

**T.C.**  
**ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**

**5-(2-KLOROFENİL)-4-HEKZİL-4H-1,2,4-TRİAZOL-3-  
TİYOL BİLEŞİĞİNİN YAĞ ASİDİ TÜREVLERİNİN  
SENTEZİ, TEORİK HESAPLAMALARI, ANTİTÜMÖR  
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**AYÇA BAYHAN**

**DANIŞMAN**

**DOÇ. DR. MURAT GENÇ**

**ADİYAMAN,2023**

*Bu tez çalışması BAP Komisyonu tarafından kabul edilen FEFYL/2023-0001 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.*

## ÖZET

### 5-(2-KLOROFENİL)-4-HEKZİL-4H-1,2,4-TRİAZOL-3-TİYOL BİLEŞİĞİNİN YAĞ ASİDİ TÜREVLERİNİN SENTEZİ, TEORİK HESAPLAMALARI, ANTİTÜMÖR ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Ayça BAYHAN

Kimya Anabilim Dalı

Adıyaman Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ağustos/2023

Danışman: Doç. Dr. Murat GENÇ

Tez çalışmasında ilk olarak 2-klor benzohidrazid ve hekzil izotiyosiyanat reaktifleri Tetrahidrofuran çözücüsü içerisinde reaksiyona girdikten sonra bazik ortamda 5-(2-klorofenil)-4-hekzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol bileşiği elde edildi; burada asidik proton koparılarak geleneksel metot ile bu bileşiğin Louroil Klorür, Miristoil Klorür, Palmitoil Klorür ve Stearoil Klorür gibi farklı yağ asitleri kullanılarak türevleri sentezlendi. Daha sonra elde edilen bileşiklerin yapıları  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  ve FT-IR kullanılarak karakterize edildi. Gaussian 09 programı kullanılarak optimize edilmiş üç boyutlu yapıları, HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve MEP haritası DFT teknikleriyle teorik olarak hesaplandı. HT-29 ve HCT-116 kolon kanseri hücrelerinde ve MDA-MB-231 üçlü negatif meme kanseri hücrelerinde sentezlenen bileşiklerin antitümör aktivitesini belirlemek için MTT yöntemi kullanıldı. Sentezlenen bileşiklerin MTT yöntemiyle antitümör özelliklerinin incelenmesi ile de yapılan çalışmaların bir bütün olarak biyolojik etkinliklerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması esas alındı.

**Anahtar Kelimeler:** 1,2,4-Triazoller; Gaussian; Antitümör

## ABSTRACT

### SYNTHESIS, THEORETICAL CALCULATIONS, INVESTIGATION OF ANTITUMOR PROPERTIES OF FATTY ACID DERIVATIVES OF 5-(2- CHLOROPHENYL)-4-HEXYL-4H-1,2,4-TRIAZOLE-3-THIOL COMPOUND

Ayça BAYHAN

Department of Chemistry

Adıyaman University, Graduate Education School, 08/2023

Supervisor: Doç. Dr. Murat GENÇ

In this thesis study, first of all, after the reaction of 2-chloro benzohydrazide and hexyl isothiocyanate reagents in Tetrahydrofuran solvent, 5-(2-chlorophenyl)-4-hexyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiol compound was obtained in basic medium. Afterwards, derivatives of this compound were synthesized using different fatty acids such as Louroyl Chloride, Myristoyl Chloride, Palmitoyl Chloride and Stearoyl Chloride by removing the acidic proton. Then, the structures of the obtained compounds were characterized using  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR and FT-IR. Optimized three-dimensional structures, HOMO-LUMO energy levels and MEP map were calculated theoretically by DFT techniques using Gaussian 09 program. MTT method was used to determine the antitumor activity of compounds synthesized in HT-29 and HCT-116 colon cancer cells and MDA-MB-231 triple negative breast cancer cells. By examining the antitumor properties of the synthesized compounds with the MTT method, the determination and comparison of the biological activities as a whole was based on the studies.

**Keywords:** 1,2,4-Triazoles; Gaussian; Antitumor

## TEŞEKKÜR

Ciddi bir emek ve özveri ile hazırladığım yüksek lisans tezimde eğitimim boyunca konu seçiminden araştırmanın tamamlanmasına dek bilgileriyle ı ışık tutan, desteğini bir an olsun esirgemeyen, 6 Şubat deprem felaketinin ardından bile sürecimi tamamlamaya ilk günkü gibi yüreklendirmeye devam eden ve öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım tez danışmanım sayın Doç. Dr. Murat GENÇ hocama sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Teze sağladığı çok değerli bilgi aktarımları ve her koşulda desteğiyle yanımda olan sayın Prof. Dr. Zuhal KARAGÖZ GENÇ hocama teşekkür ederim.

Sürecimde sayesinde yılmadan büyük bir azimle devam edebildiğim, gece-gündüz demeden kendisiyle çalışabildiğim, bana karşı daima sabırlı ve güler yüzlü olan ve tezimin özellikle anti tümör aktivite bölümü için desteklerinden dolayı Doç. Dr. Esra BOZGEYİK hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Adıyaman Üniversitesindeki bütün hocalarıma çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca elimi bir an bile bırakmayıp koşulsuz yanımda olan, beni sevgiyle büyüten, haklarını asla ödeyemeyeceğim aileme minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, tezimi yaşadığımız 6 Şubat felaketinde kaybettiğim akrabalarım, öğrencilerim, arkadaşlarım ve bütün deprem şehitlerine ithaf ediyorum.

## ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

“5-(2-klorofenil)-4-hekzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol Bileşiğinin Yağ Asidi Türevlerinin Sentezi, Teorik Hesaplamaları, Anti tümör Özelliklerinin İncelenmesi” başlıklı 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 Adıyaman Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programıyla 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.

.....

(İmza)

.....

Ayça BAYHAN

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                                                                                                                        | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| BAŞLIK SAYFASI .....                                                                                                                                                                                   | i     |
| JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....                                                                                                                                                                             | ii    |
| ÖZET .....                                                                                                                                                                                             | iii   |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                                                         | iv    |
| TEŞEKKÜR .....                                                                                                                                                                                         | v     |
| ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ .....                                                                                                                                                      | vi    |
| İÇİNDEKİLER.....                                                                                                                                                                                       | ix    |
| TABLolar DİZİNİ.....                                                                                                                                                                                   | xi    |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                                                                                                                                  | xii   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....                                                                                                                                                                    | xvi   |
| 1. GİRİŞ.....                                                                                                                                                                                          | 1     |
| 1.1. Triazol .....                                                                                                                                                                                     | 1     |
| 1.2. Yağ Asidi .....                                                                                                                                                                                   | 6     |
| 1.3. Bilgisayar Destekli Teorik Hesaplamalar .....                                                                                                                                                     | 8     |
| 1.4. Antitümör Aktivite.....                                                                                                                                                                           | 9     |
| 2. MATERYAL VE YÖNTEM.....                                                                                                                                                                             | 12    |
| 2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler .....                                                                                                                                                                 | 12    |
| 2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....                                                                                                                                                                | 12    |
| 2.3. Saflaştırma .....                                                                                                                                                                                 | 13    |
| 2.4. Spektroskopik Ölçümler .....                                                                                                                                                                      | 13    |
| 2.5. Tepkime Şeması.....                                                                                                                                                                               | 13    |
| 2.6. Deneysel Çalışma .....                                                                                                                                                                            | 14    |
| 2.6.1. 2-(2-Klorobenzoil)-N-(1-Heksil)hidrazin karbotioamid bileşiğinin sentezi .....                                                                                                                  | 14    |
| 2.6.2. 5-(2-klorofenil)-4-heksil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol bileşiğinin sentezi .....                                                                                                                    | 14    |
| 2.6.3. Genel metot ile 5-(2-klorofenil)-4-heksil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol bileşiğinin yağ<br>asidi (louroil klorür, miristoil klorür, palmitoil klorür, stearoil klorür) türevlerinin sentezi<br>..... | 14    |
| 2.6.4. Antitümör aktivite deneyleri .....                                                                                                                                                              | 14    |

|                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3. BULGULAR .....                                                                                                                     | 16 |
| 3.1. Deneysel Bulgular.....                                                                                                           | 16 |
| 3.1.1. 2-(2-Klorobenzoil)-N-(1-Heksil)hidrazin karbotioamid (1) karakterizasyonu .....                                                | 16 |
| 3.1.2. 5-(2-klorofenil)-4-heksil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (2) karakterizasyonu .....                                                  | 19 |
| 3.1.3. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)dodekan-1-on (3) bileşiminin karakterizasyonu .....    | 22 |
| 3.1.4. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1 -il)tetradekan-1-on (4) bileşiminin karakterizasyonu..... | 25 |
| 3.1.5. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)hekzadekan-1-on (5) bileşiminin karakterizasyonu.....  | 28 |
| 3.1.6. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)oktadekan-1-on (6) bileşiminin karakterizasyonu .....  | 31 |
| 3.2. Teorik Çalışma.....                                                                                                              | 35 |
| 3.2.1. 2-(2-Klorobenzoil)-N-(1-Heksil)hidrazin karbotioamid (1) analizi.....                                                          | 35 |
| 3.2.2. 5-(2-klorofenil)-4-heksil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (2) analizi .....                                                           | 38 |
| 3.2.3.1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)dodekan-1-on (3) analizi.....                           | 42 |
| 3.2.4. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1 -il)tetradekan-1-on (4) analizi .....                     | 45 |
| 3.2.5. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)hekzadekan-1-on (5) analizi .....                      | 50 |
| 3.2.6. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)oktadekan-1-on (6) analizi.....                        | 53 |
| 3.3. Antitümör Aktivite.....                                                                                                          | 56 |
| 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....                                                                                                          | 62 |
| KAYNAKÇA .....                                                                                                                        | 64 |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                                                                                                         | 1  |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                       | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>Tablo 3.1. (1)</b> No'lu bileşiğin hesaplanan moleküler parametreleri .....                        | 37    |
| <b>Tablo 3.2. (2)</b> No'lu bileşiğin hesaplanan moleküler parametreleri .....                        | 41    |
| <b>Tablo 3.3. (3)</b> No'lu bileşiğin hesaplanan moleküler parametreleri .....                        | 45    |
| <b>Tablo 3.4. (4)</b> No'lu bileşiğin hesaplanan moleküler parametreleri .....                        | 49    |
| <b>Tablo 3.5. (5)</b> No'lu bileşiğin hesaplanan moleküler parametreleri .....                        | 53    |
| <b>Tablo 3.6. (6)</b> No'lu bileşiğin hesaplanan moleküler parametreleri .....                        | 56    |
| <b>Tablo 3.7.</b> HT-29 kolon kanseri hücrelerinde sentezlenmiş bileşiklerin IC50 değerleri .....     | 57    |
| <b>Tablo 3.8.</b> HCT-116 kolon kanseri hücrelerinde sentezlenmiş bileşiklerin IC50 değerleri .....   | 58    |
| <b>Tablo 3.9.</b> MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde sentezlenmiş bileşiklerin IC50 değerleri ..... | 60    |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                             | Sayfa |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 1.1. 1,2,4 – Triazol yapısı.....                                                                                                      | 2     |
| Şekil 1.2. 1,2,4-Triazol tautomerik formları .....                                                                                          | 2     |
| Şekil 1.3. Bakteriyostatik ajan olarak kullanılan (+) $\alpha$ -(4-chlorophenyl)- $\beta$ (phenylmethylene)-1H-1,2,4-triazol-1-etanol ..... | 3     |
| Şekil 1.4. Antifungal aktivite olarak kullanılan Efinakonazol .....                                                                         | 3     |
| Şekil 1.5. Klinik tıpta kullanılan 1,2,4 -Triazol içeren ve terapötik açıdan önemli bazı ilaçlar..                                          | 4     |
| Şekil 1.6. Elmada yaz hastalığına neden olan mantarlar üzerinde etkili olan Etakonazol .....                                                | 5     |
| Şekil 1.7. Domates ve yeşil fasulyede mantar için etkili olan Dinikonazol .....                                                             | 5     |
| Şekil 1.8. Soğutma sıvısı etkinliği artırıcı 2-merkapt-1,2,4-triazol 2,4 dinitrobenzamid .....                                              | 6     |
| Şekil 1.9. Korozyon önleyici Triazol .....                                                                                                  | 6     |
| Şekil 1.10. Laurik asit (C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> ).....                                                              | 7     |
| Şekil 1.11. Miristik asit (C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub> ) .....                                                           | 7     |
| Şekil 1.12. Palmitik asit (C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> ).....                                                            | 7     |
| Şekil 1.13. Stearik asit (C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub> ) .....                                                            | 7     |
| Şekil 1.14. MTT'nin kimyasal yapısı .....                                                                                                   | 11    |
| Şekil 1.15. Hücre Canlılığı için MTT Tahlil Protokolü [49].....                                                                             | 11    |
| Şekil 2.1. Tez kapsamında yapılan deneylerin şematik gösterimi .....                                                                        | 13    |
| Şekil 3.1. 2-(2-Klorobenzoil)-N-(1-Heksil) hidrazin karbotioamid bileşiği .....                                                             | 16    |

|                                                                                                                                 |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Şekil 3.2. (1) No'lu bileşiğin deneysel FT-IR spektrumu .....</b>                                                            | <b>17</b> |
| <b>Şekil 3.3. (1) No'lu bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu ( CHCl<sub>3</sub>-d, 300 MHz ).....</b>                          | <b>18</b> |
| <b>Şekil 3.4. (1) No'lu bileşiğin <sup>13</sup>C-NMR spektrumu .....</b>                                                        | <b>19</b> |
| <b>Şekil 3.5. 5-(2-klorofenil)-4-heksil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol bileşiği .....</b>                                             | <b>19</b> |
| <b>Şekil 3.6. (2) No'lu bileşiğin deneysel FT-IR spektrumu .....</b>                                                            | <b>20</b> |
| <b>Şekil 3.7. (2) No'lu bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu ( CHCl<sub>3</sub>-d, 300 MHz ).....</b>                          | <b>21</b> |
| <b>Şekil 3.8. (2) No'lu bileşiğin <sup>13</sup>C-NMR spektrumu .....</b>                                                        | <b>22</b> |
| <b>Şekil 3.9. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1 -il)dodekan-1-on<br/>bileşiği.....</b>       | <b>22</b> |
| <b>Şekil 3.10. (3) No'lu bileşiğin deneysel FT-IR spektrumu .....</b>                                                           | <b>23</b> |
| <b>Şekil 3.11. (3) No'lu bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu ( CHCl<sub>3</sub>-d, 300 MHz ).....</b>                         | <b>24</b> |
| <b>Şekil 3.12. (3) No'lu bileşiğin <sup>13</sup>C-NMR spektrumu .....</b>                                                       | <b>25</b> |
| <b>Şekil 3.13. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1 -il)tetradekan-<br/>1-on bileşiği .....</b> | <b>25</b> |
| <b>Şekil 3.14. (4) No'lu bileşiğin deneysel FT-IR spektrumu .....</b>                                                           | <b>26</b> |
| <b>Şekil 3.15. (4) No'lu bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu ( CHCl<sub>3</sub>-d, 300 MHz ).....</b>                         | <b>27</b> |
| <b>Şekil 3.16. (4) No'lu bileşiğin <sup>13</sup>C-NMR spektrumu .....</b>                                                       | <b>28</b> |
| <b>Şekil 3.17. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)heksadekan-<br/>1-on bileşiği .....</b>  | <b>28</b> |
| <b>Şekil 3.18. (5) No'lu bileşiğin deneysel FT-IR spektrumu .....</b>                                                           | <b>29</b> |
| <b>Şekil 3.19. (5) No'lu bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu ( CHCl<sub>3</sub>-d, 300 MHz ).....</b>                         | <b>30</b> |

|                                                                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Şekil 3.20. (5) No'lu bileşiğin <math>^{13}\text{C}</math>-NMR spektrumu .....</b>                                              | <b>31</b> |
| <b>Şekil 3.21. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1 -il)oktadekan-1-on bileşiği .....</b>          | <b>31</b> |
| <b>Şekil 3.22. (6) No'lu bileşiğin deneysel FT-IR spektrumu .....</b>                                                              | <b>32</b> |
| <b>Şekil 3.23. (6) No'lu bileşiğin <math>^1\text{H}</math>-NMR spektrumu ( <math>\text{CHCl}_3\text{-d}</math>, 300 MHz ).....</b> | <b>33</b> |
| <b>Şekil 3.24. (6) No'lu bileşiğin <math>^{13}\text{C}</math>-NMR spektrumu .....</b>                                              | <b>34</b> |
| <b>Şekil 3.25. (1) No'lu bileşiğin Gaussian 09'da optimize edilmiş hali .....</b>                                                  | <b>35</b> |
| <b>Şekil 3.26. (1) No'lu bileşiğin HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve enerji hesabı.....</b>                                            | <b>36</b> |
| <b>Şekil 3.27. (1) No'lu bileşiğin MEP haritası .....</b>                                                                          | <b>37</b> |
| <b>Şekil 3.28. (2) No'lu bileşiğin Gaussian 09'da optimize edilmiş hali .....</b>                                                  | <b>38</b> |
| <b>Şekil 3.29. (2) No'lu bileşiğin HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve enerji hesabı.....</b>                                            | <b>39</b> |
| <b>Şekil 3.30. (2) No'lu bileşiğin MEP haritası .....</b>                                                                          | <b>40</b> |
| <b>Şekil 3.31. (3) No'lu bileşiğin Gaussian 09'da optimize edilmiş hali .....</b>                                                  | <b>42</b> |
| <b>Şekil 3.32. (3) No'lu bileşiğin HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve enerji hesabı.....</b>                                            | <b>43</b> |
| <b>Şekil 3.33. (3) No'lu bileşiğin MEP haritası .....</b>                                                                          | <b>44</b> |
| <b>Şekil 3.34. (4) No'lu bileşiğin Gaussian 09'da optimize edilmiş hali .....</b>                                                  | <b>45</b> |
| <b>Şekil 3.35. (4) No'lu bileşiğin HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve enerji hesabı.....</b>                                            | <b>47</b> |
| <b>Şekil 3.36. (4) No'lu bileşiğin MEP haritası .....</b>                                                                          | <b>48</b> |
| <b>Şekil 3.37. (5) No'lu bileşiğin Gaussian 09'da optimize edilmiş hali .....</b>                                                  | <b>50</b> |
| <b>Şekil 3.38. (5) No'lu bileşiğin HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve enerji hesabı.....</b>                                            | <b>51</b> |

|                                                                                                                                       |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Şekil 3.39. (5) No'lu bileşiğin MEP haritası .....</b>                                                                             | <b>52</b> |
| <b>Şekil 3.40. (6) No'lu bileşiğin Gaussian 09'da optimize edilmiş hali .....</b>                                                     | <b>53</b> |
| <b>Şekil 3.41. (6) No'lu bileşiğin HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve enerji hesabı.....</b>                                               | <b>54</b> |
| <b>Şekil 3.42. (6) No'lu bileşiğin MEP haritası .....</b>                                                                             | <b>55</b> |
| <b>Şekil 3.43. HT-29 hücrelerinde cisplatin ve yeni sentezlenen bileşiklerin hücre canlılığı analizleri .....</b>                     | <b>57</b> |
| <b>Şekil 3.44. HCT-116 hücrelerinde cisplatin ve yeni sentezlenen bileşiklerin hücre canlılığı analizleri .....</b>                   | <b>59</b> |
| <b>Şekil 3.45. MDA-MB-231 hücrelerinde cisplatin ve yeni sentezlenen bileşiklerin hücre canlılığı analizleri .....</b>                | <b>60</b> |
| <b>Şekil 3.46. HT-29, HCT-116 ve MDA-MB-231 hücrelerinde cisplatin ve yeni sentezlenen bileşiklerin hücre canlılığına etkisi.....</b> | <b>61</b> |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                     |                                                             |
|---------------------|-------------------------------------------------------------|
| °C                  | : Santigrat derece                                          |
| eV                  | : Elektron volt                                             |
| Hz                  | : Hertz                                                     |
| J                   | : Etkileşme sabiti                                          |
| $\Delta E$          | : Enerjideki değişim                                        |
| $\pi$               | : pi                                                        |
| $\chi$              | : Elektronegatiflik                                         |
| Pi                  | : Kimyasal potansiyel                                       |
| S                   | : Yumuşaklık                                                |
| ATCC                | : American Type Culture Collection                          |
| ATP                 | : Adenozin trifosfat                                        |
| B3LYP               | : 3 parametrelili Becke karma metodu (DFT metodunun türevi) |
| CDCl <sub>3</sub>   | : Dötero kloroform                                          |
| CHCl <sub>3</sub>   | : Kloroform                                                 |
| <sup>13</sup> C-NMR | : Karbon nükleer manyetik rezonans spektroskopisi           |
| CO <sub>2</sub>     | : Karbon dioksit                                            |
| DFT                 | : Yoğunluk fonksiyonel teorisi                              |
| DHA                 | : Dehidroabietik asit                                       |

|                        |                                              |
|------------------------|----------------------------------------------|
| DMF                    | : Dimetilformamid                            |
| DMSO                   | : Dimetilsülfoksit                           |
| EDTA                   | : Etilendiamintetraasetik asit               |
| $E_{\text{HOMO}}$      | : HOMO'nun Enerjisi                          |
| $E_{\text{LUMO}}$      | : LUMO'nun Enerjisi                          |
| $E_{\text{LUMO-HOMO}}$ | : LUMO ve HOMO arasındaki enerji fark        |
| FMO                    | : Sınır moleküler orbitalleri                |
| FT-IR                  | : Furier transfer-infrared spektrometresi    |
| g                      | : Gram                                       |
| GC                     | : Gradyan düzeltmeli                         |
| HF                     | : Hartree-Fock Metodu                        |
| $^1\text{H-NMR}$       | : Proton nükleer magnetik rezonans spektrumu |
| HOMO                   | : En Yüksek Dolu Moleküler Orbital           |
| IR                     | : İnfrared                                   |
| LDA                    | : Yerel yoğunluk yaklaşımı                   |
| LDH                    | : Laktat dehidrogenaz                        |
| LUMO                   | : En Düşük Boş Moleküler Orbital             |
| MHz                    | : Megahertz                                  |
| MEP                    | : Moleküler elektrostatik potansiyel         |
| mmol                   | : Milimol                                    |

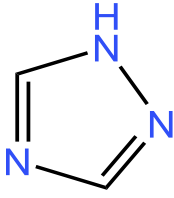
|         |                                                              |
|---------|--------------------------------------------------------------|
| ml      | : Mililitre                                                  |
| $\mu$ M | : Mikrometre                                                 |
| MTT     | : 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolyum bromür |
| nm      | : Nanometre                                                  |
| NRU     | : Nötral kırmızısı alımı                                     |
| ppm     | : Milyonda bir kısım                                         |
| pH      | : Hidrojen potansiyeli                                       |
| SRB     | : Sulforhodamin                                              |
| TEA     | : Trietilamin                                                |
| THF     | : Tetrahidrofuran                                            |
| WHO     | : Dünya Sağlık Örgütü                                        |
| WST-1   | : Suda çözünen formazan 1 testi                              |
| WST-8   | : Suda çözünen formazan 8 tes                                |

# 1. GİRİŞ

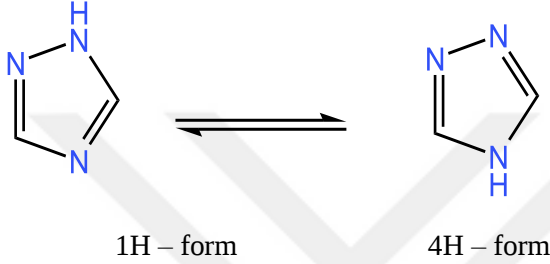
Heterosiklik bileşikler, en basit tanımla halkalı yapıda olan ve karbon atomları ile en sık görülen elementlerden oksijen, azot veya kükürt gibi en az bir heteroatom içeren bileşiklerdir. Halkanın tümü karbon atomundan oluşuyor ise böyle bileşiklere homosiklik bileşikler denir. Hetero ön eki, halkadaki karbon olmayan atomları yani heteroatomları ifade ederken, heterosiklik kelimesinin siklik kısmı en az bir halka yapısının var olduğunu belirtir [1]. Organik kimyanın en önemli sınıflarından biri olan heterosiklik kimya alanında bu yapıların özellikleri, üretimi ve kullanımları detaylıca incelenmektedir. Bu bileşikler, halkalarda yalnızca karbon atomları içeren siklik organik bileşiklerle genel bir yapıyı sunsa da, heterosiklik bileşiklerde bulunan heteroatomlar farklı fiziksel ve kimyasal özellikler gösterir. En yaygın heterosiklik yapılar beş ve altı üyeli olanlardır; kükürt, oksijen veya azot heteroatomları içerirler. Son zamanlarda Organik Kimyanın gücü ve canlılığı, yeni heterosiklik bileşiklerin geliştirilmesinin etkisine dayandığı söylenebilir. Farmasötik olarak da geçmişten günümüze kadar önemli bileşikler oluşturmak için çok çeşitli heterosiklik sistemler araştırılmıştır. Birçok farmasötik, azot içeren heterosiklik yapılardan meydana gelmiştir. Bu yapılardan biri de triazol bileşikleridir.

## 1.1. Triazol

İki karbon ve üç azot atomlu,  $sp^2$  hibritleşmesi yapmış beş üyeli bir halkaya sahip olan triazol  $C_2H_3N_3$  molekül formüllü heterosiklik ve amfoterik bir bileşiktir (Şekil 1.1). 1885'te Bladin, karbon- azot halka sistemine triazol adını veren ve triazollerin türevlerini tanımlayan ilk bilim insanıdır [2]. Triazoller, azot atomlarının bulunduğu yere göre 1,2,3-triazol ve 1,2,4-triazol izomerik formlarında gelir. 1,2,4-triazol halkasının ise *1H*-formu ve *4H*-formu birbiriyle dengededir (Şekil 1.2). Yapılan çalışmalar, *1H* - 1,2,4 Triazol tautomerin, *4H* - 1,2,4 Triazol tautomerinden daha kararlı olduğunu göstermiştir [3].



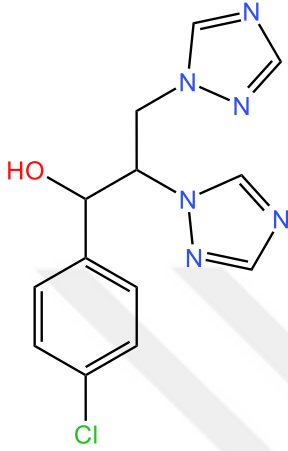
**Şekil 1.1.** 1,2,4 – Triazol yapısı



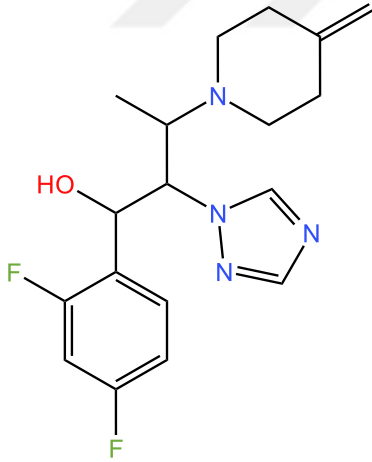
**Şekil 1.2.** 1,2,4-Triazol tautomerik formları

Aromatiklik, triazollerin kararlılıklarının ana nedenidir. Bir azot atomundan kalan iki elektrona ek olarak çift bağlarla bağlanan her atomdan bir  $\pi$  elektronunun verilmesiyle aromatik bir altılı yapı oluşturulur [4]. Ayrıca, triazol çekirdeği, tautomerik formlarla temsil edilebilmesi için rezonans ile stabilize edilir [5]. Günümüzde triazoller çok çeşitli hem doğal hem de üretilmiş ürünlerde, ilaçlarda ve genel amaçlı olarak kullanılan malzemelerde bulunan en önemli yapılardandır. Ayrıca vitaminler, enzimler, hormonlar, proteinler, karbohidratlar, steroidler, nükleik asitler gibi canlılar için biyolojik öneme sahip bileşiklerde de yer almaktadır. Bununla birlikte, farmakolojik yapılarda bu halkalar farmakofor grubu olarak işlev gördüğü için yapılan çalışmalarda özellikle 1,2,4-Triazollerin ve türevlerinin antibakteriyel, antifungal, antitüberküler, antioksidan, antitümör, analjezik, antidiyabetik, antikonvülsan, anksiyolitik gibi çeşitli biyolojik etkileri görülmektedir [6]. Örneğin, antibakteriyel ilaç olarak triazoller, mikroorganizmaları öldürebilen ve bakteriyel enfeksiyonları tedavi edebilen kimyasal bir madde olarak kullanılabilir. Bu bağlamda, sentezlenmiş ve süstitüte edilmiş-(+) $\alpha$ -4-klorofenil- $\beta$  fenilmetilen-1H-1,2,4-Triazol-1-etanoller bakteriyostatik ajan olarak kullanmıştır (Şekil 1.3) [7]. Antifungal aktivite olarak insan vücudundaki mantar enfeksiyonlarını ortadan kaldırmak için Efinakonazol'un ergosterol üretimini azalttığını incelenmiştir (Şekil 1.4) [8]. Bunun yanı sıra, itrakonazol, ribavirin (antiviral), alprazolam (anksiyete giderici), trazodon (antidepresan)

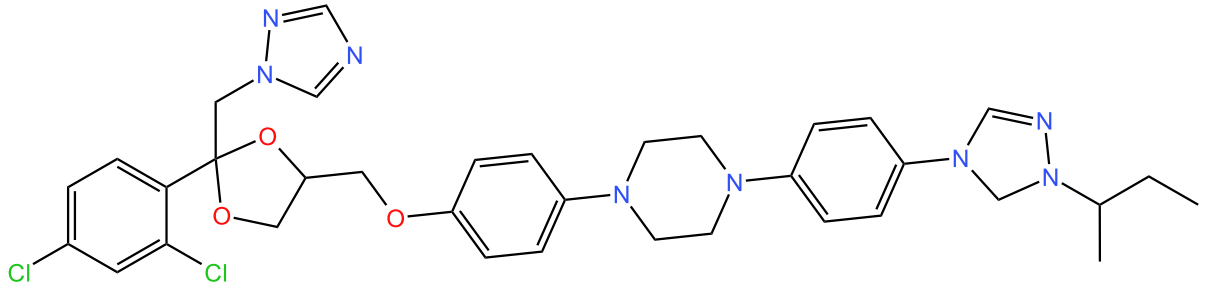
ve letrozol gibi klinik tıpta kullanılan çok sayıda terapötik açıdan önemli ilaç 1,2,4-triazol halkasına sahiptir (Şekil 1.5) [9].



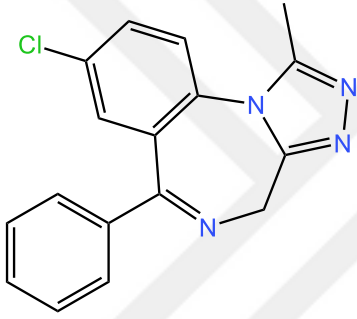
**Şekil 1.3.** Bakteriyostatik ajan olarak kullanılan (+)α-(4-chlorophenyl)-β(phenylmethylene)-1H-1,2,4-triazol-1-ethanol



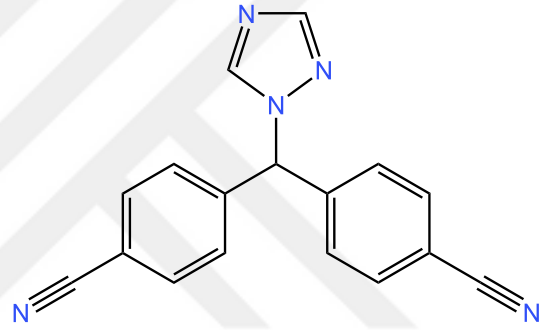
**Şekil 1.4.** Antifungal aktivite olarak kullanılan Efinakonazol



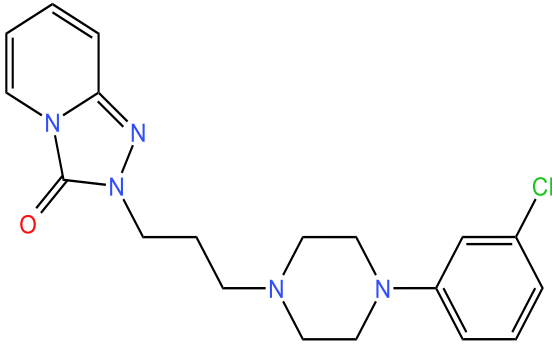
İtrakonazol



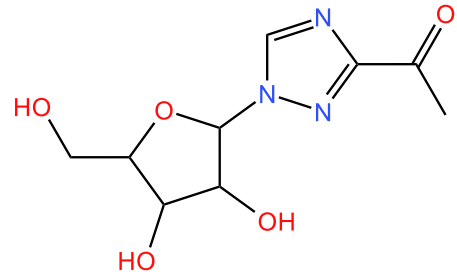
Alprazolam



Letroz



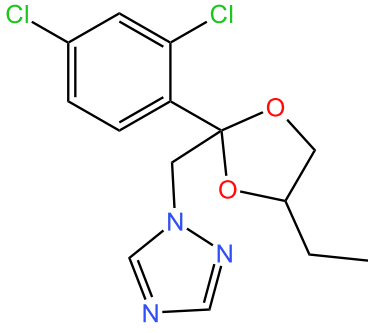
Trazodon



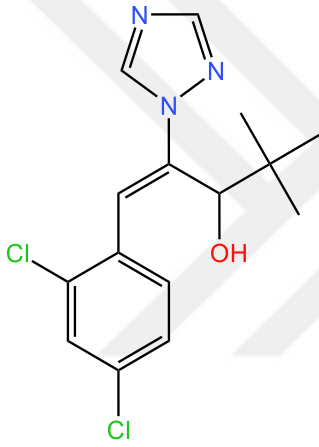
Ribavirin

**Şekil 1.5.** Klinik tıpta kullanılan 1,2,4 -Triazol içeren ve terapötik açıdan önemli bazı ilaçlar

Triazollerin tarımsal alanda uygulanması bitki koruma teknolojisinde pestisit olarak yer aldığı söylenebilir. Bunlardan biri elmada yaz hastalığına neden olan mantarlar üzerinde Etakonazol'un iyi bir in vitro aktivitesidir (Şekil 1.6) [10]. Domates ve yeşil fasulyede ise yine triazol türevi olan Dinikonazol fungusit kalıntıları belirlenmiştir (Şekil 1.7) [11].

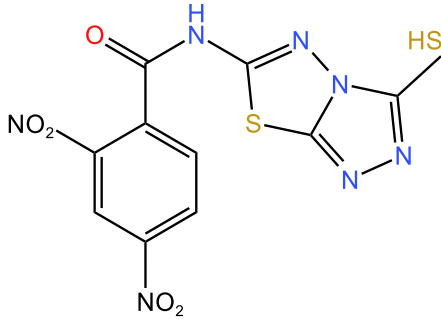


**Şekil 1.6.** *Elmada yaz hastalığına neden olan mantarlar üzerinde etkili olan Etakonazol*

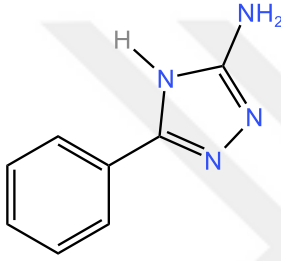


**Şekil 1.7.** *Domates ve yeşil fasulyede mantar için etkili olan Dinikonazol*

Endüstriyel alandaki uygulamalarda ise bazı triazol türevleri diyet olarak kullanılmıştır [12]. 2-merkapt-1,2,4-triazol-2,4-dinitrobenzamid gibi soğutma sıvılarının etkinliğini arttırmak için bazı triazol türleri kullanılmıştır (Şekil 1.8) [13]. Bazı triazoller gümüşün diğer metal katyonlarından ayrılmasını sağlamıştır [14]. Yine bazı triazol türevleri hidroklorik asitte alüminyumun korozyon önleyicileri olarak gözlemlenmiştir (Şekil 1.9) [15].



**Şekil 1.8.** Soğutma sıvısı etkinliği arttırıcı 2-merkapto-1,2,4-triazol 2,4 dinitrobenzamid

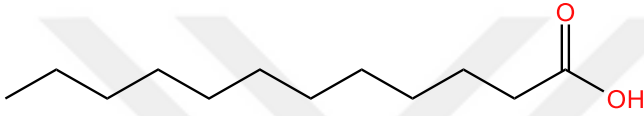


**Şekil 1.9.** Korozyon önleyici Triazol

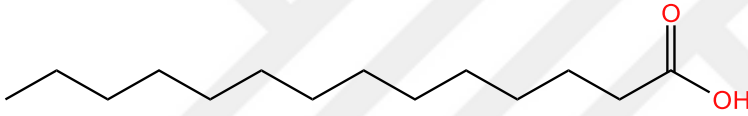
## 1.2. Yağ Asidi

Yağ asidi; bitkiler, hayvanlar ve daha birçok canlıların yağda çözünebilen kısımları olan lipidlerin çok önemli bir parçasıdır. Bir yağ asidi çift sayıda karbon atomu, zincir boyunca uzanan hidrojen atomları ve bir ucta molekülü asidik yapan karboksil grubu (COOH) içeren düz bir zincirden oluşur. Bu bağlamda, tek karbon-karbon bağları varsa asit doymuştur ve karardır; herhangi bir ikili veya üçlü bağ varsa asit doymamıştır ve daha reaktiftir [16]. Bununla birlikte, yağ asitleri için birçok farklı kullanım vardır. Çeşitli gıda ürünleri, kozmetik, sabun ve deterjan yapımında kullanılırlar. *Helicobacter pylori*, çürük ve plak bile laurik asidin etkilerine duyarlı olduğu keşfedilmiştir [17]. Dodekanoik asit olarak da bilinen laurik asit (C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>), 12 karbonlu doymuş bir yağ asididir (Şekil 1.10). Hindistan cevizi yağının önemli bir bileşeni olmasının yanı sıra laurik asit çeşitli bitki ve hayvansal yağlarda doğal bulunur. Tetradekanoik asit olarak bilinen bir diğer doymuş yağ asidi genellikle hayvan dokularında bulunan 14 karbonlu miristik asittir (C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>) (Şekil 1.11) [18]. Biyomembranlarda lipid ankoru olarak işlev görür [19]. Palmitik asit (C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>) ise bilinen diğer bir ismi heksadekanoik asit olan ve 16 karbon zincirine sahip bir yağ asididir (Şekil 1.12). Hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan en yaygın olan doymuş yağ asididir [20]. Metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalık, kanser,

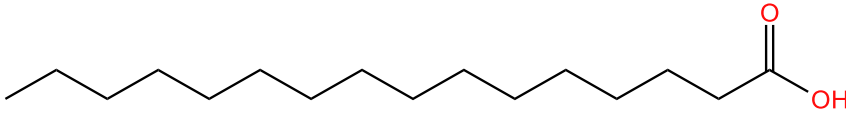
nörodejeneratif hastalıklar ve inflamasyon gibi durumlarda yer alan ve hücre içi bir sinyal molekülü olarak görev yapan palmitik asit birçok patolojik süreç için çok yardımcıdır [21]. Et, peynir, tereyağı ve diğer benzeri süt ürünleri de palmitik asit içerir. 18 karbonlu olup oktadekanoik asit olarak da bilinen stearik asit ( $C_{18}H_{36}O_2$ ) öncelikle deterjan, sabun, şampuan ve kozmetik ürünlerin üretiminde kullanılır (Şekil 1.13). Bununla beraber, stearik asidin kolesterol ve kan pıhtılaşması üzerinde olumlu etkileri olup, potansiyel olarak da antitümör özelliği vardır. İnsülin direnci veya diyabet gelişimine katkıda bulunmaz [22,23,24,25].



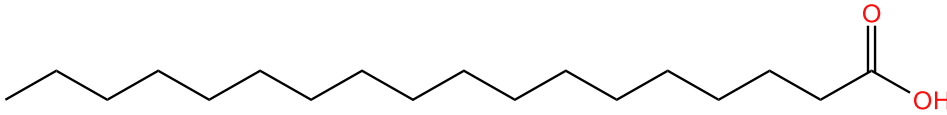
**Şekil 1.10.** Laurik asit ( $C_{12}H_{24}O_2$ )



**Şekil 1.11.** Miristik asit ( $C_{14}H_{28}O_2$ )



**Şekil 1.12.** Palmitik asit ( $C_{16}H_{32}O_2$ )



**Şekil 1.13.** Stearik asit ( $C_{18}H_{36}O_2$ )

Lipit sınıfından olan yağ asitleri, doğanın, yiyeceklerin ve canlıların ortak bir bileşenidir. Yapısal ve işlevsel roller oynarlar. Yalıtım ve mekanik koruma sağlamakla birlikte biyolojik amaç açısından da önemli bir enerji kaynağı olarak bol miktarda üretilen adenosin trifosfat (ATP) hizmet ederler. Beyin gibi yağ dokularında da var oldukları için sinir sisteminin büyümesinde ve korunmasında çok büyük etkileri vardır [26]. İlaç yapımında yağ asitleri genellikle inaktif bileşenler olarak kullanılır. Bu bağlamda farmasötiklerde kullanılan lipitlerin çoğu, ilaç taşıyıcıları olarak yağ emülsiyonlarının üretimidir [27].

### 1.3. Bilgisayar Destekli Teorik Hesaplamalar

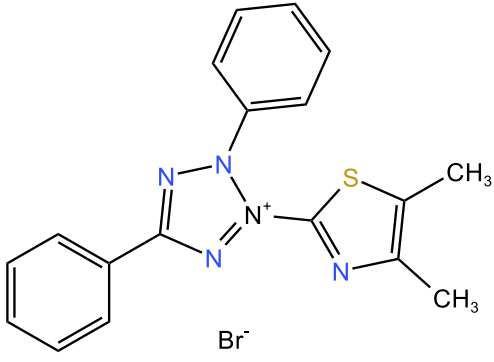
Teori ve deney ile birlikte hesaplama, bilimsel sürecin diğer bir önemli adımıdır. Sentezlenmiş bileşiklerin kimyasal özellikleri ve biyolojik aktivitesi bilgisayar destekli teorik hesaplamalarla açıklanabilmektedir. Bu alanda çalışmalar yapılırken, özellikle çözümleri olmayan gerçek sorunları belirtmek ve deneysel çalışmalar vasıtasıyla yanıtları tespit için bilgisayar destekli hesaplamaları kullanabilirler. Böylelikle hem kimyasal malzeme israfı yapmadan hem de sağlık konusunda herhangi bir tehlikeye girmeden gerçek bir laboratuvar ortamında deneyleri yapmaksızın sonuçları tahmin etmek mümkün olmaktadır. Bu anlamda, kimyasal reaksiyon hesaplamalarının görselleştirme çalışmaları Gaussian 09 ve GaussView 5.0 programları ile yapılmaktadır [28]. Optimize edilmiş molekül yapısı için bilimsel alanla ilgili moleküler sistemlerin işleyişi ve molekülün elektron yoğunluğunun belirlenmesi esasına dayanan Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) kullanılmaktadır [29]. Burada herhangi bir deney verisi olmadan kimyasal malzemelerin özelliklerini tahmin etmek mümkündür. Kuantum mekaniği ve moleküler mekaniğin bir karışımı olan DFT, özellikle biyolojik molekülleri anlamak için faydalıdır [30]. Ayrıca, DFT sonuçlar açısından güvenilir olup; ekonomik olarak da deneysel olayları algısal olarak açıklamaya yardımcı olur. Burada molekülün enerjisi elektron yoğunluğunun bir fonksiyonu olup, bu elektron yoğunluğunu oluşturan üç değişken olan x, y ve z konumlarıdır. DFT; Yerel Yoğunluk Yaklaşımı (LDA), Gradyan Düzeltmeli (GC) ve Hibrit olmak üzere üç farklı metoda ayrılmaktadır [31]. LDA; molekül yoğunluğunun baştan sona tekdüze olduğu, çok yaygın ve pratik olmayan metotlardandır. Burada yalnızca elektron yoğunluğunun özelliklerine göre belirlenir. Bu yüzden bu metotta yapılan tahminler belirgin sonuçlar taşımaz. GC'de elektron yoğunluğunun düzensizliği üzerine çalışılır. Matematikteki gradyan gibi elektron yoğunluğunun tekdüzeliğini hesaba katarak değişim oranını ölçen bir fonksiyondur. Hibrit tekniklerde ise spesifik olarak yaygın kullanım gösteren Hartree-Fock ve B3LYP kullanılmaktadır. Genellikle, organik bileşiklerin analiz sürecinde hem daha hızlı sonuç verdiği hem de pratik kullanım sağladığı için moleküllerin yapılarının optimize edilmesinde B3LYP/6-311+G(d,p) kullanılmaktadır. Diğer bir hesaplama bir moleküldeki en önemli orbitalleri temsil eden sınır moleküler orbitalleri (FMO)'dir [32]. Burada en yüksek dolu moleküler orbital (HOMO), en düşük boş moleküler orbital (LUMO) olarak bilinir. HOMO – LUMO dağılımı Crystal Explorer 3.1 kullanılarak gerçekleştirilmiştir [33]. Bir molekülün

elektron verme veya alma yeteneği, HOMO ve LUMO'nun enerjileri tarafından belirlenir. Sert moleküller için enerji açığı yüksektir, yumuşak moleküller için ise düşüktür. Yumuşak moleküller uyarılma için daha az enerji gerektirdiğinden, sert moleküllere göre daha polarize olabilirler [34]. Bu bakımdan elektriksel özellikler de bu orbitallerden önemli ölçüde etkilenir. Başka bir hesaplama yöntemi ise moleküler yapının ve reaktivitesinin anlaşılması kolay bir şekilde moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritası sayesinde gerçekleştirilmektedir [35]. Yine Crystal Explorer 3.1 ile uygulanan MEP haritası; atomik yüklerin hesaplanması, elektrofilik ve nükleofilik reaktivite bölgelerinin yorumlanması ve tahmini ve moleküler benzerlik çalışması için sıklıkla kullanılır ve görsel olarak MEP ile temsil edilir [36]. Elektrostatik potansiyelin yükselme sırası kırmızı, turuncu, sarı, yeşil ve mavi olup; mavi bölge düşük elektron yoğunluğunu, kırmızı bölge ise yüksek elektron yoğunluğunu belirtir.

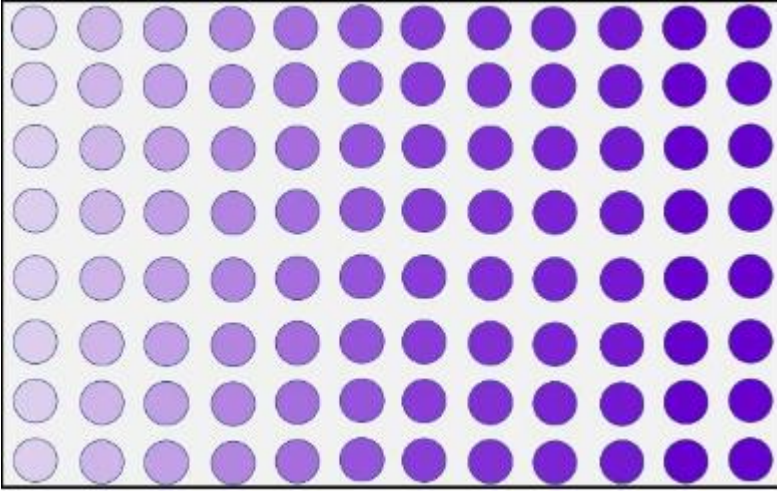
#### **1.4. Antitümör Aktivite**

Bir hastalık türü olarak kanser, anormal şekilde hücrelerin çoğalarak vücudun farklı bölgelerinde yerleşme ve yayılma yeteneğine sahiptir. Gelişen dünyada çağımızın ölümcül hastalığı olarak bilinen kanserin nedenleri dış faktör olarak tütün ve alkol kullanımı, yanlış beslenme, hareket eksikliği, bazı enfeksiyonlar olabilir iken iç faktör olarak genetik ve kalıtsal mutasyonlar, hormonlar ve metabolizma kaynaklı bağışıklık sorunları sebebiyet vermektedir. Akciğer, prostat ve mide kanseri erkeklerde en fazla görülen türleri iken meme kanseri, akciğer kanseri ve rahim ağzı kanseri kadınlardaki çoğunlukla rastlanılan türleridir [37]. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yayınladığı 2020 istatistik raporlarına göre her yıl toplam yeni kanser vakası sayısı açısından kadın meme kanseri, en sık tanı koyulan kanser çeşidi olarak akciğer kanserini geçmiştir [38]. Çoğu vakalarda kanser başladığında herhangi bir net belirti göstermezken, kanser hücreleri gelişim gösterdikçe belirtiler ve de yan etkiler ortaya çıkar. Sonuçlar ise kanser hücresinin tipine ve yerine göre belirlenir. İngiltere Ulusal Kanser Enstitüsü, hastalığın tedavisinde 20 farklı ülkeden 35.000 bitki örneklerini tarayıp antitümör aktivitesini tespit etmesine rağmen herhangi bir potansiyel kanser ilacının keşfi daha ekonomik ve etkili olacağı savunulmuştur [39]. Bu bağlamda, heterosiklik bileşiklerden triazoller, kanser hastalığının tedavi sürecinde antitümör ilaçların keşfi için çok önemli bir yere sahiptir. Özellikle azot içeren bu heterosiklik bileşikler en önemlisi de antitümör etki olmak üzere çok çeşitli

biyolojik özellikleri içerdiği için hastalığın tedavisinde kanser hücrelerini öldürerek veya büyümelerini değiştirerek kullanılan birçok ilacın etken maddesini oluşturmaktadır. Bu bağlamda, Wang ve arkadaşlarının [40] yaptığı çalışmalarda 1,2,3 triazol türevlerinin göğüs kanseri de dâhil olmak üzere kanser hücrelerini proliferasyonunu inhibe edecek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Yine başka bir çalışmada, Leyva ve arkadaşları [41] yeni sentezledikleri floro fenil triazollerin antikanser aktivite gösterdiği ve kanserin çoğalmasını engellediğini belirtmişlerdir. Pertino ve arkadaşları [42] da yeni sentezledikleri Dehidroabietik asit (DHA) içerikli triazol türevlerini biyolojik olarak anti kanser aktivitesini ve proliferasyon karşıt etkisini açıklamışlardır. Kimyasal bileşiklerin antikanser aktivitesini test edebilmek için kullanılan güncel yöntemler boyama, kolorimetrik ve florometrik olarak sınıflandırılmaktadır. Boyama yöntemleri Tripan mavisi, Eozin, Kongo kırmızısı ve eritrosin B testlerini içermekte olup bu yöntemlerde canlı hücreler eklenen boyaları dışarıda bırakır; ölü olanlar ise bu boyaları dışarıda bırakmayarak hücre içine alır. Kolorimetrik yöntemler farklı boyalar kullanılarak gerçekleştirilen nötral kırmızısı alımı (NRU) testi, kristal viyole testi, 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolyum bromür (MTT) (Şekil 1.14) testi, XTT testi, suda çözünen formazan 1 (WST-1) testi, suda çözünen formazan 8 (WST-8), sulforhodamin B (SRB) testi ve laktat dehidrogenaz (LDH) testlerinden oluşmaktadır. Florometrik yöntemlerde ise alamarBlue ve CFDAAM testi kullanılmaktadır [43-46]. Bu anlamda, günümüzde en yaygın olarak kullanılan antitümör testi güvenilir, hızlı ve tekrarlanabilir olmasından dolayı MTT yöntemidir. MTT tahlili ilk kez Tim Mosmann ve arkadaşları tarafından uygulanmıştır [47]. Bu test hücre canlılığının ölçülebilmesi için sarı renkteki tetrazolyum tuzunun aktif hücreler tarafından mor formazan kristallerine indirgenmesi esasına dayanır [48]. Çözeltinin rengi ne kadar koyu olursa canlı hücrelerin sayısı o kadar fazla olur; renk açıldıkça aktif hücrelerin sayısı azalır (Şekil 1.15).



**Şekil 1.14.** *MTT'nin kimyasal yapısı*



**Şekil 1.15.** *Hücre Canlılığı için MTT Tahsil Protokolü [49]*

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Sıvı kimyasalların kullanımını kolaylaştırmak için farklı büyüklükteki beherler, ısıtma ve kaynatma işlemleri için farklı büyüklükteki deney balonları, süzme işlemleri için huniler ve süzgeç kâğıtları, deney düzeneklerini sabitlemek için destek ve kıskaç, sıvı kimyasalların hacmini ölçmek için farklı büyüklükteki mezürler, belirli hacimdeki sıvı kimyasalları aktarım yapmak için pipetler, yıkama ve düzenli sıvı aktarımı için pisetler, toz ve küçük parçalı kimyasal maddeleri istenilen miktarda almak için spatül, kimyasalların düzgün karıştırılmasını sağlamak için bagetler, çözücünün uzaklaştırılması için döner buharlaştırıcı, soğutucu, kurutmak için etüv, çeker ocak, saat camı, küçük numune şişeler, deney tüpleri, damlalıklar, manyetik balıklar, antitümör aktiviteyi tespit ederken 96 kuyulu plaka, inkübatör

Tartım için; Adventurer Pro AV264C model terazi

Isıtma ve karıştırma işlemleri için; termostatlı ve düz tablalı magnetik ısıtıcı

GAUSSIAN09 ve GAUSS VIEW05 paket programları

$^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu için; BRUKER 300 MHz, (İnönü Üniversitesi, Malatya) Spektrum cihazı

FT-IR spektrumları için PERKIN ELMER Spektrum 100 spektroskopi cihazı

Antitümör aktivite analizi için Varioscan mikropate okuyucu (Thermo-Fisher Scientific, ABD)

### 2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

2-klor benzohydrazide, hekzil izotiyosiyanat, sodyum hidroksit, hidroklorik asit, tetrahidrofuran, trietilamin, lauroil klorür, miristoil klorür, palmitoil klorür, stearoil klorür, reaktifleri Sigma-Aldrich'den alındı, saflaştırma yapılmadan kullanıldı.

Çözücü olarak; aseton, tetrahidrofuran (THF), trietilamin (TEA) ve dimetilsülfoksit (DMSO) Sigma-Aldrich'den alındı, saflaştırma yapılmadan kullanıldı.

Antitümör aktivite için HT-29, HCT-116 kolon kanseri hücresi, MDA-MB-231 triple negatif meme kanseri hücresi American Type Culture Collection (ATCC)'den temin edildi. Fetal Bovine serum, penisilin ve MTT Tripsin-EDTA Gibco, Thermo-Fisher Scientific, ABD'den kullanıldı.

### 2.3. Saflaştırma

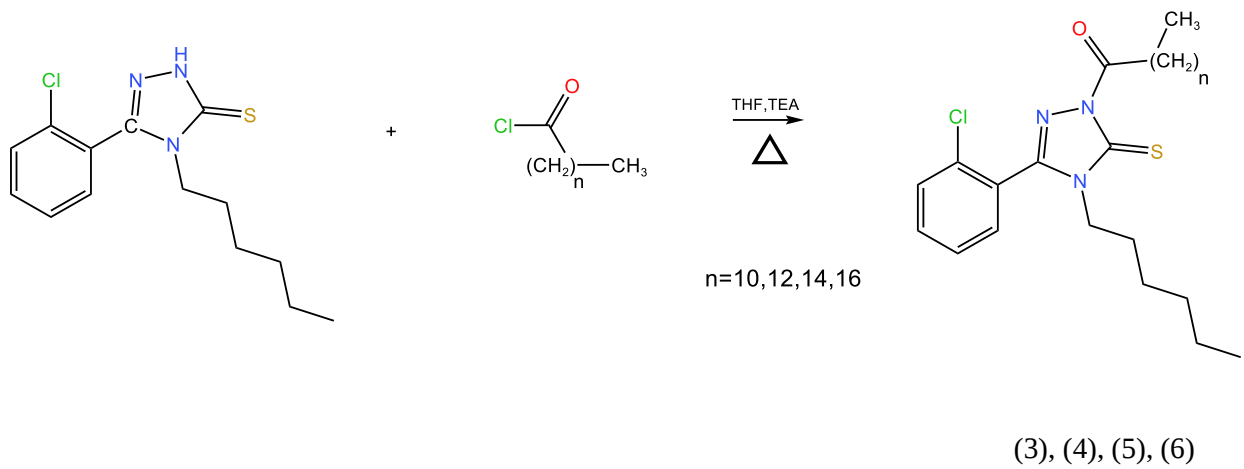
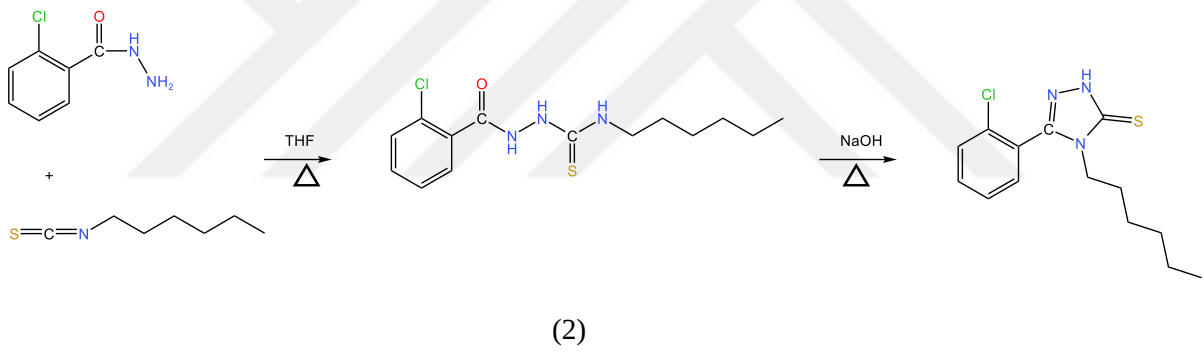
Saflaştırma, kristallendirme yöntemi ile yapıldı.

### 2.4. Spektroskopik Ölçümler

Sentezlenen bileşiklerin karakterizasyonu;  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR'ları BRUKER 300 MHz, (İnönü Üniversitesi, Malatya)

FT-IR spektrumları için PERKIN ELMER Spektrum 100 spektroskopisi kullanılarak gerçekleştirildi.

### 2.5. Tepkime Şeması



Şekil 2.1. Tez kapsamında yapılan deneylerin şematik gösterimi

## **2.6. Deneysel Çalışma**

### **2.6.1. 2-(2-Klorobenzoil)-N-(1-Heksil)hidrazin karbotioamid bileşiğinin sentezi**

50 ml THF çözücüsü eklenmiş 250 ml'lik deney balonuna; 1,1mmol (4.77 g) katı ve beyaz renkteki 2-klor benzohidrazid bileşiği oda sıcaklığında eklendi. Daha sonra reaksiyona 1,1 mmol (4.75 ml) hekzil izotiyosiyanat bileşiği ilave edildi ve sarı renkte bir reaksiyon ortamı gözlemlendi. Reaksiyona çözücünün kaynama noktasında 5 saat devam edildi (Reaksiyon takibi FT-IR spektroskopisi ile yapıldı). Başlangıçta gözlemlenen sarı renk git gide açık sarıya döndü. Reaksiyon sonunda karışımın döner buharlaştırıcıda çözücüsü uzaklaştırıldı. Ham ürün etil alkolde kristallendirildi.

### **2.6.2. 5-(2-klorofenil)-4-hekzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol bileşiğinin sentezi**

2-(2-Klorobenzoil)-N-(1-Heksil)hidrazin karbotioamid bileşiği 4 M 50 ml NaOH çözeltisi bulunan deney balonuna eklendi. Reaksiyona kaynama sıcaklığında 4 saat devam edildi. Reaksiyon sonunda buz banyosunda derişik hidroklorik asit ile pH 5-6'ya ayarlandı ve keskin kokulu opak bir beyaz madde elde edildi. Ham ürün etil alkolde kristallendirildi.

### **2.6.3. Genel metot ile 5-(2-klorofenil)-4-hekzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol bileşiğinin yağ asidi (louroil klorür, miristoil klorür, palmitoil klorür, stearoil klorür) türevlerinin sentezi**

50 ml THF çözücüsü eklenmiş 250 ml'lik deney balonuna; 1,1 mmol 5-(2-klorofenil)-4-hekzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol, 1,1 mmol TEA ve 1,1 mmol açıl klorür türevi (louroil klorür, miristoil klorür, palmitoil klorür ve stearoil klorür) oda sıcaklığında eklendi. Reaksiyona kaynama sıcaklığında 24 saat devam edildi. Karışım sıcak süzöldü. Açık sarı renkte yağlı yapıdaki yağ asidi türevli bileşikler elde edildi. Ham ürün asetonda kristallendirildi.

### **2.6.4. Antitümör aktivite deneyleri**

Sentezlenen bileşiklerin Antitümör aktivitesini belirleyebilmek için MTT yöntemi kullanıldı. Bu çalışmada kullanılan HT-29, HCT-116 kolon kanseri hücresi, MDA-MB-231 triple negatif meme kanseri hücresi American Type Culture Collection (ATCC)'den temin

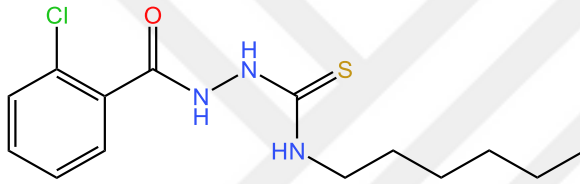
edildi. Hücreler %10 Fetal Bovine serum (Gibco, Thermo-Fisher Scientific, ABD) ve 100 µg/mL streptomisin/100IU/mL penisilin eklenmiş Dulbecco's Modified Eagle Medium (Gibco, Thermo-Fisher Scientific, ABD) içerisinde 37 °C'de %5 karbon dioksit (CO<sub>2</sub>) içeren ortamda kültür edildi. Kültür edilen hücreler yeterli sayıya ulaştığında Tripsin-EDTA ile kaldırıldı ve 96 kuyulu plakalara 1x10<sup>4</sup> hücre/plaka olacak şekilde ekim yapıldı ve 24 saat inkübatörde bekletildi. İnkübasyon sonrasında hücreler farklı konsantrasyonlarda hazırlanan 2-(2-Klorobenzoil)-N-(1-Heksil)hidrazin karbotioamid, 5-(2-klorofenil)-4-hekzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol ve Louroil Klorür, Miristoil Klorür, Palmitoil Klorür, Stearoil Klorür yağ asitli türevleri serum içermeyen besiyeri içerisinde maruz bırakıldı ve 24 saat inkübe edildi. Kontrol olarak cisplatin kullanıldı. Sonrasında süpernatant uzaklaştırıldı ve 1:1 oranında hazırlanmış MTT hücrelere verildi ve 45-60 dk 37 °C'de inkübe edildi. Kuyuculardaki boyalar aspire edildi ve dimetilsülfoksit (DMSO) ile boya çözündürüldü. Her bir kuyu Varioscan mikropate okuyucuda (Thermo-Fisher Scientific, ABD) 550 nm dalga boyunda kolorimetrik olarak ölçüldü. Tüm deneyler üç kez tekrar edildi.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Deneyisel Bulgular

Bu bölümde sentezlenen bileşiklerin  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR analizleri yapılırken yazar tarafından hidrojen ve karbon atomlarının numaralandırılması yapılmıştır. Bu numaralandırma IUPAC kuralları esas alınarak yapılan bir numaralandırma değildir, sadece maddelerin karakterizasyonu için yazar tarafından yapılan bir numaralandırmadır.

##### 3.1.1. 2-(2-Klorobenzoil)-N-(1-Heksil)hidrazin karbotioamid (1) karakterizasyonu

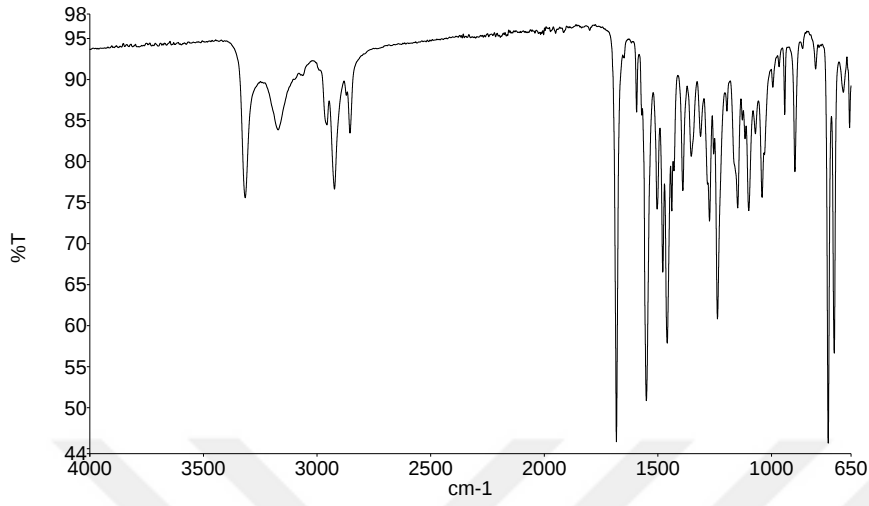


**Şekil 3.1.** 2-(2-Klorobenzoil)-N-(1-Heksil) hidrazin karbotioamid bileşiği

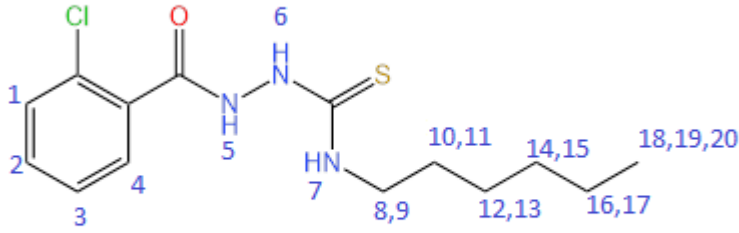
Kimyasal formül:  $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{OS}$

Molekül ağırlığı: 313 g/mol

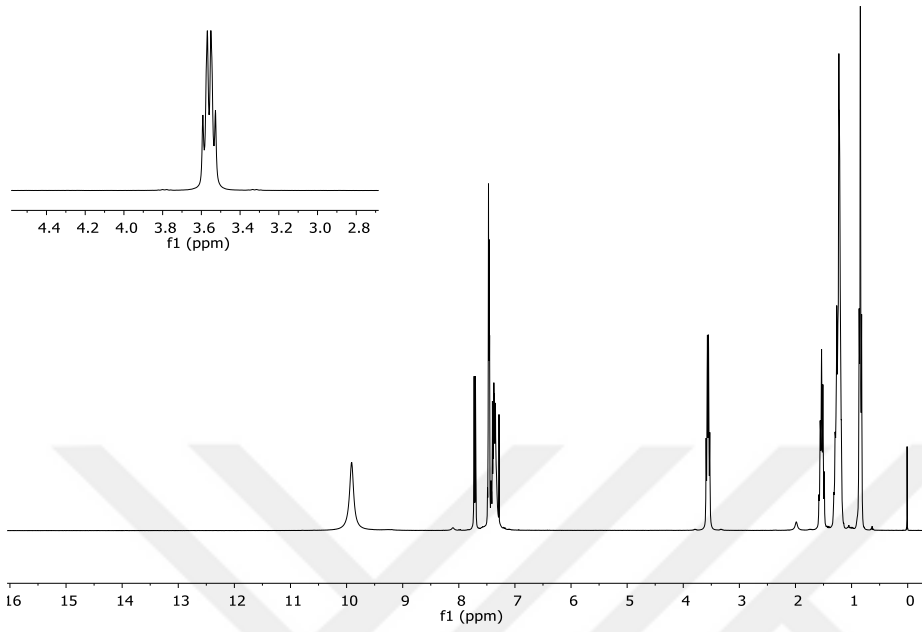
**IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3316 (N-H gerilme titreşimi), 3171 (aromatik C-H gerilme titreşimi), 2956-2855 (alifatik C-H gerilme titreşimi), 1682 (C=O gerilme titreşimi), 1593 (N-H eğilme titreşimi), 1550 (aromatik C=C gerilme titreşimi), 1390 ( $\text{CH}_3$  eğilme titreşimi), 1312 (C-N gerilme titreşimi), 1272 (C=S gerilme titreşimi), 1237 (alifatik C-C gerilme titreşimi), 723 (C-Cl gerilme titreşimi).



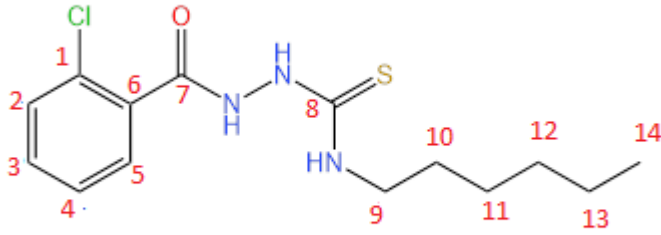
**Şekil 3.2. (1) No 'lu bileşiğin deneysel FT-IR spektrumu**



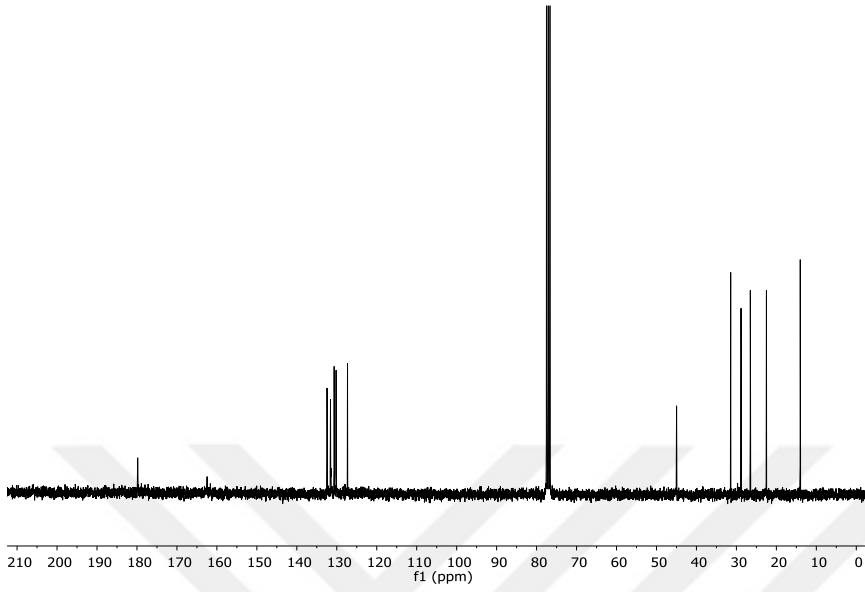
**$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,ppm) :** (300 MHz,  $\text{CHCl}_3\text{-d}$  ) 9.88 (H5,6,7 , 3H), 7.92 (H4 , 1H ,  $J=7.1$  Hz), 7.53 (H1 , 1H ,  $J=7.1$  Hz), 7.52 (H2 , 1H ,  $J=7.1$  Hz), 7.4 (H3 , 1H ,  $J=7.1$  Hz), 3.56 (H8,9 , 2H ,  $J=6$  Hz), 1.56 (H10,11 , 2H ,  $J=6.4$  Hz), 1.31 (H12,13 , 2H ,  $J=6$  Hz), 1.27 (H16,17 , 2H ,  $J=6$  Hz), 1.26 (H14,15 , 2H ,  $J=6$  Hz), 0.86 (H18,19,20 ,3H,  $J=6$  Hz)



Şekil 3.3. (1) No'lu bileşiğin  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu (  $\text{CHCl}_3$ -d, 300 MHz )

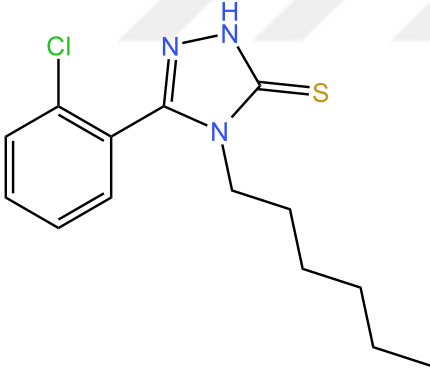


$^{13}\text{C}$ -NMR (300 MHz,ppm) : 181 (C8 , 1C), 164 (C7 , 1C), 132.4 (C6 , 1C), 130.8 (C1 , 1C), 130.3 (C5 , 1C), 128.7 (C2 , 1C), 128.4 (C4 , 1C), 128.3 (C3 , 1C), 43.1 (C9 , 1C), 31.8 (C12 , 1C), 29.4 (C10 , 1C), 27.1 (C11 , 1C), 22.6 (C13 , 1C), 14 (C14 , 1C)



Şekil 3.4. (1) No 'lu bileşiğin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

### 3.1.2. 5-(2-klorofenil)-4-hekzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (2) karakterizasyonu

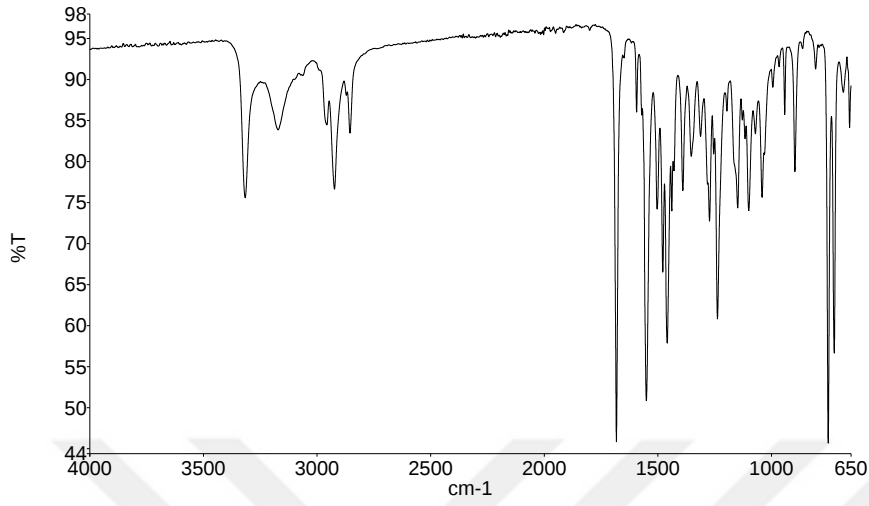


Şekil 3.5. 5-(2-klorofenil)-4-hekzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol bileşiği

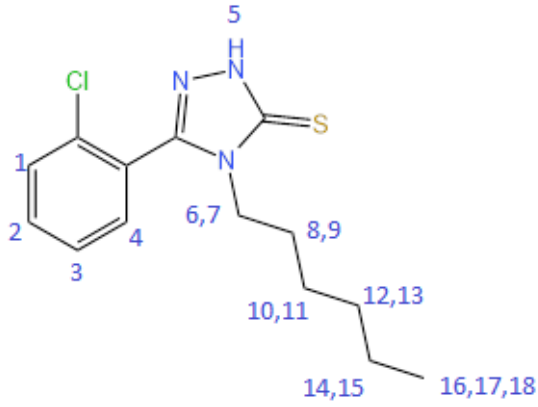
Kimyasal formül:  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$

Molekül ağırlığı: 295 g/mol

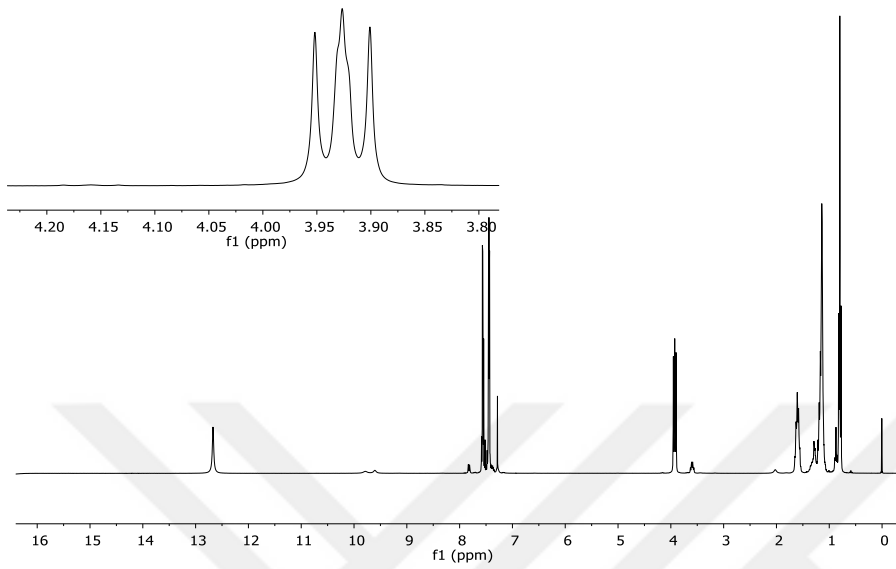
**IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3317 ( N-H gerilme titreşimi), 3094 (aromatik C-H gerilme titreşimi), 2926-2769 ( alifatik C-H gerilme titreşimi), 1682 (C=N gerilme titreşimi), 1605 (N-H eğilme titreşimi), 1554 ( aromatik C=C gerilme titreşimi), 1356 (CH<sub>3</sub> eğilme titreşimi), 1297 (C-N gerilme titreşimi), 1262 (C=S gerilme titreşimi), 1239 (alifatik C-C gerilme titreşimi), 727 (C-Cl gerilme titreşimi).



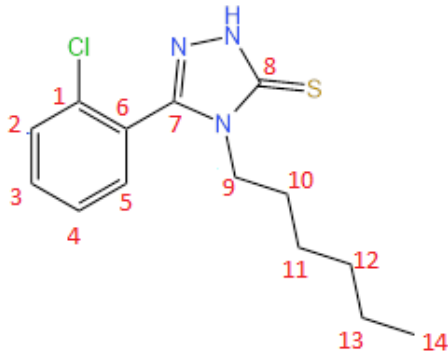
Şekil 3.6. (2) No'lu bileşiğin deneysel FT-IR spektrumu



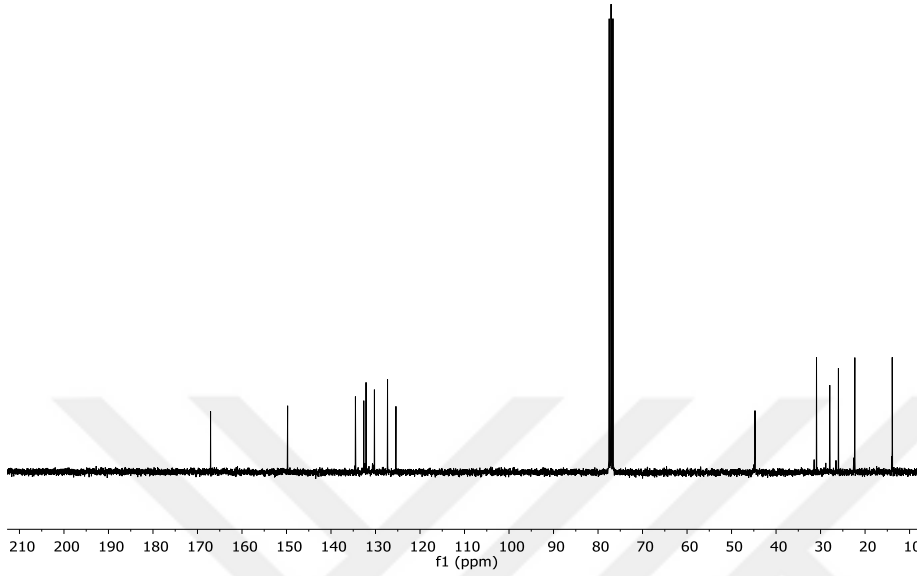
**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz,ppm):** (300 MHz, CHCl<sub>3</sub>-d ) 12.65 (H5 , 1H), 7.62 (H1 , 1H , J=8.3 Hz), 7.59 (H4 , 1H, J=7.8 Hz), 7.5 (H3 , 1H , J=7.8 Hz), 7.43 (H2 , 1H , J=8.3 Hz), 3.93(H6,7 , 2H , J=9 Hz), 1.55 (H8,9 , 2H , J=7.2 Hz), 1.31 (H10,11, 2H , J=7 Hz), 1.28 (H14,15 , 2H , J=6.9 Hz), 1.24 (H12,13 , 2H, J=6.9 Hz), 0.86 (H16,17,18 ,3H, J=6 Hz)



Şekil 3.7. (2) No'lu bileşiğin  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu (  $\text{CHCl}_3$ -d, 300 MHz )

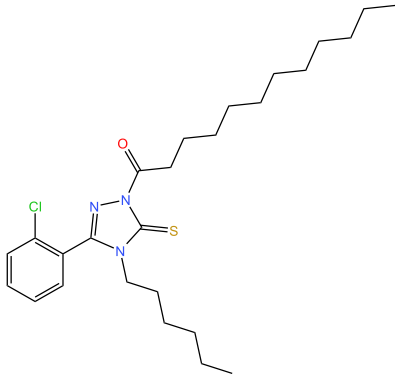


$^{13}\text{C}$ -NMR (300 MHz,ppm): 167 (C8 , 1C), 147 (C7 , 1C), 132.4 (C1 , 1C), 129.2 (C6 , 1C), 128.7 (C2 , 1C), 128.4 (C4 , 1C), 128.3 (C5 , 1C), 128.28 (C3 1C), 50.1 (C9 , 1C), 31.8 (C12 , 1C), 27.2 (C10 , 1C), 27.1 (C11 , 1C), 22.6 (C13 , 1C), 14 (C14 , 1C)



**Şekil 3.8.** (2) No'lu bileşiğin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

### 3.1.3. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)dodekan-1-on (3) bileşiğinin karakterizasyonu

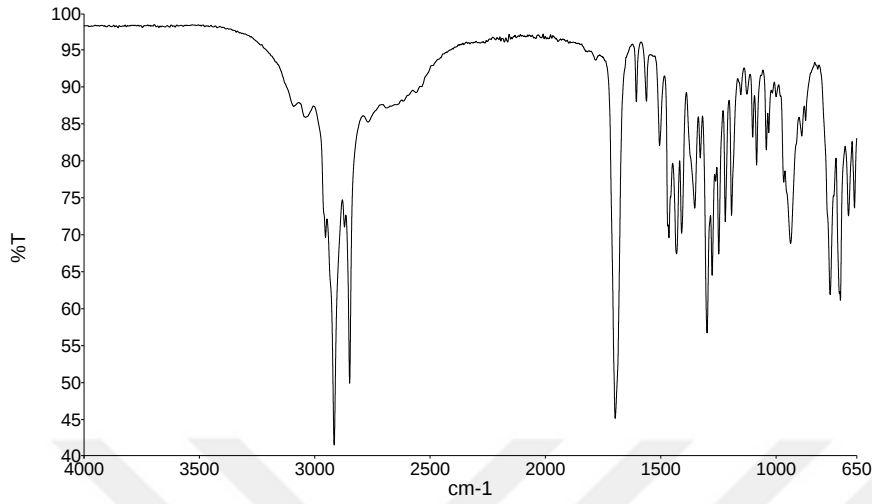


**Şekil 3.9.** 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1 -il)dodekan-1-on bileşiği

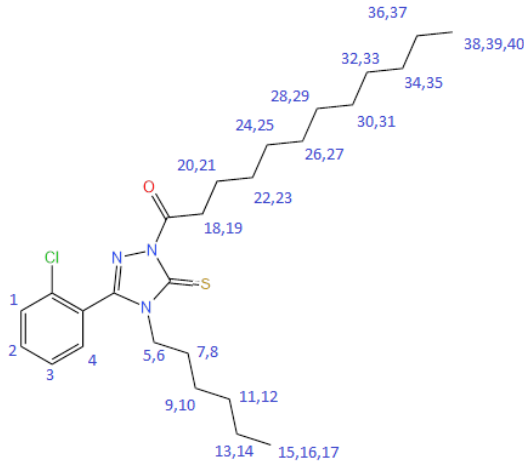
Kimyasal formül:  $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{ClN}_3\text{OS}$

Molekül ağırlığı: 477 g/mol

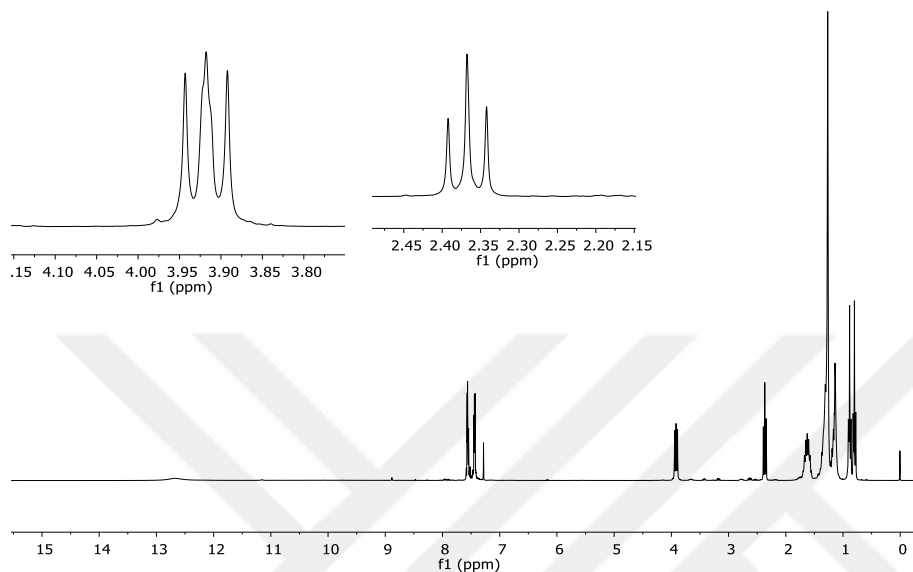
**IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3092 (aromatik C-H gerilme titreşimi), 2953-2915 (alifatik C-H gerilme titreşimi), 1697 (C=N gerilme titreşimi), 1605 (C=O gerilme titreşimi), 1505 (aromatik C=C gerilme titreşimi), 1352 (CH<sub>3</sub> eğilme titreşimi), 1299 (C-N gerilme titreşimi), 1277 (alifatik C-C gerilme titreşimi), 1248 (C=S gerilme titreşimi), 721 (C-Cl gerilme titreşimi).



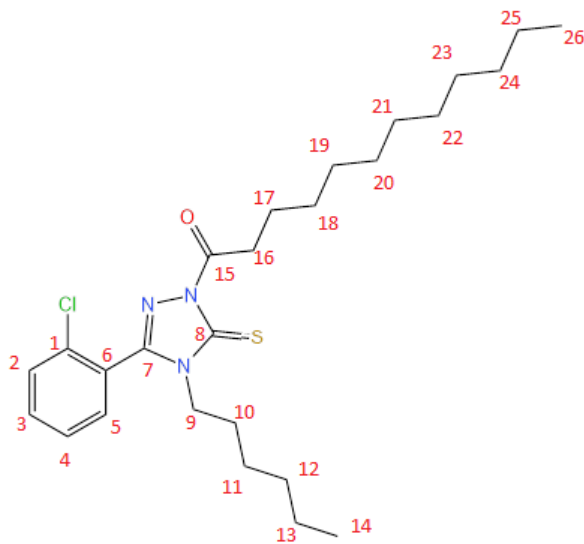
**Şekil 3.10. (3) No'lu bileşiğin deneysel FT-IR spektrumu**



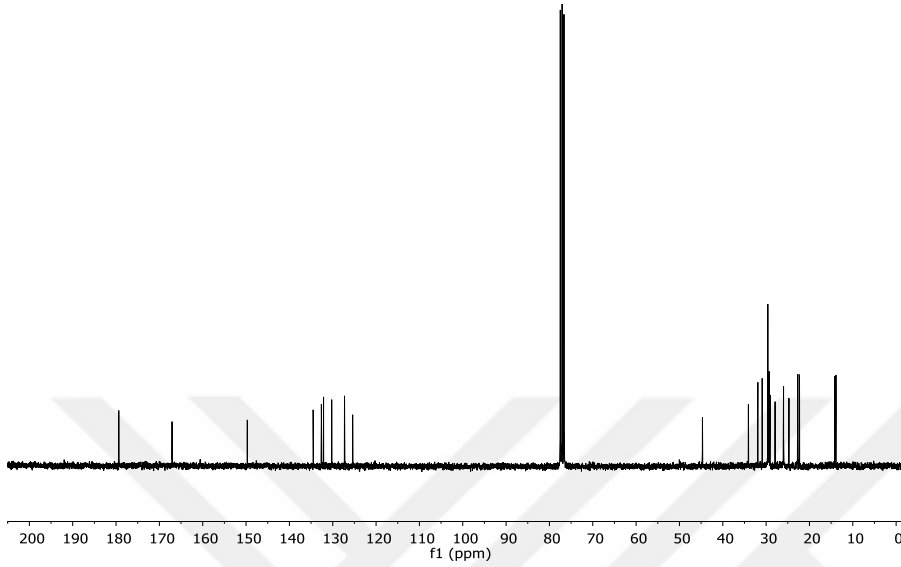
**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz,ppm):** (300 MHz, CHCl<sub>3</sub>-d ) 7.75 (H4 , 1H , J=8 Hz), 7.57 (H2 , 1H, J=7.6 Hz), 7.56 (H1 , 1H , J=8.2 Hz), 7.39 (H3 , 1H , J=8 Hz), 3.93(H5,6 , 2H , J=9 Hz), 2.43 (H18,19 , 2H, J = 7.4), 1.55 (H20,21 , 2H , J=7.5 Hz), 1.51 (H7,8 , 2H, J = 7), 1.32 (H9,10 , 2H , J=7 Hz), 1.28 (H13,14 , 2H , J=6.5 Hz), 1.277 (H36,37 , 2H, J = 7.0 Hz), 1.26 (H24,25 , 2H, J=6.5 Hz), 1.257 (H22,23 , 2H, J=6.5 Hz), 1.239 (H34,35 , 2H, J = 7.0), 1.235 (H11,12 , 2H, J = 7.0), 1.233 (H26,27 , 2H, J = 7.0), 1.232 (H28,29 , 2H, J = 7.0), 1.231 (H30,31 , 2H, J = 7.0), 1.229 (H32,33 , 2H, J = 7.0), 0.87 (H15,16,17 , 3H, J=6 Hz), 0.86 (H38,39,40 ,3H, J=6 Hz)



**Şekil 3.11. (3) No 'lu bileşiğin  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu (  $\text{CHCl}_3\text{-d}$ , 300 MHz )**

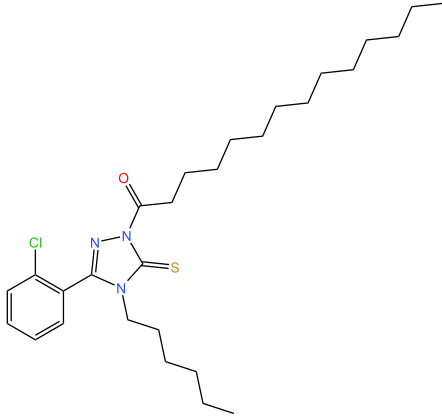


**$^{13}\text{C}$ -NMR (300 MHz,ppm):** 180 (C8 , 1C), 167 (C15 , 1C), 147 (C7 , 1C), 132.4 (C1 , 1C), 129.2 (C6 , 1C), 128.7 (C2 , 1C), 128.4 (C4 , 1C), 128.3 (C5 , 1C), 128.28 (C3 1C), 50.1 (C9 , 1C), 32.9 (C16 , 1C), 31.75 (C12,24 , 2C), 29.4 (C18,19,20,21,22,23 , 6C), 27.2 (C10 , 1C), 27.1 (C11 , 1C), 25.4 (C17 , 1C), 22.63 (C13,25 , 2C), 14.02 (C14,26 , 2C)



**Şekil 3.12.** (3) No'lu bileşiğin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

#### 3.1.4. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1 -il)tetradekan-1-on (4) bileşiğinin karakterizasyonu



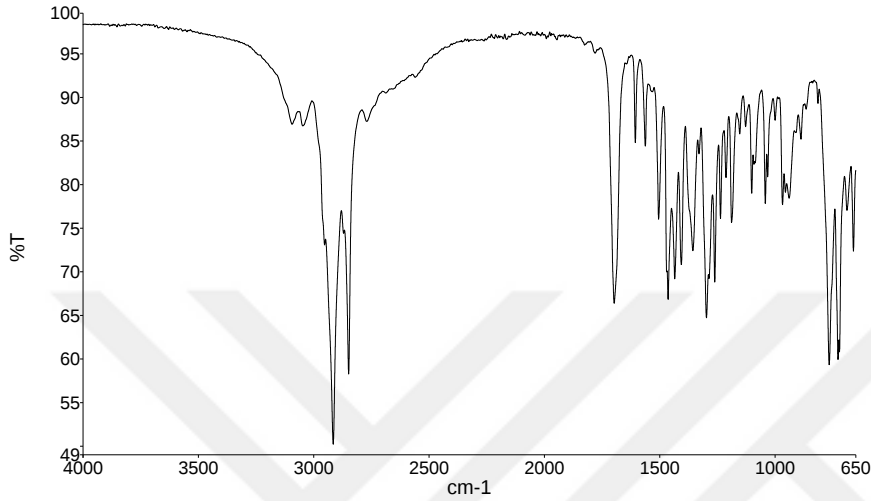
**Şekil 3.13.** 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1 -il)tetradekan-1-on bileşiği

Kimyasal formül:  $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{ClN}_3\text{OS}$

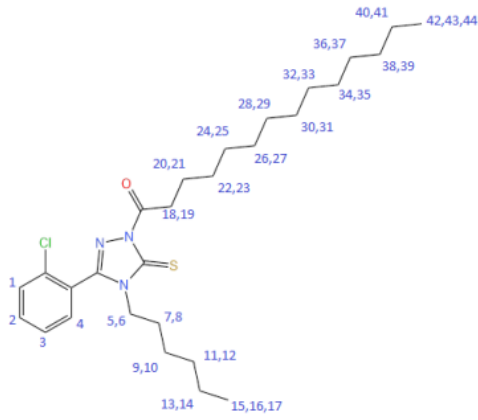
Molekül ağırlığı: 505 g/mol

**IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3094 (aromatik C-H gerilme titreşimi), 2916-2848 (alifatik C-H gerilme titreşimi), 1697 (C=N gerilme titreşimi), 1605 (C=O gerilme titreşimi), 1504 (aromatik C=C

gerilme titreşimi), 1356 (CH<sub>3</sub> eğilme titreşimi), 1297 (C-N gerilme titreşimi), 1261 (alifatik C-C gerilme titreşimi), 1240 (C=S gerilme titreşimi), 726 (C-Cl gerilme titreşimi).

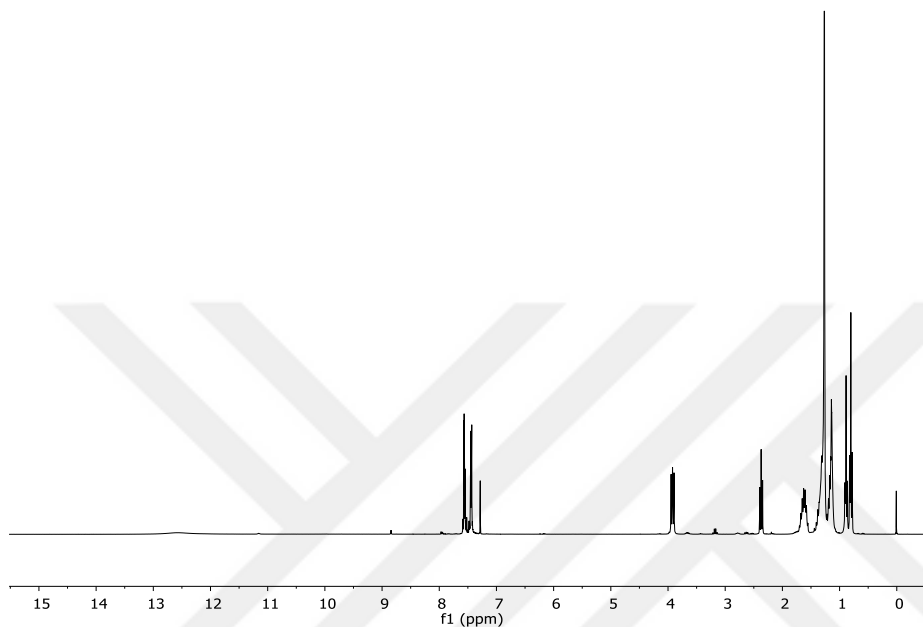


Şekil 3.14. (4) No'lu bileşiğin deneysel FT-IR spektrumu

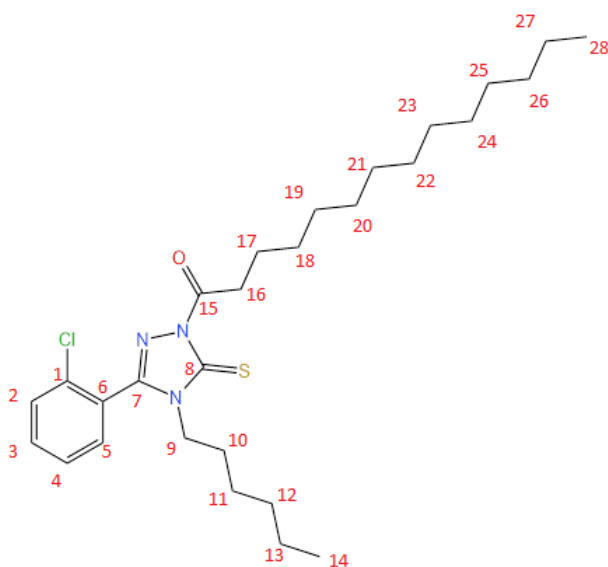


**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz,ppm):** (300 MHz, CHCl<sub>3</sub>-d ) 7.75 (H<sub>4</sub> , 1H , J=8 Hz), 7.57 (H<sub>2</sub> , 1H, J=7.6 Hz), 7.56 (H<sub>1</sub> , 1H , J=8.2 Hz), 7.39 (H<sub>3</sub> , 1H , J=8 Hz), 3.93(H<sub>5,6</sub> , 2H , J=9 Hz), 2.43 (H<sub>18,19</sub> , 2H, J = 7.4), 1.55 (H<sub>20,21</sub> , 2H , J=7.5 Hz), 1.51 (H<sub>7,8</sub> , 2H, J = 7), 1.32 (H<sub>9,10</sub> , 2H , J=7 Hz), 1.28 (H<sub>13,14</sub> , 2H , J=6.5 Hz), 1.277 (H<sub>40,41</sub> , 2H, J = 7.0 Hz), 1.265 (H<sub>24,25</sub> , 2H, J = 6.5 Hz), 1.257 (H<sub>22,23</sub> , 2H, J=6.5 Hz), 1.239 (H<sub>38,39</sub> , 2H, J = 7.0), 1.235 (H<sub>11,12</sub> , 2H, J = 7.0), 1.233 (H<sub>26,27</sub> , 2H, J = 7.0), 1.232 (H<sub>28,29,32,33</sub> , 4H, J = 7.0), 1.231 (H<sub>30,31,34,35</sub> ,

4H, J = 7.0), 1.229 (H36,37 , 2H, J = 7.0), 0.87 (H15,16,17 , 3H, J=6 Hz), 0.86 (H42,43,44 ,3H, J=6 Hz)

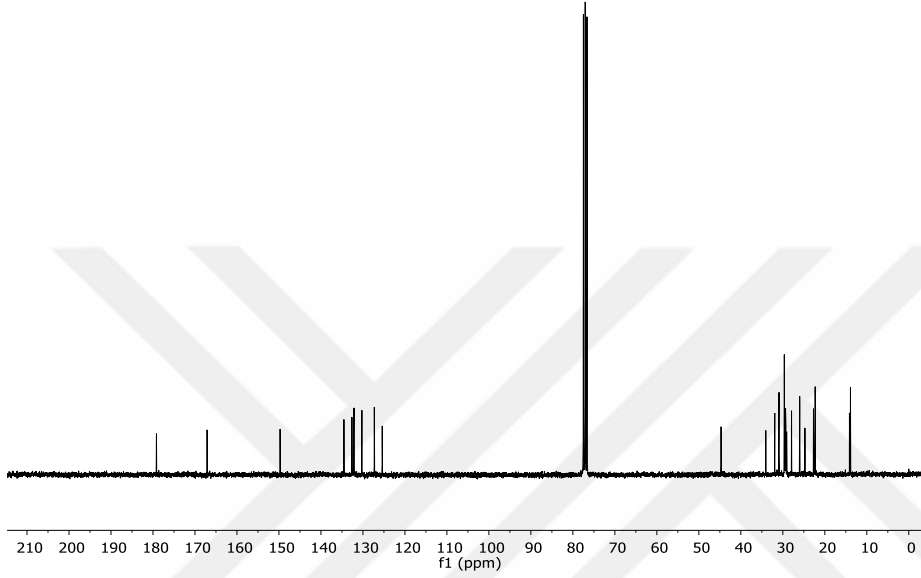


Şekil 3.15. (4) No'lu bileşiğin  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu (  $\text{CHCl}_3\text{-d}$ , 300 MHz )



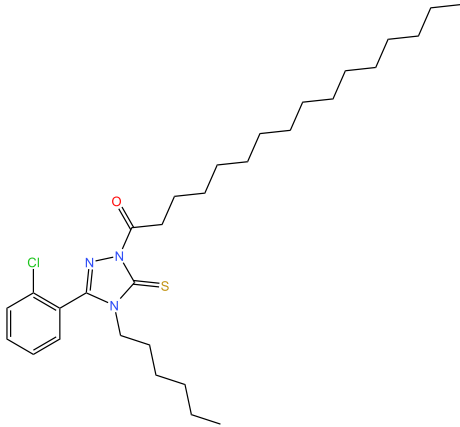
$^{13}\text{C}$ -NMR (300 MHz,ppm): 180 (C8 , 1C), 167 (C15 , 1C), 147 (C7 , 1C), 132.4 (C1 , 1C), 129.2 (C6 , 1C), 128.7 (C2 , 1C), 128.4 (C4 , 1C), 128.3 (C5 , 1C), 128.28 (C3 1C), 50.1 (C9 ,

1C), 32.9 (C16 , 1C), 31.75 (C12,26 , 2C), 29.4 (C18,19,20,21,22,23,24,25 , 8C), 27.2 (C10 , 1C), 27.1 (C11 , 1C), 25.4 (C17 , 1C), 22.63 (C13,27 , 2C), 14.02 (C14,28 , 2C)



Şekil 3.16. (4) No'lu bileşiğin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

### 3.1.5. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)heksadekan-1-on (5) bileşiğinin karakterizasyonu

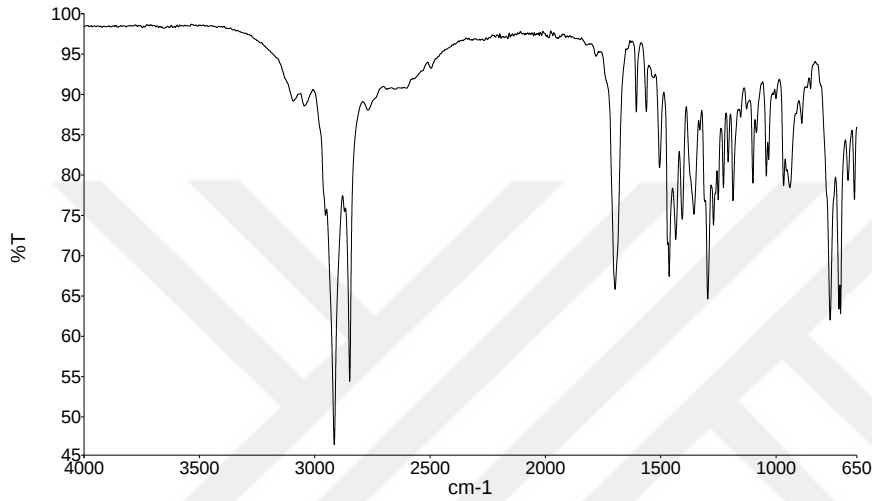


Şekil 3.17. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)heksadekan-1-on bileşiği

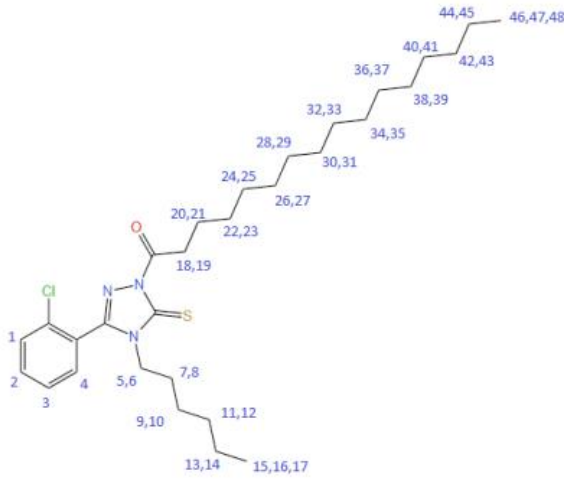
Kimyasal formül:  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{ClN}_3\text{OS}$

Molekül ağırlığı: 533 g/mol

**IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3094 (aromatik C-H gerilme titreşimi), 2919-2848 (alifatik C-H gerilme titreşimi), 1697 (C=N gerilme titreşimi), 1605 (C=O gerilme titreşimi), 1505 (aromatik C=C gerilme titreşimi), 1355 (CH<sub>3</sub> eğilme titreşimi), 1296 (C-N gerilme titreşimi), 1271 (alifatik C-C gerilme titreşimi), 1250 (C=S gerilme titreşimi), 720 (C-Cl gerilme titreşimi).

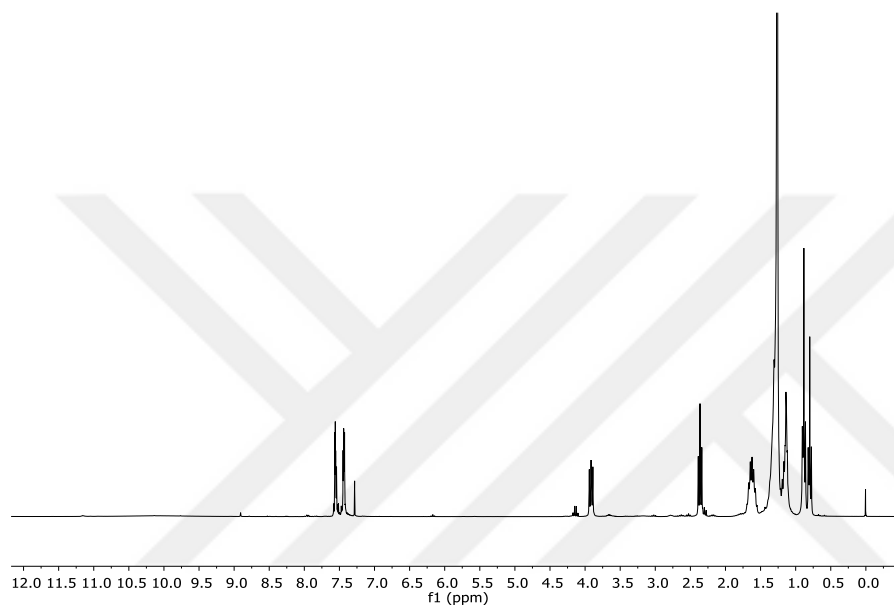


**Şekil 3.18.** (5) No'lu bileşiğin deneysel FT-IR spektrumu

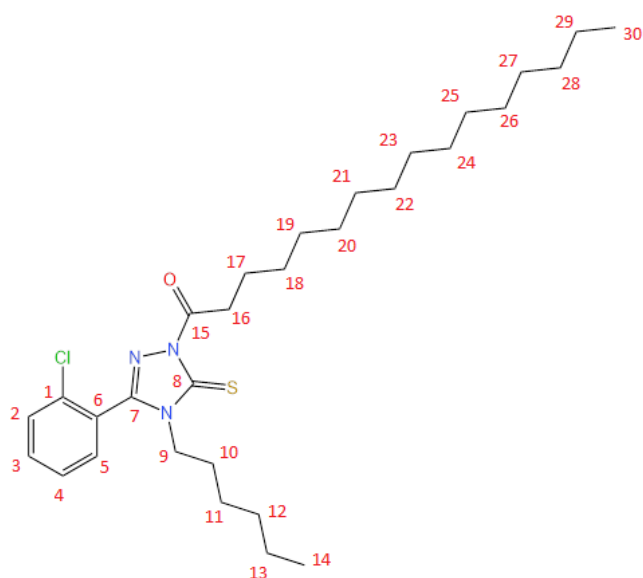


**$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, ppm):** (300 MHz,  $\text{CHCl}_3\text{-d}$ ) 7.75 (H<sub>4</sub>, 1H, J=8 Hz), 7.57 (H<sub>2</sub>, 1H, J=7.6 Hz), 7.56 (H<sub>1</sub>, 1H, J=8.2 Hz), 7.39 (H<sub>3</sub>, 1H, J=8 Hz), 3.93 (H<sub>5,6</sub>, 2H, J=9 Hz), 2.43 (H<sub>18,19</sub>, 2H, J = 7.4), 1.55 (H<sub>20,21</sub>, 2H, J=7.5 Hz), 1.51 (H<sub>7,8</sub>, 2H, J = 7), 1.32 (H<sub>9,10</sub>, 2H, J=7 Hz), 1.28 (H<sub>13,14</sub>, 2H, J=6.5 Hz), 1.277 (H<sub>44,45</sub>, 2H, J = 7.0 Hz), 1.265 (H<sub>24,25</sub>, 2H, J =

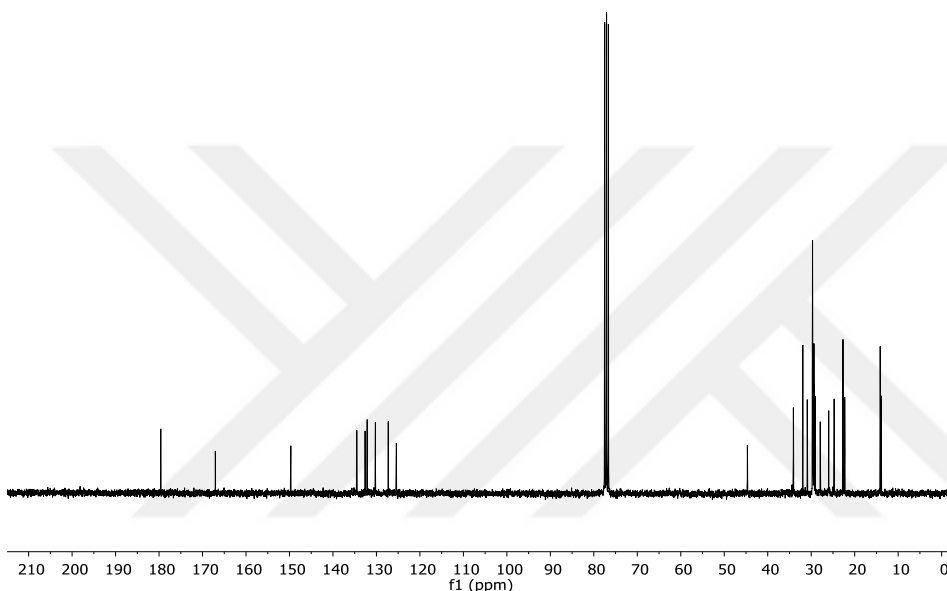
6.5 Hz), 1.257 (H22,23 , 2H, J=6.5 Hz), 1.239 (H42,43 , 2H, J = 7.0), 1.235 (H11,12 , 2H, J = 7.0), 1.233 (H26,27 , 2H, J = 7.0), 1.232 (H28,29,30,31,32,33,34,35 , 8H, J = 7.0), 1.231 (H36,37,38,39 , 4H, J = 7.0), 1.229 (H40,41 , 2H, J = 7.0), 0.87 (H15,16,17 , 3H, J=6 Hz), 0.86 (H46,47,48 ,3H, J=6 Hz)



**Şekil 3.19.** (5) No 'lu bileşiğin  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu (  $\text{CHCl}_3\text{-d}$ , 300 MHz )

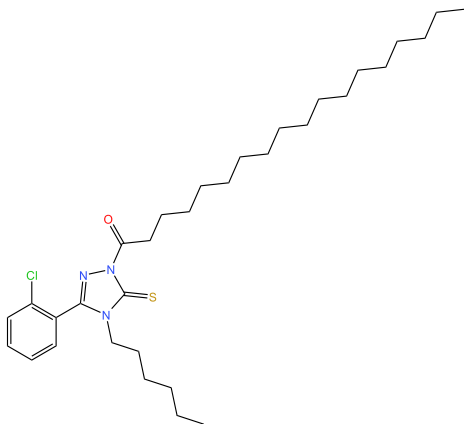


**<sup>13</sup>C-NMR (300 MHz,ppm):** 180 (C8 , 1C), 167 (C15 , 1C), 147 (C7 , 1C), 132.4 (C1 , 1C), 129.2 (C6 , 1C), 128.7 (C2 , 1C), 128.4 (C4 , 1C), 128.3 (C5 , 1C), 128.28 (C3 1C), 50.1 (C9 , 1C), 32.9 (C16 , 1C), 31.75 (C12,28 , 2C), 29,4 (C18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28 , 11C), 27.2 (C10 , 1C), 27.1 (C11 , 1C), 25.4 (C17 , 1C), 22.63 (C13,29 , 2C), 14.02 (C14,30 , 2C)



**Şekil 3.20.** (5) No'lu bileşiğin <sup>13</sup>C-NMR spektrumu

### 3.1.6. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)oktadekan-1-on (6) bileşiğinin karakterizasyonu

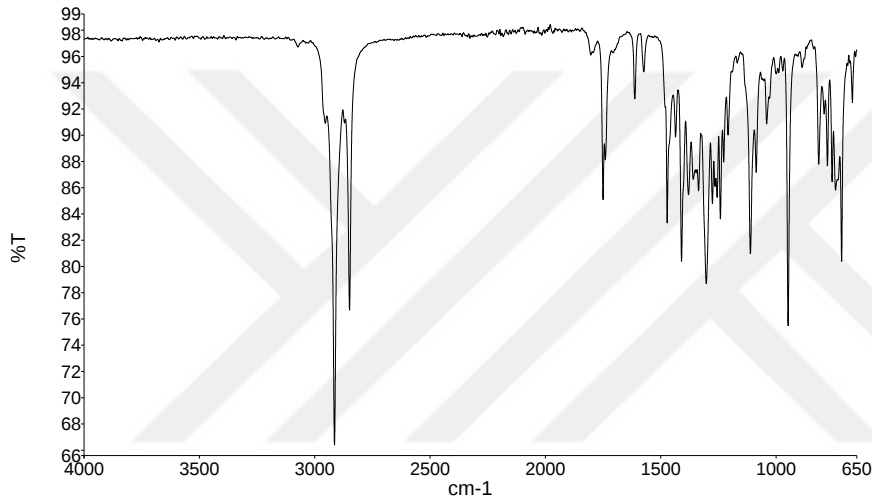


**Şekil 3.21.** 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1 -il)oktadekan-1-on bileşiği

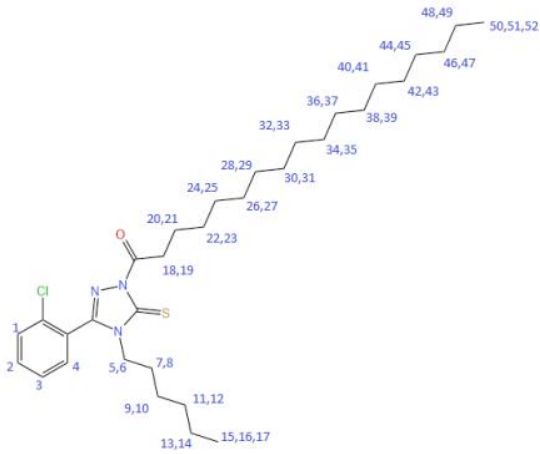
Kimyasal formül:  $C_{32}H_{52}ClN_3OS$

Molekül ağırlığı: 561 g/mol

**IR (ATR,  $cm^{-1}$ ):** 3092 (aromatik C-H gerilme titreşimi), 2916-2849 (alifatik C-H gerilme titreşimi), 1612 (C=N gerilme titreşimi), 1600 (C=O gerilme titreşimi), 1573 (aromatik C=C gerilme titreşimi), 1335 (CH<sub>3</sub> eğilme titreşimi), 1302 (C-N gerilme titreşimi), 1275 (C=S gerilimi), 1241 (alifatik C-C gerilme titreşimi), 715 (C-Cl gerilme titreşimi).

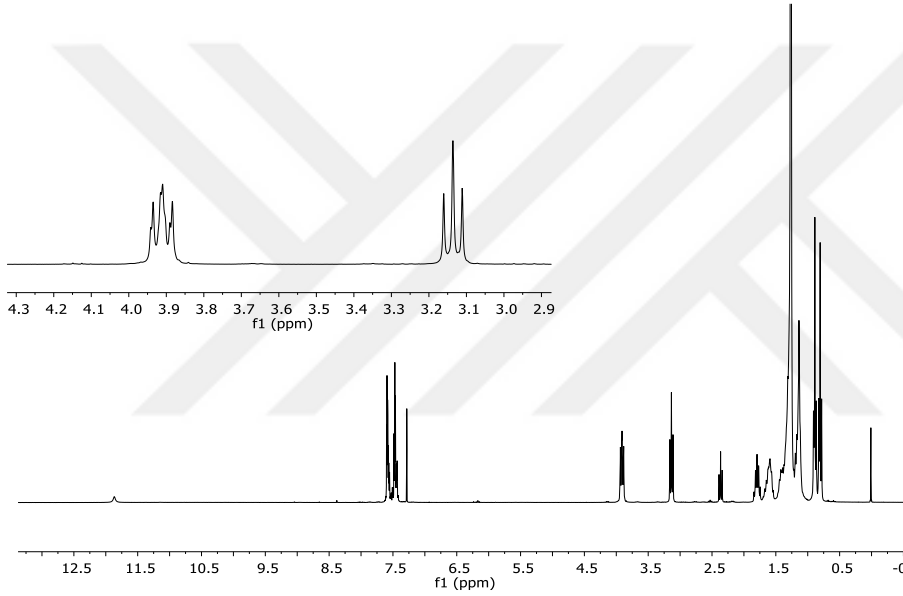


Şekil 3.22. (6) No'lu bileşiğin deneysel FT-IR spektrumu

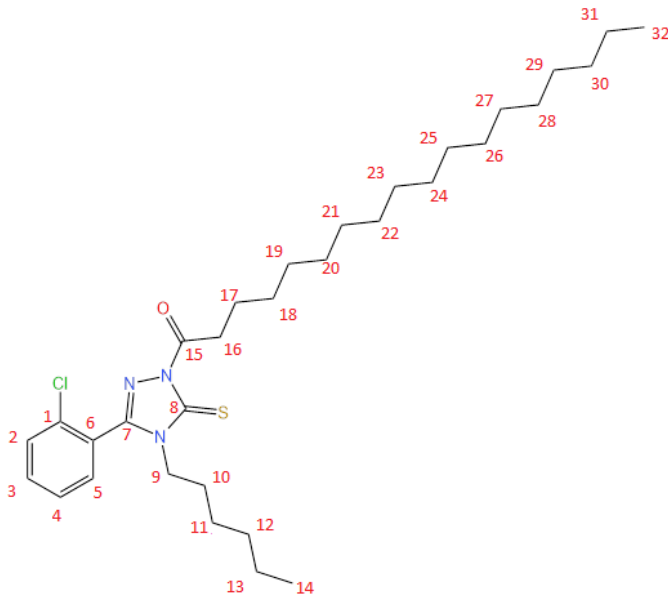


**$^1H$ -NMR (300 MHz, ppm):** (300 MHz,  $CHCl_3-d$ ) 7.75 (H<sub>4</sub>, 1H, J=8 Hz), 7.57 (H<sub>2</sub>, 1H, J=7.6 Hz), 7.56 (H<sub>1</sub>, 1H, J=8.2 Hz), 7.39 (H<sub>3</sub>, 1H, J=8 Hz), 3.93 (H<sub>5,6</sub>, 2H, J=9 Hz), 2.43 (H<sub>18,19</sub>, 2H, J = 7.4), 1.55 (H<sub>20,21</sub>, 2H, J=7.5 Hz), 1.51 (H<sub>7,8</sub>, 2H, J = 7), 1.32 (H<sub>9,10</sub>, 2H, J = 7)

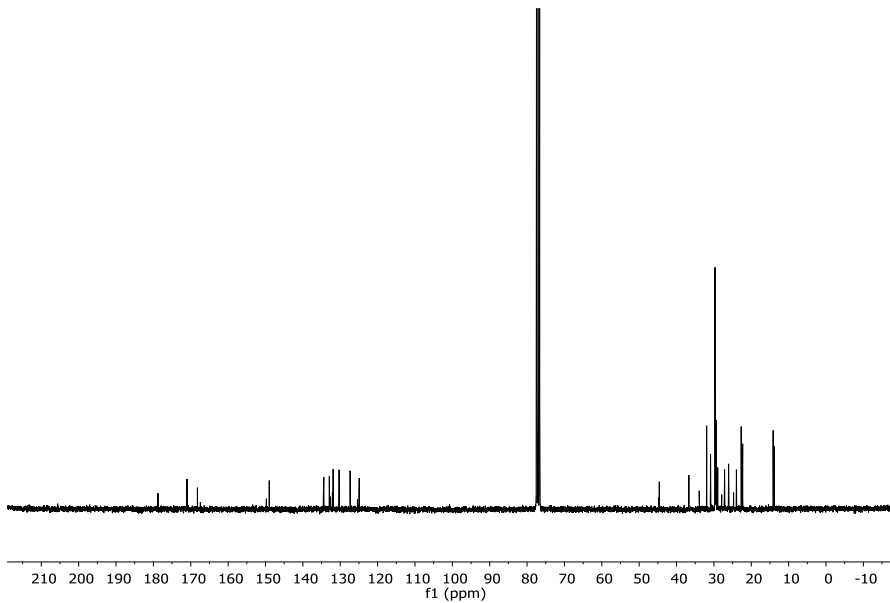
Hz), 1.28 (H13,14 , 2H , J=6.5 Hz), 1.277 (H48,49 , 2H, J = 7.0 Hz), 1.265 (H24,25 , 2H, J = 6.5 Hz), 1.257 (H22,23 , 2H, J=6.5 Hz), 1.239 (H46,47 , 2H, J = 7.0), 1.235 (H11,12 , 2H, J = 7.0), 1.233 (H26,27 , 2H, J = 7.0), 1.232 (H28,29,30,31,34,35,36,37,38,39 , 10H, J = 7.0), 1.231 (H32,33,40,41,42,43 , 6H, J = 7.0), 1.229 (H44,45 , 2H, J = 7.0), 0.87 (H15,16,17 , 3H, J=6 Hz), 0.86 (H50,51,52 ,3H, J=6 Hz)



**Şekil 3.23. (6) No'lu bileşiğin  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu (  $\text{CHCl}_3\text{-d}$ , 300 MHz )**



**$^{13}\text{C}$ -NMR (300 MHz,ppm):** 180 (C8 , 1C), 167 (C15 , 1C), 147 (C7 , 1C), 132.4 (C1 , 1C), 129.2 (C6 , 1C), 128.7 (C2 , 1C), 128.4 (C4 , 1C), 128.3 (C5 , 1C), 128.28 (C3 1C), 50.1 (C9 , 1C), 32.9 (C16 , 1C), 31.75 (C12,30 , 2C), 29,4 (C18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29, 12C), 27.2 (C10 , 1C), 27.1 (C11 , 1C), 25.4 (C17 , 1C), 22.63 (C13,31 , 2C), 14.02 (C14,32 , 2C)

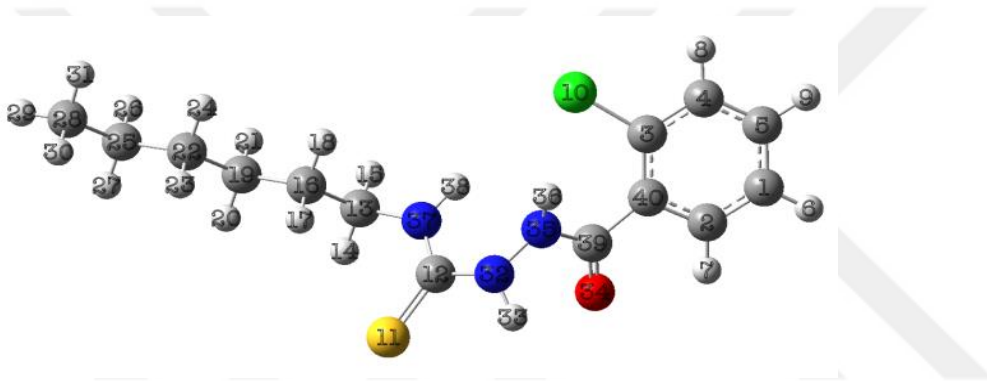


**Şekil 3.24. (6) No'lu bileşiğin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu**

### 3.2. Teorik Çalışma

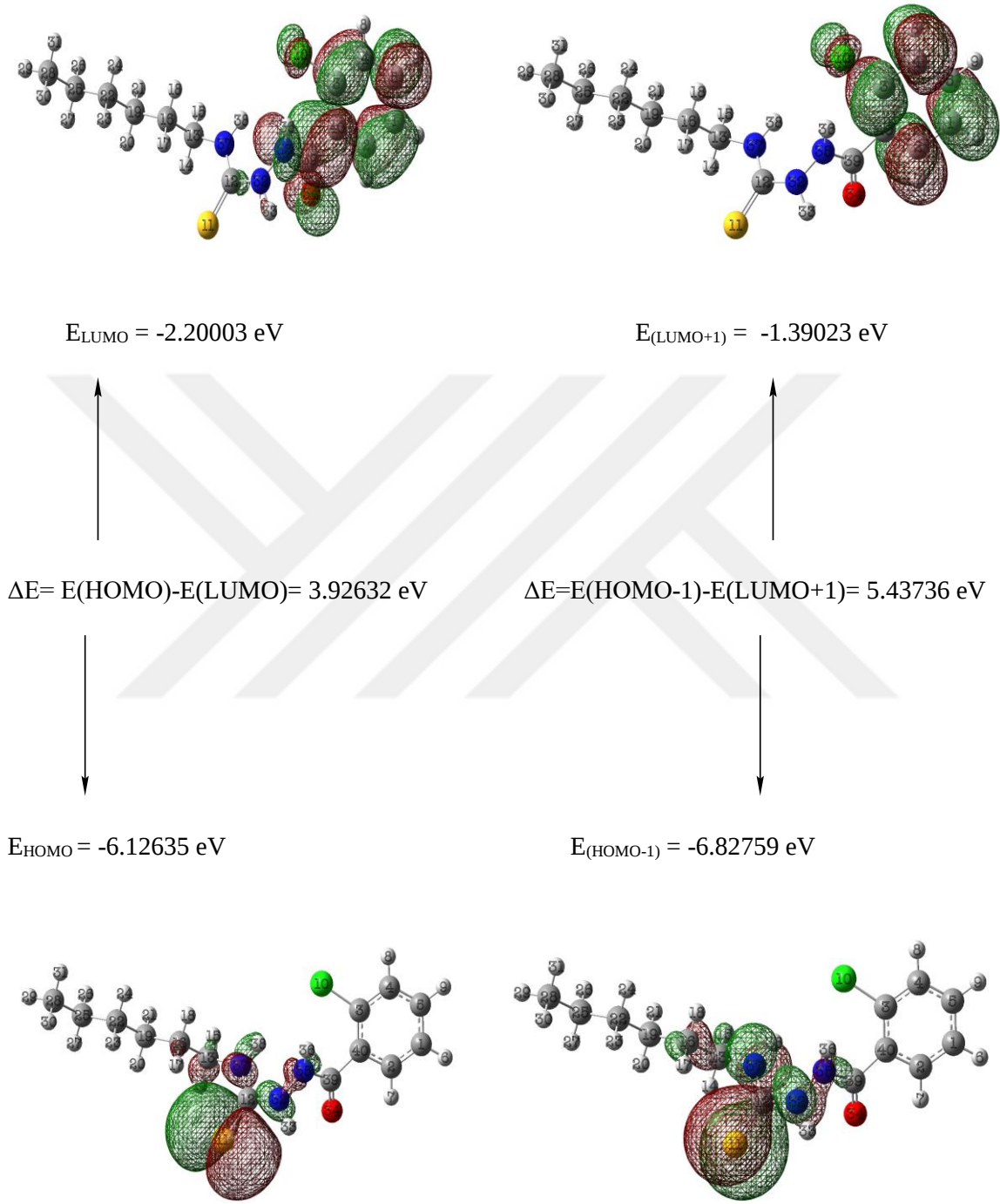
Çalışmanın bu kısmında sentezlenen bileşiklerin Crystal Explorer 3.1 yazılımında GAUSSIAN 09 paket programının DFT metodu ile teorik hesaplamaları yapıldı. Bu bağlamda, Gauss View 5.0 yardımıyla sentezlenen bileşiklerin numaralandırılmış ve optimize edilmiş üç boyutlu görünüşleri, HOMO-LUMO enerji yüzeyleri ve MEP haritaları hesaplandı.

#### 3.2.1. 2-(2-Klorobenzoil)-N-(1-Heksil)hidrazin karbotioamid (1) analizi



Şekil 3.25. (1) No'lu bileşiğin Gaussian 09'da optimize edilmiş hali

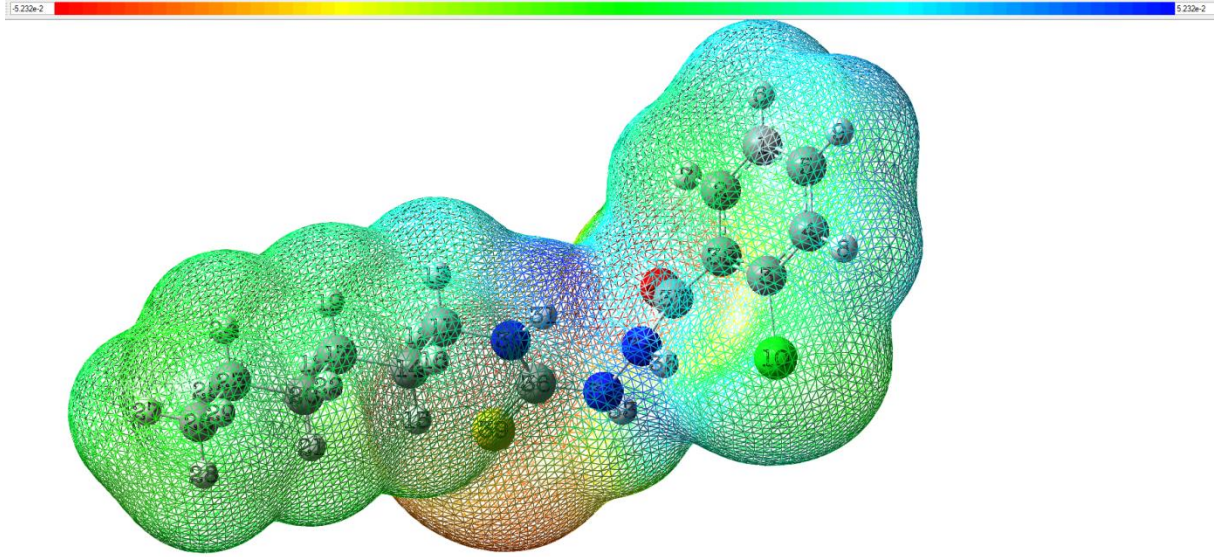
Şekil 3.26'da görüldüğü üzere molekülün elektron yoğunluğu HOMO ve HOMO-1 orbitallerinde azot ve kükürt heteroatomlarında, LUMO orbitallerinde benzen halkasında ve karbonil grubunda LUMO+1 orbitallerinde ise benzen halkasında yoğunlaşmıştır. Burada elektron yük akışının heteroatomlardan benzen halkasına doğru olduğu söylenebilir.



**Şekil 3.26. (1) No'lu bileşiğin HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve enerji hesabı**

Molekülün MEP haritasına göre; bileşikte elektron yoğunluğunun fazla olduğu negatif bölgelerin (kırmızı renk) kükürt ve oksijen atomlarının bulunduğu yerlerde olduğu görülmektedir. Elektron yoğunluğunun az olduğu pozitif bölgelerin (mavi renk) ise azot atomlarına ve aromatik halkaya bağlı hidrojenlerin olduğu yerlerde belirlenmiştir. Ayrıca,

bileşğin benzen halkası, halkaya bağlı klor atomu ve heksil grubu nötral bölgede (yeşil renk) yer almaktadır (Şekil 3.27).



Şekil 3.27. (1) No'lu bileşğin MEP haritası

Tablo 3.1. (1) No'lu bileşğin hesaplanan moleküler parametreleri

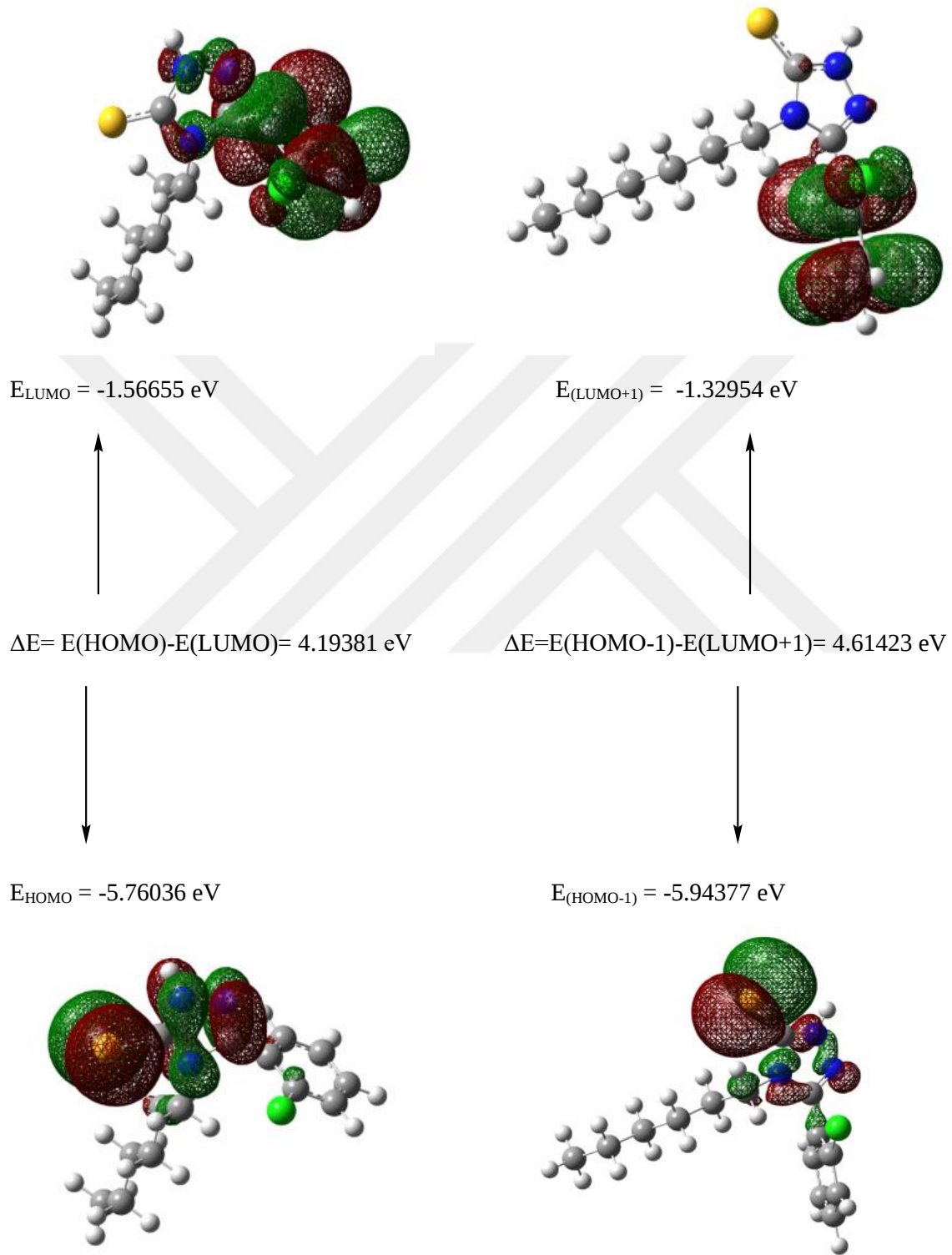
|                                                     |             |
|-----------------------------------------------------|-------------|
| <b>HOMO</b>                                         | -6,12635    |
| <b>LUMO</b>                                         | -2,20003    |
| <b>HOMO-1</b>                                       | -6,82759    |
| <b>LUMO+1</b>                                       | -1,39023    |
| <b>HOMO-LUMO</b>                                    | -3,92632    |
| <b>HOMO-1-LUMO+1</b>                                | -5,43736    |
| <b>Elektron egatiflik (<math>\chi</math>)</b>       | 4,16319     |
| <b>Sertlik</b>                                      | 1,96316     |
| <b>Kimyasal potansiyel (Pi)</b>                     | -4,16319    |
| <b>Elektrofilik endeksi (<math>\omega</math>)</b>   | 8,8287      |
| <b>Yumuşaklık (S)</b>                               | 0,509382832 |
| <b>Elektronik yük (<math>\Delta N_{max}</math>)</b> | 2,120657511 |

### 3.2.2. 5-(2-klorofenil)-4-hekzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (2) analizi



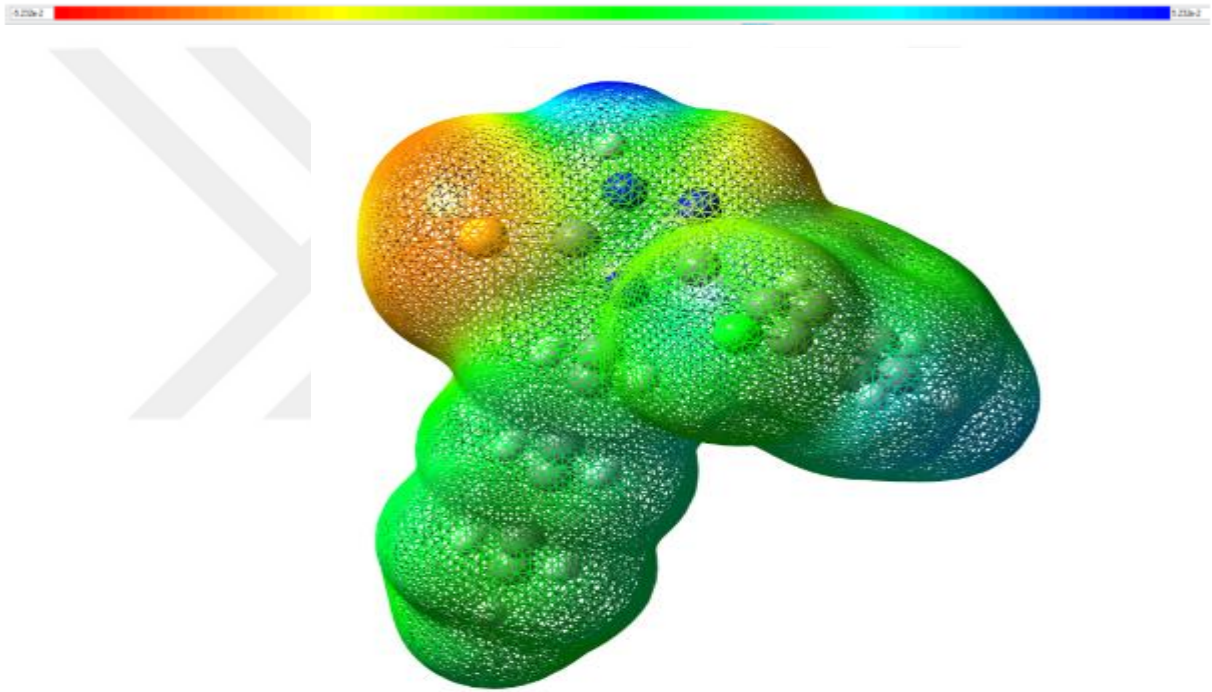
**Şekil 3.28.** (2) No'lu bileşiğin Gaussian 09'da optimize edilmiş hali

Şekil 3.29'da görüldüğü üzere molekülün elektron yoğunluğu HOMO ve HOMO-1 orbitallerinde triazol halkasında, LUMO orbitallerinde benzen ve triazol halkasında, LUMO+1 orbitallerinde ise benzen halkasında yoğunlaşmıştır. Burada elektron yük akışının triazol halkasından benzen halkasına doğru olduğu söylenebilir.



Şekil 3.29. (2) No'lu bileşiğin HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve enerji hesabı

Molekölün MEP haritasına göre; bileşikte elektron yoğunluğunun fazla olduğu negatif bölgelerin (kırmızı renk) triazol halkasının kükürt ve azot atomlarının bulunduğu yerlerde olduğu görölmektedir. Elektron yoğunluğunun az olduğu pozitif bölgelerin (mavi renk) ise triazol halkasındaki azota bağlı hidrojen ve benzene bağlı hidrojenlerin olduğu yerlerde belirlenmiştir. Ayrıca, bileşiğin benzen halkası, halkaya bağlı klor atomu ve heksil grubu nötral bölgede (yeşil renk) yer almaktadır (Şekil 3.30).

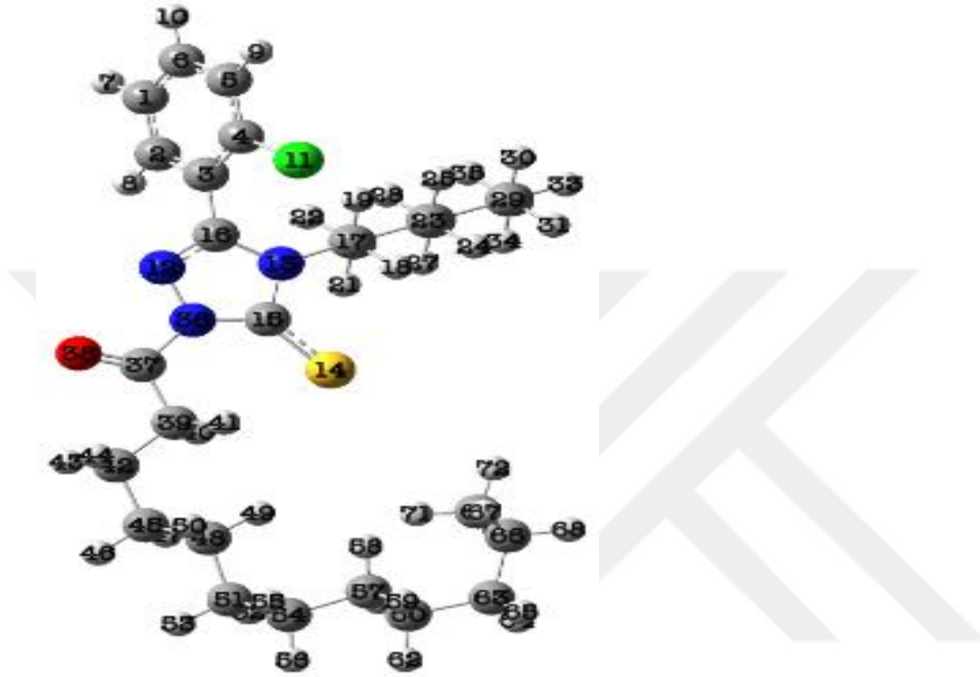


Şekil 3.30. (2) No'lu bileşiğin MEP haritası

**Tablo 3.2. (2) No’lu bileşğin hesaplanan moleküler parametreleri**

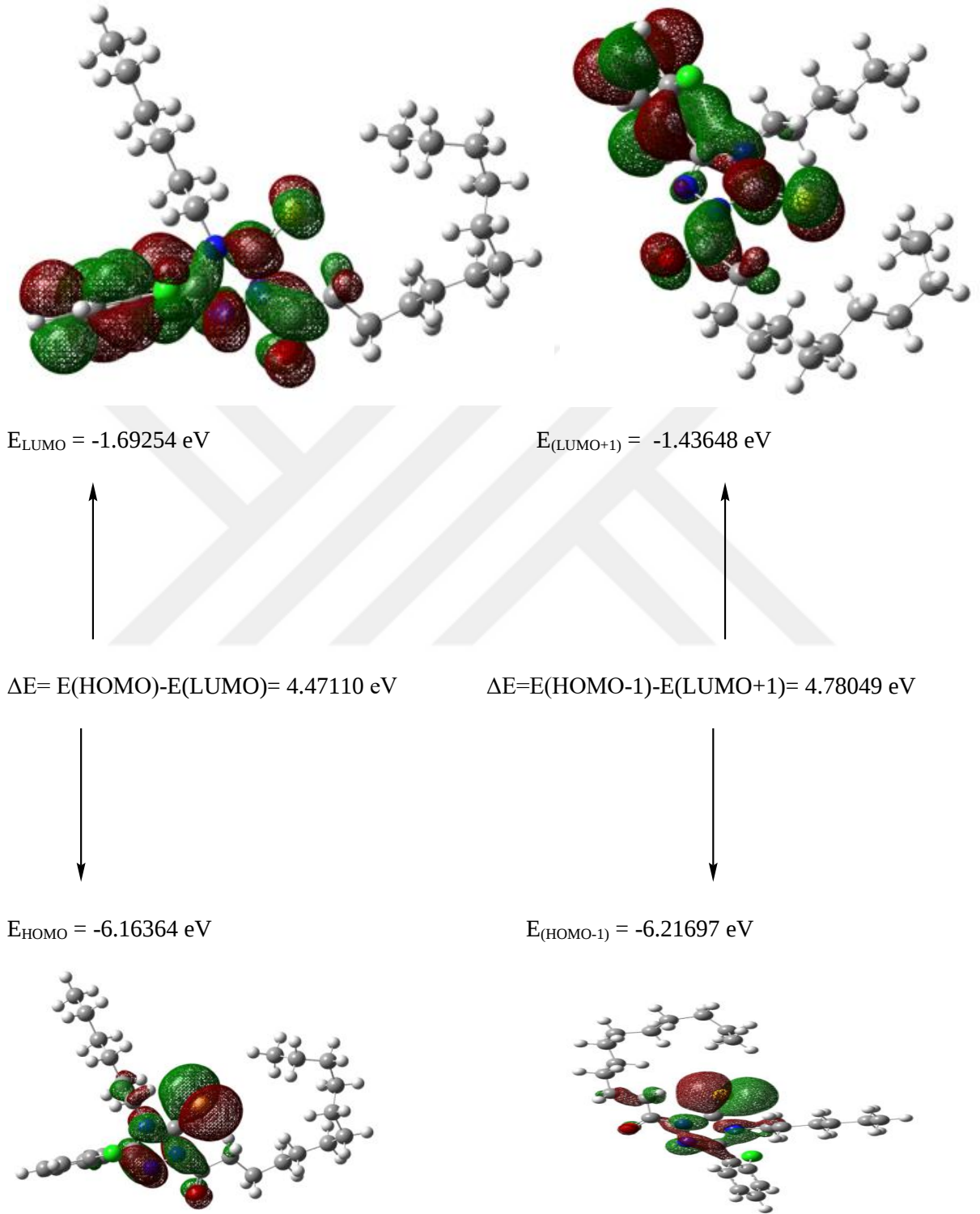
|                                                     |             |
|-----------------------------------------------------|-------------|
| <b>HOMO</b>                                         | -5,76036    |
| <b>LUMO</b>                                         | -1,56655    |
| <b>HOMO-1</b>                                       | -5,94377    |
| <b>LUMO+1</b>                                       | -1,32954    |
| <b>HOMO-LUMO</b>                                    | -4,19381    |
| <b>HOMO-1-LUMO+1</b>                                | -4,61423    |
| <b>Elektron egatiflik (<math>\chi</math>)</b>       | 3,663455    |
| <b>Sertlik</b>                                      | 2,096905    |
| <b>Kimyasal potansiyel (Pi)</b>                     | -3,66346    |
| <b>Elektrofi lik endeksi (<math>\omega</math>)</b>  | 6,400339    |
| <b>Yumuşaklık (S)</b>                               | 0,476893326 |
| <b>Elektronik yük (<math>\Delta N_{max}</math>)</b> | 1,74707724  |

3.2.3.1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)dodekan-1-on  
(3) analizi



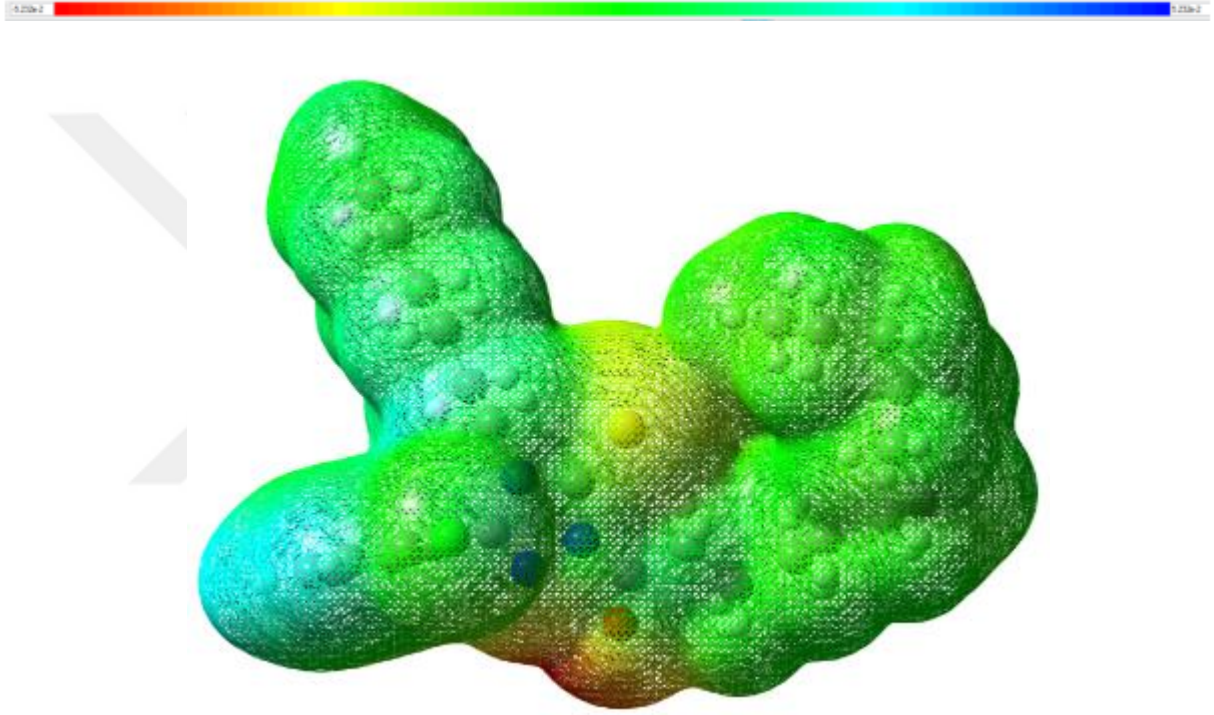
Şekil 3.31. (3) No'lu bileşiğin Gaussian 09'da optimize edilmiş hali

Şekil 3.32'de görüldüğü üzere, bu molekülün elektron yoğunluğu HOMO ve HOMO-1 orbitallerinde triazol halkasında, LUMO ve LUMO+1 orbitallerinde benzen ve triazol halkasında yoğunlaşmıştır. Burada elektron yük akışının triazol halkasından benzen halkasına doğru olduğu söylenebilir.



**Şekil 3.32. (3) No'lu bileşiğin HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve enerji hesabı**

Bu molekülün MEP haritasına göre; bileşikte elektron yoğunluğunun fazla olduğu negatif bölgenin (kırmızı renk) oksijen atomunun bulunduğu yerde olduğu görülmektedir. Elektron yoğunluğunun az olduğu pozitif bölgelerin (mavi renk) ise benzen halkasına bağlı hidrojenlerin olduğu yerlerde belirlenmiştir. Ayrıca, bileşiğin benzen halkası, halkaya bağlı klor atomu, heksil grubu ve karbonile bağlı alkil grubu nötral bölgede (yeşil renk) yer almaktadır. (Şekil 3.33).

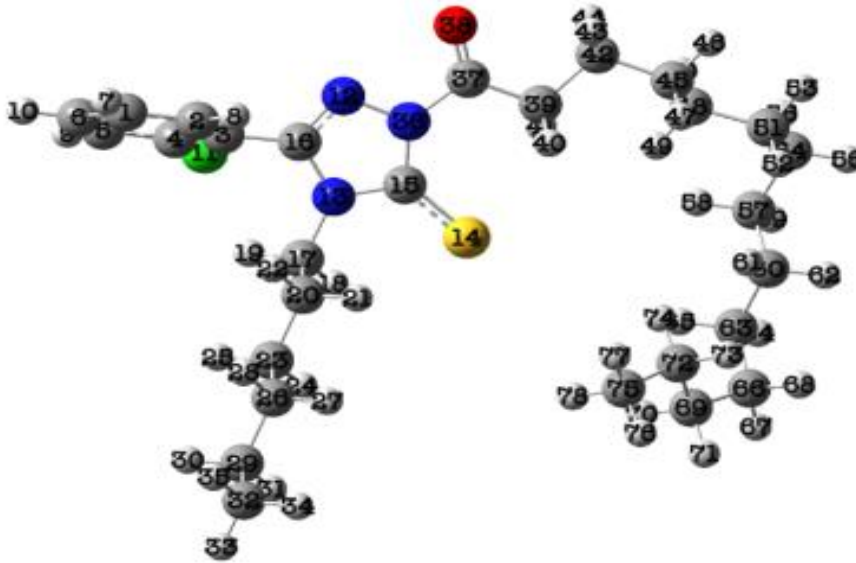


**Şekil 3.33.** (3) No'lu bileşiğin MEP haritası

**Tablo 3.3. (3) No'lu bileşiğin hesaplanan moleküler parametreleri**

|                                                     |             |
|-----------------------------------------------------|-------------|
| <b>HOMO</b>                                         | -6,16364    |
| <b>LUMO</b>                                         | -1,69254    |
| <b>HOMO-1</b>                                       | -6,21697    |
| <b>LUMO+1</b>                                       | -1,43648    |
| <b>HOMO-LUMO</b>                                    | -4,4711     |
| <b>HOMO-1-LUMO+1</b>                                | -4,78049    |
| <b>Elektron egatiflik (<math>\chi</math>)</b>       | 3,92809     |
| <b>Sertlik</b>                                      | 2,23555     |
| <b>Kimyasal potansiyel (Pi)</b>                     | -3,92809    |
| <b>Elektrofilik endeksi (<math>\omega</math>)</b>   | 6,902056    |
| <b>Yumuşaklık (S)</b>                               | 0,447317215 |
| <b>Elektronik yük (<math>\Delta N_{max}</math>)</b> | 1,757102279 |

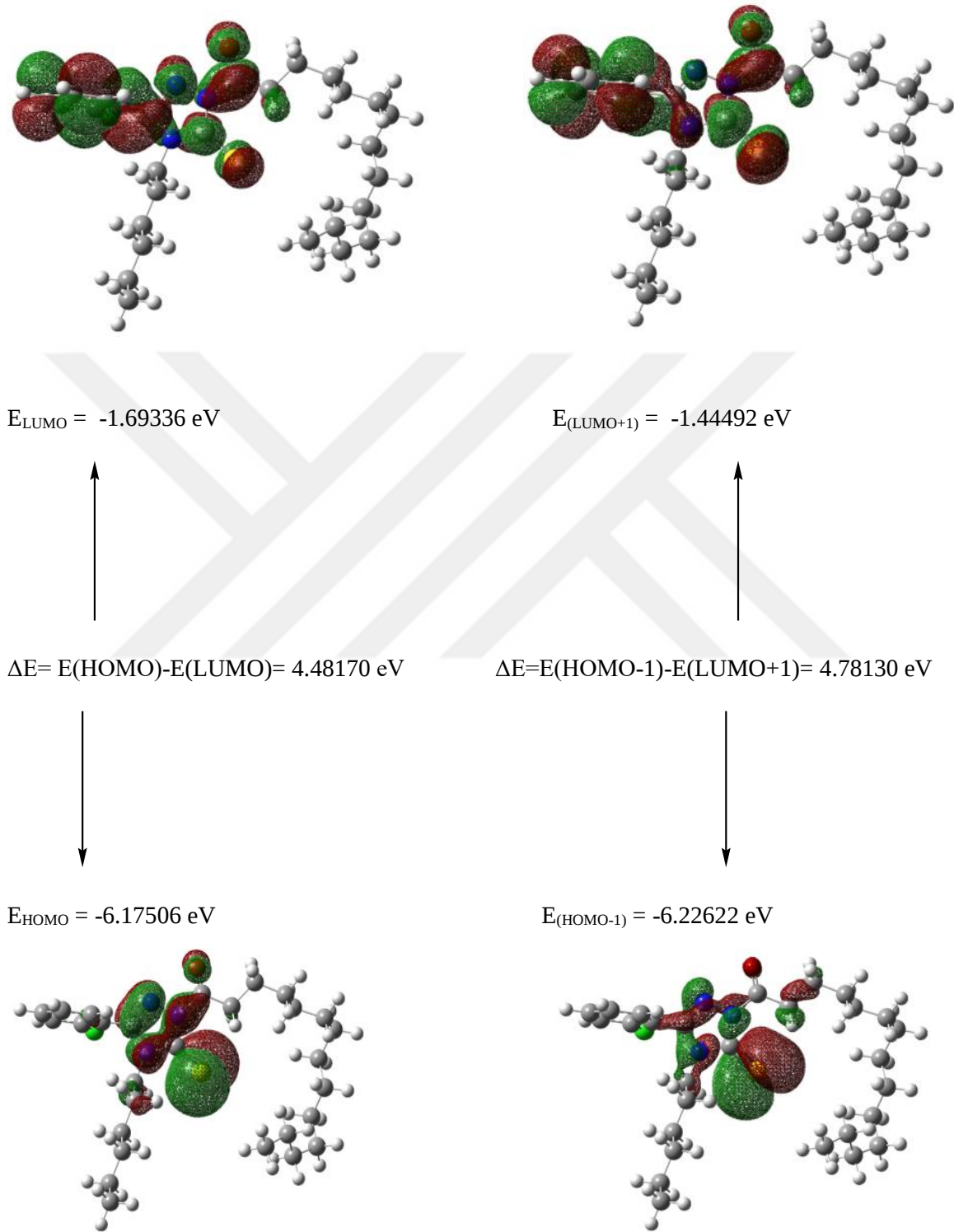
**3.2.4. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)tetradekan-1-on (4) analizi**



**Şekil 3.34. (4) No'lu bileşiğin Gaussian 09'da optimize edilmiş hali**

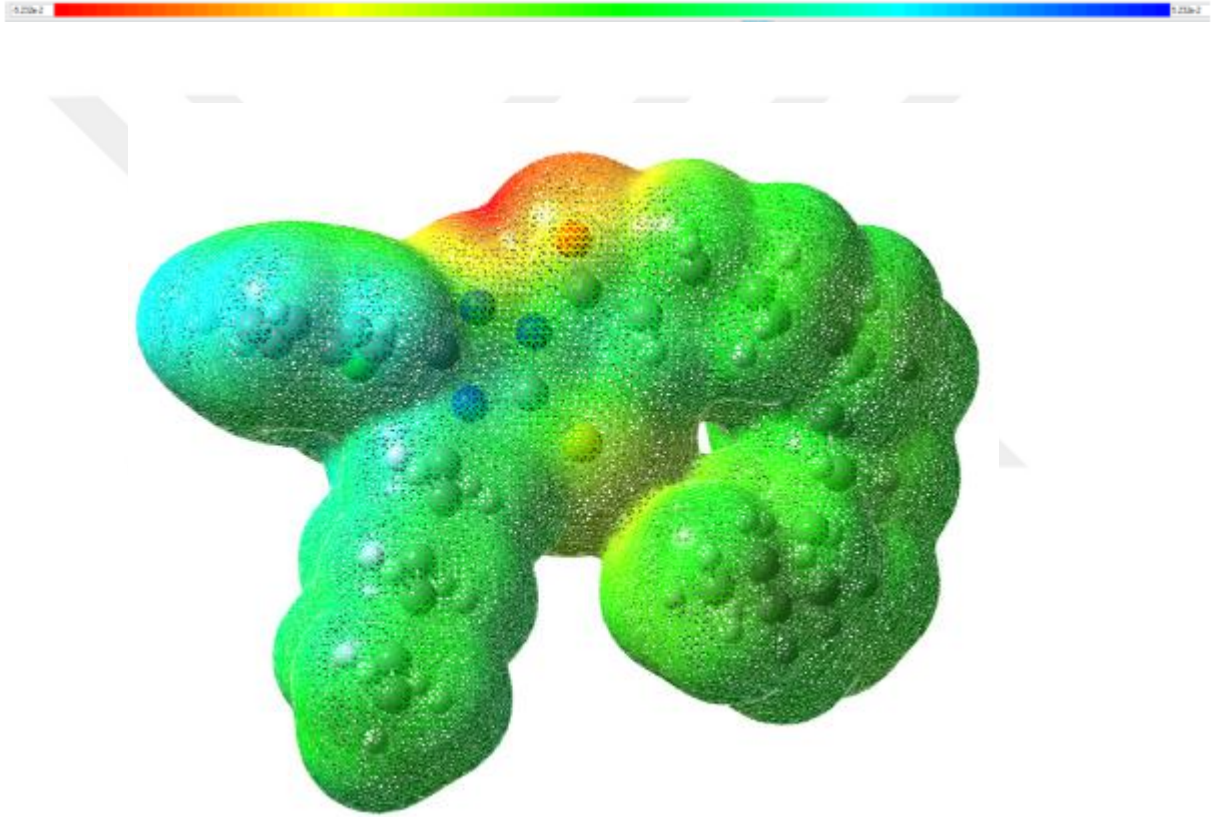
Şekil 3.35’de görüldüğü üzere; molekülün elektron yoğunluğu HOMO ve HOMO-1 orbitallerinde triazol halkasında, LUMO ve LUMO+1 orbitallerinde ise benzen ve triazol halkasında yoğunlaşmıştır. Burada elektron yük akışının triazol halkasından benzen halkasına doğru olduğu söylenebilir.





Şekil 3.35. (4) No'lu bileşiğin HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve enerji hesabı

Molekülün MEP haritasına göre; bileşikte elektron yoğunluğunun fazla olduğu negatif bölgenin (kırmızı renk) oksijen atomunun bulunduğu yerde olduğu görülmektedir. Elektron yoğunluğunun az olduğu pozitif bölgelerin (mavi renk) ise benzen halkasına bağlı hidrojenlerin olduğu yerlerde belirlenmiştir. Ayrıca, bileşiğin benzen halkası, halkaya bağlı klor atomu, heksil grubu ve karbonile bağlı alkil grubu nötral bölgede (yeşil renk) yer almaktadır. (Şekil 3.36).

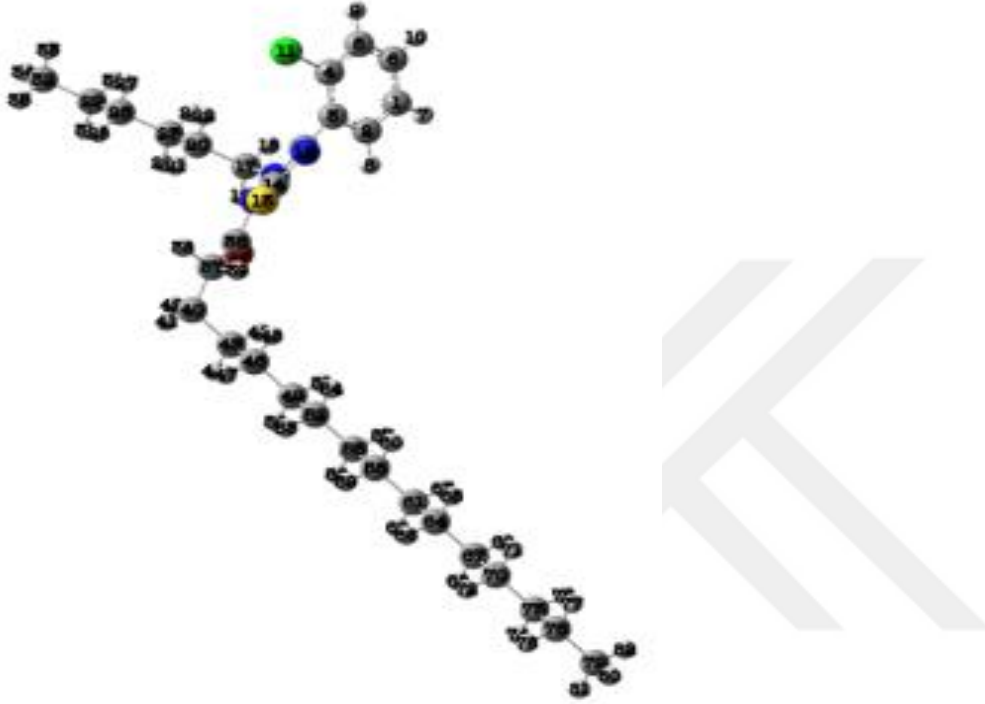


**Şekil 3.36.** (4) No'lu bileşiğin MEP haritası

**Tablo 3.4. (4) No’lu bileşğin hesaplanan moleküler parametreleri**

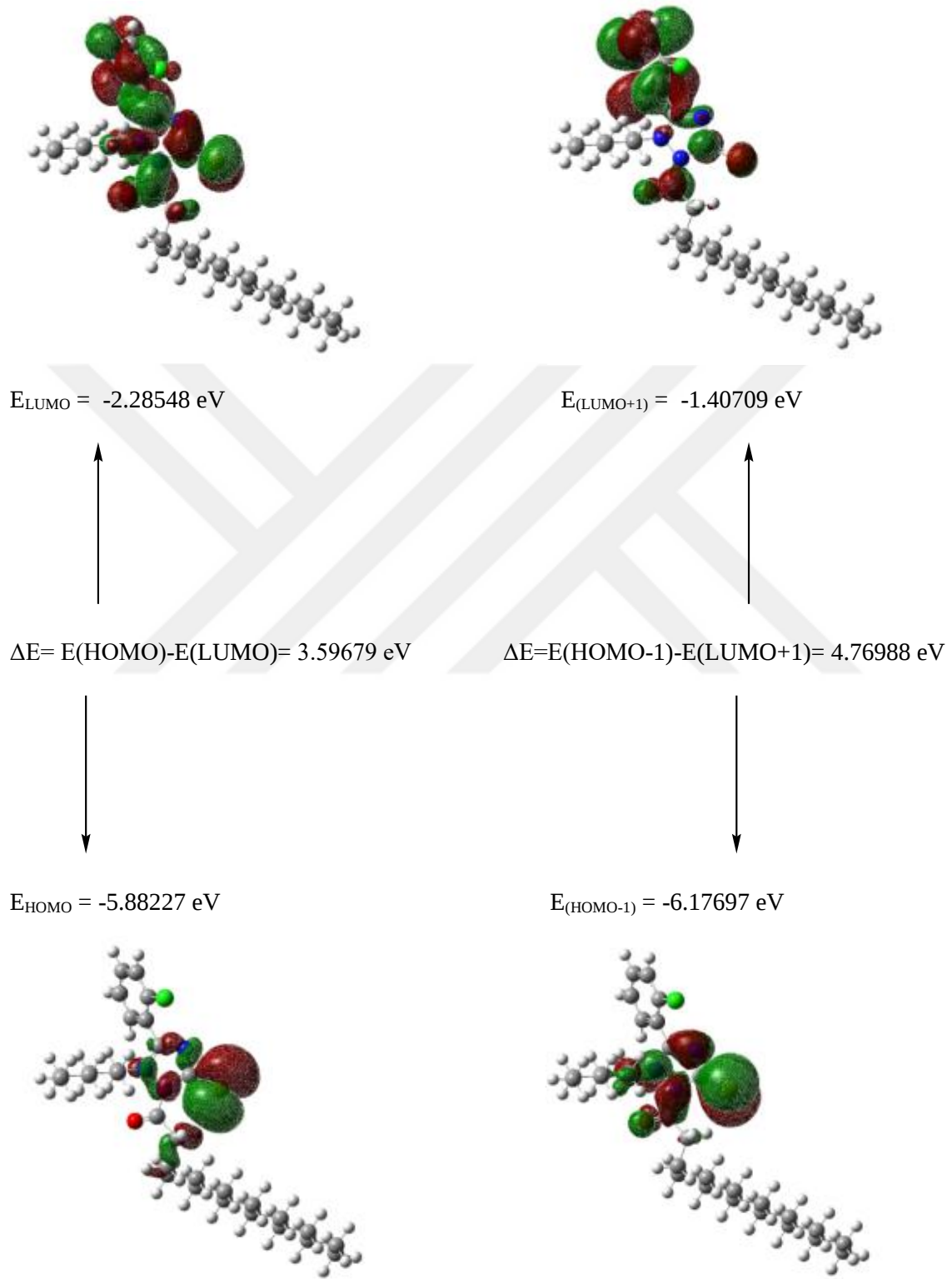
|                                                     |             |
|-----------------------------------------------------|-------------|
| <b>HOMO</b>                                         | -6,17506    |
| <b>LUMO</b>                                         | -1,69336    |
| <b>HOMO-1</b>                                       | -6,22622    |
| <b>LUMO+1</b>                                       | -1,44492    |
| <b>HOMO-LUMO</b>                                    | -4,4817     |
| <b>HOMO-1-LUMO+1</b>                                | --4,7813    |
| <b>Elektron egatiflik (<math>\chi</math>)</b>       | 3,93421     |
| <b>Sertlik</b>                                      | 2,24085     |
| <b>Kimyasal potansiyel (Pi)</b>                     | -3,93421    |
| <b>Elektrofi lik endeksi (<math>\omega</math>)</b>  | 6,907204    |
| <b>Yumuşaklık (S)</b>                               | 0,446259232 |
| <b>Elektronik yük (<math>\Delta N_{max}</math>)</b> | 1,755677533 |

**3.2.5. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)heksadekan-1-on (5) analizi**



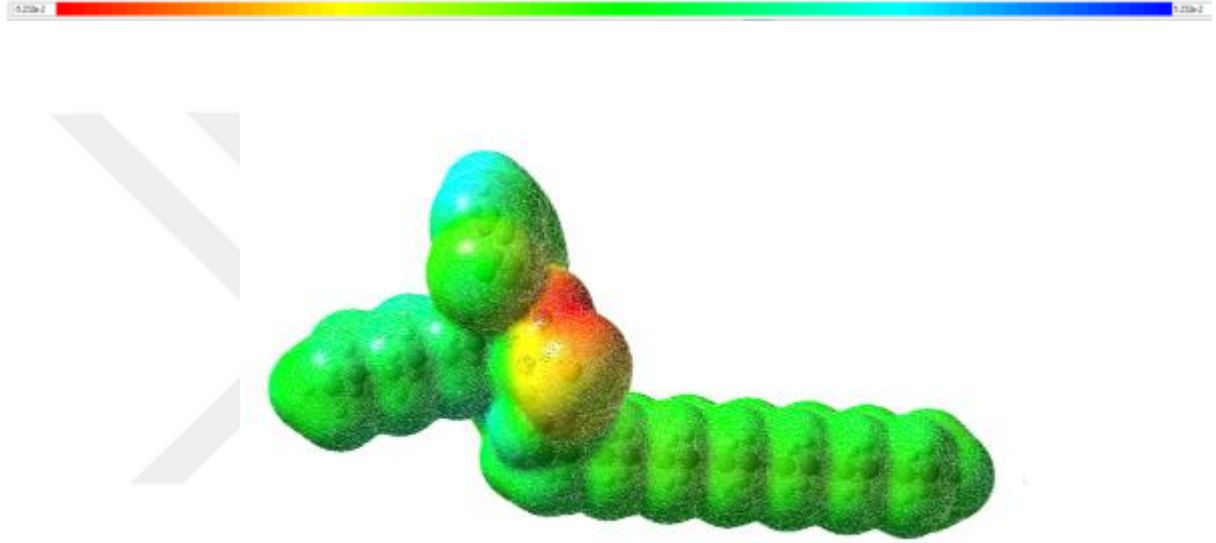
**Şekil 3.37. (5) No'lu bileşiğin Gaussian 09'da optimize edilmiş hali**

Şekil 3.38'de görüldüğü üzere; molekülün elektron yoğunluğu HOMO ve HOMO-1 orbitallerinde triazol halkasında, LUMO orbitallerinde benzen ve triazol halkasında, LUMO+1 orbitallerinde ise benzen halkasında yoğunlaşmıştır. Burada elektron yükünün akışının triazol halkasından benzen halkasına doğru olduğu söylenebilir.



**Şekil 3.38.** (5) No'lu bileşiğin HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve enerji hesabı

Molekölün MEP haritasına göre; bileşikte elektron yoğunluğunun fazla olduğu negatif bölgenin (kırmızı renk) oksijen atomunun bulunduğu yerde olduğu görölmektedir. Elektron yoğunluğunun az olduğu pozitif bölgelerin (mavi renk) ise benzen halkasına bağlı hidrojenlerin olduğu yerlerde belirlenmiştir. Ayrıca, bileşiğin benzen halkası, halkaya bağlı klor atomu, heksil grubu ve karbonile bağlı alkil grubu nötral bölgede (yeşil renk) yer almaktadır (Şekil 3.39).



**Şekil 3.39.** (5) No'lu bileşiğin MEP haritası

**Tablo 3.5. (5) No'lu bileşiğin hesaplanan moleküler parametreleri**

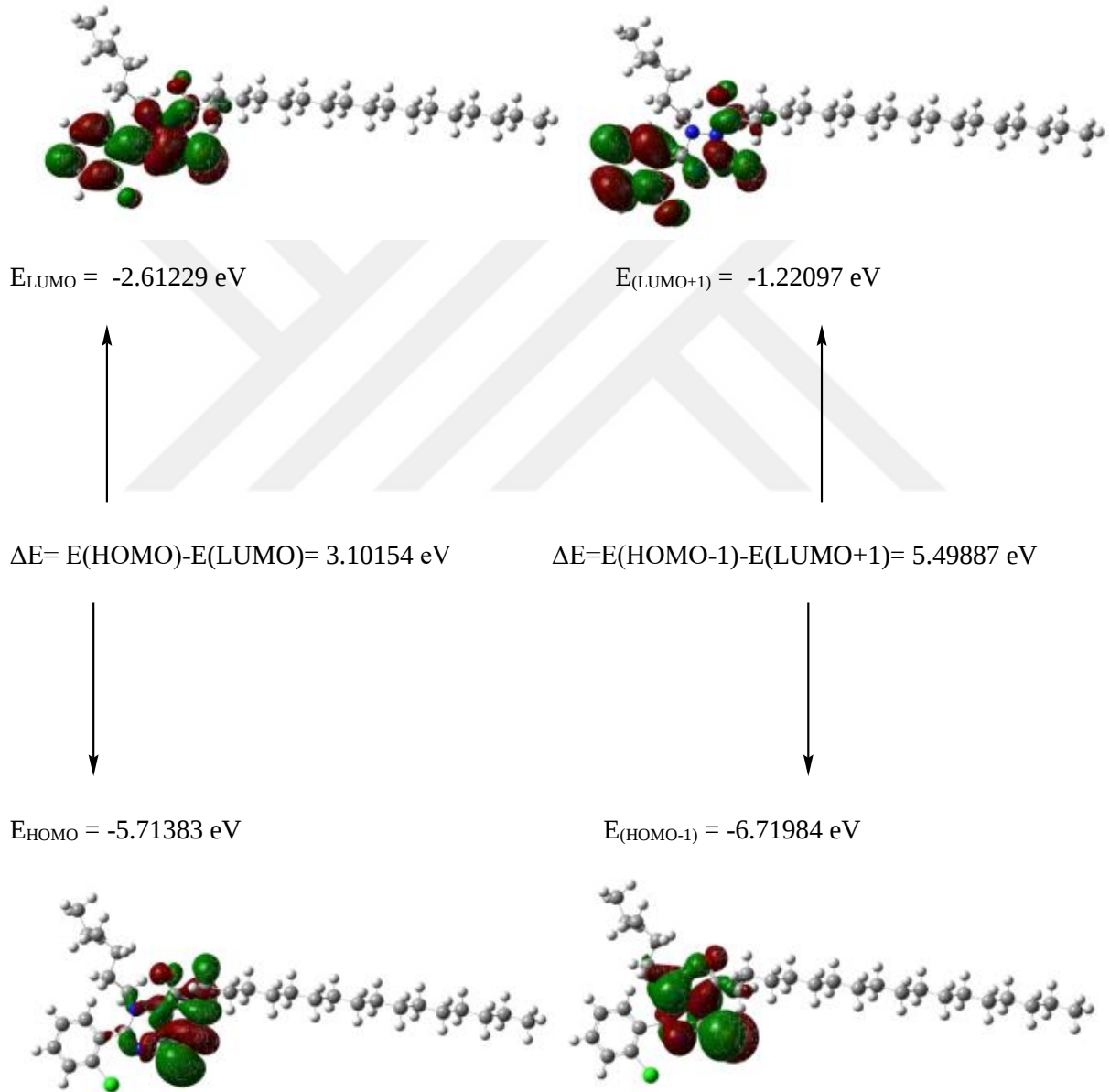
|                                                     |             |
|-----------------------------------------------------|-------------|
| <b>HOMO</b>                                         | -5,88227    |
| <b>LUMO</b>                                         | -2,28548    |
| <b>HOMO-1</b>                                       | -6,17697    |
| <b>LUMO+1</b>                                       | -1,40709    |
| <b>HOMO-LUMO</b>                                    | -3,59679    |
| <b>HOMO-1-LUMO+1</b>                                | -4,76988    |
| <b>Elektron egatiflik (<math>\chi</math>)</b>       | 4,083875    |
| <b>Sertlik</b>                                      | 1,798395    |
| <b>Kimyasal potansiyel (Pi)</b>                     | -4,08388    |
| <b>Elektrofilik endeksi (<math>\omega</math>)</b>   | 9,273844    |
| <b>Yumuşaklık (S)</b>                               | 0,556051368 |
| <b>Elektronik yük (<math>\Delta N_{max}</math>)</b> | 2,270844281 |

**3.2.6. 1-(3-(2-klorofenil)-4-heksil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)oktadekan-1-on (6) analizi**



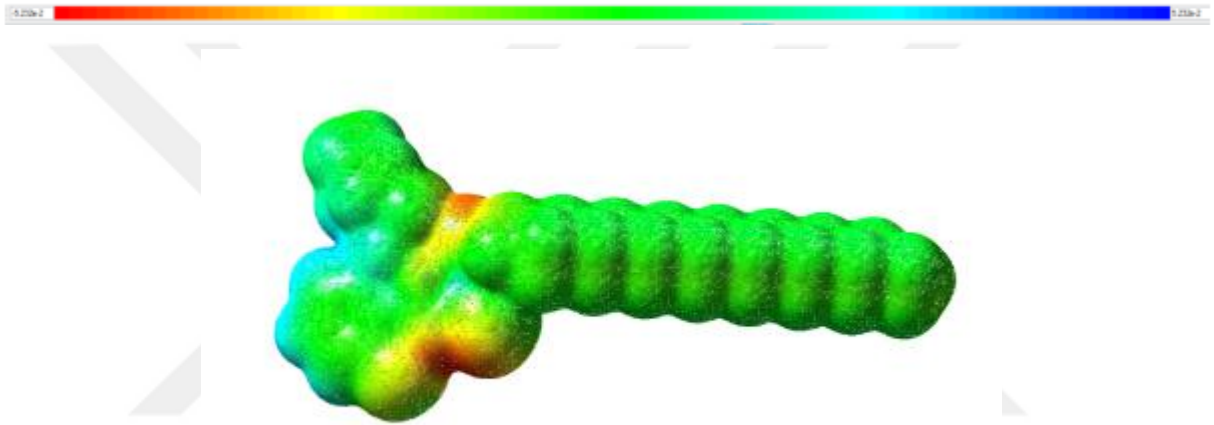
**Şekil 3.40. (6) No'lu bileşiğin Gaussian 09'da optimize edilmiş hali**

Şekil 3.41’de görüldüğü üzere; molekülün elektron yoğunluğu; HOMO ve HOMO-1 orbitallerinde triazol halkasında, LUMO orbitallerinde benzen ve triazol halkasında, LUMO+1 orbitallerinde ise benzen halkasında yoğunlaşmıştır. Burada elektron yükünün akışının heteroatomlardan benzen halkasına doğru olduğu söylenebilir.



**Şekil 3.41.** (6) No'lu bileşiğin HOMO-LUMO enerji düzeyleri ve enerji hesabı

Molekölün MEP haritasına göre; bileşikte elektron yoğunluğunun fazla olduğu negatif bölgelerin (kırmızı renk) oksijen ve kükürt atomunun bulunduğu yerlerde olduğu görölmektedir. Elektron yoğunluğunun az olduğu pozitif bölgelerin (mavi renk) ise benzen halkasına bağı hidrojenlerin olduğu yerlerde belirlenmiştir. Ayrıca, bileşiğin benzen halkası, halkaya bağı klor atomu, heksil grubu ve karbonile bağı alkil grubu nötral bölgede (yeşil renk) yer almaktadır (Şekil 3.42).



Şekil 3.42. (6) No'lu bileşiğin MEP haritası

**Tablo 3.6. (6) No'lu bileşiğin hesaplanan moleküler parametreleri**

|                                                     |             |
|-----------------------------------------------------|-------------|
| <b>HOMO</b>                                         | -5,71383    |
| <b>LUMO</b>                                         | -2,61229    |
| <b>HOMO-1</b>                                       | -6,71984    |
| <b>LUMO+1</b>                                       | -1,22097    |
| <b>HOMO-LUMO</b>                                    | -3,10154    |
| <b>HOMO-1-LUMO+1</b>                                | -5,49887    |
| <b>Elektron egatiflik (<math>\chi</math>)</b>       | 4,16306     |
| <b>Sertlik</b>                                      | 1,55077     |
| <b>Kimyasal potansiyel (Pi)</b>                     | -4,16306    |
| <b>Elektrofi lik endeksi (<math>\omega</math>)</b>  | 11,17578    |
| <b>Yumuşaklık (S)</b>                               | 0,64484095  |
| <b>Elektronik yük (<math>\Delta N_{max}</math>)</b> | 2,684511565 |

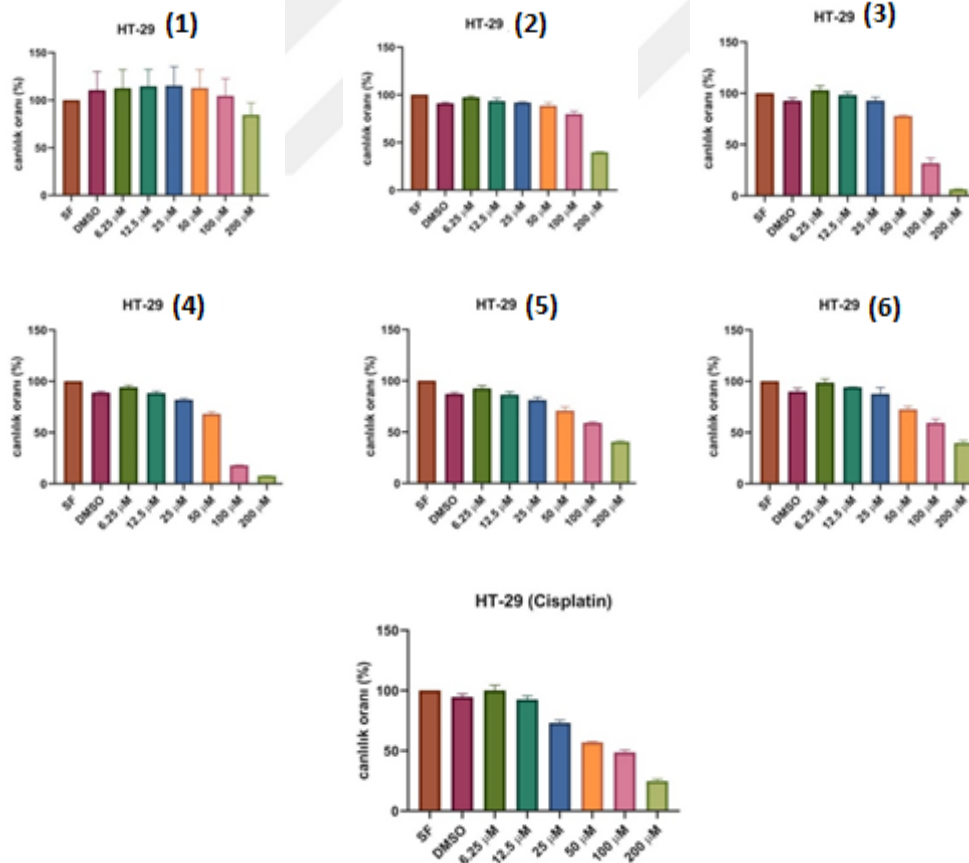
### 3.3. Antitümör Aktivite

HT-29, HCT-116 kolon kanseri hücrelerinde, MDA-MB-231 üçlü negatif meme kanseri hücrelerinde sentezlenen bileşiklerin antitümör aktivitesini belirlemek için MTT yöntemi kullanıldı.

HT-29 hücrelerinde bu tez çalışmasında sentezlenmiş bileşiklerin IC50 değerleri Tablo 3.7'de verilmiştir. Cisplatine kıyasla 5-(2-klorofenil)-4-hekzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol bileşiğinin louroil klorür yağ asitli (3) ve stearoil klorür yağ asitli (6) türevlerinin daha etkili olduğu bulunmuştur (Şekil 3.43).

**Tablo 3.7.** HT-29 kolon kanseri hücrelerinde sentezlenmiş bileşiklerin IC50 değerleri

| Bileşik No | IC50 (μM)     | % 95 CI       | p değeri |
|------------|---------------|---------------|----------|
| 1          | Hesaplanamadı |               |          |
| 2          | Hesaplanamadı |               |          |
| 3          | 59,84         | 52,34 - 67,99 | 0,0029   |
| 4          | 143,5         | 118,0 - 184,1 | 0,0021   |
| 5          | 171,5         | 153,1 - 198,8 | 0,0023   |
| 6          | 76,61         | 71,7 – 81,82  | <0,0001  |
| Cisplatin  | 77,43         | 67,67 – 89,19 | 0,0018   |



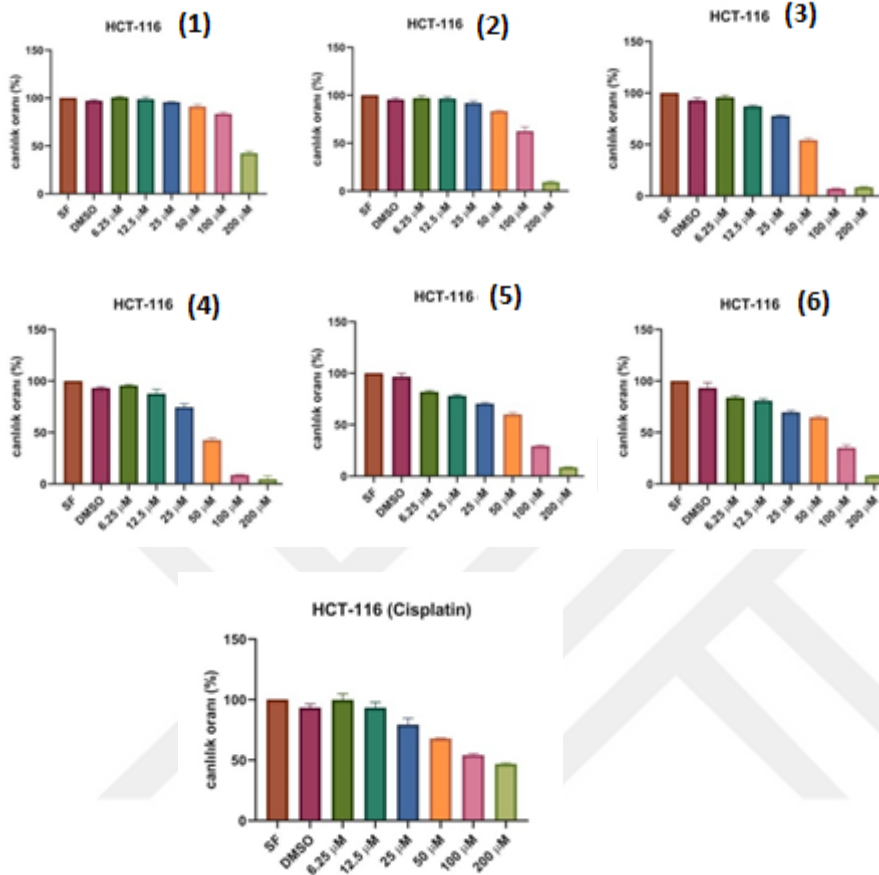
**Şekil 3.43.** HT-29 hücrelerinde cisplatin ve yeni sentezlenen bileşiklerin hücre canlılığı analizleri

Bir diğerkolon kanseri hücresi HCT-116’da bileşiklerin ve yaygın olarak kullanılan cisplatinin IC50 değerleri Tablo 3.8’de verilmiştir. Cisplatine kıyasla 5-(2-klorofenil)-4-hekzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol bileşiğinin louroil klorür yağ asitli (3) ve stearoil klorür yağ asitli (6) türevlerinin daha etkili olduğu bulunmuştur (Şekil 3.44).

HT-29 hücresine kıyasla HCT-116 kolon kanseri hücrelerinde bileşiklerin daha iyi antitümör aktivite gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca, cisplatine kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda etki eden bu bileşiklerin daha detaylı analizleri yapılarak potansiyel bir anti-karsinojenik ajan olma ihtimali oldukça yüksektir.

**Tablo 3.8.** HCT-116 kolon kanseri hücrelerinde sentezlenmiş bileşiklerin IC50 değerleri

| Bileşik No | IC50 (µM) | % 95 CI       | p değeri |
|------------|-----------|---------------|----------|
| 1          | 179,3     | 169,6 – 190,7 | 0,0034   |
| 2          | 109,4     | 99,61 – 119,6 | 0,0037   |
| 3          | 46,95     | 41,63 – 52,74 | <0,0001  |
| 4          | 40,92     | 37,71 – 44,36 | <0,0001  |
| 5          | 49,50     | 41,64 – 58,44 | 0,0021   |
| 6          | 55,64     | 45,75 – 67,48 | 0,0001   |
| Cisplatin  | 141,8     | 116,7 – 180,2 | 0,0031   |

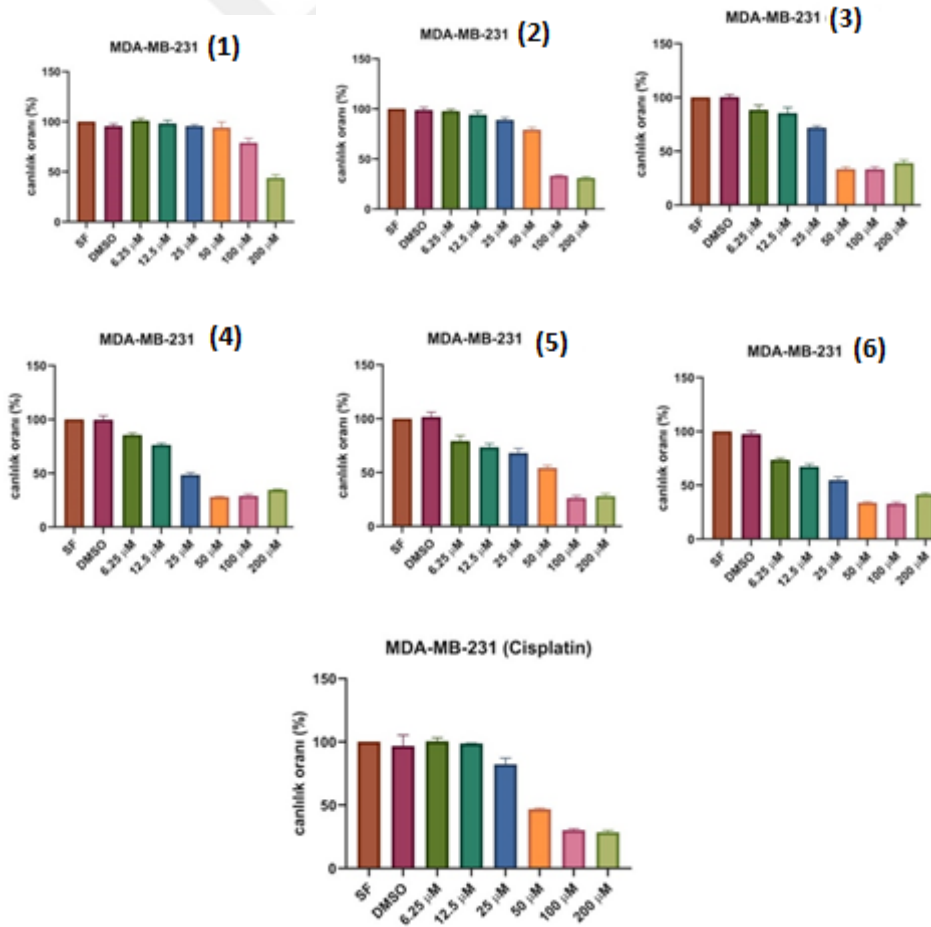


**Şekil 3.44.** HCT-116 hücrelerinde cisplatin ve yeni sentezlenen bileşiklerin hücre canlılığı analizleri

Üçlü negatif meme kanseri hücresi MDA-MB-231 hücrelerinde bileşiklerin anti-kanser aktivitesi değerlendirildi. Meme kanseri hücresi MDA-MB-231 hücrelerinde bileşiklerin ve cisplatinin IC<sub>50</sub> değerleri Tablo 3.9 ve Şekil 3.45’de gösterilmiştir.

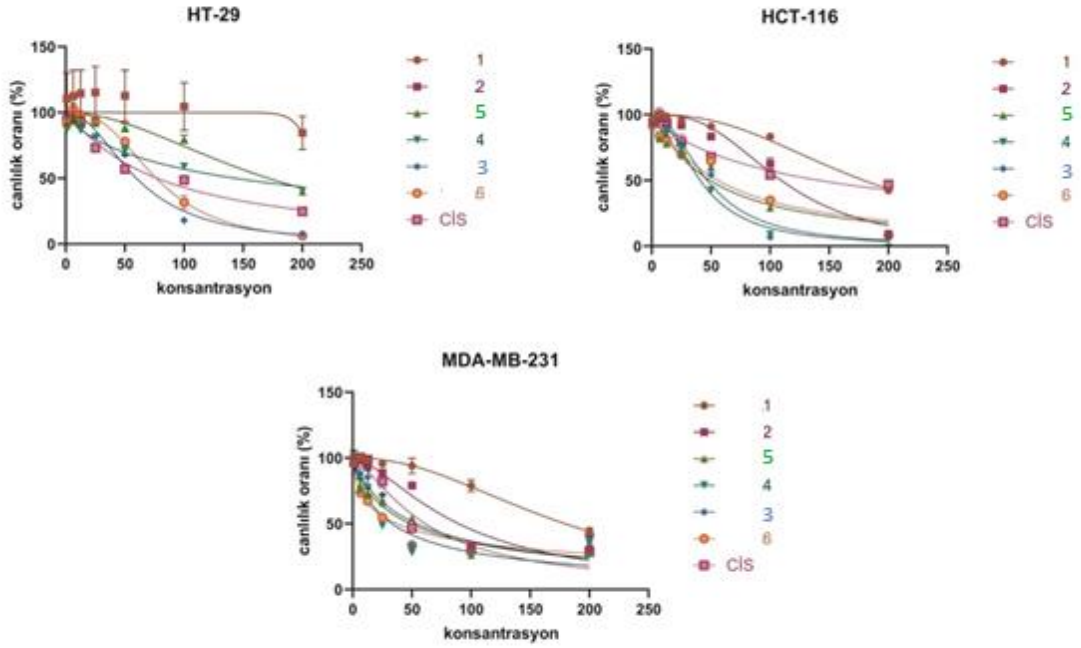
**Tablo 3.9.** MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde sentezlenmiş bileşiklerin IC50 değerleri

| Bileşik Adı | IC50 (μM) | % 95 CI       | p değeri |
|-------------|-----------|---------------|----------|
| 1           | 179,7     | 167,3 – 195,1 | 0,088    |
| 2           | 89,53     | 77,49 – 104,5 | 0,0028   |
| 3           | 54,34     | 40,30 – 76,38 | <0,0001  |
| 4           | 33,24     | 25,01 – 45,00 | <0,0001  |
| 5           | 48,84     | 40,41 – 59,44 | 0,026    |
| 6           | 37,42     | 27,35 – 52,60 | <0,0001  |
| Cisplatin   | 61,48     | 51,12 – 74,87 | 0,0054   |



**Şekil 3.45.** MDA-MB-231 hücrelerinde cisplatin ve yeni sentezlenen bileşiklerin hücre canlılığı analizleri

HT-29, HCT-116 ve MDA-MB-231 hücrelerinde yapılan hücre canlılığı analizleri neticesinde cisplatine kıyasla en iyi sonucun MDA-MB-231 hücrelerinde olduğu gösterilmiştir (Şekil 3.46). Elde edilen bu bulgular, yeni sentezlenmiş bu bileşiklerin meme kanserinin tedavisinde kullanılabilecek bir anti-kanser ajan olma potansiyelini arttırmaktadır.



**Şekil 3.46.** HT-29, HCT-116 ve MDA-MB-231 hücrelerinde cisplatin ve yeni sentezlenen bileşiklerin hücre canlılığına etkisi

#### 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Farmakolojide, tarımda, tıpta ve endüstride olmak üzere birçok alanda biyolojik özellik gösteren 1,2,4-Triazol türevi bileşiğe 4 farklı doymuş yağ asitlerini bağlamak organik kimyanın temel prensiplerini kapsamasının yanında, bu bileşiklerin potansiyel ilaç adayı olmaları nedeniyle antitümör aktivite çalışmalarıyla da literatüre önemli katkılar sağlayacaktır.

Tezde yapılan çalışmalar iki kısımda sınıflandırıldı. Buna göre; 2-klor benzohidrazid ve hekzil izotiyosiyanat bileşiklerinin THF çözücüsü eşliğindeki reaksiyon ortamından önce 5-(2-klorofenil)-4-hekzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol sentezlendi, daha sonra sentezlenen bu bileşiğe TEA eşliğinde 4 farklı doymuş yağ asitleri eklenerek uygun reaksiyon koşullarında triazol türevi bileşiklerin geleneksel metot ile sentezlenmesi tezin ilk kısmını oluşturmaktadır.

Çalışmanın ikinci kısmında sentezlenen bileşiklerin FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR gibi çeşitli deneysel karakterizasyon analizleri gerçekleştirildi. FT-IR spektrumunda genel olarak, aromatik C-H, alifatik C-H, aromatik C=C, C-N, C=S, alifatik C-C, C-Cl gerilmeleri ortaya çıktı. (1) ve (2) no'lu yapılarda görülen N-H gerilmesi, yağ asitlerinin bağlanmasıyla (3), (4), (5), ve (6) no'lu yapılarda rastlanmadı. <sup>1</sup>H-NMR verilerine göre, 7.92-7.75 değer aralıklarında aromatik halka hidrojenleri, 3.93-0.86 değer aralıklarında azot atomuna bağlı heksil grubunun hidrojenleri ve 2.43-0.86 değer aralıklarında bağlanan yağ asitlerinin hidrojenleri gözlemlendi. <sup>13</sup>C-NMR verilerine göre ise yaklaşık olarak 180 değerinde kükürt atomuna bağlı karbon, 132-128 değer aralıklarında aromatik halka karbonları, 50.1-14.02 değer aralıklarında azot atomuna bağlı heksil grubunun karbonları ve 32.9-14.02 değer aralıklarında da bağlanan yağ asitlerinin karbonları gözlemlendi. Teorik çalışmada ise, kimyasal yapıları analiz etmek için Gaussian 09 programında Gaussian view 5.0 kullanılarak DFT teknikleri ile hesaplamaları yapıldı. Bu bağlamda, sentezlenen maddelerin optimize edilmiş üç boyutlu molekül yapıları, HOMO-LUMO orbitalleri ve MEP haritaları gerçekleştirildi ve teorik olarak gösterildi. Daha sonra, HT-29 ve HCT-116 kolon kanseri hücreleri ve MDA-MB-231 üçlü negatif meme kanseri hücrelerinde sentezlenen bileşiklerin MTT yöntemiyle antitümör özelliklerinin incelendi. Elde edilen sonuçlara göre yeni sentezlenmiş bileşiklerin antitümör ajanı olabileceğini göstermiştir. Bu noktada, biyolojik etkinliklerinin belirlenmesi ve sonuçların deneysel bulgularla karşılaştırılması ise sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin yeni sentezlenecek olan potansiyel ilaç maddeleri için de yol gösterici konumda olacaktır.

Sonuç olarak bu tezde elde edilecek ürünlerin orijinal olması ve literatüre kazandırılması ile günümüzde önemli bir sorun haline gelen kanser vb. hastalıklarda potansiyel etkin bileşiklerin kazandırılması sağlanacaktır.



## KAYNAKÇA

- [1] Arora P, Arora V, Lamba HS and Wadhwa D. (2012). "Importance of Heterocyclic Chemistry: A Review.", *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3 (9), 2947- 2955.
- [2] Singh, A. K., and Kandel, K. R. (2013). "Synthesis of Triazole derivative: [4-(benzylideneamino)-5-phenyl -4H-1,2,4 - triazole-3-thiol]", *Journal of Nepal Chemical Society*, 30, 174–177.
- [3] Sahu N., Sahu J.K., ve Kaushik A. (2013). "A Review on "Triazoles": Their Chemistry and Pharmacological Potentials.", *Current Research in Pharmacetical Sciences*, 3, 108–113.
- [4] Kotelevskii, S. I., and Prezhdo, O. V. (2001). "Aromaticity indices revisited: refinement and application to certain five-membered ring heterocycles.", *Tetrahedron*, 57 (27), 5715–5729.
- [5] Obot, I. B. and Johnson, A. S. (2012). "Ab initio, DFT and TDDFT Electronic Absorption Spectra Investigations on 3,5-Diamino-1,2,4-triazole.", *Elixir Computational Chemistry*, 43, 6658-6661.
- [6] Thomas, K. G., Adhikari, A. V., Chowdhury, I. H., Sumesh, E., and Pal, N. K. (2011). "New quinolin-4-yl-1,2,3-triazoles carrying amides, sulphonamides and amidopiperazines as potential antitubercular agents.", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46 (6), 2503– 2512.
- [7] Bekircan, O., Menteşe, E., Ülker, S., veKucuk, C. (2014). "Synthesis of Some New 1,2,4-Triazole Derivatives Starting from 3-(4-Chlorophenyl)-5-(4-methoxybenzyl)-4H-1,2,4-triazol with Anti-Lipase and Anti-Urease Activities.", *Archiv Der Pharmazie*, 347 (6), 387–397.
- [8] Tatsumi, Y., Nagashima, M., Shibunushi, T., Iwata, A., Kangawa, Y., Inui, F., Siu, W. H., Pillai, R., and Nishiyama, Y. (2013). "Mechanism of Action of Efinaconazole, a Novel Triazole Antifungal Agent.", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57 (5), 2405–2409.
- [9] Strzelecka, M., and Świątek, P. (2021). "1,2,4-Triazoles as Important Antibacterial Agents.", *Pharmaceutics*, 14 (3), 224.
- [10] Guimon, C., Pfister-Guillouzo, G., Bernardini, A., and Viallefont, P. (1980). "A photoelectron study (HeI, HeII) of the tautomeric equilibrium of chloro- and bromo-1,2,4-triazoles.", *Tetrahedron*, 36 (8), 1071–1078.
- [11] Ledeti, I.V., Alexa, A.A, and Bercean, V.N. (2011). "Structural NMR Analysis of Triazolic Compounds Derived from Isonicotinic Acid. *Annals West Uni. Timisoara: Ser.*", *Chemistry*, 20 (1), 81-86.
- [12] Dobbs, K. D., Feldman, J., Marshall, W., Mclain, S. J., McLaren, C. D., Meth, J. S., Vo, G. D., and Wang, Y. (2014). "Phosphorescent Iridium(III) Complexes of Cyclometalated 5-Aryl-1H-1,2,4-Triazole Ligands: Structural, Computational, Spectroscopic, and Device Studies.", *Journal of Physical Chemistry C*, 118 (48), 27763–27771.
- [13] Hassan, F., ve Younus, K.W. (2012). "Biological Evaluation of Some Azole Derivatives in Cooling Fluids (Lubricant Oils).", *Research Journal of Biological Sciences*, 7 (1), 48-51.
- [14] Izatt, R. M., Lindh, G. C., Bruening, R. L., Huszthy, P., Mcdaniel, C. W., Bradshaw, J. S., and Christensen, J. J. (1988). "Separation of silver from other metal cations using pyridone and triazole macrocycles in liquid membrane systems.", *Analytical Chemistry*, 60 (17), 1694–1699.
- [15] Sripriya1, S., Subha, C., and Selvaraj, A. (2013). "The Inhibition Chemistry of 2-Amino, 5-Phenyl 1, 3, 4-Triazole for Aluminium in Hyd rochloric Acid Solution.", *IOSRJAC*, 6 (2), 25-29.
- [16] Stipanuk, M.H., Caudill, M.A. (2012). *Biochemical, physiological, and molecular aspects of human nutrition*. 3 ed. Saunders.

- [17] German, J. B., Dillard, C. J. (2010). "Saturated Fats: A Perspective from Lactation and Milk Composition.", *Lipids*, 45 (10), 915–923.
- [18] Wolk, A., Furuheim, M., and Vessby, B. (2001). "Fatty Acid Composition of Adipose Tissue and Serum Lipids Are Valid Biological Markers Of Dairy Fat Intake in Men.", *Journal of Nutrition*, 131 (3), 828–833.
- [19] Cox, D. L., Nelson, M. M. (2005). *Lehninger principles of biochemistry* (4th ed.). New York: W.H. Freeman.
- [20] Gunstone, F. D., Harwood, J.L., ve Dijkstra, A.J. (2007). *The Lipid Handbook*, 3rd ed. Boca Raton: CRC Press.
- [21] Fatima, S., Hu X., Gong R.H., Huang C., Chen M., Wong H.L.X. (2019). "Palmitic acid is an intracellular signaling molecule involved in disease development.", *Celluar and Molecular Life Sciences*, 76 (13), 2547–57.
- [22] Louheranta, A., Turpeinen, A. M., Schwab, U., Vidgren, H. M., Parviainen, M., and Uusitupa, M. (1998). "A high-stearic acid diet does not impair glucose tolerance and insulin sensitivity in healthy women.", *Metabolism-clinical and Experimental*, 47 (5), 529–534.
- [23] Meng, H., Matthan, N. R., Wu, D., Li, L., Rodríguez-Morató, J., Cohen, R., Galluccio, J., Dolnikowski, G. G., and Lichtenstein, A. H. (2019). "Comparison of diets enriched in stearic, oleic, and palmitic acids on inflammation, immune response, cardiometabolic risk factors, and fecal bile acid concentrations in mildly hypercholesterolemic postmenopausal women—randomized crossover trial.", *The American Journal of Clinical Nutrition*, 110 (2), 305–315.
- [24] Tholstrup, T., Marckmann, P., Jespersen, J., & Sandström, B. (1994). "Fat high in stearic acid favorably affects blood lipids and factor VII coagulant activity in comparison with fats high in palmitic acid or high in myristic and lauric acids.", *The American Journal of Clinical Nutrition*, 59 (2), 371–377.
- [25] Evans, L. M., Cowey, S., Siegal, G. P., and Hardy, R. J. (2009). "Stearate Preferentially Induces Apoptosis in Human Breast Cancer Cells.", *Nutrition and Cancer*, 61 (5), 746–753.
- [26] Liu, Q., and Zhang, J. (2014). "Lipid metabolism in Alzheimer's disease.", *Neuroscience Bulletin*, 30 (2), 331–345.
- [27] Müller, H., Kirkhus, B., and Pedersen, J. S. (2001). "Serum cholesterol predictive equations with special emphasis on Trans and saturated fatty acids. An analysis from designed controlled studies.", *Lipids*, 36 (8), 783–791.
- [28] Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Scalmani, G., Barone, V., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Li, X., Caricato, M., Marenich, A., Bloino, J., Janesko, B.G., Gomperts, R., Mennucci, B., Hratchian, H.P., Ortiz, J.V., Fox, D.J. (2009). *Gaussian 09. Revision C.01*, Gaussian, Inc.
- [29] Becke, A. D. (1992). "Density-functional thermochemistry. I. The effect of the exchange-only gradient correction.", *Journal of Chemical Physics*, 96 (3), 2155–2160.
- [30] Hirao, H., Thellamurege, N. M., and Zhang, X. (2014b). "Applications of density functional theory to iron-containing molecules of bioinorganic interest.", *Frontiers in Chemistry*, 2.
- [31] <https://www2.icp.uni-stuttgart.de/~icp/mediawiki/images/b/b8/DFT.pdf> Erişim tarihi: 20-Nisan-2023.
- [32] Fleming, I. (1976). *Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions*. 1-249, Wiley, London.
- [33] Wolff, S.K., Grimwood, D.J., McKinnon, J.J., Turner, M.J., Jayatilaka, D., Spackman, M.A. (2012). *Crystal Explorer University of Western Australia*. Version 3.1.

- [34] Mathammal, R., Jayamani, N., and Geetha, N. P. (2013). "Molecular Structure, NMR, HOMO, LUMO, and Vibrational Analysis of O-Anisic Acid and Anisic Acid Based on DFT Calculations.", *Journal of Spectroscopy*, 1–18.
- [35] Huo, E., Shahab, S., Saud, S. A., Cheng, W., Lu, P., Sheikhi, M., Alnajjar, R., and Kaviani, S. (2021). "Quantum chemical modeling, synthesis, spectroscopic (FT-IR, excited States, UV–Vis) studies, FMO, QTAIM, NBO and NLO analyses of two new azo derivatives.", *Journal of Molecular Structure*, 1243, 130810.
- [36] Carbó, R., and Calabuig, B. (1989). "Molsimil - 88: Molecular similarity calculations using a CNDO-like approximation.", *Computer Physics Communications*, 55 (1), 117–126.
- [37] World Cancer Report 2014. World Health Organization. (2014). pp. Chapter 1.1.
- [38] <https://www.losante.com.tr/Content/brosur/DS%C3%96%20Kanser%20Verileri%20Tablo%20%C3%87evirisi.pdf> Erişim tarihi: 29-Mayıs-2023.
- [39] Shoeb, M. (2008). "Anticancer agents from medicinal plants.", *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 1 (2).
- [40] Xinyi, W., Shiqi, X., Shishuo, C., Yumin, S., and Jun, W. (2022). "1,2,3-Triazole Derivatives with Anti-breast Cancer Potential.", *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 22 (17), 1406–1425.
- [41] Aguilar, J., Leyva, E., Loredó-Carrillo, S. E., Cárdenas-Chaparro, A., Martínez-Richa, A., Hernández-López, H., Araujo-Huitraro, J. G., Granados-López, A. J., López-Hernández, Y., and López, J. A. (2023). "Synthesis of novel fluoro phenyl triazoles via click chemistry with or without microwave irradiation and their evaluation as anti-proliferative agents in SiHa cells.", *Current Organic Synthesis*, 20.
- [42] Pertino, M. W., Verdugo, V., Gil-Izquierdo, A., and Schmeda-Hirschmann, G. (2014). "Synthesis and Antiproliferative Activity of Some Novel Triazole Derivatives from Dehydroabietic Acid.", *Molecules*, 19 (2), 2523–2535.
- [43] Stoddart, M. (2011). "Cell viability assays: introduction.", *Methods Mol Biol*, 740, 1-6.
- [44] Adan, A., Kiraz, Y., Baran, Y. (2016). "Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays.", *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17 (14), 1213-1221.
- [45] Johnson, S., Nguyen, V., Coder, D. (2013). "Assessment of cell viability.", *Curr Protoc Cytom* Chapter 9:Unit 9.2.
- [46] Riss, T. L., Moravec, R. A., Niles, A. L., Duellman, S., Benink, H. A., Worzella, T. J., & Minor, L. (2013). *Cell Viability Assays*. In S. Markossian (Eds.) et. al., *Assay Guidance Manual*. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences.
- [47] Mosmann, T. R. (1983). "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays.", *Journal of Immunological Methods*, 65 (1–2), 55–63.
- [48] Visticai, V.T., Skehan, P., Scudiero, D., Monks, A., Pittman, A., Boyd, M.R. (1991). "Tetrazolium-based assays for cellular viability: a critical examination of selected parameters affecting formazan production.", *Cancer Res* 51(10), :2515-20.
- [49] <https://www.sigmaaldrich.com/TR/en/technical-documents/protocol/cell-culture-and-cell-culture-analysis/cell-counting-and-health-analysis/cell-proliferation-kit-i-mtt> Erişim tarihi: 15-Nisan- 2023.