



**YENİ HİDRAZON TÜREVLERİNİN
TASARIMI, SENTEZİ VE ANTİKANSER
ETKİ ÇALIŞMALARI**

Yüksek Lisans Tezi

Burak ERDÖNMEZ

Eskişehir 2023

**YENİ HİDRAZON TÜREVLERİNİN TASARIMI, SENTEZİ VE ANTİKANSER
ETKİ ÇALIŞMALARI**

Burak ERDÖNMEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

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

**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Şubat 2023**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Burak ERDÖNMEZ'in "Yeni Hidrazon Türevlerinin Tasarımı, Sentezi ve Antikanser Etki Çalışmaları" başlıklı tezi 06/02/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

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

Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ
Enstitü Müdürü

ÖZET

YENİ HİDRAZON TÜREVLERİNİN TASARIMI, SENTEZİ VE ANTİKANSER ETKİ ÇALIŞMALARI

Burak ERDÖNMEZ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şubat 2023

Danışman: Prof. Dr. Mehlika Dilek ALTINTOP

Bu çalışmada, on adet yeni hidrazon türevi (**3a-j**) sentezlenmiş ve bu bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler kullanılarak teyit edilmiştir. Tüm bileşiklerin A549 insan akciğer adenokarsinom ve L929 fare embriyonik fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik aktiviteleri MTT deneyi ile belirlenmiştir. *N*-(4-Dimetilaminobenziliden)-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (**3a**), *N*-[4-(piperidin-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (**3e**), *N*-[4-(4-metilpiperazin-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (**3g**) ve *N*-[4-(1*H*-imidazol-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (**3i**) A549 hücre dizisi üzerine seçici antikanser aktivite göstermişlerdir. Bu bileşiklerin apoptoz ve Akt üzerine etkileri de değerlendirilmiştir. **3a** ve **3g** kodlu bileşikler A549 hücrelerinde cisplatinden daha güçlü apoptoz indüksiyonuna neden olmuşlardır. Ancak bu iki bileşik Akt üzerine kayda değer inhibitör etki göstermemişlerdir. **3e** ve **3i** kodlu bileşikler ise A549 hücrelerinde Akt inhibitör etki göstermişlerdir. *In vitro* çalışmalar sonucu, **3e** ve **3i** kodlu bileşiklerin A549 hücre dizisi üzerine antikanser etkilerini Akt inhibisyonu yoluyla gösterdikleri belirlenmiştir. Bununla birlikte **3a** ve **3g** kodlu bileşiklerin ise A549 hücreleri üzerine sitotoksik ve apoptotik etkilerini farklı yolak(lar) üzerinden gösterdikleri anlaşılmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Akciğer kanseri, Akt, Apoptoz, Benzoksazol, Hidrazon.

ABSTRACT

DESIGN, SYNTHESIS OF NEW HYDRAZONE DERIVATIVES AND STUDIES ON THEIR ANTICANCER ACTIVITY

Burak ERDÖNMEZ

Department of Pharmaceutical Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, February 2023

Supervisor: Prof. Dr. Mehlika Dilek ALTINTOP

In this study, ten new hydrazone derivatives (**3a-j**) were synthesized and their structures were confirmed using spectroscopic methods. The cytotoxic activities of all compounds on A549 human lung adenocarcinoma and L929 mouse embryonic fibroblast cells were determined by MTT assay. *N*-(4-Dimethylaminobenzylidene)-2-[(5-chlorobenzoxazol-2-yl)thio]acetohydrazide (**3a**), *N*-[4-(piperidin-1-yl)benzylidene]-2-[(5-chlorobenzoxazol-2-yl)thio]acetohydrazide (**3e**), *N*-[4-(4-methylpiperazin-1-yl)benzylidene]-2-[(5-chlorobenzoxazol-2-yl)thio]acetohydrazide (**3g**) and *N*-[4-(1H-imidazol-1-yl)benzylidene]-2-[(5-chlorobenzoxazol-2-yl)thio]acetohydrazide (**3i**) showed selective anticancer effect on A549 cell line. The effects of these compounds on apoptosis and Akt were also evaluated. Compounds **3a** and **3g** caused apoptosis induction in A549 cells stronger than cisplatin. However, these two compounds did not show any significant inhibitory effect on Akt. Compounds **3e** and **3i** showed Akt inhibitory effects in A549 cells. As a result of *in vitro* studies, it was determined that compounds **3e** and **3i** showed their anticancer effects on A549 cell line through Akt inhibition. However, it is understood that compounds **3a** and **3g** exert their cytotoxic and apoptotic effects on A549 cells via different pathway(s).

Keywords: Lung cancer, Akt, Apoptosis, Benzoxazole, Hydrazone.

TEŞEKKÜR

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

Çok değerli mesleki bilgisi ve tecrübesiyle bana her daim yardımcı olan ve yol gösteren çok değerli Sayın Hocam Prof. Dr. Ahmet ÖZDEMİR'e,

In vitro etki çalışmalarını büyük bir özveri ile gerçekleştiren Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü, çok değerli Sayın Hocam Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ'ye,

NMR analizlerini gerçekleştiren çok değerli Sayın Hocam Prof. Dr. Hakan GÖKER'e,

Kütle analizlerini gerçekleştiren Öğr. Gör. Serkan LEVENT'e,

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

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

.....
Burak ERDÖNMEZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLOLAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Hidrazonlar ile ilgili Genel Bilgiler	4
2.2. Hidrazonların Genel Sentez Yöntemi	4
2.3. Hidrazon Türevlerinin Antikanser Etkileri üzerine Çalışmalar	4
3. YÖNTEMLER	13
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	13
3.2. Etil 2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetat (1) Sentez Yöntemi	13
3.3. 2-[(5-Klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (2) Sentez Yöntemi	13
3.4. Sonuç Bileşiklerinin (3a-j) Sentez Yöntemi	13
3.5. İTK Çalışmaları	14
3.6. Erime Noktası (E.N.) Tayinleri.....	15
3.7. Infrared (IR) Analizleri	15
3.8. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizleri	15
3.9. Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometrisi (HRMS) Analizleri	15
3.10. Antikanser Aktivite Çalışmaları.....	15

3.10.1. Bileşiklerin stok çözeltilerinin hazırlanması.....	15
3.10.2. Deneylerde kullanılan hücreler.....	15
3.10.3. MTT testi	15
3.10.4. Apoptozun akım sitometri ile belirlenmesi.....	16
3.10.5. Akt aktivite tayini.....	16
4. BULGULAR VE YORUM.....	17
4.1. Kimyasal Çalışmalar.....	17
4.1.1. Etil 2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetat (1).....	17
4.1.2. 2-[(5-Klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (2).....	20
4.1.3. N'-(4-Dimetilaminobenziliden)-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3a).....	24
4.1.4. N'-(4-Dietilaminobenziliden)-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3b).....	28
4.1.5. N'-[4-(Bis(2-kloroetil)amino)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3c)	32
4.1.6. N'-(4-Nitrobenziliden)-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3d)	36
4.1.7. N'-[4-(Piperidin-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3e)	40
4.1.8. N'-[4-(Morfolin-4-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3f).....	44
4.1.9. N'-[4-(4-Metilpiperazin-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3g)	48
4.1.10. N'-[4-(Pirolidin-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3h).....	52
4.1.11. N'-[4-(1 <i>H</i> -İmidazol-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3i).....	56
4.1.12. N'-[4-(1 <i>H</i> -1,2,4-Triazol-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3j).....	60
4.2. Sentez Yöntemlerinin Değerlendirilmesi	64
4.2.1. Etil 2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetatın (1) elde edilişi	64
4.2.2. 2-[(5-Klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazitin (2) elde edilişi.....	65
4.2.3. Sonuç bileşiklerinin (3a-j) elde edilişi.....	65

4.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi	66
4.4. <i>In Vitro</i> Etki Çalışma Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	67
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	72
KAYNAKÇA.....	74
ÖZGEÇMİŞ	



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Hidrazon türevi sonuç bileşikleri.....	3
Tablo 4.1. Başlangıç, sonuç bileşiklerine ve cisplatine ait IC ₅₀ ve SI verileri.....	67
Tablo 4.2. 3a, 3e, 3g, 3i kodlu bileşikler ve cisplatin uygulanan A549 hücreleri akım sitometri kuadran analiz yüzdeleri.....	68
Tablo 4.3. Bileşiklerin A549 hücrelerinde Akt inhibitör etkileri.....	70

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. KHDAK sınıflandırılması	1
Şekil 1.2. Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)-Akt sinyal yolağı.....	2
Şekil 2.1. Nifuroksazit	4
Şekil 2.2. Hidrazonların genel sentez yöntemi	4
Şekil 2.3. 3-[[[(6-Kloro-3-fenil-4(3 <i>H</i>)-kinazolinon-2-il)merkaptasetil] hidrazono]-5-floro-1 <i>H</i> -2-indolinon	5
Şekil 2.4. <i>N'</i> -(2-Hidroksibenziliden)-2,6-dimetilimidazo[2,1- <i>b</i>][1,3,4] tiyadiazol-5-karbohidrazit.....	5
Şekil 2.5. 5-Okso-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol halkası taşıyan hidrazon türevleri.....	5
Şekil 2.6. <i>N'</i> -Süstitüe benziliden-3,4,5-trimetoksibenzohidrazitler	6
Şekil 2.7. <i>N'</i> -(2-Hidroksibenziliden)benzo[<i>d</i>]izotiyazol-3-karbohidrazit.....	7
Şekil 2.8. <i>N'</i> -(3,5-Di- <i>tert</i> -butil-4-hidroksibenziliden)-6-nitro-1,3-benzodioksol-5- karbohidrazin	7
Şekil 2.9. <i>N'</i> -[1-(5-Kloro-2-hidroksifenil)etiliden]-1-((2 <i>R</i> , 3 <i>R</i> , 4 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)-3,4-dihidroksi- 5-(hidroksimetil)tetrahidrofuran-2-il)-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-karbohidrazit.....	7
Şekil 2.10. 9-(1,3-Benzodioksol-5-il)-4-hidroksi-6,7-dimetoksi-2-[(4- metilbenziliden)amino]-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>f</i>]izoindol-1-on	8
Şekil 2.11. <i>N'</i> -(4-Klorobenziliden)-2-[(1-metil-1 <i>H</i> -tetrazol-5-il)tiyo]asetohidrazit.....	8
Şekil 2.12. Benzotiyazol halkası taşıyan hidrazon türevleri.....	9
Şekil 2.13. İzonikotinoil hidrazon türevleri.....	9
Şekil 2.14. <i>N'</i> -(2-Oksoindolin-3-iliden)-2-propilpentan hidrazit	9

Şekil 2.15. (1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-[7-((<i>E</i>)-2-(4-nitrobenziliden)hidrazinil)-5-(propiltiyo)-3 <i>H</i> -[1,2,3]triazolo[4,5- <i>d</i>]pirimidin-3-il]siklopentan-1,2,3-triol	10
Şekil 2.16. (<i>E</i>)- <i>N'</i> -[4-(Dietilamino)-2-hidroksibenziliden]benzofuran-2-karbohidrazit	10
Şekil 2.17. 6-Bromo- <i>N'</i> -[(2-klorokinolin-3-il)metilen]-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3-karbohidrazit	11
Şekil 2.18. (<i>E</i>)-2-[(2-(4-Florofenil)hidrazino)metil]kinolin-8-ol	11
Şekil 2.19. 5-Bromo- <i>N'</i> -[(<i>E</i>)-(1-metil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metilen]-1-metil-1 <i>H</i> -indol-3-karbohidrazit	11
Şekil 2.20. <i>N'</i> -Benziliden-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit	12
Şekil 3.1. Başlangıç ve sonuç bileşiklerinin sentez yöntemi	14
Şekil 4.1. Bileşik 1'in IR spektrumu	17
Şekil 4.2. Bileşik 1'in ¹ H NMR spektrumu	18
Şekil 4.3. Bileşik 1'in ¹³ C NMR spektrumu	19
Şekil 4.4. Bileşik 1'in HRMS spektrumu	20
Şekil 4.5. Bileşik 2'nin IR spektrumu	21
Şekil 4.6. Bileşik 2'nin ¹ H NMR spektrumu	22
Şekil 4.7. Bileşik 2'nin ¹³ C NMR spektrumu	23
Şekil 4.8. Bileşik 2'nin HRMS spektrumu	24
Şekil 4.9. Bileşik 3a'nın IR spektrumu	25
Şekil 4.10. Bileşik 3a'nın ¹ H NMR spektrumu	26
Şekil 4.11. Bileşik 3a'nın ¹³ C NMR spektrumu	27
Şekil 4.12. Bileşik 3a'nın HRMS spektrumu	28

Şekil 4.13. Bileşik 3b 'nin IR spektrumu	29
Şekil 4.14. Bileşik 3b 'nin ¹ H NMR spektrumu.....	30
Şekil 4.15. Bileşik 3b 'nin ¹³ C NMR spektrumu.....	31
Şekil 4.16. Bileşik 3b 'nin HRMS spektrumu.....	32
Şekil 4.17. Bileşik 3c 'nin IR spektrumu.....	33
Şekil 4.18. Bileşik 3c 'nin ¹ H NMR spektrumu	34
Şekil 4.19. Bileşik 3c 'nin ¹³ C NMR spektrumu	35
Şekil 4.20. Bileşik 3c 'nin HRMS spektrumu	36
Şekil 4.21. Bileşik 3d 'nin IR spektrumu	37
Şekil 4.22. Bileşik 3d 'nin ¹ H NMR spektrumu.....	38
Şekil 4.23. Bileşik 3d 'nin ¹³ C NMR spektrumu.....	39
Şekil 4.24. Bileşik 3d 'nin HRMS spektrumu.....	40
Şekil 4.25. Bileşik 3e 'nin IR spektrumu.....	41
Şekil 4.26. Bileşik 3e 'nin ¹ H NMR spektrumu	42
Şekil 4.27. Bileşik 3e 'nin ¹³ C NMR spektrumu	43
Şekil 4.28. Bileşik 3e 'nin HRMS spektrumu	44
Şekil 4.29. Bileşik 3f 'nin IR spektrumu	45
Şekil 4.30. Bileşik 3f 'nin ¹ H NMR spektrumu.....	46
Şekil 4.31. Bileşik 3f 'nin ¹³ C NMR spektrumu.....	47
Şekil 4.32. Bileşik 3f 'nin HRMS spektrumu.....	48
Şekil 4.33. Bileşik 3g 'nin IR spektrumu	49

Şekil 4.34. Bileşik 3g'nin ^1H NMR spektrumu	50
Şekil 4.35. Bileşik 3g'nin ^{13}C NMR spektrumu	51
Şekil 4.36. Bileşik 3g'nin HRMS spektrumu	52
Şekil 4.37. Bileşik 3h'ın IR spektrumu	53
Şekil 4.38. Bileşik 3h'ın ^1H NMR spektrumu	54
Şekil 4.39. Bileşik 3h'ın ^{13}C NMR spektrumu	55
Şekil 4.40. Bileşik 3h'ın HRMS spektrumu	56
Şekil 4.41. Bileşik 3i'nin IR spektrumu	57
Şekil 4.42. Bileşik 3i'nin ^1H NMR spektrumu	58
Şekil 4.43. Bileşik 3i'nin ^{13}C NMR spektrumu	59
Şekil 4.44. Bileşik 3i'nin HRMS spektrumu	60
Şekil 4.45. Bileşik 3j'nin IR spektrumu	61
Şekil 4.46. Bileşik 3j'nin ^1H NMR spektrumu	62
Şekil 4.47. Bileşik 3j'nin ^{13}C NMR spektrumu	63
Şekil 4.48. Bileşik 3j'nin HRMS spektrumu	64
Şekil 4.49. Bileşik 1'in elde edilişi için önerilen mekanizma	65
Şekil 4.50. Bileşik 2'nin elde edilişi için önerilen mekanizma	65
Şekil 4.51. Sonuç bileşiklerinin (3a-j) elde edilişi için önerilen mekanizma	66
Şekil 4.52. 3a, 3e, 3g, 3i kodlu bileşikler ve cisplatin ile kültür ortamına bırakılan A549 hücreleri	69
Şekil 5.1. Seçici antikanser etki gösteren hidrazon türevleri	72

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

5RP7	: H- <i>ras</i> Onkogen Transform Sıçan Embriyonik Fibroblast Hücreleri
A549	: İnsan Akciğer Adenokarsinom Hücreleri
AK	: Akciğer Kanseri
ATCC	: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
Bcap37	: Meme Kanseri Hücreleri
BGC823	: İnsan Mide Kanseri Hücreleri
CB1	: Kannabinoid Tip 1 Reseptörleri
CB2	: Kannabinoid Tip 2 Reseptörleri
CCRF	: İnsan Akut Lenfoblastik Lösemi Hücreleri
Colo-38	: İnsan Melanom Hücreleri
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DMSO- <i>d</i> ₆	: Döteryumlanmış DMSO
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Enzime Bağlı İmmunosorbent Deneyi)
E.N.	: Erime Noktası
ESI	: Electrospray Ionization (Elektrosprey İyonlaştırma)
FBS	: Fetal Bovine Serum (Fetal Sığır Serum)
FITC	: Floresan izotiyosiyanat
FT	: Fourier Transform

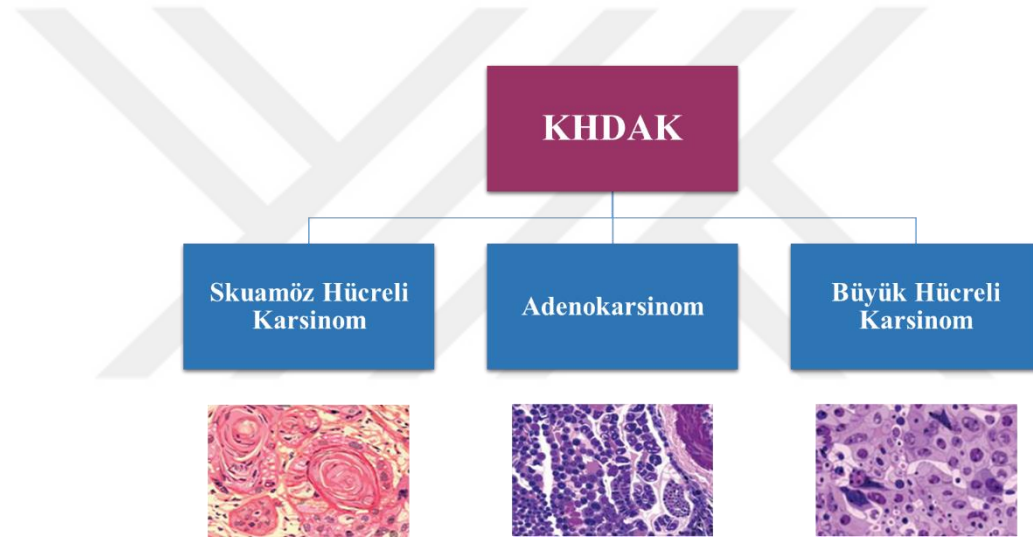
GI ₅₀	: Growth Inhibition (50%) (Büyüme İnhibisyonu (%50))
HCT-116	: İnsan Kolon Kanseri Hücreleri
HCT-8	: İnsan Kolon Karsinom Hücreleri
HeLa	: İnsan Servikal Adenokarsinom Hücreleri
HepG2	: İnsan Hepatosellüler Karsinom Hücreleri
HL-60	: Akut Promyelositik Lösemi Hücreleri
Huh-7	: İnsan Karaciğer Kanseri Hücreleri
IC ₅₀	: Inhibitory Concentration (50%) (İnhibe Edici Konsantrasyon (%50))
IR	: Infrared (Kızılötesi)
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
Jurkat	: İnsan Lösemik T Hücreleri
K562	: Kronik Miyeloid Lösemi Hücreleri
KB	: Oral Skuamöz Kanseri Hücreleri
KHAK	: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
KHDAK	: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
L929	: Fare Embriyonik Fibroblast Hücreleri
MCF-7	: İnsan Meme Adenokarsinom Hücreleri
MDA-MB-231	: Triple negatif Meme Kanseri Hücreleri
MDA-MB-435	: İnsan Meme Kanseri Hücreleri
MTT	: 3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür

NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
OVCAR	: Yumurtalık Kanseri Hücreleri
Panc-1	: İnsan Pankreas Karsinom Hücreleri
PC-3	: Prostat Kanseri Hücreleri
PI	: Propidyum iyodür
PI3K	: Phosphatidylinositol 3-Kinase (Fosfatidilinositol 3-Kinaz)
PKB	: Protein Kinaz B
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute
SI	: Selektivit� İndeksi
SK-MEL-28	: İnsan Melanom Hücreleri
SKMES-1	: İnsan Akciğer Skuamöz Karsinom Hücreleri
TMS	: Tetrametilsilan
UO-31	: Böbrek Kanseri Hücreleri
UV	: Ultraviyole (Morötesi)

1. GİRİŞ

Kanser, toplumda görülme insidansı günden güne artan ölümcül bir hastalıktır. Yeni tedavi yaklaşımlarına rağmen, kansere bağlı ölümler gelişmiş toplumlarda halen üst sırada yer almaktadır (Gupta, 1994; Nussbaumer vd., 2011).

Ülkemizde kansere bağlı ölümlerin en yaygın nedenlerinden biri de akciğer kanseridir (AK) (http-1). AK, küçük hücreli (KHAK) ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK) olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır (Brambilla vd., 2001; Nascimento vd., 2015). KHDAK, tüm AK vakalarının yaklaşık %85'ini oluşturmaktadır ve skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom ve büyük hücreli karsinom olmak üzere üç alt gruba (Şekil 1.1) ayrılmaktadır (Zappa ve Mousa, 2016).



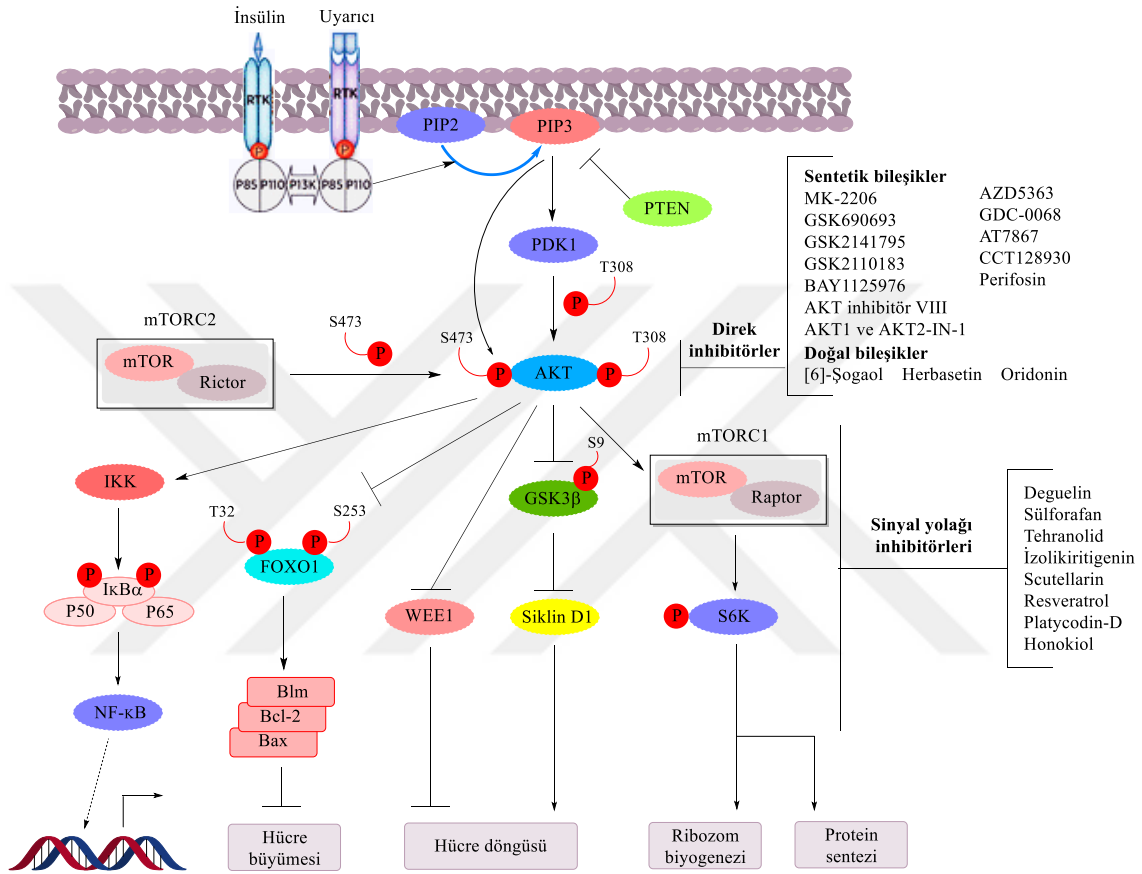
Şekil 1.1. KHDAK sınıflandırılması (Jain vd., 2021)

AK için hastalığın evresine bağlı olarak farklı tedavi yöntemleri bulunmaktadır. Cerrahi, erken evre (I-II) AK hastaları için en iyi tedavi yöntemidir. Bununla birlikte AK, çoğunlukla cerrahinin artık bir seçenek olmadığı lokal ileri veya metastatik evrelerde (evre III-IV) teşhis edilmektedir. Bu evreler için önemli tedavi yaklaşımları, radyoterapi ve kemoterapidir (Janku vd., 2010; Li vd., 2016; Hirsch vd., 2017)

AK için halen geleneksel sitotoksik ilaçlar kullanılmasına rağmen, özellikle son yıllarda hedefe yönelik tedavi için yan etkileri en aza indirilmiş ilaç etken maddesi keşfi üzerine yapılan çalışmalar büyük önem kazanmıştır (Nascimento vd., 2015; Ruiz-Ceja ve Chirino, 2017; Yuan vd., 2019; Roskoski, 2021).

Protein kinaz B (PKB) olarak da bilinen Akt, birçok hücrel süreçte yer alan AGC kinaz ailesine ait bir serin/treonin protein kinazdır (Guo vd., 2019; Yılmaz, 2020).

Akt; akciğer, meme, yumurtalık, prostat ve pankreas kanseri dahil olmak üzere birçok kanser türünün patogenezinin katılmaktadır (Hers vd., 2011; Nitulescu vd., 2016). Bu nedenle Akt veya Akt ile ilgili sinyal yolağının (Şekil 1.2) inhibisyonu, kanser tedavisi ve önlenmesi için rasyonel bir yaklaşımdır (Song vd., 2019; Huang vd., 2022).



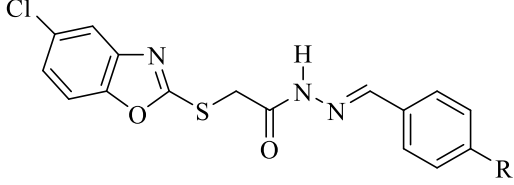
Şekil 1.2. Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)-Akt sinyal yolağı (Song vd., 2019; Yılmaz, 2020).

Hidrazitler-hidrazonlar, hidrojen bağı akseptör ve donör gruplar taşımaları gibi eşsiz yapısal özellikleri ve geniş biyolojik aktivite profilleri nedeniyle; başta mikrobiyal enfeksiyonların olmak üzere birçok hastalığın tedavisine yönelik ilaç etken maddesi keşfinde önem taşımaktadırlar (Rollas ve Küçüküz, 2007; Mathew vd., 2015; Mali vd., 2021). Özellikle son yıllarda hidrazon türevlerinin antikanser etkileri üzerine çok sayıda çalışma yapılmaktadır (Alam ve Lee, 2016; Han vd., 2019; Güngör vd., 2020).

Bu tez çalışmasında, on adet yeni hidrazon türevi (3a-j) (Tablo 1.1) sentezlenmiş ve yapıları spektroskopik teknikler kullanılarak teyit edilmiştir. Tüm türevlerin A549 insan akciğer adenokarsinom ve L929 fare embriyonik fibroblast hücre dizilerine karşı

sitotoksiteleri belirlenmiştir. Selektif antikanser etki gösteren bileşiklerin apoptoz ve Akt üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

Tablo 1.1. *Hidrazon türevi sonuç bileşikleri*

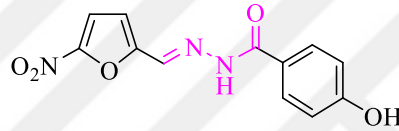
	
Bileşik	R
3a	Dimetilamino
3b	Dietilamino
3c	Bis(2-kloroetil)
3d	Nitro
3e	Piperidinil
3f	Morfolinil
3g	4-Metilpiperazin-1-il
3h	Pirolidin-1-il
3i	1H-İmidazol-1-il
3j	1H-1,2,4-Triazol-1-il

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hidrazonlar ile ilgili Genel Bilgiler

Literatürde hidrazonların antikanser, anti-enflamatuvar, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoal, antihelmintik, antidepresan ve antikonvülzan aktiviteleri üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Vicini vd., 2009; Özdemir vd., 2010; Altıntop vd., 2012; Can vd., 2012; Vasantha vd., 2015; Pape vd., 2016; Şenkardeş vd., 2016; Popiolek, 2017; Shankar vd., 2017; Baldisserotto vd., 2018; Shah vd., 2018; Coimbra vd., 2019; Han vd., 2019; Güngör vd., 2020).

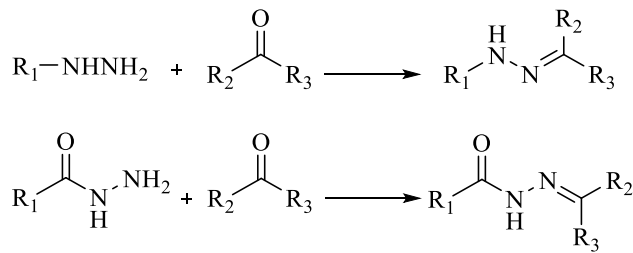
Bağırsak antiseptiği olarak kullanılan nifuroksazit adlı ilaç etken maddesi yapısında hidrazon grubu taşımaktadır (Şekil 2.1) (Masunari ve Tavares, 2007).



Şekil 2.1. Nifuroksazit

2.2. Hidrazonların Genel Sentez Yöntemi

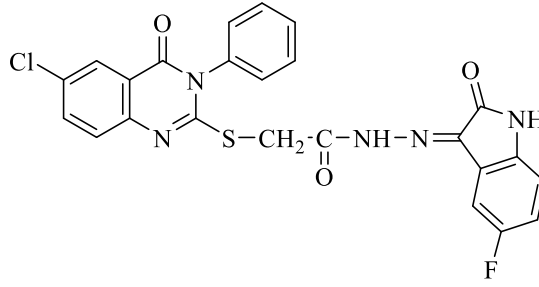
Alifatik, aromatik veya heterosiklik hidrazin/hidrazitlerin aldehitler veya ketonlarla; etanol, bütanol, asetik asit, etanol-asetik asit gibi çözücüler içinde ısıtılmasıyla hidrazon türevleri sentezlenmektedir (Şekil 2.2) (Rollas ve Küçükgül, 2007).



Şekil 2.2. Hidrazonların genel sentez yöntemi

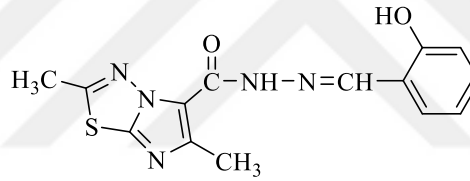
2.3. Hidrazon Türevlerinin Antikanser Etkileri üzerine Çalışmalar

Gürsoy ve Karalı (2003) tarafından indolinon yapısı taşıyan hidrazon türevleri sentezlenmiştir. Tiyoguanin ($\log_{10} GI_{50} = -5.83$) ve 5-florourasil ($\log_{10} GI_{50} = -5.17$) ile kıyaslandığında, bu bileşikler arasında Şekil 2.3'te gösterilen bileşiğin ($\log_{10} GI_{50} = -6.68$) UO-31 böbrek kanser hücre dizisine karşı en aktif bileşik olduğu saptanmıştır.



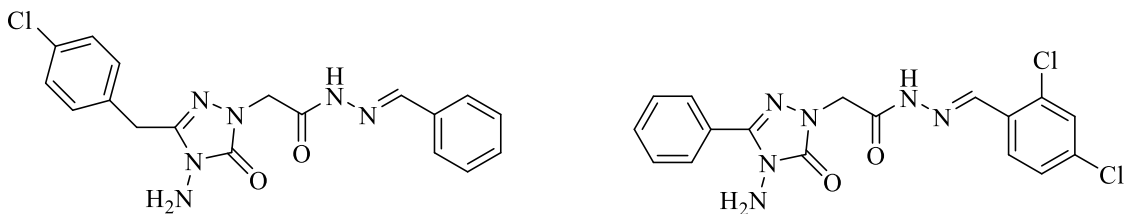
Şekil 2.3. 3-[[[(6-Kloro-3-fenil-4(3H)-kinazolinon-2-il)merkaptasetil]hidrazono]-5-floro-1H-2-indolinon

Terzioğlu ve Gürsoy (2003) tarafından imidazo[2,1-b][1,3,4]tiyadiazol halka sistemi taşıyan hidrazon türevleri sentezlenmiştir. Şekil 2.4'te gösterilen bileşik, güçlü sitotoksik aktivite göstermiştir. Bu bileşik için altmış insan kanser hücre dizisinde gerçekleştirilen *in vitro* aktivite çalışmalarında, özellikle OVCAR-3 yumurtalık kanser hücre dizisi ($\log_{10} \text{GI}_{50} = -5.51$) üzerine etkili olduğu belirlenmiştir.



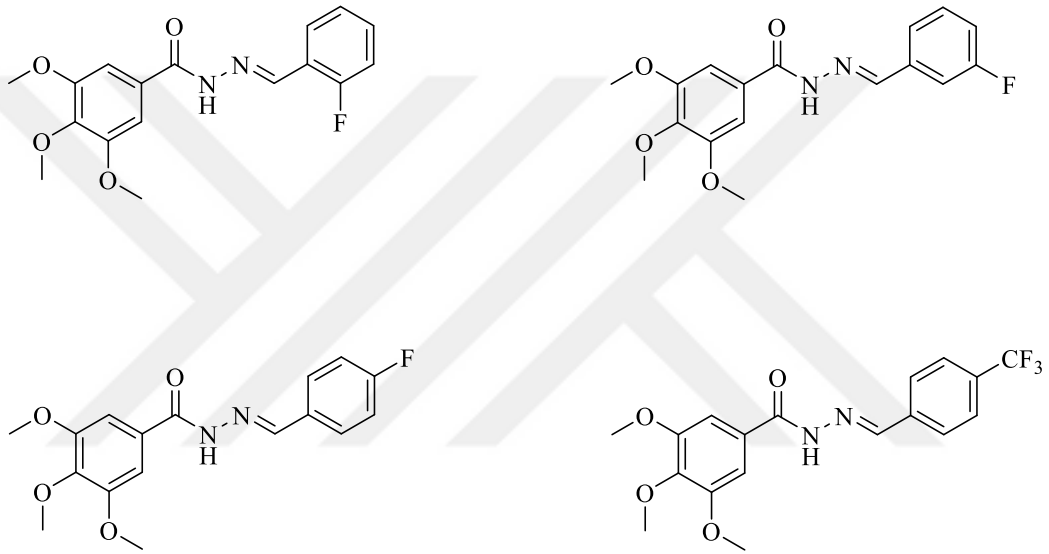
Şekil 2.4. N'-(2-Hidroksibenziliden)-2,6-dimetilimidazo[2,1-b][1,3,4]tiyadiazol-5-karbohidrazit

Demirbas vd. (2004) tarafından 5-okso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol halkası taşıyan hidrazon türevleri sentezlenmiştir. Şekil 2.5'te gösterilen iki bileşik, MCF-7 insan meme kanser hücre dizisinin büyümesini inhibe etmiştir. Özellikle 2-(4-amino-5-okso-3-fenil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-N'-(2,4-diklorobenziliden)asetohidrazit, MCF-7 insan meme kanser hücre dizisi ($\text{GI}_{50} = 1.87 \mu\text{M}$) üzerine oldukça güçlü etki göstermiştir.



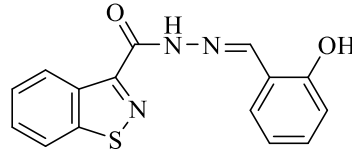
Şekil 2.5. 5-Okso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol halkası taşıyan hidrazon türevleri

Jin vd. (2006) tarafından *N'*-süstitüe benziliden-3,4,5-trimetoksibenzohidrazit ve 3-asetil-2-süstitüe fenil-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oksadiazol türevleri sentezlenmiştir. Şekil 2.6'da gösterilen 2-floro, 3-floro, 4-floro ve 4-triflorometil süstitüe hidrazonların sırasıyla 0.2, 1.8, 0.2, 1.2 μM IC_{50} değerleri ile PC-3 prostat kanseri hücre dizisine karşı oldukça etkili oldukları belirlenmiştir. Ayrıca 2-floro, 4-floro ve 4-triflorometil süstitüe hidrazon türevleri Bcap37 meme kanseri ve BGC823 mide kanseri hücre dizilerine karşı orta düzeyde antikanser etki göstermişlerdir. Hidrazon türevlerinin oksadiazol analoglarında antikanser etkinin zayıfladığı saptanmıştır.



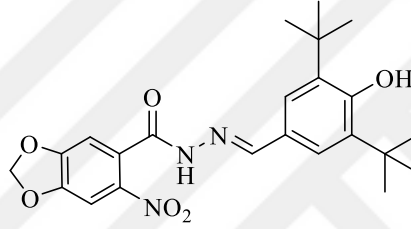
Şekil 2.6. *N'*-Süstitüe benziliden-3,4,5-trimetoksibenzohidrazitler

Vicini vd. (2006) tarafından benzo[*d*]izotiyazol hidrazon türevleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerin çeşitli tümör hücrelerine karşı antikanser etkileri değerlendirilmiştir. Şekil 2.7'de gösterilen bileşiğin hematolojik tümörlere (IC_{50} = 0.5-3.1 μM) karşı 6-merkaptopürin kadar etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu bileşiğin SK-MEL-28 insan melanom (IC_{50} = 2.5 μM) ve SKMES-1 insan akciğer skuamöz karsinom (IC_{50} = 1.8 μM) hücrelerine karşı ise 6-merkaptopürinden (SK-MEL-28 hücre dizisi için IC_{50} = 15 μM ; SKMES-1 hücre dizisi için IC_{50} = 58 μM) daha etkili olduğu belirlenmiştir.



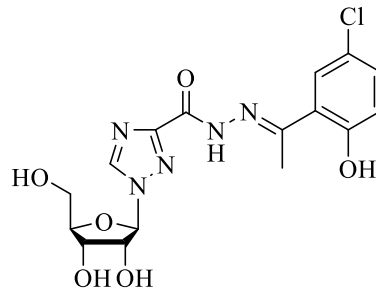
Şekil 2.7. *N'-(2-Hidroksibenziliden)benzo[d]izotiyazol-3-karbohidrazit*

Duarte vd. (2007) tarafından 6-nitro-3,4-metilendioksifenil-*N*-açilhidrazon türevleri sentezlenmiştir. Şekil 2.8’de gösterilen hidrazon türevinin kannabinoid tip 1 reseptörlerine (CB1) bağlandığı (100 µM konsantrasyonda %71) ve kannabinoid tip 2 reseptörlerine (CB2) bağlanarak T-hücre proliferasyonunu 10 µM konsantrasyonda %66 inhibe ettiği tespit edilmiştir.



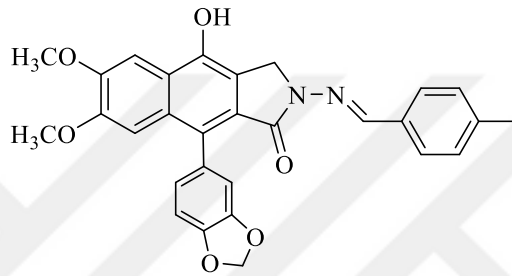
Şekil 2.8. *N'-(3,5-Di-tert-butil-4-hidroksibenziliden)-6-nitro-1,3-benzodioksol-5-karbohidrazin*

Liu vd. (2009) tarafından ribavirin hidrazon türevleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerin A549 insan akciğer adenokarsinom hücre dizisine karşı antikanser etkileri değerlendirilmiştir. Şekil 2.9’da gösterilen hidrazon türevi, 20 µM konsantrasyonda A549 hücre büyümesini inhibe etmiştir.



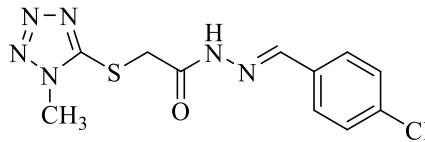
Şekil 2.9. *N'-[1-(5-Kloro-2-hidroksifenil)etiliden]-1-((2R, 3R, 4S, 5R)-3,4-dihidroksi-5-(hidroksimetil)tetrahidrofuran-2-il)-1H-1,2,4-triazol-3-karbohidrazit*

Zhao vd. (2010) tarafından benzoizindolin hidrazonlar sentezlenmiş ve bu bileşiklerin KB oral skuamöz, A549 akciğer ve HCT-116 kolon kanser hücreleri üzerine sitotoksik etkileri incelenmiştir. Etopozit ($IC_{50} = 13.5 \mu M$) ile kıyaslandığında, Şekil 2.10’da gösterilen bileşiğin özellikle HCT-116 kanser hücre dizisi ($IC_{50} = 5.6 \mu M$) üzerine oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Bu bileşik, HCT-116 hücreleri üzerine güçlü apoptotik aktivite göstermiştir. Western blot analizi sonucu, bu bileşiğin artmış Bax ekspresyonunun ve azalmış Bcl-2 ekspresyonunun da eşlik ettiği mitokondriyal yolak aracılığıyla apoptozu indüklediği tespit edilmiştir.



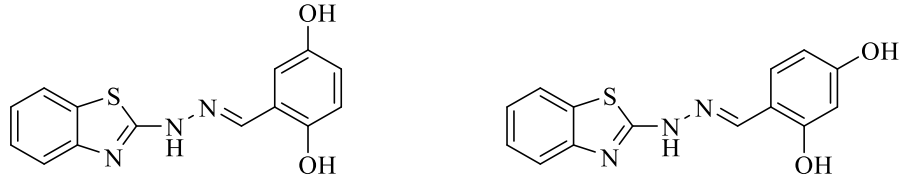
Şekil 2.10. 9-(1,3-Benzodioxol-5-il)-4-hidroksi-6,7-dimetoksi-2-[(4-metilbenziliden)amino]-2,3-dihidro-1H-benzo[f]izoindol-1-on

Altıntop vd. (2012) tarafından tetrazol halkası taşıyan hidrazon türevleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerin A549 insan akciğer adenokarsinom ve NIH/3T3 fare embriyonik fibroblast hücrelerine karşı sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Cisplatin ($IC_{50} = 0.0316 \text{ mM}$) ile kıyaslandığında, Şekil 2.11’de gösterilen bileşiğin A549 hücre dizisine karşı bu serideki en etkili antikanser ajan ($IC_{50} = 0.1 \text{ mM}$) olduğu belirlenmiştir.



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

Lindgren vd. (2014) tarafından benzotiyazol halkası taşıyan hidrazon türevleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerin HL-60 insan lösemi, MDA-MB-435 insan meme ve HCT-8 insan kolon kanser hücre dizileri üzerine antiproliferatif etkileri değerlendirilmiştir. Bu bileşikler arasında, Şekil 2.12’de gösterilen iki bileşik bu üç hücre dizisine karşı en yüksek antiproliferatif aktiviteyi göstermiştir.



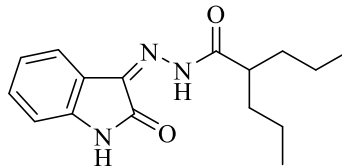
Şekil 2.12. Benzotiyazol halkası taşıyan hidrazon türevleri

Naveen Kumar vd. (2014) tarafından izonikotinoil hidrazon türevleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerin HCT-116 insan kolon kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri değerlendirilmiştir. 5-Florourasil ($IC_{50} = 5 \mu M$) ile karşılaştırıldığında, (E)-N'-(2-(benziloksi)benziliden)izonikotinohidrazit ($IC_{50} = 3.1 \mu M$) ve (E)-N'-((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)izonikotinohidrazit ($IC_{50} = 0.29 \mu M$) HCT-116 hücre dizisine karşı kayda değer antikanser etki göstermişlerdir (Şekil 2.13).



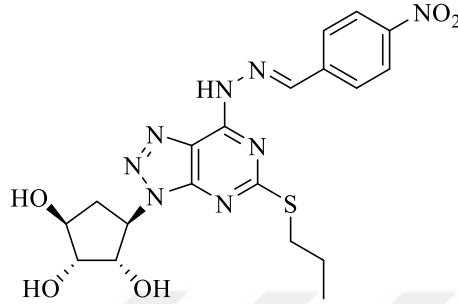
Şekil 2.13. İzonikotinoil hidrazon türevleri

El-Faham vd. (2015) tarafından N'-(2-oksoindolin-3-iliden)-2-propilpentan hidrazit-hidrazon türevleri sentezlenmiş ve bu türevlerin HepG2 insan karaciğer kanseri ve Jurkat lösemi hücre dizileri üzerine antikanser etkileri değerlendirilmiştir. Şekil 2.14'te gösterilen bileşik, Jurkat lösemi hücreleri üzerine seçici antikanser etki ($IC_{50} = 3.15 \mu M$) göstermiştir.



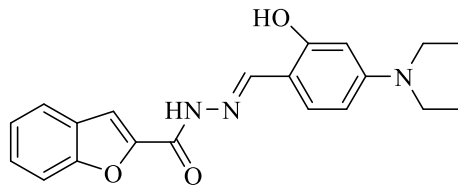
Şekil 2.14. N'-(2-Oksoindolin-3-iliden)-2-propilpentan hidrazit

Wang vd. (2015) tarafından 8-azapürin karboksilik nükleozit hidrazonlar sentezlenmiş ve bu türevlerin Huh-7 insan karaciğer kanseri ve A549 insan akciğer kanseri hücre dizilerine karşı antikanser etkileri değerlendirilmiştir. Şekil 2.15'te gösterilen bileşiğin Huh-7 hücre dizisine (IC_{50} = 11.69 μ M) karşı aktif olduğu belirlenmiştir.



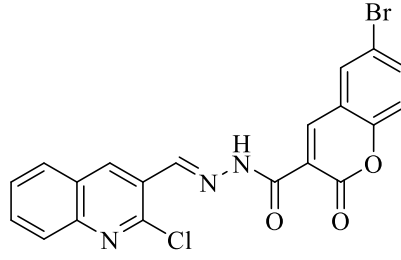
Şekil 2.15. (1S,2R,3S,4R)-4-[7-((E)-2-(4-nitrobenziliden)hidrazinil)-5-(propiltiyo)-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pirimidin-3-il]siklopentan-1,2,3-triol

Baldisserotto vd. (2018) tarafından benzofuran hidrazonlar sentezlenmiş ve bu bileşiklerin antiproliferatif ve antioksidan etkileri değerlendirilmiştir. Şekil 2.16'da gösterilen bileşik, Colo-38 insan melanom (IC_{50} = 0.44 μ M) ve K562 kronik miyeloid lösemi (IC_{50} = 0.52 μ M) hücreleri üzerine güçlü antiproliferatif aktivite göstermiştir. Ayrıca bu bileşiğin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.



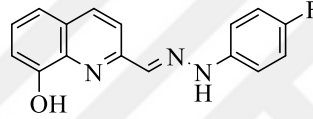
Şekil 2.16. (E)-N'-[4-(Diethylamino)-2-hidroksibenziliden]benzofuran-2-karbohidrazit

Nasr vd. (2018) tarafından kumarin halkası taşıyan hidrazon türevleri sentezlenmiş ve bu türevlerin Panc-1 insan pankreas karsinom, HepG2 insan hepatosellüler karsinom ve CCRF insan akut lenfoblastik lösemi hücre dizilerine karşı antikanser etkileri değerlendirilmiştir. Doksorubisin (Panc-1 ve HepG2 hücre dizileri için IC_{50} değerleri sırasıyla 6.90 ve 5.43 μ M) ile karşılaştırıldığında; Şekil 2.17'de gösterilen bileşik, Panc-1 (IC_{50} = 5.45 μ M) ve HepG2 (IC_{50} = 9.42 μ M) hücre dizilerine karşı güçlü antikanser etki göstermiştir. Bu türevin kaspaz 3/7 aktivasyonu ile apoptozu indüklediği saptanmıştır.



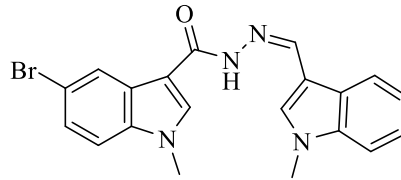
Şekil 2.17. 6-Bromo-*N'*-[(2-klorokinolin-3-il)metilen]-2-okso-2H-kromen-3-karbohidrazit

Shah vd. (2018) tarafından 8-hidroksikinolin hidrazon türevleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerin antikanser etkileri değerlendirilmiştir. Şekil 2.18’de gösterilen bileşiğin HeLa serviks (IC_{50} = 26.30 μ M), MCF-7 meme (IC_{50} = 34.19 μ M), A549 akciğer (IC_{50} = 38.77 μ M) ve MDA-MB-231 triple negatif meme (IC_{50} = 34.23 μ M) kanseri hücrelerine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir.



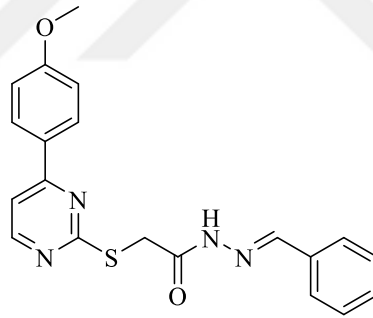
Şekil 2.18. (E)-2-[(2-(4-Florofenil)hidrazino)metil]kinolin-8-ol

Sreenivasulu vd. (2019) tarafından *N*-metil ve *N,N*-dimetil bis(indolil)hidrazit-hidrazon türevleri elde edilmiş ve bu bileşiklerin servikal (HeLa), meme (MCF-7 ve MDA-MB-231) ve akciğer (A549) kanser hücre dizilerine karşı antiproliferatif ve apoptotik etkileri değerlendirilmiştir. Şekil 2.19’da gösterilen bileşik, MCF-7 ve HeLa hücrelerinde kaspaz bağımsız apoptozu indükleyerek antikanser aktivite göstermiştir.



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

Güngör vd., (2020) tarafından pirimidin halkası taşıyan hidrazon türevleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerin 5RP7 H-ras onkogen transform sıçan embriyonik fibroblast ve L929 fare embriyonik fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik aktiviteleri test edilmiştir. *N'*-Benziliden-2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit, *N'*-(4-(pirolidin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-klorofenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit, *N'*-benziliden-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit, *N'*-(4-(pirolidin-1-il)benziliden)-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit; sırasıyla <0.97, <0.97, 1.13 ve <0.97 µg/mL IC₅₀ değerleri ile 5RP7 hücreleri üzerine cisplatinden (IC₅₀= 1.87 µg/mL) daha güçlü antikanser etki göstermişlerdir. Seçici antikanser etkiye sahip bu türevlerin 5RP7 hücrelerinde apoptoz üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu dört bileşiğin de 5RP7 hücre dizisinde apoptozu indüklediği saptanmıştır. Ayrıca bu bileşiklerin Akt üzerine inhibitör etkileri kolorimetrik bir yöntemle araştırılmıştır. Şekil 2.20’de gösterilen bileşik (IC₅₀= 0.5 µg/mL), Akt inhibitörü GSK690693 (IC₅₀= 0.6 µg/mL) kıyasla güçlü Akt inhibisyonuna neden olmuştur. Bu bileşiğin 5RP7 hücreleri üzerine sitotoksik etkisini apoptoz indüksiyonu ve Akt inhibisyonuyla gösterdiği sonucuna varılmıştır.



Şekil 2.20. *N'*-Benziliden-2-[(4-(4-metoksifenil)pirimidin-2-il)tiyo]asetohidrazit

3. YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu tez çalışması kapsamında sentez çalışmalarında kullanılan 5-kloro-2-merkaptobenzoksazol, aseton, hidrazin hidrat, 4-dietilaminobenzaldehit, 4-[bis(2-kloroetil)amino]benzaldehyt, 4-(1-pirolidinil)benzaldehyt, 4-(4-morfolinil)benzaldehyt ve 4-(1*H*-imidazol-1-il)benzaldehyt Sigma-Aldrich (ABD) firmasından; etil kloroasetat, potasyum karbonat ve 4-nitrobenzaldehyt Merck (Almanya) firmasından; 4-(1-piperidinil)benzaldehyt, 4-(4-metilpiperazin-1-il)benzaldehyt ve 4-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)benzaldehyt Maybridge (İngiltere) firmasından; 4-dimetilaminobenzaldehit Acros (Belçika) firmasından ve absolü etanol J.T. Baker (Hollanda) firmasından temin edilmiştir. Bu çalışma kapsamında *in vitro* antikanser aktivite çalışmalarında kullanılan dimetil sülfoksit (DMSO), 3-(4,5-dimetil-2-tiyazolil)-2,5-difenil-2*H*-tetrazolyum bromür (MTT), cisplatin, fetal sıgır serumu (FBS), GSK690693 ve Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 Sigma-Aldrich (ABD) firmasından temin edilmiştir.

3.2. Etil 2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetat (1) Sentez Yöntemi

Eşdeğer miktar 5-kloro-2-merkaptobenzoksazol (0.06 mol) ve etil kloroasetat (0.06 mol) potasyum karbonat (0.06 mol) katalizörlüğünde aseton içinde 10 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatılmıştır. Reaksiyon, İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile gerekli kontroller yapılarak sonlandırılmıştır. Çöken ester süzülerek ortamdan alınmış ve distile su ile yıkanmıştır. Kurutulduktan sonra ürün etanol ile kristallendirilmiştir (Güngör, 2019) (Şekil 3.1).

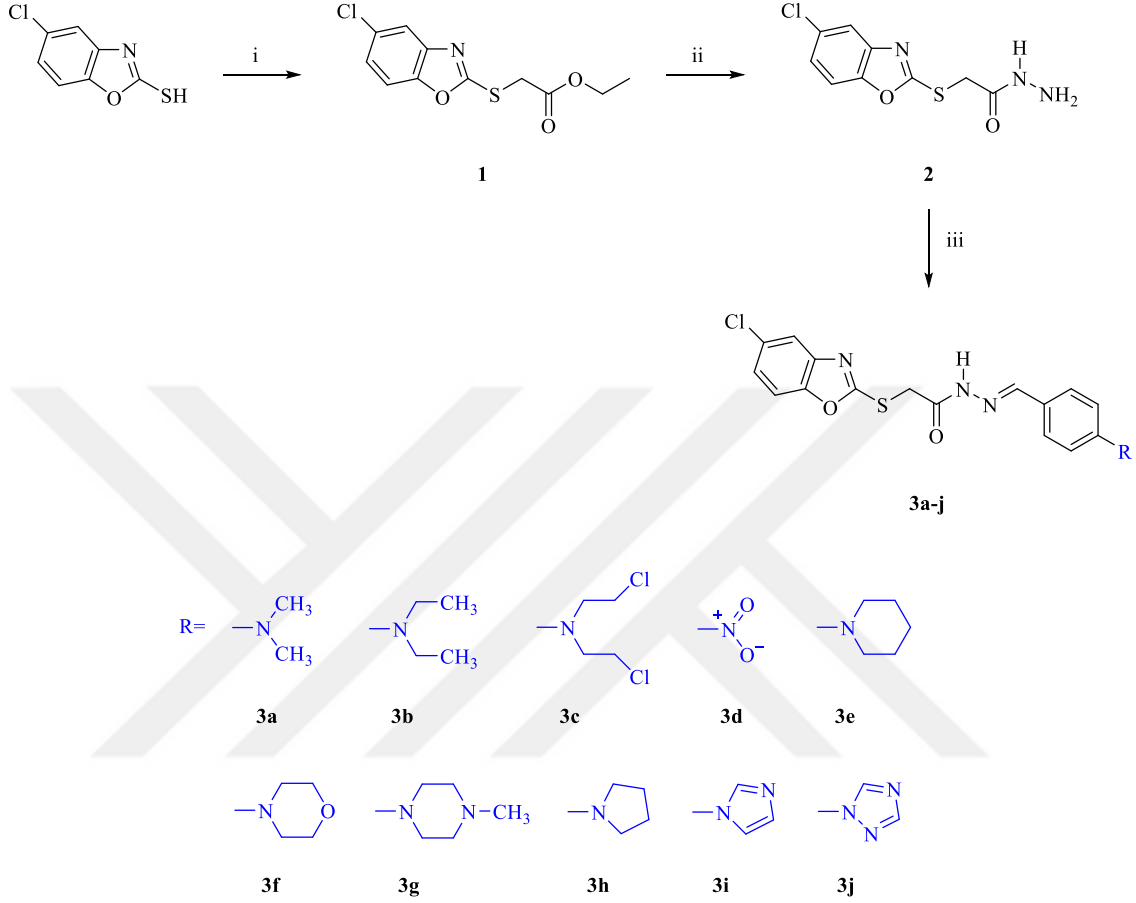
3.3. 2-[(5-Klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (2) Sentez Yöntemi

Etil 2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetat (1) (0.05 mol) hidrazin hidrat (0.10 mol) ile etanol içinde 5 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Reaksiyon, İTK ile gerekli kontroller yapılarak sonlandırılmıştır. Çöken hidrazit süzülerek ortamdan alınmış ve etanol ile yıkanmıştır. Kurutulduktan sonra etanol ile kristallendirilmiştir (Güngör, 2019) (Şekil 3.1).

3.4. Sonuç Bileşiklerinin (3a-j) Sentez Yöntemi

2-[(5-Klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (2) (0.0012 mol) ve 4-süstitüe benzaldehit (0.0012 mol) etanol içinde 8 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatılmıştır. Reaksiyon, İTK ile gerekli kontroller yapılarak sonlandırılmıştır. Çöken hidrazon türevi

süzülerek ortamdan alınmış ve kurutulmuştur. Elde edilen ürün etanol ile kristallendirilmiştir (Güngör, 2019) (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Başlangıç ve sonuç bileşiklerinin sentez yöntemi. (i) $\text{ClCH}_2\text{COOEt}$, K_2CO_3 , aseton, geri çeviren soğutucu altında kaynatma, 10 saat; (ii) $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, etanol, oda sıcaklığında karıştırma, 5 saat; (iii) ArCHO , etanol, geri çeviren soğutucu altında kaynatma, 8 saat.

3.5. İTK Çalışmaları

İTK çalışmalarında, petrol eteri - etil asetat (1:1) mobil faz olarak ve 20x20 cm İTK silika jel 60 F₂₅₄ alüminyum plakları (Merck, Almanya) sabit faz olarak kullanılmıştır. Reaksiyon ortamından alınan sonuç ve başlangıç bileşiklerine ait örnekler, etanolde çözülerek İTK plağına tatbik edilmiş ve İTK tankında sürüklenmiştir. İTK plağı tanktan çıkarılarak dalga boyu 254 ve 366 nm olan ultraviyole (UV) ışık altında lekeler tespit edilmiştir.

3.6. Erime Noktası (E.N.) Tayinleri

Sentezlenen bileşiklerin E.N. tayinleri, Electrothermal IA9200 erime noktası tayin cihazı (Staffordshire, İngiltere) ile gerçekleştirilmiştir.

3.7. Infrared (IR) Analizleri

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

3.8. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizleri

Sentezlenen bileşiklerin özel NMR tüpleri içerisinde çözücü olarak DMSO- d_6 (Merck, Almanya) kullanılarak hazırlanan numunelerinin 1H ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla 400 MHz ve 100 MHz NMR spektrometresinde (Bruker, ABD) alınmıştır.

3.9. Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometrisi (HRMS) Analizleri

Sentezlenen bileşiklerin metanol (Sigma-Aldrich, ABD) içinde çözeltileri hazırlandıktan sonra, HRMS analizleri elektrosprey iyonlaştırma (ESI) tekniği ile kütle spektrometresinde (Shimadzu, Japonya) gerçekleştirilmiştir.

3.10. Antikanser Aktivite Çalışmaları

3.10.1. Bileşiklerin stok çözeltilerinin hazırlanması

2 nolu bileşiğin ve **3a-j** kodlu sonuç bileşiklerinin, pozitif kontrol cisplatinin stok çözeltileri (100 mM) DMSO içinde hazırlanmıştır. Bu stoktan kullanılmak üzere, 500, 250, 125, 62.50, 31.25, 15.63, 7.81 ve 3.91 μM konsantrasyonları (en yüksek DMSO oranı %0.1 olacak şekilde) hazırlanmıştır.

3.10.2. Deneylerde kullanılan hücreler

A549 İnsan akciğer adenokarsinom hücre dizisi (ATCC® CCL-185™), %10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin içeren RPMI 1640 besi yerinde (Baytekin Yurdaer, 2022); L929 fare embriyonik fibroblast hücre dizisi (ATCC® CRL-6364™) ise, son derişimde %10 FBS, %1 penisilin-streptomisin, %89 RPMI ve 2 g/L $NaHCO_3$ içeren besi yeri ortamında, %95 bağıl nem, %5 CO_2 içeren etüvde 37 °C'de çoğaltılarak deneyler için hazırlanmıştır (Güngör, 2019).

3.10.3. MTT testi

2 nolu bileşiğin ve **3a-j** kodlu sonuç bileşiklerinin, cisplatinin A549 ve L929 hücreleri üzerindeki sitotoksiteleri MTT testi (Mosmann, 1983) ile belirlenmiştir (Baytekin Yurdaer, 2022). Pozitif kontrol olarak cisplatin kullanılmıştır. Her bir deney üç

tekrarlı gerçekleştirilmiştir. İnhibitör derişim 50 (IC₅₀) değerleri, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

3.10.4. Apoptozun akım sitometri ile belirlenmesi

MTT tekniğı ile seçici antikanser etkiye sahip olduğı saptanan bileşikler (**3a**, **3e**, **3g** ve **3i**) ve cisplatin (IC₅₀ konsantrasyonlarında) uygulanan A549 hücrelerinin 24 saat inkübasyon süresi sonunda, bileşiklerin apoptotik etkileri akım sitometre cihazında (Beckman CytoFLEX, ABD) Anneksin V-Floresan izotiyosiyanat (FITC) apoptoz belirleme kiti (BD Pharmingen, ABD) ile üreticinin talimatlarına göre belirlenmiştir (Baytekin Yurdaer, 2022).

3.10.5. Akt aktivite tayini

Bileşik **3a** (22.84 µM, 45.68 µM ve 91.35 µM), bileşik **3e** (44.06 µM, 88.12 µM ve 176.23 µM), bileşik **3g** (11.65 µM, 23.30 µM ve 46.60 µM) ve bileşik **3i** (20.90 µM, 41.80 µM ve 83.59 µM), cisplatin (5.97 µM, 11.95 µM ve 23.89 µM) ve Akt inhibitörü GSK690693 (3.61 µM, 7.23 µM ve 14.45 µM) uygulanan A549 hücrelerinin 24 saat inkübasyonu sonrasında; Akt kolorimetrik hücre içi enzime bağılı immunosorbent deney (ELISA) kiti (Thermo Fisher Scientific, ABD) protokolü üretici firmanın önerilerine uygun şekilde uygulanmıştır (Baytekin Yurdaer, 2022).

4. BULGULAR VE YORUM

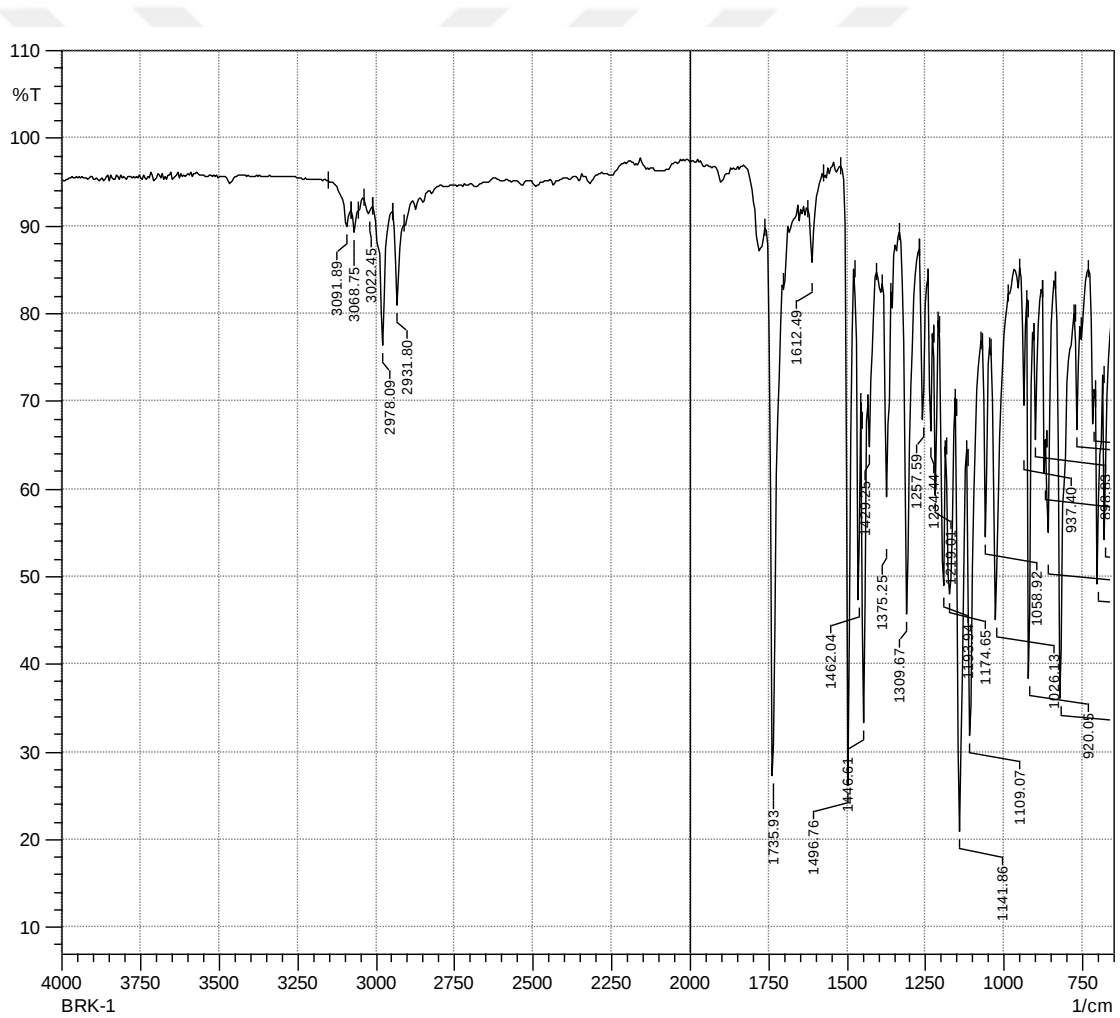
4.1. Kimyasal Çalışmalar

4.1.1. Etil 2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetat (1)

Verim : %98

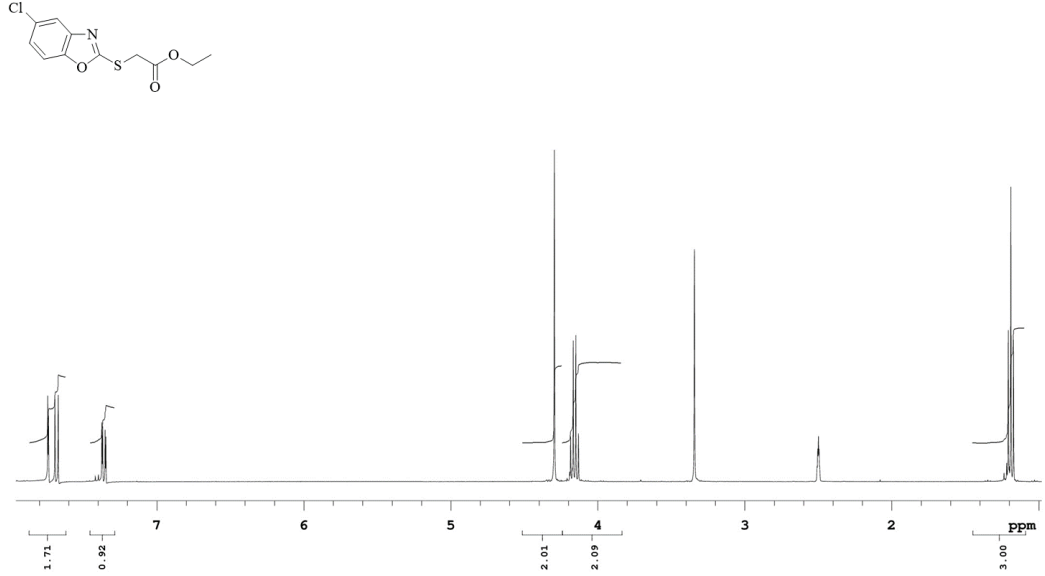
E.N. : 65-67 °C, Literatür E.N.: 64-65 °C (İbrahim vd., 2015).

IR ν_{maks} (cm^{-1}): 3091.89, 3068.75, 3022.45, 2978.09, 2931.80, 1735.93, 1612.49, 1496.76, 1462.04, 1446.61, 1429.25, 1375.25, 1309.67, 1257.59, 1234.44, 1219.01, 1193.94, 1174.65, 1141.86, 1109.07, 1058.92, 1026.13, 937.40, 920.05, 898.83, 867.97, 860.25, 819.75, 767.67, 715.59, 702.09, 677.01 (Şekil 4.1).



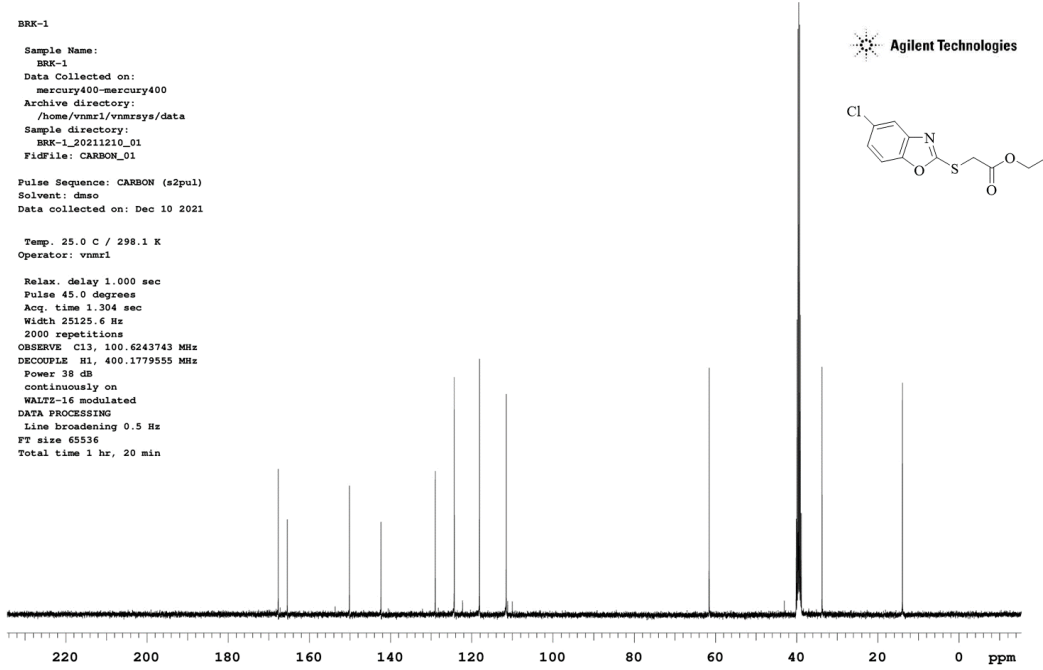
Şekil 4.1. Bileşik 1'in IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 1.19 (t, $J=7.0$ Hz, 3H), 4.16 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 4.30 (s, 2H), 7.36 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.0 Hz, 1H), 7.68 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J=2.4$ Hz, 1H) (Şekil 4.2).



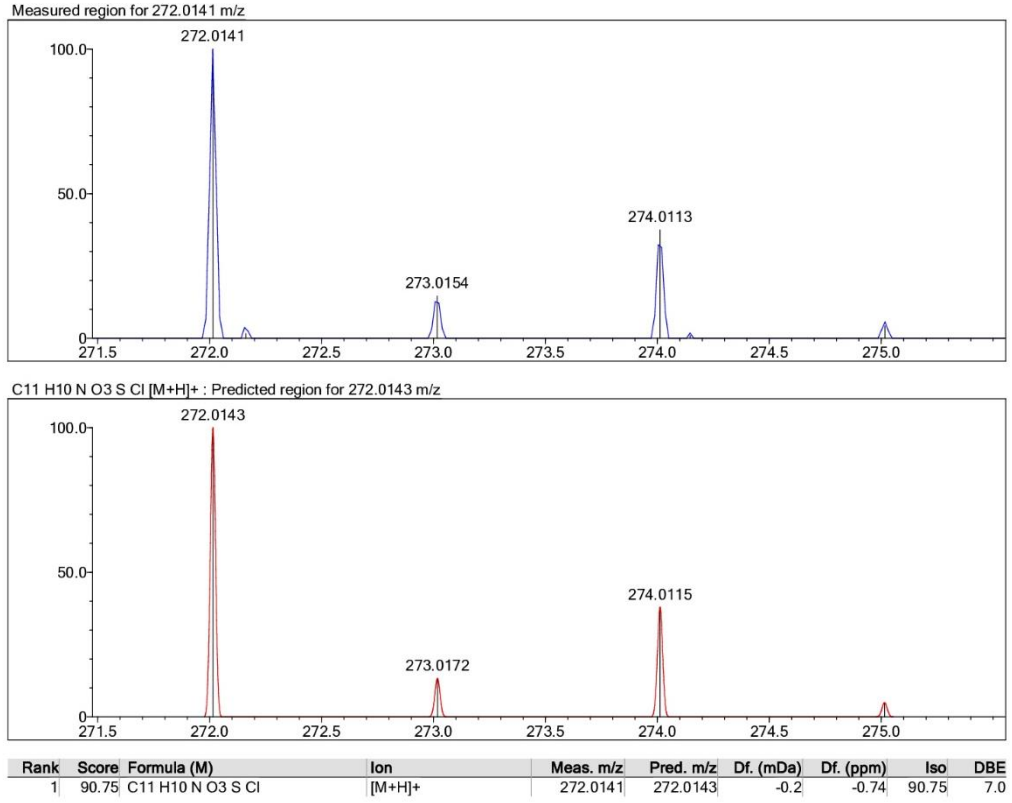
Şekil 4.2. Bileşik 1'in ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 13.97 (CH_3), 33.78 (CH_2), 61.57 (CH_2), 111.54 (CH), 118.12 (CH), 124.34 (CH), 129.01 (C), 142.37 (C), 150.15 (C), 165.45 (C), 167.69 (C) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Bileşik 1'in ^{13}C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{ClNO}_3\text{S}$ için hesaplanan: 272.0143, bulunan: 272.0141 (Şekil 4.4).



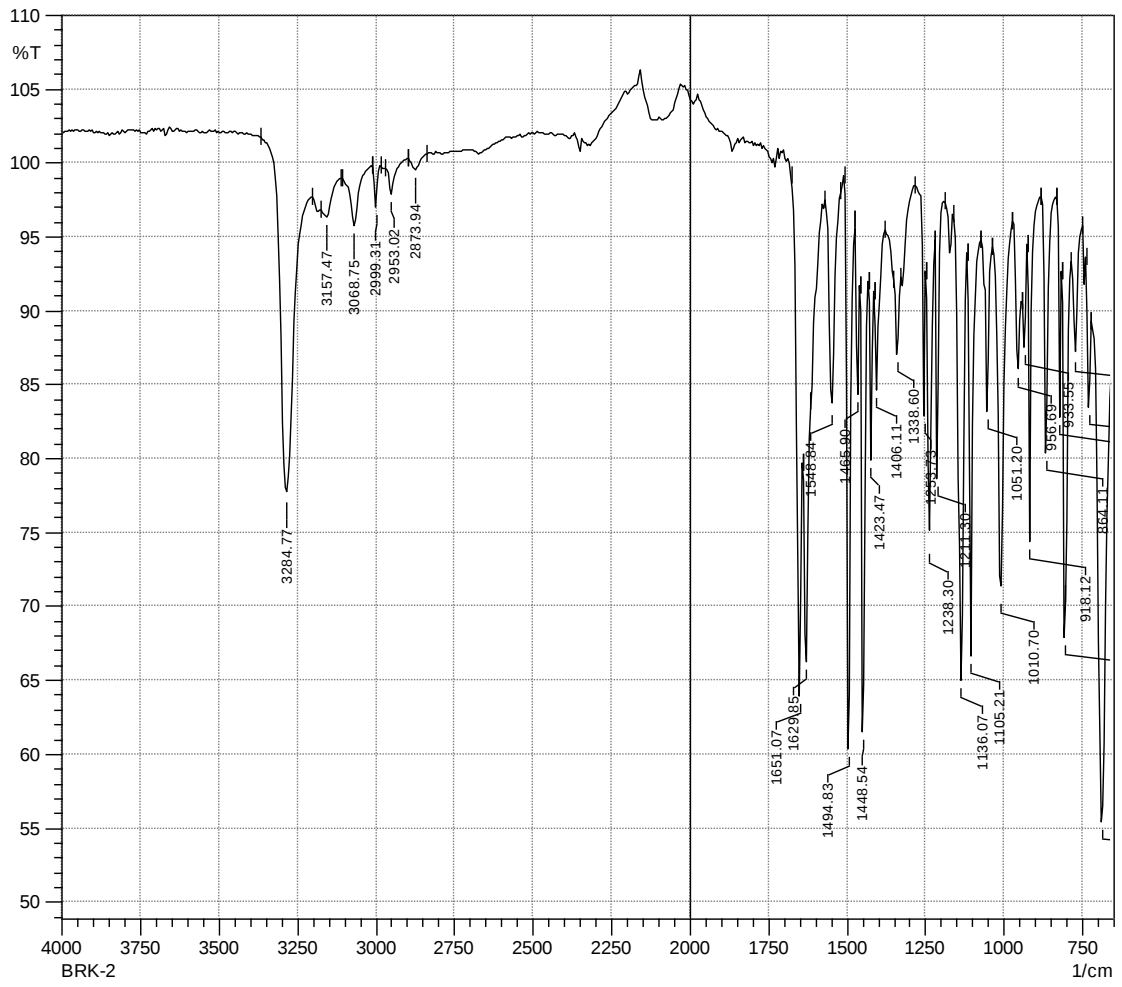
Şekil 4.4. Bileşik 1'in HRMS spektrumu

4.1.2. 2-[(5-Klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (2)

Verim : %66

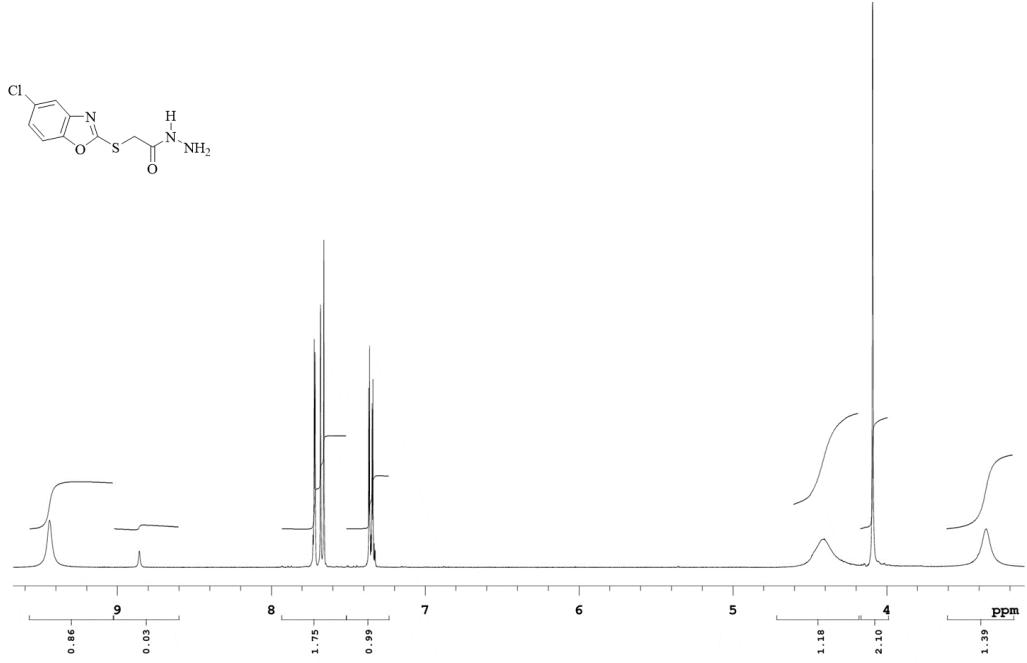
E.N. : 159-161 °C, Literatür E.N.: 190-192 °C (İbrahim vd., 2015).

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3284.77, 3157.47, 3068.75, 2999.31, 2953.02, 2873.94, 1651.07, 1629.85, 1548.84, 1494.83, 1465.90, 1448.54, 1423.47, 1406.11, 1338.60, 1253.73, 1238.30, 1211.30, 1136.07, 1105.21, 1051.20, 1010.70, 956.69, 933.55, 918.12, 864.11, 821.68, 806.25, 773.46, 729.09, 686.66 (Şekil 4.5).



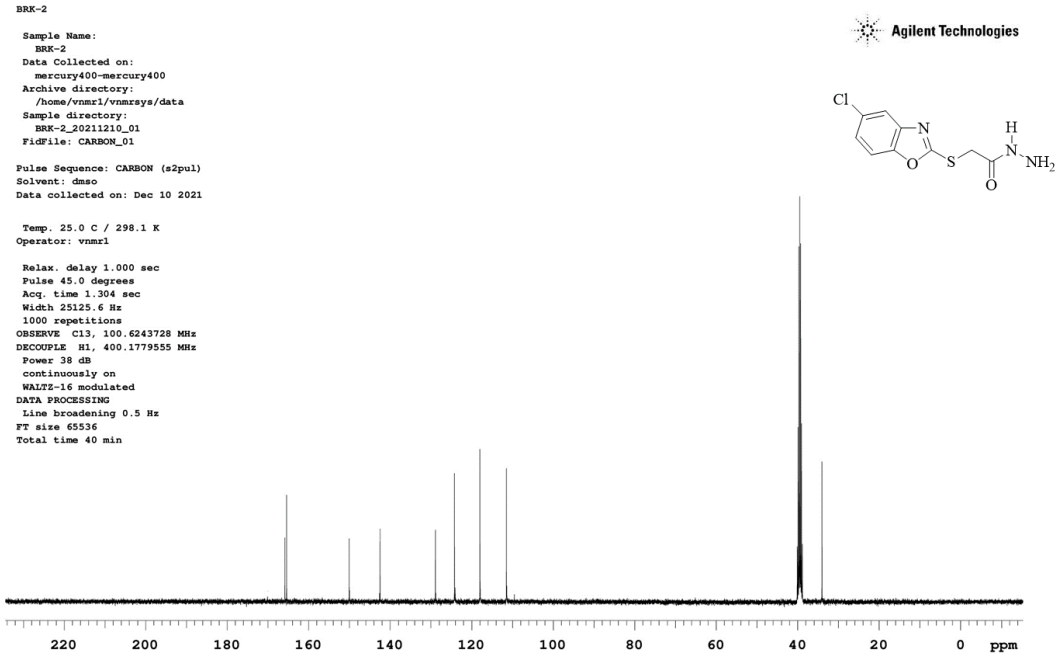
Şekil 4.5. Bileşik 2'nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 3.35 (brs, 1H), 4.10 (s, 2H), 4.40 (brs, 1H), 7.35 (dd, $J = 8.6$ Hz, 2.2 Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.86 ve 9.44 (2brs, 1H) (Şekil 4.6).



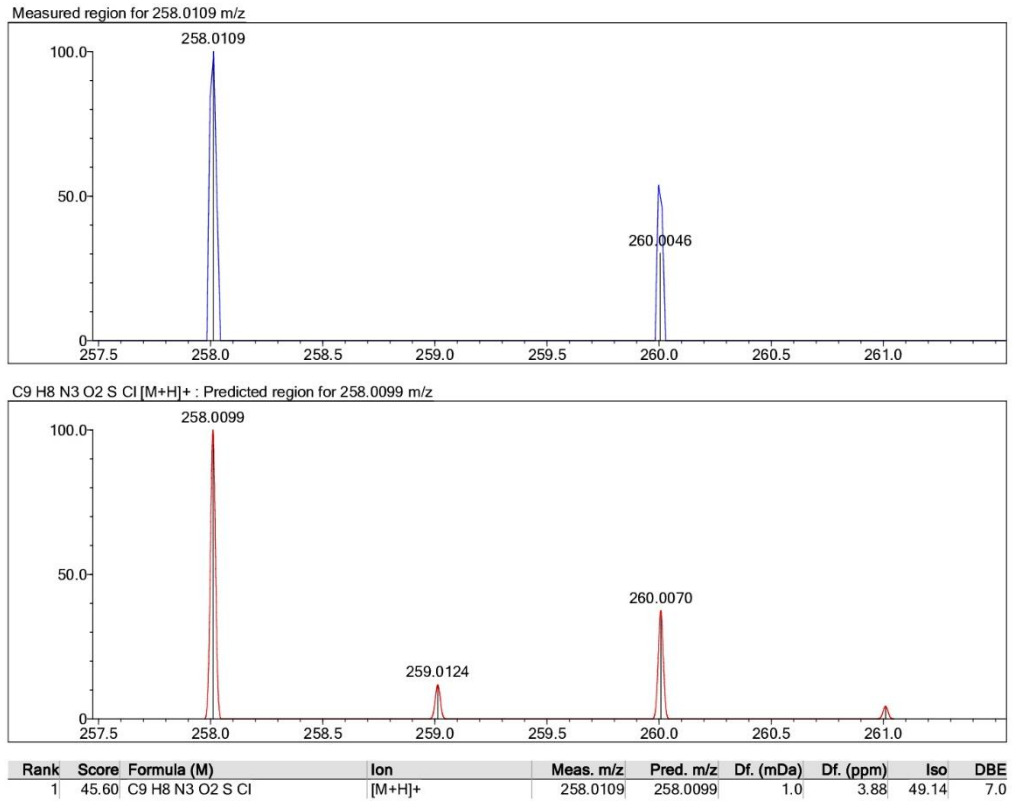
Şekil 4.6. Bileşik 2'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 34.06 (CH_2), 111.50 (CH), 117.99 (CH), 124.24 (CH), 128.93 (C), 142.50 (C), 150.09 (C), 165.45 (C), 165.87 (C) (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Bileşik 2'nin ^{13}C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_9\text{H}_8\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ için hesaplanan: 258.0099, bulunan: 258.0109 (Şekil 4.8).



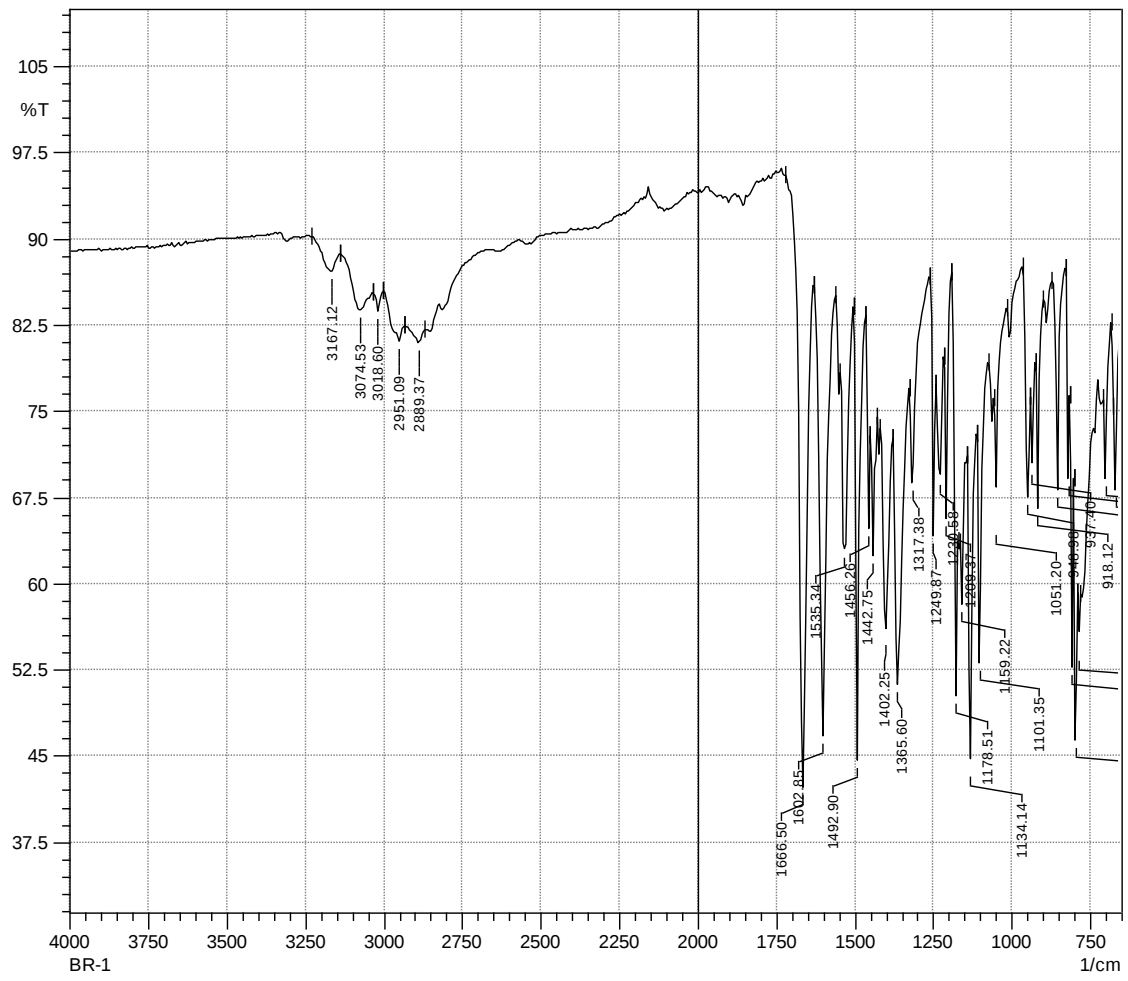
Şekil 4.8. Bileşik 2'nin HRMS spektrumu

4.1.3. *N'*-(4-Dimetilaminobenziliden)-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3a)

Verim : %62

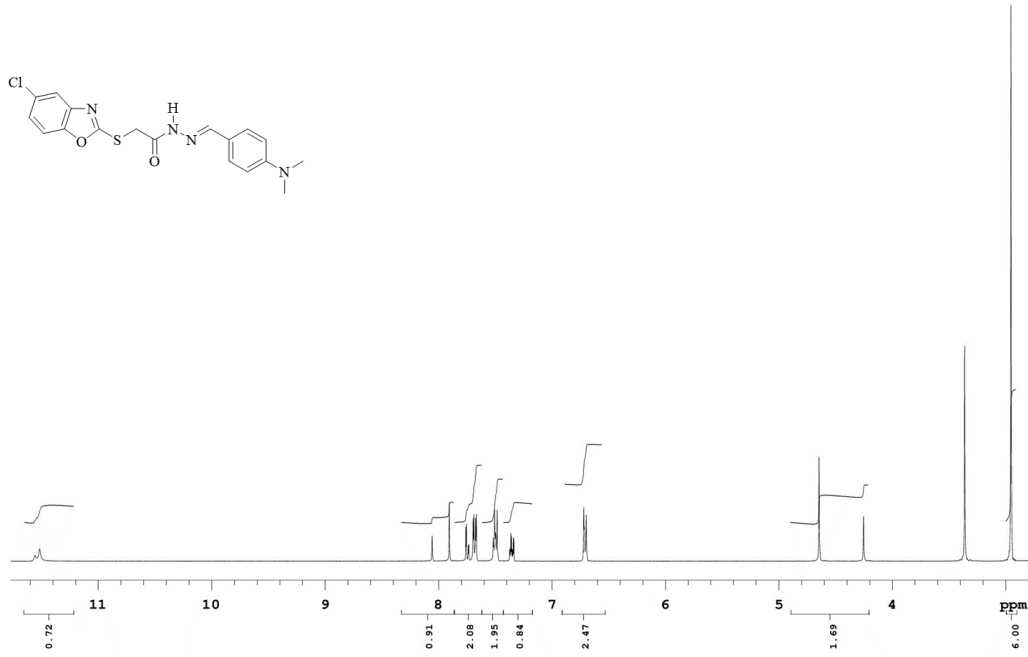
E.N. : 197-199 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3167.12, 3074.53, 3018.60, 2951.09, 2889.37, 1666.50, 1602.85, 1535.34, 1492.90, 1456.26, 1442.75, 1402.25, 1365.60, 1317.38, 1249.87, 1230.58, 1209.37, 1178.51, 1159.22, 1134.14, 1101.35, 1051.20, 948.98, 937.40, 918.12, 854.47, 819.75, 808.17, 796.60, 786.96, 702.09, 669.30 (Şekil 4.9).



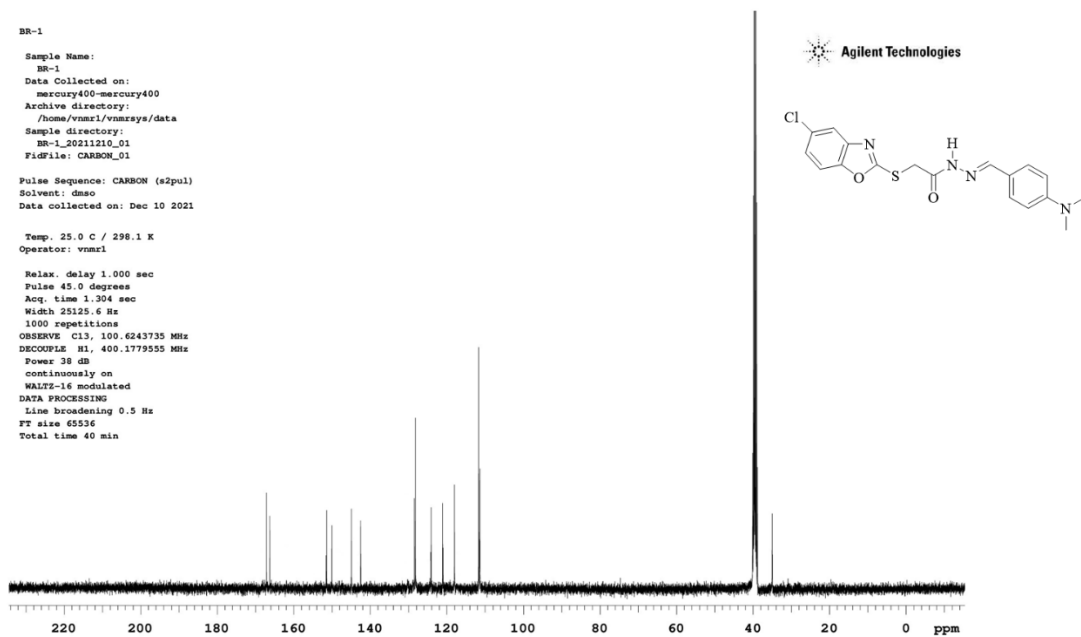
Şekil 4.9. Bileşik 3a'nın IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2.96 (s, 6H), 4.25 ve 4.65 (2s, 2H), 6.71 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.35 (d, J = 8.8 Hz, 2.0 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.68 (dd, J = 8.8 Hz, 2.6 Hz, 1H), 7.75 (dd, J = 8.4 Hz, 2.0 Hz, 1H), 7.91 ve 8.06 (2s, 1H), 11.52 ve 11.56 (2brs, 1H) (Şekil 4.10).



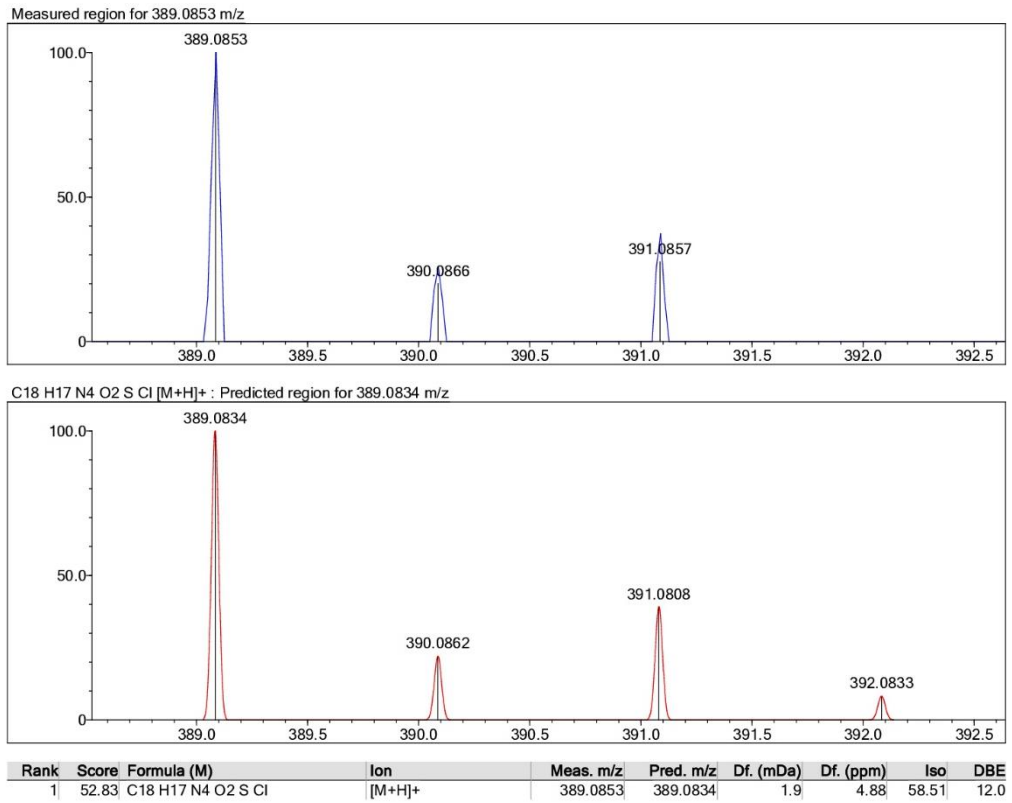
Şekil 4.10. Bileşik 3a'nın ¹H NMR spektrumu

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 35.02 (CH₂), 39.64 (2CH₃), 111.42 (CH), 111.73 (2CH), 118.06 (CH), 121.15 (CH), 124.15 (C), 128.24 (2CH), 128.52 (C), 142.58 (C), 144.96 (CH), 150.10 (C), 151.43 (C), 166.32 (C), 167.19 (C) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Bileşik 3a'nın ¹³C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (*m/z*): [M+H]⁺ C₁₈H₁₇ClN₄O₂S için hesaplanan: 389.0834, bulunan: 389.0853 (Şekil 4.12).



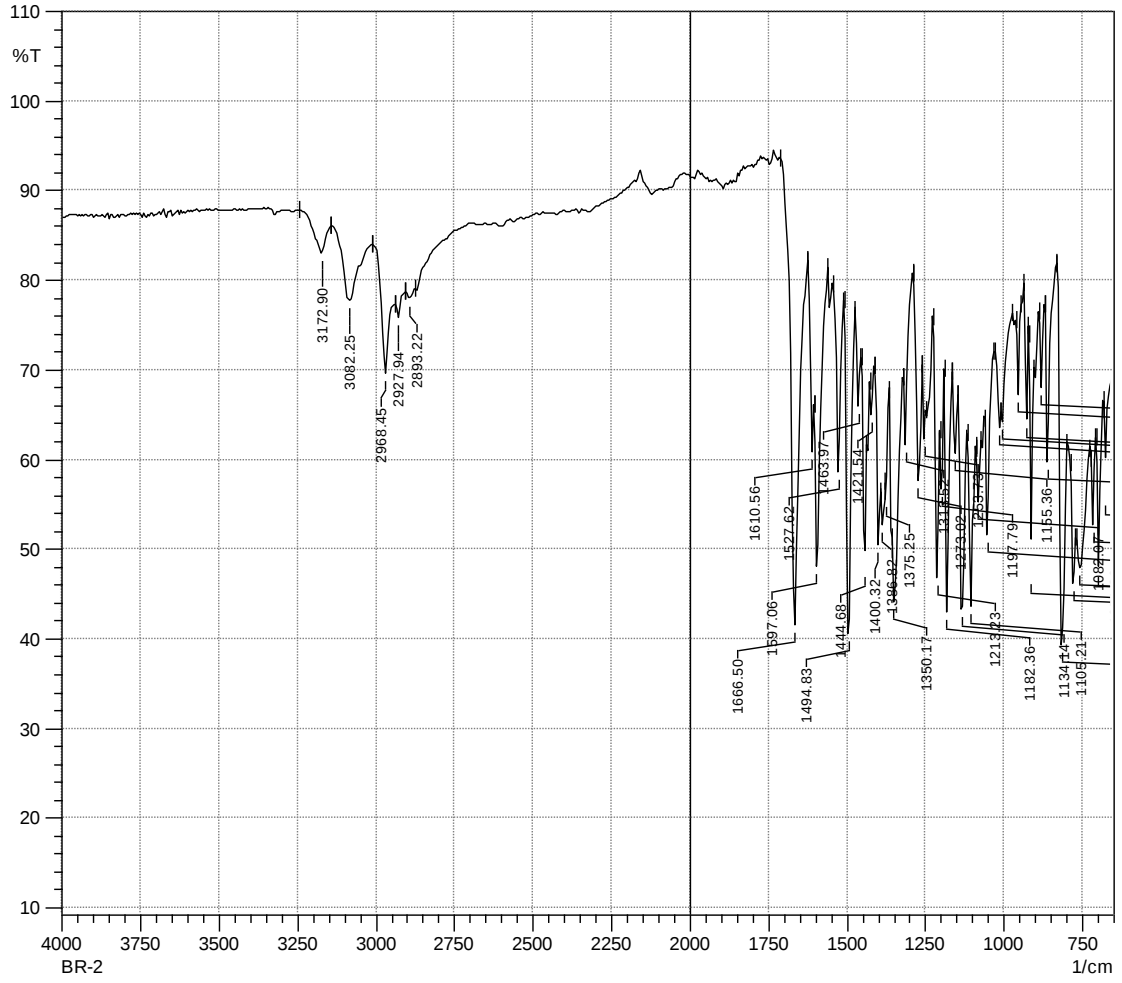
Şekil 4.12. Bileşik 3a'nın HRMS spektrumu

4.1.4. N'-(4-Dietilaminobenziliden)-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3b)

Verim : %65

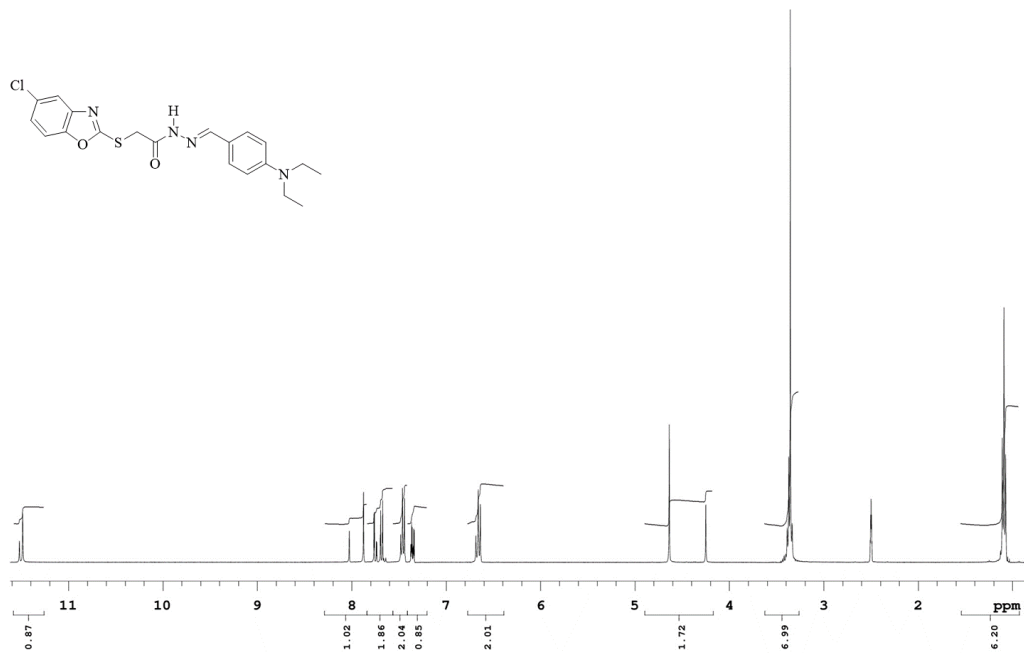
E.N. : 172-173 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3172.90, 3082.25, 2968.45, 2927.94, 2893.22, 1666.50, 1610.56, 1597.06, 1527.62, 1494.83, 1463.97, 1444.68, 1421.54, 1400.32, 1386.82, 1375.25, 1350.17, 1313.52, 1273.02, 1253.73, 1213.23, 1197.79, 1182.36, 1155.36, 1134.14, 1105.21, 1082.07, 1051.20, 1012.63, 1004.91, 954.76, 929.69, 914.26, 881.47, 860.25, 813.96, 779.24, 758.02, 715.59, 700.16, 677.01 (Şekil 4.13).



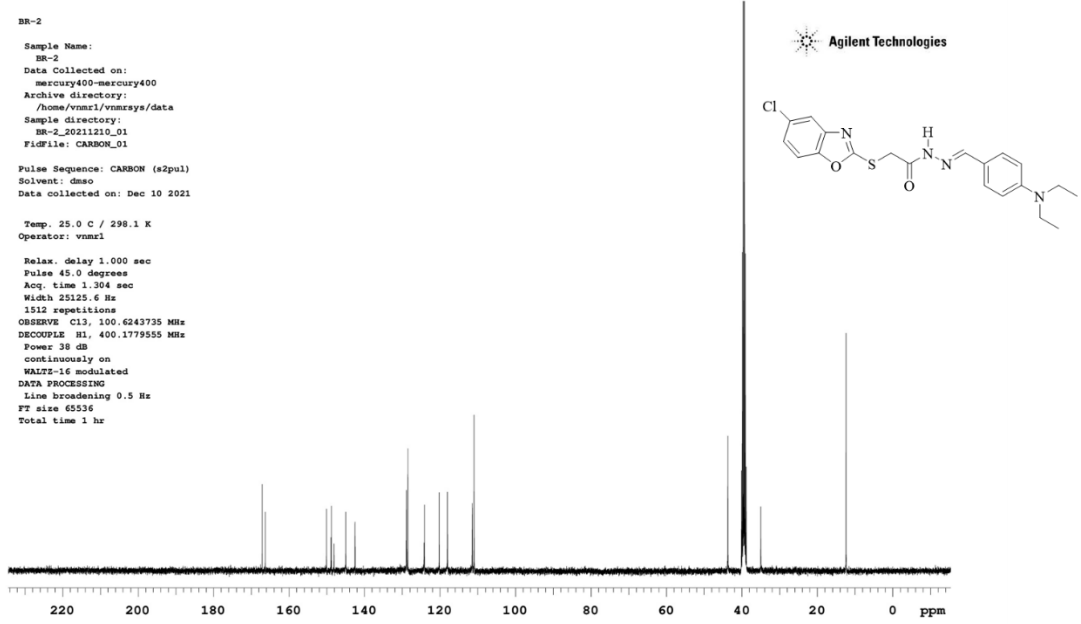
Şekil 4.13. Bileşik 3b'nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.09 (t, J = 7.0 Hz, 6H), 3.34-3.39 (m, 4H), 4.25 ve 4.64 (2s, 2H), 6.65 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.35 (dd, J = 8.6 Hz, 2.2 Hz, 1H), 7.45 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.69 (dd, J = 8.6 Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.75 (dd, J = 10.0 Hz, 2.0 Hz, 1H), 7.88 ve 8.03 (2s, 1H), 11.49 ve 11.52 (2s, 1H) (Şekil 4.14).



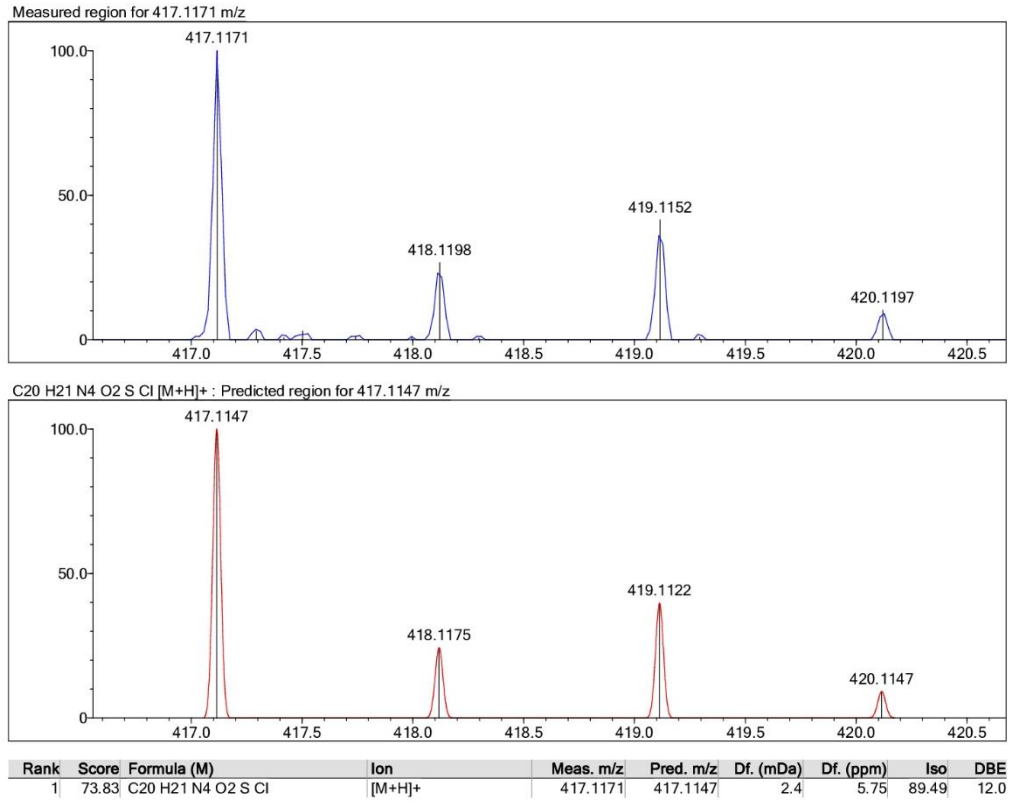
Şekil 4.14. Bileşik **3b**'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 12.41 (2CH_3), 35.01 (CH_2), 43.74 (2CH_2), 111.02 (2CH), 111.47 (CH), 118.06 (CH), 120.22 (CH), 124.15 (C), 128.57 (2CH), 128.91 (C), 142.59 (C), 145.00 (CH), 148.77 (C), 150.11 (C), 166.33 (C), 167.14 (C) (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Bileşik 3b'nin ^{13}C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$ için hesaplanan: 417.1147, bulunan: 417.1171 (Şekil 4.16).



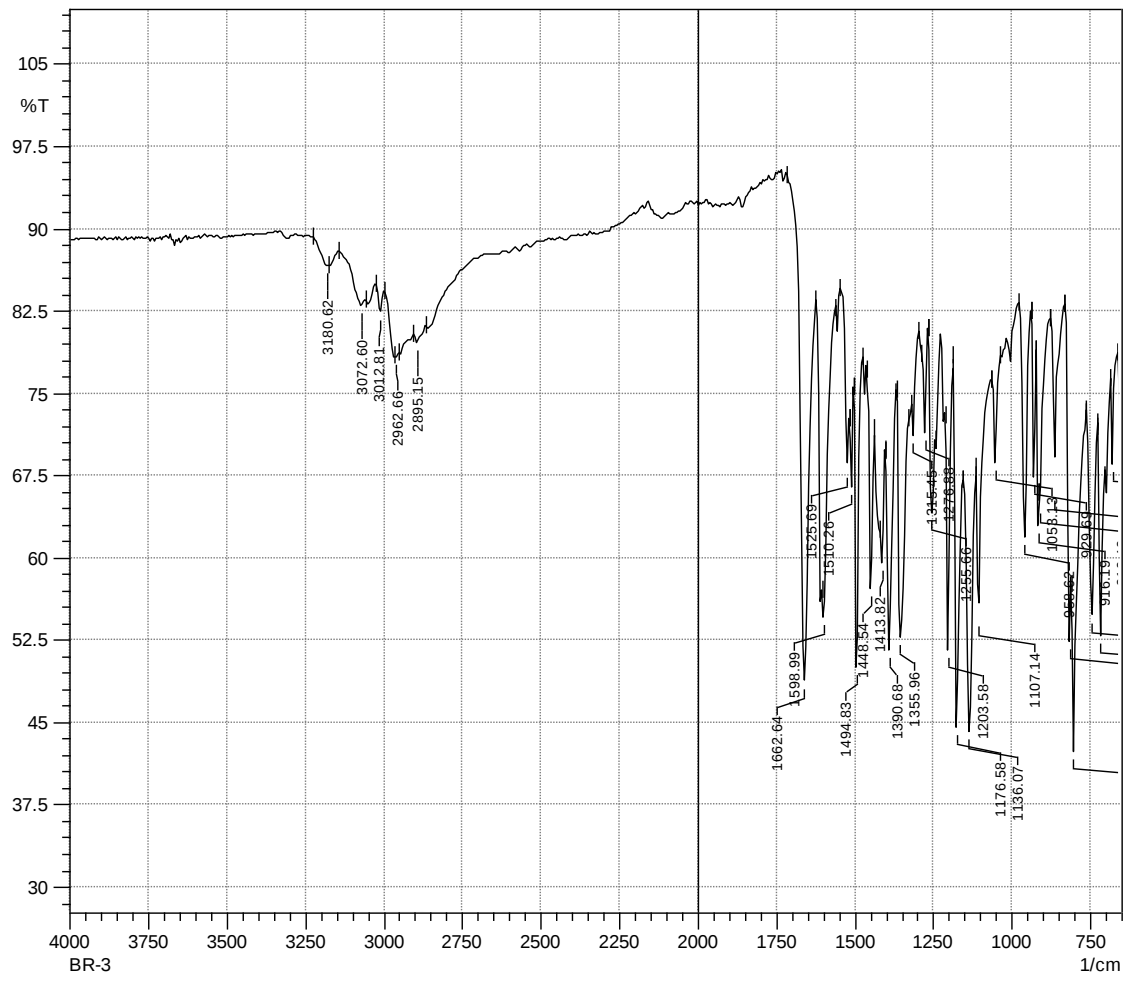
Şekil 4.16. Bileşik 3b'nin HRMS spektrumu

4.1.5. N'-[4-(Bis(2-kloroetil)amino)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3c)

Verim : %47

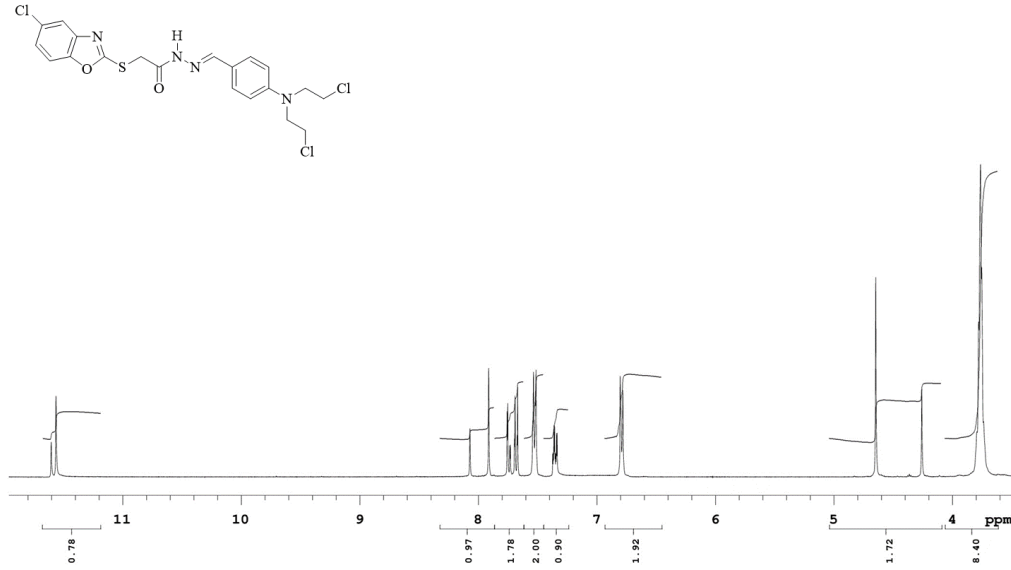
E.N. : 155-156 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3180.62, 3072.60, 3012.81, 2962.66, 2895.15, 1662.64, 1598.99, 1525.69, 1510.26, 1494.83, 1448.54, 1413.82, 1390.68, 1355.96, 1315.45, 1276.88, 1255.66, 1203.58, 1176.58, 1136.07, 1107.14, 1053.13, 958.62, 929.69, 916.19, 910.40, 864.11, 815.89, 804.32, 746.45, 717.52, 678.94 (Şekil 4.17).



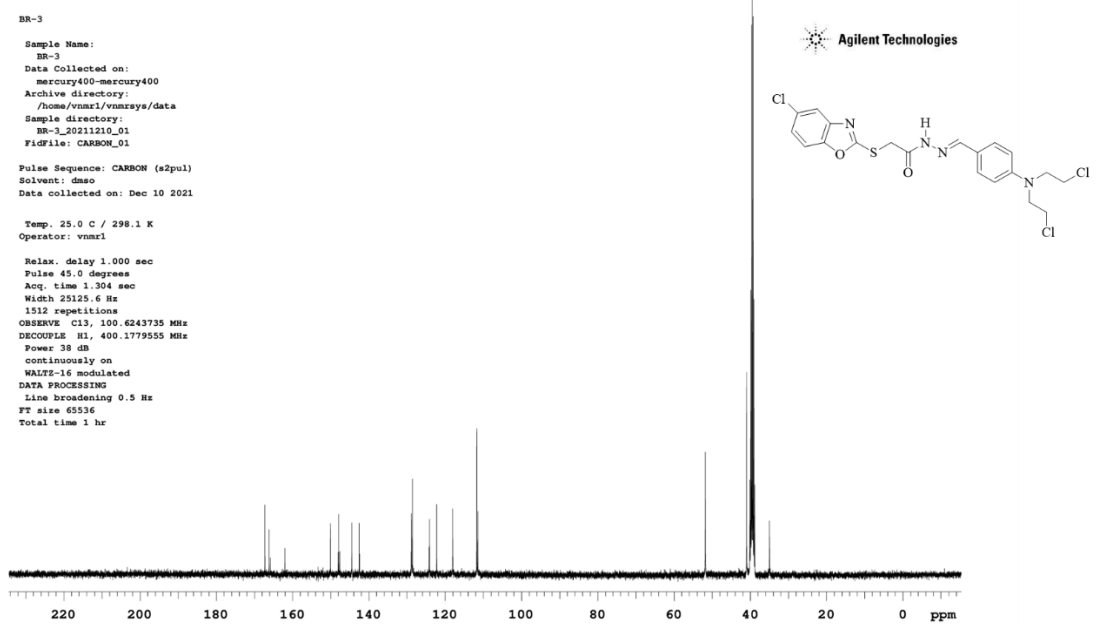
Şekil 4.17. Bileşik 3c'nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 3.74-3.79 (m, 8H), 4.26 ve 4.65 (2s, 2H), 6.79 (d, $J= 9.2$ Hz, 2H), 7.35 (dd, $J= 8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.52 (d, $J= 9.2$ Hz, 2H), 7.68 (dd, $J= 8.6$ Hz, 2.2 Hz, 1H), 7.74 (dd, $J= 9.0$ Hz, 2.2 Hz, 1H), 7.91 ve 8.07 (2s, 1H), 11.56 ve 11.60 (2s, 1H) (Şekil 4.18).



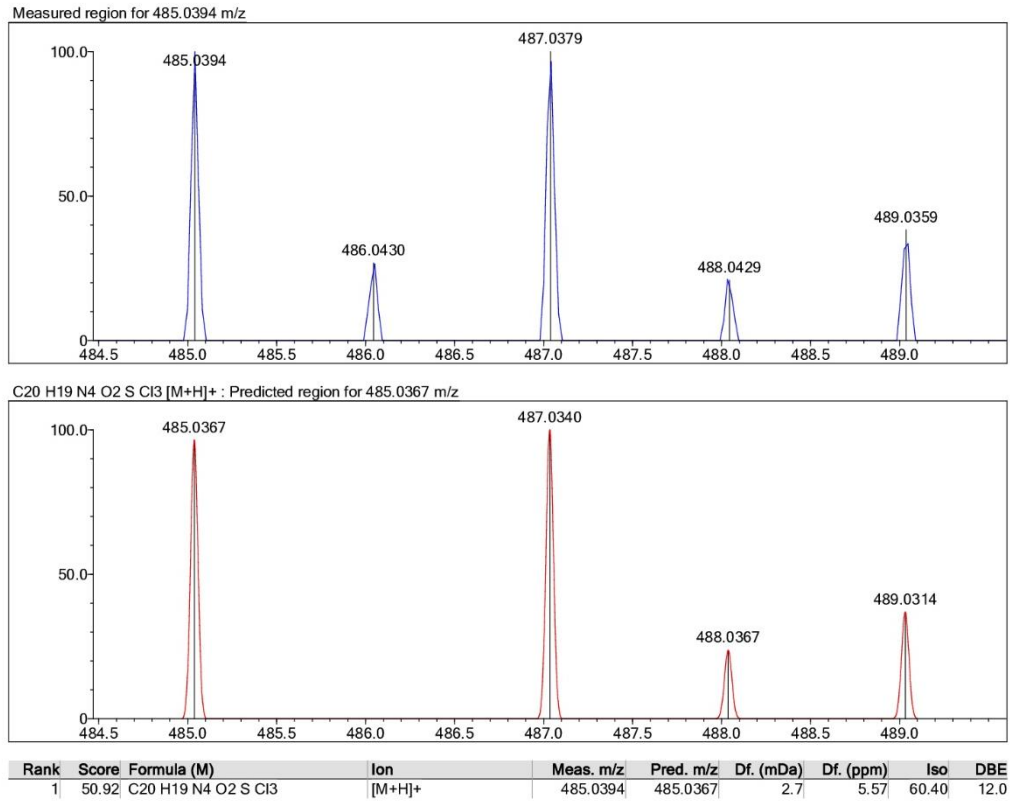
Şekil 4.18. Bileşik 3c'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 35.00 (CH_2), 40.98 (2CH_2), 51.85 (2CH_2), 111.46 (CH), 111.76 (2CH), 118.06 (CH), 122.29 (CH), 124.15 (C), 128.59 (2CH), 128.91 (C), 142.56 (C), 144.53 (CH), 147.94 (C), 150.11 (C), 166.28 (C), 167.31 (C) (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Bileşik 3c'nin ^{13}C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ için hesaplanan: 485.0367, bulunan: 485.0394 (Şekil 4.20).



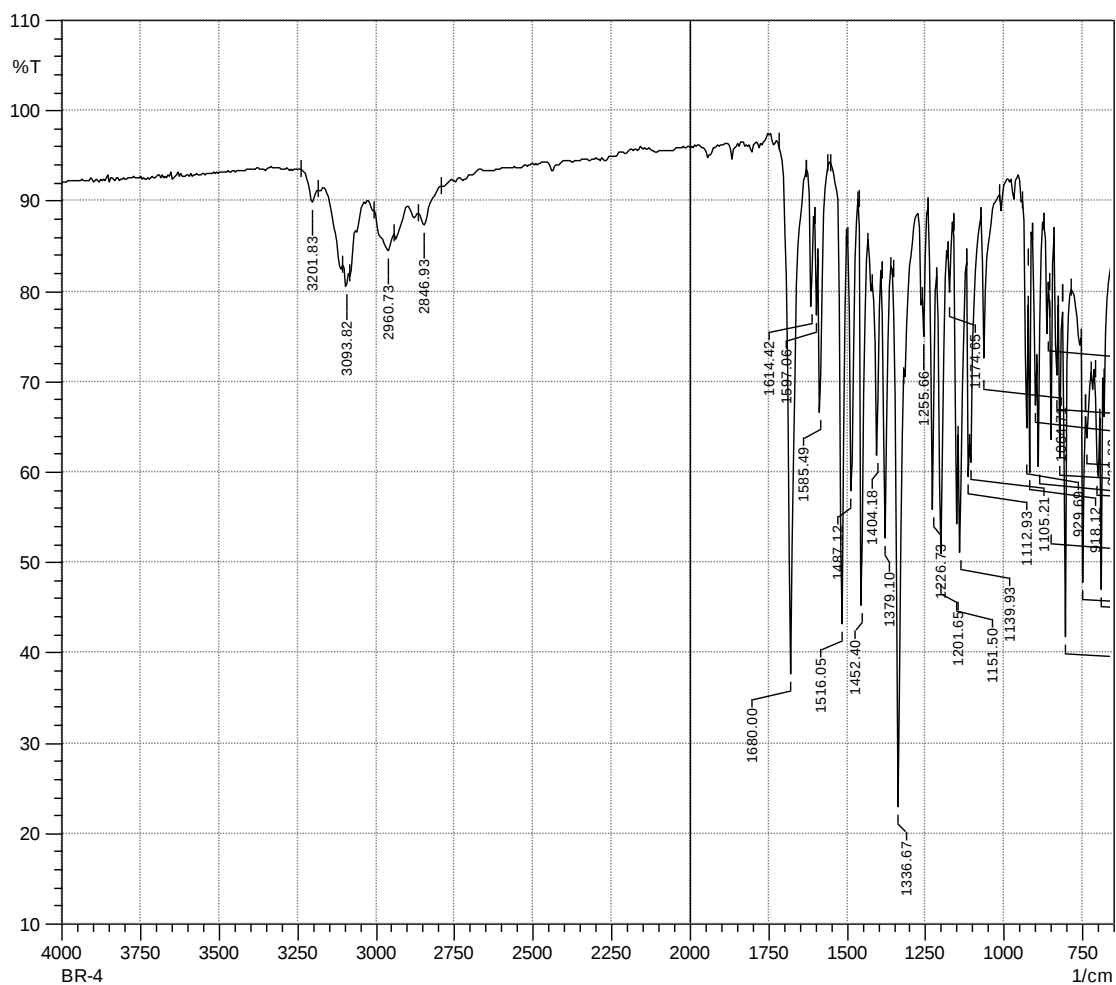
Şekil 4.20. Bileşik 3c'nin HRMS spektrumu

4.1.6. N'-(4-Nitrobenziliden)-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3d)

Verim : %88

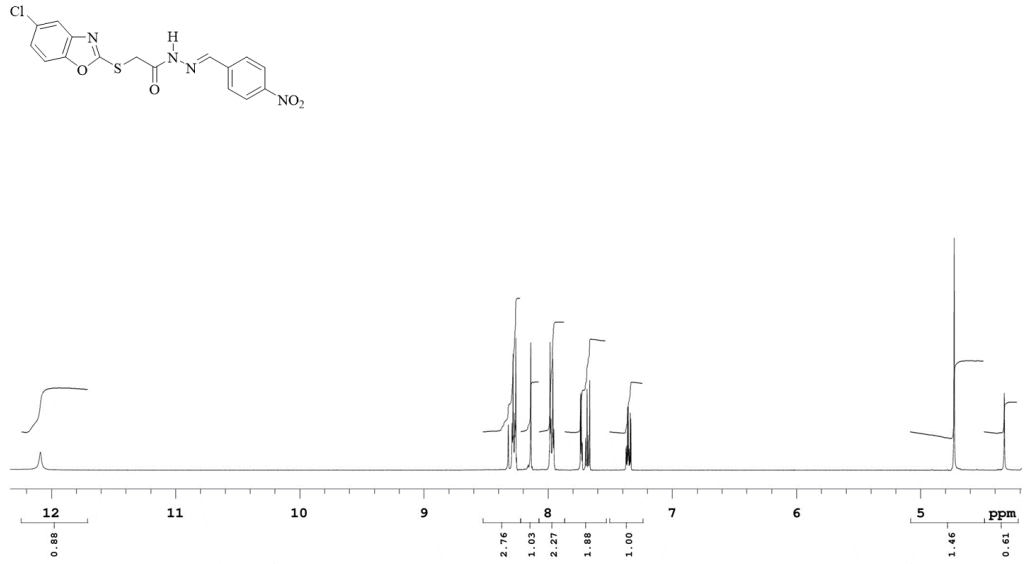
E.N. : 237-239 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3201.83, 3093.82, 2960.73, 2846.93, 1680.00, 1614.42, 1597.06, 1585.49, 1516.05, 1487.12, 1452.40, 1404.18, 1379.10, 1336.67, 1255.66, 1226.73, 1201.65, 1151.50, 1139.93, 1112.93, 1105.21, 1064.71, 929.69, 918.12, 898.83, 889.18, 860.25, 850.61, 833.25, 821.68, 804.32, 748.38, 736.81, 704.02, 690.52 (Şekil 4.21).



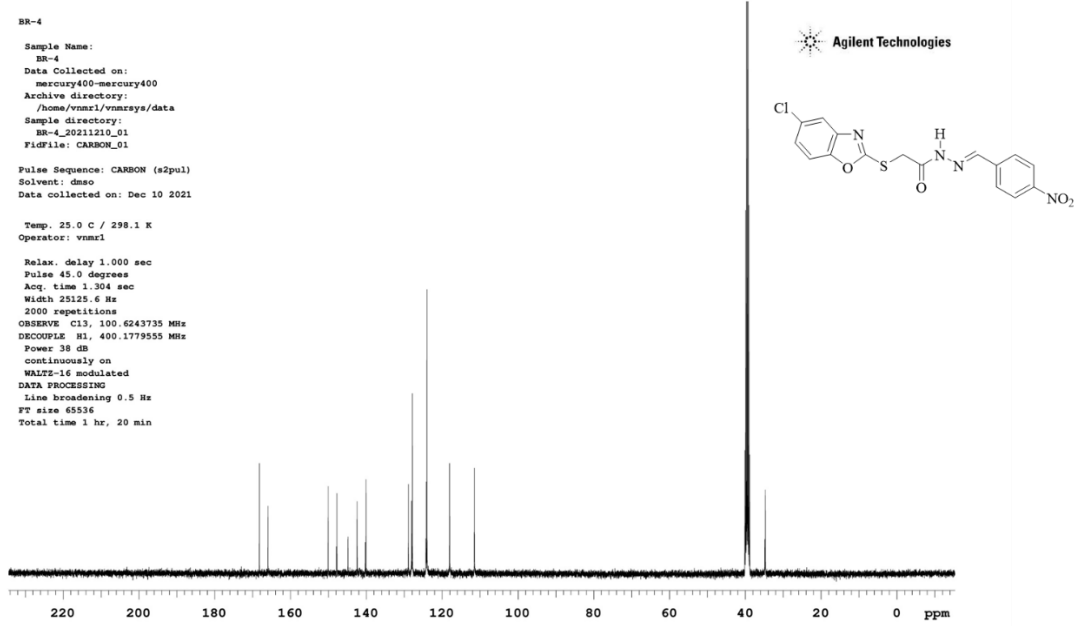
Şekil 4.21. Bileşik 3d'nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 4.33 ve 4.73 (2s, 2H), 7.35 (dd, J = 8.6 Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.68 (dd, J = 8.8 Hz, 4.8 Hz, 1H), 7.73-7.74 (m, 1H), 7.96-7.99 (m, 2H), 8.14 (s, 1H), 8.26-8.32 (m, 2H), 12.09 (brs, 1H) (Şekil 4.22).



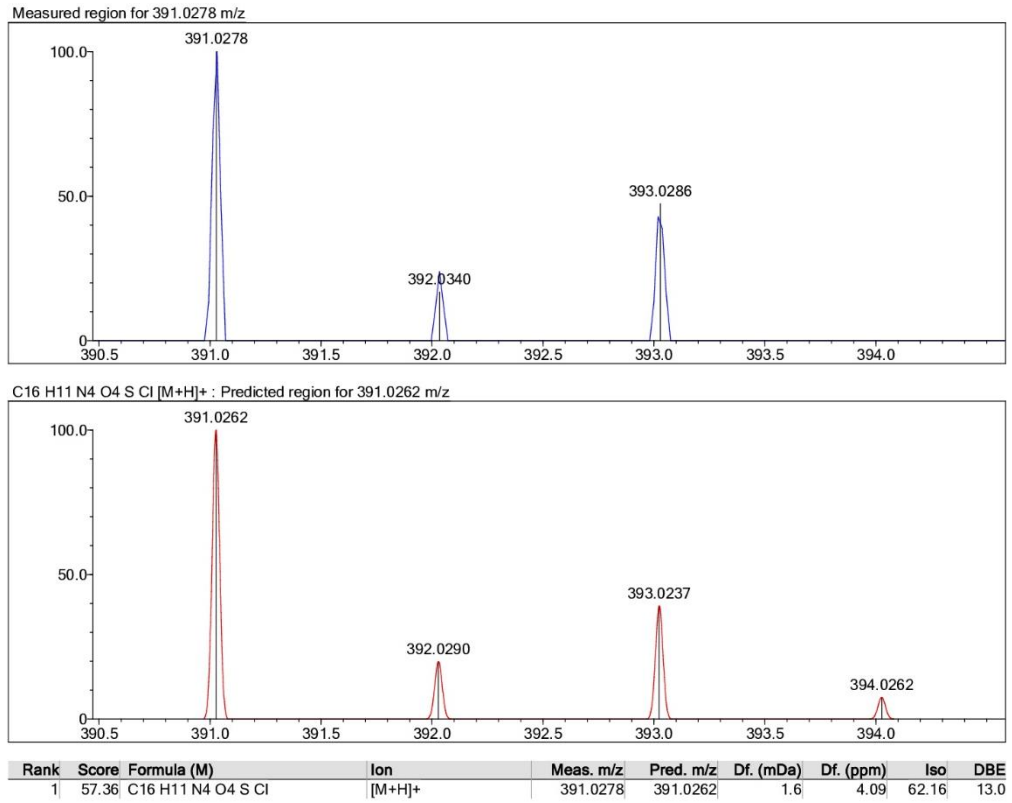
Şekil 4.22. Bileşik 3d'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 34.76 (CH_2), 111.48 (CH), 118.06 (CH), 124.02 (2CH), 124.21 (CH), 127.89 (2CH), 128.94 (C), 140.14 (C), 142.49 (C), 144.87 (CH), 147.80 (C), 150.11 (C), 166.02 (C), 168.27 (C) (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Bileşik 3d'nin ^{13}C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{ClN}_4\text{O}_4\text{S}$ için hesaplanan: 391.0262, bulunan: 391.0278 (Şekil 4.24).



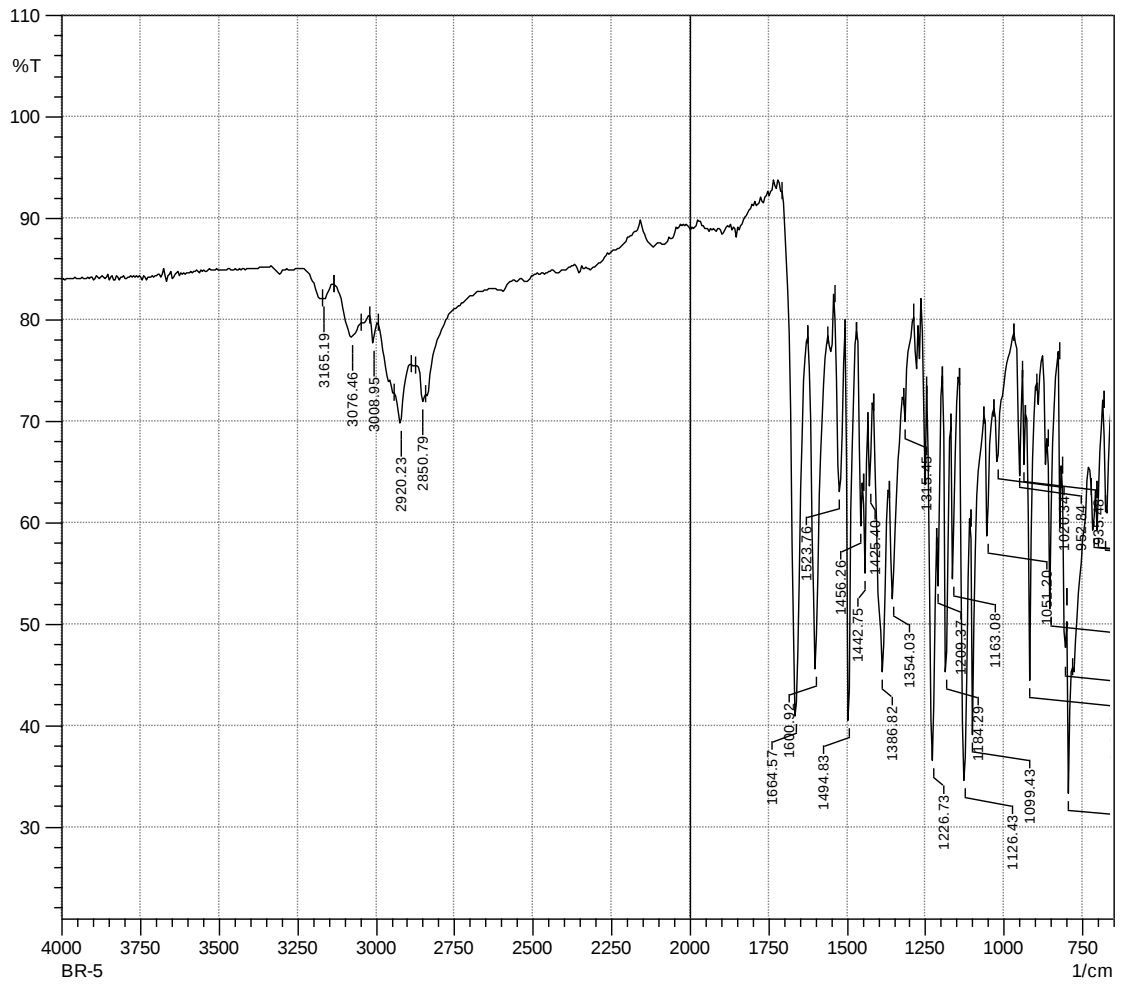
Şekil 4.24. Bileşik 3d'nin HRMS spektrumu

4.1.7. *N'*-[4-(Piperidin-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3e)

Verim : %77

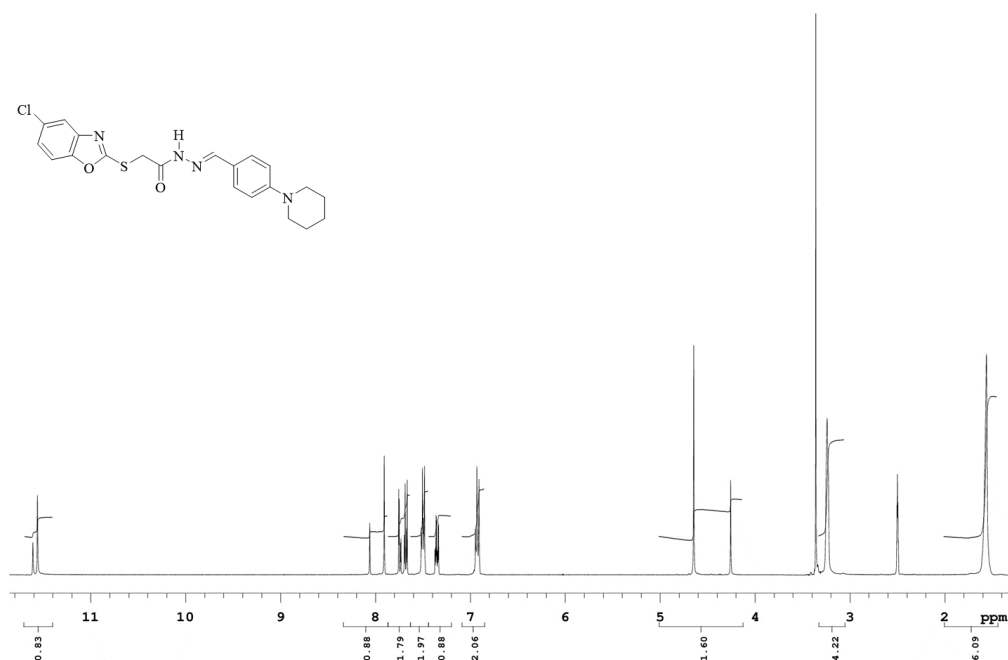
E.N. : 187-188 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3165.19, 3076.46, 3008.95, 2920.23, 2850.79, 1664.57, 1600.92, 1523.76, 1494.83, 1456.26, 1442.75, 1425.40, 1386.82, 1354.03, 1315.45, 1226.73, 1209.37, 1184.29, 1163.08, 1126.43, 1099.43, 1051.20, 1020.34, 952.84, 935.48, 918.12, 852.54, 806.25, 794.67, 715.59, 702.09, 677.01 (Şekil 4.25).



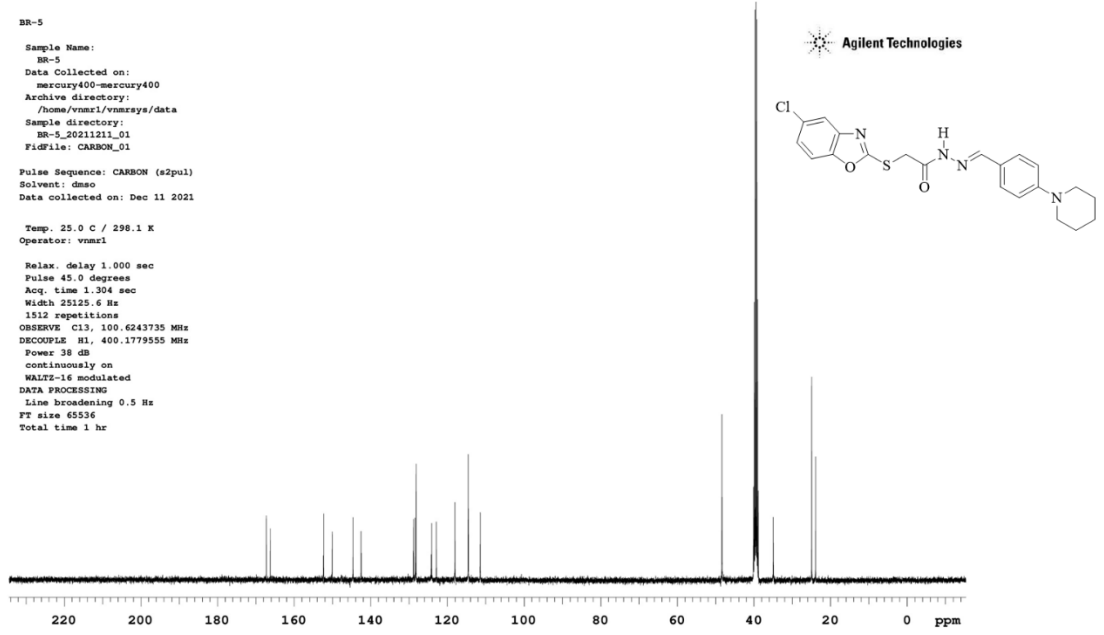
Şekil 4.25. Bileşik 3e'nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 1.56 (brs, 6H), 3.24 (brs, 4H), 4.26 ve 4.65 (2s, 2H), 6.91-6.95 (m, 2H), 7.35 (dd, J = 8.8 Hz, 2.0 Hz, 1H), 7.50 (dd, J = 8.6 Hz, 5.0 Hz, 2H), 7.68 (dd, J = 8.6 Hz, 3.0 Hz, 1H), 7.74 (dd, J = 7.8 Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.91 ve 8.06 (2s, 1H), 11.56 ve 11.61 (2s, 1H) (Şekil 4.26).



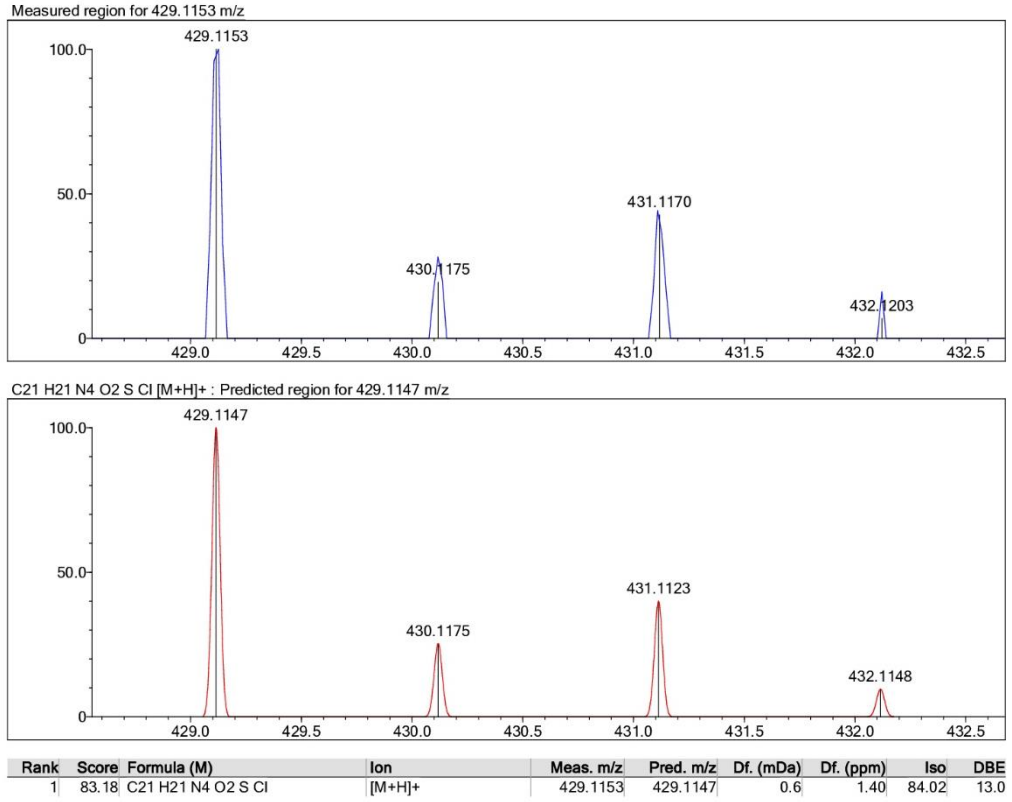
Şekil 4.26. Bileşik 3e'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 23.92 (CH_2), 24.95 (2CH_2), 34.98 (CH_2), 48.40 (2CH_2), 111.47 (CH), 114.58 (2CH), 118.06 (CH), 122.94 (CH), 124.15 (C), 128.18 (2CH), 128.47 (C), 142.57 (C), 144.62 (CH), 150.11 (C), 152.35 (C), 166.28 (C), 167.30 (C) (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. Bileşik 3e'nin ¹³C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (*m/z*): [M+H]⁺ C₂₁H₂₁ClN₄O₂S için hesaplanan: 429.1147, bulunan: 429.1153 (Şekil 4.28).



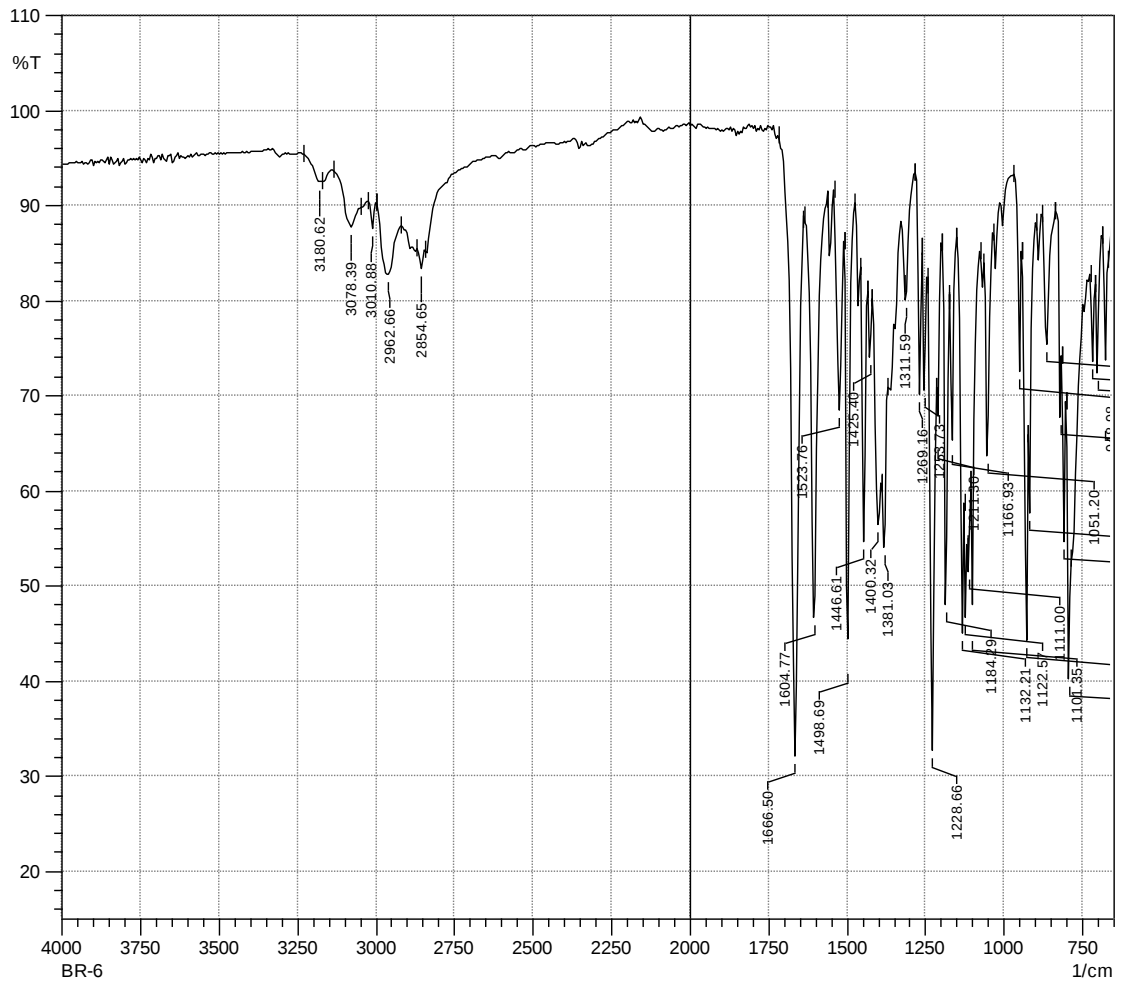
Şekil 4.28. Bileşik 3e'nin HRMS spektrumu

4.1.8. *N'*-[4-(Morfolin-4-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3f)

Verim : %82

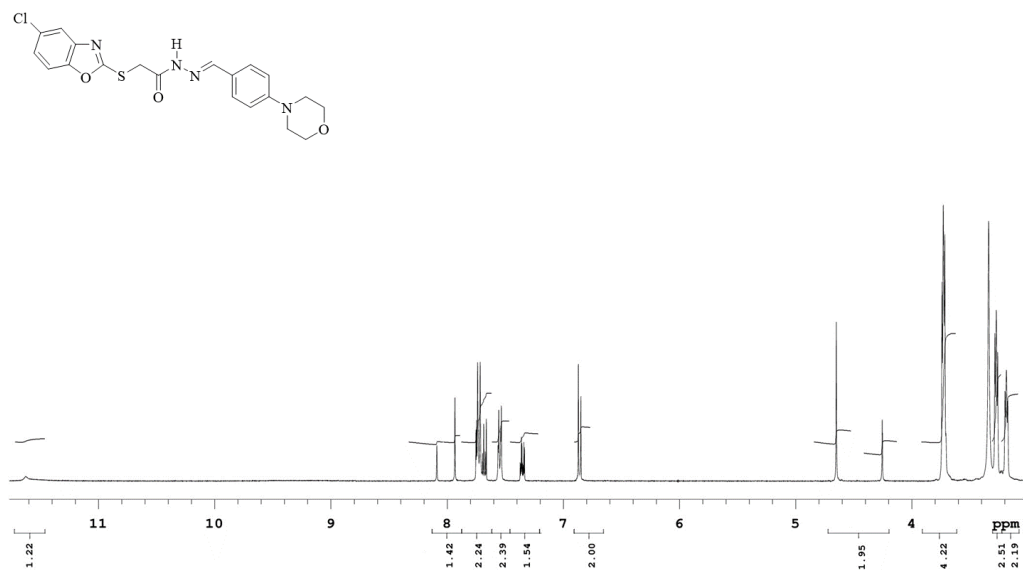
E.N. : 209-210 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3180.62, 3078.39, 3010.88, 2962.66, 2854.65, 1666.50, 1604.77, 1523.76, 1498.69, 1446.61, 1425.40, 1400.32, 1381.03, 1311.59, 1269.16, 1253.73, 1228.66, 1211.30, 1184.29, 1166.93, 1132.21, 1122.57, 1111.00, 1101.35, 1051.20, 948.98, 927.76, 918.12, 862.18, 819.75, 808.17, 792.74, 717.52, 702.09, 677.01 (Şekil 4.29).



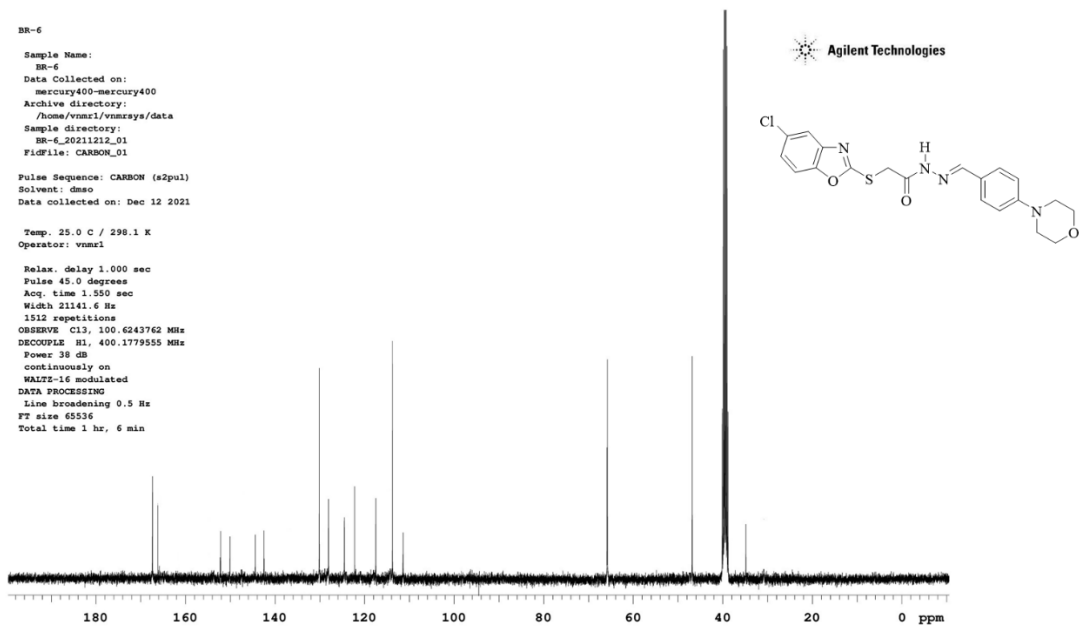
Şekil 4.29. Bileşik 3f'nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 3.19 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.28 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.71-3.75 (m, 4H), 4.26 ve 4.66 (2s, 2H), 6.87 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.35 (dd, J = 8.6 Hz, 2.2 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.69 (dd, J = 8.6 Hz, 3.8 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.94 ve 8.10 (2s, 1H), 11.63 (brs, 1H) (Şekil 4.30).



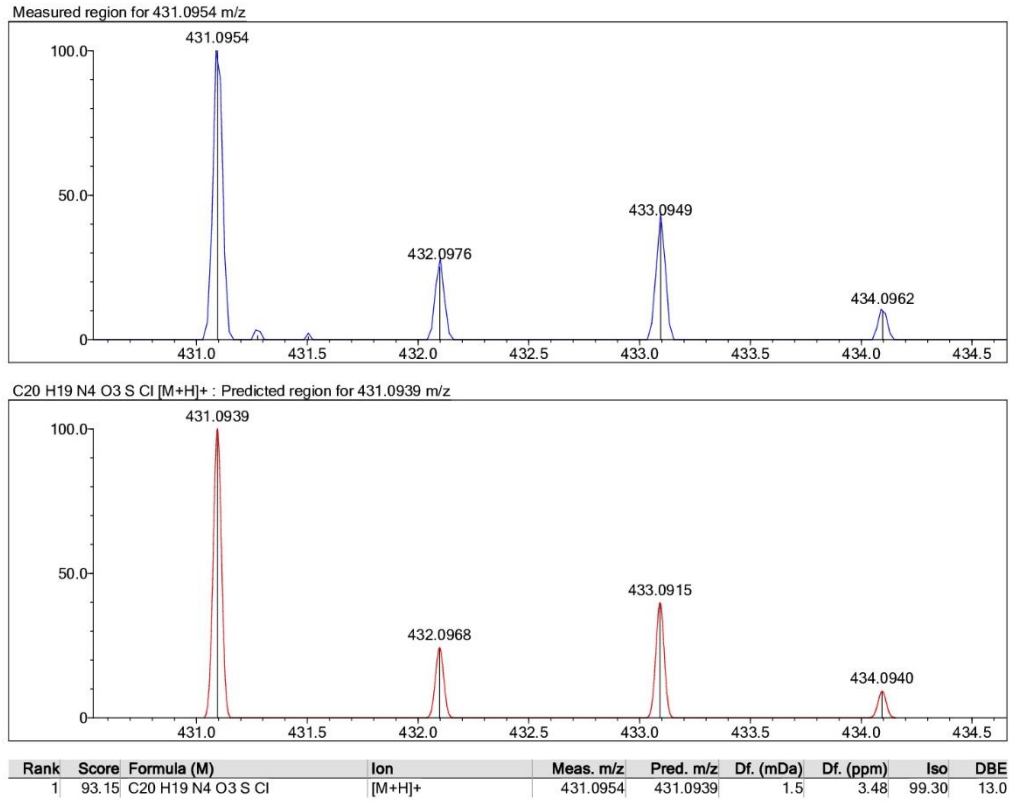
Şekil 4.30. Bileşik 3f'nin ¹H NMR spektrumu

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 34.91 (CH₂), 46.90 (2CH₂), 65.82 (2CH₂), 111.44 (CH), 113.78 (2CH), 117.51 (CH), 122.25 (CH), 124.55 (C), 128.09 (C), 130.12 (2CH), 142.55 (C), 144.46 (CH), 150.09 (C), 152.16 (C), 166.24 (C), 167.37 (C) (Şekil 4.31).



Şekil 4.31. Bileşik 3f'nin ^{13}C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}$ için hesaplanan: 431.0939, bulunan: 431.0954 (Şekil 4.32).



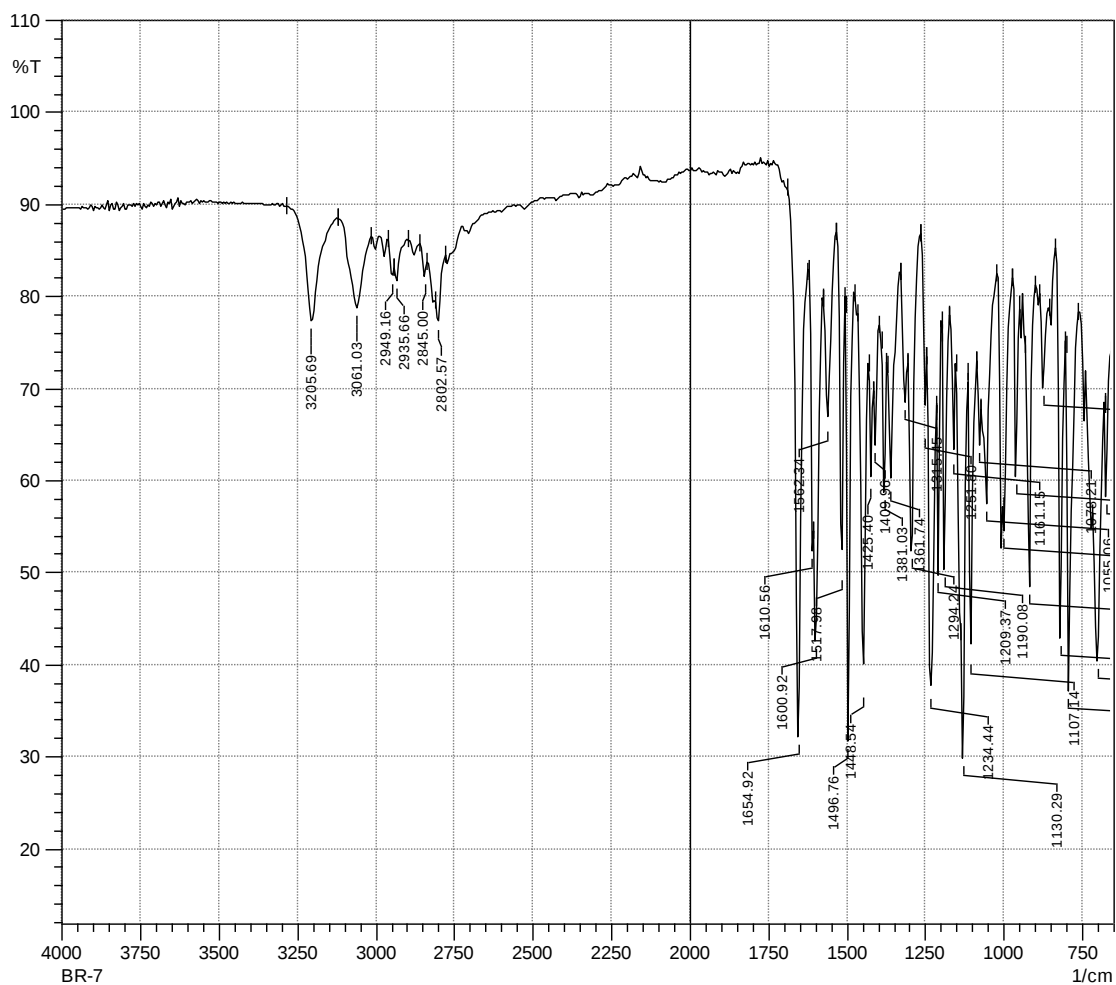
Şekil 4.32. Bileşik 3f'nin HRMS spektrumu

4.1.9. N'-[4-(4-Metilpiperazin-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3g)

Verim : %35

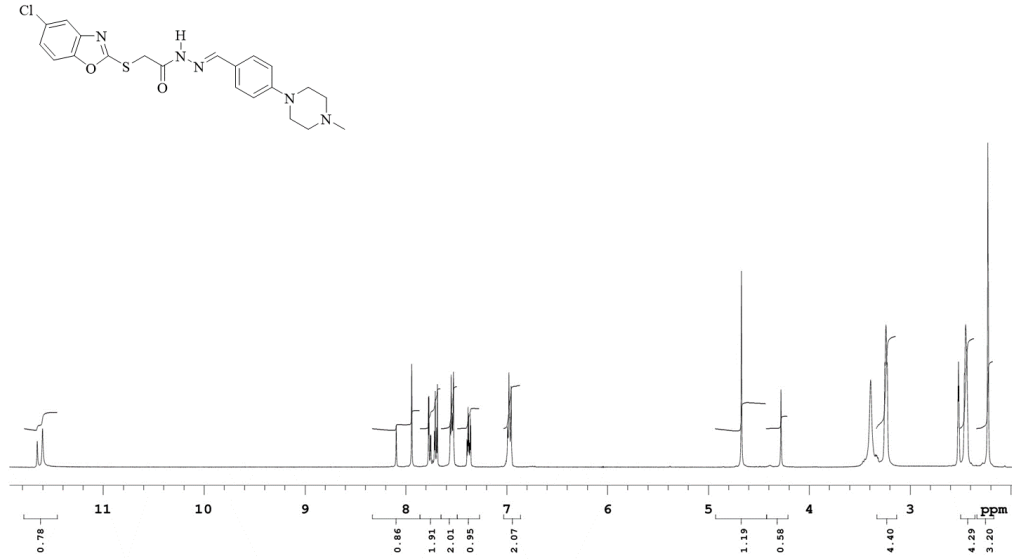
E.N. : 178-179 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3205.69, 3061.03, 2949.16, 2935.66, 2845.00, 2802.57, 1654.92, 1610.56, 1600.92, 1562.34, 1517.98, 1496.76, 1448.54, 1425.40, 1409.96, 1381.03, 1361.74, 1315.45, 1294.24, 1251.80, 1234.44, 1209.37, 1190.08, 1161.15, 1130.29, 1107.14, 1078.21, 1055.06, 999.13, 960.55, 918.12, 875.68, 819.75, 794.67, 700.16, 673.16 (Şekil 4.33).



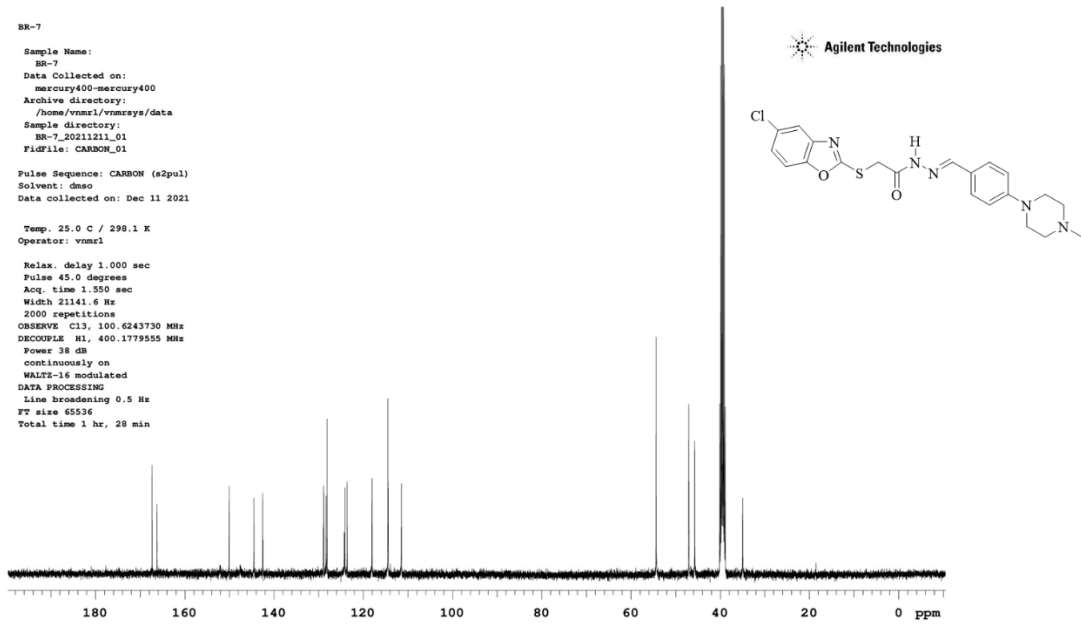
Şekil 4.33. Bileşik 3g'nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 2.23 (s, 3H), 2.45 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 3.24 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H), 4.28 ve 4.67 (2s, 2H), 6.96-6.99 (m, 2H), 7.37 (dd, $J = 8.6$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.55 (dd, $J = 9.2$ Hz, 4.4 Hz, 2H), 7.70 (dd, $J = 8.6$ Hz, 3.4 Hz, 1H), 7.76 (dd, $J = 7.4$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.94 ve 8.10 (2s, 1H), 11.60 ve 11.66 (2s, 1H) (Şekil 4.34).



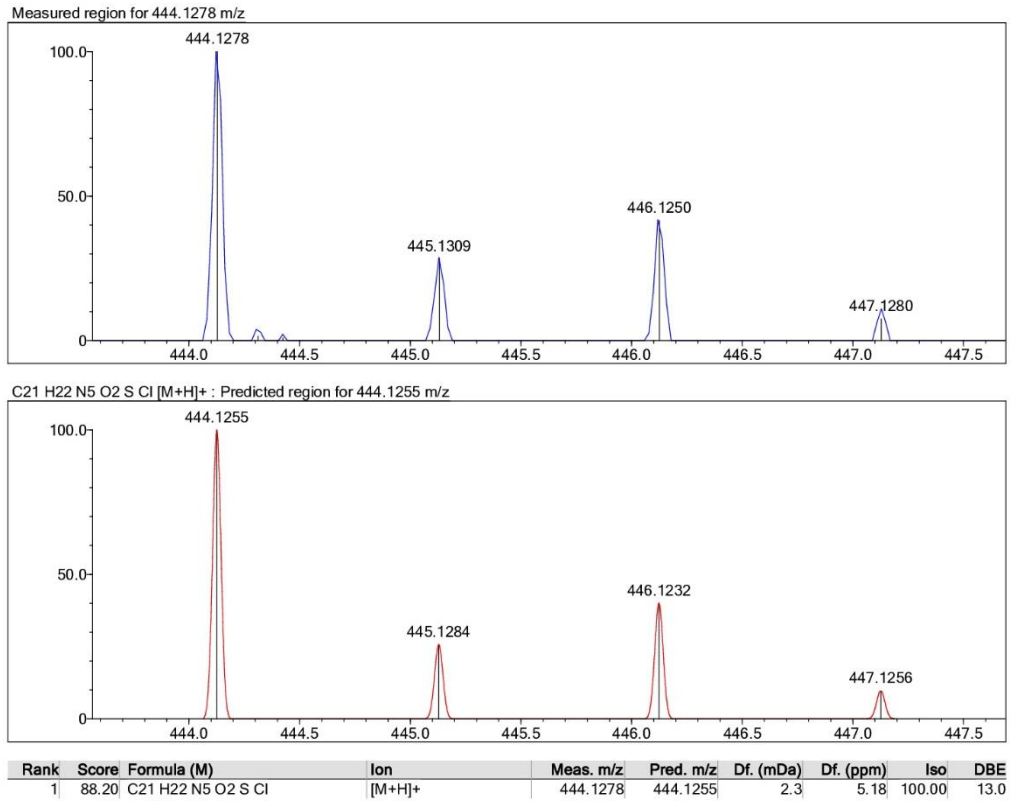
Şekil 4.34. Bileşik 3g'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 34.97 (CH_2), 45.74 (CH_3), 47.09 (2CH_2), 54.40 (2CH_2), 111.47 (CH), 114.50 (2CH), 118.07 (CH), 123.63 (CH), 124.17 (C), 128.16 (2CH), 128.40 (C), 128.91 (C), 142.57 (C), 144.53 (CH), 150.11 (C), 166.28 (C), 167.35 (C) (Şekil 4.35).



Şekil 4.35. Bileşik 3g'nin ^{13}C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{ClN}_5\text{O}_2\text{S}$ için hesaplanan: 444.1255, bulunan: 444.1278 (Şekil 4.36).



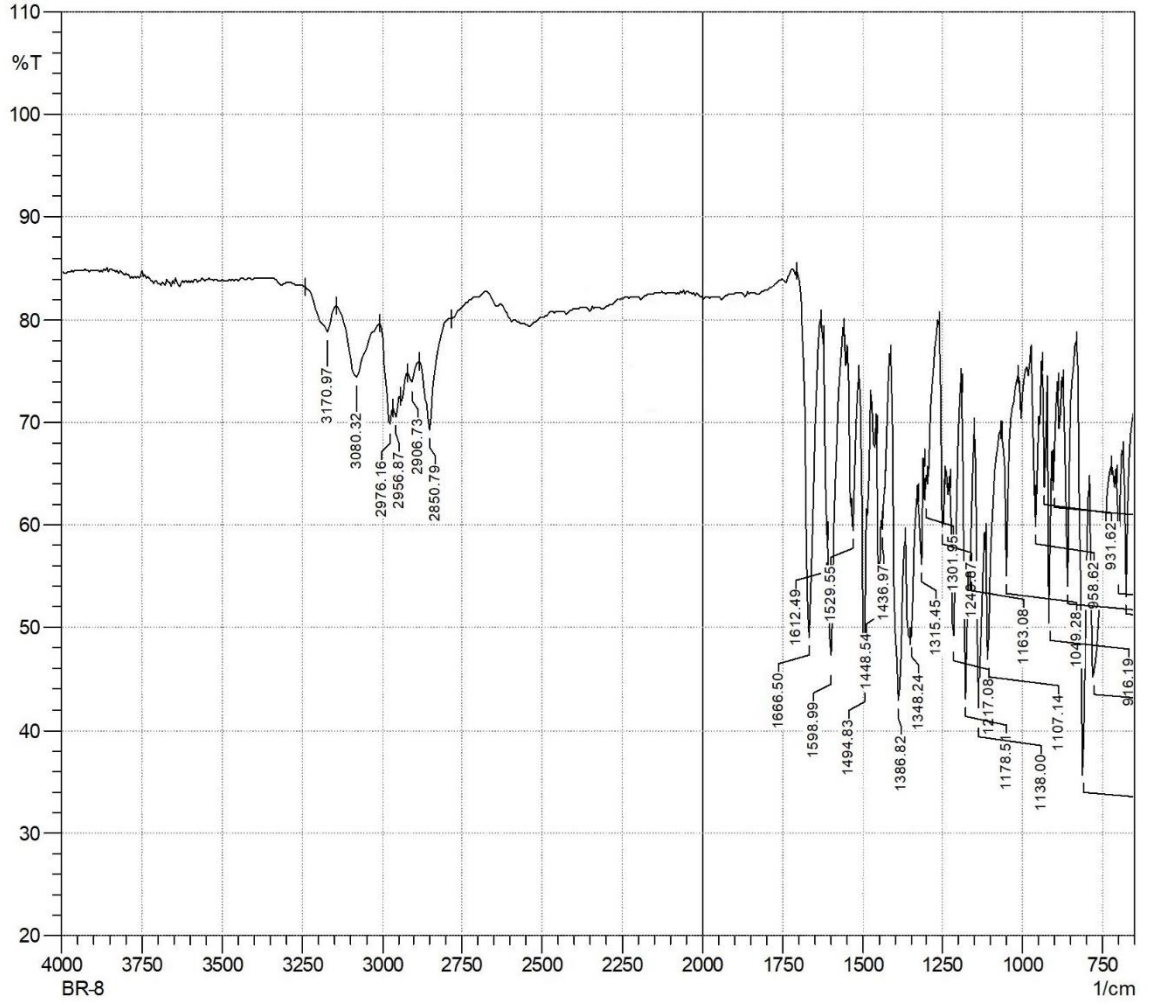
Şekil 4.36. Bileşik 3g'nin HRMS spektrumu

4.1.10. *N'*-[4-(Pirolidin-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3h)

Verim : %82

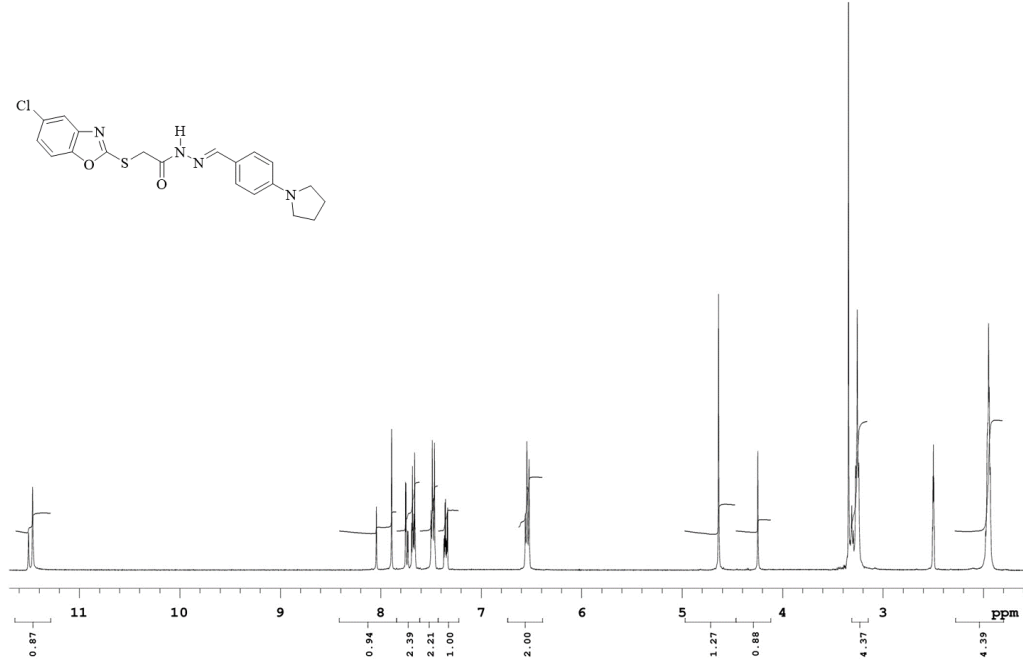
E.N. : 206-207 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3170.97, 3080.32, 2976.16, 2956.87, 2096.73, 2850.79, 1666.50, 1612.49, 1598.99, 1529.55, 1494.83, 1448.54, 1436.97, 1386.82, 1348.24, 1315.45, 1301.95, 1249.87, 1217.08, 1178.51, 1163.08, 1138.00, 1107.14, 1049.28, 958.62, 931.62, 916.19, 902.69, 858.32, 810.10, 779.24, 700.16, 675.09 (Şekil 4.37).



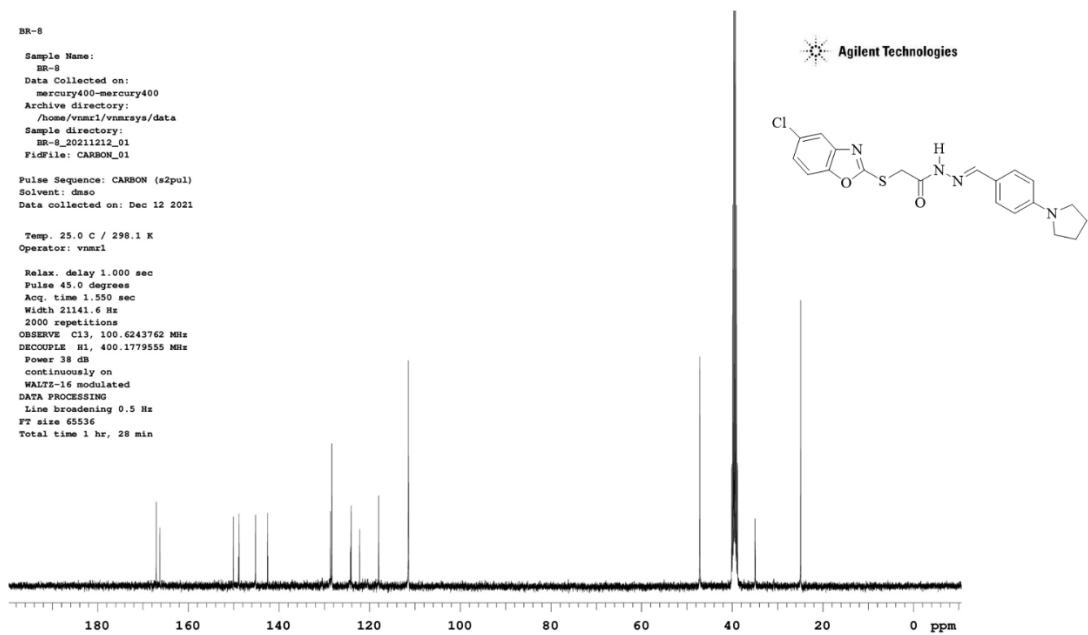
Şekil 4.37. Bileşik 3h'nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 1.93-1.98 (m, 4H), 3.26 (t, J = 6.6 Hz, 4H), 4.25 ve 4.64 (2s, 2H), 6.52-6.56 (m, 2H), 7.35 (dd, J = 8.6 Hz, 2.2 Hz, 1H), 7.48 (dd, J = 9.0 Hz, 5.0 Hz, 2H), 7.66-7.69 (m, 1H), 7.74 (dd, J = 8.4 Hz, 2.0 Hz, 1H), 7.89 ve 8.05 (2s, 1H), 11.47 ve 11.51 (2s, 1H) (Şekil 4.38).



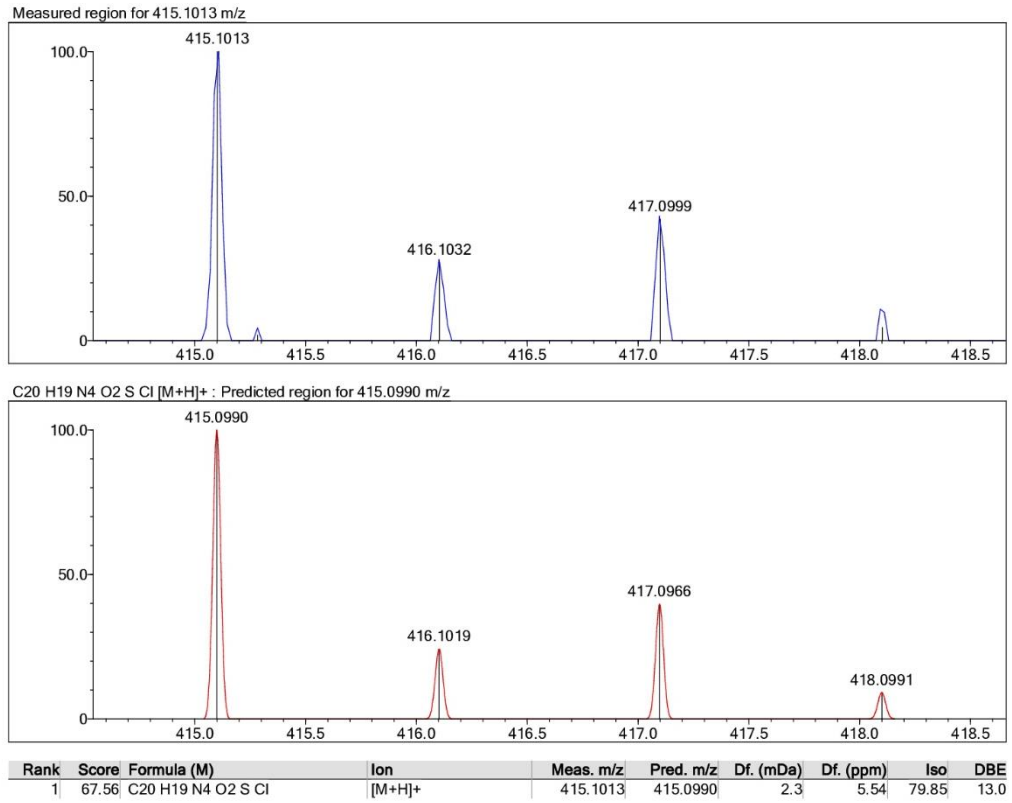
Şekil 4.38. Bileşik 3h'ın ¹H NMR spektrumu

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 24.93 (2CH₂), 34.99 (CH₂), 47.19 (2CH₂), 111.42 (CH), 111.49 (2CH), 118.03 (CH), 122.25 (CH), 124.12 (C), 128.36 (2CH), 128.64 (C), 142.57 (C), 145.19 (CH), 148.82 (C), 150.08 (C), 166.30 (C), 167.08 (C) (Şekil 4.39).



Şekil 4.39. Bileşik 3h'ın ^{13}C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$ için hesaplanan: 415.0990, bulunan: 415.1013 (Şekil 4.40).



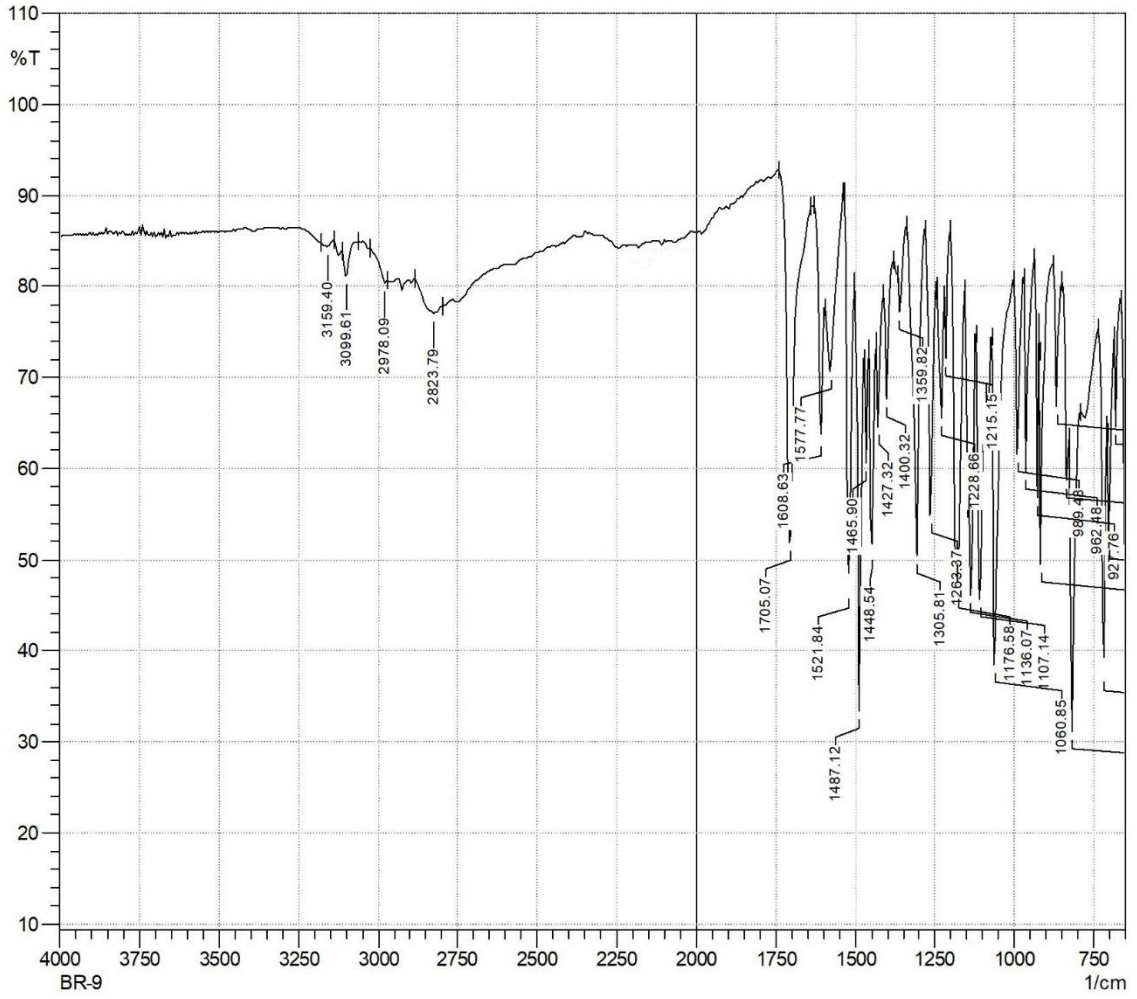
Şekil 4.40. Bileşik 3h'nin HRMS spektrumu

4.1.11. N'-[4-(1H-İmidazol-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3i)

Verim : %83

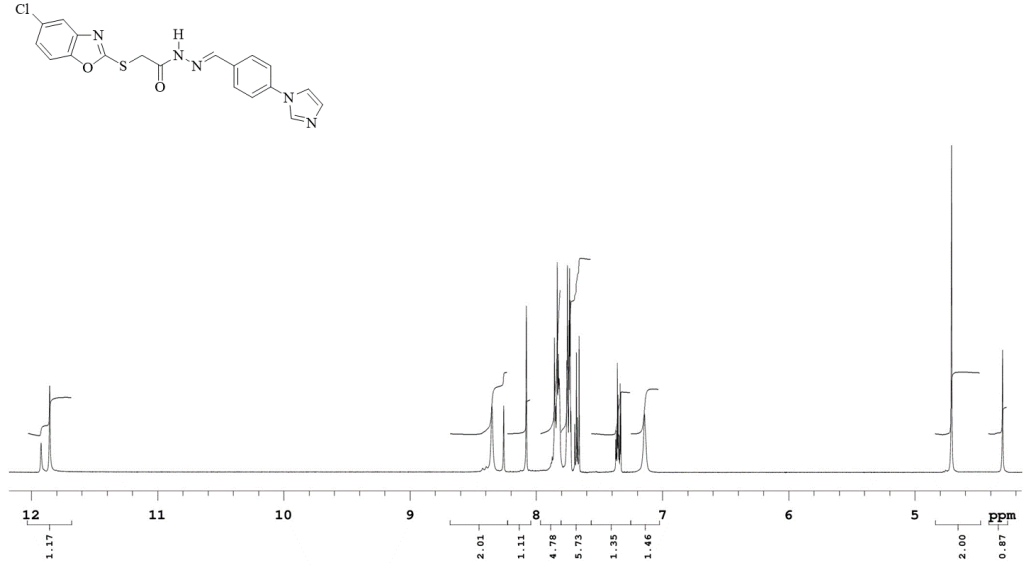
E.N. : 229-231 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3159.40, 3099.61, 2978.09, 2823.79, 1705.07, 1608.63, 1577.77, 1521.84, 1487.12, 1465.90, 1448.54, 1427.32, 1400.32, 1359.82, 1305.81, 1263.37, 1228.66, 1215.15, 1176.58, 1136.07, 1107.14, 1060.85, 989.48, 962.48, 927.76, 916.19, 866.04, 835.18, 817.82, 719.45, 702.09, 680.87, 651.94 (Şekil 4.41).



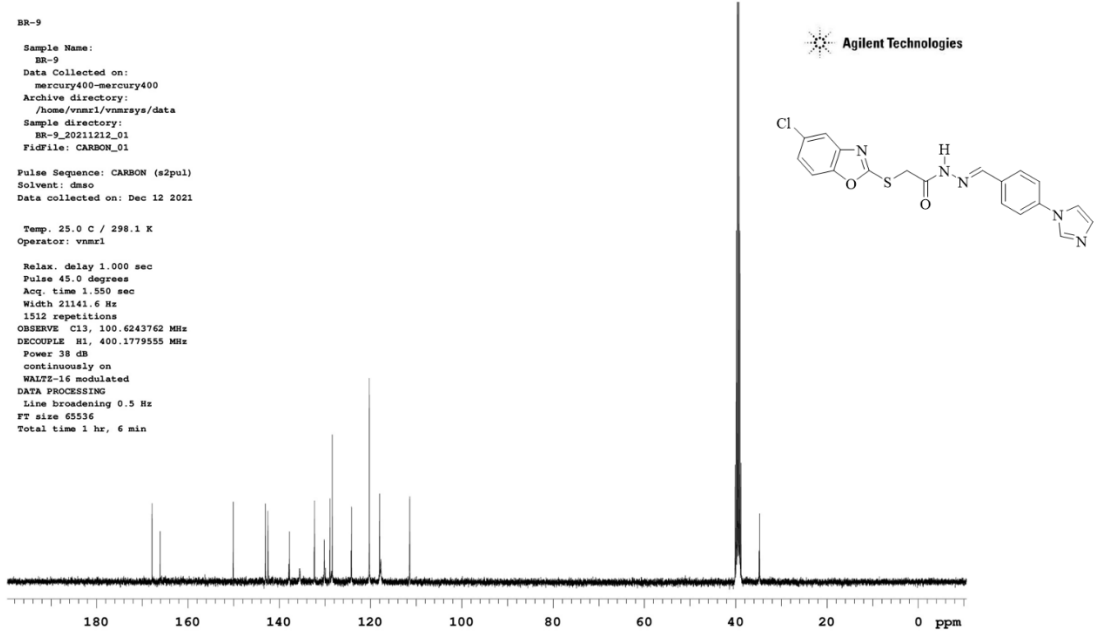
Şekil 4.41. Bileşik 3i'nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 4.31 ve 4.71 (2s, 2H), 7.14 (brs, 1H), 7.34 (dd, J = 8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.68 (dd, J = 8.6 Hz, 5.0 Hz, 1H), 7.73-7.76 (m, 3H), 7.82-7.86 (m, 3H), 8.08 ve 8.26 (2s, 1H), 8.35 (brs, 1H), 11.86 ve 11.92 (2s, 1H) (Şekil 4.42).



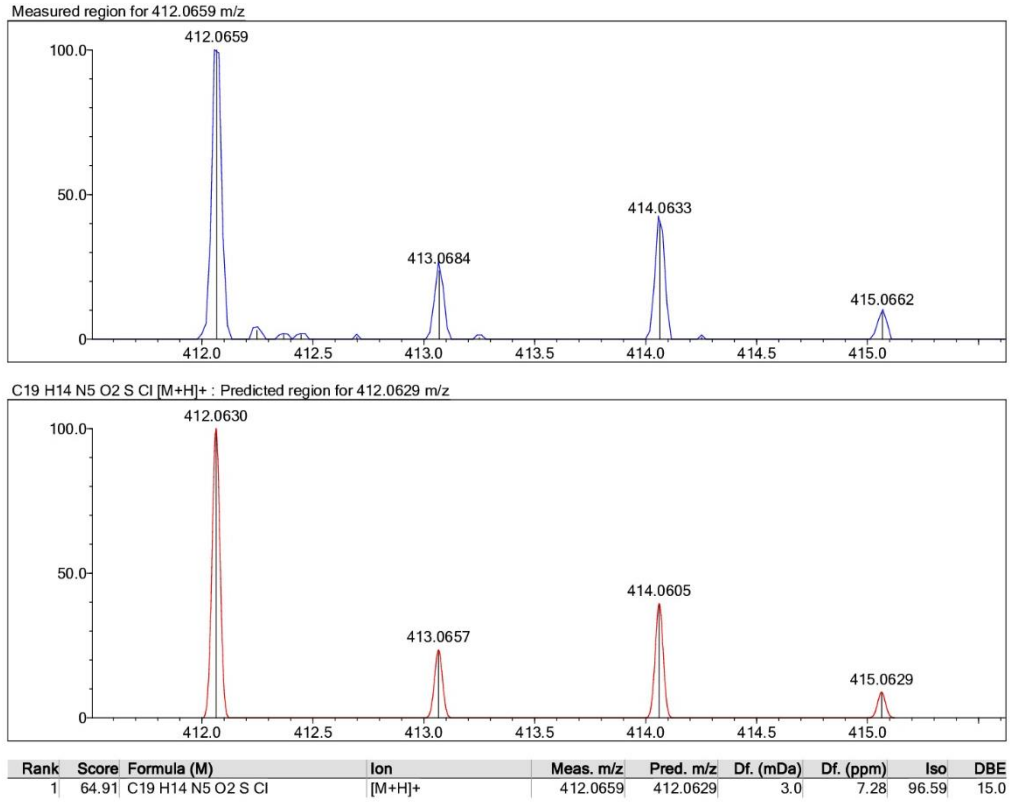
Şekil 4.42. Bileşik 3i'nin ¹H NMR spektrumu

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 34.81 (CH₂), 111.44 (CH), 117.78 (CH), 118.03 (CH), 120.29 (2CH), 124.17 (CH), 128.38 (2CH), 128.90 (CH), 130.13 (C), 132.28 (C), 135.54 (CH), 137.80 (C), 142.51 (C), 143.05 (CH), 150.09 (C), 166.11 (C), 167.89 (C) (Şekil 4.43).



Şekil 4.43. Bileşik 3i'nin ¹³C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (*m/z*): [M+H]⁺ C₁₉H₁₄ClN₅O₂S için hesaplanan: 412.0629, bulunan: 412.0659 (Şekil 4.44).



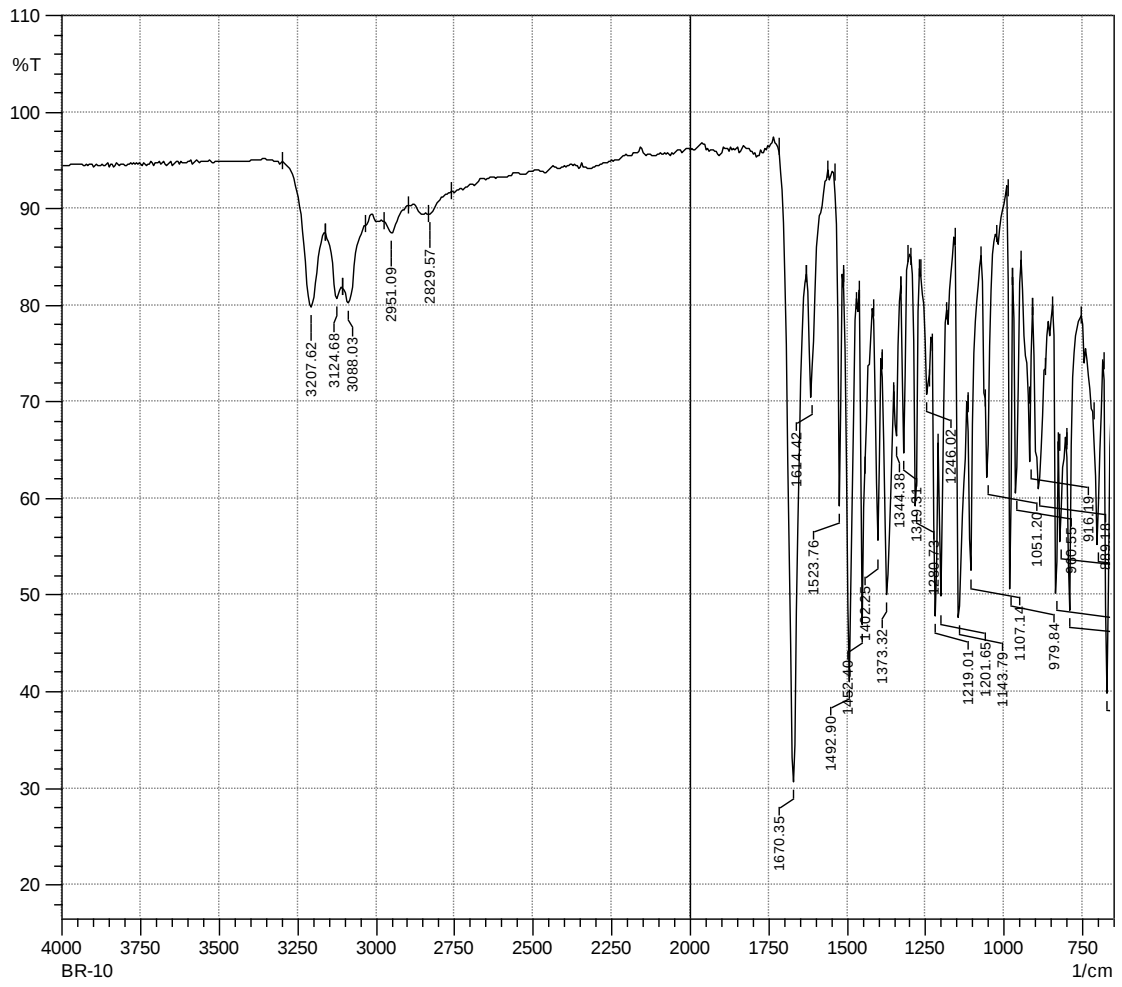
Şekil 4.44. Bileşik 3i'nin HRMS spektrumu

4.1.12. N'-[4-(1H-1,2,4-Triazol-1-il)benziliden]-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit (3j)

Verim : %80

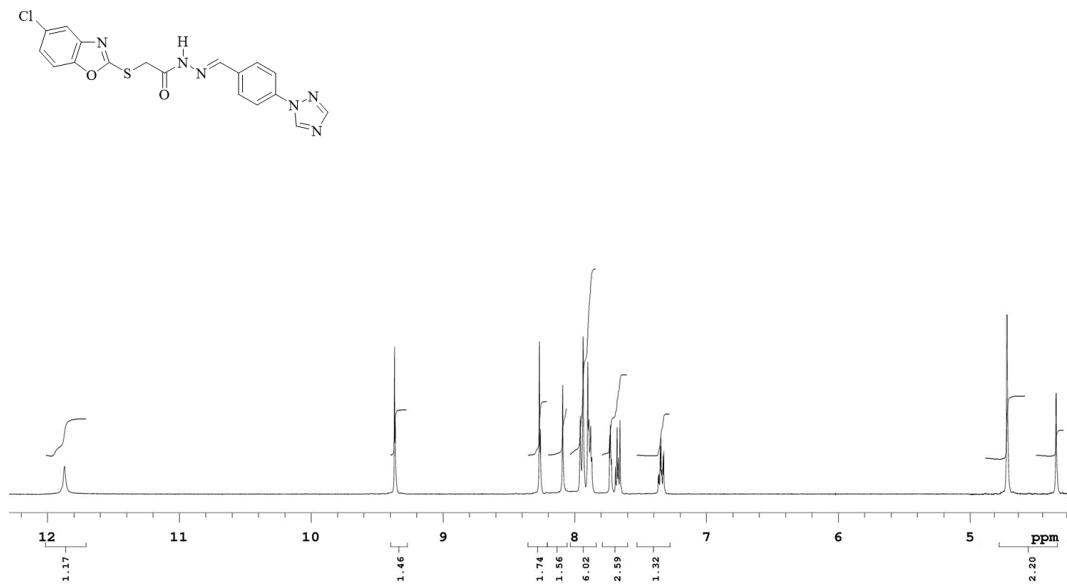
E.N. : 256-257 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3207.62, 3124.68, 3088.03, 2951.09, 2829.57, 1670.35, 1614.42, 1523.76, 1492.90, 1452.40, 1402.25, 1373.32, 1344.38, 1319.31, 1280.73, 1246.02, 1219.01, 1201.65, 1143.79, 1107.14, 1051.20, 979.84, 960.55, 916.19, 889.18, 833.25, 819.75, 790.81, 702.09, 671.23 (Şekil 4.45).



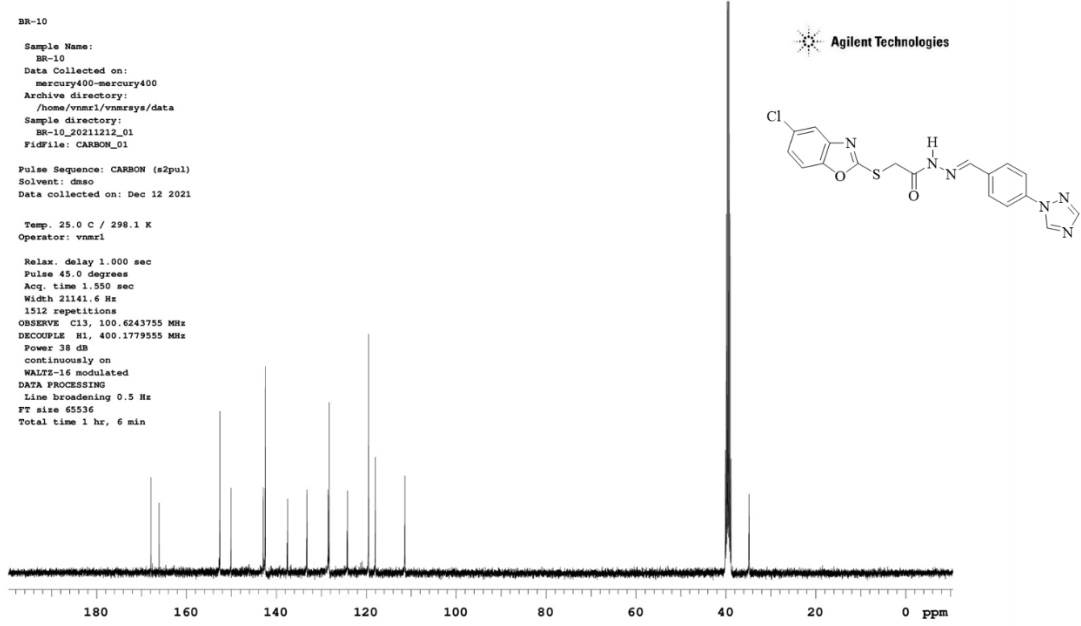
Şekil 4.45. Bileşik 3j'nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 4.29 ve 4.72 (2s, 2H), 7.34 (dd, $J = 8.6$ Hz, 2.2 Hz, 1H), 7.67 (dd, $J = 8.6$ Hz, 5.0 Hz, 1H), 7.72-7.74 (m, 1H), 7.87-7.96 (m, 4H), 8.09 ve 8.26 (2s, 1H), 8.27 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 11.87 (brs, 1H) (Şekil 4.46).



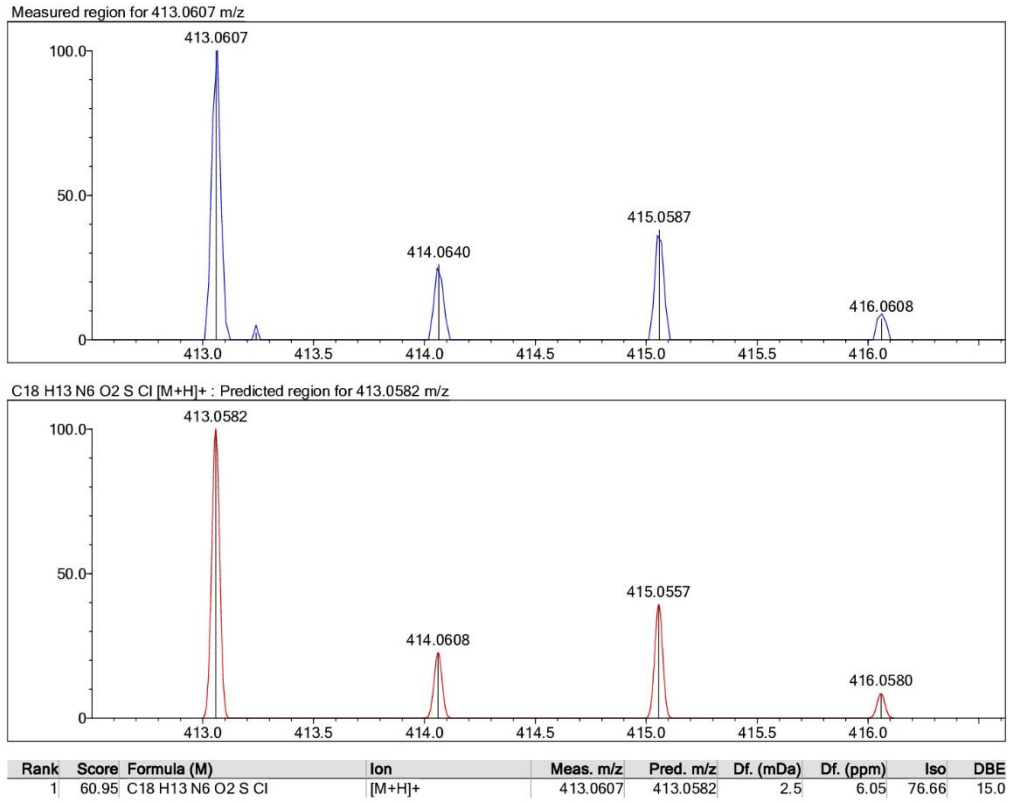
Şekil 4.46. Bileşik 3j'nin ¹H NMR spektrumu

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 34.83 (CH₂), 111.43 (CH), 118.03 (CH), 119.49 (2CH), 124.16 (CH), 128.30 (2CH), 128.51 (C), 133.19 (C), 137.51 (C), 142.45 (CH), 142.51 (C), 142.95 (CH), 150.09 (C), 152.57 (CH), 166.10 (C), 167.91 (C) (Şekil 4.47).



Şekil 4.47. Bileşik 3j'nin ^{13}C NMR spektrumu

HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClN}_6\text{O}_2\text{S}$ için hesaplanan: 413.0582, bulunan: 413.0607 (Şekil 4.48).

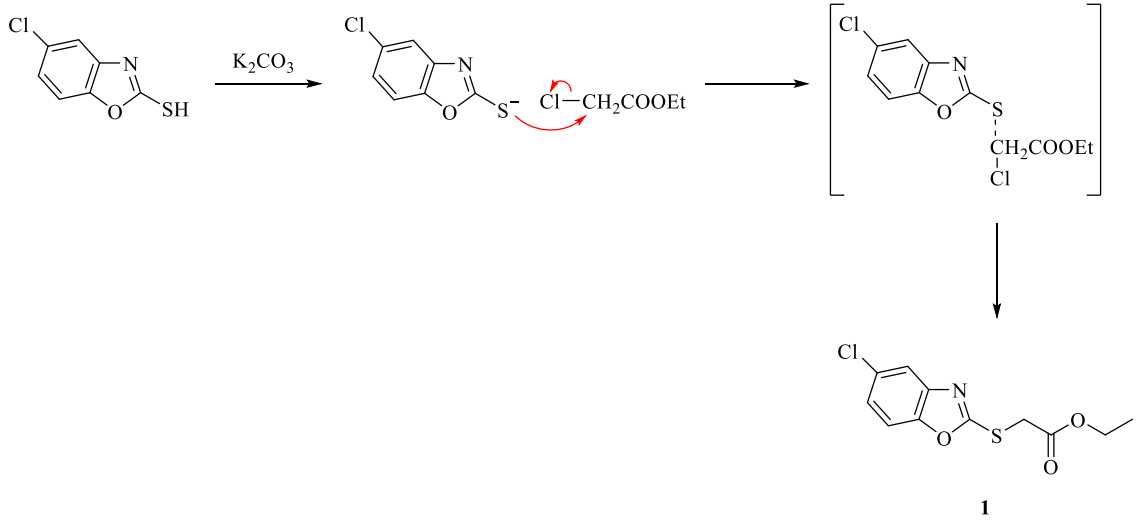


Şekil 4.48. Bileşik 3j'nin HRMS spektrumu

4.2. Sentez Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

4.2.1. Etil 2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetatın (1) elde edilişi

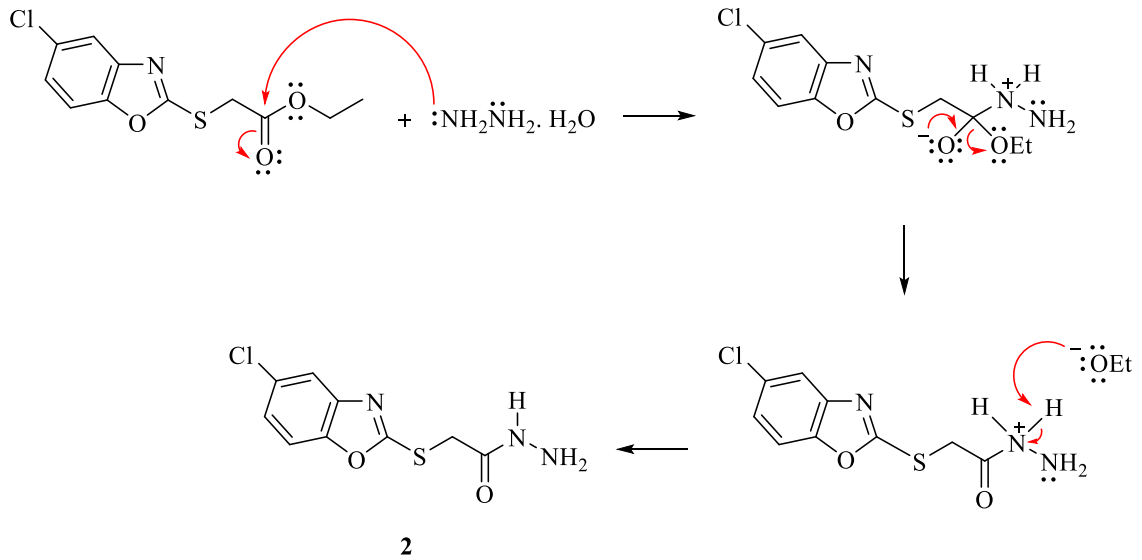
Şekil 4.49'da gösterilen tepkimede, tiyol grubunun nükleofilik özelliğini artırmak amacıyla baz olarak potasyum karbonat kullanılmıştır. Bu tepkime, geri çeviren soğutucu altında 10 saat kaynatılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.49. Bileşik 1'in elde edilişi için önerilen mekanizma

4.2.2. 2-[(5-Klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazitin (2) elde edilişi

Şekil 4.50'de gösterilen nükleofilik katılma-ayrılma tepkimesinde, hidrazin hidratın nükleofilik azot atomu kısmi pozitif yük taşıyan karbonil karbonuna atak etmiştir. Bu katılmayı etanolün ayrılması izlemiştir.

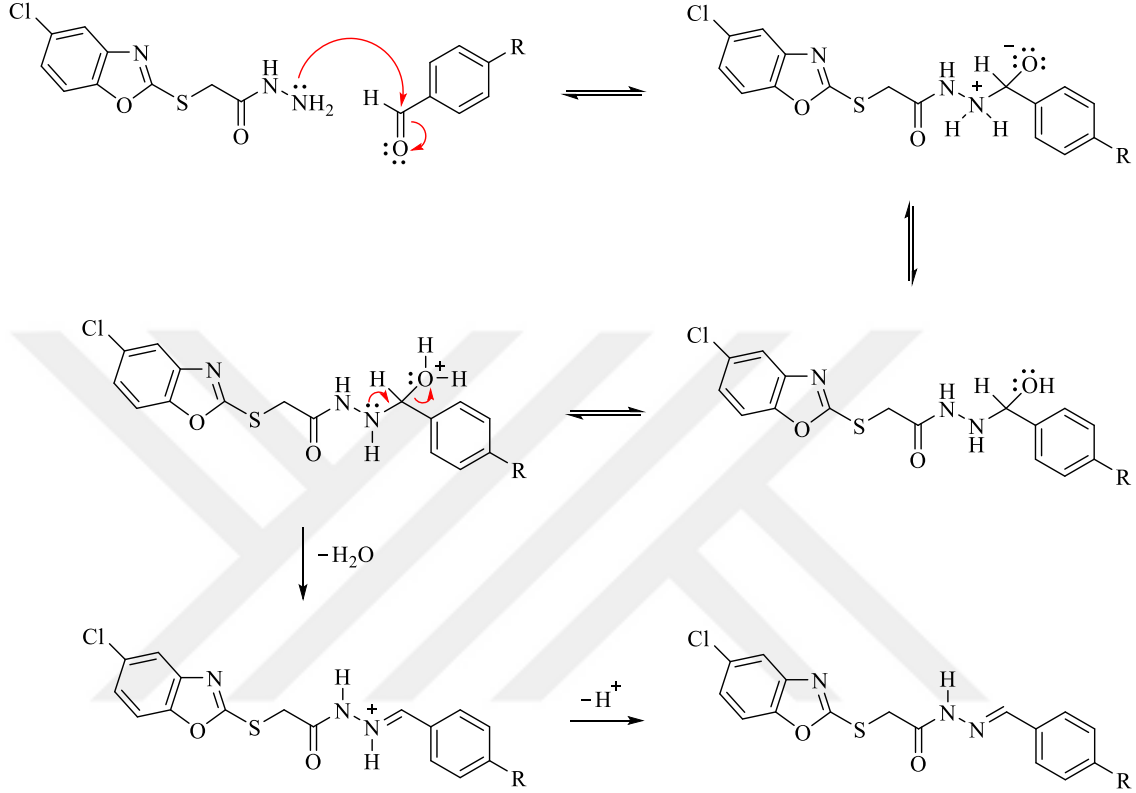


Şekil 4.50. Bileşik 2'nin elde edilişi için önerilen mekanizma

4.2.3. Sonuç bileşiklerinin (3a-j) elde edilişi

N'-(Ariliden)-2-[(5-klorobenzoksazol-2-il)tiyo]asetohidrazit türevlerinin sentezi iki basamakta gerçekleştirilmiştir. İlk basamak, hidrazitin nükleofilik azot atomunun kısmi

pozitif yük taşıyan karbonil karbonuna katılması, sonra azotun bir proton kaybetmesi ve oksijene bir proton bağlanmasıdır. Son basamakta, protonlanmış olan hidroksil grubu su olarak ayrılmıştır (Şekil 4.51).



Şekil 4.51. Sonuç bileşiklerinin (3a-j) elde edilişi için önerilen mekanizma

4.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

Sonuç bileşiklerinin (3a-j) IR spektrumlarında, hidrazon grubuna ait N-H gerilim bandı 3207.62-3159.40 cm⁻¹'de saptanırken; C=O gerilim bandı 1705.07-1654.92 cm⁻¹'de gözlemlenmiştir.

Sonuç bileşiklerinin (3a-j) ¹H NMR spektrumlarında, S-CH₂ protonları 4.25-4.73 ppm aralığında iki singlet olarak gözlemlenmiştir. Hidrazon yapısına ait N-H protonu 11.47-12.09 ppm aralığında yayvan singlet veya iki singlet/yayvan singlet, CH=N protonu ise 7.88-8.26 ppm aralığında singlet veya iki singlet olarak saptanmıştır.

Sonuç bileşiklerinin (3a-j) ¹³C NMR spektrumlarında, S-CH₂ karbon piki 34.76-35.02 ppm; CH=N karbon piki 142.95-145.19 ppm ve karbonil karbonuna ait pik ise 167.08-168.27 ppm aralığında gözlemlenmiştir.

Tüm bileşiklerin ESI tekniği ile alınan HRMS spektrumlarında, $[M+H]^+$ pikleri gözlemlenmiş ve $[M+H]^+$ için hesaplanan ve bulunan değerlerin birbiri ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

4.4. In Vitro Etki Çalışma Sonuçlarının Değerlendirilmesi

2 nolu başlangıç bileşiğinin ve **3a-j** kodlu sonuç bileşiklerinin A549 insan akciğer adenokarsinom ve L929 fare embriyonik fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktiviteleri MTT testi ile belirlenmiştir. Bileşiklere ait IC_{50} ve selektivite indeks (SI) değerleri Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Başlangıç, sonuç bileşiklerine ve cisplatine ait IC_{50} ve SI verileri

Bileşik	IC_{50} (μM)		SI*
	A549 hücre dizisi	L929 hücre dizisi	
2	>500	>500	-
3a	91.35±21.89	>500	>5.47
3b	410.15±220.38	>500	-
3c	>500	>500	-
3d	>500	>500	-
3e	176.23±56.50	>500	>2.84
3f	250.61±45.87	>500	-
3g	46.60±6.15	276.67±28.87	5.94
3h	>500	>500	-
3i	83.59±7.30	>500	>5.98
3j	>500	>500	-
Cisplatin	23.89±2.71	-	-

* SI= L929 hücreleri için IC_{50} / A549 hücreleri için IC_{50} .

3a, **3e**, **3g** ve **3i** kodlu bileşikler sırasıyla 91.35±21.89 μM , 176.23±56.50 μM , 46.60±6.15 μM ve 83.59±7.30 μM IC_{50} değerleri ile A549 hücre dizisi üzerine seçici antikanser aktivite göstermişlerdir. **3a**, **3e**, **3g** ve **3i** kodlu bileşiklerin SI değerleri sırasıyla >5.47, >2.84, 5.94 ve >5.98 olarak bulunmuştur (Tablo 4.1).

Tablo 4.1’deki verilere göre, benziliden yapısının 4. konumuna bağlı dimetilamino sübstitüenti antikanser etkiyi arttırırken, dietilamino sübstitüenti antikanser aktiviteyi önemli ölçüde azaltmaktadır. Benziliden yapısının 4. konumuna bağlı bis(2-kloroetil) ve nitro grupları ise, antikanser aktivitenin kaybolmasına neden olmaktadır.

Benziliden yapısının 4. konumuna bağlı altı üyeli heterosiklik halkalar (piperidin, morfolin ve piperazin) arasında, piperazin halkası antikanser aktiviteyi önemli ölçüde arttırmaktadır. Benziliden yapısının 4. konumuna bağlı pirolidin halkası ise antikanser etkinin kaybolmasına neden olmaktadır.

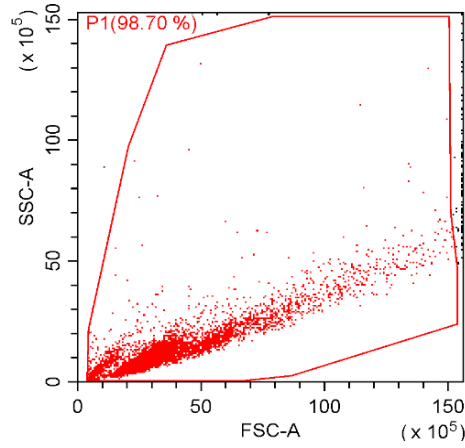
Benziliden yapısının 4. konumunda imidazol halkası taşıyan **3i** ve triazol halkası taşıyan **3j** kodlu bileşiklerin Tablo 4.1’de sunulan IC₅₀ değerlerine göre, 1*H*-imidazol halkası antikanser aktiviteyi arttırırken; 1*H*-1,2,4-triazol halkası antikanser etkinin kaybolmasına neden olmaktadır.

Seçici antikanser etki gösteren **3a**, **3e**, **3g** ve **3i** kodlu bileşiklerin antikanser etki mekanizmalarını aydınlatmak için, A549 hücrelerinde apoptoz ve Akt üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

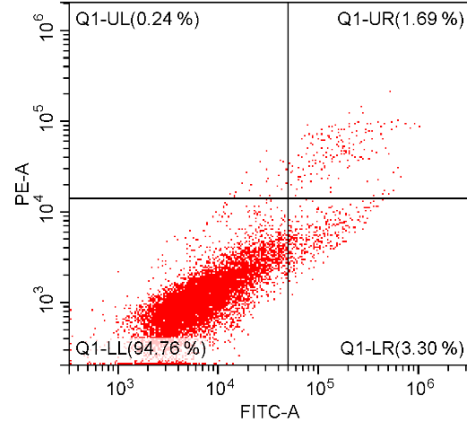
3a, **3e**, **3g** ve **3i** kodlu bileşikler ve cisplatin uygulanan A549 hücrelerinin 24 saatlik inkübasyonundan sonra, Anneksin V-propidyum iyodür (PI) boyama tekniği kullanılarak akım sitometrisine dayalı apoptoz tespit deneyi gerçekleştirilmiştir. **3a**, **3e**, **3g** ve **3i** kodlu bileşikler ve cisplatin (sırasıyla 91.35 µM, 176.23 µM, 46.60 µM, 83.59 µM ve 23.89 µM) uygulanan A549 hücrelerinin erken apoptoz yüzdeleri sırasıyla %11.22, %3.26, %7.13, %2.70 ve %3.61 iken, A549 hücrelerinin geç apoptoz yüzdeleri sırasıyla %4.97, %1.76, %12.17, %6.04 ve %3.14 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.2). Özellikle **3a** ve **3g** kodlu bileşikler, A549 hücrelerinde cisplatinden daha fazla apoptotik etki göstermişlerdir (Tablo 4.2 ve Şekil 4.52).

Tablo 4.2. *3a, 3e, 3g, 3i kodlu bileşikler ve cisplatin uygulanan A549 hücreleri akım sitometri kuadran analiz yüzdeleri*

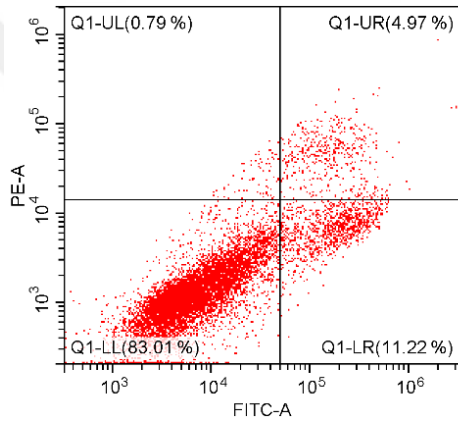
Gruplar	Erken apoptoz (%)	Geç apoptoz (%)	Nekroz (%)	Canlılık (%)
Kontrol	3.30	1.69	0.24	94.76
Bileşik 3a uygulanan hücreler	11.22	4.97	0.79	83.01
Bileşik 3e uygulanan hücreler	3.26	1.76	3.79	91.19
Bileşik 3g uygulanan hücreler	7.13	12.17	0.78	79.93
Bileşik 3i uygulanan hücreler	2.70	6.04	3.51	87.75
Cisplatin uygulanan hücreler	3.61	3.14	0.98	92.26



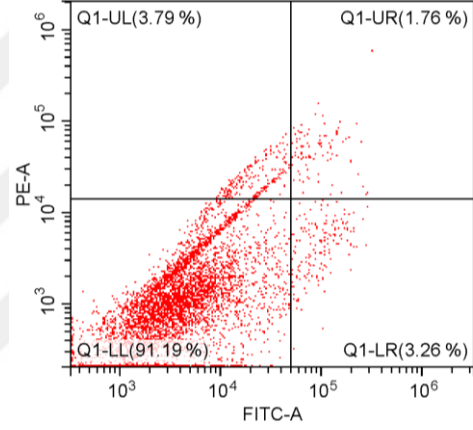
A



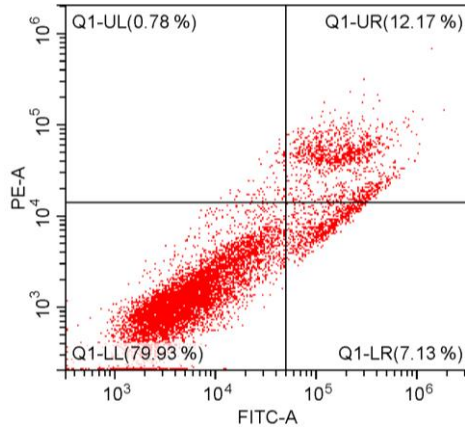
B



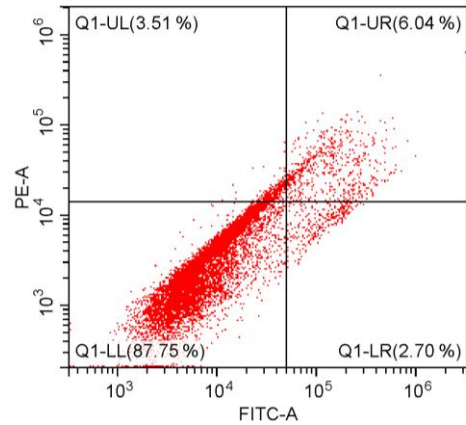
C



D

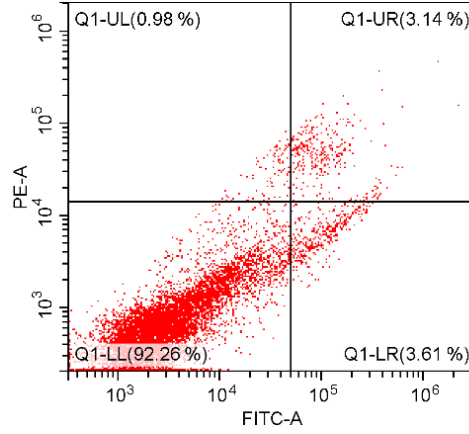


E



F

Şekil 4.52. *3a, 3e, 3g, 3i kodlu bileşikler ve cisplatin ile kültür ortamına bırakılan A549 hücreleri (Q1-LR= Erken apoptoz, Q1-UR= Geç apoptoz, Q1-LL= Canlılık, Q1-UL= Nekroz). Her örnek için en azından 10.000 hücre kuadran analizi uygulanmıştır. (A) Hücre popülasyonu içerisinde seçilen ana kapı, (B) Kontrol, (C) 3a kodlu bileşik, (D) 3e kodlu bileşik, (E) 3g kodlu bileşik, (F) 3i kodlu bileşik ve (G) Cisplatin.*



G

Şekil 4.52. (Devam) **3a**, **3e**, **3g**, **3i** kodlu bileşikler ve cisplatin ile kültür ortamına bırakılan A549 hücreleri (Q1-LR= Erken apoptoz, Q1-UR= Geç apoptoz, Q1-LL= Canlılık, Q1-UL= Nekroz). Her örnek için en azından 10.000 hücre kuadran analizi uygulanmıştır. (A) Hücre popülasyonu içerisinde seçilen ana kapı, (B) Kontrol, (C) **3a** kodlu bileşik, (D) **3e** kodlu bileşik, (E) **3g** kodlu bileşik, (F) **3i** kodlu bileşik ve (G) Cisplatin.

3a, **3e**, **3g** ve **3i** kodlu bileşiklerin A549 hücrelerinde Akt inhibitör etkileri, kolorimetrik bir yöntemle belirlenmiştir. Benziliden yapısının 4. konumunda piperidin halkası taşıyan bileşik **3e** ve imidazol halkası taşıyan bileşik **3i**, sırasıyla 105.88 ± 53.71 μM ve 69.45 ± 1.48 μM IC_{50} değerleri ile A549 hücrelerinde Akt inhibitör etki göstermişlerdir (Tablo 4.3). Bu verilere göre, **3e** ve **3i** kodlu bileşiklerin A549 hücreleri üzerine antikanser etkilerini Akt inhibisyonu yoluyla gösterdikleri saptanmıştır.

Tablo 4.3. Bileşiklerin A549 hücrelerinde Akt inhibitör etkileri

Bileşik	IC_{50} (μM)
3a	-
3e	105.88 ± 53.71
3g	-
3i	69.45 ± 1.48
GSK690693	5.93 ± 1.20
Cisplatin	8.09 ± 0.63

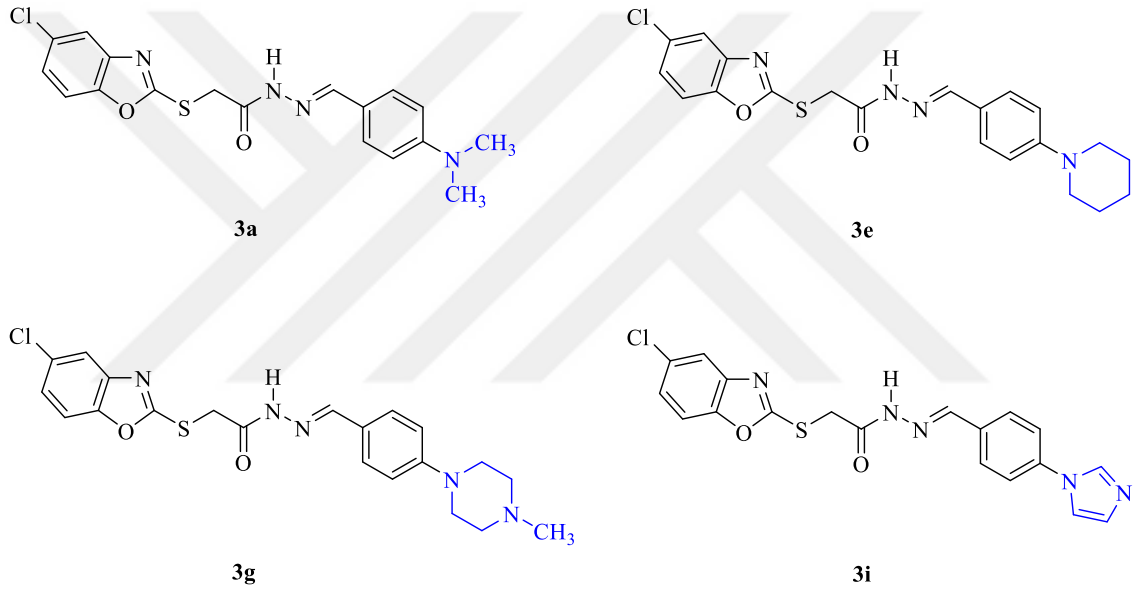
Benziliden yapısının 4. konumunda dimetilamino süstitüenti taşıyan bileşik **3a**, 91.35 μM konsantrasyonda $\%35.40 \pm 13.36$ Akt inhibisyonuna neden olmuştur. Benziliden yapısının 4. konumunda 4-metilpiperazin yapısı taşıyan bileşik **3g** ise test edilen konsantrasyonlarda Akt üzerine inhibitör etki göstermemiştir. Buna bağılı olarak, bu iki bileşiğin A549 hücreleri üzerine sitotoksik ve apoptotik aktivitelerini farklı yolak(lar) aracılığıyla gösterdikleri anlaşılmaktadır.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, hidrazon yapısına sahip on adet yeni bileşik (**3a-j**) kolay ve etkin bir sentez yöntemi ile elde edilmiş ve kimyasal yapıları spektroskopik teknikler (IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR ve HRMS) ile teyit edilmiştir. Hidrazit-hidrazon yapısı taşıyan bileşiklerin A549 ve L929 hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteleri belirlenmiştir. Selektif antikanser etki gösteren bileşiklerin (**3a**, **3e**, **3g** ve **3i**) apoptoz ve Akt üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

In vitro sitotoksosite verilerine göre, **3a**, **3e**, **3g** ve **3i** kodlu bileşikler (Şekil 5.1) A549 hücre dizisi üzerine seçici antikanser aktivite göstermişlerdir.



Şekil 5.1. Seçici antikanser etki gösteren hidrazon türevleri

Şekil 5.1’de gösterilen dört bileşik arasında, **3g** kodlu bileşiğin ($\text{IC}_{50} = 46.60 \pm 6.15$ μM) A549 hücre dizisi üzerine daha güçlü antikanser etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca **3a** (%16.19) ve **3g** (%19.30) kodlu bileşikler A549 hücrelerinde cisplatinden (%6.75) daha güçlü apoptoz indüksiyonuna neden olmuşlardır. Bu iki bileşiğin A549 hücreleri üzerine antikanser etkilerini apoptoz indüksiyonu yoluyla gösterdikleri anlaşılmaktadır. Bununla birlikte, **3a** kodlu bileşik zayıf Akt inhibitörü etki gösterirken; **3g** kodlu bileşik ise test edilen konsantrasyonlarda Akt inhibitörü etki göstermemiştir.

Test edilen bileşik arasında, **3e** ve **3i** kodlu bileşikler sırasıyla 105.88 ± 53.71 μM ve 69.45 ± 1.48 μM IC_{50} değerleri ile A549 hücrelerinde Akt inhibitör etki göstermişlerdir.

Sonuç olarak, bu çalışmada **3e** ve **3i** kodlu bileşiklerin A549 hücreleri üzerine antikanser etkilerinde Akt inhibisyonunun rol oynadığı anlaşılmaktadır. Bununla birlikte, **3a** ve **3g** kodlu bileşiklerin A549 hücreleri üzerine sitotoksik ve apoptotik etkilerini farklı yolak(lar) aracılığıyla gösterdikleri düşünülmektedir. İleriki çalışmalarda, **3a** ve **3g** kodlu bileşiklerin antikanser etki mekanizmalarının daha detaylı araştırılması planlanmaktadır.



KAYNAKÇA

- Alam, M.S. and Lee, D.U. (2016). Synthesis, biological evaluation, drug-likeness, and *in silico* screening of novel benzylidene-hydrazone analogues as small molecule anticancer agents. *Arch. Pharm. Res.*, 39 (2), 191-201.
- Altıntop, M.D., Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Ilgin, S., Atli, Ö., Iscan, G., Kaplancikli, Z.A. (2012). Synthesis and biological evaluation of some hydrazone derivatives as new anticandidal and anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 58, 299-307.
- Baldisserotto, A., Demurtas, M., Lampronti, I., Moi, D., Balboni, G., Vertuani, S., Manfredini, S., Onnis, V. (2018). Benzofuran hydrazones as potential scaffold in the development of multifunctional drugs: Synthesis and evaluation of antioxidant, photoprotective and antiproliferative activity. *Eur. J. Med. Chem.*, 156, 118-125.
- Baytekin Yurdaer, G. (2022). *Yeni tiyazol türevlerinin sentezi ve antikanser etki mekanizmalarının araştırılması*. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Brambilla, E., Travis, W.D., Colby, T.V., Corrin, B., Shimosato, Y. (2001). The new World Health Organization classification of lung tumours. *Eur. Respir. J.*, 18, 1059-1068.
- Can, Ö.D., Altıntop, M.D., Demir Özkay, Ü., Üçel, U.İ., Doğruer, B., Kaplancıklı, Z.A. (2012). Synthesis of thiadiazole derivatives bearing hydrazone moieties and evaluation of their pharmacological effects on anxiety, depression, and nociception parameters in mice. *Arch. Pharm. Res.*, 35 (4), 659-669.
- Coimbra, E.S., Nora de Souza, M.V., Terror, M.S., Pinheiro, A.C., da Trindade Granato, J. (2019). Synthesis, biological activity, and mechanism of action of new 2-pyrimidinyl hydrazone and *N*-acylhydrazone derivatives, a potent and new classes of antileishmanial agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 184, 111742.
- Demirbas, N., Karaoglu, S.A., Demirbas, A., Sancak, K. (2004). Synthesis and antimicrobial activities of some new 1-(5-phenylamino-[1,3,4]thiadiazol-2-yl)methyl-5-oxo-[1,2,4]triazole and 1-(4-phenyl-5-thioxo-[1,2,4]triazol-3-yl)methyl-5-oxo-[1,2,4]triazole derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 39 (9), 793-804.
- Duarte, C.D., Tributino, J.L., Lacerda, D.I., Martins, M.V., Alexandre-Moreira, M.S., Dutra, F., Bechara, E.J., De-Paula, F.S., Goulart, M.O., Ferreira, J., Calixto, J.B., Nunes, M.P., Bertho, A.L., Miranda, A.L., Barreiro, E.J., Fraga, C.A. (2007). Synthesis, pharmacological evaluation and electrochemical studies of novel 6-

- nitro-3,4-methylenedioxyphenyl-*N*-acylhydrazone derivatives: Discovery of LASSBio-881, a new ligand of cannabinoid receptors. *Bioorg. Med. Chem.*, 15 (6), 2421-2433.
- El-Faham, A., Farooq, M., Khattab, S.N., Abutaha, N., Wadaan, M.A., Ghabbour, H.A., Fun, H.K. (2015). Synthesis, characterization, and anti-cancer activity of some new *N'*-(2-oxoindolin-3-ylidene)-2-propylpentane hydrazide-hydrazones derivatives. *Molecules*, 20 (8), 14638-14655.
- Guo, K., Tang, W., Zhuo, H., Zhao, G. (2019). Recent advance of Akt inhibitors in clinical trials. *ChemistrySelect*, 4, 9040-9044.
- Gupta, S.P. (1994). Quantitative structure-activity relationship studies on anticancer drugs. *Chem. Rev.*, 94 (6), 1507-1551.
- Güngör, E.M. (2019). *Yeni hidrazon türevlerinin sentezi ve biyolojik etki çalışmaları*. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Güngör, E.M., Altıntop, M.D., Sever, B., Akalın Çiftçi, G. (2020). Design, synthesis, *in vitro* and *in silico* evaluation of new hydrazone-based antitumor agents as potent Akt inhibitors. *Lett. Drug Des. Discov.*, 17 (11), 1380-1392.
- Gürsoy, A. ve Karalı, N. (2003). Synthesis and primary cytotoxicity evaluation of 3-[(3-phenyl-4(3*H*)-quinazolinone-2-yl)mercaptoacetyl]hydrazono]-1*H*-2-indolinones. *Eur. J. Med. Chem.*, 38 (6), 633-643.
- Han, M.İ., Bekçi, H., Uba, A.İ., Yıldırım, Y., Karasulu, E., Cumaoğlu, A., Karasulu, H.Y., Yelekçi, K., Yılmaz, Ö., Küçükgül, Ş.G. (2019). Synthesis, molecular modeling, *in vivo* study, and anticancer activity of 1,2,4-triazole containing hydrazide-hydrazones derived from (*S*)-naproxen, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 352, e1800365.
- Hers, I., Vincent, E.E. and Tavaré, J.M. (2011). Akt signalling in health and disease. *Cell. Signal.*, 23, 1515-1527.
- Hirsch, F.R., Scagliotti, G.V., Mulshine, J.L., Kwon, R., Curran, W.J. Jr, Wu, Y.L., Paz-Ares, L. (2017). Lung cancer: Current therapies and new targeted treatments. *Lancet*, 389 (10066), 299-311.
- Huang, J., Chen, L., Wu, J., Ai, D., Zhang, J.-Q., Chen, T.-G., Wang, L. (2022). Targeting the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in the treatment of human diseases: Current status, trends, and solutions. *J. Med. Chem.*, 65, 16033-16061.

- Ibrahim, M.-K., El-Adl, K., Zayed, M.F., Mahdy, H.A. (2015). Design, synthesis, docking, and biological evaluation of some novel 5-chloro-2-substituted sulfanylbenzoxazole derivatives as anticonvulsant agents. *Med. Chem. Res.*, 24, 99-114.
- Jain, A.S., Prasad, A., Pradeep, S., Dharmashekar, C., Achar, R.R., Ekaterina, S., Victor, S., Amachawadi, R.G., Prasad, S.K., Pruthvish, R., Syed, A., Shivamallu, C., Kollur, S.P. (2021). Everything old is new again: Drug repurposing approach for non-small cell lung cancer targeting MAPK signaling pathway. *Front Oncol.*, 11, 741326.
- Janku, F., Stewart, D.J. and Kurzrock, R. (2010). Targeted therapy in non-small-cell lung cancer--is it becoming a reality? *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 7 (7), 401-414.
- Jin, L., Chen, J., Song, B., Chen, Z., Yang, S., Li, Q., Hu, D., Xu, R. (2006). Synthesis, structure, and bioactivity of *N'*-substituted benzylidene-3,4,5-trimethoxybenzohydrazide and 3-acetyl-2-substituted phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-2,3-dihydro-1,3,4-oxadiazole derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 16 (19), 5036-5040.
- Li, L., Zhu, T., Gao, Y.F., Zheng, W., Wang, C.J., Xiao, L., Huang, M.S., Yin, J.Y., Zhou H.H., Liu, Z.Q. (2016). Targeting DNA damage response in the radio(chemo)therapy of non-small cell lung cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, 17, 839.
- Lindgren, E.B., de Brito, M.A., Vasconcelos, T.R., de Moraes, M.O., Montenegro, R.C., Yoneda, J.D., Leal, K.Z. (2014). Synthesis and anticancer activity of (*E*)-2-benzothiazole hydrazones. *Eur. J. Med. Chem.*, 86, 12-16.
- Liu, W.Y., Li, H.Y., Zhao, B.X., Shin, D.S., Lian, S., Miao, J.Y. (2009). Synthesis of novel ribavirin hydrazone derivatives and anti-proliferative activity against A549 lung cancer cells. *Carbohydr. Res.*, 344 (11), 1270-1275.
- Mali, S.N., Thorat, B.R., Gupta, D.R., Pandey, A. (2021). Mini-review of the importance of hydrazides and their derivatives—Synthesis and biological activity. *Eng. Proc.*, 11, 21.
- Masunari, A. and Tavares, L.C. (2007). A new class of nifuroxazide analogues: synthesis of 5-nitrothiophene derivatives with antimicrobial activity against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Bioorg. Med. Chem.*, 15 (12), 4229-4236.

- Mathew, B., Suresh, J., Ahsan, M.J., Mathew, G.E., Usman, D., Subramanyan, P.N., Safna, K.F., Maddela, S. (2015). Hydrazones as a privileged structural linker in antitubercular agents: A review. *Infect Disord. Drug Targets*, 15 (2), 76-88.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 65, 55-63.
- Nascimento, A.V., Bousbaa, H., Ferreira, D., Sarmento, B. (2015). Non-small cell lung carcinoma: an overview on targeted therapy. *Curr. Drug Targets*, 16 (13), 1448-1463.
- Nasr, T., Bondock, S., Rashed, H.M., Fayad, W., Youns, M., Sakr, T.M. (2018). Novel hydrazide-hydrazone and amide substituted coumarin derivatives: Synthesis, cytotoxicity screening, microarray, radiolabeling and *in vivo* pharmacokinetic studies. *Eur. J. Med. Chem.*, 151, 723-739.
- Naveen Kumar, H.S., Parumasivam, T., Jumaat, F., Ibrahim, P., Asmawi, M.Z., Sadikun, A. (2014). Synthesis and evaluation of isonicotinoyl hydrazone derivatives as antimycobacterial and anticancer agents. *Med. Chem. Res.*, 23 (1), 269-279.
- Nitulescu, G.M., Margina, D., Juzenas, P., Peng, Q., Olaru, O.T., Saloustros, E., Fenga, C., Spandidos, D.A., Libra, M., Tsatsakis, A.M. (2016). Akt inhibitors in cancer treatment: The long journey from drug discovery to clinical use. *Int. J. Oncol.*, 48, 869-885.
- Nussbaumer, S., Bonnabry, P., Veuthey, J.L., Fleury-Souverain, S. (2011). Analysis of anticancer drugs: A review. *Talanta*, 85 (5), 2265-2289.
- Özdemir, A., Kaplancıklı, Z.A., Turan-Zitouni, G., Revial, G. (2010). Synthesis of some novel hydrazone derivatives and evaluation of their antituberculosis activity. *Marmara Pharm. J.*, 14, 79-83.
- Pape, V.F., Toth, S., Furedi, A., Szebenyi, K., Lovrics, A., Szabo, P., Wiese, M., Szakacs, G. (2016). Design, synthesis and biological evaluation of thiosemicarbazones, hydrazinobenzothiazoles and arylhydrazones as anticancer agents with a potential to overcome multidrug resistance. *Eur. J. Med. Chem.*, 117, 335-354.
- Popiołek, Ł. (2017). Hydrazide-hydrazones as potential antimicrobial agents: overview of the literature since 2010. *Med. Chem. Res.*, 26 (2), 287-301.
- Rollas, S. ve Küçükgülzel, Ş.G. (2007). Biological activities of hydrazone derivatives. *Molecules*, 12 (8), 1910-1939.

- Roskoski, R. (2021). Properties of FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors: A 2021 update. *Pharmacol. Res.*, 165, 105463.
- Ruiz-Ceja, K.A. and Chirino, Y.I. (2017). Current FDA-approved treatments for non-small cell lung cancer and potential biomarkers for its detection. *Biomed. Pharmacother.*, 90, 24-37.
- Shah, P., Abadi, L.F., Gaikwad, S., Chaudhari, D., Kushwah, V., Jain, S., Bhutani, K.K., Kulkarni, S., Singh, I.P. (2018). Synthesis and biological evaluation of 8-hydroxyquinoline-hydrazones for anti-HIV-1 and anticancer potential. *ChemistrySelect*, 3 (38), 10727-10731.
- Shankar, R., Rawal, R.K., Singh, U.S., Chaudhary, P., Konwar, R., Hajela, K. (2017). Design, synthesis and biological evaluation of hydrazone derivatives as anti-proliferative agents. *Med. Chem. Res.*, 26 (7), 1459-1468.
- Song, M., Bode, A.M., Dong, Z., Lee, M.H. (2019). AKT as a therapeutic target for cancer. *Cancer Res.*, 79, 1019-1031.
- Sreenivasulu, R., Reddy, K.T., Sujitha, P., Kumar, C.G., Raju, R.R. (2019). Synthesis, antiproliferative and apoptosis induction potential activities of novel bis(indolyl)hydrazide-hydrazone derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, 27 (6), 1043-1055.
- Şenkardes, S., Kaushik-Basu, N., Durmaz, İ., Manvar, D., Basu, A., Atalay, R., Küçükgülzel, Ş.G. (2016). Synthesis of novel diflunisal hydrazide-hydrazones as anti-hepatitis C virus agents and hepatocellular carcinoma inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 108, 301-308.
- Terzioğlu, N. ve Gürsoy, A. (2003). Synthesis and anticancer evaluation of some new hydrazone derivatives of 2,6-dimethylimidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazole-5-carbohydrazide. *Eur. J. Med. Chem.*, 38 (7-8), 781-786.
- Vasanth, K., Basavarajaswamy, G., Vaishali Rai, M., Boja, P., Pai, V.R., Shruthi, N., Bhat, M. (2015). Rapid 'one-pot' synthesis of a novel benzimidazole-5-carboxylate and its hydrazone derivatives as potential anti-inflammatory and antimicrobial agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 25 (7), 1420-1426.
- Vicini, P., Incerti, M., Doytchinova, I.A., La Colla, P., Busonera, B., Loddo, R. (2006). Synthesis and antiproliferative activity of benzo[d]isothiazole hydrazones. *Eur. J. Med. Chem.*, 41 (5), 624-632.

- Vicini, P., Incerti, M., La Colla, P., Loddo, R. (2009). Anti-HIV evaluation of benzo[d]isothiazole hydrazones. *Eur. J. Med. Chem.*, 44 (4), 1801-1807.
- Wang, Y., Yan, H., Ma, C., Lu, D. (2015). Synthesis and anticancer activities of novel 8-azapurine carbocyclic nucleoside hydrazones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 25 (20), 4461-4463.
- Yılmaz, N. (2020). *Yeni triazol ve triazolotiyadiazin türevlerinin sentezi ve biyolojik etki çalışmaları*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Yuan, M., Huang, L.L., Chen, J.H., Wu, J., Xu, Q. (2019). The emerging treatment landscape of targeted therapy in non-small-cell lung cancer. *Signal Transduct. Target. Ther.*, 4, 61.
- Zappa, C. and Mousa, S.A. (2016). Non-small cell lung cancer: Current treatment and future advances. *Transl. Lung Cancer Res.*, 5, 288-300.
- Zhao, Y., Hui, J., Wang, D., Zhu, L., Fang, J.H., Zhao, X.D. (2010). Synthesis, cytotoxicity and pro-apoptosis of novel benzoisoindolin hydrazones as anticancer agents. *Chem. Pharm. Bull.*, 58 (10), 1324-1327.
- http-1:** <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/haberler/akciger-kanseri-farkindalik-ayi-2.html>
(Erişim tarihi: 11.01.2023)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Burak ERDÖNMEZ

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- Lisans: 2014-2019, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eskişehir.
- Lise: 2009-2013, Ahmet Kanatlı Anadolu Lisesi, Eskişehir.
- İlk ve Orta Öğretim: 2000-2008, Tahsin Şahinkaya İlköğretim Okulu, Ankara.
- Mesleki Deneyim: 2019-... (devam ediyor), Eczacı, Yunus Emre Devlet Hastanesi, Eskişehir.