



**1-ARİL-2-(4-METİLPİRAZOL-1-İL) ETANON OKSİM
TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Merve GÜL

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mehmet Abdullah ALAGÖZ**

Yüksek Lisans Tezi - 2025

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

1-ARİL-2-(4-METİLPİRAZOL-1-İL) ETANON OKSİM TÜREVLERİNİN
SENTEZİ VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Merve GÜL

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mehmet Abdullah ALAGÖZ

Tez Jüri Üyeleri
Doç. Dr. Zeynep ÖZDEMİR
Doç. Dr. Mehmet Abdullah ALAGÖZ
Doç. Dr. Suat SARI

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından TYL-2024-3816 Proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA
2025

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak “Doç. Dr. Mehmet Abdullah ALAGÖZ” danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “1-Aril-2-(4-Metilpirazol-1-İl) Etanon Oksim Türevlerinin Sentezi ve Sitotoksik Etkilerinin Değerlendirilmesi” başlıklı Yüksek Lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 14/ 07 / 2025

Merve GÜL

İmza

İÇİNDEKİLER

ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Pirazoller	6
2.1.1. Pirazol Yapısının Antikanser Etkisi	8
2.1.2. Pirazol Yapısının Farklı Terapötik Etkileri	11
2.1.3. Pirazol Yapısının Sentezleri	14
2.2. Oksim ve Oksim Eterler	17
2.2.1. Genel Özellikleri	17
2.2.2. Oksim ve Oksim Eterlerin Sentezleri	19
2.3. Kanser	24
2.3.1. Kanserin Yayılımı ve Metastaz Gelişimi	25
2.3.2. Kanserin Tedavi Hedefleri ve Mevcut Tedavi Seçenekleri	25
3. MATERYAL VE METOT	27
3.1. Kimyasal Çalışmalar	27
3.1.1. Materyal	27
3.1.2. Bileşiklerin Sentez Yöntemleri	27
3.1.3. Analitik Yöntemler	28
3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	29
3.2.1. Yöntem	29
4. BULGULAR	31
4.1. Kimyasal Çalışmalar	31
4.1.1. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon	31
4.1.2. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon oksim	31
4.1.3. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon <i>O</i> -metil oksim (G1)	31
4.1.4. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon <i>O</i> -etil oksim (G2)	33
4.1.5. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon <i>O</i> -propil oksim (G3)	35

4.1.6. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon <i>O</i> -bütül oksim (G4)..	37
2.1.7. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon <i>O</i> -pentil oksim (G5)	39
4.1.8. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon <i>O</i> -hekzil oksim (G6)	41
4.1.9. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon <i>O</i> -izopropil oksim (G7)	43
4.1.10. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon <i>O</i> -izobütül oksim (G8)	45
4.1.11. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon <i>O</i> -izopentil oksim (G9)	47
4.1.12. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon <i>O</i> -siklopentil oksim (G10)	49
4.1.13. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon <i>O</i> -sikloheksilmetil oksim (G11)	51
4.2. Antikanser Aktivite Çalışmaları	53
5. TARTIŞMA	57
5.1. Kimyasal Çalışmalar	57
5.1.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi	57
5.2. Sentezi Yapılan Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması	61
¹ H-NMR Spektrumları	61
Kütle Spektrumları	65
5.3. Sonuç Bileşiklerin Antikanser Aktivitelerinin Değerlendirilmesi ve Yapı Etkilerinin Açıklanması	67
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	70
EKLER	79
EK-1. Özgeçmiş	79
EK-2. Etik Kurul Olmadığına Dair Yazı	80

TEŞEKKÜR

Lisans ve lisansüstü eğitimim boyunca akademik bilgi ve birikimiyle desteğini esirgemeyen, bu süreçte yaşadığım zorlukları aşmam da büyük bir sabırla yol gösteren ve beni akademik çalışma hayatımda teşvik eden çok kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Mehmet Abdullah ALAGÖZ' e

Kıymetli bilgi ve tecrübeleriyle tez konumda ve çalışmamda değerli desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Arzu KARAKURT' a

Biyolojik aktivite çalışmalarını gerçekleştiren Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Ceylan ÖZSOY' a

Tez çalışmamı TYL-2024-3816 kodlu projeyle destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne

Bu süreçte yardımcı olan İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı hocalarıma

İlk arkadaşım, sırdaşım, yol gösterenim ve sevgili meslektaşım ablam Arş.Gör. Kübra Nur GÜL' e

Bana sevmeyi ve seilmeyi en güzel duygularla öğreten, hayatımın her anında en büyük destekçim olan kıymetli anneme, babama ve evimizin neşesi, abladlığın her duygusunu en güzel şekilde yaşatan biricik kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

1-Aril-2-(4-Metilpirazol-1-İl) Etanon Oksim Türevlerinin Sentezi ve Sitotoksik Etkilerinin Değerlendirilmesi

Amaç: Etkili antikanser bileşikler geliştirmek amacıyla çok kapsamlı araştırmalar yapılmaktadır. Kanser tedavisi üzerine yapılan kimyasal çalışmalarda özellikle azol bileşikleri kullanılmıştır. Azol fonksiyonel grubu içerisinde en çok tercih edilen halka iskeleti ise pirazol halka yapısıdır. Yeni tedavi seçeneklerinde amaç daha az toksik, yan etkileri azaltılmış, hasta için uygulanabilirliği artırılmış ilaçlar keşfetmektedir. Bu tez çalışmasında “1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpirazol-1-il)etanon oksim” yapısına sahip bileşiklerin tasarlanması, sentezi ve sitotoksik etkilerinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada 11 yeni bileşiğin tasarlanması, sentezi ve sitotoksik değerlendirilmesi yapılmıştır. Bileşiklerin yapısı $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve kütle spektrumu sonucu elde edilen bilgilerle aydınlatılmıştır. Bileşiklerin MCF-7, C6, SH-SY5Y hücre hatlarına karşı *in vitro* antikanser aktiviteleri ile aydınlatılmıştır.

Bulgular: Yapılan antikanser aktivite çalışmaları sonucunda sentezlenen bileşiklerin MCF-7, C6 ve SH-SY5Y hücre hatlarında % canlılık değerleri ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. En iyi aktivitenin görüldüğü hücre hattı olan C6 hücre hattında yapı etki ilişkisi ile sonuçların değerlendirilmesi yapılmıştır.

Sonuç: Bu denklemler kullanılarak 11 yeni bileşik sentezlenmiştir. G10 bileşiğinin C6 hücre hattına etkili ve aynı zamanda yüksek seçicilik değerine sahip olduğu bulunmuştur. En düşük aktiviteye sahip bileşikler ise G8 ve G9 bileşikleridir. Sentezlenen bileşiklerin hücre canlılığı SH-SY5Y hücre hattına karşı değerlendirilmiştir. Canlı hücreye karşı G10 bileşiğinin diğer bileşiklere göre daha az toksik olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antikanser, Oksim, Pirazol

ABSTRACT

Synthesis and Evaluation of Cytotoxic Effects of 1-Aryl-2-(4-Methylpyrazol-1-yl) Ethanone Oxime Derivatives

Aim: Extensive research is being conducted to develop effective anticancer compounds. Azole compounds, in particular, have been utilized in chemical studies focused on cancer treatment. Among azole functional groups, the pyrazole ring structure is the most frequently preferred scaffold. The goal in new therapeutic options is to discover drugs that are less toxic, have reduced side effects, and offer increased patient applicability. This thesis aims to design, synthesize, and investigate the cytotoxic effects of compounds with the "1-(4-chlorophenyl)-2-(4-methylpyrazol-1-yl)ethanone oxime" structure.

Material and method: In this study, 11 new compounds were designed, synthesized, and subjected to cytotoxic evaluation. The structures of the compounds were elucidated using data obtained from $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, and mass spectrometry. Their in vitro anticancer activities against MCF-7, C6, and SH-SY5Y cell lines were also investigated.

Results: As a result of the anticancer activity studies, the percentage viability and IC_{50} values of the synthesized compounds in MCF-7, C6, and SH-SY5Y cell lines were calculated. The results were evaluated based on structure-activity relationships in the C6 cell line, which showed the best activity.

Conclusion: Using these equations, 11 new compounds were synthesized. Compound G10 was found to be effective against the C6 cell line and also exhibited high selectivity. Compounds G8 and G9 showed the lowest activity. The cell viability of the synthesized compounds was evaluated against the SH-SY5Y cell line. Studies proved that compound G10 is less toxic to living cells compared to the other compounds.

Keywords: Anticancer, Oxime, Pyrazole

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A549	: İnsan akciğer adenokarsinomu
ALK	: Anaplastik lenfoma kinaz
C6	: Rattus norvegicus beyin glioması
CDCl₃	: Kloroform-d ₆
CDK	: Siklin bağımlı kinazlar
COX-2	: Siklooksijenaz-2
DMSO	: Dimetilsülfoksit
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
GIST	: Gastrointestinal stromal tümör
HCT 116	: İnsan prostat kanser hücreleri
HeLa	: İnsan servikal kanser
IARC	: Dünya Sağlık Örgütü Kanser Ajansı
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
JAK2	: Janus kinaz 2
K₂CO₃	: Potasyum karbonat
L929	: Fibroblast hücreler
LADH	: At karaciğer alkol dehidrojenazının
MBC	: Minimum bakterisidal konsantrasyon
MCF-7	: İnsan meme adenokarsinom hücreleri
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyonu
mTor	: Rapamisin memeli hedefi
NaH	: Sodyum hidrür
NaOEt	: Sodyum etoksit
NaOH	: Sodyum hidroksit
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
PI3K	: Fosfoinozitid 3-kinaz
POM	: Petra/osiris/molinspirasyon
RTK	: Reseptör tirozin kinazlar
SH-SY5Y	: İnsan nöroblast hücreleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 1.1. A: Pirel, B: İmidazol, C: Pirezol halka yapıları	3
Şekil 1.2. A: Metilpirezol B: 4-etilpirezol bileşik yapıları	3
Şekil 1.3. 1-aril-2-(3,5-dimetilpirezol-1-il)etanon oksim türevi bileşiklerin ana yapısı ..	3
Şekil 2.1. Pirezol yapısı	6
Şekil 2.2. Halkadaki azot atomlarının özellikleri	7
Şekil 2.3. Pirezolün tautomerik formları	7
Şekil 2.4. Krizotinib (A) ve Niraparib (B) kimyasal yapısı.....	8
Şekil 2.5. Ruxolitinib yapısı	9
Şekil 2.6. Encorafenib (A), Avapritinib (B) ve Lorlatinib (C) kimyasal yapıları	9
Şekil 2.7. Sitotoksiteleri kanıtlanmış L2 (A) ve L3 (B) bileşiklerinin yapısı	10
Şekil 2.8. En aktif olduğu belirlenmiş Bileşik 6'nın kimyasal yapısı	10
Şekil 2.9. WSPP11 adlandırılan bileşiğin yapısı	11
Şekil 2.10. Antisıtma ve antibakteriyel etkiye sahip 1 ve 4 numaralı bileşiklerin yapısı	12
Şekil 2.11. 4g ve 4h bileşiklerinin yapısı	12
Şekil 2.12. Test edilen tüm gram (+) bakteri suşlarına karşı aktif olan Bileşik 7'nin yapısı	13
Şekil 2.13. Antifungal aktivitesi en güçlü olan L3 bileşiğinin yapısı.....	13
Şekil 2.14. En iyi antifungal etkiye sahip 3b bileşiğin yapısı.....	14
Şekil 2.15. En iyi aktivite gösteren bileşik 26'nın kimyasal yapısı.....	14
Şekil 2.16. 1,3-dikentonlardan pirezol sentezi (31).....	15
Şekil 2.17. Asetilenik ketondan regioizomer içeren pirezol sentezi (61).....	15
Şekil 2.18. α,β -vinil ketonlardan hidrazinler ile pirezol sentezi (36)	16
Şekil 2.19. İmidazol halkasından pirezol sentezi tepkimesi (63)	16
Şekil 2.20. Oksazoldan pirezol sentezi (64)	16
Şekil 2.21. Nitropirimidinden süstitüe pirezol sentezi (65).....	17
Şekil 2.22. Polisüstitüe pirezol yapısının halka açılma reaksiyonuyla eldesi (66).....	17
Şekil 2.23. Ketondan oksim sentezi (74)	17
Şekil 2.24. Oksim yapısının farklı özellikte kimyasal bölgeleri.....	18
Şekil 2.25. Oksimden oksim eter sentezi (70)	18

Şekil 2.26. Oksikonazol, fluvoksamin ve siponimod ilaç etken maddelerinin yapısı	19
Şekil 2.27. Aldehit ve ketonlardan oksim sentezi (67).....	19
Şekil 2.28. Ketiminlerden oksim sentezi (72)	19
Şekil 2.29. Alkenlerden oksim sentezi (73).....	20
Şekil 2.30. Primer aminlerden yükseltgenme sonucu oksim eldesi (73).....	20
Şekil 2.31. Ketonların alkilnitrit ile sentezi sonucu oksim sentezi (75)	20
Şekil 2.32. Alifatik nitro bileşiklerinin indirgenmesi ile oksim sentezi (73).....	21
Şekil 2.33. Kloralhidrattan dioksim sentezleri (76).....	21
Şekil 2.34. Oksimlerin alkilleyici ajanlar ile sentezinden oksim eter sentezi (77).....	22
Şekil 2.35. Oksimlerin haloetanol ile reaksiyonundan oksim eter sentezi (81)	22
Şekil 2.36. Oksimlerin Michael katım reaksiyonu ile oksim eter sentezi (82).....	22
Şekil 2.37. O-alkilasyon ile alkil halojenürden oksim eter sentezi (83).....	23
Şekil 2.38. O-alkilasyon yöntemi ile aldehit ve ketonlardan oksim eter sentezi (85)	23
Şekil 2.39. Amin grubunun korunması ile O-alkil hidroksil amin eldesi (77, 85)	24
Şekil 2.40. Alkol veya fenollerin O-aminasyonu ile O-alkil hidroksilamin sentezi (77)24	
Şekil 4.1. G1 bileşiği ¹ H NMR sonucu.....	32
Şekil 4.2. G1 bileşiği ¹³ C NMR sonucu.....	33
Şekil 4.3. G2 bileşiği ¹ H NMR sonucu.....	34
Şekil 4.4. G2 bileşiği ¹³ C NMR sonucu.....	35
Şekil 4.5. G3 bileşiği ¹ H NMR sonucu.....	36
Şekil 4.6. G3 bileşiği ¹³ C NMR sonucu.....	37
Şekil 4.7. G4 bileşiği ¹ H NMR sonucu.....	38
Şekil 4.8. G4 bileşiği ¹³ C NMR sonucu.....	39
Şekil 4.9. G5 bileşiği ¹ H NMR sonucu.....	40
Şekil 4.10. G5 bileşiği ¹³ C NMR sonucu.....	41
Şekil 4.11. G6 bileşiği ¹ H NMR sonucu.....	42
Şekil 4.12. G6 bileşiği ¹³ C NMR sonucu.....	43
Şekil 4.13. G7 bileşiği ¹ H NMR sonucu.....	44
Şekil 4.14. G7 bileşiği ¹³ C NMR sonucu.....	45
Şekil 4.15. G8 bileşiği ¹ H NMR sonucu.....	46
Şekil 4.16. G8 bileşiği ¹³ C NMR sonucu.....	47
Şekil 4.17. G9 bileşiği ¹ H NMR sonucu.....	48
Şekil 4.18. G9 bileşiği ¹³ C NMR sonucu.....	49
Şekil 4.19. G10 bileşiği ¹ H NMR sonucu.....	50

Şekil 4.20. G10 bileşiği ^{13}C NMR sonucu.....	51
Şekil 4.21. G11 bileşiği ^1H NMR sonucu.....	52
Şekil 4.22. G11 bileşiği ^{13}C NMR sonucu.....	53
Şekil 4.23. G10 bileşiğinin 15ug/mL konsantrasyondaki hücre canlılık testi sonucu....	54
Şekil 4.24. G10 bileşiğinin 10ug/mL konsantrasyondaki hücre canlılık testi sonucu....	55
Şekil 4.25. G10 bileşiğinin 4ug/mL konsantrasyondaki hücre canlılık testi sonucu.....	55
Şekil 4.26. G10 bileşiğinin 3ug/mL konsantrasyondaki hücre canlılık testi sonucu.....	55
Şekil 4.27. Pozitif kontrol grubu DMSO ile yapılan hücre canlılık testi sonucu	56
Şekil 5.1. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon sentezi.....	57
Şekil 5.2. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon'un sentez mekanizması	57
Şekil 5.3. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon oksim	58
Şekil 5.4. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon oksim sentez mekanizması.....	59
Şekil 5.5. Oksim eter türevleri (G1-G11) sentez mekanizması	60
Şekil 5.6. G1-G11 bileşiklerinde değişikliğe uğramayan proton konumları	61
Şekil 5.7. G2 bileşiğine ait ^1H -NMR sonucu aromatik bölge pikleri	61
Şekil 5.8. G6 bileşiğine ait ^1H -NMR sonucu aromatik bölge pikleri	62
Şekil 5.9. Fenil halkasında bulunan protonların ^1H -NMR pik örneği (G4)	62
Şekil 5.10. G8 ve G9 bileşiklerine ait -C-CH ₂ -pirazol protonuna ait NMR sonucu.....	63
Şekil 5.11. G2 bileşiğinin alkil zincirine ait karbonun piki	64
Şekil 5.12. G6 bileşiğinin alkil zincirine ait karbonların pikleri	64
Şekil 5.13. G1 ve G11 bileşiklerine ait pirazolün 4 numaralı konumunda bulunan -CH ₃ piki.....	65
Şekil 5.14. G2 bileşiğinin kütle spektrum sonucu	66
Şekil 5.15. G11 bileşiğinin kütle spektrum sonucu	66
Şekil 5.16. Aktivitesi en düşük bileşikler G8 ve G9 yapısı	67
Şekil 5.17. En iyi aktivite sonucuna sahip olan G10 bileşiği	68

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 1.1. Sentezi yapılmış bileşiklerin yapıları	4
Tablo 4.1. Bileşiklerin hücre hatlarına karşı hesaplanan IC ₅₀ değerleri.....	53



1. GİRİŞ

Kanser; hasarlı hücrelerin kontrolsüz büyüme ve yayılım gösterdiği geniş bir hastalık türünü temsil etmektedir (1). Kanserli doku büyümeyi durdurma yeteneğini kaybetmiş milyonlarca hücreden oluşmaktadır. Herhangi bir organ veya vücut yapısından kaynaklanmakta ve insan vücudunun hemen hemen her hücre yapısından tutunmaya başlayabilmektedir. Kontrolsüz büyüme, çoğalma ve sağlıklı bölgelere kolaylıkla tutunabilmesi gibi önlenmesi güç patolojik özelliklerinden dolayı kanser dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (2, 3).

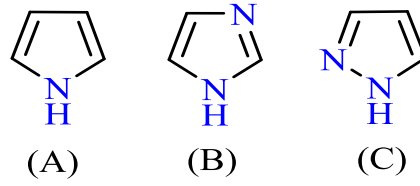
Dünya Sağlık Örgütü Kanser Ajansı (IARC) tarafından her iki yılda bir yenilenen kanser verilerine göre 2022 yılında yaklaşık 19,976 milyon insana kanser hastalığı teşhisi koyulmuştur. Kanserden hayatını kaybedenlerin sayısı ise yaklaşık 9,743 milyon olarak açıklanmıştır (4). 2018 yılındaki 18,1 milyon vaka ve 9,6 milyon ölüm oranlarıyla 2022 verileri kıyaslanması sonucu yayınlanan kanser bildirgesine göre dünyada kanser vakası hızla artmaktadır. Dünyada en çok tanı konulan kanserler; akciğer (%13), meme (%11.9) ve kolon (%9.7) iken, ölümler en çok akciğer (%19.4), karaciğer (%9.1) ve mide (%8.8) kanserlerinden kaynaklanmaktadır. Ülkemizde de kanser sorunu tüm dünyada olduğu gibi en önemli halk sağlığı problemlerindendir. IARC 2022 verileri incelendiğinde yeni kanser tanısı almış hasta sayısı 240.013 iken yıl içinde kanserden 129.672 kişi hayatını kaybetmiştir. Son beş yılda teşhis konulan hasta sayısı ise her geçen yıl artışla 679.335'tir. En yaygın kanserler erkeklerde sırasıyla akciğer, prostat ve rektum kanseridir. Kadınlarda ise en yaygın üç kanser tipi sırasıyla meme, tiroit ve rektumdur. Ülkemiz genelinde ise yaş ve cinsiyet fark etmeksizin en çok akciğer kanseri tanısı koyulurken ikinci sırada meme kanseri ve üçüncü sırada rektum kanseri yer almaktadır. Uluslararası verilere göre dünyada erkekler arasında akciğer kanser vakasının en çok Türkiye'de görüldüğü bildirilmiştir (4, 5).

Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar içinde birçok tedavi seçeneği bulunmaktadır. Kanser tedavisi, hastanın özelliklerine, kanserin türüne ve evresine göre değişmektedir (6, 7). Erken tanı alan ve metastaz gelişmemiş hastalarda kanserli bölgenin ilgili alan ve dokudan uzaklaştırılması için invaziv girişimler ve kemoterapi ilaçları ilk tercih olarak görülmektedir. İleri evre kanser hastalarında ve metastaz gelişmiş durumlarda ise antikanser ilaçların kullanımı, hormonal tedaviler ve hedefe yönelik akılcı ilaçlar kullanılmaktadır (6-8). Yapılan bilimsel çalışmalara göre birincil kanser önleyici

etkinlikler uygulanarak kanser hastalığına yakalanma ve kansere bağlı ölümlerin ciddi oranlarda düştüğü tespit edilmiştir (9-11). Erken tanı ile tümörün tespit edilmesi de kansere bağlı ölümlerin yüzdesini etkilediği güncel veriler ile kanıtlanmıştır. Yapılan bir çalışma sonucunda Finlandiya ve İsveç gibi birçok ülkede serviks kanseri insidans oranları, büyük ölçüde geniş taramalar sayesinde %70'ten fazla düştüğü görülmüştür (12). Avrupa'da meme kanserinde ise mortalite, artan kanser vaka sayısına rağmen azalmaktadır. Erken teşhis ve ilaç tedavilerinin erken evrelerde uygulanması bu azalmada önemli rol oynamaktadır (13). Birincil önleyici etkinlikler arasında sigarayı bırakmak, alkol kullanmamak, düzenli egzersiz yapmak, diyet listesine uymak ve sağlıklı yaşam tarzını alışkanlık haline getirmek yer almaktadır (10). Sigara ve alkol kullanımı kansere yakalanmada tüm kanser hastalıkları içerisinde birinci sıradadır (14). İkinci sırada ise yüksek vücut kitle indeksi yer almaktadır (15, 16). Uzman kontrolünde yapılan sağlıklı beslenme programları, kişiye özel egzersiz rutinleri ile kansere yakalanma riskinin düştüğü yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır (17). Kişinin hayatındaki yorgunluğun da kansere yakalanma ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (18).

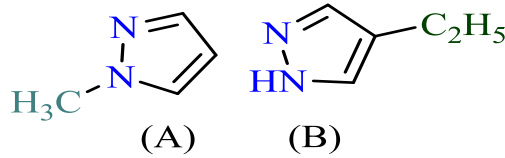
Kanserin gün geçtikçe toplum sağlığında ve sağlık ekonomisi üzerindeki tehdit edici önemli bir sorun olması bilim dünyasının odağını bu alana çekmiştir. Son zamanlarda kanserin her türü için tedavi seçeneklerinin artırılması, daha etkin antikanser bileşiklerin sentezlenmesi, mevcut tedavide yer alan ilaçların toksisitesinin düşürülmesi üzerine ve tedavinin farmakoeconomik değerlendirilmesinin yapılması gibi çok çeşitli alanlarda çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle de yeni ilaç keşifleri üzerine yapılan çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Yan etkileri azaltılmış, toksisitesi düşük, hasta tarafından tedavinin uygulanabilirliği artırılmış ilaçların sentezi ve farklı tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi medisinal kimya için önem arz etmektedir (7, 19, 20).

Heterosiklik bileşikler tarihten bu yana ilaç araştırmalarında ilgi odağı olmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda tedavide yer alan Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onaylı ilaçların %90'ının heterosiklik yapı içerdiği kanıtlanmıştır (21, 22). 2024 yılında yapılan bir çalışmada da sadece 2023 yılı içerisinde FDA onayı alan ilaçların on üçünün yapısında azot hetero atomuna sahip olan heterosiklik halka içerdikleri bildirilmiştir. Güncel çalışmalarda azol bileşiklerinden en çok pirol (A), imidazol (B) ve pirazol (C) halka yapıları cazip araştırma konumunda bulunmaktadır (Şekil 1.1) (23).



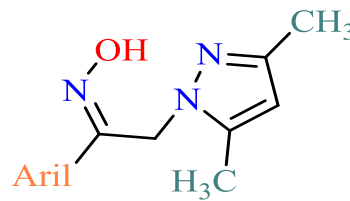
Şekil 1.1. A: Piyrol, B: İmidazol, C: Piazol halka yapıları

Bu yapılardan biri olan piazol halkasının özellikle geçmişten günümüze yapılan çalışmalar ile geniş bir terapötik etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (24). İlk belgelenmiş kanıt, piazollerin at karaciğer alkol dehidrojenazının (LADH) etkisini inhibe ettiğinin gösterildiği 1960'lı yıllara dayanmaktadır (25, 26). 1970-1980 yılları arasında yapılan çalışmalar sonucunda metilpiazolün metanol zehirlenmesini tedavi etmek için kullanılabileceği öne sürülmüştür (27). Bu çalışmalar öncesinde piazol halkasının insanda kullanımının toksik etkilere neden olacağı düşünülürken yapılan çalışmalar neticesinde hem nonsüstitüe halkanın hem de metil ve etil süstitüe piazol halkasının tedavi amaçlı kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Yapılan bu çalışmalar sonucunda 1990 yılı ve sonrasında piazol halkasının umut verici ilaç keşfinde önemli bir yeri olmuştur. Metilpiazol ve 4-etilpiazolün (Şekil 1.2) tıbbi değerinin keşfedilmesinden bu yana, piazol halkasının antikanser, antibakteriyel, antiparazit, antiviral, analjezik, antiglisemik ve antienflamatuvar ajanlar olarak kullanılabileceği kanıtlanmıştır (24).



Şekil 1.2. A: Metilpiazol B: 4-etilpiazol bileşik yapıları

Terapötik etkilerde piazol halkasının doğrudan etkisi olduğu gibi yapıdaki diğer fonksiyonel grupların da bu aktivitelere oldukça önemli etkileri bulunmaktadır. Ana yapıya bağlanmış oksim ve oksim eter yapıları da aktivite için oldukça önemlidir. Oksim türevi içeren bileşiklerin antikanser, antimikrobiyal ve antienflamatuvar etkilerinin olduğu bilinmektedir (28).



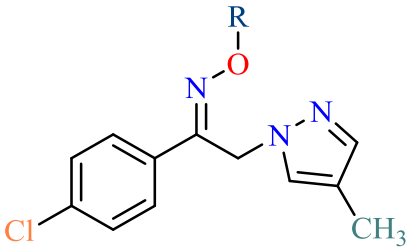
Şekil 1.3. 1-aril-2-(3,5-dimetilpiazol-1-il)etanon oksim türevi bileşiklerin ana yapısı

Alagöz ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma kapsamında on iki yeni 1-aril-2-(3,5-dimetilpirazol-1-il)etanon oksim türevleri (Şekil 1.3) sentezlenmiştir. Çalışmada 3 ve 5 numaralı konumlarında metil olan pirazol halkası korunarak kimyasal bileşiklerin sentezi yapılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin in vitro sitotoksik aktiviteleri A549 (insan akciğer adenokarsinomu), HCT 116 (insan prostat kanser hücreleri), HeLa (insan servikal kanser), MCF-7 (insan meme adenokarsinom hücreleri), C6 (Rattus norvegicus beyin glioması), SH-SY5Y (insan nöroblast hücreleri) ve L929 (fibroblast hücreleri) hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen türevlerden bazılarının hücre hatlarına karşı aktif olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışma aynı zamanda çeşitli sübstitüentlerin yapı-aktivite ilişkilerinin aydınlatılmasını da kapsamaktadır (29).

Bu tez çalışmasında literatür bilgilerinden elde edilen bulgular ile antikanser etkili olabileceği düşünülen özgün bileşiklerin tasarlanması, sentezlenmesi ve aktivitelerinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Literatür verileri ışığında “1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpirazol-1-il)etanon oksim” yapısı tasarlanan bileşiklerin ana iskeleti olarak belirlenmiştir. Metil sübstitüe pirazol halkasının kanıtlanmış terapötik etkileri sonucunda ve pirazol halkasının dört numaralı sübstitüe yapısındaki çalışma azlığı nedeniyle 4-metilpirazol yapısından bileşiklerin sentezi yapılmıştır. Oksim ve oksim eter türevleri ile yapının aktivitesinin artırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda on bir yeni bileşik sentezlenmiş ve sentezlenen bileşiklerin antikanser etkileri in vitro olarak değerlendirilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında sentezlenmiş G serisi olarak adlandırılmış bileşiklerin yapısı verilmiştir (Tablo 1.1).

Tablo 1.1. Sentezi yapılmış bileşiklerin yapıları



Bileşik No	R Grubu
G1	-CH ₃
G2	-C ₂ H ₅
G3	-C ₃ H ₇
G4	-C ₄ H ₉
G5	-C ₅ H ₁₁
G6	-C ₆ H ₁₃
G7	-CH(CH ₃) ₂

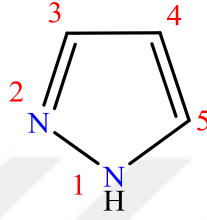
G8	$-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
G9	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
G10	
G11	$\text{H}_2\text{C}-$ 



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pirazoller

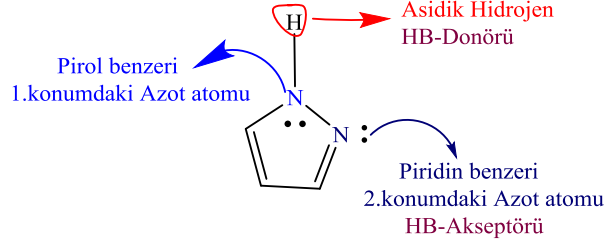
Pirazol; iki azot atomu içeren beş üyeli önemli biyolojik aktivitelere sahip heterosiklik halkadır (Şekil 2.1). Halka yapısı isimlendirilirken nitrojen atomlarına bağlı hidrojeninden başlatılır. Bu halkaya bağlı iki nitrojen atomu olduğu için 1,2-diazol olarak bilinir (30).



Şekil 2.1. Pirazol yapısı

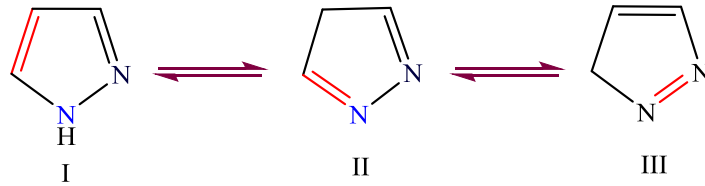
Pirazol halkasını ilk defa 1883 yılında kimyager Ludwig Knorr keşfetmesine rağmen halkanın ilk sentezinin 1889'da Nobel ödüllü kimyager Edward Buchner tarafından yapıldığı kabul edilmektedir (31, 32). Beş üyeli heterosiklik ailesinin önemli bir sınıfı olan pirazoller organik sentezde oldukça değerlidir. Azol grubu içerisinde en çok ilgi duyulan, kapsamlı araştırmaların yapıldığı bileşik sınıfıdır. Pirazol halkasının kimya alanında bu kadar önemli olmasının başlıca nedeni halka yapısındaki azot ve karbon atomlarının varlığı ve konumlarıdır (33). Pirazol halkasında birbirine komşu iki nitrojen atomu yer almaktadır. Yapının geriye kalan bölümünde üç karbon atomu bulunmaktadır (34). Altı delokalize π -elektron sistemi içerir. Azot atomu üzerinde yer alan p orbitalinde bulunan ortaklaşmamış elektronların da halkaya dahil olması ile konjuge halka yapısı nedeniyle pirazol halkası aromatik yapıya sahiptir (35, 36). Delokalizasyona yalnızca bir numaralı konumdaki nitrojen atomunun ortaklaşmamış elektronları katılmaktadır. Bu nedenle pirol benzeri olarak bilinmektedir. 2. Konumdaki azot atomunun ise ortaklaşmamış elektronları piridin sistemlerine benzer şekilde rezonans yapısına katılmadığı için piridin benzeridir. Bu özelliği sayesinde iki numaralı azot yapıya zayıf bazik karakter kazandırır. Bir numaralı konumdaki azot atomu da sunabildiği protonu sayesinde zayıf asidik karakter kazandırır. Böylece pirazoller hem asitlerle hem de bazlarla tepkimeye girebilmektedir. Pirazollerin yapısındaki nitrojenlerin konumları ile halkanın hidrojen bağı yapmasına hem olanak sağlarken hem de karşıdan hidrojen bağı kabul etmesi sağlanmaktadır. Bu önemli bağ yapabilme yetenekleri ile proton transfer

süreçlerine katılan komşu moleküller arası etkileşimlerin kolaylıkla kurulabilmesi sağlanmaktadır (37-39). Aynı zamanda pirazol moleküllerinin kendi aralarında, halka içindeki sübstitüentlerin fiziksel durumuna ve konumuna bağlı olarak farklı tipte doğrusal ve/veya halkasal kompleksler oluşturması da bağ yapabilme yetenekleri sayesinde kolaylaşır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Halkadaki azot atomlarının özellikleri

Farmasötik bilimi için kıymetli olan pirazollerin bir diğer önemli yapısal özelliği tautomerizmdir. Yapıda gerçekleşen tautomerizm çeşidi prototip tautomerizmdir. Non-sübstitüe pirazollerde üç tautomer mümkündür (Şekil 2.3). Tautomerizm şu şekilde gerçekleşmektedir; pirazollerdeki NH grubu, hidrojeni taşıyan heterosiklik içindeki hetero atoma karşılık gelir ve iki nitrojen atomunun en düşük konum kümesini edinmesiyle halka sisteminin numaralandırılmasını başlatır. Sonuç olarak, iki halka nitrojen atomu arasındaki hidrojen atomunun konumunda bir değişiklik olduğunda, üç numarada ve beş numarada bulunan karbonların numaralandırmaların da bir kayma ile işaretlenen bağlardaki yapı değişikliği meydana gelir (37-39).



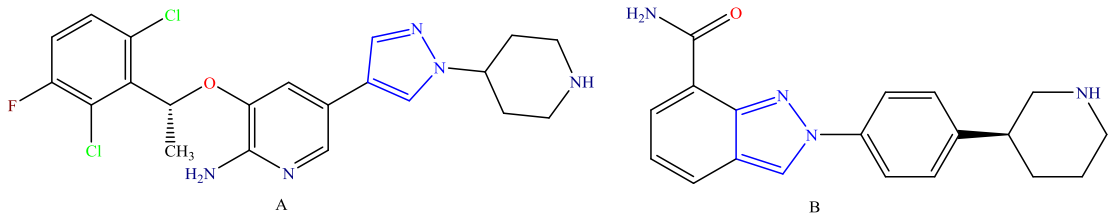
Şekil 2.3. Pirazolün tautomerik formları

Değişen özelliklere bağ uzunlukları, bağ açıları, bağ enerjileri ve değişen pKa değerleri örnek verilebilir. Pirazolün farklı kısımlar içeren bir dizi analogun sentezlenmesine olanak tanıyan çok yönlülüğü halkayı merkez çekirdeklerden biri haline getirmiştir (36, 38). Geçmişten günümüze kataliz, tarım kimyasalları, diğer bileşiklerin yapı taşları ve tıp gibi çeşitli uygulamalar için çok sayıda bileşiğin çekirdek motifleri olarak yaygın bir şekilde halen kullanılmaktadır. Pirazol, bazı aktif biyolojik moleküllerde bir farmakofor grup olarak küçük ya da polimer bileşiklerde bulunmaktadır.

Pirazol türevleri antikanser, antimikrobiyal, anti-inflamatuar, antiglisemik, anti-alerji ve antiviral dahil olmak üzere birçok terapötik özelliklere sahiptir (24).

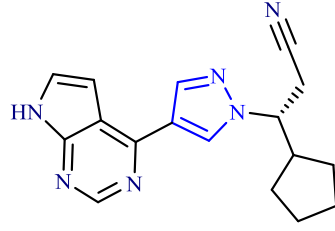
2.1.1. Pirazol Yapısının Antikanser Etkisi

Pirazol yapısının antikanser etkiye sahip olduğu ve özellikle tümör gelişiminde etkili olduğu bilinen hedefli bölgelere yönelik seçici etki gösterdiği bilinmektedir. Hedefe yönelik antitümör ajanlarının kullanımıyla kanser tedavilerinin geliştirilmesi umut verici bir gelişme olarak karşılanmaktadır. Pirazol türevlerinin BRAF (40), siklin bağımlı kinazlar (CDK) (41), Janus kinaz 2 (JAK2) (42), topoizomeraz II (43), fosfoinozimid 3-kinaz (PI3K) (44), reseptör tirozin kinazlar (RTK), epidermal büyüme faktörü (EGFR) (45), anaplastik lenfoma kinaz (ALK) (46), rapamisin memeli hedefi (mTOR) (47) gibi çok çeşitli sinyal yollarına karşı spesifik etkili olduğu kanıtlanmıştır. Kanıtlanmış bu etkilerinden yola çıkarak son zamanlarda birçok pirazol bileşiği geliştirilmiştir. Pirazol türevleri hem patentli hem de patentsiz olmak üzere FDA onaylı ve ticari olarak erişilebilir çeşitli ilaçların formülasyonunda kullanılmıştır (36). Antikanser tedavisinde yer alan pirazol halkası içeren ilaçlara örnek olarak başlıca krizotinib etken maddesi verilebilir. ALK inhibitörü olan krizotinib, akciğer kanseri tedavisinde ilk tercih olarak kullanılmaktadır. Krizotinib etken maddesinden yola çıkarak niraparib etken maddesi sentezlenmiştir (Şekil 2.4).



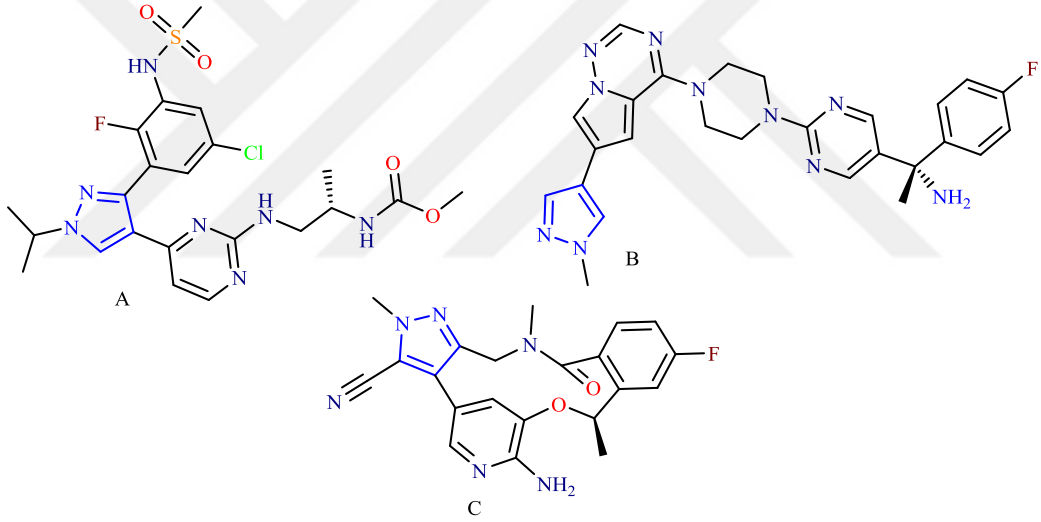
Şekil 2.4. Krizotinib (A) ve Niraparib (B) kimyasal yapısı

İleri evre over kanseri, fallop tüpü kanseri veya primer peritoneal kanseri olan hastalarda birinci basamak bakım tedavisi olarak kullanılmaktadır. Ruxolitinib (Şekil 2.5), kanser hücrelerinin çoğalmasına neden olan sinyalleri bloke ederek miyelofibroz ve polisitemi vera hastalığını tedavi etmek için çalışan kinaz inhibitörleri adı verilen bir ilaç sınıfında yer almaktadır.



Şekil 2.5. Ruxolitinib yapısı

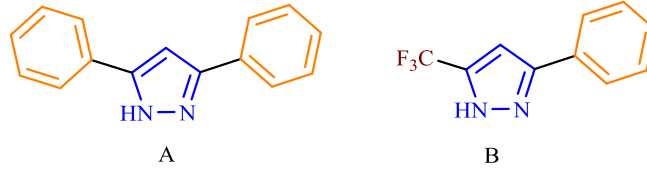
Encorafenib, FDA'nın yakın zamanda kanser tedavisi için kombinasyon kinaz inhibitörü olarak kullanılmasını onayladığı, pirazol ve sülfonamid halka iskeletine sahip bir kinaz inhibitörüdür. Avapritinib de kinaz inhibitörüdür. Cerrahi olarak tedavi edilemeyen gastrointestinal stromal tümör (GIST) adı verilen belirli bir mide, bağırsak veya yemek borusu kanseri türünü tedavi etmek için kullanılır. Lorlatinib (Şekil 2.6), vücudun diğer bölgelerine yayılmış yetişkinlerde belirli küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC) türlerini tedavi etmek için kullanılır (48-50).



Şekil 2.6. Encorafenib (A), Avapritinib (B) ve Lorlatinib (C) kimyasal yapıları

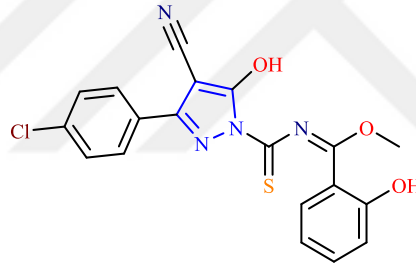
Ramoba V. ve arkadaşları yakın zamanda pirazol ana yapısına sahip L1-L5 serisi şeklinde adlandırdıkları beş farklı özgün kimyasal bileşik sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin sitotoksik etkileri pankreas (CFPAC-1 ve PANC-1), meme (MDA-MB-231 ve MCF-7), servikal (CaSki) ve HeLa kanser hücre hatlarında araştırılmıştır. Bu amaçla, hücrelere 48 saat boyunca dimetilsülfoksit (DMSO) ve 10 μ M konsantrasyonda sentezlenen bileşikler ile muamele etmişlerdir. Ardından biyolojik aktivite tayinleri yapılmıştır. Sisplatin ve gempitabin pozitif grup olarak seçilmiştir. Yapılan in vitro çalışmalar sonucunda L2 ve L3 bileşiklerinin (Şekil 2.7) CFPAC-1 (61.7

$\pm 4.9 \mu\text{M}$) ve MCF-7 ($81.48 \pm 0.89 \mu\text{M}$) hücre hatlarına karşı orta düzeyde sitotoksosite gösterdiği kanıtlanmıştır (51).



Şekil 2.7. Sitotoksisite kanıtlanmış L2 (A) ve L3 (B) bileşiklerinin yapısı

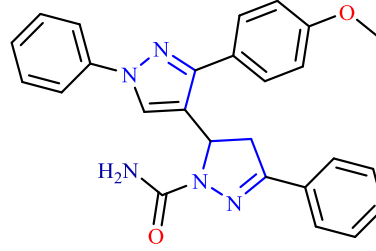
Amal Moustafa tarafından pirazol ana yapısına sahip 7 farklı bileşik sentezlenmiştir. Doksorubisin referans seçilerek bileşiklerin lösemi hücre hattı olan HL-60'a karşı değerlendirilmesi yapılmıştır. Bileşiklerden 4, 6 ve 9 lösemi HL-60'a karşı aktif bileşikler olduğu sonucuna varılmıştır. Bu üç bileşiğin karşılaştırılması sonucunda da bileşik 6'nın en güçlü sitotoksik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bileşik 6 (Şekil 2.8) için yapılan biyolojik aktivite, hücre döngüsü analizi, apoptoz tespit testi ve topoizomera II inhibisyon aktivitesi testi sonucunda bileşiğin güçlü bir topoizomera II inhibitörü olduğu gösterilmiştir (52).



Şekil 2.8. En aktif olduğu belirlenmiş Bileşik 6'nın kimyasal yapısı

Aktar W. ve arkadaşları tarafından 15 yeni pirazol-pirazolin türevinin (WSPP1-15) sentezi gerçekleştirilmiştir. Büyüme inhibisyon testleri kullanılarak MCF-7, A549, serviks kanser hücresi SiHa, kolon kanseri hücresi COLO205 ve karaciğer kanser hücresi HepG2 olmak üzere seçili 5 hücre hattına karşı in vitro antikanser aktiviteleri taranmıştır. Kontrol grubu ise 5-Florourasil (5-FU) seçilmiştir. Yapılan in vitro deneyler sonucunda WSPP11 bileşiğinin (Şekil 2.9) A549, SiHa, COLO205 ve HepG2 hücrelerine karşı 4.94, 4.54, 4.86 ve 2.09 μM 'lik IC_{50} değerleriyle aktif olduğu gözlemlenmiştir. WSPP11'in normal hücrelere (sağlıklı insan keratinositleri olan HaCaT hücre hattına) karşı da toksik olmadığı, IC_{50} değerinin 50 μM 'den fazla olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışmada sentezlenen bileşiklerin farklı olası etkilerinin olabileceği düşünülerek aktif bileşiklerin siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibisyonu açısından incelenmesi yapılmıştır. WSPP11'in diğer türevlere kıyasla daha yüksek bir COX-2 seçicilik

indeksine de sahip olduğu tespit edilmiştir. COX-2'ye karşı daha seçici olan bileşiklerin çeşitli kanser hücre hatlarına karşı daha iyi bir aktivite gösterdiği hipotezi de çalışmanın sonucunda doğrulanmıştır (53).

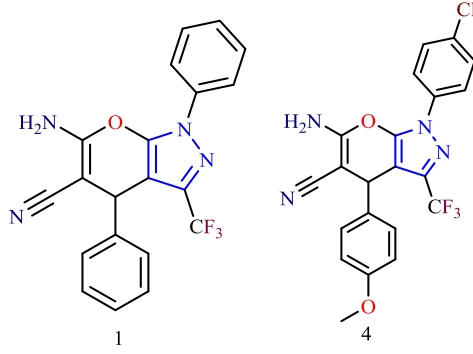


Şekil 2.9. WSPP11 adlandırılan bileşiğin yapısı

2.1.2. Pirazol Yapısının Farklı Terapötik Etkileri

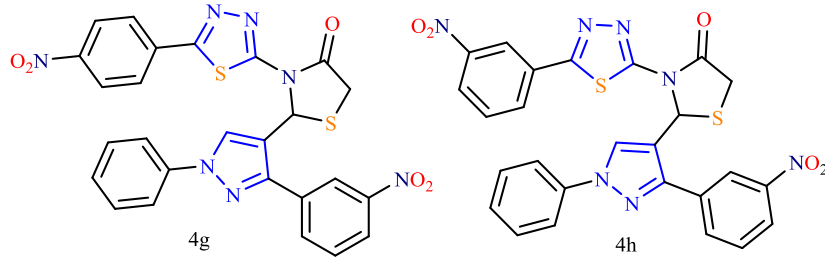
Pirazol halkası geniş bir terapötik etki yelpazesine sahiptir. Pirazol halkasının çeşitli farmasötik etkilerinden biri de antibakteriyel etkisidir. İnsanlık tarihi boyunca bakterilerin tedaviye direnç göstermesi ve enfeksiyonların çeşitlenmesiyle bilimsel arayış devam etmektedir. Yapılan çalışmalarda modifiye pirazol halkasının kanıtlanmış iyi düzeyde antibakteriyel etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (24, 54).

Yakın tarihte yapılan çalışmalardan biri de 2022 yılında yayınlamış olan Paranjay H. P. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadır. Çalışmada pirazol yapısı taşıyan modifiye heterosiklik halkaya sahip on farklı bileşik sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin öncelikle antibakteriyel ve devamında anti-sıtma, anti-tüberküloz ve antikanser aktivitelerine de bakılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin gram (+) *Staphylococcus aureus*'a karşı iyi bir etkinlik gösterdiği kanıtlanmıştır. Özellikle 3, 4, 7 ve 8 numaralı bileşikler 25–100 µg/mL minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleriyle ampisilin ile karşılaştırıldığında tüm test edilen bakteri suşlarına karşı belirgin bir etkinlik göstermiştir. 1 ile 4 numaralı (Şekil 2.10) bileşikler *Plasmodium falciparum* suşuna karşı 0.027–0.26 µg/mL aralığında ortalama bir IC₅₀ değeriyle belirgin antisitma aktivitesi gösterdiği de yapılan çalışmada kanıtlanmıştır. Bileşiklerin hepsinin *Candida albicans* mantar suşuna karşı aktif antifungal etkiye sahip oldukları yapılan aktivite testleri ile tespit edilmiştir. 1 ile 4 numaralı bileşikler *P. falciparum* suşuna karşı 0.027–0.26 µg/mL aralığında IC₅₀ değerleri kinin (IC₅₀: 0.268) ile karşılaştırıldığında belirgin antisitma aktivitesi de kanıtlanmıştır. Bu çalışma ile pirazol halkasının hem antibakteriyel etkisi hem de geniş terapötik etkinliği bilgisi somut sonuçlar ile literatüre kazandırılmıştır (54).



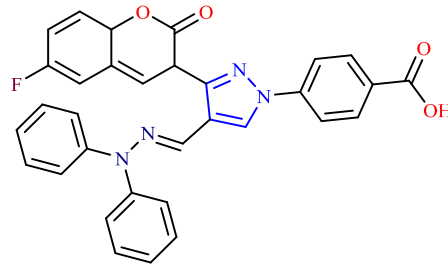
Şekil 2.10. Antisıtma ve antibakteriyel etkiye sahip 1 ve 4 numaralı bileşiklerin yapısı

Yeni 1,3,4-tiadiazol- 1*H* -pirazol-4-il-tiazolidin-4-on türevlerinin sentezi Kerru N. ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Çalışmada 4a- 4i serisi olarak adlandırılan on iki yeni bileşik sentezlenmiştir. İn vitro çalışmalarla altı bakteri suşuna karşı etkileri test edilmiştir. 4g ve 4h bileşikleri mükemmel antibakteriyel aktivite göstermiştir. Çalışmayı özel kılan sadece deneysel elde edilen sonuçlar değildir (Şekil 2.11). Çalışma kapsamında yapı-aktivite ilişkisi ile sonuçlar aydınlatılmış ve sonuçların yorumu bu şekilde yapılmıştır. Çalışmalar deneysel sonuçlar ile uyumlu çıkmıştır. *Klebsiella pneumonia* ve *Staphylococcus aureus* bakteri suşlarına karşı minimum bakterisidal konsantrasyon değerleri (MBC) 4.9 ve 39.1 bulunmuştur. Sonuçlar siprofloksasinle (MBC = 4.9, 625 ve 39.1 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$) karşılaştırıldığında bileşiklerin etkinliği kanıtlanmıştır. Bileşik 4g' nin (MBC = 156.3) standart ilaca kıyasla (MBC = 625) *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı dört kat daha güçlü bir etki gösterdiği kanıtlanmıştır (55).



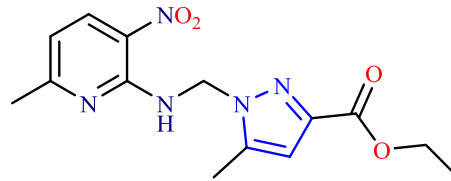
Şekil 2.11. 4g ve 4h bileşiklerinin yapısı

Rawan ve arkadaşları tarafından kumarin kısmına sahip otuz bir yeni pirazol türevi sekiz gram (+) bakteri suşu ve üç gram (-) bakteriye karşı test edilmiştir. Kontrol grubu olarak vankomisin kullanılmıştır. *N, N* -difenil ikameli bileşik 7, test edilen tüm gram (+) bakteri suşlarına karşı güçlü bir aktivite göstermiş fakat *Acinetobacter baumannii*'ye karşı hiçbir aktivite göstermemiştir (Şekil 2.12). Bu molekül 3,125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kadar düşük bir MİK değeriyle metisiline duyarlı *S. aureus*'un (MSSA) büyümesini engellediği kanıtlanmış ve 1.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MİK değeriyle dört metisiline dirençli suşu da engellediği bildirilmiştir (56).



Şekil 2.12. Test edilen tüm gram (+) bakteri suşlarına karşı aktif olan Bileşik 7'nin yapısı

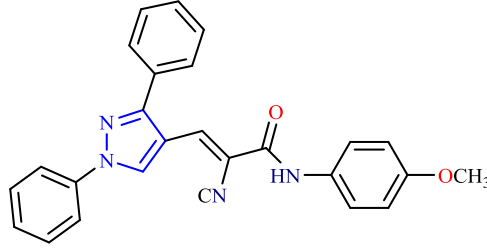
Titi A. öncülüğünde yürütülen çalışmada L1-L3 serisi olarak adlandırılan, pirazol ana halka yapısına sahip bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin antifungal, antibakteriyel, antikanser terapötik etkilerine bakılmıştır. Antifungal aktiviteleri *Aspergillus flavus*, *Penicillium marneffeii*, *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans* suşlarına karşı değerlendirilmiştir. Kontrol grubu olarak ketokonazol kullanılmıştır. Petra/osiris/molinspirasyon (POM) analizi ile bileşiklerin farmakofor bölgeleri tespit edilmiştir. L3 bileşiğinin (Şekil 2.13) antifungal etki açısından en güçlü bileşik olduğu L2 bileşiğinin ise antifungal etkiye sahip olmadığı kanıtlanmıştır. POM analizi ile aktivite sonuçları karşılaştırıldığında sonuçlar birbirini doğrulamıştır. L2 bileşiğinin antifungal etki için gerekli olan bağlanma yöresinin molekül içi kapalı halka olması nedeniyle ilgili yöreye bağlanamadığı tespit edilmiştir. İkili analiz sayesinde bileşiklerin hem IC₅₀ değerleri ile hem de etkili bölgenin kanıtlanması bulunmuştur (57).



Şekil 2.13. Antifungal aktivitesi en güçlü olan L3 bileşiğinin yapısı

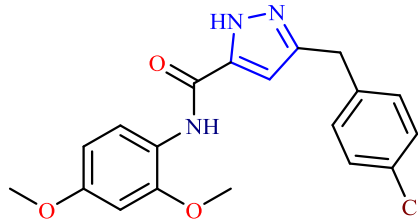
Abd-El Halim ve arkadaşları tarafından yirmi farklı pirazol iskeleti taşıyan molekül sentezlenmiştir. Antifungal etkileri in vitro testler, moleküler yerleştirme ve dinamik simülasyonlarıyla test edilmiştir. Biyouyumlulukları insan deri hücresi olan HFB4 ile kontrol edilmiştir. *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Rhizopus oryzae* ve *Penicillium chrysogenum* fungal patojenler kullanılmıştır. En iyi antifungal etkiye sahip bileşiğin 3b (Şekil 2.14) olduğu (en etkili olduğu mantarlar *A. niger* ve *A. flavus*) tespit edilmiştir. Çalışmada 3b'nin incelenen patojenik mantar suşlarına karşı 1000 ile 500 µg/ml arasında %100 antifungal aktivite, 250 µg/ml dozlarında %50 ve 125 µg/ml dozunda hiçbir antifungal etki göstermediği bulunmuştur. Biyouyumluluk araştırması sonucunda 3b

bileşiğinin tamamen güvenli olduğu bulunmuştur. ADMET çalışmaları ile 3b bileşiğinin ilaç olabilirliğinin uygunluğu kanıtlanmıştır (58).



Şekil 2.14. En iyi antifungal etkiye sahip 3b bileşiğin yapısı

Jo ve arkadaşları tarafından hem insülin salgılanmasını hem de glikoz alımını uyaran bileşiklerin sentezi yapılmıştır. Çalışmada 3-benzil-N-fenil-1-*H*-5-karboksamid bifonksiyonel yapısına sahip kırk bir bileşik sentezlenmiştir. INS-1 hücrelerinde glikoz uyarılı insülin salgılanmasının (GSIS) ölçülmesiyle insülin salgılama aktiviteleri değerlendirilmiştir. INS-1 hücreleri, iki saat boyunca 5 μ M konsantrasyonda bileşiğe maruz kalmış ve bir saat boyunca 3.3 mM ve 16.7 mM glikoz ile uyarılmıştır. Kontrol grubu olarak gliklazid ile çalışılmış, INS-1 hücrelerinin canlılığı, 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür (MTT) testi kullanılarak ölçülmüştür. Yapılan testler sonucunda bileşik 26'nın (5 μ M'de GSI 14.9 ± 0.20) en iyi aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır. Bileşik 26'nın (Şekil 2.15) C2C12 miyotüp hücre hattında glikoz alımını artırma kapasitesi açısından değerlendirilmesi yapılmış ve insülin yokluğunda glikoz alımını doza bağlı olarak arttırdığı kanıtlanmıştır (59).

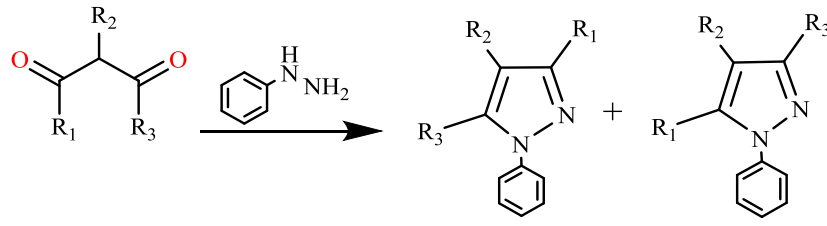


Şekil 2.15. En iyi aktivite gösteren bileşik 26'nın kimyasal yapısı

2.1.3. Pirazol Yapısının Sentezleri

1.3-Diketonlardan Pirazol Sentezi

1,3-dikarbonil bileşikleri ile hidrazin türevlerinin siklokondenzasyonu tepkimesi kolay ve hızlı polisüstitüe pirazollerin sentezini sağlar (Şekil 2.16). Bu tepkime ilk kez Knorr ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (31).



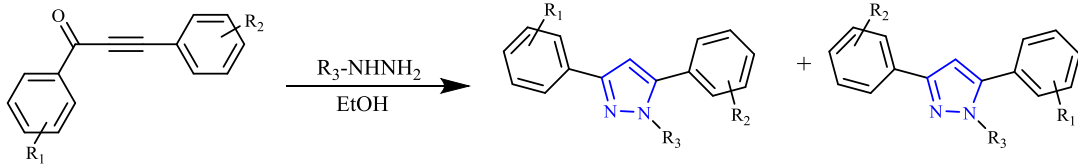
Şekil 2.16. 1,3-diketonlardan pirazol sentezi (31)

Sentezde kullanılacak 1,3-diketonların hazırlığı önceden yapılmalı ve saflaştırılmalıdır. Çözücü kullanılmadan yapılan reaksiyonlar ile organik çözücü kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyonlar karşılaştırıldığında çözücsüz reaksiyonlar daha hızlı gerçekleşmektedir. Bu bilgi doğrultusunda oda sıcaklığında katalize edebilecek miktarda sülfirik asit eklenmesi ile 1,3-diketonların hidrazin ile çözücsüz ortamda kondenzasyonu %96 oranında yüksek verimle 3,5-disüstitüe pirazol eldesi sağlamaktadır (60).

Asetilenik Ketonlardan Pirazol Sentezi

Çapraz konjuge eninonlar ve arilhidrazinler reaksiyonundan verimli pirazol türevleri elde edilmektedir.

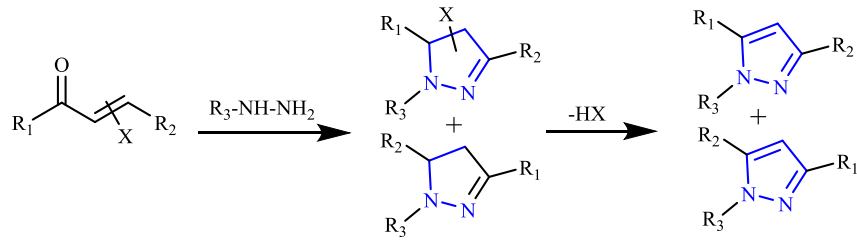
Metilhidrazin veya aril hidrazinlerin etanolde asetilenik ketonların siklokondenzasyonu sonucunda zor ayrılabilen iki regioizomerik pirazol (Şekil 2.17) elde edilmiş olur (61).



Şekil 2.17. Asetilenik ketondan regioizomer içeren pirazol sentezi (61)

Vinil Ketonlardan Pirazol Sentezi

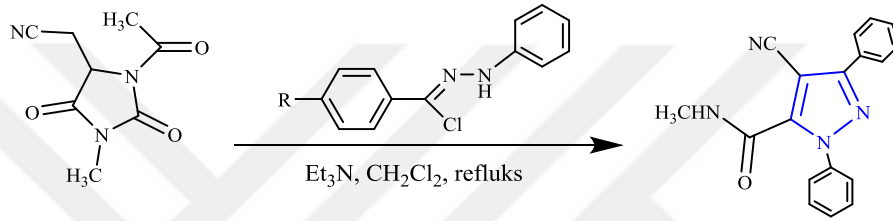
R-enonlar ile hidrazinlerin kondenzasyonu sonucunda regioselektif bir biçimde pirazolin yapıları sentezlenir (Şekil 2.18). Pirazolin yapısının oksidasyona uğraması ile de pirazol halkası elde edilir (62). Eğer reaksiyonda kullanılan α,β -vinil ketonların yapısında kolay ayrılabilen X grupları bulunursa; reaksiyon ortamında bulunan hidrazinler ile reaksiyona girebilirler. Reaksiyon sırasında bu durumu engellemek için ayrılan -HX grubunun ortamdaki eliminasyonu sağlanır (36).



Şekil 2.18. α,β -vinil ketonlardan hidrazinler ile pirazol sentezi (36)

İmidazol Halkasından Pirazol Sentezi

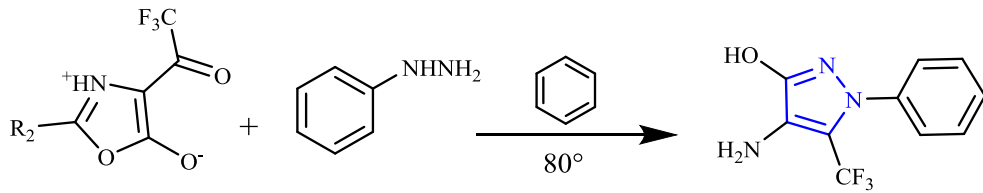
1-Açıl-5-(siyanometiliden)-3-metilimidazolidin-2,4-dion yapısı ile arilhidrazonil klorür yapısının bazik ortamda reaksiyona koyulması sonucunda %27-40 orta düzey bir verimle pirazol-5-karboksamidler (Şekil 2.19) elde edilir (63)



Şekil 2.19. İmidazol halkasından pirazol sentezi tepkimesi (63)

Oksazol Halkasından Pirazol Sentezi

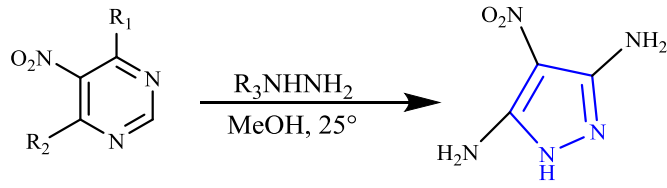
4-Trifloroasetil-1,3-oksazolyum-5-olat bileşiğinin benzendeki çözeltisi hazırlandıktan sonra fenilhidrazinler ile muamele edilmesi sonucu 5-Triflorometil-3-hidroksipirazoller elde edilir (Şekil 2.20). Reaksiyon geri çeviren soğutucu altında yürütülmelidir. Reaksiyon koşulları sağlanabilirse %46-95 arası iyi bir verim oranıyla pirazol halkası sentezlenebilir (64).



Şekil 2.20. Oksazoldan pirazol sentezi (64)

Pirimidin Halkasından Pirazol Sentezi

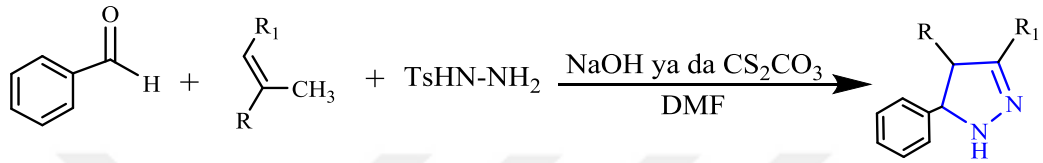
Nitropirimidin bileşiği oda sıcaklığında metanol eşliğinde arilhidrazinlerle muamele edilmesi sonucu 4-nitro-3,5-diaminopirazol yapısı elde edilir. Reaksiyon %21-61 verimle gerçekleşir (65).



Şekil 2.21. Nitropirimidinden sübstütüe pirazol sentezi (65)

Halka Açılma Reaksiyonu ile Pirazol Sentezi

Polisübstütüe pirazol yapısı için paladyum katalizörlüğünde 2*H*-azirinler ve hidrazonlar reaksiyona koyulur (Şekil 2.22), halka açılması ile sentez gerçekleştirilir (66).

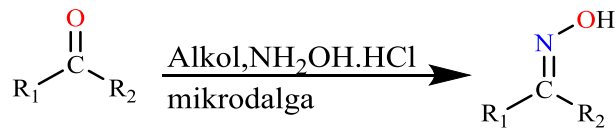


Şekil 2.22. Polisübstütüe pirazol yapısının halka açılma reaksiyonu ile eldesi (66)

2.2. Oksim ve Oksim Eterler

2.2.1. Genel Özellikleri

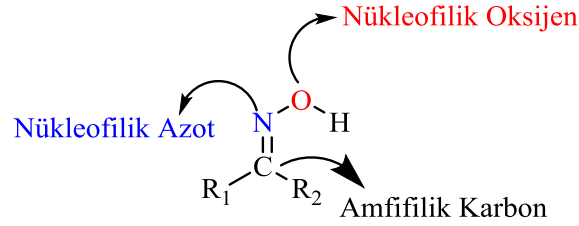
Oksimler, imin fonksiyonel yapısı ve bu yapının azot atomunda hidroksil grubu içeren fonksiyonel bir yapıyı temsil etmektedir. Genel formülleri $RR'C=N-OH$ ile karakterize edilirler (Şekil 2.23). Genel olarak aldehit ve keton gibi karbonil moleküllerinin hidroksilamin ile reaksiyonundan aldoksim ve ketoksim şeklinde elde edilirler (67).



Şekil 2.23. Ketondan oksim sentezi (74)

Aldehit ve asimetrik ketonların hidroksilamin ile reaksiyonundan geometrik izomerlerini içeren oksimler elde edilir. *E* (Alm. Entgegen=karşıt) ve *Z* (Alm. Zusammen=beraber) izomer formları reaksiyon ortamında farklı oranlarda bulunur. Bu formların her biri farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptirler. Bu farklı özellikleri formların biyolojik özelliklerini de değiştirmektedir (Şekil 2.24). Bundan dolayı sentez sonrasında kromatografik yöntemler ya da yeniden kristallendirme gibi yöntemler ile izomer formları saflaştırılmalı ve ayrılmalıdır (68).

Oksimlerin yapısında bulunan oksijen ve azot atomları genel yapıya nükleofilik bölgeler kazandırırken karbon atomu ise amfifilik özellik katmaktadır. Bu çok çeşitli kimyasal bölgeler nedeniyle oksim yapısı tepkimeler için ideal adaylar arasındandır (69).

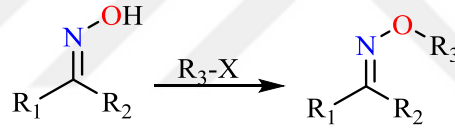


Şekil 2.24. Oksim yapısının farklı özellikte kimyasal bölgeleri

Oksim yapısının bu özellikleri yapının biyoaktif moleküller olmasını sağlar. Yapıyı hem kimya alanında hem de tıp alanı araştırmalarında önemli bir merkez konumuna getirmektedir. Yapının antimikrobiyal, antikanser, antifungal, antihiperglisemik, antioksidan gibi birçok farmakolojik etkileri mevcuttur (69, 70).

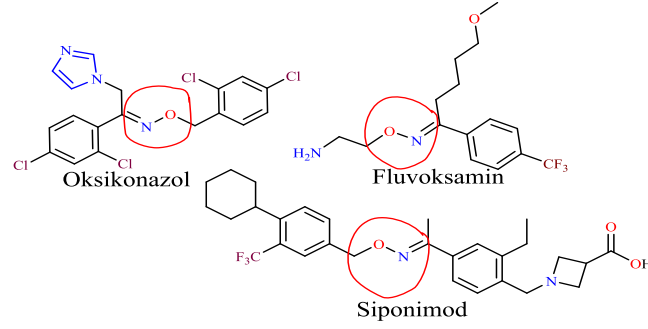
Oksim Eter Genel Özellikleri

Oksim eterler $>C=NOR$ fonksiyonel kısmını (Şekil 2.25) içeren bir bileşik sınıfıdır. Oksimlerin alkil veya aril halojenlerle reaksiyonlarından oluşur (70).



Şekil 2.25. Oksimden oksim eter sentezi (70)

Oksim eter sentezi ile farklı yapısal elementleri tek bir molekülde birleştirmenin kolaylığını sağlar. Bu çoklu yapı birleşimi sayesinde de çeşitli biyolojik aktivite gösteren bileşiklerin olasılığı arttırılmış olunur. FDA onaylı ilaçlar içerisinde oksim eter sınıfı çeşitli aktivitelere sahip ilaç molekülleri bulunmaktadır. Buna örnek olarak topikal uygulanan antifungal etkinliğe sahip oksikonazol ilaç etken maddesi verilebilir. Bu etken madde imidazol ve asetofenon içerikli bir oksim eter türevidir. Seçici geri alım inhibitörü olarak antidepresan farmakolojik etki gösteren fluvoksamin etken maddesi de örnek gösterilebilir. Siponimod etken maddesi de karboksilik asidin bir benzil eter türevidir (Şekil 2.26). Yetişkinlerde multipl skleroz hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (71).



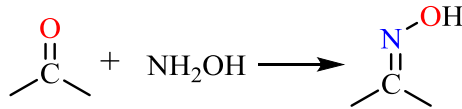
Şekil 2.26. Oksikonazol, fluvoksamin ve siponimod ilaç etken maddelerinin yapısı

2.2.2. Oksim ve Oksim Eterlerin Sentezleri

Oksim Sentez Yöntemleri

Aldehit ve Ketonlardan Oksim Sentezi

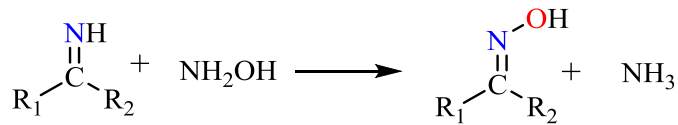
Aldehit ve ketonlardan oksim eldesi sıklıkla kullanılan sentez yöntemidir. Aldehit ve keton yapısında bulunan karbonil grubu ($-C=O-$) hidroksilamin hidroklorür ($NH_2OH.HCl$) ile reaksiyona girerek oksim ($-C=N-O-$) yapısını oluşturmaktadır (Şekil 2.27). Çözücü olarak genellikle su ve etanol gibi polar çözücüler kullanılmaktadır. Reaksiyonun verimi ve hızı ortamın sıcaklığına ve pH bağlı olarak değişmektedir. Sentez sırasında ortamın bazik olması önemlidir. Bu nedenle sentezde baz olarak sıklıkla sodyum hidroksit ($NaOH$) ya da sodyum karbonat (Na_2CO_3) kullanılmaktadır. Reaksiyon ortamının pH'ı nötr olmaya başladığında da sentez hızının en üst seviyeye ulaştığı bilinmektedir (67).



Şekil 2.27. Aldehit ve ketonlardan oksim sentezi (67)

Ketiminlerden Oksim Sentezi

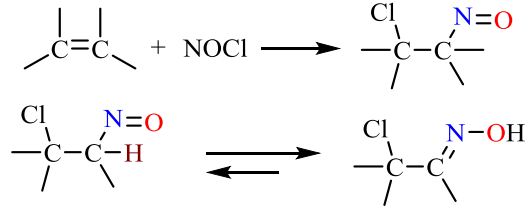
Ketiminler yapısında $C=NH$ fonksiyonel grubu içeren bileşiklere denilmektedir. Oksimlerin sentezinde ketiminler keton gruplarına göre daha sıklıkla tercih edilirler. Çünkü ketiminlerle yapılan sentez ketonlara göre daha kolay gerçekleşmektedir (Şekil 2.28). Ketiminlerin de karbonil grubu içeren aldehit ve ketonlar gibi hidroksilamin hidroklorür ile reaksiyonu sonucunda oksimler elde edilirler (72).



Şekil 2.28. Ketiminlerden oksim sentezi (72)

Alkenlere Nitrozil Klorür Katılması ile Oksim Sentezi

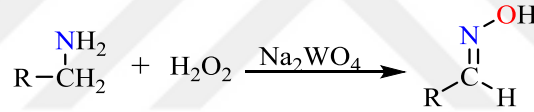
Alkenlere nitrozil klorür katılması sonucunda β -halonitrozo bileşiği oluşur. Reaksiyonun ilk adımı gerçekleştikten sonra nitro grubunun bağlandığı karbon atomunun üzerinde hidrojen atomu varsa katılma tepkimesi gerçekleşir (Şekil 2.29). Böylece karbon atomu kararsız hale dönüşerek tautomeriye uğrar ve reaksiyonun son basamağında oksim sentezi gerçekleşir (73).



Şekil 2.29. Alkenlerden oksim sentezi (73)

Primer Aminlerin Yükseltgenmesi ile Oksim Sentezi

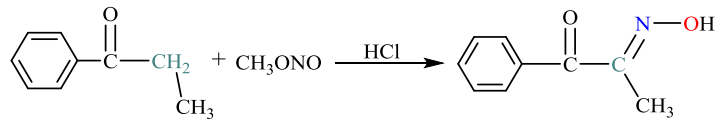
Primer aminlerin hidrojen peroksit ile sodyum tungstat katalizörlüğünde reaksiyonu sonucunda oksim elde edilir (Şekil 2.30). Reaksiyon primer aminlerin yükseltgenmesi sonucunda gerçekleşir (73, 74).



Şekil 2.30. Primer aminlerden yükseltgenme sonucu oksim eldesi (73)

Ketonların Alkilnitrit ile Reaksiyonundan Oksim Sentezi

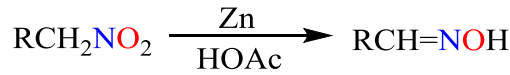
Ketona komşu CH_2 grubunun asidik ortamda alkilnitrit ile reaksiyonu sonucunda oksim oluşur (Şekil 2.31). Keton grubu yapıda korunarak reaksiyon CH_2 grubu üzerinden yürümektedir. Sentez sırasında reaksiyon ortamının asit olması gerekmektedir. Asidik ortam için genellikle hidroklorik asit kullanılmaktadır (75).



Şekil 2.31. Ketonların alkilnitrit ile sentezi sonucu oksim sentezi (75)

Alifatik Nitro Bileşiklerinin İndirgenmesi Sonucu Oksim Sentezi

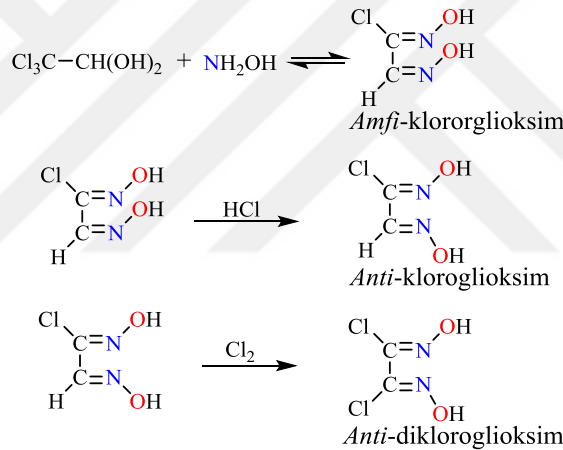
Yapısında α -hidrojeni taşıyan alifatik nitro bileşiklerinin indirgenmesi sonucunda oksim elde edilmektedir (Şekil 2.32). Reaksiyonda kalay klorür, sodyum, alkol ve çinko gibi indirgeyici ajanlar kullanılmaktadır (73).



Şekil 2.32. Alifatik nitro bileşiklerinin indirgenmesi ile oksim sentezi (73)

Kloralhidrattan Oksim Sentezi

Kloralhidratla hidroksilamin hidroklorürün birkaç adımda gerçekleşen reaksiyonu sonucunda vic-dioksimler elde edilmektedir (Şekil 2.33). Vic-dioksim veya vic-oksim olarak adlandırılan organik bileşiklerin yapısında birbirine komşu karbon atomları üzerinde her bir karbon atomunun birer oksim grubu bulunmaktadır. Fonksiyonel grubun yapısında birbirine komşu iki oksimin bulunmasından dolayı adlandırılması vic-oksim veya vic-dioksim olarak yapılmaktadır. Reaksiyon sonucunun ilk basamağında vic-oksimlerde önemli bir yere sahip olan kloroglioksimler elde edilmektedir. Reaksiyonun ilerleyen basamaklarının sonucunda da *anti*-kloroglioksim ve *anti*-dikloroglioksim elde edilmektedir (76).



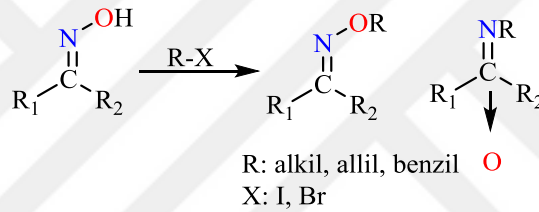
Şekil 2.33. Kloralhidrattan dioksim sentezleri (76)

Oksim Eterlerin Sentezi

Oksimden O-Alkilasyon ile Oksim Eter Sentezi

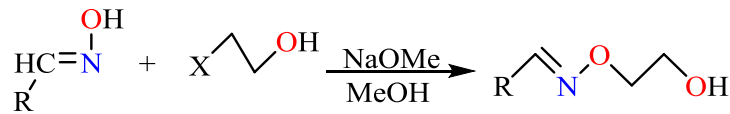
Oksim eter elde etmek için yaygın bir şekilde kullanılan yöntemdir. Bu reaksiyon kimyada Williamson Eter sentezi olarak bilinmektedir. Oksim ile alkil halojenürlerin bazik ortamda reaksiyonu ile oksim eter elde edilme yöntemidir (Şekil 2.34). O-alkilasyon yöntemi ile yüksek verimle ve hızlı bir şekilde oksim eter sentezlenmektedir. Reaksiyon verimini ve hızını etkileyen başlıca neden başlangıç maddesinin yapısında amin, hidroksil, karboksilli asit gibi alkil halojenürlerle oksim dışında reaksiyona girebilecek fonksiyonel grupların bulunmasıdır. Reaksiyona koyulan başlangıç maddesinde oksim dışında bu gruplar yer almadığında alkil halojenür ile doğrudan oksim

tepkimeye girdiği için reaksiyon hızlı ve reaksiyonun verimi yüksek olmaktadır. Reaksiyonun ilk basamağında oksimin etanol veya metanol gibi polar çözücüler içerisinde, metalik sodyum (Na^0), sodyum hidrür (NaH) ve potasyum hidroksit (KOH) gibi bazlar ile muamelesi sonucu metal tuzlarına (oksimat) dönüştürülme işlemi gerçekleşmektedir. Bu adım ile oksimin oksim etere dönüştürülme reaksiyonun süresi kısaltılmaktadır. Reaksiyonun ikinci adımında ise oluşan oksimatlar ile alkil halojenürler reaksiyona koyulur ve sonuç olarak oksim eter ya da nitronlar oluşmaktadır. Sentez sonucunda oksim eterlerin yanı sıra nitronların da oluşmasının nedeni, oksimin yapısında iki adet nükleofilik merkez (azot ve oksijen olmak üzere) bulunmasıdır. Sentezin sonucunda oluşan ürünün nitron mu yoksa oksim eter mi olacağı kullanılan reaktife, oksimin yapısına ve reaksiyon şartlarına bağlıdır (77-79). Reaksiyon sonucu oksim eter oluşması durumunda oksim eterin konfigürasyonu genellikle başlangıç maddesindeki oksimin konfigürasyonu ile aynı olduğu bilinmektedir (80).



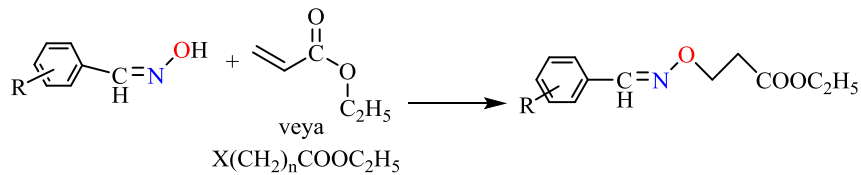
Şekil 2.34. Oksimlerin alkillayıcı ajanlar ile sentezinden oksim eter sentezi (77)

Oksimlerin, haloetanol ile sodyum metanoat (NaOMe) varlığında reaksiyona koyulması ile hidroksil grubuna sahip oksim eter türevleri (Şekil 2.35) elde edilmektedir (81).



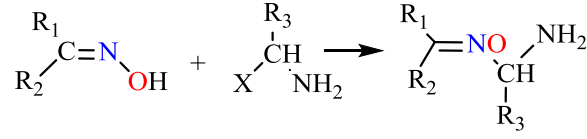
Şekil 2.35. Oksimlerin haloetanol ile reaksiyonundan oksim eter sentezi (81)

Katım reaksiyonları ile oksim eterler sentezlenmektedir (Şekil 2.36). Michael katım reaksiyonunda oksimler bazik ortamda ester veya etil akrilat taşıyan alkil halojenürlerle reaksiyona girerek oksim eter bileşiklere dönüşürler (77, 82).



Şekil 2.36. Oksimlerin Michael katım reaksiyonu ile oksim eter sentezi (82)

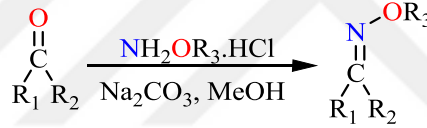
O-alkilasyon yoluyla oksim eter sentezine amin fonksiyonel grubu içeren alkil halojenürlerin oksimlerle reaksiyonu da örnek verilmektedir (83).



Şekil 2.37. O-alkilasyon ile alkil halojenürden oksim eter sentezi (83)

Aldehit ve Ketonların O-alkil Hidroksilaminlerle Reaksiyonu Sonucu Oksim Eter Sentezi

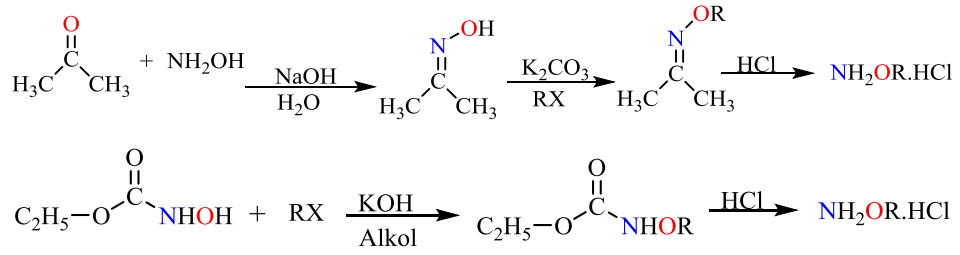
Oksim eter eldesinde kullanılan diğer bir sentez yöntemi ise zayıf alkali ortamda gerçekleşen aldehit veya ketonların O-alkil hidroksilaminlerle muamele edilmesidir (Şekil 2.38). Bu sentez yönteminde çözücü olarak metanol kullanılırken ortamın bazik olmasını sağlamak amacıyla sodyum asetat (CH₃COONa) veya piridin gibi zayıf bazlar kullanılmaktadır. Metanol dışında çözücü olarak dimetilformamit, dioksan veya tetrahidrofuran da kullanılmaktadır. Reaksiyon ortam sıcaklığı oda sıcaklığı ile kullanılan solvanın kaynama noktası aralığında geniş bir aralıkta değişmektedir (84, 85).



Şekil 2.38. O-alkilasyon yöntemi ile aldehit ve ketonlardan oksim eter sentezi (85)

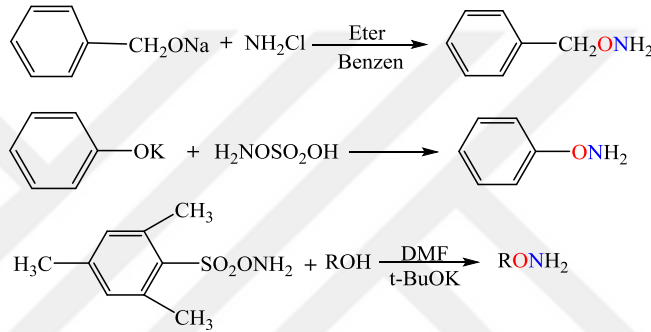
O-alkil hidroksilamin oksim eter içeren bileşiklerin fonksiyonunda önemli bir role sahiptir. Oksim eter sentezinde yaygın bir şekilde kullanılan O-alkil hidroksilaminin de farklı sentez yöntemleri bulunmaktadır. Yapı sentezlenirken birinci yolak hidroksilamin yapısındaki amin grubunun korunmasıdır. Sentezde kullanılan ikinci yolak ise alkol veya fenollerin O-aminasyonu ile sentez yolağıdır (Şekil 2.39).

İlk seçenek olan hidroksil amin grubunun korunması üzerine yapılan sentez yönteminde amin grubu koruyucu bir grup ile korunmaktadır. Koruyucu grupla yapı korunduktan sonra sentezin ikinci adımı olarak serbest hidroksil grubunun alkil halojenürlerle reaksiyona girmesi sağlanmaktadır. Sentezin tamamlanması sonucu amin grubunun reaksiyona girmemesi ve yapının korunması amacıyla bileşiğe eklenen koruyucu grubun hidroliz edilmesiyle amin grubu serbest bırakılır. Sonuç olarak O-alkil hidroksilamin yapısı sentezlenmiş olur (77, 85).



Şekil 2.39. Amin grubunun korunması ile O-alkil hidroksil amin eldesi (77, 85)

Sentezde diğer bir yöntemde alkol veya fenollerin O-aminasyonu ile yapılan sentezdir (Şekil 2.40). Alkol, fenol veya bu bileşiklerin tuzlarının hidroksilamin O-sülfonik asit, kloramin ve O-mezitilen sülfoniloksi aminin reaksiyonu sonucu gerçekleşir (77).



Şekil 2.40. Alkol veya fenollerin O-aminasyonu ile O-alkil hidroksilamin sentezi (77)

2.3. Kanser

Kanser, kardiyovasküler rahatsızlıklardan sonra dünya genelinde ölüme en çok neden olan hastalıktır. Bilim dünyasında bulunan yeni tedavi seçenekleri, geliştirilmiş tanı kitleri, kanser gelişim yollarının keşfedilmesine rağmen kansere yakalanma oranı ve kanserden ölüm oranı geçmiş yıllara göre sürekli artmaktadır. Bu zorlu mücadele nedeniyle kanser hem toplum sağlığı hem de sağlık ekonomisi bakımından dünya genelinde önemli bir sorun haline gelmiştir (1-3).

Kanserin bu denli önemli bir halk sağlığı olmasının başlıca nedeni hastalığın tekdüze bir hastalık olmasından öte karmaşık bir hastalık olmasıdır. Sağlıklı kök hücrenin genetik ve çevresel faktörler sonucunda mutasyona uğraması ve kontrolsüz büyüme yeteneği kazanması kanser oluşumunun başlıca nedenidir (7). Tedavi yönetiminde de ilk hedef bu kontrolsüz büyümenin durdurulup kontrol altına alınarak kanserin çoğalmasını önlemek olmuştur. Fakat kanserli hücrenin sürekli mutasyona uğraması ve tedaviye karşı direnç kazanması tedavinin başlıca güçlüklerindendir. Aynı zamanda hala açıklanamayan karmaşık kanser gelişim yolları da kanserin önlenemez olmasını ve tedavi

edilebilirliğini zorlaştırmaktadır. Tüm bu durumlardan dolayı kanser alanında yapılan çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmakta ve kanser çalışma alanı popüler bilim alanında yer almaktadır (7-9).

2.3.1. Kanserın Yayılımı ve Metastaz Gelişimi

Vücutta herhangi bir dokuda, organda veya kemikte sayısız çoğalan, bölünmesi kontrol altına alınamayan ve sonucunda bir hücre kümesi yığını oluşan yapıya tümör denilmektedir. Tümör, iyi huylu ve kötü huylu tümör olarak iki şekilde sınıflandırılmaktadır. İyi huylu tümör bulunduğu canlının sağlığını tehdit etmeyen kitle şekline denilmektedir. Kötü huylu olarak adlandırılan tümör ise bulunduğu canlının sağlığını tehdit eden ve kanser tanısı almasına neden olan durumdur (86).

Kötü olarak tanımlanan tümörden, anormal hücrelerin koparak kan dolaşıma girmesi sonucunda vücudun farklı organlarına yayılması sonucu metastatik kanser oluşumu gerçekleşir. Metastatik kanserde kanser bölge sınırlandırılmasının yapılamaması nedeniyle metastaz gelişimi tedaviyi oldukça güçlendirmektedir. Metastaz gelişimi hastalığın son evreye geldiğini gösteren önemli tanı kriteridir. Metastaz gelişen hastalar ile lokalize kansere sahip hastalar arasında yapılan 5 yıllık sağ kalım karşılaştırmasında arada ciddi bir fark olduğu çok nettir (87). Metastaz gelişimi sonrasında sınırlı tedavi seçeneği, hastaların metastaz oluşumu nedeniyle organ yetmezliği sorunuyla karşılaşması ve kan dolaşımında yer edinmiş kanserli dokuların vücudun çok uzak bölgelerinde tutunması hastaların sağ kalım oranını düşüren en temel nedenlerdir. Metastaz gelişmiş kanser vakalarının tedavisinin geliştirilmeye ihtiyacının olduğu bilinmektedir. Bu başlıca nedenler, kanserin zorlu ve karmaşık bir hastalık olduğunu bir kez daha kanıtlamaktadır (88).

2.3.2. Kanserın Tedavi Hedefleri ve Mevcut Tedavi Seçenekleri

Kanserle başa çıkmak için her geçen gün kanser tedavisi üzerine sayısız çalışmalar yapılmaktadır. Bu alanda yapılan çalışmaların temel amacı hastalığın ilerlemesinin kontrol altına alınarak hastanın ömrünün uzatılması ve hayat kalitesinin artırılmasıdır. Bu nedenle kolay uygulanabilir, hastanın uyuncunun yüksek olduğu, hastalığa karşı seçici ve kişiye özelleştirebilir tedavi seçenekleri geçmişten günümüze geliştirilmiştir (88).

Kanser tedavisinin zamanla değişimi incelendiğinde 1800’lü yıllarda kansere cerrahi müdahalenin ilk tercihlerden biri olduğu bilinmektedir. O yıllarda genel anestezinin kullanılabilir hale gelmesi ile cerrahi müdahale önem kazanmıştır. 1800’lü

yılların sonuna doğru X ışınlarının keşfedilmesi radyasyonun cerrahi müdahale ile beraber kullanımı sağlamıştır (89). 1990 yıllara doğru kanser tedavisinde yapılan geniş çaplı araştırmalar sonucu mesane kanserinde Bacillus Calmette-Guérin (BCG) kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır. 1990'lı yılların sonuna kadar kanserde 3 temel tedavi seçeneği bulunmaktadır; cerrahi müdahale, radyoterapi ve kemoterapi ajanlarının kullanılması. 1997 yılında kanser tedavisinin amacını daha da özelleştirecek tedavi seçeneğinin bulunması ile kanser tedavisinin seçenekleri arttırılmaya başlanmıştır. 1997 yılında FDA tarafından ilk hedefli tedavi olarak kullanılması amaçlanan kemoterapötik ajan olan Rituximab kullanımı onaylanmıştır (90, 91). Kanser türüne yönelik hedefli tedavinin hastanın yaşam kalitesi ve sağ kalımı üzerindeki olumlu etkilerin sonucunda bu alanda yapılan çalışmaların sayısı artmıştır. Rituximab kullanımının onaylanmasının üzerinden az bir zaman geçtikten sonra meme kanseri için ilk hedefli tedavi onayı verilmiştir. Meme kanserindeki ilk hedefli tedavi için Trastuzumab kullanılması özellikle kadınlar için umut olmuştur. Tedavi üzerine yapılan ilginin artması ile kısa süre içerisinde kanser tedavi seçenekleri arttırılmış ve yeni kemoterapötik ajanların sayısı artmıştır (90).

Günümüzde kanser tedavisinde başlıca cerrahi müdahale, radyoterapi, kemoterapötik ajanların kullanımı, kök hücre tedavisi, hedefe yönelik akılcı ilaçların kullanımı, gen tedavisi, doğal antioksidanlar ile tedavi kullanılmaktadır. Günümüzde mevcut tedavilerin birlikte kullanılması da sıklıkla tercih edilen yöntemlerdir (92).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Materyal

Bu tez kapsamında yapılan sentez çalışmasında kullanılan tüm çözücüler teknik ve analitik niteliktedir.

Sentez sırasında 4-metilpirazol (Merck), 4'-kloro-2-bromoasetofenon (Sigma Aldrich), hidroksilamin hidroklorür (abrc), sodyum borhidrür (abrc), iyodometan (Sigma Aldrich), 1-bromoetan (Merck), 1-kloropropan (Sigma Aldrich), 1-bromobütan (Merck), 1-bromopentan (Merck), 1-bromoheksan (Merck), 2-bromopropan (Sigma Aldrich), 1-bromo-2-metilpropan (Merck), 1-bromo-3-metilbütan (Merck), 1-kloro-siklopentan (Merck), 1-sikloheksan (Sigma Aldrich) ve farklı çözücüler (Sigma Aldrich) kullanıldı.

Spektral analizlerde de kloroform-d₆ (CDCl₃) (Merck) ve kromatografi çalışmalarında ise Silikajel 60 F₂₅₄ (Kat.No.5554) (Merck) kullanıldı.

3.1.2. Bileşiklerin Sentez Yöntemleri

Başlangıç Maddelerinin Sentezleri

1-(4-Klorofenil)-2-(1*H*-4-metilpirazol-1-il)etanon sentezi

0.03 mol 4-metil pirazol 2.5 ml dimetilformamit içerisinde çözündü. Hazırlanan çözelti buz banyosu içerisinde 0 °C'ye kadar soğutuldu. 0.01 mol 4'-kloro-2-bromoasetofenonun 2.5 ml dimetilformamitteki çözeltisi soğutulan 4-metil pirazol çözeltisi üzerine yavaş yavaş eklenerek manyetik karıştırıcı da karıştırıldı. Reaksiyon ortamı 2 saat buz banyosu ve 1 gün oda sıcaklığı olacak şekilde ayarlandı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra buzlu su içerisine damla damla döküldü. Oluşan çökelek süzüldü, distile su ile yıkandı ve kurutmaya bırakıldı. Madde saf olarak elde edildi (77).

1-(4-Klorofenil)-2-(1*H*-4-metilpirazol-1-il)etanon oksim sentezi

0.015 mol 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon 75 ml etanol içerisinde çözüldü. Geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı ve karıştırıldı. Üzerine 0.03 mol hidroksilamin hidroklorür eklendi. 15 N sodyum hidroksit çözeltisi ile reaksiyon ortamının pH'ı 8 olana kadar alkalilendirildi. Geri çeviren soğutucu altında 1-2 saat karıştırıldı. Oluşan çözelti rotaroevaporatöre alındı ve etanol kuruyuncaya kadar uçuruldu. Uçurma sonrası elde edilmiş katının üzerine buzlu su eklendi. Manyetik karıştırıcıda 4 saat karıştırıldı. Son olarak süzüldü. Madde saf olarak elde edildi (77).

Bileşiklerin Genel Sentezi

1-(4-Klorofenil)-2-(1*H*-4-metilpirazol-1-il)etanon oksim eterler sentezi

0.011 mol Na° üzerine 10 ml absolü etanol eklendi ve çözüldü. Çözülen Na° üzerine 0.01 mol 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon oksim eklendi. Geri çeviren soğutucu ortamında çözelti bir saat boyunca karıştırıldı. Bir saat sonunda etanol reaksiyon ortamından uçuruldu. Mezür ile 10 ml dimetilformamit ölçüldü. Uçurma sonrası kalan katı üzerine ölçülen dimetilformamit eklendi. Çözelti üzerine 0.02 mol alkil halojenür eklenerek oda sıcaklığında 3-4 saat karıştırıldı. Hazırlanan buzlu sulu ortama reaksiyon döküldü. Buzlu su içerisinde katılaşıp madde süzüldü ve kurutuldu. Bileşikler monograflarda belirtilen yöntemlerle saflaştırıldı.

3.1.3. Analitik Yöntemler

İnce Tabaka Kromatografisi ile Kontrol Tayini

Materyal

İnce tabaka kromatografisiyle (İTK) gerçekleştirilen tayinlerde Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) markalı plak tercih edildi. Çözücü sistemi için etilasetat/n-hekzan (50:50) oranında solvan hazırlandı. Ürünlerin markası Merck ve Aldrich firmalarıdır.

Yöntem

Hazırlanan çözücü sistemleri kromatografi tanklarına konuldu. Çözücü sistemi 24 saat oda sıcaklığında bekletildi ve doygunluğa ulaşmaları sağlandı. Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır alüminyum plaklara, sentezlenen maddeler ve bu maddelerin elde edildiği başlangıç maddelerinin uygun çözeltilerden alınan örnekler tatbik edildi. Doygunluğa ulaşmış çözücü sistemi içerisinde ve oda sıcaklığında 10 cm sürüklenme sağlandı.

Sürüklenme tamamlandıktan ve plak kuruduktan sonra lekeler UV ışığın altında 254 ve 365 nm dalga boylarında belirlendi.

Preperatif plak kromatografisinde de solvan sistemi için İTK sistemindeki işlemler tekrarlandı. Sentez sonrasında izomer olarak elde edilen sonuç ürünler preperatif plağa ekildi. Ekim sonrası kurutulan preperatif plak kromatografi tankında hazırlanmış olan solvan sistemi içerisine koyuldu. Sürüklenme işlemi yapıldı. Sürüklenmenin tamamlanması sonucunda izomerden biri plaktan alındı. Sonuç ürün tek leke şeklinde edilmiş oldu.

Spektrometrik Kontroller

¹H- NMR Spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin ¹H-NMR analizleri için kloroform (Merck)'daki yaklaşık %10'luk çözeltisi hazırlandı. İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda yer alan Bruker Avance 600 MHz Ultrashield™ NMR spektrometresinden alındı.

¹³C-NMR Spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin ¹³C-NMR analizleri için kloroform (Merck)'daki yaklaşık %10'luk çözeltisi hazırlandı. İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda yer alan Bruker Avance 150 MHz Ultrashield™ NMR spektrometresinden alındı.

LC-Kütle Spektrumları

Sentezi yapılmış bileşikler metanol içerisinde hazırlandı. Çözelti haline getirildi. Kütle tayinlerinin hesaplanması Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı.

3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Sentezlenen 11 bileşiğin sitotoksikite aktivite çalışmaları Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında yapıldı.

3.2.1. Yöntem

Hücrelerin Çoğaltılması

Hücre hatlarının bulunduğu kriolar çözdüme, pasajlama ve deneylerde kullanılmak üzere dondurma prosedürlerine tabi tutuldu.

Hücre Çözdürme

Donmuş hücreler (yaklaşık 1 mL) hızlı bir şekilde 37 °C'de su banyosunda inkübe edildikten sonra genel çözdürme prosedürü uygulanarak 25 cm² flasklara homojen bir şekilde ekilip hücre proliferasyonunun sağlanması için 37 °C, %5 CO₂ ve %95 bağıl neme sahip inkübatörde 48 saat inkübasyona bırakıldı.

C6, MCF-7 ve SH-SY5Y için kültür ortamı hazırlanması; DMEM besiyerinin içerisine, %10 Fetal sıgır serumu (FBS) ve %1 Penisilin/Streptomisin karışımı eklenerek besiyeri ortamı oluşturuldu.

Hücre Pasajlama ve Dondurma

Belirli bir inkübasyon aşamasından geçen proliferatif hücreler bulundukları flaskı kapladıklarında (genelde 48 inkübasyon sonrası) PBS ile yıkandıktan sonra tripsin ile muamele edilip flasktan kaldırıldı. Bazı hücreler daha sonra yeniden birkaç flaska paylaştırılıp ekilmişken bazı hücreler ise DMSO eklenerek kriolar halinde -20 °C’de bir süre muhafaza edildikten sonra -80 °C’de saklandı.

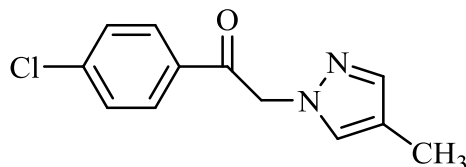
Canlılık Testi

DAPI (4,6-diamino-2-fenilindol), çift sarmallı deoksiriboz nükleik asidin içindeki adenin ve timinin yoğun olarak bulunduğu küçük oluğa bağlanır. Bağlanma sonucunda parlak mavi floresan boya verir. MCF-7 hücre hattı DAPI ile boyandı. DAPI ile boyama testinde pozitif kontrol grubu olarak DMSO kullanıldı. Hücreler, sitotoksosite çalışma sonucunda ilaç olarak kullanılabilecek bileşik ile belli konsantrasyonlarda muamele edildi. Sonrasında DAPI ile hücreler boyandı. Hücrelerin canlılığı test edildi.

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Çalışmalar

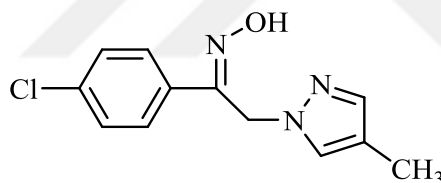
4.1.1. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon



2.3349 gram (0.01 mol) 4'-kloro-2-bromoasetofenon ile 2.463 gram (0.03 mol) 4-metilpirazol genel sentez yöntemiyle tepkimeye koyulması ile bileşik elde edildi. Buzlu su içerisinde katı formda saf olarak elde edildiği için herhangi bir saflaştırma yöntemi uygulanmadan eldesi sağlandı. Reaksiyon sonucu 1.922 gram madde sentezlendi.

Verim %81.92 bulunmuştur. Beyaz renkli ve parlak toz bir görünüme sahip bir şekilde elde edildi.

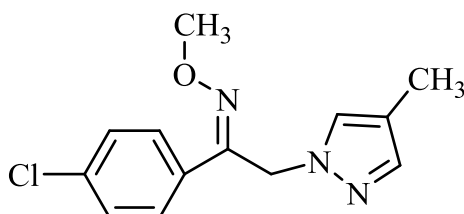
4.1.2. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon oksim



2.3468 gram (0.01 mol) 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon ve 1.39 gram (0.02 mol) hidroksilamin hidroklorürden genel sentez yöntemiyle elde edildi. Reaksiyon sonucu 1.813 gram madde sentezlendi.

Verim %72.59 bulundu. Beyaz renkli katı bir madde elde edildi.

4.1.3. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon *O*-metil oksim (G1)

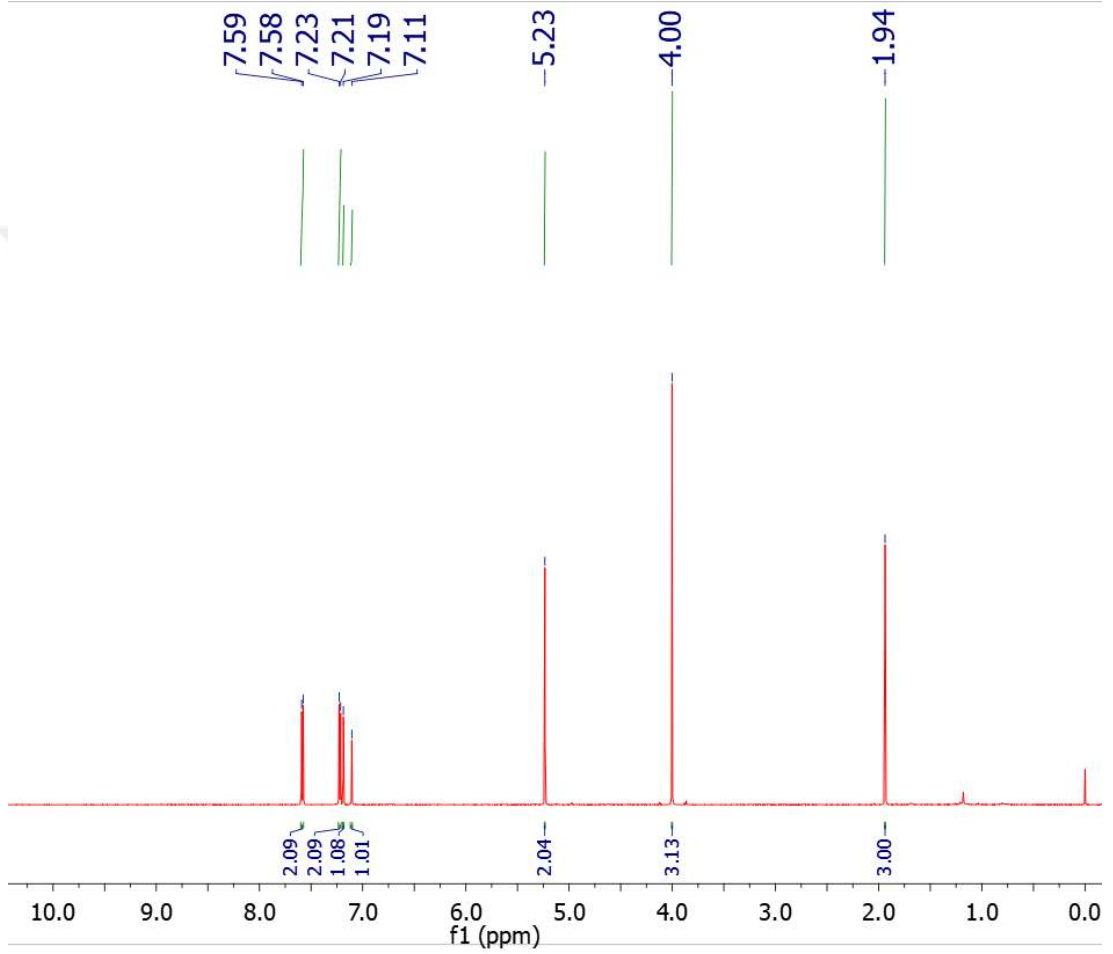


2.83 g (1.245 ml) (0.02 mol) metiliyodür ile 2.49 g (0.01 mol) 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon oksim reaksiyonu sonucu genel sentez yöntemine göre sentezlendi.

Verim 1.79 g (%68) bulundu. Sentez sonrası ürünün saf olarak elde edilmesi için etilasetat/n-hekzan (1:2) çözücü sistemi kullanıldı. Bileşiğe preparatif plak kromatografisi uygulaması yapıldı.

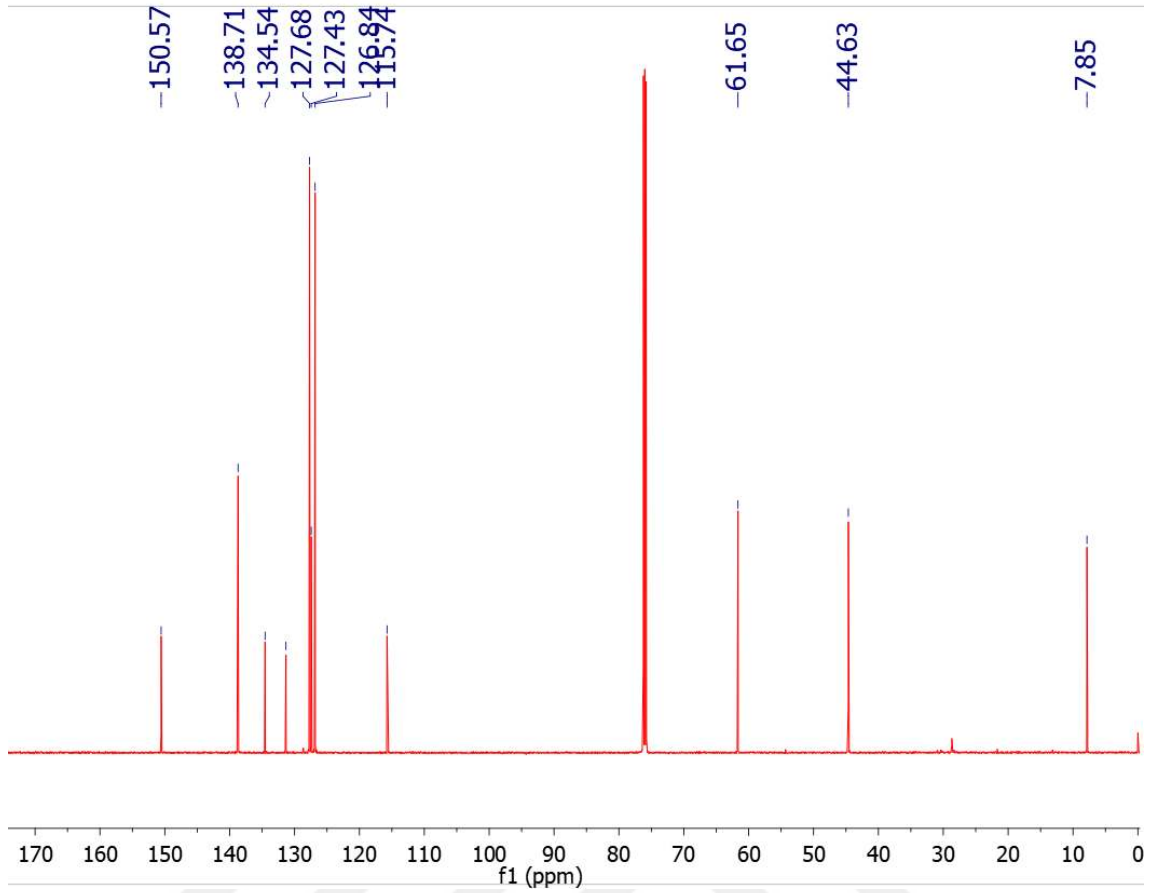
Beyaz renkli katı bir madde elde edildi.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 600MHz) δ ppm: 1.94 (3H; s, pirazol- CH_3), 4.00 (3H; s, O- CH_3), 5.23 (2H; s, C- CH_2 -N), 7.11 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.19 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.21-7.23 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil), 7.58-7.60 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil)



Şekil 4.1. G1 bileşiği ^1H NMR sonucu

^{13}C -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 150 MHz), 150.57, 138.71, 134.54, 131.33, 127.68, 127.43, 126.84, 115.74, 61.65, 44.63, 7.85.

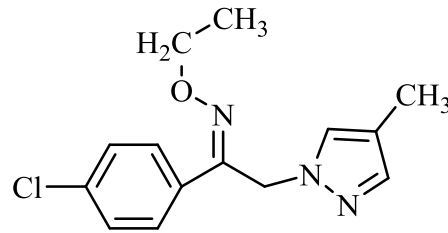


Şekil 4.2. G1 bileşiği ^{13}C NMR sonucu

$\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O} + \text{H}^+$: $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{ClN}_3\text{O}^+$

HRMS (m/z) $[\text{M}^+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 264.08984; Bulunan: 264.08982

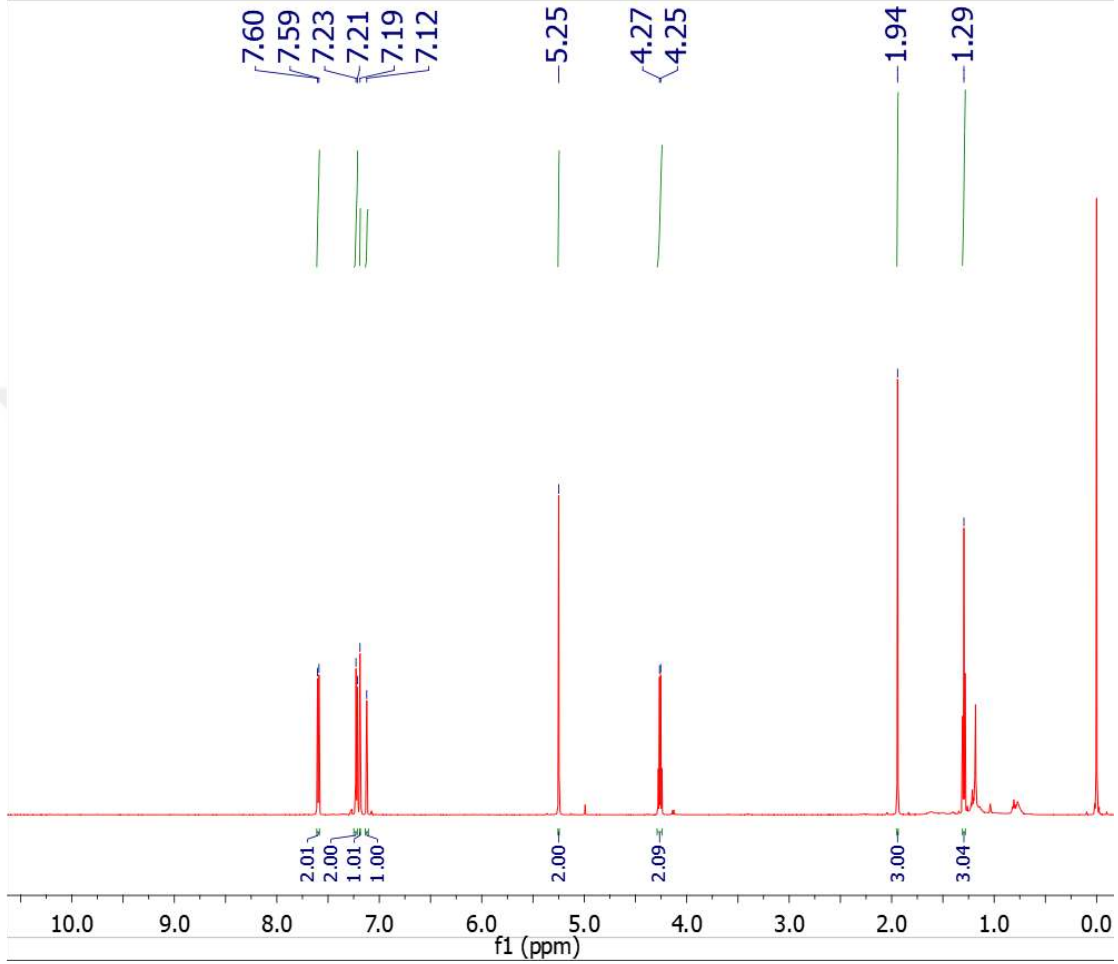
4.1.4. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon *O*-etil oksim (G2)



2.18 g (1.5 ml) (0.02 mol) 1-bromoetan ile 2.49 g (0.01 mol) 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon oksim genel sentez yöntemine göre sentezlendi. Verim 2.05 g (%74) bulundu. Sentez sonrası ürünün saf olarak elde edilmesi için etilasetat/n-hekzan (1:2) çözücü sistemi kullanıldı. Bileşiğe preparatif plak kromatografisi uygulanması yapıldı.

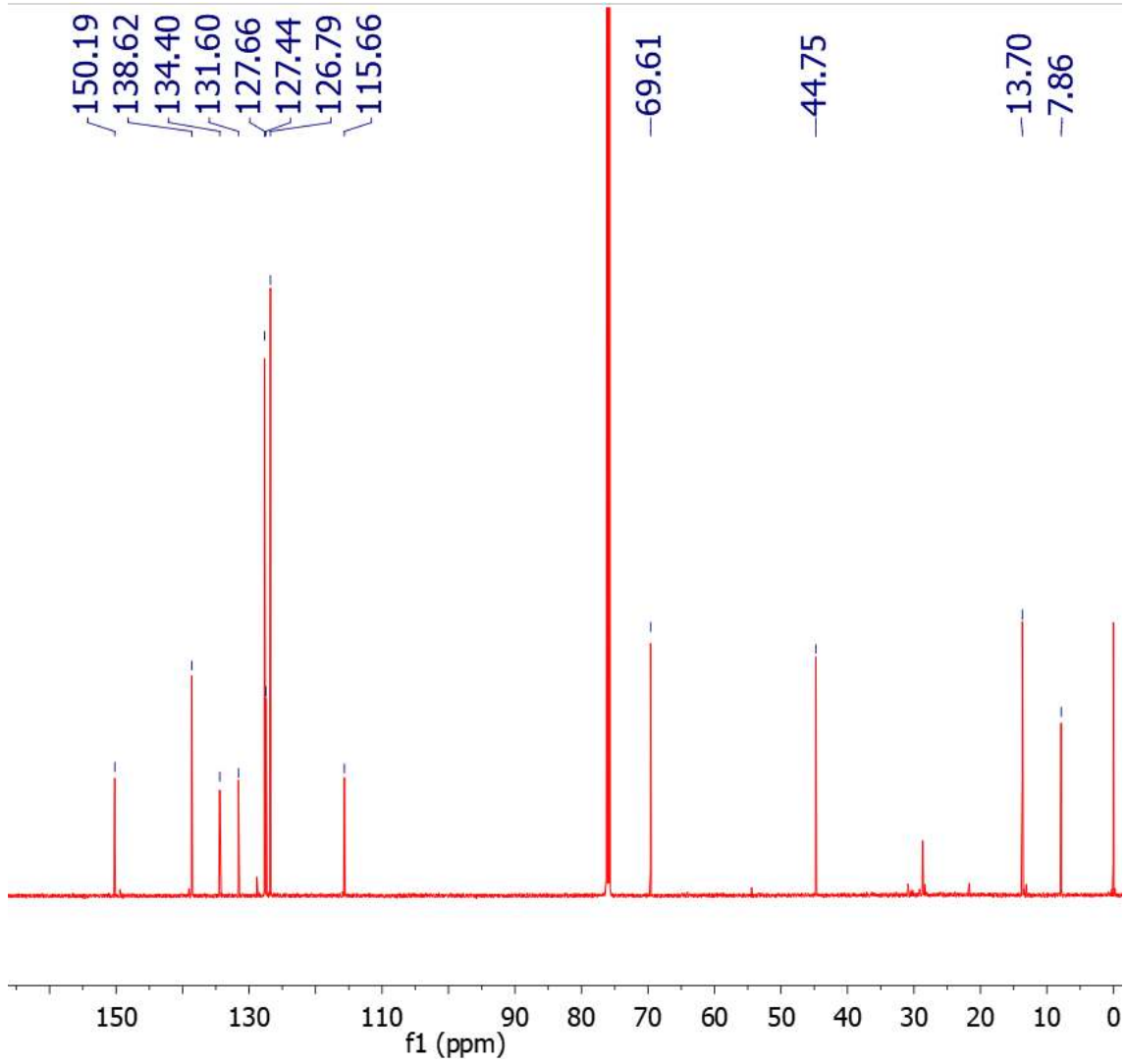
Beyaz renkli, parlak görünümlü katı madde elde edildi.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 600MHz) δ ppm: 1.29 (3H; t, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 1.94 (3H; s, pirazol- CH_3), 4.26 (2H; q, $\text{O}-\text{CH}_2$), 5.25 (2H; s, $\text{C}-\text{CH}_2-\text{N}$), 7.12 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.19 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.21-7.23 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil), 7.59-7.60 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil)



Şekil 4.3. G2 bileşiği ^1H NMR sonucu

^{13}C -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 150 MHz), 150.19, 138.62, 134.40, 131.60, 127.66, 127.44, 126.79, 115.66, 69.61, 44.75, 13.70, 7.86.

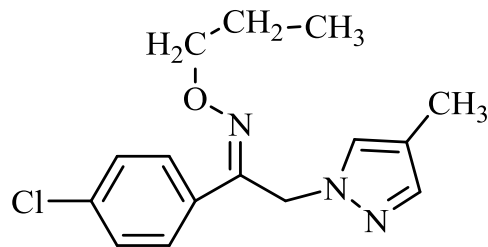


Şekil 4.4. G2 bileşiği ^{13}C NMR sonucu

$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O} + \text{H}^+$: $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{ClN}_3\text{O}$;

HRMS (m/z) [M^+H] $^+$ Hesaplanan: 278.10547; Bulunan: 278.10547

4.1.5. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon *O*-propil oksim (G3)

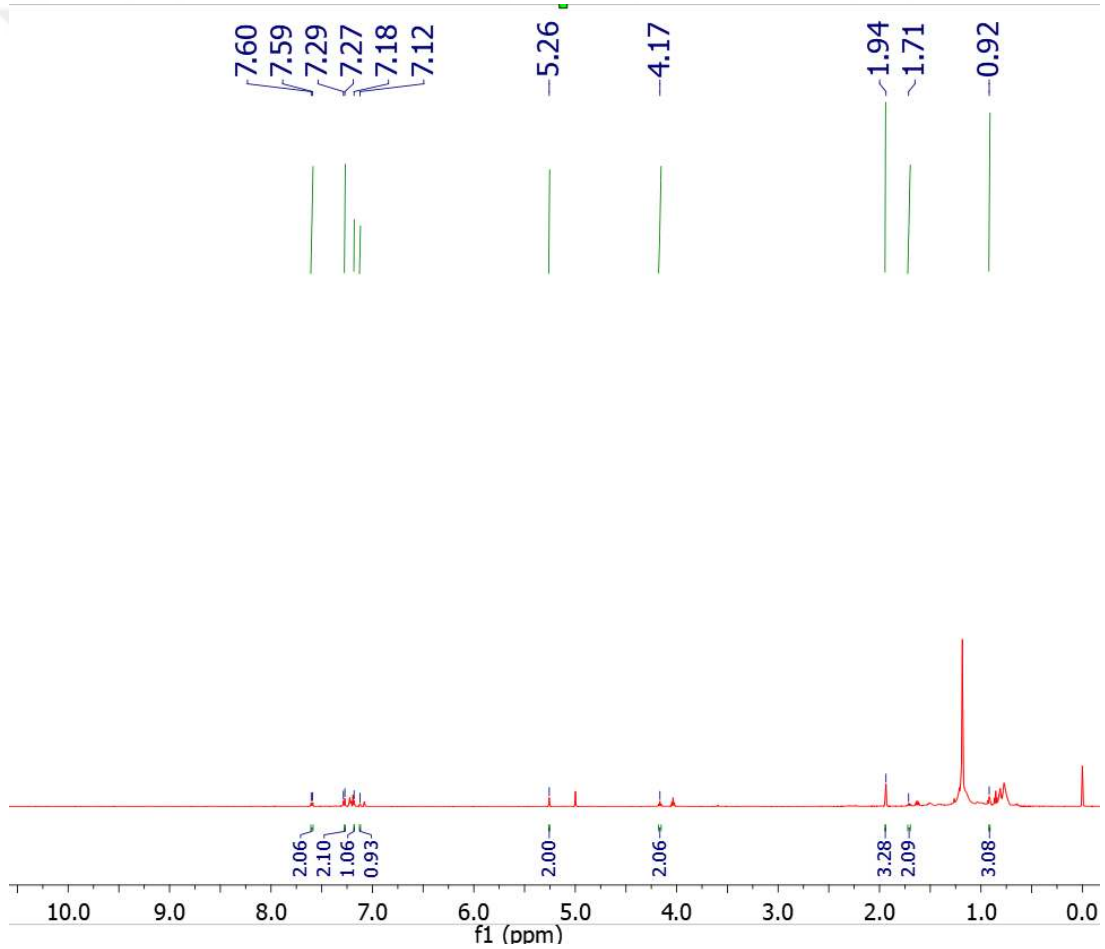


1.57 g (1.76 ml) (0.02 mol) 1-kloropropan ve 2.49 g (0.01 mol) 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon oksim ile reaksiyonu genel sentez yöntemine göre sentezlendi.

Verim 2.07 g (%71.25) bulundu. Sentez sonrası ürünün saf olarak elde edilmesi için etilasetat/n-hekzan (1:2) çözücü sistemi kullanıldı. Bileşiğe preparatif plak kromatografisi uygulaması yapıldı.

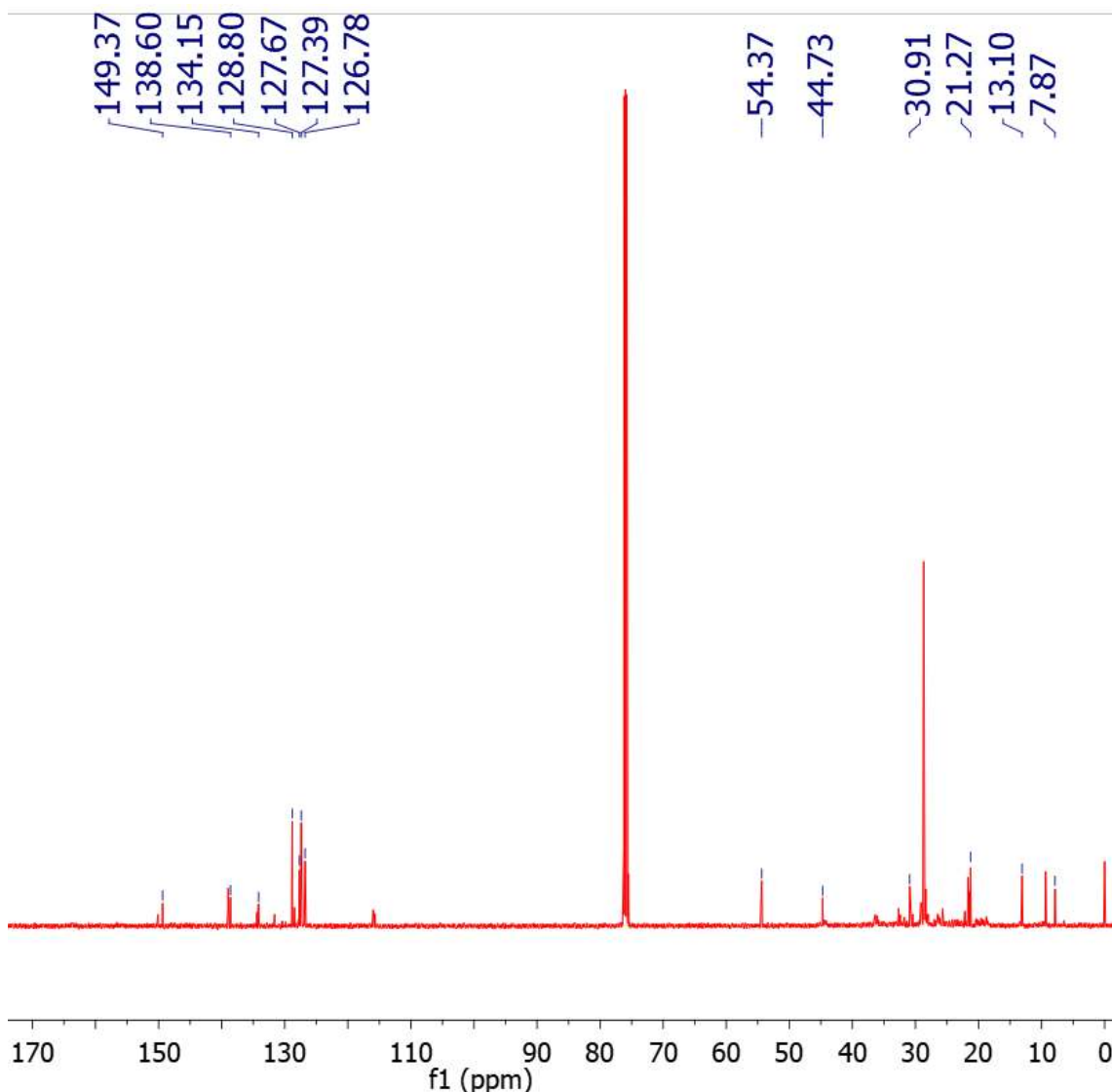
Beyaz renkli katı madde elde edildi.

¹H-NMR spektrumunda (CDCl₃, 600MHz) δ ppm: 0.92 (3H; t, -C₂H₄-CH₃), 1.71 (2H; m, CH₂-CH₃), 1.94 (3H; s, pirazol-CH₃), 4.17 (2H; t, O-CH₂), 5.26 (2H; s, C-CH₂-N), 7.12 (H; s, =CH; pirazol), 7.18 (H; s, =CH; pirazol), 7.27-7.29 (2H; m, =CH; fenil), 7.59-7.60 (2H; m, =CH; fenil)



Şekil 4.5. G3 bileşiği ¹H NMR sonucu

^{13}C -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 150 MHz), 149.37, 138.60, 134.15, 128.80, 127.67, 127.39, 126.78, 54.37, 44.73, 30.91, 21.27, 13.10, 7.87.

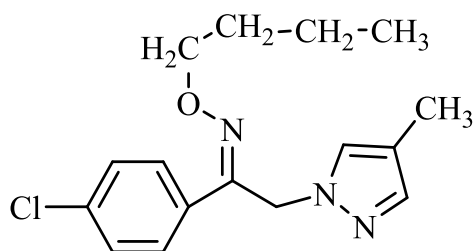


Şekil 4.6. G3 bileşiği ^{13}C NMR sonucu

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O} + \text{H}^+$: $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{ClN}_3\text{O}$;

HRMS (m/z) $[\text{M}^+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 292.12112; Bulunan: 292.12112

4.1.6. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon *O*-bütil oksim (G4)

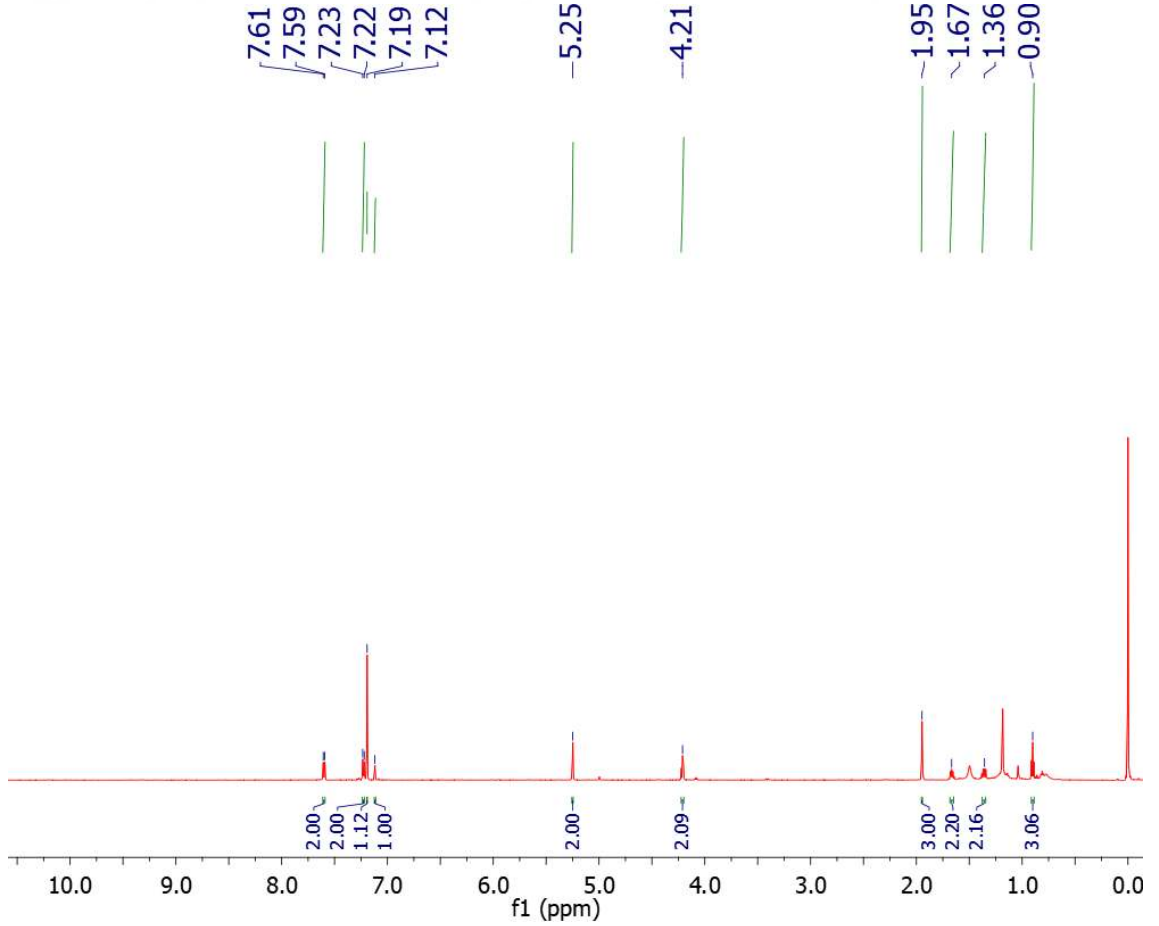


2.74 g (2.15 ml) (0.02 mol) 1-bromobütan ve 2.49 g (0.01 mol) 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon oksim ile reaksiyonu genel sentez yöntemine göre sentezlendi.

Verim 2.45 g (%80) bulundu. Sentez sonrası ürünün saf olarak elde edilmesi için etilasetat/n-hekzan (1:2) çözücü sistemi kullanıldı. Bileşiğe preparatif plak kromatografisi uygulaması yapıldı.

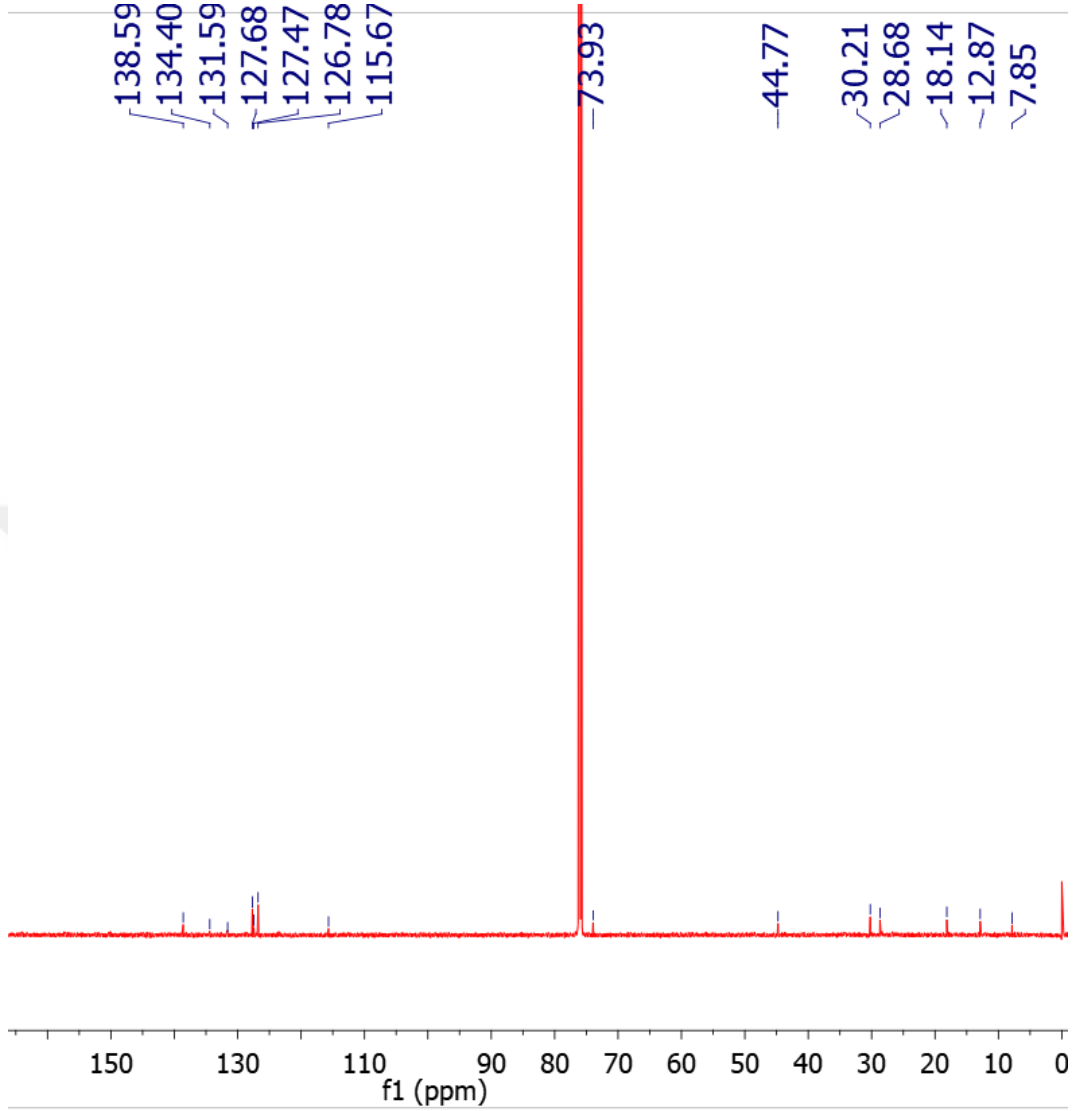
Beyaz renkli katı madde elde edildi.

¹H-NMR spektrumunda (CDCl₃, 600MHz) δ ppm: 0.90 (3H; t, -C₃H₆-CH₃), 1.36 (2H; m, CH₂-CH₃), 1.67 (2H; m, CH₂-CH₂), 1.95 (3H; s, pirazol-CH₃), 4.21(2H; t, O-CH₂), 5.25 (2H; s, C-CH₂-N), 7.12 (H; s, =CH; pirazol), 7.19 (H; s, =CH; pirazol), 7.22-7.23 (2H; m, =CH; fenil), 7.59-7.61 (2H; m, =CH; fenil)



Şekil 4.7. G4 bileşiği ¹H NMR sonucu

^{13}C -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 150 MHz), 138.59, 134.40, 131.59, 127.68, 127.47, 126.78, 115.67, 73.93, 44.77, 30.21, 28.68, 18.14, 12.87, 7.85.

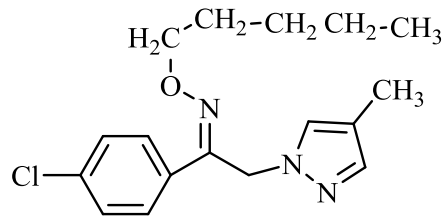


Şekil 4.8. G4 bileşiği ^{13}C NMR sonucu

$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O} + \text{H}^+ : \text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{ClN}_3\text{O}^+$

HRMS (m/z) $[\text{M}^+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 306.13693; Bulunan: 306.13677

2.1.7. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon O-pentil oksim (G5)

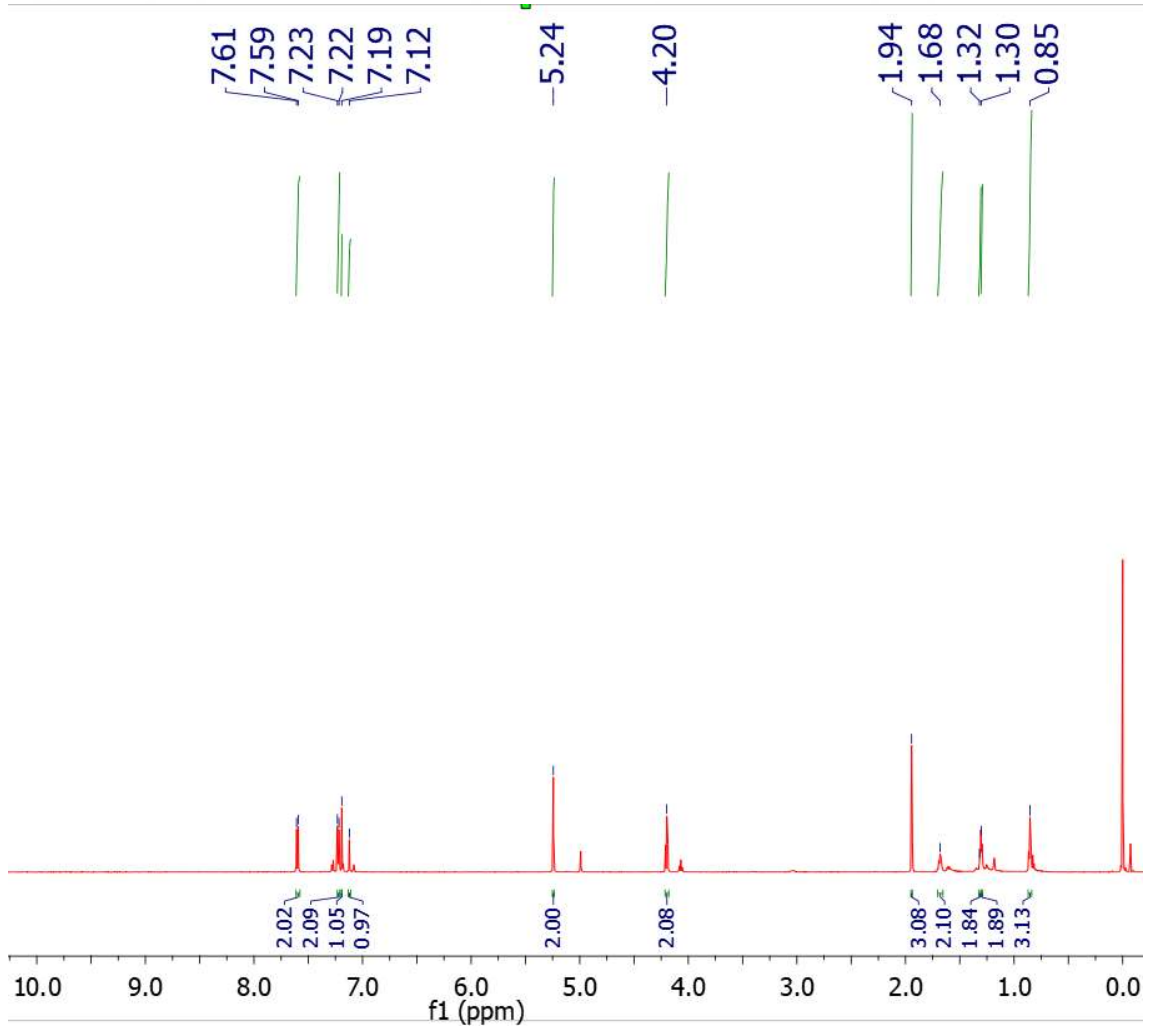


3.02 g (2.48 ml) (0.02) mol 1-bromopentan ve 2.49 g (0.01 mol) 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon oksim ile reaksiyonu genel sentez yöntemine göre sentezlendi.

Verim 2.33 g (%73) bulundu. Sentez sonrası ürünün saf olarak elde edilmesi için etilasetat/n-hekzan (1:2) çözücü sistemi kullanıldı. Bileşiğe preparatif plak kromatografisi uygulaması yapıldı.

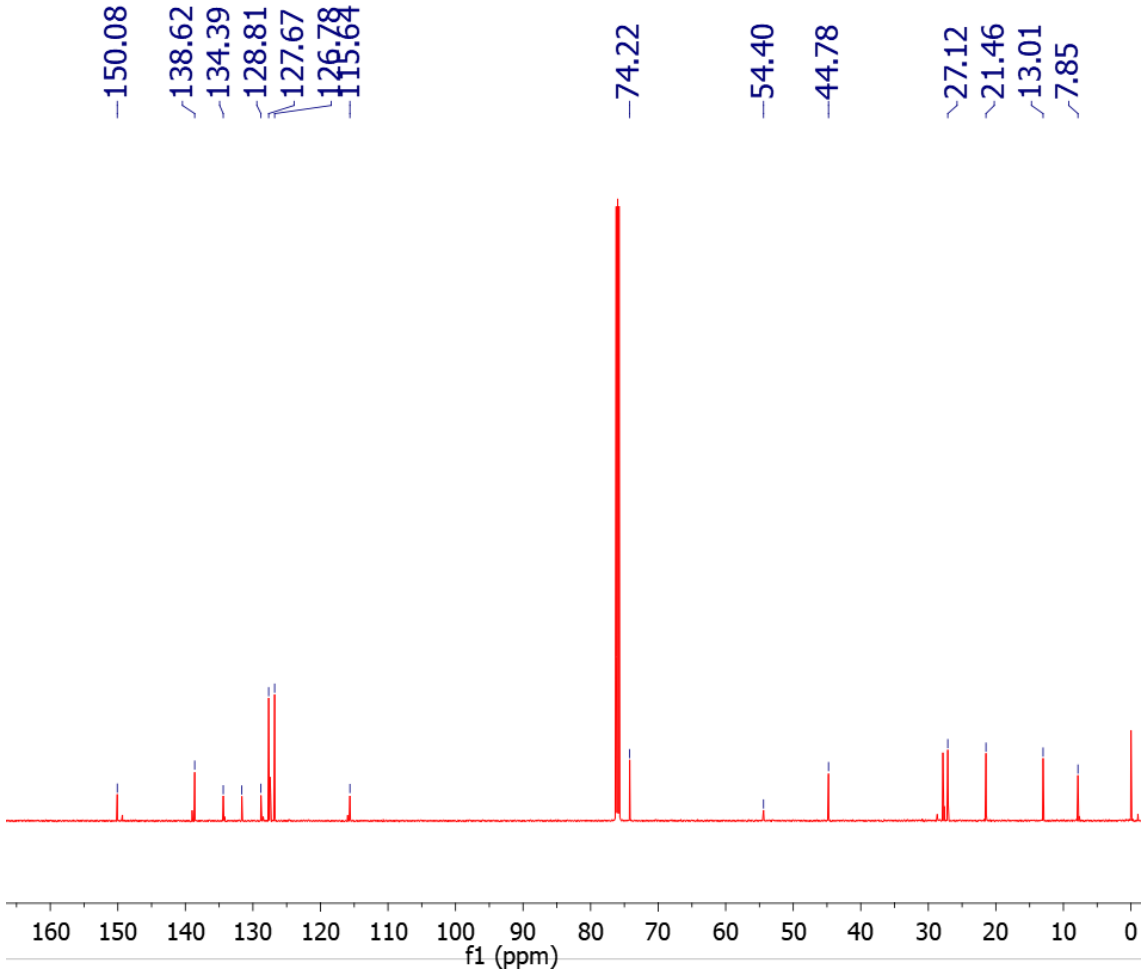
Beyaz renkli parlak görünümlü katı madde elde edildi.

¹H-NMR spektrumunda (CDCl₃, 600MHz) δ ppm: 0.85 (3H; t, -C₄H₈-CH₃), 1.30 (1.18 (2H, m, CH₂-CH₃), 1.32 (2H, m, CH₂-CH₂), 1.68 (2H, m, CH₂-CH₂), 1.94 (3H; s, pirazol-CH₃), 4.20 (2H; t, O-CH₂), 5.24 (2H; s, C-CH₂-N), 7.12 (H; s, =CH; pirazol), 7.19 (H; s, =CH; pirazol), 7.22-7.23 (2H; m, =CH; fenil), 7.59-7.61 (2H; m, =CH; fenil)



Şekil 4.9. G5 bileşiği ¹H NMR sonucu

^{13}C -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 150 MHz), 150.08, 138.62, 134.39, 131.64, 128.81, 127.67, 126.78, 115.64, 74.22, 54.40, 44.78, 27.12, 21.46, 13.01, 7.85.

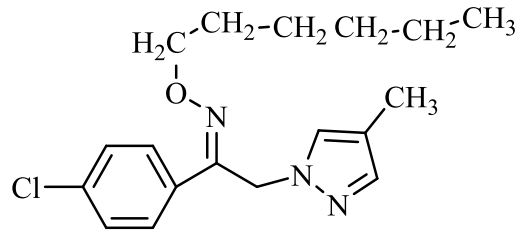


Şekil 4.10. G5 bileşiği ^{13}C NMR sonucu

$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O} + \text{H}^+ : \text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}^+$

HRMS (m/z) $[\text{M}^+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 320.15244; Bulunan: 320.15242

4.1.8. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon *O*-hekzil oksim (G6)

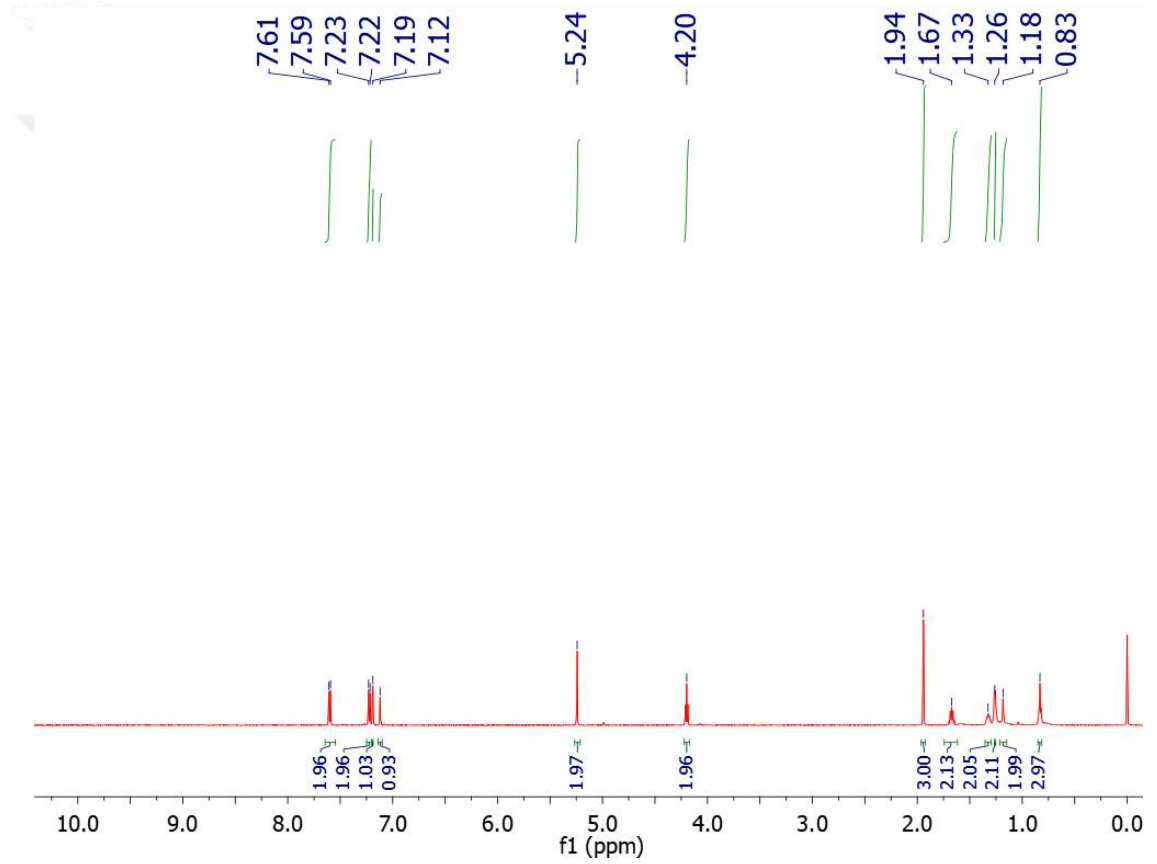


3.3 g (2.8 ml) (0.02 mol) 1-bromohekzan ve 2.49 g (0.01 mol) 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon oksim ile reaksiyonu genel sentez yöntemine göre sentezlendi.

Verim 2 g (%60) bulundu. Sentez sonrası ürünün saf olarak elde edilmesi için etilasetat/n-hekzan (1:2) çözücü sistemi kullanıldı. Bileşiğe preparatif plak kromatografisi uygulaması yapıldı.

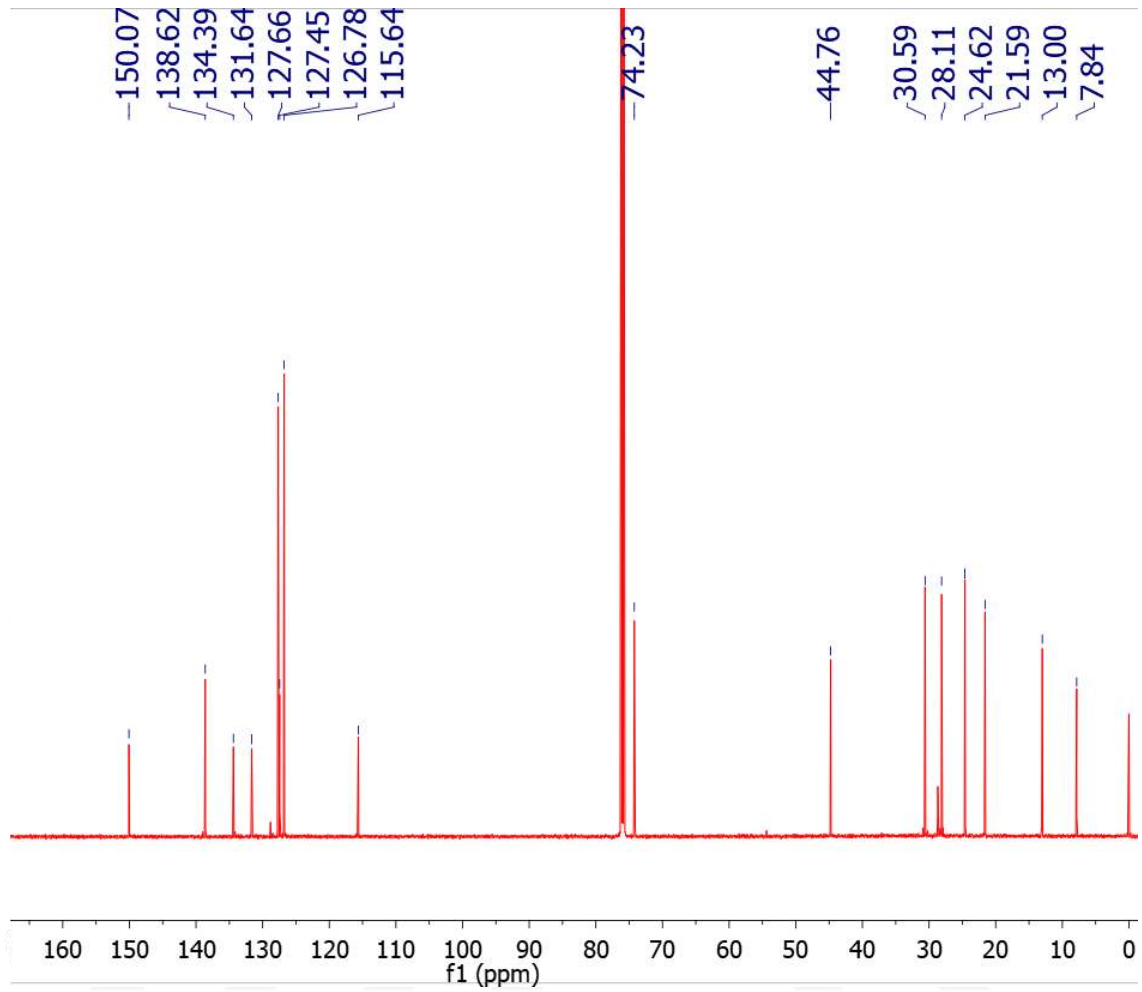
Beyaz renkli katı madde elde edildi.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 600MHz) δ ppm: 0.83 (3H; t, $-\text{C}_5\text{H}_{10}-\text{CH}_3$), 1.18 (2H, m, CH_2-CH_3), 1.26 (2H, m, CH_2-CH_2), 1.33 (2H, m, CH_2-CH_2), 1.67 (2H, m, CH_2-CH_2), 1.94 (3H; s, pirazol- CH_3), 4.20 (2H; t, O- CH_2), 5.24 (2H; s, C- CH_2 -N), 7.12 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.19 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.22-7.23 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil), 7.59-7.61 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil)



Şekil 4.11. G6 bileşiği ^1H NMR sonucu

^{13}C -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 150 MHz), 150.07, 138.62, 134.39, 131.64, 127.66, 127.45, 126.78, 115.64, 74.23, 44.76, 30.59, 28.11, 24.62, 21.59, 13.00, 7.84.

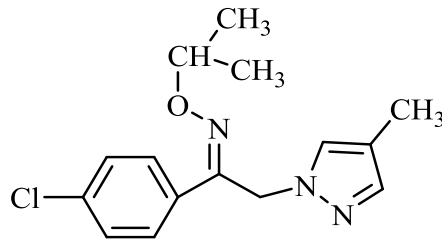


Şekil 4.12. G6 bileşiği ^{13}C NMR sonucu

$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O} + \text{H}^+$: $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{ClN}_3\text{O}^+$;

HRMS (m/z) [M^+H] $^+$ Hesaplanan: 334.16818; Bulunan: 334.16807

4.1.9. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon *O*-izopropil oksim (G7)

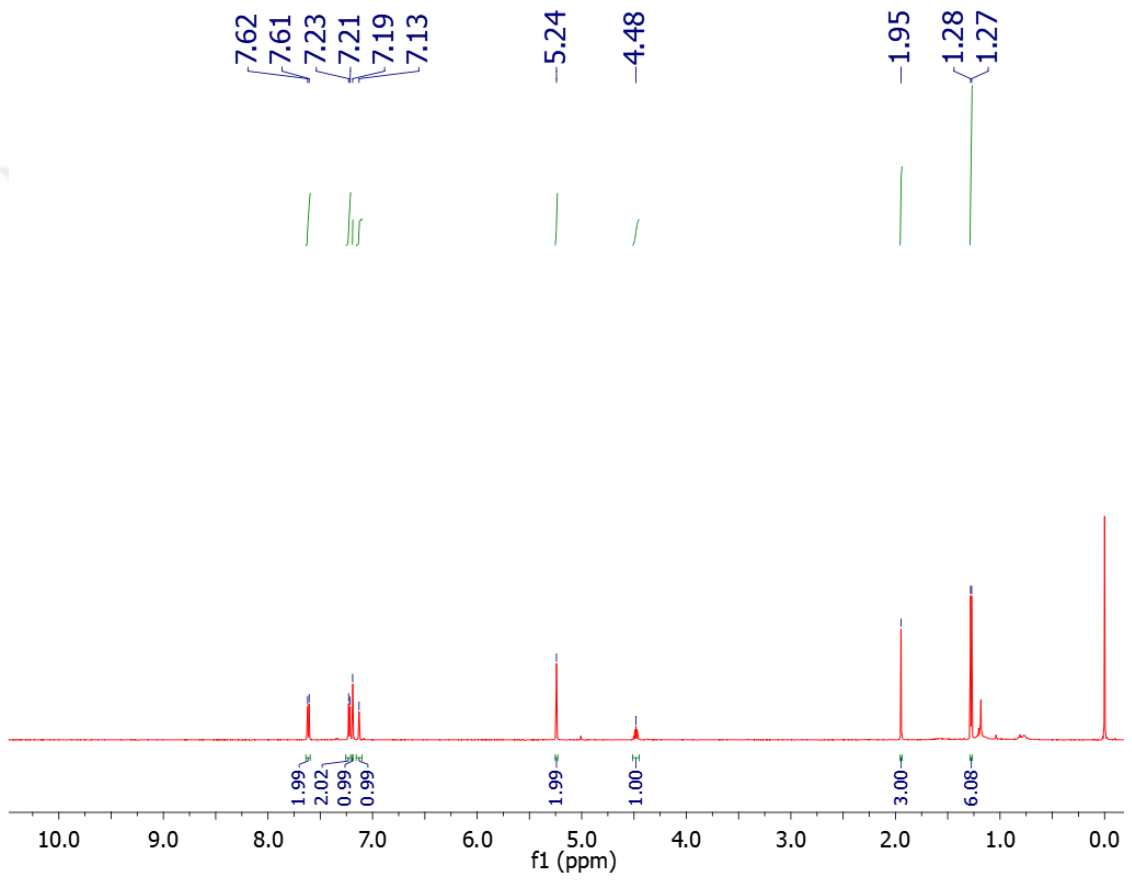


2.46 g (1.87 ml) (0.02 mol) 2-bromopropan ve 2.49 g (0.01 mol) 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon oksim ile reaksiyonu genel sentez yöntemine göre sentezlendi.

Verim 2,04 g (%70) bulundu. Sentez sonrası ürünün saf olarak elde edilmesi için etilasetat/n-hekzan (1:2) çözücü sistemi kullanıldı. Bileşiğe preparatif plak kromatografisi uygulaması yapıldı.

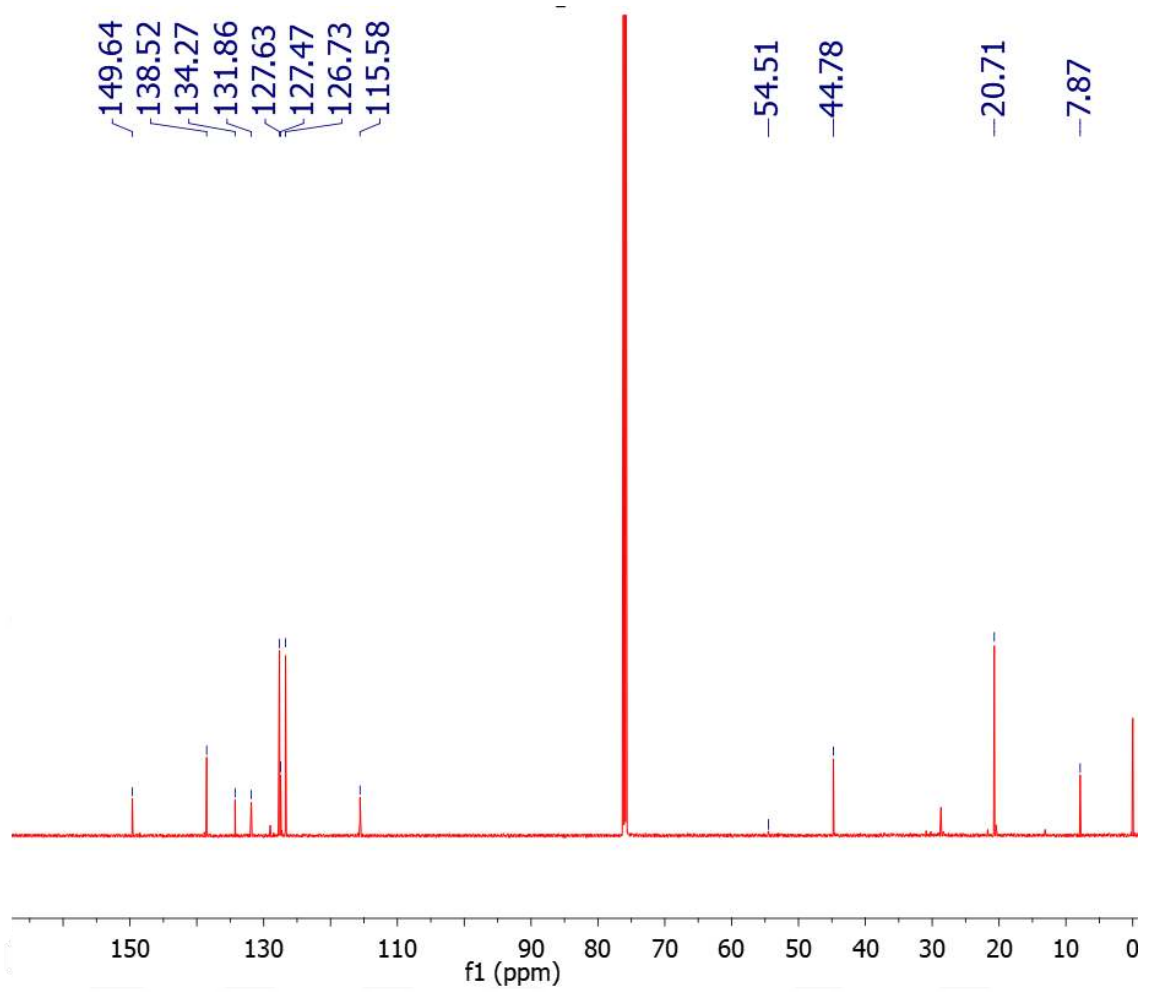
Beyaz renkli katı madde elde edildi.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 600MHz) δ ppm: 1.275 (6H; d, $-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$), 1.95 (3H; s, pirazol- CH_3), 4.48 (H; m, O- CH), 5.24 (2H; s, C- CH_2 -N), 7.13 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.19 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.21-7.23 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil), 7.61-7.62 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil)



Şekil 4.13. G7 bileşiği ^1H NMR sonucu

^{13}C -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 150 MHz), 149.64, 138.52, 134.27, 131.86, 127.63, 127.47, 126.73, 115.58, 54.51, 44.78, 20.71, 7.87.

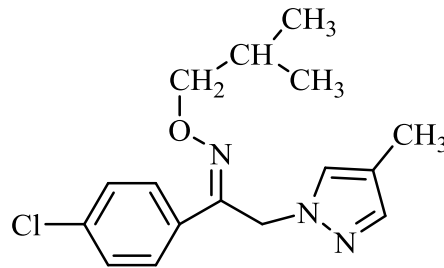


Şekil 4.14. G7 bileşiği ^{13}C NMR sonucu

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O} + \text{H} : \text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{ClN}_3\text{O}$

HRMS (m/z) $[\text{M}^+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 292.12112; Bulunan: 292.12112

4.1.10. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon *O*-izobütül oksim (G8)

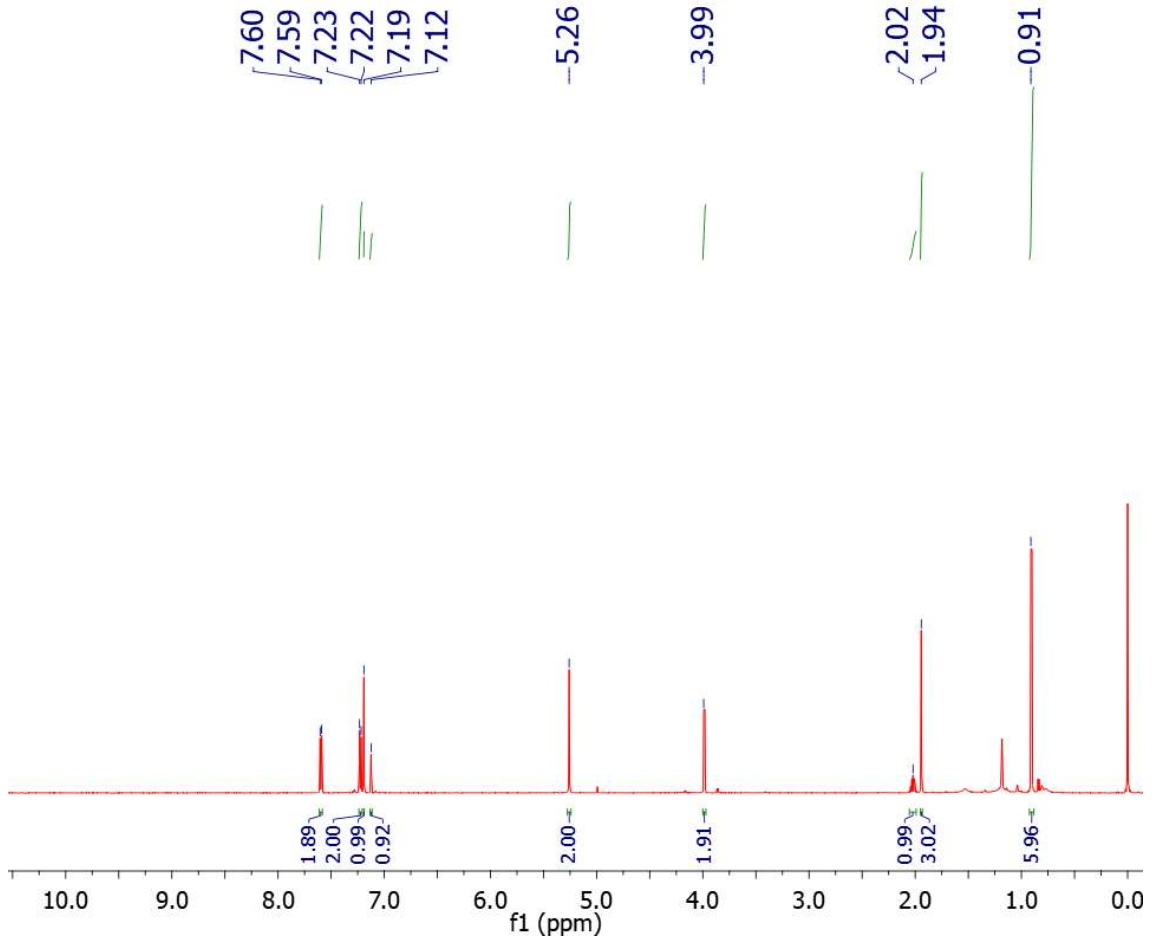


2.74 g (2.17 ml) (0.02 mol) 1-bromo-2-metilpropan ve 2.49 g (0.01 mol) 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon oksim ile reaksiyonu genel sentez yöntemine göre sentezlendi.

Verim 2.35 g (%77) bulundu. Sentez sonrası ürünün saf olarak elde edilmesi için etilasetat/n-hekzan (1:2) çözücü sistemi kullanıldı. Preperatif plak kromatografisi uygulaması yapıldı.

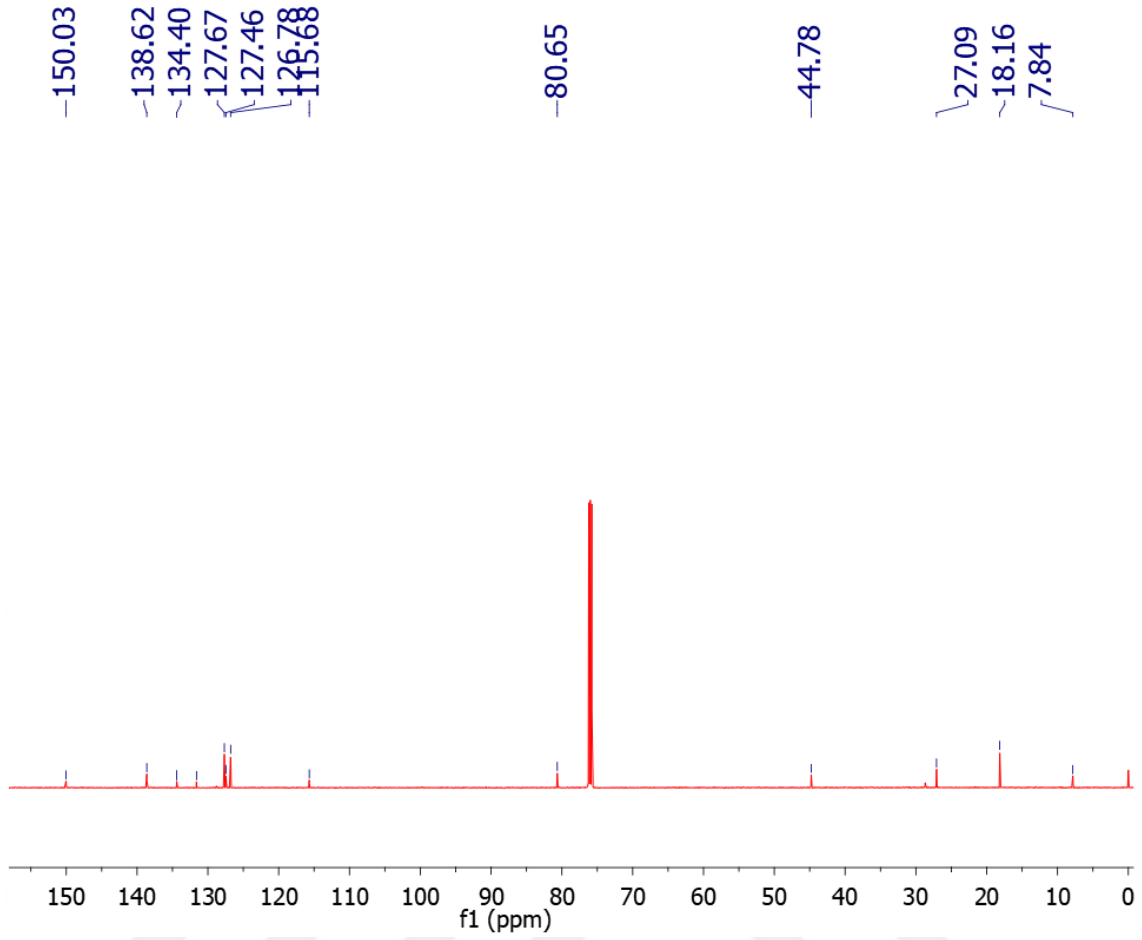
Beyaz renkli katı madde elde edildi.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 600MHz) δ ppm: 0.91 (6H; d, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.94 (3H; s, pirazol- CH_3), 2.02 (1H; m, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3.99 (2H; t, $\text{O}-\text{CH}_2$), 5.26 (2H; s, $\text{C}-\text{CH}_2-\text{N}$), 7.12 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.19 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.22-7.23 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil), 7.59-7.60 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil)



Şekil 4.15. G8 bileşiği ^1H NMR sonucu

^{13}C -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 150 MHz), 150.03, 138.62, 134.40, 131.61, 127.67, 127.46, 126.78, 115.68, 80.65, 44.78, 27.09, 18.16, 7.84.

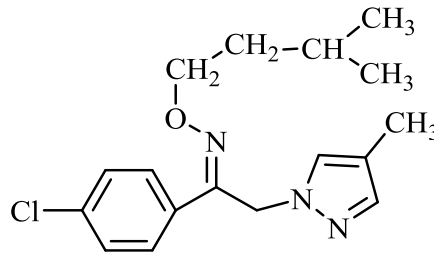


Şekil 4.16. G8 bileşiği ^{13}C NMR sonucu

$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O} + \text{H}^+$: $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{ClN}_3\text{O}^+$

HRMS (m/z) $[\text{M}^+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 306.13681; Bulunan: 306.13677

4.1.11. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon *O*-izopentil oksim (G9)

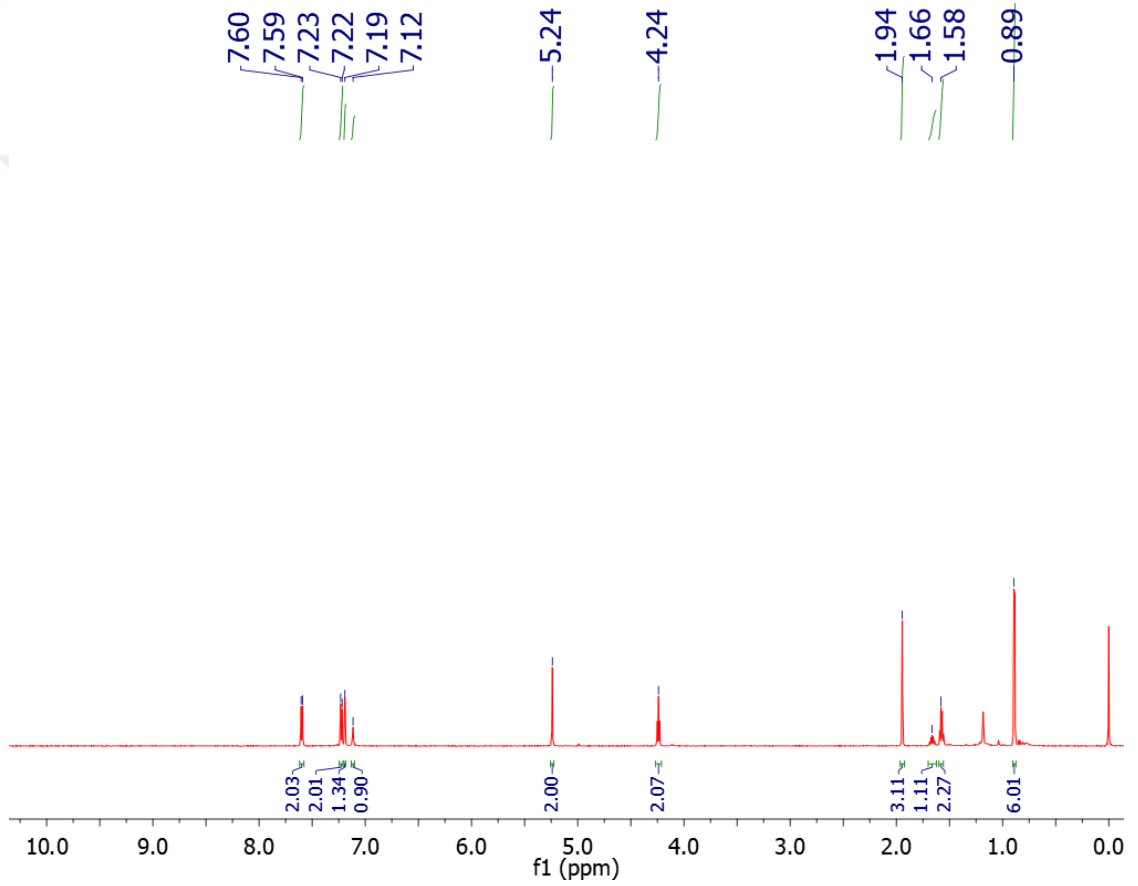


3.02 g (2.40 ml) (0.02 mol) 3-metil bütan ve 2.49 g (0.01 mol) 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon oksim ile reaksiyonu genel sentez yöntemine göre sentezlendi.

Verim 2.37 g (%74) bulundu. Sentez sonrası ürünün saf olarak elde edilmesi için etilasetat/n-hekzan (1:2) çözücü sistemi kullanıldı. Preperatif plak kromatografisi uygulaması yapıldı.

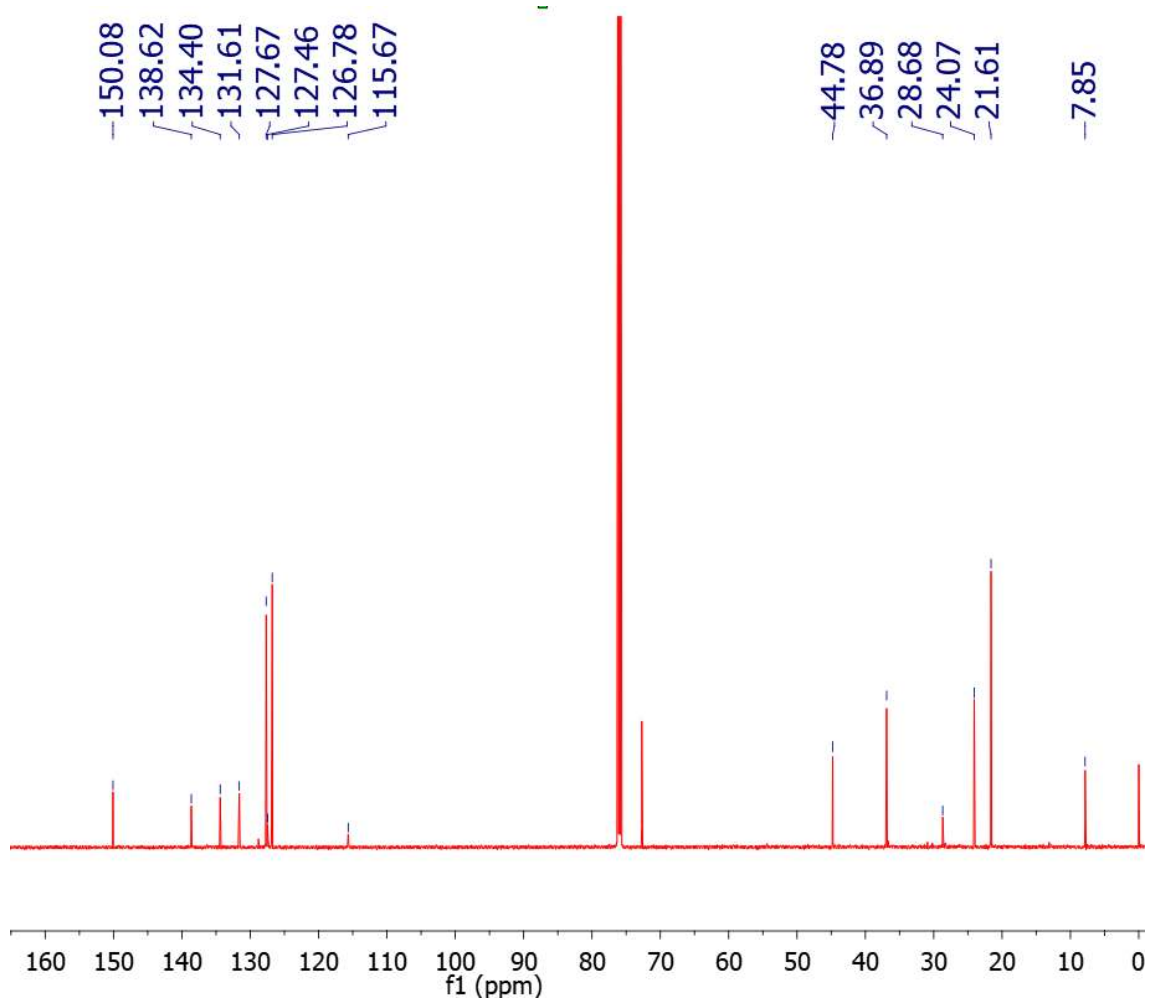
Beyaz renkli katı madde elde edildi.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 600MHz) δ ppm: 0.89 (6H; d, $-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$), 1.58 (2H; m, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-$), 1.66 (1H; m, $\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$), 1.94 (3H; s, pirazol- CH_3), 4.24 (2H; t, O- CH_2), 5.24 (2H; s, C- CH_2 -N), 7.12 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.19 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.22-7.23 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil), 7.59-7.60 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil)



Şekil 4.17. G9 bileşiği ^1H NMR sonucu

^{13}C -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 150 MHz), 150.08, 138.62, 134.40, 131.61, 127.67, 127.46, 126.78, 115.67, 44.78, 36.89, 28.68, 24.07, 21.61, 7.85.

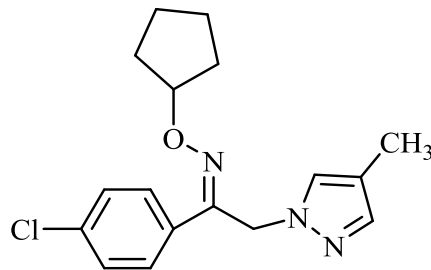


Şekil 4.18. G9 bileşiği ^{13}C NMR sonucu

$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O} + \text{H}^+$: $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{ClN}_3\text{O}$:

HRMS (m/z) $[\text{M}^+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 320.15247; Bulunan: 320.15242

4.1.12. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon *O*-siklopentil oksim (G10)

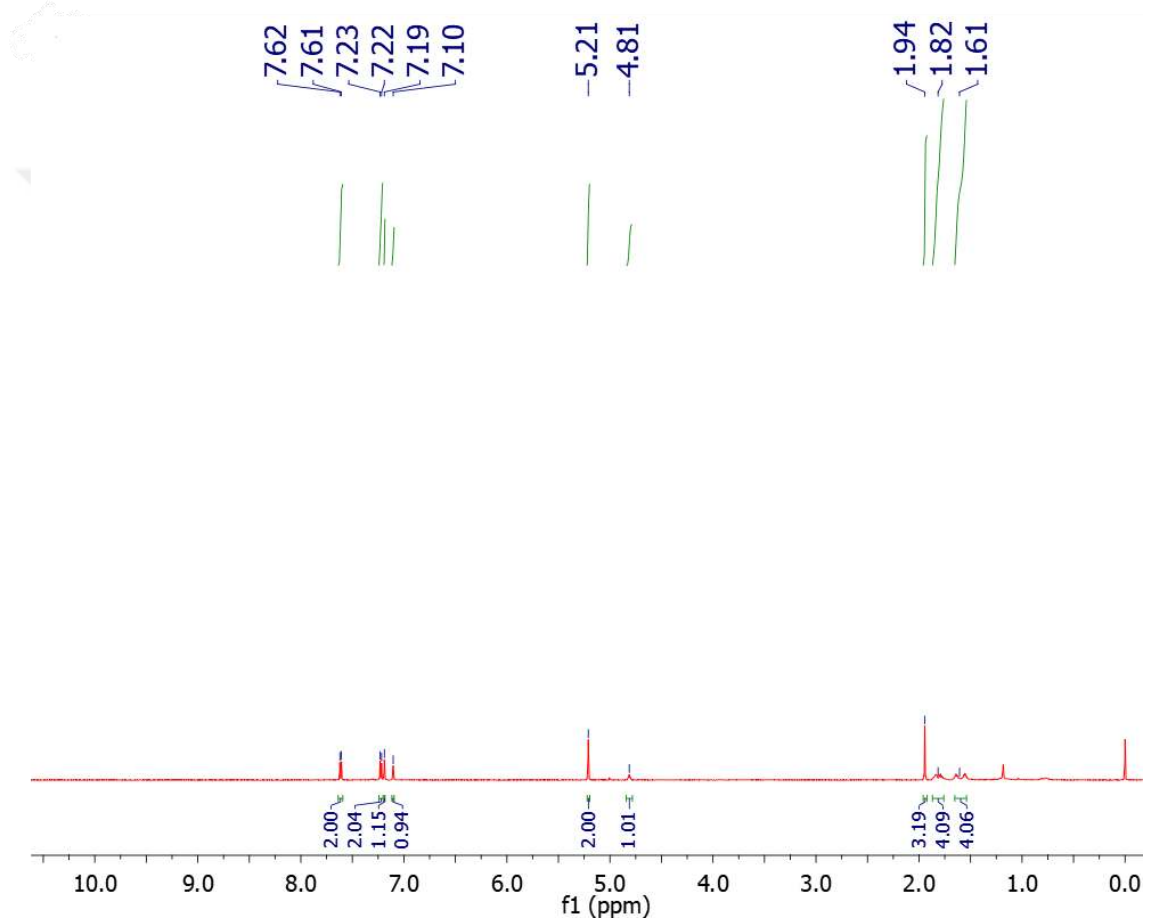


2.09 g (2.08 ml) (0.02 mol) 1-klorosiklopentan ve 2.49 g (0.01 mol) 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon oksim ile reaksiyonu genel sentez yöntemine göre sentezlendi.

Verim 2.16 g (%68) bulundu. Sentez sonrası ürünün saf olarak elde edilmesi için etilasetat/n-hekzan (1:2) çözücü sistemi kullanıldı. Preperatif plak kromatografisi uygulaması yapıldı.

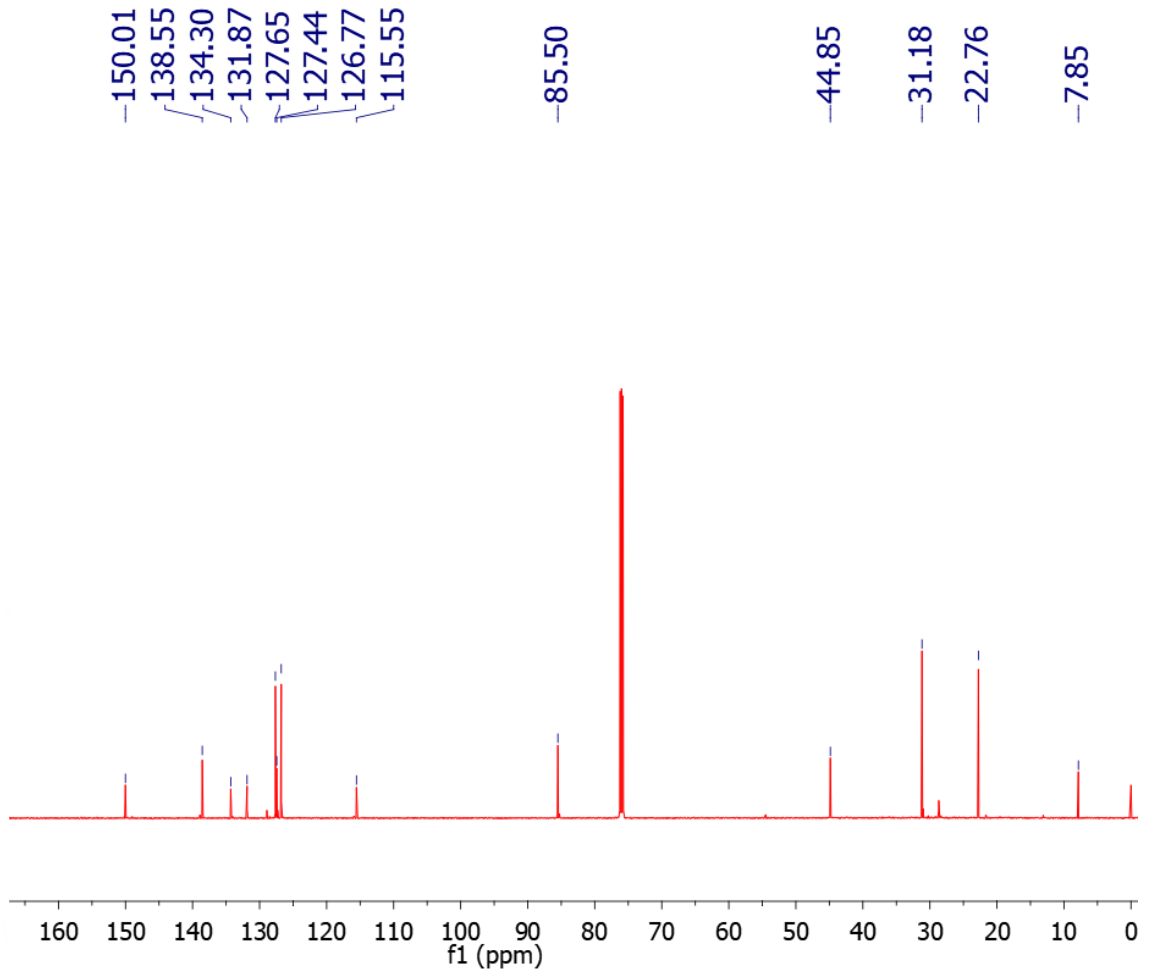
Beyaz renkli katı madde elde edildi.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 600MHz) δ ppm: 1.61 (4H; m, siklopentil), 1.82 (4H; m, siklopentil), 1.94 (3H; s, pirazol- CH_3), 4.81 (1H; m, O- CH -), 5.21 (2H; s, C- CH_2 -N), 7.10 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.19 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.22-7.23 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil), 7.61-7.62 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil)



Şekil 4.19. G10 bileşiği ^1H NMR sonucu

^{13}C -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 150 MHz), 150.01, 138.55, 134.30, 131.87, 127.65, 127.44, 126.77, 115.55, 85.50, 44.85, 31.18, 22.76, 7.85.

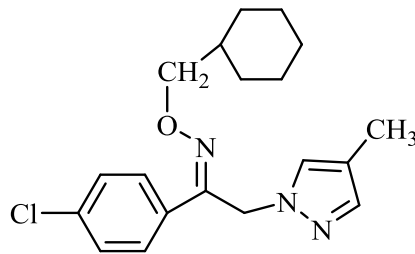


Şekil 4.20. G10 bileşiği ^{13}C NMR sonucu

$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O}$:

HRMS (m/z) $[\text{M}^+\text{H}]^+$

4.1.13. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon *O*-sikloheksilmetil oksim (G11)

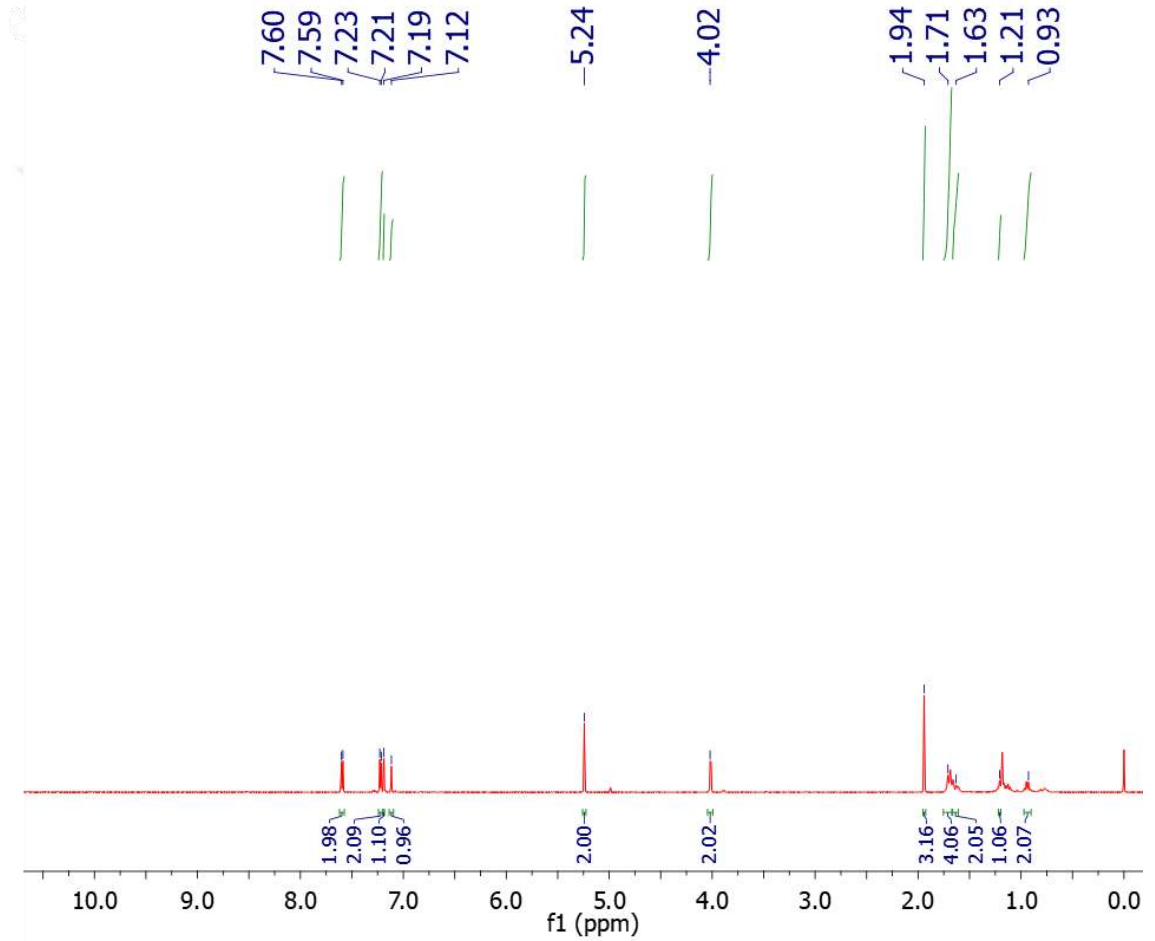


3.54 g (3.05 ml) (0.02 mol) (bromometil)sikloheksan ve 2.49 g (0.01 mol) 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon oksim ile reaksiyonu genel sentez yöntemine göre sentezlendi.

Verim 1.90 g (%55) bulundu. Sentez sonrası ürünün saf olarak elde edilmesi için etilasetat/n-hekzan (1:2) çözücü sistemi kullanıldı. Preperatif plak kromatografisi uygulaması yapıldı.

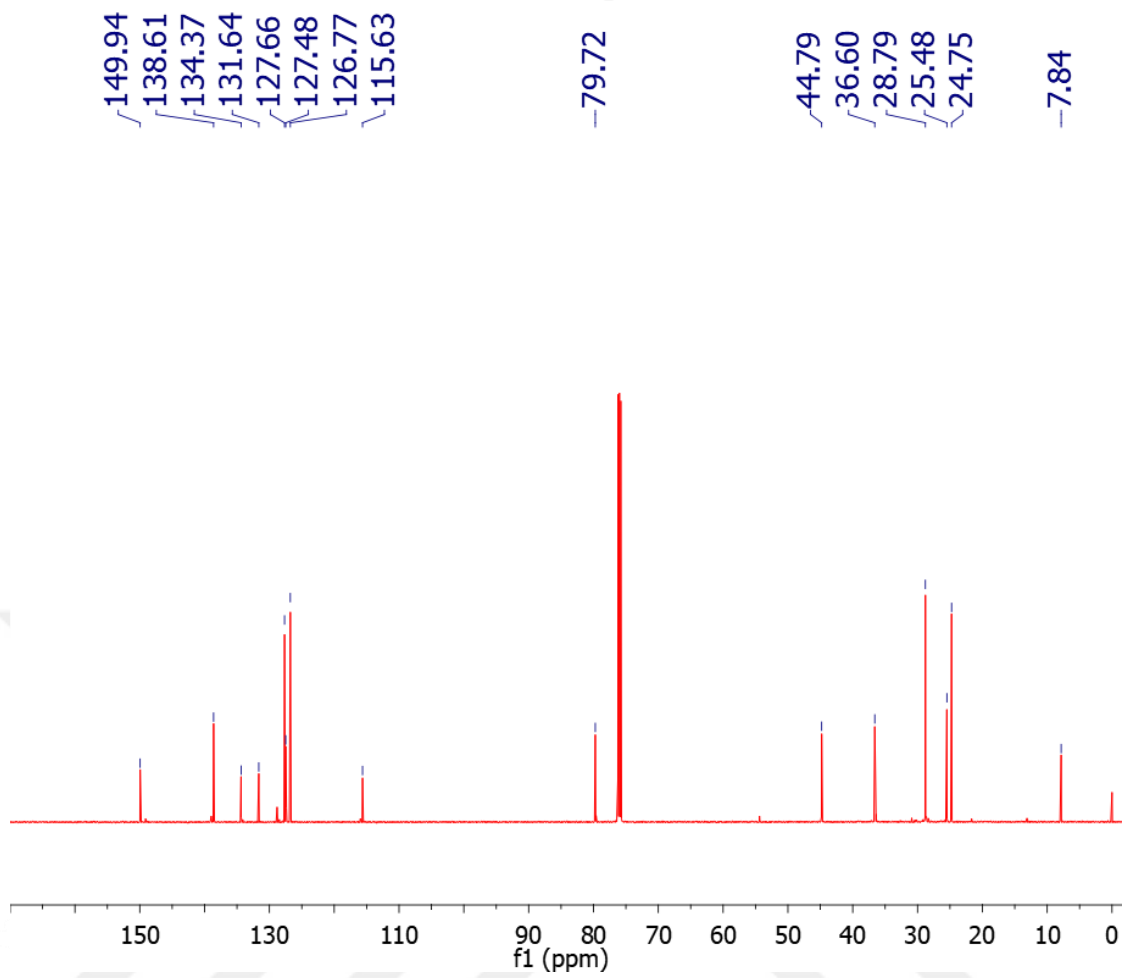
Gri renkli yapışkan katı madde elde edildi.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 600MHz) δ ppm: 0.93 (2H; m, sikloheksil), 1.21 (1H; m, $-\text{CH}_2-\text{CH}-$), 1.63 (2H; m, sikloheksil), 1.71 (4H; m, sikloheksil), 1.94 (3H; s, pirazol- CH_3), 4.02 (2H; t, $\text{O}-\text{CH}_2$), 5.24 (2H; s, $\text{C}-\text{CH}_2-\text{N}$), 7.12 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.19 (H; s, $=\text{CH}$; pirazol), 7.21-7.23 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil), 7.59-7.60 (2H; m, $=\text{CH}$; fenil)



Şekil 4.21. G11 bileşiği ^1H NMR sonucu

^{13}C -NMR spektrumunda (CDCl_3 , 150 MHz), 149.94, 138.61, 134.37, 131.64, 127.66, 127.48, 126.77, 115.63, 79.72, 44.79, 36.60, 28.79, 25.48, 24.75, 7.84.



Şekil 4.22. G11 bileşiği ^{13}C NMR sonucu

$\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O} + \text{H}^+$: $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{ClN}_3\text{O}$;

HRMS (m/z) $[\text{M}^+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 346.16803; Bulunan: 346.16807

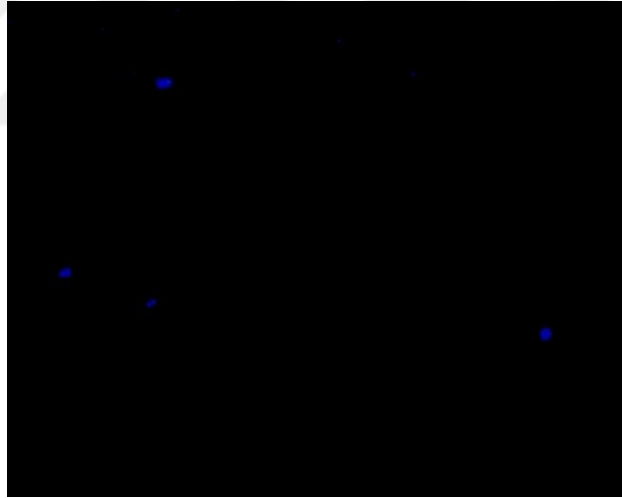
4.2. Antikanser Aktivite Çalışmaları

Tablo 4.1. Bileşiklerin hücre hatlarına karşı hesaplanan IC_{50} değerleri ($\mu\text{g/mL}$)

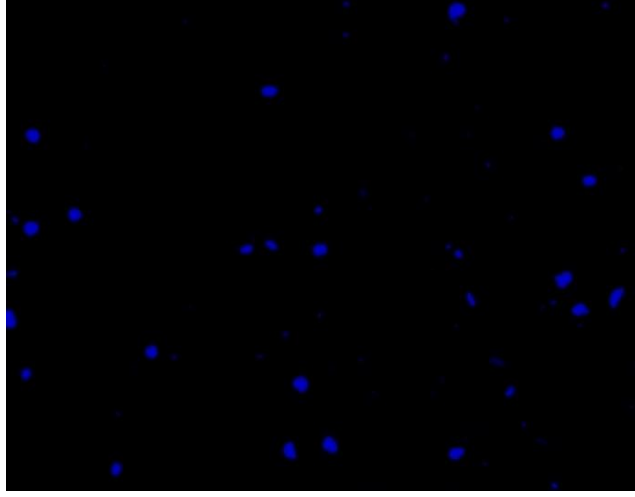
Bileşik Kodu	MCF-7	C6	SH-SY5Y	SI (C6)	SI(MCF-7)
G1	15.7 ± 0.98	10.86 ± 0.34	43.79 ± 0.87	4.03	2.76
G2	9.25 ± 0.23	8.26 ± 0.67	51.77 ± 0.23	6.27	5.60
G3	7.73 ± 0.45	6.54 ± 0.24	32.54 ± 0.78	4.98	4.21
G4	22.91 ± 0.75	18.93 ± 0.23	32.89 ± 0.56	1.74	1.44
G5	20.82 ± 0.85	18.99 ± 0.67	40.24 ± 0.76	2.12	1.93

G6	25.72 ± 0.56	18.36 ± 0.23	41.41 ± 0.85	2.26	1.61
G7	31.87 ± 0.23	14.91 ± 0.76	52.51 ± 0.85	3.52	1.65
G8	46.87 ± 0.32	49.89 ± 0.89	52.31 ± 0.86	1.05	1.12
G9	47.71 ± 0.76	44.76 ± 0.95	53.25 ± 0.73	1.19	1.12
G10	13.72 ± 0.78	9.99 ± 0.11	90.13 ± 0.96	9.02	6.57
G11	15.73 ± 0.34	8.68 ± 0.43	35.51 ± 0.85	4.09	2.26
Dokso- rubisin	2.76 ± 0.03	31.76 ± 0.98	75.87 ± 1.08		

Aktivitesi iyi çıkan ve ilaç adayı olabilecek G10 bileşiğinin MCF-7 hücre hattı üzerinde 4 farklı konsantrasyonda hücre canlılığı ölçüldü. Yapılan ölçümler sonucu hücreler DAPI ile boyandı. Pozitif kontrol grubu olarak DMSO kullanıldı. Hücre canlılık testi sonuçları şekillerde verilmiştir (Şekil 4.23, Şekil 4.24, Şekil 4.25, Şekil 4.26 ve Şekil 4.27).



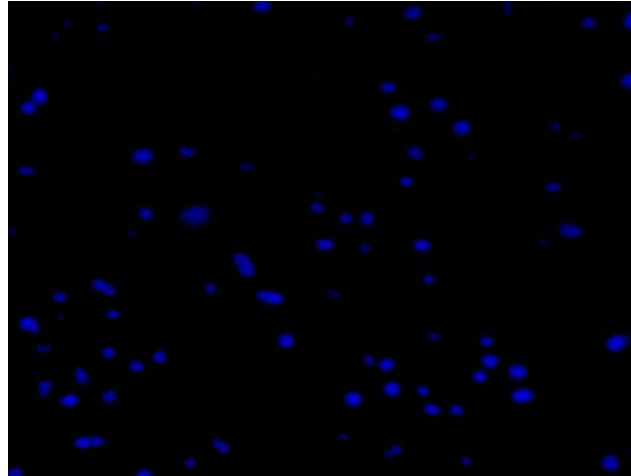
Şekil 4.23. G10 bileşiğinin 15ug/mL konsantrasyondaki hücre canlılık testi sonucu



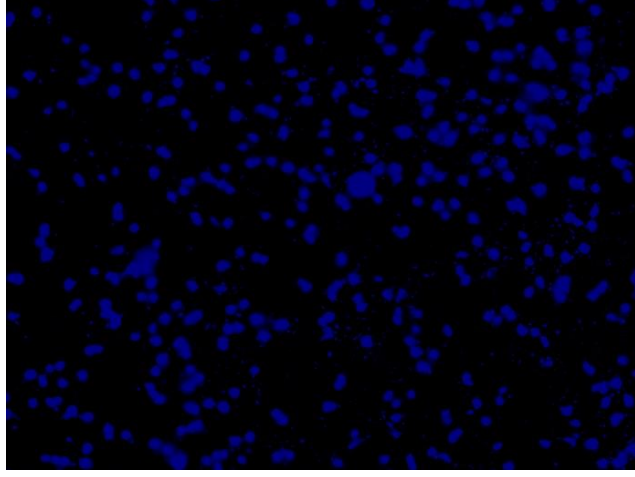
Şekil 4.24. G10 bileşiğinin 10ug/mL konsantrasyondaki hücre canlılık testi sonucu



Şekil 4.25. G10 bileşiğinin 4ug/mL konsantrasyondaki hücre canlılık testi sonucu



Şekil 4.26. G10 bileşiğinin 3ug/mL konsantrasyondaki hücre canlılık testi sonucu



Şekil 4.27. Pozitif kontrol grubu DMSO ile yapılan hücre canlılık testi sonucu



5. TARTIŞMA

5.1. Kimyasal Çalışmalar

5.1.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi

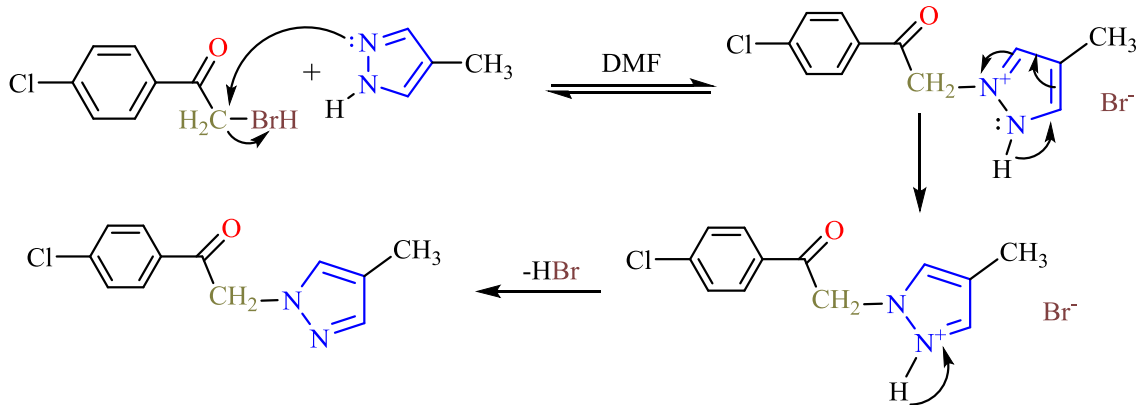
1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon sentezi

4'-kloro-2-bromoasetofenonun 4-metilpirazol ile N-alkilasyon reaksiyonu sonucunda 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon bileşiği sentezlenmiştir.



Şekil 5.1. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon sentezi

Bu reaksiyonunun literatürden elde edilen bilgiler ile nükleofilik süstitüsyon (S_N2) mekanizmasına göre olduğu bilinmektedir. Reaksiyonda kullanılan 4'-kloro-2-bromoasetofenonun metilene bağlı konumda bulunan brom halojeni oldukça reaktif bir yapıdadır. Aynı zamanda halojenin bağlı olduğu karbon atomu da olası bir bağlanma için oldukça açık bir konumda bulunmaktadır. Bu nedenle asetofenon yapısı ile pirazol halkasının bağlanması için sterik olarak rahat bir yapının olması reaksiyonun kolay gerçekleşmesini sağlamaktadır. 4-metilpirazol halkasının güçlü bir nükleofil konumunda bulunması ile sentezin gerçekleşmesi kolaylaşmaktadır. Reaksiyon pirazol halkasındaki azot atomunun broma bağlı metilen karbonuna yaptığı nükleofilik atak ile gerçekleşmektedir. Böylece asetofenon yapısından kolaylıkla brom atomu ayrılır ve sentez gerçekleşir (77).



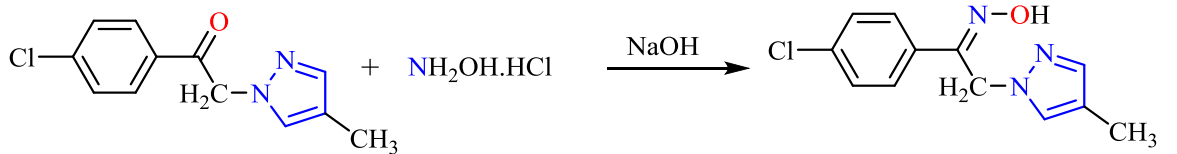
Şekil 5.2. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon'un sentez mekanizması

Reaksiyon verimi %67.12 ile %81.92 arasında değişmektedir. Reaksiyon veriminin yüksek olması reaksiyonun gerçekleştiği ortamın sıcaklığına ve reaksiyon süresine bağlıdır. Literatürde örnek teşkil eden çalışmada 3.5-dimetil pirazol yapısı ile 1-aril-2-bromoetanon'un reaksiyon süresinin 24 saat olduğu bildirilmiştir (77). Bu tez çalışması kapsamında yapılan sentez için ise öncelikle kontrol amacıyla 22 saatlik reaksiyon süresi belirlenmiş ve reaksiyon ortamından alınan örnek ile İTK kontrolü yapılmıştır. Reaksiyonun 22 saat içerisinde tamamlandığı İTK sonucunda kanıtlanmıştır.

Reaksiyon verimi üzerinde etkili bir diğer durum da sentez ortamının sıcaklığıdır. Sentez ortamının en az 2 saat boyunca buz banyosunda bulunması ve bu arada ortam sıcaklığının 0 °C'ye düşmesi gereklidir. Bunun sağlanması amacıyla reaksiyon başlangıcında 4-metilpirazol balona eklendikten sonra balonun iç sıcaklığının 0 °C'ye kadar düşmesi beklenir. Balon sıcaklığı ayarlandıktan sonra yeteri miktarda dimetilformamit içerisinde çözünen 4'-kloro-2-bromoasetofenon reaksiyona damlalık yardımıyla eklenir. Reaksiyon manyetik karıştırıcıda ve buz banyosunda olacak şekilde 22 saat süre boyunca devam ettirilir.

1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon oksim

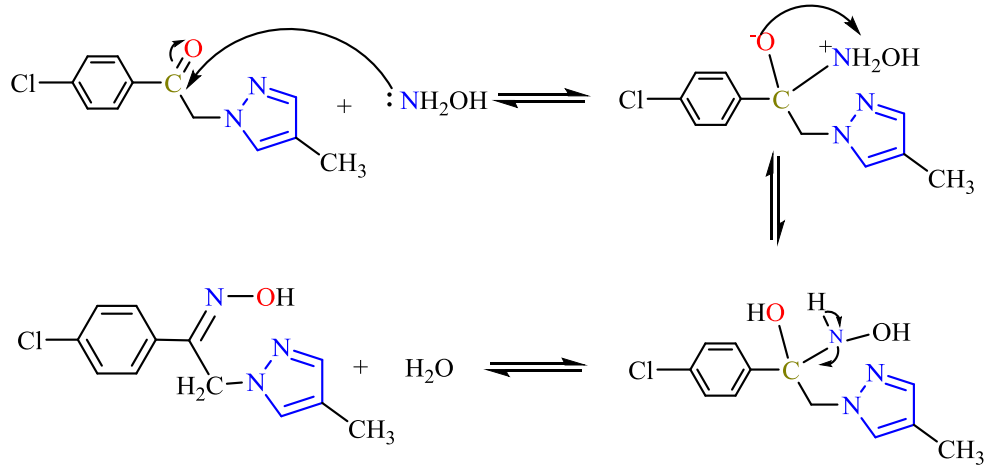
Sentezlenen 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon bileşiğinin hidroksilamin hidroklorür ile bazik ortamda reaksiyona koyulması sonucu 1-(4-klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon oksim elde edilmiştir. Keton reaksiyonu gibi oksim sentezinin de SN₂ mekanizmasına göre yürüdüğü bilinmektedir (77).



Şekil 5.3. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1H-pirazol-1-il)etanon oksim

Reaksiyon bazik ortamda gerçekleşmektedir. Genellikle doymuş sodyum hidroksit (NaOH) baz olarak kullanılmaktadır. Bazik ortam olmasının nedeni oksim yapısını oluşturacak hidroksilamin hidroklorürün serbest bazına dönüşmesinin sağlanmasıdır. Reaksiyonun ilk adımında tuz halinde bulunan hidroksilamin hidroklorürün sodyum hidroksit ile muamelesi sonrası serbest baz formu hidroksilamin yapısına dönüşme işlemi gerçekleşir. Serbest bazına dönüşen hidroksilamin yapısında bulunan azot atomunun ketondaki karbonil karbonuna yaptığı nükleofilik atak da reaksiyonun ikinci adımındır. Ortaklaşmamış elektrona sahip azot atomu, sterik engeli bulunmayan nükleofilik atağa açık şekilde duran karbonil (C=O) karbonuna atak yapar. Atak sonrası ara ürün oluşur.

Ara ürün içerisinde su çıkışının gerçekleşmesi ile azot ve karbon atomu arasındaki bağ çift bağa dönüşür. Sonuç ürün olarak oksim sentezi gerçekleşir.



Şekil 5.4. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metil-1*H*-pirazol-1-il)etanon oksim sentez mekanizması

Reaksiyon verimi %61.43 ile %72.59 arasında değişmektedir. Reaksiyon için 1:2 oranında keton ve hidroksilamin hidroklorür molar hesapları yapılır. Hesaplanan keton miktarınca balona alınır ve çözülecek kadar etanol ile muamele edilir. Etanol içerisinde keton tamamen çözündükten sonra geri çeviren soğutucu altında 40-45 °C sıcaklığa ayarlanan ısıtıcı ile reaksiyon ortamı ısıtılır. Reaksiyon ortamının ısısının ayarlanması sonrası belirlenen miktarda hidroksilamin hidroklorür eklenir. Sentez ortamının bazik olması için doymuş sodyum hidroksit balona damlalar şeklinde eklenir. pH kağıdı ile ortamın pH derecesi kontrol edilir. Verimi yüksek, hızlı bir reaksiyon için ortamın pH'ı 8-9 aralığında ayarlanır. pH'ın dokuzun üzerine çıkması reaksiyon verimini düşürmektedir. pH ayarlanırken fazla sodyum hidroksitle muamele edilirse ortamın pH'ının ayarlanması için asit eklenmesi yapılabilir. Reaksiyon ortamının pH'ının ayarlanması ile 1 saatlik süre tutulur. 1 saatin sonunda etilasetat/n-hekzan çözücü sistemi kullanılarak İTK kontrolü yapılır. İTK sonucunda reaksiyon ortamından alınan numune içerisinde keton bileşiğinin lekesinin görülmesi sonucu reaksiyon 1 saat kadar uzatılır. Tam aksi durumda başlangıç maddesinin kromatogramda görülmemesi ile reaksiyon sonlandırılır.

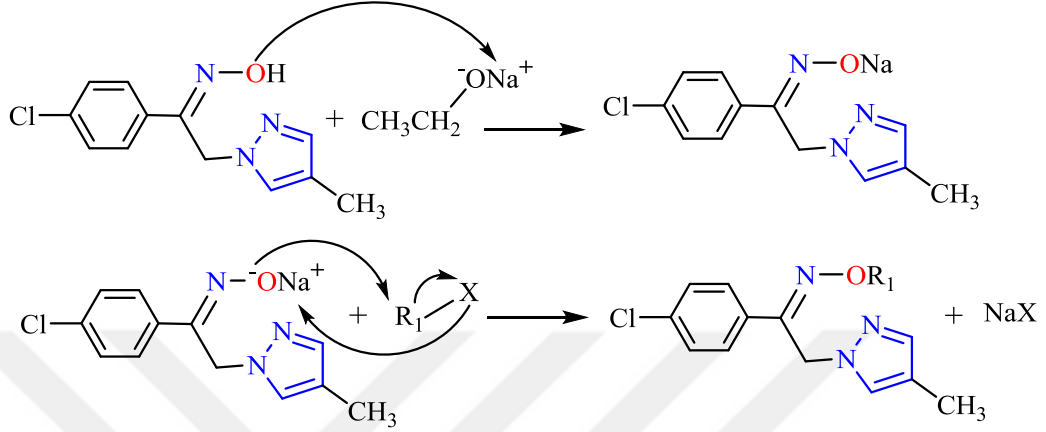
Sonuç Bileşiklerin Sentezi

Oksim Eter Türevlerinin Sentezi (G1-G11)

Bu tez çalışması kapsamında oksim eter türevlerinin sentezinde literatürde de yaygın bir şekilde kullanılan oksimden oksim eter sentez yöntemi tercih edilmiştir. Bu yöntemin sentezde kullanılmasının nedeni literatürde sentez hakkında kolayca bilgiye

ulaşılabilir olmasıdır. Aynı zamanda sentezin kolay gerçekleşmesine bağlı olarak reaksiyon sũresinin kısa sũrmesi de tercih edilme nedenlerinden biridir.

Tepkimede ilk adım oksim ũzerindeki hidroksil grubunun protonu yapıdan ayrılmaya zorlanır. Bu sayede protonun yapıdan kopartılması sonucu sodyum ya da potasyum tuz eldesi ile etere geçişin hızlandırılması sağlanır.



şekil 5.5. Oksim eter tũrevleri (G1-G11) sentez mekanizması

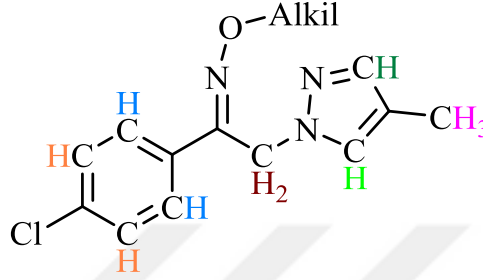
Oksim eter sentezi sırasında protonun ayrılması için reaksiyonda sodyum hidrũr (NaH), sodyum etoksit (NaOEt) ya da potasyum karbonat (K₂CO₃) kullanılmaktadır. Reaksiyonda kullanılan baza bağlı olarak tepkimenin verimi ve hızının değiştiği yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile bilinmektedir. Alagũz tarafından yapılan çalışmada da NaH ve NaOEt bazlarının reaksiyona etkisi karşılaştırılmıştır. NaOEt' in sentez sũresini kısalttığı ve verimi arttırdığı bildirilmiştir (82). Bu bilgiler doğrultusunda yapılan sentezde baz olarak NaOEt kullanılmıştır. NaOEt hazırlanırken hesaplanan miktarda Na^o okside olmamış kısımdan kesilir. Yeteri kadar etanol içerisinde ozeltisi hazırlanır. Hazırlanan NaOEt' in ũzerine hesaplanan miktarda oksim bileşiği eklenir ve geri eviren soğutucuda ısıtılarak bir saat karışması sağlanır. Bir saat sũrenin tamamlanması ile rotaevaporatũrde etanol uururur. Etanol tam anlamıyla uçurulduktan sonra sonuç ũrũnlerinin sentezinde son adıma geçilir. Reaksiyon kabına yeteri miktarda alkil halojenũr ilavesi yapılarak 3-5 saat sũre boyunca oda sıcaklığında karıştırılır. 3. saatin sonunda reaksiyon ortamından alınan ũrnek ile İTK uygulaması yapılır. İTK sonucuna gũre reaksiyonun tamamlanmadığı belirlenirse reaksiyon en fazla 2 saat daha devam ettirilir. Bu ek sũre sonunda reaksiyon tamamlanmasa da reaksiyon bitirilir.

Reaksiyon tamamlandıktan sonra bileşiklerin sağlaştırılması gerekir. Sağlaştırma işlemleri için preperatif plak kullanılmıştır. Etilasetat/n-hekzan (1:2) oranında karışım hazırlanarak solvan sistemi kurulmuştur.

5.2. Sentezi Yapılan Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması

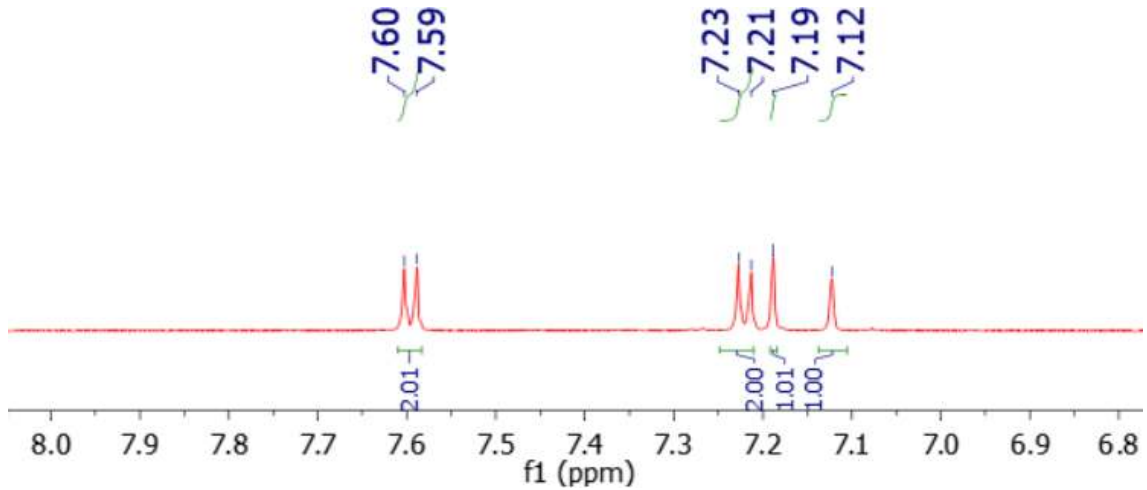
¹H-NMR Spektrumları

Bileşiklere ait spektrumlardaki piklerin ppm değerleri, yarılmaları ve integral değerleri incelenmiştir. G1-G11 serisi bileşiklere yapılan süstitüentler yalnızca oksim eter grubu üzerinden yapılmıştır. Bu nedenle 4-klorofenil, etil ve pirazol yapısında yer alan protonların pik özellikleri seri içerisinde benzerlik göstermektedir.

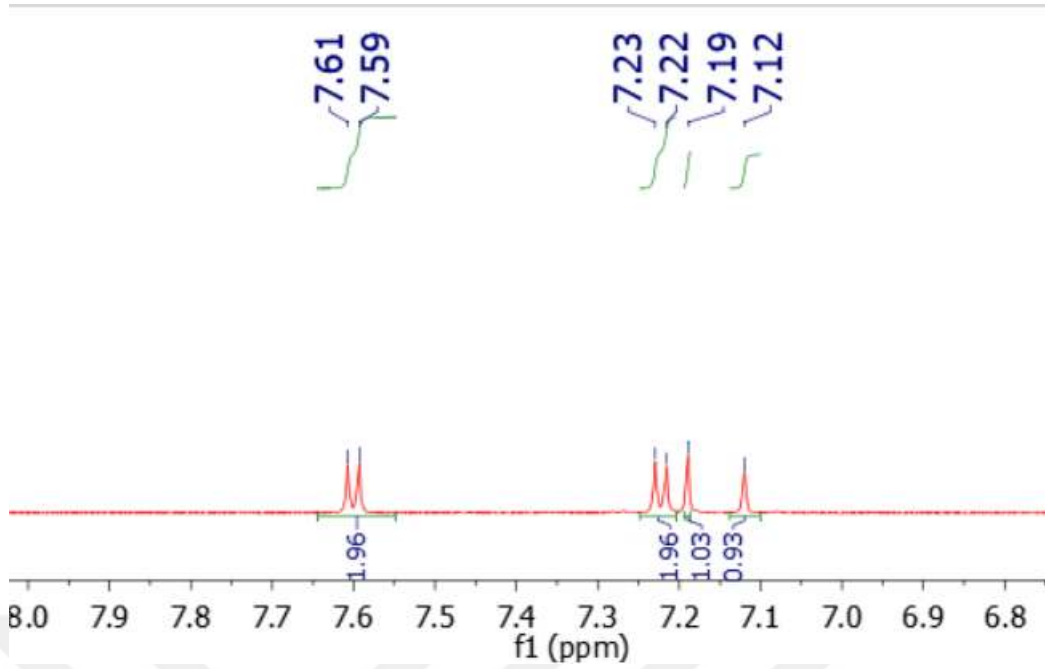


Şekil 5.6. G1-G11 bileşiklerinde değişikliğe uğramayan proton konumları

Aromatik bölge olarak tanımlanan 6-8 ppm aralığında 4 ayrı pik gözlemlenmektedir. Bu piklerden 7.11-7.22 aralığında yer alan iki ayrı pik pirazol halkasında bulunan protonlara ait piktir. Seri boyunca pirazol ve fenil halkalarına ait aromatik bölgedeki pikler değer aralıklarını korumuştur. İki farklı bileşiğe (G2 ve G6) ait ¹H-NMR sonuçlarında aromatik bölgeye ait pikler verilmiştir (Şekil 5.7 ve Şekil 5.8).

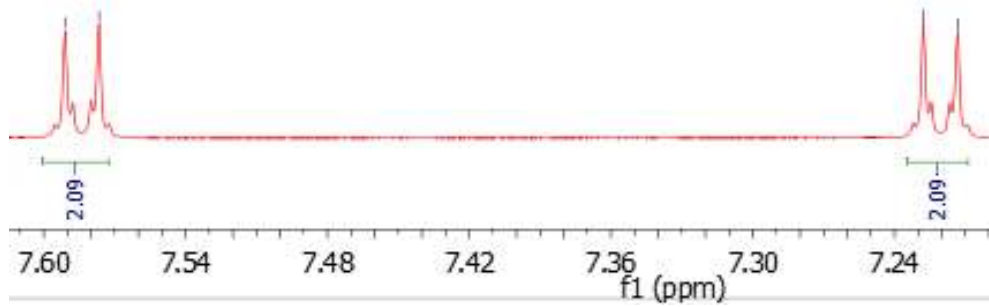


Şekil 5.7. G2 bileşiğine ait ¹H-NMR sonucu aromatik bölge pikleri



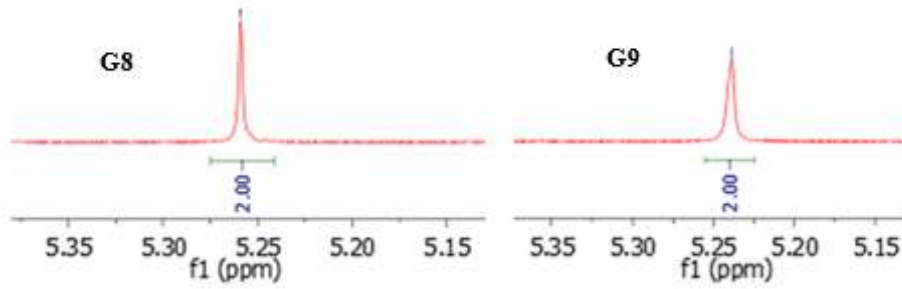
Şekil 5.8. G6 bileşiğine ait ^1H -NMR sonucu aromatik bölge pikleri

7.20-7.60 ppm aralığında çıkan pikler ise fenil halkasına ait protonların pikidir. Bu protonlardan fenil halkasının 2 ile 6, 3 ile 5 konumlarında yer alan protonlar aynı ppm değerleri aralığında dublet pik vermektedir.



Şekil 5.9. Fenil halkasında bulunan protonların ^1H -NMR pik örneği (G4)

11 bileşiğin NMR sonuçlarında ortak gözlenen diğer bir pik örneği ise etil yapısındaki $-\text{CH}_2$ 'ye ait piktir. Komşu atomlarında proton olmaması nedeniyle 5-5.5 ppm aralığında singlet pik vermiştir.

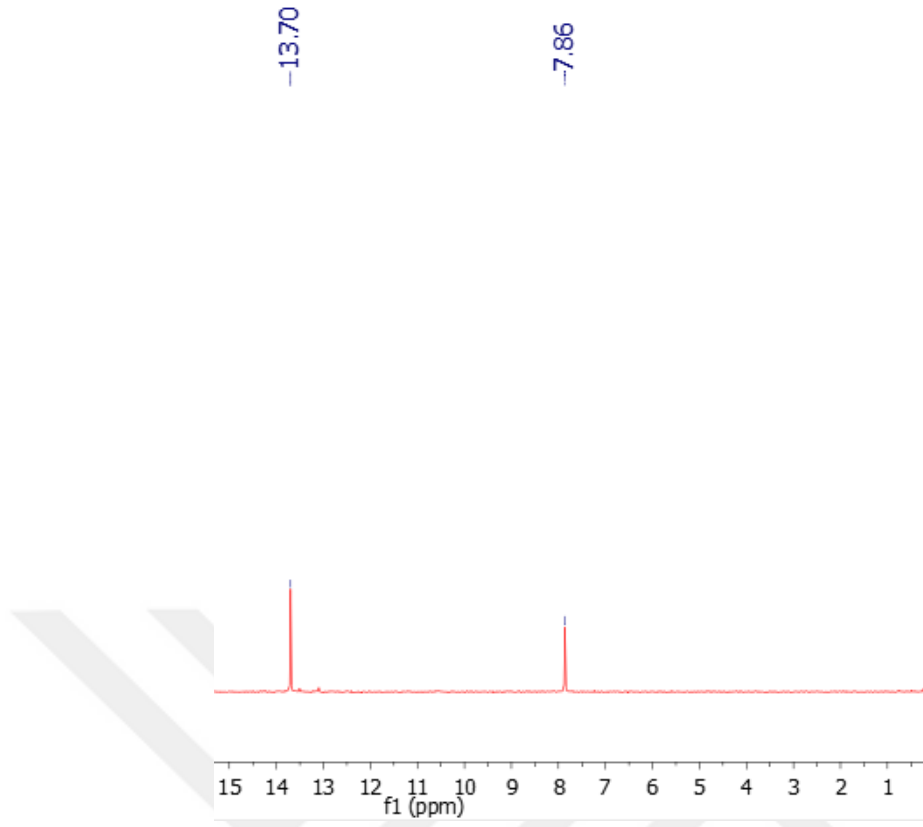


Şekil 5.10. G8 ve G9 bileşiklerine ait -C-CH₂-pirazol protonuna ait NMR sonucu

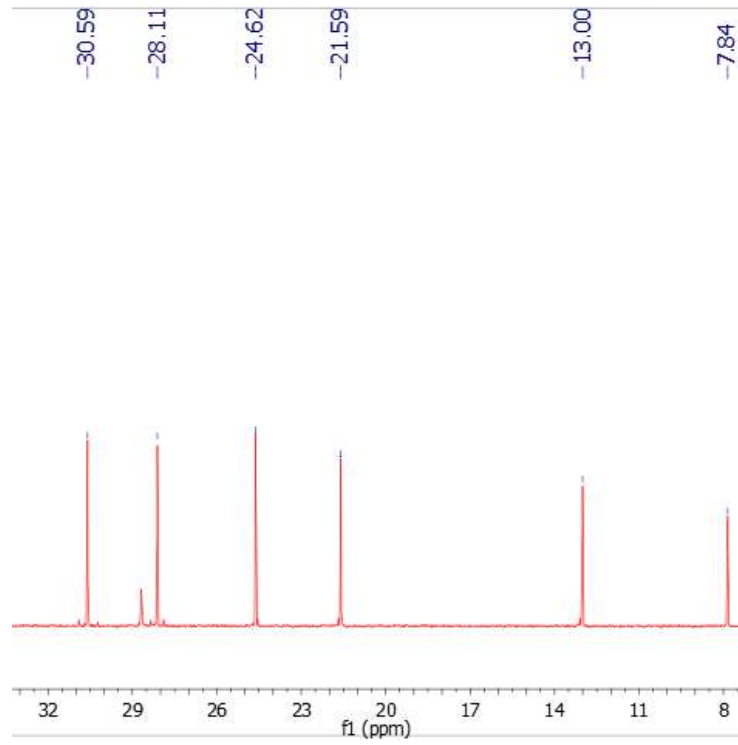
Pirazol halkasında 4. konumda bulunan (CH₃) metil 1.94-1.97 ppm aralığında singlet pik vermiştir. Alkil zincirinin uzatılması sonucu 0-2 ppm değerleri aralığında yer alan piklerin sayısı artmaktadır.

¹³C- NMR Spektrumları

¹³C-NMR sonuçları incelendiğinde bileşiklerin yapısındaki pirazol ve fenil halkasındaki karbonlara ait piklerin benzer ppm değerlerine sahiptir. Ancak oksim eter türevlerinin alkil zincirlerindeki karbonlara ait pikler önemli derecede farklılar göstermektedir. Aromatik yapılarda bulunan karbonlar 110-159 ppm aralığında pik vermiştir. Pirazol halkası üzerindeki metil karbonu yaklaşık 7-8 ppm aralığında çıkmıştır. Fenil halkası ile pirazol halkası arasındaki etil grubundaki CH₂ ait 44-46 ppm aralığındadır. C=N-O-'ya ait karbon ise 54-80 ppm'de pik vermiştir. Eter gruplarına bağlı karbonlardan C=N-O-CH-oksijene bağlı karbon 45-50 ppm aralığında diğer karbonlar ise 0-35 ppm aralığında pik vermiştir.

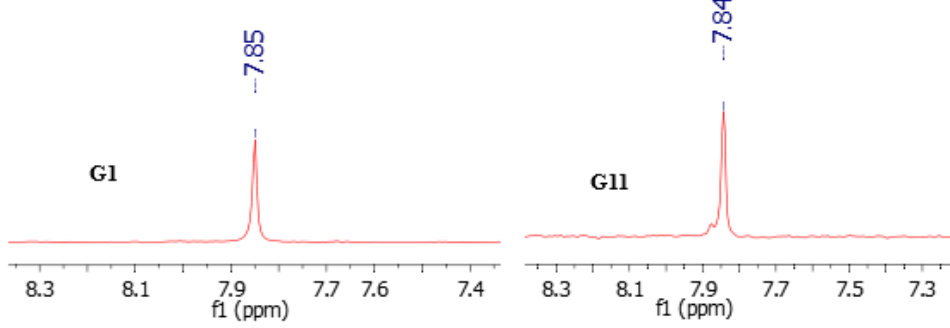


Şekil 5.11. G2 bileşiğinin alkil zincirine ait karbonun piki



Şekil 5.12. G6 bileşiğinin alkil zincirine ait karbonların pikleri

Sentezlenen bütün bileşiklerin ^{13}C -NMR sonuçları incelendiğinde pirazolün 4 numaralı konumuna bağlı $-\text{CH}_3$ grubuna ait karbon atomunun pik değeri ufak kaymalar ile 7.84-7.87 ppm değer aralığında çıkmıştır.



Şekil 5.13. G1 ve G11 bileşiklerine ait pirazolün 4 numaralı konumunda bulunan $-\text{CH}_3$ piki

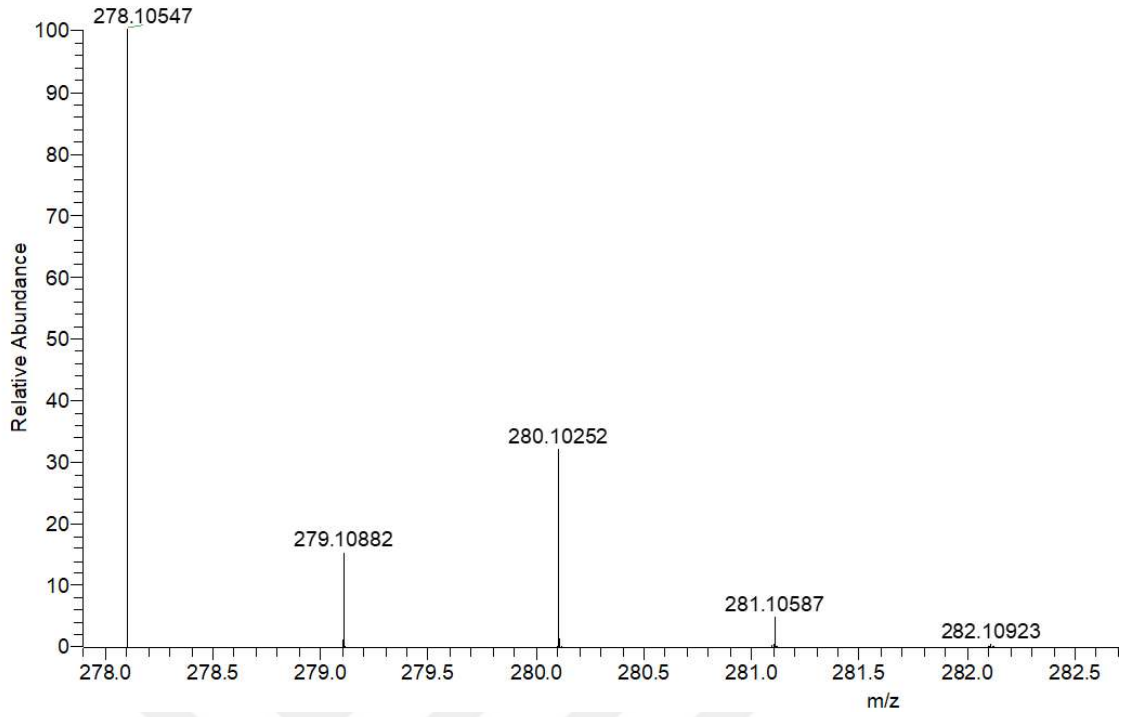
Kütle Spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin kütle spektrum ölçümleri yapılarak yapı aydınlatılması yapılmıştır. Kütle spektrum sonuçlarında $[\text{M}+\text{H}]^+$ (moleküler iyon +H) piki görülmektedir. Bileşiklerin hesaplanan ve bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ değerleri uygunluk göstermektedir.

Ana yapıda klor atomu bulunmaktadır. Klor atomunun farklı izotopları vardır. Kararlı olarak doğadan 1:3 oranında iki izotopu bulunur. Bileşiklerin kütle spektrumunda da aynı iyon pikini veren iki farklı oranda pik gözlemlenmiştir. Bu durumu doğrulamıştır.

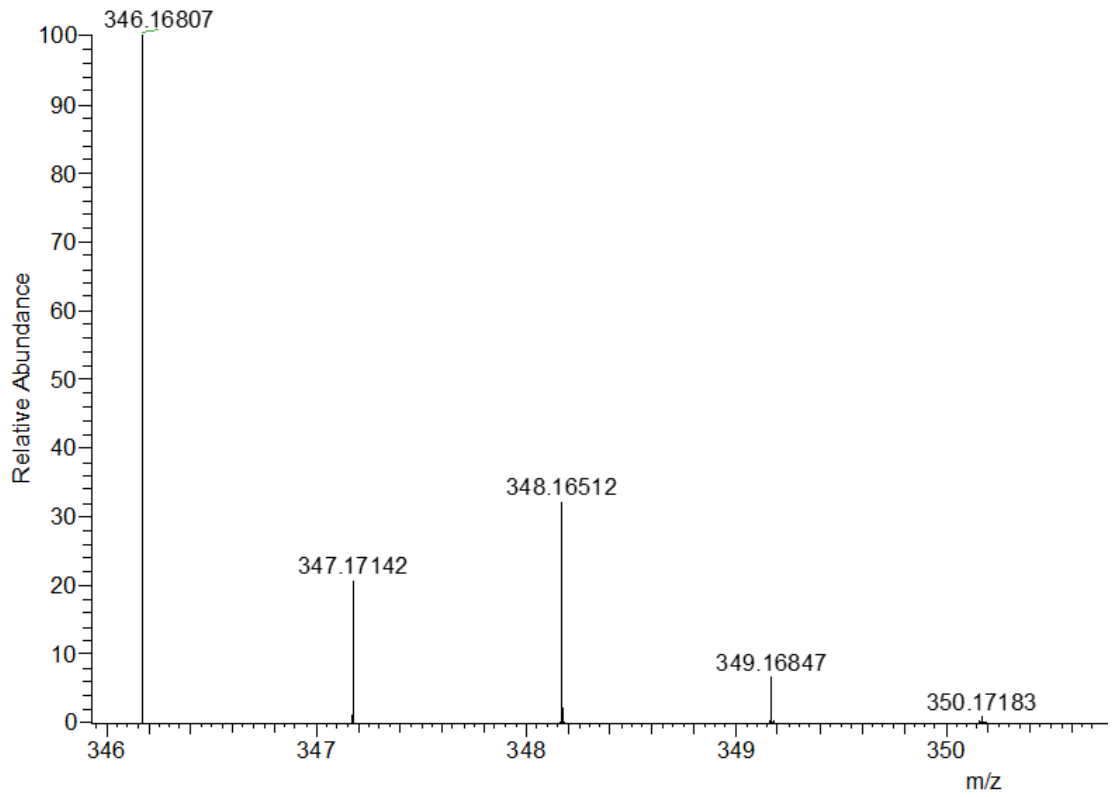
G2 bileşiğinin (Şekil 5.14) ve G11 bileşiğinin (Şekil 5.15) kütle sonuçlarına bakıldığında klor atomunun yapıda doğrulandığı ve izotoplarının olası yüzdelerinin doğru çıktığı görülür. Bu durum bileşiklerin yapısının doğruluğunu kanıtlamaktadır.

C₁₄H₁₆ClN₃O +H: C₁₄ H₁₇ Cl N₃ O₁



Şekil 5.14. G2 bileşiğinin kütle spektrum sonucu

C₁₉H₂₄ClN₃O +H: C₁₉ H₂₅ Cl N₃ O₁

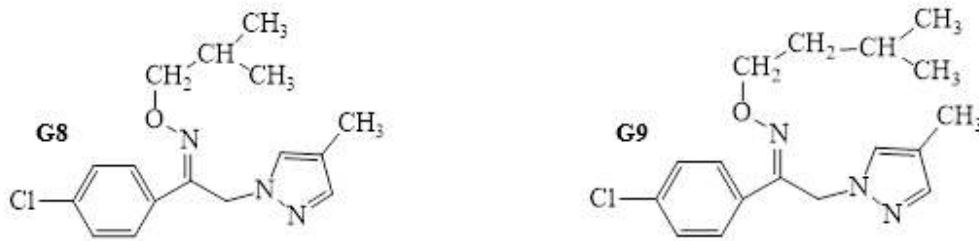


Şekil 5.15. G11 bileşiğinin kütle spektrum sonucu

5.3. Sonuç Bileşiklerin Antikanser Aktivitelerinin Değerlendirilmesi ve Yapı Etkilerinin Açıklanması

Aktivite çalışmalarında 3 farklı hücre hattı seçilerek bileşiklerin hücre hatlarına karşı etkinlikleri incelenmiştir. Bu tez çalışmasında MCF-7 ve C6 kanser hücre hattı ile sağlıklı hücrede kontrolün yapılması amacıyla SH-SY5Y hücre hatları kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin meme kanseri üzerinde etkin olabileceği ve sık metastaz yaptığı beyin tümörüne karşı aktif olabileceği düşünüldüğü için çalışmada bu hücre hatları tercih edilmiştir. Bu tez çalışma konusuna öncü olan ve Alagöz tarafından yapılan çalışmada 1-aril-2-(3.5-dimetil pirazol-1-il) etanon yapısına sahip bileşiklerden en yüksek sitotoksik aktiviteye sahip 4-klorofenil halkası ana yapı olarak seçilmiştir. Azol grubu olarak da 4-metil pirazol halkası kullanılmıştır (77).

Bileşiklerin MCF-7 ve C6 hücre hatlarına karşı etkinlikleri incelendiğinde bileşiklerin C6 hücre hattına karşı daha aktif olduğu görüldü. MCF-7 hücre hattına karşı en etkin bileşiğin G3 bileşiği (IC_{50} : 7.73 ± 0.45 değeri ile) olduğu bulunmuştur. G3 bileşiği ile kontrol grubu olarak seçilen doksorubisin (IC_{50} : 2.76 ± 0.03 değeri) karşılaştırıldığında G3 bileşiğinin aktivite sonucunun çok düşük olduğu sonucuna varılmıştır. MCF-7 hücre hattına karşı en az etkili bileşik ise IC_{50} : 47.71 ± 0.76 değerine sahip G9 bileşiğidir. C6 hücre hattına karşı etkinliklerin sentezlenen bileşikler arasında değerlendirilmesi yapıldığında en düşük aktivite gösteren bileşik IC_{50} : 49.89 ± 0.89 değerine sahip G8 bileşiğidir. G8 ve G9 bileşiklerinin C6 ve MCF-7 her iki hücre hattına karşı da en düşük aktivite gösteren bileşikler olduğu yapılan çalışma ile kanıtlanmıştır (Şekil 5.16).



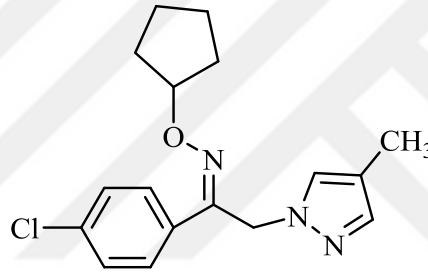
Şekil 5.16. Aktivitesi en düşük bileşikler G8 ve G9 yapısı

C6 hücre hattına karşı G8 ve G9 bileşikleri hariç bütün bileşiklerin aktivite değeri kontrol grubu doksorubisine karşı daha yüksek çıkmıştır. C6 hücre hattına karşı en etkili bileşik ise IC₅₀: 6.54 ± 0.24 değeri ile G3 bileşiği olmuştur.

Bileşiklerin sağlıklı hücre hattı olan SH-SY5Y karşı aktivite sonuçları değerlendirildiğinde sağlıklı hücreye en düşük etkiye G10 bileşiğinin sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Hücre hatlarına karşı bileşiklerin seçicilik oranları değerlendirildiğinde C6 hücre hattına en yüksek seçiciliği G10 (SI = 9.02) bileşiğinin gösterdiği bulunmuştur.

Bileşikler MCF-7 hücre hattına karşı düşük seçicilik göstermiştir. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde hem C6 hücre hattına karşı etkin hem SH-SY5Y karşı düşük etkinliğe sahip hem de seçiciliği yüksek olan bileşik G10 bileşiğidir. G10 bileşiğinin sentezlenen 11 yeni bileşiğin içerisinde olası ilaç aktivitesinin en iyi bileşik olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 5.17).



Şekil 5.17. En iyi aktivite sonucuna sahip olan G10 bileşiği

MCF-7 ve C6 hücre hattı aktivite sonuçlarına bakıldığında G8 ve G9 bileşiklerinin en düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bileşikler sırası ile izobütil ve izopentil oksim eter türevleridir. İlaç adayı olabilecek G10 bileşiği ise siklopentil oksim eter yapısındadır.

G1-G2-G3 bileşiklerinin MCF-7 ve C-6 hücre hatlarına karşı aktivitenin sırasıyla arttığı sonucuna varılmıştır. Oksim etere bağlı alkil zincirinin 1 karbondan 3 karbona doğru artması ile aktivitenin de eş zamanlı arttığı görülmüştür. Diğer bileşiklerin yapısında böyle doğrusal bir bağlantı kurulamamaktadır. Oksim eter n-alkil türevlerinde karbon zincir uzunluğu optimum 3 karbon olarak belirlenmiştir. Zincirin uzaması ya da kısılması aktiviteyi düşürmektedir. 4 ve 5 karbonlu bileşiklerin izo türevlerinde aktivitelerin belirgin derecede düştüğü görülmüştür. Oksim etere bağlı alkil zincirinin aktivite üzerinde olumlu etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Siklopentil yapısı metil-sikloheksile göre daha yüksek seçicilikte aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpirazol-1-il)etanon oksim yapısına sahip 11 yeni bileşik tasarlanmış, sentezlenmiş ve sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları spektral yöntemler ile aydınlatılmıştır. Bileşiklerin C6, MCF-7 ve SH-SY5Y hücre hatlarına karşı antikanser aktiviteleri açıklanmıştır. Bileşikler C6 hücre hattında MCF-7 hücre hattına göre daha iyi etki göstermişlerdir. Bileşiklerden G3 ve G10 ise hem MCF7 hem de C6 üzerinde önemli antikanser etki göstermiştir. Seçilen SH-SY5Y sağlıklı hücre hattına karşı önemli sitotoksik etki göstermediği ve sağ kalım oranının yüksek olduğu yapılan sitotoksikite çalışması ile kanıtlanmıştır. Sentezlenen bileşiklerin ana yapısında tercih edilen 4-metilpirazol yapısının diğer disüstitüe pirazol halkalarında olduğu gibi antikanser etkinliğe sahip olduğu bu tez çalışması kapsamında kanıtlanmıştır.

Bileşiklerin oksim eter yapılarının yerine oksim ester ya da alkol eter (ester) süsbtitüsyonları ile yapı aktivite ilişkileri geliştirilebilir ve daha aktif bileşiklere ulaşılabilir. Pirazol yapısı üzerinden yapılan sentez ve aktivite çalışmalarında 4-metilpirazol yapısının 3.5-dimetil pirazol kadar etkili olduğu görüldü. Pirazol halkasının farklı konumlarındaki alkil süsbtitüsyonları ile yeni bileşikler tasarlanıp aktiviteleri değerlendirilerek literatüre katkı sağlanabilir.

KAYNAKLAR

1. Bray F, Laversanne M, Weiderpass E, Soerjomataram I. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer*. 2021;127(16):3029-30.
2. Zhou HM, Zhang JG, Zhang X, Li Q. Targeting cancer stem cells for reversing therapy resistance: mechanism, signaling, and prospective agents. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):62.
3. Garima M, Sumitra N, Pramod K. Cancer: An overview. *Journal of Cancer Research*. 2015;8:1-9.
4. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2024;74(3):229-63.
5. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424.
6. Baykara O. Current modalities in treatment of cancer. *Balikesir Health Sciences Journal*. 2016;5(3):154-65.
7. Bagheri Z, Moeinzadeh L, Razmkhah M. Roles of Microbiota in Cancer: From Tumor Development to Treatment. *J Oncol*. 2022;2022:3845104.
8. Abbas Z, Rehman S. An overview of cancer treatment modalities. *Neoplasms*. 2018;1:139-57.
9. McCullough ML, Patel AV, Kushi LH, Patel R, Willett WC, Doyle C, et al. Following cancer prevention guidelines reduces risk of cancer, cardiovascular disease, and all-cause mortality. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011;20(6):1089-97.
10. Hanna TP, King WD, Thibodeau S, Jalink M, Paulin GA, Harvey-Jones E, et al. Mortality due to cancer treatment delay: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2020;371:m4087.
11. Bray F, Jemal A, Torre LA, Forman D, Vineis P. Long-term Realism and Cost-effectiveness: Primary Prevention in Combatting Cancer and Associated Inequalities Worldwide. *J Natl Cancer Inst*. 2015;107(12):djv273.

12. Vaccarella S, Franceschi S, Engholm G, Lonnberg S, Khan S, Bray F. 50 years of screening in the Nordic countries: quantifying the effects on cervical cancer incidence. *Br J Cancer*. 2014;111(5):965-9.
13. Kalager M, Zelen M, Langmark F, Adami HO. Effect of screening mammography on breast-cancer mortality in Norway. *N Engl J Med*. 2010;363(13):1203-10.
14. Thun MJ, Jemal A. How much of the decrease in cancer death rates in the United States is attributable to reductions in tobacco smoking? *Tob Control*. 2006;15(5):345-7.
15. Reeves GK, Pirie K, Beral V, Green J, Spencer E, Bull D, et al. Cancer incidence and mortality in relation to body mass index in the Million Women Study: cohort study. *BMJ*. 2007;335(7630):1134.
16. Fang X, Wei J, He X, Lian J, Han D, An P, et al. Quantitative association between body mass index and the risk of cancer: A global Meta-analysis of prospective cohort studies. *Int J Cancer*. 2018;143(7):1595-603.
17. Hinduja DB, Dhanu A, Swamy G, Murugesan K, Elango B, Murali U, et al. Diet and nutrition strategies for cancer prevention: a comprehensive review. *Research in Biotechnology*. 2023;2023(14):12-8.
18. Curt GA. The Impact of Fatigue on Patients with Cancer: Overview of FATIGUE 1 and 2. *Oncologist*. 2000;5 Suppl 2:9-12.
19. Soerjomataram I, Bray F. Planning for tomorrow: global cancer incidence and the role of prevention 2020-2070. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021;18(10):663-72.
20. Herrero CC, Díaz CC, Cordellat AB. Farmacoeconomía y los costes de los medicamentos contra el cáncer. *Farmacia Hospitalaria*. 2010;34:12-5.
21. Marshall CM, Federice JG, Bell CN, Cox PB, Njardarson JT. An Update on the Nitrogen Heterocycle Compositions and Properties of U.S. FDA-Approved Pharmaceuticals (2013-2023). *J Med Chem*. 2024;67(14):11622-55.
22. Hossain M, Habib I, Singha K, Kumar A. FDA-approved heterocyclic molecules for cancer treatment: Synthesis, dosage, mechanism of action and their adverse effect. *Heliyon*. 2024;10(1):e23172.
23. Luo W, Liu Y, Qin H, Zhao Z, Wang S, He W, et al. Nitrogen-containing heterocyclic drug products approved by the FDA in 2023: Synthesis and biological activity. *Eur J Med Chem*. 2024;279:116838.
24. Keter FK, Darkwa J. Perspective: the potential of pyrazole-based compounds in medicine. *Biometals*. 2012;25(1):9-21.

25. Theorell H, Yonetani T, Sjoberg B. On the effects of some heterocyclic compounds on the enzymic activity of liver alcohol dehydrogenase. *Acta Chem Scand.* 1969;23(1):255-60.
26. Li TK, Theorell H. Human liver alcohol dehydrogenase: inhibition by pyrazole and pyrazole analogs. *Acta Chem Scand.* 1969;23(3):892-902.
27. Blomstrand R, Ostling-Wintzell H, Lof A, McMartin K, Tolf BR, Hedstrom KG. Pyrazoles as inhibitors of alcohol oxidation and as important tools in alcohol research: an approach to therapy against methanol poisoning. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979;76(7):3499-503.
28. Ding XL, Zhang HY, Qi L, Zhao BX, Lian S, Lv HS, et al. Synthesis of novel pyrazole carboxamide derivatives and discovery of modulators for apoptosis or autophagy in A549 lung cancer cells. *Bioorg Med Chem Lett.* 2009;19(18):5325-8.
29. Alagöz MA, Karakurt A, Hepokur C, Şalva E, Önkol T, Ghoneim MM, et al. Synthesis of New 1-Aryl-2-(3, 5-dimethylpyrazol-1-yl) ethanone Oxime Ether Derivatives and Investigation of Their Cytotoxic Effects. *Processes.* 2021;9(11):2019.
30. Mehra A, Mittal A, Sangwan R. Azole Derivatives: Cutting-Edge Agents in Cancer Therapy. *ChemistrySelect.* 2024;9(43):e202403294.
31. Knorr L. Einwirkung von acetessigester auf phenylhydrazin. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.* 1883;16(2):2597-9.
32. Gesellschaft DC. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft: Verlag Chemie.*; 1880.
33. Kabi AK, Sravani S, Gujjarappa R, Garg A, Vodnala N, Tyagi U, et al. An introduction on evolution of azole derivatives in medicinal chemistry. *Nanostructured Biomaterials: Basic Structures and Applications: Springer;* 2022. p. 79-99.
34. Giller S, Mazheika I, Grandberg I. Electron density distribution in heterocyclic systems with two vicinal nitrogen atoms. II. Pyrazole dipole moments. *Chemistry of Heterocyclic Compounds.* 1965;1(1):69-71.
35. Karrouchi K, Radi S, Ramli Y, Taoufik J, Mabkhot YN, Al-Aizari FA, et al. Synthesis and Pharmacological Activities of Pyrazole Derivatives: A Review. *Molecules.* 2018;23(1).

36. Ameziane El Hassani I, Rouzi K, Assila H, Karrouchi K, Ansar Mh. Recent advances in the synthesis of pyrazole derivatives: a review. *Reactions*. 2023;4(3):478-504.
37. Secrieru A, O'Neill PM, Cristiano MLS. Revisiting the Structure and Chemistry of 3(5)-Substituted Pyrazoles. *Molecules*. 2019;25(1).
38. Chermahini AN, Teimouri A, Beni AS, Dordahan F. Theoretical studies on the effect of substituent in the proton transfer reaction of 4-substituted pyrazoles. *Comput Theor Chem*. 2013;1008:67-73.
39. Catalán J, Sánchez-Cabezudo M, De Paz JLG, Elguero J, Taft RW, Anvia F. The tautomerism of 1, 2, 3-triazole, 3 (5)-methylpyrazole and their cations. *J Comput Theor Chem*. 1989;10(3):426-33.
40. Zhao MY, Yin Y, Yu XW, Sangani CB, Wang SF, Lu AM, et al. Synthesis, biological evaluation and 3D-QSAR study of novel 4,5-dihydro-1H-pyrazole thiazole derivatives as BRAF(V(6)(0)(0)E) inhibitors. *Bioorg Med Chem*. 2015;23(1):46-54.
41. Sun J, Lv XH, Qiu HY, Wang YT, Du QR, Li DD, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of pyrazole derivatives coupling with a thiourea moiety as novel CDKs inhibitors. *Eur J Med Chem*. 2013;68:1-9.
42. Hart AC, Schroeder GM, Wan H, Grebinski J, Inghrim J, Kempson J, et al. Structure-Based Design of Selective Janus Kinase 2 Imidazo[4,5-d]pyrrolo[2,3-b]pyridine Inhibitors. *ACS Med Chem Lett*. 2015;6(8):845-9.
43. Mohamed AH, Alshammari MB, Aly AA, Sadek KU, Ahmad A, Aziz EA, et al. New imidazole-2-thiones linked to acenaphthylenone as dual DNA intercalators and topoisomerase II inhibitors: structural optimization, docking, and apoptosis studies. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2024;39(1):2311818.
44. Anderson B, Rosston P, Ong HW, Hossain MA, Davis-Gilbert ZW, Drewry DH. How many kinases are druggable? A review of our current understanding. *Biochem J*. 2023;480(16):1331-63.
45. Tan L, Zhang J, Wang Y, Wang X, Wang Y, Zhang Z, et al. Development of Dual Inhibitors Targeting Epidermal Growth Factor Receptor in Cancer Therapy. *J Med Chem*. 2022;65(7):5149-83.
46. Tu CH, Lin WH, Peng YH, Hsu T, Wu JS, Chang CY, et al. Pyrazolylamine Derivatives Reveal the Conformational Switching between Type I and Type II

- Binding Modes of Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK). *J Med Chem*. 2016;59(8):3906-19.
47. Reddy GL, Guru SK, Srinivas M, Pathania AS, Mahajan P, Nargotra A, et al. Synthesis of 5-substituted-1H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7(6H)-one analogs and their biological evaluation as anticancer agents: mTOR inhibitors. *Eur J Med Chem*. 2014;80:201-8.
48. Fadaly WAA, Nemr MTM, Zidan TH, Mohamed FEA, Abdelhakeem MM, Abu Jayab NN, et al. New 1,2,3-triazole/1,2,4-triazole hybrids linked to oxime moiety as nitric oxide donor selective COX-2, aromatase, B-RAF(V600E) and EGFR inhibitors celecoxib analogs: design, synthesis, anti-inflammatory/anti-proliferative activities, apoptosis and molecular modeling study. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2023;38(1):2290461.
49. Hofny HA, Mohamed MFA, Hassan HA, Abdelhafez EMN, Abuo-Rahma GEA. A review of recent advances in anticancer activity and SAR of pyrazole derivatives. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2025;358(3):e2400470.
50. Sivaramakarthikeyan R, Iniyaval S, Saravanan V, Lim WM, Mai CW, Ramalingan C. Molecular Hybrids Integrated with Benzimidazole and Pyrazole Structural Motifs: Design, Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Docking Studies. *ACS Omega*. 2020;5(17):10089-98.
51. Ramoba LV, Nzondomyo WJ, Serala K, Macharia LW, Biswas S, Prince S, et al. Derivatives of Pyrazole-Based Compounds as Prospective Cancer Agents. *ACS Omega*. 2025;10(12):12671-8.
52. Moustafa A. In vitro anti leukemia cancer activity of some novel pyrazole derivatives and pyrazoles containing thiazole moiety. *Am J Heterocycl Chem*. 2019;5:55-70.
53. Akhtar W, Marella A, Alam MM, Khan MF, Akhtar M, Anwer T, et al. Design and synthesis of pyrazole-pyrazoline hybrids as cancer-associated selective COX-2 inhibitors. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2021;354(1):e2000116.
54. Parikh PH, Timaniya JB, Patel MJ, Patel KP. Microwave-assisted synthesis of pyrano [2, 3-c]-pyrazole derivatives and their anti-microbial, anti-malarial, anti-tubercular, and anti-cancer activities. *J Mol Struct*. 2022;1249:131605.
55. Kerru N, Gummidi L, Bhaskaruni SV, Maddila SN, Jonnalagadda SB. Ultrasound-assisted synthesis and antibacterial activity of novel 1, 3, 4-thiadiazole-1 H-pyrazol-4-yl-thiazolidin-4-one derivatives. *Monatsh Chem*. 2020;151:981-90.

56. Alnufaie R, Raj Kc H, Alsup N, Whitt J, Andrew Chambers S, Gilmore D, et al. Synthesis and Antimicrobial Studies of Coumarin-Substituted Pyrazole Derivatives as Potent Anti-Staphylococcus aureus Agents. *Molecules*. 2020;25(12).
57. Titi A, Messali M, Alqurashy BA, Touzani R, Shiga T, Oshio H, et al. Synthesis, characterization, X-Ray crystal study and bioactivities of pyrazole derivatives: Identification of antitumor, antifungal and antibacterial pharmacophore sites. *J Mol Struct*. 2020;1205:127625.
58. Abd-Elhalim BT, El-Bana GG, El-Sayed AF, Abdel-Ghani GE. Antifungal activity and biocompatibility assessment with molecular docking and dynamic simulations of new pyrazole derivatives. *BMC Biotechnol*. 2025;25(1):15.
59. Jo J, Lee D, Park YH, Choi H, Han J, Park DH, et al. Discovery and optimization of novel 3-benzyl-N-phenyl-1H-pyrazole-5-carboxamides as bifunctional antidiabetic agents stimulating both insulin secretion and glucose uptake. *Eur J Med Chem*. 2021;217:113325.
60. Ohtsuka Y, Uruguchi D, Yamamoto K, Tokuhisa K, Yamakawa T. Syntheses of 2-(trifluoromethyl)-1, 3-dicarbonyl compounds through direct trifluoromethylation with CF₃I and their application to fluorinated pyrazoles syntheses. *Tetrahedron*. 2012;68(12):2636-49.
61. Golovanov AA, Odin IS, Gusev DM, Vologzhanina AV, Sosnin IM, Grabovskiy SA. Reactivity of Cross-Conjugated Enynones in Cyclocondensations with Hydrazines: Synthesis of Pyrazoles and Pyrazolines. *J Org Chem*. 2021;86(10):7229-41.
62. Guo Y, Wang G, Wei L, Wan JP. Domino C-H Sulfonylation and Pyrazole Annulation for Fully Substituted Pyrazole Synthesis in Water Using Hydrophilic Enaminones. *J Org Chem*. 2019;84(5):2984-90.
63. Grošelj U, Drobnič A, Rečnik S, Svete J, Stanovnik B, Golobič A, et al. 1, 3-Dipolar Cycloadditions to (5Z)-1-Acyl-5-(cyanomethylidene)-imidazolidine-2, 4-diones: Synthesis and Transformations of Spirohydantoin Derivatives. *Helvetica Chimica Acta*. 2001;84(11):3403-17.
64. Kawase M, Koiwai H, Yamano A, Miyamae H. Regioselective reaction of mesoionic 4-trifluoroacetyl-1, 3-oxazolium-5-olates and phenylhydrazine: Synthesis of trifluoromethyl substituted pyrazole and 1, 2, 4-triazine derivatives. *Tetrahedron Lett*. 1998;39(7):663-6.

65. Guillard J, Goujon F, Badol P, Poullain D. New synthetic route to diaminonitropyrazoles as precursors of energetic materials. *Tetrahedron Lett.* 2003;44(31):5943-5.
66. Mohamed Ahmed MS, Kobayashi K, Mori A. One-pot construction of pyrazoles and isoxazoles with palladium-catalyzed four-component coupling. *Org Lett.* 2005;7(20):4487-9.
67. Collins J, Xiao Z, Müllner M, Connal LA. The emergence of oxime click chemistry and its utility in polymer science. *Polym Chem.* 2016;7(23):3812-26.
68. Yu X, Shi D, Zhi X, Li Q, Yao X, Xu H. Synthesis and quantitative structure–activity relationship (QSAR) study of C7-oxime ester derivatives of obacunone as insecticidal agents. *RSC Adv.* 2015;5(40):31700-7.
69. Chandran N, Bose K, Thekkantavida AC, Thomas RR, Anirudhan K, Bindra S, et al. Oxime Derivatives: A Valid Pharmacophore in Medicinal Chemistry. *ChemistrySelect.* 2024;9(27):e202401726.
70. Fotie J, Matherne CM, Mather JB, Wroblewski JE, Johnson K, Boudreaux LG, et al. The Fundamental Role of Oxime and Oxime Ether Moieties in Improving the Physicochemical and Anticancer Properties of Structurally Diverse Scaffolds. *Int J Mol Sci.* 2023;24(23).
71. Kosmalski T, Kupczyk D, Baumgart S, Paprocka R, Studzinska R. A Review of Biologically Active Oxime Ethers. *Molecules.* 2023;28(13).
72. Hauser CR, Hoffenberg DS. Formation of Certain Mesityl Ketoximes from Ketimines. Beckmann Rearrangements1. *J Am Chem Soc.* 1955;77(18):4885-7.
73. Milios CJ, Stamatatos TC, Perlepes SP. The coordination chemistry of pyridyl oximes. *Polyhedron.* 2006;25(1):134-94.
74. Rheinboldt H. Über die Reaktionsweisen des Nitrosylchlorids. II. Einwirkung von Nitrosylchlorid auf aromatische Aldoxime. *Justus Liebigs Ann Chem.* 1927;451(1):161-78.
75. Hesse G, Krehbiel G. Die Nitrosierung einiger Chlorketone, ein neuer Weg zu Hydroxamsäurechloriden. *Chem Ber.* 1955;88(1):130-3.
76. Karadeniz Ş. Hidrazonoksim ligandının ve metal komplekslerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi [yüksek lisans tezi]. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi; 2018.

77. Alagöz MA. 1-aril-2-(3, 5-dimetilpirazol-1-il) etanon türevi yeni bileşiklerin sentezleri ve sitotoksik etkilerinin araştırılması [doktora tezi]. Malatya: İnönü Üniversitesi; 2017.
78. Soltani Rad MN, Khalafi-Nezhad A, Behrouz S. Design and Synthesis of Some Novel Oxiconazole-Like Carboacyclic Nucleoside Analogues, as Potential Chemotherapeutic Agents. *Helvetica Chimica Acta*. 2009;92(9):1760-74.
79. Abid M, Husain K, Azam A. Synthesis and antiamebic activity of new oxime ether derivatives containing 2-acetylpyridine/2-acetylfuran. *Bioorg Med Chem Lett*. 2005;15(19):4375-9.
80. Balsamo A, Macchia B, Martinelli A, Orlandini E, Rossello A, Macchia F, et al. Synthesis and antimicrobial properties of substituted 3-aminoxyl-(E)-2-methoxyiminopropionyl penicillins and cephalosporins. *Eur J Med Chem*. 1990;25(3):227-33.
81. Kurbanlı S, Şen N, Güler E, Koçak A. The investigation of the alkylation reactions of hydroxy and en-oximes with some halohydrins and epoxides. *Synthetic communications*. 2004;34(9):1663-75.
82. Lapucci A, Macchia M, Martinelli A, Nencetti S, Orlandini E, Rossello A, et al. Synthesis, antiinflammatory activity and molecular orbital studies of a series of benzylideneaminoxypionic acids substituted on the phenyl ring. *Eur J Med Chem*. 1994;29(1):33-9.
83. Haney WG, Brown RG, Isaacson EI, Delgado JN. Synthesis and structure-activity relationships of selected isomeric oxime O-ethers as anticholinergic agents. *J Pharm Sci*. 1977;66(11):1602-6.
84. Cui Y-M, Yasutomi E, Otani Y, Yoshinaga T, Ido K, Sawada K, et al. Novel oxime and oxime ether derivatives of 12, 14-dichlorodehydroabietic acid: design, synthesis, and BK channel-opening activity. *Bioor Med Chem Lett*. 2008;18(24):6386-9.
85. Özdemir Z. Yeni (Arialkil) pirazol türevi oksim eterlerin sentezleri, antikonvülsan ve antimikromiyal aktiviteleri [yüksek lisans tezi]. Malatya: İnönü Üniversitesi; 2010.
86. Castaneda M, den Hollander P, Kuburich NA, Rosen JM, Mani SA, editors. *Mechanisms of cancer metastasis*. Seminars in cancer biology; 2022: Elsevier.
87. Welch DR, Hurst DR. Defining the hallmarks of metastasis. *Cancer Res*. 2019;79(12):3011-27.

88. Miller KD, Nogueira L, Devasia T, Mariotto AB, Yabroff KR, Jemal A, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2022. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2022;72(5):409-36.
89. Knight SR, Shaw CA, Pius R, Drake TM, Norman L, Ademuyiwa AO, et al. Global variation in postoperative mortality and complications after cancer surgery: a multicentre, prospective cohort study in 82 countries. *Lancet*. 2021;397(10272):387-97.
90. Liu B, Zhou H, Tan L, Siu KTH, Guan X-Y. Exploring treatment options in cancer: tumor treatment strategies. *Signal transduction and targeted therapy*. 2024;9(1):175.
91. Roy A, Li SD. Modifying the tumor microenvironment using nanoparticle therapeutics. *Wiley Interdiscip Rev Nanomedicine Nanobiotechnol*. 2016;8(6):891-908.
92. Debela DT, Muzazu SG, Heraro KD, Ndalama MT, Mesele BW, Haile DC, et al. New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. *SAGE Open Med*. 2021;9:20503121211034366.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş



EK-2. Etik Kurul Olmadığına Dair Yazı

