

**YENİ KİNOLİN/KİNAZOLİN  
TÜREVLERİNİN SENTEZİ  
VE BİYOLOJİK ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Doktora Tezi**

**Asaf Evrim EVREN**

**Eskişehir 2022**

**YENİ KİNOLİN/KİNAZOLİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ  
VE BİYOLOJİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Asaf Evrim EVREN**

**Doktora TEZİ**

**Farmasötik Kimya Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ**

**Eskişehir**

**Anadolu Üniversitesi**

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Ekim 2022**

*Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 2107S116 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.*

## ÖZET

Yeni kinolin/kinazolin türevlerinin sentezi  
ve biyolojik etkilerinin araştırılması

Asaf Evrim EVREN

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ekim 2022

Danışman: Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ

Kanser, ortalama yaşam süresinin artmasıyla beraber görülme sıklığının buna bağlı olarak ölüm oranının da arttığı, günümüzdeki önemli sağlık problemlerinden biri olarak değerlendirilmektedir. Kanser çeşitleri içerisinde en hızlı ilerleyen ve teşhisi güç olan akciğer kanserlerinde ölüm oranı diğer türlerine göre daha fazla yaşanmaktadır. İlk jenerasyon erlotinib ve gefitinibin geliştirilmesiyle birlikte, akciğer kanserinin tedavisi için geliştirilen Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) inhibitörlerine olan ilgi 2004 yılından günümüze dek artarak gelmiştir. Bu tez çalışmasında, mevcut ilaç direnç gelişimine alternatif olabilecek, kanser hücresine daha seçici yeni moleküllerin elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla mevcut EGFR inhibitörlerinden ve literatürden hareketle iki farklı yöntemle yeni on bir hipotez geliştirilmiş olup ekip içi molekül bankası taranarak öncü moleküller belirlenmiş ve geliştirilmiştir. Daha sonrasında bu öncü moleküllerden hareketle dört farklı serinin (üç kinazolin ve bir tane kinolin serisi) sentezi ve analizi gerçekleştirilmiş olup bunların antikanser etkinliği araştırılmıştır. Nihayetinde moleküler yerleştirme ve dinamik simülasyon yöntemlerinden yararlanarak bağlanma şekilleri ile yapı-etki ilişkileri ortaya konmuştur. Kinazolin-4-(3*H*)-on türevlerinden halojen içerenler aktif bulunurken en iyi EGFR inhibisyonu ve apoptoz indüksiyonu yapanların *N*-aminotriazol yapısı içeren türevler olarak belirlenmiştir. EGFR inhibisyonu için nM düzeyde aktivite elde edilmiş olması tezin amacına ulaştığını göstermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Farmakofor hipotez, Kinazolin-4(3*H*)-on, Antikanser, EGFR, Moleküler dinamik simülasyonu.

## ABSTRACT

synthesis and investigation of biological effects  
of new quinoline/quinazoline derivatives

Asaf Evrim EVREN

Department of Pharmaceutical Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, October 2022

Supervisor: Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ

Cancer is considered to be one of the most important health problems today because of the increase in the incidence and mortality rate, which depends on increasing in the average life expectancy. Lung cancer, which is the most rapidly progressing and difficult to diagnose among cancer types, has a higher mortality rate than other types. With the development of the first-generation EGFR inhibitors, erlotinib and gefitinib, interest in EGFR inhibitors developed for the treatment of lung cancer have increased since 2004. This thesis, it is aimed to obtain new molecules that are more selective for cancer cells, which can be an alternative to current drugs which are not useful anymore because of drug resistance. For this purpose, eleven new hypotheses were developed using two different methods based on the existing EGFR inhibitors and the literature knowledge, and then scanning the in-house database, the hit molecules were determined. Then, based on these hit molecules, the synthesis and analysis of four different series (three quinazolines and one quinoline series) were carried out and their anticancer activity was investigated. Finally, by using molecular docking and dynamic simulation methods, binding mode and structure-activity relationship were examined. Among the quinazoline-4-(3*H*)-one derivatives, those containing halogen atom were found to be potentially effective, while the best EGFR inhibition and apoptosis induction were displayed by compounds containing *N*-aminotriazole moiety. Obtaining an nM concentration of activity for EGFR inhibition shows that the thesis has achieved its purpose.

**Keywords:** Pharmacophore hypothesis, Quinazoline-4(3*H*)-one, Anticancer, EGFR, Molecular dynamics simulation.



## TEŞEKKÜR

04/09/2022

Lisansüstü hayatım boyunca her soruma sabırla cevap veren, güncel bilgiye erişmemi ve kullanmamı sağlayan, meslek sevgisi ve çalışma azmi ile sadece akademik değil insani yönüyle de örnek olan çok kıymetli danışmanım Sayın hocam Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ’a,

Olmadık zamanlarda sorularım nedeniyle sürekli meşgul etmeme rağmen sabırla dinleyen ve cevaplayan, saatlerce konuşmaktan büyük zevk aldığım çok sevgili hocalarım Prof. Dr. Ahmet Çağrı KARABURUN’a ve Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN’a,

Eczacılık mesleğini seçmeme vesile olan hem hocam hem ağabeyim Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY’a,

Akademik bilgi ve tecrübesini paylaştığı için müteşekkir olduğum, dinlemekten de çok büyük zevk aldığım Sayın hocam Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI’ya,

Her zaman sevgi ve desteklerini gösteren Farmasötik Kimya Anabilim Dalındaki saygıdeğer hocalarıma,

Sadece tezimdeki değil, tüm bilgi ve birikimini benimle paylaşan, her türlü soruma cevap vererek yönlendiren ve tezimin aktivite deneylerini de yürüten Sayın hocam Prof. Dr. Gülşen AKALIN-ÇİFTÇİ’ye,

Tüm özverisiyle her türlü desteği gösteren, iyi ki tanıdım dediğim hem ablam hem de hocam olarak saydığım Sayın Doç. Dr. Begüm Nurpelin Sağlık’a; desteğini gösteren ve yönlendiren Sayın hocam Doç. Dr. Ulviye ACAR ÇEVİK’e; sadece akademik değil beşeri ilişkilerde de yönlendiren ve gelişimime katkı sağlayan, çok sevgili hocam Öğr. Gör. Serkan LEVENT’e,

Her zaman ilgisini ve desteğini gösteren, beraber gülüp dertlerimi paylaşabildiğim çok sevgili arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Derya OSMANİYE’ye,

Sevgi ve destekleriyle hayatım boyunca her daim yanımda duran, tüm kararlarımda maddi ve manevi olarak destek veren, iyi ki varlar dediğim kardeşim Pınar’a, canım anneme ve canım babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

1 Eylül 2022

### **ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ**

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmanın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında 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’ ile 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.

Asaf Evrim EVREN

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                               | <u>Sayfa</u> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| TEZ BAŞLIĞI.....                                                                                              | i            |
| JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....                                                                                    | ii           |
| ÖZET .....                                                                                                    | iii          |
| ABSTRACT.....                                                                                                 | iv           |
| TEŞEKKÜR .....                                                                                                | v            |
| ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....                                                              | vi           |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                                             | vii          |
| TABLolar DİZİNİ .....                                                                                         | xv           |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                                         | xvi          |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....                                                                          | xxii         |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ .....                                                                                        | 1            |
| 2. KAYNAK BİLGİSİ .....                                                                                       | 4            |
| 2.1. EGFR proteini hakkında genel bilgiler.....                                                               | 4            |
| 2.2. Kinolin ve kinazolin halkaları hakkında genel bilgiler .....                                             | 4            |
| 2.3. Kanser çalışmalarına konu olan kinolin ve/veya kinazolin içeren<br>bileşikler .....                      | 5            |
| 3. GEREÇLER.....                                                                                              | 14           |
| 3.1. Kullanılan Maddeler.....                                                                                 | 14           |
| 3.2. Kullanılan Cihazlar.....                                                                                 | 16           |
| 4. YÖNTEMLER .....                                                                                            | 17           |
| 4.1. Farmakofor Hipotez Çalışmaları .....                                                                     | 17           |
| 4.1.1. Çok sayıda ilaç molekülü ve bir protein kristali kullanılarak<br>hipotez geliştirme .....              | 17           |
| 4.1.2. Literatür tabanlı EGFR aktif bileşikler ve tek protein kristali<br>kullanarak hipotez geliştirme ..... | 18           |
| 4.2. Sentez Çalışmaları.....                                                                                  | 19           |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.2.1. 4-Kinazolinon sentezi (1) .....                                                                                                                                                                                                                                                                    | 19 |
| 4.2.2. Etil 2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetat (2) ve etil 2-(kinolin-8-iloksi)asetat sentezi (9).....                                                                                                                                                                                           | 20 |
| 4.2.3. 2-[4-Oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetohidrazit (3) ve 2-(kinolin-8-iloksi) asetohidrazit (10) sentezi .....                                                                                                                                                                                    | 20 |
| 4.2.4. <i>N</i> -(Sübstitüe)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit türevlerinin (4a-4l) ve <i>N</i> -(4-metoksifenil)-2-[2-(kinolin-8-iloksi)asetil]hidrazin-1-karbotiyoamit (11) ara ürününün sentezi .....                                                            | 20 |
| 4.2.5. 3-{[4-(4-Metoksifenil)-5-tiyokso-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il]metil}kinazolin-4(3 <i>H</i> )-on (5) ve 4-(4-metoksifenil)-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-tiyol (12) sentezi.....                                                                            | 20 |
| 4.2.6. 3-[(5-Tiyokso-4,5-dihydro-1,3,4-oksadiyazol-2-il)metil]kinazolin-4(3 <i>H</i> )-on (6) .....                                                                                                                                                                                                       | 21 |
| 4.2.7. 3-[(4-Amino-5-tiyokso-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)metil]kinazolin-4(3 <i>H</i> )-on (7).....                                                                                                                                                                                        | 21 |
| 4.2.8. 2-{[4-(4-Metoksifenil/amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il]tiyo}- <i>N</i> -aril asetamit (8a-8k;8l-8v) ve 2-({4-[4-metoksifenil]-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il}tiyo)- <i>N</i> -aril asetamit (13a-13d) türevleri..... | 21 |
| 4.3. İTK Çalışmaları .....                                                                                                                                                                                                                                                                                | 22 |
| 4.4. Erime Noktalarının Tayini.....                                                                                                                                                                                                                                                                       | 23 |
| 4.5. <sup>1</sup> H-NMR Spektrumlarının Alınması.....                                                                                                                                                                                                                                                     | 23 |
| 4.6. <sup>13</sup> C-NMR Spektrumlarının Alınması.....                                                                                                                                                                                                                                                    | 23 |
| 4.7. Kütle Spektrumlarının Alınması .....                                                                                                                                                                                                                                                                 | 23 |
| 4.8. Aktivite Çalışmaları.....                                                                                                                                                                                                                                                                            | 23 |
| 4.8.1. Sitotoksik etkilerinin belirlenmesi .....                                                                                                                                                                                                                                                          | 23 |
| 4.8.2. Apoptotik etkinliklerin belirlenmesi .....                                                                                                                                                                                                                                                         | 24 |
| 4.8.3. Aktivite yollarıyla ilgili çalışmalar .....                                                                                                                                                                                                                                                        | 24 |

|                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.8.3.1. Kaspaz-3 aktivasyonunun spektrofotometrik analizi.....                        | 24 |
| 4.8.3.2. Mitokondriyal membran depolarizasyonunun tayini .....                         | 25 |
| 4.8.3.3. EGFR aktivitesinin belirlenmesi .....                                         | 25 |
| 4.8.4. Moleküler Yerleştirme ve Dinamik Simülasyon (MDS)                               |    |
| Çalışmaları .....                                                                      | 26 |
| 5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR .....                                                       | 27 |
| 5.1. Farmakofor Hipotez Çalışmaları .....                                              | 27 |
| 5.1.1. Hipotezlerin doğrulanması.....                                                  | 27 |
| 5.1.1.1. Çok sayıda ilaç molekülü ve bir protein kristali                              |    |
| kullanılarak elde edilen hipotezler .....                                              | 27 |
| 5.1.2. Literatür tabanlı EGFR aktif bileşikler ve tek protein kristali                 |    |
| kullanılarak elde edilen hipotezler .....                                              | 28 |
| 5.1.3. Molekül bankasının taranması .....                                              | 30 |
| 5.2. Sentez Çalışmaları.....                                                           | 32 |
| 5.2.1. 4-(3 <i>H</i> )-Kinazolinon (1).....                                            | 32 |
| 5.2.2. Etil 2-(4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il)asetat (2) ve etil 2-(kinolin-8-      |    |
| iloksi)asetat sentezi (9).....                                                         | 32 |
| 5.2.3. 2-[4-Oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetohidrazit (3) ve 2-(kinolin-8-         |    |
| iloksi) asetohidrazit (10) sentezi .....                                               | 33 |
| 5.2.4. <i>N</i> -(Süstitüe)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetil}hidrazin-1- |    |
| karbotiyoamit türevlerinin (4a-4l) ve <i>N</i> -(4-metoksifenil)-2-[2-                 |    |
| (kinolin-8-iloksi)asetil]hidrazin-1-karbotiyoamit (11) ara                             |    |
| ürününün sentezi .....                                                                 | 33 |
| 5.2.4.1. <i>N</i> -(4-Metoksifenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-              |    |
| il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4a).....                                           | 34 |
| 5.2.4.2. <i>N</i> -(3-Metoksifenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-              |    |
| il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4b).....                                           | 38 |
| 5.2.4.3. <i>N</i> -(2-Metoksifenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-              |    |
| il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4c) .....                                          | 42 |

|                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.2.4.4. <i>N</i> -(4-Tolil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4d).....                                                                                                                                 | 46 |
| 5.2.4.5. <i>N</i> -(3-Tolil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4e).....                                                                                                                                 | 50 |
| 5.2.4.6. <i>N</i> -(2-Tolil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4f) .....                                                                                                                                | 54 |
| 5.2.4.7. <i>N</i> -(4-Klorofenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4g).....                                                                                                                            | 58 |
| 5.2.4.8. <i>N</i> -(3-Klorofenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4h).....                                                                                                                            | 62 |
| 5.2.4.9. <i>N</i> -(2-Klorofenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4i).....                                                                                                                            | 66 |
| 5.2.4.10. <i>N</i> -(4-Florofenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4j) .....                                                                                                                          | 70 |
| 5.2.4.11. <i>N</i> -Fenil-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4k) .....                                                                                                                                   | 74 |
| 5.2.4.12. <i>N</i> -Etil-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4l).....                                                                                                                                     | 78 |
| 5.2.4.13. <i>N</i> -(4-metoksifenil)-2-[2-(kinolin-8-iloksi)asetil]hidrazin-1-karbotiyoamit (11).....                                                                                                                                          | 82 |
| 5.2.5. 3-{[4-(4-Metoksifenil)-5-tiyokso-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il]metil}kinazolin-4(3 <i>H</i> )-on (5) ve 3-{[4-(4-metoksifenil)-5-tiyokso-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il]metiloksi}kinolin (12) sentezleri..... | 82 |
| 5.2.6. 3-[(5-Tiyokso-4,5-dihidro-1,3,4-oksadiyazol-2-il)metil]kinazolin-4(3 <i>H</i> )-on (6) .....                                                                                                                                            | 83 |
| 5.2.7. 3-[(4-Amino-5-tiyokso-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)metil]kinazolin-4(3 <i>H</i> )-on (7).....                                                                                                                             | 83 |
| 5.2.8. 2-{[4-(4-Metoksifenil/amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il]tiyo}- <i>N</i> -aril asetamit (8a-8k;8l-8v)                                                                                   |    |

|                                                                                                                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ve 2-({4-[4-metoksifenil]-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il}tiyo)- <i>N</i> -aril asetamit (13a-13d) türevleri.....                                   | 85  |
| 5.2.8.1. <i>N</i> -(6-Florobenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8a).....       | 86  |
| 5.2.8.2. <i>N</i> -(6-Klorobenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8b) .....      | 90  |
| 5.2.8.3. <i>N</i> -(6-Nitrobenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8c).....       | 94  |
| 5.2.8.4. <i>N</i> -(Benzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8d) .....             | 98  |
| 5.2.8.5. <i>N</i> -(6-Metilbenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8e).....       | 102 |
| 5.2.8.6. <i>N</i> -(6-Metoksibenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8f) .....    | 106 |
| 5.2.8.7. <i>N</i> -(6-Etoksibenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8g).....      | 110 |
| 5.2.8.8. <i>N</i> -(tiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8h) .....                  | 114 |
| 5.2.8.9. <i>N</i> -(5-Asetil-4-metil-tiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8i) ..... | 118 |

|                                                                                                                                                                              |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.2.8.10. Etil 2-(2-((4-(4-metoksifenil)-5-((4-oksookinazolin-3(4 <i>H</i> )-il)metil)-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo)asetamido)-4-metiltiyazol-5-karboksilat (8j)..... | 122 |
| 5.2.8.11. Etil 2-(2-{2-[(4-{4-metoksifenil}-5-{[4-oksookinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamido}tiyazol-4-il)asetat (8k) .....       | 126 |
| 5.2.8.12. <i>N</i> -(6-Florobenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksookinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8l) .....         | 130 |
| 5.2.8.13. <i>N</i> -(6-Klorobenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksookinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8m) .....         | 134 |
| 5.2.8.14. <i>N</i> -(6-Nitrobenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksookinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8n) .....         | 138 |
| 5.2.8.15. <i>N</i> -(Benzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksookinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8o).....                 | 142 |
| 5.2.8.16. <i>N</i> -(6-Metilbenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksookinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8p) .....         | 146 |
| 5.2.8.17. <i>N</i> -(6-Metoksibenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksookinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8q) .....       | 150 |
| 5.2.8.18. <i>N</i> -(6-Etoksibenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksookinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8r).....         | 154 |
| 5.2.8.19. <i>N</i> -(tiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksookinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8s) .....                     | 158 |



|                                                                                                                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.2.8.20. <i>N</i> -(5-Asetil-4-metil-tiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8t) ..... | 162 |
| 5.2.8.21. Etil 2-(2-((4-(4-amino)-5-((4-oksookinazolin-3(4 <i>H</i> )-il)metil)-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo)asetamido)-4-metiltiyazol-5-karboksilat (8u).....    | 166 |
| 5.2.8.22. Etil 2-(2-{2-[(4-{4-amino}-5-{[4-oksokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il]metil}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamido}tiyazol-4-il)asetat (8v).....            | 170 |
| 5.2.8.23. 2-({4-[4-Metoksifenil]-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il}thio)- <i>N</i> -(tiyazol-2-il) asetamit (13a).....                          | 174 |
| 5.2.8.24. 2-({4-[4-Metoksifenil]-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il}tiyo)- <i>N</i> -(5-asetil-4-metiltiyazol-2-il) asetamit (13b).....          | 178 |
| 5.2.8.25. Etil 2-[2-({4-(4-metoksifenil)-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il}tiyo)asetamido]-4-metiltiyazol-5-karboksilat (13c) .....             | 182 |
| 5.2.8.26. Etil 2-[2-(2-{[4-(4-metoksifenil)-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il}tiyo}asetamido)tiyazol-4-il]asetat (13d) .....                    | 186 |
| 5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi .....                                                                                                                          | 190 |
| 5.3.1. <sup>1</sup> H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....                                                                                                         | 190 |
| 5.3.2. <sup>13</sup> C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....                                                                                                        | 190 |
| 5.3.3. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi .....                                                                                                                     | 191 |
| 5.4. Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi .....                                                                                                                       | 191 |
| 5.4.1. Sitotoksosite sonuçlarının değerlendirilmesi.....                                                                                                                 | 191 |
| 5.4.2. Apoptotik etkinliklerin belirlenmesi .....                                                                                                                        | 194 |
| 5.4.3. Aktivite yolaklarının değerlendirilmesi .....                                                                                                                     | 195 |
| 5.4.3.1. Kaspaz-3 aktivasyon sonuçlarının değerlendirilmesi.....                                                                                                         | 196 |

|                                                                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.4.3.2. Mitokondriyal membran depolarizasyonunun değerlendirilmesi .....                                 | 197 |
| 5.4.3.3. EGFR inhibisyonunun değerlendirilmesi.....                                                       | 198 |
| 5.4.4. Moleküler yerleştirme ve dinamik simülasyon çalışmalarının yorumlanması.....                       | 199 |
| 5.4.4.1. Kaspaz-3 enzimi üzerindeki yerleştirme ve dinamik simülasyon sonuçlarının değerlendirilmesi..... | 199 |
| 5.4.4.2. EGFR proteini üzerindeki yerleştirme ve dinamik simülasyon sonuçlarının değerlendirilmesi.....   | 205 |
| 5.4.5. Yapı-etki ilişkilerinin özetlenmesi .....                                                          | 210 |
| 5.5. Tez Çalışmasıyla İlgili Kısıtlamalar .....                                                           | 211 |
| 6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....                                                                              | 212 |
| KAYNAKÇA.....                                                                                             | 214 |
| ÖZGEÇMİŞ                                                                                                  |     |

## TABLÖLER DİZİNİ

|                                                                                                                                     | <u>Sayfa</u> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>Tablo 5.1.</b> Uygun hipotezlere ait doğrulama verileri .....                                                                    | 27           |
| <b>Tablo 5.2.</b> Uygun hipotezlere ait doğrulama verileri .....                                                                    | 29           |
| <b>Tablo 5.3.</b> Farmakofor hipotezlere uyan kurum içi molekül seti molekül sayıları .....                                         | 30           |
| <b>Tablo 5.4.</b> Sentezlenen asetilhidrazin-1-karbotiyoamit bileşikleri (4a-4l ve 11).....                                         | 33           |
| <b>Tablo 5.5.</b> Sentezlenen asetamit türevleri (8a-8v ve 13a-13d).....                                                            | 85           |
| <b>Tablo 5.6.</b> Sentezlenen bileşiklerin kanser ve sağlıklı hücre hatları üzerine<br>etki eden IC <sub>50</sub> (μM) dozları..... | 193          |
| <b>Tablo 5.7.</b> Aktif bileşiklere ait apoptoz sonuçları .....                                                                     | 195          |
| <b>Tablo 5.8.</b> Aktif bileşiklere ait %kaspaz-3 sonuçları .....                                                                   | 196          |
| <b>Tablo 5.9.</b> Aktif bileşiklere mitokondriyal membran %polarizasyon ve<br>%depolarizasyon sonuçları .....                       | 198          |
| <b>Tablo 5.10.</b> Aktif bileşiklere ait EGFR inhibisyon sonuçları.....                                                             | 199          |
| <b>Tablo 5.11.</b> Bileşik-kaspaz-3 etkileşim dizini.....                                                                           | 202          |
| <b>Tablo 5.12.</b> Bileşik-EGFR etkileşim dizini.....                                                                               | 207          |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                          | <u>Sayfa</u> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Şekil 1.1. Klinikte kullanılan EGFR inhibitörleri.....                                                                                                   | 3            |
| Şekil 2.1. EGFR yolağının şematik özeti .....                                                                                                            | 4            |
| Şekil 2.2. Kinolin ve kinazolin halkalarının 2 boyutlu çizimleri.....                                                                                    | 5            |
| Şekil 2.3. 2022 yılında patentlenen son EGFR inhibitörü .....                                                                                            | 6            |
| Şekil 2.4. Kinazolin-pirimidin içeren EGFR inhibitörleri.....                                                                                            | 6            |
| Şekil 2.5. 2-(Piridin-3-il)kinazolin-4-karbaldehit türevleri .....                                                                                       | 7            |
| Şekil 2.6. 2,3-bis(3,4,5-trimetoksifenil)-8-metoksikinazolin-4(3H)-on bileşiği .....                                                                     | 7            |
| Şekil 2.7. En potent bileşik 5-[(7-metoksi-4-{[3-(triflorometil)fenil]amino}<br>kinazolin-6-il)oksi]-N-(4-sülfamoilfenil)pentanamidin molekül formülü... | 8            |
| Şekil 2.8. Kinolin ve kinazolin kökenli 1,6-naftiridinon türevlerinden en aktif<br>bulunan analog .....                                                  | 8            |
| Şekil 2.9. Kinazolin ve N-arilsülfonilamit içeren apoptoz indükleyici EGFR<br>inhibitörleri .....                                                        | 9            |
| Şekil 2.10. En aktif pirazolo[1,5-c]kinazolin türevi .....                                                                                               | 9            |
| Şekil 2.11. İndol ve piperidinopropenamit içeren kinazolin türevi .....                                                                                  | 9            |
| Şekil 2.12. (1E,4E)-1-(2-klorokinolin-3-il)-5-(2,4,5-trimetoksifenil)penta-1,4-<br>dien-3-on molekülünün açık formülü .....                              | 10           |
| Şekil 2.13. 6-(N-metil-N-allil sülfonamit)-2-(alliltiyoksi/allilselanil)kinolin<br>analogları.....                                                       | 10           |
| Şekil 2.14. Aktif bulunan tetrazolilmetil kinolin türevleri .....                                                                                        | 11           |
| Şekil 2.15. 3-Formil-2-klorokinolin ve rodanin türevlerinin ana yapısı.....                                                                              | 11           |
| Şekil 2.16. 2,4-Diaminokinazolin ve piperazin ditiyokarbamat hibrit türevleri.....                                                                       | 11           |
| Şekil 2.17. 2,4-Diaminokinazolin ve ditiyokarbamat hibrit türevleri.....                                                                                 | 12           |
| Şekil 2.18. 1,2-Benzimidazol-kinazolin türevi.....                                                                                                       | 12           |
| Şekil 2.19. 2-klorokinolin tiyadiazol melezleşmesiyle elde edilen en aktif<br>bileşikler.....                                                            | 13           |
| Şekil 2.20. Çinko bağlanma bölgesine sahip yeni EGFR inhibitörleri.....                                                                                  | 13           |
| Şekil 4.1. Hedef bileşiklerin genel sentez şeması.....                                                                                                   | 22           |
| Şekil 5.1. DHRRR_3 ve DHRRR_1 hipotezlerine ait 3B gösterim. ....                                                                                        | 28           |
| Şekil 5.2. AAAARRR_2, AAARR_2, AAARR_3, AAARR_4, AAARR_5,<br>AAARRR_3, AARRR_1 ve AARRR_2 hipotezlerine ait 3B gösterim. ....                            | 29           |

|                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 5.3. Öncü moleküller ile hipotezlerinin üst üste çakışık 3B pozları..... | 31 |
| Şekil 5.4 Bileşik 1 için öngörülen reaksiyon mekanizması.....                  | 32 |
| Şekil 5.5 Bileşik 2 için öngörülen reaksiyon mekanizması.....                  | 32 |
| Şekil 5.6 Bileşik 3 için öngörülen reaksiyon mekanizması.....                  | 33 |
| Şekil 5.7 Bileşik serisi 4a-4l için öngörülen reaksiyon mekanizması.....       | 34 |
| Şekil 5.8 Bileşik 4a'ya ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                 | 35 |
| Şekil 5.9 Bileşik 4a'ya ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....                | 36 |
| Şekil 5.10 Bileşik 4a'ya ait HRMS spektrumu .....                              | 37 |
| Şekil 5.11 Bileşik 4b'ya ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                 | 39 |
| Şekil 5.12 Bileşik 4b'ya ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu.....                | 40 |
| Şekil 5.13 Bileşik 4b'ya ait HRMS spektrumu.....                               | 41 |
| Şekil 5.14 Bileşik 4c'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                | 43 |
| Şekil 5.15 Bileşik 4c'ye ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....               | 44 |
| Şekil 5.16 Bileşik 4c'ye ait HRMS spektrumu .....                              | 45 |
| Şekil 5.17 Bileşik 4d'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                 | 47 |
| Şekil 5.18 Bileşik 4d'ye ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu.....                | 48 |
| Şekil 5.19 Bileşik 4d'ye ait HRMS spektrumu.....                               | 49 |
| Şekil 5.20 Bileşik 4e'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                | 51 |
| Şekil 5.21 Bileşik 4e'ye ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....               | 52 |
| Şekil 5.22 Bileşik 4e'ye ait HRMS spektrumu .....                              | 53 |
| Şekil 5.23 Bileşik 4f'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                 | 55 |
| Şekil 5.24 Bileşik 4f'ye ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu.....                | 56 |
| Şekil 5.25 Bileşik 4f'ye ait HRMS spektrumu.....                               | 57 |
| Şekil 5.26 Bileşik 4g'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                | 59 |
| Şekil 5.27 Bileşik 4g'ye ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....               | 60 |
| Şekil 5.28 Bileşik 4g'ye ait HRMS spektrumu .....                              | 61 |
| Şekil 5.29 Bileşik 4h'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                 | 63 |
| Şekil 5.30 Bileşik 4h'ye ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu.....                | 64 |
| Şekil 5.31 Bileşik 4h'ye ait HRMS spektrumu.....                               | 65 |
| Şekil 5.32 Bileşik 4i'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                | 67 |
| Şekil 5.33 Bileşik 4i'ye ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu.....                | 68 |
| Şekil 5.34 Bileşik 4i'ye ait HRMS spektrumu.....                               | 69 |
| Şekil 5.35 Bileşik 4j'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                 | 71 |

|                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 5.36 Bileşik 4j'ye ait $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu.....            | 72  |
| Şekil 5.37 Bileşik 4j'ye ait HRMS spektrumu.....                           | 73  |
| Şekil 5.38 Bileşik 4k'ye ait $^1\text{H}$ NMR spektrumu.....               | 75  |
| Şekil 5.39 Bileşik 4k'ye ait $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu.....            | 76  |
| Şekil 5.40 Bileşik 4k'ye ait HRMS spektrumu.....                           | 77  |
| Şekil 5.41 Bileşik 4l'ye ait $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....              | 79  |
| Şekil 5.42 Bileşik 4l'ye ait $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu.....            | 80  |
| Şekil 5.43 Bileşik 4l'ye ait HRMS spektrumu .....                          | 81  |
| Şekil 5.44 Bileşik 5 için öngörülen reaksiyon mekanizması.....             | 82  |
| Şekil 5.45 Bileşik 6 için öngörülen reaksiyon mekanizması.....             | 83  |
| Şekil 5.47 Bileşik 7 için öngörülen reaksiyon mekanizması.....             | 83  |
| Şekil 5.48 Bileşik 7'ye ait $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....               | 84  |
| Şekil 5.49 Bileşik serisi 8a-8v için öngörülen reaksiyon mekanizması ..... | 85  |
| Şekil 5.50 Bileşik 8a'ya ait $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....              | 87  |
| Şekil 5.51 Bileşik 8a'ya ait $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....           | 88  |
| Şekil 5.52 Bileşik 8a'ya ait HRMS spektrumu .....                          | 89  |
| Şekil 5.53 Bileşik 8b'ya ait $^1\text{H}$ NMR spektrumu.....               | 91  |
| Şekil 5.54 Bileşik 8b'ya ait $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu.....            | 92  |
| Şekil 5.55 Bileşik 8b'ya ait HRMS spektrumu.....                           | 93  |
| Şekil 5.56 Bileşik 8c'ya ait $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....              | 95  |
| Şekil 5.57 Bileşik 8c'ya ait $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....           | 96  |
| Şekil 5.58 Bileşik 8c'ya ait HRMS spektrumu .....                          | 97  |
| Şekil 5.59 Bileşik 8d'ya ait $^1\text{H}$ NMR spektrumu.....               | 99  |
| Şekil 5.60 Bileşik 8d'ya ait $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu.....            | 100 |
| Şekil 5.61 Bileşik 8d'ya ait HRMS spektrumu.....                           | 101 |
| Şekil 5.62 Bileşik 8e'ya ait $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....              | 103 |
| Şekil 5.63 Bileşik 8e'ya ait $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....           | 104 |
| Şekil 5.64 Bileşik 8e'ya ait HRMS spektrumu .....                          | 105 |
| Şekil 5.65 Bileşik 8f'ya ait $^1\text{H}$ NMR spektrumu.....               | 107 |
| Şekil 5.66 Bileşik 8f'ya ait $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu.....            | 108 |
| Şekil 5.67 Bileşik 8f'ya ait HRMS spektrumu.....                           | 109 |
| Şekil 5.68 Bileşik 8g'ya ait $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....              | 111 |
| Şekil 5.69 Bileşik 8g'ya ait $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....           | 112 |

|                                                                         |            |
|-------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Şekil 5.70 Bileşik 8g'ya ait HRMS spektrumu .....</b>                | <b>113</b> |
| <b>Şekil 5.71 Bileşik 8h'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu .....</b>   | <b>115</b> |
| <b>Şekil 5.72 Bileşik 8h'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu.....</b>   | <b>116</b> |
| <b>Şekil 5.73 Bileşik 8h'ya ait HRMS spektrumu.....</b>                 | <b>117</b> |
| <b>Şekil 5.74 Bileşik 8i'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu .....</b>   | <b>119</b> |
| <b>Şekil 5.75 Bileşik 8i'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu.....</b>   | <b>120</b> |
| <b>Şekil 5.76 Bileşik 8i'ya ait HRMS spektrumu .....</b>                | <b>121</b> |
| <b>Şekil 5.77 Bileşik 8j'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu.....</b>    | <b>123</b> |
| <b>Şekil 5.78 Bileşik 8j'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu.....</b>   | <b>124</b> |
| <b>Şekil 5.79 Bileşik 8j'ya ait HRMS spektrumu.....</b>                 | <b>125</b> |
| <b>Şekil 5.80 Bileşik 8k'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu .....</b>   | <b>127</b> |
| <b>Şekil 5.81 Bileşik 8k'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu.....</b>   | <b>128</b> |
| <b>Şekil 5.82 Bileşik 8k'ya ait HRMS spektrumu .....</b>                | <b>129</b> |
| <b>Şekil 5.83 Bileşik 8l'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu .....</b>   | <b>131</b> |
| <b>Şekil 5.84 Bileşik 8l'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu.....</b>   | <b>132</b> |
| <b>Şekil 5.85 Bileşik 8l'ya ait HRMS spektrumu .....</b>                | <b>133</b> |
| <b>Şekil 5.86 Bileşik 8m'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu.....</b>    | <b>135</b> |
| <b>Şekil 5.87 Bileşik 8m'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu.....</b>   | <b>136</b> |
| <b>Şekil 5.88 Bileşik 8m'ya ait HRMS spektrumu.....</b>                 | <b>137</b> |
| <b>Şekil 5.89 Bileşik 8n'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu.....</b>    | <b>139</b> |
| <b>Şekil 5.90 Bileşik 8n'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu.....</b>   | <b>140</b> |
| <b>Şekil 5.91 Bileşik 8n'ya ait HRMS spektrumu.....</b>                 | <b>141</b> |
| <b>Şekil 5.92 Bileşik 8o'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu .....</b>   | <b>143</b> |
| <b>Şekil 5.93 Bileşik 8o'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu .....</b>  | <b>144</b> |
| <b>Şekil 5.94 Bileşik 8o'ya ait HRMS spektrumu .....</b>                | <b>145</b> |
| <b>Şekil 5.95 Bileşik 8p'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu .....</b>   | <b>147</b> |
| <b>Şekil 5.96 Bileşik 8p'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu.....</b>   | <b>148</b> |
| <b>Şekil 5.97 Bileşik 8p'ya ait HRMS spektrumu.....</b>                 | <b>149</b> |
| <b>Şekil 5.98 Bileşik 8q'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu.....</b>    | <b>151</b> |
| <b>Şekil 5.99 Bileşik 8q'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu.....</b>   | <b>152</b> |
| <b>Şekil 5.100 Bileşik 8q'ya ait HRMS spektrumu.....</b>                | <b>153</b> |
| <b>Şekil 5.101 Bileşik 8r'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu .....</b>  | <b>155</b> |
| <b>Şekil 5.102 Bileşik 8r'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu .....</b> | <b>156</b> |

|                                                                                                                |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 5.103 Bileşik 8r'ya ait HRMS spektrumu .....                                                             | 157 |
| Şekil 5.104 Bileşik 8s'ya ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                                                | 159 |
| Şekil 5.105 Bileşik 8s'ya ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....                                              | 160 |
| Şekil 5.106 Bileşik 8s'ya ait HRMS spektrumu.....                                                              | 161 |
| Şekil 5.107 Bileşik 8t'ya ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                                                | 163 |
| Şekil 5.108 Bileşik 8t'ya ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu.....                                               | 164 |
| Şekil 5.109 Bileşik 8t'ya ait HRMS spektrumu.....                                                              | 165 |
| Şekil 5.110 Bileşik 8u'ya ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                                                | 167 |
| Şekil 5.111 Bileşik 8u'ya ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu.....                                               | 168 |
| Şekil 5.112 Bileşik 8u'ya ait HRMS spektrumu.....                                                              | 169 |
| Şekil 5.113 Bileşik 8v'ya ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                                               | 171 |
| Şekil 5.114 Bileşik 8v'ya ait <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....                                              | 172 |
| Şekil 5.115 Bileşik 8v'ya ait HRMS spektrumu .....                                                             | 173 |
| Şekil 5.116 Bileşik 13a'ya ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                                              | 175 |
| Şekil 5.117 Bileşik 13a'ya ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                                              | 176 |
| Şekil 5.118 Bileşik 13a'ya ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                                              | 177 |
| Şekil 5.119 Bileşik 13b'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                                               | 179 |
| Şekil 5.120 Bileşik 13b'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                                               | 180 |
| Şekil 5.121 Bileşik 13b'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                                               | 181 |
| Şekil 5.122 Bileşik 13c'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                                              | 183 |
| Şekil 5.123 Bileşik 13c'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                                              | 184 |
| Şekil 5.124 Bileşik 13c'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                                              | 185 |
| Şekil 5.125 Bileşik 13d'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                                               | 187 |
| Şekil 5.126 Bileşik 13d'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                                               | 188 |
| Şekil 5.127 Bileşik 13d'ye ait <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....                                               | 189 |
| Şekil 5.127. Aktif bileşiklerin ve kontrollerin apoptoz sonuçlarına ait kadranlar.....                         | 195 |
| Şekil 5.128. Aktif bileşiklerin ve kontrollerin kaspaz-3 aktivasyon sonuçlarına<br>ait kadranlar .....         | 197 |
| Şekil 5.129. Aktif bileşiklerin ve kontrollerin mitokondriyal depolarizasyon<br>sonuçlarına ait kadranlar..... | 198 |
| Şekil 5.130 Kaspaz-3 enzimi üzerindeki yerleştirme çalışması .....                                             | 201 |
| Şekil 5.131 Kaspaz-3 enzimi üzerindeki MDS çalışması.....                                                      | 203 |
| Şekil 5.132. EGFR proteini üzerindeki yerleştirme çalışması.....                                               | 206 |



|                                                                       |            |
|-----------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Şekil 5.133 Bileşik 8I-EGFR kompleksine ait MDS çalışması.....</b> | <b>209</b> |
| <b>Şekil 5.134. Yapı etki ilişkisine ait diyagram.....</b>            | <b>210</b> |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                     |                                                                      |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Å                   | : Angstrom                                                           |
| ATCC                | : American Type Culture Collection (Amerikan tip kültür koleksiyonu) |
| 2B                  | : İki boyut                                                          |
| 3B                  | : Üç boyut                                                           |
| BEDROC              | : Boltzmann'ın geliştirilmiş alıcı-çalışma özellikleri               |
| AUAC                | : Birikim eğrisi altındaki alan                                      |
| <sup>13</sup> C-NMR | : Karbon nükleer manyetik rezonans                                   |
| DNA                 | : Deoksirübo nükleik asit                                            |
| DMF                 | : Dimetilformamit                                                    |
| DMSO                | : Dimetilsülfoksit                                                   |
| EGFR                | : Epidermal büyüme faktörü reseptörü                                 |
| E.n.                | : Erime noktası                                                      |
| EF                  | : Zenginleştirme katsayısı                                           |
| <sup>1</sup> H-NMR  | : Proton nükleer manyetik rezonans                                   |
| HBA                 | : Hidrojen bağı alıcısı                                              |
| HBD                 | : Hidrojen bağı vericisi                                             |
| IC <sub>50</sub>    | : İnhibisyon konsantrasyonu                                          |
| <i>in house</i>     | : Ekip içi                                                           |
| İTK                 | : İnce tabaka kromatografisi                                         |
| ROC                 | : Alıcı-çalışma özellikleri                                          |
| RIE                 | : İlk geliştirme sayısı                                              |

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, en basit anlamıyla hücrelerin kontrolsüzce çoğalması olarak bilinen çok çeşitli organ ve dokuları tek tek ya da bir arada etkileyebilen, bu sebeple oldukça geniş bir hastalık ailesine verilmiş bir addır. Malign neoplazma, kötü huylu tümör olarak da bilinen bir biyolojik işlemi belirtmek amacıyla kullanılmaktadır [1]. Tedavi, kanserin türüne, yaş, cinsiyet gibi hastaya özgü kişisel özellikler dikkate alınarak dinamik protokollere göre değişmekte olup tedavi yaklaşımı günümüzde dört sınıf altında toplanmıştır. Bunlar, cerrahi tedavi [2], radyoterapi [3], kemoterapi [4] ve immünoterapi [5] şeklindedir. Her ne kadar bu ayırım sınıflanmada kullanılsa da tedavi esnasında iki ya da daha çok yaklaşım beraber ya da ardı sıra uygulanabilmektedir [6, 7].

Kemoterapide klinik kullanımda olan ilaçlara karşı gelişen direnç sebebiyle [8-12] ilaçların etkinliklerinin zayıflaması; bu sebeple de alternatif yeni ilaçların geliştirilmesi günümüzde elzem olmuştur [13]. Son yıllardaki akciğer kanser vakasında ve buna bağlı ölüm oranındaki ivmeli artışlarda dünya için ciddi bir uyarıdır [14-16]. Bu sebeple, alternatif ve hatta daha güçlü yeni moleküllerin elde edilmesi bu tezin amacını oluşturmakta olup bu amaç doğrultusunda ilaçların tasarımı, sentezi ve klinik öncesi araştırmaları da tezin konusudur. Hedef, tez kapsamında antikanser etkinliğe sahip kanser hücrelerine seçici sitotoksikite gösteren özgün bir ya da daha fazla bileşiğin elde edilmesi, bunların etki yolağının aydınlatılması ve yapı etki ilişkilerinin ortaya koyulması olarak belirlenmiştir. Bu amaçla akciğer kanseri vakaları incelendiğinde yakından ilişkilendirilen Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) molekülü hedef proteini olarak belirlenmiştir.

Tirozin kinazlar ailesine üye reseptör tirozin kinazlar (RTK'ler) hücre büyümesi, hayatta kalma ve hücre farklılaşmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar [17]. Meme, yumurtalık, kolon ve küçük olmayan akciğer kanserleri gibi çok çeşitli insan kanser hücrelerinde aşırı ekspresyon gözlenmiştir. EGFR (HER1) kapsamlı bir şekilde incelenmiş önemli bir ilaç hedefidir [18, 19]. ErbB ailesinin dört ferdinden biri olarak EGFR-tirozin kinaz, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin tedavisi için en etkili hedeflerden biri olarak doğrulanmıştır [20-22]. Şimdiye kadar binlerce EGFR tirozin kinaz inhibitörü (EGFR-TKI) sentezlenmiş ve değerlendirilmiştir. EGFR inhibisyonunun çalışma prensibi, küçük moleküllerin tirozin kinazın (EGFR-TK) ATP-bağlanma bölgesini işgal ederek otofosforilasyonunu önlemek ve böylece de sinyal iletiminin blokajı sonucu tümör hücrelerinin proliferasyonunun baskılanması

şeklindedir [23, 24]. Bununla birlikte, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin klinik tedavisindeki kayda değer ilerlemeye rağmen, ilaç direncinin gelişmesi ve doz toksisitesi, terapötik etkinin sürekliliğini büyük ölçüde sınırlamaktadır [25]. Bu sebeple geliştirilen yeni moleküllerin sitotoksik etkinliğinin kanser hücrelerine seçici olması en temel hedeftir.

Günümüze dek geliştirilmiş bileşiklerin yapısını incelediğimizde [26] azot içeren halkalı bileşikler dikkat çekmekte, piridin/pirimidin ve analogları olan kinolin/kinazolin halkalarını içeren ilaçların ön plana çıktığı görülmektedir. Bunlar arasında farklı siklik yapılarla kondanse pirimidin halka sistemleri gözlemlense de klinikte kullanılan türevlerinin (**Şekil 1.1**) de etkisiyle kinazolin halka sistemi en dikkat çeken yapıdır. Bunlar arasından gefitinib ve erlotinib 1. jenerasyon, afatinib, neratinib ve dakotinib ise 2. jenerasyon EGFR inhibitörleri olarak bilinmektedir. Tüm EGFR inhibitörleri **Şekil 1.1**'de açık formülleriyle paylaşılmıştır.

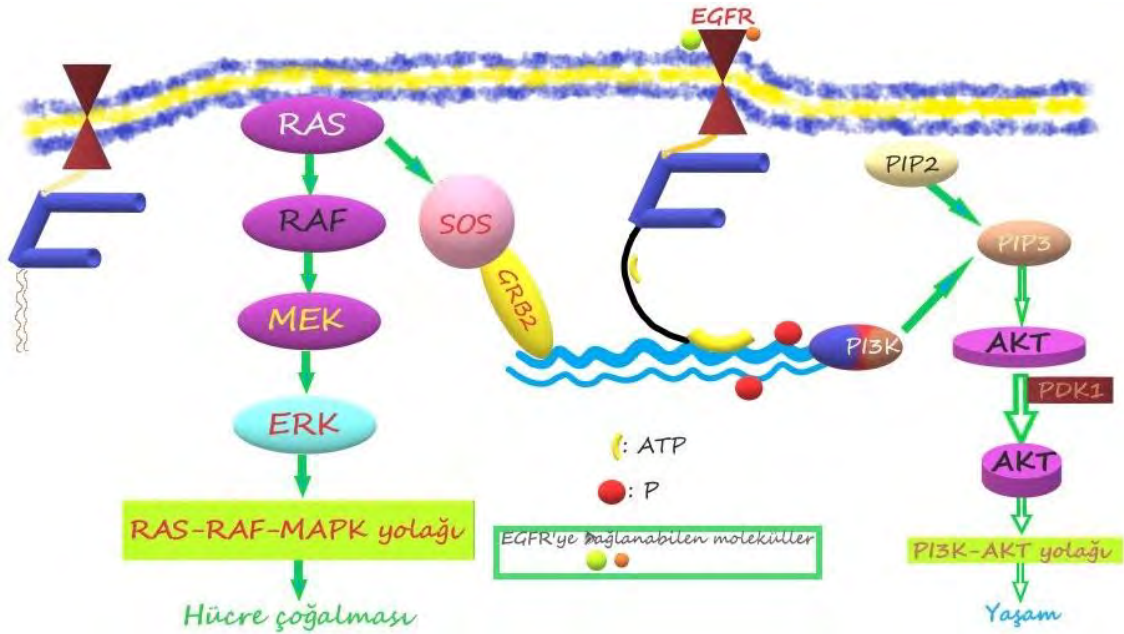


3

## 2. KAYNAK BİLGİSİ

### 2.1. EGFR proteini hakkında genel bilgiler

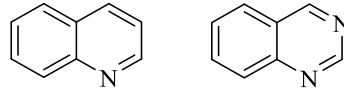
EGFR geni, onkojen güdümlü bir gendir [42]. 2004 yılındaki EGFR mutasyonun keşfiyle beraber, günümüze kadar özellikle akciğer kanserinin tedavisine yönelik spesifik hedefli tedavilerde bu proteinin hedeflenmesi üzerine yapılan çalışmalarda artış yaşanmıştır [43-45]. EGFR-Tirozin kinazlar, EGFR bağlanma bölgesi ile rekabetçi bağlanma yoluyla EGFR'nin otofosforilasyon aktivasyonunu ve hücrenin “hayatta kal” sinyal yolağını engelleyebilir. Yani, bu moleküllerin temel çalışma prensibi, ATP ile EGFR yapısının birbirine bağlanmasını önlemektir [46, 47]. EGFR sinyal yolağının hücrenin yaşamsal faaliyetindeki yeri Şekil 2.1’de basitçe şematize edilmiştir.



Şekil 2.1. EGFR yolağının şematik özeti

### 2.2. Kinolin ve kinazolin halkaları hakkında genel bilgiler

Kinolin ve kinazolin halkaları bir benzen ile kaynaşmış bir piridin ve pirimidin halkasından oluşur. Bu sebeple kinolin halkası benzopiridin ve azanaftalin; kinazolin halkası da 1,3-benzodiazin ve 1,3-diazanaftalin olarak organik kimya nomenklatüründe kullanılmaktadır.

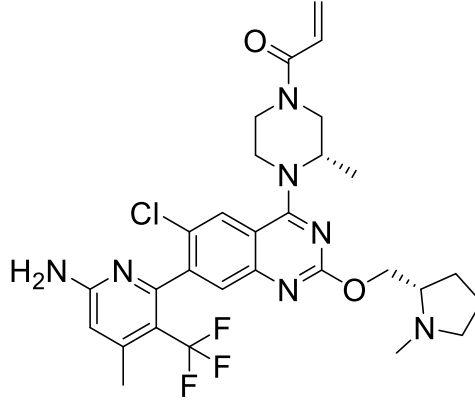


**Şekil 2.2.** Kinolin ve kinazolin halkalarının 2 boyutlu çizimleri

Her iki halkanın elde edilmesinde farklı azot kaynakları kullanılıyor olsa da ortak olarak başlangıç materyali anilin kökenlidir. Kinazolin halkası çok çeşitli farmakolojik etkiler göstermesinin yanında analog halka kinolin halkasının da biyolojik etki profili geniştir. Analogu olan kinolin halkasının da farmakolojik etki yelpazesi oldukça geniştir. Topoizomeras-I inhibitörü olan topetakan bitki kökenli bir madde olup yumurtalık kanserinin oral tedavisinde [48], aripiprazol Alzheimer hastalığına eşlik eden psikozun tedavisinde düşük yan etki profili göstermesi nedeniyle [49], pitavastatin yine düşük yan etki profiline sahip olması sebebiyle glikoz direncine karşı ya da Tip-2 diabetes mellitus hastası olup hiperkolesterol rahatsızlığından mustarip olan kişilerin tedavisinde [50] ve sistemik lupus erythematosus hastalığının, romatoid artrit ve sıtmanın tedavisinde kullanılmakta olan hidrosiklorokin [51] günümüzde kullanımı olan kinolin türevlerinin önemli örneklerindendir. Bu kadar çok çeşitli klinik kullanımlarının olması sebebiyle kinolin türevlerine olan ilgi artmakta, hatta bağlantılı olabilecek farklı biyolojik etkiler için de farklı yollar üzerindeki çalışmalar için kinolin halkası da test edilmektedir. Bir diğer kinolin halkası taşıyan önemli ilaç adayı olan QCA-1093 bileşiği, steroid yapılı olmayan glukokortikoid reseptör antagonisti etkisi araştırılmış ve bu etkiye sahip olması sebebiyle depresyonun tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Faz 0 aşamasında hayvan testleriyle de antidepresif etkisi desteklenmiştir [52]. Diaz vd. tarafından sentezlenen yeni kinolin türevlerinin,  $\sigma 1$  reseptörüne seçicilik göstermesi sonucu hem analjezik hem de nörojenik ağrıda etkili olabileceği rapor edilmiştir [53]. Son olarak **Şekil 1.1**'de de görüldüğü gibi antikanser etkinliği sebebiyle klinikte kullanılan nefatinibin yapısında da kinolin halkası yer almaktadır. İki halkanın da farmakolojik olarak bu kadar aktif olması oldukça dikkat çekicidir. Aynı zamanda bu iki halka birbirinin analogudur.

### **2.3. Kanser çalışmalarına konu olan kinolin ve/veya kinazolin içeren bileşikler**

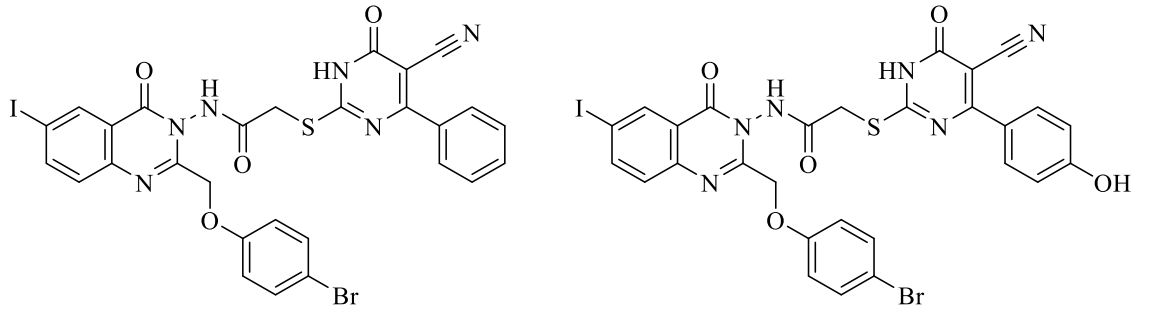
2022 yılında Kargbo tarafından yayınlanan [54] makalede, **Şekil 2.3**'teki molekülün antikanser aktivitesine bağlı olarak EGFR inhibisyonu sebebiyle patentlendiği bildirilmiştir.



**Şekil 2.3.** 2022 yılında patentlenen son EGFR inhibitörü

Abbas vd. 2022 yılında yaptıkları çalışmada [36], pirimidin ve kinazolin içeren bir serinin antikanser etkinliğini ve EGFR inhibisyon etkisini gefitinib ve erlotinibe göre karşılaştırmış ve

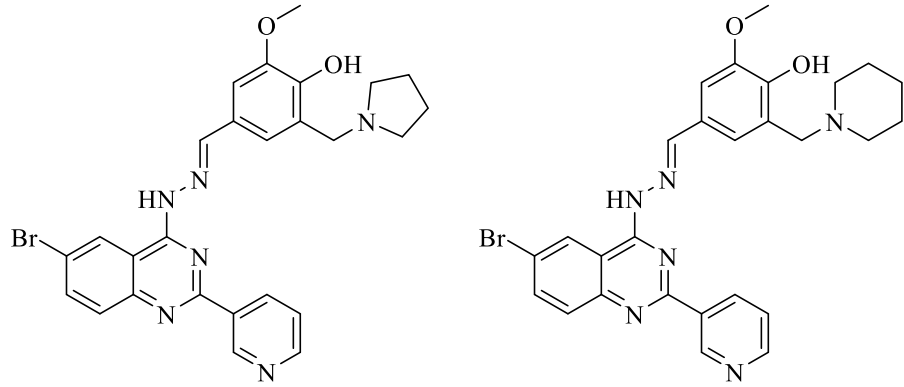
**Şekil 2.4**'teki 2 türevin etkili olduğunu bildirmişlerdir.



**Şekil 2.4.** Kinazolin-pirimidin içeren EGFR inhibitörleri

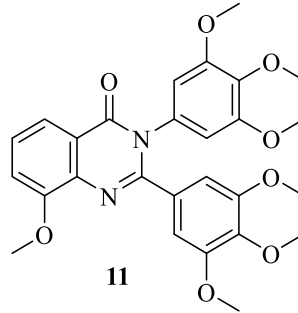
Farouk vd. 2022 yılında yaptıkları çalışmada [55], 2-(piridin-3-il)kinazolin-4-karbaldehit türevi bileşiklerin antikanser etkinlikleri ve etki mekanizmalarını araştırmıştır. Analoglardan pirol ve piperidin türevi bileşiklerin **Şekil 2.5** hem kanser hücrelerine seçici toksisite hem de EGFR inhibisyon etkisi sebebiyle diğer türevlerinden daha etkili olduğu paylaşılmıştır.





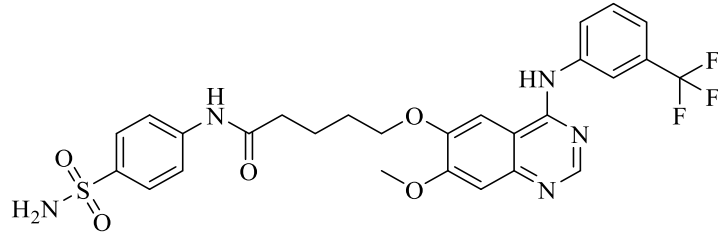
**Şekil 2.5.** 2-(Piridin-3-il)kinazolin-4-karbaldehit türevleri

Altamimi vd. 2021 yılındaki çalışmasında [56], sentezledikleri 2-amino-3-metoksibenzoik asit kökenli türevlerin HeLa (servikal kanser hücre hattı), A549 (adenokarsinom insan alveolar bazal epitel hücre hattı) ve MDA (insan meme adenokarsinomu) hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerini araştırmış ve etki yollarını incelemiştir. Türevler içinden kinazolin çekirdeği içeren bileşiklerin A549 hücre dizisine karşı konsantrasyonları 4.03-26.03  $\mu$ M konsantrasyon aralığında hesaplanmıştır. Akciğer kanserine karşı en yüksek etki şiddetine sahip türev ise 2,3-bis(3,4,5-trimetoksifenil)-8-metoksikinazolin-4(3*H*)-on (**Şekil 2.6**) bileşiğidir.



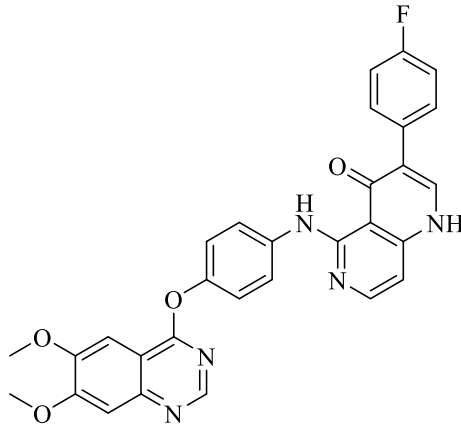
**Şekil 2.6.** 2,3-bis(3,4,5-trimetoksifenil)-8-metoksikinazolin-4(3*H*)-on bileşiği

Zhang vd. 2021 yılında yaptıkları çalışmada [57], 4. konumunda anilin türevi bulunan 23'lük ve 14'lük analog iki seri sentezlemiştir. Bu maddelerin sitotoksik etkilerini A549, A431 ve H1975 hücre hatları üzerinde test etmişlerdir. Ayrıca bileşiklerin etki mekanizmasının aydınlatılması amacıyla EGFR üzerinde de etki çalışması yapılmıştır. Sonuç olarak, sülfamitanilit içeren analog dizisinden 3-trifloroanilin türevi (**Şekil 2.7**) en aktif madde olarak bulunmuştur.



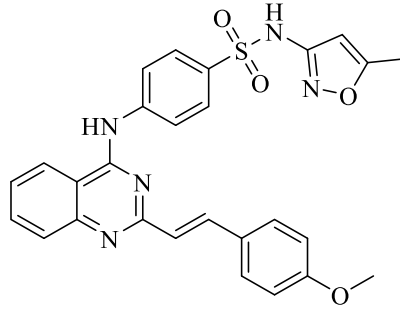
**Şekil 2.7.** En potent bileşik 5-[(7-metoksi-4-{[3-(triflorometil)fenil]amino}kinazolin-6-il)oksi]-N-(4-sülfamoilfenil)pentanamidin molekül formülü

Zhou vd. 2020 yılında kinolin ve kinazolin kökenli 1,6-naftiridinon türevlerinin antikanser etkilerini ve EGFR üzerine olan etkilerini araştırdıkları bir çalışma yayınlamışlardır [58]. Çalışma hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak yürütülmüş olup prelinik etkilerinin hala araştırıldıkları belirttikleri **Şekil 2.8**'deki bileşiğin potent bir EGFR inhibitörü olduğunu bildirmişlerdir.



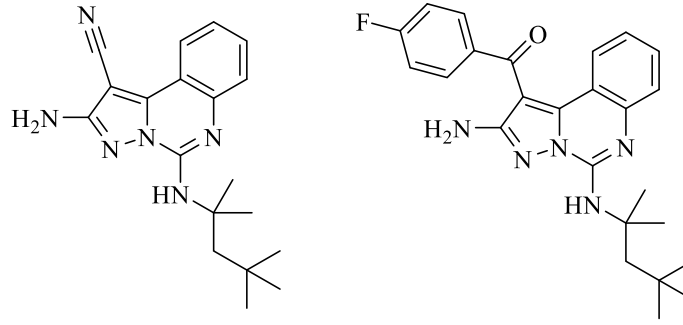
**Şekil 2.8.** Kinolin ve kinazolin kökenli 1,6-naftiridinon türevlerinden en aktif bulunan analog

2020 yılında Amin vd. tarafından yapılan çalışmada [59] kinazolin ve *N*-arilsülfonilamit içeren bir dizi bileşik tasarlayıp sentezlemiştir. Bileşiklerin antikanser etkinliği, apoptoz indüklenme özellikleri ve EGFR inhibisyon etkinliği araştırılmıştır. En aktif bileşik **Şekil 2.9**'da gösterilmiştir.



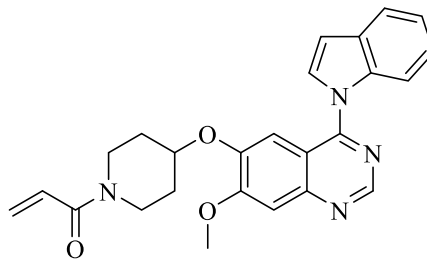
**Şekil 2.9.** Kinazolin ve *N*-arilsülfonilamit içeren apoptoz indükleyici EGFR inhibitörleri

Ansari vd. 2020 yılında yaptıkları bir çalışmada [60], pirazolo[1,5-*c*]kinazolin türevleri sentezleyerek antikanser ve EGFR inhibisyon etkilerini araştırmışlardır. En aktif iki türev **Şekil 2.10**'da paylaşılmıştır.



**Şekil 2.10.** En aktif pirazolo[1,5-*c*]kinazolin türevi

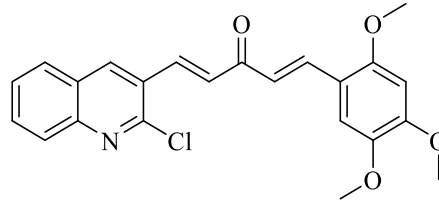
2019 yılında Spectrum Pharmaceuticals şirketi tarafından kinazolin çekirdeğine sahip indol ve piperidinopropenamit türevi bileşik (**Şekil 2.11**) için patent [61] alınarak EGFR inhibisyonu olduğu bildirilmiştir.



**Şekil 2.11.** İndol ve piperidinopropenamit içeren kinazolin türevi

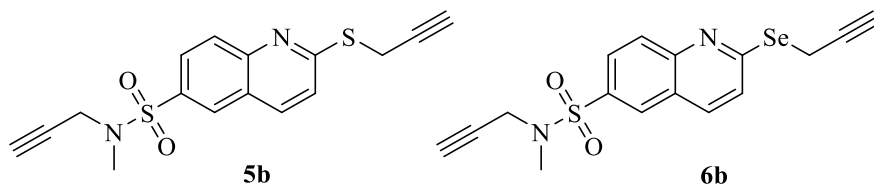
2018 yılında Sri Ramya vd. tarafından yapılan çalışmada [62] zerdeçal bitkisinde bulunan kurkumin maddesinden hareketle 2-kloro ya da 2-fenoksi kinolin yapıları

sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antikanser etkinlikleri HeLa, HGC-27, PC-3, DU-145, NCIH460 ve 4T1 hücre hatlarına karşı test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre yapı-etki ilişkisi ortaya konmuştur. En aktif bileşik (**Şekil 2.12**), 48 saatlik inkübasyon sonunda hücre hatları üzerinde 1.81-8.73  $\mu$ M konsantrasyonlarda sitotoksik etkinlik göstermiştir.



**Şekil 2.12.** (1E,4E)-1-(2-klorokinolin-3-il)-5-(2,4,5-trimetoksifenil)penta-1,4-dien-3-on molekülünün açık formülü

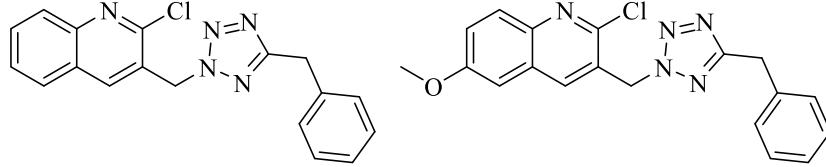
Marciniec vd. 2017 yılında yaptıkları çalışmada [63] tasarladıkları bileşiklerin meme kanserine karşı etkinliklerini MCF-7 (insan adenokarsinomu), MDA-MB-231 ve T-47D (insan duktal karsinomu) hücrelerinde *in vitro* koşullarda test etmiş ve moleküler yerleştirme çalışmalarıyla yapı-etki ilişkilerini ortaya koymuşlardır. Sonuç olarak kinolin halkasının 6. konumunda *N*-metil-*N*-allil sülfonamit ve ikinci konumunda kükürt ya da selenyum ile halkaya bağlanan allil grubu içeren iki analog en aktif bileşikler (**Şekil 2.13**) olup aktivite yolları da aydınlatılmıştır.



**Şekil 2.13.** 6-(*N*-metil-*N*-allil sülfonamit)-2-(alliltiyoksi/allilselanil)kinolin analogları

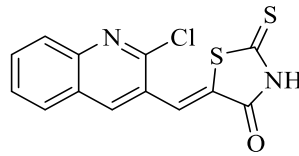
2017 yılında yapılan bir başka çalışmada [64], tetrazolilmetil kinolin ana yapısı içeren 20 madde sentezlenerek sitotoksik etkileri 60 farklı insan kanser hücre hattı ve 2 farklı fungus üzerinde test edilmiştir. Değerlendirmelerin ardından bileşiklerin antifungal etkinlikleri zayıf kalırken, 14 bileşiğin kanser hücre hatları üzerinde öldürücü olarak tayin edilmiştir. Ek olarak 2-klorokinolin yapısı farmakofor yapı olarak belirlenmiştir. Dahası 6. konumunda sübstitüent içermeyen ya da metoksi grubu

bulunduran iki bileşiğin (Şekil 2.14) antikanser etkinliği, diğer türevlere nazaran daha iyi olarak deklare edilmiştir.



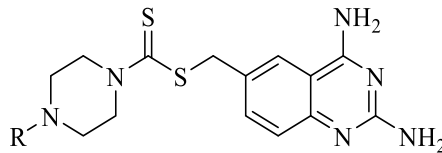
**Şekil 2.14.** Aktif bulunan tetrazolilmetil kinolin türevleri

2014 yılında yapılan bir çalışmada [65] 3-formil-2-klorokinolin ve rodanin moleküllerinin (Şekil 2.15) melezleştirilmesiyle elde edilen bileşiklerin antikanser özellikleri incelenmiştir. Bileşikler genel olarak DU145 (prostat kanseri) ve HGC (gastrik kanser) hücre hatlarına karşı mikromolar konsantrasyonda yüksek sitotoksik etki göstermiştir.



**Şekil 2.15.** 3-Formil-2-klorokinolin ve rodanin türevlerinin ana yapısı

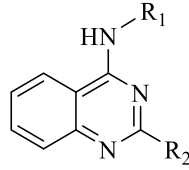
2013 yılında yapılan bir çalışmada [66], 21 kinazolin türevi sentezlenmiş (Şekil 2.16) ve antikanser aktiviteleri A549, MCF7, HeLa, HT29 ve HCT116 kanser hücreleri üzerinde *in vitro* ortamda test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar şekildeki ana yapının güçlü bir antikanser özellik gösterdiğini ortaya koymuştur.



**Şekil 2.16.** 2,4-Diaminokinazolin ve piperazin ditiyokarbamat hibrit türevleri

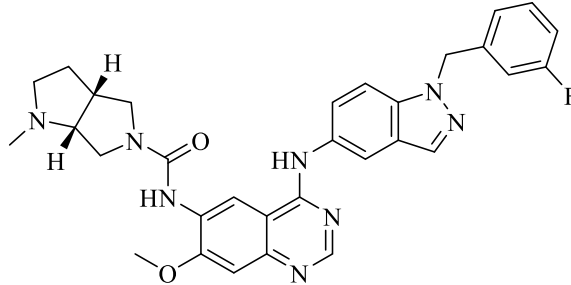
2013'te yapılan bir çalışmada [67], 4-mono ya da 2,4-disüstitüe kinazolin türevleri sentezlenmiş (Şekil 2.17) ve MDCK wild type ve MDCK BCRP kanser hücre

hatları üzerinde antikanser özellikleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda kinazolinin 4. pozisyonundaki meta ikameli anilin grubu, orto- veya para ikameli anilin halkasına kıyasla daha yüksek inhibitör etki gösterdiği bulunmuştur. Bunun yanı sıra kinazolin parçasının 4. pozisyonundaki anilin halkası üzerinde ve hidrojen bağı yapmaya elverişli NO<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub> gibi elektron çekici grupların olması BCRP inhibisyonu için optimum olarak belirlenmiştir.



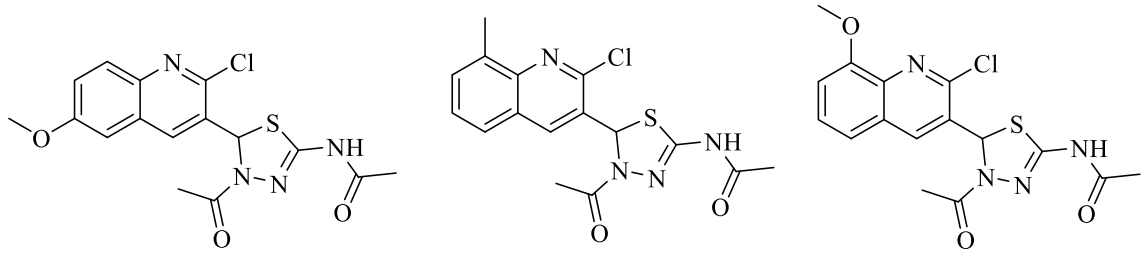
**Şekil 2.17.** 2,4-Diaminokinazolin ve ditiyokarbamat hibrit türevleri

2013 yılında patentlenen benzimidazol-kinazolin türevi (**Şekil 2.18**) birbirine bir amin grubuyla bağlanmıştır. Bileşiğin farmasötik olarak kullanabilecek çeşitli tuz yapılarıyla EGFR aktivitesi için patentlendiği bildirilmiştir [68].



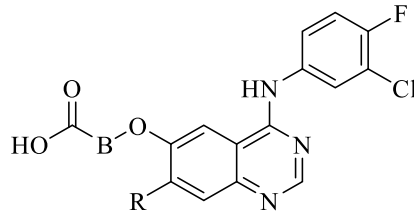
**Şekil 2.18.** 1,2-Benzimidazol-kinazolin türevi

2010 yılındaki bir çalışmada [69], *N*-[4-asetil-5-(6,7,8-süstitüeli-2-klorokinolin-3-il)-4,5-dihidro-1,3,4-tiyadiazol-2-il]asetamit türevleri sentezlenerek sitotoksik etkinlikleri araştırılmıştır. Yapı etki ilişkileri incelenerek 6-metoksi, 8-metoksi ve 8-metil kinolin türevleri (**Şekil 2.19**) umut vadeden türevler olarak belirlenmiştir.



**Şekil 2.19.** 2-Klorokinolin tiyadiazol melezleşmesiyle elde edilen en aktif bileşikler

2008 yılında gefitinib ve türevlerinin divalan metal atomlarıyla bağ yapmaya müsait gruplarla modifikasyonunu içeren bir dizi çalışma yapılmış ve elde edilen bileşikler için patent başvurusu [70] yapılmıştır. Bileşiklerin hem EGFR tirozin kinaz inhibisyonu hem de matriks metaloproteaz gibi metal bağımlı antikanser yolları üzerinde etkili olduğu duyurulmuştur.



**Şekil 2.20.** Çinko bağlanma bölgesine sahip yeni EGFR inhibitörleri

\*B: C<sub>3-9</sub> düz zinciri ya da C<sub>5-7</sub> β-hidroksi sübstitüentli alkil zinciri

### 3. GEREÇLER

#### 3.1. Kullanılan Maddeler

|                                  |                                                            |
|----------------------------------|------------------------------------------------------------|
| A549 Hücre Hattı                 | : ATCC, ABD                                                |
| 2-Aminobenzotiyazol              | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| 2-Amino-6-etoksibenzotiyazol     | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| 2-Amino-6-florobenzotiyazol      | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| 2-Amino-6-klorobenzotiyazol      | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| 2-Amino-6-metilbenzotiyazol      | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| 2-Amino-6-metoksibenzotiyazol    | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| 2-Amino-6-nitrobenzotiyazol      | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| Antranilik asit                  | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| Anilin                           | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| Apoptoz ve Nekroz Kantitatif Kit | : BD Pharmingen, San Jose, CA, ABD                         |
| Aseton                           | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| Asetonitril                      | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| 2-Bromoetilasetat                | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| Diklorometan                     | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| DMEM                             | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| DMF                              | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>      | : Merck, Almanya                                           |
| EGFR kinaz inhibisyon kiti       | : BPS Bioscience, Katalog no. 40321,<br>San Diego, CA, ABD |
| Etanol                           | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| Etil izotiyosiyanat              | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| Fenil izotiyosiyanat             | : Sigma-Aldrich, Almanya                                   |
| Sığır serumu                     | : Capricorn, Güney Amerika                                 |



|                                             |                          |
|---------------------------------------------|--------------------------|
| 4-Florofenil izotiyosiyanat                 | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| Formamit                                    | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| Hidrazin mono hidrat                        | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 2-Kloro asetil klorür                       | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 2-Kloroaseton                               | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 2-Kloroasetoasetat                          | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 4-Kloroasetoasetat                          | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 4-Klorofenil izotiyosiyanat                 | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 3-Klorofenil izotiyosiyanat                 | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 2-Klorofenil izotiyosiyanat                 | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| L929 hücre hattı                            | : ATCC, ABD              |
| Metanol                                     | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 4-Metilfenil izotiyosiyanat                 | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 3-Metilfenil izotiyosiyanat                 | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 2-Metilfenil izotiyosiyanat                 | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 4-Metoksifenil izotiyosiyanat               | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 3-Metoksifenil izotiyosiyanat               | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| 2-Metoksifenil izotiyosiyanat               | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| MTT Boyası                                  | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| PBS                                         | : Gibco, İngiltere       |
| Potasyum hidroksit                          | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| RPMI                                        | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| Sodyum hidroksit                            | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| Silikajel 60 F254 kaplı alüminyum İTK plağı | : Sigma-Aldrich, Almanya |
| Tiyoüre                                     | : Sigma-Aldrich, Almanya |

Tripsin : Sigma-Aldrich, Almanya

### 3.2. Kullanılan Cihazlar

|                                          |                                                 |
|------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Elektronik terazi                        | : Shimadzu, Libror EB-330 HU, Japonya           |
| Erime derecesi tayin cihazı              | : Mettler Toledo-MP90 Melting Point System, ABD |
| Etüv                                     | : Heraeus, Almanya                              |
| İnkübatör                                | : Heraeus, Almanya                              |
| Kütle spektrometresi                     | : Shimadzu, LCMS-IT-TOF, Japonya                |
| Manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı     | : Heidolph, MR 3003, Almanya                    |
| Moleküler görüntüleme cihazı             | : BIO-RAD, ChemiDoc XRS+, ABD                   |
| Nükleer manyetik rezonans spektrometresi | : Bruker, UltraShield 300 MHz, ABD              |
| Steril kabin                             | : Class II TypeA2 (CHC-222A2-60), Güney Kore    |
| Ultraviyole lambası                      | : Camag, Cabinet, İsviçre                       |
| Vorteks                                  | : Wisemix, Kore                                 |

## 4. YÖNTEMLER

### 4.1. Farmakofor Hipotez Çalışmaları

Antikanser etkinlik göstermesi amacıyla tasarlanan bileşiklerin ilk aşamada iyi bir seçicilik profiline sahip olması, hedef aktivite yollarını seçici olarak inhibe/regüle etmesi gibi özelliklere göre elenerek sentezlenmesi ekonomik ve zaman kazandırıcıdır. Bu sebeple, küçük olmayan akciğer karsinom tedavisinde kullanılmak üzere yeni hipotezlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir.

#### 4.1.1. Çok sayıda ilaç molekülü ve bir protein kristali kullanılarak hipotez geliştirme

Ana hedef olarak EGFR yolağı belirlendiğinden bu proteine ait kristal yapı (PDBID: 2ITY) RCSB protein veri bankasından indirilmiştir. Hipotezler geliştirilirken aktif set için 14 bileşik (-tinibler: krizotinib, sunitinib, bosutinib, dasatinib, kabozantinib, dakomitinib, lapatinib, afatinib, brigatinib, ibrutinib, osimertinib, erlotinib, gefitinib ve neratinib) kullanırken, inaktif set için EGFR üzerinde ya düşük etkinliğe sahip ya da bu proteine hiç bağlanmayan 19 bileşik (-tinibler: imatinib, tofasitinib, nilotinib, ponatinib, lenvatinib, aksitinib, alectinib, ruxsolutinib, fostamatinib, barisitinib, kobimetinib, seritinib, binimetinib, lorlatinib, gilteritinib, erdafitinib, akalabrutinib, peksidartinib ve larotrekatinib) kullanılmıştır. Dolayısıyla molekül seti 33 adet kanser etkinliği bilinen -tinib bileşiğinden oluşmaktadır. Bu bileşiklerin farklı yerleştirme çalışmaları farklı proteinler üzerinde uygulanan daha önceki prosedürlerde [71-74] olduğu gibi yapılmış ve sonuçta en iyi pozları seçilmiştir. Seçilen bu pozlardan hareketle çoklu molekül ve tek EGFR protein kristali kullanılarak hipotez geliştirme çalışmaları yürütülmüştür. Daha sonra elde edilen hipotezlerin doğrulamaları klinikte kullanılmakta olan aktif bileşikler (-tinib bileşikleri) ile Schrodinger LLC tarafından erişime açık paylaşılan parça koleksiyonu kullanılarak (erişim tarihi 09.09.2020) yapılmıştır. Tüm bu işlemler Maestro paket programı [75] aracılığıyla, farmakofor hipotezlerin üretimi ve doğrulanmaları ise PHASE [76, 77] arayüzü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bunun için hipotezlerin EF (zenginleştirme katsayısı), BEDROC (Boltzmann'ın geliştirilmiş alıcı-çalışma özellikleri), AUAC (birikim eğrisi altındaki alan), ROC (alıcı-çalışma özellikleri) ve RIE (ilk geliştirme) değerleri incelenmiş ve uygun olan hipotez ya da hipotezler kullanılmıştır. EF değeri, elde edilen hipotezin ne kadar doğru ölçüm yaptığını gösteren, yani rastgele hedef

seçimini engelleyen bir parametredir. Diğer değişle, tarama yapılırken tanımlanmış bir erken tanıma fraksiyonundaki maksimum aktifleri bulma kabiliyetinin nicel bir ölçüsüdür; böylelikle de rastgele bir şekilde inaktif molekülün seçimini engeller. Bu sebeple bu değerin 1'den büyük olması, hipotezin çalıştığını söylerken; 1'den ne derece büyük olduğu ise yalancı aktif ve aktif olmayan moleküllerin yerine kaç kat olasılıkla gerçek aktif molekülün seçileceğini, yani hipotezin ne denli güçlü olduğunu göstermektedir. (Bu tez kapsamında, EF hesabı tuzak setin %1'i için hesaplanmış ve kullanılmıştır.) BEDROCK değeri ise, erken zamanda aktif moleküllerin tanınmasında kullanılan nicel değerdir; çeşitli ayar parametreleri vardır. Bunlar  $\alpha = 8.0$ ,  $\alpha = 20.0$  ve  $\alpha = 160.9$  olarak bilinirler. Bunlar içinden BEDROCK  $\alpha = 20.0$  değerinin %80 üstünde olması hipotezin sağlıklı bir şekilde kullanılabilmesi için şarttır. Buna benzer şekilde, sanal tarama performansını ölçmek için AUAC da hipotezin doğrulanmasında kullanılan bir değerdir. Basitçe, AUAC, yalancı pozitiflerin aktif maddelere oranı anlamına gelir. Sağlıklı olarak dağıtılmış bir veri kümesinde rastgele seçilen herhangi bir bileşiğin aktif bileşik gelme olasılığının yalancı pozitif gelme olasılığından yüksek olması beklenir. Kısacası bu alan hipotezin ayırt etme gücünü ortaya koymaktadır ve değeri 1'e yaklaştıkça hipotezin ayırt etme gücü artar. Aynı AUAC değerinde olduğu gibi ROC değeri de hipotezin ayırt etme gücünün bir göstergesidir ve 1'e ne kadar yakınsa o kadar güçlü bir hipotez olduğunu göstermektedir. Son olarak RIE değeri de yine AUAC gibi hipotezin ayırt etme gücünün bir göstergesidir ve bu değerin 10'nun üstünde olması hipotezin kullanılabilmesi için minimum koşuldur [78-81].

Hipotez ya da hipotezlerin değerlendirilmesinden sonra, daha önceden sentezi planlanan kinolin ve/veya kinazolin çekirdeği içeren 544 adet bileşikten oluşan ekip içi (*in house*) molekül kütüphanesinin taranmasında kullanılmıştır. Hipotezlerle en az 5 hipotetik özelliği eşleşen öncü moleküllerin mensup olduğu seri setlerinin deneysel aktivite çalışmalarını yapmak ve bilgisayar destekli yapı-etki ilişkilerini aydınlatmak amacıyla sentezleri gerçekleştirilmiştir.

#### **4.1.2. Literatür tabanlı EGFR aktif bileşikler ve tek protein kristali kullanarak hipotez geliştirme**

ZINC veri bankasından (<https://zinc.docking.org/> erişim tarihi: 29.08.2020) EGFR inhibisyonu pK<sub>i</sub> değeri üzerinden hesaplanmış 5947 adet bileşikten, en az 3 farklı konumundan süstitüe edilmiş piridin ya da pirimidin halkaları içeren 70 bileşik seçildi.

Maestro programı kullanılarak [75], seçilen bileşikler LigPrep modülü ile  $\text{pH}=7.4\pm 1.0$  ortamına uygun olarak hazırlandıktan sonra, ufak değişiklikler dışında, tüm hipotez elde etme ve sağlama basamakları **Bölüm 4.1.1**'deki bileşiklerin hazırlanmasından sonra yapılan işlemlerle birebir aynıdır. Yapılan değişiklik ise şu şekildedir:

- $\text{pK}_i$  değeri 7.0 ve üstü bağlanma değerine sahip olan bileşikler, aktif bileşik olarak tanımlandı. Kalan bileşikler için herhangi bir atama yapılmayarak nötr kabul edildi ve hipoteze dahil edildi. (Bu değişiklik ile hipotez geliştirilmesinin temel sebebi, bu hipotez dahilinde kullanılan bileşiklerin henüz klinikte kullanılmalarının olmamasıdır.)
- Tuzak set için kullanılan molekül seti Schrodinger LLC tarafından sağlanan (erişim tarihi: 30.08.2020) ve ilaç benzeri özellikleri sebebiyle özel olarak hazırlanan 1000 moleküllük bir settir [82, 83].

Elde edilen hipotezler **Bölüm 4.1.1**'de olduğu gibi değerlendirilip daha önceden sentezi planlanan kinolin ve/veya kinazolin çekirdeği içeren 544 adet bileşikten oluşan *ekip içi* molekül kütüphanesinin taranmasında kullanılmıştır. Hipotezlerle en az 5 hipotetik özelliği eşleşen öncü molekülün mensup olduğu seri setlerinin deneysel aktivite çalışmalarını yapmak ve bilgisayar destekli yapı-etki ilişkilerini aydınlatmak amacıyla sentezleri gerçekleştirilmiştir.

## 4.2. Sentez Çalışmaları

### 4.2.1. 4-Kinazolinon sentezi (1)

**Yöntem A:** Yağ banyosu içinde antranilik asit ile bunun 1.2 katına eş değer molde formamit 6 saat boyunca karıştırıldı. Reaksiyonun kontrolü İTK ile yapıldı. Reaksiyon buzlu suya dökülerek sonlandırıldı. Çöken kısım suyla yıkanarak süzüldü ve kurutuldu. Kurutulduktan sonra hekzandan kristallendirildi.

**Yöntem B:** Antranilik asit ile bunun 1.2 katına eş değer molde formamit mikrodalga içerisinde 15 dk boyunca 500W reaksiyona sokuldu. Reaksiyonun kontrolü İTK ile yapıldı. Reaksiyon buzlu suya dökülerek sonlandırıldı. Çöken kısım suyla yıkanarak süzüldü ve kurutuldu. Kurutulduktan sonra hekzandan kristallendirildi.

#### 4.2.2. Etil 2-[4-oksokinazolin-3(4*H*)-il]asetat (2) ve etil 2-(kinolin-8-iloksi)asetat sentezi (9)

**Yöntem C:** 4-Kinazolinon (1) veya 8-hidroksikinolin aseton içerisinde çözüldü ve 1.5 kat mol K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> reaksiyon balonuna eklendi. Başlangıç maddesinin 1.1 katı molde etil 2-bromoasetat da karışıma eklenerek karışım geri çeviren soğutucu aparatıyla reaksiyona sokuldu. Reaksiyonun bitimi İTK ile yapıldı. Reaksiyonun bitiminin ardından aseton uçuruldu ve çöken kısım suyla yıkanarak süzüldü.

#### 4.2.3. 2-[4-Oksokinazolin-3(4*H*)-il]asetohidrazit (3) ve 2-(kinolin-8-iloksi)asetohidrazit (10) sentezi

**Yöntem D:** Etil 2-[4-oksokinazolin-3(4*H*)-il]asetat (2) veya etil 2-(kinolin-8-iloksi)asetat (9) etanol içerisinde çözüldü. Çözeltilinin üzerine başlangıç maddesinin 1,5 katı molde hidrazin monohidrat/etanol çözeltisi kısım kısım eklendi. Karışım oda sıcaklığında gece boyu bırakıldı. Reaksiyonun bitimi İTK ile yapıldı. Çöken kısım süzülerek ayrıldı ve kurutuldu. Etanol ile tekrar kristallendirildi.

#### 4.2.4. *N*-(Süstitüe)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4*H*)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit türevlerinin (4a-4l) ve *N*-(4-metoksifenil)-2-[2-(kinolin-8-iloksi)asetil]hidrazin-1-karbotiyoamit (11) ara ürününün sentezi

**Yöntem E:** Buz banyosunda, etanol içerisinde çözülen 2-[4-oksokinazolin-3(4*H*)-il]asetohidrazit (3) veya 2-(kinolin-8-iloksi)asetohidrazit (10) üzerine, yine alkol içinde çözülen eşit molde çeşitli alkil/aril izotiyosiyanatlar veya 4-metoksifenilizotiyosiyanat eklendi. Reaksiyonun kontrolü İTK ile yapıldı. Çöken kısım alkolle yıkanarak süzüldü ve kurutuldu. Ürünler alkolden tekrar kristallendirildi.

#### 4.2.5. 3-{[4-(4-Metoksifenil)-5-tiyokso-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-3-il]metil}kinazolin-4(3*H*)-on (5) ve 4-(4-metoksifenil)-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4*H*-1,2,4-triazol-3-tiyol (12) sentezi

**Yöntem F:** *N*-(4-Metoksifenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4*H*)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4a) veya *N*-(4-metoksifenil)-2-(2-(kinolin-8-iloksi)asetil)hidrazin-1-karbotiyoamit (11), 2M NaOH'in etanol çözeltisi içerisinde 2 saat boyunca geri çeviren soğutucu aparatıyla kaynatıldı. Reaksiyonun bitimi İTK ile yapıldı. Reaksiyonun

bitiminin ardından karışım buzlu suya döküldü ve seyreltik HCl çözeltisi ile pH: 7'ye ayarlandı. Ardından çöken kısım süzüldü ve suyla yıkandı. Nihai ürünler etanolden kristallendirildi.

#### **4.2.6. 3-[(5-Tiyokso-4,5-dihydro-1,3,4-oksadiyazol-2-il)metil]kinazolin-4(3H)-on (6)**

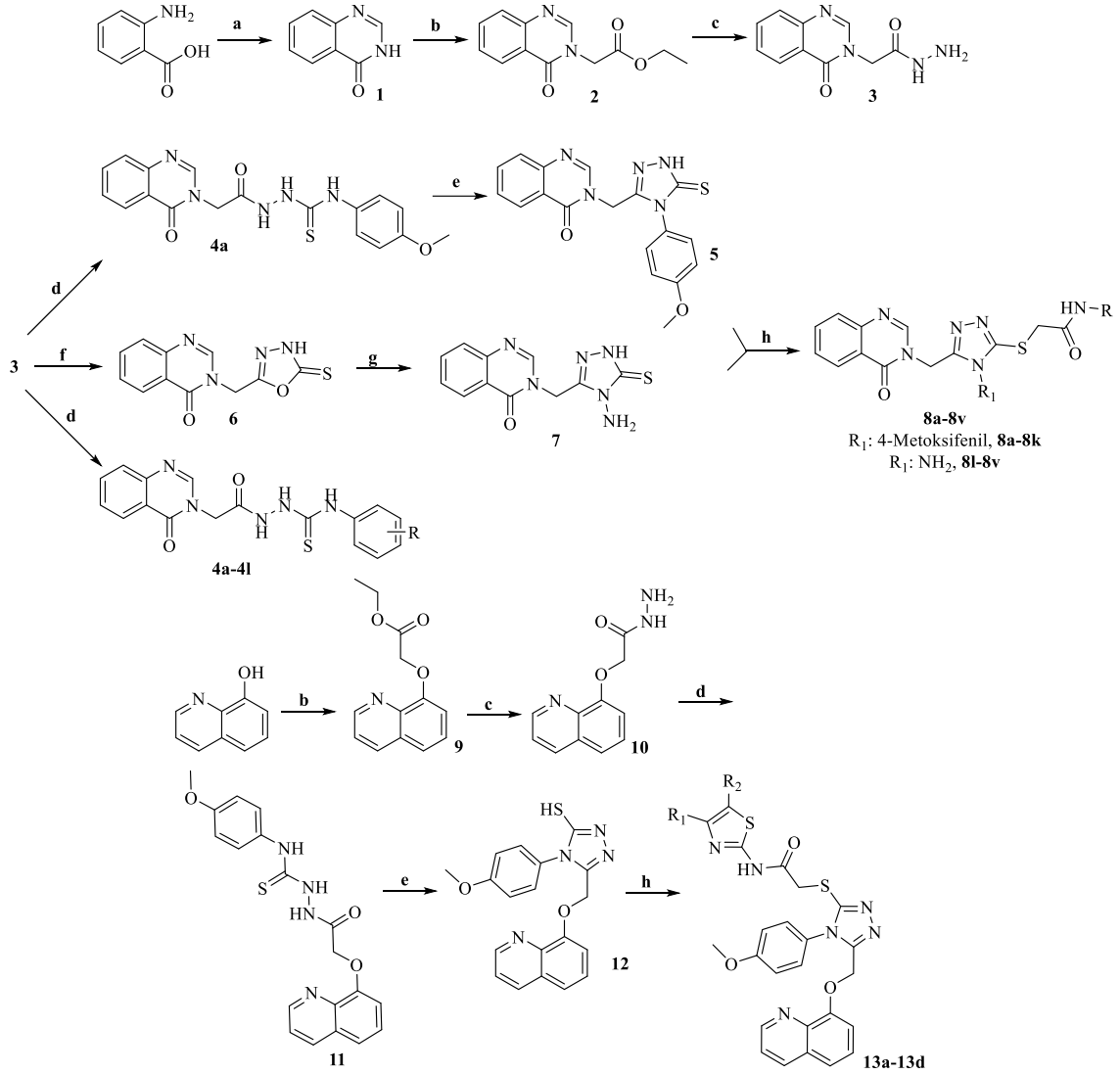
**Yöntem G:** Elde edilen **3** numaralı bileşik 2M NaOH'in etanol çözeltisi içerisinde çözüldü. Buz banyosu içerisinde üzerine 1.2 katı miktarda CS<sub>2</sub> dikkatlice ilave edildi. Karışım buz banyosunda 30 dk, ardından oda sıcaklığında 30 dk bekletildi. Çökelmeler gözlemlendikten sonra geri çeviren soğutucu altında 2 saat boyunca kaynatıldı. Reaksiyonun bitimi İTK ile yapıldı. Reaksiyonun bitiminin ardından karışım buzlu suya döküldü ve seyreltik HCl çözeltisi ile pH: 7'ye ayarlandı. Ardından çöken kısım süzüldü ve suyla yıkandı. Nihai ürün etanolden kristallendirildi.

#### **4.2.7. 3-[(4-Amino-5-tiyokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-3-il)metil]kinazolin-4(3H)-on (7)**

**Yöntem H:** Elde edilen **6** numaralı bileşik, etanolde çözüldü ve üzerine başlangıç maddesinin 2 katı molde hidrazin monohidrat eklenerek kaynatıldı. Reaksiyonun bitimi İTK ile yapıldı. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından çöken kısım etanolla yıkanarak süzüldü. Sonuç ürün alkolden kristallendirildi.

#### **4.2.8. 2-{[4-(4-Metoksifenil/amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il]tiyo}-N-aril asetamit (8a-8k;8l-8v) ve 2-{[4-[4-metoksifenil]-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4H-1,2,4-triazol-3-il]tiyo}-N-aril asetamit (13a-13d) türevleri**

**Yöntem I:** Elde edilen **5, 7 ve 12** numaralı bileşikler, çeşitli 2-kloro-N-aril asetamit (1 kat) türevleriyle aseton içinde K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,5 kat) katalizörlüğünde 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Reaksiyonların bitimi İTK ile kontrol edildi. Reaksiyonun bitiminin ardından çözücü uçuruldu ve katı kısım suyla yıkanarak süzüldü. Kurutulan sonuç ürünleri etanolden kristallendirildi.



**Şekil 4.1.** Hedef bileşiklerin genel sentez şeması

Reaksiyon koşulları **a.** HCONH<sub>2</sub>, yağ banyosu 6 saat ya da mikrodalga, 15 dk. **b.** BrCH<sub>2</sub>COOEt, Aseton, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, kaynatma. **c.** N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, oda sıcaklığı, gece boyu. **d.** R-NCS, 0°C, sonra oda sıcaklığı. **e.** EtONa, 0°C, sonra kaynatma. **f.** CS<sub>2</sub>, EtONa, 0°C, sonra kaynatma. **g.** N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, kaynatma, 2 saat. **h.** Aril asetamit türevleri, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, aseton, oda sıcaklığı.

### 4.3. İTK Çalışmaları

Adı geçen ara ürünlerin ya da sonuç bileşiklerin eldelerinde, reaksiyonların kontrolü İTK uygulanarak sağlanmıştır. Belli zamanlarda deney ortamından alınan numuneler ile başlangıç başlangıç maddelerinin etanol:DMF karışımı içerisindeki çözeltileri hazırlanıp adsorban olarak seçilen silika jel 60 F254 kaplı, önceden uygun çözücü karışımları ile doyurulmuş alüminyum plaklara kılcal boru yardımıyla uygulanmıştır. Hareketli fazlar içerisinde belirli bir süre plak yüzeyinde sürüklendikten sonra, lekelerin gözlenebilmesi için ultraviyole ışığı (254 nm ve 366 nm) kullanılmıştır.



İTK sonucuna göre reaksiyonlar ya sonlandırılmış ya da zamana bırakılmıştır. Tez kapsamındaki her bir sentezin kontrolü için uygun İTK hareketli fazları, farklı çözücü karışımları denenerek bulunmuştur. Tüm yöntemlerde anlatılan sentezlerin kontrolü için uygun hareketli fazın petrol eteri:etil asetat (9:1) olduğuna karar verilmiştir.

#### **4.4. Erime Noktalarının Tayini**

Adı geçen bileşiklerin erime noktaları Mettler Toledo-MP90 Melting Point System kullanılarak tespit edilmiştir. Bir ucu kapatılan kılcal boruya 0.5 cm kadar bileşikten koyulmuş ve cihazın haznelerine yerleştirilmiştir. İşlem bittiğinde cihazdan alınan videolar izlenerek bileşiklerin erime noktaları not edilmiştir.

#### **4.5. <sup>1</sup>H-NMR Spektrumlarının Alınması**

Elde edilen orijinal bileşiklerin <sup>1</sup>H-NMR spektrum plotları DMSO-*d*<sub>6</sub> içindeki çözeltilerinin tetrametilsilana (TMS) karşı Bruker 300 MHz'lik NMR spektrometresine uygulanması sonucu alınmış ve işlenerek ilgili maddenin altında paylaşılmıştır.

#### **4.6. <sup>13</sup>C-NMR Spektrumlarının Alınması**

Elde edilen orijinal bileşiklerin <sup>13</sup>C-NMR spektrumları DMSO-*d*<sub>6</sub> içindeki çözeltilerinin, tetrametilsilana (TMS) karşı Bruker 75 MHz'lik NMR spektrometresine uygulanması sonucu alınarak işlenmiş ve ilgili maddenin altında paylaşılmıştır.

#### **4.7. Kütle Spektrumlarının Alınması**

Elde edilen orijinal bileşiklere ait kütle spektrumları, numunelerin asetonitril ya da metanol içerisindeki çözeltileri LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto, Japonya) cihazına enjekte edilerek ve elektron sprey iyonizasyon (ESI) iyonlaştırma tekniği kullanılarak negatif ve pozitif modda alınmıştır.

#### **4.8. Aktivite Çalışmaları**

##### **4.8.1. Sitotoksosite etkilerinin belirlenmesi**

Çalışmada, antikanser etkinliği belirlemek amacıyla küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hattı (A549-ATCC® CCL-185™) ve sağlıklı hücreler üzerindeki sitotoksositeyi belirlemek için de sağlıklı fare fibroblast hücre hattı (L-929 ATCC®

CCL-1TM) kullanılmıştır. Sitotoksosite çalışmaları, daha önce yayınlanan çalışmalarımızdaki prosedürlerdeki tarif üzerine uygulanmıştır [72, 73, 84].

#### **4.8.2. Apoptotik etkinliklerin belirlenmesi**

Apoptoz ve nekroz, sırasıyla doğal ve kanserli doku ölümü, yani hücrenin doğal ölümü ve intiharı olarak bilinen hücre ölüm senaryolarıdır. Bu sebeple antikanser ilaçlardan beklenen önemli noktalardan biri de molekülün, kanser hücrelerinin ölümünü apoptotik yolla indüklemesidir. Bunu belirlemek amacıyla A549 hücre hattına seçicilik indeksi yüksek aktif bileşiklerin apoptozu indükleyip indüklemedikleri araştırılmıştır. Araştırmada kullanılan yöntem, daha önce yayınlanan makalelerdeki şekliyle yürütülmüştür [72, 85]. FITC Annexin V apoptosis detection kit (BD Pharmingen, San Jose, CA, USA) kullanılarak BD FACSAria flow cytometer cihazında okunmuştur. Okuma işlemi için tedarikçinin önerisiyle FACSDiva version 6.1.1 bilgisayar programı (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) kullanılmıştır.

#### **4.8.3. Aktivite yollarıyla ilgili çalışmalar**

##### **4.8.3.1. Kaspaz-3 aktivasyonunun spektrofotometrik analizi**

Deney prosedürü, çalışma grubumuz tarafından daha önce uygulandığı gibi yürütülmüştür [86]. Kaspaz-3 aktivasyonu, Spectrofluorometric Caspase-3 Assay kit (BD Pharmingen, Franklin Lakes, NJ) ile test edildi. Kit, apoptoz geçiren hücrelerin erken bir belirteci olan kaspaz-3 veya DEVD parçalama aktivitesini ölçmek için tasarlanmıştır. İlk olarak hücreler ( $1 \times 10^6$  hücre/mL) fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkanır, soğuk hücre liziz tamponunda yeniden süspanse edilir ve 30 dakika buz üzerinde inkübe edilir. Bileşikler ve sisplatin, MTT ile hesaplanan  $IC_{50}$  dozlarında 24 saatlik inkübasyonun ardından hücre lizatları hazırlanır. Her reaksiyon için, 5 mL sulandırılmış AcDEVD-AMC (Kaspaz-3 aktivitesi için sentetik tetrapeptid florojenik substrat), 0.2 mL 1 x HEPES tamponu içeren kuyucuklara ilave edilir. Her kuyuya (reaksiyon ortamına) hücre lizatı (20 uL) ilave edilir. Reaksiyon karışımları 1 saat boyunca 37°C'de inkübe edilir. Ac-DEVD-AMC'den serbest bırakılan AMC miktarı, 380 nm uyarma dalga boyuna ve 460 nm emisyon dalga boyuna sahip mikroparka okuyucu (Perkin Elmer/Victor/X3) kullanılarak ölçümü alınır. Aktif kaspaz-3 içeren apoptotik hücre lizatları, kontrollere kıyasla önemli bir emisyon vermektedir. Ayrıca, apoptotik olmayan hücre lizatlarına (kontrol grubuna) ait AMC emisyonu %100 olarak

kabul edilir ve diğer hücre lizatların emisyonları, kontrol hücrelerinin emisyonlarına göre ölçülür. Tüm deneyler iki kez tekrarlanmakta ve tüm dozlar için çift kuyucuk kullanılmaktadır.

#### ***4.8.3.2. Mitokondriyal membran depolarizasyonunun tayini***

Mitokondriyal membran depolarizasyonunun tayini hücrelerin JC-1 ile boyanması esasına dayanmaktadır ve yöntem tedarikçinin (BD, Pharmingen Flow sitometri kiti) yönergesine ve daha önce yapılan bir başka çalışmaya [87] göre gerçekleştirilmiştir. MTT yöntemi ile en aktif bileşikler belirlendikten sonra, bileşiklerin A549 hücreleri üzerindeki mitokondriyal membran bütünlüğü IC<sub>50</sub> konsantrasyonlarında test edilmiştir. Bu amaçla hücreler, 6 kuyucuklu plakalarda (1x10<sup>6</sup>/mL hücreyi aşmayan) optimal yoğunlukta tohumlanmıştır. Hücreler daha sonra test edilecek maddelerle uygun konsantrasyon ve zamanda inkübe edilmiştir. İşlemden sonra her hücre süspansiyonu 15 mL polistiren santrifüj tüpüne alınarak hücreler 400Xg'de 5 dakika boyunca santrifüjlendi ve süpernatanttan ayrılmıştır. Her bir plaka 0.5 mL taze hazırlanmış çalışma solüsyonu eklenip solüsyon vortekslenmiştir. Test hücreleri, JC-1 çalışma solüsyonunda 37°C'de 10-15 dakika bekletildikten sonra iki kez yıkanmıştır. İlk yıkamada 1X tahlil tamponun 2 mL'si eklenmiş ve hücreler dikkatlice süspande edilmiştir. Daha sonra hücreler 400Xg'de 5 dakika santrifüjlenip yine süpernatanttan dikkatlice ayrılmıştır. İkinci yıkamadaysa 1X tahlil tamponun 1 mL'si eklenmiş ve vortekslenmiştir. Hücreler yine 400Xg'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra her hücre kuyucuğu 0.5 mL 1X tahlil tamponu içinde süspande edilip vortekslenmiştir. Son olarak, hücreler, akış sitometresi kullanılarak analiz edilmiştir. Pozitif kontrol olarak sisplatin kullanılarak sonuçlar karşılaştırılmıştır.

#### ***4.8.3.3. EGFR aktivitesinin belirlenmesi***

EGFR (ErbB-1; HER1), reseptör tirozin kinaz ailesinden olup aşırı ekspresyonunda ya da hiperaktivasyonuna bağlı olarak çeşitli dokularda kanser ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Bkn: **GİRİŞ VE AMAÇ**). Aktif bulunan maddelerin EGFR kinaz inhibisyonunu belirlemek amacıyla üreticinin talimatlarına göre EGFR kinaz tahlil kiti (BPS Bioscience, Katalog no. 40321, San Diego, CA, ABD) kullanılmıştır. Her bileşik için dört bağımsız deney yapıldı ve Ortalama  $\pm$  S.E. hesaplandı. Pozitif kontrol için gefitinib kullanılmıştır.

#### 4.8.4. Moleküler Yerleştirme ve Dinamik Simülasyon (MDS) Çalışmaları

Moleküler yerleştirme çalışmaları, protein ve aktif maddenin etkileşimini incelemek için uygulanan in silico prosedürlerdir. Kaspaz-3 (PDB ID: 4QTX) ve EGFR (PDB ID: 2ITY) X-ışını kristal yapıları, Protein Veri Bankası sunucusundan (www.pdb.org, erişilen 01 Ağustos 2019) indirilmiştir. Bu proteinlerin yapıları ayrı ayrı Schrödinger Maestro [75] ara yüzü kullanılarak oluşturuldu ve daha sonra Schrödinger Suite 2020'nin Protein Hazırlama Sihirbazı protokolünde hazırlandı. Aktif bileşiklerin pH değerleri  $7.4 \pm 1.0$  ortamına uygun olarak LigPrep modülü [88] aracılığıyla hazırlandı. Bağlanma yörelerinin haritalandırılması için Glide modülü [89] kullanılarak oluşturuldu ve yerleştirme işlemleri standart hassas yerleştirme yöntemiyle (SP) gerçekleştirildi.

## 5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR

### 5.1. Farmakofor Hipotez Çalışmaları

İki farklı yöntem kullanılarak farmakofor hipotezler elde edilmeye çalışılmıştır. **Bölüm 4.1.1**'deki yöntem klinikte kullanılan EGFR (ErbB-1) inhibitörleri ile antikanser etkisini farklı tirozin kinaz inhibisyonu üzerinden gösteren antikanser ilaçlar (-tinib) kullanılarak oluşturulmuştur. Buradaki amaç, tirozin kinaz etkisi göstermesine rağmen ErbB-1 ile etkileşime girmeyen ya da zayıf etkileşim gösterebilecek bileşiklerin eliminasyonunu hedeflemektir. **Bölüm 4.1.2**'deki yöntem ise, şu ana kadar (molekül setinin indirildiği tarihe kadar) tüm bilimsel literatürden EGFR etkisine sahip moleküllerin içinden en az 3 farklı konumdan süstitüe edilmiş piridin ya da pirimidin halkasına sahip bileşikler toplanmıştır. Bu bileşiklerden elde edilecek farmakofor hipotezlerin, yine aynı halka sistemlerinden oluşturulmuş *ekip içi* molekül bankamızın taranmasında kullanılması hedeflenmiştir. Bu iki yöntemden elde edilen hipotez(ler) aracılığıyla *ekip içi* molekül bankamız tarandığında bulunan öncü moleküllerin analoglarıyla beraber sentezleri gerçekleştirilmiştir.

#### 5.1.1. Hipotezlerin doğrulanması

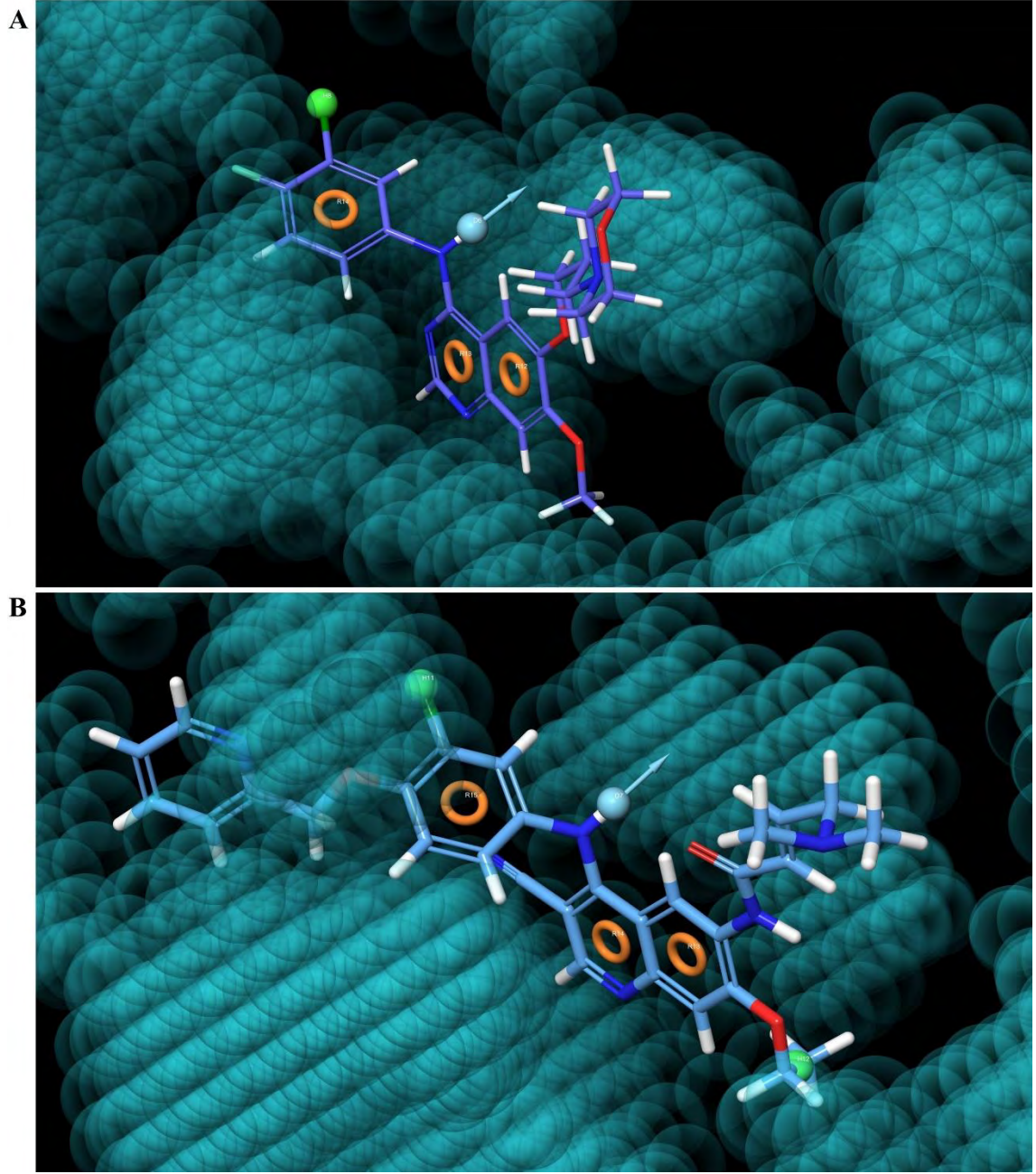
##### 5.1.1.1. Çok sayıda ilaç molekülü ve bir protein kristali kullanılarak elde edilen hipotezler

Çok sayıda ilaç molekülü kullanılarak elde edilen 30 hipotezden, doğrulama verileri sebebiyle kullanıma uygun olan 2 adet hipotez uygun bulunmuştur. Bu iki hipoteze ait doğrulama verileri aşağıdaki **Tablo 5.1**'de verilmiştir.

**Tablo 5.1.** Uygun hipotezlere ait doğrulama verileri

| Hipotez No | Phase Hypo Score | EF1%  | BEDROC ( $\alpha=20$ ) | ROC  | AUAC | RIE   |
|------------|------------------|-------|------------------------|------|------|-------|
| DHHRRR_1   | 1.03             | 48.64 | 0.867                  | 0.86 | 0.92 | 14.22 |
| DHRRR_3    | 1.19             | 48.64 | 0.819                  | 0.79 | 0.88 | 13.43 |

Molekül bankasının taranmasında kullanılabilecek bu iki hipotezden DHHRRR\_1 kodlu hipotez kinolin halkasına sahip bir ilaç olan neratinib etkin maddesini referans molekül olarak kullanırken, DHRRR\_3 kodlu hipotez ise kinazolin halkası içeren gefitinib adlı ilacı model molekül olarak kullanmıştır. Bu iki farklı hipotezin elde edilebilmiş olması, çalışmanın hedeflerinden birinin tamamlanması olarak değerlendirilmiştir. Hipotezlere ait 3 boyutlu gösterimler **Şekil 5.1**'de paylaşılmıştır.



**Şekil 5.1.** DHRRR\_3 (üst, gefitinib) ve DHRRR\_1 (alt, neratinib) hipotezlerine ait 3B gösterim.

\*Mavi baloncuklar harici hacmi temsil etmektedir.

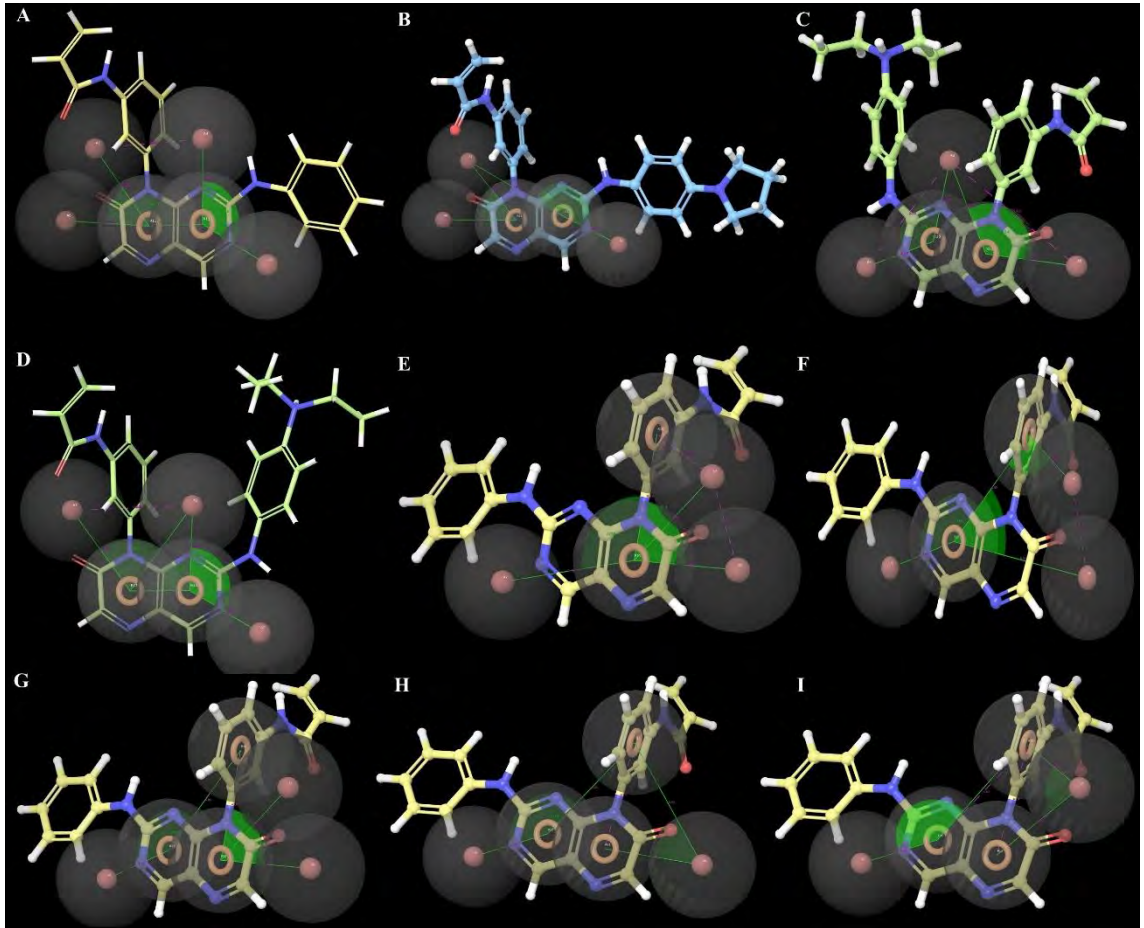
### 5.1.2. Literatür tabanlı EGFR aktif bileşikler ve tek protein kristali kullanarak kullanılarak elde edilen hipotezler

Çok sayıda ilaç molekülü kullanılarak elde edilen 30 hipotezden, doğrulama verileri sebebiyle kullanıma uygun olan 9 adet hipotez uygun bulunmuştur. Bu iki hipoteze ait doğrulama verileri aşağıdaki **Tablo 5.2**'de verilmiştir.

**Tablo 5.2.** Uygun hipotezlere ait doğrulama verileri

| Hipotez No | Phase Hypo Score | EF1%  | BEDROC ( $\alpha=20$ ) | ROC  | AUAC | RIE   |
|------------|------------------|-------|------------------------|------|------|-------|
| AAARR_4    | 1.21             | 44.48 | 0.953                  | 0.96 | 0.96 | 15.36 |
| AAAARR_2   | 1.23             | 44.48 | 0.949                  | 0.96 | 0.96 | 15.28 |
| AAARR_5    | 1.20             | 44.48 | 0.942                  | 0.96 | 0.96 | 15.18 |
| AAARR_2    | 1.21             | 44.48 | 0.947                  | 0.95 | 0.96 | 15.25 |
| AAARR_3    | 1.20             | 44.48 | 0.940                  | 0.95 | 0.96 | 15.15 |
| AAARRR_3   | 1.20             | 44.48 | 0.922                  | 0.95 | 0.96 | 14.85 |
| AAARR_6    | 1.17             | 44.48 | 0.912                  | 0.95 | 0.96 | 14.69 |
| AARRR_2    | 1.13             | 44.48 | 0.874                  | 0.95 | 0.95 | 14.07 |
| AARRR_1    | 1.09             | 44.48 | 0.831                  | 0.94 | 0.94 | 13.38 |

Hipotezlere ait 3 boyutlu gösterimler Şekil 5.2’de model molekülleriyle paylaşılmıştır.



**Şekil 5.2.** AAAARRR\_2 (ZINC000096933693), AAARR\_2 (ZINC000096933669), AAARR\_3 (ZINC000096933670), AAARR\_4 (ZINC000096933670), AAARR\_5 (ZINC000096933693), AAARRR\_3 (ZINC000096933693), AARRR\_1 (ZINC000096933693) ve AARRR\_2 (ZINC000096933693) hipotezlerine ait 3B gösterim.

\*Yeşil alan 3 hipotez özelliğinin oluşturduğu açıyı ve açık kırmızı kesikli çizgi ise iki özelliğin arasındaki mesafeyi göstermek için kullanılmıştır.



### 5.1.3. Molekül bankasının taranması

İki yöntem sonucu elde edilen 11 adet hipotez, bu tez çalışması kapsamında sentezlenmesi düşünülen kinolin ve kinazolin türevlerinden oluşan *ekip içi* molekül bankasını taramak için kullanılmıştır. Bu tarama işlemi, her bir hipotez için, hipotezin en fazla 2.00 Å tolerans alan içerisinde en az 5 hipotik özellikte eşleşen bileşikler için gerçekleştirilmiştir. Tarama sonuçlarında **Tablo 5.3**'te referans molekül ile hipotez kodları ve **Şekil 5.3**'te bunlarla beraber veri kütüphanesinde uyumlu bulunan bileşiklerin 3B çakışık pozlamaları paylaşılmıştır.

**Tablo 5.3.** Farmakofor hipotezlere uyan kurum içi molekül seti molekül sayıları

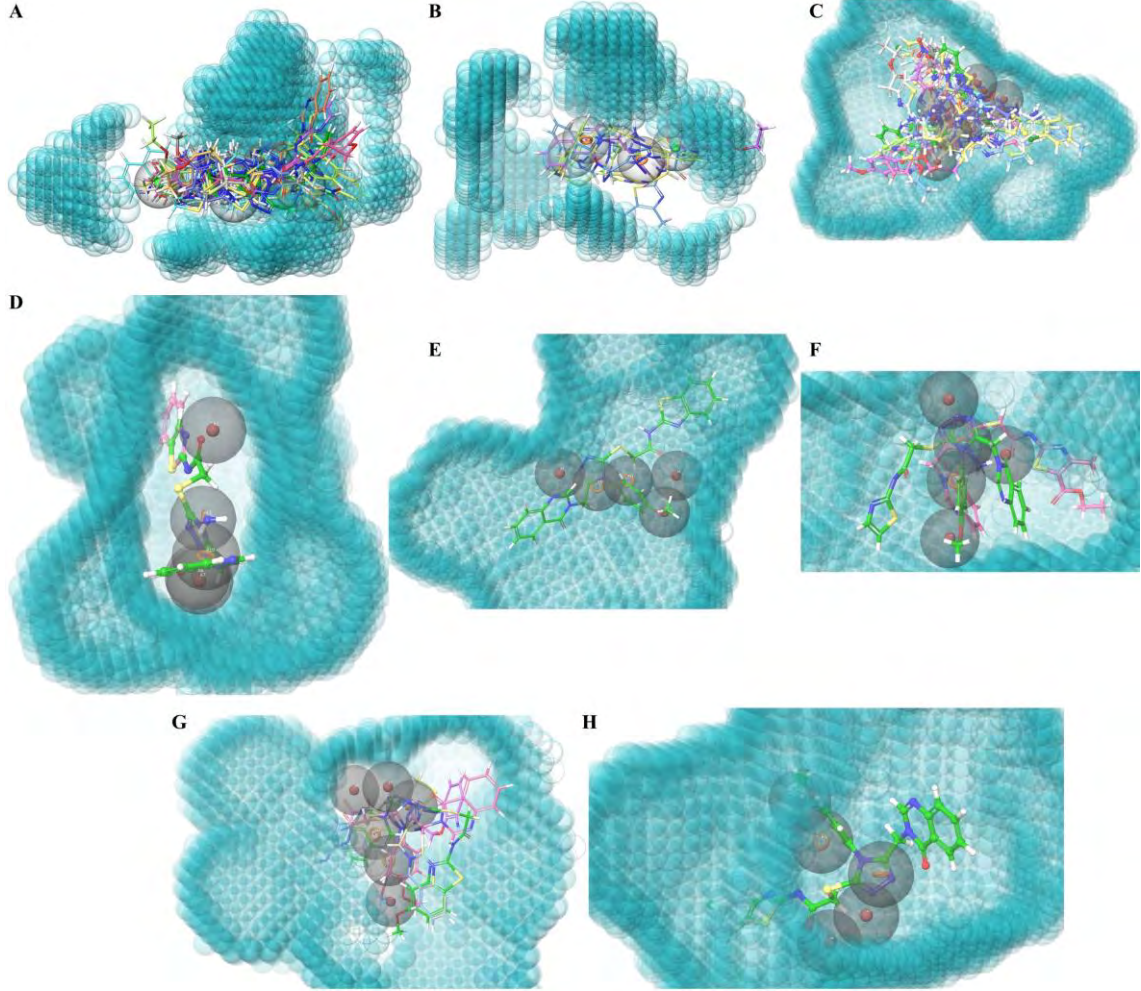
| Hipotez No | Referans Molekül | Öncü molekül sayısı |
|------------|------------------|---------------------|
| DHHRRR_1   | Gefitinib        | 15                  |
| DHRRR_3    | Neratinib        | 4                   |
| AAARR_4    | ZINC000096933670 | 0                   |
| AAAARR_2   | ZINC000096933693 | 20                  |
| AAARR_5    | ZINC000096933693 | 2                   |
| AAARR_2    | ZINC000096933669 | 1                   |
| AAARR_3    | ZINC000096933670 | 2                   |
| AAARRR_3   | ZINC000096933693 | 11                  |
| AAARR_6    | ZINC000096933693 | 4                   |
| AARRR_2    | ZINC000096933693 | 0                   |
| AARRR_1    | ZINC000096933693 | 0                   |

Buna göre AAARR\_4, AARRR\_2 ve AARRR\_2 hipotezlerine uyan herhangi bir öncü molekül filtrelenmemiştir. Buna karşın DHHRRR\_1 ve AAAARR\_2 (**Şekil 5.3-A** ve **C**) hipotezlerine uyan, sırasıyla 15 ve 20 adet öncü bileşik bulunmuştur. Bu bileşikler arasında *N*-aminotriazol türevlerine ait iskelet sebebiyle bu iki hipotezin gerekliliklerini sağladıkları ve sübstitüent etkisinin önemsiz olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, iki zıt soruyu doğurmaktadır: Bu ana yapı bir antikanser farmakofor yapı mı yoksa bir ya da birkaç özelliğin eksikliği sebebiyle oluşmuş birer seçici olmayan hipotez sebebiyle görülen bir durum mu?

Bu iki hipotez için hesaplanan harici hacmin ve diğer hipotezlerde de öncü molekül olarak karşımıza çıkan *N*-aminotriazol türevlerinin varlığı sebebiyle sorunun cevabının, bu ana yapının bir farmakofor grup olduğu düşünülmektedir. Ancak, ileriki çalışmalarda bu iki hipotezin *N*-aminotriazol ya da analogu ya da biyoizoster yapı içeren kütüphanelerin taranmasında kullanımından kaçınılması ya da geniş havuzları taramak için ön tarama olarak kullanılması önerilebilir. Bu tez kapsamında bu iki hipotezden *N*-aminotriazol türevleri için ayırt edici olmaması sebebiyle ikincil olarak



yararlanılmıştır. Diğer hipotezlerle filtrelenen öncü molekülün(lerin) 3B pozları **Şekil 5.3**'te gösterilmiştir.



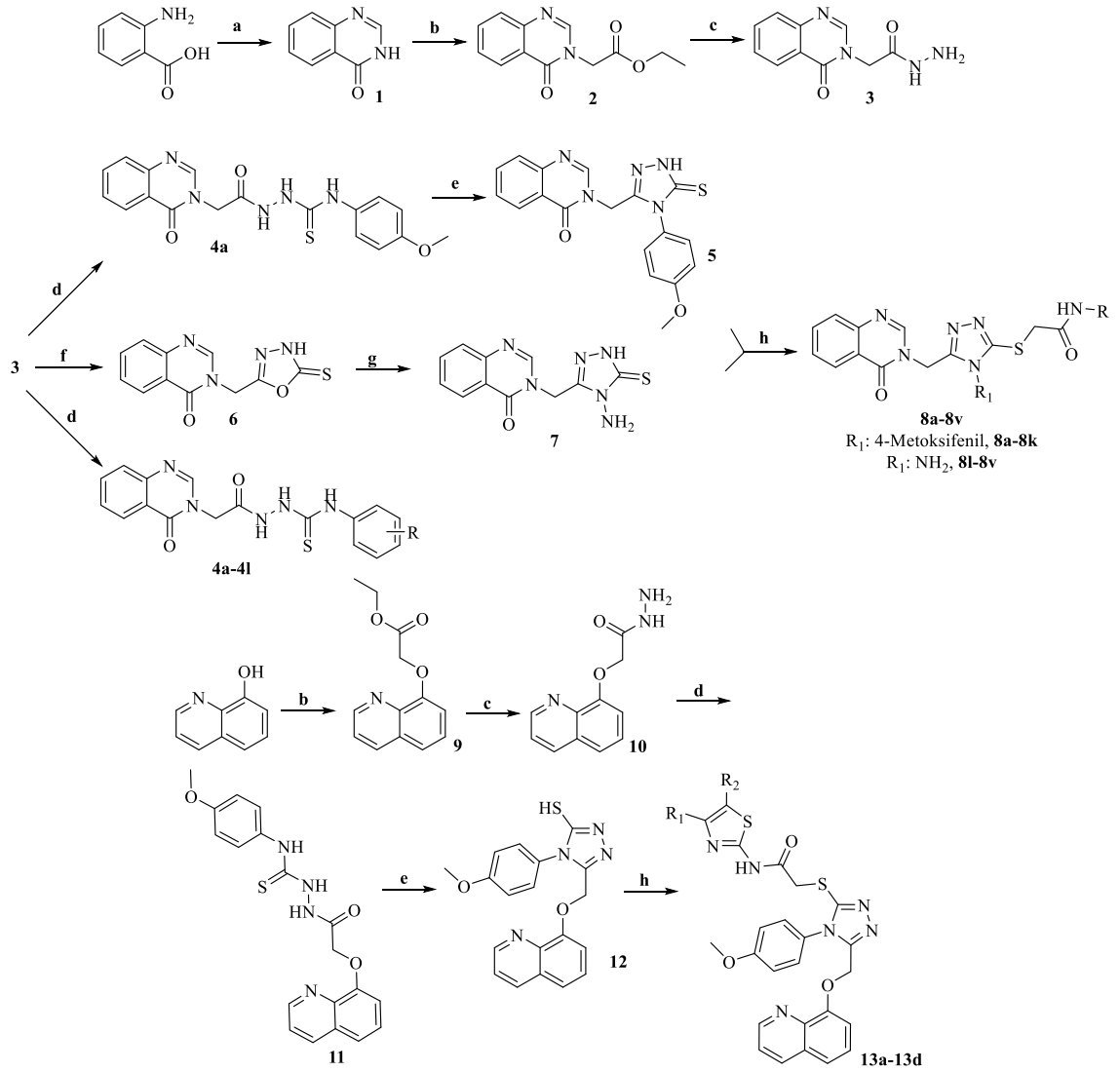
**Şekil 5.3.** Öncü moleküller ile hipotezlerinin üst üste çakışık 3B pozları

A: DHRRR\_1, B: DHRRR\_3, C: AAAARR\_2, D: AAARR\_5, E: AAARR\_2, F: AAARR\_3, G: AAARRR\_3, H: AAARR\_6. Mavi baloncuklar dahil edilmeyen hacmi ifade etmektedir. C-H için, sadelik amacıyla ön yüzeyde bulunan harici hacimler silikleştirilmiştir.

Sonuç olarak, öncü moleküllerden hareketle kinazolin-4(3*H*)-on halkasının 3. konumundan metil köprüsü ile bağlanan *N*-(4-metoksifenil)triazol ve *N*-aminotriazol halka yapılarının (benzo)tiyazol türevleri ile hidrazinokarbotiyoamit yapılarının ve de kinolinin 8. konumundan metilenoksi köprüsüyle bağlanan *N*-(4-metoksifenil)triazol halkasının tiyazol türevlerinin sentezinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Bu bileşikler, bölüm 4.1.1 ve 4.1.2'deki kriterleri sağlayan bileşiklerdir ve tespit edilen öncü bileşikler ile analogları, bunların antikanser etkinliklerini incelemek ve yapı-etki ilişkilerini anlamak amacıyla sentez basamağına taşınmıştır.

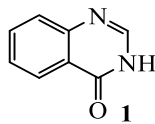
## 5.2. Sentez Çalışmaları

Sentezi hedeflenen kinolin ve kinazolin türevlerinin sentez şeması

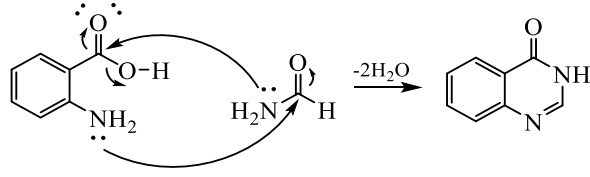


Şekil 4.1'te paylaşılmıştır.

### 5.2.1. 4-(3H)-Kinazolinon (1)

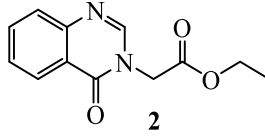


Yöntem A veya Yöntem B'ye göre sentezlenmiştir. Verim: %89 veya %97. Deneysel E.n: 270-271°C, literatür e.n: 272-272.5°C [90].

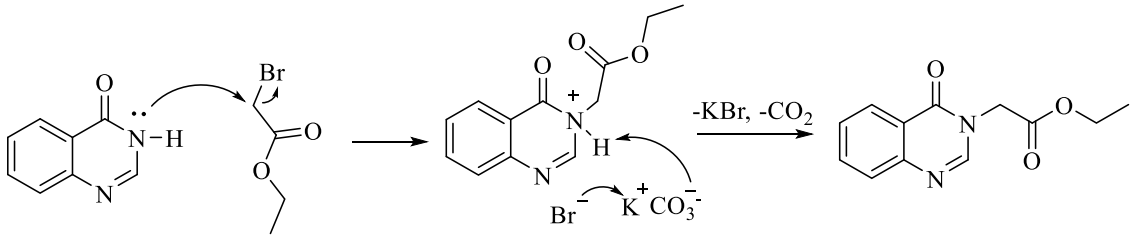


Şekil 5.4. Bileşik 1 için öngörülen reaksiyon mekanizması

### 5.2.2. Etil 2-(4-oksokinazolin-3(4H)-il)asetat (2) ve etil 2-(kinolin-8-iloksi)asetat sentezi (9)



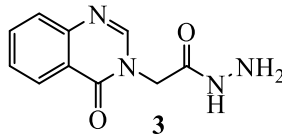
Yöntem C'ye göre sentezlenmişlerdir. Verim: %87. Deneysel E.n: 172-173°C, literatür e.n: 177-179°C [91].



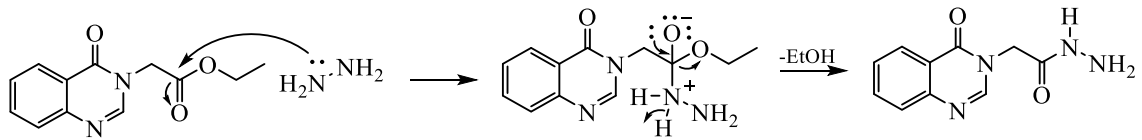
Şekil 5.5. Bileşik 2 için öngörülen reaksiyon mekanizması

Bileşik 9 için de reaksiyon mekanizması benzer şekilde ön görülmektedir. Heteroatom olarak hidroksi oksijenin elektronlarının  $\alpha$ -karbona saldırısıyla tepkimenin girdiği düşünülmektedir.

### 5.2.3. 2-[4-Oksokinazolin-3(4H)-il]asetohidrazit (3) ve 2-(kinolin-8-iloksi)asetohidrazit (10) sentezi



Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir. Verim: %76. Deneysel E.n: 241-242°C, literatür e.n: 247-249°C [92].



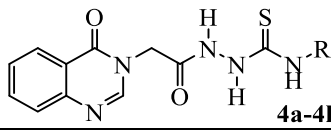
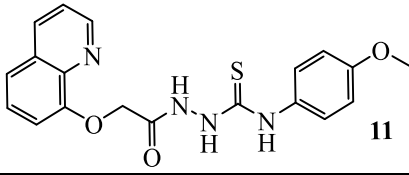
Şekil 5.6. Bileşik 3 için öngörülen reaksiyon mekanizması

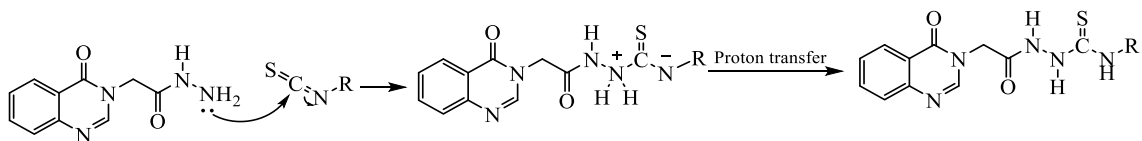
Bileşik 10 için de reaksiyon mekanizması benzer şekilde ön görülmektedir. Hidrazin azotunun elektronlarının ester karbonil karbonuna saldırısıyla reaksiyonun başladığı düşünülmektedir.

#### 5.2.4. *N*-(Süstitüe)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4*H*)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit türevlerinin (4a-4l) ve *N*-(4-metoksifenil)-2-[2-(kinolin-8-iloksi)asetil]hidrazin-1-karbotiyoamit (11) ara ürününün sentezi

Tüm bileşikler yöntem E tarifine göre sentezlenmiştir.

Tablo 5.4. Sentezlenen asetilhidrazin-1-karbotiyoamit bileşikleri (4a-4l ve 11)

| <br>4a-4l |                |    | <br>11 |    |              |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|--------------|
| R                                                                                            |                |    | R                                                                                          |    |              |
| 4a                                                                                           | 4-Metoksifenil | 4e | 3-Metilfenil                                                                               | 4i | 2-Klorofenil |
| 4b                                                                                           | 3-Metoksifenil | 4f | 2-Metilfenil                                                                               | 4j | 4-Florofenil |
| 4c                                                                                           | 2-Metoksifenil | 4g | 4-Klorofenil                                                                               | 4k | fenil        |
| 4d                                                                                           | 4-Metilfenil   | 4h | 3-Klorofenil                                                                               | 4l | etil         |



Şekil 5.7. Bileşik serisi 4a-4l için öngörülen reaksiyon mekanizması

Bileşik 11 için de reaksiyon mekanizması benzer şekilde gerçekleştiği düşünülmektedir. Hidrazit azotunun elektronlarının fonksiyonel grup karbonuna saldırısıyla tepkimenin başladığı ön görülmektedir.

**5.2.4.1. *N*-(4-Metoksifenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4*H*)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4a)**

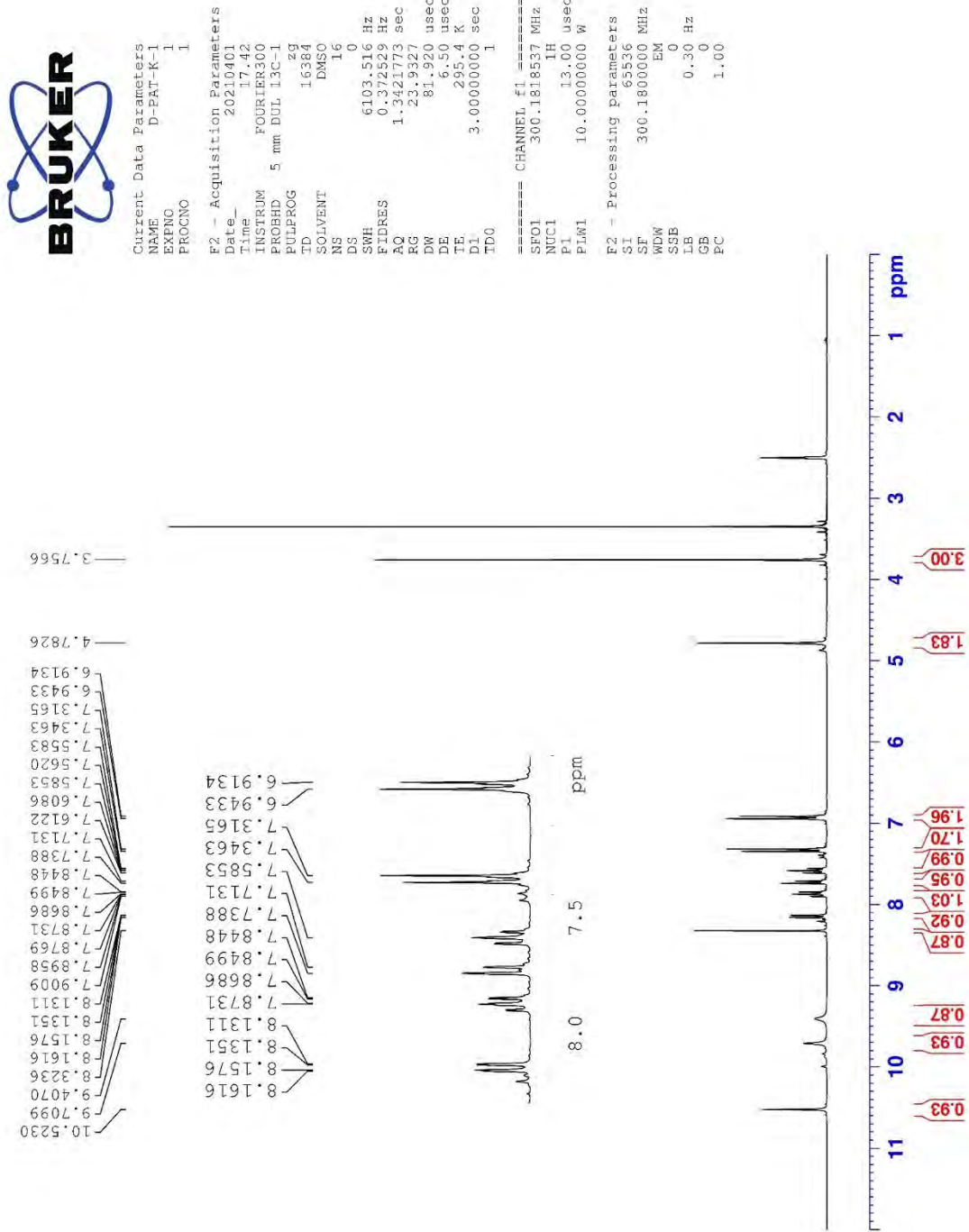
İlk olarak Boren vd. [93] tarafından sentezlenmiştir.

Görünüm: Beyaz toz. Erime Noktası (E.n): 233-234°C

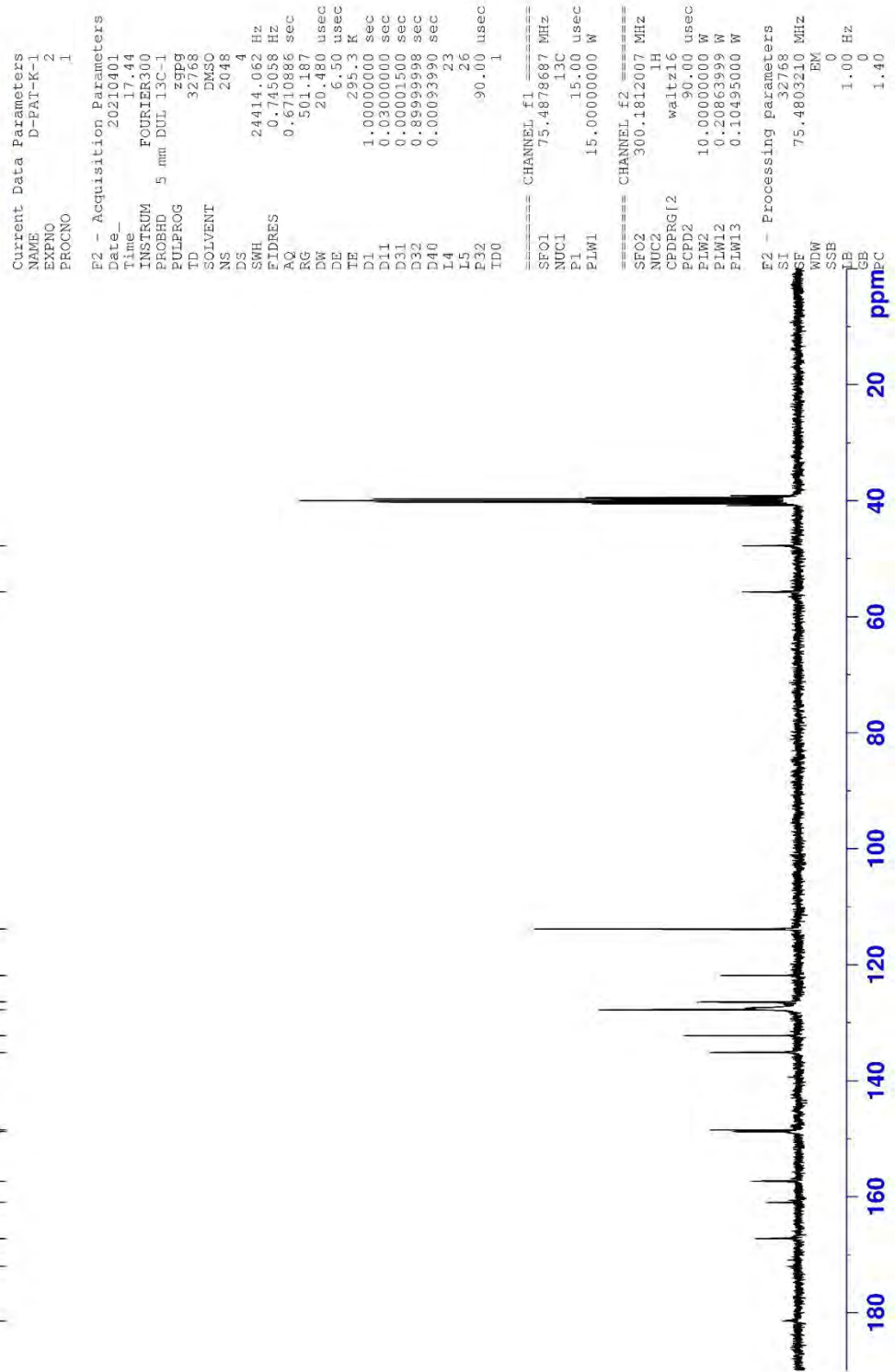
**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3.76 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.78 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.93 (d, *J*= 8.97 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.33 (d, *J*= 8.96 Hz, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.59 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.12 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.57 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.73 (d, *J*= 7.76 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.87 (td, *J*<sub>1</sub>=1.55 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.65 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.20 Hz, *J*<sub>2</sub>=8.01 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.32 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 9.41 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 9.71 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.52 (brs, H, CS-NH-fenil).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 47.76 (N-CH<sub>2</sub>), 55.72 (OCH<sub>3</sub>), 113.86, 121.85, 126.44, 127.76, 132.23, 135.13, 148.48, 148.77, 157.32, 160.99, 167.19, 172.03 (C=O), 181.42 (C=S).

**HRMS (-m/z): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S için hesaplanan: 384.1125, bulunan: 384.1136



Şekil 5.8 Bileşik 4a'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.9 Bileşik 4a'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-K-1\_112.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 1   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 5   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 1   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

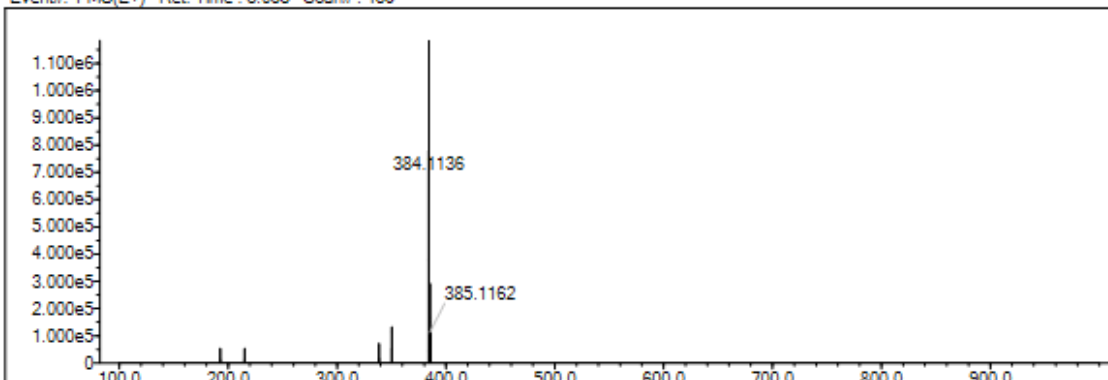
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

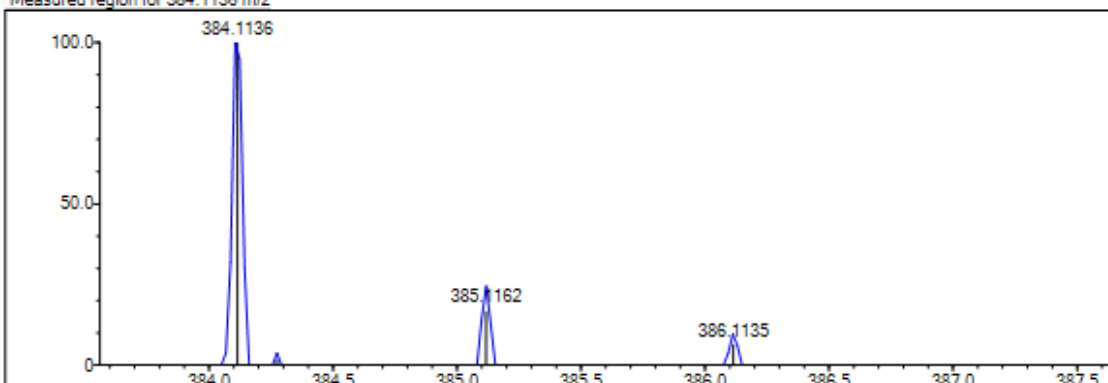
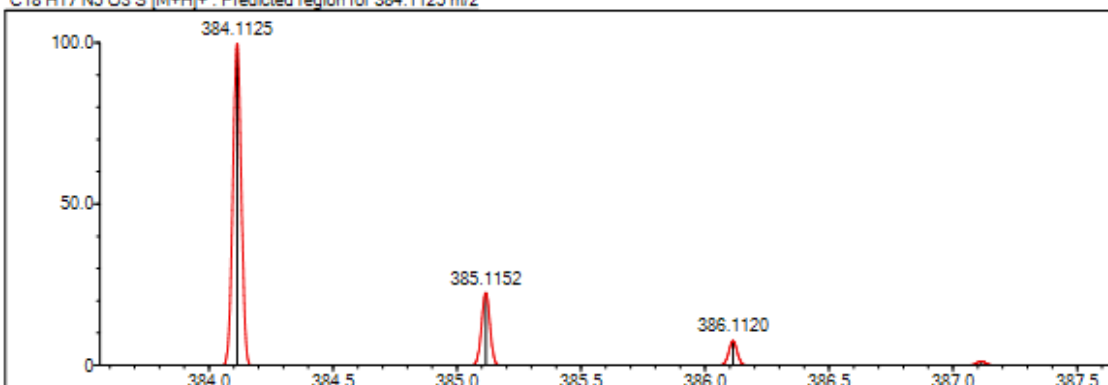
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.053 Scan#: 459



Measured region for 384.1136 m/z

C18 H17 N5 O3 S [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 384.1125 m/z

| Rank | Score | Formula (M)     | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 92.61 | C18 H17 N5 O3 S | [M+H] <sup>+</sup> | 384.1136  | 384.1125  | 1.1       | 2.86      | 97.12 | 13.0 |

Şekil 5.10 Bileşik 4a'ya ait HRMS spektrumu



**5.2.4.2. *N*-(3-Metoksifenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4*H*)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4b)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 208-209°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3.75 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.79 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.77 (dd, *J*<sub>1</sub>= 1.67 Hz, *J*<sub>2</sub>= 7.84 Hz, H, fenil H<sub>4</sub>), 6.93 (d, *J*= 8.03 Hz, H, fenil H<sub>6</sub>), 7.25-7.30 (m, 2H, fenil H<sub>2,5</sub>), 7.59 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.05 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.54 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.73 (d, *J*= 7.84 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.87 (td, *J*<sub>1</sub>=1.52 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.67 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.23 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.98 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.35 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 9.42 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 9.83 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.58 (brs, H, CS-NH-fenil).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 47.93 (N-CH<sub>2</sub>), 55.62 (OCH<sub>3</sub>), 110.98, 111.21, 117.59, 121.83, 126.40, 127.77, 129.44, 135.15, 140.53, 148.50, 148.72, 159.51, 161.06, 167.20, 170.95 (C=O), 180.96 (C=S).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S için hesaplanan: 384.1125, bulunan: 384.1121.

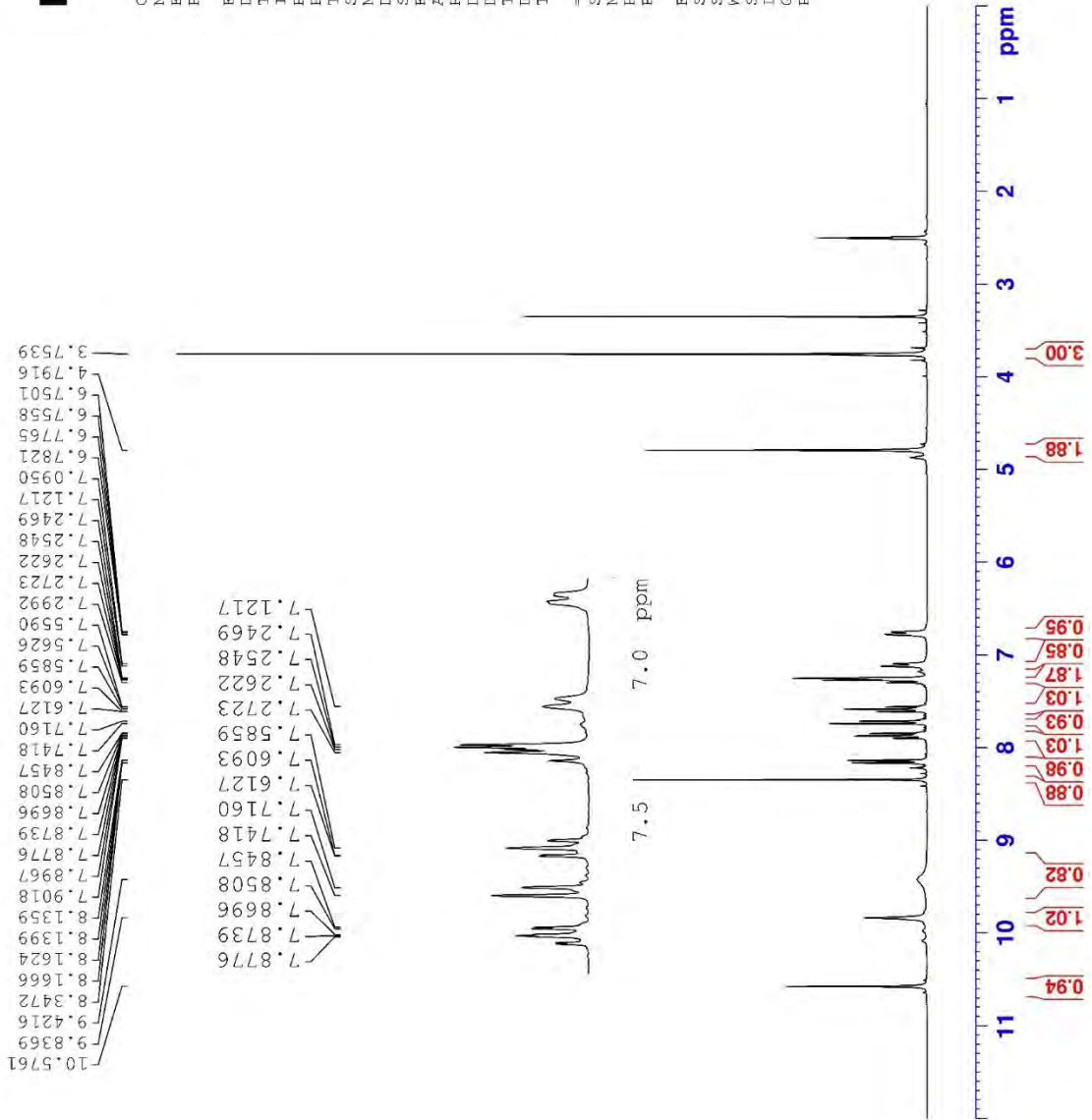


Current Data Parameters  
NAME D-PAT-K-2  
EXPNO 1  
PROCNO 1

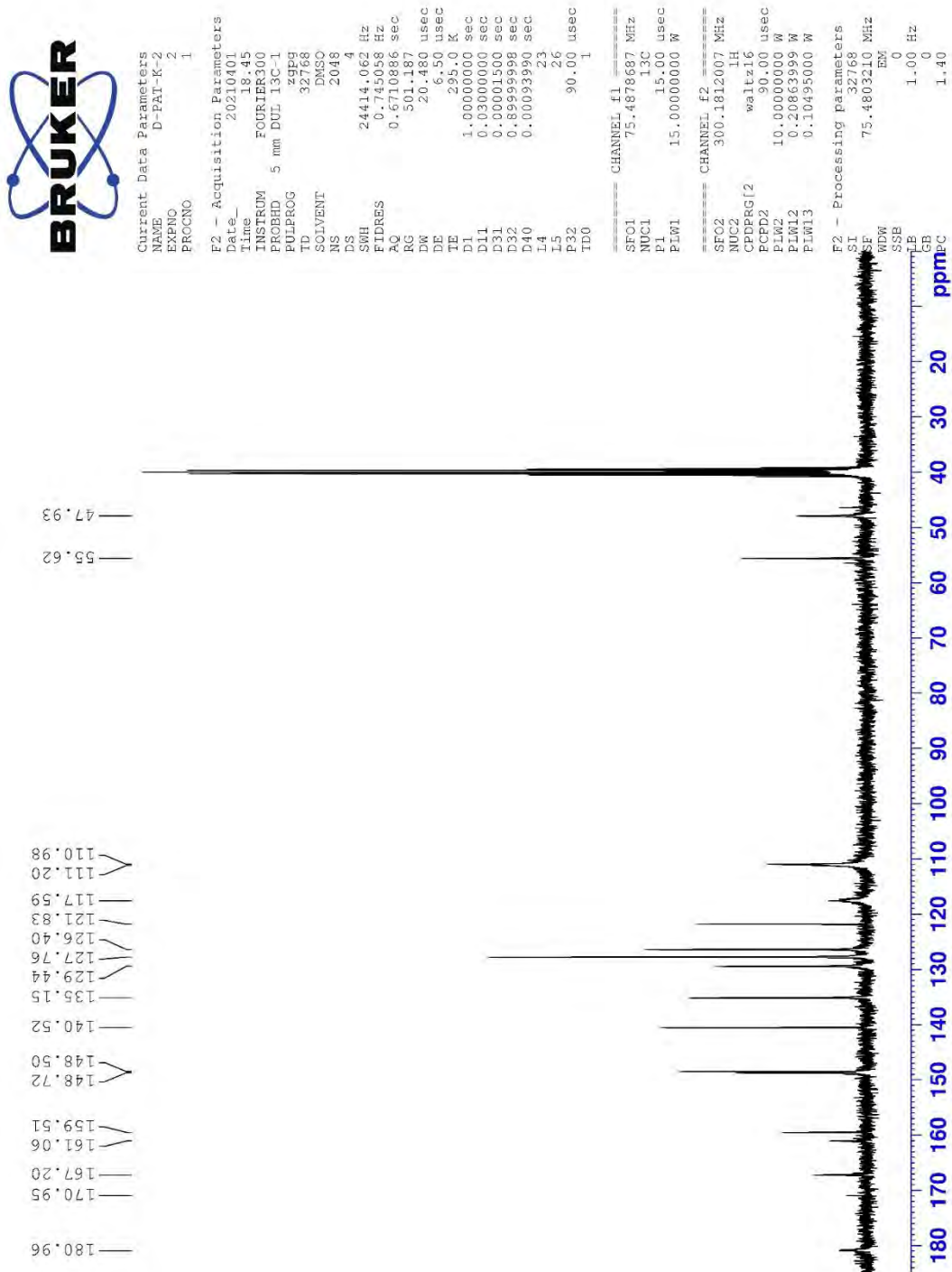
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210401  
Time 18.43  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.342173 sec  
RG 19.443  
DE 81.920 usec  
TE 295.1 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing Parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.11. Bileşik 4b'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.12. Bileşik 4b'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-K-2\_113 lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 1   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 5   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 1   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

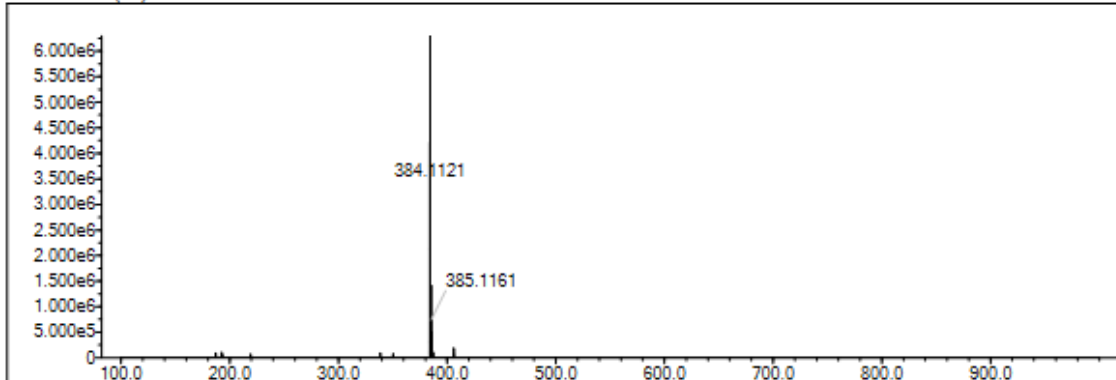
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

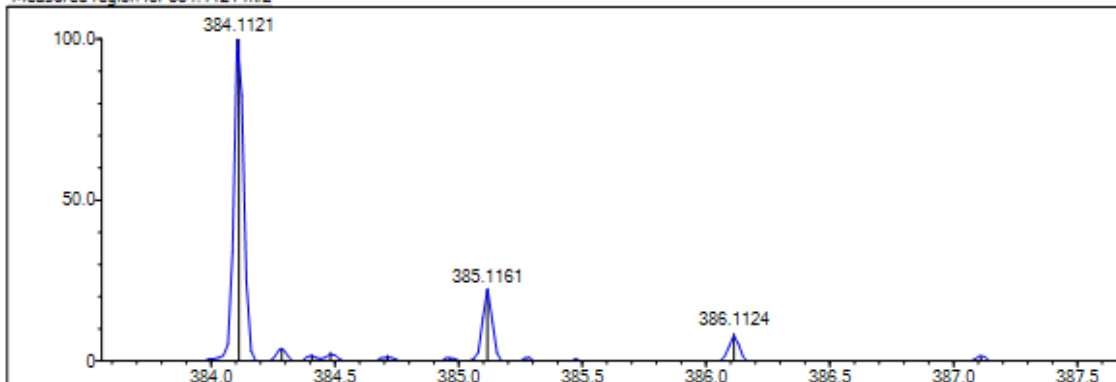
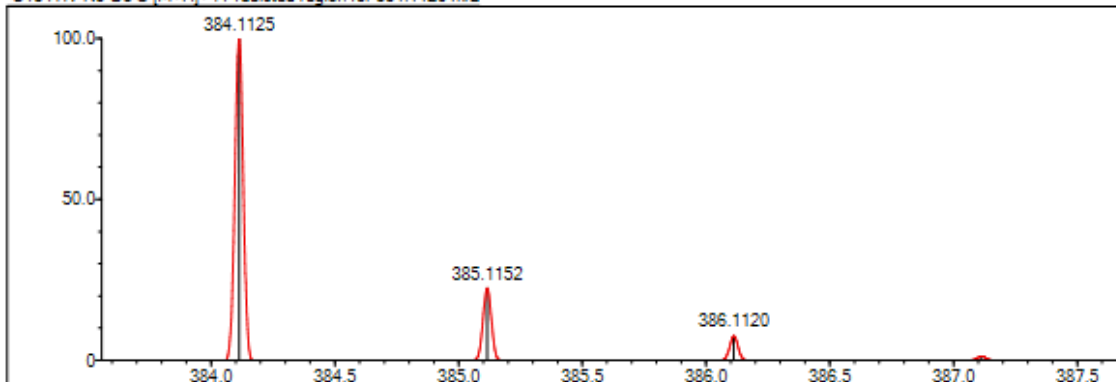
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.160 Scan#: 475



Measured region for 384.1121 m/z

C18 H17 N5 O3 S [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 384.1125 m/z

| Rank | Score | Formula (M)     | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 88.08 | C18 H17 N5 O3 S | [M+H] <sup>+</sup> | 384.1121  | 384.1125  | -0.4      | -1.04     | 88.17 | 13.0 |

Şekil 5.13. Bileşik 4b'ya ait HRMS spektrumu

**5.2.4.3. *N*-(2-Metoksifenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4H)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4c)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 232-233°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3.80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.80 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.93 (td, *J*<sub>1</sub>=1.20 Hz, *J*<sub>2</sub>= 7.64 Hz, H, fenil H<sub>5</sub>), 7.06 (dd, *J*<sub>1</sub>= 1.09 Hz, *J*<sub>2</sub>= 8.27 Hz, H, fenil H<sub>3</sub>), 7.19 (t, *J*= 7.55 Hz, H, fenil H<sub>4</sub>), 7.57 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.11 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.56 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.72 (d, *J*= 7.84 Hz, 2H, kinazolin H<sub>8</sub> ve fenil H<sub>6</sub>), 7.86 (td, *J*<sub>1</sub>=1.53 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.66 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.13 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.19 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.99 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.32 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 9.05 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 9.83 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.59 (brs, H, CS-NH-fenil).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 47.38 (N-CH<sub>2</sub>), 56.15 (OCH<sub>3</sub>), 111.97, 120.22, 121.90, 126.48, 127.66, 127.72, 127.96, 135.04, 148.46, 148.80, 153.27, 160.75, 167.06 (C=O), 181.44 (C=S).

**HRMS (-m/z): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S için hesaplanan: 384.1125, bulunan: 384.1133.



```

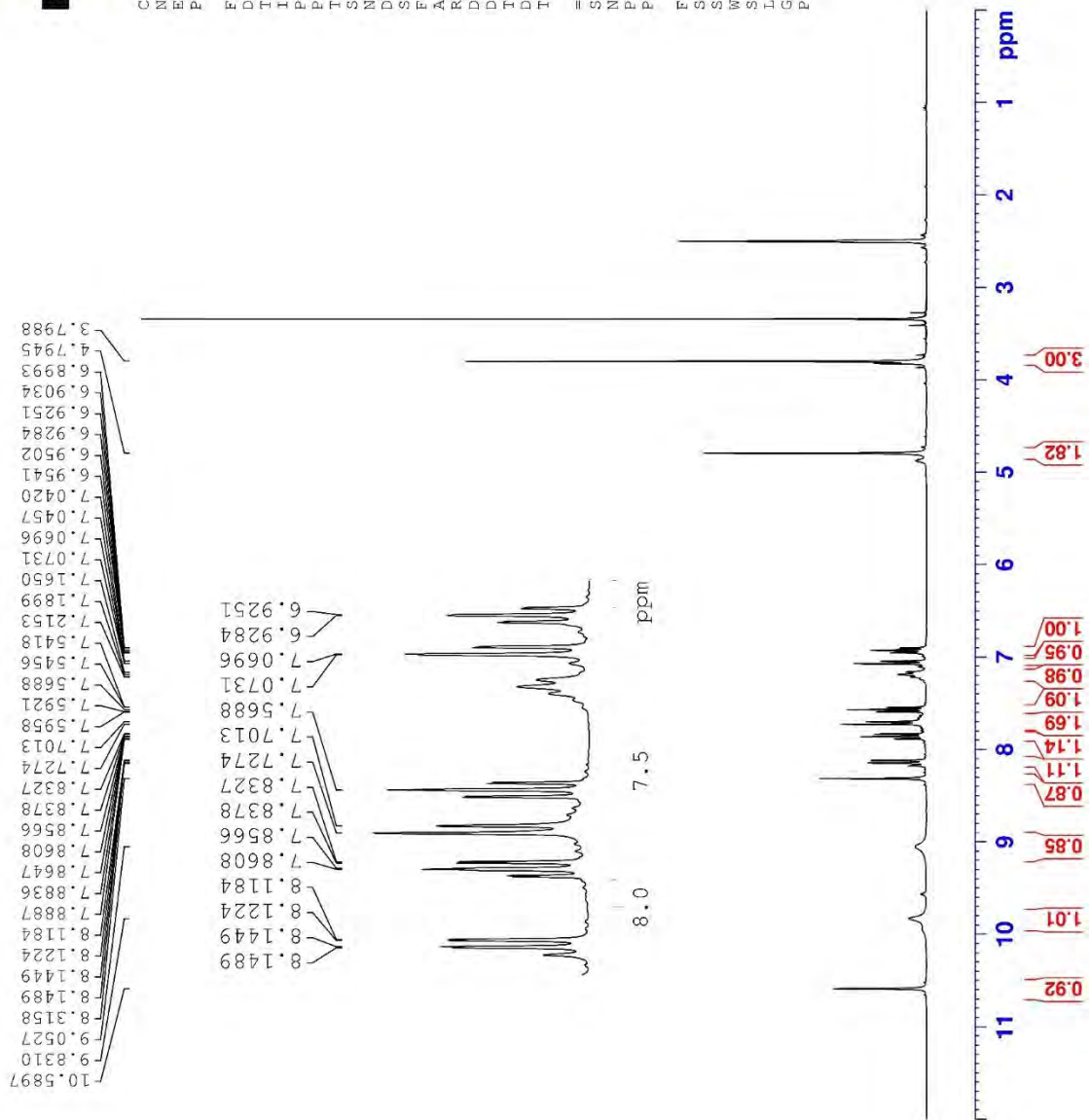
Current Data Parameters
NAME          D-FAT-K-3
EXPNO         1
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20210827
Time_         17-01
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD        5 mm DUL 13C-1
PULPROG       zg
TD            16384
SOLVENT       DMSO
NS            16
DS            0
SWH           6103.516 Hz
FIDRES        0.372529 Hz
AQ            1.3421773 sec
RG            21.18777
DE            81.920 usec
WE            6.50 usec
TE            296.2 K
D1            3.00000000 sec
TD0           1

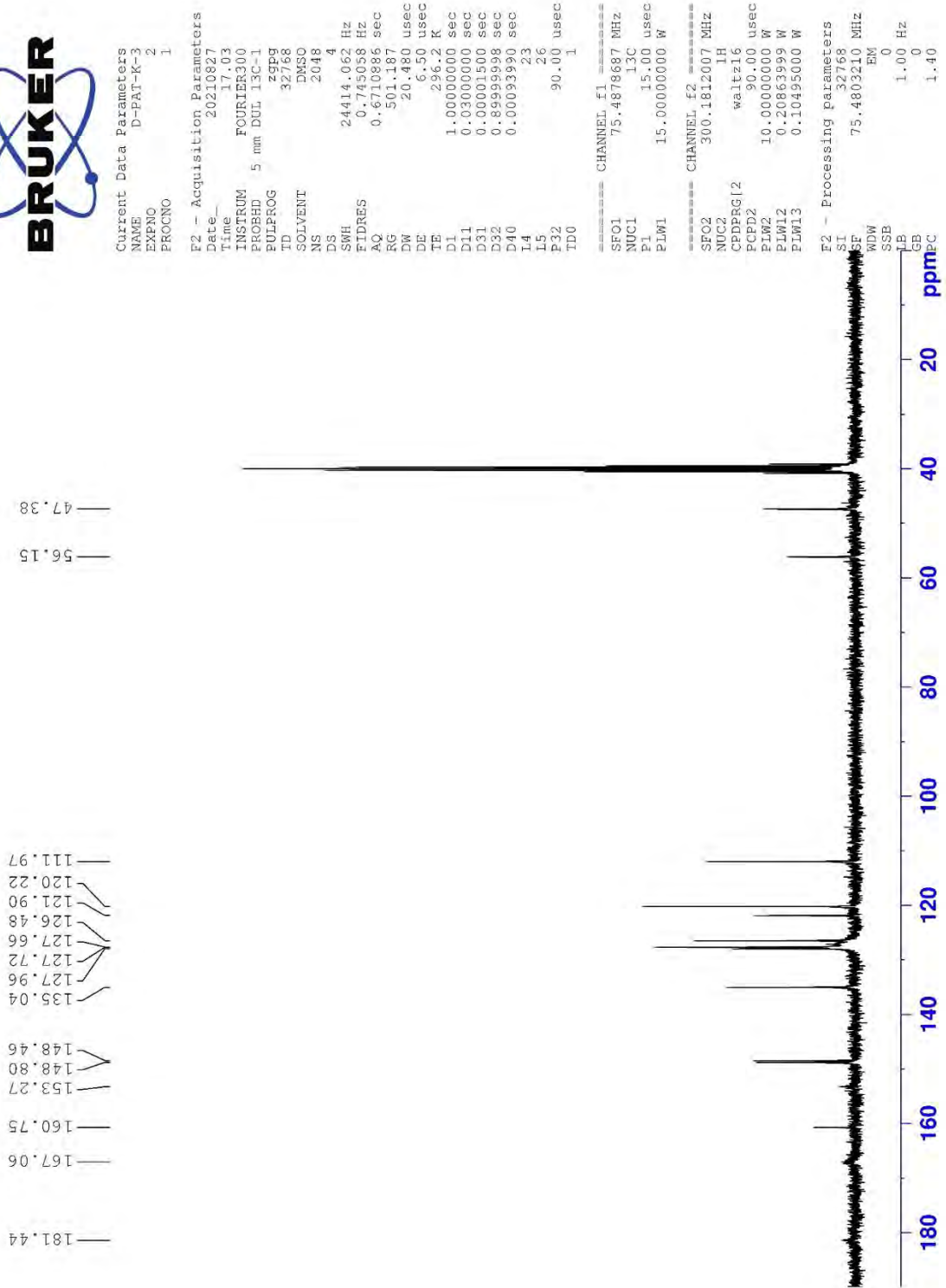
===== CHANNEL f1 =====
SF01          300.1818537 MHz
NUC1          1H
P1            13.00 usec
PLW1          10.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI            65536
SF            300.1800000 MHz
WDW           EM
SSB           0
LB            0.30 Hz
GB            0
PC            1.00

```



**Şekil 5.14.** Bileşik **4c**'ye ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.15. Bileşik 4c'ye ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-K-3\_114.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 1   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 5   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 1   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

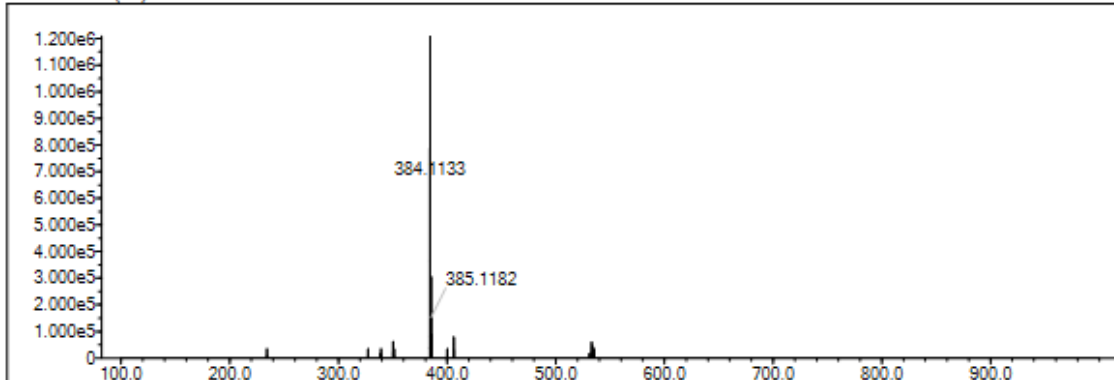
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

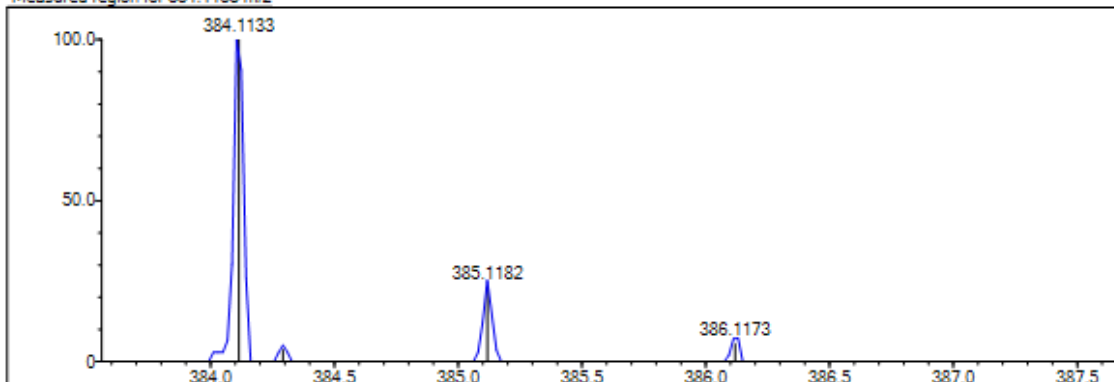
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

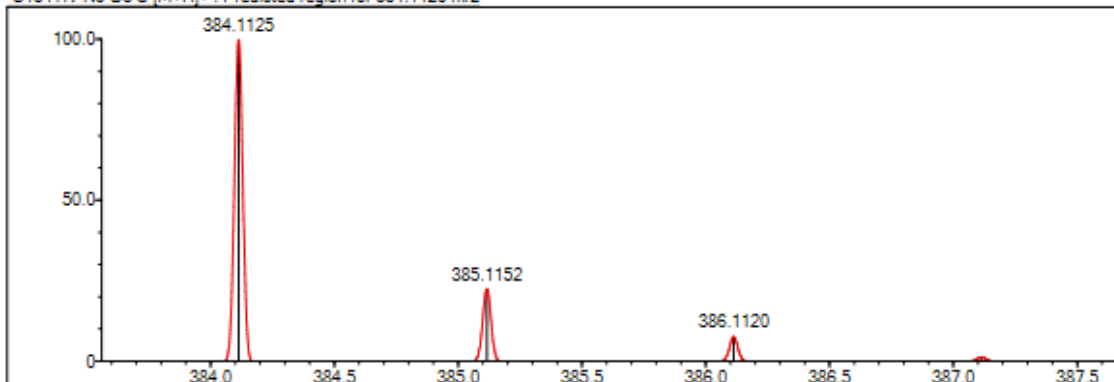
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.093 -&gt; 3.093 - 3.320 -&gt; 3.317 Scan#: 465 -&gt; 465 - 499 -&gt; 499



Measured region for 384.1133 m/z



C18 H17 N5 O3 S [M+H]+ : Predicted region for 384.1125 m/z



| Rank | Score | Formula (M)     | Ion    | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Isc   | DBE  |
|------|-------|-----------------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 73.79 | C18 H17 N5 O3 S | [M+H]+ | 384.1133  | 384.1125  | 0.8       | 2.08      | 75.84 | 13.0 |

Şekil 5.16. Bileşik 4c'ye ait HRMS spektrumu



**5.2.4.4. *N*-(4-Tolil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4H)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4d)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 247-248°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  2.30 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.79 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.17 (d,  $J$ = 8.26 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.37 (d,  $J$ = 8.34 Hz, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.59 (td,  $J_1$ = 1.10 Hz,  $J_2$ =7.58 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.73 (d,  $J$ = 7.72 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.87 (td,  $J_1$ =1.55 Hz,  $J_2$ =7.66 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (dd,  $J_1$ =1.22 Hz,  $J_2$ =8.04 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.34 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 9.43 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 9.76 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.55 (brs, H, CS-NH-fenil).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 21.01, 21.05, 47.85, 121.84, 125.63, 126.41, 127.76, 129.13, 135.14, 136.83, 148.50, 148.72, 148.75, 161.04, 167.22 (C=O), 181.18 (C=S).

**HRMS (-m/z): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S için hesaplanan: 368.1176, bulunan: 368.1188

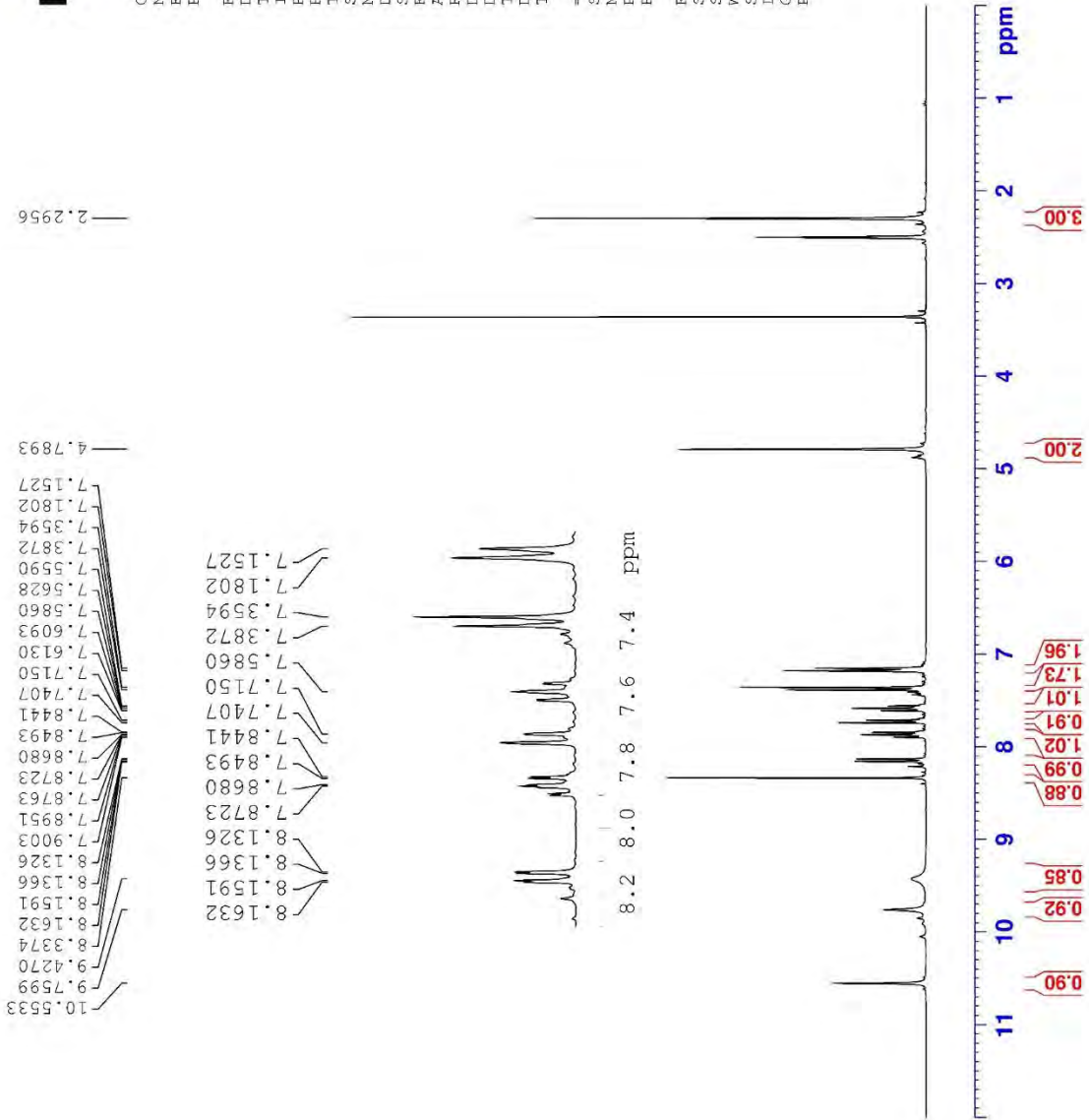


Current Data Parameters  
NAME D-PAT-K-4  
EXPNO 3  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210828  
Time 0.02  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 15.9136  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 295.2 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.17. Bileşik 4d'ye ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Current Data Parameters  
 NAME D-PAT-K-4  
 EXPNO 4  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20210828  
 Time 0.04  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG zgpg  
 TD 32768  
 SOLVENT DMSO  
 NS 2048  
 DS 4  
 SWH 24414.062 Hz  
 FIDRES 0.745058 Hz  
 AQ 0.6710886 sec  
 RG 501.187  
 DW 20.480 usec  
 DE 6.50 usec  
 TE 295.2 K  
 D1 1.00000000 sec  
 D11 0.03000000 sec  
 D31 0.0001500 sec  
 D32 0.89999998 sec  
 D40 0.00093990 sec  
 L4 23  
 L5 26  
 P32 90.00 usec  
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 75.4878687 MHz  
 NUC1 13C  
 P1 15.00 usec  
 PLW1 15.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====  
 SFO2 300.1812007 MHz  
 NUC2 1H  
 CPDPRG2 waltz16  
 PCPD2 90.00 usec  
 PLW2 10.00000000 W  
 PLW12 0.20863999 W  
 PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 75.4803210 MHz  
 EM 0  
 SSB 0  
 LB 1.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

21.05  
21.01

47.85

181.18  
167.22  
161.04  
148.75  
148.72  
148.49  
136.83  
135.13  
129.13  
127.76  
126.41  
125.63  
121.84

180 160 140 120 100 80 60 40 20 ppm

Şekil 5.18. Bileşik 4d'ye ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-K-4\_115.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 1   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 5   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 1   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

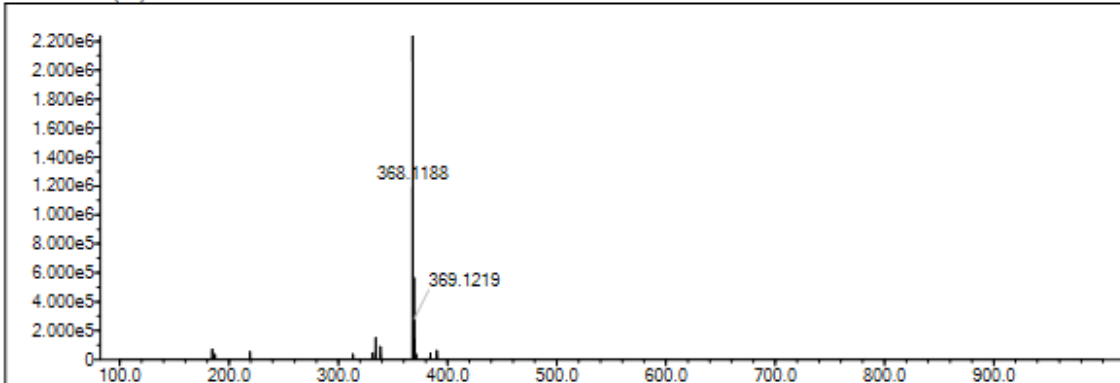
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

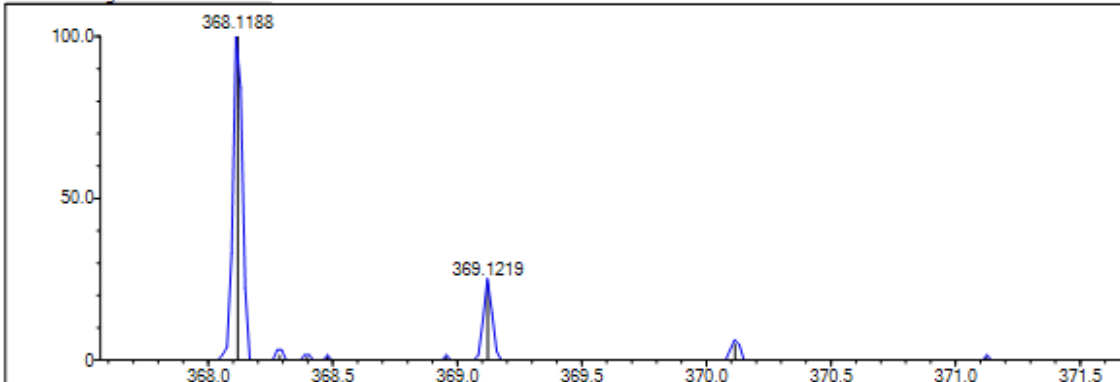
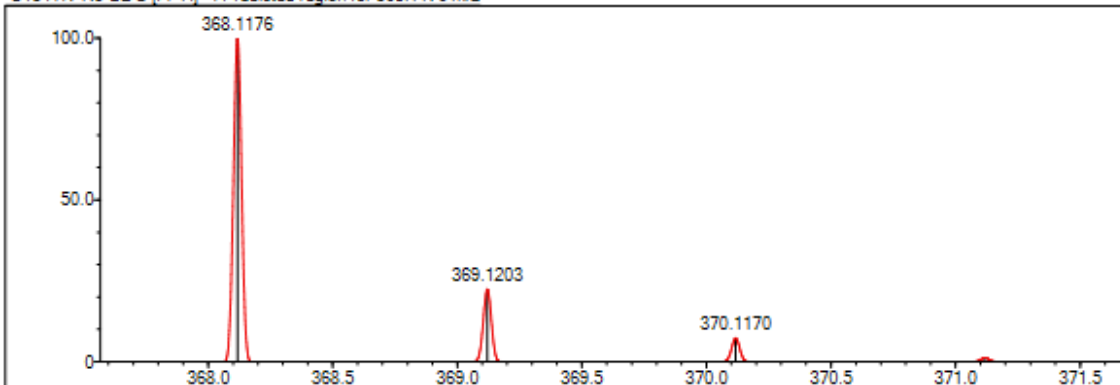
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.240 Scan#: 487



Measured region for 368.1188 m/z

C18 H17 N5 O2 S [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 368.1176 m/z

| Rank | Score | Formula (M)     | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 74.28 | C18 H17 N5 O2 S | [M+H] <sup>+</sup> | 368.1188  | 368.1176  | 1.2       | 3.26      | 78.73 | 13.0 |

Şekil 5.19. Bileşik 4d'ye ait HRMS spektrumu

**5.2.4.5. *N*-(3-Tolil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4H)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit  
(4e)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 273-274°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 2.31 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.79 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.77 (d, *J*= 7.31 Hz, H, fenil H<sub>4</sub>), 7.22-7.29 (m, 2H, fenil H<sub>2,5</sub>), 7.36 (d, *J*= 8.02 Hz, H, fenil H<sub>6</sub>), 7.59 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.08 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.58 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.73 (d, *J*= 7.70 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.88 (td, *J*<sub>1</sub>=1.55 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.70 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.19 Hz, *J*<sub>2</sub>=8.07 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.34 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 9.40 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 9.79 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.57 (brs, H, CS-NH-fenil).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 21.42, 47.92, 121.83, 122.85, 126.39, 127.78, 128.48, 135.17, 137.92, 139.28, 148.51, 148.76, 167.22 (C=O), 180.95 (C=S).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S için hesaplanan: 368.1176, bulunan: 368.1176

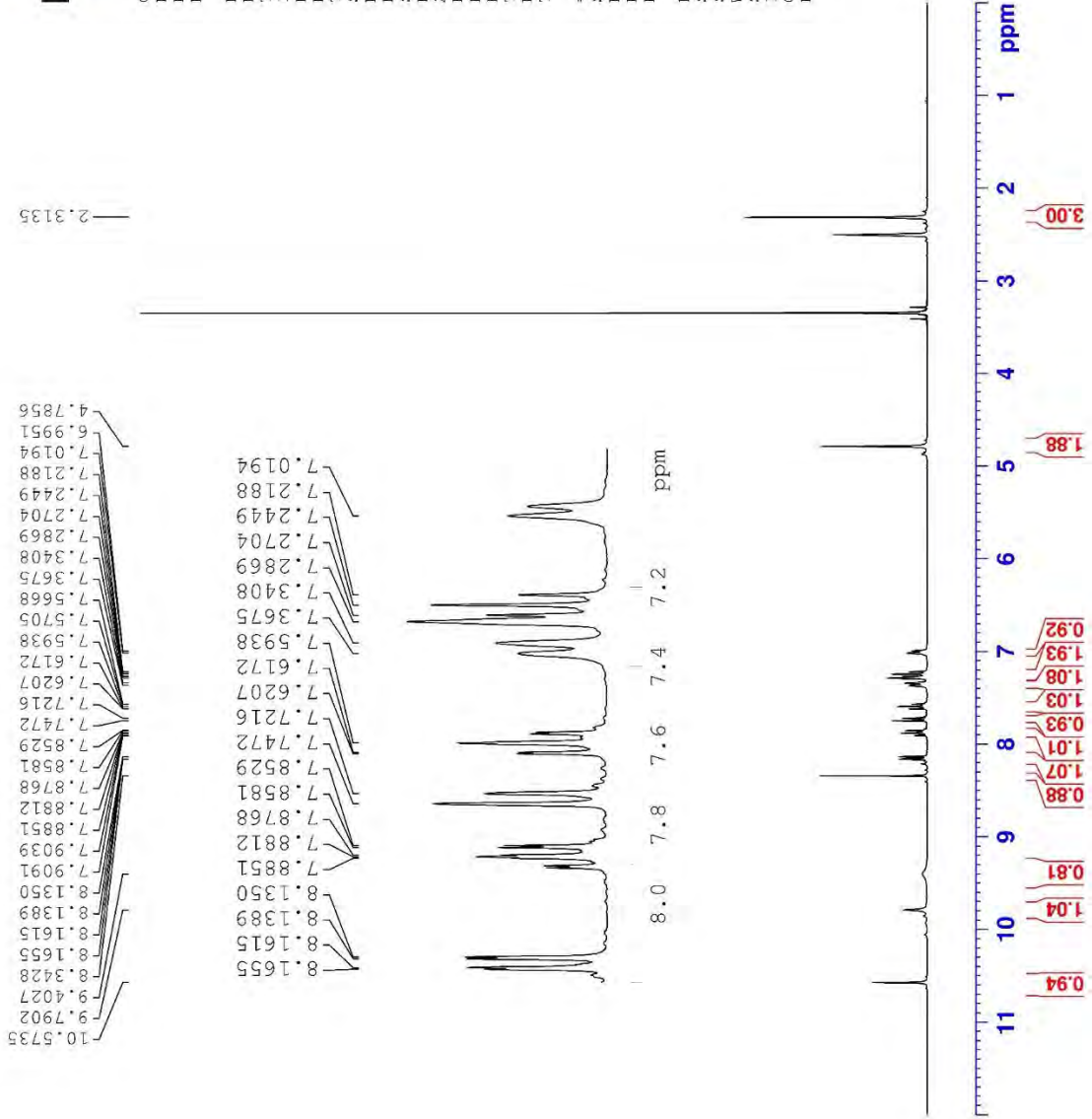


Current Data Parameters  
NAME D-FAL-K-5  
EXPNO 1  
PROCNO 1

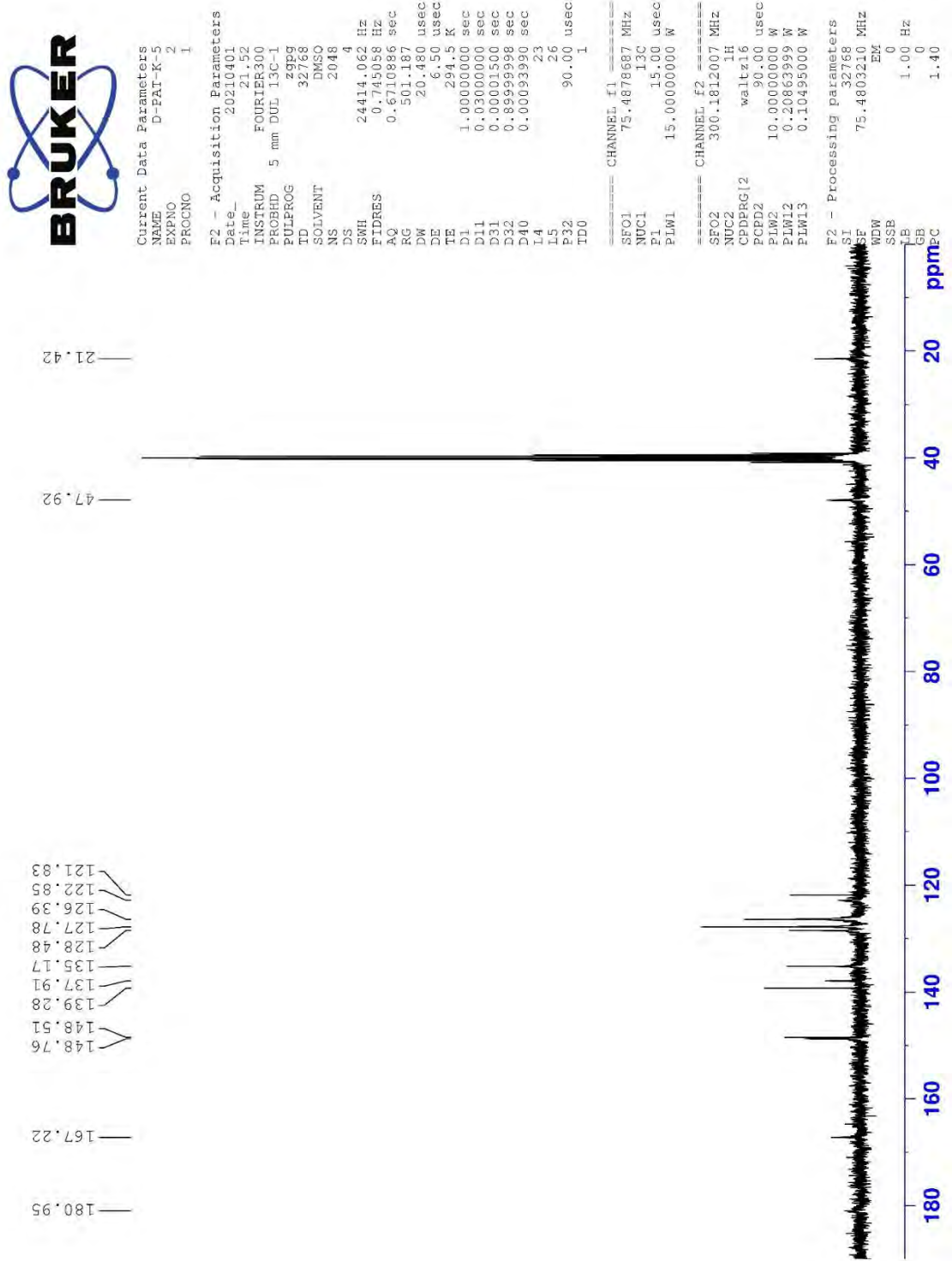
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210401  
Time 21:50  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DOL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 34.3288  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 294.4 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1819537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1799992 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.20. Bileşik 4c'ye ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.21. Bileşik 4e'ye ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-K-5\_116.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 1   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 5   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 1   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

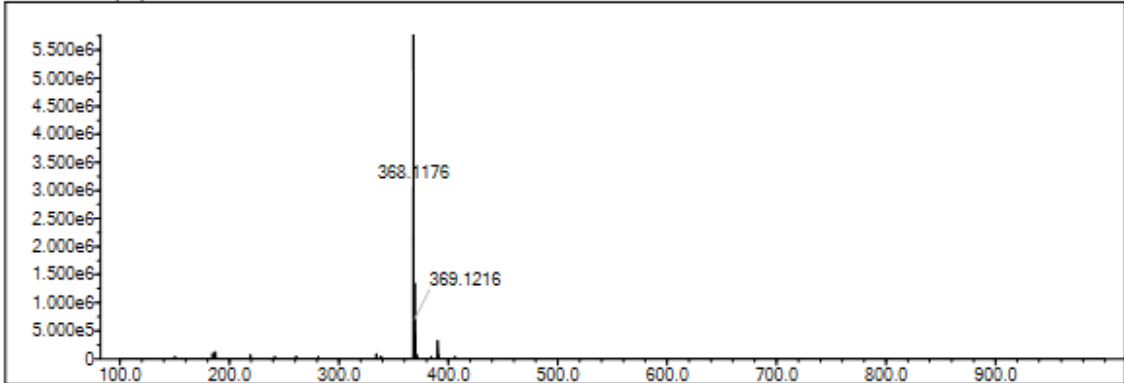
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

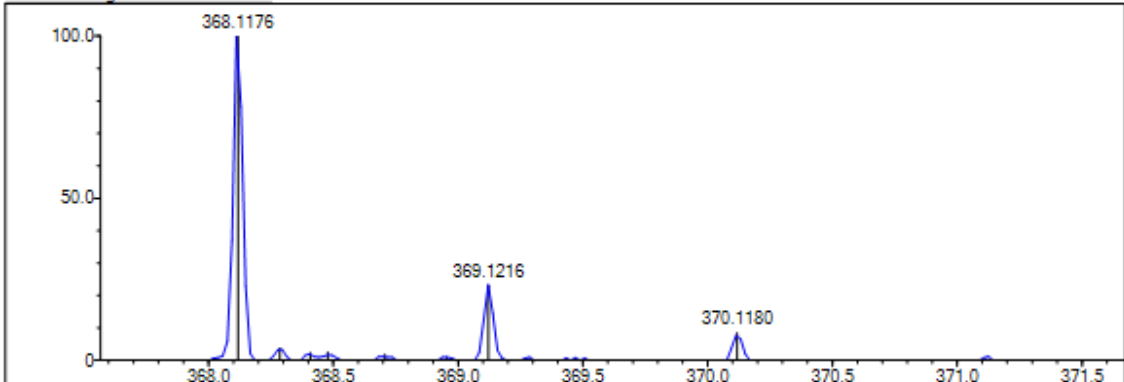
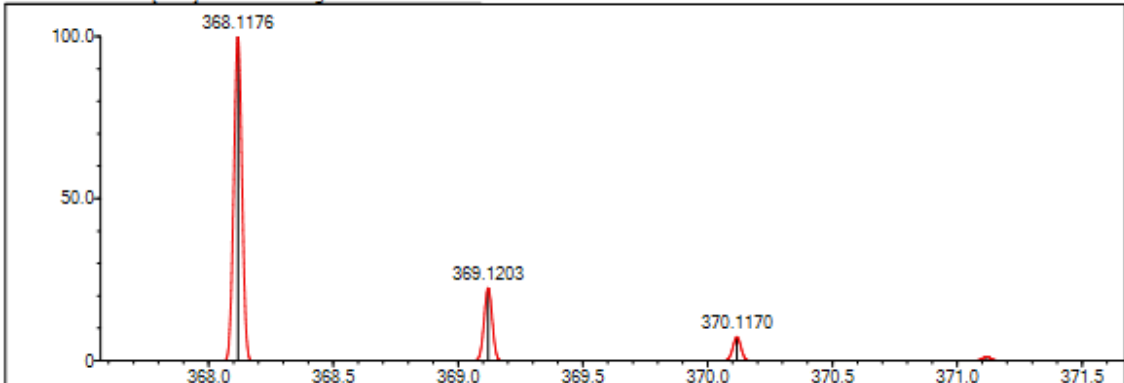
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.253 -&gt; 3.253 Scan#: 489 -&gt; 489



Measured region for 368.1176 m/z

C18 H17 N5 O2 S [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 368.1176 m/z

| Rank | Score | Formula (M)     | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 86.07 | C18 H17 N5 O2 S | [M+H] <sup>+</sup> | 368.1176  | 368.1176  | 0.0       | 0.00      | 86.07 | 13.0 |

Şekil 5.22. Bileşik 4e'ye ait HRMS spektrumu



**5.2.4.6. *N*-(2-Tolil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4H)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4f)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 254-255°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 2.14 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.80 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.14-7.27 (m, 4H, fenil H<sub>3,4,5,6</sub>), 7.57 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.09 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.55 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.72 (d, *J*= 7.78 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.87 (td, *J*<sub>1</sub>=1.51 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.65 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.12 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.19 Hz, *J*<sub>2</sub>=8.02 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.29 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 9.31 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 9.74 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.55 (brs, H, CS-NH-fenil).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 18.05 (CH<sub>3</sub>), 47.41 (N-CH<sub>2</sub>), 121.88, 126.40, 126.45, 127.36, 127.72, 129.42, 130.62, 135.08, 136.24, 138.13, 148.45, 160.84, 167.21 (C=O), 181.89 (C=S).

**HRMS (-m/z): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S için hesaplanan:a 368.1176, bulunan: 368.1176



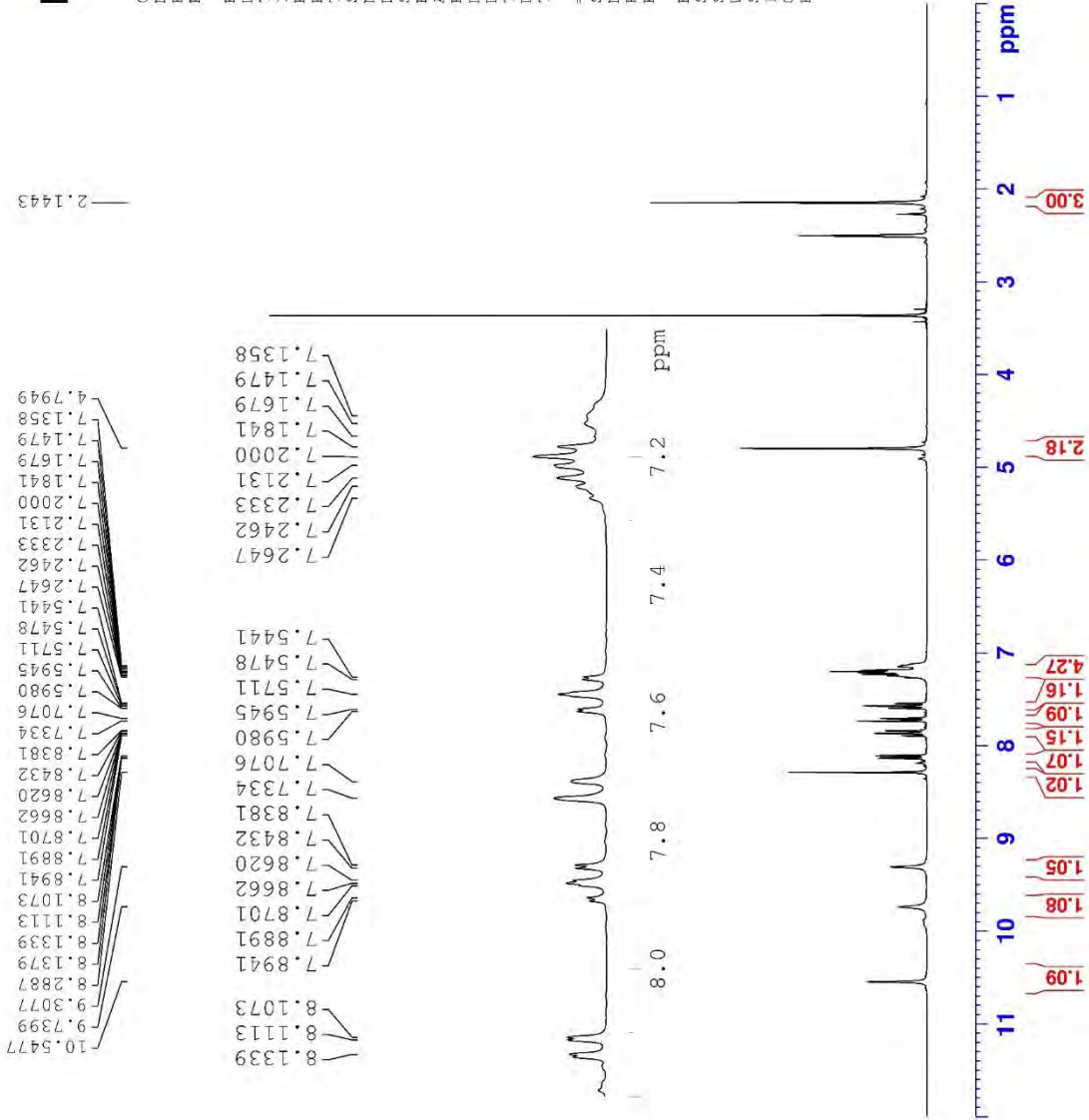
Current Data Parameters  
NAME D-EAT-K-6  
EXPNO 3  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20210828  
Time 2.05  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 15.674  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 294.9 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.23. Bileşik 4f'ye ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Current Data Parameters  
NAME D-PAL-R-6  
EXPNO 17  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210828  
Time 2.07  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zgpg  
TD 32768  
SOLVENT DMSO  
NS 2048  
DS 4  
SWH 24414.062 Hz  
FIDRES 0.745058 Hz  
AQ 0.6710886 sec  
RG 501.187  
DW 20.480 usec  
DE 6.50 usec  
TE 294.9 K  
D1 1.00000000 sec  
D11 0.03000000 sec  
D31 0.00001500 sec  
D32 0.89599998 sec  
D40 0.00093990 sec  
L4 23  
L5 26  
P32 90.00 usec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 75.4879687 MHz  
NUC1 13C  
P1 15.00 usec  
PLW1 15.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====  
SFO2 300.1812007 MHz  
NUC2 1H  
PCPDZ2 waltz16  
PLW2 90.00 usec  
PLW12 10.00000000 W  
PLW13 0.20863999 W  
PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 75.4803210 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
GB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 1.40

18.05

47.41

121.88  
126.40  
126.45  
127.35  
127.72  
129.42  
130.62  
135.08  
136.23  
138.13  
148.45

160.84  
167.21

181.89

180 160 140 120 100 80 60 40 20 ppm

Şekil 5.24. Bileşik 4f'ye ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-K-6\_117.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 1   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 5   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 1   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

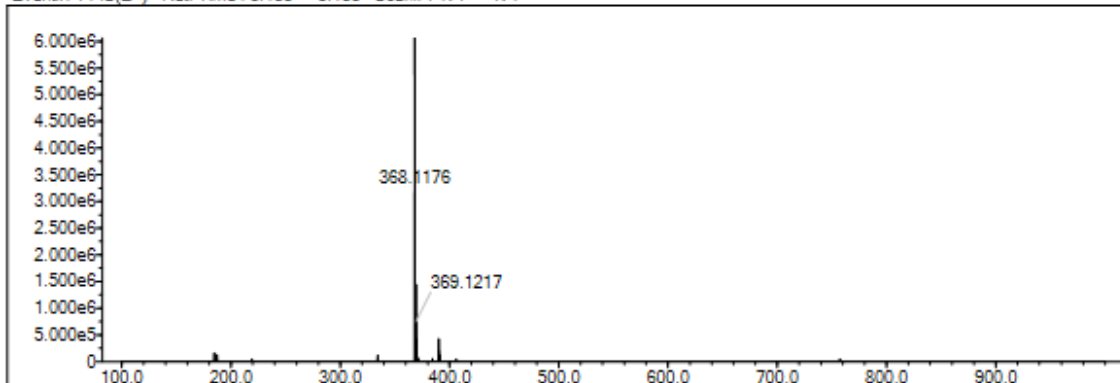
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

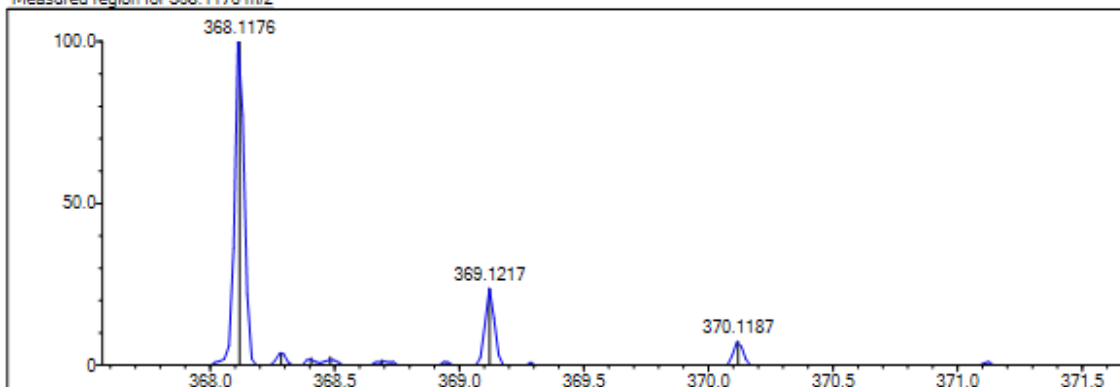
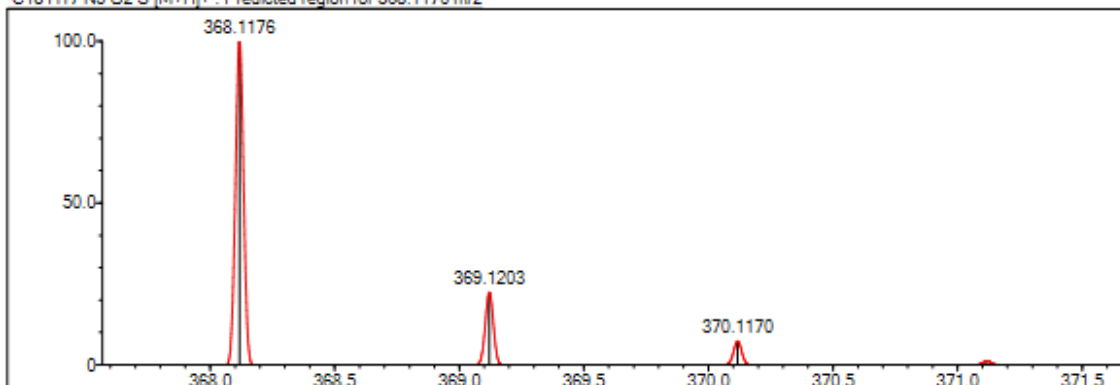
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.133 -&gt; 3.133 Scan#: 471 -&gt; 471



Measured region for 368.1176 m/z

C18 H17 N5 O2 S [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 368.1176 m/z

| Rank | Score | Formula (M)     | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 85.79 | C18 H17 N5 O2 S | [M+H] <sup>+</sup> | 368.1176  | 368.1176  | 0.0       | 0.00      | 85.79 | 13.0 |

Şekil 5.25. Bileşik 4f'ye ait HRMS spektrumu

**5.2.4.7. *N*-(4-Klorofenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4*H*)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4g)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 243-244°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 4.79 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.43 (d, *J*= 8.72 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.55-7.61 (m, 3H, fenil H<sub>2,6</sub> ve kinazolin H<sub>6</sub>), 7.73 (d, *J*= 7.76 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.87 (td, *J*<sub>1</sub>=1.52 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.65 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.16 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.21 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.99 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.34 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 9.54 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 9.93 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.60 (brs, H, CS-NH-fenil).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 47.86 (N-CH<sub>2</sub>), 121.82, 126.45, 127.30, 127.77, 128.61, 135.15, 138.41, 148.49, 148.74, 161.06, 167.25 (C=O), 181.02 (C=S).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>SCl için hesaplanan: 388.0629, bulunan: 388.0643



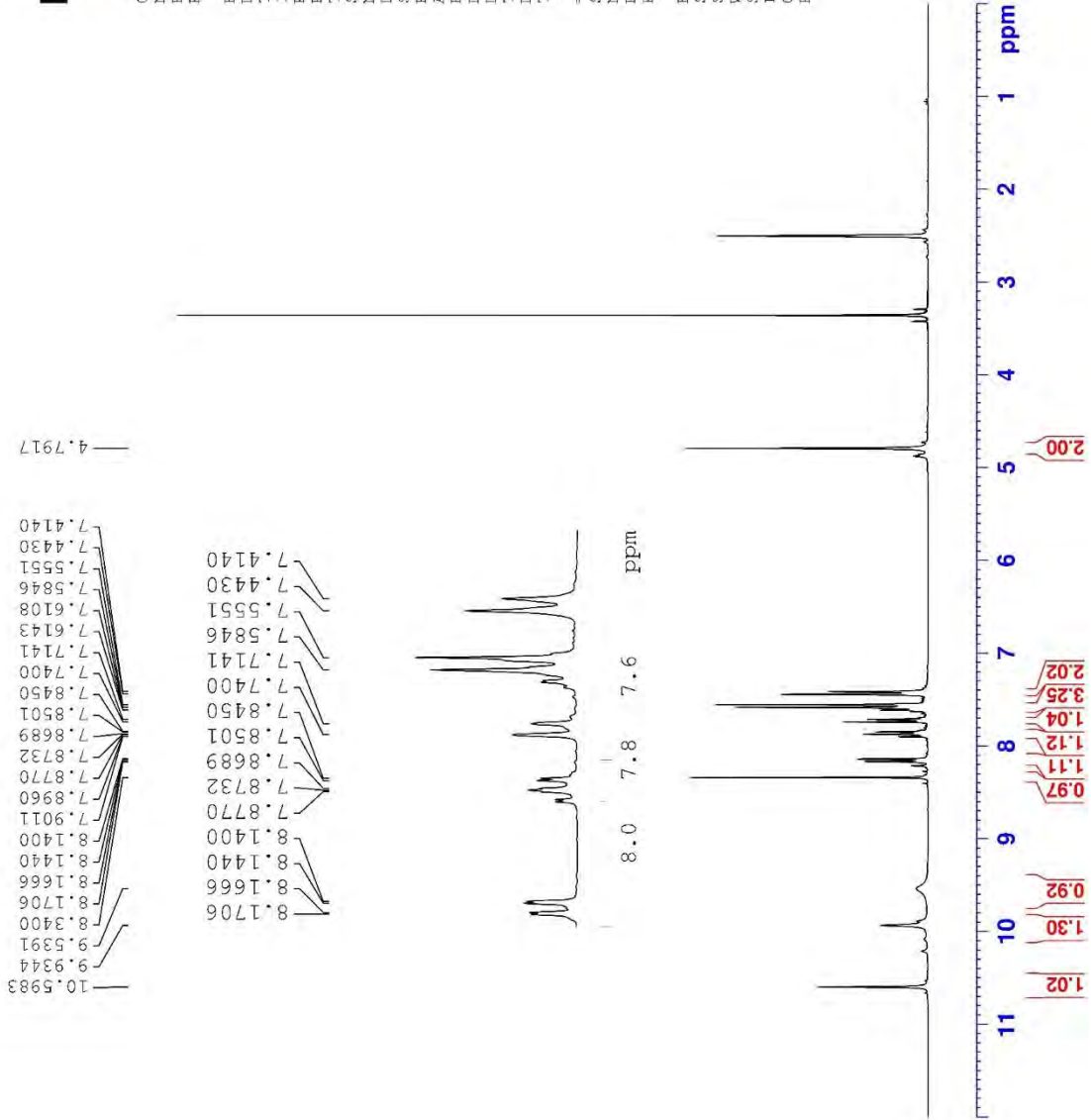
Current Data Parameters  
NAME D-PAT-K-7  
EXPNO 3  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20210828  
Time 3.07  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 18.2124  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 294.8 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00

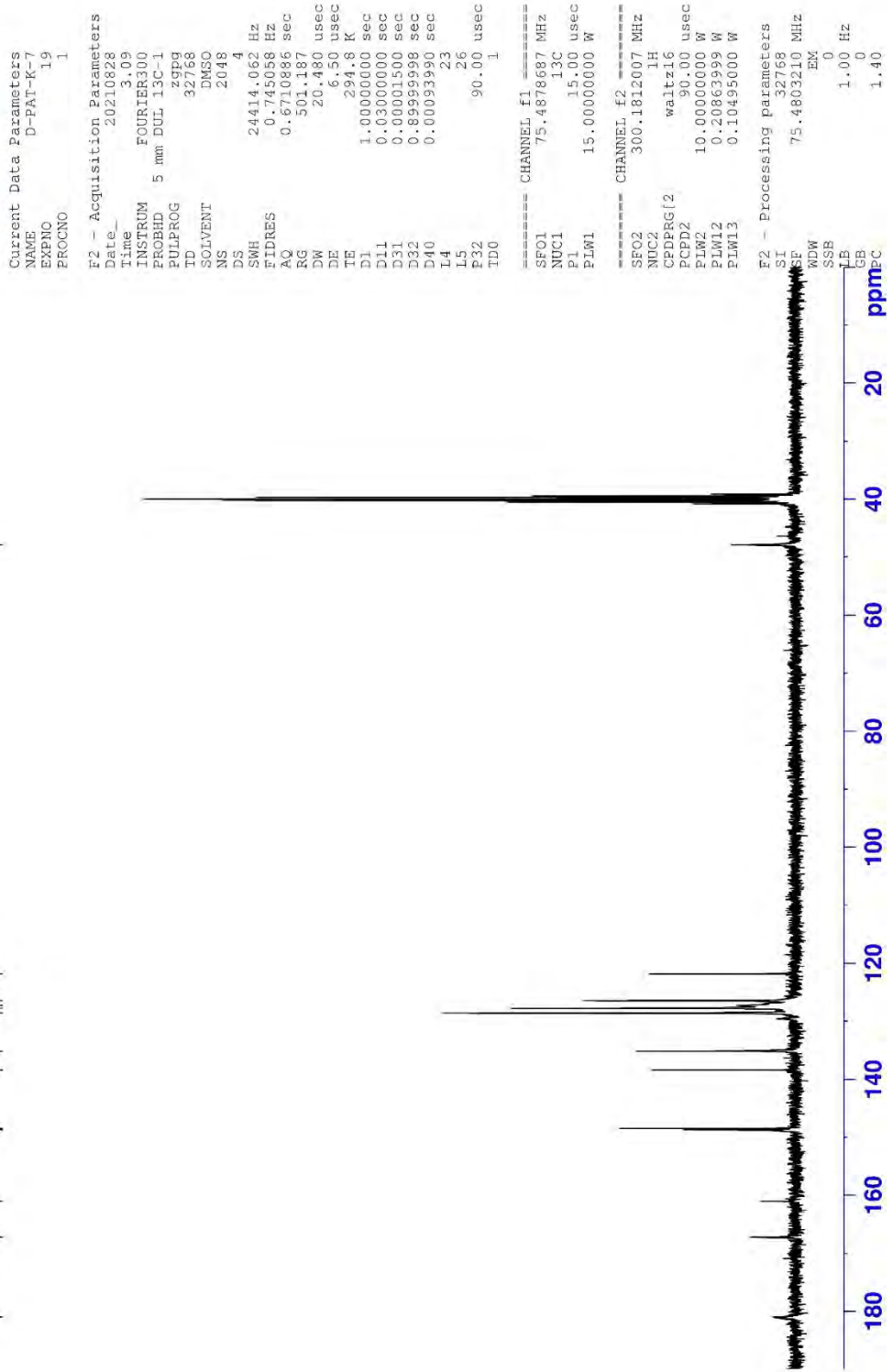


Şekil 5.26. Bileşik 4g'ye ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



181.02  
167.25  
161.06  
148.74  
148.49  
138.41  
135.15  
128.61  
127.77  
127.30  
126.45  
121.82

47.86



Şekil 5.27. Bileşik 4g'ye ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-K-7\_118.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 1   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 1   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

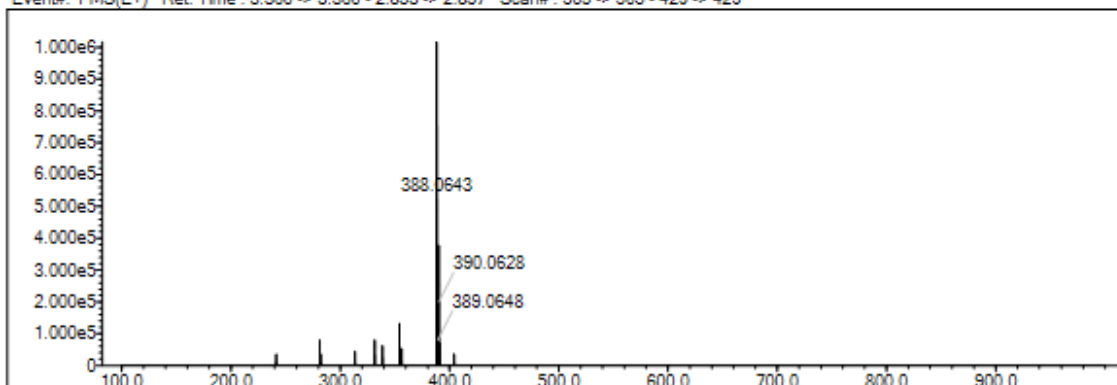
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

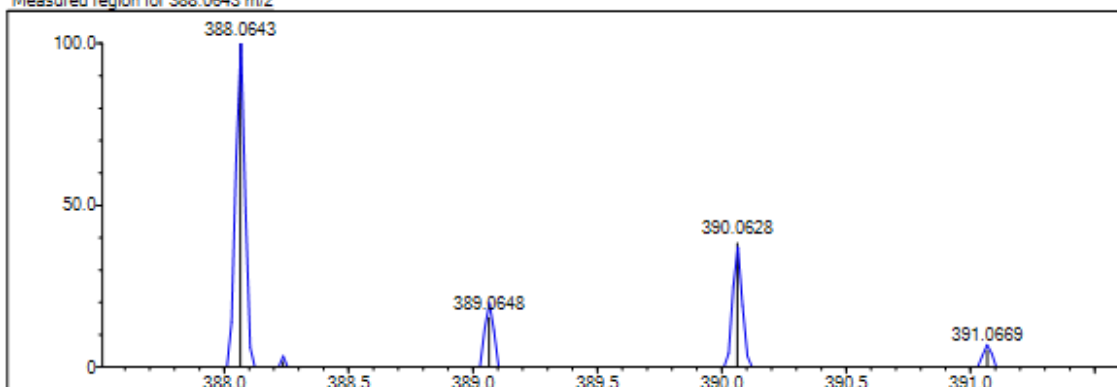
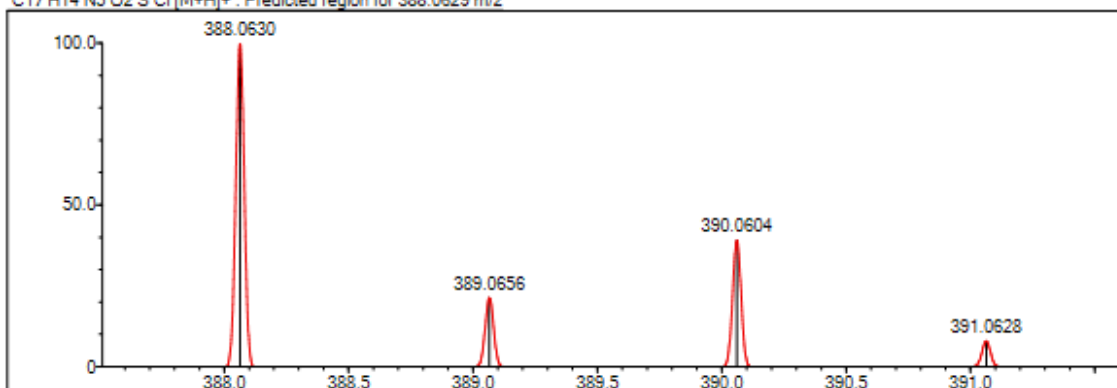
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.360 -&gt; 3.360 - 2.853 -&gt; 2.857 Scan#: 505 -&gt; 505 - 429 -&gt; 429



Measured region for 388.0643 m/z

C17H14N5O2S Cl [M+H]<sup>+</sup>: Predicted region for 388.0629 m/z

| Rank | Score | Formula (M)    | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 73.58 | C17H14N5O2S Cl | [M+H] <sup>+</sup> | 388.0643  | 388.0629  | 1.4       | 3.61      | 78.71 | 13.0 |

Şekil 5.28. Bileşik 4g'ye ait HRMS spektrumu



**5.2.4.8. *N*-(3-Klorofenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4*H*)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4*h*)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 243-244°C

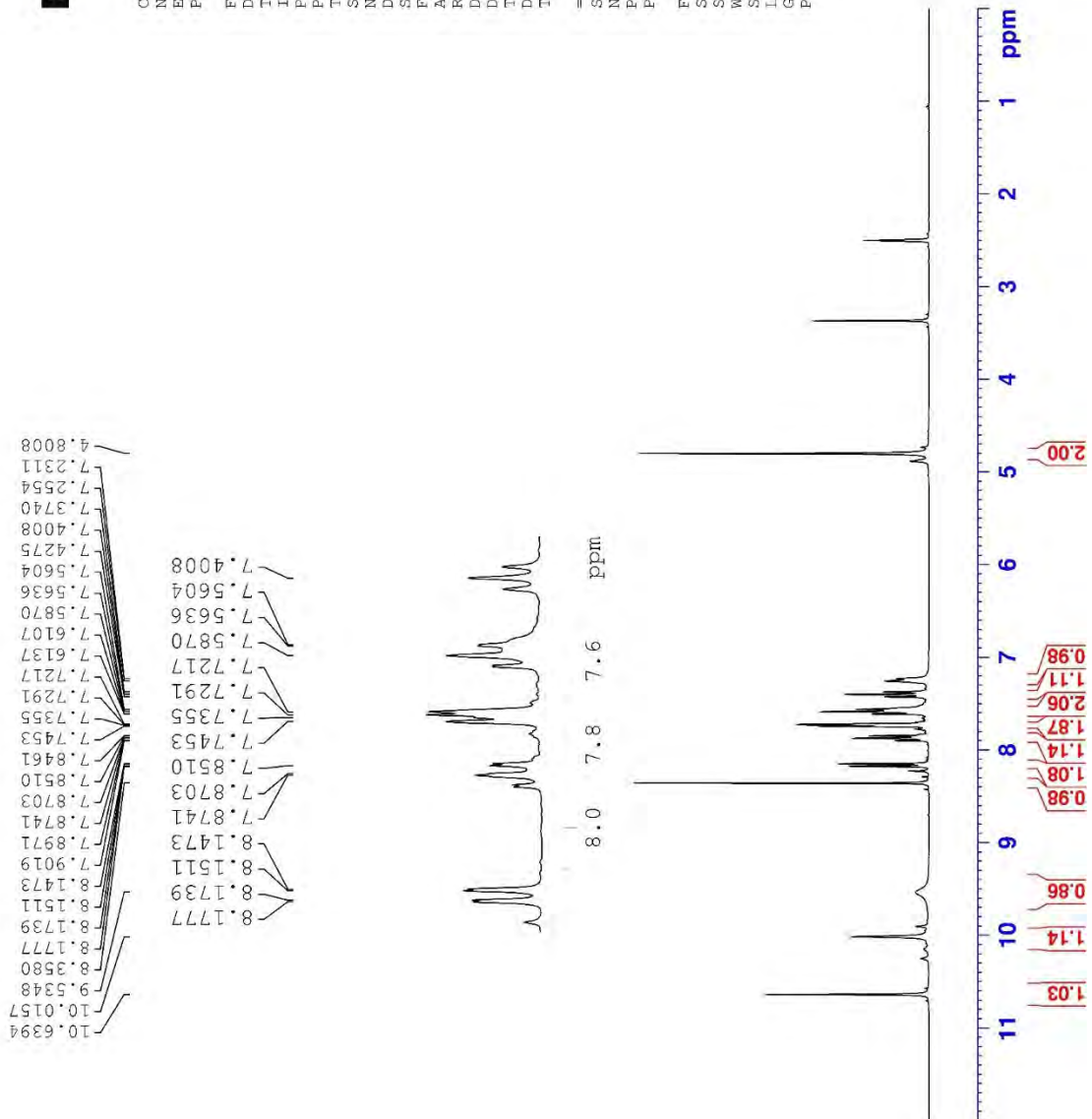
**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 4.80 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.24 (d, *J*= 7.31 Hz, H, fenil H<sub>4</sub>), 7.40 (t, *J*=8.03 Hz, H, fenil H<sub>5</sub>), 7.56-7.61 (m, 2H, fenil H<sub>6</sub> ve kinazolin H<sub>6</sub>), 7.72-7.75 (m, 2H, fenil H<sub>2</sub> ve kinazolin H<sub>8</sub>), 7.87 (td, *J*<sub>1</sub>=1.48 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.67 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.16 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.16 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.97 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.36 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 9.54 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.02 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.64 (brs, H, CS-NH-fenil).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 47.99, 121.80, 123.79, 124.82, 125.31, 126.38, 127.79, 130.32, 132.76, 135.18, 140.93 148.51, 148.70, 161.13, 167.26, 170.92 (C=O), 180.87 (C=S).

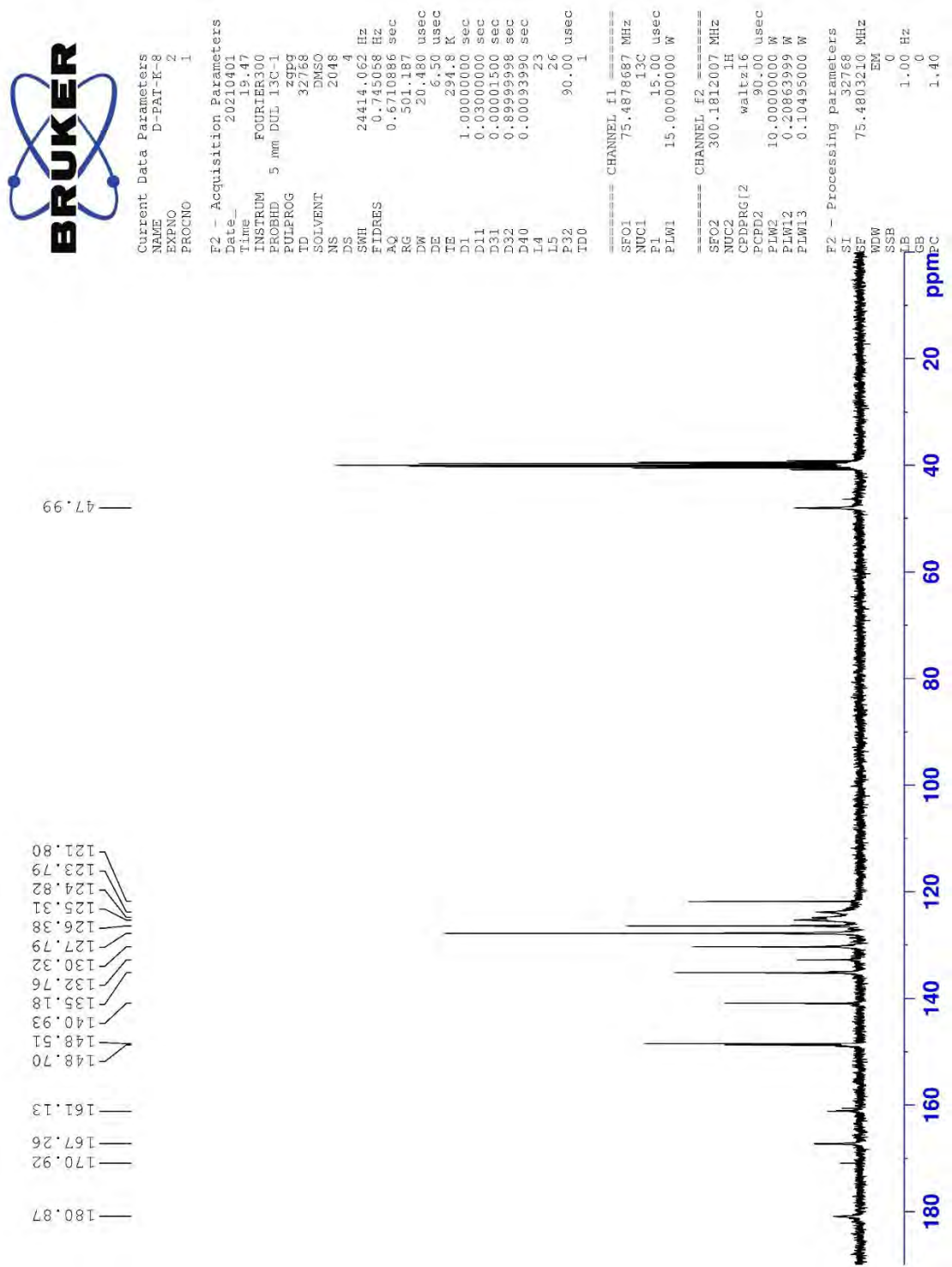
**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>SCl için hesaplanan: 388.0629, bulunan: 388.0636.



|                             |                 |
|-----------------------------|-----------------|
| Current Data Parameters     |                 |
| NAME                        | D-FAT-K-8       |
| EXPRO                       | 1               |
| PROCNO                      | 1               |
| F2 - Acquisition Parameters |                 |
| Date_                       | 20211001        |
| Time_                       | 19.45           |
| INSTRUM                     | FOURIER300      |
| PROBHD                      | 5 mm DUL 13C-1  |
| PULPROG                     | zg              |
| TD                          | 16384           |
| SOLVENT                     | DMSO            |
| NS                          | 16              |
| DS                          | 0               |
| SMH                         | 6103.516 Hz     |
| FIDRES                      | 0.372529 Hz     |
| AQ                          | 1.3421773 sec   |
| RG                          | 11.2121         |
| DE                          | 81.920 usedc    |
| DD                          | 6.50 usedc      |
| TE                          | 294.7 K         |
| D1                          | 3.00000000 sec  |
| TD0                         | 1               |
| ===== CHANNEL f1 =====      |                 |
| SFO1                        | 300.1819537 MHz |
| NUC1                        | 1H              |
| F1                          | 13.00 usedc     |
| PLW1                        | 10.00000000 W   |
| F2 - Processing parameters  |                 |
| SI                          | 65536           |
| SF                          | 300.1800000 MHz |
| WDW                         | EM              |
| SSB                         | 0               |
| LB                          | 0.30 Hz         |
| GB                          | 0               |
| PC                          | 1.00            |



**Şekil 5.29.** Bileşik **4h**'ye ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.30. Bileşik 4h'ye ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-K-8\_119.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 1   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 1   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

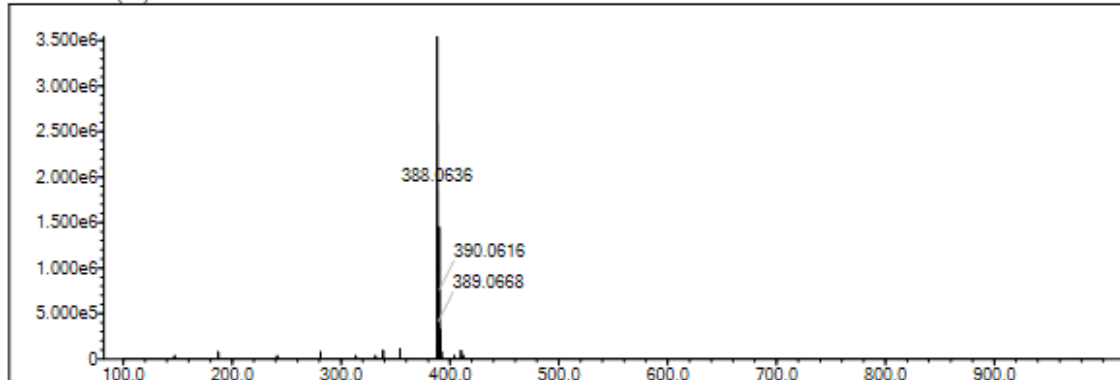
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

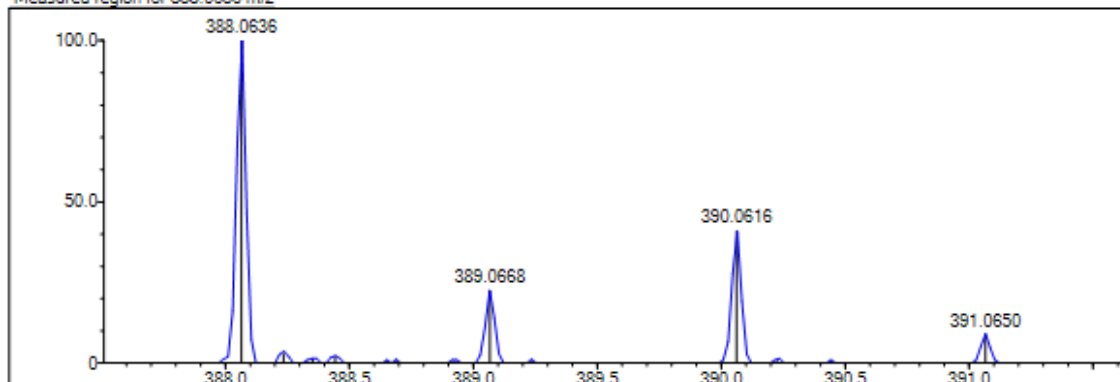
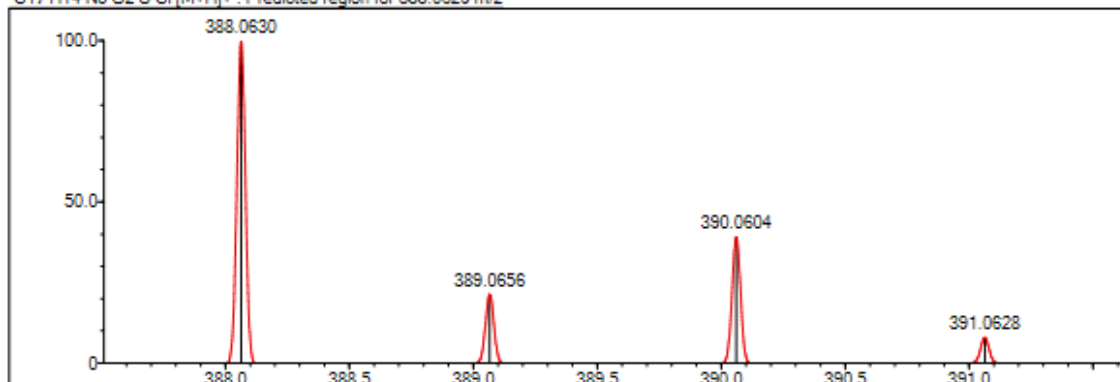
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.360 Scan#: 505



Measured region for 388.0636 m/z

C17 H14 N5 O2 S Cl [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 388.0629 m/z

| Rank | Score | Formula (M)        | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|--------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 87.68 | C17 H14 N5 O2 S Cl | [M+H] <sup>+</sup> | 388.0636  | 388.0629  | 0.7       | 1.80      | 89.47 | 13.0 |

Şekil 5.31. Bileşik 4h'ye ait HRMS spektrumu

**5.2.4.9. *N*-(2-Klorofenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4*H*)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4i)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 249-250°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 4.80 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.31-7.38 (m, 3H, fenil H<sub>3,4,5</sub>), 7.51-7.60 (m, 2H, fenil H<sub>6</sub> ve kinazolin H<sub>6</sub>), 7.72 (d, *J*= 7.86 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.86 (td, *J*<sub>1</sub>=1.45 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.64 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.12 (d, *J*<sub>1</sub>=1.12 Hz, *J*<sub>2</sub>=8.02 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.29 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 9.45 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 9.96 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.62 (brs, H, CS-NH-fenil).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 47.36, 121.89, 126.50, 127.66, 128.72, 129.85, 131.53, 135.06, 136.89, 148.45, 148.80, 160.59, 160.79, 167.31, 171.03 (C=O), 182.22 (C=S).

**HRMS (-m/z): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>SCl için hesaplanan: 388.0629, bulunan: 388.0634.

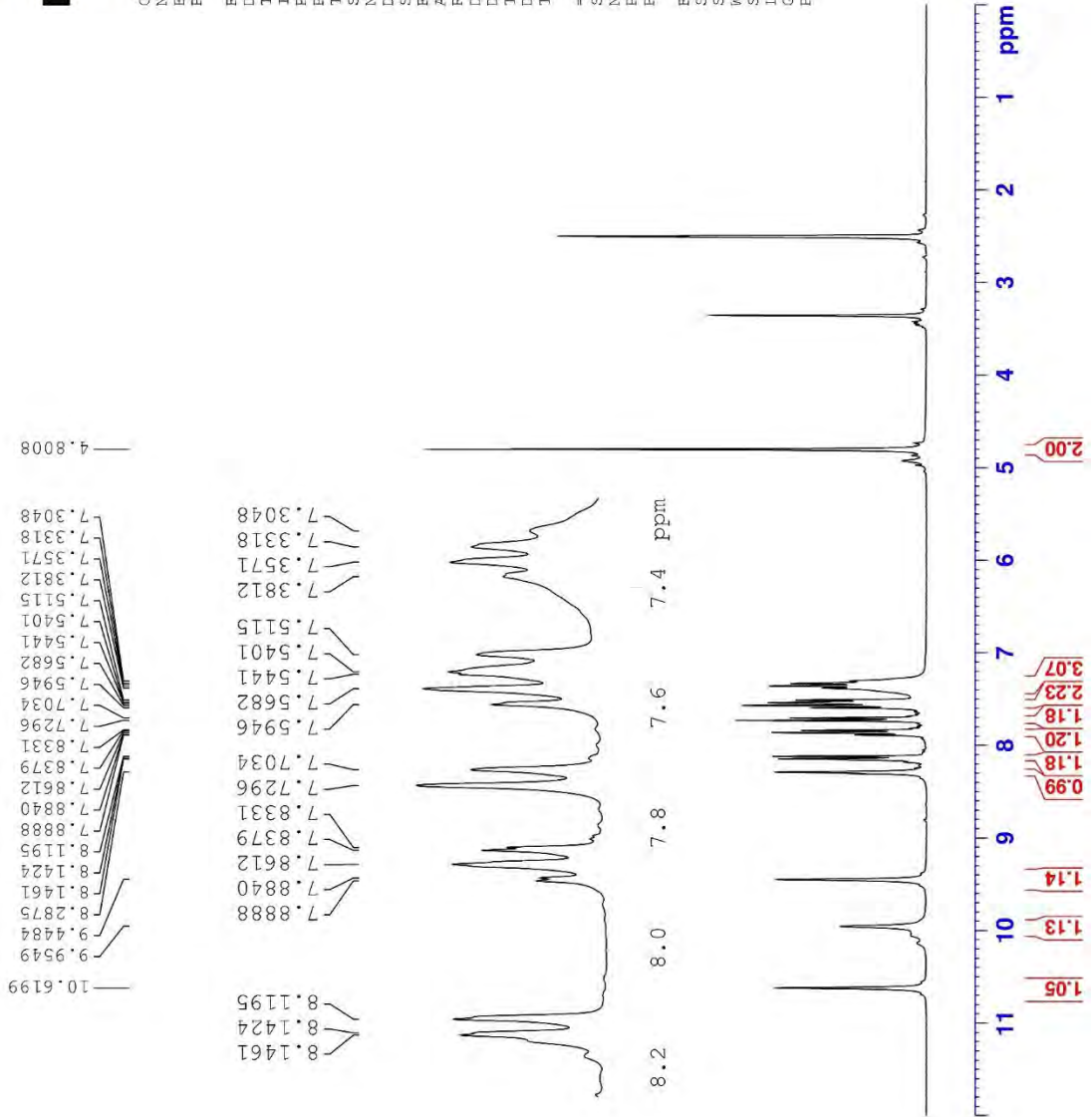


Current Data Parameters  
NAME D-PAT-K-9  
EXPNO 5  
PROCNO 1

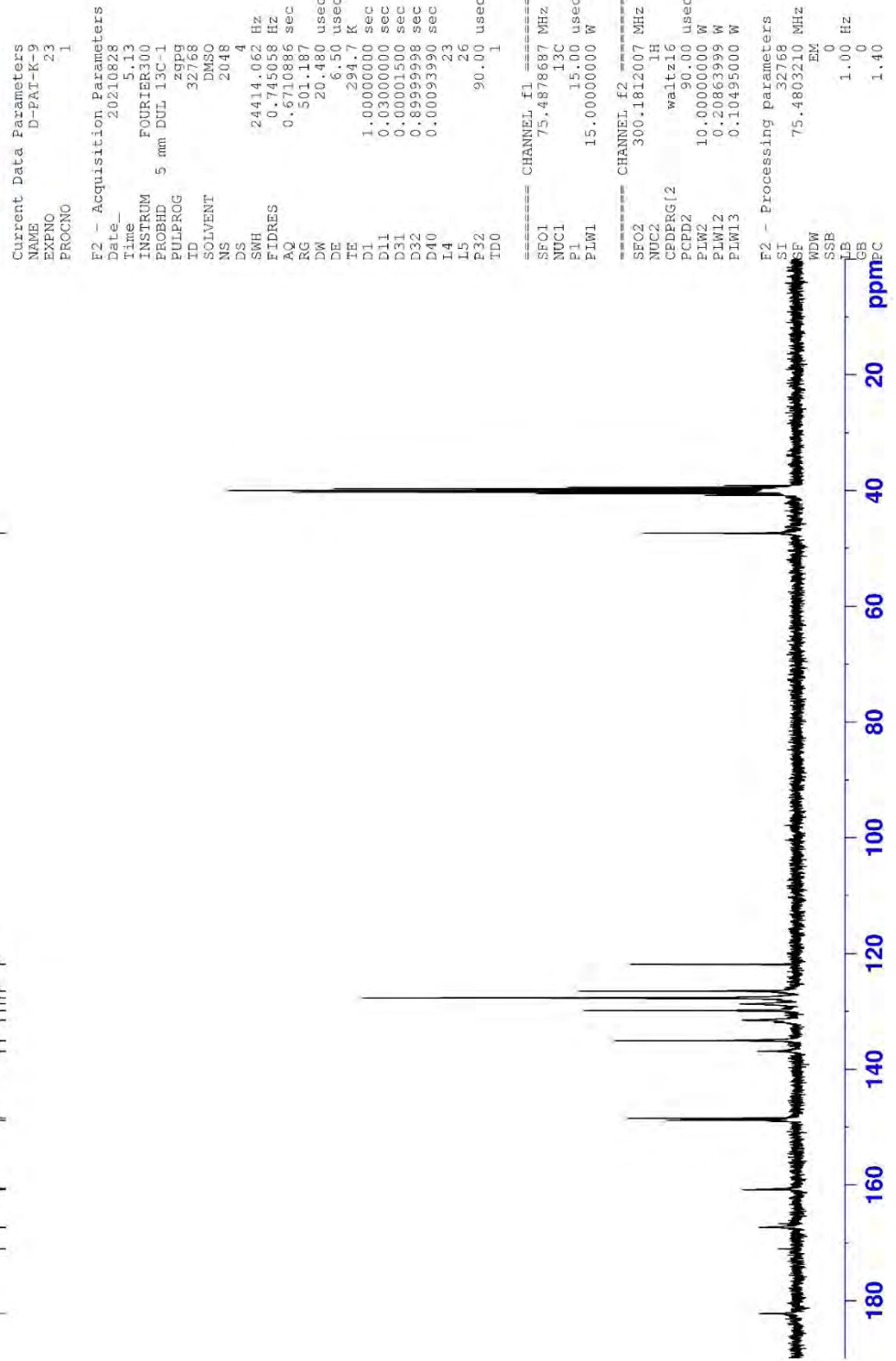
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210828  
Time 5.11  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 16.1447  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 294.7 K  
D1 3.0000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.0000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.32. Bileşik 4i'ye ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu



Şekil 5.33. Bileşik 4i'ye ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-K-9\_120.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 1   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 1   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

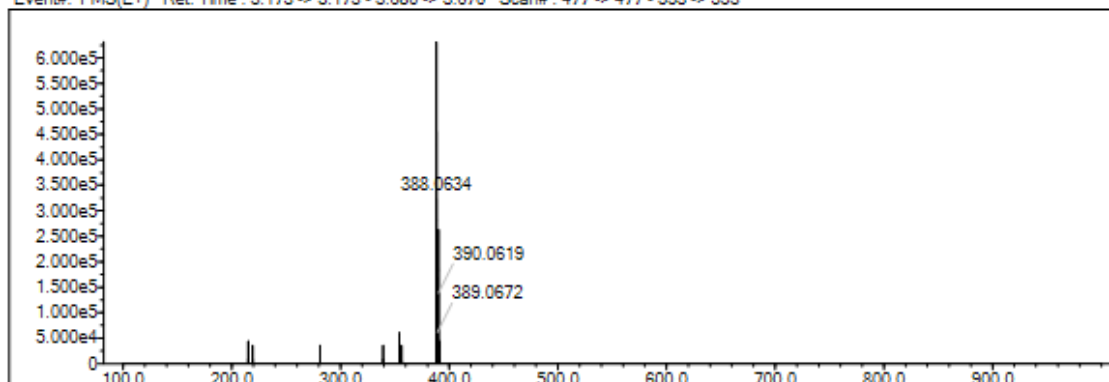
Electron Ions: both

Use MSn Infor: yes

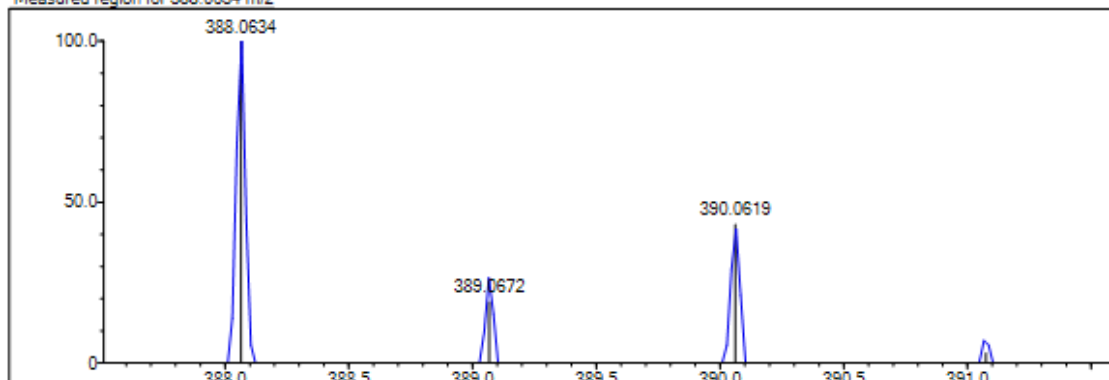
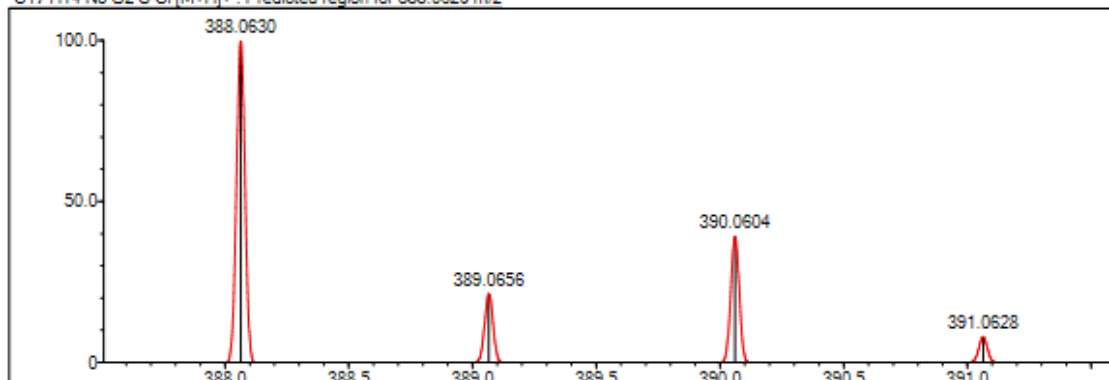
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.173 -&gt; 3.173 - 3.680 -&gt; 3.676 Scan#: 477 -&gt; 477 - 553 -&gt; 553



Measured region for 388.0634 m/z

C17 H14 N5 O2 S Cl [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 388.0629 m/z

| Rank | Score | Formula (M)        | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|--------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 61.25 | C17 H14 N5 O2 S Cl | [M+H] <sup>+</sup> | 388.0634  | 388.0629  | 0.5       | 1.29      | 61.69 | 13.0 |

Şekil 5.34. Bileşik 4i'ye ait HRMS spektrumu



**5.2.4.10. N-(4-Florofenil)-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4H)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4j)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 247-248°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 4.79 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.93 (t, *J*= 8.82 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.46-7.50 (m, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.59 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.06 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.54 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.73 (d, *J*= 7.85 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.88 (td, *J*<sub>1</sub>=1.53 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.67 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.30 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.99 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.33 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 9.52 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 9.86 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.57 (brs, H, CS-NH-fenil).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 47.77, 115.22, 115.52, 121.83, 126.44, 127.77, 128.68, 135.15, 135.71, 135.74, 139.40, 148.48, 148.77, 161.01, 167.25 (C=O), 181.35 (C=S).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>SF için hesaplanan: 372.0925, bulunan: 372.0929.

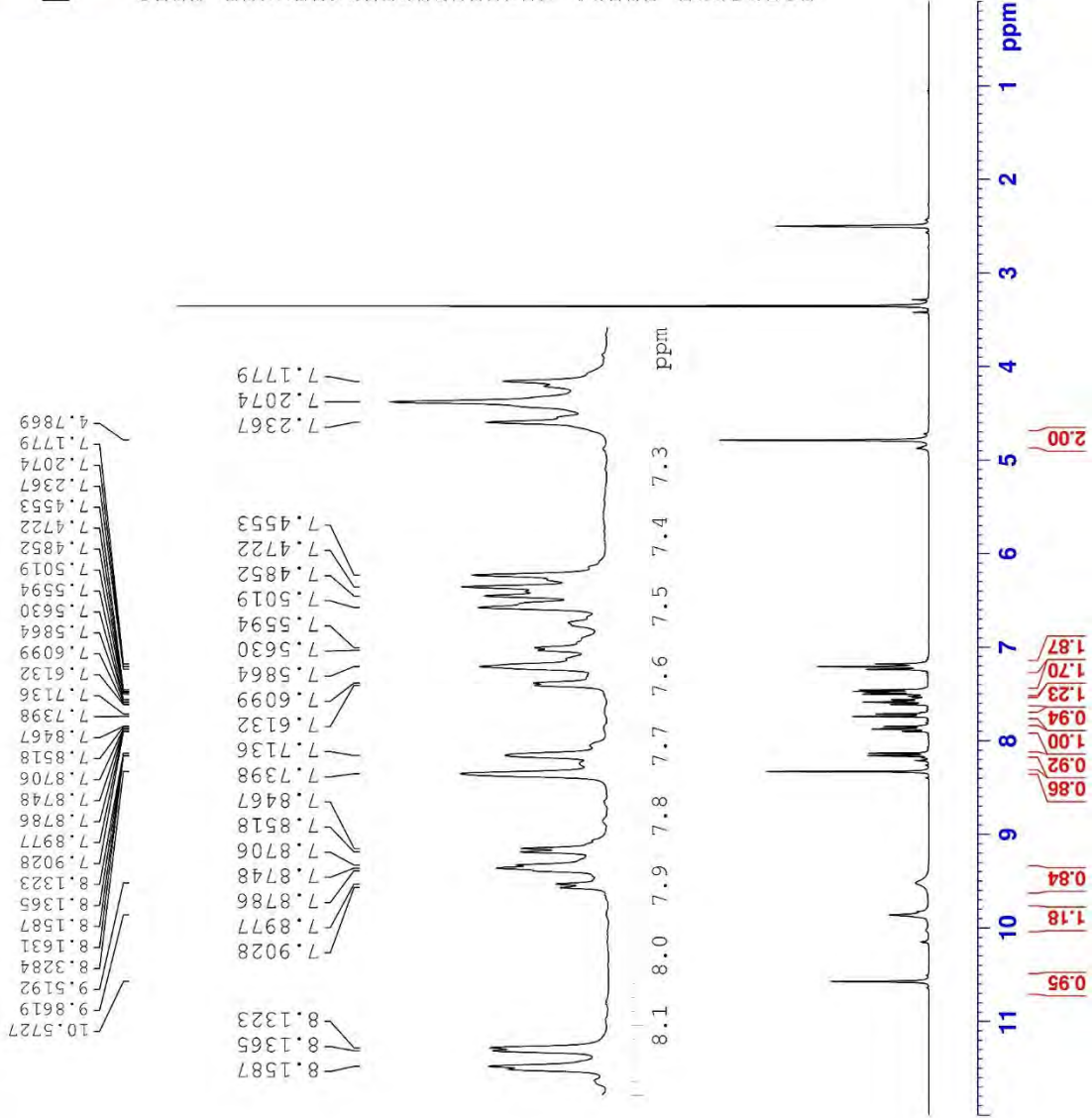


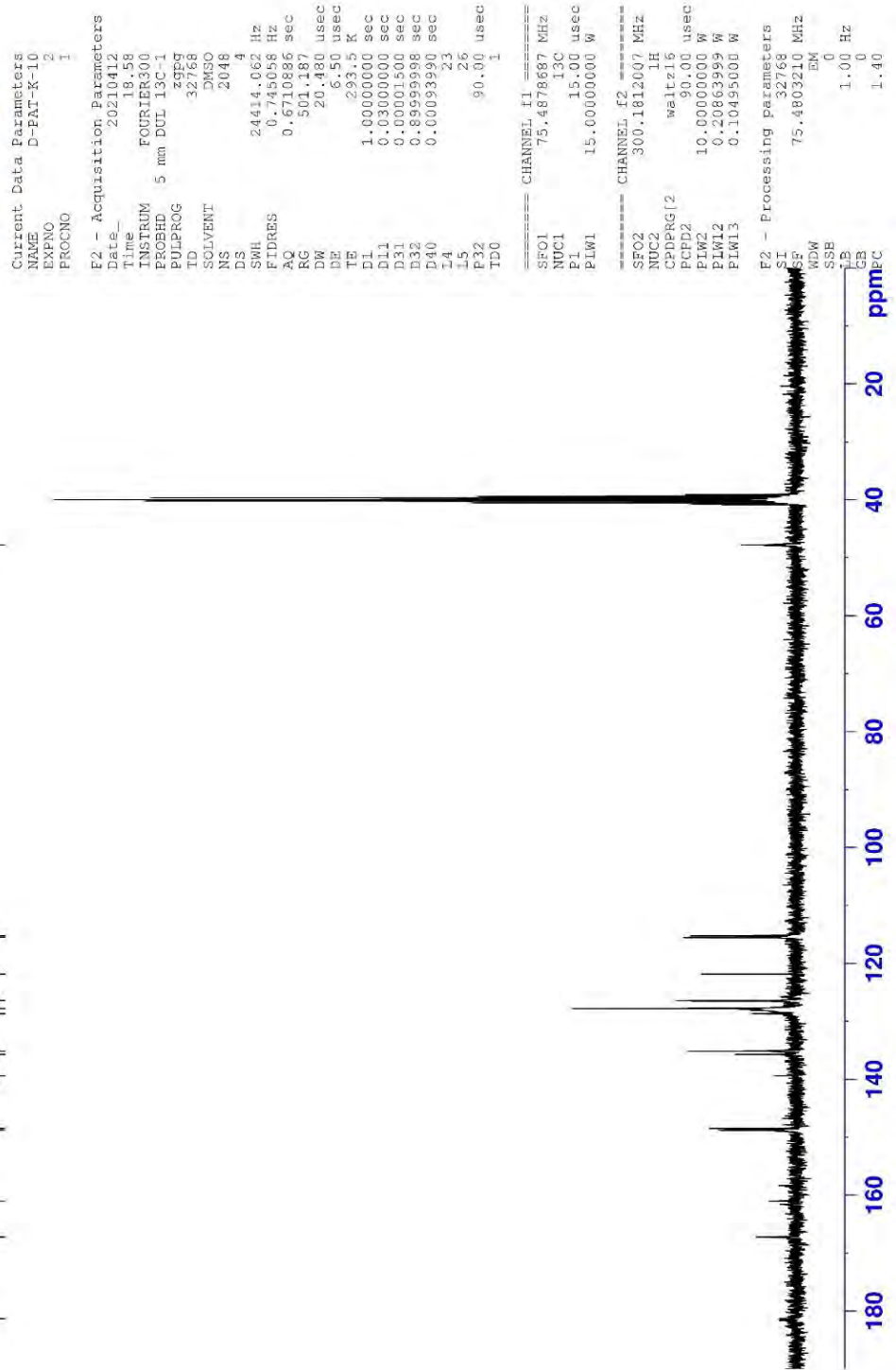
Current Data Parameters  
NAME D-PAT-K-10  
EXPNO 1  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210412  
Time 18.56  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SMH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 35.3458  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 293.5 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1318537 MHz  
NUC1 1H  
F1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00





Şekil 5.36. Bileşik 4j'ye ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-K-10\_121.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 1   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 1   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 1   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

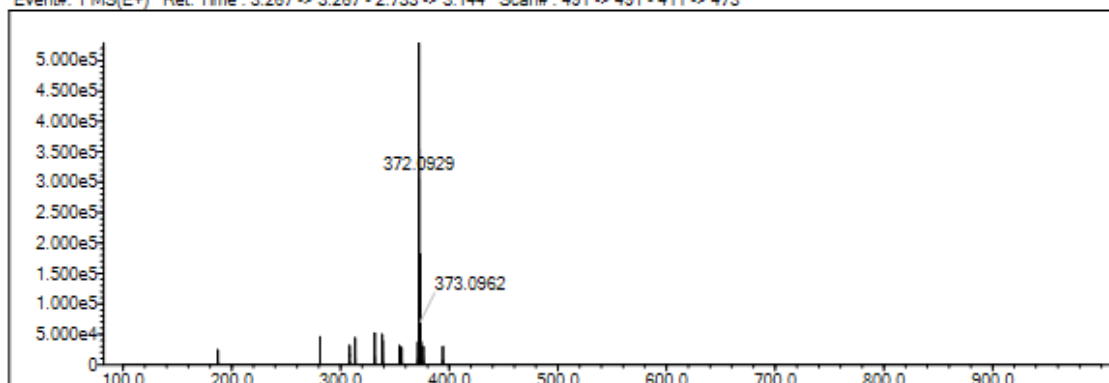
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

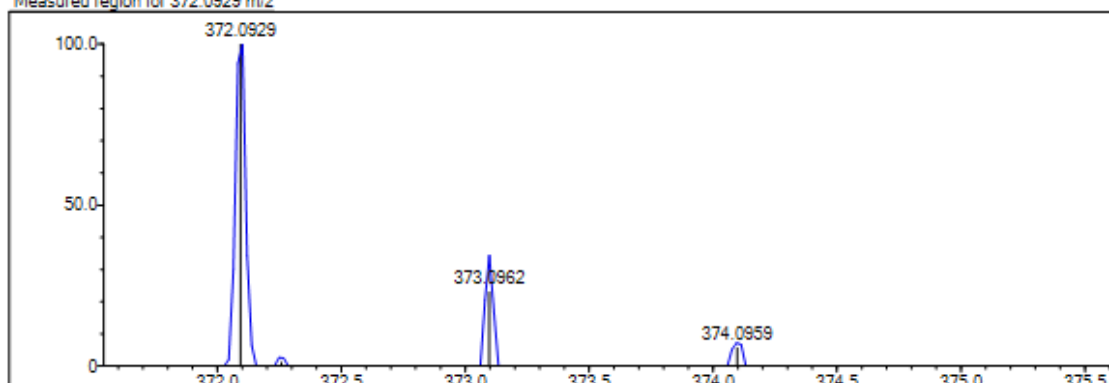
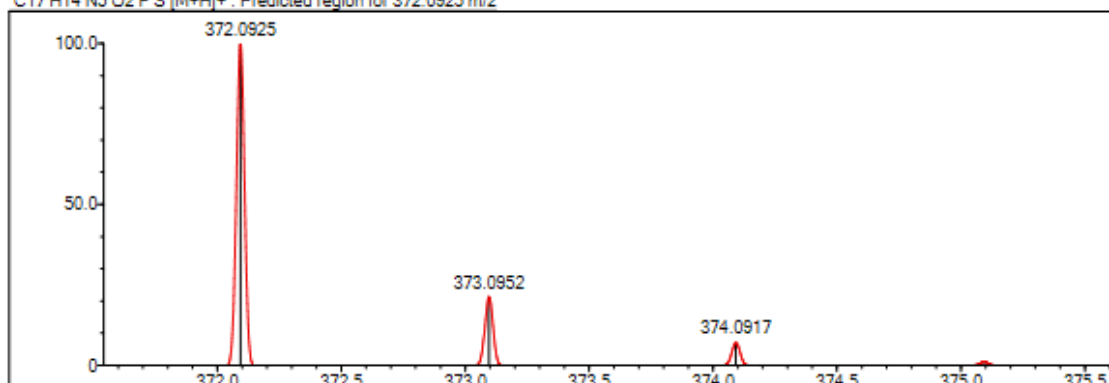
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.267 -&gt; 3.267 - 2.733 -&gt; 3.144 Scan#: 491 -&gt; 491 - 411 -&gt; 473



Measured region for 372.0929 m/z

C17 H14 N5 O2 F S [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 372.0925 m/z

| Rank | Score | Formula (M)       | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|-------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 54.63 | C17 H14 N5 O2 F S | [M+H] <sup>+</sup> | 372.0929  | 372.0925  | 0.4       | 1.08      | 54.73 | 13.0 |

Şekil 5.37. Bileşik 4j'ye ait HRMS spektrumu

**5.2.4.11. N-Fenil-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4H)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4k)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 247-248°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 4.79 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.19 (t, *J*= 6.79 Hz, H, fenil H<sub>4</sub>), 7.37 (t, *J*= 8.81 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.51 (d, *J*= 7.49 Hz, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.59 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.02 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.58 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.73 (d, *J*= 7.82 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.88 (td, *J*<sub>1</sub>=1.53 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.62 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.23 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.98 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.34 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 9.49 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 9.83 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.58 (brs, H, CS-NH-fenil).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 47.85, 121.83, 125.68, 126.42, 127.77, 128.68, 135.15, 139.40, 148.49, 148.76, 161.03, 167.24 (C=O), 181.27 (C=S).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S için hesaplanan: 354.1019, bulunan: 354.1032



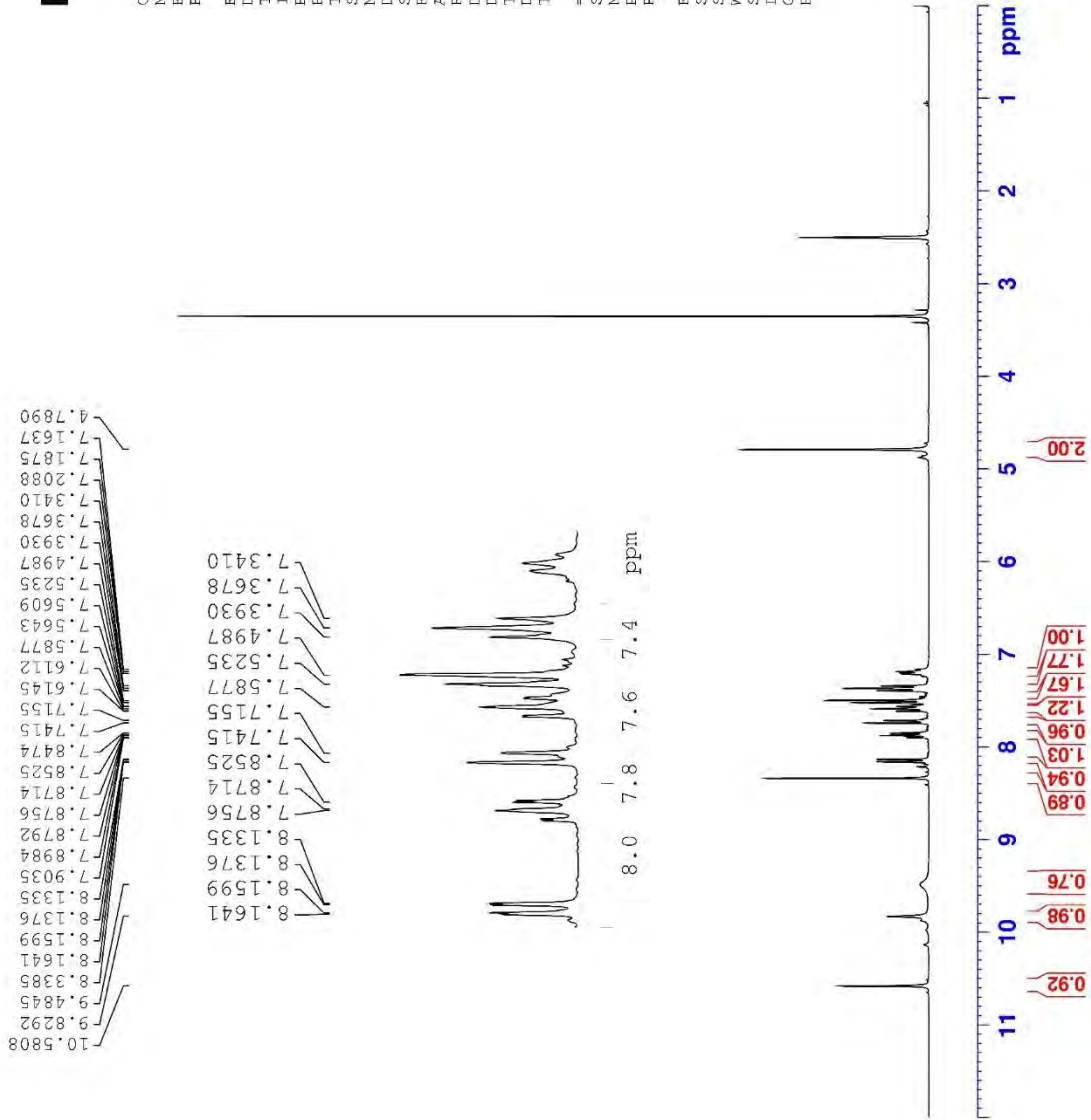
Current Data Parameters  
NAME D-PAT-K-11  
EXPNO 1  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20210412  
Time\_ 19:59  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.342173 sec  
RG 34.1371  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 293.3 K  
D1 3.0000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
PL 13.00 usec  
PLW1 10.0000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSE 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.38. Bileşik 4k'ye ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Current Data Parameters  
NAME D-PAT-K-11  
EXPNO 2  
PROCNO 1

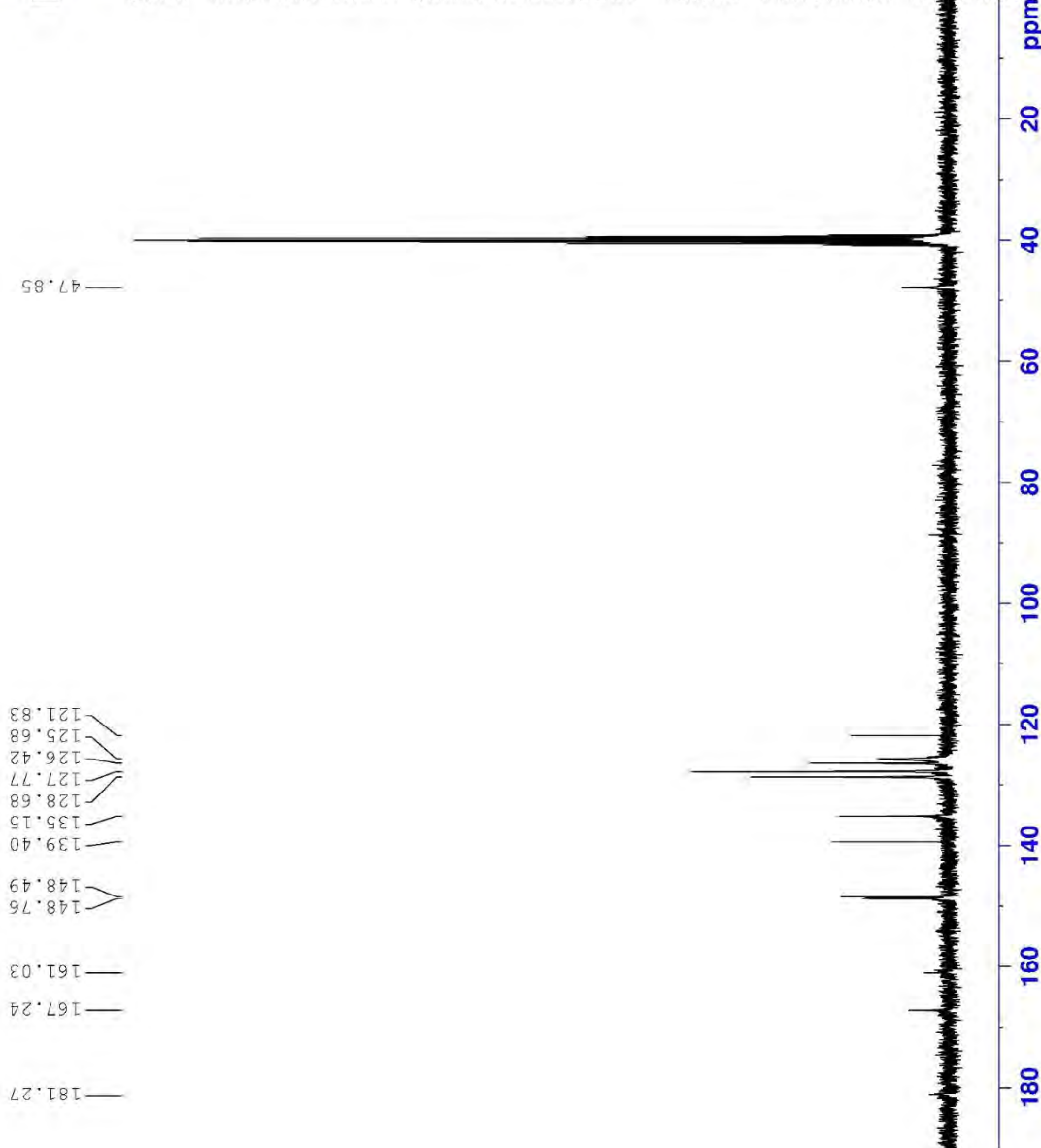
F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20210412  
Time 20.01  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zgpg  
TD 32768  
SOLVENT DMSO  
NS 2048  
DS 4  
SWH 24414.062 Hz  
FIDRES 0.745058 Hz  
AQ 0.6710886 sec  
RG 501.187  
DW 20.480 usec  
DE 6.50 usec  
TE 293.2 K  
D1 1.0000000 sec  
D11 0.0300000 sec  
D31 0.0001500 sec  
D32 0.8999998 sec  
D40 0.0009390 sec  
L4 23  
L5 26  
P32 90.00 usec  
TD0 1

CHANNEL f1  
SFO1 75.4878687 MHz  
NUC1 13C  
P1 15.00 usec  
PLW1 15.00000000 W

CHANNEL f2  
SFO2 300.1812007 MHz  
NUC2 1H  
PCPD2 waltz16  
PLW2 10.0000000 W  
PLW12 0.20863999 W  
PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 75.4803210 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40



Şekil 5.39. Bileşik 4k'ye ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-K-11\_122.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 1   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 1   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

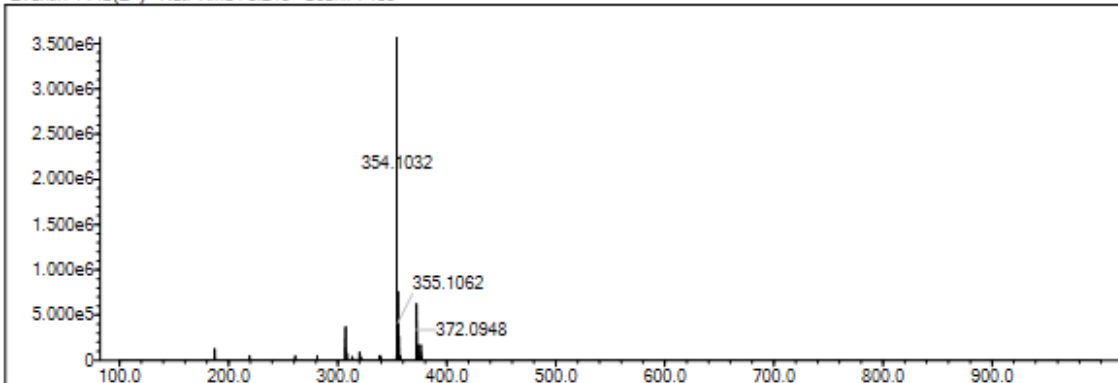
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

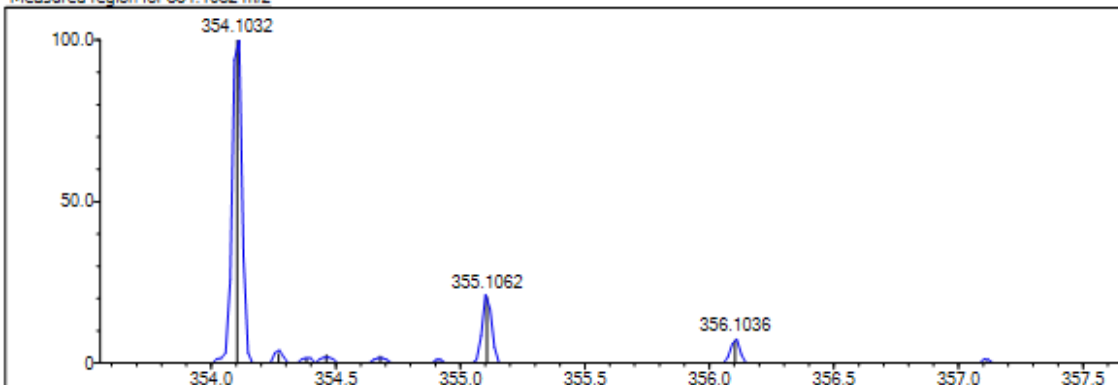
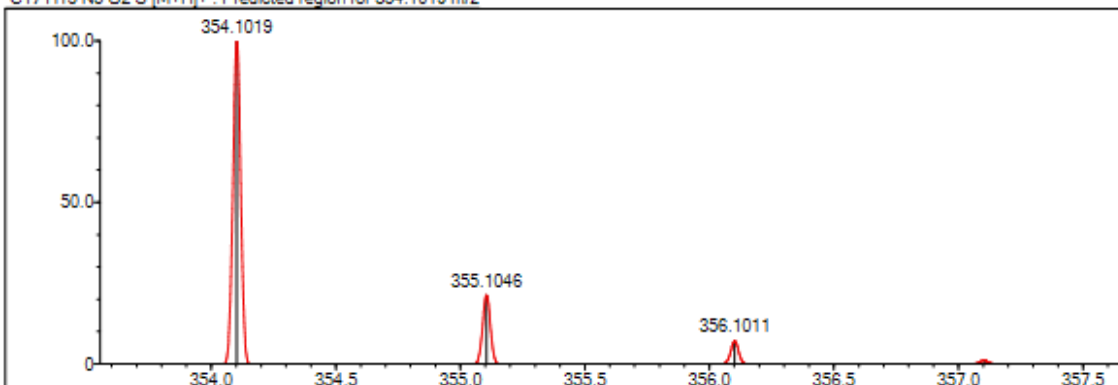
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.213 Scan#: 483



Measured region for 354.1032 m/z

C17 H15 N5 O2 S [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 354.1019 m/z

| Rank | Score | Formula (M)     | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 77.47 | C17 H15 N5 O2 S | [M+H] <sup>+</sup> | 354.1032  | 354.1019  | 1.3       | 3.67      | 83.01 | 13.0 |

Şekil 5.40. Bileşik 4k'ye ait HRMS spektrumu



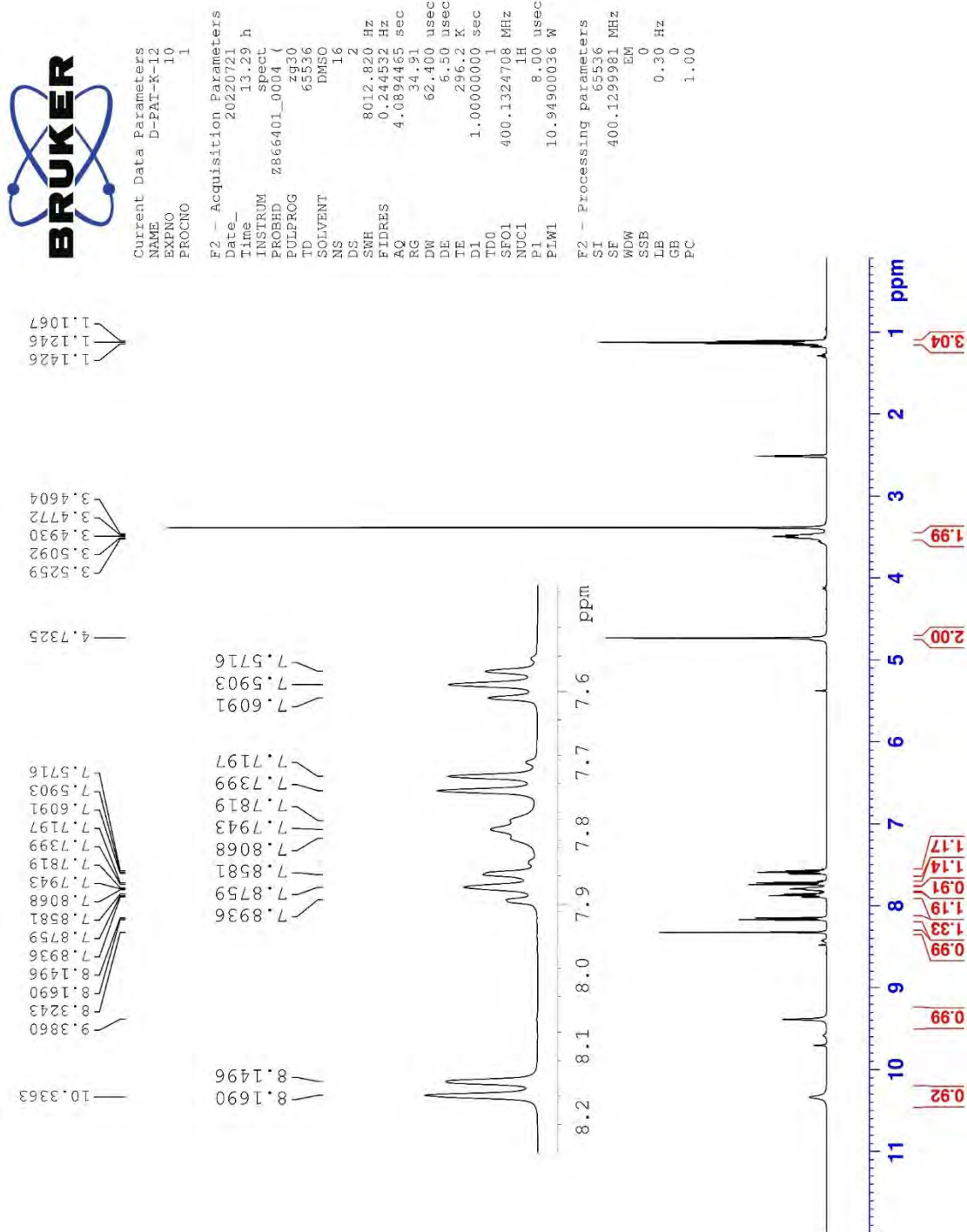
**5.2.4.12. N-Etil-2-{2-[4-oksokinazolin-3(4H)-il]asetil}hidrazin-1-karbotiyoamit (4I)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 225-226°C

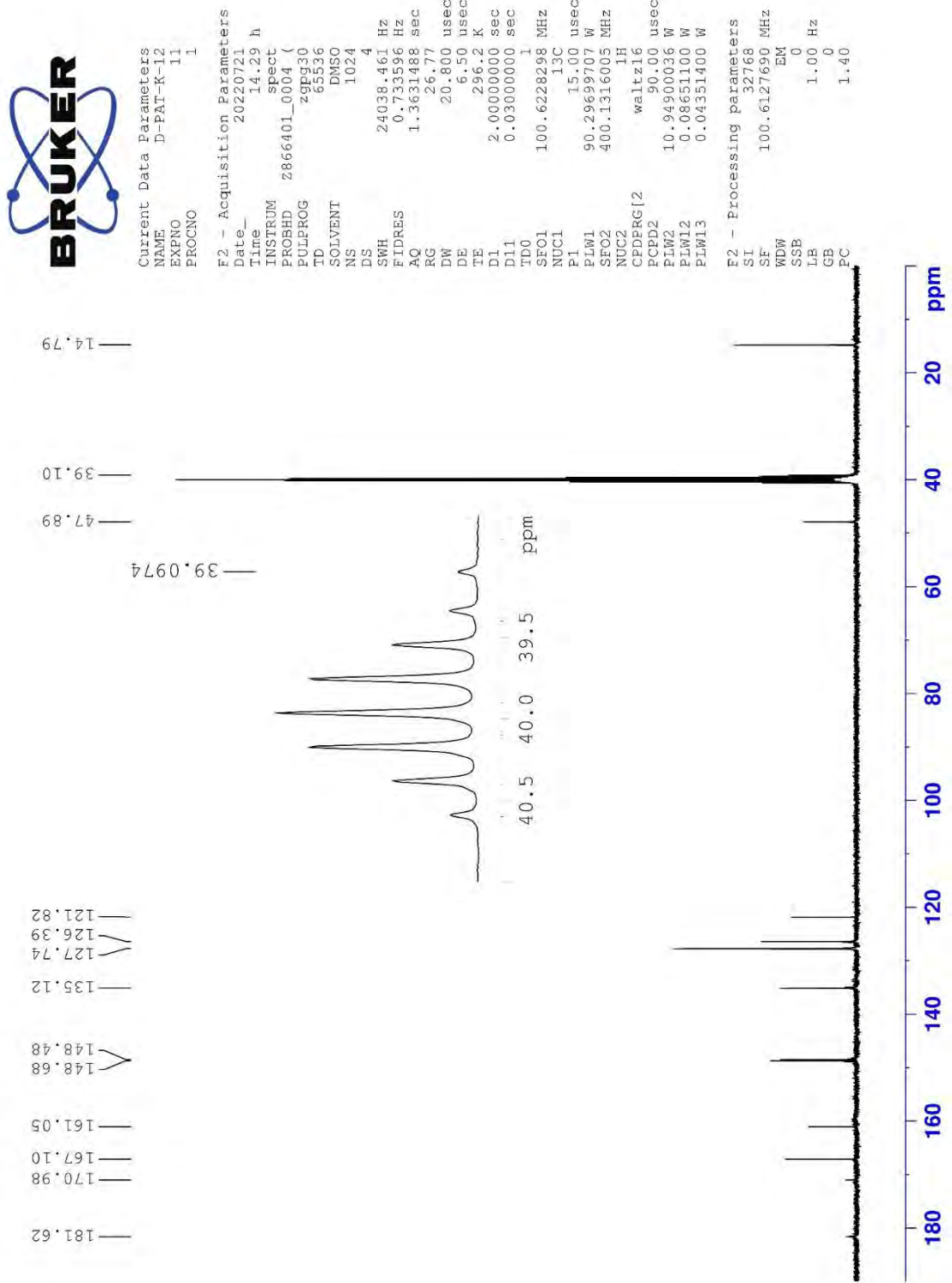
**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 1.13 (t, *J*= 7.18 Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.46-3.53 (m, *J*= 7.18 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.73 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.59 (t, *J*=7.51 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.73 (d, *J*= 8.06 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.79 (brt, *J*=4.98 Hz, H, CS-NH-etil), 7.88 (t, *J*=7.10 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.16 (d, *J*=7.76 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.32 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 9.39 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH), 10.34 (brs, H, CO-NH-NH-CS-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 14.79, 39.10, 47.89, 121.82, 126.39, 127.74, 135.12, 148.48, 148.68, 161.05, 167.10, 170.98 (C=O), 181.62 (C=S).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S için hesaplanan: 306.1019, bulunan: 306.1019.



Şekil 5.41. Bileşik 4l'ye ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.42. Bileşik 4I'ye ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\ID-PAT-K-12\_123.lod

| Elmt | Val | Min | Max | Elmt | Val | Min | Max | Elmt | Val | Min | Max | Elmt | Val | Min | Max | Use Adduct |
|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------------|
| H    | 1   | 10  | 40  | O    | 2   | 2   | 4   | S    | 2   | 0   | 1   | Ru   | 2   | 0   | 0   | H          |
| C    | 4   | 10  | 40  | F    | 1   | 0   | 0   | Cl   | 1   | 0   | 0   | Pd   | 2   | 0   | 0   |            |
| N    | 3   | 1   | 10  | P    | 3   | 0   | 0   | Br   | 1   | 0   | 0   | I    | 3   | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

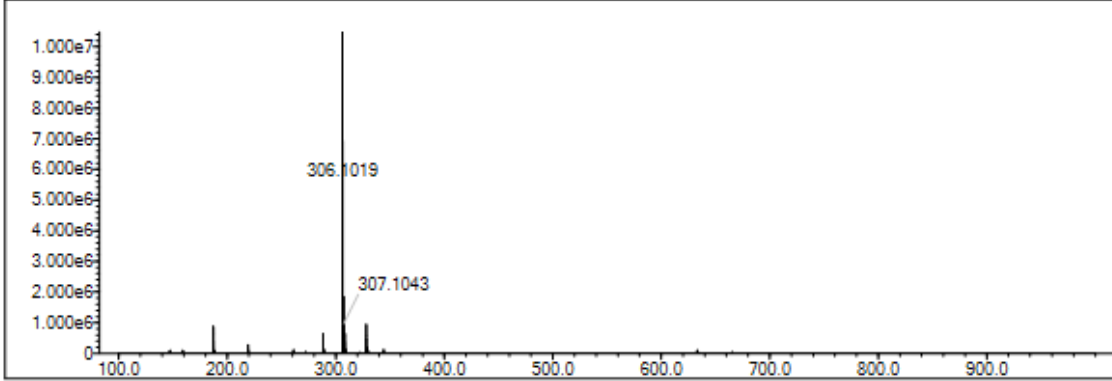
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

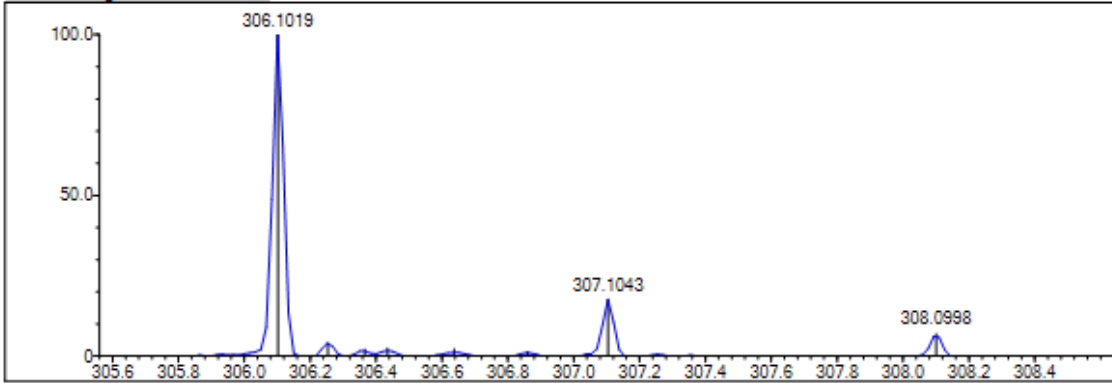
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

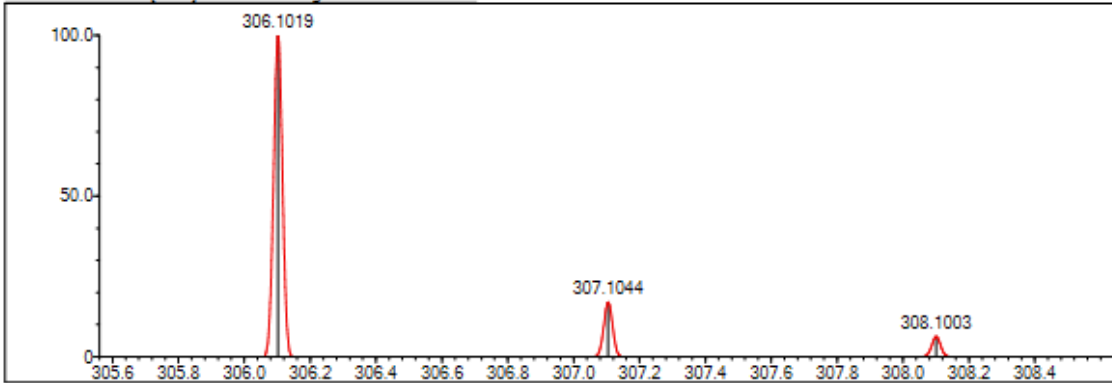
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.987 -&gt; 2.987 Scan#: 449 -&gt; 449



Measured region for 306.1019 m/z



C13 H15 N5 O2 S [M+H]+ : Predicted region for 306.1019 m/z



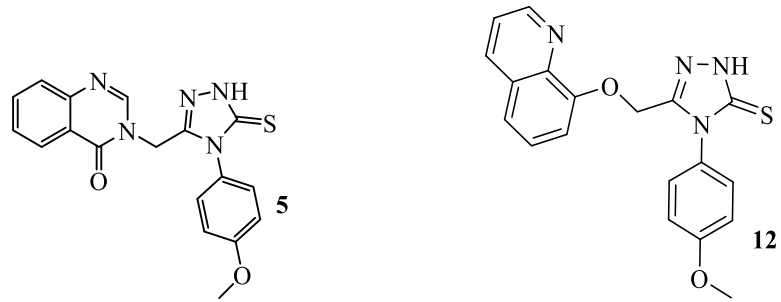
| Rank | Score | Formula (M)     | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE |
|------|-------|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|-----|
| 1    | 97.40 | C13 H15 N5 O2 S | [M+H] <sup>+</sup> | 306.1019  | 306.1019  | -0.0      | 0.00      | 97.40 | 9.0 |

Şekil 5.43. Bileşik 4I'ye ait HRMS spektrumu

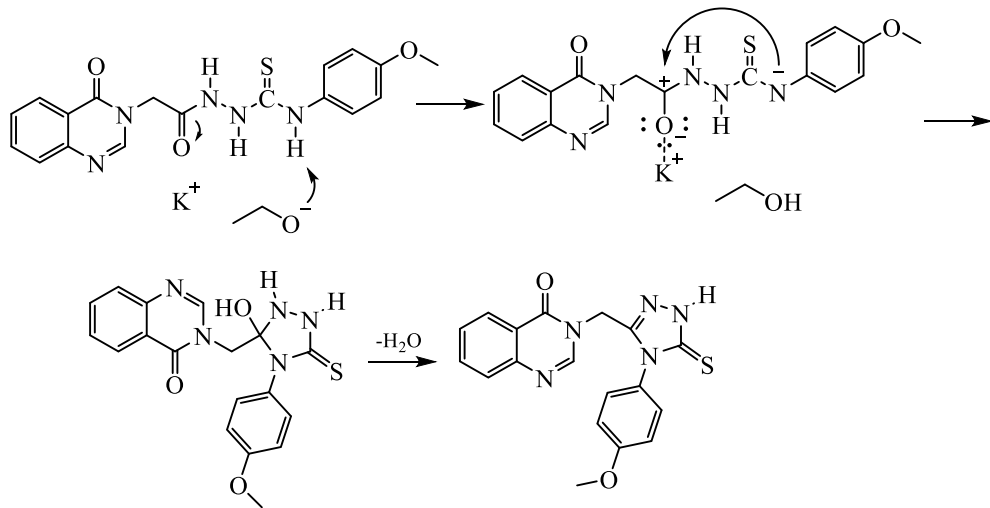
**5.2.4.13. *N*-(4-metoksifenil)-2-[2-(kinolin-8-iloksi)asetil]hidrazin-1-karbotiyoamit (11)**

Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. Verim: %76. Bileşik daha önce Sabir vd. tarafından 2008 yılında [94] sentezlenmiştir.

**5.2.5. 3-{[4-(4-Metoksifenil)-5-tiyokso-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-3-il]metil}kinazolin-4(3*H*)-on (5) ve 3-{[4-(4-metoksifenil)-5-tiyokso-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-3-il]metiloksi}kinolin (12) sentezleri**



Yöntem F'ye göre sentezlenmiştir. 4-Oksokinazolin kökenli bileşik (5) için verim: %82; deneysel E.n: 225-226°C. 8-hidroksikinolin kökenli bileşik (12) için verim: %85; deneysel E.n: 274-275°C, literatür e.n: 281°C [94].

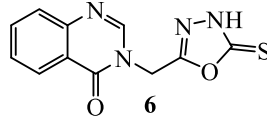


**Şekil 5.44.** Bileşik 5 için öngörülen reaksiyon mekanizması

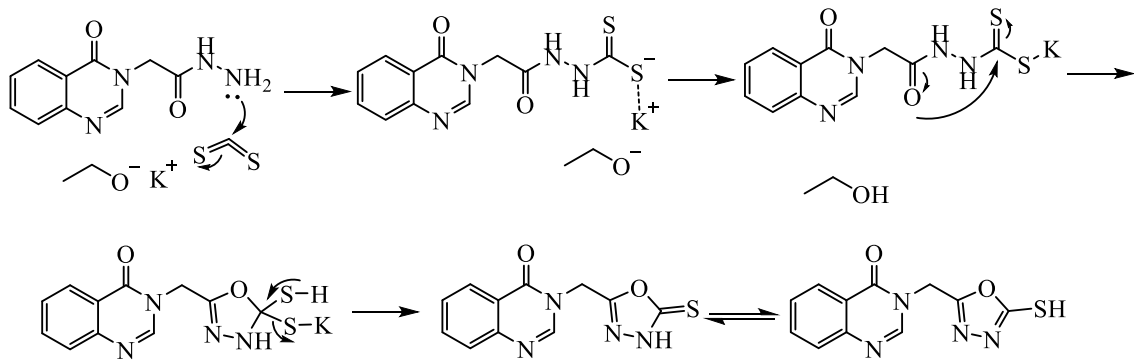
Bileşik 12 için de reaksiyon mekanizmasının benzer şekilde yürüdüğü düşünülmektedir. Etoksit anyonunun amidik azottan proton koparması ve bu azotu

negatif yüklemesi sonucu, azotun, kısmi pozitif yüklü karbonil karbonuna saldırısını takiben su çıkışıyla reaksiyonun yürüdüğü ön görülmektedir.

#### 5.2.6. 3-[(5-Tiyokso-4,5-dihidro-1,3,4-oksadiyazol-2-il)metil]kinazolin-4(3H)-on (6)

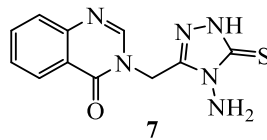


Yöntem G'ye göre sentezlenmiştir. Verim: %87. Deneysel E.n: 225-226°C, literatür e.n: 219-221°C [95]

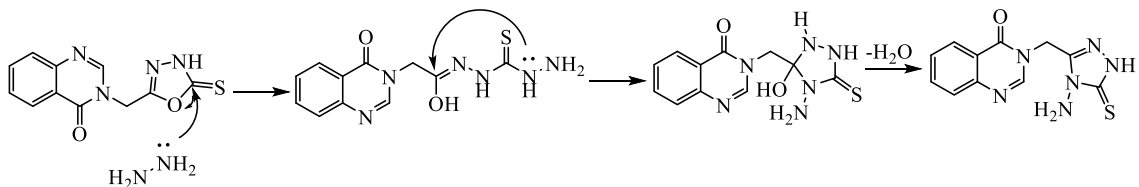


Şekil 5.45. Bileşik 6 için öngörülen reaksiyon mekanizması

#### 5.2.7. 3-[(4-Amino-5-tiyokso-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-il)metil]kinazolin-4(3H)-on (7)



Yöntem H'ye göre sentezlenmiştir. Verim: %87. Daha önce Bao vd. tarafından 2016 yılında patentlenmiştir [96].



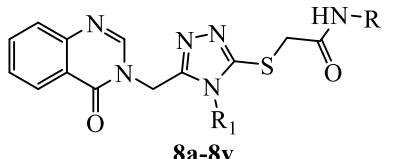
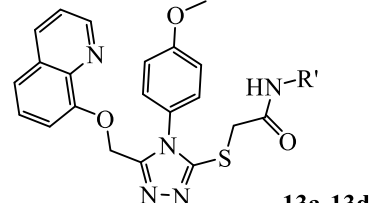
Şekil 5.46. Bileşik 7 için öngörülen reaksiyon mekanizması

85

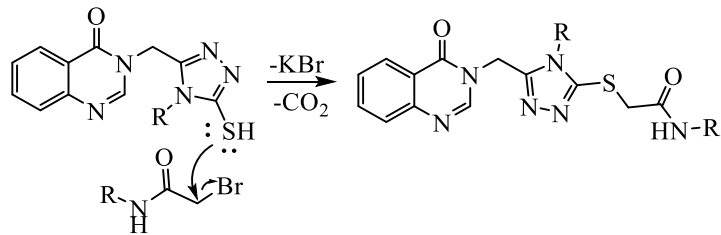
**5.2.8. 2-([4-(4-Metoksifenil/amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4*H*)-il]metil}-4*H*-1,2,4-triazol-3-il]tiyo)-*N*-aril asetamit (8a-8k;8l-8v) ve 2-([4-[4-metoksifenil]-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4*H*-1,2,4-triazol-3-il]tiyo)-*N*-aril asetamit (13a-13d) türevleri**

Yöntem G'ye göre sentezlenmişlerdir. Kimyasal analizler her bileşik için ayrı ayrı yapılmıştır. Bileşiklerin ana yapısı ve türevleri **Tablo 5.5'**de verilmiştir.

**Tablo 5.5.** Sentezlenen asetamit türevleri (8a-8v ve 13a-13d)

| R <sub>1</sub> : 4-Metoksifenil | R <sub>1</sub> : 4-Amino | R                                      | R'                                                |
|---------------------------------|--------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------|
| <b>8a</b>                       | <b>8l</b>                | 6-Florobenzotiyazol-2-il               | <b>13a</b> tiyazol-2-il                           |
| <b>8b</b>                       | <b>8m</b>                | 6-Klorobenzotiyazol-2-il               | <b>13b</b> 4-Metil-5-açıl-tiyazol-2-il            |
| <b>8c</b>                       | <b>8n</b>                | 6-Nitrobenzotiyazol-2-il               | <b>13c</b> 4-Metil-5-(etil karbamat)-tiyazol-2-il |
| <b>8d</b>                       | <b>8o</b>                | Benzotiyazol-2-il                      | <b>13d</b> 4-(etil asetat-1-il)tiyazol-2-il       |
| <b>8e</b>                       | <b>8p</b>                | 6-Metilbenzotiyazol-2-il               |                                                   |
| <b>8f</b>                       | <b>8q</b>                | 6-Metoksibenzotiyazol-2-il             |                                                   |
| <b>8g</b>                       | <b>8r</b>                | 6-Etoksibenzotiyazol-2-il              |                                                   |
| <b>8h</b>                       | <b>8s</b>                | Tiyazol-2-il                           |                                                   |
| <b>8i</b>                       | <b>8t</b>                | 4-Metil-5-açıl-tiyazol-2-il            |                                                   |
| <b>8j</b>                       | <b>8u</b>                | 4-Metil-5-(etil karbamat)-tiyazol-2-il |                                                   |
| <b>8k</b>                       | <b>8v</b>                | 4-(etil asetat-1-il)tiyazol-2-il       |                                                   |



**Şekil 5.48.** Bileşik serisi 8a-8v için öngörülen reaksiyon mekanizması

Bileşik 13 türevleri için reaksiyon mekanizmasının bileşik 8 türevlerinin reaksiyon mekanizmasına benzer şekilde yürüdüğü düşünülmektedir. Kükürt elektronlarının  $\alpha$  karbonuna saldırısıyla halojenin ayrılması, reaksiyonu başlatan adım olarak öne sürülmektedir.



**5.2.8.1. *N*-(6-Florobenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8a)**

Görünüm: Açık kahve toz. E.n: 183-184°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.93 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.16 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.98 (td, *J*<sub>1</sub>=2.71 Hz, *J*<sub>2</sub>=9.09 Hz, H, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.13 (d, *J*=8.97 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.34 (dd, *J*<sub>1</sub>=4.98 Hz, *J*<sub>2</sub>=8.79 Hz, H, benzotiyazol H<sub>7</sub>), 7.45-7.49 (m, 3H, fenil H<sub>2,6</sub> ve kinazolin H<sub>8</sub>), 7.56 (td, *J*<sub>1</sub>=1.14 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.56 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.70 (d, *J*=7.74 Hz, H, benzotiyazol H<sub>4</sub>), 7.86 (td, *J*<sub>1</sub>=1.55 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.66 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.11 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.25 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.95 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.36 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 40.31 (S-CH<sub>2</sub>), 40.67 (N-CH<sub>2</sub>), 55.57 (OCH<sub>3</sub>), 106.68 ve 107.01, 111.51 ve 111.83, 115.11, 118.84 ve 118.96, 121.43, 124.92, 126.06, 127.26, 128.50, 134.62, 147.11, 147.87, 151.13, 153.01, 155.63, 158.75, 159.81, 160.21, 171.42 (C=O).

**HRMS (-m/z): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>27</sub>H<sub>20</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>F için hesaplanan: 574.1126, bulunan: 574.1154.



Current Data Parameters  
NAME D-FAT-I-1  
EXPNO 1  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20201228  
Time 20.07  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT acetone  
NS 256  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 17.0924  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 291.5 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

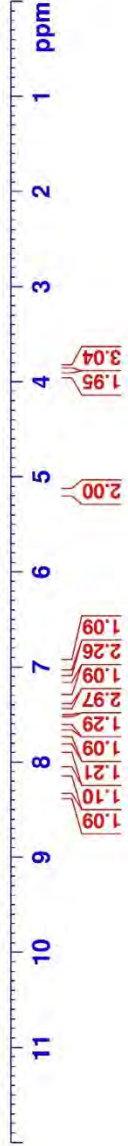
===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1798651 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00

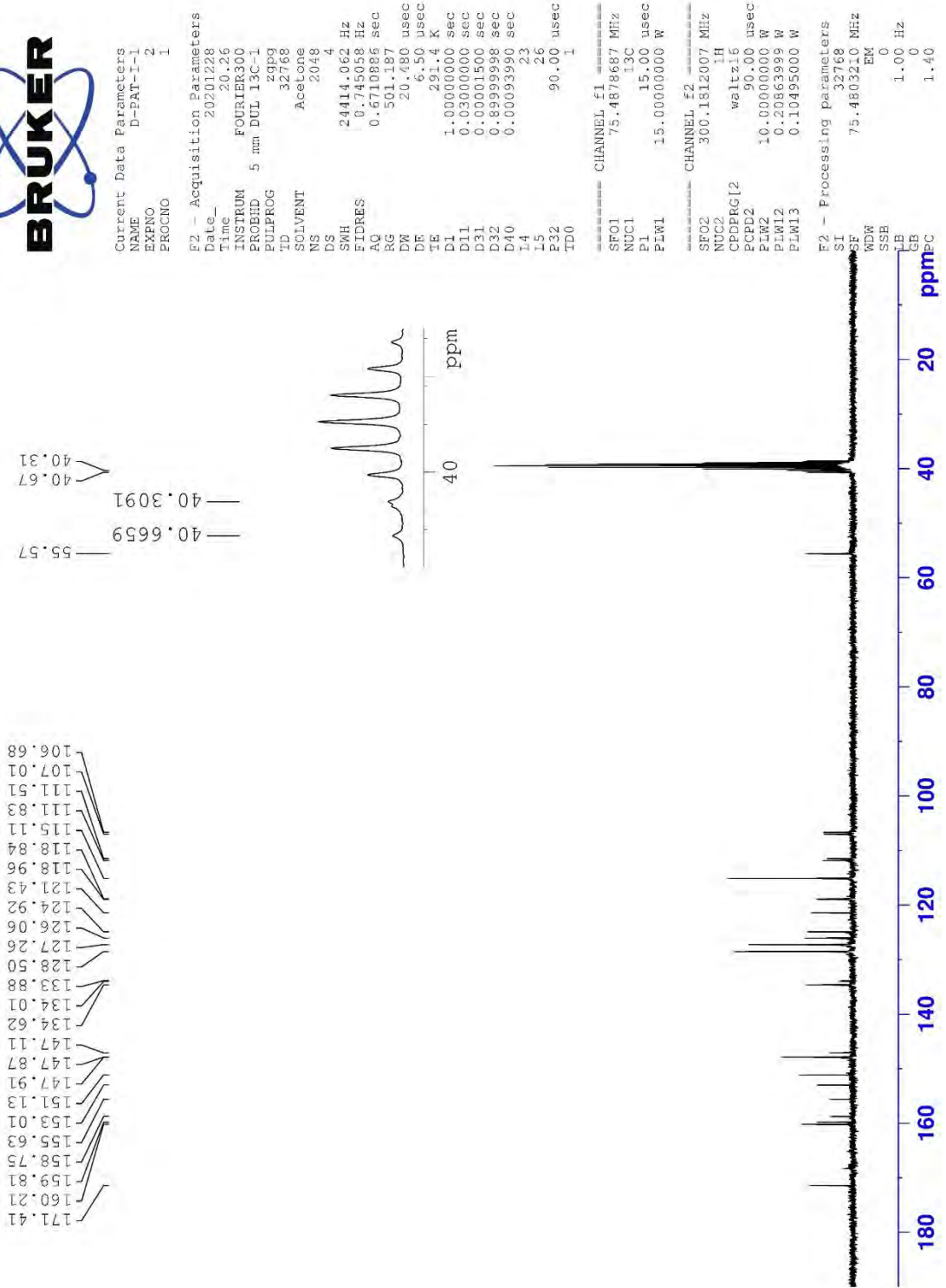
8.3619  
8.1205  
8.1163  
8.0939  
8.0897  
7.8840  
7.8789  
7.8600  
7.8559  
7.8517  
7.8330  
7.8278  
7.7166  
7.6908  
7.5595  
7.5866  
7.5829  
7.5325  
7.4907  
7.4827  
7.4679  
7.4610  
7.4528  
7.3455  
7.3328  
7.3163  
7.1434  
7.1135  
7.0149  
7.0059  
6.9835  
6.9762  
6.9541  
6.9450  
5.1558  
3.9324  
3.8337

7.8559  
7.8517  
7.8330  
7.8278  
7.7166  
7.6908  
7.5595  
7.5866  
7.5829  
7.5325  
7.4907  
7.4827  
7.4679  
7.4610  
7.4528  
7.3455  
7.3328  
7.3163  
7.1434  
7.1135

7.8 7.6 7.4 7.2 ppm



Şekil 5.49. Bileşik 8a'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.50. Bileşik 8a'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-I-1\_64.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 5   | 40  | O    | 2    | 0   | 3   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 5   | 35  | F    | 1    | 1   | 1   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 0   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 60.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

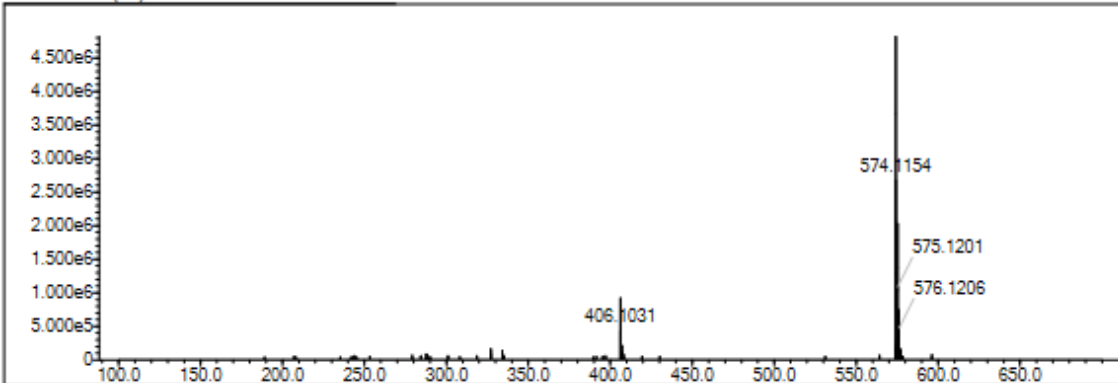
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

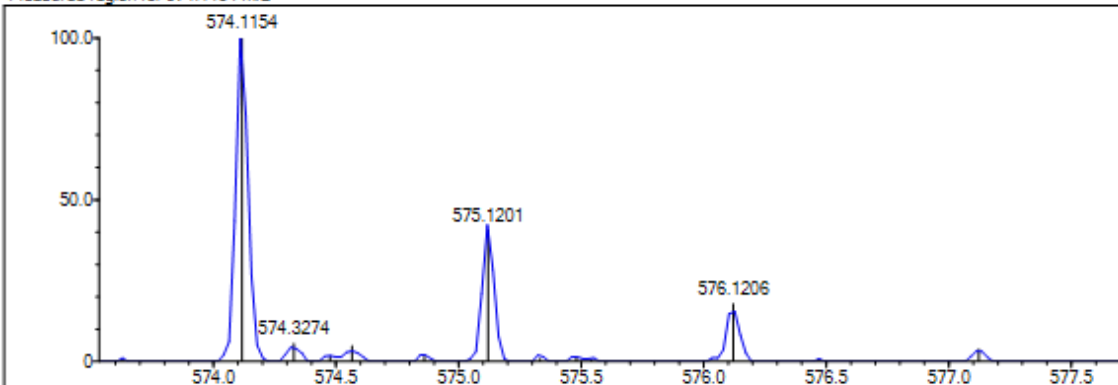
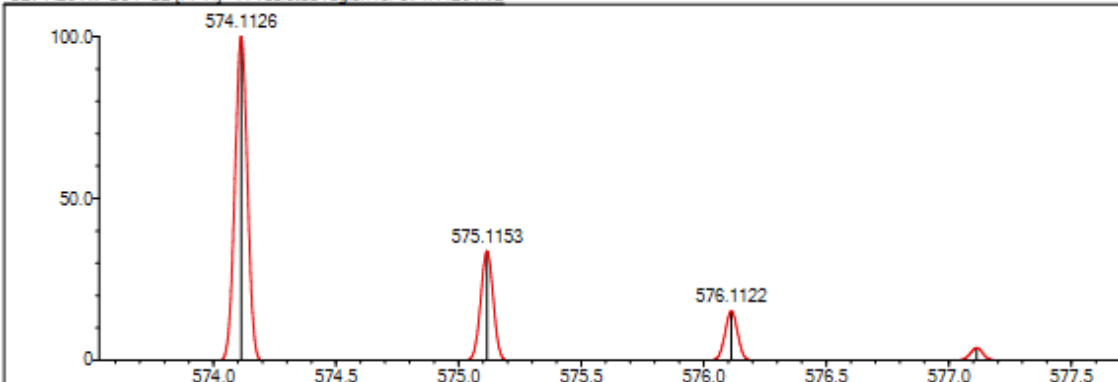
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.747 Scan#: 563



Measured region for 574.1154 m/z

C27 H20 N7 O3 F S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 574.1126 m/z

| Rank | Score | Formula (M)        | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|--------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 4    | 63.77 | C27 H20 N7 O3 F S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 574.1154  | 574.1126  | 2.8       | 4.88      | 70.61 | 21.0 |

Şekil 5.51. Bileşik 8a'ya ait HRMS spektrumu

**5.2.8.2. *N*-(6-Klorobenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8b)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 274-275°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.95 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.16 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.11-7.18 (m, 3H, fenil H<sub>3,5</sub> ve benzotiyazol H<sub>5</sub>) 7.34 (d, *J*=8.56 Hz, H, benzotiyazol H<sub>7</sub>), 7.48 (d, *J*=8.79 Hz, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.56 (t, *J*=7.55 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.67-7.71 (m, 2H, kinazolin H<sub>8</sub> ve benzotiyazol H<sub>4</sub>), 7.86 (t, *J*=7.91 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.11 (d, *J*=7.90 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.36 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 40.82 (S-CH<sub>2</sub>), 41.12 (N-CH<sub>2</sub>), 56.04 (OCH<sub>3</sub>), 115.57, 119.83, 120.48, 120.51, 121.88, 124.47, 124.74, 125.36, 126.50, 127.71, 128.95, 135.09, 148.32, 149.89, 151.62, 153.38, 160.26, 160.67, 169.43, 172.31 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>27</sub>H<sub>20</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>Cl hesaplanan 590.0830; bulunan 590.0824.

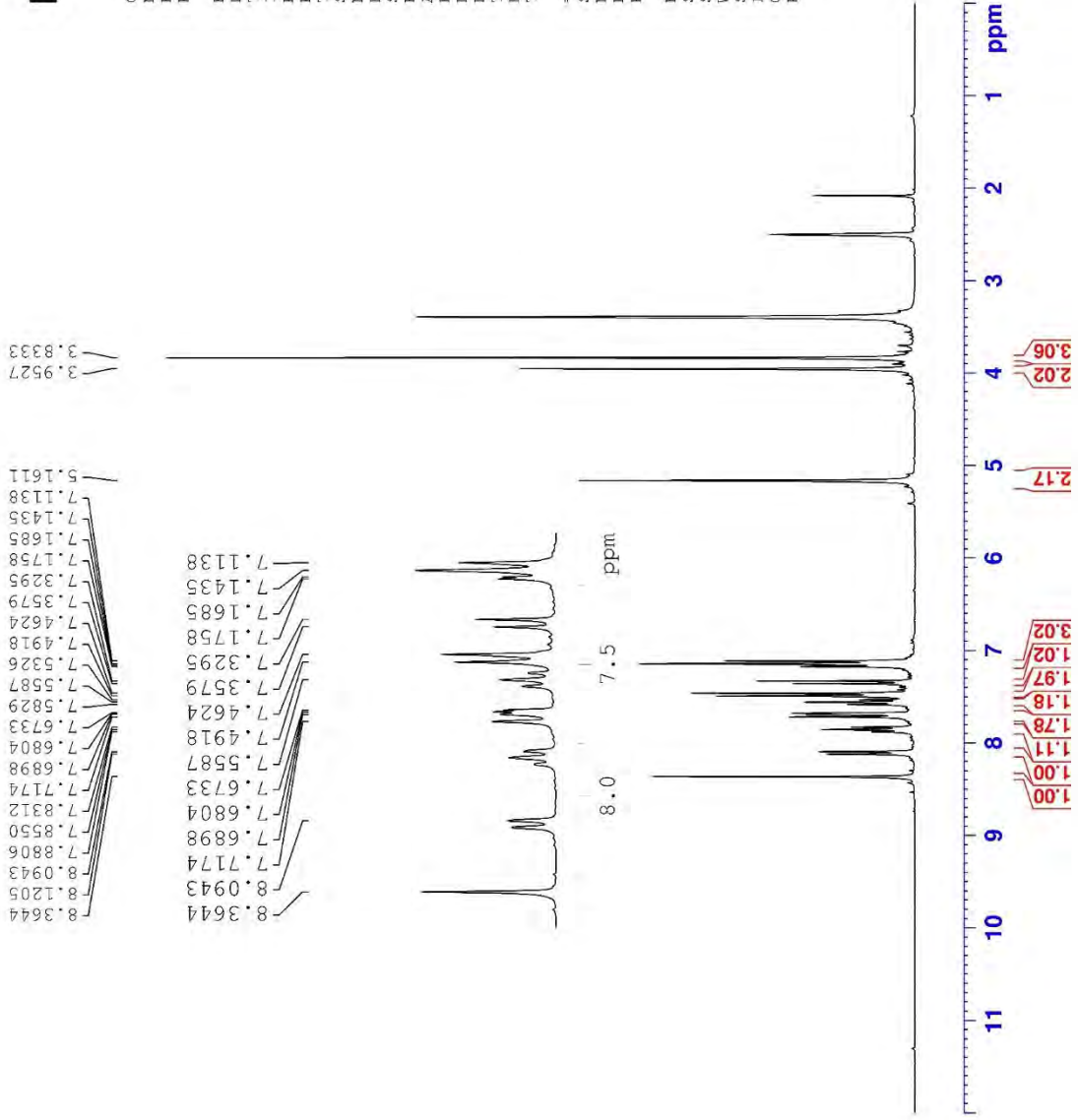


Current Data Parameters  
NAME D-PAT-I-2  
EXPNO 1  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20201228  
Time 21.26  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 15.2632  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 291.5 K  
D1 3.0000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SF01 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PL1 10.0000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.52. Bileşik 8b'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Current Data Parameters  
NAME D-PAT-I-2  
EXPNO 2  
PROCNO 1

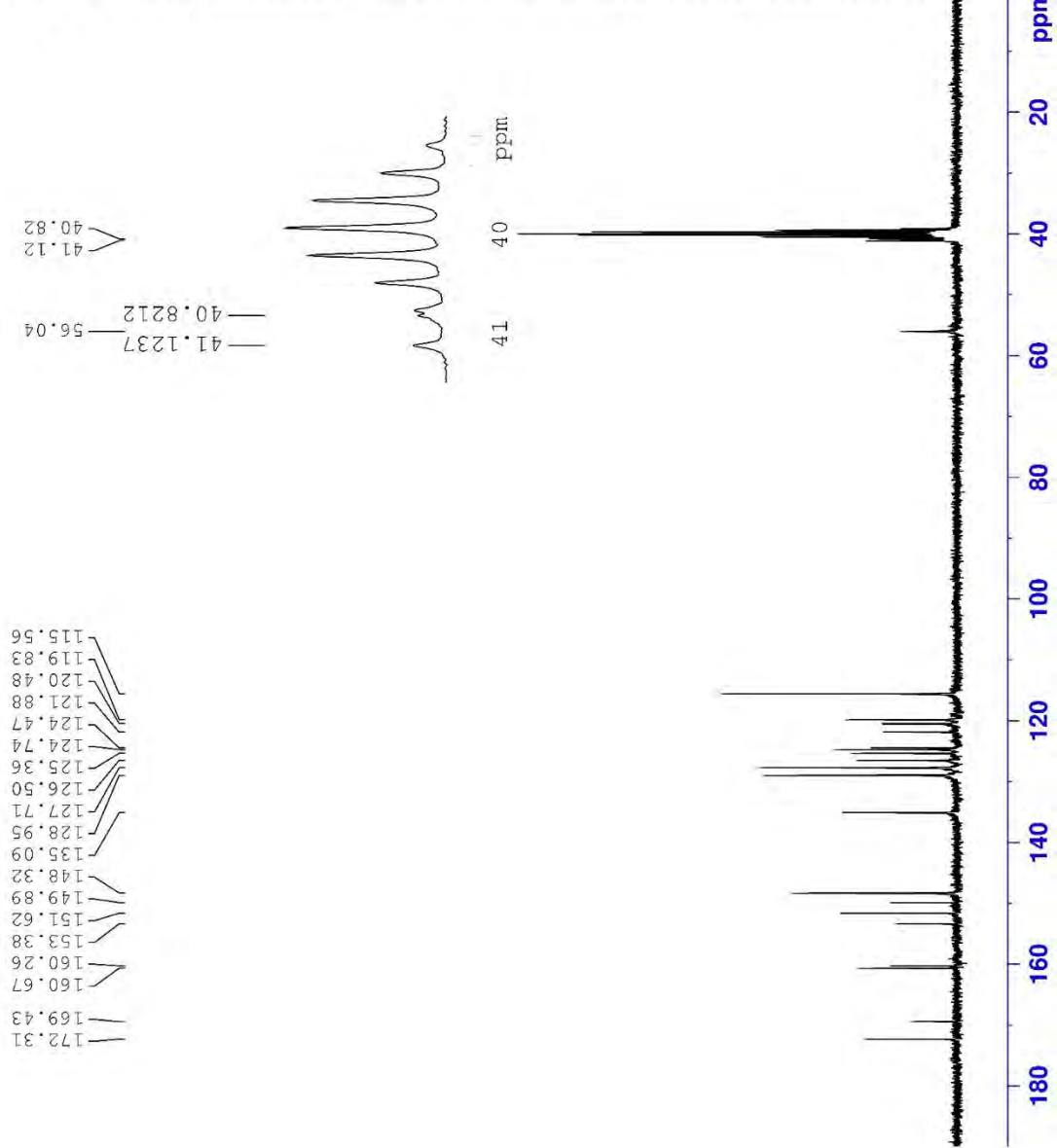
F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20201228  
Time 21.28  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zgpg  
TD 32768  
SOLVENT DMSO  
NS 2048  
DS 4  
SWH 24414.062 Hz  
FIDRES 0.745058 Hz  
AQ 0.6710886 sec  
RG 501.187  
DE 20.480 usec  
TE 291.4 K  
D1 1.00000000 sec  
D11 0.03000000 sec  
D31 0.0001500 sec  
D32 0.89999998 sec  
D40 0.00093990 sec  
I4 23  
I5 26  
P32 90.00 usec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 75.4878687 MHz  
NUC1 13C  
P1 15.00 usec  
PLW1 15.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====  
SFO2 300.1812007 MHz  
NUC2 1H  
CPDPRG12 waltz16  
PCPD2 90.00 usec  
PLW2 10.00000000 W  
PLW12 0.20863999 W  
PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 75.4803210 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40



Şekil 5.53. Bileşik 8b'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-I-2\_76.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 5   | 40  | O    | 2    | 1   | 6   | S    | 2    | 2   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 5   | 35  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 0   | 7   | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

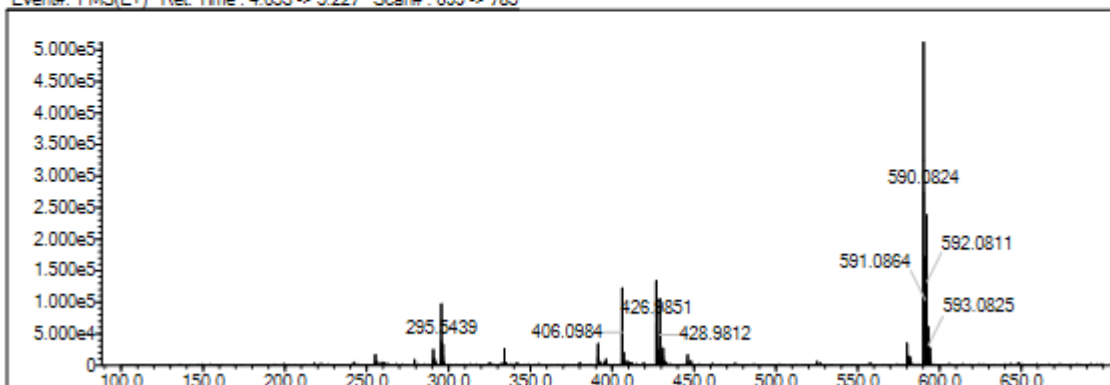
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

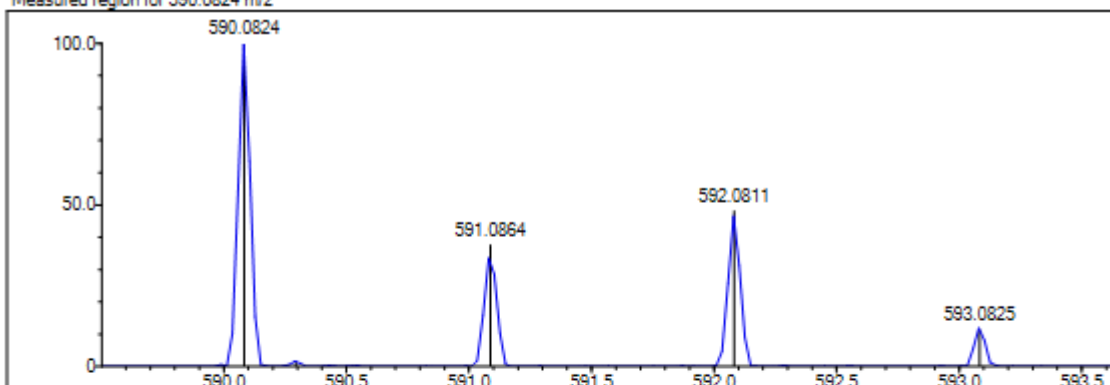
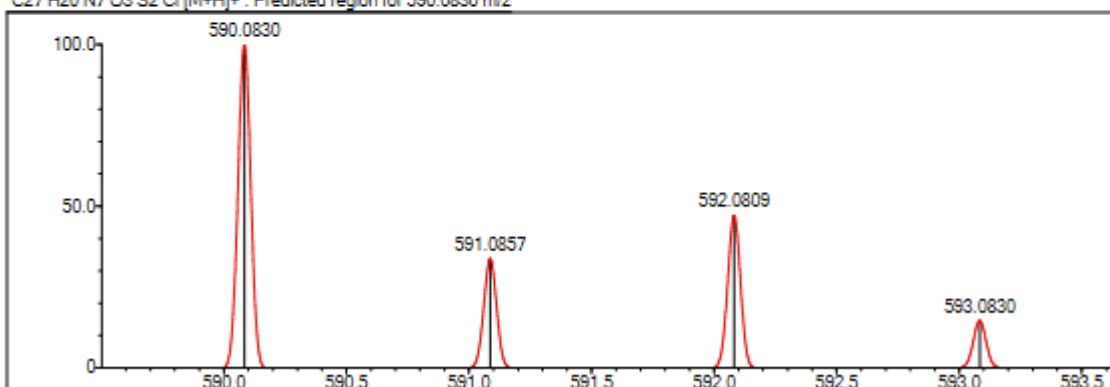
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.653 -&gt; 5.227 Scan#: 699 -&gt; 785



Measured region for 590.0824 m/z

C27 H20 N7 O3 S2 Cl [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 590.0830 m/z

| Rank | Score | Formula (M)         | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|---------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 85.89 | C27 H20 N7 O3 S2 Cl | [M+H] <sup>+</sup> | 590.0824  | 590.0830  | -0.6      | -1.02     | 85.93 | 21.0 |

Şekil 5.54. Bileşik 8b'ya ait HRMS spektrumu



**5.2.8.3. *N*-(6-Nitrobenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8c)**

Görünüm: Kirli sarı toz. E.n: 211-212°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ: 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.15 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.16 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.12 (d, *J*= 8.80 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.49 (d, *J*= 8.75 Hz, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.54 (t, *J*= 7.84 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.67 (t, *J*= 8.48 Hz, 2H, kinazolin H<sub>8</sub> ve benzotiyazol H<sub>7</sub>), 7.84 (t, *J*= 7.63 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.08 (d, *J*= 7.99 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.15 (dd, *J*<sub>1</sub>=2.28 Hz, *J*<sub>2</sub>= 8.84 Hz, H, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 8.34 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 8.79 (d, *J*<sub>1</sub>=2.17 Hz, H, benzotiyazol H<sub>4</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 38.52 (S-CH<sub>2</sub>), 41.13(N-CH<sub>2</sub>), 56.04(O-CH<sub>3</sub>), 115.60, 118.55, 119.51, 121.67, 121.83, 125.10, 126.48, 127.71, 128.91, 133.13, 135.07, 141.92, 148.28, 152.08, 155.65, 160.25, 160.75, 169.25, 171.38 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>27</sub>H<sub>20</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 601.1071, bulunan: 601.1079.



Current Data Parameters  
NAME D-PAT-I-3  
EXPNO 1  
PROCNO 1

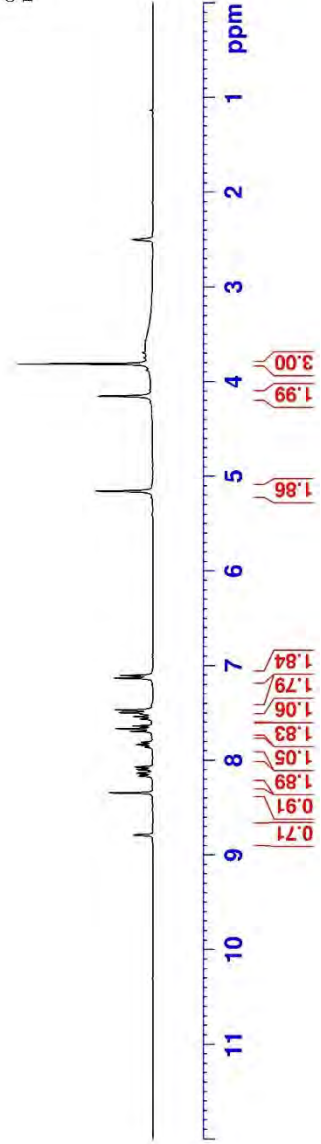
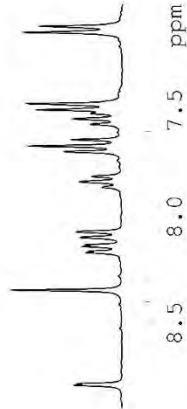
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20201228  
Time 17.02  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 9.28421  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 292.0 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

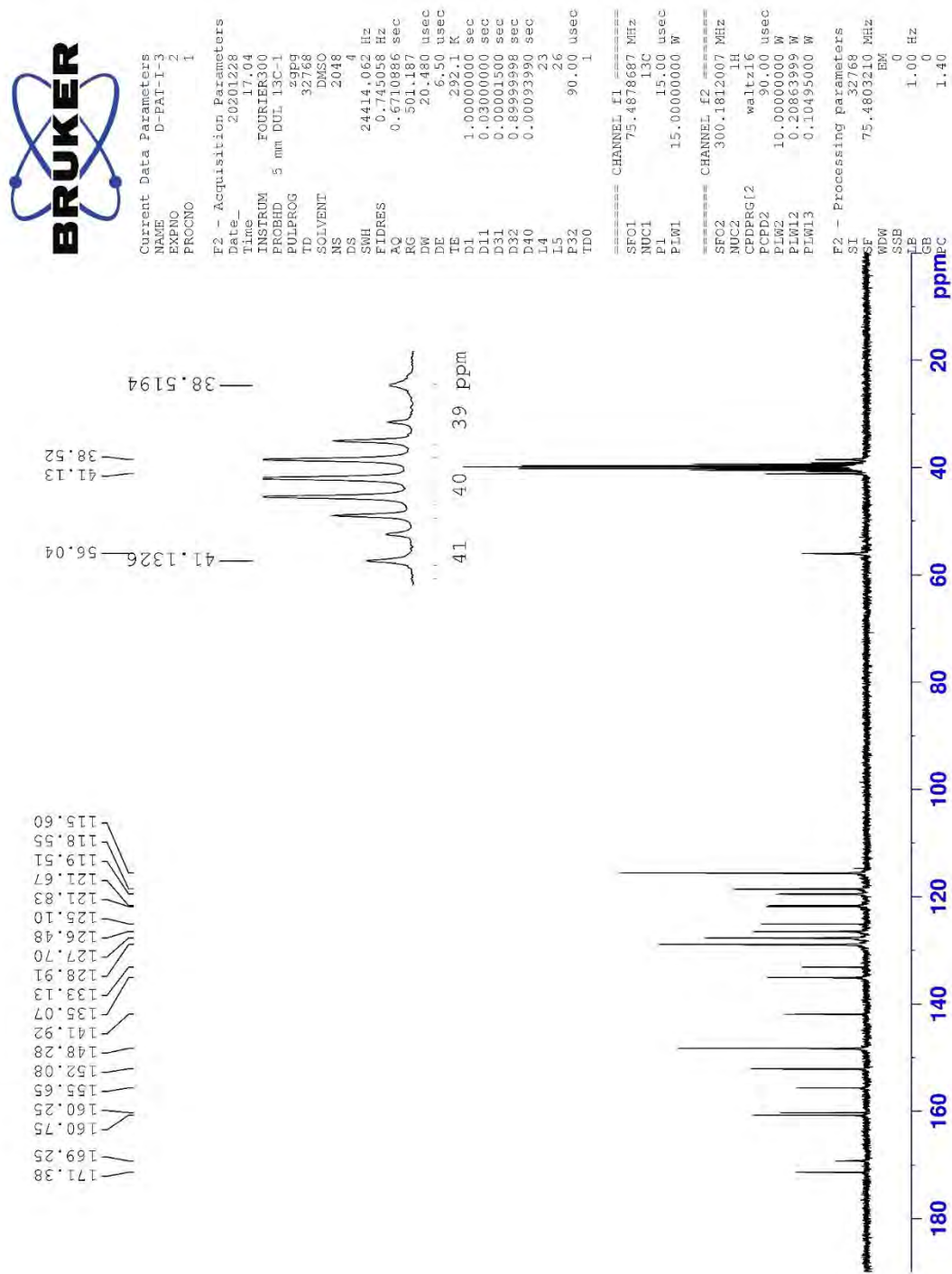
F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00

8.7915  
8.7843  
8.3440  
8.1684  
8.1608  
8.1387  
8.1311  
8.0974  
8.0711  
7.8616  
7.8345  
7.8107  
7.6936  
7.6669  
7.6371  
7.5647  
7.5390  
7.4968  
7.4676  
7.1329  
7.1035

8.7915  
8.7843  
8.3440  
8.1684  
8.1608  
8.1387  
8.1311  
8.0974  
8.0711  
7.8616  
7.8345  
7.8107  
7.6936  
7.6669  
7.6371  
7.5390  
7.4968  
7.4676  
7.1329  
7.1035



Şekil 5.55. Bileşik 8c'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.56. Bileşik 8c'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-I-3\_77.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 5   | 40  | O    | 2    | 1   | 6   | S    | 2    | 2   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 5   | 35  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 0   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

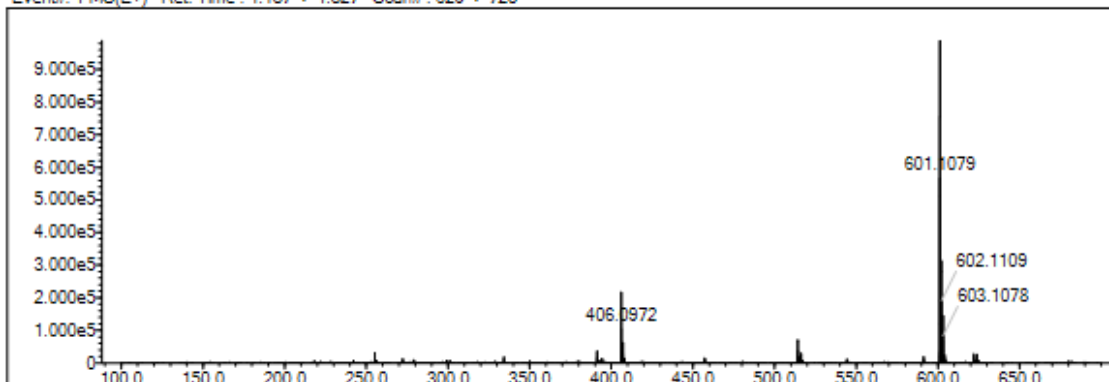
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

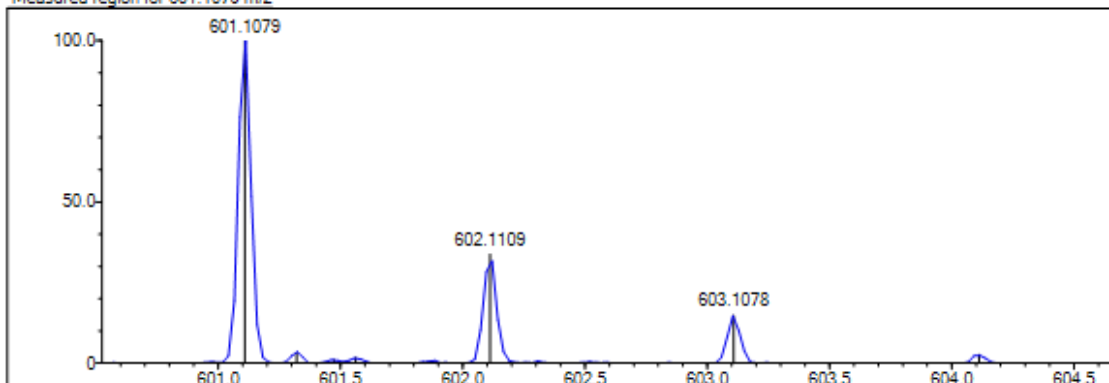
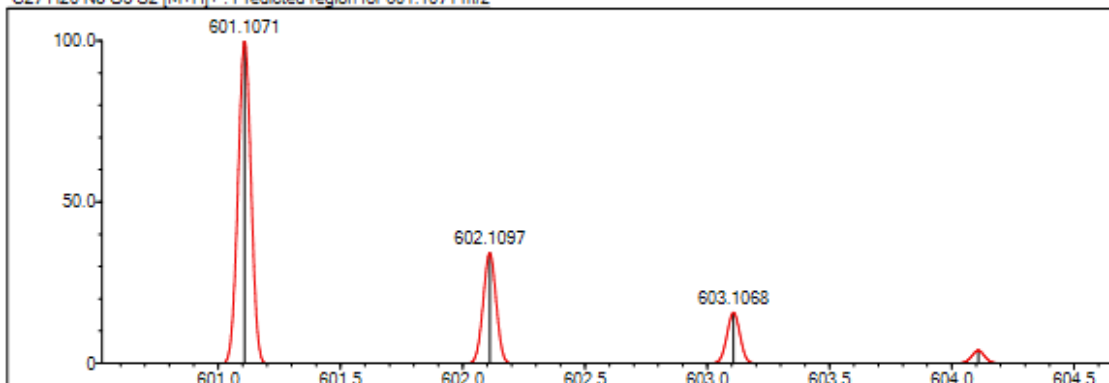
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.187 -&gt; 4.827 Scan#: 629 -&gt; 725



Measured region for 601.1079 m/z

C27 H20 N8 O5 S2 [M+H]<sup>+</sup>: Predicted region for 601.1071 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 87.99 | C27 H20 N8 O5 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 601.1079  | 601.1071  | 0.8       | 1.33      | 88.73 | 22.0 |

Şekil 5.57. Bileşik 8c'ya ait HRMS spektrumu

**5.2.8.4. *N*-(Benzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8d)**

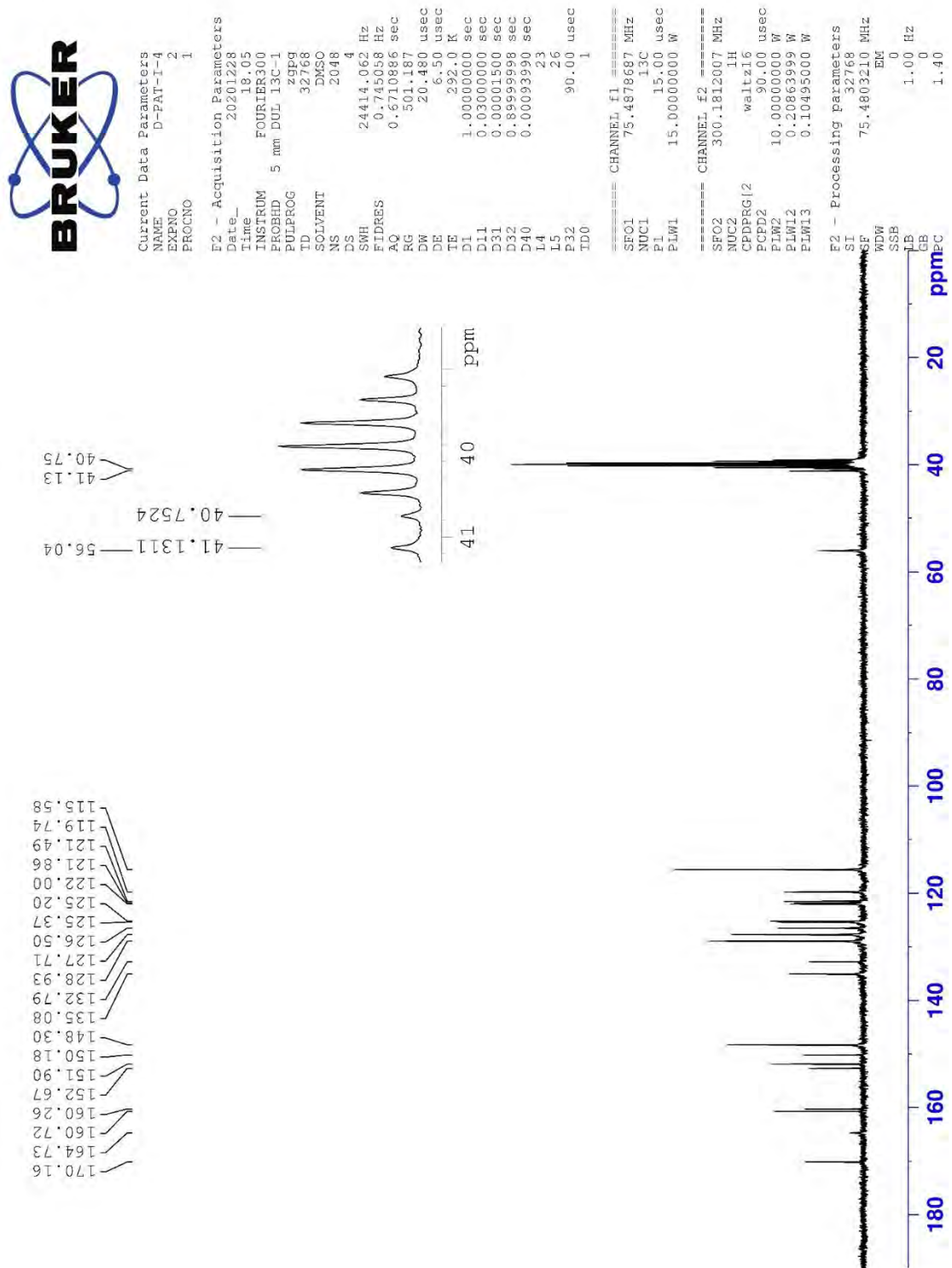
Görünüm: Kirli beyaz toz. E.n: 243-244°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.07 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.16 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.08-7.14 (m, 3H, fenil H<sub>3,5</sub> ve benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.26 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.12, *J*<sub>2</sub>= 7.61 Hz, H, benzotiyazol H<sub>4</sub>), 7.48 (d, *J*= 8.78 Hz, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.50-7.58 (m, 2H, kinazolin H<sub>6</sub> ve benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.69-7.76 (m, 2H, kinazolin H<sub>8</sub> ve benzotiyazol H<sub>7</sub>), 7.85 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.44 Hz, *J*<sub>2</sub>= 7.63 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.09 (dd, *J*<sub>1</sub>= 1.10 Hz, *J*<sub>2</sub>= 8.14 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.36 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 40.75 (S-CH<sub>2</sub>), 41.13 (N-CH<sub>2</sub>), 56.04 (O-CH<sub>2</sub>), 115.58, 119.74, 121.49, 121.86, 122.00, 125.20, 125.37, 126.50, 127.7137, 128.93, 132.79, 135.08, 148.30, 150.19, 151.90, 152.67, 160.26, 160.72, 164.73, 170.16 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>27</sub>H<sub>21</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 556.1203, bulunan: 556.1220





Şekil 5.59. Bileşik 8d'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-I-4\_78.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 5   | 40  | O    | 2    | 1   | 6   | S    | 2    | 2   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 5   | 35  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 0   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

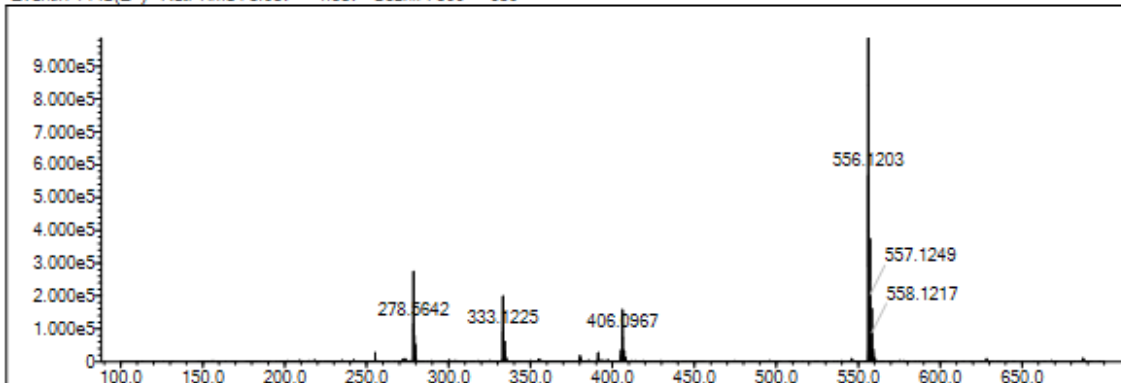
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

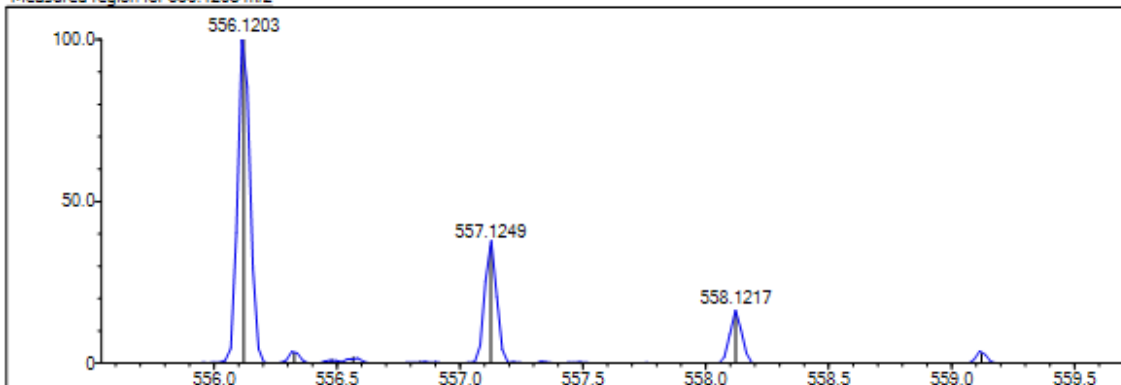
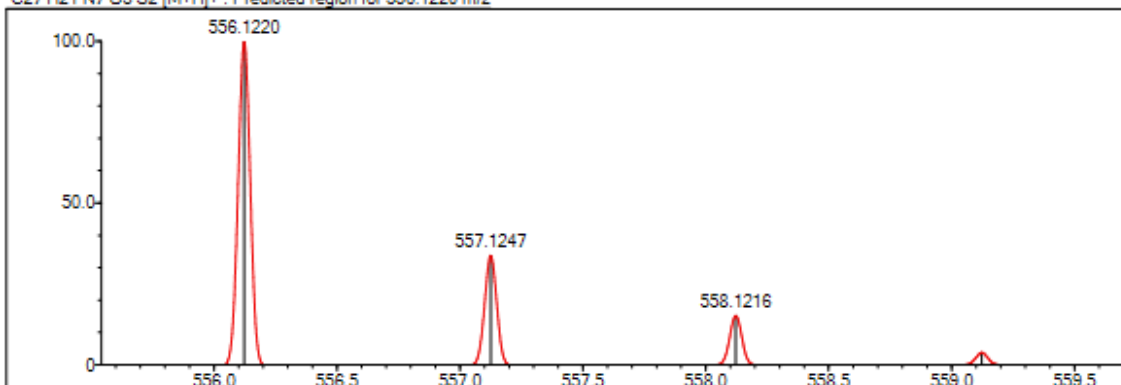
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.987 -&gt; 4.587 Scan#: 599 -&gt; 689



Measured region for 556.1203 m/z

C27 H21 N7 O3 S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 556.1220 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 84.49 | C27 H21 N7 O3 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 556.1203  | 556.1220  | -1.7      | -3.06     | 89.08 | 21.0 |

Şekil 5.60. Bileşik 8d'ya ait HRMS spektrumu



**5.2.8.5. *N*-(6-Metilbenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8e)**

Görünüm: Kirli beyaz toz. E.n: 254-255°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 2.35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.05 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.16 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.07 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.00 Hz, *J*<sub>2</sub>=8.29 Hz, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.12 (d, *J*=8.91 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.40 (d, *J*=8.15 Hz, H, benzotiyazol H<sub>7</sub>), 7.48 (d, *J*=8.88 Hz, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.53-7.58 (m, 2H, kinazolin H<sub>6</sub> ve benzotiyazol H<sub>4</sub>), 7.70 (d, *J*=7.96 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.85 (td, *J*<sub>1</sub>=1.36 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.67 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.10 (dd, *J*<sub>1</sub>=0.99 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.90 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.36 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 21.44 (CH<sub>3</sub>), 40.75 (S-CH<sub>2</sub>), 41.14 (N-CH<sub>2</sub>), 56.04 (O-CH<sub>3</sub>), 115.58, 119.43, 121.30, 121.86, 125.20, 126.49, 126.65, 127.71, 128.92, 131.14, 132.93, 135.08, 148.07, 148.30, 151.89, 152.70, 160.26, 160.71, 163.97, 169.92 (C=O).

**HRMS (-m/z): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>28</sub>H<sub>23</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 570.1377, bulunan: 570.1368.

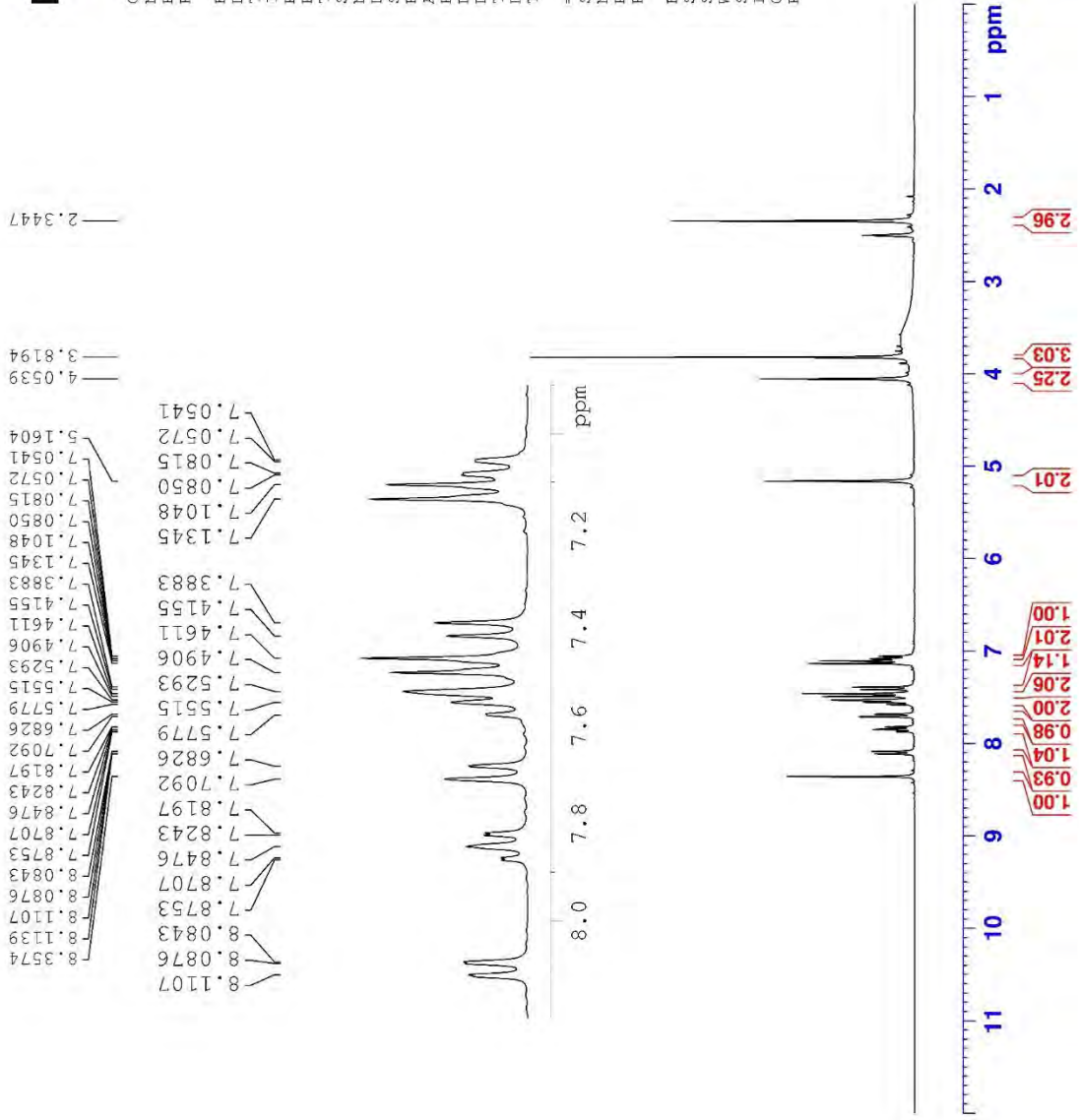


Current Data Parameters  
NAME D-PAI-I-5  
EXPNO 1  
PROCNO 1

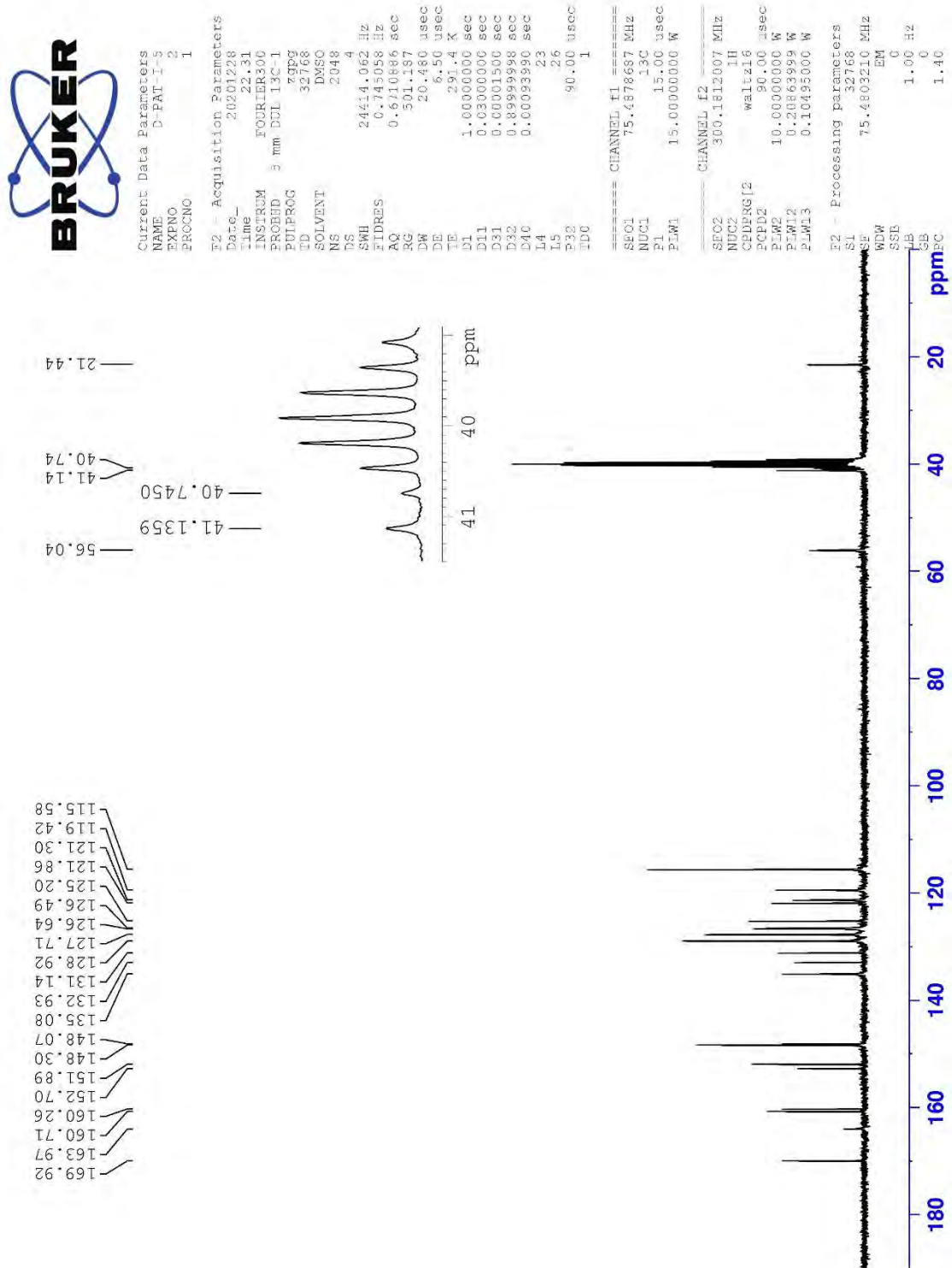
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20201228  
Time 22.29  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 8.93  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 291.4 K  
D1 3.0000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PIW1 10.0000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.61. Bileşik 8e'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.62. Bileşik 8e'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-I-5\_79.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 5   | 40  | O    | 2    | 1   | 6   | S    | 2    | 2   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 5   | 35  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 0   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |
|      |      |     |     |      |      |     |     |      |      |     |     |      |      |     |     |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

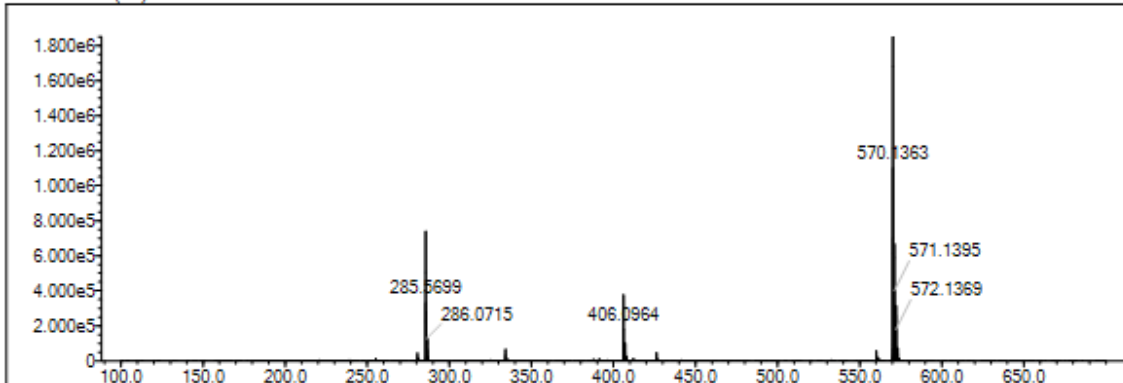
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

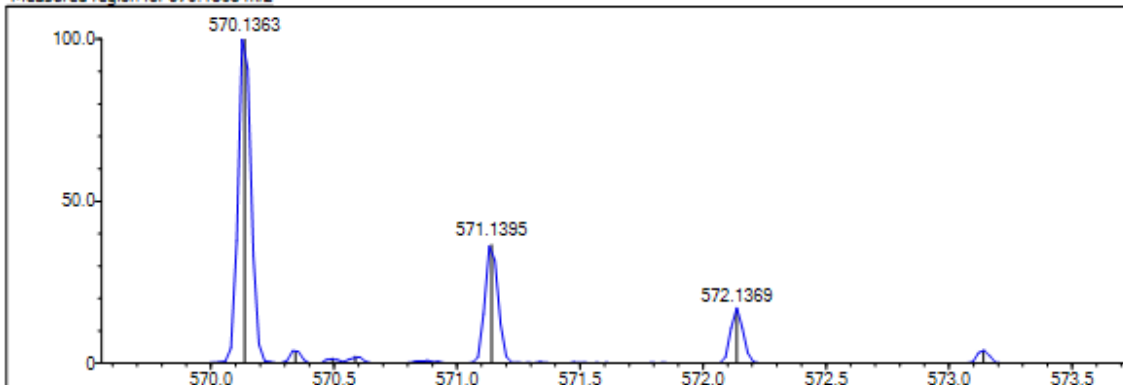
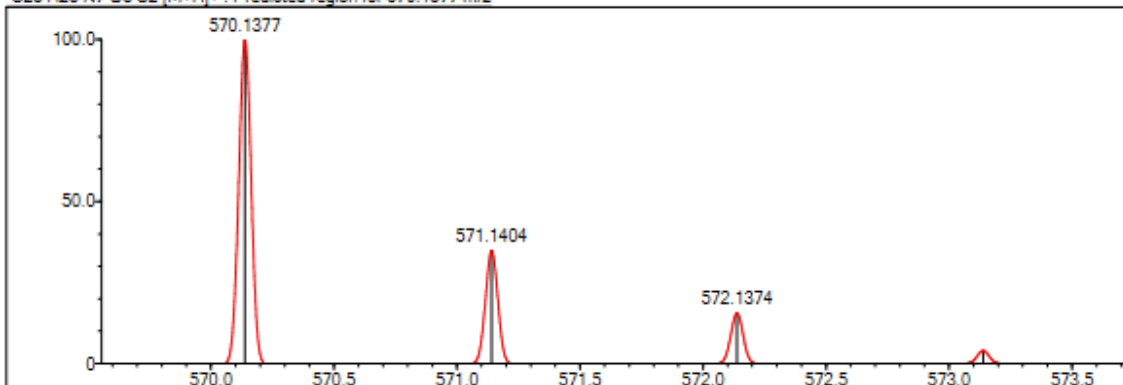
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.480 -&gt; 5.707 Scan#: 673 -&gt; 857



Measured region for 570.1363 m/z

C28 H23 N7 O3 S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 570.1377 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 93.82 | C28 H23 N7 O3 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 570.1363  | 570.1377  | -1.4      | -2.46     | 97.38 | 21.0 |

Şekil 5.63. Bileşik 8e'ya ait HRMS spektrumu

**5.2.8.6. *N*-(6-Metoksibenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8f)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 256-257°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  3.79 (s, 3H, benzotiyazol OCH<sub>3</sub>), 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.20 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.15 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.07 (dd,  $J_1=2.59$  Hz,  $J_2=8.94$  Hz, H, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.11 (d,  $J=8.95$  Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.48 (d,  $J=8.88$  Hz, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.52-7.57 (m, 2H, benzotiyazol H<sub>4</sub> ve kinazolin H<sub>6</sub>), 7.61 (d,  $J=8.80$  Hz, H, benzotiyazol H<sub>7</sub>), 7.68 (d,  $J=7.92$  Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.85 (td,  $J_1=1.48$  Hz,  $J_2=7.65$  Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.08 (dd,  $J_1=1.14$  Hz,  $J_2=8.00$  Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.34 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 36.35 (S-CH<sub>2</sub>), 41.13 (N-CH<sub>2</sub>), 56.06 (O-CH<sub>3</sub> ve benzotiyazol O-CH<sub>3</sub>), 105.12, 115.26, 115.61, 121.54, 121.83, 124.96, 126.48, 127.69, 128.90, 133.29, 135.09, 143.15, 148.28, 151.46, 152.34, 156.47, 160.24, 160.79, 167.41 (C=O).

**HRMS (-m/z): [M+2H]<sup>2+</sup>:** C<sub>28</sub>H<sub>23</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 293.5699, bulunan: 293.5714.

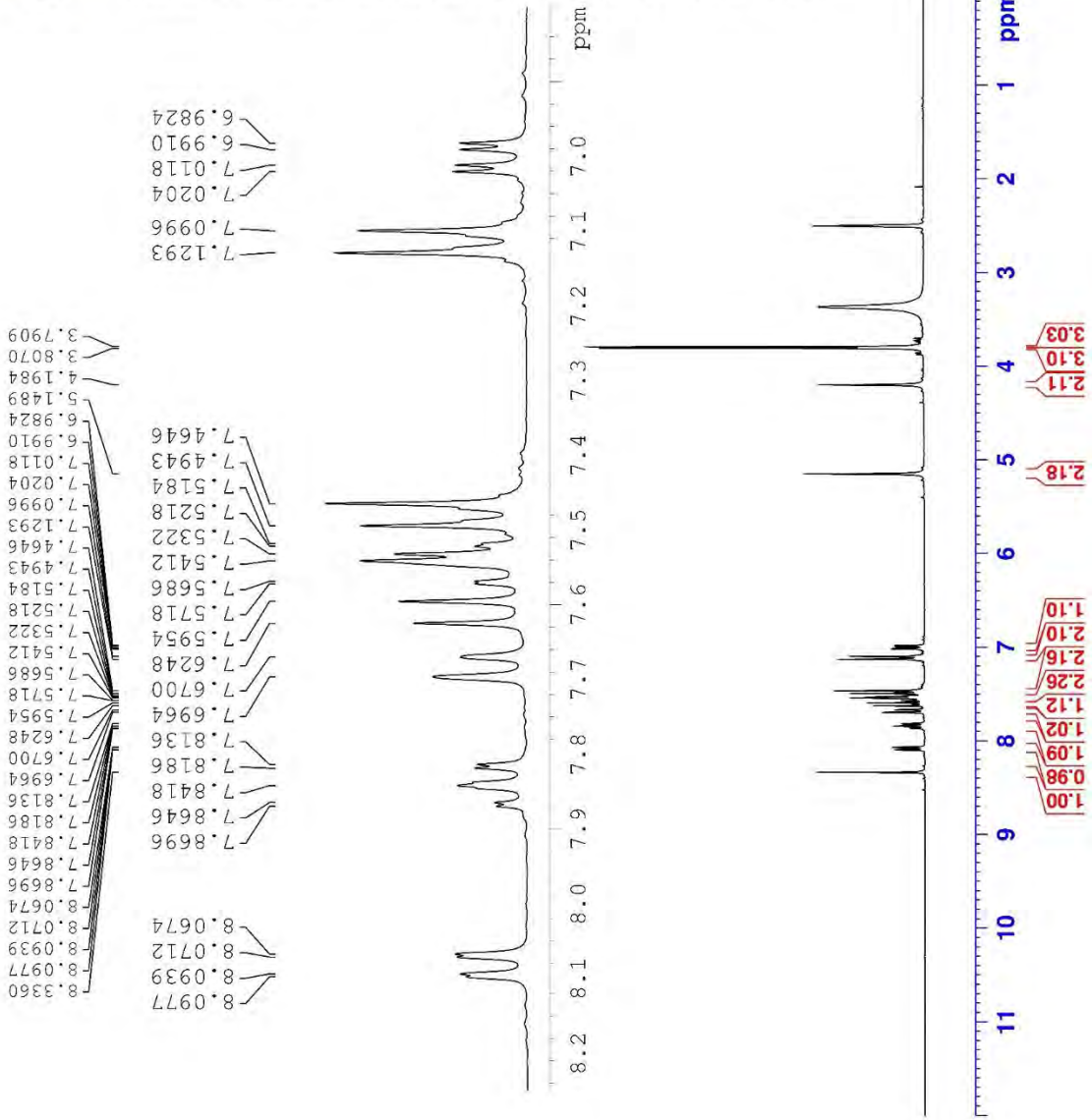


Current Data Parameters  
NAME D-PAT-1-6  
EXPNO 1  
PROCNO 1

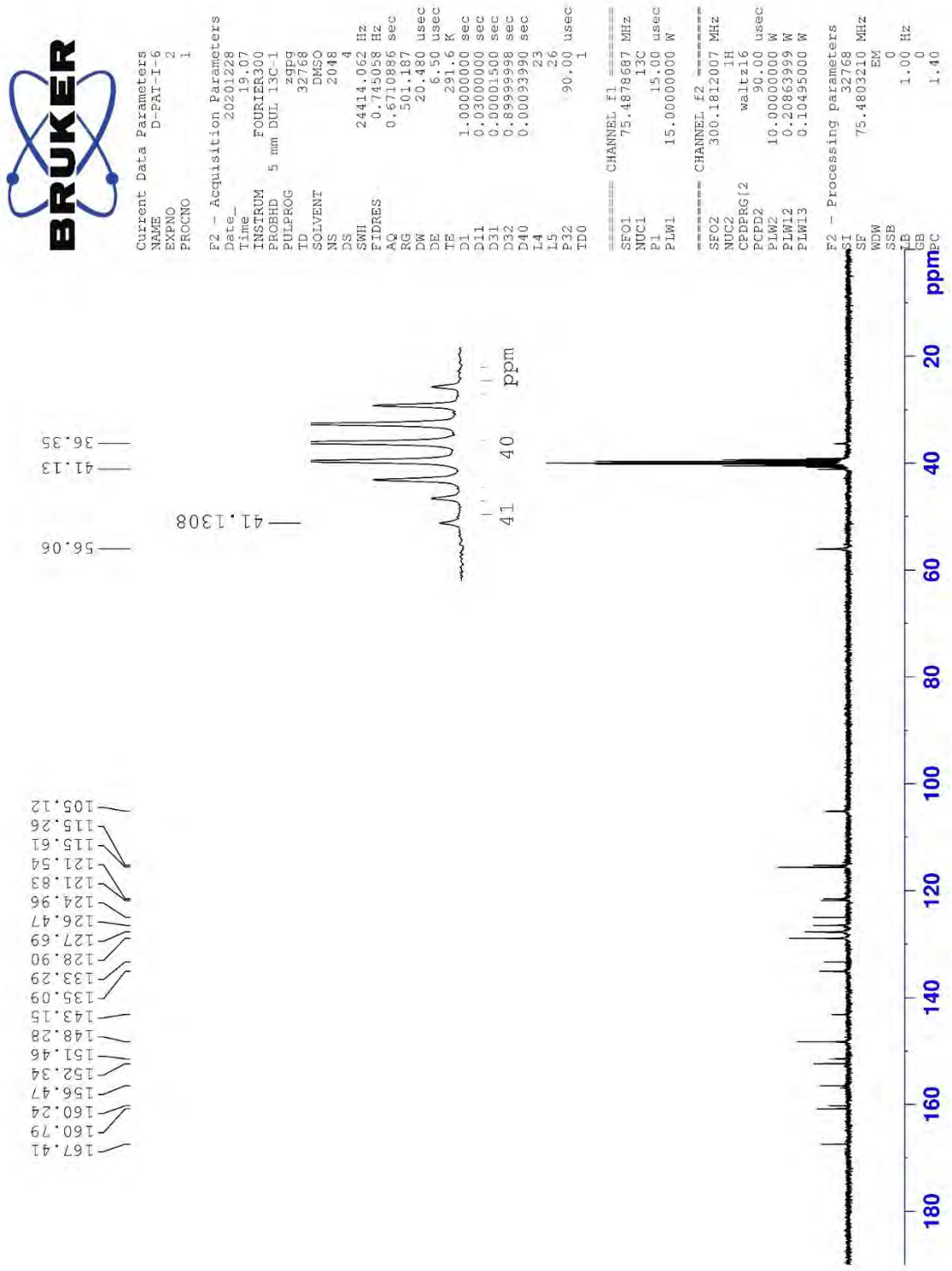
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20201228  
Time 19.05  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 20.5626  
DM 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 291.7 K  
DI 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.64. Bileşik 8f'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.65. Bileşik 8f'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\I-6\_82.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 0   | 40  | O    | 2    | 0   | 5   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 0   | 40  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 7   | 7   | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 15

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

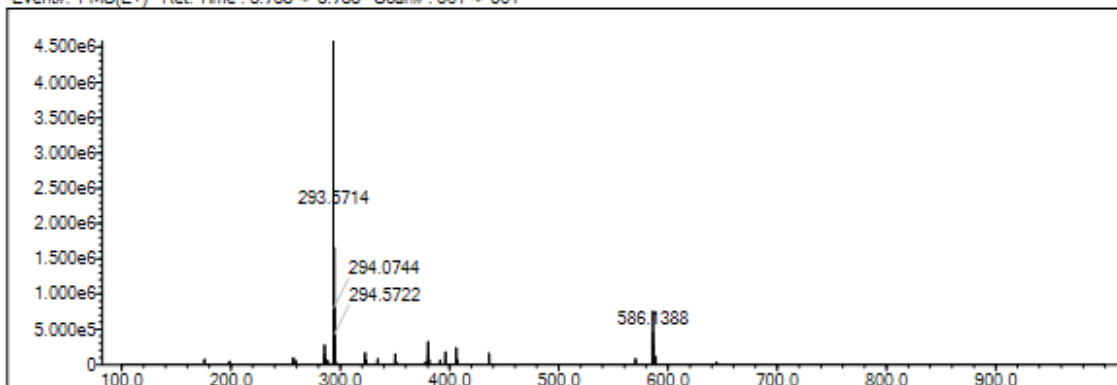
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

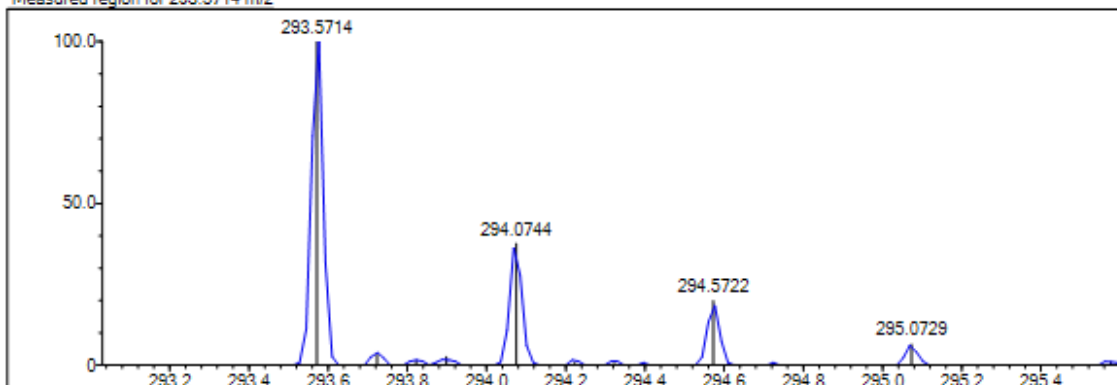
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

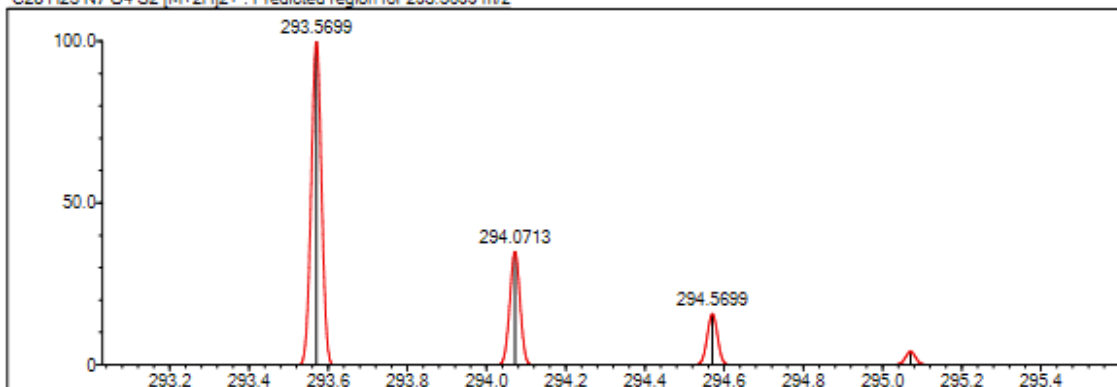
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.733 -&gt; 3.733 Scan#: 561 -&gt; 561



Measured region for 293.5714 m/z



C28 H23 N7 O4 S2 [M+2H]2+ : Predicted region for 293.5699 m/z



| Rank | Score | Formula (M)      | Ion      | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 60.24 | C28 H23 N7 O4 S2 | [M+2H]2+ | 293.5714  | 293.5699  | 1.5       | 5.11      | 67.76 | 21.0 |

Şekil 5.66. Bileşik 8f'ya ait HRMS spektrumu



**5.2.8.7. *N*-(6-Etoksibenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-[[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil]-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8g)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 252-253°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  1.34 (t,  $J$ = 6.96 Hz, 3H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.05 (q,  $J_1$ =6.92 Hz,  $J_2$ =13.89 Hz, H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.22 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.15 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.00 (dd,  $J_1$ =2.56 Hz,  $J_2$ =8.95 Hz, H, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.11 (d,  $J$ =8.94 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.48 (d,  $J$ =8.98 Hz, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.51-7.57 (m, 2H, benzotiyazol H<sub>4</sub> ve kinazolin H<sub>6</sub>), 7.62 (d,  $J$ =8.85 Hz, H, benzotiyazol H<sub>7</sub>), 7.68 (d,  $J$ = 7.95 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.84 (td,  $J_1$ =1.54 Hz,  $J_2$ =7.68 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.08 (dd,  $J_1$ =1.23 Hz,  $J_2$ =7.99 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.33 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 12.51 (brs, H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 15.16 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 36.04 (S-CH<sub>3</sub>), 41.13 (N-CH<sub>3</sub>), 56.05 (O-CH<sub>3</sub>), 64.02 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 105.75, 115.61, 115.76, 121.69, 121.83, 124.92, 126.47, 127.73, 128.90, 133.20, 135.10, 142.93, 148.28, 151.31, 152.40, 155.85, 156.15, 160.24, 160.80, 167.13 (C=O).

**HRMS (-m/z): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>29</sub>H<sub>25</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 600.1482, bulunan: 600.1489.



Current Data Parameters  
NAME D-PAT-I-7  
EXPNO 1  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20210219  
Time 16.49  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 16.3171  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 291.1 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters

SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00

1.3587  
1.3356  
1.3124

8.3339  
8.0946  
8.0904  
8.0680  
8.0639  
7.8659  
7.8608  
7.8418  
7.8381  
7.8338  
7.6677  
7.6353  
7.6058  
7.5404  
7.5316  
7.5179  
7.5143  
7.4934  
7.4638  
7.1262  
7.0964  
7.0202  
7.0117  
6.9908  
6.9823  
5.1473  
4.2177  
4.0825  
4.0595  
4.0362  
4.0131  
3.8020

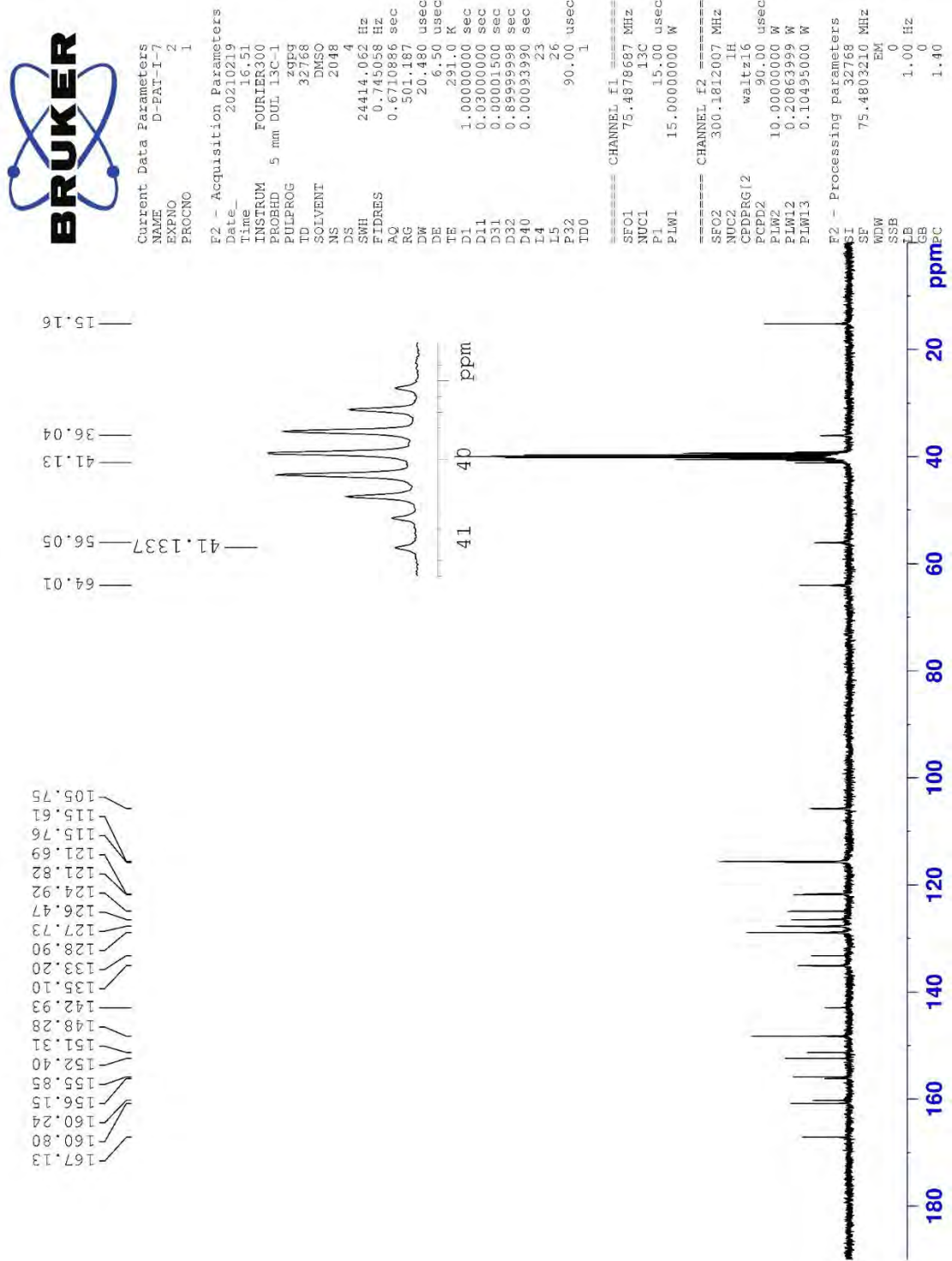
8.0946  
8.0904  
8.0680  
8.0639  
7.8659  
7.8608  
7.8418  
7.8381  
7.8338  
7.6677  
7.6353  
7.6058  
7.5404  
7.5316  
7.5179  
7.5143  
7.4934  
7.4638  
7.1262  
7.0964  
7.0202  
7.0117  
6.9908  
6.9823



8.0 7.8 7.6 7.4 7.2 ppm



Şekil 5.67. Bileşik 8g'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.68. Bileşik 8g'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Betül Aydın\D-PAT-I-7\_1.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 5   | 40  | O    | 2    | 1   | 4   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 5   | 35  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 0   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

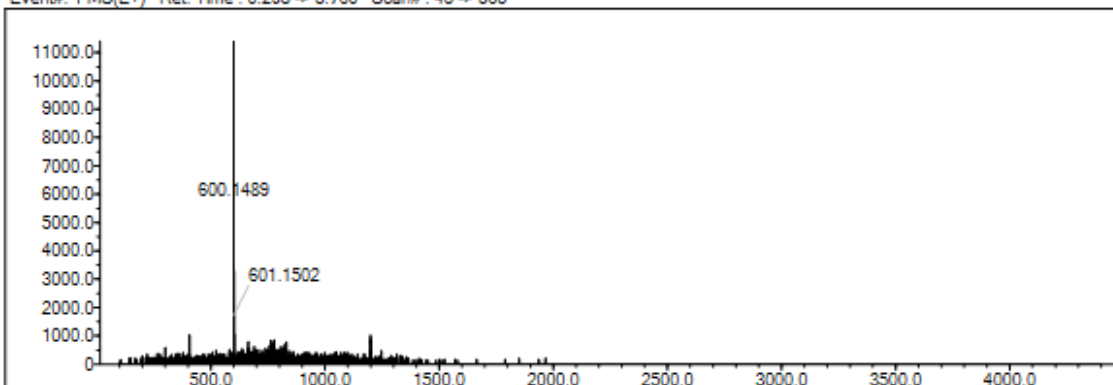
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

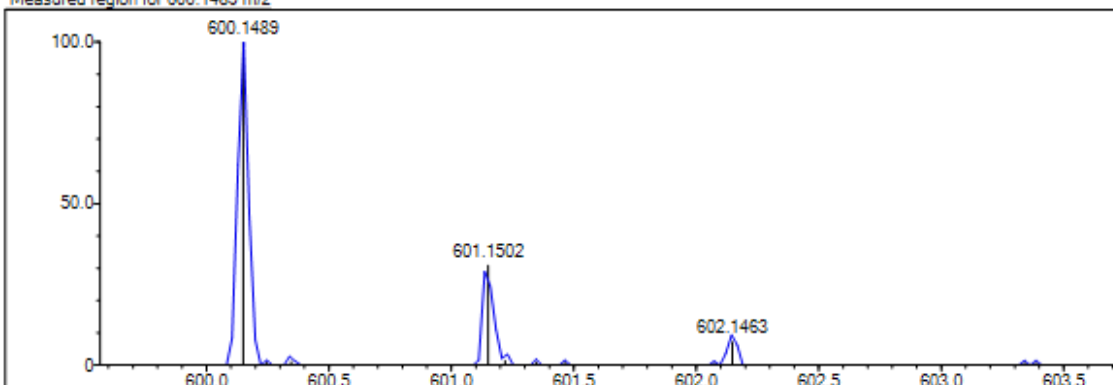
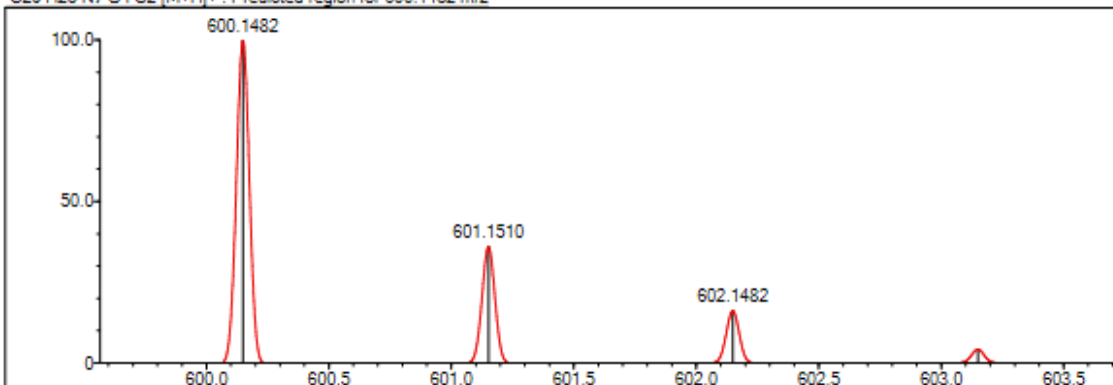
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 0.293 -&gt; 3.760 Scan#: 45 -&gt; 565



Measured region for 600.1489 m/z

C29 H25 N7 O4 S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 600.1482 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 56.69 | C29 H25 N7 O4 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 600.1489  | 600.1482  | 0.7       | 1.17      | 56.93 | 21.0 |

Şekil 5.69. Bileşik 8g'ya ait HRMS spektrumu

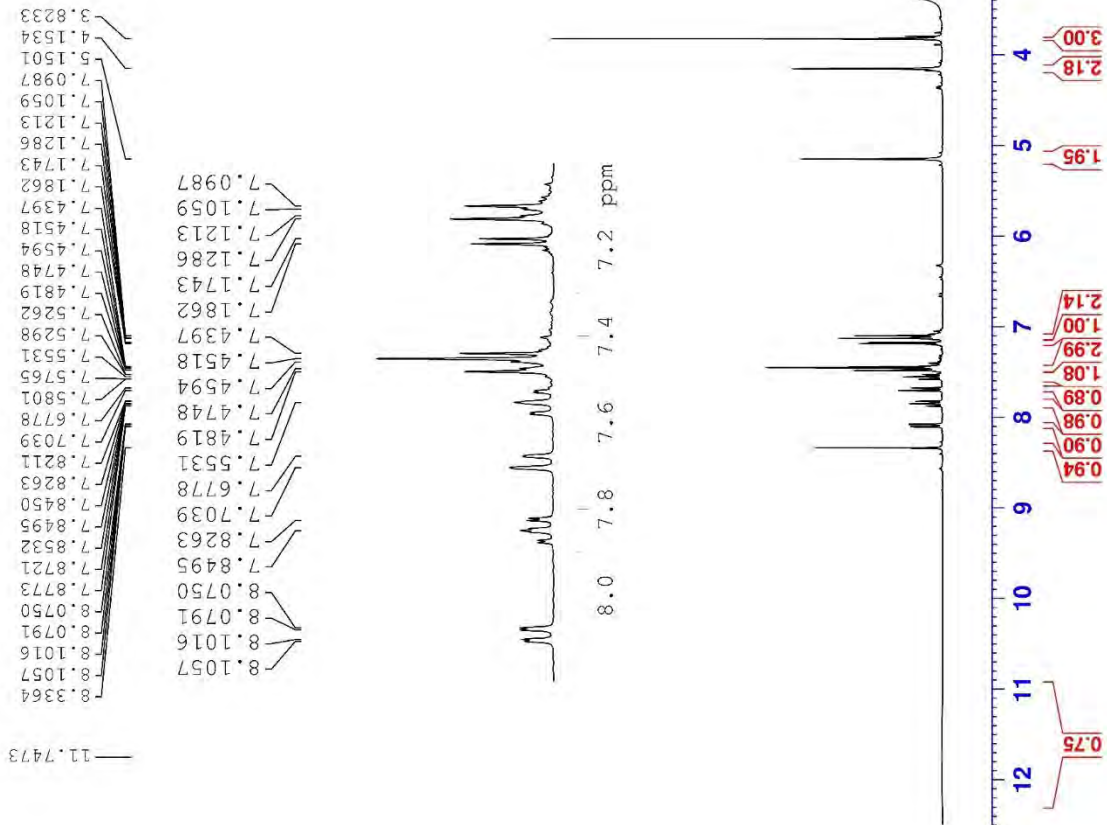
**5.2.8.8. *N*-(tiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8h)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 226-227°C

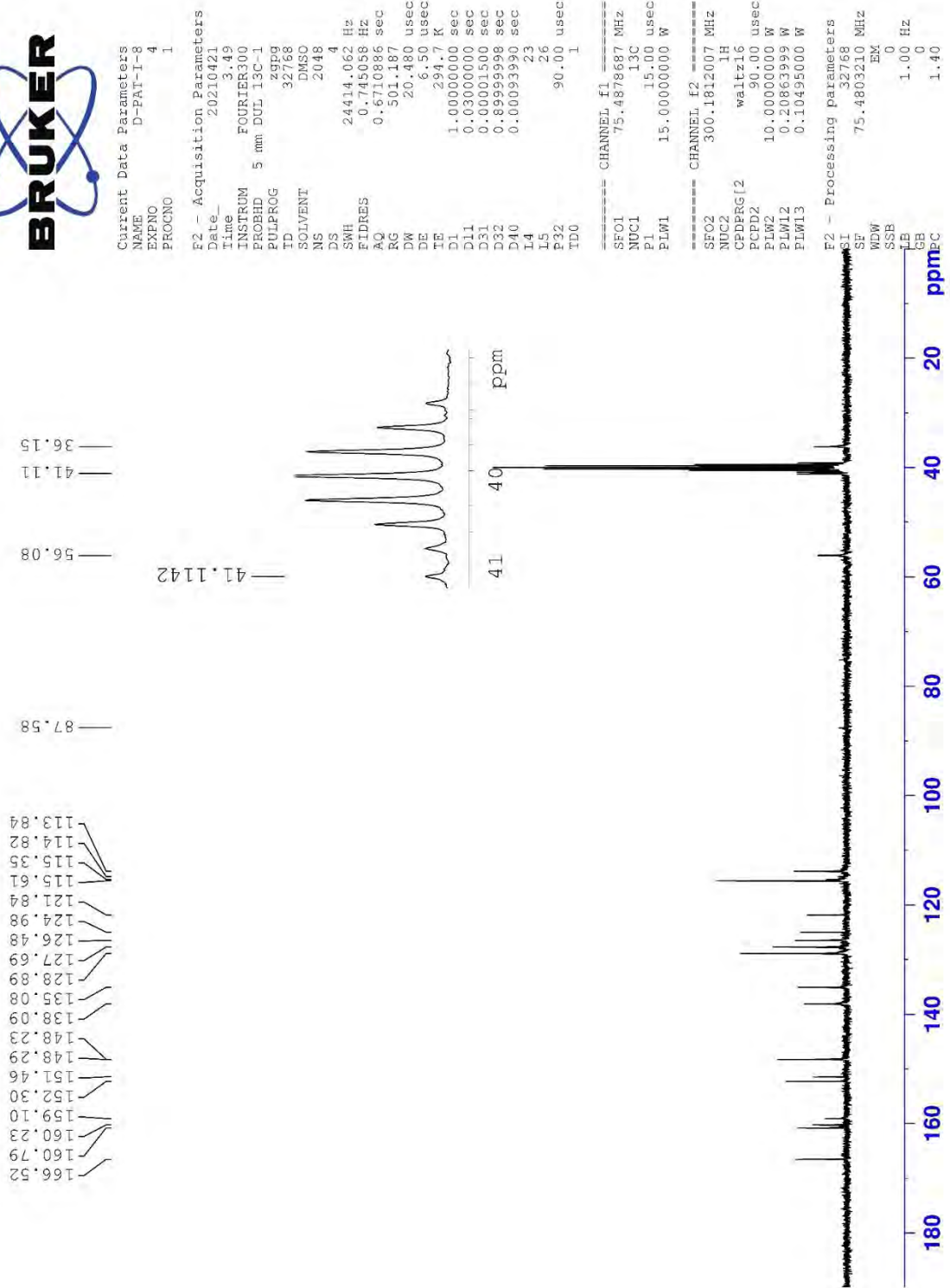
**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.15 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.15 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.11 (d, *J*= 8.96 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.18 (d, *J*= 3.57 Hz, H, tiyazol H<sub>5</sub>), 7.44-7.48 (m, 3H, fenil H<sub>2,6</sub> ve tiyazol H<sub>4</sub>), 7.55 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.07 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.55 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.69 (d, *J*= 7.81 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.85 (td, *J*<sub>1</sub>=1.56 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.65 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.09 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.23 Hz, *J*<sub>2</sub>=8.07 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.34 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 11.75 (brs, H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 36.15 (S-CH<sub>2</sub>), 41.11 (N-CH<sub>2</sub>), 56.08 (O-CH<sub>3</sub>), 87.58, 113.84, 114.82, 115.35, 115.61, 121.84, 124.98, 126.48, 127.69, 128.89, 135.08, 138.09, 148.23, 148.29, 151.46, 152.30, 159.10, 160.23, 160.79, 166.52 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 253.5568, bulunan: 253.5577.



116



Şekil 5.71. Bileşik 8h'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-I-8\_83.lcd

| Elmt | Val | Min | Max | Elmt | Val | Min | Max | Elmt | Val | Min | Max | Elmt | Val | Min | Max | Use Adduct |
|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------------|
| H    | 1   | 0   | 40  | O    | 2   | 0   | 5   | S    | 2   | 0   | 2   | Ru   | 2   | 0   | 0   | H          |
| C    | 4   | 0   | 40  | F    | 1   | 0   | 0   | Cl   | 1   | 0   | 0   | Pd   | 2   | 0   | 0   |            |
| N    | 3   | 7   | 7   | P    | 3   | 0   | 0   | Br   | 1   | 0   | 0   | I    | 3   | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 10

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

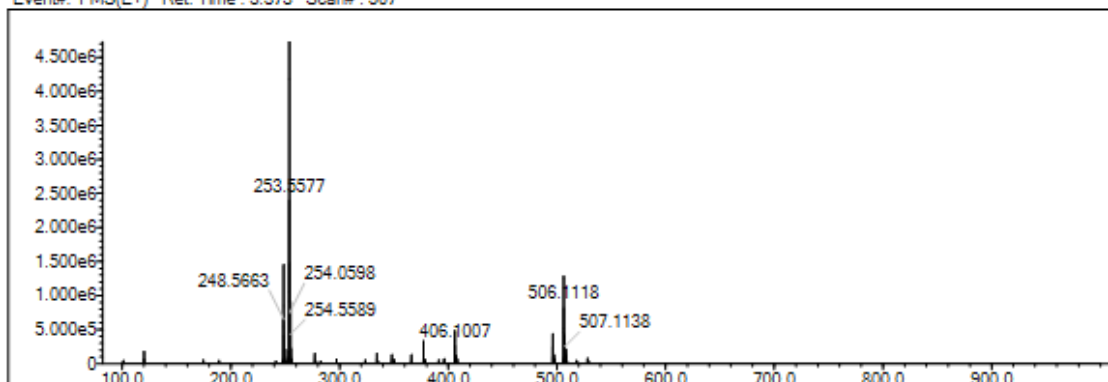
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

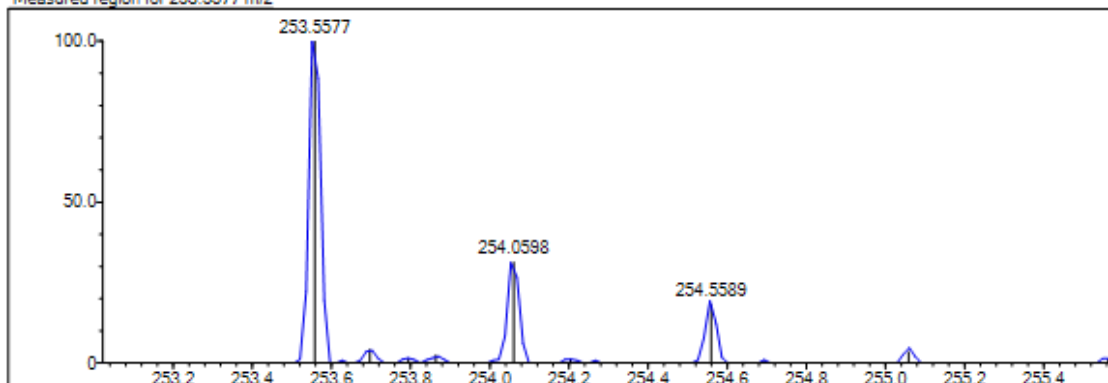
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

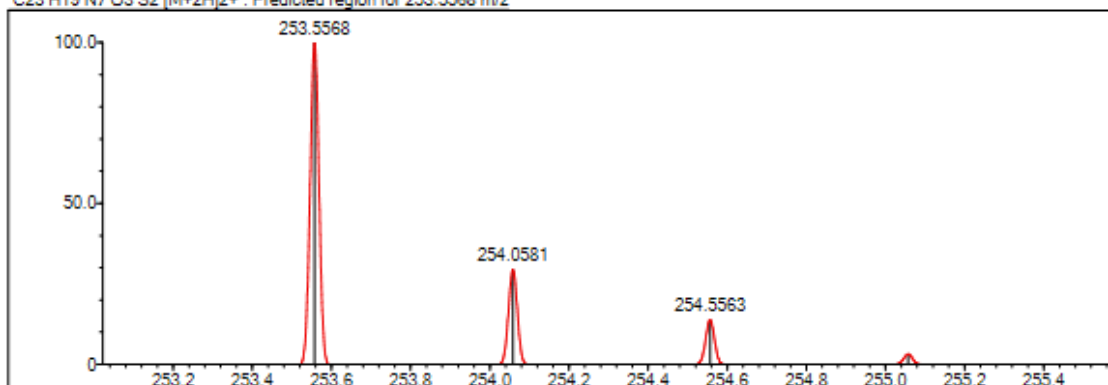
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.373 Scan#: 507



Measured region for 253.5577 m/z



C23 H19 N7 O3 S2 [M+2H]2+ : Predicted region for 253.5568 m/z



| Rank | Score | Formula (M)      | Ion      | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 81.81 | C23 H19 N7 O3 S2 | [M+2H]2+ | 253.5577  | 253.5568  | 0.9       | 3.55      | 87.38 | 18.0 |

Şekil 5.72. Bileşik 8h'ya ait HRMS spektrumu



**5.2.8.9. *N*-(5-Asetil-4-metil-tiyazol-2-il)-2-[(4-(4-metoksifenil)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8i)**

Görünüm: Kahverengi toz. E.n: +300°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 2.33 (s, 3H, tiyazol CH<sub>3</sub>), 2.41 (s, 3H, O=C-CH<sub>3</sub>), 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.11 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.15 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.13 (d, *J*= 8.91 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.47 (d, *J*= 8.87 Hz, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.55 (td, *J*<sub>1</sub>= 0.94 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.55 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.69 (d, *J*= 7.85 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.83 (s, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.09 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.13 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.98 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.34 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 18.74 (tiyazol CH<sub>3</sub>), 29.90 (tiyazol O=C-CH<sub>3</sub>), 37.26 (S-CH<sub>2</sub>), 41.11 (N-CH<sub>2</sub>), 56.01 (O-CH<sub>3</sub>), 115.61, 121.84, 125.04, 126.48, 127.70, 128.89, 135.07, 148.29, 152.16, 155.29, 158.16, 160.24, 160.77, 170.96 (C=O), 188.70 (tiyazol C=O).

**HRMS (-m/z): [M+2H]<sup>2+</sup>:** C<sub>26</sub>H<sub>23</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 281.5699, bulunan: 281.5717.



Current Data Parameters  
NAME D-FAT-I-9  
EXPNO 1  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20210420  
Time 18.57  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 12.3813  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 295.6 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.0000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1799980 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00

2.4076  
2.3262

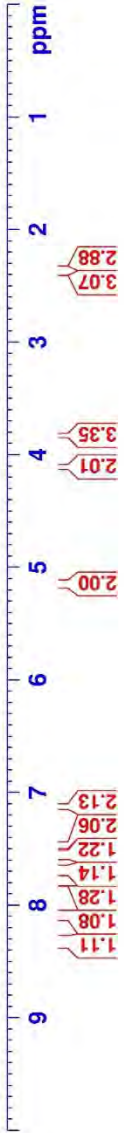
4.1105  
3.8289

5.1542

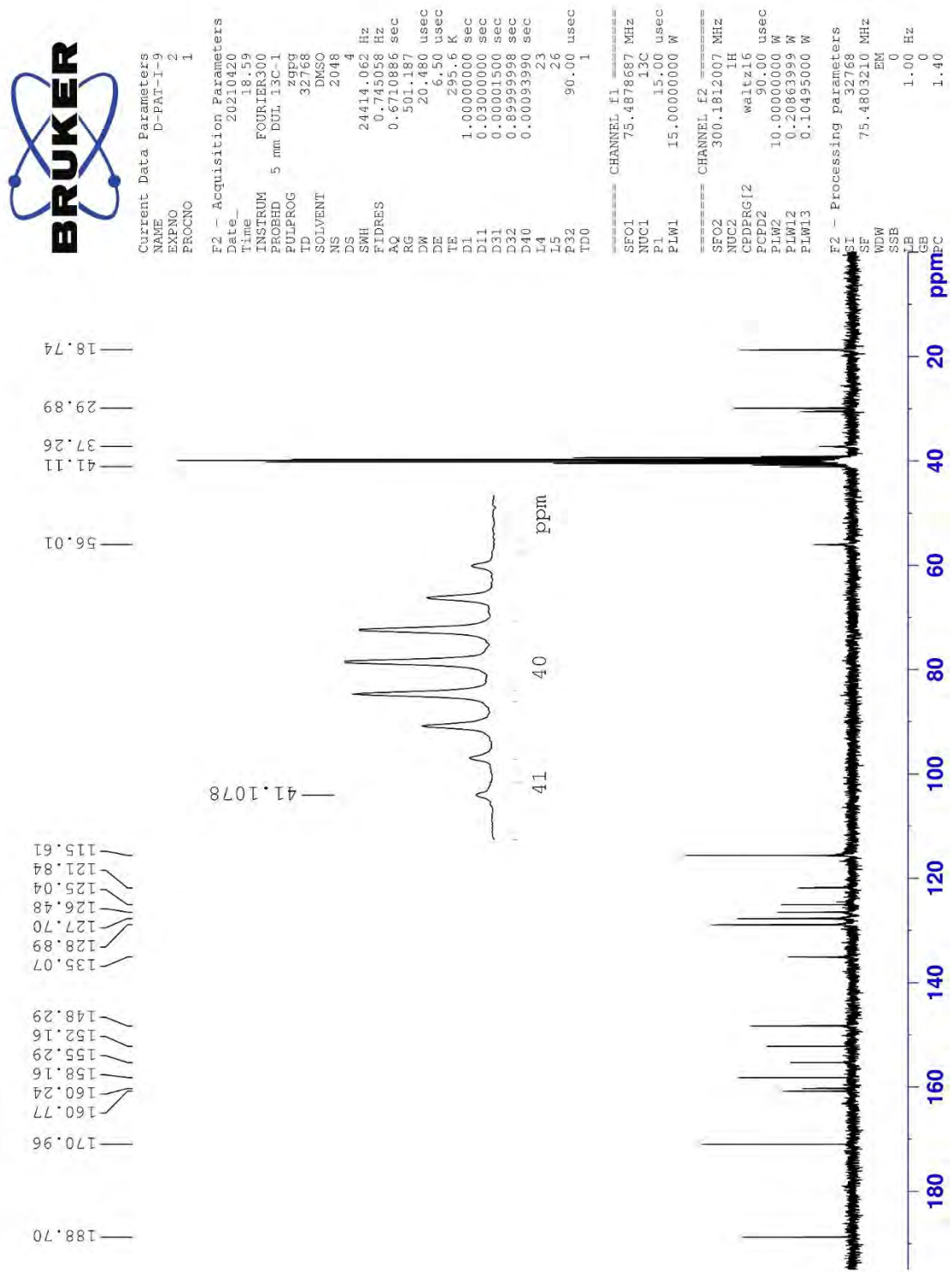
8.3401  
8.1087  
8.1049  
8.0822  
8.0784  
8.0302  
7.7060  
7.6798  
7.5805  
7.5775  
7.5538  
7.5303  
7.5270  
7.4847  
7.4551  
7.1372  
7.1074

8.1049  
8.0822  
8.0784  
7.8302  
7.7060  
7.6798  
7.5805  
7.5775  
7.5538  
7.5303  
7.5270  
7.4847  
7.4551  
7.1372  
7.1074

8.0 7.8 7.6 7.4 7.2 ppm



Şekil 5.73. Bileşik 8i'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.74. Bileşik 8i'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\I-12\_86.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 0   | 40  | O    | 2    | 0   | 5   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 0   | 40  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 7   | 7   | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 10

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

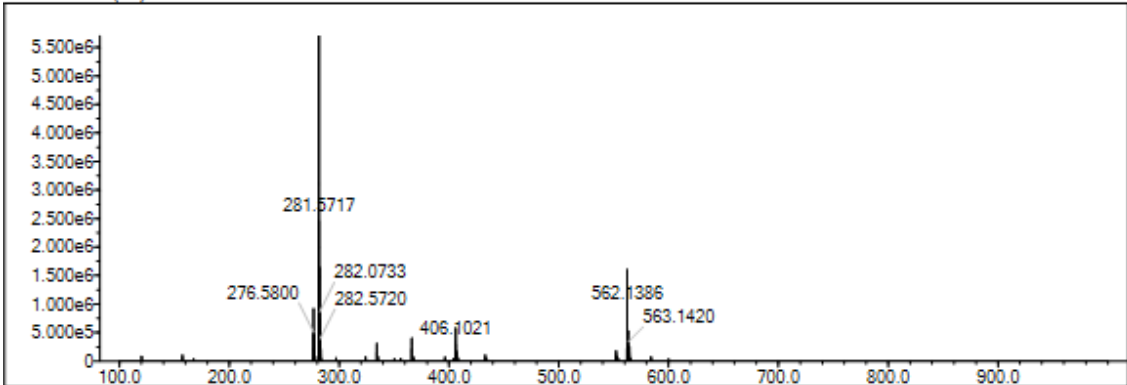
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

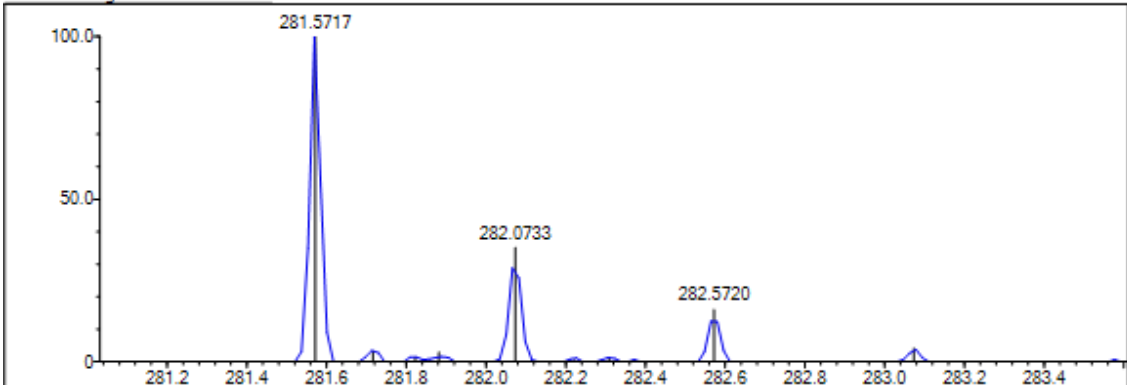
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

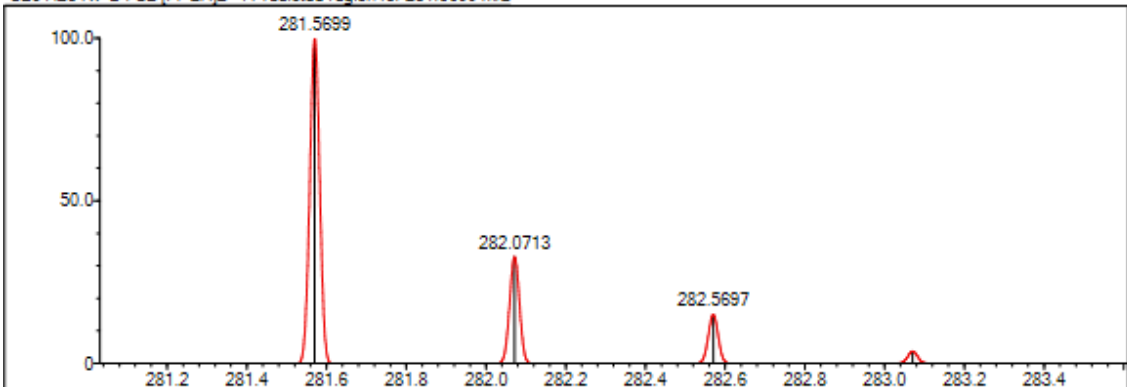
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.253 Scan#: 489



Measured region for 281.5717 m/z



C26 H23 N7 O4 S2 [M+2H]2+ : Predicted region for 281.5699 m/z



| Rank | Score | Formula (M)      | Ion      | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 61.03 | C26 H23 N7 O4 S2 | [M+2H]2+ | 281.5717  | 281.5699  | 1.8       | 6.39      | 80.19 | 19.0 |

Şekil 5.75. Bileşik 8i'ya ait HRMS spektrumu

**5.2.8.10. Etil 2-(2-((4-(4-metoksifenil)-5-((4-oksookinazolin-3(4H)-il)metil)-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo)asetamido)-4-metiltiyazol-5-karboksilat (8j)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 263-264°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  1.23 (t,  $J$ =7.09 Hz, 3H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.40 (s, 3H, tiyazol CH<sub>3</sub>), 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.90 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 4.12 (q,  $J_1$ =7.09 Hz,  $J_2$ =14.18 Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.15 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 7.11 (d,  $J$ = 8.96 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.46 (d,  $J$ = 8.91 Hz, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.55 (td,  $J_1$ = 1.07 Hz,  $J_2$ =7.54 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.70 (d,  $J$ = 7.89 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.86 (td,  $J_1$ =1.54 Hz,  $J_2$ =7.68 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.09 (dd,  $J_1$ =1.22 Hz,  $J_2$ =8.00 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.35 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 14.93 (O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 18.10 (tiyazol CH<sub>3</sub>), 40.61 (S-CH<sub>2</sub>), 41.09 (N-CH<sub>2</sub>), 55.98 (O-CH<sub>3</sub>), 59.49 (O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 109.33, 115.55, 121.88, 125.36, 126.50, 127.70, 128.95, 135.06, 148.32, 151.58, 153.36, 157.42, 160.24, 160.67, 163.66, 171.79 (tiyazol C=O), 172.17 (C=O).

**HRMS (-m/z): [M+2H]<sup>2+</sup>:** C<sub>27</sub>H<sub>25</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 296.5752, bulunan: 296.5766.



Current Data Parameters  
NAME D-PAT-I-10  
EXPNO 1  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210421  
Time 4.49  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 23.3279  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 294.7 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PL1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1799991 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00

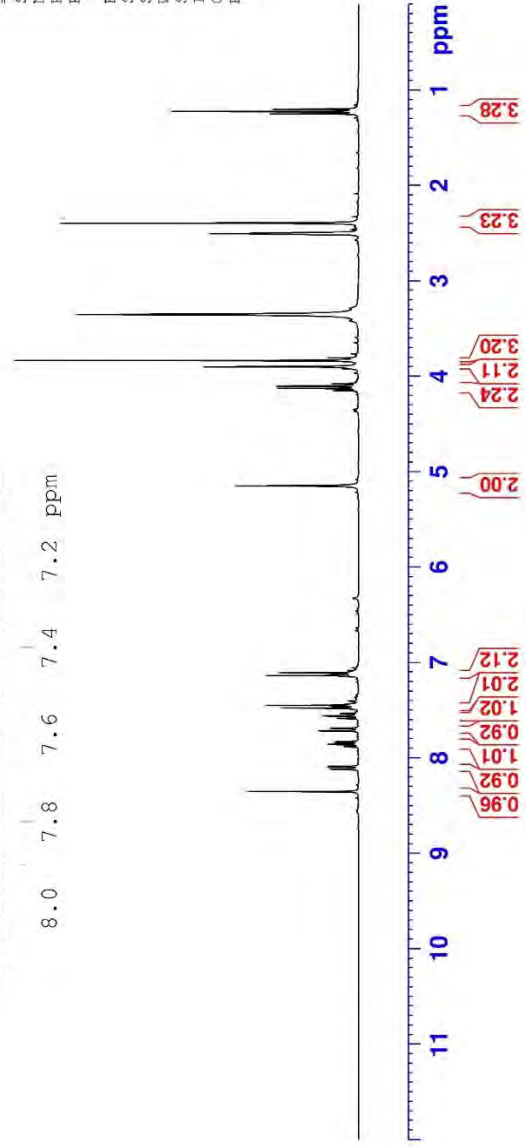
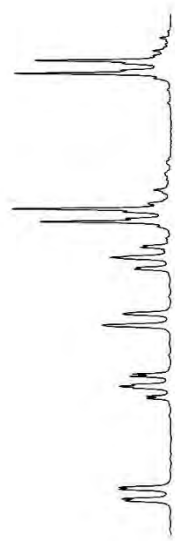
1.2017  
1.2252  
1.2489

2.3954

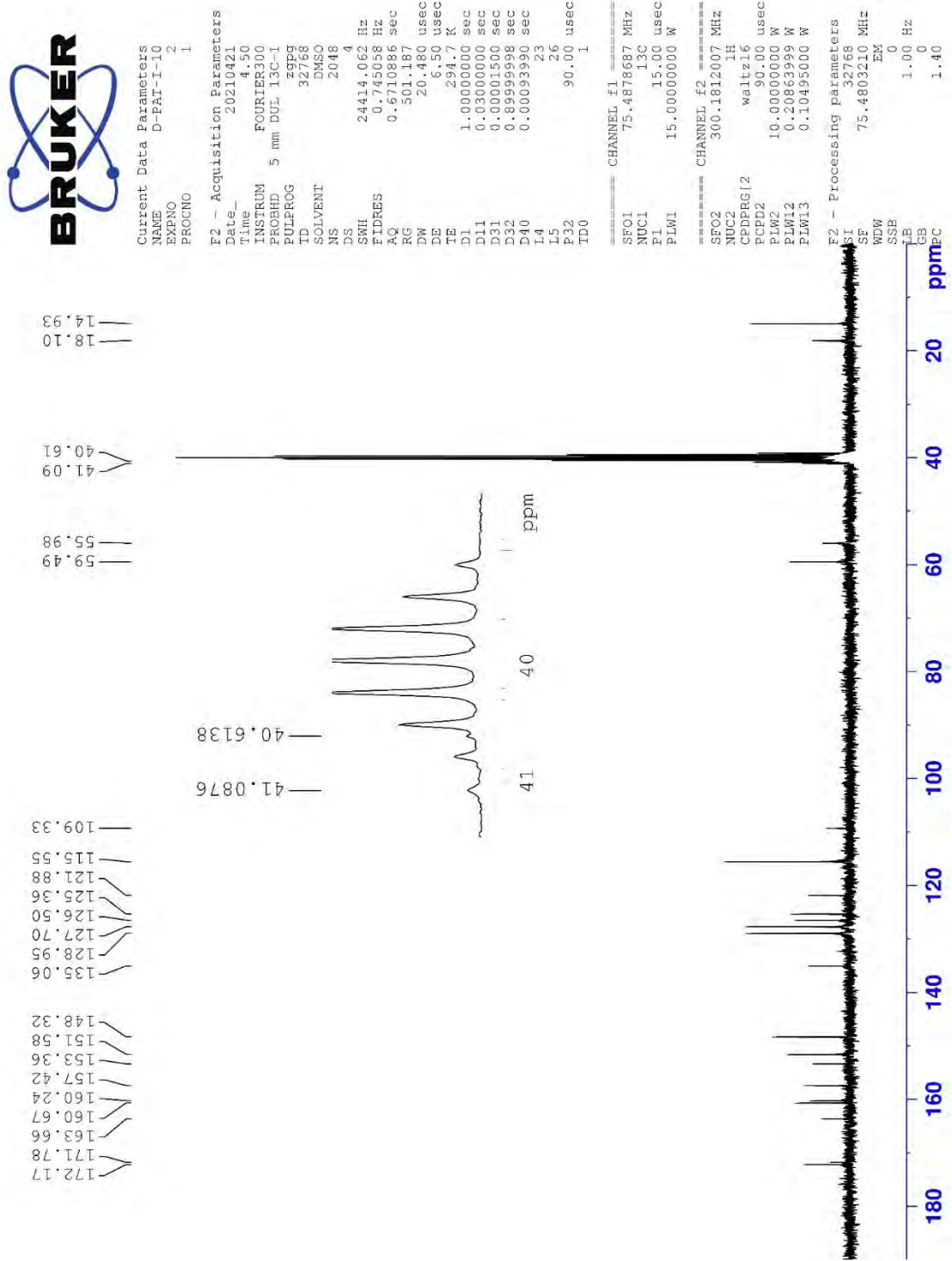
3.8354  
3.9008  
4.0794  
4.1031  
4.1267  
4.1502

5.1495  
7.1077  
7.1376  
7.4489  
7.4786  
7.5339  
7.5375  
7.5608  
7.5642  
7.5876  
7.6906  
7.7167  
7.8290  
7.8341  
7.8529  
7.8574  
7.8610  
7.8852  
8.0897  
8.0937  
8.1163  
8.1203  
8.3533

7.1077  
7.1376  
7.4489  
7.4786  
7.5339  
7.5375  
7.5608  
7.5842  
7.5876  
7.6906  
7.7167  
7.8290  
7.8341  
7.8529  
7.8574  
7.8610  
8.0897  
8.0937  
8.1163  
8.1203



Şekil 5.76. Bileşik 8j'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu



Şekil 5.77. Bileşik 8j'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\I-10\_84.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 0   | 40  | O    | 2    | 0   | 5   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 0   | 40  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 7   | 7   | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 10

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

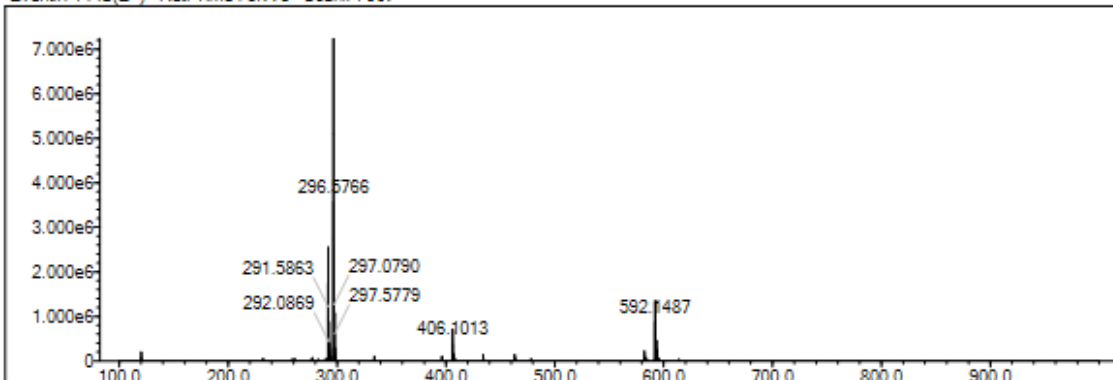
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

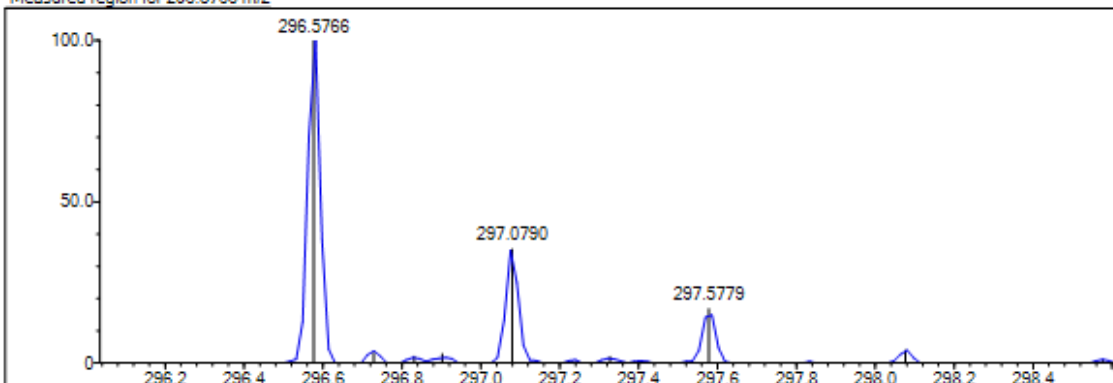
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

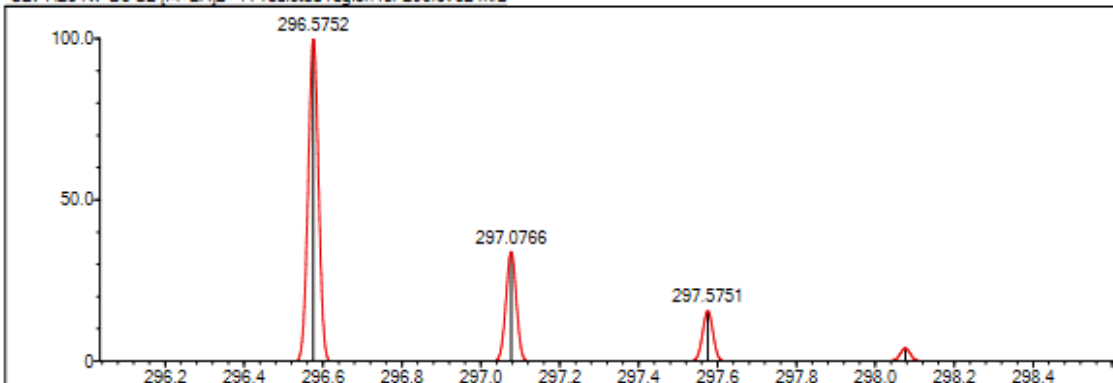
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.773 Scan#: 567



Measured region for 296.5766 m/z



C27 H25 N7 O5 S2 [M+2H]2+ : Predicted region for 296.5752 m/z



| Rank | Score | Formula (M)      | Ion      | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 69.64 | C27 H25 N7 O5 S2 | [M+2H]2+ | 296.5766  | 296.5752  | 1.4       | 4.72      | 76.78 | 19.0 |

Şekil 5.78. Bileşik 8j'ya ait HRMS spektrumu



**5.2.8.11. Etil 2-(2-{2-[(4-{4-metoksifenil}-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamido}tiyazol-4-il)asetat (8k)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 296-297°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 1.17 (t, *J*=7.12 Hz, 3H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.65 (s, 2H, tiyazol-CH<sub>2</sub>-C=O), 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.06 (q, *J*<sub>1</sub>=7.09 Hz, *J*<sub>2</sub>=14.15 Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.09 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.14 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.90 (s, H, tiyazol H<sub>5</sub>), 7.11 (d, *J*=8.96 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.46 (d, *J*=8.89 Hz, 2H, fenil H<sub>2,6</sub>), 7.55 (td, *J*<sub>1</sub>=1.10 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.54 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.69 (d, *J*=7.88 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.85 (td, *J*<sub>1</sub>=1.54 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.69 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.09 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.21 Hz, *J*<sub>2</sub>=8.99 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.33 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 12.20 (brs, H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 14.56 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 36.49 (tiyazol-CH<sub>2</sub>-CO), 37.21 (S-CH<sub>2</sub>), 41.10 (N-CH<sub>2</sub>), 56.07 (O-CH<sub>3</sub>), 60.73 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 110.47, 115.60, 121.85, 125.01, 126.48, 127.70, 128.89, 135.08, 143.94, 148.29, 151.60, 152.23, 160.23, 160.78, 166.84 (C=O), 170.55 (tiyazol C=O).

**HRMS (-m/z): [M+2H]<sup>2+</sup>:** C<sub>27</sub>H<sub>25</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 296.5752, bulunan: 296.5766.



Current Data Parameters  
NAME D-PAT-I-11  
EXPNO 1  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20210421  
Time 8.50  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 23.6321  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 294.6 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

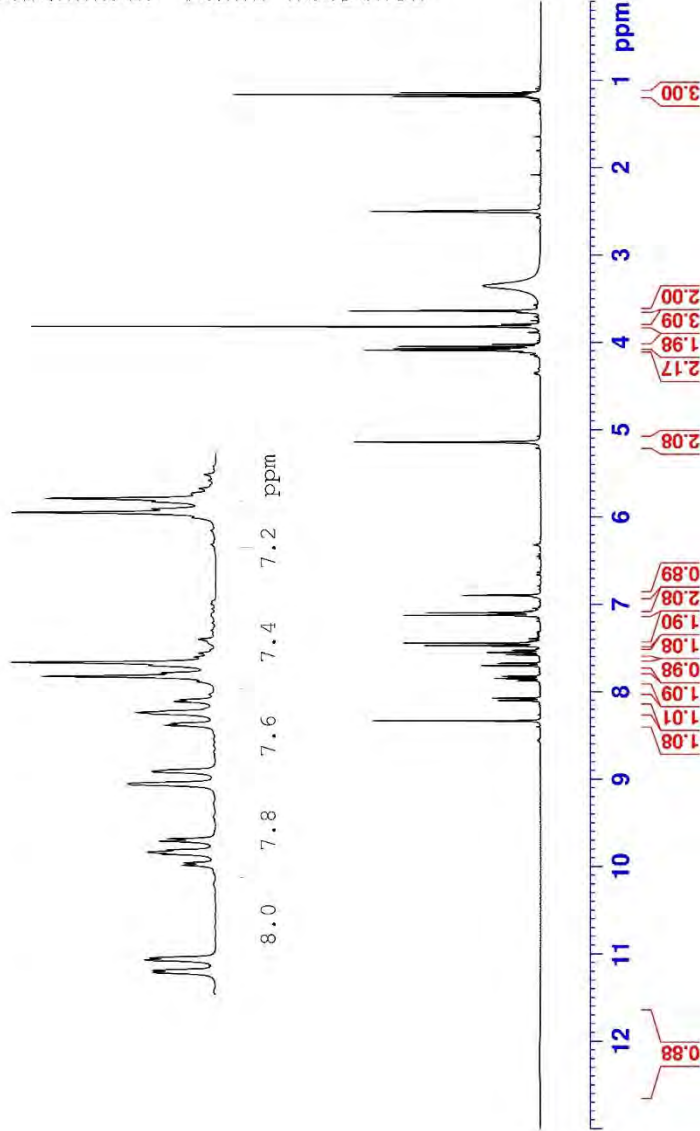
===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00

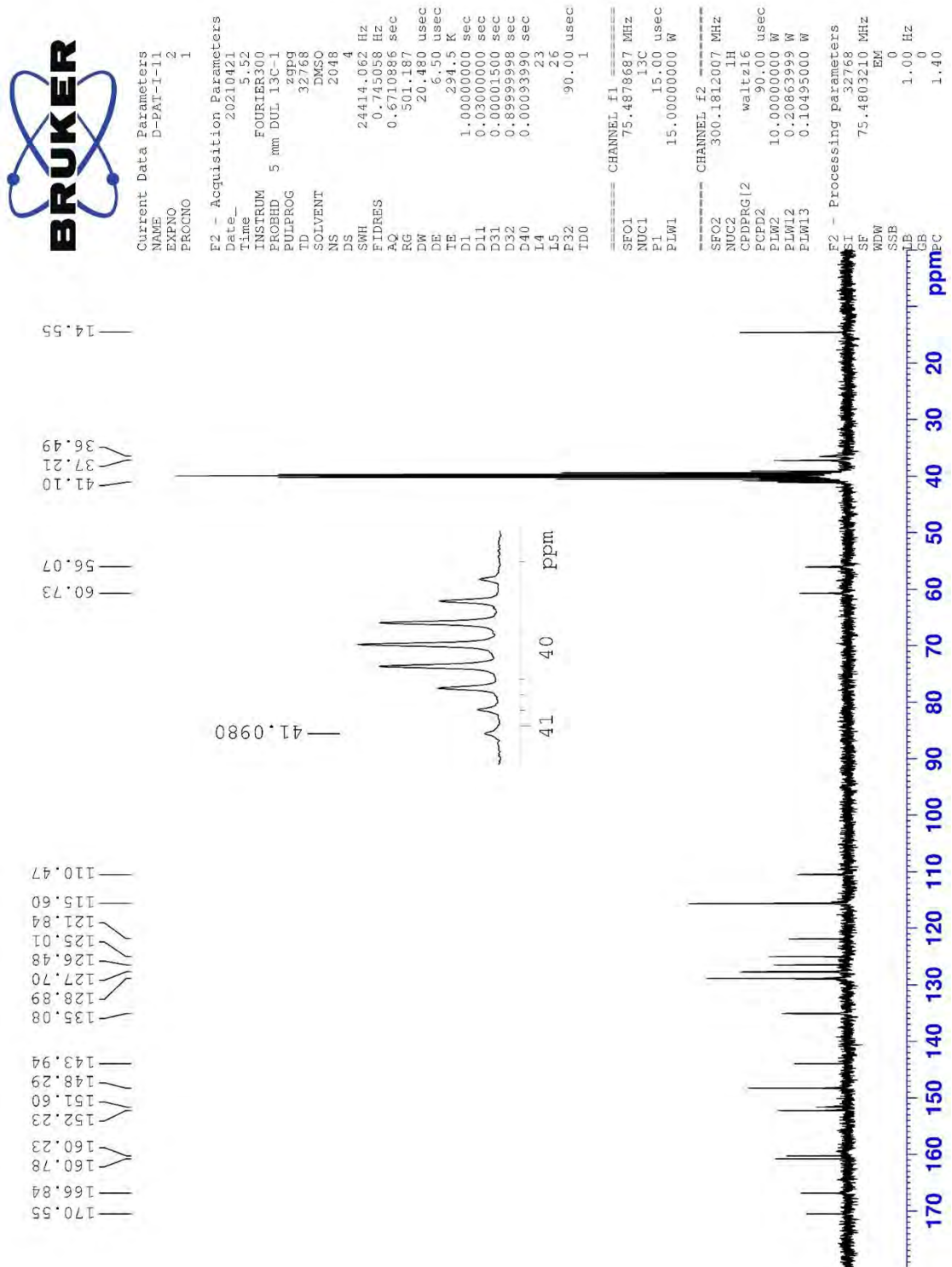
1.1882  
1.1646  
1.1409

8.3323  
8.1022  
8.0983  
8.0756  
8.0717  
8.0470  
7.8424  
7.8237  
7.8185  
7.7016  
7.6755  
7.5770  
7.5734  
7.5501  
7.5267  
7.5230  
7.4731  
7.4434  
7.1249  
7.0951

8.1022  
8.0983  
8.0756  
8.0717  
7.8747  
7.8470  
7.8424  
7.8237  
7.8185  
7.7016  
7.6755  
7.5770  
7.5734  
7.5501  
7.5267  
7.5230  
7.4731  
7.4434  
7.1249  
7.0951



Şekil 5.79. Bileşik 8k'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.80. Bileşik 8k'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\I-11\_85.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 0   | 40  | O    | 2    | 0   | 5   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 0   | 40  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 7   | 7   | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 10

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

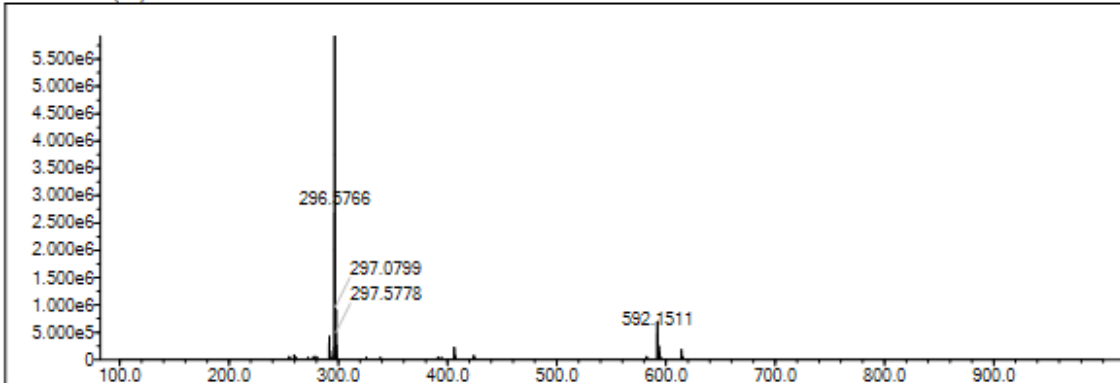
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

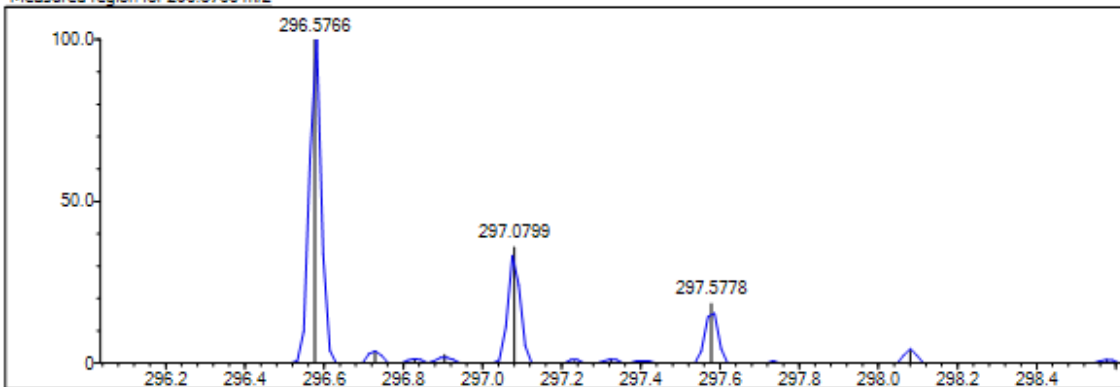
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

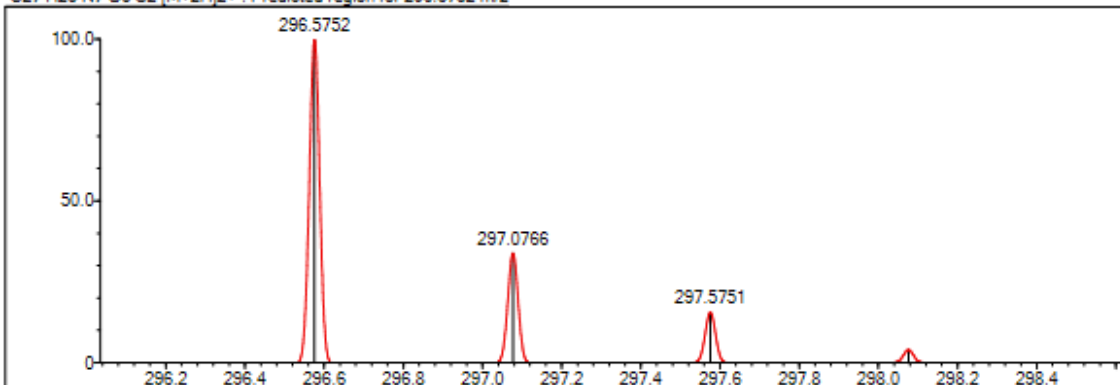
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.853 Scan#: 579



Measured region for 296.5766 m/z



C27 H25 N7 O5 S2 [M+2H]2+ : Predicted region for 296.5752 m/z



| Rank | Score | Formula (M)      | Ion      | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 56.42 | C27 H25 N7 O5 S2 | [M+2H]2+ | 296.5766  | 296.5752  | 1.4       | 4.72      | 62.21 | 19.0 |

Şekil 5.81 Bileşik 8k'ya ait HRMS spektrumu

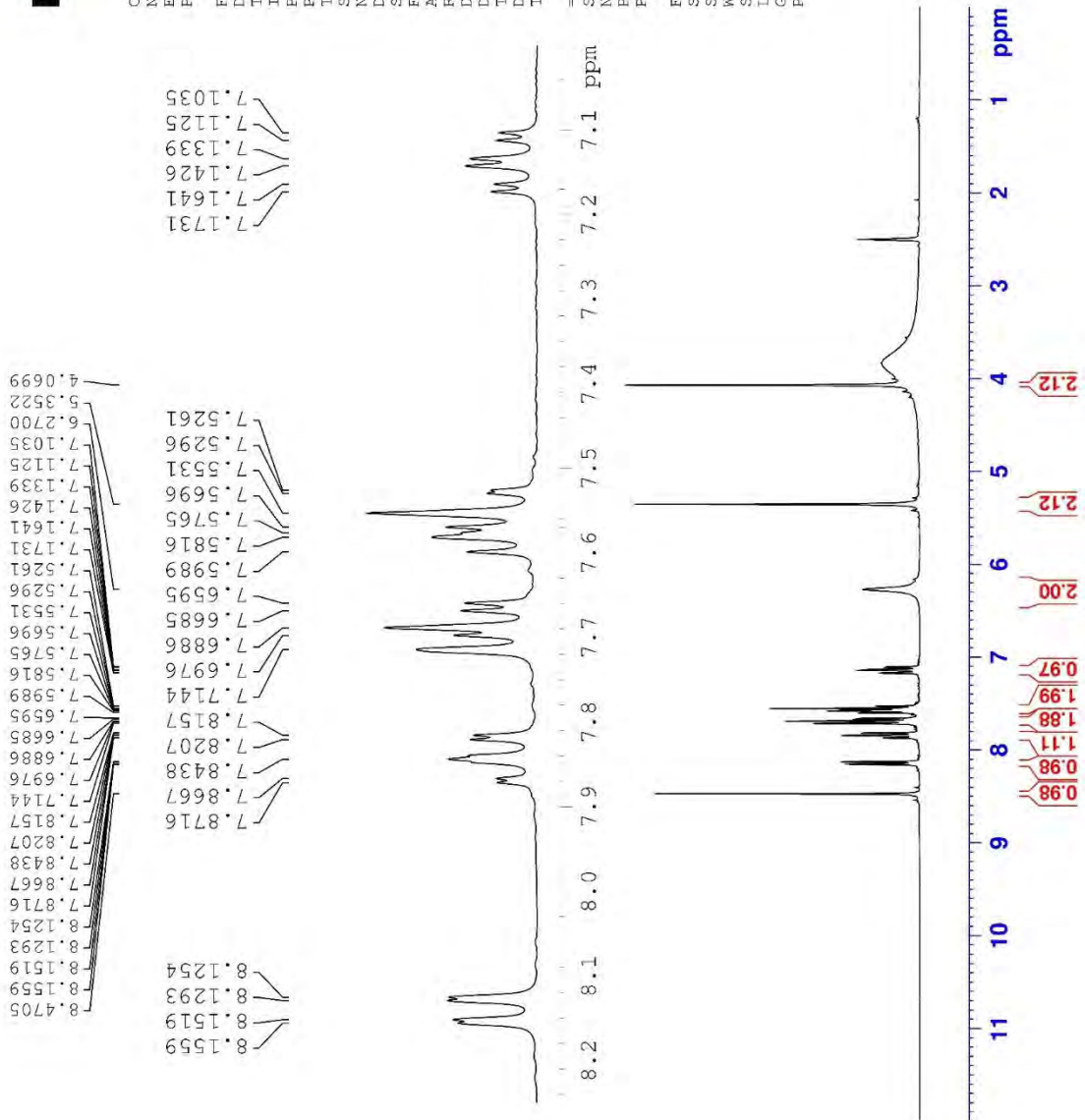
**5.2.8.12. *N*-(6-Florobenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8I)**

Görünüm: Açık kahve toz. E.n: 239-240°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 4.07 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.35 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.27 (brs, 2H, N-NH<sub>2</sub>), 7.14 (td, *J*<sub>1</sub>=2.70 Hz, *J*<sub>2</sub>=9.11 Hz, H, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.53-7.60 (m, 2H, benzotiyazol H<sub>7</sub> ve kinazolin H<sub>8</sub>), 7.66-7.71 (m, 2H, kinazolin H<sub>6</sub> ve benzotiyazol H<sub>4</sub>), 7.84 (td, *J*<sub>1</sub>=1.49 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.67 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.14 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.19 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.95 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.47 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 38.14 (S-CH<sub>2</sub>), 40.29 (N-CH<sub>2</sub>), 107.81 ve 108.13, 113.29 ve 113.61, 120.77, 120.89, 121.96, 126.57, 127.70, 133.70, 133.84, 135.05, 146.60, 148.33, 152.53, 153.00, 156.82, 159.97 ve 160.56, 163.83, 170.52 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>N<sub>8</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>F için hesaplanan: 483.0816, bulunan: 483.0819.



132



Current Data Parameters  
NAME D-PAT-J-1  
EXPNO 2  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20210219  
Time 17.53  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zgpg  
TD 32768  
SOLVENT DMSO  
NS 2048  
DS 4  
SWH 24414.062 Hz  
FIDRES 0.745058 Hz  
AQ 0.6710886 sec  
RG 501.187  
DW 20.480 usec  
DE 6.50 usec  
TE 291.0 K  
D1 1.00000000 sec  
D11 0.03000000 sec  
D31 0.00001500 sec  
D32 0.89999998 sec  
D40 0.00093990 sec  
L4 23  
L5 26  
P32 90.00 usec  
TD0 1

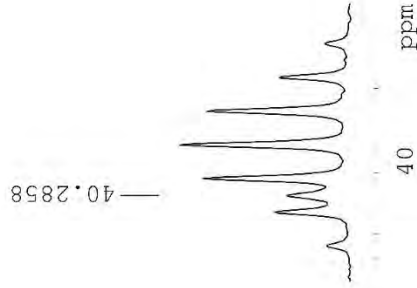
CHANNEL f1  
SFO1 75.4878687 MHz  
NUC1 13C  
P1 15.00 usec  
PLW1 15.00000000 W

CHANNEL f2  
SFO2 300.1812007 MHz  
NUC2 1H  
PCPD2 waltz16  
PCPD2 90.00 usec  
PLW2 10.00000000 W  
PLW12 0.20863999 W  
PLW13 0.10495000 W

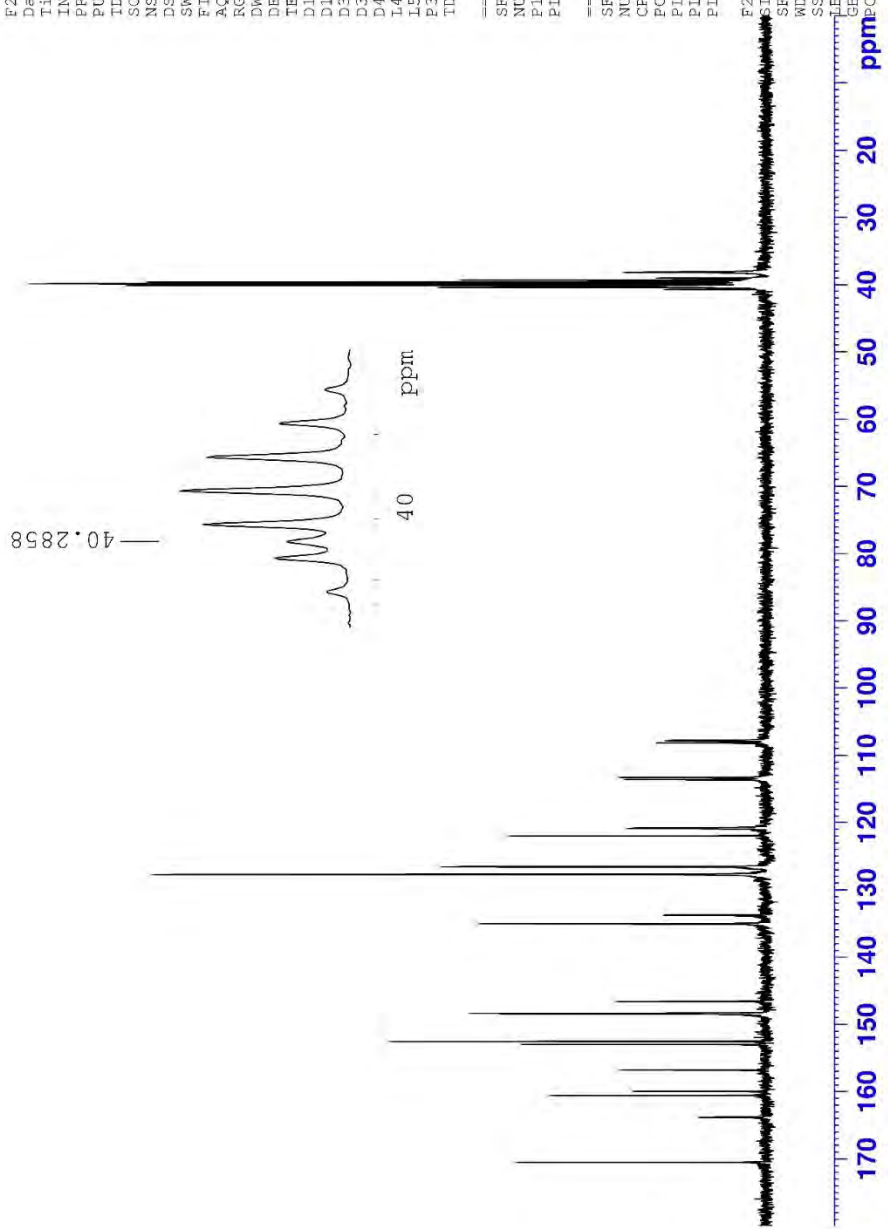
F2 - Processing parameters

SI 32768  
SF 75.4803210 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
GB 1.00 Hz  
PC 1.40

40.2858  
40.29  
38.14



170.52  
163.83  
160.56  
159.97  
156.81  
153.00  
152.53  
148.33  
146.60  
135.05  
133.84  
133.70  
127.70  
126.57  
121.96  
120.89  
120.77  
113.61  
113.29  
108.13  
107.81



Şekil 5.83. Bileşik 81'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-J-1\_125.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 1   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 5   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 1   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

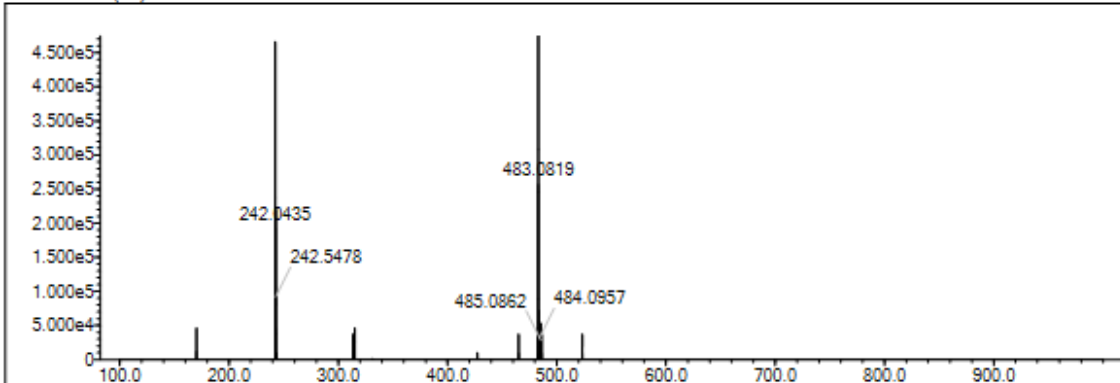
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

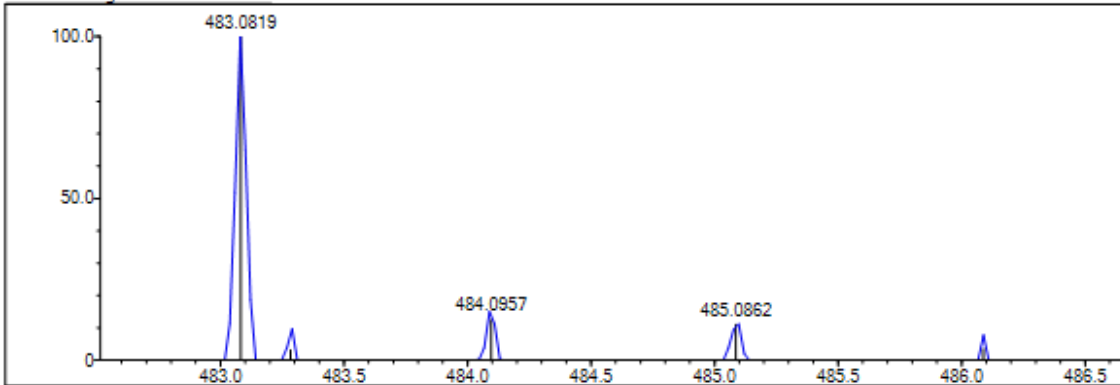
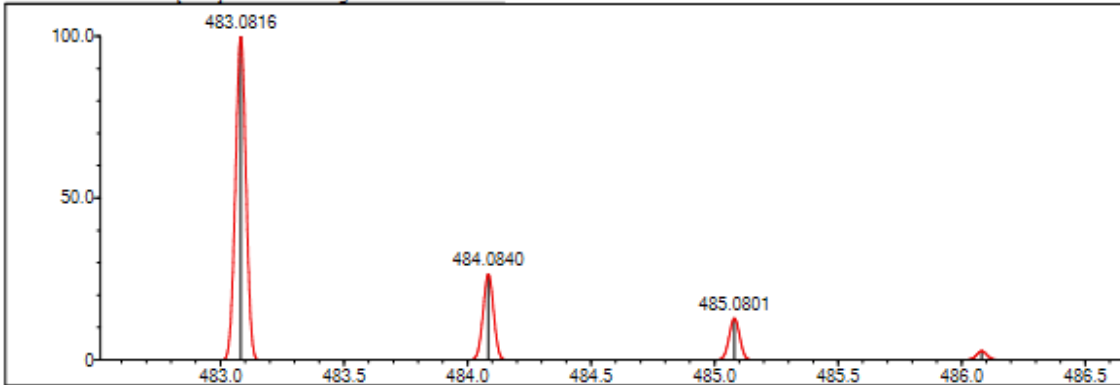
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.267 -&gt; 3.267 - 3.400 -&gt; 3.405 Scan#: 491 -&gt; 491 - 511 -&gt; 511



Measured region for 483.0819 m/z

C20 H15 N8 O2 F S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 483.0816 m/z

| Rank | Score | Formula (M)        | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|--------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 50.01 | C20 H15 N8 O2 F S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 483.0819  | 483.0816  | 0.3       | 0.62      | 50.01 | 17.0 |

Şekil 5.84. Bileşik 81'ya ait HRMS spektrumu



**5.2.8.13. *N*-(6-Klorobenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-[[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil]-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8m)**

Görünüm: Kahverengi toz. E.n: 208-209°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3.89 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.34 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.31 (brs, 2H, N-NH<sub>2</sub>), 7.20 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.95 Hz, *J*<sub>2</sub>=8.59 Hz, H, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.43 (d, *J*= 8.53 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.56 (t, *J*= 7.57 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.70-7.73 (m, 2H, benzotiyazol H<sub>7</sub> ve benzotiyazol H<sub>4</sub>), 7.85 (t, *J*=7.65 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (d, *J*=7.96 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.47 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 40.59 (S-CH<sub>2</sub>), 120.16, 120.63, 121.97, 124.89, 125.01, 126.03, 126.58, 127.70, 134.94, 135.07, 148.33, 148.50, 149.61, 152.30, 153.38, 160.53, 168.83, 172.86 (C=O).

**HRMS (-m/z): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>N<sub>8</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>Cl için hesaplanan: 499.0521, bulunan: 499.0526.

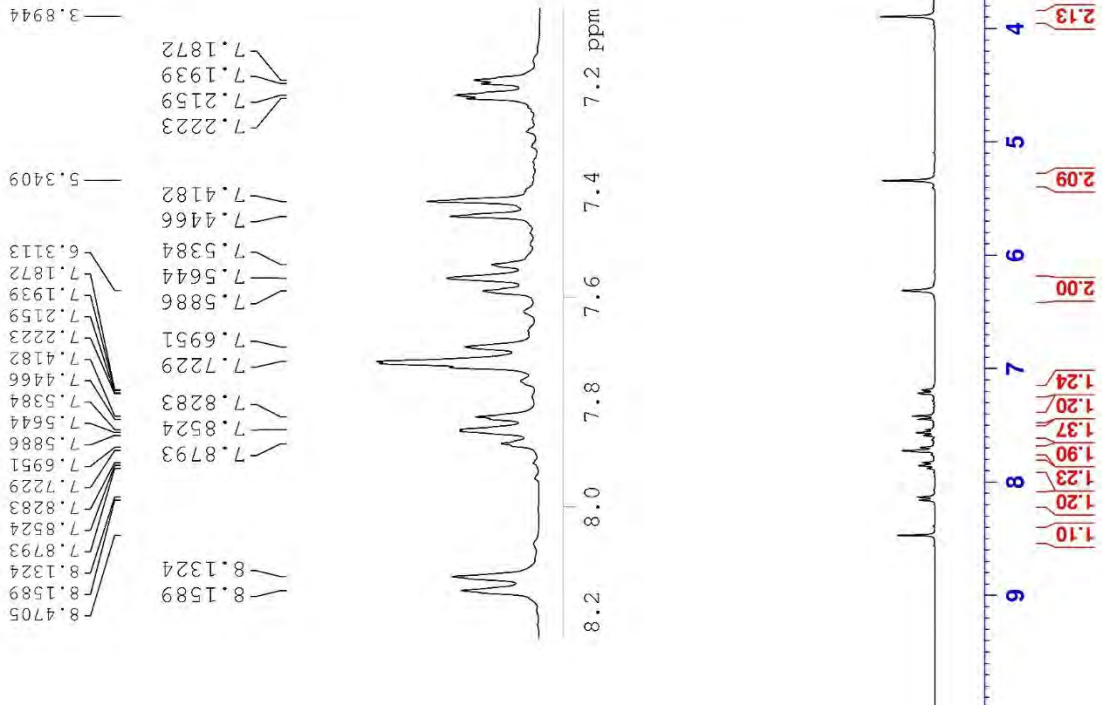


Current Data Parameters  
NAME D-PAT-U-2  
EXPNO 2  
PROCNO 1

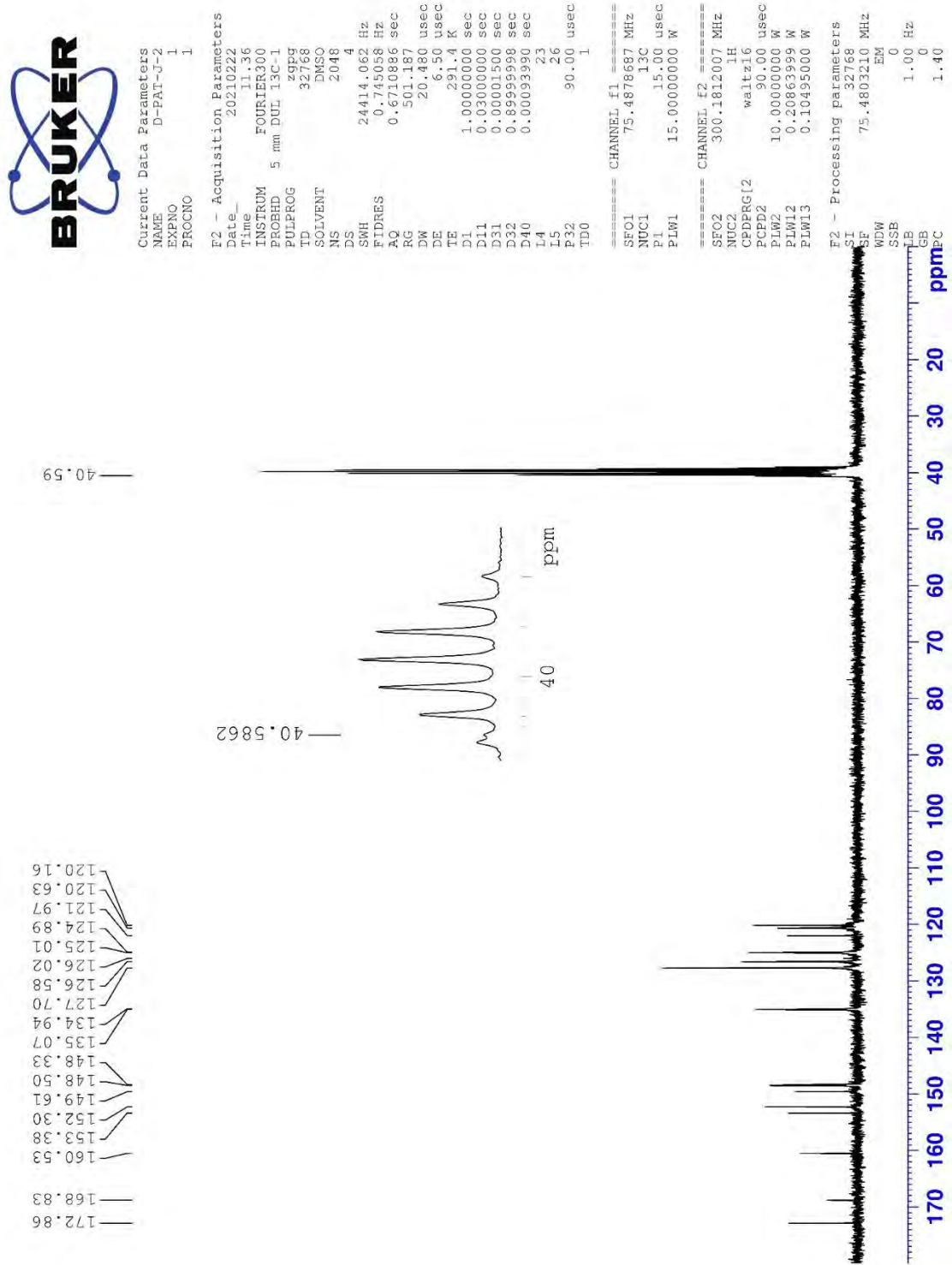
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210222  
Time 12.34  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zgpg  
ID 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 6.12937  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 291.6 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.181837 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.85. Bileşik 8m'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.86. Bileşik 8m'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\ID-PAT-J-2\_126.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 8   | 40  | O    | 2    | 2   | 6   | S    | 2    | 2   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 9   | 40  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 6   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

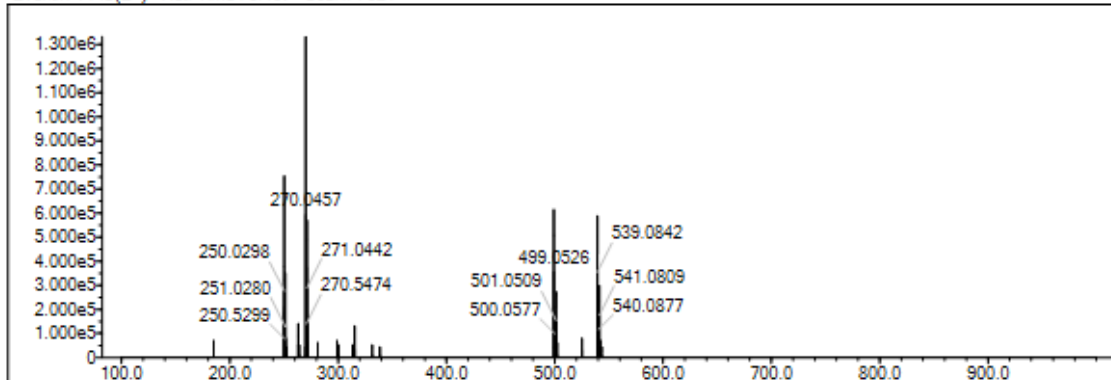
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

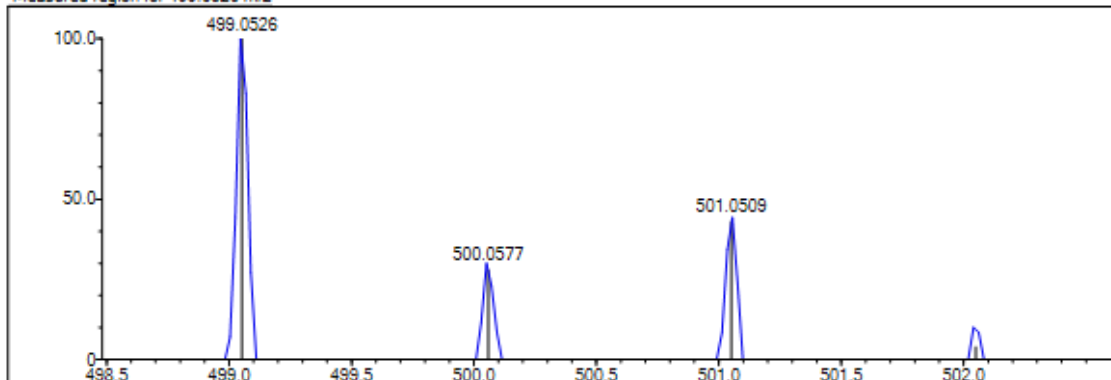
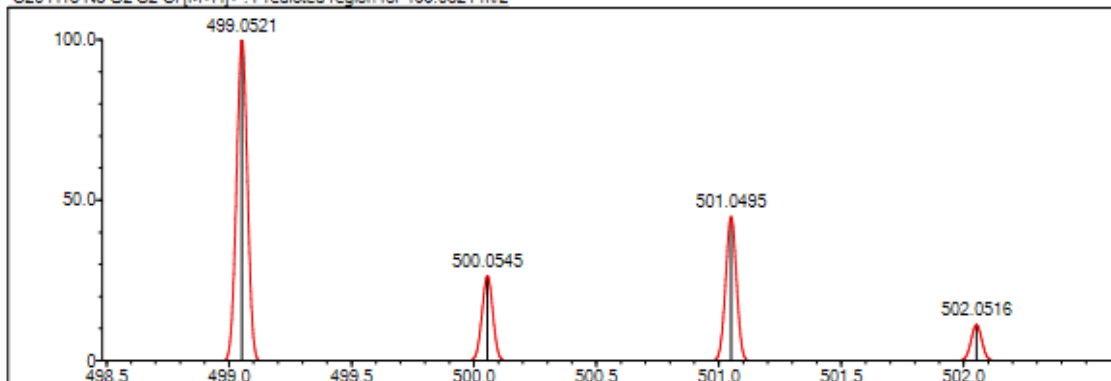
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.467 Scan#: 521



Measured region for 499.0526 m/z

C20 H15 N8 O2 S2 Cl [M+H]<sup>+</sup>: Predicted region for 499.0521 m/z

| Rank | Score | Formula (M)         | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|---------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 85.73 | C20 H15 N8 O2 S2 Cl | [M+H] <sup>+</sup> | 499.0526  | 499.0521  | 0.5       | 1.00      | 85.73 | 17.0 |

Şekil 5.87. Bileşik 8m'ya ait HRMS spektrumu

**5.2.8.14. *N*-(6-Nitrobenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8n)**

Görünüm: Sarı pamuk toz. E.n: 226-227°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3.86 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.35 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.29 (brs, 2H, N-NH<sub>2</sub>), 7.49 (m, H, benzotiyazol H<sub>7</sub>), 7.56 (td, *J*<sub>1</sub>= 0.94 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.53 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.71 (d, *J*= 7.92 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.85 (td, *J*<sub>1</sub>=1.50 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.67 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.08 (td, *J*<sub>1</sub>=2.45 Hz, *J*<sub>2</sub>=8.93 Hz, H, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 8.14 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.16 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.98 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.48 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 8.60 (d, *J*=2.41 Hz, H, benzotiyazol H<sub>4</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 40.35 (S-CH<sub>2</sub>), 40.74 (N-CH<sub>2</sub>), 117.69, 118.09, 121.16, 121.99, 126.58, 127.69, 133.61, 135.03, 140.56, 148.36, 148.50, 152.32, 153.31, 157.28, 160.52, 174.42, 174.96 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>N<sub>9</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 510.0761, bulunan: 510.0766.

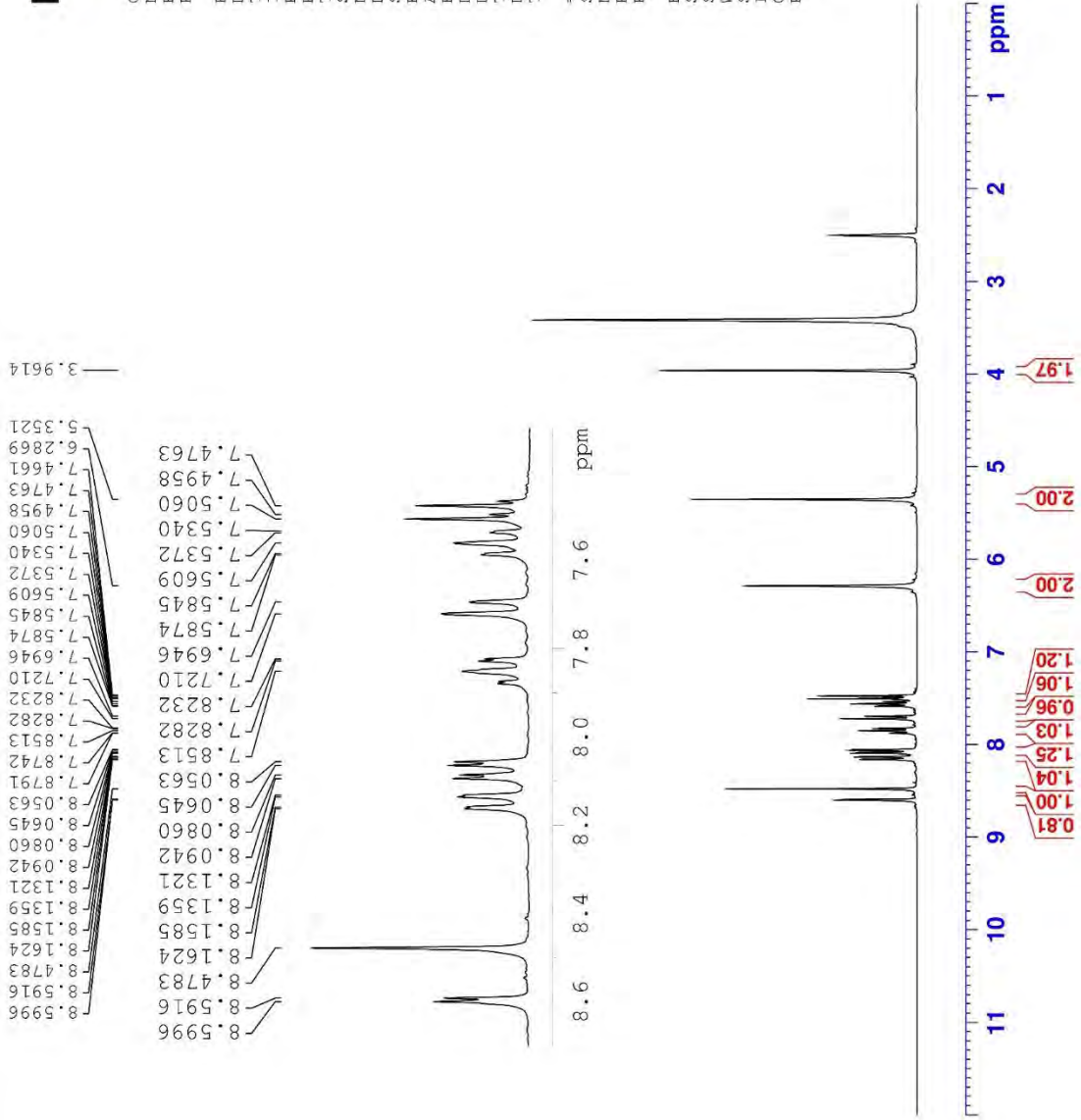


Current Data Parameters  
NAME D-PAT-J-3  
EXPNO 3  
PROCNO 1

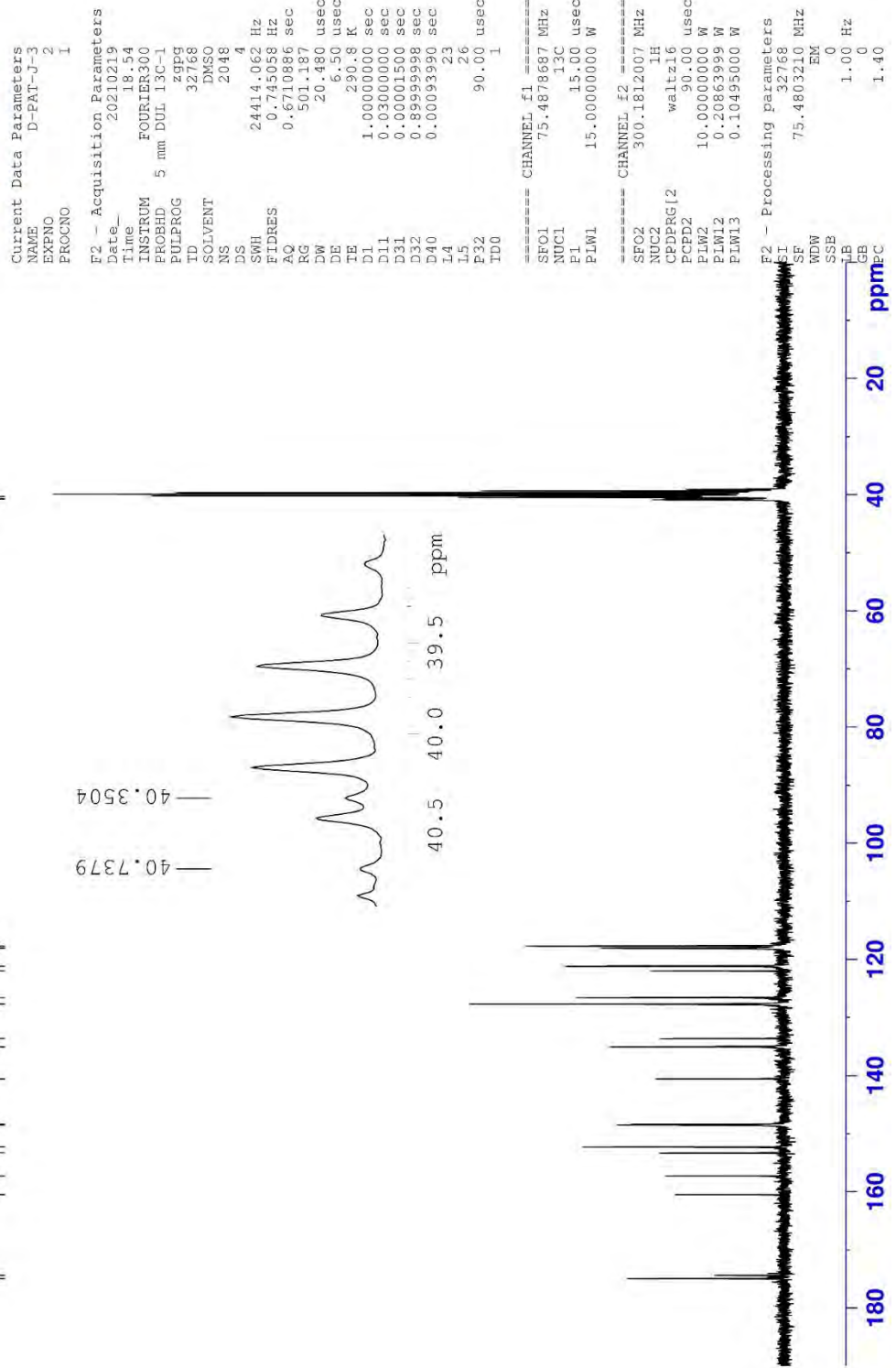
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210219  
Time 18.53  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 15.1216  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 290.9 K  
D1 3.0000000 sec  
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====  
SF01 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.0000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.88. Bileşik 8n'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.89. Bileşik 8n'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-J-3\_127.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 0   | 25  | O    | 2    | 0   | 4   | Cl   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   | H          |
| B    | 3    | 0   | 0   | F    | 1    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   |      |      |     |     |            |
| C    | 4    | 0   | 35  | P    | 3    | 0   | 0   | Ru   | 2    | 0   | 0   |      |      |     |     |            |
| N    | 3    | 0   | 10  | S    | 2    | 0   | 2   | Pd   | 2    | 0   | 0   |      |      |     |     |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

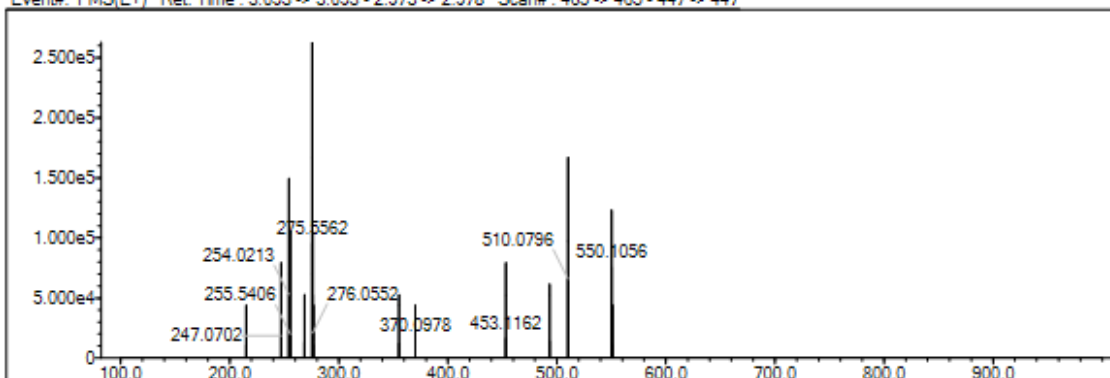
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

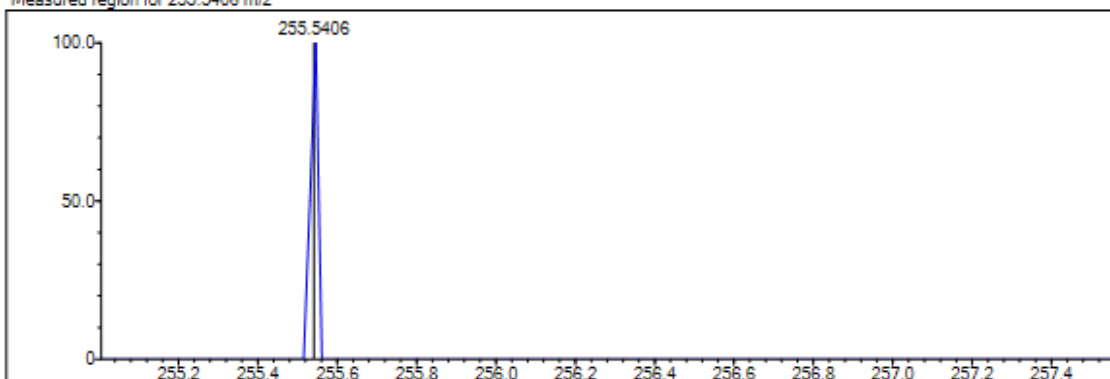
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

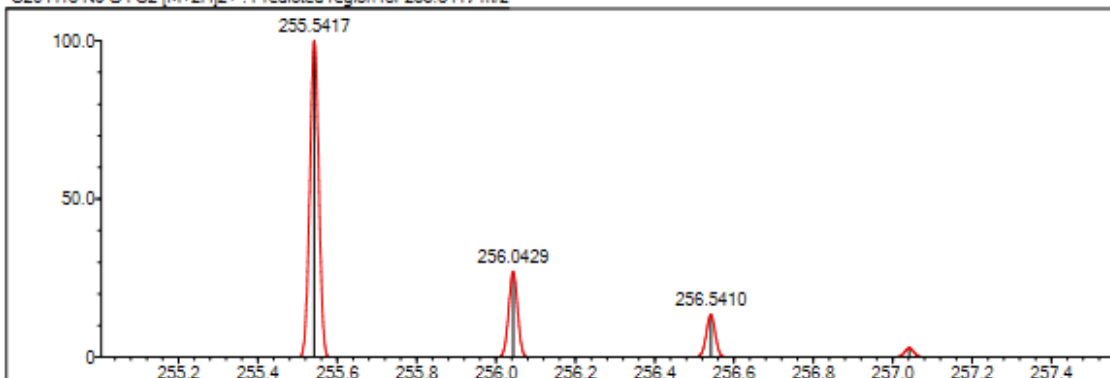
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.093 -&gt; 3.093 - 2.973 -&gt; 2.978 Scan#: 465 -&gt; 465 - 447 -&gt; 447



Measured region for 255.5406 m/z



C20 H15 N9 O4 S2 [M+2H]2+ : Predicted region for 255.5417 m/z



| Rank | Score | Formula (M)      | Ion      | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso  | DBE  |
|------|-------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|------|
| 2    | 0.00  | C20 H15 N9 O4 S2 | [M+2H]2+ | 255.5406  | 255.5417  | -1.1      | -4.30     | 0.00 | 18.0 |

Şekil 5.90. Bileşik 8n'ya ait HRMS spektrumu



**5.2.8.15. *N*-(Benzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8o)**

Görünüm: Açık kahve toz. E.n: 221-222°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3.91 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.36 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.35 (brs, 2H, N-NH<sub>2</sub>), 7.03 (td, *J*<sub>1</sub>= 0.97 Hz, *J*<sub>2</sub>= 7.47 Hz, H, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.21 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.16, *J*<sub>2</sub>= 7.6 Hz, H, benzotiyazol H<sub>4</sub>), 7.47 (d, *J*= 7.97 Hz, H, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.56 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.10 Hz, *J*<sub>2</sub>= 7.53 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.65-7.73 (m, 2H, kinazolin H<sub>8</sub> ve benzotiyazol H<sub>7</sub>), 7.87 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.55 Hz, *J*<sub>2</sub>= 7.99 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (dd, *J*<sub>1</sub>= 1.26 Hz, *J*<sub>2</sub>= 7.96 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.49 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 39.47 (S-CH<sub>2</sub>), 40.64 (N-CH<sub>2</sub>), 119.23, 121.22, 121.99, 124.89, 126.58, 127.71, 133.18, 135.06, 148.36, 148.52, 150.69, 152.32, 153.43, 157.44, 160.44, 160.54, 168.05, 172.34 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>8</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 465.0910, bulunan: 465.0910.

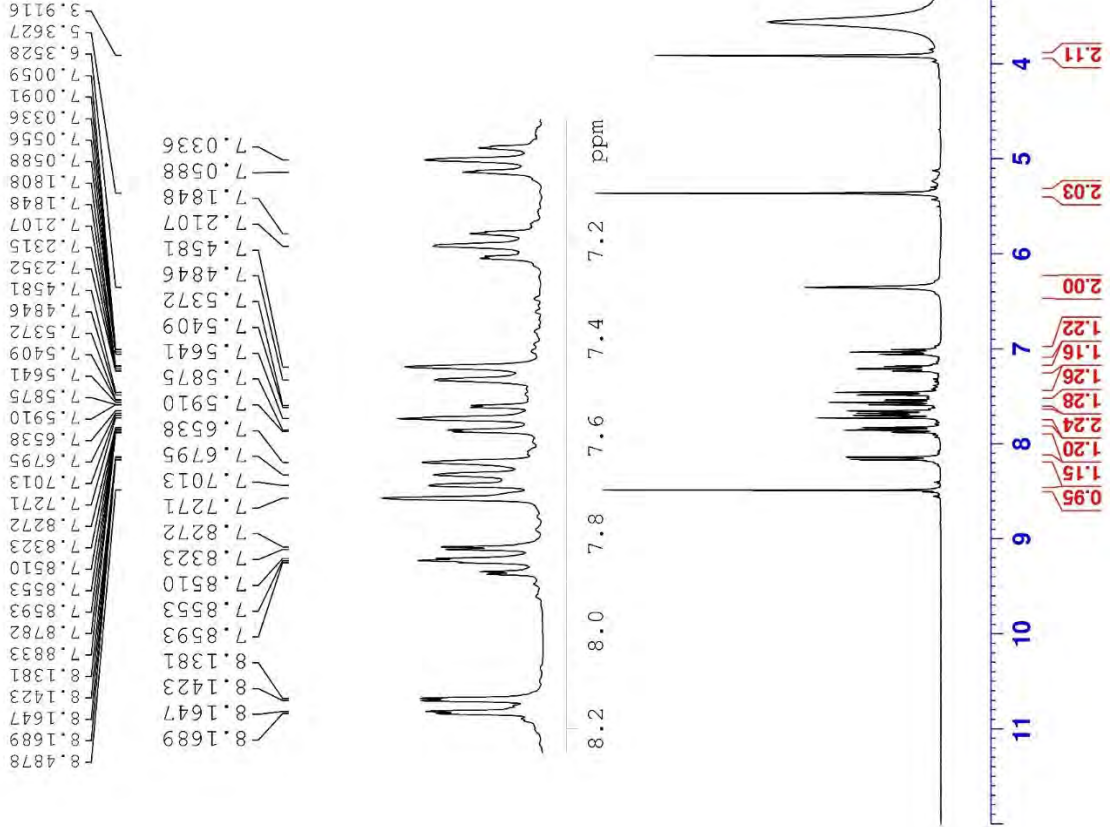


Current Data Parameters  
NAME D-PAT-J-4  
EXPNO 3  
PROCNO 1

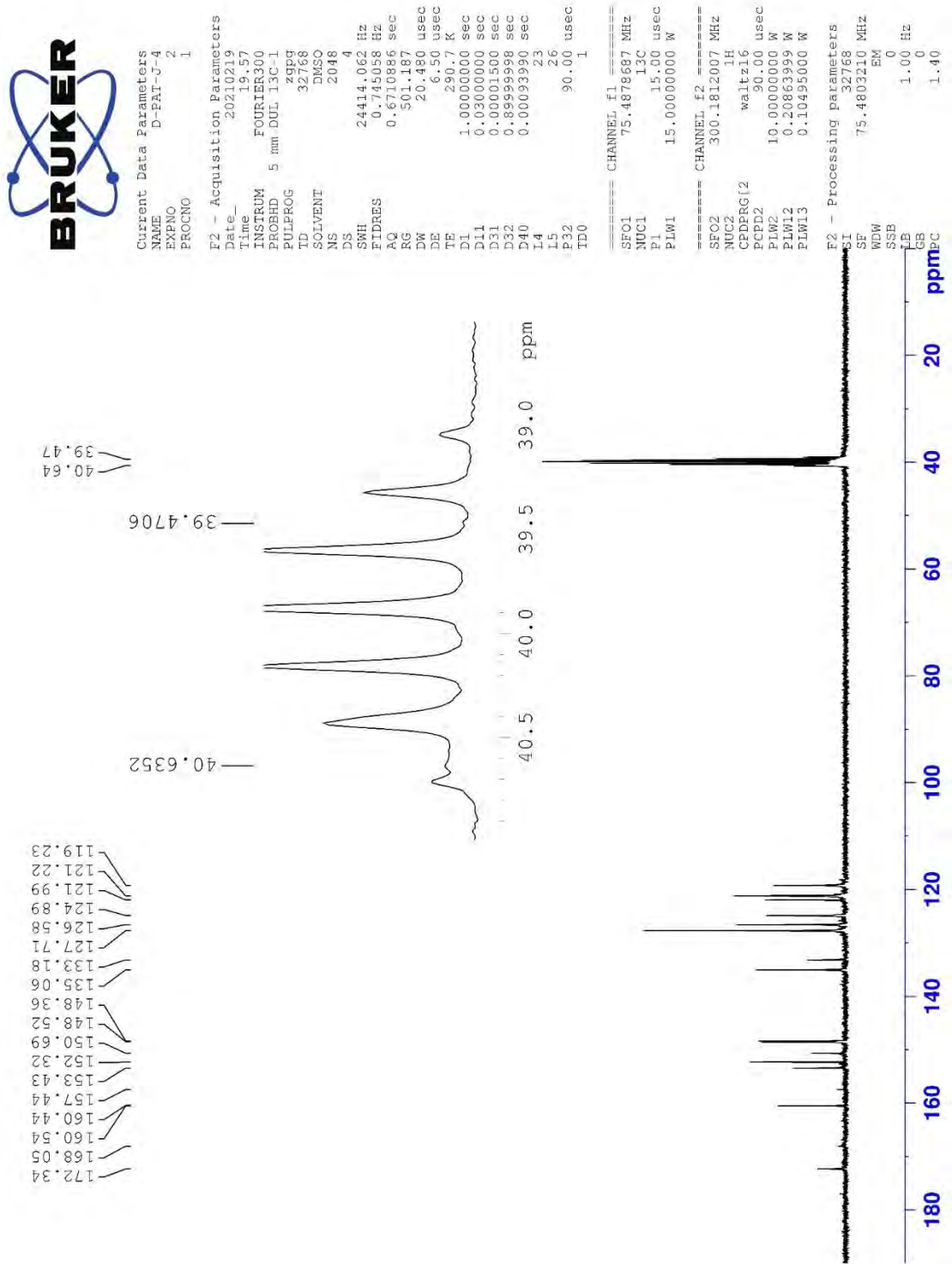
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210219  
Time 19.55  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 8.67504  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 290.7 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.91. Bileşik 80'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.92. Bileşik 80'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-J-4\_128.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 1   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 5   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 1   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

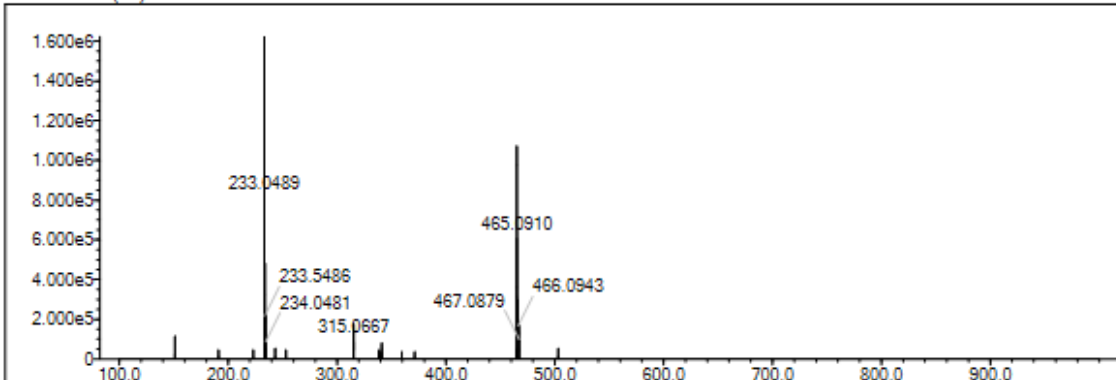
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

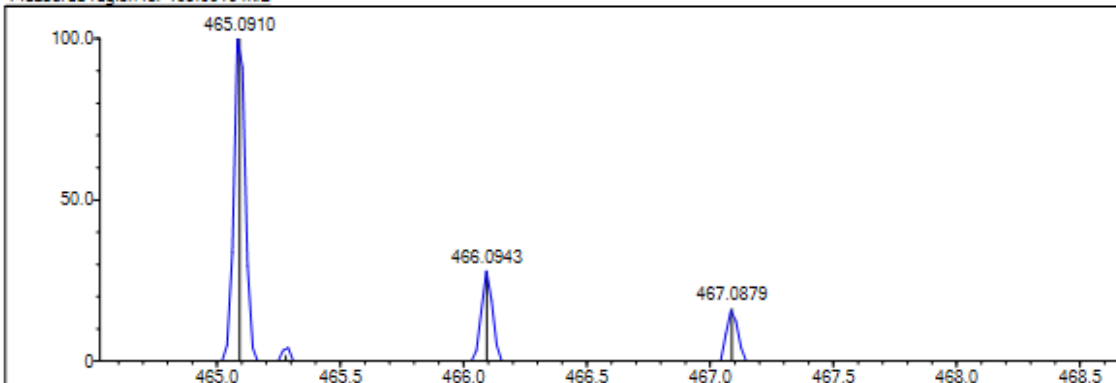
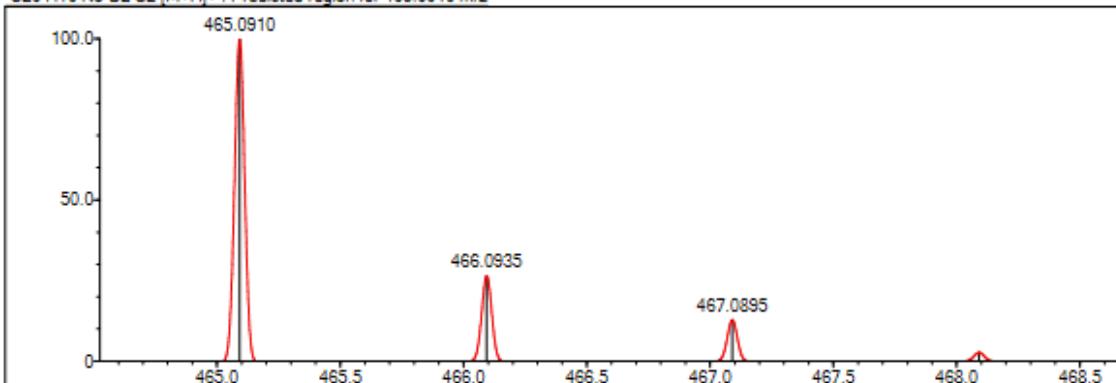
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.160 Scan#: 475



Measured region for 465.0910 m/z

C20 H16 N8 O2 S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 465.0910 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 89.40 | C20 H16 N8 O2 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 465.0910  | 465.0910  | -0.0      | 0.00      | 89.40 | 17.0 |

Şekil 5.93. Bileşik 80'ya ait HRMS spektrumu

**5.2.8.16. *N*-(6-Metilbenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8p)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 210-211°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 2.39 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.24 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.34 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.17 (brs, 2H, N-NH<sub>2</sub>), 7.23 (d, *J*=8.09 Hz, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.55 (t, *J*= 7.52 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.61 (d, *J*= 8.19 Hz, 2H, benzotiyazol H<sub>7</sub> ve benzotiyazol H<sub>4</sub>), 7.72 (s, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.84 (t, *J*=7.62 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.14 (d, *J*=7.88 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.45 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 21.46 (CH<sub>3</sub>), 35.18 (S-CH<sub>2</sub>), 40.74 (N-CH<sub>2</sub>), 113.10, 120.68, 121.75, 121.96, 126.56, 127.72, 127.89, 128.85, 132.05, 133.45, 135.08, 146.95, 148.34, 152.49, 152.77, 157.63, 160.56, 167.79 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>N<sub>8</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 479.1067, bulunan: 479.1077.

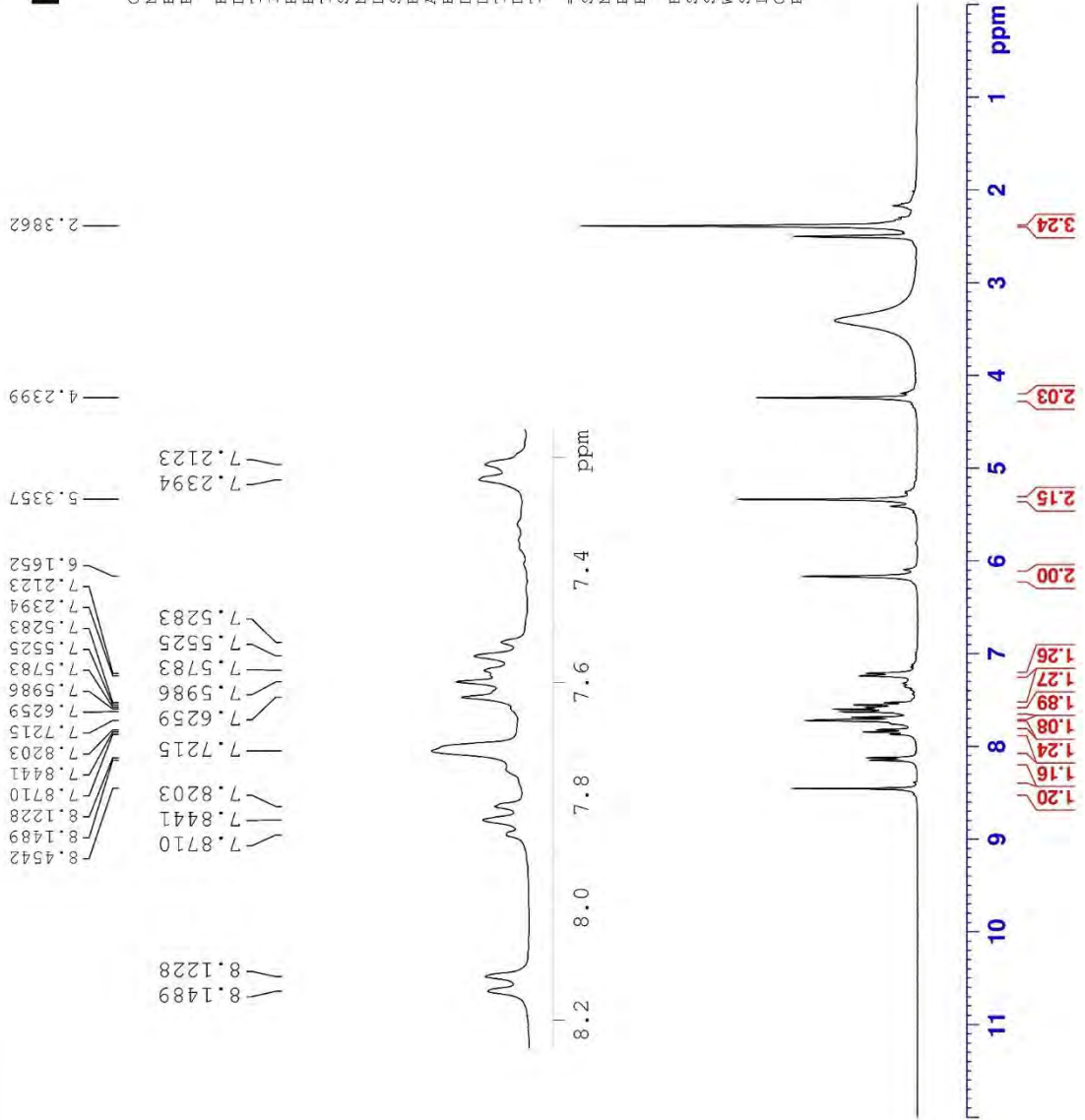


Current Data Parameters  
NAME D-PAT-J-5  
EXPNO 3  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210219  
Time 20.57  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 13.6491  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 290.5 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.94. Bileşik 8p'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Current Data Parameters  
NAME D-PAT-J-5  
EXPNO 2  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210219  
Time 20.59

INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1

PULPROG zgpg  
ID 32768  
SOLVENT DMSO  
NS 2048

DS 4  
SWH 24414.062 Hz  
FIDRES 0.745058 Hz

AQ 0.671086 sec  
RG 501.187  
DW 20.480 usec

DE 6.50 usec  
TE 290.5 K  
D1 1.00000000 sec

D11 0.03000000 sec  
D31 0.0001500 sec  
D32 0.89999998 sec

D40 0.00093990 sec  
L4 23  
L5 26

P32 90.00 usec  
ID0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 75.4878687 MHz  
NUC1 13C  
P1 15.00 usec  
PLW1 15.00000000 W

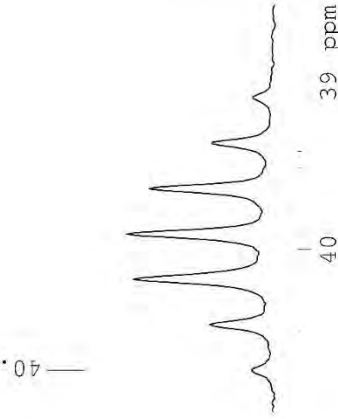
===== CHANNEL f2 =====  
SFO2 300.1812007 MHz  
NUC2 1H  
PCPD2 waltz16  
PLW2 10.00000000 W  
PLW12 0.20863999 W  
PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 75.4803210 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 0  
CB 1.40

40.74  
35.18  
21.46

167.79  
160.56  
157.63  
152.77  
152.49  
148.34  
146.95  
135.08  
133.45  
132.05  
128.85  
127.89  
127.72  
126.56  
121.96  
121.75  
120.67  
113.10

40.7384



39 ppm  
40

180 160 140 120 100 80 60 40 20 ppm

Şekil 5.95. Bileşik 8p'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\ID-PAT-J-5\_129 lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 1   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 5   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 1   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

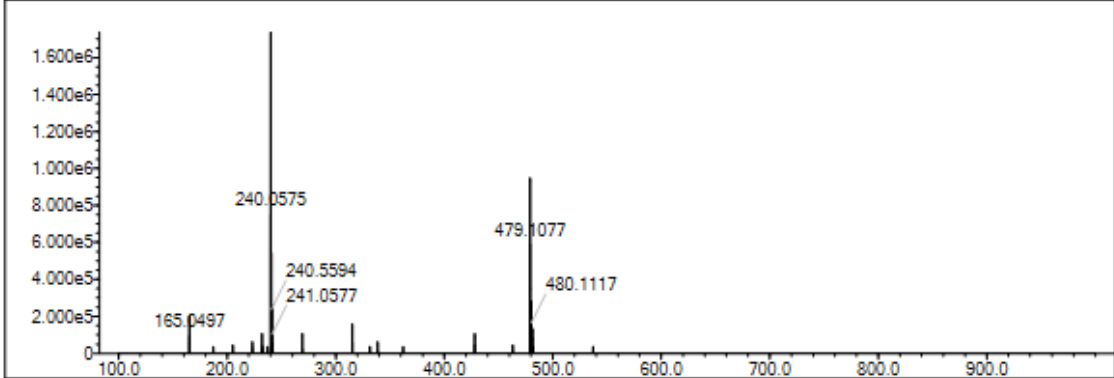
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

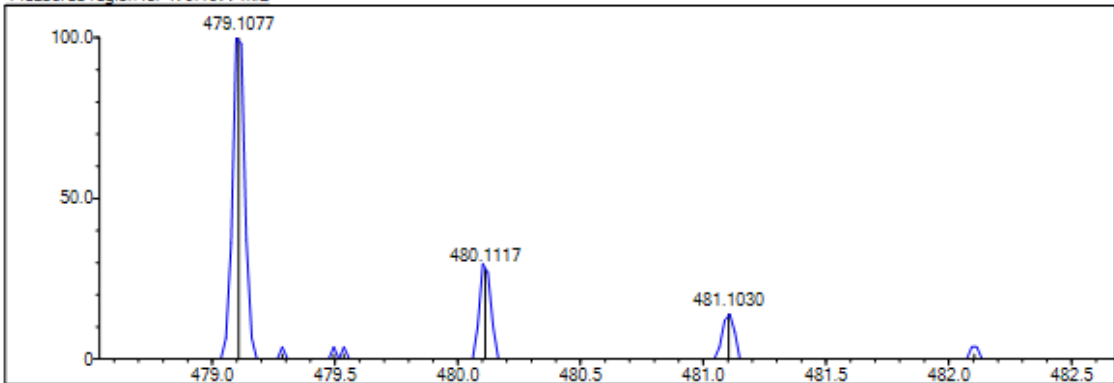
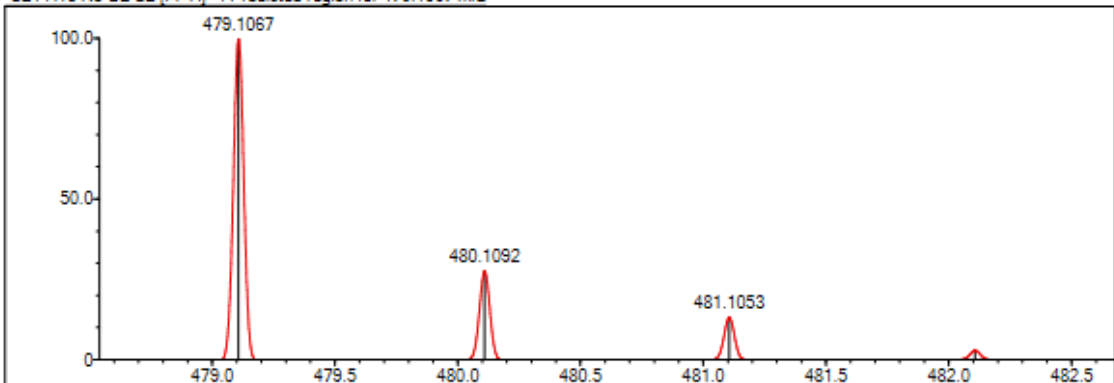
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.267 Scan#: 491



Measured region for 479.1077 m/z

C21 H18 N8 O2 S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 479.1067 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Isc   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 94.61 | C21 H18 N8 O2 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 479.1077  | 479.1067  | 1.0       | 2.09      | 97.26 | 17.0 |

Şekil 5.96. Bileşik 8p'ya ait HRMS spektrumu



**5.2.8.17. *N*-(6-Metoksibenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8q)**

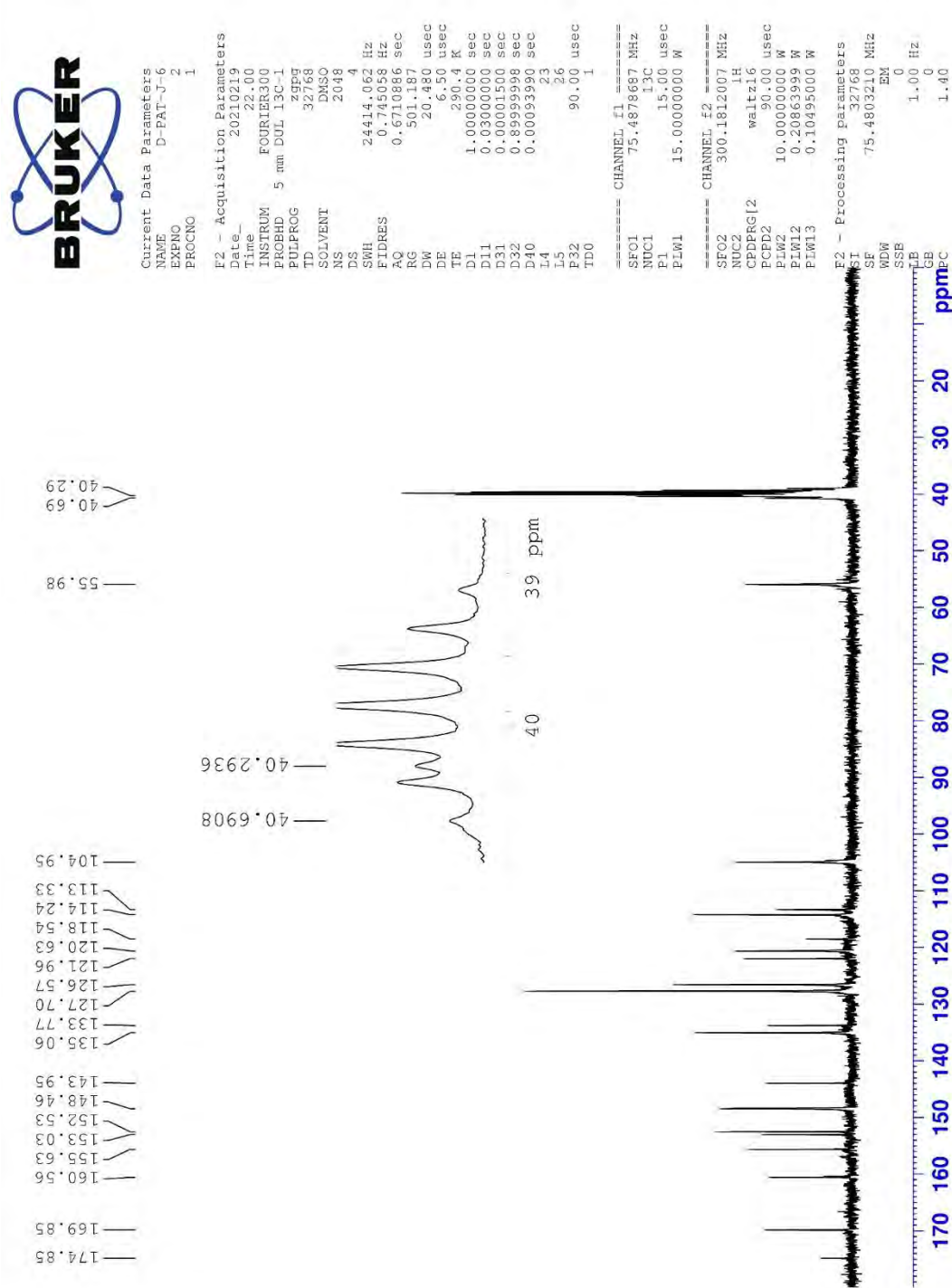
Görünüm: Kirli beyaz toz. E.n: 221-222°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3.77 (s, 3H, benzotiyazol OCH<sub>3</sub>), 4.06 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.35 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.28 (brs, 2H, N-NH<sub>2</sub>), 6.83 (t, *J*=5.97 Hz, H, benzotiyazol H<sub>7</sub>), 6.91 (d, *J*=8.69 Hz, H, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.51 (t, *J*=6.76 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.57 (d, *J*=7.73 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.71 (d, *J*= 7.80 Hz, H, benzotiyazol H<sub>4</sub>), 7.85 (t, *J*=7.06 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (d, *J*=7.63 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.47 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 40.29, 40.69, 55.98, 104.95, 113.33, 114.24, 118.54, 120.63, 121.96, 126.57, 127.70, 133.77, 135.06, 143.95, 148.46, 152.53, 153.03, 155.63, 160.56, 169.85, 174.85 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 495.1026, bulunan: 495.1016.





Şekil 5.98. Bileşik 8q'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-J-6\_130.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 0   | 25  | O    | 2    | 0   | 4   | Cl   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   | H          |
| B    | 3    | 0   | 0   | F    | 1    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   |      |      |     |     |            |
| C    | 4    | 0   | 35  | P    | 3    | 0   | 0   | Ru   | 2    | 0   | 0   |      |      |     |     |            |
| N    | 3    | 0   | 10  | S    | 2    | 0   | 2   | Pd   | 2    | 0   | 0   |      |      |     |     |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

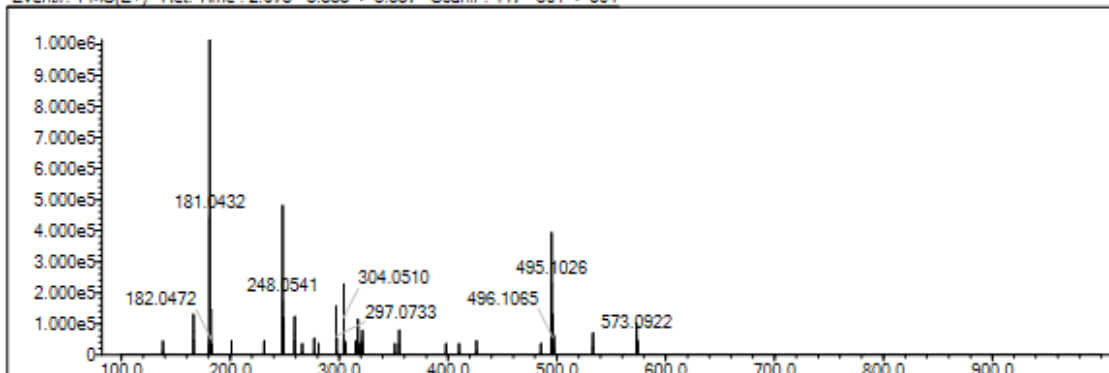
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

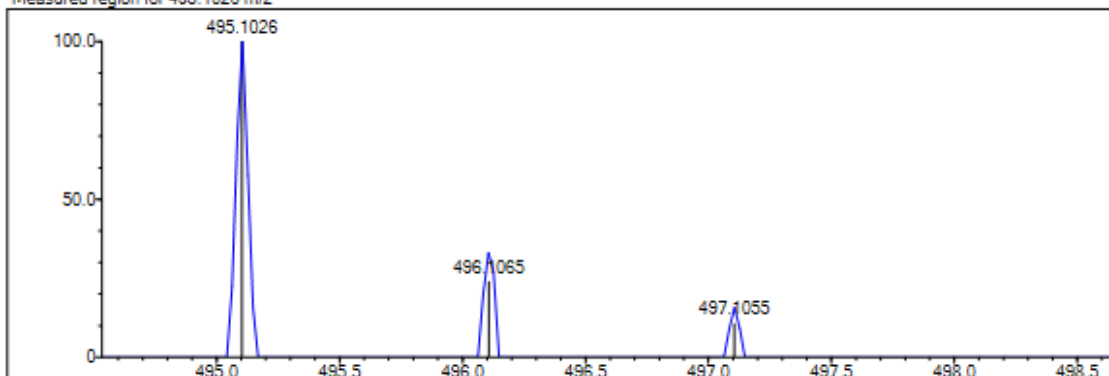
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

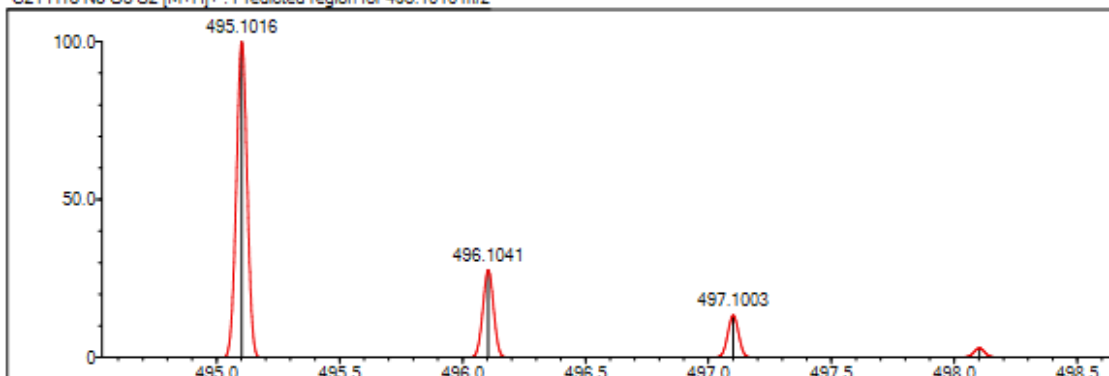
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.973 - 3.333 -&gt; 3.337 Scan#: 447 - 501 -&gt; 501



Measured region for 495.1026 m/z



C21 H18 N8 O3 S2 [M+H]+ : Predicted region for 495.1016 m/z



| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 2    | 72.13 | C21 H18 N8 O3 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 495.1026  | 495.1016  | 1.0       | 2.02      | 74.01 | 17.0 |

Şekil 5.99. Bileşik 8q'ya ait HRMS spektrumu

**5.2.8.18. N-(6-Etoksibenzotiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8r)**

Görünüm: Açık kahve toz. E.n: 208-209°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 1.32 (t, *J*= 6.87 Hz, 3H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.94 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 4.01 (q, *J*<sub>1</sub>=6.92 Hz, *J*<sub>2</sub>=14.12 Hz, H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.36 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.34 (brs, 2H, N-NH<sub>2</sub>), 7.29 (s, H, benzotiyazol H<sub>7</sub>), 7.40 (d, *J*=8.59 Hz, H, benzotiyazol H<sub>5</sub>), 7.53-7.59 (m, 2H, benzotiyazol H<sub>4</sub> ve kinazolin H<sub>6</sub>), 7.71 (d, *J*= 7.91 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.85 (td, *J*<sub>1</sub>=1.45 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.57 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (d, *J*=7.77 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.48 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 15.30 (O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 40.37 (S-CH<sub>2</sub>), 40.73 (N-CH<sub>2</sub>), 63.86 (O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 105.57, 114.06, 120.05, 121.98, 126.57, 127.69, 134.04, 135.04, 148.36, 148.53, 152.39, 153.26, 154.37, 156.05, 157.43, 160.53, 169.87, 170.88 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 509.1173, bulunan: 509.1185.



Current Data Parameters  
NAME D-PAT-J-7  
EXPNO 3  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20210219  
Time 23.00  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 8.73701  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 290.4 K  
D1 3.0000000 sec  
ID0 1

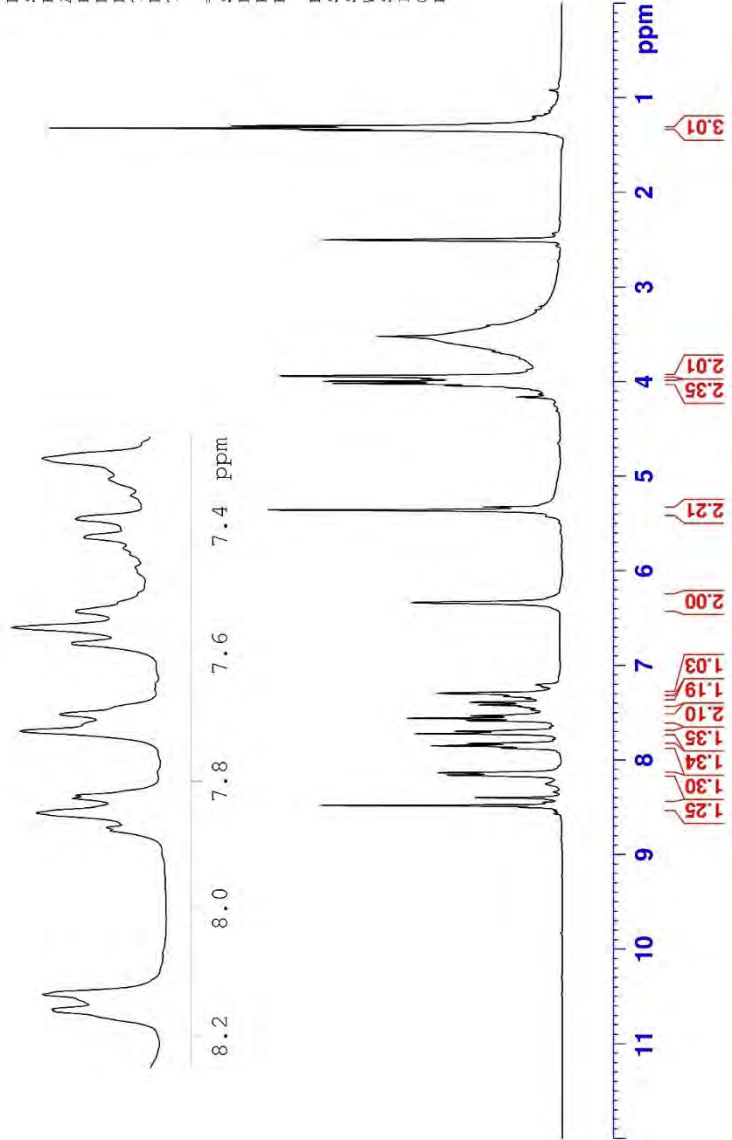
===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.0000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00

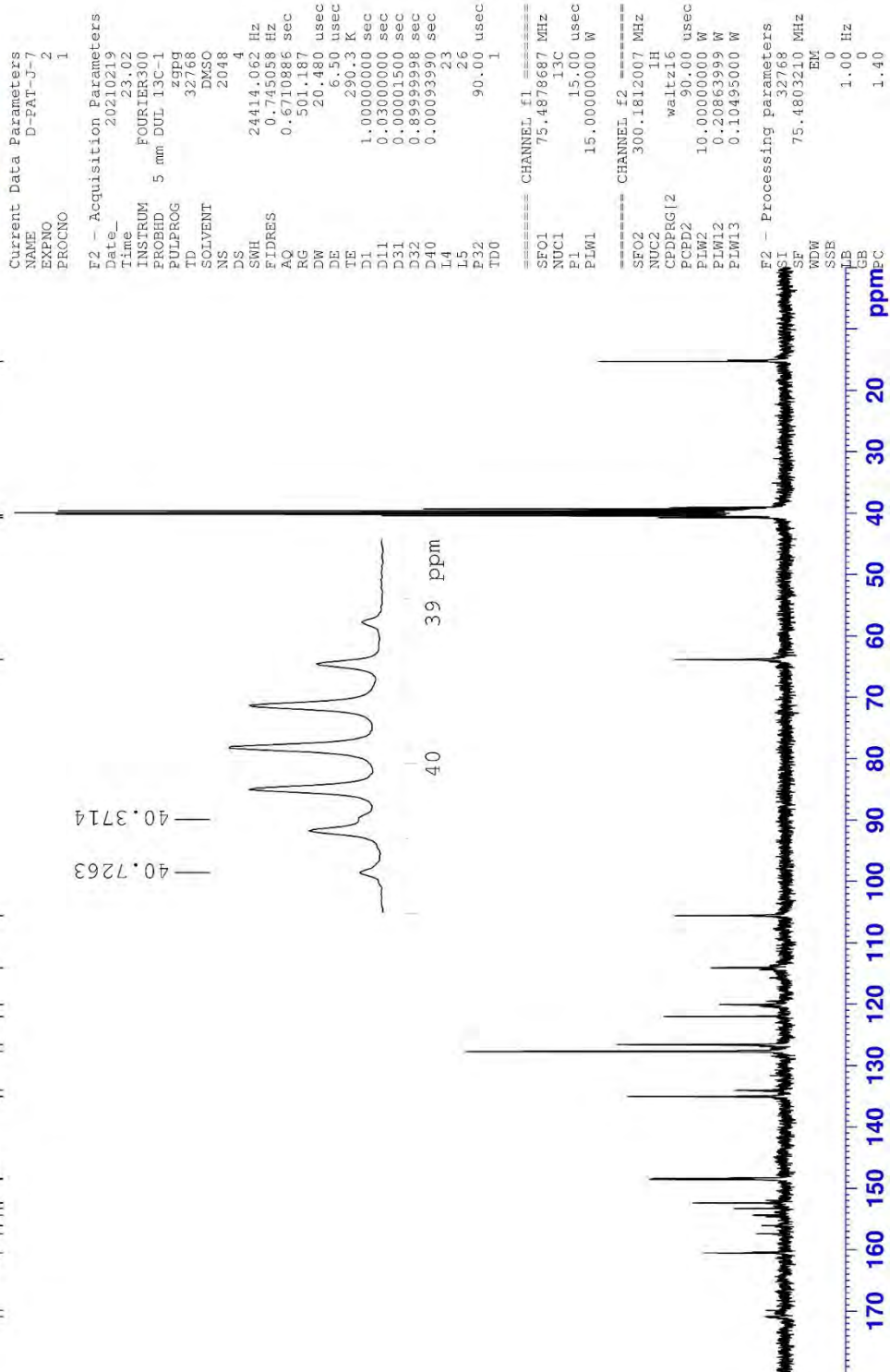
1.3407  
1.3179  
1.2949

4.0410  
4.0185  
3.9954  
3.9716  
3.9396

8.1610  
8.1351  
7.8781  
7.8733  
7.8504  
7.8274  
7.8225  
7.7218  
7.6955  
7.5850  
7.5593  
7.5351  
7.5327  
7.4179  
7.3893  
7.2940  
5.3560



Şekil 5.100. Bileşik 8r'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu



Şekil 5.101. Bileşik 8r'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-J-7\_131.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 10  | 40  | O    | 2    | 2   | 4   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 10  | 40  | F    | 1    | 0   | 1   | Cl   | 1    | 0   | 1   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 5   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 1   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

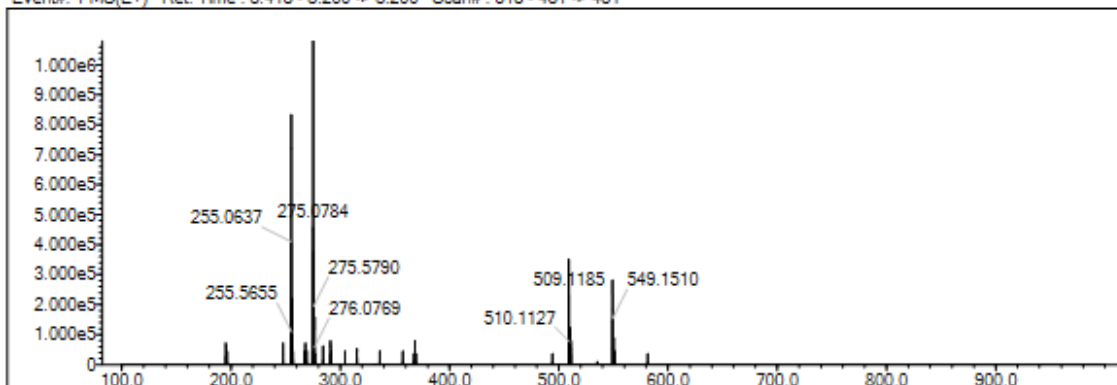
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

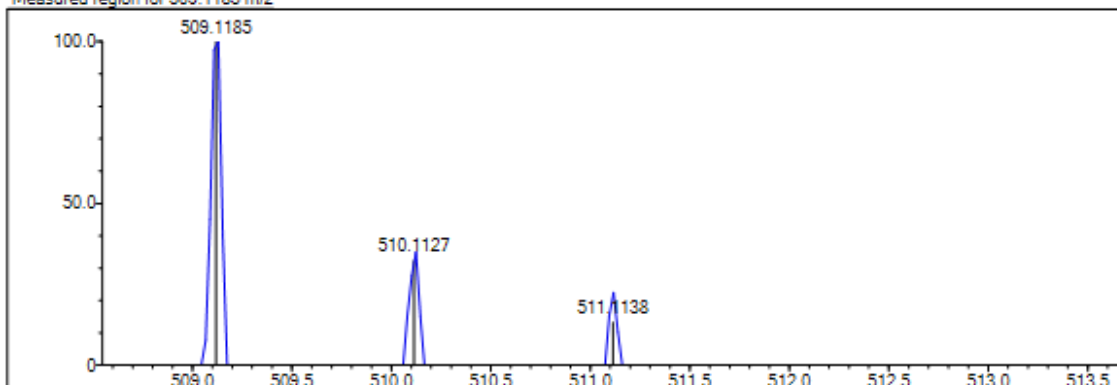
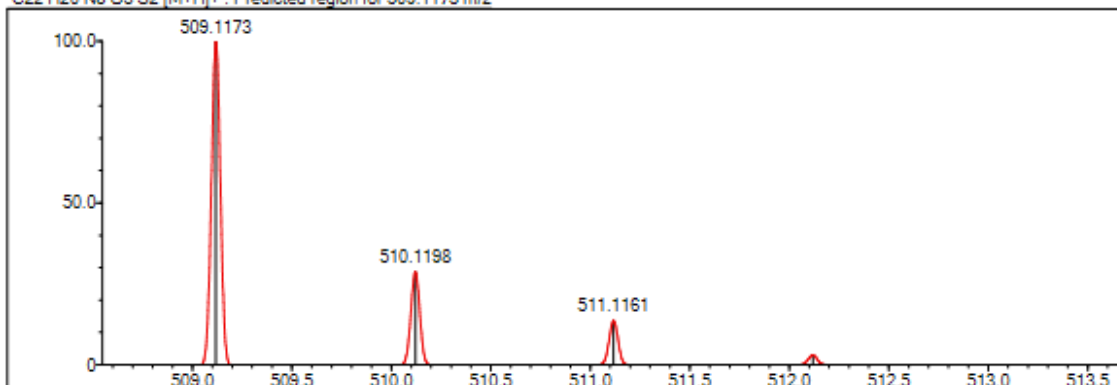
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.413 - 3.200 -&gt; 3.200 Scan#: 513 - 481 -&gt; 481



Measured region for 509.1185 m/z

C22 H20 N8 O3 S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 509.1173 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 60.93 | C22 H20 N8 O3 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 509.1185  | 509.1173  | 1.2       | 2.36      | 63.08 | 17.0 |

Şekil 5.102. Bileşik 8r'ya ait HRMS spektrumu



**5.2.8.19. *N*-(tiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8s)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 260-261°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 4.19 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.34 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.13 (N-NH<sub>2</sub>), 7.21 (d, *J*= 3.57 Hz, H, tiyazol H<sub>5</sub>), 7.46 (d, *J*= 3.55 Hz, H, tiyazol H<sub>4</sub>), 7.57 (td, *J*<sub>1</sub>= 1.03 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.59 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.71 (d, *J*= 7.88 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.86 (td, *J*<sub>1</sub>=1.51 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.68 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.23 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.97 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.45 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 12.39 (brs, H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 34.93 (S-CH<sub>2</sub>), 40.12 (N-CH<sub>2</sub>), 114.08, 121.98, 126.57, 127.72, 135.07, 138.16, 148.35, 152.43, 152.72, 158.41, 160.57, 166.72 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>8</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 415.0754, bulunan: 415.0769.





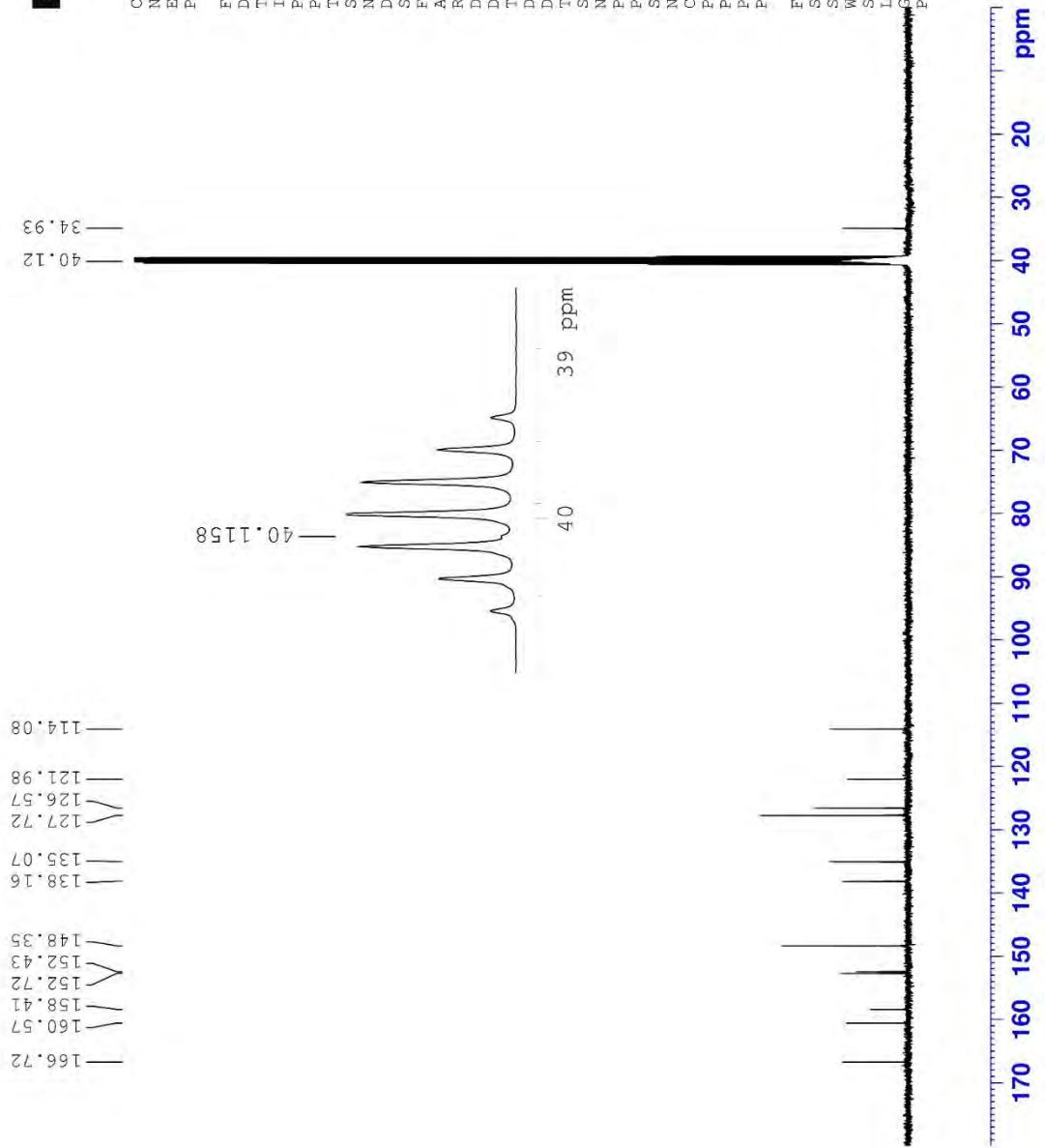
Current Data Parameters  
NAME D-PAT-J-8  
EXPNO 11  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20220512  
Time 22.36 h  
INSTRUM spect  
PROBHD Z866401\_0004 (

PULPROG zgpg30  
TD 65536  
SOLVENT DMSO  
NS 4096  
DS 4  
SWH 24038.461 Hz  
FIDRES 0.733596 Hz  
AQ 1.3631488 sec  
RG 31.19  
DE 20.800 usec  
TE 295.7 K

D1 2.00000000 sec  
D11 0.03000000 sec  
TD0 1  
SF01 100.6228298 MHz  
NUC1 13C  
P1 15.00 usec  
PLW1 90.29699707 W  
SFO2 400.1316005 MHz  
NUC2 1H  
CPDPRG2 waitz16  
PCPD2 90.00 usec  
PLW2 10.94900036 W  
PLW12 0.08651100 W  
PLW13 0.04351400 W

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 100.6127690 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40



Şekil 5.104. Bileşik 8s'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Lyuttas\D-PAT-J-8\_42.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 8   | 40  | O    | 2    | 0   | 4   | S    | 2    | 2   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 9   | 40  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 2   | 8   | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

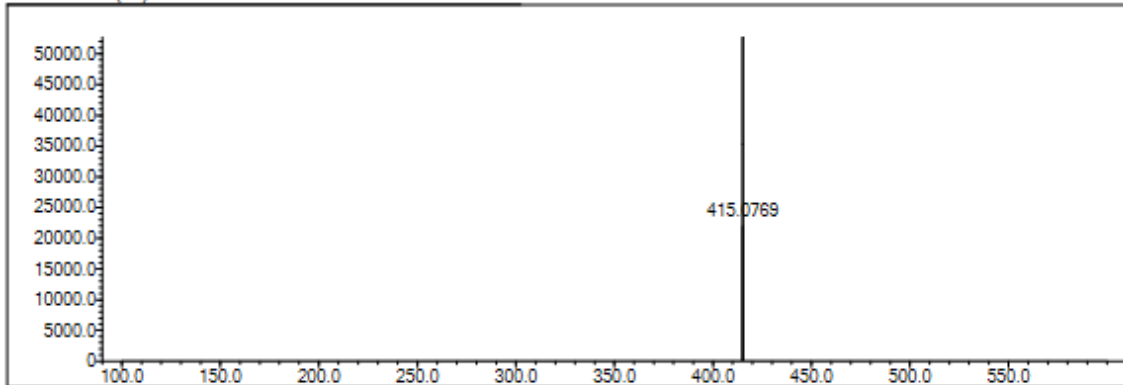
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

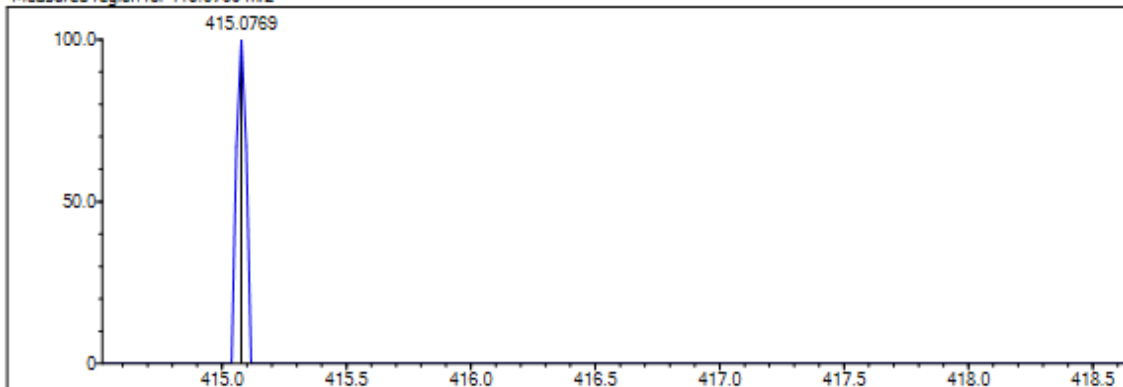
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

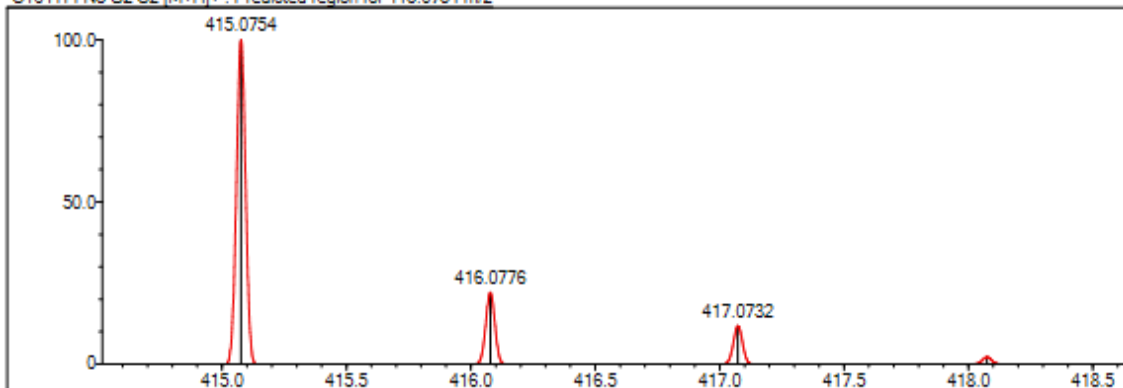
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.733 -&gt; 1.733 Scan#: 261 -&gt; 261



Measured region for 415.0769 m/z



C16 H14 N8 O2 S2 [M+H]+ : Predicted region for 415.0754 m/z



| Rank | Score | Formula (M)      | Ion    | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso  | DBE  |
|------|-------|------------------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|------|
| 2    | 0.00  | C16 H14 N8 O2 S2 | [M+H]+ | 415.0769  | 415.0754  | 1.5       | 3.61      | 0.00 | 14.0 |

Şekil 5.105. Bileşik 8s'ya ait HRMS spektrumu

**5.2.8.20. *N*-(5-Asetil-4-metil-tiyazol-2-il)-2-[(4-(4-amino)-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamit (8t)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 203-204°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 2.31 (s, 3H, tiyazol CH<sub>3</sub>), 2.45 (s, 3H, O=C-CH<sub>3</sub>), 3.84 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.15 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.30 (s, 2H, N-NH<sub>2</sub>), 7.57 (t, *J*=7.18 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.71 (d, *J*= 8.06 Hz, 2H, kinazolin H<sub>8</sub> ve kinazolin H<sub>7</sub>), 8.16 (d, *J*=7.92 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.47 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 18.75 (tiyazol CH<sub>3</sub>), 29.91 (tiyazol O=C-CH<sub>3</sub>), 41.12 (S-CH<sub>2</sub>), 64.33 (O-CH<sub>3</sub>), 120.86, 121.73, 122.02, 126.58, 127.65, 134.99, 148.49, 152.21, 153.38, 156.56, 158.16, 160.49, 170.96 (C=O), 173.42, 188.70 (tiyazol C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 471.1016, bulunan: 471.1020.



Current Data Parameters  
NAME D-EAT-J-9  
EXPNO 20  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20220517  
Time 14.42 h

INSTRUM spect  
PROBHD Z866401\_0004 ( 2930  
PULPROG zg30  
TD 65536

SOLVENT DMSO  
NS 64  
DS 2

SWH 8012.820 Hz  
FIDRES 0.244532 Hz  
AQ 4.089465 sec

RG 57.97  
DW 62.400 usec  
DE 6.50 usec

TE 295.2 K  
D1 1.00000000 sec  
TD0 1

SFO1 400.1324708 MHz  
NUC1 1H  
P1 8.00 usec

PLW1 10.94900036 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 400.1300000 MHz

WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz

GB 0  
PC 1.00

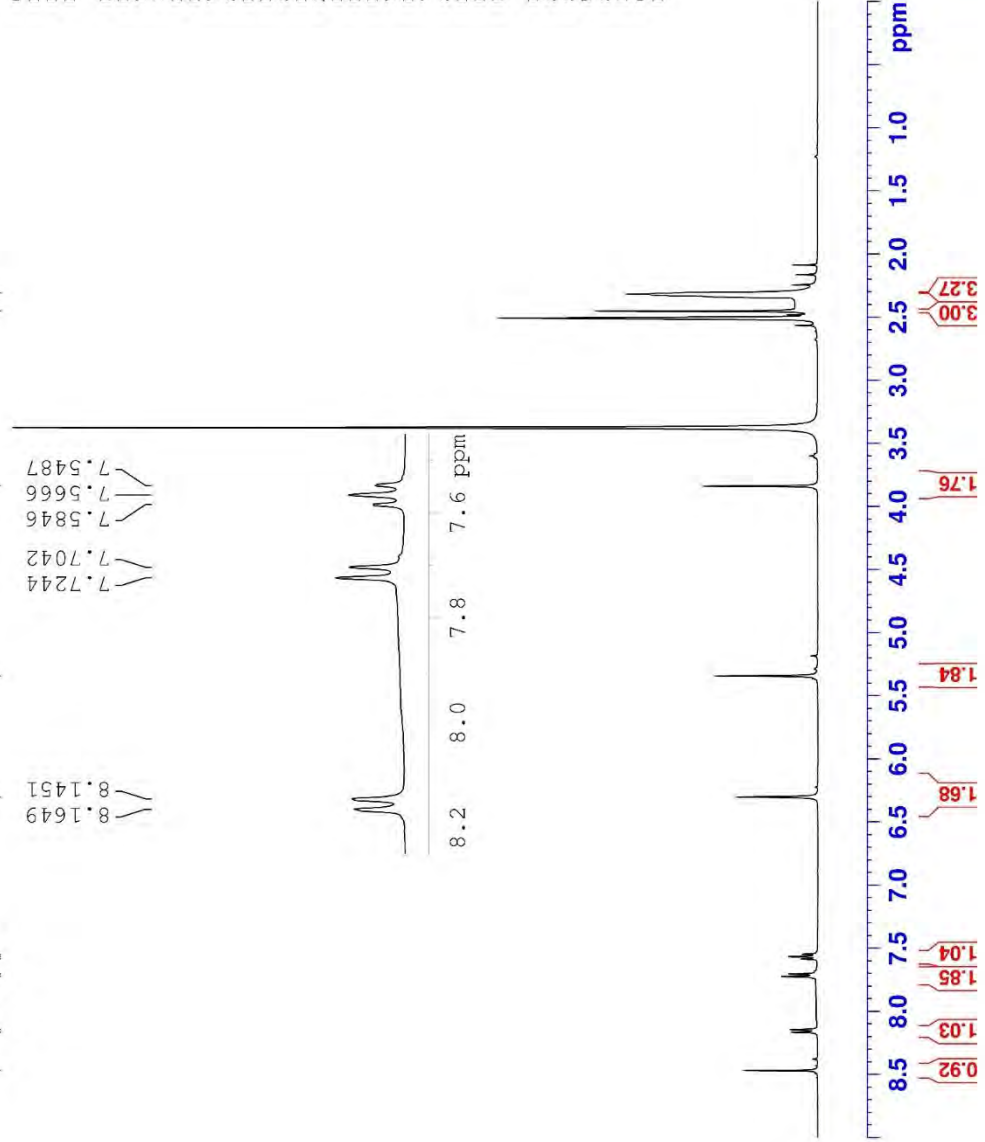
2.4521  
2.3076

3.8383  
7.5487  
7.5666  
7.5846  
7.7042  
7.7244

5.3424

6.3021  
8.1451  
8.1649

8.4693  
8.1649  
8.1451  
7.7244  
7.7042  
7.5846  
7.5666  
7.5487



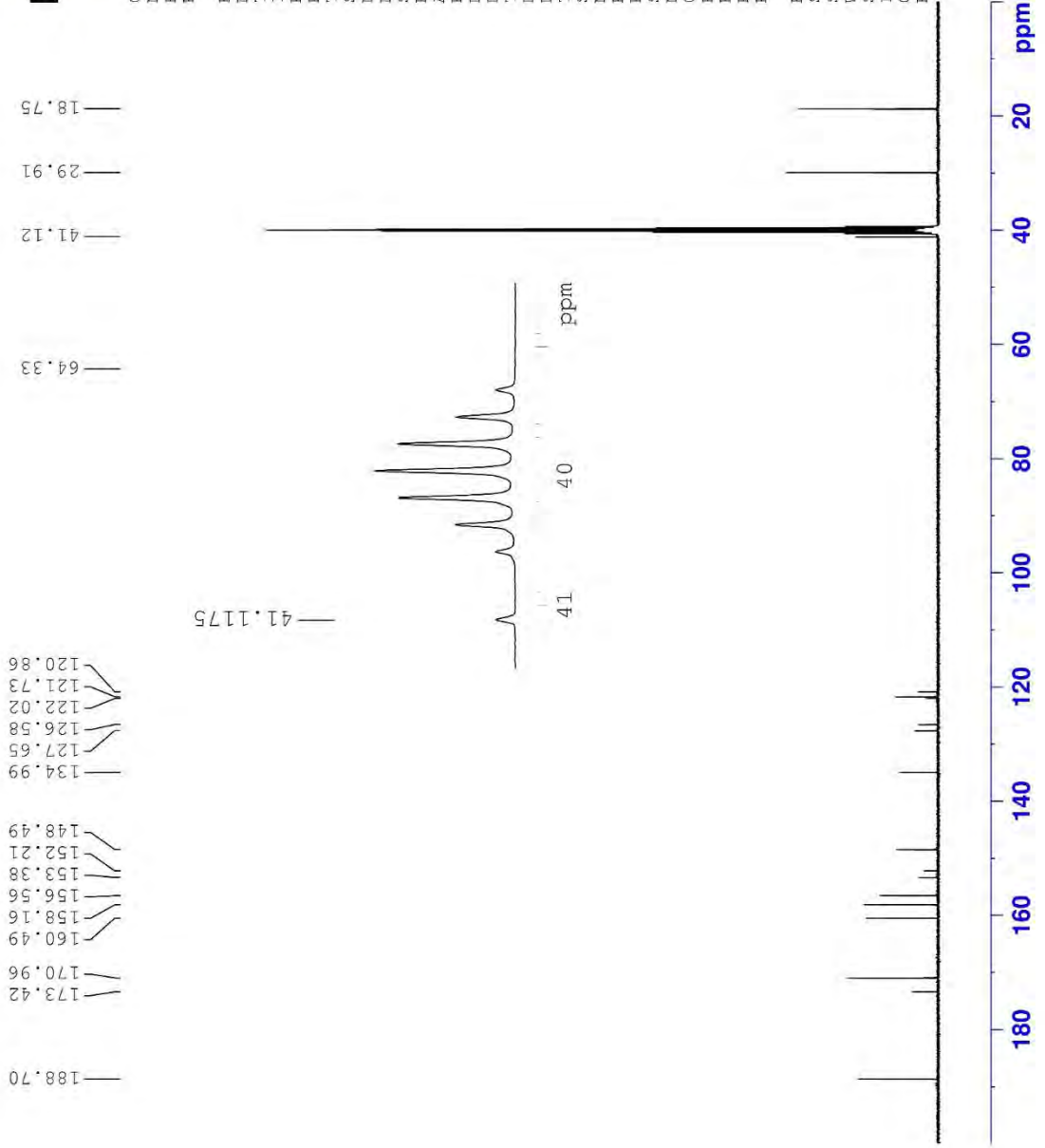
Şekil 5.106. Bileşik 8t'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Current Data Parameters  
NAME D-FAT-J-9\_2  
EXPNO 11  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20220513  
Time 2.33 h  
INSTRUM spect  
PROBHD Z866401\_0004 ( 2pgp30  
PULPROG zgpg30  
TD 65536  
SOLVENT DMSO  
NS 4096  
DS 4  
SWH 24038.461 Hz  
FIDRES 0.733596 Hz  
AQ 1.3631488 sec  
RG 42.75  
DW 20.800 usec  
DE 6.50 usec  
TE 295.7 K  
D1 2.00000000 sec  
D11 0.03000000 sec  
TD0 1  
SFO1 100.6228298 MHz  
NUC1 13C  
P1 15.00 usec  
PLW1 90.29699707 W  
SFO2 400.1316005 MHz  
NUC2 1H  
CPDPRG[2] waltz16  
PCPD2 90.00 usec  
PLW2 10.94900036 W  
PLW12 0.08651100 W  
PLW13 0.04351400 W

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 100.6127690 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40



Şekil 5.107. Bileşik 8t'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-J-9\_5 lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 5   | 40  | O    | 2    | 0   | 3   | S    | 2    | 1   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 5   | 30  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 0   | 10  | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

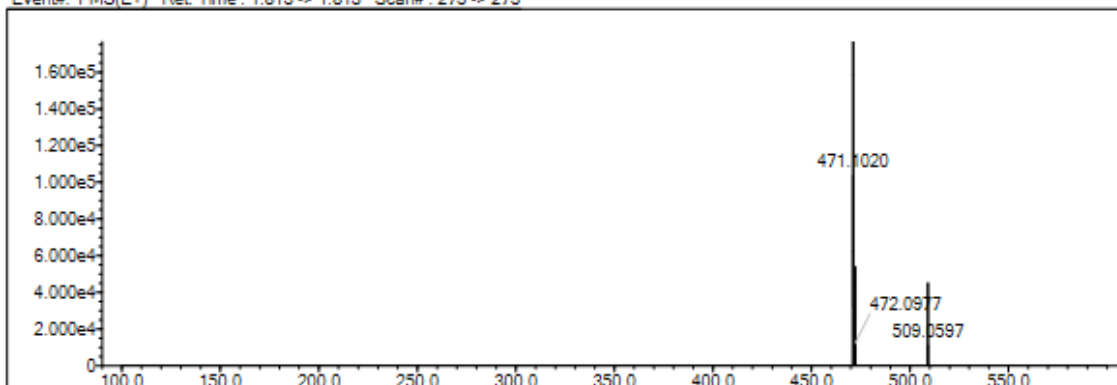
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

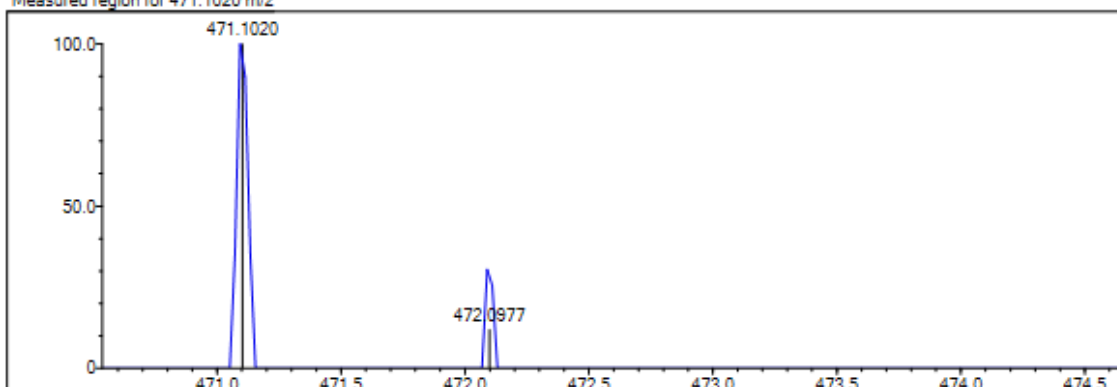
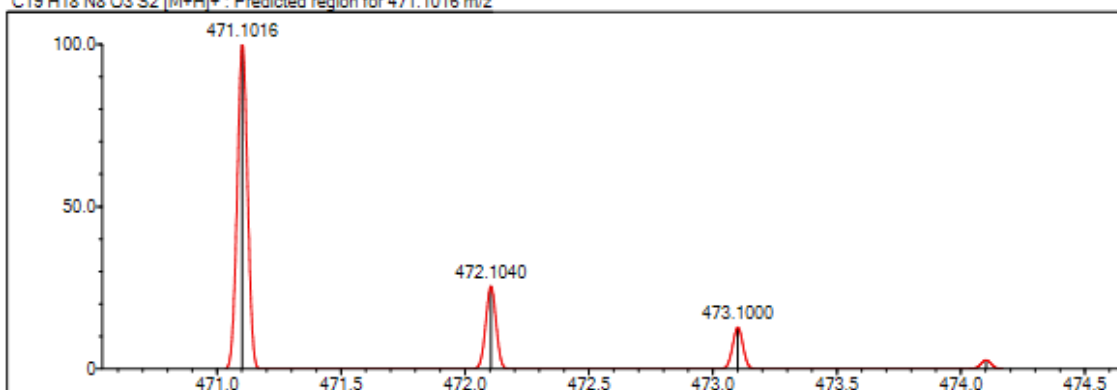
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 1.813 -&gt; 1.813 Scan#: 273 -&gt; 273



Measured region for 471.1020 m/z

C19 H18 N8 O3 S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 471.1016 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso  | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|------|
| 2    | 0.00  | C19 H18 N8 O3 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 471.1020  | 471.1016  | 0.4       | 0.85      | 0.00 | 15.0 |

Şekil 5.108. Bileşik 8t'ya ait HRMS spektrumu



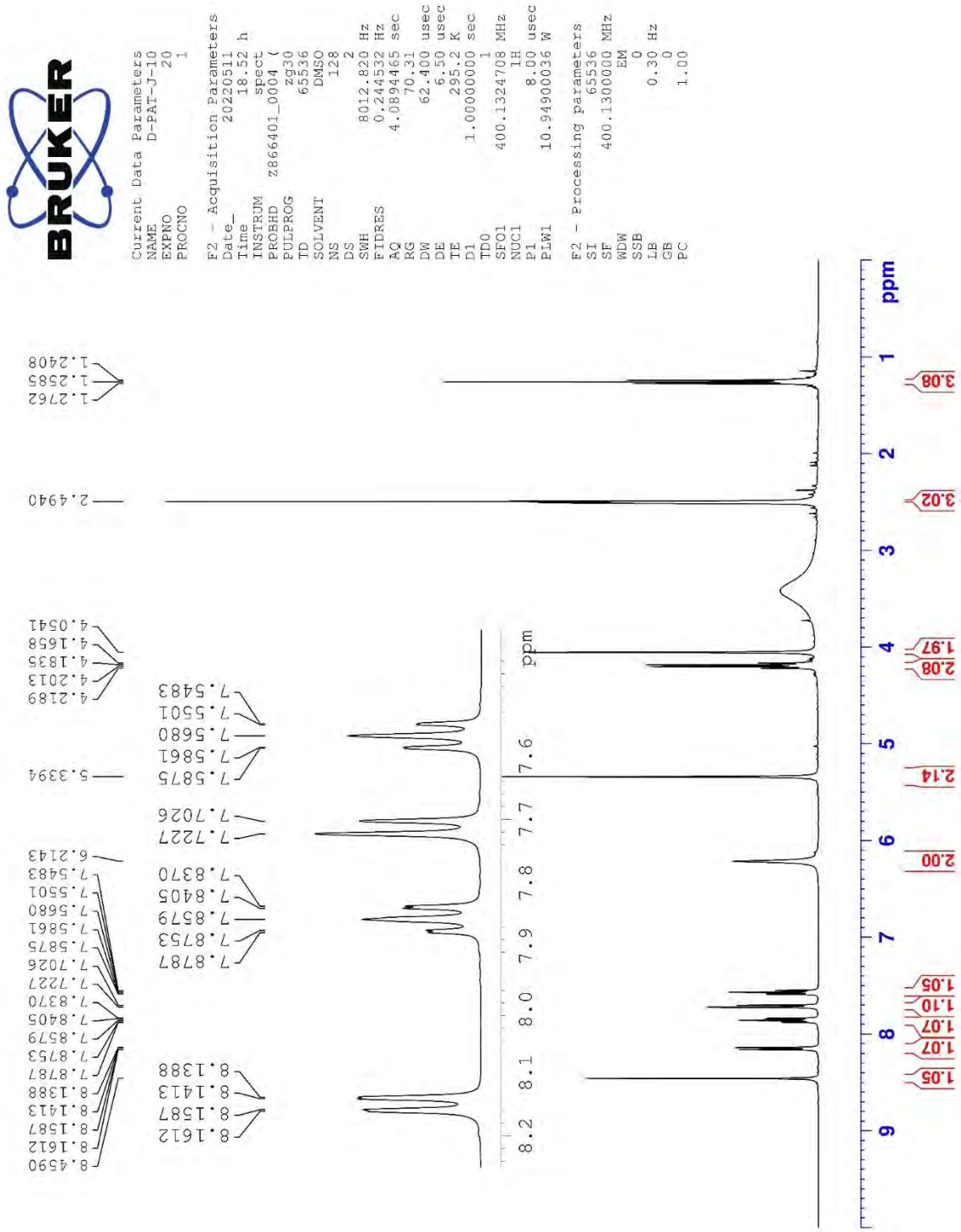
**5.2.8.21. Etil 2-(2-((4-(4-amino)-5-((4-oksookinazolin-3(4H)-il)metil)-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo)asetamido)-4-metiltiyazol-5-karboksilat (8u)**

Görünüm: Kirli beyaz toz. E.n: 216-217°C

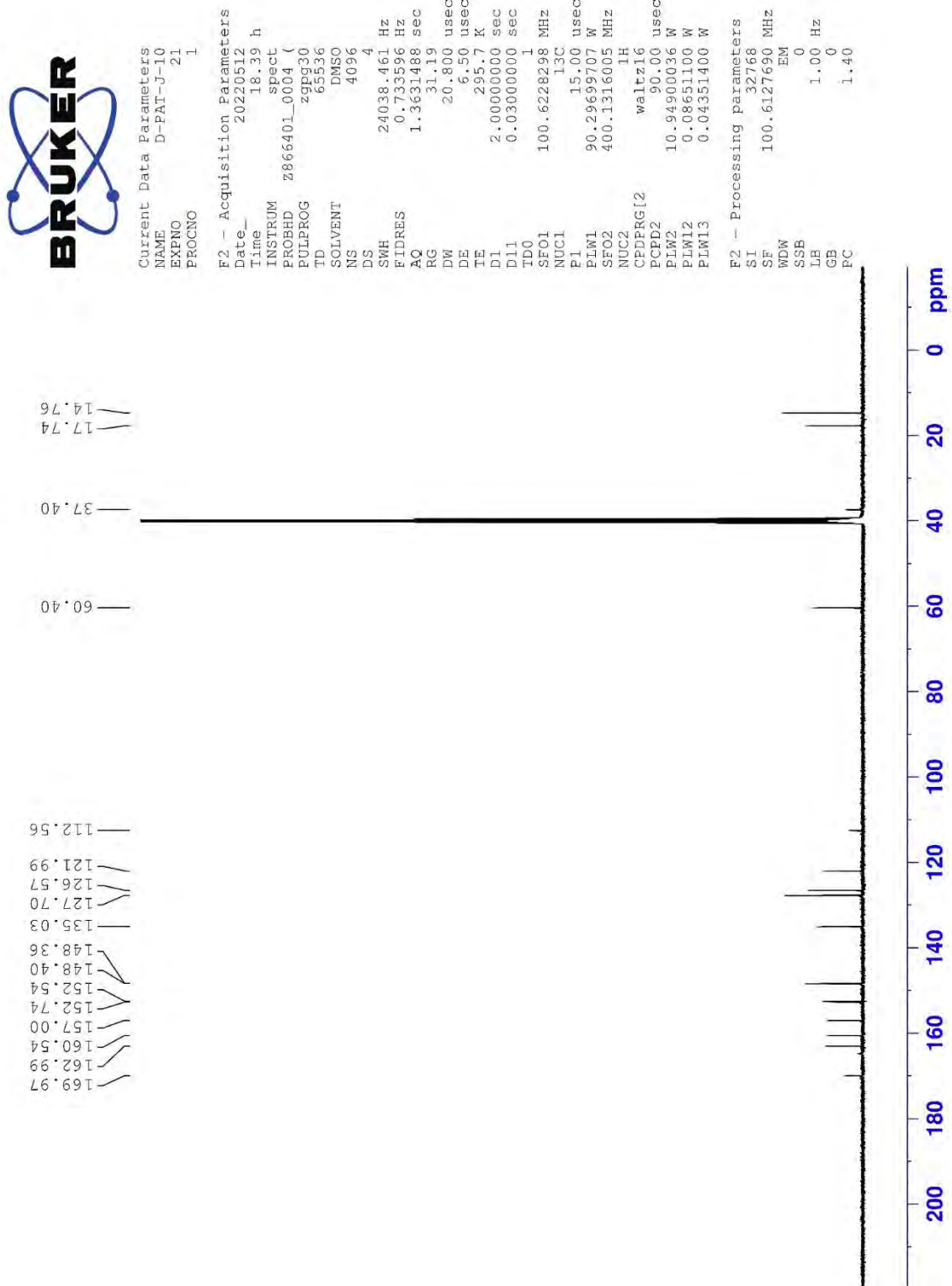
**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 1.26 (t, *J*=7.10 Hz, 3H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.49 (s, 3H, tiyazol CH<sub>3</sub>), 4.05 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 4.19 (q, *J*<sub>1</sub>=7.06 Hz, *J*<sub>2</sub>=14.19 Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.34 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.21 (brs, 2H, N-NH<sub>2</sub>), 7.57 (td, *J*<sub>1</sub>= 0.61 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.52 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.71 (d, *J*= 8.05 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.86 (td, *J*<sub>1</sub>=1.36 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.66 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.01 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.96 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.46 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 14.76, 17.74, 37.40, 60.40, 112.56, 121.99, 126.57, 127.70, 135.03, 148.36, 148.40, 152.54, 152.74, 157.00, 160.54, 162.99 (tiyazol C=O), 169.97 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 501.1122, bulunan: 501.1122.



Şekil 5.109. Bileşik 8u'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.110. Bileşik 8u'ya ait  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Lyuttas\D-PAT-J-10\_43.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 8   | 40  | O    | 2    | 0   | 4   | S    | 2    | 2   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 9   | 40  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 2   | 8   | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

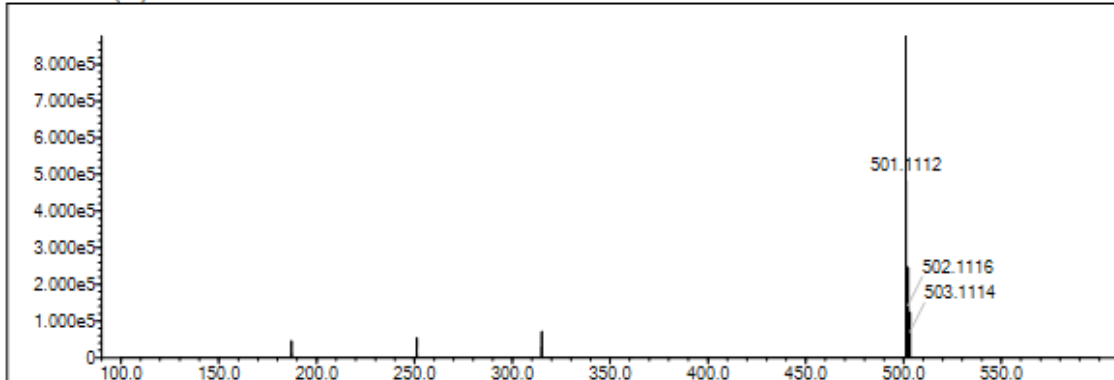
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

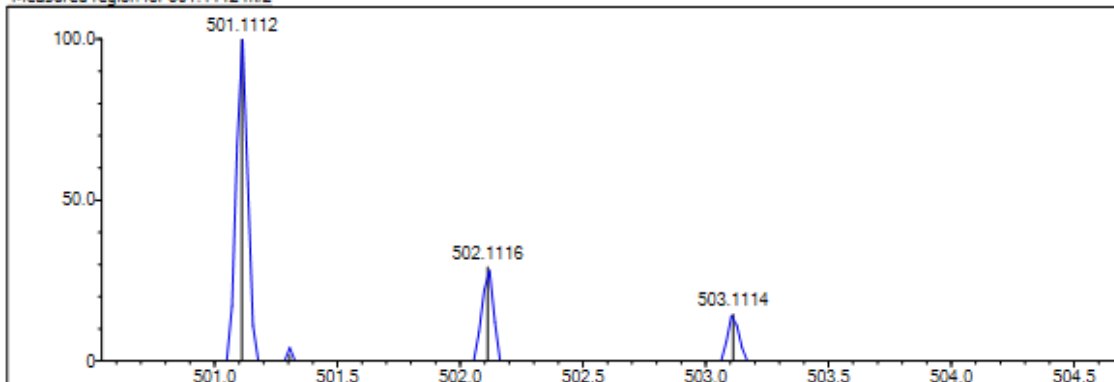
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

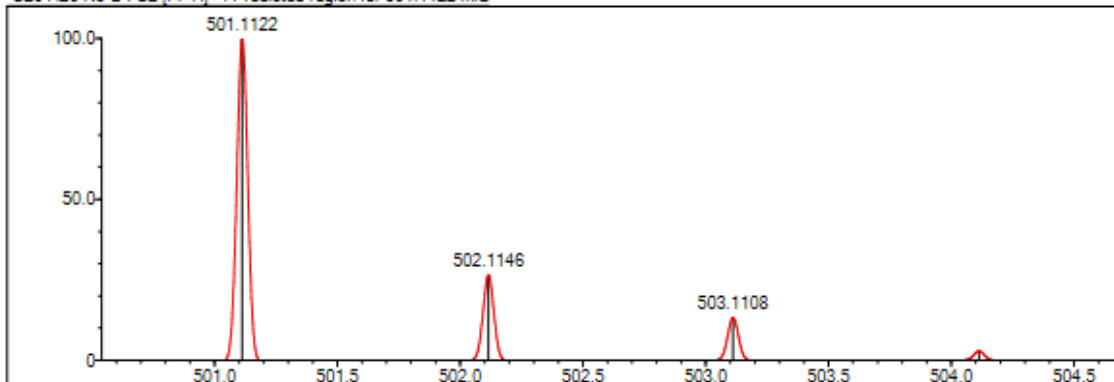
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.013 -&gt; 2.013 Scan#: 303 -&gt; 303



Measured region for 501.1112 m/z



C20 H20 N8 O4 S2 [M+H]+ : Predicted region for 501.1122 m/z



| Rank | Score | Formula (M)      | Ion    | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 96.51 | C20 H20 N8 O4 S2 | [M+H]+ | 501.1112  | 501.1122  | -1.0      | -2.00     | 98.99 | 15.0 |

Şekil 5.111. Bileşik 8u'ya ait HRMS spektrumu

**5.2.8.22. Etil 2-(2-{2-[(4-{4-amino}-5-{[4-oksokinazolin-3(4H)-il]metil}-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]asetamido}tiyazol-4-il)asetat (8v)**

Görünüm: Beyaz toz. E.n: 222-223°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 1.17 (t, *J*=7.12 Hz, 3H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.68 (s, 2H, tiyazol-CH<sub>2</sub>-C=O), 4.07 (q, *J*<sub>1</sub>=7.11 Hz, *J*<sub>2</sub>=14.27 Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.17 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.33 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 6.12 (brs, 2H, N-NH<sub>2</sub>), 6.99 (s, H, tiyazol H<sub>5</sub>), 7.57 (td, *J*<sub>1</sub>=1.03 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.56 Hz, H, kinazolin H<sub>6</sub>), 7.71 (d, *J*=7.86 Hz, H, kinazolin H<sub>8</sub>), 7.86 (td, *J*<sub>1</sub>=1.49 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.67 Hz, H, kinazolin H<sub>7</sub>), 8.15 (dd, *J*<sub>1</sub>=1.24 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.99 Hz, H, kinazolin H<sub>5</sub>), 8.45 (s, H, kinazolin H<sub>2</sub>), 12.43 (brs, H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 14.55, 34.86, 37.09, 40.10, 60.78, 111.07, 121.98, 126.57, 127.71, 135.06, 144.20, 148.34, 148.35, 152.36, 152.72, 157.85, 160.57, 162.53, 166.74 (C=O), 170.44 (tiyazol C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 501.1122, bulunan: 501.1127



Current Data Parameters  
 NAME D-FAT-J-11  
 EXPNO 10  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20220511  
 Time 18.25 h  
 INSTRUM spect  
 PROBHD zg30  
 PULPROG zg30  
 ID 65536  
 SOLVENT DMSO  
 NS 128  
 DS 2  
 SWH 8012.820 Hz  
 FIDRES 0.244532 Hz  
 AQ 4.0894465 sec  
 RG 88.37  
 DW 62.400 usec  
 DE 6.50 usec  
 TE 295.3 K  
 D1 1.00000000 sec  
 TD0 1  
 SFO1 400.1324708 MHz  
 NUC1 1H  
 P1 8.00 usec  
 PLW1 10.94900036 W

F2 - Processing parameters  
 SI 65536  
 SF 400.1300000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

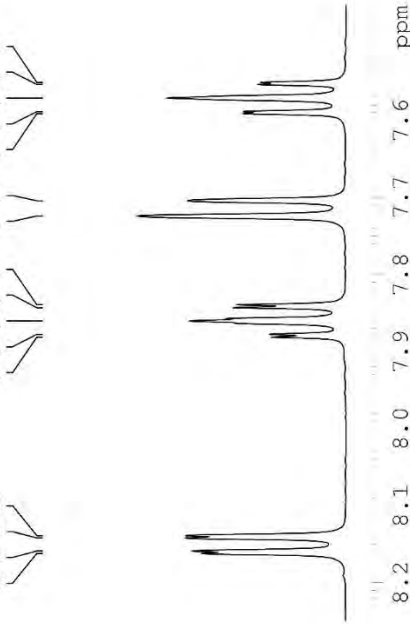
1.1885  
 1.1707  
 1.1529

4.1673  
 4.0969  
 4.0791  
 4.0613  
 4.0436  
 3.6760

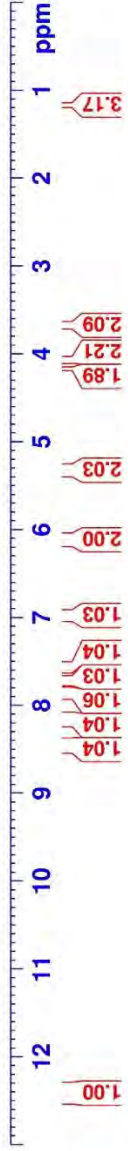
8.4528  
 8.1620  
 8.1589  
 8.1421  
 8.1390  
 7.8814  
 7.8776  
 7.8604  
 7.8431  
 7.8393  
 7.7241  
 7.7044  
 7.5910  
 7.5885  
 7.5709  
 7.5533  
 7.5507  
 6.9848  
 6.1234  
 5.3340

8.1620  
 8.1589  
 8.1421  
 8.1390

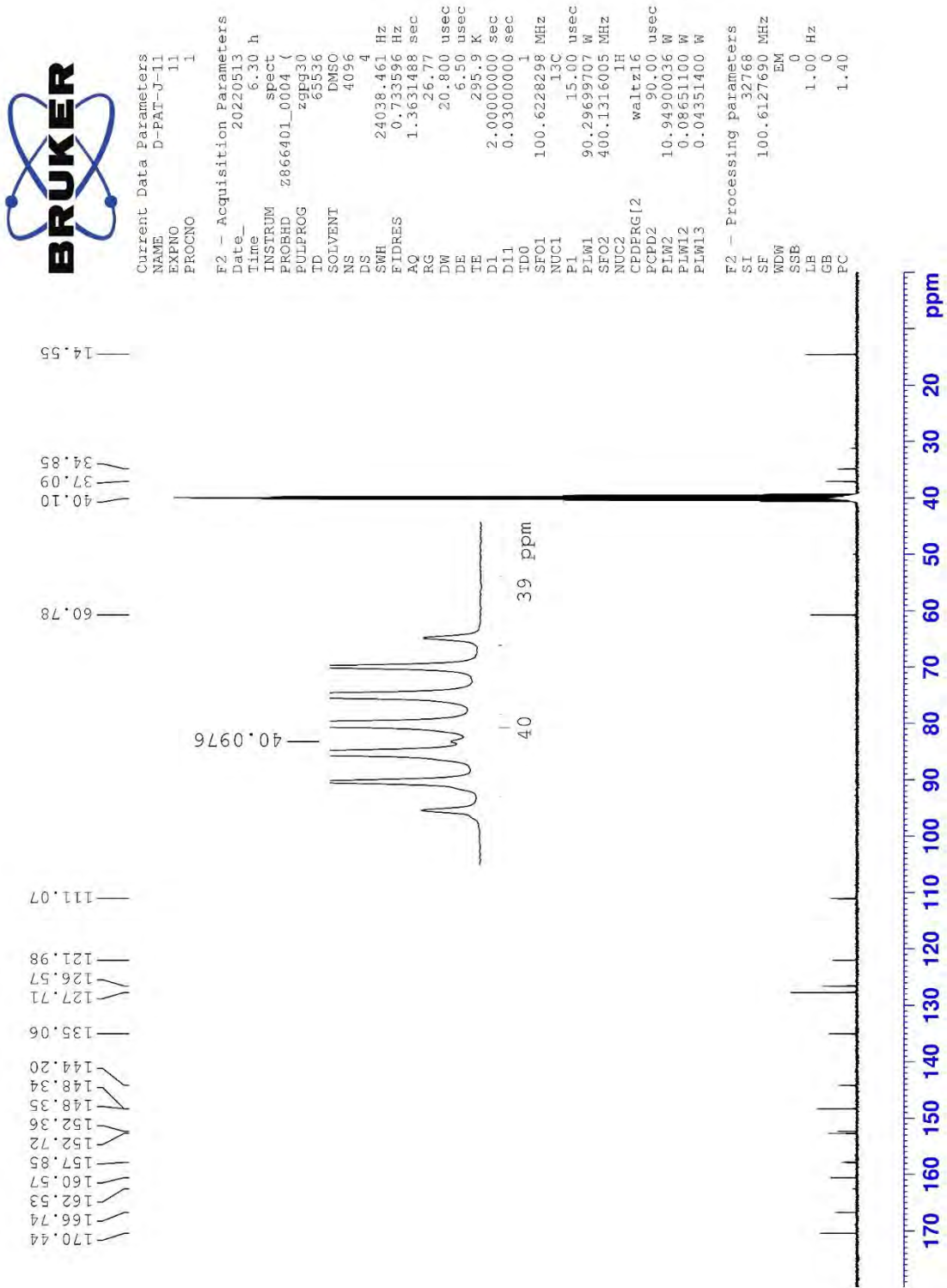
7.8814  
 7.8776  
 7.8604  
 7.8431  
 7.8393  
 7.7241  
 7.7044  
 7.5910  
 7.5885  
 7.5709  
 7.5533  
 7.5507



8.2 8.1 8.0 7.9 7.8 7.7 7.6 ppm



Şekil 5.112. Bileşik 8v'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.113. Bileşik 8v'ya ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Lyuttas\ID-PAT-J-11\_44.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 8   | 40  | O    | 2    | 0   | 4   | S    | 2    | 2   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 9   | 40  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 2   | 8   | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

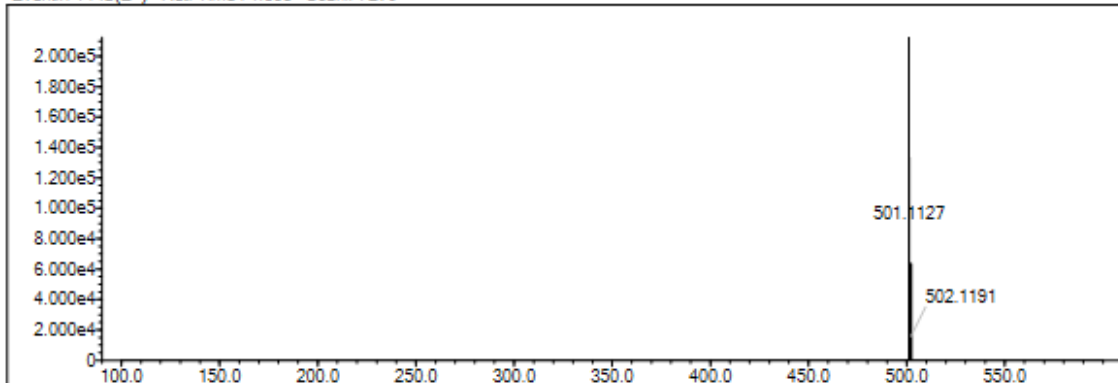
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

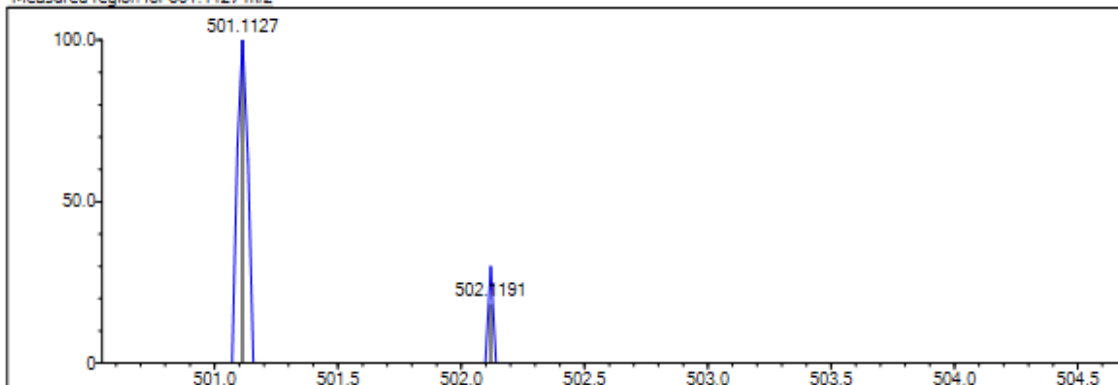
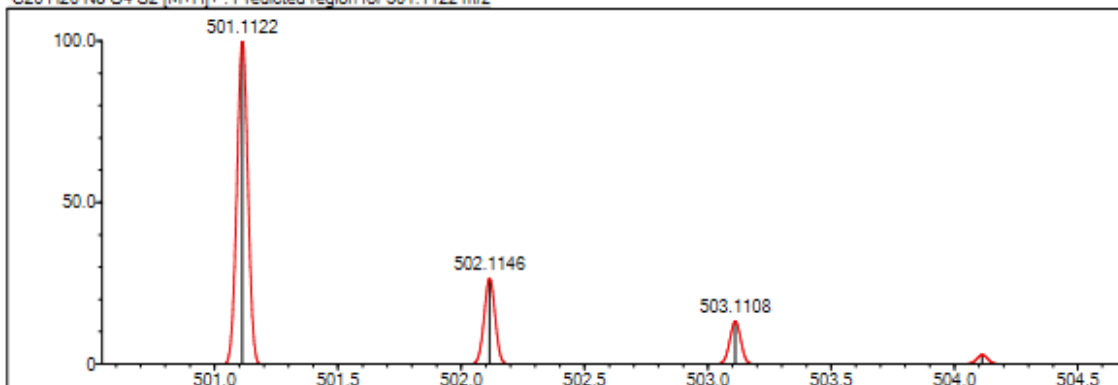
Isotope Res: 9000

Max Results: 200

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.853 Scan#: 279



Measured region for 501.1127 m/z

C20 H20 N8 O4 S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 501.1122 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso  | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|------|
| 1    | 0.00  | C20 H20 N8 O4 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 501.1127  | 501.1122  | 0.5       | 1.00      | 0.00 | 15.0 |

Şekil 5.114. Bileşik 8v'ya ait HRMS spektrumu



**5.2.8.23. 2-(4-[4-Metoksifenil]-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4H-1,2,4-triazol-3-il}thio)-N-(tiyazol-2-il) asetamit (13a)**

Görünüm: Sarı toz. E.n: 219-220°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3.73 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.22 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.25 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 6.93 (d, *J*= 8.86 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.15 (d, *J*= 3.52 Hz, H, tiyazol H<sub>5</sub>), 7.22 (d, *J*= 7.59 Hz, H, tiyazol H<sub>4</sub>), 7.42-7.47 (m, 7H, fenil H<sub>2,6</sub>, kinolin H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>7</sub>), 8.30 (d, *J*= 8.28 Hz, H, kinolin H<sub>4</sub>), 8.86-8.87 (m, H, kinolin H<sub>2</sub>), 12.43 (brs, H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 36.54 (S-CH<sub>2</sub>), 55.93 (OCH<sub>3</sub>), 61.20 (N-CH<sub>2</sub>), 111.93, 113.52, 115.08, 121.52, 122.38, 125.29, 127.01, 127.25, 129.01, 129.53, 136.31, 138.02, 140.28, 149.80, 152.47, 152.53, 153.62, 160.09, 160.49, 166.83 (C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>26</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 505.1111, bulunan: 505.1094.



Current Data Parameters  
NAME D-PAT-Q-H-1  
EXPNO 7  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

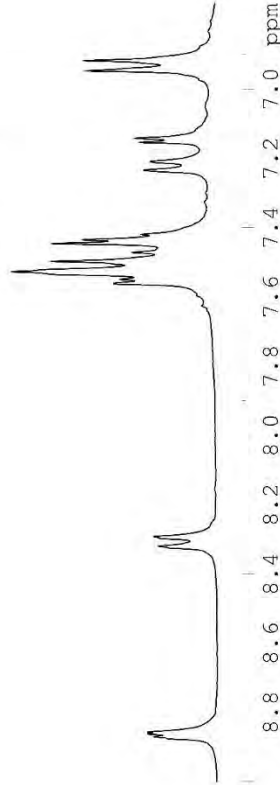
Date\_ 20220413  
Time 17.12  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 16.8568  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 298.1 K  
D1 3.0000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.0000000 W

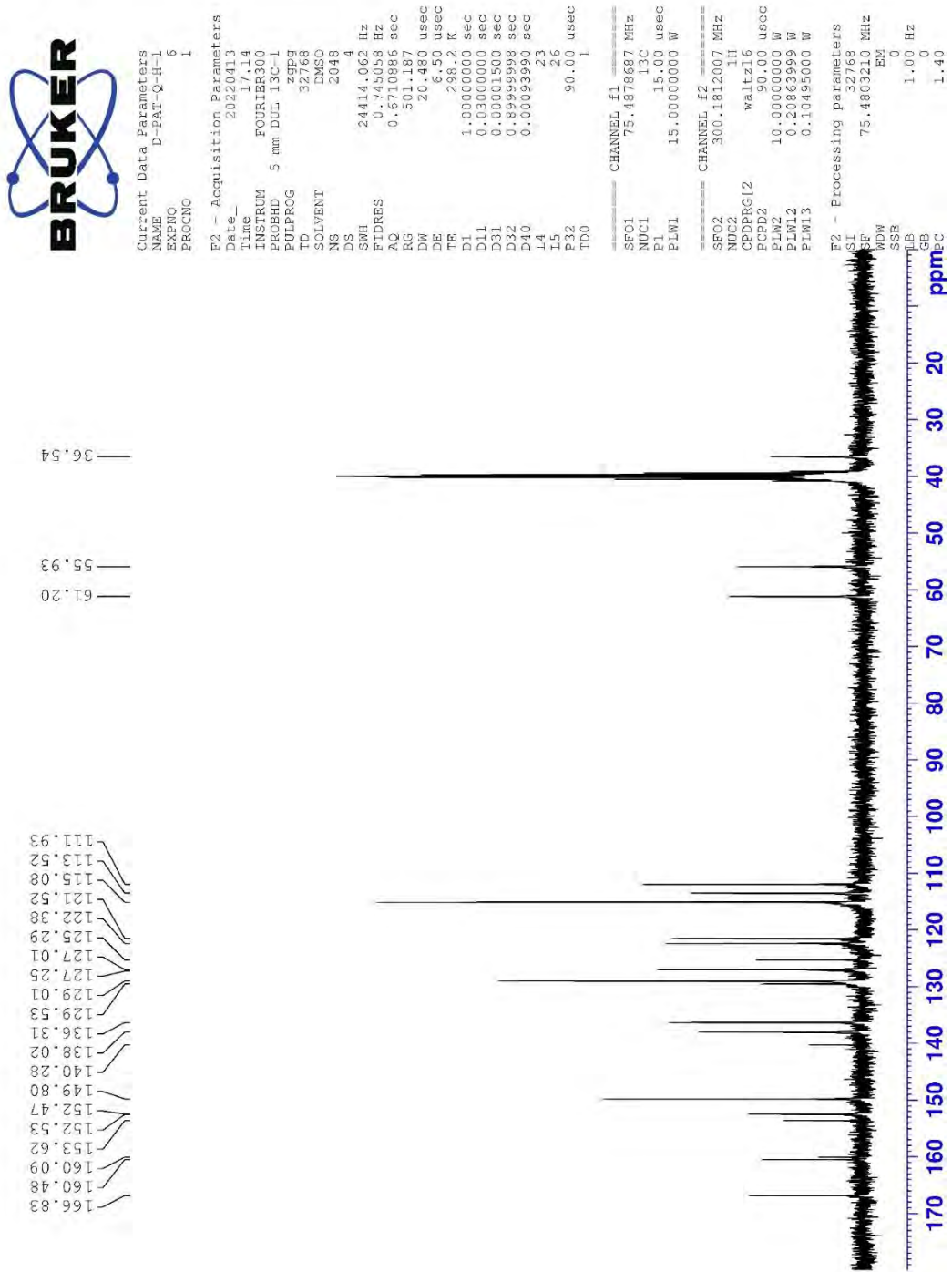
F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00

8.8700  
8.8618  
8.8566  
8.3193  
8.2917  
7.5609  
7.5487  
7.5265  
7.4967  
7.4711  
7.4455  
7.4342  
7.4188  
7.2333  
7.2082  
7.1528  
7.1411  
7.082  
6.9464  
6.9170  
5.2513  
3.7288

8.8700  
8.8618  
8.8566  
8.3193  
8.2917  
7.5609  
7.5487  
7.5265  
7.4967  
7.4711  
7.4455  
7.4342  
7.4188  
7.2333  
7.2082  
7.1528  
7.1411  
7.082  
6.9464  
6.9170



Şekil 5.115. Bileşik 13a'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Şekil 5.116. Bileşik 13a'ya ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-Q-H-1\_211.lcd

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 5   | 35  | O    | 2    | 0   | 6   | S    | 2    | 0   | 3   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 5   | 30  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 0   | 6   | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 8.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

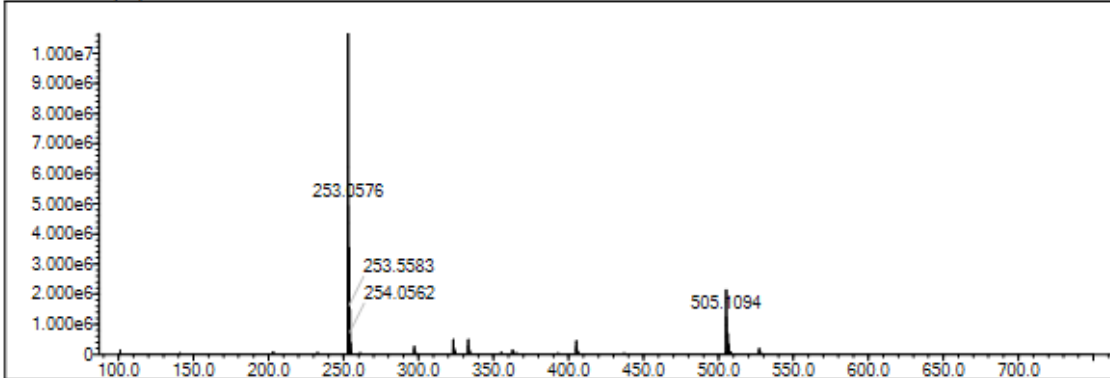
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

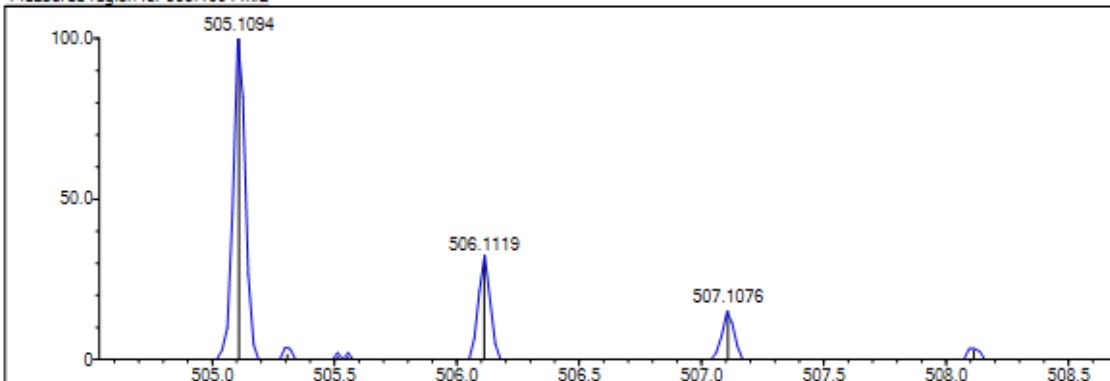
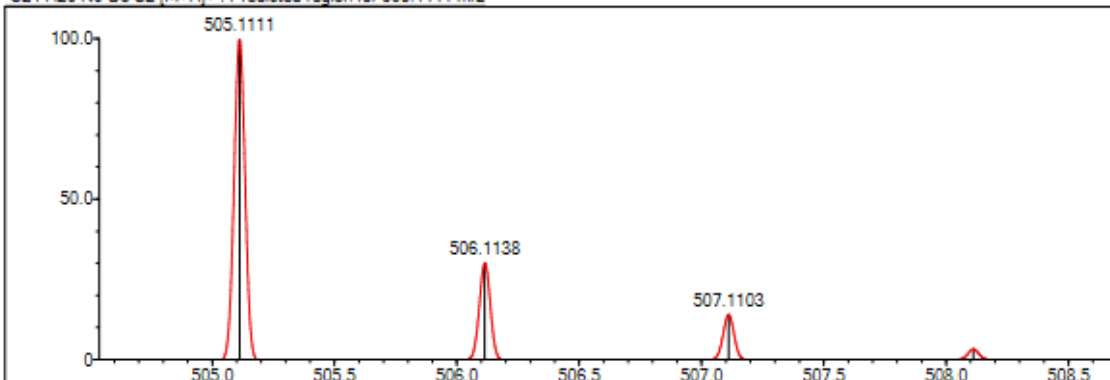
Isotope Res: 9000

Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 0.627 -&gt; 0.627 Scan#: 95 -&gt; 95



Measured region for 505.1094 m/z

C24 H20 N6 O3 S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 505.1111 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 2    | 84.33 | C24 H20 N6 O3 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 505.1094  | 505.1111  | -1.7      | -3.37     | 89.64 | 18.0 |

Şekil 5.117. Bileşik 13a'ya ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu

**5.2.8.24. 2-(*{4-[4-Metoksifenil]-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4H-1,2,4-triazol-3-il}*tiyo)-  
N-(5-asetil-4-metiltiyazol-2-il) asetamit (13b)**

Görünüm: Açık sarı toz. E.n: 280-281°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 2.30 (s, 3H, tiyazol CH<sub>3</sub>), 2.43 (s, 3H, O=C-CH<sub>3</sub>), 3.75 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.02 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.25 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 6.95 (d, *J*= 8.97 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.24 (dd, *J*<sub>1</sub>= 1.12 Hz, *J*<sub>2</sub>=7.65 Hz, H, kinolin H<sub>7</sub>), 7.46 (t, *J*= 7.92 Hz, H, kinolin H<sub>6</sub>), 7.49-7.57 (m, 4H, fenil H<sub>2,6</sub>, kinolin H<sub>3</sub> ve kinolin H<sub>5</sub>), 8.32 (dd, *J*<sub>1</sub>= 1.70 Hz, *J*<sub>2</sub>=8.36 Hz, H, kinolin H<sub>4</sub>), 8.87 (dd, *J*<sub>1</sub>= 1.71 Hz, *J*<sub>2</sub>=4.18 Hz, H, kinolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 19.10 (tiyazol CH<sub>3</sub>), 30.57 (tiyazol O=C-CH<sub>3</sub>), 40.40 (S-CH<sub>2</sub>), 55.91 (O-CH<sub>3</sub>), 61.23 (O-CH<sub>2</sub>), 111.94, 115.05, 121.47, 122.38, 125.59, 127.03, 129.05, 129.54, 136.32, 140.30, 149.79, 151.89, 153.66, 154.06, 156.40, 160.39, 172.27 (C=O), 189.4783 (tiyazol C=O).

**HRMS (-*m/z*): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>27</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 591.1479, bulunan: 591.1459.



Current Data Parameters  
NAME D-PAT-Q-H-2  
EXPNO 1  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20220413  
Time 15:09  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 17.5398  
DW 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 298.1 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PLW1 10.00000000 W

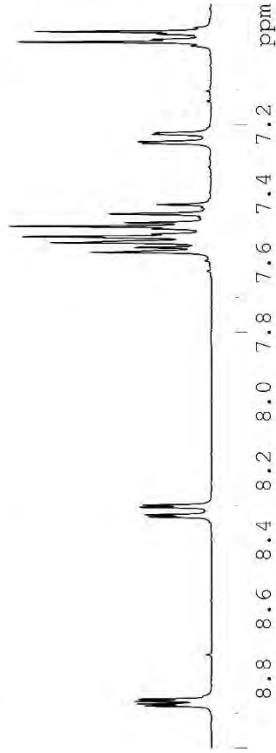
F2 - Processing parameters  
SI 6536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00

2.4271  
2.2972

4.0159  
3.7468

8.8782  
8.8725  
8.8644  
8.8587  
8.3321  
8.3264  
8.3043  
8.2986  
7.5682  
7.5544  
7.5405  
7.5227  
7.4929  
7.4830  
7.4573  
7.4303  
7.2529  
7.2491  
7.2273  
7.2236  
6.9608  
5.2490  
6.9309  
6.9608  
7.2236  
7.2273  
7.2491  
7.2529  
7.4303  
7.4573  
7.4830  
7.4929  
7.5227  
7.5405  
7.5544  
7.5682  
8.2986  
8.3043  
8.3264  
8.3321  
8.8587  
8.8644  
8.8725  
8.8782

8.8725  
8.8644  
8.8587  
8.3321  
8.3264  
8.3043  
8.2986  
7.5682  
7.5544  
7.5405  
7.5227  
7.4929  
7.4830  
7.4573  
7.4303  
7.2529  
7.2491  
7.2273  
7.2236  
6.9608



Şekil 5.118. Bileşik 13b'ye ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Current Data Parameters  
NAME D-PAT-Q-H-2  
EXPNO 2  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20220413  
Time 15.11  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zgpg  
TD 32768  
SOLVENT DMSO  
NS 2048  
DS 4  
SWH 24414.062 Hz  
FIDRES 0.745058 Hz  
AQ 0.6710886 sec  
RG 501.187  
DW 20.480 usec  
DE 6.50 usec  
TE 298.2 K  
D1 1.00000000 sec  
D11 0.03000000 sec  
D31 0.00001500 sec  
D32 0.89999998 sec  
D40 0.00093990 sec  
L4 23  
L5 26  
P32 90.00 usec  
TD0 1

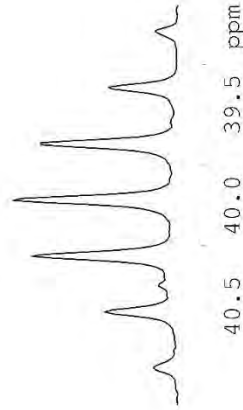
===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 75.4878687 MHz  
NUC1 13C  
P1 15.00 usec  
PLW1 15.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====  
SFO2 300.1812007 MHz  
NUC2 1H  
PCPD2 waltz16  
PCPD2 90.00 usec  
PLW2 10.00000000 W  
PLW2 0.28863999 W  
PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 75.4803210 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

189.48  
172.27  
160.39  
156.40  
154.06  
153.66  
151.89  
149.79  
140.30  
136.32  
129.54  
129.05  
127.03  
125.59  
122.38  
121.47  
115.05  
111.94

40.3962



61.23  
55.91  
40.40  
30.57  
19.10

180 160 140 120 100 80 60 40 20 ppm

Şekil 5.119. Bileşik 13b'ye ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-Q-H-2\_212 lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 5   | 35  | O    | 2    | 0   | 6   | S    | 2    | 0   | 3   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 5   | 30  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 0   | 6   | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 8.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

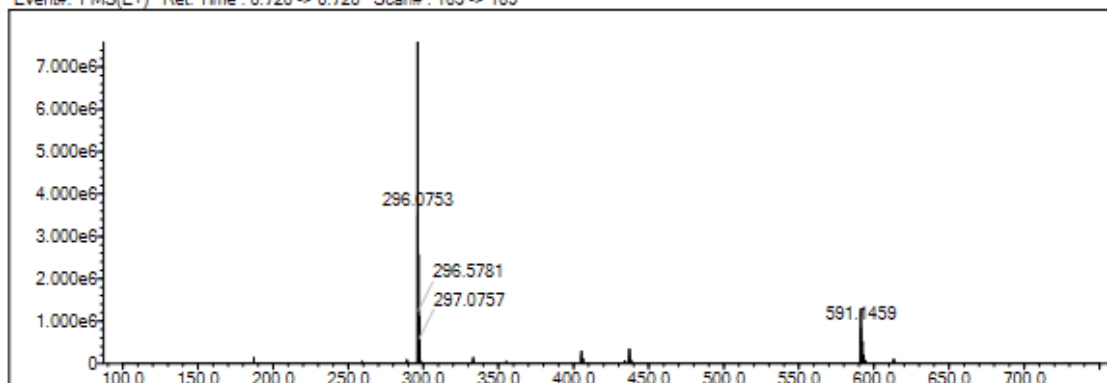
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

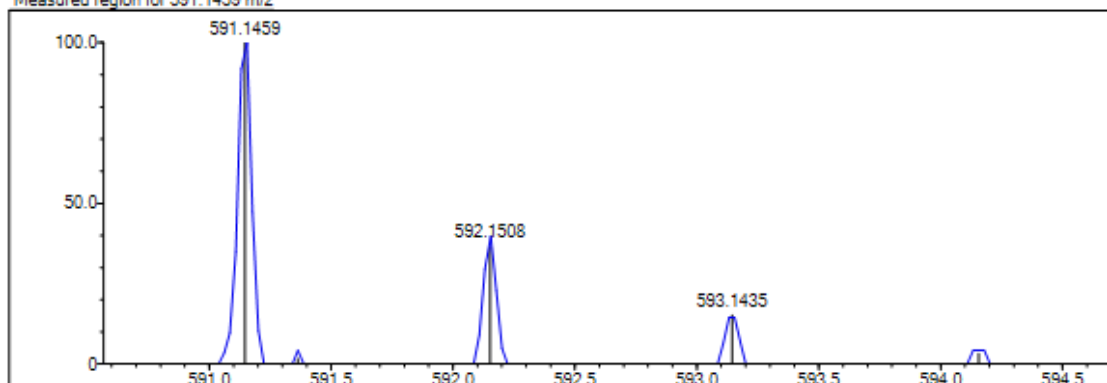
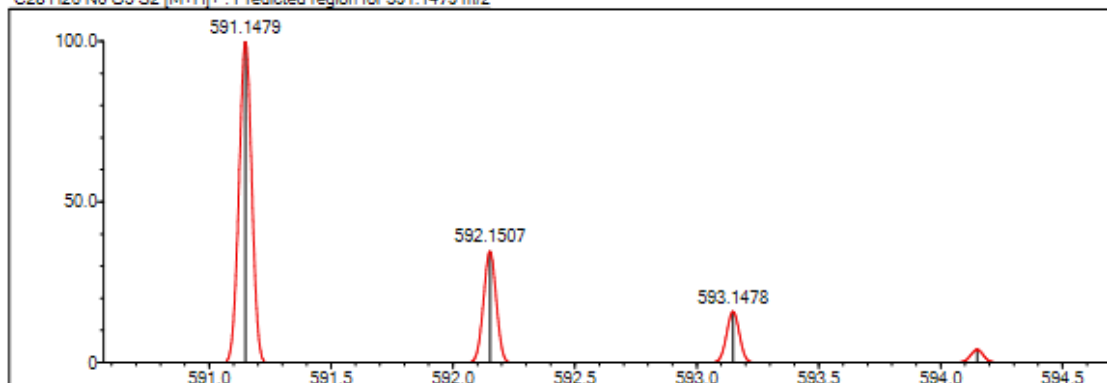
Isotope Res: 9000

Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 0.720 -&gt; 0.720 Scan#: 109 -&gt; 109



Measured region for 591.1459 m/z

C28 H26 N6 O5 S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 591.1479 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 84.68 | C28 H26 N6 O5 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 591.1459  | 591.1479  | -2.0      | -3.38     | 90.04 | 19.0 |

Şekil 5.120. Bileşik 13b'ye ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu



**5.2.8.25. Etil 2-[2-(4-(4-metoksifenil)-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo)asetamido]-4-metiltiyazol-5-karboksilat (13c)**

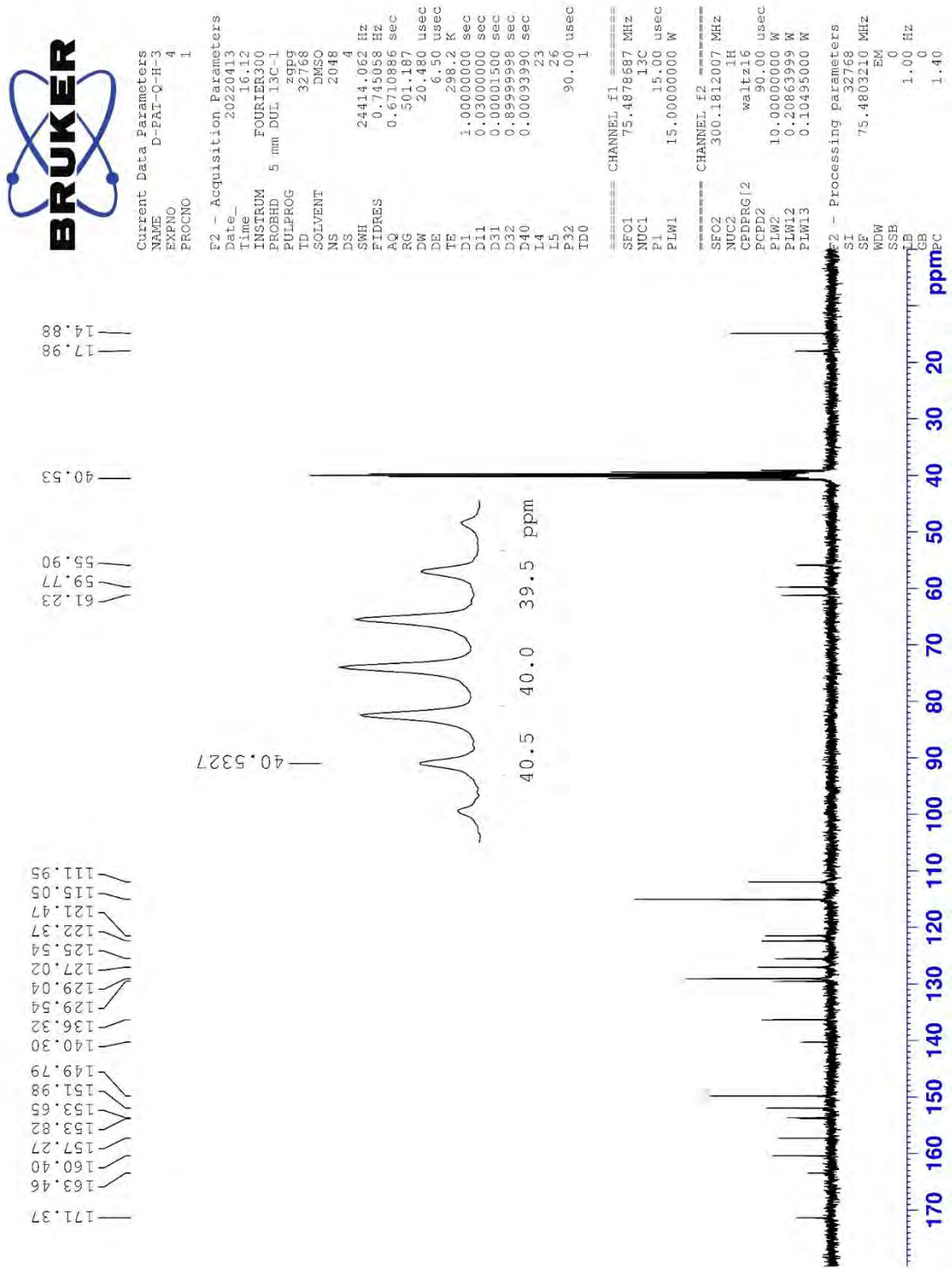
Görünüm: Kirlı beyaz toz. E.n: 296-297°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  1.24 (t,  $J$ =7.08 Hz, 3H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.43 (s, 3H, tiyazol CH<sub>3</sub>), 3.74 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.04 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 4.14 (q,  $J_1$ =7.05 Hz,  $J_2$ =14.16 Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.25 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 6.94 (d,  $J$ = 8.93 Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.23 (d,  $J$ =7.65 Hz, H, kinolin H<sub>7</sub>), 7.45 (t,  $J$ = 7.91 Hz, H, kinolin H<sub>6</sub>), 7.49-7.57 (m, 4H, fenil H<sub>2,6</sub>, kinolin H<sub>3</sub> ve kinolin H<sub>5</sub>), 8.31 (dd,  $J_1$ = 1.61 Hz,  $J_2$ =8.39 Hz, H, kinolin H<sub>4</sub>), 8.87 (dd,  $J_1$ = 1.65 Hz,  $J_2$ =4.11 Hz, H, kinolin H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 14.88 (O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 17.98 (tiyazol CH<sub>3</sub>), 40.53 (S-CH<sub>2</sub>), 55.90 (O-CH<sub>3</sub>), 59.78 (O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 61.23 (O-CH<sub>2</sub>), 111.95, 115.05, 121.47, 122.37, 125.54, 127.03, 129.04, 129.54, 136.32, 140.30, 149.79, 151.98, 153.65, 153.82, 157.27, 160.40, 163.46 (tiyazol C=O), 171.37 (C=O).

**HRMS (-m/z): [M+H]<sup>+</sup>:** C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 561.1355, bulunan: 561.1373.





Şekil 5.122. Bileşik 13c'ye ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-Q-H-3\_213 lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 5   | 35  | O    | 2    | 0   | 6   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 5   | 30  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 0   | 6   | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 8.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

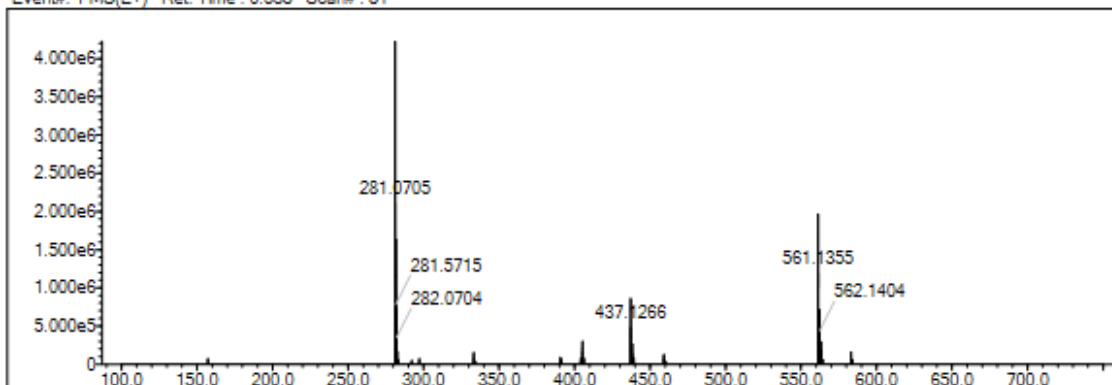
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

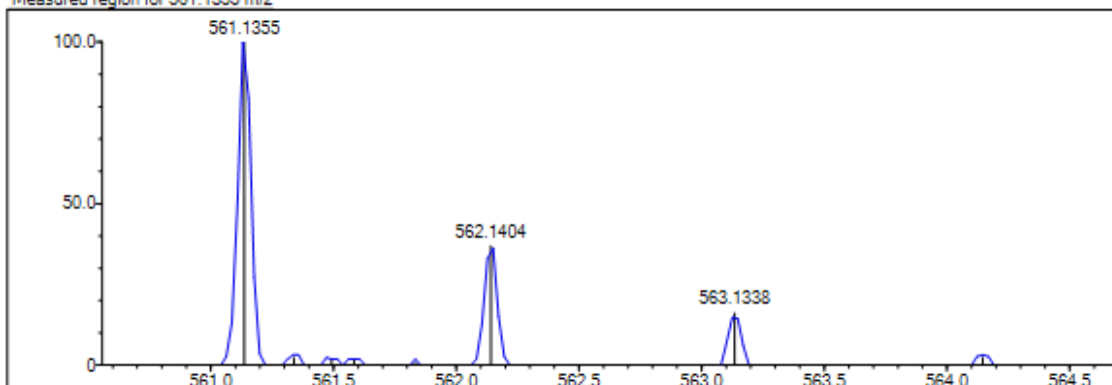
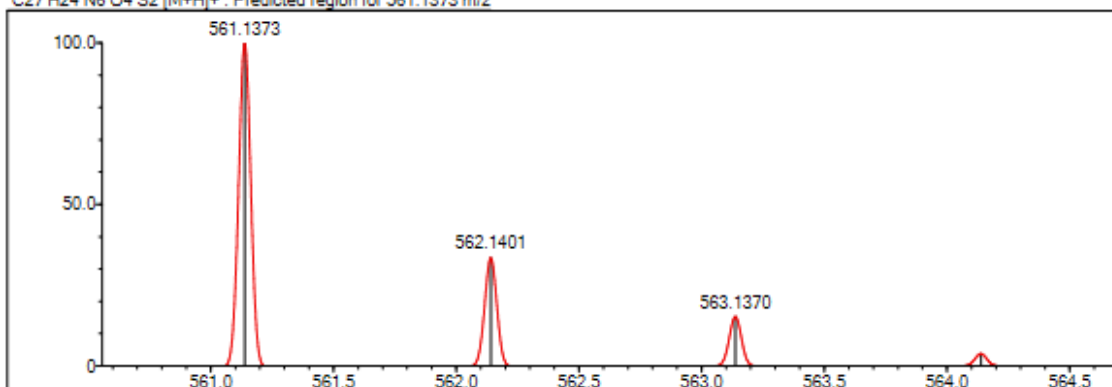
Isotope Res: 9000

Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 0.533 Scan#: 81



Measured region for 561.1355 m/z

C27 H24 N6 O4 S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 561.1373 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 2    | 81.62 | C27 H24 N6 O4 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 561.1355  | 561.1373  | -1.8      | -3.21     | 86.39 | 19.0 |

Şekil 5.123. Bileşik 13c'ye ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu

**5.2.8.26. Etil 2-[2-(2-{[4-(4-metoksifenil)-5-[(kinolin-8-iloksi)metil]-4H-1,2,4-triazol-3-il}tiyo}asetamido)tiyazol-4-il]asetat (13d)**

Görünüm: Kirli beyaz toz. E.n: 292-293°C

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  1.18 (td,  $J_1=1.64$  Hz,  $J_2=7.11$  Hz, 3H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.69 (s, 2H, tiyazol-CH<sub>2</sub>-C=O), 3.73 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.06 (qd,  $J_1=1.56$  Hz,  $J_2=1.63$  Hz,  $J_3=14.23$  Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.22 (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 5.25 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 6.93 (d,  $J=7.24$  Hz, 2H, fenil H<sub>3,5</sub>), 7.01 (s, H, tiyazol H<sub>5</sub>), 7.22 (d,  $J=7.71$  Hz, H, kinolin H<sub>7</sub>), 7.44 (td,  $J_1=1.42$  Hz,  $J_2=8.65$  Hz, H, kinolin H<sub>6</sub>), 7.49-7.56 (m, 4H, fenil H<sub>2,6</sub>, kinolin H<sub>3</sub> ve kinolin H<sub>5</sub>), 8.31 (d,  $J=8.35$  Hz, H, kinolin H<sub>4</sub>), 8.86 (d,  $J=4.11$  Hz, H, kinolin H<sub>2</sub>), 12.48 (brs, H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** 14.56 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 35.79 (tiyazol-CH<sub>2</sub>-CO), 37.11 (S-CH<sub>2</sub>), 55.93 (O-CH<sub>3</sub>), 60.79 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 61.19 (O-CH<sub>2</sub>), 111.12, 111.95, 115.09, 121.53, 122.38, 125.22, 127.00, 129.00, 129.53, 136.31, 140.28, 144.220, 149.80, 152.14, 152.59, 153.62, 160.51, 166.41 (C=O), 170.46 (tiyazol C=O).

**HRMS (-m/z): [M+2H]<sup>2+</sup>:** C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> için hesaplanan: 591.1479, bulunan: 591.1480.

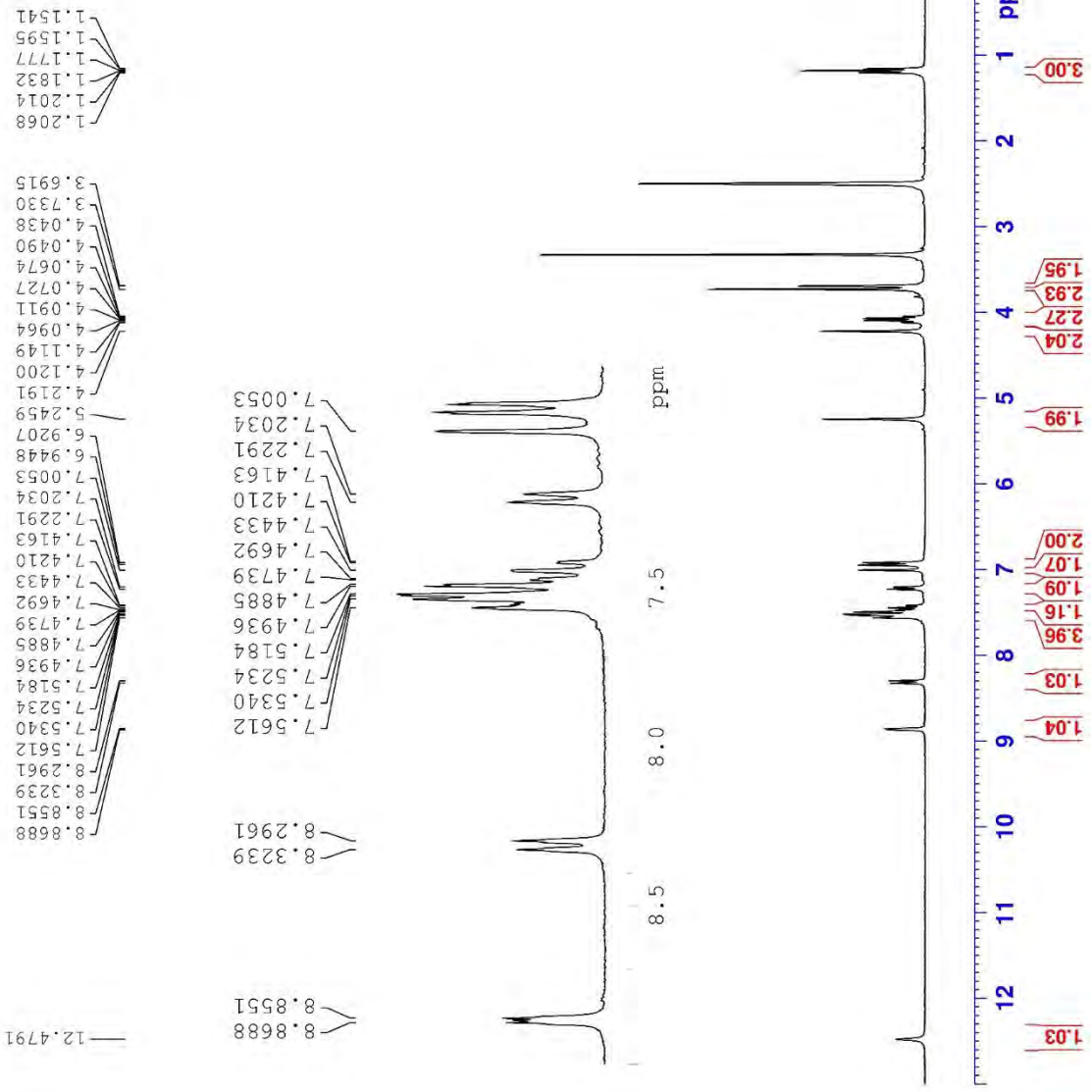


Current Data Parameters  
NAME D-PAI-Q-H-4  
EXPNO 1  
PROCNO 1

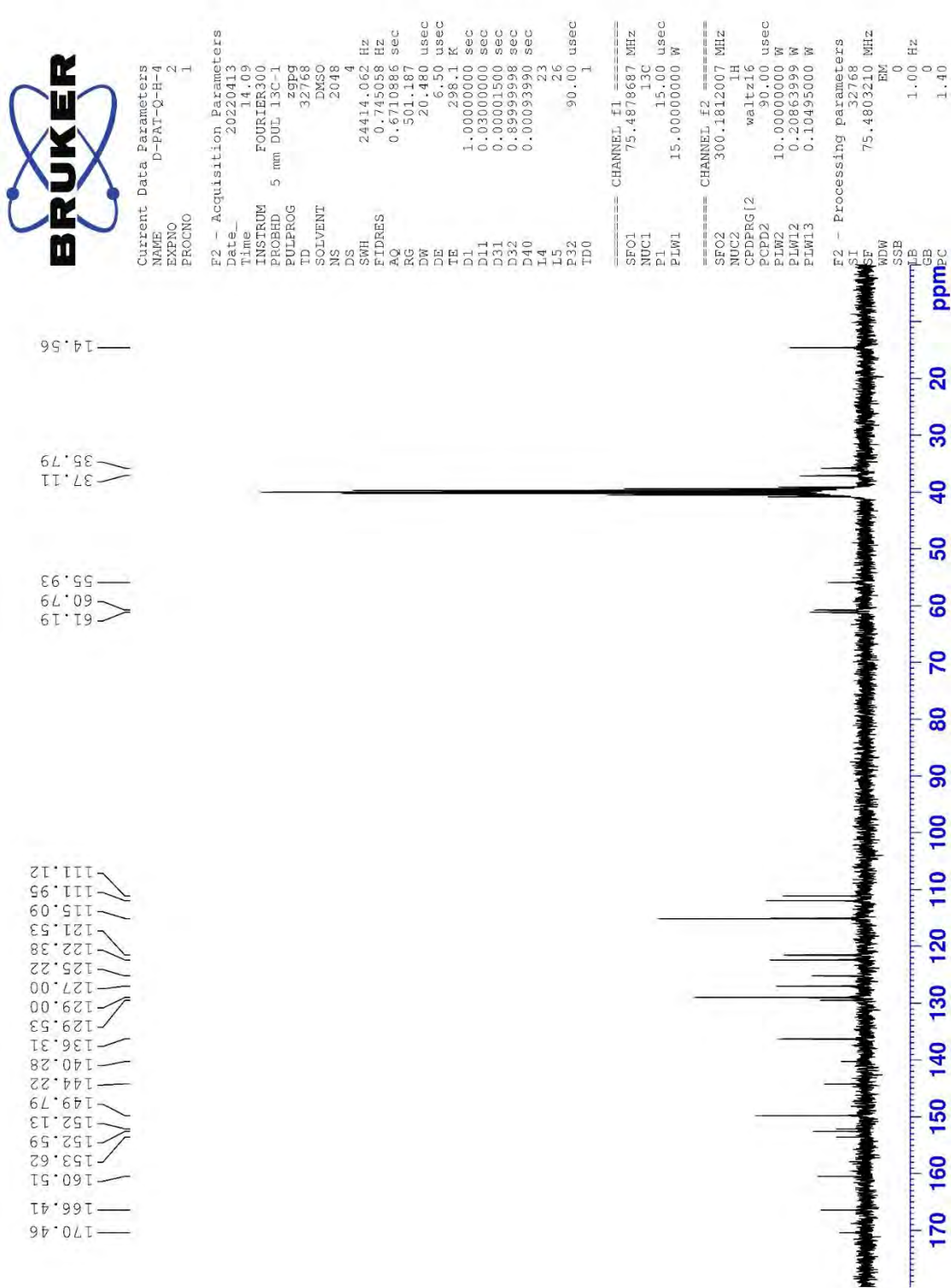
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20220413  
Time 14.07  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 16384  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.372529 Hz  
AQ 1.3421773 sec  
RG 51.17  
DM 81.920 usec  
DE 6.50 usec  
TE 298.2 K  
D1 3.00000000 sec  
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.1818537 MHz  
NUC1 1H  
P1 13.00 usec  
PL1 0.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.1800000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Şekil 5.124. Bileşik 13d'ye ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu



Şekil 5.125. Bileşik 13d'ye ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Asaf\D-PAT-Q-H-4\_214.lod

| Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Elmt | Val. | Min | Max | Use Adduct |
|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|------------|
| H    | 1    | 5   | 35  | O    | 2    | 0   | 6   | S    | 2    | 0   | 2   | Ru   | 2    | 0   | 0   | H          |
| C    | 4    | 5   | 30  | F    | 1    | 0   | 0   | Cl   | 1    | 0   | 0   | Pd   | 2    | 0   | 0   |            |
| N    | 3    | 0   | 6   | P    | 3    | 0   | 0   | Br   | 1    | 0   | 0   | I    | 3    | 0   | 0   |            |

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 8.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

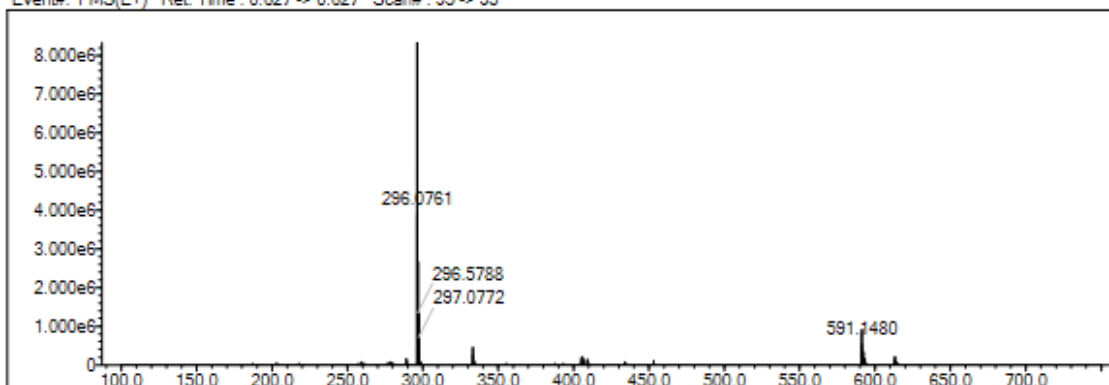
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

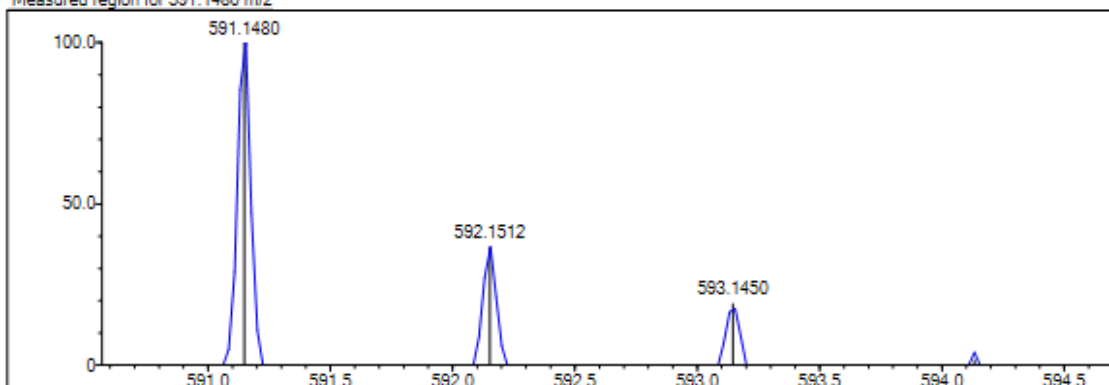
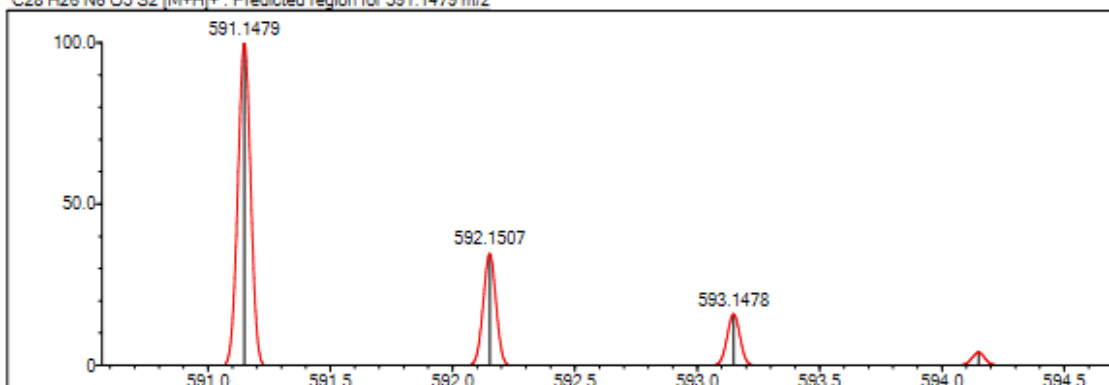
Isotope Res: 9000

Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 0.627 -&gt; 0.627 Scan#: 95 -&gt; 95



Measured region for 591.1480 m/z

C28 H26 N6 O5 S2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 591.1479 m/z

| Rank | Score | Formula (M)      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso   | DBE  |
|------|-------|------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|------|
| 1    | 65.89 | C28 H26 N6 O5 S2 | [M+H] <sup>+</sup> | 591.1480  | 591.1479  | 0.1       | 0.17      | 65.89 | 19.0 |

Şekil 5.126. Bileşik 13d'ye ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu



### 5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

#### 5.3.1. <sup>1</sup>H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentezlenen **4** ve **8** numaralı kinazolin-4(3*H*)-on türevlerinin kinazolin halkasının ikinci (kinazolin H<sub>2</sub>), beşinci (kinazolin H<sub>5</sub>), altıncı (kinazolin H<sub>6</sub>), yedinci (kinazolin H<sub>7</sub>) ve sekizinci (kinazolin H<sub>8</sub>) konumundaki hidrojenlere ait pik değerleri, sırasıyla, singlet ve 8.29-8.49 ppm; dubletin dubleti ve 8.08-8.16 ppm; multipler ya da triplet ve 7.50-7.71 ppm; tripletin dubleti ya da triplet ve 8.84-7.88 ppm; dublet ya da multipler ve 7.43-7.76 ppm aralıklarında gelmiştir. **13** numaralı bileşiklerdeki ortak halka sistemi olan kinolin yapısının ikinci (kinolin H<sub>2</sub>), üçüncü (kinolin H<sub>3</sub>), dördüncü (kinolin H<sub>4</sub>), beşinci (kinolin H<sub>5</sub>), altıncı (kinolin H<sub>6</sub>) ve yedinci (kinolin H<sub>7</sub>) konumundaki hidrojenlere ait pik değerleri, sırasıyla dubletin dubleti ya da multipler olarak 8.86-8.87 ppm; multipler ve 7.42-7.57 ppm; dublet ve 8.30-8.32 ppm; multipler ve 7.42-7.57 ppm; triplet ya da multipler ve 7.42-7.57 ppm; dublet ya da multipler ve 7.42-7.57 ppm aralıklarında not edilmiştir.

Sentezlenen **4**, **8** ve **13** numaralı analogların hepsinde ortak olarak bulunan ve yapının rotasyonuna izin veren CH<sub>2</sub> yapısının hidrojenleri singlet olarak, **4** numaralı analoglarda 4.78-4.80 ppm aralığında, **8** numaralı türevlerde 5.14-5.36 ppm aralığında ve **13** numaralı türevlerdeyse 5.25 ppm'de gözlenmiştir.

Son olarak, yapılarıdaki azol yapılarına ait NMR spektrumları incelendiğinde benzotiyazol içeren **8** numaralı türevlerde benzotiyazol halkasının dördüncü (benzotiyazol H<sub>4</sub>), altıncı (benzotiyazol H<sub>5</sub>) ve yedinci (benzotiyazol H<sub>7</sub>), konumundaki hidrojenlere ait pik değerleri, sırasıyla, dublet ya da multipler ve 7.26-8.79 ppm aralığında; dubletin dubleti ya da multipler olarak 6.91-8.08 ppm aralığında; dublet ya da multipler olarak 7.34-7.76 ppm aralığında not edilmiştir.

Sonuç olarak sentezlenen tüm bileşiklerin <sup>1</sup>H-NMR verileri literatür verileriyle uyumlu bulunmuştur [97-99].

#### 5.3.2. <sup>13</sup>C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin <sup>13</sup>C-NMR verileri ile beklenen piklerin örtüştüğü gözlenmiştir. Ortak olarak bulunan kinazolin halkasının türevler arası özdeş pikleri incelenerek her bir karbon için atanmıştır. Her bir bileşik için toplam karbon sayısı için beklenen sayılarda pik elde edilmiştir. Bileşikler **4j**, **8a** ve **8l** sübstituent olarak flor içerdiğinden C-F yarılmalarından kaynaklı olarak bu bileşiklerin spektrumları

literatürde [100] de belirtildiği üzere karmaşık elde edilmiş ve florun bağlı olduğu karbonlar ile bu karbona komşu karbonlarda yarılmalar gözlenmiştir. **4** numaralı analoglarda ortak olarak bulunan C=O ve C=S yapılarının pikleri 167.06-172.03 ppm ve 180.87-182.22 ppm aralığında bulunmuştur. **8** ve **13** numaralı türevlerde asetamit kalıntısına ait karbonil karbonuna ait pikler 166.52-172.34 ppm aralığında alınmıştır.

### 5.3.3. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi

Elde edilen sonuç bileşiklerinin kütle spektrumları elektrosprey yöntemi (ESI) kullanılarak iyonlaştırma tekniği [101] ile analiz edilmiş olup oluşan yüklü atom veya gruplar kütle/yük (m/z) oranına göre saptanmıştır. Kütle spektrumları incelendiğinde bileşiklerin ya  $[M+Na]^+$  ya da  $[M+H]^+$  piki verdiği saptanmıştır.

## 5.4. Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi

### 5.4.1. Sitotoksikite sonuçlarının değerlendirilmesi

Bileşiklerin sitotoksik etkileri, 24 saat boyunca *in vitro* olarak yürütülen deneyler sonucunda IC<sub>50</sub> (μM) cinsinden hesaplanmıştır. Sonuçlar **Tablo 5.6**'te paylaşılmıştır. Standart ilaç olarak kullanılan sisplatin için hesaplanan IC<sub>50</sub> değeri 27.33±6.81 μM olarak bulunmuştur. Buna göre antikanser etkinliği olup sağlıklı hücre hattı üzerinde sitotoksik etki göstermeyen ya da oldukça düşük etkinliğe sahip olan bileşiklerden sisplatinden daha aktif olan ya da yakın bir IC<sub>50</sub> değeri gösteren bileşikler, aktiflik sırasına göre **8d**, **4h**, **8b**, **4g**, **8l**, **8m**, **8e** ve **8o** şeklinde sıralanmaktadır.

**4** numaralı türevlerde en aktif bileşiklerin *para*- (**4g**; 13.33±4.04 μM) ve *meta*-klorofenil (**4h**; 4.90±0.66 μM) sübstitüsyonları olması dikkat çekicidir. Buna karşın 2-klorofenil sübstitüenti diğer iki analogun 10 ila 20'de biri kadar bir etkinlik göstermiştir. Metoksifenil türevleri içinde en yüksek etkinlik *orto* (**4c**; 86.67±7.64 μM) iken, en düşük etkinlik *para* (**4a**; 201.00±3.61 μM) konumunda gözlemlenmiştir. Bu durum, metilfenil türevleri için tam tersidir, yani en yüksek (**4d**; 81.67±10.41 μM) etkinli *para* ve en düşük etkinlik *orto* (**4f**; 181.67±22.55 μM) konumdaki bileşiklerdedir. Halkanın *para* konumundaki klor atomu flor atomuyla yer değiştiğindeyse (**4j**; 136.67±41.93 μM) etkinlik 10 kat azalmıştır. Halka üzerinde flor yerine hidrojen geldiğinde (**4k**; 186.67±12.58 μM) ise aktivite şiddetinde düşüş yaşanmıştır. Son olarak, aromatik halka etil grubuyla yer değiştirdiğinde (**4l**;

198.33±7.64 µM) aktivite şiddetinde yine düşüş gözlenmiştir ancak bu etki kaybının yüksek olduğu söylenemez.

**4a** bileşiğinden sentezlenen **5** numaralı maddede (>250 µM) sitotoksik etkinin kaybolduğu belirlenmiştir. Buna karşıt, **5** numaralı maddeden hareketle sentezlenen **8a-8k** türevlerinde antikanser aktivitenin 3.63 µM konsantrasyona kadar düştüğü tespit edilmiştir. Bu, siklizasyon işleminin aktivite şiddetini olumsuz etkilediğini, buna rağmen bu halka kapamadan elde edilen yapının asetamit ile süstitüsyonun olmasının aktivite üzerinde olumlu olduğunu göstermiştir. Buradaki etkinin, siklizasyon ile beraber yapıdaki heteroatomlara olan erişimin kısıtlanması, bu atomların hidrojen kaybetmesi sebebiyle hidrojen donörü olmaması gibi sterik faktörler nedeniyle azaldığı öne sürülebilir. Bunun yanı sıra halkanın kapanması aromatiklikle beraber hidrofobik etkiyi artırırken yapının polaritesinde kayba neden olmuştur; bu da fizikokimyasal özelliklerin de aktivite üzerinde etkili olduğuna işaret etmektedir. Buna karşın, yapının asetamit yapısıyla başka bir halkaya bağlanması sonucu aktivite şiddetinde artış olması, yapıdaki heteroatom sayısında artış ve hacimsel ve kütsel büyüme gibi fizikokimyasal özelliklerle ilgili olduğu düşünülmektedir.

**8a-8k** analogları arasında en etkili türevler, sırasıyla, benzotiyazol (**8d**; 3.63±0.81 µM), 6-klorobenzotiyazol (**8b**; 12.50±0.71 µM), ve 6-metilbenzotiyazol (**8e**; 23.67±6.66 µM) bileşikleridir. Benzotiyazol türevleri tiyazol türevlerine (**8h-8k**) göre daha etkilidir. Dahası, 4. ve 5. konumu boş olan (**8h**), 4. konumunda metil ve 5. konumunda asetil grubu olan (**8i**) ve 5. konumundan asetik asidin etil esteri olan (**8k**) tiyazol türevleri herhangi bir sitotoksikite göstermezken sadece 4. konumunda metil ve 5. konumunda etil karbamat kalıntısı olan (**8j**; 103.33±2.89 µM) türevin sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur. Burada dikkat çekici nokta, sitotoksik etkinliğin (**8j**), bir karbon atomu kadar molekülün uzamasında (**8k**) ve yapının asitlikten uzaklaşması (**8i**) aktivite kaybına neden olmuştur.

*N*-(4-metoksifenil)triazol yapısındaki **5** numaralı bileşikte olduğu gibi, analogu *N*-aminotriazol yapısındaki **7** numaralı bileşikte de kanser hücrelerine karşı sitotoksik etkinlik gözlemlenmemiştir. Ancak **7** numaralı bileşikten elde edilen **8l-8v** moleküllerinde kanser hücrelerine karşı sitotoksik etkinlik 13.75 µM konsantrasyona kadar düşmüştür. **4a**, **5**, **7** ve **8a-8v** bileşiklerindeki değişimler, kinazolin-4(3*H*)-on halkasına bağlı yan zincirin asiditesinde azalmayla tarif edilebilir. Asidite azaldıkça antikanser etkinliğin de azaldığı gözlemlenmiştir. Ancak, esterik gruplara sahip

türevlerde antikanser etkinin düşük olması bileşiğin asiditesinin artmasının belirli bir seviyeden sonra etkili olmadığına işaret etmektedir.

**Tablo 5.6.** Sentezlenen bileşiklerin kanser ve sağlıklı hücre hatları üzerine etki eden  $IC_{50}$  ( $\mu M$ ) dozları

|    | Bileşik   | A549    | SS    | L929    | SS    | SK     |
|----|-----------|---------|-------|---------|-------|--------|
| 1  | 4a        | 201.00  | 3.61  | >250.00 | -     | >1.24  |
| 2  | 4b        | 126.67  | 2.89  | >250.00 | -     | >1.97  |
| 3  | 4c        | 86.67   | 7.64  | >250.00 | -     | >2.89  |
| 4  | 4d        | 81.67   | 10.41 | >250.00 | -     | >3.06  |
| 5  | 4e        | 88.33   | 7.64  | >250.00 | -     | >2.83  |
| 6  | 4f        | 181.67  | 22.55 | >250.00 | -     | >1.38  |
| 7  | 4g        | 13.33   | 4.04  | >250.00 | -     | >18.76 |
| 8  | 4h        | 4.90    | 0.66  | >250.00 | -     | >51.02 |
| 9  | 4i        | 133.33  | 32.16 | >250.00 | -     | >1.88  |
| 10 | 4j        | 136.67  | 41.93 | >250.00 | -     | >1.83  |
| 11 | 4k        | 186.67  | 12.58 | >250.00 | -     | >1.34  |
| 12 | 4l        | 198.33  | 7.64  | >250.00 | -     | >1.26  |
| 13 | 5         | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 14 | 8a        | 79.00   | 7.94  | 65.33   | 8.39  | 0.83   |
| 15 | 8b        | 12.50   | 0.71  | 216.67  | 62.12 | 17.33  |
| 16 | 8c        | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 17 | 8d        | 3.63    | 0.81  | 141.67  | 7.64  | 39.03  |
| 18 | 8e        | 23.67   | 6.66  | 143.33  | 44.81 | 6.06   |
| 19 | 8f        | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 20 | 8g        | 65.67   | 4.04  | 102.33  | 10.79 | 1.56   |
| 21 | 8h        | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 22 | 8i        | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 23 | 8j        | 103.33  | 2.89  | >250.00 | -     | >2.42  |
| 24 | 8k        | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 25 | 7         | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 26 | 8l        | 13.75   | 1.77  | >250.00 | -     | >18.18 |
| 27 | 8m        | 21.50   | 0.71  | 198.33  | 2.89  | 9.23   |
| 28 | 8n        | 82.50   | 3.54  | 88.33   | 2.89  | 1.07   |
| 29 | 8o        | 38.50   | 12.02 | 189.67  | 4.51  | 4.93   |
| 30 | 8p        | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 31 | 8q        | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 32 | 8r        | 93.33   | 2.89  | 181.67  | 7.64  | 1.95   |
| 33 | 8s        | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 34 | 8t        | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 35 | 8u        | 98.33   | 5.77  | >250.00 | -     | >2.54  |
| 36 | 8v        | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 37 | 12        | 178.33  | 42.53 | >250.00 | -     | >1.40  |
| 38 | 13a       | 67.33   | 6.43  | 95.67   | 4.04  | 1.42   |
| 39 | 13b       | 76.67   | 17.56 | 34.67   | 7.51  | 0.45   |
| 40 | 13c       | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
| 41 | 13d       | >250.00 | -     | >250.00 | -     | -      |
|    | Sisplatin | 27.33   | 6.81  | -       | -     | -      |

A549: Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hattı; L929: Sağlıklı fare fibroblast hücre hattı, SS: Standart sapma ( $\pm$ ) ve SK: Seçicilik katsayısı (Sağlıklı hücre  $IC_{50}$  değeri/ Kanser hücresi  $IC_{50}$  değeri) anlamına gelmektedir. Tüm değerler 24 saatlik sitotoksikite değerleridir. “-” hesaplama yapılmadığını göstermek için kullanılmıştır.

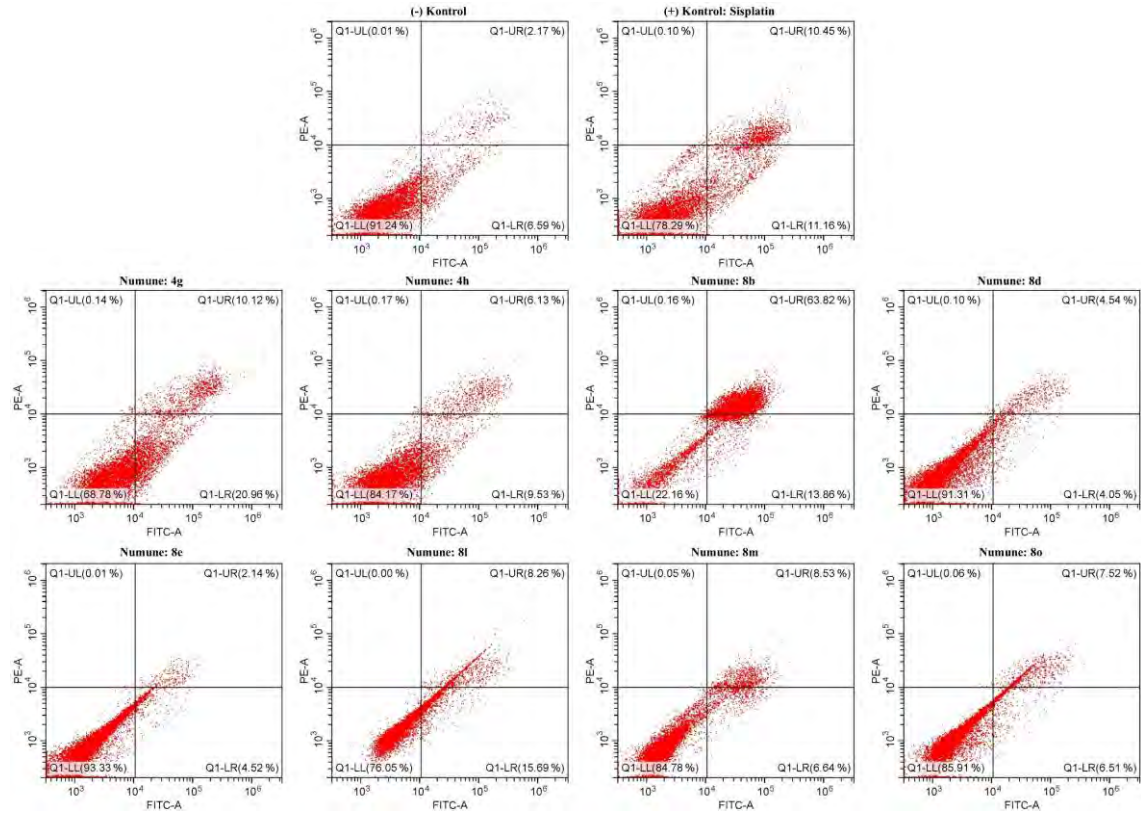
8l-8v analogları arasında en etkili türevler, sırasıyla, 6-florobenzotiyazol (8l;  $13.75 \pm 1.77 \mu M$ ), 6-klorobenzotiyazol (8m;  $21.50 \pm 0.71 \mu M$ ) ve benzotiyazol (8o;  $38.50 \pm 12.02 \mu M$ ) türevleridir. Yine benzotiyazol türevlerinin (8l-8r) tiyazol türevlerine

(**8s-8v**) göre daha aktif olduğu tespit edilmiştir. *N*-(4-metoksifenil)triazol analogunda olduğu gibi, tiyazol türevleri arasında tek sitotoksik etkinlik gösteren türev, 4. konumunda metil ve 5. konumunda etoksikarbonil kalıntısı olan türevdir (**8u**;  $98.33 \pm 5.77 \mu\text{M}$ ).

*N*-(4-metoksifenil)triazol yapısındaki bir başka yapı ise **12** numaralı kinolin türeviyle bundan elde edilmiş tiyazol-2-ilasetamit türevleridir (**13a-13d**). Bu sebeple kinazolin türevi bileşik **5** ile kinolin türevi bileşik **12** ( $178.33 \pm 42.53 \mu\text{M}$ ) karşılaştırıldığında kinazolin türevinin aksine kinolin türevinin A549 hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bileşik **12**'den elde edilen asetamit türevleri değerlendirildiğinde, 4. ve 5. konumu boş olan tiyazol (**13a**) ve 4. konumunda metil ve 5. konumunda asetil grubu olan (**13b**) antikanser etkinlik göstermiş olup başlangıç maddesi **12**'ye göre de sırayla 2.65 ve 2.33 kat daha aktif bulunmuşlardır. Buna karşın 5. konumunda etil esteri olan tiyazol türevleri (**13c** ve **13d**) herhangi bir sitotoksikite göstermemiştir. Bu aktivite farklılığının olması, yapının asitliğinin artmasının aktivite üzerinde olumsuz bir etki yaptığı açıktır.

#### 5.4.2. Apoptotik etkinliklerin belirlenmesi

Apoptoz testlerine ait Anneksin kadranları **Şekil 5.127**'te ve yüzde sonuçları **Tablo 5.7**'de verilmiştir. Standart ilaç olarak pozitif kontrol amaçla kullanılan sisplatinin erken ve geç apoptotik etkilerin toplamı %22.61 iken; bileşikler **4g**, **4h**, **8b**, **8d**, **8e**, **8l**, **8m** ve **8o** için toplam apoptotik etkiler, sırasıyla, %31.08, %15.66, %77.68, %8.59, %6.66, %23.95, %15.17 ve %14.03 olarak bulunmuştur. Buna göre en yüksek apoptotik etki gösteren **8b** bileşiği sisplatinden yaklaşık 3.5 kat daha yüksek apoptotik etkiye sahiptir. Bileşikler **4g** ve **8l** ise sisplatine benzer bir profil ile apoptozu indüklemiştir.



Şekil 5.127. Aktif bileşiklerin ve kontrollerin apoptoz sonuçlarına ait kadrantlar\*

\* Negatif kontrolde etkin madde kullanılmamıştır. Pozitif kontrol olarak sisplatin kullanılmıştır. Antikanser etkinliği ve seçicilik indeksi yüksek olan maddeler aktif madde olarak adlandırılmıştır. Her bir deney 4 tekrarlı, numune başına en az  $10^4$  hücre analiz edilmiş ve kadrant analizi yapılmıştır

Tablo 5.7. Aktif bileşiklere ait apoptoz sonuçları

| Bileşik          | Q1   | Q2    | Q3    | Q4    | Q2+Q4 |
|------------------|------|-------|-------|-------|-------|
| <b>Kontrol</b>   | 0.01 | 2.17  | 91.24 | 6.59  | 8.76  |
| <b>4g</b>        | 0.14 | 10.12 | 68.78 | 20.96 | 31.08 |
| <b>4h</b>        | 0.17 | 6.13  | 84.17 | 9.53  | 15.66 |
| <b>8b</b>        | 0.16 | 63.82 | 22.16 | 13.86 | 77.68 |
| <b>8d</b>        | 0.10 | 4.54  | 91.31 | 4.05  | 8.59  |
| <b>8e</b>        | 0.01 | 2.14  | 93.33 | 4.52  | 6.66  |
| <b>8l</b>        | 0.00 | 8.26  | 76.05 | 15.69 | 23.95 |
| <b>8m</b>        | 0.05 | 8.53  | 84.78 | 6.64  | 15.17 |
| <b>8o</b>        | 0.06 | 7.52  | 85.91 | 6.51  | 14.03 |
| <b>Sisplatin</b> | 0.10 | 10.45 | 78.29 | 11.16 | 22.61 |

Q1: Nekrotik hücreler, Q2: Geç apoptotik hücreler, Q3: Yaşayan hücreler, Q4: Erken apoptotik hücreler, Q2+Q4: Erken ve geç apoptotik hücreler. Deneyde A549 hücre hattı kullanılmıştır.

### 5.4.3. Aktivite yollarının değerlendirilmesi

Apoptotik etkinliğin belirlenmesinin ardından, apoptoz indükleyici etkinin gözlenmesinde kaspaz aktivitesinin rolü araştırılmıştır. Bilindiği gibi, tip-1 programlı hücre ölümü, yani apoptoz iki ana yolağın aktifleştirilmesi ile gerçekleşir, bunlar intrinsik ve ekstrinsik yolaklardır. Hücre içi yolak (intrinsik yolak), diğer adıyla mitokondriyal yolakta mitokondrinin ATP ile glikoliz gerçekleştirememesi gibi bir

ölüm sinyaliyle olaylar silsilesi başlatılmış olur. Sitokrom C salınır, apoptozom oluşarak kaspaz-9 ile yeni bir form oluşturur. Bu yeni kompleks yapı, efektör kaspaz olan kaspaz-3'ü aktifler. Hücre dışı yolda (ekstrinsik yolk) ise membran yüzeyindeki ölüm reseptörleri aracılığıyla kaspaz-8 aktif olup kaspaz-3'ü aktifler. Kaspaz-3'ün uyarılmasıyla birlikte tip-1 hücre ölümü gerçekleşir. Bu sebeple kaspaz-3'ün aktivasyonu apoptozun indüklenmesinde hem intrinsik hem de ekstrinsik yolların kesişim noktalarından biridir [102].

#### 5.4.3.1. Kaspaz-3 aktivasyon sonuçlarının değerlendirilmesi

Kaspaz-3 aktivasyon sonuçlarına ait %pozitif ve %negatif aktivite değerleri **Tablo 5.8**'de ve kadrantları **Şekil 5.128**'da verilmiştir. Deney A549 hücreleri kullanılarak *in vitro* olarak gerçekleştirilmiş ve 24 saatlik inkübasyon süresine göre değerlendirilmiştir.

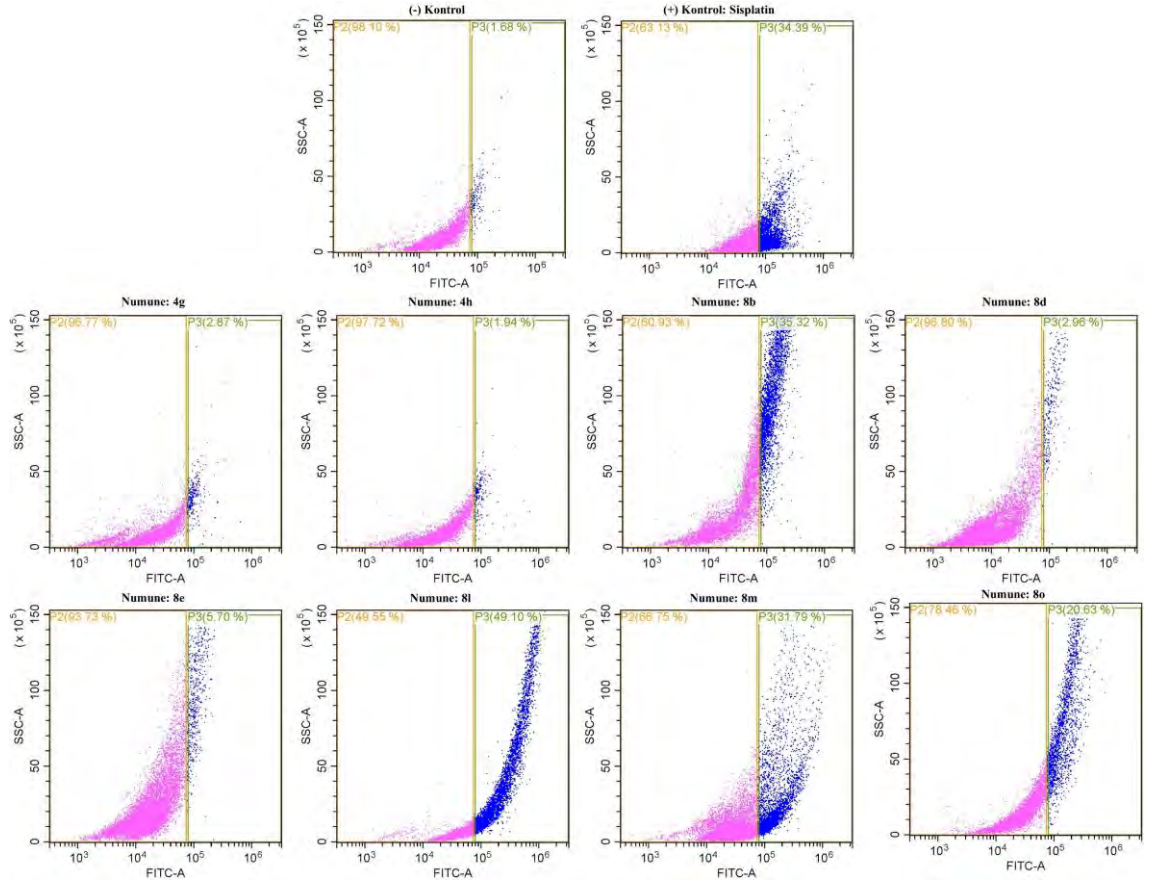
**Tablo 5.8.** Aktif bileşiklere ait %kaspaz-3 sonuçları

| Bileşik          | % (+) | % (-) |
|------------------|-------|-------|
| <b>Kontrol</b>   | 1.68  | 98.10 |
| <b>4g</b>        | 2.87  | 96.77 |
| <b>4h</b>        | 1.94  | 97.72 |
| <b>8b</b>        | 35.32 | 60.93 |
| <b>8d</b>        | 2.96  | 96.80 |
| <b>8e</b>        | 5.70  | 93.73 |
| <b>8l</b>        | 49.10 | 49.55 |
| <b>8m</b>        | 31.79 | 66.75 |
| <b>8o</b>        | 20.63 | 78.46 |
| <b>Sisplatin</b> | 34.39 | 63.13 |

%(+): Kaspaz-3 aktivitesi pozitif (+) hücreler (%) ve %(-): Kaspaz-3 aktivitesi negatif (-) hücreler. Enzim aktivasyonu A549 hücreleri kullanılarak test edilmiştir.

Buna göre sisplatine ait kaspaz-3 aktivasyon değeri %34.39 olarak bulunmuştur. Sentezlenen bileşiklerin enzim aktivasyonu ise en etkiliden en az etkiliye doğru **8l**, **8b**, **8m**, **8o**, **8e**, **8d**, **4g** ve **4h** şeklindedir. Bu durumda, **4g**, **4h**, **8d** ve **8e** bileşiklerinin aktivasyon yüzdesi oldukça etkisiz bulunmuştur. Buna karşın **8l**, **8b** ve **8m** bileşiklerine ait etkinlikler sisplatin ile kıyaslanabilir düzeydedir. Bu durumda üstünde halojen (**8b** ve **8m** için klor; **8l** için flor atomları) bulunan bileşiklerin daha etkili olmasının lipofilite özellikleriyle alakalı olduğu, lipofilite arttıkça kaspaz-3 aktivasyonun arttığı söylenebilir.

**Şekil 5.128.** Aktif bileşiklerin ve kontrollerin kaspaz-3 aktivasyon sonuçlarına ait kadrantlar\*



\* Negatif kontrolde etkin madde kullanılmamıştır. Pozitif kontrol olarak sisplatin kullanılmıştır. Antikanser etkinliği ve seçicilik indeksi yüksek olan maddeler aktif madde olarak adlandırılmıştır. Her bir deney **4 tekrarlı**, numune başına en az  $10^4$  A549 hücresi analiz edilmiş ve kadrant analizi yapılmıştır.

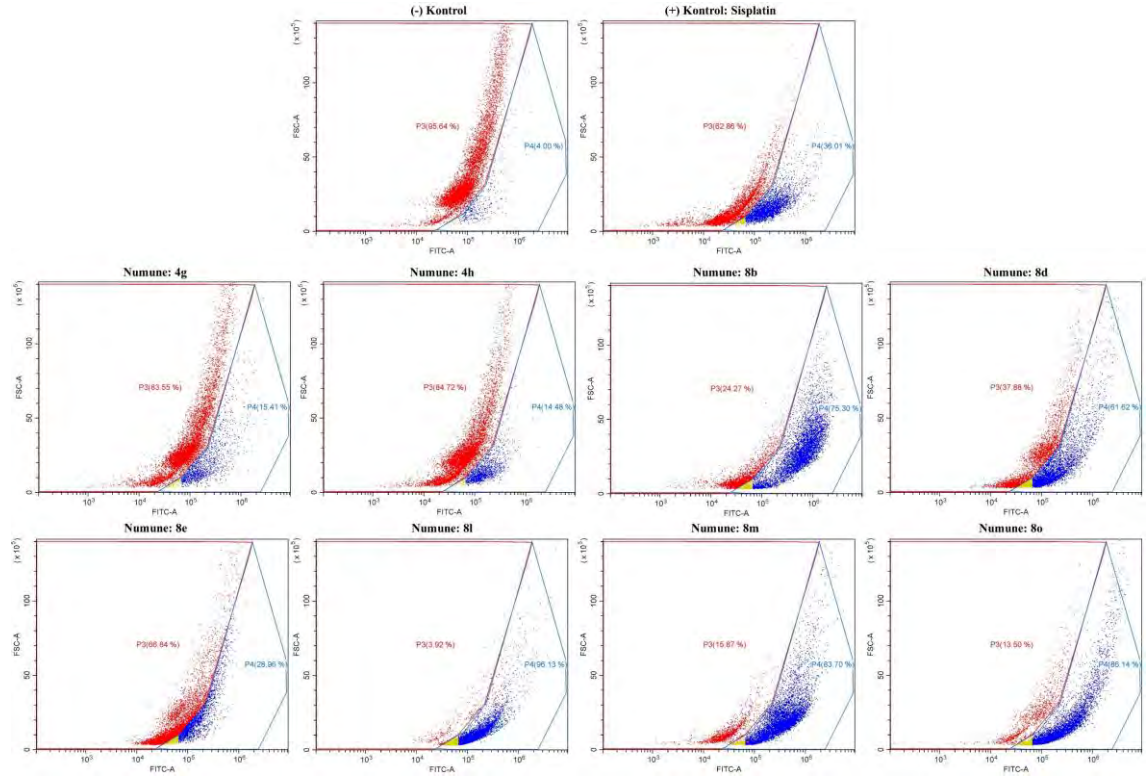
#### 5.4.3.2. Mitokondriyal membran depolarizasyonunun değerlendirilmesi

Mitokondriyal membran depolarizasyon testine ait sonuçların plotları **Şekil 5.129**'da ve yüzde değerleriyse **Tablo 5.9**'te verilmiştir. Sisplatine ait mitokondriyal membran depolarizasyon değeri %36.01 olarak hesaplanmıştır. Sentezlenen **4g** (%15.41), **4h** (%14.48) ve **8e** (%28.96) bileşiklerinin etkinliği sisplatine göre düşük bulunmuştur. Buna karşın, sisplatine göre **8b** (%75.30) bileşiği 2.09 kat, **8d** (%61.62) bileşiği 1.71 kat, **8l** (%96.13) bileşiği 2.67 kat, **8m** (%83.70) bileşiği 2.32 kat ve **8o** (%75.30) bileşiği 2.09 kat membranda depolarizasyon sağlayarak mitokondriyal işlev bozukluğuna sebep olmuştur. Mitokondriyal membran depolarizasyonuna sebep olabilecek çeşitli mekanizmalar [103] olsa da bu çalışmadaki gibi bir durumun gözlemlenmesindeki neden, daha önce yapılan mekanistik bir çalışmada da bahsedildiği gibi [104], özellikle küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerinde büyüme faktörünün inhibisyonu sonucu mitokondriyal dinamiklerin bozulması olarak



düşünülmektedir. Zaten, bileşiklerin tasarımının EGFR inhibisyonu üzerine kurulu olması ve bu tip bir sonucun gözlemlenmesi, EGFR enzim mekanizmasını sadece *in silico* değil, deneysel olarak da aydınlatma ihtiyacı doğurmuştur.

**Şekil 5.129.** Aktif bileşiklerin ve kontrollerin mitokondriyal depolarizasyon sonuçlarına ait kadrantlar\*



\*Bileşiklerin mitokondriyal membran polarizasyonu ve depolarizasyon etkisi A549 hücreleri üzerinde belirlenmiştir.

**Tablo 5.9.** Aktif bileşiklere mitokondriyal membran %polarizasyon ve %depolarizasyon sonuçları\*

| Bileşik          | %polarizasyon | %depolarizasyon |
|------------------|---------------|-----------------|
| <b>Kontrol</b>   | 95.64         | 4.00            |
| <b>4g</b>        | 83.55         | 15.41           |
| <b>4h</b>        | 84.72         | 14.48           |
| <b>8b</b>        | 24.27         | 75.30           |
| <b>8d</b>        | 37.88         | 61.62           |
| <b>8e</b>        | 66.84         | 28.96           |
| <b>8l</b>        | 3.92          | 96.13           |
| <b>8m</b>        | 15.87         | 83.70           |
| <b>8o</b>        | 13.50         | 86.14           |
| <b>Cisplatin</b> | 62.86         | 36.01           |

\*Bileşiklerin mitokondriyal membran polarizasyonu ve depolarizasyon etkisi A549 hücreleri üzerinde belirlenmiştir.

#### 5.4.3.3. EGFR inhibisyonunun değerlendirilmesi

Mitokondriyal membran depolarizasyon testine ait IC<sub>50</sub> değerleri **Tablo 5.10**'da gösterilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan gefitinibe ait IC<sub>50</sub> değeri 4.169±0.156 nM olarak hesaplanmıştır. En aktif bileşikler **4h** (5.298±0.164 nM), **8d** (5.46±0.221

nM), **8l** ( $2.670 \pm 0.124$  nM) ve **8m** ( $2.191 \pm 0.908$  nM) bileşikleridir. Bu bileşiklerin 2 ortak özelliği vardır. İlki kinazolin-4(3H)-on halkasının varlığıdır. Diğer özellikse **8d** dışındaki bileşiklerde halojen atomuna sahip aromatik yapıların olmasıdır.

**Tablo 5.10.** Aktif bileşiklere ait EGFR inhibisyon sonuçları\*

| Bileşik          | IC <sub>50</sub> (nM) |
|------------------|-----------------------|
| <b>4g</b>        | 27588±6.945           |
| <b>4h</b>        | 5.298±0.164           |
| <b>8b</b>        | >50000                |
| <b>8d</b>        | 5.46±0.221            |
| <b>8e</b>        | 52.41±2.312           |
| <b>8l</b>        | 2.670±0.124           |
| <b>8m</b>        | 2.191±0.908           |
| <b>8o</b>        | 33657±8.512           |
| <b>Gefitinib</b> | 4.169±0.156           |

\*Her bir bileşik için deney 4 tekrarlı uygulanmıştır.

#### 5.4.4. Moleküler yerleştirme ve dinamik simülasyon çalışmalarının yorumlanması

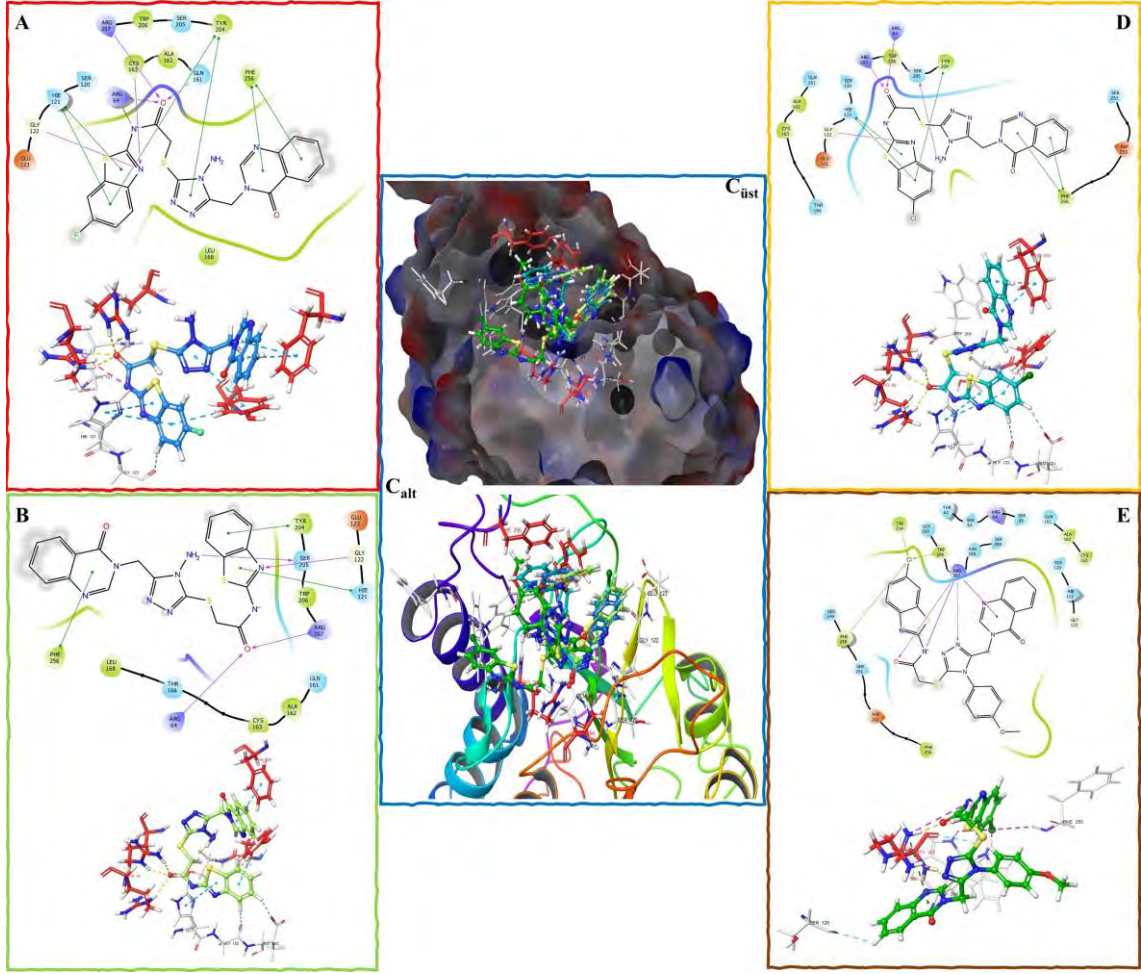
Yerleştirme sonuçları çeşitli aktivite yolları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmaların hepsinde en iyi molekül-protein kompleks uyumu (pozlama) dikkate alınmıştır. Yapılan MDS çalışmaları ise elde edilen bu komplekslerden hareketle gerçekleştirilmiştir.

##### 5.4.4.1. Kaspaz-3 enzimi üzerindeki yerleştirme ve dinamik simülasyon sonuçlarının değerlendirilmesi

Yerleştirme pozları **Şekil 5.130**'te ve gözlemlenen bağlar **Tablo 5.11**'te verilmiştir. Daha önceki çalışmada [105], Arg64, Ser120, His121, Gly122, Gln161, Cys163, Tyr204, Ser205, Trp206, Arg207, Asn208, Ser209, Ser249 ve Phe250 aminoasitleri bağlanma bölge aminoasitleri olarak tanımlanmıştır. Sonuçlara göre, *N*-aminotriazol bileşiklerinin (**8l**, **8m** ve **8o**) Arg64 (Asn52-Gly66 döngüsü), Hie121, Gly122 (β-tabaka bölgesi: Hie121-Glu123), Tyr204, Arg207 (Ser198-Ser213 döngüsü) ve Phe256 (Phe247-Pro263 döngü amino asitleri) aminoasitleriyle benzer tipte etkileşimler gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu etkileşimlerden sadece Arg207 ile olan etkileşimler, *N*-(4-metoksifenil)triazol türevi **8b** bileşiğinde de gözlenmiştir. Bunun temel sebebi, hacimli grup 4-metoksifenil grubunun enzim bağlanma bölgesindeki Phe250 aminoasidine yöneliminden kaynaklı olarak molekülün yerleşimi *N*-aminotriazol türevlerine göre farklılık göstermiş ve **8b** bileşiği Arg64 ile olan etkileşimi kaybetmiştir. Buna karşılık olarak *N*-aminotriazol türevleri Arg207 ile 1 ya da 2

hidrojen bağı yapabilmişken **8b** bileşiğinin hidrojen bağına ek olarak farklı kısımlarıyla hem iyonik hem hidrofobik hem de aromatik hidrojen bağı yaptığı gözlemlenmektedir. Ayrıca, Ser120, Trp206, Trp214 aminoasitleriyle de bağ oluşturduğu gözlemlenmiştir. **8m** ve **8o** bileşikler Glu123 ve Ser205 aminoasitleriyle hidrojen bağı yapmıştır. **8l** bileşiğine özgü olarak Gln161 ( $\beta$ -tabaka bölgesi: Leu157-Gln161) ve Cys163 aminoasitleriyle de etkileşimde olduğu tespit edilmiştir. Tüm bu etkileşimler, enzim bağlanma bölgesinde olduğundan, her ne kadar **8b** türevi farklı bir yerleşim göstermiş olsa da enzimdeki aynı döngü bölgeleriyle bağlanmasından ötürü aktivasyon etkisinin benzer sonuçlandığı önerilmektedir. Kaldı ki, dört bileşiğin de bağlanma bölgesi dışındaki yakın aminoasitlerle, özellikle de çeşitli döngü aminoasitleriyle bağ kurmuş olmalarının protein-bileşik kompleksini kararlı kıldığı, böylelikle yapıya rijitide kazandırdığı düşünülmektedir. Sonuç olarak, dört bileşiğin de kaspaz-3 aktivasyonu için anahtar role sahip olduğu bildirilen Ser198-Ser213 döngüsü ile sağlam etkileşimlerde bulunduğu bu *in silico* çalışmayla doğrulanmıştır. Bileşiklerdeki asetamit yapısı bu döngü aminoasitleriyle etkileşimde olduğundan ötürü farmakofor yapı olarak tanımlanabilir.

Diğer taraftan, **8l** bileşiğinin, diğer 3 türevden farklı olarak Arg64 ile hidrojen bağına ek olarak tuz köprüsü oluşturması ve Gln161 ile de hidrojen bağı oluşturması sebebiyle daha aktif olduğu düşünülmektedir. Dahası, *N*-aminotriazol türevlerinin hacimli fenil grubu yerine amin grubu bulundurması ve bu sayede molekülün kendi içine daha kolay rotamer yaparak bükülebilmesi, Arg64 ile Arg207 arasında oluşan boşluğa (**Şekil 5.130-C**) uyum göstermesinde önemli olduğu önerilmektedir. Çünkü *N*-aminotriazol türevlerinin asetamit yapısının yerleşimi Arg64 ile Arg207 arasında oluşan açıklığa rahatça uyum sağlamaktadır.



**Şekil 5.130.** *Kaspaz-3 enzimi üzerindeki yerleştirme çalışması (PDBID: 4QTX)*

**A kutusu:** **8l** bileşiği için 2B ve 3B pozlamaları; **B kutusu:** **8m** bileşiği için 2B ve 3B pozlamaları; **C kutusu** içerisinde enzimin tümünün **C<sub>üst</sub>**: Aktif bileşiklerle yüzey alanı ve **C<sub>alt</sub>**: Aktif bileşiklerle enzim kuaterner yapısı **D kutusu:** **8o** bileşiği için 2B ve 3B pozlamaları; **E kutusu:** **8b** bileşiği için 2B ve 3B pozlamaları.

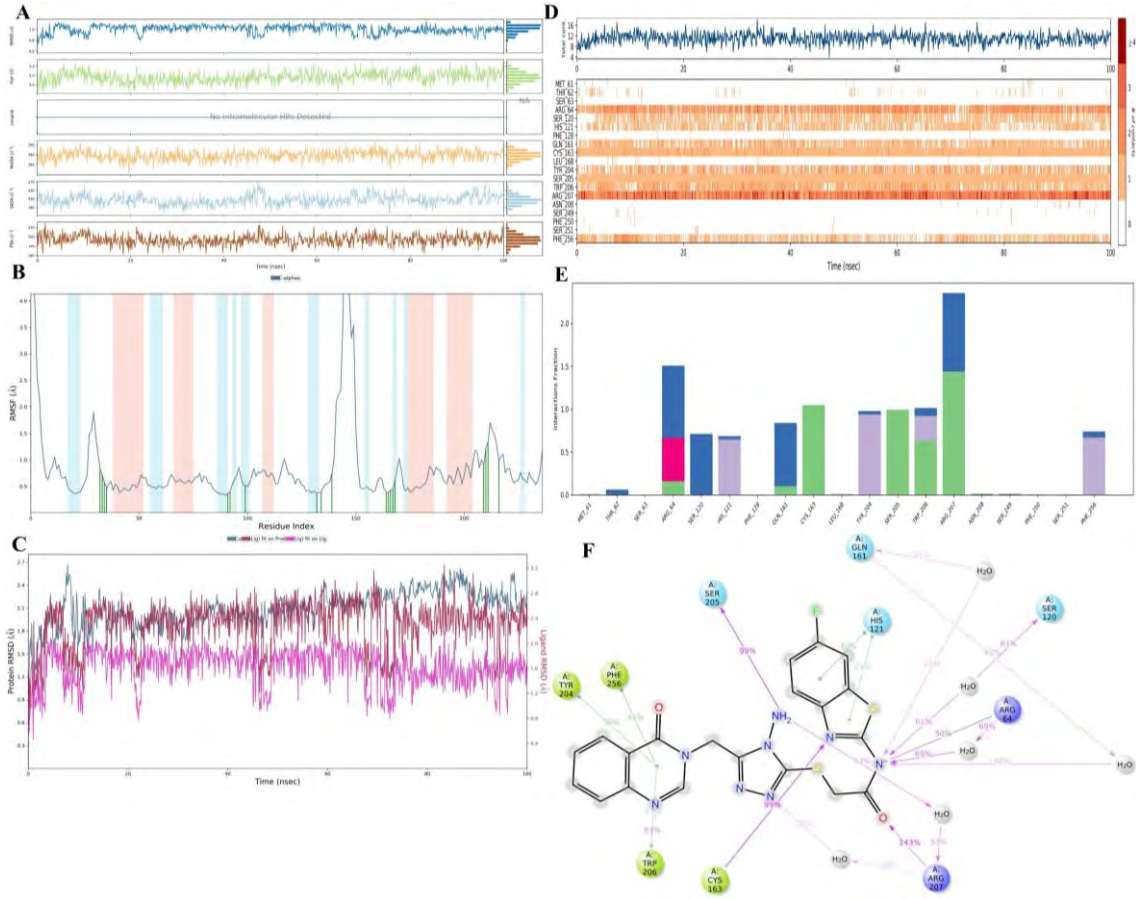
Sonuç olarak bileşiklerin deneysel sonuçlarıyla yerleştirme çalışması uyum içindedir ve kaspaz-3 enzimi üzerindeki yapı-etki ilişkisi açıklanmıştır. Bileşik **8l** motif alınarak MDS çalışması gerçekleştirilmiş ve yapı-etki ilişkisinde zamanın ve çevresel değişikliklerin (su, çeşitli iyonlar vb) etkisi ve bu etkiyle oluşan değişimler incelenmiştir.

**Tablo 5.11.** *Bileşik-kaspaz-3 etkileşim dizini*

| Bileşik   | grubu                           | Amino asit | Bağ sayısı ve türü            |
|-----------|---------------------------------|------------|-------------------------------|
| <b>8b</b> | Kinazolin H <sub>6</sub>        | Ser120     | 1, aromatik H-bağı            |
|           | Benzotiyazol kloru              | Trp206     | 1, halojen bağı               |
|           | Asetamit azotu                  | Arg207     | 1, tuz köprüsü                |
|           | Asetamit oksijeni               | Arg207     | 1, hidrojen bağı              |
|           | Benzotiyazol H <sub>7</sub>     | Arg207     | 1, aromatik H-bağı            |
|           | Triazol N <sub>1</sub>          | Arg207     | 1, hidrojen bağı              |
|           | Kinazolin halkası               | Arg207     | 1, $\pi$ -katyon etkileşimi   |
|           | Benzotiyazol kloru              | Trp214     | 1, halojen bağı               |
| <b>8l</b> | Benzotiyazol kloru              | Phe250     | 1, halojen bağı               |
|           | Asetamit oksijeni               | Arg64      | 1, H-bağı                     |
|           | Asetamit azotu                  | Arg64      | 1, tuz köprüsü                |
|           | Benzotiyazol halkası            | Hie121     | 2, $\pi$ - $\pi$ istiflenmesi |
|           | Benzotiyazol H <sub>4</sub>     | Gly122     | 1, aromatik H-bağı            |
|           | Benzotiyazol azotu              | Gly122     | 1, H-bağı                     |
|           | Asetamit oksijeni               | Gln161     | 1, H-bağı                     |
|           | Benzotiyazol azotu              | Cys163     | 1, H-bağı                     |
|           | Benzotiyazol halkası            | Tyr204     | 1, $\pi$ - $\pi$ istiflenmesi |
|           | Triazol halkası                 | Tyr204     | 1, $\pi$ - $\pi$ istiflenmesi |
|           | Asetamit oksijeni               | Arg207     | 1, H-bağı                     |
|           | Kinazolin halkası               | Phe256     | 2, $\pi$ - $\pi$ istiflenmesi |
| <b>8m</b> | Asetamit oksijeni               | Arg64      | 1, H-bağı                     |
|           | Benzotiyazol halkası            | Hie121     | 2, $\pi$ - $\pi$ istiflenmesi |
|           | Benzotiyazol H <sub>4</sub>     | Gly122     | 1, aromatik H-bağı            |
|           | Benzotiyazol azotu              | Gly122     | 1, H-bağı                     |
|           | Benzotiyazol H <sub>5</sub>     | Glu123     | 1, aromatik H-bağı            |
|           | Benzotiyazol halkası            | Tyr204     | 1, $\pi$ - $\pi$ istiflenmesi |
|           | N-aminotriazolün azot hidrojeni | Ser205     | 1, H-bağı                     |
|           | Asetamit oksijeni               | Arg207     | 1, H-bağı                     |
|           | Kinazolin halkası               | Phe256     | 2, $\pi$ - $\pi$ istiflenmesi |
| <b>8o</b> | Asetamit oksijeni               | Arg64      | 1, hidrojen bağı              |
|           | Benzotiyazol halkası            | Hie121     | 1, $\pi$ - $\pi$ istiflenmesi |
|           | Benzotiyazol H <sub>6</sub>     | Gly122     | 1, aromatik hidrojen bağı     |
|           | Benzotiyazol azotu              | Gly122     | 1, H-bağı                     |
|           | Benzotiyazol H <sub>5</sub>     | Glu123     | 1, aromatik hidrojen bağı     |
|           | Benzotiyazol halkası            | Tyr204     | 1, $\pi$ - $\pi$ istiflenmesi |
|           | N-aminotriazolün azot hidrojeni | Ser205     | 1, hidrojen bağı              |
|           | Asetamit oksijeni               | Arg207     | 2, hidrojen bağı              |
| <b>8o</b> | Kinazolinon halkası             | Phe256     | 1, $\pi$ - $\pi$ istiflenmesi |

MDS sonuçları **Şekil 5.131**'da paylaşılmıştır. Bunlardan **A-C** kompleksin kararlılık değerlerine ve **D-F** ise kompleksin yaptığı etkileşimlere aittir.





**Şekil 5.131.** Kaspaz-3 enzimi üzerindeki MDS çalışması (Bileşik 8I-Kaspaz-3 enzim kompleksi)

A. Bileşik 8I'ye ait fizikokimyasal özelliklerin zamana göre değişimi (RMSD, Rg, intra-H bağı, MolSA, SASA ve PSA); B. RMSF-aminoasit dizin plotu; C. RMSD-zaman plotu; D. Toplam bağ sayısı-aminoasit fraksiyonunun zamana göre değişimine ait plot E. Aminoasitlere göre etkileşim tipi ve etkileşim fraksiyon grafiği F. Bağ kuvvet gücünün 2B gösterimi (etkileşim gücü %20 ve üstü gösterilmektedir.)

Kompleksin kararlı olduğu, incelenen zaman aralığında şu özelliklere sahip olmasıyla ifade edilir:

1. Eylemsizlik yarıçapı (Rg) değerlerinde rijit protein yapılarının [atomik pozisyonun ortalama karekök sapması (RMSF) grafiğindeki  $\alpha$ -sarmal bölgeler açık kırmızı ve  $\beta$ -tabaka bölgeler açık mavi ile gösterilmiştir] küçük dalgalanmalar göstermesi,
2. Protein yapısı için ortalama karekök sapma (RMSD) değerinin 1-3 Å aralığında olması ve ligandın RMSD değerinin proteininkinin 3 katından fazla olmaması,
3. RMSF değerlerinde rijit yapılarda büyük dalgalanmaların olmaması istenen durumlardır [71, 106].

Bu 3 madde kararlılığın sağlanmasındaki kilit özelliklerdir. Ek olarak, kararlılığı artıran bir durum da RMSF grafiğindeki beyaz alanlardaki (döngü bölgesi) dalgalanmaların sönümlendirilmiş olmasıdır. Bu, döngü aminoasitlerinin de kararlı kılındığını işaret etmektedir.

Buna göre bileşik **8I**-kaspaz-3 kompleksine ait RMSD değeri 0.2 ns'den sonra 1 Å'un üzerine çıkmış ve en yüksek pik 7.60 ns'de 2.64 Å olarak kaydedilmiştir. RMSF ve Rg değerlerinde büyük dalgalanmalar olmaması sebebiyle kompleksin simülasyon boyunca kararlı kaldığı söylenebilir. İlave olarak RMSF plotuna göre rijit yapıların dalgalanma boyutları 0.36-0.93 Å arasında kaydedilmiştir (**Şekil 5.131-A, B ve C**).

Etkileşim grafikleri incelendiğinde (**Şekil 5.131-D, E ve F**), bileşik **8I** ile kaspaz-3 enzimi arasında hidrojen bağları (geleneksel ve su aracılı), hidrofobik etkileşimler ( $\pi$ - $\pi$  istiflenmesi ve  $\pi$ -katyon etkileşimi), ve iyonik etkileşim (tuz köprüsü oluşumu) gözlemlenmiştir. Geleneksel hidrojen bağı Arg64, Gln161, Cys163, Ser205, Trp206 ve Arg207 amino asitleriyle ve su aracılı H-bağı Thr62, Arg64, Ser120, His121, Gln161, Tyr204, Ser205, Trp206, Arg207, Asn208, Ser249, Phe250, Ser251 ve Phe256 aminoasitleriyle kurulmuştur. Hidrofobik etkileşimler Met61, His121, Tyr204, Trp206 ve Phe256 aminoasitleri ile **8I** bileşiği arasında gözlemlenmiştir. Son olarak tuz köprüsü sadece Arg64 amino asidiyle oluşmuştur. Bunlar arasında en dikkat çekici etkileşimler, sürekliliği olması sebebiyle Arg64, Cys163, Ser205 ve Arg207 aminoasitleriyledir. Bununla beraber etkileşim güçlerinin sırasına göre Arg207 ile asetamit oksijeni arasındaki H-bağı (%143), Cys163 ile benzimidazol azotu arasındaki H-bağı (%99), Ser205 ile *N*-aminotriazol azotun hidrojeni arasındaki H-bağı (%99), Arg64 ile asetamit azotu arasında su aracılıklı H-bağı (%69), Trp206 ile kinazolin azotu (N<sub>1</sub>) arasında H-bağı (%63), Ser120 ile asetamit azotu arasında su aracılıklı H-bağı (%61), Arg207 ile *N*-aminotriazol azotun hidrojeni arasında su aracılıklı H-bağı (%53), Arg64 ile asetamit azotu arasında tuz köprüsü (%50), asetamit azotu arasında su aracılıklı H-bağı (%42), Phe256 ile kinazolin halkası arasında  $\pi$ - $\pi$  istiflenmesi (%42), His121 ile benzotiyazol halkası arasında  $\pi$ - $\pi$  istiflenmesi (%40), Tyr204 ile kinazolin halkası arasında  $\pi$ - $\pi$  istiflenmesi (%36) ve Arg207 ile triazol azotu (N<sub>2</sub>) arasında su aracılıklı H-bağı (%20) not edilmiştir.

Bu etkileşimlerin sıklığı ve bağ gücünden yola çıkarak,

- Başta 204-209 döngü aminoasitleriyle H-bağı olmak üzere; özellikle Arg64 ve Arg207 ile güçlü etkileşimler göstermesi sebebiyle asetamit kalıntısının önemli bir kaspaz-3 farmakofor yapısı olduğu,
- Bu farmakofor yapının hacimli olmayan bir triazol ve lipofiliteyi artırmaya yönelik bir benzotiyazol ile kombine edilmesinin, His121, Gln161,

Cys163, Trp206 ve Arg207 aracılığıyla aktivite üzerinde olumlu yönde etki ettiği,

- Son olarak çözücü etkisine maruziyeti sebebiyle, özellikle Phe256 ile kurduğu  $\pi$ - $\pi$  istiflenmesi sebebiyle kinazolin-4(3*H*)-on halkasının ve Cys163 ile süreklilik arz eden H-bağ oluşturmaları sebebiyle de benzotiyazol halkasının aktiviteyi artırıcı bir etkisi olduğu gözlenmiştir.

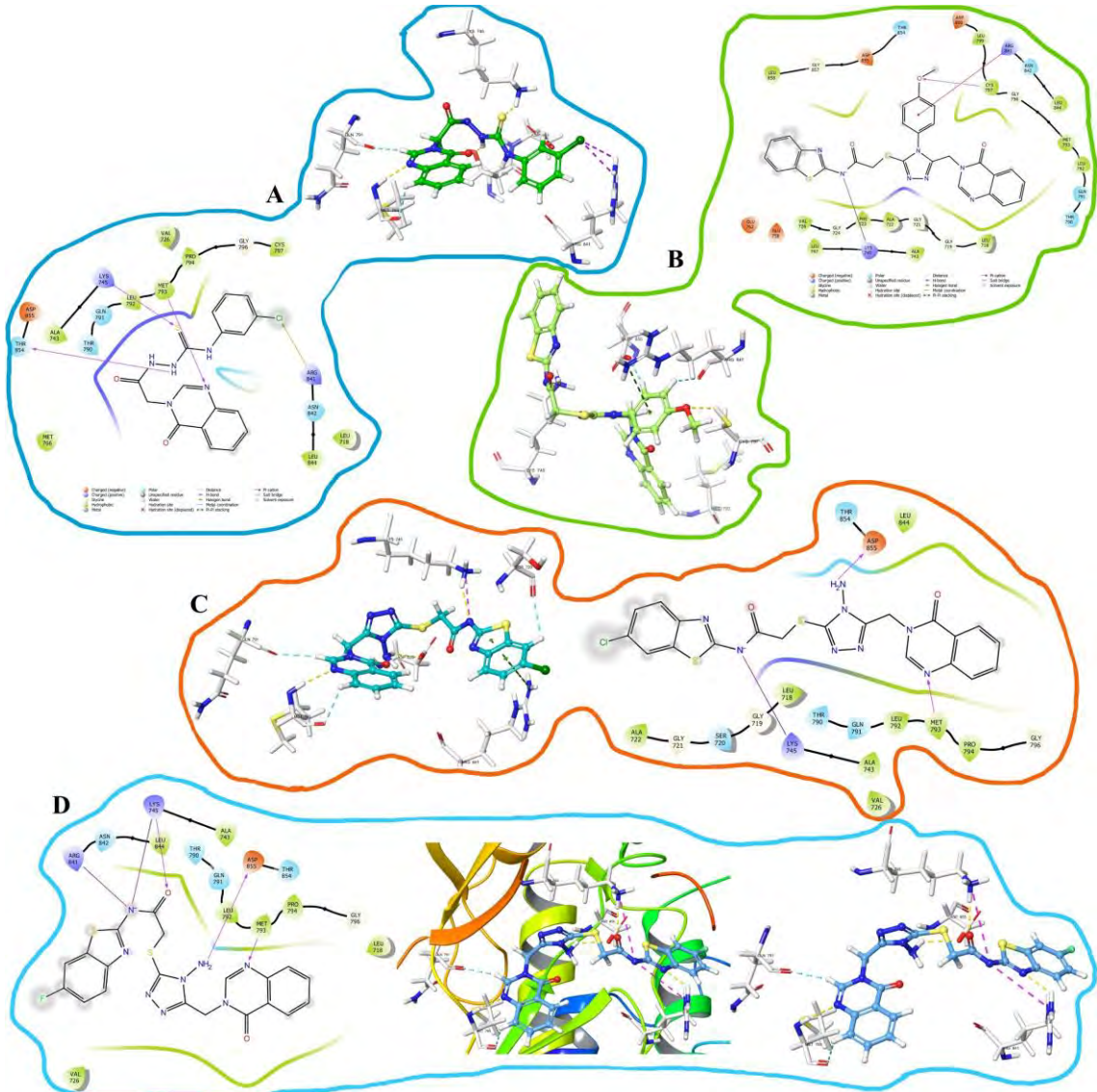
Bu bilgiler ışığında, kaspaz-3 aktivasyonuna yönelik yapılacak yapısal modifikasyonlardan biri kinazolin-4(3*H*)-on yapısı üzerinde çözücü ile etkileşime girebilecek değişikliklerdir. Burada, tirozin kinaz inhibitörlerinde (-tinibler) olduğu gibi 6. ve 7. konumlardan açılasyon ya da düz heteroatom zincirleriyle (eterik gibi) polar ama hidrojen bağı alıcısı olarak müsait ve aromatik olmayan yapıların eklenmesi sonucu elde edilecek bileşiklerin kaspaz-3 aktivasyonunu artırıcı yönde etki edeceği ön görülmektedir. Diğer taraftan, *N*-aminotriazol yapısı ideal bir yapı olarak sabit tutulmalıdır. Benzotiyazol halkasında yapılacak değişikliklerin aminoasitlere bağlanmaya yönelik değil, çözünürlük özelliklerinin iyileştirilmesine yönelik olması önerilebilir.

#### ***5.4.4.2. EGFR proteini üzerindeki yerleştirme ve dinamik simülasyon sonuçlarının değerlendirilmesi***

Deneysel aktivite sonucu 10 nM'dan daha düşük konsantrasyonlarda etkili bulunan bileşiklere ait yerleştirme pozları **Şekil 5.132**'te ve gözlemlenen bağlar **Tablo 5.12**'te verilmiştir.

Literatüre göre [107], reseptörün N ve C loblarını birbirine bağlayan menteşe bölgesi olarak tanımlanan 791-796 numaralı aminoasitler aktivite üzerinde önemli bir role sahiptir. Bu bölgeye yerleşen gefitinib gibi klinikte kullanılan etkin maddelerin Met793'ün ana zincirindeki azotun hidrojeniyle hidrojen bağı yaptığı gözlemlenmektedir, bu bağ sayısı genellikle bir tanedir. Bunun yanında, ATP bağlanma bölgesi olarak tanımlanan hidrofobik yan cep, Lys745, Leu788 ve Thr790 gibi aminoasitlerin yan zinciriyle çevrilidir ve klinikte kullanılan ilaçların hidrofobik kısımlarının (anilin gibi) bu cebe yerleştiği gözlenmiştir.





**Şekil 5.132.** EGFR proteini üzerindeki yerleştirme çalışması (PDBID: 2ITY)

**A kutusu** (Gök mavisi sınırı): **4h** bileşiği için 2B ve 3B pozlama; **B kutusu** (Yeşil sınır): **8d** bileşiği için 2B ve 3B pozlama; **C kutusu** (Turuncu sınır): **8m** bileşiği için 2B ve 3B pozlama; **D kutusu** (Mavi sınır): **8l** bileşiği için 2B ve 3B pozlama.

Bu tez çalışmasındaysa, bileşiklerin ortak olarak Lys745, Arg841 ve Asp855 ile bağ yaptıkları tespit edilmiştir. **8d** hariç, bileşiklerin ayrıca menteşe aminoasitlerinden Gln791 ve Met793 ile birebir benzer bağlandığı gözlemlenmiştir. **8d** bileşiğindeki dallı yapının [*N*-(4-metoksifenil)], ATP bölgesini çevrelemesi sebebiyle, kinazolin-4(3*H*)-on kısmının doğru açıyla Met793 aminoasidine yaklaşmadığından menteşe aminoasitlerinden sadece Cys797 ile H-bağı yapmıştır. Bunun yanı sıra sadece **4h** bileşiği Thr854 ile etkileşim göstermiştir. Son olarak, bileşikler arasından sadece **8m**'nin fosfat bağlanma (P döngü) bölgesinin bir üyesi olan Ser720 aminoasidiyle aromatik H-bağı yaptığı tespit edilmiştir.

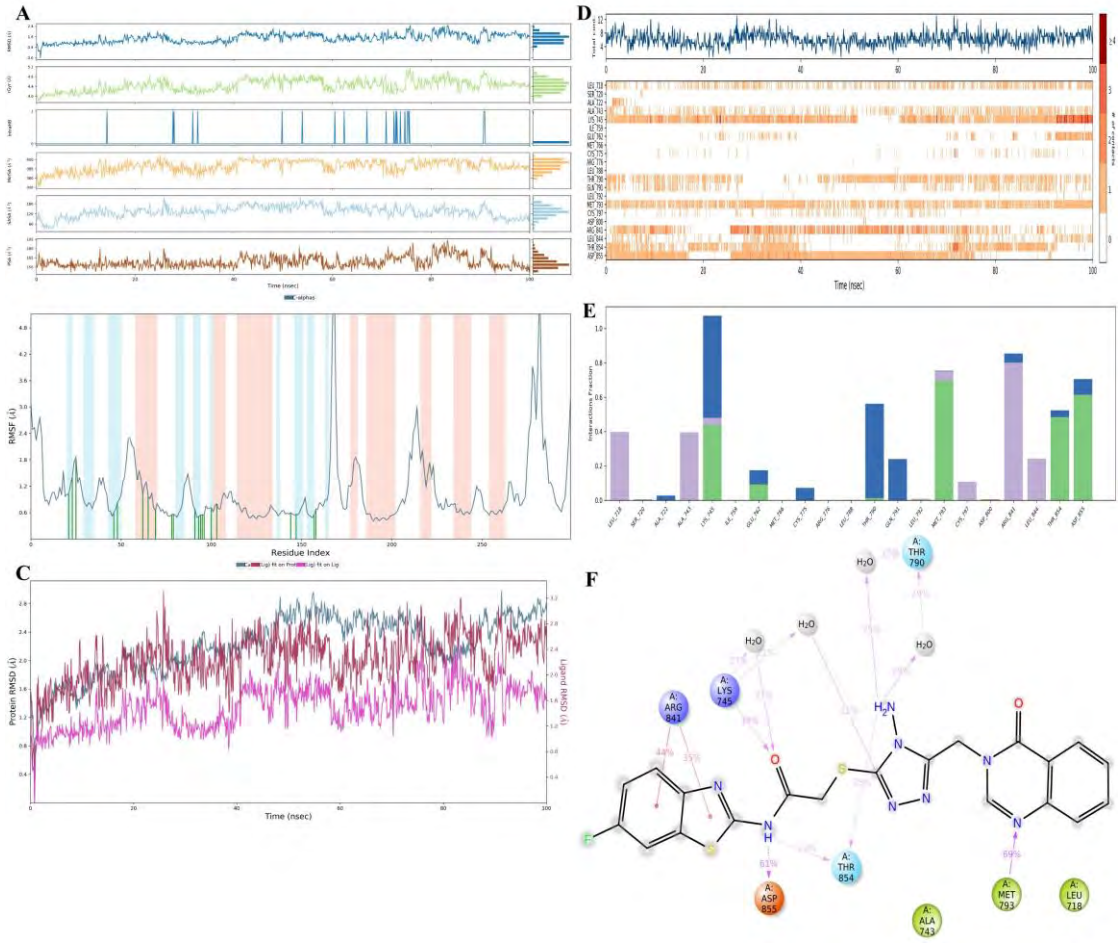
Bileşiklerin pozları incelendiğinde, en etkili iki bileşiğin (**8l** ve **8m**) benzer konumlandığı, flor/klor farklılığından ötürü bağıl kayma göstermelerine rağmen hem ATP bağlanma bölgesinde hem de menteşe bölgesinde benzer etkileşimler yaptıkları; gefitinib türevlerindeki zincir yapıların (morfolinopropoksi gibi) yerleşimine benzer şekilde, yani reseptör dışına doğru uzandığı ve çözücü bölgeyle etkileşime açık hale geldiği gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, EGFR yolağının inhibisyonu sonucu mitokondriyal membranda depolarizasyon, bunun da kaspaz-3 üzerinde aktivasyona sebep olduğu, özellikle de küçük hücreli olmayan akciğer kanser metastazı için rapor edilmiştir [104]. Şuana kadar olan tüm mekanistik amaçla uygulanan *in vitro* ve *in silico* çalışmalar bir uyum içindedir ve *in silico* çalışmalarla moleküler düzeyde bileşiklerin proteinlere karşı olan davranışları açıklanmıştır. Tüm bunlara ilave olarak, MTT sonucu elde edilen IC<sub>50</sub> ve apoptoz indüksiyonları da göz önüne bulundurulduğunda en kuvvetli bileşiğin **8l** olduğu önerilmektedir. Dolayısıyla, yapı-etki ilişkisini açıklamak amacıyla **8l** bileşiği model alınarak moleküler dinamik simülasyonu gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 5.12.** Bileşik-EGFR etkileşim dizini

| Bileşik   | Kısım                                      | Amino asit | Bağ sayısı ve türü          |
|-----------|--------------------------------------------|------------|-----------------------------|
| <b>4h</b> | Tiyokarbonil kükürdü                       | Lys745     | 1, H-bağı                   |
|           | Kinazolin H <sub>2</sub>                   | Gln791     | 1, aromatik H-bağı          |
|           | Kinazolin N <sub>1</sub>                   | Met793     | 1, H-bağı                   |
|           | Kinazolin H <sub>8</sub>                   | Met793     | 1, aromatik H-bağı          |
|           | Fenil üzerindeki klor atomu                | Arg841     | 2, halojen bağı             |
|           | Hidrazit kısmının N <sub>2</sub> hidrojeni | Thr854     | 1, H-bağı                   |
|           | Fenil H <sub>2</sub>                       | Arg855     | 1, aromatik H-bağı          |
| <b>8d</b> | Asetamit azotu                             | Lys745     | 1, tuz köprüsü              |
|           | Fenil üzerindeki metoksi oksijeni          | Cys797     | 1, H-bağı                   |
|           | Fenil H <sub>3</sub>                       | Arg841     | 1, aromatik H-bağı          |
|           | Fenil halkası                              | Arg841     | 1, $\pi$ -katyon etkileşimi |
|           | Fenil H <sub>2</sub>                       | Arg855     | 1, aromatik H-bağı          |
| <b>8l</b> | Asetamit oksijeni                          | Lys745     | 1, H-bağı                   |
|           | Asetamit azotu                             | Lys745     | 1, tuz köprüsü              |
|           | Kinazolin H <sub>2</sub>                   | Gln791     | 1, aromatik H-bağı          |
|           | Kinazolin N <sub>1</sub>                   | Met793     | 1, H-bağı                   |
|           | Kinazolin H <sub>8</sub>                   | Met793     | 1, aromatik H-bağı          |
|           | Benzotiyazol halkası                       | Arg841     | 1, tuz köprüsü              |
|           | Benzotiyazol azotu                         | Arg841     | 1, H-bağı                   |
|           | N-aminotriazol hidrojeni                   | Asp855     | 1, H-bağı                   |
| <b>8m</b> | Benzotiyazol H <sub>7</sub>                | Ser720     | 1, aromatik H-bağı          |
|           | Asetamit azotu                             | Lys745     | 1, H-bağı                   |
|           | Asetamit azotu                             | Lys745     | 1, tuz köprüsü              |
|           | Kinazolin H <sub>2</sub>                   | Gln791     | 1, aromatik H-bağı          |
|           | Kinazolin N <sub>1</sub>                   | Met793     | 1, H-bağı                   |
|           | Kinazolin H <sub>8</sub>                   | Met793     | 1, aromatik H-bağı          |
|           | Benzotiyazol halkası                       | Arg841     | 2, $\pi$ -katyon etkileşimi |
|           | N-aminotriazol hidrojeni                   | Arg855     | 1, H-bağı                   |

MDS sonuçları **Şekil 5.133**'te bileşik **8I**-EGFR kompleksi için gösterilmiştir. **8I**-EGFR kompleksine ait kararlılık göstergeleri (**Şekil 5.133-A, B ve C**) incelendiğinde, bölüm **5.4.4.1**'de belirtildiği gibi Rg, RMSD ve RMSF değerleri uygundur. Bu sebeple kompleksin kararlı olduğu söylenebilir. Dolayısıyla, **Şekil 5.133-D, E ve F** grafiklerine göre **8I** en kararlı etkileşimleri Lys745, Met793, Thr854 ve Asp855 ile doğrudan hidrojen bağı şeklinde, Lys745 ve Thr790 ile su aracılıklı hidrojen bağı şeklinde ve Arg841 ile de  $\pi$ -katyon şeklinde gözlemlenmiştir. 55-60 ns aralığında Lys745 ile olan etkileşimde bir kopma olsa da sonradan bu aminoasitle daha fazla etkileşime girildiği görülmektedir. Moleküler yerleştirme sonucundan elde edilen yapı-etki ilişkisi düşünüldüğünde, **8I**-EGFR kompleksi modelinde sentezlenen *N*-aminotriazol türevlerinin klinikte kullanılan EGFR inhibitörlerine (gefitinib gibi) benzer konumlandığı, çevresel faktörlerle kompleks kararlılığının desteklendiği hatta su aracılığıyla etkileşim gücünde artış olduğu gözlenmiştir. Zaman zaman kinazolin-4(3*H*)-on oksijeni ile triazole bağlı amin grubunun hidrojeni arasında zaman zaman molekül içi hidrojen bağı oluştuğu da gözlemlenmiştir. Bunun sıklığı düşük olsa da iki halkanın bağıl pozisyonlarını proteine göre korumasında önemli olduğu önerilebilir.



**Şekil 5.133.** Bileşik **8I**-EGFR kompleksine ait MDS çalışması

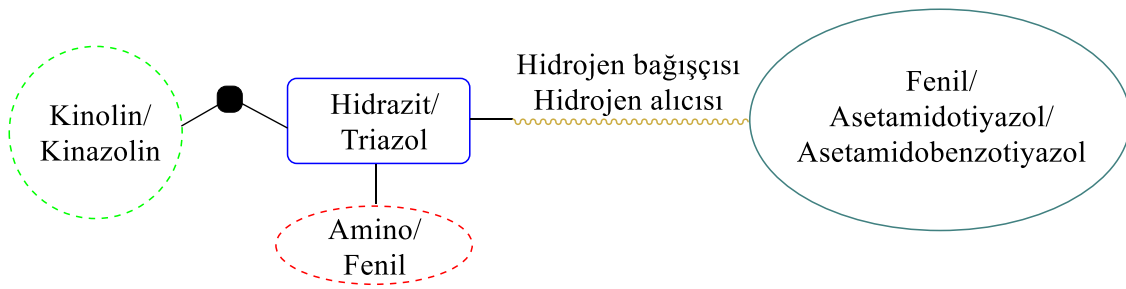
**A.** Bileşik **8I**'ye ait fizikokimyasal özelliklerin zamana göre değişimi (RMSD, Rg, intra-H bağı, MolSA, SASA ve PSA); **B.** RMSF-aminoasit dizin plotu; **C.** RMSD-zaman plotu; **D.** Toplam bağ sayısı-aminoasit fraksiyonunun zamana göre değişimine ait plot **E.** Aminoasitlere göre etkileşim tipi ve etkileşim fraksiyon grafiği **F.** Bağ kuvvet gücünün 2B gösterimi (etkileşim gücü %20 ve üstü gösterilmektedir.)

ATP bağlanma bölgesi olan Lys745 ile yapılan hidrojen bağının aktivitede önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir. Bağlanma ilişkisinde su aracılıklı H-bağı, H-bağı ve hidrofobik etkileşimler oldukça değerlidir. Yerleştirme çalışmasında olduğu gibi, kinazolin halkasının ve benzotiyazol halkasının, sırasıyla menteşe bölgesine (Gln791 ve Met793) ve ATP bağlanma bölgesine (Lys745) iyi yerleştiği ve zamana karşı konumunu koruduğu netlik kazanmıştır. Ek olarak ATP bağlama yarığının girişinde yer alan Asp855 (reseptör allosterik bölge aminoasidi) ile asetamit nitrojenin bağ yapması sebebiyle de asetamit yapısının etki gücünde önemli bir yere sahip olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Düşünüldüğü gibi, benzotiyazol ucunun çözücü maruziyeti altında kalması sebebiyle halojen bulunduran bileşiklerin çözücü ortamında organik (fosfolipitler gibi) ve inorganik (su, sodyum, klor vb elektrolitler gibi) maddelerle etkileşime girerek kompleks kararlılığı koruması sebebiyle inhibisyon aktivitesinin daha

yüksek olduğu gözlenmiştir. EGFR inhibitörlerinde olduğu gibi flor atomunun uzun zincirli polar yapılarla (gefitinibteki morfolinopropiloksi gibi) değiştirilmesi, gözlemsel olarak, etki şiddetini artırabilecek modifikasyonlar arasında gösterilebilir.

#### 5.4.5. Yapı-etki ilişkilerinin özetlenmesi

Farmakofor hipotezler kullanılarak sentezi gerçekleştirilen serilerin yapı-etki ilişkileri, ilgili aktivite başlıkları altında ayrı ayrı olarak incelense de genel ifadelerle bu başlık altında toplanmıştır. Daha ayrıntılı yapı-etki ilişkisi için ilgili başlıkların okunması uygun olacaktır. Yapısal farklılıkların ve yapı düzeninin antikanser etkinlik ve aktivasyon mekanizmaları üzerindeki değişiklikleri şematize etmek amacıyla **Şekil 5.134**'teki diyagram oluşturulmuştur.



**Şekil 5.134.** Yapı etki ilişkisine ait diyagramı

Buna göre;

- § Kinazolin türevlerinin antikanser etkinliği, kinolin türevlerinininkine göre daha yüksek bulunmuştur.
- § 3 Farklı kinazolin-4(3H)-on serisinden, türevler içerisinde etkili bulunan moleküllerin üzerinde halojen varlığı ya da hiç süstitüe barındırmayan analoglarının aktivite şiddetini artırdığı bulunmuştur.
- § Merkezde bir aromatik yapının olması aktiviteyi artırmakla beraber bu yapının hidrazit ile değiştirilmesinde antikanser aktivite kaybı olduğu söylenemez. Ancak, bu modifikasyonun aktivasyon yolağını etkilediği düşünülmektedir. Halka yapısının varlığının (triazol), EGFR inhibisyonu ve kaspaz-3 aktivasyonu için daha uygun olduğu önerilmektedir.
- § Merkez halka triazole bağlı hacimli grup/küçük grup yapıları karşılaştırıldığında, antikanser etkinlik üzerinde çok önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Ancak EGFR

inhibisyonu ve kaspaz-3 aktivasyonu için küçük grubun (NH<sub>2</sub>) varlığı daha kıymetlidir.

- § Halkaları birbirine bağlayan bir metilen köprüsünün olması, moleküllerin proteinler içerisinde bükülebilmesine olanak sağladığından önemli bir yapı parçası olarak belirlenmiştir.
- § Benzotiyazol ve tiyazol modifikasyonlarında benzotiyazol gibi hacimli bir grubun olması, başta organik ve inorganik çözücü etkilerine maruziyet için uygun oluşu ve protein yapılarındaki periferik aminoasitlerle de etkileşime açık olması sebebiyle bileşik-protein kompleksinde kararlılığın korunmasında etkilidir.
- § Benzotiyazol halkasının aktiviteye katkısının özellikle yapının çözünürlük özelliğiyle yakından ilişkili olduğu önerilmektedir. Bu sebeple bu halka üzerinde yapılacak değişiklikler, aminoaside bağlanmaya yönelik değil bu özelliğin güncellenmesine yönelik olmalıdır.
- § Merkez halka ya da hidrazit kısımlarına (benz)azol yapısını bağlayan köprüde hidrojen bağı yapmaya uygun bir yapının bulunması EGFR inhibisyonu (allosterik Asp855 aminoasidi ile bağlanması) ve kaspaz-3 aktivasyonu (Arg64 ya da Arg207 gibi döngü aminoasitleriyle bağlanması) için esansiyel bir role sahiptir.

### 5.5. Tez Çalışmasıyla İlgili Kısıtlamalar

- Ψ Aktivite yolaklarının aydınlatılması için uygulanan deney prosedürlerinin süresi 24 saat kapsamındadır. Bu sebeple MTT ile bulunan IC<sub>50</sub> değeri küçük ve yüksek apoptoz indüksiyonu olmasına rağmen moleküllerin düşük kaspaz-3 indüksiyonu göstermesi bununla ilgili olabilir.
- Ψ Her ne kadar EGFR ve ATP ilişkisi için mitokondriyal membran depolarizasyon deneyi *in vitro* uygulanmış olsa da AKT yolağının da değerlendirilmesi hücrenin yaşamsal faaliyetlerinin ne derece etkilendiğini belirlemede destekleyici bir yaklaşım olabilir.

## 6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada EGFR inhibisyonu hedeflenerek küçük hücreli olmayan akciğer kanserine yönelik ilaç tasarımı yapılmak üzere 2 farklı yöntemle 11 adet farmakofor hipotez geliştirilmiştir. Çok sayıda kinolin ve kinazolin içeren ekip içi molekül bankası hazırlanarak, bu hipotezler aracılığıyla taranmış ve öncü moleküller belirlenmiştir. Bu öncü moleküllerin yapı-etki ilişkisini de anlayabilmek amacıyla analoglarıyla beraber sentezi ve analizi gerçekleştirilmiş olup tüm moleküllerin antikanser etkinlikleri A549 akciğer karsinomu hücre hattına karşı test edilmiştir. 37 sonuç ürün ve 4 tane de ara ürün olmak üzere toplam 41 orijinal madde A549 ve L929 hücre hatları üzerindeki sitotoksikite etkinlikleri için MTT deneyine tabi tutulmuştur. Aktivitesi güçlü, kanser hücresine karşı seçici olan moleküllerin apoptoz etkileri, mitokondriyal membran depolarizasyon etkileri, kaspaz-3 aktivasyon etkileri ve EGFR tirozin kinaz inhibisyon etkileri incelenmiştir. Nihayetinde aktif bulunan maddelerin, ilgili proteine bağlanma şeklini anlayabilmek için moleküler yerleştirme çalışmaları, zamana ve çevresel faktörlerin etkisine karşı etkileşim şeklinin değişimini incelemek amacıyla da moleküler dinamik simülasyonu *in silico* ortamda uygulanmıştır. Sonuç olarak, bu farmasötik kimya tezinde elde edilen bulgular doğrultusunda hem proteine özgü hem de genel antikanser etkinlik için yapı-etki ilişkisi ortaya koyulup tartışılmıştır.

Genel olarak, 4 numaralı bileşiklerin yapıları incelendiğinde, polar zincire bağlı aromatik yapıların hidrojen/halojen bağı yapmaya uygun sübstitüsyonlar içerdiğinde etkili olduğu, klor sübstitüsyonu ile optimum etkinlik gösterdiği bulunmuştur. Hatta, fenil halkasının 3 numaralı konumundaki klor varlığının 4 numaralı konumdan daha yüksek antikanser ve EGFR inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiştir.

8 numaralı aktif bileşiklerin yapıları incelendiğindeyse, merkezde sterik engeli bulunmayan en az 2 adet azota sahip bir azol halkası, bu merkez halkanın karşılıklı konumlarından  $sp^3$  atom ile bağlanmış birer aromatik halkanın varlığında antikanser etkinliğin olduğu gözlemlenmiştir.  $sp^3$  karbon atomuna bağlanan bisiklik aromatik yapının kinazolin yapısında olması aktivite için önem arz etmektedir. Çünkü analogu kinolin (13 numaralı maddeler) halkasıyla bile yapılan değişiklikte antikanser etkinliğin kaybolduğu bu çalışmada raporlanmıştır. Kükürt atomuna bağlanan azol halkalarının benzotiyazol gibi hacimli halkalar olması, bu uçta asidik grupların ve lipofilitiyi düşüren grupların olmaması önerilmektedir.

Nihayetinde, EGFR yolağı hedeflenerek geliştirilen hipotezlerin elde edilmesiyle, hipoteze uygun öncü moleküllerin belirlenmesi, bu moleküllerle beraber analoglarının sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu serilerden kanser hücrelerine karşı seçici toksisite gösteren bileşiklerin aktive yolaklarının incelenmesi sonucu EGFR tirozin kinaz proteinine karşı nM düzeyde etkili yeni bileşikler elde edilmiştir.



## KAYNAKÇA

- [1] Hausman, D.M. (2019). What Is Cancer? *Perspect Biol Med*, 62 (4), 778-784.
- [2] Kooby, D.A. (2017). Surgical innovation. *J Surg Oncol*, 116 (4), 470.
- [3] Allen, C., Her, S., Jaffray, D.A. (2017). Radiotherapy for Cancer: Present and Future. *Adv Drug Deliv Rev*, 109, 1-2.
- [4] Gupta, S.P., Sharma, A., Patil, V.M. (2021). Molecular Processes Exploited as Drug Targets for Cancer Chemotherapy. *Anti-Cancer Agent Me*, 21 (13), 1638-1649.
- [5] van den Bulk, J., Verdegaal, E.M., de Miranda, N.F. (2018). Cancer immunotherapy: broadening the scope of targetable tumours. *Open Biol*, 8 (6)
- [6] Stout, N.L., Baima, J., Swisher, A.K., Winters-Stone, K.M., Welsh, J. (2017). A Systematic Review of Exercise Systematic Reviews in the Cancer Literature (2005-2017). *PM R*, 9 (9S2), S347-S384.
- [7] Azar, F.E., Azami-Aghdash, S., Pournaghi-Azar, F., Mazdaki, A., Rezapour, A., Ebrahimi, P., Yousefzadeh, N. (2017). Cost-effectiveness of lung cancer screening and treatment methods: a systematic review of systematic reviews. *BMC Health Serv Res*, 17 (1), 413.
- [8] Namee, N.M., O'Driscoll, L. (2018). Extracellular vesicles and anti-cancer drug resistance. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 1870 (2), 123-136.
- [9] Gottesman, M.M. (2002). Mechanisms of cancer drug resistance. *Annu Rev Med*, 53, 615-627.
- [10] Hussain, S., Singh, A., Nazir, S.U., Tulsyan, S., Khan, A., Kumar, R., Bashir, N., Tanwar, P., Mehrotra, R. (2019). Cancer drug resistance: A fleet to conquer. *J Cell Biochem*, 120 (9), 14213-14225.
- [11] Lim, Z.F., Ma, P.C. (2019). Emerging insights of tumor heterogeneity and drug resistance mechanisms in lung cancer targeted therapy. *J Hematol Oncol*, 12 (1), 134.
- [12] Naghizadeh, S., Mohammadi, A., Baradaran, B., Mansoori, B. (2019). Overcoming multiple drug resistance in lung cancer using siRNA targeted therapy. *Gene*, 714, 143972.
- [13] Akins, N.S., Nielson, T.C., Le, H.V. (2018). Inhibition of Glycolysis and Glutaminolysis: An Emerging Drug Discovery Approach to Combat Cancer. *Curr Top Med Chem*, 18 (6), 494-504.

- [14] Schabath, M.B., Cote, M.L. (2019). Cancer Progress and Priorities: Lung Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 28 (10), 1563-1579.
- [15] Wu, F.Z., Kuo, P.L., Huang, Y.L., Tang, E.K., Chen, C.S., Wu, M.T., Lin, Y.P. (2019). Differences in lung cancer characteristics and mortality rate between screened and non-screened cohorts. *Sci Rep*, 9 (1), 19386.
- [16] Jakobsen, E., Olsen, K.E., Bliddal, M., Hornbak, M., Persson, G.F., Green, A. (2021). Forecasting lung cancer incidence, mortality, and prevalence to year 2030. *BMC Cancer*, 21 (1), 985.
- [17] Olayioye, M.A., Neve, R.M., Lane, H.A., Hynes, N.E. (2000). The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *The EMBO journal*, 19 (13), 3159-3167.
- [18] Westphal, M., Maire, C.L., Lamszus, K. (2017). EGFR as a Target for Glioblastoma Treatment: An Unfulfilled Promise. *CNS Drugs*, 31 (9), 723-735.
- [19] Dokala, A., Thakur, S.S. (2017). Extracellular region of epidermal growth factor receptor: a potential target for anti-EGFR drug discovery. *Oncogene*, 36 (17), 2337-2344.
- [20] Moasser, M.M. (2007). Targeting the function of the HER2 oncogene in human cancer therapeutics. *Oncogene*, 26 (46), 6577-6592.
- [21] Geyer, C.E., Forster, J., Lindquist, D., Chan, S., Romieu, C.G., Pienkowski, T., Jagiello-Gruszfeld, A., Crown, J., Chan, A., Kaufman, B. (2006). Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *New England journal of medicine*, 355 (26), 2733-2743.
- [22] Abourehab, M.A.S., Alqahtani, A.M., Youssif, B.G.M., Gouda, A.M. (2021). Globally Approved EGFR Inhibitors: Insights into Their Syntheses, Target Kinases, Biological Activities, Receptor Interactions, and Metabolism. *Molecules*, 26 (21)
- [23] Diz Taín, P., González, A.L., García-Palomo, A. (2016). Mecanismo de acción y desarrollo preclínico de afatinib. *Medicina Clínica*, 146, 7-11.
- [24] Normanno, N., Maiello, M.R., De Luca, A. (2003). Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs): simple drugs with a complex mechanism of action? *J Cell Physiol*, 194 (1), 13-19.
- [25] Jia, Y., Yun, C.H., Park, E., Ercan, D., Manuia, M., Juarez, J., Xu, C., Rhee, K., Chen, T., Zhang, H., Palakurthi, S., Jang, J., Lelais, G., DiDonato, M., Bursulaya,

- B., Michellys, P.Y., Epple, R., Marsilje, T.H., McNeill, M., Lu, W., Harris, J., Bender, S., Wong, K.K., Janne, P.A., Eck, M.J. (2016). Overcoming EGFR(T790M) and EGFR(C797S) resistance with mutant-selective allosteric inhibitors. *Nature*, 534 (7605), 129-132.
- [26] Ayati, A., Moghimi, S., Toolabi, M., Foroumadi, A. (2021). Pyrimidine-based EGFR TK inhibitors in targeted cancer therapy. *Eur. J. Med. Chem.*, 221, 113523.
- [27] Bolteau, R., Duroux, R., Laversin, A., Vreulz, B., Shiriaeva, A., Stauch, B., Han, G.W., Cherezov, V., Renault, N., Barczyk, A., Ravez, S., Coevoet, M., Melnyk, P., Liberelle, M., Yous, S. (2022). High ligand efficiency quinazoline compounds as novel A2A adenosine receptor antagonists. *Eur. J. Med. Chem.*, 241, 114620.
- [28] Alossaimi, M.A., Riadi, Y., Geesi, M.H., Anouar, E.H., Aldhafiri, M.K., Alanazi, A.I., Dehbi, O., Ibnouf, E.O., Azzallou, R. (2022). Characterization, biological evaluation and molecular docking of a synthesised quinazolinone-based derivative. *J Mol Struct*, 1266, 133519.
- [29] Liang, Y., Zhang, H., Zhang, X., Peng, Y., Deng, J., Wang, Y., Li, R., Liu, L., Wang, Z. (2022). Discovery of evodiamine derivatives as potential lead antifungal agents for the treatment of superficial fungal infections. *Bioorg Chem*, 127, 105981.
- [30] Qin, T.H., Liu, J.C., Zhang, J.Y., Tang, L.X., Ma, Y.N., Yang, R. (2022). Synthesis and biological evaluation of new 2substituted4amino-quinolines and -quinazoline as potential antifungal agents. *Bioorg Med Chem Lett*, 72, 128877.
- [31] Wagdy, R.A., Chen, P.J., Hamed, M.M., Darwish, S.S., Chen, S.H., Abadi, A.H., Abdel-Halim, M., Hwang, T.L., Engel, M. (2022). From EGFR kinase inhibitors to anti-inflammatory drugs: Optimization and biological evaluation of (4-(phenylamino)quinazolinyl)-phenylthiourea derivatives as novel NF-kappaB inhibitors. *Bioorg Chem*, 127, 105977.
- [32] Hanwarinroj, C., Thongdee, P., Sukchit, D., Taveepanich, S., Kamsri, P., Punkvang, A., Kettrat, S., Saparpakorn, P., Hannongbua, S., Suttisintong, K., Kittakoo, P., Spencer, J., Mulholland, A.J., Pungpo, P. (2022). In silico design of novel quinazoline-based compounds as potential Mycobacterium tuberculosis PknB inhibitors through 2D and 3D-QSAR, molecular dynamics simulations combined with pharmacokinetic predictions. *J Mol Graph Model*, 115, 108231.

- [33] Muller, C., Tilloy, V., Frobert, E., Feghoul, L., Garrigue, I., Lepiller, Q., Mirand, A., Sidorov, E., Hantz, S., Alain, S. (2022). First clinical description of letermovir resistance mutation in cytomegalovirus UL51 gene and potential impact on the terminase complex structure. *Antiviral Res*, 204, 105361.
- [34] Borik, R.M., Hussein, M.A. (2022). A Novel Quinazoline-4-one Derivatives as a Promising Cytokine Inhibitors: Synthesis, Molecular Docking, and Structure-activity Relationship. *Curr Pharm Biotechnol*, 23 (9), 1179-1203.
- [35] Jo, H., Bae, E.J., Lee, N., Kwon, J.W., Cho, S., Kim, S.J., Ahn, J.H., Park, C.S. (2022). Discovery and characterization of a potent activator of the BKCa channel that relieves overactive bladder syndrome in rats. *Eur J Pharmacol*, 927, 175055.
- [36] Abbas, S.E.S., Abdel-Gawad, N.M., George, R.F., Elyazid, M.G.A., Zaater, M.A., El-Ashrey, M.K. (2022). Some 2-(4-bromophenoxymethyl)-6-iodo-3-substituted quinazolin-4(3H)ones: Synthesis, cytotoxic activity, EGFR inhibition and molecular docking. *J Mol Struct*, 1269, 133851.
- [37] Hauguel, C., Ducellier, S., Provot, O., Ibrahim, N., Lamaa, D., Balcerowiak, C., Letribot, B., Nascimento, M., Blanchard, V., Askenatzis, L., Levaïque, H., Bignon, J., Baschieri, F., Bauvais, C., Bollot, G., Renko, D., Deroussent, A., Prost, B., Laisne, M.C., Michallet, S., Lafanechère, L., Papot, S., Montagnac, G., Tran, C., Alami, M., Apcher, S., Hamze, A. (2022). Design, synthesis and biological evaluation of quinoline-2-carbonitrile-based hydroxamic acids as dual tubulin polymerization and histone deacetylases inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 240, 114573.
- [38] Wu, T., Qin, Q., Lv, R., Liu, N., Yin, W., Hao, C., Sun, Y., Zhang, C., Sun, Y., Zhao, D., Cheng, M. (2022). Discovery of quinazoline derivatives CZW-124 as a pan-TRK inhibitor with potent anticancer effects in vitro and in vivo. *Eur. J. Med. Chem.*, 238, 114451.
- [39] Liang, Z., Wang, Y., Zhang, H., Deng, J., Lei, F., Li, J., Shi, T., Wang, S., Li, R., Wang, Z. (2022). Design, synthesis and bioactivity evaluation of favorable evodiamine derivative scaffold for developing cancer therapy. *Eur. J. Med. Chem.*, 239, 114530.
- [40] Menna, M., Fiorentino, F., Marrocco, B., Lucidi, A., Tomassi, S., Cilli, D., Romanenghi, M., Cassandri, M., Pomella, S., Pezzella, M., Del Bufalo, D., Zeya Ansari, M.S., Tomasevic, N., Mladenovic, M., Viviano, M., Sbardella, G., Rota,

- R., Trisciuglio, D., Minucci, S., Mattevi, A., Rotili, D., Mai, A. (2022). Novel non-covalent LSD1 inhibitors endowed with anticancer effects in leukemia and solid tumor cellular models. *Eur. J. Med. Chem.*, 237, 114410.
- [41] Lei, F., Xiong, Y., Wang, Y., Zhang, H., Liang, Z., Li, J., Feng, Y., Hao, X., Wang, Z. (2022). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Evodiamine Derivatives as Potential Antihepatocellular Carcinoma Agents. *J Med Chem*, 65 (11), 7975-7992.
- [42] Liu, X., Wang, P., Zhang, C., Ma, Z. (2017). Epidermal growth factor receptor (EGFR): A rising star in the era of precision medicine of lung cancer. *Oncotarget*, 8 (30), 50209-50220.
- [43] Yun, C.H., Mengwasser, K.E., Toms, A.V., Woo, M.S., Greulich, H., Wong, K.K., Meyerson, M., Eck, M.J. (2008). The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105 (6), 2070-2075.
- [44] Scalvini, L., Castelli, R., La Monica, S., Tiseo, M., Alfieri, R. (2021). Fighting tertiary mutations in EGFR-driven lung-cancers: Current advances and future perspectives in medicinal chemistry. *Biochem Pharmacol*, 190, 114643.
- [45] Voldborg, B.R., Damstrup, L., Spang-Thomsen, M., Poulsen, H.S. (1997). Epidermal growth factor receptor (EGFR) and EGFR mutations, function and possible role in clinical trials. *Ann Oncol*, 8 (12), 1197-1206.
- [46] Yarden, Y., Shilo, B.Z. (2007). SnapShot: EGFR signaling pathway. *Cell*, 131 (5), 1018.
- [47] Talukdar, S., Emdad, L., Das, S.K., Fisher, P.B. (2020). EGFR: An essential receptor tyrosine kinase-regulator of cancer stem cells. *Adv Cancer Res*, 147, 161-188.
- [48] Li, N., Song, Y., Du, P., Shen, Y., Yang, J., Gui, L., Wang, S., Wang, J., Sun, Y., Han, X., Shi, Y. (2013). Oral topotecan: Bioavailability, pharmacokinetics and impact of ABCG2 genotyping in Chinese patients with advanced cancers. *Biomed Pharmacother*, 67 (8), 801-806.
- [49] De Deyn, P.P., Drenth, A.F., Kremer, B.P., Oude Voshaar, R.C., Van Dam, D. (2013). Aripiprazole in the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opin Pharmacol*, 14 (4), 459-474.

- [50] Kawai, Y., Sato-Ishida, R., Motoyama, A., Kajinami, K. (2011). Place of pitavastatin in the statin armamentarium: promising evidence for a role in diabetes mellitus. *Drug Des Devel Ther*, 5, 283-297.
- [51] Gomez-Guzman, M., Jimenez, R., Romero, M., Sanchez, M., Zarzuelo, M.J., Gomez-Morales, M., O'Valle, F., Lopez-Farre, A.J., Algieri, F., Galvez, J., Perez-Vizcaino, F., Sabio, J.M., Duarte, J. (2014). Chronic hydroxychloroquine improves endothelial dysfunction and protects kidney in a mouse model of systemic lupus erythematosus. *Hypertension*, 64 (2), 330-337.
- [52] Eda, M., Kuroda, T., Kaneko, S., Aoki, Y., Yamashita, M., Okumura, C., Ikeda, Y., Ohbora, T., Sakaue, M., Koyama, N., Aritomo, K. (2015). Synthesis and Biological Evaluation of Cyclopentaquinoline Derivatives as Nonsteroidal Glucocorticoid Receptor Antagonists. *J Med Chem*, 58 (12), 4918-4926.
- [53] Diaz, J.L., Christmann, U., Fernandez, A., Luengo, M., Bordas, M., Enrech, R., Carro, M., Pascual, R., Burgueno, J., Merlos, M., Benet-Buchholz, J., Ceron-Bertran, J., Ramirez, J., Reinoso, R.F., Fernandez de Henestrosa, A.R., Vela, J.M., Almansa, C. (2013). Synthesis and biological evaluation of a new series of hexahydro-2H-pyrano[3,2-c]quinolines as novel selective sigma receptor ligands. *J Med Chem*, 56 (9), 3656-3665.
- [54] Kargbo, R.B. (2022). Application of Compositions Comprising a KRAS G12C Inhibitor and an EGFR Inhibitor for the Potential Treatment of Cancer. *ACS Medicinal Chemistry Letters*,
- [55] Farouk, A., Abdelrasheed Allam, H., Rashwan, E., George, R.F., Abbas, S.E. (2022). Design and synthesis of some new 6-bromo-2-(pyridin-3-yl)-4-substituted quinazolines as multi tyrosine kinase inhibitors. *Bioorg Chem*, 128, 106099.
- [56] Altamimi, A.S., El-Azab, A.S., Abdelhamid, S.G., Alamri, M.A., Bayoumi, A.H., Alqahtani, S.M., Alabbas, A.B., Altharawi, A.I., Alossaimi, M.A., Mohamed, M.A. (2021). Synthesis, Anticancer Screening of Some Novel Trimethoxy Quinazolines and VEGFR2, EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors Assay; Molecular Docking Studies. *Molecules*, 26 (10)
- [57] Zhang, B., Liu, Z., Xia, S., Liu, Q., Gou, S. (2021). Design, synthesis and biological evaluation of sulfamoylphenyl-quinazoline derivatives as potential EGFR/CAIX dual inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 216, 113300.

- [58] Zhuo, L.S., Wu, F.X., Wang, M.S., Xu, H.C., Yang, F.P., Tian, Y.G., Zhao, X.E., Ming, Z.H., Zhu, X.L., Hao, G.F., Huang, W. (2020). Structure-activity relationship study of novel quinazoline-based 1,6-naphthyridinones as MET inhibitors with potent antitumor efficacy. *Eur. J. Med. Chem.*, 208, 112785.
- [59] Amin, N.H., Elsaadi, M.T., Zaki, S.S., Abdel-Rahman, H.M. (2020). Design, synthesis and molecular modeling studies of 2-styrylquinazoline derivatives as EGFR inhibitors and apoptosis inducers. *Bioorg Chem*, 105, 104358.
- [60] Ansari, A.J., Joshi, G., Yadav, U.P., Maurya, A.K., Agnihotri, V.K., Kalra, S., Kumar, R., Singh, S., Sawant, D.M. (2019). Exploration of Pd-catalysed four-component tandem reaction for one-pot assembly of pyrazolo[1,5-c]quinazolines as potential EGFR inhibitors. *Bioorg Chem*, 93, 103314.
- [61] Chaturvedula, P. (2019). Novel quinazoline EGFR inhibitors. WO2020061470A1.
- [62] Sri Ramya, P.V., Guntuku, L., Angapelly, S., Karri, S., Digwal, C.S., Babu, B.N., Naidu, V.G.M., Kamal, A. (2018). Curcumin inspired 2-chloro/phenoxy quinoline analogues: Synthesis and biological evaluation as potential anticancer agents. *Bioorg Med Chem Lett*, 28 (5), 892-898.
- [63] Marciniec, K., Pawelczak, B., Latocha, M., Skrzypek, L., Maciazek-Jurczyk, M., Boryczka, S. (2017). Synthesis, Anti-Breast Cancer Activity, and Molecular Docking Study of a New Group of Acetylenic Quinolinesulfonamide Derivatives. *Molecules*, 22 (2)
- [64] Shaikh, S.K.J., Kamble, R.R., Somagond, S.M., Devarajegowda, H.C., Dixit, S.R., Joshi, S.D. (2017). Tetrazolylmethyl quinolines: Design, docking studies, synthesis, anticancer and antifungal analyses. *Eur. J. Med. Chem.*, 128, 258-273.
- [65] Ramesh, V., Ananda Rao, B., Sharma, P., Swarna, B., Thummuri, D., Srinivas, K., Naidu, V.G., Jayathirtha Rao, V. (2014). Synthesis and biological evaluation of new rhodanine analogues bearing 2-chloroquinoline and benzo[h]quinoline scaffolds as anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 83, 569-580.
- [66] Cao, S.L., Han, Y., Yuan, C.Z., Wang, Y., Xiahou, Z.K., Liao, J., Gao, R.T., Mao, B.B., Zhao, B.L., Li, Z.F., Xu, X. (2013). Synthesis and antiproliferative activity of 4-substituted-piperazine-1-carbodithioate derivatives of 2,4-diaminoquinazoline. *Eur. J. Med. Chem.*, 64, 401-409.

- [67] Juvalé, K., Gallus, J., Wiese, M. (2013). Investigation of quinazolines as inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2). *Bioorg Med Chem*, 21 (24), 7858-7873.
- [68] WEIHAN, Z., WEI-GU, S., HAIBIN, Y., YUMIN, C., YONGXIN, R., XIAOQIANG, Y. (2013). Quinazoline compounds. China. US2013172373A1.
- [69] Marganakop, S.B., Kamble, R.R., Taj, T., Kariduraganvar, M.Y. (2010). An efficient one-pot cyclization of quinoline thiosemicarbazones to quinolines derivatized with 1,3,4-thiadiazole as anticancer and anti-tubercular agents. *Med Chem Res*, 21 (2), 185-191.
- [70] CHANGGENG, Q., XIONG, C. (2008). Quinazoline Based EGFR Inhibitors Containing a Zinc Binding Moiety. US2008125448A1.
- [71] Evren, A.E., Nuha, D., Dawbaa, S., Saglik, B.N., Yurttas, L. (2022). Synthesis of novel thiazolyl hydrazone derivatives as potent dual monoamine oxidase-aromatase inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 229, 114097.
- [72] Evren, A.E., Yurttas, L., Ekselli, B., Akalin-Ciftci, G. (2019). Synthesis and biological evaluation of 5-methyl-4-phenyl thiazole derivatives as anticancer agents. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem*, 194 (8), 820-828.
- [73] Evren, A.E., Yurttaş, L., Ekselli, B., Akalin-Ciftci, G. (2019). Novel Tri-substituted Thiazoles Bearing Piperazine Ring: Synthesis and Evaluation of their Anticancer Activity. *Lett Drug Des Discov*, 16 (5), 547-555.
- [74] Nuha, D., Evren, A.E., Ciyanci, Z.S., Temel, H.E., Akalin Ciftci, G., Yurttas, L. (2022). Synthesis, density functional theory calculation, molecular docking studies, and evaluation of novel 5-nitrothiophene derivatives for anticancer activity. *Arch Pharm (Weinheim)*, e2200105.
- [75] (2020): Schrödinger Release 2020-3, Maestro. Schrödinger, LLC, New York, NY, USA.
- [76] Dixon, S.L., Smondyrev, A.M., Knoll, E.H., Rao, S.N., Shaw, D.E., Friesner, R.A. (2006). PHASE: a new engine for pharmacophore perception, 3D QSAR model development, and 3D database screening: 1. Methodology and preliminary results. *J Comput Aided Mol Des*, 20 (10-11), 647-671.
- [77] Dixon, S.L., Smondyrev, A.M., Rao, S.N. (2006). PHASE: a novel approach to pharmacophore modeling and 3D database searching. *Chem Biol Drug Des*, 67 (5), 370-372.



- [78] Truchon, J.-F., Bayly, C.I. (2007). Evaluating virtual screening methods: good and bad metrics for the “early recognition” problem. *Journal of chemical information and modeling*, 47 (2), 488-508.
- [79] Ece, A. (2020). Towards more effective acetylcholinesterase inhibitors: a comprehensive modelling study based on human acetylcholinesterase protein–drug complex. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 38 (2), 565-572.
- [80] Maryam, A., Khalid, R.R., Siddiqi, A.R., Ece, A. (2021). E-pharmacophore based virtual screening for identification of dual specific PDE5A and PDE3A inhibitors as potential leads against cardiovascular diseases. *J Biomol Struct Dyn*, 39 (7), 2302-2317.
- [81] Dror, O., Schneidman-Duhovny, D., Inbar, Y., Nussinov, R., Wolfson, H.J. (2009). Novel approach for efficient pharmacophore-based virtual screening: method and applications. *J Chem Inf Model*, 49 (10), 2333-2343.
- [82] Friesner, R.A., Banks, J.L., Murphy, R.B., Halgren, T.A., Klicic, J.J., Mainz, D.T., Repasky, M.P., Knoll, E.H., Shelley, M., Perry, J.K., Shaw, D.E., Francis, P., Shenkin, P.S. (2004). Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *J Med Chem*, 47 (7), 1739-1749.
- [83] Halgren, T.A., Murphy, R.B., Friesner, R.A., Beard, H.S., Frye, L.L., Pollard, W.T., Banks, J.L. (2004). Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 2. Enrichment factors in database screening. *J Med Chem*, 47 (7), 1750-1759.
- [84] Evren, A.E., Yurttaş, L., Ekselli, B., Aksoy, O., Akalin-Çiftçi, G. (2021). Design and Efficient Synthesis of Novel 4,5-Dimethylthiazole-Hydrazone Derivatives and their Anticancer Activity. *Lett Drug Des Discov*, 18 (4), 372-386.
- [85] Yurttaş, L., Demirayak, S., Ciftci, G.A. (2015). Cytotoxic, Antiproliferative and Apoptotic Effects of New Benzimidazole Derivatives on A549 Lung Carcinoma and C6 Glioma Cell Lines. *Anti-Cancer Agent Me*, 15 (9), 1174-1184.
- [86] Yurttaş, L., Ozkay, Y., Akalin-Ciftci, G., Ulusoylar-Yildirim, S. (2014). Synthesis and anticancer activity evaluation of N-[4-(2-methylthiazol-4-yl)phenyl]acetamide derivatives containing (benz)azole moiety. *J Enzyme Inhib Med Ch*, 29 (2), 175-184.

- [87] Kumar, N.P., Sharma, P., Reddy, T.S., Shankaraiah, N., Bhargava, S.K., Kamal, A. (2018). Microwave-assisted one-pot synthesis of new phenanthrene fused-tetrahydrodibenzo-acridinones as potential cytotoxic and apoptosis inducing agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 151, 173-185.
- [88] (2020): Schrödinger release. 2020-3: LigPrep 2020. Schrödinger, LLC, New York, NY, USA.
- [89] (2020): Schrödinger Release 2020-3, Glide. Schrödinger, LLC, New York, NY, USA.
- [90] Bogert, M.T., Hand, W.F. (2002). The Preparation of 6-Brom-4-Ketodihydroquin-Azolines from 5-Brom-2-Aminobenzoic Acid and Certain of Its Derivatives.1. *J Am Chem Soc*, 28 (1), 94-104.
- [91] Baker, B.R., Querry, M.V., Kadish, A.F., Williams, J.H. (2002). An Antimalarial Alkaloid from Hydrangea. Iv. Functional Derivatives of 3-Alkyl-4-Quinazolones. *J Org Chem*, 17 (1), 35-51.
- [92] Mazur, I.A. (1978). Synthesis and properties of  $\alpha$ -heteryl- $\alpha$ -aminoheterylcarboxylic acids and their derivatives. *Farmatsevtichnii Zhurnal*, 4, 23-26.
- [93] Boren, Y., Xinyang, L., Du Huan, B.X. (2015). Design, Synthesis and Biological Activities of Novel Quinazolinone Derivatives Bearing 4-Phenyl-5-thioxo-1, 2, 4-triazole Mannich Bases [J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 36 (1), 207-212.
- [94] Sharma, J., Hussain, S., Amir, M. (2008). Synthesis and Study of Some Newer Analogues of Quinolin-8-ol as Potent Antimicrobial Agents. *E-Journal of Chemistry*, 5 (s1), S1008-S1014.
- [95] Boshta, N.M., El-Essawy, F.A., Ammar, R.M., Ismail, A.E.-H., Wahba, N.E. (2016). Synthesis of some new quinazolin-4(3H)-one derivatives and evaluation of their anticonvulsant activity. *Monatsh Chem*, 147 (11), 2031-2042.
- [96] Bao, X., Yan, B., Yang, L., Fan, Z. (2016). Preparation of 1,2,4-triazolinthione Schiff base containing quinazolinone compounds for preventing and treating phytopathogens. China. CN105524047.
- [97] Yurttas, L., Demir, B., Ciftci, G.A. (2018). Some Thiazole Derivatives Combined with Different Heterocycles: Cytotoxicity Evaluation and Apoptosis Inducing Studies. *Anti-Cancer Agent Me*, 18 (8), 1115-1121.

- [98] Yurttas, L., Kubilay, A., Evren, A.E., Kısacık, İ., Karaca Gençer, H. (2020). Synthesis of some novel 3,4,5-trisubstituted triazole derivatives bearing quinoline ring and evaluation of their antimicrobial activity. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem*, 195 (9), 767-773.
- [99] Liu, Z., Zhang, X., Zhang, H., Jiang, H., Zhao, X., Shi, L., Zhu, X., Hao, X., Song, M. (2020). Phthalocyanine Metal Complexes (M=Fe, Co, and Cu) Catalyzed Aerobic Oxidation of 2-Amino-benzyl Alcohols to Access Quinazolines and Quinolines. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 40 (9), 2755.
- [100] Schroeder, G.M., An, Y., Cai, Z.W., Chen, X.T., Clark, C., Cornelius, L.A., Dai, J., Gullo-Brown, J., Gupta, A., Henley, B., Hunt, J.T., Jeyaseelan, R., Kamath, A., Kim, K., Lippy, J., Lombardo, L.J., Manne, V., Oppenheimer, S., Sack, J.S., Schmidt, R.J., Shen, G., Stefanski, K., Tokarski, J.S., Trainor, G.L., Wautlet, B.S., Wei, D., Williams, D.K., Zhang, Y., Zhang, Y., Fargnoli, J., Borzilleri, R.M. (2009). Discovery of N-(4-(2-amino-3-chloropyridin-4-yloxy)-3-fluorophenyl)-4-ethoxy-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (BMS-777607), a selective and orally efficacious inhibitor of the Met kinase superfamily. *J Med Chem*, 52 (5), 1251-1254.
- [101] Erdik, E. (1998). *Organik kimyada spektroskopik yöntemler*. Ankara: Gazi Kitabevi.
- [102] Griffiths, E.J. (2012). Advances in Mitochondrial Medicine, R. Scatena, B. P. ve B. Giardina (Eds.), *Advances in Mitochondrial Medicine* içinde (s. 459). Dordrecht, Netherlands: Springer.
- [103] Lopez, J., Tait, S.W. (2015). Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within. *Br J Cancer*, 112 (6), 957-962.
- [104] Che, T.F., Lin, C.W., Wu, Y.Y., Chen, Y.J., Han, C.L., Chang, Y.L., Wu, C.T., Hsiao, T.H., Hong, T.M., Yang, P.C. (2015). Mitochondrial translocation of EGFR regulates mitochondria dynamics and promotes metastasis in NSCLC. *Oncotarget*, 6 (35), 37349-37366.
- [105] Cade, C., Swartz, P., MacKenzie, S.H., Clark, A.C. (2014). Modifying caspase-3 activity by altering allosteric networks. *Biochemistry*, 53 (48), 7582-7595.
- [106] Yucel, N.T., Osmaniye, D., Kandemir, U., Evren, A.E., Can, O.D., Demir Ozkay, U. (2021). Synthesis and Antinociceptive Effect of Some Thiazole-Piperazine

Derivatives: Involvement of Opioidergic System in the Activity. *Molecules*, 26 (11)

- [107] Yun, C.H., Boggon, T.J., Li, Y., Woo, M.S., Greulich, H., Meyerson, M., Eck, M.J. (2007). Structures of lung cancer-derived EGFR mutants and inhibitor complexes: mechanism of activation and insights into differential inhibitor sensitivity. *Cancer Cell*, 11 (3), 217-227.