 3 µl BRD4 proteini (6 ng/µl) tüm kuyucuklara ilave edilerek reaksiyonun başlaması sağlanmıştır. Plak 2 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra floresan yoğunluğu bir plak okuyucu yardımıyla ölçülmüştür. Donör emisyonu 620 nm dalgaboyunda, akseptör emisyonu ise 665 nm dalgaboyunda ölçülmüştür. Donör ve akseptör için floresan yoğunluk değerleri kullanılarak uygulanan konsantrasyonlar için % aktivite belirlenmiş, elde edilen bulgulara göre her bir madde için Bromodomain 4 aktivitesini %50 oranında inhibe eden IC₅₀ konsantrasyonları hesaplanmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Sentezlenen bileşiklerin ([SQZM] ve [6QZM]) bromodomain 4 inhibitör aktivite sonuçları (IC₅₀ değerleri, µM)

Bileşikler	IC ₅₀ değerleri (µM)
[SQZM]	750,751
[6QZM]	427,993

4. TARTIŞMA

Kanser, kontrolsüz hücre büyümesi ve anormal hücre yapısının çoğalması ile ortaya çıkan, genetik ve çevresel koşulların etkisi altında olan kompleks bir hastalıktır. Bilinen yüzden fazla kanser tipi vardır. Belli tipteki kanserler için standart tedaviler geliştirilmesine rağmen hiçbir insanın DNA'sı birbirine benzemediği için insanlar benzer tedaviye farklı yanıtlar verebilmektedir. Kanser tedavisinde cerrahi yöntem, radyoterapi ve kemoterapötikler standart olarak kabul edilen yöntemler olup yeni kemoterapötik bileşikler geliştirmek için çalışmalar devam etmektedir.

Flavonoidlere genel olarak bakıldığında özellikle antiproliferatif ve antioksidan özellikleri yönünden oldukça dikkat çekmektedir. Doğal bir bileşik sınıfı olan flavonoidler tirozin kinaz, DNA topoizomera II gibi çeşitli enzimlerin inhibisyonu ile kanser üzerinde etkinliğe sahiptirler.

Yapılan çalışmalarda, kanser ilerlemesinde hayati rolü olan bromodomainlerin, kinazolin-2(1*H*)-on gibi yapılarla inhibisyonu sağlanarak antikanser aktivite gösteren etkin moleküller elde edilmesi hedeflenmiştir (Chung ve ark., 2012; Alagarsamy ve ark., 2018).

Bu tez çalışması kapsamında, flavon halkasına, metil kinazolin halkasının sülfonamid köprüsü ile bağlanarak antikanser etkili bileşik geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu doğrultuda kinazolinilsülfonil flavon bileşikler (SQZM, 4MQZM, 4SMQN, 4OQZM, 5OMQ, 6QZM, 6CQZM)'nin sentezi gerçekleştirilmiştir.

Kinazolinilsülfonil flavon bileşiklerinin sentezi için:

-flavon sülfonil klorürler ve

-metil kinazolin başlangıç maddeleri oluşturulmuştur. Baker-Venkataraman yöntemi ile elde edilen flavon bileşiğinin klorosülfonik asit içindeki reaksiyonunu takiben oluşturulan flavon sülfonil klorürler, metil kinazolin (**AQNZ**) ile alkali ortamda muamele edildiğinde **SQZM**, **4MQZM**, **4SMQN**, **4OQZM**, **5OMQ**, **6QZM**, **6CQZM** bileşikleri sentez edilmiştir.

Sitotoksik aktiviteleri incelenen bileşiklerin antikanser aktivite mekanizması için bromodomain inhibisyon potansiyelleri taraması yapılmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kanser, tüm dünyada hala en önemli bir sağlık sorunudur. Bazı hastalıkların tedavisinde kayda değer bir ilerleme kaydedilmiş olmasına rağmen, yeni antikanser etkili bileşiklerin keşfi hala kritik öneme sahiptir (Noolvi ve ark., 2011).

Kanser hastalığı gibi birçok hastalığın epigenetik bir etiyolojiye sahip olması gerçeği, “epigenetik tedavi” olarak adlandırılacak yeni bir terapötik seçeneğin gelişmesine olanak sağlamıştır (Egger ve ark., 2004). Genomdaki epigenetik değişimlerin ters çevrilebilir özellikte olması kanser tedavisi için umut verici olmaktadır (Sharma ve ark., 2010).

Bu yüksek lisans tezi kapsamında, kinazolin yapısı içeren flavon bileşikleri sentez edilmiştir. Bu amaçla 7 tanesi orijinal olmak üzere 8 adet ara ürün (**AQNZ**, **IVb-g**) ve 7 adet orijinal sonuç ürün (**SQZM**, **4MQZM**, **4SMQN**, **4OQZM**, **5OMQ**, **6QZM**, **6CQZM**) sentezi gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen bileşiklerin yapısı, elementel analiz, ¹H-NMR ve Mass spektral verileri ile aydınlatılmıştır.

7 orjinal bileşiğin (**SQZM**, **4MQZM**, **4SMQN**, **4OQZM**, **5OMQ**, **6QZM**, **6CQZM**) potansiyel sitotoksik etkileri 3 farklı hücre hattında (A549, MCF-7, K562) araştırılmıştır. Uygulanan hücre hatlarında sitotoksik aktivite gözlenmiş olup, hesaplanan canlı kalma oranına göre; flavonun metoksi sübstitüsyonunun, –metil, –kloro sübstitüsyona göre aktiviteyi iyileştirdiği; 6. konumundan metoksi sübstitüe edilen bileşikte, 5. konumundan metoksi sübstitüe edilen bileşiğe göre daha fazla sitotoksik etki olduğu gözlenmiştir. Serinin en etkili bileşiğinin flavonun sübstitüent içermeyen türevi **SQZM** (N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensülfonamid) olduğu bulunmuştur.

Sitotoksik aktiviteleri incelenen bileşiklerin antikanser aktivite mekanizması olarak önerilen bromodomain inhibisyon potansiyelleri, BRD4 inhibisyonu üzerinden taranmıştır. BRD4 inhibisyonu için en yüksek sitotoksik aktivite gösteren **SQZM** ve **6QZM** kodlu maddeleri seçilmiştir. Bileşiklerin BRD4 inhibisyonu için kaydedilen IC₅₀ değerlerinin, **SQZM**'nin 750,75 µM, **6QZM**'nin 427,99 µM olduğu saptanmıştır.

ÖZET

Biyolojik Etkili Yeni Bazı Kinazolin Bileşikleri Üzerinde Çalışmalar

Antikanser aktiviteleri değerlendirilmek üzere yeni bir seri kinazolinil sülfonil flavon bileşikleri sentez edilmiştir.

Bu kapsamda 7'si orijinal 8 adet ara ürün ve 7 adet orijinal sonuç ürün olmak üzere toplam 15 adet bileşik sentez edilmiştir. Sentezi gerçekleştirilen bileşikler aşağıda listelenmiştir:

- A) 6-Amino-3-metil-3,4-dihidrokinazolin-2(1*H*)-on (AQNZ)
- B) 3'-Flavon sülfonil klorür (IVa)
- C) 4'-Metil-3'-Flavon sülfonil klorür (IVb)
- D) 5-Metoksi-3'-flavon sülfonil klorür (IVc)
- E) 6-Metoksi-3'-flavon sülfonil klorür (IVd)
- F) 6-Kloro-3'-flavon sülfonil klorür (IVe)
- G) 3'-Metil-4'-flavon sülfonil klorür (IVf)
- H) 4'-Metoksi-3'-flavon sülfonil klorür (IVg)
- İ) N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensülfonamid (SQZM)
- J) 2-Metil-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-5-(4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensülfonamid (4MQZM)
- K) N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(5-metoksi-4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensülfonamid (5OMQ)
- L) N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(6-metoksi-4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensülfonamid (6QZM)
- M) 3-(6-Kloro-4-okso-4*H*-kromen-2-il)-N-(3-Metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)- benzensülfonamid (6CQZM)
- N) 2-Metil-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-4-(4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensülfonamid (4SMQN)
- O) 2-Metoksi-N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-5-(4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensülfonamid (4OQZM)

Sentezlenen 7 sonuç ürünün sitotoksik aktivite sonuçlarına göre en etkin bileşik N-(3-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrokinazolin-6-il)-3-(4-okso-4*H*-kromen-2-il)benzensülfonamid (SQZM) bileşiği olmuştur.

Anahtar Sözcükler: Antikanser, Bromodomain, Epigenetik, Flavonoidler.

SUMMARY

Studies On Some New Quinazoline Compounds with Biological Effect

A new series of a quinazolinylsulfonyl flavone compounds have been synthesized for their anticancer activities.

For this purpose, a total of 15 compounds were synthesized, 6 of which were original 8 intermediates and 7 original products. The synthesized compounds are listed below:

- A) 6-Amino-3-methyl-3,4-dihydroquinazolin-2(1*H*)-one (AQNZ)
- B) 3'-Flavone sulfonyl chloride (IVa)
- C) 4'-Methyl-3'-Flavone sulfonyl chloride (IVb)
- D) 5-Methoxy-3'-flavone sulfonyl chloride (IVc)
- E) 6-Methoxy-3'-flavone sulfonyl chloride (IVd)
- F) 6-Chloro-3'-flavone sulfonyl chloride (IVe)
- G) 3'-Methyl-4'-flavone sulfonyl chloride (IVf)
- H) 4'-Methoxy-3'-flavone sulfonyl chloride (IVg)
- I) N- (3-Methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolin-6-yl) -3- (4-oxo-4*H*-chromen-2-yl) benzenesulfonamide (SQZM)
- J) 2-Methyl-N-(3-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolin-6-yl)-5-(4-oxo-4*H*-chromen-2-yl)benzenesulfonamide (4MQZM)
- K) N- (3-Methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolin-6-yl) -3- (5-methoxy-4-oxo-4*H*-chromen-2-yl) benzenesulfonamide (5OMQ)
- L) N- (3-Methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolin-6-yl) -3- (6-methoxy-4-oxo-4*H*-chromen-2-yl) benzenesulfonamide (6QZM)
- M) 3- (6-chloro-4-oxo-4*H*-chromen-2-yl)-N- (3-Methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolin-6-yl) - benzenesulfonamide (6CQZM)
- N) 2-Methyl-N-(3-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolin-6-yl)-4-(4-oxo-4*H*-chromen-2-yl)benzenesulfonamide (4SMQN)
- O) 2-Methoxy-N-(3-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolin-6-yl)-5-(4-oxo-4*H*-chromen-2-yl)benzenesulfonamide (4OQZM)

According to the cytotoxicity results of 7 synthesized products, the most effective compound was N- (3-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolin-6-yl) -3- (4-oxo-4*H*-chromen-2-yl) benzenesulfonamide (SQZM).

Keywords: Anticancer, Bromodomains, Epigenetic, Flavonoids.



KAYNAKLAR

- ADCOCK IM, ITO K, BARNES PJ (2005). Histone deacetylation: an important mechanism in inflammatory lung diseases. *COPD*, **2**: 445–455.
- ALAGARSAMY V, CHITRA K, SARAVANAN G, SOLOMON VR, SULTHANA MT, NARENDHAR B (2018). An overview of quinazolines: Pharmacological significance and recent developments. *Eur J Med Chem*, **151**: 628-685.
- ALSEFKHS, SOUZA L, BENİNA M, FERNİE AR (2020). The style and substance of plant flavonoid decoration; towards defining both structure and function. *Phytochem*, **174**: 1-15.
- AUWERS K (1921). Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft B: Abhandlungen, **54**: 1543-59
- BAGHEL SS, SİRİVASTAVA N, BAGHEL RS, AGRAWAL P, RAJPUT S (2012). A review of quercetin: Antioxidant and anticancer properties. *World J Pharm and Pharm Sci*, **1**: 146-160.
- BAI W, WANG C, REN C (2014). Intakes of total and individual flavonoids by US adults. *Int J Food Sci Nutr*, **65**: 9-20.
- BAKER W (1933). Molecular rearrangement of some o-acyloxyacetophenones and the mechanism of the production of 3-acylchromones. *J Chem Soc*, 1381-1389.
- BAKER W, GLOCKLING F (1950). An unambiguous synthesis of 3-aroylflavones and their reaction with benzylamine. *J Chem Soc*, 2759-2764.
- BALASURIYA N., RUPASINGHE HP (2012). Antihypertensive properties of flavonoid-rich apple peel extract. *Food Chem*, **135**: 2320–2325.
- BALASURIYA N, RUPASINGHE HP (2012). Antihypertensive properties of flavonoid-rich apple peel extract. *Food Chem*, **135**: 2320–2325.
- BANO S, JAVED K, AHMAD S, RATHISH IG, SINGH S, ALAM MS (2011). Synthesis and biological evaluation of some new 2-pyrazolines bearing benzene sulfonamide moiety as potential anti-inflammatory and anti-cancer agents. *Eur J Med Chem*, **46**: 5763-5768.
- BARBIERİ I, CANNIZZARO E, DAWSON MA (2013). Bromodomains as therapeutic targets in cancer. *Brief Funct Genomics*, **12**: 219–230.

- BARNES S (1995). Effects of genistein in *in vivo* and *in vitro* models of cancer growth. *J Nutr*, **125**: 7775-7835.
- BARNES S, PETERSON GT (1994). Biochemical targets of the isoflavone genistein in tumor cell lines. *Proc Soc Exp Med Biol*, **208**: 103-108.
- BAYLÍN SB, JONES PA (2011). A decade of exploring the cancer epigenome-Biological and translational implications. *Nat Rev Cancer*, **11**: 726-734.
- BEDI PD, KUMAR V, MAHAJAN MP (2004). Synthesis and biological activity of novel antibacterial quinazolines. *Bioorg Med Chem Let*, **14**: 5211- 5213.
- BELKINA AC, BLANTON WP, NIKOLAJCZYK BS, DENIS GV (2014). The double bromodomain protein Brd2 promotes B cell expansion and mitogenesis. *J Leukoc Biol*, **95**: 451-460.
- BEUTNER S, FRÍXEL S, ERNST H, HOFFMANN T, HERNANDEZ I, HUNSDOERFER C, KIESENDAHL N, KOCK S, MARTÍN HD, MAYER B, NOACK P, PEREZ A, KOCK G, SCHERRERS R, SCHRADER W, SELL S, STAHL W (2007). *ARKIVOC*, **8**: 279-295.
- BRAND M, MEASURES AM, WILSON BG, CORTOPASSI WA, ALEXANDER R, HO M, HEWINGS DS, ROONEY TPC, PATON RS, CONWAY SJ (2015). Small Molecule Inhibitors of Bromodomain-Acetyl-lysine Interactions. *ACS Chemical Biology*, **10**: 22-39.
- BISWAS S, RAO CM (2017). Epigenetics in cancer: fundamentals and beyond. *Pharmacol Ther*, **173**: 118-134.
- BOZDAG O, VERSPOHL EJ, ERTAN R (1999). Synthesis and Hypoglycaemic Activity of Some New Flavone Derivatives. Part 1: Flavonylsulfonylurea Derivatives. *Arch Pharm Pharm Med Chem*, **332**: 435-438.
- BOLDEN JE, PEART MJ, JOINSTONE RW (2006). Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov*, **5**: 769-784.
- CAO SL, FENG YP, JIANG YY, LIU SY, DING GY, LI RT (2005). Synthesis and *in vitro* antitumor activity of 4(3H)-quinazolinone derivatives with dithiocarbamate side chains. *Bioorg Med Chem Lett*, **15**: 1915-1917.
- CHAHAR MK, SHARMA N, DOBHAI MP, JOSHI YC (2011). Flavonoids: a versatile source of anticancer drugs. *Pharmacog Rev*, **5**: 1-34.
- CHANDRIKA PM, YAKAIAH T, RAO ARR, NARSAIAH B, REDDY NC, SRIDHAR V, RAO JV (2008). Synthesis of novel 4,6-disubstituted quinazoline derivatives, their anti-inflammatory

- and anti-cancer activity (cytotoxic) against U937 leukemia cell lines. *Eur J Med Chem*, **43**: 846.
- CHEN L, YAP JL, YOSHIOKA M, LANNING ME, FOUNTAIN RN, RAJE M, SCHEENSTRA JA, STROVEL JW, FLETCHER S (2015). BRD4 structure-activity relationships of dual PLK1 kinase/BRD4 bromodomain inhibitor BI-2536. *ACS Med Chem Lett*, **6**: 764-769.
- CHEN Y, SPRUNG R, TANG Y, BALL H, SANGRAS B, KIM SC, FALCK JR, PENG J, GU W, ZHAO Y (2007). Lysine propionylation and butyrylation are novel post-translational modifications in histones. *Mol Cell Proteomics*, **6**: 812-819.
- CHOI EJ (2007). Hesperetin induced G1- phase cell cycle arrest in human breast cancer MCF-7 cells: involvement of CDK4 and p21. *Nutr Cancer*, **59**: 115-119.
- CHUN OK, CHUNG SJ, SONG WO (2007). Estimated dietary flavonoid intake and major food sources of U.S. adults. *J Nutr*, **137**: 1244-1252.
- CHUNG C, DEAN AW, WOOLVEN JM, BAMBOROUGH P (2012). Fragment-based discovery of bromodomain inhibitors, part 1: Inhibitor binding modes and implications for lead discovery. *J. Med Chem*, **55**: 576-586.
- COTIN S, CALLISTE CA, MAZERON MC, HANTZ S, DUROUX JL, RAWLINSON WD, PLOY MC, ALAIN S (2012). Eight flavonoids and their potential as inhibitors of human cytomegalovirus replication. *Antivir Res*, **96**: 181-186.
- CRAMER F, ELSCHNIIG GII (1956). Über Einschluß-verbindungen, IX. Mitteil.: Die blauen Jodverbindungen der Flavone. *Chem Berichte*, **89**: 1-12
- DAVIS NJ, KUCUK O, DJURIC Z, SARKAR FH (2001). Soy isoflavone supplementation in healthy men prevents NF- κ B activation by TNF- α in blood lymphocytes. *Free Radic Biol Med*, **30**: 1293-1302.
- DAVIS NJ, KUCUK O, SARKAR FH (1999). Genistein inhibits NF- κ B activation in prostate cancer cells. *Nutr Cancer*, **35**: 167-174.
- DAWSON MA, KOUZARIDES T (2012). Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell*, **150**: 12-27.
- EDEN A, GAUDET F, WAGHMARE A, JAHNISCH R (2003). Chromosomal instability and tumors promoted by DNA hypomethylation. *Science (New York, NY)*, **300**: 455.

- EGGER G, LIANG G, APARÍCIO A, JONES AP (2004). Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*, **429**: 457-463.
- ESTELLER M, CORN PG, BAYLÍN SB, HERMAN JG (2001). A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res*, **61**: 3225–3229.
- FAROOQÍ A, DESAI N, QURESHÍ M, LIBRELOTTO D, GASPARRÍ M, BISHAYEE A, NABAVÍ SM, CURTÍ V, DAGLIA M (2018). Exosome biogenesis, bioactivities and functions as new delivery systems of natural compounds. *Biotechnol. Adv*, **36**: 328-334.
- FEINBERG AP, VOGELSTEIN B (1983). Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature*, **301**: 89–92.
- FERRÍ E, PETOSA C, MCKENNA CE (2016). Bromodomains; Structure, function and pharmacology of inhibition. *Biochem Pharmacol*, **106**: 1-18.
- FILIPPAKOPOULOS P, KNAPP S (2014). Targeting bromodomains: epigenetic readers of lysine acetylation. *Nat Rev Drug Discov*, **13**: 337–356.
- FILIPPAKOPOULOS P, PICAUD S, MANGOS M, KEATES T, LAMBERT JP, BARSYTE-LOVEJOY D, FELLETER I, VOLKMER R, MÜLLER S, PAWSON T, GINGRAS AC, ARROWSMITH CH, KNAPP S (2012). Histone recognition and large-scale structural analysis of the human bromodomain family. *Cell*, **149**: 214–231.
- FISH PV, COOK AS, PHILLIPS C, BENT AE, MILLS JEJ, SCIAMMETTA N (2013). Preparation of novel heterocyclic compounds as bromodomain inhibitors, *PCT Int Appl*, WO 2013027168-A1 20130228.
- FU LL, TIAN M, LI X, LI JJ, HUANG J, OUYANG L, ZHANG Y, LIU B (2015). Inhibition of BET bromodomains as a therapeutic strategy for cancer drug discovery. *Oncotarget*, **6**: 5501-5516.
- GAMSJAEGER R, WEBB SR, LAMONICA JM, BILLIN A, BLOBEL GA, MACKAY JP (2011). Structural basis and specificity of acetylated transcription factor GATA1 recognition by BET family bromodomain protein Brd3. *Mol Cell Biol*, **31**: 2632–2640.
- GAO L, LI C, YANG RY, LIAN WW, FANG JS, PANG XC, QIN XM, LIU AL, DU GH (2015). Ameliorative effects of baicalcin in MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease A microarray study. *Pharmacol Biochem Behav*, **133**: 155–163.
- GARBER K (2007). HDAC inhibitors overcome first hurdle. *Nat. Biotechnol*, **25**: 17–19.
- GHANI A (2003). Medicinal Plants of Bangladesh with Chemical Constituents and Uses (2nd Ed.). *Asiatic Society of Bangladesh*, Dhaka.

- GIBELLINI L, PINTI M, NASI M, MONTAGNA JP, DE BIASI S, ROAT E, BERTONCELLI L, COOPER EL, COSSARIZZA A (2011). Quercetin and cancer chemoprevention. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-15.
- GIULIANI C, BUCCI I, DI SANTO S, ROSSI C, GRASSADONIA A, PIANTELLI M, MONACO F, NAPOLITANO G (2014). The flavonoid quercetin inhibits thyroid related genes expression and thyroid function. *Food Chem Toxicol*, **66**: 23-29.
- GODOS J, MARVENTANO S, MISTRETTA A, GALVANO F, GROSSO G (2017). Dietary sources of polyphenols in the Mediterranean healthy Eating, Aging and Lifestyle (MEAL) study cohort. *Int. J Food Sci Nutr*, **68**: 750-756.
- GRIESBACH R (2005). Biochemistry and genetics of flower color. *Plant Breed Rev*, **25**: 89-114.
- GROSSO G, STEPANIAK U, TOPOR-MADRY R, SZAFRANIEC K, PAJAK A (2014). Estimated dietary intake and major food sources of polyphenols in the Polish arm of the HAPIEE study. *Nutrition*, **30**: 1398-1403.
- HARBORNE JB, WILLIAMS CA (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, **55**: 481-504.
- HAYNES SR, DOLLARD C, WINSTON F, BECK S, TROWSDALE J, DAWID IB (1992). The bromodomain: a conserved sequence found in human, Drosophila and yeast proteins. *Nucleic Acids Res*, **20**: 2603.
- HE D, WANG M, ZHAO S, SHU Y, ZENG H, XIAO C, LU C, LIU Y (2017). Pharmaceutical prospects of naturally occurring quinazolinone and its derivatives. *FitoTerapia*, **119**: 136-149.
- HERRANZ N, DAVE N, MILLANES-ROMERO A, MOREY L, DIAZ VM, LORENZ-FONFRIA V, GUTIERREZ-GALLEGO R, JERONIMO C, DI CROCE L, GARCIA DE HERREROS A, PEIRO S (2012). Lysyl oxidase-like 2 deaminates lysine 4 in histone H3. *Mol Cell*, **46**: 369-376.
- HERTOG MG, HOLLMAN PC, KATAN MB, KROMHOUT D (1993). Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in The Netherlands. *Nutr Cancer*, **20**: 21-29.
- HEWINGS DS, ROONEY TPC, CONWAY SJ (2015). Emerging Epigenetic Therapies—Bromodomain Ligands. *Epigenetic Cancer Therapy*, **22**: 495-524.
- ISANBOR C, O'HAGAN D (2006). Fluorine in medicinal chemistry: A review of anti-cancer agents. *J. Fluorine Chem*, **127**: 303.

- JAGANATH IB, CROZIER A (2011). Flavonoid biosynthesis, in: Ashihara, H. Crozier, A. Komamine A. (Eds.). *Plant Metab Biotechnol, John Wiley & Sons*, 299 -313.
- JAVIERRE BM, FERNANDEZ AF, RÍCHTER J (2010). Changes in the pattern of DNA methylation associate with twin discordance in systemic lupus erythematosus. *Genome Res*, **20**: 170–179.
- JENUWEIN T, ALLIS CD (2001). Translating the histone code. *Science*, **293**: 1074–1080.
- JONES PA, BAYLIN SB (2007). The epigenomics of cancer. *Cell*, **128**: 683–692.
- JUNG M, PHILPOTT M, MÜLLER S, SCHULZE J, BADOCK V, EBERSPÄCHER U, MOOSMAYER D, BADER B, SCHMEES N, FERNÁNDEZ-MONTALVÁN A, HAENDLER B (2014). Affinity map of bromodomain protein 4 (BRD4) interactions with the histone H4 tail and the small molecule inhibitor JQ1. *J Bio Chem*, **289**: 9304-9319.
- KAZANTSEV AG, THOMPSON LM (2008). Therapeutic application of histone deacetylase inhibitors for central nervous system disorders. *Nat Rev Drug Discov*, **7**: 854–868.
- KHAN I, ZAIB S, BATOOL S, ABBAS N, ASHRAF Z, JAMSHEDQBAL, SAIED A (2016). Quinazolines and quinazolinones as ubiquitous structural fragments in medicinal chemistry: An update on the development of synthetic methods and pharmacological diversification. *Bioorg Med Chem*, **24**: 2361-2381.
- KITTAKOOP P (2015). Anticancer Drugs and Potential Anticancer Leads Inspired by Natural Products. *Studies in Natural Products Chemistry*, **44**: 251-307.
- KNEKT P, JARVINEN R, REUNANEN A, MAATELA J (1996). Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *Bmj*, **312**: 478-481.
- KRYCII J, GEBICKA L (2013). Catalase is inhibited by flavonoids. *Int J Biol Macromol*, **58**: 148–153.
- LAMBA, MANDEEP (2008). *J CHEM RES*, **4**: 225-226.
- LAMONICA JM, DENG W, KADAUKE S, CAMPBELL AE, GAMSJAEGER R, WANG H, CHENG Y, BILLIN AN, HARDISON RC, MACKAY JP, BLOBEL GA (2011). Bromodomain protein Brd3 associates with acetylated GATA1 to promote its chromatin occupancy at erythroid target genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, **108**: 159–168.
- LEE KS, KIM EY, CHO SG, HAN YJ, YANG YC, LEE SS, KO MS, RIU KJ, LEE HT, PARK SP (2011). 3,4- Dihydroxyflavone acts as an antioxidant and antiapoptotic agent to support bovine embryo development in vitro. *J Reprod Dev*, **57**: 127-134.

- LEE WJ, CHIEN WK, WANG CJ, LIN WL, TSENG TII (2008). Apigenin inhibits IIGF-promoted invasive growth and metastasis involving blocking PI3K/Akt pathway and beta 4 integrin function in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, **226**: 178-191.
- LI ZD, LIU LZ, SHI X, FANG J, JIANG BH (2007). Benzo(a)pyrene-3,6-dione inhibited VEGF expression through inducing HIF-1alpha degradation. *Biochem Biophys Res Commun*, **357**: 517-523.
- LIN HJ, ZUO T, CHAO JR, PENG Z, ASAMOTO LK, YAMASHITA SS, HUANG TH (2009). Seed in soil, with an epigenetic view. *Biochim Biophys Acta*, **1790**: 920-924.
- LIU L, QU W, LIANG J (2012). Progress on chemical constituents and biological activities of *Drynaria fortunei*. *Strait Pharm J*, **24**: 4-7.
- LIU X, ZHANG S, LU X, ZHENG S, LI F, XIONG Z (2012). Metabonomic study on the anti-osteoporosis effect of Rhizoma Drynariae and its action mechanism using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry *J Ethnopharmacol*, **139**: 311-317.
- MAI A (2014). Targeting epigenetics in drug discovery. *Chem Med Chem*, **9**: 415-417.
- MARTÍN C, ZHANG Y (2007). Mechanisms of epigenetic inheritance. *Curr Opin Cell Biol*, **19**: 266-272.
- MATZUK MM, MCKEOWN MR, FILIPPAKOPOULOS P, LI Q, MA L, AGNO JE, LEMIEUX ME, PICAUD S, YU RN, QI J, KNAPP S, BRADNER JE (2012). Small-molecule inhibition of BRDT for male contraception. *Cell*, **150**: 673-684.
- MAYANK B (2007). *International Journal of Chemical Sciences*, **5**: 2067-2075.
- MERT S, YAĞLIOĞLU AS, DEMİRTAS I, KASIMOĞLU R (2014). Synthesis and antiproliferative activities of some pyrazole-sulfonamide derivatives. *Med Chem Res*, **23**: 1278-1289.
- MOHAMED MS, KAMEL MM, KASSEM EM, ABOTALEB N, EL-MOEZ SIA, AHMED MF (2010). Novel 6,8-dibromo-4(3H)quinazolinone derivatives of anti-bacterial and anti-fungal activities. *Eur J Med Chem*, **45**: 3311.
- MUSILOVA K, MRAZ M (2015). MicroRNAs in B-cell lymphomas: how a complex biology gets more complex. *Leukemia*. **29**: 1004-1017.
- NAM S, LI M, CHOI K, BALCH C, KIM S, NEPHEW KP (2009). MicroRNA and mRNA integrated analysis (MMIA): a web tool for examining biological functions of microRNA expression. *Nucleic Acids Res*, **37**: 356-362.

- NASCIMENTO-SOUZA MA, DE PAIVA PG, PEREZ-JIMENEZ J, DO CARMO CASTRO FRANCESCHINI S, RIBEIRO AQ (2018). Estimated dietary intake and major food sources of polyphenols in elderly of Vicosá, Brazil: a population-based study. *Eur J Nutr*, **57**: 617-627.
- NIH (National Institutes of Health) (2015). Eriřim: [https:// www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer](https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer). Eriřim Tarihi: 8. řubat. 2020.
- NEGRİ A, NAPONELLI V, RIZZI F, BETTUZZI S (2018). Molecular targets of epigallocatechin-gallate (EGCG): a special focus on signal transduction and cancer. *Nutrients*, **10**(12).
- NEWMAN DJ, CRAGG GM (2016). Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J Nat Prod*, **79**: 629-661.
- NIJEVELDT R, NOOD EV, HOORN DECV, BOELEN PG, NORREN KV, LEEAWEN PAMV (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and ptential applications. *Am J Clin Nutr*, **74**: 418-425.
- NOOLVI MN, PATEL HM, BHARDWAJ V, CHAUHAN A (2011). Synthesis and in vitro antitumor activity of substituted quinazoline and quinoxaline derivatives: Search for anticancer agent. *Eur J Med Chem*, **46**: 2327-2346.
- PADMANABHAN B, MATIUR OIITA Y, FUKUDA S, BABA A, NAGAİ II, TSUKUDA R, SOIIDA T, MAKİNO (1996). Immunomodulating and articular protecting activities of a new anti-rheumatic drug, TAK-603. *Immunopharmacology*, **34**: 17.
- S, MANJULA R, TRİPATIİ S (2016). Bromodomain and extra terminal (BET) family proteins: new therapeutic targets in major diseases. *J Biosci*, **41**: 295-311.
- PANCHE AN, DİWAN AD, CIIANDRA SR (2016). Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*, **5**: 47.
- PELUSO I, SERAFİNİ M (2017). Antioxidants from black and green tea: from dietary modulation of oxidative stress to pharmacological mechanisms. *Br J Pharmacol*, **174**: 1195–1208.
- PEREZ-JIMENEZ J, FEZEU L, TOUVİER M, ARNAULT N, MANACH C, HERCBERG S, GALAN P, SCALBERT A (2011). Dietary intake of 337 polyphenols in French adults Dietary intake of 337 polyphenols in French adults. *Am J Clin. Nutr*, **93**: 1220-1228.
- PEREZ-JIMENEZ J, NEVEU V, VOS F, SCALBERT A (2010). Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database. *Eur J Clin Nutr*, **64**: 112-120.

- PRAKASHA IIM, KRISHNAPPA M, KRISHNAMURTHY YL, POOMIMA S (2010). Folk medicine of NR Pura Taluk in Chikamagalur district of Karnataka. *Indian J Tradit Know*, **9**: 55-60.
- QAZI AK, HUSSAIN A, KHAN S, AGA MA, BEHL A, ALI S, MONDHE DM (2015). Quinazoline based small molecule exerts potent tumour suppressive properties by inhibiting PI3K/Akt/FoxO3a signalling in experimental colon cancer. *Cancer Lett*, **359**: 47.
- RAFFA D, MAGGIO B, RAIMONDI MV, PLESCIA F, DAIDONE G (2017). Recent discoveries of anticancer flavonoids, *Eur J Med Chem*, **142**: 1-16.
- RAHMAN S, SOWA ME, OTTINGER M, SMITH JA, SHI Y, HARPER JW, HOWLEY PM (2011). The Brd4 extraterminal domain confers transcription activation independent of pTEFb by recruiting multiple proteins, including NSD3. *Mol Cell Biol*, **31**: 2641-2652.
- RAKERS C, SCHWERDTFEGER SM, MORTIER J, DUWE S, WOLFF T, WOLBER G, MELZIG MF (2014). Inhibitory potency of flavonoid derivatives on influenza virus neuraminidase. *Bioorg Med Chem Lett*, **24**: 4312-4317.
- RAMADOSS M, MAHADEVAN V (2018). Targeting the cancer epigenome: synergistic therapy with bromodomain inhibitors. *Drug Discov Today*, **23**: 76-89.
- RAMAKRISHNAN V (1997). Histone structure and the organization of the nucleosome. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, **26**: 83-112.
- RAMA RAO AV (1964). *Natl Chem Lab, Poona Indian J Chem*, **11**: 431-6.
- RANA AC, GULLIYA B (2019). Chemistry and pharmacology of flavonoids- a review *Indian J. Pharm Educ Res*, **53**: 8-20.
- RASTOGI RP, MEHROTRA BN (1991). Compendium of Indian Medicinal Plants Central Drug Research Institute and Publications and Information Directorate, Lucknow and New Delhi, 833.
- RATHERT P, ROTH M, NEUMANN T, MUERDTER F, ROE JS, MUHAMMAD M, DESWAL S, CERNY-REITERER S, PETER B, JUDE J, HOFFMANN T, BORYN LM, AXELSSON E, SCHWEIFER N, TONTSCH-GRUNT U, DOW LE, GIANNI D, PEARSON M, VALENT P, STARK A, KRAUT N, VAKOC CR, ZUBER J (2015). Transcriptional plasticity promotes primary and acquired resistance to BET inhibition. *Nature*, **525**: 543-547.

- RENGARAJAN S, MELANATHURU V, GOVINDASAMY C, CHINNADURAI V, ELSADEK MF (2020). Antioxidant activity of flavonoid compounds isolated from the petals of *Hibiscus rosa sinensis*. *Journal of King Saud University - Science*, **32**: 2236-2242.
- ROBERTSON KD (2005). DNA methylation and human disease. *Nat Rev Genet*, **6**: 597–610.
- ROLLER G, HOLLY ED, Derivatives of p-Halophenol (1961). *US*, 29930738.
- RUTHENBURG AJ, LI H, PATEL DJ, ALLIS CD (2007). Multivalent engagement of chromatin modifications by linked binding modules. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **8**: 983–994.
- RYZSNYAK S, SZENT-GREORGY A (1936). Vitamin P: Flavonols as Vitamins. *Nature*, **138**: 27.
- SAHA V, REDIG AJ, COLLIER KA, ECKERDT FD, MUNSHI HG (2016). Targeting bet bromodomain proteins in solid tumors. *Oncotarget*, **7**: 53997-54009.
- SAITO K, YONEKURA-SAKAKIBARA K, NAKABAYASHI R, HIGASHI Y, YAMAZAKI M, THOGE T, FERNIE AR (2013). The flavonoid biosynthetic pathway in Arabidopsis: structural and genetic diversity. *Plant Physiol Biochem*, **72**: 21-34.
- SAMANTA A, DAS G, DAS S (2011). Roles of flavonoids in plants. *Int J Pharm Sci Tech*, **6**: 12–35.
- SANCHEZ R, MESLAMANI J, ZIOU MM (2014). The bromodomain: from epigenome reader to druggable target. *Biochim Biophys Acta*, **1839**: 676–685.
- SEELINGER G, MERFORT I, WOLFLE U, SCHEMPP CM (2008). Anti-carcinogenic effects of the flavonoid luteolin. *Molecules* **13**: 2628–51.
- SGHAIERA MB, SKANDRANI I, NASRA N, FRANCAC MGD, CITEKIR-GHEDIRAA L, GHEDIRAA K (2011). Flavonoids and sesquiterpenes from *Tecurium ramosissimum* promote antiproliferation of human cancer cells and enhance antioxidant activity: A structure– activity relationship study. *Environmental Toxicology and Pharmacology, AAPS*, **32**: 336–348.
- SHARMA D, KUMAR S, MAKRANDI JK (2009). Solid phase Baker–Venkataraman rearrangement under solvent-free condition using grinding technique. *Green Chem Lett Rev*, **2**: 53-55.
- SHARMA S, KELLY TK, JONES PA (2010). Epigenetics in Cancer. *Carcinogenesis*, **31**: 27-36.
- SHARMA S, SULTANA S (2004). Effect of *Hibiscus rosa sinensis* extract on hyperproliferation and oxidative damage caused by benzoyl peroxide and ultraviolet radiations in mouse skin. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **95**: 220-225.

- SIHERBET GV (2017). The Anti-Cancer Potential of Flavonoids. *Mol Approach to Cancer Manage*, **17**: 151-162.
- SHÍ J,VAKOC CR (2014). The mechanisms behind the therapeutic activity of BET bromodomain inhibition. *Mol Cell*, **54**: 728-736.
- SHÍBATA C, OHNO M, OTSUKA M, KISHIKAWA T, GOTO K, MUROYAMA R, KATO N, YOSHIKAWA T, TAKATA A, KOIKE K (2014). The flavonoid apigenin inhibits hepatitis C virus replication by decreasing mature microRNA122 levels. *Virology*, **462–463**: 42-48.
- SÍMONIS H (1926). Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft B: Abhandlungen, **59**: 2914-9
- SÍNGH BN, SHANKAR S, SRÍVASTAVA RK(2011). Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochem Pharmacol*, **82**: 1807-21.
- SONG S, ZHAÍ Y, LÍ C, YU Q, LU Y, ZHANG Y, HUA W, WANG Z, SHANG P (2016). Effects of total flavonoids from *Drynariae Rhizoma* prevent bone loss in vivo and in vitro. *Bone Reports*, **5**: 262-273
- SOUNDARYA SP, SANJAY V, MENON IIA, DIÍVYA S, SELVAMURUGAN N (2018). Effects of flavonoids incorporated biological macromolecules based scaffolds in bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol*, **110**: 74-87.
- STAWÍŃSKI J, SZAFRANSKI K, VULLO D, SUPURAN CT (2013). Carbonic anhydrase inhibitors. Synthesis of heterocyclic 4-substituted pyridine-3-sulfonamide derivatives and their inhibition of the human cytosolic isozymes I and II and transmembrane tumor-associated isozymes IX and XII. *Eur J Med Chem*, **69**: 701-710.
- STRÍSSSEL PL, STRÍCK R (2005). Multiple effects of bioflavonoids on gene regulation, cell proliferation and apoptosis: natural compounds move into the lime light of cancer research. *Leuk Res*, **29**: 859-861.
- TAGUCHÍ C, FUKUSHÍMA Y, KISHÍMOTO Y, SUZUKÍ-SUGÍHARA N, SAÍTA E, TAKAHASHÍ Y, KONDO K (2015). Estimated dietary polyphenol intake and major food and beverage sources among elderly. *Japanese Nutrients*, **7**: 10269-10281.
- TAKAHASHÍ A, OHNÍSHÍ T (2004). The significance of the study about the biological effects of solar ultraviolet radiation using the exposed facility on the international space station. *Biol Sci Space*, **18**: 255–260.

- TAMKUN JW, DEURING R, SCOTT MP, KISSINGER M, PATTATUCCI AM, KAUFMAN TC KENNISON JA (1992). Brahma: a regulator of *Drosophila* homeotic genes structurally related to the yeast transcriptional activator SNF2/SW12. *Cell*, **68**: 561-72.
- TAN M, LUO H, LEE S, JIN F, YANG JS, MONTELLIER E, BUCHOU T, CHENG Z, ROUSSEAUX S, RAJAGOPAL N, LU Z, YE Z, ZHU Q, WYSOCKA J, YE Y, KHOCHBIN S, REN B, ZHAO Y (2011). Identification of 67 histone marks and histone lysine crotonylation as a new type of histone modification. *Cell*, **146**: 1016–1028.
- TAPAS AR, SAKARKAR D, KAKDE R (2008). Flavonoids as nutraceuticals: A review. *Trop J Pharm Res*, **7**: 1089-1099.
- THURN KT, THOMAS S, MOORE A, MUNSTER PN (2011). Rational therapeutic combinations with histone deacetylase inhibitors for the treatment of cancer. *Future Oncol*, **7**: 263–283.
- TRESSERRA-RIMBAU A, MEDINA-REMÓN A, PEREZ-JIMENEZ J, MARTÍNEZ-GONZÁLEZ MA COVAS ML, CORELLA D, SALAS-SALVADO J, GOMEZ-GRACIA E, LAPETRA J, AROS F, FÍOL M, ROS E, SERRA-MAJEM L, PÍNTO X, MUNOZ MA, SAEZ GT, RUÍZ-GUTIÉRREZ V, WARNBERG J, ESTRUCH R, LAMUELA-RAVENTOS RM (2013). Dietary intake and major food sources of polyphenols in a Spanish population at high cardiovascular risk: the PREDIMED study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, **23**: 953-959.
- TSUKIYAMA T, WU C (1997). Chromatin remodeling and transcription. *Curr Opin Genet Dev*, **7**: 182–191.
- TWEEDIE-CULLEN RY, BRUNNER AM, GROSSMANN J, MOIYANNA S, SICHIAU D, NANNI P, PANSE C, MANSUY IM (2012). Identification of combinatorial patterns of post translational modifications on individual histones in the mouse brain. *PLoS One*, **7**: 36980.
- VARGO MA, VOSS OH, POUSTKA F, CARDOUNEL AJ, GROTEWOLD E, DOSEFF AI (2006). Apigenin-induced-apoptosis is mediated by the activation of PKCdelta and caspases in leukemia cells. *Biochem Pharmacol*, **72**: 681-692.
- VYAS GN (1951). *J Ind Chem Soc*, **28**: 75-79.
- VIDLER LR, BROWN N, KNAPP S, HOELDER S (2012). Druggability analysis and structural classification of bromodomain acetyl-lysine binding sites. *J Med Chem*, **55**: 7346–7359.
- VILLENEUVE LM, NATARAJAN R (2010). The role of epigenetics in the pathology of diabetic complications. *Am J Physiol Ren Physiol*, **299**: 14–25.

- WAGNER GR, PAYNE RM (2013). Widespread and enzyme-independent N{epsilon}-acetylation and N{epsilon}-succinylation in the chemical conditions of themitochondrial matrix. *J Biol Chem*, **288**: 29036–29045.
- WANG TY, LI Q, BI KS (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian J Pharm Sci*, **13**: 12-23.
- WANG X, ZHEN L, ZHANG G, WONG M, QIN L, YAO X (2011). Osteogenic effects of flavonoid aglycones from an osteoprotective fraction of *Drynaria fortunei* an in vitro efficacy study. *Phytomedicine*, **18**: 868-872.
- WEI R, HACKMAN RM, WANG Y, MACKENZIE GG (2019). Targeting glycolysis with epigallocatechin-3-gallate enhances the efficacy of chemotherapeutics in pancreatic cancer cells and xenografts *Cancers. Basel*, **11**(10).
- WEI R, PENSO NEC, HACKMAN RM, WANG Y, MACKENZIE GG (2019). Epigallocatechin 3-Gallate (EGCG) suppresses pancreatic cancer cell growth, invasion, and migration partly through the inhibition of Akt pathway and epithelial-mesenchymal transition: enhanced efficacy when combined with gemcitabine. *Nutrients*, **11**(8).
- WITTIG G (1925). *Justus Liebigs Ann Chem*, **446**: 155-204.
- WOJDYŁO A, OSZMIANSKI J, CZEMERYS R (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem*, **105**: 940-949.
- World Health Organization (WHO) (2018).Eriřim: [https:// www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer). Eriřim Tarihi: 13. Kasım. 2020.
- WU C, CHEN F, RUSIING JW, WANG X, KIM JJ, HUANG G, HALEY-ZITLIN V, HIE G (2006). Antiproliferative activities of parthenolide and golden feverfew extract against three human cancer cell lines. *J Med Food*, **9**: 55-61.
- XU F, XU H, WANG X, ZHANG L, WEN Q, ZHANG Y, XU W (2014). Discovery of N-(3-((7H-purin-6-yl)thio)-4-hydroxynaphthalen-1-yl)-sulfonamide derivatives as novel protein kinase and angiogenesis inhibitors for the treatment of cancer: synthesis and biological evaluation. *Bioorg Med Chem*, **22**: 1487-1495.
- XU WS, PARMIGIANI RB, MARKS PA (2007). Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action. *Oncogene*, **26**: 5541–5552.
- XU Y, VAKOC C (2017). Targeting Cancer Cells with BET Bromodomain Inhibitors. *Cold Spring Harb Perspect Med*, **7**: 1-18.

- ZAMORA-ROS R, KNAZE V, ROTIWELL JA, IEMON B, MOSKAL A, OVERVAD K TJONNELAND A, KYRO C, FAGHERAZZI G, BOUTRON-RUAULT MC, TOUÏLLAUD M, KATZKE V, KUHN T, BOEING H, FORSTER J, TRICHOPOULOU A, VALANOU E, PEPPA E, PALLI D, AGNOLI C, RICCERÌ F, TUMINO R, DE MAGISTRIS MS, PEETERS PH, BUENO-DE-MESQUITA HB, ENGESET D, SKEIE G, HJARTAKER A, MENENDEZ V, AGUDO A, MOLINA-MONTES F, HUERTA JM, BARRICARTE A, AMIANO P, SONESTEDT E, NILSSON LM, LANDBERG R, KEY TJ, KHAW KT, WAREHAM NJ, LU Y, SLIMANI N, ROMIEU I, RIBOLI E, SCALBERT A (2016). Dietary polyphenol intake in Europe: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Eur J Nutr*, **55**: 1359-1375.
- ZENG L, ZHOU MM (2002). Bromodomain: an acetyl-lysine binding domain. *FEBS Lett*, **513**: 124–128.
- ZHANG G, SANCHEZ R, ZHOU MM (2012). Scaling the druggability landscape of human bromodomains, a new class of drug targets, *J Med Chem*, **55**: 7342–7345.
- ZHANG J, LIU J, MA Y, REN D, CHENG P, ZHAO J, ZHANG F, YAO Y (2016). *Bioorg Med Chem Lett*, **26**: 2273-2277.
- ZHONGZHEN ZHOU, PEILIANG ZHAO, WEI HUANG, GUANGFU YANG (2006). A Selective Transformation of Flavanones to 3-Bromoflavones and Flavones Under Microwave Irradiation. *Adv Synth Catal*, **348**: 63–67.