

Bromlanmış 8-Hidroksi Kinolinlerin ve Palladyum Komplekslerinin Antikanser Özelliklerinin İncelenmesi: Yapı-Aktivite İlişkisi (SAR)

Osman ÇAKMAK*, Salih ÖKTEN**, Şaban TEKİN***,
Tuğba KUL KÖPRÜLÜ****

Öz

Amaç: Bu çalışmada, 7-bromo-8-hidroksikinolin (**2**) ve 5,7-dibrom-8-hidroksikinolin (**3**) bileşiklerinin Palladyum (Pd) kompleksleri sentezlendi. Oluşan kompleks bileşikler (**4** ve **5**) ile başlangıç bileşiklerinin (**2** ve **3**) antikanser potansiyelleri ve sitotoksiteleri karşılaştırmalı olarak incelendi.

Yöntem: 8-Hidroksikinolin (8-OHQ, **1**), moleküler brom (Br₂) ile muamele edildi. Reaksiyon sonucu, 7-bromo-8-hidroksikinolin (7-Br-8-OHQ, **2**) ve 5,7-dibromo-8-hidroksikinolin (5,7-diBr-8-OHQ, **3**) elde edildi. Bu moleküller, kompleksleşme reaksiyonları ile Palladyum koordinasyon bileşiklerine (**4** ve **5**) dönüştürüldü. Sentezlenen bileşik ve komplekslerin (**2-5**) antikanser potansiyel ve özellikleri incelendi. Bu amaçla HeLa, HT29 ve C6 hücre hatlarına karşı SRB hücre proliferasyonu ile LDH sitotoksitite testleri uygulandı.

Bulgular: 7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-dibromo-8-OHQ **3** bileşikleri test edilen hücre hatlarının hücre proliferasyonunu inhibe etmiştir. Fakat bu bileşiklerin Palladyum (Pd) kompleksleri (**4** ve **5**) durumunda antiproliferatif etki önemli derecede azalmıştır. 7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-diBr-8-OHQ **3** bileşikleri HeLa hücre hatlarında düşük sitotoksik etki göstermesine rağmen, bu bileşiklerin (**2** ve **3**) C6 hücre hatlarında oldukça sitotoksik olduğu belirlenmiştir.

Özgün Araştırma Makalesi (Original Research Article)

Geliş Tarihi: 10.03.2017 Kabul Tarihi: 06.07.2017

* Prof. Dr., İstanbul Gelişim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye,

E-posta: cakmak.osman@gmail.com

** Yrd. Doç. Dr., Kırıkkale Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Yahşihan,

Kırıkkale, E-posta: sokten@gmail.com

*** Prof. Dr., Biyoteknoloji ve Gen Mühendisliği Enstitüsü, TÜBİTAK MAM, Gebze, Kocaeli,

E-posta: sabant@yahoo.com

**** Dr., Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Tokat,

E-posta: tugbakul_koprulu@hotmail.com

Sonuç: Kinolin halkasında C-8 konumunda –OH (hidroksi) fonksiyonel grubu yanında brom gruplarının bağlı olması yüksek antiproliferatif etkiden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Kompleksleşme ile kinolin yapısındaki hidroksi ve amin grupları bloke edilmektedir. Bu yüzden kompleks bileşikler (**4** ve **5**) durumunda antikanser aktivite oldukça azalmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Bromo-8-hidroksikinolin, Pd koordinasyon kompleksi, antikanser, sitotoksik aktivite, şelat, yapı-aktivite ilişkisi.

The Studies of *anti-Cancer* Activity of Brominated 8-Hydroxy Quinolines and Their Palladium Complexes: Structure-Activity Relationship (SAR)

Abstract

Aim: In this study, Pd coordination complexes of 7-bromo-8-hydroxyquinoline (7-Br-8-OHQ, **2**) and 5,7-dibromo-8-hydroxyquinoline (5,7-diBr-8-OHQ,**3**) were prepared. The anticancer and cytotoxic potentials of Palladium complexes (**4** and **5**) obtained from bromo hydroxides **2** and **3** were studied comparatively.

Method: 7-bromo-8-hydroxyquinoline (7-Br-8OHQ, **2**) and 5,7-dibromo-8-hydroxyquinoline (5,7-diBr-8-OHQ,**3**) were generated when 8-hydroxyquinoline (**1**) was treated with molecular bromine (Br₂). These compounds were converted to corresponding Pd coordination compounds **4** and **5** via complexation reactions. Antiproliferative and Cytotoxic potentials of the compounds **2-5** against HeLa, HT29 and C6 cell lines were tested by using SRB cell proliferation and LDH cytotoxicity assays.

Findings: 7-Br-8-OHQ **2** and 5,7-diBr-8-OHQ **3** inhibited the proliferation of all cell lines tested. The antiproliferative potential of Pd complexes (**4** and **5**) of the molecules (**2** and **3**) was significantly higher. The cytotoxic activities of 7-Br-8-OHQ **2** and 5,7-diBr-8-OHQ **3** were different on HeLa and C6 cells, indicating cell selective activity.

Conclusion: We concluded that the OH functional group at C-8 position and the bromo groups at C5 and/or C7 positions of quinoline skeleton may be responsible for high antiproliferative potential. On the other hand, low anticancer activity of the coordination compounds (**4** and **5**) may be attributed to blocking hydroxy and amine groups of quinoline core by complexation.

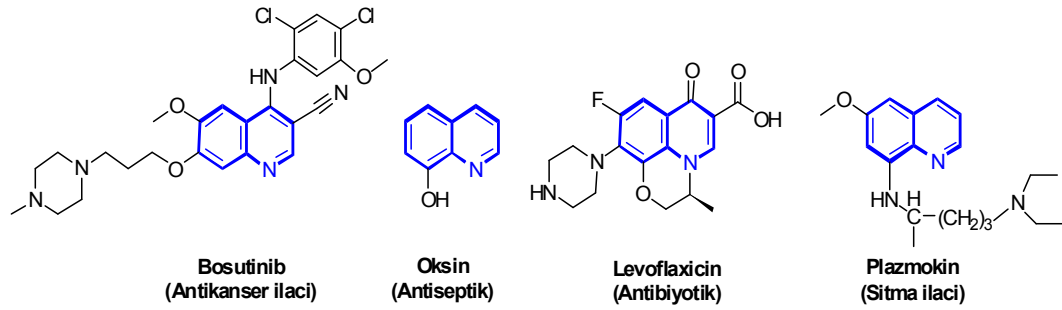
Keywords: Bromo-8- hydroxyquinoline, Pd coordination complex, chelate, anticancer, cytotoxic activity, structure-activity relationship (SAR).

Giriş

Kinolin ve türevlerinin geniş biyolojik aktiviteye sahip olmaları sebebiyle preparatif amaçlara yönelik uygun sentezleri yoğun araştırmalara konu olmaktadır. Bu tür bileşiklerin sentezi ve özellikleri üzerine çok sayıda çalışma mevcuttur. 8-hidroksikinolin türevlerinin antimikrobiyal¹, antioksidant¹, antikanser², antiinflamatuvar³ ve antinörodejenerativite⁴ aktivite gösterdikleri literatürde rapor edilmiştir.

Daha önceki yapılan çalışmalarda kinolin iskeletine sahip birçok molekülün anti kanser aktiviteleri rapor edilmiştir. Kinolin iskeletine sahip birçok ticari ilaç örneği bulunmaktadır (Şekil 1).

Şekil 1. Ticari Kinolin Türevi İlaçlar



8-hidroksikinolin (oksin) bir fenol olarak yedi izomere sahiptir. Bunlar içinde sadece oksin önemli antimikrobiyal aktivite gösterir ve sadece bu molekül bidentat şelat ligandı özelliğine sahip olup metallere karşı kompleksleşme gösterir⁶.

Cis-platin, karboplatin, oxaplatin, nedaplatin ve lobaplatin bileşikleri önemli platin bazlı antikanser ilaçlardır. *Cis*-platin metal bazlı anti kanser grubu bileşiklerin ana elemanı olarak bilinir. Bununla beraber, klinik uygulamalar, *cis*-platin anti kansorejenlerin ciddi yan etkilerini göstermektedir⁷. Bu amaçla, yeni arayışlar sürmektedir. Kanser tedavisinde kullanılan bileşiklerin yan etkilerinin uygulamaları sınırlandırması yüzünden alternatif arayışlar sürmektedir.

8-hidroksi kinolinlerin ilaç olarak etkisi 120 yıldan bu yana bilinmektedir. Bu sınıf bileşikler şelat olarak da uzun yıllardır kullanılmaktadır. Disubstituekinolin-

8-ol bileşikleri, *anti*-kanser ilaçlar için metal temelli kompleksler için uygun ligandlardır⁸. 8-hidroksi kinolinin halojenli türevlerinin palladyum komplekslerinin sitotoksik incelemelerinin olumlu sonuçlar vermiştir⁹.

Çalışma grubumuz yaklaşık 15 yıldır kinolin halkasının fonksiyonize edilmesi ile yeni kinolin türevlerine anahtar bileşikler sentezi üzerine önemli sentetik metotlar geliştirmiştir¹⁰⁻¹². Bromo, metoksi, hidroksi, tiyometil, siyano, piperazin, morfolin vb. sübstitüe kinolinler sentezlenerek bu bileşiklerin bazı kanser hücre hatlarına karşı *in vitro* antiproliferatif ve sitotoksik profilleri çıkartılmıştır¹³⁻¹⁵. Grubumuz tarafından 6,8-disübstitüe ve 8-sübstitüe kinolin türevlerinin yüksek antikanser özellikleri ve yapı aktivite ilişkileri literatürde rapor edilmiştir¹⁶. Bu çalışma 8-sübstitüe kinolin türevlerinin sentezi ve antikanser özelliklerinin belirlenmesi üzerine yaptığımız çalışmaların devamı niteliğindedir.

Bu çalışmamızda, 7-bromo (**2**) ve 5,7-dibromo 8-hidroksikinolin (**3**) türevleri ve bu bileşiklerin palladyumlu kare düzlem komplekslerinin sentezi başarıldı. Bu komplekslerin HeLa, HT-29 ve C6 kanser hücre hatlarına karşı antiproliferatif etkileri araştırıldı ve anti kanser aktiviteleri Sulphorhodamin B (SRB) testiyle incelendi. Ligand ve komplekslerin aktivitelerinin değişime dair karşılaştırılmalar yapıldı.

Gereç ve Yöntemler

6,8-Disübstitüe Kinolinlerin Eldesi

Bütün reaktif ve çözücüler ticari olarak temin edildi. 7-bromo-8-hidroksikinolin ve 5,7-dibromo-8-hidroksikinolin molekülleri Çakmak ve grubu tarafından literatürde rapor edilen yöntemlerle¹⁷ sentezlendi. Ligand ve komplekslerin yapıları IR, ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları ile belirlendi.

7-bromo-8-hidroksikinolin (**2**) ve 5,7-dibromo-8-hidroksikinolin (**3**) ayrı ayrı PdCl₂ ile etkileştirilmesi sonucu palladyum kompleksleri (**4** ve **5**) oluşturuldu. Reaksiyonlar su ve metanol çözücü karışımında, oda sıcaklığında ve 2 saat süre zarfında gerçekleştirildi. Moleküllerin yapıları yapısı IR, ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları ile aydınlatıldı.

Hücre Hatları ve Hücre Kültürü

Çalışmamızda C6, HT29 ve HeLa hücre hatları kullanılmıştır. C6 hücre hattı (ATCC® CCL-107™), *Rattus norvegicus*'un beyin dokusundan elde edilen, fibroblast morfolojisine sahip adherent özellik sergileyen glioma hücreleridir. HT29 hücre hattı (ATCC® HTB-38™), insan kalın bağırsak dokusundan elde edilen ve epitel hücre morfolojisine sahip, adherent yapılı kolorektal adenokarsinoma hücreleridir. HeLa hücre hattı (ATCC® CCL-2™) ise, morfolojik olarak epitel hücre yapısında, adherent özelliğe sahip insan serviks adenokarsinoma hücreleridir. Söz konusu hücre hatları ATCC'den temin edilmiş, hücre kültürü ile çoğaltılmış ve sıvı nitrojen içerisinde (-196 °C) muhafaza edilmiştir.

Hücre kültüründe amaç, hücrelerin *in vitro* şartlar altında yaşayıp çoğalmalarını sağlamaktır. Kullanılan hücre hatlarına uygun olarak seçilen ve hücrelerin proliferasyonları için gerekli tüm öğeleri barındıran besiyeri, hücrelerin yaşam ortamını oluşturmaktadır. Besiyeri olarak; %5 FBS, %2 penisilin-streptomisin ve 0.22 NaHCO₃ içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium, High Glucose (4.5 g/L)) kullanılmıştır. T75 hücre kültür flasklarındaki besiyeri içerisine alınan hücreler 37 °C'de, %5 CO₂ içeren ortamda, ortalama 60-72 saat inkübe edilerek büyümeleri sağlanmıştır. Bulunduğu kültür flaskında %80 büyüme kaydeden hücreler (konfluent) deney için hazır hale gelmiştir.

SRB Hücre Proliferasyonu Testi

SRB testi kolorimetrik bir yöntem olup test prensibi, fiske edilen boyanın, uygun solüsyonlarla çözülmesi ve ardından fotometrik olarak OD 492 nm'de ölçülmesine dayanır. Elde edilen OD değeri total hücre içeriği ve hücre sayısı ile doğru orantılıdır.

SRB testi bu çalışmada, Skehan ve ark. (1990) ile Papazisis ve ark. (1997)'nin izlediği metotta¹⁸⁻¹⁹ minor modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Kültüre edilen hücreler, 96 kuyucuklu plate için, her bir kuyucuğa 0.1 mL besiyeri içerisinde 3×10^4 hücre olacak şekilde pipetlenir. Hücreler üzerine, önceden DMSO ile çözülen test maddeleri 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 ve 75 µg/mL konsantrasyonlarda eklenir ve 24 saat süreyle inkübe edilir. Süre sonunda her bir

kuyucuğa 50 µL, soğuk %20'lik TCA ilave edilerek +4 °C'de 90 dakika bekletilir. Süre sonunda fiske edilen hücrelerin buldukları kuyucukların içeriği aspire edilir ve 300 µL ddH₂O ile 4 kez yıkanır ve 40 °C'de 30 dakika kurumaya bırakılır. Tamamen kurduğundan emin olunan plate, her bir kuyucuğa 100 µL %0.4'lük SRB eklenerek 30 dakika boyunca oda ısısında ve karanlıkta bekletilir. Boyama için gerekli olan süre sonunda her bir kuyucuk 300 µL % 1'lik asetik asit ile 4 kez yıkanır ve 40 °C'de 30 dakika kurumaya bırakılır. Tamamen kurduğuna emin olduğumuz plate, her bir kuyucuğa 200 µL 100 mM Tris-base (pH 10,5) eklenerek 30 dakika oda ısısında ve karanlıkta bekletilir. Ardından bir spektrofotometre ile 492 nm'de ölçüm alınır.

LDH Sitotoksisite Testi

Hücre sitotoksisitesi plazma membran hasarıyla yakından ilişkili olup farklı yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Bunlardan birisi membran hasarlı hücrelerden salınan sitoplazmik Laktat dehidrogenaz (LDH) enziminin aktivitesinin ölçümüne dayanır. LDH, tüm hücrelerde bulunan stabil sitoplazmik bir enzim olup plazma membranında bir zarar meydana geldiğinde hızlıca hücre kültür süpernatantına karışır. Böylece uygulanan test maddesinin, sitotoksik olup olmadığı LDH varlığı veya LDH enzim aktivitesi miktarı belirlenerek tespit edilir. LDH sitotoksisite testi, LDH sitotoksisite kiti (Roche) ve üreticinin prosedürüne göre gerçekleştirilmiştir. LDH sitotoksisite testi için, test edilecek madde miktarına bağlı olmakla birlikte 96 kuyucuklu plate kullanıldı ve 100 µL'de 5000 hücre/kuyu olacak şekilde triplicate olarak ekim yapıldı. Test maddeleri IC₅₀ konsantrasyonlarında kuyulara eklendikten sonra total hacim DMEM ile total hacim 200 µL'ye tamamlandı. Background kontrolde hücre olmayıp yalnızca 200 µL DMEM bulunurken, düşük kontrolde 100 µL hücre ve 100 µL DMEM, yüksek kontrolde ise 100 µL hücre ve 100 µL %2'lik TritonX-100 bulunur ve plate 24 saat süreyle 37 °C'de, %95 nem ve %5 CO₂ içeren kültür ortamında inkübe edildi. Süre sonunda her bir kuyudan 100 µL süpernatant alınarak, aynı şekilde etiketlenmiş yeni plate kuyucuğuna eklendi. Yaklaşık 100 test için, 11.25 mL Dye içerisine 250 µL katalist ilave edilerek reaksiyon karışımı hazırlandı ve tek kullanımlık olarak hazırlanan bu reaksiyon karışımı 100 µL/kuyu olacak şekilde eklendi. 20 dakika oda ısısında ve karanlıkta inkübe edildi. 492-630 nm dalga boyunda absorbans

değerleri kaydedildi. % Sitotoksisiteyi hesaplamak için triplike kuyuların ortalama absorbansları alınarak her birinden background kontrolün ortalama absorbans değeri çıkarıldı (A). Elde edilen sonuçlar üzerinden aşağıdaki formül kullanılarak % sitotoksisite hesaplandı.

$$\% \text{ Sitotoksisite} = [(A - \text{Düşük Kontrol}) / (\text{Yüksek Kontrol} - \text{Düşük Kontrol})] \times 100$$

İstatistiksel Analiz

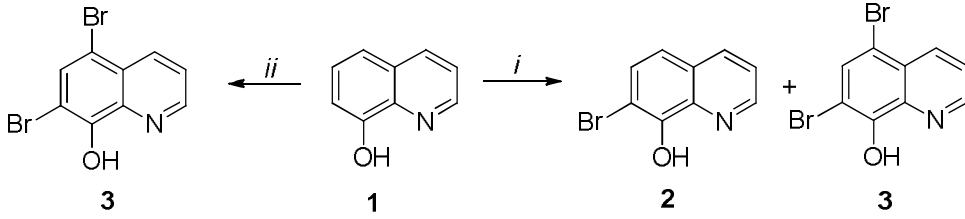
Çalışmalarımızda her bir test, kuyular triplike olacak şekilde farklı zamanlarda üç kez tekrarlandı (3 × 3). Elde edilen absorbans değerlerinden % sitotoksisite ve % inhibisyon oranları ve SEM ve ± SD değerleri Microsoft Excel programıyla hesaplandı. Elde edilen % sitotoksisite ve % inhibisyon sonuçları varyans analizi SPSS (Statistic Program for Social and Science) programı ve one-way ANOVA testi kullanıldı. ANOVA testi doğruluk değeri $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

Bulgular

Kimya

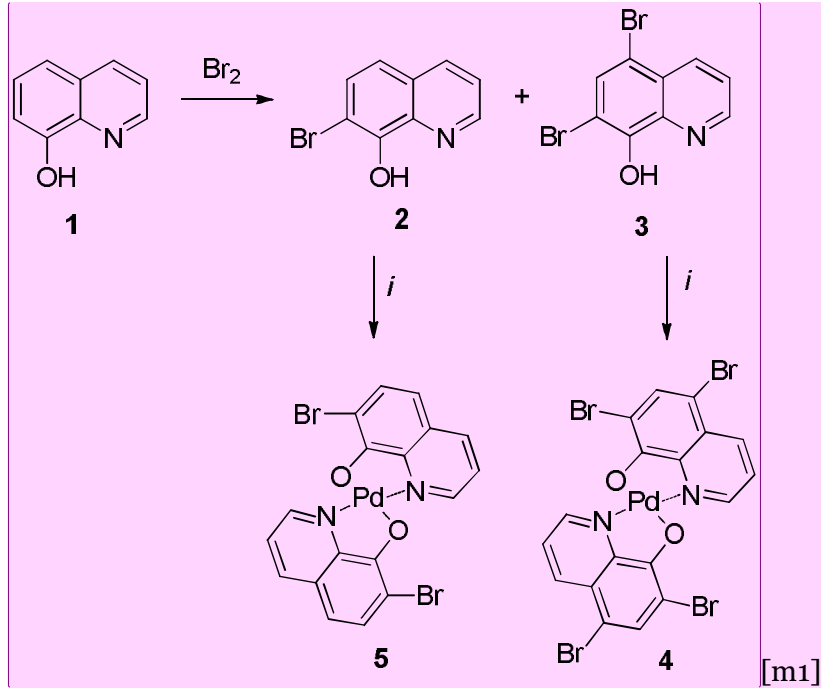
8-Hidroksikinolin'den başlayarak literatürde rapor edilen prosedüre uygun olarak, 7-bromo-8-hidroksikinolin (7-Br-8-OHQ, **2**) ve 5,7-dibromo-8-hidroksikinolin (5,7-diBr-8-OHQ, **3**) bileşikleri iki farklı reaksiyon ortamında saf olarak elde edildi (Şema 1)¹⁷. 8-Hidroksikinolin **1**, **2** eşdeğer mol moleküler bromla muamelesi sonucunda kantitatif verimle (%100) 5,7-dibromo-8-hidroksikinolin (**3**) molekülü sentezlendi. 8-Hidroksikinolin **1** molekülünün 1.5 eşdeğer mol moleküler bromla etkileştirilmesi sonucu, 7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-diBr-8-OHQ **3** karışım halinde oluşmaktadır (Şema 1). Çözünme farkına uygun olarak literatürde rapor edilen yöntemle moleküller saf olarak izole edildi¹⁷.

Şema 1. 5,7-Dibromo-8-hidroksikinolin **2** ve 7-bromo-8-hidroksikinolin'in **3** sentezi. Reaktifler ve şartlar *i*) Br₂ (1.5 eq), CH₃CN, 1 gün, 0 °C; *ii*) Br₂ (2 eq), CH₃CN, 1 gün, 0 °C.



Bromohidroksi kinolinler 7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-diBr-8-OHQ **3** ayrı ayrı PdCl₂ ile muamele edildi. Kompleksleşme reaksiyonları sonucu bromlu koordinasyon kompleksleri **4** ve **5** elde edildi (Şema 2).

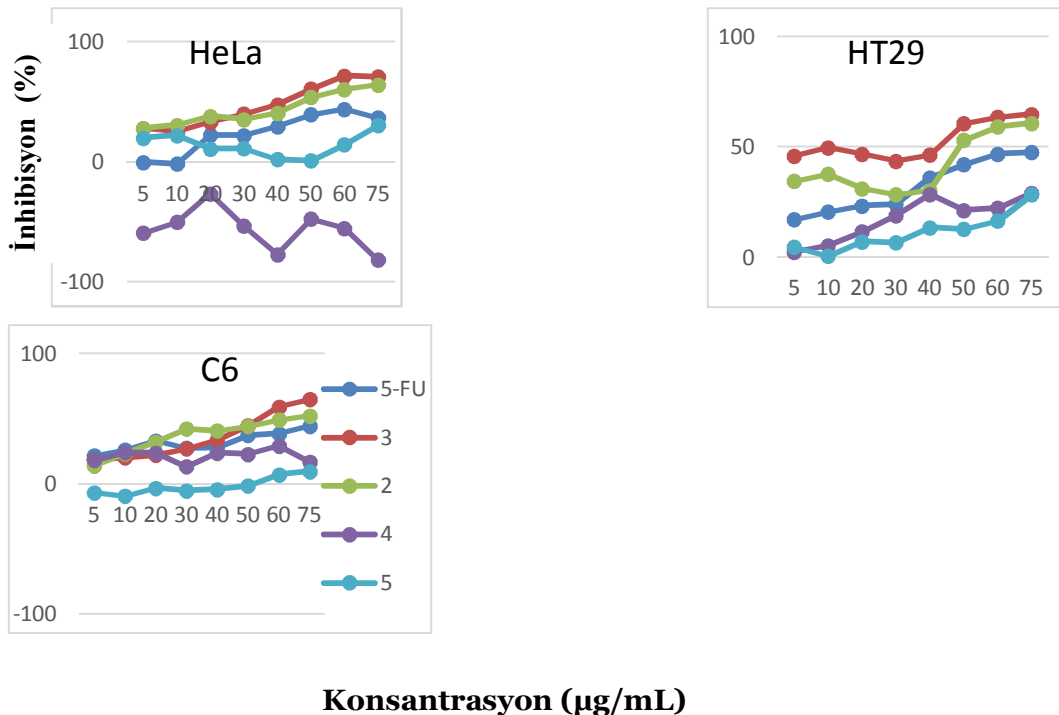
Şema 2. Palladyum şelat kompleksleri **4** ve **5**'in sentezi. Reaktifler ve şartlar *i*) PdCl₂ (1.5 eq), CH₃OH/H₂O, 2 saat, 25 °C.



Antiproliferatif Aktivite Çalışmaları

Bu çalışmada, 7-bromo **2** ve 5,7-dibromo-8-hidroksikinolin **3** bileşiklerinin ve bu bileşiklerden sentezlenen palladyum komplekslerin HeLa, HT29 ve C6 kanser hücre hatlarına karşı 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 ve 75 µg/mL konsantrasyonlarında antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Kontrol bileşiği olarak ticari bir kanser ilacı olan 5-florourasil (5-FU) kullanıldı. Bromo 8-hidroksikinolinler **2** ve **3** ile kompleks bileşikleri **4** ve **5**'in antiproliferatif aktiviteleri karşılaştırıldı. Tüm hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktivitesi en yüksek bileşik 5,7-diBr-8-OHQ **3**'dir. 5,7-DiBr-8-OHQ **3** ve 7-Br-8-OHQ **2**, 30 µg/mL ve daha yüksek konsantrasyonlarda 5-FU'ya nazaran HeLa, HT29 ve C6 hücre hatlarının proliferasyonunu önemli derecede inhibe etmiştir ($p < 0.05$). Palladyum koordinasyon bileşikleri **4** ve **5**, başlangıç bileşikleri **2** ve **3** ve kontrol bileşiği (5-FU) ile karşılaştırıldığında hiç bir hücre hattında proliferasyonu engellemediği ($p < 0.05$) belirlendi (Grafik 1).

Grafik 1. Bileşik **2**, **3**, **4** ve **5**'in HeLa, HT-29 ve C6 hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktivite grafikleri. Hücre proliferasyonu SRB hücre kiti kullanılarak hesaplanmıştır. Yüzde inhibisyon değerleri üç bağımsız deneyin triplike tekrarı ile belirlenmiştir ($p < 0.05$).

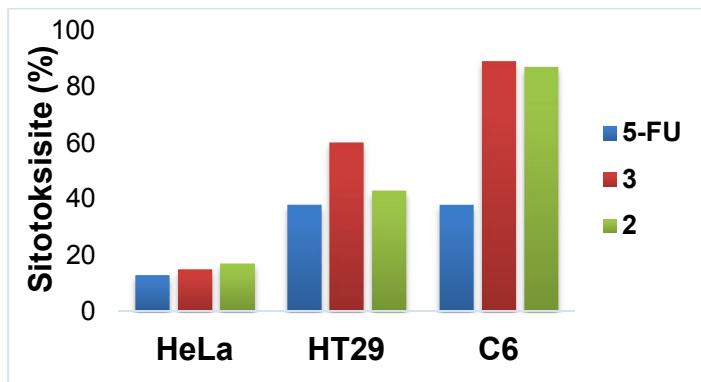


Sitotoksik aktivite çalışmaları

7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-diBr-8-OHQ **3** için hesaplanan IC₅₀ konsantrasyonlarında etkili oldukları kanser hücre hatlarına muamele edildi. Bu bileşiklerin **2** ve **3** sitotoksisiteyi *in vitro* sıvılarda Laktat dehidrojenaz enziminin yüzdesi hesaplanarak belirlenmiştir (Şekil 3). 7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-diBr-8-OHQ **3**, HeLa hücre hatlarına karşı LDH seviyesi %15-%17 ($p < 0.05$) aralığında olup, bu bileşikler sitotoksik aktivite yerine sitostatik etki yaptığı belirlenmiştir.

Bu sonuç, **2** ve **3** bileşiklerinin HeLa hücre hatlarındaki proliferasyonun inhibisyon etkisinin sitotoksikite üzerinden değil, farklı bir mekanizma üzerinden etkilediğini gösterir. 7-Br-8-OHQ **2**, HT29 hücre hattında %43 ($p < 0.05$), C6 hücre hattında ise %87 yüksek sitotoksikite göstermiştir. Benzer şekilde 5,7-diBr-8-OHQ **3**, HT29 ve C6 hücre hatlarında sırayla %60 ve %89 ($p < 0.05$) sitotoksikiteye sahiptir (Grafik 2). Bu verilere göre, 7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-diBr-8-OHQ **3** moleküllerinin antiproliferatif etkilerinin (özellikle C6 hücre hattına karşı) sitotoksik etki ile olduğu sonucuna varılmaktadır.

Grafik 2. Bileşik **2** ve **3**'ün HeLa, HT29 ve C6 hücre hatlarında sitotoksik aktivite grafikleri. Logaritmik çoğalan hücreler **2** ve **3**'ün IC₅₀ konsantrasyonlarında inkübe edildi ve Lactate dehydrogenase (LDH) sitotoksikite kiti kullanılarak bileşiklerin sitotoksisiteyi belirlendi. Yüzde sitotoksikite değerleri üç bağımsız deneyin üç kez tekrarı ile belirlendi ($p < 0.05$).



Tartışma

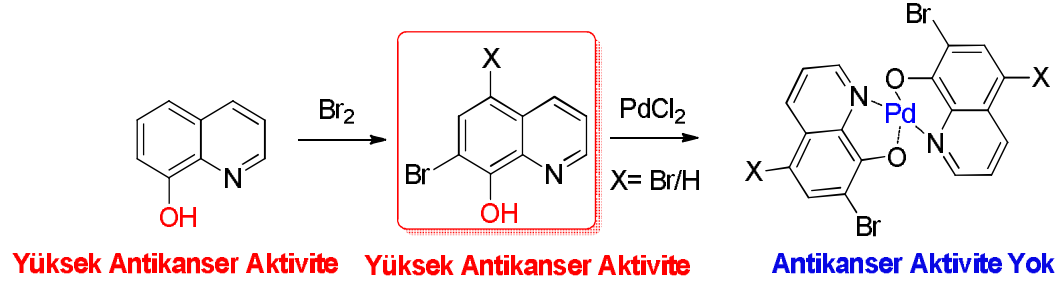
Bromo 8-hidroksikinolin **2** ve **3** molekülleri, literatürde belirtildiği üzere kendi geliştirdiğimiz sentez metodu kullanıldı. 7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-diBr-8-OHQ **3** bileşiklerinin PdCl₂ ile muamelesi sonucu Palladyum koordinasyon kompleksleri **4** ve **5** elde edildi. HeLa, HT29 ve C6 hücre hatlarına karşı prelinik testler uygulandı. Konsantrasyona bağlı olarak 5-FU'ya kıyasla 7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-diBr-8-OHQ **3** bileşikleri her üç hücre hattının proliferasyonun önemli derecede inhibe ettiği görüldü (Şekil 2). Pd komplekslerinin (**4** ve **5**) başlangıç moleküllerine (**2** ve **3**) nazaran antiproliferatif aktiviteleri önemli derecede azaldığı görüldü (Grafik 1).

LDH sitotoksik aktivite testlerinde, 7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-diBr-8-OHQ **3** C6 hücrelerindeki sitotoksiteleri hariç, bileşiklerin HeLa ve HT29 hücre hatlarındaki sitotoksik aktiviteleri oldukça düşük seviyededir (Grafik 2). Bileşik **2** ve **3**'ün C6 hücrelerindeki etkisinin sitotoksitenin sebep olduğunu, diğer hücrelerde ise farklı bir mekanizma ile etkilediği sonucuna varılabilir.

Bileşiklerin test edilen hücre hatlarındaki antiproliferatif ve sitotoksik etkileri, şelat ligandlar ve Pd kompleksleri açısından şu şekilde değerlendirilebilir: Test edilen hücre hatlarına karşı ligand olarak sentezlenen 8-OHQ'nin bromlu analogları olduğunda önemli derecede inhibisyon gösterirken, Pd koordinasyon bileşiklerine dönüştürüldüğünde, etki azalmaktadır. **2** ve **3**'ün C6 hücre hatlarındaki *in vitro* sıvılarda LDH seviyesinin arttırması, antiproliferatif etkisinin sitotoksik etki ile meydana geldiği tahmin edilmektedir (Grafik 2). HeLa ve HT29 hücre hatlarında ise farklı mekanizma ile etki gösterdiklerini söyleyebiliriz. 7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-diBr-8-OHQ **3** şelat bidentat ligandlardır. Yapıdaki halkanın N ve hidroksil sübstitüentinin O atomları ile palladyum koordine bağ oluşturmuştur. Pd atomuna iki ligand bağlanmasına rağmen kanser hücrelerinin proliferasyona inhibisyon etkisi önemli derecede azalmıştır (Şema 3). Bunun bir sebebinin ligand yapısındaki hidroksil grubunun kinolin halkasına elektron sağlamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. 7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-diBr-8-OHQ **3** kompleksleştğinde Pd ile koordine olan O atomunun halkaya

elektron vermesinin azalması aktivitenin de azalmasına sebep olduğu tahmin edilmektedir (Şema 3).

Şema 3. Bromo 8-OHQ ve Pd komplekslerinin sentez stratejisi ve antikanser aktiviteleri



Sonuç

Bu çalışmada 7-Br-8-OHQ **2** ve 5,7-diBr-8-OHQ **3** moleküllerinin yüksek derecede antiproliferatif ve sitotoksik etki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. Bu yüksek etki ve özelliklerinden dolayı bu moleküller, antikanser ilaç adayı haline gelmektedir. Bu bileşiklerin antikanser ilaç olma potansiyelleri ve etki mekanizmalarının daha iyi belirlenebilmesi için ileri *in vitro* ve *in vivo* prelinik ve klinik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Prachayasittikul V, Prachayasittikul S, Ruchirawat S, Prachayasittikul V. 8-Hydroxyquinolines: a review of their metal chelating properties and medicinal applications. *Drug Des. Dev. Ther.* 2013;7:1157–1178.
2. Chan-On W, Huyen N, Songtawee N, Suwanjang W, Prachayasittikul S, Prachayasittikul V. Quinoline-based clioquinol and nitroxoline exhibit anticancer activity inducing Fox M1 inhibition in cholangiocarcinoma cells. *Drug Des. Dev. Ther.* 2015;9:2033–2047.

3. Naber KG, Niggemann H, Stein G. Review of the literature and individual patients' data meta-analysis on efficacy and tolerance of nitroxoline in the treatment of uncomplicated urinary tract infections. *BMC Infect. Dis.* 2014;14:628.
4. Lazovic J, Guo L, Nakashima J, Mirsadraei L, Yong W, Kim HJ. Nitroxoline induces apoptosis and slows glioma growth *in vivo*. *Neuro-Oncol.* 2015;17(1):53–62.
5. Jampilek J, Dolezal M, Kunes J, Buchta V, Kralova K. Investigating the Antiproliferative Activity of Quinoline-5,8-Diones and Styrylquinolinecarboxylic Acids on Tumor Cell Lines. *Med. Chem.* 2005;1:591.
6. Li L, Xu B. Synthesis and characterization of 5-substituted 8-hydroxyquinoline derivatives and their metal complexes. *Tetrahedron.* 2008;64:10986-10995.
7. Khan H, Badshah A, Murtaz G, Said M, Rehman Z, Neuhausen C, Todorova M, Jean-Claude BJ, Butler IS. Synthesis, characterization and anticancer studies of mixed ligand dithiocarbamate palladium(II) complexes. *Eur. J. Med. Chem.* 2011;46:4071-4077.
8. Navarro M, Peña NP, Colmenares I, Gonzáles T, Arsenak M, Taylor P. Synthesis and characterization of new palladium–clotrimazole and palladium–chloroquine complexes showing cytotoxicity for tumor cell lines *in vitro*. *J. Inorg. Biochem.* 2006; 100:152-157.
9. Jiang H, Taggart JE, Zhang X, Benbrook DM, Lind SE, Ding WQ. Nitroxoline (8-hydroxy-5-nitroquinoline) is more a potent anti-cancer agent than clioquinol (5-chloro-7-iodo-8-quinoline). *Cancer Lett.* 2011; 312:11-17.
10. Sahin A, Cakmak O, Demirtas I, Okten S, Tutar A. Efficient and Selective Synthesis of Quinoline Derivatives. *Tetrahedron.* 2008;64:10068-10074.
11. Ökten S, Eyigün D, Çakmak O. Synthesis of Brominated Quinolines, *Sigma J. Eng. Nat. Sci.* 2015;33:8-15.
12. Ökten S, Çakmak O. Synthesis of Novel Cyano Quinoline Derivatives. *Tetrahedron Lett.* 2015;56(39):5337–5340.
13. Şahin ÖY, Ökten S, Tekin Ş, Çakmak O. Determination of anticancer activities of some quinoline derivatives against C6 tumor cells. *J Biotech.* 2012;161:S24.

14. Ökten S, Şahin ÖY, Tekin Ş, Çakmak O. In vitro antiproliferative/cytotoxic activity of novel quinoline compound SO-18 against various cancer cell lines. *J Biotech.* 2014;185:S106.
15. Köprülü TK, Tekin Ş, Ökten S, Çınar M, Duman S, Çakmak O. Detection of mechanism and anticancer activity of the new quinoline compounds MC20 and MC21. *J Biotech.* 2014;185:S93.
16. Ökten S, Çakmak O, Tekin Ş, Köprülü TK. A SAR Study: Evaluation of bromo derivatives of 8-substituted quinolines as novel anticancer agents, *Letters in Drug Design and Discovery.* 2017: revizyon hali kabul edildi.
17. Ökten S, Çakmak O, Saddıqa A, Keskin B, Özdemir S, İnal M. Reinvestigation of bromination of 8-substituted quinolines and synthesis of novel phthalonitriles. *Org. Comm.* 2016; 9(4):82-93.
18. Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* 1990;82:1107–1112.
19. Papazisis KT, Geromichalos GD, Dimitriadis KA, Kortsaris AH. Optimization of the sulforhodamine B colorimetric assay. *J. Immunol. Methods.* 1997;208:151–158.