T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ 3,5-DİSÜBSTİTÜE RHODANİN TÜREVLERİNİN ETKİLİ SENTEZİ VE POTANSİYEL UYGULAMALARININ ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KEMAL YARARLI

KİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Sinan BAYINDIR

BİNGÖL-2022

T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ 3,5-DİARİLSÜBSTİTÜE RHODANİN TÜREVLERİNİN ETKİLİ SENTEZİ VE POTANSİYEL UYGULAMALARININ ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Sinan BAYINDIR danışmanlığında Kemal YARARLI tarafından hazırlanan bu çalışma ……/…../…….. tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliği/oy çokluğu (…/…) ile kabul edilmiştir.

Başkan	: Doç. Dr. Musa ERDOĞAN	*İmza*	:
Üye	: Doç. Dr. İbrahim H. GEÇİBESLER	*İmza*	:
Üye	: Doç. Dr. Sinan BAYINDIR	*İmza*	:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun ...../ ...../ ……..… tarih ve . . . . . / . . . . . nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer ŞİAR
Enstitü Müdürü

Bu tez çalışması Bingöl Üniversitesi BÜBAP tarafından Bağımsız Araştırma Projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: BAP-FEF.2021.002

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ

Çalışmalarımın her aşmasında, pratik ve teorik bilgilerini, tecrübelerini ve manevi desteğini benden esirgemeyen, tez çalışması süresince beni daima doğru şekilde yönlendiren, yardımlarını ve bilgi birikimini esirgemeyen, çalışmaların tamamlanması için gerekli desteği veren değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Sinan BAYINDIR'a teşekkür ederim. Ayrıca, *h*CA I ve II enzimlerinin tedariki, inhibisyon ve *in slico* çalışmalarının gerçekleştirilmesinde önemli katkılarından dolayı; Sayın Doç. Dr. Cüneyt ÇAĞLAYAN ve Doç. Dr. Cüneyt TÜRKEŞ'e ayrıca teşekkür ederiz.

Yüksek lisans programı süresince ders aldığım hocaların her birine sağladıkları katkıdan dolayı ayrıca teşekkür ederim. Deneysel çalışmalar Bingöl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda, tez çalışmaları sırasında desteğini esirgemeyen Fen Edebiyat Fakültesi yönetimine de çok teşekkür ederiz.

Desteklerinden dolayı Bingöl Üniversitesi BÜBAP birimine (Bağımsız Araştırma Projeleri- Proje No: BAP-FEF.2021.002) teşekkür ederiz.

Son olarak, her koşulda bana her zaman destek olan aileme ve tez aşamasında zaman zaman ihmal ettiğim bana her daim destek olan kızlarım Miray Erva, Meryem Dide, oğlum Muhammed Yekta ve kıymetli eşime gönülden teşekkürlerimi sunuyorum.

Kemal YARARLI

Bingöl 2022

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ i
İÇİNDEKİLER ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ iv
ŞEKİLLER LİSTESİ v
TABLOLAR LİSTESİ vi
ÖZET vii
ABSTRACT viii
1. GİRİŞ 1
1.1. Rhodanin ve 3-amino-rhodanin 1
1.2. Rhodanin Reaktivitesi 2
1.3. İsatin (indolin-2,3-dion) 5
1.4. Organik Temelli Sensörler 6
1.5. Karbonik Anhidraz İzoenzimi (*h*CA I ve *h*CA II) 7
2. KAYNAK ÖZETLERİ 9
2.1. 3,5-Disübstitüe-rhodanin Türevlerinin Sentezi 10
2.2. Çalışmanın Amacı 17
3. MATERYAL VE YÖNTEM 19
3.1. Genel Yöntemler 19
3.2. Deneyler 20
3.2.1. 3-Aril-5-Oksindol-Rhodanin (3-Ar-5-OxI-Rh) Türevlerinin Sentezi 20
3.2.1.1. 5-OxI-Rh Sentezi 20
3.2.1.2. 3-Ar-5-OxI-Rh türevlerinin sentezi için genel prosedür 20
3.2.2. 3-Aril-5-Tiyofen-Rhodanin (3-Ar-5-Thio-Rh) Türevlerinin Sentezi 24
3.2.2.1. 5-Thio-Rh (4)'ün Sentezi 24
3.2.2.2. 3-Ar-5-Thio-Rh Türevlerinin Sentezi İçin Genel Prosedür 24
3.2.3. 3-Aril-5-Piridin-Rhodanin (3-Ar-5-Pyr-Rh) Türevlerinin Sentezi 28
3.2.3.1. 5-Pyr-Rh (5)'in Sentezi 28
3.2.3.2. 3-Ar-5-Pyr-Rh Türevlerinin Sentezi İçin Genel Prosedür 29
3.2.4. UV-Vis ve Floresan Spektroskopi Çalışmaları 32

3.2.5. UV-Vis ve Floresan Spektroskopi Titrasyon Çalışmaları 33
3.2.6. *h*CA I ve II İzoenzimleri Üzerine Inhibisyon Çalışmaları..... 33
3.2.7. *In slico* Çalışmaları 33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 35
4.1. 5-Aril-3-Amino-Rhodanin (3-NH_2-5-Ar-Rh) Türevlerinin Eldesi..... 35
4.2. Asimetrik 3,5-Disübstitüe-Rhodanin (3,5-diarilRhs) Türevlerinin Eldesi 37
4.2.1. 3-Sübstitüe-5-oksindol-rhodanin Türevlerinin Eldesi 38
4.2.2. 3-Aril-5-Tiyofen-Rhodanin (3-Ar-5-Thio-Rh) Türevlerinin Eldesi 41
4.2.3. 3-Aril-5-Piridin-Rhodanin (3-Ar-5-Pyr-Rh) Türevlerinin Eldesi..... 45
4.3. Asimetrik 3,5-diarilRh Türevlerinin Sensör Çalışmaları 46
4.4. Asimetrik 3,5-diarilRh Türevlerinin İnhibisyon Çalışmaları 49
4.5. *In slico* Çalışmaları..... 50
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 53
5.1. 3-Ar-5-OxI-Rh Türevlerinin Sentezi ve Sensor Özelliklerinin İncelenmesi..... 53
5.2. 3,5-diarilRh Türevlerinin Sentezi ve İnhibisyon Özelliklerinin İncelenmesi 56
KAYNAKLAR 60
EKLER..... 68
Ek A. NMR spektrumları 68
Ek B. UV-Vis ve PL Spektrumları..... 94
Ek C. IC_{50} ve Lineweaver-Burk grafikleri 99
ÖZGEÇMİŞ 121

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

3-NH_2-Rh	: 3-Amino-Rhodanin
bd	: Geniş dublet
bs	: Geniş singlet
$CDCl_3$	: Deuterated Chloroform
CH_3CN	: Asetonitril
d	: Dublet
dd	: Dubletin dubleti
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DMSO-d6	: Deuterated Dimethylsulfoxide
dt	: Dubletin tripleti
FT-IR	: Fourier Transform Infrared Spectroscopy
*h*CA I ve II	: Karbanik Anhidraz İzoenzimleri
K_i	: Kompetitif İnhibisyon
m	: Multiplet
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance
ppm	: Milyonda bir kısım (Part Per Million)
q	: Kuvarted
quint	: Pentet
Rh	: Rhodanin
rt	: Oda sıcaklığı
s	: Singlet
t	: Triplet

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Rhodanin (Rh, 1), 3-amino-2-thioxothiazolidin-4-one (3-NH_2-Rh, 2) ve bazı Rh temelli ilaçların yapısı. 2
Şekil 1.2. Rhodanin (Rh, 1) ve 3-amino-2-thioxothiazolidin-4-one (2)'nin reaktivitesi. 3
Şekil 1.3. Rhodanin (1, Rh) türevleri üzerine sentez yaklaşımları 4
Şekil 1.4. Isatin (3) yapısı ve sübstitüsyon çeşitliliği 5
Şekil 1.5. *h*CA II için önerilen katalitik mekanizması 8
Şekil 4.1. 5-OxI-Rh (A ve C) ve 6a (B ve D) (5 μM)'nın CH_3CN veya CH_3CN/H_2O (v/v:1/1) içinde kolorimetrik taraması 46
Şekil 4.2. 5-OxI-Rh (5 μM, CH_3CN/HEPES, v/v: 1/1) ligantının anyonlarla etkileşiminin UV-Vis (A) ve fosforesans (B) spektrumları..... 48
Şekil 4.3. *h*CA I ve *h*CA II'nin bağlanma bölgesi içindeki anahtar amino asitlerle 3,5-diarylRhs 8d (A) ve 8a (B)'nin 2D yerleştirme pozları 51
Şekil 5.1. 5-OxI-Rh ve 3-Ar-5-OxI-Rh (6a) türevlerinin kolorimetrik sensör çalışmaları..... 55
Şekil 5.2. 3,5-diarilRh 8a için önerilen *h*CA II inhibisyon mekanizması 58

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 4.1. 3-Ar-5-OxI-Rh 6a için reaksiyon koşullarının optimizasyonu 38
Tablo 4.2. 3-Ar-5-Thio-Rh 7a için reaksiyon koşullarının optimizasyonu..... 42
Tablo 4.3. 3,5-diarilRh türevlerinin *h*CA I'e karşı inhibisyon değerleri 49
Tablo 4.4. 3,5-diarilRh türevlerinin *h*CA II'ye karşı inhibisyon değerleri 50
Tablo 4.5. 3,5-diarilRh türevlerinin ADME ve ilaç benzerlik parametreleri..... 52
Tablo 5.1. 5-Diaril-Rh türevlerinin *h*CA I ve II'ye karşı inhibisyon değerleri 57

YENİ 3,5-DİSÜBSTİTÜE RHODANİN TÜREVLERİNİN ETKİLİ SENTEZİ VE POTANSİYEL UYGULAMALARININ ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Rhodanin türevleri, biyolojik aktiviteleri ve teknolojik uygulamalarından dolayı büyük öneme sahiptirler. Bu tez iki ana bölümden oluşmaktadır. Bunlardan ilki, geniş yelpazede 3,5-diarilsübstitüe-rhodanine türevlerinin sentezi için etkili yöntemler geliştirmektir. Diğeri ise, elde edilen bu rhodanin türevlerinin potensiyel uygulamalarının araştırılmasını içermektedir. Rhodanin iskeletinin (N)3 ve/veya C5-alkilasyonu çeşitli katalitik yöntemler ile türevlendirilebilir olmasına rağmen, 3-amino-rhodanin türevleri üzerinden 3,5-disübstüte-rhodanin türevlerinin regioselektif N3 ve C5-alkilasyonu için genel bir protokol hala çözülmesi gereken bir sorundur. 3,5-disübstüte-rhodanin türevlerinin sentezi kapsamında ilk olarak, geliştirilen etkili bir yöntem üzerinden elde edilen yeni 5-sübstitüe-rhodanin türevlerinin geniş yelpazede aldehitlerle reaksiyonundan yeni 3,5-disübstitüe-rhodanin türevlerinin sentezi için etkili bir yöntem geliştirilmiştir.

Sentezlenen yeni 3,5-disübstitüe-rhodanin türevlerinin kemosensör uygulamaları ve insan karbonik anhidraz enzimleri *h*CA I ve II için inhibisyon etkileri üzerine de çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bunun için, yapısı uygun olan 3,5-disübstitüe-rhodanin türevlerinin anyon algılama uygulamaları gerçekleştirilmiş ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Sentezlenen rhodanin temelli moleküllerin inhibisyon çalışmalarında da yine oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir. İnhibisyon çalışmaları neticesinde elde edilen sonuçları desteklemek amacıyla, *h*CA I ve *h*CA II için en iyi aktiviteyi gösteren 3,5-diarilRh türevleri 8d ve 8a'nın moleküler yerleştirme çalışmaları da yapılmış ve bağlanma morfolojisi incelenmiştir. Ayrıca tüm bileşiklerin Lipinski ve Jorgensen kurallarına uydukları hesaplanan ADME ve ilaç benzerliği parametreleri ile belirlenmiştir. Yeni 3,5-diarylRh türevlerinin ADME ve ilaca benzerliği parametreleri, bunların yalnızca *h*CA I ve II inhibe edici aktivitelere değil, aynı zamanda ilaca benzer uygun özellikler ve fizikokimyasal parametrelere de sahip olduklarını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Rhodanin, rhodanin türevleri, amino rhodaninler, sensörler, isatin, *h*CA I ve II, inhibisyon, *ın slico* çalışmaları.

EFFECTIVE SYNTHESIS OF THE NEW 3,5-DIARILSUBSTITUTED-RHODANIN DERIVATIVES AND INVESTIGATION OF POTENTIAL APPLICATIONS

ABSTRACT

Rhodanine derivatives have great importance due to their biological activities and technological applications. In this context, this thesis consists of two main parts. The first part is to develop efficient methods for the synthesis of a wide range of 3,5-disubstituted-rhodanine derivatives. The other one includes investigating the potential applications of these obtained rhodanin derivatives. Although (*N*)3 and/or C5-alkylation of the rhodanin skeleton can be derivatized by various catalytic methods, a general protocol on regioselective (*N*)3 and C5-alkylation for the synthesis of 3,5-disubstituted-rhodanin derivatives from 3-amino-rhodanin is still a problem to be resolved. Within the scope of the synthesis of 3,5-disubstituted-rhodanin derivatives, initially, a useful method has been developed for the synthesis of new 5-substituted-rhodanin, and following the 3,5-disubstituted-rhodanin derivatives have been accomplished by reaction of the obtained 5-substituted-rhodanin derivatives with aldehydes.

The chemosensory applications and inhibition effects for human carbonic anhydrase enzymes studies of synthesized new 3,5-disubstituted-rhodanin derivatives were also researched. For this, anion detection applications of 3,5-disubstituted-rhodanin derivatives with a suitable structure were performed and successful results were obtained. On the other hand, very successful results were obtained in inhibition studies of synthesized rhodanin-based molecules. In order to support the results obtained as a result of the inhibition studies, molecular docking studies of the asymmetrical 3,5-diarylRhs **8d** and **8a** showing the best activity for *h*CA I and *h*CA II were also carried out, and the morphology of the binding was examined. Furthermore, they comply with Lipinski's and Jorgensen's rules of all compounds were determined by calculated ADME and drug-likeness parameters. ADME and drug-likeness parameters of the new 3,5-diarylRhs showed that they are not only with *h*CA I and II inhibitory activities but also with appropriate drug-likeness properties and physicochemical parameters.

Keyword: Rhodanin, rhodonin derivatives, amino rhodonins, sensors, isatin, *h*CA I and II, inhibition, *ın slico* studies.

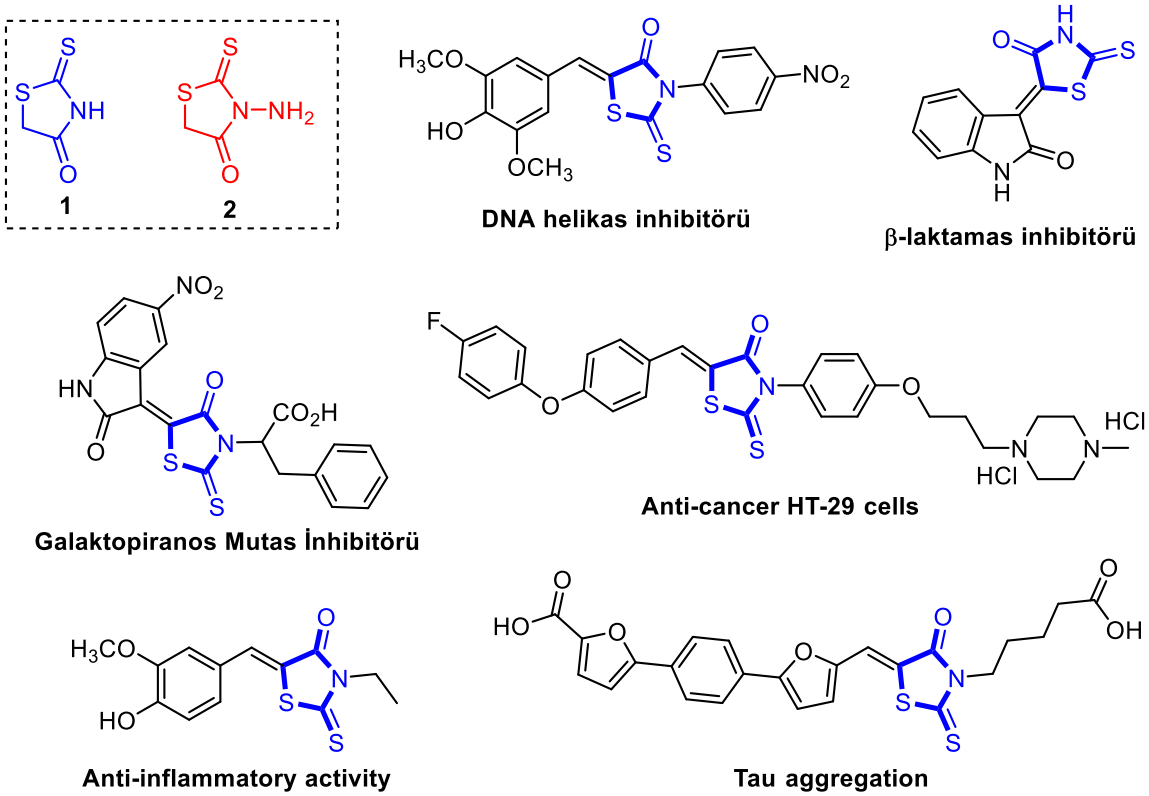
1. GİRİŞ

1.1. Rhodanin ve 3-amino-rhodanine

Bilim adamları, 20. yy sonlarından buyana, çeşitli reseptörler için ligandlar sağlayabilen tek bir moleküler çerçeve olarak "ayrıcalıklı yapı" kavramını tanıttılar. Bu tür tercih edilen moleküler yapı iskeletleri, uygun modifikasyonlarla farklı hedeflere yönlendirilebilen biyolojik aktivite ve teknolojik uygulamalar için doğal bir eğilime sahiptir. Son zamanlarda gerçekleştirilen birçok çalışmada ortaya konulduğu gibi, rhodanin (**1**, Rh, 2-tiazolidin-4-on)'in türevlendirilmesi ve bu sayede kazanılan işlevsellik sonucu; antibakteriyel, antifungal, antiviral, antimalaryal, insektisidal, herbisidal, antitümör ile donatılmış bileşiklere yol açan çok ilginç bir ayrıcalıklı iskeleti temsil ettiği rapor edilmiştir (Sudo et al., 1997; Tomasic et al., 2010; Momose et al., 1991; Pourreza et al., 2001; Habib et al., 1997). Özellikle, 3 ve 5-ariliden rhodanin türevleri, birçok aktif bileşiğin tekrarlayan bir iskeletini oluşturur ve bunların önemi, diyabetik tedavisi için aldoz redüktaz inhibitörü epalrestat'ın piyasadaki varlığı ile daha da vurgulanmaktadır (Habib et al., 1997).

Canlı yaşamı için oldukça önemli yapılar polifonksiyonel organik bileşiklerden oluşmaktadır. En az bir tane hetero-atom içeren halkalı bileşikler doğada çok sayıda bulunmaktadırlar ve yaşam için temel özellik taşımaktadırlar. Kullanılan ilaçların büyük bir çoğunluğu, gıda katkı maddeleri ve tatlandırıcılar hetarohalkalı bileşik grupları taşır. Heterohalkalı bileşikler arasında tiyazol bileşikleri organik kimyacılar için oldukça büyük bir öneme sahiptirler. Özellikle, aynı zamanda Rhodanin (Rhodanine, **Rh**, **1**) olarak ta adlandırılan; 2-thioxothiazolidin-4-one (**1**) ve türevlerinin oldukça geniş biyolojik aktiviteleri 20. Yüzyıldan beri bilinmekte ve üzerine birçok araştırmalar yapılmaktadır. Rhodanin ve türevlerinin yapılarında bulunan (N-C=S) gruplarından dolayı; antifungal (Sudo et al., 1997), antiviral (Tomasic et al., 2010), antidiyabetik (Momose et al., 1991; Pourreza et al., 2001), antimikrobiyal (Habib et al., 1997) gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip oldukları araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Rhodaninlerin en iyi bilinen farmakojikal aktiviteleri arasında antidiyabetik ajanlar olarak, özellikle Alzheimer hastalığı dâhil çoğu hastalık durumundan sorumlu tutulan bir enzim olan (kathepsin-D ve aspartil

proteaz) peptidsiz inhibitörü olarak kullanılmaları gösterilmektedir. Diğer bir önemli rhodanin türevi ise 3-amino-rhodanin (**2**, 3-NH_2-Rh) bileşiğidir. Bu bileşik rhodanine göre üzerine daha az çalışma yapılmış olması ve iki farklı (C5 ve NH_2) nükleofilik merkez içeriyor olması bakımından kimyası oldukça ilgi çekicidir. Rhodanin ana iskeletinin beş pozisyonunun türevlendirilmesi üzerine birçok çalışma olmasına karşın, 3-amino rhodanin türevinin direk olarak beş pozisyonun türevlendrilmesi üzerine oldukça sınırlıdır.

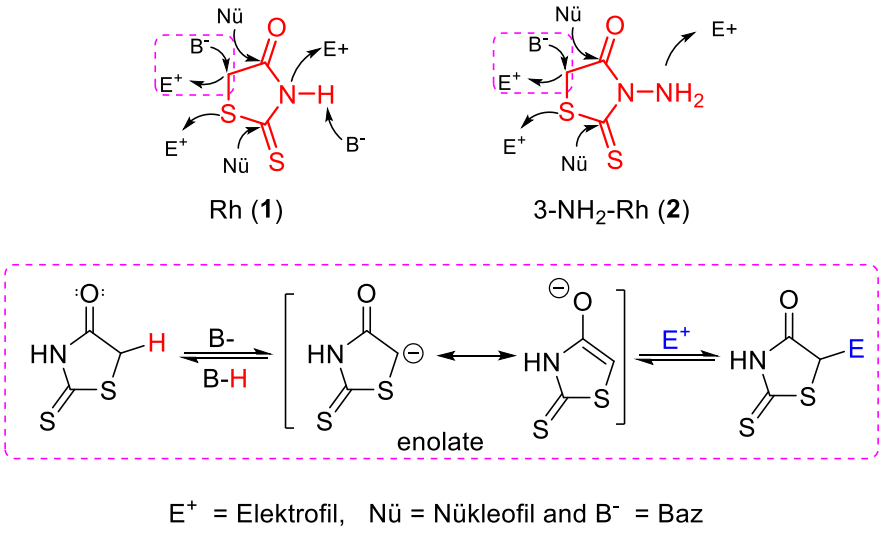


Şekil 1.1. Rhodanin (Rh, 1), 3-amino-2-thioxothiazolidin-4-one (3-NH_2-Rh, 2) ve bazı Rh temelli ilaçların yapısı.

1.2. Rhodanin Reaktivitesi

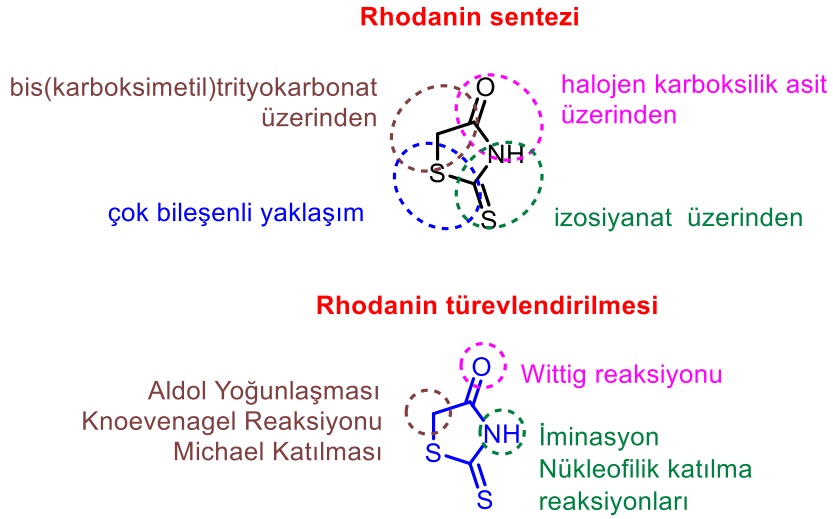
Tiazolidinden türetilen rhodanin (**Rh**, **1**) türevleri potansiyel biyolojik aktiviteleri ve farmakolojik özellikleri olan ilginç bir organik moleküldür. Bütün bu özelliklerinden dolayı rhodanin türevlerinin daha çevreci yöntemlerle ve daha etkin bir şekilde sentezi geçmişten günümüze kadar araştırmacıların oldukça fazla ilgisini çekmektedir. Rhodanin bileşiklerinin türevlenin sentezi genellikle N(3) ve C-5 pozisyonları üzerinden gerçekleştirilmektedirler (Şekil 1.2). Üç ve beş pozisyonunun birbirinden farklı olduğu

bileşiklerini sentezi genel itibariyle **Rh** iskeletinin sentezlenmesi yöntemleri ile elde edilirken (Şekil 1.3), **Rh** halkası üzerinden türevlendirilmesi için çalışmalar oldukça sınırlıdır (Şekil 1.2). Heterohalkalı bileşikler arasında tiyazol bileşikleri organik kimya bilimciler için oldukça büyük bir öneme sahiptir. Bu bileşiklerden biri olan ve rhodanin (Rh, **1**) olarak da adlandırılan; 2-thioxothiazolidin-4-one (**1**) ve türevlerinin oldukça geniş biyolojik aktiviteleri 20. yüzyıldan beri bilinmekte ve üzerine birçok araştırmalar yapılmaktadır. Rhodanin ile ilgili araştırmalar günümüzde de önemli bir yer tutmaktadır (Tomasic ve Masic 2009). Yapılarında azot, kükürt ve oksijen (üç hetero atom) bulundurdukları için aktif merkez konumunda yer alırlar ve kolay bir şekilde üretilip saflaştırılabilirler (Tomasic 2010). Rhodanin, bazı aktif merkezlerin varlığından dolayı organik sentezlerde çok çeşitli uygulamalara sahiptir. Rhodaninin metilen kısmı, organik sentezlerde nükleofilik bir merkez olarak hareket edebilir. Bir elektrofilik merkez de tiyokarbonil karbon atomuyla ilişkilidir. Rhodaninler kendileri için uygun olan bileşikler ile reaksiyona girdiklerinde öncelikle bir ara ürün oluşur. Meydana gelen ara ürün su kaybederek doymamış özelliğine sahip yeni sübsitüe rhodanin türevlerini meydana getirir. Rhodaninlerin yapısında 5-konumunda yer alan metilen karbon atomu ile beraber 2-konumunda bulunan bazı gruplar da nükleofilik aktiviteye sahiptir. Rhodanin yapısında 5-konumunda bulunan metilen grubu içeren bileşikler aldehid ya da ketonun karbonil grubu bazik ortamda reaksiyona girerek 5-ariliden rhodanin türevi elde edilir (Kirpi 2007).



Şekil 1.2. Rhodanin (Rh, 1) ve 3-amino-2-thioxothiazolidin-4-one (2)'nin reaktivitesi

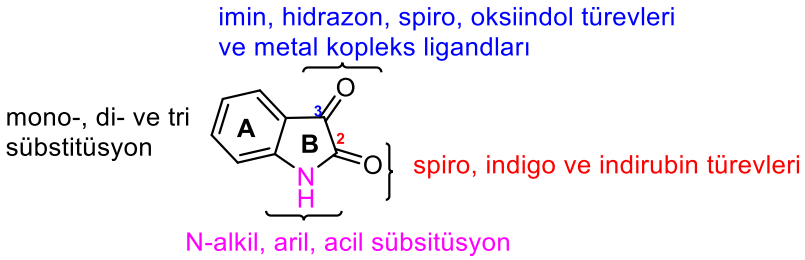
Rhodanin iskeletinin sahip olduğu bu zengin reaktivite çeşitliliği nedeniyle araştırmacılar yeni rhodanin türevlerinin sentezini oldukça fazla sayıda reaksiyon türü kullanarak gerçekleştirebilmektedir. Rhodanin türevlerinin sentezi için yaygın yöntemlerden birisi de rhodanin halkasının sentezlenmesidir (Şekil 1.3). Yine birçok araştırmacı 2-thioxothiazolidin-4-one (**1**) halkasının sentezlenmesi üzerinden yeni mono veya disübstitüe-rhodanin türevlerinin sentezini gerçekleştirebilmişlerdir. Araştırmacılar genel olarak, 5-sübstitü veya 3,5-disübstitüe-rhodanin türevlerinin sentezi üzerine odaklanmışlardır. Rhodanin (Rh, **1**) iskeletinin C5-pozisyonundaki metilen grubu, kimyasal reaksiyonu kolaylaştıracak kadar aktiftir. Bunun temel sebeplerinden biri kolayca protondan arındırılabilen aktif metilen karbon atomunun asitliğine bağlanabilir. Ayrıca konjuge baz, negatif yükün elektronegatif oksijen atomuna delokalizosyonu yolu ile stabilize edilebilmektedir. Bu bağlamda, ilgili metilen karbon atomunun nükleofilik aktivitesine bağlı olarak rhodanin halkası aldol yoğunlaşması, Michael katılma, Knoevenagel reaksiyonu gibi oldukça geniş yelpazede reaksiyon çeşitliliğine sahiptir (Şekil 1.3). Bu reaksiyonlar α, β doymamış bileşikler içermektedir ve 5-sübstitüe-rhodanin türevlerinin sentezlenebilmesi adına aldehit, keton, Michael akseptörleri (α, β doymamış karbonil bileşikleri) gibi elektrofilik merkezlerle oldukça yüksek verimlerde reaksiyon verirler (Brown et al., 1953). Öte yandan, özellikle 3(*N*)-sübstitüe rhodanin türevleri hazırlamak için en yaygın yaklaşım halka sentezi yaklaşımıdır ve ürün çeşitliliği adına oldukça sınırlıdır.



Şekil 1.3. Rhodanin (1, Rh) türevleri üzerine sentez yaklaşımları

1.3. İsatin (indolin-2,3-dion)

Heterosiklik bileşikler, biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahip önemli bir organik bileşik sınıfıdır (Amr et al., 2006). Aynı zamanda indendion ve indol kinon olarak da bilinen izatin (1*H*-indol-2,3-dion), biyolojik olarak aktif heterosiklik gruplardan biridir. N1 pozisyonda bir nitrojen atomuna ve C2 ve C3 pozisyonlarda iki karbonil grubuna sahiptir (Şekil 4). Biri altı üyeli, diğeri beş üyeli iki siklik halka içerir. Karbonil bileşikleri doğası gereği farklı reaktiviteye sahiptir ve isatin bileşikleri elektrofil olarak reaksiyonlarını genel olarak C3 posizyonundan vermektedirler. Her iki halka da düzlemseldir. Altı üyeli halka aromatik karaktere sahipken, beş üyeli halka anti-aromatik karaktere sahiptir. Izatin ilk olarak Erdmann ve Laurent tarafından nitrik ve kromik asitler kullanılarak indigo'nun bir oksidasyon ürünü olarak izole edildi. İnsanlarda adrenalin hormonunun metabolik bir türevi olarak bulunur ve aynı zamanda Bufo kurbağalarının parotis bezinden salgılanmanın bir bileşenidir. Bitkilerde doğal olarak çeşitli izatin türevleri de bulunur. Örneğin, metoksi fenilpentil izatinler (melosatin alkaloidler) bir Karayip tümörijenik bitkisi olan Melochia tomentosa'dan izole edilmiştir, 5-(3'-metilbut-2'-yl) izatin, Chaetomium globosum'dan izole edildi ve 6- (3'-metilbuten-2'-il) isatin, Streptomyces albus'ta bulundu (El-Sharief et al., 2019; Varun et al., 2019). Sandmeyer, Stolle, Gassman ve Martinet prosedürl eri, çeşitli isatin türevlerinin hazırlanmasında kullanılan geleneksel yöntemlerdir (Sandmeyer, 1919). Bunların dışında, isatin türevlerini sentezlemek için çeşitli yeni ve çevreye zarar vermeyen sentetik yöntemler son zamanlarda bildirilmiş ve burada gözden geçirilmiştir. Ayrıca, isatin türevleri, oksidasyon, halka genişlemesi, FriedelCrafts reaksiyonu ve aldol yoğunlaşması gibi belirli kimyasal reaksiyonları gösterir. Bu kimyasal reaksiyonlar, triptanthrin, indirubin ve 2-oksindoller gibi biyolojik olarak önemli diğer türevlerin sentezinin temelini oluşturur (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. İsatin (3) yapısı ve sübstitüsyon çeşitliliği

Aril halkasının (A) ikamesini, nitrojen atomunun (B) parçası içinde alkilasyonunu ve ayrıca bunun C2 ve/veya C3 karbonil işlevselliklerindeki modifikasyonları gösterir, bu da bir dizi biyolojik olarak önemli türevlerin oluşumuna yol açar.

İsatin türevlerinin ayrıca çeşitli endüstriyel uygulamaları da vardır; örneğin, korozyon önleyiciler, floresan sensörler ve boya endüstrisinde kullanılırlar. Literatür araştırması, isatin ve türevlerinin, anti-kanser, anti-bakteriyel, antifungal, anti-diyabetik, anti-konvülsan, anti-tüberküler, anti-HIV, neuroprotective (Medvedev et al., 2006), anti-oksidan (Andreani et al., 2010), anti-glikasyon (Khan et al., 2010), anti malarial (Chiyanzu et al., 2005), antiinflamatuar (Sharma et al., 2016), analjezik (Prakash et al., 2012) ve anti-anksiyete (Medyedev et al., 2005) gibi çeşitli biyolojik aktiviteler gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu çalışmada, son on yılda bildirilen bazı biyolojik aktiviteleri ayrıntılı olarak gözden geçirdik. Kanser önleyici aktivitesine özel bir dikkat gösterilmiş ve histon deasetilazlar, karbonik anhidraz, tirosin kinaz ve tübülin polimerizasyonu gibi çeşitli kanser önleyici hedefler de detaylı olarak tartışılmıştır. Bütün bu olağanüstü özellikleri isatin türevlerini bilim insanları için üzerinde çalışılması adına popüler kılmaktadır. Biyolojik özelliklerinin yanı sıra oldukça çeşitlilik arz eden optoelektronik cihaz ana iskeletlerinin türevlendirilmelerinde de kullanımı yaygındır (Varun et al., 2019).

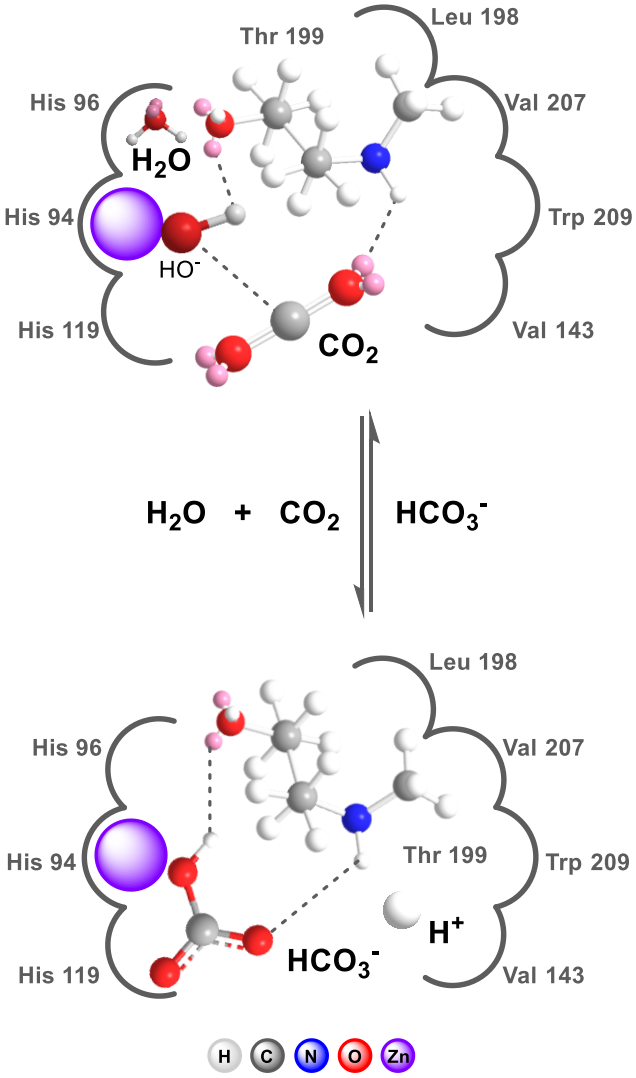
1.4. Organik Temelli Sensörler

Katı, gaz, buhar ve sıvı fazdaki çeşitli çevresel kirleticilerin hassas, seçici ve doğru tespiti, çevre izleme, gıda güvenliği, tıbbi teşhis, iş güvenliği, toksik/tehlikeli kimyasal yönetimi ve endüstriyel süreç yönetimi için çok önemli bir görevdir (Pal et al., 2021). Ticari olarak temin edilebilen sensörlerin çoğu, hedeflenen analiti reaksiyona sokabilen veya absorbe edebilen aktif malzemeler olarak inorganik bazlı yarı iletkenler veya organik polimerler kullanır. Bu işlem sırasında, iyi performans gösteren bir sensör için bu malzemelerin fotofiziksel, elektriksel veya mekanik özelliklerindeki hızlı değişiklikler oldukça ilgi çekicidir (Kreno et al., 2012). Değişikliklerin derecesi genellikle analitlerin konsantrasyonuna ve hem analitlerin hem de aktif malzemelerin elektron alma-verme yeteneği, asitlik veya baziklik, geçirgenlik, hidrojen bağlama yeteneği, elektrostatik etkileşim gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklerine ve π -π istiflenebilmesine bağlıdır (Zhang et al., 2020). Bir dizi çevresel ve biyolojik numuneye yönelik yüksek hassasiyet ve

yüksek doğrulukla ultra eser düzey analitlerin tespiti, verimli bir sensör ve ticarileştirilmesi için genellikle gereklidir. Ayrıca, ticari olarak temin edilebilen kimyasal sensörlerin geliştirilmesi için taşınabilir, kullanımı kolay, hızlı, ucuz ve son derece hassas cihazların tasarımına da ihtiyaç vardır (Olorunyomi et al., 2021). Rhodanin iskeletide taşıyan organik sensörlerde literatürde önemli bir yer tutmaktadır (Akram D et al., 2020; Kim et al., 2022; Zhang et al., 2022; Bayindir 2019; Bayindir and Yararlı 2019).

1.5. Karbonik Anhidraz İzoenzimi (*h*CA I ve *h*CA II)

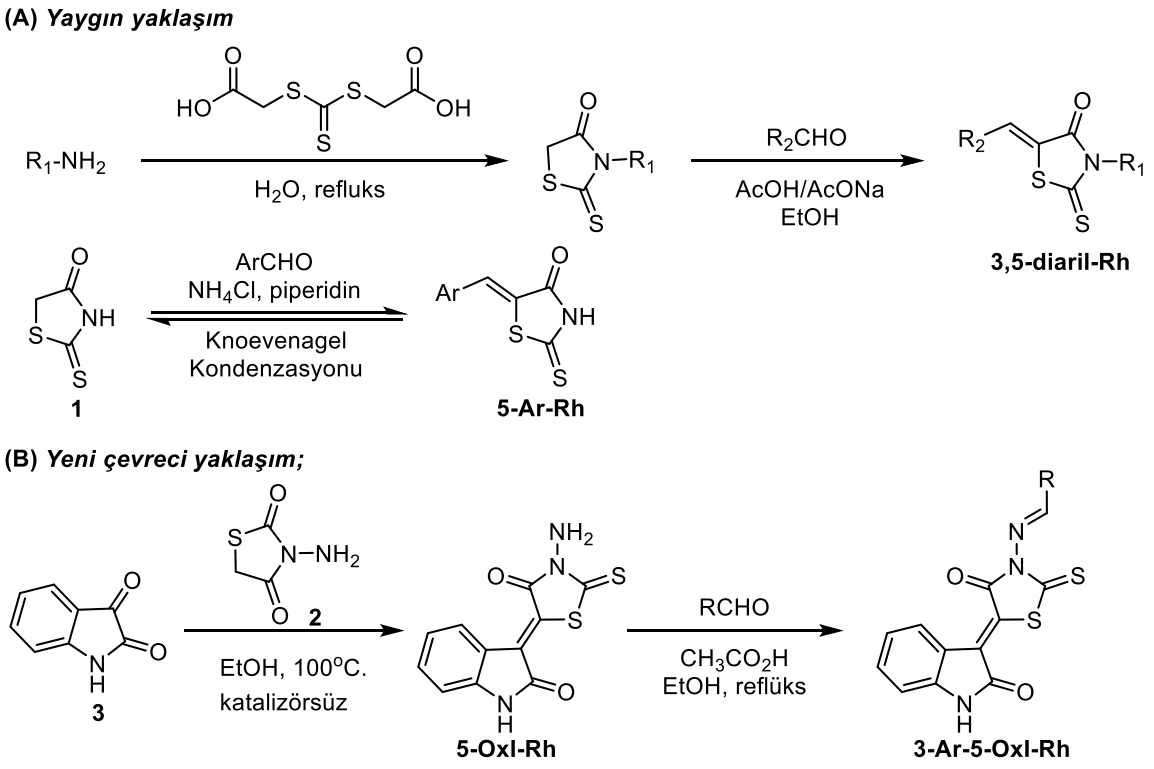
Enzimler, biyolojik süreçlerde ve birçok hastalıkta hayati rolleri nedeniyle geliştirme, araştırma ve ilaç keşfi için hedeflenen çok önemli biyolojik moleküllerdir (Nar et al., 2013; Küçük et al., 2016). Bu nedenle kimya ve tıp alanında çalışan araştırmacılar, enzim inhibitörleri veya aktivatörleri olarak görev yapabilecek ilaç adaylarını belirlemeye ve optimize etmeye odaklanmışlardır (Bayindir et al., 2019; Bilginer et al., 2021; Ozer et al., 2022). Enzimler arasında büyük önem taşıyan enzim gruplarından biri de şimdiye kadar yedi farklı genetik yapıya sahip olan karbonik anhidraz (EC 4.2.1.1, α-, β-, γ-, δ-, ζ-, n- ve θ-CA) enzimleridir (Burmaoglu et al., 2022). CA'lar asit-baz regülasyonu, pH homeostazı, glukoneogenez, kalsifikasyon, tümörijenite, üregenez ve kemik rezorpsiyonu gibi çoklu fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerde önemli bir rol oynar (Caglayan et al., 2019a; Taslimi et al., 2018; Ağgül et al., 2020). Genel olarak ise, CA enzimleri, aktif merkezlerinde bulunan ve Lewis asiti olarak davranan Zn^{2+} iyonun katalizörlüğünde karbon dioksitin (CO_2) su (H_2O) ile reaksiyonundan bikarbonat (HCO_3^-) anyonun oluşmasından sorumludur (Celik et al., 2020; Taslimi et al., 2019). Çinko (Zn^{2+}) iyonları, üç histidin (His) çekirdeği (His 94, His 96 ve His 119) ve H_2O molekülü tarafından koordine edilen aktif bölgenin alt kısmında yer almaktadır (Şekil 1.5). CA'lar biyolojik sistemlerin işleyişinde önemli bir rol oynamasına rağmen, bu enzimlerin inhibisyonu bazen hayati öneme sahip olabilir (Supuran et al., 2003). Bu nedenle, CA inhibitörleri (CAI'ler) diüretik, antiepileptik ve anti-glokom ajanları olarak klinik kullanıma sahiptir. CAI'ler hipertansiyon, mide ülseri, nörolojik bozukluklar, osteoporoz gibi birçok tıbbi durumun tedavisinde sıklıkla (Caglayan et al., 2019b). Bu bağlamda, CAI'ler, CA aktivitesini inhibe eden bir kimyasal ilaç sınıfıdır ve etkili CAI'lerin sentezi ve uygulamaları bilim adamlarının büyük ilgisini çekmektedir (Ozer et al.,2022).



Şekil 1.5. *h*CA II için önerilen katalitik mekanizması

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Heterosiklik bileşikler içerisinde en önemlilerinden birisi ise rhodanin bileşiğidir. Son yirmi yıl boyunca 5-ariliden-rhodanin ve 3,5-diaril-rhodanin türevleri, ilaç keşfinde ayrıcalıklı iskeleleri temsil etmelerinden dolayı kimyagerler ve biyologların yoğun ilgisini çekmektedir. 5-Sübstitüe-rhodanin türevlerinin sentezi genel itibariyle aldehitlerle rhodanin türevlerinin trietilamin ya da piperidin (*sağlığa ciddi zararları bilinen maddelerdir*) gibi bazlar ile çözücü içerisinde Knoevenagel Kondenzasyonu sonucu elde edilirlerken ve 3,5-disübstitüe-rhodanin türevlerinin sentezi ise rhodanin halka sentezi üzerinden gerçekleştirilmektedir (Şema 1A).



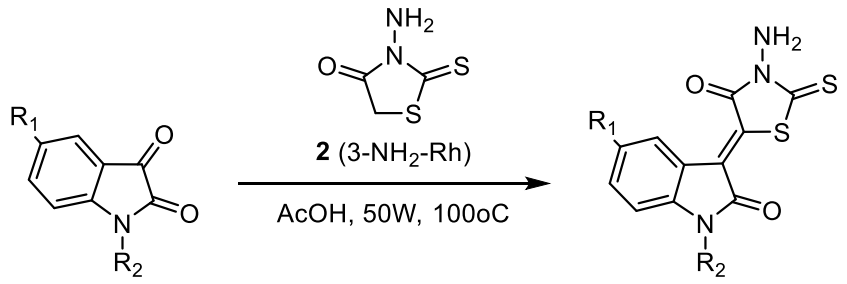
Şema 1

Bu reaksiyon yaklaşımları hem kullanılan katalizör türleri hemde spesifik ve pahalı çıkış bileşikleri gerektirmesinden dolayı dezavantajlı durumlar barındırmaktadır. Dolayısıyla

Knoevenagel Kondenzasyonunun daha ılıman ve çevreci şartlarda gerçekleştirilmeleri de araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Bayındır ve gurubu yapmış oldukları çalışmalarda amino rhodanin bileşiği ile isatin (**3**) ve akdehitlerin reaksiyonunu yüksek sıcaklıklarda katalizörsüz olarak gerçekleştirerek 5-sübstitüe rhodanin türevlerinin sentezini yüksek verimlerle elde etmişlerdir (Şema 1B) (Bayindir, 2019; Bayindir and Yararlı, 2019; Ozer et al., 2022).

2.1. 3,5-Disübstitüe-rhodanin Türevlerinin Sentezi

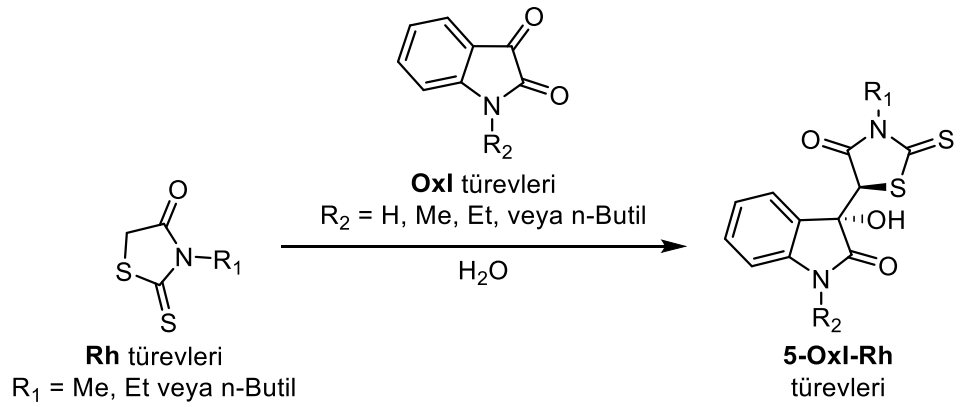
Bu tez kapsamın önemli bir kısmını isatine, rhodanin ve değişik doğaya sahip aromatik benzen grupları içeren 5-oksindol-3(*N*)-aril-rhodanin (***5-OxI-3(N)-Ar-Rh***) türevlerinin etkili sentezi ve potansiyel uygulamaları oluşturmaktadır. Birçok araştırma grubu bu konbinasyonu kulanarak yapısında hem isatin hemde rhodanin iskeletini aynı anda bulunduğu moleküllerin etkili sentezi üzerine çalışmışlardır. Besbes ve arkadaşları, Bayındır ve grubunun (Bayindir 2019) yapmış oldukları çalışmayı takiben benzer koşullar altında mikrodalga aktivasyonu ile bir dizi yeni isatin-aminorhodanin molekülü sentezlemişlerdir (Şema 2). Daha sonra sentezlemiş oldukları bu bileşiklerin protein kinaz enzimlerine karşı inhibisyon etkilerini incelemişlerdir (Khaldoun et al., 2019).



Şema 2

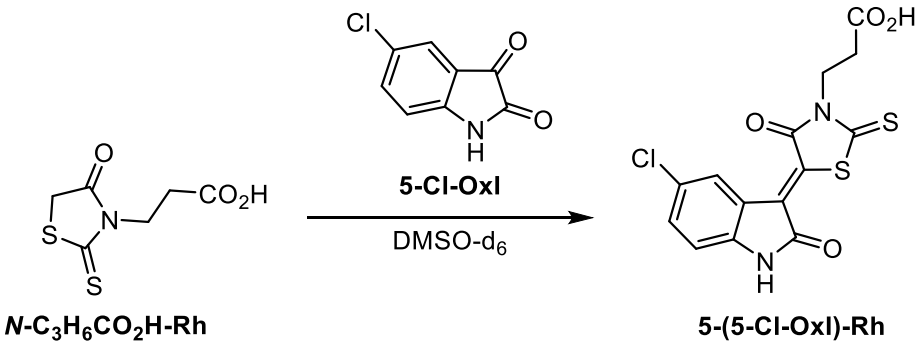
Organik ve tıbbi kimyanın temel görevlerinden biri, heterosiklik bileşiklerin stereoregio ve stereoselektif sentezi için çevre dostu yöntemlerin geliştirilmesidir. Bu bağlamda, birçok araştırma grubu bu tarz çalışmalar üzerine mesai harcamışlardır. Bunlardan birisi de Dash ve grubu tarafından gerçekleştirilmiştir (Paladhi et al., 2010). Bu çalışmada araştırmacılar, *N*-ikameli tiazolidindionların isatin türevleri ile katalizörsüz bir aldol reaksiyonu

sonucunda mükemmel verim ve diastereoseçiciliklerde farmakolojik açıdan önemli yeni bir tiazolidindion-isatin konjugatları sınıfı sağlamak için "su üzerinden" geliştirilmiştir. Böylece, yeni isatin-tiazolidin konjugatlarının su üzerinden katalizörsüz stereoselektif transfer aldol reaksiyonunu rapor etmişlerdir (Şema 3). Ayrıca, tek kristalli X-ışını çalışmaları, aldol ürünlerinin moleküller arası hidrojen bağları ve aromatik π–π etkileşimleri yoluyla supramoleküler DNA "fermuar" benzeri yapılar oluşturmak için kendi kendine bir araya gelebileceğini ortaya koymaktadır. Bu basit, etkili, çevre dostu, atom-ekonomik ve diastereo-seçici sentez yöntemi, tiazolidin ve indol halkalarında çeşitli ikame ediciler ile 5-OxI-Rh türevlerinin elde edilmesini sağlamışlardır.



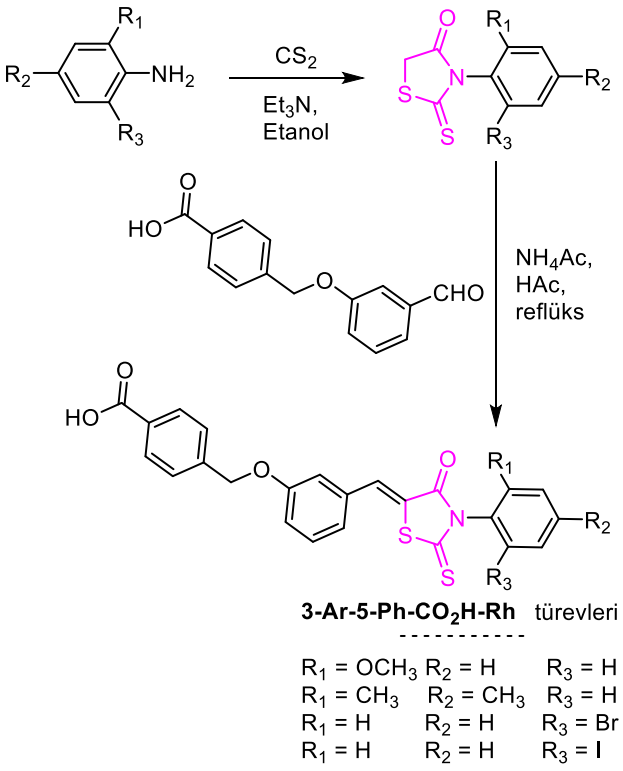
Şema 3

Isatinilidenrhodanin (**OxI-Rh**) türevleri, antikanser özellikleri, gram negatif ve/veya gram pozitif bakteriyal enfeksiyonlara karşı aktivitesinin yanısıra potansiyel terapötik, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet ve duygudurum bozuklukları gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaları nedeniyle ayrıcalıklı bir yapı iskelesini temsil eder. Bu bağlamda bu önemli iskeletin sentezi üzerine etkili çalışmalar gerçekleştiren diğer bir çalışma ise Xue ve grubu tarafından gerçekleştirilmiştir (Xue et al., 2013). Onlar bu çalışmalarında, yeni bir İsatinilidenrhodanin (**5-(5-Cl-OxI)-Rh**) türevinin katalizörsüz Knoevenagel tipi sentezini, 5-kloroindolin-2,3-dione (**5-Cl-OxI**) ve 3-(4-okso-2-tioksotiazolidin-3-il)propanoik asit (***N*-C$_3$H$_6$CO$_2$H-Rh**) moleküllerinin dimetil sülfoksit (DMSO) içerisindeki reaksiyonundan elde etmişlerdir (Şema 4). Burada reaksiyonun, DMSO-d6 içinde oda sıcaklığında, molekül içi bir H-bağıyla oluşturulan benzersiz bir makrosiklik ara madde kullanılarak kendiliğinden ilerlediği düşünülmektedir. Bu soesifik sentez yaklaşımı her nekadar hedef madde sentezi için kullanılışlı olsa da sınırlıdır.



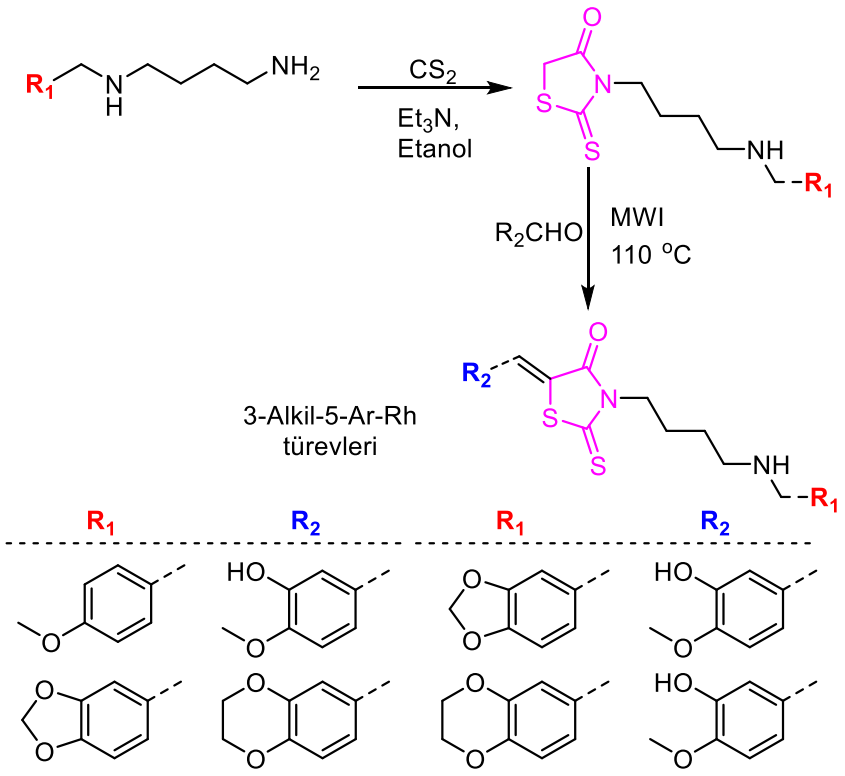
Şema 4

İsatin türevleri kadar aril türevleri ihtiva eden 3,5-diarilRhodanin türevlerinin sentezi ve potansiyel uygulamaları da oldukça önemlidir ve araştırmacıların yoğun ilgisini çekmektedir. Bu çalışmalardan birisi Fang ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (Fu et al., 2014). Önemli benzen türevlerinden birisi olan benzoik asit molekülü biyolojik açıdan oldukça önem arzeder. Bu bağlamda, Fang ve grubu yeni bir seri 3-aril-rhodanin-benzoik asit analoglarının sentezi gerçekleştirmiş ve anti-apoptotik B-cell limpocit/leukemia-2 (Bcl-2) proteinleri üzerine inhibisyon etkilerini incelemişlerdir (Şema 5).



Şema 5

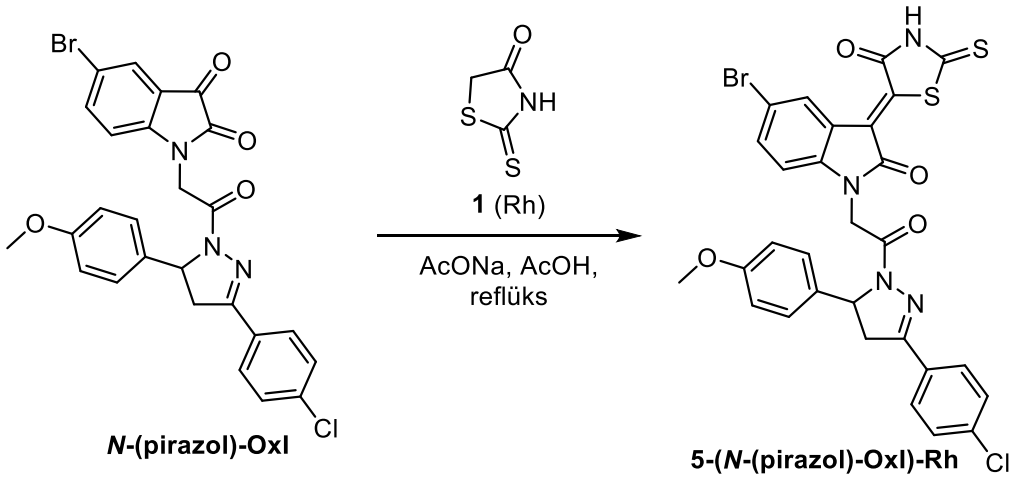
Son yıllarda, beş üyeli heterosiklik halkalar tıbbi kimyada "*ayrıcalıklı yapı iskeleleri*" olarak kabul edildiğini bildirmiştik. Bu nedenle birçok araştırma grubu bu önemli beş üyeli halkalı yapılardan birisi olan sübstitüe rhodanin (**1**, Rh) türevlerinin sentezi üzerine çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiştir. Rhodanin seçici türevlendirilmesi için önemli zorluklar ve çok uzun reaksiyon basamakları ihtiva etmelerine rağmen rhodanin halkasının sentezi üzerine geliştirilen sentez yaklaşımları yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bağlamda, Bazureau ve grubu tarafından yaklaşık altı basamaklı bir reaksiyon serisi üzerinden hedef 3-5-disübstitüe-rhodanin (3-Alkil-5-Ar-Rh) türevlerinin sentezini gerçekleştirmişlerdir (Şema 6). Daha sonra, bunların seçilen kanser hücre hatlarına (HuH7 D12, Caco 2, MDA-MB 231, HCT 116, PC3, NCI-H727, HaCat ve fibroblastlar) karşı antikanser potansiyellerini değerlendirdi (Dago et al., 2015).



Şema 6

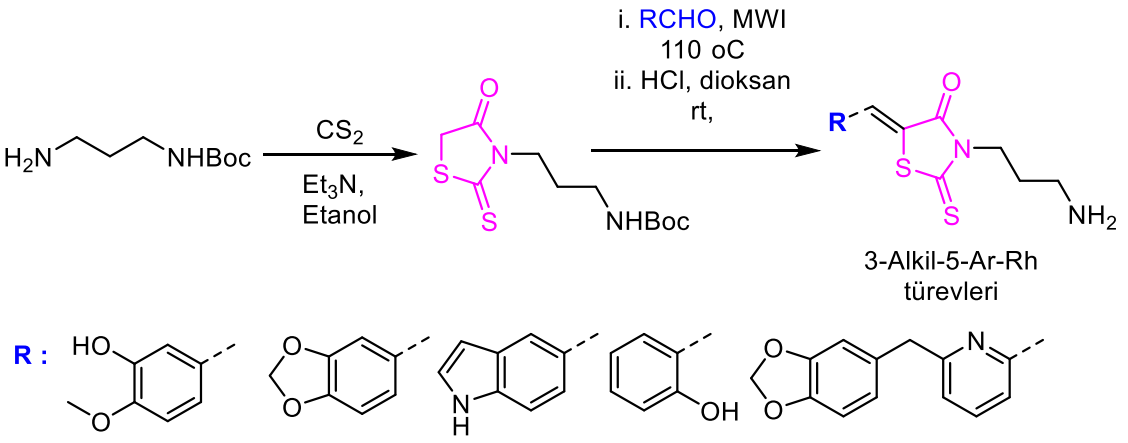
İsatin ve rhodanin iskeletlerini yapısında aynı anda bulunduran ve biyolojik açıdan önemli organic bileşiklerin sentezi üzerine araştırmalar yapan diğer bir grup ise Lesyk ve grubudur (Havrylyuk et al., 2011). Leysk ve grubu yapmış oldukları bu çalışmalarında [2-(3,5-diaril-4,5-dihidropirazol-1-il)-2-oksoetil]-1*H*-indol-2,3-dion (***N*-(pirazol)-OxI**) ile rhodanin (**1**)'nin Knoevenagel kondenzasyon reaksiyonu üzerinden yeni 5-iliden (**5-(*N*-(pirazol)-**

OxI)-Rh) türevlerinin sentezini gerçekleştirerek, NCI60 hücre dizilerinde antikanser aktiviteleri için test etmişlerdir (Şema 7).



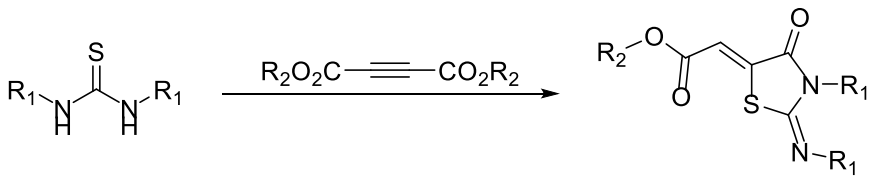
Şema 7

Bazureau ve grubu tarafından gerçekleştirilen diğer bir çalışmada ise bu defa yine mikrodalga ışınlamayı içeren 'halka sentezi' yaklaşımıyla dört basamaklı bir reaksiyon üzerinden yeni rhodanin bileşiklerini sentezini rapor etmişlerdir (Şema 8). Rhodanin türevlerinni sentezi takiben ilk olarak NCI-H727 (akciğer karsinomu), PC3, HCT-116, MDA-MB231, Caco 2 (*diferansiyel kolorektal adenokarsinom*) ve Huh7 D12'yi içeren altı seçilmiş tümör hücre hattı üzerindeki anti-proliferatif etkilerini incelemişlerdir (Ambeu et al., 2016).



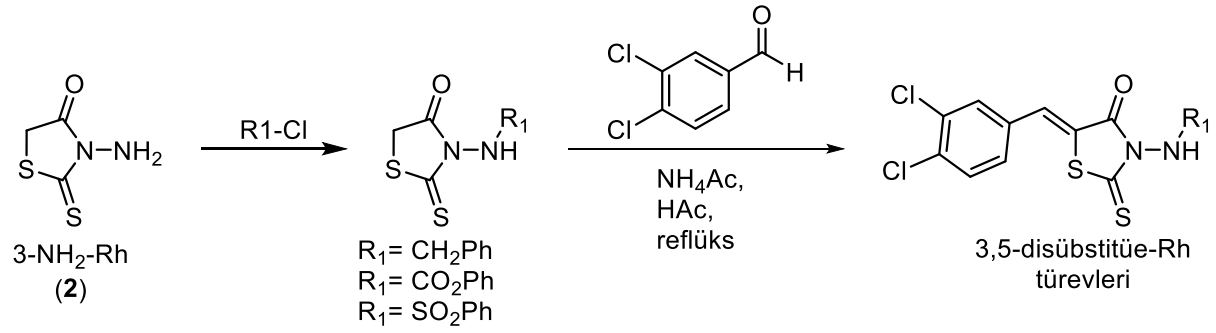
Şema 8

Diğer bir 5-sübstitüe rhodanin türevi olan açil metilen rhodaninlerin sentezi ise, dialkil asetilen dikarboksilat türevlerinin çeşitli tiyoüre türevleri ile halkalaşmasını temel alır (Şema 9). Ancak bu metot, az sayıdaki asetilen türevlerinin bilinmesi nedeniyle oldukça sınırlıdır (Lozinskii et al., 1971; Khattak et al., 1985; Bhuiyan et al., 2010).



Şema 9

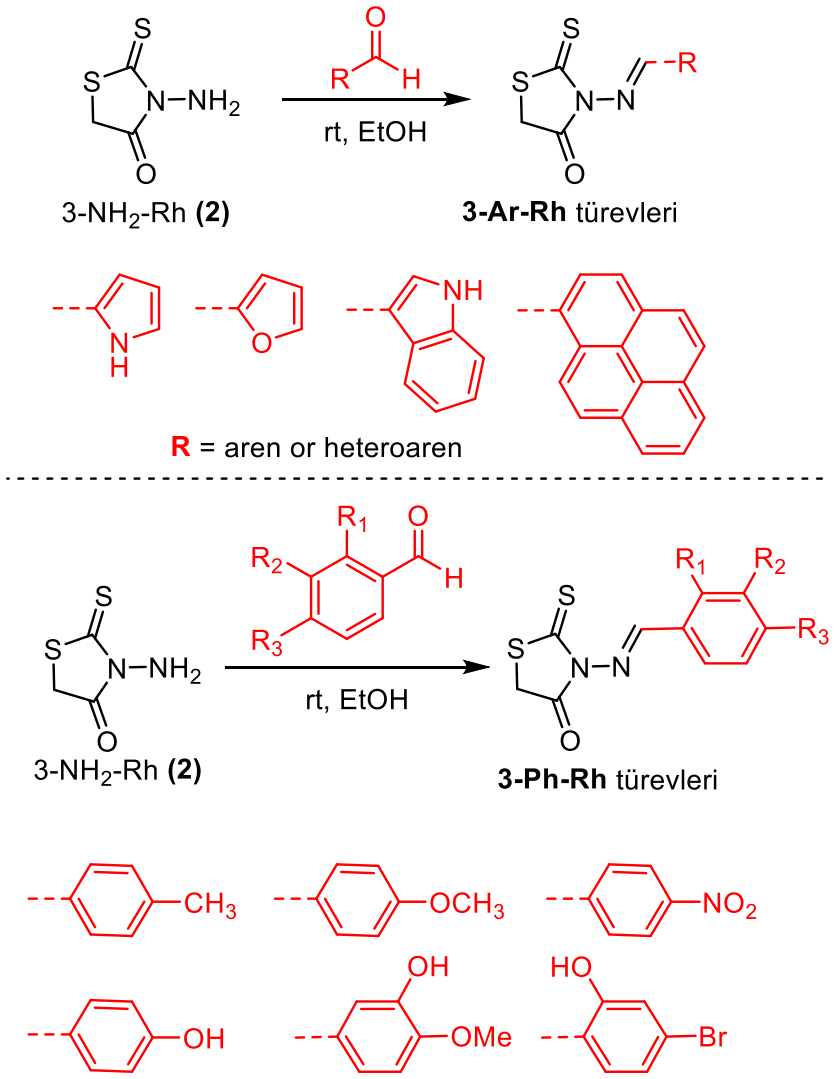
3-Amino-rhodanin (3-NH_2-Rh, **2**) türevi üzerinden 3,5-disübstitüe-rhodanin türevlerinin sentezi üzerine gerçekleştirilen çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır. Bu çalışmalardan ikisi (Powers et al.,2006) tarafından gerçekleştirilmiştir. Rapor edilen bu çalışmalarda, yeni sülfonamid temelli türevlerinin sentezi gerçekleştirilerek, hepatit C (HCV) RNA polimerazının (NS5b) ve karbonik anhidraz II (*h*CA II) enzimleri üzerine inhibisyon çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir (Şema 10). Bu bağlamda, sınırlı sayıdaki bu çalışmalar projemize ilham kaynağı olmasının yanı sıra yeni rhodanin temelli sülfamid bileşiklerinin sentezinin de ne derece önemli olduğunu göstermiştir.



Şema 10

Rhodanin iskeleti içeren çok sayıda doğal ve sentetik molekül ilaç olarak kullanılmaktadır. Bayındır ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada amino-rhodanin bileşiğinin geniş yelpazede aldehitlerle reaksiyonları sonucunda elde ettikleri 3-sübstitüe-rhodanin türevinin *h*CA I, *h*CA II, AChE (asetil kolin esteraz enzimi), G6PD (glukoz-6-fosfat dehidrogenaz) ve 6PGD (6-fosfoglukonat dehidrojenaz) enzimleri üzerine inhibisyon

etkilerini incelemişlerdir. Çalışmalar sonucunda, 3(*N*)-Ar-Rh türevinin çalışılan bütün enzimler üzerine yüksek bir inhibisyon etkisi gösterdiğini rapor etmişlerdir (Şema 11) (Bayindir et al., 2019; Karaman et al., 2021).



Şema 11

Eritrositlerde CA I izoenzimi ile beraber CA II izoenzimi de bulunur. CA I ve CA II izoenzimlerin en önemli fonksiyonları, doku kılcal damarlarından metabolizma ürünü olan karbon dioksit (CO_2)'i bikarbonat (HCO_3^-)'a, akciğer pulmoner kapilerde ise bu defa HCO_3^- anyonunun CO_2'e dönüşmesi reaksiyonunu katalizleyerek solunum olayında rol almasıdır. CA I izoenziminin 25ºC'de turnover sayısı 2,5x105 s^{-1}, CA II izoenziminin turnover sayısı ise 106 s^{-1} 'dir. CA I eksikliği tanı olarak belirlenmiş ancak herhangi bir klinik bulguyla ilgisi belirlenememiştir (Supuran and Scozzafava 2001; Nar 2011).

CA enziminin hidrataz aktivitesi dışında elektrofilik bir merkeze, nükleofilik atakları içeren, aldehit, pirüvat ve alkil pirüvatların hidratasyonu, pirüvik sülfonik ve fosforik esterlerinin hidrolizi gibi reaksiyonlarını da katalizlediği bilinmektedir. Karbonik anhidrazın esteraz aktivitesini ortaya koyan bu özelliği ile organizmada fizyolojik bir rolü olup olmadığı henüz bilinmemektedir (Jabusch and Deutsch 1989; Çağlayan 2017).

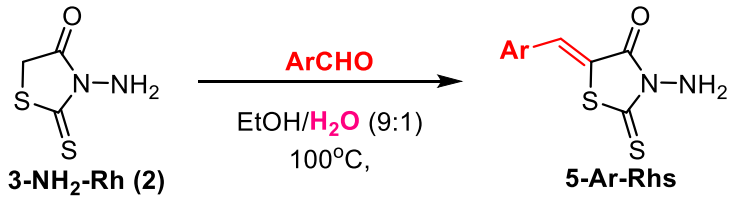
CA enzimi üzerinde yapılan inhibisyon çalışmalarında enzimin kataliz mekanizmalarının aydınlatılmasıyla birlikte, bu enzimin dokulara dağılımı ve bu dokulardaki hayati fonksiyonların anlaşılması sonucunda CA enziminin inhibitörleri ve aktivatörlerinin sentezlenmesine hız verilmiştir. Bu çalışmalarda çok çeşitli CA enzimi inhibitörleri sentezlenmiş ve bu inhibitörler başta glukom tedavisinde ilaç, antitümör, ağrı kesici, epilepsi ve nörolojik rahatsızlıklarda ilaç, pozitron, emisyon tomografisi ve manyetik rezonans belirlenmesinde, antiülser, diüretik ilaçların gelişmesinde yol gösterici antibiyotik olarak halen kliniklerde kullanılmaktadır. Bu sebeple CA enziminin inhibisyon mekanizmasının bilinmesi ve yeni bileşiklerin sentezlenmesi çok büyük önem kazanmıştır (Supuran and Scozzafava 2001; Akbaba et al., 2014; Huyut et al., 2017). CA enzimi aktivitesinin birçok kimyasal madde ve ilaçlar tarafından inhibisyon ve aktivasyon etkileri bilim adamları tarafından araştırılmış ve literatürde rapor edilmiştir (Beydemir and Gülçin 2004; Taslimi et al., 2018; Turkan et al., 2019).

2.2. Çalışmanın Amacı

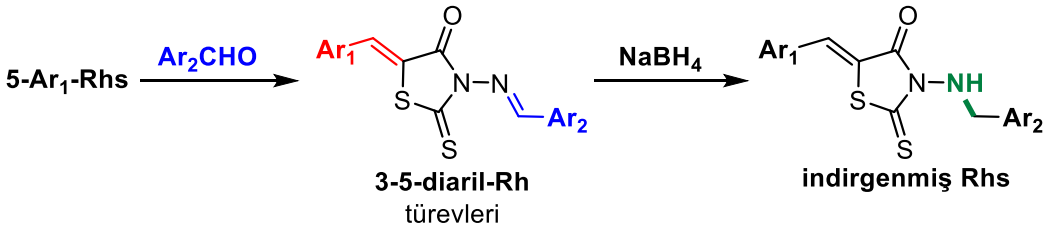
Son yıllarda çeşitli reseptörler için kaynak sağlayabilen tek bir moleküler çerçeve olarak "ayrıcalıklı yapı" kavramını büyük popülerlik kazanmıştır. Bu tür tercih edilen moleküler yapı iskeletleri, uygun modifikasyonlarla farklı hedeflere yönlendirilebilen biyolojik aktivite ve teknolojik uygulamalar için doğal bir eğilime sahiptir. Geçmişten günümüze kadar gerçekleştirilen birçok çalışmada ortaya konulduğu gibi, rhodanin (**1**, Rh, 2-tiazolidin-4-on)'in türevlendirilmesi ve bu sayede kazanılan işlevsellik sonucu; birçok biyolojik aktivite, etkin korozyon inhibitörleri, hassas algılama materyalleri ve fotofiziksel yönden etkin malzemelerin elde edilmesi gibi birçok kullanım alanı sağlayabilen çok ilginç bir ayrıcalıklı iskeleti temsil ettiği rapor edilmiştir (Şema 12). Özellikle, simetrik veya asimetrik 3,5-diariliden-rhodanin türevleri, birçok aktif bileşiğin tekrarlayan bir iskeletini oluşturmakta ve bunların önemi birçok çalışmada vurgulanmaktadır. Bu bağlamda, bu tez

çalışmasının iki temel amacı bulunmaktadır. Bunlardan ilki, isatin ve piridin grupları içeren asimetrik 3,5-disübstitüe-rhodanin türevlerinin düşük maliyet yüksek verim sağlayacak ve çevreci bir yaklaşımla üretilmesini sağlayacak metrolojilerin geliştirilmesidir. Bu takiben ise elde edilen yeni asimetrik 3,5-disübstitüe-rhodanin türevlerinin anyon algılama özellikleri ve insan karbonik anhidraz izoemleri *h*CA I ve *h*CA II üzerine inhibisyon etkilerini incelemektir. Bu bağlamda, asimetrik 3,5-disübstitüe-rhodanin türevlerinin etkili sentezi ve potansiyel uygulamalarının araştırılması ile rhodanin kimyasının daha da geliştirilmesi sağlanacaktır.

Önceki çalışmalar: 3-amino-rodaninin aldehitler ile su destekli Knoevenagel yoğunlaşması



Bu çalışma: asimetrik 3-5-diarilRhs'nin sentezi ve sensör, *h*CAs I ve II enzimleri üzerine inhibisyon çalışmaları



Şema 12

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Genel Yöntemler

^{1}H ve ^{13}C NMR spektrumları 400 MHz Varian Mercury, 400 MHz ve 600 MHz Bruker marka cihazlarda alınmış ve TMS standart alınarak δ ölçü biriminde verilmiştir. Katı maddelerin erime noktası Gallenkamp MPD 350 erime noktası tayin cihazı ile belirlenmiştir. IR spektrumları Perkin-Elmer FT-IR spektrofotometresinde KBr peletleri veya ATR ile kaydedilmiş ve dalga sayıları cm^{-1} biriminde verilmiştir. Saflaştırma işlemleri kolon kromatografisi [Merck Silika Jel 60 (70-230 mesh)] ve kromatatron (Harrison Research Chromatotron, Silikajel 60 PF254, 1, 2 ve 4 mm) ile gerçekleştirildi. TLC (İnce tabaka kromatografisi) analizleri silika jel kaplanmış alüminyum tabakalar (Merck, Silikajel 60 PF254, 20×20 cm) ile yapılmış ve 254 ve 356 nm UV lambası ile görüntülenmiştir. Kullanılan çözücüler standart metodlar ile saflaştırılmış ve düşük basınçta (20ºC, 20 Torr) uzaklaştırılmıştır (Amarego 1996). UV-vis spektrumları, bir Shimadzu UV-3101PL UV-vis-NIR spektrometresinde kaydedildi.

Bu çalışma kapsamında kullanılan *h*CA I ve II enzimleri Bayındır ve Çağlayan'ın ortak danışmanlar olarak yürüttükleri bir tez çalışması kapsamında saflaştırılarak bu tez çalışmasında sentezlenen moleküllerin inhibisyon etkileri incelenmiştir (Özer et al., 2022; Özer, 2022). İnhibisyon çalışmalarında pH metre (Hanna Instrument), Otomatik pipetler (Eppendorf), Çalkalayıcı (Nüve SL 350), Vorteks (Heidolph Reax Top Vortex), Distile su cihazı (GFL 2001/4) cihazları kullanılmıştır. Sentez, sensör ve biyokimyasal çalışmalarda kullanılan bütün kimyasallar Sigma-Aldrich, Merk ve Alfa Aesar'den temin edilmiştir.

3.2. Deneyler

3.2.1. 3-Aril-5-Oksindol-Rhodanin (3-Ar-5-OxI-Rh) Türevlerinin Sentezi

3.2.1.1. 5-OxI-Rh Sentezi

Bir reaksiyon balonu içerindeki 100 mg (0.68 mmol) 3-amino-rhodanin (**2**, 3-NH_2-Rh)'in 10 mL EtOH/H_2O (v/v:9/1) içerisindeki çözeltine yine 10 mL EtOH/H_2O (v/v:9/1) içerisinde çözünmüş olan 100 mg (0.68 mmol) isatin (**3**)'ün bir damlatma hunisi yardımıyla damla damla ilave edildi. Daha sonra reaksiyon 100 ^oC'de gün aşırı kaynatıldı. Reaksiyonun TLC ile kontrol edildi Reaksiyonun tamamlanmasından sonra oluşan kırmızı ürün etanolden yeniden kristalleştirildi, süzüldü ve vakumla kurutuldu. Kristalleştirmeden sonra hedef (*Z*)-3-Amino-5-(2-oksindolin-3-iliden)-2-tioksotiazolidin-4-on (**5-OxI-Rh)**'nin (135,5 mg, %72) kırmızı katı olarak elde edildi (Mp.> 300^oC).

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 11.25 (s, NH, 1H), 8.82 (d, *J* = 7.7 Hz, =CH, 1H), 7.42 (t, *J* = 7.7 Hz, =CH, 1H), 7.10 (t, *J* = 7.7 Hz, =CH, 1H), 6.97 (d, *J* = 7.7 Hz, =CH, 1H), 5.97 (bs, NH_2, 2H)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 191.9, 168.0, 163.5, 144.8, 133.2, 128.6, 127.8, 125.5, 122.2, 119.9, 110.7

IR (KBr, cm^{-1}): 3410 cm^{-1} (NH_2, uzama), 3146 cm^{-1} (=C-H, isatin H), 1713 cm^{-1} (C=O), 1632 cm^{-1} (O=C-N-C=S), 1595 cm^{-1} (C-C, uzama), 1458, 1335 cm^{-1} (C=S), 1189 cm^{-1} (C-N, uzama), 742 cm^{-1} (NH_2 sallanma)

3.2.1.2. 3-Ar-5-OxI-Rh türevlerinin sentezi için genel prosedür

5-OxI-Rh (1 eqiv.) ve ilgili aldehit (1 equiv.) yaklaşık 15 mL içerisinde çözülerek, Lewis asit katalizörü olarak CH_3CO_2H (*iki damla*) ilave edilerek etanolün kaynama sıcaklığında gün aşırı kaynatıldı. Başlangıç maddesinin reaksiyon ortamında bulunup bulunmadığı TLC ile kontrol edildi ve reaksiyonun karışımı etanol üzerinden yeniden kristalleştirildi. Daha sonra karışım süzüldü ve vakumla kurutularak hedef 3-sübstitüe-5-oksindol-rhodanin (3-

Ar-5-OxI-Rh) türevleri elde edildi. *(Not: Reaksiyonlarda 100 mg (0.36 mmol) 5-OxI-Rh ve karşılık gelen aldehit eşdeğer miktarı kullanılmış ve reaksiyon verimleri buna göre hesaplanmıştır*)

3-(((E)-4-hidroksibenziliden)amino)-5-((Z)-2-oksoindolin-3-iliden)-2-tioksotiazolidin-4-on (6a), 81% verimle kırmızı renkli bir katı (Mp.> 300 ˚C) olarak elde edildi.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 11.26 (s, NH, 1H), 10.48 (s, OH, 1H), 8.75 (d, *J* = 7.7 Hz, =CH, 1H), 8.70 (s, N=CH, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.4 Hz, =CH, 2H), 7.41 (t, *J* = 7.7 Hz, =CH, 1H), 7.05 (t, *J* = 7.7 Hz, =CH, 1H), 6.98-6.91 (m, =CH, 3H)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 191.6, 171.7, 168.5, 163.1, 162.8, 145.3, 133.7, 131.9, 130.1, 128.4, 125.9, 123.2, 122.7, 120.3, 116.6, 111.3

IR (KBr, cm^{-1}): 3152 cm^{-1} (=C-H, aromatic H), 1714 cm^{-1} (C=O), 1627 cm^{-1} (O=C-N-C=S), 1564 cm^{-1} (C-C, uzama in ring), 1448, 1331 cm^{-1} (C=S), 1119 cm^{-1} (C-N, uzama peak).

3-(((E)-4-metilbenziliden)amino)-5-((Z)-2-oksoindolin-3-iliden)-2-tioksotiazolidin-4-on (6b), 72% verimle kırmızı renkli bir katı (Mp.> 300 ˚C) olarak elde edildi.

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d6): δ 11.29 (s, NH, 1H), 9.10 (s, N=CH, 1H), 8.77 (d, *J* = 7.9 Hz, =CH, 1H), 7.45-7.41 (m, =CH, 2H), 7.17 (t, *J* = 7.9 Hz, =CH, 1H), 7.10-7.05 (m, =CH, 2H), 7.04-6.96 (m, =CH, 2H), 3.32 (s, CH_3, 3H)

^{13}C-NMR (150 MHz, DMSO-d6): δ 190.2, 171.9, 168.5, 162.9, 161.4, 158.0, 137.5, 134.4, 129.5, 128.4, 124.8, 123.7, 122.8, 120.3, 118.2, 112.3, 21.8

IR (KBr, cm^{-1}): 3142 cm^{-1} (=C-H, aromatic H), 1719 cm^{-1} (C=O), 1614 cm^{-1} (O=C-N-C=S), 1452, 1321 cm^{-1} (C=S)

3-(((E)-4-metoksibenziliden)amino)-5-((Z)-2-oksoindolin-3-iliden)-2-tioksotiazolidin-4-on (6c), 74% verimle kırmızı renkli bir katı (Mp.> 300 ˚C) olarak elde edildi.

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d6): δ 11.27 (s, NH, 1H), 9.08 (s, N=CH, 1H), 8.75 (d, *J* = 7.8 Hz, =CH, 1H), 8.01 (d, *J* = 7.5 Hz, =CH, 2H), 7.80 (d, *J* = 7.5 Hz, =CH, 2H), 7.59 (t, *J* = 7.8 Hz, =CH, 1H), 7.16 (t, *J* = 7.8 Hz, =CH, 1H), 6.95 (d, *J* = 7.8 Hz, =CH, 1H), 3.88 (s, CH_3, 3H)

^{13}C-NMR (150 MHz, DMSO-d6): δ 189.8, 171.4, 168.4, 162.8, 161.4, 158.0, 146.5, 134.0, 129.5, 126.8, 124.8, 122.3, 120.5, 117.9, 115.3, 111.4, 56.5

IR (KBr, cm^{-1}): 3161 cm^{-1} (=C-H, aromatic H), 1721 cm^{-1} (C=O), 1619 cm^{-1} (O=C-N-C=S), 1432, 1311 cm^{-1} (C=S), 1119 cm^{-1} (C-N, uzama peak)

3-(((E)-4-nitrobenziliden)amino)-5-((Z)-2-oksoindolin-3-iliden)-2-tioksothiazolidin-4-on (6d), 86% verimle koyu kırmızı renkli bir katı (Mp.> 300 ˚C) olarak elde edildi.

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d6): δ 11.30 (s, NH, 1H), 8.76 (s, N=CH, 1H), 8.66 (d, *J* = 7.9 Hz, =CH, 1H), 8.02 (d, *J* = 6.5 Hz, =CH, 2H), 7.81 (d, *J* = 6.5 Hz, =CH, 2H), 7.61 (t, *J* = 7.9 Hz, =CH, 1H), 7.17 (t, *J* = 7.9 Hz, =CH, 1H), 6.96 (d, *J* = 7.9 Hz, =CH, 1H)

^{13}C-NMR (150 MHz, DMSO-d6): δ 191.6, 172.0, 168.6, 163.0, 161.9, 157.8, 147.6, 145.5, 137.4, 134.6, 134.0, 129.4, 124.8, 122.7, 120.1, 112.4

IR (KBr, cm^{-1}): 3158 cm^{-1} (=C-H, aromatic H), 1718 cm^{-1} (C=O), 1612 cm^{-1} (O=C-N-C=S), 1434, 1314 cm^{-1} (C=S)

3-(((E)-furan-2-ilmetilen)amino)-5-((Z)-2-oksoindolin-3-iliden)-2-tioksothiazolidin-4-on (6e), 82% verimle siyah renkli bir katı (Mp.> 300 ˚C) olarak elde edildi.

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d6): δ 11.33 (s, NH, 1H), 8.78-8.76 (m, =CH, N=CH, 2H), 8.68 (d, *J* = 7.5 Hz, =CH, 1H), 7.82 (d, *J* = 5.2 Hz, =CH, 1H), 7.61 (t, *J* = 5.2 Hz, =CH, 1H), 7.43 (t, *J* = 7.5 Hz, =CH, 1H), 7.17 (t, *J* = 7.5 Hz, =CH, 1H), 6.97 (d, *J* = 7.5 Hz, =CH, 1H)

^{13}C-NMR (150 MHz, DMSO-d6): δ 190.2, 168.5, 162.9, 161.4, 159.4, 149.2, 137.5, 134.0, 129.3, 126.8, 124.8, 123.7, 122.3, 120.3, 118.2, 113.7

IR (KBr, cm^{-1}): 3163 cm^{-1} (=C-H), 1728 cm^{-1} (C=O), 1632 cm^{-1} (O=C-N-C=S), 1424, 1344 cm^{-1} (C=S)

5-((Z)-2-oksoindolin-3-iliden)-3-(((E)-tiofen-2-ilmetilen)amino)-2-tioksotiazolidin-4-on (6f), 83% verimle kırmızı renkli bir katı (Mp.> 300 ˚C) olarak elde edildi.

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d6): δ 11.27 (s, NH, 1H), 8.76-8.74 (m, =CH, N=CH, 2H), 8.66 (d, *J* = 7.6 Hz, =CH, 1H), 7.80 (d, *J* = 4.8 Hz, =CH, 1H), 7.60 (t, *J* = 7.6 Hz, =CH, 1H), 7.41 (t, *J* = 4.8 Hz, =CH, 1H), 7.15 (t, *J* = 7.6 Hz, =CH, 1H), 6.95 (d, *J* = 7.5 Hz, =CH, 1H)

^{13}C-NMR (150 MHz, DMSO-d6): δ 190.2, 168.3, 162.8, 161.4, 158.0, 146.5, 137.5, 134.0, 129.3, 128.3, 126.8, 124.8, 123.7, 120.1, 118.2, 111.3

IR (KBr, cm^{-1}): 3148 cm^{-1} (=C-H), 1738 cm^{-1} (C=O), 1623 cm^{-1} (O=C-N-C=S), 1421, 1324 cm^{-1} (C=S).

3-(((E)-(1H-indol-3-il)metilen)amino)-5-((Z)-2-oksoindolin-3-iliden)-2-tioksotiazolidin-4-on (6g), 85% verimle koyu kırmızı renkli bir katı (Mp.> 300 ˚C) olarak elde edildi.

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d6): δ 12.11 (bs, NH, 1H), 11.32 (s, NH, 1H), 9.93 (s, N=CH, 1H), 8.81 (d, *J* = 7.9 Hz, =CH, 1H), 8.27 (d, *J* = 3.1 Hz, =CH-NH, 1H), 7.51 (d, *J* = 7.6 Hz, =CH, 1H), 7.42 (t, *J* = 7.6 Hz, =CH, 1H), 7.30-7.16 (m, =CH, 3H), 7.07 (t, *J* = 7.9 Hz, =CH, 1H), 6.98 (d, *J* = 7.9 Hz, =CH, 1H)

^{13}C-NMR (150 MHz, DMSO-d6): δ 191.7, 185.4, 168.6, 167.0, 163.5, 158.0, 145.2, 137.8, 133.5, 130.6, 128.4, 125.6, 123.9, 122.5, 122.1, 121.3, 120.4, 118.6, 112.8, 110.6

IR (KBr, cm^{-1}): 3162 cm^{-1} (=C-H), 1718 cm^{-1} (C=O), 1612 cm^{-1} (O=C-N-C=S), 1434, 1314 cm^{-1} (C=S), 1129 cm^{-1} (C-N, uzama piki)

3.2.2. 3-Aril-5-Tiyofen-Rhodanin (3-Ar-5-Thio-Rh) Türevlerinin Sentezi

3.2.2.1. 5-Thio-Rh (4)'ün Sentezi

Bir reaksiyon balonu içerindeki 100 mg (0.68 mmol) 3-amino-rhodanin (**2**, 3-NH_2-Rh)'nin 10 mL EtOH/H_2O (v/v:9/1) içerisindeki çözeltine yine 10 mL EtOH/H_2O (v/v:9/1) içerisinde çözünmüş olan 76 mg (0.68 mmol) tiyofen-2-karbaldehit (**10**) bir damlatma hunisi yardımıyla damla damla ilave edildi. Daha sonra reaksiyon 100 ^oC'de 5 saat boyunca kaynatıldı. Reaksiyonun bitip bitmediği TLC ile kontrol edildi. Reaksiyonun tamamlanmasından sonra ham ürün etanolden yeniden kristalleştirildi, süzüldü ve vakumla kurutuldu. Kristalleştirmeden sonra hedef (*Z*)-3-amino-5-(tiofen-2-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (5-Thio-Rh, **4**, %82) sarı katı olarak elde edildi (Mp. = 201-202 ^oC).

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 8.14 (s, =CH, 1H), 8.12 (d, *J* = 5.0 Hz, =CH, 1H), 7.78 (d, *J* = 3.4 Hz, =CH, 1H), 7.32 (t, *J* = 4.4 Hz, =CH, 1H), 5.93 (s, NH_2, 2H)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 186.54, 163.45, 137.25, 136.04, 134.94, 129.33, 126.51, 117.50

IR (KBr, cm^{-1}): 3331 cm^{-1} (NH_2, uzama), 3023 cm^{-1}, 1698 cm^{-1} (C=O), 1586 cm^{-1} (NH_2, makas), 1585 cm^{-1}, 1408 cm^{-1} (C=S), 1221 cm^{-1}, 1041 cm^{-1}, 800 cm^{-1} (C-C, gerilme), 706 cm^{-1} (NH, sallanma).

3.2.2.2. 3-Ar-5-Thio-Rh Türevlerinin Sentezi İçin Genel Prosedür

5-Thio-Rh (**4**, 1 eqiv.) ve aldehit (1 equiv.) yaklaşık 15 mL etanol içerisinde çözülerek, Lewis asit katalizörü olarak CH_3CO_2H (*iki damla*) ilave edilerek etanolün kaynama sıcaklığında gün aşırı kaynatıldı. Başlangıç maddesinin reaksiyon ortamında bulunup bulunmadığı TLC ile kontrol edilerek, reaksiyonun karışımı etanol üzerinden yeniden kristalleştirildi, süzüldü ve vakumla kurutularak hedef 3-sübstitüe-5-piridin-rhodanin (**3-Ar-5-Thio-Rh**) türevleri elde edildi. *(Not: Reaksiyonlarda 100 mg (0.42 mmol) 5-Thio-Rh ve karşılık gelen aldehit eşdeğer miktarı kullanılmış ve reaksiyon verimleri buna göre hesaplanmıştır*)

(Z)-3-(((E)-4-hidroksibenziliden)amino)-5-(tiofen-2-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (7a), %73 verimle sarı renkli katı olarak elde edildi (Mp. = 240-241 ˚C).

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 10.48 (s, OH, 1H), 8.68 (s, N=CH, 1H), 8.16 (s, =CH, 1H), 8.15 (d, *J* = 5.0 Hz, =CH, 1H), 7.81 (d, *J* = 3.5 Hz, =CH, 1H), 7.77-7.78 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 7.33-7.36 (m, =CH, 1H), 6.93-6.94 (m, =CH, 2H, B part of AB system)

APT ^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 186.19, 171.64, 163.18, 162.75, 137.83, 136.64, 135.63, 131.85, 129.92, 127.16, 123.15, 118.81, 116.59

IR (ATR, cm^{-1}): 3298, 3012 (=C-H), 1704 (C=O), 1625 (O=C-N-C=S), 1592, 1526 (C-N amid), 1400, 1346 (C=S), 1205 (C-N uzama), 886 (C-O), 738 (CH=CH düzlemden bükülme)

(Z)-3-(((E)-4-metilbenziliden)amino)-5-(tiofen-2-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (7b), %68 verimle sarı renkli bir katı olarak elde edildi (Mp. = 209-210 ˚C).

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 8.86 (s, N=CH, 1H), 8.11-8.17 (m, =CH, 2H), 7.84-7.85 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 7.81 (d, *J* = 5.0 Hz, =CH, 1H), 7.40-7.41 (m, =CH, 2H, B part of AB system), 7.32-7.36 (m, =CH, 1H), 2.42 (s, CH_3, 3H)

APT ^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 186.26, 171.71, 163.03, 144.28, 137.81, 136.72, 135.72, 130.34, 129.94, 129.65, 129.54, 127.32, 118.70, 21.82

IR (ATR, cm^{-1}): 3010 (=C-H), 1704 (C=O), 1692 (O=C-N-C=S), 1571 (Ph-H), 1505 (C-N amid), 1436 (-C=O uzama), 1359 (C=S), 1274, 1250 (C-N amide), 1200 (C-N uzama), 1015 (C-O), 751 (CH=CH düzlemden bükülme)

(Z)-3-(((E)-4-nitrobenziliden)amino)-5-(tiofen-2-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (7c), %76 verimle açık sarı renkli katı olarak elde edildi. Mp. = 198-199 ˚C.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 9.20 (s, N=CH, 1H), 8.42-8.43 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 8.24-8.25 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 8.19-8.22 (m, =CH, 2H), 7.86 (d, *J* = 3.3 Hz, =CH, 1H), 7.36-7.37 (m, =CH, 1H)

APT ^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 187.09, 168.42, 163.99, 162.81, 150.37, 137.76, 136.59, 135.49, 130.58, 129.85, 127.03, 124.87, 117.99

IR (ATR, cm^{-1}): 3315, 3054 (=C-H), 1711 (C=O), 1585 (Ph-H), 1521 (C-N amid), 1471 (-C=O uzama), 1366 (C=S), 1225 (C-N amide), 814 (C-O), 732 (CH=CH düzlemden bükülme).

(Z)-3-(((E)-4-bromo-2-hidroksibenziliden)amino)-5-(tiofen-2-ilmetilen)-2-tioksotia zolidin-4-on (7d), %74 verimle sarı renkli katı olarak elde edildi. Mp. = 216-217 ˚C.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 11.00 (s, OH, 1H), 9.11, (s, N=CH, 1H), 8.15-8.17 (m, =CH, 2H), 7.99 (d, *J* = 2.6 Hz, =CH, 1H), 7.81 (d, *J* = 3.3 Hz, =CH, 1H), 7.62-7.64 (m, =CH, 1H), 7.34-7.36 (m, =CH, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.8 Hz, =CH, 1H)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 186.62, 165.77, 163.04, 158.40, 137.81, 137.55, 136.66, 135.67, 130.00, 129.93, 127.27, 120.38, 119.73, 118.73, 111.28

IR (ATR, cm^{-1}): 3275 (=C-H), 2989, 1736, 1708 (C=O), 1577, 1514 (C-N imid), 1437, 1427, 1364 (C=S), 1255 (C-N), 1129, 1102 (C-O), 764 (CH=CH düzlemden bükülme)

(Z)-3-(((E)-3-hidroksi-4-metoksibenziliden)amino)-5-(tiofen-2-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (7e), %72 verimle sarı renkli katı olarak elde edildi. Mp. = 238-239 ˚C.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 9.58 (s, OH, 1H), 8.67 (s, N=CH, 1H), 8.14-8.16 (m, =CH, 3H), 7.81 (d, *J* = 3.6 Hz, =CH, 1H), 7.44 (d, *J* = 2.0 Hz, =CH, 1H), 7.33-7.35 (m, =CH, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.4 Hz, =CH, 1H), 3.87 (s, OCH_3, 3H)

APT ^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 186.23, 171.56, 163.13, 152.94, 147.53, 137.83, 136.59, 135.48, 129.85, 127.03, 124.84, 124.17, 118.79, 113.66, 112.34, 56.21

IR (ATR, cm^{-1}): 3274 (=C-H), 1708 (C=O), 1610 (O=C-N-C=S), 1577, 1513 (C-N amid), 1426, 1363 (C=S), 1254 (C-N uzama), 836 (C-O), 750 (CH=CH düzlemden bükülme)

(Z)-3-(((E)-(1H-pirol-2-il)metilen)amino)-5-(tiofen-2-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (7f), %63 verimle sarı renkli katı olarak elde edildi. Mp. = 209-210 ˚C.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 12.12 (s, NH, 1H), 8.48 (m, N=CH, 1H), 8.12-8.17 (m, =CH, 2H), 7.79 (d, *J* = 4.5 Hz, =CH, 1H), 7.32-7.35 (m, =CH, 1H), 7.20 (m, =CH, 1H), 6.85 (d, *J* = 1.7 Hz, =CH, 1H), 6.30 (m, =CH, 1H)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 186.14, 163.40, 162.38, 137.85, 136.64, 135.61, 129.91, 129.86, 127.06, 125.42, 120.27, 118.87, 111.14

IR (ATR, cm^{-1}): 3671 (NH), 2984 (=C-H), 1701 (C=O), 1394 (C=S), 1264 (C-N uzama), 733 (CH=CH düzlemden bükülme)

(Z)-3-(((E)-(1H-indol-3-il)metilen)amino)-5-(tiofen-2-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (7g), %78 verimle açık kırmızı renkli katı olarak elde edildi. Mp. = 231-232 ˚C.

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d6): δ 12.10 (s, NH, 1H), 8.83 (m, N=CH, 1H), 8.18 (d, *J* = 7.6 Hz, =CH, 1H), 8.14-8.16 (m, =CH, 3H), 7.81 (d, *J* = 4.5 Hz, =CH, 1H), 7.53 (d, *J* =7.6 Hz, =CH, 1H), 7.35 (t, *J* = 7.6 Hz, =CH, 1H), 7.28 (t, *J* = 7.6 Hz, =CH, 1H), 7.23-7.25 (m, =CH, 1H)

^{13}C-NMR (150 MHz, DMSO-d6): δ 186.35, 166.85, 163.57, 137.90, 137.76, 136.39, 135.38, 129.83, 126.72, 124.65, 123.83, 122.67, 122.10, 121.26, 119.08, 112.81, 110.61

IR (ATR, cm^{-1}): 3055 (NH), 1717 (C=O), 1421 (C=S), 1264 (C-N uzama), 895 (C-O), 731 (CH=CH düzlemden bükülme)

(Z)-3-(((E)-piridin-4-ilmetilen)amino)-5-(tiofen-2-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (7h), %71 verimle sarı renkli katı olarak elde edildi. Mp. = 218-219 ˚C.

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d6): δ 9.09, (s, N=CH, 1H), 8.81-8.83 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 8.21 (s, =CH, 1H), 8.18 (d, *J* = 4.5 Hz, =CH, 1H), 7.86-7.88 (m, =CH, 2H, B part of AB system), 7.83 (d, *J* = 3.4 Hz, =CH, 1H), 7.36 (t, *J* = 4.5 Hz, =CH, 1H)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 187.02, 168.66, 163.96, 151.37, 137.72, 136.85, 136.53, 135.43, 129.80, 126.98, 122.58, 117.96

IR (ATR, cm^{-1}): 3295 (=C-H), 2910, 1712 (C=O), 1585, 1536 (C-N amid), 1472, 1363 (C=S), 1220 (C-N uzama), 814 (C-O), 795 (CH=CH düzlemden bükülme)

3.2.3. 3-Aril-5-Piridin-Rhodanin (3-Ar-5-Pyr-Rh) Türevlerinin Sentezi

3.2.3.1. 5-Pyr-Rh (5)'in Sentezi

Bir reaksiyon balonu içerindeki 100 mg (0.68 mmol) 3-amino-rhodanin (**2**,Rh)'nin 10 mL EtOH/H_2O (v/v:9/1) içerisindeki çözeltine yine 10 mL EtOH/H_2O (v/v:9/1) içerisinde çözünmüş olan 72 mg (0.68 mmol) isonikotinaldehit bir damlatma hunisi yardımıyla damla damla ilave edildi. Daha sonra reaksiyon 100 ^{o}C'de 5 saat boyunca kaynatıldı. Reaksiyonun TLC ile kontrol edildi Reaksiyonun tamamlanmasından sonra oluşan kırmızı ürün etanolden yeniden kristalleştirildi, süzüldü ve vakumla kurutuldu. Kristalleştirmeden sonra hedef (*Z*)-3-amino-5-(piridin-4-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (**5-Pyr-Rh**, %81) açık sarı katı olarak elde edildi (Mp. = 195-196 ^{o}C).

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 8.73 (m, AB sisteminin A kısmı, =CH, 2H), 7.81 (s, =CH, 1H), 7.57 (m, AB sisteminin B kısmı, =CH, 2H), 5.96 (bs, NH_2, 2H)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 187.59, 163.51, 150.72, 139.79, 129.93, 125.37, 123.71

IR (KBr, cm^{-1}): 3196 cm^{-1} (NH_2, uzama), 1705 cm^{-1} (C=O), 1594 cm^{-1} (NH_2, makas), 1415 cm^{-1} (C=S), 1320 cm^{-1} (C-O), 1251 cm^{-1}, 1218 cm^{-1}, 1030 cm^{-1}, 802 cm^{-1} (C-C, germe), 714 cm^{-1} (NH, sallanma).

3.2.3.2. 3-Ar-5-Pyr-Rh Türevlerinin Sentezi İçin Genel Prosedür

5-Pyr-Rh (**5**, 1 eqiv.) ve aldehit (1 equiv.) yaklaşık 15 mL etanol içerisinde çözüldü, Lewis asit katalizörü olarak CH_3CO_2H (*iki damla*) ilave edilerek etanolün kaynama sıcaklığında gün aşırı kaynatıldı. Başlangıç maddesinin reaksiyon ortamında bulunup bulunmadığı TLC ile kontrol edilerek, reaksiyon karışımı etanol üzerinden yeniden kristalleştirildi, süzüldü ve vakumla kurutularak hedef 3-sübstitüe-5-piridin-rhodanin (**3-Ar-5-Pyr-Rh**) türevleri elde edildi. *(Not: Reaksiyonlarda 100 mg (0.42 mmol) 5-Pyr-Rh ve karşılık gelen aldehit eşdeğer miktarı kullanılmış ve reaksiyon verimleri buna göre hesaplanmıştır*)

(Z)-3-(((E)-4-hidroksibenziliden)amino)-5-(piridin-4-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (8a), %80 verimle açık sarı renkli katı olarak elde edildi. Mp. = 215-216 ˚C.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 10.51 (s, OH, 1H), 8.75-8.77 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 8.70 (s, N=CH, 1H), 7.83 (s, =CH, 1H), 7.77-7.80 (m, =CH, 2H, B part of AB system), 7.60-7.62 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 6.93-6.95 (m, =CH, 2H, B part of AB system)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 186.90, 171.93, 163.13, 162.83, 151.26, 140.34, 131.91, 130.42, 126.82, 124.26, 123.04, 116.61

IR (ATR, cm^{-1}): 2921 (=C-H), 1721 (C=O), 1583 (O=C-N-C=S), 1463, 1377 (C=S), 1264 (-C-O uzama), 1180, 738 (CH=CH düzlemden bükülme)

(Z)-3-(((E)-4-metilbenziliden)amino)-5-(piridin-4-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (8b), %85 verimle sarı renkli katı olarak elde edildi. Mp. = 200-201 ˚C.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 8.87 (s, N=CH, 1H), 8.76-8.77 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 7.84-7.85 (m, =CH, 2H, B part of AB system), 7.83 (s, =CH, 1H), 7.61-7.62

(m, =CH, 2H, A part of AB system), 7.39-7.42 (m, =CH, 2H, B part of AB system), 2.42 (s, CH_3, 3H)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 187.57, 171.44, 163.49, 150.75, 143.88, 139.83, 130.10, 129.92, 129.06, 126.23, 125.40, 123.71, 21.31

IR (ATR, cm^{-1}): 2987, 1726 (C=O), 1525 (Ph-H), 1344 (C=S), 1264 (C-N uzama), 731 (CH=CH düzlemden bükülme).

(Z)-3-(((E)-4-nitrobenziliden)amino)-5-(piridin-4-ilmeetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (8c), %61 verimle açık sarı renkli katı olarak elde edildi. Mp. = 194-195 ˚C.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 8.79-8.81 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 8.74 (s, N=CH, 1H), 7.87 (s, =CH, 1H), 7.82-7.83 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 7.65-7.67 (m, =CH, 2H, B part of AB system), 6.97-7.00 (m, =CH, 2H, B part of AB system)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 186.37, 171.36, 162.61, 162.34, 150.76, 139.81, 131.39, 129.95, 126.28, 123.72, 122.56, 116.11

IR (ATR, cm^{-1}): 3024 (=C-H), 1728 (C=O), 1515 (Ph-H), 1545 (C-N amid), 1460, 1481 (C=O uzama), 1372 (C=S), 1235 (C-N amide), 752 (CH=CH düzlemden bükülme)

(Z)-3-(((E)-3-hidroksi-4-metoksibenziliden)amino)-5-(piridin-4-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (8d), %74 verimle açık kırmızı renkli katı olarak elde edildi. Mp. = 210-211 ˚C.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 9.62 (s, OH, 1H), 8.76-8.78 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 8.68 (s, N=CH, 1H), 7.83 (s, =CH, 1H), 7.61-7.62 (m, =CH, 2H, B part of AB system), 7.44 (d, *J* = 8.2 Hz, =CH, 1H), 7.29-7.31 (m, =CH, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.2 Hz, =CH, 1H), 3.87 (s, OCH_3, 3H)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 186.41, 177.29, 171.29, 162.57, 152.53, 150.76, 147.07, 139.82, 129.98, 126.28, 124.26, 123.72, 113.18, 111.87

IR (ATR, cm^{-1}): 3323 (=C-H), 1702 (C=O), 1606 (O=C-N-C=S), 1551 (C-N amid), 1511 (Ph-H), 1411 (-C=O uzama), 1318 (C=S), 1232 (C-N uzama)

(Z)-3-(((E)-pyren-1-ylmethylene)amino)-5-(pyridin-4-ylmethylene)-2-thioxothiazolidin-4-one ***(8e)***, %42 verimle kırmızı reknli katı olarak elde edildi. Mp. = 212-213 ˚C.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 10.00 (s, =CH, 1H), 8.87-8.92 (m, =CH, 2H), 8.82-8.84 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 8.75 (d, *J* = 8.2 Hz, =CH, 1H), 8.49 (s, N=CH, 1H), 8.45-8.46 (m, =CH, 1H), 8.40-8.41 (m, =CH, 1H), 8.34 (d, *J* = 8.2 Hz, =CH, 1H), 8.21 (t, *J* = 8.2 Hz, =CH, 1H), 7.98 (s, =CH, 1H), 7.87 (m, =CH, 1H), 7.79-7.81 (m, =CH, 2H, B part of AB system)

IR (KBr, cm^{-1}): 3299, 3217, 3038 (=C-H), 1742, 1722 (C=O), 1607 (O=C-N-C=S), 1416, 1368 (C=S), 1238 (C-N uzama), 1186 (C-O), 905 (-C=O bending), 784 (CH=CH düzlemden bükülme)

(Z)-3-(((E)-(lH-pirol-2-il)metilen)amino)-5-(piridin-4-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (8f), %67 verimle sarı renkli karı olarak elde edildi. Mp. = 222-223 ˚C.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 12.17 (s, NH, 1H), 8.75-8.77 (m, =CH, 2H, A part of AB system), 8.49 (s, N=CH, 1H), 7.84 (s, =CH, 1H), 7.60-7.62 (m, =CH, 2H, B part of AB system), 7.21 (m, =CH, 1H), 6.87 (d, *J* = 1.3 Hz, =CH, 1H), 6.30-6.31 (m, =CH, 1H)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 186.35, 162.82, 162.02, 150.75, 139.87, 129.84, 126.65, 126.36, 124.87, 123.71, 119.83, 110.69

IR (ATR, cm^{-1}): 3675 (NH), 2985 (=C-H), 1731 (C=O), 1597 (O=C-N-C=S), 1264 (C-N uzama), 732 (CH=CH düzlemden bükülme)

(Z)-3-(((E)-(1H-indol-3-il)metilen)amino)-5-(piridin-4-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (8g), %81 verimle açık kırmızı renkli katı olarak elde edildi. Mp. = 209-210 ˚C.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 12.11 (s, NH, 1H), 8.84 (m, N=CH, 1H), 8.75-8.77 (m, =CH, 2H), 8.16-8.20 (m, =CH, 2H), 7.82 (s, =CH, 1H), 7.61-7.63 (m, =CH, 2H), 7.55 (d, *J* = 7.7 Hz, =CH, 1H), 7.22-7.29 (m, =CH, 2H)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 187.11, 167.18, 163.56, 151.24, 140.46, 137.80, 136.66, 130.02, 127.09, 124.64, 124.27, 123.92, 122.69, 122.20, 112.89, 110.58

IR (ATR, cm^{-1}): 3035 (=C-H), 2988, 1724 (C=O), 1630 (O=C-N-C=S), 1596, 1350 (C=S), 1236 (C-N uzama), 812 (C-O), 761 (CH=CH düzlemden bükülme)

(Z)-3-(((1H-indol-3-il)metil)amino)-5-(tiofen-2-ilmetilen)-2-tioksotiazolidin-4-on (9g)

İndirgeme reaksiyonu, literatürde tarif edildiği gibi gerçekleştirildi (Blackburn et al., 2001). Buna göre, 3,5-diarilRh **9g** (150,0 mg, 0,41 mmol, 1,0 ekiv.), CH_30H (10 mL) içinde çözündürüldü ve $N_{2(g)}$ atmosferi altında 0°C'ye soğutuldu. Sodyum borohidrit ($NaBH_4$, 16.44 mg, 0.45 mmol, 1,1 ekiv.) kısım kısım ilave edildi ve reaksiyon, 30 dakika karıştırıldı. Çözücü buharlaştırıldı ve reaksiyon karışımı dietil eter (20 mL) içine alınarak $NaHC0_3$ (aq, 15 mL) ile doyuruldu. Organik çözücü uzaklaştırıldıktan sonra sulu faz çözeltisi dietil eter (2 x 15 mL) ile yıkandı. Ardından, birleştirilen organik çözeltiler, $MgS0_4$ ile kurutuldu, süzüldü ve hedef indirgenmiş-Rh türevi **9g**'yi (61.00 mg, %41) verecek şekilde vakumla konsantre edildi.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 11.75 (s, NH, 1H), 8.56 (m, =CH, 1H), 7.90-7.95 (m, =CH, 3H), 7.44-7.50 (m, =CH, 2H), 7.15-7.23 (m, =CH, 2H), 7.00-7.01 (m, =CH, 1H), 5.51-5.55 (m, HN-CH_2, 3H)

IR (ATR, cm^{-1}): 3121, 3105 (NH), 1747 (C=O), 1625, 1441 (C=S), 1274 (C-N uzama), 1050 (C-O), 757 (CH=CH düzlemden bükülme).

3.2.4. UV-Vis ve Floresan Spektroskopi Çalışmaları

Tez çalışmalrı kapsamında sentezlenen 3-Ar-5-OxI-Rh (1×10^{-2} M) türevleri ve anyon (tetrabutilamonyum (Bu_4N) tuzları, 1×10^{-2} M) çözeltileri CH_3CN/HEPES (*v/v*:*9/1*)

içerisinde hazırlandı. Daha sonra, quartz bir hücre içerisindeki 3-Ar-5-OxI-Rh (1×10^{-5} M) türevleri üzerine ekivalent miktarda anyonlar eklenerek oda sıcaklığında UV-Vis ve fluoresas spektrumları kaydedildi. Bu deneylerde kulanılan, etanol-4-(2-hidroksietil) piperazin-1-etansülfonik asit (HEPES) tamponu (pH aralığı 6.8-8.2); 2.38 gr saf HEPES'in deiyonize suda (100 mL) çözüllerek bir adet NaOH peleti eklendi. Daha sonra ortam pH'sı %75 $HCl0_4$ veya NaOH çözücüsü eklenerek 7,4'e doğru ayarlanarak hazırlandı (Bayindir and Yararlı, 2019).

3.2.5. UV-Vis ve Floresan Spektroskopi Titrasyon Çalışmaları

3-Ar-5-OxI-Rh (1×10^{-2} M) türevleri ve anyon ($AcO[NEt_4]$ ve $BnO[NEt_4]$, 1×10^{-2} M) çözeltileri CH_3CN/HEPES (*v/v*:*9/1*) içerisinde hazırlandı. Daha sonra, quartz bir hücre içerisindeki 3-Ar-5-OxI-Rh (1×10^{-5} M) türevleri üzerine artan ekivalent ilgili anyonlar $AcO[NEt_4]$ veya $BnO[NEt_4]$ ilave edilerek oda sıcaklığında UV-Vis ve fluoresas spektrumları kaydedilmiştir (Bayindir and Yararlı, 2019).

3.2.6. *h*CA I ve II İzoenzimleri Üzerine Inhibisyon Çalışmaları

Bu tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen 3,5-diarilRh türevlerinin, saflaştırılan *h*CA I ve II izoenzimleri üzerindeki etkileri, esteraz aktivite tayin yöntemlerine göre belirlendi. Elde edilen verilerden IC_{50} ve K_i değerleri bulunarak inhibisyon türleri belirlendi (Özer et al., 2022; Özer, 2022).

3.2.7. *In slico* Çalışmaları

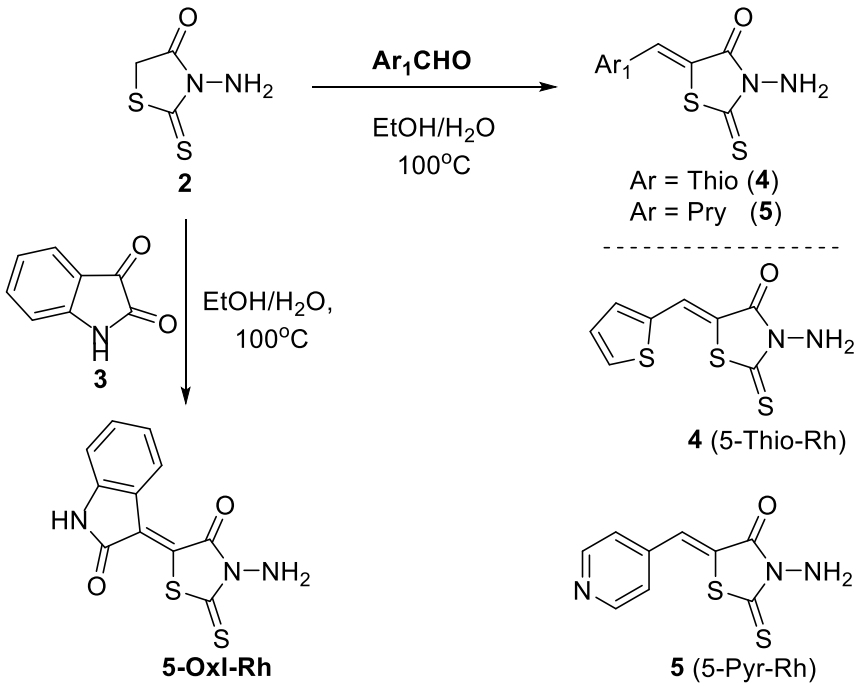
Tüm moleküler modelleme çalışmaları için Schrödinger, LLC, NY, USA (Jorgensen et al., 1996) kullanılmıştır. Bu özelde, *h*CA I (1AZM; 2.00 Å) ve *h*CA II (2H4N; 1.90 Å) enzimlerinin 3 boyutlu kristal yapıları Protein Veri Bankasından (PDB) alınmış (Chakravarty et al., 1994) ve 1AZM ile 2H4N'yi yapısal olarak optimize etmek için Maestro panelindeki Protein Hazırlama Sihirbazı yazılımı kullanılmıştır (Sever et al., 2020). Proteinlerin aktif bölgeleri, SiteMap programı (Halgren et al., 2009) kullanılarak tahmin edildi. Daha sonra, epik (Shelley et al., 2007) kullanılarak, pH 7.4 ± 2.0'de OPLS4 kuvvet alanında en olası iyonizasyon durumlarını oluşturmak için LigPrep uygulaması

kullanıldı. Varsayılan parametreler (Tokalı et al., 2022) ile enerji şebekeleri oluşturmak için Reseptör Şebeke Üretim programı (Sever et al., 2021) kullanılmıştır. Ayrıca, ADME ve ilaç benzerlik parametrelerini tahmin etmek için QikProp aracı (Kalaycı et al., 2021) kullanıldı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. 5-Aril-3-Amino-Rhodanin (3-NH_2-5-Ar-Rh) Türevlerinin Eldesi

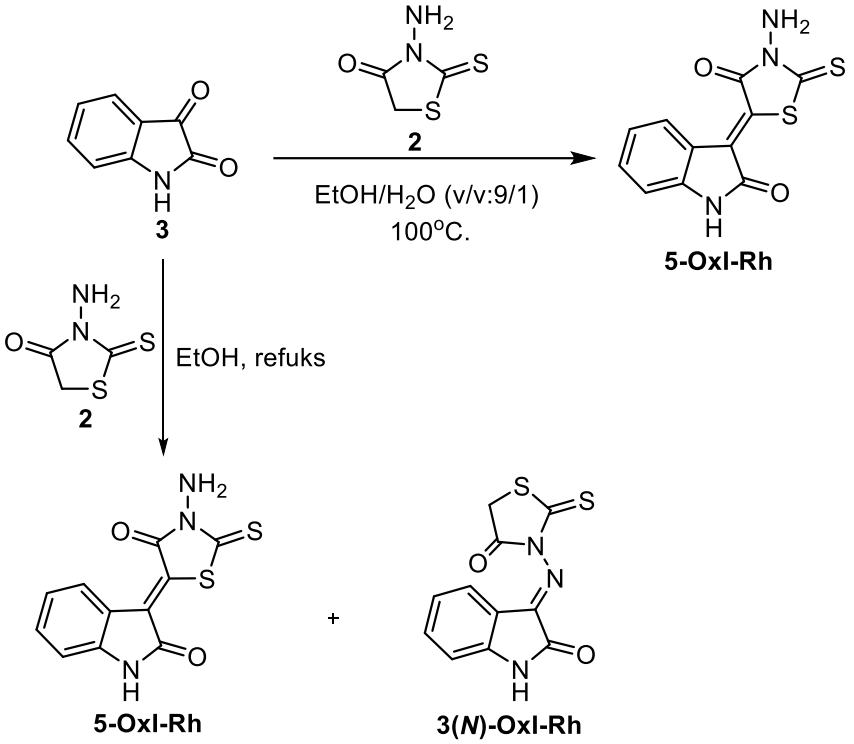
Bu tez çalışması kapsamında öncelikli olarak, asimetrik 3,5-disübstitüe-rhodanin türevlerinin sentezinde kullanılacak olan 5-sübstitüe-3-aminorhodanin türevlerinin sentezi Knoevenagel Kondenzasyonu üzerinden daha çevreci bir yöntemle gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bu türevler üzerinden biyolojik ve teknolojik açıdan oldukça önemli bileşik sınıfı olan yeni asimetrik 3,5-disübstitüe-rhodanin (**3,5-diarilRh**) türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Knoevenagel Kondenzasyonu üzerinden sentezi gerçekleştirilecek olan 5-sübstitüe-3-aminorhodanin türevleri, Şema 13'te gösterildiği gibi EtOH/H_2O (v/v: 9/1) içerisinde katalizörsüz olarak 100°C'de kaynatılması sonucunda elde edilmiştir.



Şema 13

Bu kapsamda ilk olarak isatin (**3**, indolin-2,3-dion)'ün 3-amino-rhodanin (**2**, 3-NH_2-Rh, 3-amino-2-tioksotiazolidin-4-on) ile reaksiyonu etanol içerisinde geri akış sıcaklığında gerçekleştirildi. 5-İsatin-3-aminorhodanin (**5-OxI-Rh**) türevinin sentezi için ilk olarak, 3-

amino-rhodaninin (**2**)'nin isatin (**3**) ile etanol içinde geri akış sıcaklığında katalizörsüz reaksiyonu gerçekleştirildi. Reaksiyon neticesinde, hedef terminal oksindol türevi **5-OxI-Rh,** %52 verimle elde edilirken, %34 ile aza-ylide türevi 3-isatin-rhodanin (**3(*N*)-OxI-Rh**) türevinin elde edildiği belirlendi. Bunun üzerine aynı reaksiyon daha yüksek sıcaklıklarda (100^{o}C) bu defa EtOH/H_2O (v/v:9/1) içerisinde yine katalizörsüz olarak gerçekleştirilmiş ve %72 verimle hedef terminal oksindol türevi **5-OxI-Rh** elde edilmiştir (Şema 14).



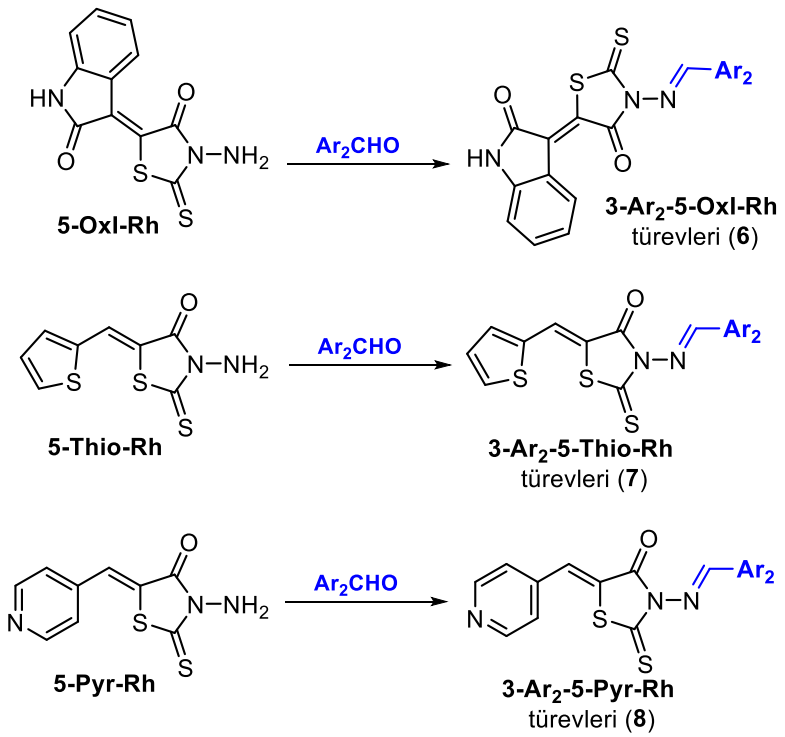
Şema 14

Hedef terminal oksindol türevi **5-OxI-Rh**'nin ^{1}H-NMR spektrumu incelendiğinde, isatin halkasında bulunan bir adet NH protonun 11.25 (s, NH, 1H) ppm'de rezonans olduğu görülmektedir. Yine **5-OxI-Rh**'nin yapısında bulunan dört aromatik protonun ise 8.82 (d, *J* = 7.7 Hz, =CH, 1H), 7.42 (t, *J* = 7.7 Hz, =CH, 1H), 7.10 (t, *J* = 7.7 Hz, =CH, 1H), 6.97 (d, *J* = 7.7 Hz, =CH, 1H) ppm'de rezonans olduğu görülmektedir. Burada hedef ürün **5-OxI-Rh**'nin yapısıyla alakalı en önemli belirleyici rezonans piki 5.97 (bs, NH_2, 2H) ppm'de rezonans olan NH_2 pikinin varlığıdır. Diğer taraftan optimizasyon reaksiyonlarında yan ürün olarak elde edilen aza-ylide türevi **3(*N*)-OxI-Rh**'nin ^{1}H NMR spektrumu ile kıyaslandığında rhodanin halkasının C5 pozisyonunda bulunan iki alifatik CH_2 protonun 4.22 (s, CH_2, 2H) ppm de rezonas olduğu görülmektedir. Bu pikin yerine 5.97 (bs, NH_2,

2H) ppm'de rezonans olan NH_2 pikinin varlığı hedef **5-OxI-Rh**'nin sentezinin en belirgin göstergesidir. Yine, 191.9, 168.0, 163.5, 144.8, 133.2, 128.6, 127.8, 125.5, 122.2, 119.9, 110.7 ppm'de rezonans olan toplam 11 karbon pikinin varlığı da yapıyı doğrulamaktadır. Diğer hedef çıkış molekülleri terminal tiyofen ve piridin türevleri 5-tiyofen-3-amino-rhodanin türevi **4** ve 5-piridin-3-amino-rhodanin türevi **5**'in sentezi de aynı şartlarda gerçekleştirilmiştir.

4.2. Asimetrik 3,5-Disübstitüe-Rhodanin (3,5-diarilRhs) Türevlerinin Eldesi

Bu tez çalışmalarının ana hedefini asimetrik 3,5-diaril-hodanin (**3,5-diarilRh**) türevleri olarak; 3-aril-5-oksindol-rhodanin (**3-Ar-5-OxI-Rh**), 3-aril-5-tiyofen-rhodanin (**3-Ar-5-Thio-Rh)** ve 3-aril-5-tiyofen-rhodanin **(3-Ar-5-Pyr-Rh)** türevlerinin elde edilmesi oluşturmaktadır. Bu bağlamda, sentezlenen **5-Ar-Rh** türevlerinin geniş yelpazede aldehitlerle katalizörsüz veya ihtiyaç duyulması durumunda asetik asit öncelikli olmak üzere çeşitli lewis asitleri katalizörlüğünde hedeflenen muhtemel biyolojik aktif asimetrik 3,5-diaril-hodanin (**3,5-diarilRh**) türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir (Şema 15).



Şema 15

4.2.1. 3-Sübstitüe-5-oksindol-rhodanin Türevlerinin Eldesi

Bu tez çalışmasında, ilk olarak bir çıkış molekülü olan (*Z*)-3-amino-5-(2-oxoindolin-3-ylidene)-2-thioxothiazolidin-4-one (**5-OxI-Rh**) türevinin geniş yelpazede aldehitlerle reaksiyonundan önemli aromatik gruplar içeren yeni *N*-ikameli-5-oksindolin-rhodanin (**3-Ar-5-OxI-Rh**) türevleri **6a-6g**'nin sentezlenmesi amaçlanmıştır (Şema 16). Bu amaçla, başlangıçta, uygun reaksiyon koşullarını belirlemek için sıcaklık, süre, katalizörler ve çözücüler gibi parametreler değiştirilerek reaksiyon koşulları optimize edildi. Katalizör seçimi ve optimizasyon çalışmaları için model olarak **5-OxI-Rh** ve aldehit olarak ise 4-hidroksibenzaldehit türevinin reaksiyonu seçilmiş ve sonuçlar Tablo 4.1'de gösterilmiştir. İlk model reaksiyon oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Oda sıcaklığında katalizör olmadan çeşitli solvent sistemlerinde gerçekleştirilen reaksiyonlar sonucunda herhangi bir ürün oluşumu gözlemlenmemiştir (Tablo 4.1, reaksiyonlar 1-5). Daha sonra aynı solvent ve sıcaklık koşulları altında reaksiyon sırasıyla $Bi(NO_3)_3{\cdot}5H_2O$, NaOH ve CH_3COOH gibi çeşitli Lewis asit veya baz katalizörlüğünde gerçekleştirildi. Bu reaksiyonlar sonucunda hedeflen 3-sübstitüe-5-oksindol-rhodanin türevi **6a**'nın, NaOH için %11, CH_3COOH için %36 gibi düşük verimlerle oluşumu gözlenirken, $Bi(NO_3)_3{\cdot}5H_2O$ katalizörü ile ise herhangi bir ürün oluşumu gözlenmemiştir (Tablo 4.1, reaksiyon 6-8). Bu umut verici sonucu aldıktan sonra, reaksiyon etanolün geri akış sıcaklığında ve bir damla CH_3COOH katalizi altında gerçekleştirildi ve %81'lik yüksek bir verimle hedeflenen ürün **6a** elde edildi. (Tablo 4.1, reaksiyon 10).

Tablo 4.1. 3-Ar-5-OxI-Rh 6a için reaksiyon koşullarının optimizasyonu

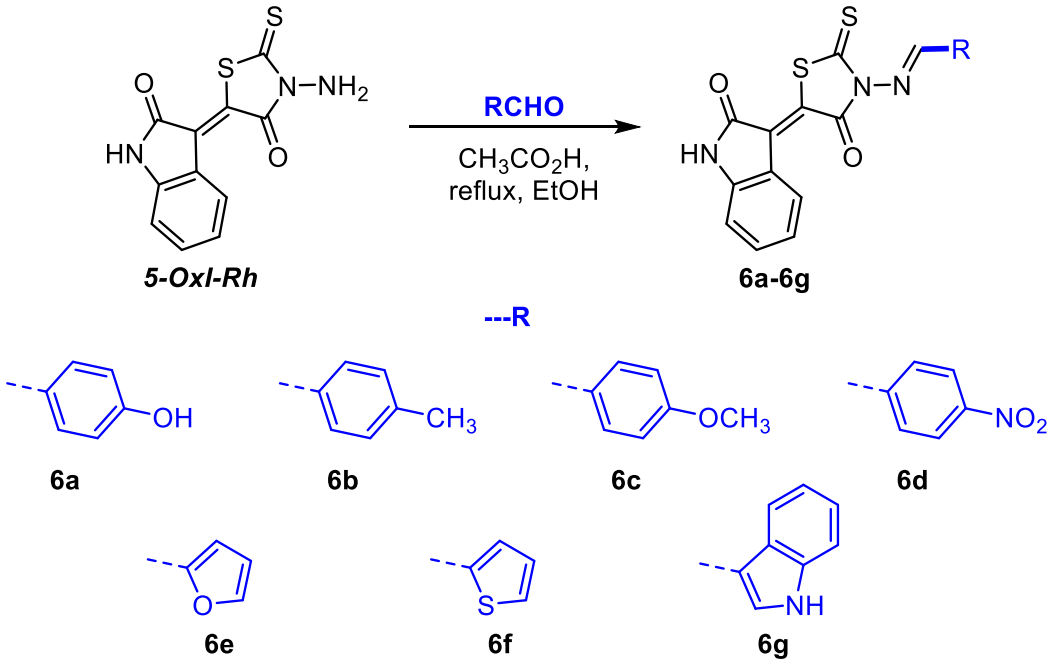
Reaksiyon	Katalizör	Çözücü	Sıcaklık (ºC)	Zaman	Verim %
1	-	CH_2Cl_2	rt	12 saat	0
2	-	EtOH	rt	12 saat	0
3	-	MeOH	rt	12 saat	0
4	-	EtOH/ H_2O	rt	12 saat	0
5	-	MeOH/H_2O	rt	12 saat	0
6	$Bi(NO_3)_3{\cdot}5H_2O$	EtOH	rt	12 saat	0
7	NaOH	EtOH	rt	12 saat	11
8	CH_3CO_2H	EtOH	rt	12 saat	36
9	-	EtOH	reflüks	12 saat	19
10	CH_3CO_2H	EtOH	reflüks	5 saat	81
11	NaOH	EtOH	reflüks	6 saat	23

Genel koşullar (aksi belirtilmedikçe): 5-OxI-Rh (1 ekiv.), 4-hidroksibenzaldehit (1 ekiv.), katalizör (0,01 ekiv.) ve solvent (10 mL). *rt: oda sıcaklığı.*

Optimizasyon çalışmaları sonucunda, reaksiyonlar için en uygun reaksiyon koşullarının, bir damla CH_3COOH katalizörlüğünde ve etanolün geri akış sıcaklığında gerçekleştirilen reaksiyon şartları olduğu belirlenmiştir. Bunun üzerine, diğer hedef *N*-sübstitüe-5-oksindolin-rhodanin türevlerinin sentezi de bu reaksiyon şartlarında gerçekleştirilmiştir. Bu şartlar altında gerçekleştirilen reaksiyonlardan, **5-OxI-Rh**'nin çeşitli aldehitlerle reaksiyonu incelendiğinde; elektron sağlayıcı (OH, Me ve OMe) gruplarının bulunduğu aldehitlerle reaksiyonları sonucunda sırasıyla %81, %72 ve %74 gibi oldukça iyi verimler elde edildiği görülmüştür. Öte yandan elektron çekici nitro grubu içeren 4-nitrobenzaldehit ile reaksiyon sonucundan ise hedef molekül **6d**'nin ise nispeten daha yüksek bir verimle (%86) elde edildiği görülmüştür. Heteroaromatik bileşikler biyolojik ve teknolojik açıdan oldukça önemli bileşiklerdir. Heteroaromatik gruplar içeren *N*-aril-5-oksindolin-rhodanin türevleri **6e-6g**, yine **5-OxI-Rh**'nin heteroaromatik gruplar içeren aldehitlerle reaksiyonlarından elde edilmişlerdir (Şema 16). Buna karşılık, 1*H*-pirol-2-karbaldehitin reaksiyonu, optimize edilmiş koşullar altında incelenmiş ve hedef ürün **6h**'ın oluşmadığı ve sadece başlangıç materyalinin geri kazanıldığı görülmüştür. Burada 1*H*-pirol-2-karbaldehitin olası rezonans katkısının, ilgili aldehitin yapısında bulunan karbonil karbonun **5-OxI-Rh**'nin nükleofilik saldırısına karşı reaktivitesini azaltabileceği varsayılabilir. Hedef *N*-aril-5-oksindolin-rhodanin türevi **6a**'nın ^1H NMR spektrumu incelendiğinde, NH (indol çekirdeğinin) proton tepe noktasının 11.23 (s, NH, 1H) ppm'de rezonans sinyalinin yanı sıra, hedef molekül **6a**'nın yapısındaki -HC=N- (aza-ylid grubu) protonlarının ise 8.71 (s, N=CH, 1H) ppm'de rezonans sinyali verdiği görülmektedir. Ayrıca, *N*-aril-5-oksindol-rhodanin türevi **6a**'nın elde edildiğine dair en önemli kanıt, **5-OxI-Rh**'nin yapısında bulunan ve 5.97 (bs, NH_2, 2H) ppm'de rezonans olan NH_2 pikinin kaybolması ve 8.71 (s, N=CH, 1H) ppm'de yeni bir eksojen N=CH tepe noktası pikinin mevcudiyetidir. Ayrıntılı prosedürler ve karakterizasyon deneysel bölümde verilmiştir (EK A1-A8).

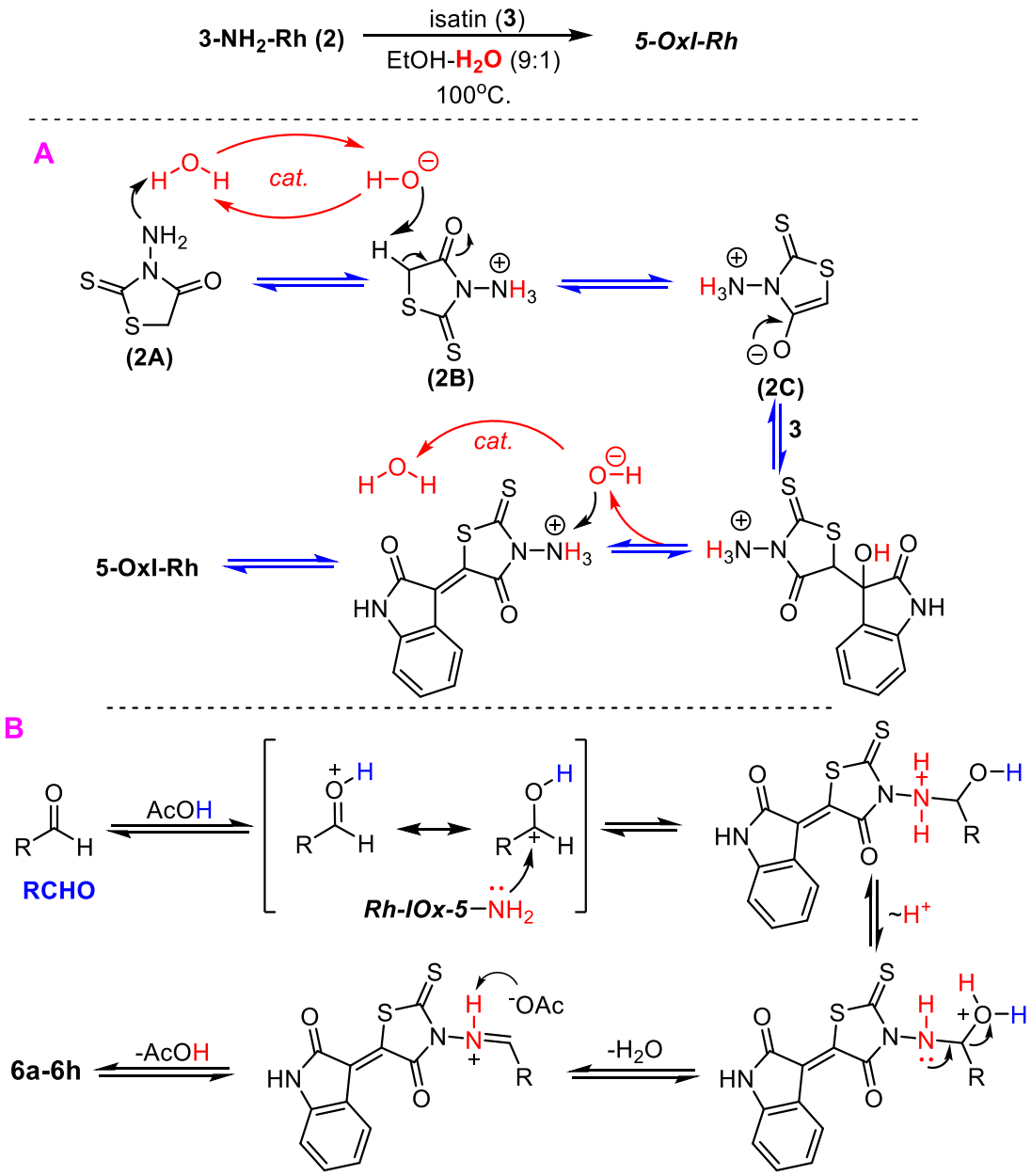
Bir eşdeğer **5-OxI-Rh**'nin farklı doğalara sahip bir eşdeğer aldehit ile reaksiyonu için makul bir mekanizma Şema 17A ve 17B'de gösterilmektedir. Bu mekanizmada, isatin **3**'ün rhodanin bileşiğinin 5-pozisyonu üzerinden reaksiyona girdiğini göstermiştir. Buna göre, **5-OxI-Rh** yüksek sıcaklık ve su katalizi altında gerçekleştirilen reaksiyonlardan, 3-NH_2-Rh (**2A**)'nın yapısında bulunan NH_2 grubunun Lewis asidi olarak H_2O ile reaksiyonu sonucunda protonlanması ile oluşan ve bir hidrasyon ürünü olan **2B** ile dengede olduğu

literatür tarafından desteklenmektedir (Şema 17A). Ayrıca 3-NH_2-Rh (**2A**)'nın yapısındaki NH_2 grubunun H_2O ile protonlanmasından hidroksit iyonlarının oluştuğu da düşünülebilir. Ardından, protonlanmış rodamin **2B**'nin 5-pozisyonunda asidik protonun reaksiyon ortamında oluşan hidroksit (OH^-) iyonları tarafından uzaklaştırılması sonucunda H_2O geri kazanılırken, aynı zamanda bir enolat ürünü olan **2C**'yi oluşturduğu düşünülebilir. Bunun üzerine 3-NH_2-Rh türevi **2C**'nin C-5 konumu üzerinden aldehitlerle Knoevenagel kondenzasyon reaksiyonu sonucu **5-OxI-Rh** türevinin elde edildiği söylenebilir (Şema 17A) .



Şema 16

Öte yandan, **5-OxI-Rh**'nin aldehitlerle klasik kondenzasyon reaksiyonu için önerilen mekanizma da yine Şema 17B'de gösterildiği gibidir. Buna göre ilk olarak, AcOH katalizörünün substratın aldehit kısımlarındaki oksijen atomu ile etkileşimi sonucunda aldehit pozisyonundaki karbonik karbonun elektrofilikliğini arttırır. Daha sonra, **5-OxI-Rh**, bir S_N1 saldırısı ile AcOH ile koordine edilen aldehitin karbonil karbonuna nükleofilik bir saldırıda bulunur. Bunu takiben dehidrasyonun bir sonucu olarak, hedef *N*-aril-5-oksindolin-rhodanin türevleri **6a-6g** elde edilebilir (Şema 17B).



Şema 17

4.2.2. 3-Aril-5-Tiyofen-Rhodanin (3-Ar-5-Thio-Rh) Türevlerinin Eldesi

Hedef asimetrik 3,5-disübstitüe-rhodanin (**3,5-diarilRhs**) türevlerinin sentezi ve biyolojik aktivite çalışmaları bu tez çalışmalarının diğer bir ana amacıdır. Oldukça önemli yan gruplar içeren yeni 3,5-diarilRh türevlerinin sentezi, 5-Ar-Rh türevleri **4** ve **5**'in aldehitlerle çevreci bir yaklaşımla reaksiyonu üzerinden hedeflenmektedir. Bu amaçla, uygun reaksiyon koşullarını belirlemek için bu aşamada da ilk olarak sıcaklık, katalizörler ve çözücü gibi parametreler değiştirilerek reaksiyon koşulları optimize edildi. Optimizasyon

çalışmaları için model olarak 5-Thio-Rh (**4**) ve 4-hidroksibenzaldehitin reaksiyonu seçilmiş ve sonuçlar Tablo 4.2'de gösterilmiştir. İlk model reaksiyonlar etanol içerisinde, oda sıcaklığı veya etanolün kaynama sıcaklığında gerçekleştirilmiş ve reaksiyonlar sonucunda ürün oluşumu gözlenmemiştir (Tablo 4.1, reaksiyon 1, 2, 5 ve 6). Oda sıcaklığında asetik asit katalizörü ile gerçekleştirilen reaksiyonlardan ise hedef ürün, EtOH/H_2O (v/v:7/3) solvent sistemi için %5 ve EtOH solvent sistemi için %13 gibi düşük verimlerle elde edilmiştir (Tablo 4.1, reaksiyon 3 ve 4). Bu umut verici sonuç üzerine, reaksiyon katalizörsüz veya bir damla CH_3COOH katalizi altında etanolün kaynama sıcaklığında gerçekleştirildi ve hedef ürün **7a** sırasıyla %41 ve %73 verimlerle elde edildi (Tablo 4.1, giriş 5 ve 7). Öte yandan, EtOH/H_2O'nun geri akış sıcaklığında bir damla asetik asit katalizi ile gerçekleştirilen reaksiyondan ise hedef ürün **7a**'nın %34 verimle oluştuğu görüldü (Tablo 4.1, reaksiyon 7). Hedef ürün **7a**'nın ^{1}H NMR spektrumu incelendiğinde, 3-Ar-5-Thio-Rh türevi **7a**'nın elde edildiğine dair en önemli kanıt, 5-Thio-Rh (**4**)'ün yapısında bulunan ve 5.93 (s, NH_2, 2H) ppm'de rezonans olan amin pikinin kaybolması ve bunun yerine 8.68 (s, N=CH, 1H) ppm'de yeni bir eksojen N=CH pikinin varlığıdır. Ayrıntılı prosedürler ve karakterizasyon deneysel bölümde verilmiştir (EK A9-A17).

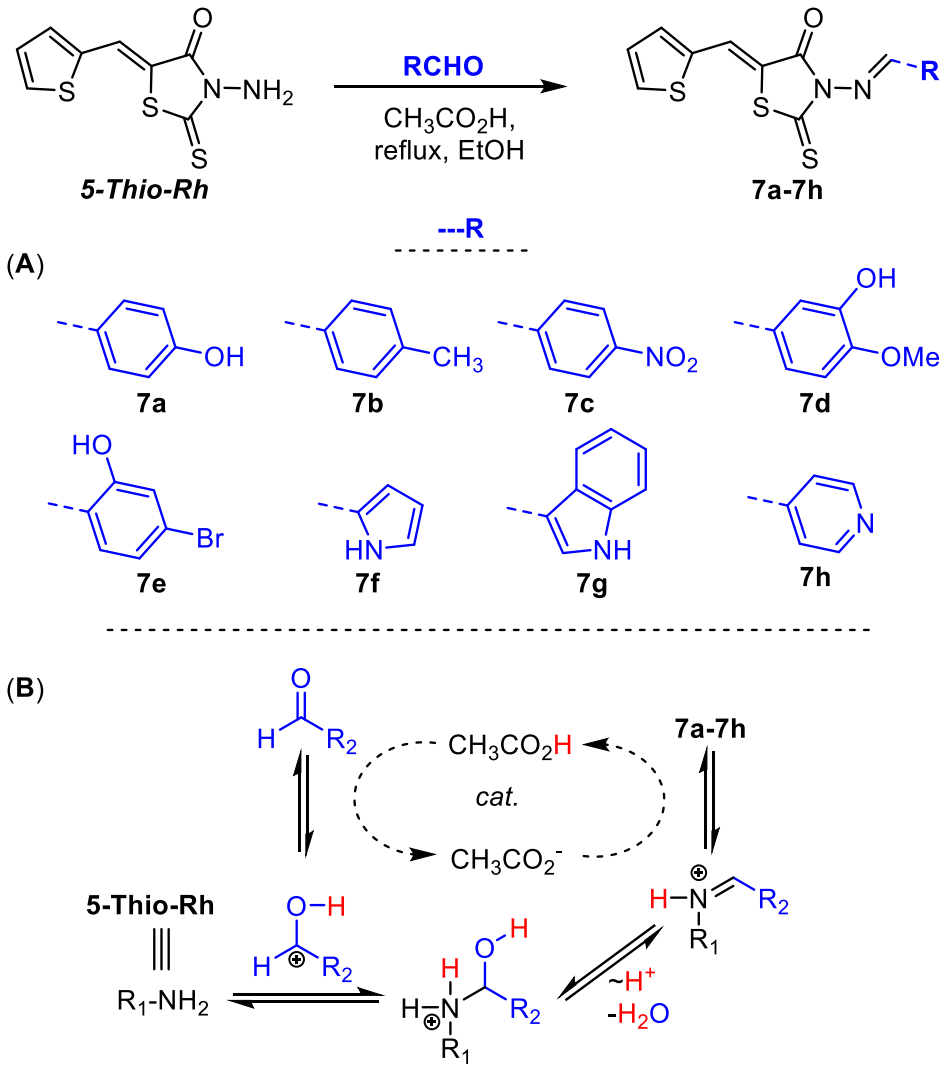
Tablo 4.2. 3-Ar-5-Thio-Rh 7a için reaksiyon koşullarının optimizasyonu

Reaksiyon	Katalizör	Çözücü	Sıcaklık (ºC)	Verim (%)
1	-	EtOH	rt	eser
2	-	EtOH/H_2O	rt	eser
3	CH_3CO_2H	EtOH	rt	13
4	CH_3CO_2H	EtOH/H_2O	rt	5
5	-	EtOH	reflux	41
6	-	EtOH/H_2O	reflux	eser
7	CH_3CO_2H	EtOH	reflux	73
8	CH_3CO_2H	EtOH/H_2O	reflux	34

Genel koşullar (aksi belirtilmedikçe): 5-Ar-Rh **4** (1 ekiv.), 4-hidroksibenzaldehit (1 ekiv.), katalizör (0.01 eşdeğer), çözücü (10 mL) ve gün aşırı.

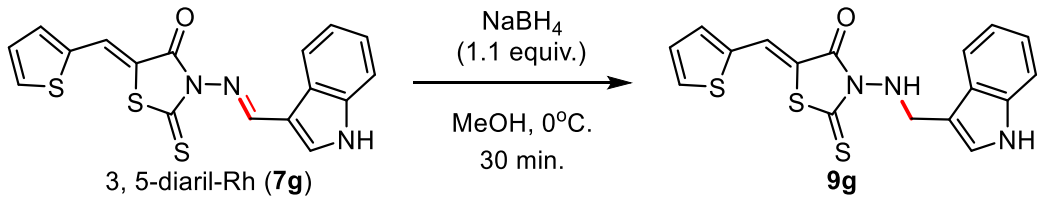
Optimizasyon çalışmaları neticesinde reaksiyonlar için en iyi şartların, asetik asit katalizörlüğünde ve etanolün kaynama sıcaklığında gerçekleştirilen reakyion şartları olduğu belirlenmiştir. Diğer, 3-Ar-5-Thio-Rh (**7b–7h**) türevlerinin sentezi de bu şartlarda gerçekleştirilmiş ve hedef 3-Ar-5-Thio-Rh türevleri %63 ile %78 arasında değişen verimlerle elde edilmiştir (Şema 18A). Hedef 3,5-diarilRhs türevlerinin sentezi için 5-Thio-Rh (**4**)'ün (1 eşdeğer) aldehitler (1 eşdeğer) ile reaksiyonu için makul bir mekanizma da yine Şema 18B'de önerilmiştir. Buna göre, başlangıçta asetik asit (CH_3COOH),

substratın aldehit kısımlarının oksijen atomu ile etkileşime girer ve aldehit pozisyonundaki karbonik karbonun elektrofilikliğini arttırır. Daha sonra, S_N1 saldırısı ile CH_3COOH ile koordineli aldehitin karbonil karbonuna nükleofilik bir saldırı ve bir dehidrasyon sonucunda hedef 3,5-diarilRhs **7a-7h** elde edildi.



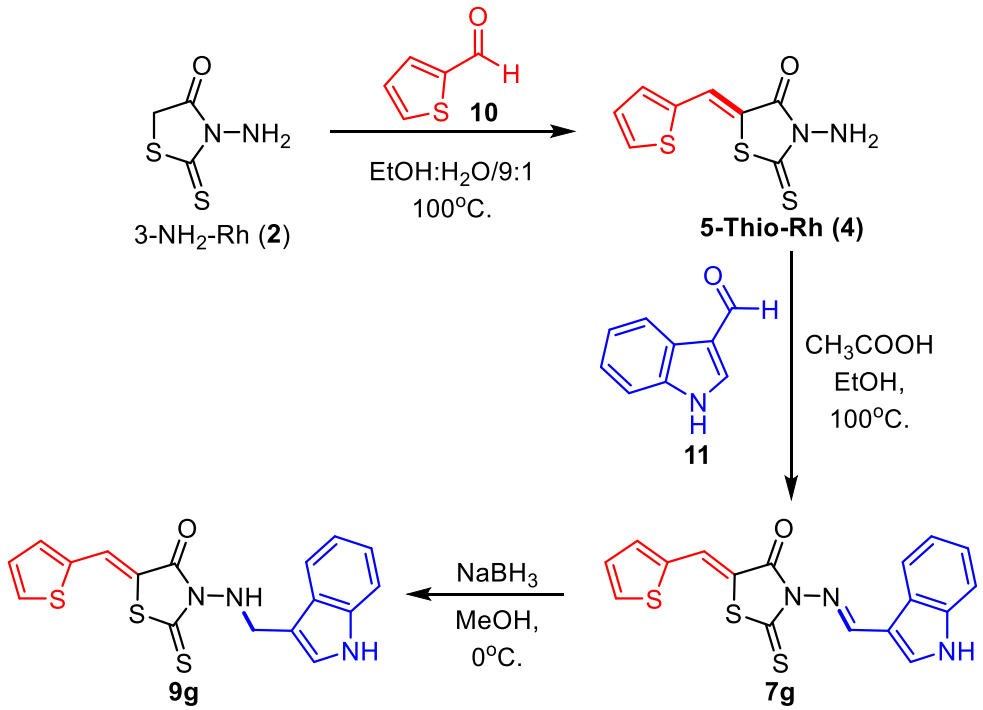
Şema 18

Bu tez çalışmalarında 3-NH_2-Rh (**2**)'nin aldehitlerle iki aşamalı reaksiyonu sonucu elde edilen asimetrik 3,5-diarilRh **7g**'nin yapısındaki imin grubunun yer seçici indirgenme reaksiyonu da gerçekleştirilmiştir. Literatür ışığında gerçekleştirilmiştir. Bunun için, 3,5-diarilRh **7g** metanol içinde çözülerek azot gazı atmosferinde ve 0°C'de sodyum borohidrit ($NaBH_4$)'ın kısım kısım ilave edilmesi sonucunda elde edilmiştir (Şema 19).



Şema 19

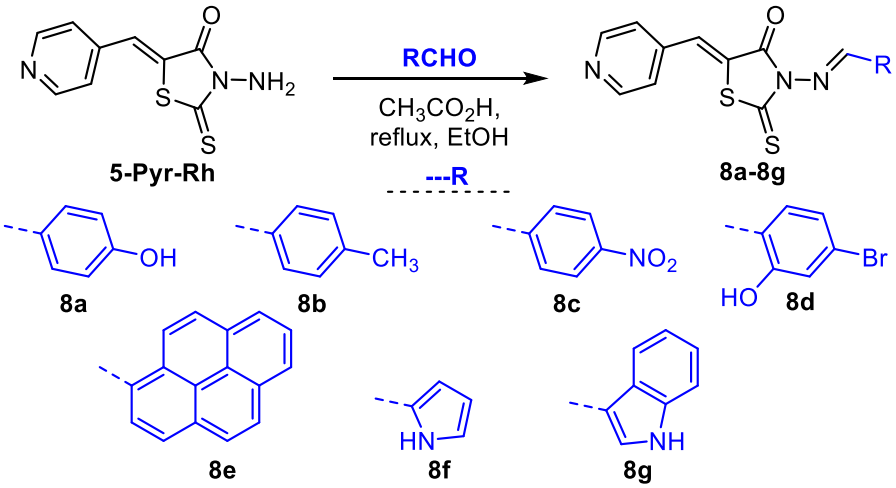
Son olarak, 3-NH_2-Rh (**2**) ile başlayan bir gram ölçeğinde 5-Thio-Rh (**4**), 3,5-diarilRh **7g** ve **9g**'nin sıralı sentezi gerçekleştirildi. İlk olarak, 3-NH_2-Rh (**2**, 2 g) başarılı bir şekilde karşılık gelen 5-Thio-Rh **4**'e (2.54 g) ve takiben **4** (2 g) ise yine karşılık gelen 3,5-diarilRh **7g**'ye (2.48 gr) başarılı bir şekilde dönüştürüldü. Son adımda ise, bu kez 3,5-diarilRh **7g** (2 g), karşılık gelen nihai amin türevi **9g**'ye (1.06 g) başarılı sayıla bilecek bir verimle dönüştürüldü. Ayrıca, 3-NH_2-Rh (**2**, 2g)'den başlayarak herhangi bir saflaştırma yapılmadan nihai amin türevi **9g**'nin sentezi de yine başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Böylece, ister sıralı ister tek kap reaksiyonu tercih edilsin, 3-NH_2-Rh (**2**)'den başlayarak yakın ve makul verimlerde **9g** elde edildi. Bu sonuçlar, geliştirilen metodolojinin pratik uygulanabilirliğini açıkça göstermektedir (Şema 20).



Şema 20

4.2.3. 3-Aril-5-Piridin-Rhodanin (3-Ar-5-Pyr-Rh) Türevlerinin Eldesi

3-Aril-5-tiyofen-rhodanin (**3-Ar-5-Thio-Rh**) türevlerinin sentezi için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlenen en uygun reaksiyon koşulları, 3-Ar-5-Pyr-Rh türevlerinin sentezi için de uygulanmıştır. Bu şartlar altında gerçekleştirilen reaksiyonlardan, 5-Pyr-Rh (**5**)'in çeşitli aldehitlerle reaksiyonu incelendiğinde; yine burada da elektron sağlayıcı (OH, CH_3 ve Br) gruplarının bulunduğu aldehitlerle reaksiyonları sonucunda hedef ürünler oldukça iyi verimler elde edilmiştir. Öte yandan elektron çeken biyolojik ve teknolojik açıdan önemli heteroaromatik gruplar içeren 3-Ar-5-Pyr-Rh türevlerini de sentezlendi (Şema 21).

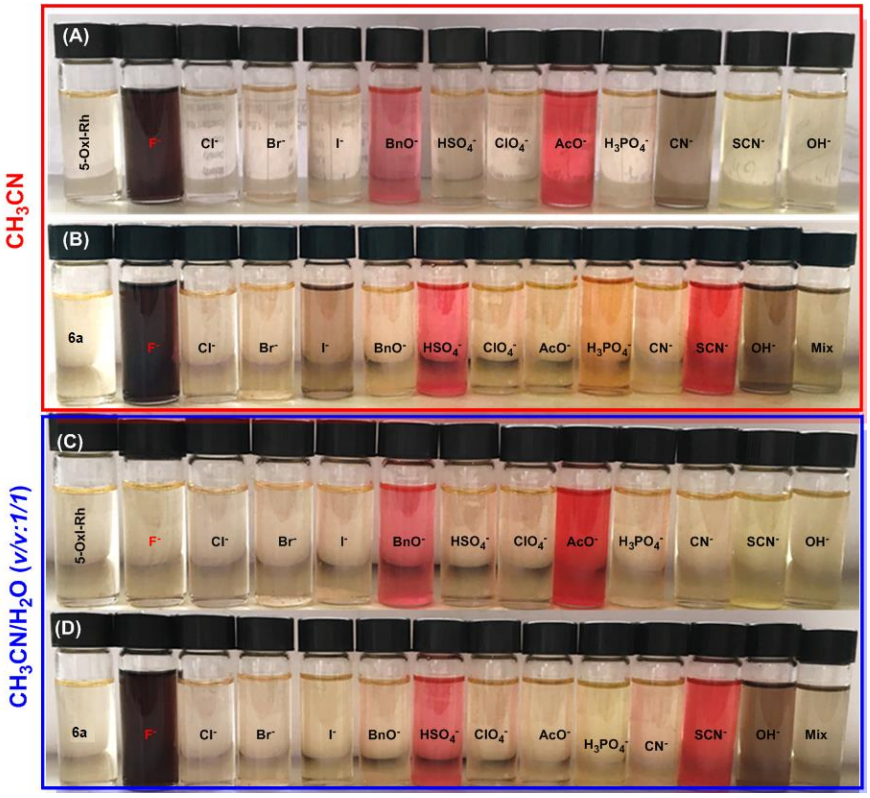


Şema 21

Hedef **8a**'nın ^{1}H-NMR spektrumu incelendiğinde, OH (*benzen çekirdeğinin*) proton tepe noktasının 10.51 (s, OH, 1H) ppm'de rezonans sinyalinin varlığı yapıyla uyumludur. Bunun yanı sıra, hedef molekül **8a**'nın yapısındaki -HC=N- (*aza-ylid grubu*) protonları 8.70 (s, N=CH, 1H) ppm'de rezonans olduğu görülürken, C5 posizyonundan sübstitüe olan terminal çift bağ yapısında bulunan protonun ise 7.83 (s, C=CH, 1H) ppm'de rezonans olduğu görülmektedir. Yine, **8a**'nın yapısında bulunan aromatik =CH (*sekiz adet*) proton pikleri ise sırasıyla; 8.75-8.77 (m, =CH, 2H, AB sisteminin A kısmı, piridin halkası), 7.78-7.80 (m, =CH, 2H, AB sisteminin A kısmı, benzen halkası), 7.60-7.62 (m, =CH, 2H, AB sisteminin B kısmı, piridin halkası) ve 6.93-6.95 (m, =CH, 2H, AB sisteminin B kısmı, benzen halkası) ppm'de rezonans olmaktadır. Ayrıntılı prosedürler ve karakterizasyon deneysel bölümde verilmiştir (EK A18 ila EK A26).

4.3. Asimetrik 3,5-diarilRh Türevlerinin Sensör Çalışmaları

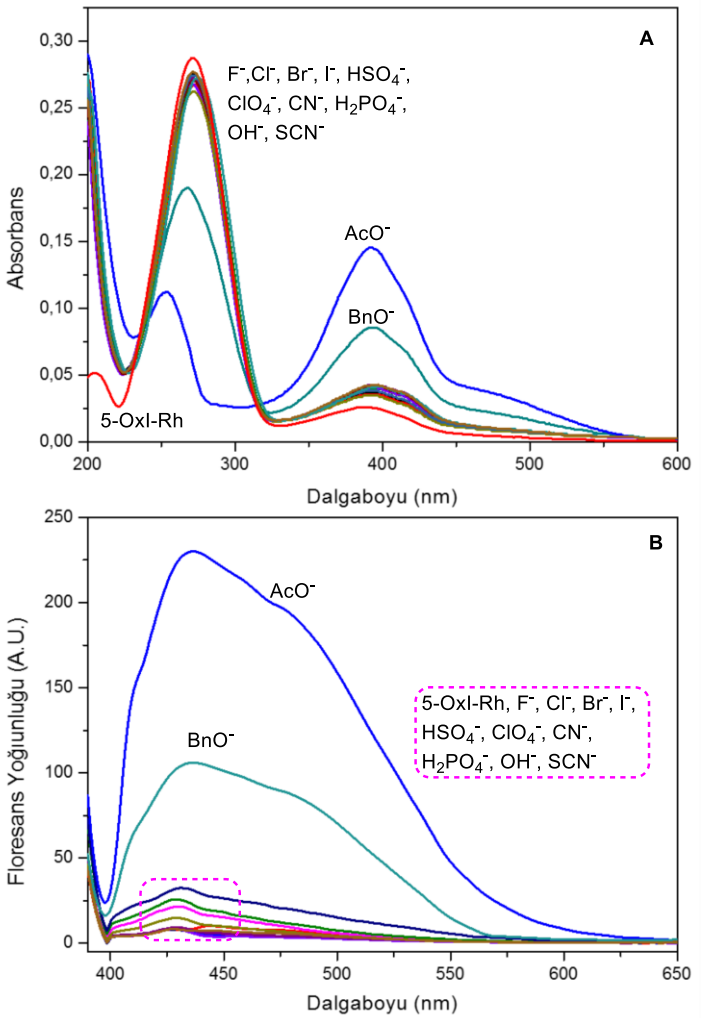
5-OxI-Rh ve *N*-Ar-5-OxI-Rh **6a**'nın Cl^-, ClO_4^-, I^-, Br^-, F^-, BnO^-, $H_3PO_4^-$, OH^-, SCN^-, CN^-, AcO^- ve $HSO4^-$ (*tetra butil amonyum tuzları*) ile etkileşim çalışmaları ilk olarak CH_3CN içinde incelenmiştir. Anyonlarla (10 eqiv.) yapılan araştırmalar, 5-OxI-Rh ve **6a**'nın artan HSO_4^-, CN^-, OH^-, SCN^-, BnO^-, AcO^- ve F^- konsantrasyonuna seçici olarak yanıt verdiğini belirgin bir renk değişikliği ile ortaya çıkarmıştır. Ligandlar CH_3CN solüsyonunda çoklu iyona ilgi gösterdiğinden, sulu solüsyonda da çalışmalar yapılmıştır. 3-Ar-5-OxI-Rh türevi **6a** CH_3CN/H_2O'da (v/v:1/1) çözücü sisteminde HSO_4^-, CN^-, OH^- ve F^- anyonlarına karşı çoklu iyon etkileri gösterirken, bu koşullar altında diğer 3-Ar-5-OxI-Rh türevleri **6b**-**6g**'nin çözünürlüğünün düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1B). Öte yandan, CH_3CN/H_2O (v/v:1/1) çözücü sisteminde gerçekleştirilen 5-OxI-Rh (1 ekiv.) ile anyonların (10 ekiv.) çalışmalarından ise, 5-OxI-Rh'nin artan BnO^- ve AcO^- konsantrasyonuna karşı belirgin bir renk değişimiyle seçici olarak tepki verdiğini ortaya çıkarmıştır (Şekil 4.1.D).



Şekil 4.1. 5-OxI-Rh (A ve C) ve 6a (B ve D) (5 µM)'nın CH_3CN veya CH_3CN/H_2O (v/v:1/1) içinde kolorimetrik taraması

Kolorimetrik çalışmalara ek olarak, organik ligandların (5 μM) anyonlarla etkileşimini net bir şekilde araştırmak için, 5-OxI-Rh ve **6a**'nın UV-Vis (ultraviyole-görünür bölge) absorpsiyon çalışmaları da CH_3CN veya CH_3CN/H_2O (v/v:1/1) içerisinde oda sıcaklığında incelenmiştir (Şekil 4.2.A, EK B1 ve EK B2). Tüm iyonlar için spektrumlar, 10 eşdeğerlik ilavesinden 10 dakika sonra kaydedilmiş ve UV-Vis spektrumları Şekil 4.2A'da verildiği gibi elde edilmiştir. Şekil 4.2A'da gösterildiği gibi, 5-OxI-Rh absorpsiyon spektrumu, 272 nm'de güçlü bir bant ve ayrıca 390 nm'de zayıf bir geniş bant ile tipik rhodanin ve oksindol absorpsiyon bantlarını sergilemiştir. Oksindol grubunun (HN-C=O) bağları ile konjugasyonuna atfedilen (S=C-N-C=O) bağları π-π* ve n-π* iletimlerini daha uzun dalga boyuna kaydırmıştır. 5-OxI-Rh'nin 10 eşdeğeri kadar anyonlarla etkileşmeleri neticesinde, CN^-, BnO^-, AcO^- ve F^- için 5-OxI-Rh absorpsiyon spektrumunda anyonların belirgin değişiklikleri gözlemlendi (EK B2A). CH_3CN'deki deneylere göre, CN^-, BnO^-, AcO^- ve F^- varlığında 272 nm'de ki 5-OxI-Rh absorpsiyon bandı şiddeti azalarak ve mavi/kırmızıya kayarak, 270 nm (CN^- için), 257 nm (BnO^- için), 253 nm (AcO^- için) ve 271 nm (F^- için) değerlerinde gözlenmiştir (EK B2A). Öte yandan, CH_3CN/H_2O (v/v:1/1) içerisinde gerçekleştirilen deneylere göre ise, 5-OxI-Rh'nin 272 nm'deki absorpsiyon bandının 253 nm'ye düştüğü gözlemlenirken, 390 nm'deki absorpsiyon bandının ise, AcO^- iyonlarının varlığında maviye kayma ile 386 nm'ye yükseldiği görülmektedir (Şekil 4.2A). Ancak bu çalışma şartlarında CN^- ve F^- iyonlarının varlığında 5-OxI-Rh için herhangi bir absorbans değişikliği gözlenmedi (Şekil 4.2A). UV–Vis çalışmaları, 5-OxI-Rh ile AcO^- arasında hidrojen bağı oluşumunu ima etmektedir. UV-Vis çalışmalarına ek olarak, 5-OxI-Rh'nin floresan anyon sensörü olarak yeteneğini ölçmek için floresan spektroskopi deneyleri de yapılmıştır. Bu amaçla, öncelikli olarak 5-OxI-Rh'nin bir dizi seçilmiş anyona karşı seçici ve hassas AcO^- bağlama yeteneği hakkında daha fazla bilgi edinmek için sulu çözeltideki (CH_3CN/H_2O, v/v:1/) floresan emisyon spektrumlarındaki değişiklikler gözlemlenerek değerlendirildi. Şekil 4.2B'de gösterildiği gibi, 5-OxI-Rh tek başına CH_3CN/H_2O'da (v/v:1/1) 386 nm'lik bir uyarma ile hiçbir floresan zirvesi sergilemezken, CH_3CN/H_2O (1/1, v/v) içindeki bir 5-OxI-Rh çözeltisine küçük miktarlarda AcO^- eklenmesi üzerine, 436 nm'de emisyon bandında dikkate değer bir yoğunluk oluşumu gözlemlendi (Şekil 4.2B). Benzer şekilde, aynı koşullarda 5-OxI-Rh çözeltisine BnO^- eklenmesi üzerine 435 nm'de küçük bir emisyon bandı da gözlendi (Şekil 4.2B). 5-OxI-Rh ile diğer anyonların araştırılması da floresan spektroskopisi ile gerçekleştirildi, ancak her durumda, 5-OxI-Rh

üzerine anyonların eklenmesiyle floresan sinyallerinde çok küçük değişiklikler gözlendi (Şekil 4.2B, EK B3).



Şekil 4.2. 5-OxI-Rh (5 µM, CH_3CN/HEPES, v/v: 1/1) ligantının anyonlarla etkileşiminin UV-Vis (A) ve fosforesans (B) spektrumları

Elde edilen bu sonuçlar bize, 5-OxI-Rh, sulu solvent sistemlerinde AcO^- için "*turn-on*" florometrik sensörü olarak kullanılabilir olduğunu ima etmektedir. Bu tez kapsamında sentezlenmesi hedeflenen rhodanin türevleri 3,5-disübstitüe-rhodanin türevlerinin ve potansiyel uygulamalarının incelenmesidir. Dolayısıyla, bu moleküllerin sentezinde çıkış molekülü olarak kullanılan ve bu tez çalışmalarının kapsamı içerisinde bulunmayan 5-OxI-Rh, 5-Thio-Rh ve 5-Pyr-Rh türevlerinin sensör çalışmaları her ne kadar çalışılmış ve bazı anyonlar özelinde spesifik etkileşimler göstermiş olsa bu tez kapsamında özetle

bahsedilmiş fakat tam olarak detayına girilmemiştir. Ne yazık ki, çözünürlük veya kayda değer spesifik etkileşim gözlenmediğinden dolayı 3,5-disübstitüe-rhodanin türevlerinin sensör çalışmaları detaylandırılamamıştır.

4.4. Asimetrik 3,5-diarilRh Türevlerinin İnhibisyon Çalışmaları

İnsan karbonikanhidraz enzimlerinin inhibisyonu; antitümör, antiobezite, antikonvülzan faktörler ve tanı araçları gibi çeşitli klinik uygulamalar için kayda değer amaçlara sahiptir. Bu bağlamda, sentezi gerçekleştirilen yeni 3,5-diarilRh türevlerinin sentezine ek olarak, *h*CA I ve II izoenzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri de *in vitro* koşullar altında incelenmiştir. Klinik çalışmalar, *h*CA I izoenziminin beyin ve retina ödeminde önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Bu nedenle, bu izoenzimin inhibisyonu, bu olumsuz yan etkileri azaltmak veya ortadan kaldırmak için değerli bir faktör olabilir. *h*CA I izoenzimi, yeni 3,5-diarilRh türevleri tarafından; 107.26 ± 31.18 ile 601.97 ± 46.44 nM arasında değişen K_i değerlerde güçlü bir şekilde inhibe edildiği belirlendi. İnhibisyon çalışmaları özelleştirildiğinde, 3,5-diarilRh **8d**'nin rekabetçi inhibisyon olarak 107.26 ± 31.18 nM K_i değeri ile en etkili *h*CA I izoenzim inhibisyon aktivitesini gösterdiğini görebiliriz (Tablo 4.3, deney 8). Kontrol ve klinik olarak kullanılan ilaç asetazolamidin (AZA) 186.21 ± 11.54 nM'lik bir kanıtlanmış K_i değeri gösterdiği göz önüne alındığında, yeni 3,5-diarilRh türevlerinin daha iyi ilaç adayı olmaları açısından kabul edilebilir sonuçlar verdiği söylenebilir.

Tablo 4.3. 3,5-diarilRh türevlerinin *h*CA I'e karşı inhibisyon değerleri

3,5-diarilRh Türevleri	**IC50 (nM)**		**K_i (nM)**
	***h*CA I**	**r^2**	***h*CA I**
7a	429.10	0.9516	252.22±79.02
7b	395.55	0.9717	422.54±34.04
7d	309.10	0.9717	250.48±33.44
7f	507.32	0.9882	260.37±29.46
7g	429.63	0.9707	473.08±19.17
8a	572.25	0.9642	421.08±76.69
8b	339.87	0.9844	366.00±31.02
8d	308.96	0.9851	107.26±31.18
8f	517.55	0.9909	175.24±42.36
8g	415.97	0.9783	601.97±46.44
AZA*	415.55	0.9879	186.21±11.54

*AZA (asetazolamid), insan karbonik anhidraz I ve II izoformları (*h*CAs I ve II) için pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Benzer şekilde, fizyolojik olarak baskın izoform *h*CA II ise, çoğunlukla glokom, epilepsi ve renal tübüler asidoz gibi çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, *h*CA II'nin inhibisyonu da, bu tür hastalıklarla mücadele için *h*CA I'in inhibisyonu kadar önemlidir. Bu amaçla gerçekletirilen çalışmalardan ise yeni 3,5-diarilRh türevlerin de 127.72 ± 15.75 ila 480.13 ± 47.24 nM arasında değişen K_i değerleri ile *h*CA II izoenzimi üzerinde etkili bir inhibisyon etkisi göstermiştir. *h*CA I'e benzer şekilde, *h*CA II izoenziminde de 3,5-diarilRh türevlerinin inhibisyon değerleri, klinik olarak kullanılan ilaç AZA'ya (104.29 ± 27.07 nM) yakındır. 3,5-diarilRh **8a**, rekabetçi bir şekilde inhibe eden baskın *h*CA II izoenzimine sahiptir.(Tablo 4.4, giriş 6 ve Şekil 5.2).

Tablo 4.4. 3,5-diarilRh türevlerinin *h*CA II'ye karşı inhibisyon değerleri

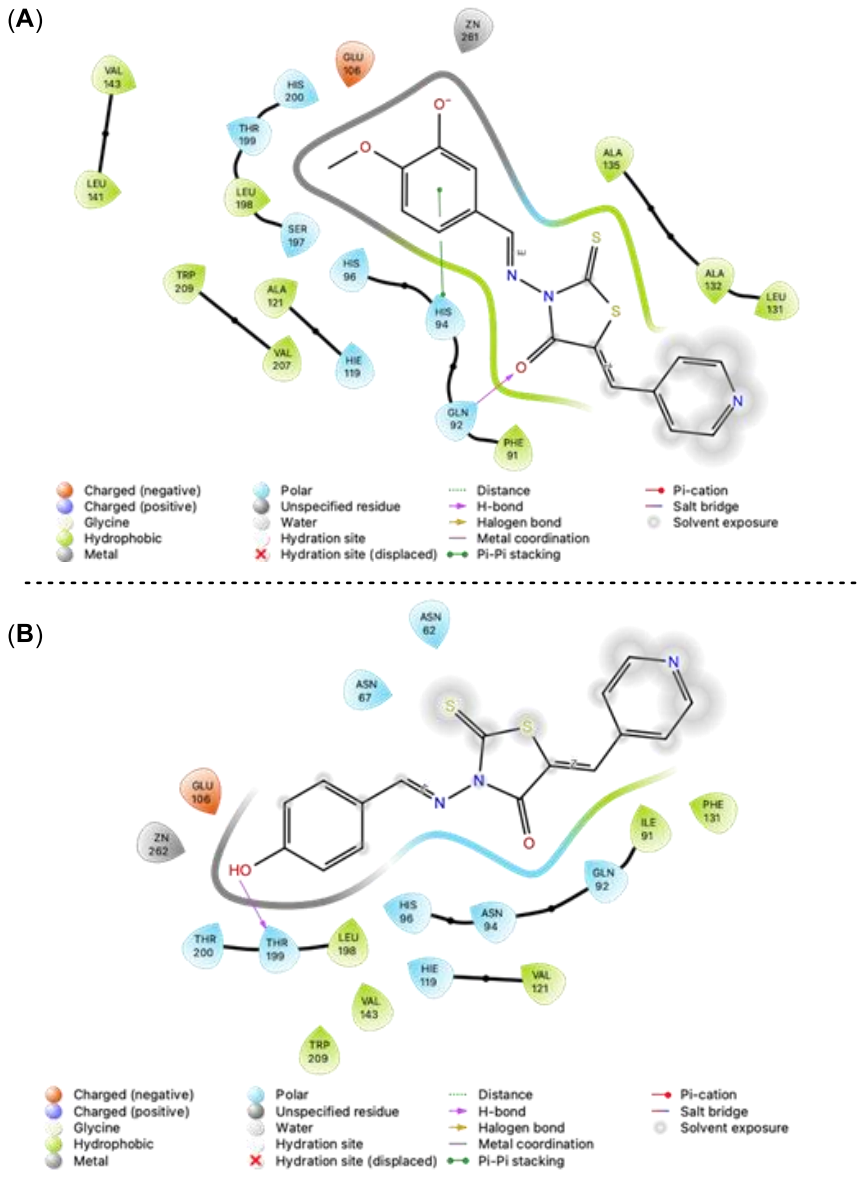
3,5-diarilRh Türevleri	**IC50 (nM)**		**K_i (nM)**
	***h*CA I**	**r^2**	***h*CA I**
7a	429.10	0.9516	426.27±97.98
7b	395.55	0.9717	254.97±54.53
7d	309.10	0.9717	292.84±44.22
7f	507.32	0.9882	238.95±40.21
7g	429.63	0.9707	385.87±85.67
8a	572.25	0.9642	127.72±15.75
8b	339.87	0.9844	480.13±47.24
8d	308.96	0.9851	163.30±26.10
8f	517.55	0.9909	129.84±16.04
8g	415.97	0.9783	313.43±82.18
AZA*	415.55	0.9879	104.29±27.07

*AZA (asetazolamid), insan karbonik anhidraz I ve II izoformları (*h*CAs I ve II) için pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

4.5. *In slico* Çalışmaları

Sentezlenen 3,5-diarilRh türevlerinin bağlanma modları hakkında daha fazla bilgi edinmek ve bu türevlerin *h*CA I ve II izoformları içindeki bağlanma davranışını araştırmak için kapsamlı bir yapı aktivite ilişkisi (SAR, structure-activity relationship) çalışması da tez çalışmaları kapsamında araştırılmıştır. Bunun için, Glide XP yerleştirme protokolünün performansı, birlikte kristalize edilmiş AZA'nın *h*CA'ların aktif bölgelerine (*h*CA I için 1AZM ve *h*CA II için 2H4N PDB kodları) Schrödinger Small-Molecule Drug Discovery Suite 2022-2 ile yeniden yerleştirilmesiyle değerlendirildi. Atomik pozisyonların ortalama karekök sapması (RMSD, Root-mean-square deviation of atomic positions) değerleri yaklaşık olarak 0,25 ve 0,15 Å bulunması bize, bu ligantların enzim aktif bölgesine

yerleşmek için uygun olduğunu göstermektedir. En yüksek aktivite değerlerine sahip olan 3,5-diarilRh türevleri **8a** ve **8d** için moleküler yerleştirme değerleri hesaplanmış ve bağlanmanın morfolojisi araştırılmıştır. Buna göre, **8a** (-3.274 kcal/mol) ve **8d**'nin (-3,812 kcal/mol) enzim bağlama bölgesine benzer konformasyonlara sahip olduğunu anlaşılmaktadır (Şekil 4.3 ve EK C22).



Şekil 4.3. *h*CA I (PDB kodu 1AZM) ve *h*CA II'nin (PDB kodu 2H4N) bağlanma bölgesi içindeki anahtar amino asitlerle 3,5-diarylRhs 8d (A) ve 8a (B)'nin 2D yerleştirme pozları

Ayrıca, tüm 3,5-diarilRh türevleri için Maestro QikProp modülü kullanılarak ADME (*absorption, distribution, metabolism, and excretion; emilim, dağılım, metabolizma ve*

atılım) ve ilaç benzerliği parametreleri tahmin edildi (Tablo 4.5). Bu değerler incelendiğinde, hesaplanan bütün parametrelerin izin verilen değerlerde olduğu görüldü. Genel olarak, ADME ve ilaç benzerliği parametreleri, sentezlenen 3,5-diarilRh türevlerinin hem Lipinski et al., (1997) hem de Jorgensen'in (Duffy et al., 2000) kuralları tarafından onaylanan ilaca benzerlik kriterlerine sahip olduğunu imaetti. Bu nedenle, 3,5-diarilRh türevlerinin yeni ilaç adayları olabilecek daha güçlü *h*CA I ve *h*CA II inhibitörleri geliştirmek için öncü bileşikleri teşvik edici olarak kabul edilebilir.

Tablo 4.5. 3,5-diarilRh türevlerinin ADME ve ilaç benzerlik parametreleri*

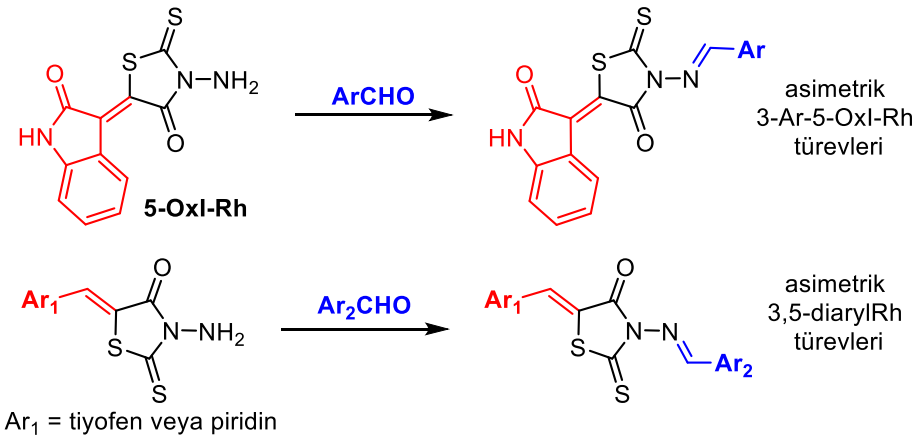
3,5-diary-Rhs ID	MW	Dipole	Volume	QPlogPoct	QPlogPw	QPlogPo/w	QPlogS	QPPCaco
7a	346.44	3.92	1025.42	15.96	9.03	3.77	–5.32	>500
7b	344.46	4.72	1063.15	14.62	6.63	4.69	–5.88	>500
7d	376.46	5.97	1106.05	17.19	9.29	3.90	–5.60	>500
7f	319.41	6.28	952.74	14.98	8.14	3.81	–5.10	>500
7g	369.47	3.10	1086.91	16.74	8.80	4.72	–6.26	>500
8a	341.40	3.87	1044.09	17.06	10.91	2.91	–4.74	329.08
8b	339.43	4.77	1080.04	15.70	8.49	3.73	–5.04	>500
8d	371.43	4.75	1124.04	18.12	11.16	3.03	–4.99	339.71
8f	314.38	6.30	969.92	16.06	10.01	2.95	–4.51	>500
8g	364.44	5.75	1108.19	18.18	10.70	3.88	–5.72	>500
AZA [b]	222.24	10.75	634.43	17.57	15.15	–1.75	–1.55	36.88

3,5-diary-Rhs ID	QPlogBB	QPPMDCK	QPlogKp	QPlogKhsa	HOA	PSA	Rule of Five	Rule of Three
7a	–0.73	>500	–2.19	0.22	>80	72.96	0	0
7b	–0.13	>500	–1.33	0.42	>80	50.42	0	1
7d	–0.82	>500	–2.26	0.23	>80	80.38	0	0
7f	–0.35	>500	–1.80	0.22	>80	64.58	0	0
7g	–0.42	>500	–1.59	0.58	>80	64.79	0	1
8a	–1.16	>500	–2.62	–0.24	>80	85.90	0	0
8b	–0.54	>500	–1.74	0.70	>80	63.36	0	0
8d	–1.25	>500	–2.68	–0.13	>80	93.33	0	0
8f	–0.76	>500	–2.22	–0.24	>80	77.53	0	0
8g	–0.85	>500	–2.00	0.33	>80	77.77	0	1
AZA [b]	–1.74	24.13	–5.90	–0.97	44.77	134.97	0	0

*3,5-diaril-Rh türevlerinin çeşitli hesaplamalı farmakodinamik ve farmakokinetik parametreleri. Molekül ağırlığı (MW; 130.00 - 725.00), bileşiğin hesaplanan dipol momenti (Dipol; 1.00 - 12.50), 1.4 Å Yarıçaplı (Hacim; 500.00 - 2000.00), oktanol/gaz bölme katsayısı (QPlogPoct; 8.00 - 35.00), su/gaz bölme katsayısı (QPlogPw; 4.00 - 45.00), oktanol/su bölme katsayısı (QPlogPo/w; –2.00 - 6.50), suda çözünürlük (QPlogS; –6.50 - 0.50), nm/sn cinsinden görünür Caco-2 hücre geçirgenliği (QPPCaco; <25 zayıf, büyük>500), beyin/kan bölüm katsayısı (QPlogBB; –3.00 - 1.20), nm/sn cinsinden görünür MDCK hücre geçirgenliği (QPPMDCK; <25 zayıf, büyük>500), cilt geçirgenliği (QPlogKp; –8.00 - –1.00), insana bağlanma tahmini serum albümini (QPlogKhsa; –1.50 - 1.50), insan oral absorpsiyonu (HOA; <%25 zayıf, yüksek>%80), Van der Waals yüzey alanı (PSA; 7.00 - 200.00), Lipinski kuralının ihlal sayısı (en fazla 4) ve Jorgensen kuralının ihlal sayısı (en fazla 3).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bilim adamları, son yüzyılın başlarından günümüze, çeşitli reseptörler için materyaller sağlayabilecek tek bir moleküler çerçeve olarak "*ayrıcalıklı yapı*" kavramı öne çıkararak, bu tür molekülerin yapı iskeletleri, uygun modifikasyonlarla farklı hedeflere yönlendirilebilen biyolojik aktivite ve teknolojik uygulamalar için doğal bir eğilime sahip olduklarını vurgulamaktadırlar. Bu ayrıcalıklı yapı tanımına uyan ve son zamanlarda gerçekleştirilen birçok çalışmada ortaya konulduğu gibi, rhodanin (**1**, Rh, 2-tiazolidin-4-on)'in türevlendirilmesi ve bu sayede kazanılan işlevsellik sonucu; biyolojik ve teknolojik açıdan oldukça kullanılışlı fonksiyonlandırılmış bileşikler sınıfının elde edilmesi sağlanabilmiştir. Canlı yaşamı için oldukça önemli yapılar polifonksiyonel organik bileşiklerden oluşmaktadır. Bu özelde, bu tez çalışmasının ana muhtevasını rhodanin (**1**, Rh, 2-tiazolidin-4-on) iskeletinin yeni ve etkili yöntemlerle türevlendirilmesi ve potansiyel uygulamaları oluşturmaktadır (Şema 22).

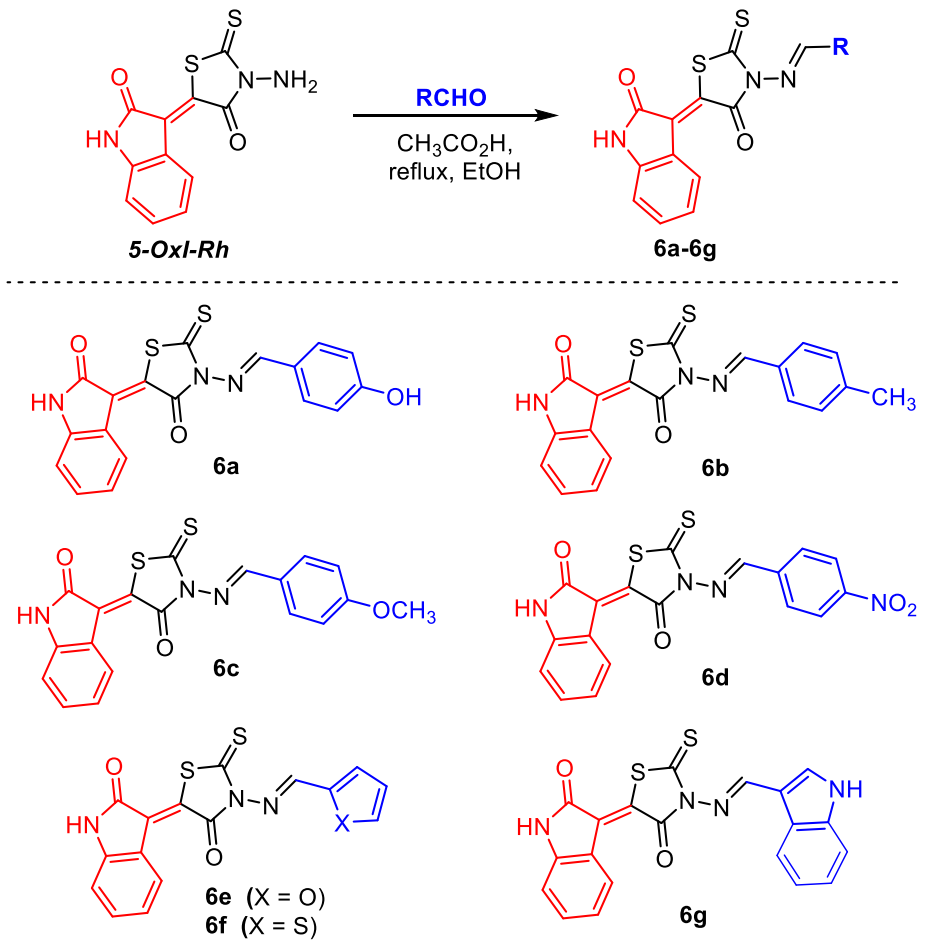


Şema 22

5.1. 3-Ar-5-OxI-Rh Türevlerinin Sentezi ve Sensor Özelliklerinin İncelenmesi

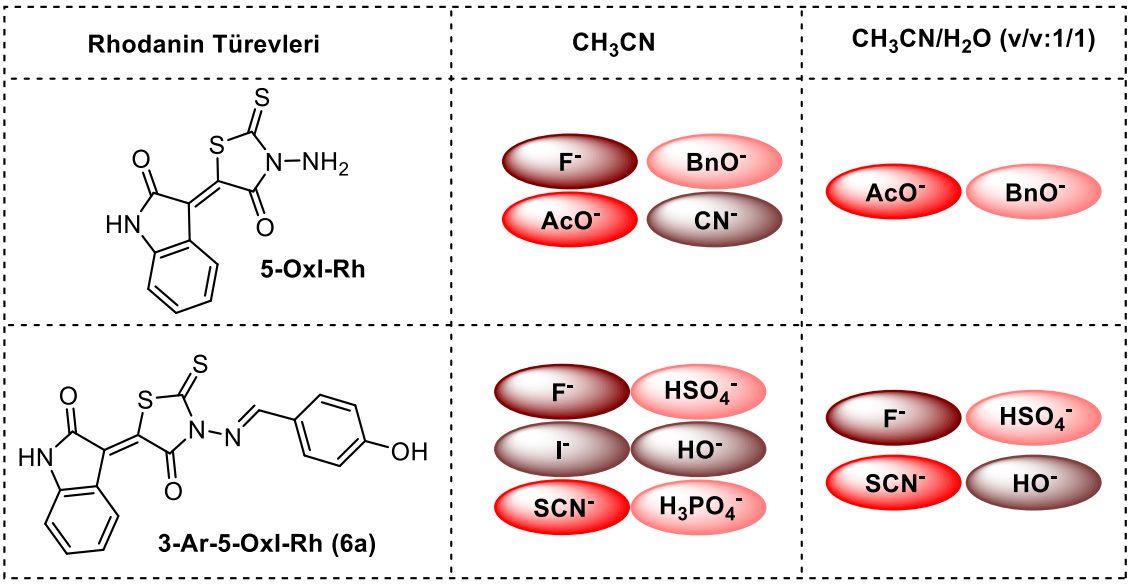
Rhodanin ana iskeletinin beş pozisyonunun türevlendirilmesi üzerine birçok çalışma olmasına karşın, bir rhodanin türevi olan 3-amino-rhodanin (**2**, 3-NH_2-Rh)'nin biyolojik veya teknolojik açıdan önemli olan yan gruplarla, direk olarak C5 veya C5/N(3)

pozisyonlarının türevlendirilmesi üzerine oldukça sınırlıdır. Bu bağlamda bu tez çalışmalarının öncelikli hedefini yeni asimetrik 3,5-diarilRh türevlerinin sentezi için etkili yöntemler geliştirilerek, elde edilen bu yeni türevlerin iyon algılama yetenekleri ve/veya biyolojik aktivite çalışmaları üzerine durulmuştur. Rhodanin halkasının sahip olduğu reaktiviteden dolayı çalışmalar 5-pozisyonu eksenli olup, özellikle asimetrik 3,5-disübstitüe-rhodaninler ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu yüzden 3-NH_2-Rh (**2**)'nin yeni sentetik potansiyelleri araştırıldı ve elektrofil olarak çok sayıda aldehit kullanılarak yeni 3-sübstitüe-3-oksindol-rhodanin (3-Ar-5-OxI-Rh) türevlerinin sentezi için sentetik açıdan etkili bir yöntem geliştirildi (Şema 23). Ayrıca sentezi gerçekleştirilen bazı 3-Ar-5-OxI-Rh türevlerinin kemosensör özellikleri üzerine de çalışmalar gerçekleştirilmiştir. 3-NH_2-Rh (**2**) ile isatin (**3**)'ün reaksiyonu ve bunu takiben elde edilen 5-OxI-Rh'nin geniş yelpazede aldehitlerle reaksiyonlarından hedef 3-Ar-5-OxI-Rh türevlerinin sentezi *in situ* olarak dehidratasyon ve redoks izomerizasyon basamağını içermektedir (Şema 23).



Şema 23

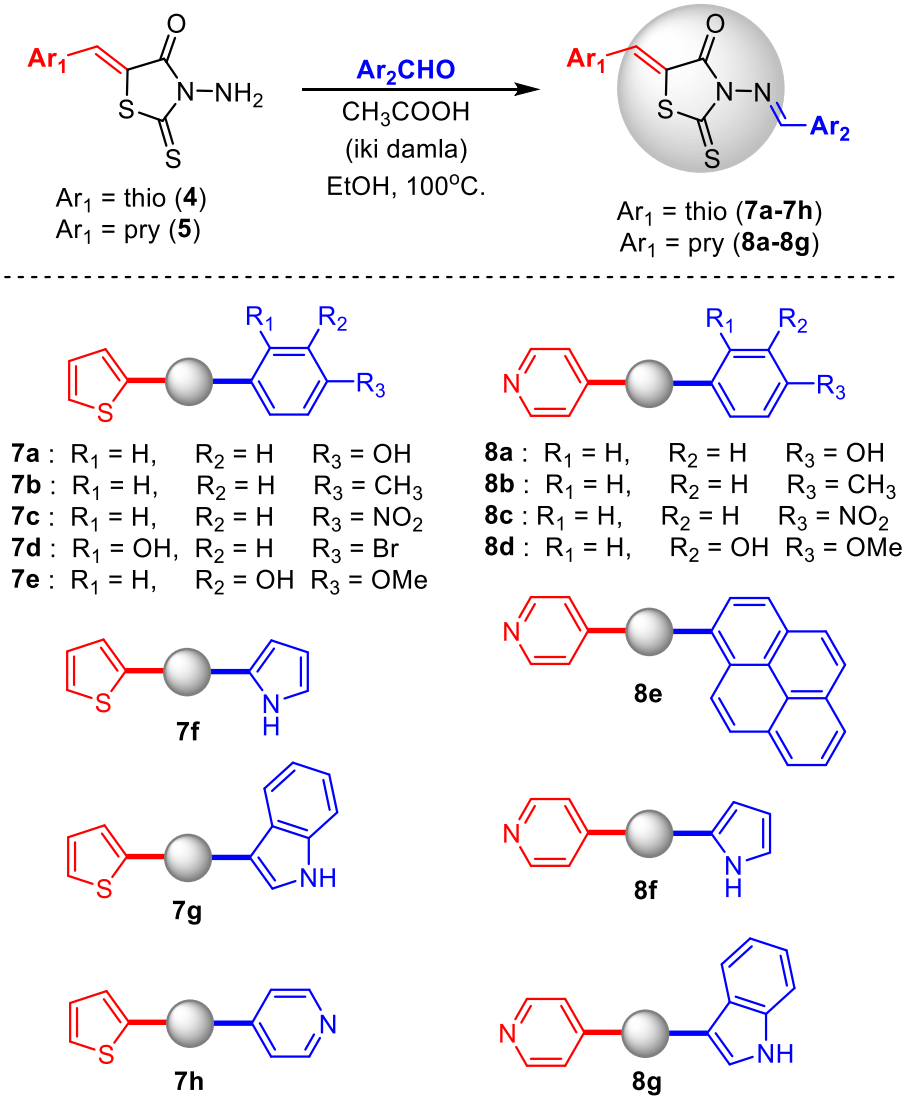
Öte yandan son yıllarda NH, S ve O gibi gruplar içeren farklı heterosiklik halka sistemlerine artan ilginin sebeplerinden birisi de, anyonlar için moleküler tanıyıcı olarak etki etme kabiliyetleridir. Bu bağlamda elde edilen 5-OxI-Rh ve 3-Ar-5-OxI-Rh türevlerinden yapısında yeteri sayıda heteroatom ihtiva eden ve çözünürlük problemi olmayan türevlerinin anyon algılama özellikleri de incelenmiştir. Yapılan çalışmalar neticesinde oldukça çarpıcı sonuçlar elde edilmiştir. 5-OxI-Rh ve 3-Ar-5-OxI-Rh türevlerinin anyon algılama çalışmaları CH_3CN ve CH_3CN/H_2O (v/v:1/1) içerisinde hem kolorimetrik hem de UV-vis ve PL spektrofotometreleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 5-OxI-Rh ve 3-Ar-5-OxI-Rh türevi **6a**'nın sensör çalışmaları ilk olarak CH_3CN içinde incelenmiştir. Anyonlarla (10 eqiv.) yapılan araştırmalar, 5-OxI-Rh ve 3-Ar-5-OxI-Rh türevi **6a**'nın artan HSO_4^-, CN^-, OH^-, SCN^-, BnO^-, AcO^- ve F^- konsantrasyonuna seçici olarak yanıt verdiğini belirgin bir renk değişikliği ile ortaya çıkarmıştır. 5-OxI-Rh ve 3-Ar-5-OxI-Rh **6a**'nın CH_3CN solüsyonunda çoklu iyona ilgi gösterdiğinden, sulu solüsyonda da çalışmalar yapılmıştır. 3-Ar-5-OxI-Rh türevi **6a**, CH_3CN/H_2O'da (v/v:1/1) HSO_4^-, CN^-, OH^- ve F^- anyonlarına karşı çoklu iyon etkileri gösterirken, bu koşullar altında diğer 5-OxI-Rh ve 3-Ar-5-OxI-Rh türevleri **6b**-**6g**'nin çözünürlüğünün düşük olduğu belirlenmiştir. Öte yandan, su sistemlerinde (CH_3CN/H_2O, v/v:1/1) anyonlarla (10 eşdeğer) 5-OxI-Rh çalışmalarından ise, artan BnO^- ve AcO^- konsantrasyonuna karşı belirgin bir renk değişimiyle seçici olarak tepki verdiğini ortaya çıkarmıştır (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. 5-OxI-Rh ve 3-Ar-5-OxI-Rh (**6a**) türevlerinin kolorimetrik sensör çalışmaları

5.2. 3,5-diarilRh Türevlerinin Sentezi ve İnhibisyon Özelliklerinin İncelenmesi

Sentezi ve potansiyel uygulama alanları çalışılan oksindol temelli 3-Ar-5-OxI-Rh türevlerine benzer şekilde yine oldukça önemli heteroaromatik gruplar olan piridin veya tiyofen birimi içeren 3,5-diaril-rhodanin (**3,5-diarilRh**) türevlerinin sentezi ve potansiyel uygulama alanları da bu tez çalışması kapsamında incelenmiştir. 3-NH_2-Rh (**2**) ile ilgili aldehit türevleri tiyofen-2-karbaldehit ve isonikotinaldehitin reaksiyonu ve bunu takiben elde edilen 5-Ar-Rh türevleri **2a** ve **3a**'nın geniş yelpazede aldehitlerle reaksiyonlarından 3,5-diarilRh türevlerinin sentezide *in situ* olarak dehidratasyon ve redoks izomerizasyon basamağını üzerinden gerçekleştirilmiştir (Şema 24).



Şema 24

Elde edilen 3,5-diarilRh türevlerinin *h*CA I ve II enzim inhibisyonları üzerine çalışmaları *in vitro* koşullar altında gerçekleştirilmiştir. Daha öncesinde de belirtildiği gibi klinik çalışmalar, *h*CA I izoenziminin beyin ve retina ödeminde önemli bir rol oynadığını ortaya koyarken benzer şekilde, fizyolojik olarak baskın izoform *h*CA II, çoğunlukla glokom, epilepsi ve renal tübüler asidoz gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu nedenle, bu her iki izoenzimin de inhibisyonu, bu olumsuz yan etkileri azaltmak veya sonlandırmak için değerli bir araştırma konusu oluşturur. Bu amaçla gerçekleştirilen çalışmalarda, yeni 3,5-diarilRh türevlerinin *h*CA I ve II izoenzimlerini sırasıyla, 107.26 ± 31.18 - 601.97 ± 46.44 nM ve 127.72 ± 15.75 - 480.13 ± 47.24 nM arasında değişen K_i değerleriyle inhibe ettiği görüldü. Öte yandan, bu tez çalışmasında kontrol ve aynı zamanda klinik olarak kullanılan ilaç asetazolamidin (AZA)'nın *h*CA I ve II için sırasıyla, 186.21 ± 11.54 nM ve 104.29 ± 27.07 nM arasında bir inhibisyon etkisine sahip olduğu görüldü. Genel anlamda bakıldığında bu tez çalışmaları kapsamında gerçekleştirilen yeni 3,5-diarilRh türevlerinin de kabul edilebilir yakın veya daha iyi ilaç adayı olmaları açısından kabul edilebilir sonuçlar verdiği görülmektedir. İnhibisyon çalışmaları özelleştirildiğinde, 3,5-diarilRh türevleri **8d** ve **8a**'nın rekabetçi inhibisyon olarak sırasıyla 107.26 ± 31.18 nM (*h*CA I için) ve 127.72 ± 15.75 nM (*h*CA II için) K_i değerleri ile en etkili *h*CA I ve II izoenzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği görülmektedir (Table 5.1).

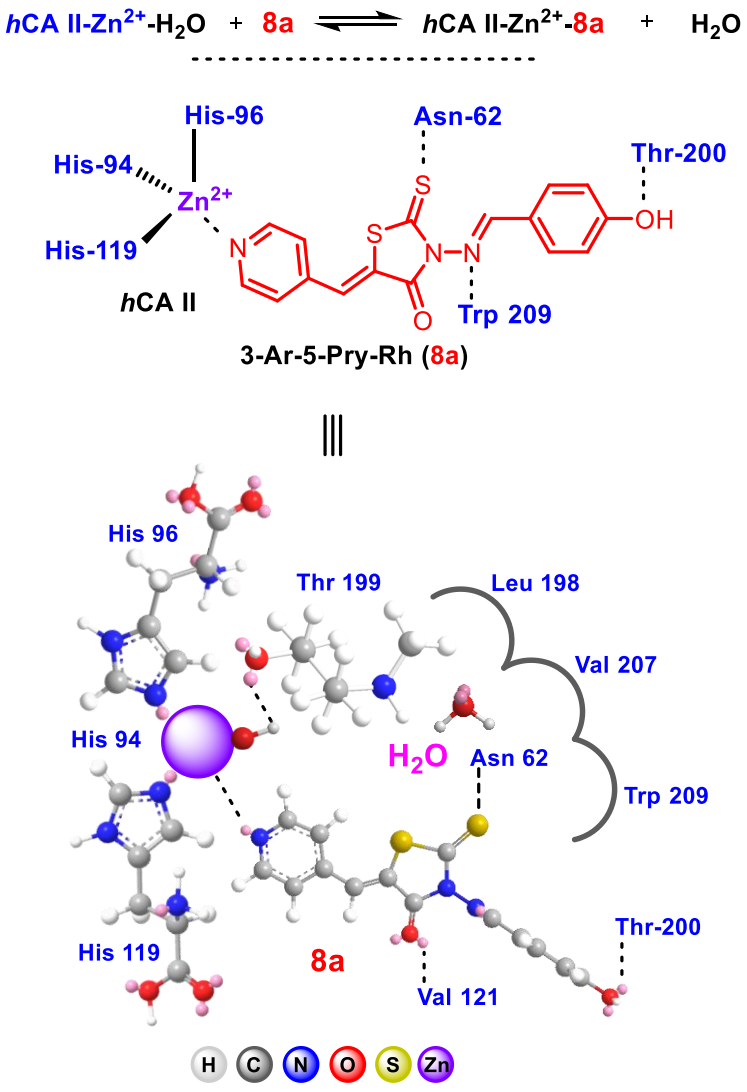
Tablo 5.1. 5-Diaril-Rh türevlerinin *h*CA I ve II'ye karşı inhibisyon değerleri

3,5-diarilRh Türevleri	**IC_{50} (nM)**				**K_i (nM)**	
	***h*CA I**	**r^2**	***h*CA II**	**r^2**	***h*CA I**	***h*CA II**
7a	429.10	0.9516	353.39	0.9595	252.22±79.02	426.27±97.98
7b	395.55	0.9717	235.39	0.9428	422.54±34.04	254.97±54.53
7d	309.10	0.9717	312.16	0.9802	250.48±33.44	292.84±44.22
7f	507.32	0.9882	328.75	0.9707	260.37±29.46	238.95±40.21
7g	429.63	0.9707	419.24	0.9848	473.08±19.17	385.87±85.67
8a	572.25	0.9642	235.31	0.9550	421.08±76.69	127.72±15.75
8b	339.87	0.9844	399.42	0.9814	366.00±31.02	480.13±47.24
8d	308.96	0.9851	206.87	0.9737	107.26±31.18	163.30±26.10
8f	517.55	0.9909	261.21	0.9820	175.24±42.36	129.84±16.04
8g	415.97	0.9783	374.39	0.9868	601.97±46.44	313.43±82.18
AZA*	415.55	0.9879	388.45	0.9884	186.21±11.54	104.29±27.07

*AZA (asetazolamid), insan karbonik anhidraz I ve II izoformları (*h*CAs I ve II) için pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Bu aşamada, 3,5-diarilRh türevleri tarafından *h*CA I ve II izoenzimlerinin inhibisyon mekanizmasını anlamak için, *h*CA'ların aktif alanının mekanizmasını bilmek gerekir.

Burada *h*CA II enziminin CO_2 moleküllerinin H_2O ile reaksiyonundan H_2CO_3 moleküllerine dönüşümünü gerçekleştiren ve aynı zamanda güçlü bir Lewis asit olan aktif bir çinko (Zn^{2+}) iyon bölgesi içerdiği bilinmelidir. Bu enzimin inhibisyonu için ilaç adayı organiklerin bu aktif Zn^{2+} iyonuna koordine olması gerekmektedir. Bu kapsamda AZA ile benzer gruplar içeren ve ayrıca yapısında çok sayıda heteroatom içeren yeni 3,5-diarilRh türevleri de etkili inhibisyon etkileri göstermiştir. Tüm bu çalışmalar ışığında 3,5-diarilRh **8a** ile *h*CA II enzimi arasındaki etkileşimin mekanizması Şekil 5,2'deki gibi önerilmiştir. Buna göre 3,5-diarilRh **8a**'nın hidroksi (OH) kısmı Zn^{2+} iyon bölgesini bloke eder ve bunun sonucunda enzim inhibe olur.



Şekil 5.2. 3,5-diarilRh 8a için önerilen *h*CA II inhibisyon mekanizması

Bu tez çalışmaları kapsamında son olarak, inhibisyon çalışmaları neticesinde elde edilen sonuçları desteklemek amacıyla, *h*CA I ve *h*CA II için en iyi aktiviteyi gösteren asimetrik 3,5-diarilRh türevleri **8a** ve **8d**'nin moleküler yerleştirme çalışmaları da yapılmış ve bağlanma morfolojisi incelenmiştir. Ayrıca tüm bileşiklerin Lipinski ve Jorgensen kurallarına uydukları da hesaplanan ADME ve ilaç benzerliği parametreleri ile kıyaslanarak belirlenmiştir. Sonuç olarak bu tez çalışması kapsamında, asimetrik 3,5-diarilRh türevlerinin sentezi için etkili ve yeşil bir yaklaşım geliştirmenin yanı sıra, biyolojik çalışmalar sentezlenen 3,5-diarilRh türevlerinin biyolojik olarak da önemli olduğunu göstermiştir. Öyle ki, yeni 3,5-diarilRh türevlerinin ADME ve ilaca benzerliği parametreleri, bunların *h*CA I ve II inhibe edici aktivitelerine sahip olmalarının yanı sıra aynı zamanda ilaca benzer uygun özellikler ve fizikokimyasal parametrelere de sahip olduklarını göstermiştir.

KAYNAKLAR

Ağgül, A. G., Müslüm, K., Kandemir, F. M., Küçükler, S. Çağlayan, (2020). C. Alterations in enzyme activity of carbonic anhydrase, 6- phosphogluconate dehydrogenase and thioredoxin reductase in rats exposed to doxorubicin and morin. *Clinical and Experimental Health Sciences*., *10*(3), 228-234.

Akbaba, Y., Akıncıoğlu, A., Göçer, H., Göksu, S., Gülçin, İ., Supuran, C. T., (2014). Carbonic anhydrase inhibitory properties of novel sulfonamide derivatives of aminoindanes and aminotetralins. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 29*, 35-42.

Akram, D., Ismail, A. E., Shaikha, S. A. (2020). Synthesis and antibacterial activity of rhodanine-based azo dyes and their use as spectrophotometric chemosensor for Fe3+ ions. *Chemosensors*, *8*(1), 1-13.

Ambeu, C. N., Dago, W. K., Coulibaly, Y. A., Bekro, J. A., Mamyrbekova, B., Foll-Josselin, A., Defontaine, C., Delehouz´e, S., Bach, S., Ruchaud, R., Le Gu´evel, A., Corlu, P., J´ehan, F., Lambert, N., Le Yondre Bazureau, J.-P. (2016). Microwave synthesis of new 3-(3-aminopropyl)-5-arylidene-2-thioxo-1, 3-thiazolidine-4-ones as potential Ser/Thr protein kinase inhibitors. *Medicinal Chemistry Research, 25*(12), 2940-2958.

Amr, A. E. G. E., Abdel-Latif, N. A., Abdalla M. M. (2006). Synthesis and antiandrogenic activity of some new 3-substituted androstano[17,16-c]-5′-aryl-pyrazoline and their derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry, 14*(2), 373-384.

Andreani, A., Burnelli, S., Granaiola, M., Leoni, A., Locatelli, A., Morigi, R., Rambaldi, M., Varoli, L., Cremonini, MA., Placucci, G., Cervellati. R. (2010). *European Journal of Medicinal Chemistry 45*(3), 1374-1378.

Bayındır, S. (2019a). A simple Rhodanine-based fluorescent sensor for mercury and cpper: The recognition of Hg+2 in aqueous solution and Hg+2 – Cu+2 in organic solvent. *Journal of Photochemstry and Photobiology A: Chemistry*, *372*, 235-244. 55

Bayındır, S., Yararlı, K. (2019b). The easy synthesis of new N-subsituted 5-oxindoline-Rhodanines and their sensing ability: The recognition of acetate ions in aqueous solution. *New Journal of Chemstry*, *43*(21), 8168-8178.

Bayındır, S., Çağlayan, C., Karaman, M. and Gülcin, İ. (2019c). The green synthesis and molecular docking of novel N-subsituted Rhodanines as effective inhibitors for carbonic anhydrase and acetylcholinesterase enzymes. *Bioorganic Chemstry,* (90), 103096.

Beydemir, S., Gulcin, I., (2004). Effect of melatonin on carbonic anhydrase from human erythrocyte in vitro and from rat erythrocyte in vivo. . *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, *19*(2), 193-197.

Bhuiyan, M. D., Teshome, A., Gainsford, G. J., Ashraf, M., Clays, K., Asselberghs, I., and Kay, A. J., (2010). Synthesis, characterization, linear and non-linear optical (NLO) properties of some Schiff's bases. *Optical Materials, 32*, 669-72.

Bhuiyan, M.D.H., Teshome, A., Gainsford, G.J., Ashraf, M., Clays, K., Asselberghs, I., Kay, A.J., (2015). Synthesis, characterization, linear and non-linear optical (NLO) properties of some Schiff's bases. *Optical Materials,* 32(6), 669-672.

Bilginer, S., Anıl, B., Koca, M., Demir, Y., Gülçin, İ. (2021). Novel Mannich bases with strong carbonic anhydrases and acetylcholinesterase inhibition effects: 3-(aminomethyl)-6-{3-[4-(trifluoromethyl) phenyl] acryloyl}-2 (3H)-benzoxazolones. *Turkish Journal of Chemistry, 45* (3), pp. 805-818.

Blackburn, L. and Taylor, R.. J. K. (2001). In Situ Oxidation−Imine Formation−Reduction Routes from Alcohols to Amines. *Organic Letters. 3* (11), 1637-1639.

Brown, F. C. (1961). 4 Thiazolidinones. *Chemical Reviews, 61,* 463-521.

Burmaoglu, S., Kazancioglu, E. A., Kazancioglu, M. Z., Sağlamtaş, R., Yalcin, G., Gulcin, I., Algul, O. (2022). Synthesis, molecular docking and some metabolic enzyme inhibition properties of biphenyl-substituted chalcone derivatives. *J. Mol. Struct., 1254,* 132358.

Caglayan, C., Taslimi, P., Türk, C., Kandemir, F. M., Demir, Y. and Gulcin, İ. (2019a). Purification and characterization of the carbonic anhydrase enzyme from horse mackerel (Trachurus trachurus) muscle and the impact of some metal ions and pesticides on enzyme activity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 226*, 108605.

Caglayan, C., Taslimi, P., Türk, C., Kandemir, F. M., Demir, Y. and Gulcin, İ. (2019b). The effects of hesperidin on sodium arsenite-induced different organ toxicity in rats on metabolic enzymes as antidiabetic and anticholinergics potentials: A biochemical approach. *Journal of food biochemistry, 43*(2), e12720.

Chakravarty, S., Kannan K. K. (1994). Drug-Protein Interactions: Refined Structures of Three Sulfonamide Drug Complexes of Human Carbonic Anhydrase I Enzyme, *Journal of Molecular Biology, 243,* 298-309.

Chakravarty, S., Kannan, K. K. (1994). Drug-Protein ınteractions: refined structures of three sulfonamide drug complexes of human Carbonic Anhydrase I Enzyme, *Journal of Molecular Biology, 243,* 298-309.

Chiyanzu, I., Clarkson, C., Smith, P. J., Lehman, J., Gut, J., Rosenthal, P. J. and Chibale, K. (2005). Design, synthesis and anti-plasmodial evaluation in vitro of new 4-aminoquinoline isatin derivatives, *Bioorganic & Medicinal Chemistry, 13,* 3249-3261.

Çağlayan, C. Keçi karaciğer ve böbrek dokularından karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması, karakterizasyonu ve bazı metal ıyonlarının, antibiyotiklerin ve avermektinlerin enzim aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesi (Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum); 2017.

Çelik, H., Kucukler, S., Çomaklı, S., Özdemir, S., Caglayan, C., Yardım, A., Kandemir, F. M. (2020). Morin attenuates ifosfamide-induced neurotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, neuroinflammation and neuronal apoptosis. *Neurotoxicology, 76,* 126-137.

Dago C. D., Ambeu C. N,, Coulibaly W. K, B´ekro Y. A., Mamyrbekova J., Defontaine A., … and, J.-P., Bazureau, (2015). Synthetic development of new 3-(4-arylmethylamino)butyl-5- arylidene-rhodanines under microwave irradiation and their effects on tumor cell lines and against protein kinases. *Molecules, 20,* 12412–12435.

Duffy E. M., Jorgensen W. L. (2000). Prediction of properties from simulations: free energies of solvation in hexadecane, octanol, and water. *Journal of the American Chemical Society, 122,* 2878-2888.

El-Sharief A. M. S., Ammar Y. A., Belal A., El-Sharief M., Mohamed Y. A., Mehany A. B. M., Elhag Ali G. A. M., Ragab A (2019). Design, synthesis, molecular docking and biological activity evaluation of some novel indole derivatives as potent anticancer active agents and apoptosis inducers. *Bioorganic Chemistry, 85,* 399-412.

Fu, H., Hou X., Wang, L., Dun, Y., Yang X., Fang H. (2015). Design, synthesis and biological evaluation of 3-aryl-rhodanine benzoic acids as anti-apoptotic protein Bcl-2 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *25*(22), 5265-5269.

Habib, N. S., Rida, S. M., Badawey, E. A. M., Fahmy, H. T. Y., Ghozlan, H. A., (1997). Synthesis and antimicrobial activity of rhodanine derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry, 32,* 759.

Halgren T. A. (2009). Identifying and characterizing binding sites and assessing druggability. *Journal of Chemical Information and Modeling*, *49*, 377-389.

Havrylyuk D., Kovach N., Zimenkovsky B., Vasylenko O., Lesyk R. (2011). Synthesis and anticancer activity of isatin-based pyrazolines and thiazolidines conjugates. *Archiv der Pharmazie, 344*(8), 514-522.

Huyut, Z., Beydemir, Ş., and Gülçin, İ. (2017). Inhibition properties of some flavonoids on carbonic anhydrase I and II isoenzymes purified from human erythrocytes. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, *31*(9), e21930.

Jabusch, J. R., Deutsch, H. F. (1989). Localization of the lysines actylated in ubiquitin reacted with p-nitrophenyl acetat. *Archives of biochemistry and biophysics*, *238*, 170.

Jorgensen, W. L. ., Maxwell, D. S. ., Tirado-Rives, J. (1996). Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids. *Journal of American Chemical Society, 118*, 11225–11236.

Kalaycı, M, Türkeş, C., Arslan, M., Demir, Y., Beydemir, Ş. (2021). Novel benzoic acid derivatives: synthesis and biological evaluation as multitarget acetylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, *354*, 2000282.

Karaman, M., Temel, Y., Bayındır, S. (2020). Inhibition effect of rhodanines containing benzene moieties on pentose phosphate pathway enzymes and molecular docking. *Journal of Molecular Structure, 1220*, 128700, 1-10.

Khaldoun, K., Safer, A., Boukabcha, N., Dege, N., Ruchaud, S., Souab, M., ... and Saidi-Besbes, S. (2019). Synthesis and evaluation of new isatin-aminorhodanine hybrids as PIM1 and CLK1 kinase inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, *1192*, 82-90.

Khan, K. M., Mughal, U. R., Khan, A., Naz, F., Perveen, S., Choudhary M. I. (2010). N-Aroylated ısatins: antiglycation activity. *Letters in Drug Design and Discovery*, *7*, 188-193.

Khattak, I., Ketcham, R., Schaumann, E., Adiwidjaja G. (1985). Reactions of isothiocyanates with cyanothioformamides. Cyclization of 5-imino-4-thioxo-2-imidazolidones and 5-imino-2, 4-imidazolidinedithiones to 5, 7-dihydrodiimidazo [4, 5-b: 4', 5'-e] pyrazine-2, 6 (1H, 3H)-diones and-dithiones. *Journal of organic chemistry, 50*(19), 3431-3434.

Kim, H., Gil D., Kim, C. (2022). Selective fluorescent detection of Zn2+ by a rhodanine-based chemosensor. *Journal of the Chinese Chemical Society, 69*(5), 856-863.

Kirpi, E. (2007). *Heterohalkalı makromoleküler bileşik sentezi.* Doktora Tezi, Yıldız Üniversitesi, İstanbul.

Kreno, L. E., Leong, K.; Farha, O. K.; Allendorf, M.; Van Duyne, R. P.; Hupp, J. T. (2012). Metal–Organic Framework Materials as Chemical Sensors. *Chemical reviews, 112*, 1105–1125.

Kucuk, M., Gulcin, I. (2016). Purification and characterization of carbonic anhydrase enzyme from black sea trout (Salmo trutta Labrax Coruhensis) kidney and inhibition effects of some metal ions on the enzyme activity Environ. Toxicol. *Pharmacol*., *44*, 134-139.

Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews, 23*, 3-25.

Lozinskii, M. O., Shivanyuk A. F., Pelkis, P. S. (1971). Synthesis of heterocyclic compounds on the basis of carboxylic acid arylamides. *Chemistry of Heterocyclic Compounds, 7*(4), 439-442.

Medvedev, A., Buneeva, O., Gnedenko, O., Fedchenko, V., Medvedeva, M., Ivanov, Y., Glover, V., Sandler, M, (2006). Oxidative stress and neuroprotection, *Vienna*, 97-103.

Medvedev, A., Igosheva, N., Crumeyrolle-Arias, M., Glover, V. (2005). Isatin: role in stress and anxiety. *Stress, 8*(3), 175-183.

Momose, Y., Meguro, K., Ikeda, H., Hatanakan, S. O., Shoda, T. (1991). Studies on antidiabetic agents, X. Synthesis and biological activities of pioglitazone and related compounds. *Chemical & Pharomacevtical Bulletin*, 39, 14-40.

Nar, M. Rozmarinik asitin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA-I VE hCA-II) üzerine inhibisyon etkisinin incelenmesi. (Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum); 2011.

Nar, M., Çetinkaya, Y., Gülçin, İ., Menzek, A. (2013). (3,4-Dihydroxyphenyl)(2,3,4-trihydroxyphenyl) methanone and its derivatives as carbonic anhydrase isoenzymes inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 28*(2), 402-406.

Olorunyomi, J. F., Geh, S. T., Caruso, R. A., Doherty, C. M. (2021). Metal–organic frameworks for chemical sensing devices. *Materials Horizons, 8*(9), 2387-2419.

Özer, E. B., Caglayan, C., Bayindir, S. (2022). The solvent-controlled regioselective synthesis of 3-amino-5-aryl-rhodanines as novel inhibitors of human carbonic anhydrase enzymes. *Tetrahedron, 120*, 132896.

Özer, E. B. (2022). 3-Amino-5-aril-Rhodaninlerin çözücü kontrollü bölgesel seçici sentezi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (*h*CA I ve *h*CA II) üzerine inhibisyon etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bingöl.

Pal, S., Yu, S. S., Kung C. W. (2021). Group 4 metal-based metal-organic frameworks for chemical sensors. *Chemosensors, 9*, 306. https://doi.org/10.3390/ chemosensors9110306

Paladhi, S., Bhati, M., Pand,A. D., Dash, J. (2014). Thiazolidinedione−Isatin conjugates via an uncatalyzed diastereoselective aldol reaction on water. *The Journal of Organic Chemistry, 79*, 1473-1480.

Pourreza, N., Rastegarzadeh. S., (2001). Simultaneous determination of gold and palladium with 5(*p*-dimethylaminobenzylidene) rhodanine by using the H-point standard addition method in micellar media. *Analytica Chimica Acta, 437*, 273-280.

Powers, J. P., Piper, D. E., Li, Y., Mayorga, V., Anzola J., Chen, J. M., … and Wang, Z. (2006). SAR and mode of action of novel non-nucleoside inhibitors of hepatitis C NS5b RNA polymerase. *Journal of medicinal chemistry*, *49*,1034–1046.

Prakash, C. R., Raja, S., Saravanan, G. (2012). Design and synthesis of 4-(1-(4-chlorobenzyl)-2,3-dioxoindolin-5-yl)-1-(4-substituted/unsubstituted benzylidene) semicarbazide: Novel agents with analgesic, anti-inflammatory and ulcerogenic properties. *Chinese Chemical Letters, 23*(5), 541-544.

Sever B., Türkeş C., Altıntop M. D., Demir Y., Beydemir Ş. (2020). Thiazolyl-pyrazoline derivatives: In vitro and in silico evaluation as potential acetylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors, International Journal of Biological Macromolecules, 163: 1970-1988.

Sever B., Türkeş C., Altıntop M. D., Demir Y., Çiftçi G. A., Beydemir Ş. (2021). Novel metabolic enzyme inhibitors designed through the molecular hybridization of thiazole and pyrazoline scaffolds. *Archiv der Pharmazie, 354*, e2100294.

Sever, B., Türkeş, C., Altıntop, M. D., Demir Y., Beydemir Ş. (2020). Thiazolyl-pyrazoline derivatives: In vitro and in silico evaluation as potential acetylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors. *International Journal of Biological Macromolecules, 163*, 1970-1988.

Sever, B., Türkeş, C., Altıntop, M. D., Demir, Y., Çiftçi, G. A., Beydemir, Ş. (2021). Novel metabolic enzyme inhibitors designed through the molecular hybridization of thiazole and pyrazoline scaffolds. *Archiv der Pharmazie, 354*: e2100294.

Sharma, K., Balwani, S., Mathur, D., Malhotra, S., Singh, B. K., Prasad, AK., … and Parmar V. S. (2016). *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 31,* 1520-1526 (8).

Shelley J. C., Cholleti A., Frye L. L., Greenwood J. R., Timlin M. R., Uchimaya M. (2007). Epik: a software program for pKaprediction and protonation state generation for drug-like molecules, Journal of Computer-Aided Molecular Design, 21: 681-691.

Shelley, J. C., Cholleti, A., Frye, L. L., Greenwood, J. R., Timlin, M. R., Uchimaya, M. (2007). Epik: a software program for pKaprediction and protonation state generation for drug-like molecules, *Journal of Computer-Aided Molecular Design, 21*, 681-691.

Sudo, K., Matsumoto, Y., Matsishima, M., Fujiwara, M., Konno, K., (1997). Novel hepatitis C virus protease inhibitors: thiazolidine derivatives. *Biochemical and Biophiysical Research Communications, 18,* 238-643.

Supuran, C. T., Scozzafava, A., Casini, A. (2003). Carbonic anhydrase inhibitors. *Medicinal research reviews, 23*(2), 146-189.

Supuran, C. T., Scozzafava, A., (2001). Carbonic anhydrase ınhibitors. *Current Medicinal Chemistry, 1,* 61-97.

Taslimi, P. Kandemir, F. M., Demir, Y., İleritürk, M., Temel, Y., Caglayan, C., Gulçin, İ. (2019). The antidiabetic and anticholinergic effects of chrysin on cyclophosphamide-induced multiple organ toxicity in rats: pharmacological evaluation of some metabolic enzyme activities. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, *33*(6), e22313

Taslimi, P., Caglayan, C., Farzaliyev, V., Nabiyev, O., Sujayev, A., Turkan, F., Kaya, R., Gulçin İ. (2018). Synthesis and discovery of potent carbonic anhydrase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and α-glycosidase enzymes inhibitors: the novel *N*,*N*′-bis-cyanomethylamine and alkoxymethylamine derivatives. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, *32*(4), e22042

Tokalı F. S., Demir Y., Demircioğlu İ. H., Türkeş C., Kalay E., Şendil K., Beydemir Ş. (2022). Synthesis, biological evaluation, and in silico study of novel library sulfonates containing quinazolin-4 (3*H*)-one derivatives as potential aldose reductase inhibitors. *Drug Development Research, 83*: 586–604.

Tokalı, F. S., Demir, Y., Demircioğlu, İ. H., Türkeş, C., Kalay, E., Şendil, K., Beydemir, Ş. (2022). Synthesis, biological evaluation, and in silico study of novel library sulfonates containing quinazolin-4 (3*H*)-one derivatives as potential aldose reductase inhibitors. *Drug Development Research, 83,* 586–604.

Tomasic, T., Masic, L. P. (2009). Rhodanine as a Privileged Scaffold in Drug Discovery. *Current Medicinal Chemistry, 16*(13), 1596-1629.

Tomasic, T., Zidar, N., Mueller-Premru, M., Kikelj, D., Masic, L. P. (2010). Synthesis and antibacterial activity of 5-ylidenethiazolidin-4-ones and 5-benzylidene-4,6-pyrimidinediones. *European Journal of Medicinal Chemistry, 45,* 1667–1672.

Turkan, F., Çetin, A., Taslimi, P., Karaman, M., Gulçin, İ. (2019). Synthesis, biological evaluation and molecular docking of novel pyrazole derivatives as potent carbonic anhydrase and acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorganic chemistry, 86,* 420-427.

Varun, S., Kakkar, R. (2019). Isatin and its derivatives: a survey of recent syntheses, reactions, and applications. *Medicinal Chemistry Communitation, 10,* 351–368.

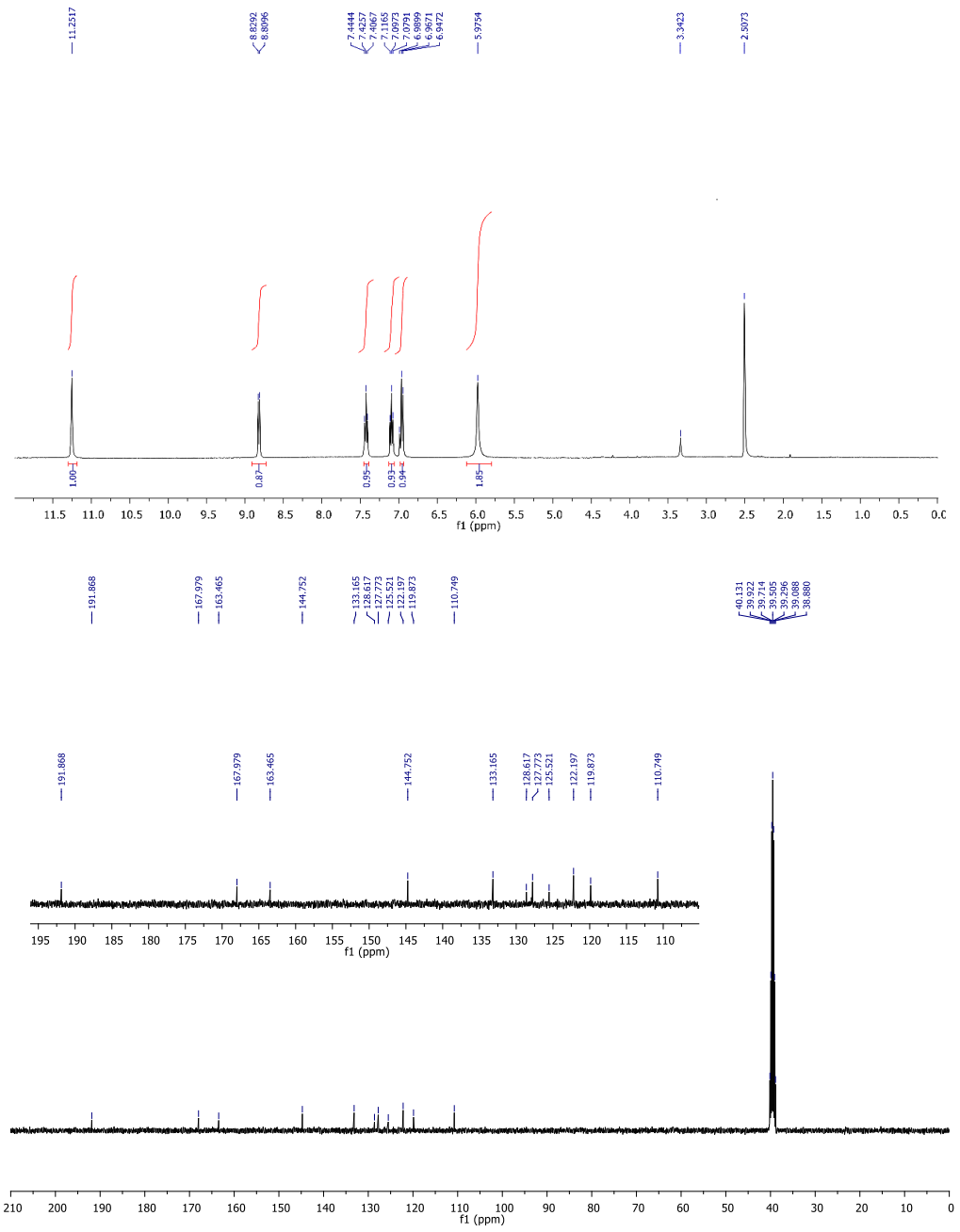
Xue, F., MacKerell, A. D., Heinzl, G., Hom, K. (2013). Room temperature catalyst-free Knoevenagel condensation: facile access to Isatinylidenerhodanines. *Tetrahedron Letters, 54,* 1700-1703.

Zhang, C., Lv, X., Liu, X., Chen, H., He, H. (2022). A reasonably constructed fluorescent chemosensor based on the dicyanoisophorone skeleton for the discriminative sensing of Fe^{3+} and Hg^{2+} as well as imaging in HeLa cells and zebrafish. *RSC Advances, 2022*(12), 12355-12362.

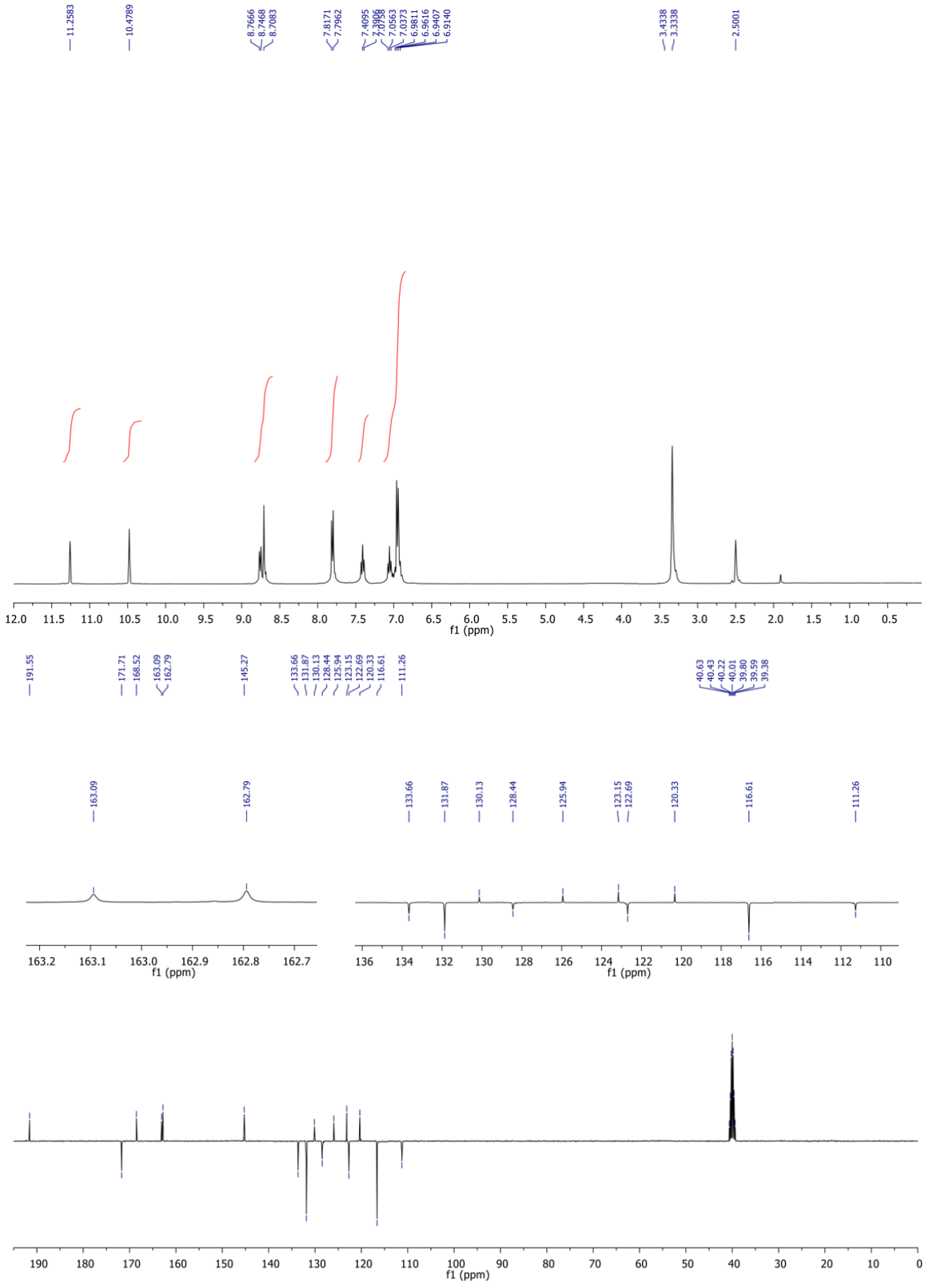
Zhang, H., Xiong, P., Li, G., Liao, C., Jiang, G. (2020). Applications of multifunctional zirconium-based metal-organic frameworks in analytical chemistry: Overview and perspectives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry, 131,* 116015.

EKLER

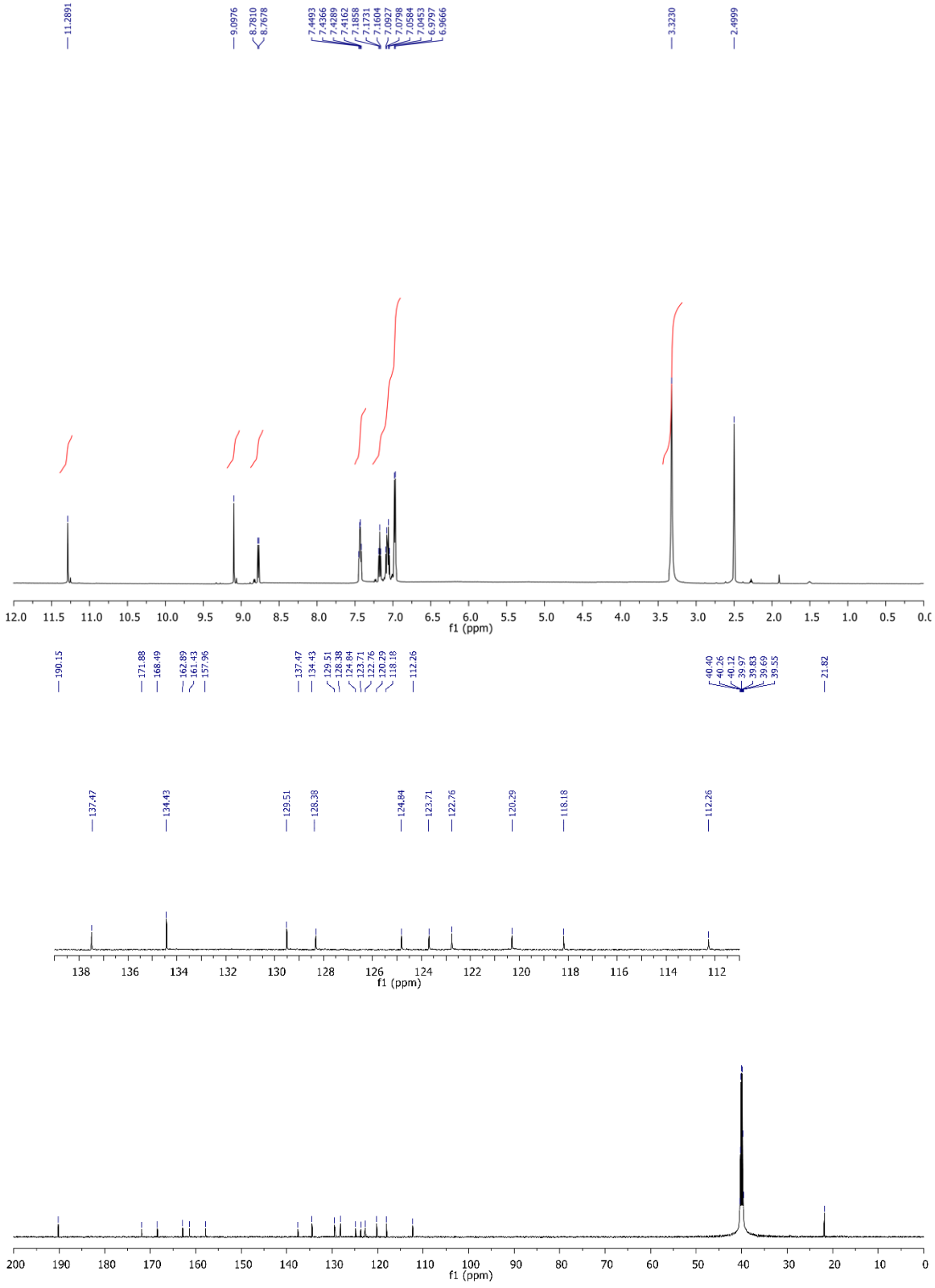
Ek A. NMR spektrumları



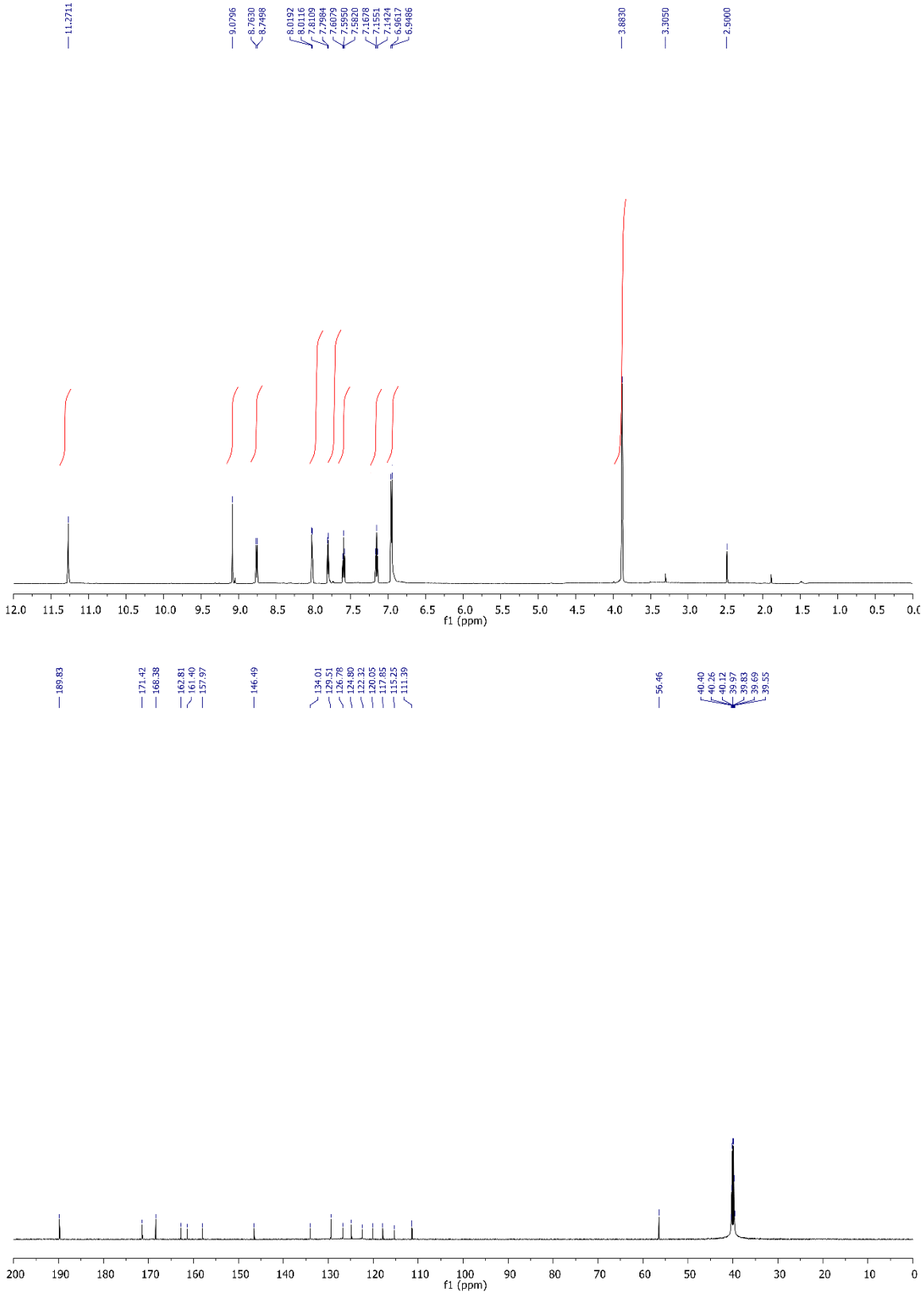
Ek A1. 5-OxI-Rh'in 1H-NMR (400 MHz) ve APT 13C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d6).



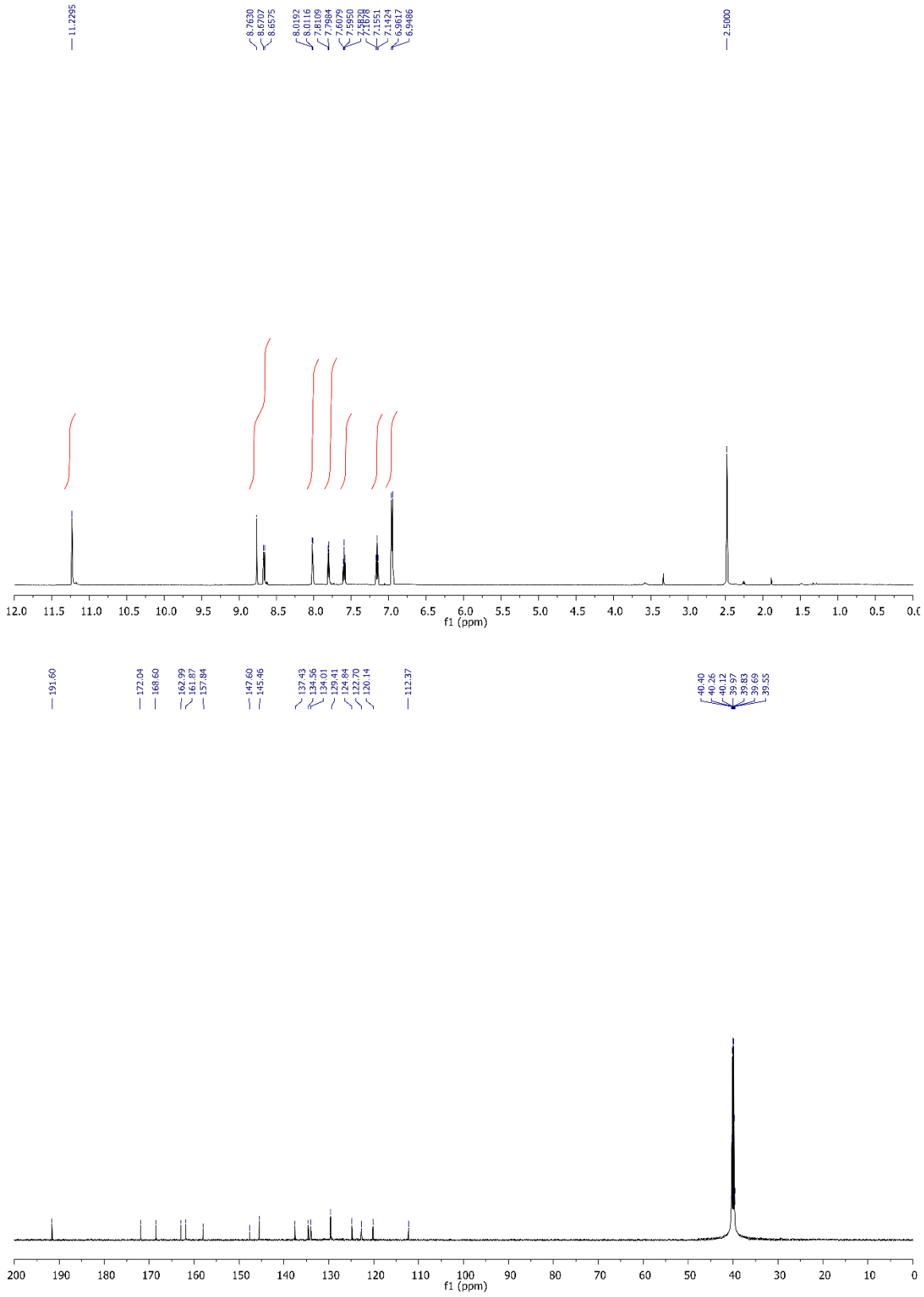
Ek A2. 3-Ar-5-OxI-Rh (6a)'nın ^{1}H-NMR (600 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (150 MHz) spektrumları (DMSO-d6).



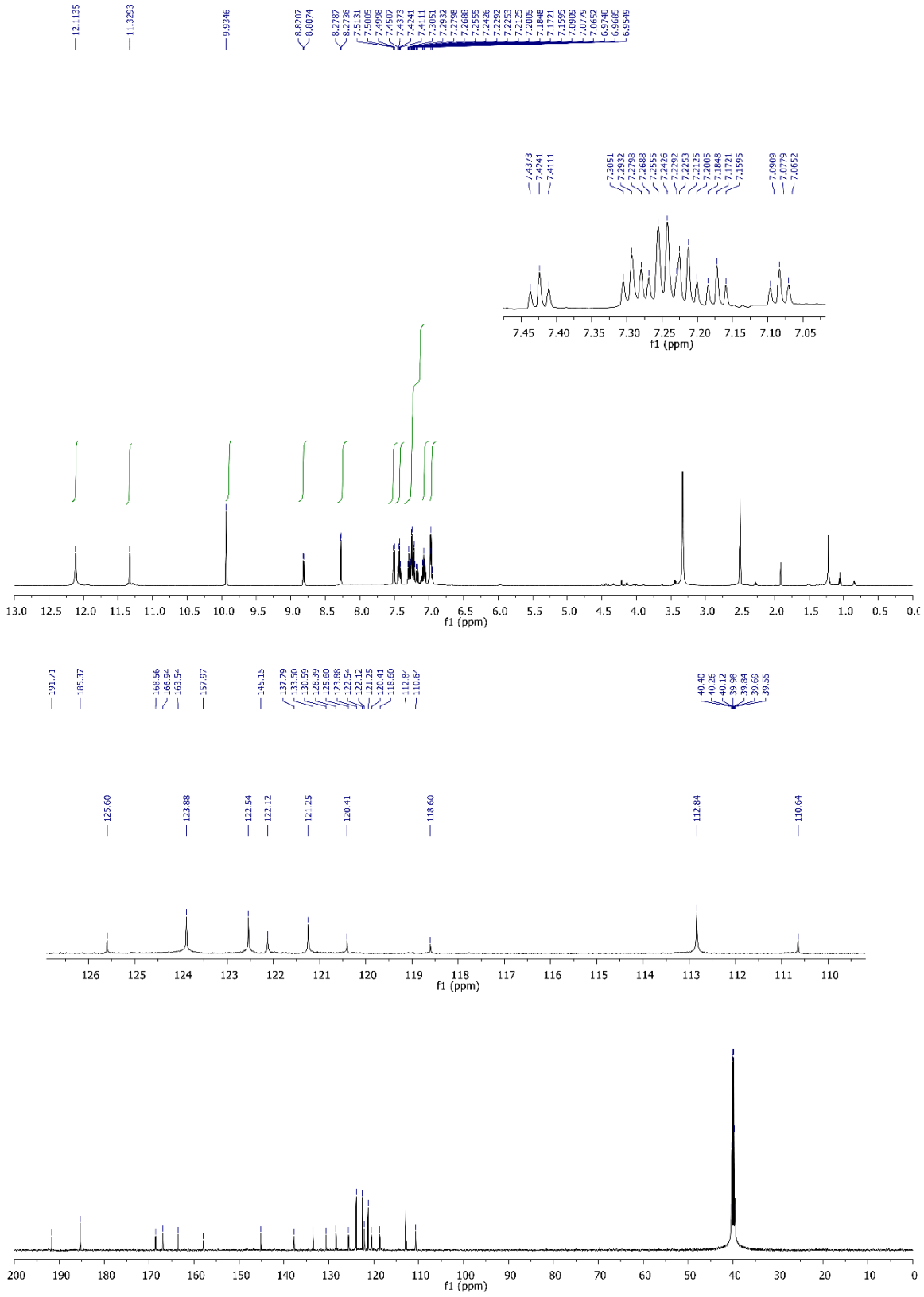
Ek A3. 3-Ar-5-OxI-Rh (6b)'nin ^{1}H-NMR (600 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (150 MHz) spektrumları (DMSO-d6).



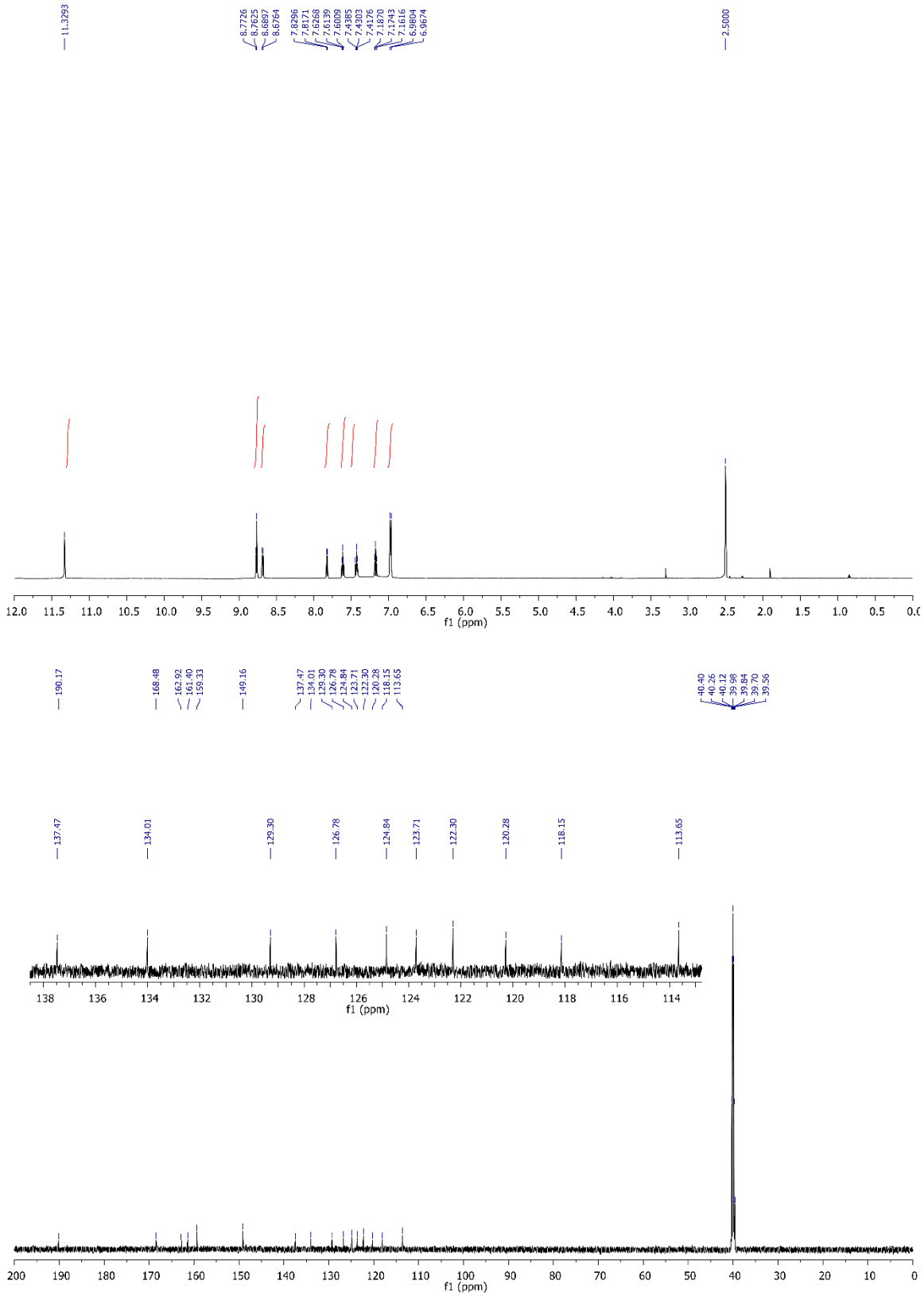
Ek A4. 3-Ar-5-OxI-Rh (6c)'nin ^{1}H-NMR (600 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (150 MHz) spektrumları (DMSO-d6).



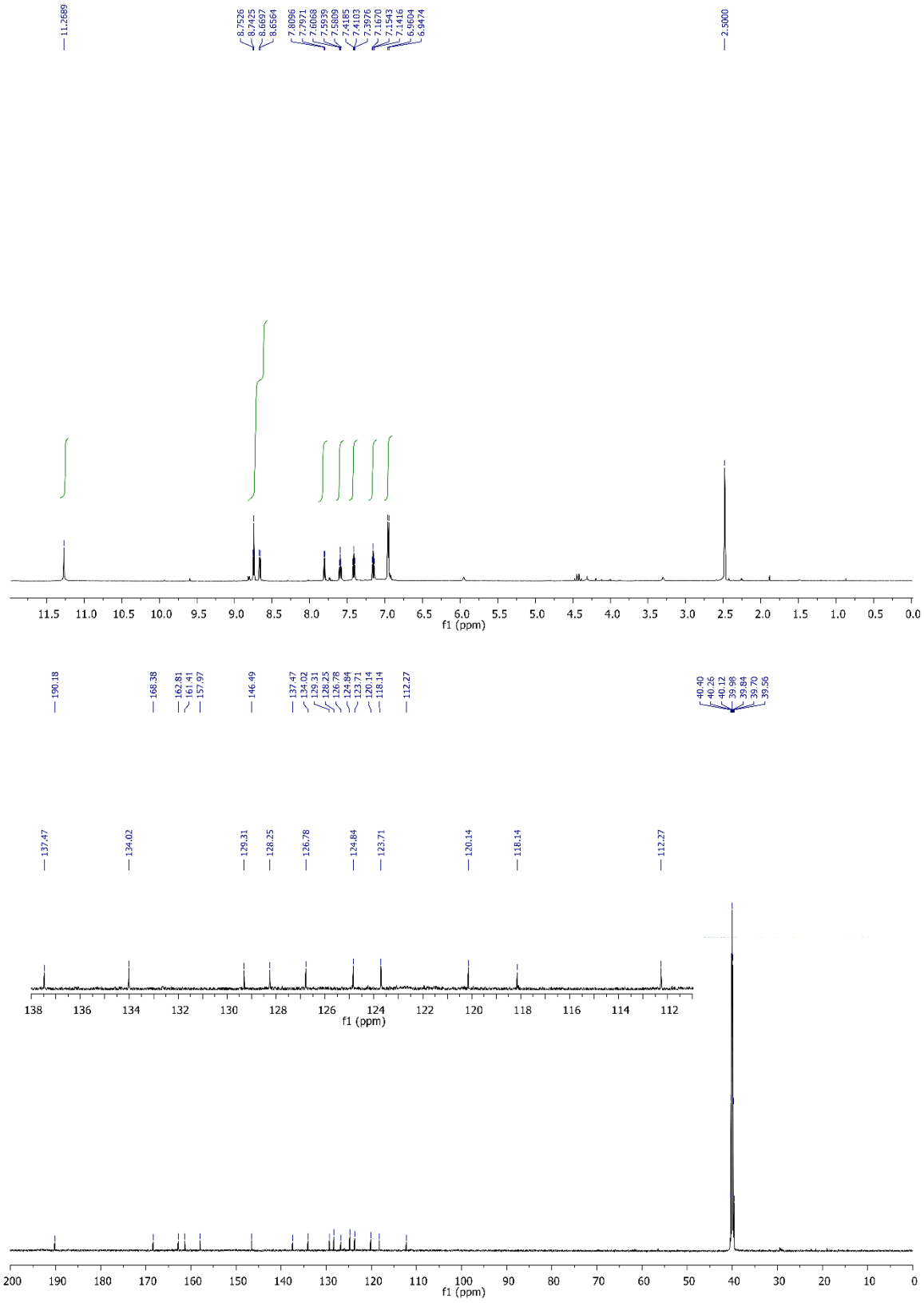
Ek A5. 3-Ar-5-OxI-Rh (6d)'nin ^{1}H-NMR (600 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (150 MHz) spektrumları (DMSO-d6).



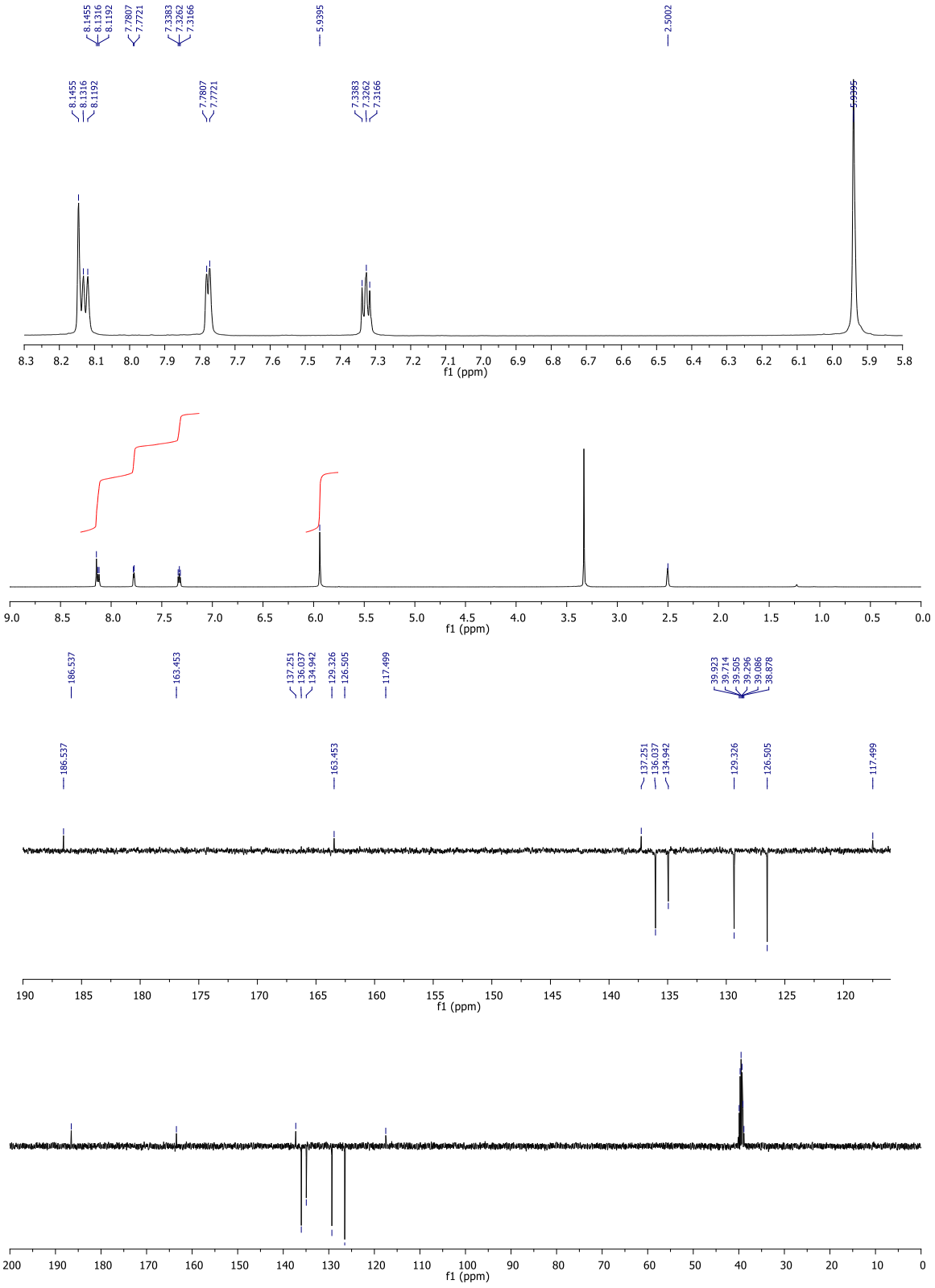
Ek A6. 3-Ar-5-OxI-Rh (6e)'nin ^{1}H-NMR (600 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (150 MHz) spektrumları (DMSO-d6).



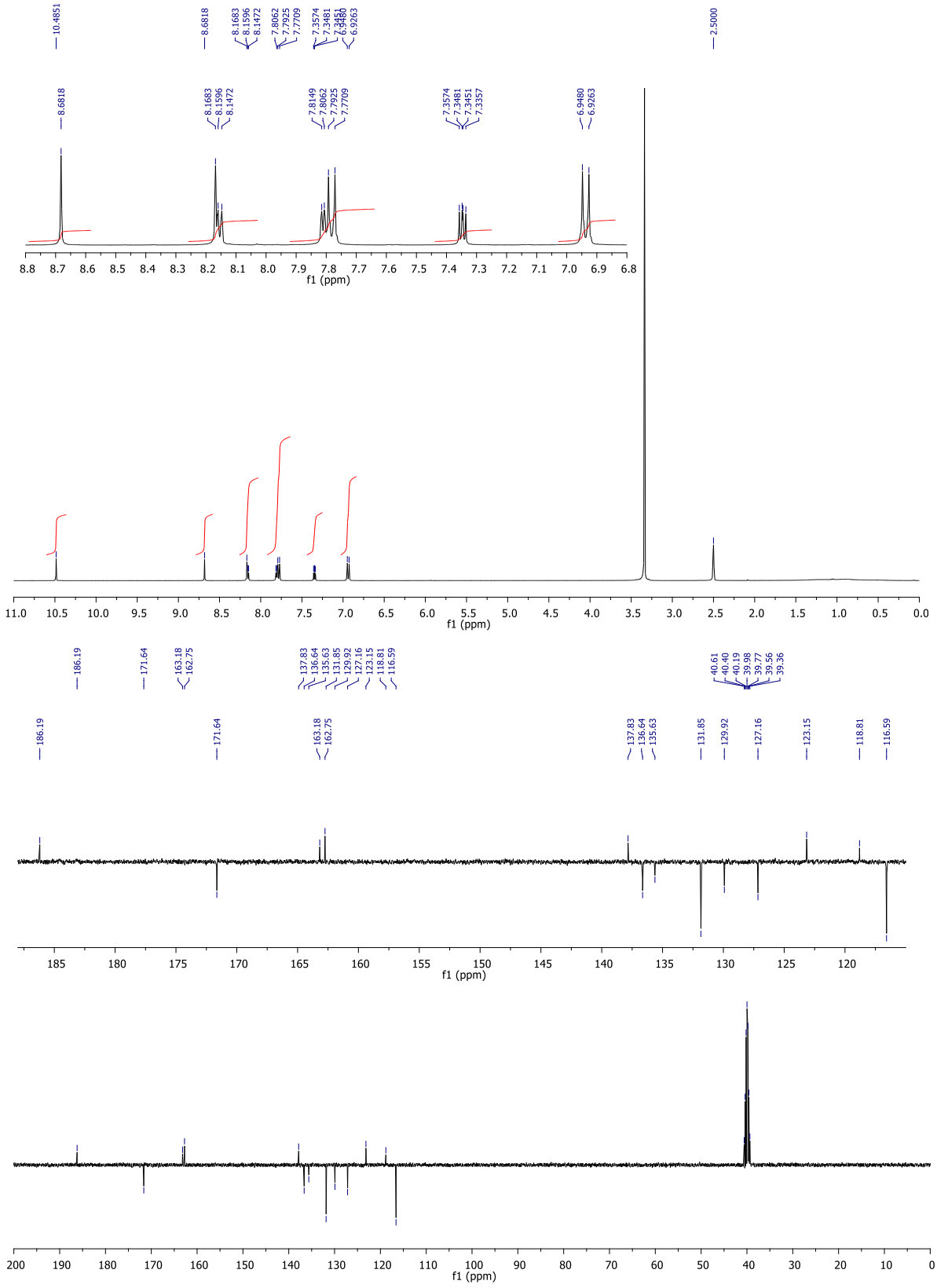
Ek A7. 3-Ar-5-OxI-Rh (6f)'nin ^{1}H-NMR (600 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (150 MHz) spektrumları (DMSO-d6).



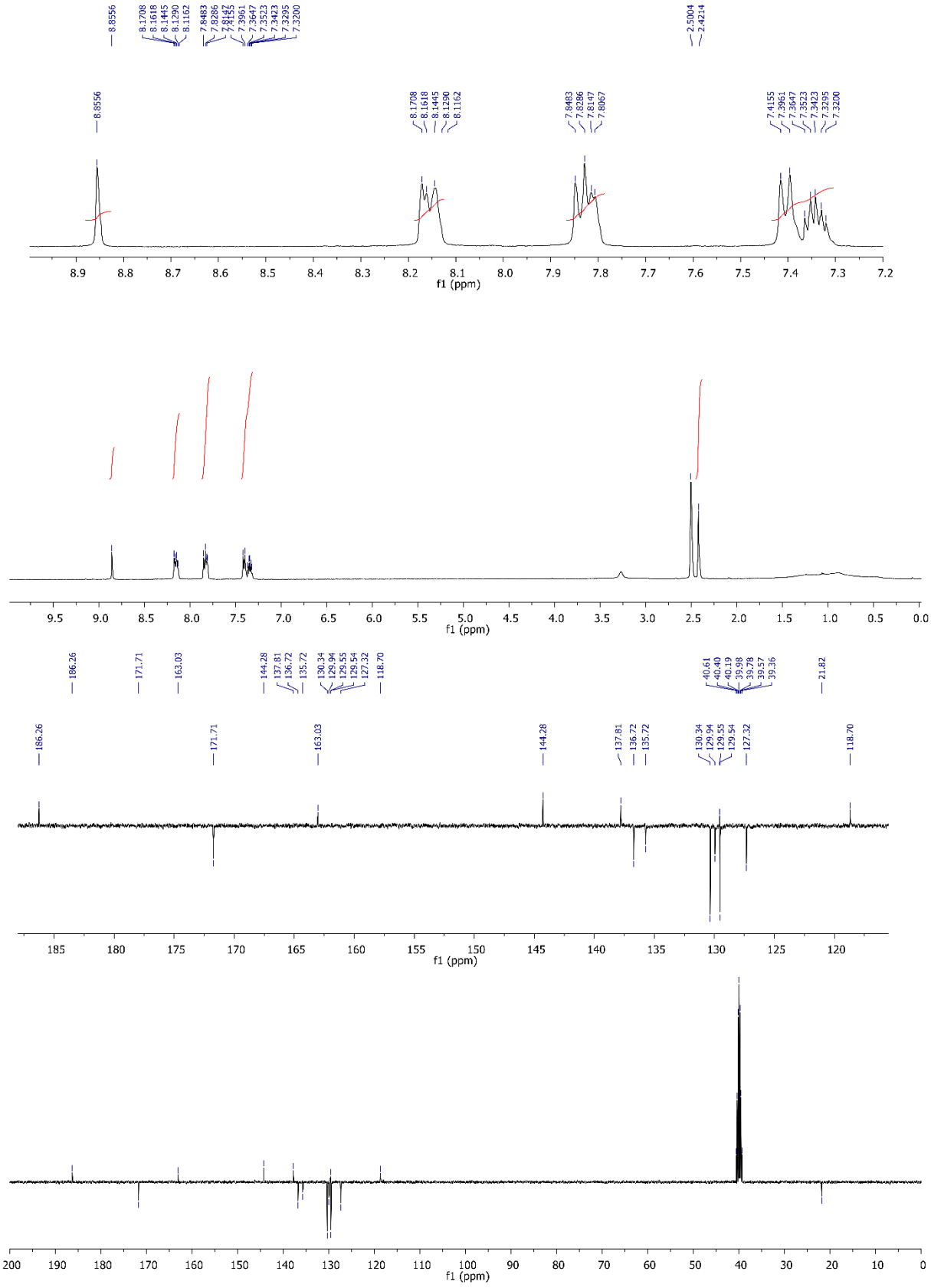
Ek A8. 3-Ar-5-OxI-Rh 6g'nin ^{1}H-NMR (600 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (150 MHz) spektrumları (DMSO-d6).



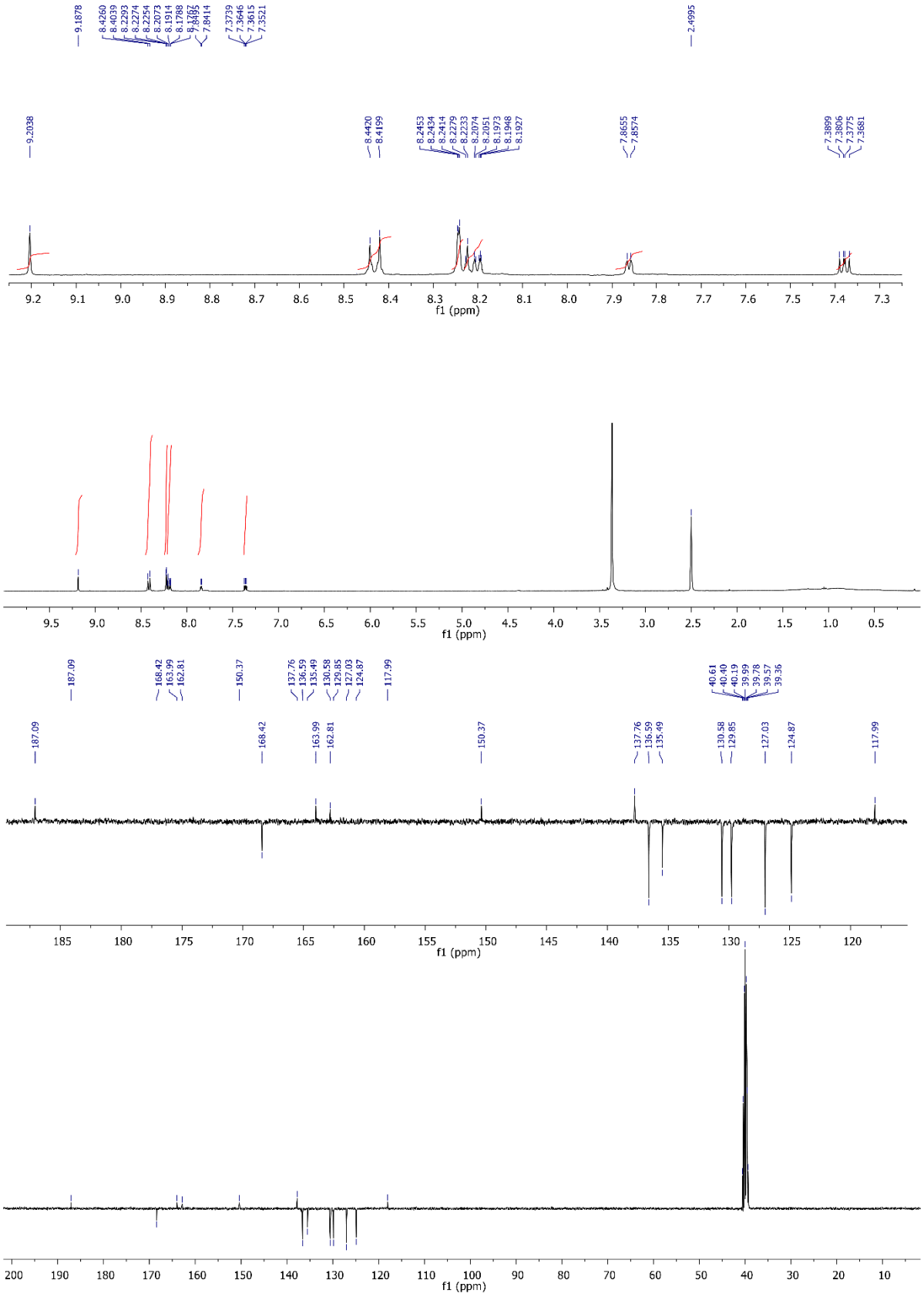
Ek A9. 5-Thio-Rh (4)'ün ^{1}H-NMR (400 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



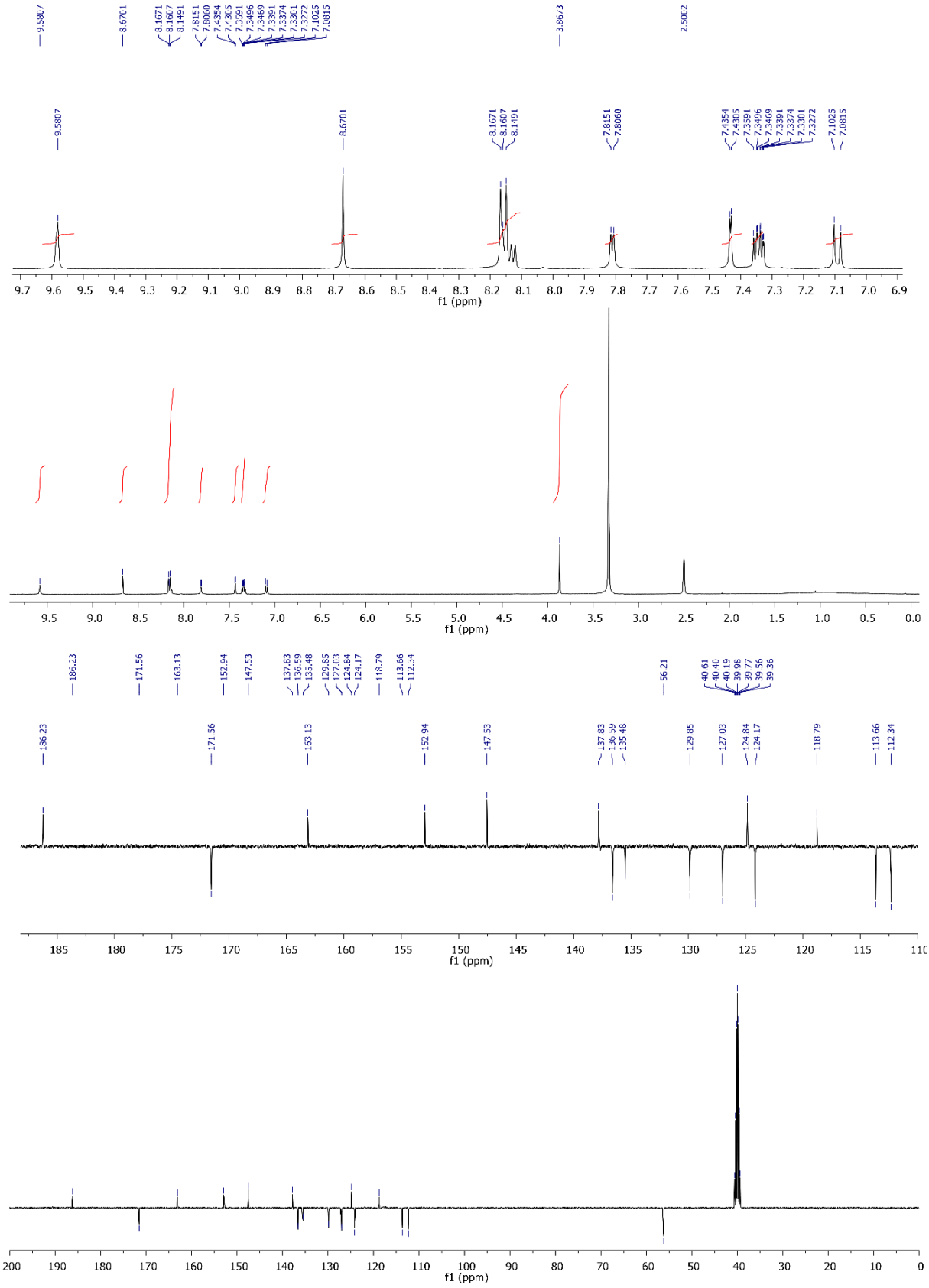
Ek A10. 3-Ar-5-Thio-Rh 7a'nın ^{1}H-NMR (400 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



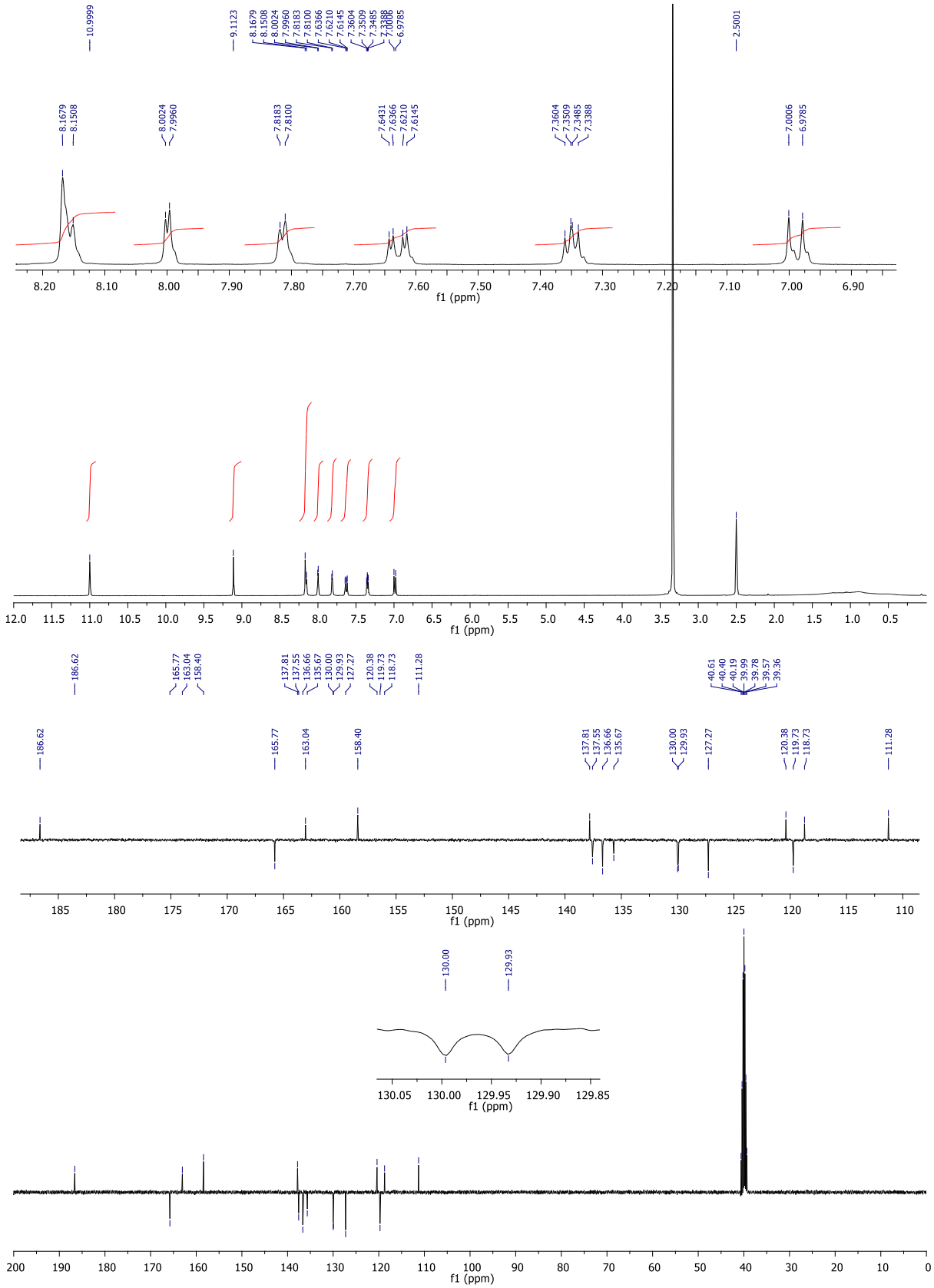
Ek A11. 3-Ar-5-Thio-Rh 7b'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



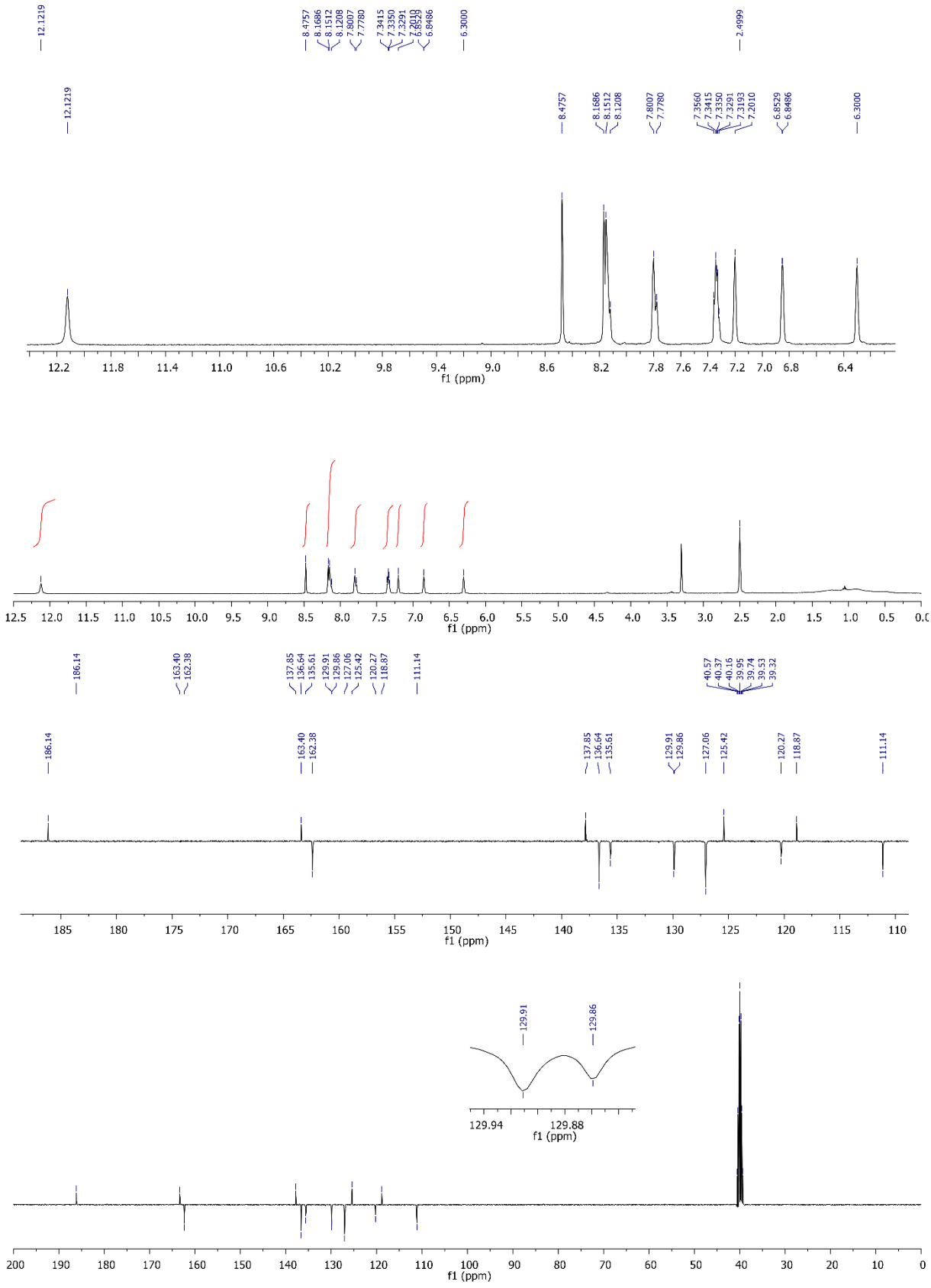
Ek A12. 3-Ar-5-Thio-Rh 7c'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



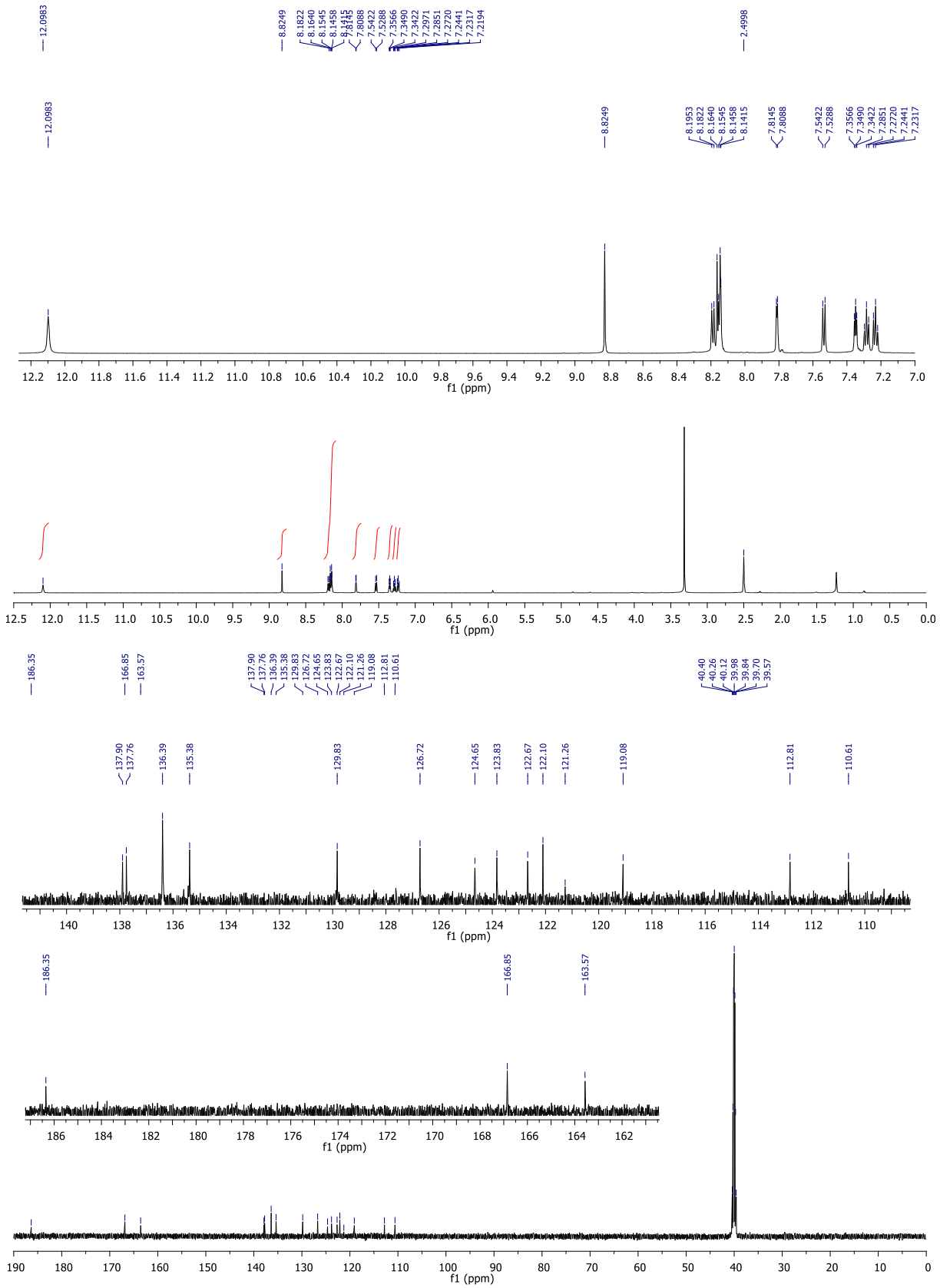
Ek A13. 3-Ar-5-Thio-Rh 7d'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



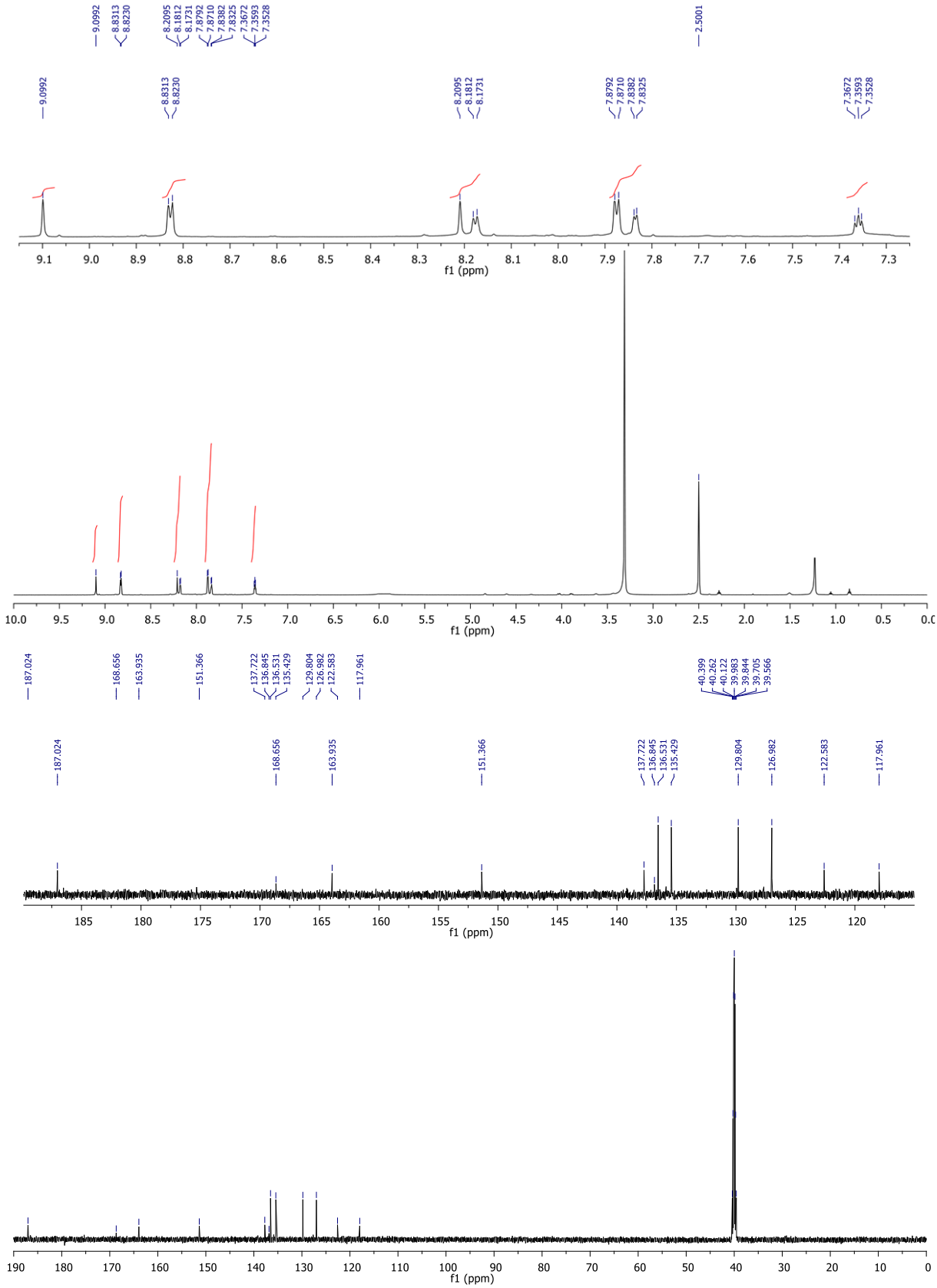
Ek A14. 3-Ar-5-Thio-Rh 7e'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



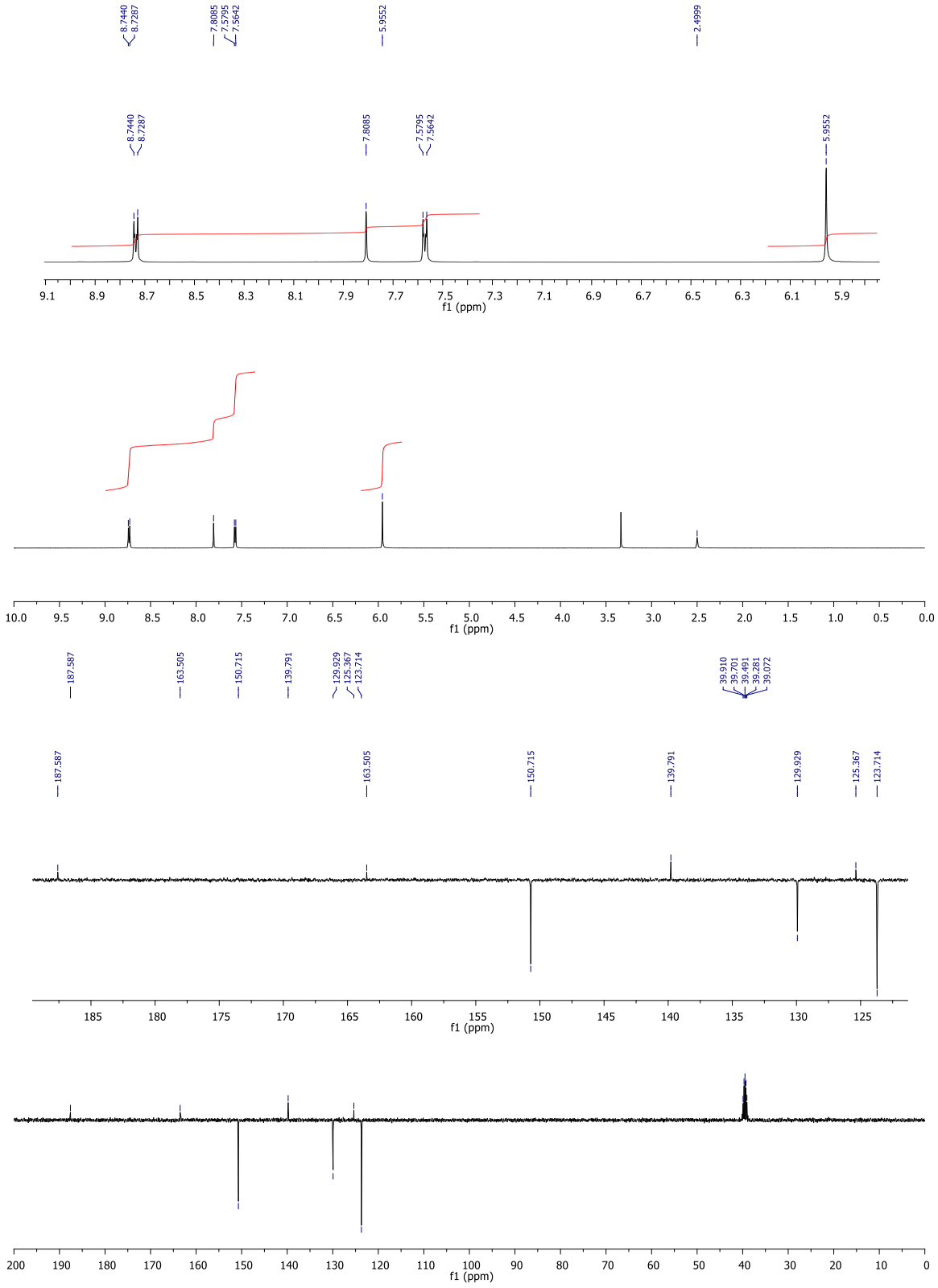
Ek A15. 3-Ar-5-Thio-Rh 7f'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



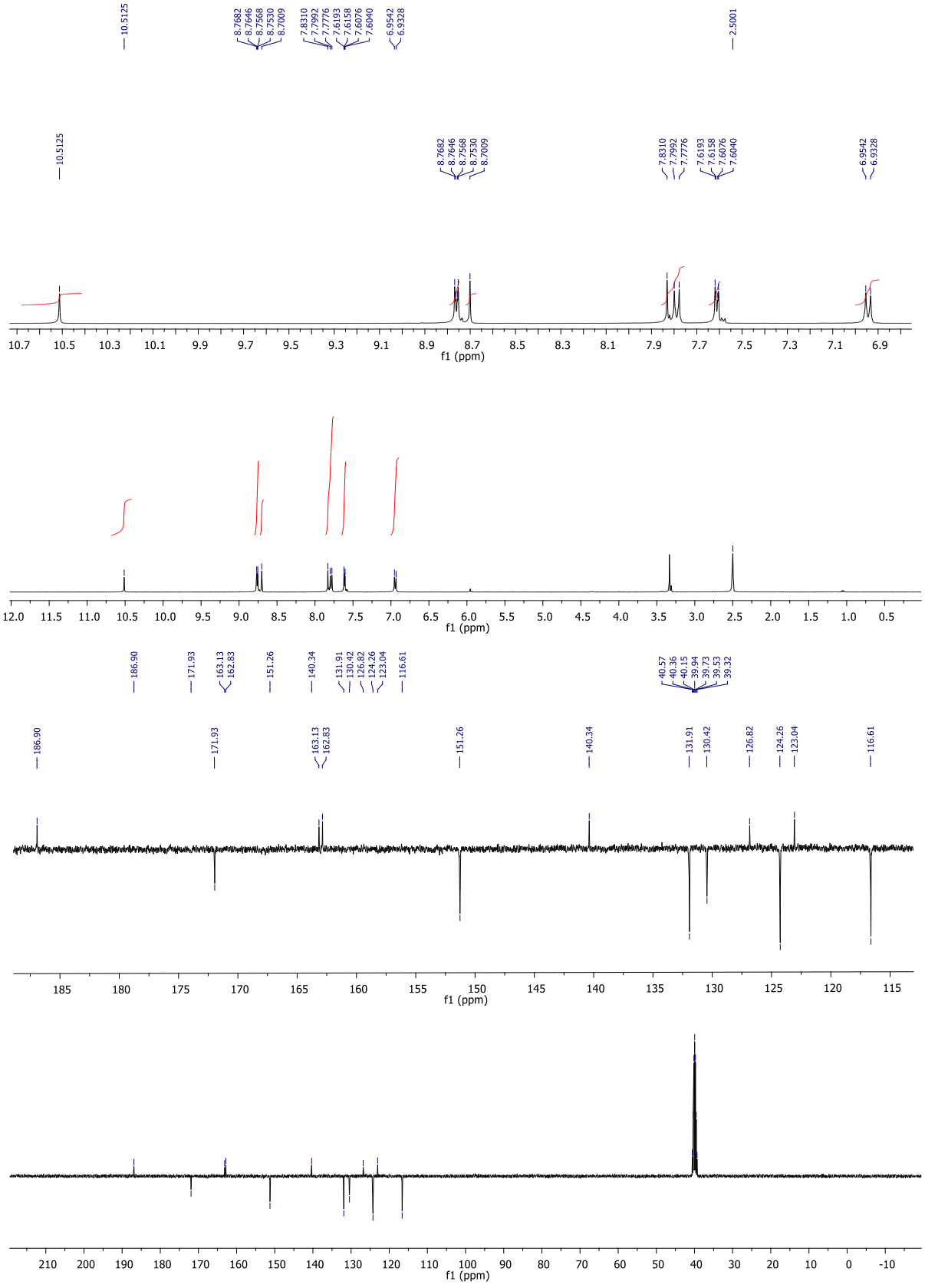
Ek A16. 3-Ar-5-Thio-Rh 7g'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



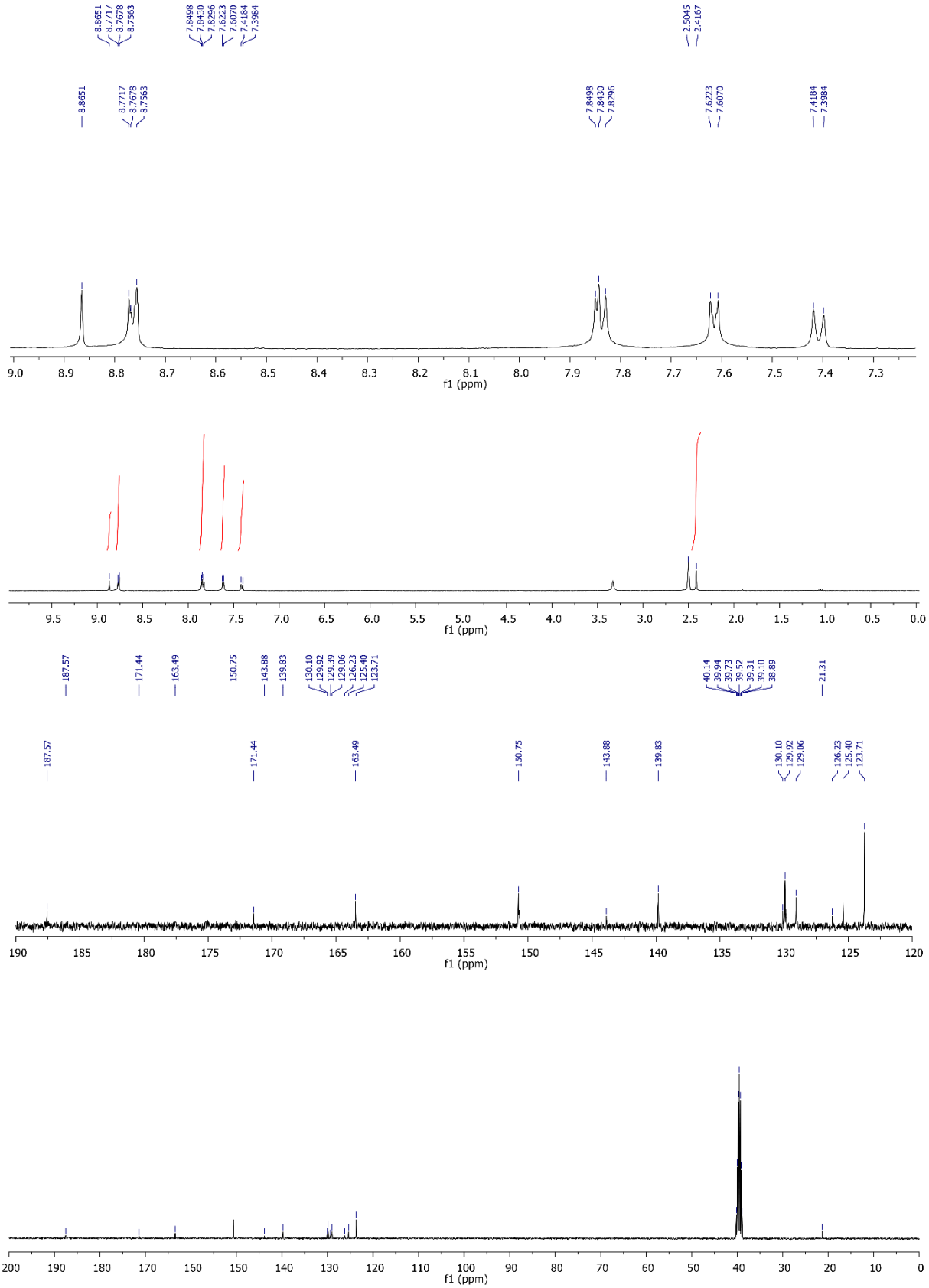
Ek A17. 3-Ar-5-Thio-Rh 7h'ın ^{1}H-NMR (600 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (150 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



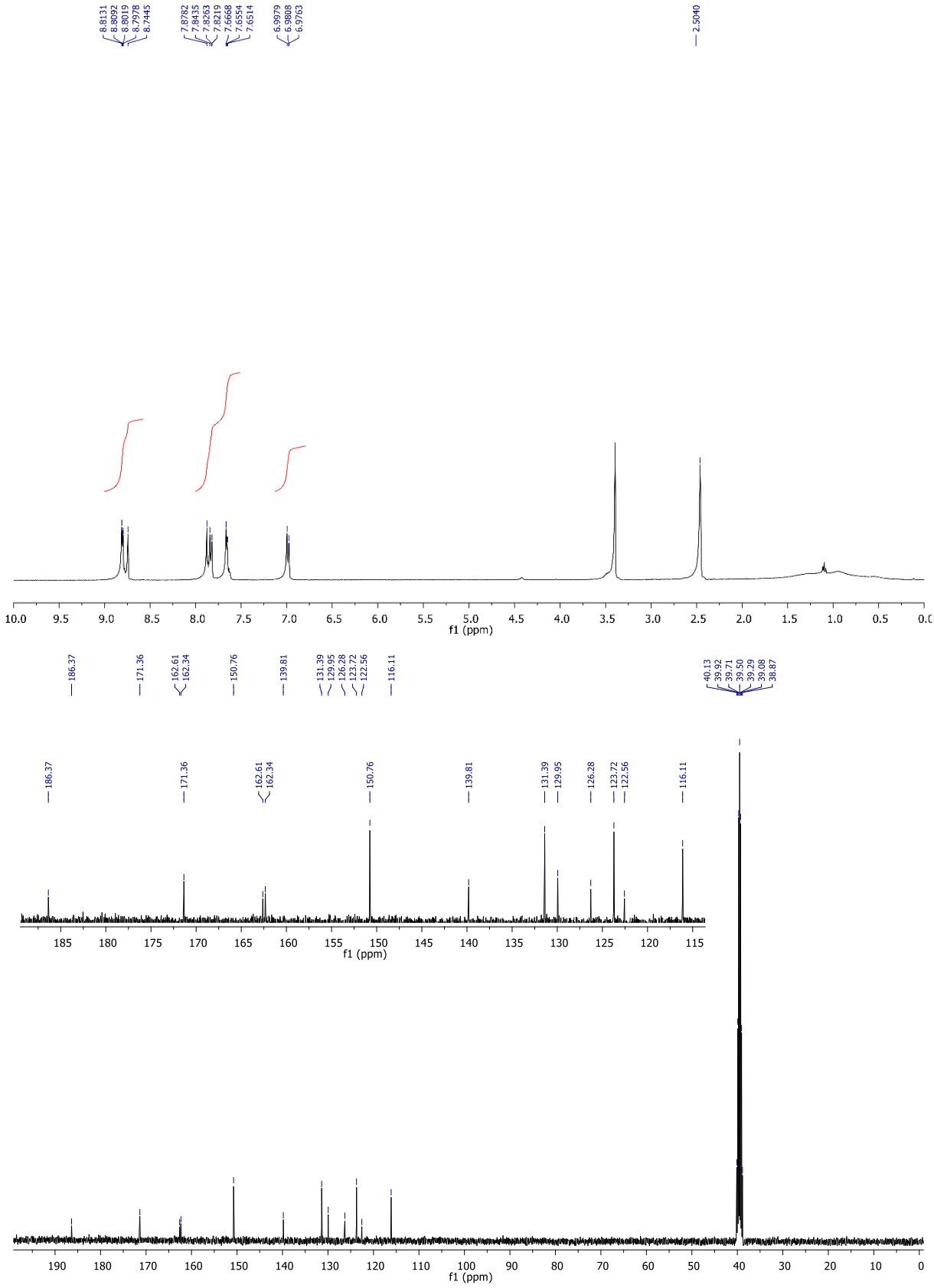
Ek A18. 5-Pyr-Rh (5)'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



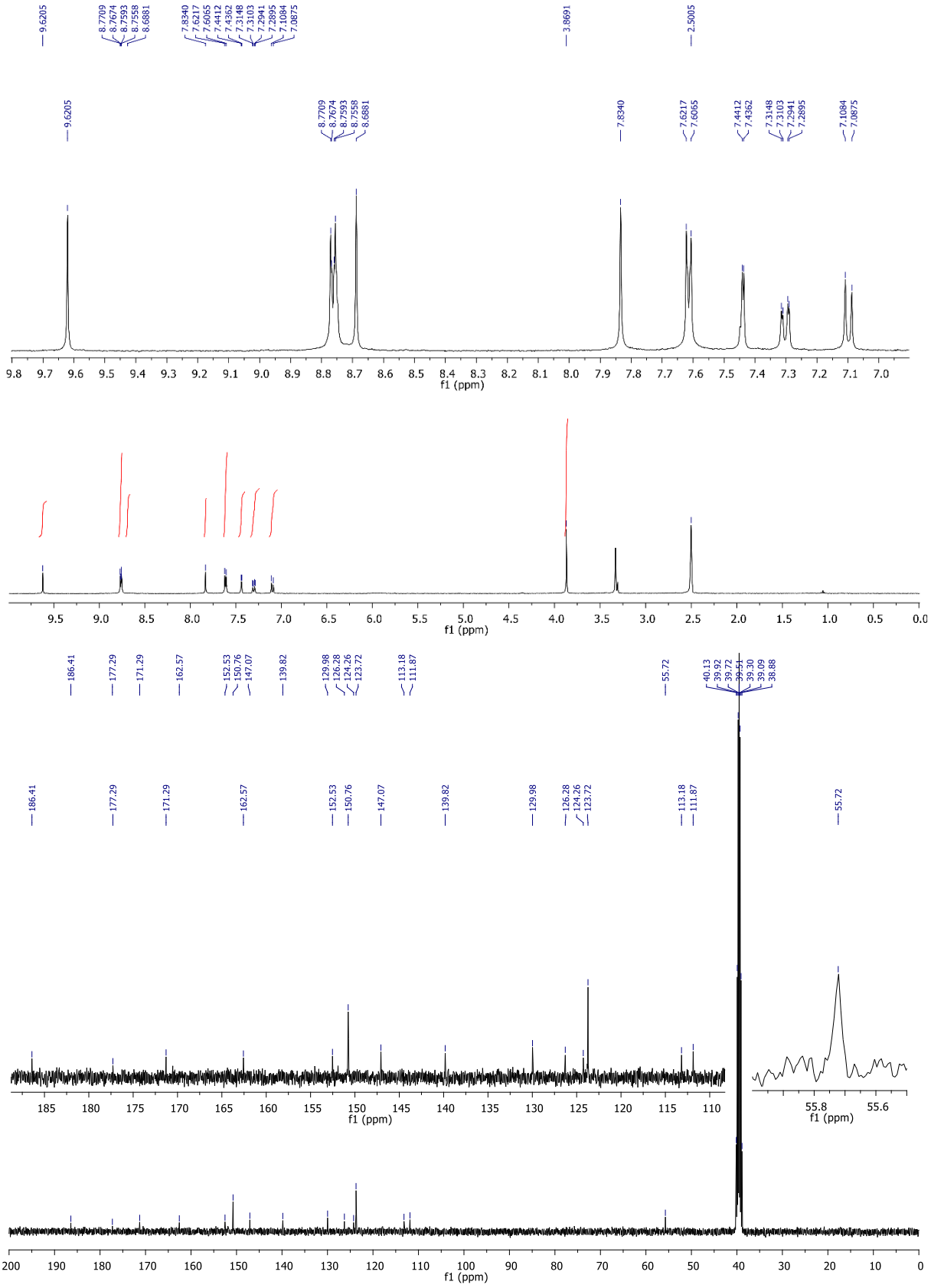
Ek A19. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8a'nın ^{1}H-NMR (400 MHz) ve APT ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



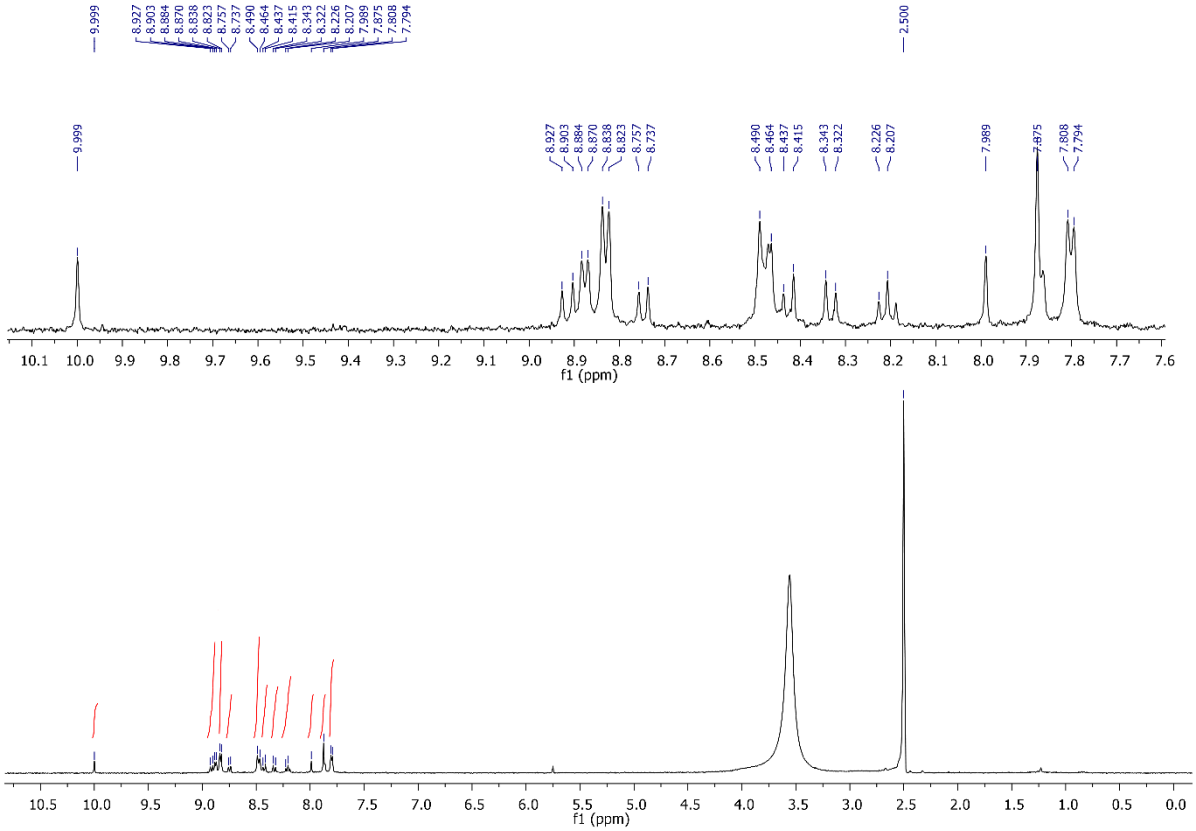
Ek A20. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8b'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



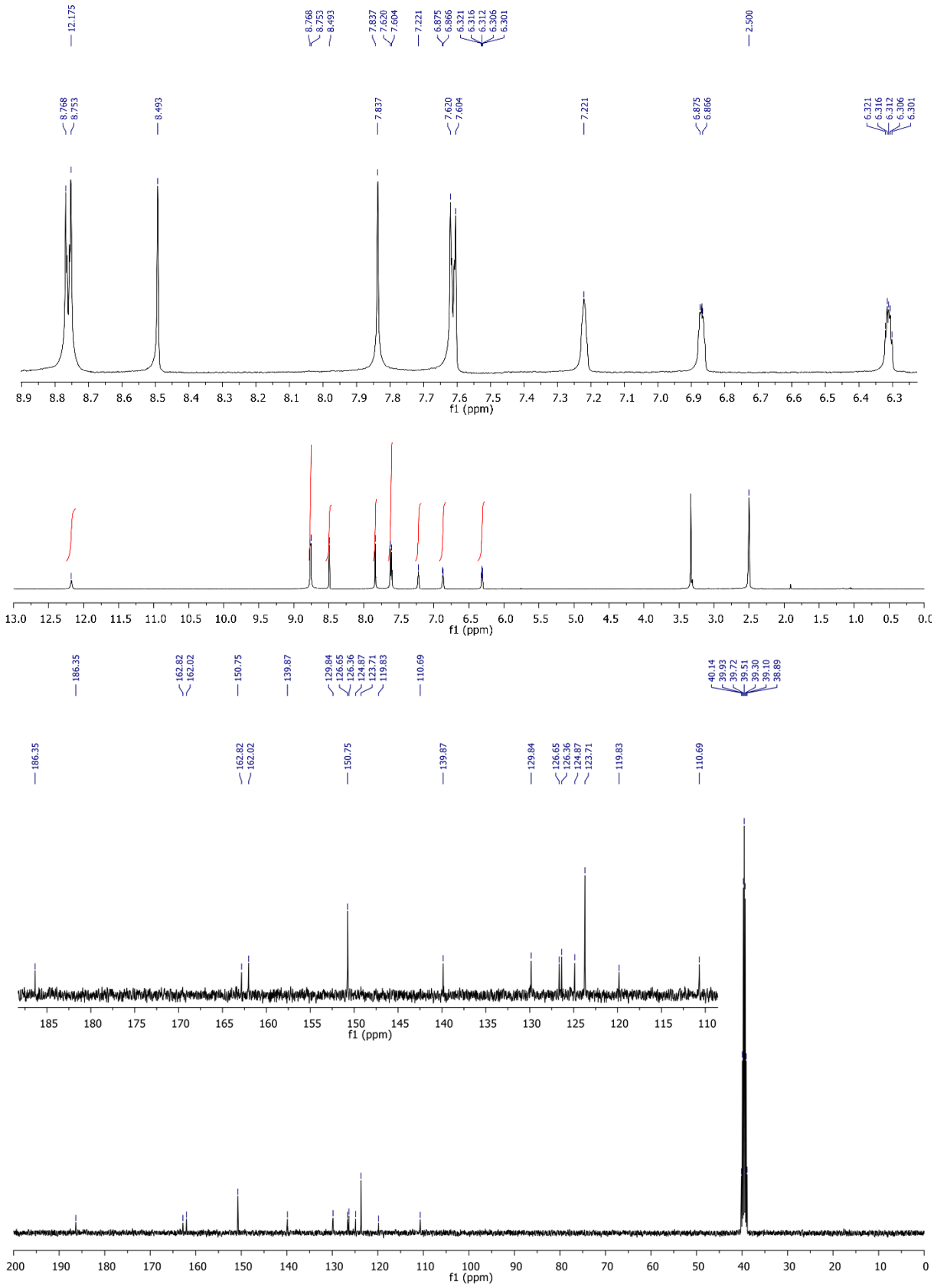
Ek A21. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8c'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



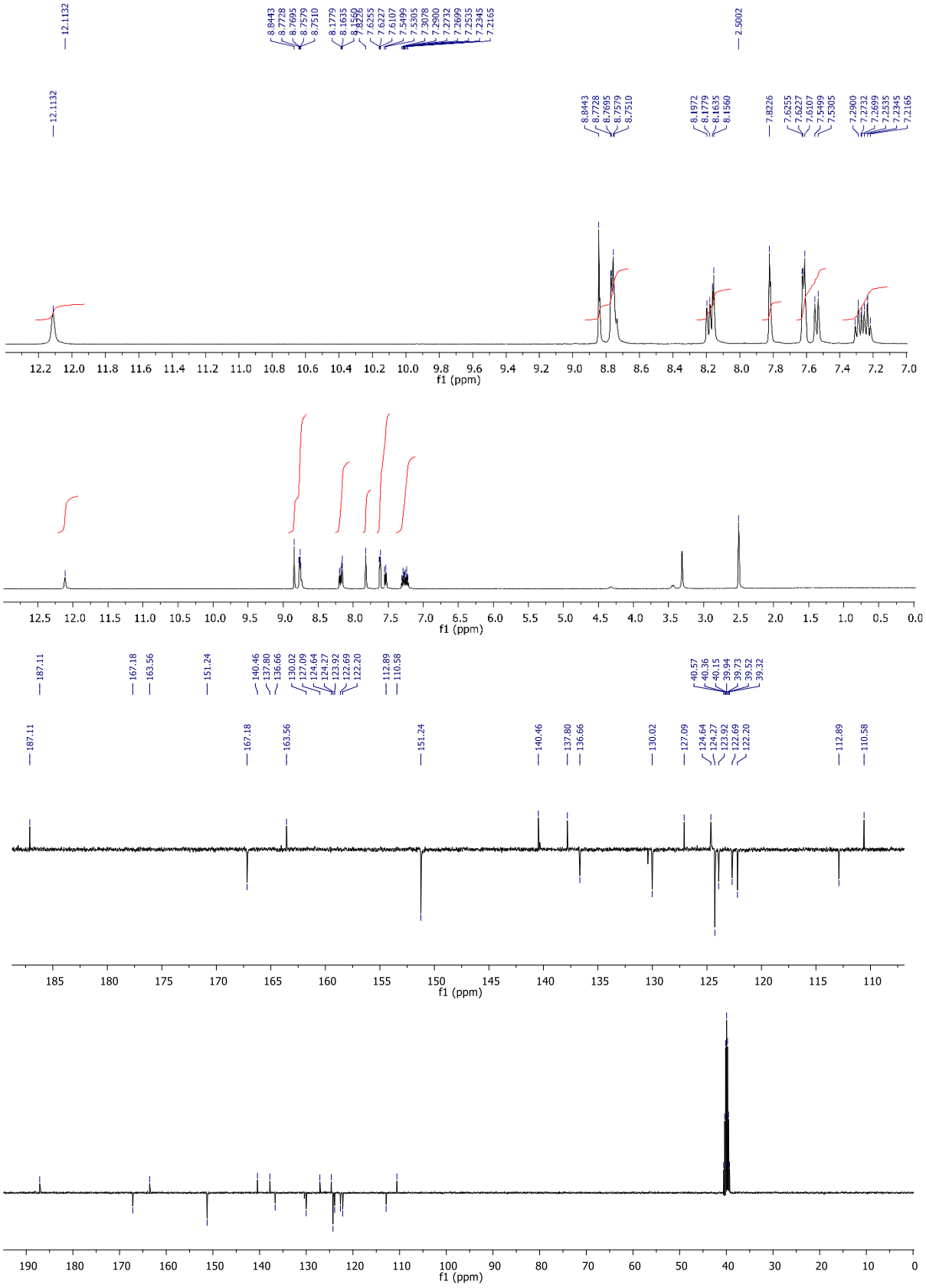
Ek A22. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8d'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



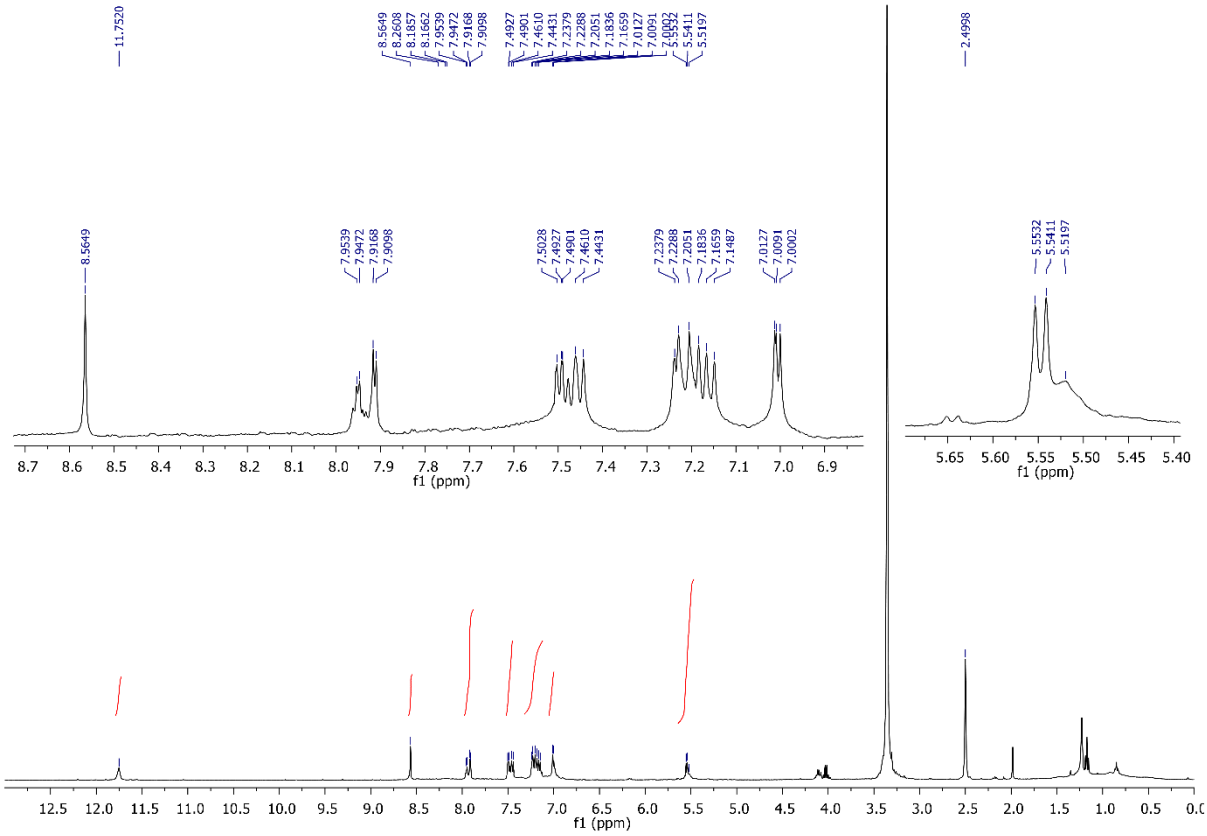
Ek A23. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8e'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).



Ek A24. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8f'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).

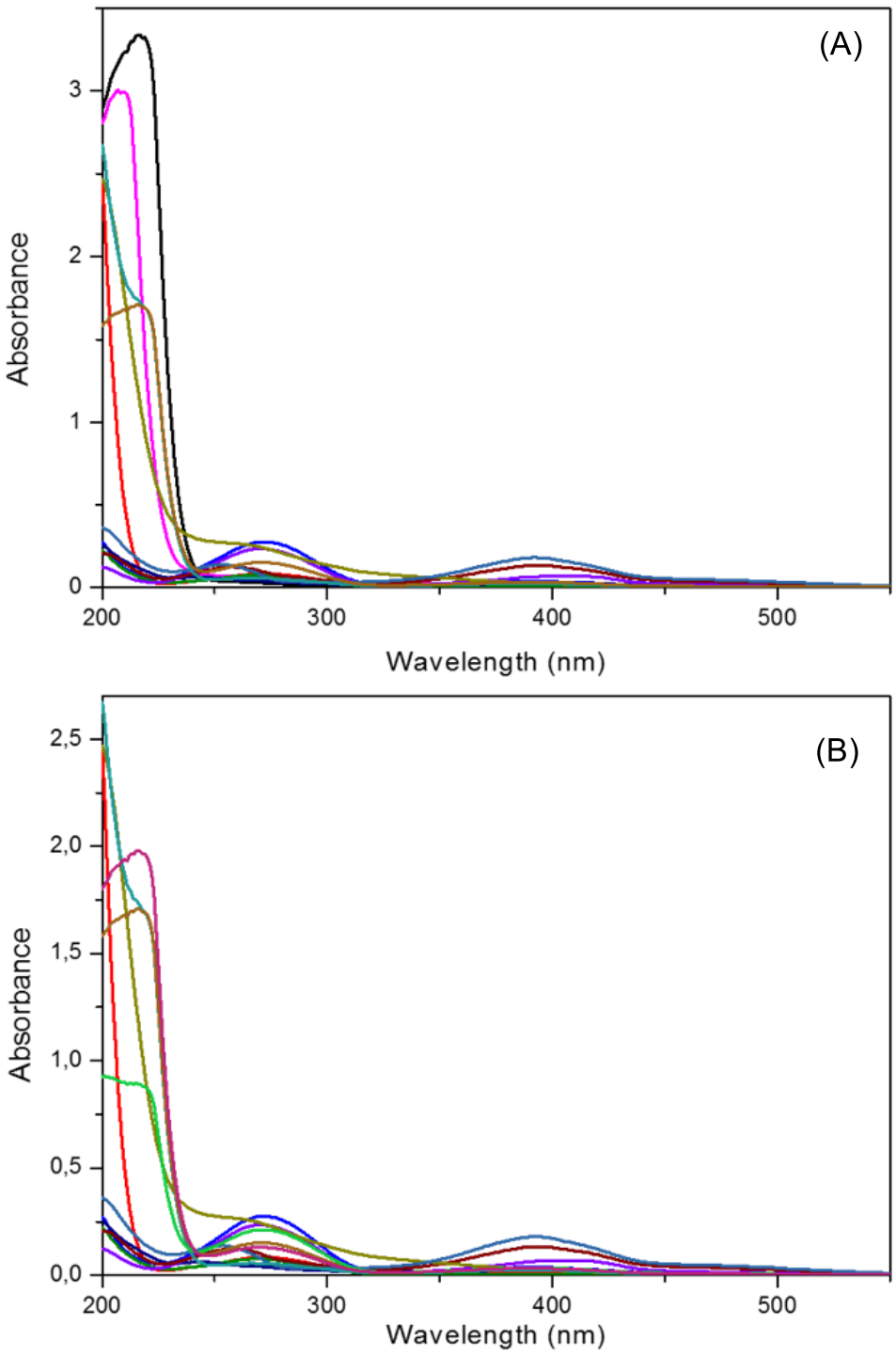


Ek A25. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8g'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).

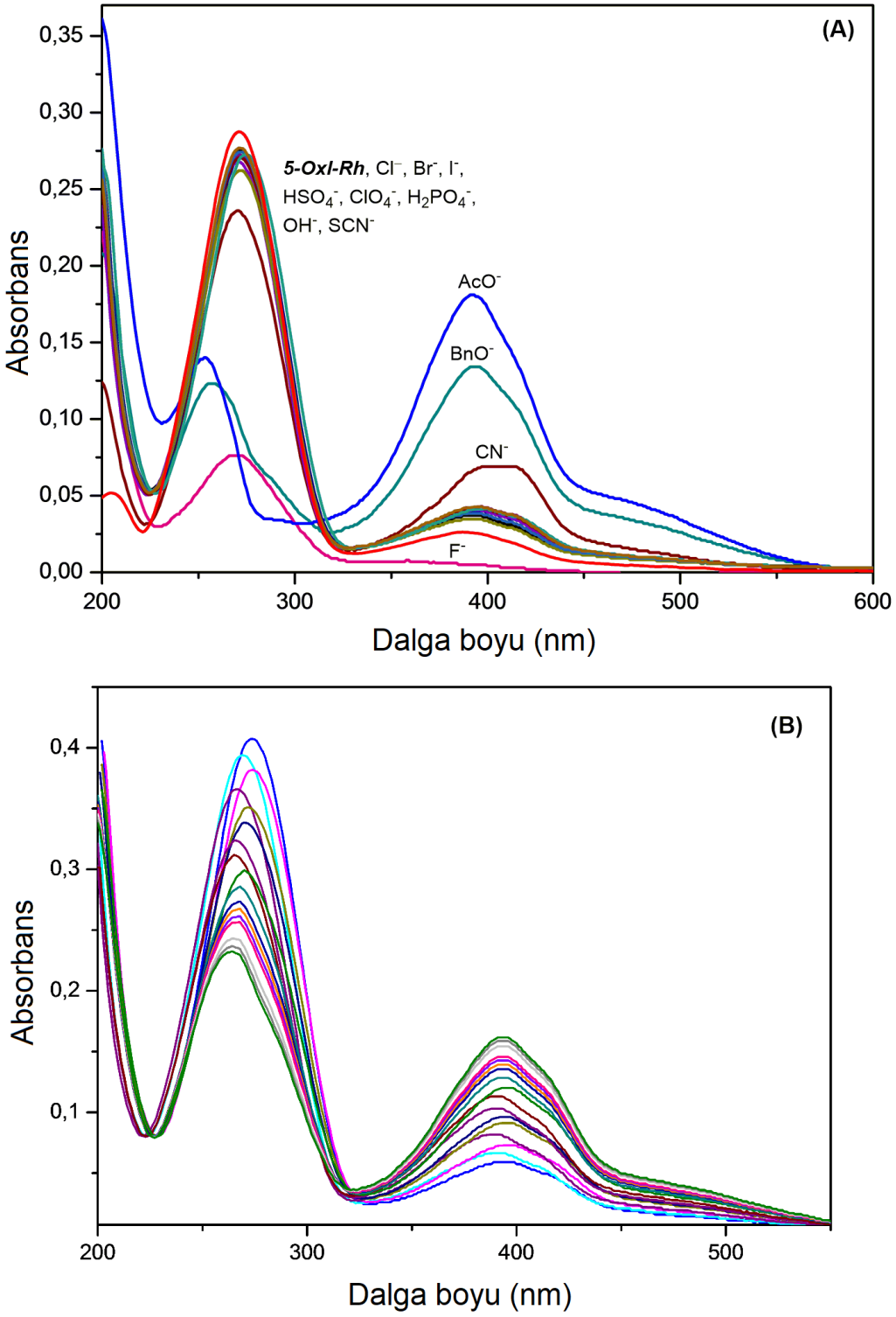


Ek A26. İndirgenmiş Rh türevi 9g'nin ^{1}H-NMR (400 MHz) ve ^{13}C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d_6).

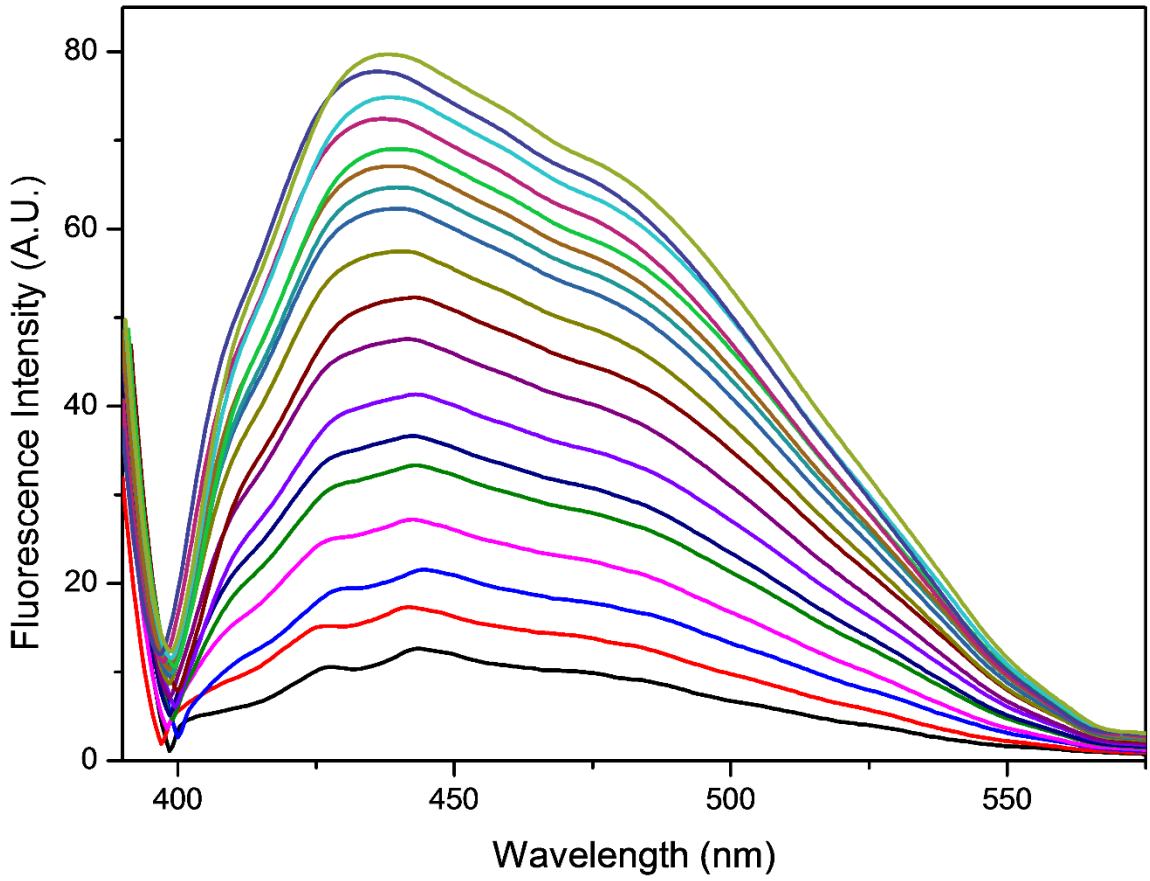
Ek B. UV-Vis ve PL Spektrumları



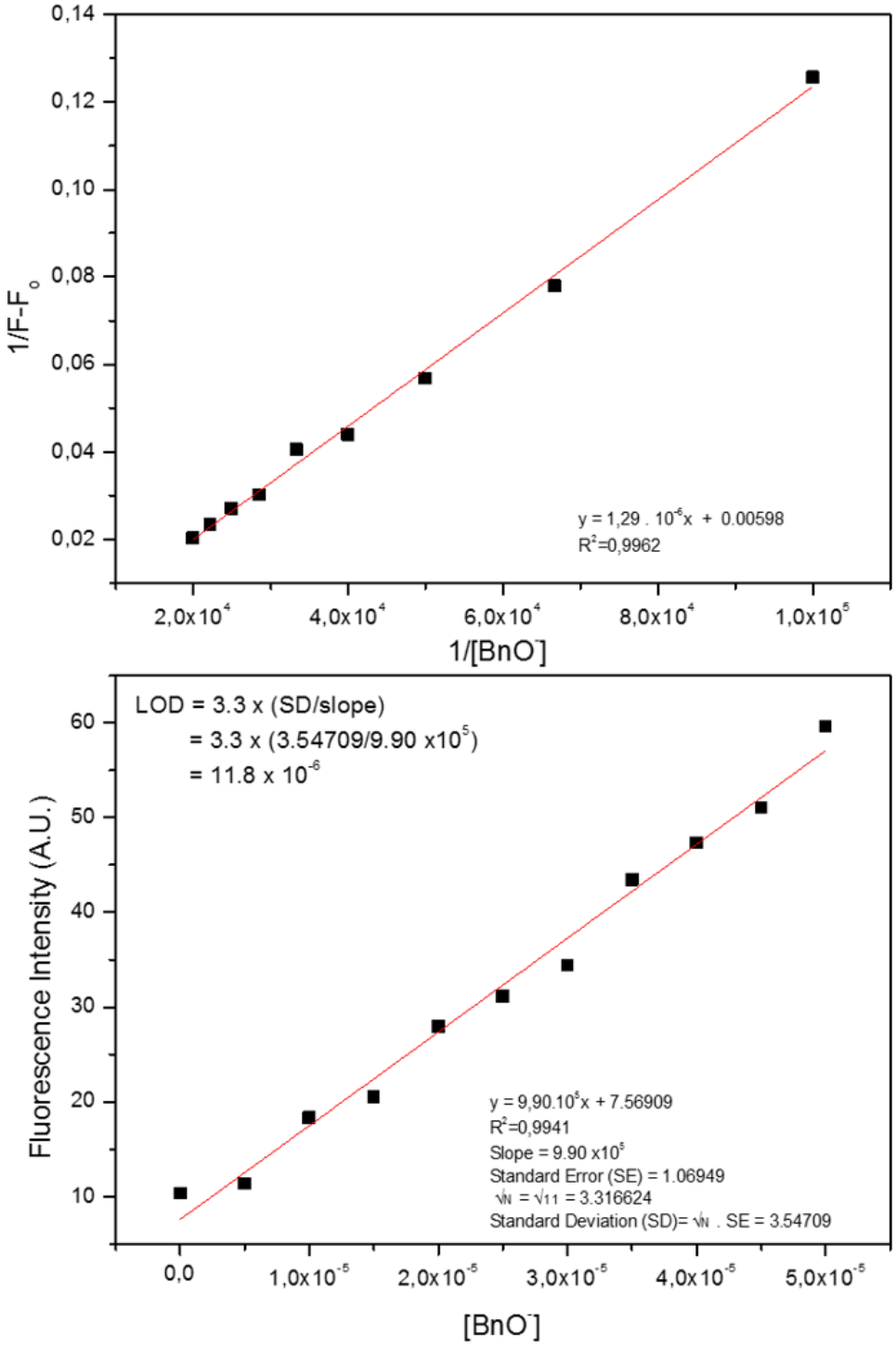
Ek B1. 3-Ar-5-OxI-Rh türevi 6a'nın (5 µM) CH_3CN (A) ve CH_3CN/HEPES, v/v: 1/1, B) içerisinde anyonlarla etkileşiminin UV-Vis spektrumları



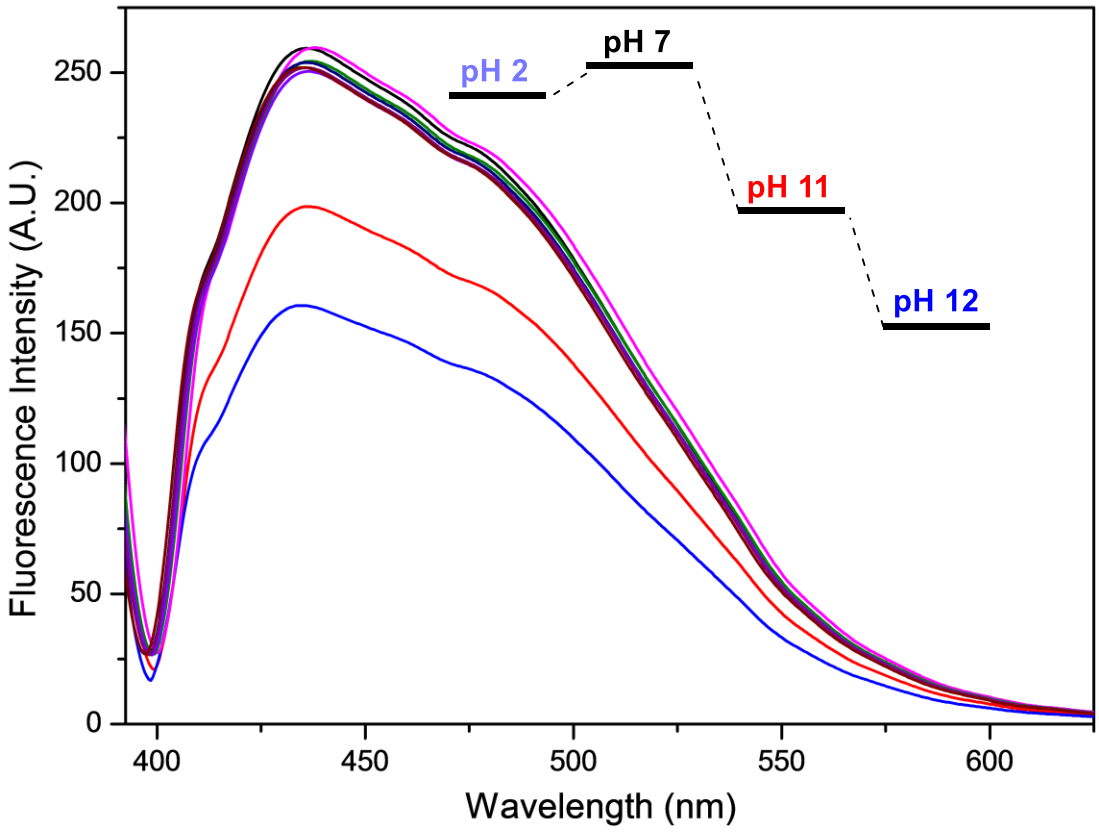
Ek B2. (A) 5-OxI-Rh (5 µM, CH_3CN) ligantının anyonlarla etkileşiminin UV-Vis spektrumu ve (B) 5-OxI-Rh (5 µM, CH_3CN/HEPES, v/v: 1/1) ligantının artan $[Bu_4N]BnO$ anyonuyla etkileşiminin UV-Vis titrasyon spektrumu



Ek B3. 5-OxI-Rh ligantının (5 µM, CH_3CN/HEPES, v/v: 1/1) artan $[Bu_4N]BnO$ anyonuyla etkileşiminin PL titrasyon spektrumu

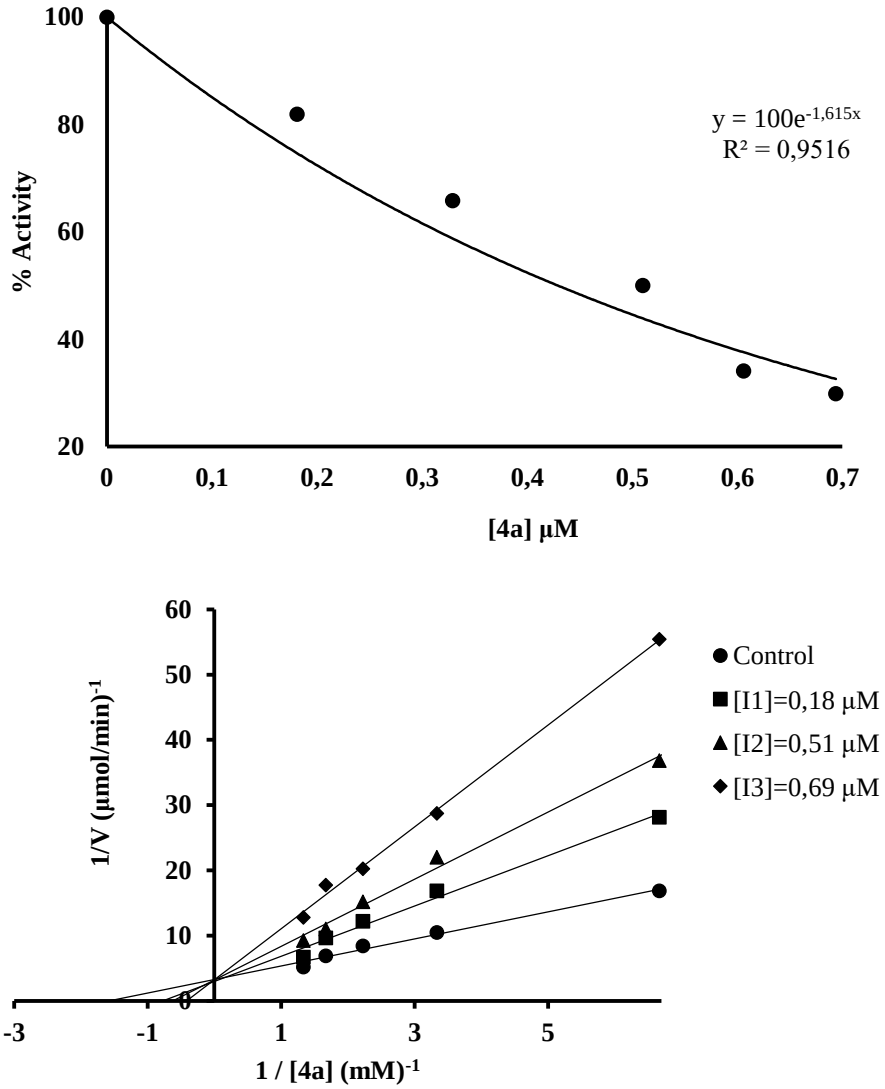


Ek B4. 5-OxI-Rh ve BnO^{-} arasındaki 1:1 ilişki stokiyometrisine ve artan BnO^{-} konsantrasyonu (λexc=386 nm) ile 5-OxI-Rh'nin değişim floresan yoğunluğuna dayanan Benesi-Hildebrand grafiği

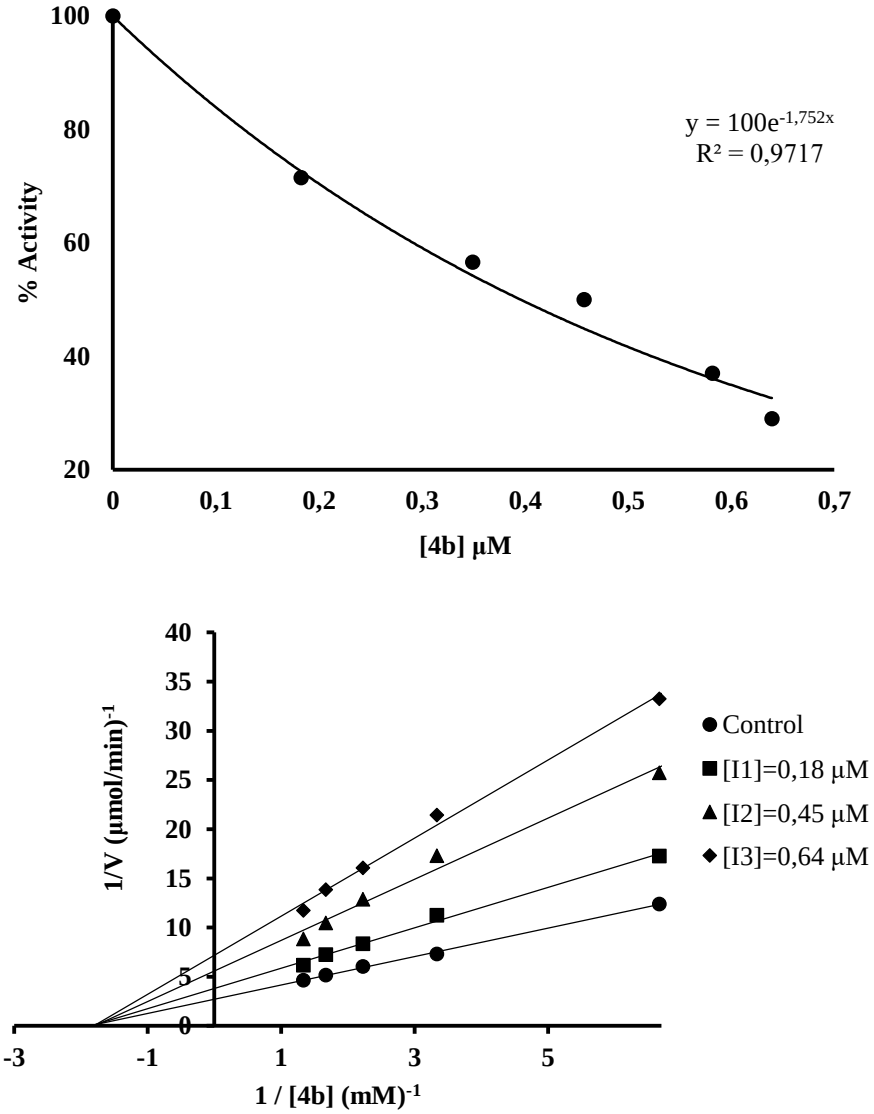


Ek B5. 5-OxI-Rh (5 µM) + [[Bu_4N]AcO] (30 µM)'nin farklı pH'da (2–12) floresan spektrumları

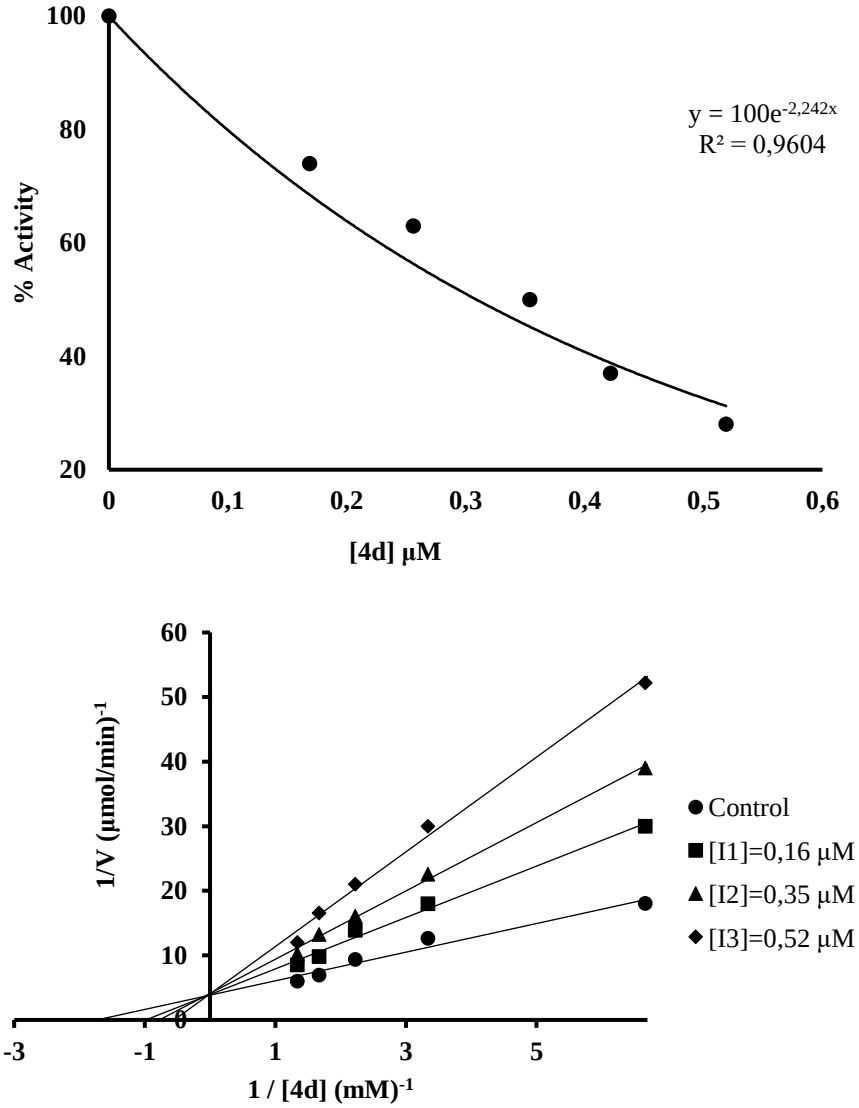
Ek C. IC_{50} ve Lineweaver-Burk grafikleri



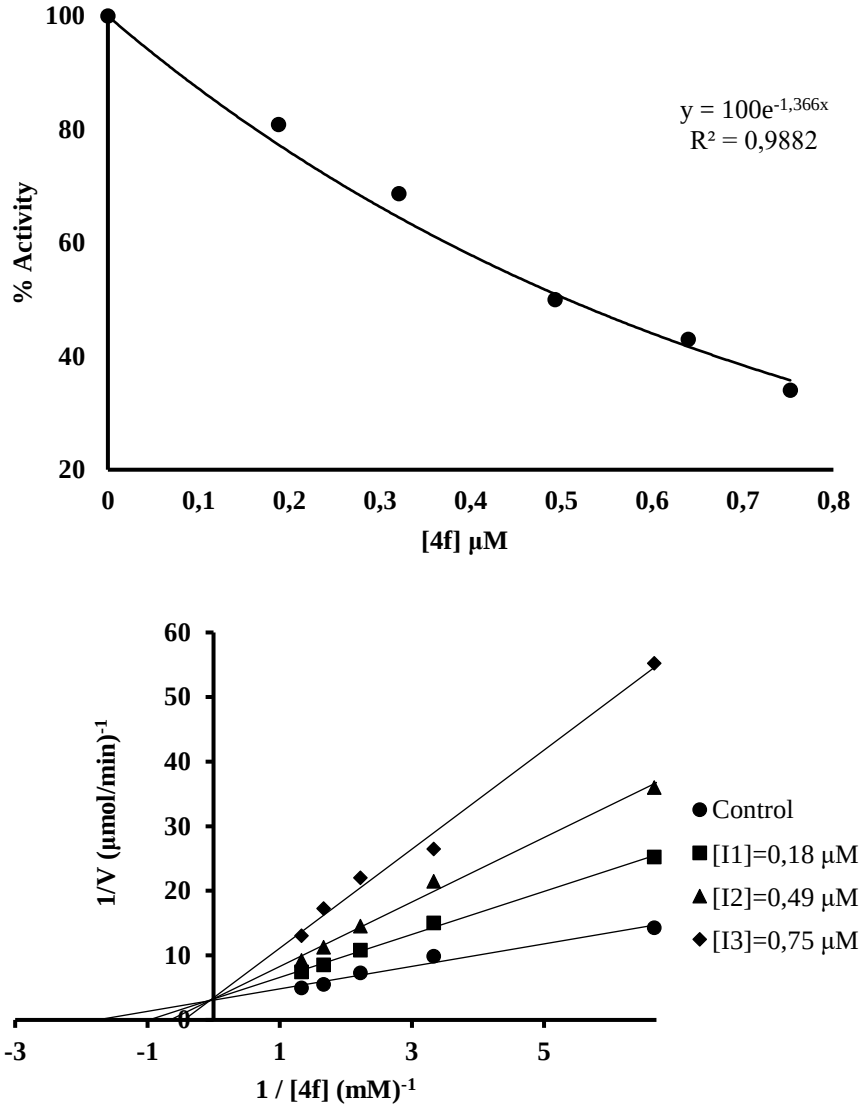
Ek C1. 3-Ar-5-Thio-Rh 7a'nın in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA I)



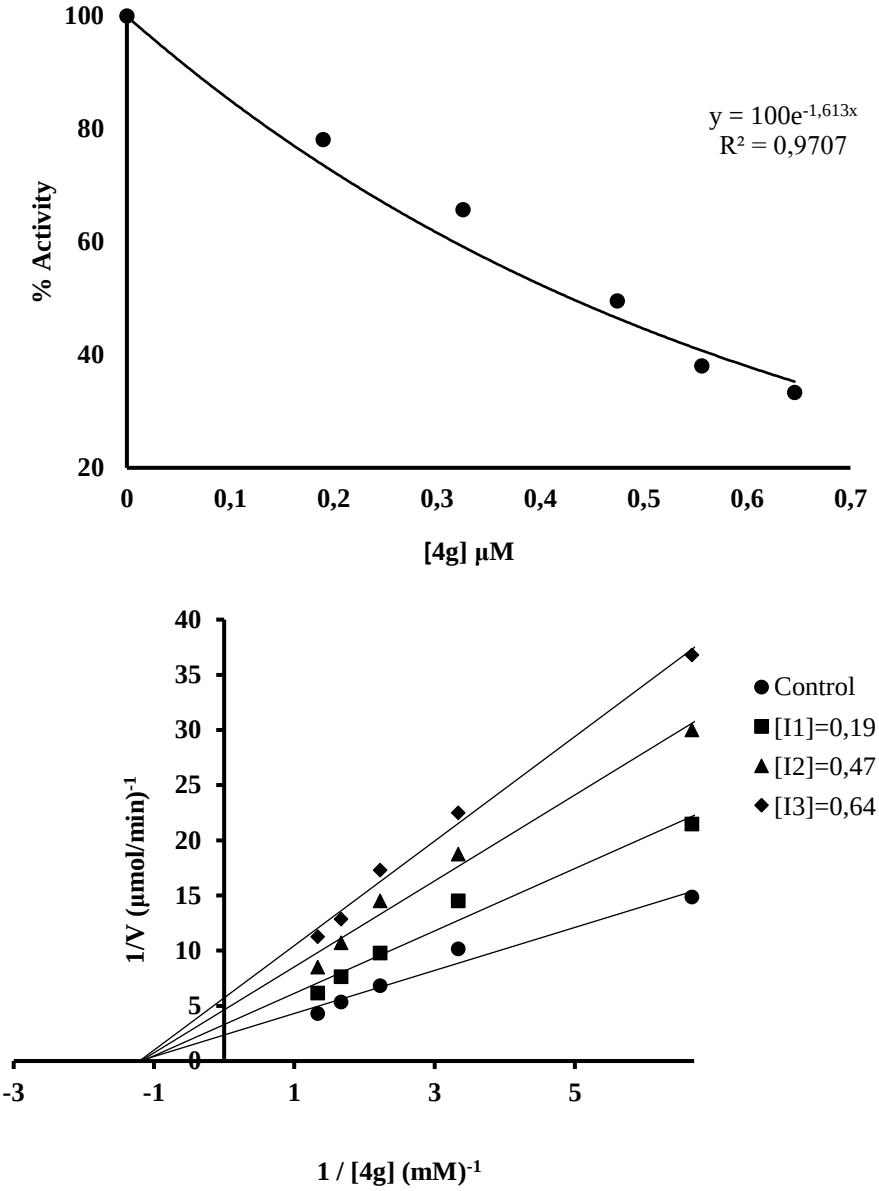
Ek C2. 3-Ar-5-Thio-Rh 7b'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA I)



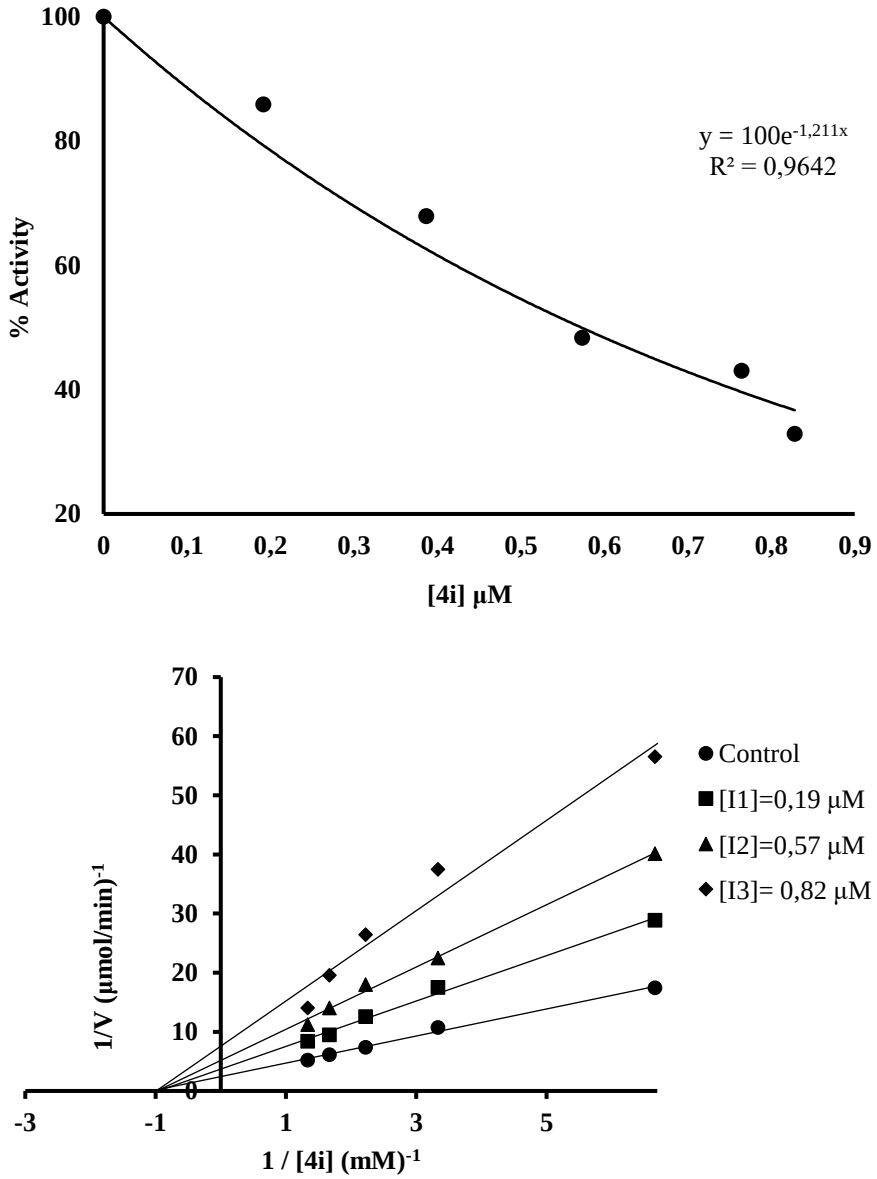
Ek C3. 3-Ar-5-Thio-Rh 7d'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA I)



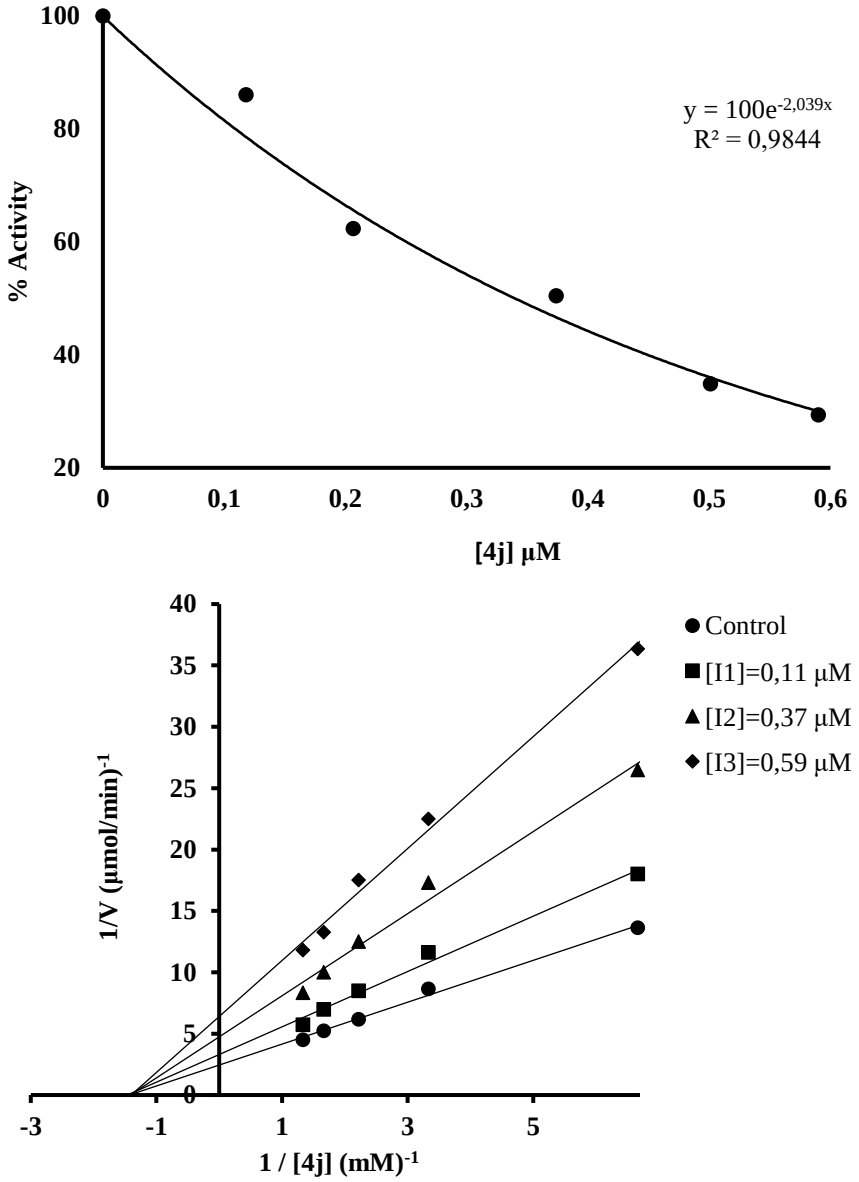
Ek C4. 3-Ar-5-Thio-Rh 7f'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA I)



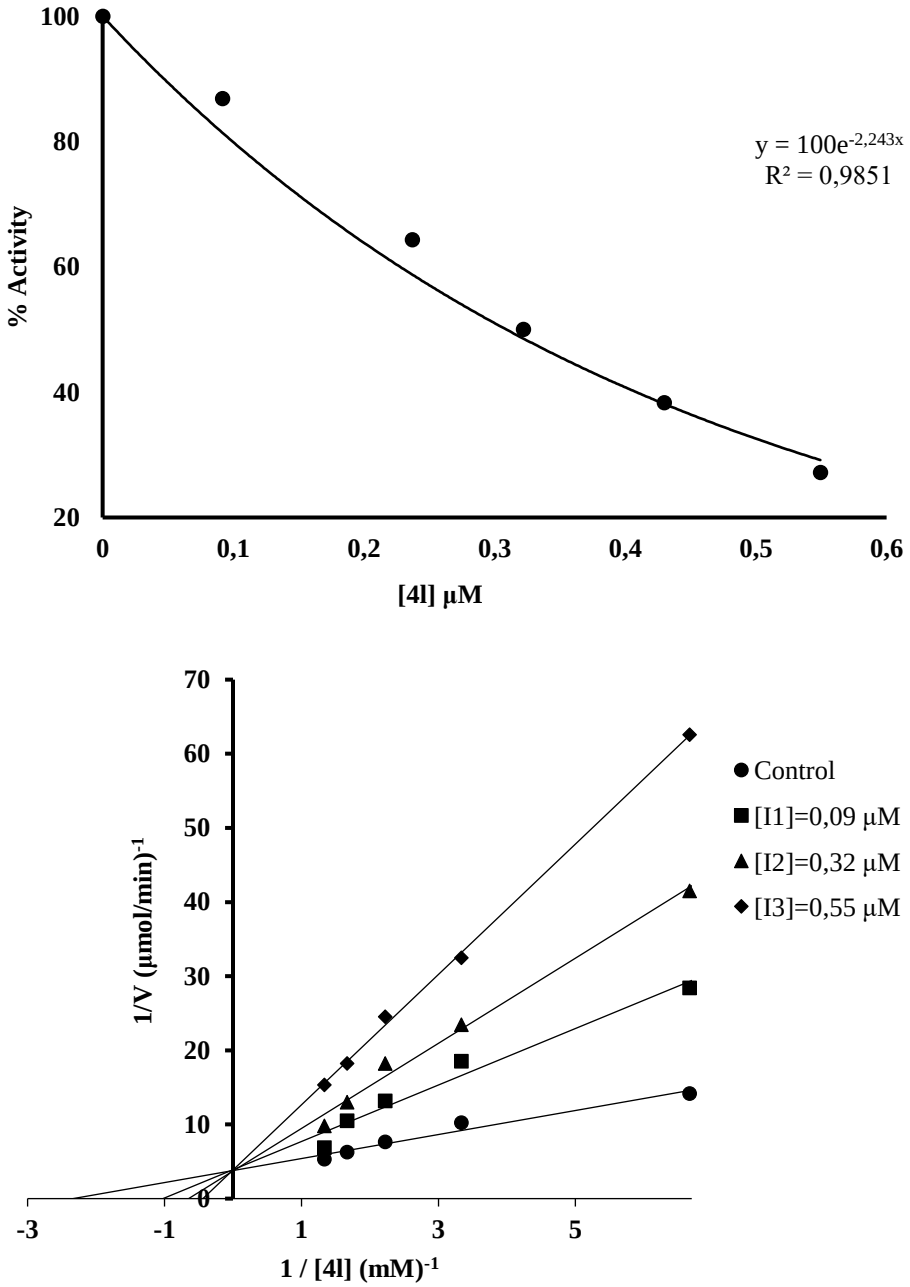
Ek C5. 3-Ar-5-Thio-Rh 7g'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA I)



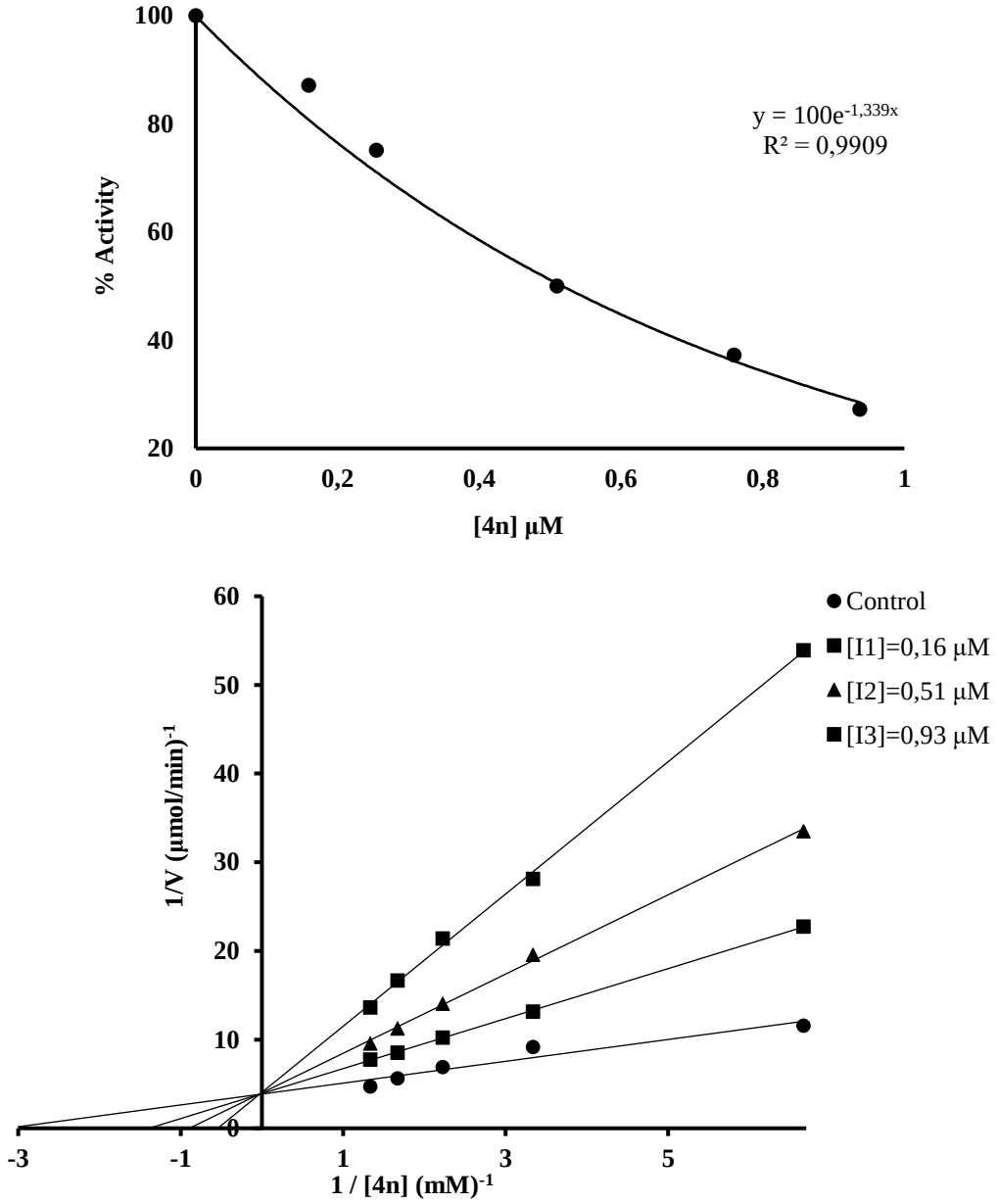
Ek C6. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8a'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA I)



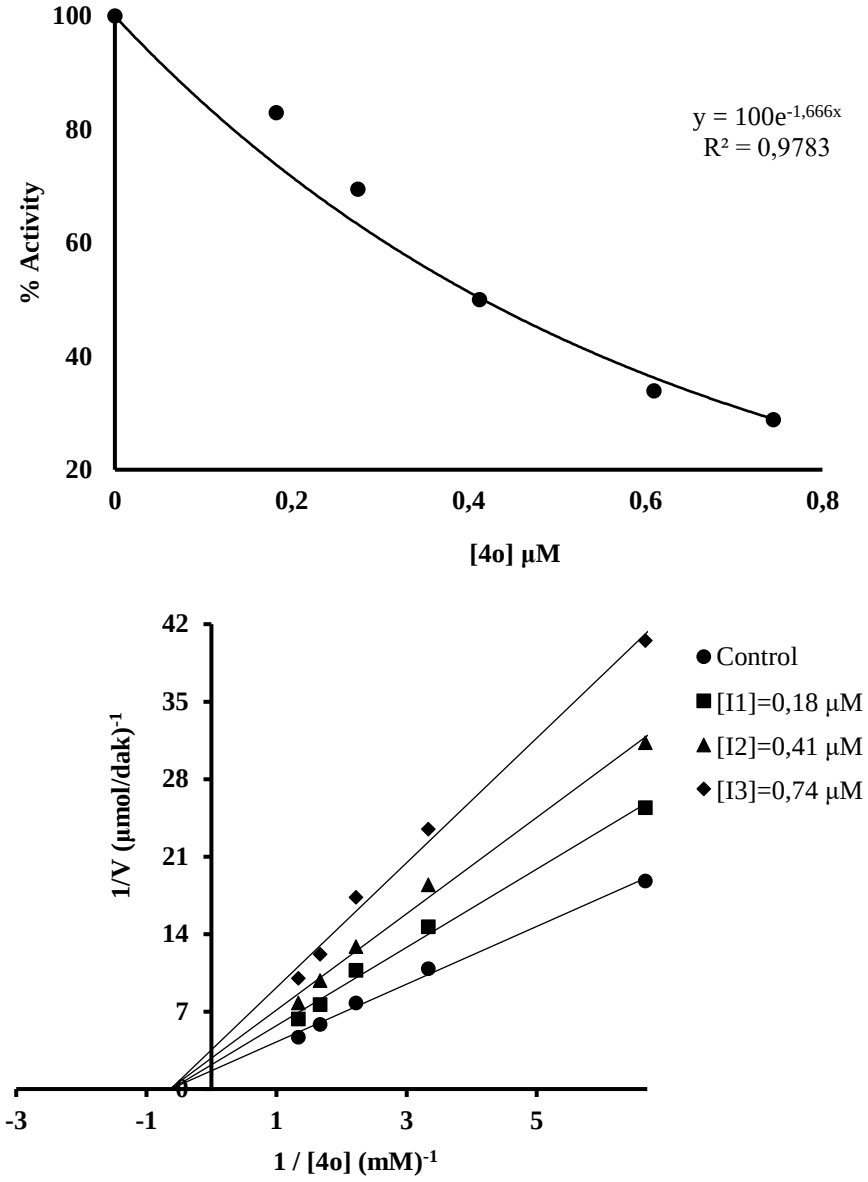
Ek C7. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8b'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA I)



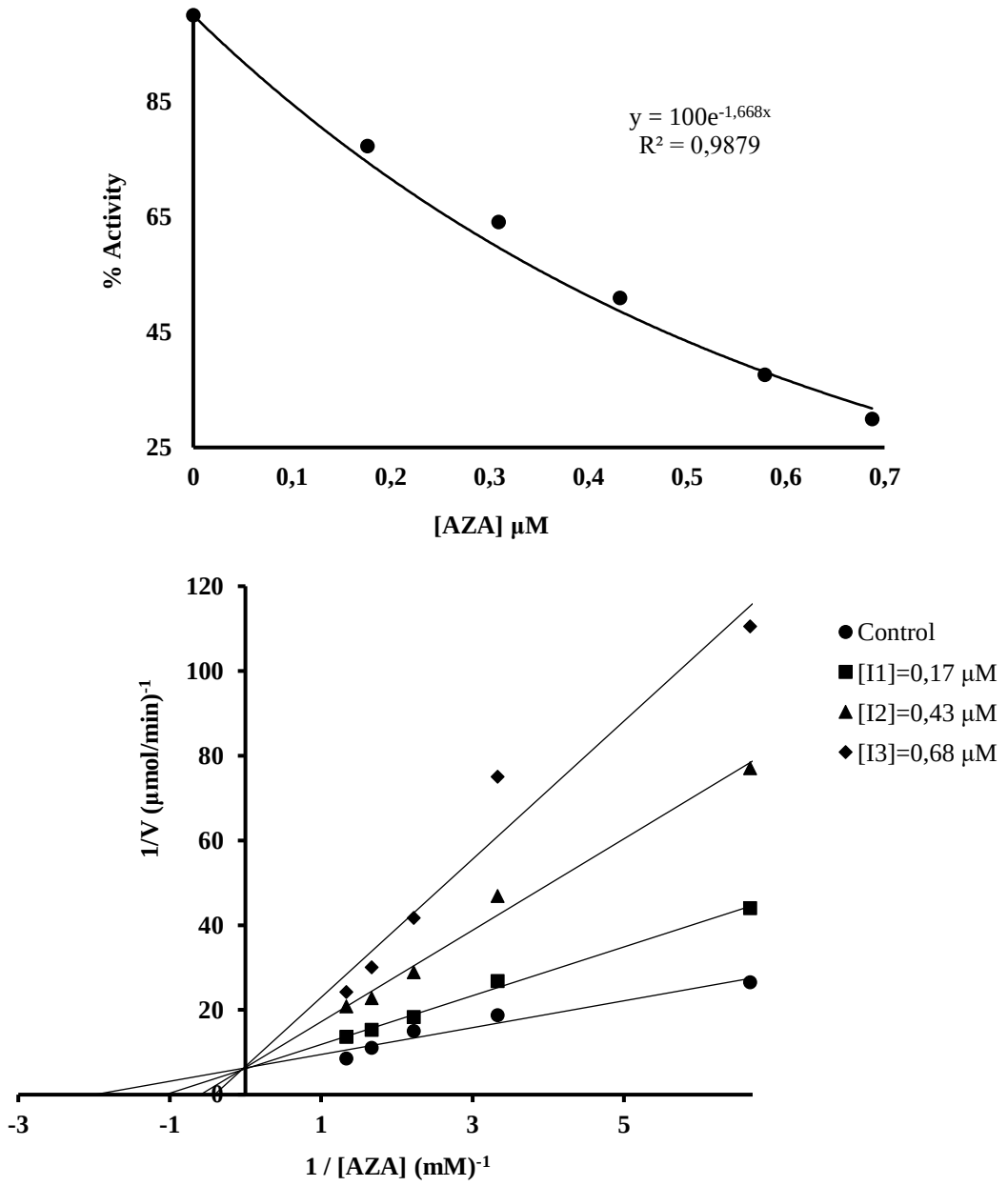
Ek C8. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8d'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (*h*CA I)



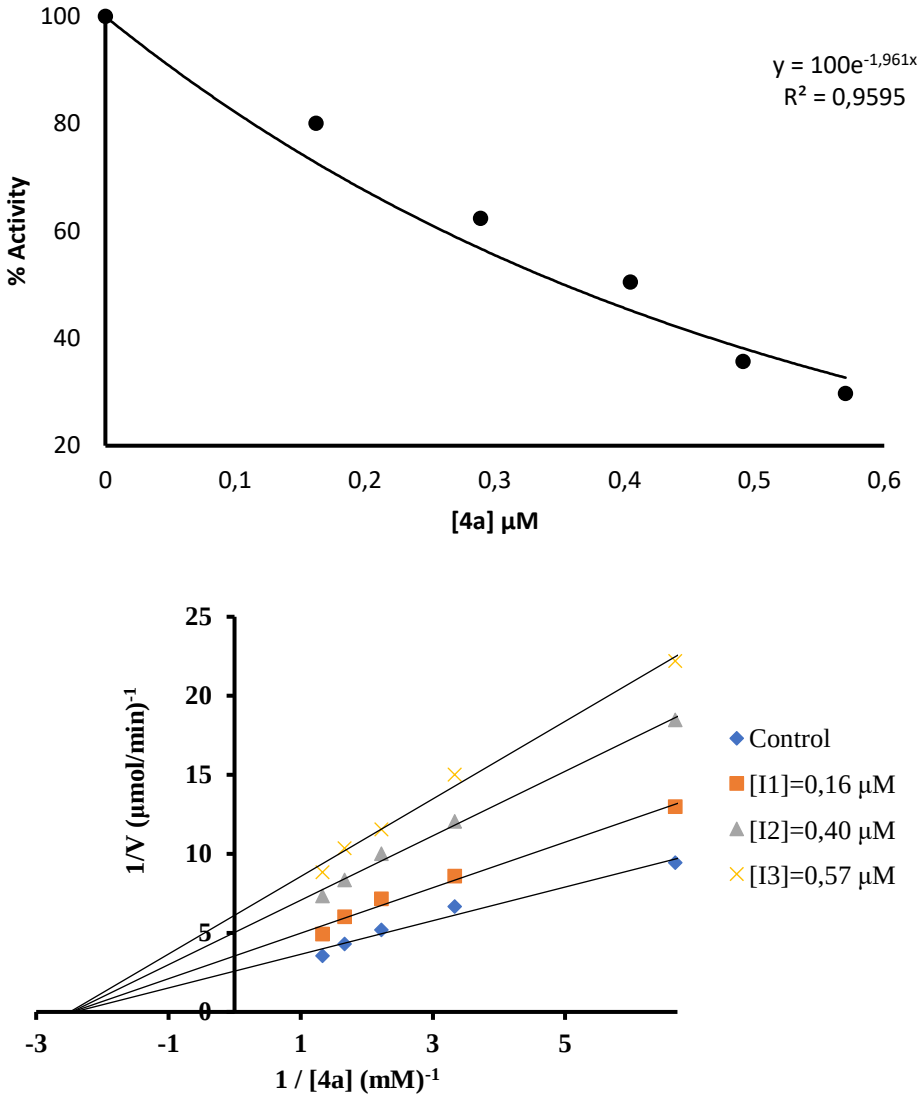
Ek C9. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8f'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (*h*CA I)



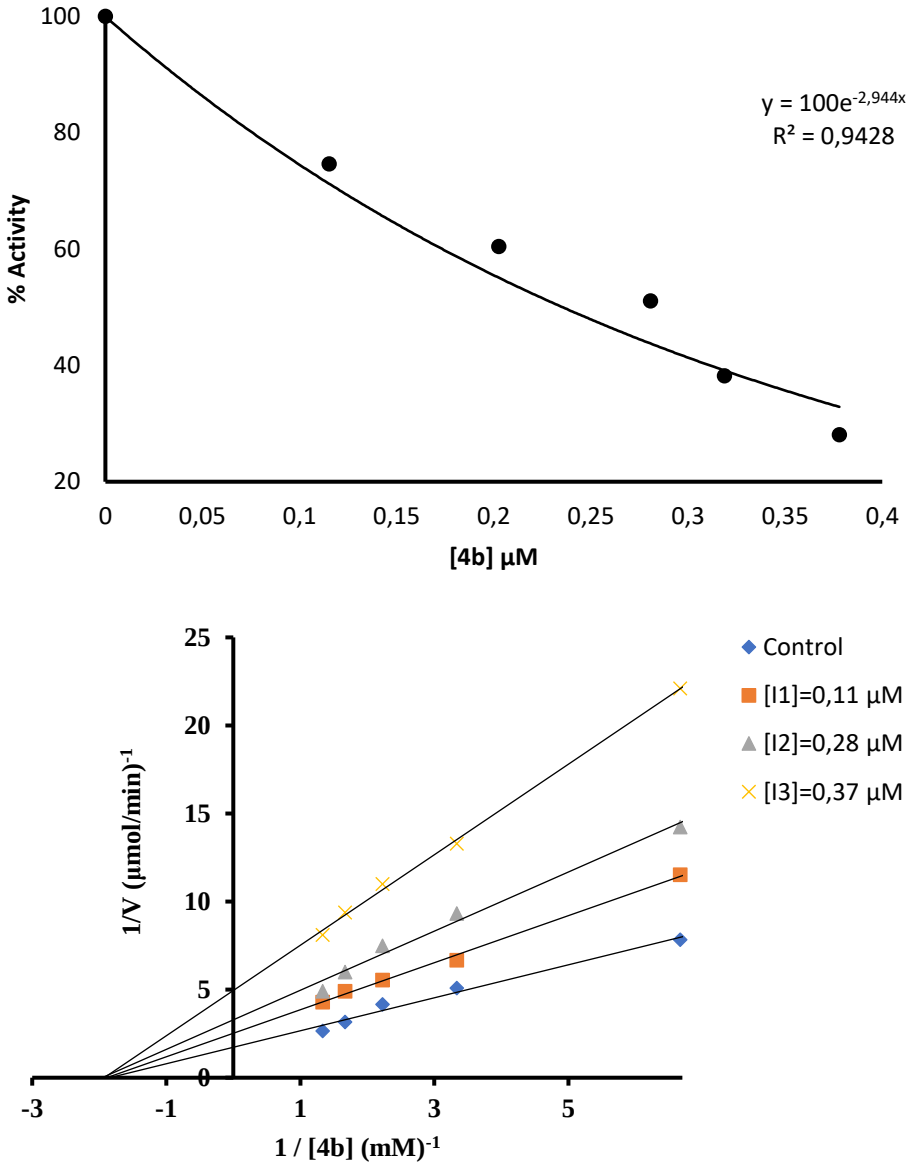
Ek C10. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8g'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA I)



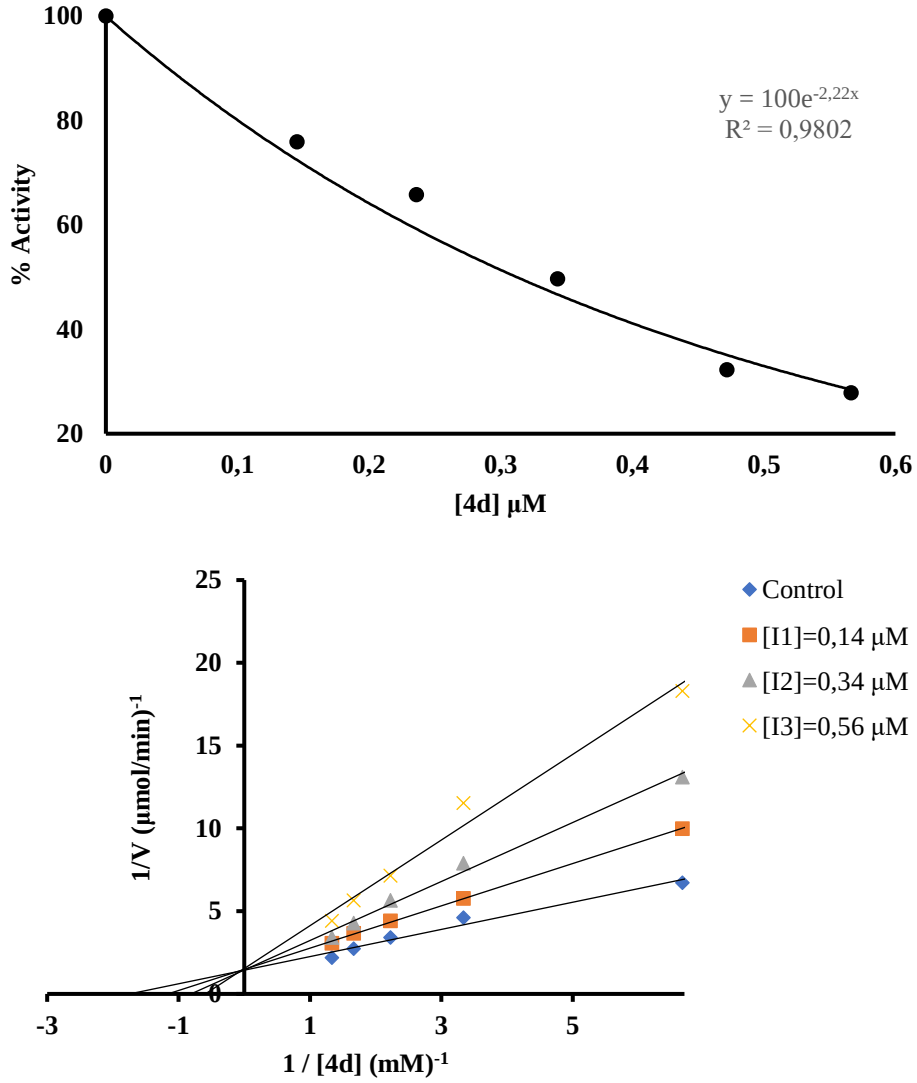
Ek C11. AZA'nın in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (*h*CA I)



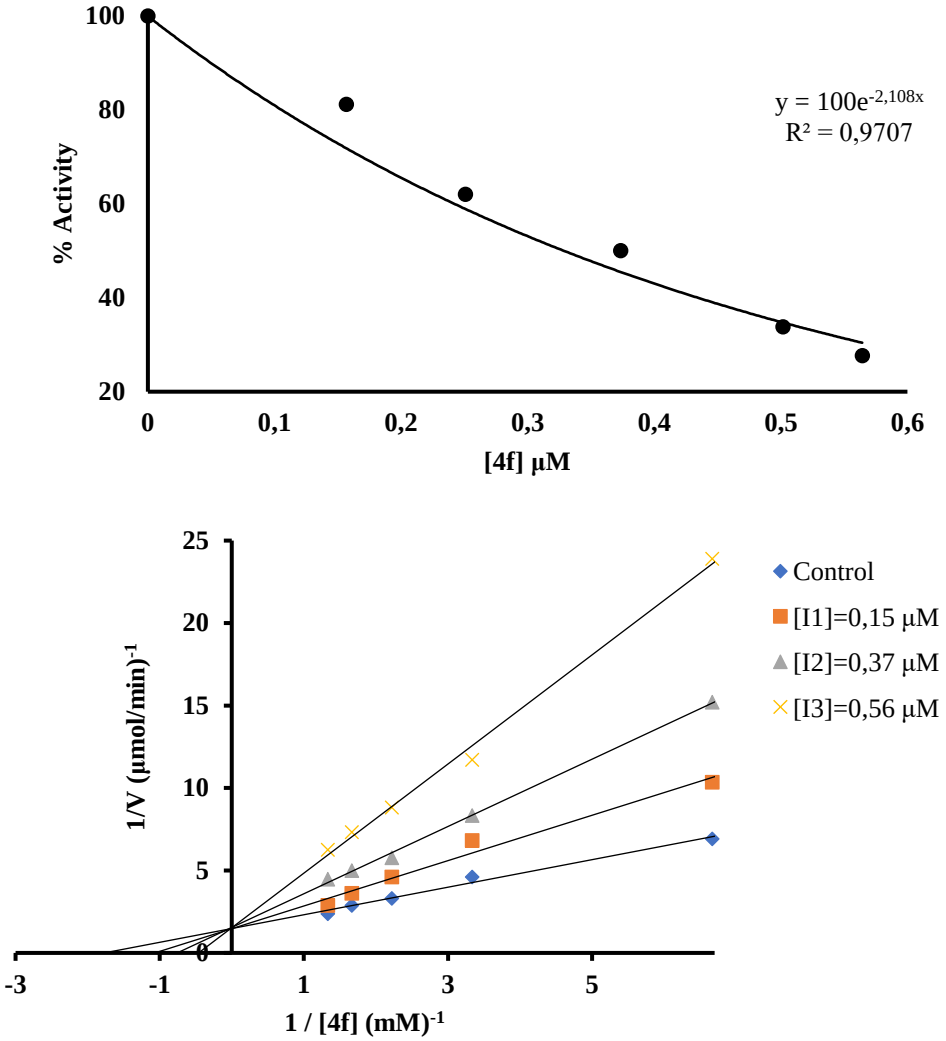
Ek C12. 3-Ar-5-Thio-Rh 7a'nın in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA II)



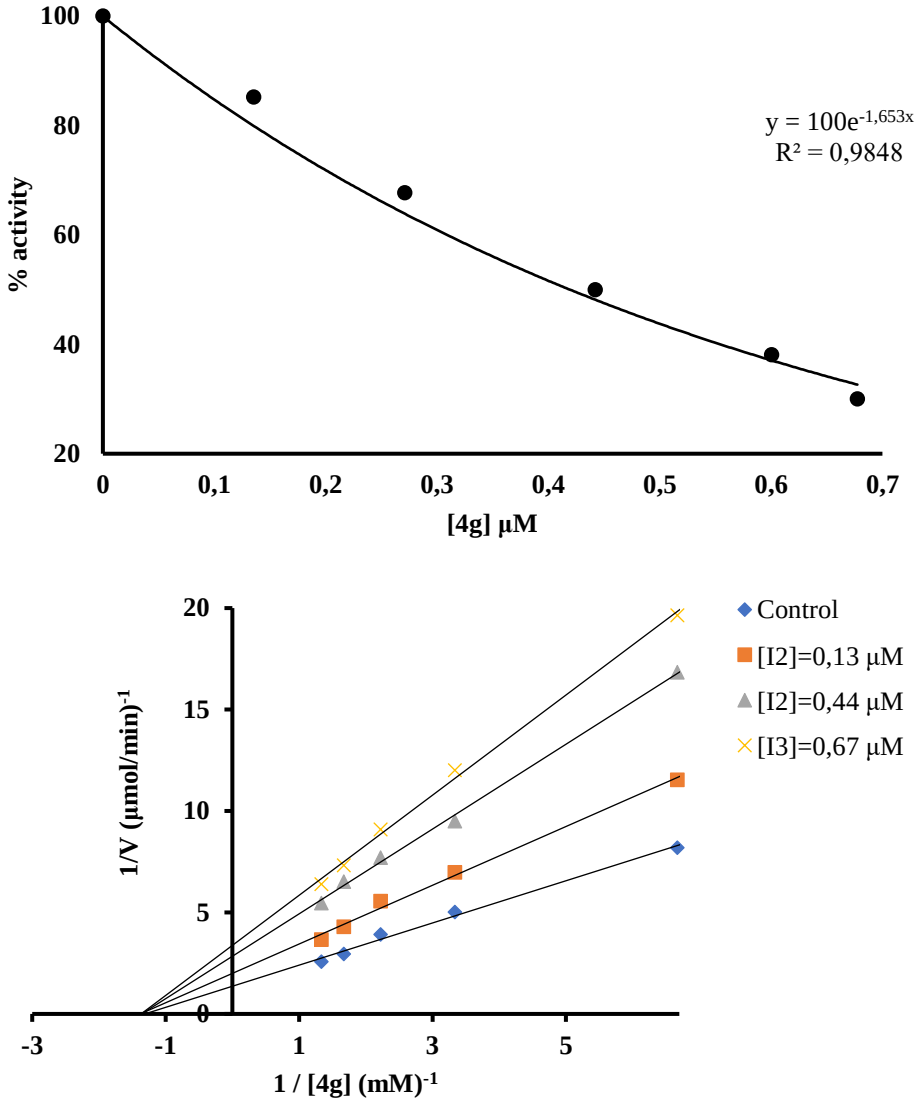
Ek C13. 3-Ar-5-Thio-Rh 7b'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (*h*CA II)



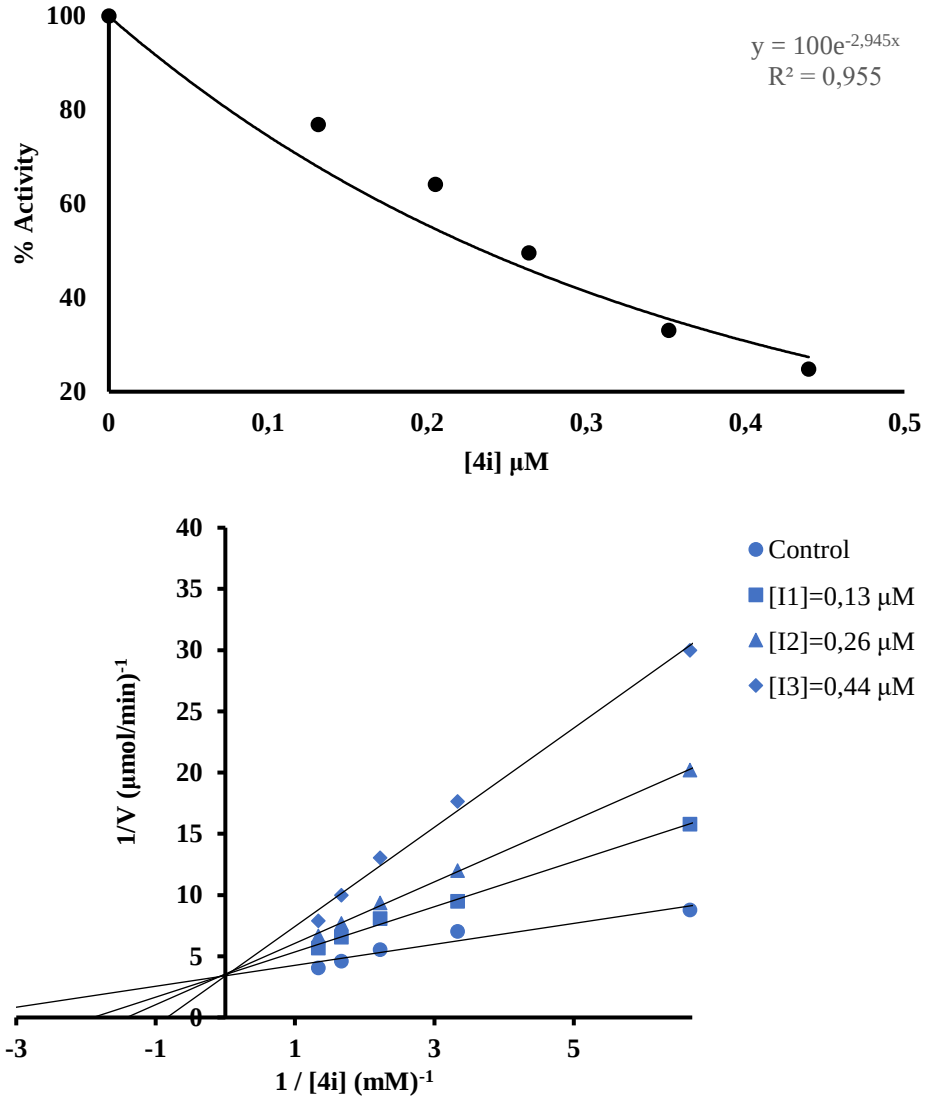
Ek C14. 3-Ar-5-Thio-Rh 7d'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA II)



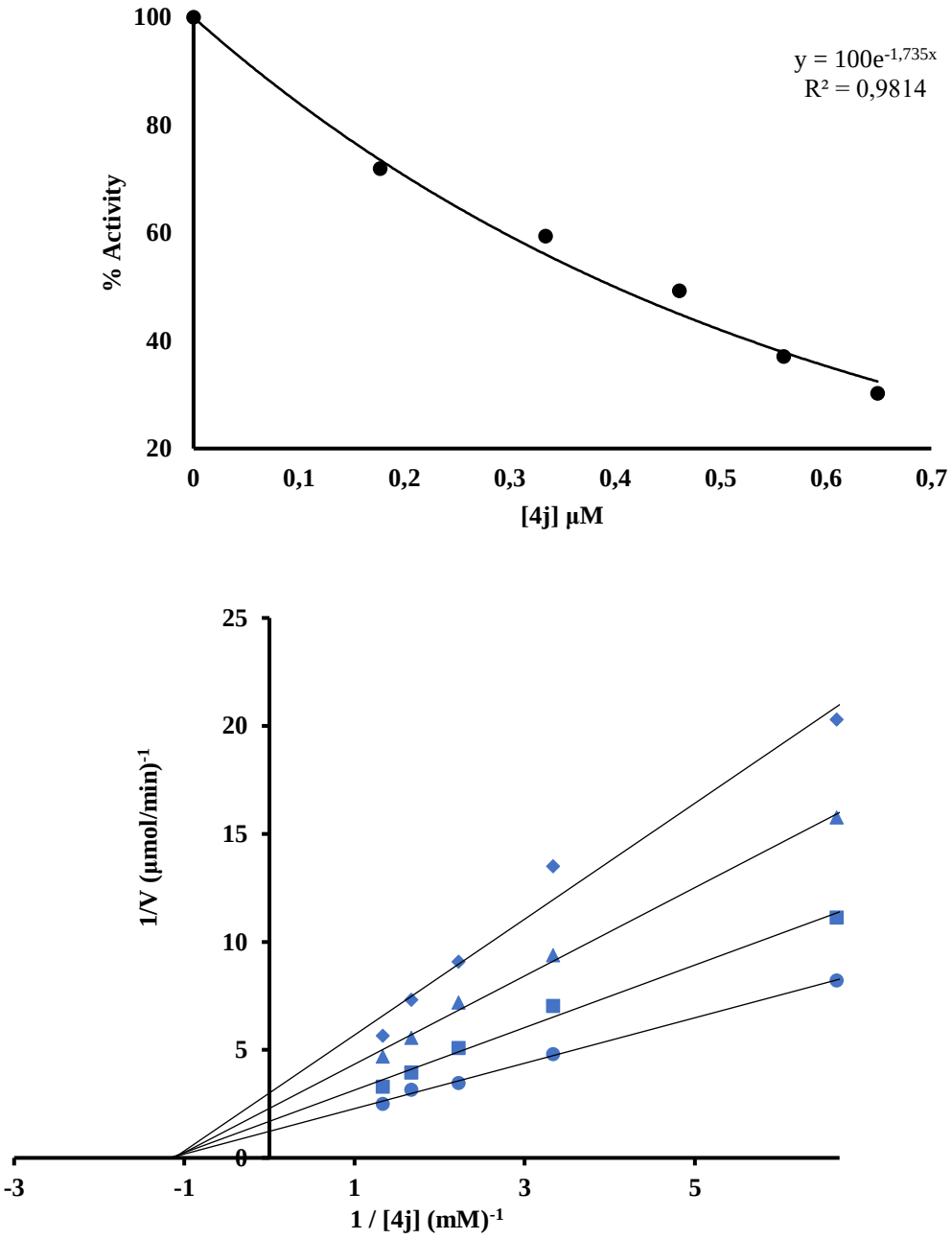
Ek C15. 3-Ar-5-Thio-Rh 7f'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA II)



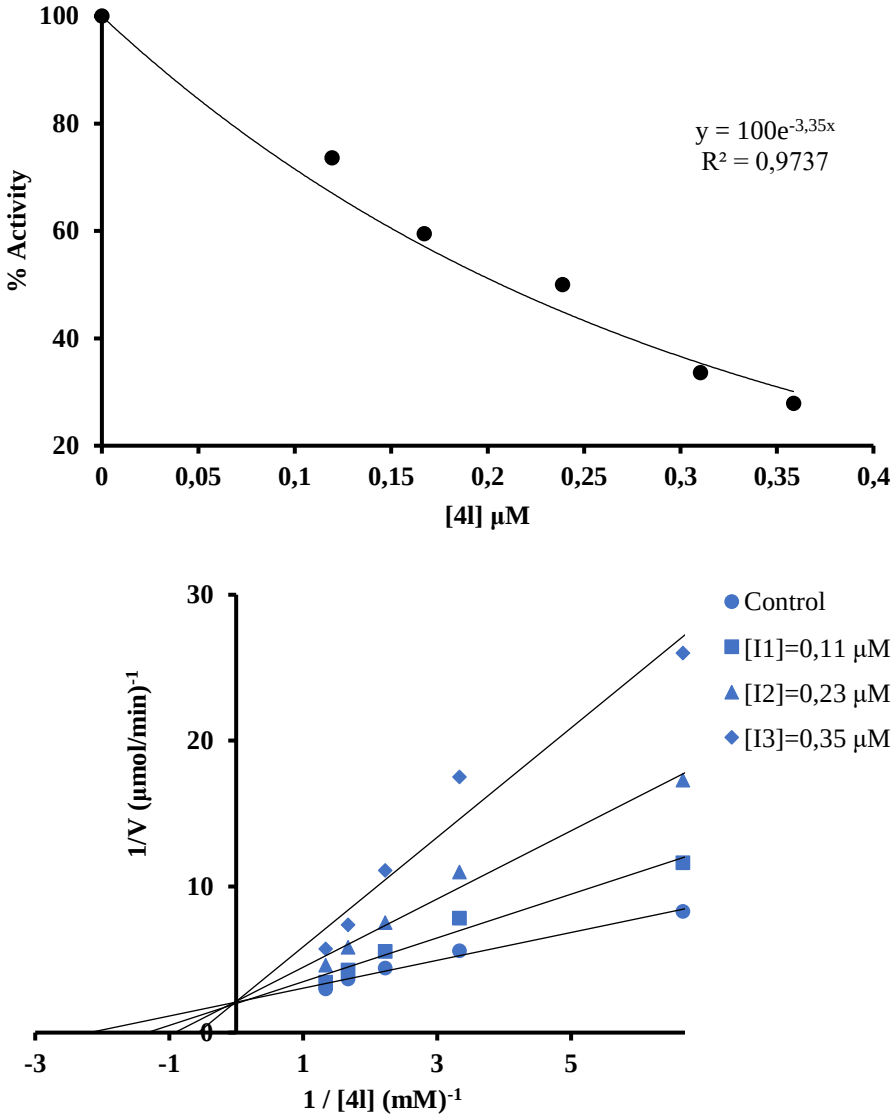
Ek C16. 3-Ar-5-Thio-Rh 7g'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA II)



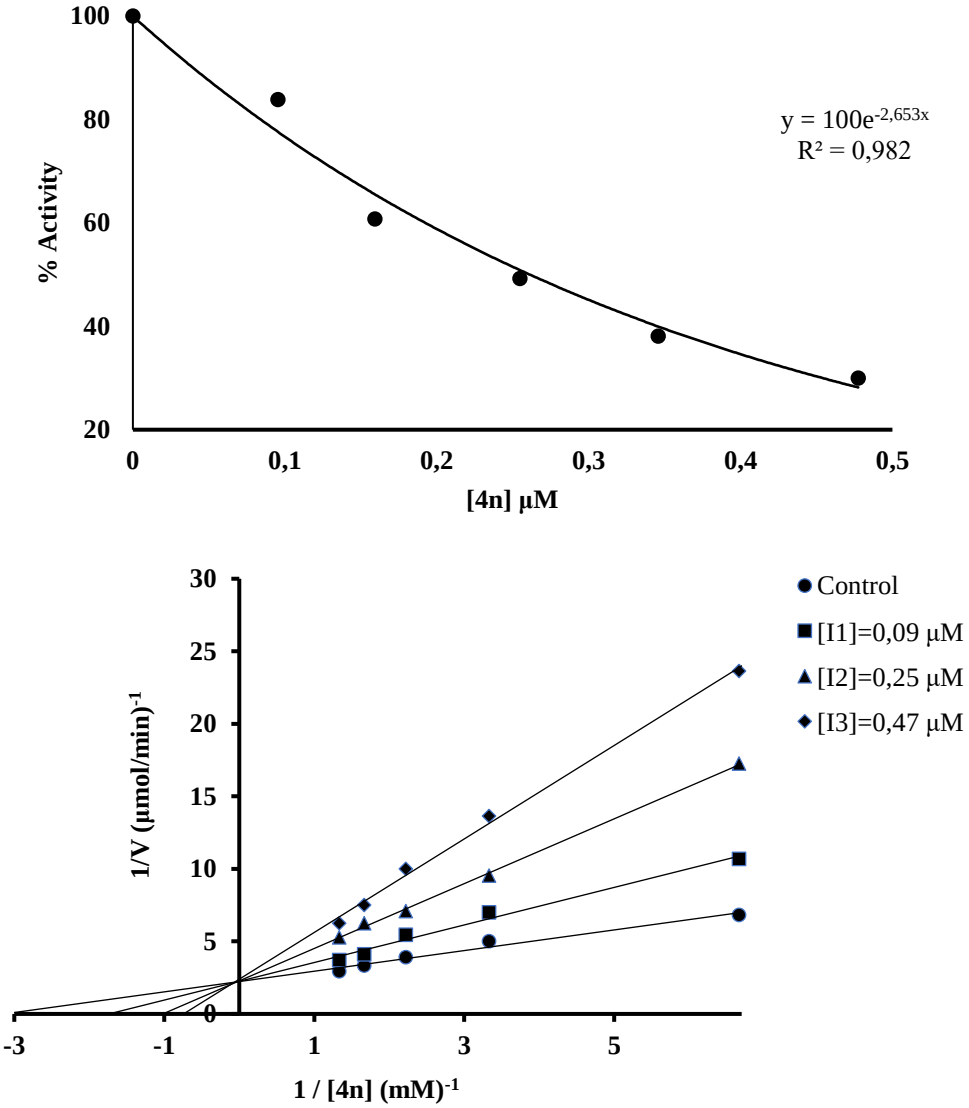
Ek C17. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8a'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA II)



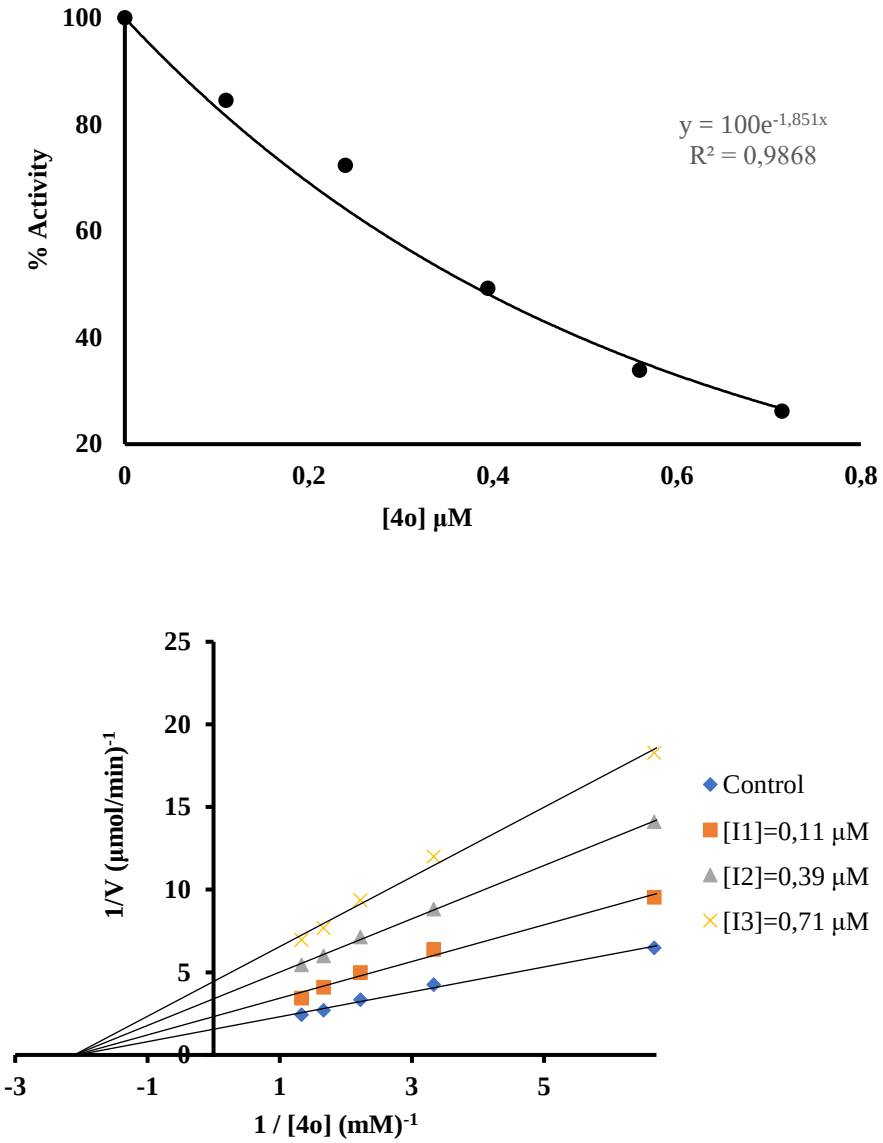
Ek C18. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8b'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA II)



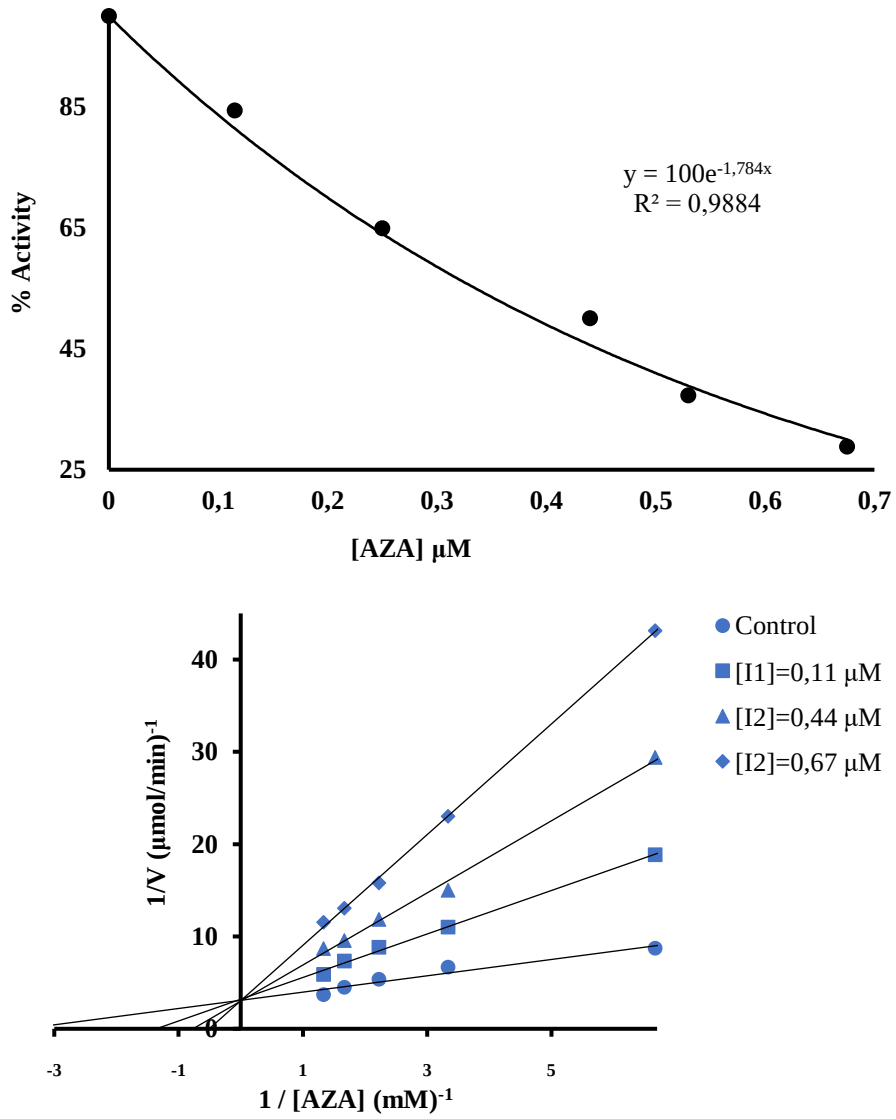
Ek C19. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8d'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA II)



Ek C20. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8f'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA II)



Ek C21. 3-Ar-5-Pyr-Rh 8g'nin in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA II)



Ek C22. AZA'nın in vitro IC_{50} ve Lineweaver–Burk grafikleri (hCA II)