

3'-N-Tiyokarbamat paklitaksel türevlerinin sentezi ve biyolojik aktivite çalışmaları

Bekir KARLIĞA, Naciye TALINLI*

İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 34469, Ayazağa, İstanbul

Özet

Paklitaksel (Taxol®), porsuk ağacı (Taxus Brevifolia) kabuğundan izole edilen doğal bir diterpen alkaloididir. Paklitaksel, mikrotübül polimerine bağlanarak depolimerizasyona karşı kararlılığın sağlanmasında rol oynar. Günümüzde göğüs ve rahim kanserlerinin kemoterapisinde kullanılan en önemli ilaçlardan biridir. Paklitaksel üzerine yapılan araştırmalardaki amaçlardan biri de yapısal olarak daha basit ancak klinik olarak daha etkili analogların sentezlenmesidir. Sentezlenen paklitaksel analoglarının büyük bir kısmı 3'-N pozisyonunun türevlendirilmesiyle elde edilmiştir. Bu çalışmada yan zincirinde tiyokarbamat ve 2-tiyenil içeren yeni paklitaksel türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bu paklitaksel türevlerinin A2780 memeli yumurta hücrelerindeki aktiviteleri ölçülmüştür. Yapılan aktivite testlerinde bazı bileşiklerin Taxol ile kıyaslanabilen aktivite değerlerine sahip olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Paklitaksel, tübülün, tiyokarbamat.*

Synthesis and biological evaluation of 3'-N-thiocarbamate paclitaxel derivatives

Abstract

Paclitaxel (Taxol®) is a natural occurring diterpene alkaloid originally isolated from the bark of Taxus Brevifolia. It is now one of the most important chemotherapeutic agents for clinical treatment of ovarian and breast cancer for the past decades. Recent clinical trials have also shown paclitaxel's potential for the treatment of non-small-cell lung cancer, head and neck cancer, and other types of cancers. While tremendous chemical research efforts have been made in the past years, which established the fundamental structure-activity relationships of the paclitaxel molecule, and have provided analogs for biochemical studies to elucidate the precise mechanism of action for the development of second-generation agents, many areas remain to be explored. One of the principal goals associated with research is the identification of the structural features of Taxol required for its biochemical and physiological performance. Ultimately, such research can be expected to lead to the identification of structurally simpler and clinically more effective analogues. A large number of analogues prepared by others have incorporated modifications at the side chain 3'-N position, and some compounds with such modifications are in clinical trials. In a continuation of the studies on the structure/activity relationships of paclitaxel analogues, we now report the synthesis of novel sulfur containing paclitaxel side-chain analogues.

Keywords: *Paclitaxel, tubulin, thiocarbamate.*

*Yazışmanın yapılacağı yazar: Naciye TALINLI. talinlin@itu.edu.tr; Tel: (212) 285 33 32.

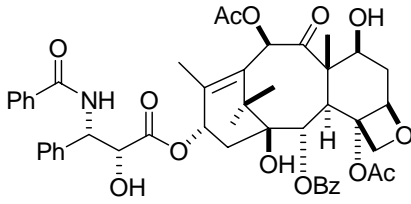
Bu makale, birinci yazar tarafından İTÜ Fen-Edebiyat Fakültesi'nde tamamlanmış "3'-N-Tiyokarbamat içeren paklitaksel türevlerinin sentezi ve biyolojik aktivite çalışmaları" adlı doktora tezinden hazırlanmıştır. Makale metni 27.05.2004 tarihinde dergiye ulaşmış, 01.07.2004 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 30.04.2005 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir.

Giriş

Paklitaksel (Taxol® **1**), porsuk ağacı (*Taxus brevifoli* (Wani vd., 1971))'nın kabuğundan izole edilen doğal bir diterpen alkaloididir. Taxol, mikrotübül polimerine bağlanarak depolimerizasyonun kararlılığını sağlamasında rol oynar (Schiff vd., 1979).

Taxol, son zamanlarda göğüs ve yumurtalık kanserlerinin tedavisinde kullanılan en önemli kemoterapi ilaçlarından biri olmuştur. Son dönemlerde yapılan klinik çalışmalarda, Taxol'ün aynı zamanda baş ve boyun bölgesindeki kanserler ve akciğer kanseri için potansiyel bir tedavi aracı olduğu görülmüştür (Rowinsky, 1997; Nabholtz vd., 2000; Crown ve O'Lary, 2000).

Geçen birkaç yıl içerisinde yapılan kimyasal araştırmalar Taxol molekülünün temel yapı-aktivite ilişkisini ortaya çıkarmış ve biyokimyasal çalışmalar için yeni türevlerinin sentezini sağlamıştır (Kingston vd., 2002; Gueritte, 2001). Bu durumun yanısıra keşfedilmesi gereken daha birçok alan vardır.



1 Paklitaksel

Yapılan çalışmalardaki temel hedeflerden biri paklitaksel'in fizyolojik ve biyokimyasal performansı üzerinde etkili olan yapısal özelliklerini aydınlatılmaktır. Bu araştırmalar ile yapısal olarak daha basit ancak klinik olarak daha etkili türevlerin tanınmasını sağlanması amaçlanmıştır.

Sentezlenen paklitaksel türevlerinin büyük bir kısmı 3'-N pozisyonunun modifiye edilmesiyle elde edilmiştir ve bunlardan bazıları klinik deneme aşamasındadır (Kingston, 2001).

Paklitaksel türevlerinin yapı-aktivite çalışmalarının devamı olarak, bu çalışmada yan zincirinde tiyokarbamat içeren **2a-2c** paklitaksel türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Bileşik **2a-2c**, yeni 3'-N-tiyokarbamat türevleridir. Bu yeni

türevlerin tamamının, A2780 insan yumurtalığındaki kanserli hücrelere karşı sitotoksikite çalışması yapılmıştır.

Sentez

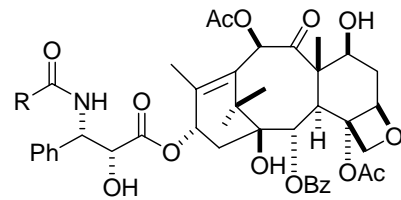
3'-N-Debenzoil-3'-N-(ariltiyokarbonyl) paklitaksel türevlerinin hazırlanması için kullanılan sentetik yol Şekil 1'de gösterilmiştir.

2 Numaralı bileşiklerin sentezi 7-TES Baccatin III (Denis vd., 1998) ile başlamıştır (**4**). Holton-Ojima prosesine (Holton vd., 1995; Ojima vd., 1992), uygun olarak 7-TES Baccatin III (**4**) THF'de NaH varlığında β -laktam (**5**) ile birleşmesi sonucunda istenen 3'-N pozisyonu korunmuş türev (**6**) elde edilmiştir. 3'-N'deki koruyucu grup standart hidrojenasyon ile kaldırılabilen ve 3'-serbest amin (**7**) % 85 verimle ele geçirilmektedir. 3'-tiyo türevleri **10a-b**, aril tiyollerden **8a-b** ve fosgen kondenzasyonundan elde edilen aril tiyokloroformat **9a-b** bileşiklerinin 3'-serbest aminle reaksiyonu ile elde edilir. 3'-serbest aminin **7**, NaHCO₃ çözeltisi varlığında aril kloroformat türevleri **9a-b** ile reaksiyonu, C-2' ve C-7 karbonlarında desillilasyon aşamasından sonra yüksek verimle 3'-N-tiyokarbamatları **2a-b** vermektedir.

3'-N-Tiyenil türevi (**3**) iki aşamada sentezlenmiştir. Önce **7**'de bulunan serbest amin grubu tiyofen-2-karbonyl klorür ile açillenmiş ve ardından desillilasyon gerçekleştirilmiştir.

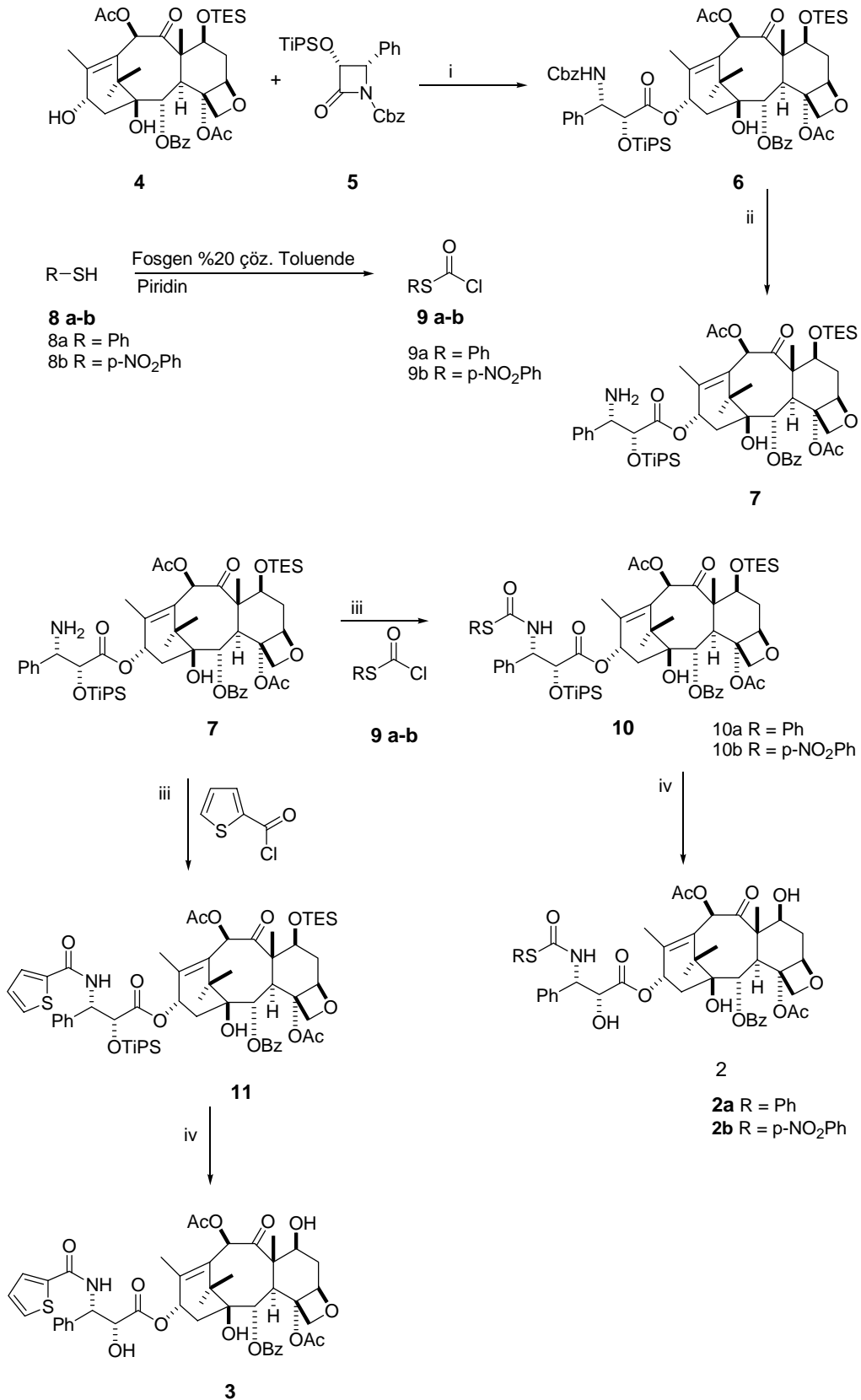
Biyolojik çalışmalar

3'-N pozisyonu türevlendirilmiş Paklitaksel analoglarının A2780 memeli yumurta hücrelerindeki aktiviteleri ölçülmüştür.



Bileşik **3**, 0.02 μ g/ml IC₅₀ değeriyle Paklitaksel (Taxol)'den daha iyi bir aktivite değerine sahiptir. **2a** ve **2b** Bileşikleri daha düşük ortalama aktivite değerlerine sahiptir. **2b** Bileşiğinin aktivite değeri ise **2a** bileşiğinden daha iyi ancak Paklitaksel'den daha düşüktür.

3'-N-Tiyokarbamat paklitaksel türevleri



Şekil 1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Koşulları: (i) NaH, THF, Laktam **5**, 0 °C-oda sıc., %90; (ii) H₂/Pd(C) %10, MeOH, %80; (iii) Doygun NaHCO₃ çöz., EtOAc **9a-b** veya tiyofen-2-karbonil klorür %95; (iv) HF-Piridin, 0 °C-oda sıc., % 90.

Tablo 1. Yan zincirinde Tiyokarbamat içeren bazı paklitaksel türevlerinin A2780 yumurtalık kanser hücrelerine karşı sitotoksiteleri

Bileşik	R	IC ₅₀ (µg/mL)
2a	C ₆ H ₅ S	17.1
2b	<i>p</i> -NO ₂ C ₆ H ₄ S	1.1
3	<i>2</i> -tiyenil	0.02
Paklitaksel (1)	C ₆ H ₅	0.136

Sonuçlar

Bu çalışmada 3 adet yeni paklitaksel türevi sentezlenmiş ve bunların biyolojik aktiviteleri ölçülmüştür. Bunlardan birinin anılan hücre üzerinde (**3**) Taxol'e kıyasla oldukça yüksek bir aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Sentezlenen bu bileşikler ile paklitaksel'in yapı-aktivite ilişkisinde eksik olan halkalardan biri daha tamamlanmıştır.

Deneysel çalışmalar

Kullanılan cihaz ve teknikler

Sentezlenen ürünlerin NMR spektrumları, İstanbul Teknik Üniversitesinde (Bruker 250 MHz) ve Virginia Polytechnic and State University (Varian Unity 400 MHz)'de alınmış, kimyasal kaymalar TMS iç standartta göre δ (ppm) cinsinden, etkileşme sabitleri (¹H için 399.951 ve 250.133 MHz, ¹³C için 100.578 MHz) J ise Hz cinsinden verilmiştir. Kütle Spektrumları Virginia Polytechnic and State University (A.B.D)'de alınmıştır. Tüm reaksiyonlar E. Merck marka analitik ince tabaka kromatografi tabakaları (TLC) (silica gel HF₂₅₄) ile izlenmiş, 254 nm UV ışık ve/veya vanilin/sülfürik asit sprey ve/veya fosfomolybidik asit/etanol spreyi ile renklendirilerek görünür hale getirilmiştir. Kolon kromatografisi için E. Merck marka (Silica gel 60, 230-400 mesh) silikajel kullanılmıştır. Reaksiyonlarda kullanılan kimyasal maddeler Aldrich ve Labscan firmalarından sağlanmış ve herhangi bir saflandırma işlemine tabi tutulmadan kullanılmıştır. Tetrahidrofuran (THF) sodyum/benzo-enon, diklormetan ise kalsiyumhidrür üzerinden damıtılarak kullanılmıştır.

Ariltilyo kloroformat türevlerinin, 3' serbest amin bileşiği (7) ile kenetlenme reaksiyonları için genel yöntem

3'-Amin bileşiği (7) (0.02mmol), etilasetat (2 mL) içerisinde çözünür, çözeltinin sıcaklığı 0 °C'ye getirilir ve üzerine doygun NaHCO₃ çözeltisi (2 mL) ilave edilir. Daha sonra Etilasetat içerisinde (1 mL) çözünmüş tiyo kloroformat bileşiği (0.2 mmol) bu karışıma damla damla ilave edilir. Karışımın sıcaklığı oda sıcaklığına getirilerek 14 saat daha karıştırılır. Reaksiyon karışımı etilasetat ile seyreltilir ve sırasıyla su, NH₄Cl, tekrar su ve doygun tuz çözeltisi ile yıkanır. Sodyum sülfat üzerinden kurutulur. Çözücü uzaklaştırılıp ham ürün % 30 etilasetat % 70 hegzan yürütücü sistemi ile P-TLC de saflandırılır. Verim % 80-90.

2'-O-(Triizopropilsillil)-3'-N-debenzoil-3'-N-(feniltiyo)-karbonil-7-O-trietilsillil-paklitaksel (10a): ¹H NMR (CDCl₃, 399.951 MHz) δ 8.03 (d, J=7.2 Hz, 2H), 7.64 (m, 2H), 7.59-7.26 (m, 11H), 7.08 (d, J=8.8 Hz, 1H, NH), 6.4 (s, 1H), 6.29 (dd, J=1.6, 9 Hz, 1H), 5.72 (d, J=7.4 Hz, 1H), 5.53 (d, J=8.2 Hz, 1H), 4.92 (d, J=7.6 Hz, 1H), 4.44 (dd, J=6.4, 12 Hz, 1H), 4.28 (d, J=8.8 Hz, 1H), 4.2 (d, J= 8.8 Hz, 1H), 4.18 (d, J=8 Hz, 1H), 3.79 (d, J=8 Hz, 1H), 2.47 (m, 2H), 2.36 (dd, J=9,15Hz, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.3 (dd, 1.6, 15 Hz, 1 H), 2.25 (s, 3H), 1.88 (m, 1H), 1.75 (s, 3H), 1.68 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 0.98-0.79 (m, 27H), 0.80 (t, 3H), 0.58 (m, 6H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.578 MHz) δ 203.21, 170.81, 170.22, 169.81, 168.89, 156.32, 143.10, 138.92, 133.21, 133.11, 132.19, 131.19, 130.22, 129.82, 129.24, 128.42, 128.31, 127.20, 113.64, 84.45, 81.81, 79.60, 76.15, 75.25, 74.59, 73.52, 72.12, 58.96, 58.79, 45.82, 43.14, 35.28, 34.66, 27.77, 26.15, 22.44, 21.62, 20.56, 18.03, 17.91, 14.64, 12.87, 9.61, 6.97, 5.52, 5.19. HRFABMS *m/z* hesaplanan değer C₆₂H₈₅NO₁₄SSi₂Na (M+Na)⁺ 1178.5127, bulunan değer 1178.5117, Δ 1 ppm.

2'-O-(Triizopropilsillil)-3'-N-debenzoil-3'-N-(4-nitrofeniltiyo)-karbonil-7-O-trietil sillil-paklitaksel (10b): ¹H NMR (CDCl₃, 399.951 MHz) δ 8.09 (d, J=7.2 Hz, 2H), 7.64 (m, 2H), 7.58-7.48 (m, 4H), 7.40-7.32 (m, 6H), 7.12 (d,

J=8.8 Hz, 1H, NH), 6.22 (s, 1H), 6.08 (dd, J=1.6, 9 Hz, 1H), 5.55 (d, J=7.4 Hz, 1H), 5.39 (d, J=7.2 Hz, 1H), 4.88 (d, J=8.6 Hz, 1H), 4.60 (d, J=2.8 Hz, 1H), 4.24 (d, J=8.8 Hz, 1H), 4.19 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.65 (d, J=7.2 Hz, 1H), 2.4 (m, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.27 (m, 3H), 2.2 (s, 3H), 1.85 (m, 4H), 1.7 (s, 3H), 1.65 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 0.98-0.79 (m, 27H), 0.80 (t, 3H), 0.58 (m, 6H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.578 MHz) δ 203.87, 172.54, 171.45, 171.14, 166.23, 157.60, 142.66, 138.93, 134.90, 133.98, 133.61, 133.21, 131.60, 130.38, 129.51, 129.70, 128.79, 128.47, 128.32, 127.12, 127.60, 84.74, 81.99, 79.88, 76.05, 74.95, 74.89, 73.12, 72.83, 72.28, 58.64, 58.16, 55.60, 45.76, 43.69, 36.07, 35.81, 25.69, 23.06, 22.11, 20.90, 18.09, 17.92, 15.46, 11.95, 15.18, 9.81, 6.97, 5.58, 5.19. HRFABMS *m/z* hesaplanan değer C₆₂H₈₄N₂O₁₆SSi₂ Na (M+Na)⁺ 1223.4978, bulunan değer 1223.4963, Δ 1.5 ppm.

2'-O-(Triizopropilsillil)-3'-N-debenzoil-3'-N-(2-tiyofenkarbonil)-7-O-trietilsillil paklitaksel (11): ¹H NMR (CDCl₃, 399.951 MHz) δ 8.14 (d, J=7.6 Hz, 2H), 7.61-7.31 (m, 1H), 7.53-7.41 (m, 9H), 7.05 (m, 1H), 6.96 (d, J=8.8 Hz, 1H, NH), 6.46 (s, 1H), 6.25 (dd, J=1.6, 9 Hz, 1H), 5.76 (d, J=7.6 Hz, 1H), 5.67 (d, J=6.8 Hz, 1H), 4.96 (dd, J=2.2, 9.2 Hz, 1H), 4.92 (d, J=2.6, 1H), 4.44 (m, 1H), 4.28 (d, J=8.8 Hz, 1H), 4.2 (d, J= 8.8 Hz, 1H), 3.84 (d, J=7.2 Hz, 1H), 2.50 (m, 1H), 2.48 (s, 3H), 2.3 (m, 3H), 2.14 (s, 3H), 1.9 (m, 1H), 1.7 (s, 3H), 1.64 (s, 3H), 1.58 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 0.98-0.79 (m, 27H), 0.80 (t, 3H), 0.58 (m, 6H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.578 MHz) δ 201.9, 171.7, 170.3, 169.5, 167.2, 161.5, 140.3, 138.3, 133.8, 130.6, 130.4, 129.4, 129, 128.7, 128.2, 128., 127, 84.5, 81.3, 79., 75.21, 75.1, 72.6, 71.8, 70.2, 60.6, 58.6, 56.1, 46.92, 43.5, 37.42, 35.99, 26.77, 23.29, 21.79, 21.11, 18.08, 18.03, 17.91, 14.46, 12.78, 10.37, 6.97, 5.52, 5.19. HRFABMS *m/z* hesaplanan C₆₀H₈₃NO₁₄SSi₂ Na (M+Na)⁺ 1152.4971, bulunan değer 1152.4993, Δ 2.2 ppm.

Sillil koruma gruplarının uzaklaştırılması için uygulanan genel yöntem

İnert atmosferde, korunmuş paklitaksel türevi (10 mg) çok kuru THF içerisinde (0.5 mL) çözünür ve çözeltinin sıcaklığı 0 °C'ye getirilir

ve bu sıcaklıkta HF/Piridin (0.15 mL) damla damla ilave edilir. Reaksiyon karışımı 15 dakika daha bu sıcaklıkta karıştırılır ve sonra sıcaklık oda sıcaklığına getirilerek 12 saat daha karıştırılır. Reaksiyon bitirildikten sonra etilasetat ile seyreltilir, ve sırasıyla su, NaHCO₃ ve doymuş tuz çözeltisiyle yıkanır. Sodyum sülfat üzerinden kurutulup çözücü uzaklaştırılır. Ham ürün % 40 etilasetat % 60 hegzan yürütücü sistemi ile P-TLC de saflandırılır. Verim % 80-90.

3'-N-Debenzoil-3'-N-(feniltiyokarbonil)

paklitaksel (2a) : ¹H NMR (CDCl₃, 399.951 MHz) δ 8.04 (d, J=7.2 Hz, 2H), 7.64 (m, 2H), 7.59-7.26 (m, 11H), 7.09 (d, J=8.8 Hz, 1H, NH), 6.4 (s, 1H), 6.29 (dd, J=1.6, 9 Hz, 1H), 5.72 (d, J=7.4 Hz, 1H), 5.53 (d, J=8.2 Hz, 1H), 4.92 (d, J=7.6 Hz, 1H), 4.44 (dd, J=6.4, 12 Hz, 1H), 4.28 (d, J=8.8 Hz, 1H), 4.2 (d, J= 8.8 Hz, 1H), 4.18 (d, J=8 Hz, 1H), 3.79 (d, J=8 Hz, 1H), 3.6 (br.s, 1H), 2.48 (m, 2H), 2.45 (br.s, 1H), 2.35 (dd, J=9,15Hz, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.29 (dd, 1.6, 15 Hz, 1 H), 2.24 (s, 3H), 1.9 (br.s, 1H), 1.75 (s, 3H), 1.68 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.12 (s, 3H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.578 MHz) δ 202.91, 170.71, 170.22, 169.61, 167.83, 156.16, 143.10, 138.91, 133.81, 133.60, 132.90, 131.91, 130.21, 129.70, 129.21, 128.22, 128.30, 127.10, 114.84, 84.41, 81.12, 79.60, 76.51, 75.51, 74.90, 73.22, 72.21, 59.62, 58.71, 45.80, 43.41, 35.82, 34.62, 27.71, 26.51, 22.42, 21.20, 20.15, 14.91, 9.61. HRFABMS *m/z* hesaplanan değer C₄₇H₅₁NO₁₄S Na (M+Na)⁺ 908.2928, bulunan değer 908.2943, Δ 2 ppm.

3'-N-Debenzoil-3'-N-(4-nitrofeniltiyokarbonil)

karbonil paklitaksel (2b) : ¹H NMR (CDCl₃, 399.951 MHz) δ 8.06 (d, J=7.2 Hz, 2H), 7.62 (m, 2H), 7.54-7.46 (m, 4H), 7.36-7.30 (m, 6H), 7.16 (d, J=8.8 Hz, 1H, NH), 6.2 (s, 1H), 6.09 (dd, J=1.6, 9 Hz, 1H), 5.55 (d, J=7.4 Hz, 1H), 5.39 (d, J=7.2 Hz, 1H), 4.88 (d, J=8.6 Hz, 1H), 4.59 (d, J=2.8 Hz, 1H), 4.24 (d, J=8.8 Hz, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.65 (d, J=7.2 Hz, 1H), 2.59 (br.s, 1H), 2.4 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.27 (m, 1H), 2.2 (s, 3H), 1.85 (m, 4H), 1.7 (s, 3H), 1.65 (s, 3H), 1.1 (s, 3H), 1.05 (s, 3H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.578 MHz) δ 203.9, 172.7, 171.3, 171.2, 166.47, 157.8, 142., 139.2, 133.9, 133.1, 133.2, 133.1, 131.90, 130.48, 129.41, 129.0,

128.7, 128.7, 128.3, 127.1, 127, 84.44, 81.49, 78.68, 75.95, 74.95, 74.49, 73.2, 72.3, 72.2, 58.64, 58.6, 55.9, 45.8, 43.2, 35.9, 35.6, 26.7, 22.8, 21.9, 20.8, 15.1, 9.8. HRFABMS m/z hesaplanan değer $C_{47}H_{50}N_2O_{16}S$ (M+H)⁺ 930.2881, bulunan değer 930.2911, Δ 20 ppm.

3'-N-Debenzoil-3'-N-(2-tiyofenkarbonil)

paklitaksel(3): ¹H NMR(CDCl₃, 399.951 M Hz) δ 8.12 (d, J=7.6 Hz, 2H), 7.62 (m, 1H), 7.53-7.41 (m, 9H), 7.05 (m, 1H), 6.86 (d, J=8.8 Hz, 1H, NH), 6.26 (s, 1H), 6.22 (dd, J=1.6, 9 Hz, 1H), 5.76 (d, J=7.6 Hz, 1H), 5.67 (d, J=6.8 Hz, 1H), 4.94 (dd, J=2.2, 9.2 Hz, 1H), 4.44 (m, 1H), 4.29 (d, J=8.8 Hz, 1H), 4.2 (d, J= 8.8 Hz, 1H), 3.79 (d, J=7.2 Hz, 1H), 3.61 (d, J=5.2 Hz, 1H), 2.50 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.3 (m, 1H), 2.23 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.7 (s, 1H), 1.68 (s, 3H), 1.64 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.14 (s, 3H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.578 MHz) δ 203.85, 172.75, 171.84, 170.66, 167.22, 157.85, 142.14, 138.08, 133.96, 133.43, 130.9, 130.44, 129.3, 129.25, 128.9, 128.8, 128.6, 127.0, 127.23, 84.61, 81.38, 79.23, 75.7, 75.1, 73.4, 72.5, 72.4, 70.29, 58.8, 55.1, 45.8, 43.37, 35.9, 35.6, 27.09, 22.8, 22.1, 21.08, 15.12, 9.7. HRFABMS m/z hesaplanan $C_{45}H_{49}NO_{14}SNa$ (M+Na)⁺ 882.2771, bulunan değer 882.2786, Δ 1.5 ppm.

Biyolojik değerlendirme

Sitotoksikite çalışmaları, insan yumurtalığındaki kanserli hücrelere karşı yapılmıştır. Büyüme inhibisyonu, RPMI 1640 ortamında, içerisinde L-glutamin (Gibco) ve 10% fetal Bovine Serum (Gibco) bulunan ve A2780 hücreleri (hücre yoğunluğu $2.7 \cdot 10^5$ olacak şekilde) ekilmiş mikrotabaka yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Örnekler 50%'lik DMSO çözeltisi içerisinde çözülmüş ve içine RPMI 1640 konulmuş eliza tabakalarına 1:50 oranında seyreltilerek ve sonuç konsantrasyon 20 μ g/mL olacak şekilde ekilmiştir. Tabakalar, 37°C ve %5 CO₂'de 48 saat inkübasyona bırakılmışlardır. Floresans yüzdesi, inhibisyon yüzdesi ile doğru orantılıdır, - büyüme inhibisyonu sonuç şemanın lineer ötelenmesi ile açıklanmıştır.

Aktivite, IC₅₀ değeri cinsinden rapor edilmiştir; bu değer %50 inhibisyon elde etmek için gerekli konsantrasyonun μ g/mL cinsinden değeridir. 2

μ g/ml Actinomycin D ve 2-5 μ g/ml'lık IC₅₀ değeri pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (McBrien, 1995).

Kaynaklar

- Crown, J. ve O'Leary, M., (2000). Taxanes as adjuvant for breast cancer, *Lancet*, **355**, 1176-1178.
- Guéritte, F., (2001). General and recent aspects of the chemistry and structure-activity relationships of taxoids, *Current Pharmaceutical Design*, **7**, 1229-1249.
- Holton, R. A., Biediger, R. J. ve Boatman, P. D., (1995). Taxol science and applications, 97-121, CRC Press, Inc., Boca Raton.
- Kingston, D. G. I., (2001). Taxol, a molecule for all seasons, *Chemical Communications*, **10**, 867-880.
- Kingston, D. G. I., Jagtap, P., Yuan, H. ve Samala, L., (2002), In progress in the chemistry of organic natural products, **84**, 53-225, Springer: Wien.
- Mangatal, L., Denis, J. N., Greene, A. E., Guenard, D., Gueritte-Voegelein, F. ve Potier, P., (1988). A Highly Efficient, Practical Approach to Natural Taxol, *Journal of the American Chemical Society*, **110**, 5917-5919.
- McBrien, K. D., Berry, R.L., Lowe, S. E. ve Neddermann K. L., (1995). Rakicidins, new cytotoxic lipopeptides from micromonospora fermentation, isolation and characterization, *Journal of Antibiotics*, **48**, 1446-52.
- Nabholtz, J. M., Tonkin, K., Smylie, M., Au, H. J., Lindsay, M. A. ve Mackey, J., (2000). Docetaxel (Taxotere) in combination with anthracyclines in the treatment of breast cancer, *Oncology*, **22**, 187-206.
- Ojima, I., Habus, I., Zhao, M., Zucco, M., Park, Y. H., Sun, C. M. and Brigaud, T., (1992). New and efficient approaches to the semisynthesis of taxol and Its C-13 side-chain analogs by means of beta-lactam synthon method, *Tetrahedron*, **48**, 6985-7012.
- Rowinsky, E. K., (1997). The development and clinical utility of the taxane class of antimicro tubule chemotherapy agents, *Annual Review of Medicine*, **48**, 353-374.
- Schiff, P. B., Fant, J. ve Horwitz, S. B., (1979). Promotion of microtubule assembly invitro by taxol, *Nature*, **277**, 665-667.
- Wani, M. C., Taylor, H. L., Wall, M. E., Coggon, P. ve McPhail, A. T., (1971). Plant antitumor agents 6. isolation and structure of taxol, a novel anti leukemic and antitumor agent from taxus-brevifolia, *Journal of The American Chemical Society*, **93**, 2325-2327.