



**2,4 -DİSÜBSTİTÜE TİYAZOL TÜREVLERİNİN
SENTEZİ VE ANTİPROLİFERATİF
AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Zeynep Zişan DEMİRCİ

Eskişehir 2025

**2,4 -DİSÜBSTİTÜE TİYAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
ANTİPROLİFERATİF AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Zeynep Zişan DEMİRCİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans Programı

Danışman: Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

2025

Eskişehir

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Zeynep Zişan DEMİRCİ'nin "2,4 -Disüstitüe Tiyazol Türevlerinin Sentezi ve Antiproliferatif Aktivitelerinin Değerlendirilmesi" başlıklı tezi 23/06/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Ünvanı Adı Soyadı	İmza
Üye (Danışman):	Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ	
Üye:	Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK	
Üye:	Doç. Dr. Evrim EVREN	

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

2,4 -DİSÜBSTİTÜE TİYAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE ANTİPROLİFERATİF AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Zeynep Zişan DEMİRCİ

Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı

Tezli Yüksek Lisans

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Haziran 2025

Danışman: Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ

Çağımızın küresel sağlık sorunlarının başında gelen devamlı mutasyona uğrayarak etki alanını her geçen gün genişleten kanser, hakkında en çok araştırma yapılan hastalık türlerinden biri haline gelmiştir. Sürekli meydana getirdiği adaptasyonlar sebebiyle mekanizmasını çözümlemenin zaman aldığı kanser üzerinde etkinliği kanıtlanmış en önemli yapılardan biri tiyazol halkasıdır. Bu tez çalışmasında uzun yıllardır antikanser, antibakteriyel, antifungal, antimikrobiyal etkilerinin yüksek olması sebebiyle hakkında birçok çalışma yapılan tiyazol halkasını içeren yeni bileşikler elde edilmesi amaçlanmıştır. 4-Formilfenoksiasetik asitten hareketle 2-[4-((2-karbamotiyoilhidrazono) metil)fenoksi]asetik asit (**1**) bileşiği sentezlenmiş ve onun da çeşitli fenaçil bromür türevleriyle eş değer oranda etanol içerisinde karıştırılmasıyla sonuç bileşikler (**2a-2l**) elde edilmiştir. Sentezi gerçekleştirilen 2-[4-[(2-(4-sübstitüe tiyazol-2-il)hidrazono) metil]fenoksi]asetik asit türevleri (**2a-2l**) en yaygın kanser türlerinin başında olan akciğer (A549) ve meme (MCF-7) kanserleri üzerinde test edilmiştir. Yapılan *in vitro* deneyler sonucunda bileşiklerden birçoğunun MCF-7'ye karşı standart ilaç sisplatinden daha yüksek etki gösterdiği; en yüksek sitotoksiteyi **2d** ($IC_{50}=0.12\pm0.11 \mu M$) ve **2i** ($IC_{50}=0.39\pm0.21 \mu M$) bileşiklerinin sergilediği ve non-toksik profil tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tiyazol, hidrazinotiyazol, meme kanseri, akciğer kanseri

ABSTRACT

SYNTHESIS OF 2,4-DISUBSTITUTED THIAZOLE DERIVATIVES AND EVALUATION OF THEIR ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITIES

Zeynep Zişan DEMİRCİ

Department of Pharmaceutical Chemistry

Programme in Pharmacy

Graduate School of Anadolu University, June 2025

Supervisor: Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ

Cancer, which is one of the leading global health problems of our age and expands its area of effect day by day by constantly mutating, has become one of the most researched disease types. Cancer is a disease type that takes time to solve its mechanism due to the adaptations it constantly creates. One of the most important structures that has been proven to be effective on cancer is the thiazole ring. It has been observed that the thiazole ring is effective on anticancer, antibacterial, antifungal and antimicrobial activities for many years. In this thesis study, it is aimed to obtain new compounds containing the thiazole ring, which has been studied many times. Based on 4-formylphenoxyacetic acid, 2-[4-((2-carbamothioylhydrazono)methyl)phenoxy]acetic acid (**1**) was synthesized and by mixing it with various phenacyl bromide derivatives in equal amounts in ethanol, the resulting compounds (**2a-2l**) were obtained. The synthesized 2-[4-[(2-(4-substituted thiazol-2-yl)hydrazono)methyl]phenoxy]acetic acid derivatives (**2a-2l**) were tested on lung (A549) and breast (MCF-7) cancers, which are the most common cancer types. As a result of in vitro experiments, it was shown that most of the compounds showed higher efficacy against MCF-7 than the standard drug cisplatin; Compounds **2d** ($IC_{50}=0.12\pm0.11$ μ M) and **2i** ($IC_{50}=0.39\pm0.21$ μ M) exhibited the highest cytotoxicity and a non-toxic profile was detected.

Keywords: Thiazole, hydrazono thiazole, breast cancer, lung cancer

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her adımında bilgisiyle, öngörüsüyle yardımlarını esirgemeyen, sarsılmaz desteği ve sabrı ile her koşulda yanımda olan çok değerli hocam Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ'a,

Yüksek lisansımın İtalya sürecinde beni laboratuvarlarında ağırlayarak yeni tecrübeler edinmemi sağlayan, katkı ve yönlendirmeleriyle rehberlik eden, değerli hocam Prof. Dr. Riccardo PETRELLI'ye

Sentezlenen moleküllerin biyolojik aktivite çalışmalarını gerçekleştiren Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ'ye,

Sentezlenen moleküllerin NMR ve IR analizlerini gerçekleştiren sevgili Betül AYDIN'a
Moleküllerin kütle spektrometre analizini yapan ve aynı zamanda laboratuvarında her daim destek olan arkadaşım Aybüke Züleyha KAYA'ya

Çocukluğumdan itibaren yanımda olmalarından güç aldığım, sevgiyi ve sabrı bana öğreten canım ablama ve kardeşime,

Hayatım boyunca maddi manevi desteklerini hissettiğim, cesaret ve çalışkanlıklarını örnek aldığım, her daim yanımda olan anneme ve babama teşekkür ediyorum.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

.....

Zeynep Zişan DEMİRCİ

30/06/2025

ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında, yürütülmesinde, verilerin analizinde Etik Kurul İzni'ne gerek yoktur

.....

Zeynep Zişan DEMİRCİ



ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken ChatGPT ve NotebookLM üretken yapay zekâ programlarından destek aldığımı beyan ederim. Tezin hazırlığı aşamasında üretken yapay zekâ programlarından (örneğin çeviri, bilimsel makale vb.) desteği aldım. Üretken yapay zekâ programlarından aldığım bilgilerin doğruluğunu kontrol ettiğimi bildiririm.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....
Zeynep Zişan DEMİRCİ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	i
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ	vii
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI	viii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1 GİRİŞ	1
2 KAYNAK BİLGİSİ	4
2.1 Kanser	4
2.2 Tiyazol Halkası.....	5
2.2.1 Tiyazol Halkası Hakkında Genel Bilgi.....	5
2.2.2 Tiyazol Halkası Sentez Protokolü.....	7
2.2.2.1 Hantzsch Tiyazol Sentez Protokolü	7
2.2.2.2 Cook-Heilbron Tiyazol Sentez Protokolü.....	8
2.2.2.3 Gabriel Tiyazol Sentez Protokolü	8
2.2.2.4 Tcherniac Tiyazol Sentez Protokolü	9
2.2.3 Antikanser Etkili Tiyazol Türevleri	9
2.3 Hidrazonlar.....	15
2.3.1 Hidrazonlar Hakkında Genel Bilgi	15
2.3.2 Hidrazon ve Antikanser ilişkisi.....	15
2.3.3 Antikanser Etkili Hidrazon Türevleri.....	17
3 MATERYAL	20
3.1 Kullanılan Araç ve Gereçler	20
3.2 Kullanılan Kimyasallar	20
3.3 Kullanılan Cihazlar.....	21

3.4 Kullanılan Hücre Dizileri	21
4 YÖNTEMLER	22
4.1 Sentez Protokolü	22
4.1.1 2-[4-((2-Karbamotiyoilhidrazono)metil]fenoksi]asetik asit sentezi (1) .	22
4.1.2 2-[4-[(2-(4-Sübstitüe tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit türevlerinin sentezi (2a-2l)	22
4.2 Erime Derecesi Tayini.....	22
4.3 NMR Spektrumlarının Protokolü	23
4.3.1 ¹ H -NMR Spektrumlarının Protokolü.....	23
4.3.2 ¹³ C -NMR Spektrumlarının Protokolü.....	23
4.4 IR Spektrumlarının Protokolü	23
4.5 Kütle Spektrumlarının Protokolü	24
4.6 Biyolojik Aktivite Çalışmaları	24
4.6.1 Anneksin V-FITC/PI Deney Prosedürü	25
4.6.2 Kaspaz-3 Aktivasyon Deneyi Prosedürü.....	25
5 BULGULAR VE TARTIŞMALAR	27
5.1 Sonuç Bileşiklerinin Sentezlenmesi	27
5.1.1 2-[4-[(2-(4-Feniltiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2a)	27
5.1.2 2-[4-[(2-(4-(4-Metilfenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2b)	30
5.1.3 2-[4-[(2-(4-(4-Metoksifenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2c)	33
5.1.4 2-[4-[(2-(4-(4-Klorofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2d)	36
5.1.5 2-[4-[(2-(4-(4-Nitrofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2e).....	39
5.1.6 2-[4-[(2-(4-(4-Siyanofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2f)	42
5.1.7 2-[4-[(2-(4-(4-Triflorometilfenil)tiyazol-2- il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2g).....	45
5.1.8 2-[4-[(2-(4-(4-(3-Klorofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2h)	48

5.1.9 2-[4-[(2-(4-(4-(3,4-Diklorofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2i).....	51
5.1.10 2-[4-[(2-(4-(4-([1,1'-Bifenil]-4-il)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2j).....	54
5.1.11 2-[4-[(2-(4-(4-(4-Florofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2k)	57
5.1.12 2-[4-[(2-(4-(4-(Naftalen-2-il) tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2l).....	60
5.2 Sentez Protokollerinin Değerlendirilmesi	63
5.3 Spektral Bulguların Analizi	64
5.3.1 ¹ H-NMR Spektrumlarının Analizi.....	64
5.3.2 ¹³ C-NMR Spektrumlarının Analizi.....	65
5.3.3 IR Spektrumlarının Analizi	65
5.3.4 Kütle Spektrumlarının Analizi	66
5.4 Biyolojik Aktivite Bulgularının Analizi	66
5.4.1 MTT Sonuçlarının Analizi	66
5.4.2 A549 Hücresi için Yapılan Biyolojik Aktivite Analizleri	67
5.4.2.1 A549 Hücresi için Anneksin-V FITC/PI Deney Yöntemi	67
5.4.2.2 A549 Hücresi için Kaspaz-3 Aktivasyonu Deney Yöntemi	70
5.4.3 MCF-7 Hücresi için Yapılan Biyolojik Aktivite Analizleri.....	73
5.4.3.1 MCF-7 Hücresi için Anneksin-V FITC/PI Deney Yöntemi	73
5.4.3.2 A549 Hücresi için Kaspaz-3 Aktivasyonu Deney Yöntemi	77
6 SONUÇ VE ÖNERİLER.....	82
KAYNAKLAR	84

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 17i ve 17l Bileşiklerinin Antikanser Aktivitesi	11
Tablo 2.2 5Br2DM2PH Bileşiğinin ve Sisplatinin Farlı Kansere Türleri Üzerindeki IC ₅₀ Değerleri	17
Tablo 5.1 Bileşiklerin MCF-7, A549 ve L929 hücre hatlarına karşı IC ₅₀ değerleri (µM)	66
Tablo 5.2 Sentezlenen Bileşiklerin ve Sisplatinin A549 Hücresi Üzerindeki Anneksin-V FITC/PI Yöntemi Sonuçları (%).....	70
Tablo 5.3 Sentezlenen Bileşiklerin ve Sisplatin Bileşiğinin A549 Hücresi Üzerindeki Kaspaz-3 Aktivasyonları (%).....	73
Tablo 5.4 Sentezlenen Bileşiklerin ve Sisplatinin MCF-7 Hücresi Üzerindeki Anneksin-V FITC/PI Yöntemi Sonuçları (%).....	77
Tablo 5.5 Sentezlenen Bileşiklerin ve Sisplatin Bileşiğinin MCF-7 Hücresi Üzerindeki Kaspaz-3 Aktivasyonları.....	81

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1	Tiyazol halkası içeren örnek ilaçlar.....	3
Şekil 2.1	1,3-Tiyazol Halkası	6
Şekil 2.2	Tiyazol Halkası Karbonlarının Elektron Yoğunlukları	6
Şekil 2.3	Tiyamin Bileşiği	7
Şekil 2.4	Hantzsch Tiyazol Sentezi	7
Şekil 2.5	Cook-Heilbron Tiyazol Sentezi.....	8
Şekil 2.6	Gabriel Tiyazol Sentezi	8
Şekil 2.7	Tcherniac Tiyazol Sentezi	9
Şekil 2.8	(2-Asetilpiridin 2-tiyazolilhidrazon)	10
Şekil 2.9	9 ve 10 Numaralı Bileşiklerin Kimyasal Yapısı ve Antikanser Aktiviteleri ...	11
Şekil 2.10	2-Amino- <i>N</i> -[4-(4-klorofenil)-2-[(4-nitrofenil) imino]-1,3-tiyazol-3(2 <i>H</i>)-il] benzamid.....	12
Şekil 2.11	Zhang ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmada aktivitesi en yüksek bileşik olan 5b bileşiğinin kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.12	Çalışmada Sentezlenen Türevlerin Kimyasal Yapıları ve Farklı Kanseri Türleri Üzerindeki Aktivitesi.....	14
Şekil 2.13	Hidrazon İçeren Örnek İlaçlar	17
Şekil 4.1	2-[4-[(2-(4-Süstitüe tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit türevlerinin sentezi (2a-2l).....	22
Şekil 5.1	2-[4-[(2-(4-Feniltiyazol-2-il) hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2a)	27
Şekil 5.2	2a Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu.....	28
Şekil 5.3	2a Bileşiği için Kaydedilen ¹ H-NMR Spektrumu	28
Şekil 5.4	2a Bileşiği için Kaydedilen ¹³ C-NMR Spektrumu.....	29
Şekil 5.5	2a Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu.....	29
Şekil 5.6	2-[4-[(2-(4-(4-Metilfenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2b).....	30
Şekil 5.7	2b Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu	31
Şekil 5.8	2b Bileşiği için Kaydedilen ¹ H-NMR Spektrumu.....	31
Şekil 5.9	2b Bileşiği için Kaydedilen ¹³ C-NMR Spektrumu.....	32
Şekil 5.10	2b Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu	32
Şekil 5.11	2-[4-[(2-(4-(4-Metoksifenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2c) ..	33

Şekil 5.12 2c Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu.....	34
Şekil 5.13 2c Bileşiği için Kaydedilen ¹ H-NMR Spektrumu	34
Şekil 5.14 2c Bileşiği için Kaydedilen ¹³ C-NMR Spektrumu	35
Şekil 5.15 2c Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu	35
Şekil 5.16 2-[4-[(2-(4-(4-Klorofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2d)	36
Şekil 5.17 2d Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu	37
Şekil 5.18 2d Bileşiği için Kaydedilen ¹ H-NMR Spektrumu.....	37
Şekil 5.19 2d Bileşiği için Kaydedilen ¹³ C-NMR Spektrumu.....	38
Şekil 5.20 2d Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu	38
Şekil 5.21 2-[4-[(2-(4-(4-Nitrofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2e).....	39
Şekil 5.22 2e Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu.....	40
Şekil 5.23 2e Bileşiği için Kaydedilen ¹ H-NMR Spektrumu	40
Şekil 5.24 2e Bileşiği için Kaydedilen ¹³ C-NMR Spektrumu	41
Şekil 5.25 2e Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu	41
Şekil 5.26 2-[4-[(2-(4-(4-Siyanofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2f).....	42
Şekil 5.27 2f Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu	43
Şekil 5.28 2f Bileşiği için Kaydedilen ¹ H-NMR Spektrumu.....	43
Şekil 5.29 2f Bileşiği için Kaydedilen ¹³ C-NMR Spektrumu	44
Şekil 5.30 2f Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu	44
Şekil 5.31 2-[4-[(2-(4-(4-Triflorometilfenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2g)	45
Şekil 5.32 2g Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu.....	46
Şekil 5.33 2g Bileşiği için Kaydedilen ¹ H-NMR Spektrumu	46
Şekil 5.34 2g Bileşiği için Kaydedilen ¹³ C-NMR Spektrumu.....	47
Şekil 5.35 2g Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu.....	47
Şekil 5.36 2-[4-[(2-(4-(4-(3-Klorofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2h) .	48
Şekil 5.37 2h Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu	49
Şekil 5.38 2h Bileşiği için Kaydedilen ¹ H-NMR Spektrumu.....	49
Şekil 5.39 2h Bileşiği için Kaydedilen ¹³ C-NMR Spektrumu.....	50
Şekil 5.40 2h Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu	50
Şekil 5.41 2-[4-[(2-(4-(4-(3,4-Diklorofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2i)	51
Şekil 5.42 2i Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu	52

Şekil 5.43 2i Bileşiği için Kaydedilen ¹ H-NMR Spektrumu.....	52
Şekil 5.44 2i Bileşiği için Kaydedilen ¹³ C-NMR Spektrumu.....	53
Şekil 5.45 2i Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu.....	53
Şekil 5.46 2-[4-[(2-(4-(4-([1,1'-Bifenil]-4-il)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2j).....	54
Şekil 5.47 2j Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu	55
Şekil 5.48 2j Bileşiği için Kaydedilen ¹ H-NMR Spektrumu.....	55
Şekil 5.49 2j Bileşiği için Kaydedilen ¹³ C-NMR Spektrumu	56
Şekil 5.50 2j Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu	56
Şekil 5.51 2-[4-[(2-(4-(4-(4-Florofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2k)..	57
Şekil 5.52 2k Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu	58
Şekil 5.53 2k Bileşiği için Kaydedilen ¹ H-NMR Spektrumu.....	58
Şekil 5.54 2k Bileşiği için Kaydedilen ¹³ C-NMR Spektrumu.....	59
Şekil 5.55 2k Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu	59
Şekil 5.56 2-[4-[(2-(4-(4-(Naftalen-2-il) tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2l). 60	
Şekil 5.57 2l Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu	61
Şekil 5.58 2l Bileşiği için Kaydedilen ¹ H-NMR Spektrumu.....	61
Şekil 5.59 2l Bileşiği için Kaydedilen ¹³ C-NMR Spektrumu.....	62
Şekil 5.60 2l Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu.....	62
Şekil 5.61 2-[4-[(2-(Süstitüe feniltiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2a-2l) türevlerinin sentezi	63
Şekil 5.62 2-[4-[(2-(Süstitüe feniltiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2a-2l) Türevlerinin Sentezi İçin Önerilen Reaksiyon Mekanizması.....	64
Şekil 5.63 24. Saatte A549 Hücresinin Popülasyonu ve Kontrol Grubu Apoptoz Verileri	67
Şekil 5.64 24 Saatte A549 Hücresi Üzerinde 2b, 2c, 2e ve 2f Bileşiklerinin Belirlenen IC ₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Apoptoz Verileri	68
Şekil 5.65 24 Saatte A549 Hücresi Üzerinde 2h, 2k ve 2l Bileşiklerinin ve Sisplatinin Belirlenen IC ₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Apoptoz Verileri.....	69
Şekil 5.66 A549 Hücresi için Kontrol Grubu Kaspaz-3 Aktivasyonu	70
Şekil 5.67 A549 Hücresi Üzerinde 2a, 2b, 2c ve 2e Bileşiklerinin Belirlenen IC ₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Kaspaz-3 Aktivasyon Verileri.....	71
Şekil 5.68 A549 Hücresi Üzerinde 2f, 2k,2l ve Sisplatin Belirlenen IC ₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Kaspaz-3 Aktivasyon Verileri.....	72

Şekil 5.69	24. Saatte MCF-7 Hücresinin Popülasyonu ve Kontrol Grubu Apoptoz Verileri	73
Şekil 5.70	24 Saatte MCF-7 Hücresi Üzerinde 2a , 2c , 2d , ve 2e Bileşiklerinin Belirlenen IC ₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Apoptoz Verileri	74
Şekil 5.71	24 Saatte MCF-7 Hücresi Üzerinde 2f , 2g , 2h , ve 2i Bileşiklerinin Belirlenen IC ₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Apoptoz Verileri	75
Şekil 5.72	24 Saatte MCF-7 Hücresi Üzerinde 2k , 2l Bileşiklerinin ve Kontrol Bileşiği ve Sisplatinin Belirlenen IC ₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Apoptoz Verileri	76
Şekil 5.73	MCF-7 Hücresi için Kontrol Grubu Kaspaz-3 Aktivasyonu.....	77
Şekil 5.74	MCF-7 Hücresi Üzerinde 2a , 2b , 2c ve 2d Bileşiklerinin Belirlenen IC ₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Kaspaz-3 Aktivasyon Verileri.....	78
Şekil 5.75	MCF-7 Hücresi Üzerinde 2e , 2f , 2g ve 2h Bileşiklerinin Belirlenen IC ₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Kaspaz-3 Aktivasyon Verileri.....	79
Şekil 5.76	MCF-7 Hücresi Üzerinde 2k , 2l Bileşiklerinin ve Sisplatin Bileşiğinin Belirlenen IC ₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Kaspaz-3 Aktivasyon Verileri.....	80

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

¹³C-NMR	: Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
¹H-NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
5Br2DM2PH	: 1-(5-bromo-2,3-dimetoksibenziliden)-2-(piridin-2-il)
A549	: İnsan Akciğer Kanseri Hücresi
Alfa ER-α	: Östrojen Reseptörü
APCI-MS	: Atmospheric Pressure Chemical Ionization - Mass Spectrometry (Atmosferik Basıncıta Kimyasal İyonlaşma- Kütle Spektrometresi)
Arg120	: Arginin Aminoasidi
Asp262	: Aspartik Asit Aminoasidi
CCRF-CEM	: Akut Lenfoblastik Lösemi Hücreleri
COX-2	: Siklooksijenaz
DFMO	: Difloro Metil Ornitin
DMSO-d₆	: Dimetil Sülfoksit-Döteryum
EC109	: Özofagus Skuamöz Hücreli Karsinom
EC9706	: Özofagus Skuamöz Hücreli Karsinom
ESI	: Elektrosprey İyonizasyonu
FBS	: Fetal Bovine Serum
GES-1	: Normal İnsan Mide Epitel Hücreleri
HCT-116	: İnsan Kolon Kanseri Hücreleri
HEK293T	: İnsan Embriyonik Böbrek Kanseri Hücre Hattı
HeLa	: Epiteloid Serviks Karsinomu Hücreleri
HEP-2	: İnsan Gırtlak Kanseri Hücre Hattı
HEPG2	: İnsan Karaciğer Kanseri Hücre Hattı
HL-60	: İnsan Promyositik Lösemi Hücre hattı
HSC-2	: İnsan Orak Skuamöz Hücreli Karsinom Hücre Hattı
HT-29	: Kolon Adenokarsinomu Hücreleri
IARC	: International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı)
IC₅₀	: Inhibitory Concentration 50 (%50'lik İnhibitör Konsantrasyonu)
IR	: Infrared Spectroscopy (Kızılötesi Spektroskopisi)
K562	: İnsan Kronik Myeloid Kanseri Hücre Hattı

Karpas299	: İnsan Lenfoma Hücreleri
MARK4	: Mikrotübül Afinite Düzenleyici Kinaz 4
MCF-7	: Michigan Cancer Foundation-7 (Michigan Kanseri Vakfı -7)
MDA-MB-231	: İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı
MetAP2	: Metiyonin Amino Peptidaz Enzimi
MEXF-276 L	: Melanom Hücreleri
MGC-803	: İnsan Mide Adenokarsinom Hücre Hattı
Mia-Paca-2	: İnsan Pankreas Kanseri Hücre Hattı
MTT	: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NIH/3T3	: Fare Embriyonik Fibroblast Hücreleri
NQO2	: NAD(P)H Quinon Oksido Redüktaz -2 Enzimi
P27	: 27 Kilodalton Protein
PC3	: İnsan Prostat Kanseri Hücre Hattı
SAT	: Süstitüe Aril Tiyazol
SK-OV3/DPP	: İlaç Direnci geliştirilmiş İnsan Over Seröz Adenokarsinom Hücre Hattı
SMMC-7721	: İnsan Karaciğer Kanseri Hücre Hattı
SW620	: İnsan Kolorektal Kanseri Hücre Hattı
TOV-112D	: İnsan Yumurtalık Kanseri Hücre Hattı
Tyr355	: Tirozin Aminoasidi
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler Endotel Büyüme Faktörü)
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
ZR-75-1	: Meme Kanseri Hücreleri
μM	: Mikromolar
L929	: Fare Fibroblast Hücre Hattı

1 GİRİŞ

Kanser, hücre DNA'sında çeşitli mutasyonlar meydana getirerek hücrelerin aralıksız bir şekilde ve büyümeden üremeye devam etmelerine neden olan, tedavi edilemediği ya da geciktiği takdirde ölümlle sonuçlanan bir hastalıktır. Malign hücreler, apoptoz mekanizması gibi hücre içi denetim sistemleriyle elimine edilmesi gerekirken, bu mekanizmaları çalışmasını engelleyen çeşitli adaptasyonlar geliştirerek hayatta kalır ve çoğalmaya devam eder (Pandya et al., 2023).

Apoptoz eksikliğinde, hücrelerin hayatta kalması ve büyümeye devam etmesi bu adaptasyonlar sonucu değişen mekanizmaları sayesinde gerçekleşir (Moslehi et al., 2023).

Yüksek mortalite seviyeleri ile karşımıza çıkan kanser, çağımızın küresel sağlık sorunlarının başında kabul edilir. Dünya Sağlık Örgütü'ne ait (WHO) 2020 yılı kanser analizleri göz önüne alındığında kanser küresel çapta ölüm nedeni en yüksek ikinci hastalık olmaya devam etmektedir (Sung et al., 2021a). Genetik yollarla aktarılabildiği gibi aynı zamanda sigara alkol kullanımı ya da olumsuz hava koşulları gibi çevresel faktörlerle de oluşabilecek bir hastalıktır. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) ve Amerikan Kanser Derneğinin yaptığı bir araştırmaya göre dünya çapında 2022 senesinde 19 milyona yakın yeni kanser vakası ve 9.7 milyon kanser sebepli ölüm rapor edildi. Küresel olarak teşhis edilen bu kanserler arasında %12.4 'lük bir oranla en sık karşılaşılan kanser türü akciğer kanseri olarak bildirilmiştir. Akciğer kanserini ise %11.7 oranla ise en çok görülen ikinci kanser olarak meme kanserinin takip ettiği belirtilmiştir (Bray et al., 2024).

Kanser kemoterapisi tedavide oldukça geniş ve yoğun kullanım alanına sahiptir ve bu amaçla kullanılabilecek çok fazla ajan bulunmaktadır. Fakat tedavinin yanı sıra toksik etkilerinin yüksek olması kanser hücrelerine karşı yüksek seçiciliğe ve düşük toksisiteye sahip yeni antitümör ajan keşfi çalışmaları devam etmesine neden olmaktadır (Farghaly et al., 2020).

Tiyazol halkasının özellikle penisilinin içinde yer alması üzerindeki yapılan antibakteriyel çalışmaları arttırmıştır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan 3. kuşak sefalosporinler de (seftriakson, sefepim, sefiksim gibi) tiyazol halkası içermektedir.

Heterosiklik bileşiklerin özellikle heterosiklik aromatik bileşiklerin yaşam için gerekli olan birçok bileşiğin içinde bulunması ve ilaç aktif özellik göstermeleri birçok hastalık üzerinde biyolojik aktivite gösterebilen bir heterosiklik bileşik olan tiyazol halkasının hayatımıza girmesine olanak sağlamıştır (Rozbicki et al., 2024; Yadav & Kaushik, 2024). Son dönem çalışmalarla oldukça önemli bir bileşik haline gelen tiyazol aynı zamanda sanayi boyalarından insan DNA'sına bağlanabilen ilaçların yapısına katılmaya kadar geniş bir kullanım yelpazesine sahiptir.

Tiyamin ya da tiyazol halkasının kaynağı Tiyazol halkasının çeşitli hastalıklara karşı önemli aktiviteler göstermesi ve çok sayıda ilacın temelini oluşturması tiyazolu organik kimyada olduğu kadar kimyada önemli bir yapı taşı haline getirmiştir. Antikanser, antimikrobiyal, antiviral, (Oukoloff et al., 2019; Pinheiro et al., 2020) antienflamatuvar, (Sharma et al., 2009) analjezik, (Carter et al., 1999) antifungal, antidiyabetik, antikonvülzan, antiprotozoal, antioksidan, diüretik gibi birçok biyolojik aktivitesi bulunması sebebiyle tiyazol halkası en iyi adaylardan biridir. Bu aktivitelerin keşfedilmesiyle birlikte yapısında tiyazol halkasını bulunduran ilaçların sayısı giderek artmaktadır.

Özellikle son on yılda tiyazol içeren ilaçların sayısında önemli bir artış görülmüş ve bu sayı 8 ilaç keşfi ile 2019'da zirveye ulaşmıştır. Tiyazol halkası içeren türevlerin antimikrobiyal, antifungal ve antikanser aktiviteleri üzerine yapılan çalışmalar, bu yapıların geniş spektrumlu bakteri, mantar ve kanser hücrelerine karşı etkili olduğunu göstermektedir (Swain et al., 2010).

5 üyeli halkalı yapı olan tiyazolün sentezi günümüzde oldukça önem taşımaktadır. Tiyazol halkasında heteroatom olarak yer alan kükürt ve azot atomlarının, elektron çiftleri nedeniyle diğer moleküllerle etkileşime girebilmesi onlara çeşitli biyolojik hedeflere bağlanma yeteneği sağlar (Lvov et al., 2018).

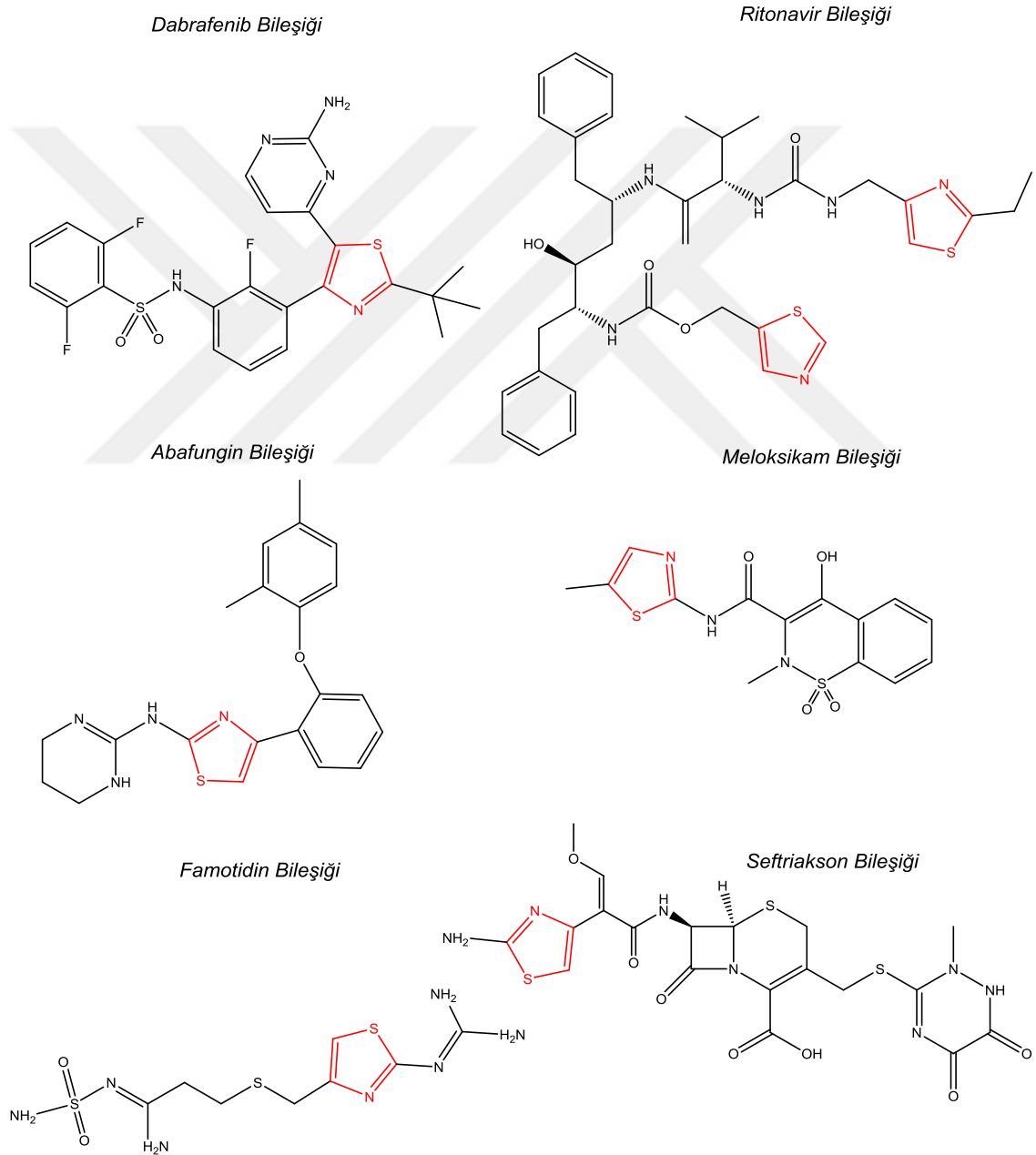
Elektron çiftlerinin moleküllerle etkileşime girebilmesi halkaya antikanser, antibakteriyel, antifungal etkileri başta olmak üzere birçok alanda farmakofor grup özelliği kazandırır. Daha önceki birtakım çalışmalar öncülüğünde antikanser etkinliği bilinen tiyazol halkası çeşitlendirilerek antikanser etkili yeni moleküller sentezlenmiş ve halkanın aktivite alanı genişletilmeye çalışılmıştır.

Tiyazol halkası, dabrafenib, dasatinib ve epotilonlar gibi antikanser ilaçlar dahil olmak üzere bir dizi iyi bilinen ilacın yapısında bulunur. Tiyazol halkası içeren diğer etkili ilaçlar

arasında antiviral olarak etki gösterenlere ritonavir, antifungal etki için abafungin (Nauen et al., 2003), antiparazitik ilaçlar için tiyabendazol, antibakteriyel ilaçlar için sülfatiazol, steroid olmayan antienflamatuar ilaçlar için meloksikam (Mobic) ve anti-ülser ilaçlar için ise famotidin örnek olarak verilebilir. Tiyazol halkası barındıran örnek ilaçlar şekil 1.1’ de gösterilmiştir.

Şekil 1.1

Tiyazol halkası içeren örnek ilaçlar



2 KAYNAK BİLGİSİ

2.1 Kanser

2020 senesi sonrası verilere bakıldığında meme kanseri yaklaşık 2.3 milyon kadın ile kadınlarda görülen en yaygın kanser türü olarak belirlenmiştir. Kadınlarda görülen kanser türlerinin yaklaşık %24'ünü oluşturan meme kanseri kadınlarda akciğer kanserini takip eden ölüm oranı en yüksek kanser türüdür (Sung et al., 2021b). Meme kanseri görülmesinde genetik yatkınlıkların rolü büyük olsa da radyasyon maruziyeti hormon replasman gibi tedaviler ya da yaşam tarzı kanserin görülmesinin sebepleri arasındadır. Meme kanserinin semptomları arasında memede kitleler, şekil değişiklikleri, meme ucundan sıvı salgılanması veya lenf düğümlerinde şişme örnek olarak verilebilir. (Bhargav et al., 2024a).

Meme kanseri hücrelerinin %70'i Östrojen Reseptörü Alfa (ER- α) adı verilen bir proteini eksprese ederek veya taşıyarak etki gösterirler. ER- α östrojen gibi davranarak aktivitesini artırır ve bu sayede meme kanseri hücrelerinin daha hızlı büyümelerine ve hayatta kalmalarına yardımcı olur. Bu sebeple meme kanseri tedavilerinin ana hedefi anti- östrojen muamelesi ile ER- α 'nın aktivitesini ortadan kaldırmaktır (Musgrove & Sutherland, 2009). Tedavide bir diğer önemli faktör VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), yani damarsal endotelyal büyüme faktörüdür. VEGF yeni kan damarlarının oluşması için önemli bir büyüme faktörüdür. Bu oluşan yeni kan damarları tümörlü hücrelerin büyümesini ve çoğalmasını destekler ve aynı zamanda uzak metastaza sebep olabilir (Su et al., 2007; Wegiel et al., 2009). ER- α pozitif olduğu kanser türlerinde (örneğin MCF-7) artmış VEGF seviyelerinin anti- östrojen tedavilerle düşürülebilmesine rağmen ER- α negatif türlerinde (örneğin MDA-MB-231) hormon tedavisinin VEGF ekspresyonunu düşürmeye yetmemesi VEGF'nin ER- α bağımlı bir mekanizması olduğunu düşündürmektedir (Applanat et al., 2008; Bhargav et al., 2024b; Stein et al., 2009).

MCF-7 ismiyle bilinen meme kanseri hücre hattı (Michigan Cancer Foundation-7) ilk kez 1970 yılında metastatik meme kanseri tespit edilen 69 yaşındaki bir kadının akciğerleri çevreleyen boşluktan yani plevral boşluktan izole edilmiştir (H. D. Soule, J. Vazquez, 1973).

İnsan meme adenokarsinom türevi olan MCF-7 ER- α pozitif olmakla birlikte genellikle metastatik ve invazif olmayan bir kanserdir. ER- α 'nın pozitif olduğu kanser olan MCF-7

ve ER- α 'nın negatif olduğu MDA-MB-231 kanserinin karşılaştırıldığı bir deneyde araştırmacılar östrojen tedavisini ve anti-östrojen (tamoksifen) tedavisini iki hücre hattında da denemiş ve artmış VEGF ekspresyonunu düşürme kapasitesi sebebiyle anti-östrojen tedavisinin MCF-7 hücrelerinde etkili olduğunu gözlemlemişlerdir. ER- α negatif olan MDA-MB-231 hücrelerinde östrojenin belirgin bir etkisinin olmaması, östrojenin pro-tümoral aktivitesini ER- α aracılığıyla gösterdiğini fikrini ortaya çıkarmıştır (Murakami et al., 2016).

Akciğer kanseri 2023 senesi verilerine göre %22'lik bir oranda Dünya'da kansere bağlı ölümlerin başında gelmektedir (Siegel et al., 2023). Giard ve arkadaşları tarafından 1972 senesinde bir tip II psnömosit akciğer tümöründen türetilen A549 (Swain et al., 2010) o zamandan beri yüzey aktif maddelerin üretimi ve sistemlerinin düzenlenmesi gibi birçok *in vitro* alanda kullanıldı (Swain et al., 2010). Bu hücrelerin oluşturduğu yüzey aktif madde sayesinde ventilasyon sırasında yüzey gerilimi azalır ve alveolar çökme bu sayede engellenmiş olur. İnsan akciğer alveoler benzeri hücre hattı olan A549 bazal hücreli karsinom dokusundan türetilir (Donald J. Et al., 1973). Hücre kültüründe kolay elde edilebilmesi ve alveoler yapı benzerliği solun yolu hastalıkların *in vitro* modellemelerinde kullanılmasına olanak sağlar (Swain et al., 2010).

2.2 Tiyazol Halkası

2.2.1 Tiyazol Halkası Hakkında Genel Bilgi

Tiyazol halkası 1887 senesinde Hanszh ve Weber' in yaptığı çalışmaların ardından tiyofen serilerinin piridini olarak tanımlanmasıyla bilim dünyasına kazandırılmıştır (Gupta R. et al.,1999). Bu şekilde tanımlanmasının sebebi birinci konumunda tiyofen halkasının barındırdığı gibi kükürt (S) atomu üçüncü konumunda ise piridin halkası gibi azot (N) atomu barındıran bir heteroaromatik beş üyeli halka olmasıdır (Eicher, T. Et al.,2003). Piridinden daha zayıf bir baz olan tiyazolün (pKa =2.52) C-2 konumunda elektron kaynağı sübstitüentleri barındırması bazlığı arttırırken C-5 konumundaki elektron çeken sübstitüentlerin varlığının ise bazlığı azalttığı bildirilmiştir (Gupta R. et al.,1999).

Şekil 2.1

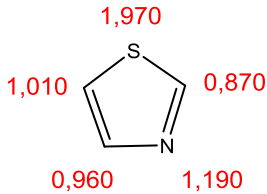
1,3-Tiyazol Halkası



Tiyazol halkası, yapısında bir azot bir adet de kükürt atomlarını içeren bir heterosiklik bir bileşik olmakla beraber halkalı yapısı itibariyle aromatik özellik gösterir. Halkadaki elektronlara delokalize olarak serbestçe hareket edebilme özelliğini ise dört (3C ve 1N) 2. enerji seviyesine ait pz orbitali ve bir (1S) 3. enerji seviyesine ait pz orbitalinde bulunan elektronlar sağlamaktadır. Üç karbon atomu ve bir azot atomu çifte bağ elektronları sayesinde halkaya birer elektron sağlarken, kükürt atomu ortaklanmamış elektronları sayesinde halkaya iki elektron katkısında bulunur. Düzlemsel bir yapıya sahip olan tiyazol halkasında, kükürt atomu ise sp^2 hibritleşmesi göstermektedir. Örnek tiyazol halkası ve numaralandırılması şekil 2.1’de gösterilmiştir. Tiyazol halkası, π elektron yoğunluğu açısından zengin olmasının yanı sıra, heteroatom bulundurması bu yoğunluğun büyük ölçüde heteroatomlar üzerinde toplanmasını sağlamıştır. Azot atomunun üzerindeki elektron yoğunluğu, 2 no’lu karbon atomundaki elektron yoğunluğunun azalmasına neden olmaktadır. Bu görece düşüklük, nükleofilik saldırıların öncelikle 2 no’lu karbon atomuna yönelmesine neden olur. Bir diğer yandan, elektrofilik saldırılar için ise en uygun konum, eğer bloke değilse elektron yoğunluğunun en fazla olduğu 5 no’lu karbon atomudur. Ancak, eğer 5 no’lu karbon bloke haldeyse, elektrofilik saldırı 4 no’lu karbon atomu üzerinden gerçekleşir (Duran M, 2006). Tiyazol halkasının elektron yoğunlukları şekil 2.2’de gösterilmiştir.

Şekil 2.2

Tiyazol Halkası Karbonlarının Elektron Yoğunlukları



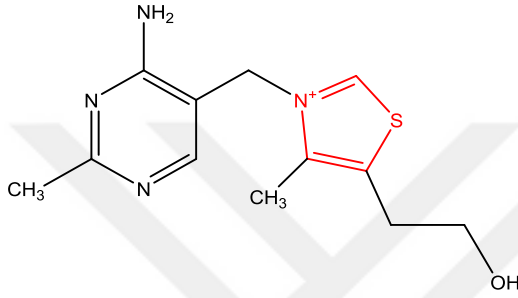
Esas kaynağı suda çözünen bir vitamin olan B1 vitamini (Tiyamin) ya da penisilin gibi doğal kaynaklı yapılar olan tiyazol aynı zamanda sentez yöntemiyle de elde

edilebilmektedir (Adole et al., 2020). Tiyamin bileşiğinin kimyasal yapısı şekil 2.3 'de verilmiştir.

Tiyazol halkası sentezi nispeten kolay bir yapıdır. Sentezlenmesinin kolay olması ve birçok farklı aktivite göstermesi nedeniyle tiyazol halkası üzerinde çokça çalışma bulunmaktadır (Ashram et al., 2023).

Şekil 2.3

Tiyamin Bileşiği



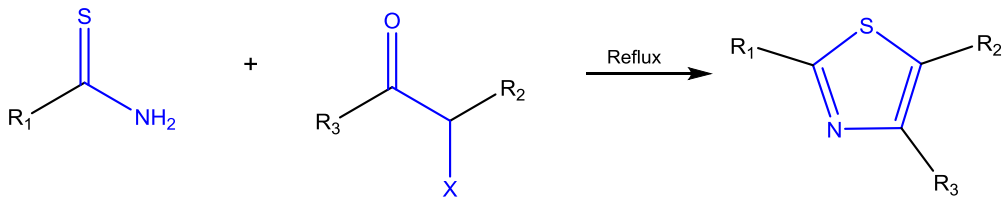
2.2.2 Tiyazol Halkası Sentez Protokolü

2.2.2.1 Hantzsch Tiyazol Sentez Protokolü

Arthur Rudolf Hantzsch 1887 yılında tiyazol halkasını ilk defa tanımlayan ve sentezleyen bilim insanıdır. 1887 yılında Hantzsch ve Weber tiyoüre veya tiyoamitlerin, α -haloketonlar ile reaksiyonu sağlandığında yüksek verimlilikle 2-aminotiyazol türevlerinin meydana geldiğini keşfettiler. Sentez yoluyla tiyazol halkası eldesinin ilk adımı olan bu keşfin ardından 19. yüzyılın sonlarında ve 20. yüzyılda tiyazol halkası sentezi için birçok farklı yöntem rapor edilmiştir (Mustafa, S.M. et al., 2004) (Şekil 2.4).

Şekil 2.4

Hantzsch Tiyazol Sentezi

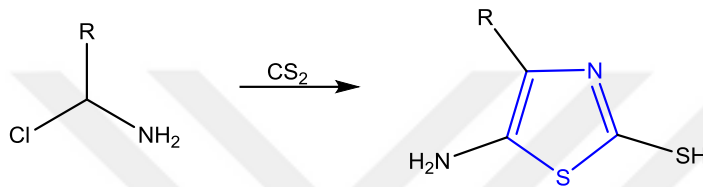


2.2.2.2 Cook-Heilbron Tiyazol Sentez Protokolü

α -Aminonitrillerin veya aminosiyanoasetatların oda sıcaklığında ve sulu ortamda ditiyoasitler, karbon disülfür, karbon oksisülfür veya izotiyosiyanatlarla tepkimesi sonucunda 5-aminotiyazollerin oluşmasıyla gerçekleştirilen tiyazol sentezi öncelikle 1947’ de, Sir Ian Heilbron, AL Levy ve Alan H. Cook tarafından keşfedilmiştir (Cook, Heilbron, 1947). (Şekil 2.5)

Şekil 2.5

Cook-Heilbron Tiyazol Sentezi

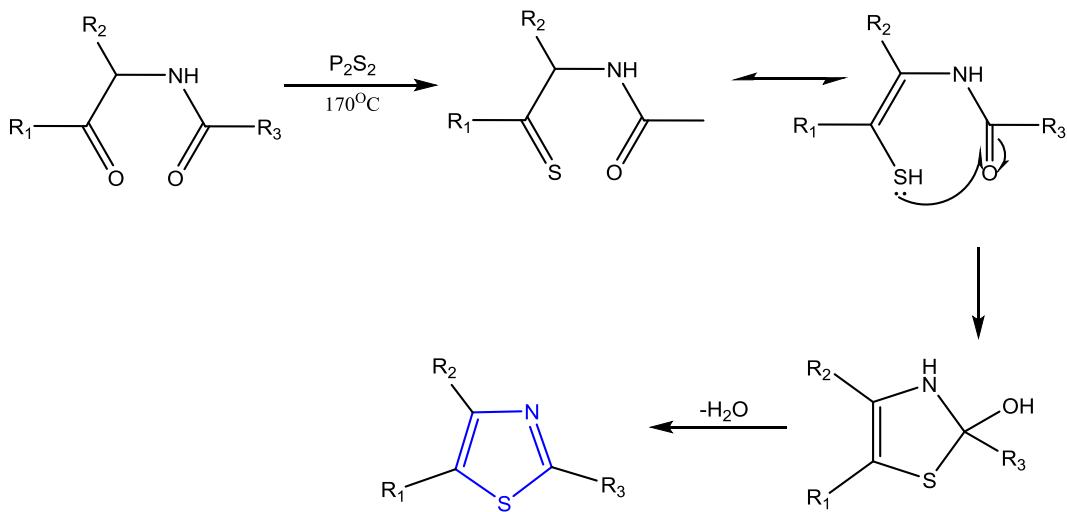


2.2.2.3 Gabriel Tiyazol Sentez Protokolü

Tiyazol halkasının bu protokol ile sentezinde tiyazol türevlerinin elde edilmesi için açıl grubu taşıyan α -amino ketonlarının fosfor pentasülfür ile reaksiyonu gerçekleştirilir (Gupta R. Et al.,1999). Bu yöntem ile 2. veya 5. konumlarda ya da her ikisinde aril ya da alkil gruplarını veya alkil grubu ile birlikte oksijen atomu taşıyan tiyazol grupları elde edilir (Joule, J. A., Mills, K. 2010). (Şekil 2.6)

Şekil 2.6

Gabriel Tiyazol Sentezi

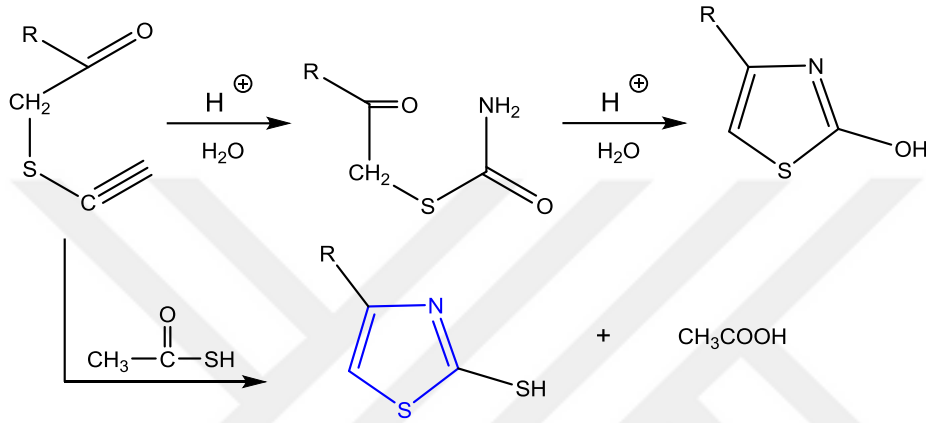


2.2.2.4 Tcherniac Tiyazol Sentez Protokolü

Asidik ortamda α -tiyosiyanonoketonlardan amin yada sülfür bileşikleri yardımıyla veya hidroliz yoluyla 2-süstitüe tiyazoller elde edilmesi reaksiyonudur (Duran M., 2006) (Şekil 2.7).

Şekil 2.7

Tcherniac Tiyazol Sentezi

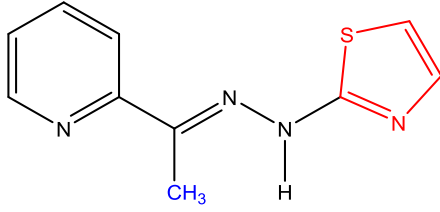


2.2.3 Antikanser Etkili Tiyazol Türevleri

Eastnon tarafından yapılan bir çalışmada tiyazol içeren yeni türevler sentezlenmiş ve bu türevler çeşitli kanser hatlarında üzerinde test edilmiştir. CCRF-CEM (Akut lenfoblastik lösemi hücreleri), Burkitt's Lenfoma (Burkitt lenfoması hücreleri), HeLa (Epiteloid serviks karsinomu hücreleri), ZR-75-1 (Meme kanseri hücreleri), HT-29 (Kolon adenokarsinomu hücreleri), MEXF-276 L (Melanom hücreleri) hücrelerinde yapılan testler sonucunda Burkitt Lenfoma hücrelerinde 6b (2-Asetilpiridin 2-tiyazolilhidrazon) (Şekil 2.8) bileşiği 0.016 μ M (mikromolar) değerinde %50'lik inhibitör konsantrasyonu (IC₅₀) ile maksimum biyolojik etkiyi göstermiştir. 6b'nin K562-DFMO hücreleri gibi insan tümör hücre hatlarında DNA biyosentezini engelleyerek etki gösteren bir kemoterapi ilacı olan hidroksiüreya göre daha yüksek aktivite gösterdiği bulunmuştur (IC₅₀ = 0.072 μ M). Bu, 6b'nin hidroksiüreden farklı bir mekanizma ile etki ederek dirençli tümörlere karşı da etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuç, bu yeni bileşik sınıfının kanser tedavisi, özellikle de hidroksiüreya dirençli tümörlerin tedavisi için yeni ilaç adayları olarak potansiyelini vurgulamaktadır (Eastnon et al., 1997).

Şekil 2.8

(2-Asetilpiridin 2-tiyazolilhidrazon)



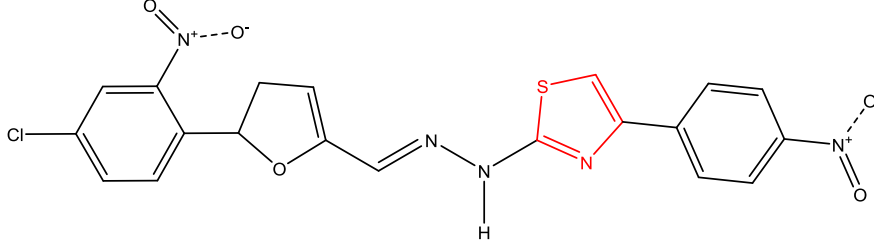
Altıntop ve arkadaşları tarafından 2014 yılında yapılan bir çalışmada, antikanser ve antifungal etkilerinin belirlenmesi amacıyla nitro fenil sübtitüe tiyazolil hidrazon türevlerinin sentezlenmiştir. Çalışmada, MTT yöntemi kullanılarak *in vitro* sitotoksik etkiler için iki farklı hücre dizisi kullanılmasına karar verilmiştir. Bu hücreler fare embriyonik fibroblast hücresi olan NIH/3T3 insan meme kanseri hücrelerinden MCF-7 olarak seçilmiştir.

Sisplatinin referans ilaç olarak kullanıldığı bu çalışmada toplam 18 farklı tiyazolil hidrazon türevi sentezlenmiştir. Her bir türevin sitotoksitesi farklı konsantrasyonlarda (0.1, 1, 10 ve 100 μ M) hesaplanmıştır. Sonuçlar 9 numaralı 2-[2-((5-(4-kloro-2-nitrofenil) furan-2-il)metilen)hidrazinil]-4-(4-nitrofenil) tiyazol bileşiğinin sentezlenen diğer 17 bileşiğe kıyasla NIH/3T3 ve MCF-7'ye karşı en iyi aktiviteyi gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu yapıyı aktivite gösterme açısından yapı 10 numaralı 2-[2-((5-(4-kloro-2-nitrofenil)furan-2-il)metilen)hidrazinil]-4-(4-florofenil) tiyazol bileşiği takip etmiştir. Ek olarak 11 numaralı yapının ,2-[2-((5-(4-kloro-2-nitrofenil) furan-2-il) metilen) hidrazinil]-4-(4-klorofenil) tiyazol, ($IC_{50} = 125 \mu\text{g/mL}$) 9 ve 10 numaralı bileşiklerle karşılaştırıldığında aktivitede çok az bir fark göstermesiyle birlikte düşük toksisite göstermesi nedeniyle potansiyel bir ilaç molekülü olabileceği vurgulanmıştır. Özellikle 9 numaralı bileşik başta olmak üzere bu çalışma verileri nitro-sübtitüe tiyazolil hidrazon türevlerinin potansiyel antikanser ajanlar olarak umut vadettiğini gelecekte yapılacak antikanser ilaç geliştirme çalışmaları için önemli bir başlangıç noktası olabileceğini göstermiştir (Altıntop et al., 2014). 9 ve 10 numaralı bileşiklerin kimyasal yapıları ve antikanser aktiviteleri şekilde 2.9'da verilmiştir.

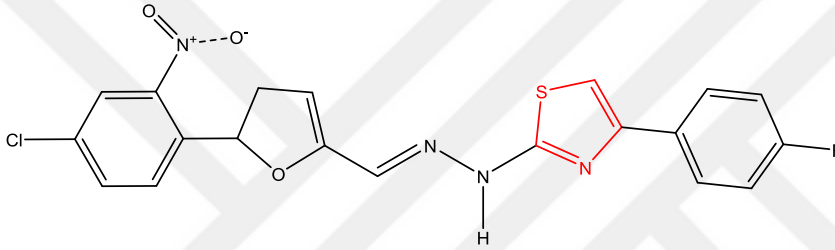
Şekil 2.9

9 ve 10 Numaralı Bileşiklerin Kimyasal Yapısı ve Antikanser Aktiviteleri (Altıntop et al., 2014)

2-[2-((5-(4-kloro-2-nitrofenil)furan-2il)metilen) hidrazinil]-4-(4-nitrofenil) tiyazol



2-[2-((5-(4-kloro-2-nitrofenil)furan-2il)metilen) hidrazinil]-4-(4-florofenil) tiyazol



	IC ₅₀ (MCF-7) (µg/mL)	IC ₅₀ (N1H/3T3) (µg/mL)
SİSPLATİN	31.2	350.58
BİLEŞİK-9	102.48	86.33
BİLEŞİK-10	121.79	250

Tantak ve arkadaşları tarafından 2015 yılında yürütülen bir başka çalışmada çeşitli kanser hücre hatlarında 2-(3-indolil)-N-ariltiyazol-4-karboksamit türevi bileşikler değerlendirilmiştir. Yürütülen deneylerde 17a-p koduyla isimlendirilen bileşiklerin antikanser aktiviteleri incelenmiştir. Test edilen türevler arasında, bileşik 17i insan embriyonik böbrek kanser hücre hattı olan HEK298T (IC₅₀ = 8.64) ve 17l epitelioid serviks karsinomu hücresi olan HeLa (IC₅₀ = 3.41) hücrelerinde serinin en güçlü analogları olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma ilerleyen dönemde bileşik 17i'nin potansiyel bir antikanser ilacın öncüsü olabileceği sonucunu doğurmuştur (Tantak et al., 2015).

Tablo 2.1

17i ve 17l Bileşiklerinin Antikanser Aktivitesi (Tantak et al., 2015)

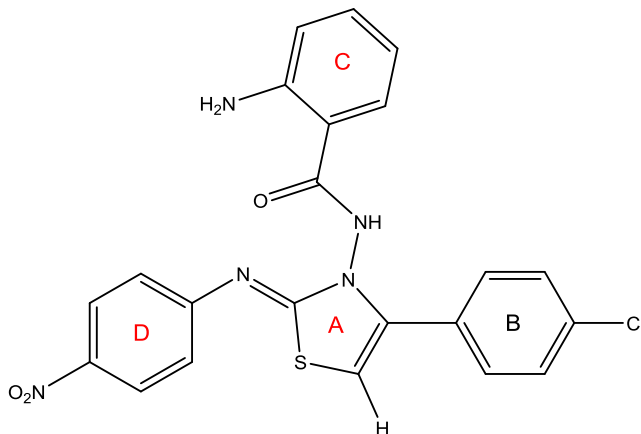
Bileşik	HEK 293T (µM)	HeLa (µM)
17i (FBS ile)	8.74 ± 1.26	9.98 ± 0.01
17i (FBS olmadan)	8.60 ± 0.91	29.64 ± 1.44
17l (FBS ile)	>100	33.48 ± 0.98
17l (FBS olmadan)	12.10 ± 0.61	3.41 ± 0.07

Hücre deneylerinde önemli bir yeri bulunan fetal sıgır serumunun (FBS) varlığında bazı bileşikler serum proteinlerine bağlanabilir. Bu bağlanma sonucunda hücrelere girebilen serbest bileşik miktarının azalması aynı zamanda bileşiğin etkinliğini de azaltabilir. Bazı bileşiklerin düşük suda çözünürlükleri FBS varlığında çökmelerine neden olmakta ve bu durum IC_{50} değerlerinin belirlenememesine yol açabilir. Tantak ve arkadaşlarının çalışmasında 17i ve 17l bileşiklerin FBS varlığında ve yokluğunda kanser hücreleri üzerindeki IC_{50} değerleri tablo 2.1’de verilmiştir. FBS yokluğunda ise, bileşiklerin serum proteinlerine bağlanmadan doğrudan hücrelere ulaşması gibi sonuçlar ortaya çıkabilir. Bu da FBS varlığında etkisiz görünen bazı bileşiklerin, FBS yokluğunda sitotoksik etki gösterebilmesine neden olarak elde edilen sonuçların normal hücre ortamındaki etkisi belirleyemememize yol açabilir. Buna rağmen FBS’siz ortamda elde edilen sonuçlar, bileşiklerin gerçek hücreler üzerindeki etkisini tam olarak yansıtmasa da bileşiklerin potansiyelini ve etki mekanizmasını anlamak için değerli bilgiler sunar (Tantak et al., 2015).

Mirza ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptığı çalışma ile tiyazol halkası içeren 25 farklı türev sentezlenmiş ve 4 farklı kanser hücre hattına karşı sitotoksik etkileri incelenerek antikanser aktivitesi gözlemlenmiştir. Bu kanser hücre hatları HCT-116 (İnsan kolon kanseri hücreleri), MDA-MB-231 (İnsan meme adenokarsinomu) MCF-7 ve HeLa olarak kaydedilmiştir. Dört kanser hücre hattına karşı sitotoksikite gösteren yirmi beş süstitüe aril tiyazolden (SAT) biri olan bileşik 1’in, 2-amino-N-[4-(4-klorofenil)-2-[(4-nitrofenil) imino]-1,3-tiyazol-3(2H)-il] benzamid (şekil 2.10), kimyasal yapısı dört konjuge aromatik halka (A, B, C ve D) içermekle birlikte A ve C aromatik halkaları arasında bir amid bağlayıcısı içerir.

Şekil 2.10

2-Amino-N-[4-(4-klorofenil)-2-[(4-nitrofenil) imino]-1,3-tiyazol-3(2H)-il] benzamid

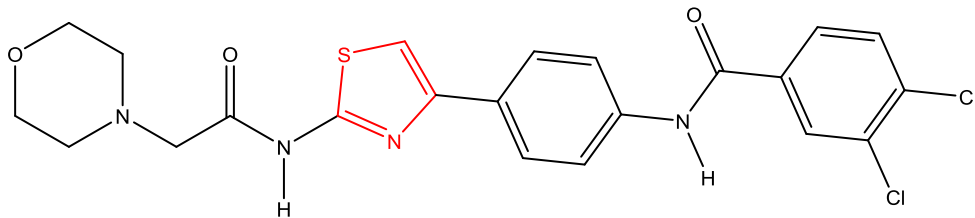


Çalışmada, her bir türevin sitotoksitesi doksorubisin referans alınarak belirlenmiştir ve test edilen tüm bileşikler arasından bileşik 1 (Şekil 2.10), deneyde kullanılan kanser türlerine karşı yüksek biyolojik aktivite sonuçları vermiştir. Bileşik 1'in, MCF-7 (ER + ve meme kanseri) için $IC_{50} = 5.37 \pm 0.56 \mu M$, MDA-MB-231 (meme kanseri) için $IC_{50} = 17.77 \pm 4.32 \mu M$ ve HCT116 (kolorektal) hücre hattı için $IC_{50} = 16.99 \pm 0.94 \mu M$ ile meme kanseri hücrelerine karşı oldukça toksik olduğu belirtilmiştir. Bu bulgular, bileşik 1'in ileride yapılacak antikanser ilaç geliştirme çalışmaları için umut vadeden bir aday olduğunu göstermektedir (Mirza et al., 2017).

Zhang ve arkadaşları 2019 yılında, 15 yeni 2,4-disüstitüe tiyazol amid türevi sentezlenerek bu bileşiklerin antikanser aktivitesi araştırılmıştır. Bu türevlerin antiproliferatif etkileri için A549 (insan kaynaklı akciğer kanseri hücreleri), Karpas299 (insan kaynaklı lenfoma hücreleri), HT29 (insan kaynaklı kolon kanseri hücreleri) ve son olarak HeLa olmak üzere dört farklı kanser hücre hattı üzerinde kullanılmıştır ve biyolojik aktiviteleri bu hücreler üzerinde test edilmiştir. Krizotinibin, referans ilaç olarak kullanıldığı çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde 5b isimli bileşiğin A549 (8,46), Hela (6,05), HT29 (0,63) ve Karpas299 (13,87) değerindeki IC_{50} değerleriyle tüm hücre hatlarında çalışmada kullanılan diğer türevlere kıyasla yüksek aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Aktif bileşiğin kimyasal yapısı şekil 2.11'de verilmiştir. 5b isimli bileşiğin dört hücre hattında da düşük IC_{50} değeri göstermesi bu bileşiğin geniş spektrumlu bir ilaç olma yolunda umut vadeden bir aday olduğunu göstermektedir. (Zhang et al., 2019).

Şekil 2.11

Zhang ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmada aktivitesi en yüksek bileşik olan 5b bileşiğinin kimyasal yapısı (Zhang et al., 2019)



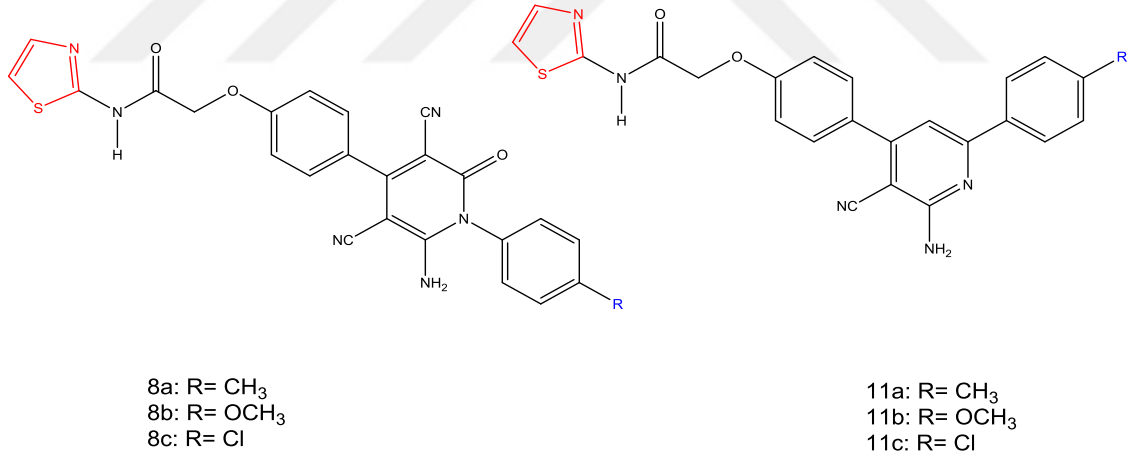
Bayazeed ve Alnoman tarafından 2020 yılında yürütülen bir başka çalışmada fenoloksiasetamid köprüsü içeren yeni tiyazol türevleri sentezlenmiştir ve antikanser aktiviteleri araştırılmıştır. Araştırmacılar, yeni bileşiklerin biyolojik aktivitesi üzerindeki

etkisini anlamalarında bu yapısal blokların bir kombinasyonunun etkili olabileceğini umuyorlardı. Yapı aktivite ilişkilerine göre tiyazol-piridin hibritlerinin en güçlüsü amino, siyano ve N-aril grupları ile ikame edilmiş tiyazol bağlı piridon içeren 8 a-8c bileşikleriydi. Bu bileşiklerin MCF-7, Hep-2 ve HepG2 hücre hatlarına karşı en yüksek antikanser aktiviteyi gösterdiği belirtilmiştir. Bayazeed ve Alnoman tarafından sentezlenen 11 a-c tiyazol-piridin hibritleri, 8 a-c serisinden daha düşük aktiviteye sahip olmasına rağmen MCF-7, Hep-2 ve HepG2 hücre hatlarına karşı güçlü aktivite gösterdi. Belirtilen serilerin farklı hücre hatlarındaki IC₅₀ değerleri ve bileşiklerin kimyasal yapıları şekil 2.12’ de verilmiştir.

MTT testi kullanılarak 4 farklı kanser hücre hattı üzerinde *in vitro* antikanser aktivitesi değerlendirilen deneyde kontrol grubu ilaç olarak 5-fluorourasil seçilmiş ve aktivite sonuçları onunla karşılaştırılmıştır (Bayazeed & Alnoman, 2020).

Şekil 2.12

Çalışmada Sentezlenen Türevlerin Kimyasal Yapıları ve Farklı Kanser Türleri Üzerindeki Aktivitesi
(Bayazeed & Alnoman, 2020)



Bileşik	Prostat (PC3) (µM)	Karaciğer (HepG2) (µM)	Gırtlak (Hep-2) (µM)	Meme (MCF-7) (µM)
8a	32.46 ± 2.15	20.34 ± 0.15	18.37 ± 0.13	11.03 ± 0.23
8b	30.57 ± 0.11	16.20 ± 0.03	13.52 ± 0.10	8.40 ± 0.16
8c	18.10 ± 0.01	13.18 ± 0.02	11.27 ± 0.05	5.71 ± 0.15
11a	37.48 ± 0.63	32.27 ± 0.44	27.13 ± 0.11	21.09 ± 0.27
11b	38.56 ± 0.81	29.32 ± 0.66	24.72 ± 0.73	17.41 ± 0.62
11c	24.82 ± 0.03	17.19 ± 0.07	18.23 ± 0.27	12.57 ± 0.49
5-Fu (Referans)	8.30 ± 0.23	7.19 ± 0.45	5.22 ± 0.82	6.14 ± 0.31

2.3 Hidrazonlar

2.3.1 Hidrazonlar Hakkında Genel Bilgi

Hidrazonlar, geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahip olmaları sebebiyle ön plana çıkan bir bileşik sınıfıdır. Oldukça reaktif bir grup olan CO-NH-N=CH içermeleri yönünden özellikle aril hidrazonlar, terapötik aktiviteleri ve çeşitli araştırmalardaki uygulamaları nedeniyle dikkat çekmiştir. Hidrazonlarda bulunan C=N bağı, ilaç konjugatlarından ilaçların pH'a bağlı salınımı için uygun bir sistem sağlar. Hidrazonlar, hidrojen bağı alıcısı ve verici bölgeleri içeren farmakoforik noktalar sağlarlar ve bunu amid ve imid alt birimlerinin füzyonuyla temsil edilen iskeletleri sayesinde çeşitli amino asit kalıntılarıyla etkileşim kurarak gerçekleştirirler.

2.3.2 Hidrazon ve Antikanser ilişkisi

Antikanser aktiviteleri açısından değerlendirildiğinde bazı hidrazon türevlerinin antiproliferatif aktivite sergilediği ve kanserli hücrelerde hücre ilerlemesini farklı mekanizmalarla önleme yeteneğine sahip sitotoksik ajanlar olarak hareket ettiği gösterilmiştir (Çevik et al., 2018).

Genellikle biyolojik aktif özellikleri araştırıldığında hidrazonların hücre ölümünü ve hücre döngüsünün düzenlenmesini sağlaması; kanser hücrelerinin çoğalmasını engellemeye yönelik aktiviteler sergilemesi yapının antikanser üzerindeki çalışmalarının artmasını sağlamıştır. Bunun üzerine yapılan birçok çalışma hidrazonun apoptozu indükleyerek, oksidatif stres ve serbest radikal üretimini arttırarak, hücre döngüsünü durdurarak ya da proliferasyonunu inhibe etme yoluyla, kanser hücrelerinde zarara yol açtığı bildirilmiştir. Bisantren ve zorubisin hidrazonun antikanser tedavi üzerindeki etkisini vurgulayan FDA tarafından onaylanmış piyasadaki antikanser ilaçlara örnek olarak verilebilir. Bu ilaç tasarımında hidrazon içeren bileşiklerin sentezinin antikanser tedavi üzerindeki önemini ortaya çıkarmıştır.

Hidrazonların antikanser ajan olarak etki mekanizması, demir başta olmak üzere hızla çoğalan tümör dokularının ihtiyaç duyduğu metal iyonlarını şelatlamasına esasına dayanır. Diğer olası mekanizmalar ise enzim inhibisyonu (ribonükleotid redüktaz, histon deasetilaz veya asil transferazlar), oluşan metal komplekslerinin toksisitesi (toksik reaktif oksijen türleri üreten redoks sistemleri) ve DNA interkalasyonudur (Kaplánek et al., 2015).

Artan hidrolitik stabilite ile ilaçların vücutta daha uzun süre aktif kalmasını sağlayan Hidrazid-hidrazon/hidrazon bağlayıcıların potansiyel antikanser ajan olarak değerlendirilmesinin en önemli sebeplerinden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Aynı zamanda bu bileşiklerinin sentezinin kolay olması bu sonucu destekleyen bir tez olarak karşımıza çıkmıştır. Bu bağlayıcıların kullanımının kinazlar, tübülin, topoizomeraazlar veya karbonik anhidrazlar gibi kanserle ilişkili proteinlere karşı hedef seçiciliği artırılmış yeni hibritlerin ve metal komplekslerinin sentezinde kullanılabileceği öne sürüldü (Murugappan et al., 2024a).

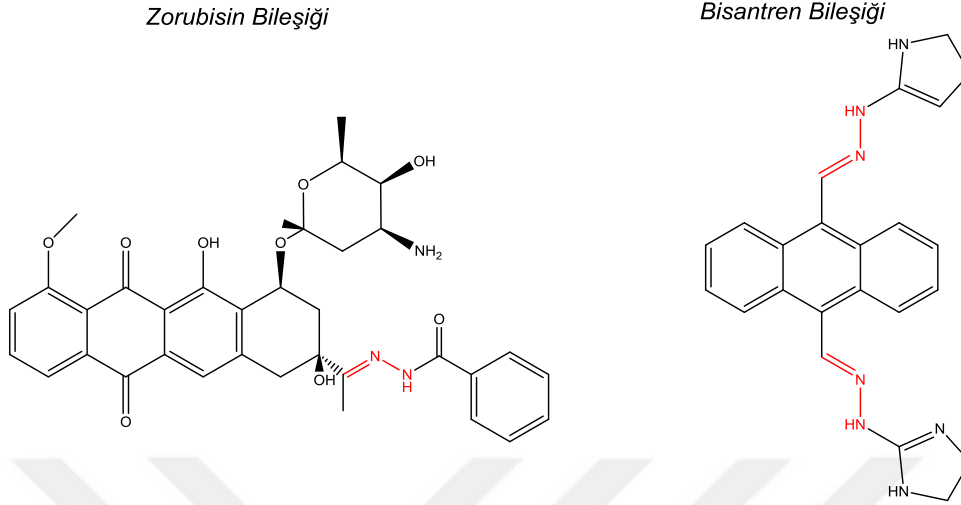
Hidrazonların yapısında bulunan hidrazid-hidrazon bağlayıcılarının C-N çift bağı hakkında bitişik karbonil grubunun metal iyonlarıyla koordinasyon ile kompleks oluşturma yeteneğini arttıracığı ve bunun da antikanser etki üzerinde rol oynayabileceği belirtilmiştir (Shabsoug & Shabsoug, n.d.).

Hidrazonların farmakolojik etkilerinin, genellikle oluşturdukları metal komplekslerin toksik etkileri aracılığıyla, asil transferazlar veya ribonükleotid redüktazlar gibi enzimlerin inhibisyonu veya DNA interkalasyonu yoluyla ortaya çıktığı fark edilmiştir. Bu şekilde farklı yollar ile etki göstermeleri ve çeşitli biyolojik hedeflere karşı seçici olabilmeleri kanser hücrelerinin çoğalmasını ve büyümesini engellemeye önemli katkı sağlar (Kaplánek et al., 2015).

Hidrazid-hidrazon türevleri, antikanser ön ilaç geliştirme çalışmalarında da önemli bir yer tutmaktadır. Yüksek hidrolitik stabiliteleriyle birlikte kolay sentezlenebilir olmaları onları ilk düşünülen farmokofor gruplardan biri haline getirdi. Aynı zamanda metal iyonlarıyla kompleks oluşturma kapasitelerine ek olarak $-NH_2$ grubunun bloke edilmesi, daha az toksik aktif metabolitlerin üretimini sağlayarak ilaçların daha güvenli bir şekilde taşınmasına olanak tanır. Bu bağlayıcılar, örneğin doksorubisin gibi ilaçların terapötik indeksini iyileştirebilir ve asidik tümör ortamı koşullarında, aktifleşerek hedefe yönelik ilaç salınımı gerçekleştirebilirler. Bu gibi özellikler, hidrazonları ön ilaç tasarımı olarak düşünülmesine sebep olmakta ilaç hedeflemesi ve etkinlik artırma gibi alanlarda umut verici bir seçenek haline getirmektedir (Murugappan et al., 2024a). Hidrazon içeren örnek ilaçlar şekil 2.13'te verilmiştir.

Şekil 2.13

Hidrazon İçeren Örnek İlaçlar



2.3.3 Antikanser Etkili Hidrazon Türevleri

Samir Abbas Ai Noma ve arkadaşları tarafın yürütülen bir çalışmada sentezlenen hidrazin türevi 1-(5-bromo-2,3-dimetoksibenziliden)-2-(piridin-2-il) hidrazin (5Br2DM2PH) bileşiğinin sitotoksik antikanser etkisi *in vitro* koşullarda incelenmiştir. Meme ve kolon kanseri üzerinde test edilen bileşik için pozitif kontrol olarak sisplatin kullanılmıştır. Deney sonucunda yeni sentezlenen bileşiğin iki kanser üzerinde de aktif olduğu tespit edilmiş ve IC₅₀ değerleri sisplatin ile karşılaştırıldığında ise sentezlenen 5Br2DM2PH bileşiğinin MCF-7 hücreleri üzerinde sisplatinden yaklaşık 4.5 kat daha potent bir sitotoksik etki göstermiştir. Kolon kanseri hücresi olan Caco-2 hücrelerinde ise bu oran 6.9 kat olarak karşımıza çıkmıştır. 5Br2DM2PH bileşiğinin ve sisplatinin farklı kanser türleri üzerindeki IC₅₀ değerleri tablo 2.2’de verilmiştir. *In vitro* koşullarda elde edilen bu sonuçlar 5Br2DM2PH bileşiğinin gelecekte umut vadeden antikanser etkili potansiyel bir ilaç olabileceğini göstermektedir (Noma et al., 2020).

Tablo 2.2

5Br2DM2PH Bileşiğinin ve Sisplatinin Farklı Kanser Türleri Üzerindeki IC₅₀ Değerleri (Noma et al., 2020)

Kanser Hücre Hattı	5Br2DM2PH	Sisplatin
MCF-7	16.8 mM	76 mM
Caco-2	11.8 mM	81.4 mM

Hidrazon ve hidrazon-hidrazit bağlayıcılarının antikanser ilaç keşfinde çok yönlü ve umud vadeden ilaçlar olarak ortaya çıkmasının ardından bu yapıları içeren çeşitli kanser

türlerine karşı etkili birçok antikanser aktivitesi ve ilaç olma potansiyeli yüksek bileşik keşfinin önünü açmıştır. Hidrazon-hidrazit bağlayıcıları kinazlar, tübülün, topoizomeraazlar ve karbonik anhidrazlar gibi çeşitli proteinlere karşı gelişmiş hedef seçiciliği olan yeni hibritlerin ve metal komplekslerinin geliştirilmesinin önünü açmıştır.

Solei Murugappan tarafından yürütülen başka bir çalışmada farklı yapısal sınıflardaki hidrazon/hidrazit-hidrazon içeren bileşikler incelenerek bu yapısal sınıfları farklı olan serilerden yaklaşık 72 adet bileşiğin çok sayıda farklı kanser hücresi hattındaki aktiviteleri değerlendirilmiştir. Çalışma sonu verilere göre aktivitesi en yüksek bileşikler, bileşiklerin yapısal sınıfları, bu bileşiklerin test edildiği hücre hatları ve IC₅₀ değerleri tablo 2.6'da gösterilmiştir (Murugappan et al., 2024b).

Özellikle son yıllarda moleküler docking ilaç keşfi süresinde üzerinde çalışılan moleküllerin hedef proteinlerle etkileşimlerinin anlaşılması için yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir. Docking çalışmaları sayesinde tasarlanan veya sentezlenen bir molekülün (ligand), kanserle ilişkili bir hedef proteinin (enzim, reseptör vb.) aktif bölgesine nasıl bağlandığını ve hangi amino asitlerle etkileşim kurduğunu görselleştirmeyi sağlaması onu en etkili yollardan biri haline getirmiştir (Dawoud et al., 2022). Bu görselleştirme bağlanma şekillerini ve uzaysal kombinasyonları tahmin etmeye ve bu sayede molekülün aktivitesinin hangi pozisyonda daha yüksek olduğunu anlamamıza yardımcı olur (El-Sayed et al., 2011). Farklı yapıdaki moleküllerin docking sonuçlarının karşılaştırılmasıyla molekülün hangi kısımlarının hedef proteinle etkileşim için önemli olduğu ve aktiviteyi nasıl etkilediği yani yapı-aktivite sonuçlarını oluşturmakta yardımcı olur. Docking çalışmaları, yeni ilaç adaylarının rasyonel bir şekilde tasarlanmasında önemli bir araçtır. Hedef proteinin yapısı bilindiğinde, docking yardımıyla bu proteine daha iyi bağlanacak ve istenen etkiyi gösterecek yeni moleküller bilgisayar ortamında tasarlanabilir ve ardından sentezlenebilir (Murugappan et al., 2024a).

Yürütülen bir başka çalışmada ise hidrazon iskeleti taşıyan antikanser etkili 20 yeni bileşik sentezlenmiştir. Sentezlenen bu bileşikler EC9706 (özofagus kanseri), SMMC-7721 (karaciğer kanseri), MCF7 (meme kanseri), PC3 (prostat kanseri), MGC-803 (gastrik kanseri) ve EC109 (özofagus kanseri) hücre hatları kullanılarak *in vitro* koşullarda test edilmesi amaçlanmış ve MTT testi kullanılarak yapılan deneyde pozitif kontrol olarak 5-fluorourasil kullanılmıştır. Ayrıca aktivitesi en yüksek olan 6p bileşiğinin normal gastrik hücresi olan GES-1 üzerindeki sitotoksik etkisi de incelenmiştir (Li et al., 2018).

Sentezlenen bileşikler üzerinde bir dizi mekanizma çalışmaları yürütülmüştür. Anti-proliferatif etki değerlendirmesi amacıyla yapılan MTT deneyi sonucunda aktivitesi en yüksek olan bileşik 6p'nin EC9706 ve EC109 hücrelerinin canlılığını doza ve zamana bağlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. EC9706 için 24 saate (>20), 48 saate (7.51 ± 0.88) ve 72 saate (1.09 ± 0.03) mM değerlerinde IC_{50} sonuçları kaydedilmiştir. EC109 için ise bu değerler 24 saate (>20), 48 saate (11.34 ± 1.06) ve 72 saate (2.79 ± 0.45) mM olarak rapor edilmiştir. Bununla birlikte yapılan koloni oluşturma deneyinde ise 1 mM ve 2 mM konsantrasyonlarındaki 6p ile muamele edilen kanser hücrelerinin, kontrol hücrelerine kıyasla çok daha az ve daha küçük koloniler oluşturduğu gözlemlenmiştir. Daha az ve küçük koloniler oluşturmaya 6p'nin kanser hücrelerinin uzun süreli çoğalma yeteneğini önemli ölçüde baskıladığını göstermektedir.

Hücre döngülerinin analiz edilebilmesi için yapılan Flow sitometri testi, 6p'nin EC9706 hücrelerinde G0/G1 fazındaki hücre yüzdesini doza bağlı olarak artırdığını (2 mM'de 1,07 kat, 4 mM'de 1.22 kat ve 8 mM'de 1.27 kat artış) ve G2/M fazındaki hücre yüzdesini azalttığını göstermiştir. Benzer şekilde, EC109 hücrelerinde de 6p tedavisinin doza bağlı olarak G0/G1 fazında hücre döngüsü durdurulmasına neden olduğu bulunmuştur.

Western Blot ile hücre döngüsü proteinlerinin incelenmesi sonucunda 6p ile muamele edilen EC9706 ve EC109 hücrelerinde P27 proteininin ekspresyon seviyelerinde önemli bir artış gözlemlenmiştir. Bu aktivite artışı 6p'nin hücre döngüsünü G0/G1 fazında durdurarak anti-proliferatif etki gösterdiğini desteklemektedir.

Güvenlik ve seçicilik değerlendirmesi için normal mide hücre hattı GES-1 üzerindeki 6p sitotoksitesisi incelendiğinde IC_{50} değeri (72 saate 14.40 ± 1.16 mM), mide kanseri hücre hattı MGC-803 üzerindeki değerden 7.2 kat daha yüksek bulunmuştur. Bu, 6p'nin sağlıklı hücrelere kıyasla kanser hücrelerine karşı daha seçici olabileceğini göstermektedir. Ara ürün 5'in EC9706 ve EC109 üzerindeki IC_{50} değerlerinin >100 mM olması, 6p'nin sitotoksitesisinin hidrazin metabolizması ile ilişkili olmayabileceğini düşündürmektedir.

Farelerle yapılan *in vivo* akut toksisite testinde ise verilen yüksek dozda 6p (2 g/kg) sonrasında 2 haftalık gözlem süresince herhangi bir ölüm vakası görülmemiştir. Histopatolojik incelemeler sonucunda 6p ile tedavi edilen farelerin genel sağlık durumunda belirgin bir olumsuz etki görülmemekle birlikte karaciğer, böbrek, akciğer, kalp ve dalak gibi majör organlarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında herhangi bir toksisite belirtisi göstermediğini ortaya koymuştur (Li et al., 2018).

3 MATERYAL

3.1 Kullanılan Araç ve Gereçler

Reaksiyonun gerçekleşmesi için çeşitli hacimlerde (50 ml, 100 ml) balonlar, geri çeviren soğutucular, çeşitli hacimlerde cam pipetler (1ml, 2 ml, 5 ml ve 10 ml), huni, beher, süzgeç kâğıdı, spatül gibi çeşitli araç ve gereçler kullanılmıştır. Kullanılan diğer araç ve gereçlere tez içerisinde değinilmiştir.

3.2 Kullanılan Kimyasallar

4-formilfenoksiasetik asit	: Sigma-Aldrich (Almanya)
Tiyosemikarbazit	: Merck (Almanya)
2-Bromoasetofenon	: Sigma-Aldrich (Almanya)
2-Bromo-4'-kloroasetofenon	: Sigma-Aldrich (Almanya)
2-Bromo-4'-nitroasetofenon	: Sigma-Aldrich (Almanya)
2-Bromo-4-metilasetofenon	: Sigma-Aldrich (Almanya)
2-Bromo-4-metoksiasetofenon	: Sigma-Aldrich (Almanya)
2-Bromo-3',4'-dikloroasetofenon	: Sigma-Aldrich (Almanya)
2-Bromo-4'-siyanoasetofenon	: Sigma-Aldrich (Almanya)
2-Bromo-4'-triflorometilasetofenon	: Sigma-Aldrich (Almanya)
2-Bromo-3'-kloroasetofenon	: Sigma-Aldrich (Almanya)
2-Bromo-4'-bifenilasetofenon	: Sigma-Aldrich (Almanya)
2-Bromo-2'-naftalenasetofenon	: Sigma-Aldrich (Almanya)
2-Bromo-4'-florometilasetofenon	: Sigma-Aldrich (Almanya)
Etanol	: Teknik (Yerli)
Metanol	: Fluka Almanya)
Dimetilsültoksit- d_6	: Merck (Almanya)

3.3 Kullanılan Cihazlar

Elektronik terazi	: Shimadzu, Libror EB-330 HU (Japonya)
Etüv	: Heraeus (Almanya)
Manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı	: Heidolph, MR 3003 BC (Almanya)
Infrared spektrofotometresi	: Shimadzu-IR Affinity-IS (Japonya)
Nükleer manyetik rezonans spektrometresi	: Bruker, UltraShield 300 MHz (ABD)
Kütle spektrometresi	: Advion, Compact Mass Spectrometer (ABD)
Erime derecesi tayin cihazı	: Mettler Toledo-MP90 Melting Point System (İsviçre)
İnkübatör	: Heraeus (Almanya)
Steril kabin	: Class II TypeA2 (CHC-222a2-60) (Güney Kore)
Ultraviyole lambası	: Camag UV Cabinet (Muttentz, İsviçre)
Vorteks	: Wisemix VM-10 (Kore)

3.4 Kullanılan Hücre Dizileri

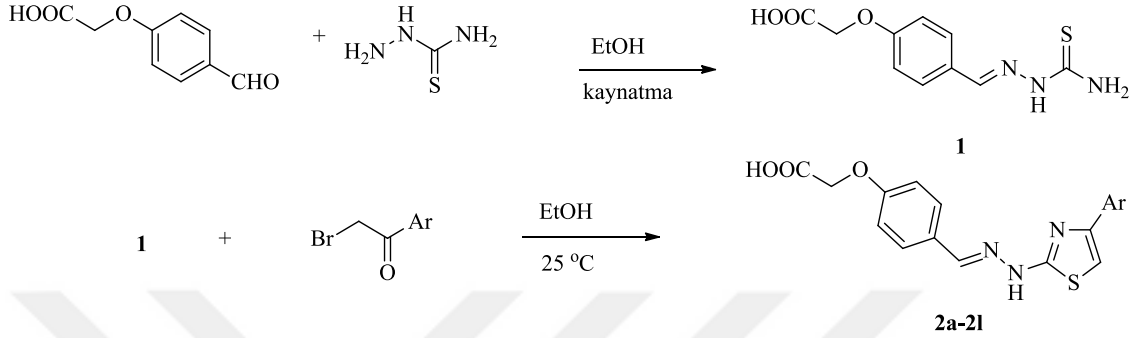
MCF-7	: ATCC (Amerika)
A549	: ATCC (Amerika)
L969	: ATCC (Amerika)

4 YÖNTEMLER

4.1 Sentez Protokolü

Şekil 4.1

2-[4-[(2-(4-Süstitüe tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit türevlerinin sentezi (2a-2l)



4.1.1 2-[4-((2-Karbamotiyoilhidrazono)metil)fenoksi]asetik asit sentezi (1)

Eşdeğer oranda 4-formilfenoksiasetik asit, tiyosemikarbazit ile etanol içerisinde kaynatılır. Reaksiyonun bitiminin ardından ince tabaka kromatografisi (İTK) yardımıyla kontrol sağlanır. Reaksiyon bitiminde, soğutulan reaksiyon karışımında çöken ham ürün süzülerek alınır.

4.1.2 2-[4-[(2-(4-Süstitüe tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit türevlerinin sentezi (2a-2l)

2-[4-((2-Karbamotiyoilhidrazono)metil)fenoksi]asetik asit (1) ona eşdeğer oranda fenaçil bromür türevleriyle etanol içerisinde oda sıcaklığında karıştırılır. İTK kontrolü sonrasında, ham ürün süzülerek alınır, ürün etanolden kristallendirilir.

4.2 Erime Derecesi Tayini

Yapılan deneylerin ardından sentezlenen bileşiklerin saflık analizinin yapılabilmesi için erime derecesi tayini yapıldı. Bu sayede moleküllerin karakterizasyonu ile ilgili fikir sahibi olundu aynı zamanda moleküllerin termal dayanıklılığı gözlemlenmiş olundu. Toz haline getirilen bileşikler kılcal çubuklara 0.5 cm kadar küçük miktarda alınarak üçerli gruplar halinde Mettler Toledo-MP90 Melting Point System cihazına konuldu ve erime derecesi tayinleri yapıldı.

4.3 NMR Spektrumlarının Protokolü

Spektroskopik yöntemler, bir maddenin ışık (veya elektromanyetik radyasyon) ile etkileşimi sonucu elde edilen verileri analiz etmek için kullanılan, genellikle belirli bir dalga boyundaki ışığın emilmesi, yayılması, saçılması ya da iletilmesi üzerine yapılan ölçümlerle veriler elde edilen tekniklerdir. Bu yöntemler, sayesinde maddelerin kimyasal yapısını, fiziksel özelliklerini ve bileşimlerini analiz etmekte kullanılır. En sık kullanılan spektroskopik yöntemlerden nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi, biyokimyasal sistemlerin yapısını, dinamiklerini ve kimyasal kinetiğini incelemek için kullanılan güçlü bir tekniktir. Temel olarak, atom çekirdeklerinin manyetik özelliklerinden yararlanır. Sentezlenen bileşiklerin MNR piklerinin yorumlanmasıyla bileşiklerdeki safsızlıklar ve safsızlık miktarları tespit edilebilir (Canavagh J. Et.al, 2007).

4.3.1 ¹H -NMR Spektrumlarının Protokolü

Sentez sonucu elde edilen 12 sonuç bileşik NMR için hazırlanmıştır. Her bir bileşikten yaklaşık 30 mg kadar alınarak NMR tüplerine eklenmiştir. Çözücü olarak yüksek kaynama noktası ve inert kimyasal yapısı ile NMR için, aynı zamanda polar bir yapıya sahip olması ile sentezlenen bileşikler için uygun bir çözücü olan dimetilsülfoksit (DMSO-*d*₆) seçilmiştir. Bruker 300 MHz'lik NMR spektral ölçüm cihazı kullanılarak bileşiklerin proton nükleer manyetik rezonans (¹H -NMR) spektrumları alınarak değerlendirilmiştir.

4.3.2 ¹³C -NMR Spektrumlarının Protokolü

Bileşiklerin karbon nükleer manyetik rezonans (¹³C -NMR) analizleri için 30 mg alınarak dimetilsülfoksit (DMSO-*d*₆) ile çözelti haline getirilmiş ve NMR tüplerine konan çözelti Bruker 300 MHz'lik NMR spektral ölçüm cihazı kullanılarak analiz sonuçları rapor edilmiştir.

4.4 IR Spektrumlarının Protokolü

Bileşik numuneleri toz haline getirilmesinin ardından ATR kristali üzerine yerleştirilir. Shimadzu-IR Affinity-IS cihazından gelen IR ışınlarının bu kristal üzerindeki numuneler tarafından absorblanması sağlanır. Kaydedilen bu spektrum sayesinde numuneler analiz edilmiştir.

4.5 K t le Spektrumlarının Protokolü

Bileşik numuneleri APCI-MS metodu kullanılarak atmosfer basıncında kimyasal iyonizasyonu gerçekleştirildi. İyonize edilen bileşiklerin k t le/yüz (m/z) oranlarına göre k t le spektrumları analiz edilmiştir.

4.6 Biyolojik Aktivite  alışmaları

Sentezlenen tiyazol türevlerinin biyolojik aktivite testleri için MTT olarak bilinen tetrazol türevi (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) hücrelerin metabolik aktivitesini değerlendirmek amacıyla kullanıldı. Uygun hücre ortamı hazırlandıktan sonra 37 C'de %5 CO₂ içeren ortamda 24 saat tohumlanmaya bırakıldı. Pasajlama işleminin ardından sentezlenen bileşikler DMSO-*d*₆ yardımı ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanarak kuyucuklara ekimi gerçekleştirildi. Sentezlenen bileşiklerin hücreleri öldürme kapasitesi için 36 saat boyunca hücrelerin maruz kalması sağlandı. 36 saatin ardından canlı hücreleri mor formazon kristallerine çevirebilen MTT kuyucuklara eklenerek 4 saat daha inkübe edilmiştir. Ardından kuyucuklardan üst faz supernatant kısmı alınarak atıldı. Kuyucuklara canlı hücrelerin mitokondri aktivitesi sayesinde oluşan mor formazon kristallerini çözebilmek için DMSO-*d*₆ eklendi. Plaka mikropilaya okuyucu cihaza yerleştirildi. Mor rengin maksimum 570 nm dalga boyundaki ışığı absorbe edebilmesi sebebiyle ölçüm 570 nanometrede yapıldı. Absorbans değerlerinin alınmasının ardından bileşiklerin IC₅₀ değerleri hesaplandı.

MTT deney sonucunda elde edilen verilere göre canlı olmayan hücreler üzerinde apoptoz deneyleri yapıldı. Apoptoz hücrenin gelişimi esnasında zarar görmüş hücrelerin bertaraf edilmesi için ya da ya da doku içi hücresel bütünlüğü korumak gibi amaçlara hücrenin kendisinin oluşturduğu bir biyolojik yanıttır. Apoptoz genel tanımıyla planlanmış bir hücre ölümünün gerçekleşmesidir (Elmore, S. et al., 2007). Kanseri hücre kültürü araştırmalarında hücrenin ölümünün,  vre dokuları da etkileyerek ve inflamasyonla sonuçlanan nekrozla değil apoptozla gerçekleşmesi beklenir. MTT verileri bize toplam  l  hücre sayısını verdiğinden apoptoz deneyleriyle hücre ölümünün nasıl gerçekleştiği saptanmaya çalışılır.

Anneksin-V FITC/PI ikili boyama flow olarak da bilinen akış sitometrisi *in vitro* ortamda belirlenen bileşiklerin hücrelerde apoptozla neden olup olmadığını anlamak ve nicel olarak belirlemek için uygulanan bir yöntemdir. Bu yöntemde erken apoptoz evresinde hücre membranının iç kısmında bulunan fosfatidilserin membranının dışına taşınır. Bu

değişim sayesinde Anneksin-V FITC yer değiştiren fosfatidilserin lipitine özgül olarak bağlanır. PI yani propidyum iyodür boyası ise membran bütünlüğü bozulmuş hücrelere nüfuz ederek hem geç apoptoz hem de nekroza uğramış hücrelerin saptanmasına olanak sağlar (Cheng F. et al., 2015)

4.6.1 Anneksin V-FITC/PI Deney Prosedürü

Bu yöntem iki kanser hücresi için de aynı metotla uygulanmıştır. Bu yöntemde A549 akciğer kanseri hücreleri ve MCF-7 meme kanseri hücreleri, her bir kuyucukta 2×10^5 hücre/ml olacak şekilde 6 kuyucuklu plakalara ekilmesinin ardından 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Süre bitiminde sentezlenen moleküller ve kontrol ilacımız olan sisplatin IC₅₀ konsantrasyonlarında kuyucuklara eklenmiştir ve ardından tekrar 24 saat inkübe edilmiştir. 24 saatlik sürenin sonunda fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) ve iki kez tripsin kullanılarak hücreler uzaklaştırılmış ve akış sitometrisi için uygun tüplere alınmıştır. Santrifüj için cihaz 1200 rpm derecesine ayarlanmış ve burada 4 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra tüpte kalan üst faz yani supernatant atılmış, tüpte oluşan hücre pelletinin üzerine 1 ml PBS eklenerek yıkama işlemi yapılmış ve bu işlem tekrarlanmıştır. Yıkama işeminin ardından her tüpe Cytofix/Cytoperm çözeltisinden 200 µl eklenerek buzda 20 dakika tutulmuştur. 10x bağlama tamponu, (Perm/Wash buffer) distile su ile seyreltilerek 1x bağlama tamponu elde edilmiştir. Her bir tüpe 500 µl hacminde solüsyon eklenmiş ve santrifüjleme işlemi iki kez uygulanmıştır. Ardından, her tüpe 100 µl Perm/Wash tamponu ve 20 µl hacminde antikor (antibody) ilavesi yapılmıştır. Kontrol grubu olarak hazırlanan bir tüpe ise antikor eklenmemiştir. Numuneler, oda koşullarında 30 dakika süreyle bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda, tüpler sırasıyla 1 ml ve ardından 0.5 ml Perm/Wash çözeltisi ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Son aşamada, üstte kalan sıvı uzaklaştırılmış ve yerine 0.5 ml taze tampon eklenmiştir. Sonuç olarak, kaspaz-3 enziminin aktivitesi akış sitometrisi yöntemiyle değerlendirilmiştir.

4.6.2 Kaspaz-3 Aktivasyon Deneyi Prosedürü

Bu yöntem iki kanser hücresi için de aynı metotla uygulanmıştır. Bu yöntemde A549 akciğer kanseri hücreleri ve MCF-7 meme kanseri hücreleri, her bir kuyucukta 2×10^5 hücre/ml olacak şekilde 6 kuyucuklu plakalara ekilmesinin ardından 24 saat boyunca

inkübasyona bırakılmıştır. Süre bitiminde sentezlenen moleküller ve kontrol ilacımız olan sisplatin IC₅₀ konsantrasyonlarında kuyucuklara eklenmiştir ve ardından tekrar 24 saat inkübe edilmiştir. 24 saatlik sürenin sonunda fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) ve iki kez tripsin kullanılarak hücreler uzaklaştırılmış ve akış sitometrisi için uygun tüplere alınmıştır. Santrifüj için cihaz 1200 rpm derecesine ayarlanmış ve burada 4 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra tüpte kalan üst faz yani supernatant atılmış, tüpte oluşan hücre pelletinin üzerine 1 ml PBS eklenerek yıkama işlemi yapılmış ve bu işlem tekrarlanmıştır. 10x bağlama tamponu, (Perm/Wash buffer) distile su ile seyreltilerek 1x bağlama tamponu elde edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında tüplerin üst sıvı kısmı dikkatlice uzaklaştırılmış, ardından her bir tüpe 100 µl seyreltilmiş (1x) bağlayıcı tampon çözeltisi eklenerek nazikçe homojen hale getirilmiştir. Daha sonra her tüpe sırasıyla 5 µl FITC Anneksin V ve 5 µl Propidyum İyodür (PI) eklenmiştir. Kontrol amacıyla hazırlanan bir tüpe ise boya ilavesi yapılmamıştır. Tüm örnekler yavaşça karıştırılmış ve ışık geçirmeyen bir ortamda, oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda, her bir tüpe 400 µl hacminde 1x bağlayıcı tampon çözeltisi eklenmiş ve numunelerin tümü bir saat içinde akış sitometrisi cihazında analiz edilmiştir.

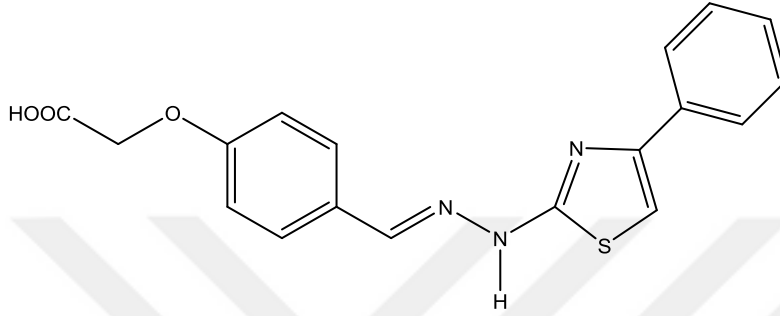
5 BULGULAR VE TARTIŞMALAR

5.1 Sonuç Bileşiklerinin Sentezlenmesi

5.1.1 2-[4-[(2-(4-Feniltiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2a)

Şekil 5.1

2-[4-[(2-(4-Feniltiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2a)



Verim: %71. Deneysel E.n: 212-218 °C.

IR ν (cm⁻¹): 2965, 2884 (Alifatik C-H), 1767 (C=O), 1620-1409 (C=C, C=N), 1302-1070 (C-O, C-N), 881-704 (benzen halkası yüzey dışı titreşim frekansları)

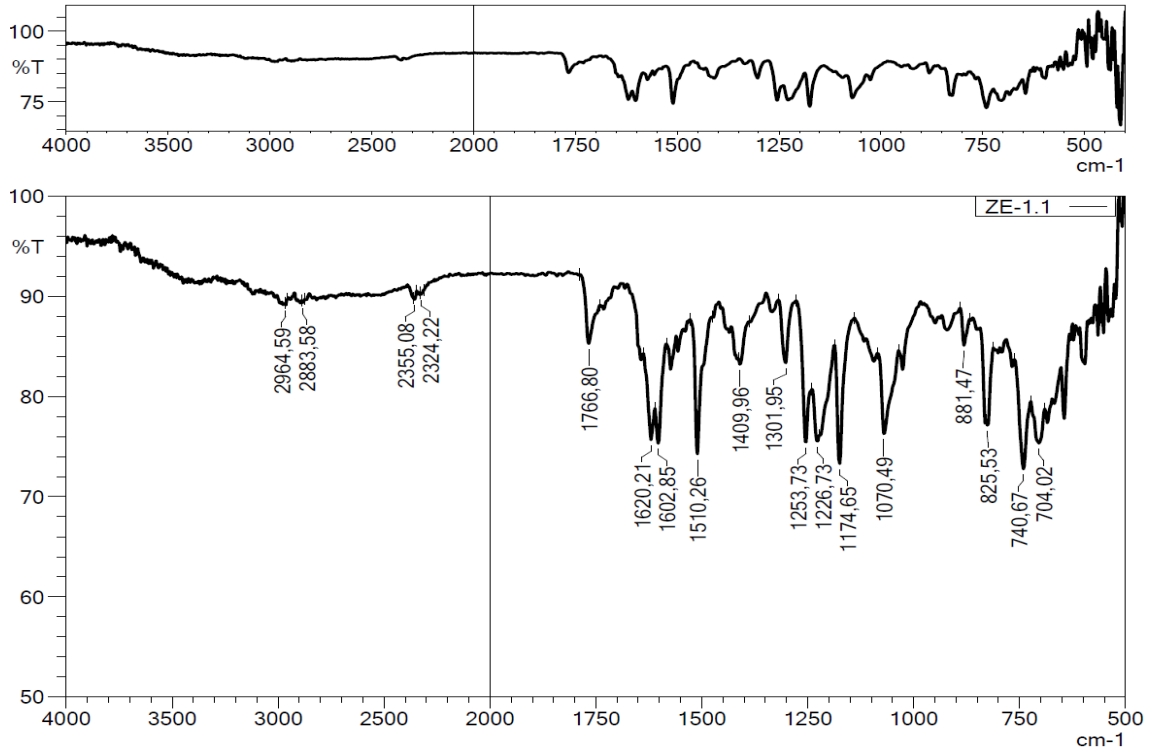
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 4.74 (s, 2H, CH₂), 6.99 (d, 2H, J:7.77 Hz, fenoksi C_{2,6}-H), 7.31 (yayvan s, 2H, tiyazol C₅-H ve fenil C₄-H), 7.41 (t, 2H, J:7.38 Hz, fenil C_{3,5}-H), 7.60 (d, 2H, J:7.77 Hz, fenoksi C_{3,5}-H), 7.85 (d, 2H, J:7.53 Hz, fenil C_{2,6}-H), 8.00 (s, 1H, CH=N), 12.10 (NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 64.97, 103.89, 115.35, 125.99, 127.95, 128.01, 128.21, 129.07, 135.06, 141.75, 150.73, 159.19, 168.79, 170.44.

APCI (*m/z*): [M+H]⁺: C₁₈H₁₅N₃O₃S için kuramsal değer: 354.39, deneysel değer: 354.4.

Şekil 5.2

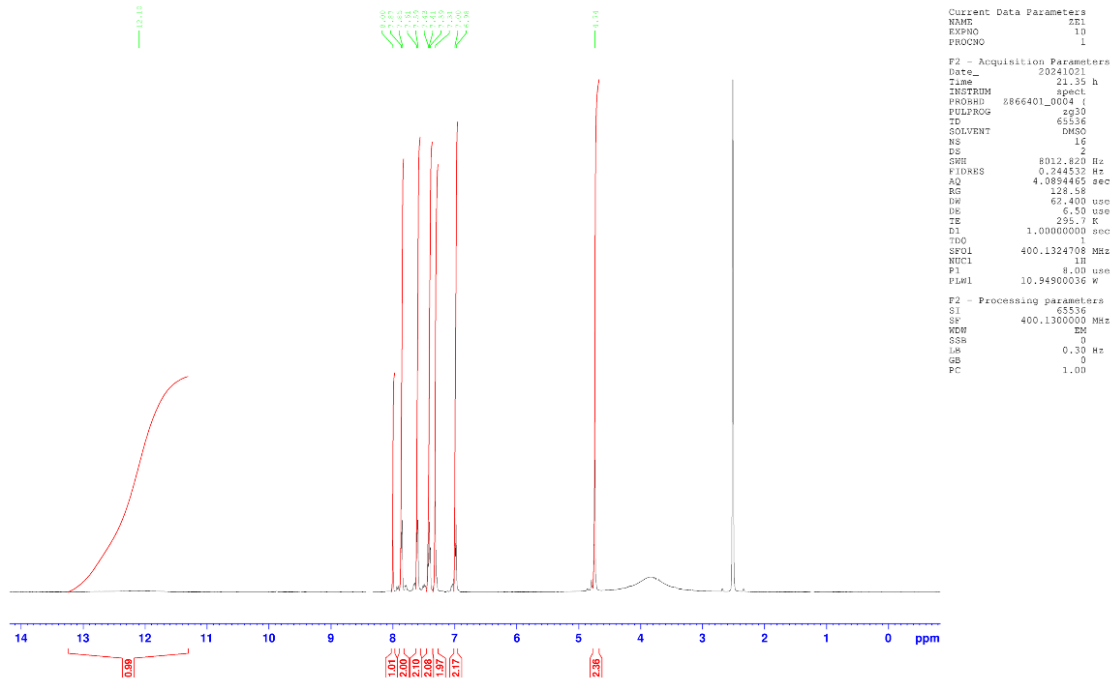
2a Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu



Şekil 5.3

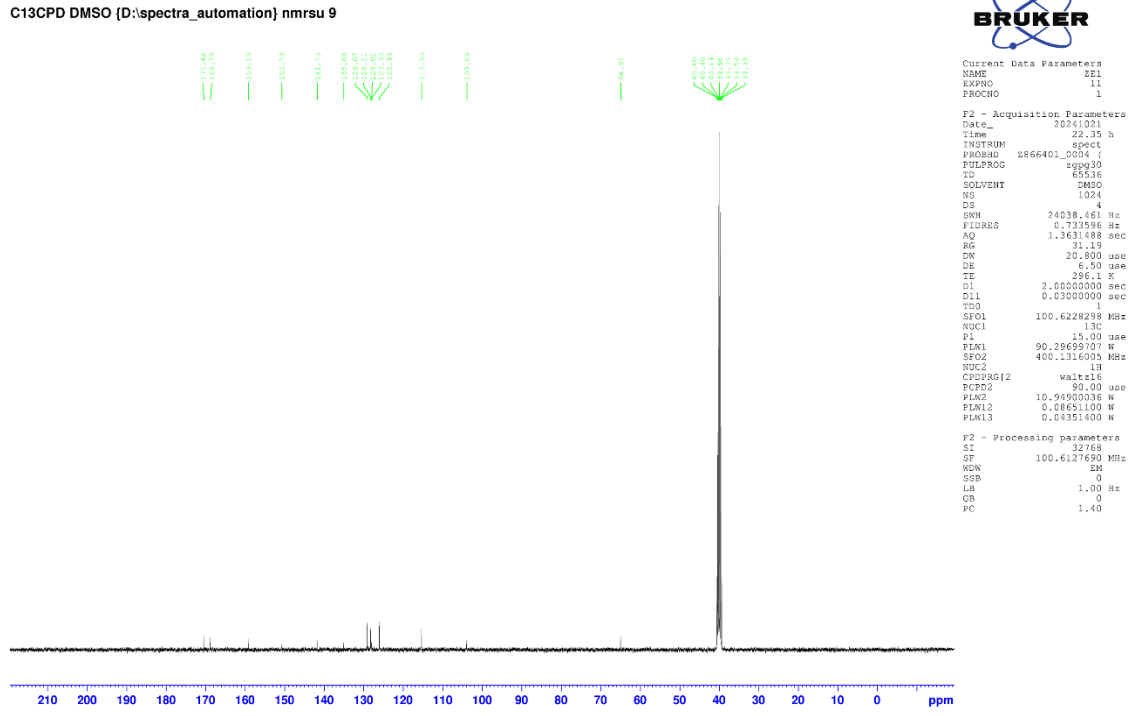
2a Bileşiği için Kaydedilen ¹H-NMR Spektrumu

PROTON DMSO (D:\spectra_automation) nmrsu 9



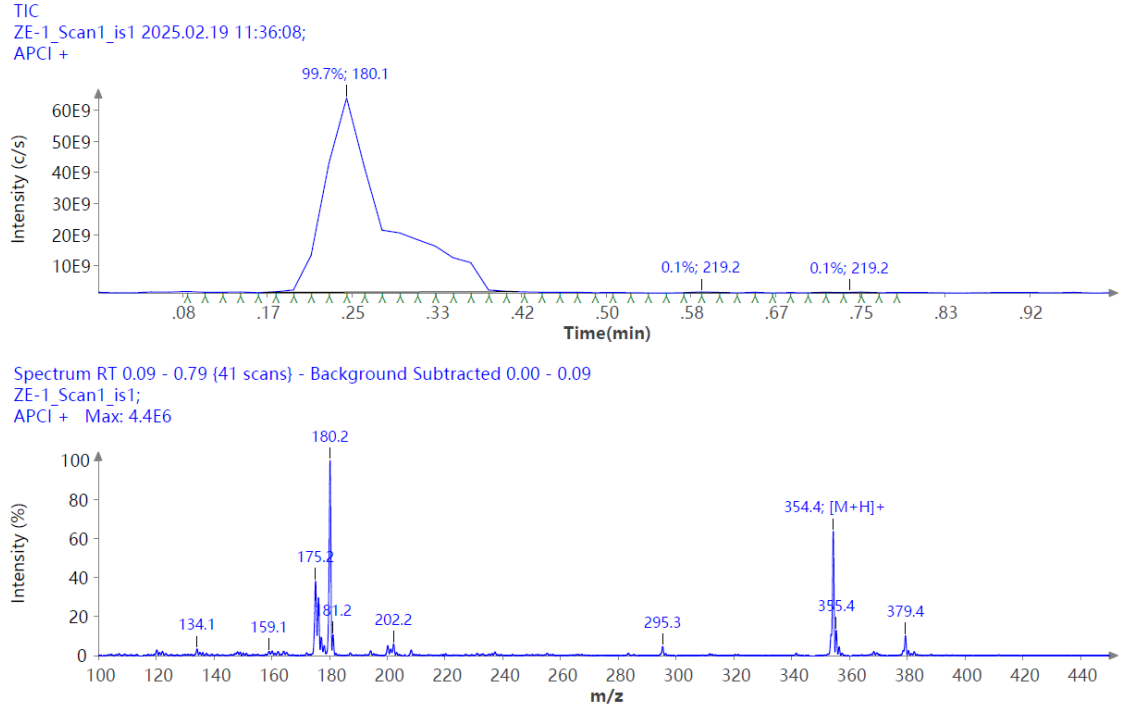
Şekil 5.4

2a Bileşiği için Kaydedilen ^{13}C -NMR Spektrumu



Şekil 5.5

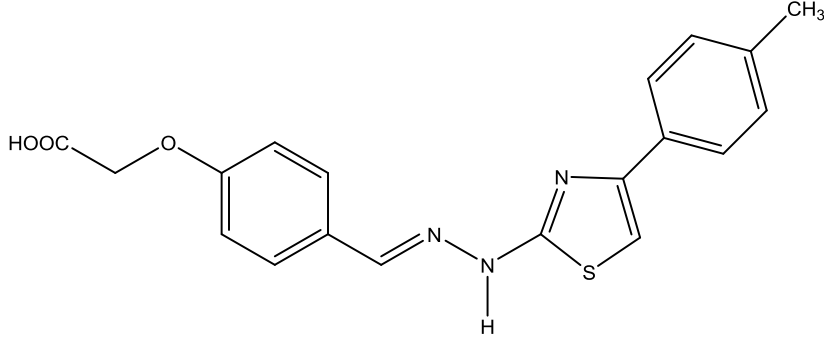
2a Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu



5.1.2 2-[4-[(2-(4-(4-Metilfenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2b)

Şekil 5.6

2-[4-[(2-(4-(4-Metilfenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2b)



Verim: %68. Deneysel E.n: 222-227 °C.

IR v (cm⁻¹): 3113, 3070 (Aromatik C-H), 2914 (Alifatik C-H), 1643 (C=O), 1606-1402 (C=C, C=N), 1252-1061 (C-O, C-N), 822-736 (benzen halkası yüzey dışı titreşim frekansları)

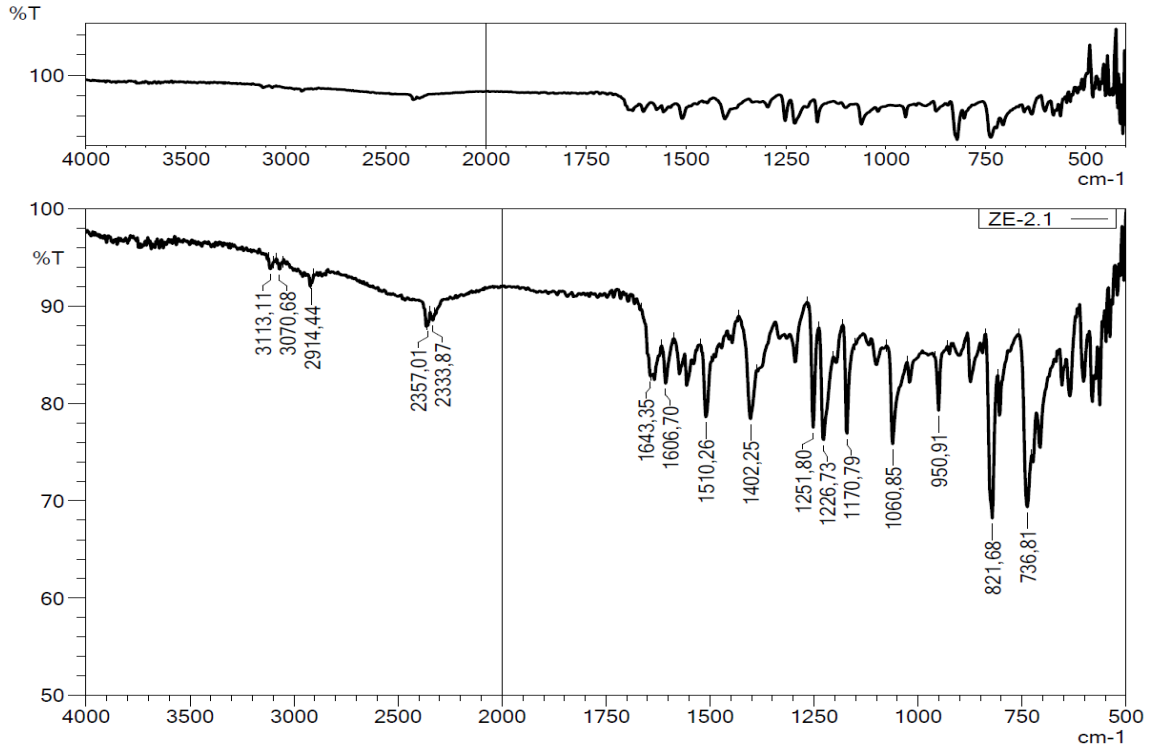
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 2.31 (s, 3H, CH₃), 4.73 (s, 2H, CH₂), 6.97 (d, 2H, J:7.77 Hz, fenoksi C_{2,6}-H), 7.19-7.21 (m, 3H, tiyazol C₅-H ve fenil C_{3,5}-H), 7.58 (d, 2H, J:7.77 Hz, fenil C_{2,6}-H), 7.74 (d, 2H, J:7.53 Hz, fenoksi C_{3,5}-H), 7.97 (s, 1H, CH=N), 12.42 (NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 21.27, 64.97, 102.92, 115.14, 115.34, 125.92, 127.71, 128.01, 128.16, 129.29, 129.62, 132.55, 137.21, 141.49, 142.52, 150.99, 159.14, 159.60, 168.69, 170.45, 178.13.

APCI (m/z): [M+H]⁺: C₁₉H₁₇N₃O₃S için kuramsal değer: 368.42, deneysel değer: 368.4.

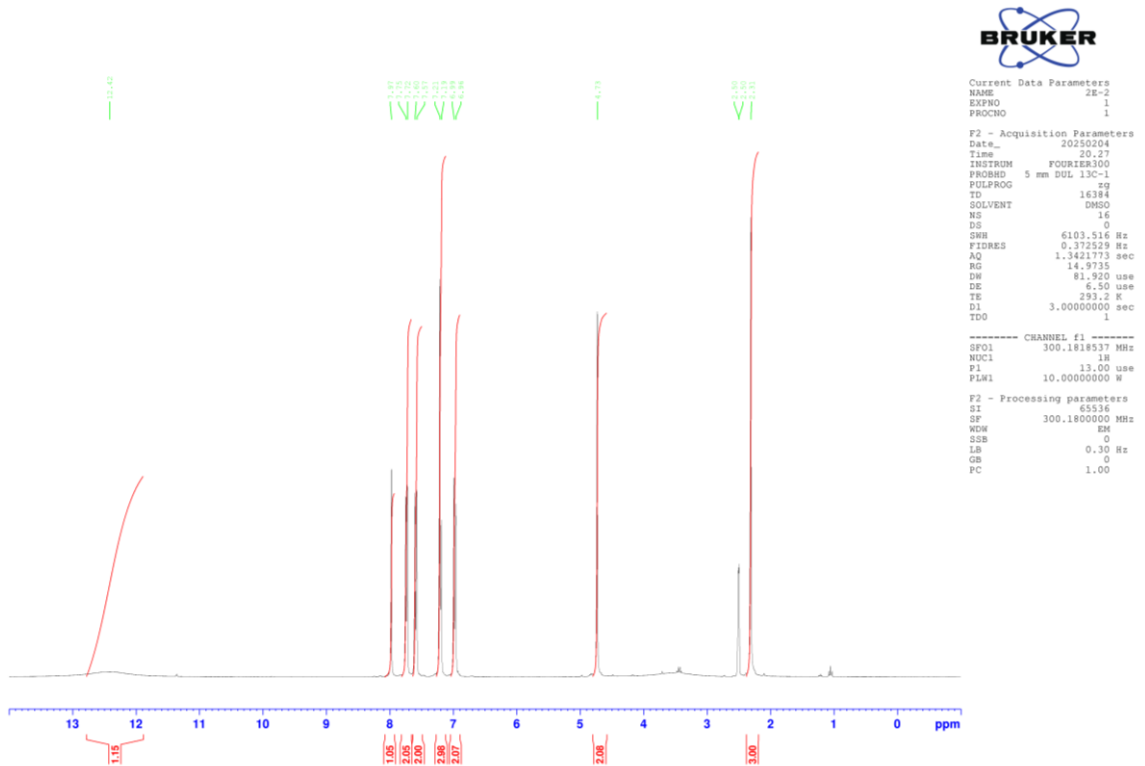
Şekil 5.7

2b Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu



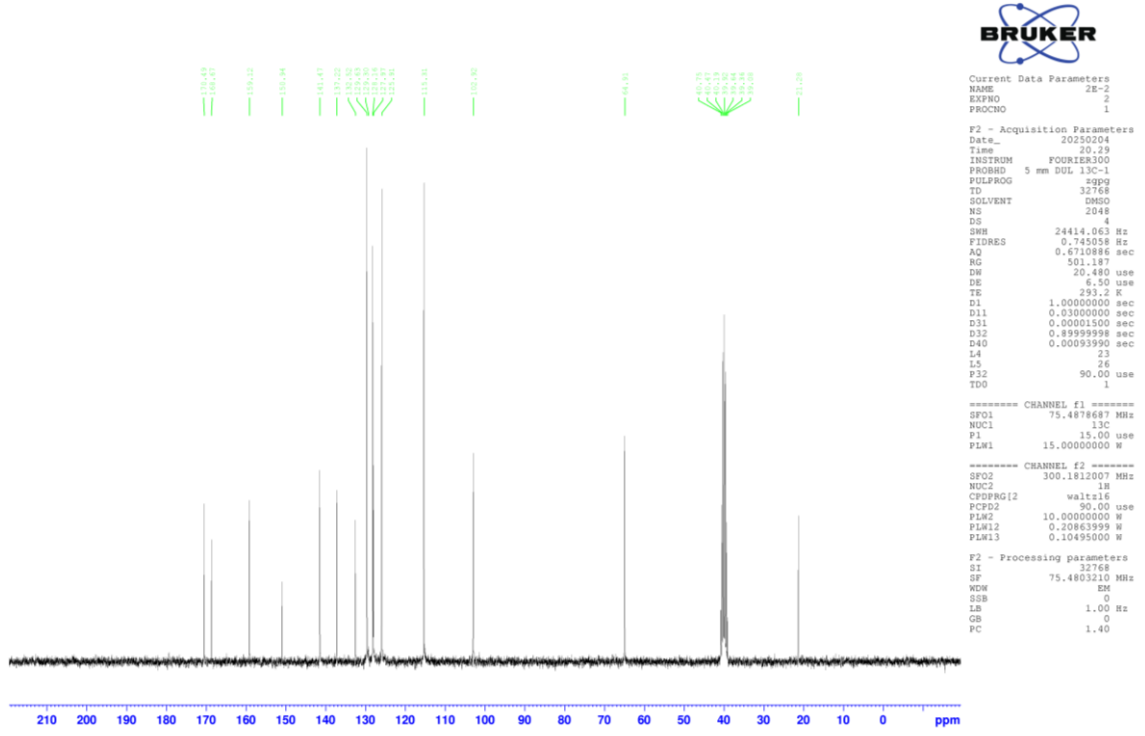
Şekil 5.8

2b Bileşiği için Kaydedilen ¹H-NMR Spektrumu



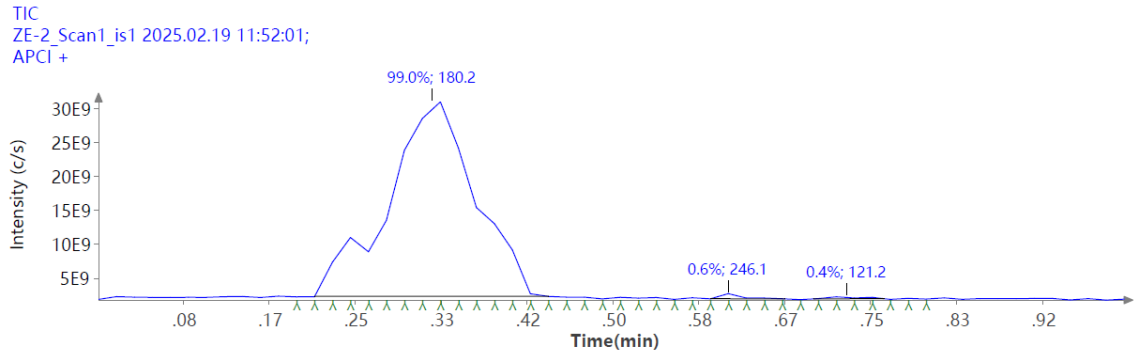
Şekil 5.9

2b Bileşiği için Kaydedilen ^{13}C -NMR Spektrumu

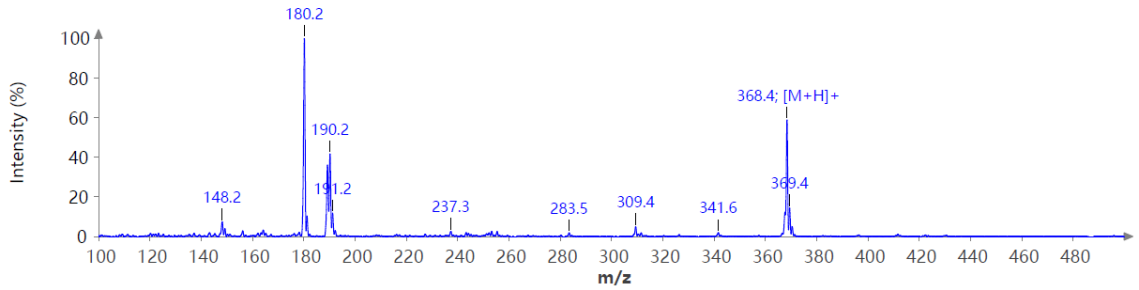


Şekil 5.10

2b Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu



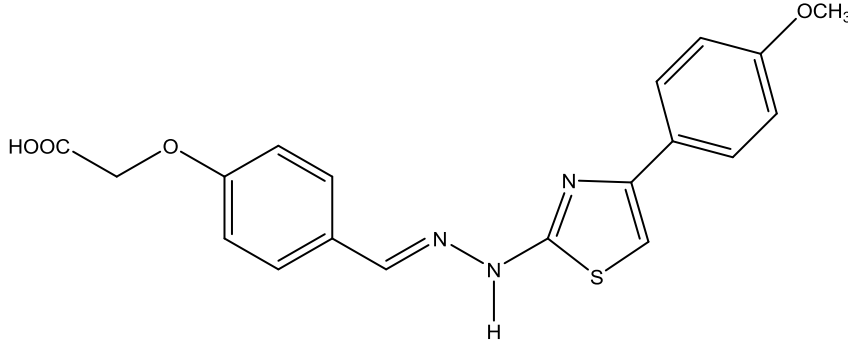
Spectrum RT 0.19 - 0.80 {36 scans} - Background Subtracted 0.00 - 0.19
ZE-2_Scan1_is1;
APCI + Max: 6E6



5.1.3 2-[4-[(2-(4-(4-Metoksifenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2c)

Şekil 5.11

2-[4-[(2-(4-(4-Metoksifenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2c)



Verim: %61. Deneysel E.n: 252-258 °C.

IR v (cm⁻¹): 3115, 3003 (Aromatik C-H), 2938, 2839 (Alifatik C-H), 1634 (C=O), 1608-1404 (C=C, C=N), 1298-1063 (C-O, C-N), 947-709 (benzen halkası yüzey dışı titreşim frekansları)

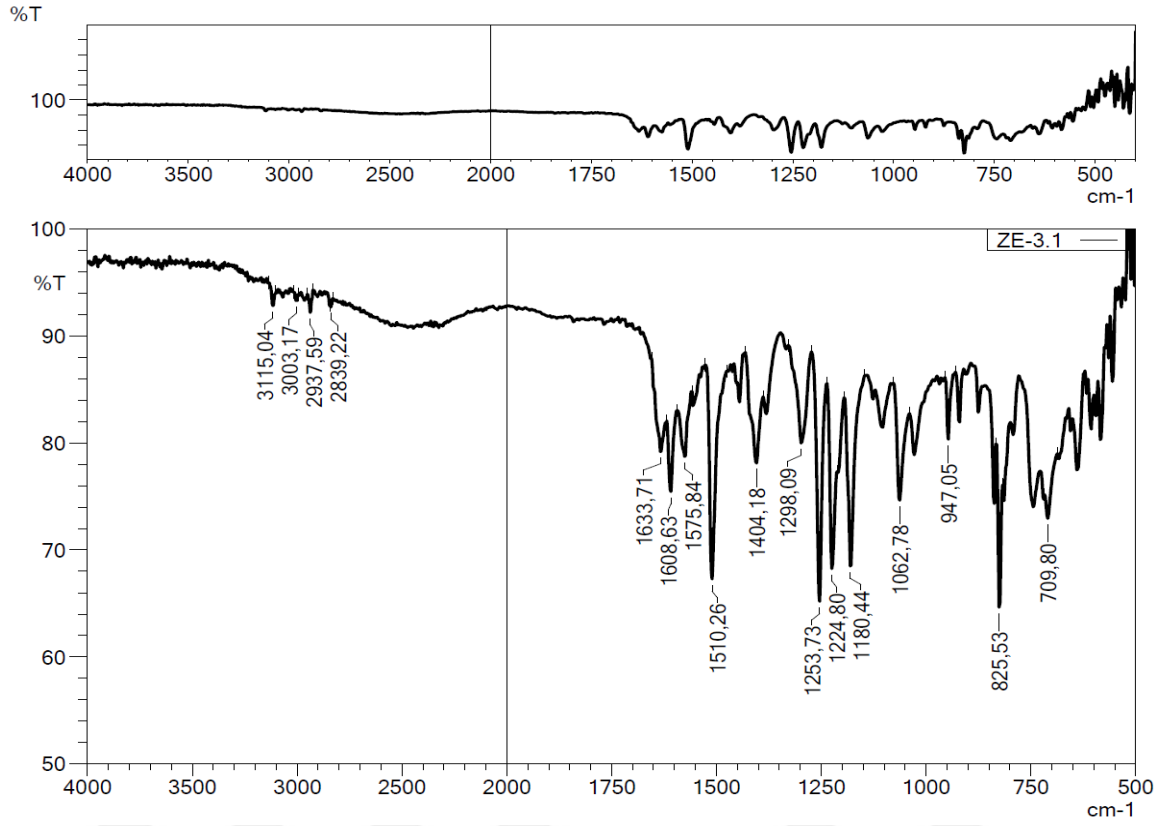
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆), δ: 3.79 (s, 3H, OCH₃), 4.74 (s, 2H, CH₂), 6.96-6.99 (m, 4H, J:7.77 Hz, fenoksi C_{2,6}-H ve fenil C_{3,5}-H), 7.13 (s, 1H, tiyazol C₅-H), 7.60 (d, 2H, J:7.51 Hz, fenil C_{2,6}-H), 7.78 (d, 2H, J:7.51 Hz, fenoksi C_{3,5}-H), 7.98 (s, 1H, CH=N), 12.17 (NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-d₆), δ: 55.58, 64.97, 101.71, 114.42, 115.34, 127.30, 128.02, 128.05, 128.15, 141.48, 150.71, 159.14, 159.23, 168.67, 170.45.

APCI (m/z): [M+H]⁺: C₁₉H₁₇N₃O₄S için kuramsal değer: 384.42, deneysel değer: 384.3.

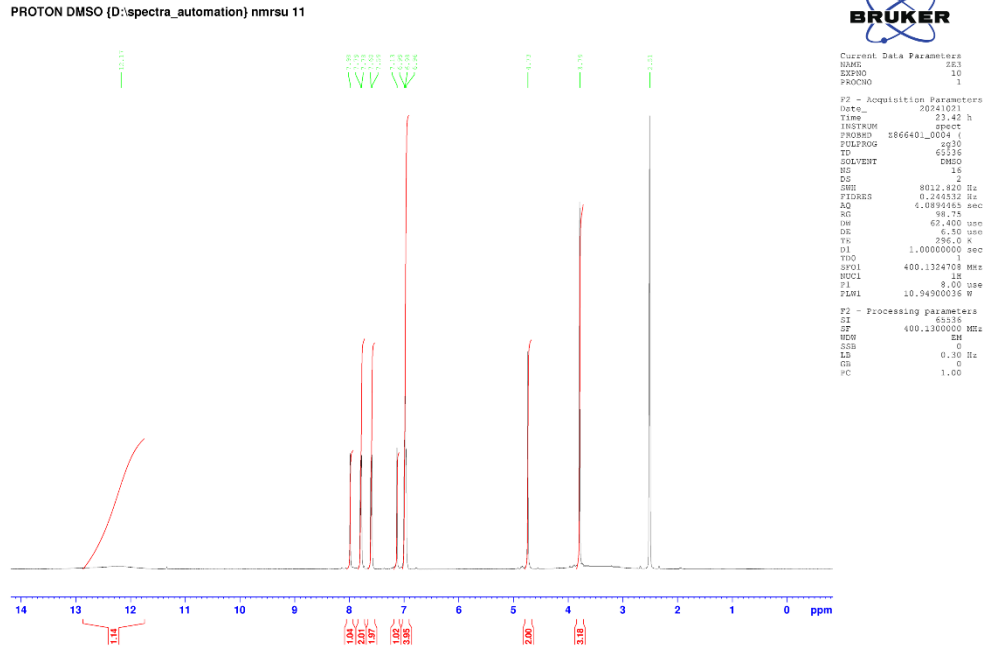
Şekil 5.12

2c Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu

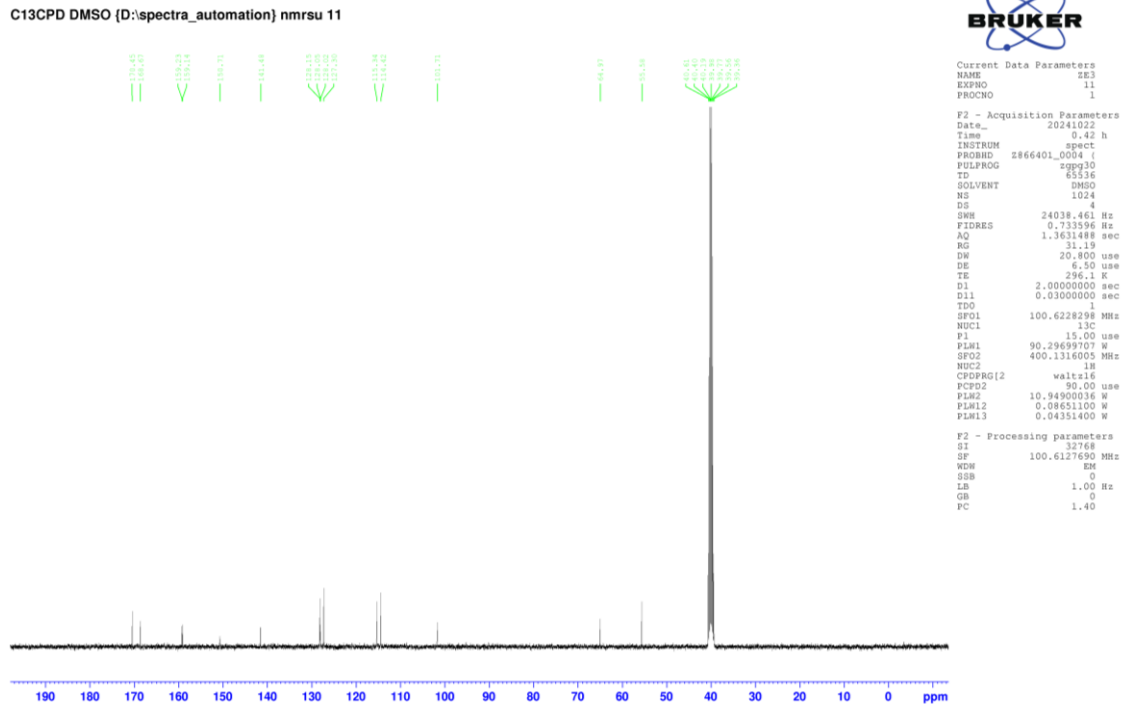


Şekil 5.13

2c Bileşiği için Kaydedilen ¹H-NMR Spektrumu

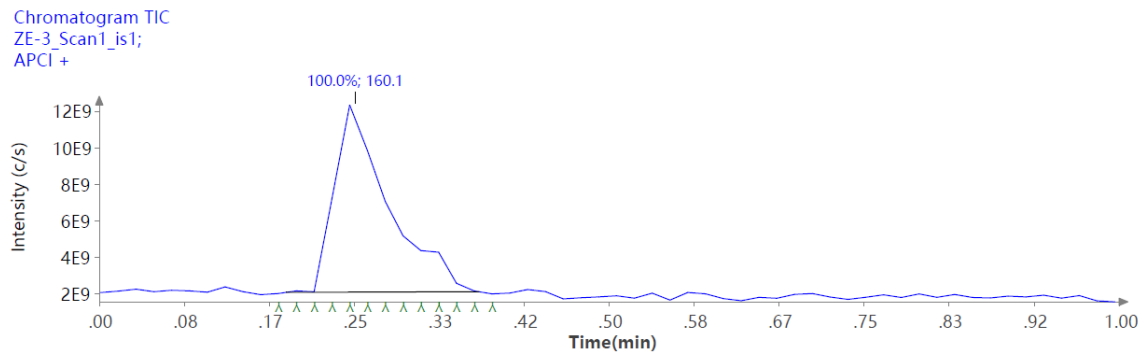


2c Bileşiği için Kaydedilen ^{13}C -NMR Spektrumu



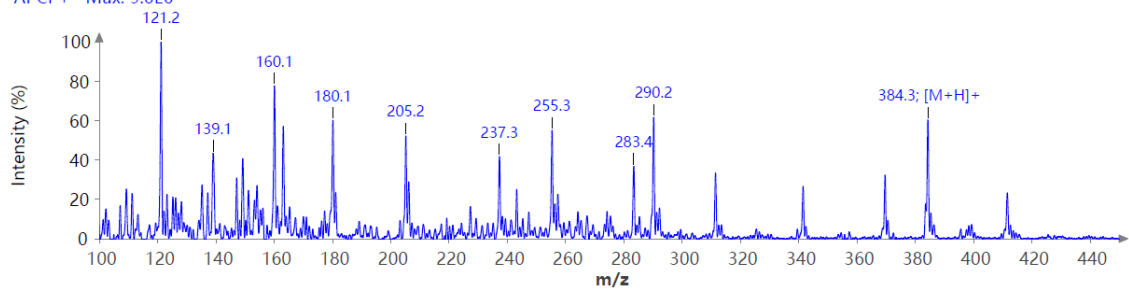
Şekil 5.15

2c Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu



Spectrum RT 0.18 - 0.39 {13 scans} - Background Subtracted 0.00 - 0.18

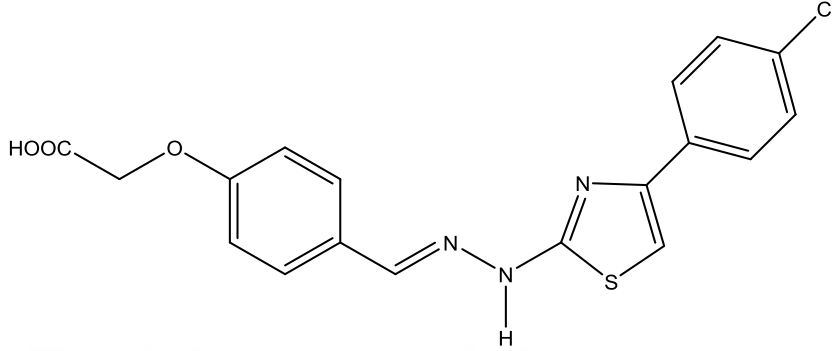
ZE-3_Scan1_is1;
APCI+ Max: 9.6E6



5.1.4 2-[4-[(2-(4-(4-Klorofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2d)

Şekil 5.16

2-[4-[(2-(4-(4-Klorofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2d)



Verim: %72. Deneysel E.n: 236-255 °C (dekompoze).

IR v (cm⁻¹): 3115 (Aromatik C-H), 2987, 2899 (Alifatik C-H), 1608-1404 (C=C, C=N), 1225-1070 (C-O, C-N), 916-704 (benzen halkası yüzey dışı titreşim frekansları)

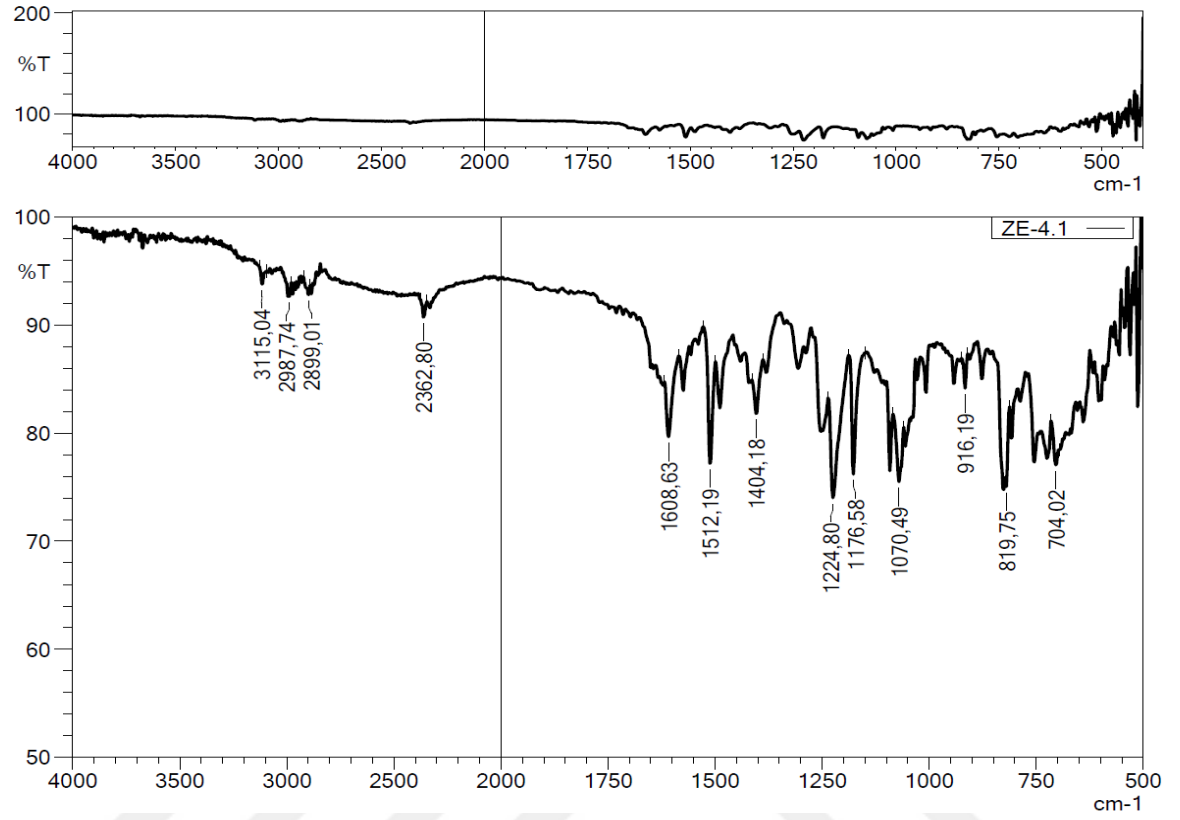
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 4.74 (s, 2H, CH₂), 6.99 (d, 2H, J:7.90 Hz, fenoksi C_{2,6}-H), 7.38 (s, 1H, tiyazol C₅-H), 7.46 (d, 2H, J:7.32 Hz, fenil C_{3,5}-H), 7.59 (d, 2H, J:7.65 Hz, fenoksi C_{3,5}-H), 7.87 (d, 2H, J:7.65 Hz, fenil C_{2,6}-H), 7.99 (s, 1H, CH=N), 12.06 (NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 64.97, 104.69, 115.35, 127.68, 127.92, 128.21, 129.08, 132.34, 134.06, 141.76, 149.72, 159.20, 168.92, 170.44.

APCI (m/z): [M+H]⁺: C₁₈H₁₄ClN₃O₃S için kuramsal değer: 388.84, deneysel değer: 388.5.

Şekil 5.17

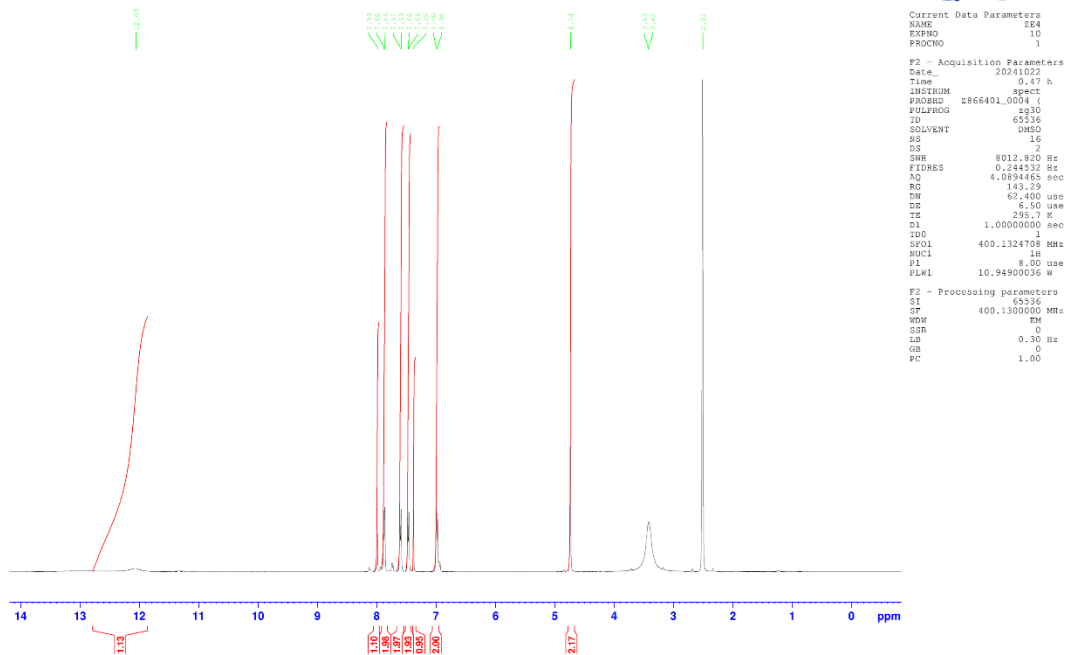
2d Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu



Şekil 5.18

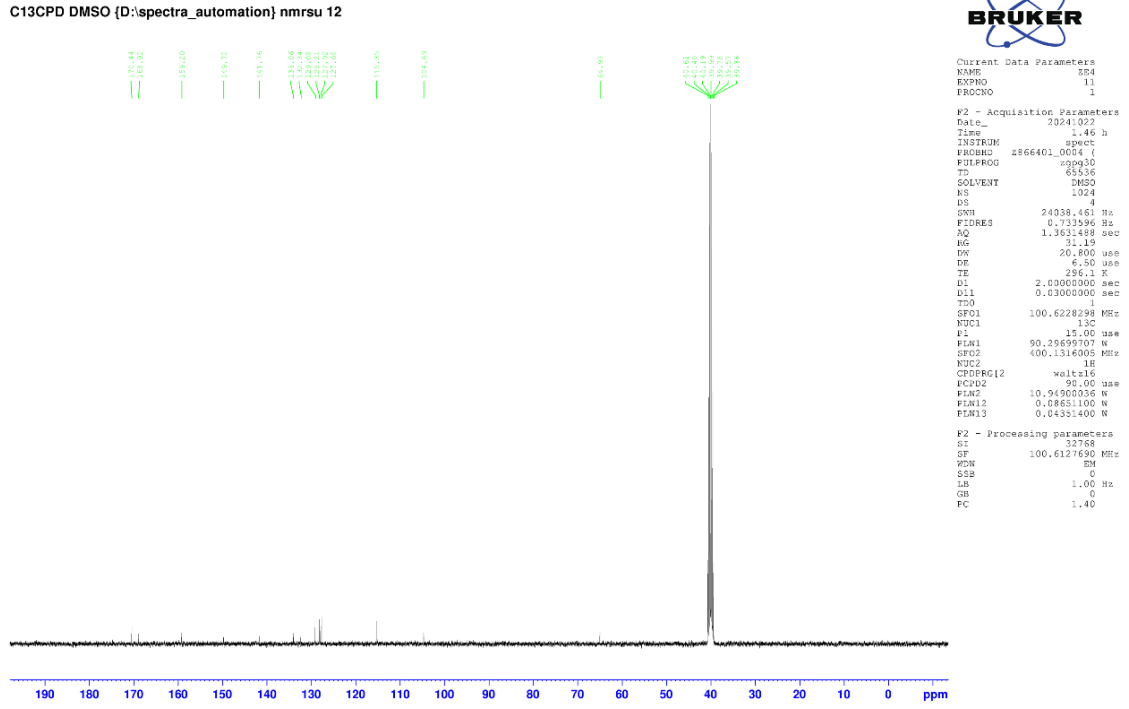
2d Bileşiği için Kaydedilen ¹H-NMR Spektrumu

PROTON DMSO {D:\spectra_automation} nmrsu 12



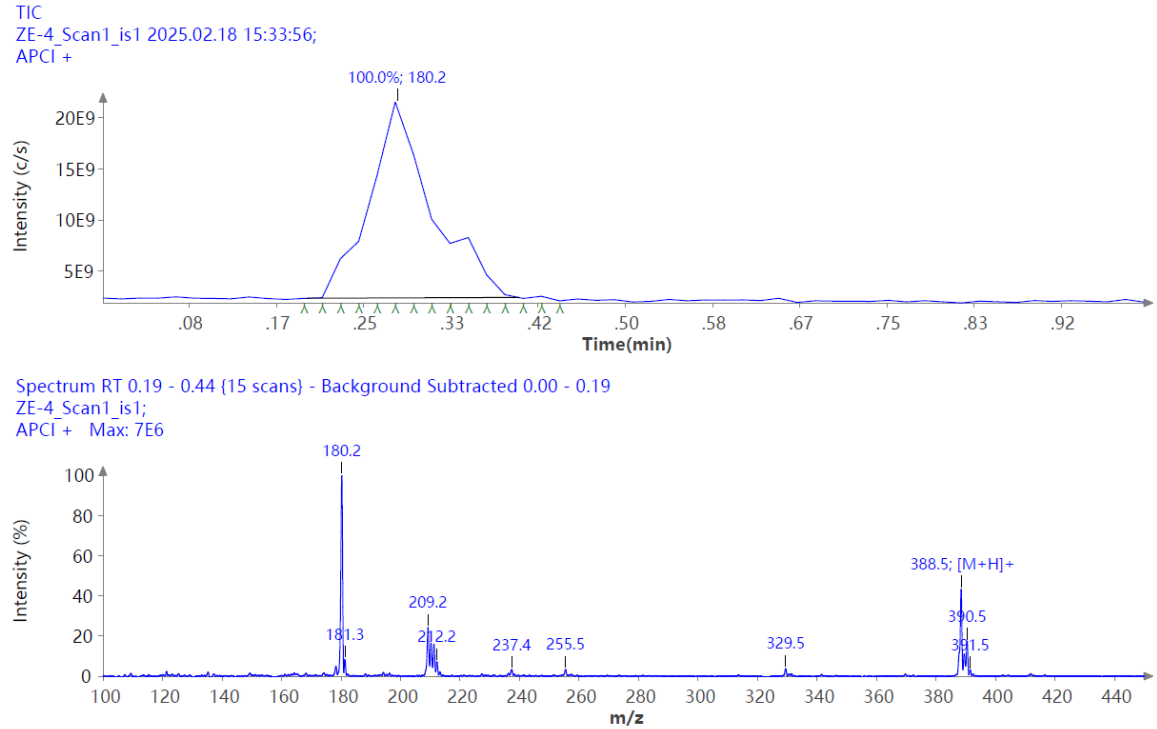
Şekil 5.19

2d Bileşiği için Kaydedilen ^{13}C -NMR Spektrumu



Şekil 5.20

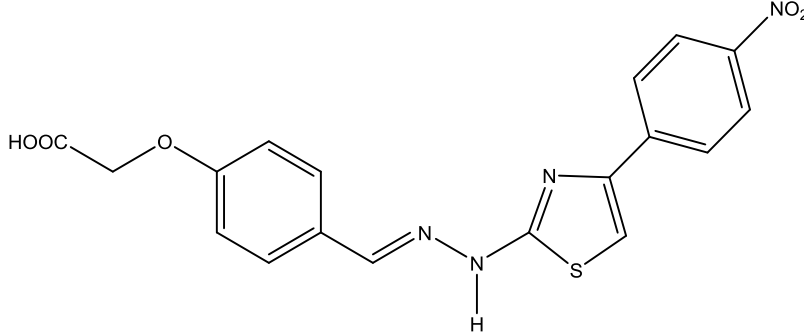
2d Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu



5.1.5 2-[4-[(2-(4-(4-Nitrofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2e)

Şekil 5.21

2-[4-[(2-(4-(4-Nitrofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2e)



Verim: %68. Deneysel E.n: 259-265 °C.

IR ν (cm⁻¹): 3126, 3001 (Aromatik C-H), 2910 (Alifatik C-H), 1599-1344 (C=C, C=N), 1242-1051 (C-O, C-N), 850-708 (benzen halkası yüzey dışı titreşim frekansları).

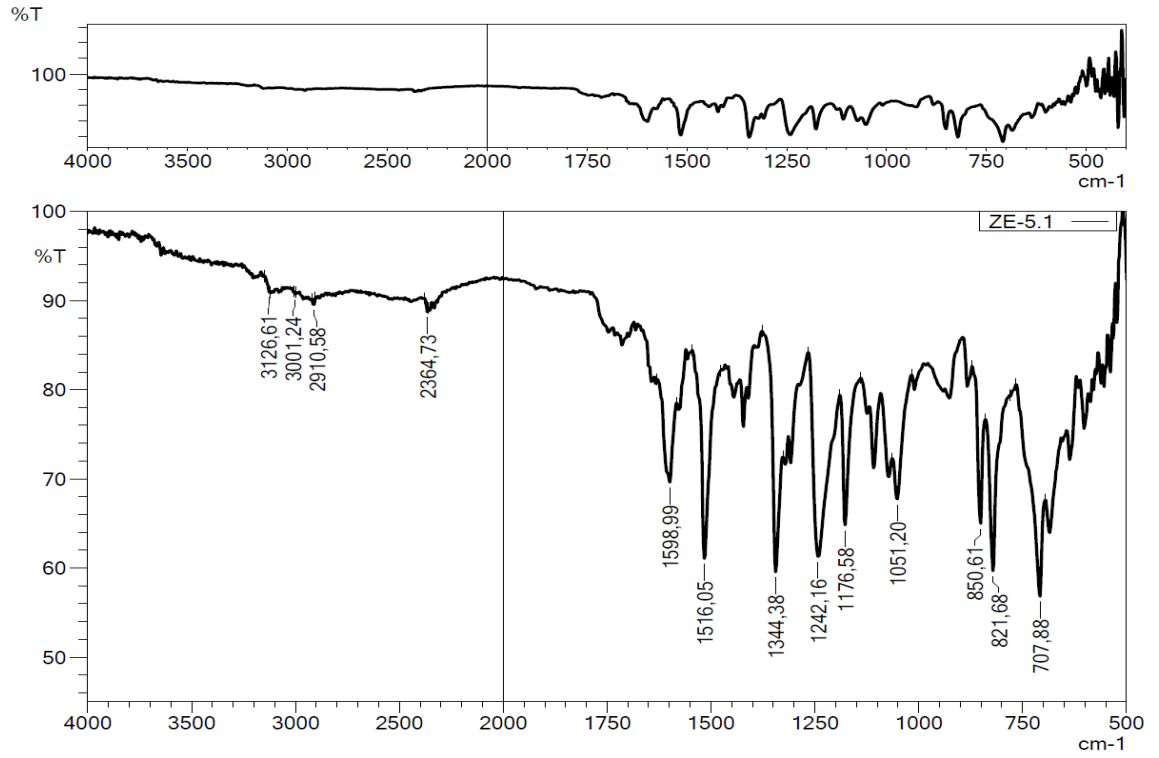
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 4.74 (s, 2H, CH₂), 6.99 (d, 2H, J:8.09 Hz, fenoksi C_{2,6}-H), 7.61 (d, 2H, J:8.09 Hz, fenoksi C_{3,5}-H), 7.71 (s, 1H, tiyazol C₅-H), 8.01 (s, 1H, CH=N), 8.11 (d, 2H, J:8.63 Hz, fenil C_{2,6}-H), 8.28 (d, 2H, J:8.17 Hz, fenil C_{3,5}-H), 12.17 (NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 64.97, 108.81, 115.36, 124.58, 126.79, 127.82, 128.29, 141.18, 142.16, 146.65, 148.97, 159.28, 169.21, 170.43.

APCI (*m/z*): [M+H]⁺: C₁₈H₁₄N₄O₅S için kuramsal değer: 399.39, deneysel değer: 399.3.

Şekil 5.22

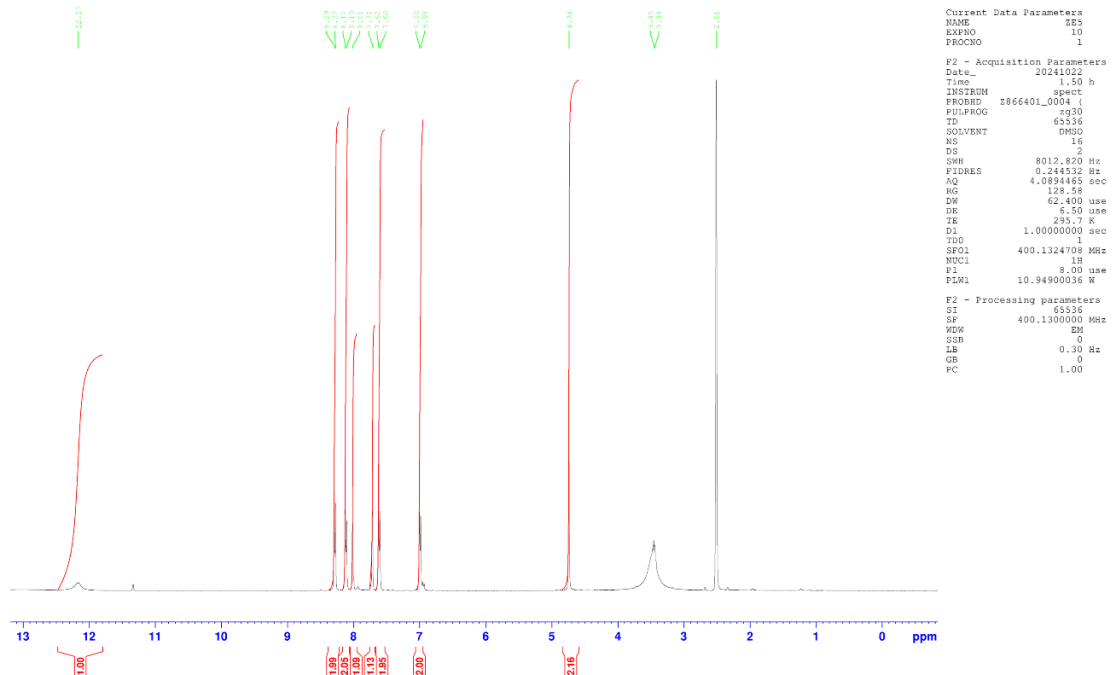
2e Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu



Şekil 5.23

2e Bileşiği için Kaydedilen ¹H-NMR Spektrumu

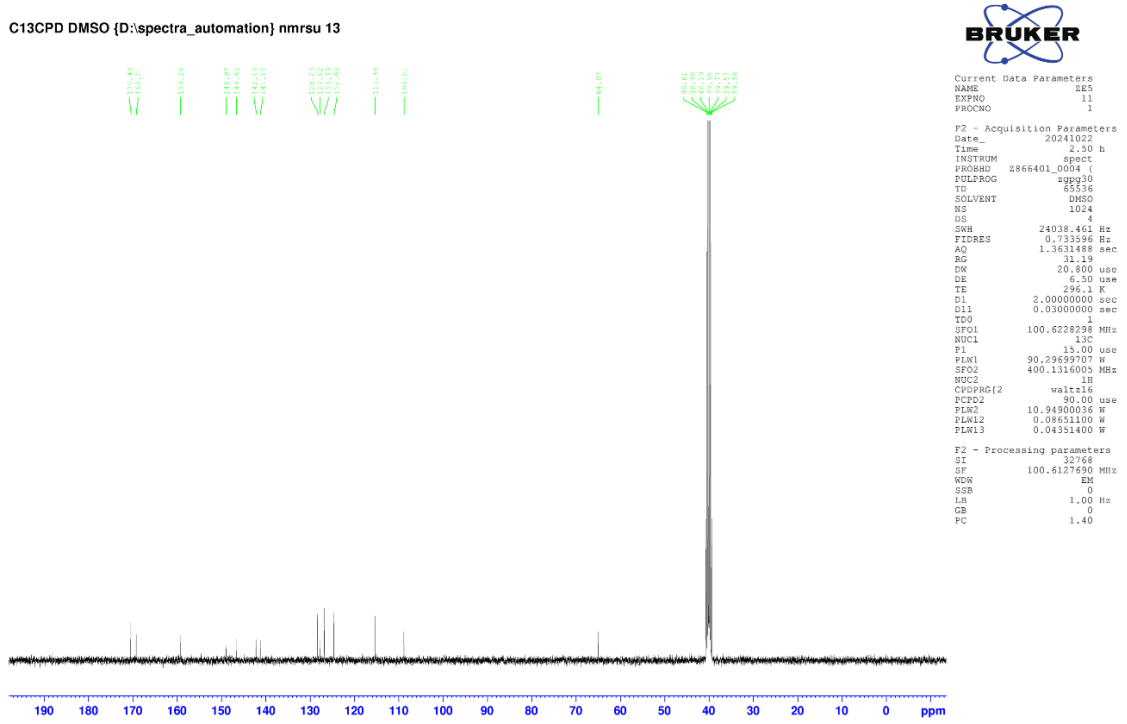
PROTON DMSO (D:\spectra_automation) nmrsu 13



Şekil 5.24

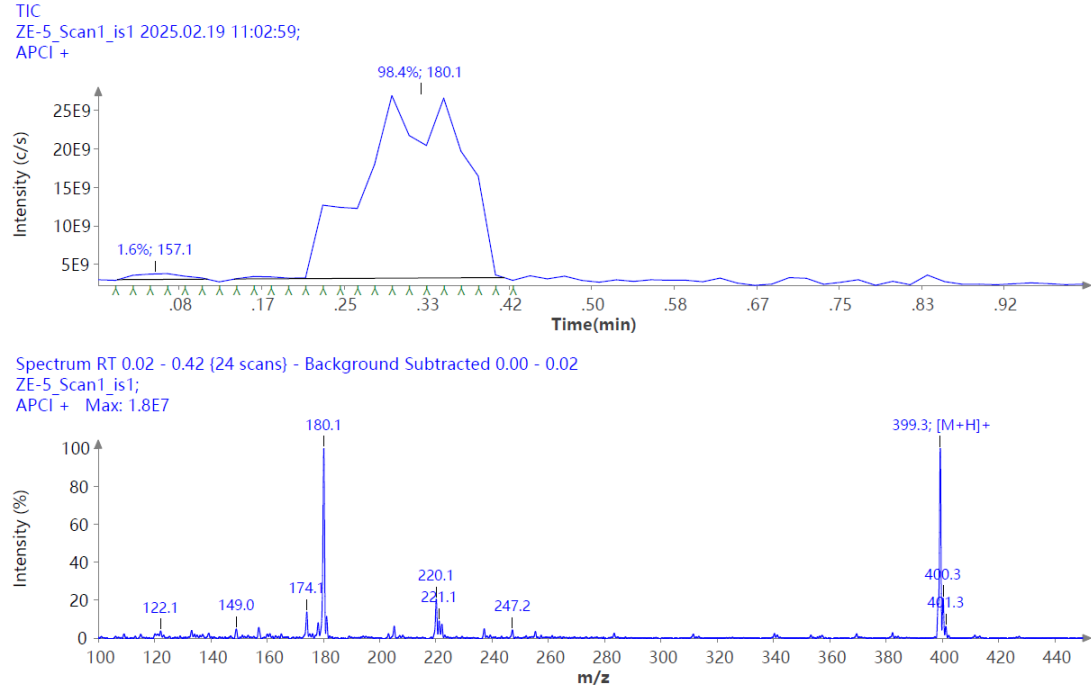
2e Bileşiği için Kaydedilen ^{13}C -NMR Spektrumu

C13CPD DMSO {D:\spectra_automation} nmrsu 13



Şekil 5.25

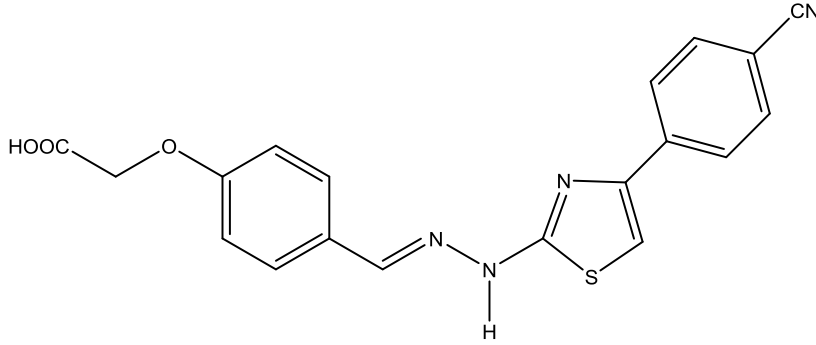
2e Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu



5.1.6 2-[4-[(2-(4-(4-Siyanofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2f)

Şekil 5.26

2-[4-[(2-(4-(4-Siyanofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2f)



Verim: %59. Deneysel E.n: 223-224 °C.

IR v (cm⁻¹): 3103 (Aromatik C-H), 2986, 2880 (Alifatik C-H), 1714 (C=O), 1605-1404 (C=C, C=N), 1258-1060 (C-O, C-N), 833-737 (benzen halkası yüzey dışı titreşim frekansları)

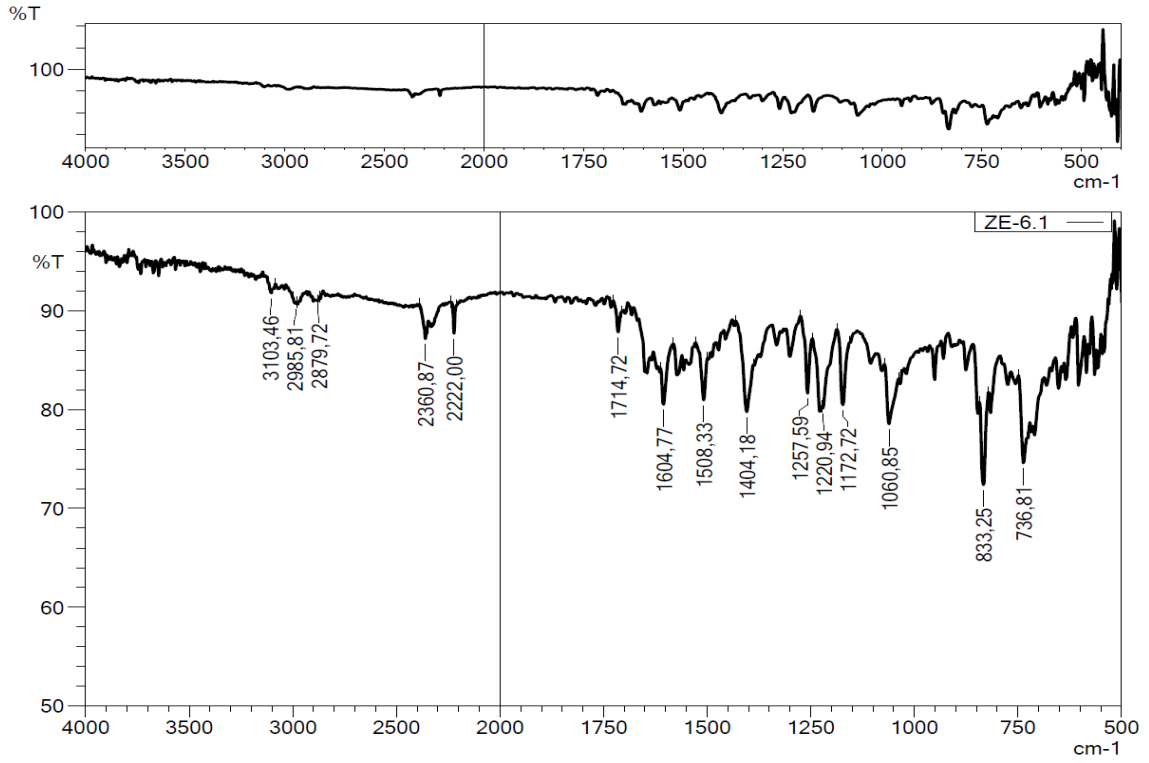
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 4.74 (s, 2H, CH₂), 6.99 (d, 2H, J:7.74 Hz, fenoksi C_{2,6}-H), 7.59-7.62 (m, 3H, tiyazol C₅-H ve fenil C_{3,4}-H), 7.86 (d, 2H, J:7.98 Hz, fenoksi C_{3,5}-H), 8.01-8.04 (m, 3H, fenil C_{2,6}-H), 8.00 (s, 1H, CH=N), 12.13 (NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 64.97, 107.78, 110.01, 115.13, 115.35, 119.47, 126.57, 127.84, 129.29, 133.15, 139.26, 142.06, 149.25, 159.25, 169.11, 170.43.

APCI (m/z): [M+H]⁺: C₁₉H₁₄N₄O₃S için kuramsal değer: 379.40, deneysel değer: 379.3.

Şekil 5.27

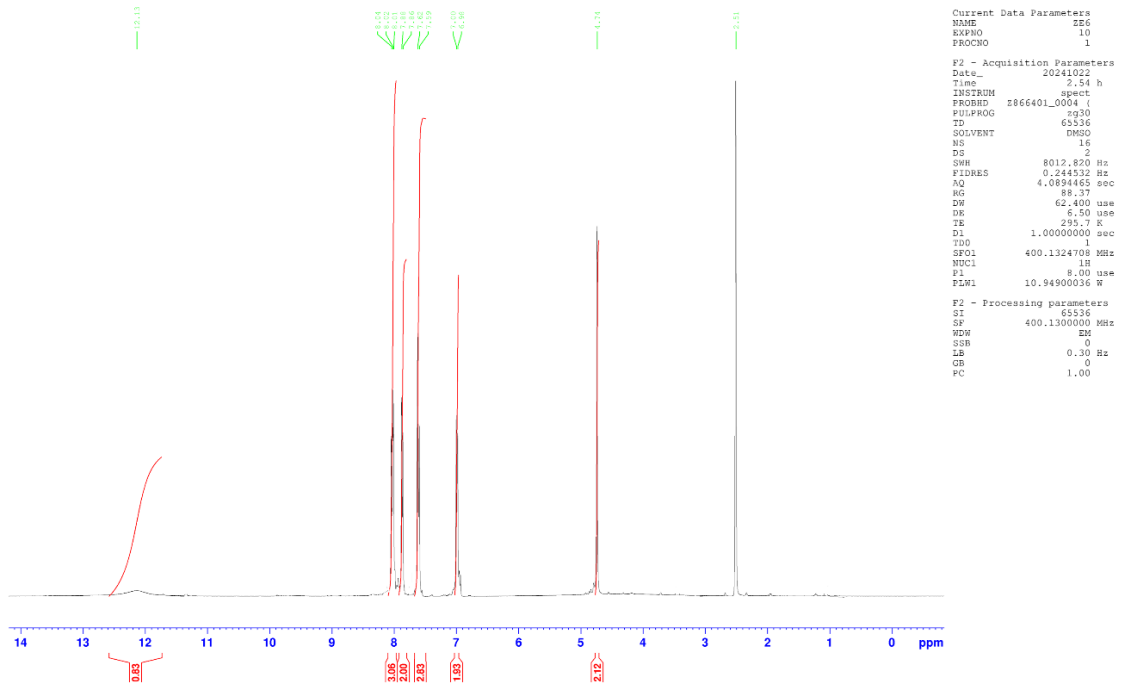
2f Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu



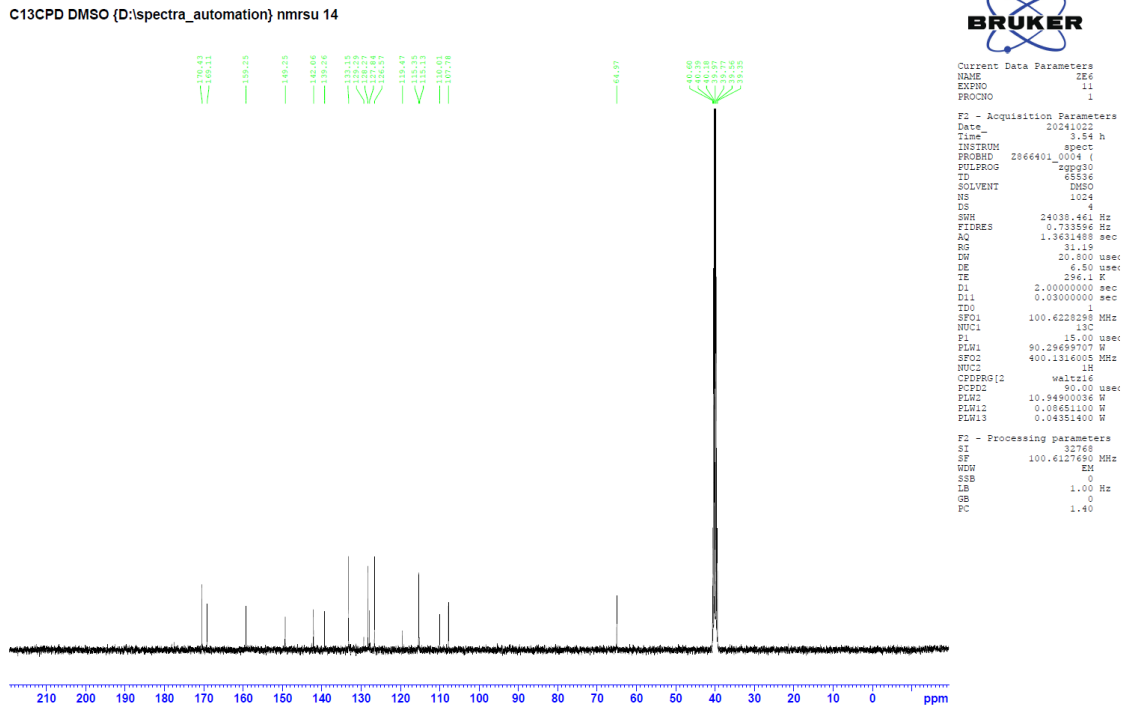
Şekil 5.28

2f Bileşiği için Kaydedilen ¹H-NMR Spektrumu

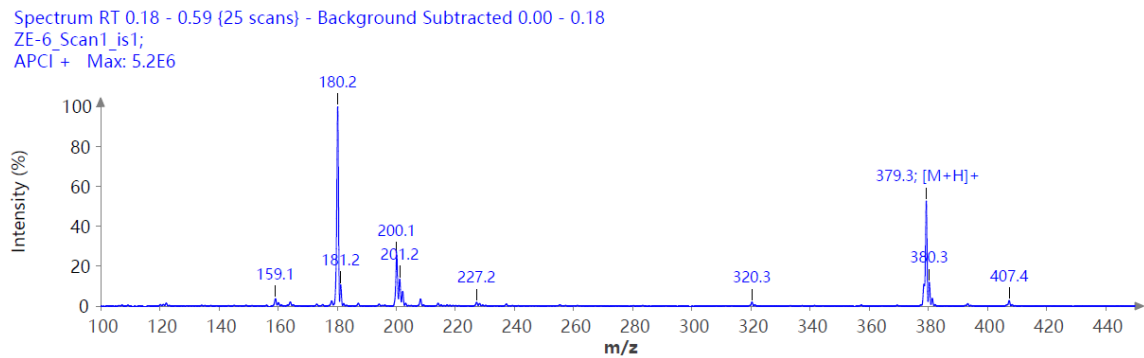
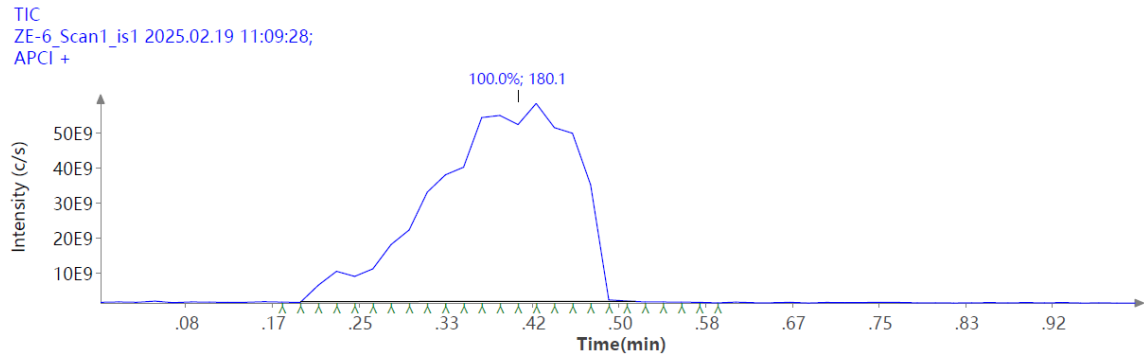
PROTON DMSO [D:\spectra_automation] nmrsu 14



2f Bileşiği için Kaydedilen ¹³C-NMR Spektrumu



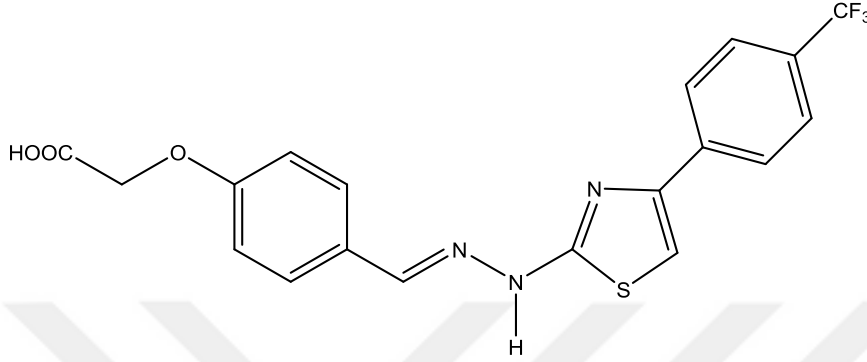
2f Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu



5.1.7 2-[4-[(2-(4-(4-Triflorometilfenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2g)

Şekil 5.31

2-[4-[(2-(4-(4-Triflorometilfenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2g)



Verim: %71. Deneysel E.n: 255-257 °C.

IR v (cm⁻¹): 3647 (O-H), 2972 (Alifatik C-H), 1506-1406 (C=C, C=N), 1312-1057 (C-O, C-N), 829-723 (yüzey dışı titreşim frekansları)

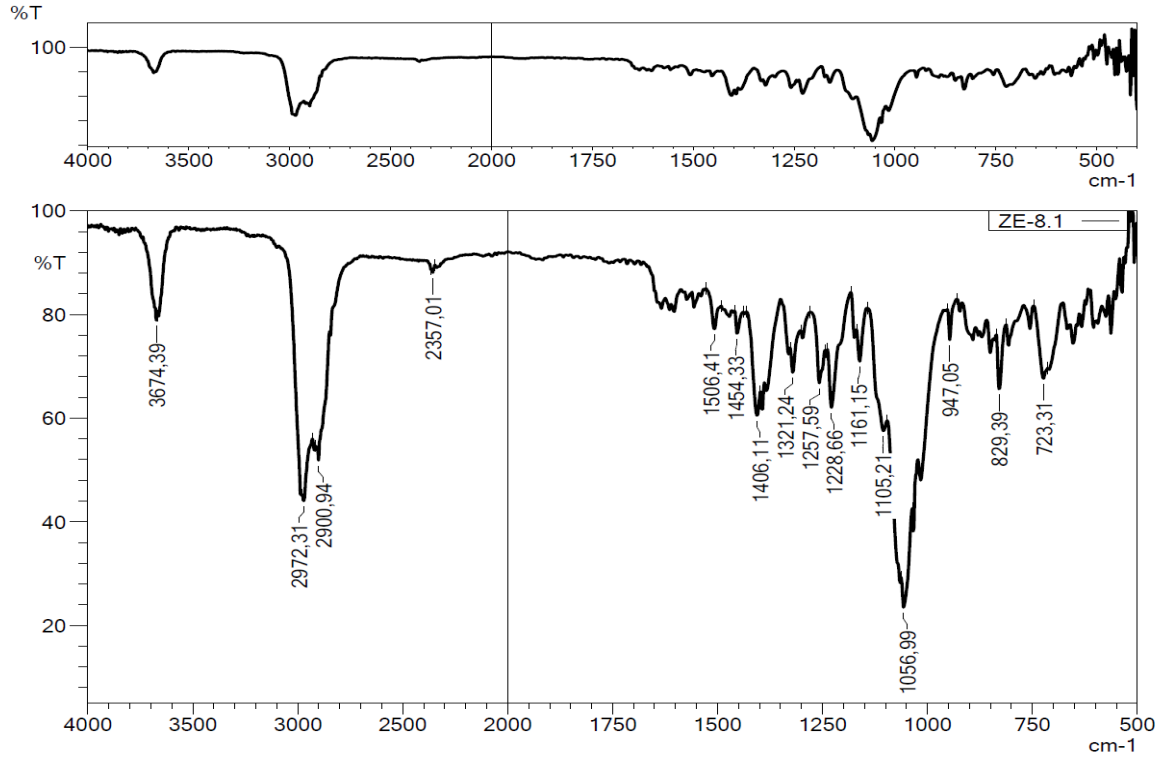
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 4.74 (s, 2H, CH₂), 6.99 (d, 2H, J:8.08 Hz, fenoksi C_{2,6}-H), 7.55 (s, 1H, tiyazol C₅-H), 7.60 (d, 2H, J:8.47 Hz, fenil C_{3,5}-H), 7.76 (d, 2H, J:8.47 Hz, fenoksi C_{3,5}-H), 8.00 (s, 1H, CH=N), 8.06 (d, 2H, J:7.76 Hz, fenil C_{2,6}-H), 12.14 (NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 64.97, 106.68, 115.35, 123.48, 126.02, 126.06, 126.18, 126.49, 127.82, 127.89, 128.13, 128.24, 138.87, 141.93, 149.44, 159.23, 169.08, 170.44.

APCI (m/z): [M+H]⁺: C₁₈H₁₅N₃O₃S için kuramsal değer: 354.39, deneysel değer: 354.4.

Şekil 5.32

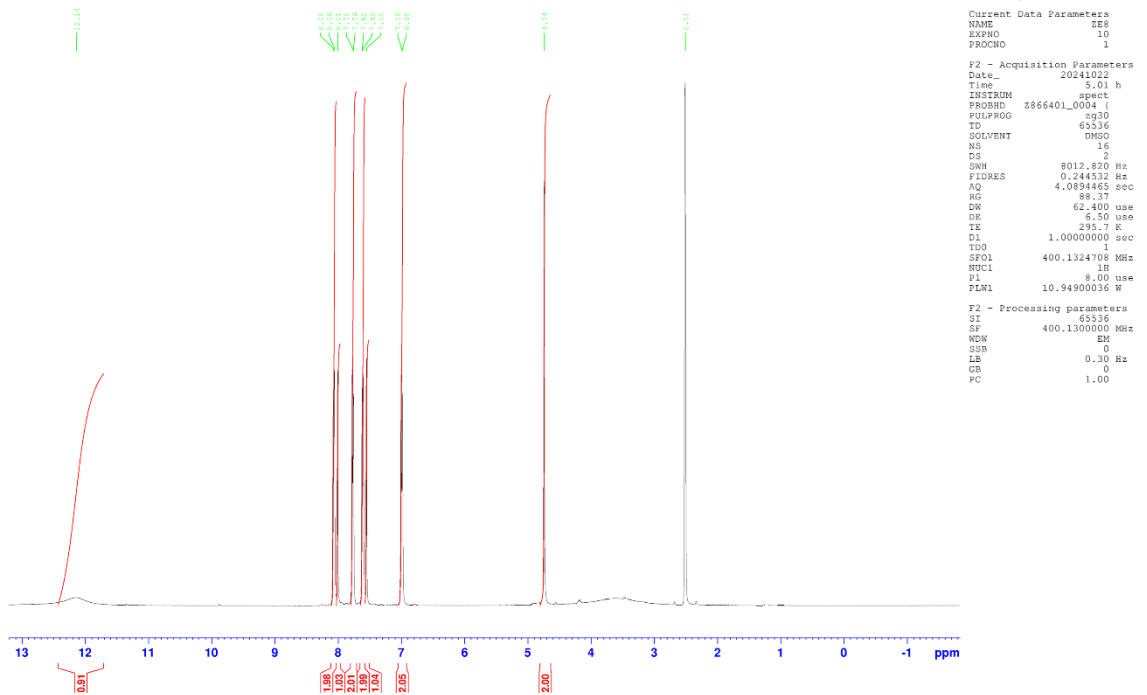
2g Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu



Şekil 5.33

2g Bileşiği için Kaydedilen ¹H-NMR Spektrumu

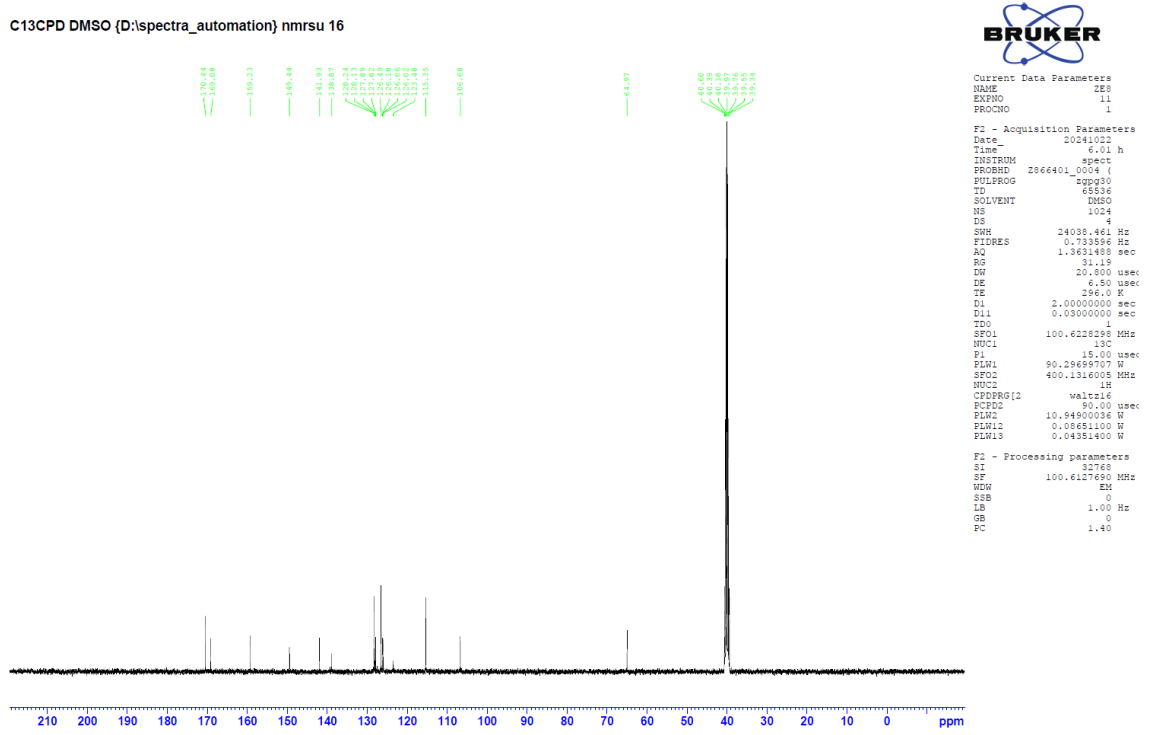
PROTON DMSO (D:\spectra_automation) nmrsu 16



Şekil 5.34

2g Bileşiği için Kaydedilen ^{13}C -NMR Spektrumu

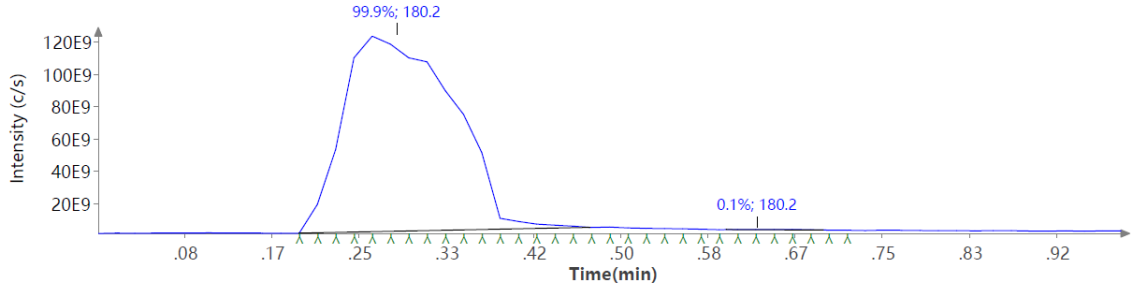
C13CPD DMSO {D:\spectra_automation} nmrsu 16



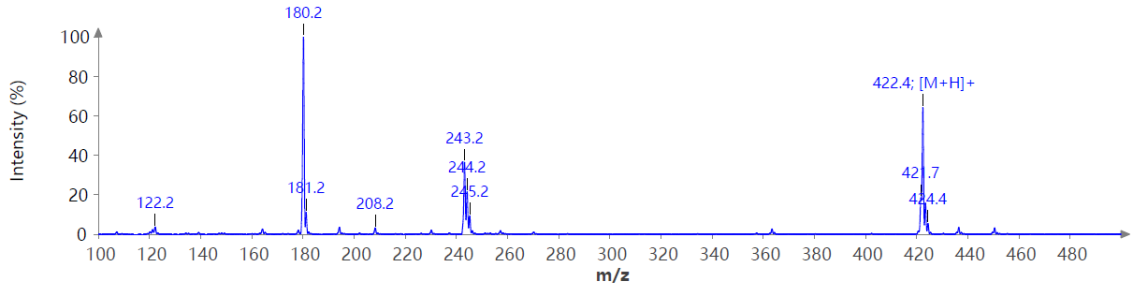
Şekil 5.35

2g Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu

TIC
ZE-8_Scan1_is1 2025.02.19 11:49:22;
APCI +

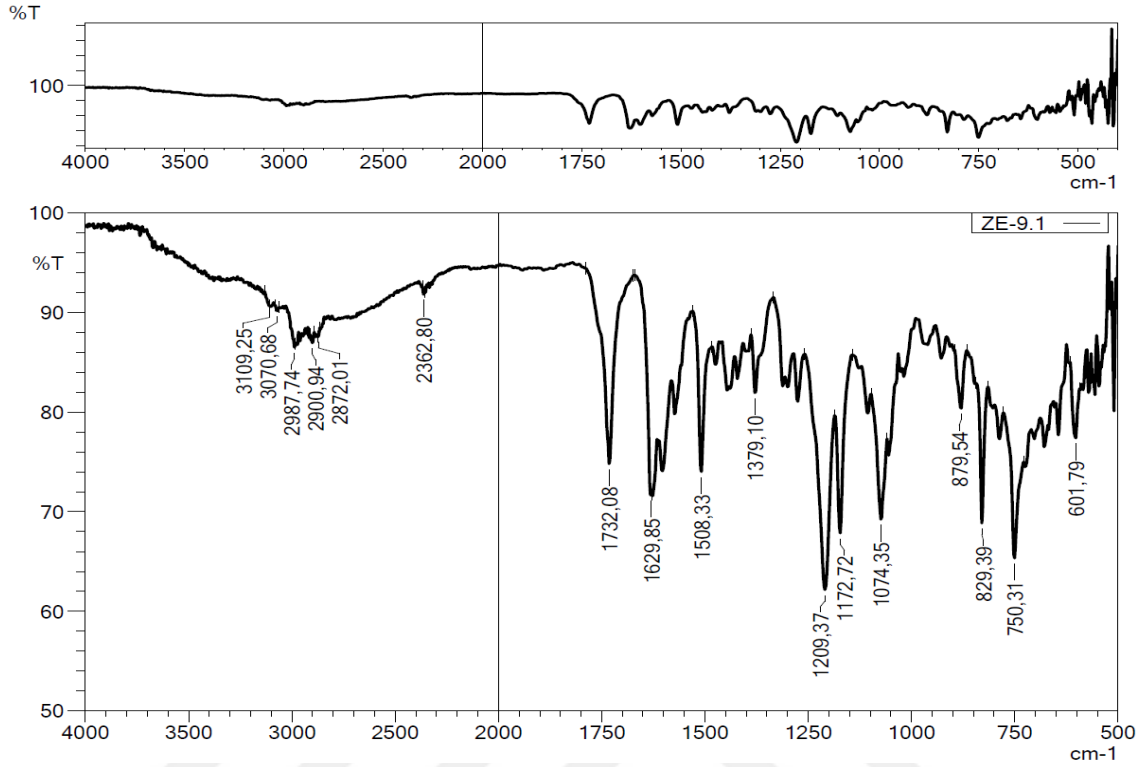


Spectrum RT 0.19 - 0.72 (31 scans) - Background Subtracted 0.00 - 0.19
ZE-8_Scan1_is1;
APCI + Max: 4.9E6



Şekil 5.37

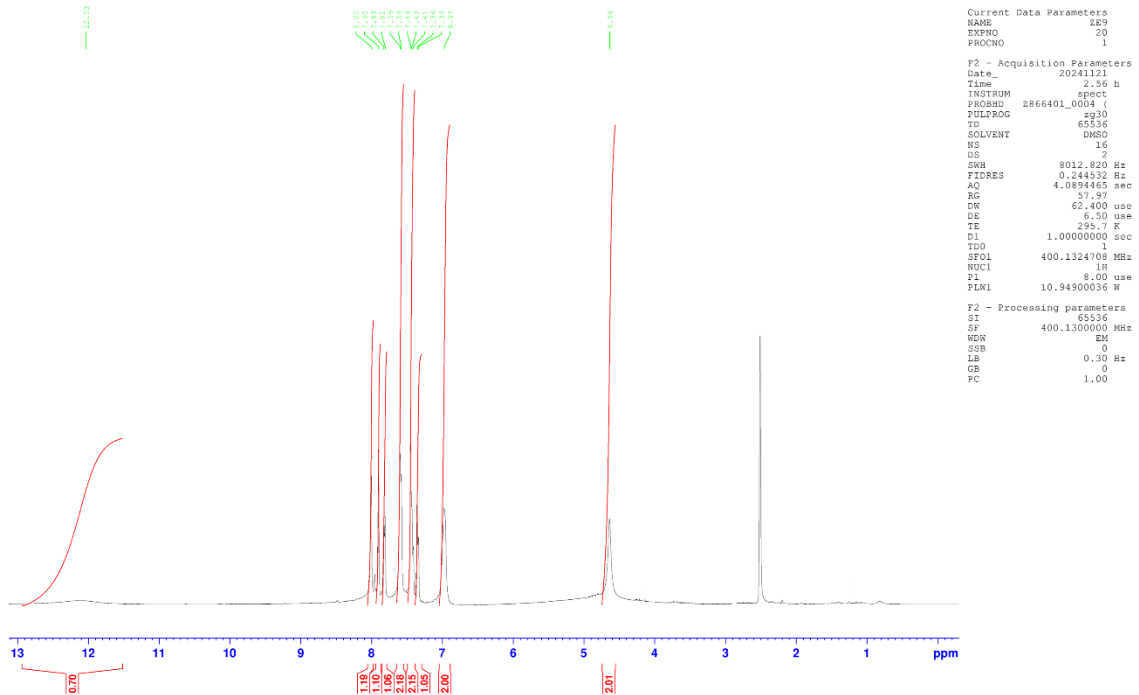
2h Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu



Şekil 5.38

2h Bileşiği için Kaydedilen ¹H-NMR Spektrumu

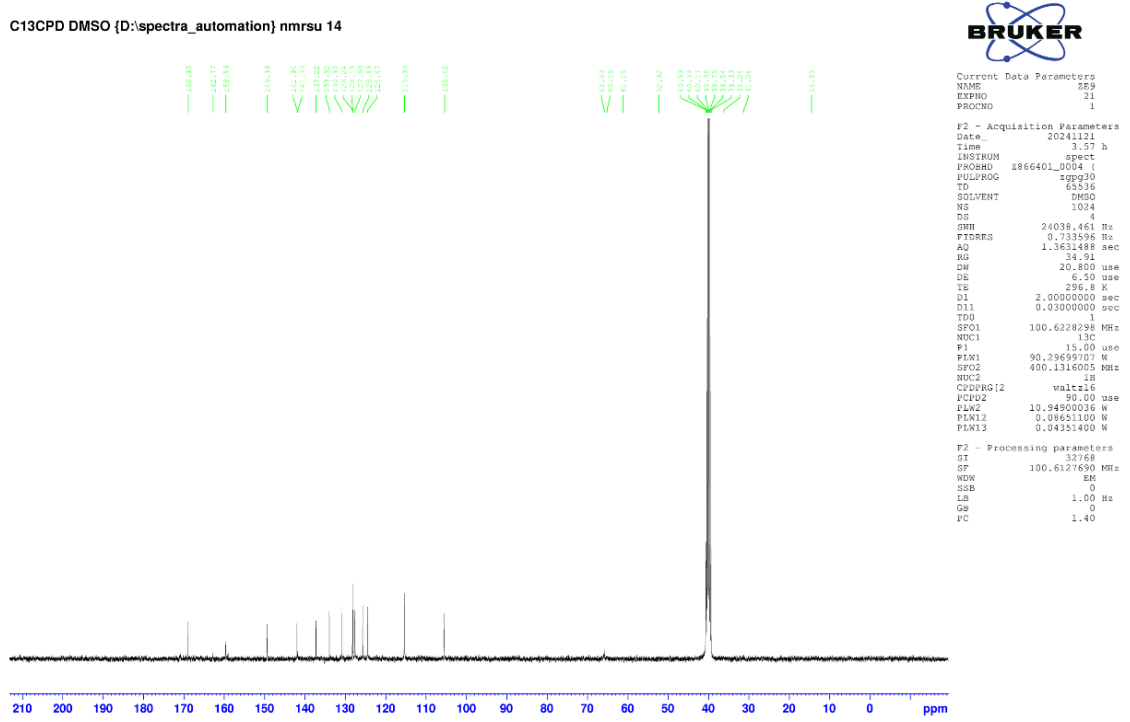
PROTON DMSO [D:\spectra_automation} nmrsu 14



Şekil 5.39

2h Bileşiği için Kaydedilen ^{13}C -NMR Spektrumu

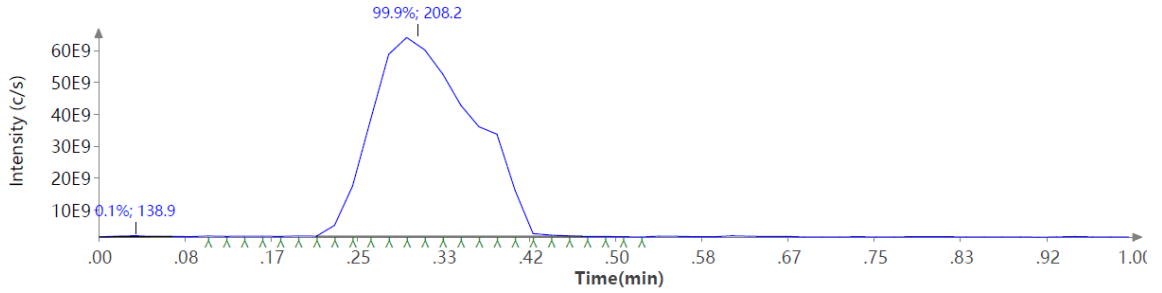
C13CPD DMSO {D:\spectra_automation} nmrsu 14



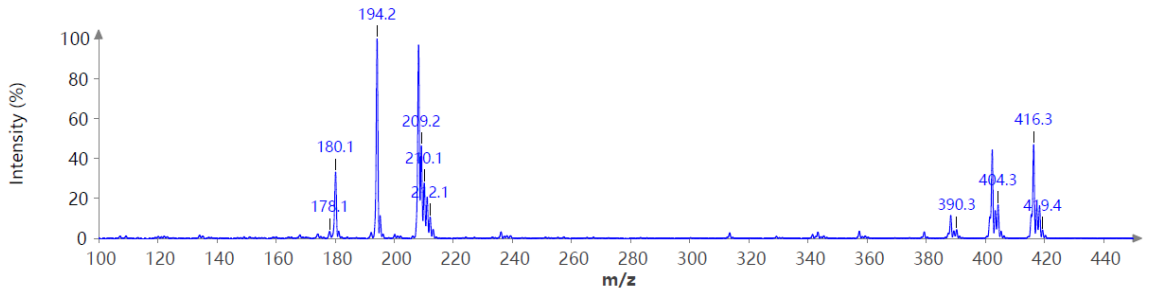
Şekil 5.40

2h Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu

Chromatogram TIC
ZE-9_Scan1_is1;
APCI +



Spectrum RT 0.11 - 0.52 (25 scans) - Background Subtracted 0.00 - 0.11
ZE-9_Scan1_is1;
APCI + Max: 5.3E6



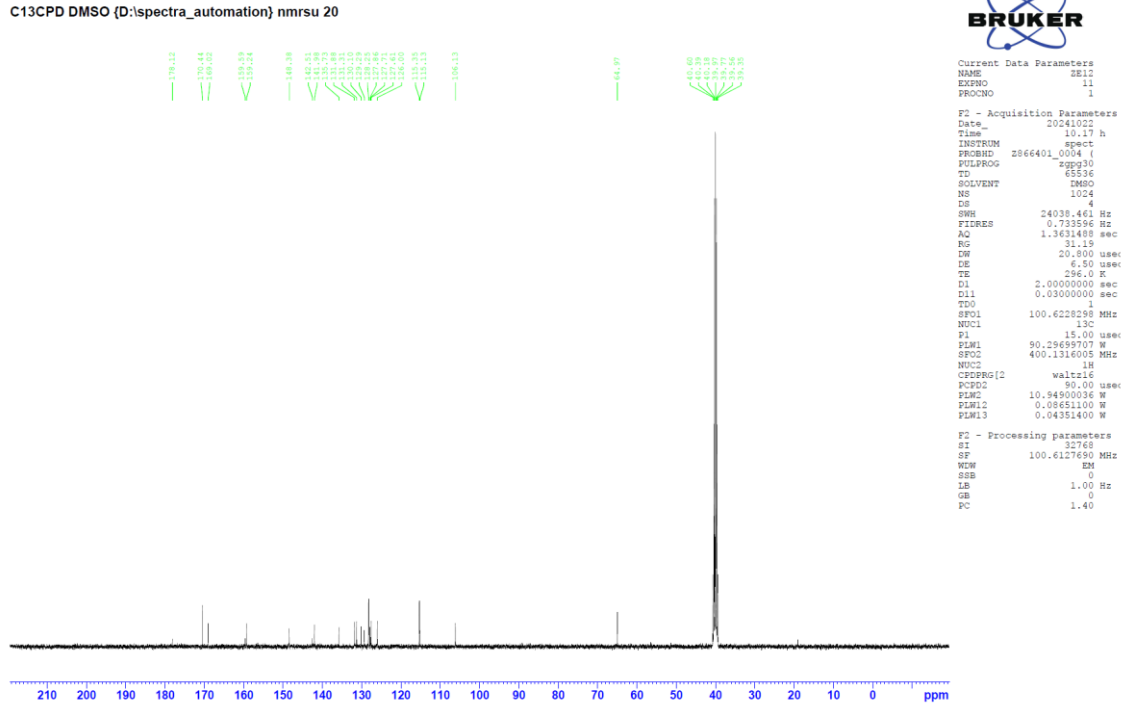
2i Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu

2i Bileşiği için Kaydedilen ^1H -NMR Spektrumu



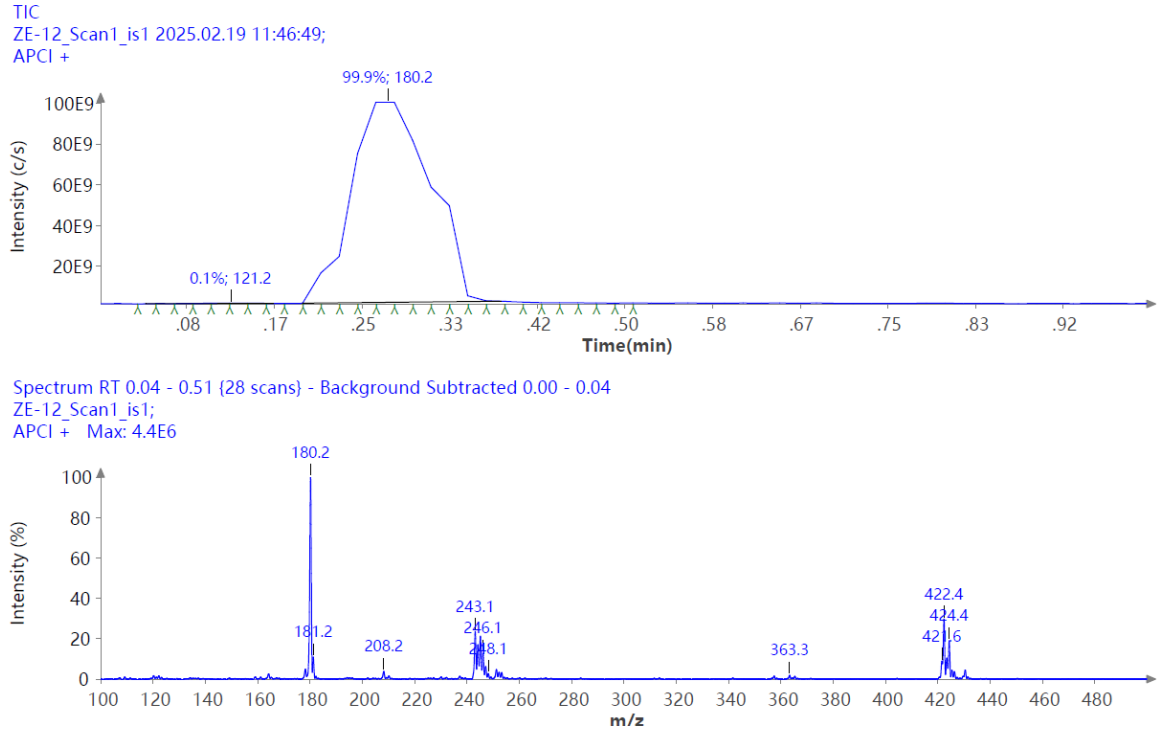
Şekil 5.44

2i Bileşiği için Kaydedilen ^{13}C -NMR Spektrumu



Şekil 5.45

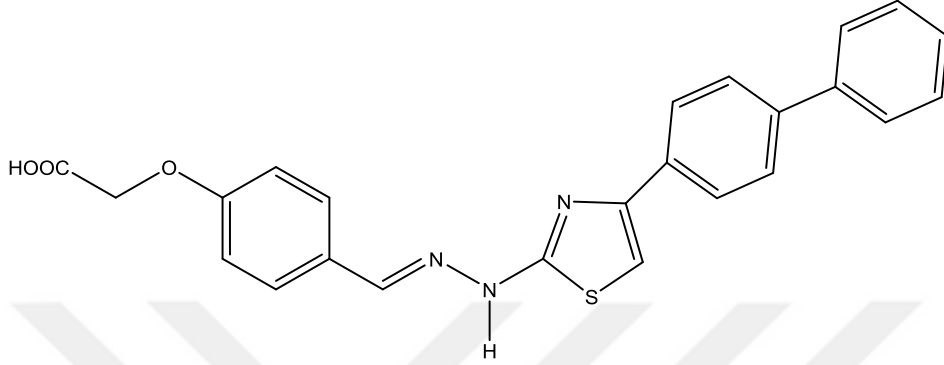
2i Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu



5.1.10 2-[4-[(2-(4-(4-([1,1'-Bifenil]-4-il)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2j)

Şekil 5.46

2-[4-[(2-(4-(4-([1,1'-Bifenil]-4-il)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (**2j**)



Verim: %74. Deneysel E.n: 215-218 °C.

IR v (cm⁻¹): 3275 (N-H), 3109 (Aromatik C-H), 2897 (Alifatik C-H), 1604-1406 (C=C, C=N), 1253-1170 (C-O, C-N), 831-731 (benzen halkası yüzey dışı titreşim frekansları).

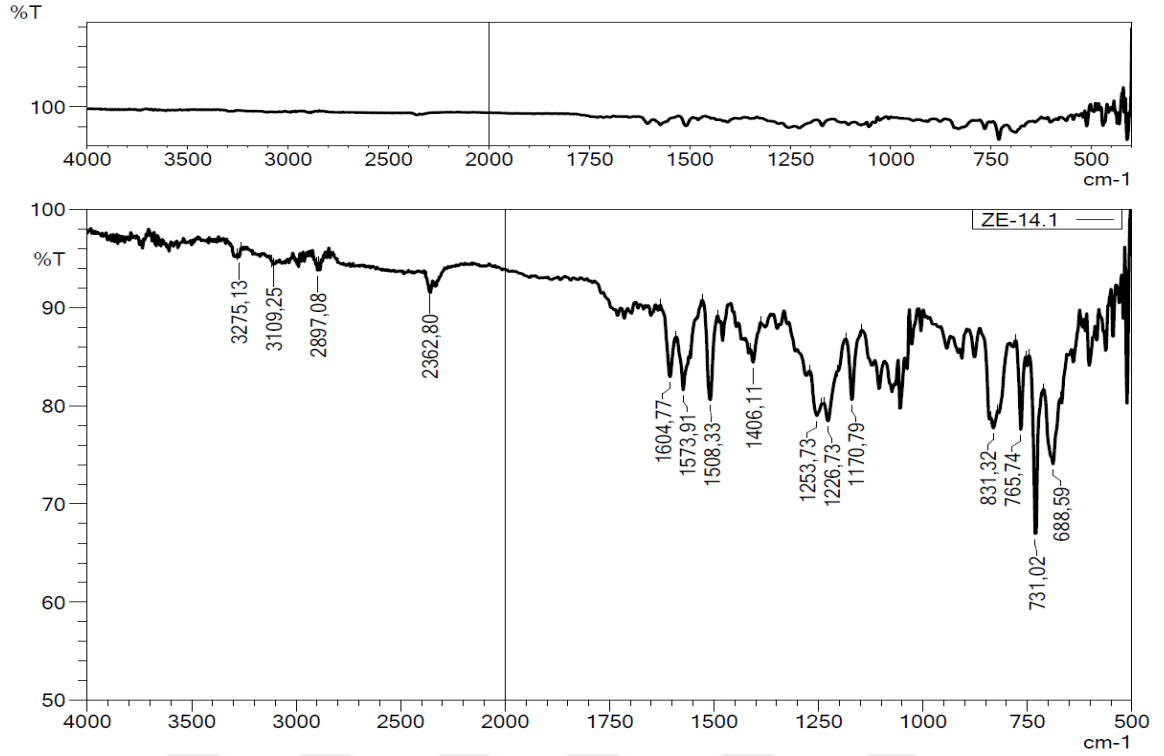
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 4.69 (s, 2H, CH₂), 6.98 (d, 2H, J:7.52 Hz, fenoksi C_{2,6}-H), 7.37-7.39 (m, 2H, Ar-H), 7.47 (t, 2H, J:7.15 Hz, Ar-H), 7.59 (d, 4H, J:7.95 Hz, Ar-H), 7.95 (d, 2H, J:7.55 Hz, Ar-H), 8.05 (s, 1H, CH=N), 12.12 (NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 65.37, 104.09, 115.36, 126.55, 126.93, 127.27, 127.88, 128.14, 129.43, 134.33, 139.44, 140.12, 141.68, 150.59, 159.31, 168.84, 170.54.

APCI (m/z): [M+H]⁺: C₂₄H₁₉N₃O₃S için kuramsal değer: 430.49, deneysel değer: 430.5.

Şekil 5.47

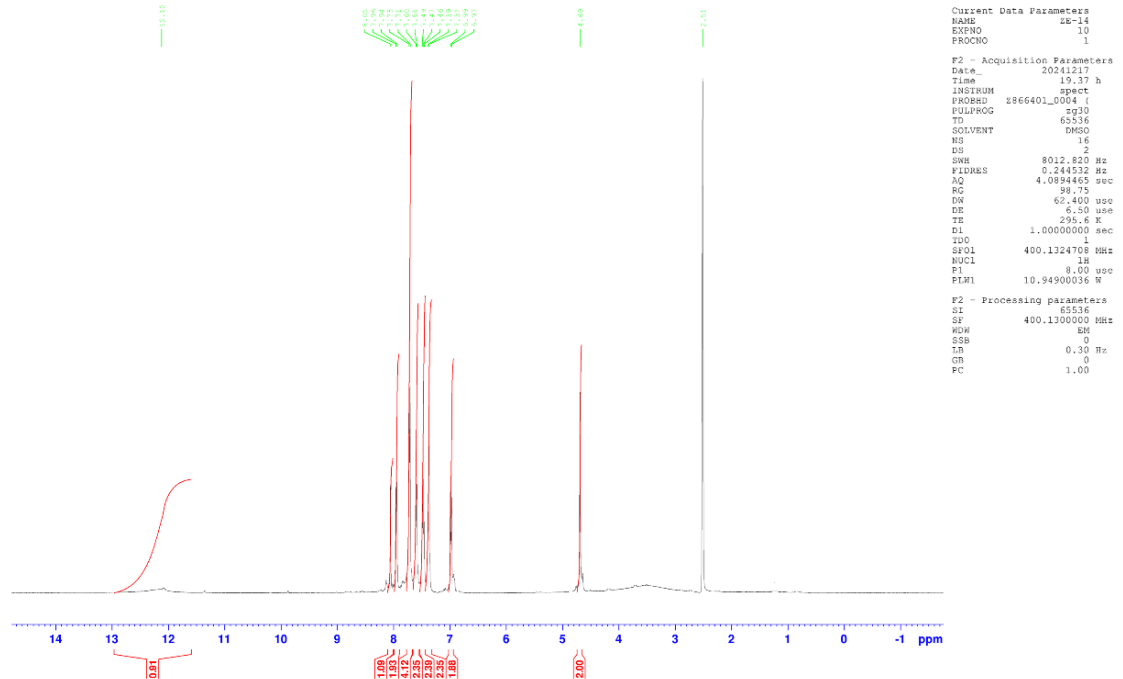
2j Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu



Şekil 5.48

2j Bileşiği için Kaydedilen ¹H-NMR Spektrumu

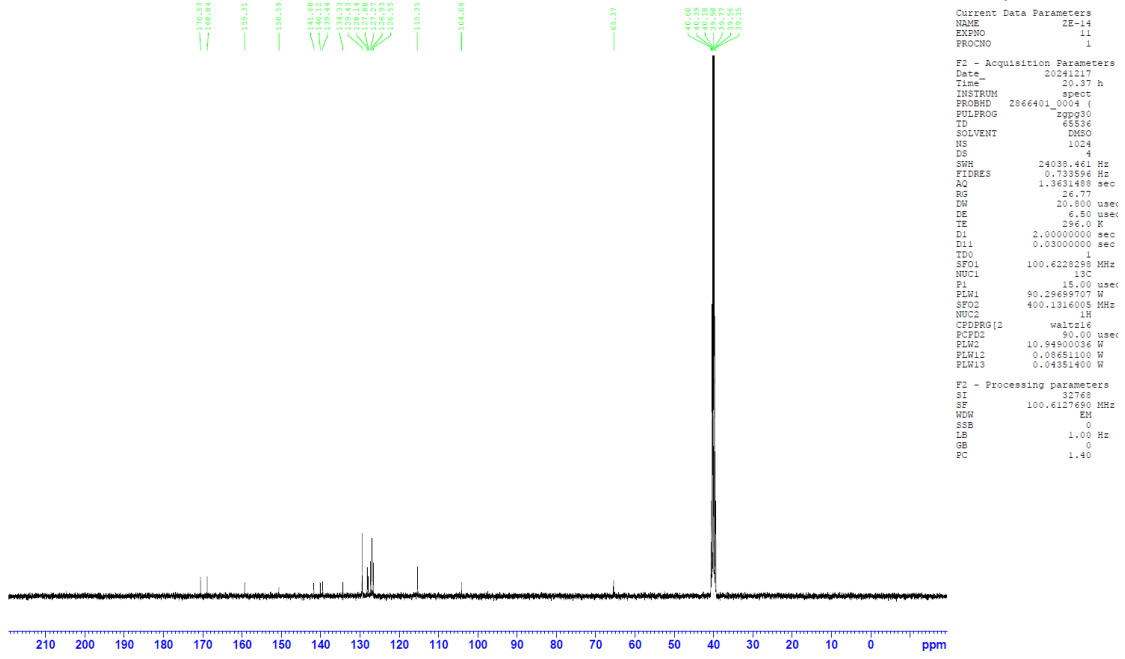
PROTON DMSO [D:\spectra_automation\] nmrsu 23



Şekil 5.49

2j Bileşiği için Kaydedilen ^{13}C -NMR Spektrumu

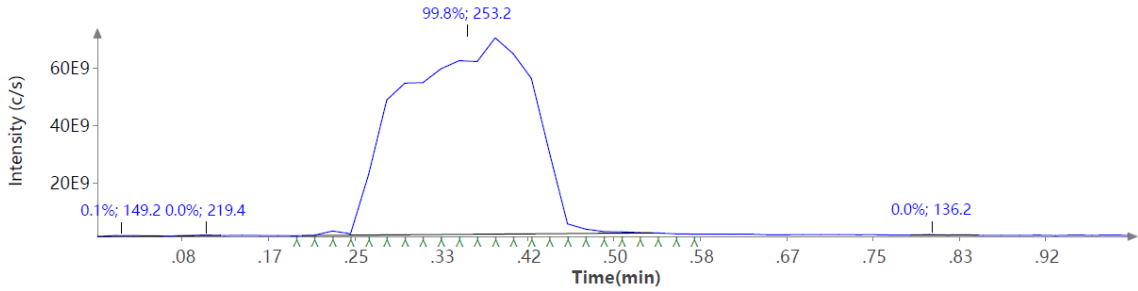
C13CPD DMSO {D:\spectra_automation} nmrsu 23



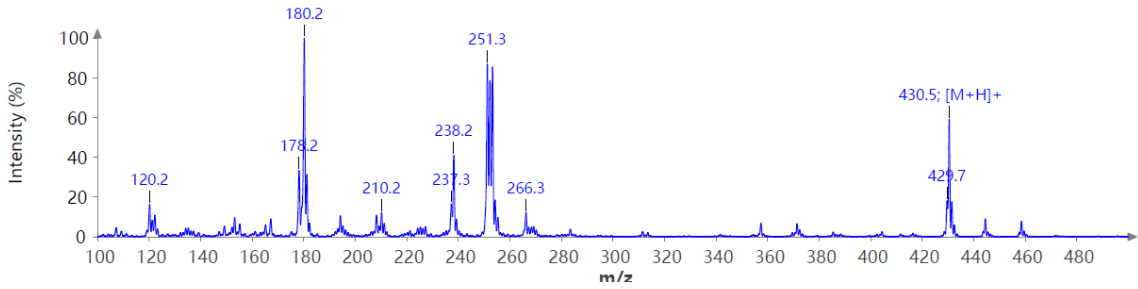
Şekil 5.50

2j Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu

TIC
ZE-14_Scan1_is1 2025.02.19 11:43:59;
APCI +



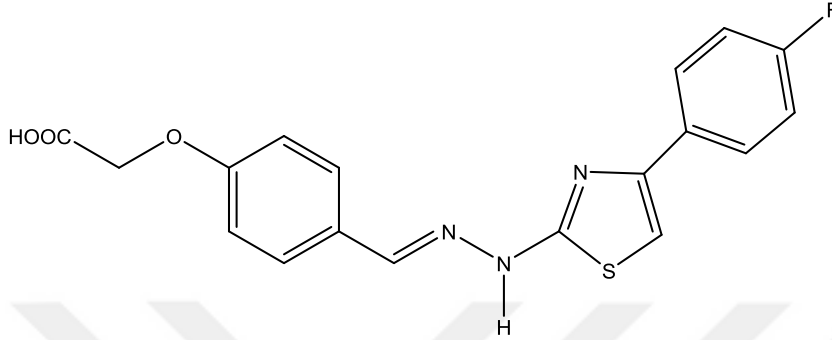
Spectrum RT 0.19 - 0.58 (23 scans) - Background Subtracted 0.00 - 0.19
ZE-14_Scan1_is1;
APCI + Max: 4.4E6



5.1.11 2-[4-[(2-(4-(4-Florofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2k)

Şekil 5.51

2-[4-[(2-(4-(4-Florofenil)tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2k)



Verim: %67. Deneysel E.n: 258-259 °C.

IR ν (cm⁻¹): 3666 (O-H), 2972, 2900 (Alifatik C-H), 1608-1408 (C=C, C=N), 1307-1055 (C-O, C-N), 825-684 (benzen halkası yüzey dışı titreşim frekansları).

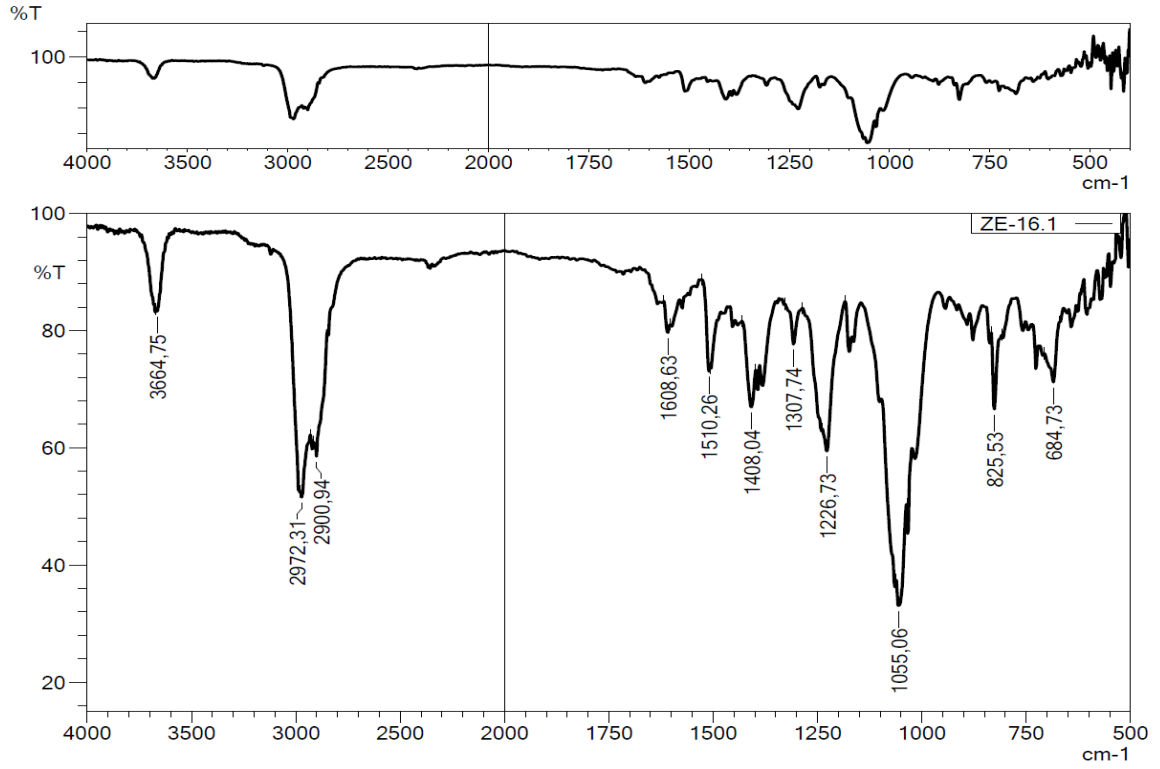
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 4.73 (s, 2H, CH₂), 6.97 (d, 2H, J:9.06 Hz, fenoksi C_{2,6}-H), 7.20-7.28 (m, 2H, fenil C_{3,5}-H), 7.29 (s, 1H, tiyazol C₅-H), 7.58 (d, 2H, J:8.68 Hz, fenoksi C_{3,5}-H), 7.85 (dd, 2H, J:8.94, 3.40 Hz, fenil C_{2,6}-H), 7.98 (s, 1H, CH=N), 12.15 (NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 64.90, 103.62, 115.31, 115.76, 116.05, 127.87, 127.91, 127.97, 128.18, 131.82, 141.62, 149.89, 159.15, 160.40, 163.64, 168.86, 170.48.

APCI (*m/z*): [M+H]⁺: C₁₈H₁₄FN₃O₃S için kuramsal değer: 372.34, deneysel değer: 372.5.

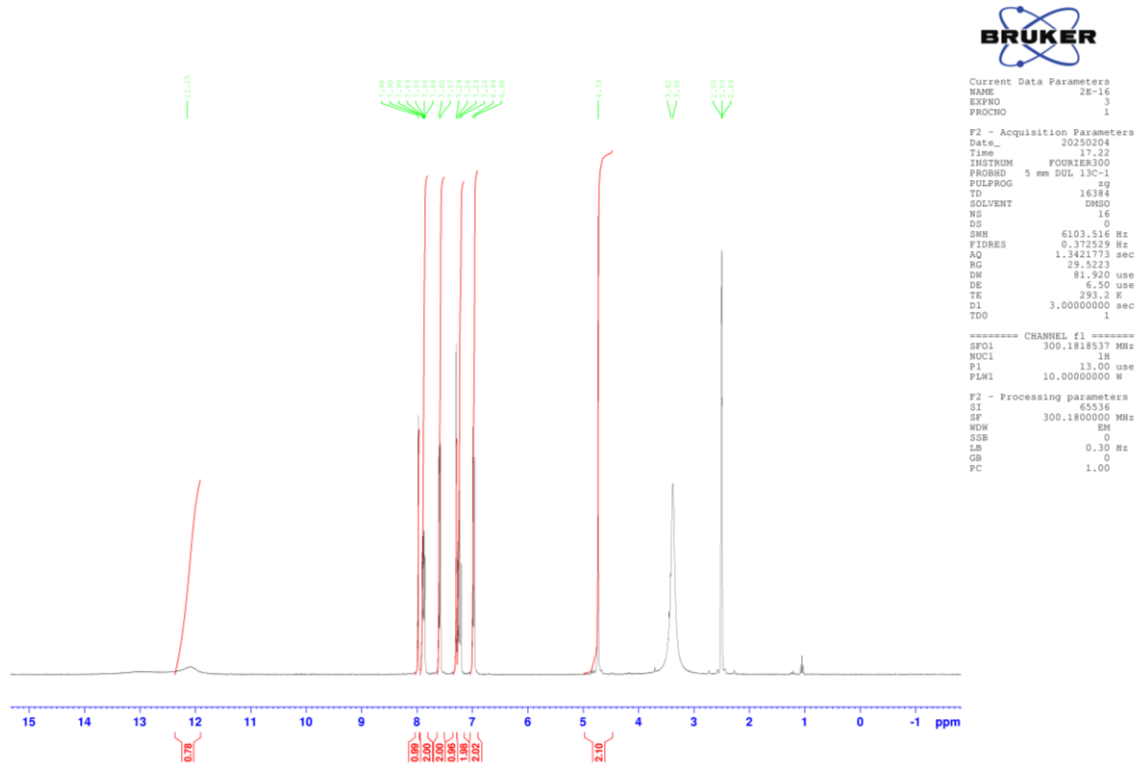
Şekil 5.52

2k Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu



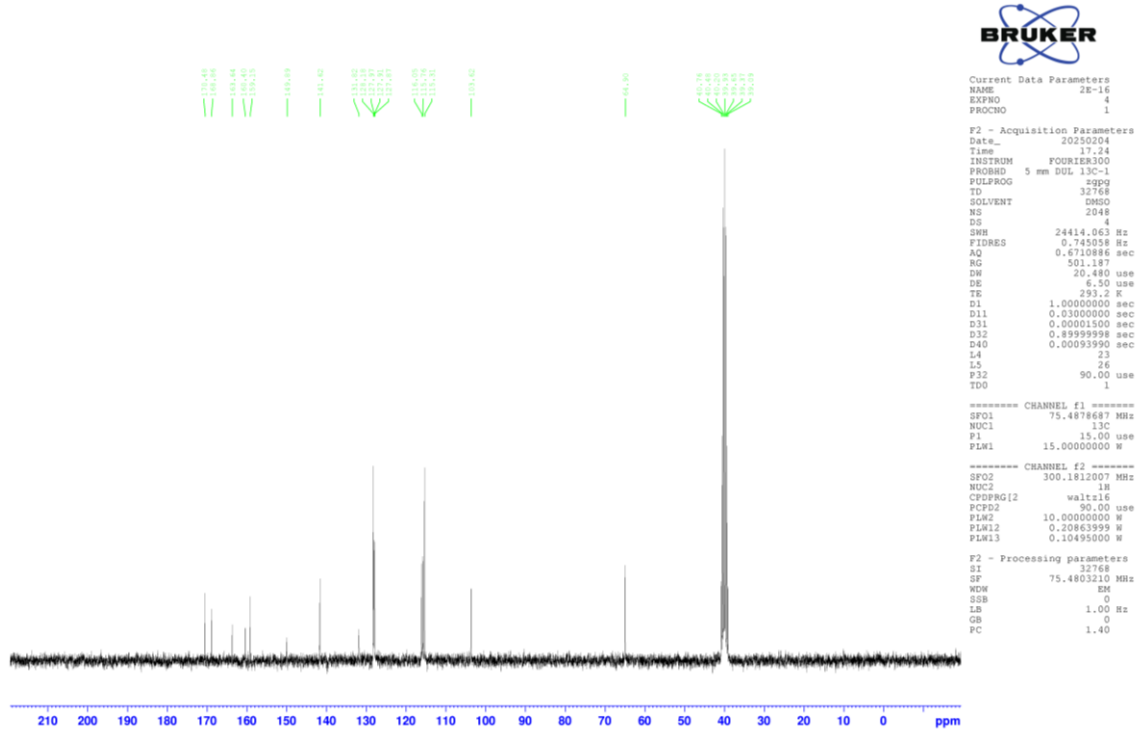
Şekil 5.53

2k Bileşiği için Kaydedilen ¹H-NMR Spektrumu



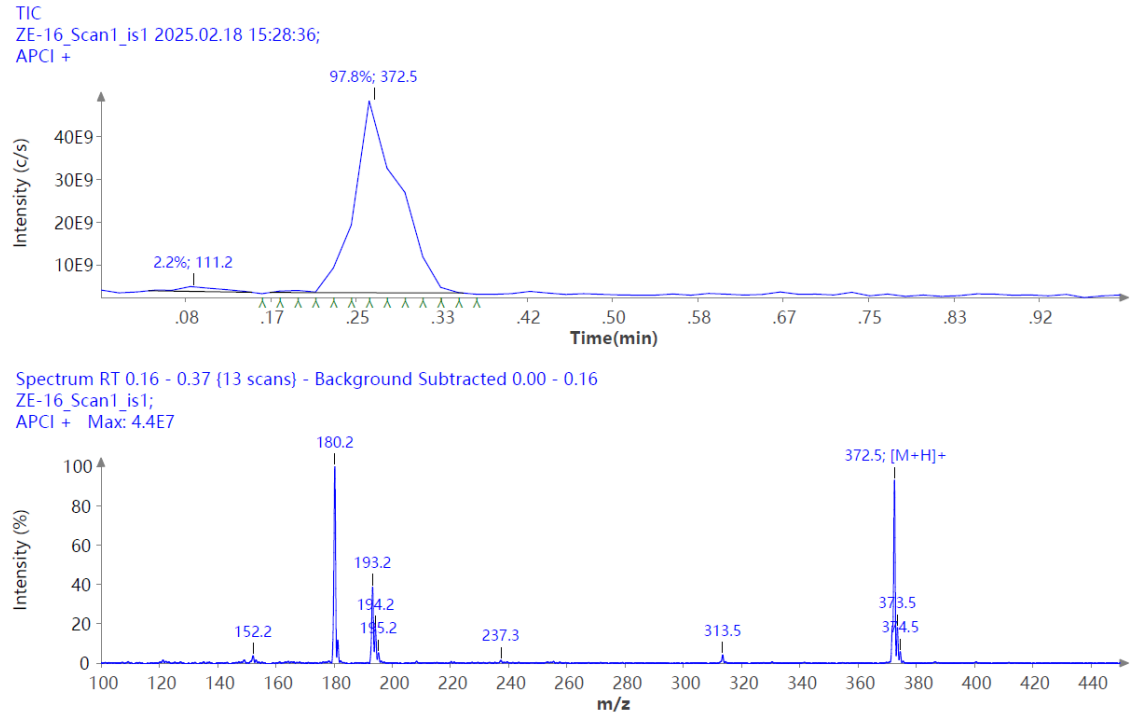
Şekil 5.54

2k Bileşiği için Kaydedilen ^{13}C -NMR Spektrumu



Şekil 5.55

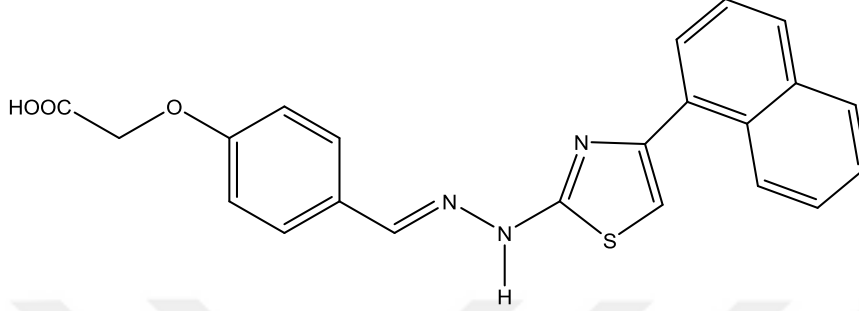
2k Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu



5.1.12 2-[4-[(2-(4-(4-(Naftalen-2-il) tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2I)

Şekil 5.56

2-[4-[(2-(4-(4-(Naftalen-2-il) tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (2I)



Verim: %68. Deneysel E.n: 262-264 °C.

IR v (cm⁻¹): 3130 (N-H), 1602-1506 (C=C, C=N), 1302-1053 (C-O, C-N), 925-713 (benzen halkası yüzey dışı titreşim frekansları).

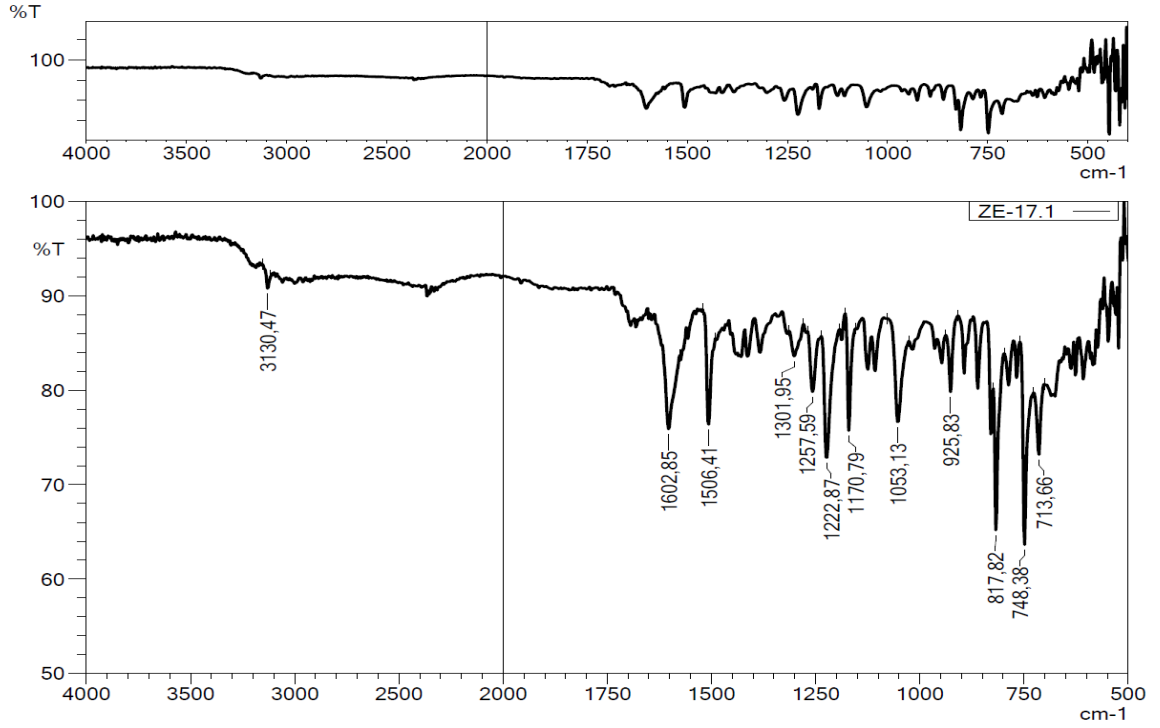
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 4.74 (s, 2H, CH₂), 6.99 (d, 2H, J:8.76 Hz, fenoksi C_{2,6}-H), 7.46-7.59 (m, 3H, Ar-H), 7.61 (d, 2H, J:7.88 Hz, Ar-H), 7.89-8.00 (m, 5H, Ar-H), 8.37 (s, 1H, CH=N), 12.37 (NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 64.91, 104.72, 115.33, 124.40, 126.46, 126.90, 127.93, 128.04, 128.21, 132.60, 132.87, 133.62, 141.66, 150.84, 159.16, 168.85, 170.50.

APCI (m/z): [M+H]⁺: C₂₂H₁₇N₃O₃S için kuramsal değer: 404.45, deneysel değer: 404.4.

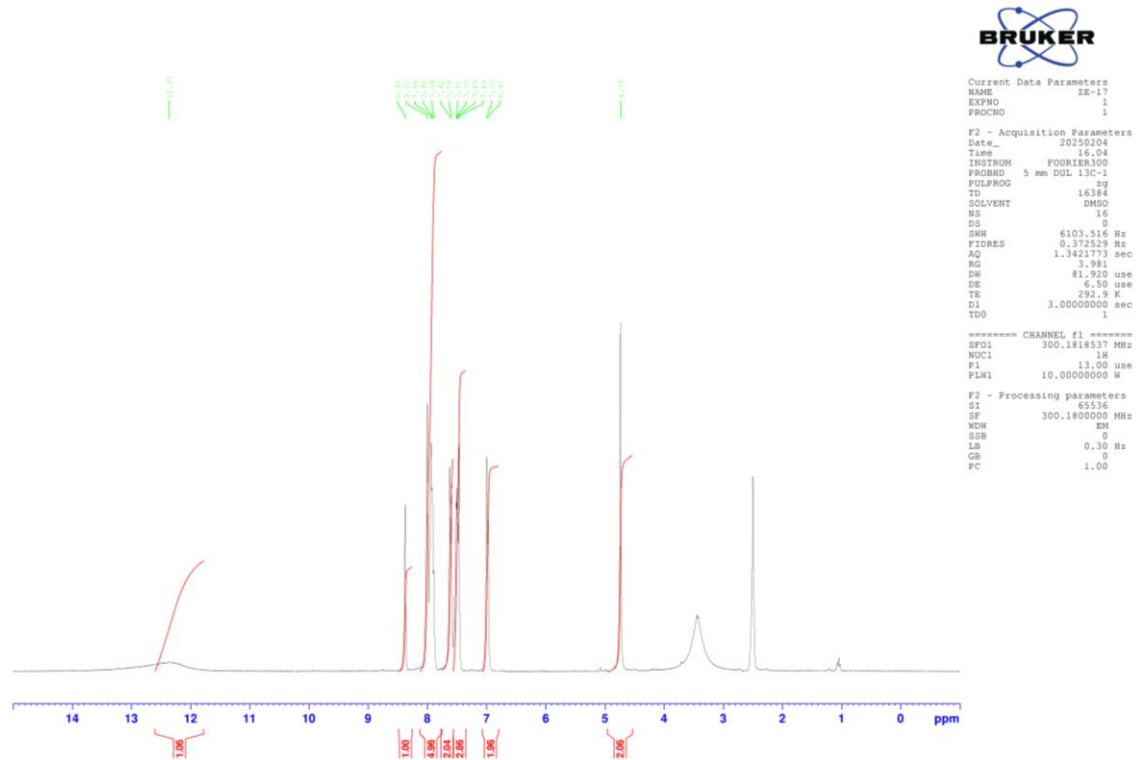
Şekil 5.57

2l Bileşiği için Kaydedilen IR Spektrumu



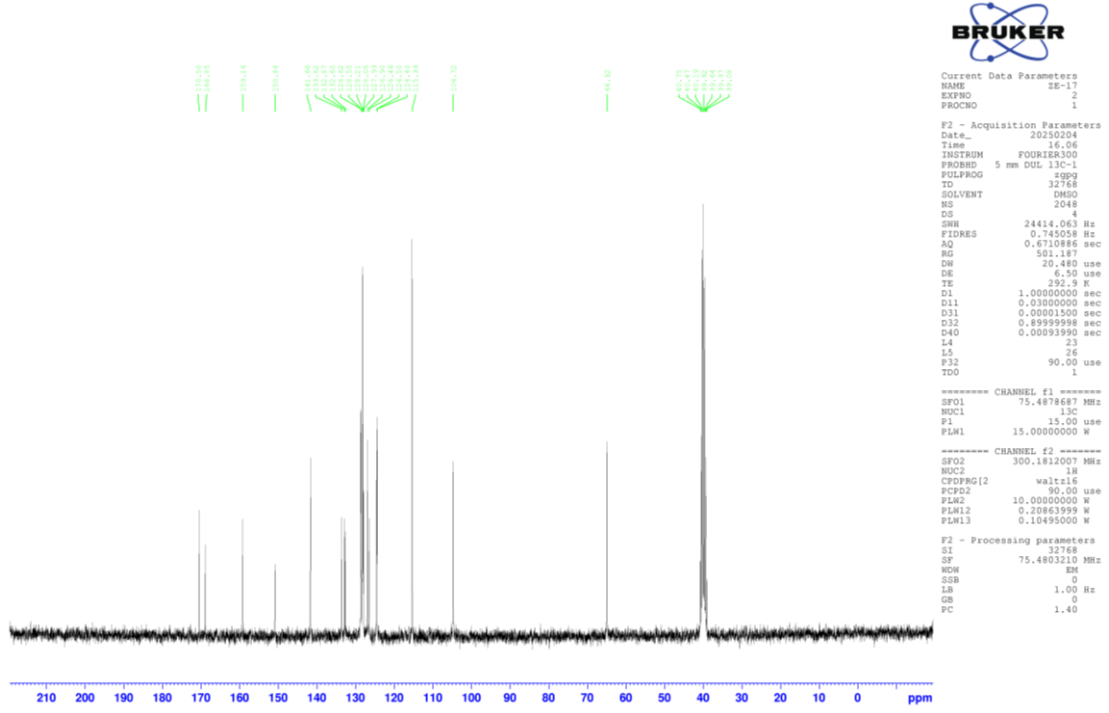
Şekil 5.58

2l Bileşiği için Kaydedilen ¹H-NMR Spektrumu



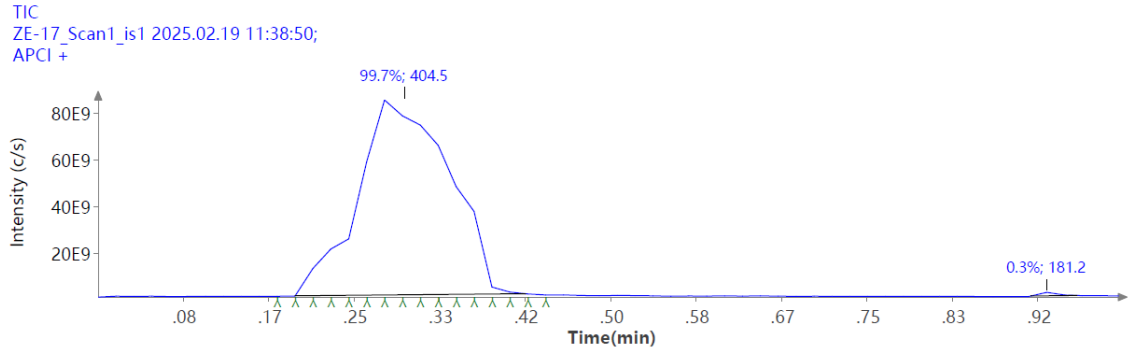
Şekil 5.59

2l Bileşiği için Kaydedilen ^{13}C -NMR Spektrumu

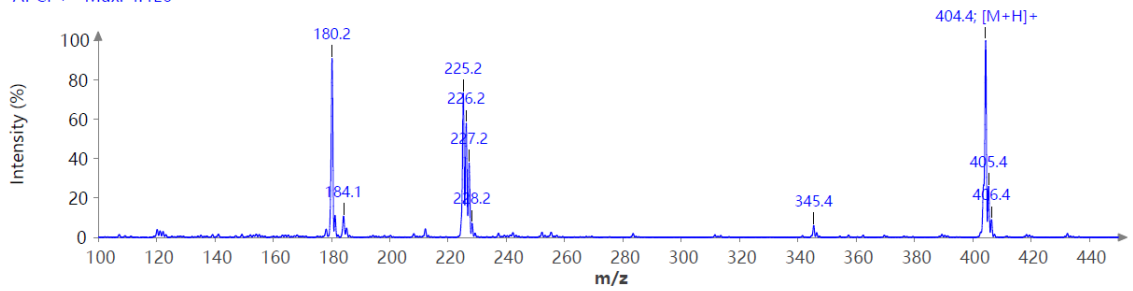


Şekil 5.60

2l Bileşiği için Kaydedilen Kütle Spektrumu



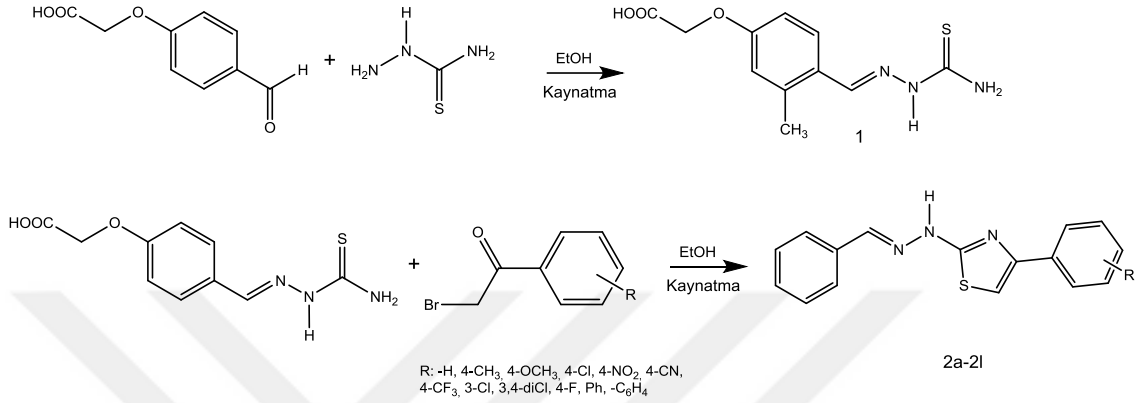
Spectrum RT 0.17 - 0.44 (16 scans) - Background Subtracted 0.00 - 0.17
ZE-17_Scan1_is1;
APCI + Max: 4.4E6



5.2 Sentez Protokollerinin Değerlendirilmesi

Şekil 5.61

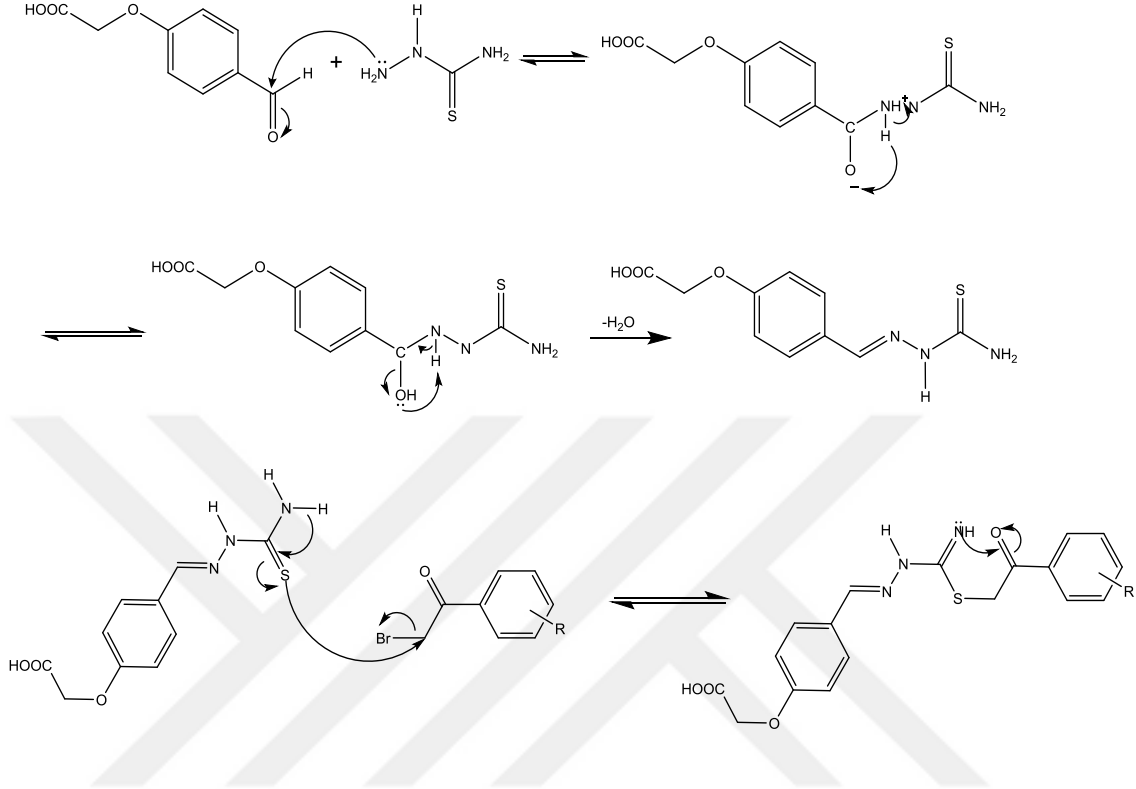
2-[4-[(2-(Süstitüe feniltiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (**2a-2l**) türevlerinin sentezi



Bu çalışma için sentezlenen bileşikler iki basamaktan oluşan bir sentez yöntemiyle elde edilmiştir. İlk adımda tiyosemikarbazit ile eşdeğer oranda 4-formilfenoksiasetik asit reaksiyona alınmıştır. Bu basamakta tiyosemikarbazitin NH₂ grubu 4-formilfenoksiasetik asidin karbonil karbonuna nükleofilik atakta bulunur. Oluşan ara bileşiğin kondensasyonu ile bileşikten bir molekül H₂O çıkışı gerçekleşir ve bir schiff bazı oluşur (Ding, Y. Q., et al., 2015).

Şekil 5.62

2-[4-[(2-(Süstitüe feniltiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit (**2a-2l**) Türevlerinin Sentezi İçin Önerilen Reaksiyon Mekanizması



İlk basamak sonrası oluşan 2-[4-((2-karbamotiyoilhidrazono)metil)fenoksi]asetik asit bileşiğinin fenaçil bromür türevleriyle reaksiyona alınması ise sentezin ikinci basamağıdır. İncelemeler sonucunda 2-[4-((2-karbamotiyoilhidrazono) metil) fenoksi]asetik asit bileşiğinde bulunan $=\text{S}$ grubunun fenaçilbromürün α karbonuna nükleofilik atak gerçekleştirmesiyle alkillenmiş ara ürün oluşur oluşur. Ardından su çıkışı gerçekleşmesiyle tiyazol halkası kapanır. Tepkime şeması şekil 5.61' de gösterilmiştir. Bu tepkime tiyazol sentezinde en çok tercih edilen hantzsch tiyazol sentezidir (Mustafa, S.M. et al., 2004).

5.3 Spektral Bulguların Analizi

5.3.1 ^1H -NMR Spektrumlarının Analizi

Sentez sonucunda elde edilen 2-[4-[(2-(4-süstitüe tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit türevlerine (**2a-2l**) ait ^1H -NMR spektrumları için bileşikler $\text{DMSO}-d_6$ çözeltisi içerisinde cihazda analizleri gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden **2b** bileşiğinin sübtitüe benzene bağlı metil protonları 2.31 ppm' de **2c** bileşiğinin sübtitüe benzene

bağlı metoksi protonları 3.79 ppm 'de sinyal vermiştir. Bu protonların ikisinde de singlet sinyal kaydedilmiş bu bileşikler haricinde alifatik proton taşıyan yapı olmadığından yukarı alanda başka proton sinyali kaydedilmemiştir. Alifatik protonlardan bir diğeri olan karboksilik aside komşu CH₂ protonları 4,73-4,69 ppm aralığında sinyal vermiştir. 6.69 – 8.28 ppm aralığında aromatik protonlar kaydedilirken bu türevlere ait fenoksi protonları sinyalleri 6.69- 7.79 ppm aralığında saptanmıştır. Bileşiklerin amino grubu protonuna ait sinyaller ise 12.03-12.42 ppm aralığında gözlemlenmiştir. İmin grubuna ait proton ise tüm türevlerde singlet ve 7.97 – 8.37 ppm aralığında sinyal vermiştir. Tiyazol halkasının 5. konumunda bulunan karbon protonu ise her türevde 7.13- 7.38 ppm aralığında sinyal vermiştir. Kaydedilen sonuçlar literatür ile uyumludur (Tutuş B., 2022).

5.3.2 ¹³C-NMR Spektrumlarının Analizi

2-[4-[(2-(4-süstitüe tiyazol-2-il)hidrazono)metil]fenoksi]asetik asit türevlerine (**2a-2l**) ait ¹³C-NMR spektrumları incelendiğinde karbonil karbonuna ait sinyaller 168.95-170,54 ppm aralığında kaydedilirken karbonil karbonuna bağlı CH₂ karbonuna ait sinyaller ise tüm bileşiklerde 64.90-64.97 ppm aralığında olduğu belirtilmiştir. Aromatik karbonlara ait pikler 115.35- 141.93 ppm aralığında sinyal vermiştir. Tiyazol halkasının 2. karbonu tüm bileşiklerde 159.14-159.31 ppm aralığında sinyal vermiştir. **2b** bileşiğinde süstitüe benzene bağlı metil karbonu 21.27 ppm de **2c** bileşiğinde süstitüe benzene bağlı OCH₃ karbonu ise 55.58 ppm de sinyal vermiştir. Kaydedilen sonuçlar literatür ile uyumludur (Tutuş B., 2022).

5.3.3 IR Spektrumlarının Analizi

2-[4-[(2-(4-Süstitüe tiyazol-2-il)hidrazono) metil]fenoksi]asetik asit türevlerine (**2a-2l**) ait IR spektrumları incelendiğinde C=O gerilim bandları 1634-1767 cm⁻¹ aralığında, alifatik C-H gerilim bandları 2988- 2839 cm⁻¹ aralığında. C=C C=N gerilim bandları 1379-1630 cm⁻¹ aralığında, C-O C-N gerilim bandları 1307-1051 cm⁻¹ aralığında, 947-684 cm⁻¹ aralığında ise yüzey dışı titreşim frekansları elde edilmiştir. 3130 cm⁻¹ de **2l** bileşiğinin O-H gerilim bandı 3647-3663 cm⁻¹ aralığında **2g** ve **2i** bileşiklerinin OH gerilim bandı ve 3103-3170 cm⁻¹ aralığında ise **2b**, **2c**, **2d**, **2e**, **2f**, **2h**, **2j** bileşiklerinin aromatik C-H gerilim bandları kaydedilmiştir. Kaydedilen sonuçlar literatür ile uyumludur (Tutuş B., 2022).

5.3.4 Kütle Spektrumlarının Analizi

Sentezlenen 12 bileşiğin kütle spektrumlarının alınması için APCI-MS metodu kullanılmıştır. Değerler kütle/yük (m/z) oranına göre hesaplanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde 12 bileşiğe ait $[M+H]^+$ pikleri beklenen değerlerde sonuç vermiştir. Kaydedilen sonuçlar literatür ile uyumludur (Tutuş B., 2022).

5.4 Biyolojik Aktivite Bulgularının Analizi

5.4.1 MTT Sonuçlarının Analizi

Sentezlenen 12 adet bileşiğin MCF-7 ve A549 hücre hatları üzerinde canlılık testi gerçekleştirilmiştir. Sarı renkli bir tetrazolyum tuzu olan MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür), canlı hücrelerin mitokondrilerindeki enzimler (özellikle süksinil dehidrogenaz gibi) tarafından indirgenerek mor renkli formazan kristallerine dönüştürülür. Bu dönüşüm sadece canlı ve metabolik olarak aktif hücrelerde gerçekleştiği için, mor renk miktarı hücre canlılığıyla doğru orantılıdır. Elde edilen mor formazan, çözücüyle çözülür ve spektrofotometre ile absorbans değeri okunur (genellikle 570 nm). Hesaplamalar sonucunda elde edilen IC_{50} değerlerine bakıldığında A549 hücresi üzerinde **2c** (33.54 ± 4.66), **2e** (35.15 ± 2.87) ve **2f** (34.24 ± 4.27) bileşiklerinin sisplatine (43.61 ± 1.05) yakın sonuç verdiği rapor edilmiştir. MCF-7 hücre hattı üzerinde yapılan hücre deneyleri sonucunda ise **2d** (0.12 ± 0.11) ve **2i** (0.39 ± 0.21) bileşikleri sisplatine (13.40 ± 2.86) kıyasla yüksek inhibitör etki gösterdi. Bileşiklerin MCF-7 ve A549 hücre hatları üzerindeki IC_{50} değerleri tablo 5.1’de verilmiştir.

Tablo 5.1

Bileşiklerin MCF-7, A549 ve L929 hücre hatlarına karşı IC_{50} değerleri (μM)

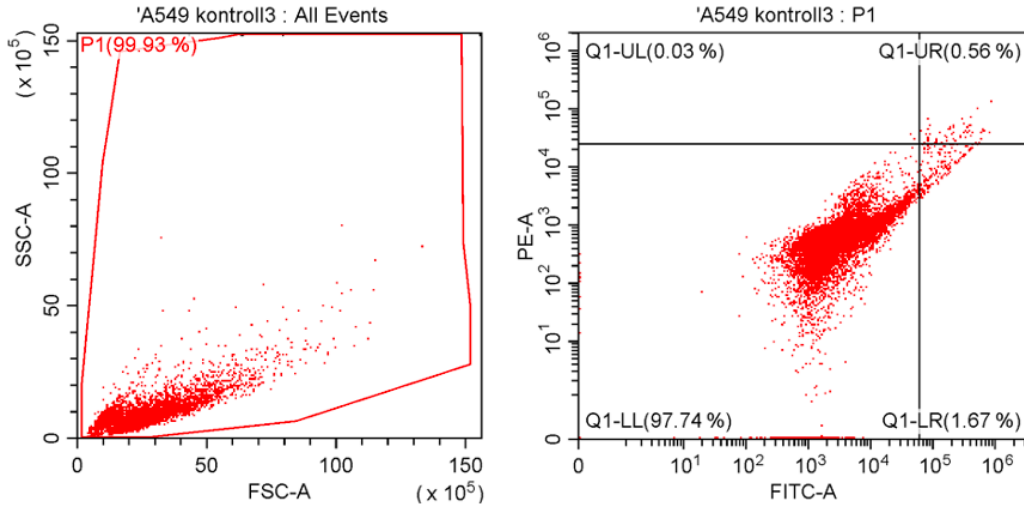
Bileşikler	MCF-7	A549	L929
2a	76.39 ± 26.97	52.44 ± 5.84	44.48 ± 8.15
2b	11.37 ± 6.14	46.27 ± 4.19	37.14 ± 1.71
2c	8.27 ± 0.84	33.54 ± 4.66	43.75 ± 1.31
2d	0.12 ± 0.11	>500	>500
2e	13.67 ± 0.49	35.15 ± 2.87	45.19 ± 0.94
2f	17.58 ± 4.41	34.24 ± 4.27	60.23 ± 10.99
2g	17.97 ± 4.49	>500	>500
2h	4.74 ± 0.22	71.14 ± 8.82	32.37 ± 5.09
2i	0.39 ± 0.21	>500	43.75 ± 1.31
2j	3.1 ± 0.66	>500	67.17 ± 17.56
2k	1.96 ± 0.30	110.79 ± 28.28	56.77 ± 12.62
2l	1.45 ± 0.26	216.82 ± 0.31	128.37 ± 40.96
Sisplatin	13.40 ± 2.86	43.61 ± 1.05	-

5.4.2 A549 Hücresi için Yapılan Biyolojik Aktivite Analizleri

5.4.2.1 A549 Hücresi için Anneksin-V FITC/PI Deney Yöntemi

Şekil 5.63

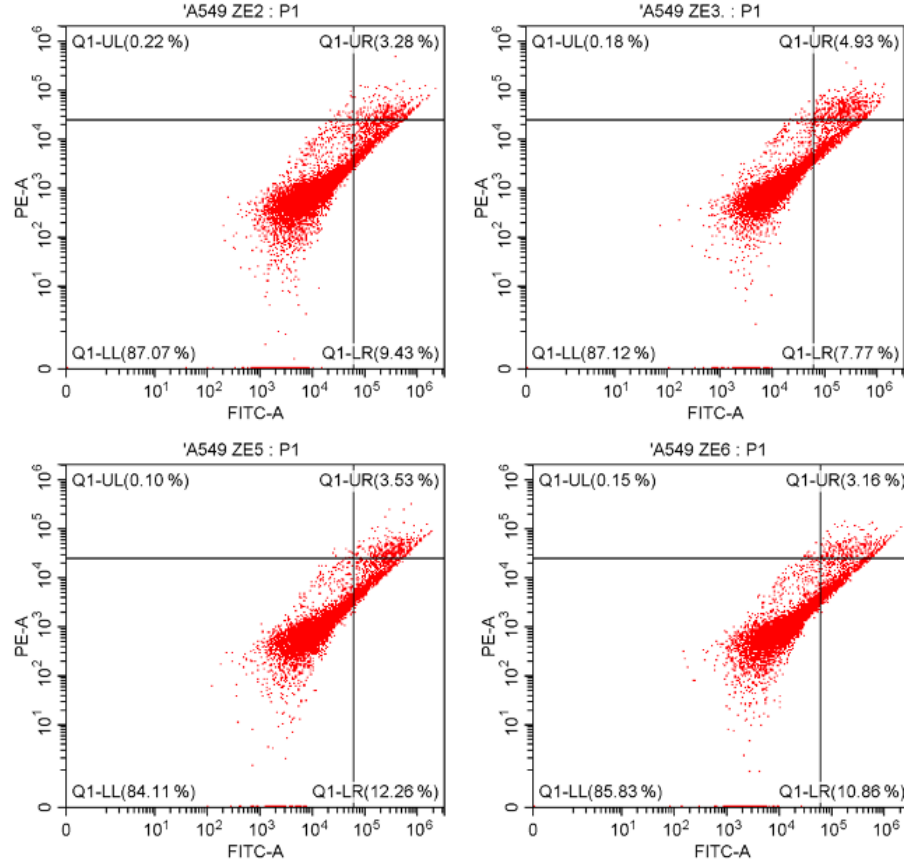
24. Saatte A549 Hücresinin Popülasyonu ve Kontrol Grubu Apoptoz Verileri



A549 hücreleri üzerinde yapılan Anneksin-V FITC analizi sonucunda kontrol grubunda canlılık %97.74 olarak kaydedilmiştir ve erken apoptoz görülen hücre popülasyonu %1.67, geç apoptoz görülen hücre popülasyonu %0.56, nekrotik hücre popülasyonu ise %0.03 olarak kaydedilmiştir.

Şekil 5.64

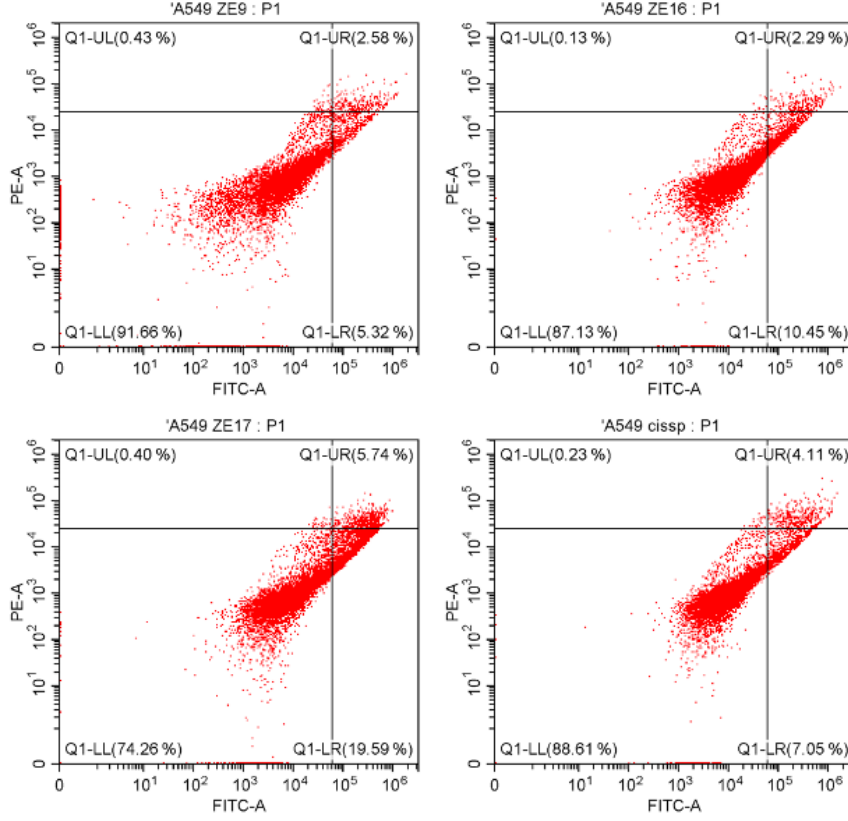
24 Saatte A549 Hücresi Üzerinde **2b**, **2c**, **2e** ve **2f** Bileşiklerinin Belirlenen IC_{50} Konsantrasyonda Gösterdikleri Apoptoz Verileri



A549 hücreleri üzerinde yapılan Anneksin-V FITC verilerine göre bileşik **2b** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %9.43 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu % 3.28; bileşik **2c** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %7.77 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu % 4.93; bileşik **2e** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %12.26 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu % 3.53; bileşik **2f** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %10.86 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu % 3.16; olarak kaydedilmiştir.

Şekil 5.65

24 Saatte A549 Hücresi Üzerinde **2h**, **2k** ve **2l** Bileşiklerinin ve Sisplatinin Belirlenen IC_{50} Konsantrasyonda Gösterdikleri Apoptoz Verileri



A549 hücreleri üzerinde yapılan Anneksin-V FITC verilerine göre bileşik **2h** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %5.32 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu % 2.58; bileşik **2k** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %10.45 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu % 2.29; bileşik **2l** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %19.59 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu % 5.74; sisplatin için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu % 7.05 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu % 4.11; olarak kaydedilmiştir.

Tablo 5.2

Sentezlenen Bileşiklerin ve Sisplatinin A549 Hücresi Üzerindeki Anneksin-V FITC/PI Yöntemi Sonuçları (%)

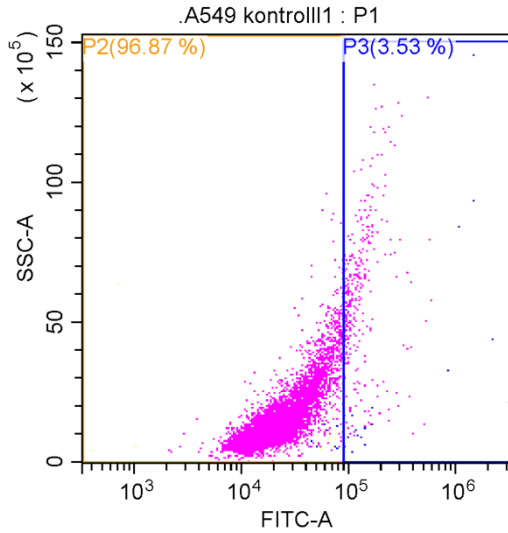
Bileşik	Canlı Hücreler (LL)	Nekrotik Hücreler (UL)	Geç Apoptotik Hücreler (UR)	Erken Apoptotik Hücreler (LR)	Toplam Yüzde (UR+LR)
2b IC ₅₀	87.07	0.22	3.28	9.43	9.65
2c IC ₅₀	87.12	0.18	4.93	7.77	12.7
2e IC ₅₀	84.11	0.10	3.53	12.26	15.79
2f IC ₅₀	85.83	0.15	3.16	10.86	14.02
2h IC ₅₀	91.66	0.4	2.58	5.32	7.9
2k IC ₅₀	87.13	0.13	2.29	10.45	12.74
2l IC ₅₀	74.26	0.40	5.74	19.59	25.33
Sisp IC ₅₀	88.61	0.23	4.11	7.05	11.16
Kontrol	97.74	0.03	0.56	1.67	2.23

Analiz sonucu apoptotik yüzdelere tablo 5.2’de verilmiştir. **2l** bileşiği %25.33 oranıyla sisplatin dahil olmak üzere A549 hücre hattı üzerinde en yüksek aktiviteyi göstermiştir. **2c**, **2e** ve **2f** bileşikler ise sisplatine yakın aktivite göstermiştir.

5.4.2.2 A549 Hücresi için Kaspaz-3 Aktivasyonu Deney Yöntemi

Şekil 5.66

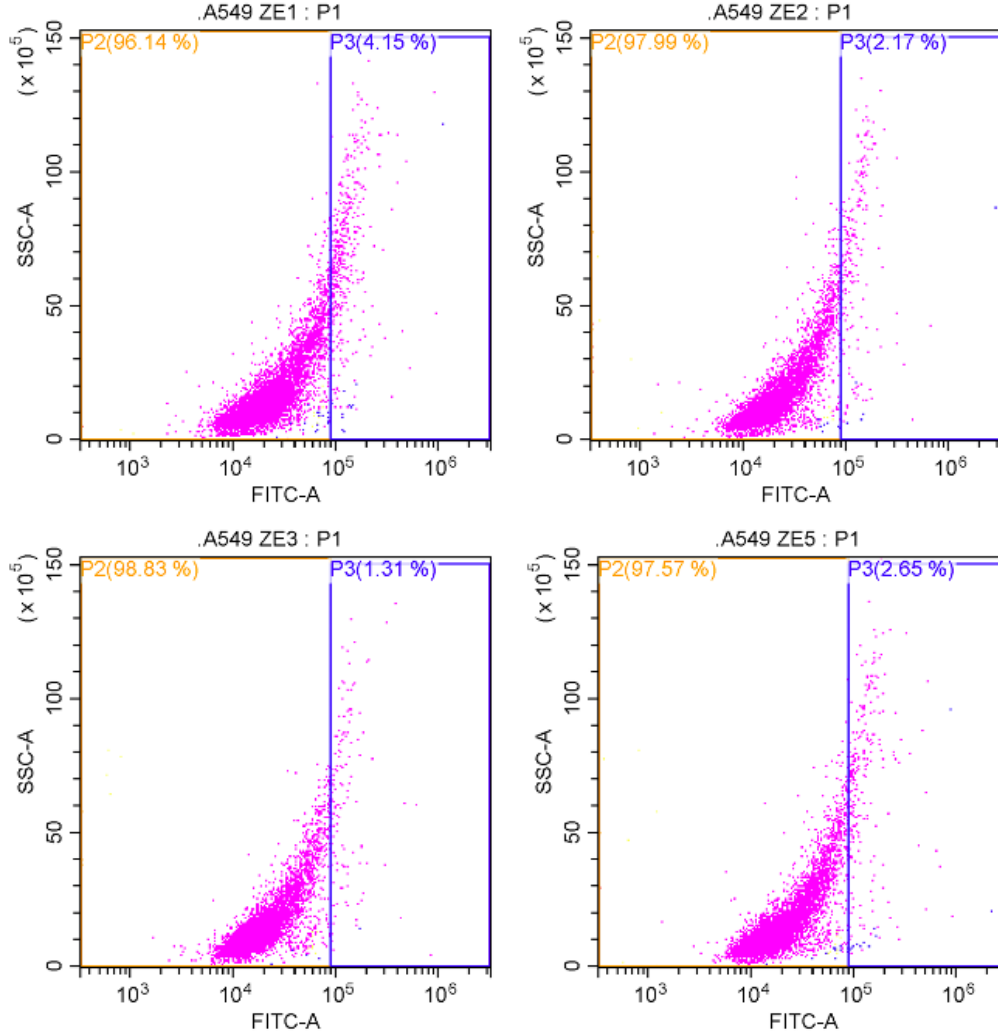
A549 Hücresi için Kontrol Grubu Kaspaz-3 Aktivasyonu



A549 kanser hücreleri üzerinde kaspaz-3 aktivasyonu verilerine göre kontrol grubunda %96.87 negatif kaspaz-3 aktivasyonu kaydedilirken %3.53 oranında hücre popülasyonunda pozitif kaspaz-3 aktivasyonu kaydedilmiştir.

Şekil 5.67

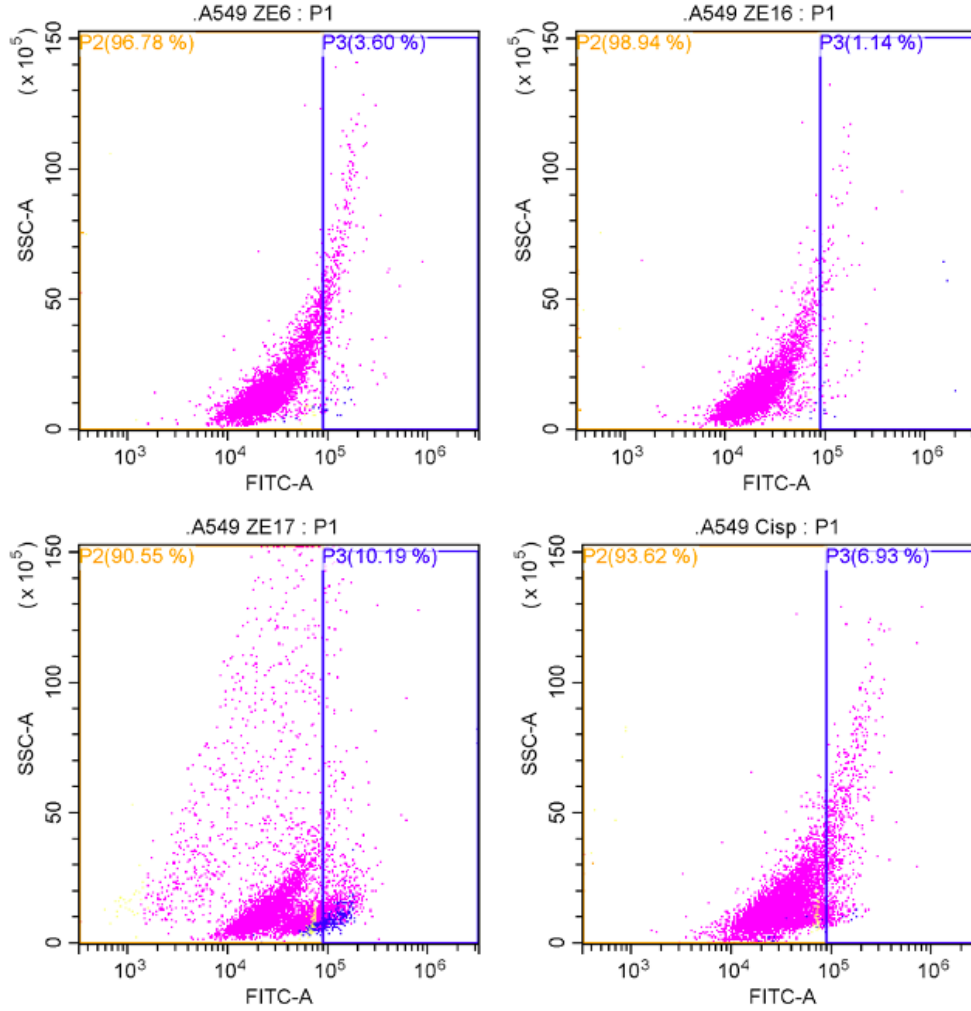
A549 Hücresi Üzerinde **2a**, **2b**, **2c** ve **2e** Bileşiklerinin Belirlenen IC_{50} Konsantrasyonda Gösterdikleri Kaspaz-3 Aktivasyon Verileri



A549 hücresi üzerinde yapılan kaspaz-3 aktivasyon verilerine göre **2a** bileşiği %96.14 oranında negatif kaspaz-3, %4.15 oranında pozitif kaspaz-3; **2b** bileşiği %97.99 oranında negatif, %2.17 oranında pozitif kaspaz-3; **2c** bileşiği %98.83 oranında negatif, % 1.31 oranında pozitif kaspaz-3 ve **2e** bileşiği ise %97.57 oranında negatif, %2.65 oranında ise pozitif kaspaz-3 aktivasyonu göstermiştir.

Şekil 5.68

A549 Hücresi Üzerinde **2f**, **2k**, **2l** ve Sisplatin Belirlenen IC₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Kaspaz-3 Aktivasyon Verileri



A549 hücresi üzerinde yapılan kaspaz-3 aktivasyon verilerine göre **2f** bileşiği %96.78 oranında negatif kaspaz-3, %3.60 oranında pozitif kaspaz-3; **2k** bileşiği %98.94 oranında negatif, %1.14 oranında pozitif kaspaz-3; **2l** bileşiği %90.55 oranında negatif, %10.19 oranında pozitif kaspaz-3 ve referans bileşik olan sisplatin ise %93.62 oranında negatif, %6.93 oranında ise pozitif kaspaz-3 aktivasyonu göstermiştir.

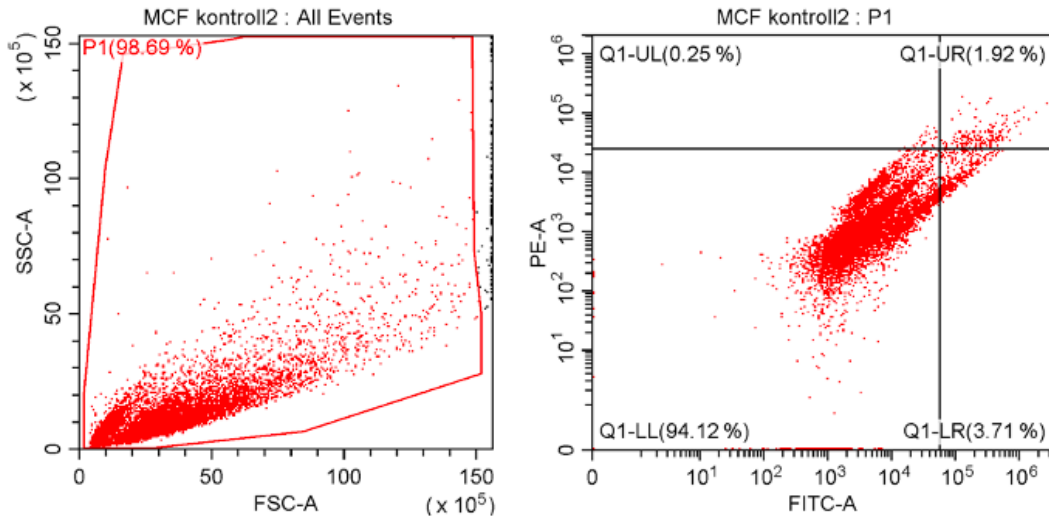
Tablo 5.3*Sentezlenen Bileşiklerin ve Sisplatin Bileşiğinin A549 Hücresi Üzerindeki Kaspaz-3 Aktivasyonları (%)*

Bileşik	Pozitif Kaspaz-3 Aktivasyonu P (%)	Negatif Kaspaz-3 Aktivasyonu P (%)
2a IC ₅₀	4.15	96.14
2b IC ₅₀	2.17	97.99
2c IC ₅₀	1.31	98.83
2e IC ₅₀	2.65	97.57
2f IC ₅₀	3.60	96.78
2k IC ₅₀	1.14	98.94
2l IC ₅₀	10.19	90.55
Sisp IC ₅₀	6.93	93.62
Kontrol	3.53	96.87

2l bileşiğinin negatif kaspaz-3 oranı %10.19 oranıyla sisplatine kıyasla 2 kata yakın fazla sonuç vermiştir. Aynı zamanda 2l bileşiğinin pozitif kaspaz oranı %90.55 oranıyla sisplatine kıyasla daha düşüktür. Kaspaz-3 aktivasyon yüzdeleri tablo 5.3'te verilmiştir.

5.4.3 MCF-7 Hücresi için Yapılan Biyolojik Aktivite Analizleri

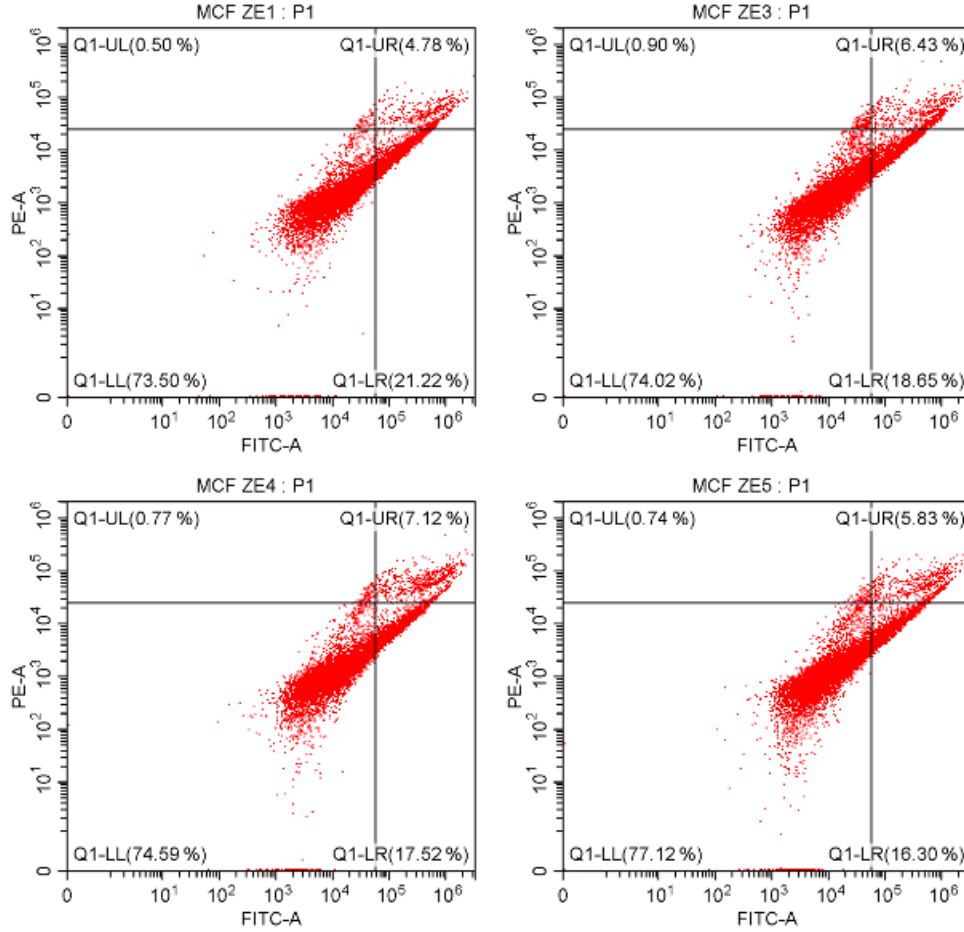
5.4.3.1 MCF-7 Hücresi için Anneksin-V FITC/PI Deney Yöntemi

Şekil 5.69*24. Saatte MCF-7 Hücresinin Popülasyonu ve Kontrol Grubu Apoptoz Verileri*

MCF-7 hücreleri üzerinde yapılan Anneksin-V FITC analizi sonucunda kontrol grubunda canlılık %94.12 olarak kaydedilmiştir ve erken apoptoz görülen hücre popülasyonu %3.71, geç apoptoz görülen hücre popülasyonu %1.92, nekrotik hücre popülasyonu ise %0.25 olarak kaydedilmiştir.

Şekil 5.70

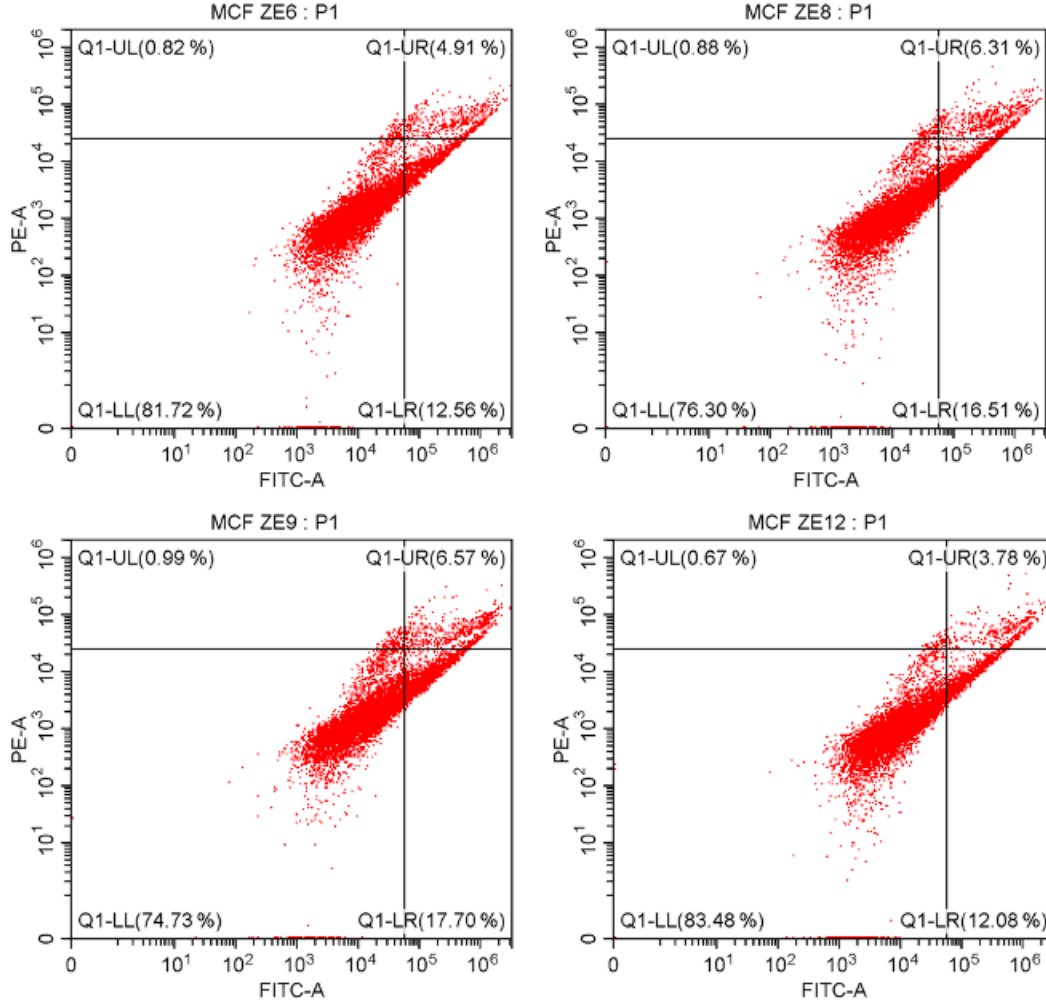
24 Saatte MCF-7 Hücresi Üzerinde **2a**, **2c**, **2d**, ve **2e** Bileşiklerinin Belirlenen IC_{50} Konsantrasyonda Gösterdikleri Apoptoz Verileri



MCF-7 hücreleri üzerinde yapılan Anneksin-V FITC verilerine göre bileşik **2a** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %21.22 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu %4.78; bileşik **2c** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %18.65 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu % 6.43; bileşik **2d** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %17.52 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu % 7.12; bileşik **2e** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %16.30 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu %5.83; olarak kaydedilmiştir.

Şekil 5.71

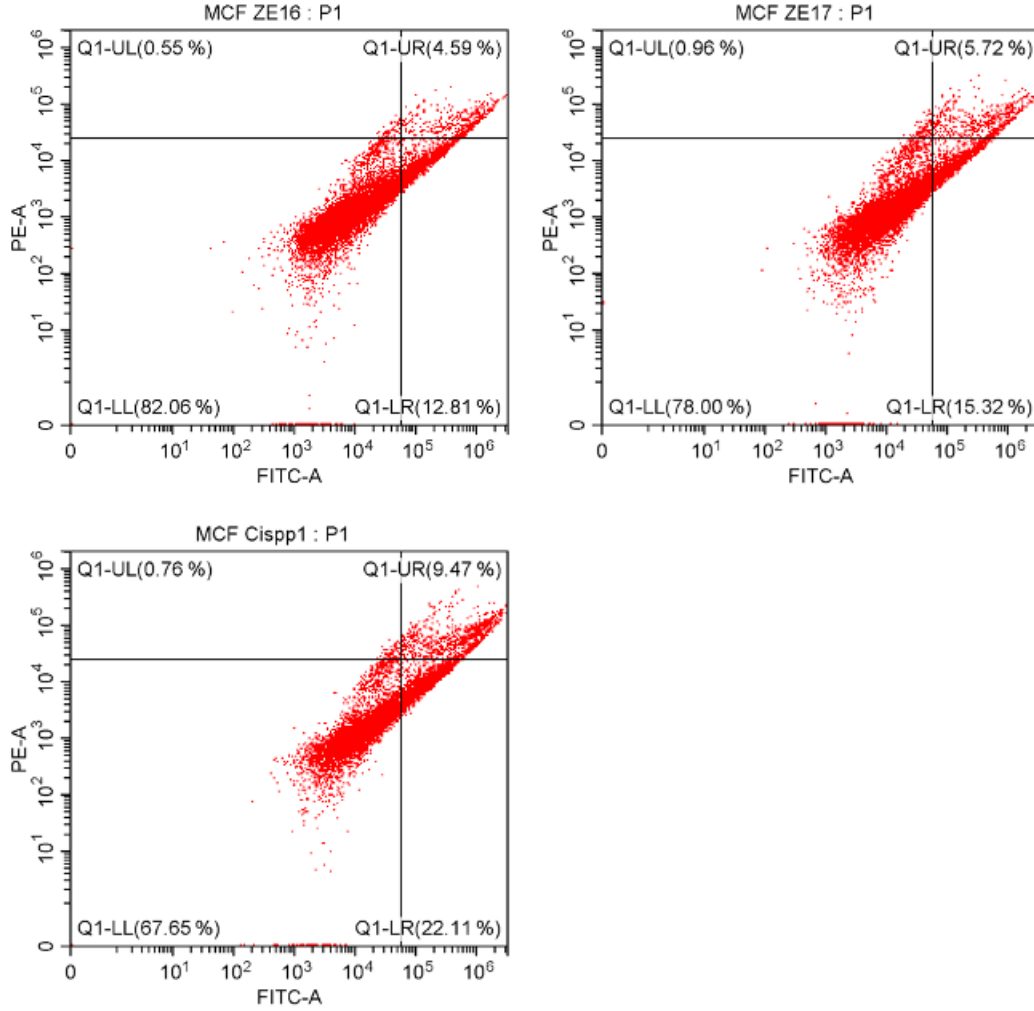
24 Saatte MCF-7 Hücresi Üzerinde **2f**, **2g**, **2h**, ve **2i** Bileşiklerinin Belirlenen IC_{50} Konsantrasyonda Gösterdikleri Apoptoz Verileri



MCF-7 hücreleri üzerinde yapılan Anneksin-V FITC verilerine göre bileşik **2f** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %12.56 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu %4.91; bileşik **2g** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %16.51 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu % 6.31; bileşik **2h** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %17.70 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu %6.57; bileşik **2i** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %12.08 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu %3.78; olarak kaydedilmiştir.

Şekil 5.72

24 Saatte MCF-7 Hücresi Üzerinde **2k**, **2l**, Bileşiklerinin ve Kontrol Bileşiği ve Sisplatinin Belirlenen IC_{50} Konsantrasyonda Gösterdikleri Apoptoz Verileri



MCF-7 hücreleri üzerinde yapılan Anneksin-V FITC verilerine göre bileşik **2k** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %12.57 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu %4.59; bileşik **2l** için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %15.32 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu %5.72; sisplatin için erken apoptoz gösteren hücre popülasyonu %22.11 ve geç apoptoz gösteren hücre popülasyonu %9.47 olarak kaydedilmiştir.

Tablo 5.4

Sentezlenen Bileşiklerin ve Sisplatinin MCF-7 Hücresi Üzerindeki Anneksin-V FITC/PI Yöntemi Sonuçları (%)

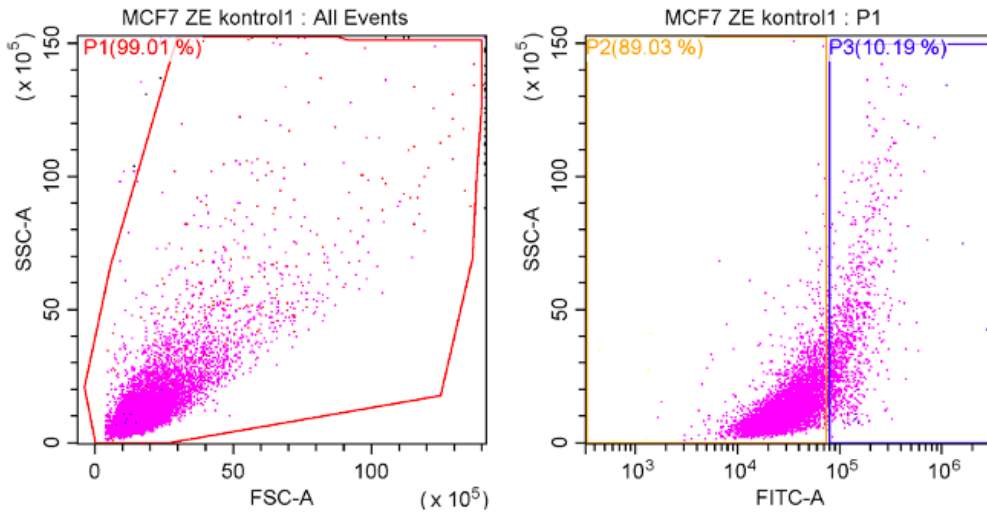
Bileşik	Canlı Hücreler (LL)	Nekrotik Hücreler (UL)	Geç Apoptotik Hücreler (UR)	Erken Apoptotik Hücreler (LR)	Toplam Yüzde (UR+LR)
2a IC₅₀	73.50	0.50	4.78	21.22	26
2c IC₅₀	74.02	0.90	6.43	18.65	25.08
2d IC₅₀	74.59	0.77	7.12	17.52	24.64
2e IC₅₀	77.12	0.74	5.83	16.30	22.13
2f IC₅₀	81.72	0.82	4.91	12.56	17.47
2g IC₅₀	76.30	0.88	6.31	16.51	22.82
2h IC₅₀	74.73	0.99	6.57	17.70	24.27
2i IC₅₀	83.48	0.67	3.78	12.08	15.86
2k IC₅₀	82.06	0.55	4.59	12.81	17.4
2l IC₅₀	78	0.96	5.72	15.32	21.04
Sisp IC₅₀	67.65	0.76	9.47	22.11	31.58
Kontrol	94.12	0.25	1.92	3.71	5.63

Referans bileşik olan sisplatin %31.58 ile en yüksek apoptoz yüzdesine sahip bileşiktir. **2a, 2c, 2d, 2h** bileşikler ise hücrelerin yaklaşık dörtte birini apoptoza sürükleyerek sisplatine yakın bir sonuç vermiştir. Sonuç yüzdeleri tablo 5.4'te verilmiştir.

5.4.3.2 A549 Hücresi için Kaspaz-3 Aktivasyonu Deney Yöntemi

Şekil 5.73

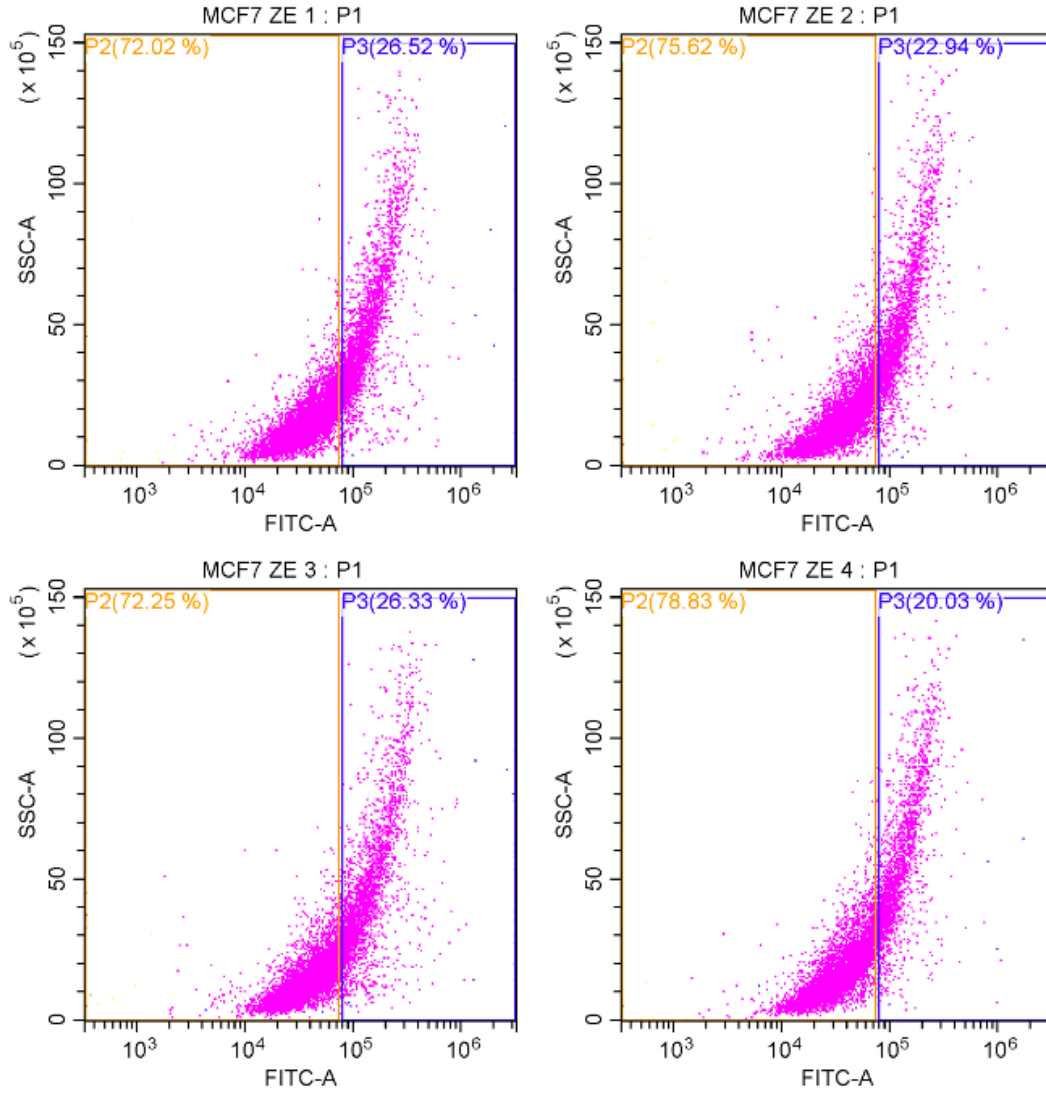
MCF-7 Hücresi için Kontrol Grubu Kaspaz-3 Aktivasyonu



MCF-7 kanser hücreleri üzerinde kaspaz-3 aktivasyonu verilerine göre kontrol grubunda %89.03 negatif kaspaz-3 aktivasyonu kaydedilirken %10.19 oranında hücre popülasyonunda pozitif kaspaz-3 aktivasyonu kaydedilmiştir.

Şekil 5.74

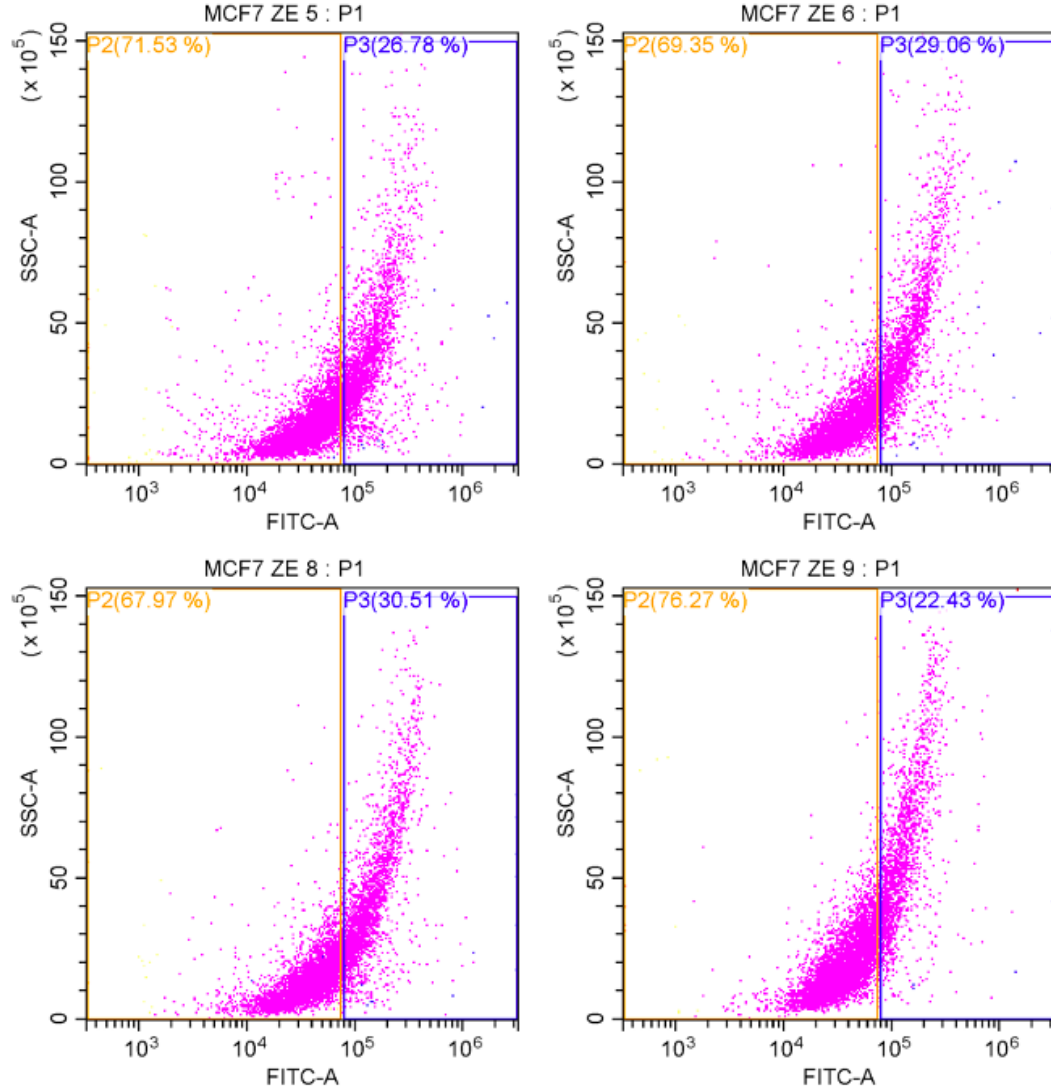
MCF-7 Hücresi Üzerinde 2a, 2b, 2c ve 2d Bileşiklerinin Belirlenen IC₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Kaspaz-3 Aktivasyon Verileri



MCF-7 hücresi üzerinde yapılan kaspaz-3 aktivasyon verilerine göre **2a** bileşiği %72.02 oranında negatif kaspaz-3, %26.52 oranında pozitif kaspaz-3; **2b** bileşiği %75.65 oranında negatif, %22.94 oranında pozitif kaspaz-3; **2c** bileşiği %72.25 oranında negatif, %26.33 oranında pozitif kaspaz-3 ve **2d** bileşiği ise %78.83 oranında negatif, %20.03 oranında ise pozitif kaspaz-3 aktivasyonu göstermiştir.

Şekil 5.75

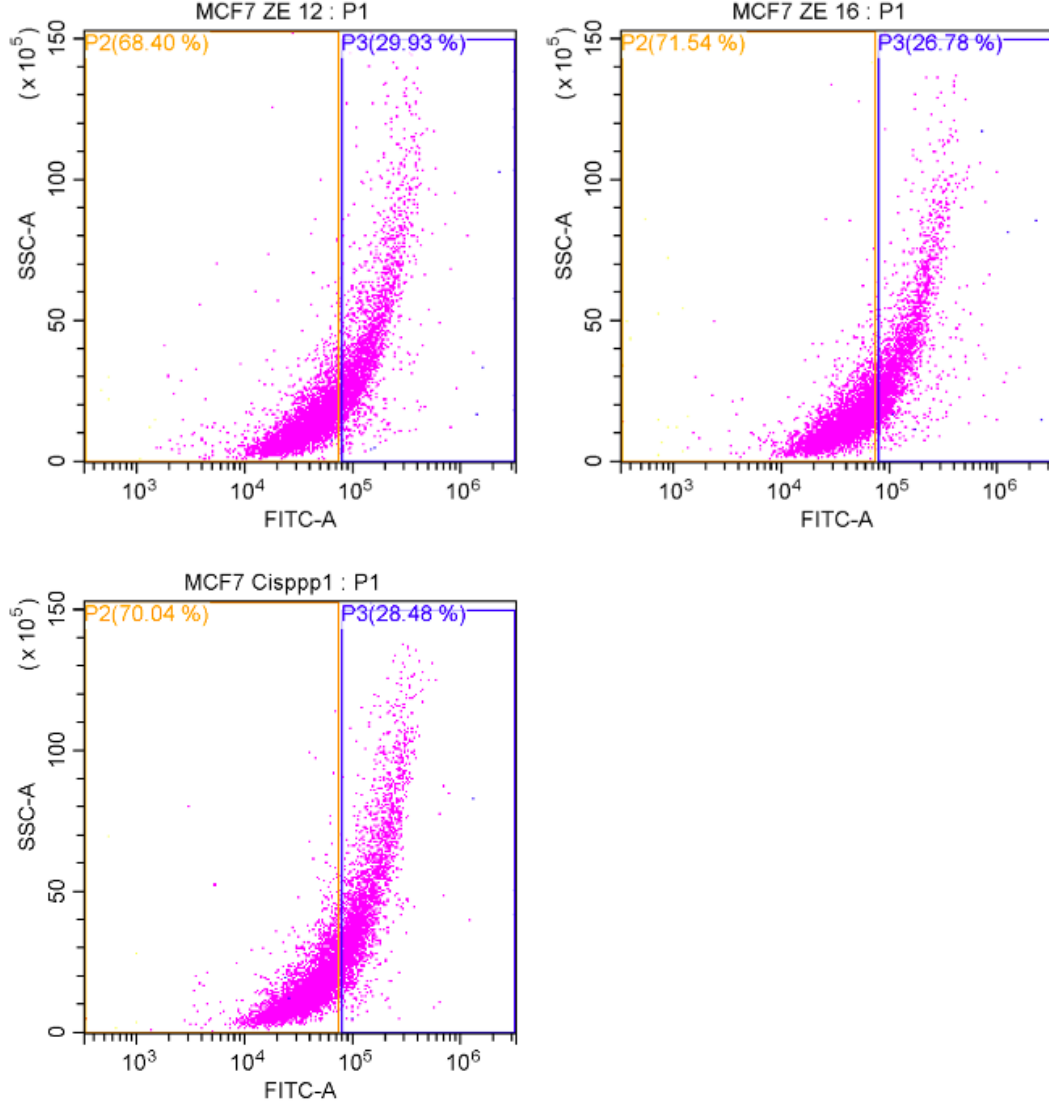
MCF-7 Hücresi Üzerinde 2e, 2f, 2g ve 2h Bileşiklerinin Belirlenen IC₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Kaspaz-3 Aktivasyon Verileri



MCF-7 hücresi üzerinde yapılan kaspaz-3 aktivasyon verilerine göre **2e** bileşiği %71.53 oranında negatif kaspaz-3, %26.78 oranında pozitif kaspaz-3; **2f** bileşiği %69.35 oranında negatif, %29.06 oranında pozitif kaspaz-3; **2g** bileşiği %67.97 oranında negatif, %30.51 oranında pozitif kaspaz-3 ve **2h** bileşiği ise %76.27 oranında negatif, %22.43 oranında ise pozitif kaspaz-3 aktivasyonu göstermiştir.

Şekil 5.76

*MCF-7 Hücresi Üzerinde **2k**, **2l** Bileşiklerinin ve Sisplatin Bileşiğinin Belirlenen IC₅₀ Konsantrasyonda Gösterdikleri Kaspaz-3 Aktivasyon Verileri*



MCF-7 hücresi üzerinde yapılan kaspaz-3 aktivasyon verilerine göre **2k** bileşiği %68.40 oranında negatif kaspaz-3, %29.93 oranında pozitif kaspaz-3; **2l** bileşiği %71.54 oranında negatif, %26.78 oranında pozitif kaspaz-3 referans bileşik olan sisplatin bileşiği ise %70.04 oranında negatif, %28.48 oranında pozitif kaspaz-3 aktivasyonu göstermiştir.

Tablo 5.5*Sentezlenen Bileşiklerin ve Sisplatin Bileşiğinin MCF-7 Hücresi Üzerindeki Kaspaz-3 Aktivasyonları*

Bileşik	Pozitif Kaspaz-3 Aktivasyonu P (%)	Negatif Kaspaz-3 Aktivasyonu P (%)
2a IC₅₀	26.52	72.02
2b IC₅₀	22.94	75.62
2c IC₅₀	26.33	72.25
2d IC₅₀	20.03	78.83
2e IC₅₀	26.78	71.53
2f IC₅₀	29.06	69.35
2g IC₅₀	30.51	67.97
2h IC₅₀	22.43	76.27
2i IC₅₀	29.93	68.40
2k IC₅₀	26.78	71.54
2l IC₅₀	30.20	68.08
Sisp IC₅₀	28.48	70.04
Kontrol	10.19	89.03

2d bileşiğinin pozitif kaspaz-3 bağımlı apoptoz yüzdesi sisplatinden düşük; **2f, 2g, 2i** bileşiklerinin ise pozitif kaspaz-3 bağımlı apoptoz yüzdeleri sisplatinden yüksek sonuç vermiştir. Aktivasyon yüzdeleri tablo 5.5'te gösterilmiştir.

6 SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında tiyosemikarbazitten hareketle sentezlenen yeni tiyazol bileşikleri (**2a-2l**) MCF-7 ve A549 kanser hücre hatları üzerinde test edilmiştir. Antiproliferatif aktiviteleri test edilen bileşiklerin seçiciliğinin anlaşılabilmesi amacıyla bileşikler aynı zamanda L929 (Fare Fibroblast Hücre Hattı) üzerinde test edilmiştir.

A549 hücresi üzerinde yapılan deneyler doğrultusunda MTT sonuçları sisplatine yakın sonuç veren **2c** (33.54 ± 4.66), **2e** (35.15 ± 2.87) ve **2f** (34.24 ± 4.27) bileşiklerin apoptoz oranları sisplatine kıyasla yüksek sonuç vermiştir. OCH_3 grubunu barındıran **2c**, NO_2 grubunu barındıran **2e** ve $-\text{CN}$ grubunu barındıran **2f** bileşiklerinin A549 hücresi üzerindeki aktivitesi değerlendirildiğinde molekülün elektronik yoğunluğunu düşürerek aromatik halka üzerinde elektron yoğunluğunu etkiledikleri yorumu yapılabilir. NO_2 ve CN elektron çekici özellik gösterirken OCH_3 elektron verici bir gruptur. Üçünün ortak özelliği olarak ise bu grupların, biyolojik hedeflerle hidrojen bağları ve dipol-dipol etkileşimler kurabilme yetenekleri sayesinde farmakofor özellikleri taşıyabilecekleri sonucuna varılabilir. Ayrıca bu grupların polarlık kazandırması, bileşiğin çözünürlüğünü ve biyolojik membranlardan geçişini de etkileyebilir.

MCF-7 hücre hattı üzerinde yapılan hücre deneyleri sonucunda **2d** (0.12 ± 0.11) bileşiği yüksek inhibitör etki gösterdi. **2d** bileşiğini ise yine yüksek inhibitör etki ile **2i** (0.39 ± 0.21) bileşiği takip etti. İki bileşiğin de MCF-7 hücre hattı üzerinde referans ilaç olan sisplatine (13.40 ± 2.86) kıyasla yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bileşiklerin sitotoksikite seçiciliklerini saptamak için yapılan L929 hücre deneylerinde ise **2d** bileşiğinin L929' a karşı inhibitör etkisinin oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu bize **2d** bileşiğinin selektif toksik etkisinin olma ihtimalinin yüksek olduğunu düşündürmektedir. MCF-7 hücre hattı üzerinde yapılan MTT sonuçları sisplatine kıyasla oldukça iyi sonuç veren **2d** ve **2i** bileşiklerinden **2d** bileşiğinin apoptoz oranı **2i** bileşiğine kıyasla daha yüksek çıkmıştır. **2i** bileşiği kaspaz-3 aktivasyonunu güçlü bir şekilde başlatmasına rağmen, apoptozun hücre popülasyonuna yayılımı açısından sisplatine göre daha sınırlı etki göstermektedir; bu da bileşiğin daha kontrollü ve potansiyel olarak daha seçici bir apoptotik etki profiline sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bu yapılan deneyler ve elde edilen sonuçlar ışığında gelecekte **2d** ve **2i** bileşiği üzerinde çalışılmaya değer *in silico* deneyler olduğunu düşündürmektedir. MCF-7 hücre hattında **2d** ve **2i** bileşiği, MTT analizinde hücre canlılığını önemli ölçüde azaltarak yüksek sitotoksik etki

göstermiş; Anneksin V-FITC ve kaspaz-3 analizleriyle bu hücre ölümünün apoptoz yoluyla gerçekleştiği doğrulandı. MCF-7 üzerinde aktivite sonuçları olumlu sonuç veren **2d** bileşiğinin fenil halkasının 4. konumunda Cl atomu içermesi elektron çekici özellikleriyle molekülün hedef proteinlerle daha güçlü etkileşim kurmasını sağlamış olabilir. Yalnızca 3. konumunda Cl atomu barındıran **2h** bileşiğinde anlamlı bir aktivite görülmemesi ve **2i** bileşiğinin aktivitesinin ise **2d**'ye göre daha düşük olmasının 3. konumundaki Cl atomunu kaynaklı olduğu düşünülebilir. Bu sebeple fenil halkasının 4. konumunda Cl atomu barındırmasının aktivite için önemli bir özellik olduğunu düşündürmektedir. Bileşiklerden **2d** numaralı bileşiğin sisplatine kıyasla yaklaşık 110 kat daha yüksek aktivite göstermesi bununla beraber seçici toksisiteye sahip olması bu bileşik için umut vaad eden ilaçların öncüsü olabileceği fikrini ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

- Adole, V. A., More, R. A., Jagdale, B. S., Pawar, T. B., & Chobe, S. S. (2020). Efficient Synthesis, Antibacterial, Antifungal, Antioxidant and Cytotoxicity Study of 2-(2-Hydrazineyl) thiazole Derivatives. *ChemistrySelect*, 5(9), 2778–2786. <https://doi.org/10.1002/slct.201904609>
- Altıntop, M. D., Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Ilgin, S., Atli, Ö., Demirci, F., & Kaplancikli, Z. A. (2014). Synthesis and *in vitro* evaluation of new nitro-substituted thiazolyl hydrazone derivatives as anticandidal and anticancer agents. *Molecules*, 19(9), 14809–14820. <https://doi.org/10.3390/molecules190914809>
- Applanat, M. P., Buteau-Lozano, H., & Herve, M. A. (2008). *Vascular Endothelial Growth Factor Is a Target Gene for Estrogen Receptor and Contributes to Breast Cancer Progression*.
- Ashram, M., Habashneh, A. Y., Bardaweel, S., & Taha, M. O. (2023). A Click Synthesis, Molecular Docking and Biological Evaluation of 1,2,3-triazoles-benzoxazepine hybrid as potential anticancer agents. *Medicinal Chemistry Research*, 32(2), 271–287. <https://doi.org/10.1007/s00044-022-03001-x>
- Bayazeed, A. A., & Alnoman, R. B. (2020). Synthesis of New Thiazole-Pyridine Hybrids and Their Anticancer Activity. *Russian Journal of General Chemistry*, 90(10), 2004–2011. <https://doi.org/10.1134/S1070363220100254>
- Bhargav, E., Mohammed, N., Singh, U. N., Ramalingam, P., Challa, R. R., Vallamkonda, B., Ahmad, S. F., DSNBK, P., Pasala, P. K., & Rudrapal, M. (2024a). A central composite design-based targeted quercetin nanoliposomal formulation: Optimization and cytotoxic studies on MCF-7 breast cancer cell lines. *Heliyon*, 10(17). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37430>
- Bhargav, E., Mohammed, N., Singh, U. N., Ramalingam, P., Challa, R. R., Vallamkonda, B., Ahmad, S. F., DSNBK, P., Pasala, P. K., & Rudrapal, M. (2024b). A central composite design-based targeted quercetin nanoliposomal formulation: Optimization and cytotoxic studies on MCF-7 breast cancer cell lines. *Heliyon*, 10(17). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37430>

- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Carter, J. S., Kramer, S., Talley, J. J., Penning, T., Collins, P., Graneto, M. J., Seibert, K., Koboldt, C. M., Masferrer, J., & Zweifel, B. (1999). Synthesis and activity of sulfonamide-substituted 4,5-diaryl thiazoles as selective cyclooxygenase-2 inhibitors. In *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (Vol. 9).
- Cavanagh, J., Fairbrother, W. J., Palmer, A. G., Skelton, N. J., & Rance, M. (2007). *Protein NMR spectroscopy: Principles and practice* (2nd ed.). Academic Press.
- Cheng, F., Yang, Y., Zhang, L., Cao, Y., Yao, W., Tang, Y., & Ding, A. (2015). A Natural Triterpene Derivative from *Euphorbia kansui* Inhibits Cell Proliferation and Induces Apoptosis against Rat Intestinal Epithelioid Cell Line in Vitro. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(8), 18956–18975. <https://doi.org/10.3390/ijms160818956>
- Cook, A. H., Heilbron, I., & Levy, A. L. (1947). Studies in the azole series: A novel route to 5-aminothiazoles. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 1947(1), 1594–1598. <https://doi.org/10.1039/jr9470001594>
- Çevik, U. A., Sağlık, B. N., Ardiç, C. M., Özkay, Y., & Atlı, O. (2018). Synthesis and evaluation of new benzimidazole derivatives with hydrazone moiety as anticancer agents. *Turkish Journal of Biochemistry*, 43(2), 151–158. <https://doi.org/10.1515/tjb-2017-0167>
- Dawoud, N. T. A., El-Fakharany, E. M., Abdallah, A. E., El-Gendi, H., & Lotfy, D. R. (2022). Synthesis, and docking studies of novel heterocycles incorporating the indazolylthiazole moiety as antimicrobial and anticancer agents. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07456-1>
- Ding, Y. Q., Cui, Y. Z., & Li, T. D. (2015). New views on the reaction of primary amine and aldehyde from DFT study. *The journal of physical chemistry. A*, 119(18), 4252–4260. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.5b02186>

- Donald J. Giard, Stuart A. Aaronson, George J. Todaro, Paul Arnstein, John H. Kersey, Harvey Dosik, Wade P. Parks, *In Vitro Cultivation of Human Tumors: Establishment of Cell Lines Derived From a Series of Solid Tumors*, *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, Volume 51, Issue 5, November 1973, Pages 1417–1423, <https://doi.org/10.1093/jnci/51.5.1417>
- Duran, M. ., (2006). *Biyolojik Aktif ve İlaç Öncüsü Olan Bazı Tiyazol Türevlerinin Sentezi Yapı-Etki İlişkilerinin Deneysel ve Teorik İncelemesi*. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Eskişehir, 158s.
- Eastnon, J., Heinisch', G., Hofmans, J., Langerl, T., Grunicke', H. H., Fink2, J., & Piirstingerl, G. (1997). Thiazolyl and benzothiazolyl hydrazones derived from a-(N)-acetylpyridines and diazines: synthesis, antiproliferative activity and CoMFA studies. In *Eur J Med Chem* (Vol. 32).
- Eicher, T., & Hauptmann, S. (2003). *The Chemistry of Heterocycles: Structure, Reactions, Syntheses, and Applications*. Wiley-VCH.
- Elmore, S. (2007). *Apoptosis: a review of programmed cell death*. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495–516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- El-Sayed, M. A. A., Abdel-Aziz, N. I., Abdel-Aziz, A. A. M., El-Azab, A. S., Asiri, Y. A., & Eltahir, K. E. H. (2011). Design, synthesis, and biological evaluation of substituted hydrazone and pyrazole derivatives as selective COX-2 inhibitors: Molecular docking study. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 19(11), 3416–3424. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.04.027>
- Farghaly, T. A., Masaret, G. S., Muhammad, Z. A., & Harras, M. F. (2020). Discovery of thiazole-based-chalcones and 4-hetarylthiazoles as potent anticancer agents: Synthesis, docking study and anticancer activity. *Bioorganic Chemistry*, 98, 103761. <https://doi.org/10.1016/J.BIOORG.2020.103761>
- Gupta, R. R., Kumar, M., & Gupta, V. (1999). *Heterocyclic chemistry II: Five-membered heterocycles* (pp. 416–420). Springer.
- Joule, J. A., & Mills, K. (2010). *Heterocyclic chemistry* (5th ed.). Wiley-Blackwell.

- Kaplánek, R., Jakubek, M., Rak, J., Kejík, Z., Havlík, M., Dolenský, B., Frydrych, I., Hajdúch, M., Kolář, M., Bogdanová, K., Králová, J., Džubák, P., & Král, V. (2015). Caffeine-hydrazones as anticancer agents with pronounced selectivity toward T-lymphoblastic leukaemia cells. *Bioorganic Chemistry*, 60, 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2015.03.003>
- Li, L. Y., Peng, J. Di, Zhou, W., Qiao, H., Deng, X., Li, Z. H., Li, J. D., Fu, Y. D., Li, S., Sun, K., Liu, H. M., & Zhao, W. (2018). Potent hydrazone derivatives targeting esophageal cancer cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 148, 359–371. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.02.033>
- Lvov, A. G., Khusniyarov, M. M., & Shirinian, V. Z. (2018). Azole-based diarylethenes as the next step towards advanced photochromic materials. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 36, 1–23. <https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOCHEMREV.2018.04.002>
- Mirza, S., Asma Naqvi, S., Mohammed Khan, K., Salar, U., & Choudhary, M. I. (2017). Facile synthesis of novel substituted aryl-thiazole (SAT) analogs via one-pot multi-component reaction as potent cytotoxic agents against cancer cell lines. *Bioorganic Chemistry*, 70, 133–143. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2016.12.003>
- Moslehi, M., Rezaei, S., Talebzadeh, P., Ansari, M. J., Jawad, M. A., Jalil, A. T., Rastegar-Pouyani, N., Jafarzadeh, E., Taeb, S., & Najafi, M. (2023). Apigenin in cancer therapy: Prevention of genomic instability and anticancer mechanisms. In *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* (Vol. 50, Issue 1, pp. 3–18). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13725>
- Murakami, E., Shionoya, T., Komenoi, S., Suzuki, Y., & Sakane, F. (2016). Cloning and characterization of novel testis-Specific diacylglycerol kinase η splice variants 3 and 4. *PLoS ONE*, 11(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone>
- Murugappan, S., Dastari, S., Jungare, K., Barve, N. M., & Shankaraiah, N. (2024a). Hydrazide-hydrazone/hydrazone as enabling linkers in anti-cancer drug discovery: A comprehensive review. In *Journal of Molecular Structure* (Vol. 1307). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.138012>

- Murugappan, S., Dastari, S., Jungare, K., Barve, N. M., & Shankaraiah, N. (2024b). Hydrazide-hydrazone/hydrazone as enabling linkers in anti-cancer drug discovery: A comprehensive review. In *Journal of Molecular Structure* (Vol. 1307). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.138012>
- Musgrove, E. A., & Sutherland, R. L. (2009). Biological determinants of endocrine resistance in breast cancer. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 9, Issue 9, pp. 631–643). <https://doi.org/10.1038/nrc2713>
- Mustafa, S.M., Nair, V.A., Chittoor, J.P., Krishnapillai, S. (2004). Synthesis of 1,2,4-triazoles and thiazoles from thiosemicarbazide and its derivatives. *Mini-Rev. Org. Chem.*, 1, 375-385.
- Nauen, R., Ebbinghaus-Kintscher, U., Salgado, V. L., & Kaussmann, M. (2003). Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 76(2), 55–69. [https://doi.org/10.1016/S0048-3575\(03\)00065-8](https://doi.org/10.1016/S0048-3575(03)00065-8)
- Noma, S. A. A., Erzengin, M., Tunç, T., & Balcıoğlu, S. (2020). Synthesis, characterization and biological assessment of a novel hydrazone as potential anticancer agent and enzyme inhibitor. *Journal of Molecular Structure*, 1205, 127550. <https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2019.127550>
- Oukoloff, K., Lucero, B., Francisco, K. R., Brunden, K. R., & Ballatore, C. (2019). 1,2,4-Triazolo[1,5-a]pyrimidines in drug design. In *European Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 165, pp. 332–346). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.01.027>
- Pandya, S. R., Singh, H., Desimone, M. F., Singh, J., George, N., & Jasani, S. (2023). Circumventing challenges in mitochondrial targeting for cancer treatment: leveraging nanoplateforms for effective solutions. In *Materials Advances* (Vol. 5, Issue 2, pp. 409–431). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/d3ma00629h>
- Pinheiro, S., Pinheiro, E. M. C., Muri, E. M. F., Pessôa, J. C., Cadorini, M. A., & Greco, S. J. (2020). Biological activities of [1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidines and analogs. In *Medicinal Chemistry Research* (Vol. 29, Issue 10, pp. 1751–1776). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00044-020-02609-1>

- Rozbicki, P., Oğuz, E., Wolińska, E., Türkan, F., Cetin, A., & Branowska, D. (2024). Synthesis and examination of 1,2,4-triazine-sulfonamide hybrids as potential inhibitory drugs: Inhibition effects on AChE and GST enzymes *in silico* and *in vitro* conditions. *Archiv Der Pharmazie*, 357(9). <https://doi.org/10.1002/ardp.202400182>
- Shabsoug, B., & Shabsoug, B. M. (n.d.). Synthesis, Characterization and Hydrolysis Study of the Imine and the Hydrazone of p-nitro benzaldehyde, under Simulated Physiological Conditions. *Eur. Chem. Bull*, 2023(5), 2913–2924. <https://doi.org/10.48047/ecb/2023.12.5.209>
- Sharma, R. N., Xavier, F. P., Vasu, K. K., Chaturvedi, S. C., & Pancholi, S. S. (2009). Synthesis of 4-benzyl-1,3-thiazole derivatives as potential anti-inflammatory agents: An analogue-based drug design approach. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24(3), 890–897. <https://doi.org/10.1080/14756360802519558>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S., & Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 73(1), 17–48. <https://doi.org/10.3322/caac.21763>
- Soule H. D., J. Vazquez, A. Long, S. Albert, M. Brennan, A Human Cell Line From a Pleural Effusion Derived From a Breast Carcinoma, *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, Volume 51, Issue 5, November 1973, Pages 1409–1416, <https://doi.org/10.1093/jnci/51.5.1409>
- Stein, R. A., Gaillard, S., & McDonnell, D. P. (2009). Estrogen-related receptor alpha induces the expression of vascular endothelial growth factor in breast cancer cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 114(1–2), 106–112. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2009.02.010>
- Su, J. L., Yen, C. J., Chen, P. S., Chuang, S. E., Hong, C. C., Kuo, I. H., Chen, H. Y., Hung, M. C., & Kuo, M. L. (2007). The role of the VEGF-C/VEGFR-3 axis in cancer progression. In *British Journal of Cancer* (Vol. 96, Issue 4, pp. 541–545). <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603487>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021a). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>

- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021b). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Swain, R. J., Kemp, S. J., Goldstraw, P., Tetley, T. D., & Stevens, M. M. (2010). Assessment of Cell Line Models of Primary Human Cells by Raman Spectral Phenotyping. *Biophysical Journal*, 98(8), 1703–1711. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.12.4289>
- Tantak, M. P., Wang, J., Singh, R. P., Kumar, A., Shah, K., & Kumar, D. (2015). 2-(3'-Indolyl)-N-arylthiazole-4-carboxamides: Synthesis and evaluation of antibacterial and anticancer activities. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 25(19), 4225–4231. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.07.105>
- Tutuş, B. (2022) Yeni 2-hidrazinotiyazol türevlerinin Sentezi ve biyolojik etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Wegiel, B., Ekberg, J., Talasila, K. M., Jalili, S., & Persson, J. L. (2009). The role of VEGF and a functional link between VEGF and p27Kip1 in acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 23(2), 251–261. <https://doi.org/10.1038/leu.2008.300>
- Yadav, J., & Kaushik, C. P. (2024). Quinoline-1,2,3-triazole hybrids: Design, synthesis, antimalarial and antimicrobial evaluation. *Journal of Molecular Structure*, 1316. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.138882>
- Zhang, Z. H., Wu, H. M., Deng, S. N., Chai, R. X., Mwenda, M. C., Peng, Y. Y., Cai, D., & Chen, Y. (2019). Synthesis and biological evaluation of 2,4-disubstituted thiazole amide derivatives as anticancer agent. *Chemical Papers*, 73(2), 355–364. <https://doi.org/10.1007/s11696-018-0587-3>