YENİ KİNAZ İNHİBİTÖRLERİNİN TASARIMI, SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Doktora Tezi

Derya OSMANİYE

Eskişehir 2021

YENİ KİNAZ İNHİBİTÖRLERİNİN TASARIMI, SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Derya OSMANİYE

DOKTORA TEZİ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Nisan 2021

Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 1906S109 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Derya OSMANİYE'nin "Yeni Kinaz İnhibitörlerinin Tasarımı, Sentezi, Biyolojik Aktivite Çalışmaları" başlıklı tezi 07.04.2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı-Adı Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI	……
Üye	: Prof. Dr. Bedia KAYMAKÇIOĞLU	……
Üye	: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY	……
Üye	: Doç. Dr. Kaan KÜÇÜKOĞLU	……
Üye	: Doç. Dr. Sinem ILGIN	……

Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN
Enstitü Müdürü

ÖZET

YENİ KİNAZ İNHİBİTÖRLERİNİN TASARIMI, SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Derya OSMANİYE

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Nisan 2021

Danışman: Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI

Kanser hastalığı multifaktöriyel etkenli bir rahatsızlık olduğu için birçok sebebi bulunmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü raporuna göre kanser, yalnızca 2018'de tahmini 9.6 milyon ölümle dünya çapında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci önde gelen ölüm nedenini oluşturmuştur. Kinazlar insan genomunun %1.7'sini kapsayan en büyük gen ailesini oluşturur ve ilaç keşfi için ikinci büyük gen ailesini teşkil ederler. Küçük moleküler kinaz inhibitörleri, klinik değerlendirmede kullanılan yeni antikanser terapötikler olarak yoğun bir şekilde ilgi görmektedir.

Bu doktora tezi kapsamında yeni antikanser ajan geliştirmek için piridin ve pirimidin halkası içeren yeni bileşikler sentezlenmiştir. İmatinib öncül bileşik olarak kullanılmış ve aktiviteyi arttırmak amacıyla çeşitli modifikasyonlar yapılmıştır. Bileşiklerin sentezleri literatür metodlarına göre gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin yapı tayinleri IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, 2D-NMR ve APCI-MS spektroskopik yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Antikanser aktivite testleri A549, C6, MCF-7, HepG2, HT29 ve Panc-1 hücre hatlarına karşı *in vitro* olarak gerçekleştirilmiştir. **5i, 5j, 7i** ve **7j** kodlu bileşikler için ileri aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. PDGFRα ve ABL enzimlerine karşı bileşiklerin inhibitör potansiyelleri araştırılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Pirimidin, Piridin, Antikanser, Kinaz, İmatinib.

ABSTRACT

DESIGN, SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY STUDIES OF NEW KINASE INHIBITORS

Derya OSMANİYE

Department of Pharmaceutical Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, April 2021

Supervisor: Zafer Asım KAPLANCIKLI

Since cancer is a multifactorial disease, it has many reasons. Cancer was the second leading cause of death worldwide after cardiovascular disease, with an estimated 9.6 million deaths in 2018 alone, according to the World Health Organization report. Kinases constitute the largest gene family covering 1.7% of the human genome and constitute the second largest gene family for drug discovery. Small molecular kinase inhibitors are of great interest as novel anticancer therapeutics used in clinical evaluation.

In this doctoral thesis, some new pyridine and pyrimidine ring-containing compounds were synthesized to develop new anticancer agents. İmatinib was used as the precursor compound and various modifications were made to increase the activity. The synthesis of the compounds were carried out according to literature methods. Structure determinations of the compounds were carried out using IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, 2D-NMR and APCI-MS spectroscopic methods.

Anticancer activity tests were performed *in vitro* against A549, C6, MCF-7, HepG2, HT29 and Panc-1 cell lines. Further activity studies were carried out for the compounds **5i, 5j, 7i** and **7j.** The inhibitory potential of the compounds against PDGFRα and ABL enzymes was investigated.

Keywords: Pyrimidine, Pyridine, Anticancer, Kinase, İmatinib.

TEŞEKKÜR

05.03.2021

Hazırlamış olduğum bu doktora tezinin her aşamasında beni sabırla dinleyen, değerli bilgi ve katkılarıyla destek olan, özverili çalışma disiplinini ve mesleğine olan sevgisini kendime örnek aldığım, değerli bilgi ve tecrübelerini her zaman benimle paylaşıp akademik gelişimime büyük katkı sunan, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum çok değerli danışmanım, Sayın Hocam Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI'ya

Lisansüstü eğitim hayatım boyunca yol göstericiliği ile desteğini hep hissettiğim, her konuda beni sabırla dinleyen, değerli bilgi ve tecrübeleri ile yaşamıma kattıkları için minnettar olduğum, birlikte çalışma fırsatı bulduğum için kendimi çok şanslı hissettiğim Sayın Hocam Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY'a sonsuz sevgi, saygı ve en içten teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman sevgilerini hissettiğim, tez çalışmalarım boyunca benimle aynı heyecanı paylaşan, aklıma takılan her soruyu çekinmeden sorabildiğim hem tez çalışmalarımda hem hayatımda bana gösterdikleri destekler için nasıl teşekkür edeceğimi bilemediğim, sayın hocalarım Araş. Gör. Dr. Begüm Nurpelin SAĞLIK ve Öğr. Gör. Serkan LEVENT'e, her zaman ilgi ve desteğini gördüğüm arkadaşım Öğr. Gör. Asaf Evrim EVREN'e

Doktora tezimin aktivite kısmı için değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalının değerli öğretim üyesi Doç. Dr. Sinem ILGIN'a, Flow sitometri analizleri sırasında laboratuvarını kullanmamıza izin veren Biyokimya Anabilim Dalının değerli öğretim üyesi Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ'ye ve analiz sonuçlarını okumamıza yardımcı olan Şennur GÖRGÜLÜ'ye

İçtenlikleriyle yanımda olduğunu bildiğim Doç Dr. Ulviye ACAR ÇEVİK'e

Çok değerli bilgi ve destekleri ile yanımda olan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN ve Farmasötik Kimya Anabilim Dalı saygıdeğer hocalarına teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezi hayatımın her evresinde en büyük destekçilerim olan, verdiğim her kararda benim yanımda duran, onların çocuğu, kardeşi ve ablası olduğum için hep gurur duyduğum babam Yaşar Osmaniye'ye, annem Nigar Osmaniye'ye, ablam Fatma Perçin'e, abim Osman Perçin'e, kardeşim Nafiye Osmaniye'ye,

Ve hayatımıza girdiği ilk andan itibaren nasıl güçlü olunurmuş hepimize adeta ders veren, hayatımızı renklendiren, neşe kaynağımız canım yeğenim Kerem PERÇİN'e atfediyorum.

05.03.2021

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

Derya OSMANİYE

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KAPAK SAYFASI ..... **i**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI ..... **iii**

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

TEŞEKKÜR ..... **vi**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **xiv**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **xv**

KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xxix**

1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**

2. KAYNAK BİLGİSİ **8**

2.1. Tirozin Kinazlar Hakkında Genel Bilgiler **8**

2.2. İmatinib **13**

2.3. Antikanser Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Piridin Türevleri **15**

2.4. Antikanser Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Pirimidin Türevleri **21**

2.5. Antikanser Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Piperazin Türevleri **36**

3. GEREÇLER **43**

3.1. Kullanılan Maddeler **43**

3.2. Kullanılan Cihazlar **45**

4. . YÖNTEMLER **46**

4.1. Sentez Çalışmaları **46**

4.1.1. 1-(2-Metil-5-nitrobenzen)guanidin türevinin sentezi (Yöntem A) **46**

4.1.2. *N*-(2-Metil-5-nitrobenzen)-4-(piridin-4-il)pirimidin-2-amin türevinin sentezi (Yöntem B) **46**

4.1.3. 6-Metil-N^1-(4-(piridin-4-il)pirimidin-2-il)benzen-1,3-diamin türevinin sentezi (Yöntem C) **46**

4.1.4. 2-Kloro-N-(4-metil-3-((4-(piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (4a) ve 4-(Klorometil)-N-(4-metil-3-((4-(piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (4b) türevlerinin sentezi (Yöntem D) 47

4.1.5. Hedef bileşiklerin sentezi (5a-5j) (Yöntem E) 48

4.1.6. Potasyum 4-sübstitüepiperazin-1-karboditiyoat (6a-6e) türevlerinin sentezi (Yöntem F) 48

4.1.7. Hedef bileşiklerin sentezi (7a-7j) (Yöntem G) 49

4.2. İTK Çalışmaları ve Rf Değerlerinin Saptanması 49

4.3. Erime Noktalarının Tespiti 50

4.4. IR Spektrumlarının Alınması 50

4.5. ^{1}H NMR Spektrumlarının Alınması 50

4.6. ^{13}C NMR Spektrumlarının Alınması 50

4.7. 2D NMR Spektrumlarının Alınması 50

4.8. Kütle Spektrumlarının Alınması 51

4.9. Antikanser Aktivite Çalışmaları 51

4.9.1. MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi 51

4.9.1.1. *Hücrelerin çoğaltılması* 51

4.9.1.2. *Hücrelerin plakalara ekilmesi* 52

4.9.1.3. *MTT sitotoksisite testinin uygulanması* 52

4.9.2. BrdU proliferasyon yöntemi ile bileşiklerin antiproliferatif etkilerinin belirlenmesi 53

4.9.2.1. *Hücrelerin plakalara ekilmesi* 53

4.9.2.2. *BrdU proliferasyon yönteminin uygulanması* 53

4.9.3. Anneksin V/PI yöntemi ile bileşiklerin apoptotik etkilerinin belirlenmesi 54

4.9.3.1. *Hücrelerin plakalara ekilmesi* 54

4.9.3.2. *Anneksin/EI yönteminin uygulanması* 54

4.10. Kaspaz-3/CPP32 ve Bcl2 İndüksiyon Yöntemi 55

4.11. Kinaz İnhibisyon Testleri 55

4.12. Fizikokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi 55

4.13. Moleküler Modelleme Çalışmaları 56

5. BULGULAR ve TARTIŞMA 57

5.1. Sentez Çalışmaları 57

5.1.1. Amino((2-metil-5-nitrobenzen)amino)methaniminium (1) 57

5.1.2. *N*-(2-Metil-5-nitrobenzen)-4-(piridin-3-il)pirimidin-2-amin (2) 57

5.1.3. 6-Metil-N^1-(4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)benzen-1,3-diamin (3) 57

5.1.4. 4-(Kloro/klorometil)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid/benzamid türevleri (4a, 4b) 58

5.1.5. 2-(4-(2-Metoksietil)piperazin-1-il)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (5a) 58

5.1.6. 2-(4-Allilpiperazin-1-il)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (5b) 63

5.1.7. 2-(4-İzopropilpiperazin-1-il)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (5c) 68

5.1.8. 2-(4-(2-(Dimetilamino)etil)piperazin-1-il)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (5d) 73

5.1.9. 2-(4-(3-(Dimetilamino)propil)piperazin-1-il)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (5e) 78

5.1.10. 4-((4-(2-Metoksietil)piperazin-1-il)metil)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (5f) 83

5.1.11. 4-((4-Allilpiperazin-1-il)metil)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (5g) 88

5.1.12. 4-((4-İzopropilpiperazin-1-il)metil)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (5h) 93

5.1.13. 4-((4-(2-(Dimetilamino)etil)piperazin-1-il)metil)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (5i) 98

5.1.14. 4-((4-(3-(Dimetilamino)propil)piperazin-1-il)metil)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (5j) 103

5.1.15. Potasyum 4-sübstitüepiperazin-1-karboditiyoat (6a-6e) 107

5.1.16. 2-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)amino)-2-oksoetil 4-(2-metoksietil)piperazin-1-karboditiyoat (7a) 108

5.1.17. 2-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)amino)-2-oksoetil 4-allilpiperazin-1-karboditiyoat (7b) 113

5.1.18. 2-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)amino)-2-oksoetil 4-izopropilpiperazin-1-karboditiyoat (7c) 118

5.1.19. 2-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)amino)-2-oksoetil 4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-karboditiyoat (7d) 123

5.1.20. 2-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)amino)-2-oksoetil 4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-karboditiyoat (7e) 128

5.1.21. 4-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)karbamoil)benzil 4-(2-metoksietil)piperazin-1-karboditiyoat (7f) 133

5.1.22. 4-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)karbamoil)benzil 4-allilpiperazin-1-karboditiyoat (7g) 138

5.1.23. 4-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)karbamoil)benzil 4-izopropilpiperazin-1-karboditiyoat (7h) 143

5.1.24. 4-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)karbamoil)benzil 4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-karboditiyoat (7i) 148

5.1.25. 4-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)karbamoil)benzil 4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-karboditiyoat (7j) 153

5.2. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi 157

5.2.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi 157

5.2.2. NMR spektrumlarının değerlendirilmesi 157

5.2.2.1. ^{1}*H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi* 157

5.2.2.2. ^{13}*C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi* 159

5.2.2.3. *2D-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi* 160

5.2.3. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi 177

5.3. Antikanser Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi 177

5.3.1. MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etki sonuçları 177

5.3.2. BrdU proliferasyon yöntemi ile bileşiklerin antiproliferatif etki sonuçları 182

5.3.3. Anneksin V/EI yöntemi ile bileşiklerin apoptotik etki sonuçları 187

5.4. Yapı Etki İlişkilerinin Değerlendirilmesi 196

5.5. Kaspaz-3/CPP32 ve Bcl2 İndüksiyon Yöntemi 197

5.6. Kinaz Enzim İnhibisyon Testleri 200

5.7. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi 204

5.7.1. PDGFR-α tirozin kinaz enzimi üzerine moleküler modelleme çalışmalarının değerlendirilmesi 204

5.7.2. ABL tirozin kinaz enzimi üzerine moleküler modelleme çalışmalarının değerlendirilmesi 228

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 254

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Antikanser aktivitelerinin incelenmesi planlanan sentez ürünleri 7
Tablo 2.1. Reseptör tirozin kinazların sınıflandırılması[28]. 10
Tablo 5.1. 4-(Klorometil)-N-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il) pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (4b) 170
Tablo 5.2. Bileşiklerin A549, C6, MCF-7, HepG2, HT29, PANC-1 ve 3T3 hücre dizilerine ait IC_{50} değerleri (μM) 180
Tablo 5.3. 5i, 5j, 7i ve 7j bileşiklerinin C6, MCF-7, HepG2, HT-29 ve Panc-1 hücre dizilerine ait selektivite indeksleri 182
Tablo 5.4. Bileşikler 5i, 5j, 7i, 7j'nin ve İmatinib'in C6 hücre dizisi üzerindeki apoptoz yüzdeleri 188
Tablo 5.5. Bileşikler 5i, 5j, 7i,7j'nin ve İmatinib'in MCF-7 hücre dizisi üzerindeki apoptoz yüzdeleri 190
Tablo 5.6. Bileşikler 5i, 5j, 7i , 7j'nin ve İmatinib'in HepG2 hücre dizisi üzerindeki apoptoz yüzdeleri 192
Tablo 5.7. Bileşikler 5i, 5j, 7i, 7j'nin ve İmatinib'in HT29 hücre dizisi üzerindeki apoptoz yüzdeleri 194
Tablo 5.8. 5i, 5j, 7i, 7j ve İmatinib'in PDGFRα ve Abl enzimlerine karşı IC_{50} değerleri (μM) 200
Tablo 5.9. Bileşiklerin fizikokimyasal parametreleri..... 202
Tablo 5.10. 5i, 5j, 7i ve 7j kodlu bileşiklerin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesinde van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri oluşturdukları amino asitler. 211
Tablo 5.11. 5i, 5j, 7i ve 7j kodlu bileşiklerin ve İmatinib molekülünün PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine bağlanma affiniteleri. 213
Tablo 5.12. 5i, 5j, 7i ve 7j kodlu bileşiklerin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesinde van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri oluşturdukları amino asitler. 236
Tablo 5.13. 5i, 5j, 7i ve 7j kodlu bileşiklerin ve İmatinib molekülünün ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine bağlanma affiniteleri..... 237

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Hücre siklusunun bölümleri 1
Şekil 1.2. Kadın ve erkeklerde yıllara göre kanser türlerinin dağılımı..... 2
Şekil 1.3. İdelalisib molekül şekli 3
Şekil 1.4. İmatinib molekül şekli..... 4
Şekil 1.5. Sorafenib molekül şekli..... 4
Şekil 2.1. Kinazların katlanma topolojisi 8
Şekil 2.2. FDA tarafından onaylanan kinaz inhibitörleri [32]..... 11
Şekil 2.3. Abl inhibitör aktivitesine sahip kinaz inhibitörleri..... 12
Şekil 2.4. PDGFR inhibitör aktivitesine sahip çoklu kinaz inhibitörleri..... 13
Şekil 2.5. N-(5-(2-asetamidobenzo[d]tiyazol-6-il)-2-kloropiridin-3-il)benzamid 15
Şekil 2.6. (1-(6-((5-(4-(Dimetilamino)piperidin-1-il)piridin-2-il) amino)-2- ((4-florobenzen)amino)pirido[3,4-d]pirimidin-4-il)piperidin -4-il)metanol 16
Şekil 2.7. 1-(4-(3-Amino-6-metilizoksazolo[3,4-b]piridin-4-il)benzen) -3-m-tolilüre 16
Şekil 2.8. 3-Benzil-1-(trans-4-((5-siyanopiridin-2-il)amino)siklohekzil)-1-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)benzen)üre 17
Şekil 2.9. (S)-1-(2-((2-metoksi-4-(piperazin-1-il)benzen)amino)piridin-4-il) -N-(4-(triflorometoksi)benzil)piperidin-3-karboksamid 17
Şekil 2.10. 1-(4-((5-Kloro-4-((3-metoksi-4-morfolinobenzen)amino)pirimidin-2-il) amino)-3-metoksibenzen)-3-(piridin-3-ilmetil)üre..... 18
Şekil 2.11. (Z)-5-Floro-N'-(pirolidin-1-karbonotiyonil) picolinohidrazonamid 18
Şekil 2.12. 1-(2-Bromo-4-klorobenzen)-3-(3-bromopiridin-2-il)tiyoüre 18
Şekil 2.13. 2-((2-((5,6-dihidro-4H-pirolo[1,2-b]pirazol-2-il)amino)piridin-4-il) amino)-N-metoksibenzamid 19
Şekil 2.14. N-(2-((2-(Dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(3-(4-florobenzen) -5-(metiltiyo)-4H-1,2,4-triazol-4-il)piridin-2-il)amino)benzen) akrilamid 19
Şekil 2.15. 5-(7-(1-(2-morfolinoetil)-1H-pirazol-4-il)imidazo[1,2-a]piridin-3-il)

-3-(1-(2-(trifloromethil)benzen)etoksi)tiyofen-2-karboksamid 20
Şekil 2.16. Etil-10-(2-klorobenzen)-9-siyano
-4,8-dihidroksipirido[2',3':3,4]pirazolo[5,1-c]-1,2,4- triazin
-3-karboksilat 20
Şekil 2.17. 5-(1-(2-Kloro-6-(metilsülfanil)piridin-4-il)vinil)
-1-metil-1H-indol-3-karboksamid..... 21
Şekil 2.18. 2-(3-(3-Hidroksi-5-metilbenzen)-4-(6-((4-hidroksibütil)amino)
-2-(piridin-3-il)pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)asetonitril 21
Şekil 2.19. N^4-((2-(4-(benziloksi)benzen)-4-metil-5-tiyazolil)metil)-N^2
-izobütilpirimidin-2,4-diamin 22
Şekil 2.20. 4-((5-bromo-4-(siklopentilamino)pirimidin-2-il)amino)-N-
(1-metilpiperidin-4-il)benzamid 22
Şekil 2.21. (4-((4-(6-amino-4-(trifloromethil)piridin-3-il)-6-morfolinopirimidin
-2-il)amino)benzen)(4-(metilsülfonil)piperazin-1-il)metanon..... 22
Şekil 2.22. Etil 2-(benzil(5-nitro-2-(fenetilamino)pirimidin-4-il)amino)asetat 23
Şekil 2.23. Dietil 2,2'-disülfinilbis(6-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)
-4-metil-1,6-dihidropirimidin-5-karboksilat)..... 23
Şekil 2.24. 5-Kloro-N4-(2-(izopropilsülfonil)benzen)-N2-(6-metoksi-
1,2,3,4-tetrahidroizokinolin-7-il)pirimidin-2,4-diamin..... 24
Şekil 2.25. 4-Amino-N-(4-(3-(trifloromethil)fenoksi)pirimidin-5-il)benzamid..... 24
Şekil 2.26. (S)-etil-6-izopropil-2-tiyokso-4-(4-(trifloromethil)stiril)
-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-karboksilat 25
Şekil 2.27. N-Siklopentil-4-metil-5-(2-((5-morfolinopiridin-2-il)amino)
-pirimidin-4-il)tiyazol-2-amin 25
Şekil 2.28. N-(4-((3-(2-((4,6-dimetilpirimidin
-2-il)tiyo)asetamido)benzil)oksi)benzen)tiyofen-2-karboksamid 25
Şekil 2.29. N-(3-((5-kloro-4-((2-(izopropilsülfonil)benzen)amino)pirimidin-2-il)
amino)-4-metoksibenzen)-2-(4-((2-(2,4-dihidroksi-5-izopropilbenzoil)
izoindolin-5-il)metil)piperazin-1-il)asetamid 26
Şekil 2.30. 4-(4-kloro-5-benzen-6-(4-(2-(pirolidin-1-il)etoksi)fenoksi)
pirimidin-2-il)fenol 26
Şekil 2.31. 2-(Benzo[d]oksazol-2-ilamino)-N-(2-kloro-4-florobenzen)
-4-metil-6-(3-nitrobenzen)pirimidin-5-karboksamid..... 27

Şekil 2.32. N^2-(3-kloro-4-florobenzen)-N^4-(5-metil-1H-pirazol-3-il) -6-(4-methylpiperazin-1-yl)pyrimidine-2,4-diamine 27
Şekil 2.33. N-(4-((5-floro-4-(4-floro-1-izopropil-2-metil-1H-benzo [d]imidazol-6-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)-N-(p-tolil)siklopropan -1,1-dikarboksamid 28
Şekil 2.34. 4-[4-(6-Floro-benzotiyazol-2-ilamino)-pirimidin -2-ilamino]-benzenesülfonamid 28
Şekil 2.35. Etil 4-((2-((2-(4-siyanobenzen)-2-oksoetil)tiyo)pirimidin-4-il) amino)benzoat 29
Şekil 2.36. 2-(Dimetilamino)etil 4-(4-((4-((2-(metilkarbamoil)benzen) amino)-5- (triflorometil)pirimidin-2-il)amino)benzoil)piperazine -1-karboditiyoat 29
Şekil 2.37. (E)-N-(2-metil-5-(((5-nitro-1H-indol-3-il)metilen)amino)benzen) -4-(piridin-3-il)pirimidin-2-amin 30
Şekil 2.38. 4-Floro-N-(4-(3-(triflorometil)fenoksi)pirimidin-5-il)benzamid 30
Şekil 2.39. 6-(4-(Aminometil) piperidin-1-il)-3-metil-1-((4-okso-3-(4-fenoksibenzen) -3,4-dihidro kinazolin-2-il) metil) pirimidin-2,4(1H,3H)-dion 31
Şekil 2.40. 1-(7-(1H-pirazol-4-il)pirido[3,2-d]pirimidin-2-il)-3 -siklopentilüre 31
Şekil 2.41. 5-(4-Etoksibenzen)-4-(4-metoksinaftalen-1-il)-pirimidin-2-amin 32
Şekil 2.42. N-[5-siyano-6-(4-sübstitüebenzen)-2-sülfanilpirimidin-4-il]asetamid türevi bileşikler 32
Şekil 2.43. 4-(2-Benzen-6-(3,4,5-trimetoksibenzen)pirimidin-4-il)benzen-1,3-diol 33
Şekil 2.44. 2-((4-((5-Kloro-4-((2-(izopropilsülfonil)benzen)amino)pirimidin-2-il) amino)-3-metoksibenzen)sülfonil)-1-(4-etilpiperazin-1-il)etan-1-on 33
Şekil 2.45. 2-(Bütiltiyo)-4-benzen-6-(piridin-2-ilamino)pirimidin-5-karbonitril 34
Şekil 2.46. 6-Benzil-N^4-(5-metil-1H-pirazol-3-il)-N^2-(piperidin-4-il) -pirimidin-2,4-diamin 34
Şekil 2.47. S-(4-(4-[Dimetilamino]benzen)-6-(naftalen-2-il)pirimidin-2-il) 2-kloroetantiyoat 34
Şekil 2.48. (E)-N'-((1H-indol-3-il)metilen)-5-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il) amino)-1H-indol-2-karbohidrazid 35
Şekil 2.49. N-(4-Asetilbenzen)-2-(5-siyano-4-okso-6-(3,4,5-trimetoksibenzen)

-1,6-dihidropirimidin-2-iltiyo)asetamid 35
Şekil 2.50. 1-(4-((1H-İndol-3-il)tiyo)-6-(pirolidin-1-il)pirimidin-2-il)
-3-(4-klorobenzen)üre 36
Şekil 2.51. 2-Anilino-4-(2-(1-(4-metoksibenzen)etiliden)hidrazinil)
-6-benzenpirimidin-5-karbonitril 36
Şekil 2.52. 1-Allil-3-(2,3-diklorobenziliden)-6-(2-metoksibenziliden)piperazin
-2,5-dion 37
Şekil 2.53. N-(6-Metilbenzotiyazol-2-il)-2-[4-(piridin-4-il)piperazinil]
asetamid 37
Şekil 2.54. (3Z,6Z)-1-Allil-6-(4-metoksibenziliden)-3-pentilidenpiperazin
-2,5-dion 38
Şekil 2.55. 2-(4-Metil-piperazin-1-il-metil)-1-p-tolil-2-propen
-1-ondihidroklorür 38
Şekil 2.56. 3-(4-((3-(4-(Benziloksi)-3-metoksibenzen)-4,5-dihidroizoksazol-5-il)
metil) piperazin-1-il)benzo[d]izotiyazol 39
Şekil 2.57. 5-(2,3-Dihidrobenzo[b][1,4]dioksin-6-il)-3-
((4-(3(triflorometil)benzen) piperazin-1-il)metil)-1,3,4-oksadiazol
-2(3H)-tiyon 39
Şekil 2.58. 2-((4-((4-Kloro-3-nitrobenzen)sülfonil)piperazin-1-il)metil)
kromeno[4,3-c]pirazol-4(2H)-on 40
Şekil 2.59. 2-(Dimetilamino)etil 4-(4-((4-((2-(metilkarbamoil)benzen)
amino)-5-(triflorometil)pirimidin-2-il)amino)benzoil)piperazine
-1-karboditiyoat 40
Şekil 2.60. 1-(4-(2-(4-Metoksifenoksi)etil)benzil)-4-benzenpiperazin
dihidroklorür 41
Şekil 2.61. 5-Metil-4-benzen-3-(4-(3,5-dimetoksibenzen)piperazin-1-karbonil)
-4H-1,2,4-triazol 41
Şekil 2.62. 9-(Siklopropilmetil)-N^6-(3-florobenzen)-N^2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)
benzen)-9H-purin-2,6-diamin 42
Şekil 4.1. 1-(2-Metil-5-nitrobenzen)guanidin Eldesi için Reaksiyon Denklemi 46
Şekil 4.2. N-(2-Metil-5-nitrobenzen)-4-(piridin-4-il)pirimidin-2-amin Eldesi
için Reaksiyon Denklemi 46
Şekil 4.3. 6-Metil-N^1-(4-(piridin-4-il)pirimidin-2-il)benzen-1,3-diamin

Türevinin Eldesi için Reaksiyon Denklemi 47
Şekil 4.4. 2-Kloro-N-(4-metil-3-((4-(piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzen) asetamid (4a) ve 4-(Klorometil)-N-(4-metil-3-((4-(piridin-4-il) pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (4b) Türevlerinin Eldesi için Reaksiyon Denklemi 48
Şekil 4.5. 5a-5j Türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi 48
Şekil 4.6. Potasyum 4-sübstitüepiperazin-1-karboditiyoat (6a-6e) Türevlerinin Eldesi için Reaksiyon Denklemi 49
Şekil 4.7. 7a-7j Türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi 49
Şekil 5.1. Amino((2-metil-5-nitrobenzen)amino)methaniminium nitrat 57
Şekil 5.2. N-(2-Metil-5-nitrobenzen)-4-(piridin-3-il)pirimidin-2-amin 57
Şekil 5.3. 6-Metil-N^1-(4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)benzen-1,3-diamin 57
Şekil 5.4. 4a ve 4b 58
Şekil 5.5. 2-(4-(2-Metoksietil)piperazin-1-il)-N-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il) pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (5a) 58
Şekil 5.6. Bileşik 5a'ya ait IR spektrumu 59
Şekil 5.7. Bileşik 5a'ya ait ^{1}H-NMR spektrumu 60
Şekil 5.8. Bileşik 5a'ya ait ^{13}C-NMR spektrumu 61
Şekil 5.9. Bileşik 5a'ya ait APCI-MS spektrumu 62
Şekil 5.10. 2-(4-Allilpiperazin-1-il)-N-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il) pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (5b) 63
Şekil 5.11. Bileşik 5b'ye ait IR spektrumu 64
Şekil 5.12. Bileşik 5b'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 65
Şekil 5.13. Bileşik 5b'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 66
Şekil 5.14. Bileşik 5b'ye ait APCI-MS spektrumu 67
Şekil 5.15. 2-(4-İzopropilpiperazin-1-il)-N-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il) pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (5c) 68
Şekil 5.16. Bileşik 5c'ye ait IR spektrumu 69
Şekil 5.17. Bileşik 5c'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 70
Şekil 5.18. Bileşik 5c'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 71
Şekil 5.19. Bileşik 5c'ye ait APCI-MS spektrumu 72
Şekil 5.20. 2-(4-(2-(Dimetilamino)etil)piperazin-1-il)-N-(4-metil -3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (5d) 73

Şekil 5.21. Bileşik 5d'ye ait IR spektrumu 74
Şekil 5.22. Bileşik 5d'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 75
Şekil 5.23. Bileşik 5d'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 76
Şekil 5.24. Bileşik 5d'ye ait APCI-MS spektrumu 77
Şekil 5.25. 2-(4-(3-(Dimetilamino)propil)piperazin-1-il)-N-(4-metil -3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (5e) 78
Şekil 5.26. Bileşik 5e'ye ait IR spektrumu 79
Şekil 5.27. Bileşik 5e'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 80
Şekil 5.28. Bileşik 5e'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 81
Şekil 5.29. Bileşik 5e'ye ait APCI-MS spektrumu 82
Şekil 5.30. 4-((4-(2-Metoksietil)piperazin-1-il)metil)-N -(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (5f) .. 83
Şekil 5.31. Bileşik 5f'ye ait IR spektrumu 84
Şekil 5.32. Bileşik 5f'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 85
Şekil 5.33. Bileşik 5f'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 86
Şekil 5.34. Bileşik 5f'ye ait APCI-MS spektrumu 87
Şekil 5.35. 4-((4-Allilpiperazin-1-il)metil)-N-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il) pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (5g) 88
Şekil 5.36. Bileşik 5g'ye ait IR spektrumu 89
Şekil 5.37. Bileşik 5g'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 90
Şekil 5.38. Bileşik 5g'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 91
Şekil 5.39. Bileşik 5g'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 92
Şekil 5.40. 4-((4-İzopropilpiperazin-1-il)metil)-N-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il) pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (5h) 93
Şekil 5.41. Bileşik 5h'ye ait IR spektrumu 94
Şekil 5.42. Bileşik 5h'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 95
Şekil 5.43. Bileşik 5h'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 96
Şekil 5.44. Bileşik 5h'ye ait APCI-MS spektrumu 97
Şekil 5.45. 4-((4-(2-(Dimetilamino)etil)piperazin-1-il)metil)-N- (4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (5i) ... 98
Şekil 5.46. Bileşik 5i'ye ait IR spektrumu 99
Şekil 5.47. Bileşik 5i'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 100
Şekil 5.48. Bileşik 5i'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 101

Şekil 5.49. Bileşik 5i'ye ait APCI-MS spektrumu 102
Şekil 5.50. 4-((4-(3-(Dimetilamino)propil)piperazin-1-il)metil)
-N-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (5j)
..... 103
Şekil 5.51. Bileşik 5j'ye ait IR spektrumu..... 104
Şekil 5.52. Bileşik 5j'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu..... 105
Şekil 5.53. Bileşik 5j'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu..... 106
Şekil 5.54. Bileşik 5j'ye ait APCI-MS spektrumu 107
Şekil 5.55. Potasyum 4-sübstitüepiperazin-1-karboditiyoat 107
Şekil 5.56. 2-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)amino)
-2-oksoetil 4-(2-metoksietil)piperazin-1-karboditiyoat (7a) 108
Şekil 5.57. Bileşik 7a'ya ait IR spektrumu..... 109
Şekil 5.58. Bileşik 7a'ya ait ^{1}H-NMR spektrumu..... 110
Şekil 5.59. Bileşik 7a'ya ait ^{13}C-NMR spektrumu..... 111
Şekil 5.60. Bileşik 7a'ya ait APCI-MS spektrumu..... 112
Şekil 5.61. 2-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)amino)
-2-oksoetil 4-allilpiperazin-1-karboditiyoat (7b) 113
Şekil 5.62. Bileşik 7b'ye ait IR spektrumu..... 114
Şekil 5.63. Bileşik 7b'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu..... 115
Şekil 5.64. Bileşik 7b'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu..... 116
Şekil 5.65. Bileşik 7b'ye ait APCI-MS spektrumu 117
Şekil 5.66. 2-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)amino)
-2-oksoetil 4-izopropilpiperazin-1-karboditiyoat (7c) 118
Şekil 5.67. Bileşik 7c'ye ait IR spektrumu..... 119
Şekil 5.68. Bileşik 7c'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu..... 120
Şekil 5.69. Bileşik 7c'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu..... 121
Şekil 5.70. Bileşik 7c'ye ait APCI-MS spektrumu..... 122
Şekil 5.71. 2-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)amino)
-2-oksoetil 4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-karboditiyoat (7d) 123
Şekil 5.72. Bileşik 7d'ye ait IR spektrumu..... 124
Şekil 5.73. Bileşik 7d'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu..... 125
Şekil 5.74. Bileşik 7d'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu..... 126
Şekil 5.75. Bileşik 7d'ye ait APCI-MS spektrumu 127

Şekil 5.76. 2-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)amino) -2-oksoetil 4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-karboditiyoat (7e) 128
Şekil 5.77. Bileşik 7e'ye ait IR spektrumu 129
Şekil 5.78. Bileşik 7e'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 130
Şekil 5.79. Bileşik 7e'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 131
Şekil 5.80. Bileşik 7e'ye ait APCI-MS spektrumu 132
Şekil 5.81. 4-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen) karbamoil)benzil 4-(2-metoksietil)piperazin-1-karboditiyoat (7f) 133
Şekil 5.82. Bileşik 7f'ye ait IR spektrumu 134
Şekil 5.83. Bileşik 7f'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 135
Şekil 5.84. Bileşik 7f'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 136
Şekil 5.85. Bileşik 7f'ye ait APCI-MS spektrumu 137
Şekil 5.86. 4-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen) karbamoil)benzil 4-allilpiperazin-1-karboditiyoat (7g) 138
Şekil 5.87. Bileşik 7g'ye ait IR spektrumu 139
Şekil 5.88. Bileşik 7g'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 140
Şekil 5.89. Bileşik 7g'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 141
Şekil 5.90. Bileşik 7g'ye ait APCI-MS spektrumu 142
Şekil 5.91. 4-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen) karbamoil)benzil 4-izopropilpiperazin-1-karboditiyoat (7h) 143
Şekil 5.92. Bileşik 7h'ye ait IR spektrumu 144
Şekil 5.93. Bileşik 7h'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 145
Şekil 5.94. Bileşik 7h'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 146
Şekil 5.95. Bileşik 7h'ye ait APCI-MS spektrumu 147
Şekil 5.96. 4-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen) karbamoil)benzil 4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-karboditiyoat (7i) 148
Şekil 5.97. Bileşik 7i'ye ait IR spektrumu 149
Şekil 5.98. Bileşik 7i'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 150
Şekil 5.99. Bileşik 7i'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 151
Şekil 5.100. Bileşik 7i'ye ait APCI-MS spektrumu 152
Şekil 5.101. 4-((4-Metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen) karbamoil)benzil 4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-karboditiyoat (7j) 153

Şekil 5.102. Bileşik 7j'ye ait IR spektrumu 154
Şekil 5.103. Bileşik 7j'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 155
Şekil 5.104. Bileşik 7j'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 156
Şekil 5.105. Bileşik 7j'ye ait APCI-MS spektrumu 157
Şekil 5.106. 2-Kloro-N-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino) benzen)asetamid (4a) 160
Şekil 5.107. Bileşik 4a'ya ait ^{1}H-NMR spektrumu 162
Şekil 5.108. Bileşik 4a'ya ait ^{13}C-NMR spektrum 163
Şekil 5.109. Bileşik 4a'ya ait 2D NOESY spektrumu 164
Şekil 5.110. Bileşik 4a'ya ait 2D NOESY spektrumu alifatik bölge yakınlaştırılmış hali 164
Şekil 5.111. Bileşik 4a'ya ait 2D NOESY spektrumu aromatik bölge yakınlaştırılmış hali 165
Şekil 5.112. Bileşik 4a'ya ait 2D HSQC spektrumu 165
Şekil 5.113. Bileşik 4a'ya ait 2D HSQC spektrumu alifatik bölge yakınlaştırılmış hali 166
Şekil 5.114. Bileşik 4a'ya ait 2D HSQC spektrumu aromatik bölge yakınlaştırılmış hali 166
Şekil 5.115. Bileşik 4a'ya ait 2D HMBC spektrumu 167
Şekil 5.116. Bileşik 4a'ya ait 2D HMBC spektrumu alifatik bölge yakınlaştırılmış hali 167
Şekil 5.117. Bileşik 4a'ya ait 2D HMBC spektrumu aromatik bölge yakınlaştırılmış hali 168
Şekil 5.118. 4-(Klorometil)-N-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il) pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (4b) 169
Şekil 5.119. Bileşik 4b'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu 171
Şekil 5.120. Bileşik 4b'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu 172
Şekil 5.121. Bileşik 4b'ye ait 2D NOESY spektrumu 173
Şekil 5.122. Bileşik 4b'ye ait 2D NOESY spektrumu alifatik bölge yakınlaştırılmış hali 173
Şekil 5.123. Bileşik 4b'ye ait 2D NOESY spektrumu aromatik bölge yakınlaştırılmış hali 174
Şekil 5.124. Bileşik 4b'ye ait 2D HSQC spektrumu 174

Şekil 5.125. Bileşik 4b'ye ait 2D HSQC spektrumu alifatik bölge yakınlaştırılmış hali 175
Şekil 5.126. Bileşik 4b'ye ait 2D HSQC spektrumu aromatik bölge yakınlaştırılmış hali 175
Şekil 5.127. Bileşik 4b'ye ait 2D HMBC spektrumu 176
Şekil 5.128. Bileşik 4b'ye ait 2D HMBC spektrumu alifatik bölge yakınlaştırılmış hali 176
Şekil 5.129. Bileşik 4b'ye ait 2D HMBC spektrumu aromatik bölge yakınlaştırılmış hali 177
Şekil 5.130. C6 hücre dizilerinde bileşikler 5i, 5j, 7i, 7j ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri. 183
Şekil 5.131. MCF-7 hücre dizilerinde bileşikler 5i, 5j, 7i, 7j ile İmatinib'in ile 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri 184
Şekil 5.132. HepG2 hücre dizilerinde bileşikler 5i, 5j, 7i, 7j ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri 185
Şekil 5.133. HT29 hücre dizilerinde bileşikler 5i, 5j, 7i, 7j ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri 186
Şekil 5.134. Panc-1 hücre dizilerinde bileşikler 5i, 5j, 7i, 7j ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri 187
Şekil 5.135. C6 hücre dizisinde bileşik 5i, 5j, 7i, 7j ile İmatinib'e ait akış sitometrik analiz diyagramı 189
Şekil 5.136. MCF7 hücre dizisinde bileşik 5i, 5j, 7i, 7j ile İmatinib'e ait akış sitometrik analiz diyagramı 191
Şekil 5.137. HepG2 hücre dizisinde bileşik 5i, 5j, 7i, 7j ile İmatinib'e ait akış sitometrik analiz diyagramı 193
Şekil 5.138. HT29 hücre dizisinde bileşik 5i, 5j, 7i, 7j ile İmatinib'e ait akış sitometrik analiz diyagramı 195
Şekil 5.139. Sentez bileşiklerinin kimyasal yapılarındaki farklılıklar 196

Şekil 5.140. HepG2 hücre dizisinde bileşik 5i, 5j, 7i, 7j ile İmatinib'e ait Kaspaz-3 aktivasyon aktiviteleri 199
Şekil 5.141. HepG2 hücre dizisinde bileşik 5i, 5j, 7i, 7j ile İmatinib'e Bcl2 aktivasyon aktiviteleri 199
Şekil 5.142. İmatinib'in PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi 205
Şekil 5.143. İmatinib'in PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü 206
Şekil 5.144. İmatinib'in PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü 206
Şekil 5.145. İmatinib'in PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi 207
Şekil 5.146. İmatinib'in PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi 208
Şekil 5.147. İmatinib ve bileşik 5i, 5j, 7i ve 7j'nın PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi 209
Şekil 5.148. Bileşik 5i'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi . 213
Şekil 5.149. Bileşik 5i'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü 214
Şekil 5.150. Bileşik 5i'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü 214
Şekil 5.151. Bileşik 5i'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi 215
Şekil 5.152. Bileşik 5i'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi 215
Şekil 5.153. Bileşik 5j'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi .. 216
Şekil 5.154. Bileşik 5j'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü 217
Şekil 5.155. Bileşik 5j'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü 217
Şekil 5.156. Bileşik 5j'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi 218
Şekil 5.157. Bileşik 5j'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi 218

Şekil 5.158. Bileşik 7i'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi .. 219
Şekil 5.159. Bileşik 7i'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü 220
Şekil 5.160. Bileşik 7i'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü 221
Şekil 5.161. Bileşik 7i'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi 221
Şekil 5.162. Bileşik 7i'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi 222
Şekil 5.163. Bileşik 7j'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi . 223
Şekil 5.164. Bileşik 7j'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü 224
Şekil 5.165. Bileşik 7j'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü 224
Şekil 5.166. Bileşik 7j'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi 225
Şekil 5.167. Bileşik 7j'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi 225
Şekil 5.168. Bileşik 5b'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi . 226
Şekil 5.169. Bileşik 5b'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü 227
Şekil 5.170. Bileşik 5b'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü 228
Şekil 5.171. İmatinib'in ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi..... 230
Şekil 5.172. İmatinib'in ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü 231
Şekil 5.173. İmatinib'in ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü 231
Şekil 5.174. İmatinib'in ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi 232
Şekil 5.175. İmatinib'in ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi 233
Şekil 5.176. İmatinib ve bileşik 5i, 5j, 7i ve 7j'nin ABL tirozin kinaz

enzim aktif bölgesine yerleşimi 234
Şekil 5.177. Bileşik 5i'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi 238
Şekil 5.178. Bileşik 5i'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü 239
Şekil 5.179. Bileşik 5i'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü 239
Şekil 5.180. Bileşik 5i'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi 240
Şekil 5.181. Bileşik 5i'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi 240
Şekil 5.182. Bileşik 5j'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi 241
Şekil 5.183. Bileşik 5j'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü 242
Şekil 5.184. Bileşik 5j'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü 242
Şekil 5.185. Bileşik 5j'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi 243
Şekil 5.186. Bileşik 5j'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi 244
Şekil 5.187. Bileşik 7i'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi 245
Şekil 5.188. Bileşik 7i'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü 246
Şekil 5.189. Bileşik 7i'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü 246
Şekil 5.190. Bileşik 7i'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi 247
Şekil 5.191. Bileşik 7i'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi 247
Şekil 5.192. Bileşik 7j'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi 248
Şekil 5.193. Bileşik 7j'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü 249
Şekil 5.194. Bileşik 7j'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü 249

Şekil 5.195. Bileşik 7j'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi 250
Şekil 5.196. Bileşik 7j'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi 251
Şekil 5.197. Bileşik 5b'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi 252
Şekil 5.198. Bileşik 5b'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü 253
Şekil 5.199. Bileşik 5b'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü 253

KISALTMALAR DİZİNİ (ÖRNEK)

ABL : Abelson Tirozin Kinaz

ALK : Anaplastik Lenfoma Kinaz

ATP : Adenozin Trifosfat

A375 : İnsan Deri Karsinoma Hücresi

A431 : İnsan Epidermal Karsinoma Hücresi

A549 : İnsan Akciğer Karsinoma Hücresi

BrdU : Bromodeoksiüridin

BXPC-3 : İnsan Pankreas Karsinoma Hücresi

c-Kit : Kit Geni Tarafından Kodlanan Tirozin Kinaz

CDK-12 : Siklin Bağımlı Kinaz

COSY : Korelasyon Spektroskopisi

C6 : Rat Beyin Karsinoma Hücresi

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

DMSO : Dimetilsülfoksit

DMSO-d_6 : Dötoryodimetilsülfoksit

DU145 : İnsan Prostat Karsinoma Hücresi

EDTA : Etilendiamin Tetraasetik Asit

EGFR : Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü

E.n : Erime Noktası

FDA : Amerika Gıda ve İlaç Dairesi

HCC827 : İnsan Akciğer Adenokarsinoma Hücresi

HCT116 : İnsan Kolon Kanser Hücresi

HeLa : İnsan Serviks Adenokarsinoma Hücresi

HepG2 : İnsan Karaciğer Karsinoma Hücresi

HL-60 : İnsan Akut Promiyelositik Lösemi Hücresi

HMBC : Heteronükleer Çok-Bağ Korelasyon Spektroskopisi

HSQC : Heteronükleer Tek-Kuantum Korelasyon Spektroskopisi

HT-29 : İnsan Kolon Karsinoma Hücresi

H1975 : İnsan Küçük Hücreli Akciğer Kanseri

IC_{50} : %50 İnhibisyon Konsantrasyonu

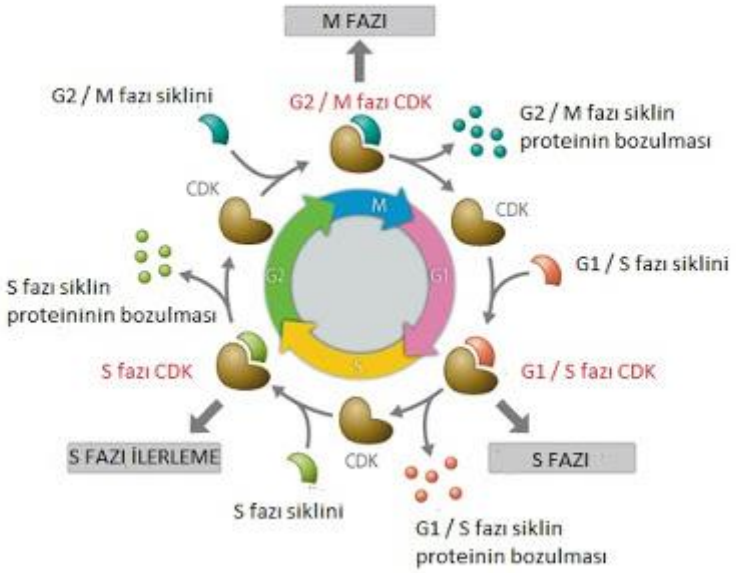
IR : Infrared (Kızıl ötesi)

İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
KML	: Kronik Myeloid Lösemi
MCF-7	: İnsan Meme Karsinoma Hücresi
MTT	: (3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-dibenzenltetrazolyum bromür)
MV4-11	: İnsan Periferal Kan Kanseri Hücresi
m/z	: Kütle/yük
NOESY	: Çekirdek overhauser etki spektroskopisi
PC-3	: İnsan Böbrek Karsinoma Hücresi
PDGFR	: Platelet Büyüme Faktör Reseptörü
RTK	: Reseptör Tirozin Kinaz
TEA	: Trietilamin
THF	: Tetrahidrofuran
^{1}H-NMR	: Proton Nükleeer Magnetik Rezonans
^{13}C-NMR	: Karbon Nükleer Magnetik Rezonans
2D-NMR	: İki boyutlu Nükleer Magnetik Rezonans

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanserler, dünya çapında meydana gelen insan ölümlerinin en yaygın nedenlerinden biri haline gelmiştir. Yüzyıllar öncesi ortaya çıkmış ve hala günümüzde etkisini arttırarak gösteren kanser; neoplazma denilen ve tümörleri oluşturan hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması ile karakterize bir hücre hastalığıdır [1-3].

Normal hücrelerin çoğalma ve farklılaşma süreçlerindeki kontrol mekanizmalarının bozulması sonucu tümör oluşumu gerçekleşir. Kanser oluşumu, hücre proliferasyonunu ve homeostazını kontrol eden süreçlerdeki anormallikler sonucu meydana gelmektedir. Hücre siklusunda G1-S geçişinde, G2-M geçişinde ve M evresinde metafaz-anafaz geçisinde kontrol noktaları vardır (**Şekil 1.1**). Bu kontrol noktalarında hücrenin siklusa devam edip etmeyeceği kararı verilir ve gerekli olan durumlarda apoptoz (programlı hücre ölümü) aktive edilir. Kanser hücrelerindeki genetik bozukluğun en önemli nedenlerinden biri hücre döngüsünün kontrolünün herhangi bir basamakta bozulmasını sağlayan mutasyonlardır [4-7].

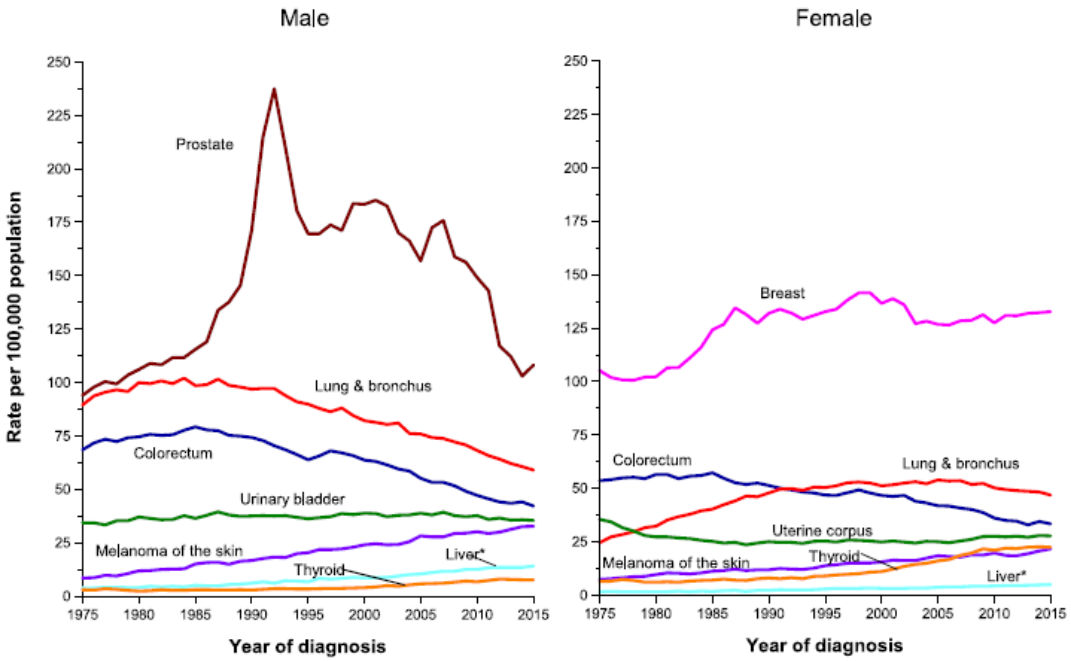


Şekil 1.1. *Hücre siklusunun bölümleri*

Kanser hastalığı multifaktöriyel etkenli bir rahatsızlık olup, bakteriler, virüsler, radyasyon, kalıtım, çevresel faktörler, beslenme alışkanlıkları ve kimyasallar gibi birçok etken kanser oluşumunun sebepleri arasında sayılabilir [8, 9].

Dünyada her yıl 12,7 milyon kişiye kanser teşhisi konulmaktadır. Yaklaşık 7,6 milyon kişi için ise kansere yakalandıktan sonra gerçekleştirilen tedaviler yetersiz kaldığı için hastalık ölüm ile sonuçlanmaktadır [10]. Dünya Sağlık Örgütü raporuna göre kanser,

yalnızca 2018'de tahmini 9,6 milyon ölümle dünya çapında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci önde gelen ölüm nedenini oluşturmuştur. Bu rakamın 2030'da yaklaşık 13,1 milyona çıkması beklenmektedir [11-13]. Amerika'da 2019 yılında tahminen günde 1700 kişi kanser yüzünden hayatını kaybetmiştir. En fazla ölüm, erkeklerde akciğer, prostat ve kolorektum kanserlerinden, kadınlarda ise akciğer, meme ve kolorektum kanserlerinden kaynaklanmaktadır [14].



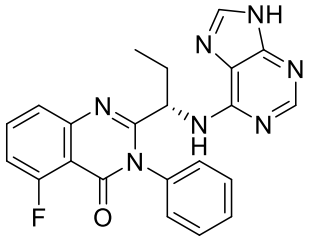
Şekil 1.2. *Kadın ve erkeklerde yıllara göre kanser türlerinin dağılımı*

Radyoterapi, kemoterapi ve cerrahi operasyon kanser tedavisinde seçenekler arasındadır. Önce tümörlü hücre ışın tedavisi ya da cerrahi müdahale ile azaltılır, devamında immunoterapi ya da kemoterapiye geçilir. Kanser kemoterapisinde amaç kullanılan kemoterapötik ajanlar ile tümörün büyümesini, vücudun farklı bölgelerine yayılmasını engellemek ve tümüyle ortadan kaldırılmasını sağlayacak sitotoksik etki sağlamaktır. Mevcut yöntemlere rağmen, kemoterapötik ajanlar ve kombinasyonları ile kanser türlerinin çoğunda tedavi tam anlamıyla sağlanamamakta, mevcut ilaçlar yetersiz kalmaktadır. Ciddi yan etkiler görülmesi veya tedaviye direnç kazanılması yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç doğurmuştur [15-17].

Tümör hedefli tedavi için geliştirilen çok sayıda ilerlemeye rağmen, küçük moleküler kinaz inhibitörleri, klinik değerlendirmede kullanılan yeni antikanser terapötikleri olarak yoğun bir şekilde talep edilmektedir [3]. Tirozin kinaz inhibitörleri

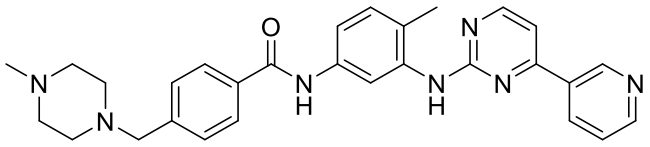
ile tedavi, son yıllarda kanser biyolojisinin daha iyi anlaşılmasıyla, kanser tedavisinde yeni ve umut verici bir yaklaşım haline gelen hedefli tedavi yöntemlerindendir [18].

Kinazlar, hücreler arasındaki sinyalleri iletmekten sorumludur. Hücrede farklı fonksiyonlarda, yerleşimlerde ve yapılarda 518 tane kinaz bulunmaktadır. Fakat bunların hepsi adenosin trifosfatın (ATP) gamma fosfatını substratta bulunan serin, treonin ve tirozin kalıntılarının hidroksillerine kovalent olarak transfer eden korunmuş bir katalitik alan kullanmaktadırlar. Tirozin kinazlar ve serin / treonin kinazlar, en büyük kinaz sınıflarını temsil eder ve 478 kinaz içerirler. Klinik olarak onaylanmış kinaz inhibitörleri arasında, çoğu tirozin kinaz inhibitörüdür, birkaç tanesi serin/treonin kinaz inhibitörü ve bir tane de onaylanan bir lipit kinaz inhibitörü bulunmaktadır (İdelalisib, Temmuz 2014) (**Şekil 1.3**). Farklı bağlama modları ile değerlendirilen 26 tane geri-dönüşümlü inhibitör ve iki tane (Afatinib ve İbrutinib) geri dönüşümsüz inhibitör mevcuttur. Protein fosforilasyonu, birçok transdüksiyon yolunu düzenleyen ve bu düzenleme yoluyla metabolizma, transkripsiyon, hücre döngüsü ilerlemesi, apoptoz ve farklılaşma gibi birçok hücresel işlemi kontrol eden önemli bir biyokimyasal modifikasyondur. Ayrıca, anormal kinaz aktivitesi kanser, diyabet, iltihaplanma, kardiyovasküler hastalıklar ve merkezi sinir sistemi bozuklukları dahil olmak üzere birçok hastalık durumunda önemli bir rol oynar [19-21].



Şekil 1.3. *İdelalisib molekül şekli*

Kinazlar insan genomunun %1.7'sini kapsayan en büyük gen ailesini oluşturur ve ilaç keşfi için ikinci büyük gen ailesini teşkil ederler. Büyük ilaç firmalarında yürütülen ilaç keşfi çalışmalarının %20'sinin kinazlara yönelik olduğu tahmin edilmektedir. Klinik çalışmalarda kinazları veya kinaz yollarını hedefleyen ajanların çoğu, oral biyoyararlanımları nedeniyle tercih edilen küçük moleküllerdir. 2001 yılında kronik myelosenöz lösemi tedavisi için FDA tarafından onaylanan İmatinib (GLEEVEC®) (**Şekil 1.4**), pazara ulaşan ilk küçük moleküllü kinaz inhibitörü olmuştur [22].

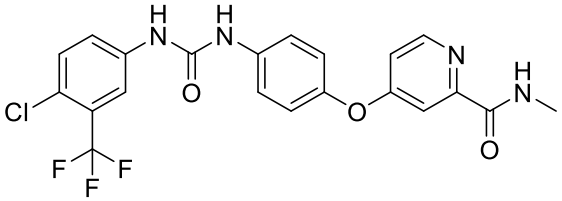


Şekil 1.4. *İmatinib molekül şekli*

Bazı kanser türlerinde, kinaz enzimlerinin aşırı aktivitesi, proteinleri hiperproliferasyonuna sebep olabilir. Bu durum, kinazlar veya fosfatazlar tarafından taşınan çeşitli değişikliklerden kaynaklanabilir. Bu değişiklikler arasında belirli bir kinazın aşırı üretimi, mutasyona uğramış bir kinazın yapısal aktivasyonu, doğal inhibitörünün aşırı üretimi nedeniyle bir fosfataz aktivitesinin aşağı regülasyonu sayılabilmektedir [23].

Karaciğerin malign hastalıklarının en yaygını olan primer karaciğer kanseri (hepatosellüler karsinoma, HSK), dünyada en sık görülen altıncı ve en ölümcül dördüncü kanser tipidir. HSK'nın risk faktörleri Hepatit B ve/veya Hepatit C ile kronik enfeksiyon, alkol kullanımı, obezite, diyabet, sigara kullanımı ve hemakromatozis gibi nadir olarak görülen genetik bozukluklardır [12, 24].

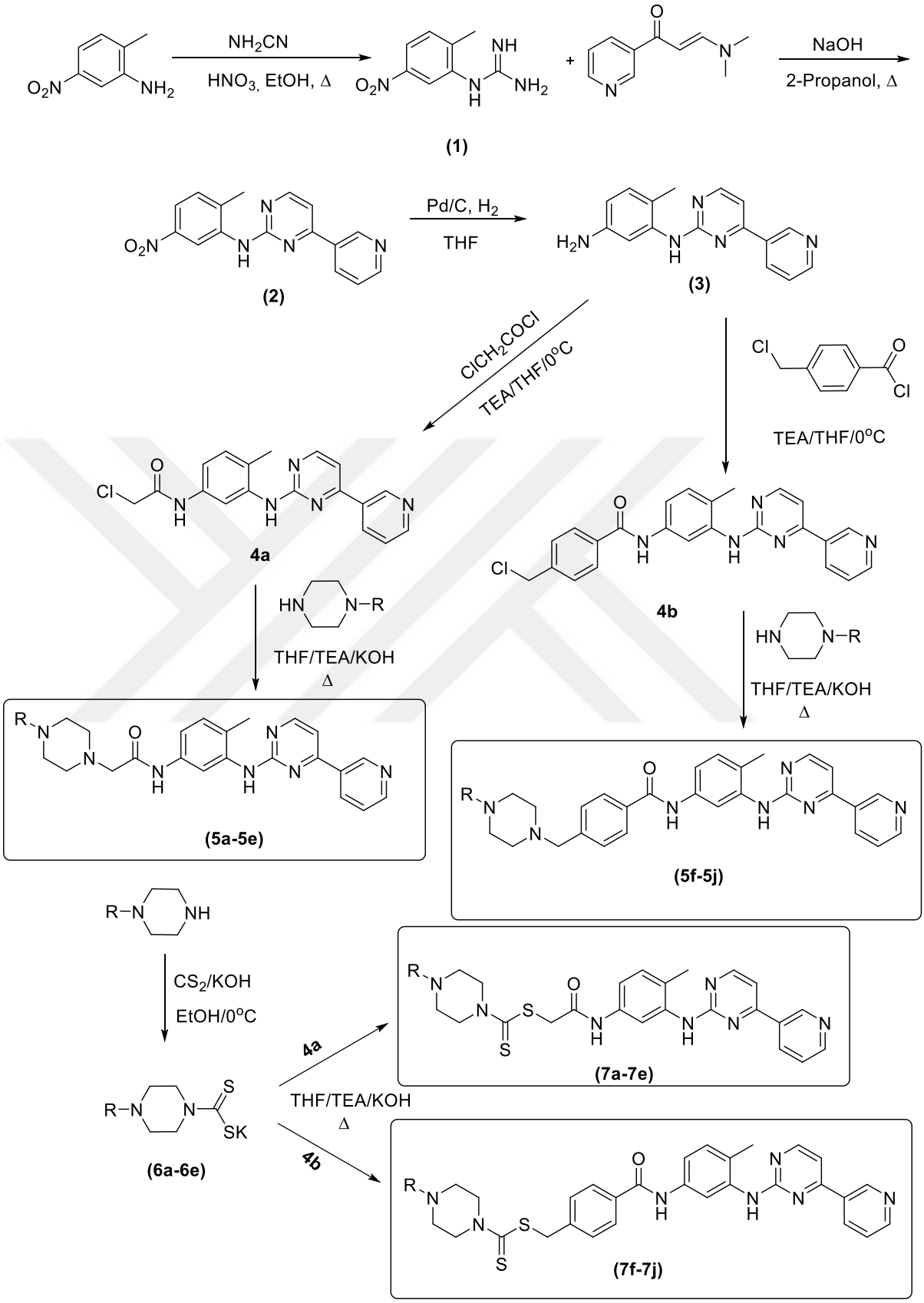
HSK tanısı konulmuş hastalar için pek çok tedavi seçeneği mevcuttur. Tedavi seçenekleri tümör yükü, karaciğer fonksiyonu ve hastanın durumu gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak belirlenmektedir. Sorafenib (**Şekil 1.5**), ilerlemiş HSK'sı olan ve cerrahi rezeksiyon için uygun olmayan hastaların sistemik tedavisinde öncelikle kullanılan ve onay alan ilk ilaçtır [12, 25].



Şekil 1.5. *Sorafenib molekül şekli*

Yukarıda bahsedilen bilgiler ışığında, bu doktora tezi kapsamında yeni antikanser etkili bileşiklerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, pirimidin türevi antikanser ajan İmatinib öncül bileşik olarak belirlenmiştir. İmatinib molekülünde bulunan benzil yapısını barındıran ve barındırmayan bir seri bileşik sentezlenmiş ayrıca bazı türevlerde ditiyokarbamat yapısı da moleküle eklenmiştir (**Şekil 1.6**). Bunlara ek olarak kanserli hücre içerisine geçişi kolaylaştırmak adına piperazin grubu üzerinde, 2-metoksietil, allil,

izopropil, 2-dimetilaminoetil ve 3-dimetilaminopropil yapıları kullanılarak bileşiklerin polaritelerinin arttırılması yoluna gidilmiştir. Piperazin türevlerinin tercih edilmesinde enzim aktif bölgesinde oluşturduğu hidrojen bağı da etkili olmuştur. Yukarıda yapılan yeni molekül tasarlama çalışmaları sonucunda bu Doktora Tezi kapsamında 20 adet sonuçürünü yeni bileşik, antikanser aktiviteleri incelenmek üzere sentezlenmiştir (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. *Elde edilmesi gereken bileşiklere ait genel sentez şeması*

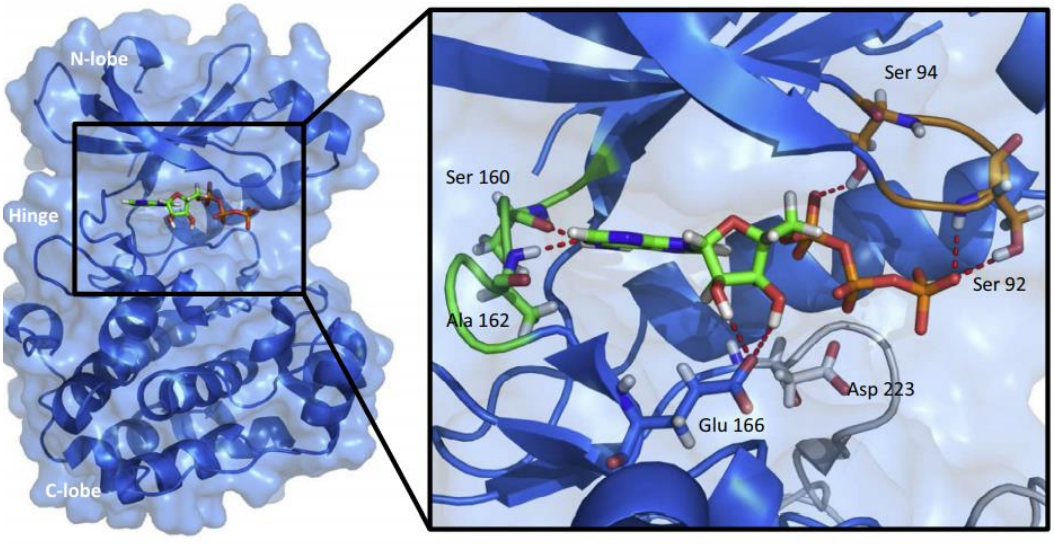
Tablo 1.1. *Antikanser aktivitelerinin incelenmesi planlanan sentez ürünleri*

BİLEŞİK	R
5a	$-CH_2CH_2OCH_3$
5b	$-CH_2CHCH_2$
5c	$-CH(CH_3)_2$
5d	$-CH_2CH_2N(CH_3)_2$
5e	$-CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$
5f	$-CH_2CH_2OCH_3$
5g	$-CH_2CHCH_2$
5h	$-CH(CH_3)_2$
5i	$-CH_2CH_2N(CH_3)_2$
5j	$-CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$
7a	$-CH_2CH_2OCH_3$
7b	$-CH_2CHCH_2$
7c	$-CH(CH_3)_2$
7d	$-CH_2CH_2N(CH_3)_2$
7e	$-CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$
7f	$-CH_2CH_2OCH_3$
7g	$-CH_2CHCH_2$
7h	$-CH(CH_3)_2$
7i	$-CH_2CH_2N(CH_3)_2$
7j	$-CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Tirozin Kinazlar Hakkında Genel Bilgiler

Kinazların katlanma topolojisine bakıldığında son derece iyi korunduğu gözlemlenmektedir. Birincil aminoasit sekanslarında farklılık olmasına rağmen kinazların özellikle ATP bağlanma bölgesi büyük ölçüde benzerlik göstermektedir. N-terminal lob, beş iplikli bir beta tabakası ve bir alfa sarmalından (C-sarmal) oluşur. C-sarmal, ATP-bağlanma sahasının arka duvarını oluşturur. ATP bağlanma sahasının üstünde, çok esnek olan ve kataliz sırasında ATP bağlanma alanının açılmasına ve kapanmasına izin veren glisin açısından zengin ilmek (GRL) bulunur. C-terminal lob çok daha büyüktür ve çoğunlukla sarmaldır. İki lob, iki lobun dönmesini, açılmasını ve kapanmasını sağlayan menteşe bölgesi tarafından bir arada tutulur. Aktivasyon döngüsü C-lobunun bir parçasıdır ve hidroksillerinin fosforilasyonu üzerine kinazı aktive eden serin, treonin veya tirozin kalıntılarını içerir. ATP, N ve C-lobları arasında oluşan yarıklara bağlanır ve çoğu kinaz inhibitörü, bu bölge ile etkileşimler yoluyla bağlanmayı bozar. Korunan amino asit dizisi Asp-Phe-Gly (DFG) ile başlayan esnek aktivasyon döngüsü, aktif bölgeye erişimi kontrol eder. Fosforilasyon bölgesi, fosforile edilecek kalıntı (ser / thr / tyr) hemen sonra konumlandırılan substrat protein kalıntısını barındıracak şekilde bir hidrofobik cep oluşturan "p-halkası" tarafından korunmaktadır (Şekil 2.1) [21].



Şekil 2.1. *Kinazların katlanma topolojisi*

Tirozin kinazlar; reseptör tirozin kinazlar (membran yerleşimli protein kinazlar) ve non-reseptör tirozin kinazlar (sitoplazmik tirozin kinazlar) olarak 2 sınıfa ayrılır. Reseptör tirozin kinazlar (RTK), hücre-hücre iletişimine yardım eden sinyal taşıma yollarının temel bileşenidir. RTKlar ligand bağlayan hücre dışı bir domeyne ve katalitik bir hücre içi kinaz domeynine sahip transmembran proteinlerdir. RTK sınıfında 58 transmembran protein bulunmaktadır. Sitoplazmik tirozin kinazlar ise, sitozolde, çekirdekte ve plazma membranının iç yüzünde bulunur ve hücresel reseptörlerle bağlanan ligandlar tarafından aktive edilen enzimleri ve hücresel membran boyunca veya hücre döngüsü fazları arasında iyon taşınmasıyla aktive olan bağlanmamış kinazları içerir. [26-28].

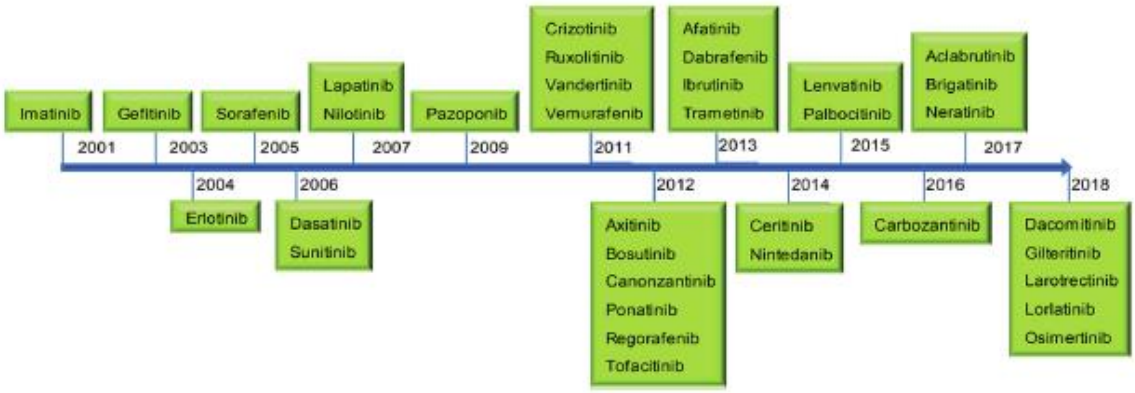
Reseptör tirozin kinazlar 10 alt aile şeklinde sınıflandırılabilirken; sitoplazmik tirozin kinazlar ise 7 alt aile şeklinde sınıflandırılmaktadır [28].

Tablo 2.1. *Reseptör tirozin kinazların sınıflandırılması[28].*

Reseptör Tirozin Kinazlar	Sitoplazmik Tirozin Kinazlar
Epidermal büyüme faktör reseptörü EGFR alt ailesi: EGFR, ERBB2, ERBB4.	Mitogeneze, MAPK kinazlarının aktivasyonuna, B ve T hücrelerinin aktivasyonuna, PDGFR ve EGFR reseptörleri ile ilişkili Fc immünoreseptörleri aracılığıyla sinyal iletimine katkıda bulunan Src alt ailesi: FYN, HCK, LCK, LYN, SRC.
Platelet-bağımlı büyüme faktör reseptörü PDGFR alt ailesi: FLT3.	FAK (Fokal yapışma kinazı); zar olmayan yayılma protein tirozin kinaz alt ailesi: FAK.
Vasküler endotelyal büyüme faktör VEGFR alt ailesi: KIT, FLT1, KDR.	STAT faktörlerini (Sinyal Transdüserleri ve Transkripsiyon Aktivatörleri) aktive eden sitokin reseptörleri ile ilişkili Jak alt ailesi (Janus Kinaz ailesi): Jak2, Jak3.
Fibroblast büyüme faktör reseptörü FGFR alt ailesi: FGFR1, FGFR2, FGFR3.	Abl (Abelsone tirozin kinaz); zar olmayan yayılma protein tirozin kinaz alt ailesi: Abl;
Hepatosit büyüme faktör reseptörü Met alt ailesi: MET.	Csk (Karboksil-terminal src kinaz); zar olmayan yayılma protein tirozin kinaz alt ailesi: CSK.
Eph alt ailesi: EPHA1, EPHA2, EPHA4, EPHA8, EPHB2.	Syk (Dalak tirozin kinaz) alt ailesi: SYK, ZAP70.
Musk (Kas-spesifik reseptör tirozin kinaz); nonmembran kapsayan protein tirozin kinaz alt ailesi: MUSK.	Tec (T hücre sınırlı tirozin kinaz) alt ailesi: BTK, ITK.
Tie (Ig ve EGF homoloji alanlarına sahip tirozin kinaz); membran kapsayan protein tirozin kinaz alt ailesi: TIE2	
Trk (Tropomyosin-bağımlı kinaz) alt ailesi: TRKA, TRKB, TRKC	

Onkojenik tirozin kinazların aktivitesini inhibe etmek için iki ana yaklaşım vardır. İlk strateji, tirozin kinaz reseptörlerinin hücre dışı alanını bloke etmek için "mabs" adı verilen monoklonal antikorları kullanmaktadır. İkinci yaklaşım, ATP bağlama alanı ile etkileşime girme ve hücre içi kinaz aktivasyonunu inhibe etme kabiliyetine sahip küçük moleküllere dayanmaktadır. Tirozin kinaz blokerlerinin bazıları, preklinik çalışmalarda umut verici sonuçlar gösterirken, bazıları da yıllardır insan kanser tedavisinde oldukça etkili ilaçlar olarak kullanılmaktadır (örneğin, İmatinib mesilat) [28].

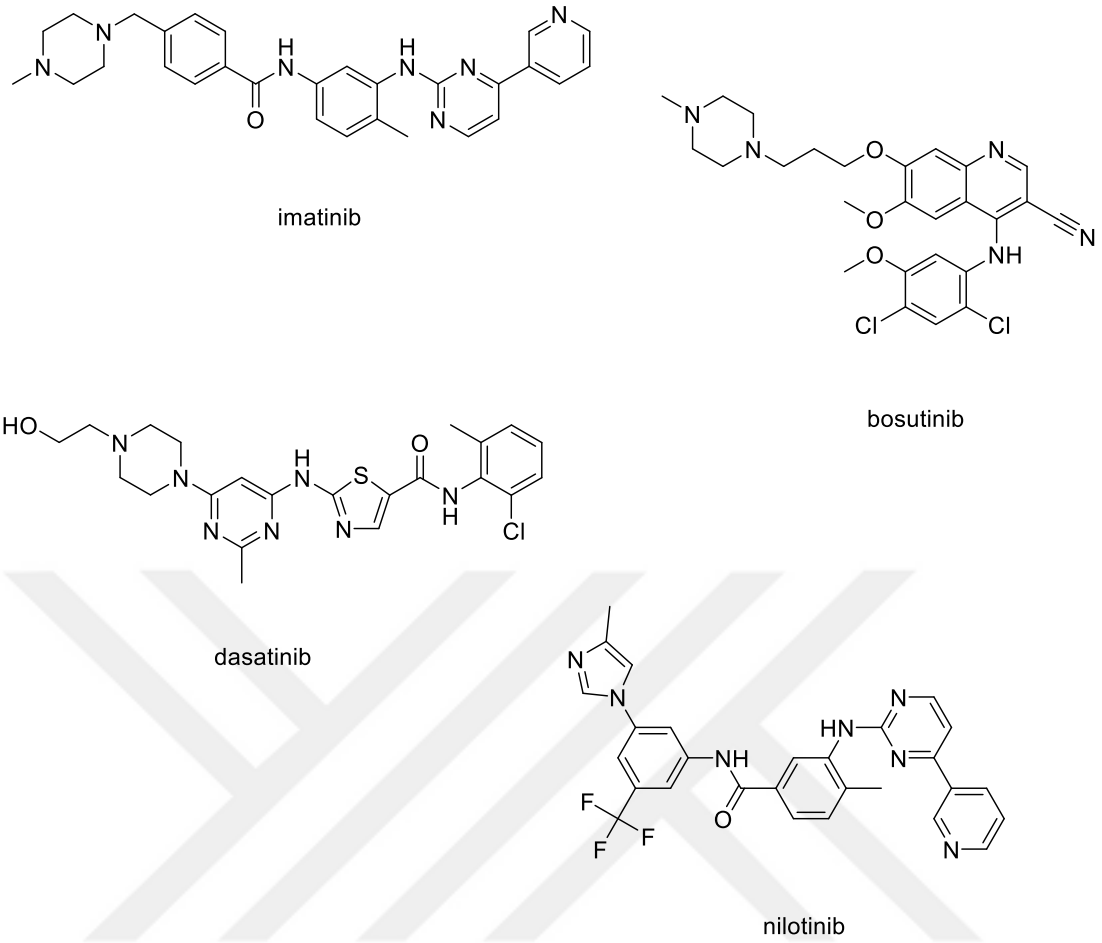
Geçtiğimiz birkaç yılda, FDA birçok kanser türünün tedavisi için çok sayıda kinaz inhibitörü onaylamıştır [21]. 2001 yılından bu yana, bu alanda 36 yeni ilaç onaylanmıştır (**Şekil 2.2**). İlaçların kimyasal yapılarında birçok varyasyon gözlenmesine rağmen en önemli ortak özellik heterosiklik yapıda olmalarıdır [29, 30].



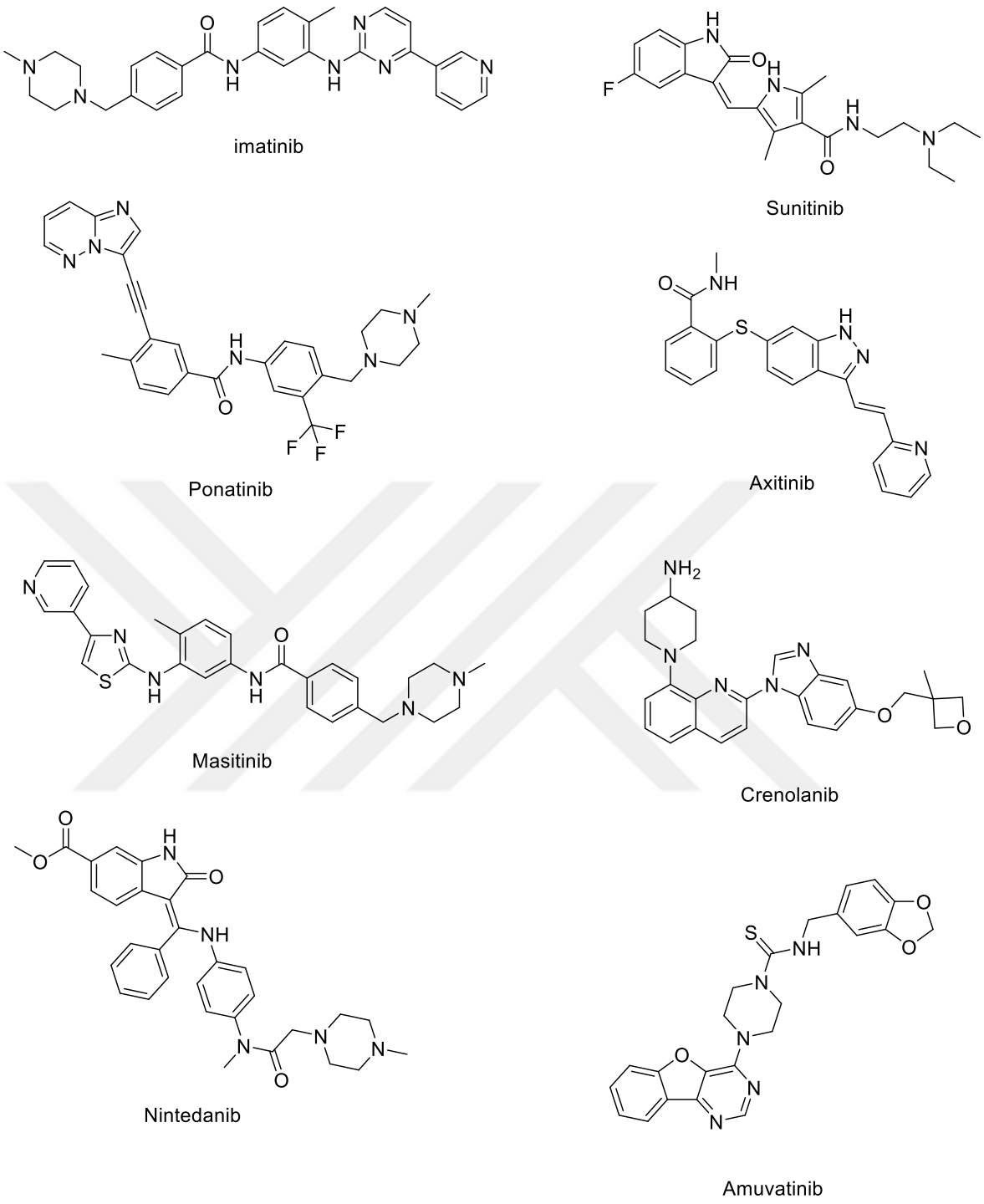
Şekil 2.2. *FDA tarafından onaylanan kinaz inhibitörleri* [32]

ABL kinaz, KML'yi tedavi etmek amacıyla küçük moleküllü inhibitörlerin geliştirilmesi için isabetli bir hedef olarak belirlenmiştir. İmatinib, klinikte KML tedavisinde büyük başarı elde eden FDA tarafından onaylanan ilk ABL kinaz inhibitörüdür. Bununla birlikte, 2 yıl içinde %8-10 hasta ve 8 yıllık kronik tedaviden sonra% 45 hasta, ABL kinazdaki edinilmiş nokta mutasyonları nedeniyle İmatinibe karşı direnç geliştirmiştir. Edinilmiş ilaç direncinin üstesinden gelmek için [31, 32] Bosutinib [33], Dasatinib [34] ve Nilotinib [35] dahil olmak üzere birkaç ikinci nesil ABL kinaz inhibitörü geliştirilmiştir. Bununla birlikte, bu inhibitörlerin hiçbiri en dirençli ABL T315I mutantının üstesinden gelememiştir [36, 37].

PDGFRα ve PDGFRβ dahil olmak üzere trombositten türetilmiş büyüme faktörü reseptörleri (PDGFR'ler), PDGF'ler tarafından aktive edilebilen ve organogenez ve anjiyogenez gibi temel fizyolojik işlevlerde önemli roller oynayan tip III reseptör tirozin kinazlardır. PDGFR'lerin, özellikle PDGFRα'nın düzensizliği, sarkomlar, gastrointestinal stromal tümörler, glioblastomlar ve kronik eozinofilik lösemi vb. dahil olmak üzere çeşitli insan tümörlerinde gözlenmiştir. PDGFRα'nın tümörijenezdeki kritik rolü bu kinazın inhibisyonu ile ilgili araştırmaları ilaç keşfinde önemli bir hedef yapmıştır [38]. Bugüne kadar PDGFR kinaz inhibitör etkinlik sergileyen ajanlar; İmatinib [38-40], Sunitinib [41], Ponatinib [42], Aksitinib [43], Masitinib [44], Krenolanib [45], Nintedanib [46], Linfanib [47, 48] ve Amuvatinib [48] olarak sıralanabilir.



Şekil 2.3. *Abl inhibitör aktivitesine sahip kinaz inhibitörleri*



Şekil 2.4. *PDGFR inhibitör aktivitesine sahip çoklu kinaz inhibitörleri*

2.2. İmatinib

Sentetik veya doğal moleküller olan protein kinaz inhibitörleri (PKI'ler), şu anda mevcut tüm ilaç geliştirme çabalarının dörtte birini oluşturmaktadır. Klinik terapide çeşitli kanserlerin tedavisi için çeşitli küçük moleküllü kinaz inhibitörleri başarıyla geliştirilmiştir. FDA onaylı kinaz inhibitörleri, EGFR, ERBB2, VEGFR'ler, Kit,

PDGFR'ler, ABL, Src ve mTOR dâhil olmak üzere çeşitli kinaz üyelerini hedef alıp, başarılı klinik sonuçlar elde etmiş ve birçok kanserde etkin bir şekilde hasta yaşam oranını arttırmışlardır [49-52].

1990 yıllarında biyokimyacı Nicholas Lydon tarafından geliştirilen İmatinib'in en önemli özelliği belirlenmiş hedefe yönelik bir ilaç olmasıdır. İmatinib; ABL, c-kit ve PDGF-R bağlı tirozin kinazların inaktif konformasyonuna bağlanmak icin ATP ile yarışan Tip II protein kinaz inhibitörü bir ilaçtır [53].

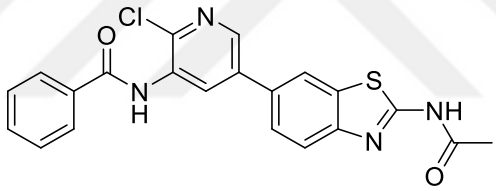
İmatinibin klinik kullanımındaki büyük başarıya rağmen, nokta mutasyonları, BCR-ABL gen amplifikasyonu ve dışa akım taşıyıcısının aşırı ekspresyonu nedeniyle yaklaşık %15 hasta bu ilaca direnç veya tolerans geliştirebilmektedir [54] İkinci nesil inhibitörler (Nilotinib, Dasatinib ve Bosutinib) edinilmiş direnç vakalarının yaklaşık % 20'sinden sorumlu olan T315I mutasyonu dışında çeşitli İmatinib dirençli Bcr-Abl mutantlarını inhibe edebilmektedirler [55]. Üçüncü nesil inhibitör olan Pantinib, yakın zamanda T315I dirençli KML tedavisi için hızlandırılmış bir şekilde klinik kullanım onayı almıştır. Ancak yan etkileri klinik uygulamasını sınırlandırmıştır [42]. Bu nedenle, T315I mutantı üzerinde yeni Bcr-Abl inhibitörlerinin geliştirilmesi hala büyük önem taşımaktadır [56]. İmatinib gibi ABL1'e özgü tirozin kinaz inhibitörlerinin geliştirilmesi, normal hücrelere zarar vermeden ABL1 kinaz aktivitesini bloke ederek hastalar için prognozu büyük ölçüde iyileştirebilmektedir [57].

Yakın zamanda pek çok araştırma makalesi arilürelerin ve arilamidlerin çeşitli kanser hücre dizilerine karşı potansiyel antiproliferatif aktivitesini bildirmiştir. Arilüre terminal parçasına sahip olan Sorafenib (Şekil 1.5), ileri böbrek kanserinin tedavisi için FDA tarafından onaylanmış bir antikanser ajandır. Sorafenib'in şu anda diğer birçok kanser türünün tedavisi için klinik denemeleri devam etmektedir. Bu kanser türleri; metastatik kolorektal, yumurtalık, beyin, özofagus / gastroözofageal, lösemi, glioblastoma, Hodgkin lenfoma, metastatik meme, ileri mide, hepatoselüler karsinom (HCC), tiroid, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, pankreas, prostat, mesane, deri / oküler olarak melanom ve nöroendokrin kanserler olarak sıralanabilir [58-60]. İmatinib, yan etkileri azalmış, kanser tedavisi için kullanılan arilamid terminal parçasına sahip antikanser ajanların bir örneğidir [61] İmatinib, gastrointestinal stromal tümörler, tiroid kanseri, meme kanseri, menenjiyom, yumurtalık kanseri ve diğer ilaçlarla kombine edilerek küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC) tedavisi için klinik deneylerde test edilmiştir [60, 62, 63].

İmatinibin amid kısmı, enzimin katalitik mekanizmasının ayrılmaz bir parçası olan glutamat ve aspartat kalıntılarına bağlanır. Amid grubunun hidrojen bağı etkileşimleri, molekülü sabitler ve yönlendirerek, İmatinib'in her iki yarısının da enzimin aktif bölgesi içindeki hidrofobik ceplere erişmesine izin verir. Bu durum da İmatinib'in ABL enzimine karşı empoze ettiği seçiciliği açıklayabilmektedir. Piperazinil yapısı, iyonik bağlanma yoluyla bir glutamat kalıntısı ile etkileşime girer, bu da İmatinib'in yukarıda bahsedilen glutamat parçasını (örn. ABL, c-Kit ve PDGF-R) içeren enzimler üzerindeki aktivitesini açıklayabilmektedir. Metil grubunun, konformasyonel bir engelleyici olarak işlev görmesi de seçicilik için başka bir pozitif gerekçe olabilmektedir [64, 65].

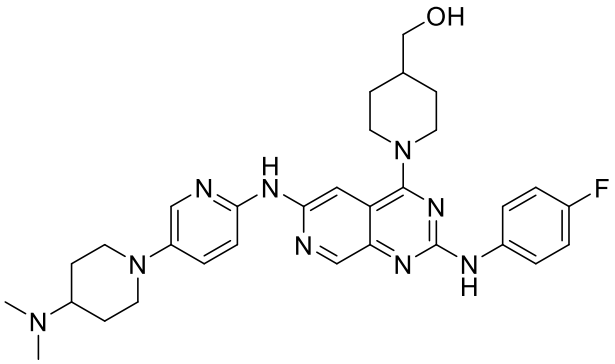
2.3. Antikanser Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Piridin Türevleri

Yang ve diğerleri (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, antikanser aktiviteleri araştırılmak üzere yeni PI3K/AKT/mTOR inhibitörü bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden *N*-(5-(2-asetamidobenzo[d]tiyazol-6-il)-2-kloropiridin-3-il)benzamid, IC_{50}=41±13 nM değeri etkinlik göstermiştir [66].



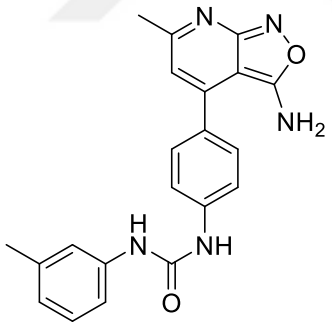
Şekil 2.5.. *N-(5-(2-Asetamidobenzo[d]tiyazol-6-il)-2-kloropiridin-3-il)benzamid*

Zhang ve diğerleri (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, antikanser aktiviteleri araştırılmak üzere bir seri yeni 2,4,6-trisübstitüe pirido[3,4-d]pirimidin türevi bileşik sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antikanser etkinlikleri HCC827, H1975 ve A549 hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden (1-(6-((5-(4-(Dimetilamino)piperidin-1-il)piridin-2-il)amino)-2-((4-florobenzen)amino)pirido[3,4-d]pirimidin-4-il)piperidin-4-il)metanol**,** IC_{50}=0.044±0.003 μM değeri HCC827 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir. Aynı bileşik EGFR enzimine karşı IC_{50}=1.1 nM değeri ile aktivite göstermiştir [67].



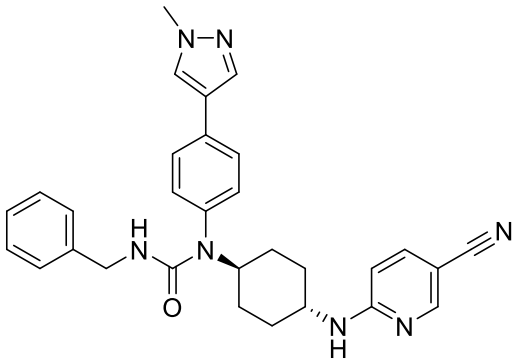
Şekil 2.6. *(1-(6-((5-(4-(Dimetilamino)piperidin-1-il)piridin-2-il)amino)-2- ((4-florobenzen)amino)pirido[3,4-d]pirimidin-4-il)piperidin-4-il)metanol*

Shi ve diğerleri (2018) tarafından, antiproliferatif aktiviteleri araştırılmak üzere yeni izoksazol[3,4-b]piridin-3-amino türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antikanser etkinlikleri HUVEC, MCF7 ve MV4-11 hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden (1-(4-(3-Amino-6-metilizoksazolo[3,4-b]piridin-4-il)benzen)-3-m-tolilüre**,** IC_{50}=0.12 μM değeri MV4-11 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir. Aynı bileşik FLT3, KDR, PDGFR-β enzimlerine karşı sırasıyla IC_{50}=4, 3, 8 nM değeri ile aktivite göstermiştir [68].



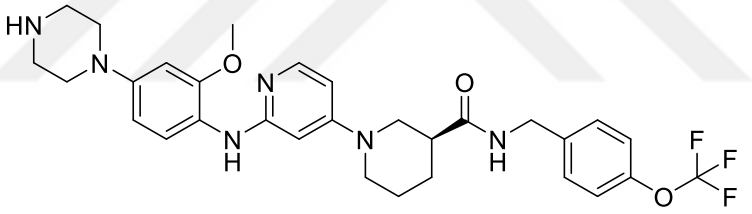
Şekil 2.7. *1-(4-(3-Amino-6-metilizoksazolo[3,4-b]piridin-4-il)benzen)-3-m-tolilüre*

Ito ve diğerleri (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, CDK-12 inhibitör aktiviteleri araştırılmak üzere yeni 3-benzil-1-(trans-4-((5-siyanopiridin-2-il)amino)siklohekzil)-1-arilüre türevi bileşik sentezlenmiştir. Tümörlerde bulunan CDK12 mutasyonları ve CDK12 inhibisyonu, kanser hücrelerini DNA'ya zarar veren reaktiflere ve DNA onarım inhibitörlerine duyarlı hale getirdiği bilinmektedir. Sentezlenen bileşiklerden 3-benzil-1-(trans-4-((5-siyanopiridin-2-il)amino)siklohekzil)-1-(4-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)benzen)üre**,** IC_{50}=0.063 μM değeri ile CDK-12'ye karşı etkinlik göstermiştir. [69].



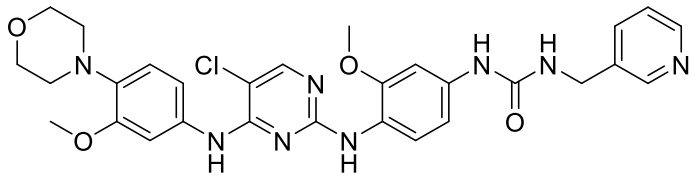
Şekil 2.8. *3-Benzil-1-(trans-4-((5-siyanopiridin-2-il)amino)siklohekzil)-1-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)benzen)üre*

Liu ve diğerleri (2019), ALK/ROS-1 dual inhibitörü olarak yeni 2-amino-4-(1-piperidin) piridin türevleri sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerden (S)-1-(2-((2-metoksi-4-(piperazin-1-il)benzen)amino)piridin-4-il)-*N*-(4-(triflorometoksi)benzil)piperidin-3-karboksamid, IC_{50}=6.27 ve IC_{50}=10.71 μM değerleri ile sırasıyla ALK bağlı H3122 ve ROS-1 bağlı HCC78 hücrelerine karşı aktivite göstermiştir. [70].



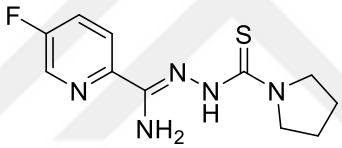
Şekil 2.9. *(S)-1-(2-((2-Metoksi-4-(piperazin-1-il)benzen)amino)piridin-4-il)-N-(4-(triflorometoksi)benzil)piperidin-3-karboksamid*

Chen ve diğerleri (2019) tarafından, yeni *N*-(3-piridinilmetil) üre içeren 2,4-diarilaminopirimidin türevleri sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin H3122 ve Karpas-299 hücre hatlarına karşı sitotoksik etkileri *in vitro* yöntemler ile incelenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 1-(4-((5-kloro-4-((3-metoksi-4-morfolinobenzen)amino)pirimidin-2-il)amino)-3-metoksibenzen)-3-(piridin-3-ilmetil)üre**,** IC_{50}=0.010±0.008 μM değeri ile H1322 hücre hattına karşı ve IC_{50}=0.011±0.005 μM değeri ile Karpas-299 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir. [71]



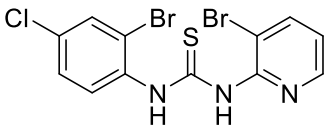
Şekil 2.10. *1-(4-((5-Kloro-4-((3-metoksi-4-morfolinobenzen)amino)pirimidin-2-il)amino)-3-metoksibenzen)-3-(piridin-3-ilmetil)üre*

Shakya ve diğerleri (2019) tarafından, yeni 2-piridinformamid türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antikanser etkinlikleri MCF-7, A431, A375 ve HeLa hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden ***(***Z)-5-floro-*N'*-(pirolidin-1-karbonotiyonil)picolinohidrazonamid bileşiği IC_{50}=0.9 µM değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir. Aynı bileşik EGFR enzimine karşı IC_{50}=1.1 nM değeri ile aktivite göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, bileşiğin antikanser potensi sergilediğini ve MAPK sinyallemesini inhibe ederek ve içsel apoptotik yolu indükleyerek hücre ölümünü indüklediğini göstermektedir [72].



Şekil 2.11. *(Z)-5-Floro-N'-(pirolidin-1-karbonotiyonil)picolinohidrazonamid*

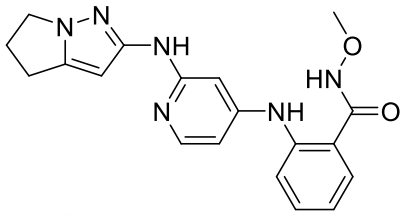
Elseginy ve diğerleri (2020), yeni piridin türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin antikanser etkinlikleri MCF-7, SkBr3 hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 1-(2-bromo-4-klorobenzen)-3-(3-bromopiridin-2-il)tiyoüre, IC_{50}=1.3±0.009 µM değeriile MCF-7 hücre hattına ve IC_{50}=0.73±0.03 değeri ile SkBr3 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir. Aynı bileşik 10 µM değeri ile HER-2 enzimini %86.95±0.33 oranıyla inhibe etmiştir [73].



Şekil 2.12. *1-(2-Bromo-4-klorobenzen)-3-(3-bromopiridin-2-il)tiyoüre*

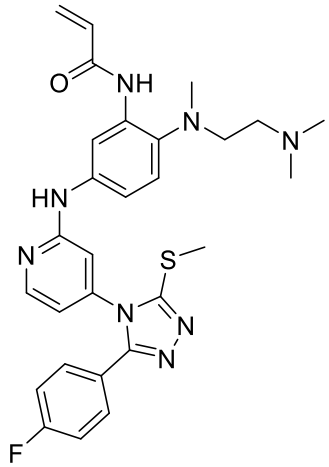
Xie ve diğerleri (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, yeni pirazoloamino piridin/pirimidin türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antikanser

etkinlikleri MDA-MB-231, BXPC-3, NCI-H1975, DU145 ve 786O hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 2-((2-((5,6-dihidro-4*H*-pirolo[1,2-b]pirazol-2-il)amino)piridin-4-il)amino)-*N*-metoksibenzamid IC_{50}=0.14 μM değeri ile MDA-MB-231 hücre hattına etkinlik göstermiştir. Aynı bileşik FAK enzimini IC_{50}=0.57 nM değeri ile inhibe etmiştir [3].



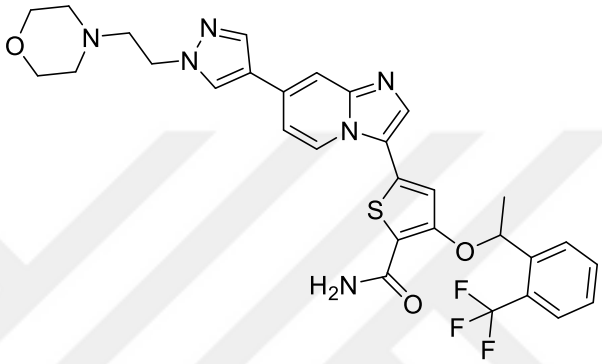
Şekil 2.13. *2-((2-((5,6-dihidro-4H-pirolo[1,2-b]pirazol-2-il)amino)piridin-4-il)amino)-N-metoksibenzamid*

Yang ve diğerleri (2020), antiproliferatif aktiviteleri araştırılmak üzere yeni 2-amino-4-(1,2,4-triazol)piridin türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri A431, H1975, U87MG ve U87-EGFRvIII hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden *N*-(2-((2-(Dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(3-(4-florobenzen)-5-(metiltiyo)-4*H*-1,2,4-triazol-4-il)piridin-2-il)amino)benzen)akrilamid, U87-EGFRvIII hücre hattına karşı Osimertinib'den 3 kat daha fazla etkinlik göstermiştir [74].



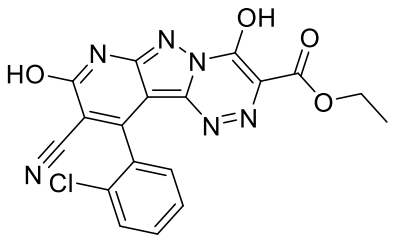
Şekil 2.14. *N-(2-((2-(Dimetilamino)etil)(metil)amino)-5-((4-(3-(4-florobenzen)-5-(metiltiyo)-4H-1,2,4-triazol-4-il)piridin-2-il)amino)benzen)akrilamid*

Wang ve diğerleri (2020) tarafından yapılan çalışmada, antikanser aktiviteleri araştırılmak amacıyla yeni imidazo[1,2-*a*]piridin türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antikanser etkinlikleri MGC-803 hücre hattına karşı değerlendirildikten sonra aktif türevlerin sitotoksik etkileri Hep-3B, BEL-7402 ve HCT-116 hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Bileşiklerden 5-(7-(1-(2-morfolinoetil)-1*H*-pirazol-4-il)imidazo[1,2-a]piridin-3-il)-3-(1-(2-(triflorometil)benzen)etoksi)tiyofen-2-karboksamid, IC_{50}=0.36 µM değeri ileHCT-116 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir [75].



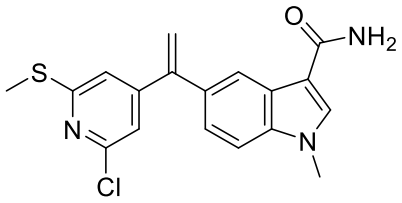
Şekil 2.15. *5-(7-(1-(2-morfolinoetil)-1H-pirazol-4-il)imidazo[1,2-a]piridin-3-il)-3-(1-(2-(triflorometil)benzen)etoksi)tiyofen-2-karboksamid*

Nafie ve diğerleri (2020) tarafından antikanser aktiviteleri araştırılmak amacıyla bir seri yeni pirazolo[3,4-*b*]piridin türevi bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre dizilerine karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden etil-10-(2-klorobenzen)-9-siyano-4,8-dihidroksipirido[2',3':3,4]pirazolo[5,1-c]-1,2,4-triazin-3-karboksilat, IC_{50}=5.61±0.15 µM değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir. Aynı bileşik IC_{50}=26±0.98 nM değeri ile PİM kinaz inhibitör etkinlik göstermektedir [76].



Şekil 2.16. *Etil-10-(2-klorobenzen)-9-siyano-4,8-dihidroksipirido[2',3':3,4]pirazolo[5,1-c]-1,2,4- triazin-3-karboksilat*

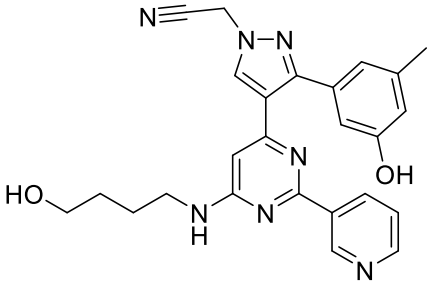
Alvarez ve diğerleri (2021), yeni metilsülfanilpiridin türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HeLa, HL-60 ve HT-29 hücre dizilerine karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 5-(1-(2-Kloro-6-(metilsülfanil)piridin-4-il)vinil)-1-metil-1H-indol-3-karboksamid, IC_{50}=38±8 nM değeri ile HT-29 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir. Aynı bileşik IC_{50}=2.3 μM değeri ile tübülin polimerizasyon inhibitör etkinlik göstermiştir [77].



Şekil 2.17. *5-(1-(2-Kloro-6-(metilsülfanil)piridin-4-il)vinil)-1-metil-1H-indol-3-karboksamid*

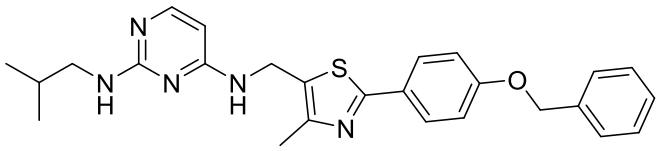
2.4. Antikanser Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Pirimidin Türevleri

Abdelazem ve diğerleri (2015) tarafından, ROS1 kinaz inhibitör etkinlikleri araştırılmak amacıyla yeni pirazol-4-ilpirimidin türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden (2-(3-(3-Hidroksi-5-metilbenzen)-4-(6-((4-hidroksibütil)amino)-2-(piridin-3-il)pirimidin-4-il)-*1H*-pirazol-1-il)asetonitril, IC_{50}=0.024 μM değeri ile ROS1 üzerinde etkinlik göstermiştir [78].



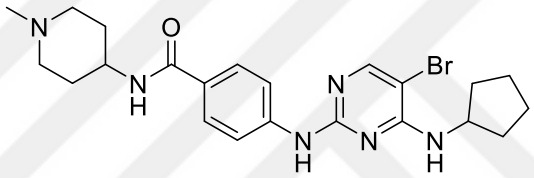
Şekil 2.18. *2-(3-(3-Hidroksi-5-metilbenzen)-4-(6-((4-hidroksibütil)amino)-2-(piridin-3-il)pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)asetonitril*

Agarwal ve diğerleri (2015) tarafından yeni 2,4-diaminopirimidin türevi bileşikler sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarına karşı MTT test yöntemi ile *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden (2-(3-(3-hidroksi-5-metilbenzen)-4-(6-((4-hidroksibütil)amino)-2-(piridin-3-il)pirimidin-4-il)-1*H*-pirazol-1-il)asetonitril, IC_{50}=0.024 μM değeri ile ROS1 üzerinde etkinlik göstermiştir [79].



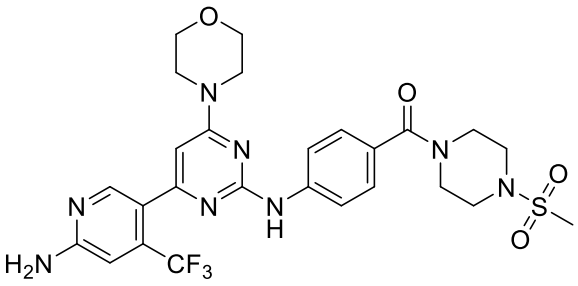
Şekil 2.19. *N^4-((2-(4-(benziloksi)benzen)-4-metil-5-tiyazolil)metil)-N^2-izobütilpirimidin-2,4-diamin*

Qin ve diğerleri (2015) yeni 2,4-diaminopirimidin türevi bileşik sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri A549, HepG2, HCT-81 ve HeLa hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Bileşiklerden 4-((5-bromo-4-(siklopentilamino)pirimidin-2-il)amino)-*N*-(1-metilpiperidin-4-il)benzamid, IC_{50}=0.5 μM değeri ile A549 hücre hattına karşı, IC_{50}=2.4 μM değeri ile HepG2 hücre hattına karşı, IC_{50}=3.6 μM değeri ile HCT-81 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.9 μM değeri ile HeLa hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir [80].



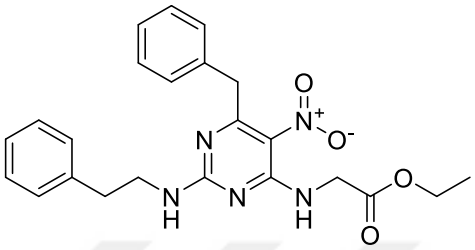
Şekil 2.20. *4-((5-bromo-4-(siklopentilamino)pirimidin-2-il)amino)-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamid*

Zhang ve diğerleri (2016), fosfotidininositol 3-kinaz (PI3K) inhibitör aktiviteleri araştırılmak üzere yeni sübstitüe pirimidin türevi bileşik sentezlemişlerdir. Elde edilen bileşiklerin antikanser etkinlikleri çeşitli hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Bileşiklerden (4-((4-(6-amino-4-(triflorometil)piridin-3-il)-6-morfolinopirimidin-2-il)amino)benzen)(4-(metilsülfonil)piperazin-1-il)metanon, IC_{50}=18.0±1.9 nM değeri ile PI3K enzimi üzerinde inhibitör etkinlik göstermiştir [81].



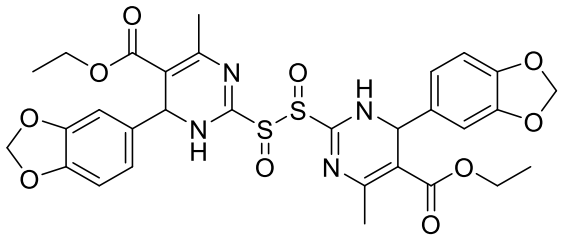
Şekil 2.21. *(4-((4-(6-amino-4-(triflorometil)piridin-3-il)-6-morfolinopirimidin-2-il)amino)benzen)(4-(metilsülfonil)piperazin-1-il)metanon*

Zhao ve diğerleri (2016) tarafından, antiproliferatif aktiviteleri araştırılmak üzere yeni 5-nitropirimidin-2,4-diamin türevi bileşikler sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri MDA-MB-231, A549, HepG2 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı *in vitro* MTT test yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden etil 2-(benzil(5-nitro-2-(fenetilamino)pirimidin-4-il)amino)asetat, IC_{50}=10.37 μM değeri ile HepG2 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir [82].



Şekil 2.22. *Etil 2-(benzil(5-nitro-2-(fenetilamino)pirimidin-4-il)amino)asetat*

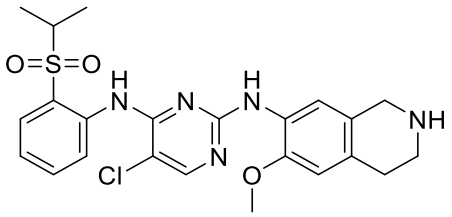
Salem ve diğerleri (2016) yeni 1,2,3,4-tetrahidropirimidin-2(1*H*)-tiyon türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HepG2 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı *in vitro* MTT test yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden dietil 2,2'-disülfinilbis(6-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-4-metil-1,6-dihidropirimidin-5-karboksilat, IC_{50}=38.4 μmol/L değeri ile HepG2 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir [83].



Şekil 2.23. *Dietil 2,2'-disülfinilbis(6-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-4-metil-1,6-dihidropirimidin-5-karboksilat)*

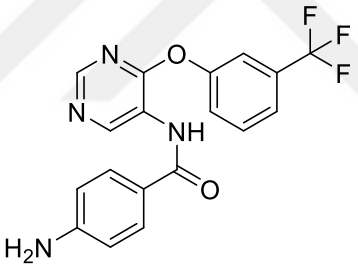
Achary ve diğerleri (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, antikanser aktiviteleri araştırılmak üzere bir seri yeni tetrahidroizokinolin içeren pirimidin türevi bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri H228, H1322 ve Ba/F3 L1196M hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 5-kloro-N^4-(2-(izopropilsülfonil)benzen)-N^2-(6-metoksi-1,2,3,4-tetrahidroizokinolin-7-il)pirimidin-

2,4-diamin, IC_{50}=0.0047 μM değeri ile H1322 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir. Aynı bileşik ALK enzimi üzerinde IC_{50}=0.001 μM değeri ile etkinlik göstermiştir [84].



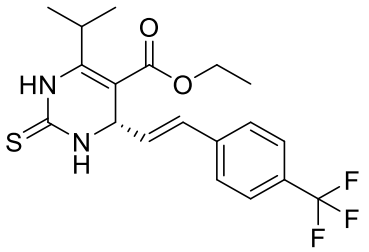
Şekil 2.24. *5-Kloro-N4-(2-(izopropilsülfonil)benzen)-N2-(6-metoksi-1,2,3,4-tetrahidroizokinolin-7-il)pirimidin-2,4-diamin*

Elkamhawy ve diğerleri (2017) tarafından, yeni 4-amino-*N*-(4-(3-(triflorometil)fenoksi)pirimidin-5-il)benzamid türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 4-Amino-*N*-(4-(3-(triflorometil)fenoksi)pirimidin-5-il)benzamid, IC_{50}=1.05 μM değeri ile EGFR enzimine karşı etkinlik gösterirken aynı enzim üzerinde 100 μM konstrasyonda %95.65 oranında inhibitör etkinlik göstermiştir [85]



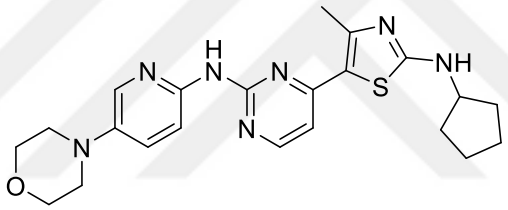
Şekil 2.25. *4-Amino-N-(4-(3-(triflorometil)fenoksi)pirimidin-5-il)benzamid*

Yu ve diğerleri (2017) tarafından, antiproliferatif aktiviteleri araştırılmak üzere yeni 4-stirildihidropirimidin-2-tiyon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri PC-3 ve HepG2 hücre hatları kullanılarak *in vitro* MTT test yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden (S)-etil 6-izopropil-2-tiyokso-4-(4-(triflorometil)stiril)-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-karboksilat, IC_{50}=29.3±5.3 μM değeri ile HepG2 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir [86].



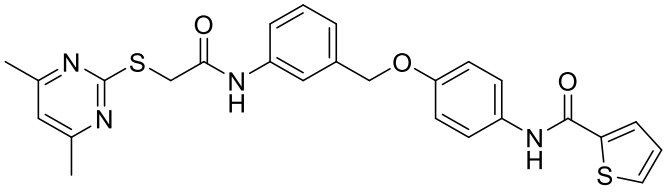
Şekil 2.26. *(S)-etil-6-izopropil-2-tiyokso-4-(4-(triflorometil)stiril)-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-karboksilat*

Tadesse ve diğerleri (2017) yeni 4-tiyazol-*N*-(piridin-2-il)pirimidin-2-amin türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri MV4-11 ve MDA-MB-453 hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden *N*-siklopentil-4-metil-5-(2-((5-morfolinopiridin-2-il)amino)-pirimidin-4-il)tiyazol-2-amin, GI_{50}=0.209±0.030 µM değeri ile MV4-11 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir. Aynı bileşik Ki=0.004 µM değeri ile CDK-4D1[c] üzerinde etkinlik göstermiştir [87].



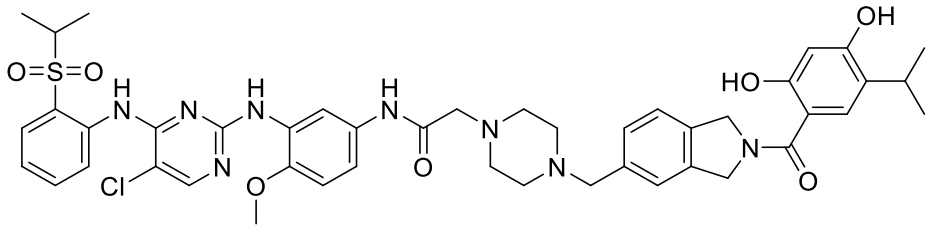
Şekil 2.27. *N-Siklopentil-4-metil-5-(2-((5-morfolinopiridin-2-il)amino)-pirimidin-4-il)tiyazol-2-amin*

Yang ve diğerleri (2017) tarafından, Sirtuin 2 inhibitör (SIRT2) aktiviteleri araştırılmak amacıyla yeni 2-((4,6-dimetilpirimidin-2-il)tiyo)-*N*-benzenasetamid türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden *N*-(4-((3-(2-((4,6-dimetilpirimidin-2-il)tiyo)asetamido)benzil)oksi)benzen)tiyofen-2-karboksamid, 5µM konsantrasyonda %99±2 oranında SIRT2 enzimi üzerinde inhibitör etkinlik göstermiştir [88].



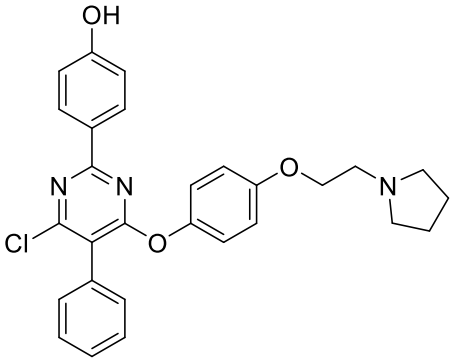
Şekil 2.28. *N-(4-((3-(2-((4,6-dimetilpirimidin-2-il)tiyo)asetamido)benzil)oksi)benzen)tiyofen-2-karboksamid*

Geng ve diğerleri (2018) bir seri yeni bileşik sentezlemişlerdir. Bileşiklerin ALK inhibitör etkinlikleri *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden *N*-(3-((5-kloro-4-((2-(izopropilsülfonil)benzen)amino)pirimidin-2-il)amino)-4-metoksibenzen)-2-(4-((2-(2,4-dihidroksi-5-izopropilbenzoil)izoindolin-5-il)metil)piperazin-1-il)asetamid, IC_{50}=9.8±0.2 nM değeri ile ALK enzimi üzerinde etkinlik göstermiştir [89].



Şekil 2.29. *N-(3-((5-kloro-4-((2-(izopropilsülfonil)benzen)amino)pirimidin-2-il)amino)-4-metoksibenzen)-2-(4-((2-(2,4-dihidroksi-5-izopropilbenzoil)izoindolin-5-il)metil)piperazin-1-il)asetamid*

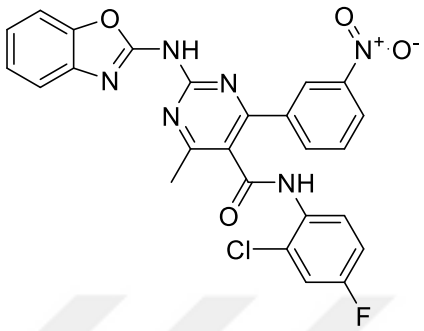
Luo ve diğerleri (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, yeni 2,4-disübstitüe pirimidin türevi bileşikler sentezlenmiştir. Bileşiklerin aktivitelerini değerlendirmek amacıyla MCF-7 hücresine karşı MTT testleri gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda bileşiklerin ERa/VEGFR-2 dual inhibisyon potansiyelleri incelenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 4-(4-kloro-5-benzen-6-(4-(2-(pirolidin-1-il)etoksi)fenoksi)pirimidin-2-il)fenol, IC_{50}=0.81 μM değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir. Aynı bileşik IC_{50}=1.64 μM değeri ile ERa enzimine karşı ve IC_{50}=0.085 μM değeri ile VEGFR-2 enzimine karşı etkinlik göstermiştir [90].



Şekil 2.30. *4-(4-kloro-5-benzen-6-(4-(2-(pirolidin-1-il)etoksi)fenoksi)pirimidin-2-il)fenol*

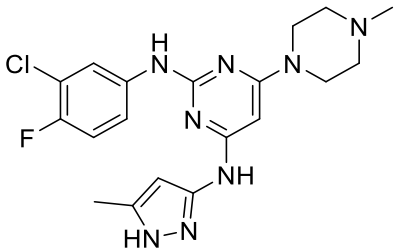
Chikhale ve diğerleri (2018) tarafındanyeni aminobenzazolilpirimidin türevi bileşikler sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri RPMI-8226, A498 ve PC-3

hücre hatlarına karşı MTT test yöntemi ile *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 2-(benzo[d]oksazol-2-ilamino)-*N*-(2-kloro-4-florobenzen)-4-metil-6-(3-nitrobenzen)pirimidin-5-karboksamid, IC_{50}=0.7244 μM değeri ile RPMI-8226 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.8511 μM değeri ile A498 hücre hattına karşı ve IC_{50}=0.7932 μM değeri ile PC-3 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [91].



Şekil 2.31. *2-(Benzo[d]oksazol-2-ilamino)-N-(2-kloro-4-florobenzen)-4-metil-6-(3-nitrobenzen)pirimidin-5-karboksamid*

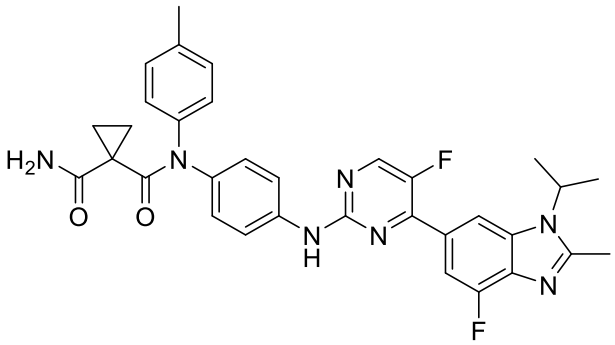
Long ve diğerleri (2018) yeni *N*-trisübstitüe pirimidin türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri U937, K562, Hela, MDA-MB-231, MCF-7, HCT-116 ve A431 hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Bileşiklerden N^2-(3-kloro-4-florobenzen)-N^4-(5-metil-*1H*-pirazol-3-il)-6-(4-metilpiperazin-1-il)pirimidin-2,4-diamin, IC_{50}=0.0122 μM değeri ile U937 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [92].



Şekil 2.32. *N^2-(3-kloro-4-florobenzen)-N^4-(5-metil-1H-pirazol-3-il)-6-(4-methylpiperazin-1-yl)pyrimidine-2,4-diamine*

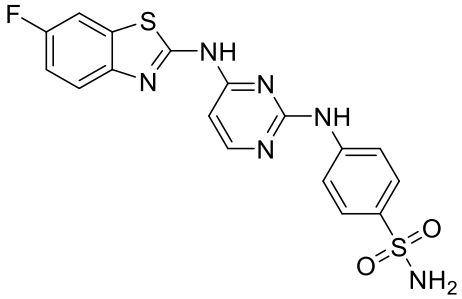
Huang ve diğerleri (2019) tarafından, CDK4 and VEGFR2 aktiviteleri araştırılmak üzere bir seri yeni dual inhibitör bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri MDA-MB-231, T47D ve Hela hücre hatlarına karşı MTT test yöntemi ile *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden *N*-(4-((5-floro-4-(4-floro-1-izopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)-*N*-(p-tolil)siklopropan-1,1-dikarboksamid, IC_{50}=16 nM değeri ile Hela hücre hattına karşı

aktivite göstermiştir. Aynı bileşik 1 µM konsantrasyonda CDK4 enzimini %97, VEGFR2 enzimini ise %95 oranında inhibe etmiştir [93].



Şekil 2.33. *N-(4-((5-floro-4-(4-floro-1-izopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)-N-(p-tolil)siklopropan-1,1-dikarboksamid*

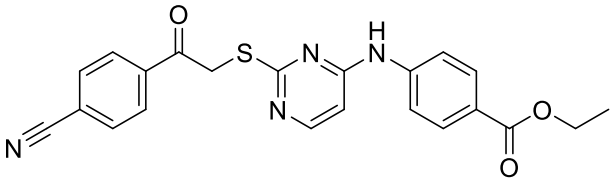
Diao ve diğerleri (2019) bir seri yeni dual inhibitör bileşik sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri Hela, HCT116, PC-3, MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 4-[4-(6-floro-benzotiyazol-2-ilamino)-pirimidin-2-ilamino]-benzenesülfonamid, IC_{50}=0.45±0.09 µM değeri ile Hela hücre hattına karşı, IC_{50}=0.70±0.03 µM değeri ile HCT-116 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.92±0.58 µM değeri ile PC-3 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir. Aynı bileşik 1 µM konsantrasyonda CDK2/A2 (siklin bağımlı kinaz) üzerinde %94 oranında inhibitör etkinlik gösterirken, IC_{50}=15.4±4.4 nM değeri ile aktivite göstermektedir [94].



Şekil 2.34. *4-[4-(6-Floro-benzotiyazol-2-ilamino)-pirimidin-2-ilamino]-benzenesülfonamid*

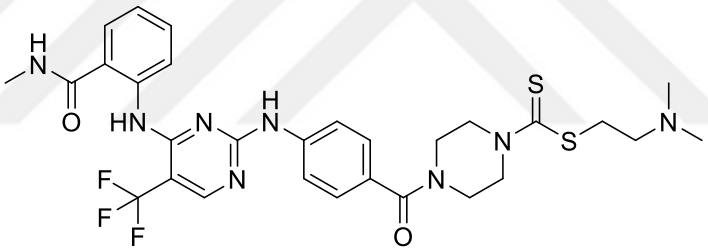
Abdel-Mohsen ve diğerleri (2019) tarafından, VEGFR-2 ve BRAF aktiviteleri araştırılmak amacıyla yeni 4-amino-2-tiyopirimidin türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden etil 4-((2-((2-(4-siyanobenzen)-2-oksoetil)tiyo)pirimidin-4-il)amino)benzoat, IC_{50}=2.19 µM değeri ile T-47D hücre hattına karşı aktivite

göstermiştir. MCF-7 hücreleri üzerinden gerçekleştirilen VEGFR-2 inhibisyon çalışmalarında ise aynı bileşik %84 oranınında inhibitör etkinlik göstermiştir [95].



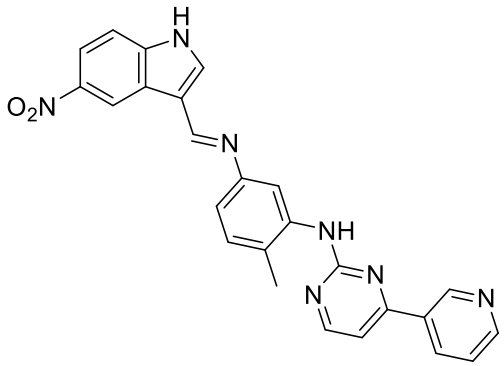
Şekil 2.35. *Etil 4-((2-((2-(4-siyanobenzen)-2-oksoetil)tiyo)pirimidin-4-il)amino)benzoat*

Su ve diğerleri (2019), yeni 2,4-diarilaminopirimidin türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HCT116, PC-3, U87-MG ve MCF-7 hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 2-(dimetilamino)etil 4-(4-((4-((2-(metilkarbamoil)benzen)amino)-5-(triflorometil)pirimidin-2-il)amino)benzoil)piperazine-1-karboditiyoat, IC_{50}=0.001±0.00 μM değeri ile HCT116 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir. Aynı bileşik IC_{50}=0.07 nM değeri ile FAK enzimi üzerinde inhibitör etkinlik göstermiştir [96].



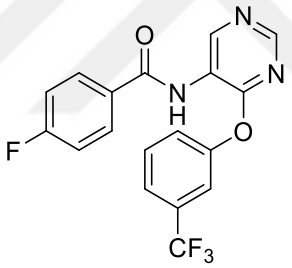
Şekil 2.36. *2-(Dimetilamino)etil 4-(4-((4-((2-(metilkarbamoil)benzen)amino)-5- (triflorometil)pirimidin-2-il)amino)benzoil)piperazine-1-karboditiyoat*

Rahim ve diğerleri (2019) yeni benzen-amino-pirimidin ve indol/oksoindol konjugatı bileşikler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri K562 hücre hattına karşı MTT yöntemi ile değerlendirildikten sonra Bcr-abl enzim inhibisyon potansiyelleri incelenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden (E)-*N*-(2-metil-5-(((5-nitro-1*H*-indol-3-il)metilen)amino)benzen)-4-(piridin-3-il)pirimidin-2-amin, IC_{50}=0.65 μM değeri ile K562 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir. Bileşiğin IC_{50}=30±0.64 μM değeri ile Bcr-abl enzimi üzerindeki inhibitör etkinliği gözlenmiştir [97].



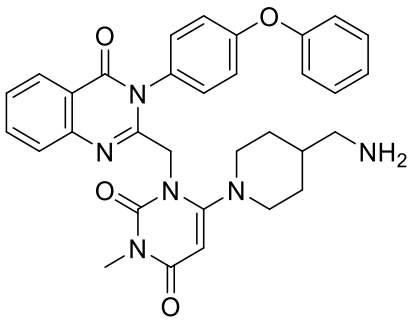
Şekil 2.37. *(E)-N-(2-metil-5-(((5-nitro-1H-indol-3-il)metilen)amino)benzen)-4-(piridin-3-il)pirimidin-2-amin*

Elkamhawy ve diğerleri (2019) tarafından, EGFR inihibitör aktiviteleri araştırılmak amacıyla yeni 4-floro-*N*-(4-(3-(triflorometil)fenoksi)pirimidin-5-il)benzamid türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 4-floro-*N*-(4-(3-(triflorometil)fenoksi)pirimidin-5-il)benzamid, IC_{50}=2.68 μM değeri ile EGFR enzimi üzerinde inhibitör etkinlik göstermiştir [98].



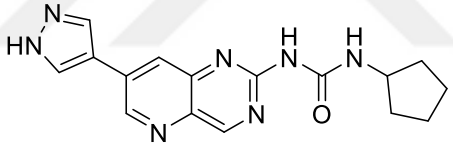
Şekil 2.38. *4-Floro-N-(4-(3-(triflorometil)fenoksi)pirimidin-5-il)benzamid*

Emami ve diğerleri (2020) yeni kinazolinon pirimidin hibridi bileşikler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HT-29, SW1116, A549 ve MRC-5 hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 6-(4-(aminometil) piperidin-1-il)-3-metil-1-((4-okso-3-(4-fenoksibenzen)-3,4-dihidrokinazolin-2-il)metil)pirimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion, IC_{50}=36.1±2.1 μM değeri ile HT-29 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [99].



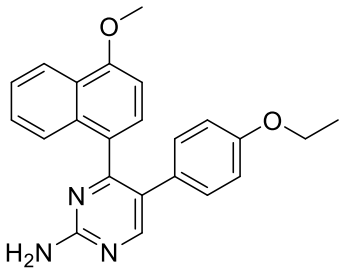
Şekil 2.39. *6-(4-(Aminometil) piperidin-1-il)-3-metil-1-((4-okso-3-(4-fenoksibenzen)-3,4-dihidro kinazolin-2-il) metil) pirimidin-2,4(1H,3H)-dion*

Zhang ve diğerleri (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, ERK ve PI3K inhibitör aktiviteleri araştırılmak üzere bir seri yeni bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HEC-1B ve HCT116 hücre hatlarına karşı MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden1-(7-(1*H*-pirazol-4-il)pirido[3,2-d]pirimidin-2-il)-3-siklopentilüre, IC_{50}=0.7255 μM değeri ile HCT116 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir. Bileşik IC_{50}=73 nM değeri ile ERK2 enzimi üzerinde, IC_{50}=59 nM değeri ile de PI3Kα enzimi üzerinde aktivite göstermiştir [100].



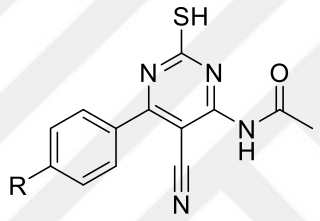
Şekil 2.40. *1-(7-(1H-pirazol-4-il)pirido[3,2-d]pirimidin-2-il)-3-siklopentilüre*

Liu ve diğerleri (2020) tarafından, tubulin polimerizasyon inhibitör potansiyelleri araştırılmak üzere yeni 4-(4-metoksinaftalen-1-il)-5-arilpirimidin-2-amin türevleri sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri MCF-7 ve HepG2 hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 5-(4-etoksibenzen)-4-(4-metoksinaftalen-1-il)-pirimidin-2-amin, IC_{50}=3.77±0.36 μM değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı, IC_{50}=3.83±0.26 μM değeri ile HepG2 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bu bileşiğin hücre apoptozunu ve hücre siklusundaki G2/M fazını indükleyerek tubulin polimerizasyon inhibisyonu gösterdiği belirtilmiştir [101].



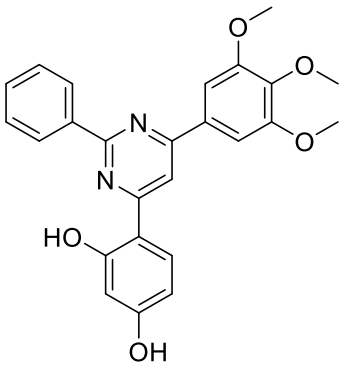
Şekil 2.41. *5-(4-Etoksibenzen)-4-(4-metoksinaftalen-1-il)-pirimidin-2-amin*

Haffez ve diğerleri (2020) yeni pirimidin ve kinazolin türevleri sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri MCF-7 ve HepG2 hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden pirimidin içeren türevlerin her birinin 100 μM üzeri IC_{50} değerine sahip olduğu görülmüştür [102].



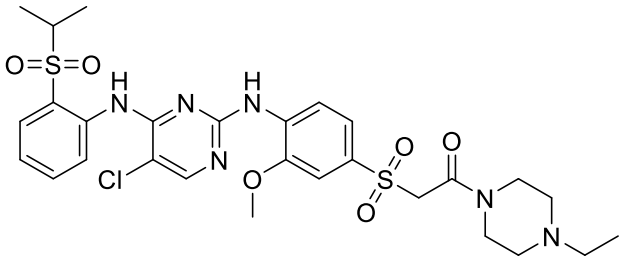
Şekil 2.42. *N-[5-siyano-6-(4-sübstitüebenzen)-2-sülfanilpirimidin-4-il]asetamid türevi bileşikler*

Dwivedi ve diğerleri (2020) tarafından, yeni tribenzen sübstitüe pirimidin türevi bileşikler sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin antikanser etkinlikleri MDA-MB-231, HCT-116 ve HT-29 hücre hatlarına karşı MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 4-(2-benzen-6-(3,4,5-trimetoksibenzen)pirimidin-4-il)benzen-1,3-diol, IC_{50}=0.81 μM değeri ile MDA-MB-231 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bu bileşiğin hücre apoptozunu indüklediği görülmüştür. Aynı zamanda hücre siklus analizlerinde bileşiğin G2/M fazındaki hücreleri inhibe ettiği belirtilmiştir [103].



Şekil 2.43. *4-(2-Benzen-6-(3,4,5-trimetoksibenzen)pirimidin-4-il)benzen-1,3-diol*

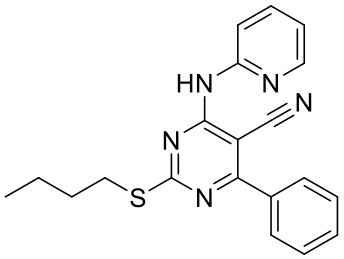
Zhu ve diğerleri (2020) antikanser aktiviteleri araştırılmak üzere bir seri yeni tribenzen sübstitüe pirimidin türevi bileşik sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri Karpas299, HCC78 ve A549 hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 2-((4-((5-kloro-4-((2-(izopropilsülfonil)benzen)amino)pirimidin-2-il)amino)-3-metoksibenzen)sülfonil)-1-(4-etilpiperazin-1-il)etan-1-on, IC_{50}=0.039±0.006 μM değeri ile Karpas299 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.070±0.005 μM değeri ile HCC78 hücre hattına karşı, IC_{50}=7.50±0.9 μM değeri ile A549 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bu bileşiğin ALK enzimi üzerinde IC_{50}=2.3 nM değeri ile inhibitör etkinlik gösterdiği belirtilmiştir [104].



Şekil 2.44. *2-((4-((5-Kloro-4-((2-(izopropilsülfonil)benzen)amino)pirimidin-2-il)amino)-3-metoksibenzen)sülfonil)-1-(4-etilpiperazin-1-il)etan-1-on*

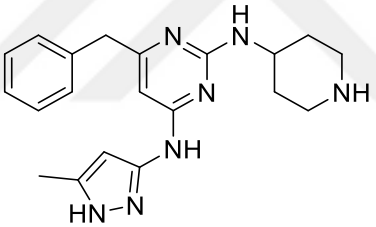
Nasser ve diğerleri (2020) tarafından, yeni pirimidin-5-karbonitril türevi bileşikler sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HCT116, HepG2, MCF-7 ve A549 hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 2-(bütiltiyo)-4-benzen-6-(piridin-2-ilamino)pirimidin-5-karbonitril, IC_{50}=3.37±0.13 μM değeri ile HCT116 hücre hattına karşı, IC_{50}=3.04±0.12 μM değeri ile HepG2 hücre hattına karşı, IC_{50}=4.14±0.16 μM değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı ve IC_{50}=2.40±0.09 μM değeri

ile A549 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bu bileşiğin EGFR enzimi üzerinde IC_{50}=0.09±0.04 µM değeri ile inhibitör etkinlik gözlenmiştir [105].



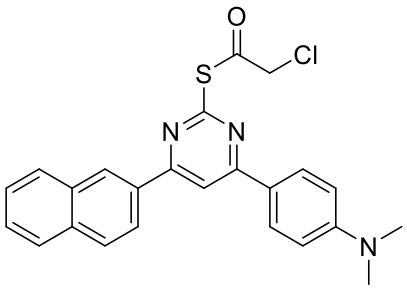
Şekil 2.45. *2-(Bütiltiyo)-4-benzen-6-(piridin-2-ilamino)pirimidin-5-karbonitril*

Qin ve diğerleri (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, p21 aktivite kinaz-4 (PAK-4) inhibitör etkinlikleri araştırılmak üzere bir seri yeni 2,4-diaminopirimidin türevi bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerden 6-benzil-N^4-(5-metil-1*H*-pirazol-3-il)-N^2-(piperidin-4-il)-pirimidin-2,4-diamin, IC_{50}=5.9 nM değeri ile PAK-4 enzimi üzerinde etkinlik göstermiştir [106].



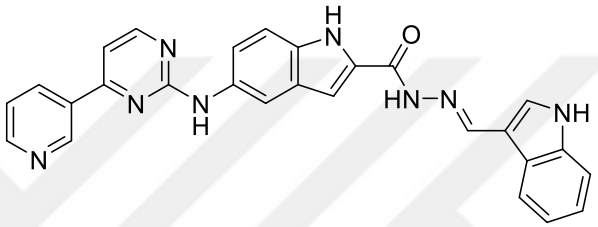
Şekil 2.46. . *6-Benzil-N^4-(5-metil-1H-pirazol-3-il)-N^2-(piperidin-4-il)-pirimidin-2,4-diamin*

Ahmed ve diğerleri (2020), yeni pirimidin türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HepG2, MCF-7 ve WI38 hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Bileşiklerden *S*-(4-(4-(dimetilamino)benzen)-6-(naftalen-2-il)pirimidin-2-il) 2-kloroetantiyoat, IC_{50}=9.17±1.0 µM değeri ile HepG2 hücre hattına karşı, IC_{50}=8.03±0.7 µM değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [107].



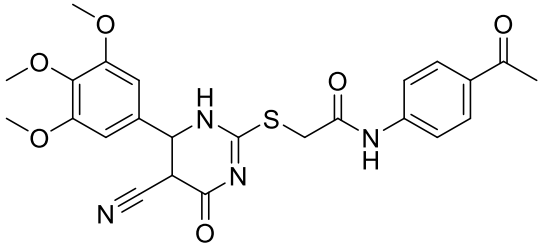
Şekil 2.47. *S-(4-(4-[Dimetilamino]benzen)-6-(naftalen-2-il)pirimidin-2-il) 2-kloroetantiyoat*

Hu ve diğerleri (2020) tarafından, yeni (5-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)-1*H*-indol türevi bileşikler sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HepG2, MCF-7, A375 ve A549 hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden (E)-*N*'-((1*H*-indol-3-il)metilen)-5-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)-1*H*-indol-2-karbohidrazid, IC_{50}=0.07±0.04 µM değeri ile HepG2 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.10±0.06 µM değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.10±0.02 µM değeri ile A375 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.53±0.09 µM değeri ile A549 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [108].



Şekil 2.48. *(E)-N'-((1H-indol-3-il)metilen)-5-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)-1H-indol-2-karbohidrazid*

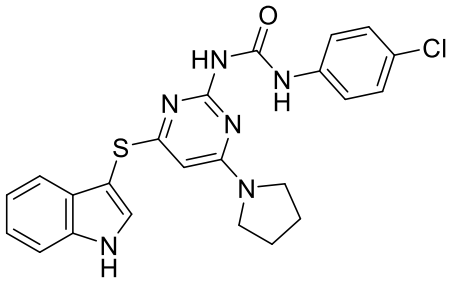
Marzouk ve diğerleri (2020) yeni 1,6-dihidropirimidin-2-tiyo türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerden *N*-(4-asetilbenzen)-2-(5-siyano-4-okso-6-(3,4,5-trimetoksibenzen)-1,6-dihidropirimidin-2-iltiyo)asetamid, IC_{50}=198.7 nµ değeri ile VEGFR-2 enzimi üzerinde inhibitör etkinlik göstermiştir [109].



Şekil 2.49. *N-(4-Asetilbenzen)-2-(5-siyano-4-okso-6-(3,4,5-trimetoksibenzen)-1,6-dihidropirimidin-2-iltiyo)asetamid*

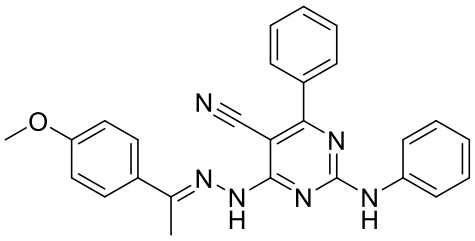
Hu ve diğerleri (2020) tarafından yeni pirimidin-tiyoindol türevi bileşikler sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri A549, PC-3, MDA-MB-231 ve HepG2 hücre hatlarına karşı MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 1-(4-((1*H*-İndol-3-il)tiyo)-6-(pirolidin-1-il)pirimidin-2-il)-3-(4-

klorobenzen)üre, IC_{50}=6.41±0.81 μM değeri ile A549 hücre hattına karşı, IC_{50}=10.42±0.78 μM değeri ile PC-3 hücre hattına karşı, IC_{50}=5.85±0.71 μM değeri ile MDA-MB-231 hücre hattına karşı, IC_{50}=7.87±1.18 μM değeri ile HepG2 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [110].



Şekil 2.50. *1-(4-((1H-İndol-3-il)tiyo)-6-(pirolidin-1-il)pirimidin-2-il)-3-(4-klorobenzen)üre*

AboulWafa ve diğerleri (2020) tarafından yayınlanan bir çalışmada, yeni pirimidin türevi bileşikler sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 2-anilino-4-(2-(1-(4-metoksibenzen)etiliden)hidrazinil)-6-benzenpirimidin-5-karbonitril, IC_{50}=1.62±0.04 μM değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı, IC_{50}=3.12±0.02 μM değeri ile MDA-MB-231 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir. Aynı bileşiğin IC_{50}=192.42±9.70 ng/mL değeri ile EGFR enzimi üzerinde, IC_{50}=150.21±5.60 ng/mL değeri ile ARO enzimi üzerinde inhibitör etkinlik gösterdiği belirtilmiştir [111].

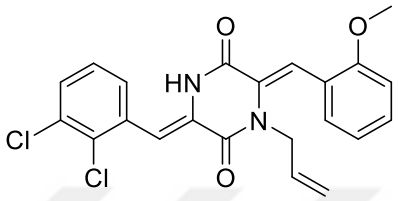


Şekil 2.51. *2-Anilino-4-(2-(1-(4-metoksibenzen)etiliden)hidrazinil)-6-benzenpirimidin-5-karbonitril*

2.5. Antikanser Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Piperazin Türevleri

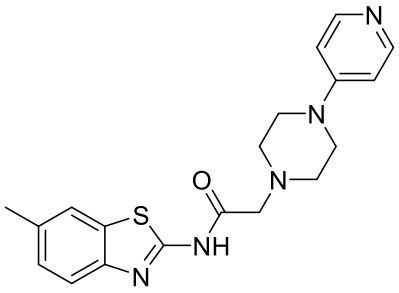
Liao ve diğerleri (2014) tarafından yeni 2,5-diketopiperazin türevi bileşik sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antikanser etkinlikleri BCG-823, Hela, Huh-7, MCF-7, H1975, A549, HL-60, K562, MOLT-4 ve U937 hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Bileşiklerden1-allil-3-(2,3-diklorobenziliden)-6-(2-metoksibenziliden)piperazin-2,5-dion, IC_{50}=2.2±0.9 μM değeri BCG-823 hücre hattına

karşı, IC_{50}=1.6±0.2 µM değeri ile Hela hücre hattına karşı, IC_{50}=1.2±0.2 µM değeri ile Huh-7 hücre hattına karşı, IC_{50}=2.1±0.6 µM değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı, IC_{50}=4.5±0.5 µM değeri ile H1975 hücre hattına karşı, IC_{50}=2.3±0.2 µM değeri ile A549 hücre hattına karşı, IC_{50}=2.0±0.2 µM değeri ile HL-60 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.9±0.1 µM değeri ile K562 hücre hattına karşı, IC_{50}=1.2±0.1 µM değeri ile MOLT-4 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.5±0.0 µM değeri ile U937 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir [112].



Şekil 2.52. *1-Allil-3-(2,3-diklorobenziliden)-6-(2-metoksibenziliden)piperazin-2,5-dion*

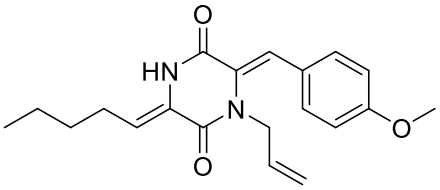
Gürdal ve diğerleri (2015) yeni benzotiyazol-piperazin türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HCT16, MCF-7 ve HUH-7 hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden N-(6-metilbenzotiyazol-2-il)-2-[4-(piridin-4-il)piperazinil]asetamid, IC_{50}=7.9 µM (R^2=0.9) değeri HCT-116 hücre hattına karşı, IC_{50}=9.2 µM (R^2=0.9) değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı, IC_{50}=3.1 µM (R^2=0.9) değeri ile Huh-7 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir [113].



Şekil 2.53. *N-(6-Metilbenzotiyazol-2-il)-2-[4-(piridin-4-il)piperazinil]asetamid*

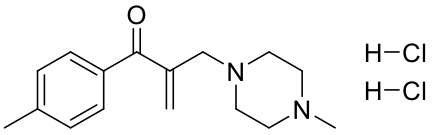
Liao ve diğerleri (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, antikanser aktiviteleri araştırılmak üzere bir seri yeni 2,5-diketopiperazin türevi bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri U937, K562, HL60, A549, MCF-7, HeLa, DU145 ve HT29 hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden (3Z,6Z)-1-allil-6-(4-metoksibenziliden)-3-pentilidenpiperazin-2,5-dion, IC_{50}=0.36±0.01 µM değeri

ile U937 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.6±0.1 μM değeri ile K562 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.9±0.0 μM değeri ile HL60 hücre hattına karşı, IC_{50}=1.7±0.1 μM değeri ile A549 hücre hattına karşı, IC_{50}=1.9±0.6 μM değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.9±0.0 μM değeri ile HeLa hücre hattına karşı, IC_{50}=1.7±0.3 μM değeri ile DU145 hücre hattına karşı, IC_{50}=1.2±0.1 μM değeri ile HT29 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [114].



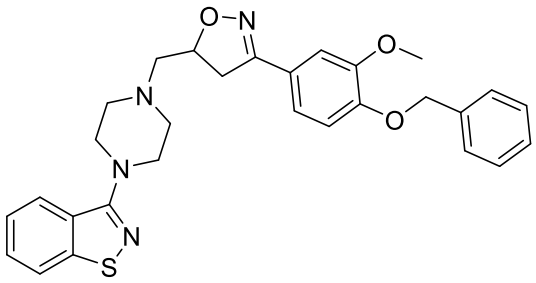
Şekil 2.54. *(3Z,6Z)-1-Allil-6-(4-metoksibenziliden)-3-pentilidenpiperazin-2,5-dion*

İnci Gül ve diğerleri (2016) yeni *N*-metilpiperazin türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri Ca9-22, HSC-2, HSC-3, HSC-4 ve Ave hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 2-(4-Metil-piperazin-1-il-metil)-1-p-tolil-2-propen-1-ondihidroklorür, IC_{50}=6.9±0.5 μM değeri ile Ca9-22 hücre hattına karşı, IC_{50}=3.9±0.6 μM değeri ile HSC-2 hücre hattına karşı, IC_{50}=2.8±0.2 μM değeri ile HSC-3 hücre hattına karşı, IC_{50}=3.7±0.7 μM değeri ile HSC-4 hücre hattına karşı, IC_{50}=4.3±1.8 μM değeri ile Ave hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [115].



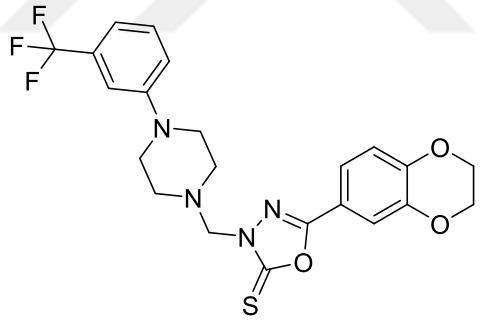
Şekil 2.55. *2-(4-Metil-piperazin-1-il-metil)-1-p-tolil-2-propen-1-ondihidroklorür*

Byrappa ve diğerleri (2017) tarafından bir seri yeni piperazin türevi bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri MDA-MB-231 hücre hattı kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 3-(4-((3-(4-(benziloksi)-3-metoksibenzen)-4,5-dihidroizoksazol-5-il) metil)piperazin-1-il)benzo[d]izotiyazol,30 μM/mL konsantrasyonda hücreleri %53 oranında öldürmüştür. Aynı bileşiğin yapılan SEM tarama testleri sonucunda apoptotik olduğu görülmüştür [116].



Şekil 2.56. *3-(4-((3-(4-(Benziloksi)-3-metoksibenzen)-4,5-dihidroizoksazol-5-il) metil) piperazin-1-il)benzo[d]izotiyazol*

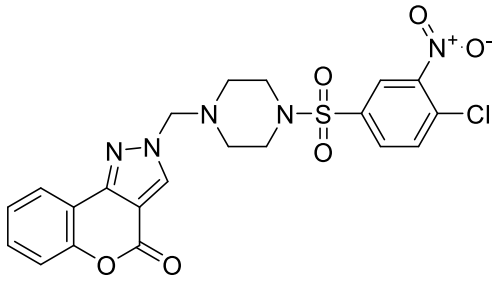
Sun ve diğerleri (2017) tarafından yapılan yeni piperazin içeren 1,3,4-oksadiazol-2(3H)-tiyon türevi bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HepG2, Hela, SW1116, BGC823 hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 5-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioksin-6-il)-3-((4-(3(triflorometil)benzen) piperazin-1-il)metil)-1,3,4-oksadiazol-2(3H)-tiyon, IC_{50}=5.78 μM değeri ile HepG2 hücre hattına karşı, IC_{50}=47.15 μM değeri ile SW116 hücre hattına karşı etkinlik göstermiştir. Ayrıca bu bileşik FAK enzimine karşı IC_{50}=0.78 μM değeri ile inhibitör etkinlik göstermiştir [117].



Şekil 2.57. *5-(2,3-Dihidrobenzo[b][1,4]dioksin-6-il)-3-((4-(3(triflorometil)benzen) piperazin-1-il)metil)-1,3,4-oksadiazol-2(3H)-tiyon*

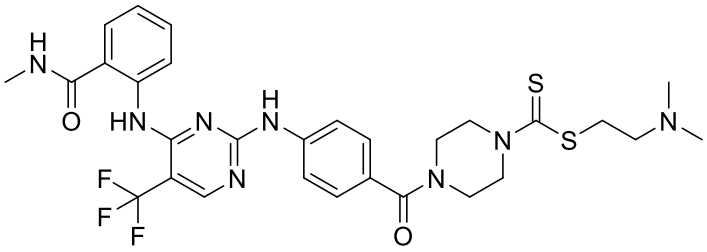
Yin ve diğerleri (2019) antikanser aktiviteleri araştırılmak üzere bir seri yeni sülfonilpiperazin içeren bileşik sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HCT116, A549, Huh7 ve HL60 hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 2-((4-((4-kloro-3-nitrobenzen)sülfonil)piperazin-1-il)metil)kromeno[4,3-c]pirazol-4(2*H*)-on, IC_{50}=0.03±0.003 μM değeri ile HCT116 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.06±0.005 μM değeri ile A549 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.09±0.007

μM değeri ile Huh7 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.06±0.005 μM değeri ile HL60 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [118].



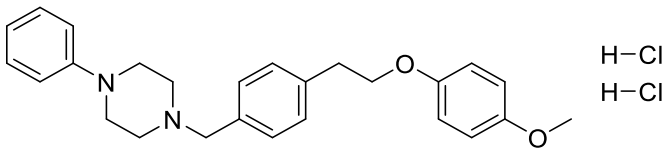
Şekil 2.58. *2-((4-((4-Kloro-3-nitrobenzen)sülfonil)piperazin-1-il)metil)kromeno[4,3-c]pirazol-4(2H)-on*

Su ve diğerleri (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, yeni piperazin içeren bileşikler sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HCT116, PC-3, U87-MG ve MCF-7 hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 2-(dimetilamino)etil 4-(4-((4-((2-(metilkarbamoil)benzen)amino)-5-(triflorometil)pirimidin-2-il)amino)benzoil)piperazine-1-karboditiyoat, IC_{50}=0.001±0.00 μM değeri ile HCT116 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.03±0.00 μM değeri ile PC-3 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.06±0.01 μM değeri ile U87-MG hücre hattına karşı, IC_{50}=0.02±0.01 μM değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir. Aynı bileşik IC_{50}=0.28±0.05 μM değeri MCF10A hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [96].



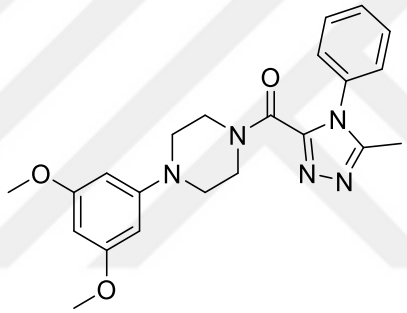
Şekil 2.59. *2-(Dimetilamino)etil 4-(4-((4-((2-(metilkarbamoil)benzen)amino)-5-(triflorometil)pirimidin-2-il)amino)benzoil)piperazine-1-karboditiyoat*

Chen ve diğerleri (2019) tarafından yeni arilpiperazin içeren bileşikler sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri PC-3, DUI45, LNCaP ve RWPE-1 hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden 1-(4-(2-(4-metoksifenoksi)etil)benzil)-4-benzenpiperazin dihidroklorür bileşiği IC_{50}=8.95±0.13 μM değeri ile PC-3 hücre hattına karşı, IC_{50}=9.79±0.46 μM değeri ile DUI45 hücre hattına karşı, IC_{50}=7.46±0.02 μM değeri ile LNCaP hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [119].



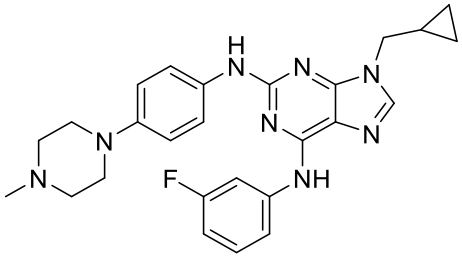
Şekil 2.60. *1-(4-(2-(4-Metoksifenoksi)etil)benzil)-4-benzenpiperazin dihidroklorür*

Wang ve diğerleri (2020) yeni 5-metil-4-aril-3-(4-arilpiperazin-1-karbonil)-4*H*-1,2,4-triazol türevi bileşiklerler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri SGC-7901, A549 ve Hela hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Bileşiklerden 5-Metil-4-benzen-3-(4-(3,5-dimetoksibenzen)piperazin-1-karbonil)-4*H*-1,2,4-triazol, IC_{50}=2.16±0.1 μM değeri ile SGC-7901 hücre hattına karşı, IC_{50}=2.21±0.09 μM değeri ile A549 hücre hattına karşı, IC_{50}=0.403±0.02 μM değeri ile Hela hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [120].



Şekil 2.61. *5-Metil-4-benzen-3-(4-(3,5-dimetoksibenzen)piperazin-1-karbonil)-4H-1,2,4-triazol*

Wang ve diğerleri (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, piperazin türevi yeni bir seri bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HL60, MV4-11, CEM, K562, Ramos ve MCF-7 hücre hatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Bileşiklerden 9-(siklopropilmetil)-N^6-(3-florobenzen)-N^2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)benzen)-9*H*-purin-2,6-diamin, IC_{50}=1.23±0.20 μM değeri ile HL60 hücre hattına karşı, IC_{50}=1.65±0.23 μM değeri ile MV4-11 hücre hattına karşı, IC_{50}=8.89±0.18 μM değeri ile CEM hücre hattına karşı, IC_{50}=0.77±0.06 μM değeri ile K562 hücre hattına karşı, IC_{50}=5.77±0.32 μM değeri ile Ramos hücre hattına karşı ve IC_{50}=4.17±0.13 μM değeri ile MCF-7 hücre hattına karşı aktivite göstermiştir [121].



Şekil 2.62. *9-(Siklopropilmetil)-N^6-(3-florobenzen)-N^2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)benzen)-9H-purin-2,6-diamin*

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

2-Metil-5-nitroanilin	: Merck, Almanya
Siyanamid	: Merck, Almanya
Nitrik asit (HNO_3)	: Merck, Almanya
2-Propanol	: Merck, Almanya
Sodyum Hidroksit (NaOH)	: Merck, Almanya
3-(Dimetilamino)-1-(piridin-3-il)prop-2-en-1-on	: TCI, Almanya
Tetrahidrofuran (THF)	: Merck, Almanya
Pd/C	: Merck, Almanya
Trietilamin	: Merck, Almanya
Kloroasetil klorür	: Merck, Almanya
4-(Klorometil)benzoil klorür	: Merck, Almanya
N,N-dimetil-2-(piperazin-1-il)ethan-1- amin	: Aldrich, Almanya
N,N-dimetil-3-(piperazin-1-il)propan-1-amin	: Aldrich, Almanya
1-(2-Metoksietil)piperazin	: Aldrich, Almanya
1-Allilpiperazin	: Merck, Almanya
1-İzopropilpiperazin	: Aldrich, Almanya
Potasyum hidroksit (KOH)	: Merck, Almanya
Etanol	: Tekim, Türkiye
Karbondisülfit (CS_2)	: Merck, Almanya
Etil Asetat	: Aldrich, Almanya
Silikajel 60 F254 kaplı alüminyum İTK plağı	: Merck, Almanya
Tripsin	: Sigma, Almanya
Fetal Bovine serum	: Capricorn, Güney Amerika

DMEM	: Sigma, Almanya
RPMI	: Sigma, Almanya
MCF-7 Hücre Hattı	: ATCC, USA
C6 Hücre Hattı	: ATCC, USA
A549 Hücre Hattı	: ATCC, USA
HepG2 Hücre Hattı	: ATCC, USA
HT29 Hücre Hattı	: ATCC, USA
Panc-1 Hücre Hattı	: ATCC, USA
NIH3T3 Hücre Hattı	: ATCC, USA
PBS	: Gibco, İngiltere
MTT Boyası	: Sigma, Almanya
BrdU kiti	: Roche, Almanya
DMSO	: Sigma, Almanya
Apoptozis ve Nekrozis Kantitatif Kit	: Biotium, USA
Kaspaz-3/CYP332 ELISA Kiti	: Biovision, USA
İnsan Bcl2 ELISA Kiti	: Abcam, USA
PDGFRα ELISA Kiti	: Abcam, USA
Abl Elisa Kiti	: LSBio, USA

3.2. Kullanılan Cihazlar

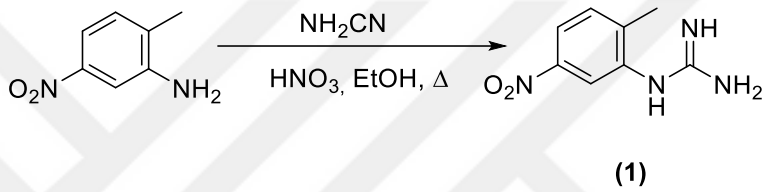
Magnetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı	: Heidolph, MR 3003, Almanya
Elektronik terazi	: Schimadzu, Libror EB-330 HU, Japonya
Ultraviyole lambası	: Camag, Cabinet, İsviçre
Erime derecesi tayin cihazı	: Mettler Toledo-MP90 Melting Point System
Infrared spektrofotometresi	: Shimadzu-IR Affinity-IS, Japonya
Nükleer magnetik rezonans spektrometresi	: Bruker, UltraShield 300 MHz, Amerika Birleşik Devletleri
Kütle spektrometresi	: Shimadzu, LCMS-IT-TOF, Japonya
Vorteks	: Wisemix, Kore
Steril Kabin	: Class II TypeA2 (CHC-222A2-60), Güney Kore
İnkübatör	: Heraeus, Almanya
Mikroplate okuyucu	: Bio-Tek, ELx808-IU, Amerika Birleşik Devletleri
Flow sitometri	: CytoFLEX, Amerika Birleşik Devletleri

4. . YÖNTEMLER

4.1. Sentez Çalışmaları

4.1.1. 1-(2-Metil-5-nitrobenzen)guanidin türevinin sentezi (Yöntem A)

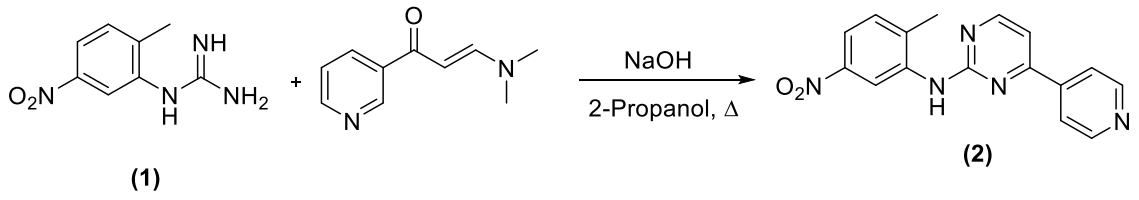
2-Metil-5-nitroanilin (0,13 mol, 20 gr), siyanamid (0,13 mol, 6,18 gr) ve HNO_3 (nitrik asit, 14,2 ml) etanol içerisinde geri çeviren soğutucu altında 24 saat ısıtılmıştır. Reaksiyon ortamından alınan numune ile İTK kontrolü yapılmıştır. Reaksiyon bitiminde, karışım etanol ile seyreltilmiş ve buz banyosunda soğutulduktan sonra çöken ürün süzülerek alınmıştır. Ham ürün kuruduktan sonra etanolden kristallendirilmiştir (Şekil 4.1)



Şekil 4.1. *1-(2-Metil-5-nitrobenzen)guanidin Eldesi için Reaksiyon Denklemi*

4.1.2. *N*-(2-Metil-5-nitrobenzen)-4-(piridin-4-il)pirimidin-2-amin türevinin sentezi (Yöntem B)

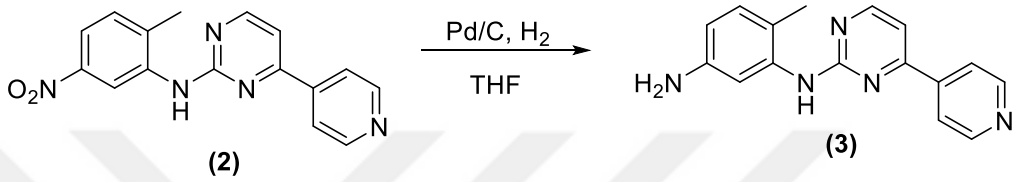
1-(2-Metil-5-nitrobenzen)guanidin (0,1 mol, 20 gr), 2-propanol (50 mL) içerisinde çözülmüştür. Çözelti, sodyum hidroksit (0,12 mol, 4,94 gr) ve 3-(dimetilamino)-1-(piridin-3-il)prop-2-en-1-on (0,1 mol, 17,6 gr) ilavesiyle manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı üzerinde alınmış ve 21 saat ısıtılmıştır. Reaksiyon bitimi İTK kontrolü ile tayin edildikten sonra reaksiyon içeriği buzlu suya dökülmüş ve çöken ham ürün süzülerek alınmıştır. Ham ürün kuruduktan sonra etanolden kristallendirilmiştir (Şekil 4.2)



Şekil 4.2. *N-(2-Metil-5-nitrobenzen)-4-(piridin-4-il)pirimidin-2-amin Eldesi için Reaksiyon Denklemi*

4.1.3. 6-Metil-N^1-(4-(piridin-4-il)pirimidin-2-il)benzen-1,3-diamin türevinin sentezi (Yöntem C)

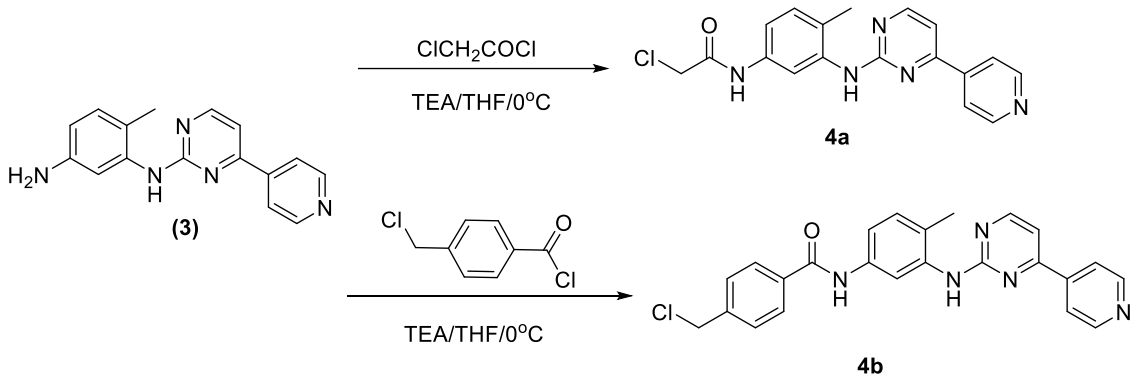
N-(2-Metil-5-nitrobenzen)-4-(piridin-4-il)pirimidin-2-amin (0,06 mol, 20 gr), tetrahidrofuran (THF) içerisinde çözündürülmüştür. Elde edilen reaksiyon karışımına katalitik miktarda Pd/C ilave edilmiş ve reaksiyon balonu hidrojenleme sistemine yerleştirilerek vakum alınmıştır. 0,8 MPa basınçta 25 ^{o}C'de hidrojen gazı sisteme verilmiş ve reaksiyon içeriği 24 saat boyunca karıştırılmıştır. Reaksiyon bitimi İTK kontrolü ile tayin edildikten sonra reaksiyon içeriği çift kat süzgeç kağıdı ile süzülmüş ve tetrahidrofuran çeker ocak içerisinde evapore edilmiştir. Elde edilen kalıntı kazınarak alınmış ve etanolden kristallendirilmiştir. (Şekil 4.3)



Şekil 4.3. *6-Metil-N^1-(4-(piridin-4-il)pirimidin-2-il)benzen-1,3-diamin türevinin eldesi için reaksiyon denklemi*

4.1.4. 2-Kloro-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (4a) ve 4-(Klorometil)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (4b) türevlerinin sentezi (Yöntem D)

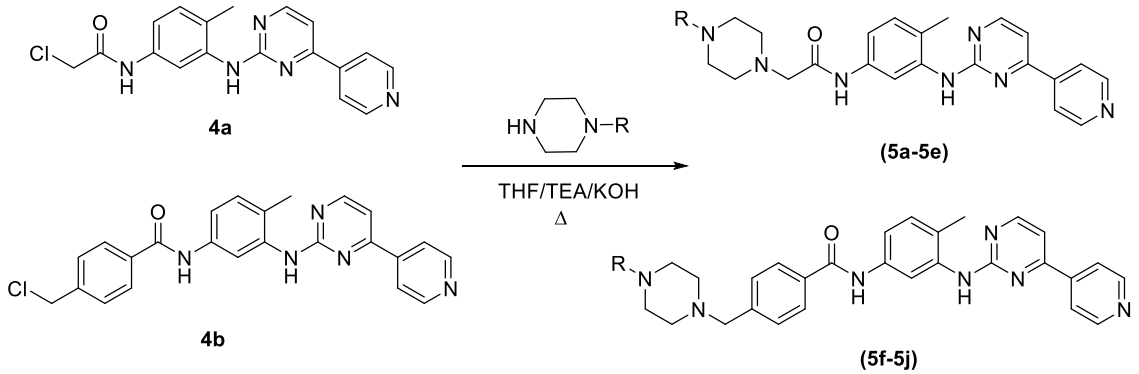
6-Metil-N^1-(4-(piridin-4-il)pirimidin-2-il)benzen-1,3-diamin (0,04 mol, 11 gr), iki farklı balonda THF (30 mL) içerisinde çözülmüştür. Çözeltiler, trietilamin (0,044 mol, 6,35 mL) ilavesiyle manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı üzerinde hazırlanan buz banyosuna alınmıştır. Bir damlatma hunisine kloroasetil klorür (0,044 mol, 3,52 mL) ve THF (15 mL); diğer damlatma hunisine 4-(klorometil)benzoil klorür (0,044 mol, 8,27 gr) konulmuştur. Bu karışımlar damla damla buz banyosu üzerindeki reaksiyon ortamına kuvvetli bir şekilde karıştırarak ilave edilmiştir. Damlatma işlemi bitirildiğinde reaksiyon ortamı buz banyosundan alınıp oda ısısında bir saat karıştırılmıştır. Reaksiyon bitimi İTK kontrolü ile tayin edildikten sonra THF rotavapor aracılığıyla evapore edilmiş ve elde edilen kalıntı su ile yıkanmıştır. Ham ürün kuruduktan sonra etanolden kristallendirilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. *2-Kloro-N-(4-metil-3-((4-(piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (4a) ve 4-(Klorometil)-N-(4-metil-3-((4-(piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (4b) türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi*

4.1.5. Hedef bileşiklerin sentezi (5a-5j) (Yöntem E)

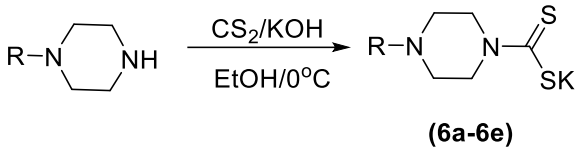
Bileşik **4a, 4b** (0,001 mol) ayrı balonlarda THF (20 mL) içerisinde çözülmüştür. Çözeltiler, trietilamin (0,001 mol, 0,14 ml) ve uygun piperazin türevinin ilavesiyle manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı üzerinde geri çeviren soğutucu altında ısıtılmaya başlanmıştır. 1 saat sonra ortama KOH (0,001 mol, 0,05 gr) ilavesi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı 8 saat boyunca ısıtılmıştır. Reaksiyon bitimi İTK kontrolü ile tayin edildikten sonra THF rotavapor aracılığıyla evapore edilmiş ve elde edilen kalıntı su ile yıkanmıştır. Ham ürün kuruduktan sonra etilasetat ile yıkanmış ve etanolden kristallendirilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. ***5a-5j*** *Türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi*

4.1.6. Potasyum 4-sübstitüepiperazin-1-karboditiyoat (6a-6e) türevlerinin sentezi (Yöntem F)

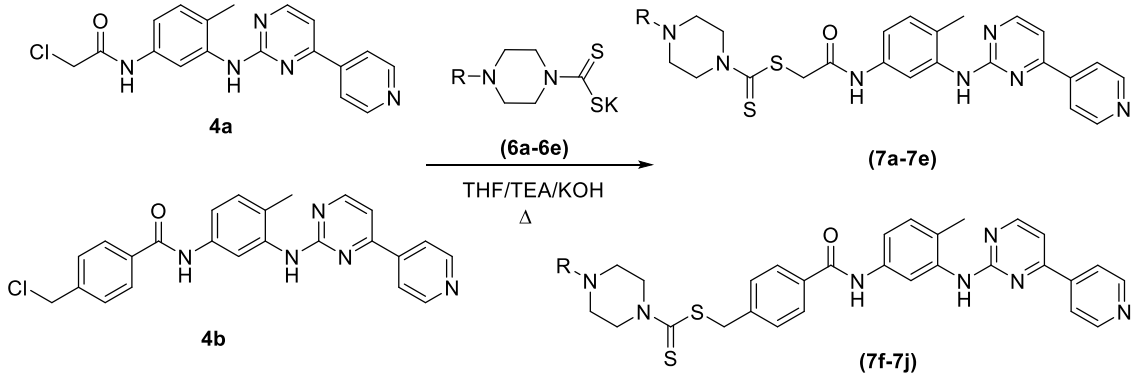
Piperazin türevleri etanol içerisinde çözülmüştür. Çözeltiler, KOH ilavesiyle manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı üzerinde KOH çözülene kadar karıştırılmıştır. Homojen çözelti elde edildikten sonra bir ayırma hunisine karbondisülfit'in etanol içerisindeki karışımı hazırlanmıştır. Piperazinli reaksiyon ortamı buz banyosuna alınmış ve karbonsülfür damla damla ortama ilave edilmiştir. Reaksiyon bitimi İTK kontrolü ile tayin edildikten sonra çöken ürün süzülerek alınmış ve dietileter (10 ml) ile 3 defa yıkanmıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. *Potasyum 4-sübstitüepiperazin-1-karboditiyoat (**6a-6e**) türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi*

4.1.7. Hedef bileşiklerin sentezi (7a-7j) (Yöntem G)

Bileşik **4a,4b** balonda tetrahidrofuran (THF) (30 mL) içerisinde çözülmüştür. Çözeltiler, trietilamin (0,001 mol, 0,14 mL) ve uygun ditiyokarbamat tuzları (**6a-6e**) ilavesiyle manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı ısıtılmıştır. 1 saat sonra ortama KOH (0,001 mol, 0,05 gr) ilavesi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı 8 saat boyunca refluks edilmiştir. Reaksiyon bitimi İTK kontrolü ile tayin edildikten sonra THF rotavapor aracılığıyla evapore edilmiş ve elde edilen kalıntı su ile yıkanmıştır. Ham ürün kuruduktan sonra etilasetat ile yıkanmış ve etanolden kristallendirilmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. ***7a-7j*** *Türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi*

4.2. İTK Çalışmaları ve Rf Değerlerinin Saptanması

Anlatılan bütün sentez çalışmalarında reaksiyonların kontrolü İTK uygulamaları ile gerçekleştirilmiştir. Belli zaman aralıkları ile deney balonlarından alınan numuneler ve sentezler de kullanılan başlangıç maddelerinin etanoldeki çözeltileri adsorban olarak seçilen silikajel 60 F254 kaplı, önceden uygun çözücü karışımları ile doyurulmuş alüminyum plaklara kılcal boru yardımıyla tatbik edilmiş ve hareketli fazlar içerisinde sürüklenmesi sağlanmıştır. Lekelerin saptanmasında, ultraviyole ışığı (254 nm ve 366 nm) kullanılmıştır. İTK sonucuna göre reaksiyonlara son verilmiş ya da devam edilmiştir. Tez kapsamındaki her bir sentezin kontrolü için uygun İTK hareketli fazları, farklı çözücü karışımları denenerek bulunmuştur. Yöntem A, B, C, D'de anlatılan sentezlerin kontrolü için uygun hareketli fazın petrol eteri : etil asetat (1 : 1), yöntem Eve G'deki sentezlerin kontrolü için uygun hareketli fazın (petrol eteri (1): etil asetat(1)):etanol (1 : 1), yöntem F'deki sentezlerin kontrolü için uygun hareketli fazın petrol eteri : etil asetat (3 : 1) olduğuna karar verilmiştir.

4.3. Erime Noktalarının Tespiti

Sentezlenen bileşiklerin erime noktaları Mettler Toledo-MP90 Melting Point System kullanılarak tespit edilmiştir. Bir ucu kapalı kılcal borulara ½ cm kadar konulan sentez bileşikleri cihazın haznelerine yerleştirilip, işlem bittiğinde cihazdan alınan videolar izlenerek erime noktası tayini yapılmıştır.

4.4. IR Spektrumlarının Alınması

Shimadzu-IR Affinity-IS cihazı kullanılarak bileşiklerin IR spektrumları elde edilmiştir. IR spektrofotometresi ATR ataçmanına toz maddeler uygulanarak spektrumlar çekilmiştir.

4.5. ^{1}H NMR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen orijinal bileşiklerin ^{1}H NMR spekrumları DMSO-d_6 içindeki çözeltilerinin, tetrametilsilana (TMS) karşı Bruker 300 MHz'lik NMR spektrometresine uygulanması sonucu alınmıştır.

4.6. ^{13}C NMR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen orijinal bileşiklerin ^{13}C NMR spekrumları DMSO-d_6 içindeki çözeltilerinin, tetrametilsilana (TMS) karşı Bruker 300 MHz'lik NMR spektrometresine uygulanması sonucu alınmıştır.

4.7. 2D NMR Spektrumlarının Alınması

2 boyutlu NMR yöntemi tek boyutlu NMR tekniklerinden kesin yapı tayini için gerekli verilerin alınamadığı durumlarda sıklıkla başvurulan, iki tane tek boyutlu NMR spektrumunun korelasyonu ile ortaya çıkan NMR tekniğidir. Temel olarak, korelasyonda kullanılan çekirdeklere göre homonükleer ve heteronükleer olarak ikiye ayrılır. COSY en sık kullanılan homonükleer spektroskopi tekniğidir. COSY'de her iki eksende de proton NMR spektrası mevcuttur ve bir protonun hangi diğer protonlarla eşleştiği (coupling) hakkında bilgi verir. HSQC ve HMBC eksenlerin birinde proton diğerinde ise karbon spektrumunun korelasyonundan elde edilen heteronükleer spektroskopi yöntemleridir. HSQC'de protonun doğrudan bağlı olduğu karbon arasındaki etkileşimler hakkında bilgi alınırken, HMBC'de ise 2 ila 4 bağ mesafesindeki hidrojen ve karbon arasındaki etkileşimler görülür. Bu yöntemler dışında aralarında bir bağ olup olmamasına bakılmaksızın fiziksel olarak birbirine yakın çekirdekler arasında korelasyonlar kuran NOESY ve ROESY 2D NMR spektroskopi tekniklerindendir.

4.8. Kütle Spektrumlarının Alınması

Atmosferik basınçta kimyasal iyonizasyon (APCI-MS), atmosferik basınçta gaz fazı iyon molekülü reaksiyonlarını kullanan kütle spektrometrisinde kullanılan bir iyonizasyon yöntemidir. Bileşiklerin kütle spektrumları APCI-MS yöntemi kullanılarak alınmıştır.

4.9. Antikanser Aktivite Çalışmaları

Bileşiklerin antikanser aktivitesinin araştırılmasında A549 (İnsan akciğer karsinoma hücre dizisi) ve C6 (Sıçan glioma hücre dizisi), MCF-7 (İnsan meme adenokarsinoma hücre dizisi), HepG2 (İnsan karaciğer karsinoma hücre dizisi), HT-29 (insan kolorektal adenokarsinoma hücre dizisi), Panc-1 (İnsan pankreas karsinoma hücre dizisi) hücre dizileri kullanılmıştır. Antikanser aktivitenin selektivitesi NIH3T3 (fare embriyo fibroblast hücre dizisi) hücre dizilerinde değerlendirilmiştir. Besiyeri içerisine fetal calf serum ve 100 IU/mL penisilin ve 100 mg/mL streptomisin ilave edilmiştir. A549, C6, MCF-7 hücre dizileri için RPMI 1640, HT-29, HepG2, Panc-1 ve NIH3T3 hücre dizileri için DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin antikanser etkinliklerinin kıyaslanabilmesi amacı ile günümüzde kanser tedavisinde rutin olarak kullanılan doksorubisin ve kinaz inhibitörlerinde öncü bileşik olan İmatinib MTT testlerinde kullanılmıştır.

4.9.1. MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi

4.9.1.1. *Hücrelerin çoğaltılması*

Deneylerde kullanılan A549, C6, MCF-7, HepG2, HT-29, Panc-1 ve NIH3T3 hücre dizilerinin çoğaltılması ve deneye hazırlanması için 2 – 3 günde bir rutin olarak pasajlama işlemi yapılmıştır. İnkübatörden alınan hücre flaskı, ölü hücrelerin besiyeri çözeltisine geçmesini sağlanmak için hafifçe çalkalanmış ve sonra steril bir pipetle hücre flaskı içindeki besiyeri alınarak atılmıştır. Hücrelerin yıkanması için kültür şişesine 5 ml fosfat tamponu ilave edilerek yıkanmıştır ve yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırılmıştır. Kültür şişesine tripsin EDTA çözeltisi (1X) (75 cm^2' lik kültür şişelerine 1-3 ml, 25 cm^2' lik 0,5–1,5 ml) konularak hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatörde yaklaşık 5 dk. bekletilmiştir (% 5 CO_2, % 95 nem ve 37 ^{0}C). İnkübatörden alınan hücre flaskının üzerine 20–25 ml besiyeri ilave edilerek hücreler süspanse edilmiş ve 1:2, 1:3 bölünerek yeni hücre flasklarına alınmıştır. Hücre flaskları inkübatöre konularak inkübasyona bırakılmıştır (% 5 CO_2, % 95 nem ve 37 ^{0}C).

4.9.1.2. *Hücrelerin plakalara ekilmesi*

İnkübatörden alınan hücre kültür flaskı, ölü hücrelerin besiyeri çözeltisine geçmesi sağlanmak için hafifçe çalkalanmış ve sonra steril bir pipetle kültür şişesi içindeki besiyeri alınarak atılmıştır. Kültür flaskına tripsin-EDTA çözeltisi (1X) (75 cm^2' lik kültür şişelerine 1-3 ml, 25 cm^2' lik 0,5–1,5 ml) konularak hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatörde yaklaşık 5 dk. bekletilmiştir (% 5 CO_2, % 95 nem ve 37 ^{0}C). İnkübatörden alınan kültür şişelerinin içine besiyeri ilave edilerek (ilave edilen tripsin-EDTA çözeltisinin en az iki katı kadar besiyeri ilave edildi) pipet yardımıyla santrifüj tüpüne alınmıştır. Santrifüj tüpü içindeki hücre süspansiyonu çalkalandıktan sonra 10 µL alınarak otomatik hücre sayma cihazında sayılmıştır. Hücre süspansiyonu küvetlere alındı ve 200 µL/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu hücre kültür plakasına dağıtılarak (1.10^4 hücre/100 µL) 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (% 5 CO_2, % 95 nem ve 37 ^{0}C).

4.9.1.3. *MTT Sitotoksisite Testinin Uygulanması*

24 Saatlik inkübasyon süresi sonunda plakalar ters çevrilerek besiyeri ortamdan uzaklaştırılmıştır. Bileşiklerin 0.0000316 mM-1 mM 10 seri konsantrasyonu (stok çözeltiler DMSO içinde hazırlandı) pozitif kontroller ile birlikte plakalara uygulanmıştır. 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (% 5 CO_2, % 95 nem ve 37 ^{0}C). 24 saatlik inkübasyon süresinden sonra hücre kültürlerinin üst kısmı ters çevrilerek atılmıştır. Hücreler fosfat tamponu ile yıkanıp ve yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırılmıştır. MTT çözeltisi (5 mg/ml) ve besiyeri 1:10 oranında karıştırılmıştır. Hücre kültür plakasına 100 µL/kuyucuk

olacak şekilde bu çözelti karışımından ilave edilmiştir. 3 saat inkübasyona bırakılmıştır (% 5 CO_2, % 95 nem ve 37 ^{0}C). 3 saatlik inkübasyon süresi sonunda plakalar ters çevrilerek üst kısmı atılmıştır. Hücre kültür plakasına DMSO çözeltisinden 100 µL/kuyucuk olacak ilave edilmiş ve kuyucukların ELISA'da 540 nm'de OD değerleri okunmuştur. Test maddelerinin her bir konsantrasyonu için % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Non-lineer regresyon analizi ile maddelerin inhibitör konsantrasyon 50 (IC_{50}) değerleri hesaplanmış ve maddelerin sitotoksik özellikleri yorumlanmıştır [122-125].

4.9.2. BrdU proliferasyon yöntemi ile bileşiklerin antiproliferatif etkilerinin belirlenmesi

MTT sitotoksisite testi ile belirlenen aktif bileşiklerin ve pozitif kontrol olarak İmatinib'in C6, MCF-7, HepG2, HT-29 ve Panc-1 hücre dizilerinde BrdU testi ile antiproliferatif etkileri belirlenmiştir.

4.9.2.1. *Hücrelerin plakalara ekilmesi*

İnkübatörden alınan hücre kültür flaskı, ölü hücrelerin besiyeri çözeltisine geçmesi sağlanmak için hafifçe çalkalanmış ve sonra steril bir pipetle kültür şişesi içindeki besiyeri alınarak atılmıştır. Kültür şişesine tripsin-EDTA çözeltisi (1X) (75 cm^2'lik kültür şişelerine 1-3 ml, 25 cm^2' lik 0,5–1,5 ml) konularak hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatörde yaklaşık 5 dk. bekletilmiştir (%5 CO_2, % 95 nem ve 37 ^{0}C). İnkübatörden alınan kültür şişelerinin içine besiyeri ilave edilerek (ilave edilen tripsin-EDTA çözeltisinin en az üç katı kadar besiyeri ilave edildi) pipet yardımıyla santrifüj tüpüne alınmıştır. Santrifüj tüpü içindeki hücre süspansiyonu çalkalandıktan sonra 10 µL alınarak otomatik hücre sayma cihazında sayılmıştır. Hücre süspansiyonu küvetlere alındı ve 100 µL/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu hücre kültür plakasına dağıtılarak (1.10^4 hücre/100 µL) 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO_2, % 95 nem ve 37 ^{0}C).

4.9.2.2. *BrdU proliferasyon yönteminin uygulanması*

24 Saatlik inkübasyon süresi sonunda plakalar ters çevrilerek besiyeri ortamdan uzaklaştırılmıştır. Bileşiklerin ve pozitif kontrollerin IC_{50}/2-IC_{50}–2*IC_{50} olacak şekilde hazırlanan 3 seri dilüsyonları plakalara uygulanmıştır ve 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO_2, % 95 nem ve 37 ^{0}C). 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücre kültür plakasının üst kısmı atılmadan her bir göze 100 µL BrdU labelling çözeltisi ilave edilerek 3 saat inkübe edilmiştir (%5 CO_2, % 95 nem ve 37°C). İnkübasyon süresi

sonunda plakaların üst kısmı ters çevrilerek uzaklaştırılmıştır. Plakalara adsorban kâğıt yerleştirilmiş ve 2-8°C' de kurumaya bırakılmıştır. Plaka kuruduktan sonra her bir göze 200 µL Fix Denat çözeltisi ilave edilmiş ve 30 dk. oda ısısında bekletilmiştir. Süre sonunda Fix Denat çözeltisi plakalar ters çevrilerek uzaklaştırılmış ve sonra 100 µL 1X BrdU-POD çalışma çözeltisi kuyucuklara ilave edilmiştir. 1 saat hafif çalkanarak oda ısısında inkübe edilmiştir. Süre sonunda BrdU-POD çalışma çözeltisi plaka ters çevrilip uzaklaştırıldıktan sonra 300 µL yıkama çözeltisi ile plakalar 3 kez yıkanmıştır. Yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırılmış ve her bir kuyucuğa 100 µL 1X HRP bağlı antibody solüsyonu ilave edilmiş ve 1 saat oda ısısında inkübe edilmiştir. Süre sonında plateler ters çevrilerek çözeltiler uzaklaştırılmış ve 300 µL yıkama çözeltisi ile plakalar 3 kez yıkanmıştır. Yıkama çözeltileri ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra 100 µL substrat çözeltisi ilave edilmiş ve 5-30 dk. oda ısısında bekletilmiştir. Süre sonunda plakanın her bir gözüne 100 µL durdurma çözeltisi çözeltisi ilave edilmiş ve OD450 değerleri okunmuştur. Her bir bileşik için % DNA sentezi inhibisyonu hesaplanmıştır [126].

4.9.3. Anneksin V/PI yöntemi ile bileşiklerin apoptotik etkilerinin belirlenmesi

MTT sitotoksisite testi ile belirlenen aktif bileşiklerin ve pozitif kontrol olarak İmatinib'in C6, MCF-7, HepG2, HT-29 hücre dizilerinde Anneksin V/PI yöntemi ile apoptotik etkileri belirlenmiştir.

4.9.3.1. *Hücrelerin plakalara ekilmesi*

İnkübatörden alınan hücre kültür şişesi, ölü hücrelerin besiyeri çözeltisine geçmesi sağlanmak için hafifçe çalkalandı ve sonra steril bir pipetle kültür şişesi içindeki besiyeri alınarak atılmıştır. Kültür şişesine tripsin-EDTA çözeltisi (1X) (75 cm^2' lik kültür şişelerine 1-3 ml, 25 cm^2' lik 0,5–1,5 ml) konularak hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatörde yaklaşık 5 dk. bekletilmiştir (%5 CO_2, % 95 nem ve 37 ^{0}C). İnkübatörden alınan kültür şişelerinin içine besiyeri ilave edilerek (ilave edilen tripsin-EDTA çözeltisinin en az üç katı kadar besiyeri ilave edildi) pipet yardımıyla santrifüj tüpüne alınmıştır. Santrifüj tüpü içindeki hücre süspansiyonu çalkalandıktan sonra 10 µL alınarak otomatik hücre sayma cihazında sayılmıştır. Hücre süspansiyonu küvetlere alındı ve 7,5 mL/flask olacak şekilde 25 cm^2' lik hücre kültür flasklarına dağıtılarak (25.10^4 hücre/100 µL) 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO_2, % 95 nem ve 37 ^{0}C).

4.9.3.2. *Anneksin/EI yönteminin uygulanması*

24 Saatlik inkübasyon süresi sonunda plakalar ters çevrilerek besiyeri ortamdan uzaklaştırılmıştır. Bileşiklerin ve pozitif kontrollerin IC_{50} konsantrasyonları 2 tekrarlı

olacak şekilde flasklara uygulanmıştır. 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (% 5 CO_2, % 95 nem ve 37 ^{0}C). 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücre kültürlerinin üst kısmı atılmadan santrifüj tüplerine toplanmıştır. Flasklara 1500 µl tripsin-EDTA çözeltisi ilave edilmiş ve 3 dk. inkübasyona bırakılmıştır. İnkübatörden alınan plakaların içine 4,5 ml besiyeri ilave edilerek pipet yardımıyla santrifüj tüplerine alınmış ve +4°C, 1200 g'de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj tüpündeki besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra hücre pelleti 1 ml fosfat tamponu ile süspanse edilmiş ve tekrar +4°C, 1200 g'de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Fosfat tamponu uzaklaştırıldıktan sonra hücre pellet'i 1x Annexin V Binding Buffer ile 1 x 10^6 hücre/ml olacak şekilde süspanse edilmiştir. Farklı tüplere birbirine karışmayacak şekilde 5 µl Anexin V ve 5 µl EI ilave edildikten sonra tüplere 100 µl hücre süspansiyonu ilave edilmiştir. Tüpler 15 dk. oda ısısında ışıktan korunarak bekletilmiştir. Süre sonunda 400 µl 1x Annexin V Binding Buffer tüplere ilave edilmiş ve akış sitometri cihazında (Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında) analiz edilmiştir [126].

4.10. Kaspaz-3/CPP32 ve Bcl2 İndüksiyon Yöntemi

Büyüme fazı %80'e gelmiş HepG2 hücreleri, tripsin EDTA (1X) çözeltisi ilave edilip inkübe edildikten sonra EDTA çözeltisinin 3 katı kadar besiyeri ilave edilmiş ve steril pipet yardımıyla santrifüj tüpüne alınmıştır. Tüp içerisindeki hücre süspansiyonu çalkalandıktan sonra 10 µL alınarak otomatik hücre sayma cihazında sayılmıştır. Hücre süspansiyonu kuyucukta 200 µL olacak şekilde hücre kültür plağına (1.10^4 hücre/100 µL) dağıtılarak 24 saat inkübe edilmiştir (%5 CO_2, %95 nem ve 37ºC). Test maddelerinin DMSO içerisinde IC_{50} konsantrasyonundaki çözeltileri negatif ve pozitif kontroller ile birlikte her bir konsantrasyon için 4 tekrar olacak şekilde plakalara uygulanmış ve 24 saat %5 CO_2, %95 nem ve 37ºC'de inkübe edilmiştir. Caspase-3/CPP32 enzimi indüksiyon ölçümü ilgili kit klavuzunda belirtilen protokole göre gerçekleştirilmiştir [127]. İnsan Bcl2 ölçümü ilgili kit klavuzunda belirtilen protokole göre gerçekleştirilmiştir [128].

4.11. Kinaz İnhibisyon Testleri

Kinaz enzimleri inhibisyon ölçümü ilgili kit klavuzunda belirtilen protokole göre gerçekleştirilmiştir [129, 130]. *İn-vitro* kinaz inhibisyon çalışmalarında PDGFR-α, ABL elisa kitleri kullanılmıştır. Kit içeriğine göre gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda Elisa metodu ile ortalama değer okunmuştur. Her kit için kit içeriğinden elde edilen standart madde ve pozitif kontrol olarak da İmatinib kullanılmıştır.

4.12. Fizikokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi

Fizikokimyasal parametreler, bileşiklerin farmakokinetik profillerini ve BBB geçirgenliğini tahmin etmek için QikProp 4.8 software [131] kullanılarak analiz edilmiştir.

4.13. Moleküler Modelleme Çalışmaları

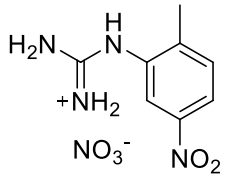
Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşik serisi içerisinde PDGFR-α ve ABL tirozin kinaz enzimleri üzerinde etkili bulunan **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin ilgili enzimlerin aktif bölgeleriyle olası bağlanma ve etkileşim noktalarını belirlemek amacıyla yapı temelli *in silico* docking metodu uygulanmıştır. Bu amaçla PDGFR-α tirozin kinaz enzimi için PDB: 6JOL [132].ve ABL tirozin kinaz enzimi için de PDB: 2HYY [133]. kristal yapıları üzerinde protein-ligand etkileşim analizi gerçekleştirilmiştir.

Kristal yapısı öncelikle *Schrödinger Suite 2015 Update 2 Maestro* [134], ara yüzünde yer alan *Protein Preparation Wizard* protokolü uygulanarak docking çalışmaları için hazır hale getirilmiş, OPLS 2005 kuvvet alanı kullanılarak bağ uzunlukları düzenlenmiş, yüklü amino asitlerin üzerindeki atomların belirtilen ortam koşullarındaki olası yükleri otomatik olarak belirlenmiştir. Dock edilecek bileşikler *LigPrep 3.8* [135], modülü ile docking için hazırlanmıştır. *Glide 7.1* [136]. ile grid oluşturulmuş ve yine aynı modül kullanılarak single precision ile docking işlemi gerçekleştirilmiştir.

5. BULGULAR ve TARTIŞMA

5.1. Sentez Çalışmaları

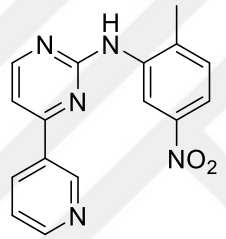
5.1.1. Amino((2-metil-5-nitrobenzen)amino)methaniminium nitrat (1)



Şekil 5.1. *Amino((2-metil-5-nitrobenzen)amino)methaniminium Nitrat*

Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir. Verim: %77. Literatür Erime Noktası: 201-300 ºC [137]. Deneysel E.N.:220.-225. ºC. Verim: %85.

5.1.2. *N*-(2-Metil-5-nitrobenzen)-4-(piridin-3-il)pirimidin-2-amin (2)

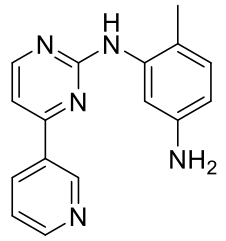


(2)

Şekil 5.2. *N-(2-Metil-5-nitrobenzen)-4-(piridin-3-il)pirimidin-2-amin*

Yöntem B'ye göre sentezlenmiştir. Verim: %73. Literatür Erime Noktası: 188-193 ºC [137]. Deneysel E.N.:190-195 ºC. Verim: %85.

5.1.3. 6-Metil-N^1-(4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)benzen-1,3-diamin (3)

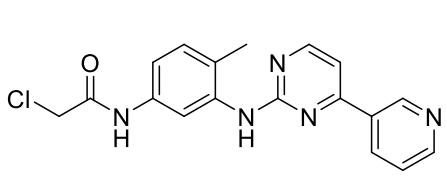


(3)

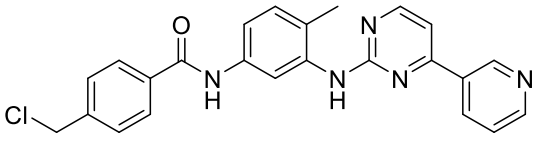
Şekil 5.3. *6-Metil-N^1-(4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)benzen-1,3-diamin*

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Verim: %73. Literatür Erime Noktası: 133-135 ºC [138].. Deneysel E.N.:130-134 ºC. Verim: %85.

5.1.4. 4-(Kloro/klorometil)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid/benzamid türevleri (4a, 4b)



(4a)

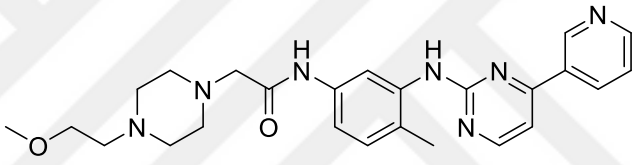


(4b)

Şekil 5.4. ***4a*** *ve* ***4b***

Yöntem D'ye göre sentezlenmişlerdir. Verim: %70-85. 5.2.2.3 bölümünde yapıları aydınlatılmıştır.

5.1.5. 2-[4-(2-Metoksietil)piperazin-1-il]-*N*-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]asetamid (5a)



Şekil 5.5. *2-[4-(2-Metoksietil)piperazin-1-il]-N-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]asetamid (**5a**)*

Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 144.3-145.6 ºC. Verim: %79.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3236 (N-H gerilim bandı), 2933 (C-H gerilim bandı), 1670 (C=O gerilim bandı), 1020 (C-O gerilim bandı).

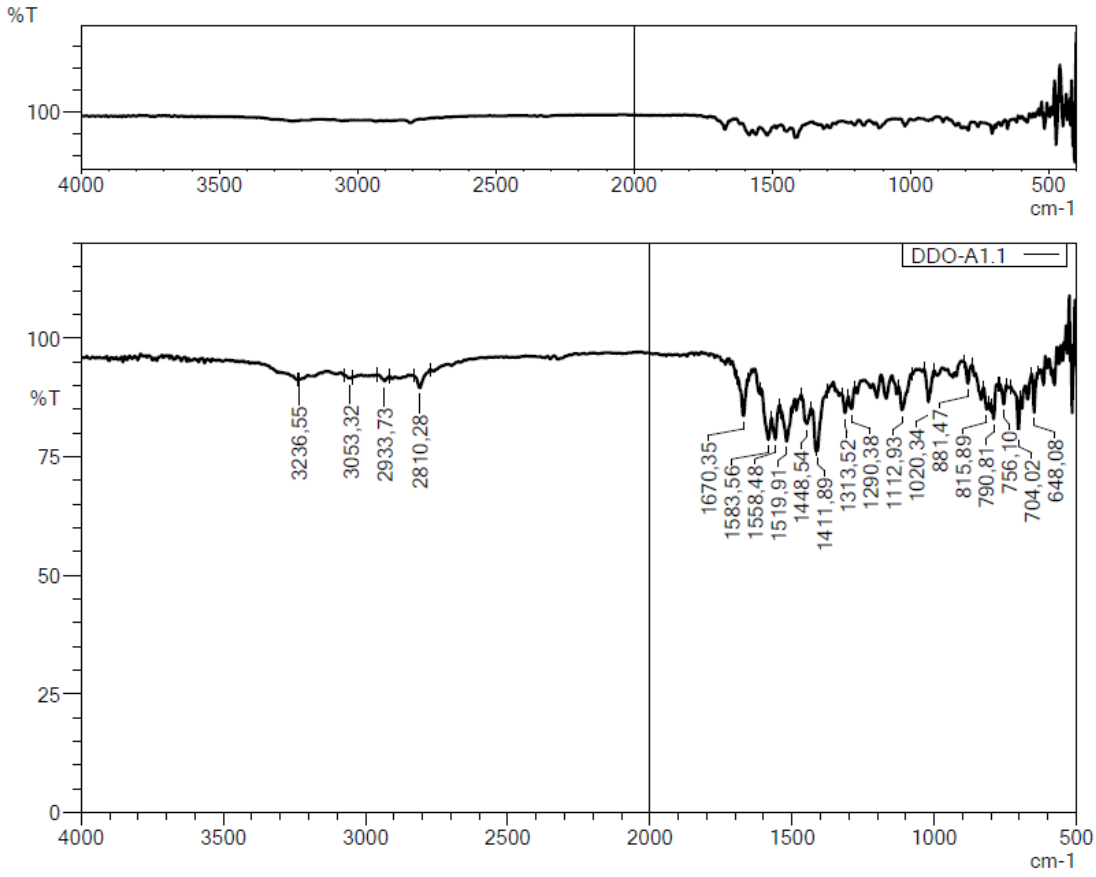
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ: 2.20 (3H, s, -CH_3), 2.42-2.49 (10H, m, piperazin, -CH_2-), 3.09 (2H, s, -CH_2-), 3.21 (3H, s, -OCH_3), 3.40 (2H, t, *J*=5.9 Hz, -CH_2-), 7.15 (1H, d, *J*=8.4 Hz, Benzen-H), 7.32 (1H, dd, J_1=2.1 Hz, J_2=8.2 Hz, Benzen-H), 7.42 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.52 (1H, ddd, J_1=0.7 Hz, J_2=4.8 Hz, J_3=7.9 Hz, Piridin-H), 7.93 (1H, d, *J*=2.0 Hz, Benzen-H), 8.44 (1H, dt, J_1=1.9 Hz, J_2=8.3 Hz, Piridin-H), 8.51 (1H, d, *J*=5.1 Hz, Pirimidin-H), 8.69 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.8 Hz, Piridin-H), 8.94 (1H, s, -NH), 9.25 (1H, dd, J_1=0.8 Hz, J_2=2.4 Hz, Piridin-H), 9.61 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ: 18.05, 53.26, 53.49, 57.48, 58.45, 62.29, 70.40, 108.02, 116.16, 116.55, 124.26, 127.66, 130.57, 132.68, 134.82, 136.99, 138.31, 148.62, 151.84, 159.95, 161.56, 162.01, 168.44.

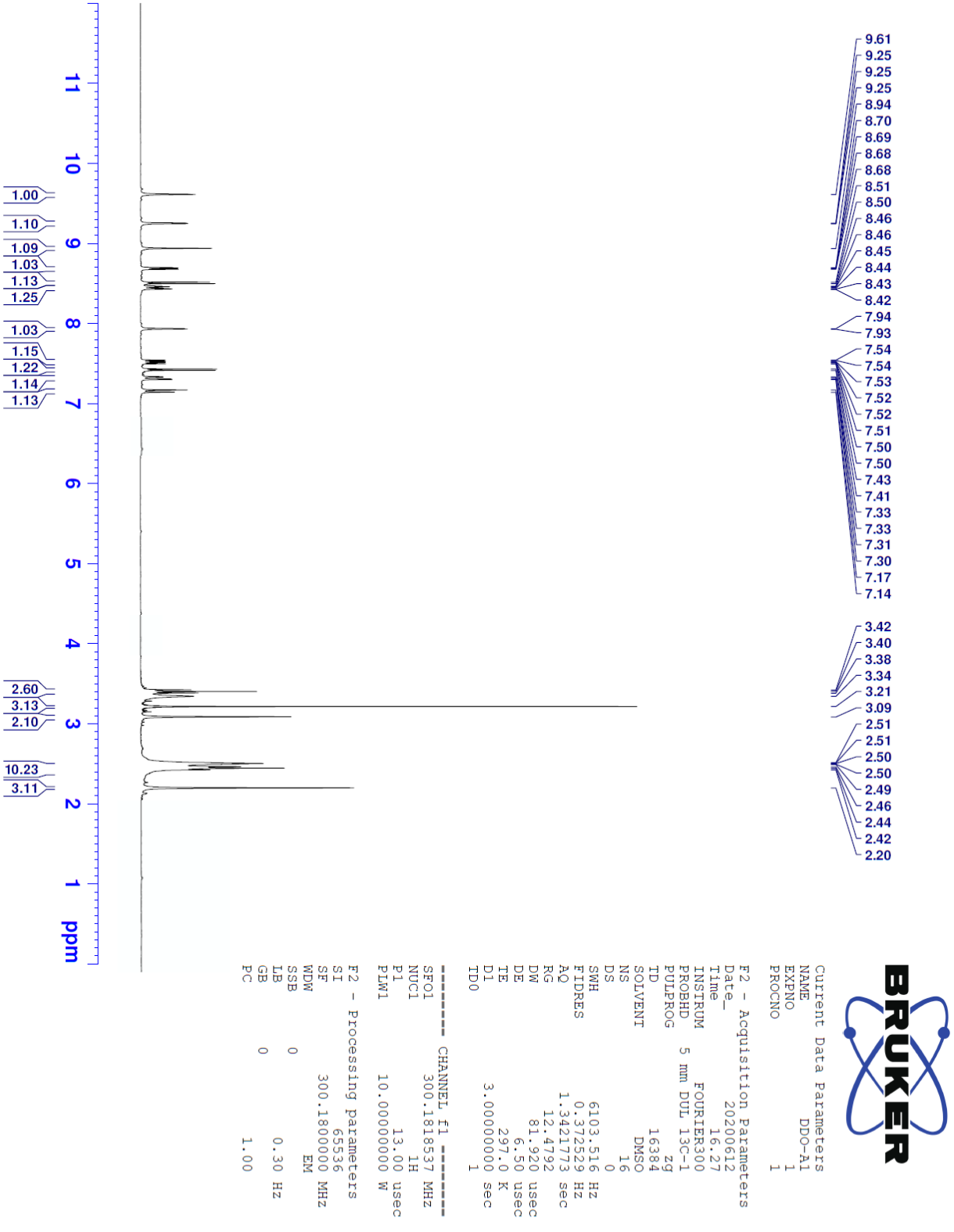
APCI-MS (-m/z): [M+H]$^+$: 462.3

DOPNALAB

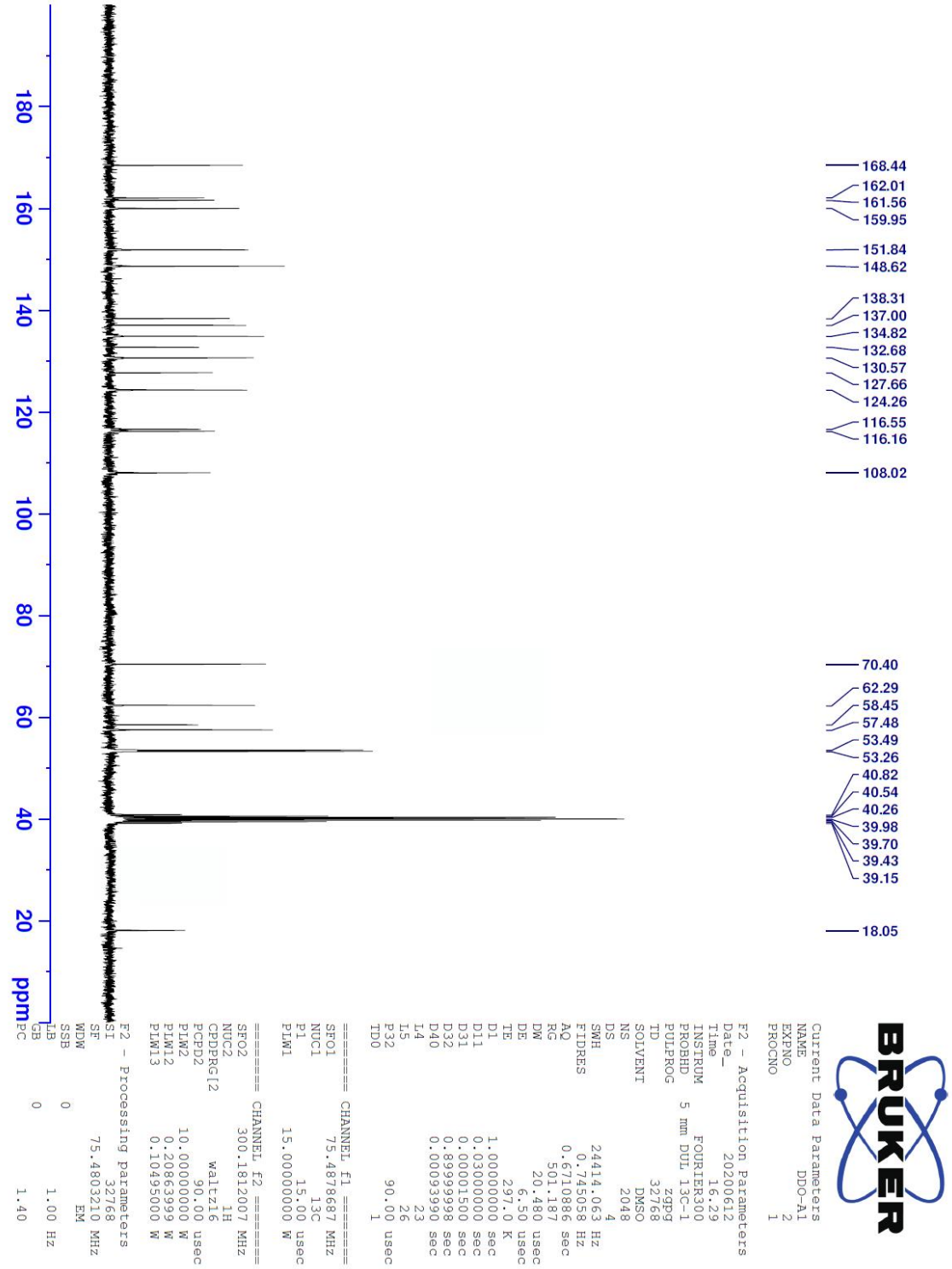
	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 11:01:12
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-A1.1.ispd
	Spectrum name	DDO-A1.1
	Sample name	DDO-A1
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel



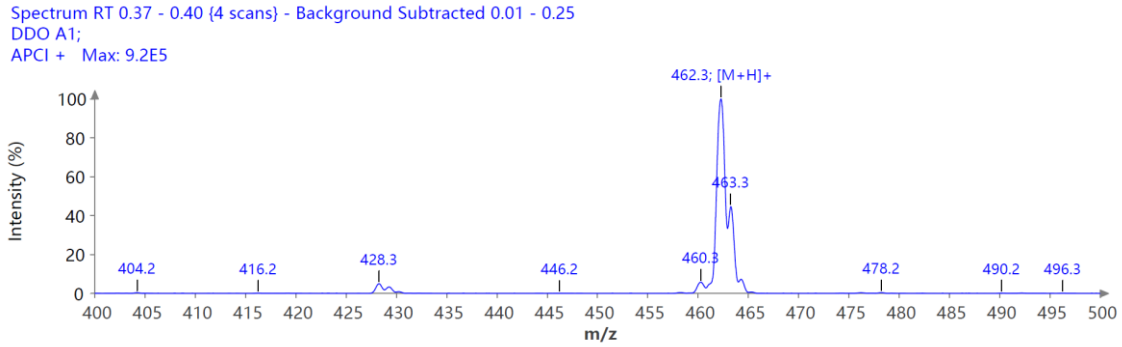
Şekil 5.6. *Bileşik **5a**'ya ait IR spektrumu*



Şekil 5.7. *Bileşik **5a**'ya ait ^{1}H-NMR spektrumu*

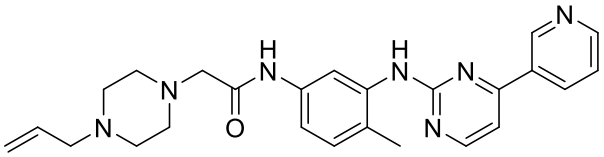


Şekil 5.8. *Bileşik **5a**'ya ait ^{13}C-NMR spektrumu*



Şekil 5.9. *Bileşik **5a**'ya ait APCI-MS spektrumu*

5.1.6. 2-(4-Allilpiperazin-1-il)-*N*-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]asetamid (5b)



Şekil 5.10. *2-(4-Allilpiperazin-1-il)-N-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]asetamid (**5b**)*

Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 130.3-131.6 ºC. Verim: %80.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3242 (N-H gerilim bandı), 2935 (C-H gerilim bandı), 1670 (C=O gerilim bandı).

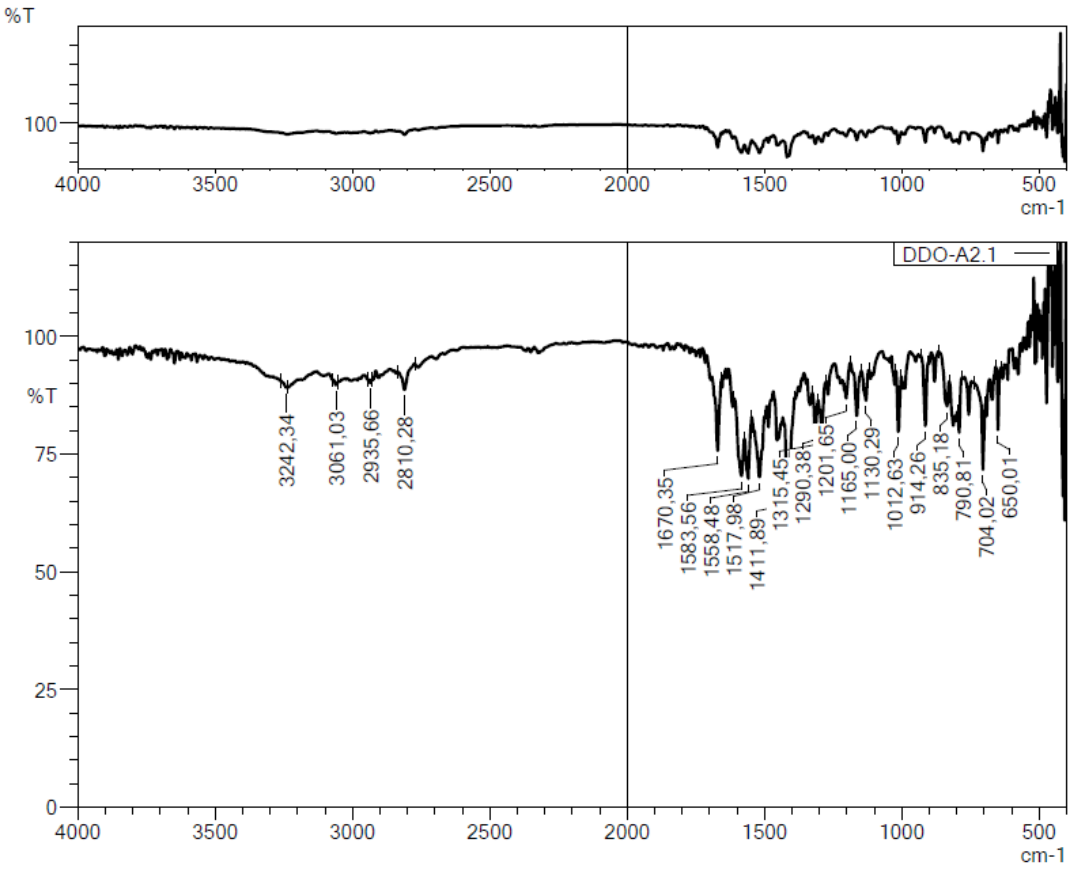
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 2.19 (3H, s, -CH_3), 2.39 (4H, y, piperazin), 2.51 (4H, y, piperazin), 2.91 (2H, d, *J*=6.4 Hz, Allil-CH_2), 3.09 (2H, s, -CH_2-), 5.12 (2H, td, J_1=1.8 Hz, J_2=18.8 Hz, Allil-CH_2), 5.71-5.83 (1H, m, Allil-CH), 7.15 (1H, d, *J*=8.4 Hz, Benzen-H), 7.31 (1H, dd, J_1=2.1 Hz, J_2=8.2 Hz, Benzen-H), 7.43 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.52 (1H, dd, J_1=4.8 Hz, J_2=7.9 Hz, Piridin-H), 7.92 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Benzen-H), 8.45 (1H, dt, J_1=1.9 Hz, J_2=8.0 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 8.97 (1H, s, -NH), 9.25 (1H, d, *J*=1.8 Hz, Piridin-H), 9.64 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.09, 52.91, 53.21, 61.33, 62.27, 108.00, 116.12, 116.53, 117.91, 124.28, 127.66, 130.58, 132.65, 134.83, 136.06, 136.99, 138.29, 148.61, 151.85, 159.98, 161.53, 161.97, 168.44.

APCI-MS (-m/z): $[M+H]^+$: 444.3

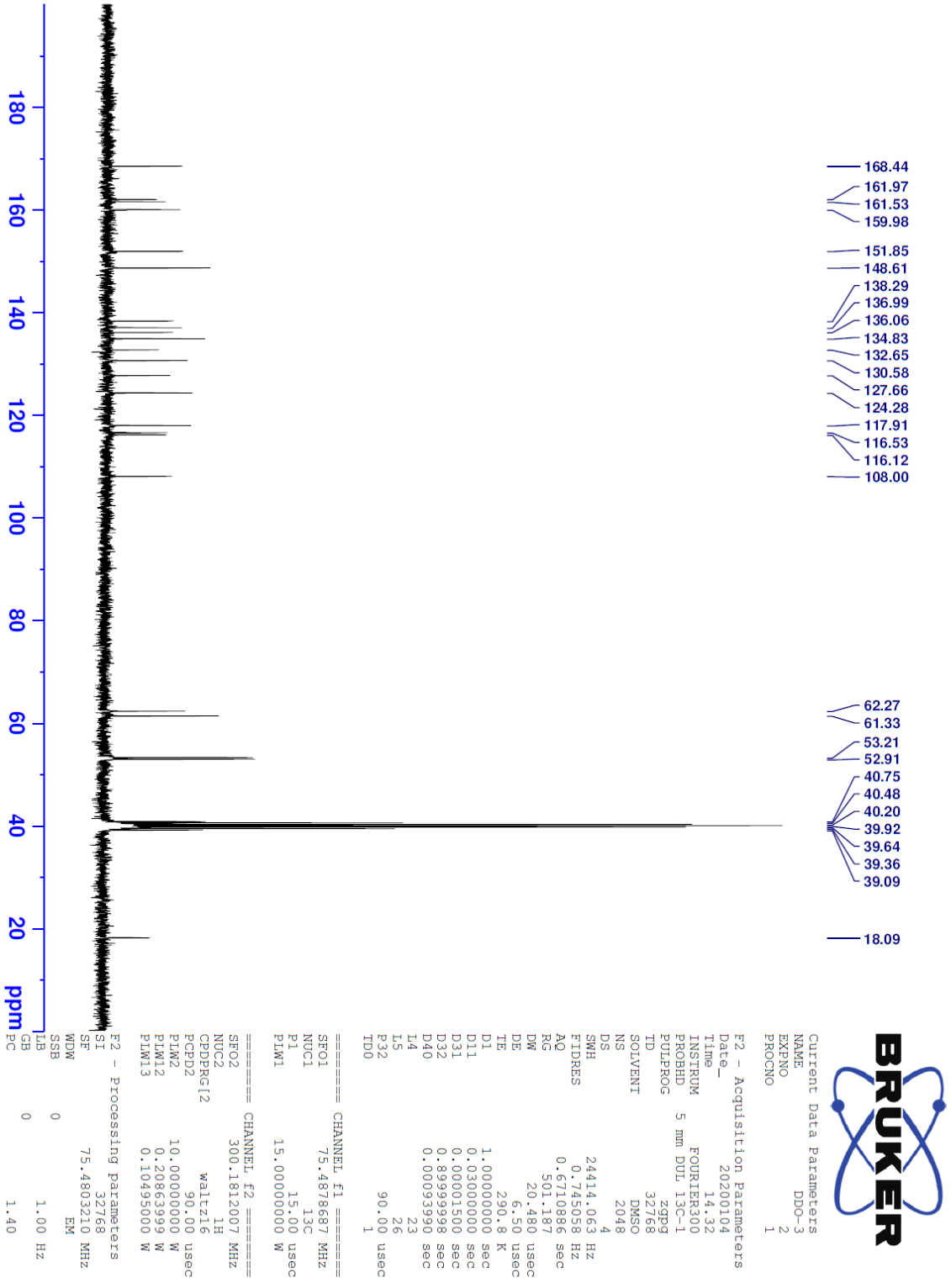
DOPNALAB

	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 11:08:46
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-A2.1.ispd
	Spectrum name	DDO-A2.1
	Sample name	DDO-A2
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel

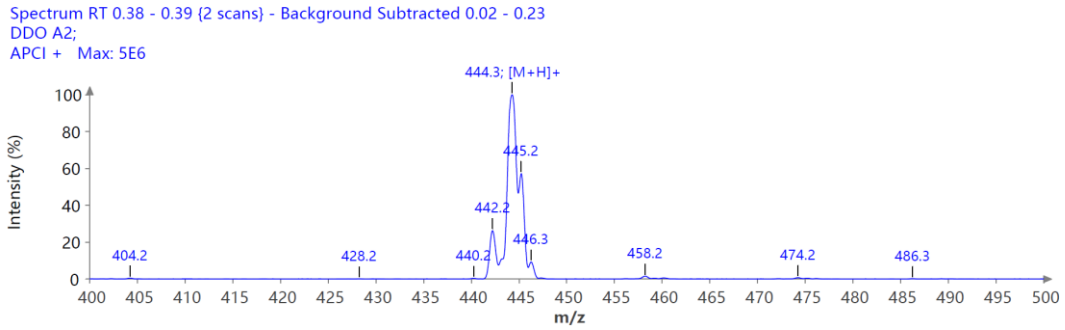


Şekil 5.11. *Bileşik **5b**'ye ait IR spektrumu*

Şekil 5.12. *Bileşik **5b**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

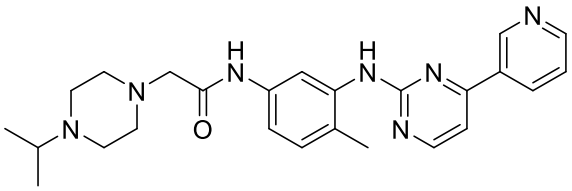


Şekil 5.13. *Bileşik **5b**'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu*



Şekil 5.14. *Bileşik **5b**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.7. 2-(4-İzopropilpiperazin-1-il)-*N*-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]asetamid (5c)



Şekil 5.15. *2-(4-İzopropilpiperazin-1-il)-N-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]asetamid (**5c**)*

Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 119.6-121.3 ^{o}C. Verim: %85.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3415 (N-H gerilim bandı), 2962 (C-H gerilim bandı), 1670 (C=O gerilim bandı).

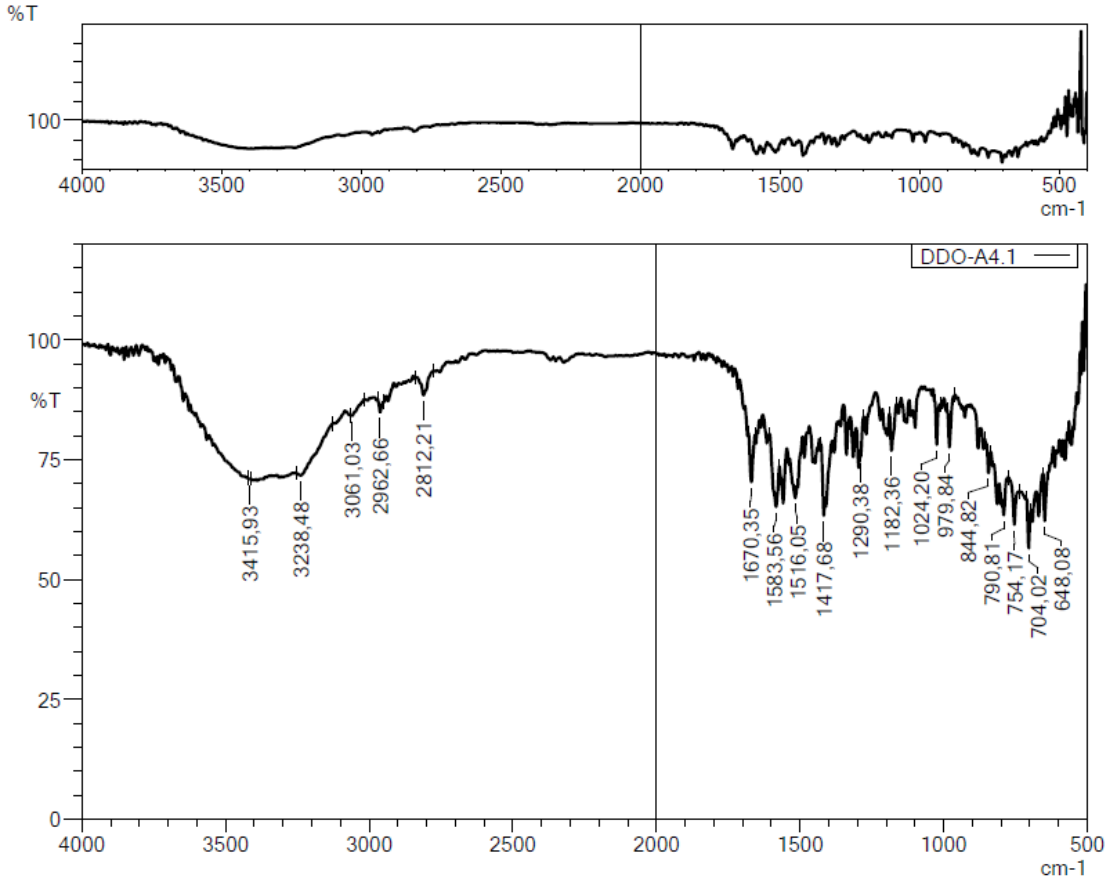
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 0.94 (6H, d, *J*=6.5 Hz, -CH_3), 2.20 (3H, s, -CH_3), 2.46-2.49 (8H, m, piperazin), 2.56-2.65 (1H, m, -CH-), 3.07 (2H, s, -CH_2-), 7.15 (1H, d, *J*=8.4 Hz, Benzen-H), 7.33 (1H, dd, J_1=2.1 Hz, J_2=8.2 Hz, Benzen-H), 7.42 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.52 (1H, ddd, J_1=0.7 Hz, J_2=4.8 Hz, J_3=8.0 Hz, Piridin-H), 7.93 (1H, d, *J*=2.0 Hz, Benzen-H), 8.44 (1H, dt, J_1=2.0 Hz, J_2=8.2 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.1 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 8.95 (1H, s, -NH), 9.25 (1H, dd, J_1=0.8 Hz, J_2=2.4 Hz, Piridin-H), 9.60 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.09, 18.72, 48.34, 53.71, 54.03, 62.41, 107.99, 116.16, 116.55, 124.26, 127.66, 130.57, 132.66, 134.81, 136.99, 138.30, 148.61, 151.83, 159.96, 161.55, 161.98, 168.48.

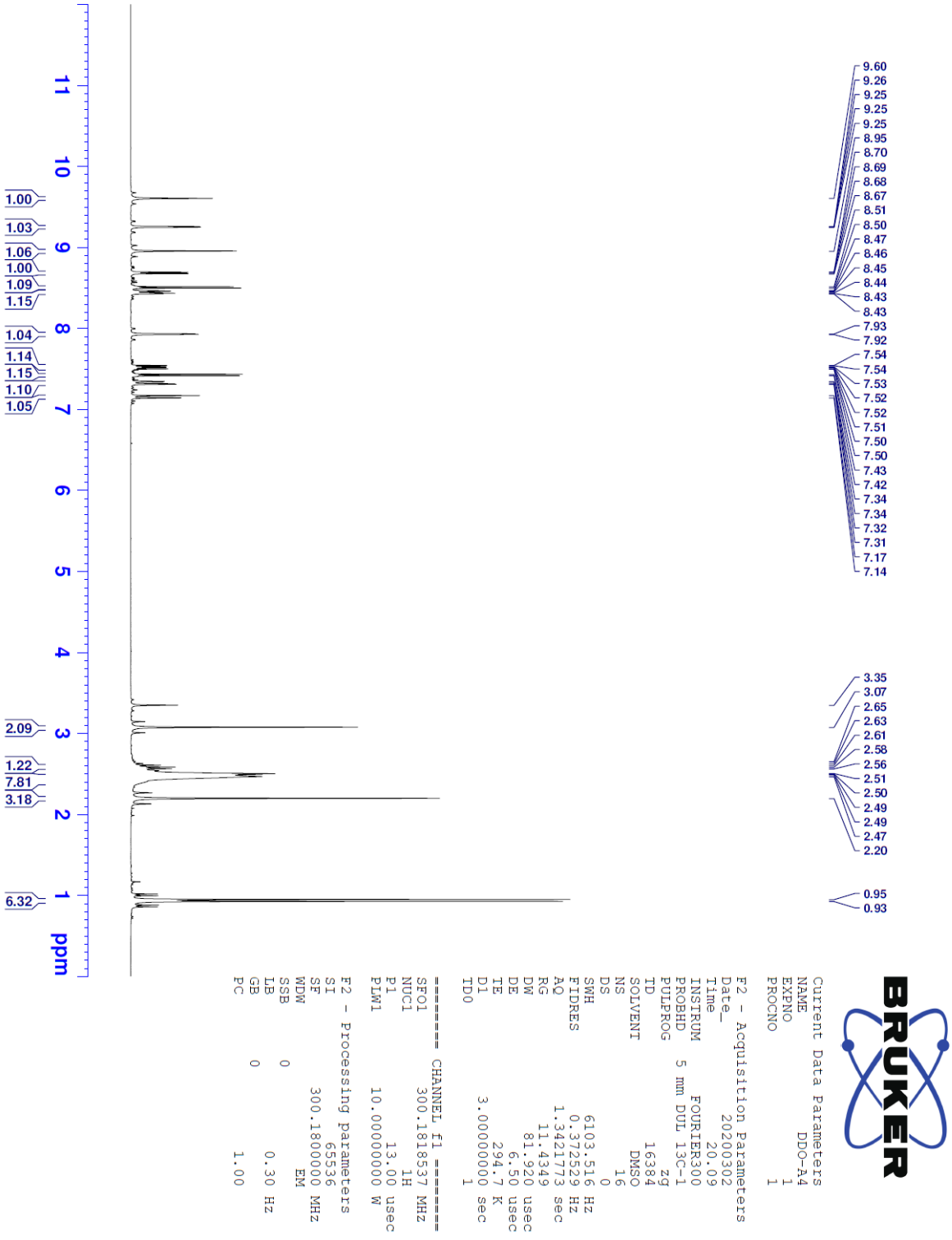
APCI-MS (-m/z): [M+H] $^{+}$: 446.3

DOPNALAB

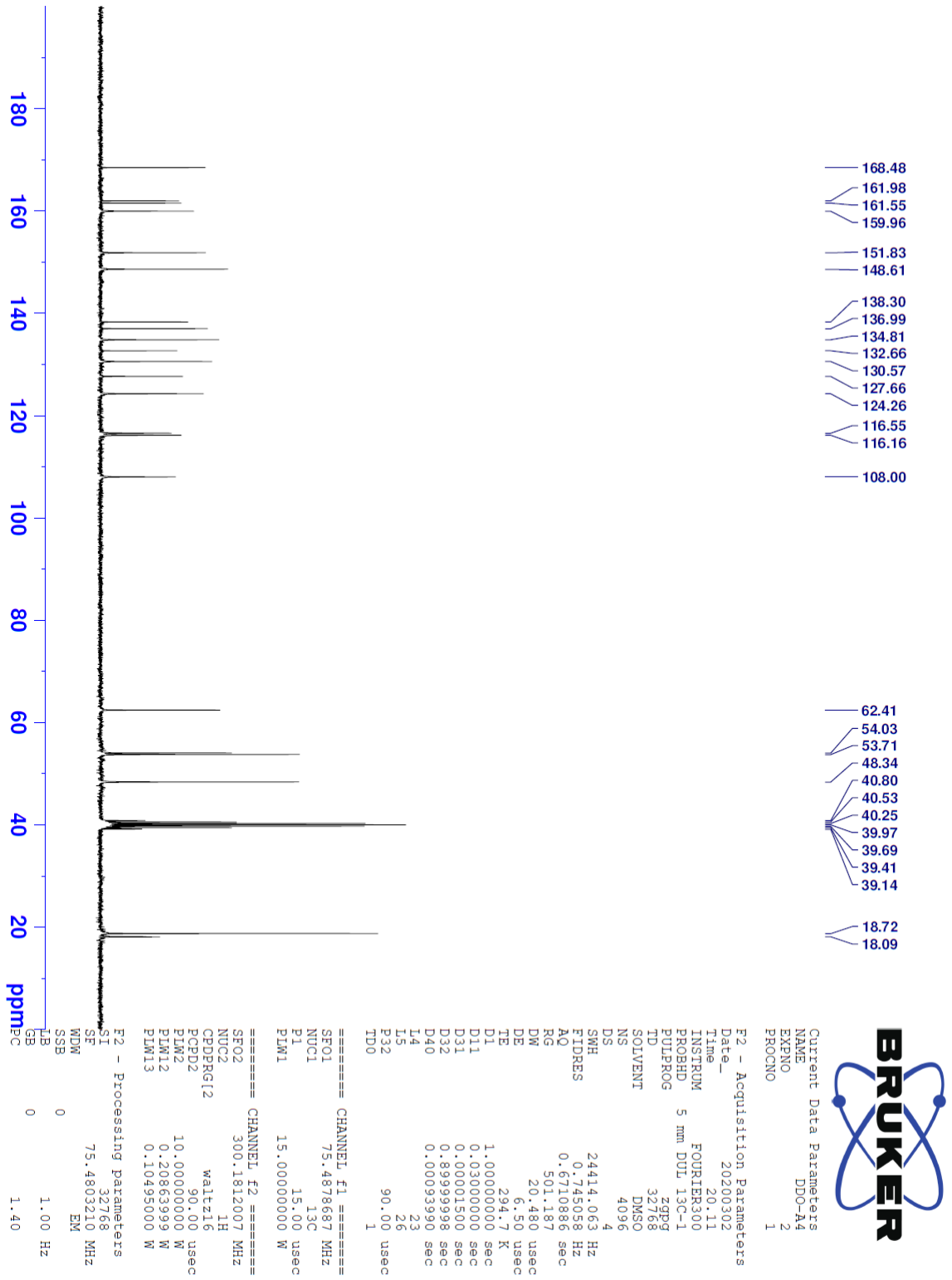
	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 11:13:56
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-A4.1.ispd
	Spectrum name	DDO-A4.1
	Sample name	DDO-A4
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel



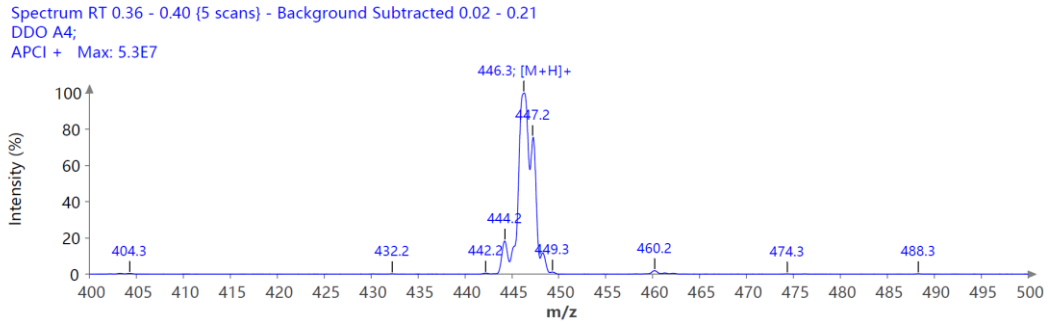
Şekil 5.16. *Bileşik **5c**'ye ait IR spektrumu*



Şekil 5.17. *Bileşik* ***5c****'ye ait* ^{1}*H-NMR spektrumu*

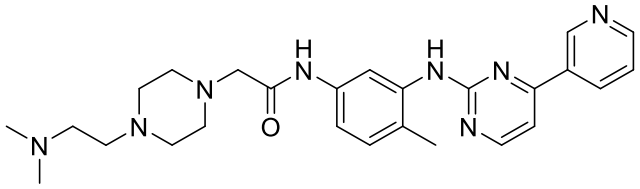


Şekil 5.18. *Bileşik **5c**'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu*



Şekil 5.19. *Bileşik **5c**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.8. 2-[4-[2-(Dimetilamino)etil]piperazin-1-il]-*N*-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]asetamid (5d)



Şekil 5.20. *2-[4-[2-(Dimetilamino)etil]piperazin-1-il]-N-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]asetamid (**5d**)*

Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 132.9-134.3 °C. Verim: %81.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3228 (N-H gerilim bandı), 2935 (C-H gerilim bandı), 1670 (C=O gerilim bandı).

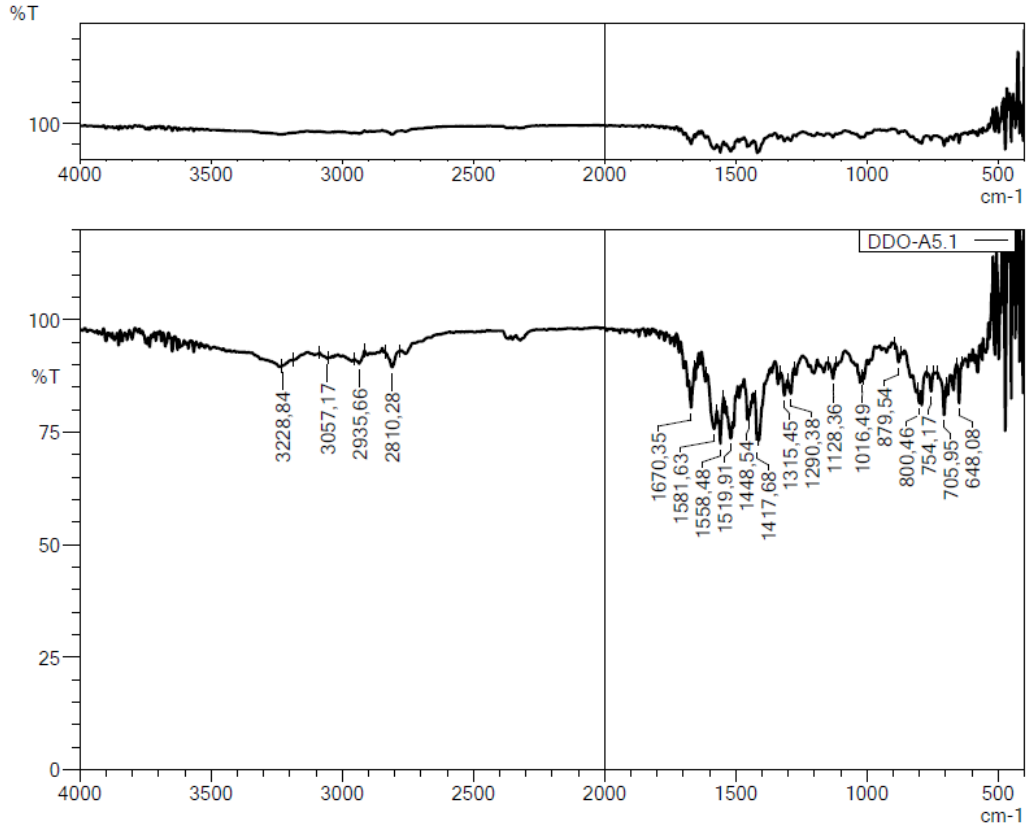
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 2.11 (6H, s, -CH_3), 2.20 (3H, s, -CH_3), 2.29-2.31 (2H, m, -CH_2), 2.33-2.35 (2H, m, -CH_2-), 2.42 (4H, y, piperazin), 2.49-2.50 (4H, m, piperazin), 3.08 (2H, s, -CH_2-), 7.15 (1H, d, *J*=8.3 Hz, Benzen-H), 7.32 (1H, dd, J_1=2.0 Hz, J_2=8.2 Hz, Benzen-H), 7.42 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.52 (1H, dd, J_1=4.8 Hz, J_2=7.9 Hz, Piridin-H), 7.93 (1H, d, *J*=1.8 Hz, Benzen-H), 8.44 (1H, dt, J_1=1.8 Hz, J_2=8.1 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.1 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.5 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 8.94 (1H, s, -NH), 9.25 (1H, d, *J*=1.7 Hz, Piridin-H), 9.62 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.05, 46.01, 53.28, 53.46, 56.37, 57.12, 62.29, 108.01, 116.14, 116.54, 124.26, 127.65, 130.57, 132.68, 134.82, 136.99, 138.32, 148.61, 151.82, 159.95, 161.56, 161.99, 168.44.

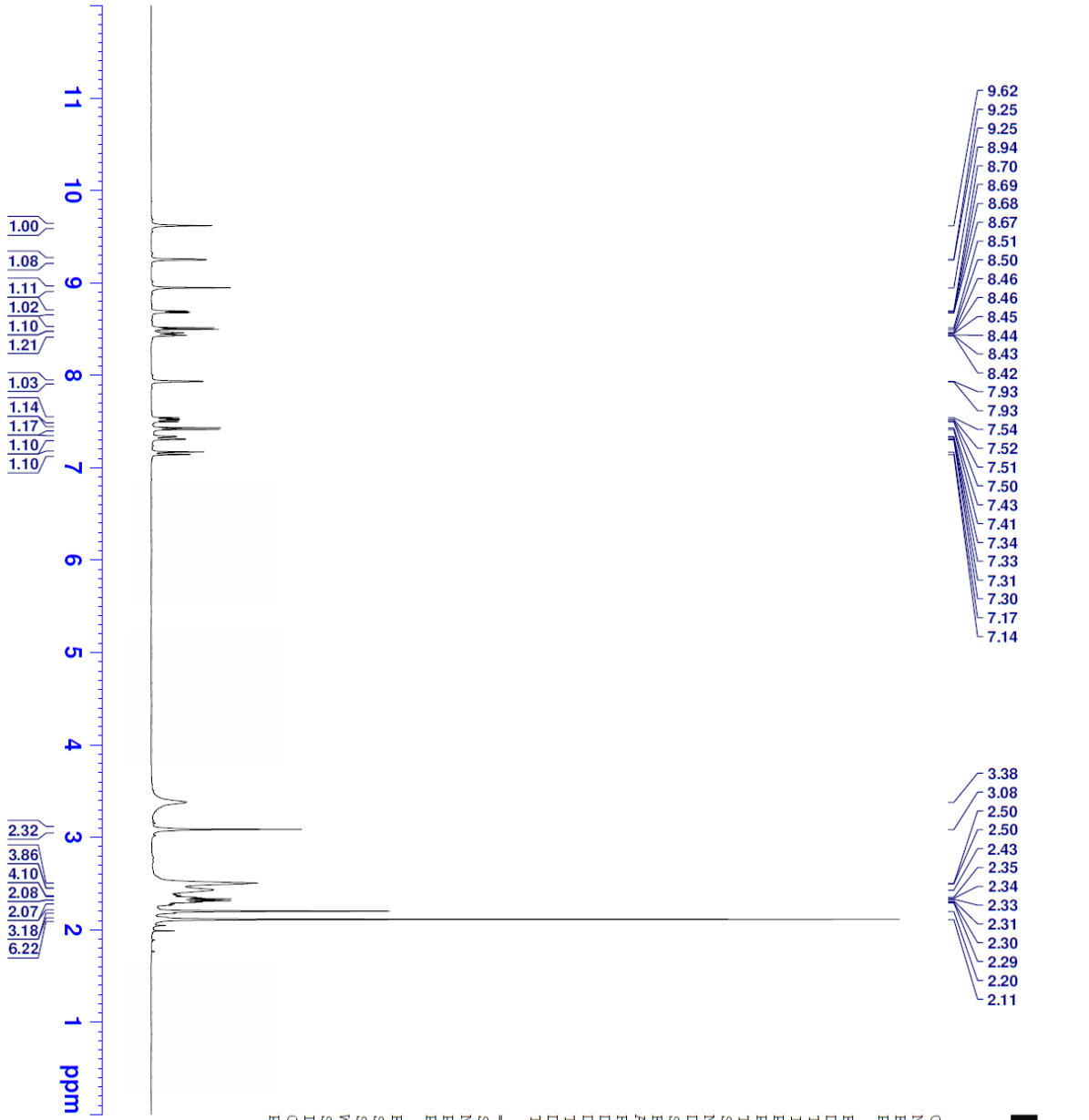
APCI-MS (-m/z): $[M+H]^+$: 475.3

DOPNALAB

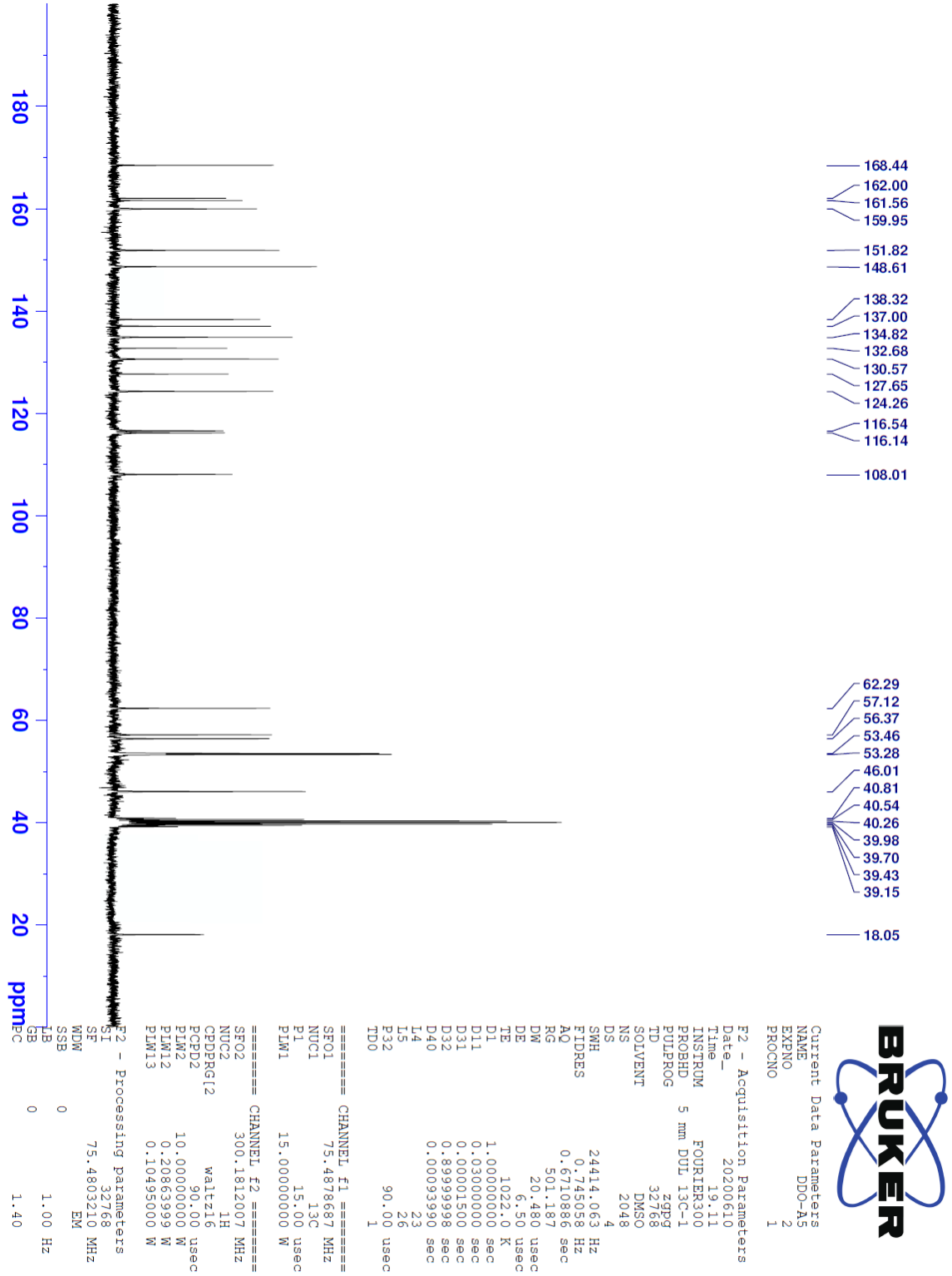
	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 11:19:57
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-A5.1.ispd
	Spectrum name	DDO-A5.1
	Sample name	DDO-A5
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel



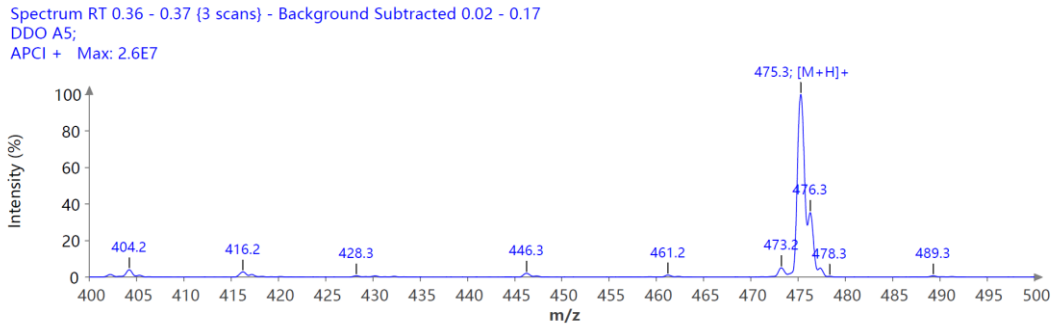
Şekil 5.21. *Bileşik **5d**'ye ait IR spektrumu*



Şekil 5.22. *Bileşik **5d**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

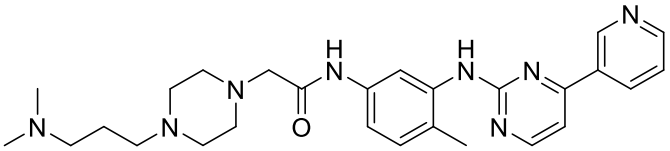


Şekil 5.23. *Bileşik **5d**'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu*



Şekil 5.24. *Bileşik **5d**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.9. 2-[4-[3-(Dimetilamino)propil]piperazin-1-il]-*N*-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]asetamid (5e)



Şekil 5.25. *2-[4-[3-(Dimetilamino)propil]piperazin-1-il]-N-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]asetamid (**5e**)*

Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 170.6-172.1 ºC. Verim: %78.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3234 (N-H gerilim bandı), 2933 (C-H gerilim bandı), 1668 (C=O gerilim bandı).

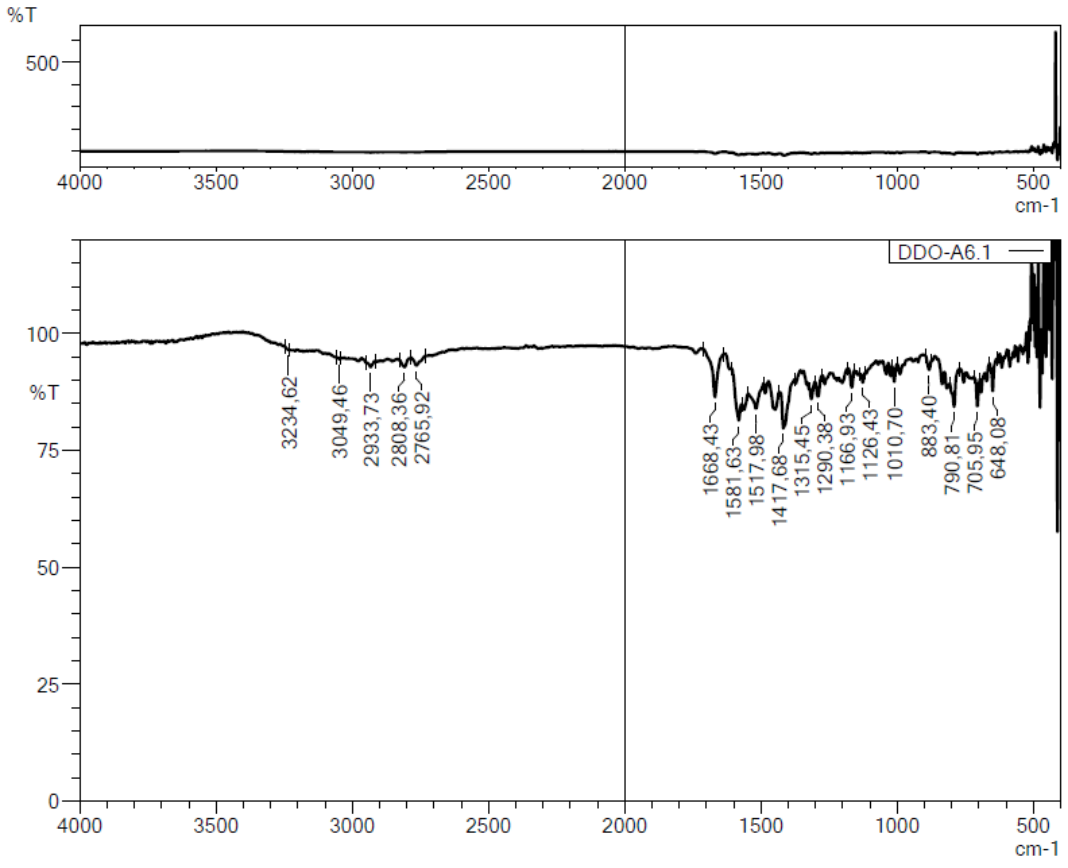
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 1.50 (2H, p, *J*=7.5 Hz, -CH_2-), 2.08 (6H, s, -CH_3), 2.14-2.24 (7H, m, -CH_2-+-CH_3), 2.38 (4H, y, piperazin), 2.50-2.51 (4H, m, piperazin), 3.09 (2H, s, -CH_2-), 7.15 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Benzen-H), 7.32 (1H, dd, J_1=2.1 Hz, J_2=8.2 Hz, Benzen-H), 7.42 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.52 (1H, ddd, J_1=0.7 Hz, J_2=4.8 Hz, J_3=7.9 Hz, Piridin-H), 7.93 (1H, d, *J*=2.0 Hz, Benzen-H), 8.44 (1H, dt, J_1=1.9 Hz, J_2=8.2 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 8.94 (1H, s, -NH), 9.25 (1H, dd, J_1=0.6 Hz, J_2=2.6 Hz, Piridin-H), 9.61 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.05, 25.02, 45.67, 53.19, 53.29, 56.45, 57.78, 62.30, 108.01, 116.14, 116.53, 124.25, 127.64, 130.57, 132.68, 134.82, 136.99, 138.31, 148.62, 151.82, 159.95, 161.55, 161.99, 168.45.

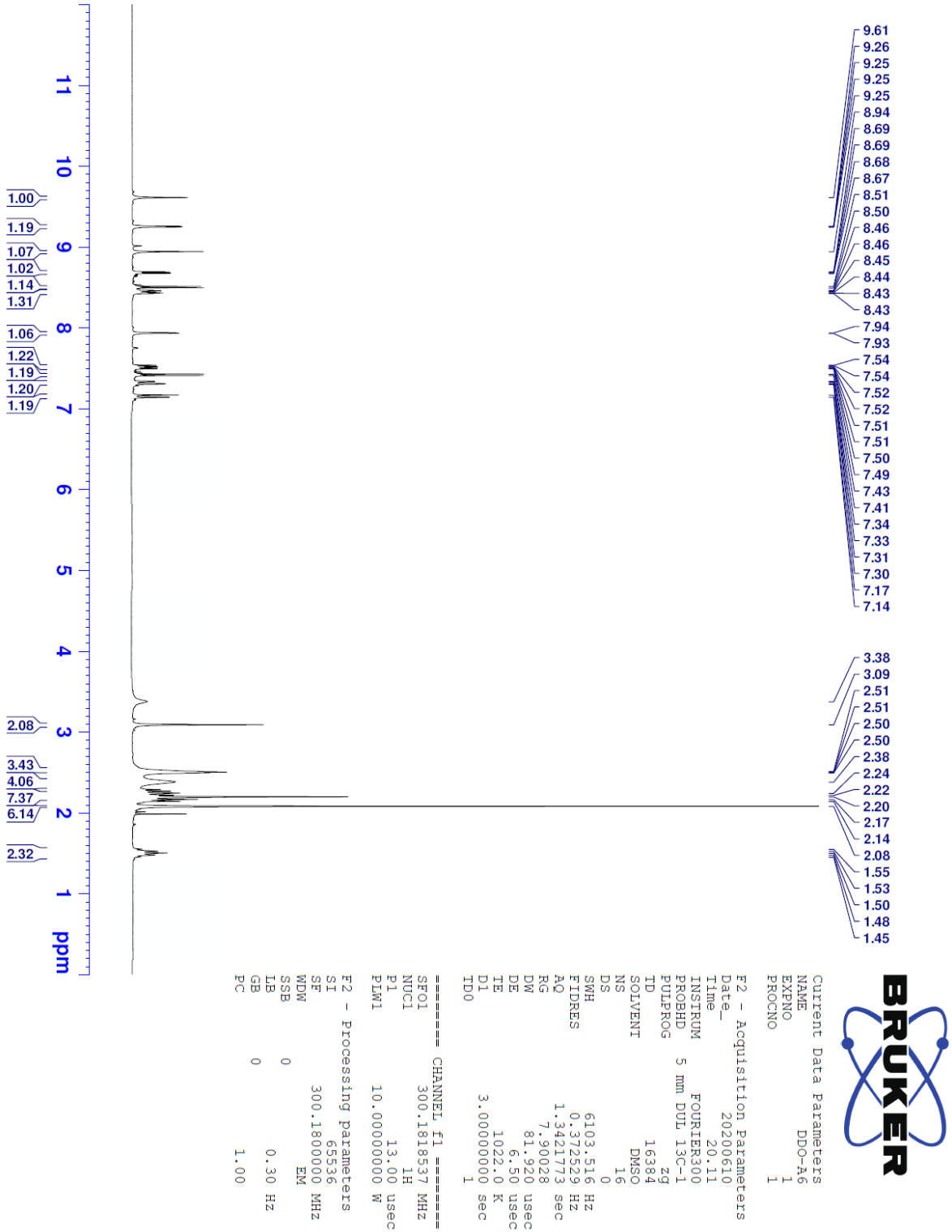
APCI-MS (-m/z): $[M+H]^+$: 489.3

DOPNALAB

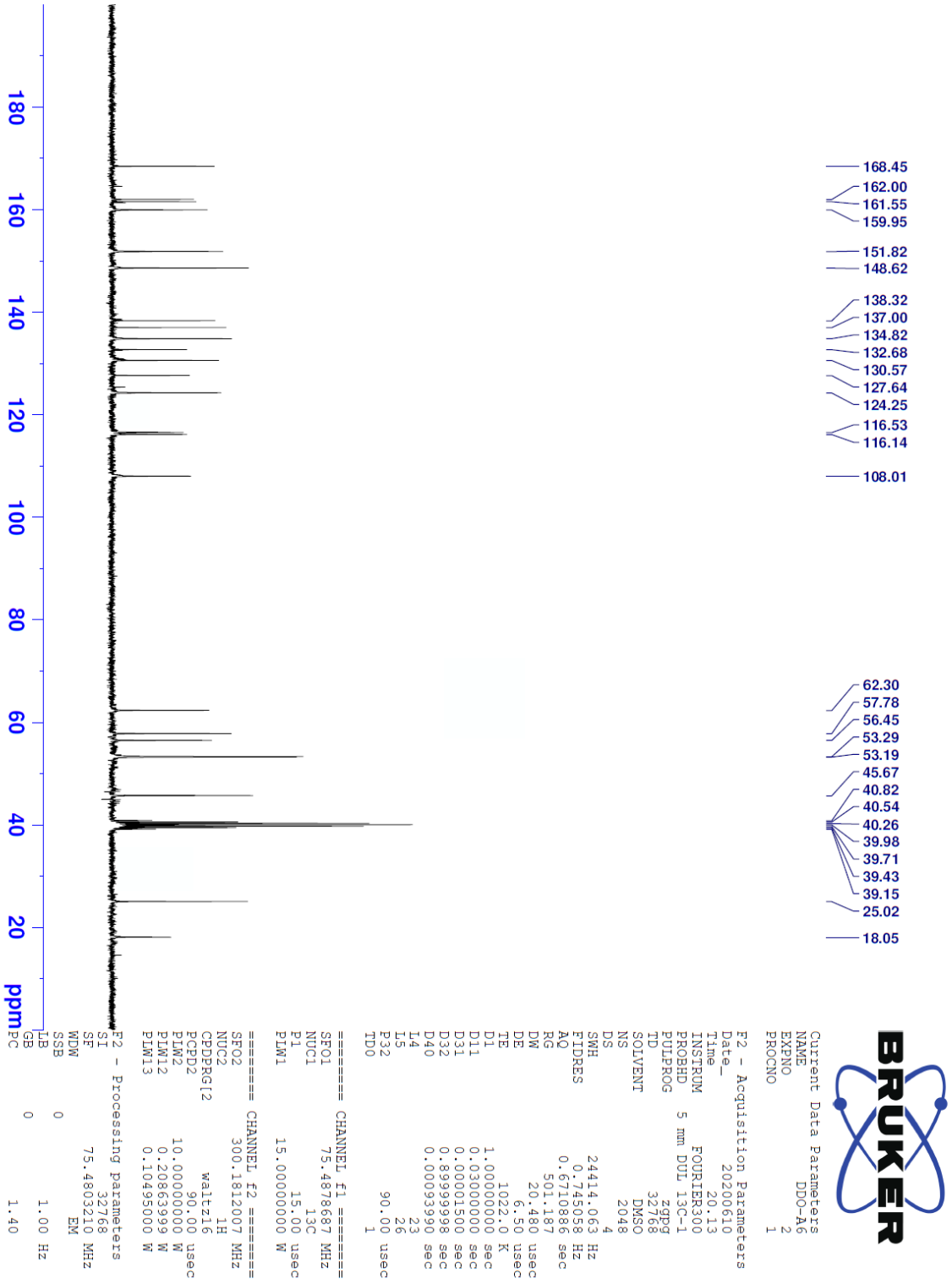
	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 11:31:45
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-A6.1.ispd
	Spectrum name	DDO-A6.1
	Sample name	DDO-A6
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel



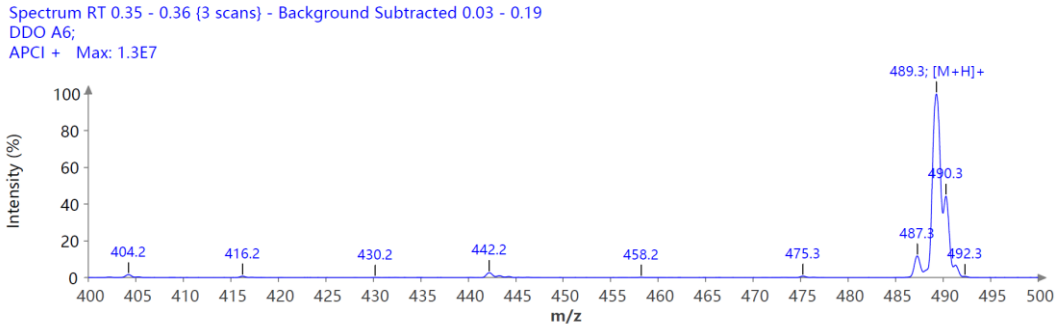
Şekil 5.26. *Bileşik **5e**'ye ait IR spektrumu*



Şekil 5.27. *Bileşik **5e**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

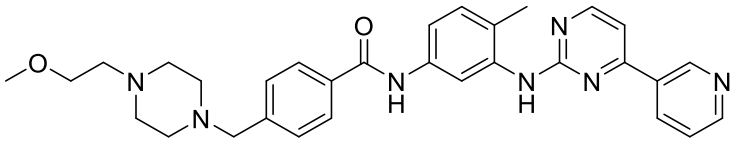


Şekil 5.28. *Bileşik **5e**'ye ait* ^{13}*C-NMR spektrumu*



Şekil 5.29. *Bileşik **5e**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.10. 4-[[4-(2-Metoksietil)piperazin-1-il]metil]-*N*-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]benzamid (5f)



Şekil 5.30. *4-[[4-(2-Metoksietil)piperazin-1-il]metil]-N-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]benzamid (**5f**)*

Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 166.9-168.5 ^{o}C. Verim: %80.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3273 (N-H gerilim bandı), 2997 (C-H gerilim bandı), 1647 (C=O gerilim bandı), 1022 (C-O gerilim bandı).

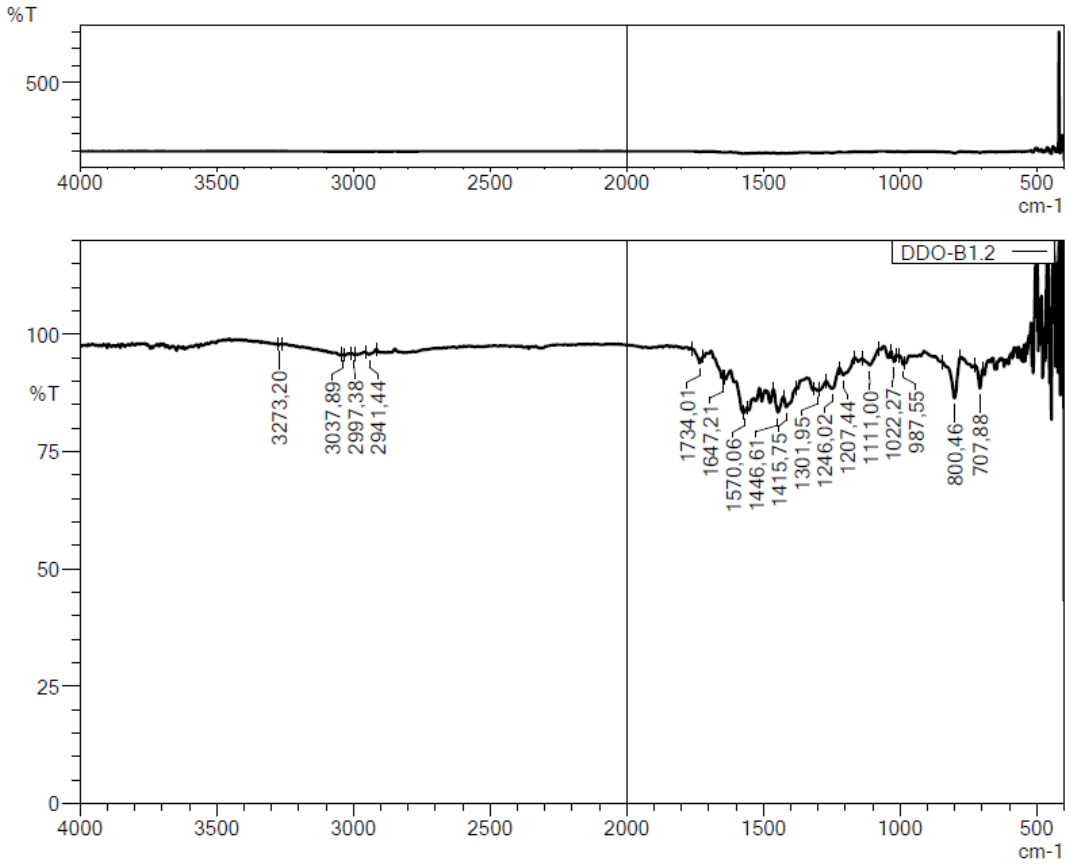
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 2.22 (3H, s, -CH_3), 2.37-2.42 (8H, m, piperazin), 2.44 (2H, t, *J*=5.9 Hz, -CH_2-), 3.21 (3H, s, -OCH_3), 3.40 (2H, t, *J*=5.9 Hz, -CH_2-), 3.52 (2H, s, -CH_2-), 7.20 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Benzen-H), 7.42-7.44 (3H, m, Pirimidin-H ve1,4-Disübstitüebenzen-H), 7.46-7.50 (1H, m, Benzen-H), 7.52 (1H, ddd, J_1=0.7 Hz, J_2=4.8 Hz, J_3=8.0 Hz, Piridin-H), 7.90 (2H, d, *J*=8.3 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen-H), 8.08 (1H, d, *J*=2.0 Hz, Benzen-H), 8.47 (1H, dt, J_1=2.1 Hz, J_2=8.4 Hz, Piridin-H), 8.51 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 8.97 (1H, s, -NH), 9.27 (1H, dd, J_1=0.6 Hz, J_2=2.3 Hz, Piridin-H), 10.15 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.10, 53.16, 53.61, 57.52, 58.52, 58.44, 62.10, 70.37, 107.97, 117.18, 117.67, 124.24, 128.03, 129.07, 130.48, 132.68, 134.23, 134.88, 137.67, 138.26, 139.64, 142.54, 148.67, 151.85, 159.93, 161.65, 162.07, 165.72.

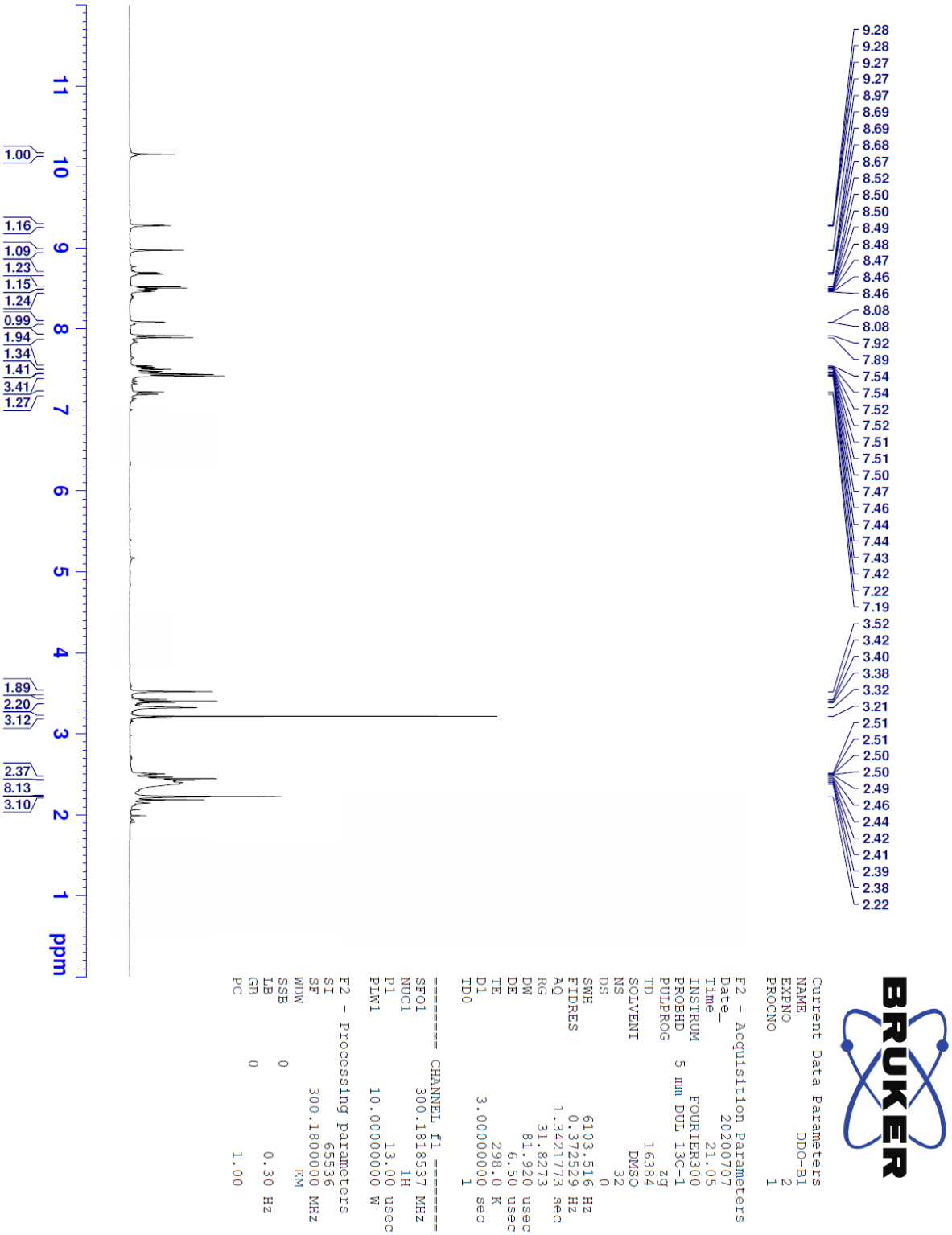
APCI-MS (-m/z): [M+H] $^{+}$: 538.2

DOPNALAB

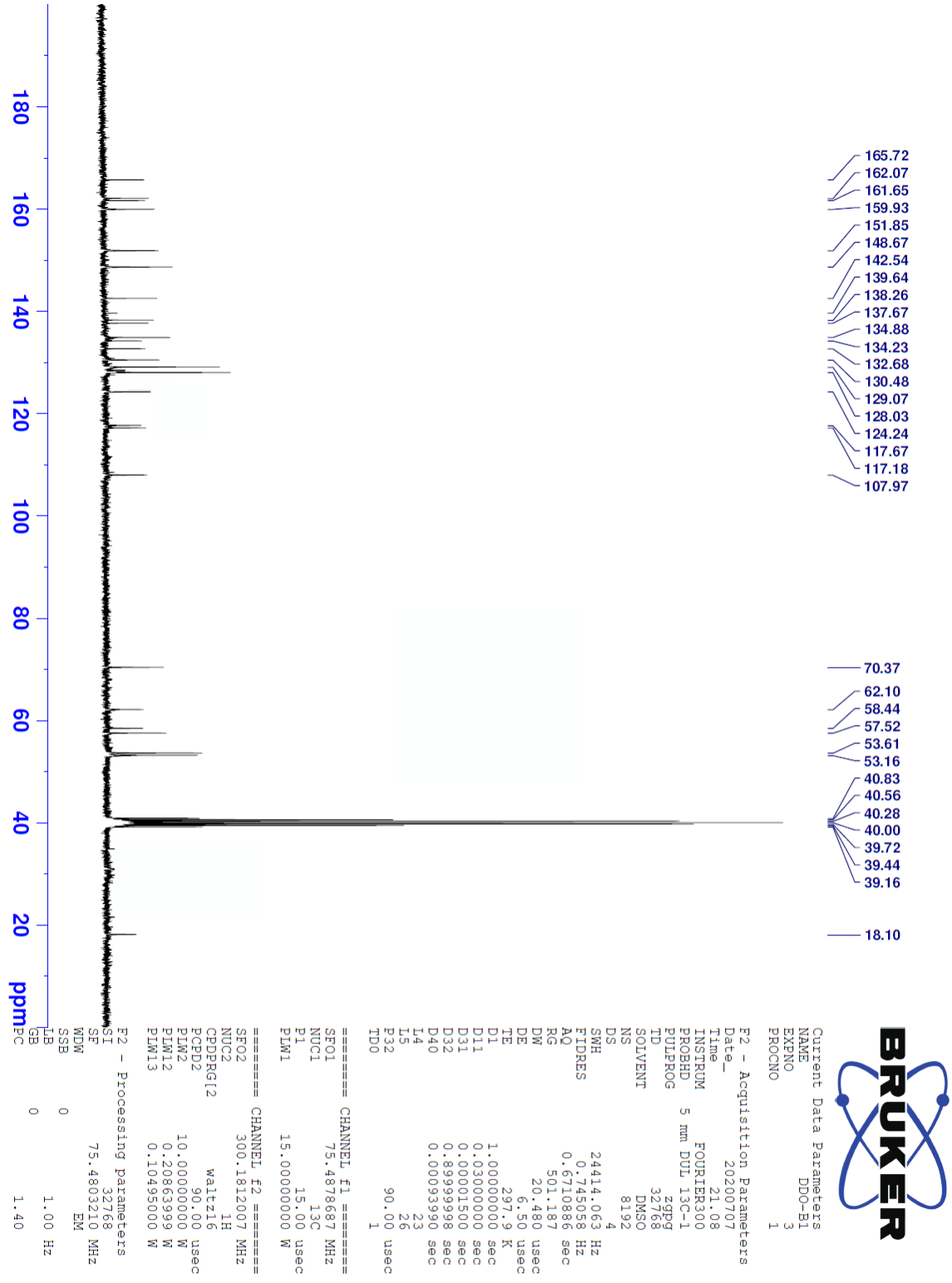
	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 11:38:34
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-B1.2.ispd
	Spectrum name	DDO-B1.2
	Sample name	DDO-B1
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel



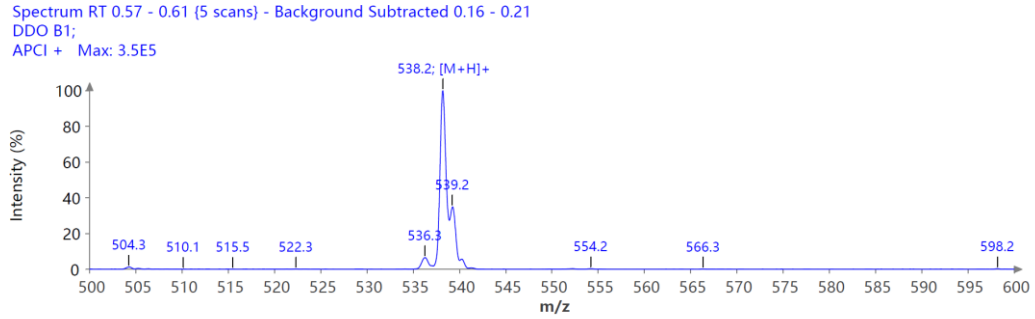
Şekil 5.31. *Bileşik* ***5f****'ye ait IR spektrumu*



Şekil 5.32. *Bileşik **5f**'ye ait* ^{1}*H-NMR spektrumu*

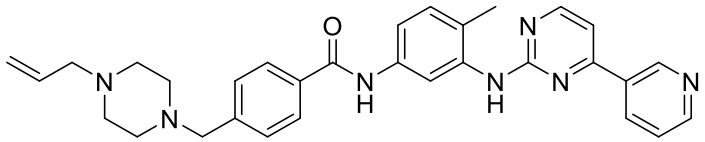


Şekil 5.33. *Bileşik **5f**'ye ait* ^{13}*C-NMR spektrumu*



Şekil 5.34. *Bileşik **5f**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.11. 4-[(4-Allilpiperazin-1-il)metil]-*N*-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]benzamid (5g)



Şekil 5.35. *4-[(4-Allilpiperazin-1-il)metil]-N-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]benzamid (**5g**)*

Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 197.2-198.5 ºC. Verim: %81.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3248 (N-H gerilim bandı), 2941 (C-H gerilim bandı), 1653 (C=O gerilim bandı).

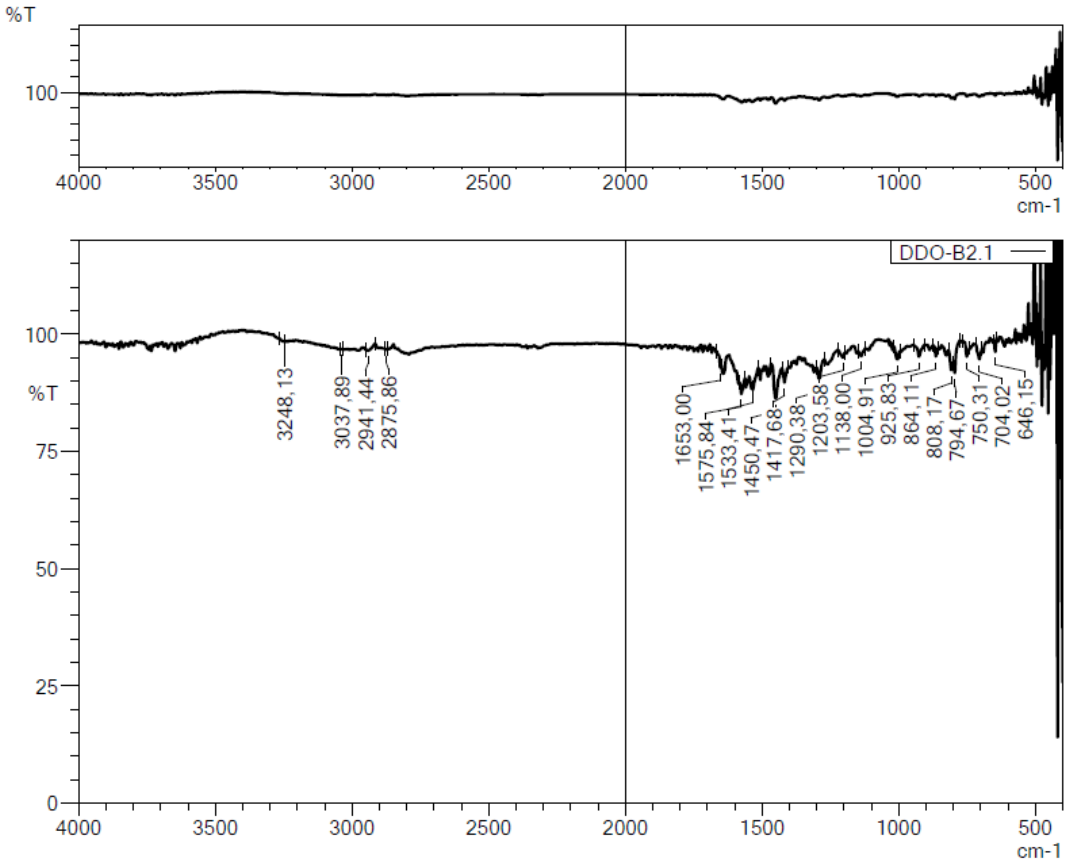
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ: 2.22 (3H, s, -CH_3), 2.37 (8H, y, piperazine), 2.91 (2H, d, *J*=6.4 Hz, Allil-CH_2), 3.53 (2H, s, -CH_2), 5.07-5.19 (2H, m, Allil-CH_2), 5.72-5.83 (1H, m, Allil-CH), 7.20 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Benzen-H), 7.41-7.44 (3H, m, Pirimidin-H ve 1,4-Disübstitüebenzen-H), 7.47 (1H, dd, J_1=2.1 Hz, J_2=8.2 Hz, Benzen-H), 7.52 (1H, dd, J_1=4.8 Hz, J_2=8.0 Hz, Piridin-H), 7.90 (2H, d, *J*=8.2 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen-H), 8.07 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Benzen-H), 8.48 (1H, dt, J_1=2.1 Hz, J_2=8.1 Hz, Piridin-H), 8.51 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.8 Hz, Piridin-H), 9.01 (1H, s, -NH), 9.27 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Piridin-H), 10.18 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ: 18.09, 53.04, 53.13, 61.32, 62.09, 107.97, 117.19, 117.68, 117.81, 124.25, 128.04, 129.06, 130.48, 132.68, 134.23, 134.88, 136.07, 136.12, 137.67, 138.26, 142.55, 148.67, 151.85, 159.94, 161.65, 162.07, 165.71.

APCI-MS (-m/z): [M+H]$^{+}$: 520.3

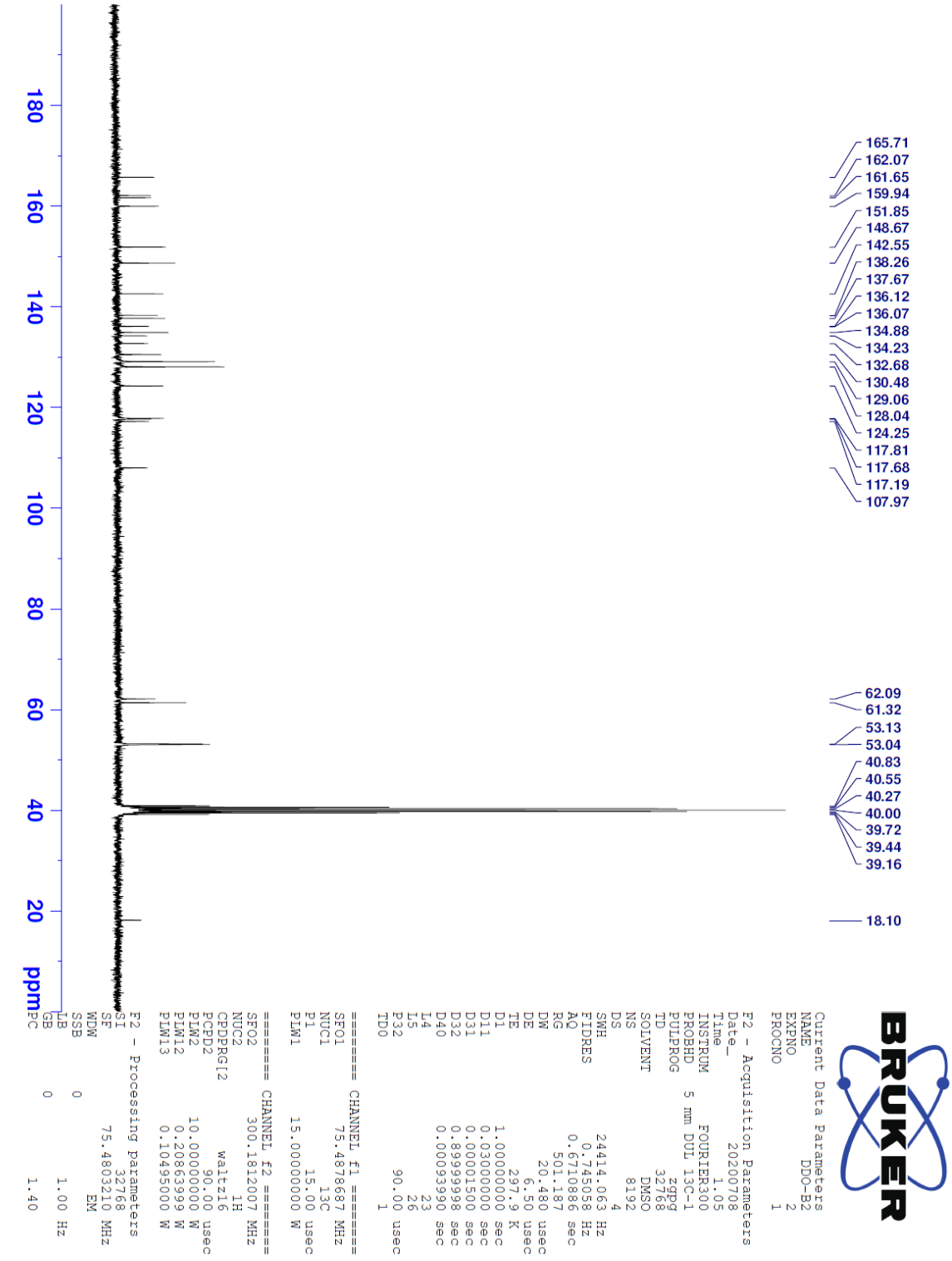
DOPNALAB

	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 11:44:27
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-B2.1.ispd
	Spectrum name	DDO-B2.1
	Sample name	DDO-B2
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel

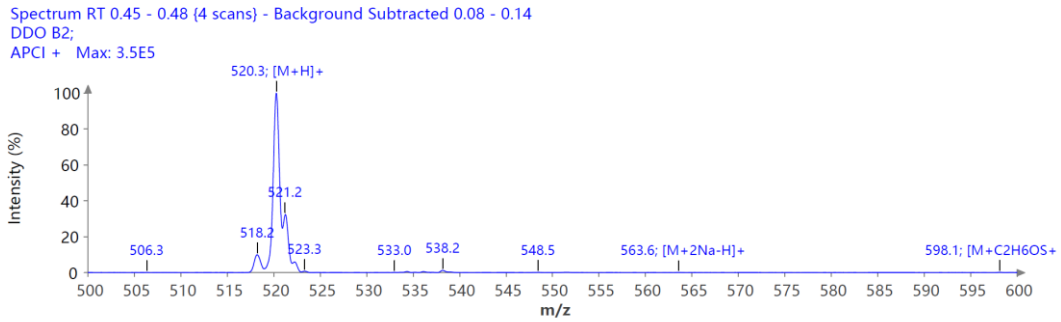


Şekil 5.36. *Bileşik **5g**'ye ait IR spektrumu*

Şekil 5.37. *Bileşik **5g**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

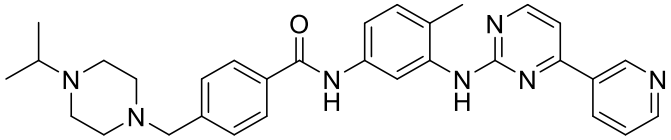


Şekil 5.38. *Bileşik **5g**'ye ait* ^{13}*C-NMR spektrumu*



Şekil 5.39. *Bileşik **5g**'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu*

5.1.12. 4-[(4-İzopropilpiperazin-1-il)metil]-*N*-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]benzamid (5h)



Şekil 5.40. *4-[(4-İzopropilpiperazin-1-il)metil]-N-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]benzamid (**5h**)*

Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 173.9-175.3 ^{o}C. Verim: %86

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3261 (N-H gerilim bandı), 2964 (C-H gerilim bandı), 1643 (C=O gerilim bandı).

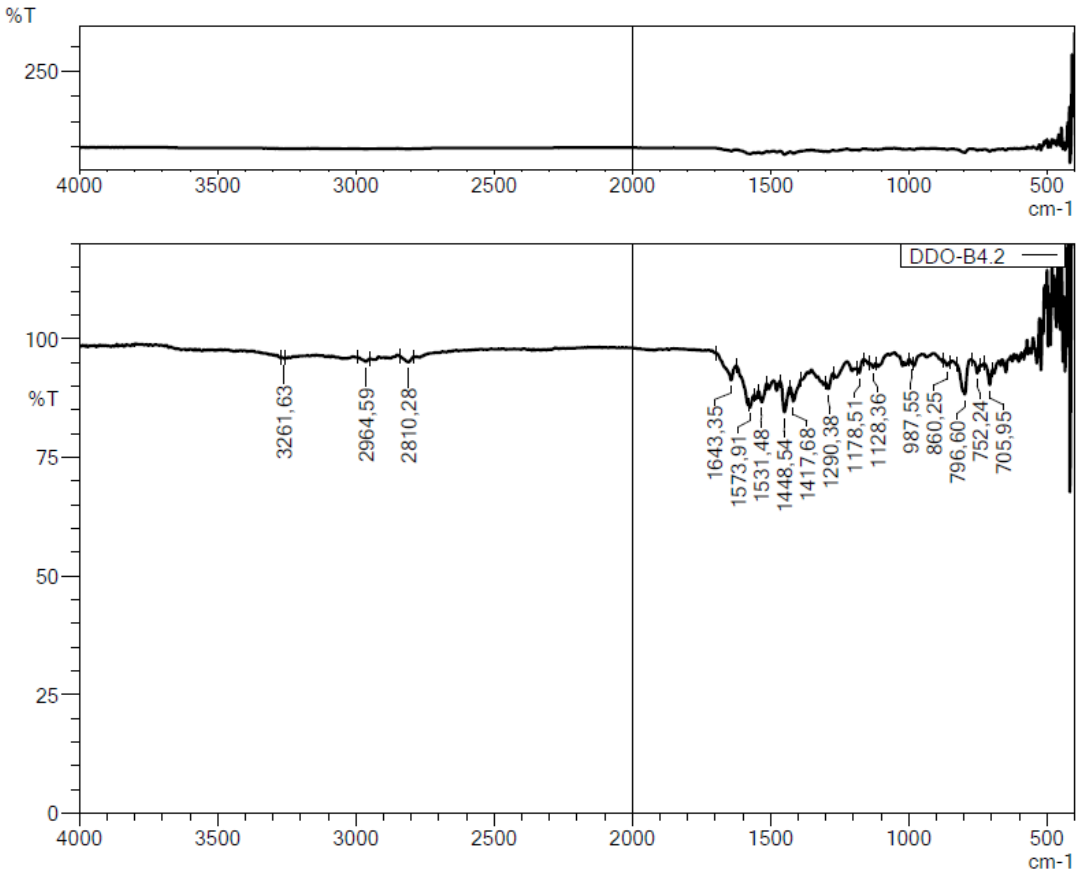
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 0.94 (6H, d, *J*=6.5 Hz, -CH_3), 2.22 (3H, s, -CH_3), 2.37-2.49 (8H, m, piperazin), 2.57-2.61 (1H, m, -CH-), 3.51 (2H, s, -CH_2-), 7.20 (1H, d, *J*=8.4 Hz, Benzen-H), 7.41-7.44 (3H, m, Pirimidin-H ve 1,4-Disübstitüebenzen-H), 7.47 (1H, dd, J_1=2.1 Hz, J_2=8.3 Hz, Benzen-H), 7.52 (1H, dd, J_1=4.7 Hz, J_2=8.0 Hz, Piridin-H), 7.90 (2H, d, *J*=8.2 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen-H), 8.07 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Benzen-H), 8.48 (1H, dt, J_1=1.9 Hz, J_2=8.1 Hz, Piridin-H), 8.51 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.5 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 8.99 (1H, s, -NH), 9.27 (1H, d, *J*=2.1 Hz, Piridin-H), 10.17 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.70, 30.87, 48.40, 53.58, 54.01, 62.17, 107.97, 117.15, 117.63, 124.27, 128.04, 129.07, 130.49, 132.66, 134.18, 134.89, 137.66, 138.24, 139.66, 142.62, 148.67, 151.87, 159.96, 161.62, 162.04, 165.73.

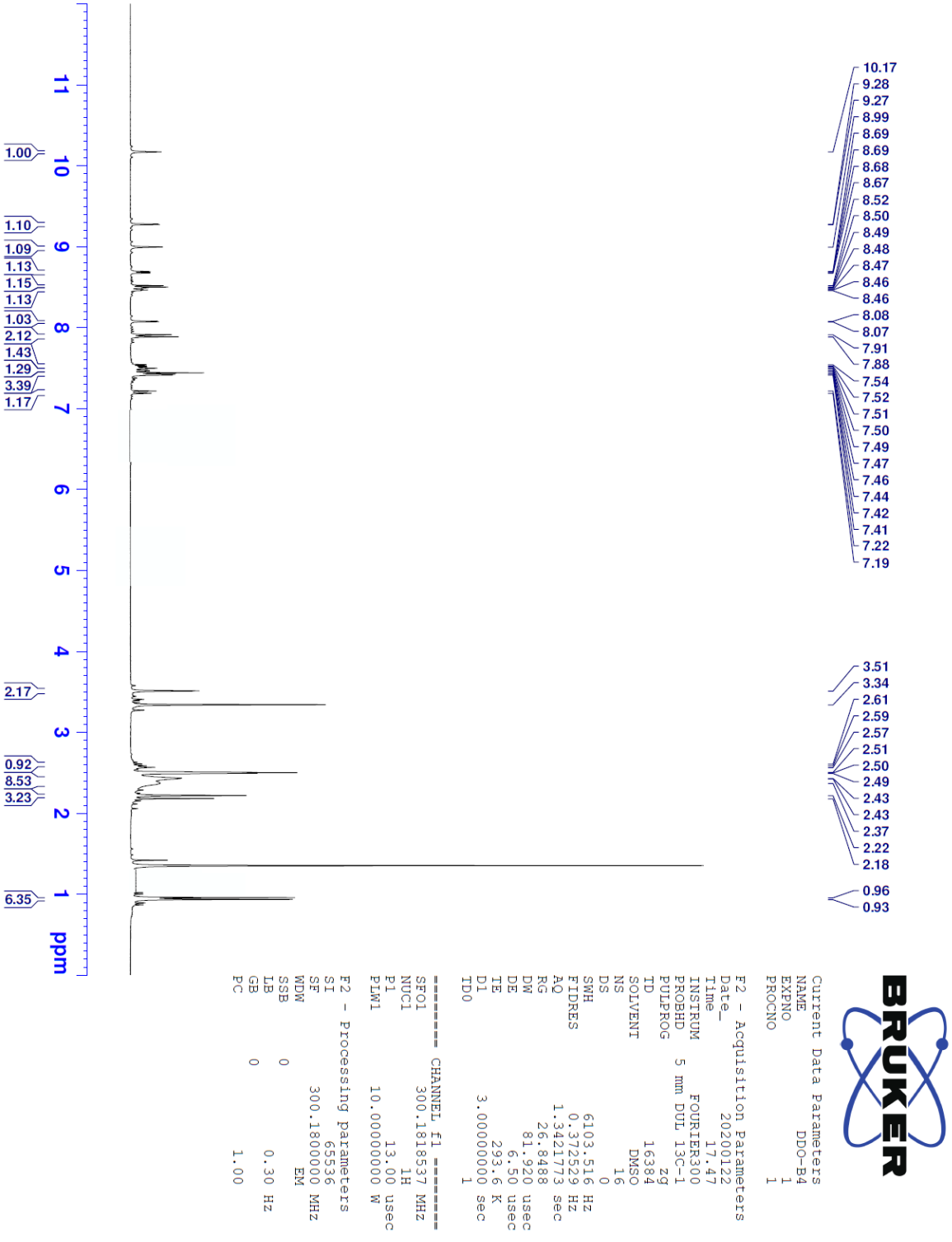
APCI-MS (-m/z): [M+H] $^{+}$: 522.2

DOPNALAB

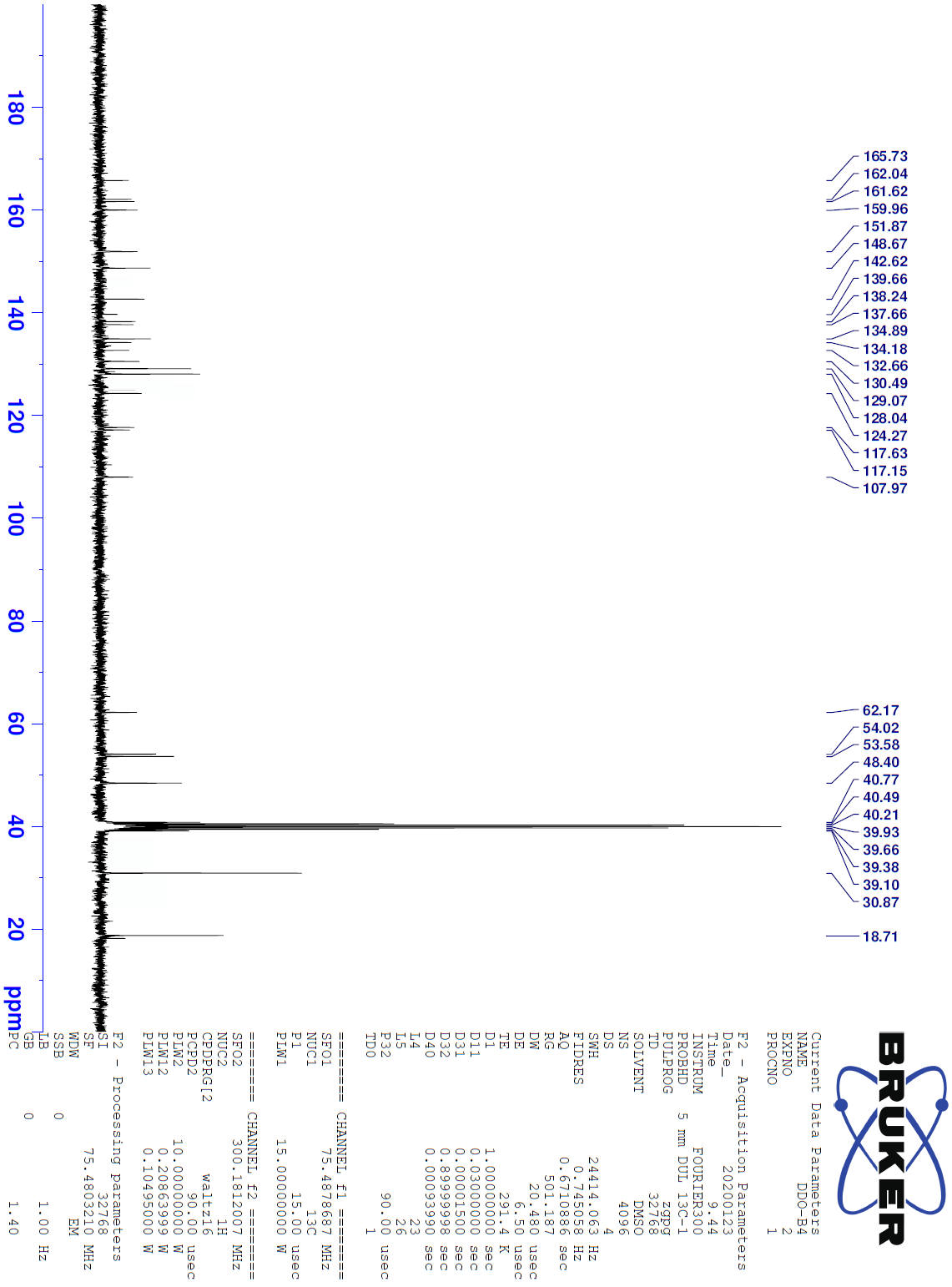
	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 11:51:28
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-B4.2.ispd
	Spectrum name	DDO-B4.2
	Sample name	DDO-B4
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel



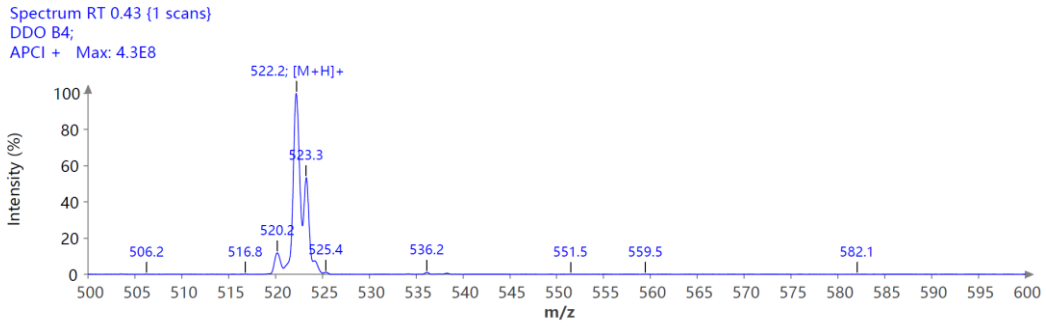
Şekil 5.41. *Bileşik **5h**'ye ait IR spektrumu*



Şekil 5.42. *Bileşik **5h**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

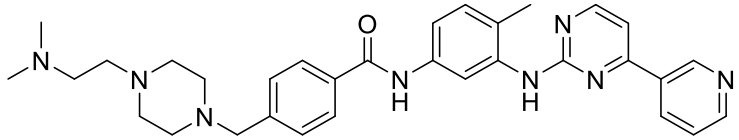


Şekil 5.43. *Bileşik **5h**'ye ait* ^{13}*C-NMR spektrumu*



Şekil 5.44. *Bileşik* ***5h****'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.13. 4-[[4-[2-(Dimetilamino)etil]piperazin-1-il]metil]-*N*-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]benzamid (5i)



Şekil 5.45. *4-[[4-[2-(Dimetilamino)etil]piperazin-1-il]metil]-N-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]benzamid (**5i**)*

Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 177.0-179.1 ^{o}C. Verim: %82.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3248 (N-H gerilim bandı), 2947 (C-H gerilim bandı), 1653 (C=O gerilim bandı).

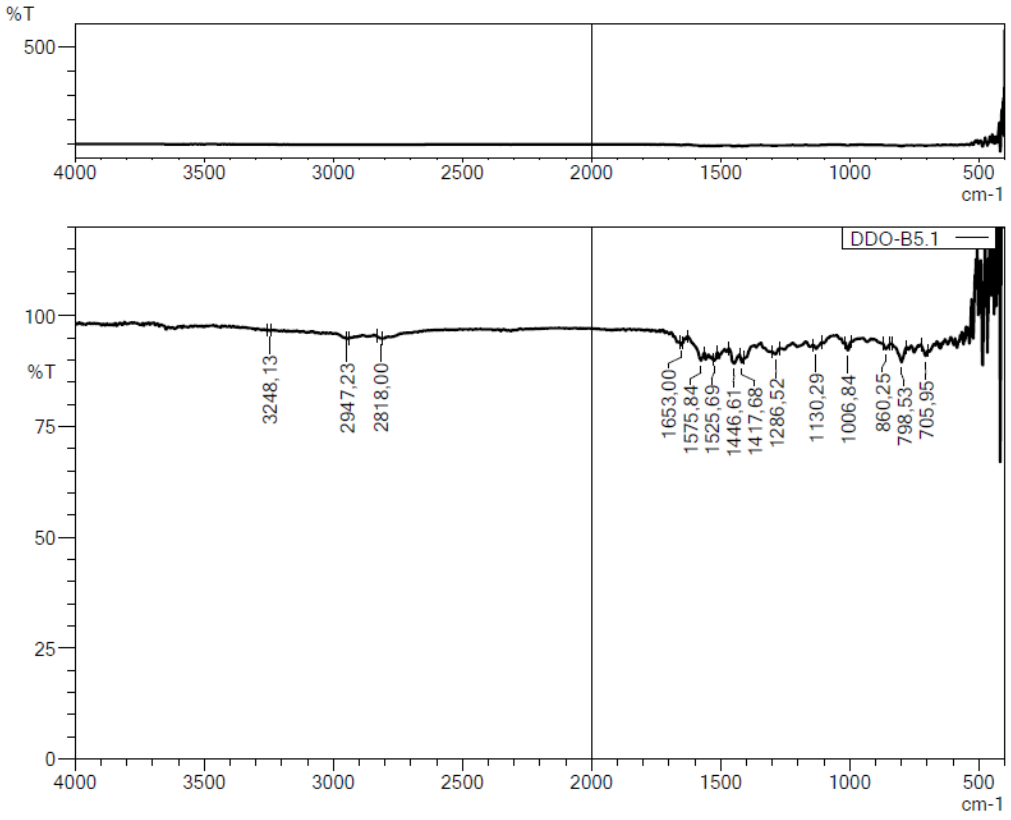
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 2.11 (6H, s, -CH_3), 2.22 (3H, s, -CH_3), 2.29-2.32 (2H, m, -CH_2-), 2.33-2.35 (2H, m, -CH_2-), 2.35-2.45 (8H, m, piperazin), 3.52 (2H, s, -CH_2-), 7.20 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Benzen-H), 7.41-7.44 (3H, m, Pirimidin-H ve 1,4-Disübstitüebenzen-H), 7.48 (1H, dd, J_1=2.1 Hz, J_2=8.4 Hz, Benzen-H), 7.52 (1H, dd, J_1=5.0 Hz, J_2=8.0 Hz, Piridin-H), 7.90 (2H, d, *J*=8.2 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen-H), 8.07 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Benzen-H), 8.47 (1H, dt, J_1=2.0 Hz, J_2=8.2 Hz, Piridin-H), 8.51 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.8 Hz, Piridin-H), 8.97 (1H, s, -NH), 9.27 (1H, d, *J*=1.6 Hz, Piridin-H), 10.16 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.10, 46.01, 53.18, 53.58, 56.44, 57.10, 62.12, 107.96, 117.22, 117.71, 124.24, 128.05, 129.06, 130.46, 132.68, 134.22, 134.88, 137.71, 138.24, 138.25, 142.51, 148.66, 151.84, 159.94, 161.65, 162.06, 165.72.

APCI-MS (-m/z): $[M+H]^+$: 551.4

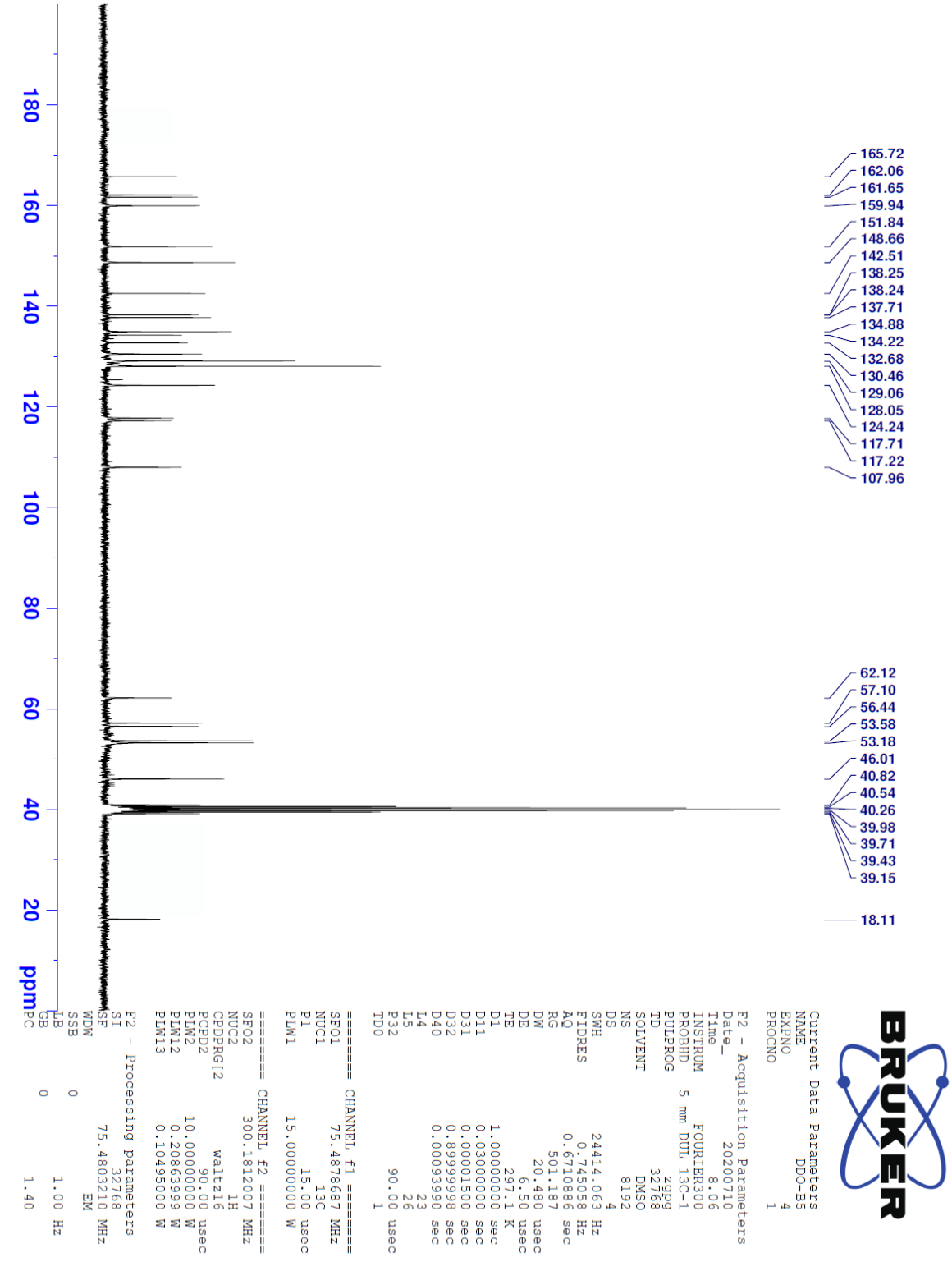
DOPNALAB

	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 11:57:38
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-B5.1.ispd
	Spectrum name	DDO-B5.1
	Sample name	DDO-B5
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel

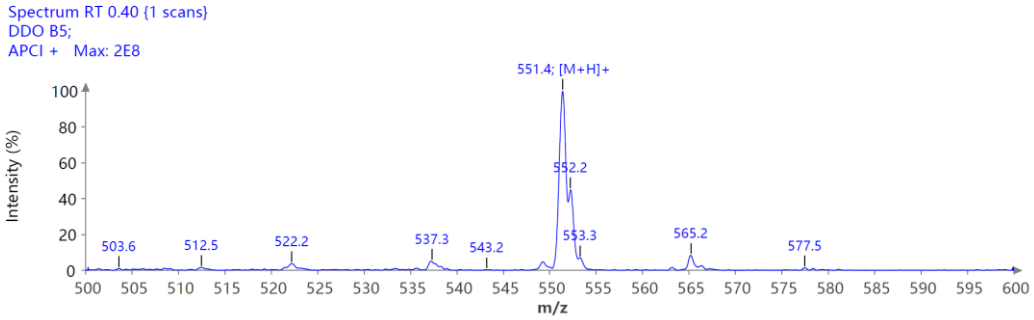


Şekil 5.46. *Bileşik **5i**'ye ait IR spektrumu*

Şekil 5.47. *Bileşik **5i**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

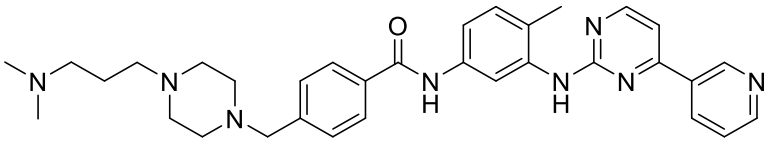


Şekil 5.48. *Bileşik **5i**'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu*



Şekil 5.49. *Bileşik **5i**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.14. 4-[[4-[3-(Dimetilamino)propil]piperazin-1-il]metil]-*N*-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]benzamid (5j)



Şekil 5.50. *4-[[4-(3-(Dimetilamino)propil]piperazin-1-il]metil]-N-[4-metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]benzamid (**5j**)*

Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 157.5-159.2 ºC. Verim: %79.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3251 (N-H gerilim bandı), 2941 (C-H gerilim bandı), 1660 (C=O gerilim bandı).

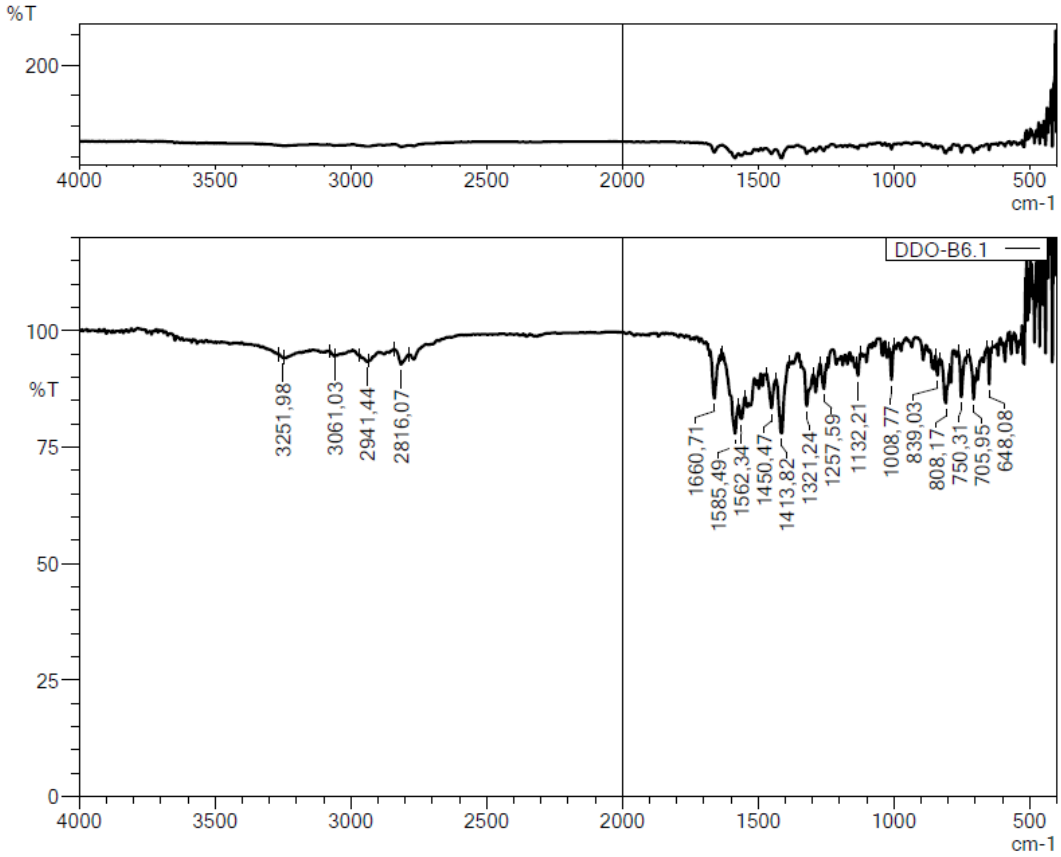
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 1.46-1.56 (2H, m -CH_2-), 2.09 (6H, s, -CH_3), 2.16-2.21 (2H, m), 2.22 (3H, s, -CH_3), 2.25-2.28 (2H, m, -CH_2-), 2.37 (8H, y, piperazin), 3.52 (3H, s, -CH2-), 7.20 (1H, d, *J*=8.6 Hz, Benzen-H), 7.42-7.44 (3H, m, Pirimidin-H ve 1,4-Disübstitüebenzen-H), 7.47 (1H, dd, J_1=2.2 Hz, J_2=8.3 Hz, Benzen-H), 7.52 (1H, ddd, J_1=0.8 Hz, J_2=4.8 Hz, J_3=8.0 Hz, Piridin-H), 7.90 (2H, d, *J*=8.3 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen), 8.07 (1H, d, *J*=2.0 Hz, Benzen-H), 8.47 (1H, dt, J_1=1.9 Hz, J_2=8.4 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.1 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.8 Hz, Piridin-H), 8.97 (1H, s, -NH), 9.27 (1H, dd, J_1=0.8 Hz, J_2=2.2 Hz, Piridin-H), 10.16 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.11, 24.97, 45.66, 53.18, 53.30, 56.48, 57.76, 62.11, 107.97, 117.17, 117.66, 124.26, 128.03, 129.10, 130.49, 132.67, 134.22, 134.89, 134.90, 137.66, 138.25, 142.55, 148.66, 151.86, 159.95, 161.64, 162.06, 165.72.

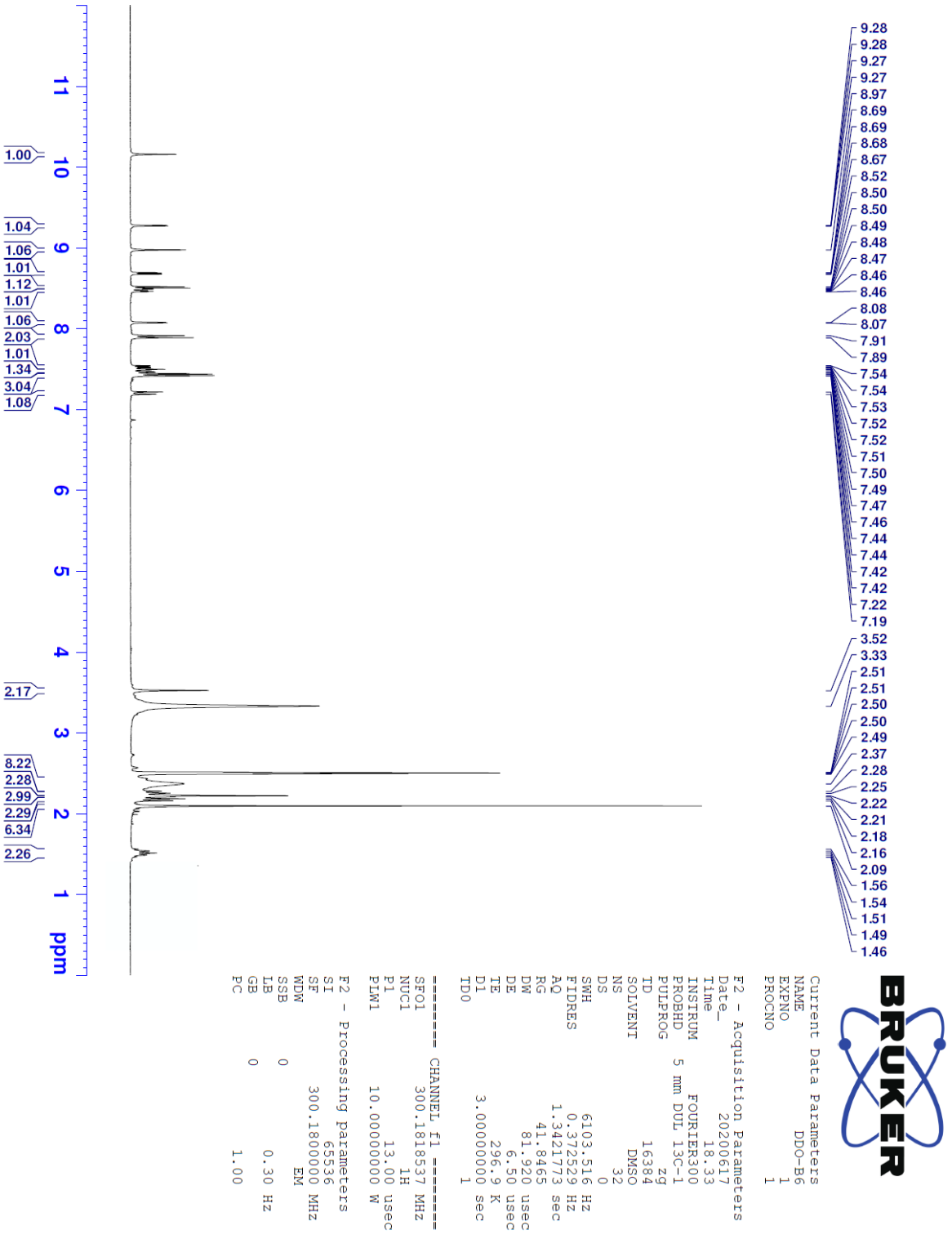
APCI-MS (-m/z): $[M+H]^+$: 565.4

DOPNALAB

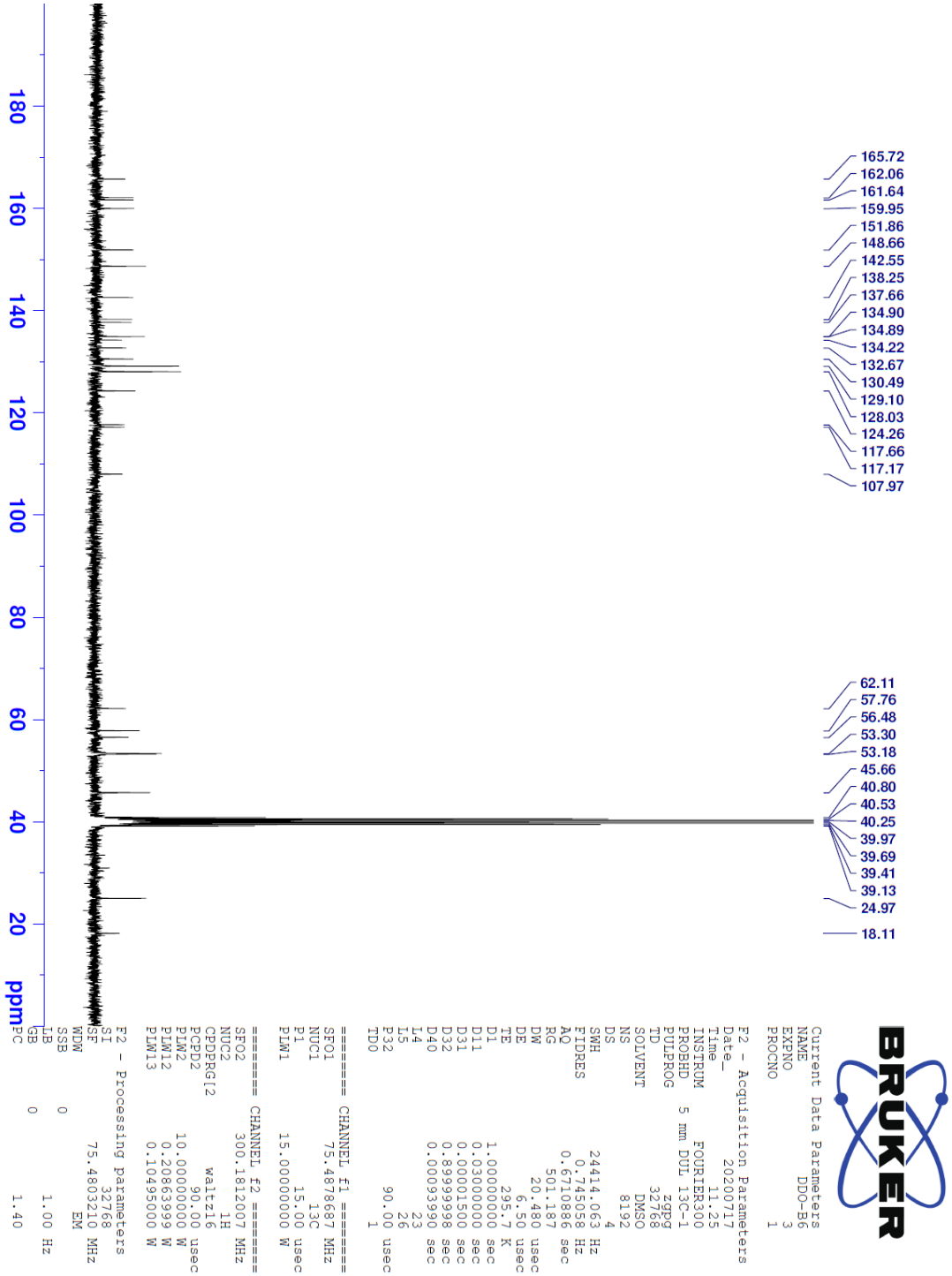
	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 12:02:20
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-B6.1.ispd
	Spectrum name	DDO-B6.1
	Sample name	DDO-B6
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel



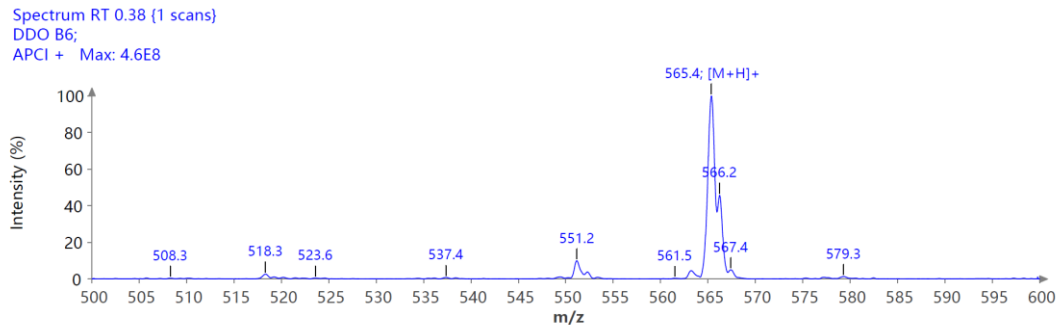
Şekil 5.51. *Bileşik **5j**'ye ait IR spektrumu*



Şekil 5.52. *Bileşik **5j**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

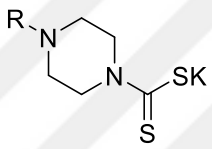


Şekil 5.53. *Bileşik **5j**'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu*



Şekil 5.54. *Bileşik **5j**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.15. Potasyum 4-sübstitüepiperazin-1-karboditiyoat türevleri (6a-6e)

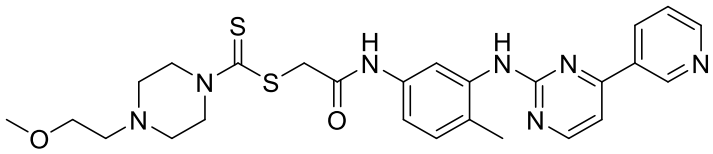


(6a-6e)

Şekil 5.55. *Potasyum 4-sübstitüepiperazin-1-karboditiyoat*

Yöntem F'ye göre sentezlenmişlerdir. Verim: %89-92.

5.1.16. 2-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]amino]-2-oksoetil 4-(2-metoksietil)piperazin-1-karboditiyoat (7a)



Şekil 5.56. *2-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]amino]-2-oksoetil 4-(2-metoksietil)piperazin-1-karboditiyoat (**7a**)*

Yöntem G'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 171.1-173.8 ^{o}C. Verim: %77.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3236 (N-H gerilim bandı), 2924 (C-H gerilim bandı), 1687 (C=O gerilim bandı), 1012 (C-O gerilim bandı).

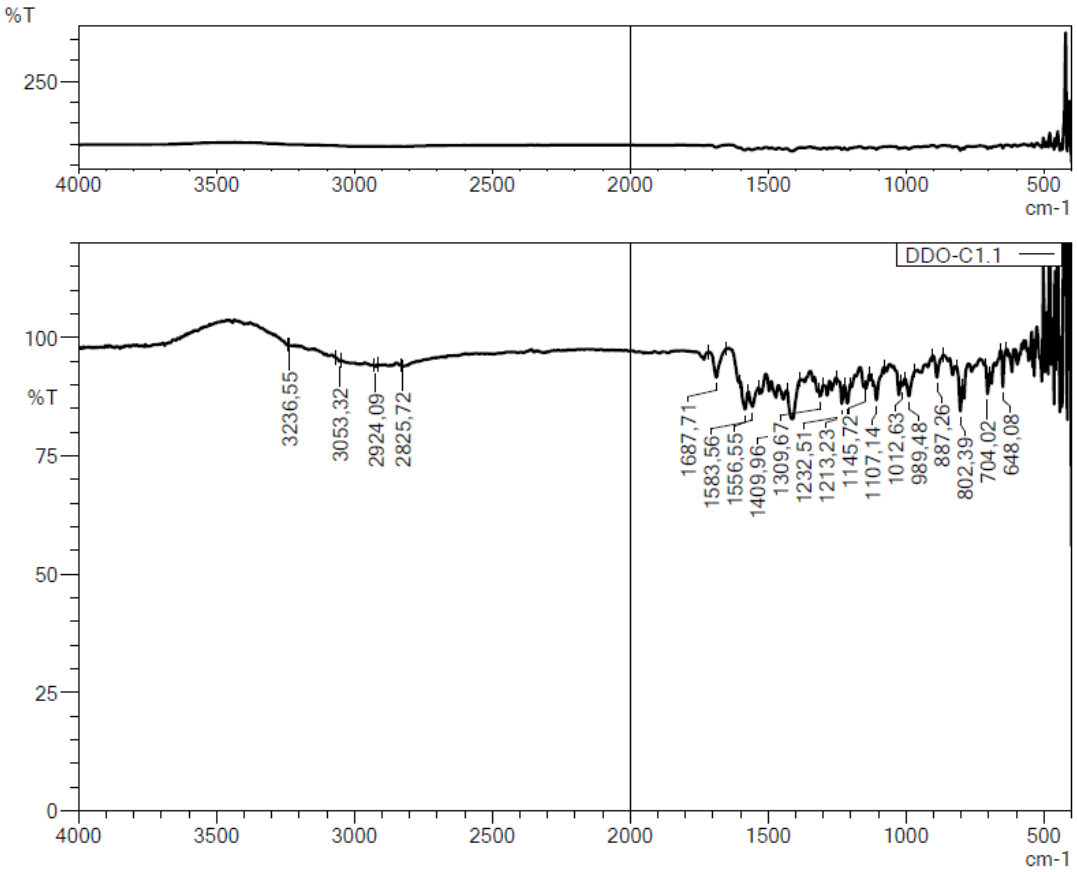
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 2.19 (3H, s, -CH_3), 2.49-2.50 (4H, m, piperazin), 2.51-2.53 (2H, m, -CH_2-), 3.23 (3H, s, -OCH_3), 3.44 (2H, t, *J*=5.6 Hz, -CH_2-), 3.93 (2H, y, piperazin), 4.19 (2H, y, piperazin), 4.24 (2H, s, -CH_2-), 7.15 (1H, d, *J*=8.4 Hz, Benzen-H), 7.29 (1H, dd, J_1=2.1 Hz, J_2=8.2 Hz, Benzen-H), 7.43 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.52 (1H, dd, J_1=4.8 Hz, J_2=7.9 Hz, Piridin-H), 7.88 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Benzen-H), 8.46 (1H, dt, J_1=1.9 Hz, J_2=8.1 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.1 Hz, Pirimidin-H), 8.69 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 8.96 (1H, s, -NH), 9.25 (1H, d, *J*=1.8 Hz, Piridin-H), 10.23 (1H, s, -NH)

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.08, 30.87, 50.24, 51.54, 52.94, 56.94, 58.47, 70.26, 108.02, 115.80, 116.23, 124.32, 127.59, 130.65, 132.66, 134.95, 137.47, 138.34, 148.62, 151.84, 159.94, 161.53, 162.04, 165.49, 194.79.

APCI-MS (-m/z): [M+H] $^{+}$: 551.2

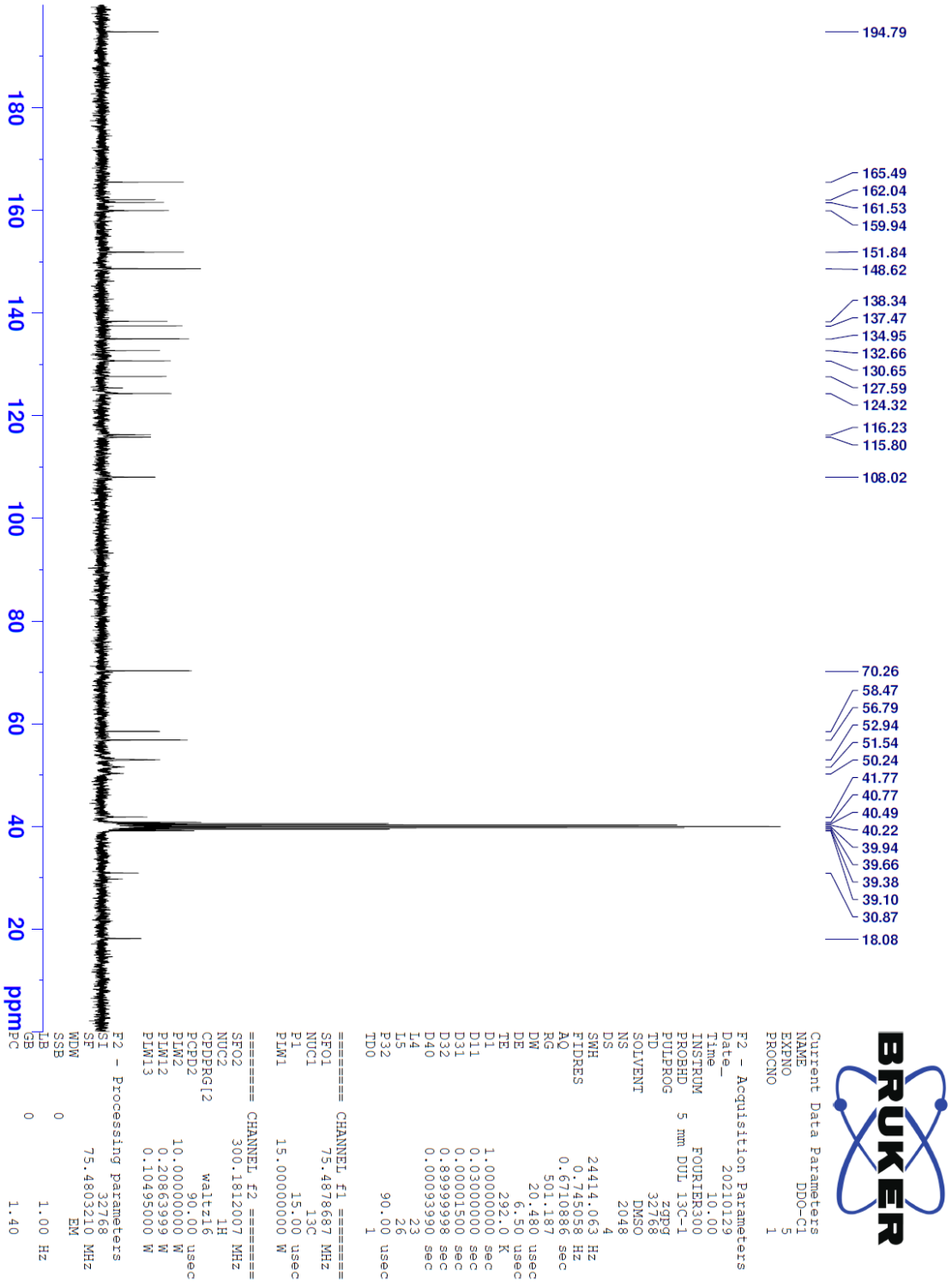
DOPNALAB

	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 13:00:22
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-C1.1.ispd
	Spectrum name	DDO-C1.1
	Sample name	DDO-C1
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel

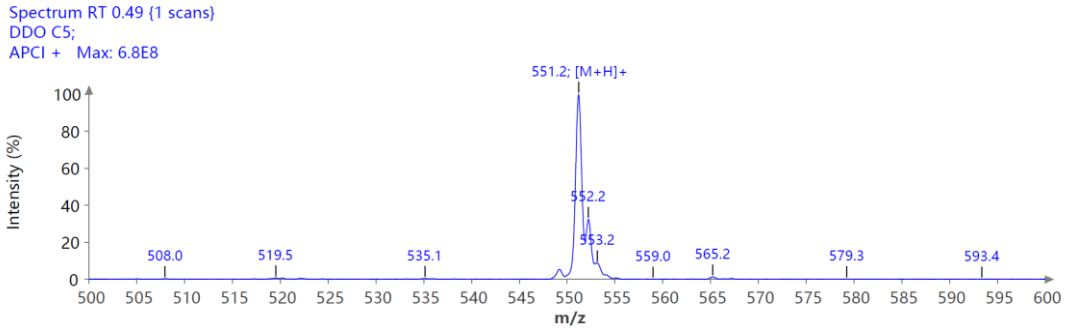


Şekil 5.57. *Bileşik **7a**'ya ait IR spektrumu*

Şekil 5.58. *Bileşik **7a**'ya ait ^{1}H-NMR spektrumu*

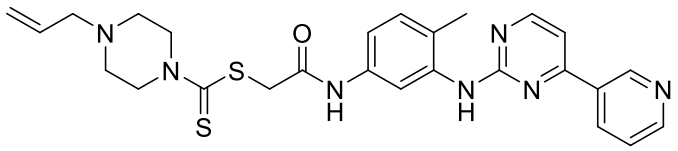


Şekil 5.59. *Bileşik **7a**'ya ait* ^{13}*C-NMR spektrumu*



Şekil 5.60. *Bileşik **7a**'ya ait APCI-MS spektrumu*

5.1.17. 2-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]amino]-2-oksoetil 4-allilpiperazin-1-karboditiyoat (7b)



Şekil 5.61. *2-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]amino]-2-oksoetil 4-allilpiperazin-1-karboditiyoat (**7b**)*

Yöntem G'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 175.1-177.0 ^{o}C. Verim: %79.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3244 (N-H gerilim bandı), 2989 (C-H gerilim bandı), 1683 (C=O gerilim bandı).

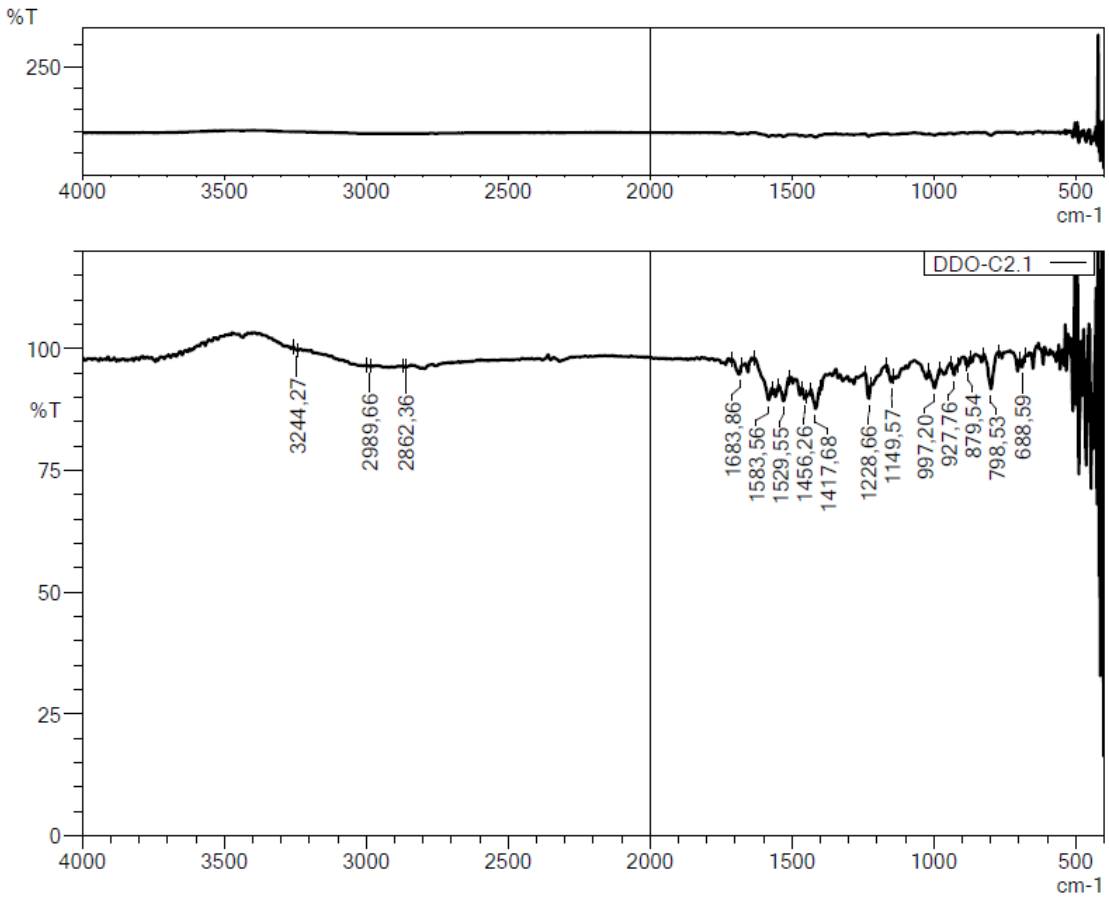
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 2.19 (3H, s, -CH_3), 2.45 (4H, t, *J*=4.8 Hz, piperazin), 2.98 (2H, d, *J*=6.4 Hz, Allil-CH), 3.95 (2H, y, piperazin), 4.21 (2H, y, piperazin), 4.25 (2H, s, -CH_2-), 5.13-5.23 (2H, m, Allil-CH), 5.75-5.89 (1H, m, Allil-CH), 7.15 (1H, d, *J*=8.4 Hz, Benzen-H), 7.29 (1H, dd, J_1=2.1 Hz, J_2=8.2 Hz, Benzen-H), 7.42 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.52 (1H, ddd, J_1=0.7 Hz, J_2=4.8 Hz, J_3=8.0 Hz, Piridin-H), 7.88 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Benzen-H), 8.45 (1H, dt, J_1=1.8 Hz, J_2=8.2 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 8.69 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 8.95 (1H, s, -NH), 9.25 (1H, d, *J*=1.6 Hz, Piridin-H), 10.25 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.07, 41.79, 50.18, 51.51, 52.35, 60.57, 108.02, 115.81, 116.27, 118.55, 124.31, 127.60, 130.65, 132.66, 134.95, 135.41, 137.48, 138.33, 148.61, 151.83, 159.94, 161.53, 162.03, 165.48, 194.95

APCI-MS (-m/z): [M+H] $^{+}$: 520.1

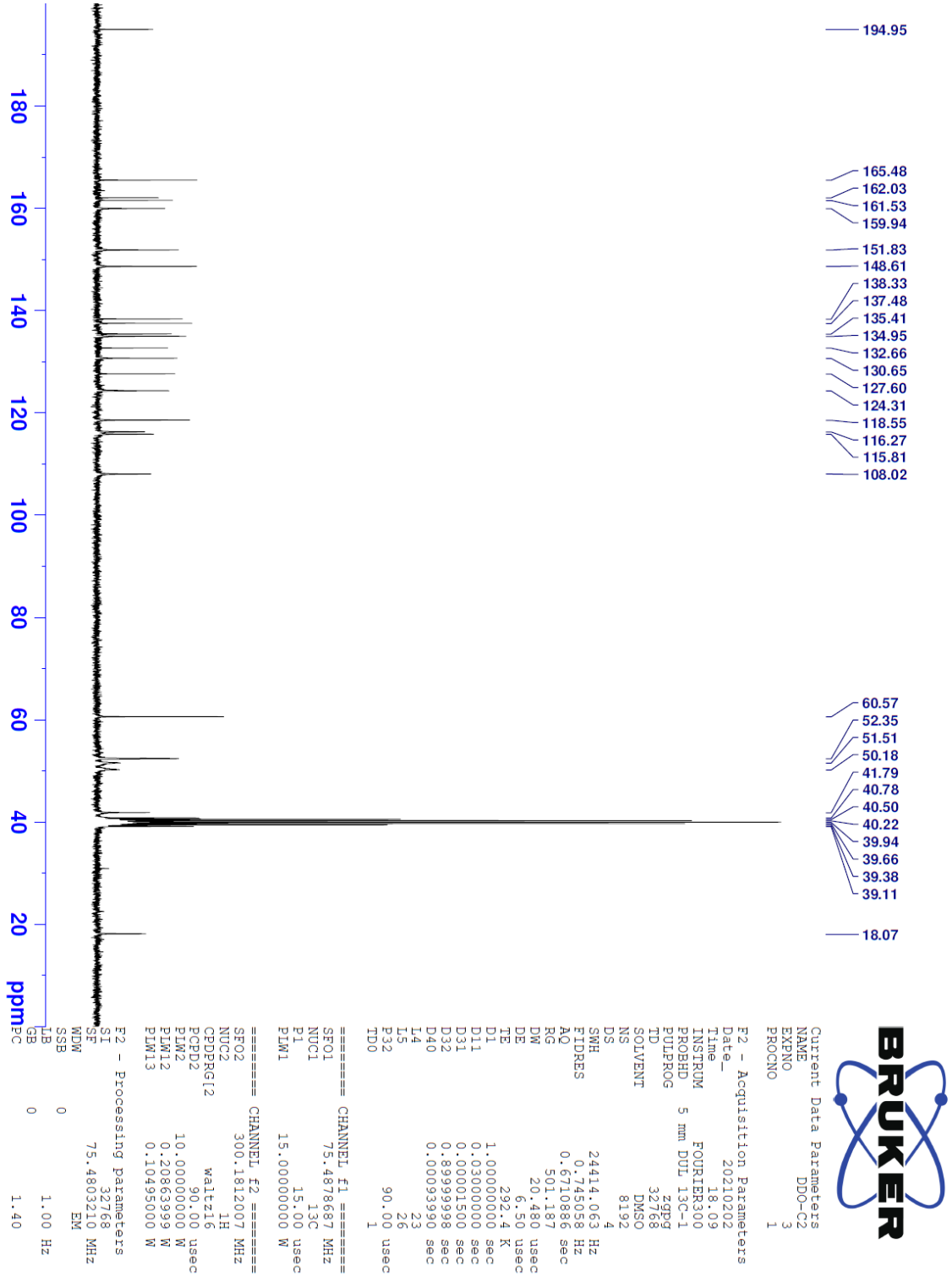
DOPNALAB

	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 13:07:29
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-C2.1.ispd
	Spectrum name	DDO-C2.1
	Sample name	DDO-C2
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel

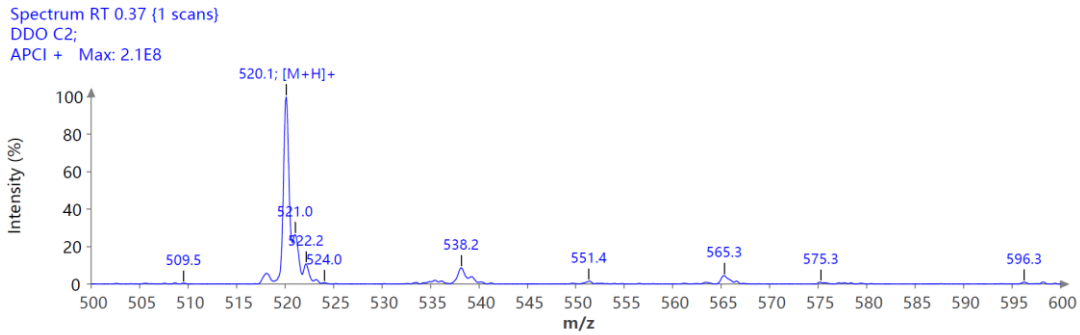


Şekil 5.62. *Bileşik **7b**'ye ait IR spektrumu*

Şekil 5.63. *Bileşik **7b**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

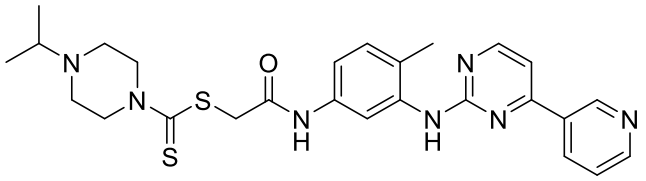


Şekil 5.64. *Bileşik **7b**'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu*



Şekil 5.65. *Bileşik **7b**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.18. 2-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]amino]-2-oksoetil 4-izopropilpiperazin-1-karboditiyoat (7c)



Şekil 5.66. *2-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]amino]-2-oksoetil 4-izopropilpiperazin-1-karboditiyoat (**7c**)*

Yöntem G'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 129.0-130.4 ^{o}C. Verim: %83.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3383 (N-H gerilim bandı), 2968 (C-H gerilim bandı), 1683 (C=O gerilim bandı).

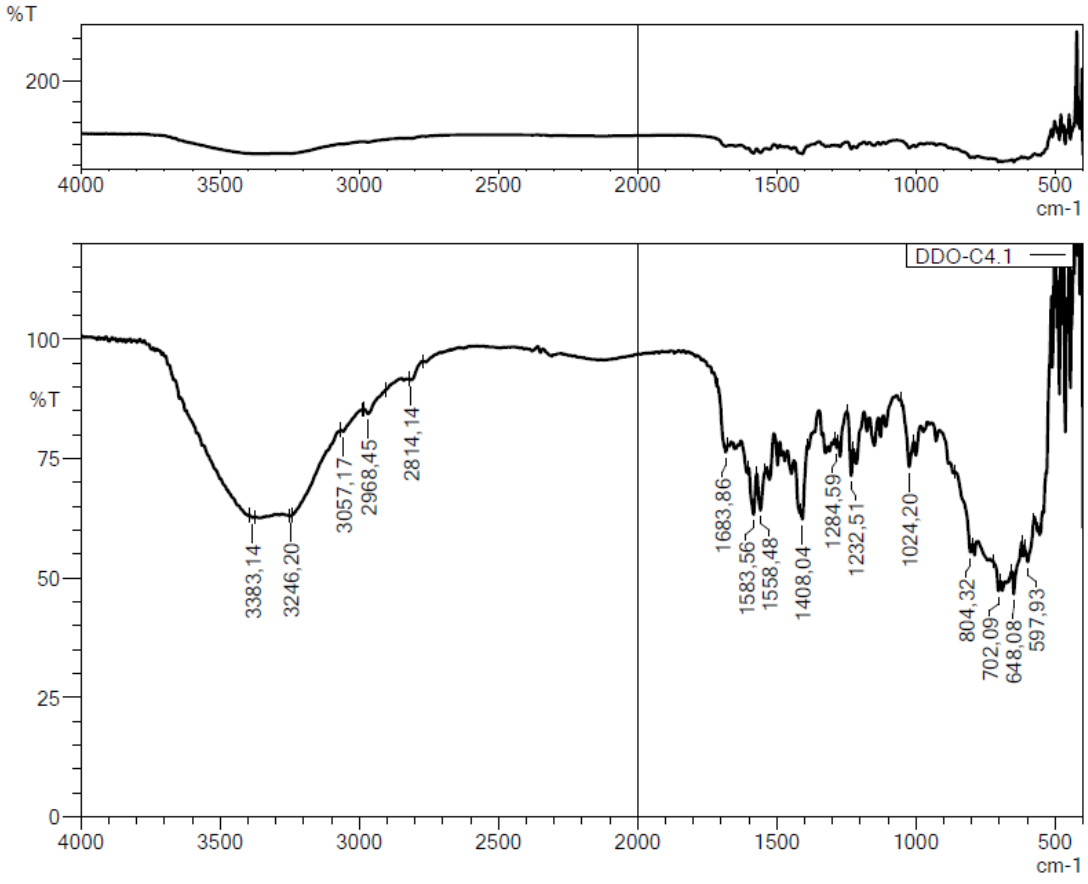
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 0.97 (6H, d, *J*=6.5 Hz, -CH_3), 2.19 (3H, s, -CH_3), 2.51-2.53 (4H, m, piperazin), 2.65-2.74 (1H, m, -CH-), 3.92 (2H, y, piperazin), 4.19 (2H, y, piperazin), 4.24 (2H, s, -CH_2-), 7.15 (1H, d, *J*=8.4 Hz, Benzen-H), 7.28 (1H, dd, J_1=2.1 Hz, J_2=8.2 Hz, Benzen-H), 7.43 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.52 (1H, ddd, J_1=0.7 Hz, J_2=4.8 Hz, J_3=8.0 Hz, Piridin-H), 7.88 (1H, d, *J*=2.0 Hz, Benzen-H), 8.46 (1H, dt, J_1=1.8 Hz, J_2=8.2 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.1 Hz, Pirimidin-H), 8.69 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 8.94 (1H, s, -NH), 9.25 (1H, d, *J*=1.6 Hz, Piridin-H), 10.22 (1H, s, -NH)

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.06, 18.56, 30.88, 41.75, 48.20, 48.36, 53.93, 108.01, 115.83, 116.26, 124.31, 127.59, 130.65, 132.67, 134.95, 137.47, 138.34, 148.62, 151.83, 159.94, 161.55, 162.05, 165.51, 194.61.

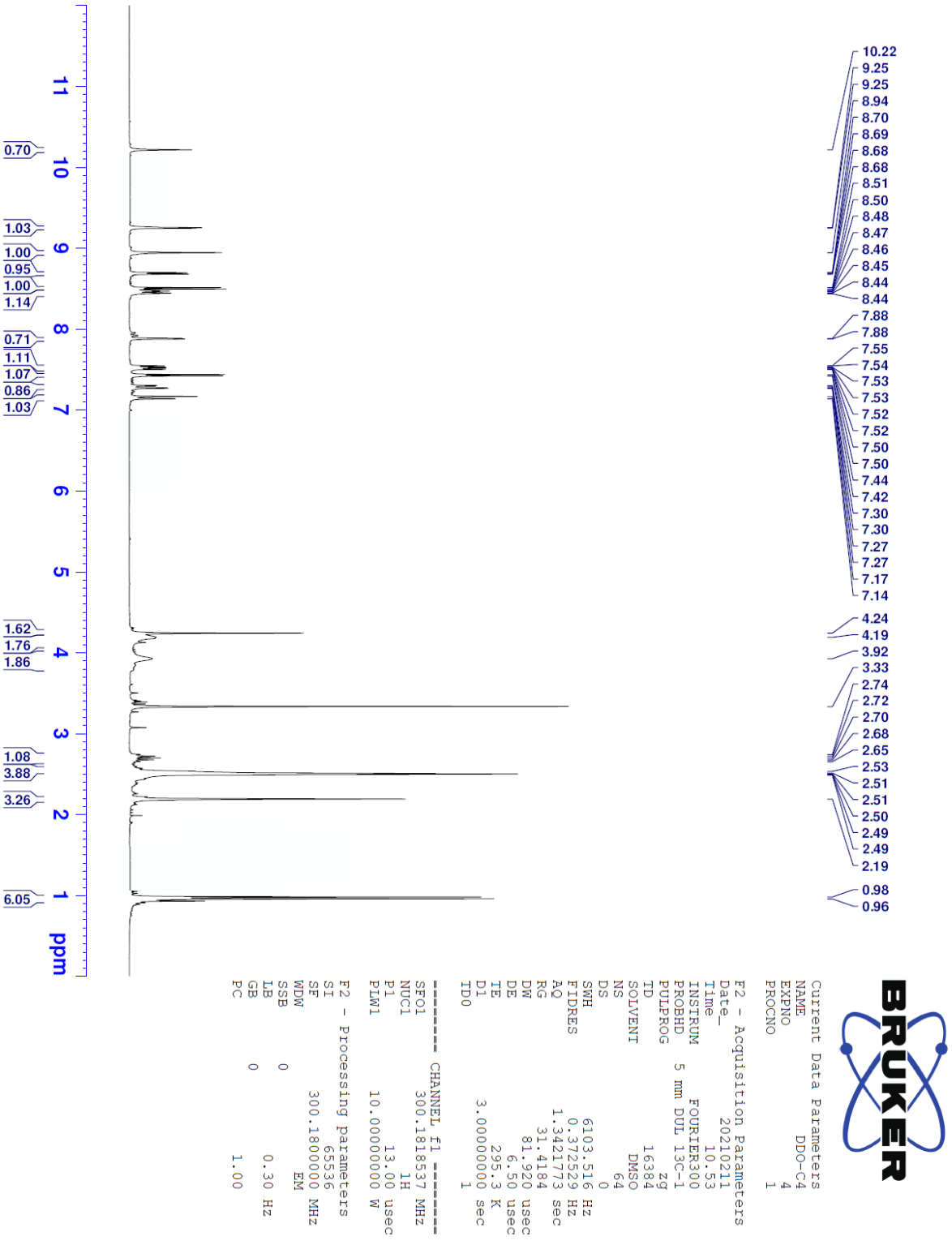
APCI-MS (-m/z): [M+H] $^{+}$: 522.2

DOPNALAB

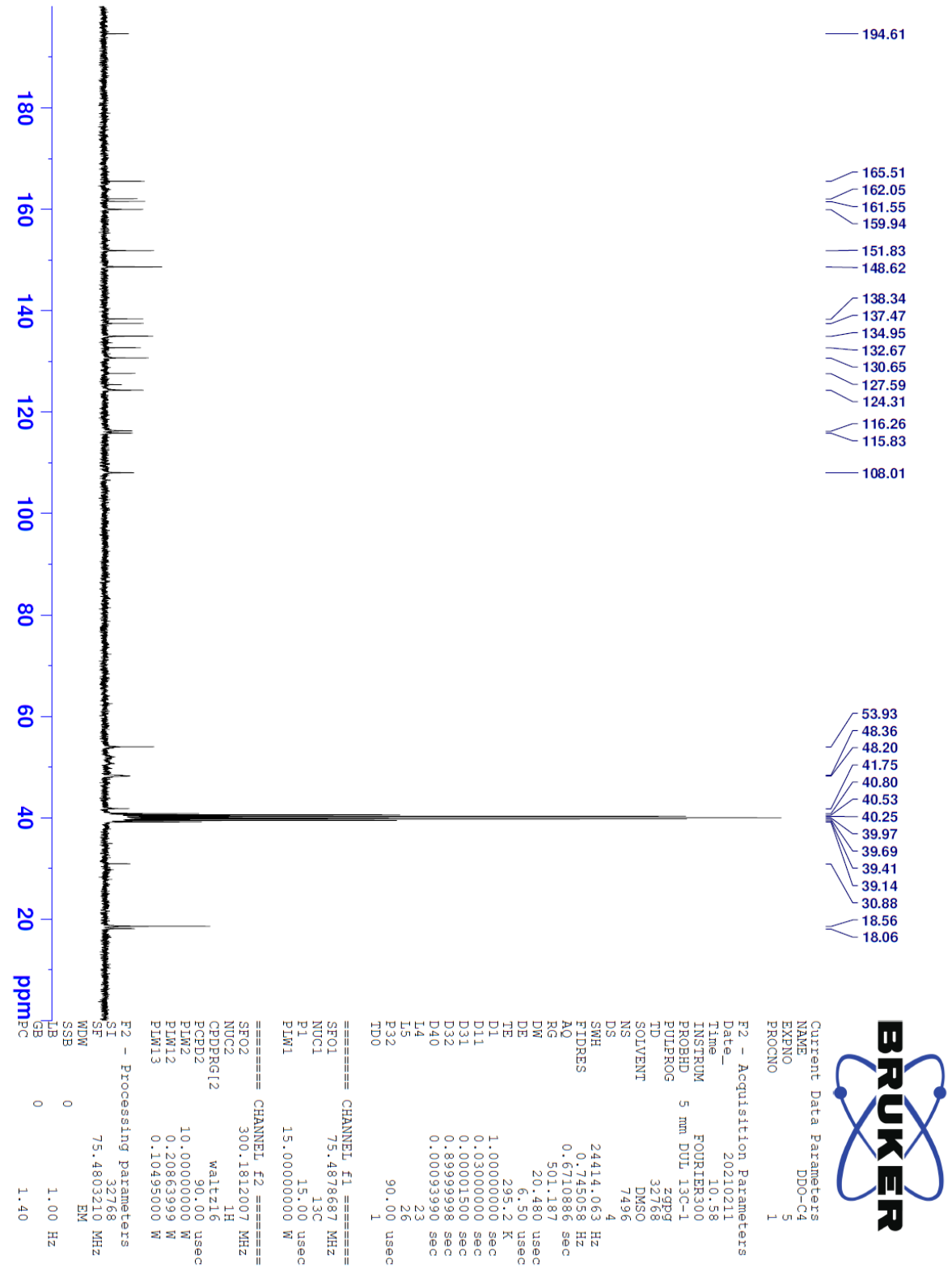
	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 13:12:24
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-C4.1.ispd
	Spectrum name	DDO-C4.1
	Sample name	DDO-C4
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel



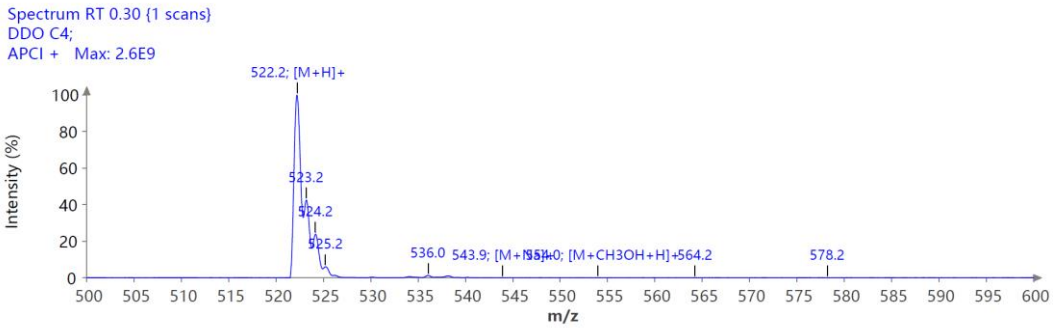
Şekil 5.67. *Bileşik **7c**'ye ait IR spektrumu*



Şekil 5.68. *Bileşik **7c**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

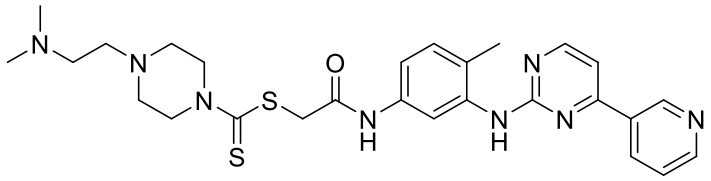


Şekil 5.69. *Bileşik **7c**'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu*



Şekil 5.70. *Bileşik **7c**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.19. 2-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]amino]-2-oksoetil 4-[2-(dimetilamino)etil]piperazin-1-karboditiyoat (7d)



Şekil 5.71. *2-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]amino]-2-oksoetil 4-[2-(dimetilamino)etil]piperazin-1-karboditiyoat (**7d**)*

Yöntem G'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 116.5-118.4 ^{o}C. Verim: %80.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3280 (N-H gerilim bandı), 2960 (C-H gerilim bandı), 1662 (C=O gerilim bandı).

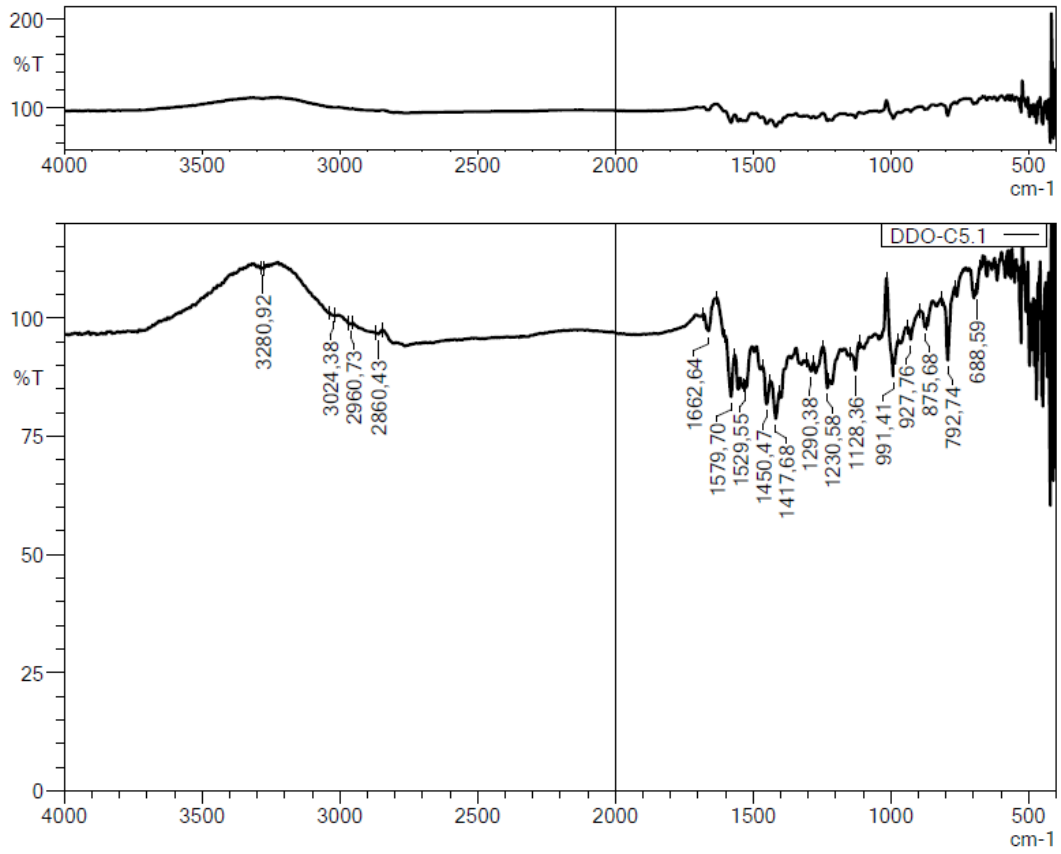
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 2.13 (6H, s, -CH_3), 2.19 (3H, s, -CH_3), 2.34-2.36 (2H, m, -CH_2-), 2.40-2.42 (2H, m, -CH_2-), 2.48-2.49 (4H, m, piperazin), 3.93 (2H, y, piperazin), 4.19 (2H, y, piperazin), 4.24 (2H, s, -CH_2-), 7.15 (1H, d, *J*=8.4 Hz, Benzen-H), 7.28 (1H, dd, J_1=2.0 Hz, J_2=8.2 Hz, Benzen-H), 7.43 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.52 (1H, ddd, J_1=0.6 Hz, J_2=4.8 Hz, J_3=8.0 Hz, Piridin-H), 7.88 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Benzen-H), 8.46 (1H, dt, J_1=1.8 Hz, J_2=8.2 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.1 Hz, Pirimidin-H), 8.69 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.8 Hz, Piridin-H), 8.96 (1H, s, -NH), 9.25 (1H, dd, J_1=0.6 Hz, J_2=2.2 Hz, Piridin-H), 10.23 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.07, 41.77, 45.99, 50.23, 51.52, 52.91, 55.49, 57.03, 108.01, 115.80, 116.25, 124.32, 127.59, 130.65, 132.66, 134.95, 137.47, 138.33, 148.62, 151.84, 159.95, 161.53, 162.03, 165.49, 194.76.

APCI-MS (-m/z): [M+H] $^{+}$: 551.2

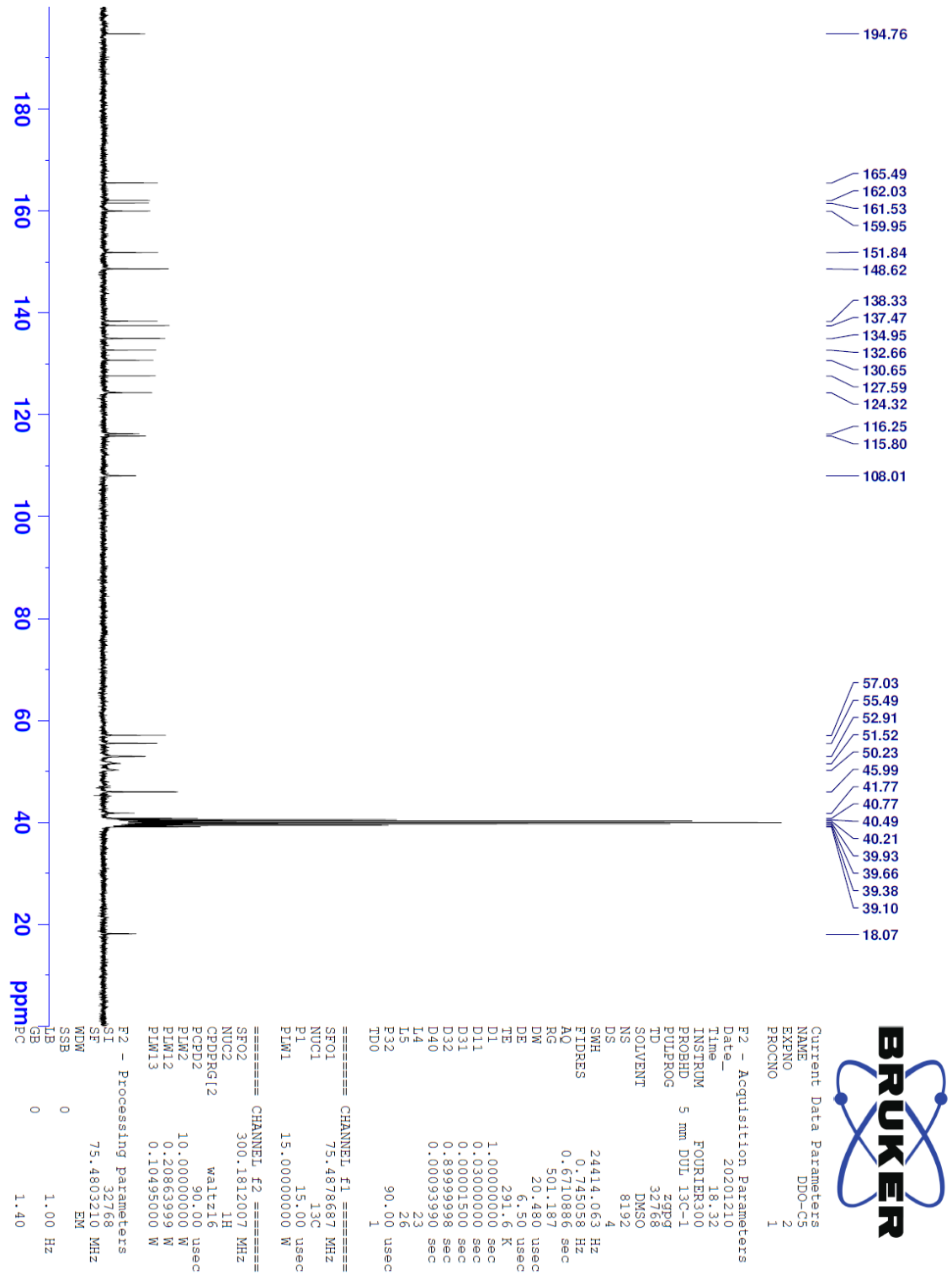
DOPNALAB

	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 13:20:25
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-C5.1.ispd
	Spectrum name	DDO-C5.1
	Sample name	DDO-C5
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel

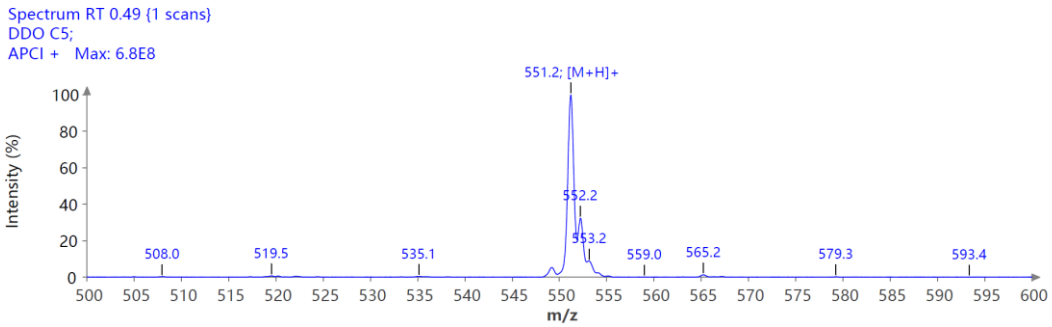


Şekil 5.72. *Bileşik **7d**'ye ait IR spektrumu*

Şekil 5.73. *Bileşik **7d**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

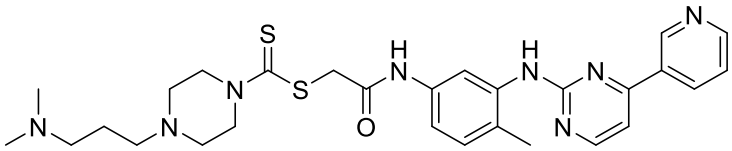


Şekil 5.74. *Bileşik **7d**'ye ait* ^{13}*C-NMR spektrumu*



Şekil 5.75. *Bileşik **7d**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.20. 2-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]amino]-2-oksoetil 4-[3-(dimetilamino)propil]piperazin-1-karboditiyoat (7e)



Şekil 5.76. *2-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]amino]-2-oksoetil 4-[3-(dimetilamino)propil]piperazin-1-karboditiyoat (**7e**)*

Yöntem G'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 154.2-156.1 ^{o}C. Verim: %78.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3280 (N-H gerilim bandı), 2960 (C-H gerilim bandı), 1662 (C=O gerilim bandı).

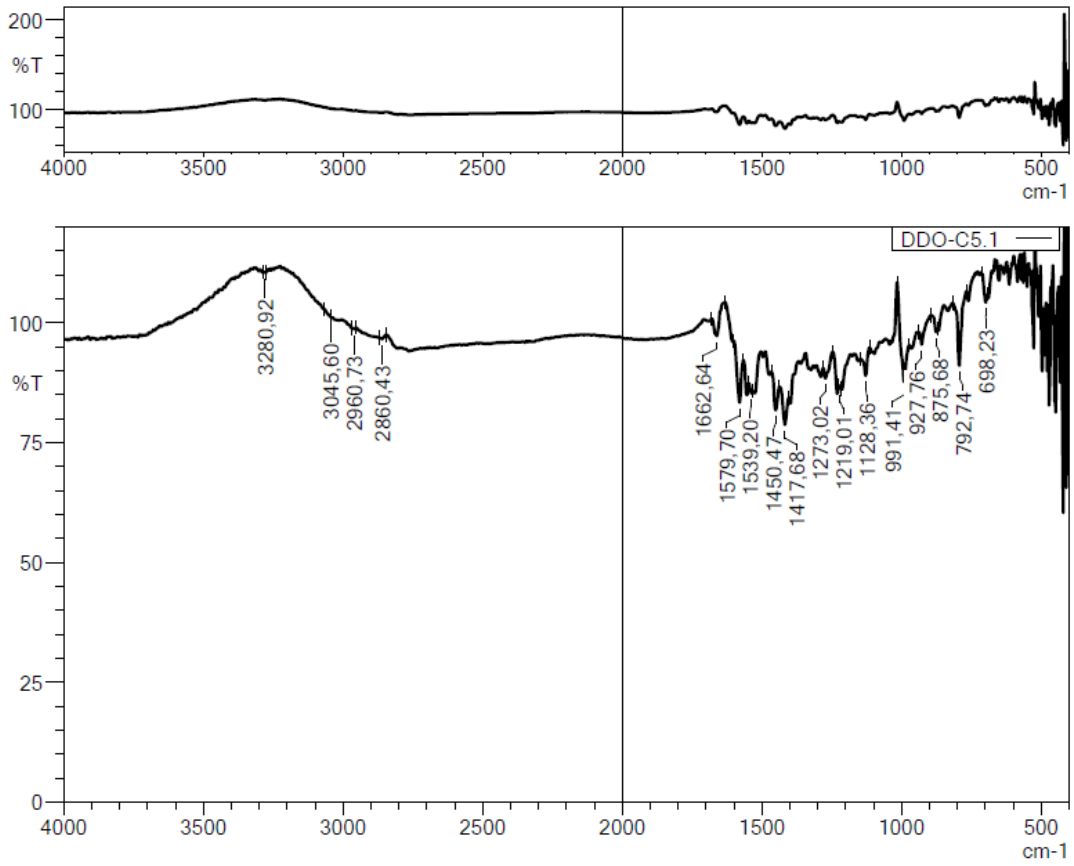
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 1.57-1.62 (2H, m, -CH_2-), 2.19 (3H, s, -CH_3), 2.21 (6H, s, -CH_3), 2.30-2.35 (4H, m, -CH_2-), 2.45 (4H, y, piperazin), 3.94 (2H, y, piperazin), 4.21 (2H, y, piperazin), 4.24 (2H, s, -CH_2-), 7.15 (1H, d, *J*=8.3 Hz, Benzen-H), 7.28 (1H, dd, J_1=1.7 Hz, J_2=8.2 Hz, Benzen-H), 7.43 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.52 (1H, ddd, J_1=0.7 Hz, J_2=4.8 Hz, J_3=7.8 Hz, Piridin-H), 7.88 (1H, d, *J*=1.3 Hz, Benzen-H), 8.46 (1H, dt, J_1=1.9 Hz, J_2=8.2 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.1 Hz, Pirimidin-H), 8.69 (1H, dd, J_1=1.3 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 8.96 (1H, s, -NH), 9.25 (1H, d, *J*=1.5 Hz, Piridin-H), 10.25 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.11, 24.25, 30.87, 41.75, 45.11, 52.64, 55.54, 57.27, 108.01, 115.80, 124.32, 125.39, 127.60, 130.66, 132.66, 134.96, 137.47, 138.33, 148.61, 151.84, 159.95, 161.53, 162.03, 165.49, 194.80.

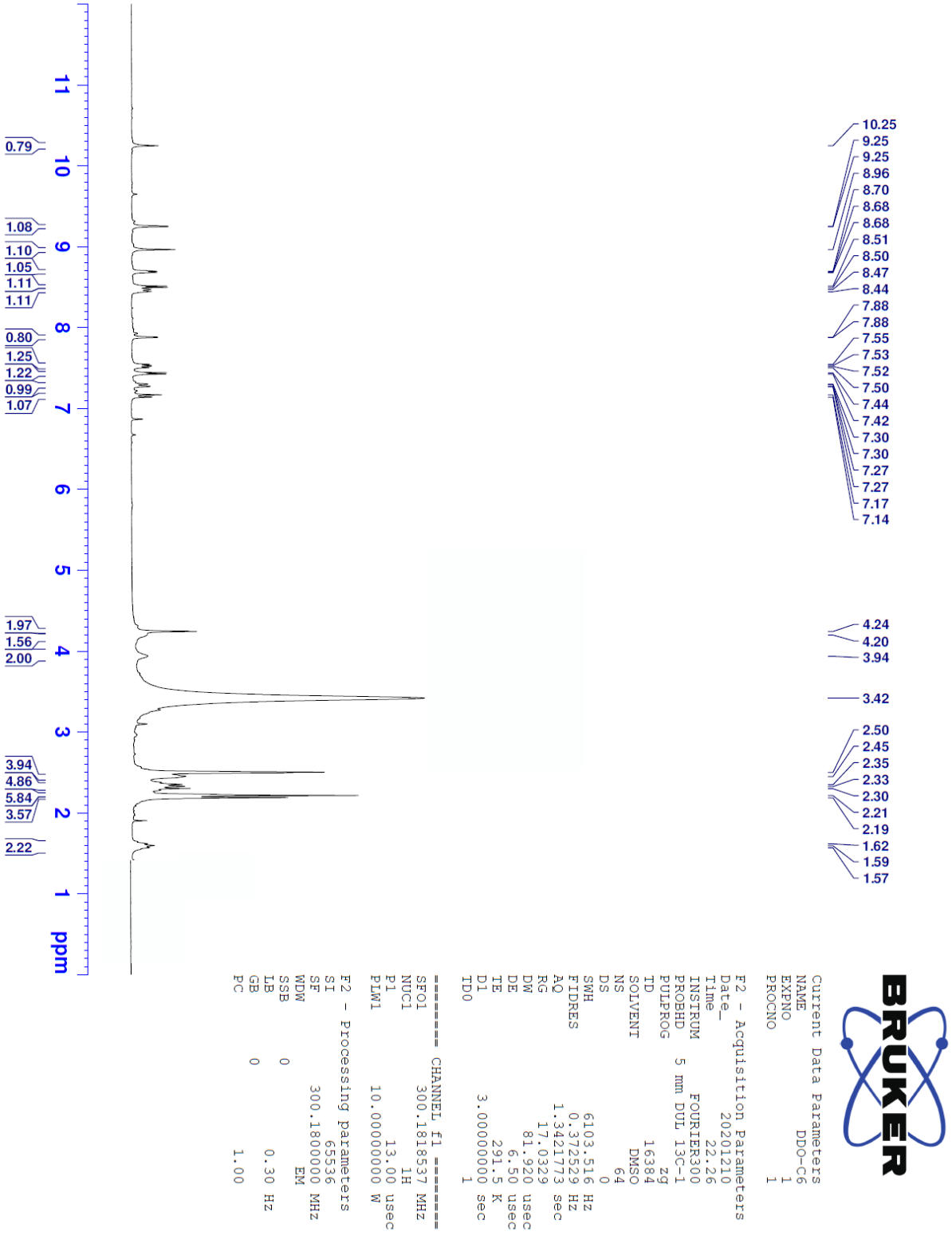
APCI-MS (-m/z): [M+H] $^{+}$: 565.2

DOPNALAB

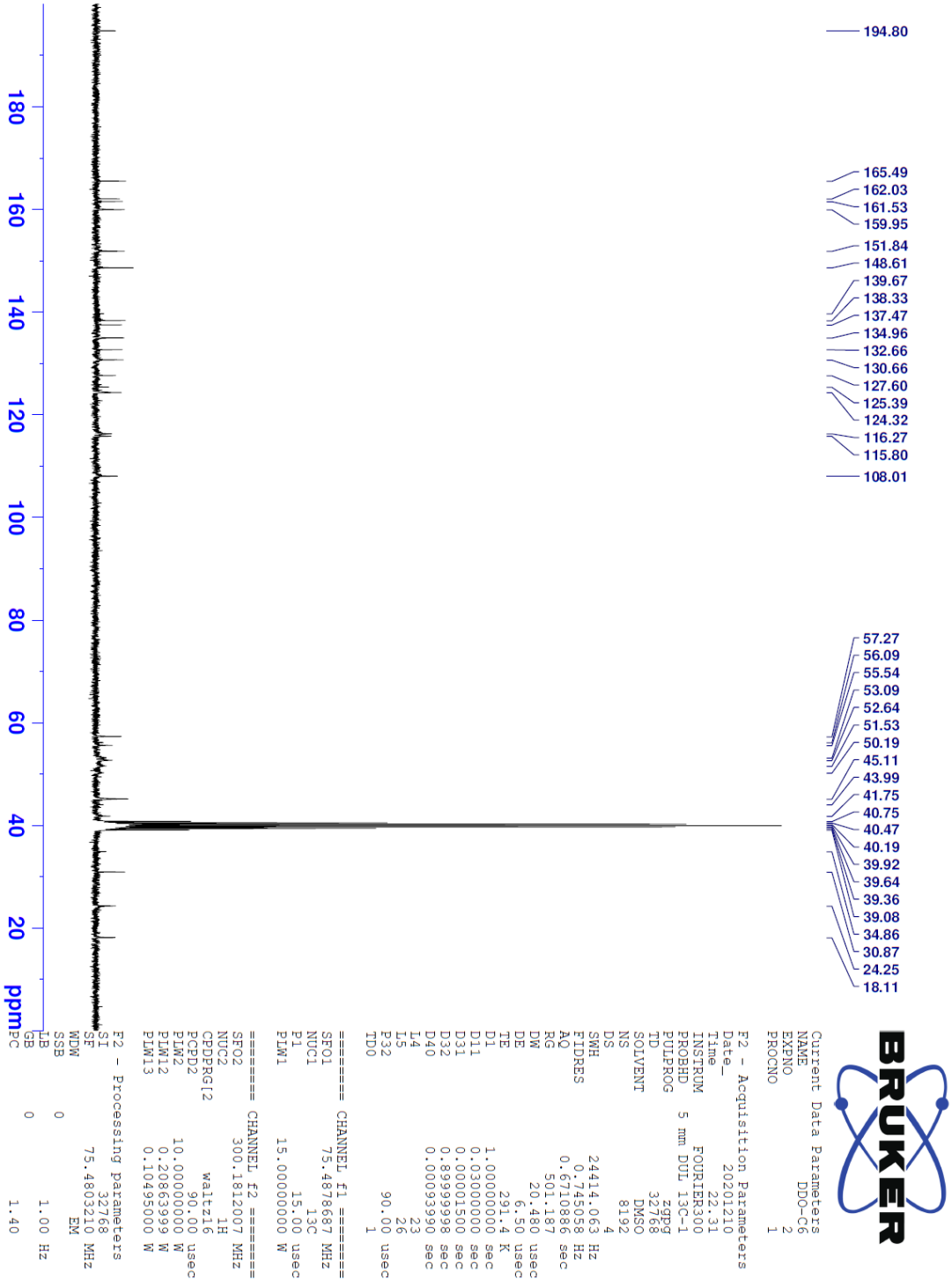
	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 13:20:25
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-C5.1.ispd
	Spectrum name	DDO-C5.1
	Sample name	DDO-C5
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel



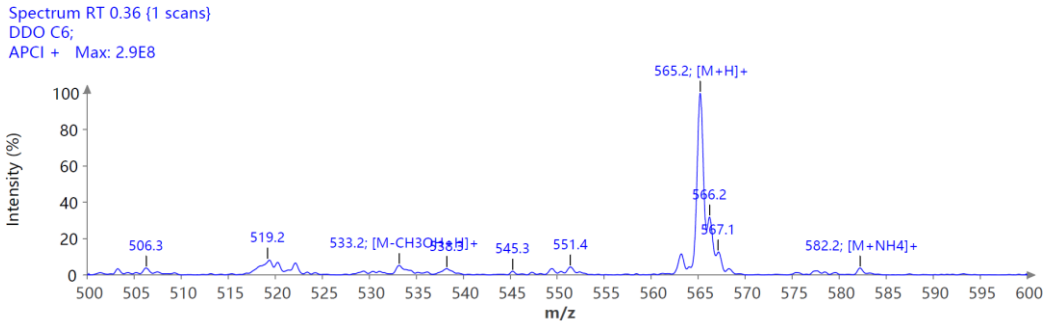
Şekil 5.77. *Bileşik **7e**'ye ait IR spektrumu*



Şekil 5.78. *Bileşik **7e**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

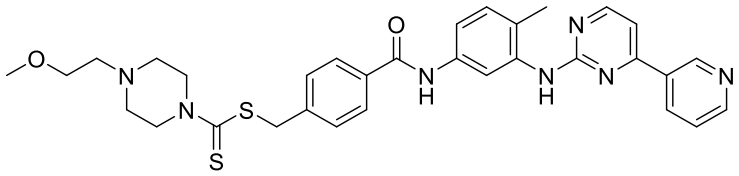


Şekil 5.79. *Bileşik **7e**'ye ait* ^{13}*C-NMR spektrumu*



Şekil 5.80. *Bileşik **7e**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.21. 4-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]karbamoil]benzil 4-(2-metoksietil)piperazin-1-karboditiyoat (7f)



Şekil 5.81. *4-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]karbamoil]benzil 4-(2-metoksietil)piperazin-1-karboditiyoat (**7f**)*

Yöntem G'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 142.7-144.0 ^{o}C. Verim: %79.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3360 (N-H gerilim bandı), 2956 (C-H gerilim bandı), 1579 (C=O gerilim bandı), 1045 (C-O gerilim bandı).

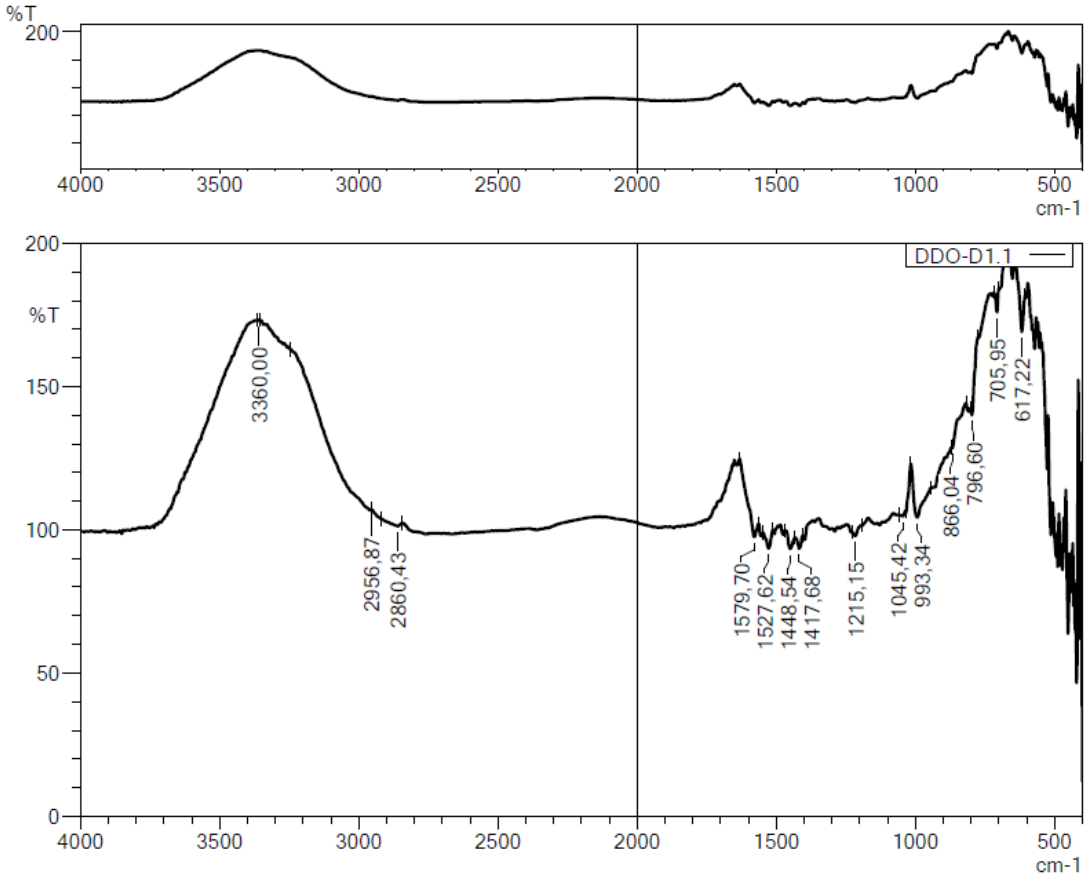
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 2.22 (3H, s, -CH_3), 2.49-2.50 (4H, m, piperazin), 2.53 (2H, y, -CH_2-), 3.22 (3H, s, -OCH_3), 3.43 (2H, t, *J*=5.7 Hz, -CH_2-), 3.89 (2H, y, piperazin), 4.23 (2H, y, piperazin), 4.63 (2H, s, -CH_2-), 7.20 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Benzen-H), 7.43 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.45-7.49 (2H, m, Benzen-H ve Piridin-H), 7.53 (2H, d, *J*=8.2 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen), 7.89 (2H, d, *J*=8.3 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen), 8.08 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Benzen-H), 8.47 (1H, dt, J_1=1.9 Hz, J_2=8.2 Hz, Piridin-H), 8.51 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 8.99 (1H, s, -NH), 9.27 (1H, d, *J*=1.7 Hz, Piridin-H), 10.19 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.12, 29.70, 50.13, 51.59, 52.95, 56.76, 58.46, 70.27, 107.97, 117.13, 117.62, 124.26, 128.09, 128.24, 129.58, 130.51, 132.66, 134.52, 134.89, 140.69, 148.67, 151.87, 159.96, 161.62, 162.05, 165.52, 194.53.

APCI-MS (-m/z): [M+H] $^{+}$: 614.2

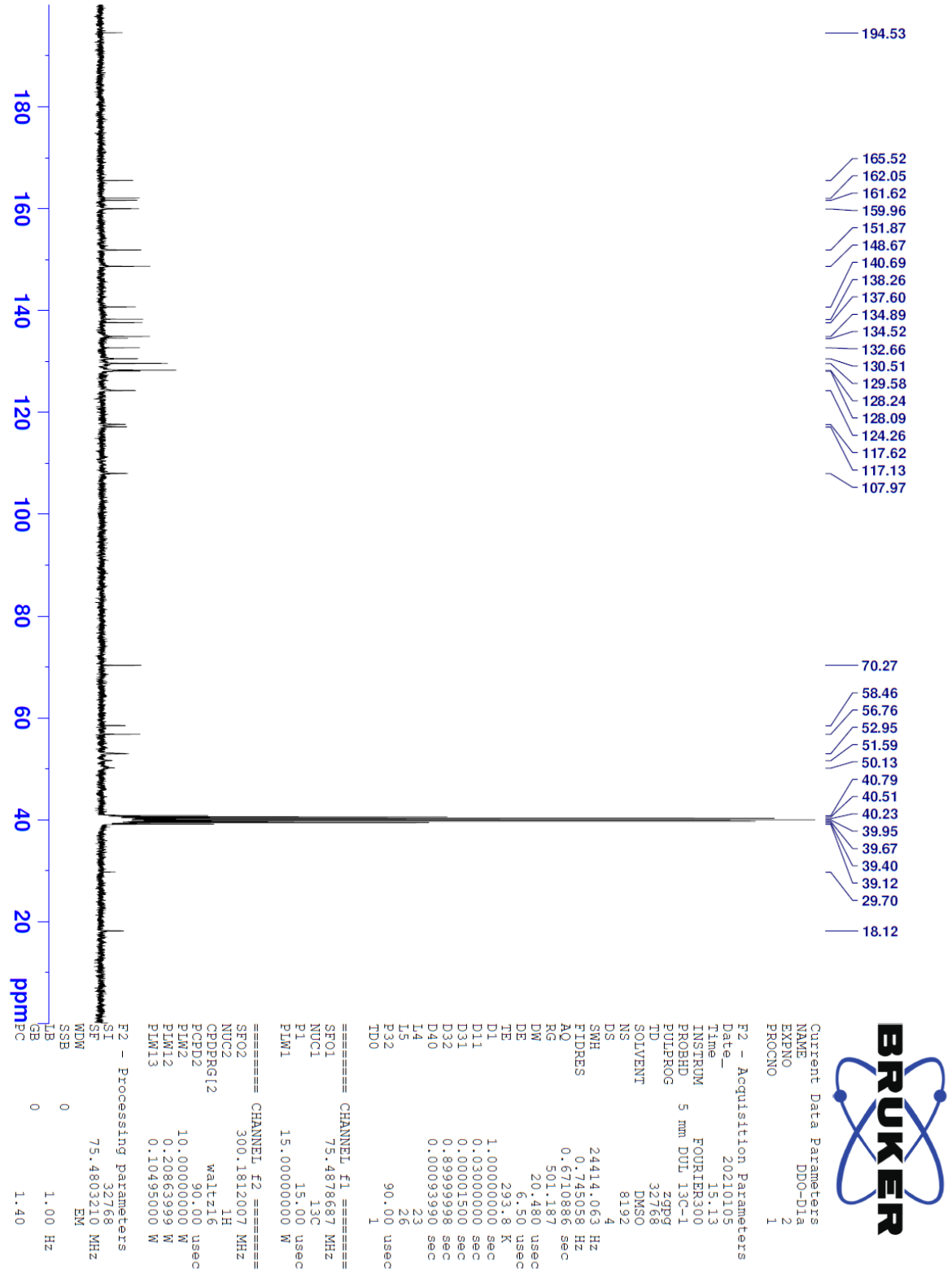
DOPNALAB

	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 13:25:36
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-D1.1.ispd
	Spectrum name	DDO-D1.1
	Sample name	DDO-D1
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel

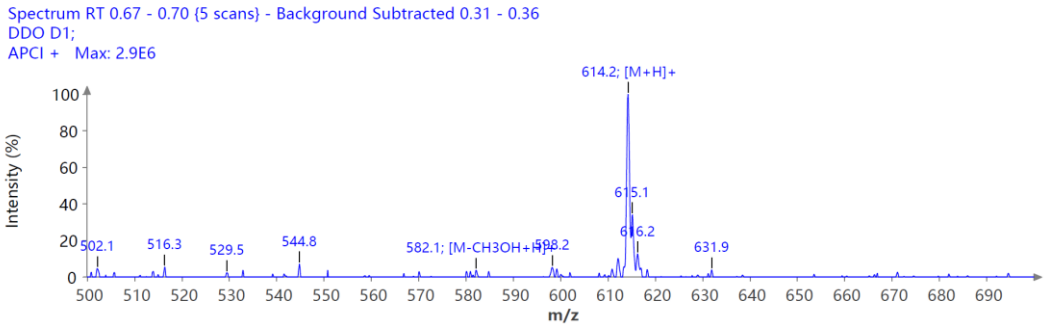


Şekil 5.82. *Bileşik **7f**'ye ait IR spektrumu*

Şekil 5.83. *Bileşik **7f**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

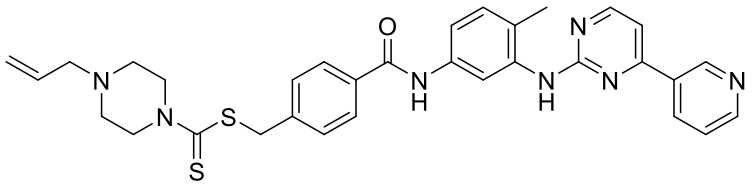


Şekil 5.84. *Bileşik **7f**'ye ait* ^{13}*C-NMR spektrumu*



Şekil 5.85. *Bileşik **7f**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.22. 4-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]karbamoil]benzil 4-allilpiperazin-1-karboditiyoat (7g)



Şekil 5.86. *4-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]karbamoil]benzil 4-allilpiperazin-1-karboditiyoat (**7g**)*

Yöntem G'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 115.6-117.0 ºC. Verim: %81.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3360 (N-H gerilim bandı), 2980 (C-H gerilim bandı), 1635 (C=O gerilim bandı).

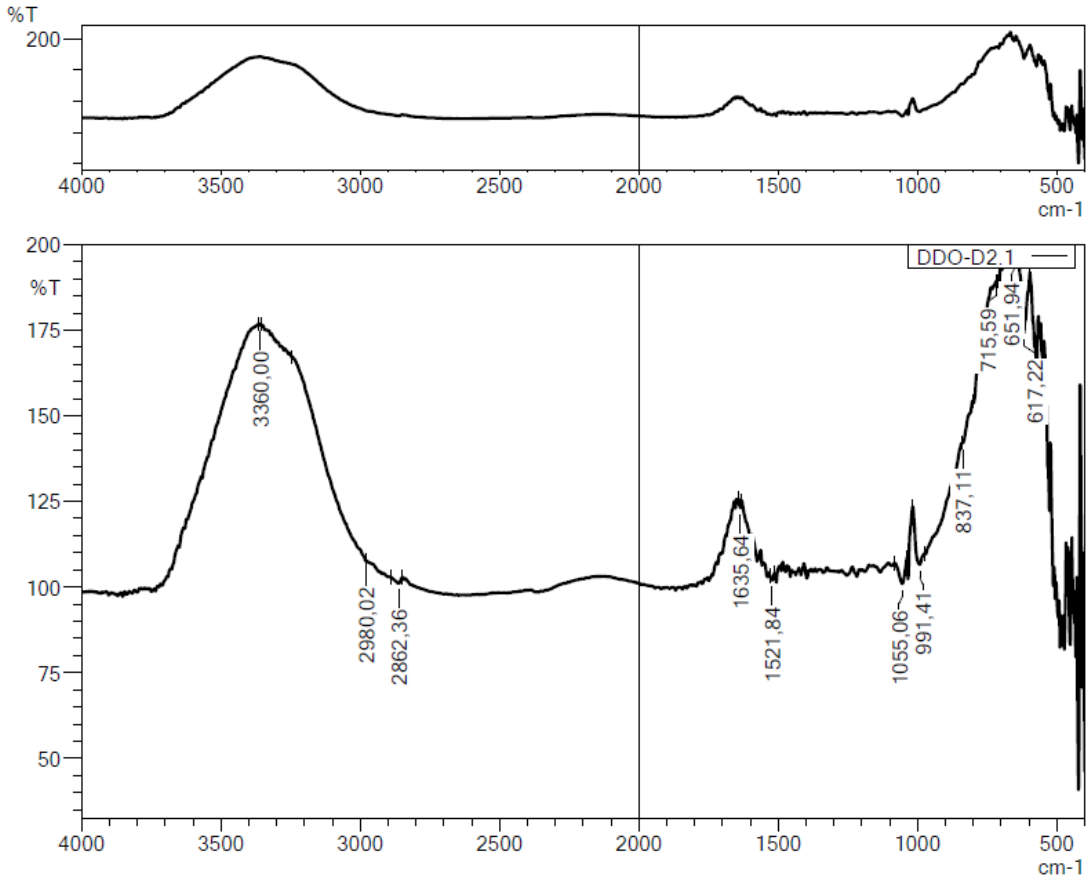
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 2.22 (3H, s, -CH_3), 2.43 (4H, y, piperazin), 2.97 (2H, d, *J*=6.4 Hz, Allil-CH_2), 3.90 (2H, y, piperazin), 4.24 (2H, y, piperazin), 4.62 (2H, s, -CH_2), 5.12-5.22 (2H, m, Allil-CH_2), 5.74-5.85 (1H, m, Allil-CH), 7.20 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Benzen-H), 7.43 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.46-7.51 (2H, m, Benzen-H ve Piridin-H), 7.53 (2H, d, *J*=8.2 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen), 7.89 (2H, d, *J*=8.3 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen), 8.08 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Benzen-H), 8.47 (1H, dt, J_1=1.9 Hz, J_2=8.3 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 9.00 (1H, s, -NH), 9.27 (1H, d, *J*=1.6 Hz, Piridin-H), 10.26 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.16, 29.70, 40.57, 50.16, 51.55, 52.37, 60.54, 107.96, 117.15, 117.60, 118.54, 124.26, 128.07, 128.26, 129.58, 130.49, 132.65, 134.52, 134.89, 135.39, 137.63, 138.25, 140.65, 148.66, 151.86, 159.95, 161.62, 162.04, 165.52, 194.68.

APCI-MS (-m/z): [M+H] $^{+}$: 596.2

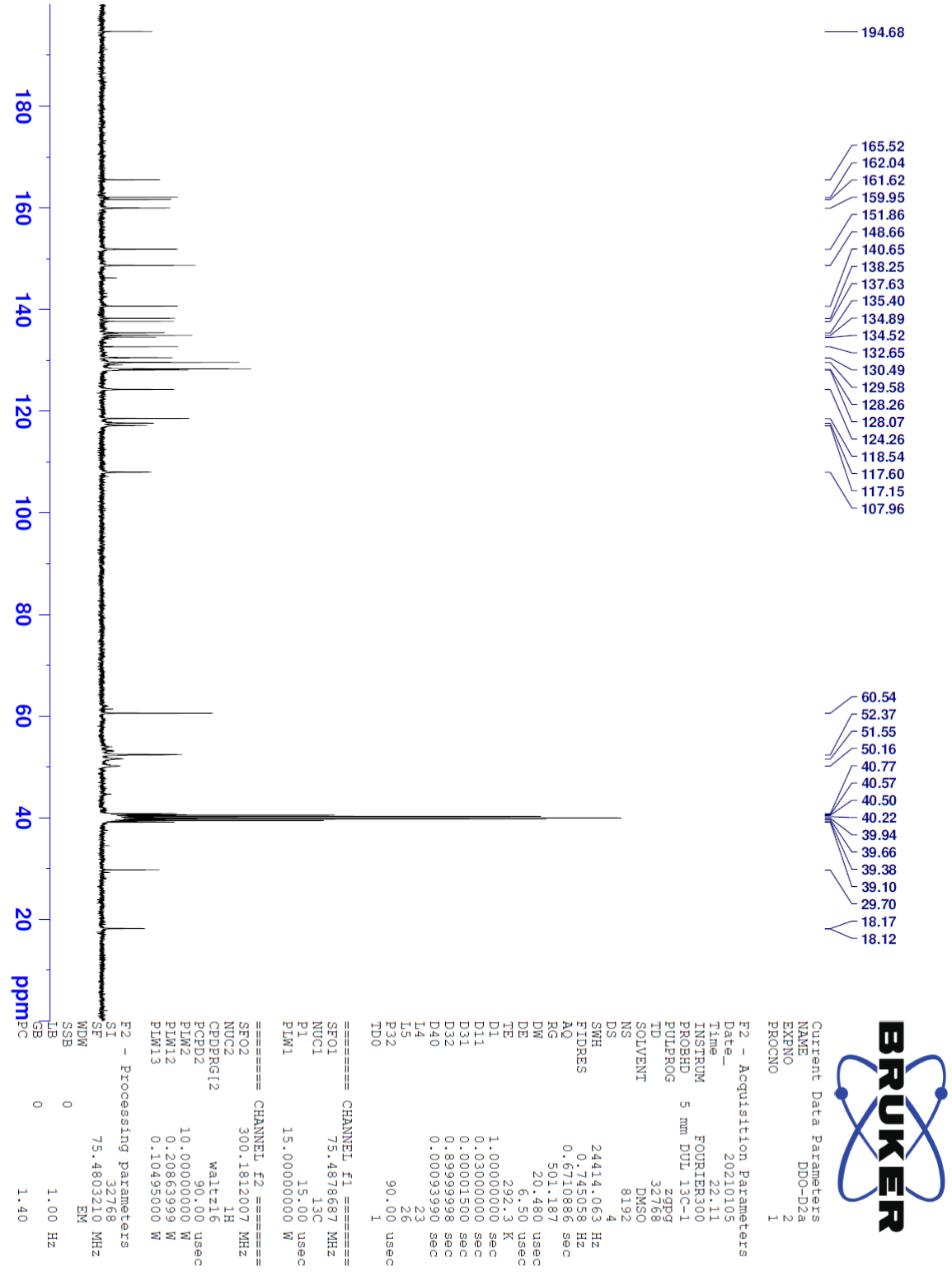
DOPNALAB

	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 13:31:52
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-D2.1.ispd
	Spectrum name	DDO-D2.1
	Sample name	DDO-D2
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel

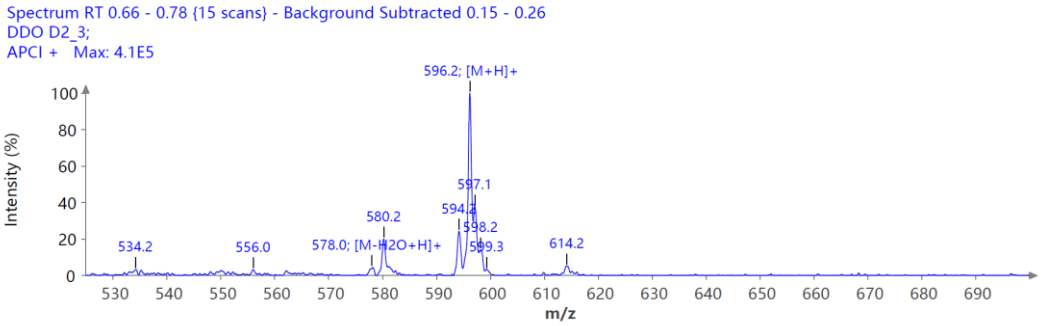


Şekil 5.87. *Bileşik **7g**'ye ait IR spektrumu*

Şekil 5.88. *Bileşik **7g**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

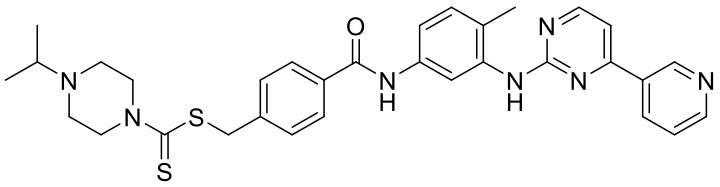


Şekil 5.89. *Bileşik **7g**'ye ait* ^{13}*C-NMR spektrumu*



Şekil 5.90. *Bileşik **7g**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.23. 4-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]karbamoil]benzil 4-izopropilpiperazin-1-karboditiyoat (7h)



Şekil 5.91. *4-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]karbamoil]benzil 4-izopropilpiperazin-1-karboditiyoat (**7h**)*

Yöntem G'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 147.1-148.9 ºC. Verim: %85.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3292 (N-H gerilim bandı), 2966 (C-H gerilim bandı), 1668 (C=O gerilim bandı).

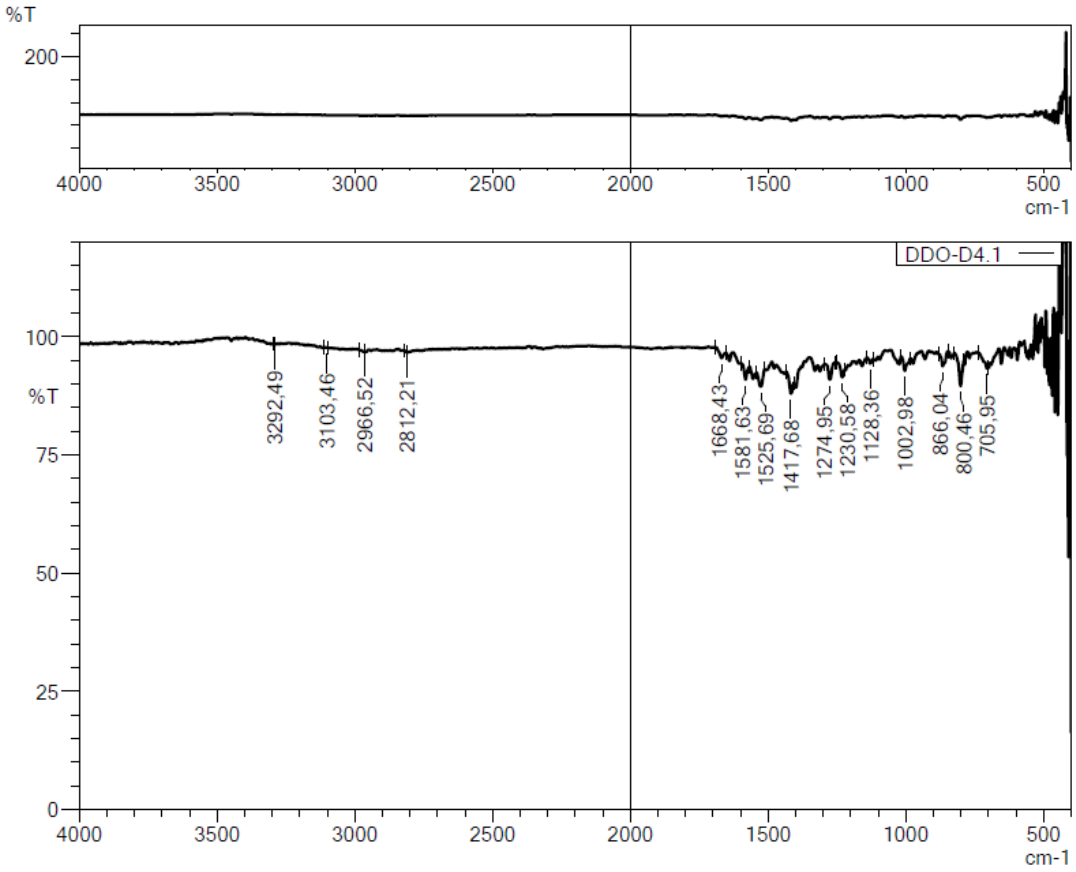
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 0.96 (6H, d, *J*=6.5 Hz, -CH_3), 2.22 (3H, s, -CH_3), 2.49-2.50 (4H, m, piperazin), 2.64-2.72 (1H, m, -CH-), 3.88 (2H, y, piperazin), 4.22 (2H, y, piperazin), 4.63 (2H, s, -CH_2-), 7.20 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Benzen-H), 7.43 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.46-7.51 (2H, m, Benzen-H ve Piridin-H), 7.53 (2H, d, *J*=8.2 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen), 7.89 (2H, d, *J*=8.3 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen), 8.08 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Benzen-H), 8.47 (1H, dt, J_1=1.9 Hz, J_2=8.3 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.6 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 9.00 (1H, s, -NH), 9.27 (1H, d, *J*=1.6 Hz, Piridin-H), 10.21 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.16, 18.55, 48.27, 50.59, 52.01, 53.91, 107.96, 117.12, 117.60, 124.26, 128.08, 128.24, 129.59, 130.51, 132.65, 134.51, 134.89, 137.60, 138.25, 140.71, 148.67, 151.87, 159.96, 161.61, 162.04, 165.52, 194.33.

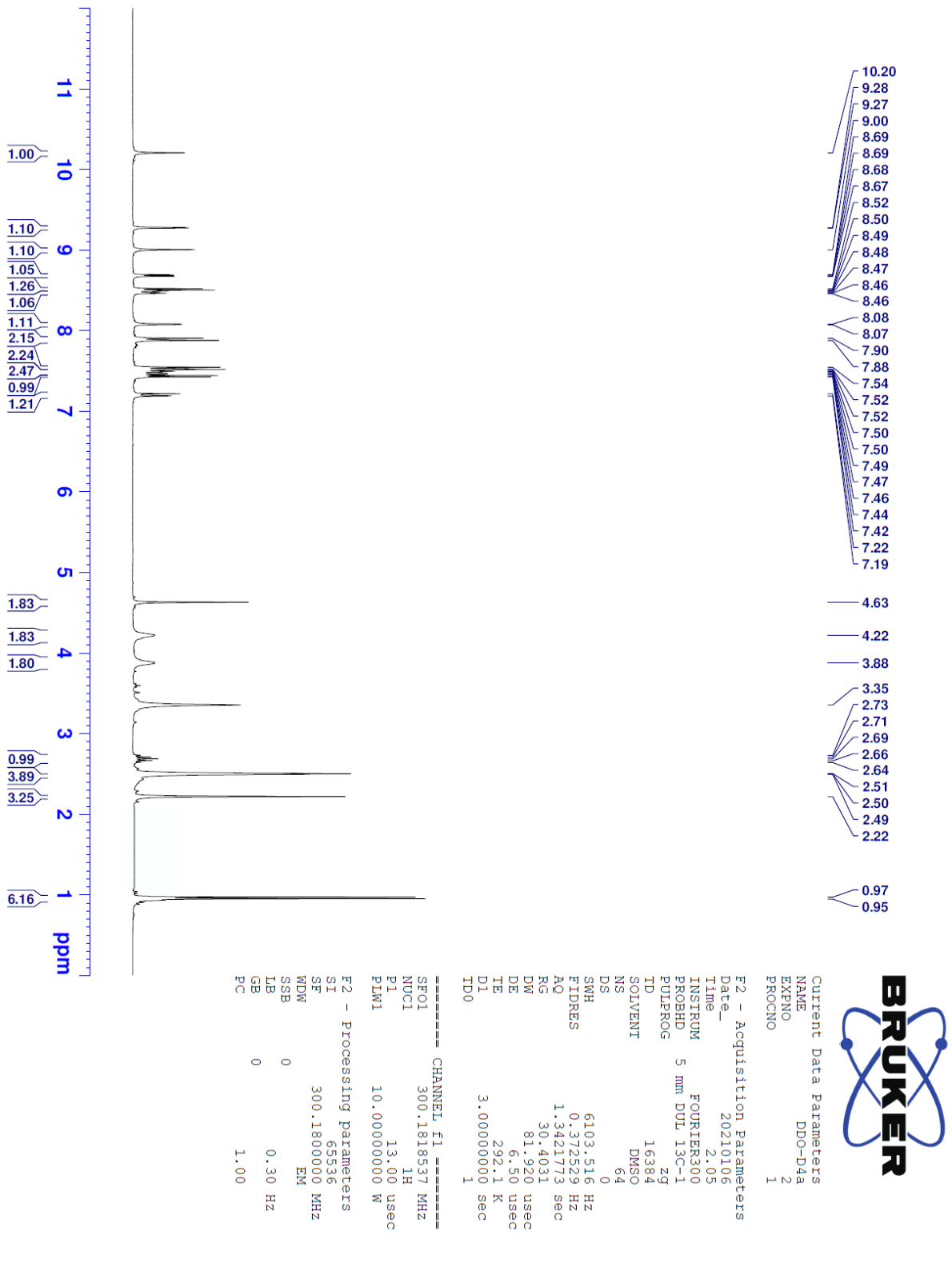
APCI-MS (-m/z): [M+H] $^{+}$: 598.2

DOPNALAB

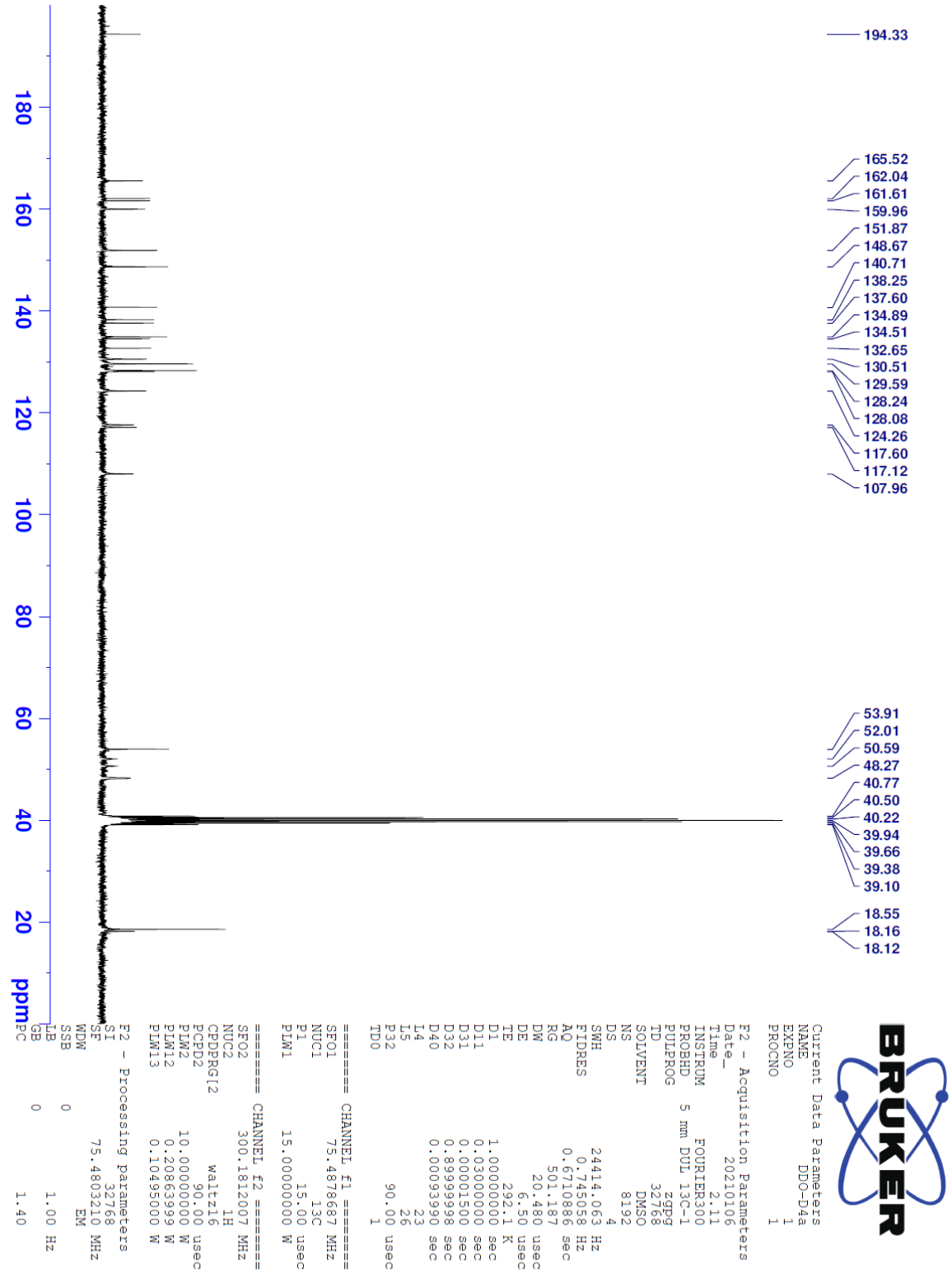
	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 13:38:28
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-D4.1.ispd
	Spectrum name	DDO-D4.1
	Sample name	DDO-D4
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel



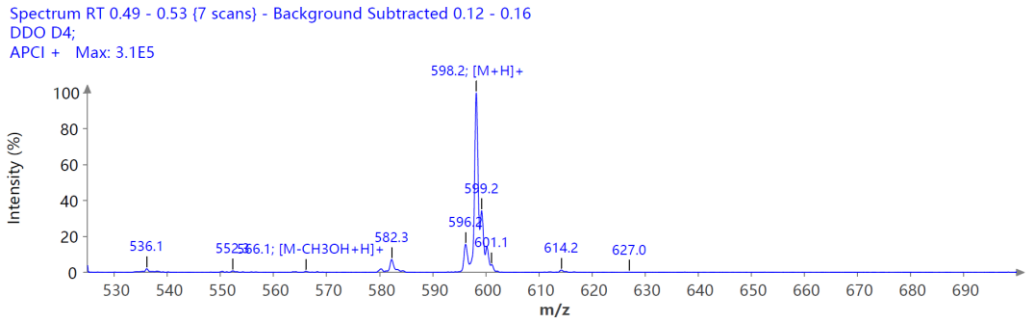
Şekil 5.92. *Bileşik **7h**'ye ait IR spektrumu*



Şekil 5.93. *Bileşik **7h**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

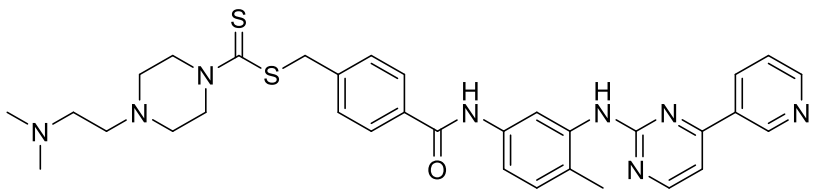


Şekil 5.94. *Bileşik **7h**'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu*



Şekil 5.95. *Bileşik **7h**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.24. 4-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]karbamoil]benzil 4-(2-(dimetilamino)etil]piperazin-1-karboditiyoat (7i)



Şekil 5.96. *4-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]karbamoil]benzil 4-(2-(dimetilamino)etil]piperazin-1-karboditiyoat (**7i**)*

Yöntem G'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 136.9-139.0 ^{o}C. Verim: %83.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3446 (N-H gerilim bandı), 2939 (C-H gerilim bandı), 1641 (C=O gerilim bandı).

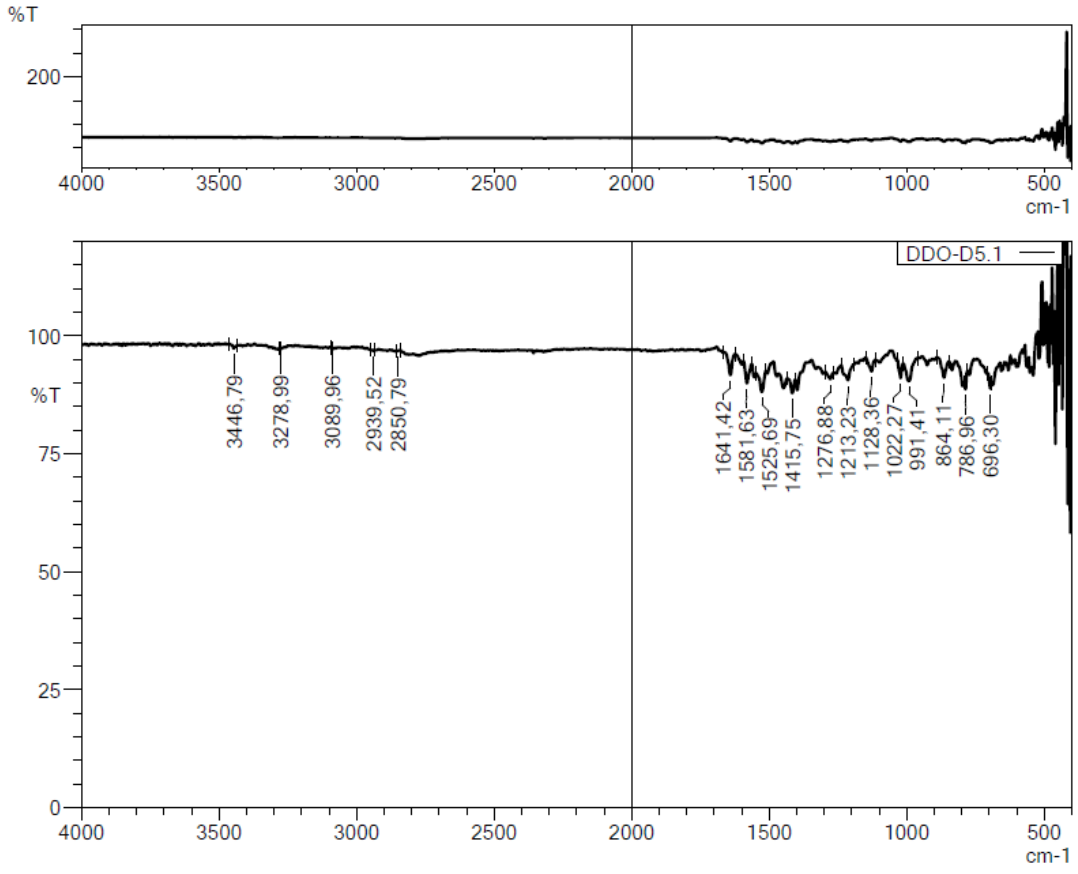
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ: 2.11 (6H, s, -CH_3), 2.22 (3H, s, -CH_3), 2.32-2.34 (2H, m, -CH_2-), 2.38-2.41 (2H, m, -CH_2-), 2.46-2.48 (4H, m, piperazin), 3.88 (2H, y, piperazin), 4.22 (2H, y, piperazin), 4.63 (2H, s, -CH_2-), 7.20 (1H, d, *J*=8.4 Hz, Benzen-H), 7.43 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.46-7.51 (2H, m, Benzen-H ve Piridin-H), 7.53 (2H, d, *J*=8.2 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen), 7.89 (2H, d, *J*=8.2 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen), 8.08 (1H, d, *J*=1.8 Hz, Benzen-H), 8.47 (1H, dt, J_1=1.9 Hz, J_2=8.1 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.5 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 9.00 (1H, s, -NH), 9.27 (1H, d, *J*=1.7 Hz, Piridin-H), 10.22 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ: 18.14, 45.96, 45.99, 50.17, 51.62, 52.94, 55.50, 57.06, 107.97, 117.12, 117.59, 124.26, 128.07, 128.25, 129.58, 130.51, 132.65, 134.52, 134.89, 137.61, 138.25, 140.68, 148.67, 151.86, 159.95, 161.61, 162.04, 165.52, 194.49.

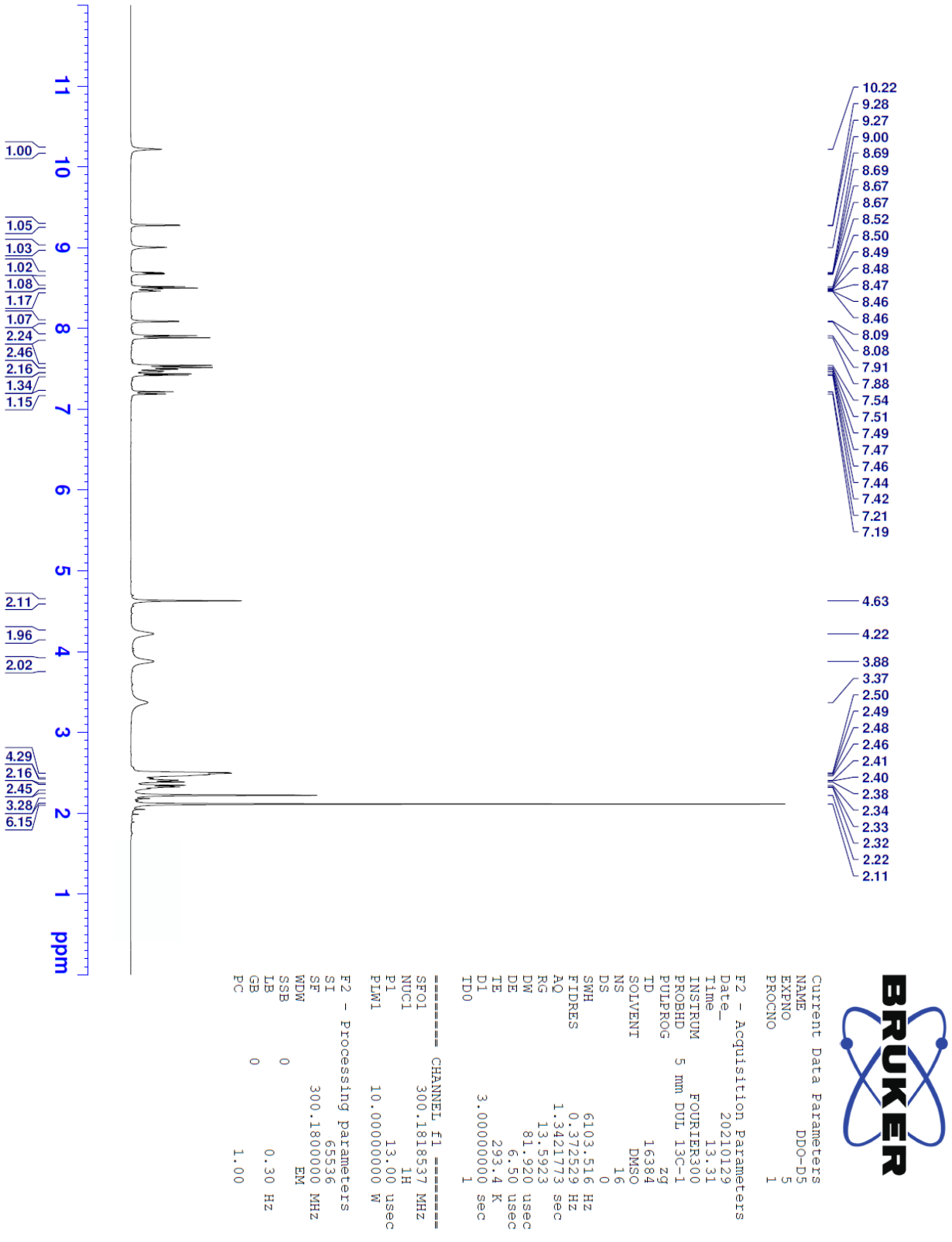
APCI-MS (-m/z): [M+H] $^{+}$: 627.2

DOPNALAB

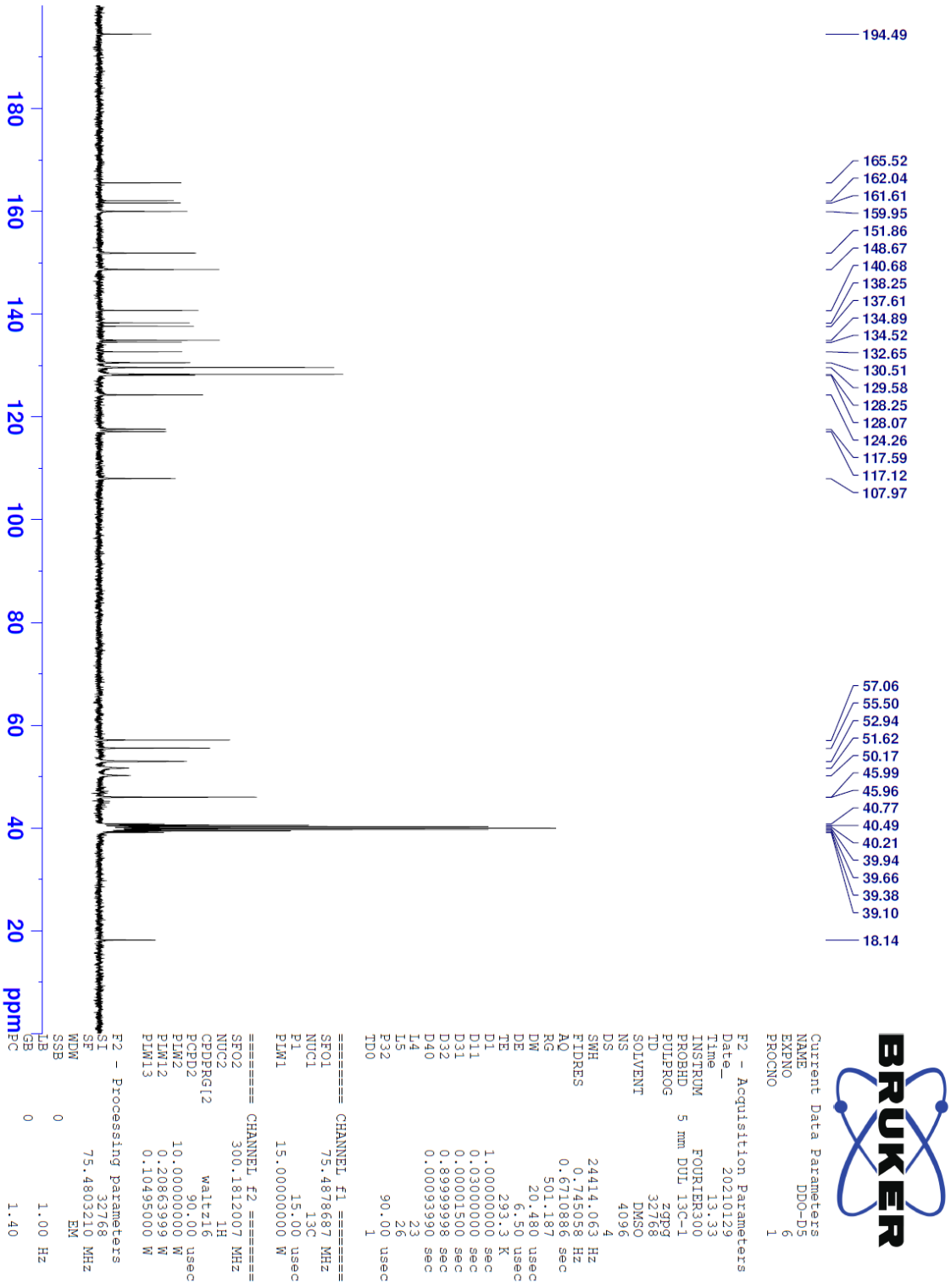
	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 13:43:45
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-D5.1.ispd
	Spectrum name	DDO-D5.1
	Sample name	DDO-D5
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel



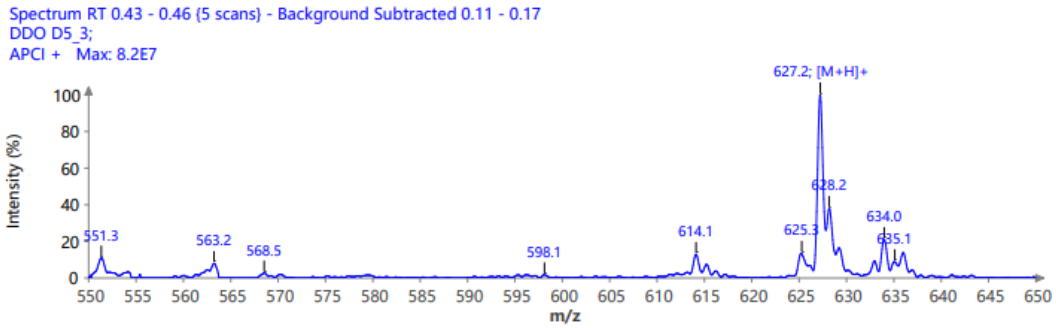
Şekil 5.97. *Bileşik **7i**'ye ait IR spektrumu*



Şekil 5.98. *Bileşik **7i**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*

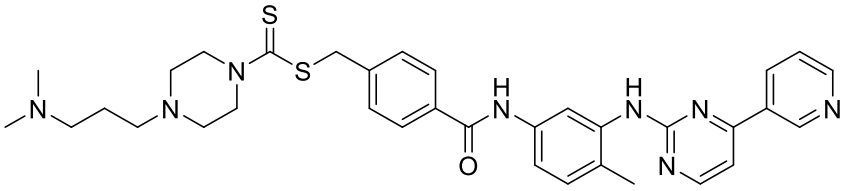


Şekil 5.99. *Bileşik **7i**'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu*



Şekil 5.100. *Bileşik **7i**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.1.25. 4-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]karbamoil]benzil 4-[3-(dimetilamino)propil]piperazin-1-karboditiyoat (7j)



Şekil 5.101. *4-[[4-Metil-3-[[4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il]amino]benzen]karbamoil]benzil 4-[3-(dimetilamino)propil]piperazin-1-karboditiyoat (**7j**)*

Yöntem G'ye göre sentezlenmiştir. E.N.: 165.8-167.0 ºC. Verim: %79.

IR (ATR) ν_{maks}(cm^{-1}): 3356 (N-H gerilim bandı), 2956 (C-H gerilim bandı), 1651 (C=O gerilim bandı).

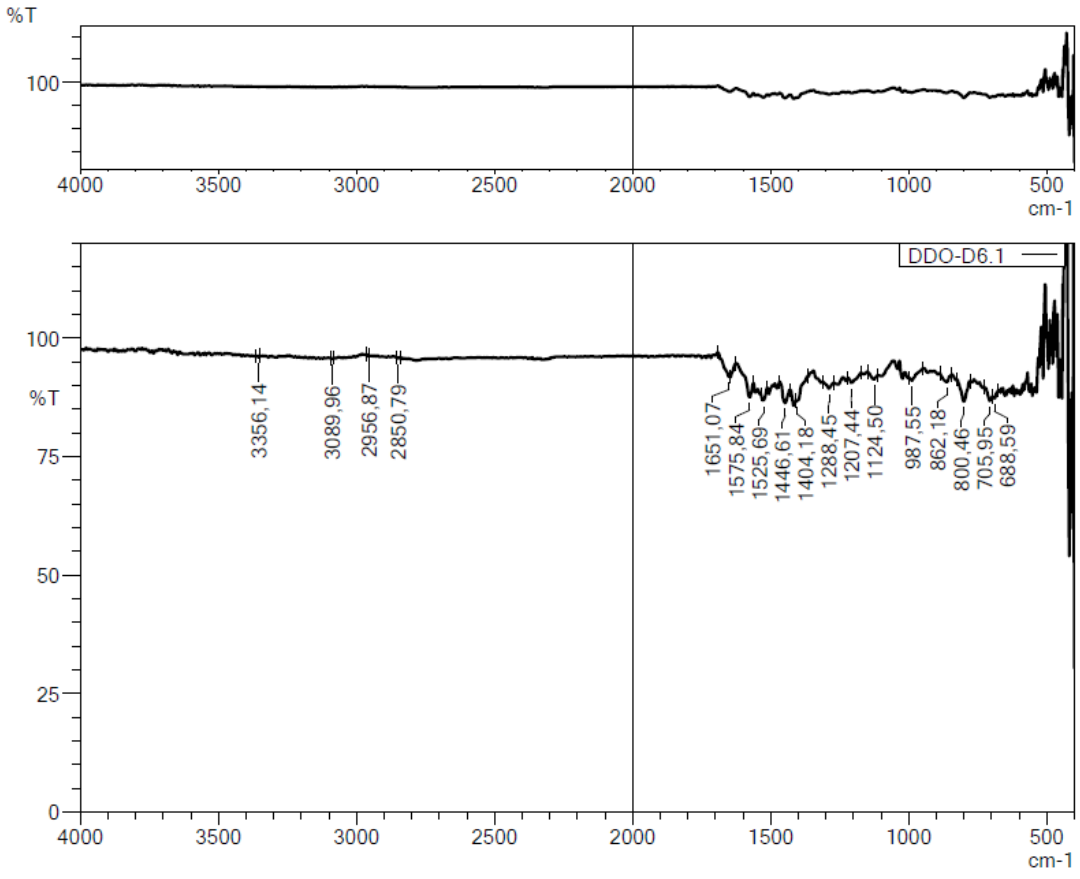
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ: 1.54 (2H, p, *J*=7.5 Hz, -CH_2-), 2.12 (6H, s, -CH_3), 2.22 (3H, s, -CH_3), 2.25-2.28 (2H, m, -CH_2-), 2.30-2.33 (2H, m, -CH_2-), 2.43 (4H, y, piperazin), 3.89 (2H, y, piperazin), 4.23 (2H, y, piperazin), 4.63 (2H, s, -CH_2-), 7.20 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Benzen-H), 7.43 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 7.46-7.50 (2H, m, Benzen-H ve Piridin-H), 7.53 (2H, d, *J*=8.2 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen), 7.89 (2H, d, *J*=8.2 Hz, 1,4-Disübstitüebenzen), 8.08 (1H, d, *J*=1.7 Hz, Benzen-H), 8.48 (1H, dt, J_1=2.0 Hz, J_2=8.4 Hz, Piridin-H), 8.50 (1H, d, *J*=5.2 Hz, Pirimidin-H), 8.68 (1H, dd, J_1=1.5 Hz, J_2=4.7 Hz, Piridin-H), 9.01 (1H, s, -NH), 9.27 (1H, d, *J*=1.6 Hz, Piridin-H), 10.19 (1H, s, -NH).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ: 18.12, 24.89, 29.70, 45.65, 50.16, 51.65, 52.72, 55.78, 57.59, 107.98, 117.13, 117.59, 124.25, 128.08, 128.23, 129.58, 130.51, 132.66, 134.52, 134.89, 137.60, 138.26, 140.70, 148.67, 151.86, 159.95, 161.62, 162.05, 165.51, 194.51.

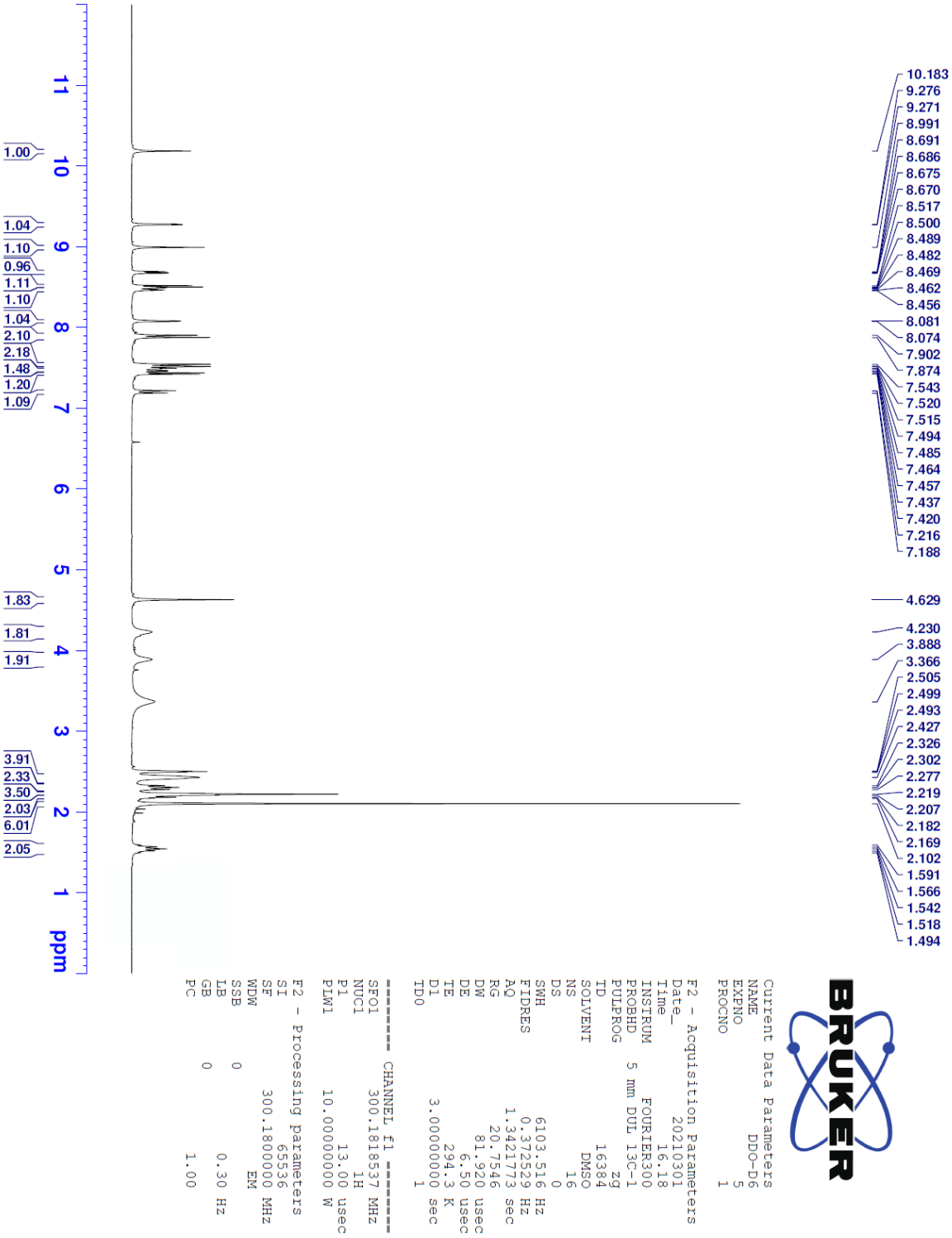
APCI-MS (-m/z): [M+H]$^{+}$: 641.2

DOPNALAB

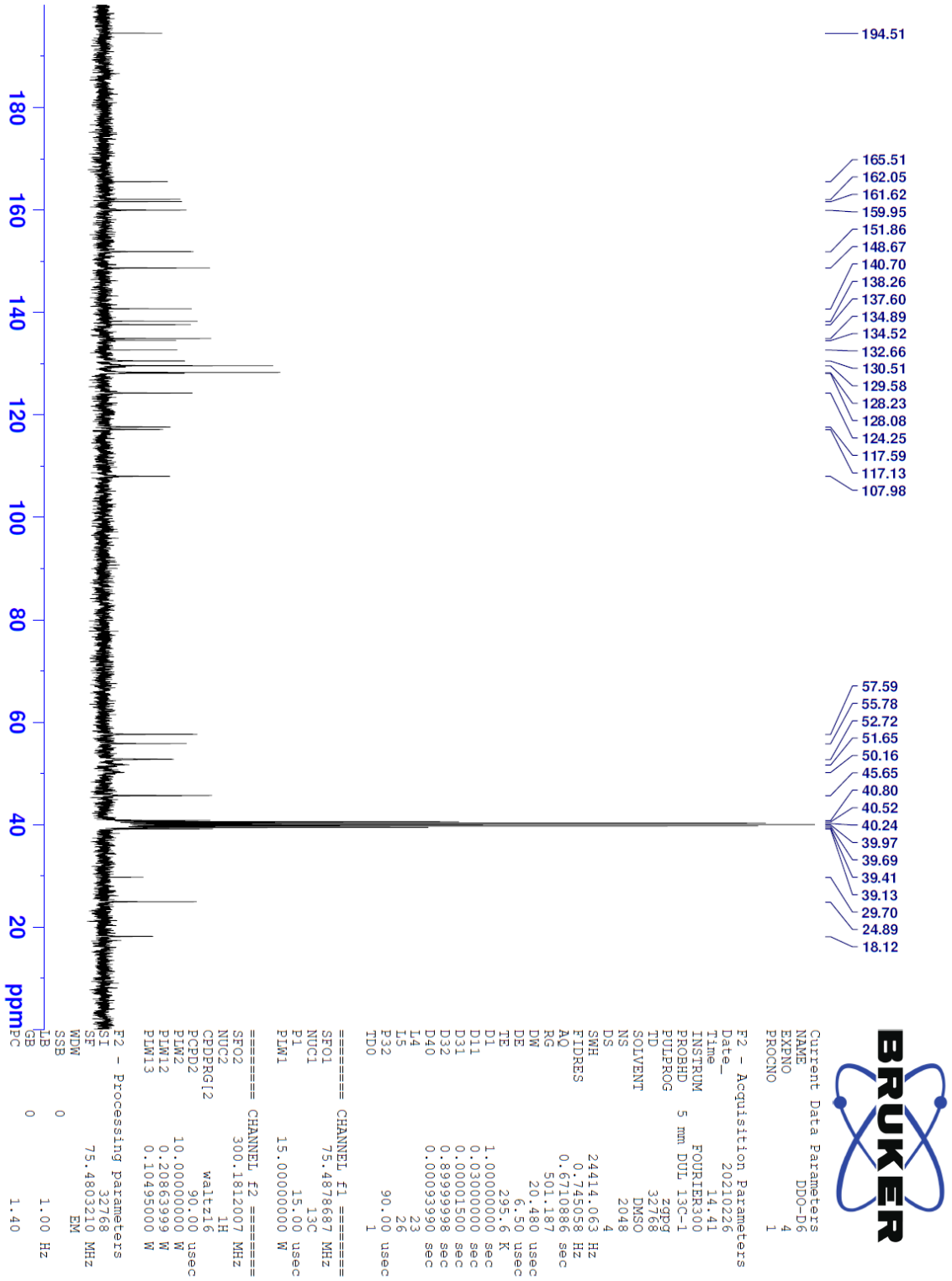
	Item	Value
	Acquired Date&Time	16.02.2021 13:51:37
	Acquired by	System Administrator
	Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya osmanıye\DDO-D6.1.ispd
	Spectrum name	DDO-D6.1
	Sample name	DDO-D6
	Sample ID	
	Option	
	Comment	
	No. of Scans	15
	Resolution	4 [cm-1]
	Apodization	Happ-Genzel



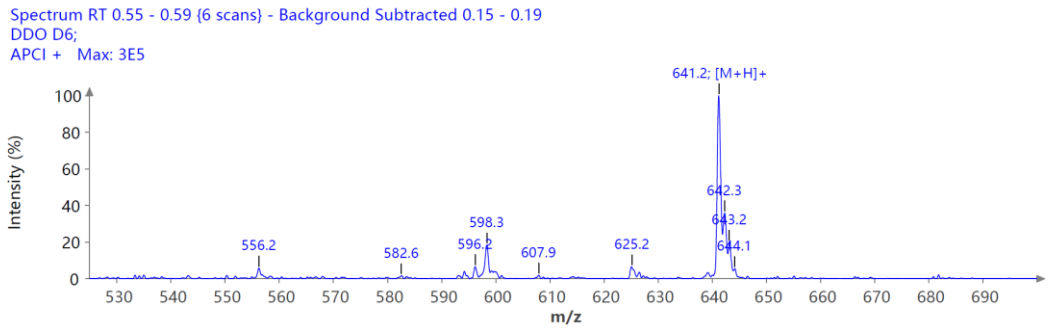
Şekil 5.102. *Bileşik **7j**'ye ait IR spektrumu*



Şekil 5.103. *Bileşik **7j**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*



Şekil 5.104. *Bileşik **7j**'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu*



Şekil 5.105. *Bileşik **7j**'ye ait APCI-MS spektrumu*

5.2. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

Sentezi gerçekleştirilen orijinal bileşiklerin yapıları IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR ve Kütle Spektroskopisi yöntem verileri ile aydınlatılmıştır.

5.2.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapıları incelendiğinde, bütün bileşiklerde ortak olarak amid (-NHCO) fonksiyonel grubunun mevcut olduğu göze çarpmaktadır. Bileşiklere ait IR spektrumlarında bu grup üzerinde yer alan karbonile ait spesifik gerilim bandı 1579-1687 cm^{-1} aralığında elde edilmiştir. Yine spektrumlar incelendiğinde bu gruba ait N-H spesifik gerilim bandı 3228-3446 cm^{-1} aralığında gözlenmiştir. Spektrumlardan elde edilen her iki gerilim bandına ait değerler literatür verileri ile uyum göstermektedir [139].

5.2.2. NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

5.2.2.1. *^{1}H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi*

Elde edilen sonuç bileşiklerinin kimyasal yapılarında ortak olarak piridin, pirimidin, benzen ve piperazin halka sistemleri mevcuttur. Tüm yapılarda ortak olarak gözlenen 1,3,4-trisübstitüebenzen halkasına bağlı metil protonları 2.19-2.22 ppm değerleri arasında singlet olarak gözlenmiştir. Tüm yapılarda ortak olarak bulunan metilen protonu ise **5a-5e** kodlu bileşiklerde 3.07-3.09 ppm değerleri arasında; **5f-5j** kodlu bileşiklerde 3.51-3.53 ppm değerleri arasında; **7a-7e** kodlu bileşiklerde 4.24-4.25 ppm değerleri arasında; **7f-7j** kodlu bileşiklerde ise 4.62-4.63 ppm değerleri arasında

gözlenmiştir. Piperazin halkası protonlarına ait pikler 2.35-4.24 ppm değerleri arasında multiplet veya yayvan pikler şeklinde gözlenmiştir.

1,3,4-Trisübstitüe benzen halkası, mevcut bileşiklerin tamamında bulunmaktadır. Bu halkası ait protonlardan 5. konumda bulunan proton 7.15-7.33 ppm değerleri arasında J=8.2-8.5 Hz değeri ile dublet olarak gözlenmiştir. 6.konumda bulunan proton **5a-5e**, **5f-5j**, **7a-7e** bileşiklerinde 7.28-7.48 ppm aralığında J_1=2.1 Hz ve J_2=8.4 Hz değerleri ile dubletin dubleti olarak belirlenmiştir. **7f-7g** kodlu bileşiklerde bu proton 7.45-7.49 ppm aralığında piridin protonu ile birlikte multiplet olarak gelmiştir. 2. konumda bulunan protonlar 7-88-8.08 ppm değerleri arasında J=1.8-2.0 Hz değeri ile dublet olarak gözlemlenmiştir.

Pirimidin halkasına ait protonlardan 5. konumda bulunan proton **7f-7j** kodlu bileşiklerde 7.41-7.44 ppm değerleri arasında 1,4-disübstitüebenzen halkası ile birlikte multiplet olarak gözlenmiştir. Diğer bileşiklerde ise (**5a-5e**, **7a-7e** ve **7f-7j**) 7.42-7.43 ppm değerleri arasında J=5.2 Hz değeri ile dublet olarak gözlenmiştir. 6.Konumda bulunan proton ise tüm bileşiklerde 8.50-8.51 ppm değerleri arasında J=5.1-5.2 Hz değeri ile dublet olarak gözlenmiştir.

Piridin halkasına ait protonlardan 5.konumdaki proton, **5b**, **5d**, **5g**, **5h**, **5i** ve **7a** kodlu bileşiklerde 7.52 ppm değerinde J_1=4.8 Hz ve J_2=7.8-8.0 Hz değerleri arasında dubletin dubleti olarak gözlenmiştir. **5a**, **5c**, **5e, 5f**, **5j**, **7b**, **7c**, **7d** ve **7e** kodlu bileşiklerde 7.52 ppm değerinde J_1=0.6-0.8 Hz, J_2=4.8 Hz, J_3=7.8-8.0 Hz değerleri ile dubletin dubletinin dubleti olarak gözlenmiştir. **7f-7j** kodlu bileşiklerde ise 7.45-7.51 ppm değerleri arasında benzen halkasına ait hidrojen ile birlikte multiplet olarak gözlenmiştir. Piridin halkasının 4. Konumunda bulunan protona ait pikler 8.44-8.48 ppm değerleri arasında J_1=1.8-2.1 Hz ve J_2=8.0-8.4 Hz değerleri ile dubletin tripleti olarak gözlenmiştir. 6. Konumda bulunan protona ait pikler 8.68-8.69 ppm değerleri arasında J_1=1.3-1.6 Hz ve J_2=4.7-4.8 Hz değerleri ile dubletin dubleti olarak gözlenmiştir. 2. Konumda bulunan protona ait pikler **5a**, **5c**, **5e**, **5f**, **5j** ve **7d** kodlu bileşikler için 9.25-9.27 ppm değerleri arasında J_1=0.6-0.8 Hz ve J_2=2.4-2.6 Hz değerleri ile dubletin dubleti olarak gözlenmiştir. Aynı proton diğer bileşiklerde 9.25-9.27 ppm değerleri arasında J=1.6-2.1 Hz değeri ile dublet olarak gözlenmiştir.

Benzen halkası 1,4-disübstitüe halde iken AA'BB', mono sübstitüe halde iken A_2B_2C spin sistemlerine uyar. Her iki durumda da halkaya bağlı olan sübstitüent veya

sübstitüentlerin elektron verici veya çekici özelliklerine göre, benzen halkasına ait aromatik protonların 7.27 ppm de singlet olarak verdikleri pikin değeri ve şeklinde değişiklikler olur. Proton etrafındaki yüksek elektron yoğunluğu protonu perdeleyerek daha yüksek alan şiddetinde rezonansa yol açar ve ppm değeri azalır. Proton etrafındaki düşük elektron yoğunluğu ise protonu perdelemeyerek daha düşük alan şiddetinde rezonansa yol açar ve ppm değeri artar. Aromatik halkaya elektron çekici bir grup bağlandığı zaman halkada elektron yoğunluğu azalacağından, halka protonlarının perdelenmesi de azalır ve buna bağlı olarak aromatik halka protonlarının kimyasal kayma değerleri aşağı alana doğru kayar. Benzen halkası 1,4-disübstitüe halde iken, halka üzerindeki sübstitüentlerin, elektronik özelliklerine bağlı olarak spektrumda singlet, iki dublet veya kuartet şeklinde pikler gözlenebilir. Genellikle 2 dublet şeklinde gözlenen 1,4-disübstitüe benzen halkası pikleri, sübstitüentlerin elektronik özelliklerinin birbirine çok yakın olması durumunda, kuartet ve hatta singlet şeklinde bile elde edilebilir [140, 141].

Sentezlenen bileşiklerde 1,4-disübstitüe benzen halkasına sahip olan bileşikler mevcuttur (**5f-5j**; **7f-7j**). Bu bileşiklerin hepsinde 1,4-disübstitüe benzen halkası 1,3,4-trisübstitüe benzen halkasının 1. konumuna bağlı bir amid grubu bulunmaktadır. 1,4-disübstitüe benzen halkası 4. konumunda ise metilen köprüsü ile ya bir piperazine (**5f-5j**) ya da karboditiyoat kalıntısı ile bir piperazine (**7f-7j**) bağlanmıştır. Bu gruplar rezonans yol ile elektron çekici karaktere sahiptirler. Bu sebepten dolayı benzen halkası protonlarına ait piklerin ppm değeri normal değerine göre (7.27 ppm) aşağı alana kaymıştır. **5f-5j** kodlu bileşiklerde 1,4-disübstitüe benzen protonlarına ait pikler 7.41-7.44 ppm değerleri pirimidin protonları ile birlikte multiplet olarak ve 7.90 ppm'de J=8.3 Hz değeri ile iki hidrojenlik dublet olarak gözlenmiştir. **7f-7j** kodlu bileşiklere ait pikler ise 7.53 ppm'de J=8.2 Hz değeri ile dublet olarak ve 7.89 pmm'de J=8.3 Hz değeri ile dublet olarak gözlenmiştir.

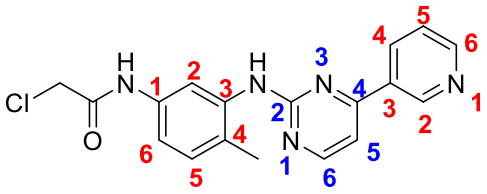
Amin gruplarına ait protonlar 8.94-9.01 ppm değerleri arasında singlet şeklinde ve 9.60-10.26 ppm değerleri arasında singlet şeklinde gözlenmiştir.

5.2.2.2. *^{13}C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi*

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerde ortak yapısal parçacıklar ^{13}C-NMR spektrumlarında genel olarak beklendiği gibi pikler vermiştir. Bileşiklere ait spektrumlarda spesifik fonksiyonel gruplardan amid karbonili (C=O) 165.48-168.48 ppm

aralığında gözlenmiş olup literatür verileri ile uyum içerisindedir [142]. **7a-7j** bileşiklerinin yapısında ortak olarak görülen tiyokarbonil (C=S) yapısına ait pikler 194.33-194.95 ppm aralığında gözlenmiş olup literatür verileri ile uyum içerisindedir [143]. Bunun dışında kalan alifatik karbonlar 18.05-70.40 ppm aralığında, aromatik karbonlar ise 107.96-162.07 ppm aralığında pik vermiştir.

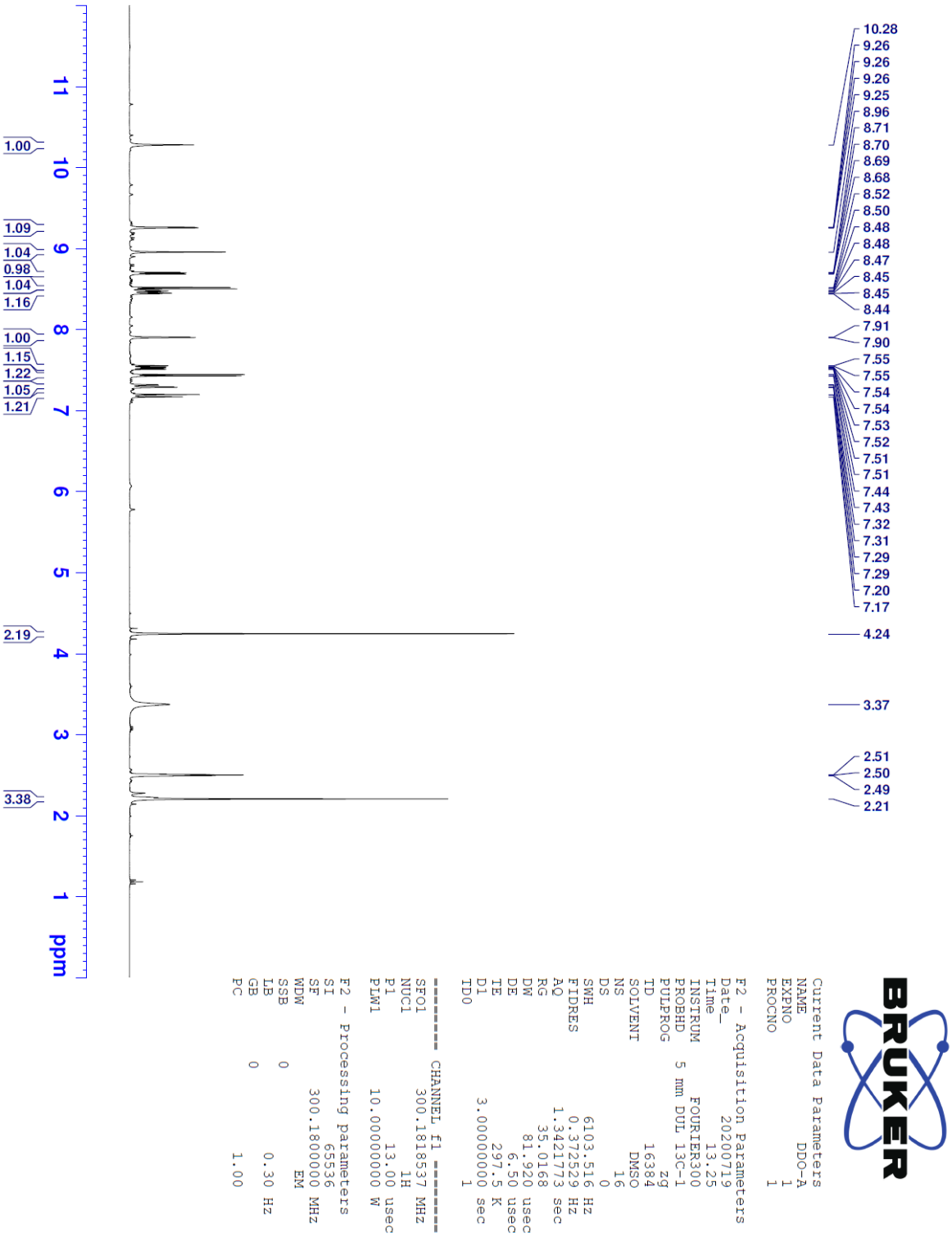
5.2.2.3. *2D-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi*



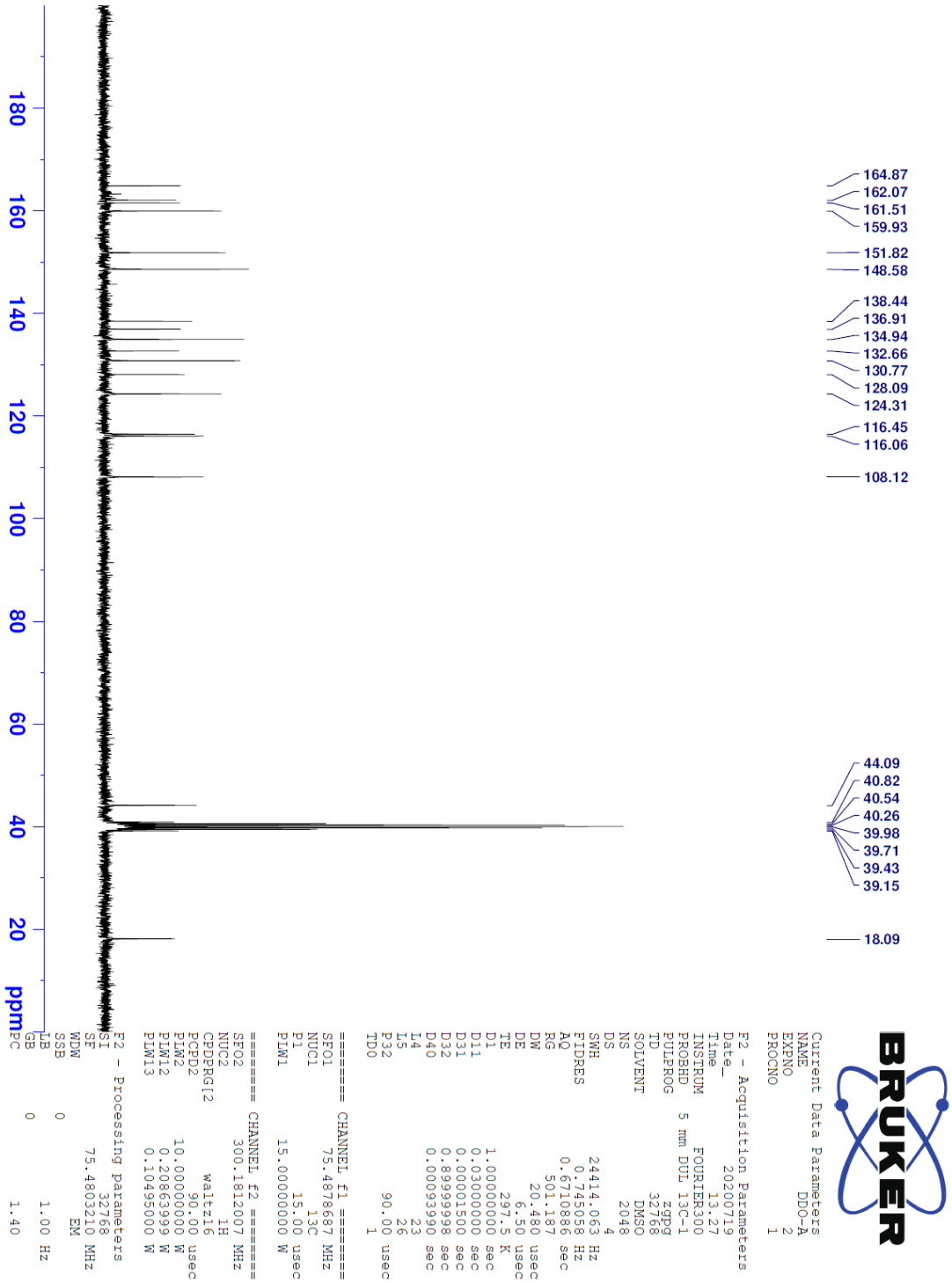
Şekil 5.106. *2-Kloro-N-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid (**4a**) molekülünün kimyasal yapısı*

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin başlangıç maddeleri olan 2 bileşik (**4a, 4b**) için 2 boyutlu ileri NMR çalışmaları (HSQC, NOESY, HMBC) gerçekleştirilmiştir. 2-Kloro-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)asetamid bileşiği ile gerçekleştirilen NOESY'den elde edilen veriler ışığında piridin halkasının 4. konumundaki protonun 8.46 ppm (dt) değerinde, 2. konumundaki protonların 9.26 ppm (dd) değerinde olduğu görülmüştür. Pirimidin halkasının 5. konumundaki protonun 7.43 ppm (d) değerinde geldiği belirlenmiştir. Benzen halkasına ait protonlardan 2. konumdaki protonun 7.90 ppm (d) değerinde, 5. konumdaki protonun 7.18 ppm (d) değerinde, 6. konumdaki protonun 7.30 ppm (dd) değerinde geldiği belirlenmiştir. HSQC verileri dikkate alınarak 1,3,4-trisübstitüe benzen halkası üzerinde bulunan metil grubunun 18.09 ppm'de, amid grubuna bağlı metilen karbonunun 44.09 ppm'de geldiği gözlenmiştir. Yine HSQC verileri kullanılarak piridin halkasının 2. konumunda bulunan karbonun 148.58 ppm'de, 4. konumunda bulunan karbonun 134.94 ppm'de, 5. konumda bulunan karbonun 124.31 ppm'de, 6. konumda bulunan karbonun 151.82 ppm'de geldiği gözlenmiştir. Pirimidin halkasının 5. konumunda bulunan karbonun 108.12 ppm'de, 6. konumunda bulunan karbonun ise 159.93 ppm'de geldiği gözlenmiştir. 1,3,4-trisübstitüe benzen halkasının 2. konumunda bulunan karbon 116.50 ppm'de, 5. konumunda bulunan karbon 130.77 ppm'de ve 6. konumda bulunan karbon ise 116.06 ppm'de olduğu gözlenmiştir. HMBC analizi ile piridin halkasının 2. konumunda bulunan karbonun 132.66 ppm değerinde, pirimidin halkasının 2. konumunda bulunan karbonun 161.51 ppm

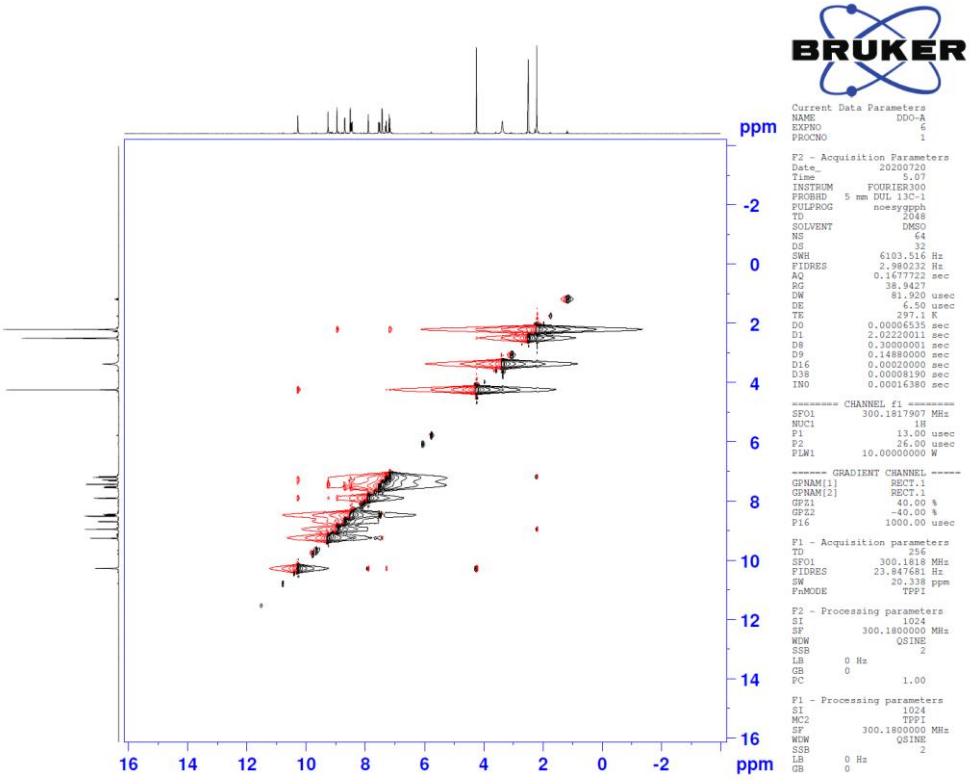
değerinde, 4. konumunda bulunan karbonun 162.07 ppm değerinde olduğu gözlenmiştir. 1,3,4-trisübstitüe benzen halkasının 1. konumunda bulunan karbon 136.91 ppm değerinde, 3. konumunda bulunan karbonun 138.44 ppm değerinde, 4. konumunda bulunan karbonun ise 128.09 ppm değerinde olduğu gözlenmiştir. Yine HMBC verilerinden alının bilgiler ışığında 8.96 ppm değerinde hidrojenlerin amin grubuna, 10.28 ppm değerindeki hidrojenlerin ise amid grubuna ait olduğu görülmüştür.



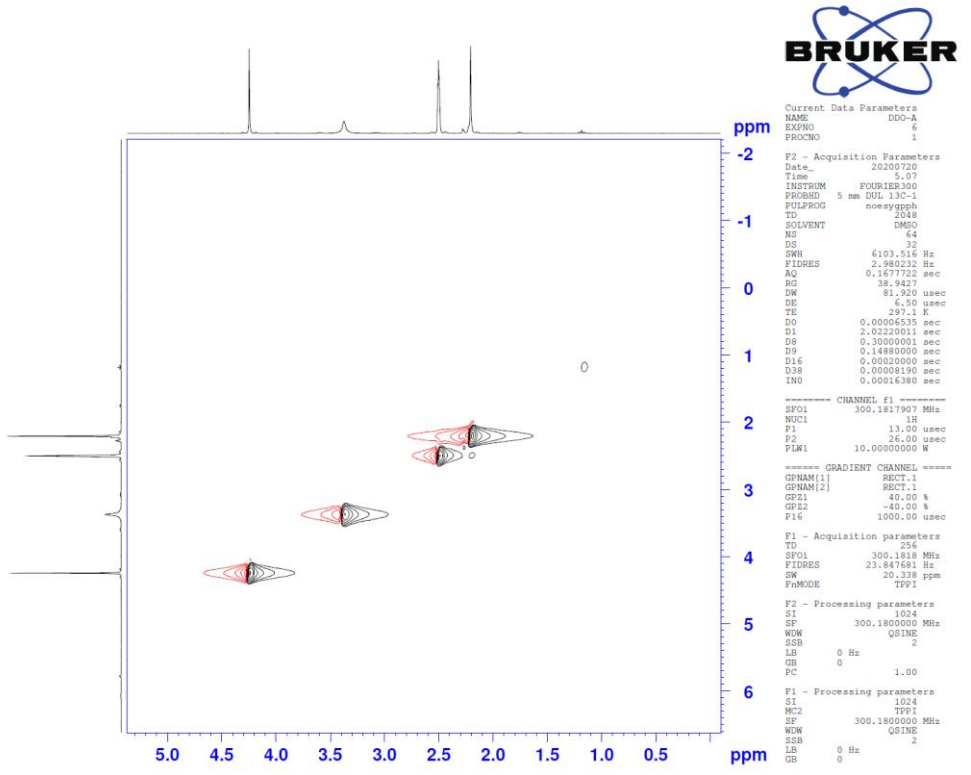
Şekil 5.107. *Bileşik **4a**'ya ait ^{1}H-NMR spektrumu*



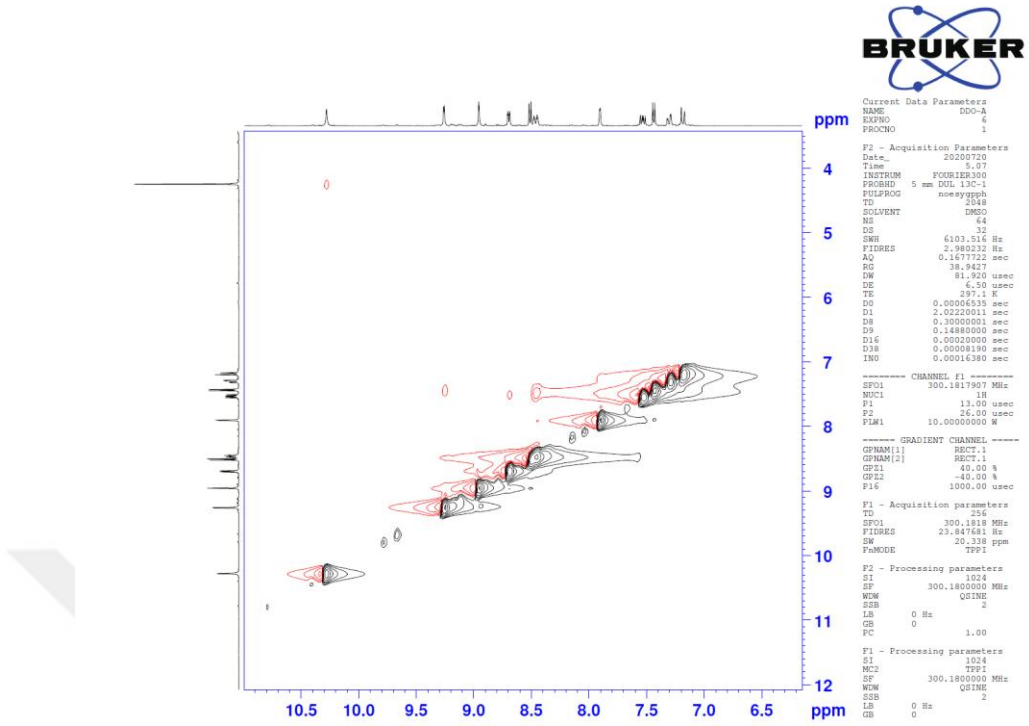
Şekil 5.108. *Bileşik **4a**'ya ait ^{13}C-NMR spektrum*



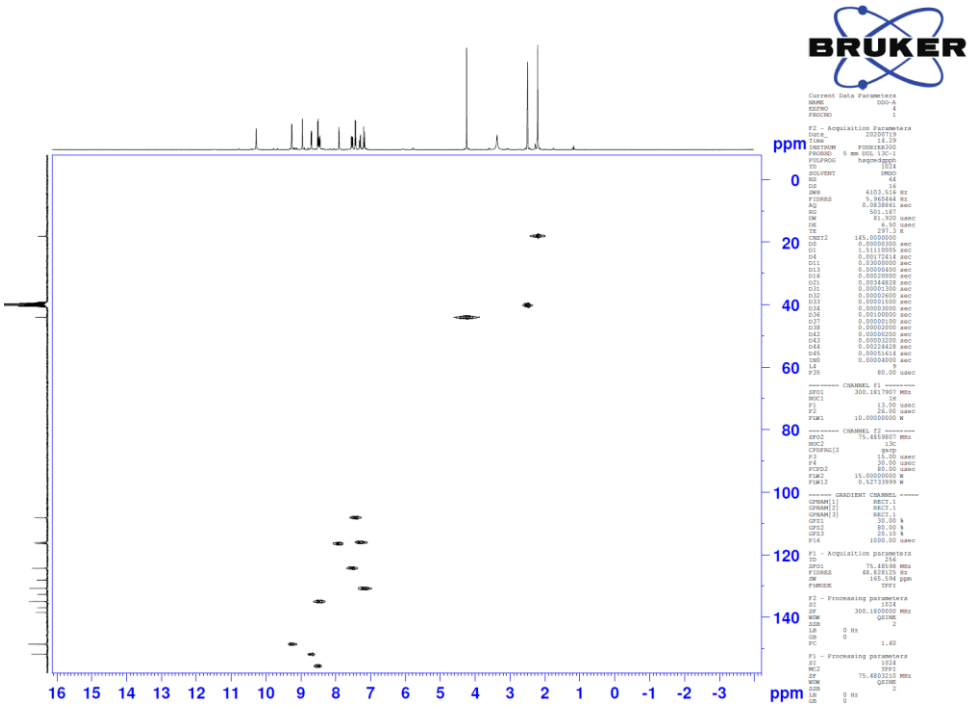
Şekil 5.109. *Bileşik **4a**'ya ait 2D NOESY spektrumu*



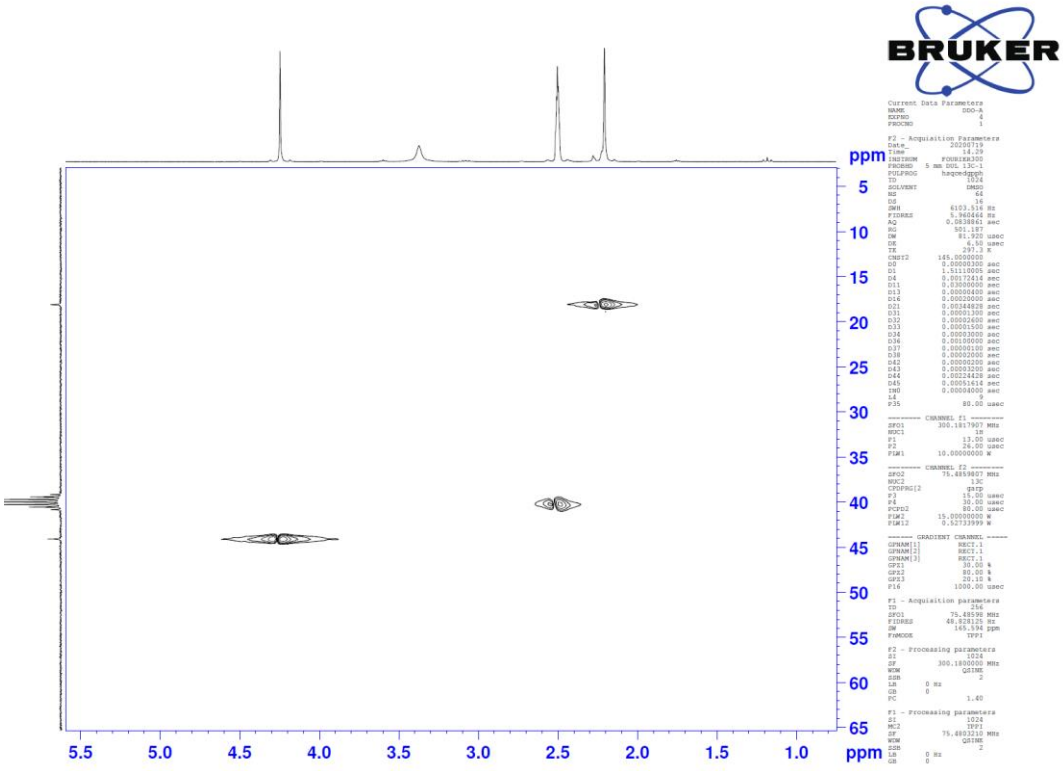
Şekil 5.110. *Bileşik **4a**'ya ait 2D NOESY spektrumu alifatik bölge yakınlaştırılmış hali*



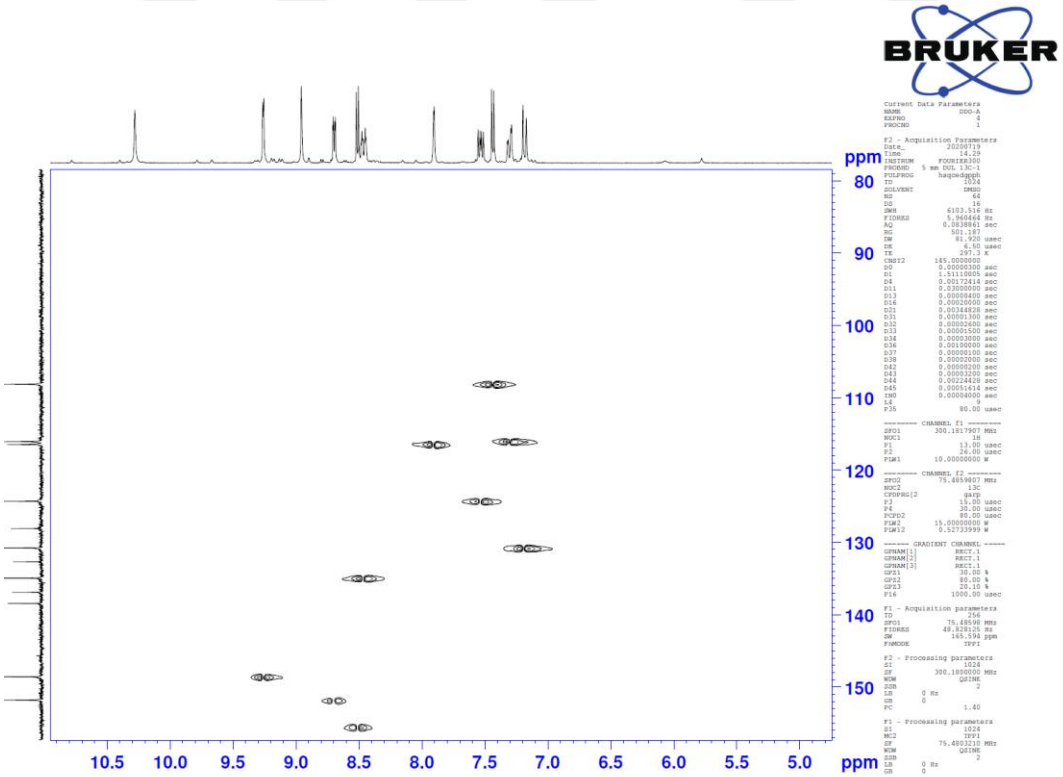
Şekil 5.111. *Bileşik **4a**'ya ait 2D NOESY spektrumu aromatik bölge yakınlaştırılmış hali*



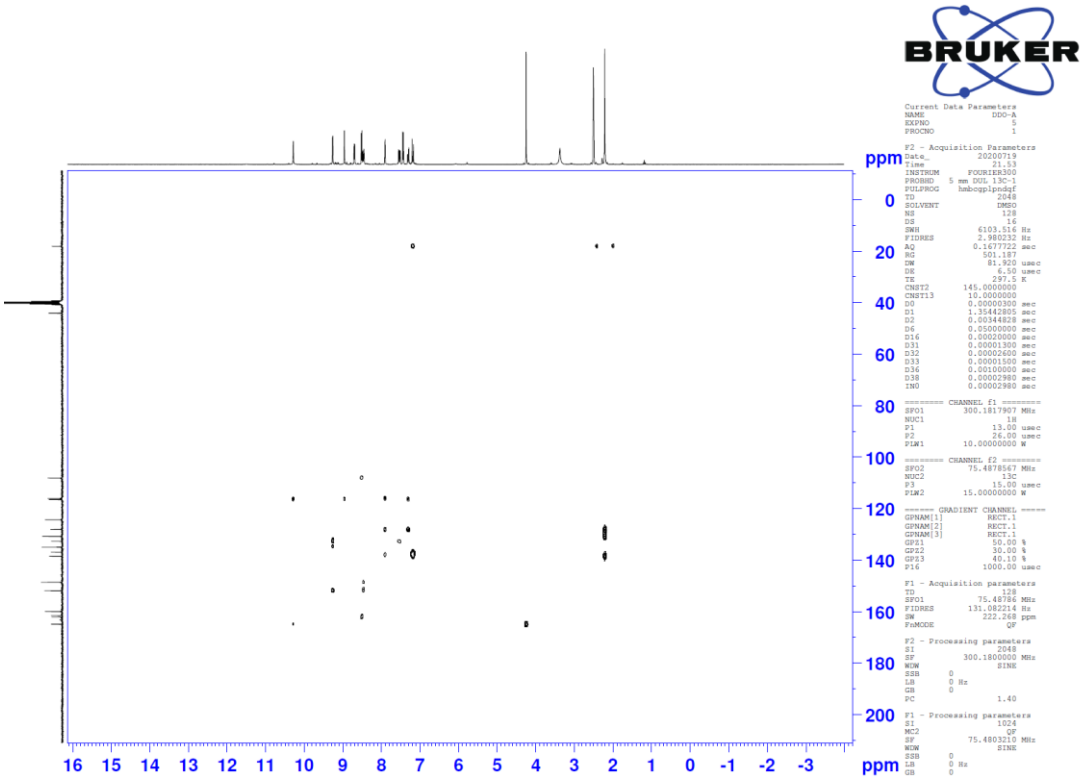
Şekil 5.112. *Bileşik **4a**'ya ait 2D HSQC spektrumu*



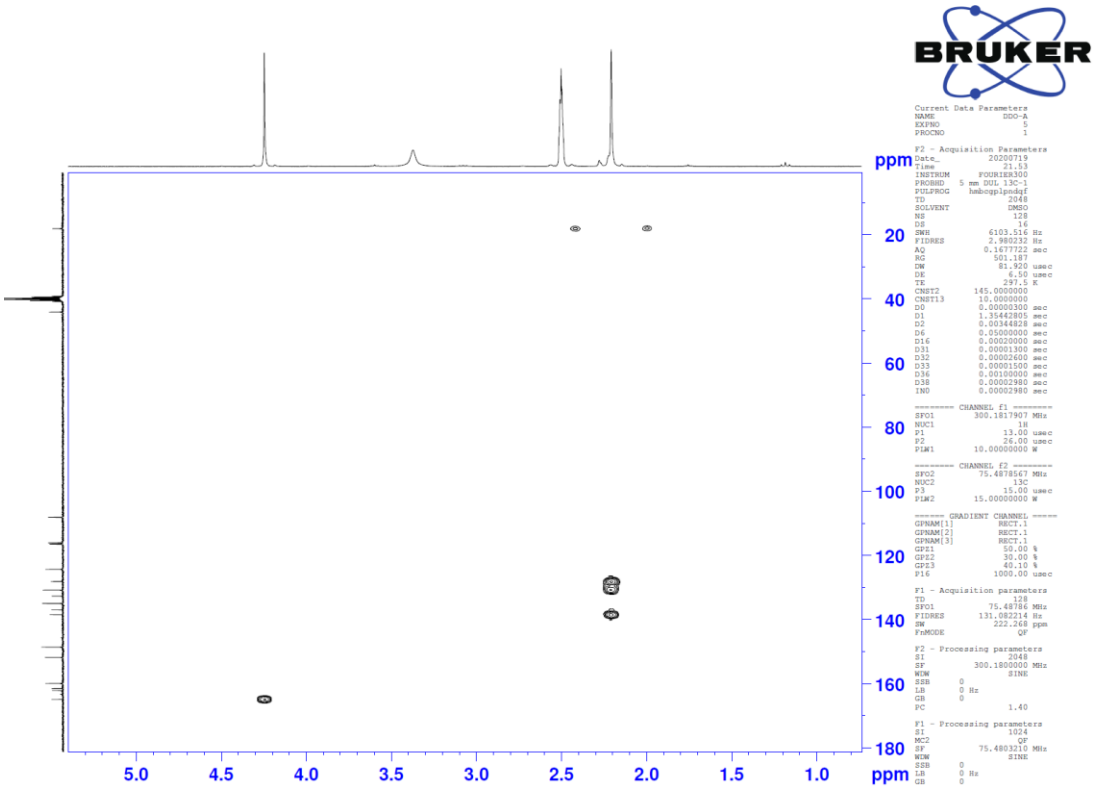
Şekil 5.113. *Bileşik **4a**'ya ait 2D HSQC spektrumu alifatik bölge yakınlaştırılmış hali*



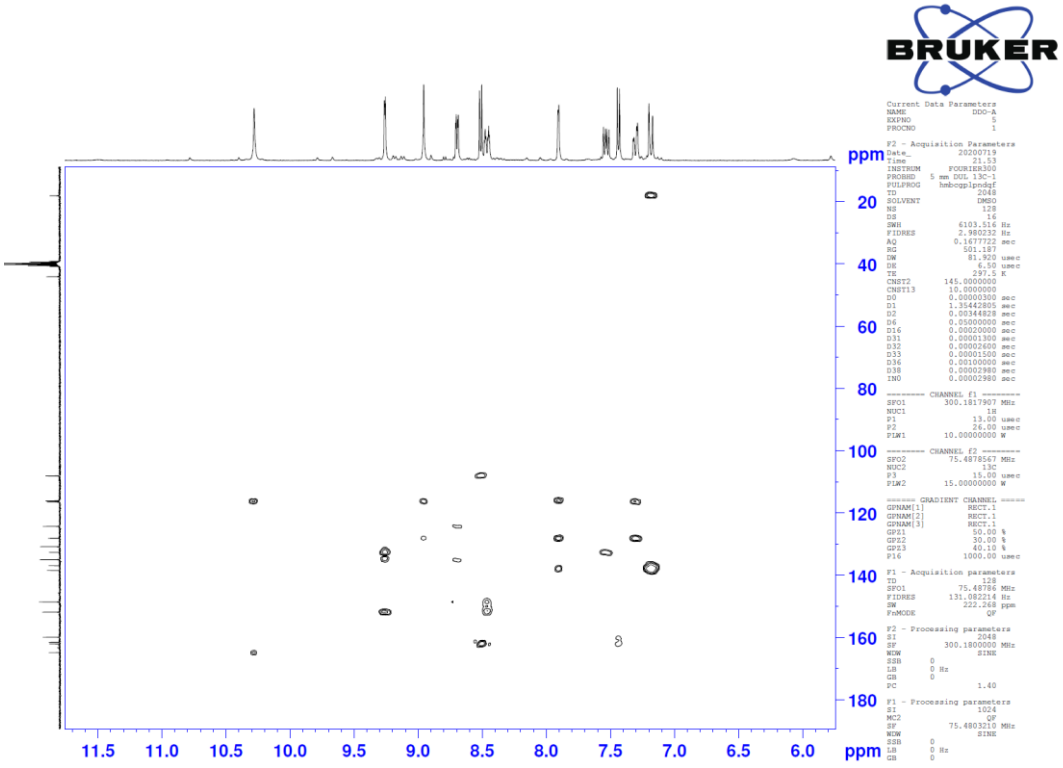
Şekil 5.114. *Bileşik **4a**'ya ait 2D HSQC spektrumu aromatik bölge yakınlaştırılmış hali*



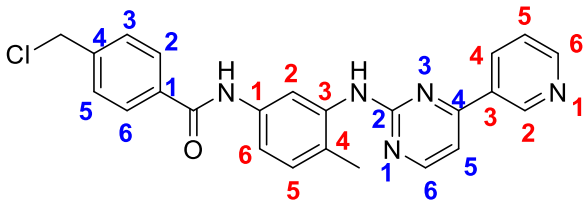
Şekil 5.115. *Bileşik **4a**'ya ait 2D HMBC spektrumu*



Şekil 5.116. *Bileşik **4a**'ya ait 2D HMBC spektrumu alifatik bölge yakınlaştırılmış hali*



Şekil 5.117. *Bileşik **4a'**ya ait 2D HMBC spektrumu aromatik bölge yakınlaştırılmış hali*



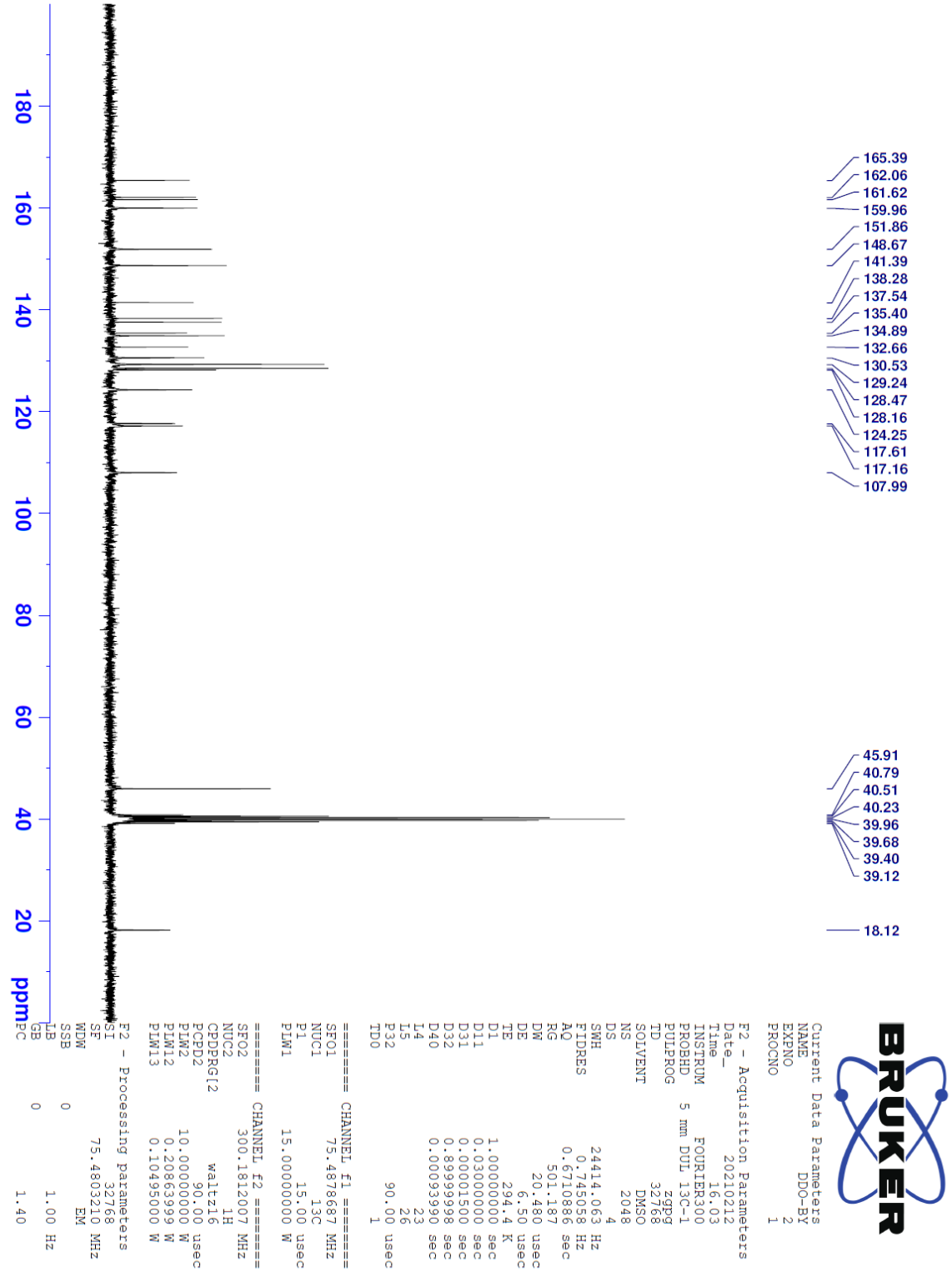
Şekil 5.118. *4-(Klorometil)-N-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid* **(4b)**

Sentezi gerçekleştirilen bileşikler arasında 4-(Klorometil)-*N*-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid (**4b**) molekülünün yapı tayininin tam olarak yapılması adına 2 boyutlu ileri NMR çalışmaları (HSQC, HMBC, NOESY) gerçekleştirilmiştir. 2 boyutlu NMR analizleri ile elde edilen veriler ışığında elde edilen bilgiler, bileşiğin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları ile desteklenmiş ve konumlara göre pik değerleri **Tablo 5.1**'de sunulmuştur.

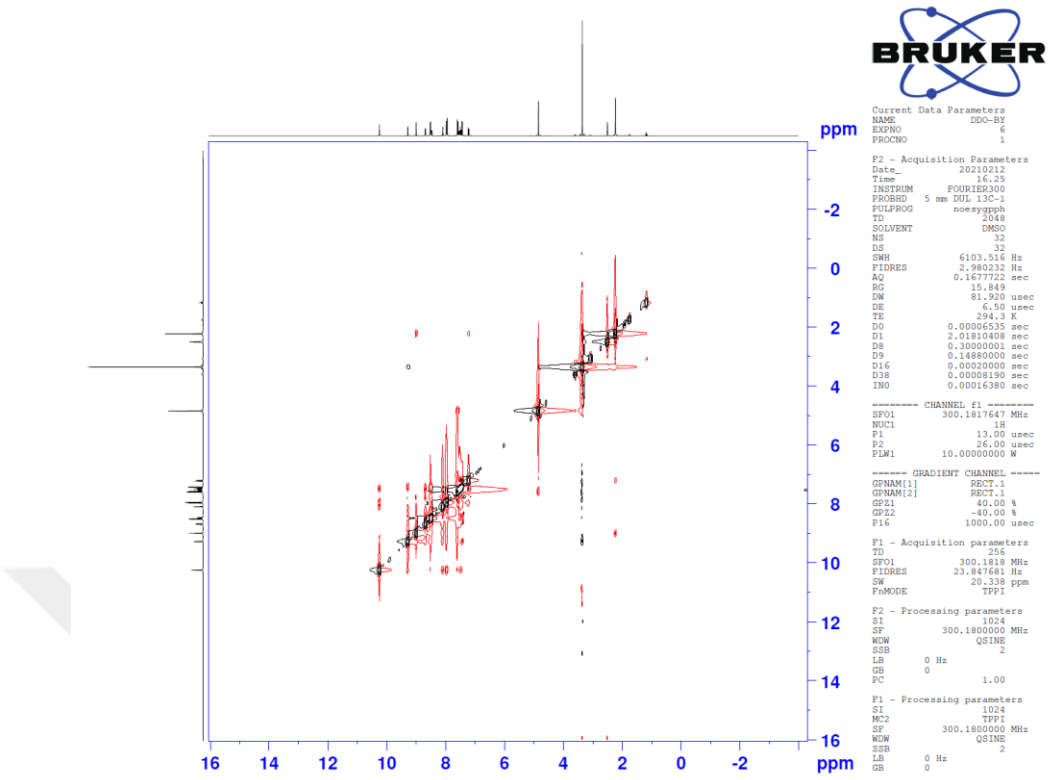
Tablo 5.1. *4-(Klorometil)-N-(4-metil-3-((4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino)benzen)benzamid* **(4b)**

Konum	**^{1}H**	**^{13}C**
Piridin-1	-	-
Piridin-2	9.28	148.67
Piridin-3	-	132.66
Piridin-4	8.48	134.89
Piridin-5	7.52	124.26
Piridin-6	8.68	151.86
Pirimidin-1	-	-
Pirimidin-2	-	161.62
Pirimidin-3	-	-
Pirimidin-4	-	162.06
Pirimidin-5	7.43	107.99
Pirimidin-6	8.51	159.96
Benzen-1	-	137.54
Benzen-2	8.09	117.61
Benzen-3	-	138.28
Benzen-4	-	128.16
Benzen-5	7.21	130.53
Benzen-6	7.48	117.16
1,4-Disübstitüebenzen-1	-	141.39
1,4-Disübstitüebenzen-2	7.96	129.24
1,4-Disübstitüebenzen-3	7.59	128.47
1,4-Disübstitüebenzen-4	-	135.40
1,4-Disübstitüebenzen-5	7.59	128.47
1,4-Disübstitüebenzen-6	7.96	129.24

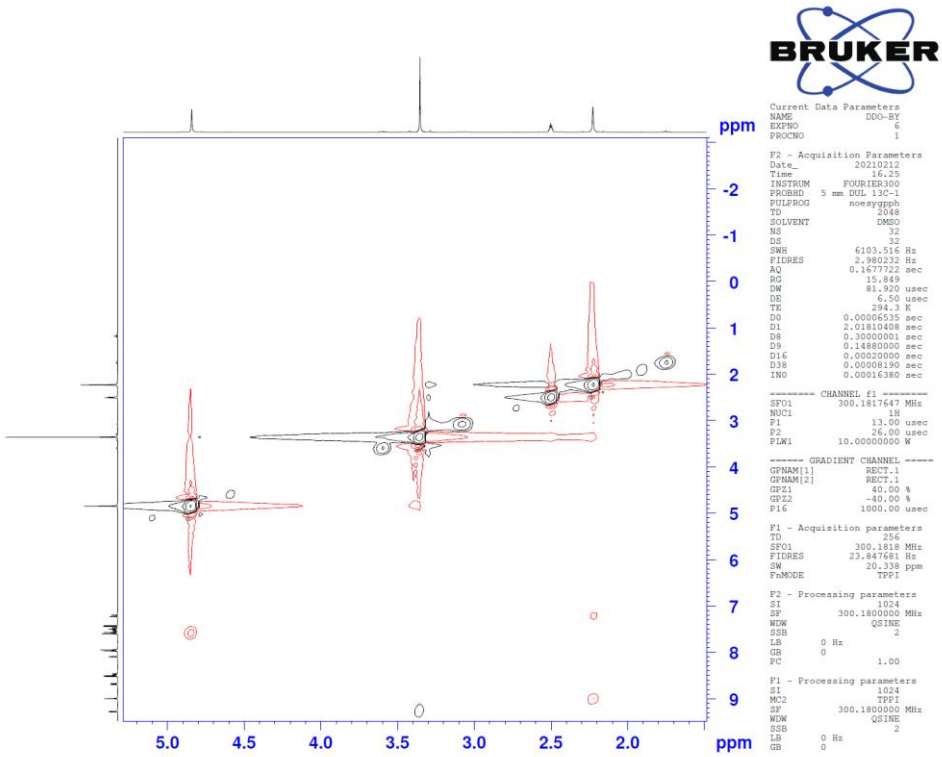
Şekil 5.119. *Bileşik **4b**'ye ait ^{1}H-NMR spektrumu*



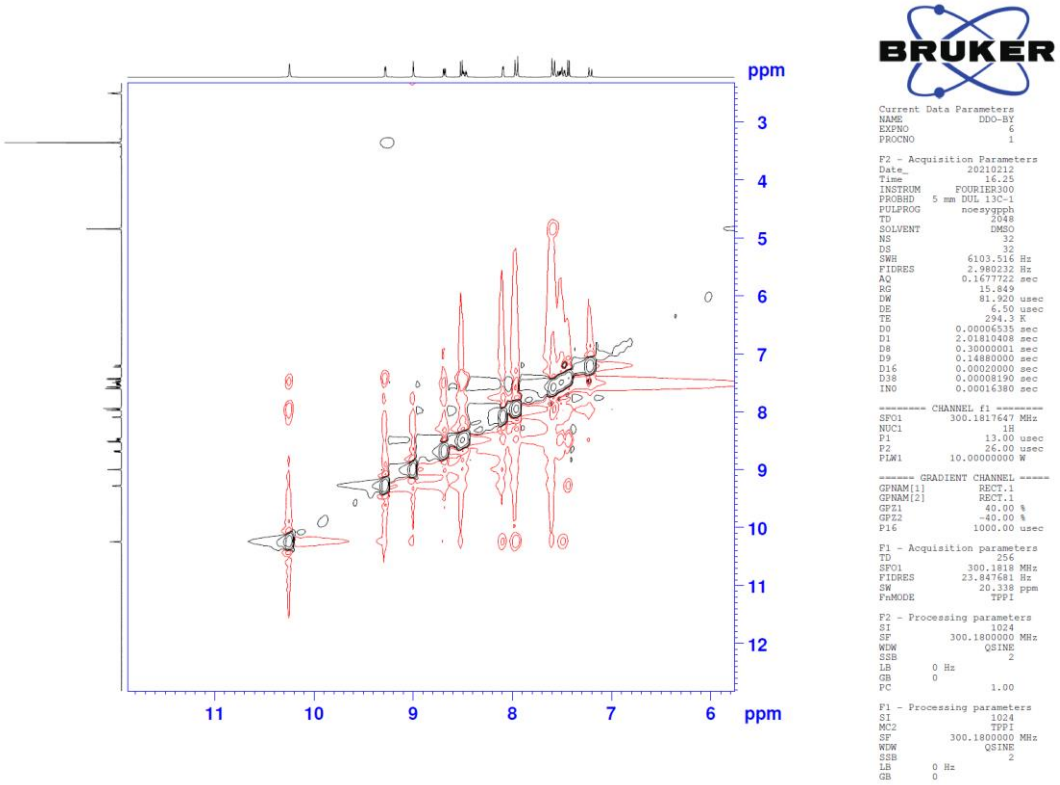
Şekil 5.120. *Bileşik **4b**'ye ait ^{13}C-NMR spektrumu*



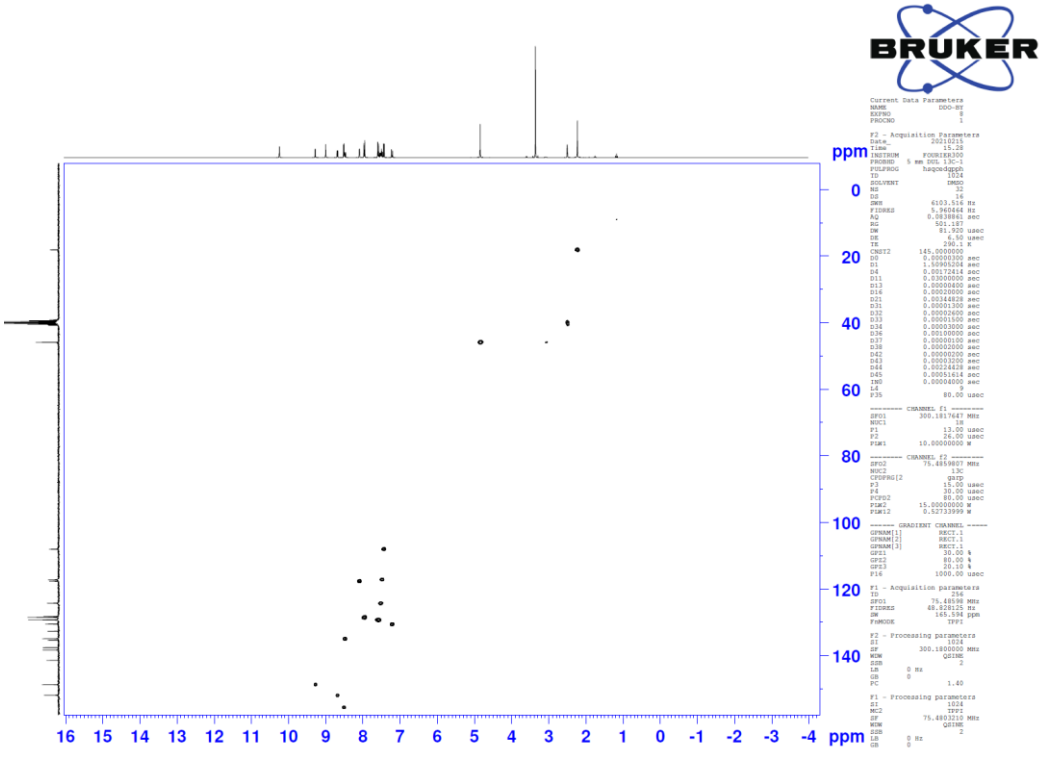
Şekil 5.121. *Bileşik **4b**'ye ait 2D NOESY spektrumu*



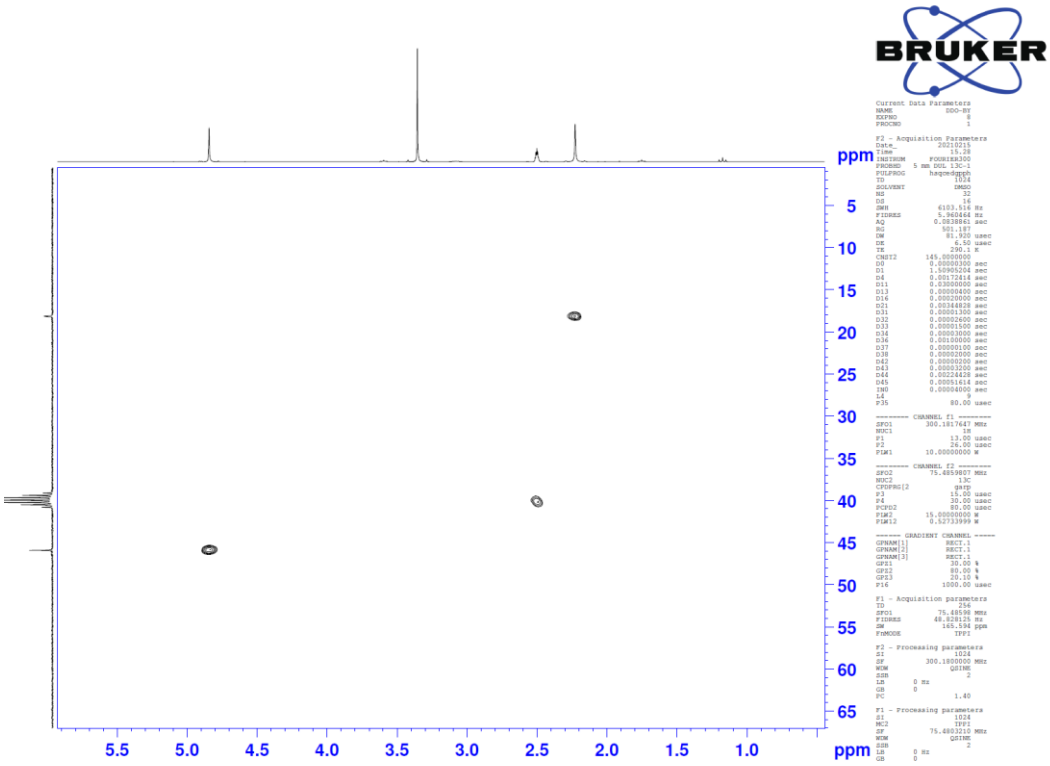
Şekil 5.122. *Bileşik **4b**'ye ait 2D NOESY spektrumu alifatik bölge yakınlaştırılmış hali*



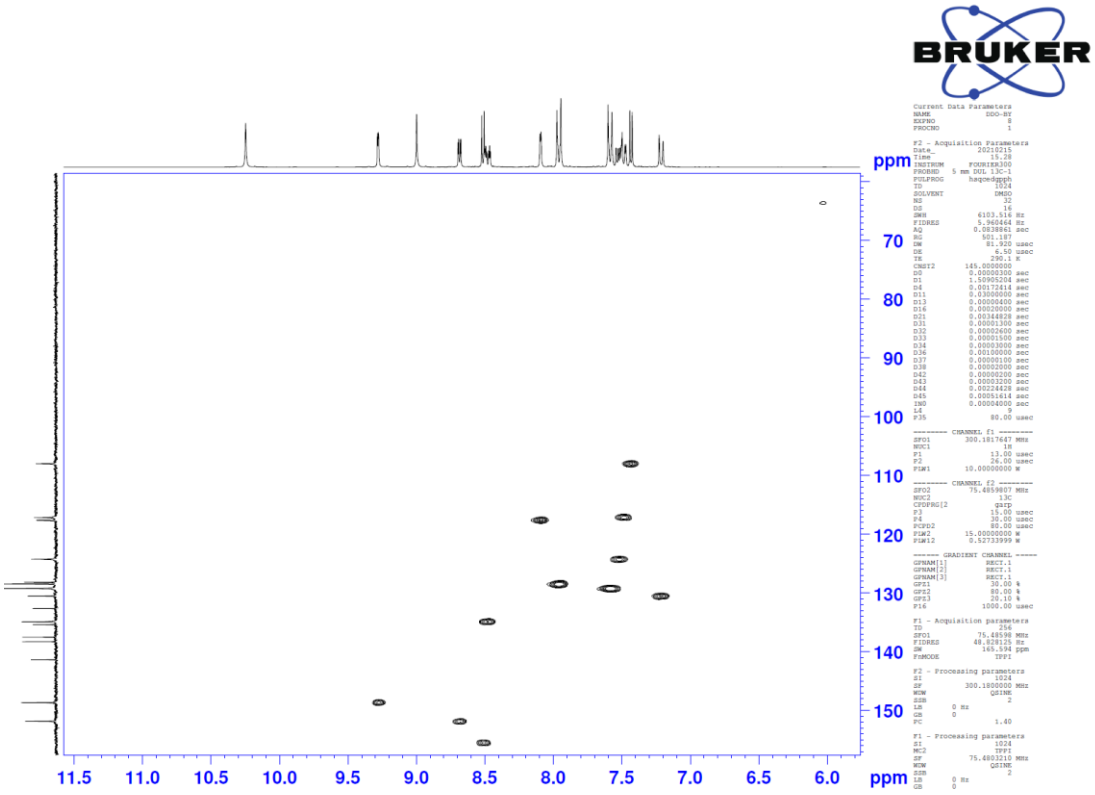
Şekil 5.123. *Bileşik **4b**'ye ait 2D NOESY spektrumu aromatik bölge yakınlaştırılmış hali*



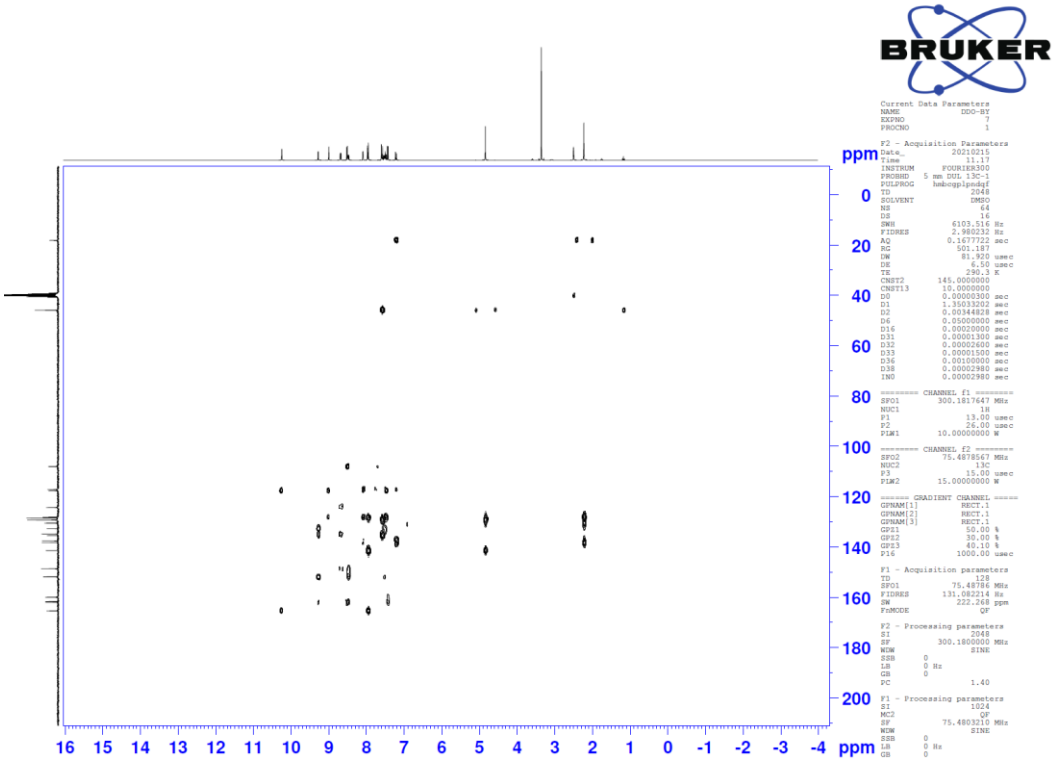
Şekil 5.124. *Bileşik **4b**'ye ait 2D HSQC spektrumu*



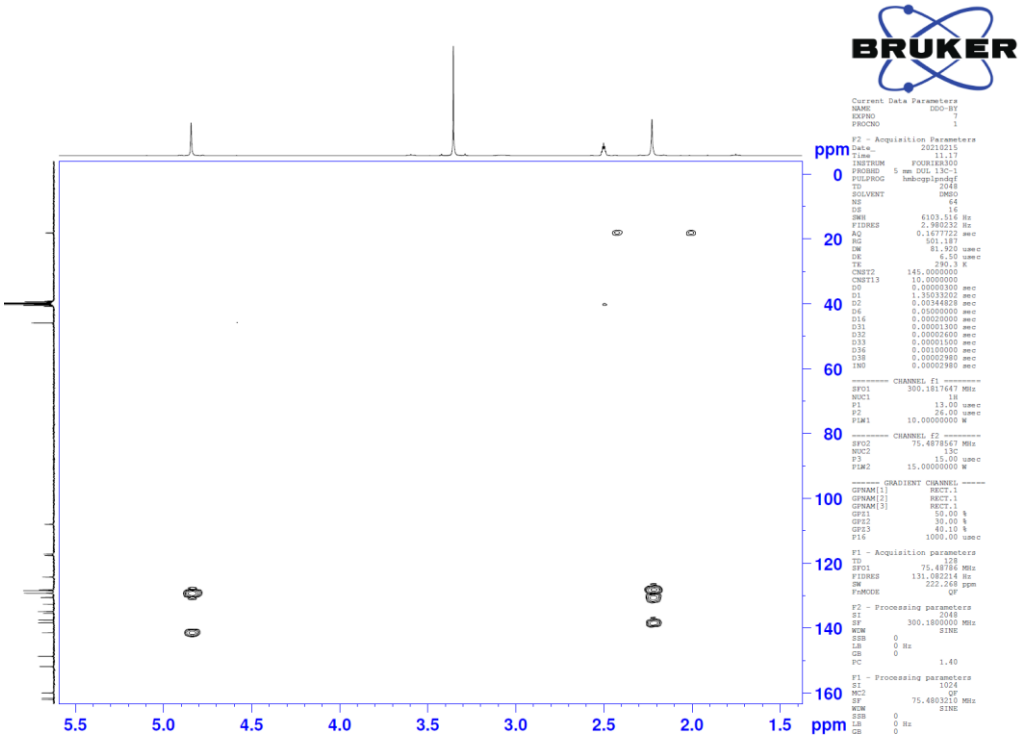
Şekil 5.125. *Bileşik* ***4b****'ye ait 2D HSQC spektrumu alifatik bölge yakınlaştırılmış hali*



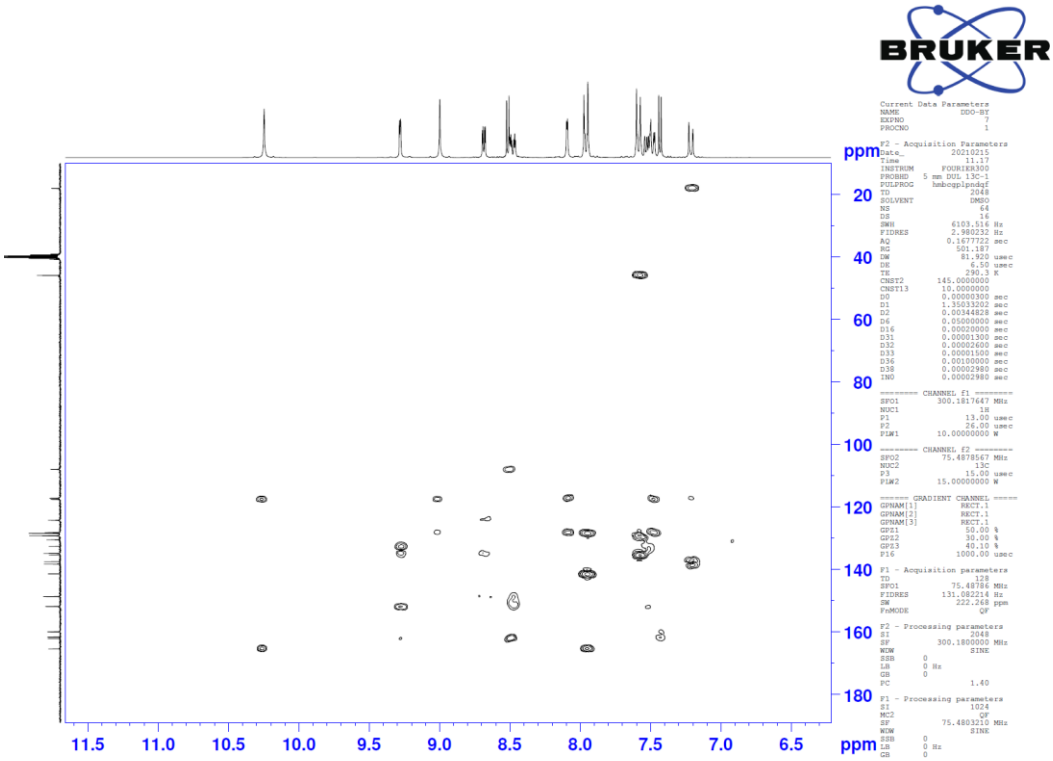
Şekil 5.126. *Bileşik* **4b***'ye ait 2D HSQC spektrumu aromatik bölge yakınlaştırılmış hali*



Şekil 5.127. *Bileşik **4b**'ye ait 2D HMBC spektrumu*



Şekil 5.128. *Bileşik **4b**'ye ait 2D HMBC spektrumu alifatik bölge yakınlaştırılmış hali*



Şekil 5.129. *Bileşik **4b**'ye ait 2D HMBC spektrumu aromatik bölge yakınlaştırılmış hali*

5.2.3. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentez edilen bileşiklerin kütle spektrumları, APCI-MS yöntemi kullanılarak pozitif iyonlaştırma tekniği ile çekilmiştir. Kütle spektrumları, gerçekte katyonların ve radikal katyonların molekül ağırlığı değerlerine göre değil, m/z değerlerine karşı bağıl bolluklarının grafiğe alınması sonucu elde edilir. Molekül iyonu ve kaydedilen molekül bölünmeleri +1 yük taşıdıklarından m/z değerleri molekül ağırlığı değerleri ile uyumluluk gösterir. Bu nedenle hesaplanan molekül ağırlıklarından bir fazla sayısal değere sahip piklerin (moleküler iyon pikleri; M+H pikleri) spektrumlarda gözlenmesi beklenir. Spektrumlar incelendiğinde beklenen şekilde, bileşiklerin molekül ağırlıkları ile elde edilen M+H piklerinin uyumlu olduğu görülmektedir.

5.3. Antikanser Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi

5.3.1. MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etki sonuçları

A549 hücre dizisi üzerinde sentezlenen bileşiklerin sitotoksik etkileri değerlendirildiğinde **5i** ve **5j** bileşiklerinin İmatinib'e göre IC_{50} değerlerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Buna göre bu bileşiklerin IC_{50} değerleri **5i** için 87,440 µM, **5j** için 52,312 µM, Doksorubisin için 10,982 µM ve İmatinib için ise >100 µM'dır. Fakat, bu

bileşiklerin doksorubisin'e göre IC_{50} değerleri büyüktür. Ayrıca bileşiklerin A549 hücre dizisinde tespit edilen IC_{50} değerlerinden daha düşük konsantrasyonlarda NIH3T3 hücre dizisinde etki gösterdiği tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu bileşikler, sitotoksik etkilidir ve A549 hücre dizisi üzerinde kullanımı güvenli değildir.

Bileşiklerin C6 hücre dizisinde belirlenen IC_{50} değerleri Doksorubisin ve İmatinib ile karşılaştırıldığında **5i, 5j, 7i** ve **7j** kodlu bileşiklerinin daha düşük IC_{50} değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin IC_{50} değerleri **5i** için 9,909 µM, **5j** için 10.392 µM, **7i** için 7.735 µM, **7j** için 8.449 µM, İmatinib için 34,670 µM ve doksorubisin için 23.625 µM'dır. **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin C6 hücre dizisinde etki gösterdiği konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyonlarda NIH3T3 hücre dizilerinde sitotoksik etki göstermişlerdir. Dolayısıyla bu bileşiklerin C6 hücrelerine karşı selektif sitotoksik etki gösterdiği söylenebilir.

MCF7 hücre dizisinde bileşiklerin IC_{50} değerleri İmatinib ve Doksorubisin ile karşılaştırıldığında bileşikler **5i, 5j, 7i** ve **7j** için IC_{50} değerlerinin İmatinib ve Doksorubisin'e oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu bileşiklerin IC_{50} değerleri **5i** için 7.784 µM, **5j** için 7.357 µM, **7i** için 6.655 µM, **7j** için 7,985 µM olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu bileşikler MCF7 hücre dizilerinde etki gösterdikleri konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyonlarda NIH3T3 hücre dizisine sitotoksik etki göstermişlerdir. Bu bileşiklerin MCF7 hücrelerine karşı selektif sitotoksik etki gösterdiği söylenebilir.

HepG2 hücre dizisinde bileşiklerin sitotoksik etkileri değerlendirildiğinde bileşikler **5i, 5j, 7i** ve **7j**'nin İmatinib ve Doksorubisin'e göre daha düşük IC_{50} değerlerine sahip olduğu dikkat çekmektedir. Buna göre bu bileşiklerin IC_{50} değerleri **5i** için 2,760 µM, **5j** için 3.315 µM, **7i** için 0.178 µM, **7j** için 0,993 µM, İmatinib için 9,506 µM ve Doksorubisin için 10.687 µM'dır. Ayrıca bu bileşikler HepG2 hücre dizilerinde etki gösterdikleri konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyonlarda NIH3T3 hücre dizisine sitotoksik etki göstermişlerdir. Bir bileşiğin güvenli bir profile sahip olması için selektivite indeksinin mümkün olduğu kadar büyük olması gerekmektedir. **7i** ve **7j** kodlu bileşikler seri içerinde en düşük IC_{50} değerlerini HepG2 hücre hattı üzerinde göstermişlerdir. Bu hücre hattı için selektivite indeksleri ise **7i** için 304,08 **7j** için ise 74,33'dür (Selektivite indeksi (SI)=IC_{50} (NIH3T3/IC_{50} (HepG2))

Bileşiklerin HT29 hücre dizisine karşı hesaplanan IC_{50} değerleri İmatinib ve Doksorubisin ile karşılaştırıldığında **5i, 5j, 7i** ve **7j** bileşiklerinin IC_{50} değerlerinin İmatinib ve Doksorubisine oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu bileşiklerin IC_{50}

değerleri **5i** için 2,465 µM, **5j** için 2,129 µM, **7i** için 7,013 µM, **7j** için 8,968 µM olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda bileşikler HT29 hücre dizisinde etki gösterdikleri konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyonlarda NIH3T3 hücre dizilerinde sitotoksik etki göstermişlerdir. Dolayısıyla bu bileşiklerin HT29 hücrelerine karşı selektif sitotoksik etki gösterdiği söylenebilir.

Bileşiklerin Panc-1 hücre dizisine karşı hesaplanan IC_{50} değerleri İmatinib ve Doksorubisin ile karşılaştırıldığında **5i, 5j, 7i** ve **7j** bileşiklerinin IC_{50} değerlerinin referans bileşikler ile benzer bir profilde oldukları belirlenmiştir. Bu bileşiklerin IC_{50} değerleri **5i** için 12,695 µM, **5j** için 18,995 µM, **7i** için 13,107 µM, **7j** için 18,955 µM olarak belirlenmiştir. Bileşikler Panc-1 hücre dizisinde etki gösterdiği konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyonlarda NIH3T3 hücre dizilerinde sitotoksik etki göstermişlerdir. Dolayısıyla bu bileşiklerin Panc-1 hücrelerine karşı selektif sitotoksik etki gösterdiği söylenebilir.

Bileşiklerin A549, C6, MCF7, HepG2, HT29, Panc-1 ve NIH3T3 hücre dizilerine karşı belirlenen IC_{50} değerleri (Tablo 5.2'de) sunulmuştur.

Tablo 5.2. *Bileşiklerin A549, C6, MCF-7, HepG2, HT29, PANC-1 ve 3T3 hücre dizilerine ait IC_{50} değerleri (µM)*

Bileşik	IC_{50} (µM)						
	A549	**C6**	**MCF7**	**HepG2**	**HT29**	**Panc-1**	**3T3**
5a	>100	70,617 ±2,422	48,463 ±1,071	21,779 ±1,893	36,251 ±1,096	92,588 ±3,683	>100
5b	>100	90,235 ±3,572	46,370 ±0,632	25,656 ±1,318	25,184 ±0,987	67,588 ±2,798	>100
5c	>100	64,960 ±2,930	>100	22,520 ±0,177	27,285 ±1,236	>100	64,182 ±0,624
5d	>100	12,373 ±0,480	18,519 ±0,557	13,260 ±0,275	15,344 ±0,675	14,232 ±0,497	32,637 ±1,445
5e	>100	11,394 ±0,418	11,889 ±0,589	18,571 ±0,167	14,831 ±0,285	19,869 ±0,316	35,565 ±0,768
5f	>100	>100	28,693 ±0,389	>100	>100	71,008 ±0,091	>100
5g	>100	58,863 ±1,312	13,414 ±0,086	27,839 ±5,371	50,604 ±1,300	29,825 ±1,234	>100
5h	>100	27,297 ±0,925	50,943 ±1,895	32,863 ±1,793	23,836 ±0,730	19,289 ±0,902	>100
5i	87,440 ±4,054	**9,909 ±0,550**	**7,784 ±0,272**	**2,760 ±0,091**	**2,465 ±0,104**	12,695 ±0,991	25,635 ±0,340
5j	52,312 ±1,896	**10,392 ±0,803**	**7,357 ±0,053**	**3,153 ±0,119**	**2,129 ±0,050**	18,995 ±0,973	23,645 ±0,858
7a	>100	60,854 ±0,667	58,225 ±0,971	65,128 ±0,356	>100	64,328 ±1,158	>100
7b	>100	31,498 ±0,987	30,582 ±1,007	35,645 ±0,458	29,986 ±0,856	33,365 ±1,242	91,189 ±2,557
7c	>100	26,418 ±0,732	29.558 ±0,756	25,397 ±0,648	30,889 ±0,528	34,214 ±0,957	31,541 ±0,101

Tablo 5.3. (Devam) *Bileşiklerin A549, C6, MCF-7, HepG2, HT29, PANC-1 ve 3T3 hücre dizilerine ait IC_{50} değerleri (µM)*

7d	>100	11,872 ±0,582	15,345 ±0,791	11,142 ±0,371	13,376 ±0,132	13,937 ±0,335	35,109 ±2,052
7e	>100	15,562 ±0,128	18,185 ±0,254	12,116 ±0,294	13,273 ±0,201	18,554 ±0,989	28,554 ±0,689
7f	>100	48,215 ±1,034	45,268 ±0,752	40,168 ±0,326	55,900 ±1,289	40,659 ±0,848	>100
7g	>100	41,182 ±0,970	42,692 ±0,789	45,387 ±0,958	49,242 ±1,059	49,548 ±1,287	>100
7h	>100	20,692 ±0,608	27,648 ±0,275	25,348 ±0,584	35,569 ±0,965	29,354 ±0,891	>100
7i	>100	**7,735 ±0,072**	**6,655 ±0,954**	**0,178 ±0,008**	**7,013 ±0,119**	13,107 ±0,287	54,126 ±0,287
7j	>100	**8,449 ±0,147**	**7,985 ±0,654**	**0,993 ±0,007**	**8,968 ±0,149**	18,955 ±0,042	73,811 ±0,378
İmatinib	>100	34,670 ±1,424	12,018 ±0,371	9,506 ±0,257	16,256 ±0,964	10,873 ±0,507	>100
Doksorubisin	10,985 ±0,247	23,625 ±1,524	7,684 ±0,191	10,687 ±0,968	12,365 ±0,527	6,662 ±0,093	>100

Antikanser etkili bir bileşiğin kanser hücre hatları üzerinde etki göstermesinin yanında sağlıklı hücre hatları üzerinde sitotoksik etki göstermemesi önemli bir kriterdir. Selektivite indeksi 1'den ne kadar büyükse bileşiğin antikanser ajan olarak kullanılabilirlik değeri o kadar yüksektir. A549 hücre hattı üzerinde bileşikler herhangi bir etkinlik göstermediği için bu hücre dizisi ileriki deneysel aşamalarda kullanılmamıştır. Diğer tüm hücre hatları üzerinde antikanser etkinlikleri ile **5i, 5j, 7i** ve **7j** kodlu bileşikler ön plana çıkmaktadır. Bileşiklerin en yüksek aktivite değerini HepG2 hücre hattı üzerinde gösterdikleri belirlenmiştir. Bu bileşiklerin C6, MCF-7, HepG2, HT29 ve Panc-1 hücre dizilerine ait selektivite indeksleri (Tablo 5.3'de) sunulmuştur.

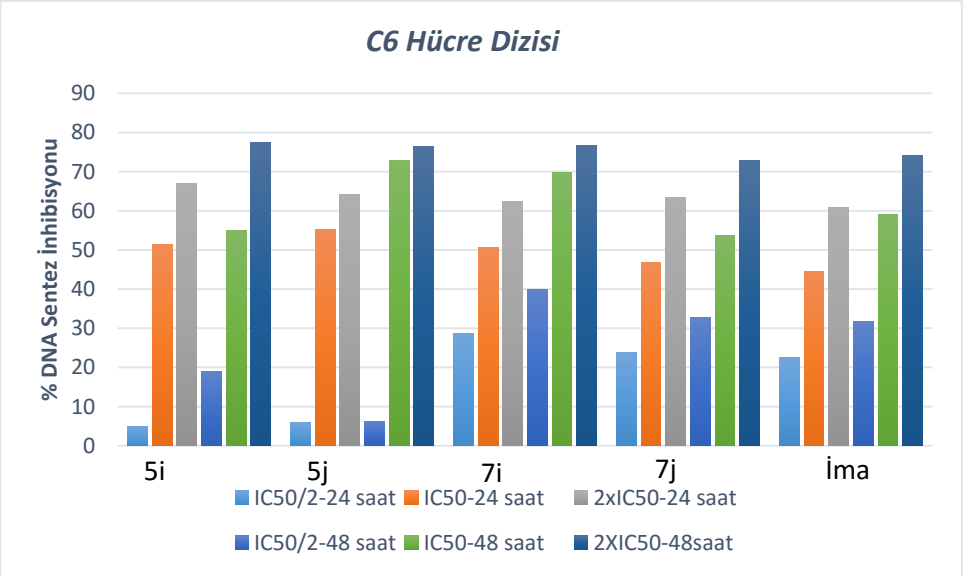
Tablo 5.4. ***5i, 5j, 7i ve 7j*** *bileşiklerinin C6, MCF-7, HepG2, HT-29 ve Panc-1 hücre dizilerine ait selektivite indeksleri*

Bileşik	C6	MCF-7	HepG2	HT-29	Panc-1
5i	2,59	3,29	9,28	10,39	2,01
5j	2,28	3,21	7,50	11,10	1,24
7i	6,99	8,13	304,08	7,71	4,12
7j	8,73	9,24	74,33	8,23	3,89

5.3.2. BrdU proliferasyon yöntemi ile bileşiklerin antiproliferatif etki sonuçları

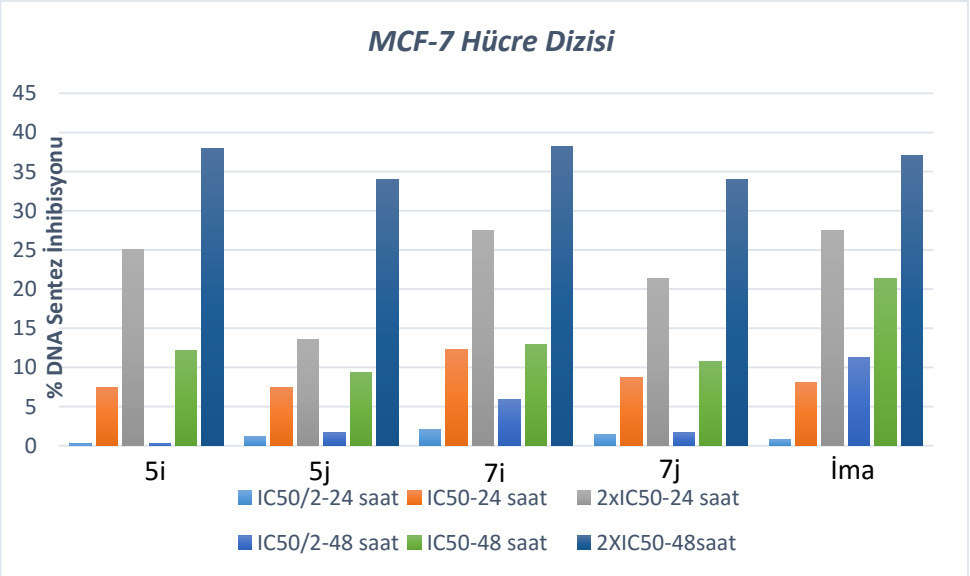
5-Bromo-2′-deoksiüridin (BrdU) replike olan hücrelerin DNA'sına girdiğinde replikasyon esnasında timidinin yerini alarak DNA'nın yapısına katılmakta ve sonrasında kendisi için spesifik monoklonal antikorlarla (anti-BrdU antikoru) tespit edilebilmektedir. Hücre içindeki BrdU miktarı çoğalan hücre miktarı ile orantılıdır ve fikse olan hücrelerde direkt ELISA ile hesaplanabilmektedir [144].

BrdU proliferasyon testi sonuçlarına göre C6 hücre dizilerinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in antiproliferatif etkinliklerinin doza bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ayrıca bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in bu hücre dizilerinde % DNA sentez inhibisyon değerleri zamana bağlı olarak da arttığı tespit edilmiştir. Bileşiklerin $IC_{50}/2$, IC_{50} ve $2*IC_{50}$ konsantrasyonlarında 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde % DNA sentez inhibisyon değerleri İmatinib ile benzer olduğu görülmüştür. Ayrıca **7i** kodlu bileşik için İmatinib'e kıyasla daha yüksek % DNA sentez inhibisyon değerleri elde edilmiştir. C6 hücre dizilerinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktivite grafikleri sunulmuştur (Şekil 5.130).



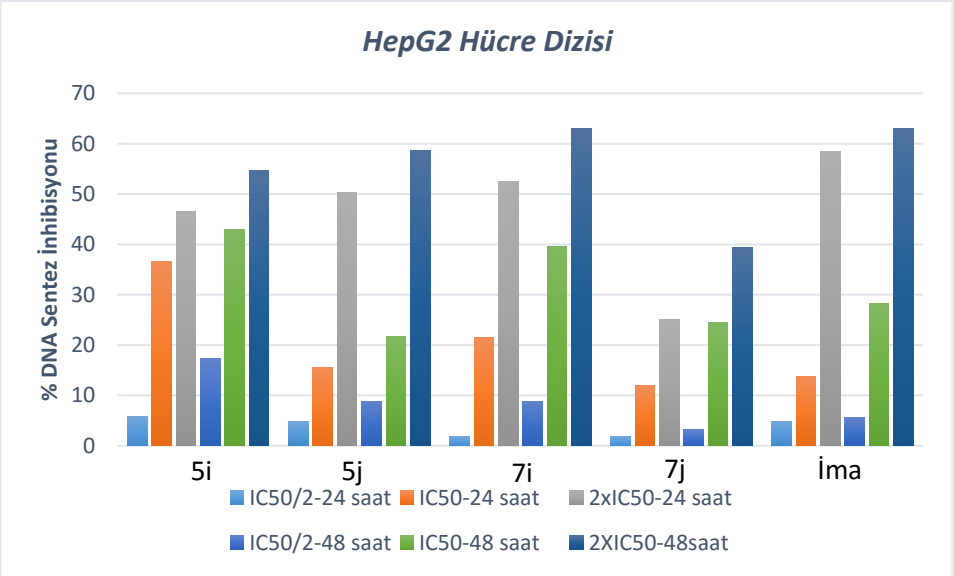
Şekil 5.130. *C6 hücre dizilerinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri.*

MCF7 hücre dizisinde BrdU proliferasyon testi sonuçlarına göre bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in antiproliferatif etkinliklerinin doza bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ayrıca bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in bu hücre dizilerinde % DNA sentez inhibisyon değerleri zamana bağlı olarak da arttığı tespit edilmiştir. Ancak **5j** ve **7j** kodlu bileşiklerin $IC_{50}/2$, IC_{50} ve $2*IC_{50}$ konsantrasyonlarında 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde % DNA sentez inhibisyon değerleri İmatinib'e oranla daha düşük olarak hesaplanmıştır. **5i** ve **7i** kodlu bileşikler ise İmatinib ile kıyaslandığında benzer % DNA sentez inhibisyon değerleri elde edilmiştir. MCF7 hücre dizilerinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktivite grafikleri sunulmuştur (Şekil 5.131).



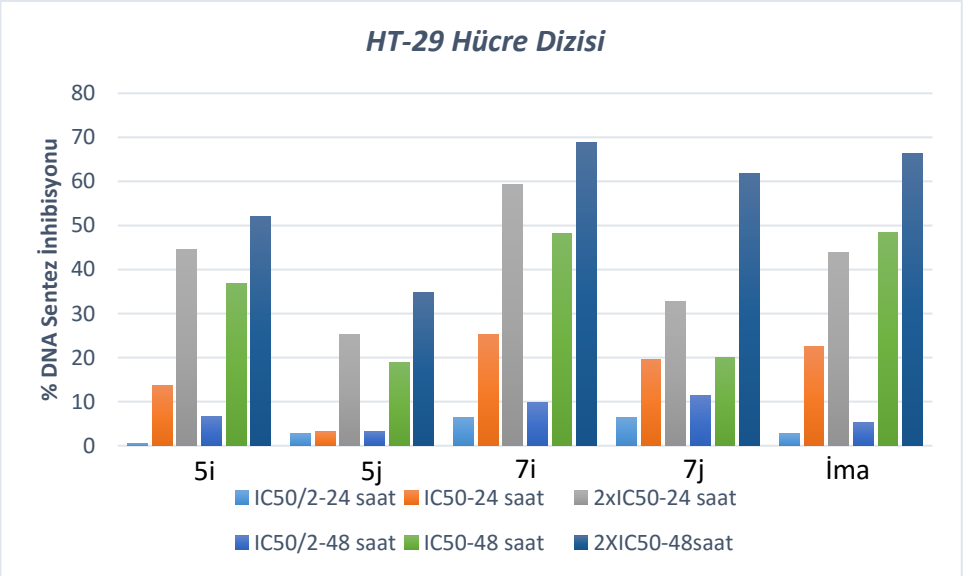
Şekil 5.131. *MCF-7 hücre dizilerinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri*

BrdU proliferasyon testi sonuçlarına göre HepG2 hücre dizisinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in antiproliferatif etkinliklerinin doza bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ayrıca bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in bu hücre dizilerinde % DNA sentez inhibisyon değerleri zamana bağlı olarak da arttığı tespit edilmiştir. Bileşikler **5i, 5j ve 7j**'nin $IC_{50}/2$, IC_{50} ve $2*IC_{50}$ konsantrasyonlarında 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde % DNA sentez inhibisyon değerleri İmatinib'e oranla daha düşük olarak hesaplanmıştır. Bileşik **7i** için ise $IC_{50}/2$, IC_{50} ve $2*IC_{50}$ konsantrasyonlarında 48 saatlik inkübasyon süresinde İmatinib'e kıyasla daha yüksek % DNA sentez inhibisyon değerleri elde edilmiştir. HepG2 hücre dizilerinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktivite grafikleri sunulmuştur (Şekil 5.132).



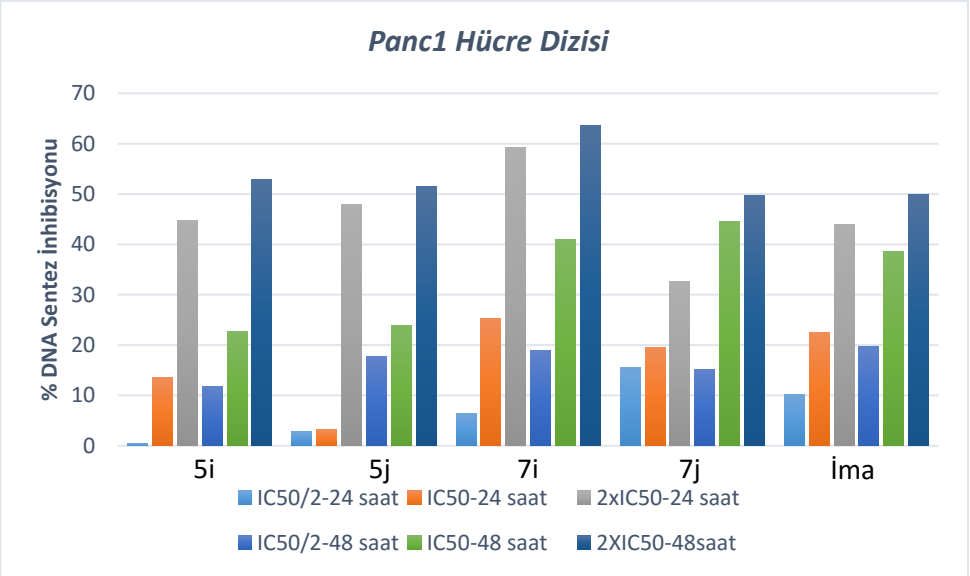
Şekil 5.132. *HepG2 hücre dizilerinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri*

HT29 hücre dizisinde BrdU proliferasyon testi sonuçlarına göre bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in antiproliferatif etkinliklerinin doza bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ayrıca bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in bu hücre dizilerinde % DNA sentez inhibisyon değerleri zamana bağlı olarak da arttığı tespit edilmiştir. Bileşikler **5i, 5j** ve **7j**'nin $IC_{50}/2$, IC_{50} ve $2*IC_{50}$ konsantrasyonlarında 24 saatlik inkübasyon süresinde % DNA sentez inhibisyon değerleri İmatinib'e oranla daha düşük olarak hesaplanmıştır. Bileşik **7i** için ise $IC_{50}/2$, IC_{50} ve $2*IC_{50}$ konsantrasyonlarında 24 saatlik ve 48 saatlik inkübasyon süresinde daha yüksek % DNA sentez inhibisyon değerleri elde edildi. HT29 hücre dizilerinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktivite grafikleri sunulmuştur (Şekil 5.133).



Şekil 5.133. *HT29 hücre dizilerinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri*

Panc-1 hücre dizisinde BrdU proliferasyon testi sonuçlarına göre bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in antiproliferatif etkinliklerinin doza bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ayrıca bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in bu hücre dizilerinde % DNA sentez inhibisyon değerleri zamana bağlı olarak da arttığı tespit edilmiştir. Bileşikler **5i, 5j, 7i** ve **7j**'nin $IC_{50}/2$, IC_{50} ve $2*IC_{50}$ konsantrasyonlarında 24 saatlik ve 48 saatlik inkübasyon süresinde % DNA sentez inhibisyon değerleri İmatinib'e oranla daha düşük olarak hesaplanmıştır. Panc-1 hücre dizilerinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktivite grafikleri sunulmuştur (Şekil 5.134).



Şekil 5.134. *Panc-1 hücre dizilerinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri*

5.3.3. Anneksin V/EI yöntemi ile bileşiklerin apoptotik etki sonuçları

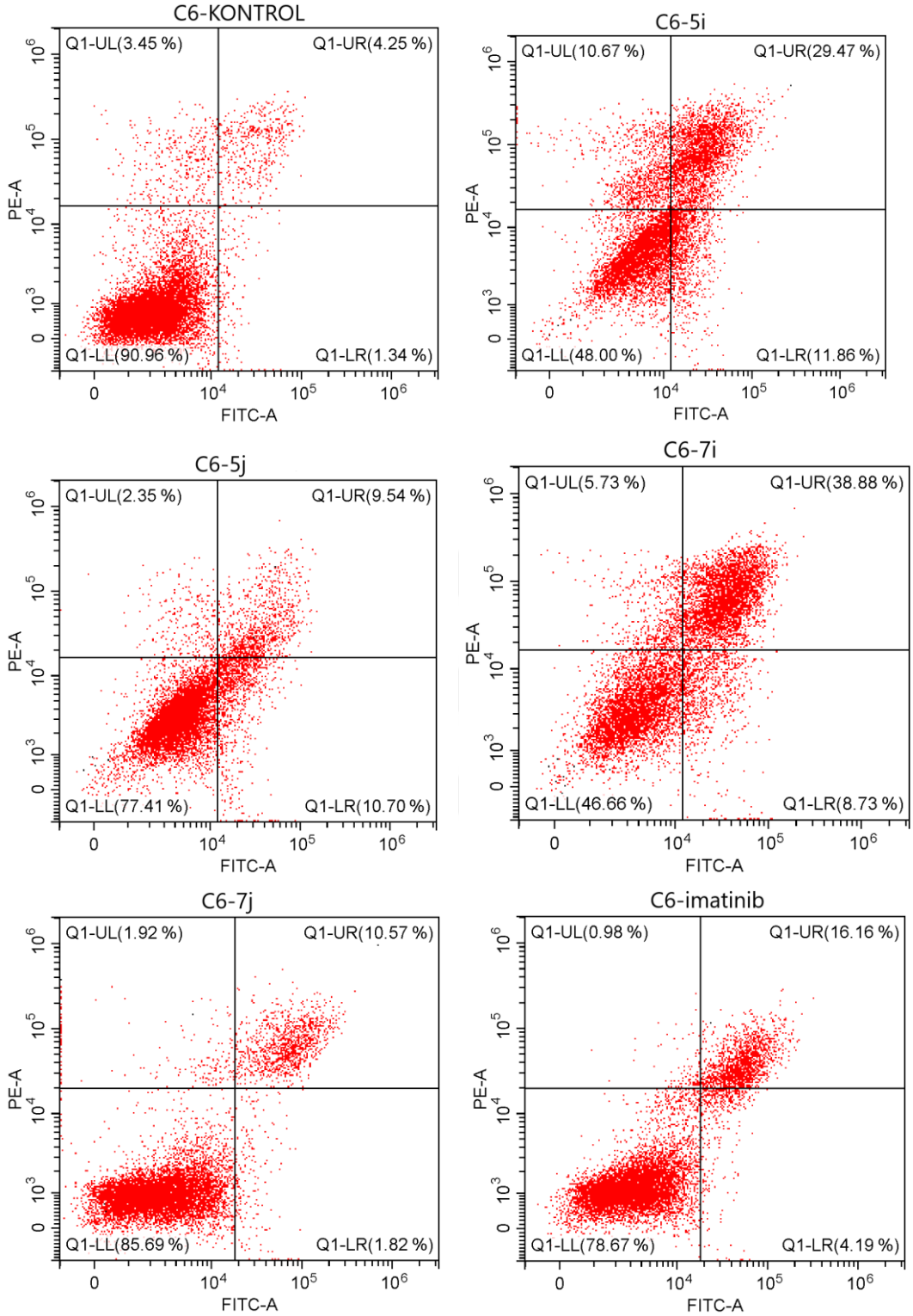
Apoptoz, hücrelerde gerçekleşen programlanmış hücre ölümü için doğal bir mekanizmadır. Hem hücre gelişiminde hem de homeostazda önemli bir rol oynadığı için özellikle uzun ömürlü memelilerde kritiktir. Gereksiz veya istenmeyen hücreleri ortadan kaldırmaya hizmet eder ve oldukça düzenlenmiş bir süreçtir. DNA hasarı veya kontrolsüz proliferasyon dahil olmak üzere apoptotik yolun aktive olmasına neden olacak çok çeşitli koşullar vardır [145]. Antikanser ilaçlarının çoğu kanser hücrelerinde apoptozu indüklediğinden, hücre ölüm yolunu ifade etmek için önemli bir yaklaşımdır. Annexin V-FITC, apoptotik hücrelerin miktarını akış sitometrisi ile tespit edip ölçebilen bir reaktif bir ajandır. EI ve Annexin V-FITC içeren renklendirme hücreleri, canlı, erken apoptotik, geç apoptotik veya nekrotik hücreleri aralarındaki karakteristik özellikleri sayesinde kadranlara ayırmaktadır [146, 147]. Böylece, bu yöntem hücre ölümünün yoluna dair bir kanıt sağlar. Üst sol kadran nekrotik (Q1-UL; Anneksin V-negatif/EI-pozitif); üst sağ kadran geç apoptotik hücreler (Q1-UR; Anneksin V-pozitif/EI-pozitif); alt sol kadran canlı hücreler (Q1-LL; Anneksin V-negatif/EI-negatif) ve alt sağ kadran erken apoptotik hücreleri (Q1-LR; Anneksin V-pozitif/EI-negatif) göstermektedir.

C6 hücre dizisinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'e ait akış sitometrik analiz diyagramı (Şekil 5.135'de) sunulmuştur. Buna göre IC_{50} konsantrasyonlarında apoptotik hücre yüzdesi İmatinib için %4,19 erken apoptoz, %16,16 geç apoptoz; **5i** için %11,86

erken apoptoz, %29,47 geç apoptoz; **5j** için %10,70 erken apoptoz, %9,54 geç apoptoz; **7i** için %8,75 erken apoptoz, %38, 88 geç apoptoz, **7j** için %1,82 erken apoptoz, %10,57 geç apoptoz'dur. Bu bilgiler ışığında IC_{50} konsantrasyonlarında ve 24 saatlik inkübasyon süresinde bileşik **5i** ve **7i'**nin C6 hücre dizisinde İmatinib'e oranla daha fazla apoptotik hücre ölümünü indüklediği tespit edilmiştir.

Tablo 5.5. *Bileşikler **5i, 5j, 7i**, **7j**'nin ve İmatinib'in C6 hücre dizisi üzerindeki apoptoz yüzdeleri*

Bileşik	C6 HÜCRE DİZİSİ		
	% Erken Apoptoz	% Geç Apoptoz	% Nekroz
5i	11,86	29,47	10,67
5j	10,70	9,54	2,35
7i	8,73	38,8	5,73
7j	1,82	10,57	1,92
İmatinib	4,19	16,16	0,98

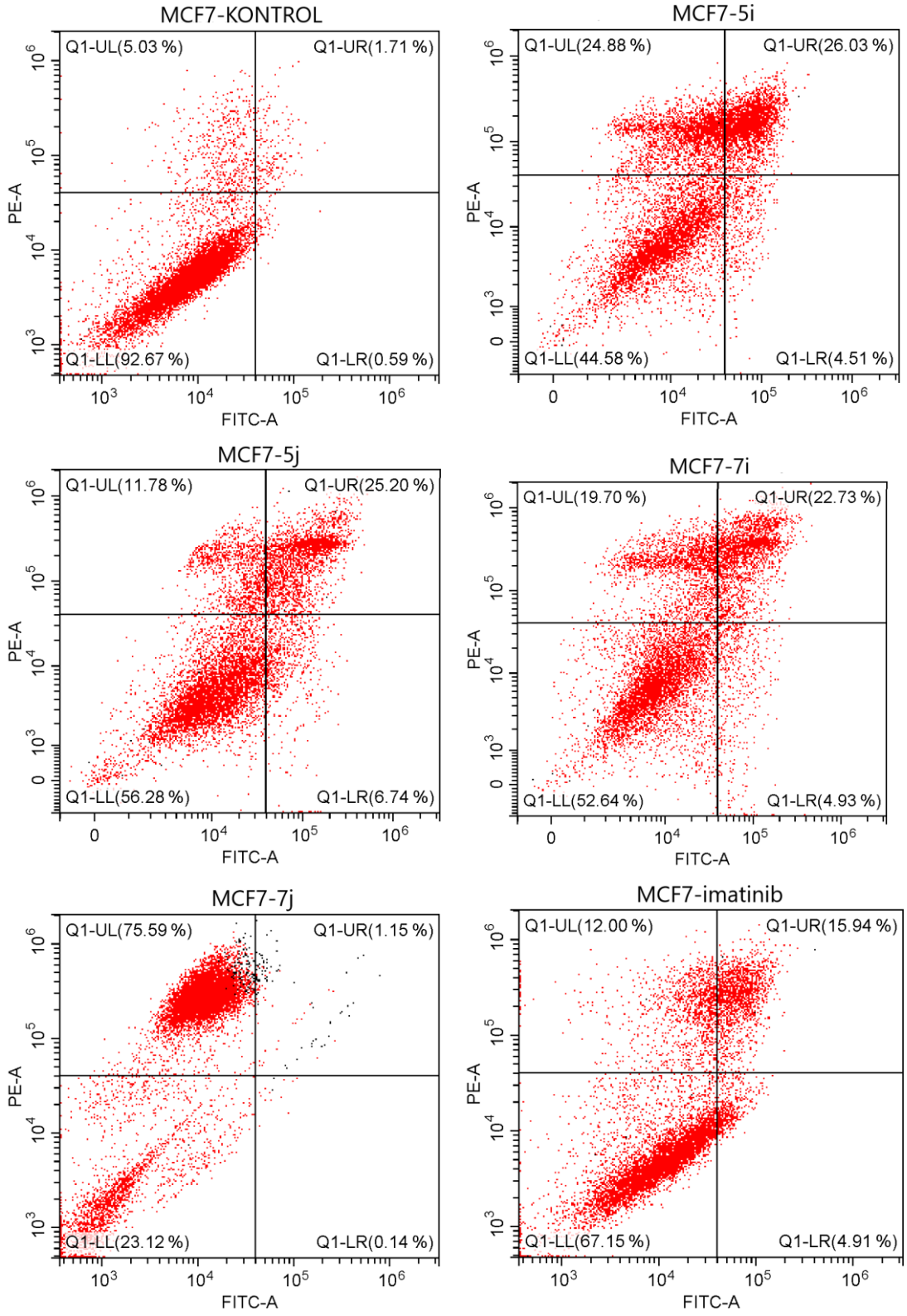


Şekil 5.135. *C6 hücre dizisinde bileşik **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'e ait akış sitometrik analiz diyagramı*

MCF7 hücre dizisinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'e ait akış sitometrik analiz diyagramı (Şekil 5.136'da) sunulmuştur. Buna göre IC_{50} konsantrasyonlarında apoptotik hücre yüzdesi İmatinib için %4,91 erken apoptoz, %15,94 geç apoptoz; **5i** için %4,51 erken apoptoz, %26,03 geç apoptoz; **5j** için %6,74 erken apoptoz, %25,20 geç apoptoz; **7i** için %4,93 erken apoptoz, %22,73 geç apoptoz, **7j** için %0,14 erken apoptoz, %1,15 geç apoptoz ve %75,59 nekroz'dur. IC_{50} konsantrasyonlarında ve 24 saatlik inkübasyon süresinde bileşik **5i, 5j ve 7i'**nin MCF7 hücre dizisinde İmatinib'e oranla daha fazla apoptotik hücre ölümünü indüklediği tespit edilmiştir. Fakat **7j** bileşiği MCF7 hücre dizisinde IC_{50} konsantrasyonunda nekrozu indüklemiştir.

Tablo 5.6. Bileşikler **5i, 5j, 7i,7j**'nin ve İmatinib'in MCF-7 hücre dizisi üzerindeki apoptoz yüzdeleri

Bileşik	MCF7 HÜCRE DİZİSİ		
	% Erken Apoptoz	% Geç Apoptoz	% Nekroz
5i	4,51	26,03	24,88
5j	6,74	25,20	11,78
7i	4,93	22,73	19,70
7j	0,14	1,15	75,59
İmatinib	4,91	15,94	12,00

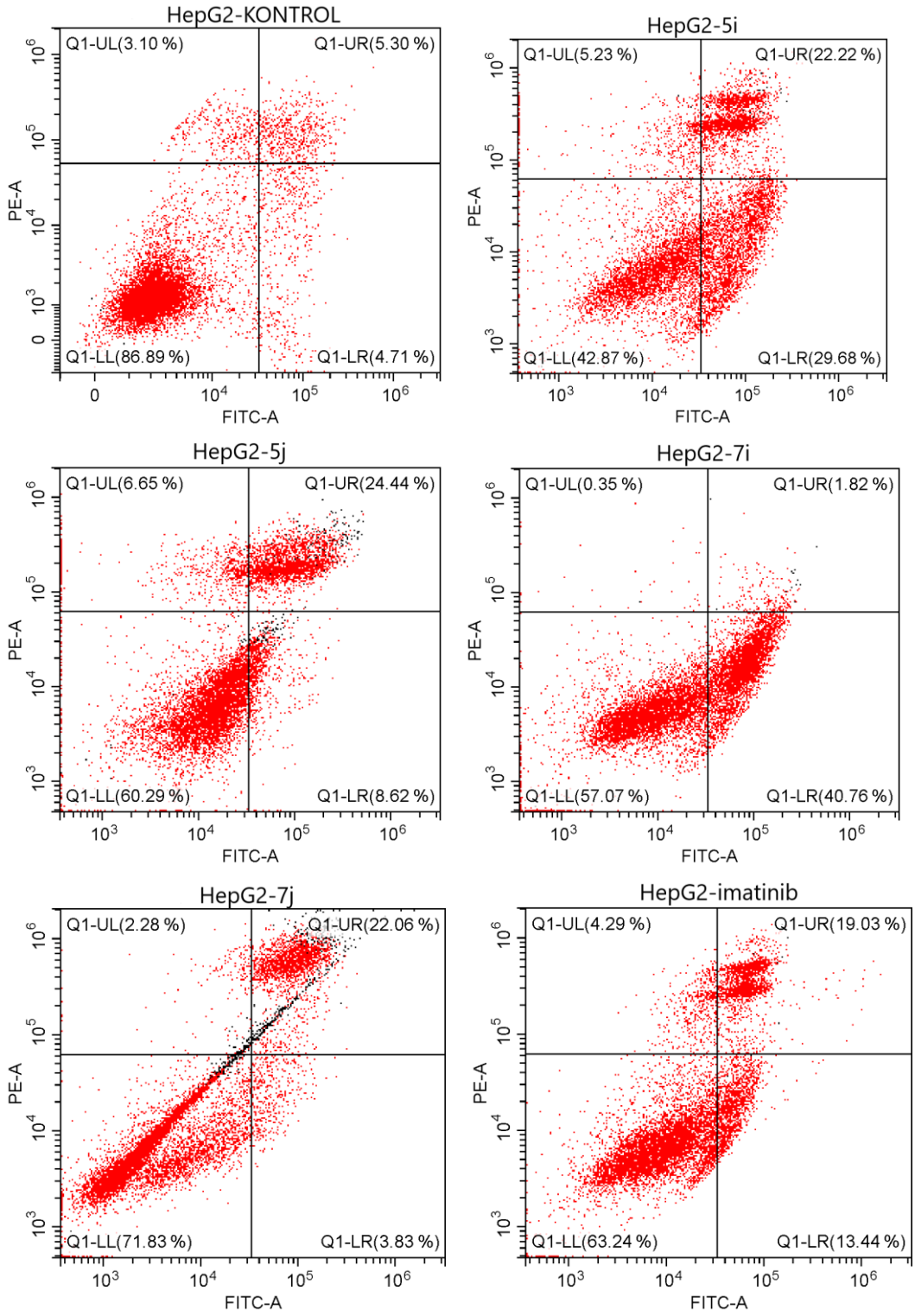


Şekil 5.136. *MCF7 hücre dizisinde bileşik* ***5i, 5j, 7i, 7j*** *ile İmatinib'e ait akış sitometrik analiz diyagramı*

HepG2 hücre dizisinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'e ait akış sitometrik analiz diyagramı (Şekil 5.137'de) sunulmuştur. Buna göre IC_{50} konsantrasyonlarında apoptotik hücre yüzdesi İmatinib için %13,44 erken apoptoz, %19,03 geç apoptoz; **5i** için %29,68 erken apoptoz, %22,22 geç apoptoz; **5j** için %8,62 erken apoptoz, %24,44 geç apoptoz; **7i** için %40,76 erken apoptoz, %1,84 geç apoptoz, **7j** için %3,83 erken apoptoz, %22,06 geç apoptoz'dur. Dolayısıyla IC_{50} konsantrasyonlarında ve 24 saatlik inkübasyon süresinde bileşik **5i, 5j** ve **7i'**nin HepG2 hücre dizisinde İmatinib'e oranla daha fazla apoptotik hücre ölümünü indüklediği tespit edilmiştir. İmatinib %13,44 oranında erken apoptozu indüklerken **5i** kodlu bileşiğin %29,68, **7i** kodlu bileşiğin ise %40,76 oranında erken apoptozu indüklediği görülmüştür.

Tablo 5.7. *Bileşikler **5i, 5j, 7i , 7j**'nin ve İmatinib'in HepG2 hücre dizisi üzerindeki apoptoz yüzdeleri*

Bileşik	HepG2 HÜCRE DİZİSİ		
	% Erken Apoptoz	% Geç Apoptoz	% Nekroz
5i	29,68	22,22	5,23
5j	8,62	24,44	6,65
7i	40,76	1,82	0,35
7j	3,83	22,06	2,28
İmatinib	13,44	19,03	4,29

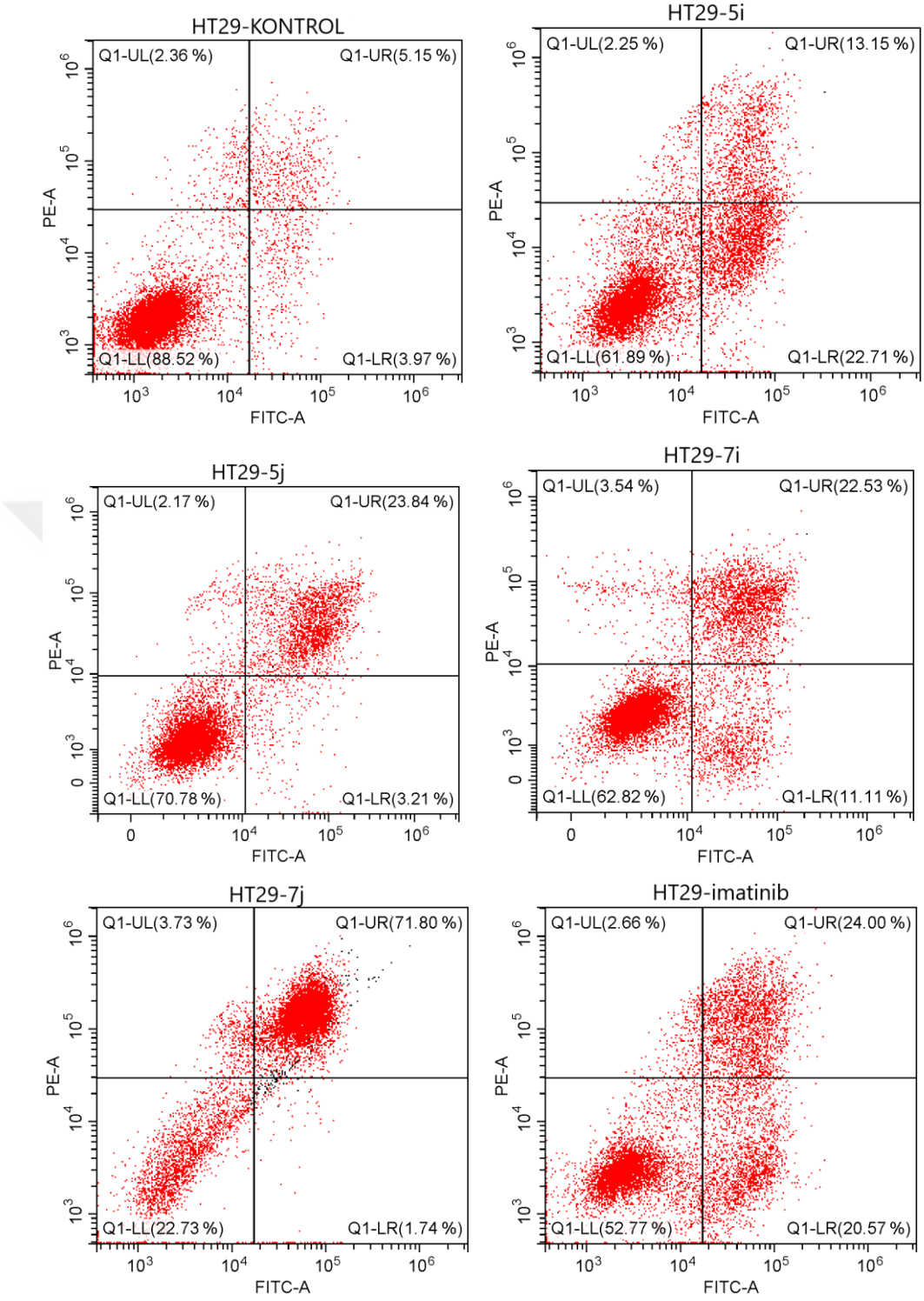


Şekil 5.137. *HepG2 hücre dizisinde bileşik* ***5i, 5j, 7i, 7j*** *ile İmatinib'e ait akış sitometrik analiz diyagramı*

HT29 hücre dizisinde bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'e ait akış sitometrik analiz diyagramı (Şekil 5.138'de) sunulmuştur. Buna göre IC_{50} konsantrasyonlarında apoptotik hücre yüzdesi İmatinib için %20,57 erken apoptoz, %24,00 geç apoptoz; **5i** için %22,71 erken apoptoz, %13,15 geç apoptoz; **5j** için %3,21 erken apoptoz, %23,84 geç apoptoz; **7i** için %11,11 erken apoptoz, %22,53 geç apoptoz, **7j** için %1,74 erken apoptoz, %71,80 geç apoptoz'dur. Dolayısıyla IC_{50} konsantrasyonlarında ve 24 saatlik inkübasyon süresinde bileşik **7j'**nın HT29 hücre dizisinde İmatinib'e oranla daha fazla, **5i** ve **7i** kodlu bileşiklerin ise İmatinib ile benzer oranda apoptotik hücre ölümünü indüklediği tespit edilmiştir.

Tablo 5.8. *Bileşikler **5i, 5j, 7i, 7j**'nin ve İmatinib'in HT29 hücre dizisi üzerindeki apoptoz yüzdeleri*

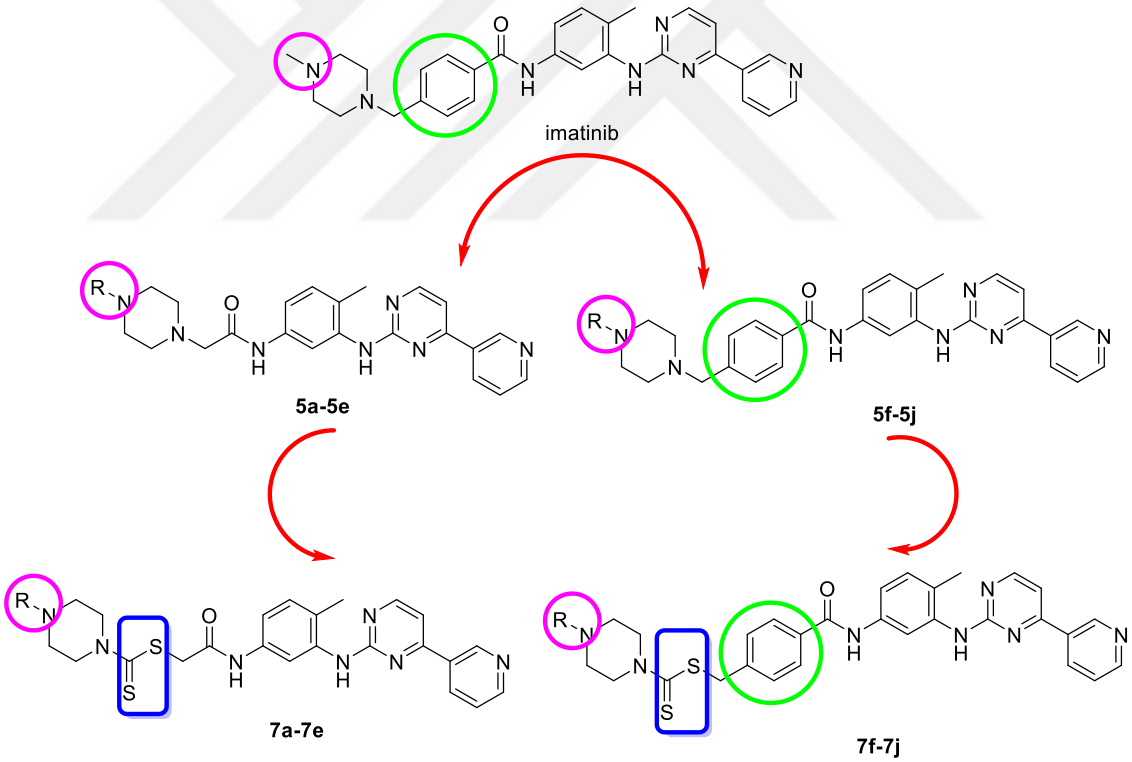
Bileşik	HT29 HÜCRE DİZİSİ		
	% Erken Apoptoz	% Geç Apoptoz	% Nekroz
5i	22,71	13,15	2,25
5j	3,21	23,84	2,17
7i	11,11	22,53	3,54
7j	1,74	71,80	3,73
İmatinib	20,57	24,00	2,66



Şekil 5.138. *HT29 hücre dizisinde bileşik* ***5i, 5j, 7i, 7j*** *ile İmatinib'e ait akış sitometrik analiz diyagramı*

5.4. Yapı Etki İlişkilerinin Değerlendirilmesi

Bu tez çalışması kapsamında İmatinib öncül bileşik olarak belirlenmiş ve yapısal modifikasyonlar ile 4 farklı grup olmak üzere toplamda 20 yeni bileşik sentezlenmiştir. Tüm bileşiklerde İmatinib'in piperazin halkasına bağlı bulunan metil grubu yerine 2-metoksietil, allil, izopropil, 2-dimetilaminoetil veya 3-dimetilaminopropil yapıları eklenmiştir. 1. grupta yer alan bileşikler (**5a-5e**) piperazin sübstitüent farklılığının yanında, İmatinib'den farklı olarak 1,4-disübstitüe benzen halkasını taşımamaktadır. 2. grupta bulunan bileşiklerin (**5f-5j**) İmatinib'den tek farkı piperazin halkasının sübstitüentleridir. 3. grupta yer alan bileşiklerin (**7a-7e**), İmatinib'den farkı; piperazin halkasının sübstitüenti, 1,4-disübstitüe benzen halkasının yokluğu ve ditiyokarbamat kalıntısının varlığıdır. 4. grupta yer alan bileşiklerin (**7f-7j**) İmatinib'den farkı ise piperazin grubunun sübstitüentleri ve ditiyokarbamat kalıntısının varlığıdır (Şekil 5.139).



Şekil 5.139. *Sentez bileşiklerinin kimyasal yapılarındaki farklılıklar*

MTT testleri sonucuna bakıldığında **5f-5j** ve **7f-7j** kodlu bileşiklerin daha ön planda oldukları net bir şekilde görülmektedir. Bu bilgi 1,4-disübstitüe benzen halkasının aktivite için önemli olduğunu göstermektedir. **7a-7j** kodlu bileşikler ditiyokarbamat kalıntısı ile piperazin halkasına bağlanmıştır. 1,4-Disübstitüe benzen halkası içeren bileşikler

arasında ditiyokarbamat kalıntısı taşıyan türevlerin (**7f-7j**) daha aktif oldukları belirlenmiştir. Bu bilgi ditiyokarbamat kalıntısının aktiviteye pozitif yönde katkı sağladığı şeklinde yorumlanabilir. Ayrıca piperazin halkasına bağlı 2-dimetilaminoetil veya 3-dimetilaminopropil gruplarını taşıyan türevlerin en aktif türevleri oluşturduğu görülmektedir. Bileşiklerin en yüksek aktivite gösterdiği HepG2 hücre hattı üzerinde IC_{50} değerleri karşılaştırırak yapı etki ilişkileri ayrıntılı bir şekilde açıklanmıştır.

Sentez bileşiklerinin HepG2 hücre hattı üzerindeki IC_{50} değerleri karşılaştırıldığında, birinci grup bileşikler (**5a-5e**) IC_{50}= 13,260-21,776 μM değerleri ile aktivite göstermiştir. İkinci grup türevler (**5f-5j**) IC_{50}= 2,760-100 μM değerleri arasında etkinlik göstermiştir. Bu bileşikler arasında **5i** kodlu bileşik IC_{50}=2,760 μM ve **5j** kodlu bileşik ise IC_{50}=3,153 μM ile akitivite göstererek bu grubun en aktif türevleri olmuşlardır. Bu bileşikler sırası ile piperazin grubuna bağlı 2-dimetilaminoetil veya 3-dimetilaminopropil yan zincirleri taşımaktadır. Üçüncü grup bileşikler (**7a-7e**) IC_{50}= 11,142-65,128 μM değerleri arasında aktivite göstermiştir. Dördüncü grup bileşikler (**7f-7j**) IC_{50}= 0,178-45,387 μM değerleri arasında etkinlik göstermişlerdir. Bu bileşikler arasında **7i** kodlu bileşik IC_{50}=0,178 μM ve **7j** kodlu bileşik ise IC_{50}=0,993 μM değeri ile akitivite göstererek bu grubun en aktif türevleri olmuşlardır. Bu bileşikler sırası ile piperazin grubuna bağlı 2-dimetilaminoetil veya 3-dimetilaminopropil yan zincirleri taşımaktadır.

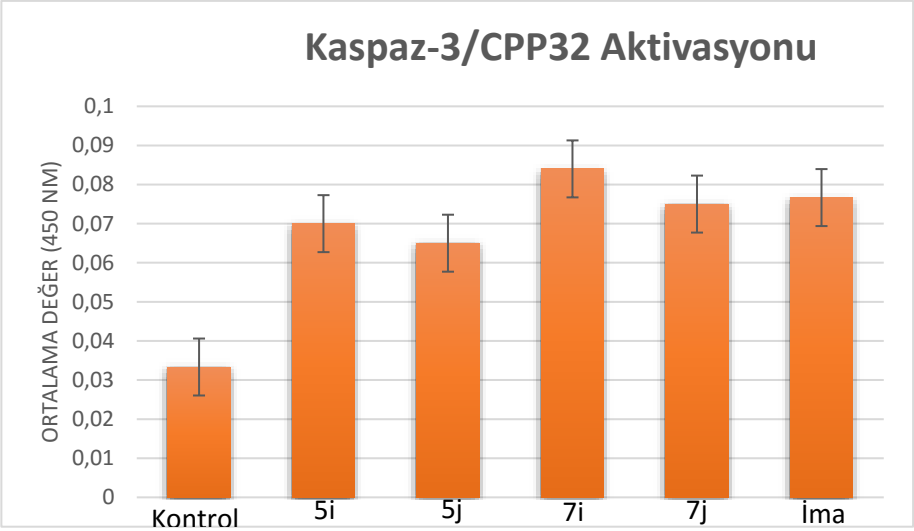
Sentezlenen bileşiklerin A549, C6, MCF-7, HepG2, HT29 ve Panc-1 hücre hatlarına karşı IC_{50} değerleri birlikte değerlendirildiğinde **5i, 5j, 7i** ve **7j** kodlu türevler ön plana çıkmaktadır. Bu bileşikler ortak olarak 1,4-disübstitüe benzen grubunu taşımaktadırlar. Bu bileşikler arasından ise **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin daha yüksek aktivite değerine sahip olduğu görülmektedir. Bu bileşikler **5i** ve **5j** bileşiklerine ek olarak ditiyokarbamat kalıntısı taşımaktadır. Ditiyokarbamat kalıntısının da aktiviteye pozitif yönde katkı sağladığı düşünülmektedir. Piperazin halkasına bakıldığında aktif bileşikler 2-dimetilaminoetil veya 3-dimetilaminopropil yan zincirleri taşımaktadır. 2-Metoksietil, allil ve izopropil yan zincirlerine kıyasla 2-dimetilaminoetil veya 3-dimetilaminopropil yan zincirinin aktiviteyi arttırdığı düşünülmektedir.

5.5. Kaspaz-3/CPP32 ve Bcl2 İndüksiyon Yöntemi

Apoptoz için sinyal alan hücrede birçok biyokimyasal ve morfolojik değişim gözlenir [148]. Apoptoz yolağını aydınlatmak için, hücre ölümü sırasında Bcl-2 ailesi proteinlerinin aktivasyonu, kaspazların aktivasyonu, fosfatidilserin maruziyeti, DNA

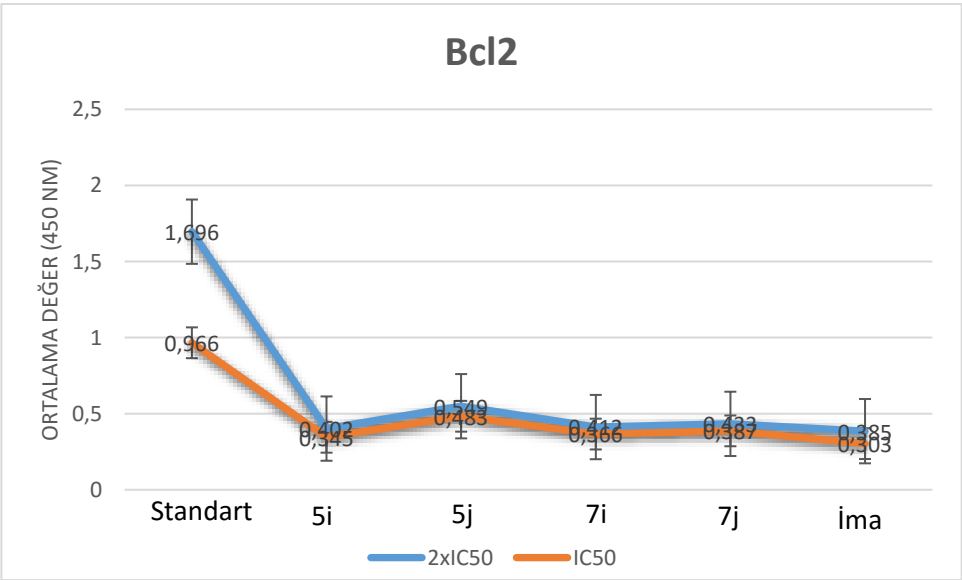
fragmantasyonu gibi karakteristik, biyokimyasal, moleküler ve morfolojik özelliklerin saptanması büyük önem oluşturmaktadır [149]. Hücre sinyali ile başlatılan apoptozun, hücre ölümü ile sonuçlanan uygulama safhasında bazı özel enzimlerin aktivasyonu görülmektedir. Bu enzimler arasında kaspaz ailesi, NF-kB, bcl-2, Nrf-2 vb. sayılabilir [150].

Kaspazlar, apoptotik hücre ölümü, hücre farklılaşması, hücre sinyalinin iletilmesi ve iltihaplanma gibi pek çok rolde görev alan sistein proteazlarıdır. Kaspaz-2, kaspaz-8, kaspaz-9 ve kaspaz-10 apoptozu başlatan kaspaz-2 ailesi içerisinde yer alırken; kaspaz-3, kaspaz-6 ve kaspaz-7 ise apoptozu sonlandıran kaspaz-3 ailesi içerisinde yer almaktadır [151]. Kaspaz-8, hücre yüzeyinde bulunan ölüm reseptörleri ile ilişkili olan ekstrinsik yolun tetiklediği apoptozdan esas olarak sorumludur. Kaspaz-9, mitokondri ve ilgili proteinlerle bağlantılı intrinsik yolla başlatılan apoptozda rol oynamaktadır [149]. İntrinsik yolda prokaspaz-9 aktif kaspaz-9 haline dönüştükten sonra prokaspaz-3'ü aktive eder. Aktif kaspaz-3 de ICAD'ı (inhibitor of caspase deoksirubonukleotid) CAD (caspase active deoskiribonükleotid) haline getirir ve kaspaza bağlı apoptozis mekanizması başlatılır.[152-154]. Ekstrinsik yolak da ise aktif hale getirilen kaspaz-8 efektör kaspazlardan prokaspaz-3'ü aktive eder ve apoptozis başlar [152]. Her iki yolağın sonucunda aktif hale gelen efektör kaspaz-3, kaspazlar ile indüklenen apoptozis için anahtar rol oynamaktadır. Bu bilgiler ışığında apoptoz yolağını aydınlatmak için kaspaz-3 aktivasyonu kolorimetrik olarak tayin edilmiştir. Kaspaz-3/CPP32 Kolorimetrik Test Kiti, DEVD sekansını tanıyan kaspazların aktivitesini test etmek için basit ve kullanışlı bir yol sağlar. Test, etiketli substrat DEVD-pNA'dan ayrıldıktan sonra kromofor p-nitroanilinin (pNA) spektrofotometrik tespitine dayanmaktadır [127]. **5i, 5j, 7i, 7j** ve İmatinib ile gerçekleştirilen kolorimetrik kaspaz-3 aktivasyon testi sonucu Şekil-5.140'da sunulmuştur. Tüm bileşikler ve İmatinib kaspaz-3 enzimini üzerinde aktivatör etkinlik göstermiştir. **5i** kodlu bileşiğin İmatinib ile benzer oranda **7i** kodlu bileşiğin ise İmatinib'den daha yüksek oranda kaspaz-3 enzimini aktive ettiği görülmektedir.



Şekil 5.140. *HepG2 hücre dizisinde bileşik **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'e ait Kaspaz-3 aktivasyon aktiviteleri*

Anti-apoptotik ve pro-apoptotik üyelerden oluşan bcl-2 ailesi, kanser tedavisi için ideal bir hedef haline gelmiş olmakla birlikte normal hücrelere kıyasla birçok kanserde yüksek oranda etkili bir protein ailesidir [150]. Anti-apoptotik bcl-2 proteinlerin aşırı ekspresyonu apoptozisi baskılarken, pro-apoptotik üyelerin aşırı ekspresyonu apoptozise neden olur [155]. Pro-apoptotik olan Bax, bcl-2 ile heterodimerize ve kendisi ile homodimerize olur. Bax'ın hücre düzeyinin artması apoptozisi indükler. bcl-2 miktarı fazla olduğunda ise Bax ile heterodimerize olur ve apoptotik ölüm baskılanır. **5i, 5j, 7i, 7j** ve İmatinib'e ait *in vitro* bcl-2 elisa kit metoduna göre gerçekleştirilen çalışmada bileşiklerin bcl-2 oranında bir artış göstermedikleri görülmüştür (Şekil 5.141) [127, 156].



Şekil 5.141. *HepG2 hücre dizisinde bileşik **5i, 5j, 7i, 7j** ile İmatinib'e ait Bcl2 aktivasyon aktiviteleri*

5.6. Kinaz Enzim İnhibisyon Testleri

Kinazlar, hücreler arasındaki sinyalleri iletmekten sorumludur. Hücrede farklı fonksiyonlarda, yerleşimlerde ve yapılarda 518 tane kinaz bulunmaktadır fakat bunların hepsi adenosin trifosfatın (ATP) gamma fosfatını substratta bulunan serin, treonin ve tirozin kalıntılarının hidroksillerine kovalent olarak transfer eden korunmuş bir katalitik alan kullanır. Büyük ilaç firmalarında yürütülen ilaç keşfi çalışmalarının %20 sinin kinazlara yönelik olduğu tahmin edilmektedir. Genel aktivite profilleri açısından öne çıkan **5i, 5j, 7i, 7j** bileşiklerinin antikanser etki mekanizmaları hakkında fikir edinmek amacıyla bu bileşiklerin PDGFRα, Abl kinaz inhibisyon testleri *in vitro* ELISA metodu ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, İmatinib pozitif kontrol olarak kullanılırken aynı zamanda standart olarak kit içeriğinde bulunan saflaştırılmış standart bileşikler kullanılmıştır. Kit protokolüne göre, sadece standart madde uygulanan bölgenin enzim inhibisyon potansiyeli %0 olarak kabul edilmiş ve bileşiklerinin enzim inhibisyon etkileri pozitif kontrole kıyaslanmıştır.

Bileşiklere ait IC_{50} değerleri Tablo 5.8'de sunulmuştur. PDGFRα enzimi için İmatinib IC_{50}=0,153 µM değeri ile inhibitör etkinlik gösterirken, **5i** bileşiği IC_{50}=0,109 µM değeri ile, **5j** bileşiği IC_{50}=0,158 µM değeri ile, **7i** bileşiği IC_{50}=0,097 µM değeri ile, **7j** bileşiği IC_{50}=0,169 µM değeri ile inhibitör etkinlik göstermiştir. 2-Dimetilaminoetil yan zinciri taşıyan türevlerin genel olarak aktivitede daha ön plana çıktıkları görülmektedir. **7i** bileşiği ise PDGFRα enzimine karşı İmatinib'e göre yaklaşık 1,5 kat daha fazla inhibitör etkinlik göstererek serinin en aktif türevi olmuştur. ABL enzimi için İmatinib IC_{50}=0,298 µM değeri ile inhibitör etkinlik gösterirken, **5i** bileşiği IC_{50}=0,195 µM değeri ile, **5j** bileşiği IC_{50}=0,459 µM değeri ile, **7i** bileşiği IC_{50}=0,173 µM değeri ile, **7j** bileşiği IC_{50}=0,597 µM değeri ile inhibitör etkinlik göstermiştir. **5i** ve **7i** bileşikleri İmatinib'e oranla daha yüksek inhibitör etkinlik göstrmişlerdir.

Tablo 5.9. *5i, 5j, 7i, 7j ve İmatinib'in PDGFRα ve Abl enzimlerine karşı IC_{50} değerleri (µM)*

Enzim	5i	5j	7i	7j	İmatinib
PDGFRα	0,109±0,006	0,158±0,008	0,097±0,004	0,169±0,009	0,120±0,006
Abl	0,195±0,011	0,459±0,021	0,173±0,009	0,597±0,025	0,298±0,013

5.7. Sentezlenen Bileşiklerin Fizikokimyasl Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Bilindiği gibi kimyasal bileşiklerin biyolojik etkileri ile fizikokimyasal özellikleri yakından ilişkilidir. Bu çalışmada sentezi gerçekleştirilen ve antikanser etkileri incelenen bileşiklerin çeşitli fizikokimyasal parametre değerleri Schörindger Moleküler Simülasyon Veritabanı kullanılarak hesaplanmıştır.

Bir bileşiğin ilaç adayı olarak değerlendirilebilmesi için yüksek farmakolojik aktivite ve düşük toksisite profilinin yanı sıra ideal bir farmakokinetik sergilemesi önemlidir. Son yıllarda bilgisayar destekli ilaç geliştirme çalışmaları ilaç adaylarının absorbsiyon, dağılım, metabolizma ve emilim (ADME) profillerinin tahminini son derece kolaylaştırmıştır. Lipinskinin 5 ve Jorgensenin 3 kurallları ilaç adayı bileşikler için ideal farmakokinetik profilinin tahmininde kullanılan önemli veriler sunmaktadır. Bu kurallara ait parametreler ve bu parametrelerden kaynaklı ihlaller bilgisayar programları tarafından hesaplanmakta ve bileşiklerin ideal bir farmakokinetik profile sahip olup olmadığı belirlenmektedir. Tablo 5.9'a bakıldığında bütün bileşiklerin belirlenen sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir. Bileşiklerin hepsinin ideal farmakokinetik sınırlar içerisinde olduğu sonucuna varılmaktadır.

Tablo 5.10. *Bileşiklerin fizikokimyasal parametreleri*

Bileşik	MA	DBS	D	MV	HBD	HBA	LogP	Log BB	YA	LKİ	JKİ	SSSG
5a	461,57	9	2,0	1512,06	2	12,20	2,201	-0,305	98,447	0	1	1
5b	443,55	8	4,3	1481,04	2	10,50	2,682	-0,398	88,618	0	1	1
5c	445,57	7	6,7	1486,86	2	10,50	2,696	-0,296	90,579	0	1	1
5d	474,61	9	3,0	1571,56	2	12,50	1,803	-0,404	91,033	0	2	1
5e	488,63	10	4,6	1633,47	2	12,50	2,307	-0,382	89,705	0	2	1
5f	537,66	10	3,8	1727,85	2	12,20	3,599	-0,478	94,842	1	1	1
5g	519,65	9	8,1	1706,71	2	10,50	4,178	-0,537	87,432	1	1	1
5h	521,66	8	5,7	1696,17	2	10,50	4,085	-0,482	90,315	1	1	1
5i	550,71	10	4,2	1809,99	2	12,50	3,303	-0,804	95,702	1	2	0
5j	564,73	11	3,6	1827,99	2	12,50	3,460	-0,620	90,171	1	2	1
7a	537,70	10	10,5	1606,47	2	12,20	3,704	-0,414	96,748	1	1	1
7b	519,68	9	11,5	1610,52	2	10,50	4,336	-0,675	93,054	1	2	1
7c	521,70	8	7,4	1585,32	2	10,50	4,223	-0,281	88,218	1	1	1
7d	550,74	10	6,6	1715,76	2	12,50	3,512	-0,436	98,122	1	1	1
7e	564,77	11	9,9	1782,80	2	12,50	4,074	-0,278	96,616	1	1	1
7f	613,79	11	5,2	1885,56	2	12,20	5,399	-0,829	98,080	2	2	0
7g	595,78	10	8,8	1838,04	2	10,50	5,904	-0,746	92,899	2	2	0
7h	597,80	9	4,9	1852,31	2	10,50	6,018	-0,581	91,912	2	2	1
7i	626,84	11	13,5	1952,98	2	12,50	5,098	-0,605	97,709	2	2	1

Tablo 5.11. (Devam)*Bileşiklerin fizikokimyasal parametreleri*

7j	640,86	12	7,9	1992,38	2	12,50	5,426	-0,370	93,220	2	2	1
ima	493,61	7	7,5	1614,57	2	10,50	3,525	-0,458	90,755	0	1	1

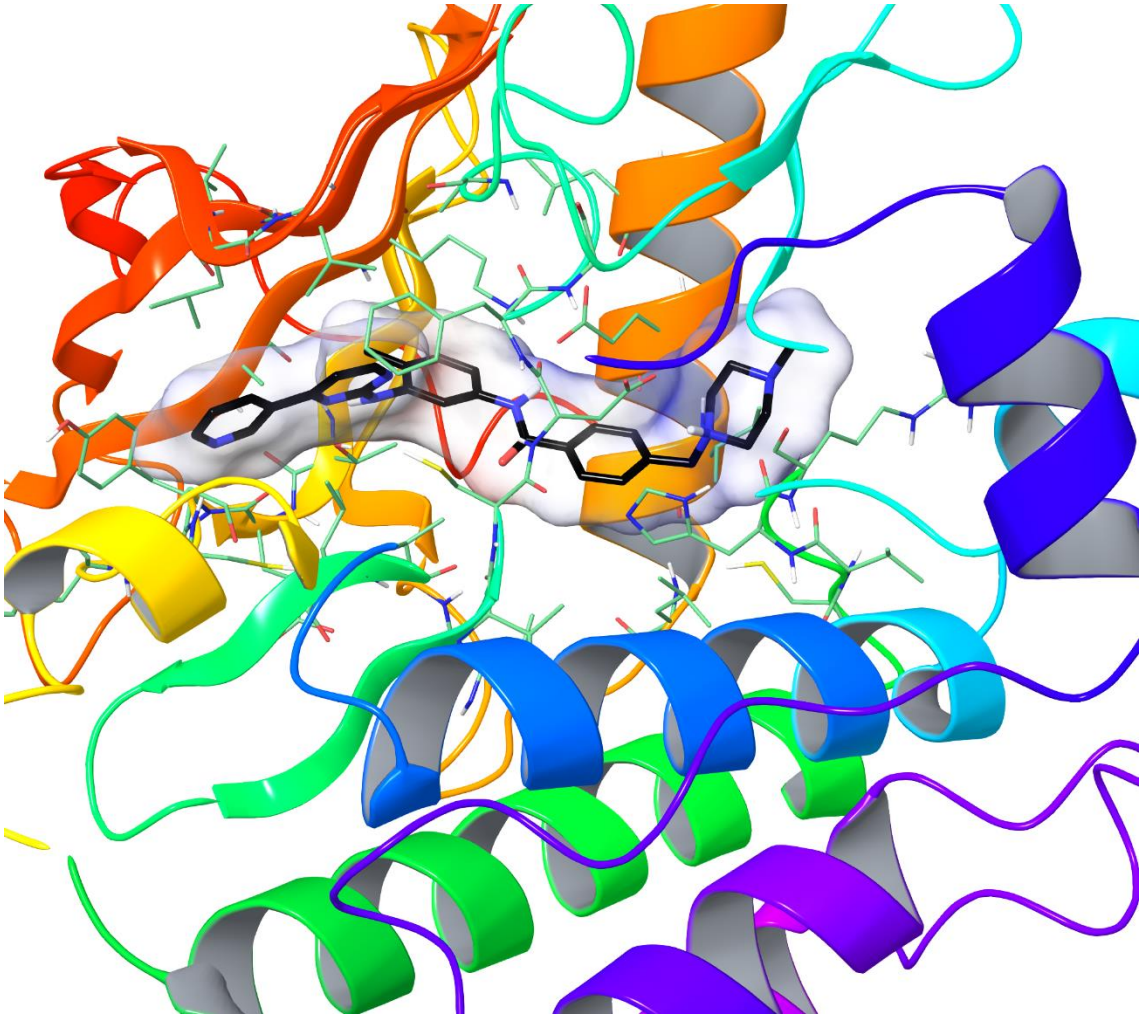
MA: Molekül ağırlığı; **DBS:** Dönebilir bağ sayısı (önerilen değer:0-15); **D:** Molekülün hesaplanan dipol momenti (önerilen değer:1-12.5); **MV:** Moleküler hacim (önerilen değer:500-2000 Å); **HBD:** Sulu bir çözeltide çözünen madde tarafından su moleküllerine verilecek tahmini hidrojen bağı sayısı (önerilen değer:0-6); **HBA:** Sulu bir çözeltide çözünen madde tarafından su moleküllerinden alınacak tahmini hidrojen bağı sayısı (önerilen değer:2-20); **LogP:** Öngörülen oktanol/su partisyon kat sayısı (önerilen değer:-2-6.5); **LogBB:** Öngörülen beyin/kan partisyon kat sayısı (önerilen değer:-3-1.2); **YA:** Van der Waals, polar azot, oksijen ve karbonil karbonu atomlarının yüzey alanı (önerilen değer:7-200); **LKİ:** Lipinski'nin beş kural ihlali sayısı [149]. Bu kurallar şunlardır: MW < 500, QPlogPo/w < 5, Donor HB ≤ 5, Acceptor HB≤ 10. Bu kuralları sağlayan bileşikler ilaç adayı olabilmektedir. (Buradaki "beş", 5'in katları olan sınırları belirtir) (maksimum 4); **JKİ:** Jorgensen'in üç kural ihlali sayısı [150]. Bu kurallar şunlardır: QPlogS > -5.7, QP PCaco > 22 nm/s, # Primary Metabolites < 7.; **SSSG:** -2 (aktif olmayan) ile +2 (aktif) ölçeklerde tahmin edilen merkezi sinir sistemi aktivitesi (önerilen değer:-2 inaktif, 2 aktif).

5.7. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi

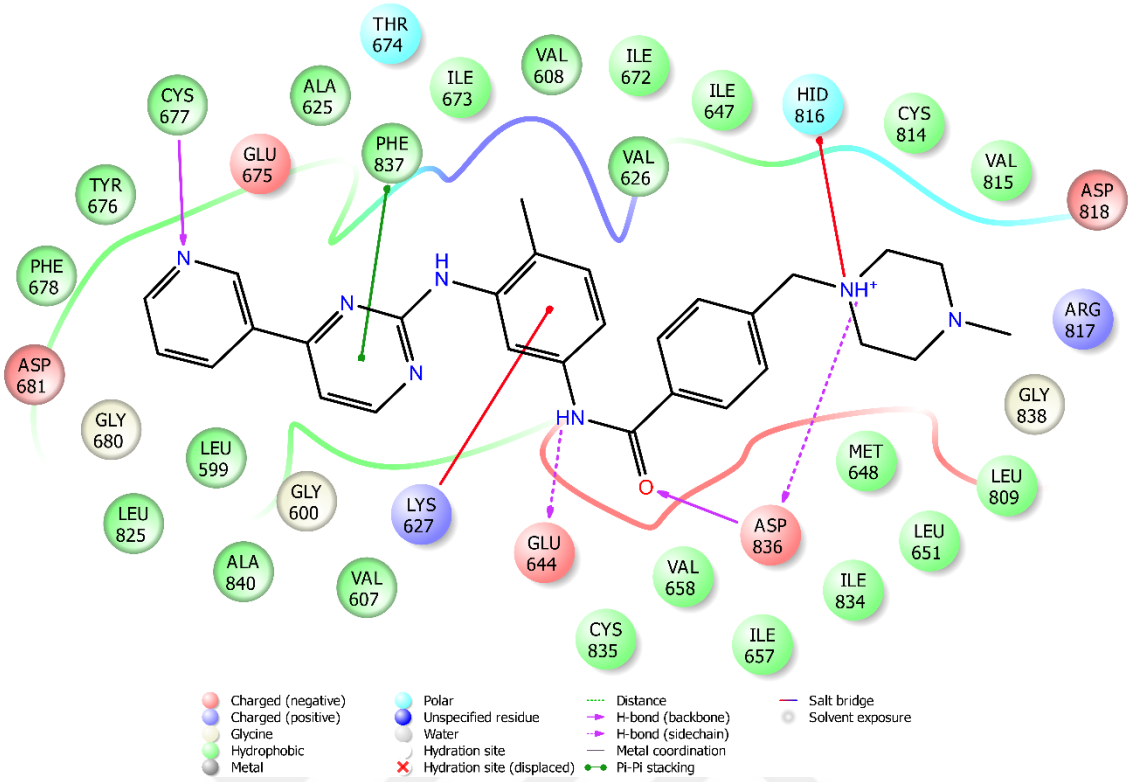
5.7.1. PDGFR-α tirozin kinaz enzimi üzerine moleküler modelleme çalışmalarının değerlendirilmesi

Tez kapsamında sentezi tamamlanan ve PDGFR-α tirozin kinaz enzim inhibisyon aktivitesi yüksek bulunan **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin enzim aktif bölgesiyle olası etkileşimlerini belirlemek için PDGFR-α tirozin kinaz enzimine ait (PDB Kodu: 6JOL) [132] kristal yapısı üzerinde docking çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Modelleme çalışmaları esnasında güncel literatür bilgileri incelenmiş ve aktivite çalışmalarında kullandığımız enzim yapısına uygun kristal yapının *Homo sapiens* sınıfı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca içerisinde İmatinib ligandının yer alması, insan vücudundan (*Homo sapiens* sınıfı) elde edilerek yapısının aydınlatılmış olması ve çözünürlüğünün yüksek olması sebebiyle de bu tip kristal yapısı tercih edilmiştir. Çalışmalarda *Glide 7.1* [136]. programı ile gerçekleştirilen docking tekniği uygulanmış ve *GlideScore SP* ile en olası pozlar üretilmiştir. Ayrıca ilgili bileşiklerin enzim aktif bölgesindeki amino asitlerle olan elektrostatik ve van der Waals etkileşimleri *Per-Residue Interaction* paneliyle görüntülenmiştir.

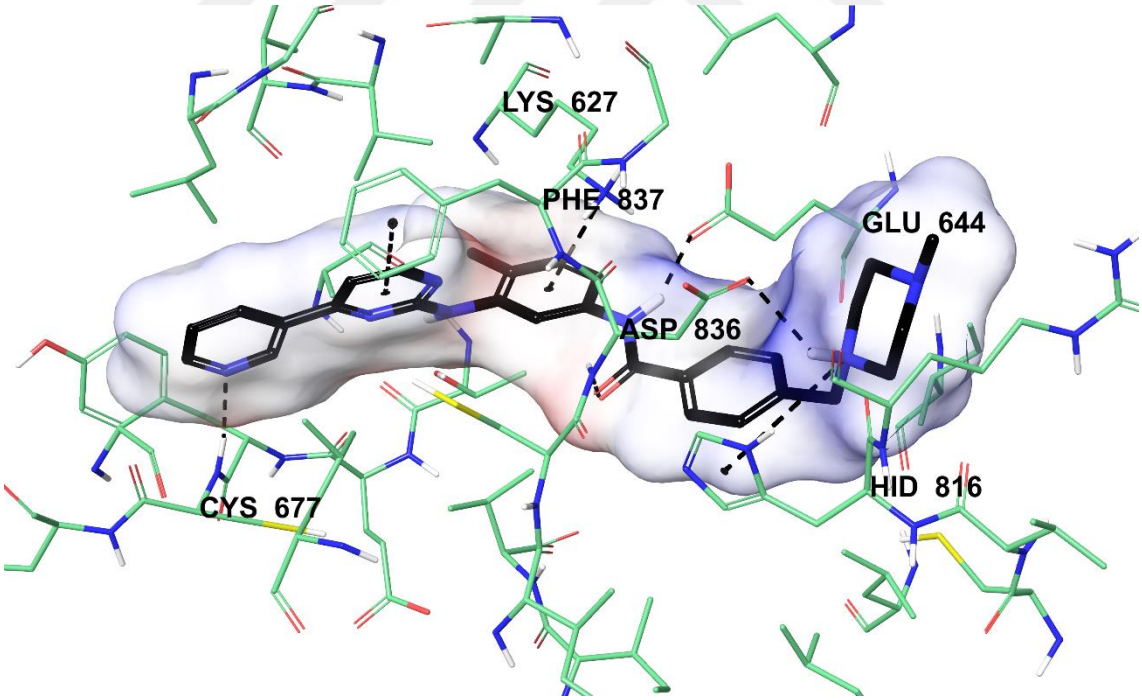
Moleküler modelleme çalışmalarına docking prosedürünü doğrulamak amacıyla tez kapsamındaki bileşiklerin yanı sıra İmatinib molekülü de dahil edilmiştir. Şekil 5.142-5.146'da sırasıyla İmatinib molekülünün PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi, aktif bölgeyle etkileşiminin iki ve üç boyutlu görüntüleri, van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri verilmiştir. İmatinib molekülünde yapıda yer alan piridin halkası üzerindeki azot atomu Cys677'nin amino grubuyla hidrojen bağı kurmaktadır. Piridin halkasına komşu olan pirimidin halkası ise Phe837'nin benzen halkası ile π-π etkileşimi oluşturmaktadır. Benzer şekilde bir katyon-π etkileşimi yapının orta kısmında bulunan benzen halkası ile Lys627'nin amino grubu arasında tespit edilmiştir. Ayrıca bu halkaya komşu amit yapısının polar etkileşimler açısından oldukça önemli olduğu görülmektedir. Amidin sırasıyla amino ve karbonil grupları Glu644'ün karbonili ve Asp836'nın amino gruplarıyla iki hidrojen bağı kurmaktadır. Yapıya ait son etkileşimler 4-metilpiperazin halkası üzerinden tespit edilmiştir. Piperazin azot atomu Asp836'nın karbonili ile hidrojen bağı kurarken; Hid816'nın imidazol halkası ile de katyon-π etkileşimi göstermektedir. Elde edilen tüm bu etkileşim verileri İmatinib molekülünün literatürdeki docking çalışmalarıyla uyum içerisindedir. Böylelikle izlenen docking prosedürü doğrulanmıştır.



Şekil 5.142. *İmatinib'in PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*



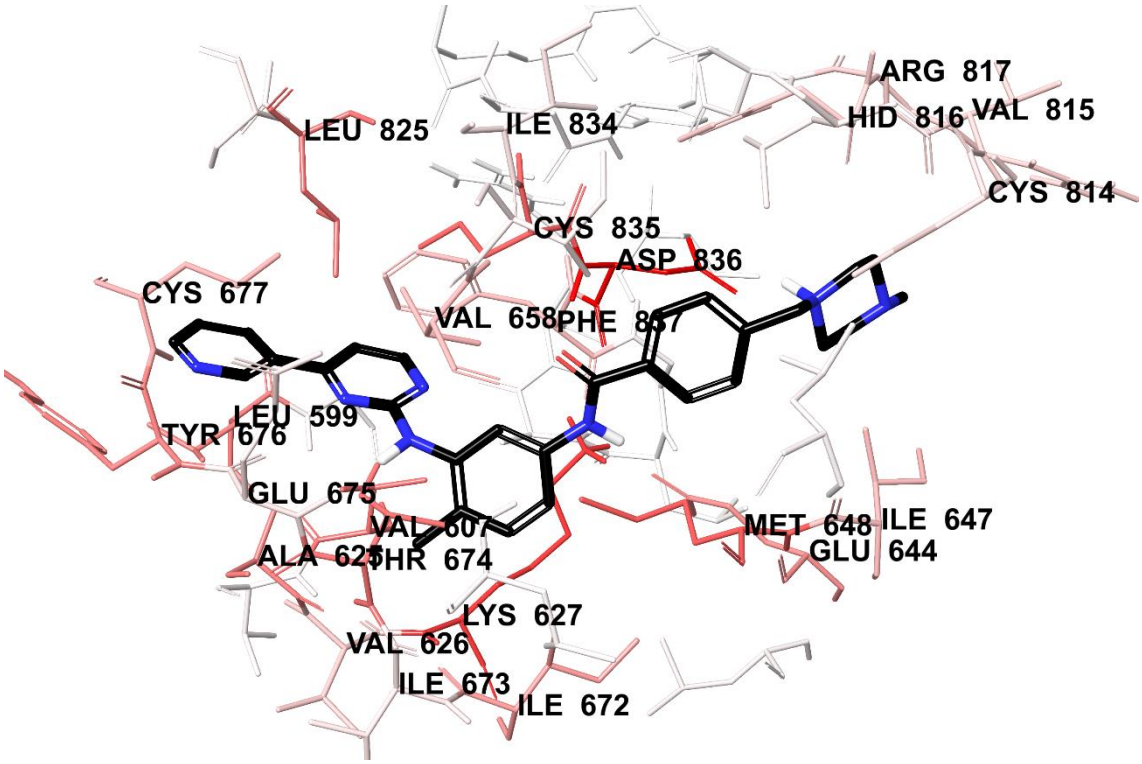
Şekil 5.143. *İmatinib'in PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü*



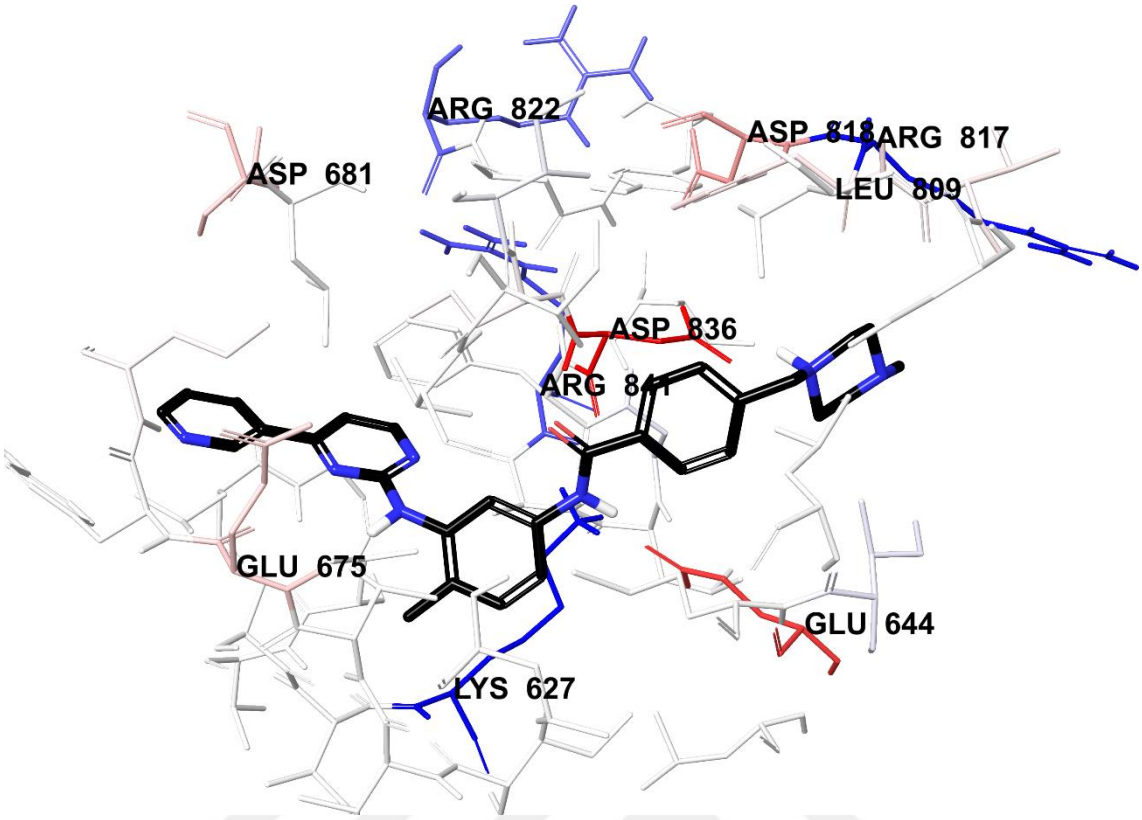
Şekil 5.144. *İmatinib'in PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü*

İmatinib molekülünün enzim aktif bölgesindeki amino asitlerle olan van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri *Per-Residue Interaction* paneliyle görüntülenmiştir. Bu

panele göre van der Waals etkileşimleri için kırmızı ve pembe renkler kuvvetli van der Waals etkileşiminin olduğunu işaret ederken; elektrostatik etkileşimlerde ise mavi, kırmızı ve pembe renkler güçlü elektrostatik etkileşimleri temsil etmektedir. İmatinib için van der Waals etkileşimleri analiz edildiğinde enzim aktif yöresindeki Leu599, Val607, Ala625, Val626, Lys627, Glu644, Ile647, Met648, Val658, Ile672, Ile673, Thr674, Glu675, Tyr676, Cys677, Cys814, Val815, Hid816, Arg817, Leu825, Ile834, Cys835, Asp836 ve Phe837 amino asitleriyle güçlü van der Waals etkileşimlerinin bulunduğu görülmektedir (Şekil 5.145). Ayni bileşiğin elektrostatik etkileşimleri incelendiğinde ise Lys627, Glu644, Glu675, Asp681, Leu809, Arg817, Asp818, Arg822, Asp836 ve Arg841 amino asitleriyle kuvvetli etkileşimlerin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.145).

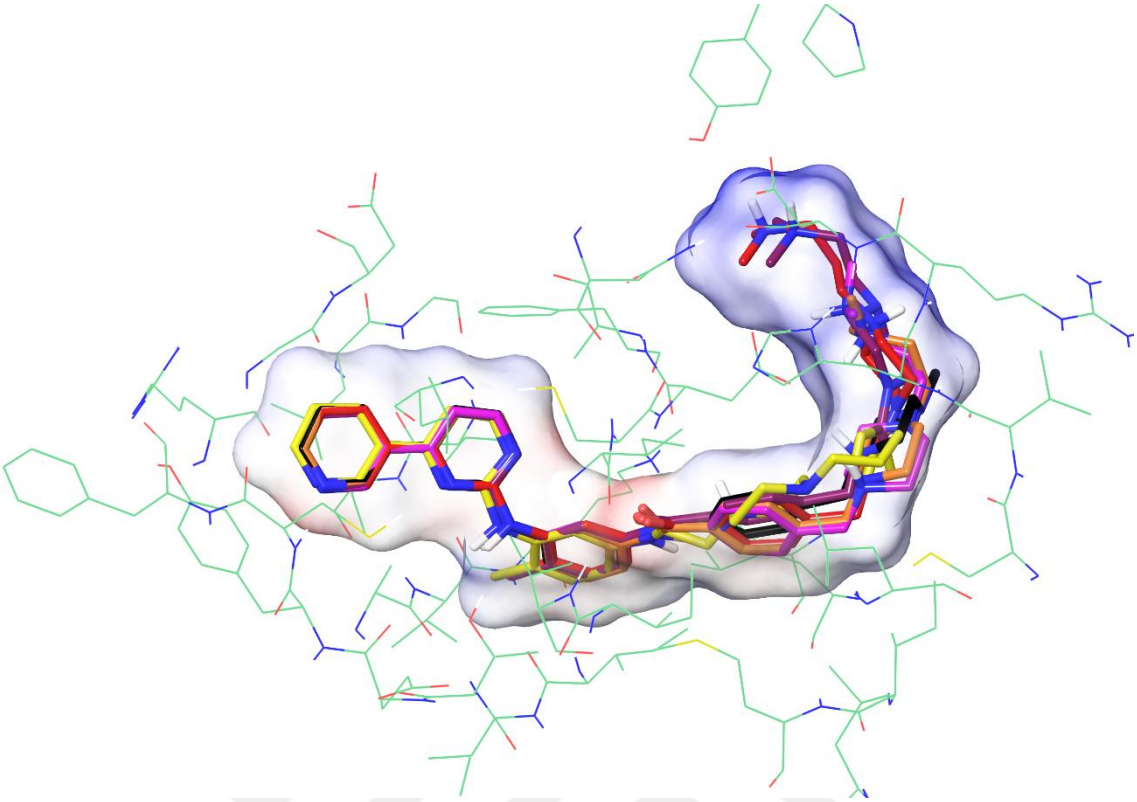


Şekil 5.145. *İmatinib'in PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi*



Şekil 5.146. *İmatinib'in PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi*

Tez kapsamında sentezi tamamlanan ve PDGFR-α tirozin kinaz enzimi üzerinde etkili bulunan **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin moleküler docking pozları Şekil 5.148-5.167'te verilmiştir. Docking çalışmaları analiz edildiğinde ilgili bileşiklerin İmatinib molekülüne oldukça benzer pozisyonlarda enzim aktif bölgesine bağlandığı görülmektedir. Şekil 5.147'de **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin ve İmatinib molekülünün enzim aktif yöresindeki çakışık konumları gösterilmiştir.



Şekil 5.147. *İmatinib ve bileşik 5i, 5j, 7i ve 7j'nın PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*

Moleküler modelleme çalışmaları sonuçları incelendiğinde gözlenen benzer bağlanma pozisyonlarının, İmatinib molekülünde tespit edilen etkileşimler açısından da benzerlik sağlandığı görülmektedir. **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin yapılarında bulunan piridin halkası üzerindeki azot atomu, İmatinib molekülünde olduğu gibi Cys677'nin amino grubuyla hidrojen bağı oluşturmaktadır. Piridin halkasına komşu pirimidin halkası İmatinibde olduğu üzere Phe837'nin benzeni ile π-π etkileşimi kurmaktadır. İlgili bileşiklerin yapılarının orta kısmında bulunan benzen halkası ile Lys627'nin amino grubu arasında katyon-π etkileşimi gözlenmiştir. Ayrıca yapılarında bulunan amit grubu polar etkileşimler açısından önemli olarak görülmektedir. **5i**, **5j** ve **7j** kodlu bileşiklerde yapıya ait sırasıyla amino ve karbonil grupları Glu644'ün karbonili ve Asp836'nın amino gruplarıyla hidrojen bağları oluşturmaktadır. **7i** kodlu bileşikte yalnızca amidin amino grubu üzerinden söz konusu etkileşimi gözlenmiştir. **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerle ilgili tespit edilen tüm bu etkileşimler İmatinib molekülünde de gözlenen ve ortak olan etkileşimlerdir. Elde edilen bu bulgu söz konusu bileşiklerin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine İmatinib ile oldukça benzer pozisyonlarda ve güçlü seviyede bağlandıklarını göstermektedir.

5i, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin İmatinibden farklı olarak gözlemlenen etkileşimleri sübstitüe piperazin kalıntısı üzerinden sağlandığı moleküler docking çalışmaları neticesinde görülmektedir. **5i** ve **5j** kodlu bileşiklerde **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerden farklı olarak piperazin halkası üzerindeki azot atomunun Hid816'nın imidazolü ile katyon-π etkileşimi oluşturduğu gözlenmiştir. Ayrıca söz konusu bu etkileşimin İmatinib molekülünde de sağlandığı görülmektedir.

5i, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşikler kimyasal yapıları bakımından incelendiğinde, **5i** ve **7i** kodlu bileşiklerde piperazin halkasına dimetilaminoetil alkil yapısının, bileşik **5j** ve **7j**'de ise dimetilaminopropil alkil grubunun bağlı olduğu görülmektedir. İki N atomu arasındaki etil ve propil alkil zincirinin aktif bölge amino asitleriyle olan van der Waals etkileşimini artırması sebebiyle daha iyi bağlanmayı sağlamaktadır. Bu bileşiklerde alkil zincirindeki terminal N atomu katarnize olarak hidrojen bağı oluşturabilmektedir. **5i**, **5j** ve **7j** kodlu bileşiklerde bu N atomu Asp836 amino asidinin karbonili ile hidrojen bağı kurmaktadır. **7i**'de ise söz konusu bu etkileşim Asp818 amino asidi ile gözlenmiştir.

Kimyasal yapı açısından **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşikler analiz edildiğinde **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin **5i** ve **5j** kodlu bileşiklerden farklı olarak yapılarında ditiyokarbamat kalıntısı taşıdıkları görülmektedir. Bu durum ilgili bileşiklerin hem konformasyonlarını etkilemekte hem de enzim aktif bölgesindeki amino asitlerle olan van der Waals ve elektrostatik etkileşimlerine katkı sağlamaktadır.

5i, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin enzim aktif bölgesindeki amino asitlerle olan van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri *Per-Residue Interaction* paneliyle görüntülenmiştir. Bu panele göre van der Waals etkileşimleri için kırmızı ve pembe renkler kuvvetli van der Waals etkileşiminin olduğunu işaret ederken; elektrostatik etkileşimlerde ise mavi, kırmızı ve pembe renkler güçlü elektrostatik etkileşimleri temsil etmektedir (Şekil 5.151, Şekil 5.152, Şekil 5.156, Şekil 5.157, Şekil 5.161, Şekil 5.162, Şekil 5.166, Şekil 5.167). Söz konusu bileşiklerin enzim aktif bölgesinde van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri oluşturdukları amino asitler Tablo 5.10'de verilmiştir.

Tablo 5.12. ***5i, 5j, 7i ve 7j*** *kodlu bileşiklerin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesinde van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri oluşturdukları amino asitler.*

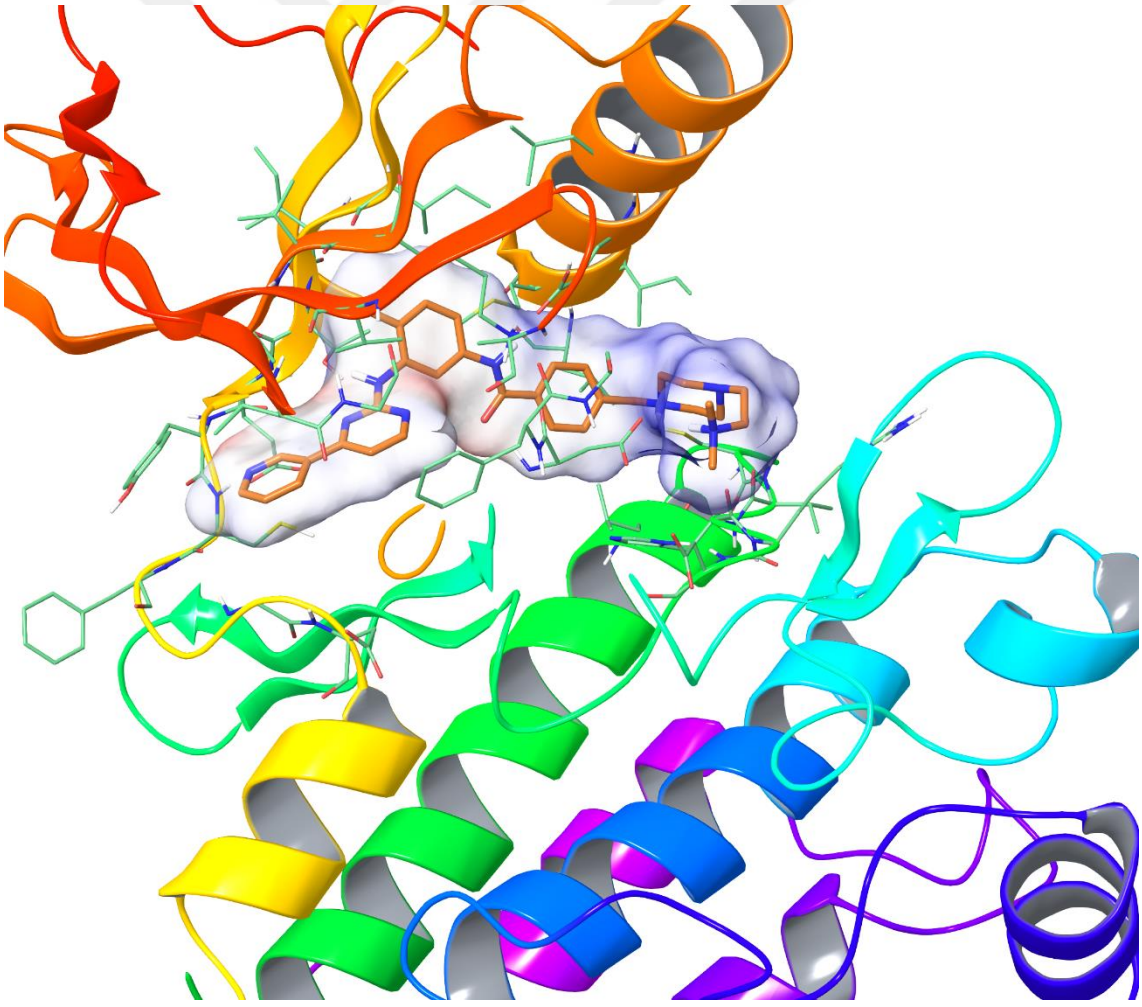
Bileşik	Van der Waals etkileşimi kurulan amino asitler	Elektrostatik etkileşim kurulan amino asitler
5i	Leu599, Val607, Ala625, Val626, Lys627, Glu644, Ile647, Met648, Ile657, Val658, Ile672, Thr674, Tyr676, Cys677, Cys814, Val815, Hid816, Arg817, Asp818, Leu825, Cys835, Asp836, Phe837	Lys627, Glu644, Glu675, Asp681, Arg817, Asp818, Asp836
5j	Leu599, Val607, Ala625, Val626, Lys627, Glu644, Ile647, Met648, Val658, Ile672, Ile673, Thr674, Glu675, Tyr676, Cys677, Leu809, Cys814, Val815, Hid816, Arg817, Asp818, Leu825, Cys835, Asp836, Phe837	Lys627, Glu644, Glu675, Asp681, Arg817, Asp818, Asp836
7i	Leu599, Val607, Ala625, Val626, Lys627, Glu644, Ile647, Met648, Val658, Ile672, Thr674, Glu675, Tyr676, Cys677, Cys814, Val815, Hid816, Arg817, Asp818, Asn823, Leu825, Ile834, Asp836, Phe837, Gly838	Lys627, Glu644, Asp681, Arg817, Asp818, Asp836, Arg841
7j	Leu599, Val607, Ala625, Val626, Lys627, Glu644, Ile647, Met648, Val658, Ile672, Thr674, Tyr676, Cys677, Cys814, Val815, Hid816, Arg817, Asp818, Asn823, Leu825, Cys835, Asp836, Phe837, Gly838, Arg841	Lys627, Glu644, Asp681, Arg817, Asp818, Arg822, Asp836, Arg841

Moleküler modelleme çalışmaları neticesinde elde edilen tüm veriler dikkate alındığında enzim aktif bölgesi ile olan etkileşimlerdeki farklılıklar ile aktivite sonuçları arasında bir ilişki göze çarpmaktadır. PDGFR-α tirozin kinaz enzim inhibisyon sonuçlarına göre **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşikler İmatinibden daha güçlü şekilde inhibisyon göstermektedir. Moleküler docking çalışmaları neticesinde **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin İmatinib ile benzer etkileşimleri göstermelerinin yanı sıra ondan farklı ve ilave etkileşimler göstermeleri enzim aktivitesindeki güçlü inhibitör profillerini

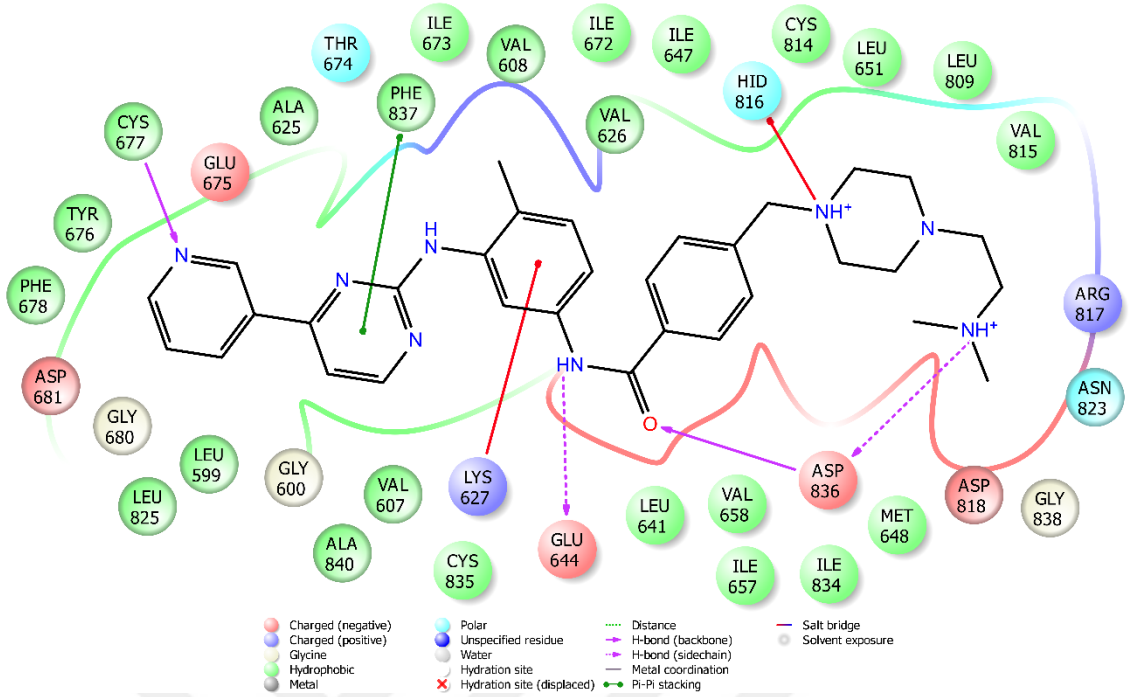
açıklayabilmektedir. **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin ve İmatinib molekülünün ilgili enzim aktif bölgesiyle olan bağlanma affiniteleri Tablo 5.11'de gösterilmiştir. **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin İmatinibden daha güçlü bir seviyede enzim aktif yöresine bağlandığı görülmektedir.

Tablo 5.13. ***5i, 5j, 7i ve 7j*** *kodlu bileşiklerin ve İmatinib molekülünün PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine bağlanma affiniteleri.*

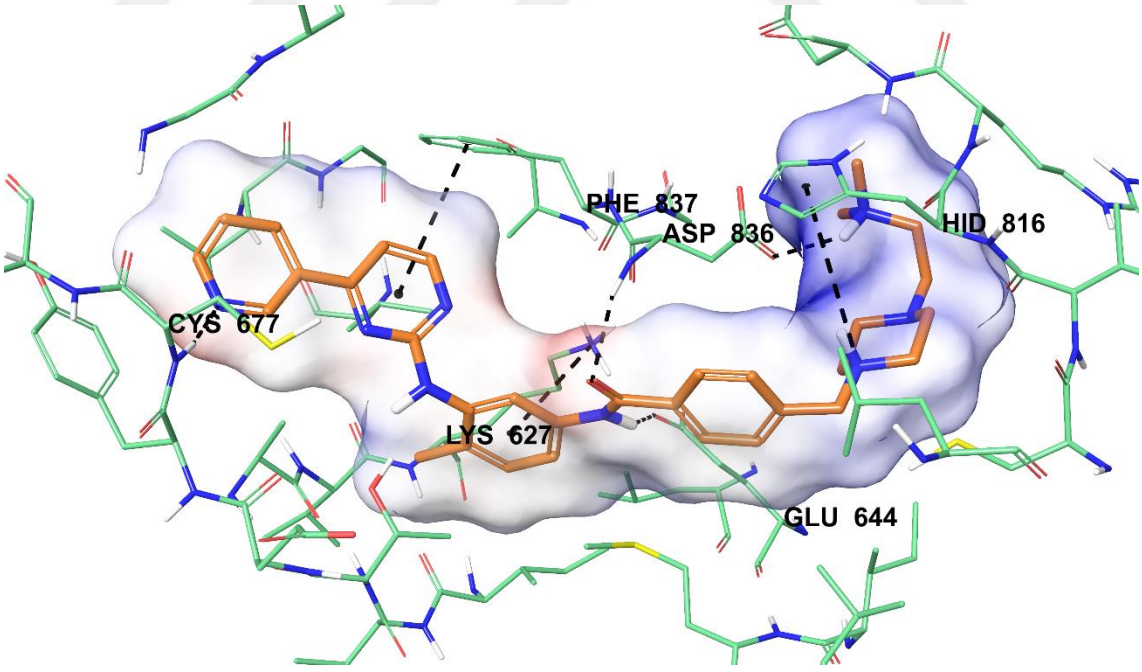
Bileşik	Bağlanma affiniteleri (Kcal/mol)		
	Docking score	**Glide score**	**Glide emodel**
5i	-10.606	-12.710	-151.682
5j	-11.125	-13.122	-155.293
7i	-13.133	-13.145	-166.400
7j	-11.617	-13.689	-182.128
İmatinib	-9.509	-12.013	-129.608



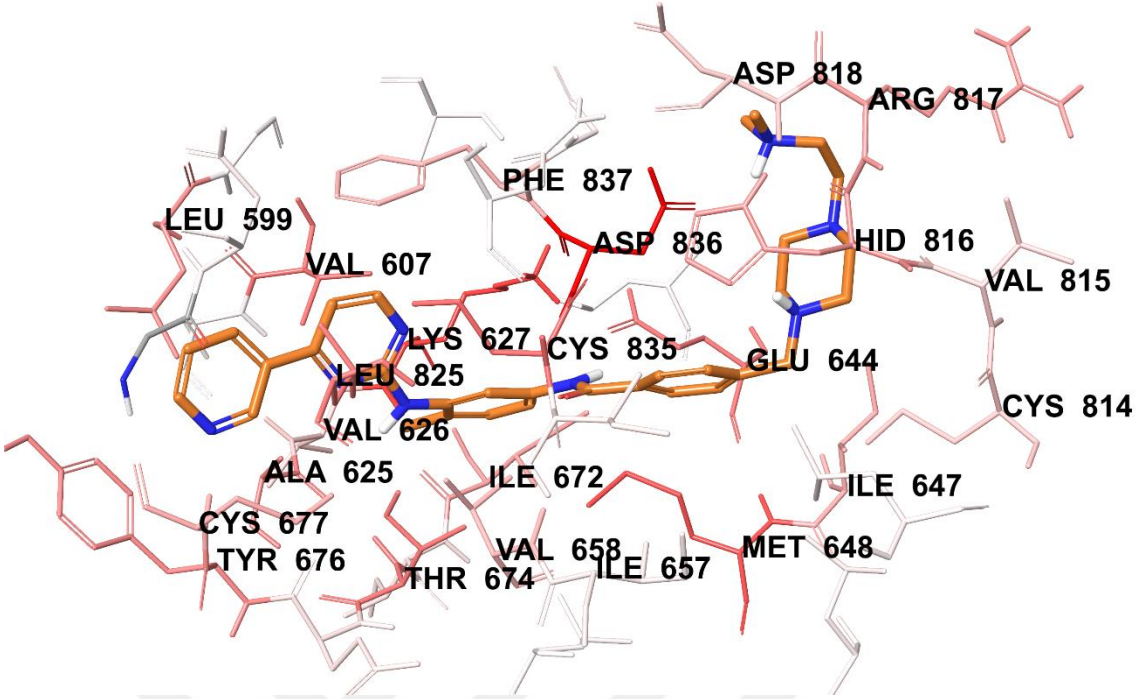
Şekil 5.148. *Bileşik* ***5i****'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*



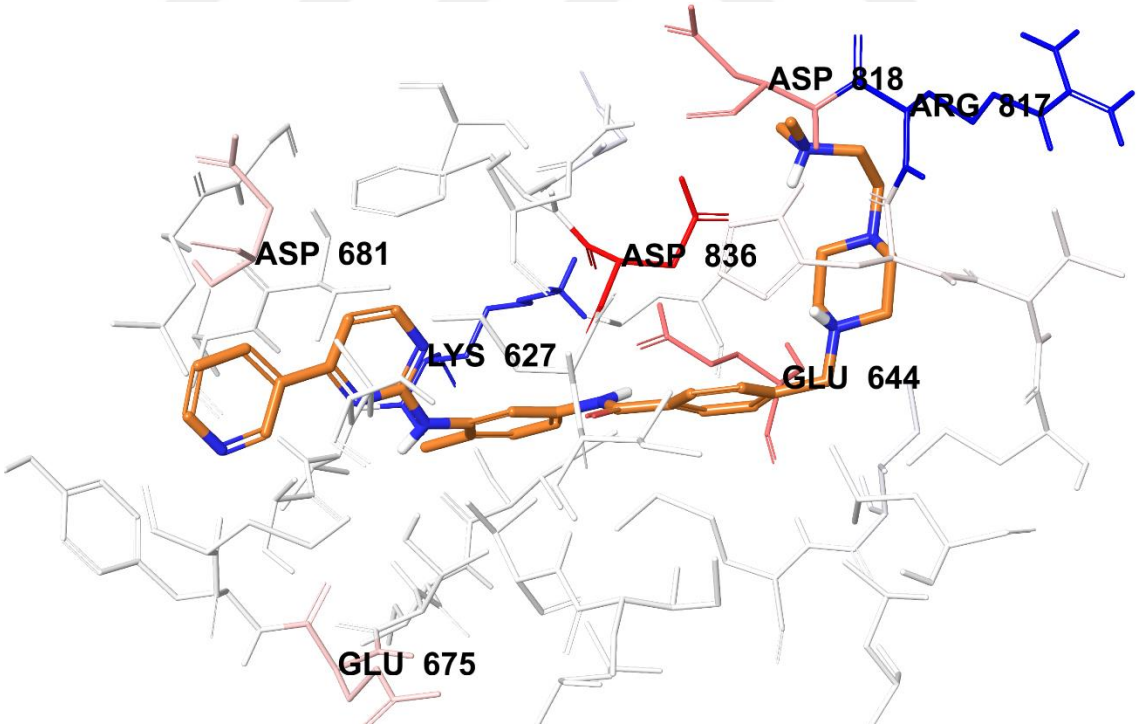
Şekil 5.149. *Bileşik **5i**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü*



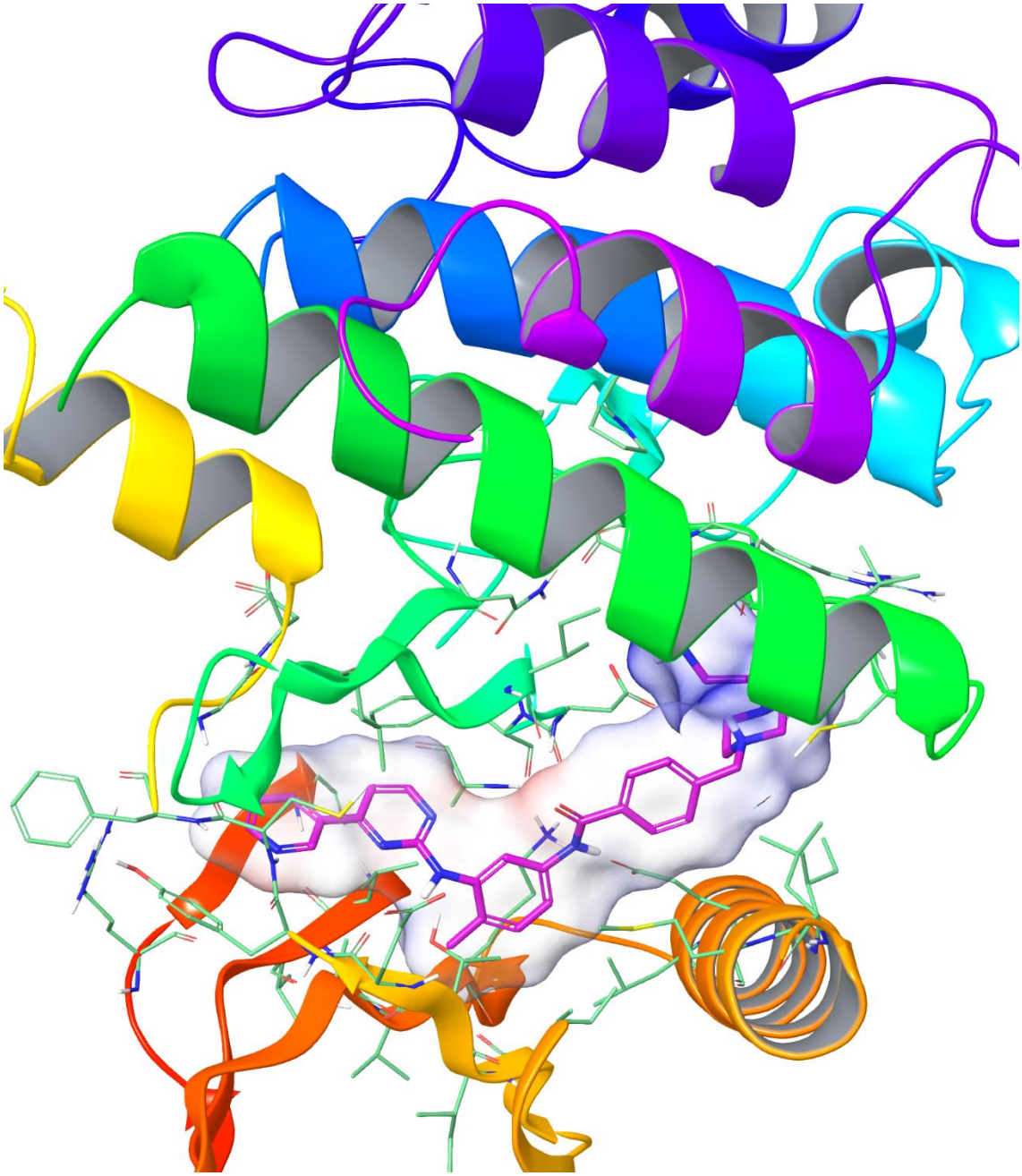
Şekil 5.150. *Bileşik **5i**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü*



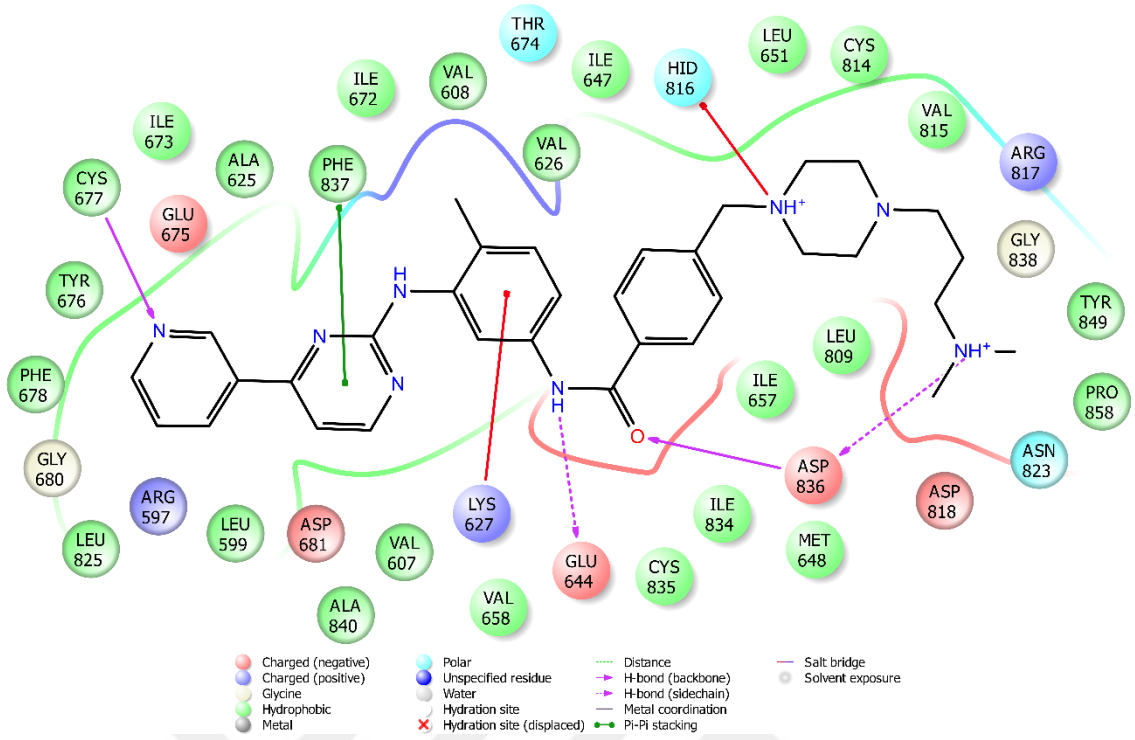
Şekil 5.151. *Bileşik **5i**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi*



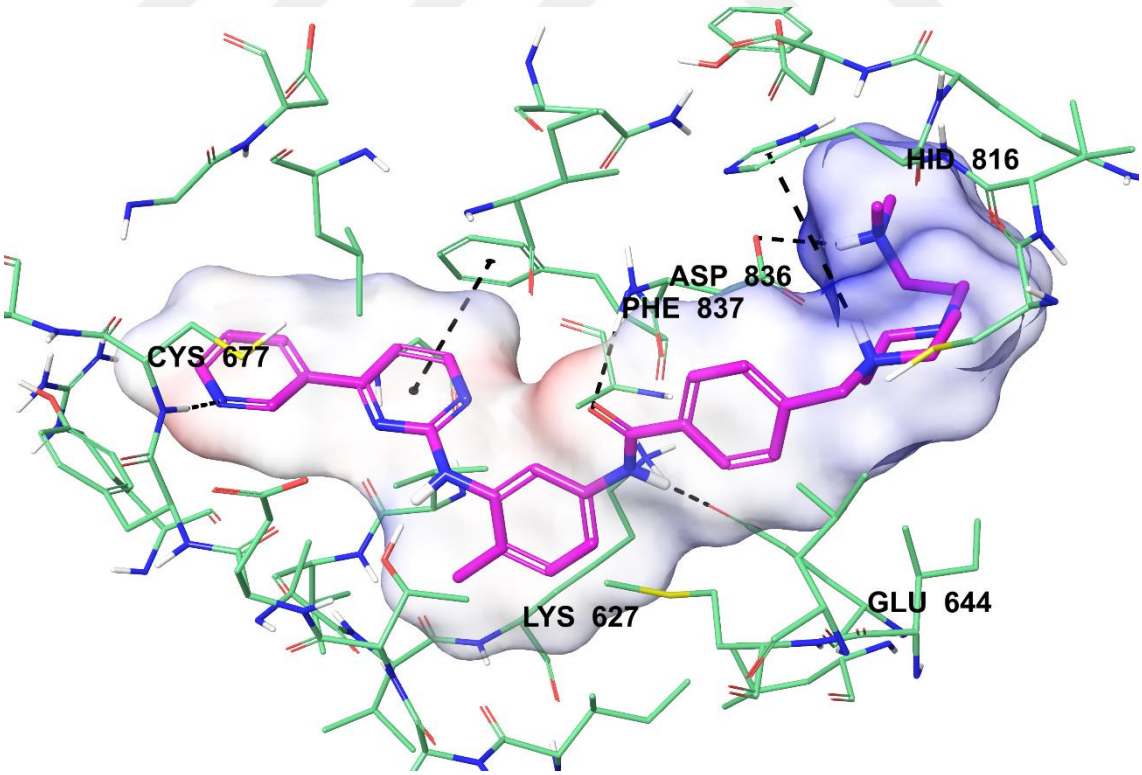
Şekil 5.152. *Bileşik **5i**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi*



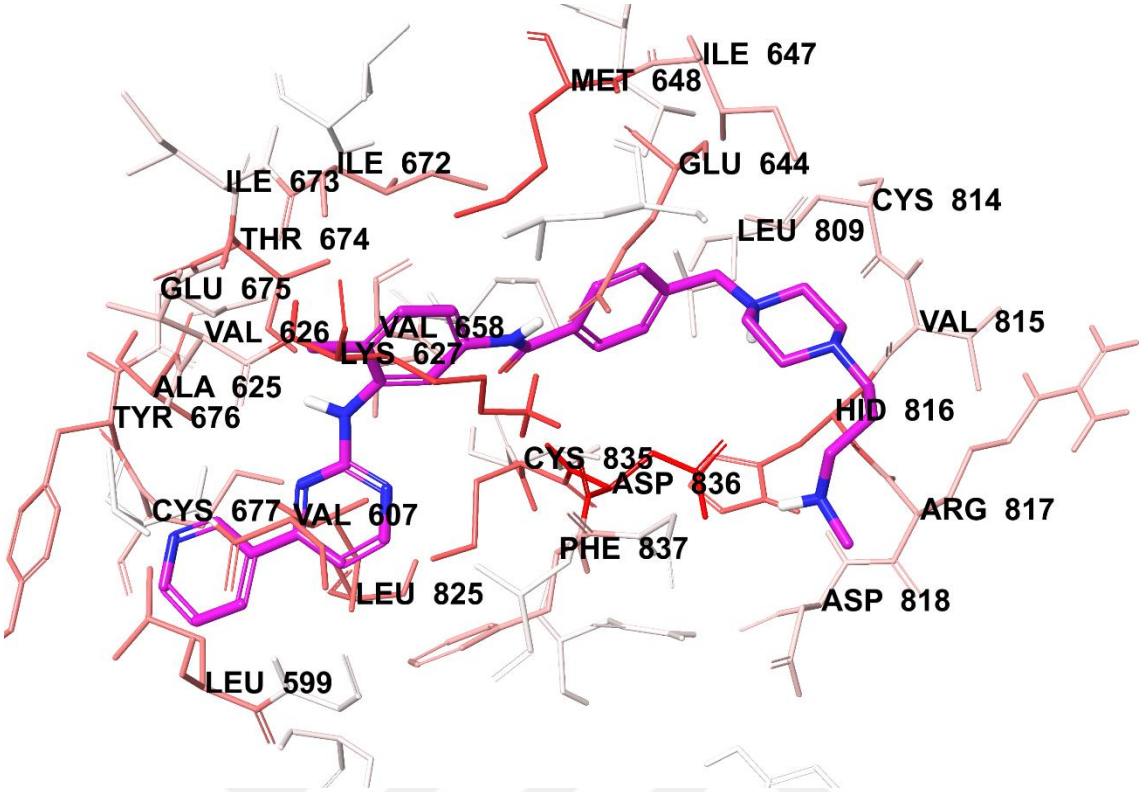
Şekil 5.153. *Bileşik* ***5j****'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*



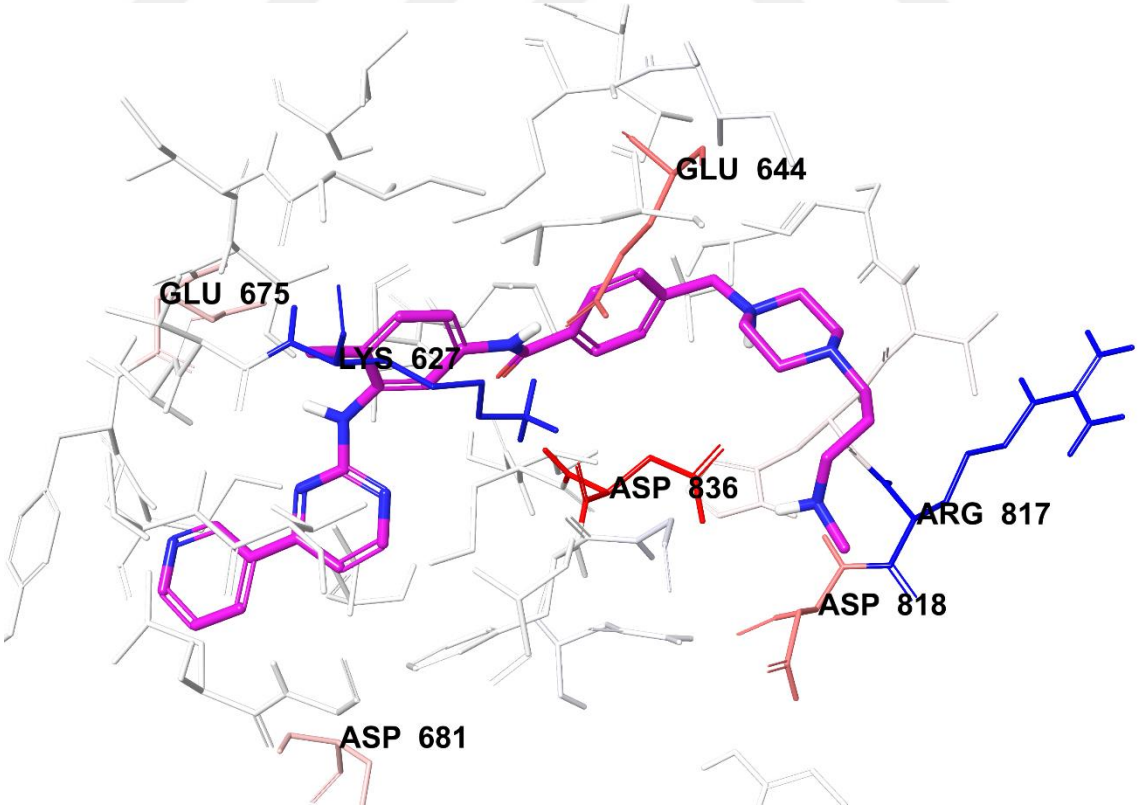
Şekil 5.154. *Bileşik **5j**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü*



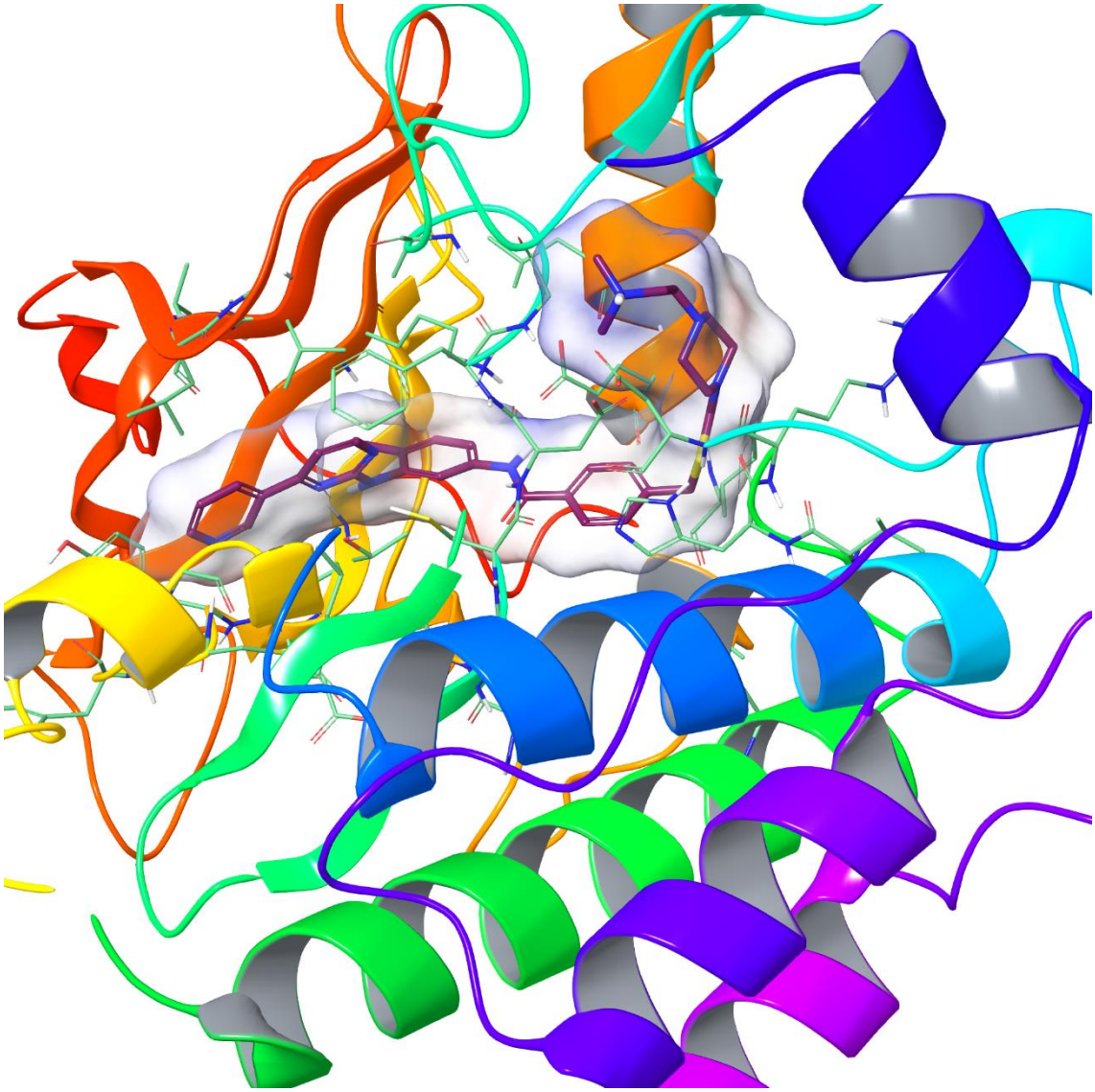
Şekil 5.155. *Bileşik **5j**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü*



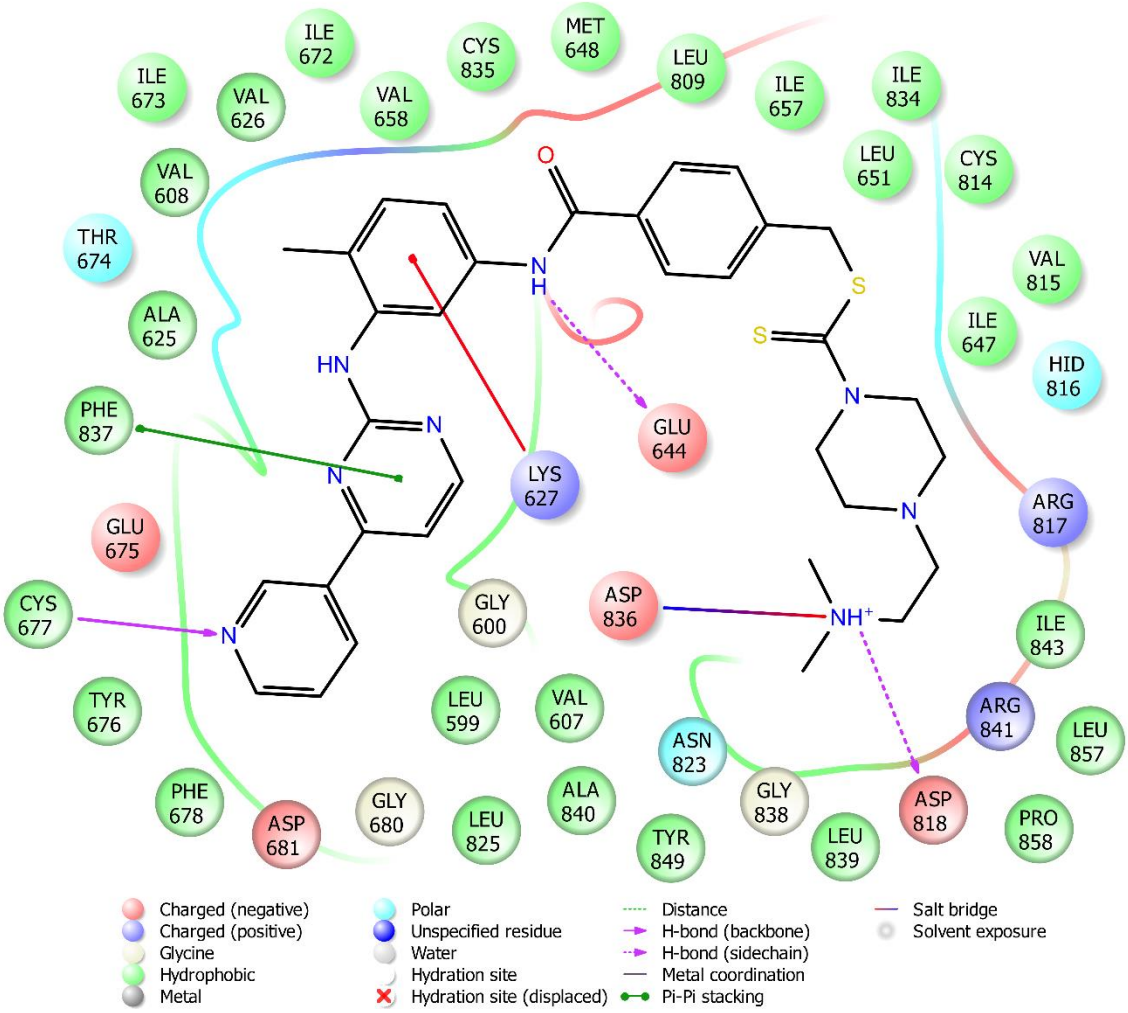
Şekil 5.156. *Bileşik **5j**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi*



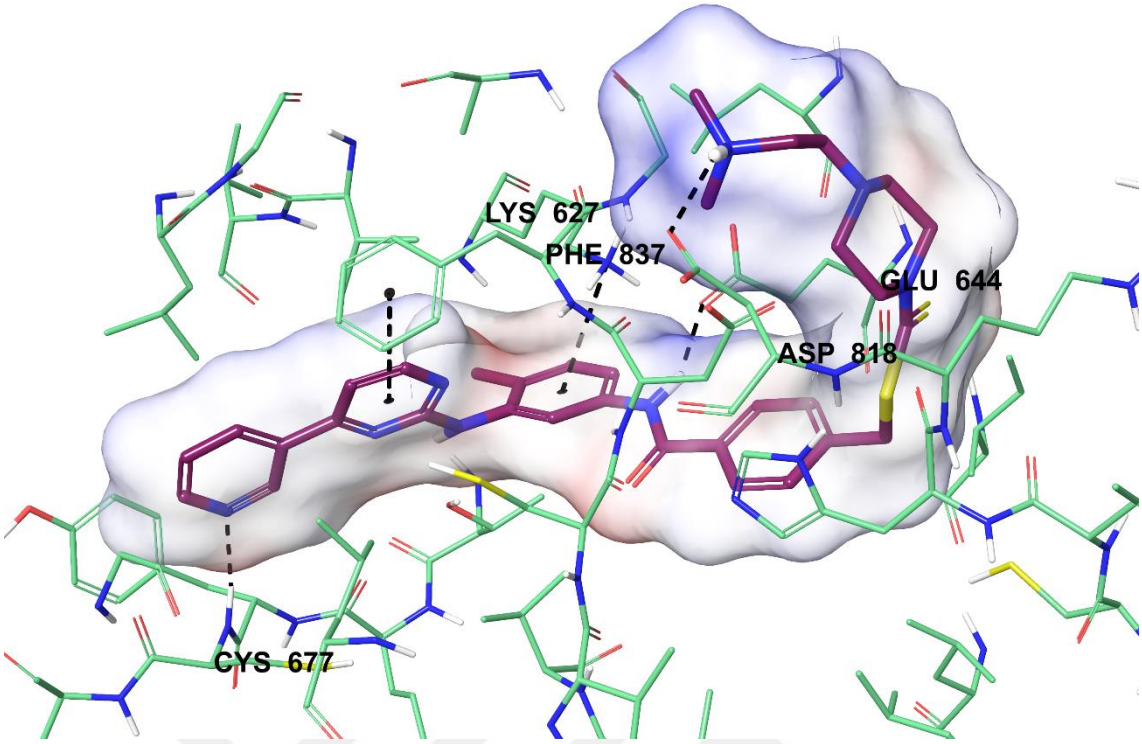
Şekil 5.157. *Bileşik 5j'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi*



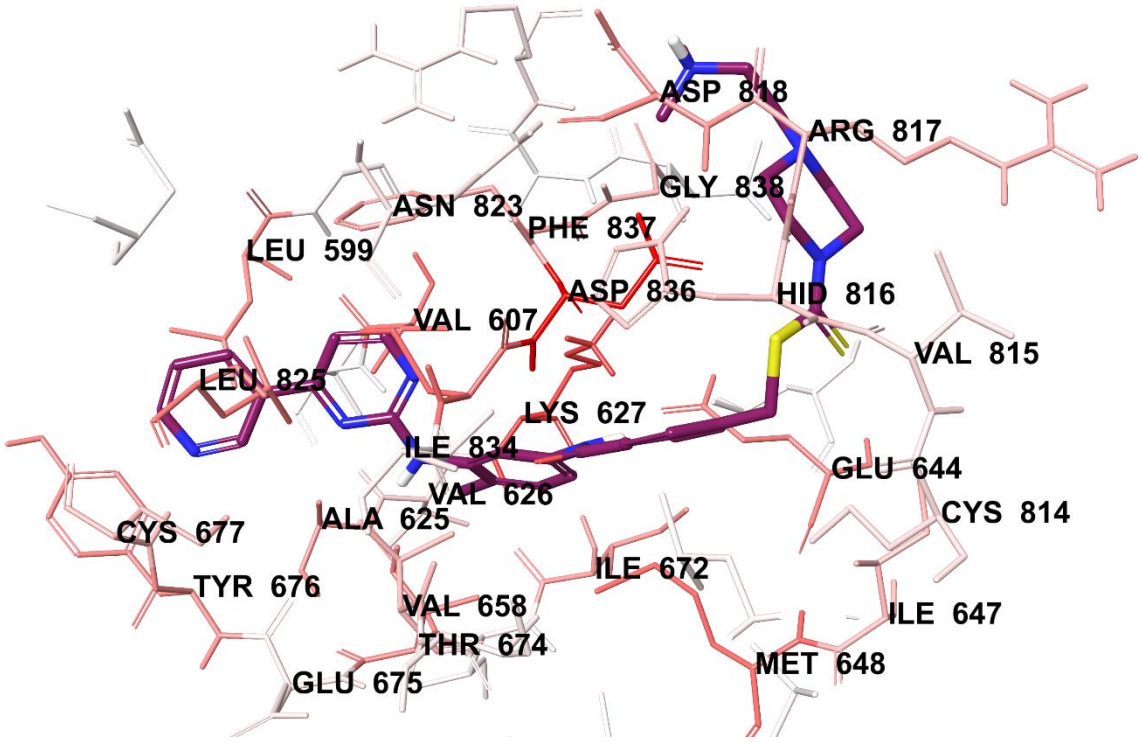
Şekil 5.158. *Bileşik **7i**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*



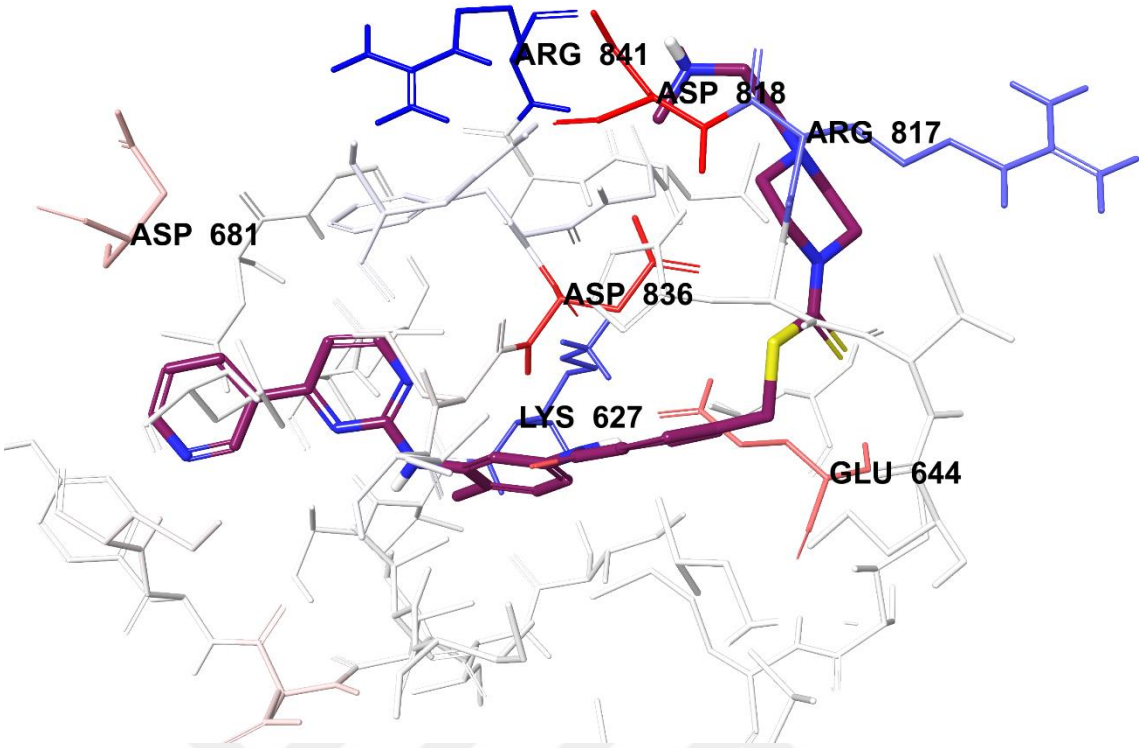
Şekil 5.159. *Bileşik **7i**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü*



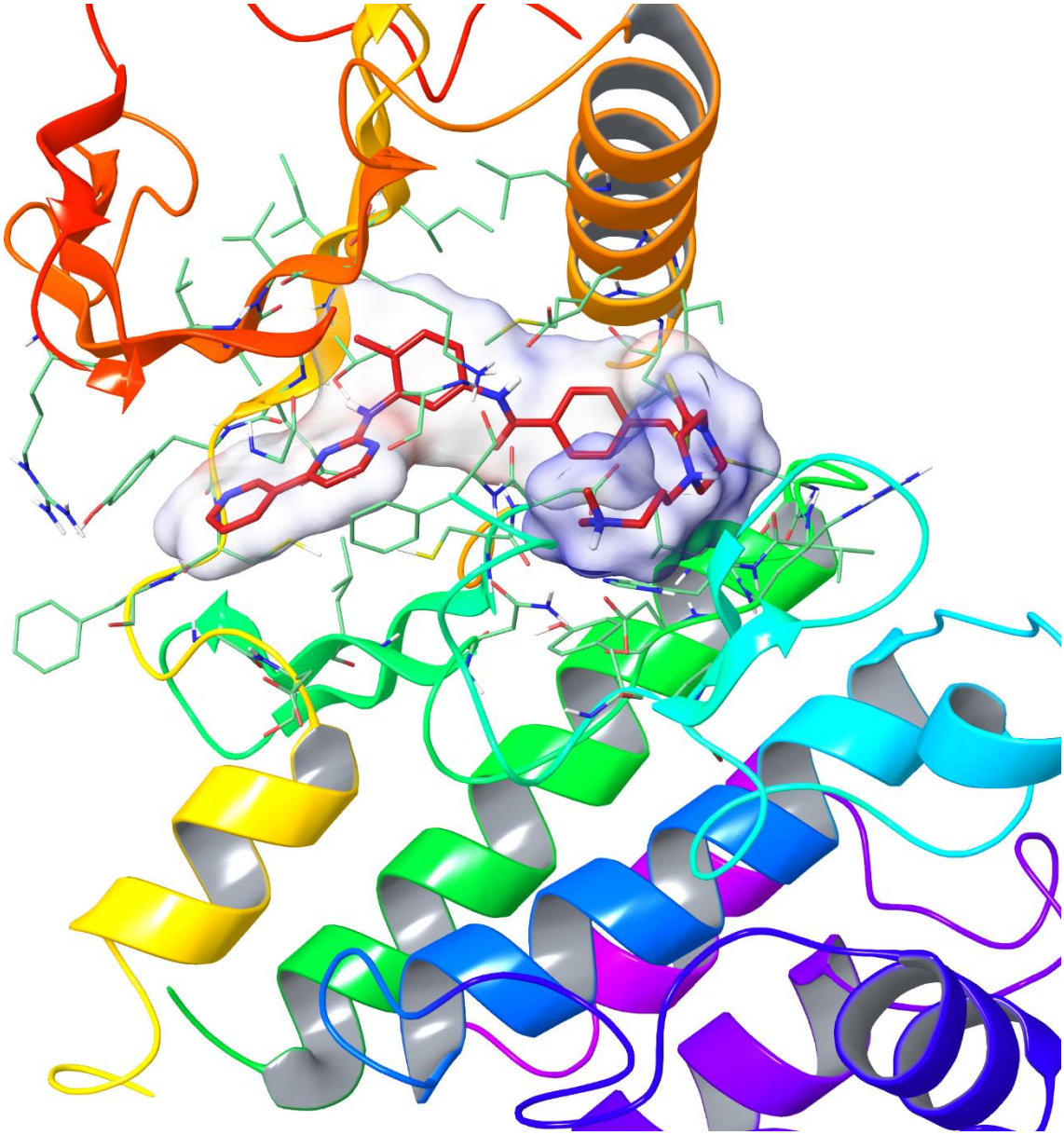
Şekil 5.160. *Bileşik **7i**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü*



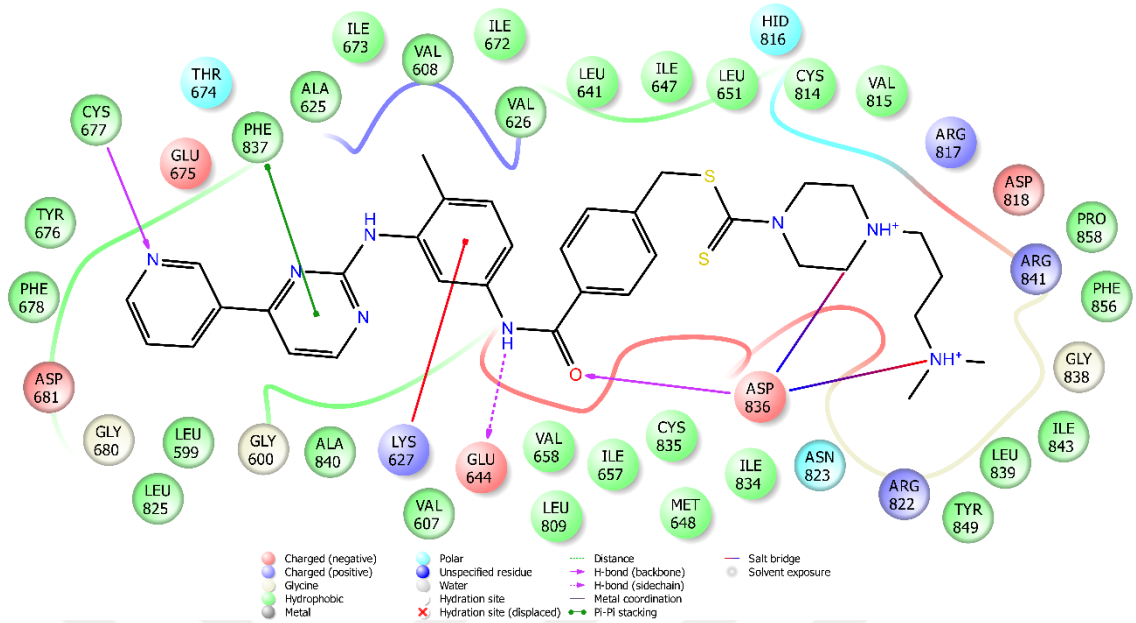
Şekil 5.161. *Bileşik **7i**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi*



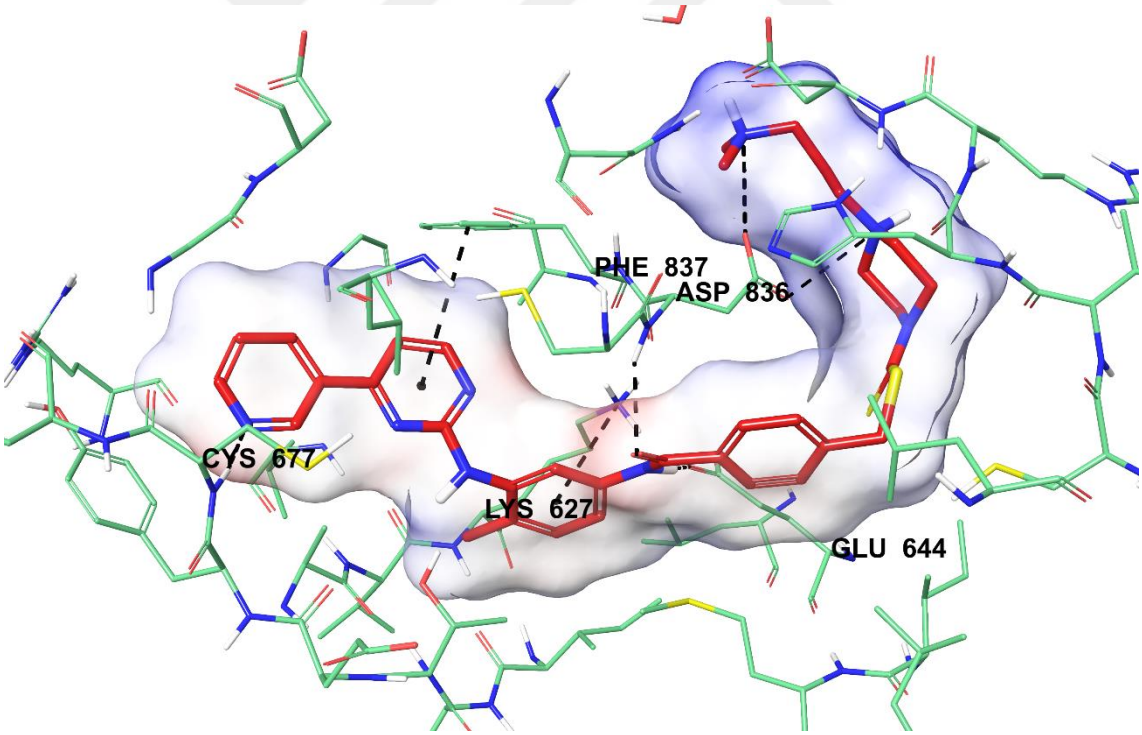
Şekil 5.162. *Bileşik **7i**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi*



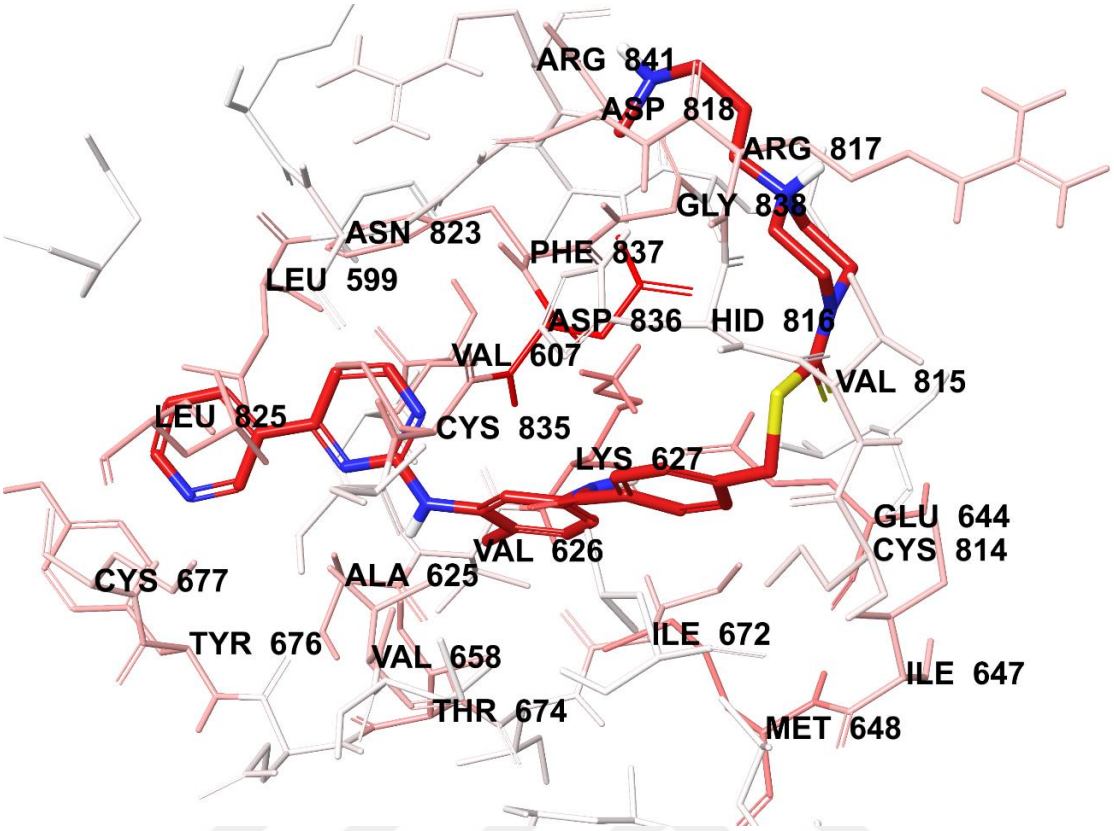
Şekil 5.163. *Bileşik **7j**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*



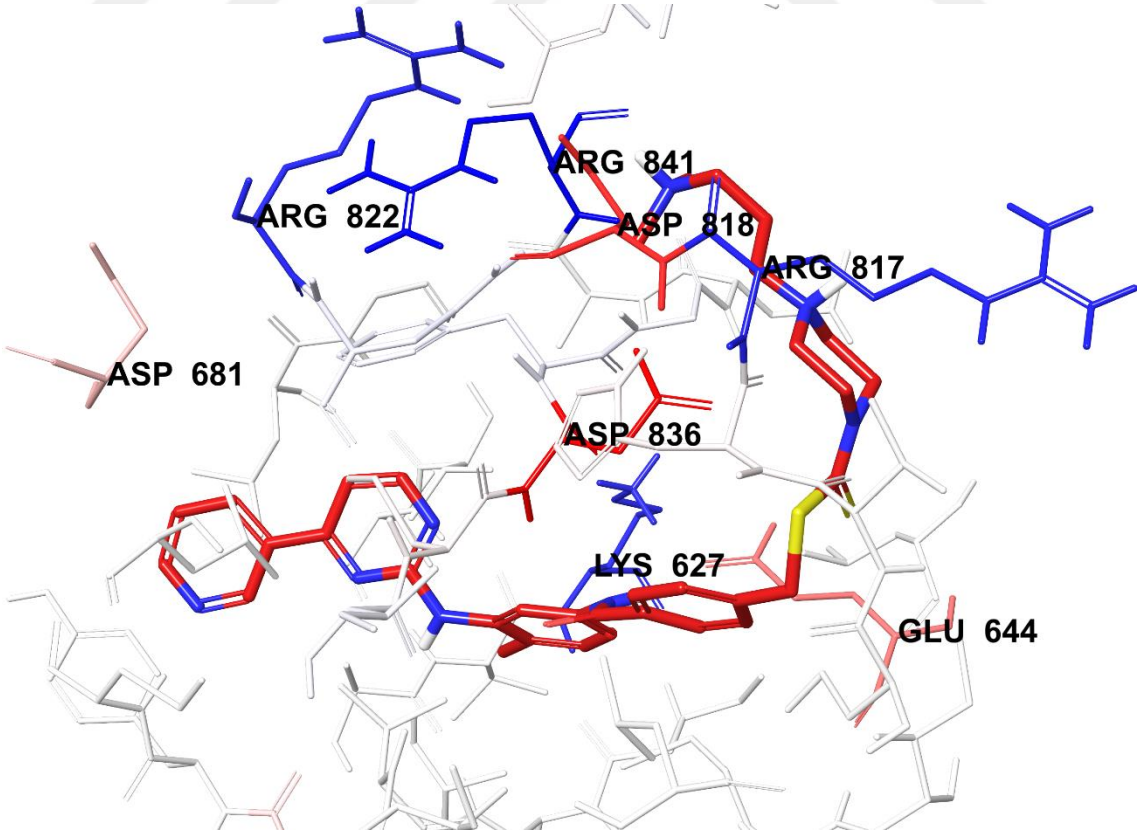
Şekil 5.164. *Bileşik **7j**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü*



Şekil 5.165. *Bileşik **7j**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü*

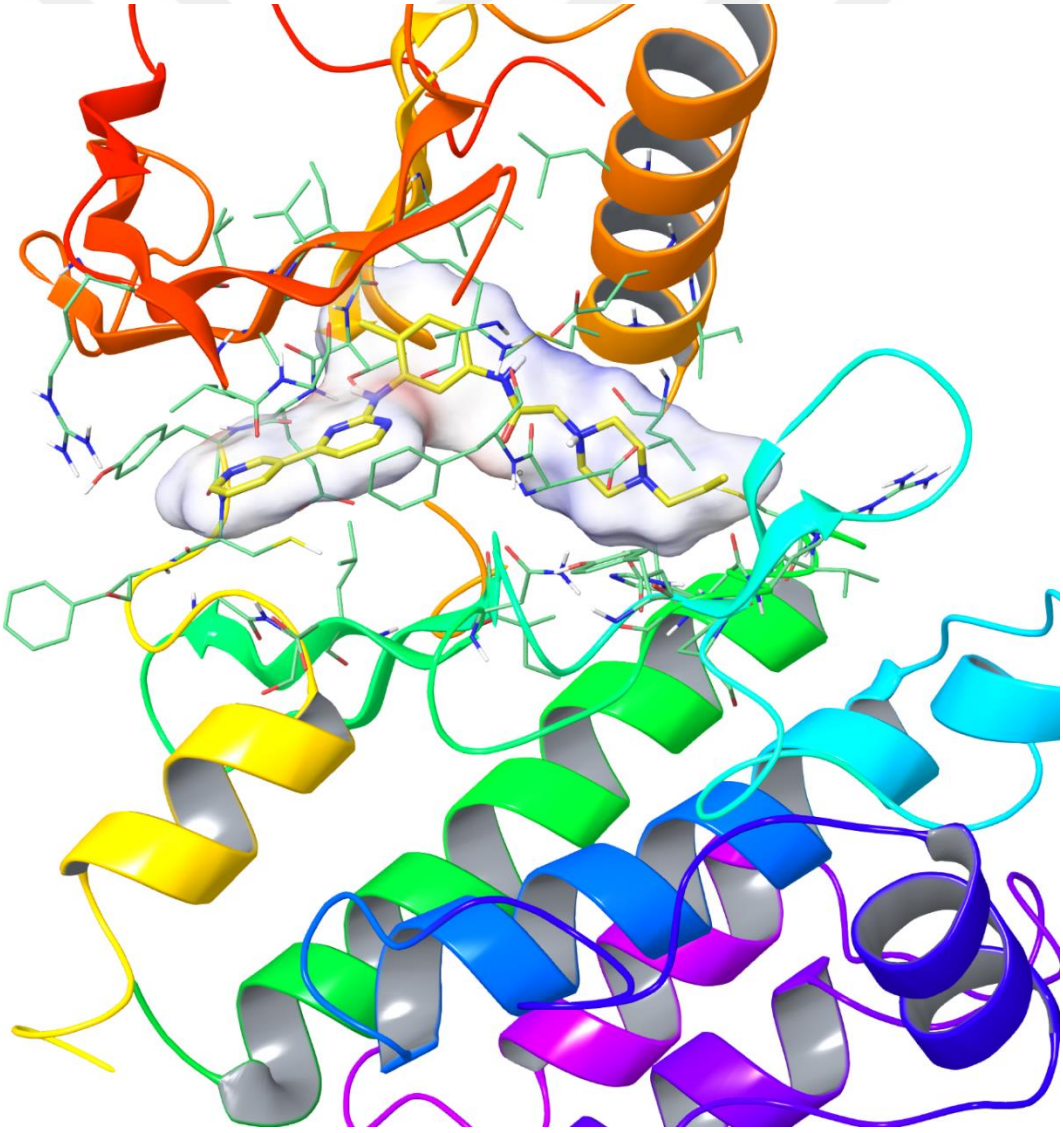


Şekil 5.166. *Bileşik **7j**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi*

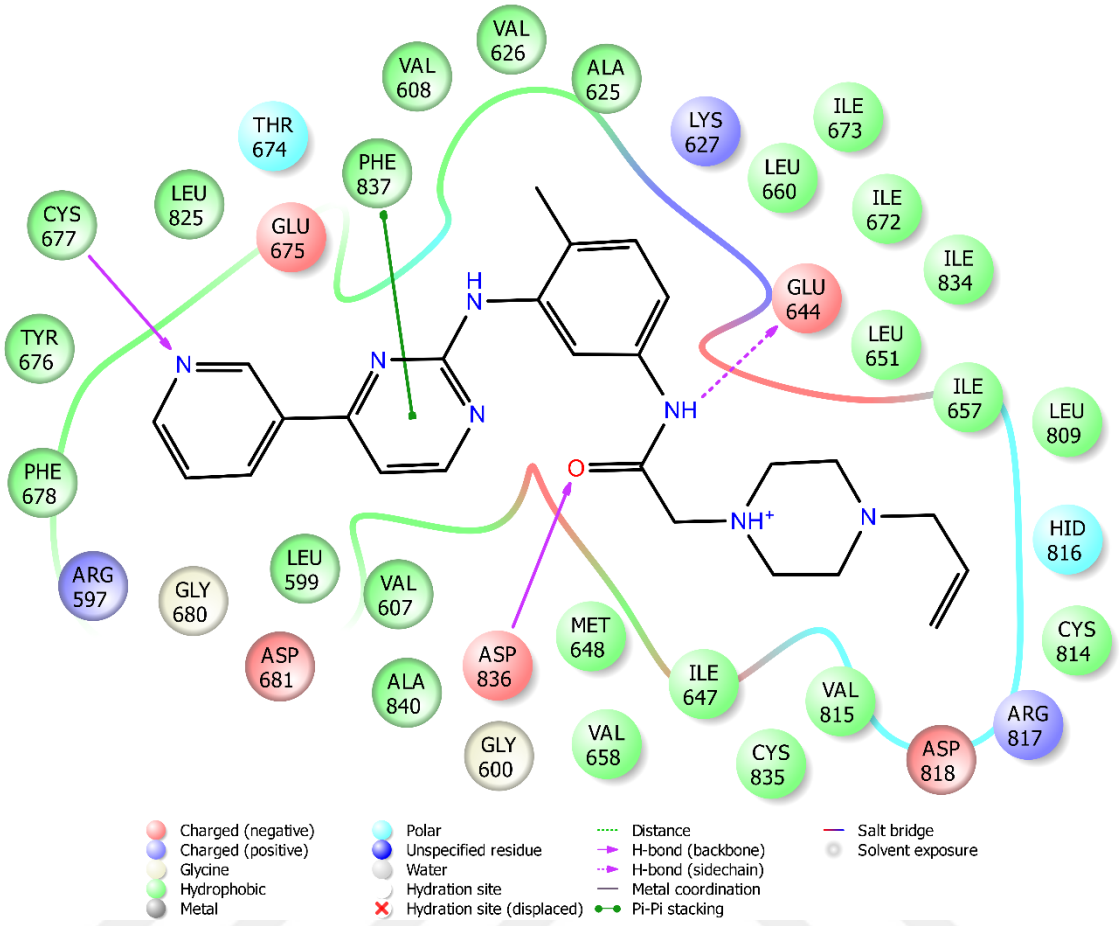


Şekil 5.167. *Bileşik **7j**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi*

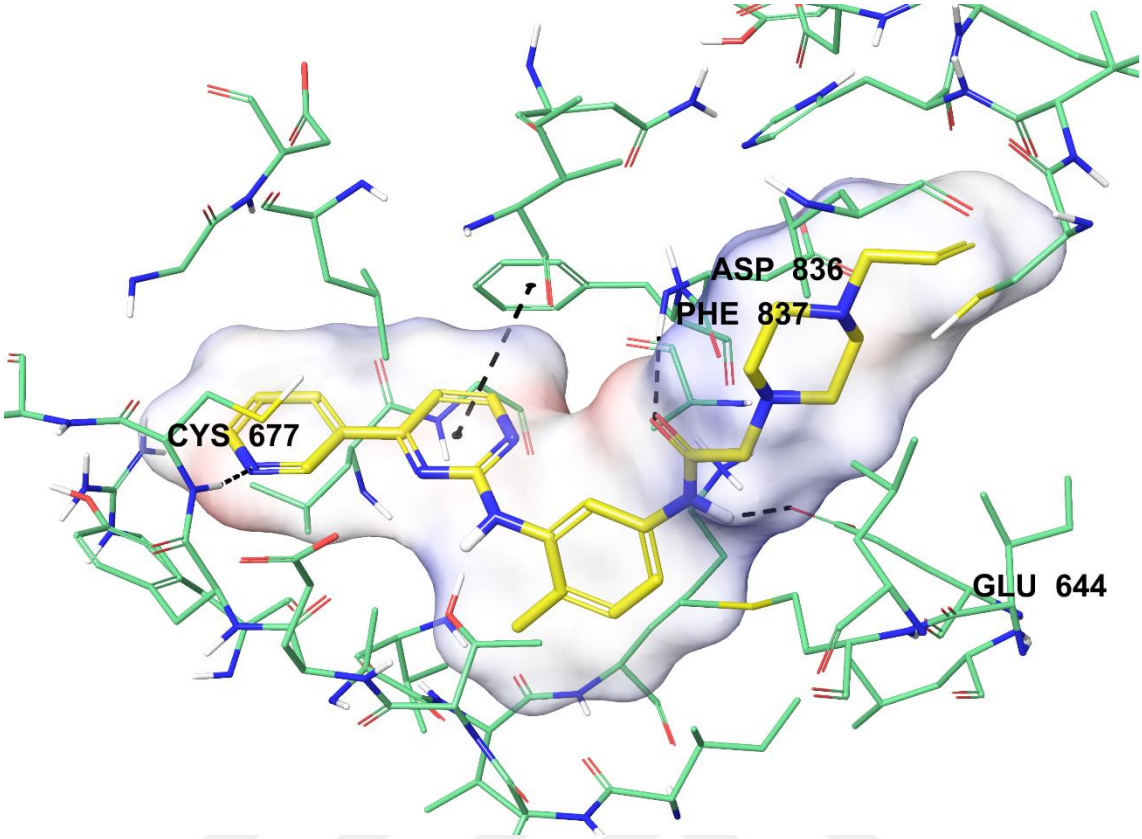
Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşik serisi içinde PDGFR-α enzimine karşı **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklere kıyasla daha düşük seviyede inhibitör aktivite gösteren bileşiklerin *in silico* ortamda bağlanma profillerini analiz etmek ve etkili türevlerle bağlanma etkileşimlerini karşılaştırabilmek amacıyla **5b** kodlu bileşik docking çalışmalarına dahil edilmiştir. Bu bileşiğe ait moleküler docking pozları Şekil 5.168-5.170'de verilmiştir. Bu pozlardan da anlaşıldığı üzere **5b** kodlu bileşik sadece İmatinib molekülü ve **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerle sahip olduğu ortak kimyasal bazı yapılar üzerinden etkileşimler göstermiştir. Yukarıda etkili bileşikler için bahsedilen diğer ortak kimyasal yapılar üzerinden sağlanan etkileşimlerin gözlenmemesi ve aynı zamanda ilgili bileşikler için uç amine ait ilave polar etkileşimlerin tespit edilmemesi nedeniyle bu bileşiğin diğer türevlere oranla daha zayıf bağlanma modları gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 5.168. *Bileşik **5b**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*



Şekil 5.169. *Bileşik* ***5b****'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü*



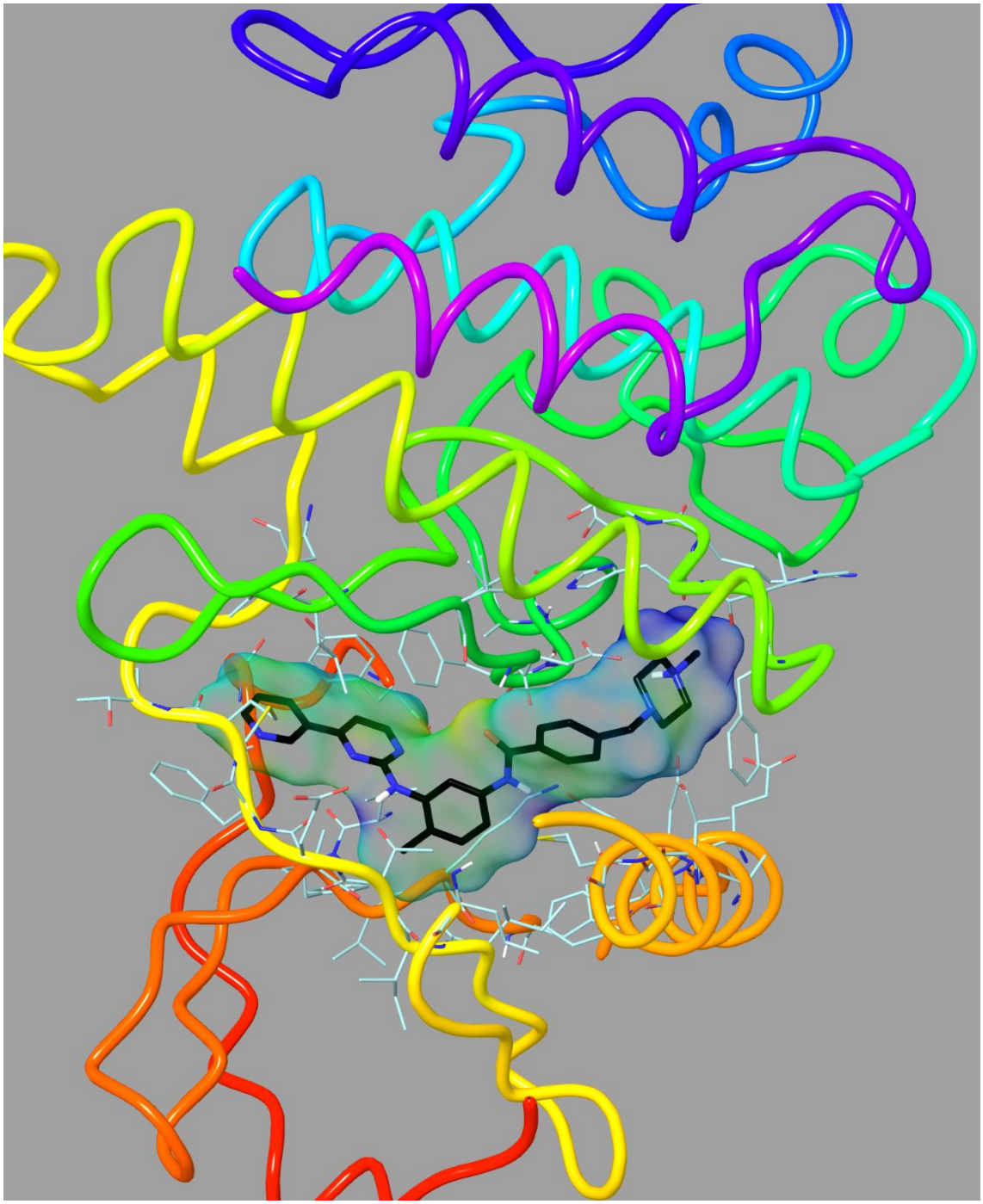
Şekil 5.170. *Bileşik **5b**'nin PDGFR-α tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü*

5.7.2. ABL tirozin kinaz enzimi üzerine moleküler modelleme çalışmalarının değerlendirilmesi

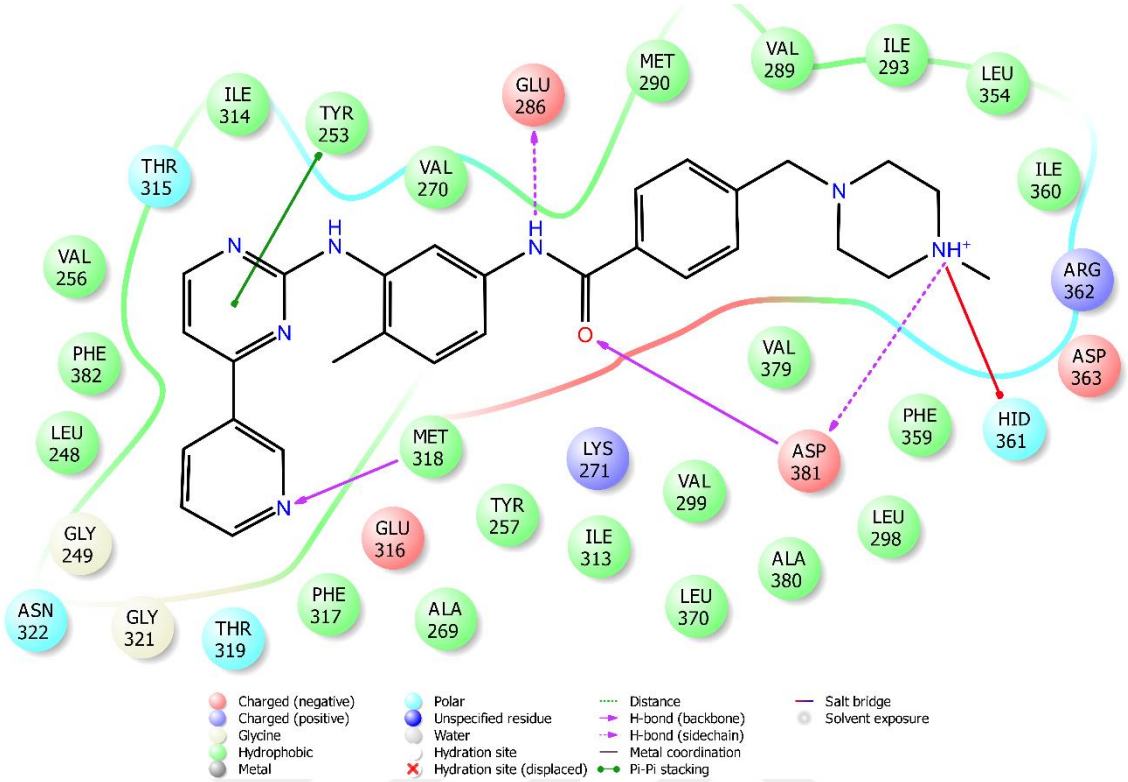
Tez kapsamında sentezi tamamlanan ve ABL tirozin kinaz enzim inhibisyon aktivitesi yüksek bulunan **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin enzim aktif bölgesiyle olası etkileşimlerini belirlemek için ABL tirozin kinaz enzimine ait (PDB Kodu: 2HYY) [133], kristal yapısı üzerinde docking çalışmaları gerçekleştirilmiştir. İnsan vücudundan (*Homo sapiens* sınıfı) elde edilerek yapısının aydınlatılmış olması, içerisinde ligand olarak enzim aktivite çalışmalarında kullandığımız İmatinib molekülünü bulundurması ve çözünürlüğünün yüksek olması sebebiyle bu kristal yapısı tercih edilmiştir. Çalışmalarda *Glide 7.1* [136] programı ile gerçekleştirilen docking tekniği uygulanmış ve *GlideScore SP* ile en olası pozlar üretilmiştir. Ayrıca ilgili bileşiklerin enzim aktif bölgesindeki amino asitlerle olan elektrostatik ve van der Waals etkileşimleri *Per-Residue Interaction* paneliyle görüntülenmiştir.

Moleküler modelleme çalışmalarına docking prosedürünü doğrulamak amacıyla tez kapsamındaki bileşiklerin yanı sıra İmatinib molekülü de dahil edilmiştir. Şekil 5.171-

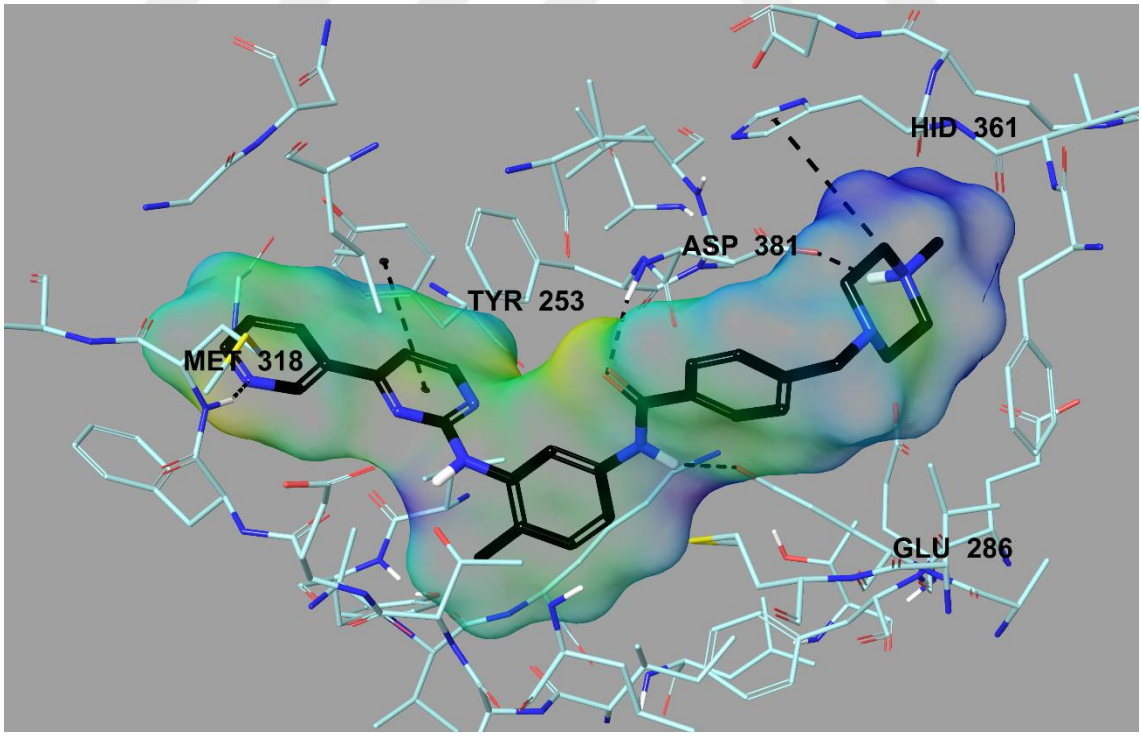
5.176’da sırasıyla İmatinib molekülünün ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi, aktif bölgeyle etkileşiminin iki ve üç boyutlu görüntüleri, van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri verilmiştir. İmatinib molekülünde yapıda yer alan piridin halkası üzerindeki azot atomu Met318’in amino grubuyla hidrojen bağı kurmaktadır. Piridin halkasına komşu olan pirimidin halkası ile Tyr253’ün benzen halkası arasında π-π etkileşimi görülmektedir. Ayrıca yapıda benzen halkalarının arasında yer alan amit grubunun polar etkileşimler açısından oldukça önemli olduğu görülmektedir. Amidin sırasıyla amino ve karbonil grupları Glu286’nın karbonili ve Asp381’ın amino gruplarıyla iki hidrojen bağı kurmaktadır. Yapıya ait son etkileşimler 4-metilpiperazin halkası üzerinden tespit edilmiştir. Piperazin azot atomu Asp381’ın karbonili ile hidrojen bağı kurarken; Hid361’ın imidazol halkası ile de katyon-π etkileşimi göstermektedir. Elde edilen tüm bu etkileşim bilgileri İmatinib molekülünün ABL tirozin kinaz enzimi üzerinde literatürdeki docking çalışmalarıyla uyum içerisindedir [133, 157-160]. Böylelikle izlenen docking prosedürü doğrulanmıştır.



Şekil 5.171. *İmatinib'in ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*

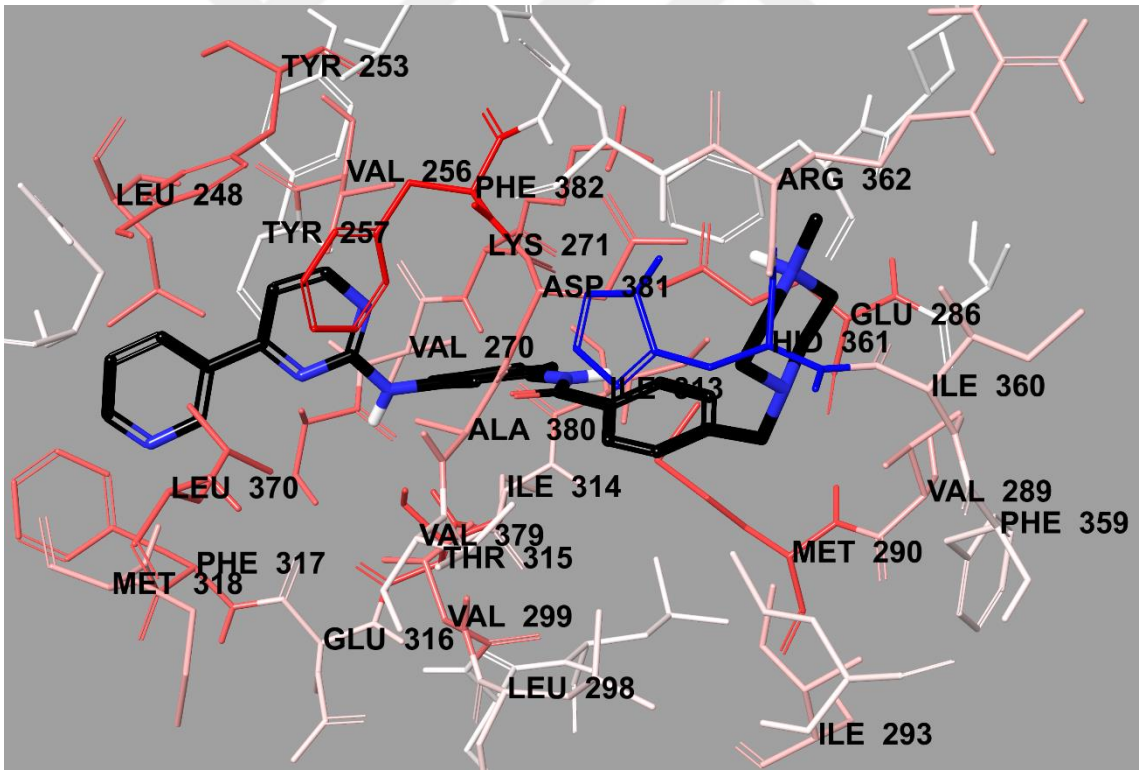


Şekil 5.172. *İmatinib'in ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü*

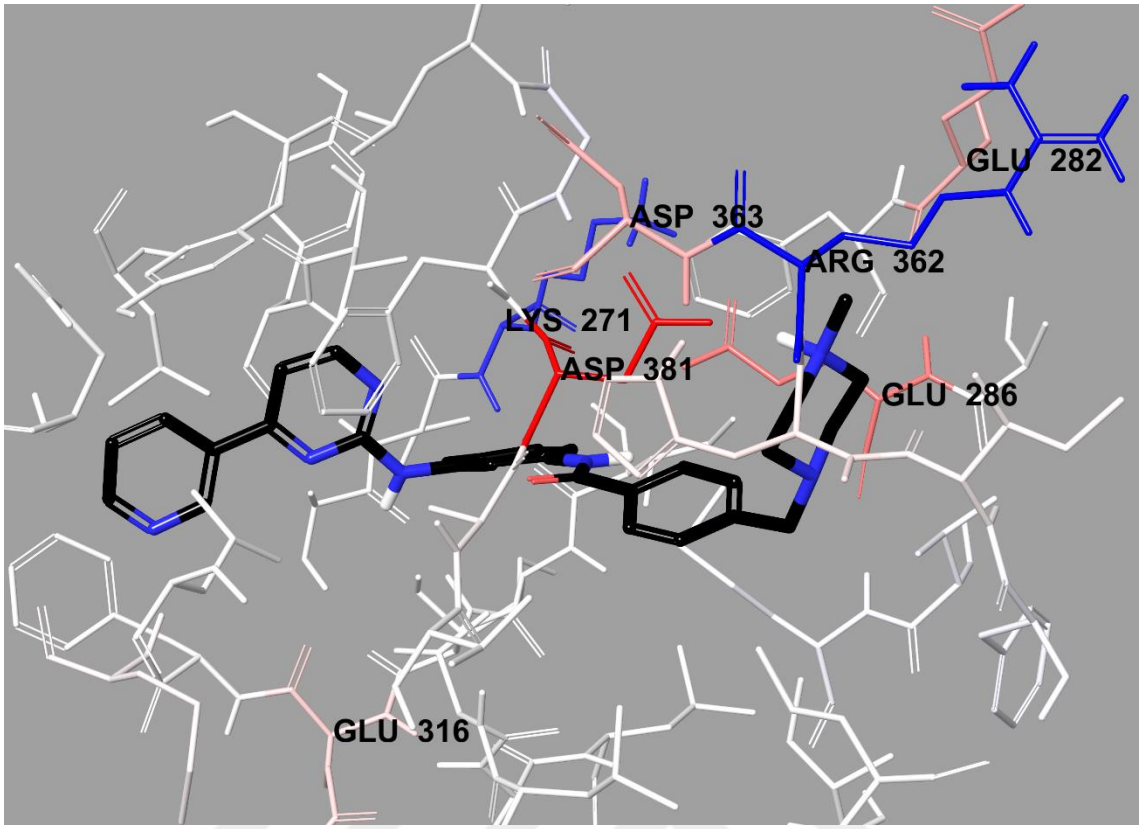


Şekil 5.173. *İmatinib'in ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü*

İmatinib molekülünün enzim aktif bölgesindeki amino asitlerle olan van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri *Per-Residue Interaction* paneliyle görüntülenmiştir. Bu panele göre van der Waals etkileşimleri için kırmızı ve pembe renkler kuvvetli van der Waals etkileşiminin olduğunu işaret ederken; elektrostatik etkileşimlerde ise mavi, kırmızı ve pembe renkler güçlü elektrostatik etkileşimleri temsil etmektedir. İmatinib için van der Waals etkileşimleri analiz edildiğinde enzim aktif yöresindeki Leu248, Tyr253, Val256, Tyr257, Val270, Lys271, Phe282, Glu286, Val289, Met290, Ile293, Leu298, Val299, Ile313, Ile314, Thr315, Glu316, Phe317, Met318, Phe359, Ile360, Hid361, Arg362, Leu370, Val379, Ala380, Asp381 ve Phe382 amino asitleriyle güçlü van der Waals etkileşimlerinin bulunduğu görülmektedir (Şekil 5.174). Aynı bileşiğin elektrostatik etkileşimleri incelendiğinde ise Lys271, Glu282, Glu286, Glu316, Arg362, Asp363 ve Asp381amino asitleriyle kuvvetli etkileşimlerin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.175).

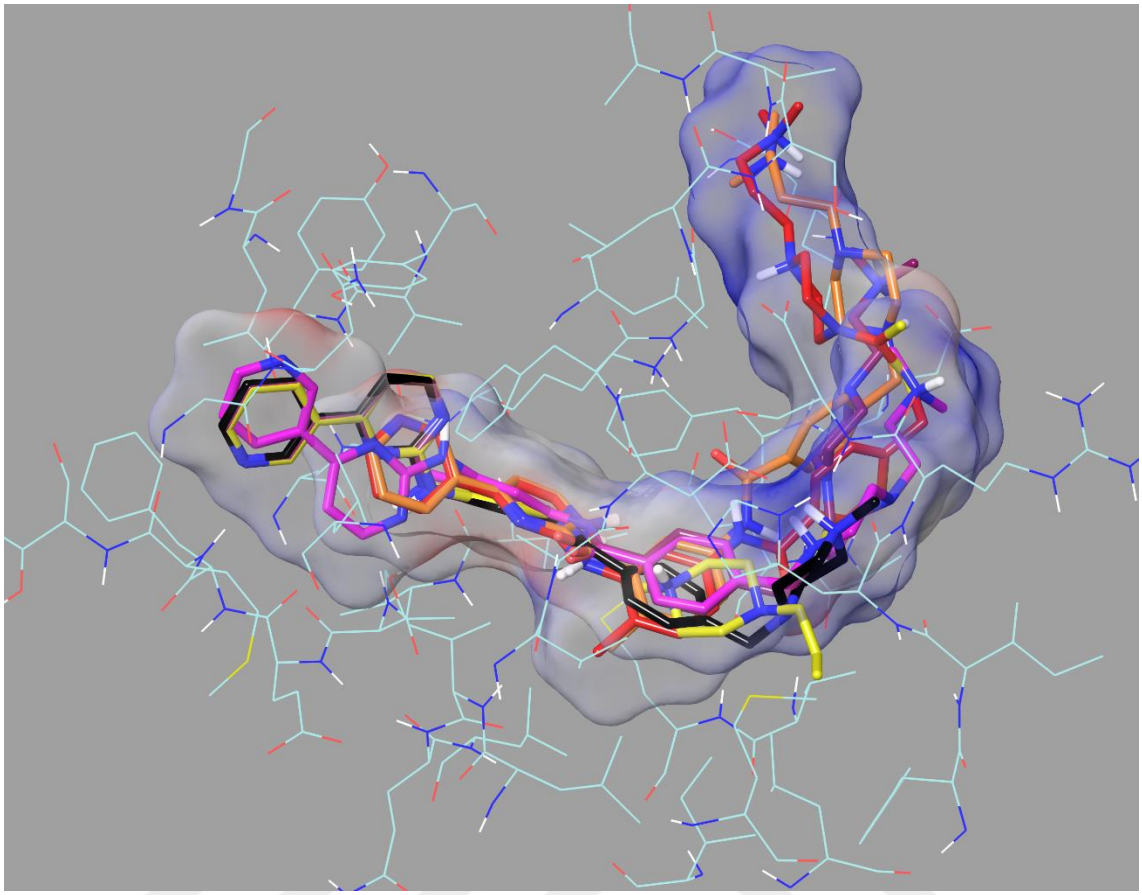


Şekil 5.174. *İmatinib'in ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi*



Şekil 5.175. *İmatinib'in ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi*

Tez kapsamında sentezi tamamlanan ve ABL tirozin kinaz enzimi üzerinde etkili bulunan **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin moleküler docking pozları Şekil 5.177-5.196'da verilmiştir. Docking çalışmaları analiz edildiğinde ilgili bileşiklerin İmatinib molekülüne oldukça benzer pozisyonlarda ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine bağlandığı görülmektedir. Şekil 176'da **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin ve İmatinib molekülünün ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesindeki çakışık konumları verilmiştir.



Şekil 5.176. *İmatinib ve bileşik **5i, 5j, 7i** ve **7j**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*

Moleküler modelleme çalışmaları sonuçları incelendiğinde gözlenen benzer bağlanma pozisyonlarının, İmatinib molekülünde ABL tirozin kinaz enzimi için tespit edilen bazı etkileşimler açısından da benzerlik sağlandığı görülmektedir. **5i** kodlu bileşikte yapıda bulunan piridin halkası üzerindeki azot atomu, İmatinib molekülünde olduğu gibi Met318'in amino grubuyla hidrojen bağı oluşturmaktadır. **5i** kodlu bileşikte yapıdaki piridin halkası Tyr253'ün benzeni ile π-π etkileşimi oluştururken aynı etkileşim **5j** ve **7j** kodlu bileşiklerde ise Phe382'nin benzeni ile gözlenmiştir. **7i** kodlu bileşikte piridin halkasına komşu pirimidin halkası İmatinibde olduğu üzere Tyr253'ün benzeni ile π-π etkileşimi kurmaktadır. **5i** kodlu bileşikte yapının orta kısmında benzen halkası ile Lys271'in amino grubu arasında katyon-π etkileşimi tespit edilmiştir. İmatinib molekülünün ABL tirozin kinaz enzimi üzerinde yapısında bulunan amit grubu sayesinde önemli polar etkileşimler gösterdiği belirlenmiştir. Benzer durumun **5i** ve **7i** kodlu bileşiklerde de söz konusu olduğu görülmektedir. Bu bileşiklerde amit grubuna ait sırasıyla amino ve karbonil grupları İmatinibde olduğu gibi Glu286'nın karbonili ve Asp381'in amino gruplarıyla hidrojen bağları oluşturmaktadır. Bileşik **7j**'de ise amit

grubuna komşu olan benzen halkası ile Lys271'in amino grubu arasında katyon-π etkileşimi görülmektedir. **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerle ilgili tespit edilen tüm bu etkileşimler İmatinib molekülünde gözlenen ve ortak olan bazı etkileşimlerdir. Elde edilen bu veriler söz konusu bileşiklerin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine İmatinib ile oldukça benzer pozisyonlarda bağlandıklarını göstermektedir.

5i, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin İmatinibden farklı olarak gözlemlenen etkileşimleri sübstitüe piperazin kalıntısı üzerinden sağlandığı moleküler docking çalışmaları neticesinde görülmektedir. **5i** kodlu bileşikte diğer bileşiklerden farklı olarak piperazin halkası üzerindeki azot atomu Asp381'in karbonili ile bir hidrojen bağı kurarken Hid361'in imidazol halkası ile katyon-π etkileşimi oluşturmaktadır. Ayrıca söz konusu bu etkileşimin İmatinib molekülünde de sağlandığı görülmektedir. **5j** kodlu bileşikte ise benzer şekilde piperazin azot atomu ile Glu282'nin karbonili arasında hidrojen bağı oluşumu tespit edilmiştir.

5i, 5j, **7i** ve **7j** kodlu bileşikler kimyasal yapıları bakımından incelendiğinde, **5i** ve **7i** kodlu bileşiklerde piperazin halkasına dimetilaminoetil alkil yapısının, bileşik **5j** ve **7j**'de ise dimetilaminopropil alkil grubunun bağlı olduğu görülmektedir. İki N atomu arasındaki etil ve propil alkil zincirinin aktif bölge amino asitleriyle olan van der Waals etkileşimini artırması sebebiyle daha iyi bağlanmayı sağlamaktadır. Bu bileşiklerde alkil zincirindeki terminal N atomu katarnize olarak hidrojen bağı oluşturabilmektedir. **5i** ve **7i** kodlu bileşiklerde bu N atomu Glu282 amino asidinin karbonili ile hidrojen bağı oluştururken; **5j** ve **7j** kodlu bileşiklerde aynı etkileşim Glu279'un karbonili ile gözlenmiştir.

Kimyasal yapı açısından **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşikler analiz edildiğinde **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin **5i** ve **5j** kodlu bileşiklerden farklı olarak yapılarında ditiyokarbamat kalıntısı taşıdıkları görülmektedir. Bu durum ilgili bileşiklerin hem konformasyonlarını etkilemekte hem de enzim aktif bölgesindeki amino asitlerle olan van der Waals ve elektrostatik etkileşimlerine katkı sağlamaktadır.

5i, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerin enzim aktif bölgesindeki amino asitlerle olan van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri *Per-Residue Interaction* paneliyle görüntülenmiştir. Bu panele göre van der Waals etkileşimleri için kırmızı ve pembe renkler kuvvetli van der Waals etkileşiminin olduğunu işaret ederken; elektrostatik etkileşimlerde ise mavi, kırmızı ve pembe renkler güçlü elektrostatik etkileşimleri temsil etmektedir (Şekil 5.180, Şekil 5.181, Şekil 5.185, Şekil 5.186, Şekil 5.190, Şekil 5.191,

Şekil 5.195, Şekil 5.196). Söz konusu bileşiklerin enzim aktif bölgesinde van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri oluşturdukları amino asitler Tablo 5.12'te verilmiştir.

Tablo 5.14. ***5i, 5j, 7i*** *ve* ***7j*** *kodlu bileşiklerin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesinde van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri oluşturdukları amino asitler.*

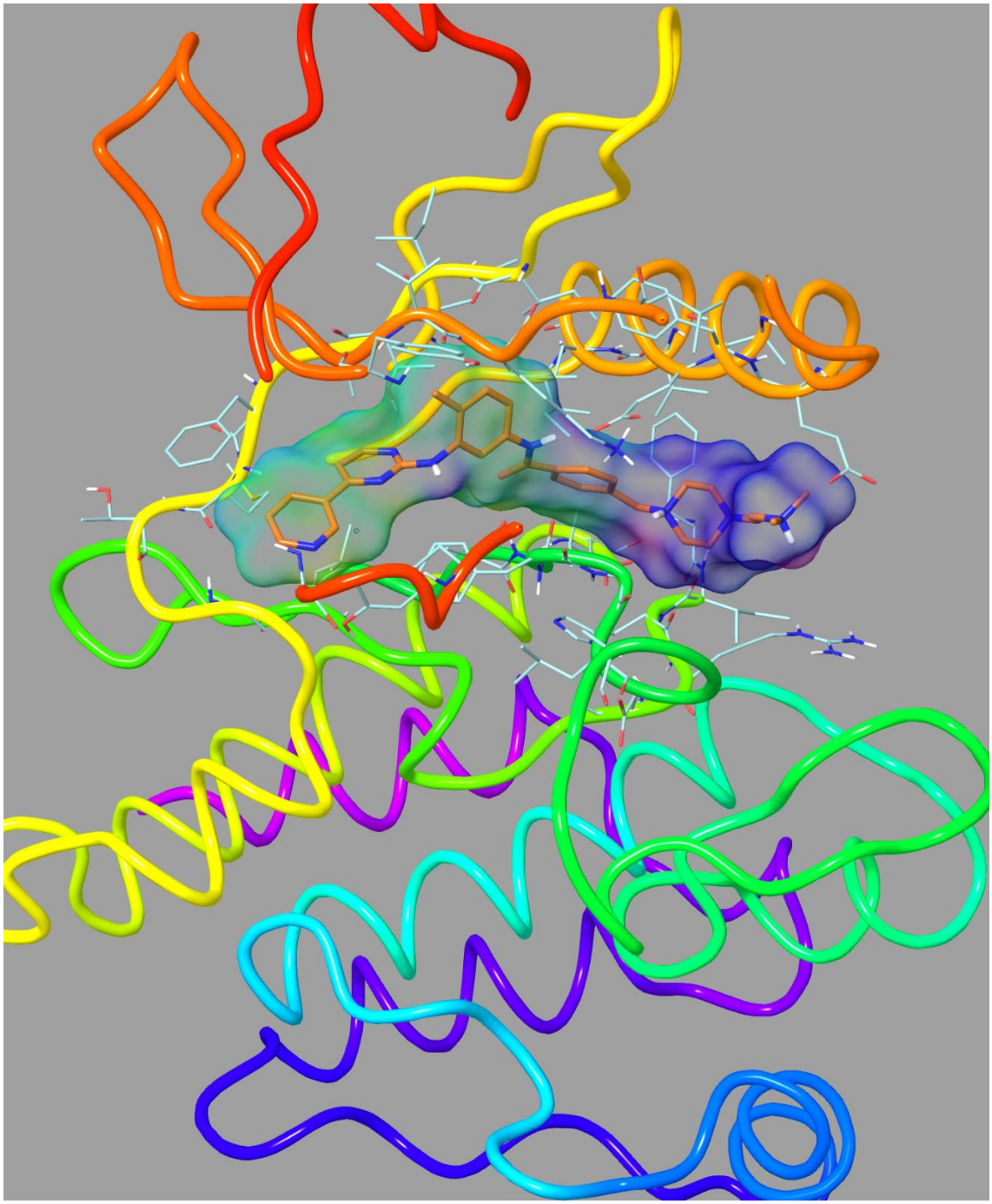
Bileşik	**Van der Waals etkileşimi kurulan amino asitler**	**Elektrostatik etkileşim kurulan amino asitler**
5i	Leu248, Tyr253, Val256, Ala269, Val270, Lys271, Glu282, Lys285, Glu286, Val289, Met290, Leu298, Val299, Leu301, Ile313, Ile314, Thr315, Glu316, Phe317, Met318, Ile360, Hid361, Arg362, Leu370, Val379, Ala380, Asp381, Phe382	Lys271, Glu282, Glu286, Glu316, Arg362, Asp363, Asp381
5j	Leu248, Tyr253, Val256, Ala269, Lys271, Glu282, Phe283, Glu286, Val289 Met290, Val299, Ile313, Thy315, Leu370, Ala380, Asp381, Phe382, Gly383	Lys271, Glu282, Glu286, Glu316, Arg362, Asp363, Asp381
7i	Leu248, Tyr253, Val256, Ala269, Val270, Lys271, Lys285, Glu282, Lys285, Glu286, Val289, Met290, Val299, Leu301, Ile313, Ile314, Thr315, Glu316, Phe317, Met318, Hid361, Leu370, Ala380, Asp381, Phe382	Lys271, Glu282, Glu286, Arg362, Asp363, Asp381
7j	Leu248, Tyr253, Ala269, Lys271, Glu282, Phe283, Ly285, Glu286, Val289, Met290, Ile293, Leu298, Val299, Ile313, Thy315, Glu316, Hid361, Arg362, Leu370, Ala380, Phe382, Gly383	Lys271, Glu282, Glu286, Glu316, Arg362, Asp363, Asp381

Moleküler modelleme çalışmaları neticesinde elde edilen tüm veriler dikkate alındığında enzim aktif bölgesi ile olan etkileşimlerdeki farklılıklar ile aktivite sonuçları arasında bir ilişki göze çarpmaktadır. ABL tirozin kinaz enzim inhibisyon sonuçlarına göre **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşikler İmatinibden daha güçlü şekilde inhibisyon göstermektedir. Söz konusu bileşiklerin ve İmatinib molekülünün ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle olan bağlanma affiniteleri Tablo 5.13'te gösterilmiştir. **5i**, **5j**, **7i** ve

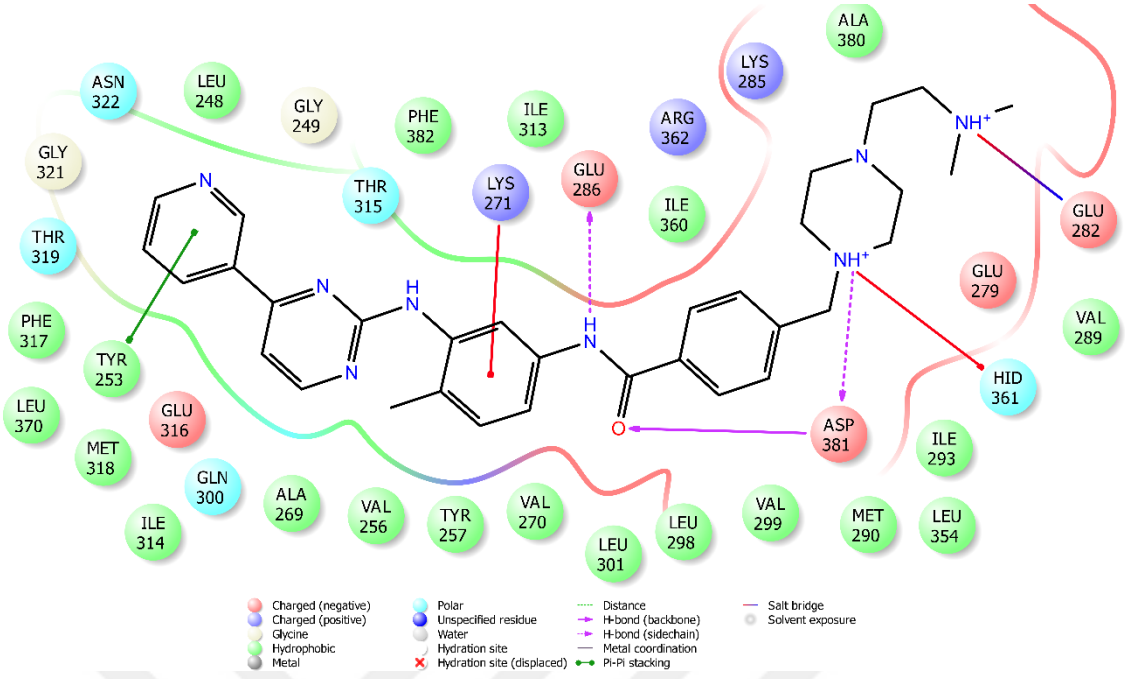
7j kodlu bileşiklerin İmatinibden daha güçlü bir seviyede enzim aktif yöresine bağlandığı görülmektedir.

Tablo 5.15. ***5i, 5j, 7i*** *ve* ***7j*** *kodlu bileşiklerin ve İmatinib molekülünün ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine bağlanma affiniteleri*

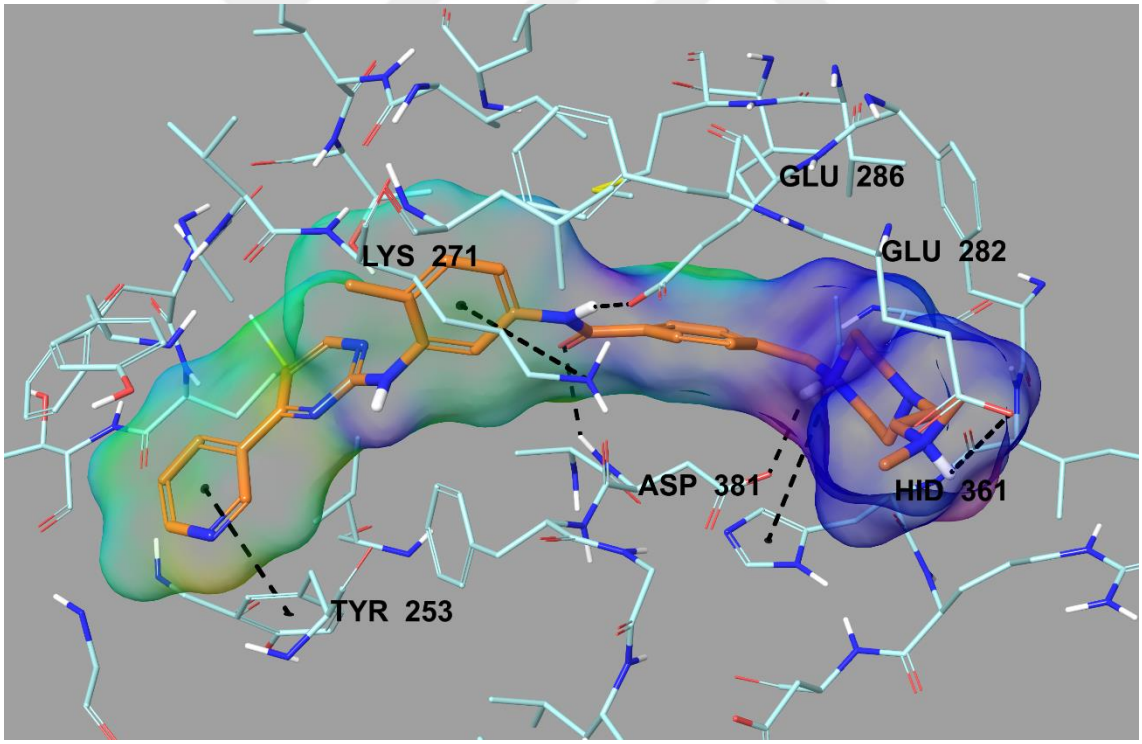
Bileşik	**Bağlanma affiniteleri (Kcal/mol)**		
	Docking score	**Glide gscore**	**Glide emodel**
5i	-12.760	-12.800	-121.991
5j	-10.955	-10.985	-98.392
7i	-13.180	-13.192	-161.264
7j	-11.500	-11.573	-125.510
İmatinib	-9.781	-9.285	-125.971



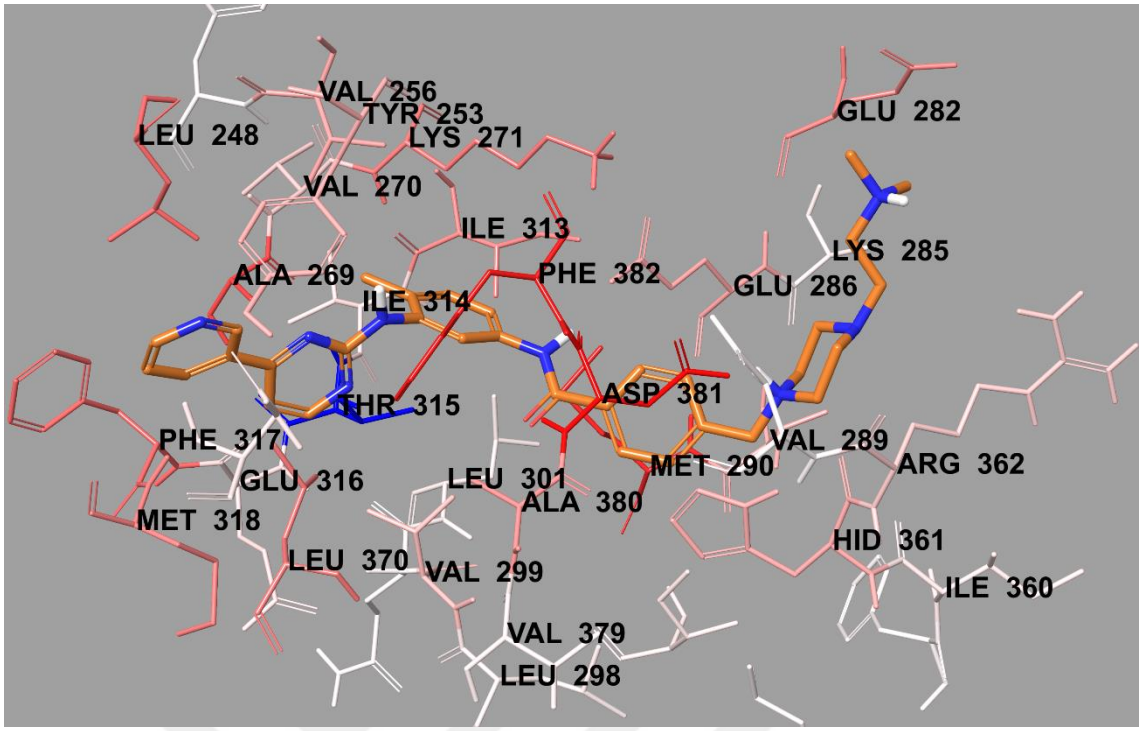
Şekil 5.177. *Bileşik **5i**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*



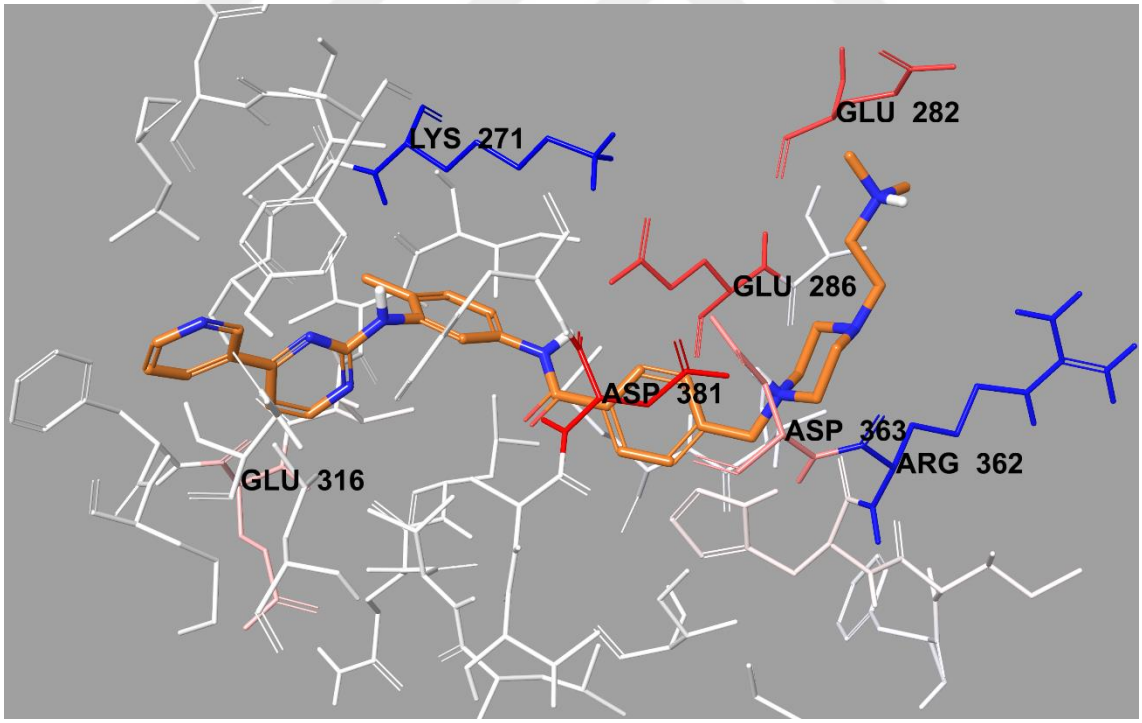
Şekil 5.178. *Bileşik **5i**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü*



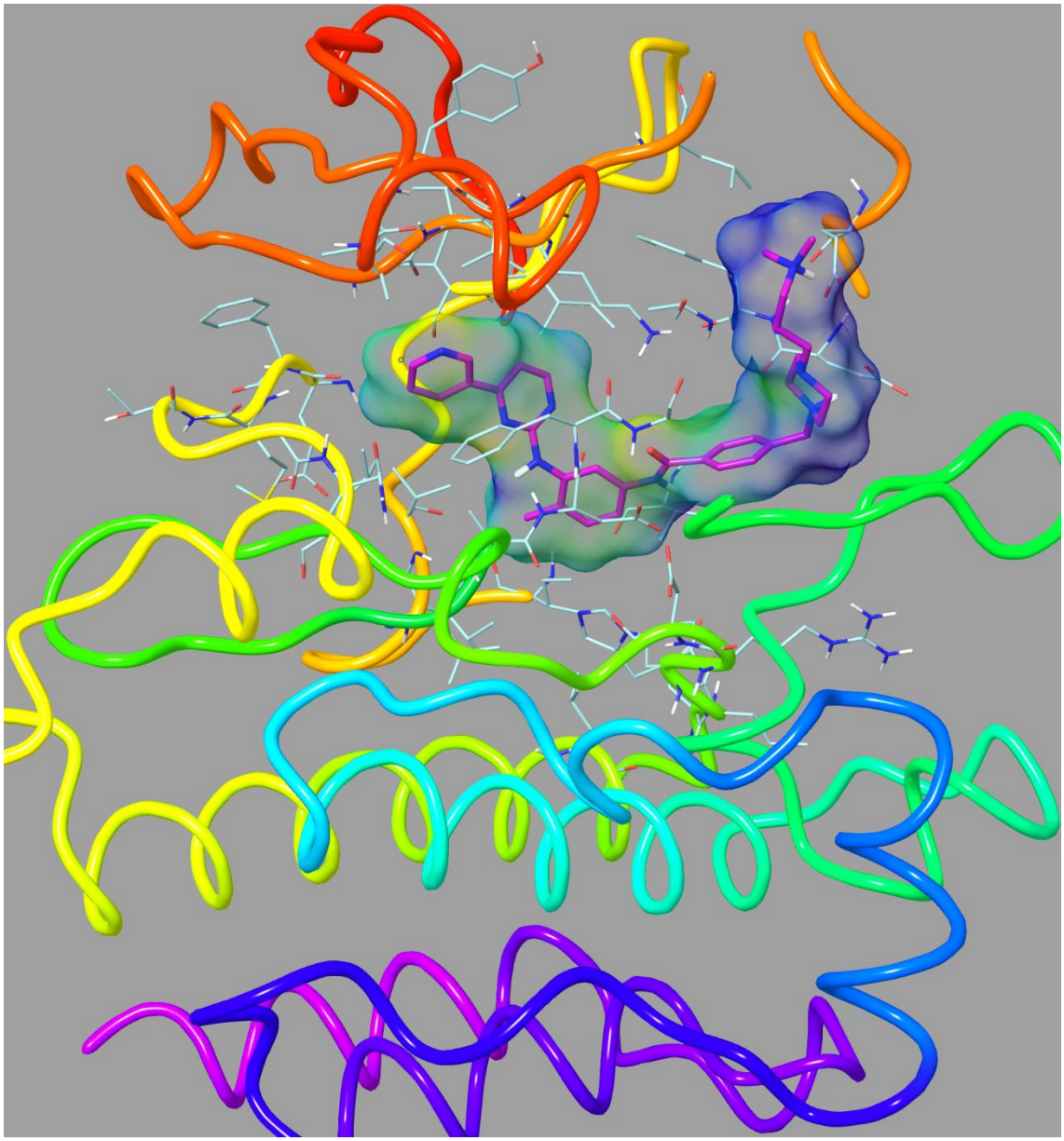
Şekil 5.179. *Bileşik **5i**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü*



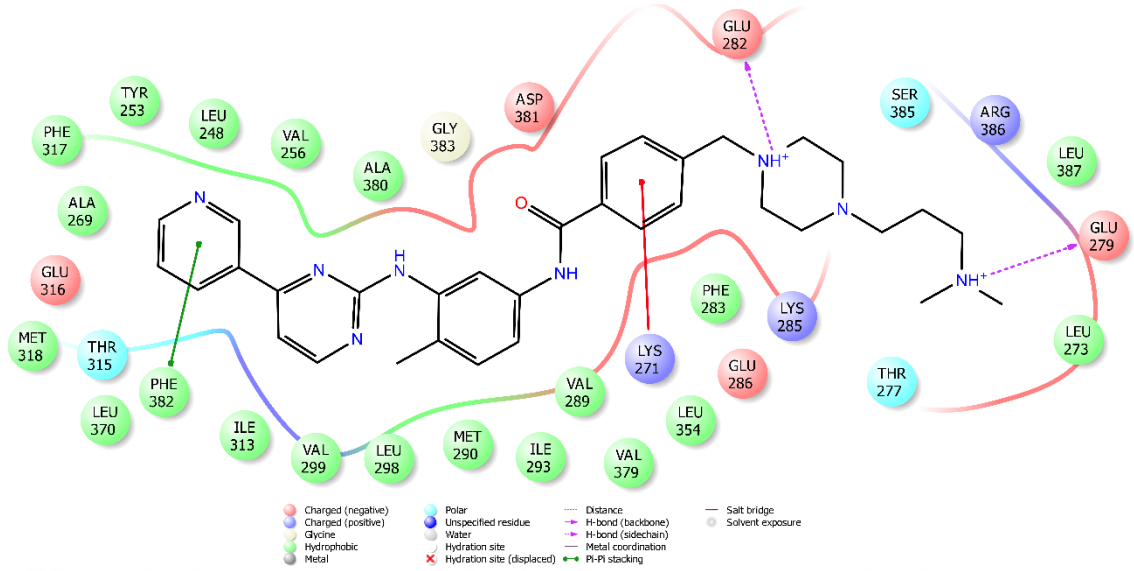
Şekil 5.180. *Bileşik **5i**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi*



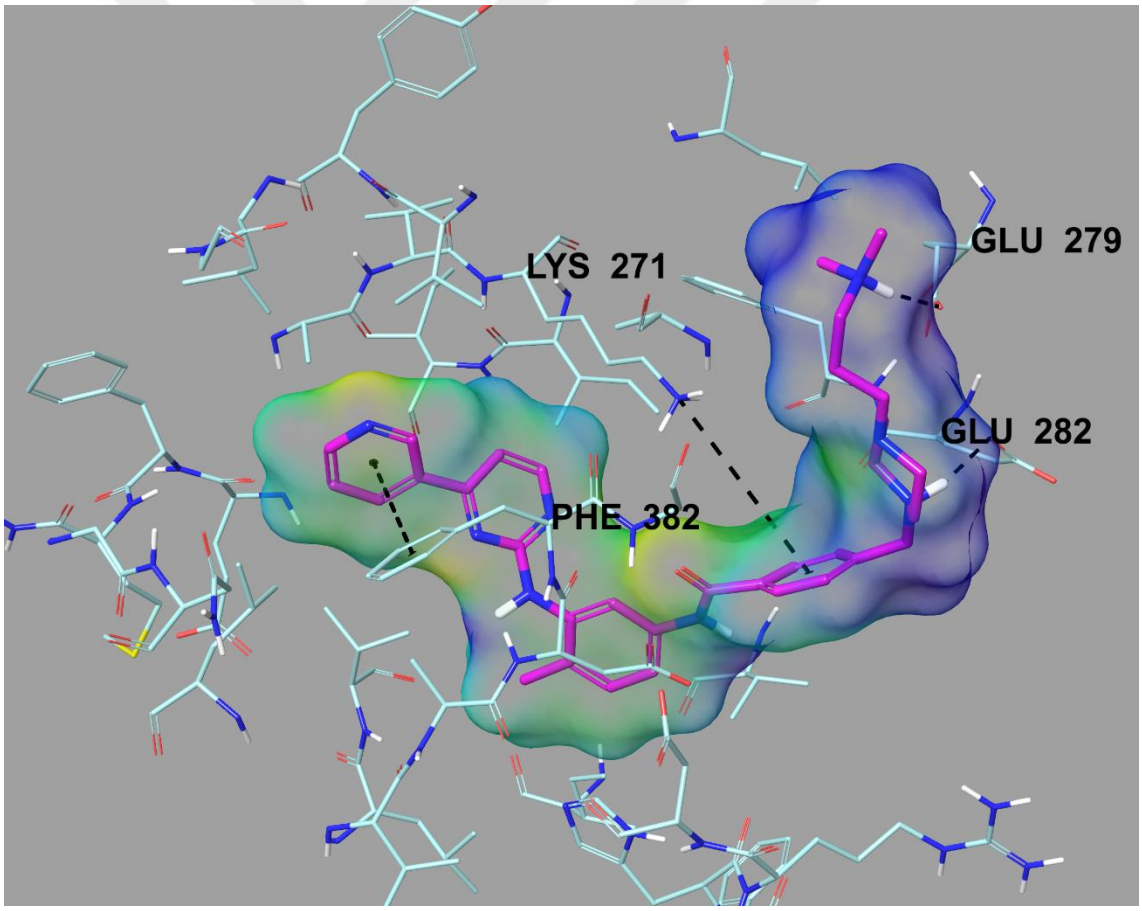
Şekil 5.181. *Bileşik **5i**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi*



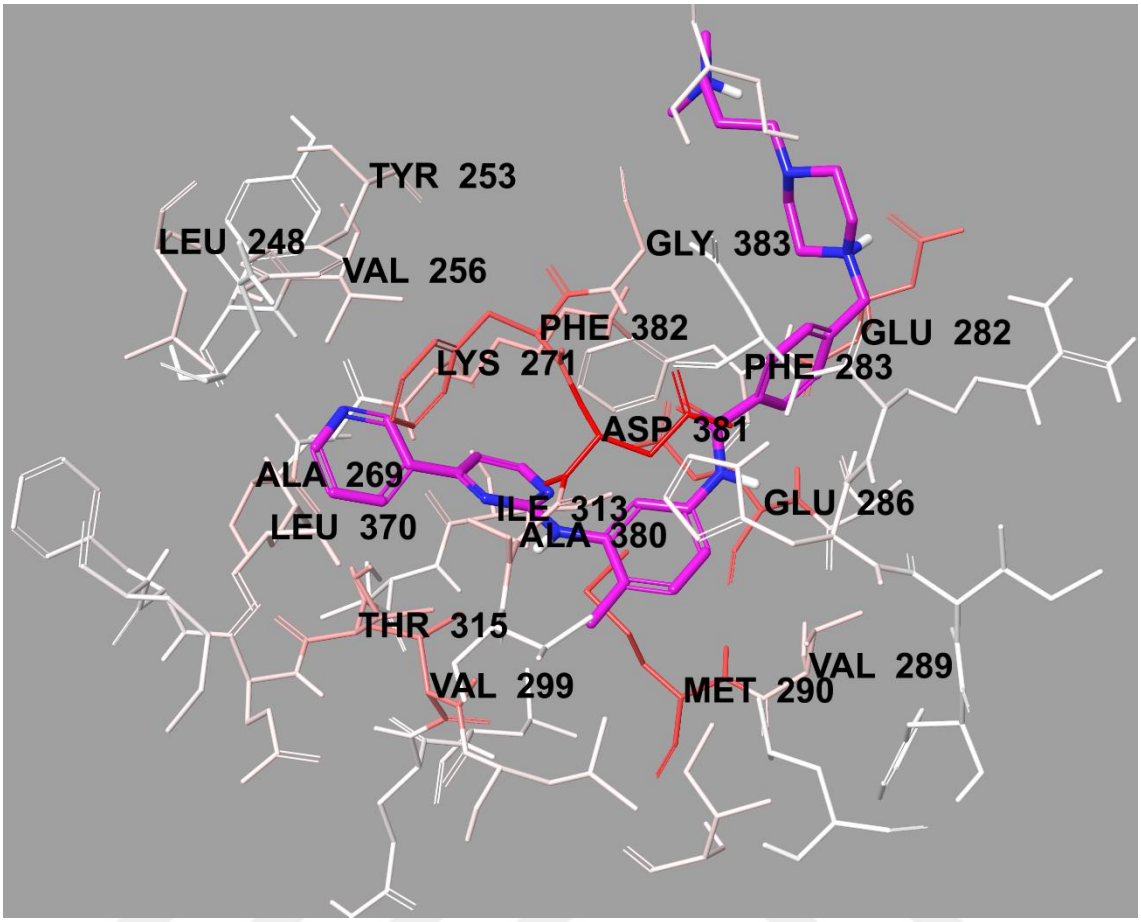
Şekil 5.182. *Bileşik **5j**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*



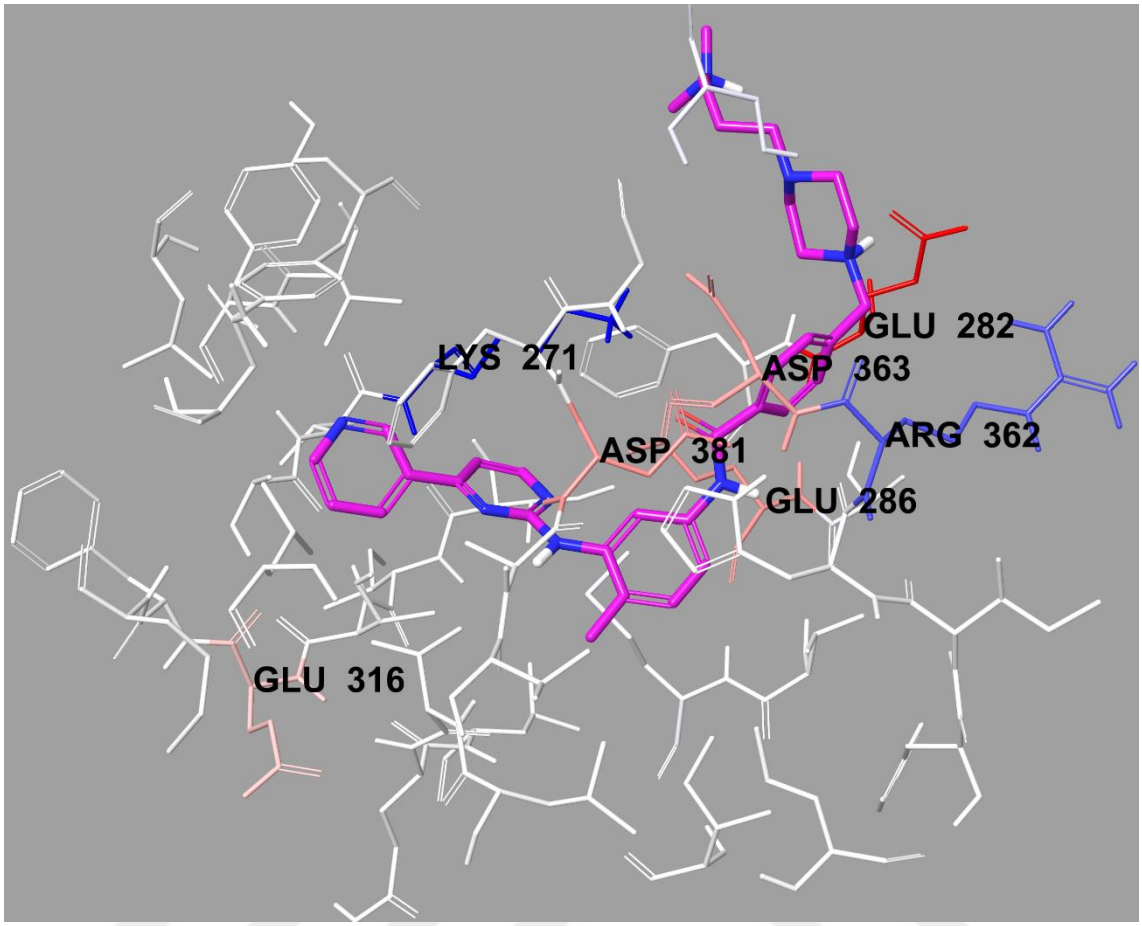
Şekil 5.183. *Bileşik **5j**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü*



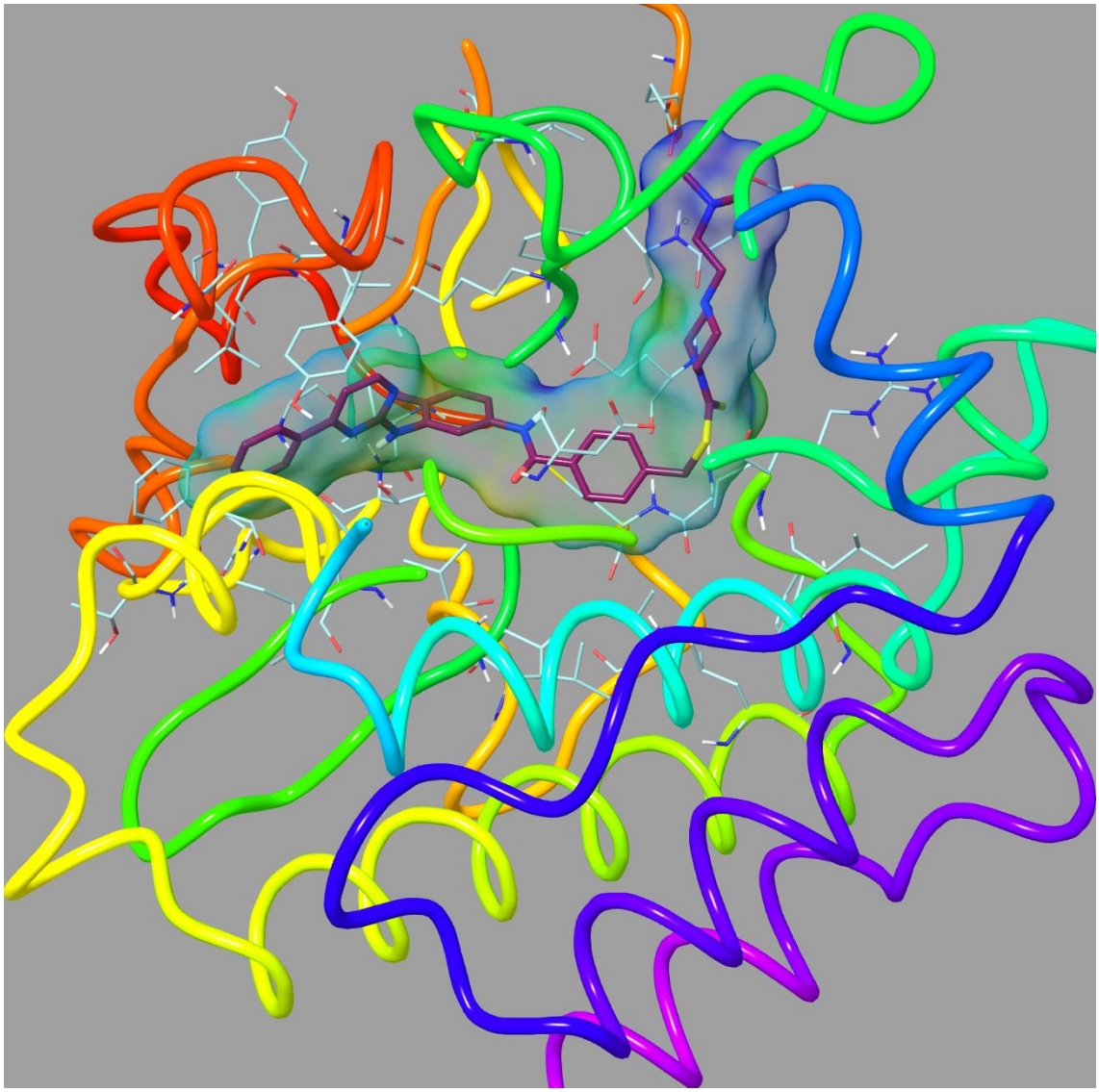
Şekil 5.184. *Bileşik **5j**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü*



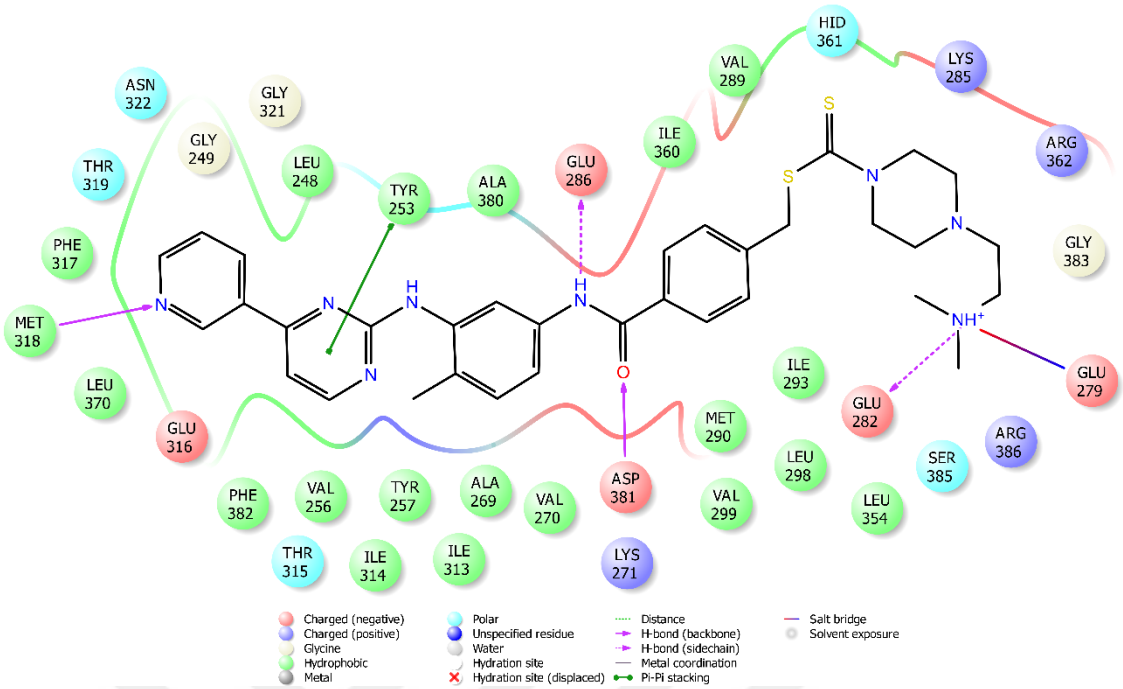
Şekil 5.185. *Bileşik **5j**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi*



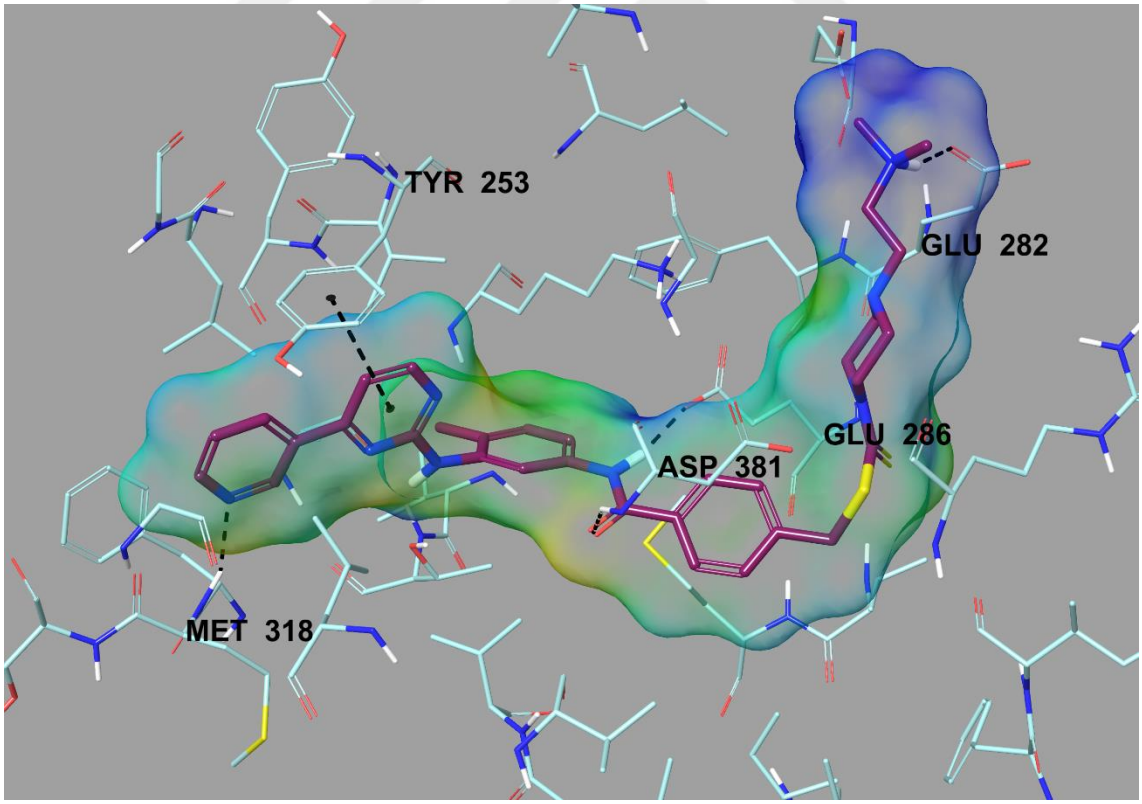
Şekil 5.186. *Bileşik* **5j***'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi*



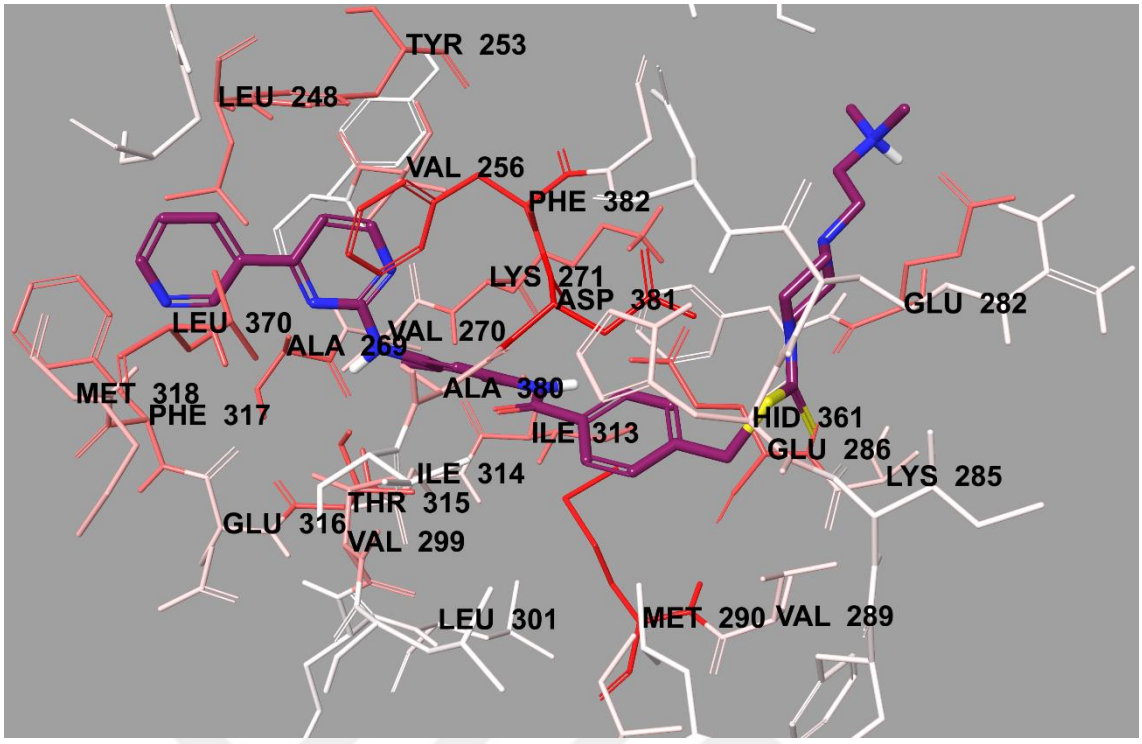
Şekil 5.187. *Bileşik **7i**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*



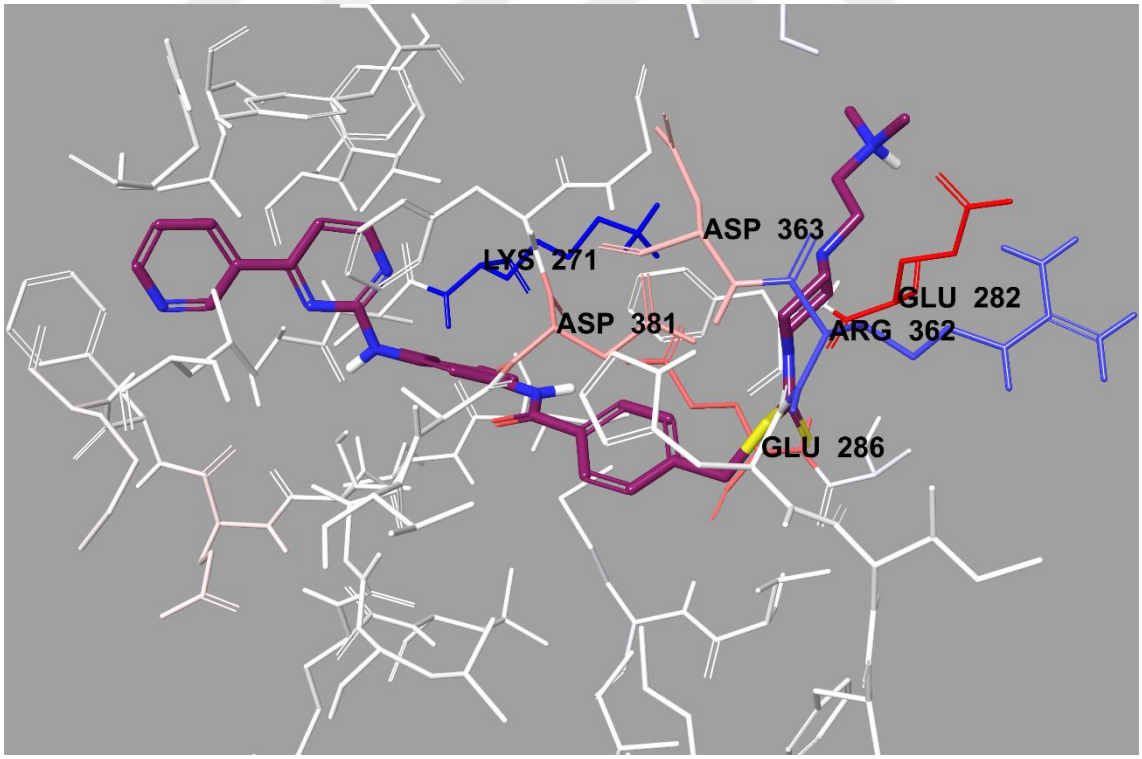
Şekil 5.188. *Bileşik **7i**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü*



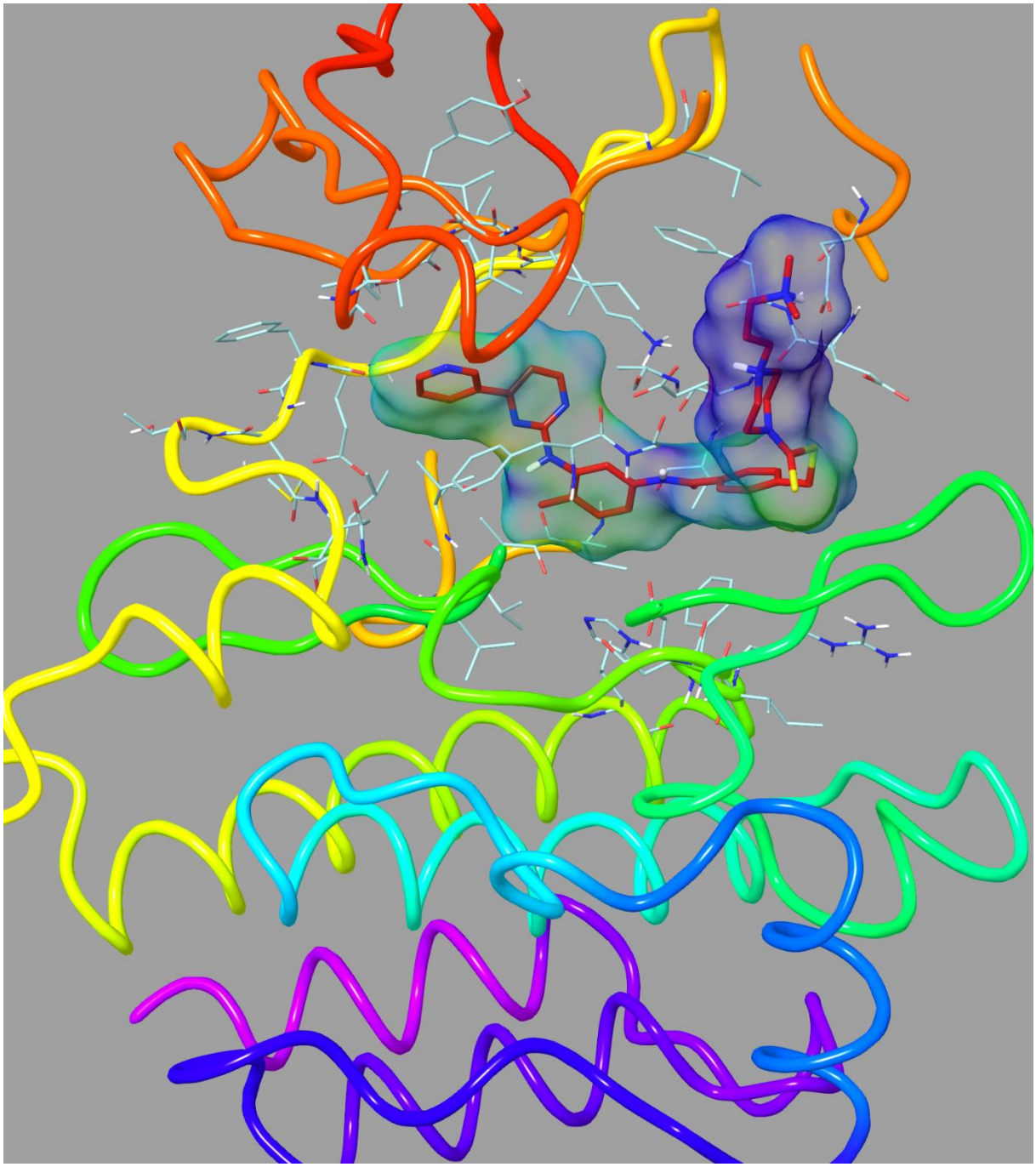
Şekil 5.189. *Bileşik **7i**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü*



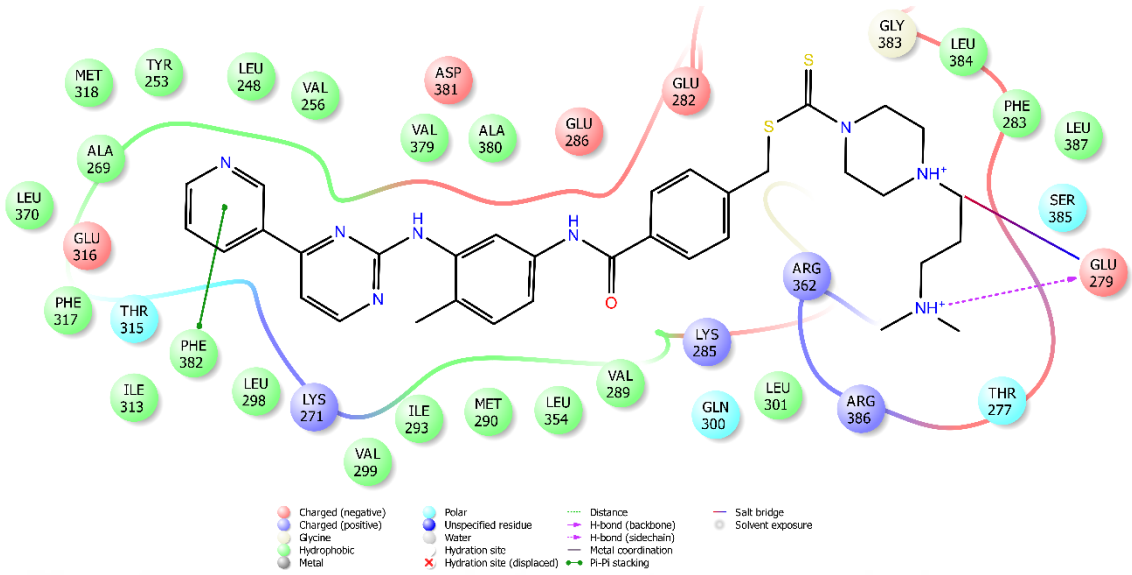
Şekil 5.190. *Bileşik **7i**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi*



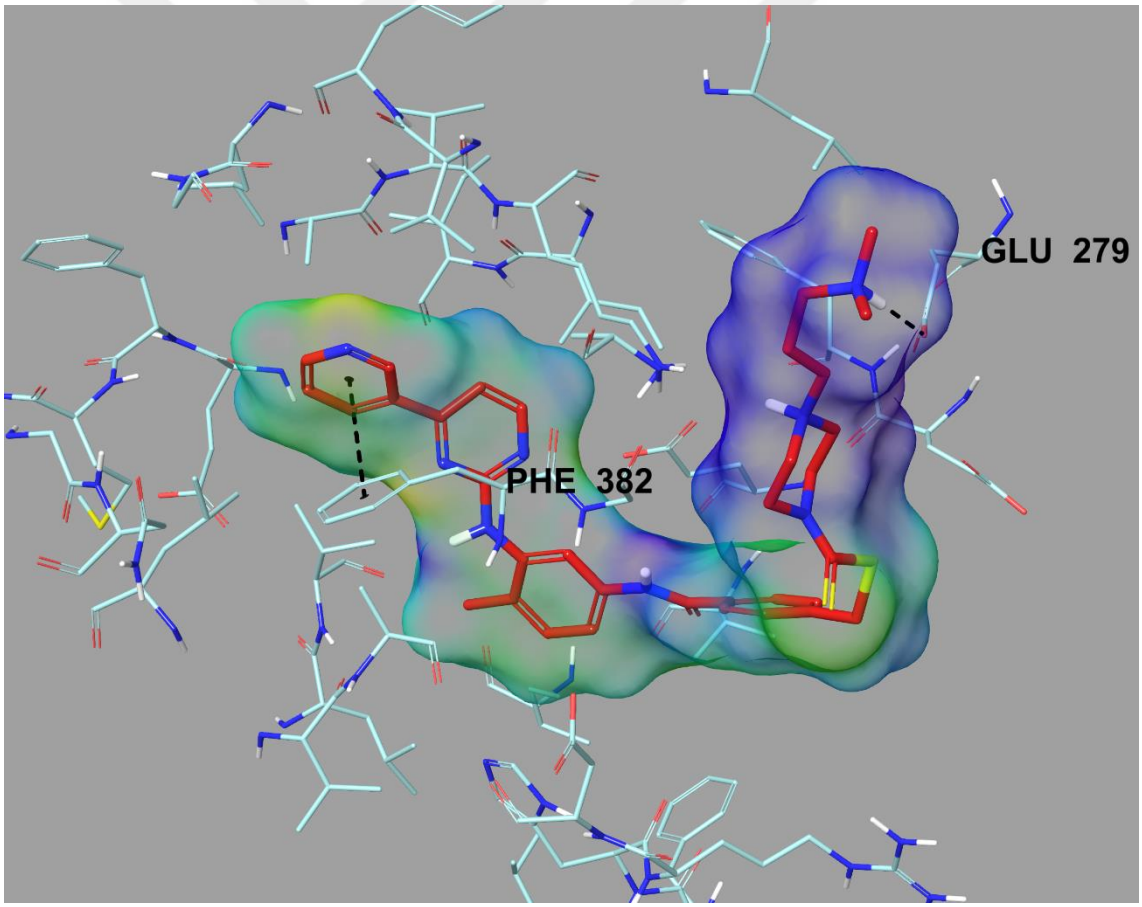
Şekil 5.191. *Bileşik **7i**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi*



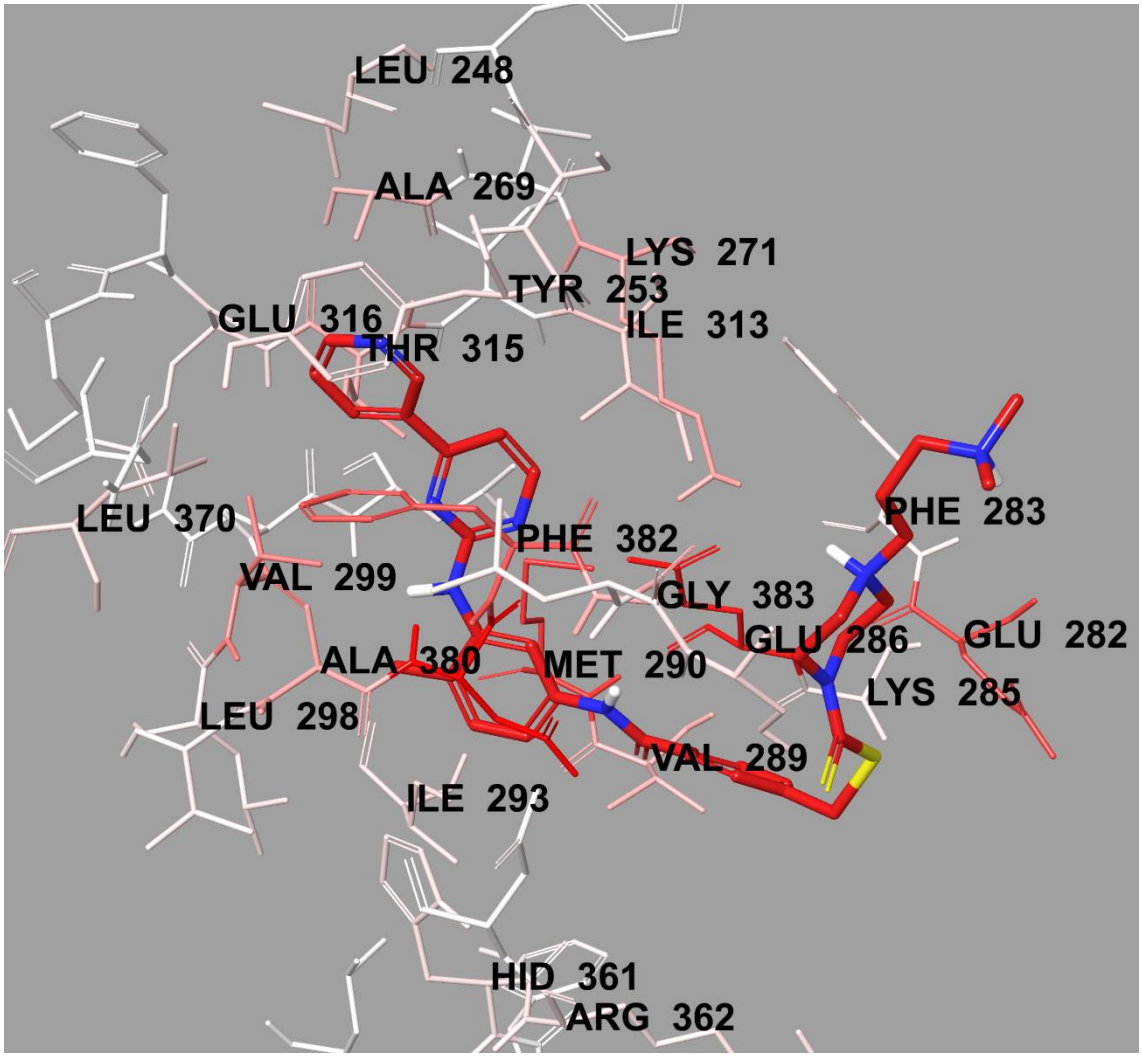
Şekil 5.192. *Bileşik **7j**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*



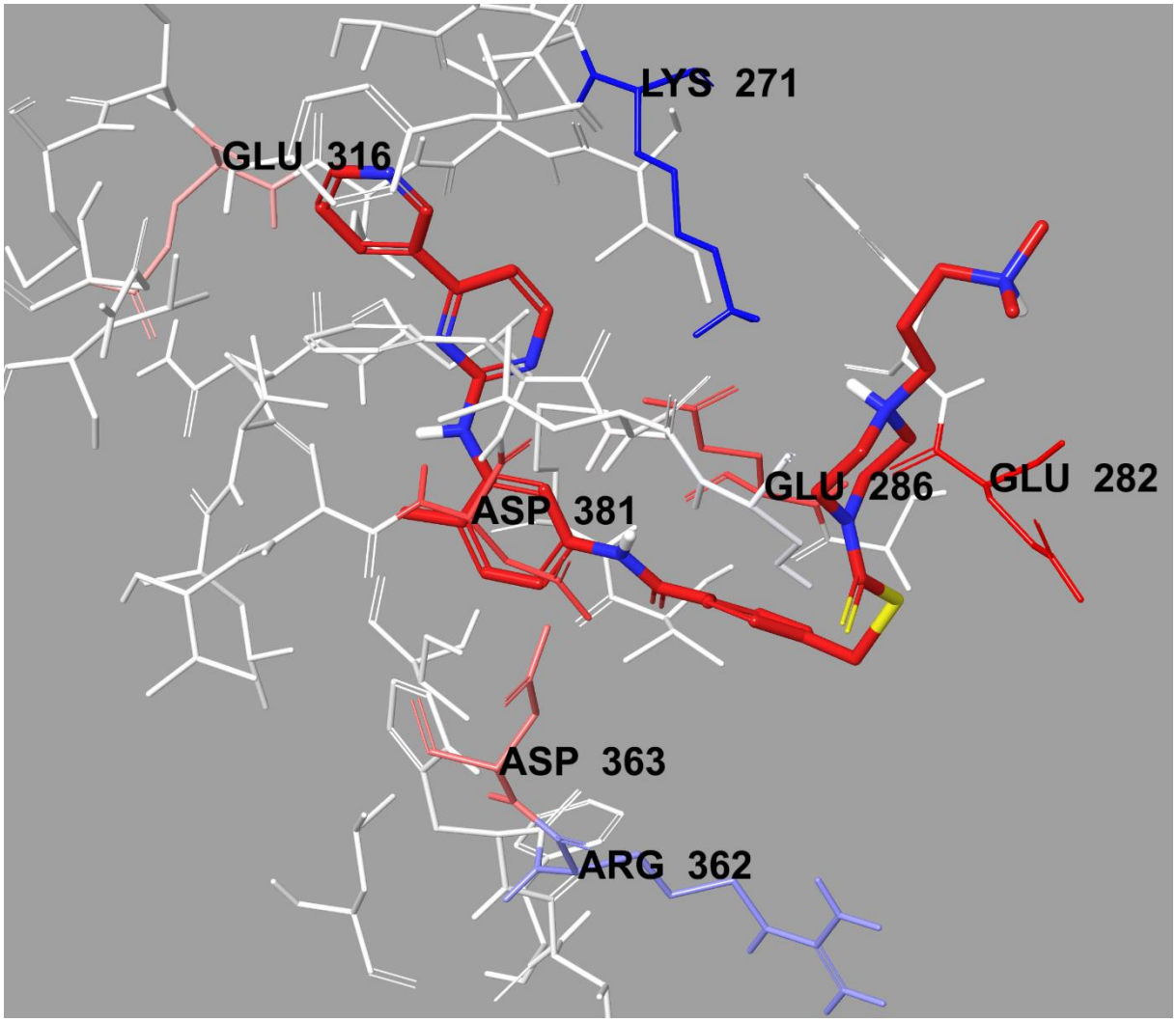
Şekil 5.193. *Bileşik **7j**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü*



Şekil 5.194. *Bileşik **7j**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü*

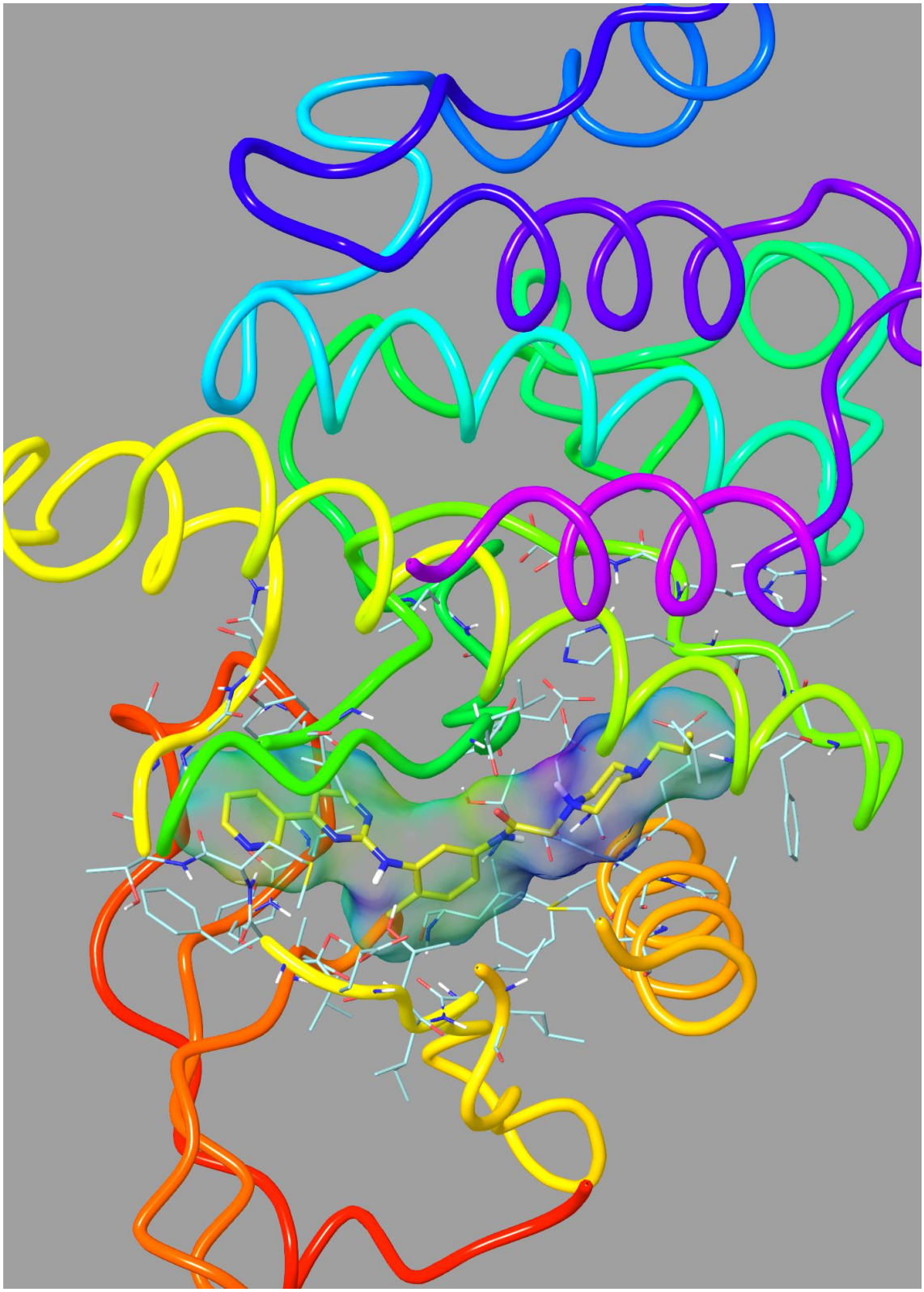


Şekil 5.195. *Bileşik **7j**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi*

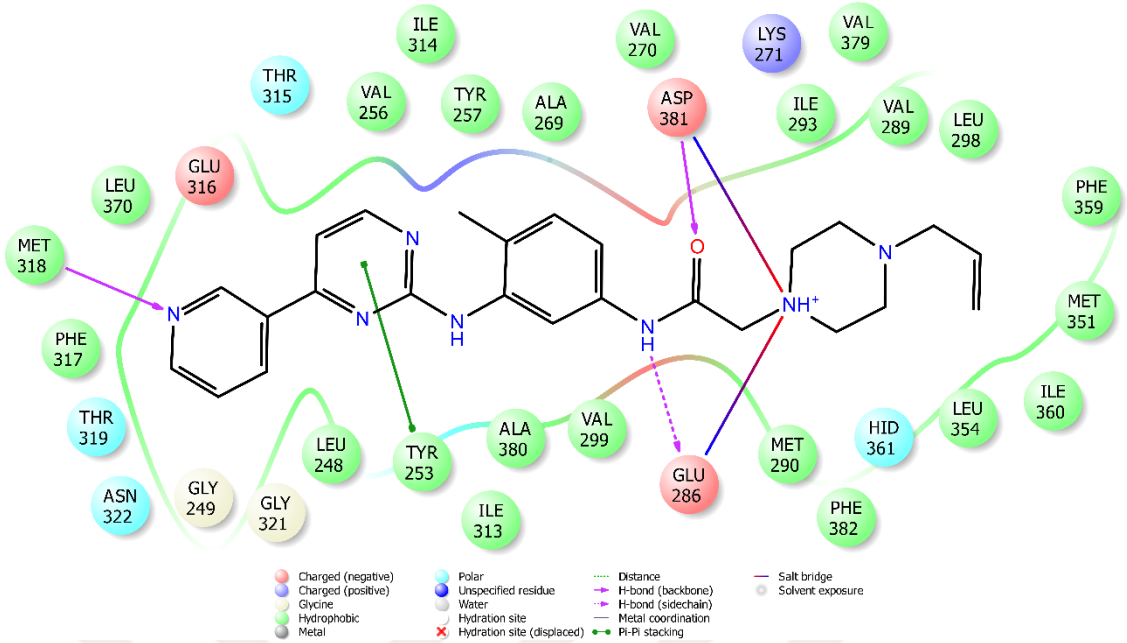


Şekil 5.196. *Bileşik **7j**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi*

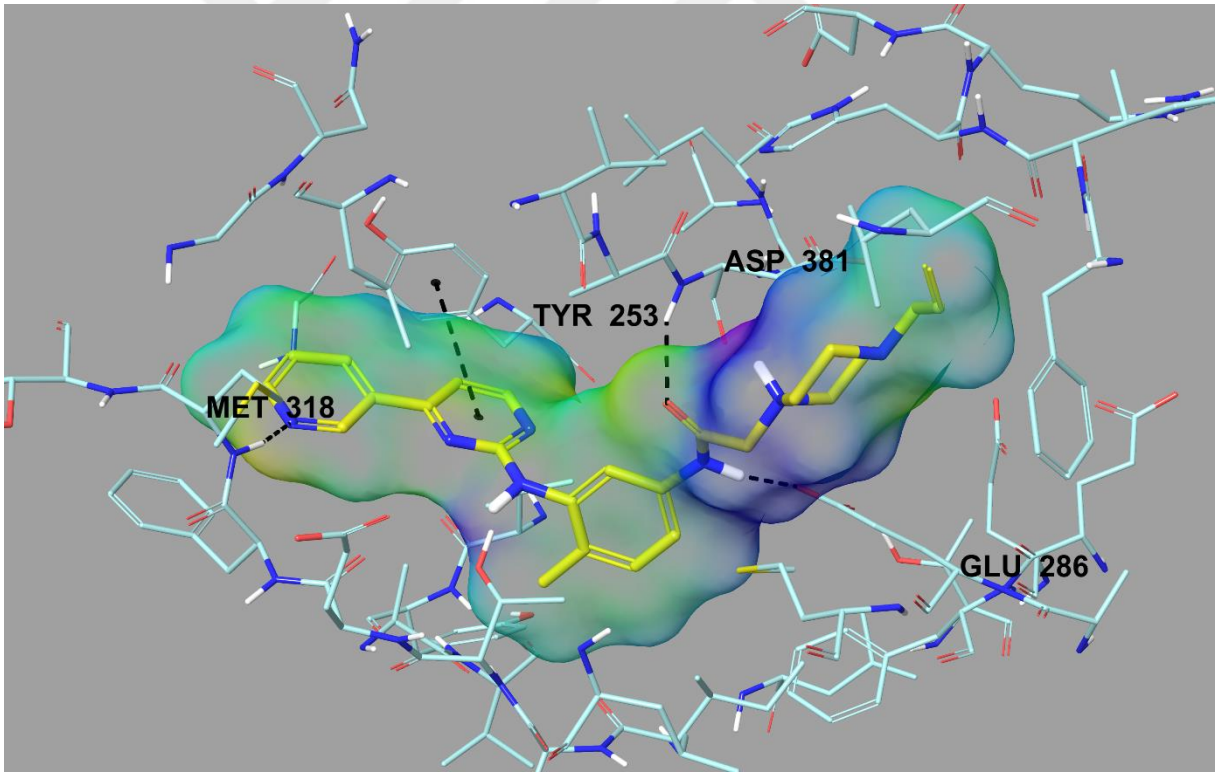
Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşik serisi içinde ABL enzimine karşı **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklere kıyasla daha düşük seviyede inhibitör aktivite gösteren bileşiklerin *in silico* ortamda bağlanma profillerini analiz etmek ve etkili türevlerle bağlanma etkileşimlerini karşılaştırabilmek amacıyla **5b** kodlu bileşik docking çalışmalarına dahil edilmiştir. Bu bileşiğe ait moleküler docking pozları Şekil 5.197-Şekil 5.199'da verilmiştir. **5b** kodlu bileşiğin moleküler docking verileri incelendiğinde bu bileşiğin sadece İmatinib molekülü ve **5i**, **5j**, **7i** ve **7j** kodlu bileşiklerle sahip olduğu ortak kimyasal bazı yapılar üzerinden etkileşimler gösterdiği belirlenmiştir. Yukarıda etkili bileşikler için bahsedilen ilave etkileşimlerin gözlenmemesi ya da farklı herhangi bir etkileşimin tespit edilmemiş olması ve aynı zamanda ilgili bileşikler için uç amine ait ilave polar etkileşimlerin tespit edilmemesi nedeniyle bu bileşiğin diğer türevlere oranla daha zayıf bağlanma modları gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 5.197. *Bileşik **5b**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesine yerleşimi*



Şekil 5.198. *Bileşik **5b**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü*



Şekil 5.199. *Bileşik **5b**'nin ABL tirozin kinaz enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü*

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu doktora tez çalışmasında, antikanser etkili bir ajan olan İmatinib'den esinlenerek 20 orijinal bileşik literatüre kazandırılmıştır. Elde edilen bileşiklerin yapıları IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, yüksek çözünürlüklü kütle spektroskopisi ve 2D NMR spektroskopisi yöntemleri ile doğrulanmıştır.

Kolon, meme, akciğer, karaciğer, pankreas ve beyin kanser hücreleri üzerinde antikanser aktivitesi incelenen bileşiklerin, karaciğer kanser hücrelerine karşı daha yüksek aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. Seri içerisindeki **5i, 5j, 7i** ve **7j** bileşikleri antikanser aktivite açısından ön plana çıkmıştır. Gerçekleştirilen MTT testi sonucunda **5i, 5j, 7i ve 7j** bileşiklerinin HepG2 hücre dizisine karşı IC_{50} değerleri sırası ile 2,760 μM, 3,153 μM, 0,178 μM ve 0.993 μM olarak tespit edilmiştir. Bileşiklerin referans ilaç İmatinib'e oranla daha aktif oldukları görülmektedir. Bileşiklerin kanser hücrelerine karşı seçiciliklerinin belirlenmesi için NIH3T3 hücreleri üzerinde MTT testi gerçekleştirilmiş ve bileşiklerin sitotoksik olmadıkları görülmüştür.

Bileşikler üzerinde gerçekleştirilen Flow sitometri çalışmasıyla bileşiklerin hücre ölümünü apoptoz ile indükledikleri tespit edilmiştir. Apoptoz yolağını aydınlatmak amacıyla gerçekleştirilen Kaspaz-3 ve Bcl2 testleri sonucunda bileşiklerin Kapsaz-3'ü indükledikleri görülmüştür. Kinaz inhibisyon testlerini gerçekleştirmek amacıyla PDGFRα ve Abl enzimlerine karşı bileşiklerin inhibitör potansiyelleri incelenmiştir. Elde edilen bulgular **5i, 5j, 7i** ve **7j** bileşiklerinin İmatinib ile benzer etki mekanizması gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca bileşik **5i** ve **7i** İmatinib ile kıyaslandığında daha yüksek inhibitör etkinlik göstermiştir. İmatinib ve aktif bileşiklerin PDGFRα ve Abl enzimine afiniteleri arasındaki benzerlik docking çalışmaları ile aydınlatılmıştır. Docking çalışmaları sonucunda, bileşiklerin enzimi aktif yöresine benzer şekilde bağlanmaları, sentezlenen bileşiklerin aktivite potansiyellerini kanıtlamıştır.

Bu çalışmanın devamı olarak nitelendirilebilecek ileriki çalışmalarda yapı-etki ilişkilerinde bahsedilen bulgulardan faydalanarak benzer kimyasal yapılara sahip daha etkili olabileceği düşünülen yeni bileşiklerin sentezleri planlanmaktadır.

KAYNAKÇA

[1] Eren, F. (2014). *Yeni 1,3-diarilpirazol kalkon türevlerinin sentezi ve biyolojik aktivitelerinin İncelenmesi*. Yayımlanmamış Doktora Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

[2] Karataş, E. (2018). *Bazi yeni DNA topoizomeraz İnhibitörü heterosiklik bileşiklerin sentezi ve bilgisayar yardımıyla moleküler modellemesi*. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

[3] Xie, H., Lin, X., Zhang, Y., Tan, F., Chi, B., Peng, Z., Dong, W., An, D. (2020). Design, synthesis and biological evaluation of ring-fused pyrazoloamino pyridine/pyrimidine derivatives as potential FAK inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 30 (21), 127459.

[4] Osmaniye, D. (2017). *Bazı yeni benzoksazol türevlerinin sentezi ve antikanser aktivitelerinin incelenmesi*. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

[5] Bökesoy, T.A., Çakıcı, İ., Melli, M. (2000). *Farmakoloji ders kitabı*. Gazi Kitabevi.

[6] Hanahan, D., Weinberg, R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100 (1), 57-70.

[7] Hanahan, D., Weinberg, R.A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144 (5), 646-674.

[8] Yokuş, B., Çakır, D.Ü. (2012). Kanser biyokimyası. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, (1), 7-18.

[9] Williams, G.M. (1985). Genotoxic and epigenetic carcinogens. *Safety Evaluation and Regulation of Chemicals*, 2, 251-256.

[10] Çoruh, I. (2016). *Antikanser etki göstermesi olası etodolak üzerinden tiyoeter bileşiklerinin sentezi*. Yayımlanmamış Doktora Tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi.

[11] Marak, B.N., Dowarah, J., Khiangte, L., Singh, V.P. (2020). A comprehensive insight on the recent development of Cyclic Dependent Kinase inhibitors as anticancer agents. *Eur J Med Chem*, 203, 112571.

[12] Altıparmak, D. (2018). *Yeni bazı pürin, pirimidin nükleozit analoğu bileşiklerin sentez, yapı aydınlatılması ve sitotoksik aktiviteleri üzerinde çalışmalar*.

Yayımlanmamış Doktora Tezi, Ankara:Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

[13] Aytaç, P. (2015). *Bazı yeni kondanse triazol türevlerinin sentezi ve antikanser aktivitelerinin araştırılması*. Yayımlanmamış Doktora Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

[14] Siegal, R., Miller, K.D., Jemal, A. (2014). Cancer statistics, 2012. *Ca J Clin,* 64 (1), 9-29.

[15] Yamalı, C. (2018). *Pirazol-benzensülfonamit türevi bileşiklerin tasarımı, sentezi, kimyasal yapılarının aydınlatılması ve biyoaktiviteleri*. Yayımlanmamış Doktora Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi.

[16] Tok, F. (2018). *Piridin halkası taşıyan bazı yeni üre ve karbohidrazid türevi bileşiklerin sentezi, yapı aydınlatması ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi*. Yayımlanmamış Doktora Tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi.

[17] Ölgen, S., Bıçak, I., Nebioğlu, D. (2002). Angiogenesis ve kanser tedavisinde yeni yaklaşımlar. *J Fac Pharm,* 31 (3), 193-214.

[18] Kılıç, Z. (2008). *İndol türevi bazı yeni bileşiklerin sentezleri ve anti-kanserojen etkilerinin araştırılması*. Yayımlanmamış Doktora Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

[19] Levinson, N.M., Seeliger, M.A., Cole, P.A., Kuriyan, J. (2008). Structural basis for the recognition of c-Src by its inactivator Csk. *Cell,* 134 (1), 124-134.

[20] Adams, J.A. (2001). Kinetic and catalytic mechanisms of protein kinases. *Chem Rev,* 101 (8), 2271-2290.

[21] Wu, P., Nielsen, T.E., Clausen, M.H. (2015). FDA-approved small-molecule kinase inhibitors. *Trends Pharmacol Sci,* 36 (7), 422-439.

[22] García-Aranda, M., Redondo, M. (2017). Protein kinase targets in breast cancer. *Int J Mol Sci,* 18 (12), 2543.

[23] Zanforlin, E., Zagotto, G., Ribaudo, G. (2019). A Chemical Approach to Overcome Tyrosine Kinase Inhibitors Resistance: Learning from Chronic Myeloid Leukemia. *Curr Med Chem,* 26 (33), 6033-6052.

[24] İbiş, K. (2020). *Yeni izoksazol türevlerinin sentezi, karaciğer ve meme kanseri hücre hatlarına karşı sitotoksik etkilerinin incelenmesi*. Yayımlanmamış Doktora Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

[25] Raoul, J.-L., Kudo, M., Finn, R.S., Edeline, J., Reig, M., Galle, P.R. (2018). Systemic therapy for intermediate and advanced hepatocellular carcinoma: Sorafenib and beyond. *Cancer Treat Rev,* 68, 16-24.

[26] Gurkan-Alp, A.S., Bozca, F. (2019). Tirozin Kinaz Enzim İnhibitörü Yeni Bileşikler ve Yapı-Aktivite İlişkilerinin Değerlendirilmesi. *FABAD J Pharm Sci,* 44 (1), 65-78.

[27] Sümer Turanlıgil, N.C. (2010). Hücre içi sinyal yolakları ve klinik yansımaları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi,* 19 (3), 180-191.

[28] Pytel, D., Sliwinski, T., Poplawski, T., Ferriola, D., Majsterek, I. (2009). Tyrosine kinase blockers: new hope for successful cancer therapy. *Anticancer Agents Med Chem,* 9 (1), 66-76.

[29] Vitaku, E., Smith, D.T., Njardarson, J.T. (2014). Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among U.S. FDA approved pharmaceuticals. *J Med Chem,* 57 (24), 10257-10274.

[30] Das, D., Hong, J. (2019). Recent advancements of 4-aminoquinazoline derivatives as kinase inhibitors and their applications in medicinal chemistry. *Eur J Med Chem,* 170, 55-72.

[31] Daub, H., Specht, K., Ullrich, A. (2004). Strategies to overcome resistance to targeted protein kinase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov,* 3 (12), 1001-1010.

[32] Hochhaus, A., La Rosee, P. (2004). İmatinib therapy in chronic myelogenous leukemia: strategies to avoid and overcome resistance. *Leukemia,* 18 (8), 1321-1331.

[33] Boschelli, D.H., Ye, F., Wang, Y.D., Dutia, M., Johnson, S.L., Wu, B., Miller, K., Powell, D.W., Yaczko, D., Young, M. (2001). Optimization of 4-phenylamino-3-quinolinecarbonitriles as potent inhibitors of Src kinase activity. *J Med Chem,* 44 (23), 3965-3977.

[34] Cole, S., Kantarjian, H., Ault, P., Cortés, J.E. (2009). Successful completion of pregnancy in a patient with chronic myeloid leukemia without active intervention: a case report and review of the literature. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk,* 9 (4), 324-327.

[35] Weisberg, E., Manley, P.W., Breitenstein, W., Brüggen, J., Cowan-Jacob, S.W., Ray, A., Huntly, B., Fabbro, D., Fendrich, G., Hall-Meyers, E. (2005).

Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer cell,* 7 (2), 129-141.

[36] Redaelli, S., Piazza, R., Rostagno, R., Magistroni, V., Perini, P., Marega, M., Gambacorti-Passerini, C., Boschelli, F. (2008). Activity of bosutinib, dasatinib, and nilotinib against 18 İmatinib-resistant BCR/ABL mutants. *J Clin Oncol,* 27 (3), 469-471.

[37] Liu, X., Wang, B., Chen, C., Jiang, Z., Hu, C., Wu, H., Zhang, Y., Liu, X., Wang, W., Wang, J. (2018). Discovery of (E)-N-(4-((4-methylpiperazin-1-yl) methyl)-3-(trifluoromethyl) phenyl)-3-((3-(2-(pyridin-2-yl) vinyl)-1H-indazol-6-yl) thio) propanamide (CHMFL-ABL-121) as a highly potent ABL kinase inhibitor capable of overcoming a variety of ABL mutants including T315I for chronic myeloid leukemia. *Eur J Med Chem,* 160, 61-81.

[38] Wang, Q., Liu, F., Qi, S., Qi, Z., Yan, X.-E., Wang, B., Wang, A., Wang, W., Chen, C., Liu, X. (2018). Discovery of 4-((N-(2-(dimethylamino) ethyl) acrylamido) methyl)-N-(4-methyl-3-((4-(pyridin-3-yl) pyrimidin-2-yl) amino) phenyl) benzamide (CHMFL-PDGFR-159) as a highly selective type II PDGFRα kinase inhibitor for PDGFRα driving chronic eosinophilic leukemia. *Eur J Med Chem,* 150, 366-384.

[39] Heinrich, M.C., Griffith, D.J., Druker, B.J., Wait, C.L., Ott, K.A., Zigler, A.J. (2000). Inhibition of c-kit receptor tyrosine kinase activity by STI 571, a selective tyrosine kinase inhibitor. *Blood,* 96 (3), 925-932.

[40] Buchdunger, E., Zimmermann, J., Mett, H., Meyer, T., Müller, M., Regenass, U., Lydon, N.B. (1995). Selective inhibition of the platelet-derived growth factor signal transduction pathway by a protein-tyrosine kinase inhibitor of the 2-phenylaminopyrimidine class. *PNAS,* 92 (7), 2558-2562.

[41] Sun, L., Liang, C., Shirazian, S., Zhou, Y., Miller, T., Cui, J., Fukuda, J.Y., Chu, J.-Y., Nematalla, A., Wang, X. (2003). Discovery of 5-[5-fluoro-2-oxo-1, 2-dihydroindol-(3 Z)-ylidenemethyl]-2, 4-dimethyl-1 H-pyrrole-3-carboxylic acid (2-diethylaminoethyl) amide, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial and platelet-derived growth factor receptor tyrosine kinase. *J Med Chem,* 46 (7), 1116-1119.

[42] O'Hare, T., Shakespeare, W.C., Zhu, X., Eide, C.A., Rivera, V.M., Wang, F., Adrian, L.T., Zhou, T., Huang, W.-S., Xu, Q. (2009). AP24534, a pan-BCR-ABL

inhibitor for chronic myeloid leukemia, potently inhibits the T315I mutant and overcomes mutation-based resistance. *Cancer cell,* 16 (5), 401-412.

[43] Hu-Lowe, D.D., Zou, H.Y., Grazzini, M.L., Hallin, M.E., Wickman, G.R., Amundson, K., Chen, J.H., Rewolinski, D.A., Yamazaki, S., Wu, E.Y. (2008). Nonclinical antiangiogenesis and antitumor activities of axitinib (AG-013736), an oral, potent, and selective inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases 1, 2, 3. *Clin Cancer Res,* 14 (22), 7272-7283.

[44] Dubreuil, P., Letard, S., Ciufolini, M., Gros, L., Humbert, M., Castéran, N., Borge, L., Hajem, B., Lermet, A., Sippl, W. (2009). Masitinib (AB1010), a potent and selective tyrosine kinase inhibitor targeting KIT. *PloS one,* 4 (9), e7258.

[45] Heinrich, M.C., Griffith, D., McKinley, A., Patterson, J., Presnell, A., Ramachandran, A., Debiec-Rychter, M. (2012). Crenolanib inhibits the drug-resistant PDGFRA D842V mutation associated with İmatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res,* 18 (16), 4375-4384.

[46] Hilberg, F., Roth, G.J., Krssak, M., Kautschitsch, S., Sommergruber, W., Tontsch-Grunt, U., Garin-Chesa, P., Bader, G., Zoephel, A., Quant, J. (2008). BIBF 1120: triple angiokinase inhibitor with sustained receptor blockade and good antitumor efficacy. *Cancer Res,* 68 (12), 4774-4782.

[47] Albert, D.H., Tapang, P., Magoc, T.J., Pease, L.J., Reuter, D.R., Wei, R.-Q., Li, J., Guo, J., Bousquet, P.F., Ghoreishi-Haack, N.S. (2006). Preclinical activity of ABT-869, a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor. *Mol Cancer Ther,* 5 (4), 995-1006.

[48] Mahadevan, D., Cooke, L., Riley, C., Swart, R., Simons, B., Della Croce, K., Wisner, L., Iorio, M., Shakalya, K., Garewal, H. (2007). A novel tyrosine kinase switch is a mechanism of İmatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors. *Oncogene,* 26 (27), 3909-3919.

[49] Fabian, M.A., Biggs, W.H., Treiber, D.K., Atteridge, C.E., Azimioara, M.D., Benedetti, M.G., Carter, T.A., Ciceri, P., Edeen, P.T., Floyd, M. (2005). A small molecule–kinase interaction map for clinical kinase inhibitors. *Nat Biotechnol,* 23 (3), 329-336.

[50] Drewry, D.H., Wells, C.I., Andrews, D.M., Angell, R., Al-Ali, H., Axtman, A.D., Capuzzi, S.J., Elkins, J.M., Ettmayer, P., Frederiksen, M. (2017). Progress towards

a public chemogenomic set for protein kinases and a call for contributions. *PloS one,* 12 (8), e0181585.

[51] Wang, D., Chang, R., Wang, G., Hu, B., Qiang, Y., Chen, Z. (2017). Polo-like kinase 1-targeting Chitosan Nanoparticles suppress the progression of hepatocellular carcinoma. *Anticancer Agents Med Chem,* 17 (7), 948-954.

[52] Ling, Y., Liu, J., Qian, J., Meng, C., Guo, J., Gao, W., Xiong, B., Ling, C., Zhang, Y. (2020). Recent advances in multi-target drugs targeting protein kinases and histone deacetylases in cancer therapy. *Curr Med Chem,* 27 (2), 7264-7288.

[53] Tuğlu, M.M., Melli, M. (2012). İmatinib: etki mekanizması ve direnç geliştirme mekanizmaları. *Ankara Üniv Tıp Fak Mec,* 65 (2), 77-82.

[54] Gupta, P., Zhang, G.-N., Barbuti, A.M., Zhang, X., Karadkhelkar, N., Zhou, J., Ding, K., Pan, J., Yoganathan, S., Yang, D.-H. (2020). Preclinical development of a novel BCR-ABL T315I inhibitor against chronic myeloid leukemia. *Cancer Lett,* 472, 132-141.

[55] Banavath, H.N., Sharma, O.P., Kumar, M.S., Baskaran, R. (2014). Identification of novel tyrosine kinase inhibitors for drug resistant T315I mutant BCR-ABL: a virtual screening and molecular dynamics simulations study. *Sci Rep,* 4 (1), 1-11.

[56] Pan, X., Liang, L., Sun, Y., Si, R., Zhang, Q., Wang, J., Fu, J., Zhang, J., Zhang, J. (2019). Discovery of novel Bcr-AblT315I inhibitors with flexible linker. Part 1: Confirmation optimization of phenyl-1H-indazol-3-amine as hinge binding moiety. *Eur J Med Chem,* 178, 232-242.

[57] Burslem, G.M., Schultz, A.R., Bondeson, D.P., Eide, C.A., Stevens, S.L.S., Druker, B.J., Crews, C.M. (2019). Targeting BCR-ABL1 in chronic myeloid leukemia by PROTAC-mediated targeted protein degradation. *Cancer Res,* 79 (18), 4744-4753.

[58] Wilhelm, S.M., Carter, C., Tang, L., Wilkie, D., McNabola, A., Rong, H., Chen, C., Zhang, X., Vincent, P., McHugh, M. (2004). BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. *Cancer Res,* 64 (19), 7099-7109.

[59] Wilhelm, S., Carter, C., Lynch, M., Lowinger, T., Dumas, J., Smith, R.A., Schwartz, B., Simantov, R., Kelley, S. (2006). Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov,* 5 (10), 835-844.

[60] El-Din, M.M.G., El-Gamal, M.I., Abdel-Maksoud, M.S., Yoo, K.H., Oh, C.-H. (2016). Design, synthesis, broad-spectrum antiproliferative activity, and kinase inhibitory effect of triarylpyrazole derivatives possessing arylamides or arylureas moieties. *Eur J Med Chem*, 119, 122-131.

[61] Capdeville, R., Buchdunger, E., Zimmermann, J., Matter, A. (2002). Glivec (STI571, İmatinib), a rationally developed, targeted anticancer drug. *Nat Rev Drug Discov*, 1 (7), 493-502.

[62] Shawver, L.K., Slamon, D., Ullrich, A. (2002). Smart drugs: tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy. *Cancer cell*, 1 (2), 117-123.

[63] Shan, Y., Dong, J., Pan, X., Zhang, L., Zhang, J., Dong, Y., Wang, M. (2015). Expanding the structural diversity of Bcr-Abl inhibitors: Dibenzoylpiperazin incorporated with 1H-indazol-3-amine. *Eur J Med Chem*, 104, 139-147.

[64] Abduelkarem, A.R., Anbar, H.S., Zaraei, S.-O., Alfar, A.A., Al-Zoubi, O.S., Abdelkarem, E.G., El-Gamal, M.I. (2020). Diarylamides in anticancer drug discovery: A review of pre-clinical and clinical investigations. *Eur J Med Chem*, 188, 112029.

[65] Jabbour, E., Kantarjian, H. (2018). Chronic myeloid leukemia: 2018 update on diagnosis, therapy and monitoring. *Am J Hematol*, 93 (3), 442-459.

[66] Yang, Z., Ma, H., Sun, Z., Luo, L., Tian, S., Zheng, J., Zhang, X. (2015). Discovery of a 6-(pyridin-3-yl)benzo[d]thiazole template for optimization of hedgehog and PI3K/AKT/mTOR dual inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 25 (17), 3665-3670.

[67] Zhang, H., Wang, J., Shen, Y., Wang, H.Y., Duan, W.M., Zhao, H.Y., Hei, Y.Y., Xin, M., Cao, Y.X., Zhang, S.Q. (2018). Discovery of 2,4,6-trisubstitued pyrido[3,4-d]pyrimidine derivatives as new EGFR-TKIs. *Eur J Med Chem*, 148, 221-237.

[68] Shi, Z.H., Liu, F.T., Tian, H.Z., Zhang, Y.M., Li, N.G., Lu, T. (2018). Design, synthesis and structure-activity relationship of diaryl-ureas with novel isoxazol[3,4-b]pyridine-3-amino-structure as multi-target inhibitors against receptor tyrosine kinase. *Bioorg Med Chem*, 26 (16), 4735-4744.

[69] Ito, M., Tanaka, T., Toita, A., Uchiyama, N., Kokubo, H., Morishita, N., Klein, M.G., Zou, H., Murakami, M., Kondo, M., Sameshima, T., Araki, S., Endo, S., Kawamoto, T., Morin, G.B., Aparicio, S.A., Nakanishi, A., Maezaki, H., Imaeda, Y. (2018). Discovery of 3-Benzyl-1-(trans-4-((5-cyanopyridin-2-

yl)amino)cyclohexyl)-1-arylurea Derivatives as Novel and Selective Cyclin-Dependent Kinase 12 (CDK12) Inhibitors. *J Med Chem,* 61 (17), 7710-7728.

[70] Liu, S., Jiang, Y., Yan, R., Li, Z., Wan, S., Zhang, T., Wu, X., Hou, J., Zhu, Z., Tian, Y., Zhang, J. (2019). Design, synthesis and biological evaluations of 2-amino-4-(1-piperidine) pyridine derivatives as novel anti crizotinib-resistant ALK/ROS1 dual inhibitors. *Eur J Med Chem,* 179, 358-375.

[71] Chen, H., Li, R., Ning, X., Zhao, X., Jin, Y., Yin, Y. (2019). Synthesis and anti-tumor efficacy of novel 2, 4-diarylaminopyrimidine derivatives bearing N-(3-pyridinylmethyl) urea moiety as anaplastic lymphoma kinase inhibitors. *Eur J Med Chem,* 178, 141-153.

[72] Shakya, B., Shahi, N., Ahmad, F., Yadav, P.N., Pokharel, Y.R. (2019). 2-Pyridineformamide N(4)-ring incorporated thiosemicarbazones inhibit MCF-7 cells by inhibiting JNK pathway. *Bioorg Med Chem Lett,* 29 (13), 1677-1681.

[73] Elseginy, S.A., Hamdy, R., Menon, V., Almehdi, A.M., El-Awady, R., Soliman, S.S.M. (2020). Design, synthesis, and computational validation of novel compounds selectively targeting HER2-expressing breast cancer. *Bioorg Med Chem Lett,* 30 (24), 127658.

[74] Yang, H., Yan, R., Jiang, Y., Yang, Z., Zhang, X., Zhou, M., Wu, X., Zhang, T., Zhang, J. (2020). Design, synthesis and biological evaluation of 2-amino-4-(1,2,4-triazol)pyridine derivatives as potent EGFR inhibitors to overcome TKI-resistance. *Eur J Med Chem,* 187, 111966.

[75] Wang, H., Chen, Y., Gu, X., Xi, J., Ren, Z., Wang, S., Duan, Y., Li, H., Zhu, T., Du, Y., Zhang, X., Ma, M. (2020). Design, synthesis, and structure activity relationship (SAR) studies of novel imidazo[1,2-a] pyridine derivatives as Nek2 inhibitors. *Bioorg Med Chem,* 28 (23), 115775.

[76] Nafie, M.S., Amer, A.M., Mohamed, A.K., Tantawy, E.S. (2020). Discovery of novel pyrazolo[3,4-b]pyridine scaffold-based derivatives as potential PIM-1 kinase inhibitors in breast cancer MCF-7 cells. *Bioorg Med Chem,* 28 (24), 115828.

[77] Alvarez, R., Aramburu, L., Gajate, C., Vicente-Blazquez, A., Mollinedo, F., Medarde, M., Pelaez, R. (2021). Methylsulfanylpyridine based diheteroaryl isocombretastatin analogs as potent anti-proliferative agents. *Eur J Med Chem*, 209, 112933.

[78] Abdelazem, A.Z., Al-Sanea, M.M., Park, B.S., Park, H.M., Yoo, K.H., Sim, T., Park, J.B., Lee, S.-H., Lee, S.H. (2015). Synthesis and biological evaluation of new pyrazol-4-ylpyrimidine derivatives as potential ROS1 kinase inhibitors. *Eur J Med Chem*, 90, 195-208.

[79] Zhou, W., Huang, A., Zhang, Y., Lin, Q., Guo, W., You, Z., Yi, Z., Liu, M., Chen, Y. (2015). Design and optimization of hybrid of 2,4-diaminopyrimidine and arylthiazole scaffold as anticancer cell proliferation and migration agents. *Eur J Med Chem*, 96, 269-280.

[80] Qin, W.W., Sang, C.Y., Zhang, L.L., Wei, W., Tian, H.Z., Liu, H.X., Chen, S.W., Hui, L. (2015). Synthesis and biological evaluation of 2,4-diaminopyrimidines as selective Aurora A kinase inhibitors. *Eur J Med Chem*, 95, 174-184.

[81] Zhang, J.Q., Luo, Y.J., Xiong, Y.S., Yu, Y., Tu, Z.C., Long, Z.J., Lai, X.J., Chen, H.X., Luo, Y., Weng, J., Lu, G. (2016). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Substituted Pyrimidines as Potential Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K) Inhibitors. *J Med Chem*, 59 (15), 7268-7274.

[82] Zhao, P.L., Li, Y.H., Yang, H.K., Chen, P., Zhang, B., Sun, Q., Li, Q., You, W.W. (2016). Design, synthesis and antiproliferative activity of novel 5-nitropyrimidine-2,4-diamine derivatives bearing alkyl acetate moiety. *Eur J Med Chem*, 118, 161-169.

[83] Salem, M.A.I., Marzouk, M.I., Salem, M.S., Alshibani, G.A. (2016). One-pot Synthesis of 1,2,3,4-Tetrahydropyrimidin-2(1H)-thione Derivatives and their Biological Activity. *J Het Chem*, 53 (2), 545-557.

[84] Achary, R., Yun, J.I., Park, C.M., Mathi, G.R., Lee, J.Y., Ha, J.D., Chae, C.H., Ahn, S., Park, C.H., Lee, C.O., Hwang, J.Y., Yun, C.S., Jung, H.J., Cho, S.Y., Kim, H.R., Kim, P. (2016). Discovery of novel tetrahydroisoquinoline-containing pyrimidines as ALK inhibitors. *Bioorg Med Chem*, 24 (2), 207-219.

[85] Elkamhawy, A., Paik, S., Hassan, A.H.E., Lee, Y.S., Roh, E.J. (2017). Hit discovery of 4-amino-N-(4-(3-(trifluoromethyl)phenoxy)pyrimidin-5-yl)benzamide: A novel EGFR inhibitor from a designed small library. *Bioorg Chem*, 75, 393-405.

[86] Yu, H., Dai, G., He, Q.-R., Tang, J.-J. (2017). Enantioselective synthesis and evaluation of 4-styryldihydropyrimidin-2-thiones as anti-proliferative agents. *MedChemRes*, 26 (4), 787-795.

[87] Tadesse, S., Yu, M., Mekonnen, L.B., Lam, F., Islam, S., Tomusange, K., Rahaman, M.H., Noll, B., Basnet, S.K., Teo, T., Albrecht, H., Milne, R., Wang, S. (2017). Highly Potent, Selective, and Orally Bioavailable 4-Thiazol-N-(pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amine Cyclin-Dependent Kinases 4 and 6 Inhibitors as Anticancer Drug Candidates: Design, Synthesis, and Evaluation. *J Med Chem,* 60 (5), 1892-1915.

[88] Yang, L., Ma, X., Yuan, C., He, Y., Li, L., Fang, S., Xia, W., He, T., Qian, S., Xu, Z., Li, G., Wang, Z. (2017). Discovery of 2-((4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)thio)-N-phenylacetamide derivatives as new potent and selective human sirtuin 2 inhibitors. *Eur J Med Chem*, 134, 230-241.

[89] Geng, K., Liu, H., Song, Z., Zhang, C., Zhang, M., Yang, H., Cao, J., Geng, M., Shen, A., Zhang, A. (2018). Design, synthesis and pharmacological evaluation of ALK and Hsp90 dual inhibitors bearing resorcinol and 2,4-diaminopyrimidine motifs. *Eur J Med Chem*, 152, 76-86.

[90] Luo, G., Tang, Z., Lao, K., Li, X., You, Q., Xiang, H. (2018). Structure-activity relationships of 2, 4-disubstituted pyrimidines as dual ERalpha/VEGFR-2 ligands with anti-breast cancer activity. *Eur J Med Chem*, 150, 783-795.

[91] Chikhale, R., Thorat, S., Choudhary, R.K., Gadewal, N., Khedekar, P. (2018). Design, synthesis and anticancer studies of novel aminobenzazolyl pyrimidines as tyrosine kinase inhibitors. *Bioorg Chem*, 77, 84-100.

[92] Long, L., Luo, Y., Hou, Z.J., Ma, H.J., Long, Z.J., Tu, Z.C., Huang, L.J., Liu, Q., Lu, G. (2018). Synthesis and biological evaluation of aurora kinases inhibitors based on N-trisubstituted pyrimidine scaffold. *Eur J Med Chem*, 145, 805-812.

[93] Huang, Z., Zhao, B., Qin, Z., Li, Y., Wang, T., Zhou, W., Zheng, J., Yang, S., Shi, Y., Fan, Y., Xiang, R. (2019). Novel dual inhibitors targeting CDK4 and VEGFR2 synergistically suppressed cancer progression and angiogenesis. *Eur J Med Chem*, 181, 111541.

[94] Diao, P.C., Lin, W.Y., Jian, X.E., Li, Y.H., You, W.W., Zhao, P.L. (2019). Discovery of novel pyrimidine-based benzothiazole derivatives as potent cyclin-dependent kinase 2 inhibitors with anticancer activity. *Eur J Med Chem*, 179, 196-207.

[95] Abdel-Mohsen, H.T., Omar, M.A., El Kerdawy, A.M., Mahmoud, A.E.E., Ali, M.M., El Diwani, H.I. (2019). Novel potent substituted 4-amino-2-thiopyrimidines as dual VEGFR-2 and BRAF kinase inhibitors. *Eur J Med Chem*, 179, 707-722.

[96] Su, Y., Li, R., Ning, X., Lin, Z., Zhao, X., Zhou, J., Liu, J., Jin, Y., Yin, Y. (2019). Discovery of 2,4-diarylaminopyrimidine derivatives bearing dithiocarbamate moiety as novel FAK inhibitors with antitumor and anti-angiogenesis activities. *Eur J Med Chem*, 177, 32-46.

[97] Rahim, A., Syed, R., Poornachandra, Y., Malik, M.S., Reddy, C.V.R., Alvala, M., Boppana, K., Sridhar, B., Amanchy, R., Kamal, A. (2019). Synthesis and biological evaluation of phenyl-amino-pyrimidine and indole/oxindole conjugates as potential BCR-ABL inhibitors. *MedChemRes*, 28 (5), 633-645.

[98] Elkamhawy, A., Hassan, A.H.E., Paik, S., Sup Lee, Y., Lee, H.H., Shin, J.S., Lee, K.T., Roh, E.J. (2019). EGFR inhibitors from cancer to inflammation: Discovery of 4-fluoro-N-(4-(3-(trifluoromethyl)phenoxy)pyrimidin-5-yl)benzamide as a novel anti-inflammatory EGFR inhibitor. *Bioorg Chem*, 86, 112-118.

[99] Huo, J.L., Wang, S., Yuan, X.H., Yu, B., Zhao, W., Liu, H.M. (2020). Discovery of [1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidines derivatives as potential anticancer agents. *Eur J Med Chem*, 211, 113108.

[100] Zhang, L., Ju, Q., Sun, J., Huang, L., Wu, S., Wang, S., Li, Y., Guan, Z., Zhu, Q., Xu, Y. (2020). Discovery of Novel Dual Extracellular Regulated Protein Kinases (ERK) and Phosphoinositide 3-Kinase (PI3K) Inhibitors as a Promising Strategy for Cancer Therapy. *Molecules*, 25 (23)

[101] Liu, W., Wang, G., Peng, Z., Li, Y. (2020). Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel 4-(4-Methoxynaphthalen-1-yl)-5-arylpyrimidin-2-amines as Tubulin Polymerization Inhibitors. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 68 (12), 1184-1192.

[102] Haffez, H., Taha, H., Rabie, M.A., Awad, S.M., Zohny, Y.M. (2020). Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of novel thiopyrimidine analogue as apoptotic agent with potential anticancer activity. *Bioorg Chem*, 104, 104249.

[103] Ranjan Dwivedi, A., Kumar, V., Kaur, H., Kumar, N., Prakash Yadav, R., Poduri, R., Baranwal, S., Kumar, V. (2020). Anti-proliferative potential of triphenyl substituted pyrimidines against MDA-MB-231, HCT-116 and HT-29 cancer cell lines. *Bioorg Med Chem Lett*, 30 (20), 127468.

[104] Zhu, M., Li, W., Zhao, T., Chen, Y., Li, T., Wei, S., Guo, M., Zhai, X. (2020). Fragment-based modification of 2,4-diarylaminopyrimidine derivatives as ALK and ROS1 dual inhibitors to overcome secondary mutants. *Bioorg Med Chem,* 28 (20), 115719.

[105] Nasser, A.A., Eissa, I.H., Oun, M.R., El-Zahabi, M.A., Taghour, M.S., Belal, A., Saleh, A.M., Mehany, A.B.M., Luesch, H., Mostafa, A.E., Afifi, W.M., Rocca, J.R., Mahdy, H.A. (2020). Discovery of new pyrimidine-5-carbonitrile derivatives as anticancer agents targeting EGFR(WT) and EGFR(T790M). *Org Biomol Chem,* 18 (38), 7608-7634.

[106] Qin, Q., Wu, T., Yin, W., Sun, Y., Zhang, X., Wang, R., Guo, J., Zhao, D., Cheng, M. (2020). Discovery of 2,4-diaminopyrimidine derivatives targeting p21-activated kinase 4: Biological evaluation and docking studies. *Arch Pharm (Weinheim),* 353 (10), e2000097.

[107] Ahmed, M.H., El-Hashash, M.A., Marzouk, M.I., El-Naggar, A.M. (2020). Synthesis and antitumor activity of some nitrogen heterocycles bearing pyrimidine moiety. *J Het Chem,* 57, 3412-3427.

[108] Hu, H., Wu, J., Ao, M., Zhou, X., Li, B., Cui, Z., Wu, T., Wang, L., Xue, Y., Wu, Z., Fang, M. (2020). Design, synthesis and biological evaluation of methylenehydrazine-1-carboxamide derivatives with (5-((4-(pyridin-3-yl)pyrimidin-2-yl)amino)-1H-indole scaffold: Novel potential CDK9 inhibitors. *Bioorg Chem,* 102, 104064.

[109] Marzouk, A.A., Abdel-Aziz, S.A., Abdelrahman, K.S., Wanas, A.S., Gouda, A.M., Youssif, B.G.M., Abdel-Aziz, M. (2020). Design and synthesis of new 1,6-dihydropyrimidin-2-thio derivatives targeting VEGFR-2: Molecular docking and antiproliferative evaluation. *Bioorg Chem,* 102, 104090.

[110] Sana, S., Reddy, V.G., Bhandari, S., Reddy, T.S., Tokala, R., Sakla, A.P., Bhargava, S.K., Shankaraiah, N. (2020). Exploration of carbamide derived pyrimidine-thioindole conjugates as potential VEGFR-2 inhibitors with anti-angiogenesis effect. *Eur J Med Chem,* 200, 112457.

[111] AboulWafa, O.M., Daabees, H.M.G., Badawi, W.A. (2020). 2-Anilinopyrimidine derivatives: Design, synthesis, in vitro anti-proliferative activity, EGFR and ARO inhibitory activity, cell cycle analysis and molecular docking study. *Bioorg Chem,* 99, 103798.

[112] Liao, S., Qin, X., Li, D., Tu, Z., Li, J., Zhou, X., Wang, J., Yang, B., Lin, X., Liu, J., Yang, X., Liu, Y. (2014). Design and synthesis of novel soluble 2,5-diketopiperazine derivatives as potential anticancer agents. *Eur J Med Chem*, 83, 236-244.

[113] Gurdal, E.E., Durmaz, I., Cetin-Atalay, R., Yarim, M. (2015). Cytotoxic activities of some benzothiazole-piperazine derivatives. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 30 (4), 649-654.

[114] Liao, S.R., Qin, X.C., Wang, Z., Li, D., Xu, L., Li, J.S., Tu, Z.C., Liu, Y. (2016). Design, synthesis and cytotoxic activities of novel 2,5-diketopiperazine derivatives. *Eur J Med Chem*, 121, 500-509.

[115] Gul, H.I., Tugrak, M., Sakagami, H. (2016). Synthesis of some acrylophenones with N-methylpiperazine and evaluation of their cytotoxicities. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 31 (1), 147-151.

[116] Byrappa, S., Harsha Raj, M., Kungyal, T., Kudva, N.N., Salimath, B.P., Lokanatha Rai, K.M. (2017). Synthesis and biological evaluation of novel isoxazolines linked via piperazine to 2- benzoisothiazoles as potent apoptotic agents. *Eur J Med Chem*, 126, 218-224.

[117] Sun, J., Ren, S.Z., Lu, X.Y., Li, J.J., Shen, F.Q., Xu, C., Zhu, H.L. (2017). Discovery of a series of 1,3,4-oxadiazole-2(3H)-thione derivatives containing piperazine skeleton as potential FAK inhibitors. *Bioorg Med Chem*, 25 (9), 2593-2600.

[118] Yin, Y., Sha, S., Wu, X., Wang, S.F., Qiao, F., Song, Z.C., Zhu, H.L. (2019). Development of novel chromeno[4,3-c]pyrazol-4(2H)-one derivates bearing sulfonylpiperazine as antitumor inhibitors targeting PI3Kalpha. *Eur J Med Chem*, 182, 111630.

[119] Chen, H., Yu, Y.Z., Tian, X.M., Wang, C.L., Qian, Y.N., Deng, Z.A., Zhang, J.X., Lv, D.J., Zhang, H.B., Shen, J.L., Yuan, M., Zhao, S.C. (2019). Synthesis and biological evaluation of arylpiperazine derivatives as potential anti-prostate cancer agents. *Bioorg Med Chem*, 27 (1), 133-143.

[120] Wang, C., Li, Y., Liu, T., Wang, Z., Zhang, Y., Bao, K., Wu, Y., Guan, Q., Zuo, D., Zhang, W. (2020). Design, synthesis and evaluation of antiproliferative and antitubulin activities of 5-methyl-4-aryl-3-(4-arylpiperazine-1-carbonyl)-4H-1,2,4-triazoles. *Bioorg Chem*, 104, 103909.

[121] Bertrand, J., Dostalova, H., Krystof, V., Jorda, R., Castro, A., Mella, J., Espinosa-Bustos, C., Maria Zarate, A., Salas, C.O. (2020). New 2,6,9-trisubstituted purine derivatives as Bcr-Abl and Btk inhibitors and as promising agents against leukemia. *Bioorg Chem*, 94, 103361.

[122] Özkay, Ü.D., Can, Ö.D., Sağlık, B.N., Çevik, U.A., Levent, S., Özkay, Y., Ilgın, S., Atlı, Ö. (2016). Design, synthesis, and AChE inhibitory activity of new benzothiazole–piperazines. *Bioorg Med Chem Lett*, 26 (22), 5387-5394.

[123] Altıntop, M.D., Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Ilgın, S., Atlı, Ö., Demirel, R., Kaplancıklı, Z.A. (2015). A novel series of thiazolyl–pyrazoline derivatives: Synthesis and evaluation of antifungal activity, cytotoxicity and genotoxicity. *Eur J Med Chem*, 92, 342-352.

[124] Sağlık, B.N., Ilgın, S., Özkay, Y. (2016). Synthesis of new donepezil analogues and investigation of their effects on cholinesterase enzymes. *Eur J Med Chem*, 124, 1026-1040.

[125] Altıntop, M.D., Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Ilgın, S., Atlı, Ö., Demirci, F., Kaplancıklı, Z.A. (2014). Synthesis and in vitro evaluation of new nitro-substituted thiazolyl hydrazone derivatives as anticandidal and anticancer agents. *Molecules*, 19 (9), 14809-14820.

[126] Yurttaş, L., Demirayak, Ş., Ilgın, S., Atlı, Ö. (2014). In vitro antitumor activity evaluation of some 1, 2, 4-triazine derivatives bearing piperazine amide moiety against breast cancer cells. *Bioorg Med Chem*, 22 (22), 6313-6323.

[127] Caspase-3 Colorimetric Assay Kit. Erişim adresi: https://www.biovision.com/caspase-3-colorimetric-assay-kit.html. Erişim tarihi: 05.03.2019

[128] Human Bcl-2 ELISA Kit. Erişim adresi: https://www.abcam.com/human-bcl-2-elisa-kit-ab272102.html. Erişim tarihi: 05.03.2019

[129] Human PDGF R alpha ELISA Kit. Erişim adresi: https://www.abcam.com/human-pdgf-r-alpha-elisa-kit-ab242246.html. Erişim tarihi: 05.03.2019

[130] Mouse/Human/Rat ABL1 / c-ABL (Cell-Based ELISA) ELISA Kit. Erişim adresi: https://www.lsbio.com/elisakits/mouse-human-rat-abl1-c-abl-cell-based-elisa-elisa-kit-ls-f1776/1776. Erişim tarihi: 05.03.2019

[131] Schrödinger, L. (2016). QikProp, Version 4.8. *Schrödinger, LLC, New York, NY, USA.*

[132] Crystal structure of PDGFRA in complex with İmatinib by co-crystallization. Erişim adresi: https://www.rcsb.org/structure/6JOL. Erişim tarihi: 27.02.2021

[133] Cowan-Jacob, S.W., Fendrich, G., Floersheimer, A., Furet, P., Liebetanz, J., Rummel, G., Rheinberger, P., Centeleghe, M., Fabbro, D., Manley, P.W. (2007). Structural biology contributions to the discovery of drugs to treat chronic myelogenous leukaemia. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 63 (1), 80-93.

[134] Maestro, V. (2016). 10.6. *Schrödinger, LLC: New York, NY, USA.*

[135] Schrödinger, L. (2016). LigPrep, version 3.8. *Schrödinger, LLC, New York, NY, USA.*

[136] Schrödinger, L. (2016). Glide, version 7.1. *Schrödinger, LLC: New York, NY, USA.*

[137] Erişim adresi: https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB41475090.htm . Erişim tarihi: 21.06.2018

[138] Erişim adresi: https://www.chemenu.com/products/CM105370. Erişim tarihi: 18.08.2018

[139] Turan-Zitouni, G., Demirayak, Ş., Özdemir, A., Kaplancıklı, Z.A., Yıldız, M.T. (2004). Synthesis of some 2-[(benzazole-2-yl) thioacetylamino] thiazole derivatives and their antimicrobial activity and toxicity. *Eur J Med Chem,* 39 (3), 267-272.

[140] Erdik, E. (1993). *Organik kimyada spektroskopik yöntemler*. Gazi Büro Kitabevi.

[141] Ören, İ., Temiz, Ö., Yalçın, I., Şener, E., Altanlar, N. (1999). Synthesis and antimicrobial activity of some novel 2, 5-and/or 6-substituted benzoxazole and benzimidazole derivatives. *Eur J Pharm Sci,* 7 (2), 153-160.

[142] Uzgoren Baran, A. (2013). Comparative study of microwave-assisted and conventional synthesis of ibuprofen-based acyl hydrazone derivatives. *Turk J Chem,* 37, 927-935.

[143] Sağlık, B.N., Osmaniye, D., Cevik, U.A., Levent, S., Çavuşoğlu, B.K., Büyükemir, O., Nezir, D., Karaduman, A.B., Özkay, Y., Koparal, A.S. (2020). Synthesis, characterization and carbonic anhydrase I and II inhibitory evaluation of new sulfonamide derivatives bearing dithiocarbamate. *Eur J Med Chem,* 198, 112392.

[144] Maghni, K., Nicolescu, O., Martin, J. (1999). Suitability of cell metabolic colorimetric assays for assessment of CD4+ T cell proliferation: comparison to 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) ELISA. *J Immunol Methods,* 223 (2), 185-194.

[145] Pfeffer, C.M., Singh, A.T. (2018). Apoptosis: a target for anticancer therapy. *Int J Mol Sci,* 19 (2), 448.

[146] Fulda, S., Debatin, K.-M. (2006). Extrinsic versus intrinsic apoptosis pathways in anticancer chemotherapy. *Oncogene,* 25 (34), 4798-4811.

[147] Osmaniye, D., Levent, S., Ardıç, C.M., Atlı, Ö., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A. (2018). Synthesis and anticancer activity of some novel benzothiazole-thiazolidine derivatives. *Phosphorus Sulfur,* 193 (4), 249-256.

[148] Güleş, Ö., Ülker, E. (2008). Apoptozun belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Van Vet J,* 19 (2), 73-78.

[149] Aksoy, E., Azkur, A.K. (2018). Schmallenberg virus induces apoptosis in Vero cell line via extrinsic and intrinsic pathways in a time and dose dependent manner. *J Vet Med Sci*, 18-0582.

[150] Kalmaz, G.G. (2018). *Karbon tetra klorür ile karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda epigallokateşin-3-gallat'in kaspaz-3, bcl-2, nrf-2 ve nf-kb protein ekspresyonuna etkisi*. Elazığ: Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

[151] Balkan, B.M., Kısmalı, G., Turan, D., Balkan, A.B., Tevhide, S. (2019). IL-6 İlavesi HEPG2 Hücrelerinde Kaspaz Aktivitelerini Nasıl Etkiler? *MAKÜ Sag Bil Enst Derg,* 5 (2), 85-92.

[152] Kosova, F., Arı, Z. (2011). Prostat kanseri ve apoptozis ilişkisi. *J Clin Exp Invest* 2(1).

[153] Ricci, J.-E., Gottlieb, R.A., Green, D.R. (2003). Caspase-mediated loss of mitochondrial function and generation of reactive oxygen species during apoptosis. *J Cell Biol,* 160 (1), 65-75.

[154] Shen, M.M., Abate-Shen, C. (2010). Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. *Genes & development,* 24 (18), 1967-2000.

[155] Atagün, G., Zafer, E., Gürkanlı, İ. (2011). Apoptoziste mitokondrinin rolü. *Türk Bilim Der Derg,* 4 (2), 49-53.

[156] Çolakoğulları, M. (2007). *BCL-2 proteininin apoptoz yolakları üzerine etkisinin incelenmesi*. Bursa: Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

[157] Yang, M., Xi, Q., Jia, W., Wang, X. (2019). Structure-based analysis and biological characterization of İmatinib derivatives reveal insights towards the inhibition of wild-type BCR-ABL and its mutants. *Bioorg Med Chem Lett*, 29 (24), 126758.

[158] Aita, S., Badavath, V.N., Gundluru, M., Sudileti, M., Nemallapudi, B.R., Gundala, S., Zyryanov, G.V., Chamarti, N.R., Reddy, C.S. (2021). Novel α-Aminophosphonates of İmatinib Intermediate: Synthesis, Anticancer Activity, Human Abl Tyrosine Kinase Inhibition, ADME and Toxicity Prediction. *Bioorg Chem*, 104718.

[159] Lu, T., Cao, J., Zou, F., Li, X., Wang, A., Wang, W., Liang, H., Liu, Q., Hu, C., Chen, C. (2021). Discovery of a highly potent kinase inhibitor capable of overcoming multiple İmatinib-resistant ABL mutants for chronic myeloid leukemia (CML). *Eur J Pharm*, 173944.

[160] Kyaw Zin, P.P., Borrel, A., Fourches, D. (2020). Benchmarking 2D/3D/MD-QSAR Models for İmatinib Derivatives: How Far Can We Predict? *J Chem Inf Model*, 60 (7), 3342-3360.