

**YENİ HİDRAZON TÜREVLERİNİN
SENTEZİ VE BİYOLOJİK ETKİ
ÇALIŞMALARI**

Yüksek Lisans Tezi

Emine Merve GÜNGÖR

Eskişehir 2019

**YENİ HİDRAZON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK ETKİ
ÇALIŞMALARI**

Emine Merve GÜNGÖR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Mehlika Dilek ALTINTOP**

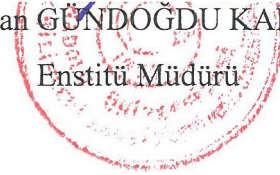
**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ağustos 2019**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Emine Merve GÜNGÖR'ün “Yeni Hidrazon Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Etki Çalışmaları” başlıklı tezi 19/08/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Doç. Dr. Mehlika Dilek ALTINTOP	
Üye	: Prof. Dr. Ahmet ÖZDEMİR	
Üye	: Doç. Dr. Kaan KUÇUKOĞLU	

Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN
Enstitü Müdürü



ÖZET

YENİ HİDRAZON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK ETKİ ÇALIŞMALARI

Emine Merve GÜNGÖR

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağustos 2019

Danışman: Doç. Dr. Mehlika Dilek ALTINTOP

Seçici ve etkili antikanser ajanlar geliştirmek amacıyla, bu çalışmada pirimidin halkası taşıyan 13 adet yeni hidrazon türevi sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR ve kütle spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Tüm bileşiklerin 5RP7 H-ras onkogen transform sıçan embriyonik fibroblast ve L929 fare embriyonik fibroblast hücre dizileri üzerine sitotoksik etkileri MTT testi ile araştırılmıştır. *In vitro* etki testlerine göre, *N'*-benziliden-2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (**3a**), *N'*-(4-(pirolidin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (**3d**), *N'*-benziliden-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (**3g**), *N'*-(4-(pirolidin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (**3j**) bileşiklerinin cisplatine (IC₅₀= 1.87±0.15 µg/mL) kıyasla 5RP7 hücreleri (sırasıyla <0.97, <0.97, 1.13±0.06 ve <0.97 µg/mL IC₅₀ değerleri ile) üzerine oldukça etkili oldukları bulunmuştur. Ayrıca aktif olduğu tespit edilen bu bileşiklerin 5RP7 hücre dizisine karşı apoptotik etkileri de akım sitometrisi ile değerlendirilmiştir. Bu dört bileşiğin de 5RP7 hücre dizisinde apoptozu indükledikleri tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Apoptoz, Hidrazon, Kanser, Pirimidin.

ABSTRACT

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY STUDIES OF NEW HYDRAZONE DERIVATIVES

Emine Merve GÜNGÖR

Department of Pharmaceutical Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, August 2019

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehlika Dilek ALTINTOP

In order to develop selective and potent anticancer agents, in this study, 13 new hydrazone derivatives bearing a pyrimidine ring were synthesized. The structures of the obtained compounds were elucidated by IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR and mass spectroscopy. The cytotoxic effects of all compounds on 5RP7 H-*ras* oncogene transformed rat embryonic fibroblast and L929 mouse embryonic fibroblast cell lines were investigated using MTT assay. According to *in vitro* activity tests, *N'*-benzylidene-2-[(4-(4-chlorophenyl)pyrimidin-2-yl)thio]acetohydrazide (**3a**), *N'*-(4-(pyrrolidin-1-yl)benzylidene)-2-[(4-(4-chlorophenyl)pyrimidin-2-yl)thio]acetohydrazide (**3d**), *N'*-benzylidene-2-[(4-(4-methoxyphenyl)pyrimidin-2-yl)thio]acetohydrazide (**3g**), *N'*-(4-(pyrrolidin-1-yl)benzylidene)-2-[(4-(4-methoxyphenyl)pyrimidin-2-yl)thio]acetohydrazide (**3j**) were found to be effective on 5RP7 cells (with IC_{50} values <0.97 , <0.97 , 1.13 ± 0.06 and <0.97 $\mu\text{g/mL}$, respectively) when compared with cisplatin ($\text{IC}_{50} = 1.87 \pm 0.15$ $\mu\text{g/mL}$). Besides, the apoptotic effects of these active compounds on 5RP7 cell line were evaluated using flow cytometry. It was determined that these four compounds induced apoptosis in 5RP7 cell line.

Keywords: Apoptosis, Hydrazone, Cancer, Pyrimidine.

TEŞEKKÜR

Hazırlamış olduğum bu yüksek lisans tezinin her aşamasında beni sabırla dinleyen, değerli bilgi ve katkılarıyla destek olan, benden zamanını ve yardımlarını esirgemeyen, tez danışmanım Sayın Hocam Doç. Dr. Mehlika Dilek ALTINTOP’a,

Her zaman desteklerini esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Ahmet ÖZDEMİR’e ve Sayın Hocam Araş. Gör. Dr. Belgin SEVER’e,

Antikanser etki çalışmalarını gerçekleştiren Sayın Hocam Doç. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ’ye,

NMR analizlerini gerçekleştiren Sayın Hocam Öğr. Gör. Serkan LEVENT’e,

Kütle analizlerini gerçekleştiren Hacettepe Üniversitesi İlaç ve Kozmetik Ar-Ge ve Kalite Kontrol Laboratuvarı’na,

Tez çalışmam boyunca bana yardımcı olan Ecz. Nalan YILMAZ’a,

Bu yola beraber başladığımız günden itibaren yanımda olan, sorduğum sorulara her zaman çözüm bulmaya çalışan, yardımlarını benden esirgemeyen değerli arkadaşım Öğr. Gör. Asaf Evrim EVREN’e,

Sevgi ve destekleriyle hayatım boyunca her daim yanımda duran, tüm kararlarımda maddi ve manevi olarak destek veren aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalardan bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Emine Merve GÜNGÖR

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLOLAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Hidrazonlar ile ilgili Genel Bilgiler	4
2.2. Hidrazonların Genel Sentez Yöntemi	4
2.3. Hidrazon Türevlerinin Antikanser Etkileri üzerine Çalışmalar	4
3. GEREÇLER.....	13
3.1. Kullanılan Maddeler	13
3.2. Kullanılan Hücre Dizileri	13
3.3. Kullanılan Cihazlar.....	14
4. YÖNTEMLER	15
4.1. Başlangıç ve Sonuç Maddelerinin Genel Sentez Yöntemleri	15
4.1.1. Etil 2-(ariltiyo)asetat türevlerinin genel sentez yöntemi (Yöntem A)	15
4.1.2. 2-(Ariltiyo)asetohidrazit türevlerinin genel sentez yöntemi (Yöntem B)	15
4.1.3. N'-(Süstitüe benziliden)-2-(ariltiyo)asetohidrazit bileşiklerinin genel sentez yöntemi (Yöntem C)	16
4.2. Sentezlenen Bileşiklerin Analizi.....	16

4.2.1. Erime noktası (E.N.) tayini.....	16
4.2.2. IR spektrumlarının alınması.....	16
4.2.3. ¹ H NMR spektrumlarının alınması	16
4.2.4. ¹³ C NMR spektrumlarının alınması	16
4.2.5. Kütle spektrumlarının alınması.....	17
4.3. <i>In vitro</i> Etki Çalışmaları	17
4.3.1. Hücrelere uygun besi yerinin hazırlanması.....	17
4.3.2. Hücrelerin çoğaltılması.....	17
4.3.3. Hücrelerin plakalara ekilmesi.....	17
4.3.4. MTT sitotoksosite testi	18
4.4. Bileşiklerin Apoptotik Etkilerinin Belirlenmesi.....	18
4.5. <i>In Silico</i> ADME Çalışmaları	19
5. BULGULAR ve YORUM	20
5.1. Kimyasal Çalışmalar.....	20
5.1.1. Etil 2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetat (1a).....	20
5.1.2. Etil 2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetat (1b)	20
5.1.3. 2-[(4-(4-Klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (2a).....	21
5.1.4. 2-[(4-(4-Metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (2b).....	21
5.1.5. <i>N'</i> -Benziliden-2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo] asetohidrazit (3a)	22
5.1.6. <i>N'</i> -(4-(Dimetilamino)benziliden)-2-[(4-(4-klorofenil) pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3b).....	26
5.1.7. <i>N'</i> -(4-(Dietilamino)benziliden)-2-[(4-(4-klorofenil) pirimidin-2- il)tiyo]asetohidrazit (3c)	30
5.1.8. <i>N'</i> -(4-(Pirolidin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-klorofenil) pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3d).....	34
5.1.9. <i>N'</i> -(4-(Piperidin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-klorofenil) pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3e)	38

5.1.10. <i>N'</i> -(4-(Morfolin-4-il)benziliden)-2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3f).....	42
5.1.11. <i>N'</i> -Benziliden-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3g)	46
5.1.12. <i>N'</i> -(4-(Dimetilamino)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3h).....	50
5.1.13. <i>N'</i> -(4-(Dietilamino)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3i)	54
5.1.14. <i>N'</i> -(4-(Pirolidin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3j).....	58
5.1.15. <i>N'</i> -(4-(Piperidin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3k).....	62
5.1.16. <i>N'</i> -(4-(Morfolin-4-il)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3l)	66
5.1.17. <i>N'</i> -(4-(4-Metilpiperazin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3m)	70
5.2. Uygulanan Sentez Yöntemlerinin Değerlendirilmesi.....	74
5.2.1. Etil 2-(ariltiyo)asetat türevlerinin elde edilişi.....	74
5.2.2. 2-(Ariltiyo)asetohidrazit türevlerinin elde edilişi.....	74
5.2.3. <i>N'</i> -(Ariliden)-2-(ariltiyo)asetohidrazit türevlerinin elde edilişi	75
5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi	76
5.3.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi	76
5.3.2. ¹ H NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	77
5.3.3. ¹³ C NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	78
5.3.4. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi	78
5.4. <i>In Vitro</i> Çalışma Sonuçlarının Değerlendirilmesi	79
5.4.1. MTT deneyi sonuçlarının değerlendirilmesi	79
5.4.2. Apoptoz üzerine etkilerinin değerlendirilmesi.....	80

5.5. <i>In Silico</i> ADME Çalışma Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	82
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	84
KAYNAKÇA.....	85
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1. Sonuç bileşikleri	3
Tablo 5.1. Bileşiklerin 5RP7 ve L929 hücre dizileri üzerinde 24 saat sonrası IC ₅₀ değerleri (µg/mL)	79
Tablo 5.2. Bileşik 3a, 3d, 3g, 3j ve cisplatin uygulanan 5RP7 hücreleri Anneksin V-FITC/PI akım sitometri kuadran analiz yüzdeleri	80
Tablo 5.3. Sentezlenen bileşiklerin <i>in silico</i> ADME verileri	82
Tablo 5.4. Sentezlenen bileşiklerin Lipinski'nin ve Jorgensen'in kurallarını ihlal etme sayıları.....	83

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Apoptozun düzenlenmesi	1
Şekil 1.2. Pirimidin halkası taşıyan antikanser ilaçlar	2
Şekil 2.1. Nifuroksazitin yapısı	4
Şekil 2.2. Hidrazonların genel sentez yöntemi	4
Şekil 2.3. <i>N'</i> -(2-Hidroksibenziliden)-2,6-dimetilimidazo[2,1- <i>b</i>][1,3,4] tiyadiazol-5-karbohidrazit.....	5
Şekil 2.4. 3-[[[(6-Kloro-3-fenil-4(3 <i>H</i>)-kinazolinon-2-il)merkaptasetil]hidrazono]- 5-floro-1 <i>H</i> -2-indolinon.....	5
Şekil 2.5. 2-(4-Amino-3-(4-klorobenzil)-5-okso-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)- <i>N'</i> - benzilidenasetohidrazit ve 2-(4-amino-5-okso-3-fenil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4- triazol-1-il)- <i>N'</i> -(2,4-diklorobenziliden)asetohidrazit.....	6
Şekil 2.6. <i>N'</i> -(2-Hidroksibenziliden) benzo[<i>d</i>]izotiyazol-3-karbohidrazit.....	6
Şekil 2.7. <i>N'</i> -Süstitüe benziliden-3,4,5-trimetoksibenzohidrazitler	7
Şekil 2.8. <i>N'</i> -(3,5-Di- <i>tert</i> -butil-4-hidroksibenziliden)-6-nitro-1,3-benzodioksol-5- karbohidrazin.....	7
Şekil 2.9. <i>N'</i> -(1-(5-Kloro-2-hidroksifenil)etiliden-1-((2 <i>R</i> , 3 <i>R</i> , 4 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)-3,4-dihidroksi- 5-(hidroksimetil)tetrahidro-furan-2-il)-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-karbohidrazit	7
Şekil 2.10. 9-(1,3-Benzodioksol-5-il)-4-hidroksi-6,7-dimetoksi-2-((4- metilbenziliden)amino)-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>f</i>]izoindol-1-on	8
Şekil 2.11. <i>N'</i> -(4-Klorobenziliden)-2-((1-metil-1 <i>H</i> -tetrazol-5il)tiyo)asetohidrazit	8
Şekil 2.12. Benzotiyazol halkası taşıyan hidrazon türevleri.....	9
Şekil 2.13. İzonikotinoil hidrazon türevleri.....	9
Şekil 2.14. <i>N'</i> -(2-Oksoindolin-3-iliden)-2-propilpentan hidrazit	10
Şekil 2.15. (1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-(7-((<i>E</i>)-2-(4-nitrobenziliden)hidrazinil)-5-(propiltiyo)- 3 <i>H</i> -[1,2,3]triazolo[4,5- <i>d</i>]pirimidin-3-il)siklopentan-1,2,3-triol.....	10
Şekil 2.16. 6-Bromo- <i>N'</i> -(2-klorokinolin-3-il)metilen)-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3- karbohidrazit	11
Şekil 2.17. (<i>E</i>)-2-((2-(4-Florofenil)hidrazino)metil)kinolin-8-ol	11
Şekil 2.18. (<i>E</i>)- <i>N'</i> -(4-(Dietilamino)-2-hidroksibenziliden)benzofuran- 2-karbohidrazit	11

Şekil 2.19. 5-Bromo- <i>N'</i> -[(<i>E</i>)-(1-metil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metilen]-1-metil-1 <i>H</i> -indol-3-karbohidrazit	12
Şekil 4.1. Etil 2-(ariltilyo)asetat türevlerinin sentezi	15
Şekil 4.2. 2-(Ariltilyo)asetohidrazit türevlerinin sentezi	15
Şekil 4.3. <i>N'</i> -(Süstitüe benziliden)-2-(ariltilyo)asetohidrazit bileşiklerinin sentezi	16
Şekil 5.1. Bileşik 1a	20
Şekil 5.2. Bileşik 1b	20
Şekil 5.3. Bileşik 2a	21
Şekil 5.4. Bileşik 2b	21
Şekil 5.5. Bileşik 3a	22
Şekil 5.6. Bileşik 3a 'nın IR spektrumu	23
Şekil 5.7. Bileşik 3a 'nın ¹ H NMR spektrumu	24
Şekil 5.8. Bileşik 3a 'nın ¹³ C NMR spektrumu	25
Şekil 5.9. Bileşik 3a 'nın kütle spektrumu	25
Şekil 5.10. Bileşik 3b	26
Şekil 5.11. Bileşik 3b 'nin IR spektrumu	27
Şekil 5.12. Bileşik 3b 'nin ¹ H NMR spektrumu.....	28
Şekil 5.13. Bileşik 3b 'nin ¹³ C NMR spektrumu.....	29
Şekil 5.14. Bileşik 3b 'nin kütle spektrumu	29
Şekil 5.15. Bileşik 3c	30
Şekil 5.16. Bileşik 3c 'nin IR spektrumu.....	31
Şekil 5.17. Bileşik 3c 'nin ¹ H NMR spektrumu	32
Şekil 5.18. Bileşik 3c 'nin ¹³ C NMR spektrumu	33
Şekil 5.19. Bileşik 3c 'nin kütle spektrumu.....	33
Şekil 5.20. Bileşik 3d	34
Şekil 5.21. Bileşik 3d 'nin IR spektrumu	35
Şekil 5.22. Bileşik 3d 'nin ¹ H NMR spektrumu.....	36
Şekil 5.23. Bileşik 3d 'nin ¹³ C NMR spektrumu.....	37
Şekil 5.24. Bileşik 3d 'nin kütle spektrumu	38
Şekil 5.25. Bileşik 3e	38
Şekil 5.26. Bileşik 3e 'nin IR spektrumu.....	39
Şekil 5.27. Bileşik 3e 'nin ¹ H NMR spektrumu	40
Şekil 5.28. Bileşik 3e 'nin ¹³ C NMR spektrumu	41

Şekil 5.29. Bileşik 3e'nin kütle spektrumu.....	41
Şekil 5.30. Bileşik 3f	42
Şekil 5.31. Bileşik 3f'nin IR spektrumu	43
Şekil 5.32. Bileşik 3f'nin ¹ H NMR spektrumu.....	44
Şekil 5.33. Bileşik 3f'nin ¹³ C NMR spektrumu.....	45
Şekil 5.34. Bileşik 3f'nin kütle spektrumu	45
Şekil 5.35. Bileşik 3g.....	46
Şekil 5.36. Bileşik 3g'nin IR spektrumu	47
Şekil 5.37. Bileşik 3g'nin ¹ H NMR spektrumu	48
Şekil 5.38. Bileşik 3g'nin ¹³ C NMR spektrumu.....	49
Şekil 5.39. Bileşik 3g'nin kütle spektrumu	49
Şekil 5.40. Bileşik 3h	50
Şekil 5.41. Bileşik 3h'nin IR spektrumu	51
Şekil 5.42. Bileşik 3h'nin ¹ H NMR spektrumu.....	52
Şekil 5.43. Bileşik 3h'nin ¹³ C NMR spektrumu.....	53
Şekil 5.44. Bileşik 3h'nin kütle spektrumu	54
Şekil 5.45. Bileşik 3i.....	54
Şekil 5.46. Bileşik 3i'nin IR spektrumu	55
Şekil 5.47. Bileşik 3i'nin ¹ H NMR spektrumu.....	56
Şekil 5.48. Bileşik 3i'nin ¹³ C NMR spektrumu.....	57
Şekil 5.49. Bileşik 3i'nin kütle spektrumu	57
Şekil 5.50. Bileşik 3j	58
Şekil 5.51. Bileşik 3j'nin IR spektrumu	59
Şekil 5.52. Bileşik 3j'nin ¹ H NMR spektrumu.....	60
Şekil 5.53. Bileşik 3j'nin ¹³ C NMR spektrumu.....	61
Şekil 5.54. Bileşik 3j'nin kütle spektrumu	61
Şekil 5.55. Bileşik 3k	62
Şekil 5.56. Bileşik 3k'nin IR spektrumu	63
Şekil 5.57. Bileşik 3k'nin ¹ H NMR spektrumu.....	64
Şekil 5.58. Bileşik 3k'nin ¹³ C NMR spektrumu.....	65
Şekil 5.59. Bileşik 3k'nin kütle spektrumu	65
Şekil 5.60. Bileşik 3l.....	66
Şekil 5.61. Bileşik 3l'nin IR spektrumu	67

Şekil 5.62. Bileşik 3l 'nin ^1H NMR spektrumu.....	68
Şekil 5.63. Bileşik 3l 'nin ^{13}C NMR spektrumu.....	69
Şekil 5.64. Bileşik 3l 'nin kütle spektrumu	69
Şekil 5.65. Bileşik 3m	70
Şekil 5.66. Bileşik 3m 'nin IR spektrumu	71
Şekil 5.67. Bileşik 3m 'nin ^1H NMR spektrumu.....	72
Şekil 5.68. Bileşik 3m 'nin ^{13}C NMR spektrumu.....	73
Şekil 5.69. Bileşik 3m 'nin kütle spektrumu	73
Şekil 5.70. Etil 2-(ariltiyo)asetat türevlerinin elde edilişi için önerilen mekanizma.....	74
Şekil 5.71. 2-(Ariltiyo)asetohidrazit türevlerinin elde edilişi için önerilen mekanizma	75
Şekil 5.72. <i>N'</i> -(Ariliden)-2-(ariltiyo)asetohidrazit türevlerinin elde edilişi için önerilen mekanizma	76
Şekil 5.73. Bileşik 3a , 3d , 3g , 3j ve cisplatin (sırasıyla 0.5, 0.5, 1.13, 0.5 ve 1.87 $\mu\text{g/mL}$) ile kültür ortamına bırakılan 5RP7 hücreleri.	81

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

5RP7	: H- <i>ras</i> Onkogen Transform Sıçan Embriyonik Fibroblast Hücreleri
A549	: İnsan Akciğer Adenokarsinom Hücreleri
ADME	: Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion (Absorpsiyon, Dağılım, Metabolizma ve Atılım)
ATCC	: Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
Bcap37	: Meme Kanseri Hücreleri
BGC823	: İnsan Mide Kanseri Hücreleri
CB1	: Kannabinoid Tip 1 Reseptörleri
CB2	: Kannabinoid Tip 2 Reseptörleri
CCRF	: İnsan Akut Lenfoblastik Lösemi Hücreleri
CIQPlogS	: Conformation-independent Predicted Aqueous Solubility (Konformasyondan Bağımsız Tahmin Edilen Suda Çözünürlük)
Colo-38	: İnsan Melanom Hücreleri
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DMSO- <i>d</i> ₆	: Döteryumlanmış DMSO
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
E.N.	: Erime Noktası
ESI	: Electrospray Ionization (Elektrosprey İyonlaştırma)
FBS	: Fetal Bovine Serum (Fetal Sığır Serum)
FITC	: Floresan izotiyosiyanat
FT	: Fourier Transform
GI ₅₀	: Growth Inhibition (50%) (Büyüme İnhibisyonu (%50))

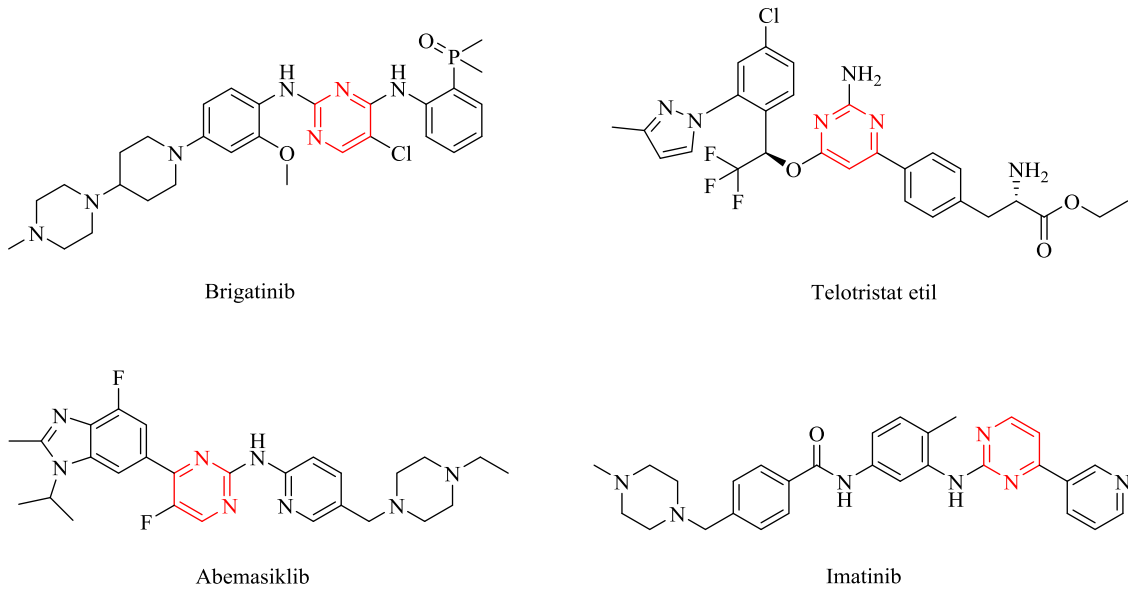
HCT-116	: İnsan Kolon Kanser Hücreleri
HCT-8	: İnsan Kolon Karsinom Hücreleri
HeLa	: İnsan Servikal Adenokarsinom Hücreleri
HepG2	: İnsan Hepatosellüler Karsinom Hücreleri
HL-60	: Akut Promyelositik Lösemi Hücreleri
IC ₅₀	: Inhibitory Concentration (50%) (İnhibe Edici Konsantrasyon (%50))
IR	: Infrared (Kızılötesi)
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
K562	: Kronik Miyeloid Lösemi Hücreleri
KB	: Oral Skuamöz Kanser Hücreleri
L929	: Fare Embriyonik Fibroblast Hücreleri
MCF-7	: İnsan Meme Adenokarsinom Hücreleri
MDA-MB-231:	Triple negatif Meme Kanseri Hücreleri
MDA-MB-435:	İnsan Meme Kanseri Hücreleri
MTT	: 3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
OVCAR	: Yumurtalık Kanser Hücreleri
Panc-1	: İnsan Pankreas Karsinom Hücreleri
PC-3	: Prostat Kanseri Hücreleri
PI	: Propidyum iyodür
QPlogKhsa	: Prediction of Binding to Human Serum Albumin (Tahmini İnsan Serum Albumine Bağlanma Oranı)
QPlogPo/w	: Predicted octanol/water partition coefficient (Tahmini Oktanol/Su Partisyon Katsayısı)
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute

SASA	: Total Solvent Accessible Surface Area (Toplam Çözücü Erişilebilir Yüzey Alanı)
SK-MEL-28	: İnsan Melanom Hücreleri
SKMES-1	: İnsan Akciğer Skuamöz Karsinom Hücreleri
TMS	: Tetrametilsilan
UO-31	: Böbrek Kanseri Hücreleri

Antikanser ilaçların kullanımı toksisite, düşük etkinlik ve ilaç direnci nedeniyle oldukça kısıtlıdır. Bu nedenle son yıllarda medisinale kimya alanında, kullanımda olan kemoterapötik ilaçlardan daha etkili, daha az toksik ve yan etkileri en aza indirilmiş, yeni antikanser ilaç tasarlama ve geliştirme çalışmaları önem kazanmıştır (Gupta, 1994; Nussbaumer vd., 2011)

Hidrazitler-hidrazonlar, benzersiz yapısal özellikleri (enzim ve reseptör yöreleri ile etkileşimleri için hidrojen bağı donör ve akseptör grupları taşımaları gibi) ve çeşitli biyolojik aktiviteleri nedeniyle, başta kanser, mikrobiyal enfeksiyonlar ve enflamatuvar hastalıklar olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde yeni terapötik bileşiklerin geliştirilmesi için önem taşımaktadırlar. Özellikle son yıllarda hidrazit-hidrazon türevlerinin antikanser etkileri üzerine yapılan çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Alam ve Lee, 2016).

Bu çalışmada, yan zincirde heteroaromatik halka olarak antikanser aktiviteyi destekleyen pirimidin halkası tercih edilmiştir. Pirimidin halkası, birçok yeni antikanser ilacın yapısında yer almaktadır (Şekil 1.2) (Torre ve Albericio, 2018).

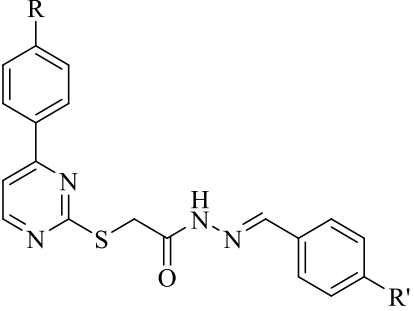


Şekil 1.2. Pirimidin halkası taşıyan antikanser ilaçlar

Bu tez çalışmasında, yeni hidrazon türevlerinin sentezlenmesi (Tablo 1.1) ve yapılarının aydınlatılması, 5RP7 H-ras onkogen transform sıçan embriyonik fibroblast ve L929 fare embriyonik fibroblast hücre dizilerine karşı sitotoksik etkilerinin araştırılması, aktif olduğu tespit edilen antikanser etkili bileşiklerin 5RP7 hücre dizisine karşı apoptotik

etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca tüm bileşikler için *in silico* Absorpsiyon, Dağılım, Metabolizma ve Atılım (ADME) çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1.1. Sonuç bileşikleri

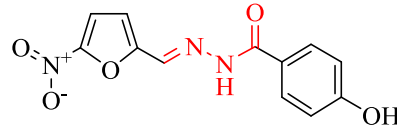
			
Bileşik	R	R'	
3a	Cl	H	
3b	Cl	N(CH ₃) ₂	
3c	Cl	N(C ₂ H ₅) ₂	
3d	Cl	Pirolidin-1-il	
3e	Cl	Piperidin-1-il	
3f	Cl	Morfolin-4-il	
3g	OCH ₃	H	
3h	OCH ₃	N(CH ₃) ₂	
3i	OCH ₃	N(C ₂ H ₅) ₂	
3j	OCH ₃	Pirolidin-1-il	
3k	OCH ₃	Piperidin-1-il	
3l	OCH ₃	Morfolin-4-il	
3m	OCH ₃	4-Metilpiperazin-1-il	

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hidrazonlar ile ilgili Genel Bilgiler

Hidrazonlar, azometin grubu taşıyan Schiff bazlarının özel bir üyesi olup, $R_2C=NNH_2$ genel formülüne sahip önemli bir bileşik sınıfıdır (Rollas ve Küçükguzel, 2007).

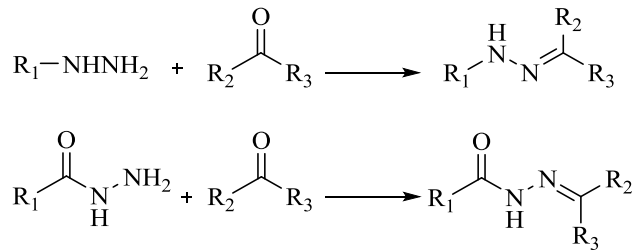
Literatürde hidrazon türevlerinin biyolojik aktiviteleri üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Hidrazonlar için antibakteriyel, antifungal, antikanser, antiviral, antiprotozoal, antihelmintik, antikonvülzan, antidepresan, antioksidan, antiplatelet, analjezik ve anti-enflamatuvar aktiviteler bildirilmiştir (Varache-Lembège vd., 2008; Vicini vd., 2009; Mathew vd., 2015; Vasantha vd., 2015; Şenkardeş vd., 2016; Karaman vd., 2016; Pape vd., 2016; Kratky vd., 2017; Pinto vd., 2017; Popiolek, 2017; Shankar vd., 2017; Shah vd., 2018). Bağırsak antiseptiği olarak kullanılan nifuroksazit yapısında hidrazon grubu taşımaktadır (Şekil 2.1) (Masunari ve Tavares, 2007).



Şekil 2.1. Nifuroksazitin yapısı

2.2. Hidrazonların Genel Sentez Yöntemi

Genellikle süstitüe aldehit ya da ketonlarla, alifatik, aromatik veya heterosiklik hidrazin/hidrazitlerin etanol, butanol, glasiyel asetik asit, etanol-glasiyel asetik asit gibi çözücüler içinde ısıtılması sonucu hidrazon türevleri sentezlenmektedir (Şekil 2.2) (Rollas ve Küçükguzel, 2007).

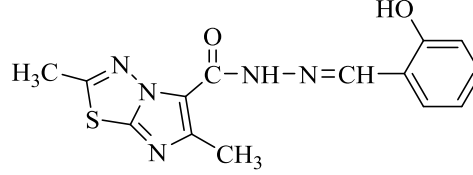


Şekil 2.2. Hidrazonların genel sentez yöntemi

2.3. Hidrazon Türevlerinin Antikanser Etkileri üzerine Çalışmalar

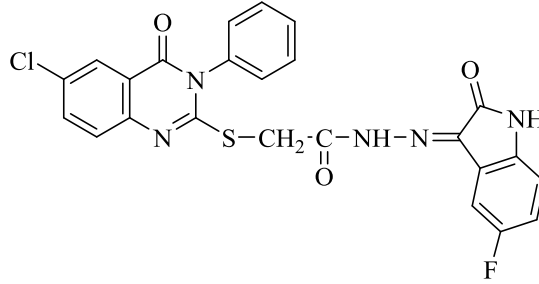
Terzioğlu ve Gürsoy, (2003) imidazo[2,1-b][1,3,4]tiyadiazol halka sistemini taşıyan hidrazon türevleri sentezlemişlerdir. Bu bileşikler arasında, 2-hidroksifenil

halkası taşıyan bileşik (Şekil 2.3) çok iyi sitotoksik aktivite göstermiştir. Bu bileşiğin 60 insan tümör hücresinde gerçekleştirilen *in vitro* etki testlerinde, özellikle OVCAR-3 yumurtalık kanser hücre dizisi ($\log_{10} \text{GI}_{50} = -5.51$) üzerine etkili olduğu saptanmıştır.



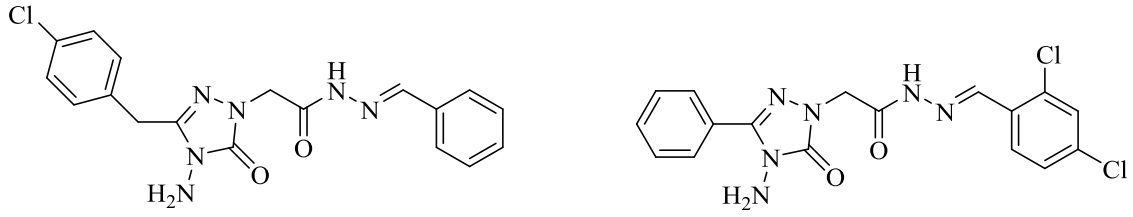
Şekil 2.3. *N'-(2-Hidroksibenziliden)-2,6-dimetilimidazo[2,1-b][1,3,4]tiyadiazol-5-karbohidrazit*

Gürsoy ve Karalı, (2003) indolinon yapısı taşıyan hidrazon türevleri sentezlemişlerdir. Tiyoguanin ($\log_{10} \text{GI}_{50} = -5.83$) ve 5-florourasil ($\log_{10} \text{GI}_{50} = -5.17$) ile karşılaştırıldığında, UO-31 böbrek kanser hücre dizisi üzerine en etkili bileşiğin 3-[[[(6-kloro-3-fenil-4(3*H*)-kinazolinon-2-il)merkptoasetil]hidrazono]-5-floro-1*H*-2-indolinon (Şekil 2.4) ($\log_{10} \text{GI}_{50} = -6.68$) olduğu tespit edilmiştir.



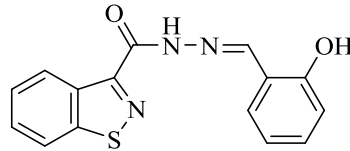
Şekil 2.4. *3-[[[(6-Kloro-3-fenil-4(3H)-kinazolinon-2-il)merkptoasetil]hidrazono]-5-floro-1H-2-indolinon*

Demirbas vd., (2004) 5-okso-[1,2,4]triazol halkası içeren yeni hidrazit-hidrazon türevlerini sentezlemişlerdir. 2-(4-Amino-3-(4-klorobenzil)-5-okso-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-benzilidenasetohidrazit ve 2-(4-amino-5-okso-3-fenil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(2,4-diklorobenziliden)asetohidrazit (Şekil 2.5) MCF-7 insan meme kanser hücre dizisinin büyümesini inhibe etmişlerdir. Özellikle 2-(4-amino-5-okso-3-fenil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(2,4-diklorobenziliden)asetohidrazit bileşiğinin MCF-7 insan meme kanser hücre dizisi ($\text{GI}_{50} = 1.87 \mu\text{M}$) üzerine oldukça etkili olduğu gözlemlenmiştir.



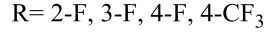
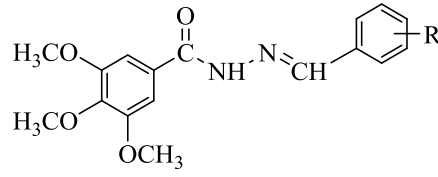
Şekil 2.5. 2-(4-Amino-3-(4-klorobenzil)-5-okso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-N'-benzilidenasetohidrazit ve 2-(4-amino-5-okso-3-fenil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-N'-(2,4-diklorobenziliden)asetohidrazit

Vicini vd., (2006) benzo[d]izotiyazol hidrazon türevlerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin çeşitli lösemi ve katı tümör hücrelerine karşı antiproliferatif aktivitelerini değerlendirmişlerdir. N'-(2-Hidroksibenziliden)benzo[d]izotiyazol-3-karbohidrazitin (Şekil 2.6) hematolojik tümörlere (IC_{50} = 0.5-3.1 μ M) karşı 6-merkaptopürin kadar etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiğin SK-MEL-28 insan melanom (IC_{50} = 2.5 μ M) ve SKMES-1 insan akciğer skuamöz karsinom (IC_{50} = 1.8 μ M) hücrelerine karşı ise 6-merkaptopürinden (SK-MEL-28 hücre dizisi için IC_{50} = 15 μ M; SKMES-1 hücre dizisi için IC_{50} = 58 μ M) daha etkili olduğu gözlemlenmiştir.



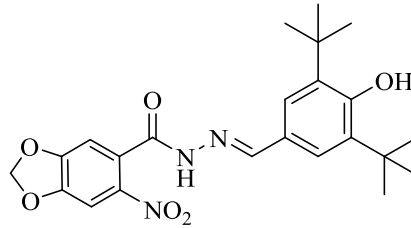
Şekil 2.6. N'-(2-Hidroksibenziliden)benzo[d]izotiyazol-3-karbohidrazit

Jin vd., (2006) N'-süstitüe benziliden-3,4,5-trimetoksibenzohidrazit ve 3-asetil-2-süstitüe fenil-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oksadiazol türevlerini (Şekil 2.7) sentezlemişlerdir. 2-Floro, 3-floro, 4-floro ve 4-triflorometil süstitüentlerini taşıyan hidrazon türevlerinin PC-3 prostat kanseri hücre dizisine karşı oldukça etkili oldukları (sırasıyla 0.2, 1.8, 0.2, 1.2 μ M IC_{50} değerleri ile) tespit edilmiştir. Ayrıca 2-floro, 4-floro ve 4-triflorometil süstitüentlerini taşıyan hidrazon türevleri Bcap37 meme kanseri ve BGC823 mide kanseri hücrelerine karşı orta derecede antitümör aktivite göstermişlerdir. Hidrazon türevlerinin 1,3,4-oksadiazol analoglarında antikanser aktivitenin zayıfladığı gözlemlenmiştir.



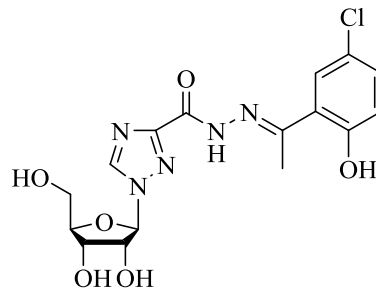
Şekil 2.7. *N'*-Süstitüe benziliden-3,4,5-trimetoksibenzohidrazitler

Duarte vd., (2007) 6-nitro-3,4-metilendioksifenil-*N*-açilhidrazon türevlerini sentezlemişlerdir. *N'*-(3,5-di-*tert*-butil-4-hidroksibenziliden)-6-nitro-1,3-benzodioksol-5-karbohidrazinin (Şekil 2.8), kannabinoid tip 1 reseptörlerine (CB1) bağlanabildiği (100 µM konsantrasyonda %71) ve kannabinoid tip 2 reseptörlerine (CB2) bağlanarak T-hücre proliferasyonunu 10 µM konsantrasyonda %66 inhibe edebildiği gözlemlenmiştir.



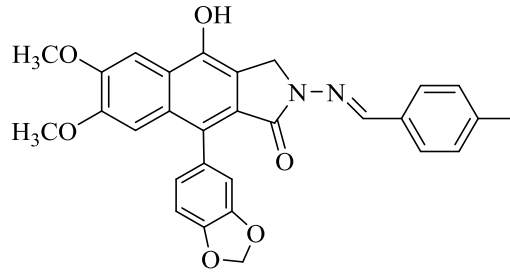
Şekil 2.8. *N'*-(3,5-Di-*tert*-butil-4-hidroksibenziliden)-6-nitro-1,3-benzodioksol-5-karbohidrazin

Liu vd., (2009) yeni ribavirin hidrazon türevlerini sentezlemişler ve bu türevlerin A549 insan akciğer adenokarsinom hücre dizisine karşı antiproliferatif aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bu bileşikler arasında, *N'*-(1-(5-kloro-2-hidroksifenil)etiliden-1-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-dihidroksi-5-(hidroksimetil)tetrahidrofuran-2-il)-1*H*-1,2,4-triazol-3-karbohidrazitin (Şekil 2.9) 20 µM konsantrasyonunda A549 hücre büyümesini inhibe ettiği gözlemlenmiştir.



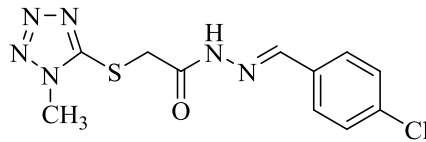
Şekil 2.9. *N'*-(1-(5-Kloro-2-hidroksifenil)etiliden-1-((2*R*, 3*R*, 4*S*, 5*R*)-3,4-dihidroksi-5-(hidroksimetil)tetrahidro-furan-2-il)-1*H*-1,2,4-triazol-3-karbohidrazit

Zhao vd., (2010) benzoizindolin hidrazonlar (Şekil 2.10) sentezlemişler ve bu bileşiklerin KB oral skuamöz, A549 akciğer ve HCT-116 kolon kanser hücreleri üzerine sitotoksik etkilerini araştırmışlardır. Etopozit (IC_{50} = 13.5 μ M) ile karşılaştırıldığında, 9-(1,3-benzodioksol-5-il)-4-hidroksi-6,7-dimetoksi-2-((4-metilbenziliden)amino)-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*f*]izoindol-1-on bileşiğinin özellikle HCT-116 kanser hücre dizisi (IC_{50} = 5.6 μ M) üzerine oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşik, HTC-116 hücreleri üzerine belirgin apoptotik etki göstermiştir. Western blot analizi, bu bileşiğin artmış Bax ekspresyonunun ve azalmış Bcl-2 ekspresyonunun da eşlik ettiği mitokondriyal yolak aracılığıyla apoptozu indüklediğini göstermiştir.



Şekil 2.10. 9-(1,3-Benzodioksol-5-il)-4-hidroksi-6,7-dimetoksi-2-((4-metilbenziliden)amino)-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*f*]izoindol-1-on

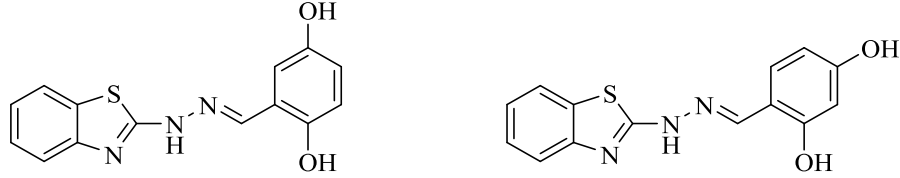
Altıntop vd., (2012) tetrazol halkası taşıyan hidrazon türevleri sentezlemişler ve bu bileşiklerin A549 insan akciğer adenokarsinom ve NIH/3T3 fare embriyonik fibroblast hücre dizilerine karşı sitotoksik etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu bileşikler arasında, *N*'-(4-klorobenziliden)-2-[(1-metil-1*H*-tetrazol-5-il)tiyo]asetohidrazit (Şekil 2.11) cisplatin (IC_{50} = 0.0316 mM) ile kıyaslandığında A549 hücre dizisine karşı en umut verici antikanser ajan (IC_{50} = 0.1 mM) olarak tanımlanmıştır.



Şekil 2.11. *N*'-(4-Klorobenziliden)-2-[(1-metil-1*H*-tetrazol-5-il)tiyo]asetohidrazit

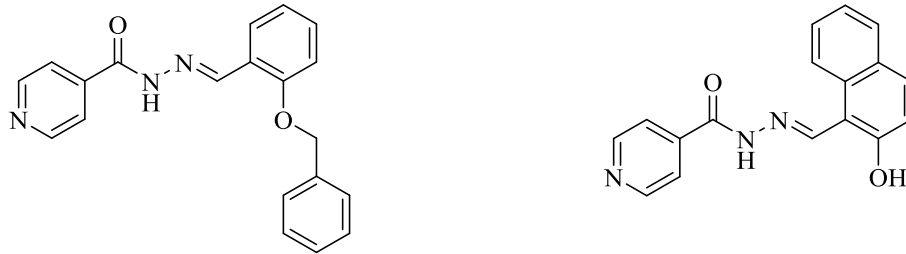
Lindgren vd., (2014) benzotiyazol halkası taşıyan yeni hidrazon türevleri sentezlemişlerdir. Elde edilen bileşiklerin HL-60 insan lösemi, MDA-MB-435 insan meme ve HCT-8 insan kolon kanser hücre dizileri üzerine antiproliferatif aktiviteleri

değerlendirilmiştir. Bu bileşikler arasında, (*E*)-2-((2-(benzotiyazol-2-il)hidrazino)metil)benzen-1,4-diol ve (*E*)-4-((2-(benzotiyazol-2-il)hidrazino)metil)benzen-1,3-diol (Şekil 2.12) bu üç hücre dizisine karşı en yüksek antiproliferatif aktiviteyi göstermişlerdir.



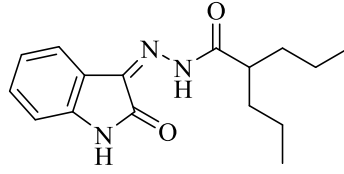
Şekil 2.12. Benzotiyazol halkası taşıyan hidrazon türevleri

Naveen Kumar vd., (2014) 15 izonikotinoil hidrazon türevi sentezlemişler ve bu bileşiklerin HCT-116 insan kolon kanser hücreleri üzerine antikanser etkilerini değerlendirmişlerdir. 5-Florourasil ($IC_{50} = 5 \mu M$) ile kıyaslandığında, (*E*)-*N'*-(2-(benziloksi)benziliden)izonikotinohidrazit ($IC_{50} = 3.1 \mu M$) ve (*E*)-*N'*-((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)izonikotinohidrazit ($IC_{50} = 0.29 \mu M$) bileşikleri HCT-116 hücre dizisine karşı kayda değer antiproliferatif aktivite göstermişlerdir (Şekil 2.13).



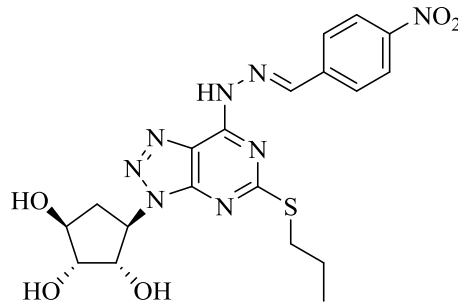
Şekil 2.13. İzonikotinoil hidrazon türevleri

El-Faham vd., (2015) sekiz adet *N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)-2-propilpentaan hidrazit-hidrazon türevi sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin HepG2 insan karaciğer kanseri ve Jurkat lösemi hücre dizileri üzerine antikanser aktiviteleri değerlendirilmiştir. *N'*-(2-Oksoindolin-3-iliden)-2-propilpentaan hidrazit bileşiği (Şekil 2.14) Jurkat lösemi hücre dizisi üzerine seçici aktivite ($IC_{50} = 3.15 \mu M$) göstermiştir.



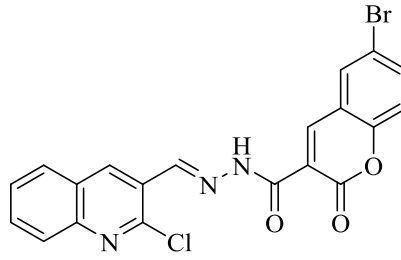
Şekil 2.14. *N'-(2-Oksoindolin-3-iliden)-2-propilpentan hidrazit*

Wang vd., (2015), yeni 8-azapürin karboksilik nükleozit hidrazonlar (Şekil 2.15) sentezlemişler ve bu bileşiklerin Huh-7 insan karaciğer kanseri ve A549 insan akciğer kanseri hücre dizilerine karşı antikanser aktivitelerini değerlendirilmiştirlerdir. Bu türevler arasında, (1*S*,2*R*,3*S*,4*R*)-4-(7-((*E*)-2-(4-nitrobenziliden)hidrazinil)-5-(propiltiyo)-3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*d*]pirimidin-3-il)siklopentan-1,2,3-triolün Huh-7 hücre dizisine ($IC_{50}=11.69 \mu M$) karşı etkili olduğu tespit edilmiştir.



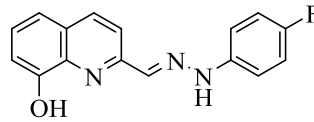
Şekil 2.15. *(1S,2R,3S,4R)-4-(7-((E)-2-(4-nitrobenziliden)hidrazinil)-5-(propiltiyo)-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pirimidin-3-il)siklopentan-1,2,3-triol*

Nasr vd., (2018) kumarin halkası taşıyan yeni hidrazon türevleri sentezlemişler ve bu bileşiklerin Panc-1 insan pankreas karsinom, HepG2 insan hepatosellüler karsinom ve CCRF insan akut lenfoblastik lösemi hücre dizilerine karşı *in vitro* antitümör aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Doksorubisin (Panc-1 ve HepG2 hücre dizileri için IC_{50} değerleri sırasıyla 6.90 ve 5.43 μM) ile kıyaslandığında, 6-bromo-*N'*-(2-klorokinolin-3-il)metilen)-2-okso-2*H*-kromen-3-karbohidrazit bileşiği (Şekil 2.16), Panc-1 ($IC_{50}=5.45 \mu M$) ve HepG2 ($IC_{50}=9.42 \mu M$) hücre dizilerine karşı güçlü antikanser aktivite göstermiştir. Bu bileşiğin kaspaz 3/7 aktivasyonu ile apoptozu indüklediği tespit edilmiştir.



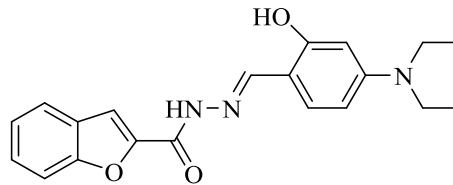
Şekil 2.16. 6-Bromo-*N'*-((2-klorokinolin-3-il)metilen)-2-okso-2H-kromen-3-karbohidrazit

Shah vd., (2018) yirmibir adet 8-hidroksikinolin hidrazon türevi sentezlemişler ve bu bileşiklerin *in vitro* antikanser etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu bileşikler arasında, (*E*)-2-((2-(4-florofenil)hidrazino)metil)kinolin-8-ol bileşiğinin (Şekil 2.17) HeLa serviks (IC_{50} = 26.30 μ M), MCF-7 meme (IC_{50} = 34.19 μ M), A549 akciğer (IC_{50} = 38.77 μ M) ve MDA-MB-231 triple negatif meme (IC_{50} = 34.23 μ M) kanseri hücrelerine karşı etkili olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2.17. (*E*)-2-((2-(4-Florofenil)hidrazino)metil)kinolin-8-ol

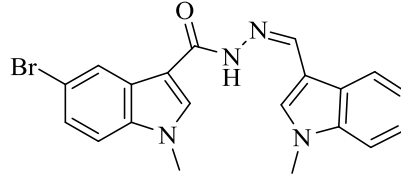
Baldisserotto vd., (2018) yeni benzofuran hidrazonlar sentezlemişler ve bu bileşiklerin antioksidan ve antiproliferatif etkilerini değerlendirmişlerdir. (*E*)-*N'*-(4-(Dietilamino)-2-hidroksibenziliden)benzofuran-2-karbohidrazit (Şekil 2.18), K562 kronik miyeloid lösemi (IC_{50} = 0.52±0.07 μ M) ve Colo-38 insan melanom (IC_{50} = 0.44±0.06 μ M) hücreleri üzerine güçlü antiproliferatif etki göstermiştir. Ayrıca bu bileşiğin yüksek antioksidan etki gösterdiği de saptanmıştır.



Şekil 2.18. (*E*)-*N'*-(4-(Dietilamino)-2-hidroksibenziliden)benzofuran-2-karbohidrazit

Sreenivasulu vd., (2019) *N*-metil ve *N,N*-dimetil bis(indolil)hidrazit-hidrazon türevleri sentezlemişler ve bu bileşiklerin servikal (HeLa), meme (MCF-7 ve MDA-MB-

231) ve akciğer (A549) kanser hücre dizilerine karşı antiproliferatif ve apoptoz indüksiyon potansiyelleri açısından değerlendirmişlerdir. *In vitro* etki testleri sonucu, 5-bromo-*N'*-[(*E*)-(1-metil-1*H*-indol-3-il)metilen]-1-metil-1*H*-indol-3-karbohidrazit bileşiğinin (Şekil 2.19) MCF-7 ve HeLa hücrelerinde kaspaz bağımsız apoptozu indükleyerek antikanser aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir.



Şekil 2.19. 5-Bromo-*N'*-[(*E*)-(1-metil-1*H*-indol-3-il)metilen]-1-metil-1*H*-indol-3-karbohidrazit

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür (MTT)	: Sigma-Aldrich, Almanya
4-(1-Piperidinil)benzaldehit	: Maybridge, İngiltere
4-(1-Pirolidinil)benzaldehit	: Sigma-Aldrich, Almanya
4-(4-Klorofenil)pirimidin-2-tiyol	: Maybridge, İngiltere
4-(4-Metilpiperazin-1-il)benzaldehit	: Maybridge, İngiltere
4-(4-Metoksifenil)pirimidin-2-tiyol	: Maybridge, İngiltere
4-(4-Morfolinil)benzaldehit	: Sigma-Aldrich, Almanya
4-Dietilaminobenzaldehit	: Sigma-Aldrich, Almanya
4-Dimetilaminobenzaldehit	: Acros, Belçika
Absolü etanol	: J.T. Baker, Hollanda
Aseton	: Sigma-Aldrich, Almanya
Benzaldehit	: Sigma-Aldrich, Almanya
Dietil eter	: Sigma-Aldrich, Almanya
Dimetil sülfoksit- <i>d</i> ₆ (DMSO- <i>d</i> ₆)	: Merck, Almanya
Dulbecco's Modified Eagle's Medium	: Sigma-Aldrich, Almanya
Etil kloroasetat	: Merck, Almanya
Fetal Bovine Serum (FBS)	: Sigma-Aldrich, Almanya
Floresan izotiyosiyanat (FITC) Anneksin V	
apoptoz belirleme kiti	: BD Pharmingen, ABD
Hidrazin hidrat	: Sigma-Aldrich, Almanya
Metanol	: Sigma-Aldrich, Almanya
Penisilin-Streptomisin	: Sigma-Aldrich, Almanya
Potasyum karbonat	: Merck, Almanya
Roswell Park Memorial Institute (RPMI)	: Sigma-Aldrich, Almanya
Sodyum bikarbonat	: Sigma-Aldrich, Almanya
Sodyum sülfat	: Aklar Kimya, Türkiye
Tripan mavisi	: Biorad, ABD
Tripsin-Etilendiamintetraasetik asit (EDTA)	: Capricorn Scientific, Almanya

3.2. Kullanılan Hücre Dizileri

5RP7 Hücre dizisi	: IFO Hücre Bankası, Japonya
-------------------	------------------------------

L929 Hücre dizisi : Amerikan Tipi Kùltür Koleksiyonu
(ATCC)

3.3. Kullanılan Cihazlar

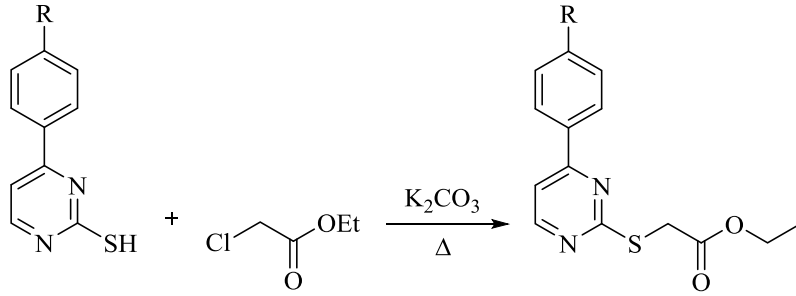
Erime derecesi tayin cihazı : Mettler-Toledo MP90, ABD
Hassas terazi : Mettler-Toledo, ABD
İnfrared (IR) spektrofotometresi : Shimadzu, Japonya
Kùtle spektrometresi : Agilent 6530 LC-MS/Q-TOF, ABD
Magnetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı : Heidolph, Almanya
Nùkleer Manyetik Rezonans (NMR)
Spektrometresi : Bruker, ABD
Rotavapor : Büchi R-100, İsviçre

4. YÖNTEMLER

4.1. Başlangıç ve Sonuç Maddelerinin Genel Sentez Yöntemleri

4.1.1. Etil 2-(ariltiyo)asetat türevlerinin genel sentez yöntemi (Yöntem A)

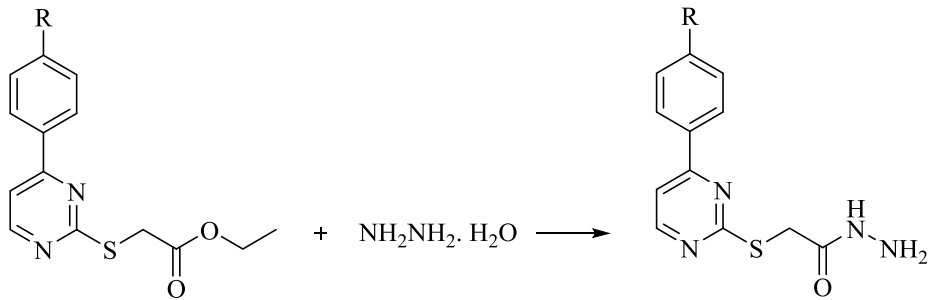
Eşdeğer miktar tiyol türevi ve etil kloroasetat potasyum karbonat katalizörlüğünde aseton içinde 12 saat geri çeviren soğutucuda kaynatılmıştır. Bu sürenin sonunda çözücü ortamdan uzaklaştırılmıştır. Elde edilen katı madde suda çözölmüş ve sonra eter ile ekstre edilmiştir. Eterli tabaka, susuz sodyum sülfat ile muamele edildikten sonra eter ortamdan uzaklaştırılarak etil 2-(ariltiyo)asetat türevi elde edilmiştir (Altıntop vd., 2012) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Etil 2-(ariltiyo)asetat türevlerinin sentezi

4.1.2. 2-(Ariltiyo)asetohidrazit türevlerinin genel sentez yöntemi (Yöntem B)

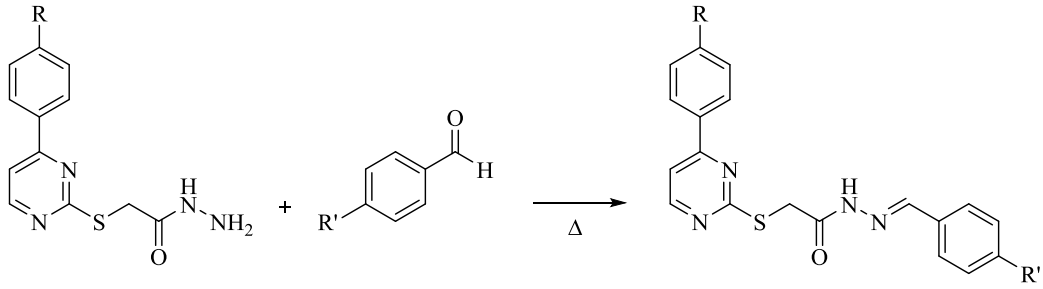
Etil 2-(ariltiyo)asetat hidrazin hidrat ile etanol içinde 5 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Çöken 2-(ariltiyo)asetohidrazit türevi süzölerek alınmış ve soğuk etanol ile yıkanmıştır. Kurutulduktan sonra etanol ile kristallendirilmiştir (Altıntop vd., 2012) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. 2-(Ariltiyo)asetohidrazit türevlerinin sentezi

4.1.3. N'-(Süstitüe benziliden)-2-(ariltiyo)asetohidrazit bileşiklerinin genel sentez yöntemi (Yöntem C)

2-(Ariltiyo)asetohidrazit farklı benzaldehit türevleri ile etanol içinde 8 saat geri çeviren soğutucuda kaynatılmıştır. Bu sürenin sonunda çöken madde süzülerek alınmış ve kurutulmuştur. Elde edilen madde etanol ile kristallendirilmiştir (Altıntop vd., 2012) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. N'-(Süstitüe benziliden)-2-(ariltiyo)asetohidrazit bileşiklerinin sentezi

4.2. Sentezlenen Bileşiklerin Analizi

4.2.1. Erime noktası (E.N.) tayini

Sentezlenen bileşiklerin erime noktaları, bir ucu kapalı kılcal tüpler içerisinde erime derecesi tayin cihazı ile saptanmıştır.

4.2.2. IR spektrumlarının alınması

Sentezlenen bileşiklerin IR spektrumları, IRPrestige-21 Fourier Transform (FT) IR spektrometresinde alınmıştır.

4.2.3. ^1H NMR spektrumlarının alınması

Sentezlenen bileşiklerin ^1H NMR spektrumları, dimetilsülfoksit- d_6 (DMSO- d_6) içinde çözelti haline getirildikten sonra tetrametilsilana (TMS) karşı 300 MHz NMR spektrometresinde alınmıştır.

4.2.4. ^{13}C NMR spektrumlarının alınması

Sentezlenen bileşiklerin ^{13}C NMR spektrumları, DMSO- d_6 içinde çözelti haline getirildikten sonra tetrametilsilana karşı 75 MHz NMR spektrometresinde alınmıştır.

4.2.5. Kütle spektrumlarının alınması

Bileşiklerin kütle spektrumları, metanol içinde çözelti haline getirildikten sonra elektrosprey iyonlaştırma (ESI) yöntemi ile kütle spektrometresinde alınmıştır.

4.3. *In vitro* Etki Çalışmaları

4.3.1. Hücrelere uygun besi yerinin hazırlanması

5RP7 H-*ras* onkogen transform sıçan embriyonik fibroblast hücre dizisi için son derişimde %10 FBS, %1 penisilin-streptomisin ve %89 DMEM 2 g/L NaHCO₃ içeren besi yeri kullanılmış ve pH 7.4'e ayarlanmıştır.

L929 Fare embriyonik fibroblast hücre dizisi (ATCC® CRL-6364™) için ise, son derişimde %10 FBS, %1 penisilin-streptomisin, %89 RPMI ve 2 g/L NaHCO₃ içeren besi yeri kullanılmış ve pH 7.4'e ayarlanmıştır.

4.3.2. Hücrelerin çoğaltılması

Hücrelerin çoğaltılması ve deneye hazırlanması için 2-3 günde bir rutin olarak pasajlama işlemi yapılmıştır. Hücreler kültür şişesine 5 mL fosfat tamponu ilave edilerek yıkanmış ve yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırılmıştır. Kültür şişesine tripsin- EDTA çözeltisi (1×) konularak hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatörde 5 dakika bekletilmiştir (%5 CO₂, %5 nem ve 37°C). İnkübatörden alınan kültür şişelerinin üzerine 20-25 mL besi yeri ilave edilerek hücreler süspanse edilmiş ve 1:2, 1:3 bölünerek yeni kültür şişelerine alınmıştır. Kültür şişeleri inkübatöre konularak inkübasyona bırakılmıştır (Kahraman Akkaya, 2018).

4.3.3. Hücrelerin plakalara ekilmesi

İnkübatörden alınan hücre kültür şişesi, ölü hücrelerin besi yeri çözeltisine geçmesini sağlamak için hafifçe çalkalanmış ve steril bir pipetle kültür şişesi içindeki besi yeri alınarak atılmıştır. Kültür şişesine tripsin-EDTA çözeltisi (1×) konularak hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatörde yaklaşık 5 dakika bekletilmiştir. İnkübatörden alınan kültür şişelerinin içine besi yeri ilave edilerek pipet yardımıyla santrifüj tüpüne alınmıştır. Santrifüj tüpü içindeki hücre süspansiyonu çalkalandıktan sonra 10 µL alınarak 10 µL tripan mavisi ile boyanmış ve 10 µL'si Thoma hücre sayma lamında sayılmıştır. Hücre süspansiyonu 2x10⁴ hücre/kuyucuk olacak şekilde hücre kültür plakasına dağıtılarak 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Kahraman Akkaya, 2018).

4.3.4. MTT sitotoksosite testi

Hidrazon türevlerinin (**3a-m**) 5RP7 ve L929 hücre dizileri üzerine sitotoksik etkileri, MTT testi kullanılarak değerlendirilmiştir (Varache-Lembège vd., 2008; Turan-Zitouni vd., 2016; Kahraman Akkaya, 2018; Sever vd., 2019).

Bileşiklerin 0.97- 125 µg/mL arasında 8 seri dilüsyonu (0.97, 1.97, 3.9, 7.8, 15.6, 31.25, 62.5, 125 µg/mL) negatif ve pozitif kontroller ile birlikte plakalara uygulanarak 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO₂, %95 nem ve 37°C). Son DMSO derişimi <%0.1 olacak şekilde ayarlanmıştır. Negatif kontrol olarak %0.1 DMSO, pozitif kontrol olarak ise cisplatin kullanılmıştır. 24 Saatlik inkübasyon süresinden sonra her bir kuyucuğa 20 µL MTT (5 mg/mL) ilave edilerek, hücreler 37 °C’de 2 saat daha inkübe edilmişlerdir. Bu süre sonunda, hücrelerden MTT boyası uzaklaştırılarak her bir kuyuya 200 µL DMSO eklenmiş ve 10 dakika inkübe edilmişlerdir. Renk değişimi, ELx808-IU Bio-Tek plaka okuyucusunda 540 nm dalga boyu ile belirlenmiştir.

Bileşiklerin her bir derişimi için %inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. %İnhibisyon değerlerine karşılık derişimleri ile doz-cevap eğrisi çizilerek bileşiklerin inhibitör derişim 50 (IC₅₀) değerleri belirlenmiş ve bileşiklerin sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Deneyler üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

$$\%İnhibisyon = 100 - [(OD_{\text{test maddesi}} - OD_{\text{kör}} / OD_{\text{çözücü kontrol}} - OD_{\text{kör}}) \times 100]$$

4.4. Bileşiklerin Apoptotik Etkilerinin Belirlenmesi

MTT metodu ile en aktif bileşikler tespit edildikten sonra, IC₅₀ konsantrasyonlarına bağlı olarak bileşiklerin 5RP7 hücreleri üzerindeki apoptotik etkileri akım sitometride BD Pharmingen FITC Anneksin V apoptoz belirleme kiti ile üretici firmanın önerilerine göre belirlenmiştir. Bu amaçla, bileşikler ile inkübe edilen hücreler etiketlenmiş tüplerde 400 g.de 5 dakika santrifüj edilerek ve 1x fosfat tamponlu tuz çözeltisi ile 2 kez yıkanmıştır. Daha sonrasında hücreler 1x10⁶ hücre/mL olacak şekilde 1xAnneksin-V bağlanma solüsyonunda süspanse edilerek bu hücre solüsyonundan 100 µL alınarak tüplere aktarılmıştır. Üretici firmanın önerdiği şekilde kitin içerisinde bulunan 5 µL Anneksin V FITC ve 5 µL propidyum iyodür (PI) boyaı hücreler ile muamele edilmiştir. Hücreler oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 15 dakika bekletilerek boyanın bağlanması sağlanmıştır. 400 µL 1xAnneksin-V bağlanma hücre çözeltisi akım sitometri tüplerine

aktarıldıktan 1 saat içerisinde akım sitometre ile analiz edilerek erken ve geç apoptotik hücre yüzdeleri pozitif kontrole göre hesaplanmıştır.

4.5. *In Silico* ADME Çalışmaları

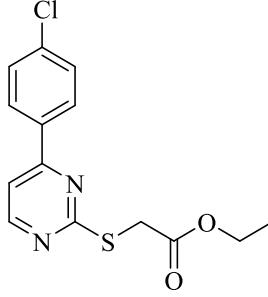
Sentezlenen bileşiklerin (**3a-m**) önemli farmakokinetik özellikleri, Lipinski'nin beş kuralına ve Jorgensen'in üç kuralına uygunlukları Schrodinger's Maestro moleküler modelleme programının QikProp modülü (Schrödinger Release 2016-2: QikProp, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2016) kullanılarak değerlendirilmiştir.

5. BULGULAR ve YORUM

5.1. Kimyasal Çalışmalar

5.1.1. Etil 2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetat (1a)

4-(4-Klorofenil)pirimidin-2-tiyol (0.067 mol; 15 g), etil kloroasetat (0.067 mol; 8.21 g= 7.14 mL) ve potasyum karbonat (0.067 mol; 9.25 g) kullanılarak Yöntem A'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.1).



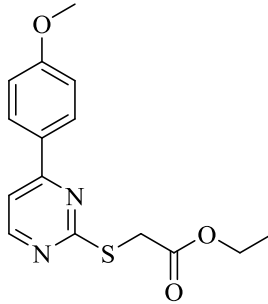
Şekil 5.1. Bileşik 1a

Verim : %78

E.N. : 88-89 °C

5.1.2. Etil 2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetat (1b)

4-(4-Metoksifenil)pirimidin-2-tiyol (0.067 mol; 14.6 g), etil kloroasetat (0.067 mol; 8.21 g= 7.14 mL) ve potasyum karbonat (0.067 mol; 9.25 g) kullanılarak Yöntem A'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.2).



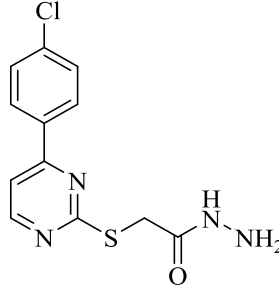
Şekil 5.2. Bileşik 1b

Verim : %81

E.N. : 78-81 °C

5.1.3. 2-[(4-(4-Klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (2a)

Etil 2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetat (0.06 mol; 18.53 g) ve hidrazin hidrat (0.12 mol; 6 g= 5.83 mL) kullanılarak Yöntem B'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.3).



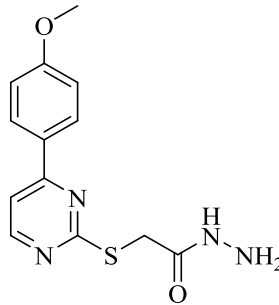
Şekil 5.3. Bileşik 2a

Verim : %83

E.N. : 168.2 °C

5.1.4. 2-[(4-(4-Metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (2b)

Etil 2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetat (0.06 mol; 18.26 g) ve hidrazin hidrat (0.12 mol; 6 g= 5.83 mL) kullanılarak Yöntem B'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.4).



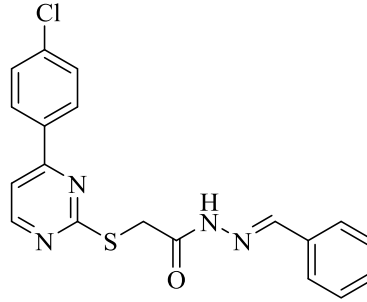
Şekil 5.4. Bileşik 2b

Verim : %85

E.N. : 164.5 °C

5.1.5. *N'*-Benziliden-2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3a)

2-[(4-(4-Klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3537 g) ve benzaldehit (0.0012 mol; 0.1273 g= 0.122 mL) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.5).

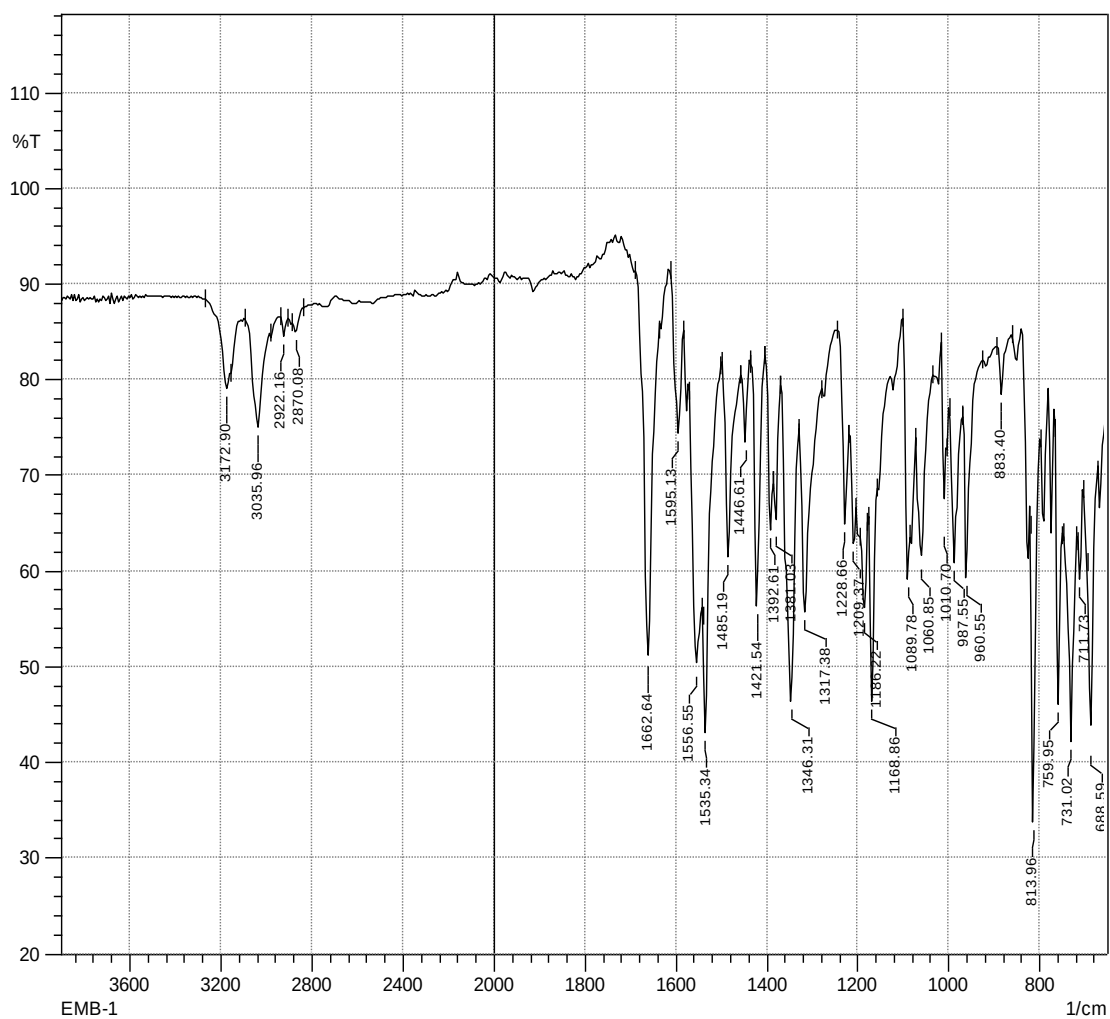


Şekil 5.5. Bileşik 3a

Verim : %76

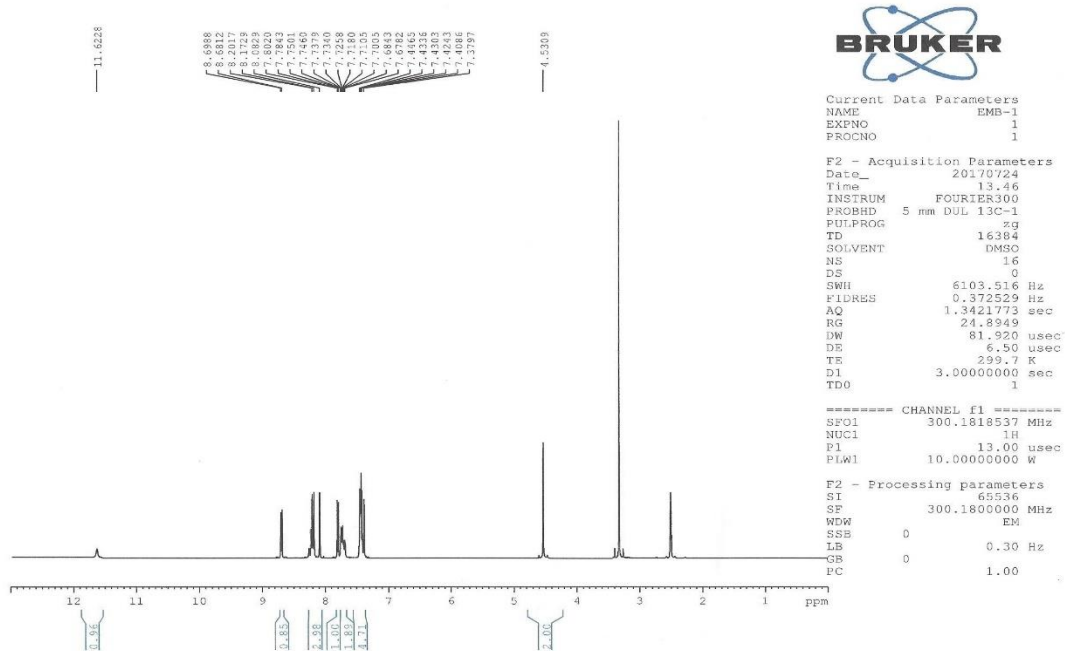
E.N. : 231.5 °C

IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3172.90 (N-H gerilim bandı), 3035.96 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2922.16 (Alifatik C-H asimetric gerilim bandı), 2870.08 (Alifatik C-H simetrik gerilim bandı), 1662.64 (C=O gerilim bandı), 1595.13, 1556.55, 1535.34, 1485.19 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1446.61, 1421.54, 1392.61, 1381.03 (C-H eğilme bandları), 1346.31, 1317.38, 1228.66, 1209.37, 1186.22, 1168.86, 1089.78, 1060.85, 1010.70 (C-N gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 987.55, 960.55, 883.40, 813.96, 759.95, 731.02, 711.73, 688.59 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.6).



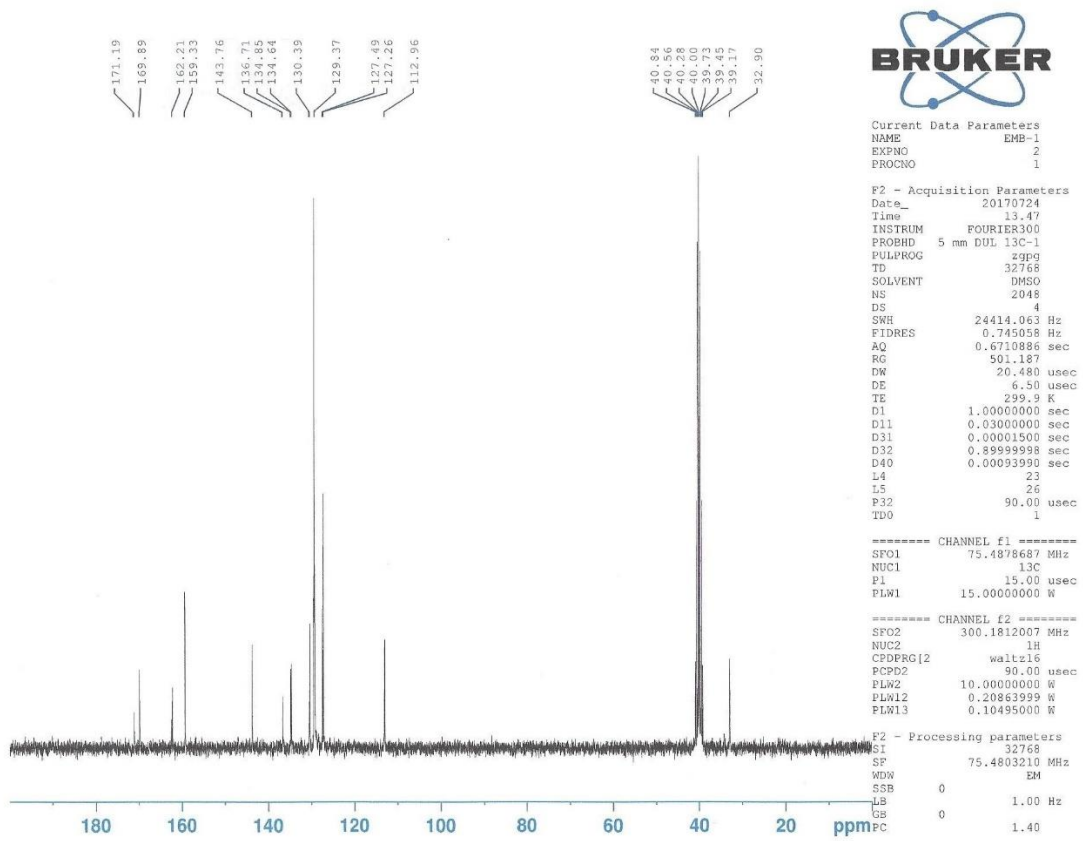
Şekil 5.6. Bileşik 3a'nın IR spektrumu

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): 4.53 (s, 2H), 7.38-7.45 (m, 5H), 7.68-7.75 (m, 2H), 7.79 (d, J = 5.31 Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 8.19 (d, J = 8.64 Hz, 2H), 8.69 (d, J = 5.28 Hz, 1H), 11.62 (s, 1H) (Şekil 5.7).



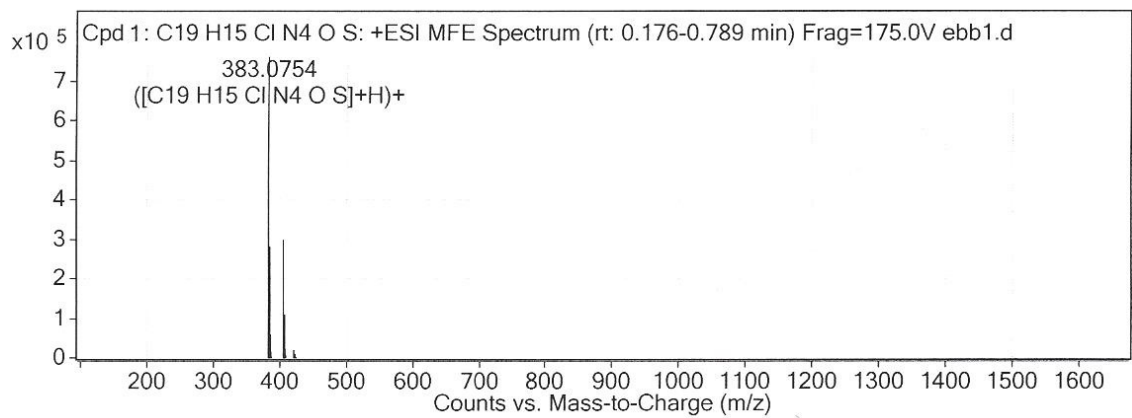
Şekil 5.7. Bileşik 3a'nın ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 32.90 (CH_2), 112.96 (CH), 127.26 (2 CH), 127.49 (2 CH), 129.37 (4 CH), 130.39 (CH), 134.64 (C), 134.85 (C), 136.71 (C), 143.76 (CH), 159.33 (CH), 162.21 (C), 169.89 (C), 171.19 (C) (Şekil 5.8).



Şekil 5.8. Bileşik 3a'nın ^{13}C NMR spektrumu

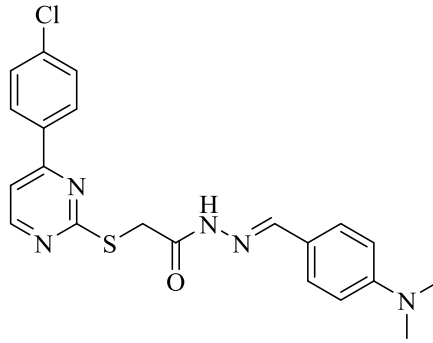
HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 383.0754 (Şekil 5.9).



Şekil 5.9. Bileşik 3a'nın kütle spektrumu

5.1.6. N'-(4-(Dimetilamino)benziliden)-2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3b)

2-[(4-(4-Klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3537 g) ve 4-dimetilaminobenzaldehyt (0.0012 mol; 0.179 g) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.10).

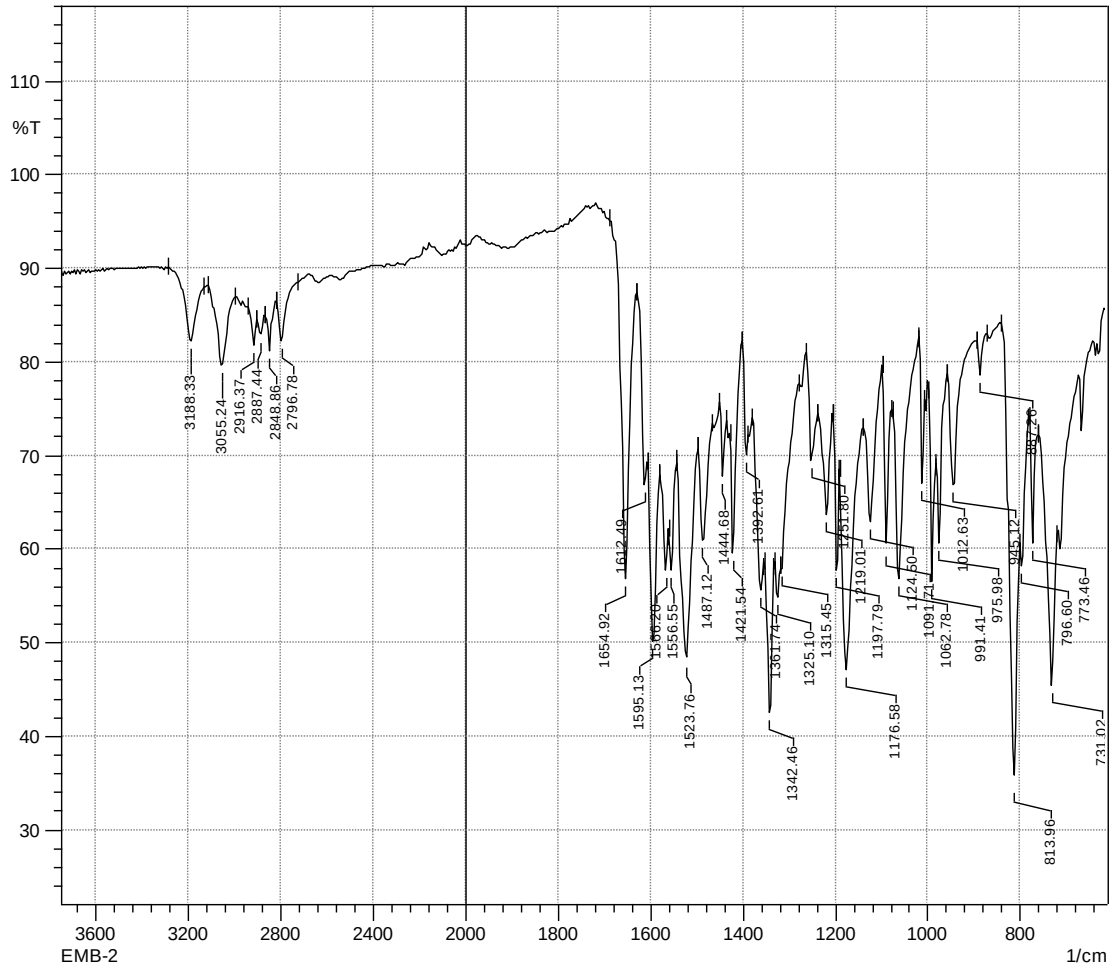


Şekil 5.10. Bileşik 3b

Verim : %90

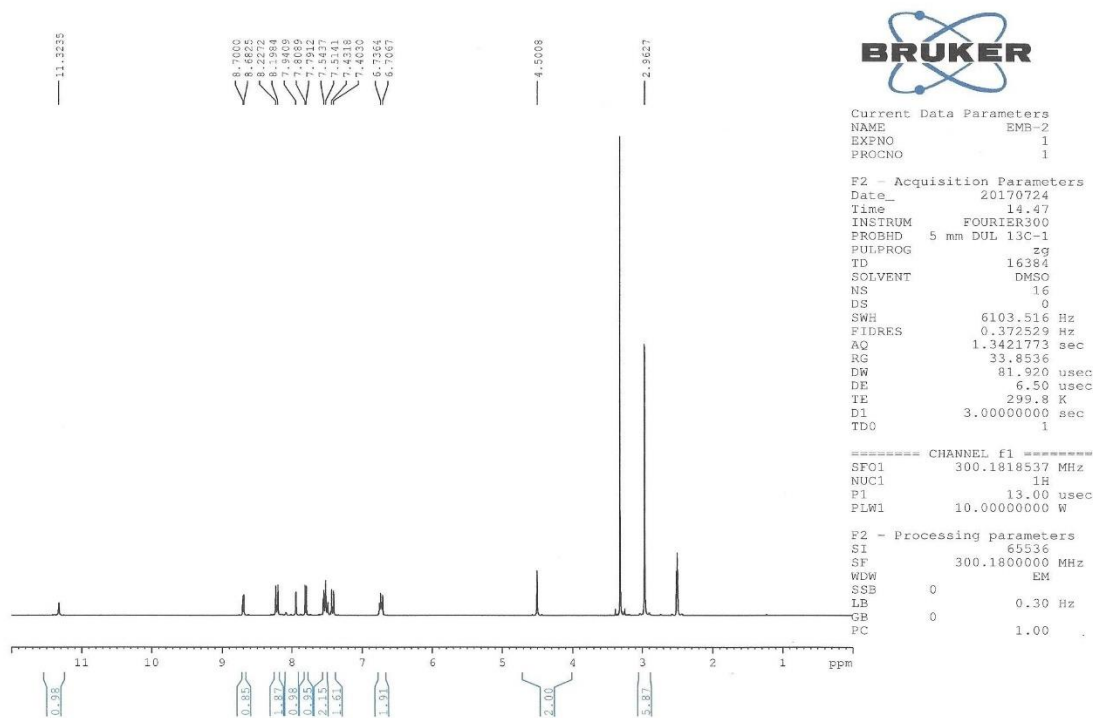
E.N. : 223.4 °C

IR $\nu_{\max}$ (cm^{-1}): 3188.33 (N-H gerilim bandı), 3055.24 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2916.37, 2887.44, 2848.86, 2796.78 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1654.92 (C=O gerilim bandı), 1612.49, 1595.13, 1566.20, 1556.55, 1523.76, 1487.12 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1444.68, 1421.54, 1392.61, 1361.74 (C-H eğilme bandları), 1342.46, 1325.10, 1315.45, 1251.80, 1219.01, 1197.79, 1176.58, 1124.50, 1091.71, 1062.78, 1012.63 (C-N gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 991.41, 975.98, 945.12, 887.26, 813.96, 796.60, 773.46, 731.02 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.11).



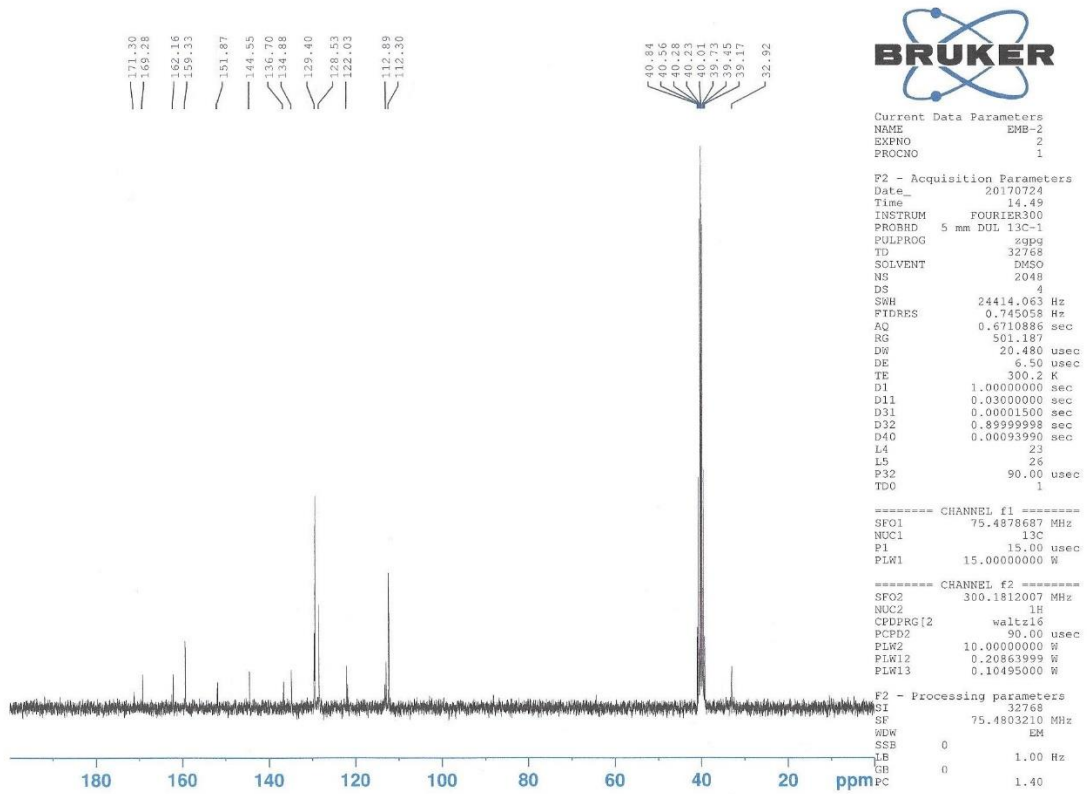
Şekil 5.11. Bileşik 3b'nin IR spektrumu

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 2.96 (s, 6H), 4.50 (s, 2H), 6.72 (d, $J = 8.91$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J = 8.64$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J = 8.88$ Hz, 2H), 7.80 (d, $J = 5.31$ Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 8.21 (d, $J = 8.64$ Hz, 2H), 8.69 (d, $J = 5.25$ Hz, 1H), 11.32 (s, 1H) (Şekil 5.12).



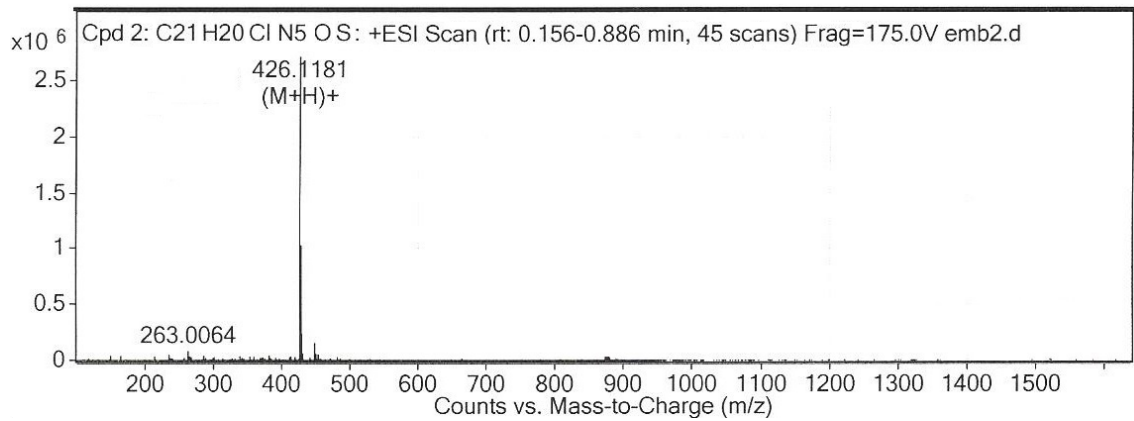
Şekil 5.12. Bileşik **3b**'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 32.92 (CH_2), 40.23 (2CH_3), 112.30 (2CH), 112.89 (CH), 122.03 (C), 128.53 (2CH), 129.40 (4CH), 134.88 (C), 136.70 (C), 144.55 (CH), 151.87 (C), 159.33 (CH), 162.16 (C), 169.28 (C), 171.30 (C) (Şekil 5.13).



Şekil 5.13. Bileşik 3b'nin ^{13}C NMR spektrumu

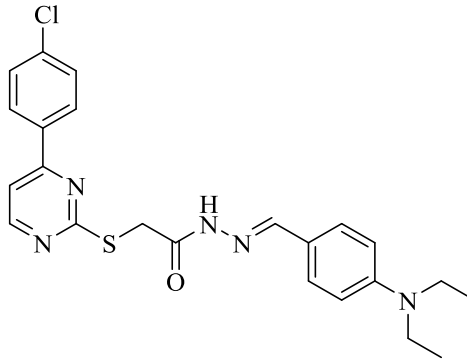
HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 426.1181 (Şekil 5.14).



Şekil 5.14. Bileşik 3b'nin kütle spektrumu

5.1.7. N'-(4-(Dietilamino)benziliden)-2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3c)

2-[(4-(4-Klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3537 g) ve 4-dietilaminobenzaldehyt (0.0012 mol; 0.2127 g) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.15).

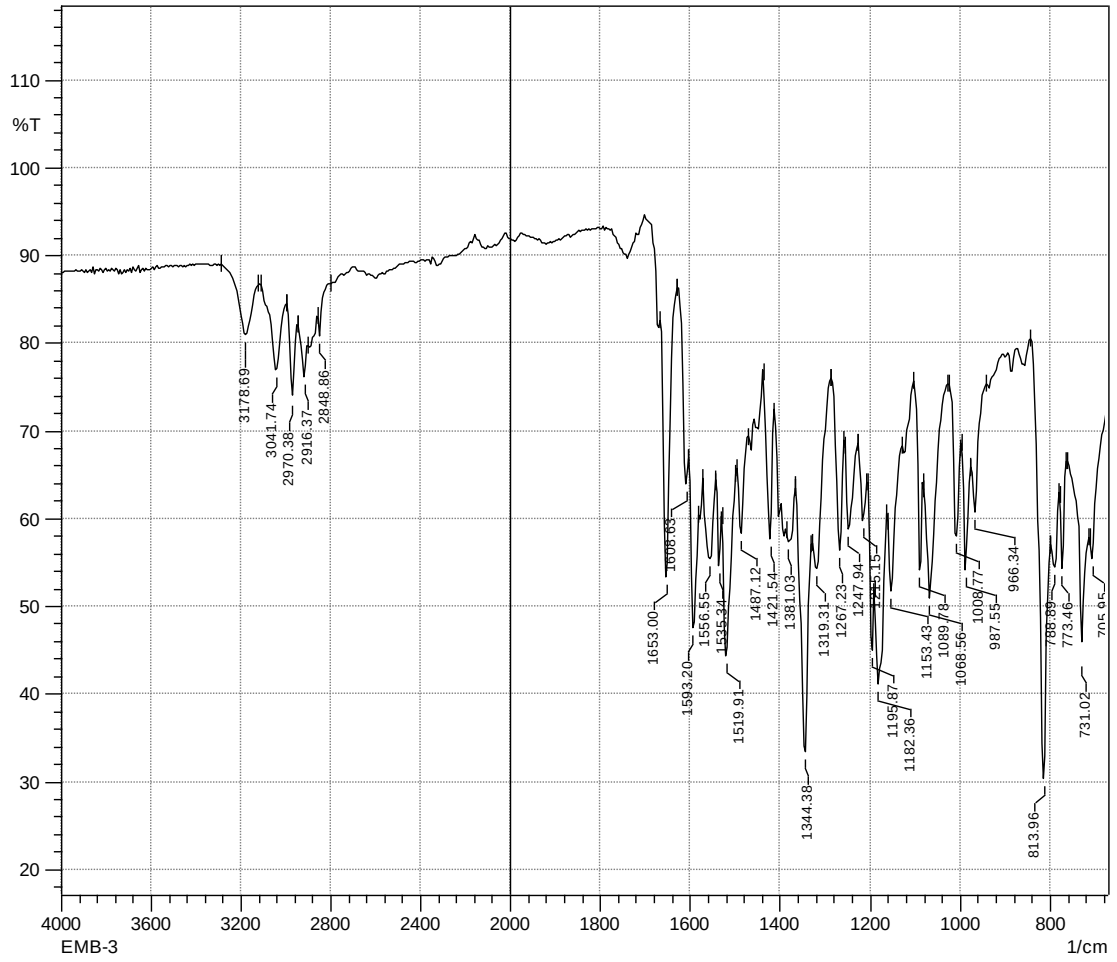


Şekil 5.15. Bileşik 3c

Verim : %88

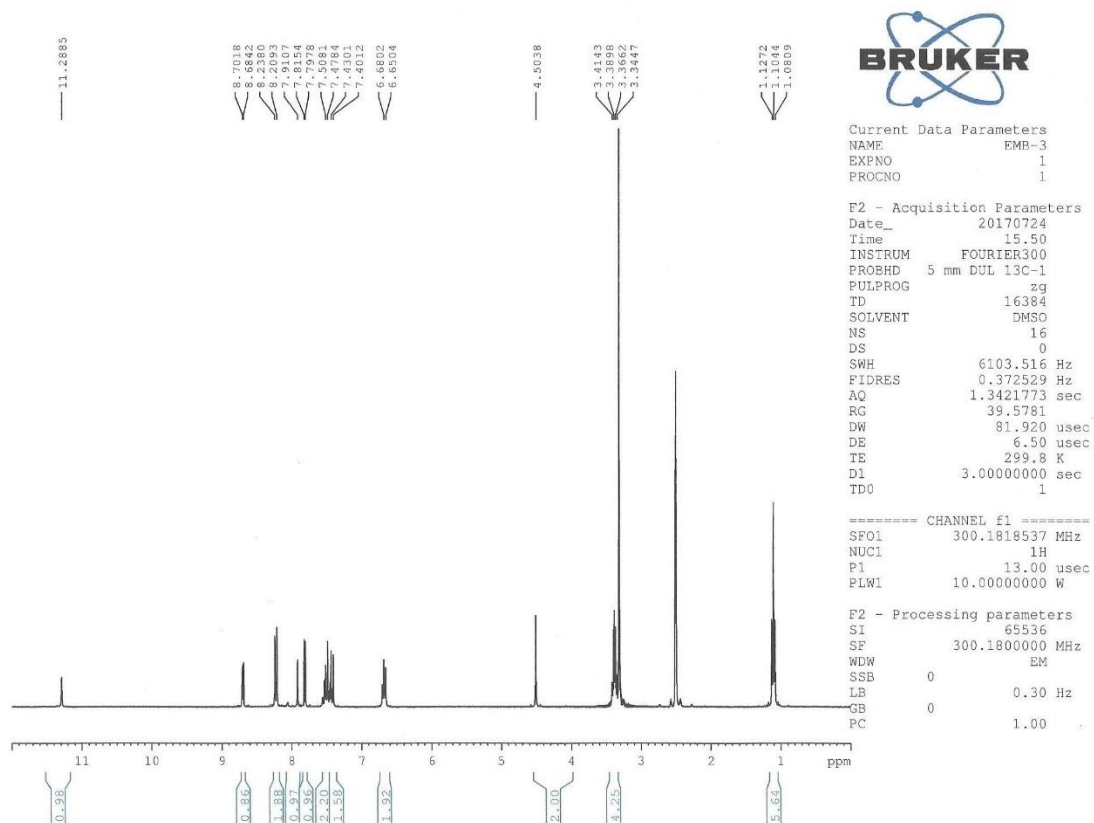
E.N. : 219.5 °C

IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3178.69 (N-H gerilim bandı), 3041.74 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2970.38, 2916.37, 2848.86 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1653.00 (C=O gerilim bandı), 1608.63, 1593.20, 1556.55, 1535.34, 1519.91, 1487.12 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1421.54, 1381.03 (C-H eğilme bandları), 1344.38, 1319.31, 1267.23, 1247.94, 1215.15, 1195.87, 1182.36, 1153.43, 1089.78, 1068.56, 1008.77 (C-N gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 987.55, 966.34, 813.96, 788.89, 773.46, 731.02, 705.95 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.16).



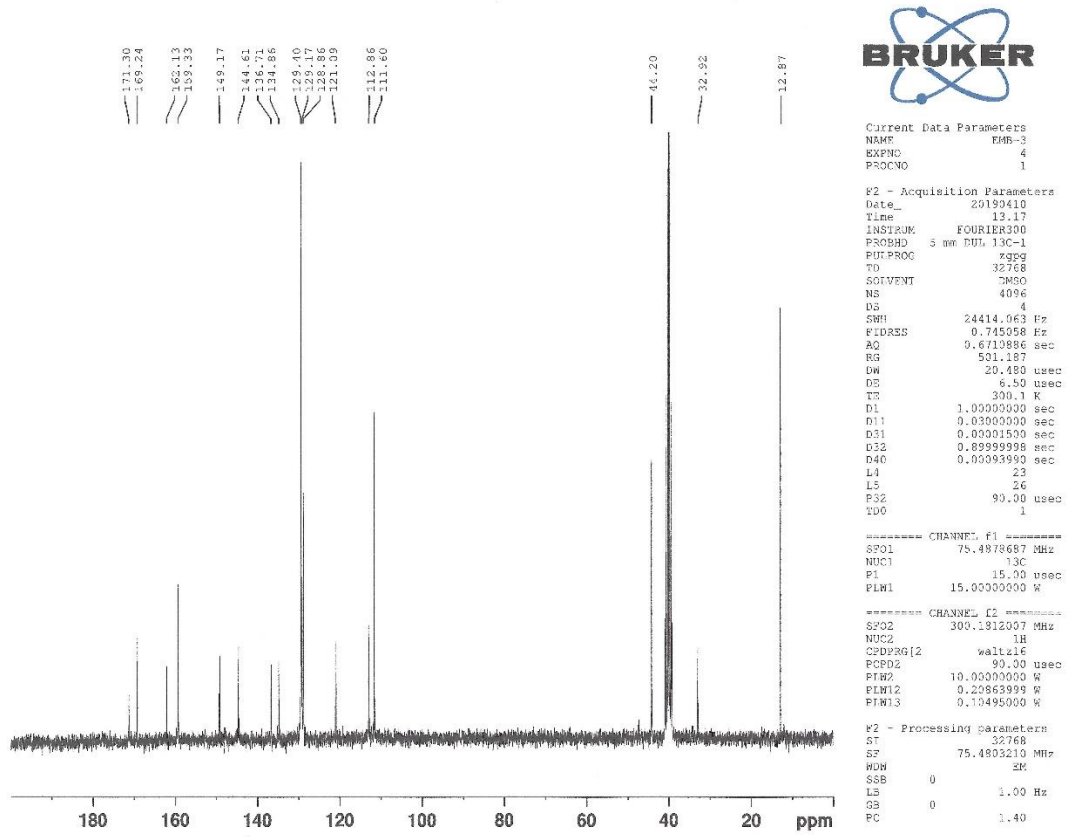
Şekil 5.16. Bileşik 3c'nin IR spektrumu

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 1.10 (t, $J = 6.84$ Hz, 7.05 Hz, 6H), 3.34-3.41 (m, 4H), 4.50 (s, 2H), 6.67 (d, $J = 8.94$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J = 8.67$ Hz, 2H), 7.49 (d, $J = 8.91$ Hz, 2H), 7.81 (d, $J = 5.28$ Hz, 1H), 7.91 (s, 1H), 8.22 (d, $J = 8.61$ Hz, 2H), 8.69 (d, $J = 5.28$ Hz, 1H), 11.29 (s, 1H) (Şekil 5.17).



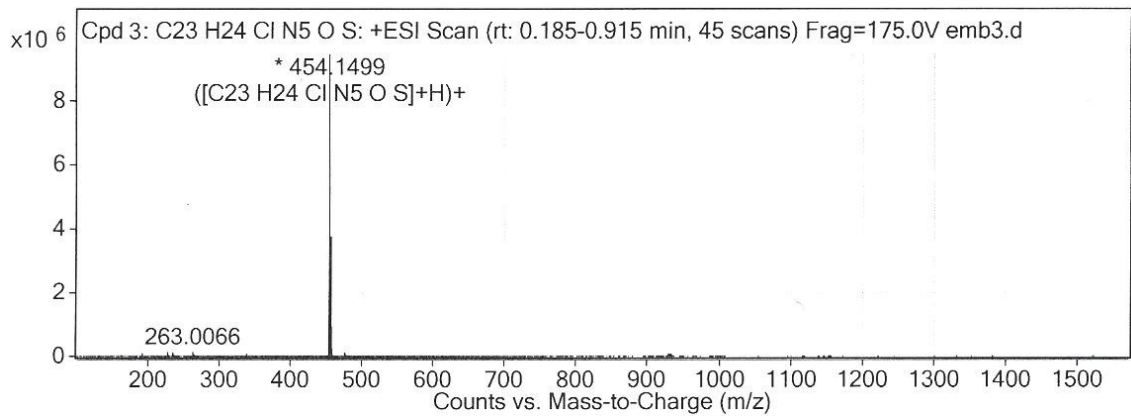
Şekil 5.17. Bileşik 3c'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 12.87 (2CH_3), 32.92 (CH_2), 44.20 (2CH_2), 111.60 (2CH), 112.86 (CH), 121.09 (C), 128.86 (2CH), 129.17 (2CH), 129.40 (2CH), 134.86 (C), 136.71 (C), 144.61 (CH), 149.17 (C), 159.33 (CH), 162.13 (C), 169.24 (C), 171.30 (C) (Şekil 5.18).



Şekil 5.18. Bileşik 3c'nin ^{13}C NMR spektrumu

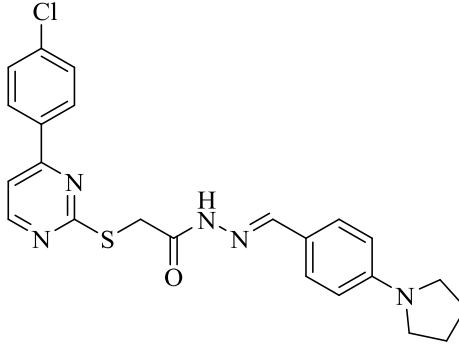
HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 454.1499 (Şekil 5.19).



Şekil 5.19. Bileşik 3c'nin kütle spektrumu

5.1.8. N'-(4-(Pirolidin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3d)

2-[(4-(4-Klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3537 g) ve 4-(1-pirolidinil)benzaldehit (0.0012 mol; 0.2103 g) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.20).

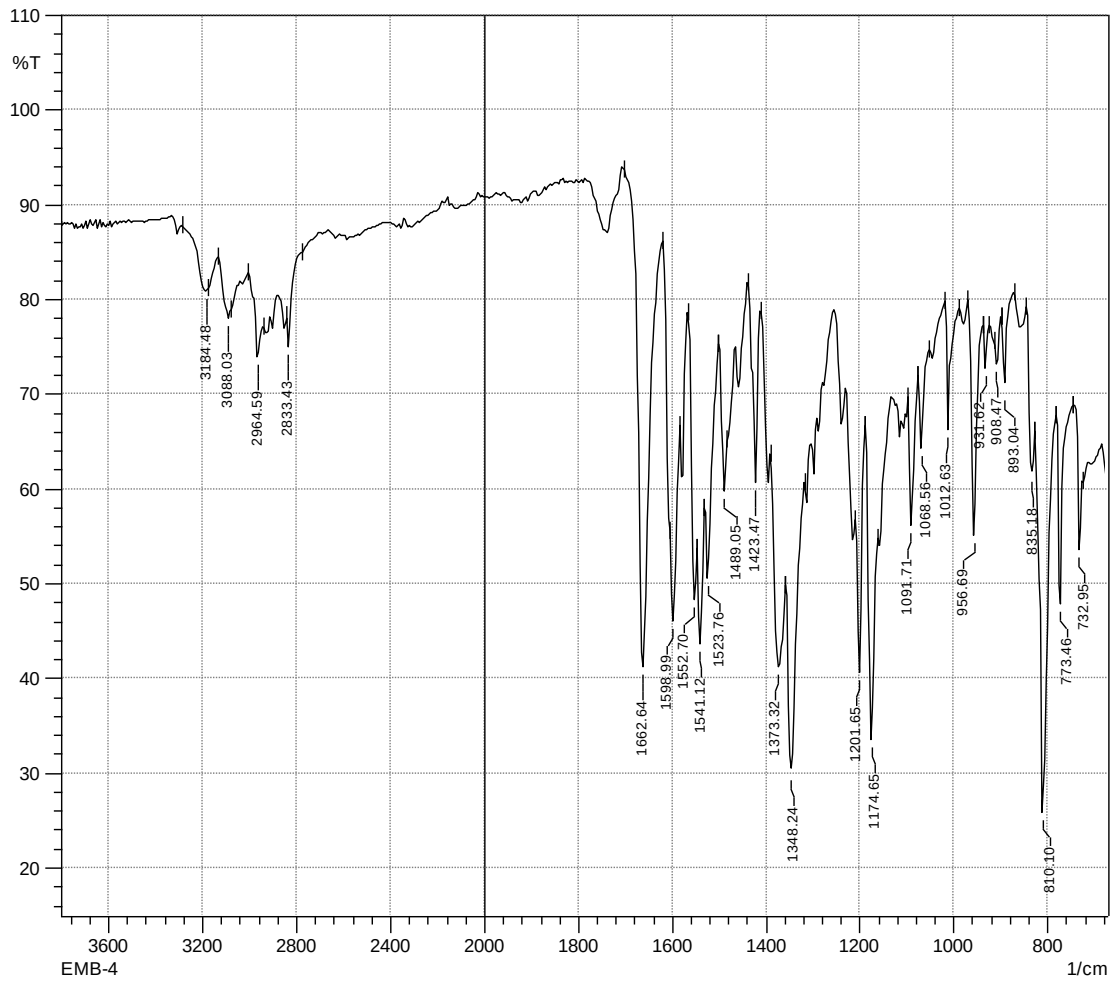


Şekil 5.20. Bileşik 3d

Verim : %84

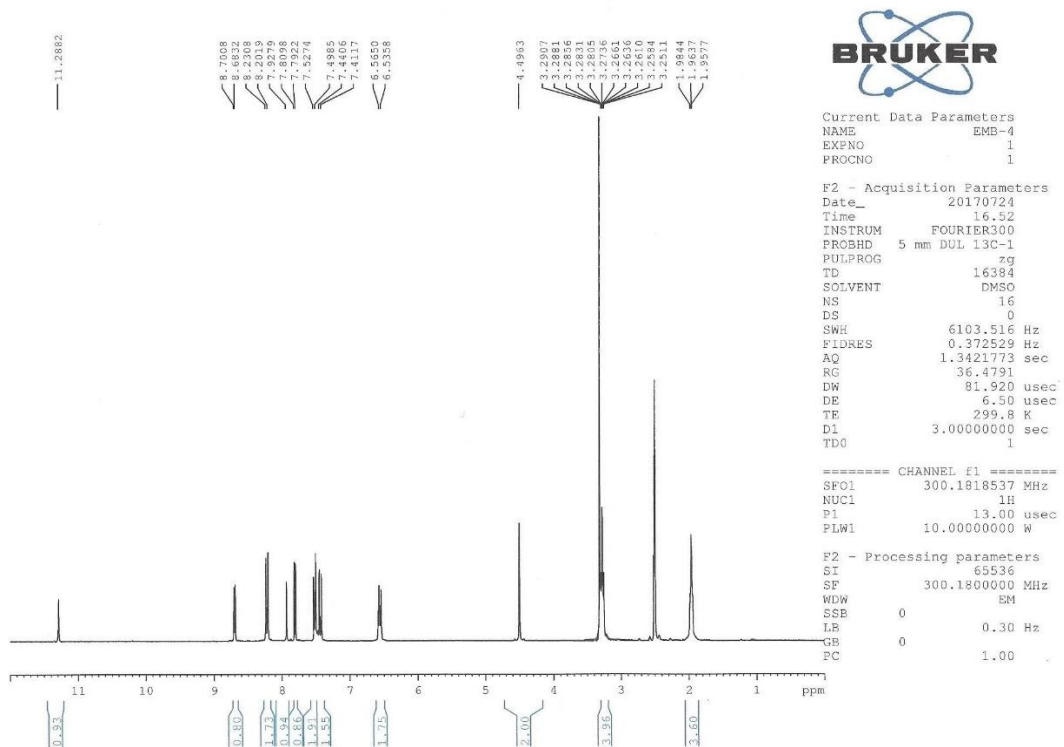
E.N. : 226.3 °C

IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3184.48 (N-H gerilim bandı), 3088.03 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2964.59 (Alifatik C-H asimetric gerilim bandı), 2833.43 (Alifatik C-H simetrik gerilim bandı), 1662.64 (C=O gerilim bandı), 1598.99, 1552.70, 1541.12, 1523.76, 1489.05 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1423.47, 1373.32 (C-H eğilme bandları), 1348.24, 1201.65, 1174.65, 1091.71, 1068.56, 1012.63 (C-N gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 956.69, 931.62, 908.47, 893.04, 835.18, 810.10, 773.46, 732.95 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.21).



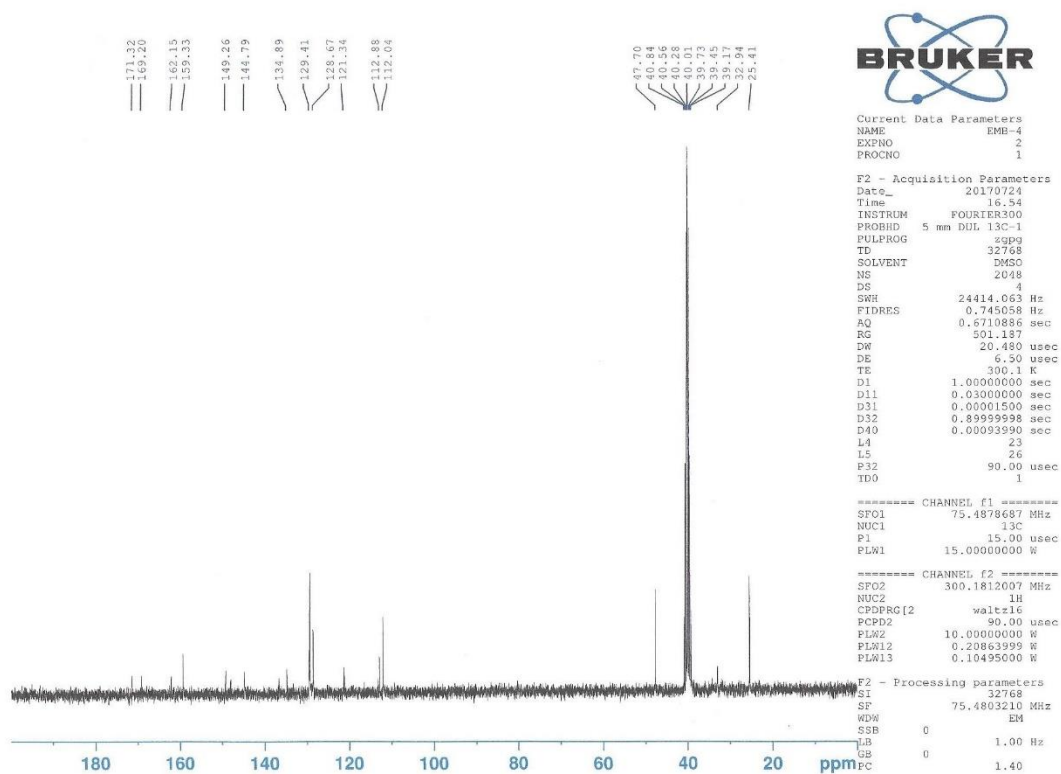
Şekil 5.21. Bileşik 3d'nin IR spektrumu

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 1.96-1.98 (m, 4H), 3.25-3.29 (m, 4H), 4.50 (s, 2H), 6.55 (d, $J = 8.76$ Hz, 2H), 7.43 (d, $J = 8.67$ Hz, 2H), 7.51 (d, $J = 8.67$ Hz, 2H), 7.80 (d, $J = 5.28$ Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 8.22 (d, $J = 8.67$ Hz, 2H), 8.69 (d, $J = 5.28$ Hz, 1H), 11.29 (s, 1H) (Şekil 5.22).



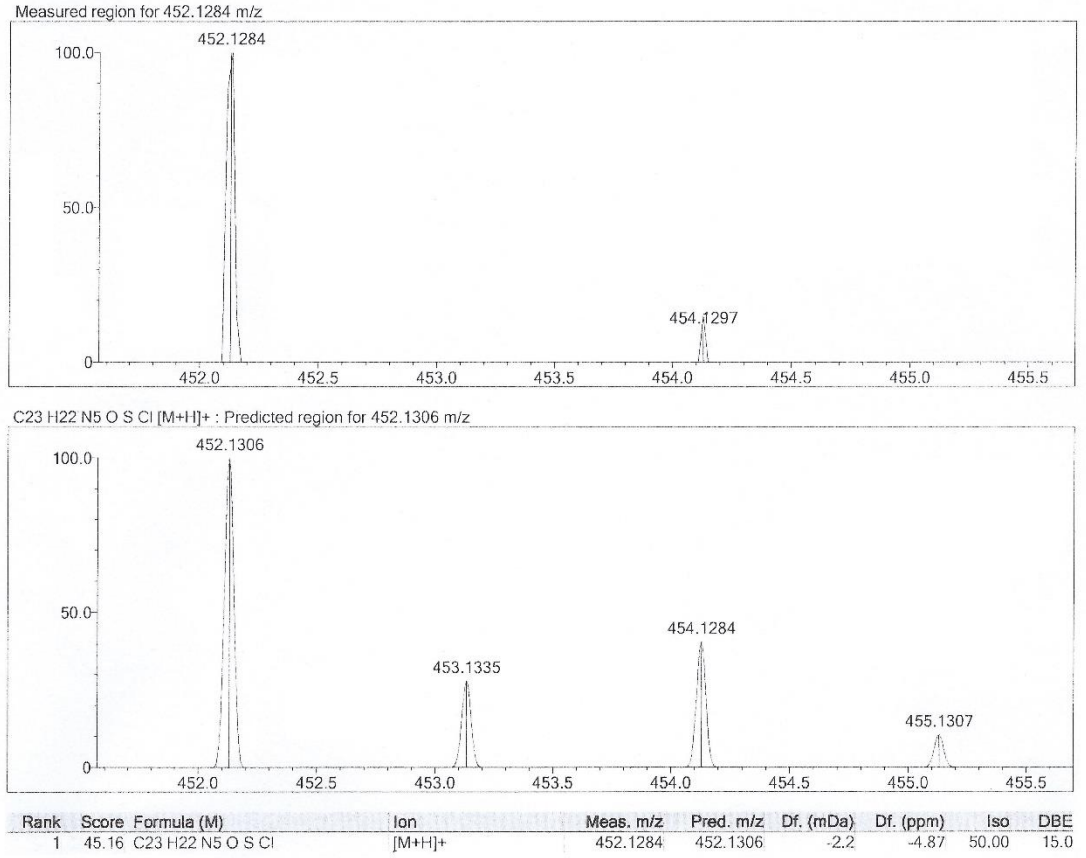
Şekil 5.22. Bileşik 3d'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 25.41 (2CH_2), 32.94 (CH_2), 47.70 (2CH_2), 112.04 (2CH), 112.88 (CH), 121.34 (C), 128.67 (2CH), 129.41 (4CH), 134.89 (2C), 144.79 (CH), 149.26 (C), 159.33 (CH), 162.15 (C), 169.20 (C), 171.32 (C) (Şekil 5.23).



Şekil 5.23. Bileşik 3d'nin ^{13}C NMR spektrumu

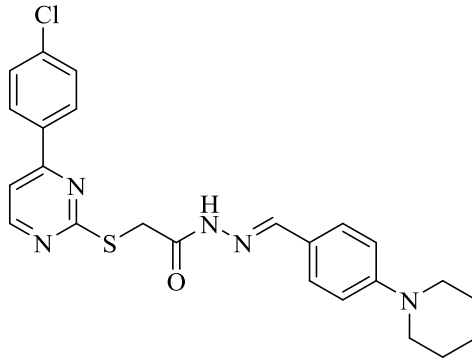
HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 452.1284 (Şekil 5.24).



Şekil 5.24. Bileşik 3d'nin kütle spektrumu

5.1.9. N'-(4-(Piperidin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3e)

2-[(4-(4-Klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3537 g) ve 4-(1-piperidinil)benzaldehit (0.0012 mol; 0.2271 g) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. (Şekil 5.25).

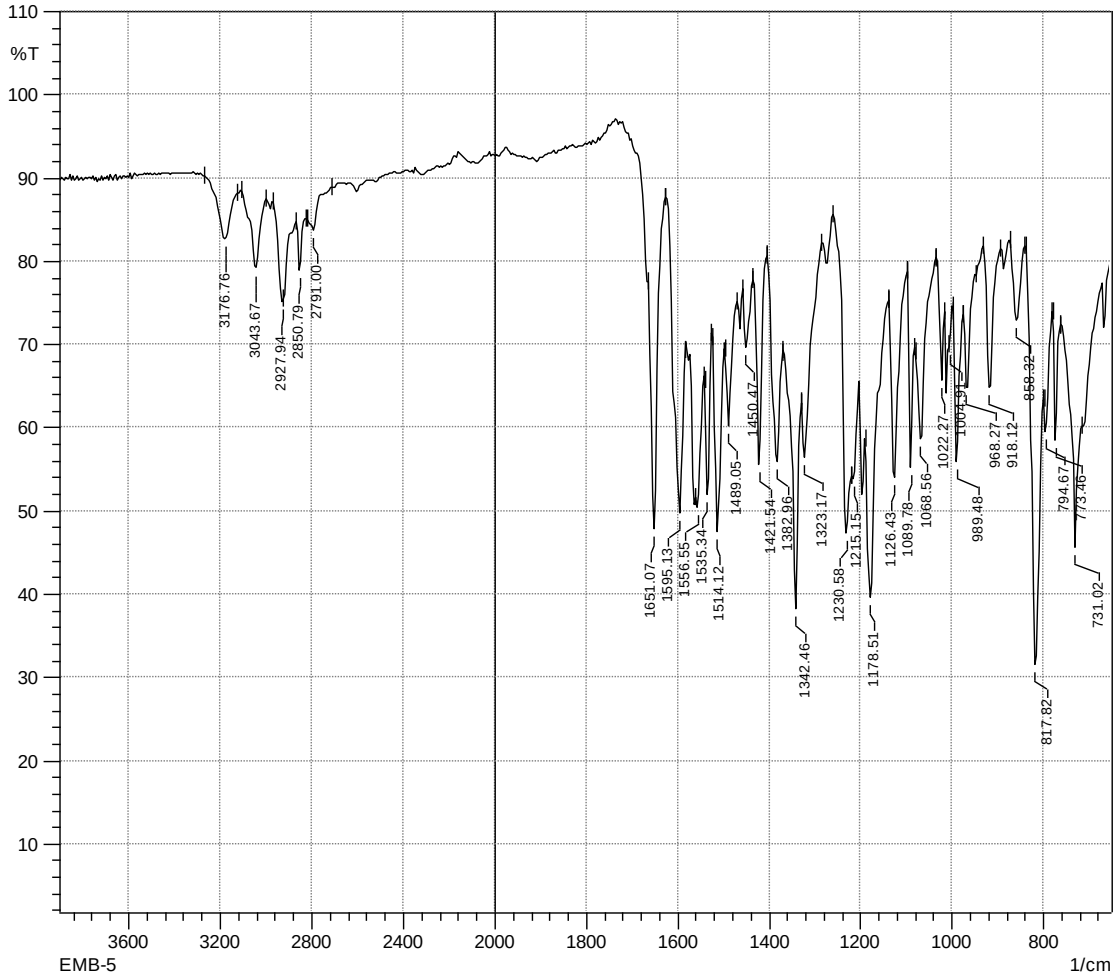


Şekil 5.25. Bileşik 3e

Verim : %86

E.N. : 211.7 °C

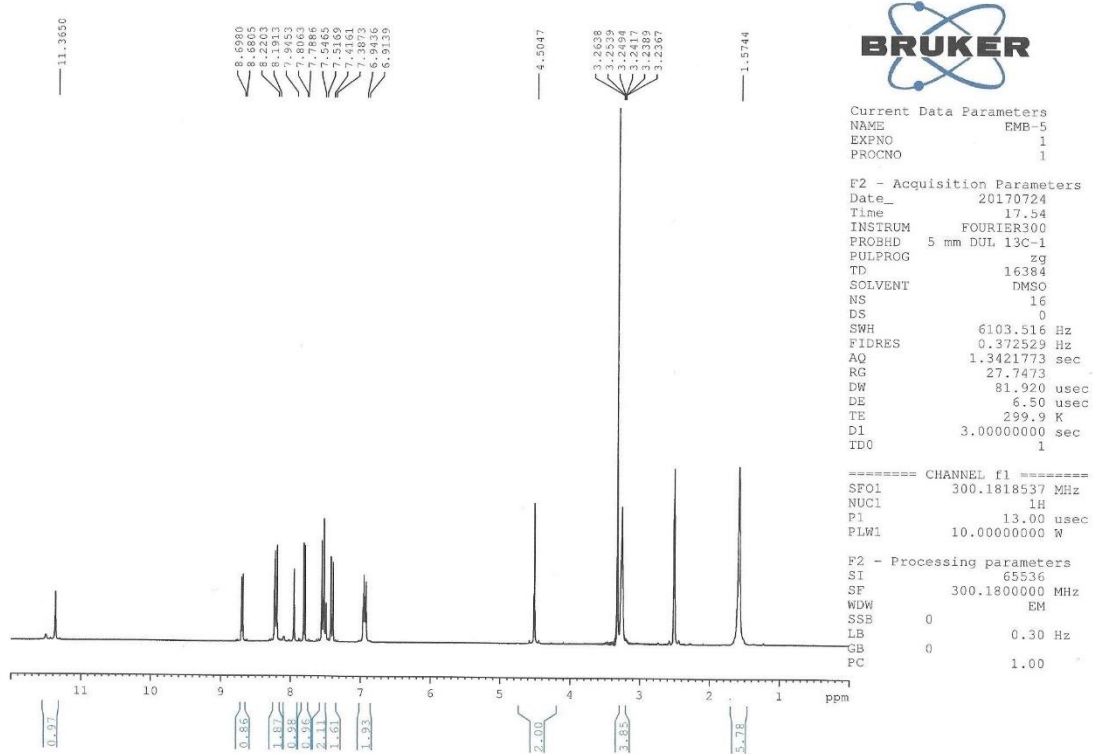
IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3176.76 (N-H gerilim bandı), 3043.67 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2927.94, 2850.79, 2791.00 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1651.07 (C=O gerilim bandı), 1595.13, 1556.55, 1535.34, 1514.12, 1489.05, 1450.47 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1421.54, 1382.96 (C-H eğilme bandları), 1342.46, 1323.17, 1230.58, 1215.15, 1178.51, 1126.43, 1089.78, 1068.56, 1022.27, 1004.91 (C-N gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 989.48, 968.27, 918.12, 858.32, 817.82, 794.67, 773.46, 731.02 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.26).



Şekil 5.26. Bileşik 3e'nin IR spektrumu

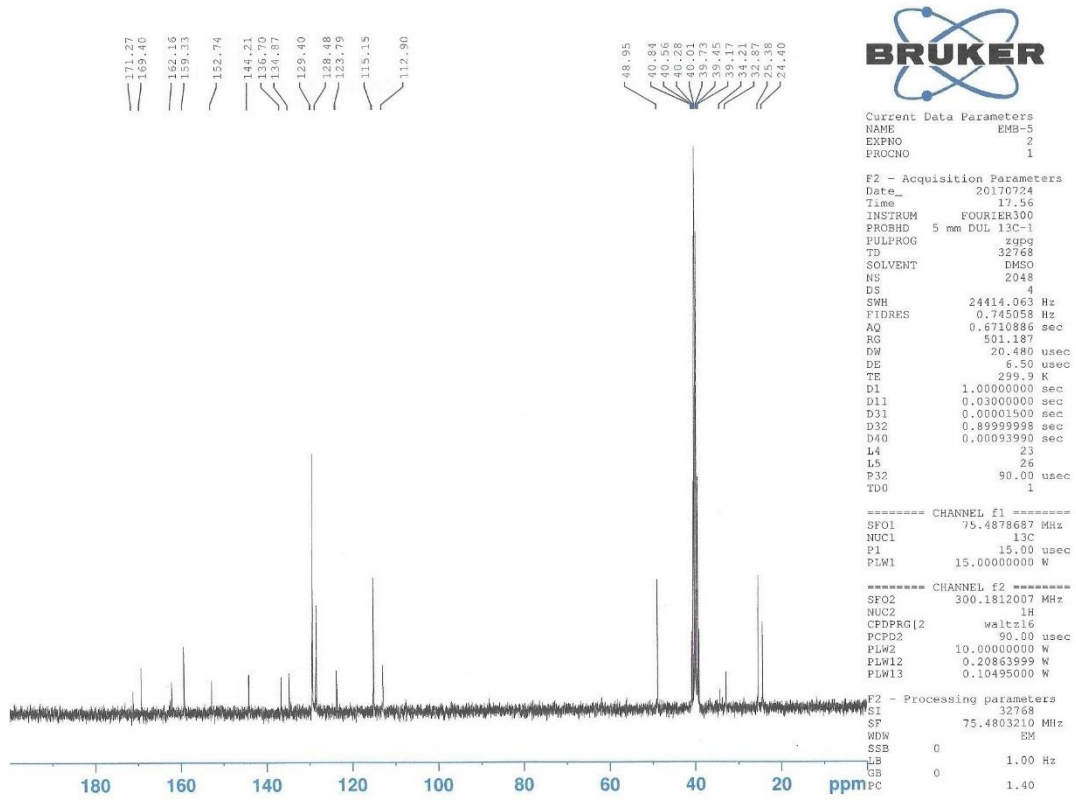
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): 1.57 (brs, 6H), 3.24-3.26 (m, 4H), 4.50 (s, 2H), 6.93 (d, *J* = 8.91 Hz, 2H), 7.40 (d, *J* = 8.64 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 8.88 Hz, 2H), 7.80 (d, *J* =

5.31 Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.21 (d, $J = 8.70$ Hz, 2H), 8.69 (d, $J = 5.25$ Hz, 1H), 11.37 (s, 1H) (Şekil 5.27).



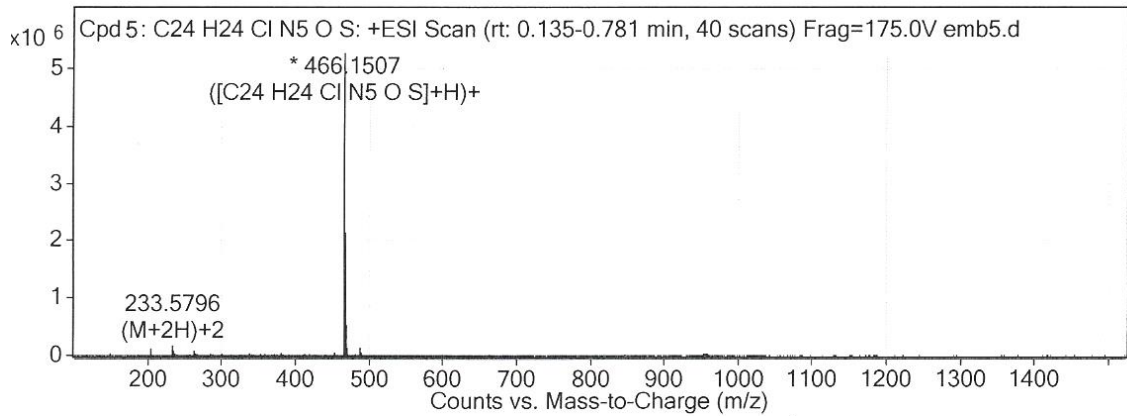
Şekil 5.27. Bileşik 3e'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 24.40 (CH_2), 25.38 (2CH_2), 32.87 (CH_2), 48.95 (2CH_2), 112.90 (CH), 115.15 (2CH), 123.79 (C), 128.48 (2CH), 129.40 (4CH), 134.87 (C), 136.70 (C), 144.21 (CH), 152.74 (C), 159.33 (CH), 162.16 (C), 169.40 (C), 171.27 (C) (Şekil 5.28).



Şekil 5.28. Bileşik 3e'nin ^{13}C NMR spektrumu

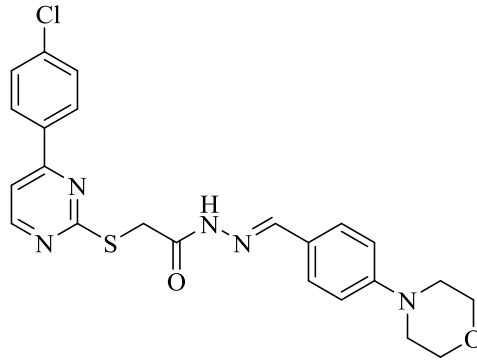
HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 466.1507 (Şekil 5.29).



Şekil 5.29. Bileşik 3e'nin kütle spektrumu

5.1.10. N'-(4-(Morfolin-4-il)benziliden)-2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3f)

2-[(4-(4-Klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3537 g) ve 4-(4-morfolinil)benzaldehit (0.0012 mol; 0.2295 g) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.30).

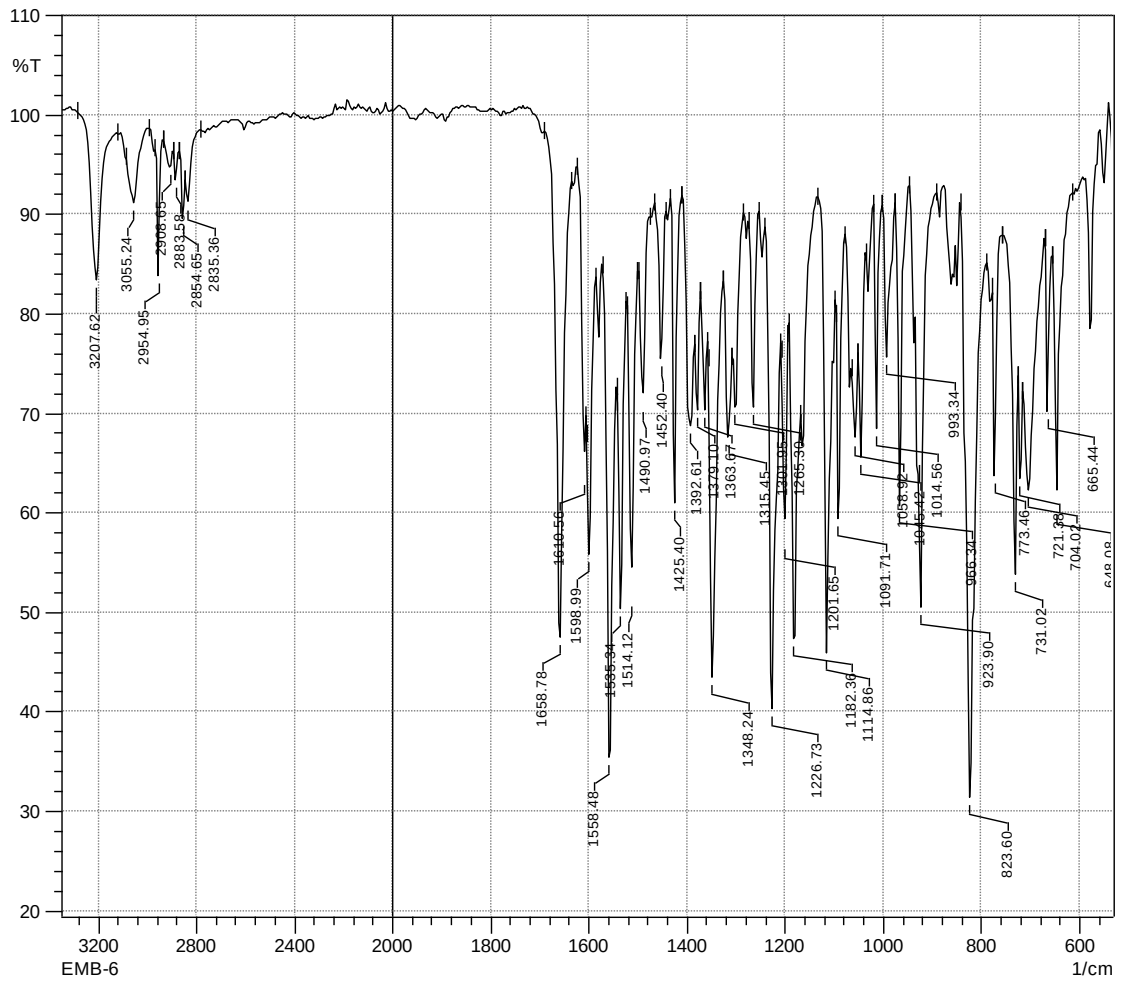


Şekil 5.30. Bileşik 3f

Verim : %92

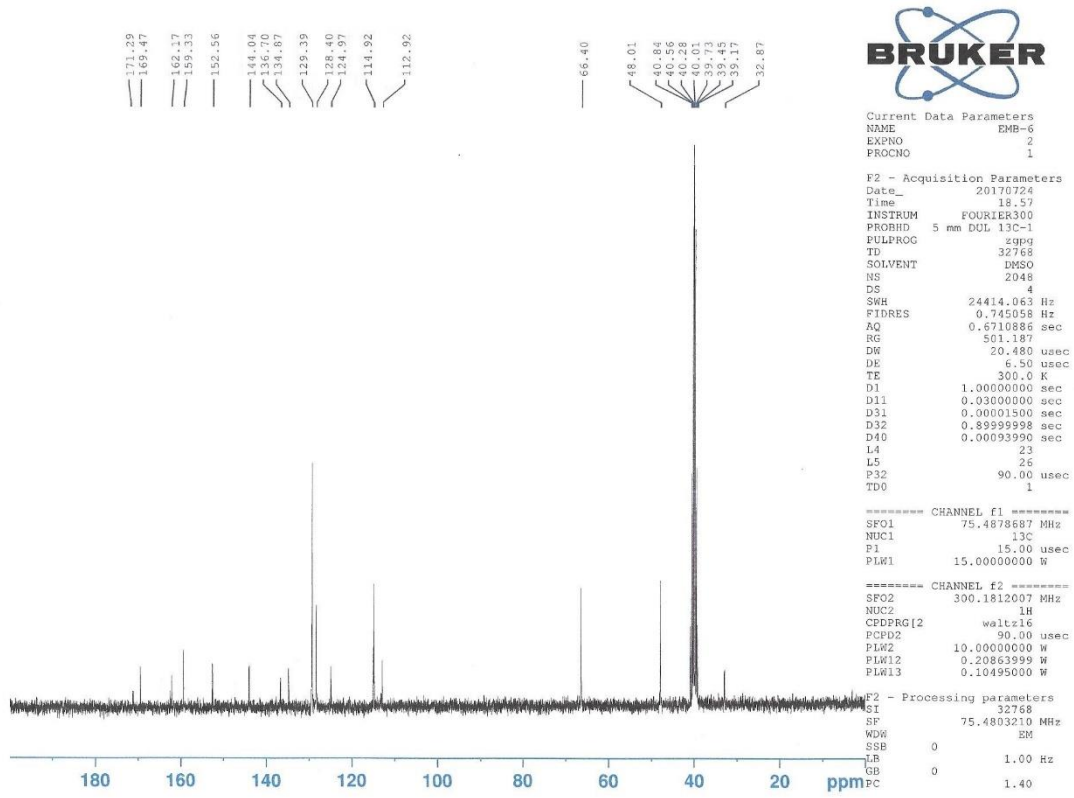
E.N. : 229.2 °C

IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3207.62 (N-H gerilim bandı), 3055.24 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2954.95, 2908.65, 2883.58, 2854.65, 2835.36 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1658.78 (C=O gerilim bandı), 1610.56, 1598.99, 1558.48, 1535.34, 1514.12, 1490.97, 1452.40 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1425.40, 1392.61, 1379.10, 1363.67 (C-H eğilme bandları), 1348.24, 1315.45, 1301.95, 1265.30, 1226.73, 1201.65, 1182.36, 1114.86, 1091.71, 1058.92, 1045.42, 1014.56 (C-N, C-O gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 993.34, 966.34, 923.90, 823.60, 773.46, 731.02, 721.38, 704.02, 665.44, 648.08 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.31).



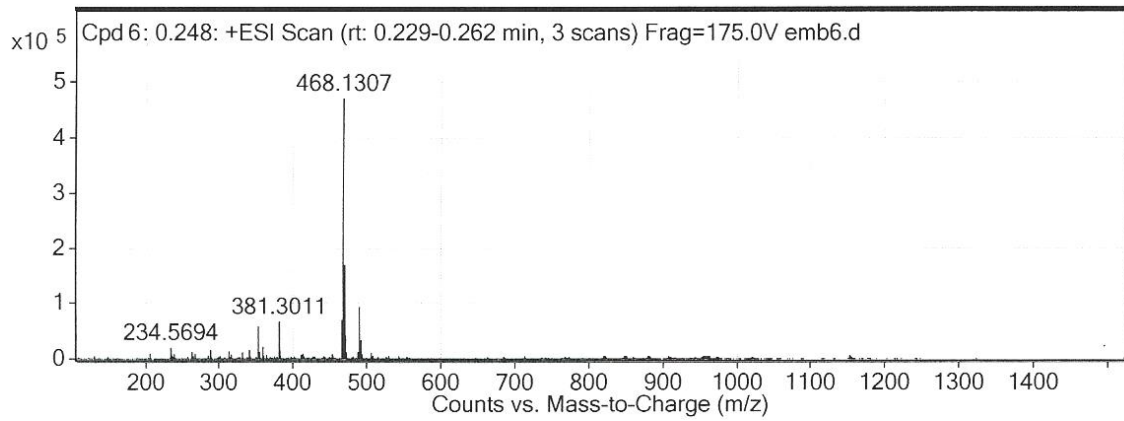
Şekil 5.31. Bileşik 3f'nin IR spektrumu

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 3.19 (t, $J = 4.41$ Hz, 4.62 Hz, 4H), 3.72-3.75 (m, 4H), 4.50 (s, 2H), 6.97 (d, $J = 8.91$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J = 8.64$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J = 9.00$ Hz, 2H), 7.80 (d, $J = 5.31$ Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 8.67$ Hz, 2H), 8.69 (d, $J = 5.28$ Hz, 1H), 11.41 (s, 1H) (Şekil 5.32).



Şekil 5.33. Bileşik 3f'nin ^{13}C NMR spektrumu

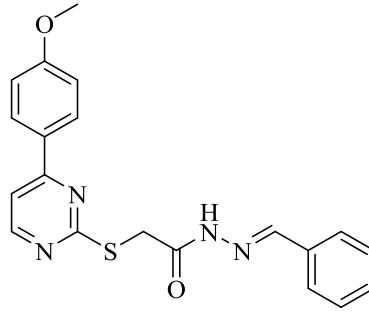
HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 468.1307 (Şekil 5.34).



Şekil 5.34. Bileşik 3f'nin kütle spektrumu

5.1.11. N'-Benziliden-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3g)

2-[(4-(4-Metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3484 g) ve benzaldehit (0.0012 mol; 0.1273 g= 0.122 mL) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.35).

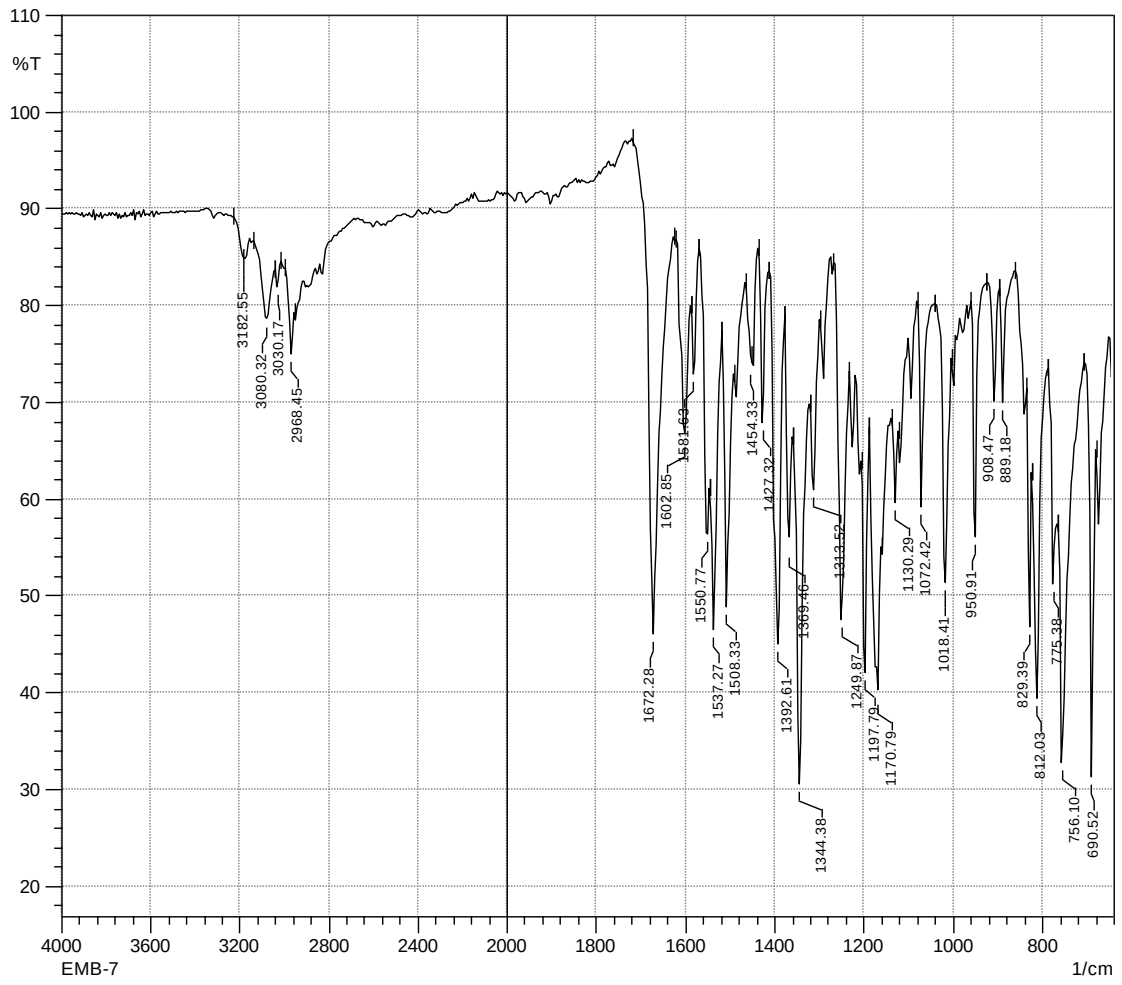


Şekil 5.35. Bileşik 3g

Verim : %80

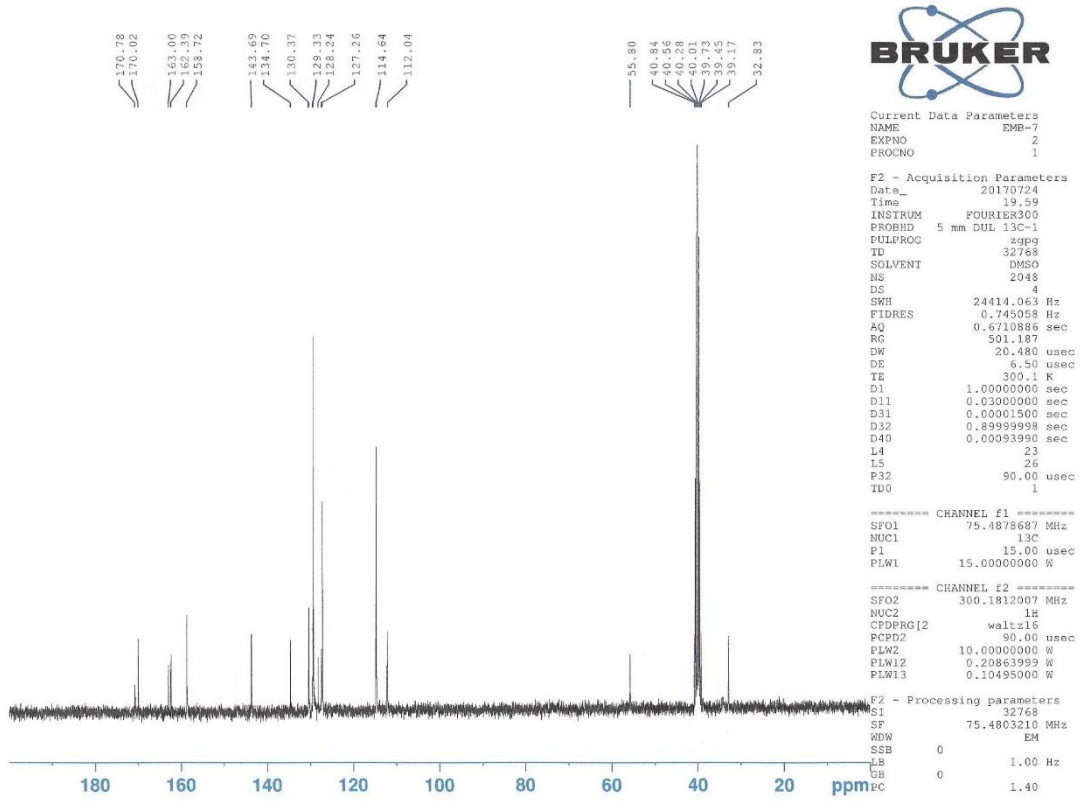
E.N. : 217.3 °C

IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3182.55 (N-H gerilim bandı), 3080.32, 3030.17 (Aromatik C-H gerilim bandları), 2968.45 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1672.28 (C=O gerilim bandı), 1602.85, 1581.63, 1550.77, 1537.27, 1508.33, 1454.33 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1427.32, 1392.61, 1369.46 (C-H eğilme bandları), 1344.38, 1313.52, 1249.87, 1197.79, 1170.79, 1130.29, 1072.42, 1018.41 (C-N, C-O gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 950.91, 908.47, 889.18, 829.39, 812.03, 775.38, 756.10, 690.52 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.36).



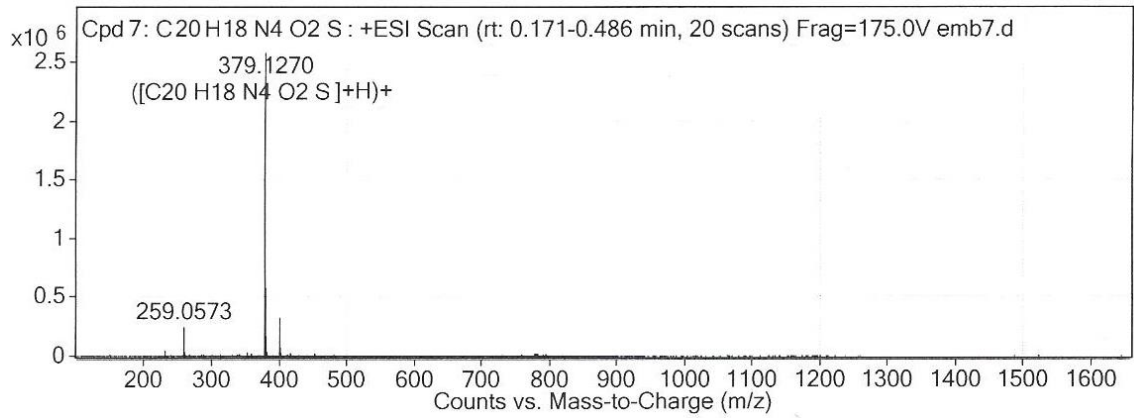
Şekil 5.36. Bileşik 3g'nin IR spektrumu

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 3.75 (s, 3H), 4.53 (s, 2H), 6.85 (d, $J = 8.97$ Hz, 2H), 7.43-7.45 (m, 3H), 7.68-7.77 (m, 3H), 8.09 (s, 1H), 8.15 (d, $J = 8.97$ Hz, 2H), 8.59 (d, $J = 5.34$ Hz, 1H), 11.61 (s, 1H) (Şekil 5.37).



Şekil 5.38. Bileşik 3g'nin ^{13}C NMR spektrumu

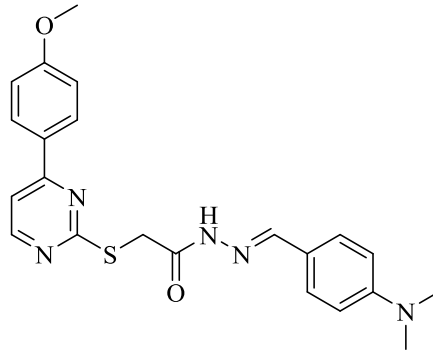
HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 379.1270 (Şekil 5.39).



Şekil 5.39. Bileşik 3g'nin kütle spektrumu

5.1.12. N'-(4-(Dimetilamino)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3h)

2-[(4-(4-Metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3484 g) ve 4-dimetilaminobenzaldehyt (0.0012 mol; 0.179 g) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.40).

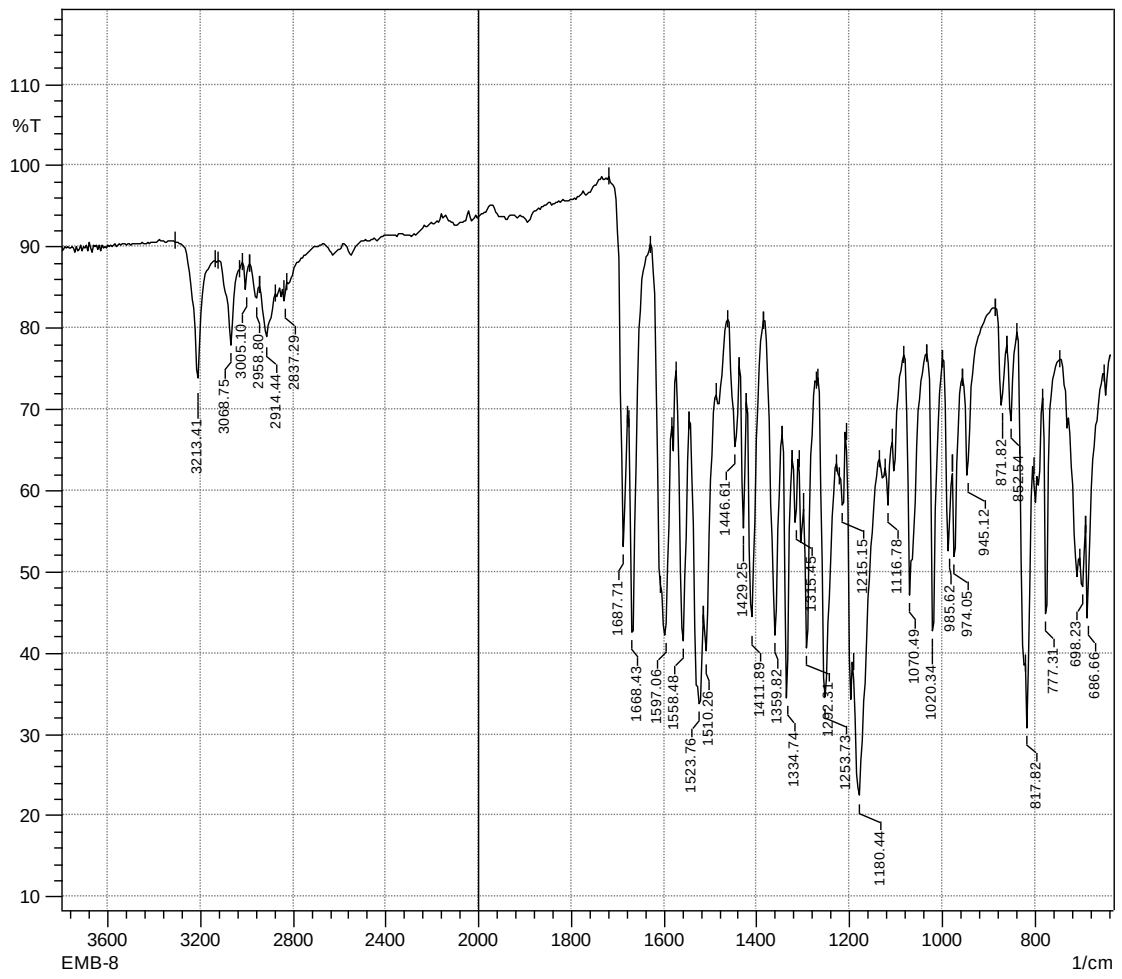


Şekil 5.40. Bileşik 3h

Verim : %91

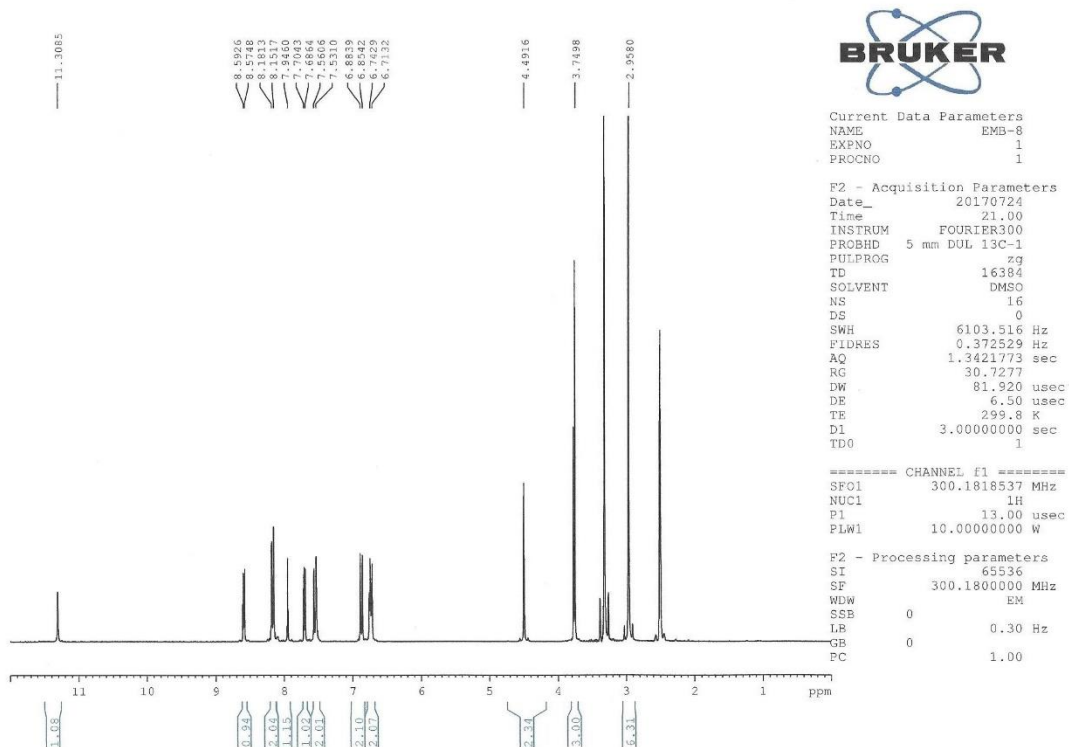
E.N. : 235.8 °C

IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3213.41 (N-H gerilim bandı), 3068.75, 3005.10 (Aromatik C-H gerilim bandları), 2958.80, 2914.44, 2837.29 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1687.71 (C=O gerilim bandı), 1668.43, 1597.06, 1558.48, 1523.76, 1510.26 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1446.61, 1429.25, 1411.89, 1359.82 (C-H eğilme bandları), 1334.74, 1315.45, 1292.31, 1253.73, 1215.15, 1180.44, 1116.78, 1070.49, 1020.34 (C-N, C-O gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 985.62, 974.05, 945.12, 871.82, 852.54, 817.82, 777.31, 698.23, 686.66 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.41).



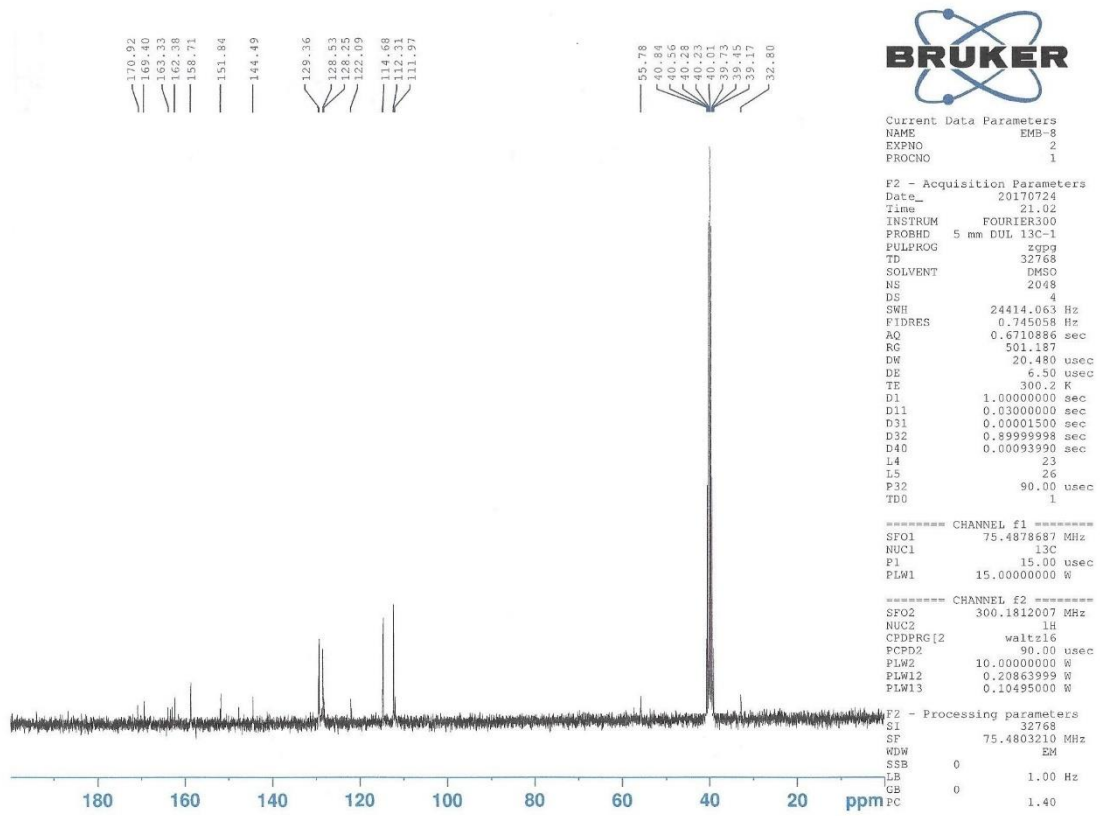
Şekil 5.41. Bileşik 3h'nin IR spektrumu

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): 2.96 (s, 6H), 3.75 (s, 3H), 4.49 (s, 2H), 6.73 (d, J = 8.91 Hz, 2H), 6.87 (d, J = 8.91 Hz, 2H), 7.55 (d, J = 8.88 Hz, 2H), 7.70 (d, J = 5.37 Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.17 (d, J = 8.88 Hz, 2H), 8.58 (d, J = 5.34 Hz, 1H), 11.31 (s, 1H) (Şekil 5.42).



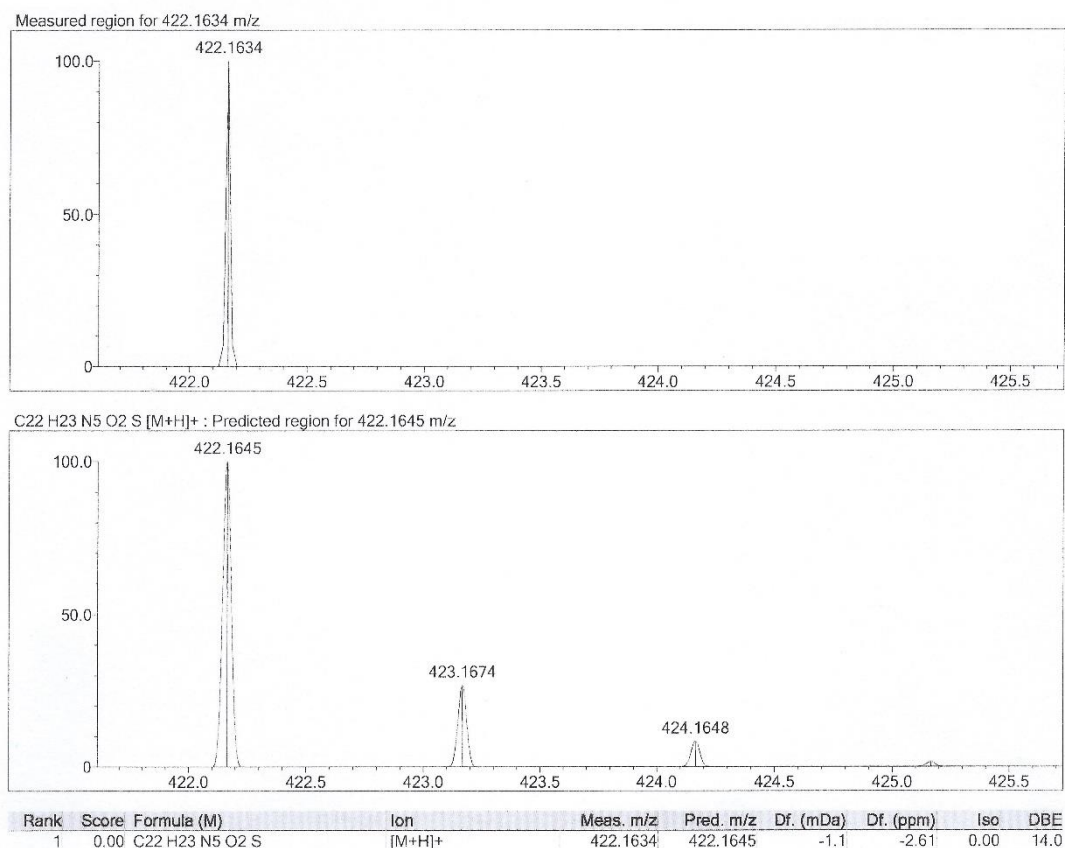
Şekil 5.42. Bileşik 3h'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 32.80 (CH_2), 40.23 (2CH_3), 55.78 (CH_3), 111.97 (CH), 112.31 (2CH), 114.68 (2CH), 122.09 (C), 128.25 (C), 128.53 (2CH), 129.36 (2CH), 144.49 (CH), 151.84 (C), 158.71 (CH), 162.38 (C), 163.33 (C), 169.40 (C), 170.92 (C) (Şekil 5.43).



Şekil 5.43. Bileşik 3h'nin ^{13}C NMR spektrumu

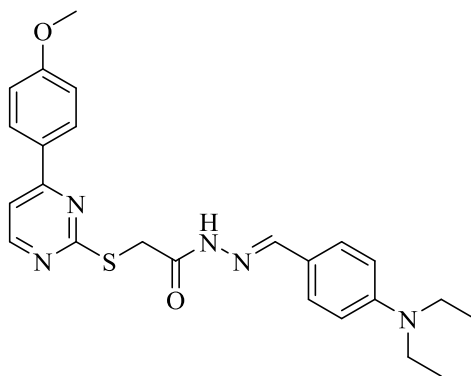
HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 422.1634 (Şekil 5.44).



Şekil 5.44. Bileşik 3h'nin kütle spektrumu

5.1.13. N'-(4-(Dietilamino)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3i)

2-[(4-(4-Metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3484 g) ve 4-dietilaminobenzaldehit (0.0012 mol; 0.2127 g) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.45).

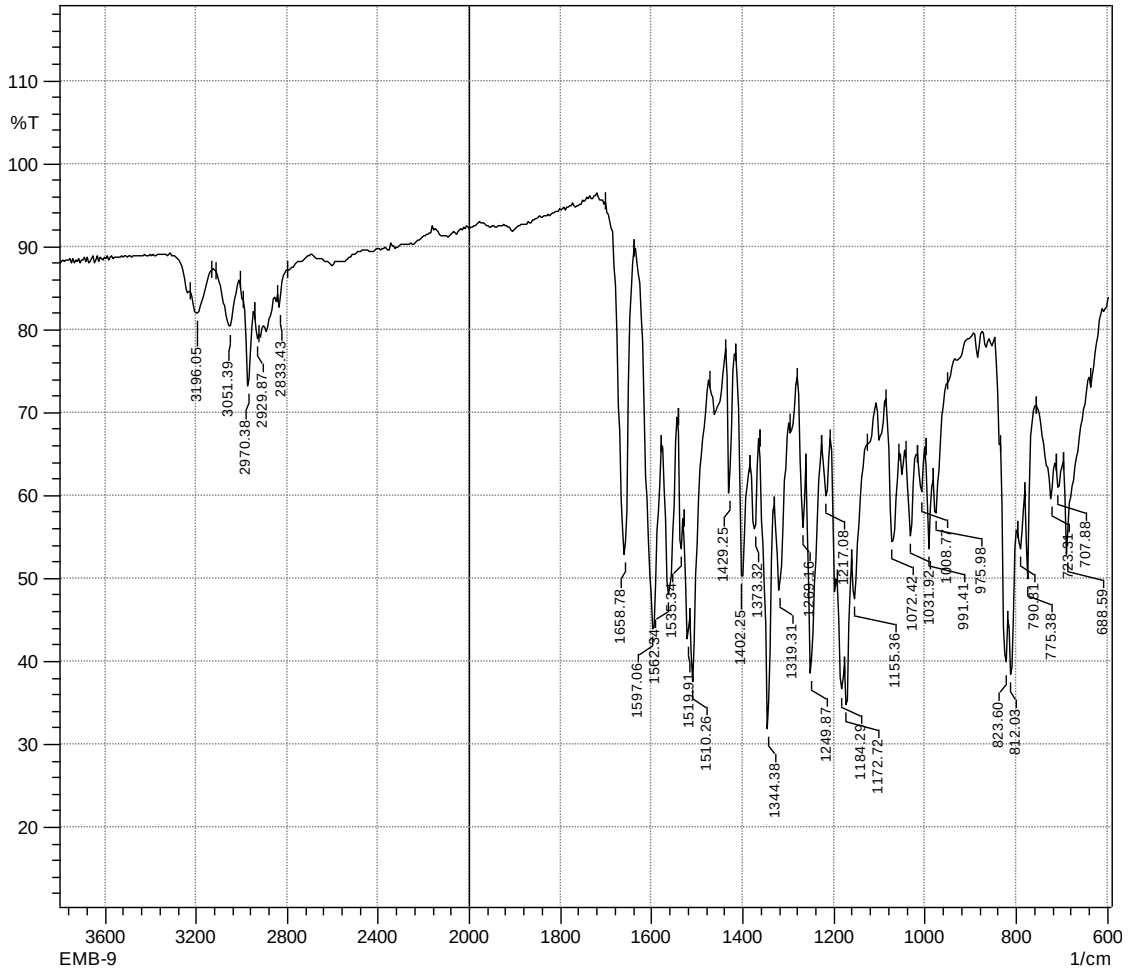


Şekil 5.45. Bileşik 3i

Verim : %87

E.N. : 189.9 °C

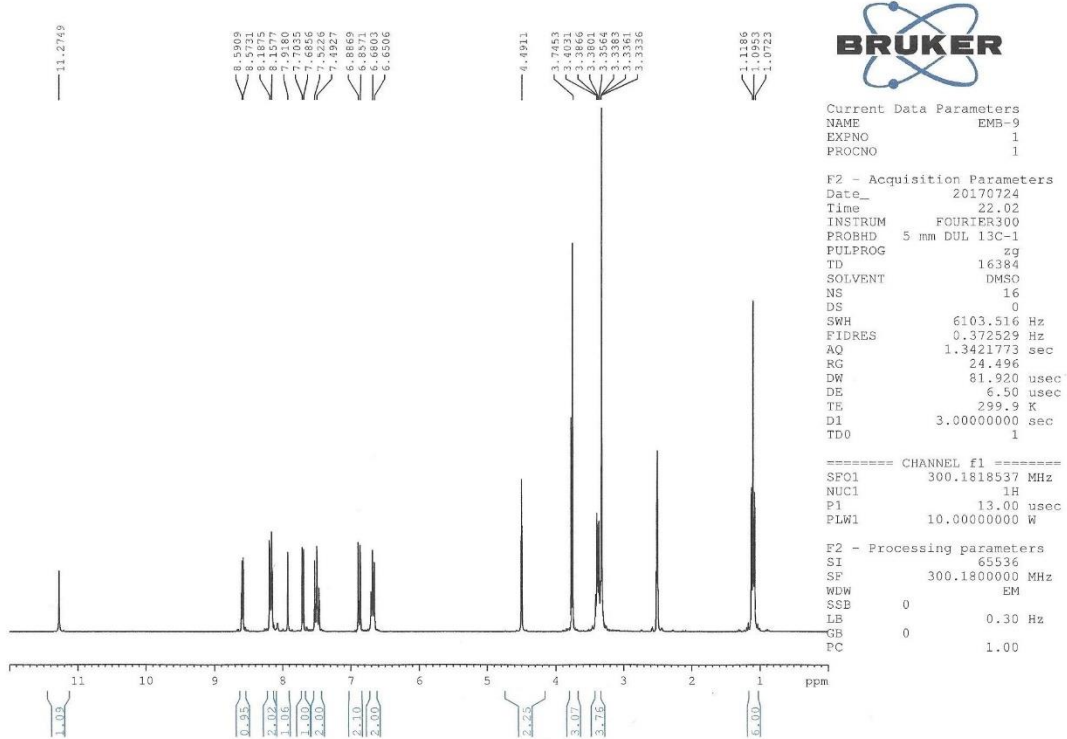
IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3196.05 (N-H gerilim bandı), 3051.39 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2970.38, 2929.87, 2833.43 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1658.78 (C=O gerilim bandı), 1597.06, 1562.34, 1535.34, 1519.91, 1510.26 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1429.25, 1402.25, 1373.32 (C-H eğilme bandları), 1344.38, 1319.31, 1269.16, 1249.87, 1217.08, 1184.29, 1172.72, 1155.36, 1072.42, 1031.92, 1008.77 (C-N, C-O gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 991.41, 975.98, 823.60, 812.03, 790.81, 775.38, 723.31, 707.88, 688.59 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.46).



Şekil 5.46. Bileşik 3i'nin IR spektrumu

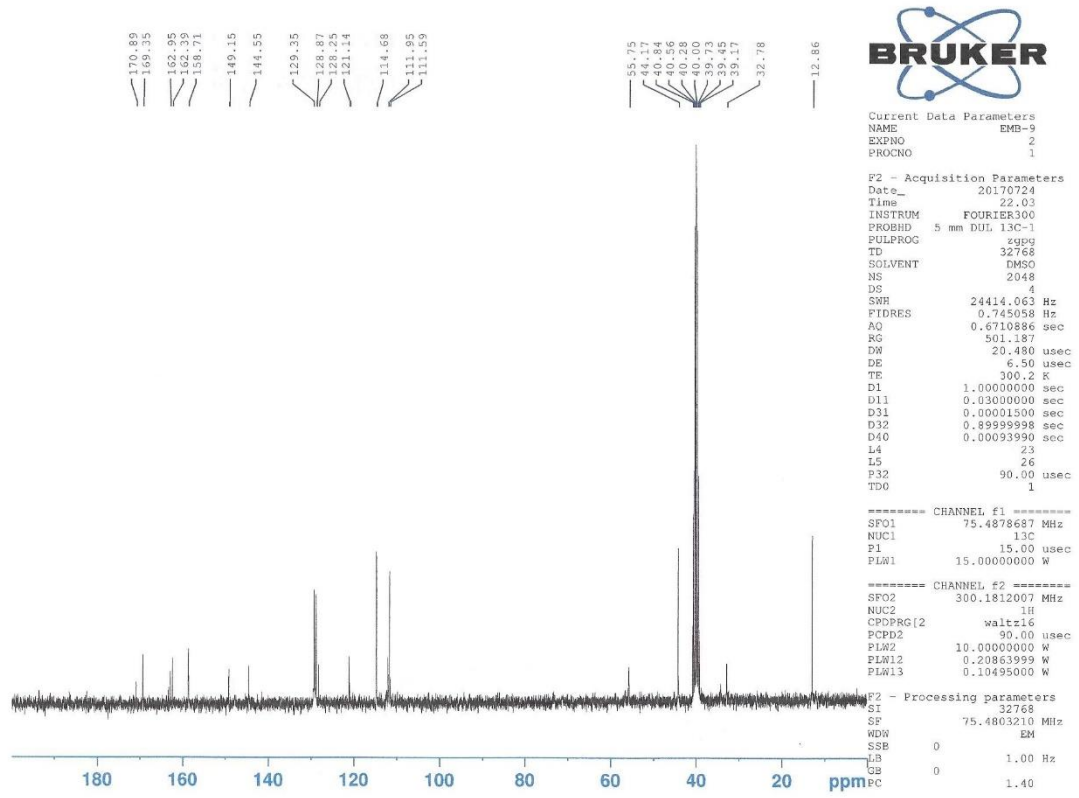
¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): 1.10 (t, J = 6.90 Hz, 6.99 Hz, 6H), 3.33-3.40 (m, 4H), 3.75 (s, 3H), 4.49 (s, 2H), 6.67 (d, J = 8.91 Hz, 2H), 6.87 (d, J = 8.94 Hz, 2H), 7.51

(d, $J = 8.97$ Hz, 2H), 7.69 (d, $J = 5.37$ Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 8.17 (d, $J = 8.94$ Hz, 2H), 8.58 (d, $J = 5.34$ Hz, 1H), 11.27 (s, 1H) (Şekil 5.47).



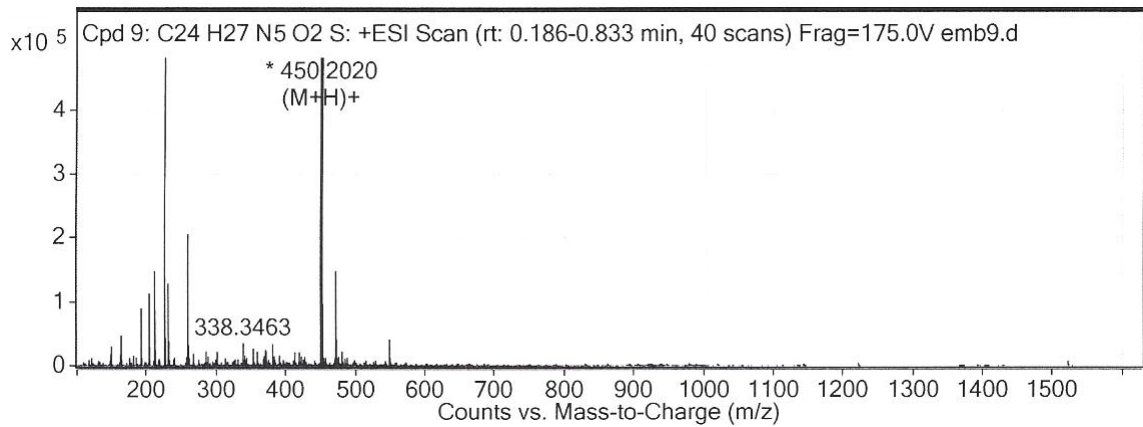
Şekil 5.47. Bileşik 3i'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 12.86 (2CH_3), 32.78 (CH_2), 44.17 (2CH_2), 55.75 (CH_3), 111.59 (2CH), 111.95 (CH), 114.68 (2CH), 121.14 (C), 128.25 (C), 128.87 (2CH), 129.35 (2CH), 144.55 (CH), 149.15 (C), 158.71 (CH), 162.39 (C), 162.95 (C), 169.35 (C), 170.89 (C) (Şekil 5.48).



Şekil 5.48. Bileşik 3i'nin ^{13}C NMR spektrumu

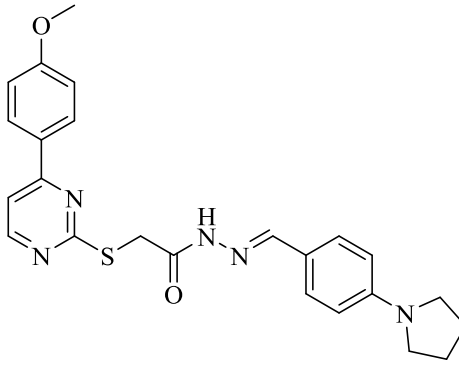
HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 450.2020 (Şekil 5.49).



Şekil 5.49. Bileşik 3i'nin kütle spektrumu

5.1.14. N'-(4-(Pirolidin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3j)

2-[(4-(4-Metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3484 g) ve 4-(1-pirolidinil)benzaldehit (0.0012 mol; 0.2103 g) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.50).

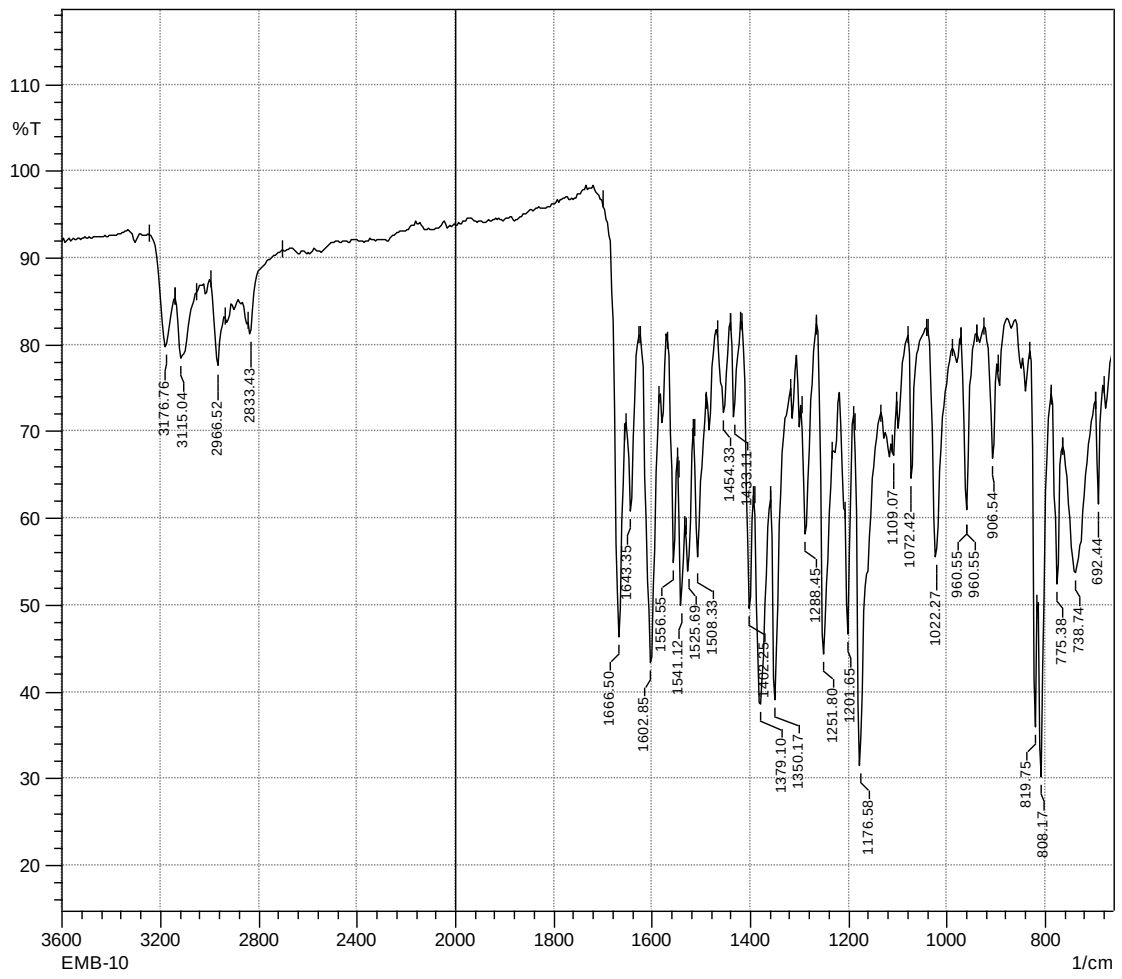


Şekil 5.50. Bileşik 3j

Verim : %80

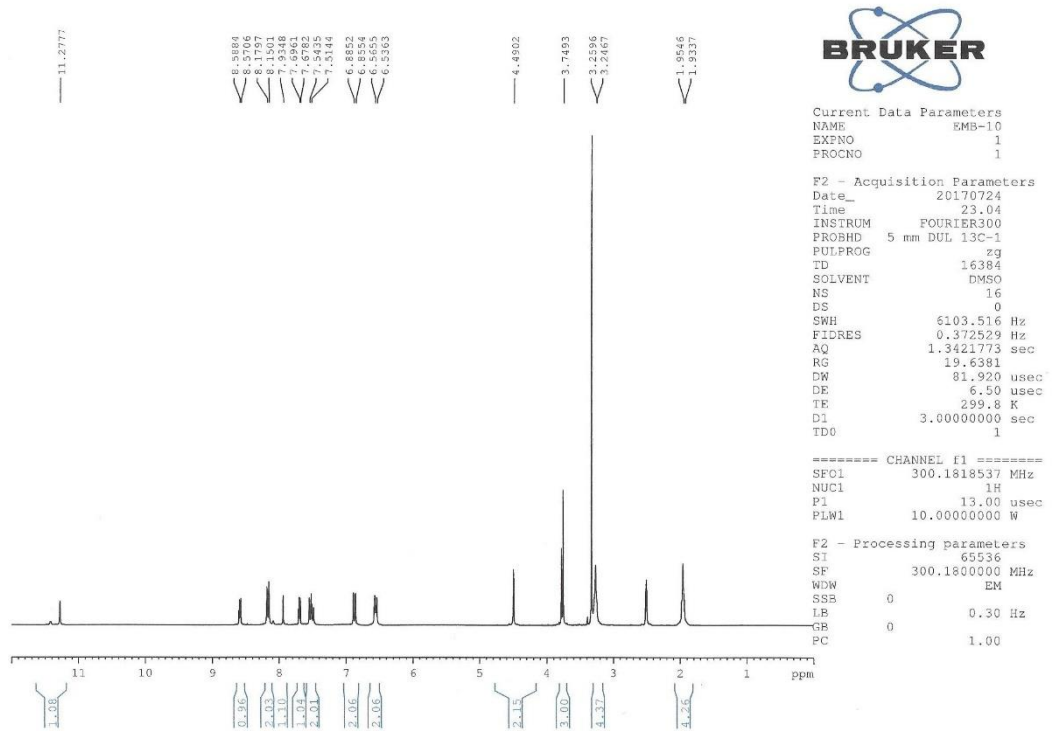
E.N : 236.4 °C

IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3176.76 (N-H gerilim bandı), 3115.04 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2966.52 (Alifatik C-H asimetrik gerilim bandı), 2833.43 (Alifatik C-H simetrik gerilim bandı), 1666.50 (C=O gerilim bandı), 1643.35, 1602.85, 1556.55, 1541.12, 1525.69, 1508.33, 1454.33 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1433.11, 1402.25, 1379.10, 1350.17 (C-H eğilme bandları), 1288.45, 1251.80, 1201.65, 1176.58, 1109.07, 1072.42, 1022.27 (C-N, C-O gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 960.55, 906.54, 819.75, 808.17, 775.38, 738.74, 692.44 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.51).



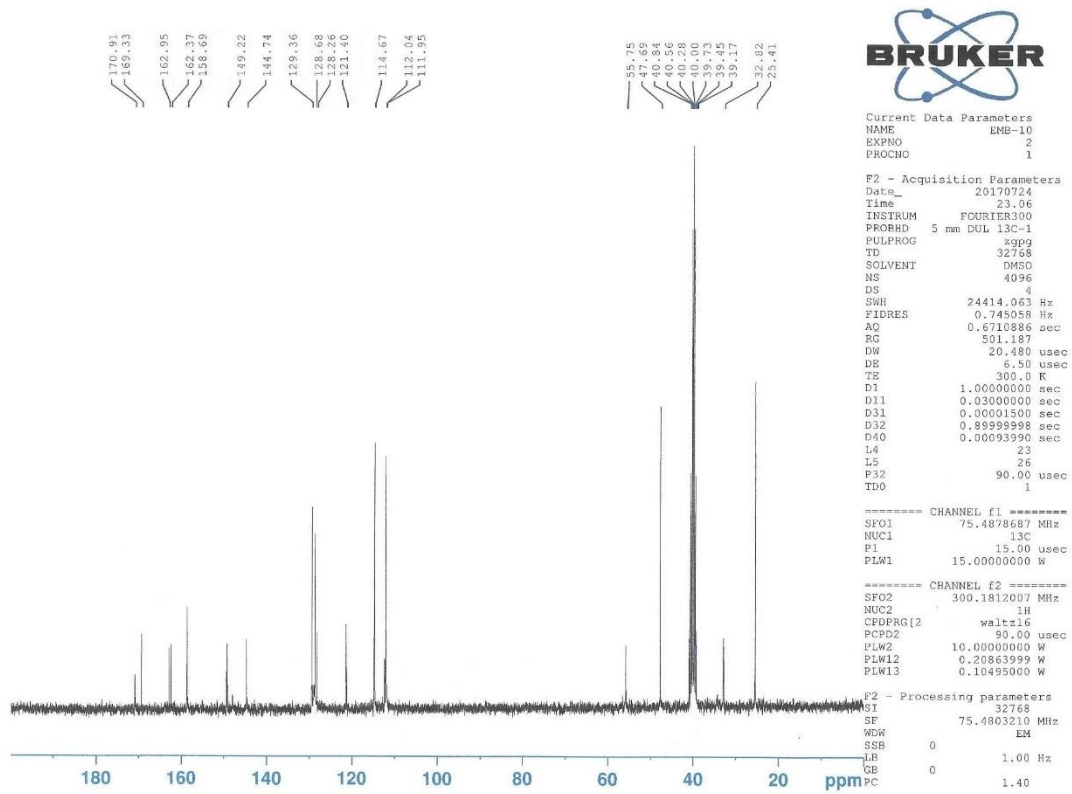
Şekil 5.51. Bileşik 3j'nin IR spektrumu

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 1.93-1.95 (m, 4H), 3.25-3.26 (m, 4H), 3.75 (s, 3H), 4.49 (s, 2H), 6.55 (d, $J = 8.76$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 8.94$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J = 8.73$ Hz, 2H), 7.69 (d, $J = 5.37$ Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 8.16 (d, $J = 8.88$ Hz, 2H), 8.58 (d, $J = 5.34$ Hz, 1H), 11.28 (s, 1H) (Şekil 5.52).



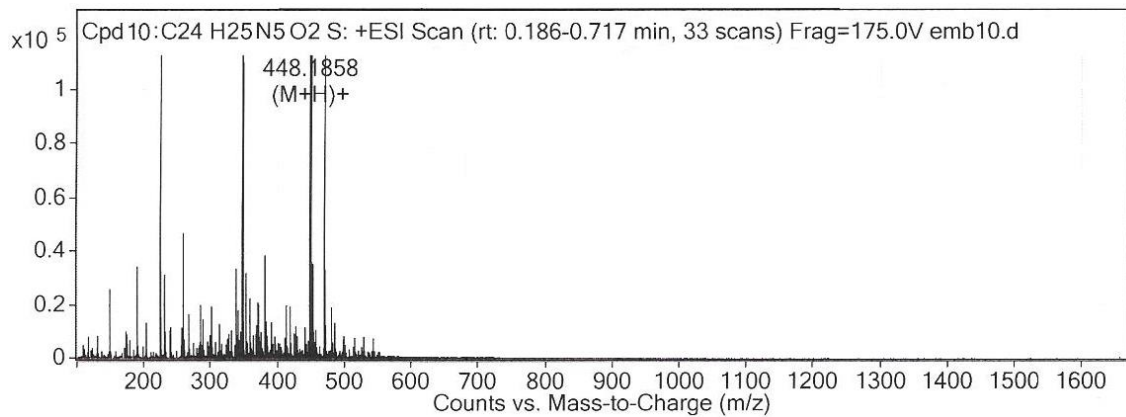
Şekil 5.52. Bileşik 3j'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 25.41 (2CH_2), 32.82 (CH_2), 47.69 (2CH_2), 55.75 (CH_3), 111.95 (CH), 112.04 (2CH), 114.67 (2CH), 121.40 (C), 128.26 (C), 128.68 (2CH), 129.36 (2CH), 144.74 (CH), 149.22 (C), 158.69 (CH), 162.37 (C), 162.95 (C), 169.33 (C), 170.91 (C) (Şekil 5.53).



Şekil 5.53. Bileşik 3j'nin ^{13}C NMR spektrumu

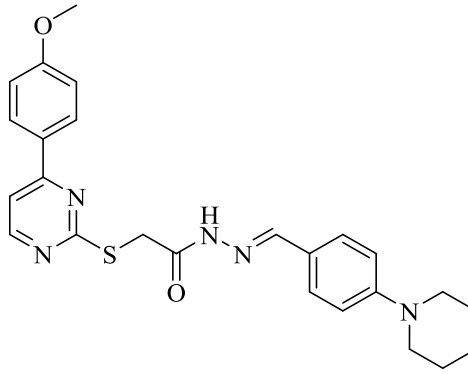
HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 448.1858 (Şekil 5.54).



Şekil 5.54. Bileşik 3j'nin kütle spektrumu

5.1.15. N'-(4-(Piperidin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3k)

2-[(4-(4-Metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3484 g) ve 4-(1-piperidinil)benzaldehit (0.0012 mol; 0.2271 g) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.55).

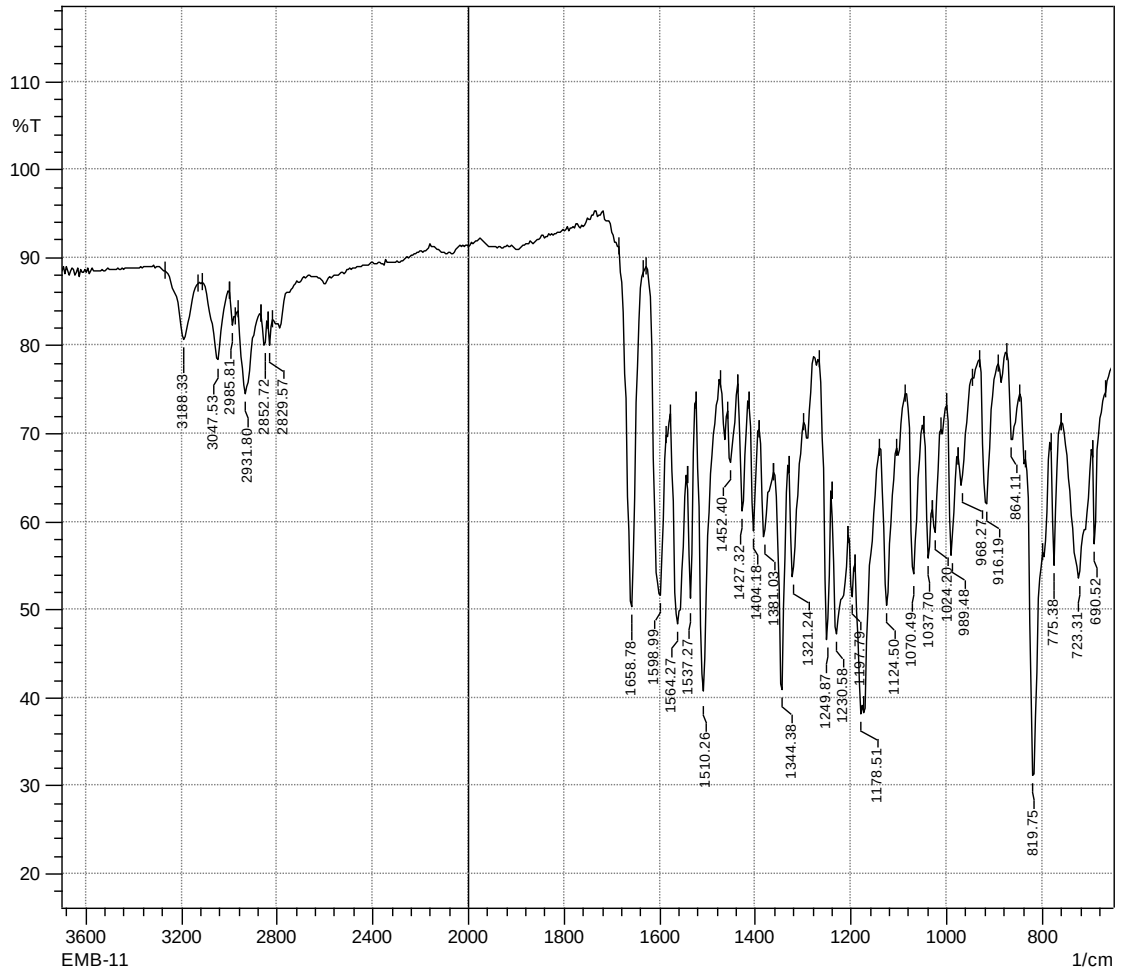


Şekil 5.55. Bileşik 3k

Verim : %86

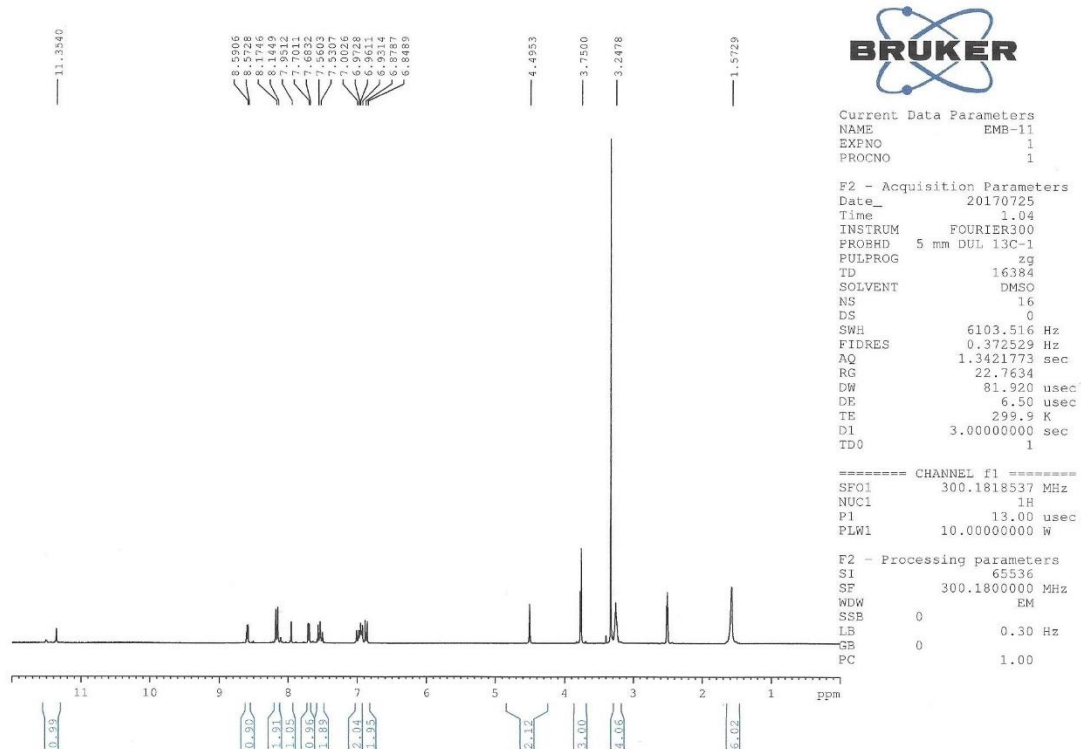
E.N. : 194.3 °C

IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3188.33 (N-H gerilim bandı), 3047.53 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2985.81, 2931.80, 2852.72, 2829.57 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1658.78 (C=O gerilim bandı), 1598.99, 1564.27, 1537.27, 1510.26, 1452.40 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1427.32, 1404.18, 1381.03 (C-H eğilme bandları), 1344.38, 1321.24, 1249.87, 1230.58, 1197.79, 1178.51, 1124.50, 1070.49, 1037.70, 1024.20 (C-N, C-O gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 989.48, 968.27, 916.19, 864.11, 819.75, 775.38, 723.31, 690.52 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.56).



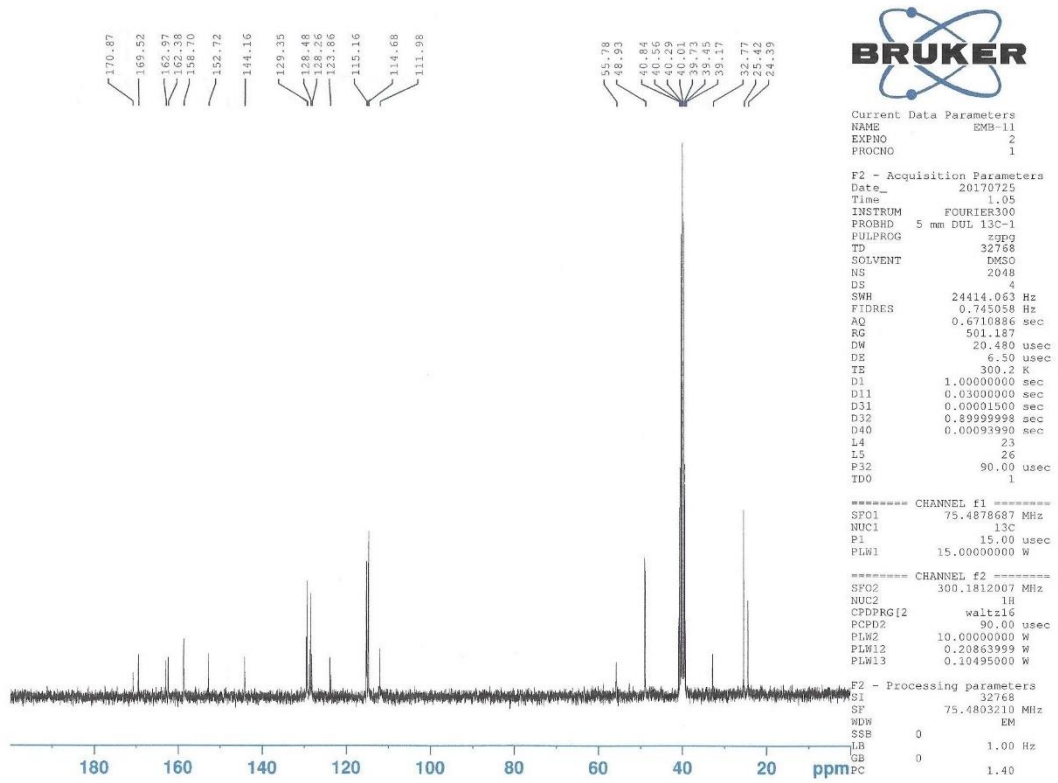
Şekil 5.56. Bileşik 3k'nin IR spektrumu

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 1.57 (brs, 6H), 3.25 (brs, 4H), 3.75 (s, 3H), 4.50 (s, 2H), 6.86 (d, $J = 8.94$ Hz, 2H), 6.93-7.00 (m, 2H), 7.55 (d, $J = 8.88$ Hz, 2H), 7.69 (d, $J = 5.37$ Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.16 (d, $J = 8.91$ Hz, 2H), 8.58 (d, $J = 5.34$ Hz, 1H), 11.35 (s, 1H) (Şekil 5.57).



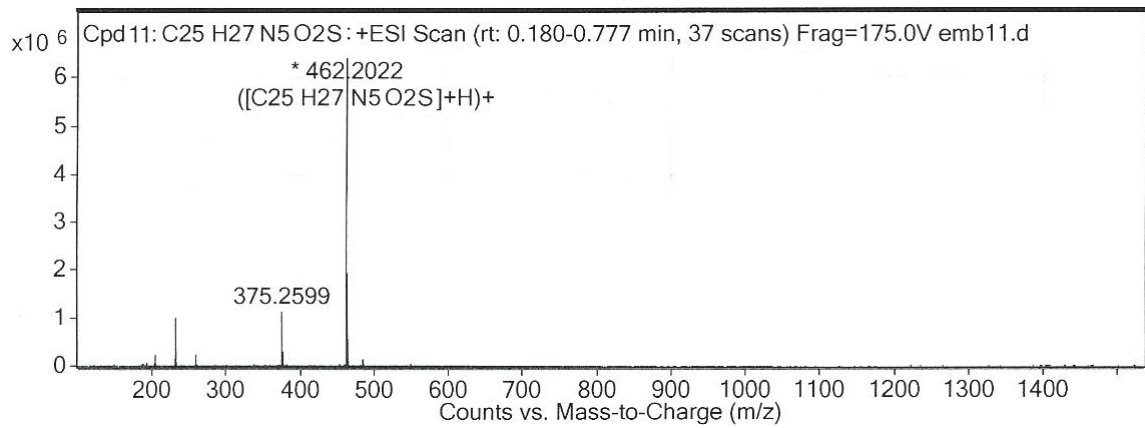
Şekil 5.57. Bileşik 3k'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 24.39 (CH_2), 25.42 (2CH_2), 32.77 (CH_2), 48.93 (2CH_2), 55.78 (CH_3), 111.98 (CH), 114.68 (2CH), 115.16 (2CH), 123.86 (C), 128.26 (C), 128.48 (2CH), 129.35 (2CH), 144.16 (CH), 152.72 (C), 158.70 (CH), 162.38 (C), 162.97 (C), 169.52 (C), 170.87 (C) (Şekil 5.58).



Şekil 5.58. Bileşik 3k'nin ^{13}C NMR spektrumu

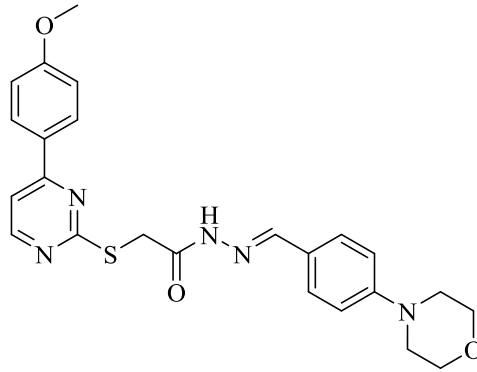
HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 462.2022 (Şekil 5.59).



Şekil 5.59. Bileşik 3k'nin kütle spektrumu

5.1.16. N'-(4-(Morfolin-4-il)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3I)

2-[(4-(4-Metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3484 g) ve 4-(4-morfolinil)benzaldehit (0.0012 mol; 0.2295 g) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.60).

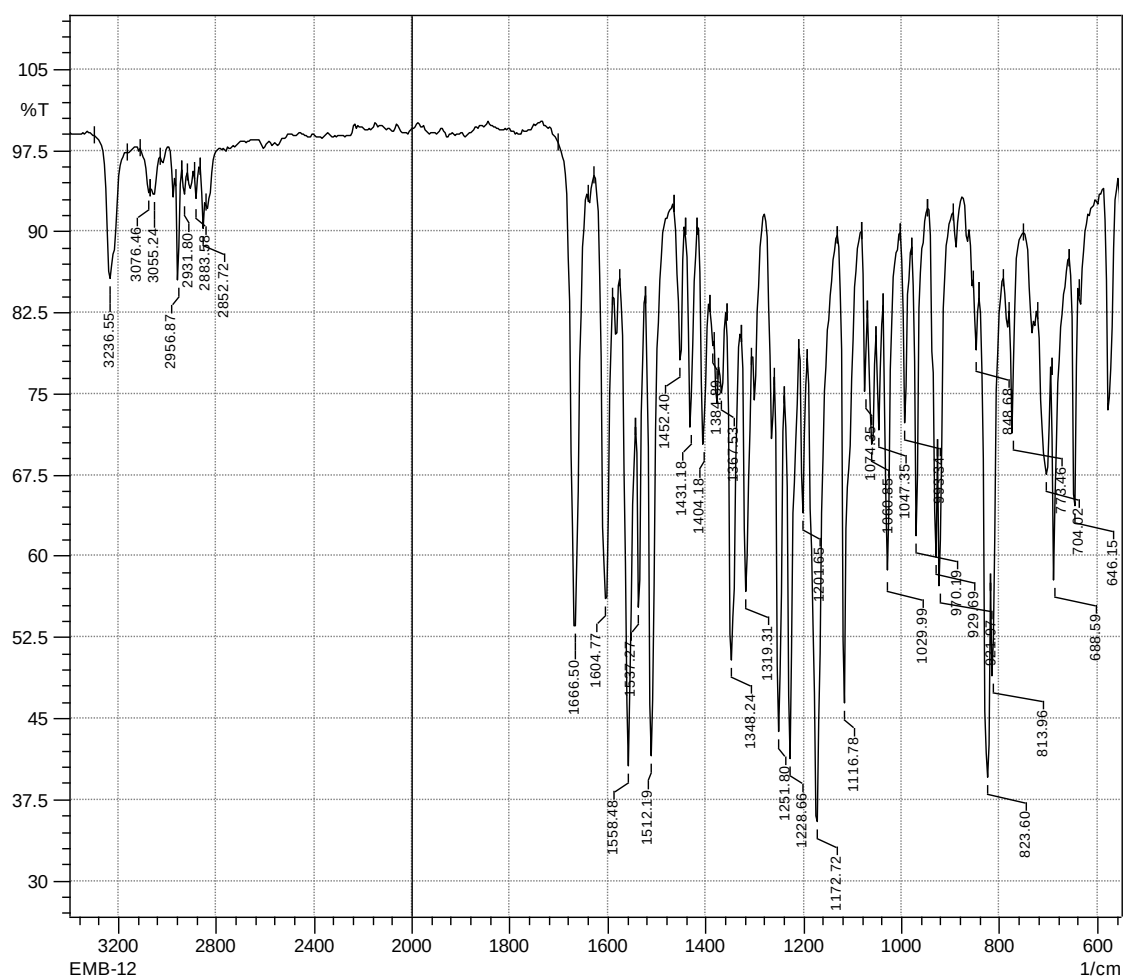


Şekil 5.60. Bileşik 3I

Verim : %93

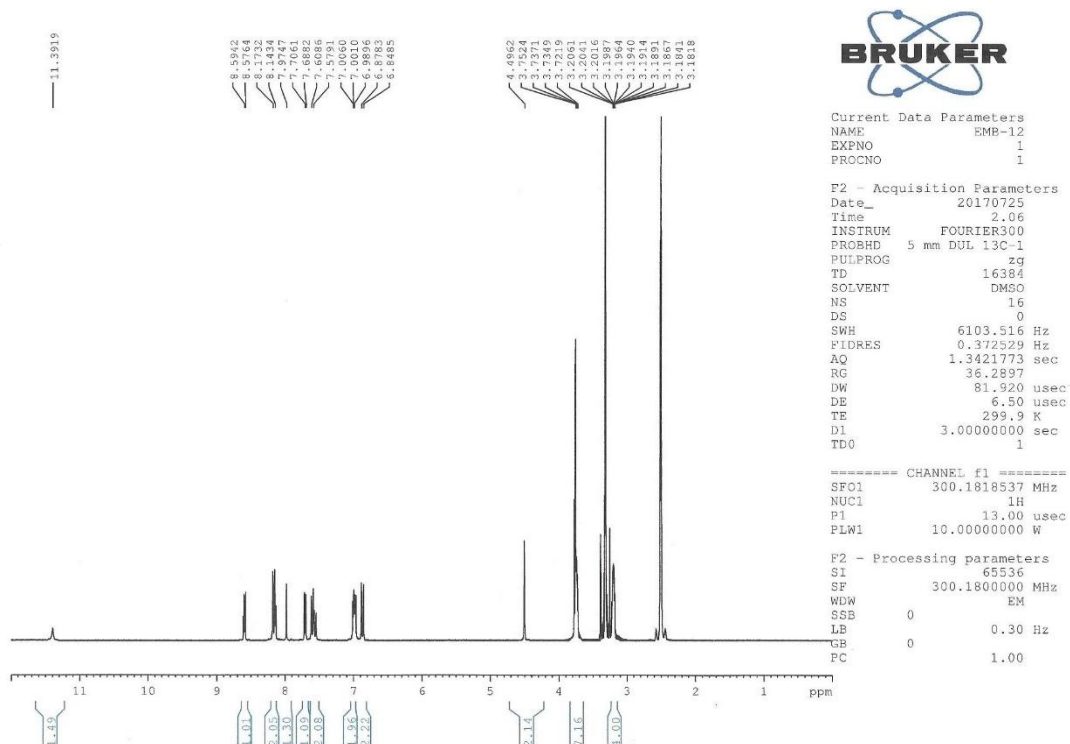
E.N. : 224.1 °C

IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3236.55 (N-H gerilim bandı), 3076.46, 3055.24 (Aromatik C-H gerilim bandları), 2956.87, 2931.80, 2883.58, 2852.72 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1666.50 (C=O gerilim bandı), 1604.77, 1558.48, 1537.27, 1512.19, 1452.40 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1431.18, 1404.18, 1384.89, 1367.53 (C-H eğilme bandları), 1348.24, 1319.31, 1251.80, 1228.66, 1201.65, 1172.72, 1116.78, 1074.35, 1060.85, 1047.35, 1029.99 (C-N, C-O gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 993.34, 970.19, 929.69, 921.97, 848.68, 823.60, 813.96, 773.46, 704.02, 688.59, 646.15 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.61).



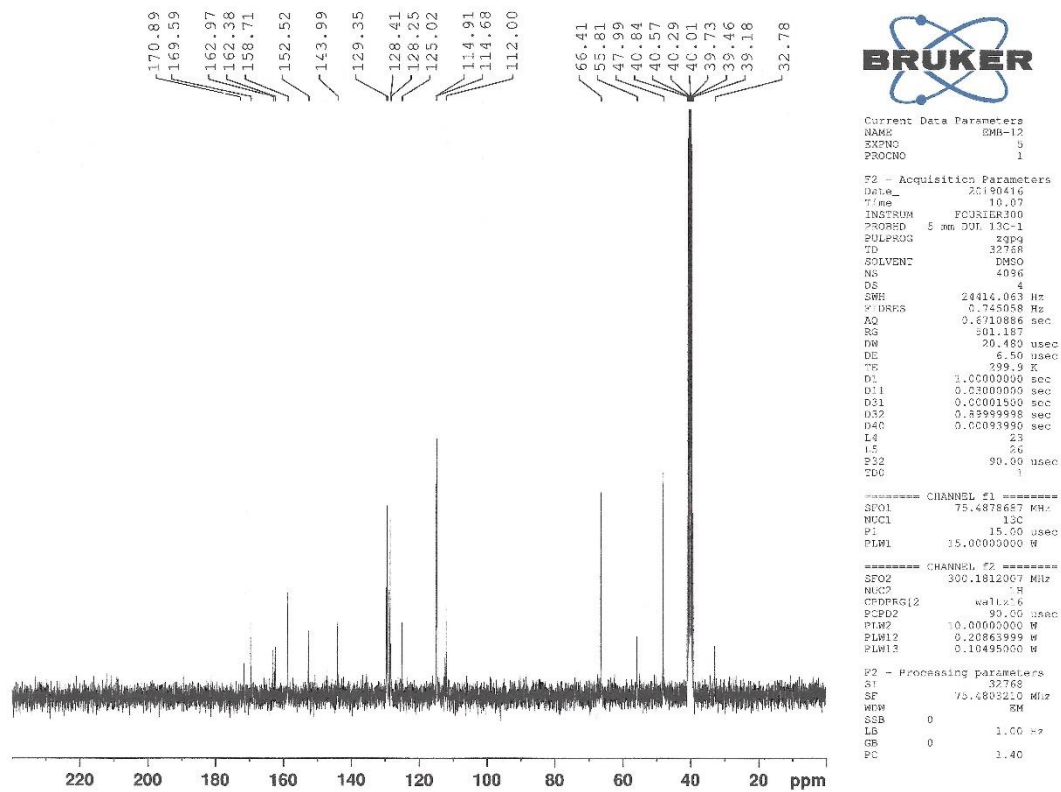
Şekil 5.61. Bileşik 3I'nin IR spektrumu

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 3.18-3.21 (m, 4H), 3.72-3.75 (m, 7H), 4.50 (s, 2H), 6.86 (d, $J = 8.94$ Hz, 2H), 6.99-7.01 (m, 2H), 7.59 (d, $J = 8.85$ Hz, 2H), 7.70 (d, $J = 5.37$ Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.16 (d, $J = 8.94$ Hz, 2H), 8.59 (d, $J = 5.34$ Hz, 1H), 11.39 (s, 1H) (Şekil 5.62).



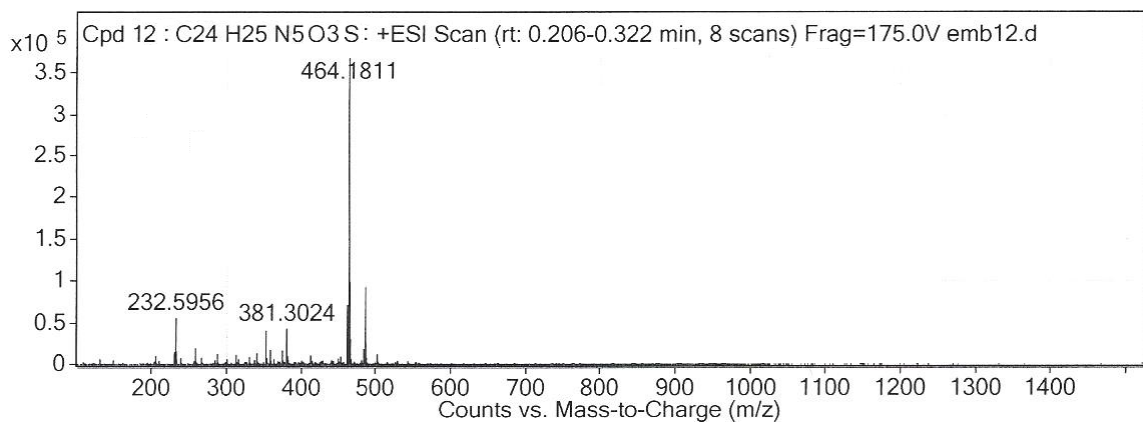
Şekil 5.62. Bileşik 3l'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 32.78 (CH_2), 47.99 (2CH_2), 55.81 (CH_3), 66.41 (2CH_2), 112.00 (CH), 114.68 (2CH), 114.91 (2CH), 125.02 (C), 128.25 (C), 128.41 (2CH), 129.35 (2CH), 143.99 (CH), 152.52 (C), 158.71 (CH), 162.38 (C), 162.97 (C), 169.59 (C), 170.89 (C) (Şekil 5.63).



Şekil 5.63. Bileşik 3I'nin ^{13}C NMR spektrumu

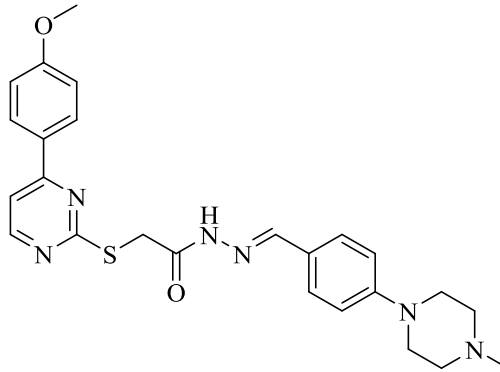
HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 464.1811 (Şekil 5.64).



Şekil 5.64. Bileşik 3I'nin kütle spektrumu

5.1.17. N'-(4-(4-Metilpiperazin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (3m)

2-[(4-(4-Metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit (0.0012 mol; 0.3484 g) ve 4-(4-metilpiperazin-1-il)benzaldehit (0.0012 mol; 0.2451 g) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Şekil 5.65).

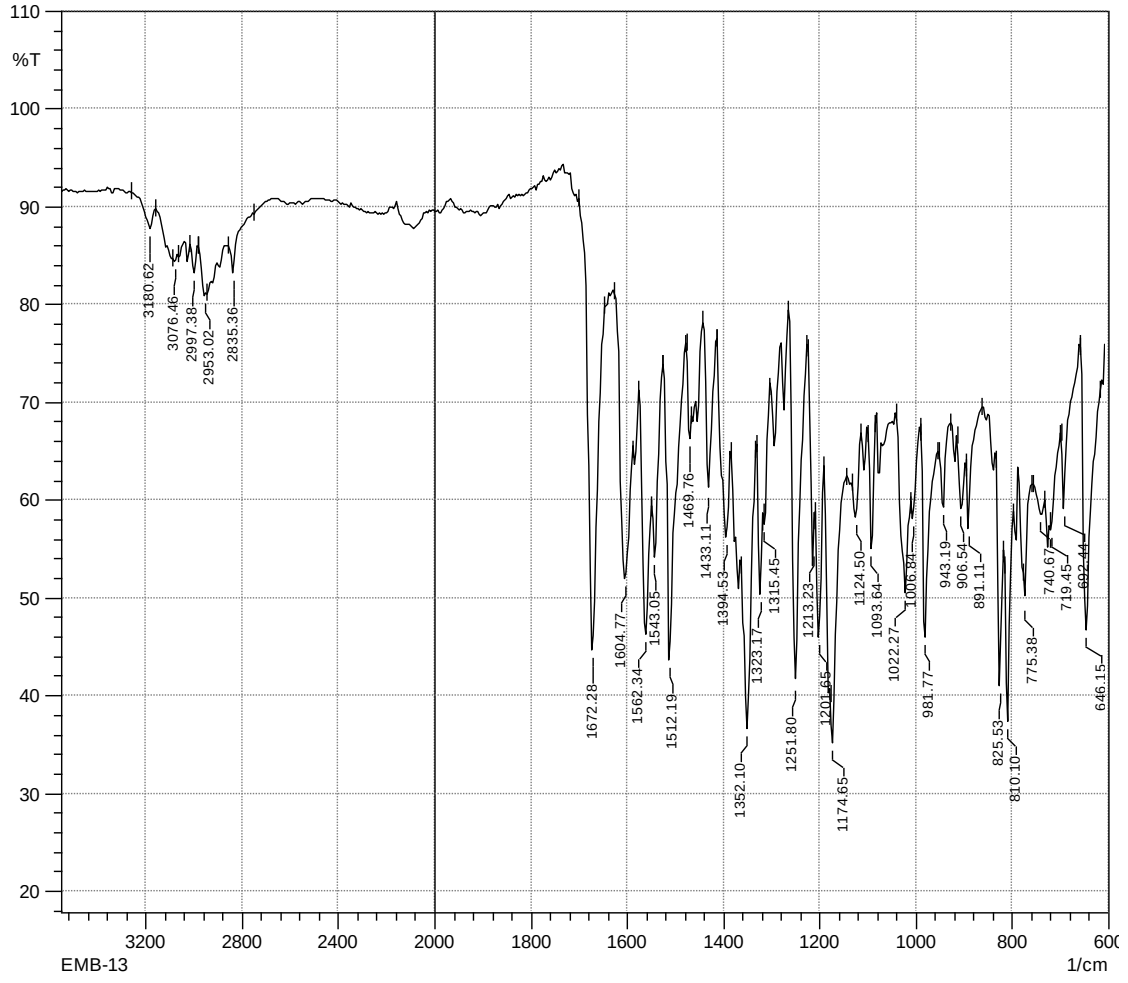


Şekil 5.65. Bileşik 3m

Verim : %80

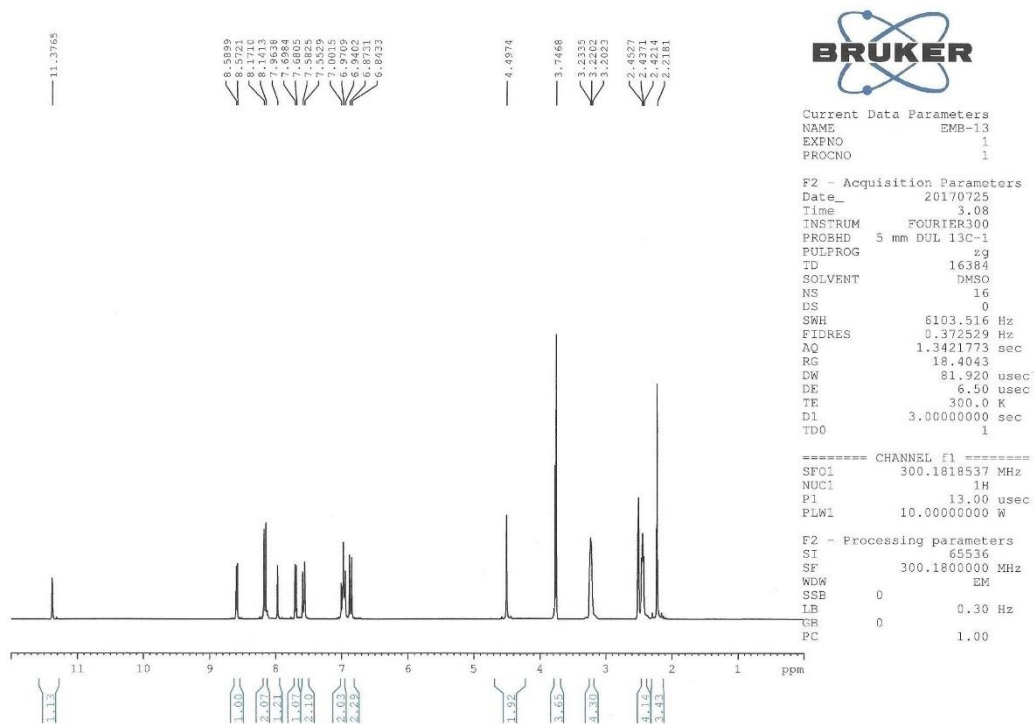
E.N. : 201.4 °C

IR $\nu_{\max}$ (cm^{-1}): 3180.62 (N-H gerilim bandı), 3076.46 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2997.38, 2953.02, 2835.36 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1672.28 (C=O gerilim bandı), 1604.77, 1562.34, 1543.05, 1512.19, 1469.76 (N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları), 1433.11, 1394.53, 1352.10 (C-H eğilme bandları), 1323.17, 1315.45, 1251.80, 1213.23, 1201.65, 1174.65, 1124.50, 1093.64, 1022.27, 1006.84 (C-N, C-O gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları), 981.77, 943.19, 906.54, 891.11, 825.53, 810.10, 775.38, 740.67, 719.45, 692.44, 646.15 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları ve C-S gerilim bandı) (Şekil 5.66).



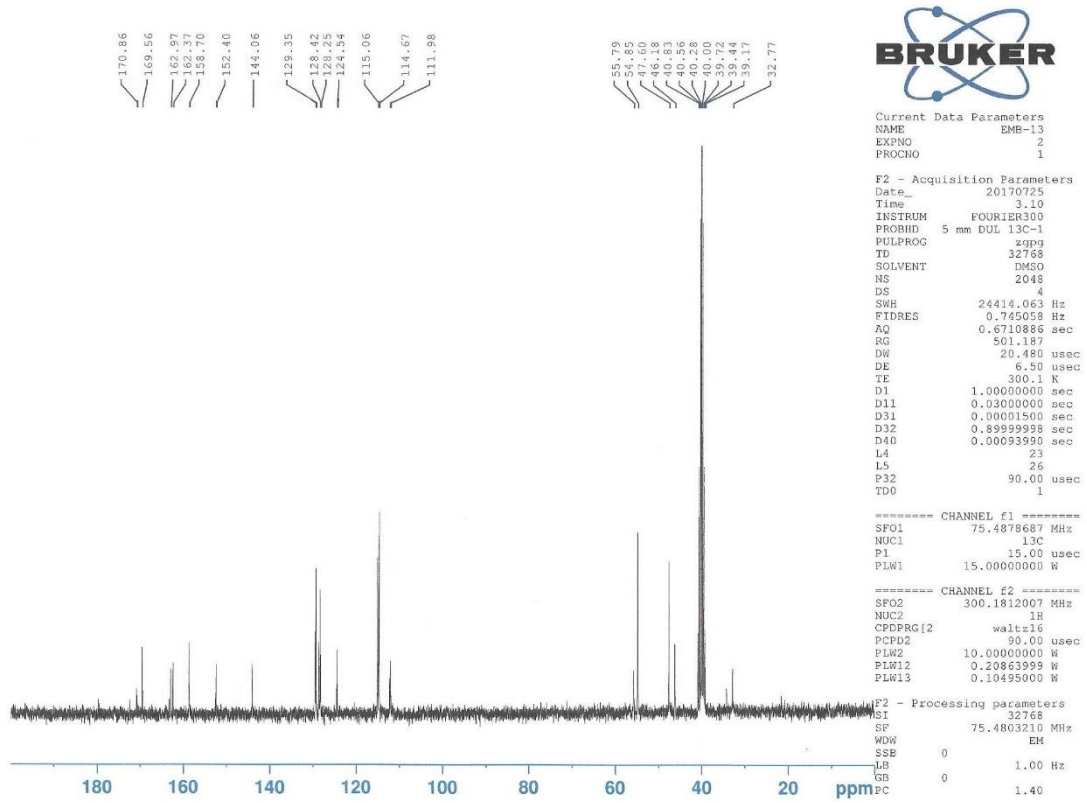
Şekil 5.66. Bileşik 3m'nin IR spektrumu

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 2.22 (s, 3H), 2.44 (t, $J = 4.68$ Hz, 4.71 Hz, 4H), 3.20-3.23 (m, 4H), 3.75 (s, 3H), 4.50 (s, 2H), 6.86 (d, $J = 8.94$ Hz, 2H), 6.94-7.00 (m, 2H), 7.57 (d, $J = 8.88$ Hz, 2H), 7.69 (d, $J = 5.37$ Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 8.16 (d, $J = 8.91$ Hz, 2H), 8.58 (d, $J = 5.34$ Hz, 1H), 11.38 (s, 1H) (Şekil 5.67).



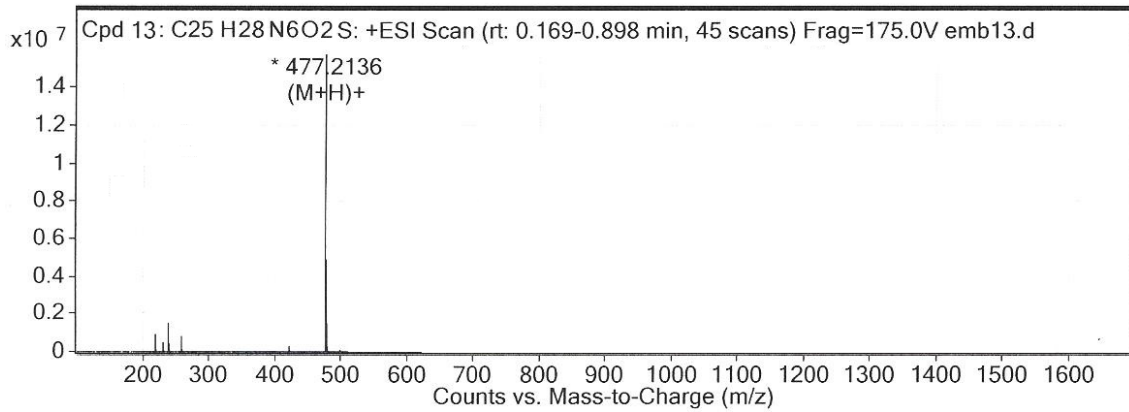
Şekil 5.67. Bileşik 3m 'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 32.77 (CH_2), 46.18 (CH_3), 47.60 (2CH_2), 54.85 (2CH_2), 55.79 (CH_3), 111.98 (CH), 114.67 (2CH), 115.06 (2CH), 124.54 (C), 128.25 (C), 128.42 (2CH), 129.35 (2CH), 144.06 (CH), 152.40 (C), 158.70 (CH), 162.37 (C), 162.97 (C), 169.56 (C), 170.86 (C) (Şekil 5.68).



Şekil 5.68. Bileşik 3m'nin ^{13}C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 477.2136 (Şekil 5.69).

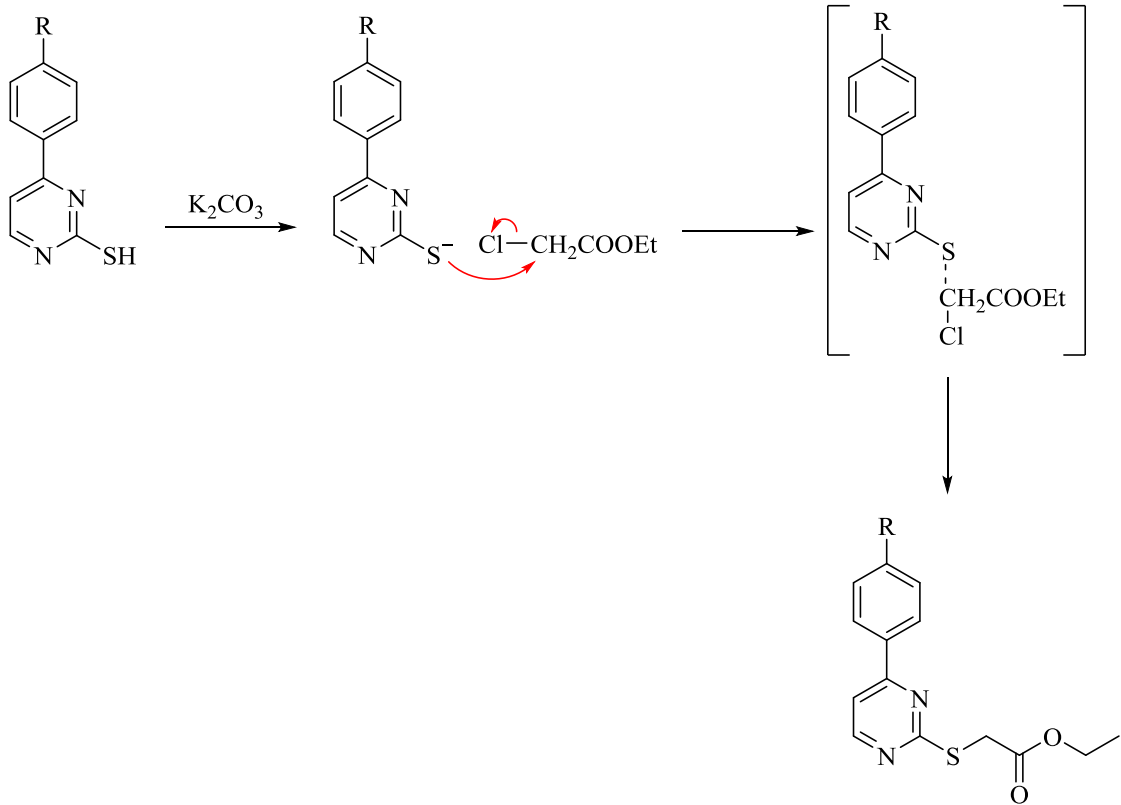


Şekil 5.69. Bileşik 3m'nin kütle spektrumu

5.2. Uygulanan Sentez Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

5.2.1. Etil 2-(ariltiyo)asetat türevlerinin elde edilişi

Organik halojenürlerin tiyoller ile tepkimesi, organik kimyada çok kullanılan nükleofilik yer değiştirme tepkimelerinden biridir. Genellikle bu tür reaksiyonların gerçekleşebilmesi için, tiyol grubunun nükleofilik özelliğini artıran bir baza ihtiyaç vardır. Bu çalışmada, baz olarak reaksiyona giren maddelere eşdeğer miktarda potasyum karbonat kullanılmıştır. Çözücü olarak susuz aseton tercih edilmiştir. Reaksiyon 12 saat geri çeviren soğutucuda kaynatılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.70). Bu süre sonunda çözücü uçurulmuş ve kalan kütle suda çözülerek baz artığından temizlenmiş ve sonra eter ile ekstre edilmiştir. Eterli tabaka, susuz sodyum sülfat ile muamele edildikten sonra eter ortamdan uzaklaştırılmıştır.

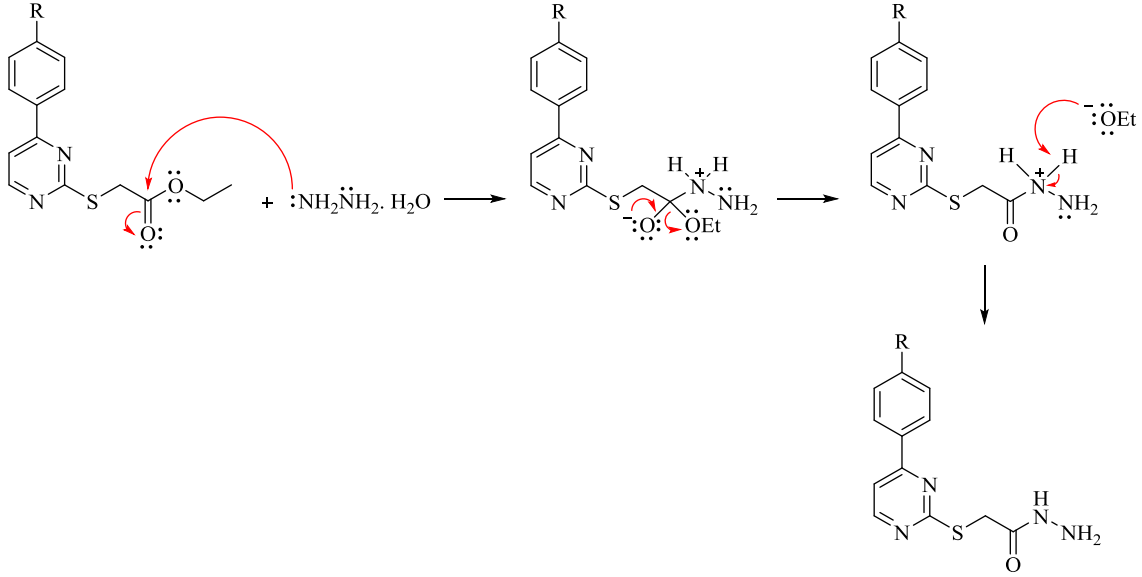


Şekil 5.70. Etil 2-(ariltiyo)asetat türevlerinin elde edilişi için önerilen mekanizma

5.2.2. 2-(Ariltiyo)asetohidrazit türevlerinin elde edilişi

Esterler karbonil karbonu üzerinden hidrazin hidrat ile nükleofilik katılma-ayrılma tepkimeleri verirler.

2-(Ariltilyo)asetohidrazit türevlerinin sentezinde, hidrazin hidratın nükleofilik azot atomu kısmi pozitif yük taşıyan karbonil karbonuna atak etmiştir. Bu katılmayı EtOH'ın ayrılması izlemiştir (Şekil 5.71).

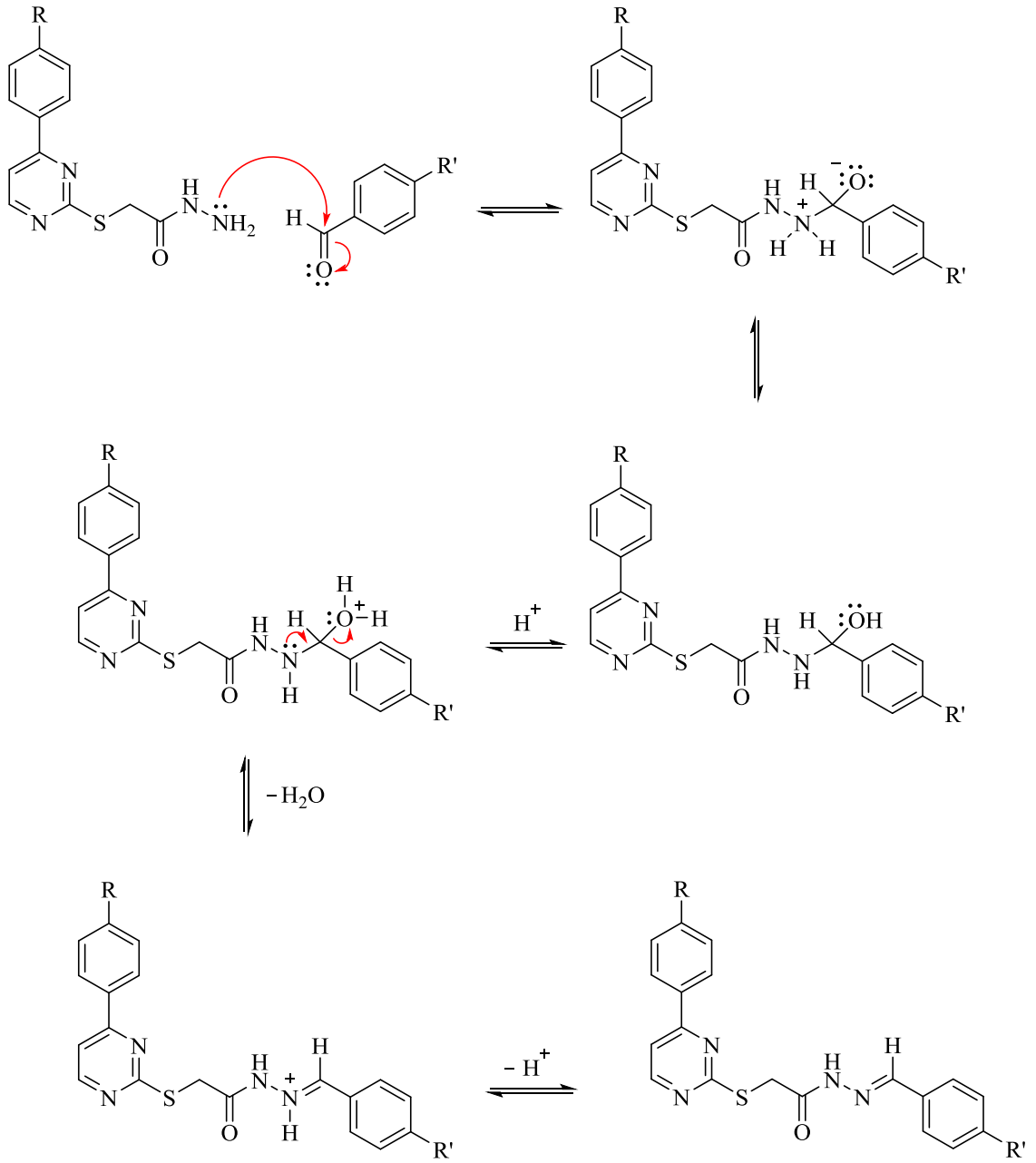


Şekil 5.71. 2-(Ariltilyo)asetohidrazit türevlerinin elde edilişi için önerilen mekanizma

5.2.3. N'-(Ariliden)-2-(ariltilyo)asetohidrazit türevlerinin elde edilişi

Hidrazonlar, süstitüe hidrazin/hidrazitlerin aldehit veya ketonlarla katılma-ayrılma tepkimesi sonucu elde edilmektedir.

N'-(Ariliden)-2-(ariltilyo)asetohidrazit türevlerinin sentezi iki basamakta gerçekleşmiştir. İlk basamak, hidrazitin nükleofilik azot atomunun kısmi pozitif yük taşıyan karbonil karbonuna katılması, sonra azotun bir proton kaybetmesi ve oksijene bir proton bağlanmasıdır. Son basamakta ise, protonlanmış olan OH grubu su olarak ayrılmıştır (Şekil 5.72).



Şekil 5.72. *N'*-(Ariden)-2-(ariltiyo)asetohidrazit türevlerinin elde edilişi için önerilen mekanizma

5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

5.3.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sonuç bileşiklerinin (**3a-m**) IR spektrumları incelendiğinde, bileşiklerin sahip oldukları fonksiyonel gruplara ait karakteristik bandlar görülmektedir. Hidrazon grubuna ait N-H gerilim bandları $3236.55\text{--}3172.90\text{ cm}^{-1}$ 'de, C=O gerilim bandları ise $1687.71\text{--}1651.07\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenmiştir.

Aromatik ve alifatik C-H gerilim bandları sırasıyla 3115.04-3005.10 cm^{-1} 'de ve 2997.38-2791.00 cm^{-1} 'de gözlemlenirken, N-H eğilme, C=N ve C=C gerilim bandları 1668.43-1450.47 cm^{-1} 'de, C-H eğilme bandları 1446.61-1350.17 cm^{-1} 'de, aromatik C-H düzlem dışı eğilme ve C-S gerilim bandları 993.34-646.15 cm^{-1} 'de kaydedilmiştir. **3a-e** kodlu bileşiklerin IR spektrumlarında, C-N gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları 1348.24-1004.91 cm^{-1} 'de; **3f-m** kodlu bileşiklerin IR spektrumlarında, C-N, C-O gerilim ve aromatik C-H düzlem içi eğilme bandları 1348.24-1006.84 cm^{-1} 'de gözlemlenmiştir.

5.3.2. ^1H NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sonuç bileşiklerinin (**3a-m**) ^1H NMR spektrumlarında, S-CH₂ protonları 4.49-4.53 ppm aralığında singlet olarak gözlemlenmiştir. Hidrazon yapısına ait N-H protonu 11.27-11.62 ppm aralığında singlet; CH=N protonu ise 7.91-8.09 ppm aralığında singlet olarak saptanmıştır.

Pirimidin halkasının altıncı konumuna bağlı proton 8.58-8.69 ppm arasında dublet, beşinci konumuna bağlı proton 7.69-7.81 ppm arasında dublet olarak saptanmıştır. Aromatik protonlar ise 6.55-8.22 ppm aralığında gözlemlenmiştir.

3g-m kodlu bileşiklerin ^1H NMR spektrumlarında, metoksi grubuna ait protonlar 3.75 ppm'de singlet olarak gözlemlenmiştir.

Dimetilamino grubu taşıyan **3b** ve **3h** kodlu bileşiklerin ^1H NMR spektrumlarında, metil grubuna ait protonlar 2.96 ppm'de singlet; dietilamino grubu taşıyan **3c** ve **3i** kodlu bileşiklerin ^1H NMR spektrumlarında, metil protonları 1.10 ppm'de triplet, N-CH₂ protonları 3.33-3.41 ppm aralığında multipler olarak gözlemlenmiştir.

Pirolidin halkası taşıyan **3d** ve **3j** kodlu bileşiklerin ^1H NMR spektrumlarında, pirolidin halkasının 3. ve 4. konumlarına bağlı protonlar 1.93-1.98 ppm aralığında; 2. ve 5. konumlarına bağlı protonlar 3.25-3.29 ppm aralığında multipler olarak saptanmıştır. Piperidin halkası taşıyan **3e** ve **3k** kodlu bileşiklerin ^1H NMR spektrumlarında, piperidin halkasının 3., 4. ve 5. konumlarına bağlı protonlar 1.57 ppm'de yayvan singlet olarak gözlemlenirken; 2. ve 6. konumlarına bağlı protonlar 3.24-3.26 ppm aralığında pik vermiştir. Morfolin halkası taşıyan **3f** ve **3l** kodlu bileşiklerin ^1H NMR spektrumlarında, 3. ve 5. konumuna bağlı protonlar 3.18-3.21 ppm aralığında; 2. ve 6. konumlarına bağlı protonlar 3.72-3.75 ppm aralığında gözlemlenmiştir. Piperazin halkası taşıyan **3m** kodlu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda, piperazin halkasının 4. konumuna bağlı metil grubuna

ait protonlar 2.22 ppm'de singlet, piperazin halkasının 3. ve 5. konumlarına bağlı protonlar 2.44 ppm'de triplet, 2. ve 6. konumlarına bağlı protonlar 3.20-3.23 ppm aralığında multipler olarak kaydedilmiştir.

5.3.3. ^{13}C NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sonuç bileşiklerinin (**3a-m**) ^{13}C NMR spektrumlarında, S-CH₂ karbon piki 32.77-32.94 ppm; CH=N karbon piki 143.69-144.79 ppm ve karbonil karbonuna ait pik ise 169.20-170.02 ppm aralığında gözlemlenmiştir.

Pirimidin halkasının 5. konumundaki karbon 111.95-112.96 ppm, 6. konumundaki karbon 158.69-159.33 ppm, 2. konumundaki karbon ise 170.78-171.32 ppm aralığında pik vermiştir. Diğer heteroaromatik ve aromatik karbonlara ait pikler ise 111.59-163.33 ppm aralığında gözlemlenmiştir.

3g-m kodlu bileşiklerin ^{13}C NMR spektrumlarında, metoksi karbonuna ait pik 55.75-55.81 ppm aralığında gözlemlenmiştir.

Dimetilamino grubu taşıyan **3b** ve **3h** kodlu bileşiklerin ^{13}C NMR spektrumlarında, metil karbonu 40.23 ppm'de; dietilamino grubu taşıyan **3c** ve **3i** kodlu bileşiklerin ^{13}C NMR spektrumlarında, metil karbonu 12.86-12.87 ppm'de, N-CH₂ karbonu 44.17-44.20 ppm aralığında pik vermiştir.

Pirolidin halkası taşıyan **3d** ve **3j** kodlu bileşiklerin ^{13}C NMR spektrumlarında, pirolidin halkasının 3. ve 4. konumlarındaki karbonlara ait pik 25.41 ppm'de; 2. ve 5. konumlarındaki karbonlara ait pik 47.69-47.70 ppm aralığında saptanmıştır. Piperidin halkası taşıyan **3e** ve **3k** kodlu bileşiklerin ^{13}C NMR spektrumlarında, piperidin halkasının 4. konumundaki karbon 24.39-24.40 ppm, 3. ve 5. konumlarındaki karbonlar 25.38-25.42 ppm, 2. ve 6. konumlarındaki karbonlar ise 48.93-48.95 ppm aralığında pik vermiştir. Morfolin halkası taşıyan **3f** ve **3l** kodlu bileşiklerin ^{13}C NMR spektrumlarında, 3. ve 5. konumlarındaki karbonlara ait pik 47.99-48.01 ppm, 2. ve 6. konumlarındaki karbonlara ait pik 66.40-66.41 ppm aralığında gözlemlenmiştir. Piperazin halkası taşıyan **3m** kodlu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda, piperazin halkasının 4. konumuna bağlı metil karbonu 46.18 ppm'de, piperazin halkasının 3. ve 5. konumlarındaki karbonlar 47.60 ppm'de, 2. ve 6. konumundaki karbonlar 54.85 ppm'de pik vermiştir.

5.3.4. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi

Sonuç bileşiklerinin kütle spektrumları ESI tekniği ile analiz edilmiştir. Tüm bileşiklerin (**3a-3m**) kütle spektrumlarında, M+1 pikleri tespit edilmiştir.

5.4. *In Vitro* Çalışma Sonuçlarının Değerlendirilmesi

5.4.1. MTT deneyi sonuçlarının değerlendirilmesi

MTT Sonuçları, **3a**, **3d**, **3g** ve **3j** kodlu bileşiklerin 5RP7 hücreleri üzerinde (sırasıyla <0.97, <0.97, 1.13±0.06 ve <0.97 µg/mL) pozitif kontrol cisplatine (IC₅₀= 1.87±0.15 µg/mL) kıyasla oldukça etkili olduklarını göstermektedir. Ayrıca bu bileşiklerin L929 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri göz önünde bulundurulduğunda, 5RP7 hücreleri üzerine etkilerinin seçici olduğu görülmektedir (Tablo 5.1). En selektif antikanser aktiviteyi, pirimidin halkasının 4. konumunda 4-klorofenil taşıyan, nonsüstitüe benzen halkasına sahip **3a** kodlu bileşik göstermiştir.

Benziliden yapısının 4. konumuna bağlı süstitüentler ve heterosiklik halkalar arasında, dialkilamino gruplarının (dimetilamino, dietilamino) ve azot taşıyan altılı heterosiklik halka sistemlerinin (piperidin, morfolin ve piperazin) nonselektif antikanser etkiye neden oldukları saptanmıştır. Sadece benziliden yapısının 4. konumuna bağlı pirolidin halkasının selektif antikanser aktiviteye neden olduğu görülmektedir.

Tablo 5.1. Bileşiklerin 5RP7 ve L929 hücre dizileri üzerinde 24 saat sonrası IC₅₀ değerleri (µg/mL)

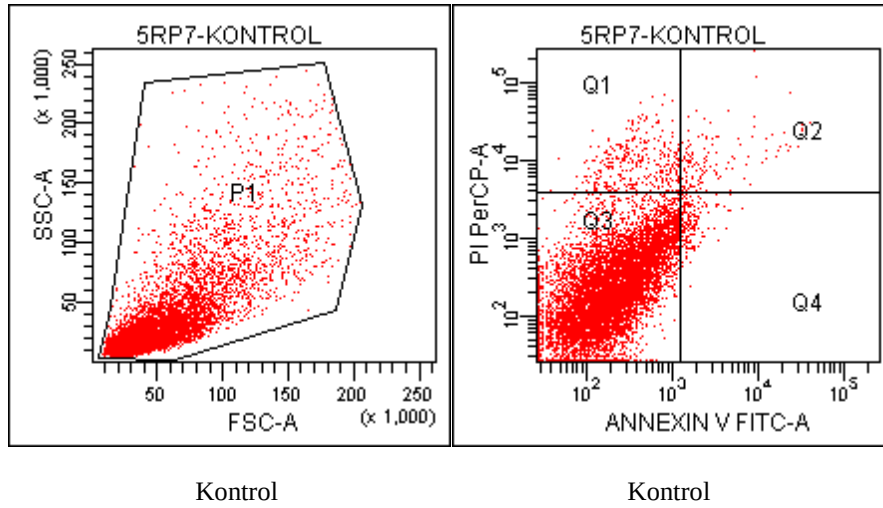
Bileşik	5RP7 Hücre dizisi	L929 Hücre dizisi
3a	< 0.97	20.67±3.79
3b	< 0.97	< 0.97
3c	< 0.97	< 0.97
3d	< 0.97	2.83±0.29
3e	< 0.97	< 0.97
3f	25.67±8.02	5.83±0.29
3g	1.13±0.06	8.5±0.71
3h	14.5±0.71	1.23±0.06
3i	< 0.97	< 0.97
3j	< 0.97	3.5±0.3
3k	< 0.97	< 0.97
3l	< 0.97	< 0.97
3m	< 0.97	< 0.97
Cisplatin	1.87±0.15	-

5.4.2. Apoptoz üzerine etkilerinin değerlendirilmesi

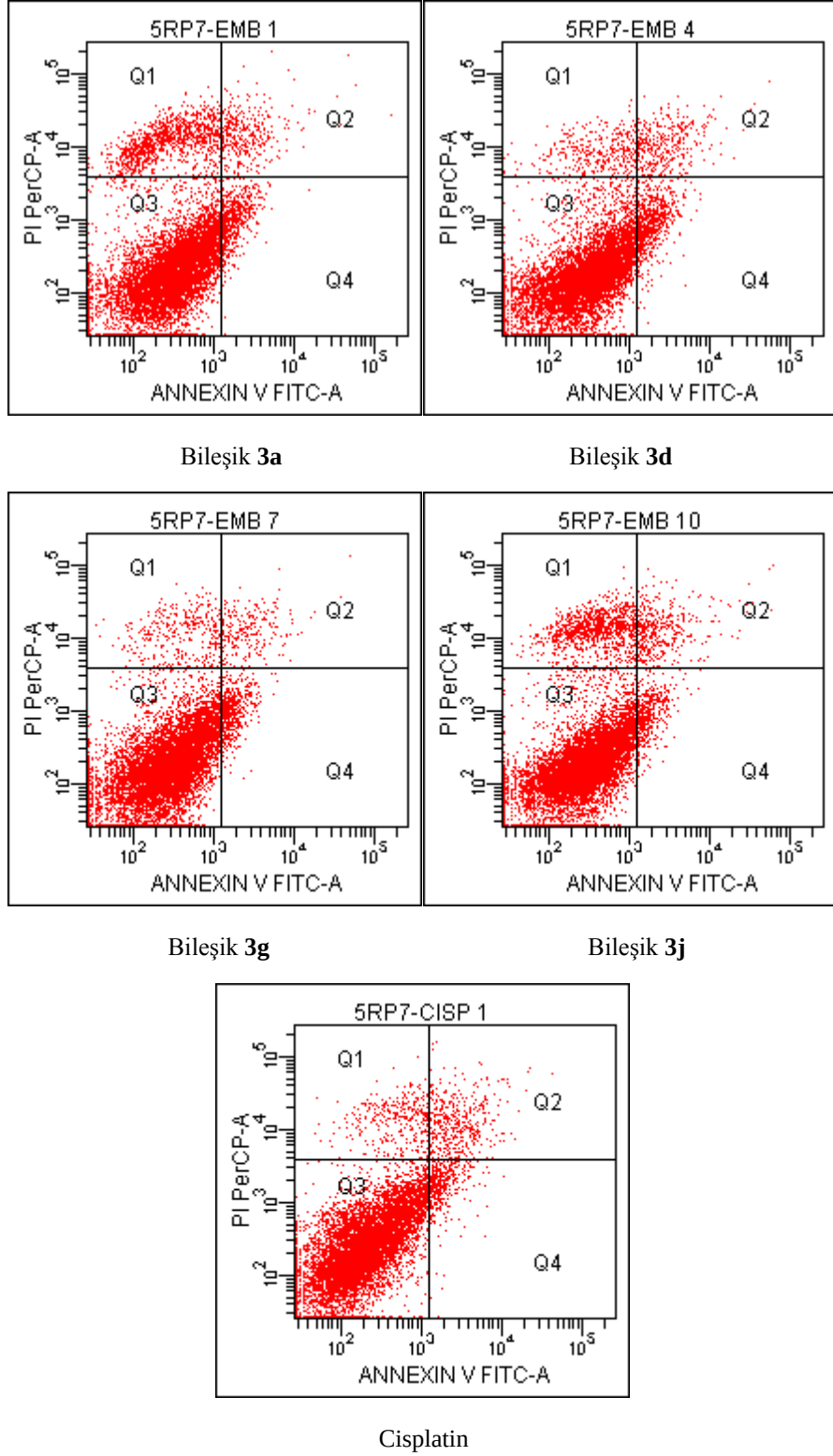
Akım sitometrisi analiz sonuçları, test edilen dört bileşiğin apoptozu indüklediğini göstermektedir. Bu bileşikler arasında, **3a** ve **3d** kodlu bileşikler (sırasıyla %9.2 ve %11.5), pozitif kontrol cisplatinden (%8.4) daha yüksek apoptotik etkiye neden olurken, **3j** kodlu bileşik (%8.3) ise cisplatine benzer bir apoptotik etkiye neden olmuştur (Şekil 5.73, Tablo 5.2).

Tablo 5.2. Bileşik **3a**, **3d**, **3g**, **3j** ve cisplatin uygulanan 5RP7 hücreleri Anneksin V-FITC/PI Akım Sitometri kuadran analiz yüzdeleri

Bileşik	%Erken apoptotik hücreler	%Erken ve geç apoptotik hücreler	%Canlı hücre
Kontrol	1.8	3.2	93.2
3a	5.8	9.2	79.6
3d	7.6	11.5	84.4
3g	5.2	7.4	88.9
3j	4.2	8.3	80.5
Cisplatin	4.1	8.4	87.9



Şekil 5.73. Bileşik **3a**, **3d**, **3g**, **3j** ve cisplatin (sırasıyla 0.5, 0.5, 1.13, 0.5 ve 1.87 µg/mL) ile kültür ortamına bırakılan 5RP7 hücreleri. Her örnek için en azından 10.000 hücre kuadran analizi uygulanmıştır.



Şekil 5.73. (Devam) *Bileşik 3a, 3d, 3g, 3j ve cisplatin (sırasıyla 0.5, 0.5, 1.13, 0.5 ve 1.87 $\mu\text{g/mL}$) ile kültür ortamına bırakılan 5RP7 hücreleri. Her örnek için en azından 10.000 hücre kuadran analizi uygulanmıştır.*

5.5. *In Silico* ADME Çalışma Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Son yıllarda *in silico* ADME çalışmaları, öncü bileşik keşfi ve optimizasyonunda, ilaç adayı bileşiklerin ön değerlendirmesinde kullanılmaktadır (Lipinski vd., 2001; Veber vd., 2002).

Tüm bileşiklerin (**3a-m**) toplam çözücü erişilebilir yüzey alanı (SASA), tahmini oktanol/su partisyon katsayısı (QPlogPo/w), konformasyondan bağımsız tahmin edilen suda çözünürlük (CIQPlogS), tahmini insan serum albumine bağlanma oranı (QPlogKhsa), %oral absorpsiyonu gibi farmakokinetik özellikleri, Schrodinger's Maestro moleküler modelleme programının QikProp modülü kullanılarak öngörülmüştür (Tablo 5.3). Yapılan *in silico* çalışmaya göre, tüm bileşiklerin SASA, QPlogPo/w ve QPlogKhsa değerleri önerilen aralıkta bulunmuştur. Bu bileşikler arasında, **3a**, **3g**, **3h** ve **3m** kodlu bileşiklerin CIQPlogS değerlerinin de beklenen aralıkta olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 5.3. Sentezlenen bileşiklerin *in silico* ADME verileri

Bileşik	SASA*	QPlogPo/w*	CIQPlogS*	QPlogKhsa*	%Oral Absorpsiyon**
3a	703.376	5.177	-6.278	0.689	100.000
3b	780.265	5.597	-6.757	0.845	100.000
3c	843.203	6.384	-7.333	1.065	100.000
3d	704.595	5.446	-7.332	0.852	100.000
3e	827.323	6.284	-7.616	1.194	100.000
3f	684.182	4.670	-7.022	0.494	100.000
3g	715.669	4.767	-5.888	0.575	100.000
3h	793.770	5.189	-6.362	0.727	100.000
3i	856.046	5.970	-6.935	0.945	100.000
3j	659.321	4.716	-6.935	0.594	100.000
3k	840.277	5.872	-7.217	1.075	100.000
3l	650.057	4.035	-6.624	0.282	100.000
3m	704.346	3.910	-5.718	0.441	95.505

* SASA için Å² olarak önerilen değer aralığı: 300-1000. QPlogPo/w için önerilen değer aralığı: -2–6.5. CIQPlogS için önerilen değer aralığı: -6.5–0.5. QPlogKhsa için önerilen değer aralığı: -1.5–1.5.

** %Oral Absorpsiyon: %0-100 arası insanlarda oral absorpsiyonu (>80% olması yüksek, <25% olması düşük olduğunu göstermektedir).

Lipinski'nin 5 Kuralı'na göre, ilaç benzeri bir molekülün moleküler ağırlığının 500'den az, QPlogPo/w değerinin 5'den küçük, hidrojen bağı verici atom sayısının 5 veya daha az, hidrojen bağı alıcı atom sayısı 10 veya daha az olması gerekmektedir. Bu kuralları birden fazla ihlal etmeyen bileşikler ilaç adayı olarak düşünülebilir.

Jorgensen'in 3 Kuralı'na göre, oral yolla kullanım için tahmini suda çözünürlük (QPlogS) değerinin -5.7'den büyük, tahmini görünür Caco-2 hücre geçirgenliğinin (QPPCaco, nm/s olarak) 22 nm/s'den büyük, primer metabolitlerinin 7'den az olması gerekmektedir. Bu kuralları daha az ihlal eden bileşikler (tercihen hiç ihlal etmeyen), oral yolla kullanım için daha uygun ajanlar olarak düşünülmektedir.

In silico ADME çalışmasına göre, tüm bileşikler Lipinski'nin beş kuralına ve Jorgensen'in üç kuralına uymaktadırlar ve bu bileşiklerin oral biyoyararlanımlarının iyi olması öngörülmektedir (Tablo 5.4).

Tablo 5.4. Sentezlenen bileşiklerin Lipinski'nin ve Jorgensen'in kurallarını ihlal etme sayıları

Bileşik	Lipinski'nin 5 Kuralı *	Jorgensen'in 3 Kuralı **
3a	1	1
3b	1	1
3c	1	1
3d	1	1
3e	1	1
3f	0	0
3g	0	1
3h	1	1
3i	1	1
3j	0	0
3k	1	1
3l	0	0
3m	0	0

* Lipinski'nin 5 Kuralı: Lipinski'nin 5 Kuralını ihlal etme sayısı.

** Jorgensen'in 3 Kuralı: Jorgensen'in 3 Kuralını ihlal etme sayısı.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, pirimidin halkası taşıyan yeni hidrazon türevleri (**3a-m**) sentezlenmiş ve bu türevlerin 5RP7 ve L929 hücre dizilerine karşı antikanser etkileri MTT testi ile araştırılmıştır. Ayrıca aktif bulunan sitotoksik bileşiklerin apoptotik etkileri incelenmiştir.

Sentezlenen bileşikler arasında, **3a**, **3d**, **3g** ve **3j** kodlu bileşiklerin seçici antikanser etki gösterdikleri belirlenmiştir. Akım sitometrisi analiz sonuçları, bu dört bileşiğin apoptozu indüklediğini göstermiştir. Bu bileşikler arasında, **3a** ve **3d** kodlu bileşikler (sırasıyla %9.2 ve %11.5), pozitif kontrol cisplatinden (%8.4) daha yüksek apoptotik etkiye neden olurken, **3j** kodlu bileşik (%8.3) ise cisplatine benzer bir apoptotik etkiye neden olmuştur.

En selektif antikanser aktiviteyi, pirimidin halkasının 4. konumunda 4-klorofenil taşıyan, nonsüstitüe benzen halkasına sahip **3a** kodlu bileşik göstermiş olup pozitif kontrol olan cisplatinden daha yüksek antikanser etkinliğe sahip olduğu, L929 hücre dizisine karşı sitotoksik etki göstermediği tespit edilmiştir.

Tüm bileşiklerin (**3a-m**) önemli farmakokinetik özellikleri, Lipinski'nin beş kuralına ve Jorgensen'in üç kuralına uygunlukları Schrodinger's Maestro moleküler modelleme programının QikProp modülü kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm bileşikler Lipinski'nin beş kuralına ve Jorgensen'in üç kuralına uymaktadırlar ve bu bileşiklerin oral biyoyararlanımlarının iyi olması öngörülmektedir.

Sonuç olarak, daha sonra yapılacak çalışmalarda, özellikle **3a** kodlu bileşiğin antikanser etki mekanizması daha detaylı araştırılabilir. Pirimidin halkasının biyoizosterleri kullanılarak yeni türevler sentezlenerek antikanser aktiviteleri karşılaştırılabilir.

KAYNAKÇA

- Alam, M.S., Lee, D.U. (2016). Synthesis, biological evaluation, drug-likeness, and *in silico* screening of novel benzylidene-hydrazone analogues as small molecule anticancer agents. *Arch. Pharm. Res.*, 39 (2), 191-201.
- Altıntop, M.D., Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Ilgin, S., Atli, Ö., Iscan, G., Kaplancikli, Z.A. (2012). Synthesis and biological evaluation of some hydrazone derivatives as new anticandidal and anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 58, 299-307.
- Baldisserotto, A., Demurtas, M., Lampronti, I., Moi, D., Balboni, G., Vertuani, S., Manfredini, S., Onnis, V. (2018). Benzofuran hydrazones as potential scaffold in the development of multifunctional drugs: Synthesis and evaluation of antioxidant, photoprotective and antiproliferative activity. *Eur. J. Med. Chem.*, 156, 118-125.
- Demirbas, N., Karaoglu, S.A., Demirbas, A., Sancak, K. (2004). Synthesis and antimicrobial activities of some new 1-(5-phenylamino-[1,3,4]thiadiazol-2-yl)methyl-5-oxo-[1,2,4]triazole and 1-(4-phenyl-5-thioxo-[1,2,4]triazol-3-yl)methyl-5-oxo-[1,2,4]triazole derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 39 (9), 793-804.
- Duarte, C.D., Tributino, J.L., Lacerda, D.I., Martins, M.V., Alexandre-Moreira, M.S., Dutra, F., Bechara, E.J., De-Paula, F.S., Goulart, M.O., Ferreira, J., Calixto, J.B., Nunes, M.P., Bertho, A.L., Miranda, A.L., Barreiro, E.J., Fraga, C.A. (2007). Synthesis, pharmacological evaluation and electrochemical studies of novel 6-nitro-3,4-methylenedioxyphenyl-*N*-acylhydrazone derivatives: Discovery of LASSBio-881, a new ligand of cannabinoid receptors. *Bioorg. Med. Chem.*, 15 (6), 2421-2433.
- El-Faham, A., Farooq, M., Khattab, S.N., Abutaha, N., Wadaan, M.A., Ghabbour, H.A., Fun, H.K. (2015). Synthesis, characterization, and anti-cancer activity of some new *N'*-(2-oxoindolin-3-ylidene)-2-propylpentane hydrazide-hydrazones derivatives. *Molecules*, 20 (8), 14638-14655.
- El-Khattouti, A., Selimovic, D., Haikel, Y., Hassan, M. (2013). Crosstalk between apoptosis and autophagy: molecular mechanisms and therapeutic strategies in cancer. *J. Cell Death*, 6, 37-55.
- Gavrilescu, L.C., Denkers, E.Y. (2003). Apoptosis and the balance of homeostatic and pathologic responses to protozoan infection. *Infect. Immun.*, 71 (11), 6109-6115.

- Gupta, S.P. (1994). Quantitative structure-activity relationship studies on anticancer drugs. *Chem. Rev.*, 94 (6), 1507-1551.
- Gürsoy, A., Karalı, N. (2003). Synthesis and primary cytotoxicity evaluation of 3-[[3-phenyl-4(3*H*)-quinazolinone-2-yl]mercaptoacetyl]hydrazono]-1*H*-2-indolinones. *Eur. J. Med. Chem.*, 38 (6), 633-643.
- Jin, L., Chen, J., Song, B., Chen, Z., Yang, S., Li, Q., Hu, D., Xu, R. (2006). Synthesis, structure, and bioactivity of *N'*-substituted benzylidene-3,4,5-trimethoxybenzohydrazide and 3-acetyl-2-substituted phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-2,3-dihydro-1,3,4-oxadiazole derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 16 (19), 5036-5040.
- Kahraman Akkaya, Ş.G. (2018). *Betülin molekülünün bazı bakterilerle biyotransformasyonu ve apoptotik etkilerinin incelenmesi*. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kamal, A., Faazil, S., Malik, M.S. (2014). Apoptosis-inducing agents: a patent review (2010 - 2013). *Expert Opin. Ther. Pat.*, 24 (3), 339-354.
- Karaman, N., Sicak, Y., Taskin-Tok, T., Ozturk, M., Karakucuk-Iyidogan, A., Dikmen, M., Kocyigit-Kaymakcioglu, B., Oruc-Emre, E.E. (2016). New piperidine-hydrazone derivatives: Synthesis, biological evaluations and molecular docking studies as AChE and BChE inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 124, 270-283.
- Kratky, M., Bosze, S., Baranyai, Z., Stolarikova, J., Vinsova, J. (2017). Synthesis and biological evolution of hydrazones derived from 4-(trifluoromethyl)benzohydrazide. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 27 (23), 5185-5189.
- Lindgren, E.B., de Brito, M.A., Vasconcelos, T.R., de Moraes, M.O., Montenegro, R.C., Yoneda, J.D., Leal, K.Z. (2014). Synthesis and anticancer activity of (*E*)-2-benzothiazole hydrazones. *Eur. J. Med. Chem.*, 86, 12-16.
- Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 46, 3-26.
- Liu, W.Y., Li, H.Y., Zhao, B.X., Shin, D.S., Lian, S., Miao, J.Y. (2009). Synthesis of novel ribavirin hydrazone derivatives and anti-proliferative activity against A549 lung cancer cells. *Carbohydr. Res.*, 344 (11), 1270-1275.

- Masunari, A., Tavares, L.C. (2007). A new class of nifuroxazide analogues: synthesis of 5-nitrothiophene derivatives with antimicrobial activity against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Bioorg. Med. Chem.*, 15 (12), 4229-4236.
- Mathew, B., Suresh, J., Ahsan, M.J., Mathew, G.E., Usman, D., Subramanyan, P.N., Safna, K.F., Maddela, S. (2015). Hydrazones as a privileged structural linker in antitubercular agents: a review. *Infect Disord. Drug Targets*, 15 (2), 76-88.
- Nasr, T., Bondock, S., Rashed, H.M., Fayad, W., Youns, M., Sakr, T.M. (2018). Novel hydrazide-hydrazone and amide substituted coumarin derivatives: Synthesis, cytotoxicity screening, microarray, radiolabeling and *in vivo* pharmacokinetic studies. *Eur. J. Med. Chem.*, 151, 723-739.
- Naveen Kumar, H.S., Parumasivam, T., Jumaat, F., Ibrahim, P., Asmawi, M.Z., Sadikun, A. (2014). Synthesis and evaluation of isonicotinoyl hydrazone derivatives as antimycobacterial and anticancer agents. *Med. Chem. Res.*, 23 (1), 269-279.
- Nussbaumer, S., Bonnabry, P., Veuthey, J.L., Fleury-Souverain, S. (2011). Analysis of anticancer drugs: a review. *Talanta*, 85 (5), 2265-2289.
- Pape, V.F., Toth, S., Furedi, A., Szebenyi, K., Lovrics, A., Szabo, P., Wiese, M., Szakacs, G. (2016). Design, synthesis and biological evaluation of thiosemicarbazones, hydrazinobenzothiazoles and arylhydrazones as anticancer agents with a potential to overcome multidrug resistance. *Eur. J. Med. Chem.*, 117, 335-354.
- Pinto, L.S., Souza, M.V.N., Kaiser, C.R. (2017). Synthesis and evaluation of anti-tuberculosis and anti-cancer activities of hydrazones and N-acylhydrazones by using sonochemistry, a new general procedure. *Lett. Drug Des. Discov.*, 14 (6), 678-685.
- Popiołek, Ł. (2017). Hydrazide-hydrazones as potential antimicrobial agents: overview of the literature since 2010. *Med. Chem. Res.*, 26 (2), 287-301.
- Pore, M.M., Hiltermann, T.J., Krut, F.A. (2013). Targeting apoptosis pathways in lung cancer. *Cancer Lett.*, 332 (2), 359-368.
- Rollas, S., Küçükgülzel, Ş.G. (2007). Biological activities of hydrazone derivatives. *Molecules*, 12 (8), 1910-1939.
- Sever, B., Akalın Çiftçi, G., Özdemir, A., Altıntop, M.D. (2019). Design, synthesis and *in vitro* evaluation of new thiosemicarbazone derivatives as potential anticancer agents. *J. Res. Pharm.*, 23 (1), 16-24.

- Shah, P., Abadi, L.F., Gaikwad, S., Chaudhari, D., Kushwah, V., Jain, S., Bhutani, K.K., Kulkarni, S., Singh, I.P. (2018). Synthesis and biological evaluation of 8-hydroxyquinoline-hydrazones for anti-HIV-1 and anticancer potential. *ChemistrySelect*, 3 (38), 10727-10731.
- Shankar, R., Rawal, R.K., Singh, U.S., Chaudhary, P., Konwar, R., Hajela, K. (2017). Design, synthesis and biological evaluation of hydrazone derivatives as anti-proliferative agents. *Med. Chem. Res.*, 26 (7), 1459-1468.
- Sreenivasulu, R., Reddy, K.T., Sujitha, P., Kumar, C.G., Raju, R.R. (2019). Synthesis, antiproliferative and apoptosis induction potential activities of novel bis(indolyl)hydrazide-hydrazone derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, 27 (6), 1043-1055.
- Şenkardeş, S., Kaushik-Basu, N., Durmaz, İ., Manvar, D., Basu, A., Atalay, R., Küçükgülzel, Ş.G. (2016). Synthesis of novel diflunisal hydrazide-hydrazones as anti-hepatitis C virus agents and hepatocellular carcinoma inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 108, 301-308.
- Terzioğlu, N., Gürsoy, A. (2003). Synthesis and anticancer evaluation of some new hydrazone derivatives of 2,6-dimethylimidazo[2,1-*b*][1,3,4]thiadiazole-5-carbohydrazide. *Eur. J. Med. Chem.*, 38 (7-8), 781-786.
- Torre, B.G., Albericio, F. (2018). The pharmaceutical industry in 2017. An analysis of FDA drug approvals from the perspective of molecules. *Molecules*, 23 (3), 533.
- Turan-Zitouni, G., Altıntop, M.D., Özdemir, A., Kaplancıklı, Z.A., Akalın Çiftçi, G., Temel, H.E. (2016). Synthesis and evaluation of bis-thiazole derivatives as new anticancer agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 107, 288-294.
- Varache-Lembège, M., Moreau, S., Larroure, S., Montaudon, D., Robert, J., Nuhrich, A. (2008). Synthesis and antiproliferative activity of aryl- and heteroaryl-hydrazones derived from xanthone carbaldehydes. *Eur. J. Med. Chem.*, 43 (6), 1336-1343.
- Vasanth, K., Basavarajaswamy, G., Vaishali Rai, M., Boja, P., Pai, V.R., Shruthi, N., Bhat, M. (2015). Rapid 'one-pot' synthesis of a novel benzimidazole-5-carboxylate and its hydrazone derivatives as potential anti-inflammatory and antimicrobial agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 25 (7), 1420-1426.

- Veber, D.F., Johnson, S.R., Cheng, H.-Y., Smith, B.R., Ward, K.W., Kopple, K.D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem.*, 45, 2615-2623.
- Vicini, P., Incerti, M., Doytchinova, I.A., La Colla, P., Busonera, B., Loddo, R. (2006). Synthesis and antiproliferative activity of benzo[d]isothiazole hydrazones. *Eur. J. Med. Chem.*, 41 (5), 624-632.
- Vicini, P., Incerti, M., La Colla, P., Loddo, R. (2009). Anti-HIV evaluation of benzo[d]isothiazole hydrazones. *Eur. J. Med. Chem.*, 44 (4), 1801-1807.
- Wang, Y., Yan, H., Ma, C., Lu, D. (2015). Synthesis and anticancer activities of novel 8-azapurine carbocyclic nucleoside hydrazones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 25 (20), 4461-4463.
- Wong, R.S.Y. (2011). Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 30 (1), 87.
- Zhao, Y., Hui, J., Wang, D., Zhu, L., Fang, J.H., Zhao, X.D. (2010). Synthesis, cytotoxicity and pro-apoptosis of novel benzoisindolin hydrazones as anticancer agents. *Chem. Pharm. Bull.*, 58 (10), 1324-1327.