YLİDENMALONONİTRİLLERİN DOMİNO KNOEVENAGEL-DİELS-ALDER REAKSİYONLARININ ARAŞTIRILMASI

Aydan ÖZDEN

T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YLİDENMALONONİTRİLLERİN DOMİNO KNOEVENAGEL-DİELS-ALDER REAKSİYONLARININ ARAŞTIRILMASI

Aydan ÖZDEN

Prof. Dr. Necdet COŞKUN

(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

BURSA-2014

TEZ ONAYI

Aydan ÖZDEN tarafından hazırlanan ''Ylidenmalononitrillerin Domino Knoevenagel-Diels-Alder Reaksiyonlarının Araştırılması'' adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Necdet COŞKUN

Başkan: Prof Dr. Necdet COŞKUN (Danışman)

Üye: Prof. Dr. Mustafa TAVASLI

Üye: Prof. Dr. Levent BÜYÜKUYSAL

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ali Osman DEMİR

Enstitü Müdürü

../../....(Tarih)

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

../../....

İmza

Aydan ÖZDEN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YLİDENMALONONİTRİLLERİN DOMİNO KNOEVENAGEL-DİELS-ALDER REAKSİYONLARININ ARAŞTIRILMASI

Aydan ÖZDEN

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Necdet COŞKUN

Karbonil bileşiklerinin malononitril ile $MeOH/H_2O$ sisteminde, oda sıcaklığında pirolidin katalizli domino reaksiyon ürünleri olan **3** ve **4** bileşikleri iyi verimlerle izole edilmiştir. Siklik ketonlar ile nitril grubuna metanol katılması ile oluşan **3** bileşikleri elde edilirken, asiklik keton olan aseton ile moleküliçi halkalaşma sonucu oluşan **4** bileşikleri elde edilmiştir. Metil vinil ketonun kullanılmasıyla yeni bir mekanistik yolla 10-amino-9-metoksi-2,7-dimetil-8-azatrisiklo[5.2.2.$0^{2,6}$]undeka-8,10-dien-1,11-dikarbonitril **8** bileşiği ele edilirken, mezitil oksite karşılık gelen bileşik 3-amino-5-hidroksi-1,8,8-trimetil-6-aza-bisiklo[2.2.2]okta-2,5-dien-2,4-dikarbonitril **7** yapısıdır. Pirolidin (%10 mol) ve karbonat kullanımını içeren basit one-pot prosedürü, yeni yapılar ve eski elde edilen yapıların daha iyi verimlerle oda koşullarında izole edilmesini sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Organokataliz; Ylidenmalononitril dimerizasyonu; Kondenzasyon; Moleküliçi Michael Katılması, xi, 69.

ABSTRACT

Msc Thesis

AN INVESTIGATION OF KNOEVENAGEL-DIELS-ALDER DOMINO REACTIONS OF YLIDENEMALONONITRILES

Aydan ÖZDEN

Uludağ University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Necdet COŞKUN

Pyrrolidine catalyzed reaction of a series of carbonyl compounds with malononitrile in $MeOH/H_2O$ system at room temperature provided domino reaction products **3** and **4** in moderate yields. Acetone was shown to undergo methanol assisted intramolecular cyclization to give compounds **4** while cyclic ketones undergo methanol addition to nitrile group to give compounds **3**. The product from the reaction of mesityl oxide is the corresponding 3-amino-5-hidroxy-1,8,8-trimethyl-6-aza-bicyclo[2.2.2]octa-2,5-diene-2,4-dicarbonitrile **7** while the use of methyl vinyl ketone opened a new way in the construction of 10-amino-9-methoxy-2,7-dimethyl-8-azatricyclo[5.2.2.$0^{2,6}$]undeca-8,10-diene-1,11-dicarbonitrile **8** under the above reaction conditions. A simple one-pot procedure involving the use of pyrrolidine (10 mol%) and carbonate ion at room temperature provided better yields for the above and some more new structures.

Keywords: Organocatalysis; Ylidenemalononitrile dimerization; Condensation; Intramolecular Michael Addition, xi, 69.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez danışmanlığımı üstlenen ve bana her konuda destek olan değerli hocam Prof. Dr. Necdet COŞKUN'A, çalışmamın tamamlanması için gerekli tüm finansal desteği sağlayan Uludağ Üniversitesi'ne teşekkürlerimi sunuyorum.

Eğitim hayatım boyunca, tüm hedeflerimi anlayışla karşılayan, istediğim noktaya ulaşabilmem hususunda maddi ve manevi her türlü çabayı gösteren aileme tüm kalbimle teşekkürlerimi sunuyor ve bu tezi onlara ithaf ediyorum.

Aydan ÖZDEN

../../....

(Tarih)

İÇİNDEKİLER

ÖZET i

ABSTRACT ii

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii

KISALTMALAR DİZİNİ vii

ŞEKİLLER DİZİNİ viii

ÇİZELGELER DİZİNİ xi

1. GİRİŞ 1

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 4

2.1. İndan, Siklohekzan ve Spiro[4.5]dekan İskeletlerine Sahip Bazı Biyolojik Aktif Bileşikler 4

2.1.1. İndan iskeletine sahip bazı biyolojik aktif bileşikler 4

2.1.2. Siklohekzan iskeletine sahip bazı biyolojik aktif bileşikler 5

2.1.3. Spiro[4.5]dekan iskeletlerine sahip bazı biyolojik aktif bileşikler 6

2.2. Knoevenagel Reaksiyonları 8

2.2.1. Knoevenagel reaksiyonu tanımı 8

2.2.2. Knoevenagel reaksiyonu tarihçesi 9

2.2.3. Knoevenagel reaksiyonlarının reaksiyonlarda kullanılan çözücülere göre sınıflandırılması 9

2.2.4. Knoevenagel reaksiyonlarında katalizör seçimi 11

2.3. Knoevenagel-Diels-Alder Reaksiyonları 14

3. MATERYAL VE YÖNTEM 20

3.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar 20

3.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar 21

3.3. Sentezlenen Bileşikler 22

3.3.1. METHOD 1: Karbonil bileşiklerinin malononitril ile pirolidin beraberindeki reaksiyonları 22

3.3.1.1. 2-Amino-4,6,6-trimetilsiklohekza-2,4-dien-1,1,3-trikarbonitril **2a** nın sentezi.....24
3.3.1.2. 3-Amino-5-metoksi-1,8,8-trimetil-6-aza-bisiklo[2.2.2]okta-2,5-dien-2,4-dikarbonitril **4a** nın sentezi.....22
3.3.1.3. 4-Amino-6-(disiyanometil)spiro[bisiklo[4.2.0]okt[4]en-2,1'-siklobütan]-3,3,5 trikarbonitril **6** nın sentezi.....23
3.3.1.4. 6'-Amino-3',3a'-dihidrospiro[siklopentan-1,4'-inden]-5',5',7' (2'H)-trikarbonitril **2c** nin sentezi.....23
3.3.1.5. Metil 6'-amino-5',7'-disiyano-2',3',3a',5'-tetrahidrospiro [siklopentan-1,4'-inden]-5'-karbimidat **3c** nin sentezi (24 saatlik prosedür).....24
3.3.1.6. 3'-Amino-6',7',8',8a'-tetrahidro-2'H-spiro[siklohekzan-1,1 '-naftalen]-2',2',4'-trikarbonitril **2d** nın sentezi.....24
3.3.1.7. 3'-Amino-6',7',8',8a'-tetrahidro-2'H-spiro[siklohekzan-1,1'-naftalen]-2',2',4'-trikarbonitril **2d** nin sentezi (24 saatlik prosedür).....25
3.3.1.8. 3-Amino-5-hidroksi-1,8,8-trimetil-6-aza-bisiklo[2.2.2]okta -2,5-dien-2,4-dikarbonitril **7** nin sentezi.....25
3.3.1.9. 10-Amino-9-metoksi-2,7-dimetil-8-azatrisiklo[5.2.2.02,6] undeka-8,10-dien-1,11-dikarbonitril **8** in sentezi.....26
3.3.10. 2-Amino-5-etil-7-imino-6-propilbisiklo[2.2.2]okt-2-en-1,3,8,8-tetrakarbonitril **9** un sentezi.....26
3.3.2. METHOD 2: Karbonil bileşiklerinin malononitril ile pirolidin ve karbonat beraberinde verdiği reaksiyonlar.....27
3.3.2.1. 3-Amino-5-metoksi-1,8,8-trimetil-6-aza-bisiklo[2.2.2]okta -2,5-dien-2,4-dikarbonitril **4a** nın sentezi.....27
3.3.2.2. 4-Amino-6-(disiyanometil)spiro[bisiklo[4.2.0]okt[4]en-2,1'-siklobutan]-3,3,5-trikarbonitril **6** nın sentezi.....27
3.3.2.3. Metil 6'-amino-5',7'-disiyano-2',3',3a',5'-tetrahidrospiro[siklopentan -1,4'-inden]-5'-karbimidat **3c** nın sentezi.....28

3.3.2.4. Metil- 3'-amino-2',4'-disiyano-6',7',8',8a'-tetrahidro-2'H-spiro [siklohekzan-1,1'-naftalen]-2'-karbimidat **3d** nin sentezi.....28
3.3.2.5. 3-Amino-5-metoksi-1,8,8-trimetil-6-aza-bisiklo[2.2.2] okta-2,5-dien-2,4-dikarbonitril **4a** nın sentezi.....29
3.3.2.6. 10-Amino-9-metoksi-2,7-dimetil-8-azatrisiklo[5.2.2.02,6] undeka-8,10-dien-1,11-dikarbonitril **8** in sentezi.....29
3.3.2.7. ((1R,4S,7S,8R)-5-amonyo-4,6-disiyano-7-etil-8-propil -2-azabisiklo[2.2.2] okta-2,5-dien-3-il)disiyanomethanid **10** un sentezi.....29
3.3.2.8. 4-Amino-2-metoksi-6-metilpiridin-3,5-dikarbonitril **11a** nın sentezi.....30
3.3.2.9. 4-Amino-2-hidroksi-6-metilpiridin-3,5-dikarbonitril **11b** nin Sentezi.....30
3.4. Sitotoksisite Çalışmaları.....31
4.BULGULAR.....33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....37
5.1. METHOD 1: Karbonil Bileşiklerinin Malononitril ile Pirolidin Beraberindeki Reaksiyonları.....37
5.2. METHOD 2: Karbonil Bileşiklerinin Malononitril ile Pirolidin ve Karbonat Beraberindeki Reaksiyonları.....42
5.3. Sitotoksisite.....45
KAYNAKLAR.....47
EKLER
EK AÇIKLAMALAR A Bileşiklerin ^{1}H NMR Spektrumları.....50
EK AÇIKLAMALAR B Bileşiklerin ^{13}C NMR Spektrumları.....55
EK AÇIKLAMALAR C Bileşiklerin IR Spektrumları.....60
EK AÇIKLAMALAR D Sitotoksisite Test Sonuçları.....66
ÖZGEÇMİŞ.....69

KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma	Açıklama
ATP	Adenozin trifosfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
DMSO	Dimetilsülfoksit
EtOH	Etanol
IR	Infrared
LD	Öldürücü doz
MeOH	Metanol
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TBA	Tetrabütilamonyum
TG	Gravimetrik Analiz
THF	Tetrahidrofuran
XRD	X-Işını Kırınım Yöntemi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Knoevenagel reaksiyonları ile ele geçen bazı biyolojik aktif moleküller.....1

Şekil 1.2. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları ile ele geçen bazı biyolojik aktif moleküller.....2

Şekil 2.1.1.1. İllüdin M, İllüdin S, Açilfulven ve Irofulven yapısı.....4

Şekil 2.1.1.2. İnden anaiskeletine sahip bazı biyolojik aktif moleküller.....4

Şekil 2.1.2.1. İllüdin M, İllüdin S, Açilfulven ve Irofulven yapısı.....5

Şekil 2.1.2.1. (-)-Phyllystine, (+)-Epoxydon, (+)-Pericosine C, Gabosine I ve Streptol yapısı.....6

Şekil 2.1.3.1. α-Acerenol, β-Acerenol ve α-Cedrene yapıları.....6

Şekil 2.1.3.2. Gleenol ve Axenol yapıları.....7

Şekil 2.1.1.1. Knoevenagel tepkimesinin genel ifadesi.....8

Şekil 2.1.1.2. Aldehit grubu içeren sistemlerin Knoevenagel reaksiyonu ile türevlendirilmesi.....8

Şekil 2.2.3.1. Organik çözücüler içerisinde çalışan Knoevenagel reaksiyonları.....9

Şekil 2.2.3.2. Çözücü olarak suyun tercih edildiği Knoevenagel reaksiyonu.....10

Şekil 2.2.3.3. Çözücüsüz ortamda gerçekleşen Knoevenagel reaksiyonları.....11

Şekil 2.2.4.1. Heterojen bazik katalizör kullanılarak Knoevenagel ürünlerinin sentezi.....11

Şekil 2.2.4.2. Katalizörsüz koşullarda Knoevenagel reaksiyonu ile pirazolon türevlerinin sentezleri.....12

Şekil 2.2.4.3. İyonik sıvıların katalizör olarak kullanıldığı Knoevenagel reaksiyonları.....12

Şekil 2.2.4.4. Tuzların katalizör olarak kullanıldığı Knoevenagel reaksiyonları.....13

Şekil 2.3.1. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları ile ele geçen bazı kompleks yapılar.....14

Şekil 2.3.1.1. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonu ile kumarin türevlerinin sentezi...15

Şekil 2.3.3. Malonaldehit ve aromatik aldehitlerin beraberinde yürüyen

Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları.....15
Şekil 2.3.4. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları ile ele geçen tiyazol türevi bileşikler.....17
Şekil 2.3.5. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonu ile tiyazol türevi bileşiklerin sentezi.....17
Şekil 2.3.6. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonu ile tiyazol ve indol halkalarının türevlendirilmesi.....18
Şekil 2.3.7. Multikomponent Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları ile benzotiyofenlerin sentezi.....19
Şekil 2.3.8. Multikomponent Knoevenagel reaksiyonları ile iminoşekerlerin sentezi...19
Şekil 4.1. Tez kapsamında sentezlenen bileşikler.....34
Şekil 4.2. Tez kapsamında sentezlenen bileşiklerle benzer iskeletlere sahip biyolojik aktif moleküller.....35
Şekil 5.1.1. Malononitril ve aseton beraberinde gerçekleşen Knoevenagel **A** veya Knoevenagel-Diels-Alder **B** reaksiyonları.....37
Şekil 5.1.2 Literatürde yer alan Knoevenagel-Diels-Alder ürününe alkoksi katılması ile oluştuğu iddia edilen bileşikler.....39
Şekil 5.1.3 Knoevenagel-Diels-Alder ürünlerinin Na_2CO_3 ile muameleleri ile ele geçen **3c**, **3d** ve **4a** bileşikleri.....39
Şekil 5.1.4. **8** bileşiğinin oluşumuna ilişkin mekanizma.....40
Şekil 5.2.1. **4a** ve **7** Bileşiklerinin piroliz reaksiyonları.....43
Şekil A.1. **2a** Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....50
Şekil A.2. **2c** Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....50
Şekil A.3. **2d** Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....51
Şekil A.4. **6** Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....51
Şekil A.5. **4a** Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....52
Şekil A.6. **4a** Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO) spektrumu.....52
Şekil A.7. **8** Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....53

Şekil A.8. **3c** Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....53

Şekil A.9. **10** Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....54

Şekil B.1. **2a** Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....55

Şekil B.2. **2c** Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....55

Şekil B.3. **2d** Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....56

Şekil B.4. **6** Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....56

Şekil B.5. **4a** Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu.....57

Şekil B.6. **7** Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, DMSO) spektrumu.....57

Şekil B.7. **8** Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, DMSO) spektrumu.....58

Şekil B.8. **3c** Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, DMSO) spektrumu.....58

Şekil B.9. **10** Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, DMSO) spektrumu.....59

Şekil C.1. **2a** Bileşiğinin IR spektrumu.....60

Şekil C.2. **2c** Bileşiğinin IR spektrumu.....60

Şekil C.3. **2d** Bileşiğinin IR spektrumu.....61

Şekil C.4. **4a** Bileşiğinin IR spektrumu.....61

Şekil C.5. **6** Bileşiğinin IR spektrumu.....62

Şekil C.6. **7** Bileşiğinin IR spektrumu.....62

Şekil C.7. **8** Bileşiğinin IR spektrumu.....63

Şekil C.8. **3c** Bileşiğinin IR spektrumu.....63

Şekil C.9. **3d** Bileşiğinin IR spektrumu.....64

Şekil C.10. **11b** Bileşiğinin IR spektrumu.....64

Şekil C.11. **11a** Bileşiğinin IR spektrumu.....65

ÇİZELGELER DİZİNİ

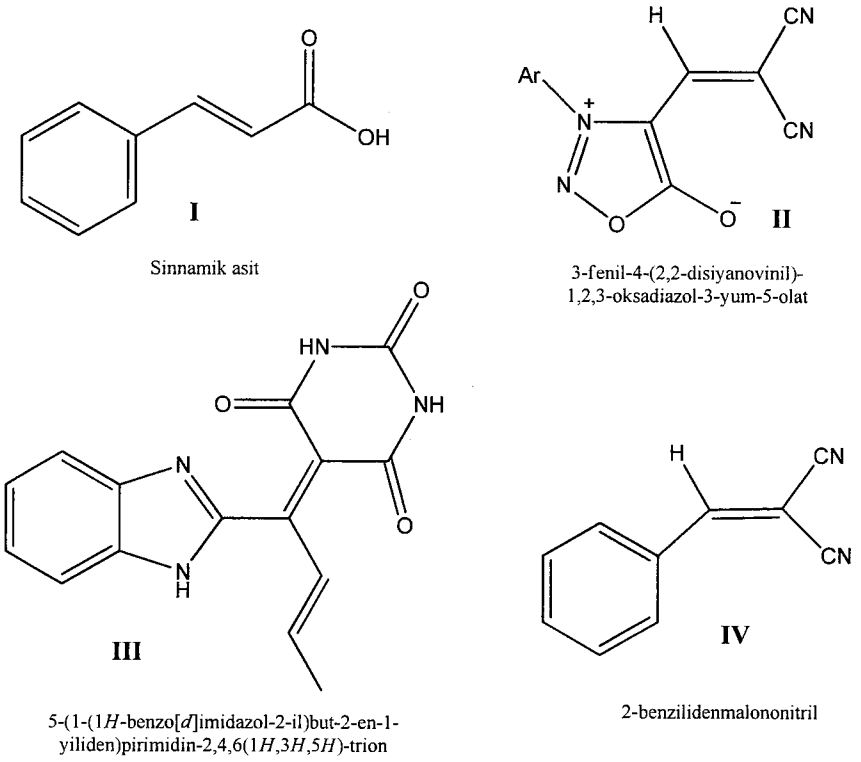
Çizelge 1. Metanol-su içerisinde, karbonil bileşiklerinin malononitril beraberindeki pirolidin katalizli reaksiyonları.....38

Çizelge 2. Metanol içerisinde karbonil bileşiklerinin malononitril beraberindeki pirolidin ve karbonat katalizli reaksiyonları.....44

Çizelge 3. Tez kapsamında sentezlenen bileşikler ve piyasada yaygın olarak kullanılan bazı antikanser ilaçların LC_{50} değerleri.....45

1. GİRİŞ

Knoevenagel reaksiyonları, biyolojik aktif bileşiklerin sentezinde kullanılan önemli reaksiyonlardandır. Knoevenagel reaksiyon ürünleri ve türevleri, antienflamatuvar, antipiretik, antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antikanser, analjezik, ülserojenik, antikonvulsant gibi özellikleri sebebiyle, farmakolojik kimyada ve organik sentezlerde oldukça önemlidirler. Özellikle ilaç kimyasında, heterohalkalı bileşiklerin sentezinde kullanılan önemli metodlar arasında yer almaktadır. Bunun yanısıra, reaksiyon ürünü olarak, nitril grubu ve karbon karbon çift bağı içeren ürünlerin oluşması, bu aşamadan sonra yürüyecek olan reaksiyonlar için temel adım niteliği taşımaktadır. Knoevenagel reaksiyonları ile elde edilen bazı biyolojik aktif bileşikler aşağıda gösterilmektedir. **(Şekil 1.1)**



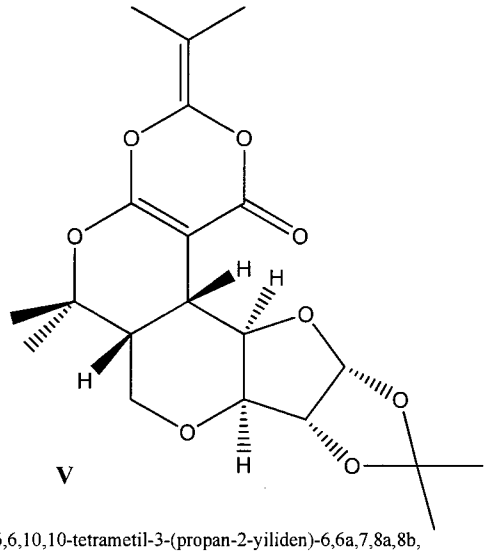
Şekil 1.1. Knoevenagel reaksiyonları ile ele geçen bazı biyolojik aktif moleküller

Yukarıdaki Knoevenagel reaksiyon ürünlerinden olan sinnamik asit **I** ve türevlerinin, meyve, sebze ve çiçeklerden izole edilebildikleri gibi, sentetik olarak eldeleri de mümkündür (Gupta ve Wakhlo 2007). Antioksidan, karaciğer koruyucu, sakinleştirici, diyabet karşıtı, kolestrol düşürücü, antitümör özellikleri olan biyolojik aktif bileşiklerdendir. Knoevenagel reaksiyonu ürünlerinden olan sydnone bileşikleri ve türevlerinden olan 3-fenil-4-(2,2-disiyanovinil)-1,2,3-oksadiazol-3-yum-5-olat **II**, Knoevenagel reaksiyonlarının, doymamış ve heterohalkalı bileşiklerin sentezinde kullanımına verilebilecek önemli örneklerdendir. Sydnone türevlerinin önemi ise antimikrobiyal, antienflamatuar, analjezik, antipiretik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Barbitürik asit ve türevlerinden olan 5-(1-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)but-2-en-1-yiliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion **III**, farmakolojide önemli bir yere sahip olup, hipnotik, sedatif ve anestetik ilaçlar gibi klasik tıbbî uygulamalarının yanı sıra, özellikle son yıllarda yapılan yayınlarda belirtildiği üzere antitümör, antikanser ajan olarak kullanılmaktadırlar (Mathew ve ark. 2013). Knoevenagel reaksiyon ürünlerinden olan benzilidenmalononitriller **IV**, fungisitlerde, insektisitlerde ve antitümör özellikli olarak yaygın bir kullanım alanına sahiptir (Bhuiyan ve ark. 2012). **(Şekil 1.1.)**

Knoevenagel reaksiyonları ile ilgili yapılan literatür çalışmalarında, bu reaksiyonların genellikle ilk kondenzasyon ürününde durmadığı, bir ileri adımında gerçekleşen domino Diels-Alder reaksiyonu ile halka katılma ürünü verdikleri görülmektedir.

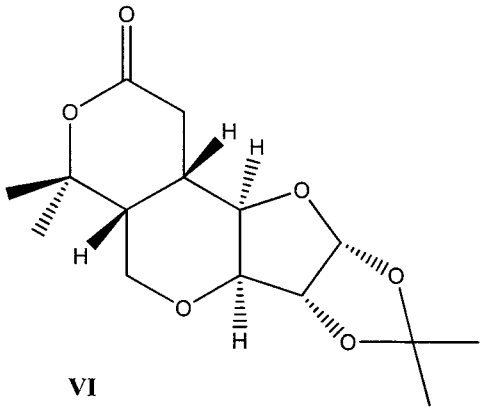
Knoevenagel-Diels-Alder ürünlerine ait örneklerden olan 6,6,10,10-tetrametil-3-(propan-2-yiliden)-6,6a,7,8a,8b,11a,12a,12b-oktahidro1H[1,3]dioksolo[4''',5''':4'',5'']furo[2'',3'':5',6']pirano[4',3':4,5]pirano[2,3-d][1,3]dioksin-1-on **V** ve (4aR,6aS,6bR,9aR,10aR,10bS)-4,4,8,8-tetrametiloktahidro[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-b]pirano[4,3-d]piran-2(4H)-on **VI** aşağıda verilmektedir. **(Şekil 1.2.)**

Antikanser aktiviteleri ile bilinen ve piran halkası içeren yapılar, Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonu ile elde edilebilen önemli biyolojik aktif bileşiklerdendir (Majumdar ve ark. 2012).



V

6,6,10,10-tetrametil-3-(propan-2-yiliden)-6,6a,7,8a,8b, 11a,12a,12b-oktahidro-1*H*[1,3]dioksolo[4''',5''':4'',5'']furo [2'',3''':5',6']pirano[4',3':4,5]pirano[2,3-*d*][1,3]dioksin-1-on



VI

4,4,8,8-tetrametiloktahidro-[1,3]dioksolo[4',5':4,5] furo[3,2-*b*]pirano[4,3-*d*]piran-2(4*H*)-on

Şekil 1.2. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları ile ele geçen bazı biyolojik aktif moleküller

Bu araştırma kapsamında, Knoevenagel reaksiyonlarının biyolojik aktif bileşik sentezindeki öneminden cesaret alınarak, karbonil bileşiklerinin malononitril beraberindeki pirolidin katalizli reaksiyonlarının incelenmesi hedeflenmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında karbonil bileşiklerinin malononitril beraberinde pirolidin ve karbonat varlığındaki davranışları değerlendirilmiştir. Ele geçen reaksiyon ürünlerinin potansiyel aktivitelerinin olup olmadığını öngörebilmek ve toksik özelliklerini ortaya koymak adına *Artemia Salina* Testi ile sitotoksisitelerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

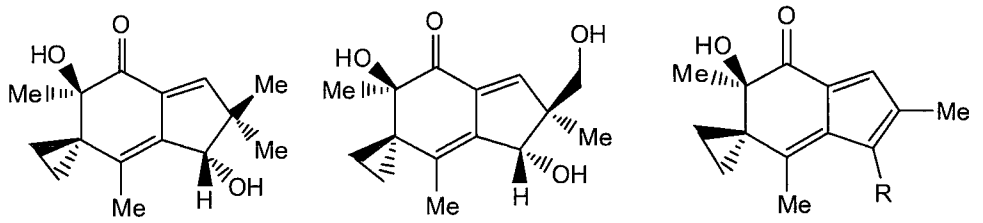
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. İndan, Siklohekzan ve Spiro[4.5]dekan İskeletlerine Sahip Bazı Biyolojik Aktif Bileşikler

2.1.1. İndan iskeletine sahip bazı biyolojik aktif bileşikler

İndan, indenol, inden, indanon ve inden yapıları, doğal bileşiklerle benzer yapısal özellikler gösterdiğinden organik sentezler açısından önemlidirler (Otterlo ve ark. 2006).

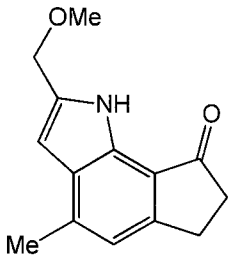
İllüdinler, zehirli mantarlardan izole edilen, doğal seskiterpen ailesindendir. İllüdin M ve illüdin S, diğer illüdin ailesi üyelerine kıyasla en çok sitotoksik özellik gösteren üyelerdir. Biyolojik önemleri, DNA sentezini inhibe etmelerinden ileri gelmektedir. Bu açıdan gerek izolasyon çalışmaları gerekse yapay sentezleri açısından ilgi çekicidirler (Schobert ve ark., 2008).



ILLUDIN M ILLUDIN S AÇILFULVEN R=H IROFULVEN R=CH_2OH

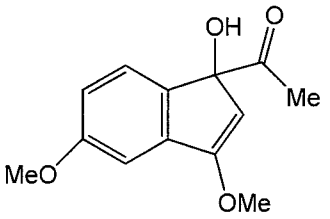
Şekil 2.1.1.1. İllüdin M, İllüdin S, Açilfulven ve Irofulven yapısı

Özellikle, yarı-sentetik olan iki illüdin türevi açilfulven ve irofulven antitümör aktiviteleri açısından önemlidirler (Movassaghi ve ark. 2009).



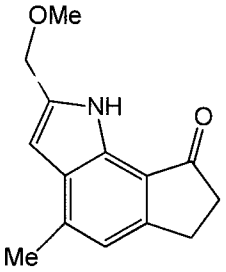
VII

2-(metoksimetil)-4-metil-6,7-dihidrosiklopenta[*g*]indol-8(1*H*)-on



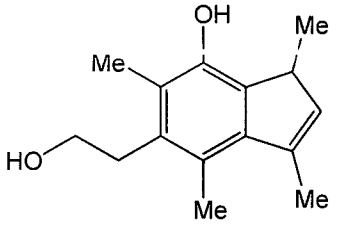
VIII

1-(1-hidroksi-3,5-dimetoksi-1*H*-inden-1-il)etanon



IX

2-(metoksimetil)-4-metil-6,7-dihidrosiklopenta[*g*]indol-8(1*H*)-on



X

5-(2-hidroksietil)-1,3,4,6-tetrametil-1*H*-inden-7-ol

Şekil 2.1.1.2. İndan anaiskeletine sahip bazı biyolojik aktif moleküller

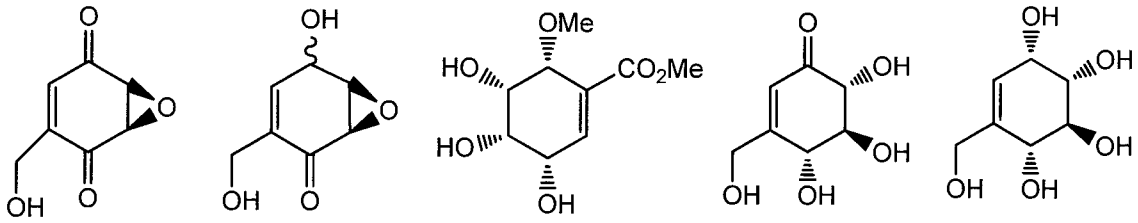
Indan iskeletine sahip bileşikler **VII**, **VIII**, **IX** ve **X,** metabolizmada çeşitli enzimlerin inhibisyonunda ve kanser hücreleri üzerinde etkili olmalarından dolayı özellikle farmasotik uygulamalarda oldukça önemlidirler (Girgis 2009).

2.1.2. Siklohekzan iskeletine sahip bazı biyolojik aktif bileşikler

İskeletini epoksikinon yapısı oluşturan poliketidler, fitotoksik, anti-fungal, anti-bakteriyal, anti-tümör ve enzim inhibitör aktivitelerine sahiptir.

Ayrıca pericosine yapısı birden çok kiral merkez içerdiğinden sentetik açıdan oldukça önemli bileşiklerdendir (Vankar ve ark. 2012).

D-Glikoz yapısına benzerliği açısından dikkat çeken gabosine ve streptol yapıları antibiyotik, antikanser, DNA bağlayıcı özellikleri sebebiyle dikkat çekicidir (Shing ve ark. 2011).

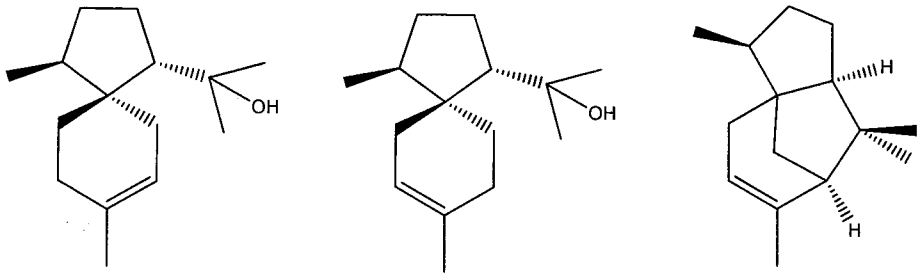


(-)-Phyllystine (+)-Epoxydon (+)-Pericosine C Gabosine I Streptol

Şekil 2.1.2.1. (-)-Phyllystine, (+)-Epoxydon, (+)-Pericosine C, Gabosine I ve Streptol yapısı

2.1.3. Spiro[4.5]dekan iskeletlerine sahip bazı biyolojik aktif bileşikler

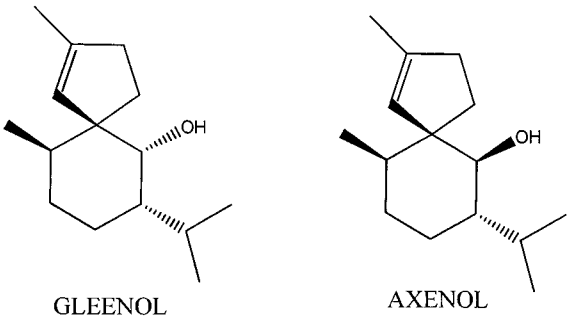
Aceroenol ve cedrene yapıları, latincesi *Santalum spicatum* olarak bilinen ve bu bitki türünün kök ve gövdesinden ele geçen bileşik, özellikle ilginç kokusuyla parfüm endüstrisinde kullanılmaktadır. Spiro[4.5]dekan motifi ile dikkat çeken önemli doğal bileşiklerdendir. Literatürde, trisiklik seskiterpen olan cedranoid yapılarının öncülü olarak yer almaktadır (Srikrishna ve Babu 2007).



α–ACEROENOL β–ACEROENOL α-CEDRENE

Şekil 2.1.3.1. α-Acerenol, *β*-Acerenol ve α-Cedrene yapıları

Deniz süngerlerinden izole edibilen ve biyolojik aktivitelerinin yanısıra, kendilerine özgü yapıları ile dikkat çeken Gleenol ve Axenol yapıları, özellikle metabolizmada ATPaz inhibitörü olarak görev yapmaları sebebiyle önemlidirler. Bu sebeple, literatürde total sentezlerine ilişkin çalışmalar birçok grup tarafından gerçekleştirilmiştir (Kobayashi ve ark. 2007).



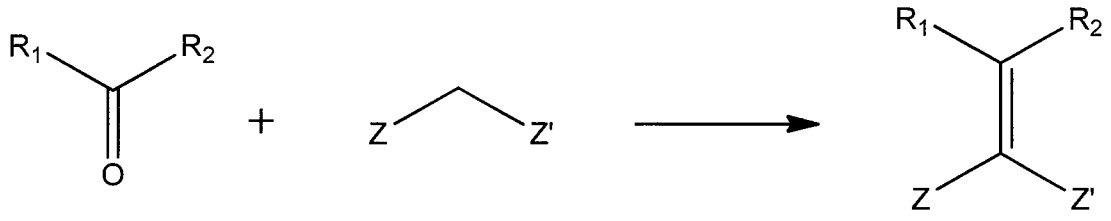
Şekil 2.1.3.2. Gleenol ve Axenol yapıları

2.2. Knoevenagel Reaksiyonları

2.2.1.Knoevenagel reaksiyonu tanımı

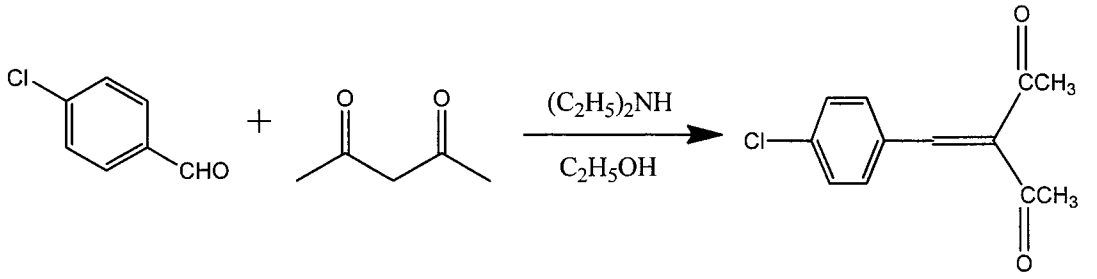
Genellikle α-hidrojeni içermeyen aldehit veya ketonların, amonyak ya da aminlerin varlığında, aktif metilen grubu bulunduran Z-CH_2-Z' ya da Z-CHR-Z' yapısındaki bileşiklerle vermiş olduğu kondenzasyon tepkimesine Knoevenagel tepkimesi adı verilir.

Z ve Z', CHO, COR, COOH, COOR, CN, NO_2, SOR, SO_2, SO_2OR veya benzeri gruplar olabilmektedir.



Şekil 2.1.1.1. Knoevenagel tepkimesinin genel ifadesi

Genellikle, aromatik sistemlerin aldehit grubu üzerinden türevlendirilmesinde karşılaştığımız tepkimelerdir.



etil 2-(4-klorobenziliden)-3-oksobütanoat

Şekil 2.1.1.2. Aldehit grubu içeren sistemlerin Knoevenagel reaksiyonu ile türevlendirilmesi

2.2.2. Knoevenagel reaksiyonu tarihçesi

1896-1898 yıllarında, Alman kimyacı Emil Knoevenagel tarafından yapılan çalışmalarda, aldehit türevlerinin malonik asit ve türevleri ile verdiği tepkimeler incelenmiştir.

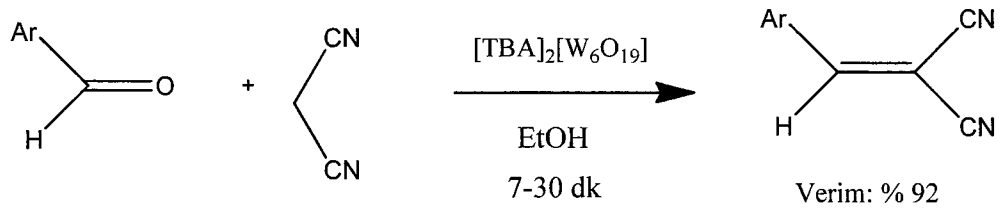
Çeşitli bazları kullanarak gerçekleştirdiği denemeler sonucunda, malonik asit ile aldehitin kondenzasyon reaksiyonu vermek üzere birbirleriyle etkileştiğini ileri sürmüştür.

Sonraki yıllarda, çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan birçok çalışma Knoevenagel'in ileri sürdüğü görüşlerin doğruluğu kanıtlamış ve bu tip reaksiyonlar "Knoevenagel Kondenzasyonu" olarak adlandırılmıştır.

2.2.3. Knoevenagel reaksiyonlarının reaksiyonlarda kullanılan çözücülere göre sınıflandırılması

Knoevenagel reaksiyonunda organik çözücülerin kullanımı

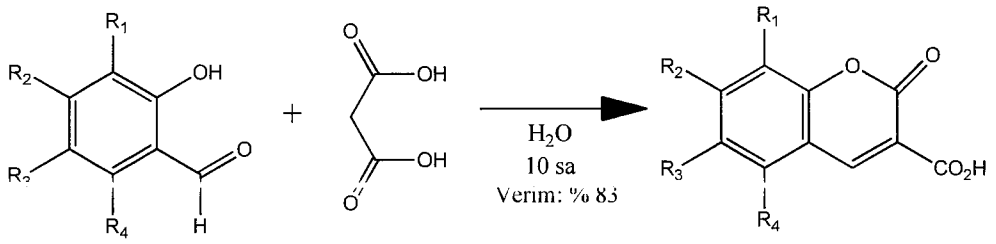
Özellikle metanol ve etanol gibi organik çözücülerin kullanıldığı Knoevenagel reaksiyonları oldukça yaygındır. Literatürde etanol içerisinde tetrabütilamonyum hekzatungstat $[TBA]_2[W_6O_{19}]$ katalizörlüğünde gerçekleşen Knoevenagel reaksiyonları ile karşılaşılmaktadır. Aromatik aldehitler ve malononitril arasında gerçekleşen Knoevenagel kondenzasyonu, kısa reaksiyon sürelerinde ve oldukça iyi verimlerle gerçekleştirilmiştir (Davoodnia 2012).



Şekil 2.2.3.1. Organik çözücüler içerisinde çalışan Knoevenagel reaksiyonları

Knoevenagel reaksiyonunda çözücü olarak suyun kullanımı

Knoevenagel reaksiyonu dehidratasyon adımı içermesine rağmen, çözücü olarak suyun seçildiği durumlarda, reaksiyonun oldukça başarılı bir şekilde yürüdüğü belirlenmiştir. Kumarin gibi heterosiklik bileşiklerin ve elektronca fakir alkenlerin sentezi için literatürde çözücü olarak suyun seçildiği çalışmalar oldukça yaygındır (Bigi ve Quarantelli 2012).

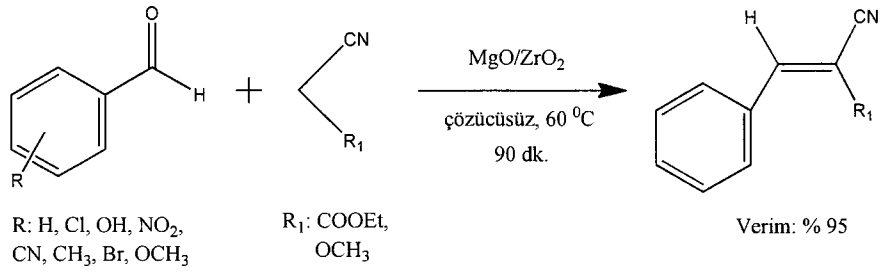


Şekil 2.2.3.2. Çözücü olarak suyun tercih edildiği Knoevenagel reaksiyonu

Çözücüsüz ortamda yürüyen Knoevenagel reaksiyonları

Knoevenagel reaksiyonun, çözücüsüz ortamda gerçekleşen örneklerine oldukça sık rastlanmaktadır. Literatürde, çözücüsüz ortamda, MgO/ZrO_2 kompozitinin kullanılarak Knoevenagel reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon, çeşitli aldehitler ile etil siyanoasetat ve malononitril arasında denenmiş ve oldukça iyi verimlerle çalışmıştır.

Çözücüsüz ortamda çalışıldığından, reaksiyon ürünleri oldukça kolay bir şekilde izole edilmiştir. Kompozitin beş reaksiyon döngüsünde de aktivitesini yitirmemesi yöntemin bir diğer avantajıdır (Jayaram ve Gawande 2006).

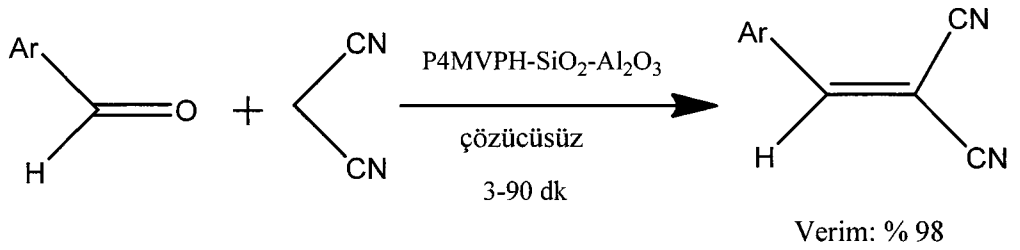


Şekil 2.2.3.3. Çözücüsüz ortamda gerçekleşen Knoevenagel reaksiyonları

2.2.4. Knoevenagel reaksiyonlarında katalizör seçimi

Knoevenagel reaksiyonlarında kompozitlerin heterojen bazik katalizör olarak kullanımı

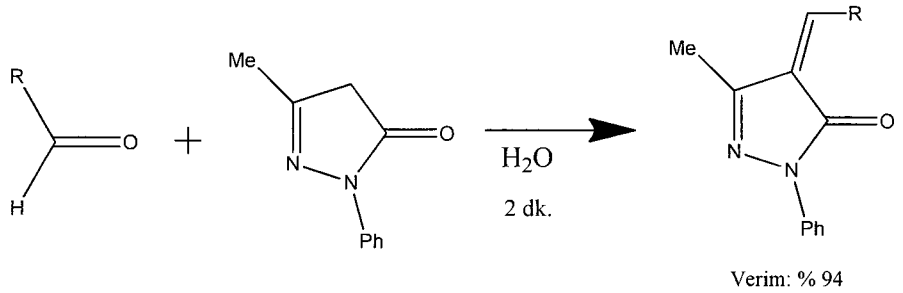
Yapılan çalışmada, Knoevenagel reaksiyonunda heterojen bazik katalizör olarak kullanılmak üzere Al_2O_3 , SiO_2 ve poli-4-vinilpiridin sol-jel metoduna göre elde edilmiştir. Kompozit, XRD, T-IR, TG, BET ve SEM gibi yöntemlerle, fiziksel ve kimyasal özellikleri açısından analiz edilmiştir. Malononitril ve karbonil bileşikleri kullanılarak yapılan Knoevenagel reaksiyonlarında çözücüsüz koşullarda heterojen bazik katalizör olarak kullanılmıştır. Knoevenagel ürünleri, oldukça yüksek verimlerle kolayca izole edilmişlerdir. Hazırlanan kompozitin Knoevenagel reaksiyonları için oldukça iyi aktivitesinin olduğu belirlenmiştir (Kalbasi ve ark. 2011).



Şekil 2.2.4.1. Heterojen bazik katalizör kullanılarak Knoevenagel ürünlerinin sentezi

Katalizörsüz yürüyen Knoevenagel reaksiyonları

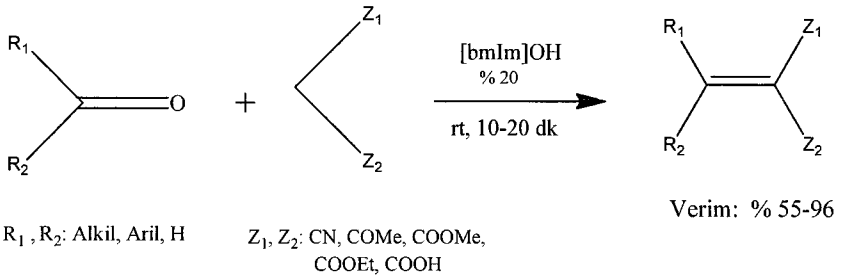
Knoevenagel reaksiyonları, katalizörsüz ortamda da gerçekleşmektedir. Literatürde, malononitril, etil siyanoasetamit, etil siyanoasetat, barbitürik asit, pirazolon, dimedon gibi aktif metilen bileşikleri ile çeşitli aromatik ve heteroaromatik aldehitlerin çözücü ortamı su olduğu koşulda ve oda sıcaklığında oldukça iyi verimlerle gerçekleştiğine dair örnekler vardır. İzolasyon kolaylığı ve ileri saflaştırma işlemi gerekmemesi metodun avantajlarındandır (Bhuyan ve Deb 2005).



Şekil 2.2.4.2. Katalizörsüz koşullarda Knoevenagel reaksiyonu ile pirazolon türevlerinin sentezleri

İyonik sıvıların katalizör olarak kullanıldığı Knoevenagel reaksiyonları

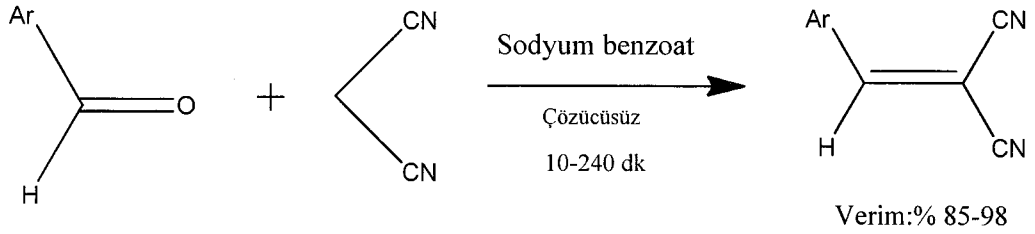
Aromatik ve alifatik aldehit ve ketonların, malonik asit, etilsiyanoasetat ve etil asetoasetat ile oda koşullarında, 1-bütil-3-metilimidazolyum hidroksit [bmIm]OH varlığında, oldukça hızlı reaksiyon verdikleri yapılan çalışmada ortaya konmuştur. Herhangi bir organik çözücüye ihtiyaç duymaksızın 1-bütil-3-metilimidazolyum hidroksit [bmIm]OH gibi bir iyonik sıvının Knoevenagel reaksiyonlarını katalizlediği tespit edilmiştir (Ranu ve Jana 2006).



Şekil 2.2.4.3. İyonik sıvıların katalizör olarak kullanıldığı Knoevenagel reaksiyonları

Tuzların katalizör olarak Knoevenagel reaksiyonlarında kullanımı

Aldehitlerin etil siyanoasetat ve malononitril ile verdiği Knoevenagel reaksiyonlarında, ultrasonik radyasyon beraberinde, katalizör olarak sodyum benzoatın kullanılması oldukça etkilidir. Reaksiyon, ılımlı koşullarda ve oda sıcaklığında, kısa sürelerde ve oldukça iyi verimle yürümektedir. Dört reaksiyon döngüsünde katalizörün aktivitesini yitirmemesi, reaksiyonun bir diğer avantajıdır (Liu ve Ai 2011).

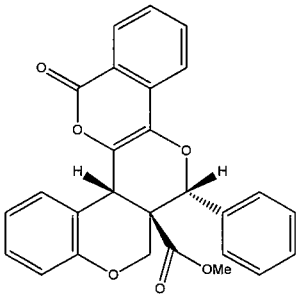


Şekil 2.2.4.4. Tuzların katalizör olarak kullanıldığı Knoevenagel reaksiyonları

2.3. Knoevenagel-Diels-Alder Reaksiyonları

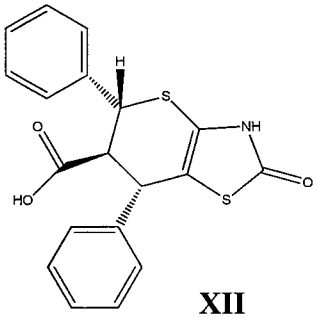
Domino reaksiyonları, iki ya da daha fazla bağ oluşumuyla sonuçlanan, basit yapılardan oldukça kompleks yapıların oluşumunu sağlaması açısından oldukça ekolojik ve etkili sentez metodları arasındadır. Knoevenagel koşullarında ele geçen reaksiyon ürünleri, uygun reaksiyon koşullarında, dien ve dienofil gibi davranarak Domino Knoevenagel-Diels-Alder ürünlerini oluştururlar.

Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları, özellikle ilaç ve kozmetik alanında yürütülen endüstriyel sentezlerde ve akademik çalışmalarda, dikkatleri üzerine çeken yöntemlerdendir. Aynı çözücü içerisinde yürümesi ve dolayısıyla fazla çözgen kullanımını gerektirmemesi, her adımda katalizör kullanımına ihtiyaç duyulmaması yöntemin diğer avantajlarındandır. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları, **XI**, **XII**, **XIII**, **XIV** gibi kompleks moleküllerin sentezinde hem çevre dostu hem de ekonomik yaklaşımlardır.



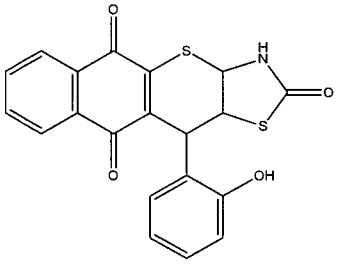
XI

(6b*S*,14*R*,14a*R*)-metil 8-okso-14-fenil -6b,8,14,14a-tetrahidro-1*H*-isokromeno[3',4':5,6] pirano[3,4-*c*]kromen-14a-karboksilat



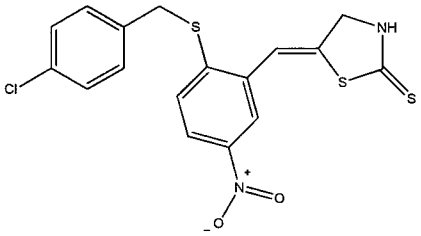
XII

2-okso-5,7-difenil-3,5,6,7-tetrahidro-2*H*-tiyopirano[2,3-*d*]tiyazol-6-karboksilik asit



XIII

11-(2-hidroksifenil)-3,3a,11,11a-tetrahidro-2*H*-benzo [6,7]tiyokromeno[2,3-*d*]tiyazol-2,5,10-trion

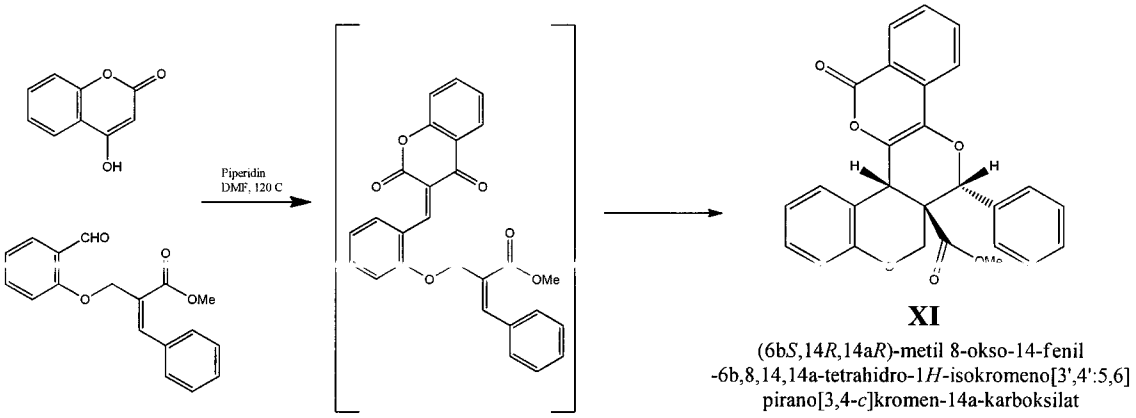


XIV

5-(2-((4-klorobenzil)tiyo)-5-nitrobenziliden)tiyazolidin-2-tiyon

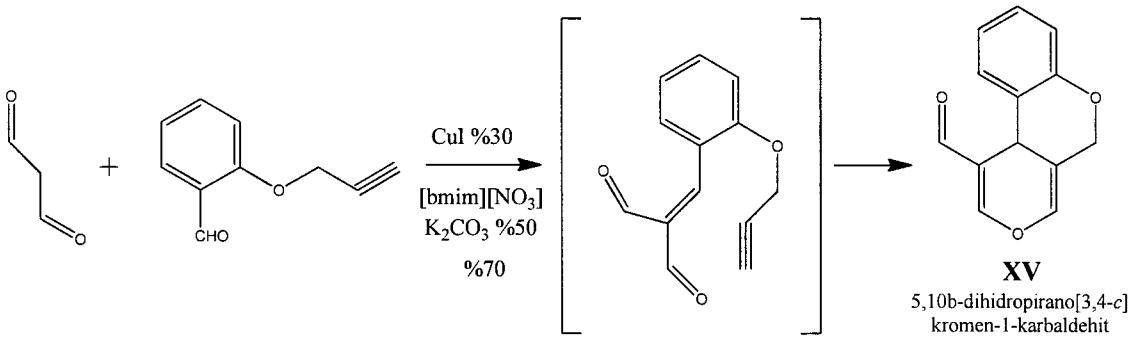
Şekil 2.3.1. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları ile ele geçen bazı kompleks yapılar

Meyve ve sebzelerde oldukça yaygın bir şekilde bulunan kumarin türevleri, insan sağlığı için önemli bileşik sınıflarındandır. Organik sentez yapan kişiler açısından sentezleri halen popularitesini koruyan kumarinlerin ve sentetik analoglarının antifungal ve antimikrobiyal özellikleri pek çok çalışmada ortaya konmuştur (Majumdar ve ark. 2012). **(Şekil 2.3.2)**



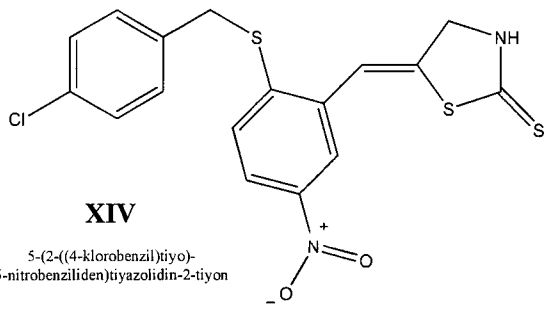
Şekil 2.3.2. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonu ile kumarin türevlerinin sentezi

Başka bir çalışmada malonaldehit ve aromatik aldehit beraberinde CuI ve K_2CO_3 varlığında Knoevenagel-Diels-Alder ürünleri olan kumarin türevleri izole edilmiştir (Saaed ve ark. 2013). **(Şekil 2.3.3.)**



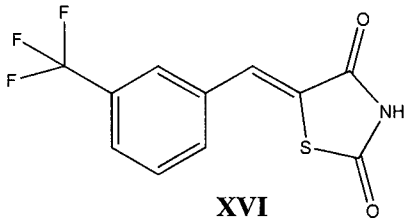
Şekil 2.3.3. Malonaldehit ve aromatik aldehitlerin beraberinde yürüyen Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları

Tiyazol bileşikleri ve türevleri, antienflamatuar, antitümör, antimikrobiyal, antidiyabetik ve antibakteriyel özellikleri ile dikkat çeken biyolojik aktif bileşiklerdendir. Oldukça karmaşık yapıdaki bu bileşiklerin sentezinde, Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonlarının kullanımına literatürde çok sık karşılaşılmaktadır. **(Şekil 2.3.4.)**



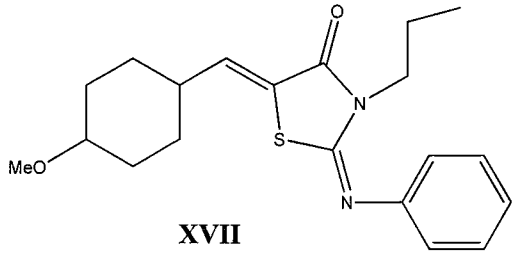
XIV

5-(2-((4-klorobenzil)tiyo)-5-nitrobenziliden)tiyazolidin-2-tiyon



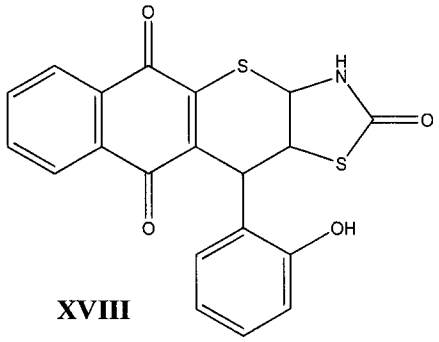
XVI

5-(3-(triflorometil)benziliden)tiyazolidin-2,4-dion



XVII

5-((4-metoksisiklohekzil)metilen)-2-(fenilimino)-3-propiltiyazolidi-4-on

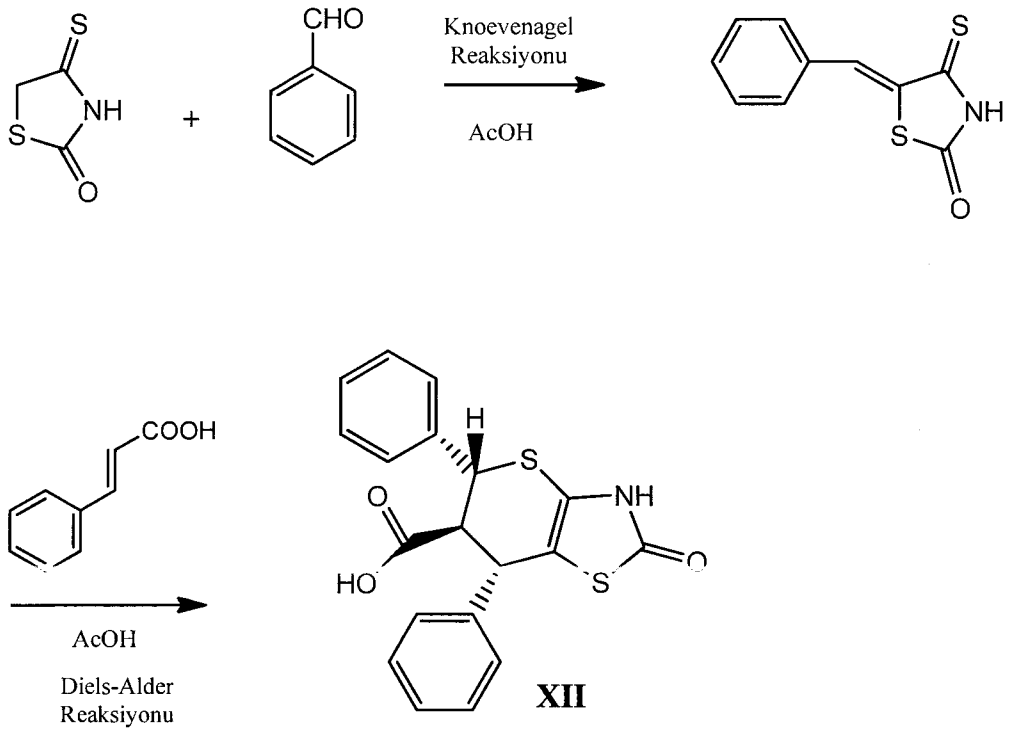


XVIII

11-(2-hidroksifenil)-3,3a,11,11a-tetrahidro-2*H*-benzo[6,7]tiyokromeno[2,3-*d*]tiyazol-2,5,10-trion

Şekil 2.3.4. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları ile ele geçen tiyazol türevi bileşikler

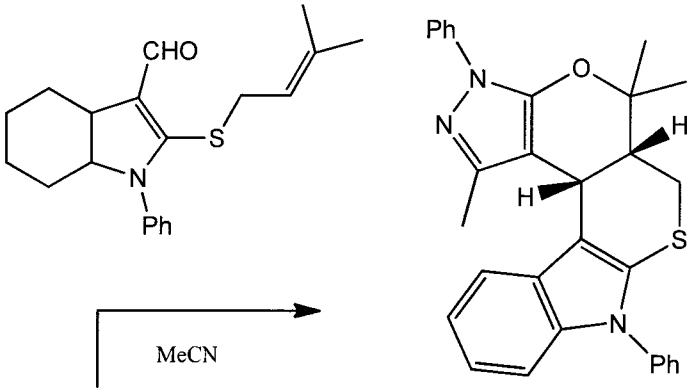
Tiyazol türevlerinden olan 2-okso-5,7-difenil-3,5,6,7-tetrahidro-2H-tiyopirano[2,3-d]tiyazol-6-karboksilik asit **XII** bileşiğinin Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonu ile sentezine ilişkin sentez şeması aşağıda verilmiştir (Zalisko ve ark. 2014). **(Şekil 2.3.5.)**



2-okso-5,7-difenil-3,5,6,7-tetrahidro-2*H*-tiyopirano[2,3-*d*]tiyazol-6-karboksilik asit

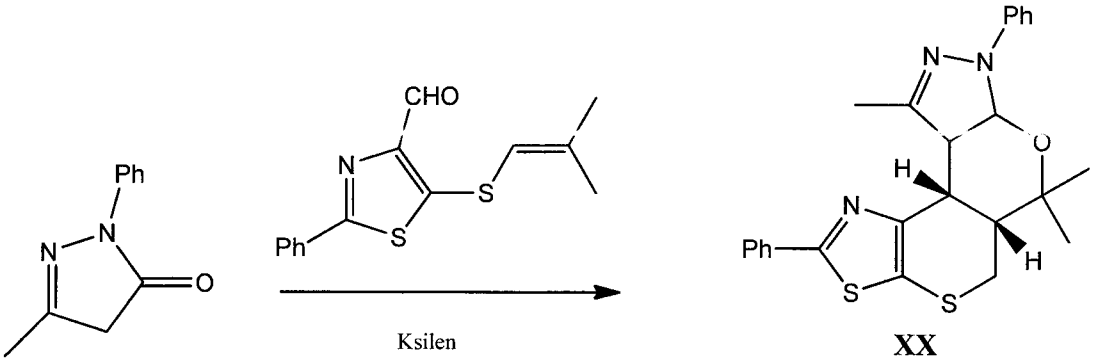
Şekil 2.3.5. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonu ile tiyazol türevi bileşiklerin sentezi

3-Metil-fenil-1H-pirazol-5(4H)-on un aktif metilen bileşiği olarak yer aldığı indol ve tiyazol halka sistemlerinden Knoevenagel-hetero-Diels-Alder reaksiyonları ile oldukça kompleks yapılardaki biyolojik aktif moleküller **XIX**, **XX**, **XXI** sentetik olarak elde edilmiştir. **(Şekil 2.3.6.)**



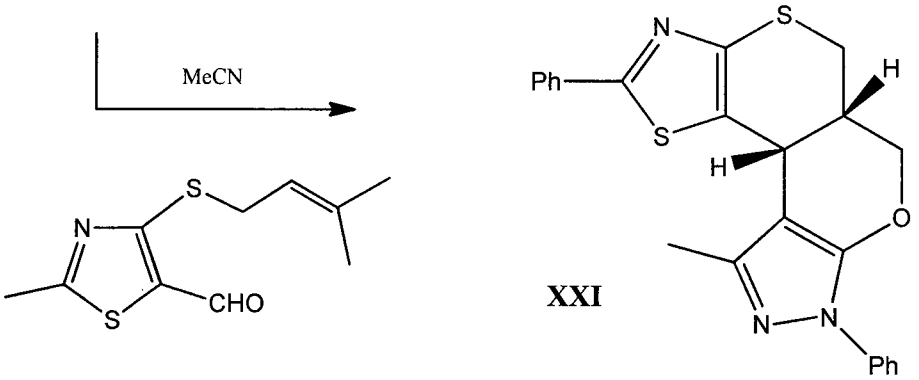
XIX

1,5,5-trimetil-3,8-difenil-3,5,5a,6,8,12c-hekzahidropirazol[4",3":5',6']pirano[4',3':4,5]tiyopirano[2,3-*b*]indol



XX

6,6,10-trimetil-2,8-difenil-5a,6,7a,8,10a,10b-hekzahidro-5*H*-pirazol[4",3":5',6']pirano[4',3':4,5]tiyopirano[3,2-*d*]tiyazol



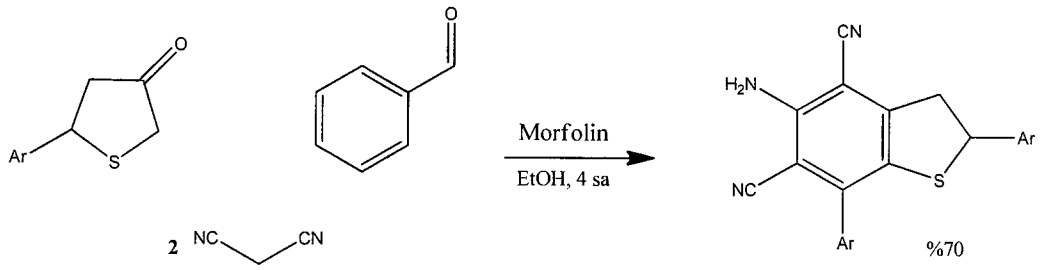
XXI

10-metil-2,8-difenil-5a,6,8,10b-tetrahidro-5*H*-pirazolo[4",3":5',6']pirano[4',3':4,5]tiyopirano[2,3-*d*]tiyazol

Şekil 2.3.6. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonu ile tiyazol ve indol halkalarının türevlendirilmesi

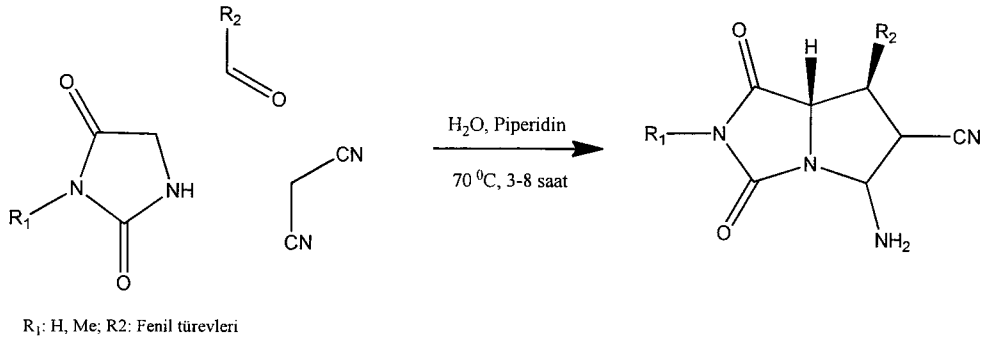
Multikomponent Domino Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları, Domino Knoevenegel-Diels-Alder reaksiyonlarının en popüler çalışma alanlarındandır. Oldukça farklı fonksiyonel grupları bulunduran küçük moleküller, multikomponent Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları beraberinde, yine çok farklı fonksiyonel grupları bulunduran oldukça kompleks, türevlendirmeye müsait ve genellikle heterohalkalı bileşikler oluştururlar.

Literatürde yer alan bir çalışmada, Alzheimer hastalığının sebebi olan asetilkolin esteraz enziminin inhibitörü olan dihidrobenzotiyofen türevleri, multikomponent Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları ile sentezlenmiştir (Jeyacahandran ve ark. 2013). **(Şekil 2.3.7.)**



Şekil 2.3.7. Multikomponent Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları ile benzotiyofenlerin sentezi

İminoşekerler, farklı bir deyişle polihidroksialkaloidler, farmasötik kimyada özellikle glikozidaz, glikotransferaz ve glikoprotein aktivitesi ile ilgili hastalıkların tedavilerinde dikkat çekmektedirler (Rajarathinam ve Vasuki 2012). **(Şekil 2.3.8)**



Şekil 2.3.8. Multikomponent Knoevenagel reaksiyonları ile iminoşekerlerin sentezi

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1.Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi

Çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde VARIAN AS 400 NMR cihazında alınmıştır.

İnfrared Spektrometresi

Çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin infrared spektrumları Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde Thermo Nicolet 6700 Fourier Dönüşümlü IR (FT-IR) cihazında alınmıştır.

Elementel Analiz Cihazı

Çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin elementel analizleri Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde EuroEA 3000 elementel analiz cihazında yapılmıştır.

Erime Noktası Cihazı

Bileşiklerin erime noktaları Elektrothermal Digital erime noktası cihazı ile ölçülmüştür.

3.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Aldrich M1407 Malononitril

Aldrich 802670 Siklopentanon

Aldrich 102888 Siklohekzanon

Aldrich 802880 Siklobütanon

Aldrich 394238 Pirolidin

Merck 805791 Mezitiloksit

Merck 805901 Metil vinil keton

Merck 801555 Bütanaldehit

Merck 822133 Propanaldehit

Merck 106009 Metanol

Merck 100014 Aseton

Merck 104367 Hekzan

Merck 100972 Etil asetat

Merck 102446 Kloroform-d

Merck 10359 DMSO-d6

Aldrich 13418 Na_2CO_3

Aldrich 367877 K_2CO_3

Cis-platin EBEWE PHARMA

Taxotere AVENTİS PHARMA

Fluorouracil KOÇAK FARMA

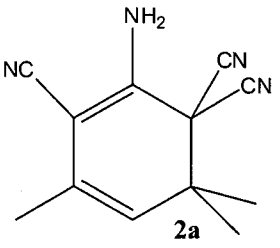
Etoposid TEVA PHARMACEUTICAL

3.3.Sentezlenen Bileşikler

3.3.1. METHOD 1: Karbonil bileşiklerinin malononitril ile pirolidin beraberindeki reaksiyonları

3.3.1.1. 2-Amino-4,6,6-trimetilsiklohekza-2,4-dien-1,1,3-trikarbonitril 2a nın sentezi

Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol:su (4:1, 5 ml) içerisinde çözülür ve aseton (5 mmol, 0.367 ml) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı 2 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Çöken ürün vakumda süzülür, metanol-su ile yıkanır ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.

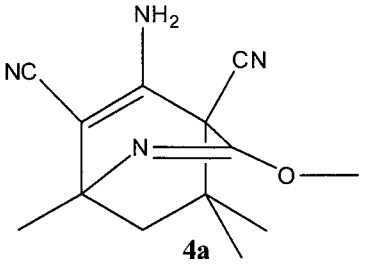


2a

$C_{12}H_{12}N_4$; Verim: %54 (0.286 g); Erime Noktası: 171-172 °C; Literatür (Mirek ve ark.,1980) Erime Noktası: 172 °C; IR(KBr) ν_{NH}: 3423.4 cm^{-1} , 3321.4 cm^{-1} , ν_{CN}: 2208.9 cm^{-1} ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5.36 (s, 2H), 5.15 (q, J = 1.4 Hz, 1H), 1.95 (d, J = 1.6 Hz,3H), 1.37 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 143.71, 127.93, 121.18, 115.59, 111.55, 81.88, 47.75, 41.09, 23.17, 19.96. Hesaplanan: $C_{12}H_{12}N_4$ (212.25) C, 67.90; H, 5.70; N, 26.40. Bulunan: $C_{12}H_{12}N_4$ (212.25) C, 67.95; H, 5.85; N, 26.30.

3.3.1.2. 3-Amino-5-metoksi-1,8,8-trimetil-6-aza-bisiklo[2.2.2]okta-2,5-dien-2,4-dikarbonitril 4a nın sentezi

Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol:su (5 ml, 4:1) içerisinde çözülür ve aseton (5 mmol, 0.367 ml) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Çöken ürün vakumda süzülür, metanol-su ile yıkanır ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.



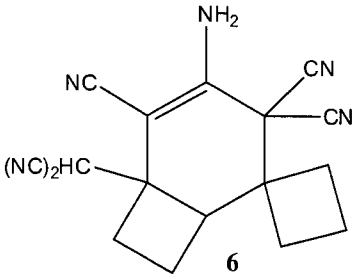
4a

$C_{13}H_{16}N_4O$; Verim: %69 (0.421 g); Erime Noktası:146-150 °C (bozunma) ; Literatür (Igarashi ve ark.1987), Erime Noktası: 140-150 °C, IR(KBr) ν_{NH}: 3427.3 cm^{-1}, 3317.7 cm^{-1}, ν_{CN}: 2208.9 cm^{-1}. ^1H NMR (DMSO-d_6, 400MHz): Shift (ppm) 6.86 (br. s., 2H), 3.69 (s, 3H), 1.46 – 1.53 (m, 4H), 1.34 (d, J=11.7 Hz, 1H), 1.03 (2xs, 6H) ^{13}C NMR (101 MHz,

DMSO) δ 164.63, 155.86, 116.98, 114.21, 78.59, 59.43, 56.29, 55.49, 49.04, 43.02, 39.72, 39.51, 39.30, 28.16, 26.09, 24.82. Hesaplanan: $C_{13}H_{16}N_4O$ C, 63.91;H, 6.60; N, 22.93;Bulunan: C 63.85; H, 6.40; N, 22.75.

3.3.1.3. 4-Amino-6-(disiyanometil)spiro[bisiklo[4.2.0]okt[4]en-2,1'-siklobütan] - 3,3,5 trikarbonitril 6 nın sentezi

Malononitril (7.5 mmol, 0.495 g) metanol:su (4:1, 5 ml) içerisinde çözülür ve siklobütanon (5 mmol, 0.373 ml) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Kolon kromatografisi ile izole edilir ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.

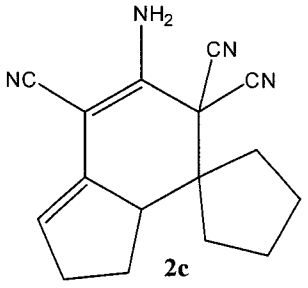


6

$C_{17}H_{14}N_6$, Verim: % 47 (0.355g), Erime Noktası:169-170 °C, IR(KBr) ν_{NH}: 3432.7 cm^{-1}, 3422.4 cm^{-1}, ν_{CN}: 2208.5 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5.38 (s, 2H), 4.08 (s, 1H), 3.21 (dd, J = 11.4, 5.8 Hz, 1H), 2.61 – 2.03 (m, 10H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 145.76, 114.37, 111.80, 111.52, 110.74, 110.66, 77.33, 77.01, 76.69, 43.71, 43.62, 43.35, 42.22, 32.29, 31.26, 29.17, 27.12, 17.97, 14.03. $C_{17}H_{14}N_6$ (302.33) Hesaplanan: C, 67.54; H, 4.67; N, 27.80 Bulunan: $C_{17}H_{14}N_6$ (302.33) C, 67.59; H, 4.60; N, 27.75.

3.3.1.4. 6'-Amino-3',3a'-dihidrospiro[siklopentan-1,4'-inden]-5',5',7'(2'H)-trikarbonitril 2c nin sentezi

Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol:su (4:1, 5 ml) içerisinde çözülür ve siklopentanon (5 mmol, 0.420 g) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı 4 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Çöken ürün vakumda süzülür, metanol-su ile yıkanır ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.



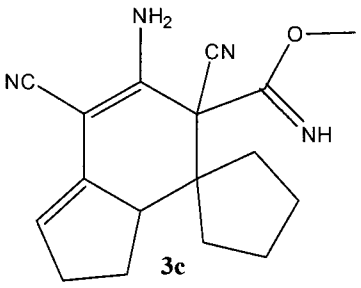
2c

$C_{16}H_{16}N_4$; Verim: % 88 (0.581 g); Erime Noktası: 187-188 °C; Literatür (Mirek ve ark. 1980) Erime Noktası: 181-182 °C ; IR(KBr) ν_{NH}: 3405.6 cm^{-1}, 3328.1 cm^{-1}, ν_{CN}: 2224.7 cm^{-1}. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5.80 (q, J = 2.6 Hz, 1H),

5.05 (s, 2H), 3.18 (ddq, J = 9.7, 7.1, 2.3 Hz, 1H), 2.55 – 2.38 (m, 2H), 2.15 – 2.05 (m, 2H), 2.01 – 1.84 (m, 3H), 1.80 – 1.42 (m, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 142.50, 132.89, 125.25, 114.84, 112.87, 112.83, 83.23, 51.83, 49.36, 48.33, 37.25, 31.58, 29.14, 27.52, 26.68, 26.21. Hesaplanan: $C_{16}H_{16}N_4$ (264.33) C, 72.70; H, 6.10; N, 21.20. Bulunan: C, 72.68; H, 6.01; N, 21.15.

3.3.1.5. Metil 6'-amino-5',7'-disiyano-2',3',3a',5'-tetrahidrospiro[siklopentan-1,4'-inden]-5'-karbimidat 3c nin sentezi (24 saatlik prosedür)

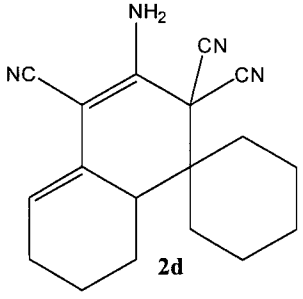
Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol (5 ml) içerisinde çözülür ve siklopentanon (5 mmol, 0.421 g) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Çöken ürün vakumda süzülür, metanol-su ile yıkanır ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.



$C_{17}H_{20}N_4O$; Verim: %50 (0.370 g); Erime Noktası: 196-198 °C; Literatür (Igarashi ve ark.) Erime Noktası: 189-191 °C, IR(KBr) ν_{NH}: 3433.0 cm^{-1}, 3322.6 cm^{-1}, ν_{CN}: 2208.3 cm^{-1}. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.62 (s, 1H), 5.72 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 5.01 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 2.79 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 2.55 – 2.30 (m, 2H), 2.19 (dt, J = 15.8, 6.8 Hz, 1H), 2.03 – 1.42 (m, 9H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 163.16, 148.15, 134.07, 123.55, 117.09, 115.79, 82.22, 61.16, 55.20, 50.99, 48.45, 35.99, 31.51, 31.09, 27.12, 26.79, 26.66.

3.3.1.6. 3'-Amino-6',7',8',8a'-tetrahidro-2'H-spiro[siklohekzan-1,1'-naftalen]-2',2',4'-trikarbonitril 2d nın sentezi

Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol:su (4:1, 5 ml) içerisinde çözülür ve siklohekzanon (5 mmol, 0.491 g) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı 4 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Çöken ürün vakumda süzülür, metanol-su ile yıkanır ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.



$C_{18}H_{20}N_4$; Verim: %79 (0.577 g); Erime Noktası: 173-174 °C; Literatür (Mirek ve ark., 1980) Erime Noktası: 181-183 °C. IR(KBr) ν_{NH}: 3439.0 cm^{-1}, 3350.6 cm^{-1}, ν_{CN}: 2215.6 cm^{-1}.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.13 – 5.99 (m, 1H), 4.88 (s, 2H), 2.58 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 2.30 – 1.24 (m, 16H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 139.06, 126.96, 126.69, 115.21, 113.38, 112.53, 87.70, 50.25, 43.49, 42.68, 33.38, 26.38, 26.00, 25.23, 23.67, 23.29, 23.15, 22.14. Hesaplanan: $C_{18}H_{20}N_4$ (292.38) C, 73.94; H, 6.89; N, 19.16. Bulunan: C, 73.85; H, 6.91; N, 19.05.

3.3.1.7. 3'-Amino-6',7',8',8a'-tetrahidro-2'H-spiro[siklohekzan-1,1'-naftalen]-2',2',4'-trikarbonitril 2d nin sentezi (24 saatlik prosedür)

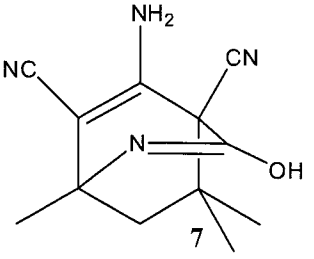
Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol:su (4:1, 5 ml) içerisinde çözülür ve siklohekzanon (5 mmol, 0.491 g) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Çöken ürün vakumda süzülür, metanol-su ile yıkanır ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.

$C_{18}H_{20}N_4$; Verim: %92 (0.672 g); 3.3.6. da sentezlenen **2d** bileşiğinin spektral ve elementel analiz verileri ile aynıdır. 3.3.6. da yürütülen prosedürden farklı olarak reaksiyon süresi 24 saate çıkarılarak reaksiyon takip edilmiştir.

3.3.1.8. 3-Amino-5-hidroksi-1,8,8-trimetil-6-aza-bisiklo[2.2.2]okta-2,5-dien-2,4-dikarbonitril 7 nin sentezi

Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol:su (4:1, 5 ml) içerisinde çözülür ve mezitiloksit (5 mmol, 0.572 ml) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Kolon kromatografi ile izole edilir ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.

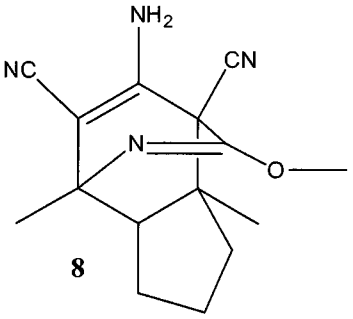
$C_{12}H_{14}N_4O$; Verim: %46 (0.265 g); Erime Noktası: 146-148 °C (bozunma). IR(KBr) ν_{NH}: 3331.5 cm^{-1}, 3275.2 cm^{-1}, ν_{CN}: 2224.4 cm^{-1}. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.37 (s, 1H), 7.20 (s, 2H), 1.74 – 1.64 (m, 2H), 1.51 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.11 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 162.49, 154.44, 115.58, 112.73, 78.60, 57.26, 56.25, 49.81, 49.08, 43.41,



40.58, 40.37, 40.16, 39.95, 39.75, 39.54, 39.33, 27.10, 26.73, 20.82. Hesaplanan: $C_{12}H_{14}N_4O$ (230.26576) C, 62.59; H, 6.13; N, 24.33; Bulunan: C, 62.59; H, 5.67; N, 24.33.

3.3.1.9. 10-Amino-9-metoksi-2,7-dimetil-8-azatrisiklo[5.2.2.02,6]undeka-8,10-dien-1,11-dikarbonitril 8 in sentezi

Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol:su (3:2; 5 ml) içerisinde çözülür ve metil vinil keton (5 mmol, 0.417 ml) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Çöken ürün vakumda süzülür, metanol-su ile yıkanır ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.

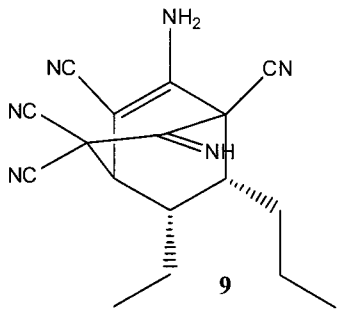


8

$C_{15}H_{18}N_4O$; Verim: % 20 (0.135 g); Erime Noktası: 220-221 °C. IR(KBr) ν_{NH}: 3243.1 cm^{-1}, 3208.4 cm^{-1}, ν_{CN}: 2195.4 cm^{-1}. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 6.15 (s, 2H), 3.60 (s, 3H), 2.39 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 2.29 (dd, J = 13.6, 3.0 Hz, 1H), 2.11 (td, J = 12.8, 6.6 Hz, 1H), 1.89 (d, J = 2.8 Hz, 2H), 1.52 – 1.41 (m, 5H), 1.28 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 161.00, 152.93, 121.34, 120.83, 78.79, 62.06, 54.13, 53.38, 40.58, 40.38, 40.17, 39.96, 39.75, 39.53, 39.32, 39.10, 34.70, 30.43, 30.34, 29.39, 28.37, 25.06. Hesaplanan: $C_{15}H_{18}N_4O$ (270.33) C, 66.64; H, 6.71; N, 20.73; Bulunan: C, 66.45; H, 6.99; N, 20.80.

3.3.10. 2-Amino-5-etil-7-imino-6-propilbisiklo[2.2.2]okt-2-en-1,3,8,8-tetrakarbo nitril 9 un sentezi

Malononitril (7.5 mmol, 0.495 g) metanol:su (4:1, 5 ml) içerisinde çözülür ve bütanal (5 mmol, 0.360 ml) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Kolon kromatografi ile izole edilir ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.



9

$C_{17}H_{18}N_6$; Verim: %15 ; Erime Noktası: 229 °C.

IR(KBr) ν_{NH}: 3401.3 cm^{-1}, 3331.0 cm^{-1}, ν_{CN}: 2206.2 cm^{-1}.

^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3) δ 7.38 (s, 1H), 4.98 (s, 2H), 2.81 – 2.73 (m, 2H), 2.55 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.66 – 1.55 (m, 3H), 1.19 (dd, J = 9.5, 5.6 Hz, 3H), 1.11 – 1.00 (m, 4H). 13C NMR (101 MHz, CDCl3) δ 152.14, 150.84, 149.92, 136.25, 132.13, 119.98, 116.30, 115.72, 115.50, 98.51, 94.91, 37.16, 34.24, 24.37, 23.87, 23.60, 21.32, 15.05, 14.30, 13.76.

3.3.2. METHOD 2: Karbonil bileşiklerinin malononitril ile pirolidin ve karbonat beraberinde verdiği reaksiyonlar

3.3.2.1. 3-Amino-5-metoksi-1,8,8-trimetil-6-aza-bisiklo[2.2.2]okta-2,5-dien-2,4-dikarbonitril 4a nın sentezi

Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol (5 ml) içerisinde çözülür ve aseton (5 mmol, 0.367 ml) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden 15 dakika sonra Na_2CO_3 (2.5 mmol; 0.265 g) ilave edilir ve reaksiyon karışımı 72 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Çöken ürün vakumda süzülür, metanol-su ile yıkanır ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.

$C_{13}H_{16}N_4O$; Verim: %98 (0.598 g); Erime Noktası: 140-150 °C (bozunma), 4a bileşiğinin spektral ve elementel analiz verileri ilk metod altında yer alan 3.3.1.2. başlığı altında verilmiştir.

3.3.2.2. 4-Amino-6-(disiyanometil)spiro[bisiklo[4.2.0]oct[4]en-2,1'-siklobütan]-3,3,5-trikarbonitril 6 nın sentezi

Malononitril (7.5 mmol, 0.495 g) metanol (5 ml) içerisinde çözülür ve siklobütanon (5 mmol, 0.373 ml) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden 15 dakika sonra Na_2CO_3 (2.5 mmol; 0.265 g) ilave edilir ve reaksiyon karışımı 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Kolon kromatografi ile izole edilir ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.

$C_{17}H_{14}N_6$, Verim: % 49, Erime Noktası:169-170 °C. **6** bileşiğinin spektral ve elementel analiz verileri ilk metod altında yer alan 3.3.1.3. başlığı altında verilmiştir.

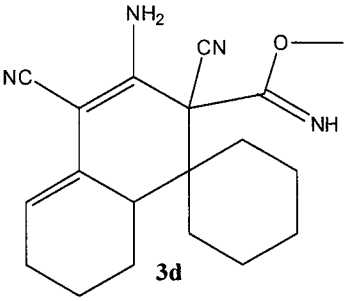
3.3.2.3. Metil 6'-amino-5',7'-disiyano-2',3',3a',5'-tetrahidrospiro[siklopentan-1,4'-inden]-5'-karbimidat 3c nın sentezi

Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol (5 ml) içerisinde çözülür ve siklopentanon (5 mmol, 0.421 g) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden 15 dakika sonra Na_2CO_3 (2.5 mmol; 0.265 g) ilave edilir ve reaksiyon karışımı 3 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Çöken ürün vakumda süzülür, metanol-su ile yıkanır ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.

$C_{17}H_{20}N_4O$; Verim: % 96 (0.710 g); Erime Noktası: 196-198 °C; Literatür (Igarashi ve ark.) Erime Noktası: 189-191 °C, **3c** bileşiğinin spektral ve elementel analiz verileri ilk metod altında yer alan 3.3.1.5. başlığı altında verilmiştir.

3.3.2.4. Metil- 3'-amino-2',4'-disiyano-6',7',8',8a'-tetrahidro-2'H-spiro[siklo hekzan-1,1'-naftalen]-2'-karbimidat 3d nin sentezi

Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol (5 ml) içerisinde çözülür ve siklohekzanon (5 mmol, 0.491g) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden 15 dakika sonra Na_2CO_3 (2.5 mmol; 0.265 g) ilave edilir ve reaksiyon karışımı 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Çöken ürün vakumda süzülür, metanol-su ile yıkanır ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.



$C_{19}H_{24}N_4O$; Verim: % 81; Erime Noktası: 227-228 °C. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.05 – 5.95 (m, 1H), 4.78 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 2.30 (d, J = 10.6 Hz, 1H), 2.15 (dt, J = 8.8, 3.3 Hz, 2H), 1.99 – 1.80 (m, 6H), 1.72 – 1.31 (m, 11H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 163.28, 144.92, 127.85, 124.98, 117.88, 116.10, 86.76, 62.27, 54.99, 42.31, 41.92, 32.69, 28.39, 26.37, 25.28, 23.76, 23.57, 23.36, 22.51.

3.3.2.5. 3-Amino-5-metoksi-1,8,8-trimetil-6-aza-bisiklo[2.2.2]okta-2,5-dien-2,4-dikarbonitril 4a nın sentezi

Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol (5 ml) içerisinde çözülür ve mezitil oksit (5 mmol, 0.572 ml) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden 15 dakika sonra Na_2CO_3 (2.5 mmol; 0.265 g) ilave edilir ve reaksiyon karışımı 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Çöken ürün vakumda süzülür, metanol-su ile yıkanır ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.

$C_{13}H_{16}N_4O$, Verim: %33, Erime Noktası: 146-148 °C (bozunma), **4a** bileşiğinin spektral ve elementel analiz verileri ilk metod altında yer alan 3.3.1.2. başlığı altında verilmiştir.

3.3.2.6. 10-Amino-9-metoksi-2,7-dimetil-8-azatrisiklo[5.2.2.02,6]undeka-8,10-dien-1,11-dikarbonitril 8 in sentezi

Malononitril (5 mmol, 0.330 g) metanol (5 ml) içerisinde çözülür ve metil vinil keton (5 mmol, 0.417 ml) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden 15 dakika sonra Na_2CO_3 (2.5 mmol; 0.265 g) ilave edilir ve reaksiyon karışımı 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Kolon kromatografisi ile izole edilir ve vakum altında kurutulur. Etanolden kristallendirilir.

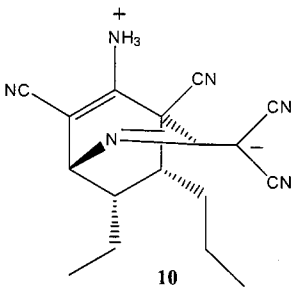
$C_{15}H_{18}N_4O$; Verim: %59 (0.398 g); Erime Noktası: 227-228 °C. **8** bileşiğinin spektral ve elementel analiz verileri ilk metod altında yer alan 3.3.1.9. başlığı altında verilmiştir.

3.3.2.7. ((1R,4S,7S,8R)-5-ammonyo-4,6-disiyano-7-etil-8-propil-2-azabisiklo[2.2.2] okta-2,5-dien-3-il)disiyanomethanid 10 un sentezi

Malononitril (7,5 mmol, 0.495 g) metanol (5 ml) içerisinde çözülür ve bütanal (5 mmol, 0.360 ml) ilave edilir. Pirolidin (0.5 mmol, 0.041 ml) ilavesinden 15 dakika sonra Na_2CO_3 (2.5 mmol; 0.265 g) ilave edilir ve reaksiyon karışımı 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Kolon kromatografisi ile izole edilir. Etanolden kristallendirilir.

$C_{17}H_{18}N_6$; Verim: %40; Erime Noktası: 327-330 °C. IR(KBr) ν_{NH}: 3424.7 cm^{-1}, 3335.9 cm^{-1}, ν_{CN}: 2188.7 cm^{-1}. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4.99 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 3.43 (d,

J = 2.2 Hz, 1H), 1.82 – 1.68 (m, 1H), 1.61 (dq, J = 7.1, 3.5 Hz, 1H), 1.56 – 1.22 (m, 1H), 1.21 – 1.06 (m, 1H), 0.98 (dd, J = 16.0, 7.4 Hz, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 154.33, 153.08, 116.80, 116.41, 114.74, 80.92, 78.59, 53.09, 50.15, 49.16, 38.94, 35.93, 28.38, 20.74, 14.19, 11.98.

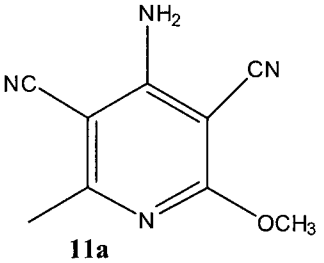


10

3.3.2.8. 4-Amino-2-metoksi-6-metilpiridin-3,5-dikarbonitrilin 11a nın sentezi

5-Amino-3-metoksi-1,4,8,8-tetrametil-2-azabisiklo[2.2.2]okta-2,5-dien-6-karbo nitril **4a** bileşiği ($4x10^{-2}$ mmol, 0.010 g), 180 °C da kapiler tüp içerisinde inert atmosfer altında 45 dk ısıtıldı.

$C_9H_8N_4O$; Verim: %78, Erime Noktası: 206-208 °C. IR(KBr) ν_{NH}: 3429.5 cm^{-1}, 3344.5 cm^{-1}, ν_{CN}: 2223.3 cm^{-1}. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.58 (s, 2H), 3.91(s, 3H), 2.44 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 166.53, 166.25, 158.80, 115.50, 113.89, 88.67, 75.89, 55.09, 24.50.

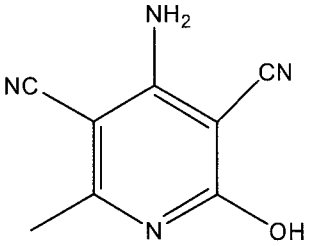


11a

3.3.2.9. 4-Amino-2-hidroksi-6-metilpiridin-3,5-dikarbonitrilin 11b nin sentezi

5-Amino-3-hidroksi-1,8,8-trimetil-2-azabisiklo[2.2.2]okta-2,5-dien-4,6-dikarbo nitril **7** bileşiği ($4x10^{-2}$ mmol, 0.010 g)) 180 °C da kapiler tüp içerisinde inert atmosfer altında 45 dk ısıtıldı.

$C_8H_8N_4O$; Verim: %80, Erime Noktası: 220-230 °C. IR(KBr) ν_{NH}: 3343.9 cm^{-1}, 3226.1 cm^{-1}, ν_{CN}: 2210.2 cm^{-1}. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.02 (s, 2H), 2.46 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 161.11, 158.07, 118.20, 114.32, 113.53, 86.47, 76.96, 20.80.



11b

3.4. Sitotoksisite Çalışmaları

0.5 g *Artemia Salina* (JBL GmbH&Co. KG) yumurtası yapay deniz suyu (2 Litre) içerisine transfer edildi. Güneş ışığı altında içerisine bolca oksijen inkübe edilerek 48 saat bekletildi. 48 saat sonunda canlı *Artemia Salina* lar boş yumurtalardan ve sağlıksız olanlardan ayrıldı.

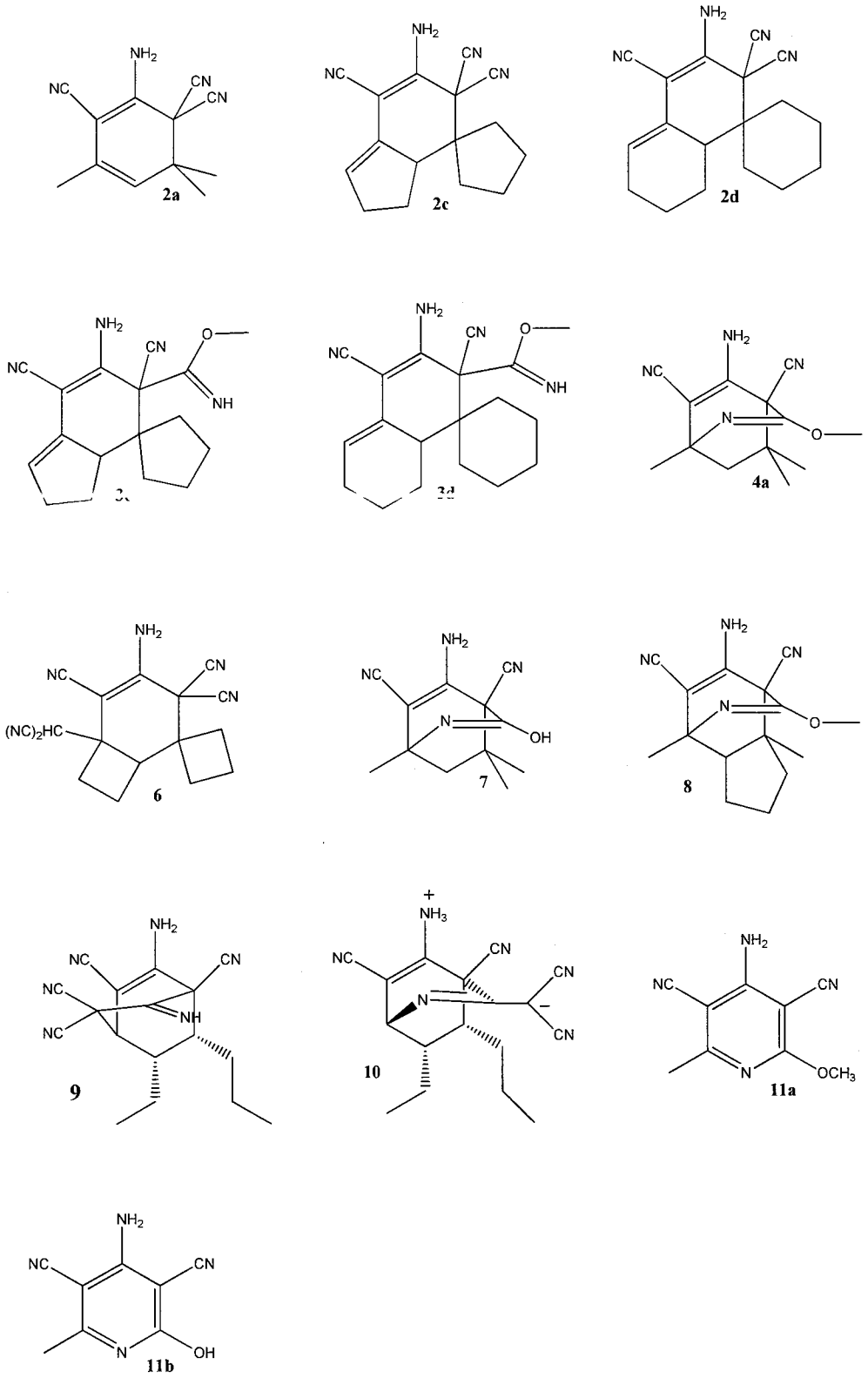
Literatürde doğal ya da sentetik kimyasalların LC_{50} değerlerini belirlemeye yönelik in vivo ve in vitro çalışmalar değerlendirildi. Afrika yerlilerinin sağlık açısından oldukça faydalı olan ve birçok hastalığın tedavisinde kullanılan *Elaeis guineensis* isimli bitkinin metanol ekstraktları ile yapılan çalışmada maksimum ölümle sonuçlanan doz 100 mg/ml olarak tespit edilirken, minumum ölümle sonuçlanan doz 0.195 mg/ml olarak tespit edilmiştir. Konsantrasyonlara karşı hayatta kalma yüzdeleri ile çizilen grafikten belirlenen LC_{50} değeri 1mg/ml olarak tespit edilmiştir. *Elaeis guineensis* bitkisinin toksik olmadığı sonucuna varılmıştır (Syahmi ve ark. 2010). Brezilyada iki bölgeden toplanan ve antioksidan, antibakterial olmalarıyla dikkat çeken *Croton Hitrus* bitkisinin yapraklarından elde edilen esansiyel yağ numuneleri ile toksisite çalışmaları yürütülmüştür. Deniz suyunda, 48 saat bekletildikten sonra ele geçen *Artemia Salina* lar, 1, 5, 10, 20, 30, 50 ve 100 µg/ml lık konsantrasyonlarda, her konsantrasyon için üç yaşam ortamı olmak suretiyle 24 saat bekletilmiştir. Her doz için hayatta kalan *Artemia Salina* lar belirlenmiştir. İki bölgeden alınan *Croton Hitrus* bitkisinin yapraklarından ele geçen yağ numunerinin LC_{50} değerleri 11.24 ve 11.85 µg/ml olarak belirlenmiştir. (Lima ve ark. 2012) Antimikrobiyal aktivitesi olan nitrofuran türevlerinin toksik özellikleri hakkında ön değerlendirme yapmayı amaçlayan bir diğer çalışmada, *Artemia Salina* lar kullanılmıştır. Yapılan çalışmada, çözgen olarak kloroform kullanılmıştır. Çalışmada, kloroformun tercih edilmesinin sebebi, bileşiklerin kloroformda iyi çözünüyor olması ve kloroformun test ortamından oldukça kolay uzaklaştırılabiliyor olması olarak açıklanmıştır. Her bileşik için 2000, 1000, 500, 100, 50, 10, 5 ve 1 µg/ml konsantrasyonlarında hazırlanan test ortamlarında *Artemia Salina* lar 28 °C da 24 saat boyunca tutulmuştur. 24 saat sonunda popülasyondaki *Artemia Salina* ların yaşam yüzdesi belirlenmiştir. LC_{50} değerleri, %95 güvenilirlikle 50-654 µg/ml değer aralığında tespit edilmiştir (Amaro ve ark. 2008).

Antifungal aktivitelerinden dolayı dikkat çeken *Calycanthaceae* türlerinden elde edilen iki esansiyel yağ ile ilgili olarak yapılan sitotoksisite çalışmalarında LC_{50} değerleri 32 ve 38 µg/ml olarak belirlenmiştir. DMSO içerisinde hazırlanan bileşiklerin, sitotoksisite testlerindeki konsantrasyonları 900, 100, 10 ve 1 µg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır (Yu ve ark. 2014).

Bu literatür çalışmalarından yararlanılarak, sitotoksisite çalışmalarında kullanılacak metodu oluşturmak için ön sitotoksisite denemeleri yapıldı. Yapılan bu ön denemelerde öncelikli olarak hem bileşikleri iyi çözebilecek hem de *Artemia Salina* lar üzerinde en az toksik etki gösterecek çözücünün belirlenmesi yoluna gidildi. Yapılan literatür taramalarında karşılaşılan *Artemia Salina* testlerinde en sık kullanılan çözücülerden olan metanol, etanol, aseton, etil asetat, DMSO gibi çözgenlerle ön denemeler yapıldı. Yapılan ön denemelerden yararlanılarak, metanolün *Artemia Salina* lar üzerinde en az toksik etki gösteren çözgen olduğu tespit edildi. Benzer şekilde, öncelikli olarak geniş bir konsantrasyon aralığında (10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-9}, 10^{-12}) çalışıldı. İyi bir LC_{50} değeri verebilecek ve *Artemia Salina* ların %50 sinin öldüğü konsantrasyonu belirlemede kullanılcak test konsantrasyonlarının 10^{-3}, 10^{-6}, 10^{-9} mol/L olduğu belirlendi. Makropipet yardımıyla her bir test tübüne yaklaşık olarak 10 tane olacak şekilde *Artemia Salina* yerleştirildi. Farklı konsantrasyonlardaki test bileşikleri (10^{-3}, 10^{-6}, 10^{-9} mol/L), her bir konsantrasyon için üç tekrar olacak şekilde hazırlandı. Test bileşikleri metanol içerisinde hazırlandı. Metanol ile yürütülen kontrol yani kör denemelerde, metanolün herhangi bir toksik etkisi gözlenmedi ve bileşiklerin metanol içerisindeki çözünürlüğü oldukça iyiydi. 24 saatin sonunda *Artemia Salina* ların canlılık yüzdeleri belirlendi. Bileşik konsantrasyonuna karşılık yaşam yüzdelerini içeren grafik kullanılarak *Artemia Salina* ların %50 sinin hayatta kaldığı dozu ifade eden LC_{50} değeri hesaplandı.

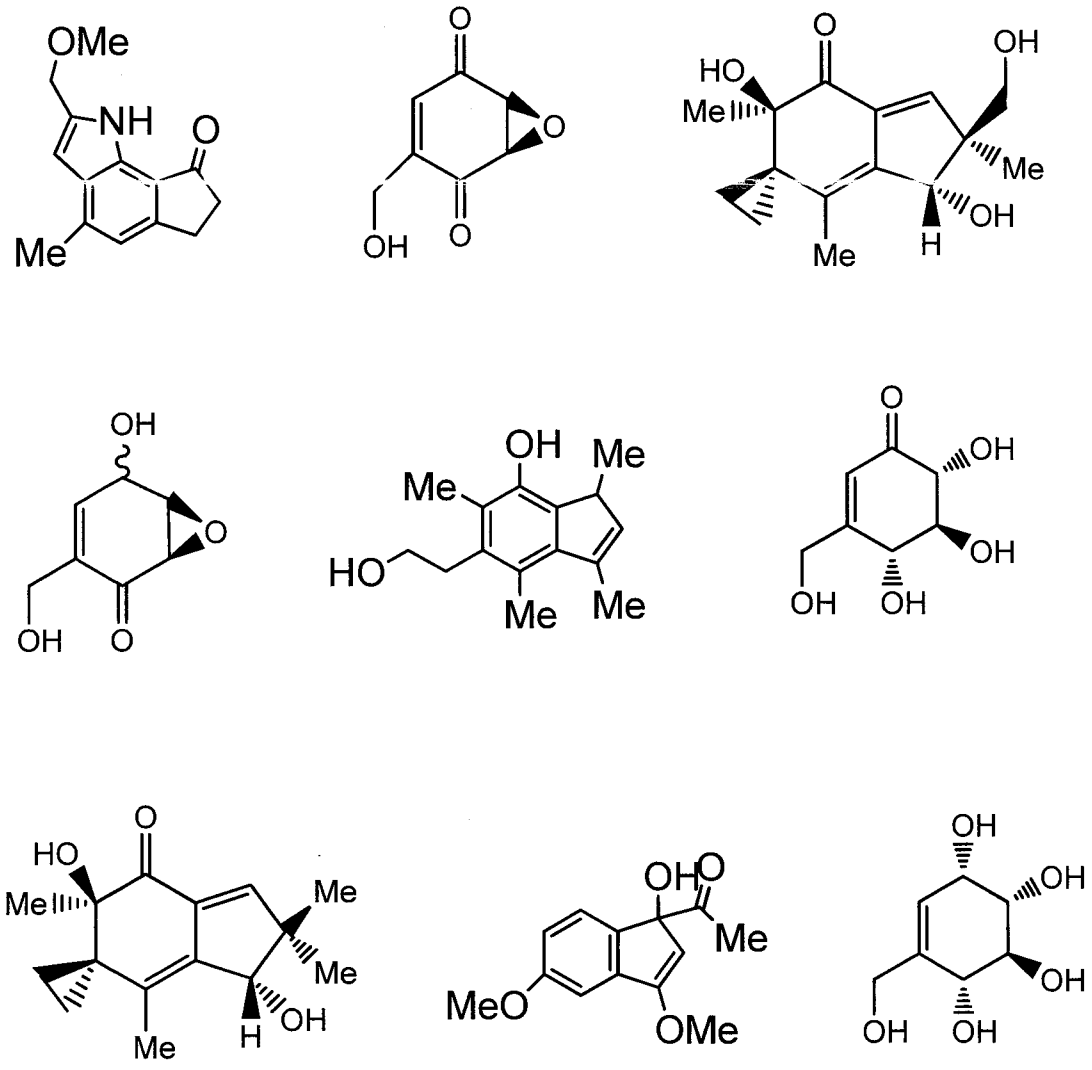
4.BULGULAR

Knoevenagel reaksiyonları, biyolojik aktif bileşiklerin sentezinde kullanılan önemli reaksiyonlardandır. Knoevenagel reaksiyon ürünleri ve türevleri, antienflamatuvar, antipiretik, antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antikanser, analjezik, ülserojenik, antikonvulsant gibi özellikleri sebebiyle, farmakolojik kimyada ve organik sentezlerde oldukça önemlidirler. Özellikle ilaç kimyasında, heterohalkalı bileşiklerin sentezinde kullanılan önemli metodlar arasında yer almaktadır. Bunun yanısıra, reaksiyon ürünü olarak, nitril grubu ve karbon karbon çift bağı içeren ürünlerin oluşması, bu aşamadan sonra yürüyecek olan reaksiyonlar için temel adım niteliği taşımaktadır. Araştırma kapsamında, belirtilen özellikleri taşıyabilecek, biyolojik aktif moleküller ve türevi olabilecek yapıları sentezlemek amacıyla malononitril beraberinde karbonil bileşikleri ile çalışılmıştır. Knoevenagel koşullarına uygun olarak başlatılan reaksiyonlar, şaşırtıcı şekilde, Knoevenagel ürünlerinde durmayıp Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonlarını içeren domino reaksiyonlar şeklinde ilerleyip, basit ve küçük moleküllerle başlayan Knoevenagel reaksiyonlarını, oldukça kompleks ve bilinen biyolojik aktif bileşik yapılarına benzeyen moleküllerle sonlanmıştır. Domino reaksiyonları, iki ya da daha fazla bağ oluşumuyla sonuçlanan, basit yapılardan oldukça kompleks yapıların oluşumunu sağlaması açısından oldukça ekolojik ve etkili sentez metodları arasındadır. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları, özellikle ilaç ve kozmetik alanında yürütülen endüstriyel sentezlerde ve akademik çalışmalarda, dikkatleri üzerine çeken yöntemlerdendir. Aynı çözücü içerisinde yürümesi ve dolayısıyla fazla çözgen kullanımını gerektirmemesi, her adımda katalizör kullanımına ihtiyaç duyulmaması yöntemin diğer avantajlarındandır. Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonları, kompleks moleküllerin sentezinde, hem çevre dostu hem de ekonomik yaklaşımlardır. Bu avantajlarının yanısıra, reaksiyon ürünlerinin amin ve siyano gibi türevlendirmeye musait fonksiyonel grupları bulundurması, araştırma kapsamında oluşturulan metod ve sentezlenen bileşiklere önem katmaktadır. Tez kapsamında sentezlenen bileşikler aşağıda verilmektedir. **(Şekil 4.1.)**



Şekil 4.1. Tez kapsamında sentezlenen bileşikler

Reaksiyon ürünleri, kaynaşık halka sistemlerinin yer aldığı bisiklik bileşiklere **(4a, 7)** ve bir diğer yandan spirosiklik bileşiklere **(2c, 2d, 3c, 3d, 6)** örnek olduğundan farmasötik aktiviteleri ile bilinen yapıları andırmaktadırlar. İnden, akerenol gibi yapılara benzerliği ile dikkat çeken **8** bileşiği, farmasötik aktivitesi ile dikkat çekebilecek yapılardandır. **(Şekil 4.2.)**



Şekil 4.2. Tez kapsamında sentezlenen bileşiklerle benzer iskeletlere sahip biyolojik aktif moleküller

Sentezlenen bileşikler, türevlendirmeye uygun amino ve siyano fonksiyonel grupları açısından zengin olduğundan ve reaksiyon oldukça iyi verimle gerçekleştiğinden daha ileri reaksiyonlarda öncü bileşik olarak kullanılabilirler.

Yöntem, girdiler sentezlenen bileşikte herhangi bir kayba uğramadan yer aldığından endüstriyel kullanım açısından uygundur. Reaksiyonun oda sıcaklığında yürüyor olması ve inert ortam gerektirmemesi yöntemin diğer avantajlarındandır.

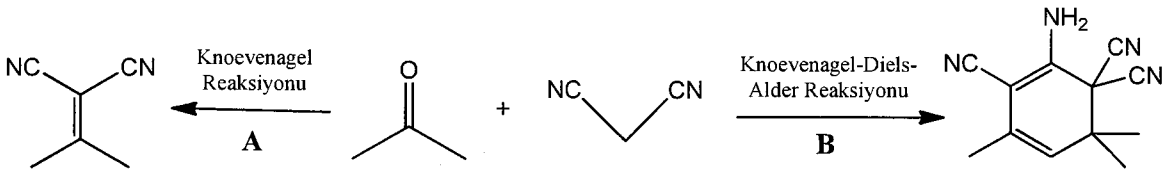
Knoevenagel reaksiyonları, genellikle piperidin, piridin, amin bileşikleri gibi katalizörlerle çalışan reaksiyonlardır. Bu kapsamda, literatür araştırmalarında, genellikle bu katalizörlerin katalitik miktarda değil reaktanlarla eş molde kullanıldığı belirlenmiştir. Araştırma kapsamında, fulvenlerin sentezinde pirolidin katalizli yaklaşımların başarısından cesaret alınarak (Coskun ve ark. 2011), Knoevenagel reaksiyonu katalizörlerinden farklı olarak pirolidin kullanılmıştır. Bunun yanısıra, yalnızca katalitik miktarda (%10) kullanılmış olması yöntemin bir diğer avantajıdır.

Reaksiyonlar, metanol:su sisteminin yanısıra yalnızca metanol ya da metanol:su yüzdesi değiştirilerek denenmiş olup, istenilen ürünü en iyi verimde ve en uygun reaksiyon sürelerinde verecek sistemin metanol:su (4:1) sistemi olduğu belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. METHOD 1: Karbonil Bileşiklerinin Malononitril ile Pirolidin Beraberindeki Reaksiyonları

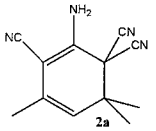
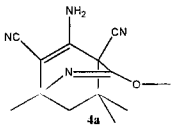
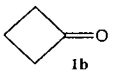
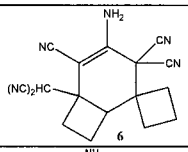
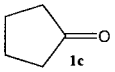
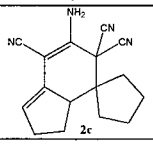
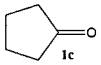
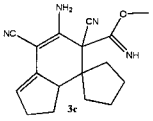
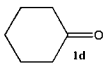
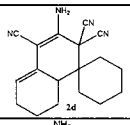
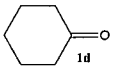
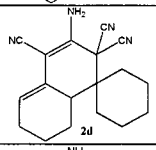
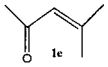
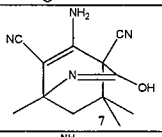
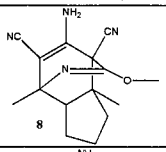
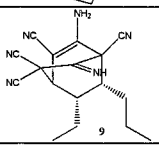
Karbonil bileşikleri ile malononitrilin, $MeOH/H_2O$ içerisinde pirolidin varlığında reaksiyonları incelenmiştir. Karbonil bileşiklerinin malononitril beraberinde, oda sıcaklığında ve metanol:su sisteminde katalitik miktarda prolidin varlığında incelenen reaksiyonlarında, reaksiyonun **A** yolunu izleyerek yalnızca Knoevenagel reaksiyonu vermesi beklenir. Benzer koşullarda Knoevenagel ürünlerinin yanısıra reaksiyonun **B** yolunu takip ederek Knoevenagel ürünlerinin dimerizasyonu ile siklohekzan halkalarının oluşumuna da literatürde rastlanmaktadır. **(Şekil 5.1.1.)**



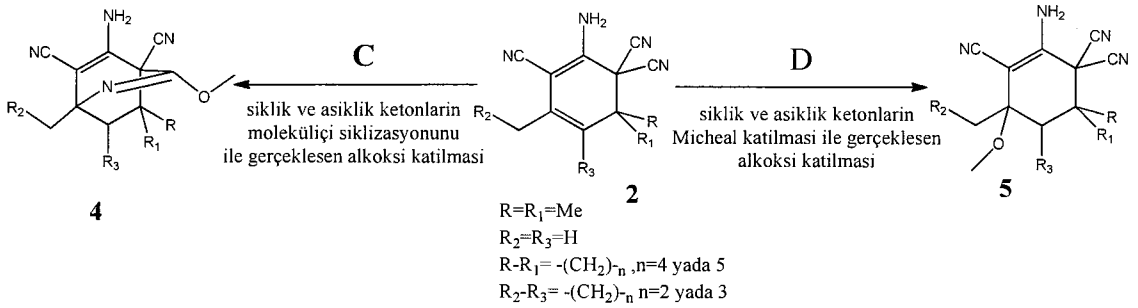
Şekil 5.1.1. Malononitril ve aseton beraberinde gerçekleşen Knoevenagel **A** veya Knoevenagel Diels Alder **B** reaksiyonları

Malononitril beraberinde $MeOH/H_2O$ içerisinde katalitik miktarda pirolidin varlığında, karbonil bileşiği olarak aseton **1a**, siklopentanon **1c** ve siklohekzanon **1d** kullanıldığında reaksiyon, Knoevenagel-Diels-Alder yolunu izlemiş, oldukça iyi verimlerle 2-amino-4,6,6-trimetilsiklohekza-2,4-dien-1,1,3-trikarbonitril **2a**, 6'-amino-3',3a'-dihidrospiro[siklopentan-1,4'-inden]-5',5',7'(2'H)-trikarbonitril **2c** ve 3'-amino-6',7',8',8a'-tetrahidro-2'H-spiro[siklohekzan-1,1'-naftalen]-2',2',4'-trikarbonitril **2d** ele geçmiştir. Araştırma kapsamında reaksiyon süreleri 24 saate uzatılarak reaksiyon ürünlerindeki değişimler tespit edilmiştir. **2a** bileşiği **4a** bileşiğine ve **2c** bileşiğinin **3c** bileşiğine dönüşerek alkoksi katılma ürünlerini verdikleri belirlenirken, **2d** bileşiğinde herhangi bir dönüşüm gözlenmemiş, yalnızca veriminin iyileştiği tespit edilmiştir. **(Çizelge 1)**

Çizelge 1. Metanol-su içerisinde, karbonil bileşiklerinin malononitril beraberindeki pirolidin katalizli reaksiyonları

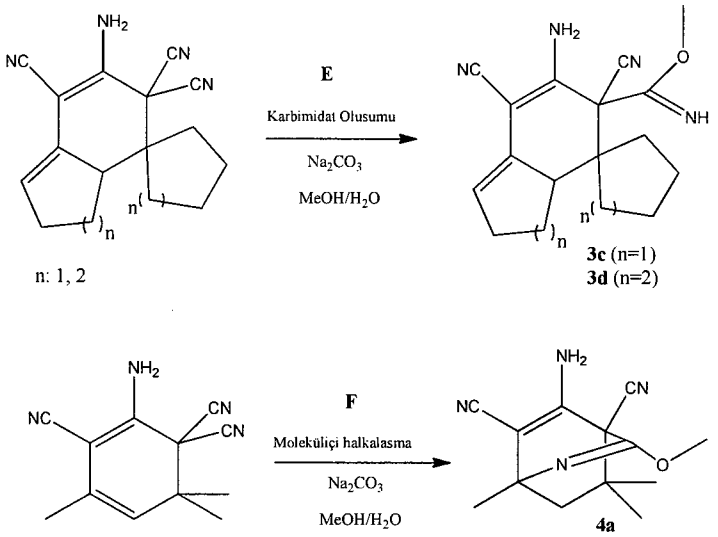
	Karbonil	Süre (saat)	Ürün	Verim (%)	Erime Nok. (°C)	IR (υ_{NH})	IR (υ_{CN})
1	1a	2	 2a	54	171-172	3423.4, 3321.4	2208.9
2	1a	24	 4a	69	146-150	3427.3, 3317.7	2188.8
3	 1b	24	 6	47	169-170	3432.7, 3322.4	2208.5
4	 1c	4	 2c	88	187-188	3405.6, 3328.1	2224.7
5	 1c	24	 3c	50	196-198	3433.0, 3322.6	2208.3
6	 1d	4	 2d	79	173-174	3439.0, 3350.6	2215.6
7	 1d	24	 2d	92	173-174	3439.0, 3350.6	2215.6
8	 1e	24	 7	46	159-160	3331.5, 3275.2	2224.4
9	1f	24	 8	20	227-228	3243.1, 3208.4	2195.4
10	1g	24	 9	15	229 (boznma)	3401.3, 3331.0	2206.2

Literatür çalışmaları kapsamında, Knoevenagel ve Knoevenagel-Diels-Alder ürünlerinin bir ileri reaksiyonu olan alkoksi katılma ürünlerinin sentezlendiği çalışmalar değerlendirilmiştir. **(Şekil 5.1.2.)**



Şekil 5.1.2 Literatürde yer alan Knoevenagel-Diels-Alder ürününe alkoksi katılması ile oluştuğu iddia edilen bileşikler

Williams, Mirek ve Adamczyk, siklohekzan halkası üzerinden yürüyen alkoksi katılmalarının Michael katılması şeklinde, **D** yolunu izleyerek gerçekleştiğini öne sürmüştür. Bunun yanısıra Igarashi asiklik ve siklik ketonlarının moleküliçi halkalaşmayla **C** yolunu izleyerek gerçekleştiğini belirtmiştir. **(Şekil 5.1.2)**

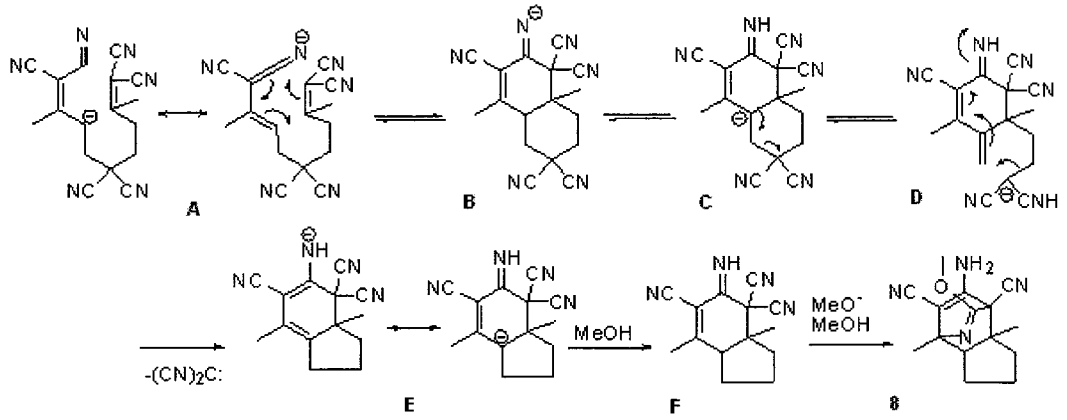


Şekil 5.1.3 Knoevenagel-Diels-Alder ürünlerinin Na_2CO_3 ile muameleleri ile ele geçen **3c**, **3d** ve **4a** bileşikleri

Tez kapsamında yürütülen çalışmalarda, literatürde yer alan alkoksi katılma ürünlerinden farklı olarak reaksiyonların **E** ve **F** yolunu izlediği gözlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda asiklik ve siklik ketonlarda aynı yolu izlemediği tespit edilmiştir. **(Şekil 5.1.3.)**

Asiklik ketonlar üzerinden yürüyen Knoevenagel-Diels-Alder ürünlerinin alkoksi katılmalarının moleküliçi siklizasyon sonucunda halkalaşarak gerçekleştiği, ancak halkalı ketonların reaktif olarak yer aldığı Knoevenagel-Diels-Alder ürünlerinin alkoksi katılma ürünlerinin halkalaşmadığı gözlenmiştir. Karbonil bileşiği olarak siklobütanon **1b** kullanıldığında, reaksiyon Knoevenagel-Diels-Alder ürününe bir mol daha malononitril katılmasıyla oluşan 4-amino-6-(disiyanometil)spiro[bisiklo[4.2.0]okt[4]en -2,1'-siklobütan]-3,3,5-trikarbonitril **6** ele geçmiştir. α, β-doymamış ketonlara örnek olan mezitiloksit **1e**, Knoevenagel- Diels-Alder bileşiklerinden farklı olarak 5-amino-3-hidroksi-1,8,8-trimetil-2-azabisiklo[2.2.2]okta-2,5-dien-4,6-dikarbonitril **7** bileşiğini vermiştir. Yapı, ısıtıldığında isobütilen ayrılması ile piridin türevi olan 4-amino-6-hidroksi-2-metil-2,5-dihidropiridin-3,5-dikarbonitril bileşiğini vermiştir. **7** bileşiğinin sentezi için karbonil bileşiği olarak aseton kullanılmış ve THF/H_2O içerisinde **7** bileşiği ele geçmiştir. **(Çizelge 1)**

Metil vinil ketonun **1f** karbonil bileşiği olarak değerlendirildiği reaksiyon koşullarında 6-amino-8-metoksi-4,7a-dimetil-2,3,3a,4,7,7a-hekzahidro-1H-4,7(azenometeno)inden-5,7-dikarbonitril **8** oluştuğu gözlenmiş ve mekanistik yorumu yapılmıştır. **(Şekil 5.1.4)**



Şekil 5.1.4. 8 bileşiğinin oluşumuna ilişkin mekanizma

8 bileşiği için önerilen mekanizma **Şekil 4.1.4.** gösterilmektedir. Malononitril ve iki mol metil vinil ketondan oluşan 1,1,5,5,9,9-hekzasiyano-2,8-dimetilnona-1,8-dien-3-it ve (2,6,6,10,10-pentasiyano-3,9-dimetildeka-1,3,9-trienyliden)amid anyonları **A,** moleküliçi hetero Diels-Alder reaksiyonu sonucu (1,1,3,6,6-pentasiyano-4,8a-dimetil-4a,5,6,7,8,8a-hekzahidronaftalen-2(1H)-yliden)amid **B** yapısını vermektedir. Protonasyon ve deprotanasyon beraberinde oluşan **C** yapısı 3,3,6,8,8-pentasiyano-7-imino-5,8a-dimetil-2,3,4,7,8,8a-hekzahidro-1H-naftalen-4a-id yeniden düzenlenerek konjuge bir sistem olan 2-siyano-imino-4-(4,6,6-trisiyano-5-imino-1,3-dimetil-2-metilensiklohek-3-enil)bütan-1-id **D** yapısını oluşturur. **D** yapısı α karbonu üzerinden moleküliçi elektrofilik sübstitüsyon ile **C** yapısını verebileceği gibi geri dönüşümsüz olarak (4,4,6-trisiyano-3a,7-dimetil-2,3,3a,4-tetrahidro-1H-inden-5-il)amid ve 5,7,7-trisiyano-6-imino-4,7a-dimetil-1,2,3,6,7,7a-hekzahidroinden-3a-id **E** yapılarını da oluşturabilir. Metanol içerisinde **2a** yapısının **4a** yapısını verdiği gibi **E** yapısından MeOH beraberinde 6-amino-8-metoksi-4,7a-dimetil-2,3,3a,4,7,7a-hekzahidro-1H-4,7-(azenometheno)inden-5,7-dikarbonitril **8** yapısı ele geçmektedir. **(Şekil 5.1.4.)**

Bisiklik bileşiklerin köprübaşı karbonunda bulanan metil grubu, yapıya biyolojik aktivite kazandırabilmesi açısından, ilaç kimyasında önemli bir yere sahiptir. Metil vinil keton gibi kolay bulunabilir bir başlangıç maddesinden çıkılarak, ılımlı reaksiyon koşullarıyla elde edilen **8** bileşiği köprü başı karbonunda metil gubu bulundurduğundan sentezlenmesi önem taşıyan ve türevlendirmeye müsait öncü bileşik olabileceğinden önemlidir.

5.2. METHOD 2: Karbonil Bileşiklerinin Malononitril ile Pirolidin ve Karbonat Beraberindeki Reaksiyonları

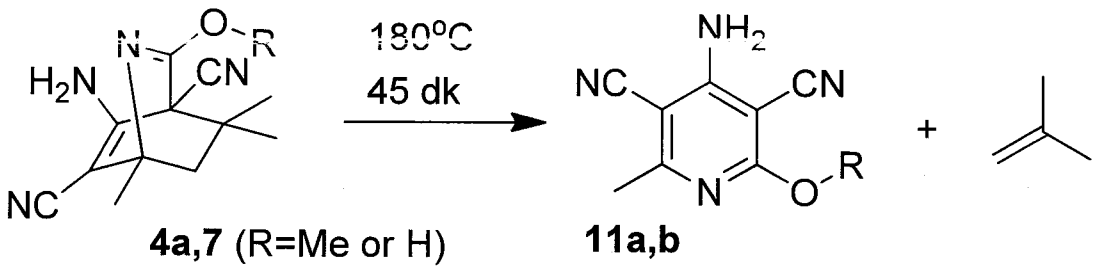
Karbonil bileşikleri ile malononitril beraberinde MeOH içerisinde pirolidin ve karbonat ile verdikleri reaksiyonlar incelenmiştir. Öncelikli olarak, birinci metoda göre sentezlenen asiklik ve siklik bileşiklerin Knoevenagel-Diels-Alder ürünlerinin karbonat beraberinde verdikleri alkoksi katılmaları araştırma kapsamında incelenmiştir. Dimer ürünlerinin Na_2CO_3 beraberinde verdikleri alkoksi katılma ürünleri incelendikten ve literatürdeki veriler değerlendirdikten sonra reaksiyonların koşullarını optimize edilme yoluna gidilmiş, alkoksi katılma ürünlerini daha iyi verimlerle oluşturacak, one-pot prosedürü ortaya konmuştur. Oluşturulan one-pot prosedürüne göre, karbonil bileşiği ve malononitrilin bulunduğu reaksiyon karışımına öncelikle pirolidin, onbeş dakika sonrasında Na_2CO_3 ilave edilmektedir.

Knoevenagel-Diels-Alder reaksiyonunu takiben gerçekleşen reaksiyonlar asiklik ketonlardan olan asetonda **1a** nitril grubuna alkoksi katılması beraberinde siklizasyonla oluşan 5-amino-3-metoksi-1,8,8-trimetil-2-azabisiklo[2.2.2]okta-2,5-dien-4,6-dikarbonitril **4a** ürününü verirken, siklik ketonlar siklopentanon **1c** ve siklohekzanon **1d** da yalnızca nitril grubuna alkoksi katılma ürünleri olan metil 6'-amino-5',7'-disiyano-2',3',3a',5'-tetrahidrospiro[siklopentan-1,4'-inden]-5'-karbimidat **3c** ve metil 3'-amino-2',4'-disiyano-6',7',8',8a'-tetrahidro-2'H-spiro[siklohekzan-1,1'-naftalen]-2'-karbimidat **3d** vermişlerdir. Bunun yanısıra keton olarak siklobütanon **1b** ve metil vinil keton **1f** kullanıldığında, yalnızca pirolidin varlığında ele geçen ürünlerle aynı ürünler

4-amino-6-(disiyanometil)spiro[bisiklo[4.2.0]okt[4]en-2,1'-siklobutan]-3,3,5-tricarbonitril **6** ve 6-amino-8-metoksi-4,7a-dimetil-2,3,3a,4,7,7a-hekzahidro-1H-4,7-(azenometeno)inden-5,7-dikarbonitril **8** farklı verimlerle ele geçmiştir. Ortamda su bulunmadığı ikinci prosedüre göre, mezitiloksit **1e** ile çalışıldığında 5-amino-3-hidroksi-1,8,8-trimetil-2-azabisiklo[2.2.2]okta-2,5-dien-4,6-dikarbonitril **7** ürünün yerine 5-amino-3-metoksi-1,8,8-trimetil-2-azabisiklo[2.2.2]octa-2,5-dien-4,6-dikarbonitrile **4a** ürünü oluşmuştur. **(Çizelge 2)**

Alifatik aldehitlere örnek olarak bütanaldehit **1g** ile çalışılmıştır. Reaksiyon MeOH içerisinde pirolidin ve Na_2CO_3 beraberinde yürütülmüş, reaksiyon ürünü olarak bir iç tuz olan ((1R,4S,7S,8R)-5-amonyo-4,6-disiyano-7-etil-8-propil-2-azabisiklo[2.2.2]okta-2,5-dien-3-il)disiyanomethanid **10** bileşiği oluşmuştur.

4a ve **7** bileşiklerinin ısıtılmasıyla, izobütilen grubunun ayrılması beraberinde piridin bileşikleri oluşmuştur. Reaksiyon ürünlerinin ısıtılmasıyla ele geçen piridin türevi yapılar **4a** ve **7** bileşiklerinin doğruluğunu desteklemektedir. **(Şekil 5.2.1)**

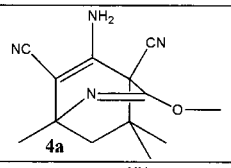
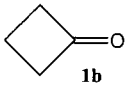
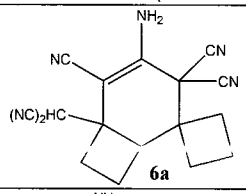
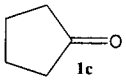
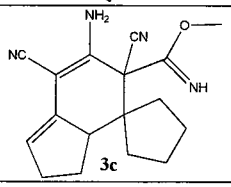
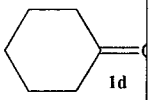
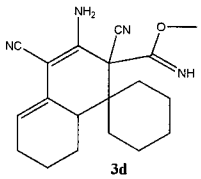
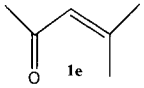
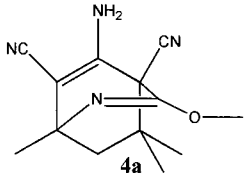
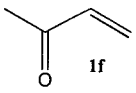
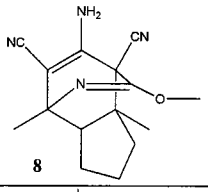
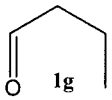
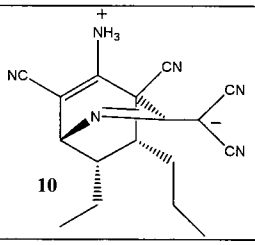


Şekil 5.2.1. 4a ve **7** Bileşiklerinin piroliz reaksiyonları

4a bileşiği 180 °C da 45 dk ısıtılarak izobütilen grubunu kaybetmekte ve 4-amino-2-metoksi-6-metilpiridin-3,5-dikarbonitril **11a** bileşiğini oluşturmaktadır. **11a** bileşiğini spektral verileri, literatürdeki çalışmada belirtilen piridin türevi bileşiğin spektral verileri ile eşleşmektedir (Igarashi ve ark. 1987).

Bunun yanısıra **7** bileşiği 180 °C da 45 dk ısıtılarak izobütilen grubunu kaybetmekte ve literatürde daha önce yer almayan 4-amino-2-hidroksi-6-metilpiridin-3,5-dikarbonitril **11b** bileşiği ele geçmektedir.

Çizelge 2. Metanol içerisinde karbonil bileşiklerinin malononitril beraberindeki pirolidin ve karbonat katalizli reaksiyonları

	Karbonil	Süre (saat)	Ürün	Verim (%)	Erime Nok. (°C)	IR (υ_{NH})	IR (υ_{CN})
1	1a	72	 4a	98	146-150	3427.3, 3317.7	2188.8
2	 1b	4	 6a	49	169-170	3432.7, 3322.4	2208.5
3	 1c	3	 3c	96	196-198	3433.0, 3322.6	2208.3
4	 1d	24	 3d	81	227-228	3423.7, 3326.4	2206.9
5	 1e	24	 4a	33	146-148	3427.3, 3317.7	2188.8
6	 1f	4	 8	59	227-228	3243.1, 3208.4	2195.4
7	 1g	24	 10	20	327-330	3424.7, 3335.9	2188.7

5.3. Sitotoksisite

Elde edilen bileşiklerin toksik özelliklerini belirlemek adına *Artemia Salina* ile yapılan sitotoksisite çalışmalarda sentezlenen moleküller ve piyasada yaygın olarak kullanılan Cis-platin, Etoposide, Fluorouracil ve Taxotere gibi antikanser ilaçların, aynı yöntem kullanılarak LC_{50} değerleri ortaya konmuştur. **(Çizelge 3)**

Çizelge 3. Tez kapsamında sentezlenen bileşikler ve piyasada yaygın olarak kullanılan bazı antikanser ilaçların LC_{50} değerleri

	Konsantrasyon (mol/L)	LC_{50} (µg/ml)
2a	9,01E-04	191.098
2c	6,08E-04	160.5869
2d	4,55E-04	132.7777
3c	1,31E-04	38.72811
3d	2,09E-04	67.585
6	3,29E-04	99.26993
4a	2,62E-04	63.89261
7	2,65E-04	60.94797
8	3,15E-03	85.1328
11a	4,32E-04	75.168
11b	3,01E-04	56.588
***CİS*-PLATİN**	714,5E-04	21435
ETOPOSİDE	4,71E-04	276
FLUOROURACIL	4,65E-04	60
TAXOTERE	71,45E-04	5766

Sonuçlar değerlendirildiğinde, bileşiklerin LC_{50} değerleri, piyasada antikanser ilaç olarak kullanılan **Etoposide** ve **Fluorouracil** ile benzerken, **Cisplatin** ve **Taxotere** den düşüktür. **2** bileşiklerinin LC_{50} değerleri, **Etoposid** ile benzerlik gösterirken, **Cis-platin** e göre daha düşüktür. **3** bileşikleri **Fluorouracil** ile benzerlik gösterirken, **Taxotere** ve ***Cis*-platin** e kıyasla oldukça düşüktür. **4a** ve **7** bileşikleri, **Fluorouracil** ile benzerlik gösterirken, **Taxotere** ve ***Cis*-platin** e kıyasla oldukça düşüktür. **8** bileşiği, **Fluorouracil** ile benzerlik göstermektedir. **11** bileşikleri, ***Cis*-platin** e göre oldukça düşük olup, **Fluorouracil** ile benzerlik göstermektedir.

Bu araştırma kapsamında, Knoevenagel reaksiyonlarının biyolojik aktif bileşik sentezindeki öneminden cesaret alınarak, karbonil bileşiklerinin malononitril beraberindeki pirolidin beraberindeki reaksiyonları (Method 1) ve karbonil bileşiklerinin malononitril beraberindeki pirolidin ve karbonat beraberindeki reaksiyonları (Method 2) incelenmiştir.

Katalitik miktardaki pirolidin varlığında $MeOH/H_2O$, MeOH ve THF/H_2O gerçekleşen reaksiyonlar Knoevenagel ve devamında gerçekleşen dimerleşme reaksiyonlarına yeni bir bakış açısı kazandırmıştır. Asiklik bir keton olan aseton beraberinde MeOH ve $MeOH/H_2O$ ortamında gerçekleşen dimerleşme ve moleküliçi Michael katılma ürünü olan azobisiklik bileşik **4a** ortaya konmuştur. Bununla birlikte siklik ketonların dimerleşme ürünlerinin moleküliçi halkalaşma ile bisiklik yapıları vermedikleri, bunun yerine **3c ve 3d** bileşiklerini oluşturdukları tespit edilmiştir. Mezitil oksitin karbonil grubu olarak kullanılmasıyla **2a** bileşiğine su katılması beraberinde gerçekleşen siklizasyon ürünü olan **7** bileşiği oluşmuştur. Karbonil grubu olarak asetonun reaksiyon koşullarında çözücü olarak $MeOH/H_2O$ yerine THF/H_2O kullanıldığında yine **7** bileşiği ele geçmiştir. Araştırma kapsamında tespit edilen diğer ilginç sonuçlardan biri de karbonil grubu olarak metil vinil ketonun tercih edildiği reaksiyonlarda farklı bir mekanistik yolla **8** bileşiğinin ele geçmesidir. Bisiklik bileşiklerin **4a** bileşiğinin termal muamelesi 2-metoksi substitüe **11a** bileşiğini veririken, **7** bileşiğinin termal muamelesi daha önce literatürde yer almayan 2-hidroksi sübstitüe bir piridin olan **11b** bileşiğini vermektedir. Alifatik aldehitlere örnek olarak bütanaldehit **1g** ile çalışılmış, pirolidin beraberinde reaksiyon ürünü olarak **9** bileşiği ele geçerken, pirolidin ve Na_2CO_3 beraberinde bir iç tuz olan **10** bileşiği oluşmuştur.

Çalışmanın son kısmında bileşiklerin toksik özelliklerini ortaya koymak adına *Salina Artemia* Testi ile sitotoksisiteleri (LC_{50}) belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

Adamczyk, M., Mirek,J., Mokrosz, M., 1980. Syntheses with unsaturated nitriles; II. Selective monoesterification of 2,6,6-tricyano-2-cyclohexenones by transannular rearrangement, *Synthesis*, (11) 916-18.

Amaro, M.I., Monasterios, M., Avendanoa, M.,Charrisc, J., 2008. Preliminary evaluation of the toxicity of some synthetic furan derivatives in two cell lines and Artemia salina. *Journal of Applied Toxicology*, 29: 36–41.

Bigi, F. , Quarantelli, C. 2012. The Knoevenagel Condensation in Water. *Organic Synthesis*, 9: 31-39.

Bhuiyan, M.M.H., Hossain, M.I., Ashraful Alam, M., Mahmud, M.M. 2012. Microwave Assisted Knoevenagel Condensation: Synthesis and Antimicrobial Activities of Some Arylidene-malononitriles. *Chemistry Journal*, 2:1, 30-36.

Bhuyan, J.P., Deb, M.L. 2005. Uncatalysed Knoevenagel condensation in aqueous medium at room temperature. *Tetrahedron Letters*, 46: 6453-6456.

Coşkun, N., Erden, I., 1,2-Dihydropentalenes from Fulvenes by [6 + 2] Cyclo additions with 1-Isopropenylpyrrolidine, *Organic Letters*, 2011, 13 (22), 5952–5955.

Davoodnia, A. 2012. An Efficient Method for Knoevenagel Condensation Catalyzed by Tetrabutylammonium hexatungstate [TBA]2[W6O19] as Novel and Reusable Heterogeneous Catalyst. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, 42:7, 1022-1026.

Jayaram, R.V., Gawande, M.B. 2006. A novel catalyst for the Knoevenagel condensation of aldehydes with malononitrile and ethyl cyanoacetate under solvent free conditions, *Catalysis Communications*, 931–935.

Girgis, A.S., 2009. Regioselective synthesis of dispiro[1H-indene-2,30-pyrrolidine-20,300-[3H]indole]-1,200(100H)-diones of potential anti-tumor properties. *European Journal of Medicinal Chemistry* 44: 91 100.

Gupta, M., Wakhloo, B., P., 2007. Tetrabutylammoniumbromide mediated Knoevenagel condensation in water: synthesis of cinnamic acids. *ARKIVOC*, 94-98.

Igarashi, M., Nakano, Y., Takezawa, K., Watanabe, T., Sato, S., 1987. Cyclization under Michael reaction conditions. II. Synthesis of 2-azabicyclo[2.2.2]octa-2,5-diene derivatives from alkylidenemalononitriles and formation of pyridine derivatives, *Synthesis*, (1) 68-70.

Jeyachandran, V., Kumara, R.R., Ashraf Ali, M., Choon, T.S., 2013. A one-pot domino synthesis and discovery of highly functionalized dihydrobenzo[b]thiophenes as AChE inhibitors. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 2101-2105.

Kalbasi, R.J., Kolahdoozan, M., Vanani, S.M. 2011. Preparation, characterization and catalyst application ofternary interpenetrating networks o f poly 4-methylvinylpyridinium hydroxide–SiO_2–Al_2O_3. *Journal of Solid State Chemistry*, 184: 2009–2016.

Kobyashi, S., Nakazaki, A., Era, T., 2007. Total Synthesis of (-)-Gleenol and (-)-Axenol via a Functionalized Spiro[4.5]decane. *Chem. Pharm. Bull.,* 55(11): 1606-1609.

Lima, S.G., Medeıros, L.B.P., Cunha, C.N.L.C., Silva, D., Andrade, N.C., Neto, J.M.M., Lopes, J.A.D., Steffen, R.A., Araujo., B.Q., Reıs, A.M., 2012. Chemical composition of essential oils of Crotón hirtus L'Her from Piaui (Brazil). *The Journal of Essential Oil Research*, Vol. 24, No. 4, 371-376.

Liu, Q., Ai, H., 2012. Sodium Benzoate as a Green, Efficient, and Recyclable Catalyst for Knoevenagel Condensation, *Synthetic Communications: An International Journal for Rapid Communication of Synthetic Organic Chemistry*, 42:20, 3004-3010.

Majumdar, K.C., Taher, A., Nandi, R.,K., 2012. Synthesis of heterocycles by domino-Knoevenagel-hetero-Diels-Alder reactions. *Tetrahedron*, 5693-5718.

Mathew, B., Suresh, J., Anbazhagan, S., Devaraji, V., 2013. Hypnotic Profile of Imines from Benzimidazole Chalcones: Mechanism of Synthesis, DFT Studies and in silico Screening, *Medicinal Chemistry*, 207-216.

M,rek, J., Adamczyk, M., Mokrosz, 1980. Syntheses with unsaturated nitriles. I. Selective hydrolysis of 1-amino-2,6,6-tricyano-1,3-cyclohexadienes to 2,6,6-tricyano-2-cyclohexenones, *Synthesis,* 296-9.

Movassaghi, M., Piizzi, G., Siegel, D.S., Pıersanti, G., 2009. Observations in the synthesis of the core of the antitumor illudins via an enyne ring closing metathesis cascade. *Tetrahedron Letters*, 50: 5489–5492.

Molına-Salinas, M.G., Said-Fernández, S., 2006. A MODIFIED MICROPLATE CYTOTOXICITY ASSAY WITH BRINE SHRIMP LARVAE (Artemia salina). *Pharmacologyonline 3*, 633-638.

Nakano, Y., Kaneko, Y., Fen., W., O, 1999. Peparation and Hydrolisis of 3-alkoxy-5-amino-4,6- dicyano-1,8,8-trimethyl-2-azabicyclo[2.2.2.]octa-2,5-dienes. *Heterocycles,* Vol 51, 169-176.

Otterlo, W.A.L., Coyanis, E.M., Panayides, J., Fernandes, M.A., Koning, C.B., 2006. Ring-closing metathesis for the synthesis of substituted indenols, indenones, indanones and indenes: Tandem RCM-dehydrogenative oxidation and RCM-formal redox isomerization. *Journal of Organometallic Chemistry* 691: 5222–5239.

Rajarathinam, B., Vasuki, G., 2012. Diastereoselective Multicomponent Reaction in Water: Synthesis of 2 Azapyrrolizidine Alkaloid Analogues. *Organic Letters*, Vol 14, 5204-5206.

Ranu, B.C., Jana, R. 2006. Ionic Liquid as Catalyst and Reaction Medium – A Simple, Efficient and Green Procedure for Knoevenagel Condensation of Aliphatic and Aromatic Carbonyl Compounds Using a Task-Specific Basic Ionic Liquid. *Eur. J. Org. Chem.,* 3767–3770.

Saaed, B., Javad, A. Abolghasem, S., Hamid Reza, B., 2013. CuI–Ionic Liquids as Efficient Reaction Media for the Synthesis of Pyran Skeleton via Domino Knoevenagel–Hetero–Diels–Alder Reaction with Unactivated Alkynes. *Synthetic Comunucations.* Vol. 43, 1787-1795.

Schobert, R., Biersack, B., Knauer, S., Ocker, M., 2008. Conjugates of the fungal cytotoxin illudin M with improved tumour specificity. *Bioorganic, Medicinal Chemistry,* 16: 8592–8597.

Shing, T.K.M., Chen, Y., NG, W., 2011. Carbocyclization of D-glucose: syntheses of gabosine I and streptol. *Tetrahedron Letters*, 67: 6001-6005.

Srikrishna, A., Babu, R.R., 2007. Total syntheses of (±)-a-acorenol, b-acorenol, a-epi-acorenol and b-epi-acorenol via an Ireland ester Claisen rearrangement and RCM reaction sequence. *Tetrahedron Letters*, 48: 6916-6919.

Syahmı, A.R.M., Vıjayarathna, S., Sasıdharan, S., Latha, L.Y., Kwan, Y.P., Shın, L.N., Chen, Y., 2010. Acute Oral Toxicity and Brine Shrimp Lethality of Elaeis guineensis Jacq., (Oil Palm Leaf) Methanol Extract. *Molecules,* 15, 8111-8121.

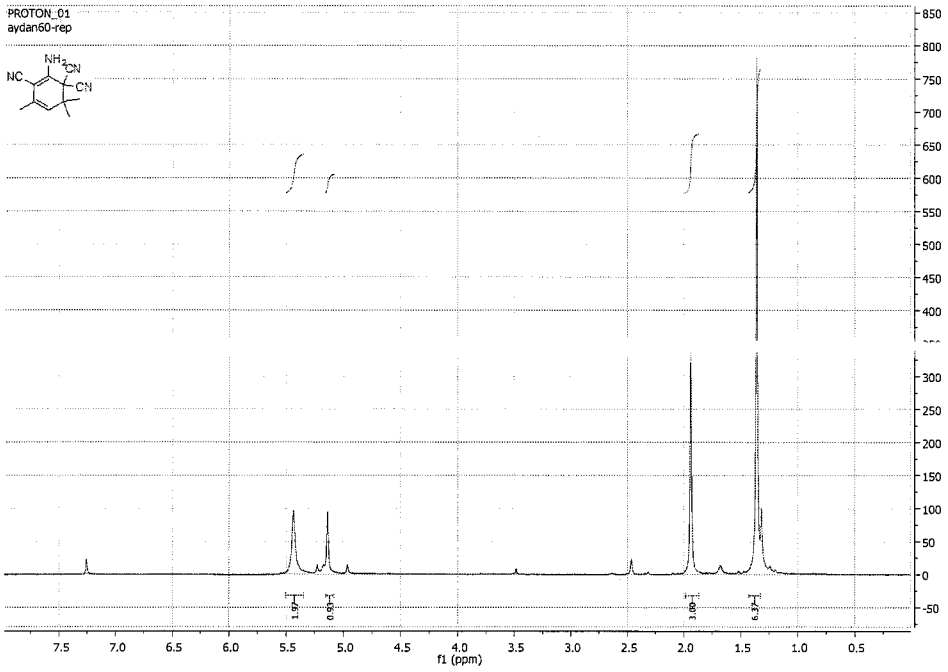
Vankar, Y.D., Reddy, S., Kadıgachalam, P., Basak, R.K., Pal, A.P.J., 2012. Total synthesis of (+)-pericosine B and (+)-pericosine C and their enantiomers by using the Baylis–Hillman reaction and ring-closing metathesis as key steps. *Tetrahedron Letters,* 53: 132–136

Yu, C., Kuang, Y., Yang, S., Lıu, C., 2014. Chemical Composition, Antifungal Activity and Toxicity of Essential Oils from Leaves of Chimonanthus praecox, *Asian Journal of Chemistry*; Vol. 26, No. 1 (2014), 254-256.

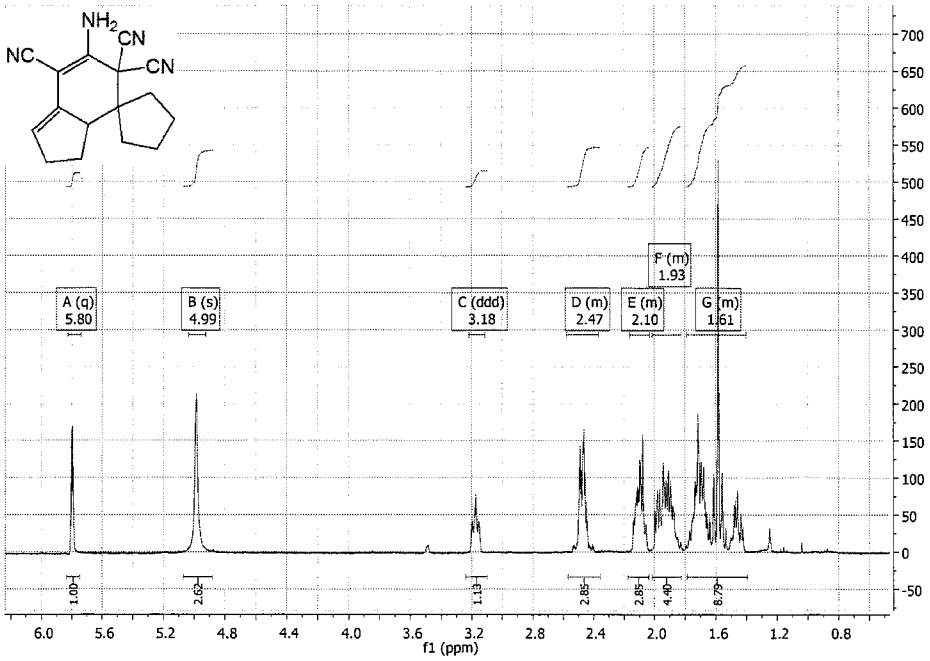
Zaliskoa, N., Atamanyuka, D., Vasylenko, O., Bryhas, A., Matıychukc, V., Gzella, A., Lesyka, R., 2014. Crotonic, cynnamic, and propiolic acids motifs in the synthesis of thiopyrano[2,3d][1,3] thiazoles via hetero-DielseAlder reaction and related tandem processes. *Tetrahedron,* 70, 720-729.

EKLER

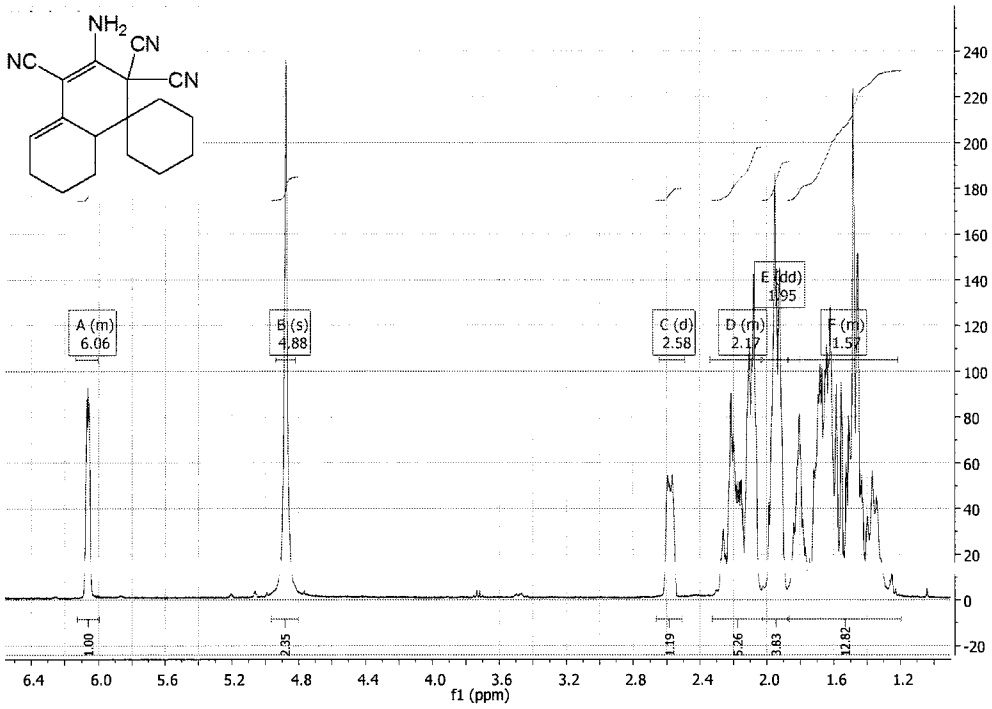
EK AÇIKLAMALAR A Bileşiklerin ^{1}H NMR Spektrumları



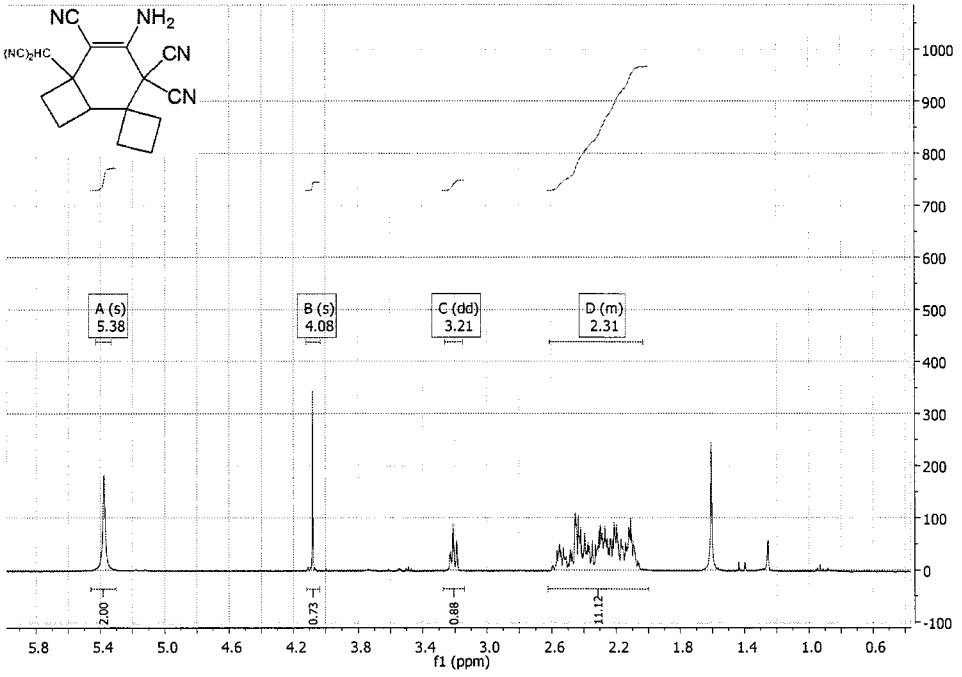
Şekil A.1. 2a Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu



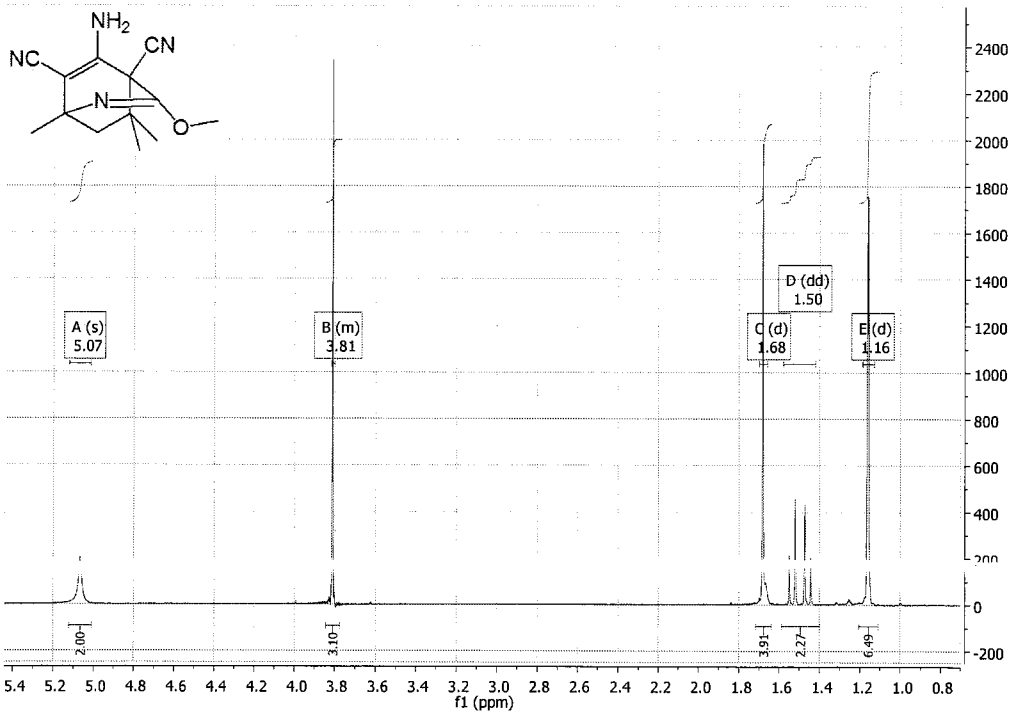
Şekil A.2. 2c Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu



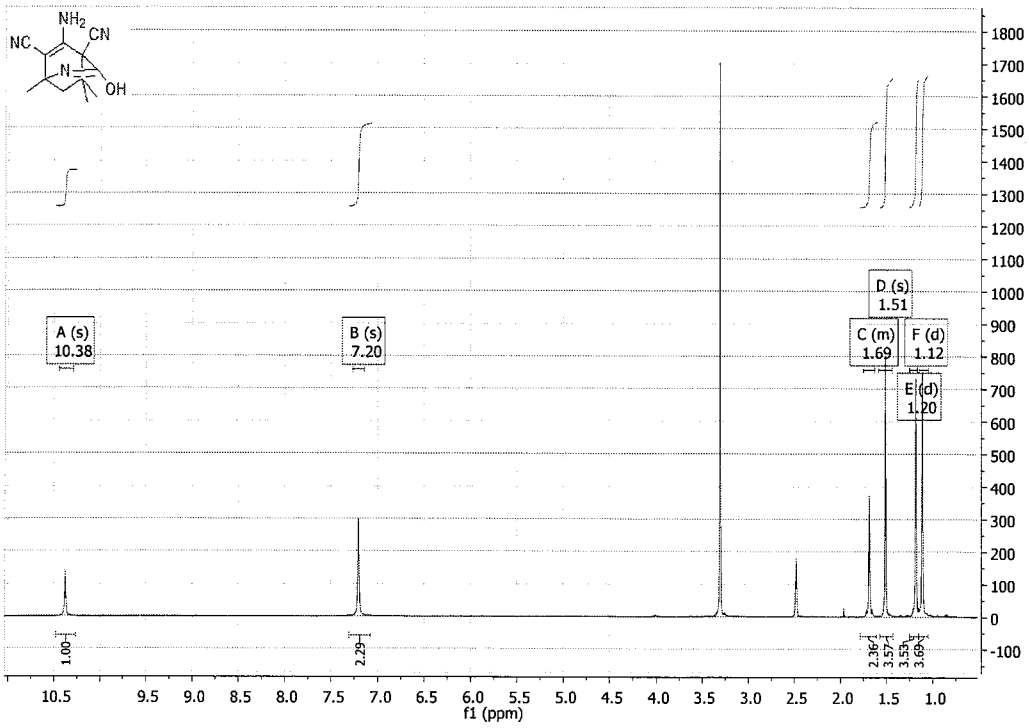
Şekil A.3. 2d Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu



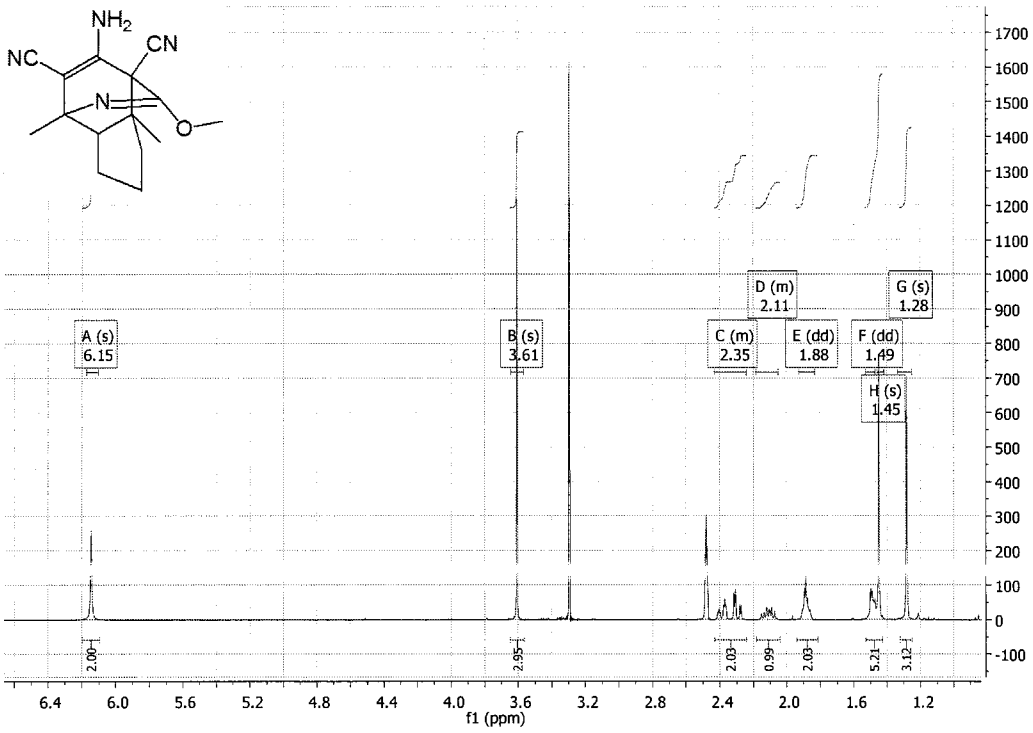
Şekil A.4. 6 Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu



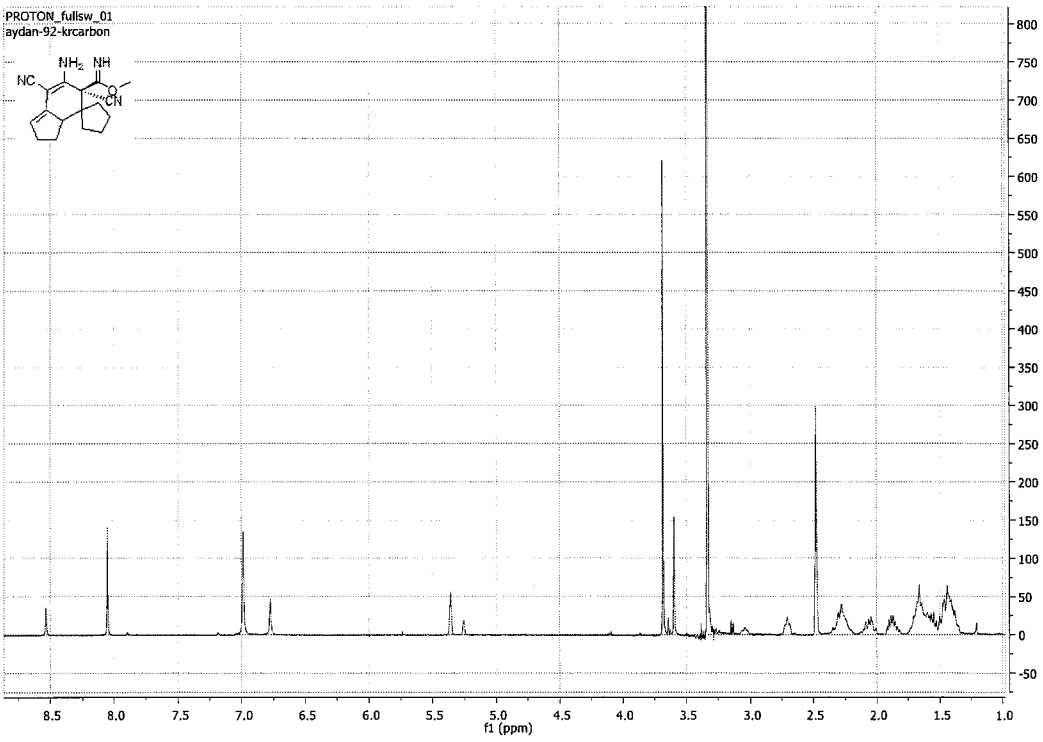
Şekil A.5. 4a Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu



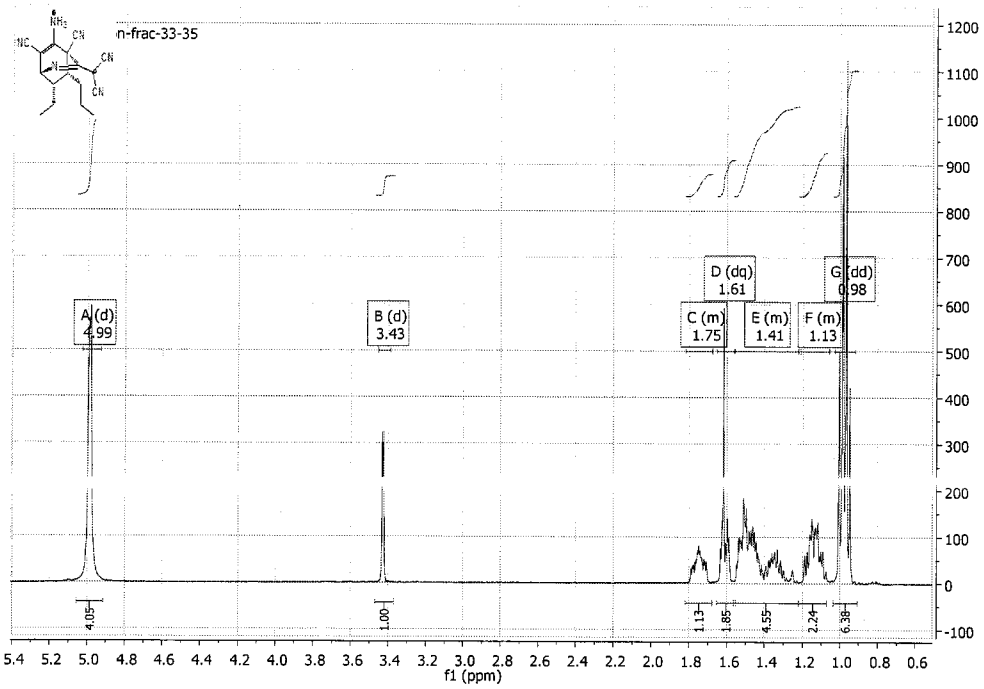
Şekil A.6. 4a Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO) spektrumu



Şekil A.7. 8 Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO) spektrumu

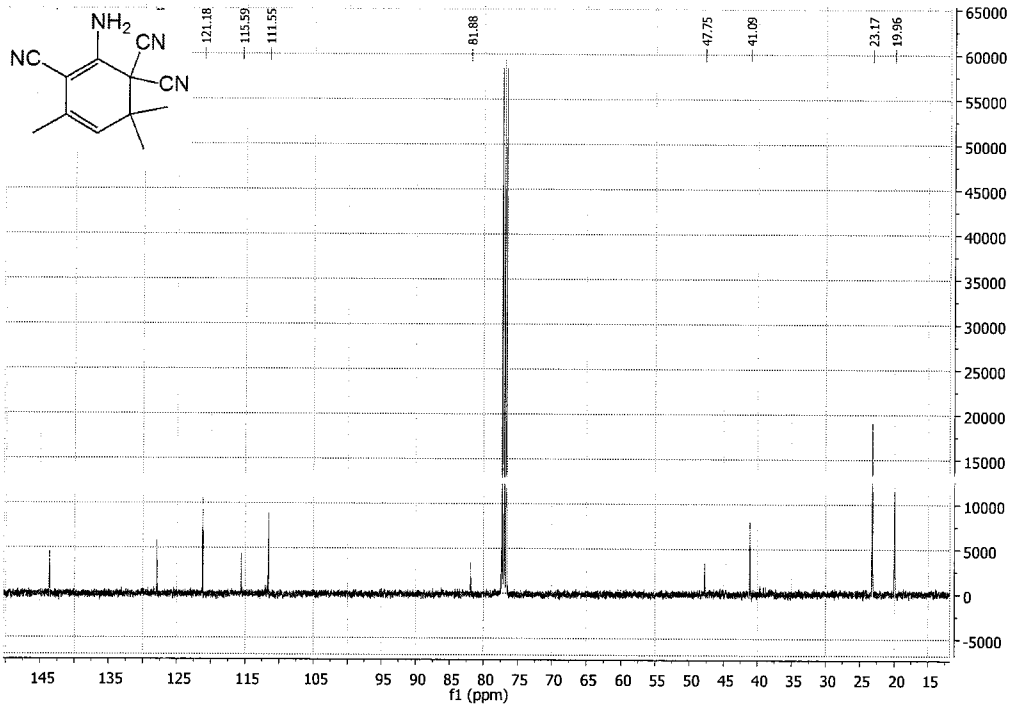


Şekil A.8. 3c Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO) spektrumu

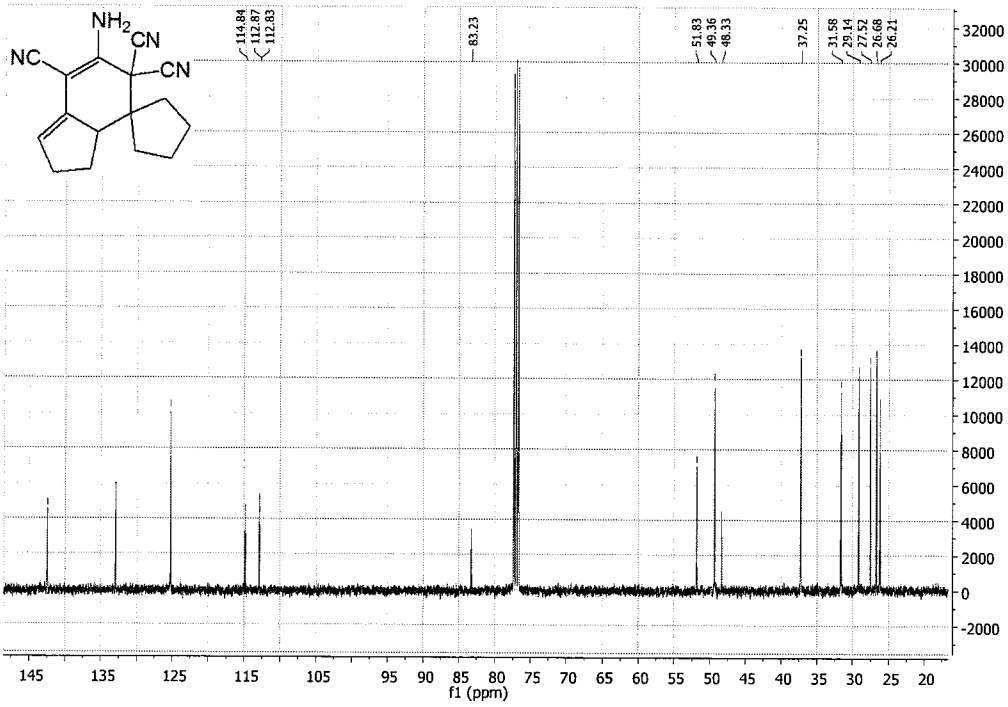


Şekil A.9. 10 Bileşiğinin ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu

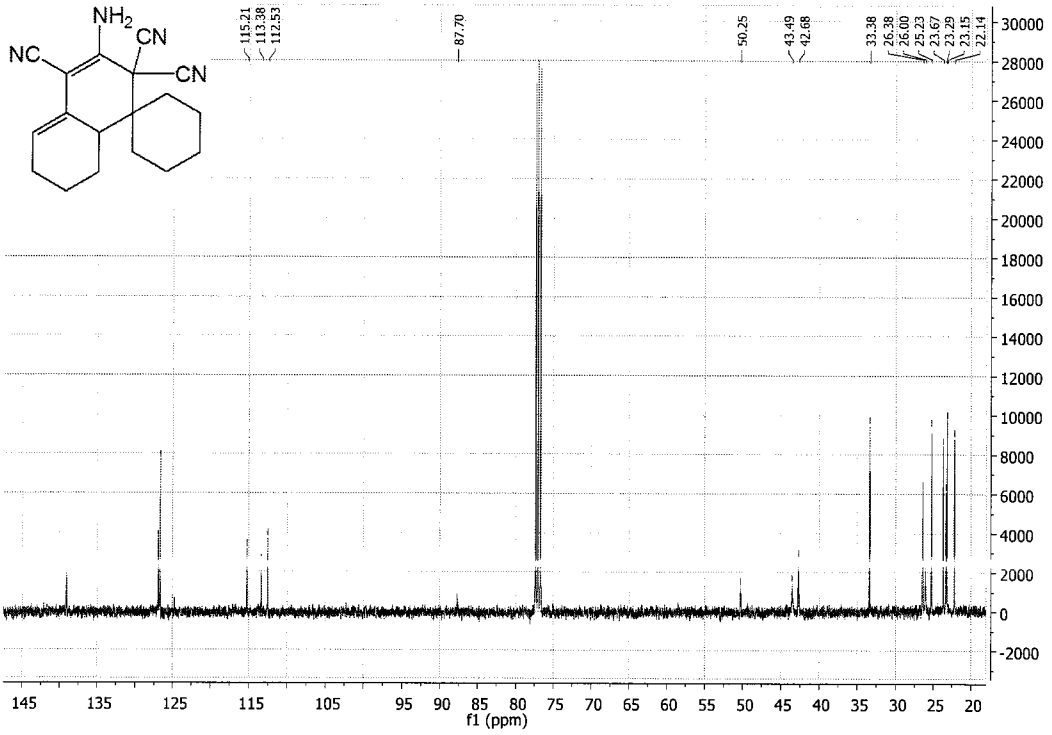
EK AÇIKLAMALAR B Bileşiklerin ^{13}C NMR Spektrumları



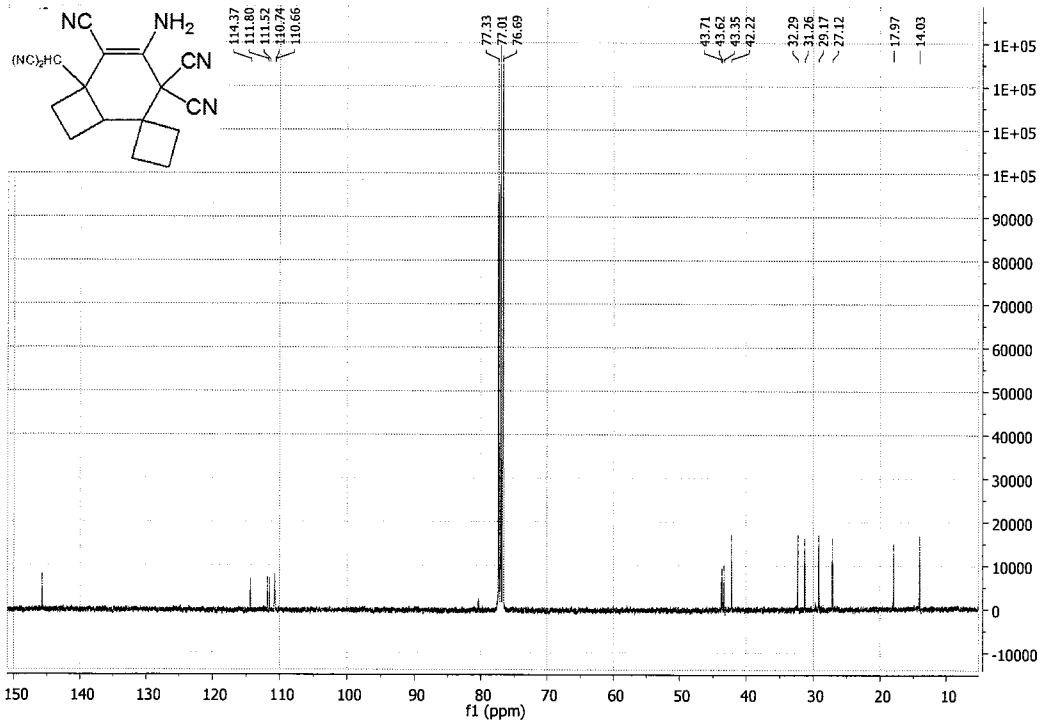
Şekil B.1. 2a Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu



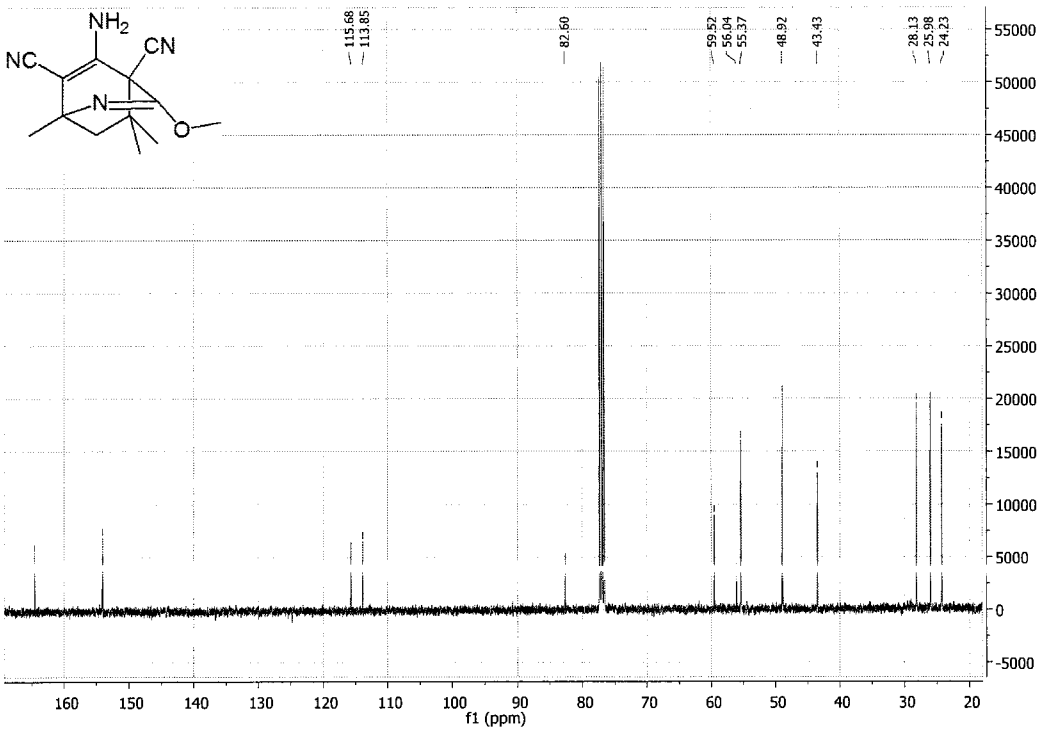
Şekil B.2. 2c Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu



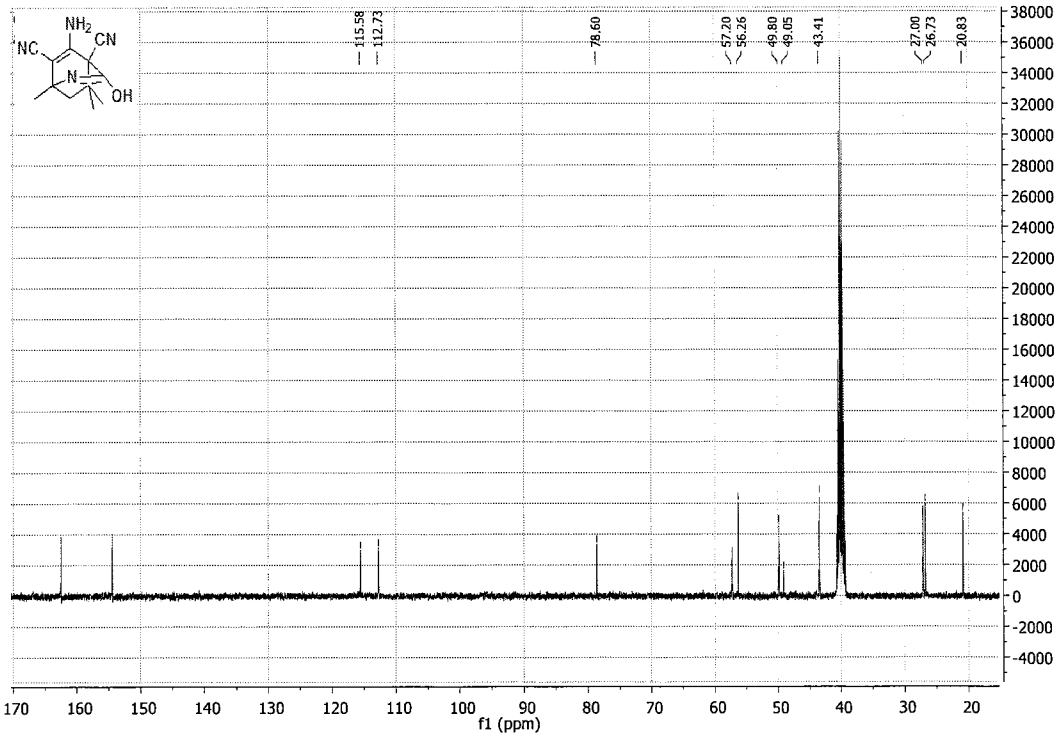
Şekil B.3. 2d Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu



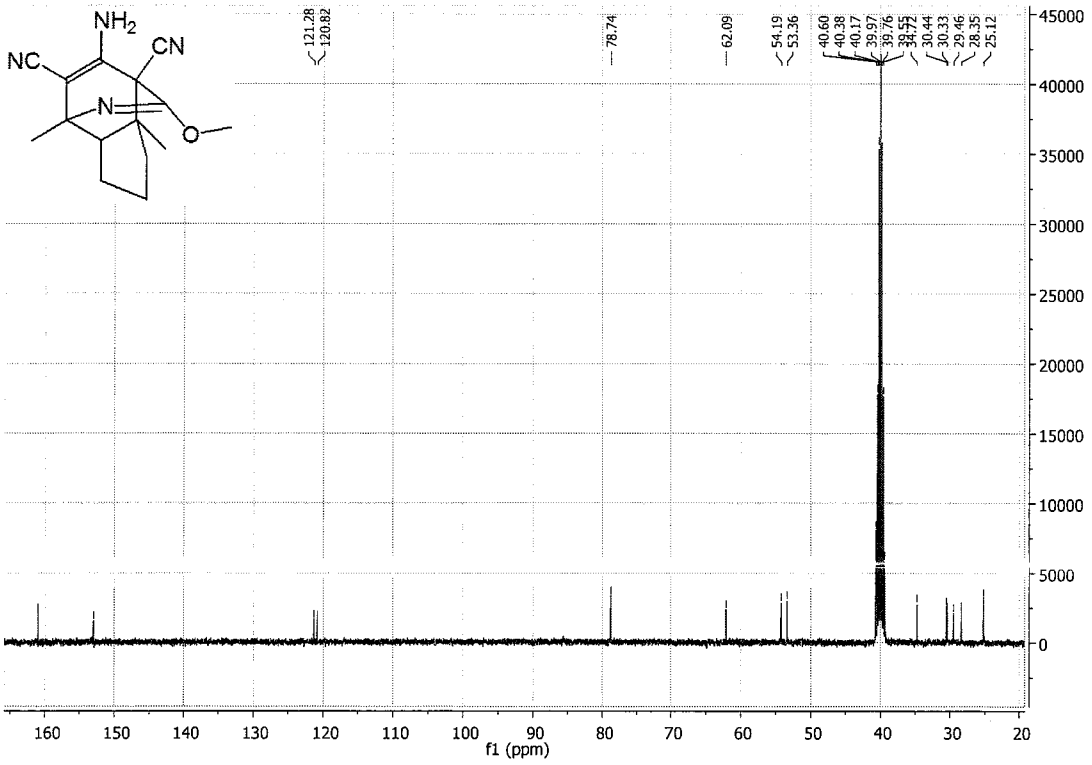
Şekil B.4. 6 Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu



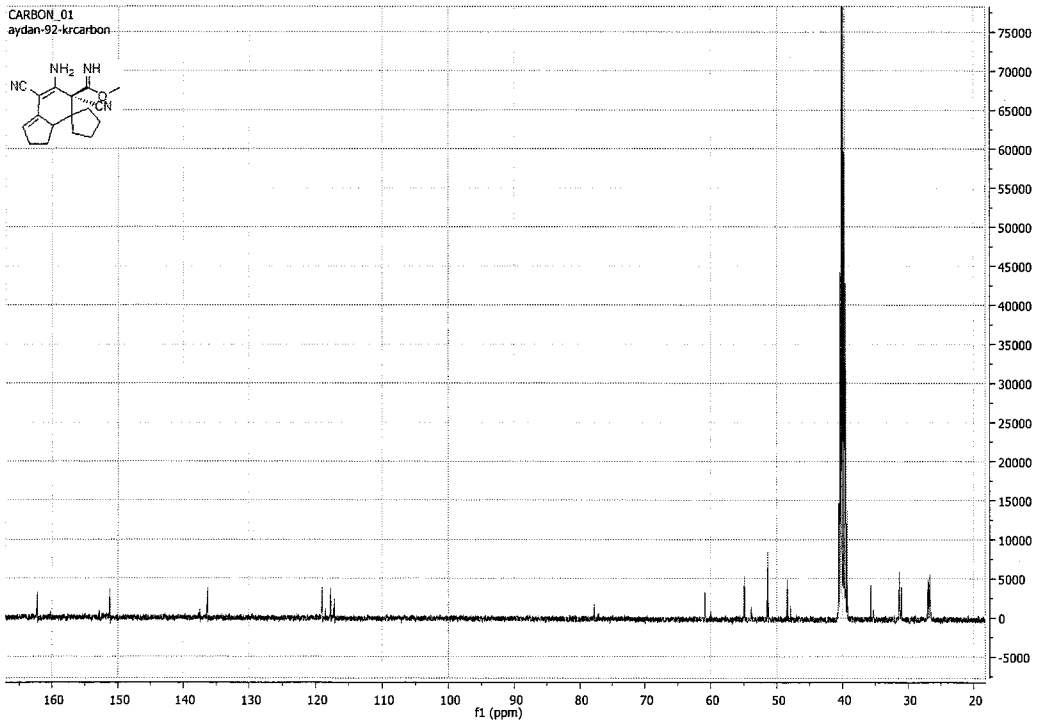
Şekil B.5. 4a Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu



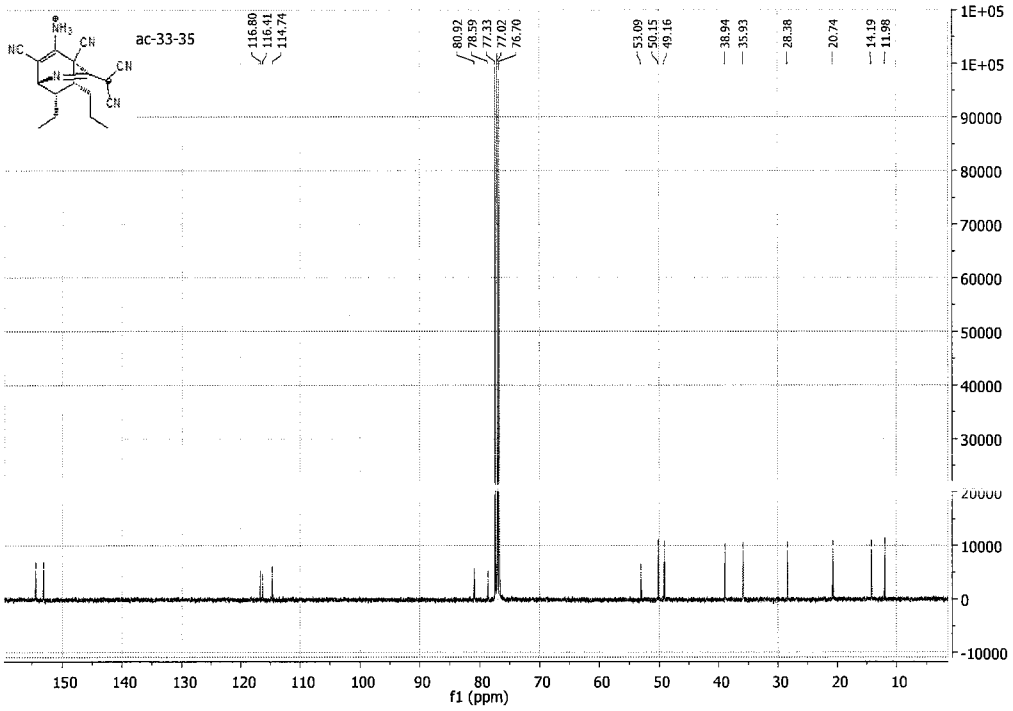
Şekil B.6. 7 Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, DMSO) spektrumu



Şekil B.7. 8 Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, DMSO) spektrumu

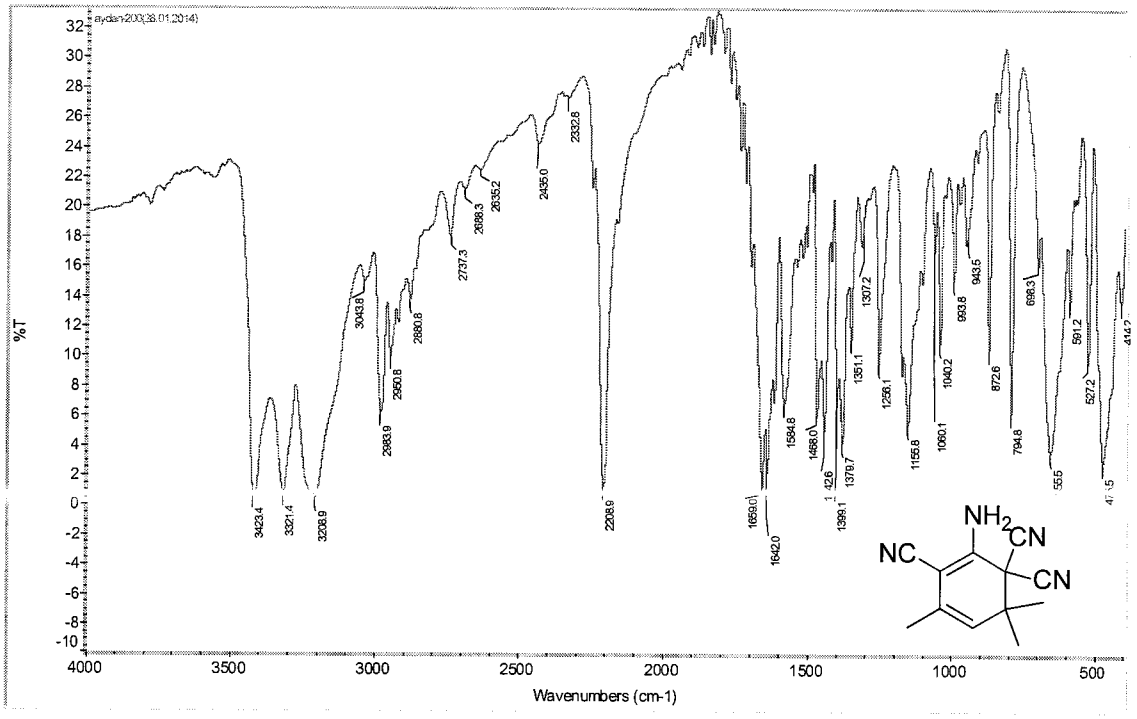


Şekil B.8. 3c Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, DMSO) spektrumu

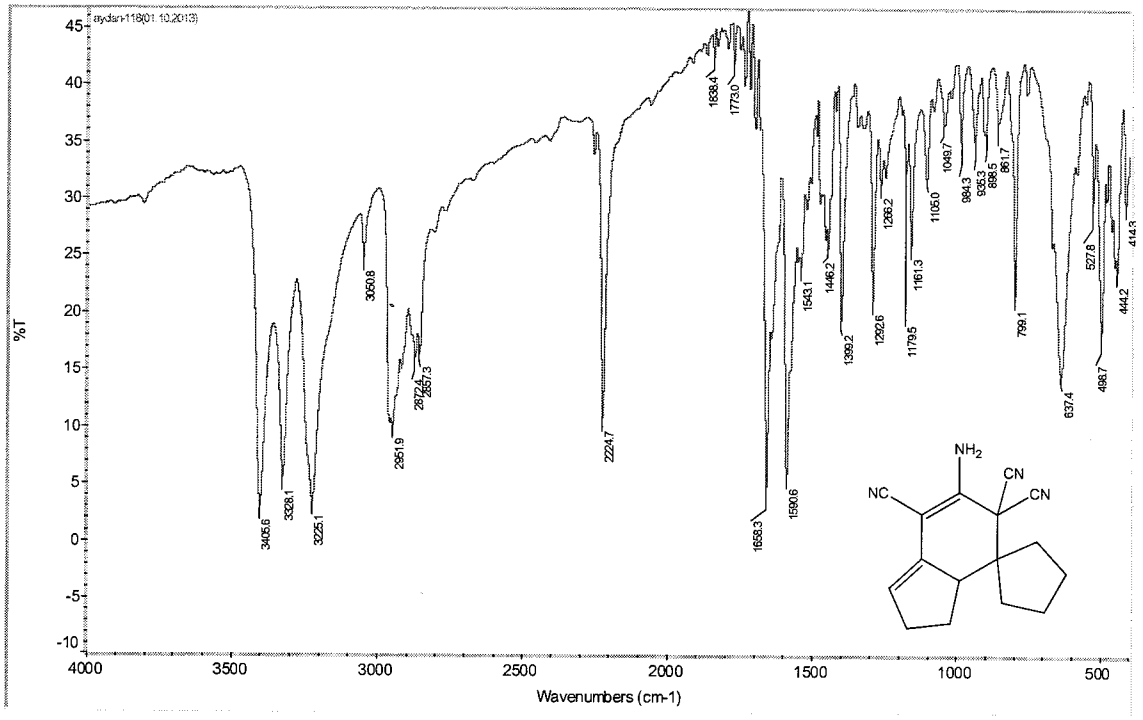


Şekil B.9. 10 Bileşiğinin ^{13}C-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) spektrumu

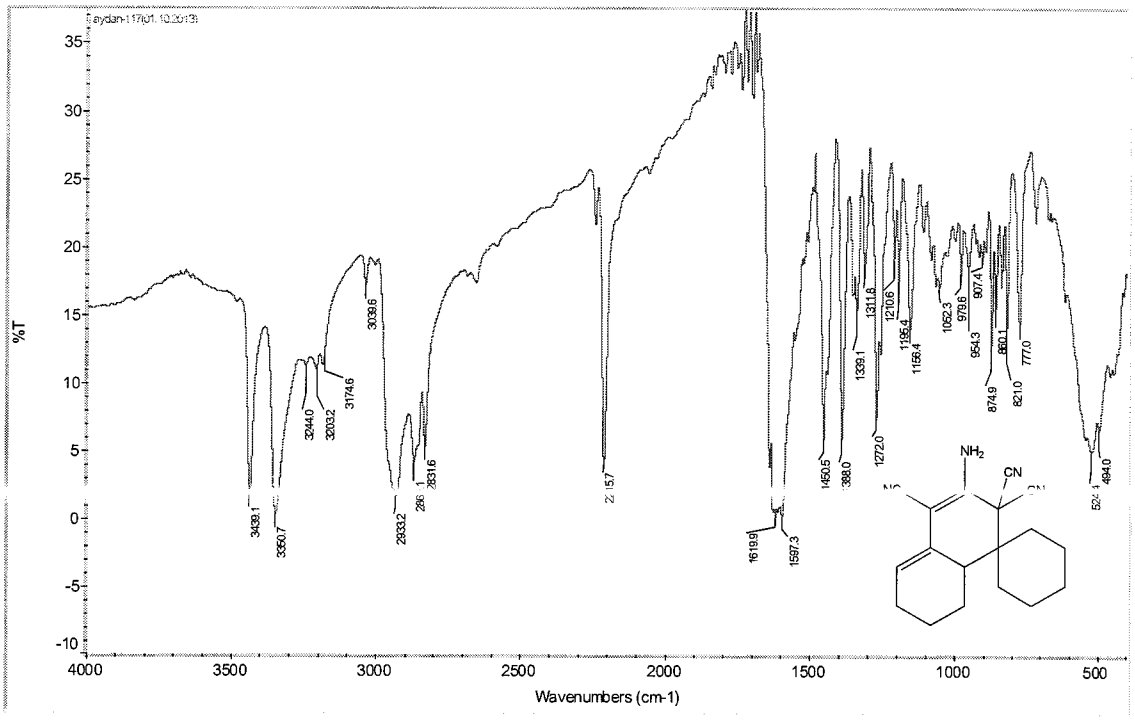
EK AÇIKLAMALAR C Bileşiklerin IR Spektrumları



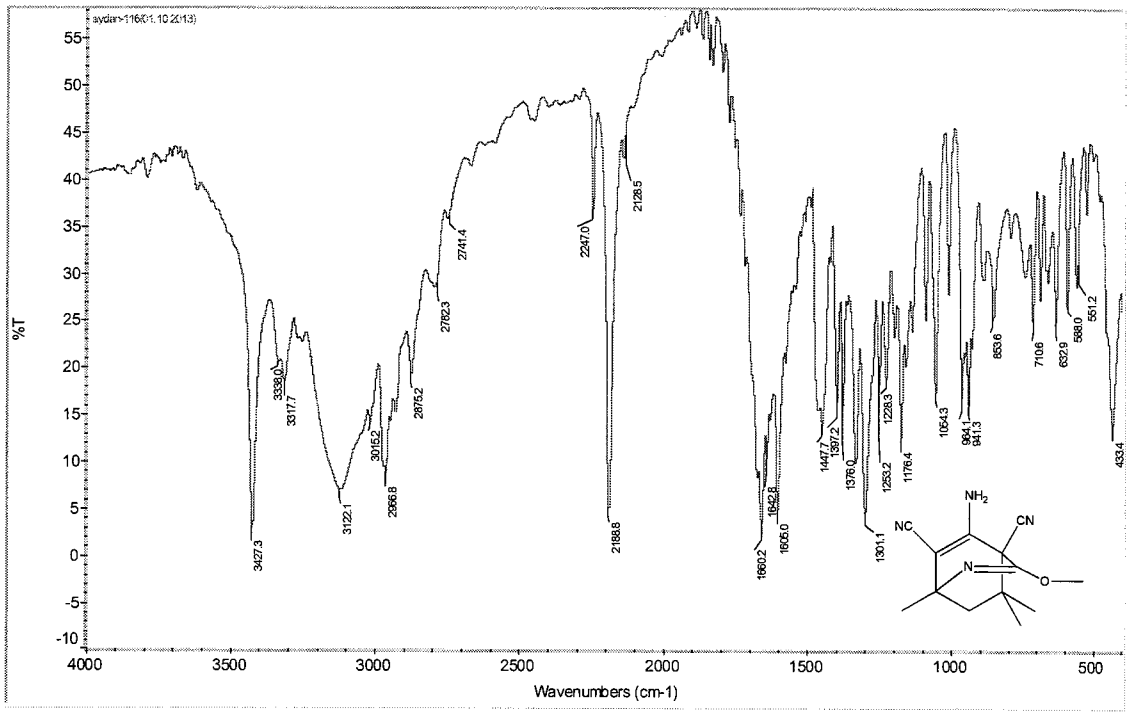
Şekil C.1. 2a Bileşiğinin IR spektrumu



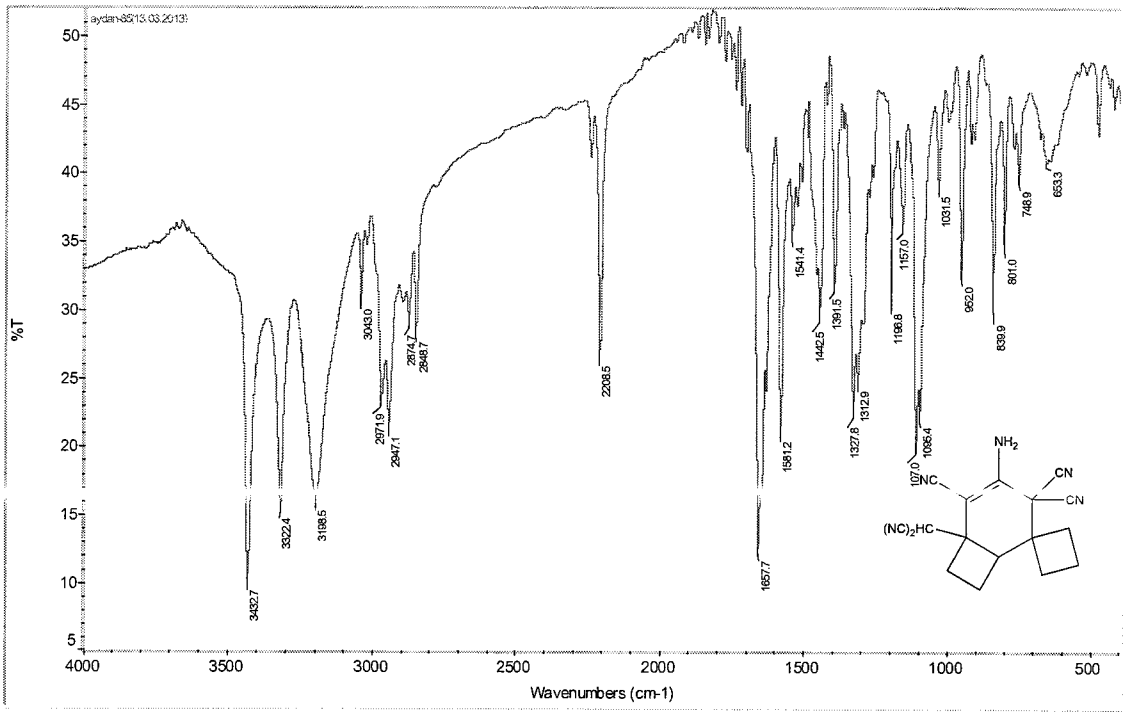
Şekil C.2. 2c Bileşiğinin IR spektrumu



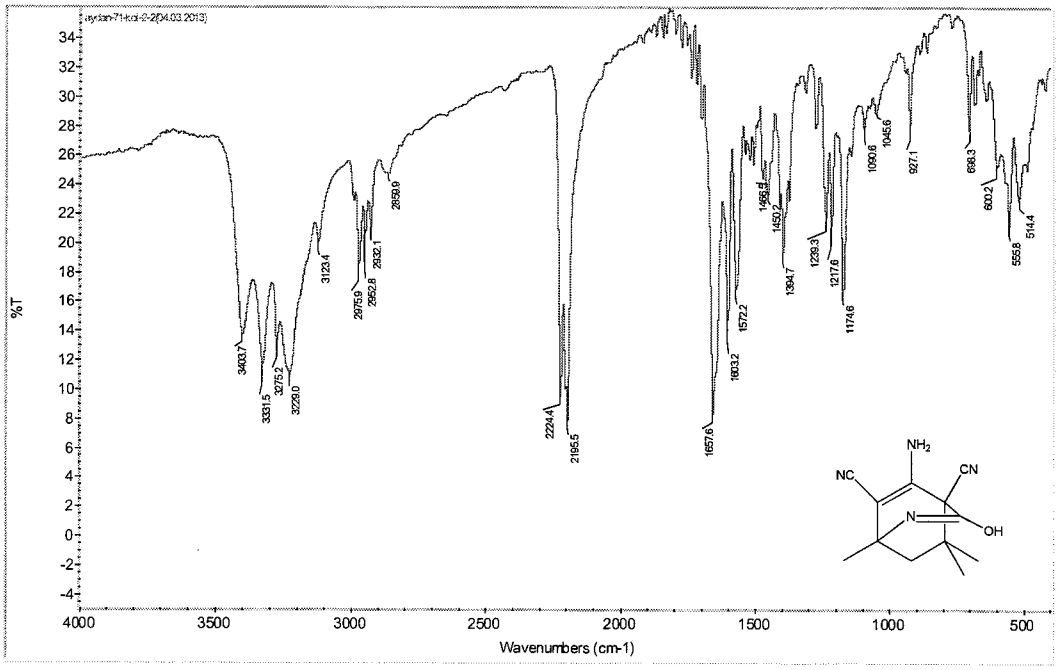
Şekil C.3. 2d Bileşiğinin IR spektrumu



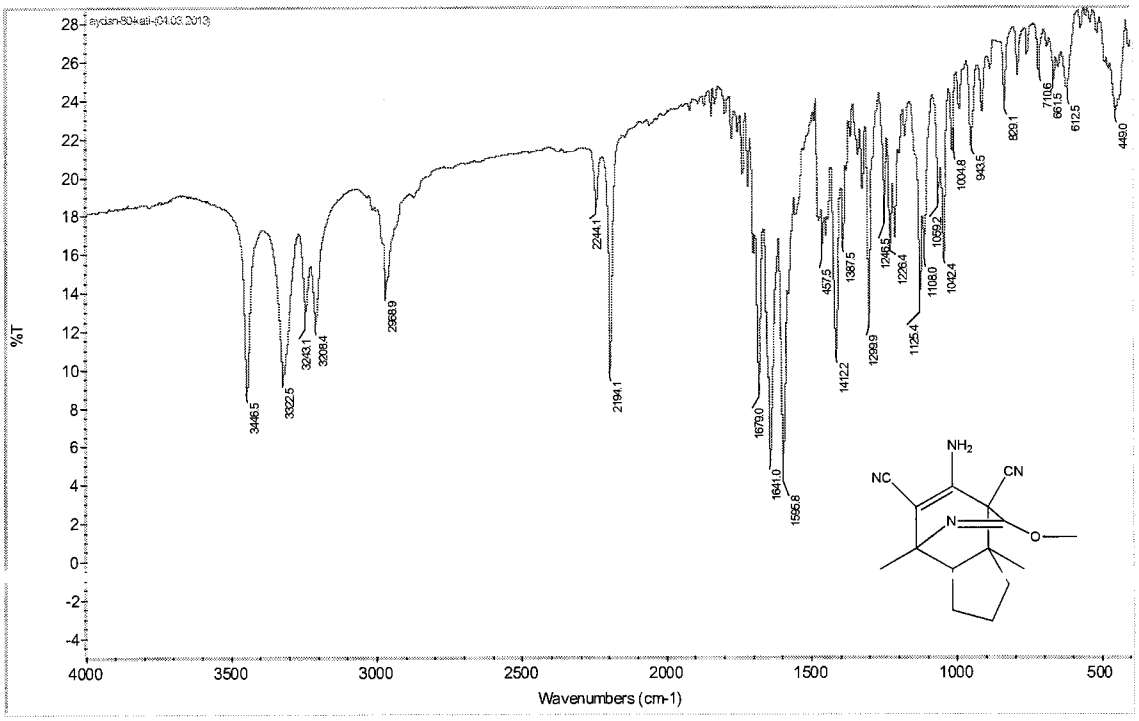
Şekil C.4. 4a Bileşiğinin IR spektrumu



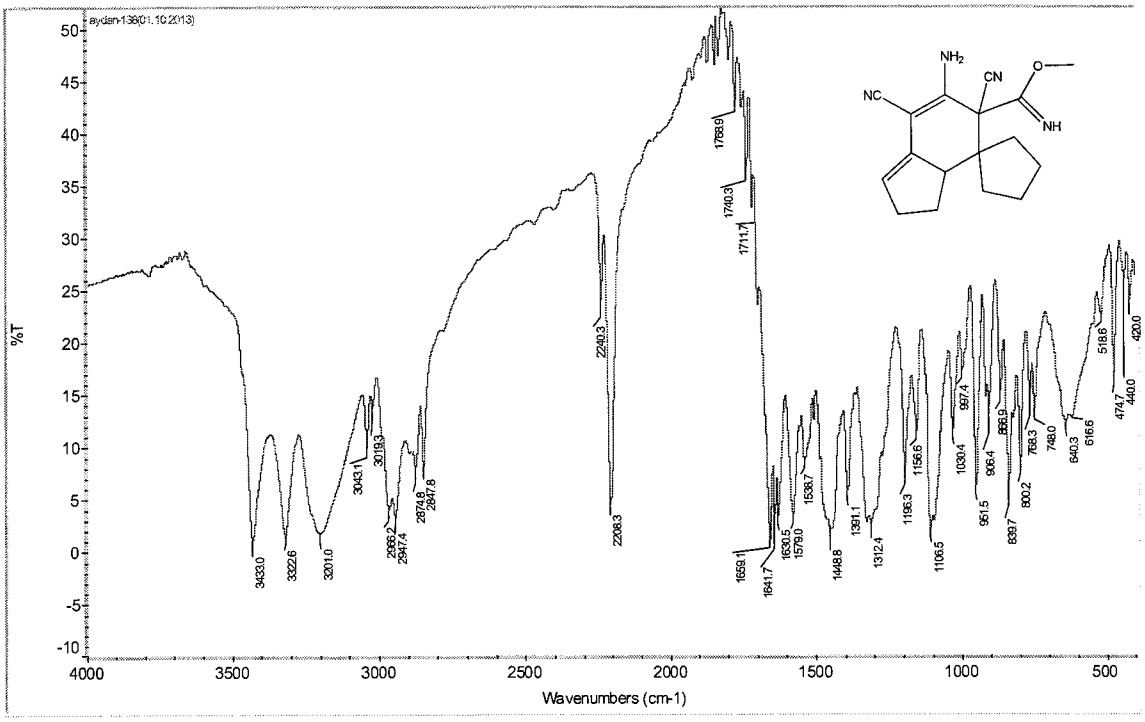
Şekil C.5. 6 Bileşiğinin IR spektrumu



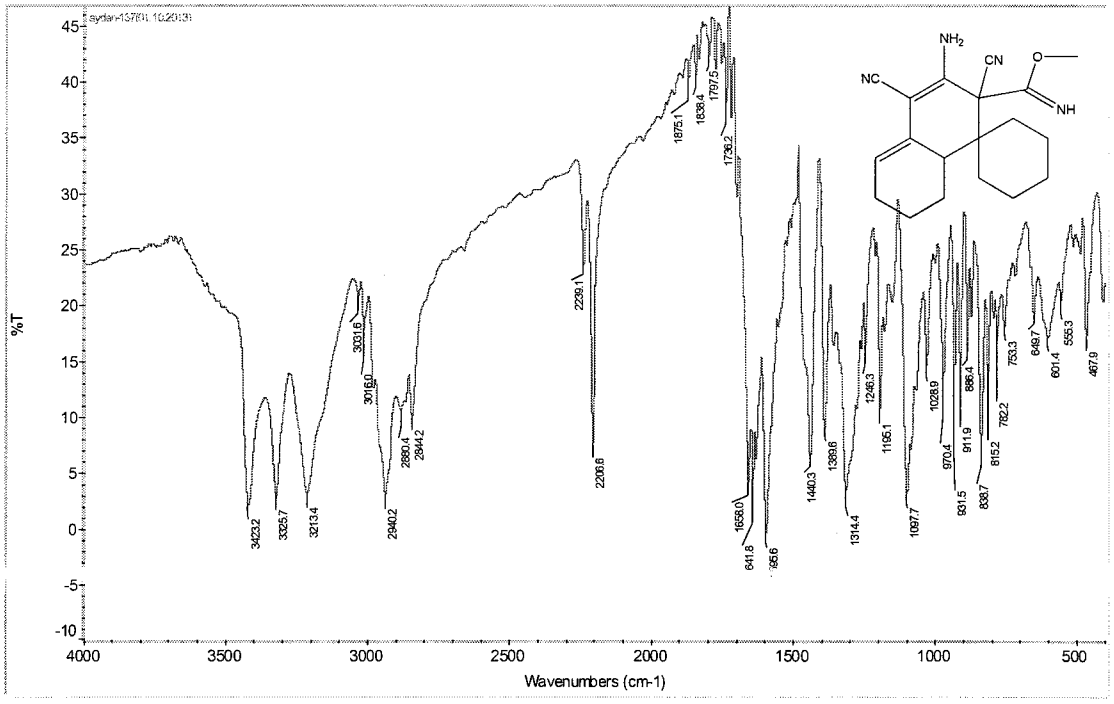
Şekil C.6. 7 Bileşiğinin IR spektrumu



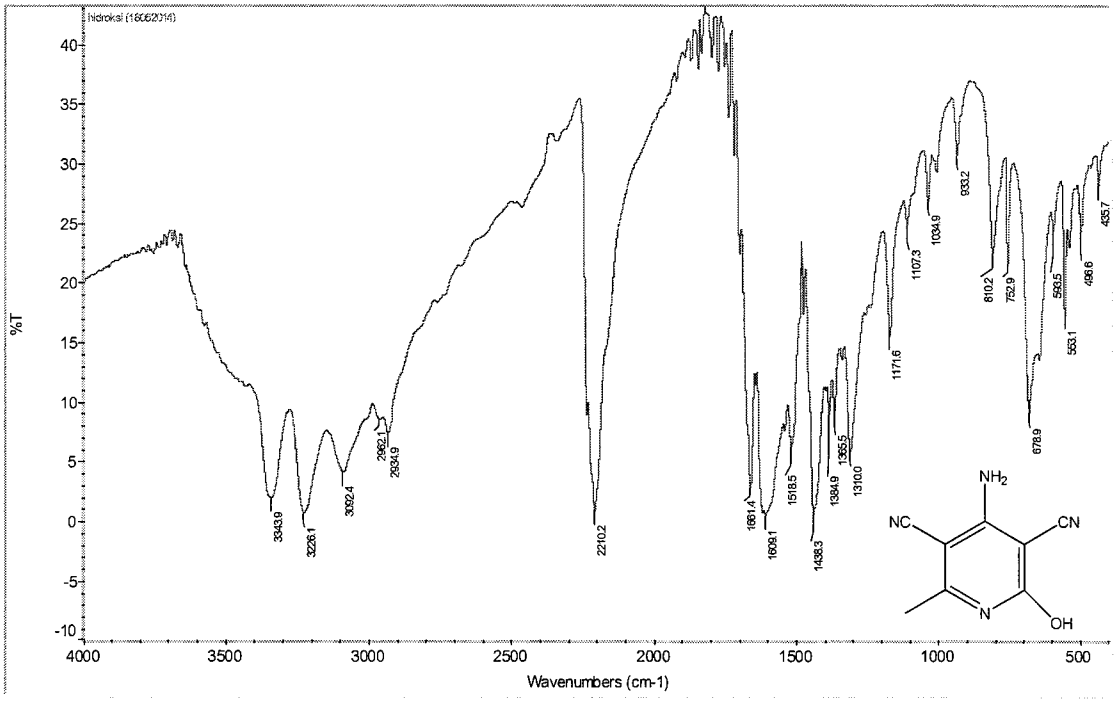
Şekil C.7. 8 Bileşiğinin IR spektrumu



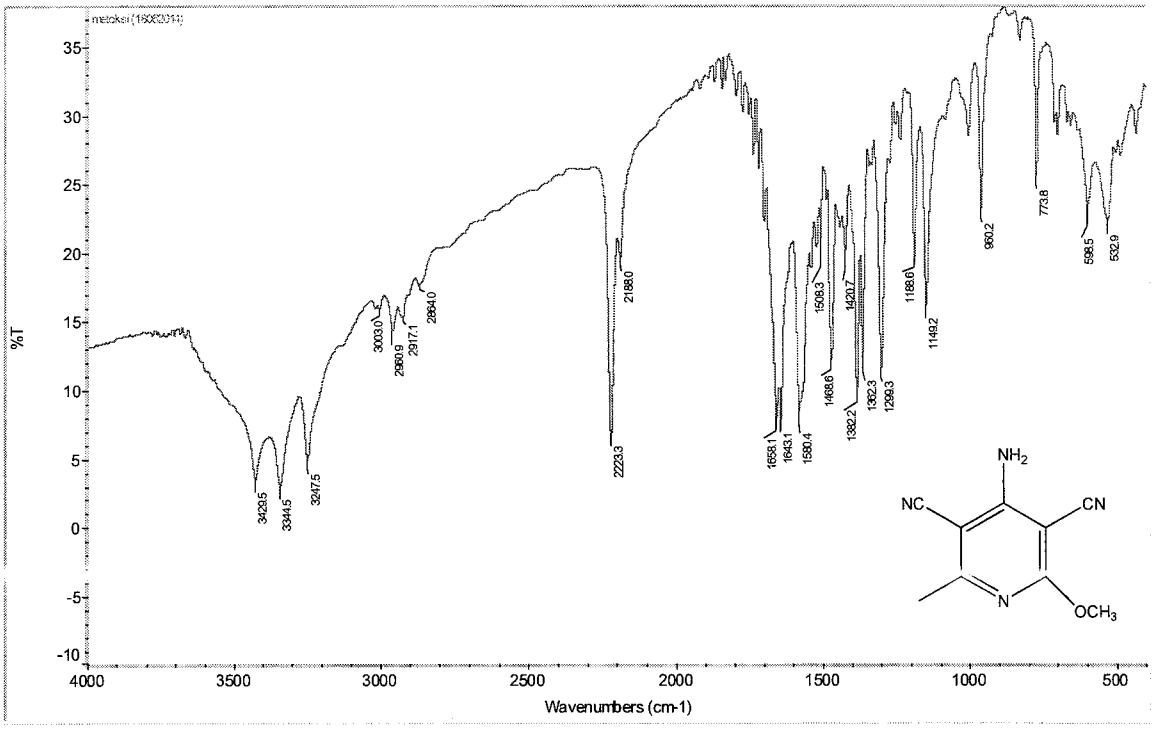
Şekil C.8. 3c Bileşiğinin IR spektrumu



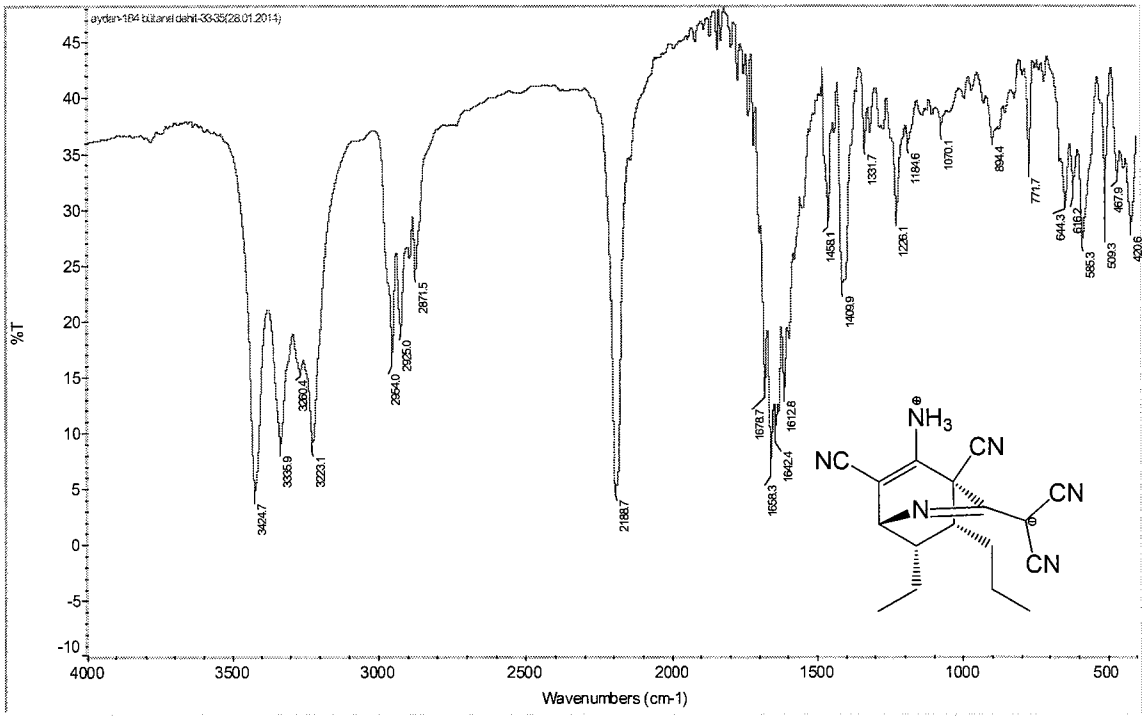
Şekil C.9. 3d Bileşiğinin IR spektrumu



Şekil C.10. 11b Bileşiğinin IR spektrumu

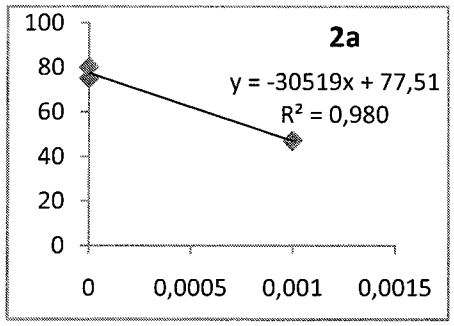


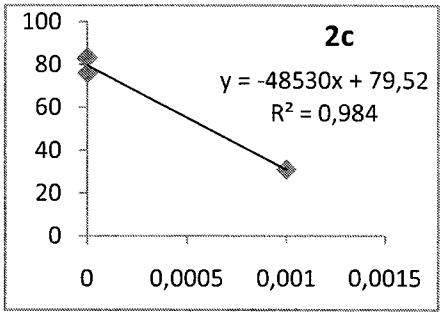
Şekil C.11. 11a Bileşiğinin IR spektrumu

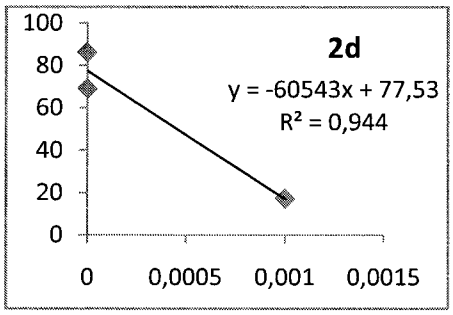


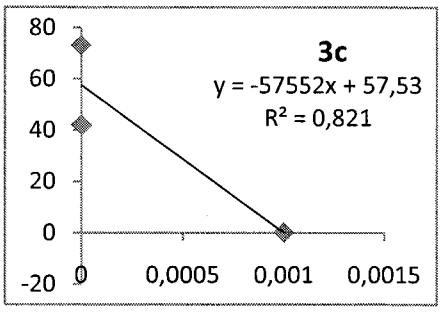
Şekil C.12. 10 Bileşiğinin IR spektrumu

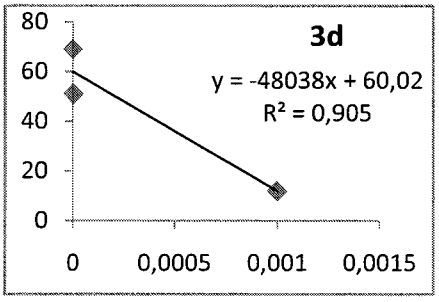
EK AÇIKLAMALAR D: SİTOTOKSİSİTE TEST SONUÇLARI

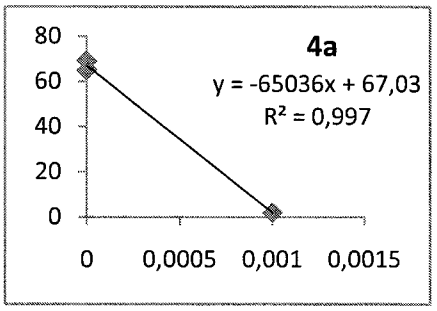


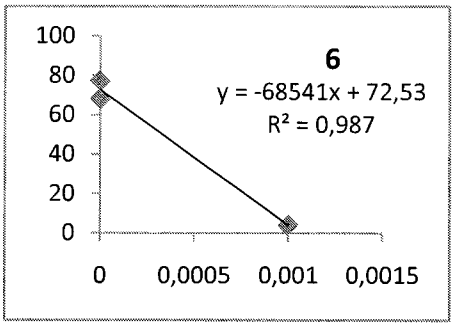


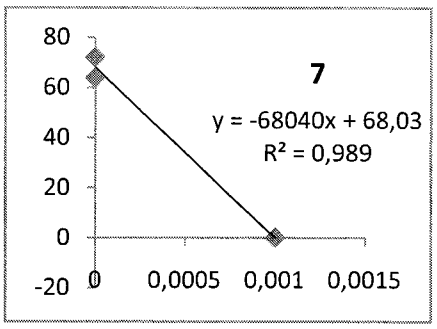


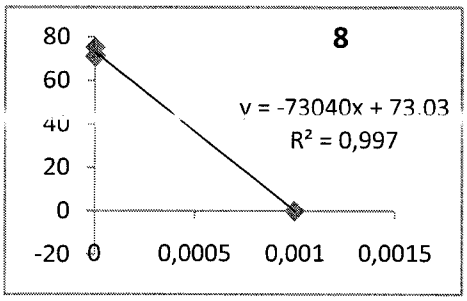


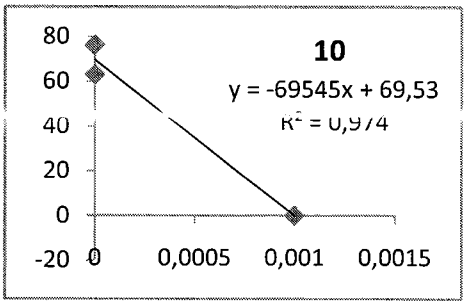


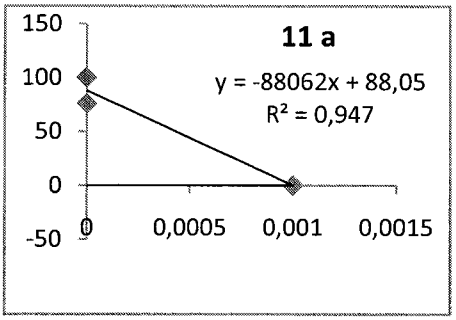


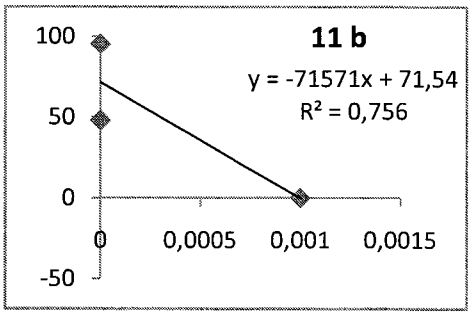

6
y = -68541x + 72,53
R² = 0,987
100
80
60
40
20
0
0
0,0005
0,001
0,0015

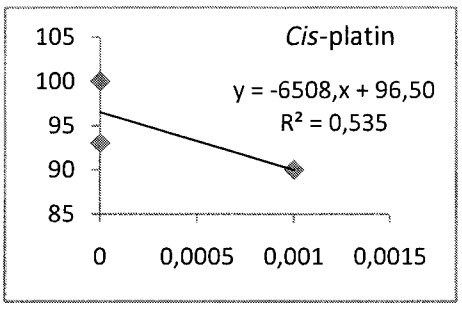

7
y = -68040x + 68,03
R² = 0,989
80
60
40
20
0
-20
0
0,0005
0,001
0,0015

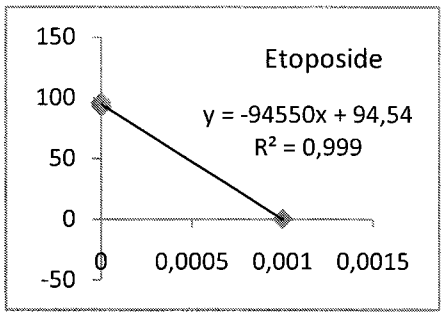

8
y = -73040x + 73,03
R² = 0,997
80
60
40
20
0
-20
0
0,0005
0,001
0,0015

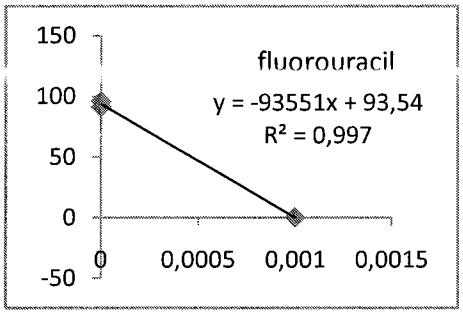

10
y = -69545x + 69,53
R² = 0,974
80
60
40
20
0
-20
0
0,0005
0,001
0,0015

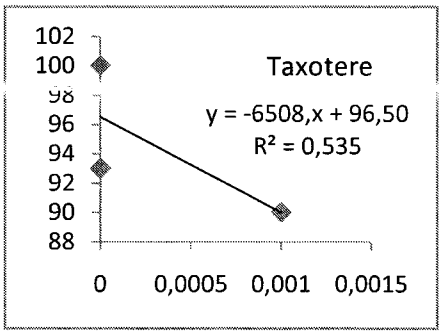

11 a
y = -88062x + 88,05
R² = 0,947
150
100
50
0
-50
0
0,0005
0,001
0,0015


11 b
y = -71571x + 71,54
R² = 0,756
100
50
0
-50
0
0,0005
0,001
0,0015


105
100
95
90
85
0
0,0005
0,001
0,0015
Cis-platin
y = -6508,x + 96,50
R² = 0,535


150
100
50
0
-50
0
0,0005
0,001
0,0015
Etoposide
y = -94550x + 94,54
R² = 0,999


150
100
50
0
-50
0
0,0005
0,001
0,0015
fluorouracil
y = -93551x + 93,54
R² = 0,997


102
100
98
96
94
92
90
88
0
0,0005
0,001
0,0015
Taxotere
y = -6508,x + 96,50
R² = 0,535

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Aydan ÖZDEN

Doğum Yeri ve Tarihi: Osmangazi/Bursa 10/10/1988

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise: Bursa Gazi Anadolu Lisesi, 2002-2006

Lisans: İzmir Dokuz Eylül Üniversitesi, Kimya Bölümü, 2006-2011

Anadolu Üniversitesi, İşletme Bölümü, 2007-2011

Yüksek Lisans: Uludağ Üniversitesi, Kimya Bölümü, 2012-2014

İletişim (e-posta): aydannozden@gmail.com