

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI YENİ TİYAZOLO[3,2-*b*]-1,2,4-TRİAZOL-6(5*H*)-ON
TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE SİTOTOKSİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ecz. Ahmet AVCI

**Farmasötik Kimya Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ANKARA

2021

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI YENİ TİYAZOLO[3,2-*b*]-1,2,4-TRİAZOL-6(5*H*)-ON
TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE SİTOTOKSİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ecz. Ahmet AVCI

**Farmasötik Kimya Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Birsen TOZKOPARAN KÖPRÜCÜ**

**ANKARA
2021**

**BAZI YENİ TİYAZOLO[3,2-*b*]-1,2,4-TRİAZOL-6(5*H*)-ON TÜREVLERİNİN
SENTEZİ VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Öğrenci: Ahmet AVCI

Danışman: Prof. Dr. Birsen TOZKOPARAN KÖPRÜCÜ

Bu tez çalışması 30.07.2021 tarihinde jürimiz tarafından "Farmasötik Kimya Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: *Prof. Dr. Ayla BALKAN*
Hacettepe Üniversitesi

Tez Danışmanı: *Prof. Dr. Birsen TOZKOPARAN KÖPRÜCÜ*
Hacettepe Üniversitesi

Üye: *Prof. Dr. Erhan PALASKA*
Hacettepe Üniversitesi

Üye: *Prof. Dr. Nesrin GÖKHAN KELEKÇİ*
Hacettepe Üniversitesi

Üye: *Doç. Dr. Meltem ÜNLÜSOY*
Ankara Üniversitesi

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

09 Ağustos 2021

Prof. Dr. Diclehan Orhan

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

... /.../2021

(İmza)

Ahmet AVCI

i

¹“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir.

* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Birsen TOZKOPARAN KÖPRÜCÜ danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Ecz. Ahmet AVCI

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren, tezimin ve çalışma hayatımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve gerçekleştirdiğim çalışmalarda bana tüm olanakları sağlayan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Birsen TOZKOPARAN KÖPRÜCÜ'ye,

Farmasötik Kimya alanında beni yüksek lisans yapmaya teşvik eden ve yüksek lisansım boyunca gerek bilimsel, gerek manevi yardımlarını benden esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Nesrin GÖKHAN KELEKÇİ'ye,

Tez çalışmalarım sırasında Anabilim Dalı'nın tüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan ve her konuda destek olan Farmasötik Kimya Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Ayla BALKAN'a,

Bileşiklerin NMR spektrumlarının alınmasındaki katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Hakan GÖKER'e, eleman analizlerinin yapılmasındaki katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Mehmet ALP'e,

Bileşiklerin kütle spektrumlarının alınmasındaki katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Erhan PALASKA'ya,

Biyolojik aktivite çalışmalarımı gerçekleştiren Sayın Prof. Dr. Engin ULUKAYA ve Sayın Dr. Öğr. Üy. Nazlıhan AZTOPAL'a,

Yüksek Lisansım boyunca desteğini gördüğüm Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi hocalarıma ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Beni her konuda destekleyen ve yalnız bırakmayan sevgili anneme, babama ve kardeşlerime,

Ve sonsuz anlayışı ile her zaman yanımda olan, bu süreçte her türlü destek ve özveriye gösteren, bilimsel ve manevi konulardaki yardımları ile tezime katkı sağlayan sevgili eşim Uzm. Ecz. Tuğba ADAK AVCI'ya,

Teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Avcı, A., Bazı Yeni Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-Triazol-6(5*H*)-on Türevlerinin Sentezi ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara 2021.

Bu çalışmada sitotoksik aktivite göstermesi beklenen 2-sübstitüe-5-benzilidentiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (**4a-6j**) yapısında otuz adet yeni şalkon türevi hibrit bileşik sentezlenmiştir. Tasarlanan bileşikler 3,4,5-trimetoksi benzoik asit, 3,4,5-trimetoksifenil asetik asit ve 3-(3,4,5-trimetoksifenil)propiyonik asitten hareketle elde edilen 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin (**4-6**) asidik ortamda kloroasetik asit ve çeşitli benzaldehitlerle (**a-j**) *Claisen Schmitdh* kondenzasyon reaksiyonu sonucu elde edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin erime dereceleri saptanmış ve yapıları IR, ¹H- ve ¹³C-NMR, kütle spektroskopisi ve elementel analiz verileri ile kanıtlanmıştır. Bileşiklerin hücre canlılığı üzerine etkileri A549, P3, HCT116, MDA231 ve Beas2B hücre hatlarında 10 µM konsantrasyonda Sülförodamin-B testi ile değerlendirilmiştir. Söz konusu bileşikler içinde en iyi IC₅₀ değerine sahip olan **6e** bileşiği (IC₅₀: 30,4 µM; 72 saat) A549 ve Beas2B hücre hatlarında ATP canlılık testi, M30 testi, Annexin V testi, mitokondri membran potansiyeli testi ve Kaspaz 3/7 testi yapılmak üzere seçilmiştir. Yapılan testlerin sonucunda **6e** bileşiğinin apoptotik hücre ölümünü tetiklediği ve zayıf sitotoksik aktivite sergilediği bulunmuştur. Sentezlenen bileşiklerde zayıf sitotoksik aktivite gözlenmesi üzerine; sitostatik etkili olabilecekleri düşünülmüş ve bu etki ile ilgili biyokimyasal yollar *in silico* yöntemler ile taranmıştır. Bunun sonucunda bileşiklerin EGFR inhibisyonu aktivitesine sahip olabileceği düşünülmüş ve bu teori, **6i** ve **6j** bileşikleri kullanılarak A549 hücre hattında Western Blot testi ile test edilmiştir. Deney sonunda **6i** ve **6j** bileşiklerinin potansiyel EGFR inhibitörü oldukları sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Heterosiklik şalkonlar, 5-benzilidentiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on, sitotoksik aktivite, EGFR inhibisyonu.

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje No: TYL-2018-17558) ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) (Proje No: 119S854) tarafından desteklenmiştir.

ABSTRACT

Avci, A., Synthesis and Evaluation of Cytotoxic Effects of Some Novel Thiazolo[3,2-*b*]-1,2,4-Triazol-6(5*H*)-one Derivatives. Hacettepe University, Graduate School of Health Sciences, MS Thesis in Pharmaceutical Chemistry, Ankara 2021. In this study, thirty new hybrid chalcone derivatives, namely 2-substituted-5-benzylidentiazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-one (**4a-6j**) which is expected to show cytotoxic activity were synthesized. Titled compounds were synthesized by the reaction of 3-substituted-1,2,4-triazole-5-thione derivatives (**4-6**), which were obtained from 3,4,5-trimethoxy benzoic acid, 3,4,5-trimethoxyphenyl acetic acid and 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)propionic acid, chloroacetic acid and various benzaldehydes (**a-j**) in acidic medium as a result of *Claisen Schmitdh* condensation reaction. The melting points of the synthesized compounds were determined and their structures were proved by IR, ¹H- and ¹³C-NMR, mass spectroscopy and elemental analysis data. The effects of compounds on cell viability were evaluated by Sulforhodamine-B assay at 10 µM concentration in A549, P3, HCT116, MDA231 and Beas2B cell lines. Then the compound **6e** (IC₅₀: 30,4 µM; 72 hours) which has the best IC₅₀ value among the others, has been further examined for its ATP viability test, M30 test, Annexin V test, mitochondrial membrane potential test and Caspase 3/7 test on A549 and Beas2B cell lines. As a result of these tests, it was found that compound **6e** triggered apoptotic cell death and exhibited weak cytotoxic activity. Due to the weak cytotoxic activity of the compounds; the biochemical pathways that could show anticancer activity with cytostatic effect were screened by *in silico* methods and it was thought that the compounds might have EGFR inhibition activity. This theory was tested by Western blot test on A549 cell line with 50 µM and 100 µM concentrations of **6i** and **6j** compounds, and it was concluded that **6i** and **6j** compounds were potential EGFR inhibitors.

Keywords: Heterocyclic chalcones, 5-benzylidentiazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-one, cytotoxic activity, EGFR inhibition.

This study was supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit (Project No: TYL-2018-17558) and the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) (Project No: 119S854).

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xxii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	8
2.1. 3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonlar	9
2.1.1. 3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların Sentezi	9
2.1.2. 3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların Kimyasal Özellikleri	16
2.1.3. 3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların Spektral Özellikleri	29
2.1.4. 3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların Biyolojik Özellikleri	31
2.2. Tiyazolo[3,2- <i>b</i>]-1,2,4-triazol-6(5 <i>H</i>)-onlar	51
2.2.1. Tiyazolo[3,2- <i>b</i>]-1,2,4-triazol-6(5 <i>H</i>)-onların Sentez Yöntemleri	51
2.2.2. Tiyazolo[3,2- <i>b</i>]-1,2,4-triazol-6(5 <i>H</i>)-onların Kimyasal Özellikleri	51
2.2.3. Tiyazolo[3,2- <i>b</i>]-1,2,4-triazol-6(5 <i>H</i>)-onların Spektral Özellikleri	53
2.2.4. Tiyazolo[3,2- <i>b</i>]-1,2,4-triazol-6(5 <i>H</i>)-onların Biyolojik Özellikleri	55
2.3. Sitotoksik Aktivite (Sitotoksosite) Tayininde Kullanılan Yöntemler	64
2.3.1. Sitotoksik Aktivite Tayininde Kullanılan <i>in vitro</i> Yöntemler	66
2.3.2. Sitotoksik Aktivite Tayininde Kullanılan <i>in vivo</i> Yöntemler	68
3. GEREÇ ve YÖNTEM	70
3.1. Kimyasal Çalışmalar	70
3.1.1. Materyal	70
3.1.2. Sentez Yöntemleri	70
3.1.3. Analiz Yöntemleri	71

3.1.4. Spektrometrik Kontroller	72
3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	73
3.2.1. Materyal	73
3.2.2. Yöntemler	73
3.3. Moleküler Kenetleme Çalışmaları	80
3.3.1. Ligandların hazırlanması	80
3.3.2. Proteinin Hazırlanması	80
3.3.3. Şekil Benzerliği	80
3.3.4. Kenetleme Çalışmaları	80
4. BULGULAR	81
4.1. Kimyasal Çalışmalar	81
4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	111
5. TARTIŞMA	120
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	141
7. KAYNAKLAR	143
8. EKLER	
Ek-1. Dijital makbuz	
Ek-2. Orjinallik raporu	
9. ÖZGEÇMİŞ	163

SİMGELER ve KISALTMALAR

AB	Alamar mavisi
ACS	Amerikan Kanser Derneği
AFC	Aminoflorokumarin
A549	Akciğer kanser hücre hattı
BEAS-2B	Akciğer epitel hücre hattı
Bel-7402	İnsan hepatoselüler karsinom hücre hattı
BGC-823	İnsan mide kanseri hücre hattı
BT-549	Meme kanseri hücre hattı
CF	Karboksifluoressein
CFDA-AM	5-Karboksifloresan diasetat-asetoksimetil ester
COX-1	Siklooksijenaz-1
COX-2	Siklooksijenaz-2
CPE	Pençe ödemi testi
DCC	Disiklohekzil karbodiimit
DCU	Disiklohekzil üre
DMF	Dimetil formamit
DMSO-d6	Dötoro dimetil sülfoksit
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
EGFR	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ESI	Elektron Sprey İyonizasyon
FBS	Fetal Bovine Serum
FDA	Food and Drug Administration
FRAP	Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan güç yöntemi
GF-AFC	Proteaz canlılık marker
HCT116	Kolon kanseri hücre hattı
HepG2	İnsan hepatoselüler karaciğer karsinom hücre hattı
HL-60	İnsan promiyelositik lösemi hücre hattı
HSV-1	Herpes Simplex Virüs-1
HSV-2	Herpes Simplex Virüs-2
INT	İyodonitrotetrazolyum

KB	Ağız epidermal kanser hücre hattı
MCPBA	<i>m</i> -Kloroperoksibenzoik asit
MDA-MB-231	Meme kanseri hücre hattı
MES	Elektroşok testi
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyon
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
MTS	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfopenil)-2 <i>H</i> -tetrazolyum
NCI	Ulusal Kanser Enstitüsü
NCI-H23	Akciğer kanser hücre hattı
NRU	Neutral Red Uptake
PC-3	Prostat kanser hücre hattı
PBQ	p-Benzokinon
PMNL	Polimorfonükleer lökosit sayısı
RPMI-8226	Lösemi kanser hücre hattı
ScMet	Pentilen tetrazol kaynaklı nöbet testi
scPTZ	Subkütan pentilentetrazol görüntüleme testi
SRB	Sülforodamin B
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi
SW-620	Kolon kanseri hücre hattı
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktif madde
TEA	Trietilamin
TMS	Tetrametilsilan
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
WST	2-(4-İyodopenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfopenil)-2 <i>H</i> -tetrazolyum
WST-1	2-(4-İyodopenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfopenil)-2 <i>H</i> -tetrazolyum disodyum tuzu
WST-8	2-(2-Metoksi-4-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfopenil)-2 <i>H</i> -tetrazolyum monosodyum tuzu
XTT	2,3-Bis(2-metoksi-4-nitro-5-sülfopenil)-2 <i>H</i> -tetrazolyum-5-karboksianilid

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1.1. Anastrozol (1), Vorozol (2), Letrozol (3) ve Talazoparib (4)'in yapıları.	3
1.2. Literatürde sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilen yapısında 1,2,4-triazol halkası içeren bazı bileşikler (5-12).	4
1.3. Literatürde sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilen 5-iliden-tiyazolidin-2,4-dion yapısı taşıyan bazı bileşikler (13-19).	5
1.4. Şalkonların genel yapısı (20) ve sunitinib (21).	6
1.5. 1,2,4-Triazol ve 5-iliden-tiyazolidin-2,4-dion yapısındaki bileşiklerin bir araya getirilmesi ile oluşturulan hibrit bileşiğin yapısı.	7
2.1. 1,2,4- (simetrik) ve 1,2,3- (visinal) triazol bileşikleri.	8
2.2. 1,2,4-Triazol halkasının tautomerleri.	8
2.3. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin genel yapısı ve numaralandırılması.	9
2.4. 1-Formiltiyosemikarbazitten hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	9
2.5. Formik asit ve tiyosemikarbazitten hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	9
2.6. Alifatik ve aromatik karboksilli asitlerden hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	10
2.7. Esterlerden hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	10
2.8. 5-Metil-benzoksazol-2-on ve etil 2-kloroasetattan hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	11
2.9. Benzoik asit ve metanolden hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	12
2.10. Benzoik asit ve tiyonil klorürden hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	12
2.11. Karboksilli asit ve <i>N</i> -hidroksisüksinimitten hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	13
2.12. 4-Asetamidobenzaldehit tiyosemikarbazon ve benzil klorürden hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	13
2.13. Tiyosemikarbazit ve trietil ortoasetattan hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	14
2.14. Difenilkarbodiimit ve tiyosemikarbazitten hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	14

2.15.	1-(Açıl amino)-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-2-tiyondan hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	14
2.16.	Tiyosemikarbazon esterleri ve primer aminlerden hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	15
2.17.	1,6-Bis(sübstitüe karbonil)-bitiyoüreden hareketle 3-amino-1,2,4-triazol-5-tiyol sentezi.	15
2.18.	Tiyosemikarbazit ve çeşitli anhidritlerden hareketle 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	16
2.19.	Etil 2-(3-dodekanoiltiyöürido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiyofen-3-karbok_silat ve hidrazin hidrattan hareketle 3-dodekanoiltiyöürido-1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.	16
2.20.	5-Alkiltiyö-1,2,4-triazol türevlerinin açıl klorürler ile reaksiyonu.	17
2.21.	1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin sekonder aminler ile reaksiyonu.	17
2.22.	1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin potasyum monokloroasetat ile reaksiyonu.	18
2.23.	1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin S-alkilasyon reaksiyonu.	18
2.24.	1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle 5-sülfonamit ve 5-sülfonik asit türevlerinin eldesi.	19
2.25.	1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle 5-sülfoksit ve 5-sülfon türevlerinin eldesi.	19
2.26.	1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle S-alkil, devamında 5-sülfon bileşiklerinin eldesi.	20
2.27.	1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle 1,n-bis[5-(1,2,4-triazolil)tiyo] alkan türevlerinin eldesi.	20
2.28.	1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin hidrazin hidrat ile reaksiyonu.	20
2.29.	1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin Raney nikeli ile reaksiyonu.	21
2.30.	1,2,4-Triazol-5-tiyol bileşiklerinin susuz sodyum asetat varlığında kloroasetik asit ile reaksiyonu.	21
2.31.	1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin asidik ortamda kloroasetik asit ve çeşitli benzaldehitler ile tek kapda reaksiyonu.	22
2.32.	1,2,4-Triazol-5-tiyon türevlerinin dihaloalkanlar ile S-alkilasyon ürünlerinin çeşitli reaksiyonları.	22
2.33.	1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin aril alfa haloketonlar ile ısıtılmasıyla elde edilen S-arilketon bileşiklerinin fosforil klorür ile reaksiyonu.	23
2.34.	S-Arilketon yapısındaki 1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin halka siklizasyon reaksiyonu.	23
2.35.	1,2,4-Triazol-5-tiyol bileşiklerinin 1-sübstitüefenil-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion bileşikleri ile reaksiyonu.	24

- 2.36. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin propargil bromür ile ısıtılması sonucu elde edilen 3-sübstütü-5-propargiltiyo-1,2,4-triazol bileşiklerinin ferri hidrojen sülfat ve titanyum dioksit ile reaksiyonu. 24
- 2.37. 3-Fenil-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle tiyazolo[2,3-*c*]-1,2,4-triazol-5(6*H*)-on ve 7-feniltiyazino[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-4(2*H*,3*H*)-on bileşiklerinin eldesi. 25
- 2.38. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin çeşitli sinnamoil klorürler ile reaksiyonu. 25
- 2.39. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle 1,2,4-triazolo[3,2-*b*][1,3]-tiyazin-7-on ve 1,2,4-triazolo[3,4-*b*][1,3]tiyazin-5-on bileşiklerinin eldesi. 26
- 2.40. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin N-sübstütü-N-klorometilkarbamoil klorür ile reaksiyonu. 26
- 2.41. 1,2,4-Triazol-5-tiyol bileşiklerinin iki mol formaldehit ve bir mol metilamin ile reaksiyonu. 26
- 2.42. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin çeşitli primer aminler ve iki mol formaldehit varlığında gerçekleştirilen bis-Mannich reaksiyonu. 27
- 2.43. 3-Amino-5-sübstütü merkapt-1,2,4-triazol türevi bileşiklerden hareketle 1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pirimidin bileşiklerinin sentezi. 27
- 2.44. 1,2,4-Triazol-5-tiyol bileşiklerinin dimedon (5,5-dimetil-1,3-siklohekzadion) ile reaksiyonu. 28
- 2.45. 1,2,4-Triazol-5-tiyol bileşiklerinin 4-bromo-5-nitrofitalonitril ile reaksiyonu. 28
- 2.46. 3-(4-Aminofenil)-4-(4-hidroksifenetil)-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiğinin elektron iyonizasyon yöntemi ile alınan kütle spektrumundaki parçalanmalar. 30
- 2.47. 3-Piridil-4-amino-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşiklerinin elektron iyonizasyon tekniği ile alınan kütle spektrumlarında görülen parçalanma yolları. 31
- 2.48. Antibakteriyel etkili siprofloksasin artığı taşıyan 1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 33
- 2.49. Antibakteriyel etkili 1,2,4-triazol-5-tiyon Mannich bazları. 33
- 2.50. Antibakteriyel etkili 3-(4-klorofenil)-4-[2-(4-sübstütü fenil)-4,5-difenil-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-1-il)]-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 34
- 2.51. Antibakteriyel etkili 4-sübstütü-3-[2-(4-metiltiyobenzil)-4-metiltiyazol-5-il]-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 3-(4-metil-2-feniltiyazol-5-il)-4-(sübstütü amino)-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşikleri. 34
- 2.52. Flukonazol (1), ravukonazol (2), vorikonazol (3), itrakonazol (4) ve posakonazol (5) bileşiklerinin yapıları. 35

- 2.53. Üç numaralı konumunda tiyazol taşıyan antifungal etkili 4-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 36
- 2.54. Antifungal etkili 3-(2,4-dikloro-5-florofenil)-1,4-disübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 36
- 2.55. Antifungal etkili 3-(1*H*-indol-2-il)-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 36
- 2.56. Antifungal etkili 3,3'-bütan-1,4-diilbis[4-etil-1-(morfolin-4-ilmetil)-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon] bileşiği. 37
- 2.57. Alprazolam (1), estazolam (2) ve triazolam (3) bileşiklerinin yapıları. 37
- 2.58. Antikonvülsan etkili 3-[2-(2-florofenoksi)fenil]-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşikleri. 38
- 2.59. Antikonvülsan etkili 3-(1*H*-indol-3-il)metil-4-(sübstitüe aril)-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 38
- 2.60. Antikonvülsan etkili 3-(3-klorofenil)-4-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 39
- 2.61. Antidepresan etkili 3-sübstitüe fenil-1,4-dialkil-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 39
- 2.62. Antidepresan etkili triazolilfenotiyazin türevi *Schiff bazları*. 40
- 2.63. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 3-(2-naftiloksimetil)-4-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 40
- 2.64. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 3-[2-(2,6-dikloro-anilino)benzil]-4-sübstitüe-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşikleri. 41
- 2.65. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 3-(1-(2-floro-[1,1'-bifenil]-4-il)etil)-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 3-[(1-(4-klorobenzoil)-5-metoksi-2-metilindol-3-il)metil]-4-butil-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşikleri. 42
- 2.66. Analjezik-antiinflamatuvar etkili çeşitli 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 42
- 2.67. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 3-sübstitüe-5-alkilsülfonil-1,2,4-triazol bileşikleri. 43
- 2.68. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 3-[(5-metil-2-benzoksazolinon-3-il)metil]-4-sübstitüe-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 43
- 2.69. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 3-(4-klorofenil)-1-(morfolin-4-ilmetil)-4-sübstitüe-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 44
- 2.70. Antioksidan etkili 3-(2-fenilbenzimidazol-1-il-metil)-4-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 44
- 2.71. Antioksidan etkili 3-(2-(4-klorofenil)benzimidazol-1-il-metil)-4-metoksifenil-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 3-(2-(4-piridil)benzimidazol-1-il-metil)-4-(3,4-diklorofenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 45

- 2.72. Antioksidan etkili 4-(2,4-dimetilfenil)-3-(3-nitrofenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 3-(4-klorofenil)-4-(2,4-dimetilfenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 45
- 2.73. Antioksidan etkili 3-(4-kloro-2-metilfenil)-4-(2,5-dihidroksibenzi lidenamino)-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol ve 3-(4-kloro-2-metilfenil)-4-(4-metoksibenzilidenamino)-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşikleri. 46
- 2.74. Antiviral etkili 4-(4-klorofenil)-3-[2-merkapt-1-(4-toluensülfonil amino)etil]-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon. 46
- 2.75. Antiviral etkili çeşitli 1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 47
- 2.76. Anastrozol (1), letrozol (2) ve vorozol (3) bileşiklerinin yapıları. 48
- 2.77. Antikanser etkili 1,4-dihidro-3-(3-fenoksikarbonil-2-naftil)-4-etil-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiği. 48
- 2.78. Antikanser etkili 3-[(4-hidroksi-6-metil-1*H*-2-piridinon)-3-il]-4-arilidenamino-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 49
- 2.79. Antikanser etkili 3-(benziloksi)-4-[[3-(4-klorofenil)-1*H*-pirazol-4-il]metiliden]amino]-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 4-[[3-(4-fluorofenil-1*H*-pirazol-4-il)metiliden]amino]-3-((4-metilbenzil)oksi)-1-(morfolinometil)-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri. 49
- 2.80. Antikanser etkili 4-amino-3-(5-feniltiyen-2-il)-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiği. 50
- 2.81. Antikanser etkili 1-[4-(5-merkapt-4-(4-fenoksifenil)-1,2,4-triazol-3-il)tiyazol-2-il]-3-(4-fenoksifenil)tiyoüre ve 1-(2,4-dimetoksifenil)-3-[4-[4-(2,4-dimetoksifenil)-5-merkapt-1,2,4-triazol-3-il]tiyazol-2-il]tiyoüre bileşikleri. 50
- 2.82. Antikanser etkili 4-[3-(4-florofenil)-5-tiyokso-1,5-dihidro-4*H*-1,2,4-triazol-4-il]benzensülfonamit ve 4-[3-(4-bromofenil)-5-tiyokso-1,5-dihidro-4*H*-1,2,4-triazol-4-il]benzensülfonamit bileşikleri. 51
- 2.83. 2-Fenil-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiğinin hidrazin hidrat ile reaksiyonu. 51
- 2.84. 2-sübstütü-5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiklerinin çeşitli piperazinler ile *Michael katım reaksiyonu*. 52
- 2.85. 2-Sübstütü fenil-5-sübstütü benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on yapısındaki bileşiklerin sodyum asetat varlığında hidrazin hidrat ile reaksiyonu. 52
- 2.86. Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiklerinin asidik ortamda aldehitlerle reaksiyonu. 53
- 2.87. 5-Etoksimetilen-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiğinin hidrazin hidrat ile reaksiyonu. 53

- 2.88.** 2-Metil-5- α -aminobenzil-6-hidroksi-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşığının kütle spektrumundaki parçalanma yolakları. 55
- 2.89.** Antibakteriyel etkili çeşitli tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşikleri. 56
- 2.90.** Antibakteriyel etkili kumarin halkası taşıyan bir seri tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşikleri. 56
- 2.91.** Antifungal etkili 2,6-disüstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşikleri. 57
- 2.92.** Antifungal etkili 5-(4-klorobenziliden)-2-(4-metilfenil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on ve 3-(2-fluorofenil)-6-(4-metilfenil)-3,3a-dihidro-2*H*-pirazolo[3',4':4,5]tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşikleri. 57
- 2.93.** Antifungal etkili 5-benziliden-2-adamantiltiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiklerinin genel yapısı. 58
- 2.94.** Antikonvülsan etkili 2,6-disüstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşikleri. 58
- 2.95.** Antikonvülsan etkili 2-(2-bromo-5-metoksifenil)-5-(3,4-dimetoksibenziliden) tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on ve 2-(2-bromo-5-metoksifenil)-5-(3,4, 5-trimetoksibenziliden)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşikleri. 59
- 2.96.** Antioksidan etkili 2-adamantil-5-süstitüe benzilidentiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşikleri. 59
- 2.97.** Analjezik-antiinflamatuvar etkili 5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşikleri. 60
- 2.98.** Analjezik-antiinflamatuvar etkili 5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşikleri. 60
- 2.99.** Analjezik-antiinflamatuvar etkili 5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşikleri. 61
- 2.100.** Analjezik-antiinflamatuvar etkili 2-(2,4-dikloro-5-florofenil)-6-süstitüe fenil-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşiklerinin genel yapısı. 61
- 2.101.** Analjezik-antiinflamatuvar etkili çeşitli 5-süstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiklerinin genel yapısı. 62
- 2.102.** Analjezik-antiinflamatuvar etkili 2-[1-(7-metoksinaftalen-3-il-)]etil-5-(5-metiltiyofen-2-il)-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşığı. 63

2.103.	Antikanser etkili 5-(N-süstitüefenil)asetamidotiyazolo[3,2- <i>b</i>]-1,2,4-triazol-6(5 <i>H</i>)-on bileşiği.	63
2.104.	Antikanser etkili 5-(4-klorofenil)-2-(4-metoksifenil)-5,6-dihidroti-yazolo[3,2- <i>b</i>]-1,2,4-triazol bileşiği.	64
2.105.	Apoptoz, otofaji ve nekrozun şekilsel gösterimi.	65
2.106.	SRB Testi yapılışı ve mekanizması.	67
4.1.	4 Serisi bileşiklerin 10 µM konsantrasyonda SRB testi sonuçları.	111
4.2.	5 Serisi bileşiklerin 10 µM konsantrasyonda SRB testi sonuçları.	112
4.3.	6 Serisi bileşiklerin 10 µM konsantrasyonda SRB testi sonuçları.	112
4.4.	Seçilen bileşiklerin 0-100 µM aralığında Beas2B hücre hattındaki SRB testi sonuçları.	113
4.5.	Seçilen bileşiklerin 0-100 µM aralığında A549 hücre hattındaki SRB testi sonuçları.	114
4.6.	6e Bileşiğinin A549 ve Beas2B hücre hatlarında 0-100 µM aralığındaki ATP Canlılık Testi sonuçları.	115
4.7.	6e Bileşiğinin A549 hücre hattında 100 µM'da M30 hücre ölümü testi sonucu.	115
4.8.	6e Bileşiğinin Annexin V analiz sonucu.	116
4.9.	6e Bileşiğinin Kaspaz 3/7 testi sonucu.	116
4.10.	6e Bileşiğinin mitokondri membran potansiyeli testi sonucu.	116
4.11.	6i Bileşiğinin büyüme eğrisi.	117
4.12.	6j Bileşiğinin büyüme eğrisi.	117
4.13.	6i Bileşiğinin Western Blot testi sonucu.	118
4.14.	6j Bileşiğinin Western Blot testi sonucu.	118
4.15.	Bileşik 4g (A), Erlotinib (B) ve topolojik benzerliklerinin (C) üç boyutlu gösterimi.	119
4.16.	Bileşik 4g'nin protein içindeki bağlanma modu ve amino asitler ile yaptığı etkileşimler.	119
5.1.	Ester türevlerinin (2a-c) sentez yöntemi.	120
5.2.	Açiltiyosemikarbazit türevlerinin (3a-c) sentez yöntemi.	121

5.3.	1,2,4-Triazol-5-tiyon türevlerinin (4-6) sentez yöntemi.	121
5.4.	Tiyazolo[3,2- <i>b</i>]-1,2,4-triazol-6(5 <i>H</i>)-on türevlerinin (4a-6j) sentezi.	121
5.5.	Tiyazolo[3,2- <i>b</i>]-1,2,4-triazol-5(6 <i>H</i>)-on türevlerinin (4a-6j) sentez mekanizması.	123
5.6.	Sentez reaksiyonunda oluşması muhtemel yapı izomerleri.	124
5.7.	Bileşik 6d 'nin IR spektrumu.	126
5.8.	Bileşik 4d 'nin DMSO içinde 400 MHz'de alınan ¹ H-NMR spektrumu.	128
5.9.	Bileşik 5d 'nin DMSO içinde 400 MHz'de alınan ¹ H-NMR spektrumu.	128
5.10.	Bileşik 6d 'nin DMSO içinde 400 MHz'de alınan ¹ H-NMR spektrumu.	129
5.11.	Bileşik 4d 'nin DMSO içinde 100 MHz'de alınan ¹³ C-NMR spektrumu.	130
5.12.	Bileşik 5d 'nin DMSO içinde 100 MHz'de alınan ¹³ C-NMR spektrumu.	131
5.13.	Bileşik 6d 'nin DMSO içinde 400 MHz'de alınan ¹³ C-NMR spektrumu.	131
5.14	Sentezlenen bileşiklerin kütle spektrumlarında öngörülen parçalanma.	132
5.15	Bileşik 4d 'nin elektron sprej iyonizasyon yöntemi ile alınan kütle spektrumu.	132
5.16	Bileşik 5d 'nin elektron sprej iyonizasyon yöntemi ile alınan kütle spektrumu.	133
5.17	Bileşik 6d 'nin elektron sprej iyonizasyon yöntemi ile alınan kütle spektrumu.	133

TABLolar

Tablo		Sayfa
1.1.	Sentezi yapılan tiyazolo[3,2- <i>b</i>]-1,2,4-triazol-6(5 <i>H</i>)-on türevleri.	7
5.1.	Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları, erime dereceleri ve yüzde verimleri.	122
5.2.	Sentezi yapılan bileşiklerin <i>E</i> ve <i>Z</i> konfigürasyonlarının enerjileri.	125
5.3.	Sentezlenen bileşiklerin vROCS skorları.	137
5.4.	Sentezlenen bileşiklerin kenetleme sonucunda elde edilen bağlanma enerjileri ve gösterdikleri etkileşimler.	139

1. GİRİŞ

Kanser, hücrelerin DNA hasarı sonucunda kontrolsüz olarak bölünmesiyle başlayan, hemen hemen her doku veya organda oluşabilen, metastaz yolu ile diğer doku ve organlara yayılabilen ölümcül bir hastalık grubuna verilen genel addır (1). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2020 yılı raporuna göre kanser, dünyadaki en yaygın ölüm sebepleri sıralamasında ikinci sırada bulunmaktadır. WHO istatistiklerine göre dünya genelinde 2018 yılında 9,6 milyon kişi kanser sebebiyle hayatını kaybetmiştir ve 2030 yılında yeni kanser vakası sayısının yaklaşık 20 milyona ve kansere bağlı ölüm sayısının da 13 milyon kişiye ulaşacağı tahmin edilmektedir (2–4). Bu veriler kanserin oluşturduğu tehlikenin boyutunu gözler önüne sermektedir. WHO'nun 2020 raporuna göre en sık görülen kanser türleri sırasıyla akciğer kanseri (2018'de 2,1 milyon yeni vaka ve 1,8 milyon ölüm), meme kanseri (2018'de kadınlarda 2,1 milyon yeni vaka ve 627 bin ölüm) ve kolorektal kanserdir (2018'de 1,8 milyon yeni vaka ve 880 bin ölüm). Erkeklerde en çok görülen kanser türü akciğer kanseri iken, kadınlarda en sık görülen tür meme kanseridir (4).

Kanserin sebebi kesin olarak bilinmemekle birlikte, bu hastalık için risk faktörleri yaşam şekline, cinsiyete, yaşa ve genetik faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Amerikan Kanser Derneği (ACS) ve WHO'ya göre kanserin en yaygın sebepleri;

- Tütün ve ürünlerinin kullanımı,
- Alkol tüketimi,
- Beslenme ve diyet (kontamine olmuş yiyecek ve içecekler, karsinojen içeren beslenme ürünleri),
- Güneş ışığı ve UV radyasyona maruz kalma,
- Fiziksel aktivite eksikliği ve obezite,
- Çeşitli virüs ve enfeksiyonlar,
- Çeşitli meslekler ve ilaçlar olarak gösterilmektedir (5,6).

Son yıllarda tedavi yöntemlerinde büyük gelişmeler olmasına rağmen kanser kesin tedavisi halen çok zor olan bir hastalıktır. Ancak, hastalık erken teşhis edildiğinde ve doğru tedavi yaklaşımları uygulandığında, kanserin pek çok türünde yüksek oranda iyileşme ihtimali bulunduğu bildirilmektedir. Bununla beraber tedavi

için dünyada ayrılan kaynak da oldukça büyüktür ve her geçen gün artmaktadır. Küresel onkoloji eğilimi raporlarına göre, kanser ilaçları için küresel harcamalar 2009 yılında 75 milyar dolar iken, 2014 yılında 100 milyar dolara, 2018 yılında ise 150 milyar dolara ulaşmıştır. Bu rakamın 2023 yılında 240 milyar dolara ulaşması beklenmektedir (2–4,7).

Kanser tedavisinin amacı kanserli hücrelerin bölünmesinin durdurulması ve bu hücrelerin vücuttan uzaklaştırılmasıdır. Tedavide kullanılan yöntemler genel olarak cerrahi yöntemler, kemoterapi ve radyoterapi olarak sınıflandırılabilir. Tedavide tek başına cerrahi müdahale, kemoterapi ve/veya radyoterapi uygulanabildiği gibi, hastalık evresine ve hastanın durumuna göre bu yöntemler kombine şekilde de uygulanabilmektedir. Bunun dışında gen tedavisi, hedefe yönelik tedavi, immünoterapi, kök hücre tedavisi ve hormon tedavisi kanser tedavisinde yeni yöntemler olarak kabul edilmektedir (8,9).

Kanser tedavisinde önemli bir tedavi yöntemi olan kemoterapi pek çok kanser türünde tedavideki ilk seçenek olarak ağırlığını korumaktadır (10). Tedavide kullanılan kemoterapötikler,

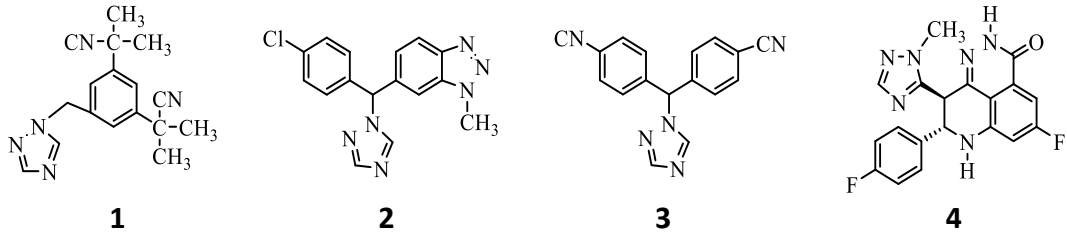
- Mitoz inhibitörleri
- Alkilleyici bileşikler
- Antimetabolitler
- Nitrozoüre bileşikler
- Antitümör antibiyotikler
- Topoizomeraaz inhibitörleri
- Diğer kemoterapi ilaçları olarak sınıflandırılabilir (11).

Tedavide farklı kimyasal yapıya sahip birçok ilaç etkin olarak kullanılmakla beraber, mevcut ilaçların ciddi yan etkileri, seçici etki sorunları ve direnç geliştirme potansiyelleri nedeniyle bu alanda yeni ilaçların keşfi önemini korumaktadır. Son yıllarda direnç ve toksik yan etkilerden kaçınmak amacıyla, klinikte kombine ilaç tedavileri veya çoklu etkili ilaç (multi-acting drug) kullanımı geleneksel sitotoksik tedaviye tercih edilmektedir. Bu yaklaşım, multifaktoriyel bir hastalık olan kanser tedavisinde birden fazla biyolojik hedefi aynı anda etkileyen yeni bileşiklerin keşfine ilgiyi arttırmıştır.

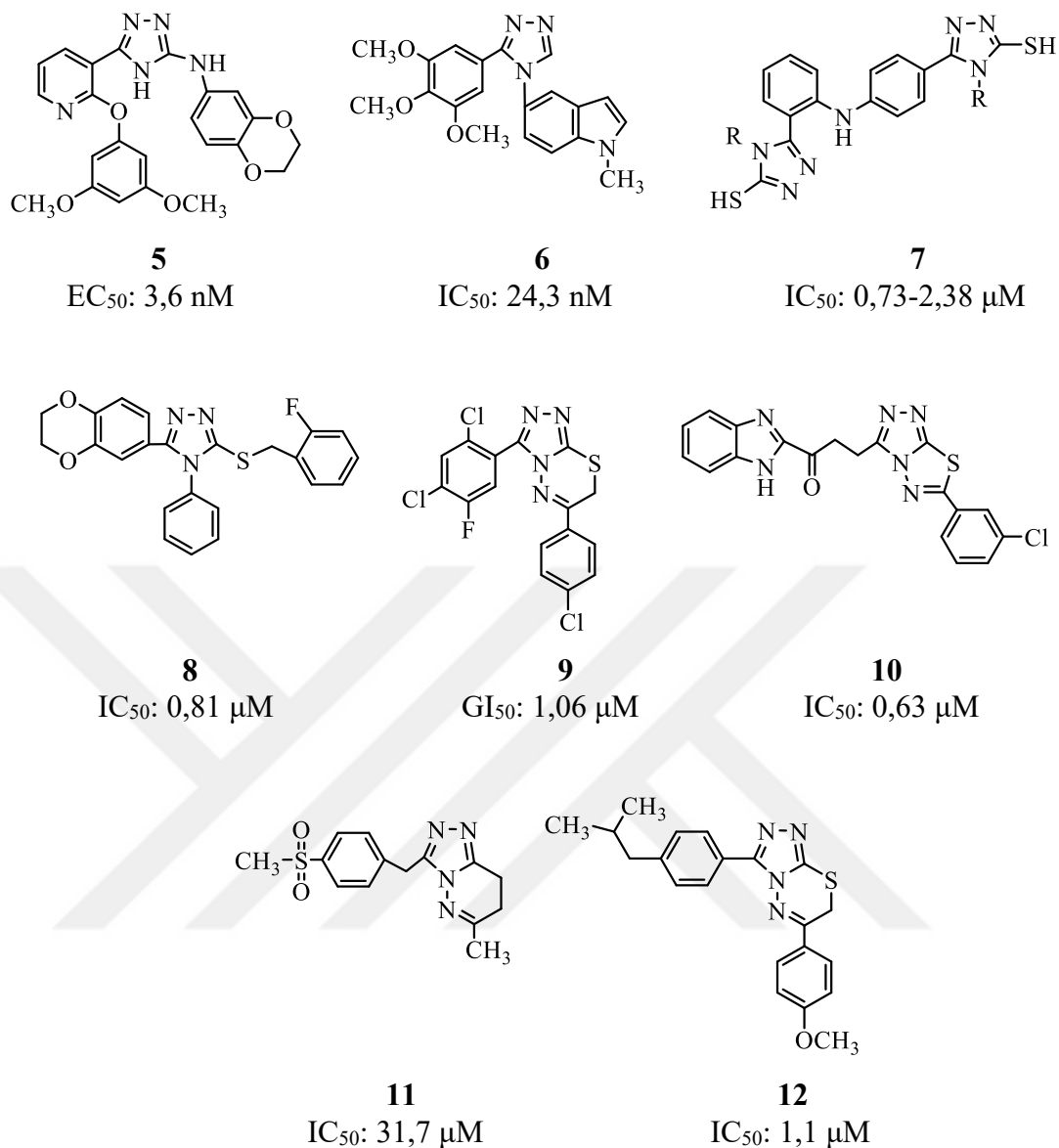
Biyolojik etkili bileşiklerin tasarlanmasında, heterosiklik halkalar ana yapı

olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu bağlamda 1,2,4-triazol halka sistemi ve türevleri biyoaktivitelerindeki çeşitlilikten dolayı yeni ilaç keşif ve geliştirme sürecinde vazgeçilmez bir halka sistemi olmuştur. Biyolojik aktivitelerindeki çeşitlilik halka sistemindeki üç azot atomunun reseptör aktif yöresinde hidrojen bağ akseptörü ve/veya hidrojen bağ donörü olarak davranarak aktiviteyi düzenlemesiyle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bu halka polar yapısından dolayı molekülün çözünürlüğünü artırmakta, farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerin iyileşmesine katkı sağlamaktadır. Literatürde pek çok bileşiğin yapısında, farmakofor özellikli gruplar arasında bağlayıcı olarak kullanılmasının ligand reseptör etkileşimlerinde ilaca istenen esnekliği sağladığı tespit edilmiştir. Bütün bu özellikleri nedeniyle triazol ve ilişkili halka sistemleri ilaç geliştirme çalışmalarında üzerinde çok çalışılan halka sistemlerinden olmuştur (12).

Yapısında 1,2,4-triazol halka sistemini taşıyan FDA onaylı topoizomera inhibitörü anastrozol (1), vorozol (2), letrozol (3) ve poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP) enzim inhibitörü talazoparib (4) meme kanseri tedavisinde halen etkin şekilde kullanılan bileşiklerdir (Şekil 1.1) (13–15). Ayrıca literatürde triazol bileşiklerinin (5-8) ve triazol içeren kondanse halkaların (9-12) sitotoksik aktivitesi üzerine yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır (Şekil 1.2) (16–23).

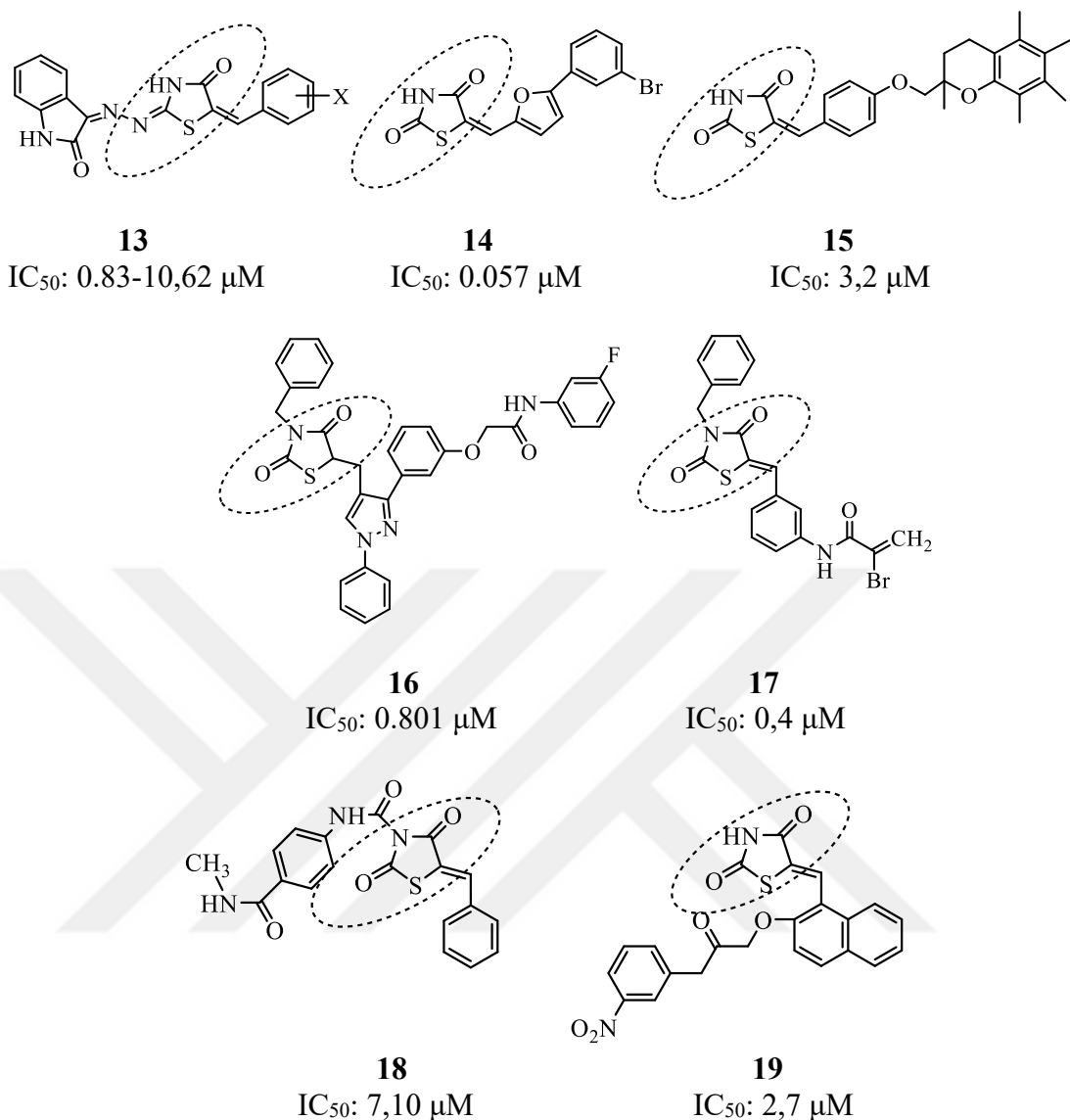


Şekil 1.1. Anastrozol (1), Vorozol (2), Letrozol (3) ve Talazoparib (4)'in yapıları.



Şekil 1.2. Literatürde sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilen yapısında 1,2,4- triazol halkası içeren bazı bileşikler (**5-12**).

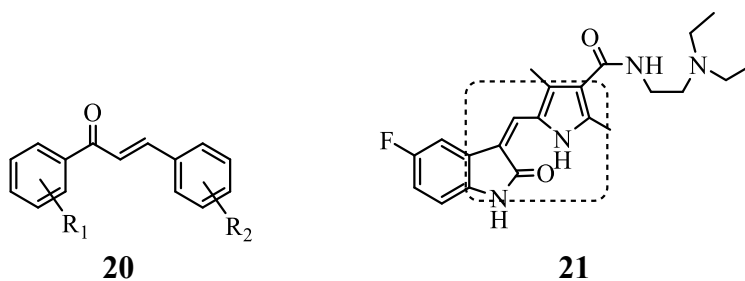
Son yıllarda tiyazolidin-2,4-dion yapısına sahip bileşikler sitotoksik aktiviteleri yönünden dikkat çekmiş ve çeşitli 5-iliden-tiyazolidin-2,4-dion türevi bileşiklerin (**13-19**) *in vitro* şartlarda değişik kanser hücre hatlarında dikkat çekici sitotoksik etki gösterdiği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (**Şekil 1.3**) (24–30).



Şekil 1.3. Literatürde sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilen 5-iliden-tiyazolidin-2,4-dion yapısı taşıyan bazı bileşikler (13-19).

Şalkonlar, bitkilerin yapısında doğal olarak bulunan, flavonoidlerin biyosentezinde biyoprekürsör olarak rol oynayan üç karbonlu α,β -doymamış karbonil sistemine 1,3-konumlarından bağlanmış iki aromatik halka taşıyan 1,3-diaril-2-propen-1-on (**20**) temel yapısına sahip bileşiklerdir. Şalkonlar çeşitli bitkilerden izole edilebileceği gibi, süstitüe benzaldehitler ve asetofenonlar kullanılarak *Claisen-Schmidt* kondenzasyon reaksiyonu ile asidik veya bazik koşullarda elde edilebilen bileşik türleridir. Şalkonlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda bu bileşiklerin antikanser, antiinflamatuvar, antioksidan, antimalaryal, antiinfektif ve antileişhmaniyal aktivite sergiledikleri belirlenmiş, bu geniş biyolojik potansiyelleri

sebebiyle araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir (31–33). Şalkonlar pek çok kanser hücre hattına karşı gösterdiği geniş spektrumlu aktivite nedeniyle antikanser ilaç geliştirme çalışmalarında halen popülerliğini koruyan yapılardır (34–36). Şalkon türevi bileşiklerde her iki aril halkasının sübstituentlerinde yapılan değişiklikler, aril halkalarının heterosiklik halkalarla değiştirilmesi veya farmakolojik etkili diğer farmakoforik gruplarla bağlanarak yapılan moleküler hibridizasyon başlıca modifikasyon yollarıdır ve bu yapısal türevlendirmeler ile antikanser etkileri iyileştirilmiş çok sayıda yeni bileşik literatüre kazandırılmıştır (10,37–39). Yapılan yapı-etki çalışmalarının sonucunda basit yapılı şalkonlarda her iki fenil halkası üzerindeki metoksi sübstitüsyonlarının, konumlarına bağlı olarak antikanser aktiviteyi önemli derecede etkilediği belirlenmiştir (37,40,41). Doğal ve yarı sentetik şalkonların antikanser aktivitelerini hücre siklusunu düzenleyen kinazların inhibisyonu, anjiyogenez inhibisyonu, tübülün polimerizasyonunun inhibisyonu, hücre siklusunu G2 fazında durdurarak, hücredeki çeşitli apoptotik yolları aktive etmelerinin sonucu hücreyi apoptoza götürerek vb. çok değişik mekanizmalarla gösterdikleri bildirilmiştir (39–41). Sunitinib (**21**) ilerlemiş böbrek karsinoma ve imatinibe resistan gastrointestinal sistemin mezankimal neoplazmlarının tedavisinde kullanılan, FDA tarafından onaylanmış heterosiklik bir şalkon türevidir (**Şekil 1.4**) (42).



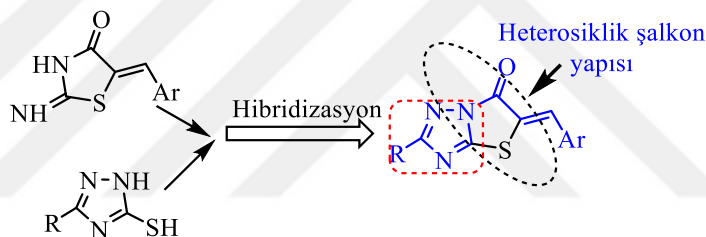
Şekil 1.4. Şalkonların genel yapısı (**20**) ve sunitinib (**21**).

Biyolojik olarak aktif grupların molekülde bir araya getirilmesi, diğer bir deyişle hibridizasyon suretiyle mevcut bileşiklerden daha aktif moleküllerin oluşturulması, yeni ilaç moleküllerinin geliştirilmesinde önemli bir kavramdır. Hibrit molekül yaklaşımıyla elde edilen çok fonksiyonlu bileşiklerle kompleks hastalıkların tedavisinde başarı şansının artacağına inanılmaktadır.

Daha önce belirtildiği gibi kondanse triazol ve tiyazolidin-2,4-dion grubu bileşiklerin sitotoksik etkilerinin olduğunun gözlenmesi, çalışma grubumuzun

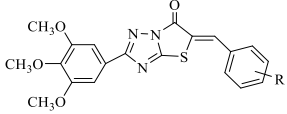
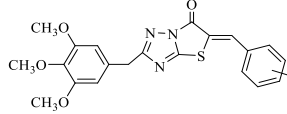
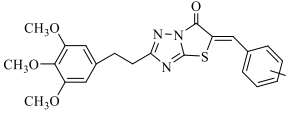
geçmişte analjezik-antiinflamatuvar etkileri üzerinde çalıştığı tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on halka sisteminin de bu etkiye sahip olabileceğini düşündürmüştür (43–46). Ayrıca tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on halka sisteminin heterosiklik şalkon yapısı içeriyor olması söz konusu hipotezimizi güçlendirmektedir.

Belirtilen verilere dayanarak bu tez çalışmasında; 1,2,4-triazol ve 5-benzilidentiyazolidin-2,4-dion halka sistemlerini bir arada içeren, literatürde kayıtlı olmayan otuz adet yeni tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevi hibrit bileşiğin (4a-6j) sentezinin yapılması, IR, ¹H- ve ¹³C-NMR, kütle spektroskopisi ve elementel analiz yöntemleri ile yapılarının aydınlatılması ve sitotoksik aktivitelerinin incelenmesi amaçlanmıştır (Şekil 1.5). Tasarlanan halka sisteminin süstituentleri seçilirken değişik elektronik özelliklere sahip benzaldehitlerin ve antikanser aktiviteye katkısı olduğu literatürde gösterilen metoksi grubunun kullanılması düşünülmüştür (Tablo 1.1).



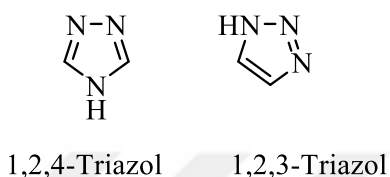
Şekil 1.5. 1,2,4-Triazol ve 5-iliden-tiyazolidin-2,4-dion yapısındaki bileşiklerin bir araya getirilmesi ile oluşturulan hibrit bileşiğin yapısı.

Tablo 1.1. Sentezi yapılan tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevleri.

Molekül	 4					 5			 6	
Kod	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j
R	-H	4-F	2-Cl	4-Cl	4-NO ₂	4-CH ₃	2-OCH ₃	4-OCH ₃	2-NO ₂ -4-N(CH ₃) ₂	3-CF ₃ -4-Cl

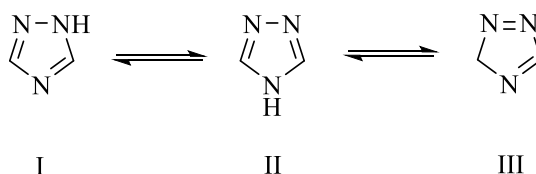
2. GENEL BİLGİLER

Triazol; 1885 yılında literatür dünyasına kazandırılmış, yapısında üç azot atomu taşıyan heterosiklik bir yapıdır (47,48). Azot atomlarının halkada bulundukları konumlara göre 1,2,4- (simetrik) ve 1,2,3- (visinal) triazol olmak üzere iki yapı izomerine sahiptir (Şekil 2.1).



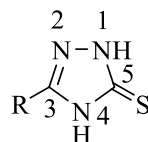
Şekil 2.1. 1,2,4- (simetrik) ve 1,2,3- (visinal) triazol bileşikler.

1,2,4-Triazol halkasının üç tautomerik formu bulunur; ancak en kararlı hali **I** (1,2,4-1*H*-triazol) ve **II** (1,2,4-4*H*-triazol) numaralı formlarıdır (49). Reseptörlerle hidrojen bağı yapabilecek donör/akseptör bölgeleri bulundurmaları, polar yapıda olmaları ve biyolojik aktivitelerindeki çeşitlilikten dolayı triazoller medisinal kimya alanında oldukça ilgi çekici bir halka sistemini oluşturmaktadır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. 1,2,4-Triazol halkasının tautomerleri.

3-Süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların yapılarında taşıdıkları tiyoketon grubundan kaynaklı iki tautomeri bulunmaktadır. Bu tautomerlerden tiyon formu tiyol formuna göre daha baskındır (50). Bileşiklerin numaralandırılmasında 3 ve 5 numaralı konumlar için literatürde herhangi bir öncelik bulunmamaktadır. Konu ile ilgili daha önceki çalışmalarımız dikkate alınarak süstitüentlerin bağlandığı karbona 3, kükürt atomunun bağlandığı karbona ise 5 numara verilerek bileşikler isimlendirilmiştir (Şekil 2.3).



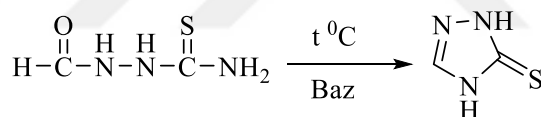
Şekil 2.3. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin genel yapısı ve numaralandırılması.

Bu tez çalışmasının genel bilgiler kısmında, hedeflenen sonuç ürünlerinin sentezinde başlangıç maddesi olarak kullanılan 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri ve onların kondanse türevleri olan 2,5-disübstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevi bileşikler hakkında literatür bilgilerine yer verilmiştir.

2.1. 3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonlar

2.1.1. 3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların Sentezi

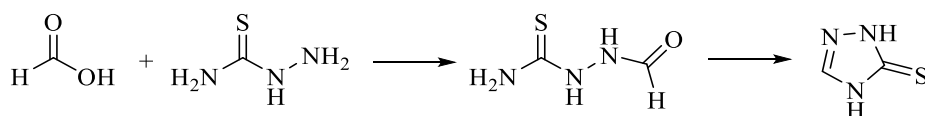
1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiğinin sentezi ilk kez Freund tarafından 1896 yılında, 1-formiltiyosemikarbazitin yüksek sıcaklıkta kuru kuruya ısıtılmasıyla gerçekleştirilmiştir (**Şekil 2.4**) (51).



Şekil 2.4. 1-Formiltiyosemikarbazitten hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

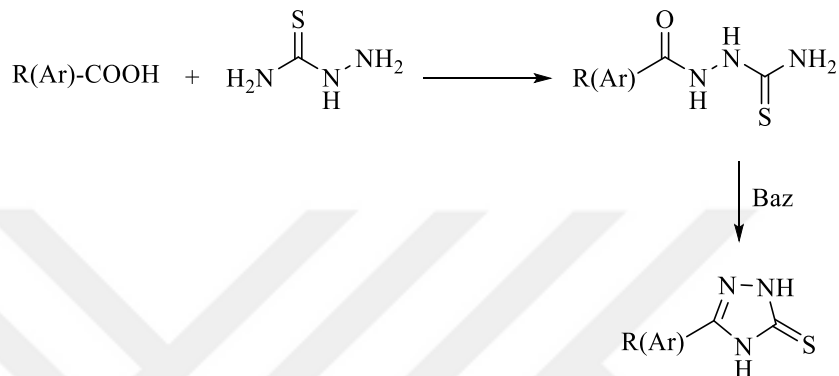
Bu yöntemin dışında günümüze kadar literatürde 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların sentezi için farklı yöntemler denenmiştir:

Freund'un 1896 yılında ilk defa sentezlediği 3-numaralı konumda nonsübstitüe olan 1,2,4-triazol bileşiğini, Yitao Li ve arkadaşları (52) formik asidin sulu ortamda tiyosemikarbazitle ısıtılması sonucunda oluşan 1-formil-tiyosemikarbaziti potasyum karbonat çözeltisi ile ısıtarak elde etmişlerdir (**Şekil 2.5**).



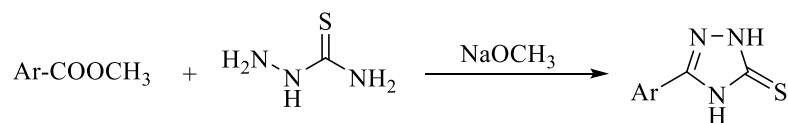
Şekil 2.5. Formik asit ve tiyosemikarbazitten hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

Formik asit dışında, çeşitli alifatik ve aromatik sübstitüentler taşıyan karboksilli asitlerin tiyosemikarbazit ile reaksiyonu sonucu elde edilen 1-açil-tiyosemikarbazit bileşiklerinin sodyum hidroksit (53,54), potasyum hidroksit (55,56), sodyum bikarbonat (57,58), potasyum karbonat (59), trietilamin (60) gibi çeşitli bazlar ile ısıtılmasıyla veya mikrodalga ışıma (61) uygulanarak 3-numaralı konumda çeşitli alkil/aril sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri sentezlenmiştir (**Şekil 2.6**).



Şekil 2.6. Alifatik ve aromatik karboksilli asitlerden hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

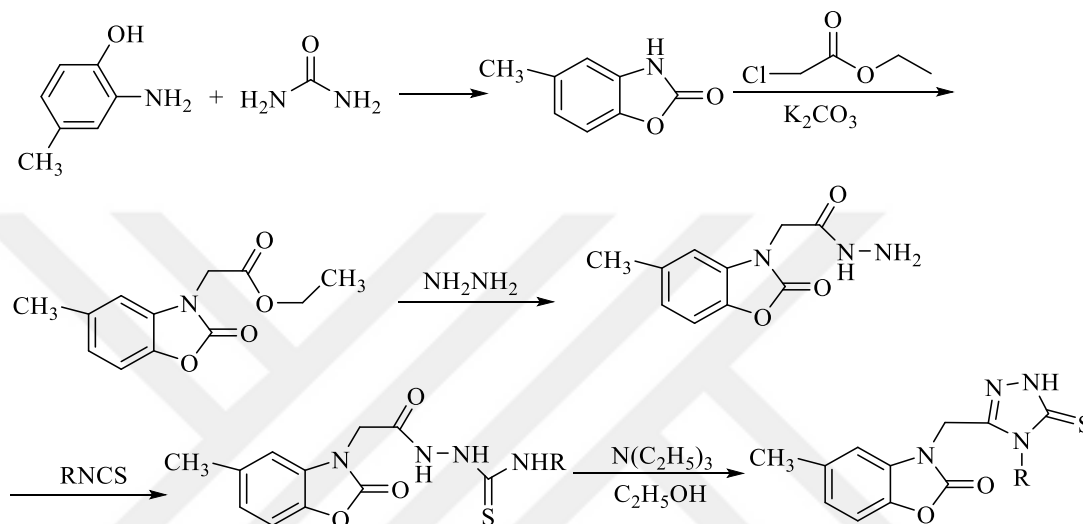
3-Numaralı konumdan çeşitlendirme reaksiyonunda başlangıç maddesi olarak karboksilli asitler yerine esterlerin kullanıldığı da dikkati çekmektedir. 3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların, çeşitli esterlerin piridin veya metanol içerisinde sodyum metoksit varlığında tiyosemikarbazit ile reaksiyona sokulmasıyla elde edildiği bildirilmiştir (**Şekil 2.7**) (62–64).



Şekil 2.7. Esterlerden hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

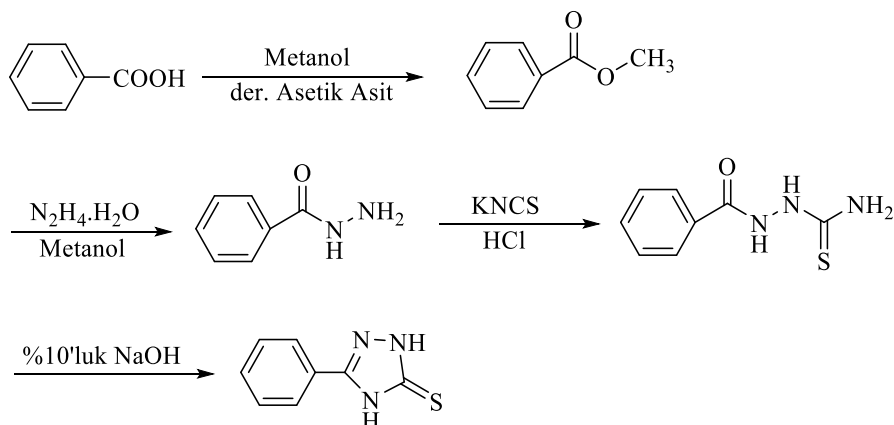
Gökşen ve arkadaşları (60) 3 numaralı konumunda [(5-metil-2-benzoksazolinon-3-il)metil] sübstitüe 1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiğinin sentezinde, 3-amino-4-hidroksitoluenin üre ile reaksiyonu sonucu elde ettikleri 5-metil-benzoksazol-2-on bileşiğini potasyum karbonat varlığında etil 2-kloroasetat ile reaksiyona sokarak hazırladıkları etil 2-(5-metil-benzoksazol-2-on-3-il)asetat bileşiğini başlangıç maddesi olarak kullanmışlardır. Elde edilen ester türevi bileşik,

hidrazin hidrat ile muamele edilerek 2-(5-metil-benzoksazol-2-on-3-il)asetilhidrazin elde edilmiştir. Ürünün çeşitli alkil izotiyosiyanatlar ile reaksiyona sokulması sonucunda elde edilen 1-[2-(5-metil-2-benzoksazolinon-3-il)asetil]-4-süstitüe-tiyosemikarbazit bileşiği etanol içerisinde trietilamin varlığında ısıtılarak 3-[(5-metil-2-benzoksazolinon-3-il)metil]-4-süstitüe-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon türevleri elde edilmiştir (Şekil 2.8).



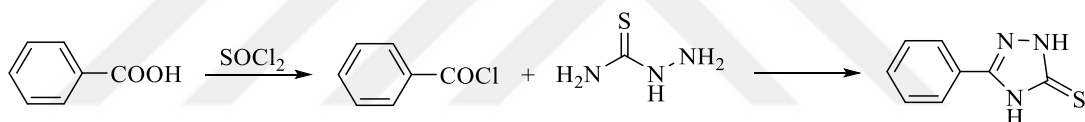
Şekil 2.8. 5-Metil-benzoksazol-2-on ve etil 2-kloroasetattan hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

Murty ve arkadaşları (65) 3-numaralı konumda fenil taşıyan 1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiğini sentezlemek için yukarıdaki reaksiyona benzer şekilde ilk olarak benzoik asidi metanol içerisinde derişik asetik asit varlığında ısıtarak metil benzoatı elde etmiştir. Elde edilen ester türevinin hidrazin hidrat ile ısıtılmasıyla benzoil hidrazin, benzoil hidrazinin asidik ortamda potasyum izotiyosiyanat ile reaksiyonu sonucu 1-benzoil-tiyosemikarbazit elde edilmiştir. Son aşamada, elde edilen benzoiltiyosemikarbazitin sodyum hidroksit çözeltisi ile kaynatılmasıyla 3-fenil-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiği sentezlenmiştir (Şekil 2.9).



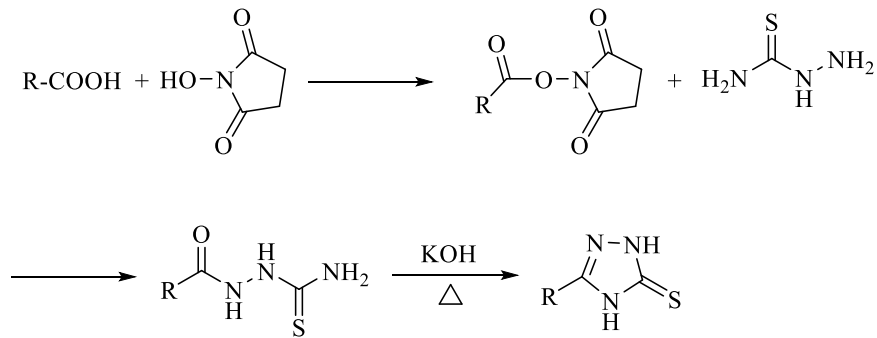
Şekil 2.9. Benzoik asit ve metanolden hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

Üç numaralı konumda fenil sübstitüsyonu taşıyan 1,2,4-triazol-5-tiyon farklı araştırmacılar tarafından benzoik asidin tiyonil klorür ile reaksiyonu sonucu elde edilen benzoil klorürün tiyosemikarbazit ile ısıtılması ve oluşan ürünün sodyum hidroksit (66), potasyum hidroksit (56) veya sodyum bikarbonat (67) gibi bazlar ile ısıtılması sonucunda da elde edilmiştir (**Şekil 2.10**).



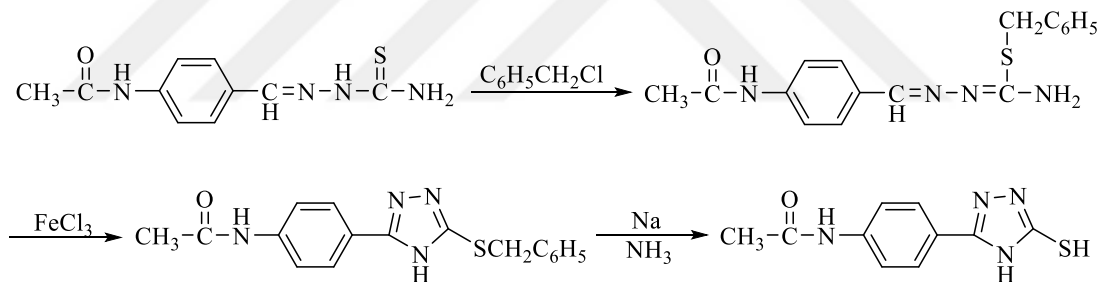
Şekil 2.10. Benzoik asit ve tiyonil klorürden hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

Tozkoparan ve arkadaşları (68–70) 3 numaralı konumda aril, arilalkil grubu taşıyan çeşitli 1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerini çeşitli karboksilli asit türevlerinin tetrahidrofuran içerisinde disikloheksil karbodiimit (DCC) varlığında *N*-hidroksisüksinimit ile soğukta karıştırılmasıyla oluşturdukları aktif esterlerden hareketle elde etmişlerdir. Oluşan ester türevlerinin tiyosemikarbazit ile kaynatılmasıyla 1-açıl-tiyosemikarbazit bileşikleri, elde edilen açiltiyosemikarbazitlerin sulu KOH çözeltisi içinde ısıtılmasıyla da 3-aril/arilalkil-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri sentezlenmiştir. Aynı reaksiyon, yapısında serbest karboksilli asit grubu taşıyan çeşitli nonsteroidal antiinflatuvar bileşiklerle de gerçekleştirilmiş ve üç numaralı konumda ibuprofen (68), naproksen (71) ve flurbiprofen (45) artığı taşıyan bazı yeni 1,2,4-triazol-5-tiyonlar elde edilmiştir (**Şekil 2.11**).



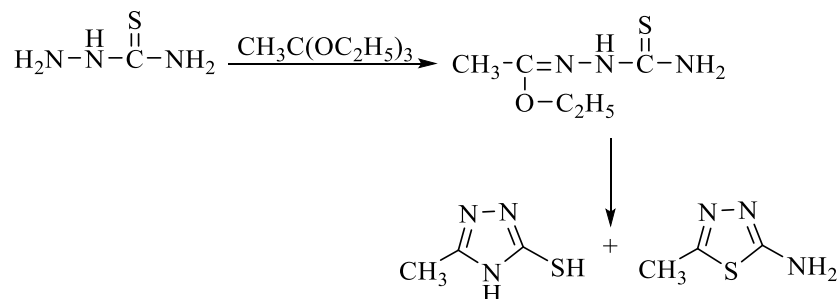
Şekil 2.11. Karboksilli asit ve *N*-hidroksisüksinimitten hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

Duschinsky ve Gainer (72) 4-asetamidobenzaldehit tiyosemikarbazon bileşiğini benzil klorür ile reaksiyonu sonucu kükürt atomuna benzil süstitüe ederek koruduktan sonra, oluşan ürünü demir klorürle oksidasyona uğratarak 5-benzilmerkapt-3-(4-asetamidofenil)-4*H*-1,2,4-triazol bileşiğini, devamında amonyak varlığında metalik sodyum ile reaksiyona sokarak da 3-(4-asetamidofenil)-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşiğini elde ettiklerini bildirmişlerdir (Şekil 2.12).



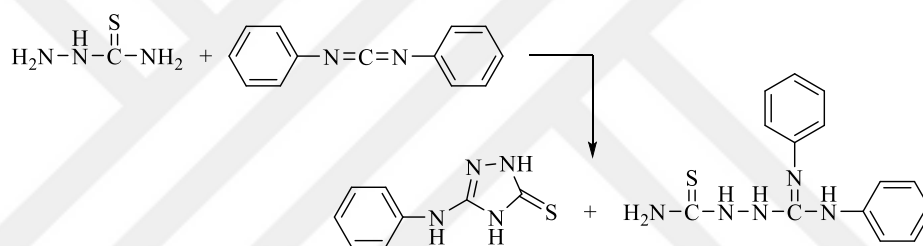
Şekil 2.12. 4-Asetamidobenzaldehit tiyosemikarbazon ve benzil klorürden hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

Ainsworth (73) tiyosemikarbaziti trietil ortoasetat ile reaksiyona sokarak elde ettiği tiyosemikarbazon türevini 180 °C' de ısıtarak siklize etmiş, reaksiyon sonunda 2-amino-5-metil-1,3,4-tiyadiazol ve 3-metil-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol karışımını elde etmiştir (Şekil 2.13).



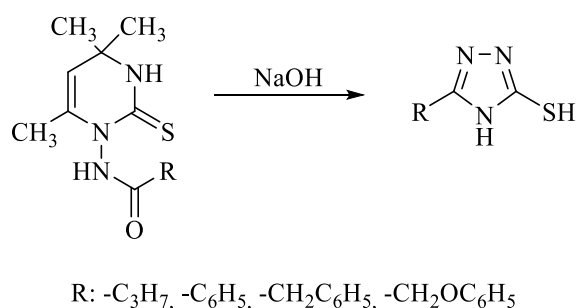
Şekil 2.13. Tiyosemikarbazit ve trietil ortoasetattan hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

Kurzer ve Wilkinson (74) difenilkarbodiimidi tiyosemikarbazitin aşırısı ile DMF içerisinde reaksiyona sokarak 3-fenilamino-1,2,4-triazol-5-tiyon ve çok az miktarda 2-(*N,N'*-difenilkarbamimidoil)hidrazin-1-karbotiyoamit karışımını elde etmişlerdir (Şekil 2.14).



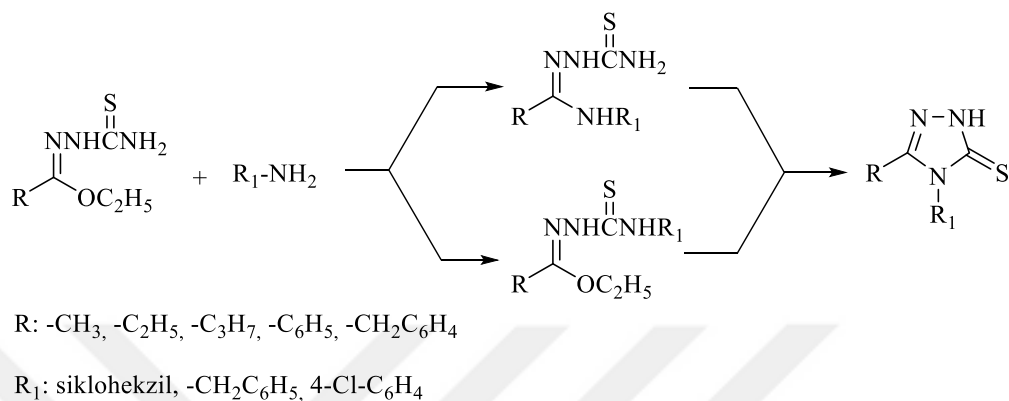
Şekil 2.14. Difenilkarbodiimit ve tiyosemikarbazitten hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

Heydenhauss ve arkadaşları (75) 1-(açılamino)-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-2-tiyon türevi bileşikleri sodyum hidroksit çözeltisi içerisinde ısıtarak 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşiklerini elde etmişlerdir (Şekil 2.15).



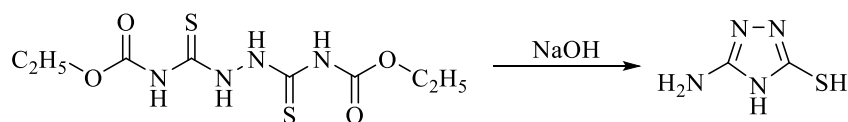
Şekil 2.15. 1-(Açılamino)-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-2-tiyondan hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

Malbec ve arkadaşları (76) tarafından yapılan bir sentez yönteminde tiyosemikarbazon esterlerinin primer aminler ile reaksiyonu sonucunda oluşan ara ürün bazik ortamda ısıtılarak 3,4-disübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri elde edilmiştir (Şekil 2.16).



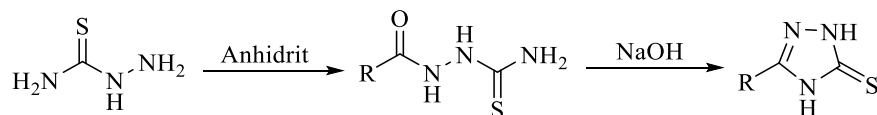
Şekil 2.16. Tiyosemikarbazon esterleri ve primer aminlerden hareketle 1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

Kurzer ve Secker (77) 1,6-bis(sübstitüe karbonil)-bitiyoürenin sodyum hidroksit içerisinde ısıtılması sonucu 3-amino-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşiğini elde etmişlerdir (Şekil 2.17).



Şekil 2.17. 1,6-Bis(sübstitüe karbonil)-bitiyoüreden hareketle 3-amino-1,2,4-triazol-5-tiyol sentezi.

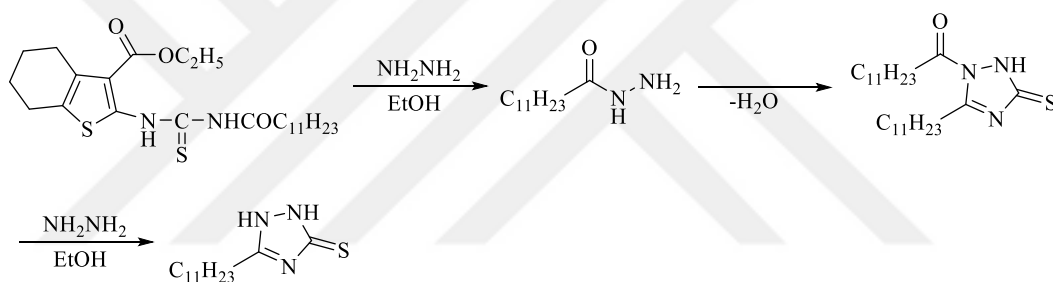
Yang ve arkadaşları (78) sübstitüe ftalik, süksinik ve glutarik anhidritleri asetonitril içerisinde tiyosemikarbazit ile ısıtarak 1-açıl-tiyosemikarbazit bileşiklerini elde etmişlerdir. Elde edilen tiyosemikarbazit türevini sodyum hidroksit çözeltisi içinde ısıtıp hidroklorik ile asitlendirerek 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerini sentezlemişlerdir (Şekil 2.18).



R: -C₂H₅COOH, -C₃H₇COOH, -C₆H₄COOH (2)

Şekil 2.18. Tiyosemikarbazit ve çeşitli anhidritlerden hareketle 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

Hemdan ve El-Mawgoude (79) etil 2-(3-dodekanoiltiyöüreido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiyofen-3-karboksilatı hidrazin hidrat ile etanol varlığında ısıtarak hidrazit türevi bileşikler elde etmiştir. Bu hidrazitten bir mol su çıkışı sonucunda elde edilen 2-(dodekanon-1-il)-3-undesil-1,2-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiği tekrar hidrazin hidrat ile ısıtılarak 3-undesil-1,2-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon elde edilmiştir (Şekil 2.19).



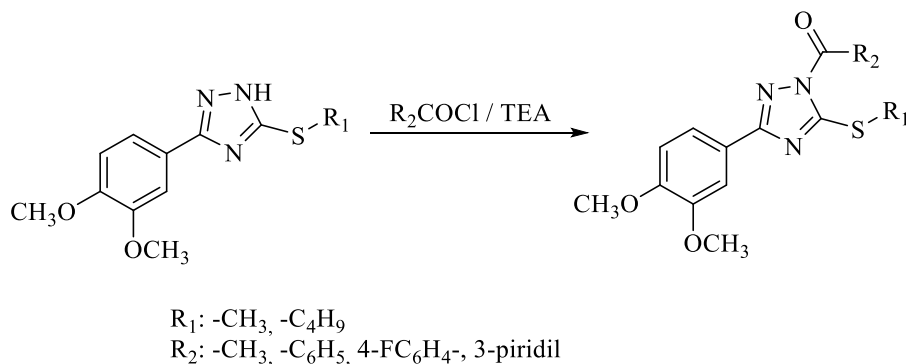
Şekil 2.19. Etil 2-(3-dodekanoiltiyöüreido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiyofen-3-karboksilat ve hidrazin hidrattan hareketle 3-dodekanoiltiyöüreido-1,2,4-triazol-5-tiyon sentezi.

2.1.2. 3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların Kimyasal Özellikleri

3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonlar 1 ve 4 numaralı konumdaki azot atomları ile 5 numaralı konumundaki tiyon grubu üzerinden çeşitli sübstitüsyon ve kondenzasyon reaksiyonları verirler.

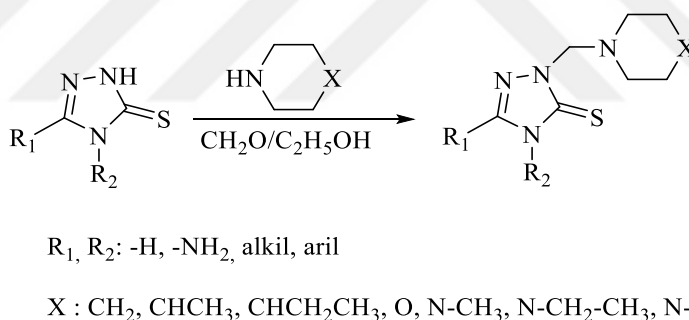
1 ve/veya 4 Numaralı Konumdaki Azot Atomları Üzerinden Yürüyen Reaksiyonlar

3-(3,4-Dimetoksifenil)-5-alkiltiyö-1*H*-1,2,4-triazol türevlerinin trietilamin (TEA) varlığında çeşitli açıl klorürler ile reaksiyonu sonucunda 1 numaralı konumdan açılınmış bileşikler elde edilmiştir (Şekil 2.20) (80).



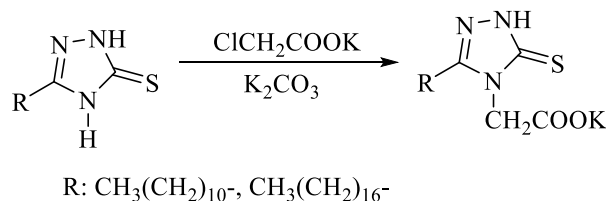
Şekil 2.20. 5-Alkiltiyo-1,2,4-triazol türevlerinin açıl klorürler ile reaksiyonu.

3,4-Disüstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon türevi bileşiklerin formaldehit (CH_2O) ve çeşitli sekonder aminler ile etanol içerisindeki reaksiyonu sonucunda 1-(aminometil)-3,4-disüstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısında *Mannich* bazları elde edilmiştir (81–83). Aynı reaksiyonun 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon türevleri ile gerçekleştirilmesi sonucunda reaksiyon yine benzer şekilde bir numaralı azot atomu üzerinden ilerlemiş ve 1-(aminometil)süstitüe bileşikler elde edilmiştir (**Şekil 2.21**) (69,71).



Şekil 2.21. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin sekonder aminler ile reaksiyonu.

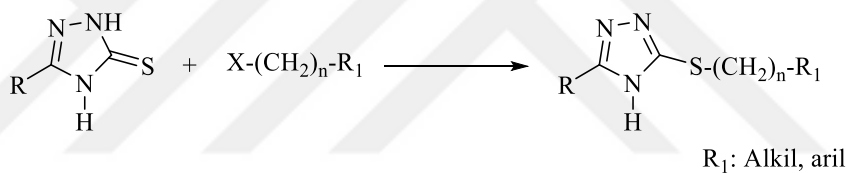
3-Alkil-1,2,4-triazol-5-tiyonların etanol içerisinde potasyum karbonat varlığında potasyum monokloroasetat ile reaksiyonu sonucunda potasyum 2-(3-alkil-5-merkapt-1,5-dihidro-4*H*-1,2,4-triazol-4-il)asetat türevleri elde edilmiştir (**Şekil 2.22**) (84).



Şekil 2.22. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin potasyum monokloroasetat ile reaksiyonu.

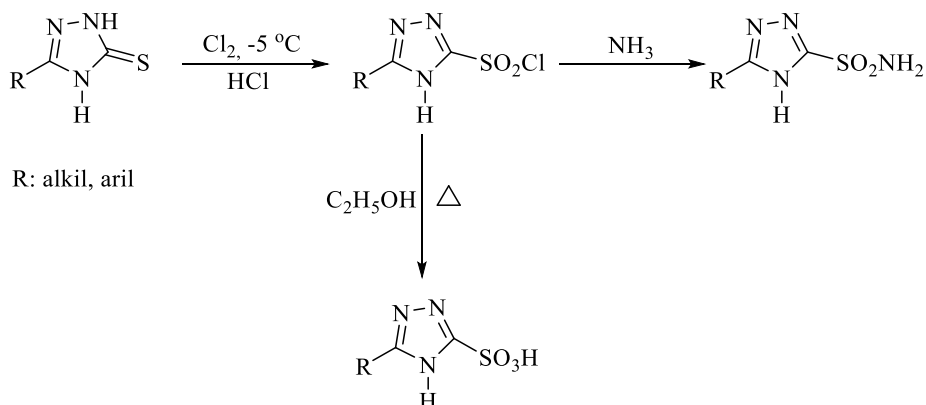
Kükürt Atomu Üzerinden Yürüyen Reaksiyonlar

Kükürt atomu üzerinde yürüyen en önemli reaksiyon *S*-alkilasyon reaksiyonudur. 3-Süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların bir baz varlığında metanol, etanol, 2-propanol ya da dimetil formamit (DMF) içerisinde alkil/aril halojenürler, benzil klorür ya da 2,3-*O*-izopropiliden-1-*O*-(*p*-tolilsülfonil)gliserol ile süstitüsyon reaksiyonları sonucunda *S*-alkil/aril ürünlerini oluşturduğu bildirilmiştir (Şekil 2.23) (70,85–89).



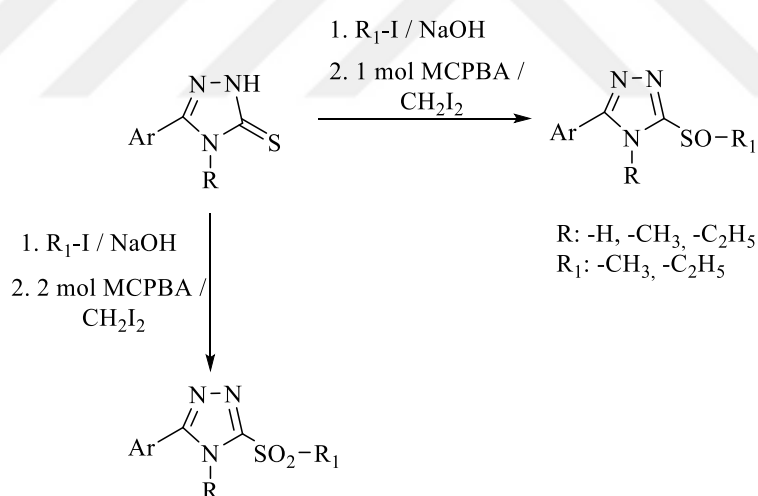
Şekil 2.23. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin *S*-alkilasyon reaksiyonu.

3-Alkil/aril süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların oksidatif klorlanması sonucu oluşan 5 numaralı konumda sülfonil klorür taşıyan bileşiklerin amonyak ile reaksiyonu sonucunda sülfonamit türevleri elde edilmiştir (90). Blackman ve Polya daha önceki yıllarda benzer reaksiyonla elde ettikleri sülfonil klorürlerin etanol içerisinde ısıtılması ile 5 numaralı konumda sülfonik asit süstitüe türevleri elde ettiklerini bildirmişlerdir (Şekil 2.24) (91).



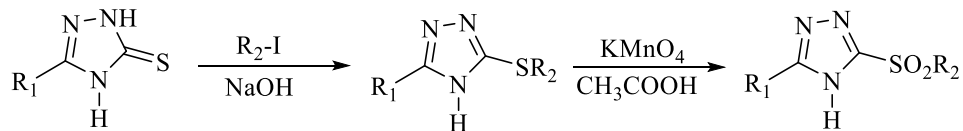
Şekil 2.24. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle 5-sülfonamit ve 5-sülfonik asit türevlerinin eldesi.

3-Aril-4-sübstütüe-1,2,4-triazol-5-tiyon türevlerinin alkil iyodürler ile bazik ortamda reaksiyonu sonucunda elde edilen *S*-alkil türevlerinin bir mol *m*-kloroperoksibenzoik asit (MCPBA) ile reaksiyonuyla sülfoksit türevleri, iki mol MCPBA ile reaksiyonu sonucunda ise sülfon türevlerinin elde edildiği bildirilmiştir (Şekil 2.25) (85).



Şekil 2.25. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle 5-sülfoksit ve 5-sülfon türevlerinin eldesi.

Tozkoparan ve arkadaşları (70) 5 numaralı konumda metil/etiltiyo sübstütüe bileşiklerin oksidasyonunu asidik ortamda potasyum permanganat ile gerçekleştirmiş, reaksiyon sonucu sülfon türevlerini elde etmişlerdir (Şekil 2.26).

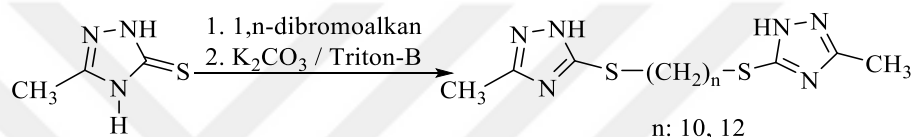


R₁: Alkil, aril

R₂: Metil, etil

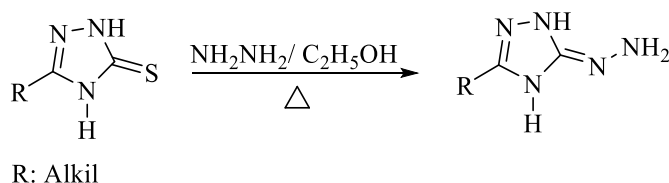
Şekil 2.26. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle *S*-alkil, devamında 5-sülfon bileşiklerinin eldesi.

Chebabe ve arkadaşları (92) 3-metil-1,2,4-triazol-5-tiyonu potasyum karbonat ve triton-B varlığında 1,*n*-dibromoalkan bileşikleriyle reaksiyona sokarak 1,*n*-bis[5-(1,2,4-triazolil)tiyo]alkan türevlerini elde etmişlerdir (**Şekil 2.27**).



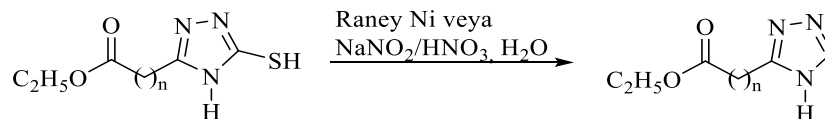
Şekil 2.27. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle 1,*n*-bis[5-(1,2,4-triazolil)tiyo]alkan türevlerinin eldesi.

3-Süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin etanol içerisinde hidrazin hidrat ile reaksiyonu sonucunda 3-süstitüe-5-hidraziniliden-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol bileşikleri sentezlenmiştir (**Şekil 2.28**) (93).



Şekil 2.28. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin hidrazin hidrat ile reaksiyonu.

3-Süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyol türevlerinin Raney nikeli veya sodyum nitrit ve nitrik asit karışımı ile reaksiyonu sonucunda kükürt atomunun uzaklaştırılarak 3-süstitüe-1,2,4-triazol bileşiklerinin sentezlendiği literatürde bildirilmiştir (**Şekil 2.29**) (94).

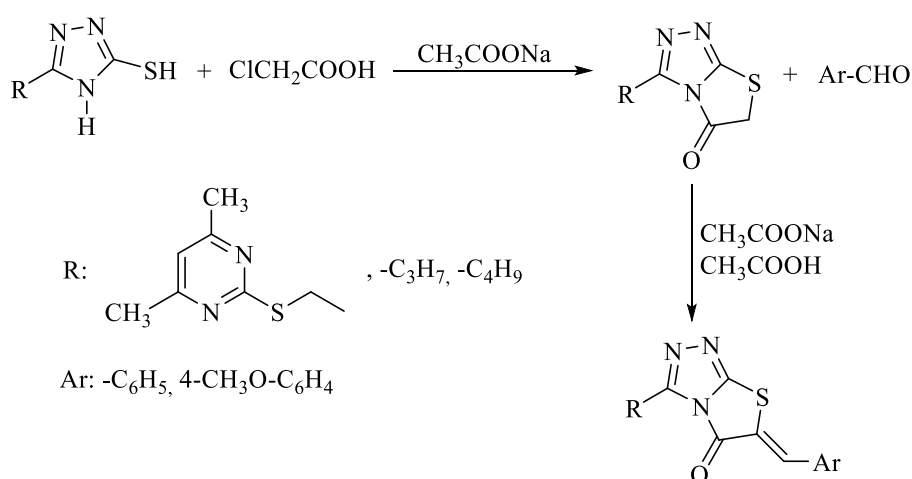


Şekil 2.29. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin Raney nikel veya sodyum nitrit/nitrik asit ile reaksiyonu.

Kondenzasyon Reaksiyonları

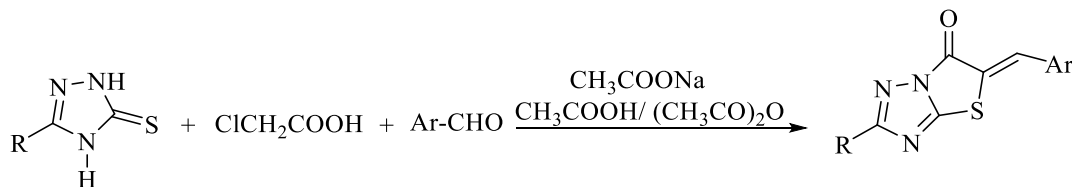
Merkaptotriazollerin kondenzasyon reaksiyonları genellikle 1 ve/veya 4 numaralı konumlardan gerçekleşmektedir. Bu durum 1 numaralı azot atomunun bazik özelliğinin 4 numaralı azot atomundan daha fazla olması ile ilişkilendirilmiştir (95). Buna rağmen literatürlerde halkanın 4 ve 5 numaralı konumlarından *bis*-nükleofilik süstitüsyon reaksiyonu ile gerçekleşen bazı kondenzasyon reaksiyonlarına rastlanmaktadır. Halkanın kondenzasyon reaksiyonları aşağıda özetlenmiştir:

Sahu ve Nayak (96) 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşiklerinin etanol içerisinde susuz sodyum asetat varlığında kloroasetik asit ile reaksiyonu sonucu 3-süstitüe-tiyazolo[2,3-*c*]-1,2,4-triazol-5(6*H*)-onları elde ettiklerini bildirmişlerdir. Sentezlenen bu bileşiklerin yine susuz sodyum asetat varlığında çeşitli benzaldehitler ile derişik asetik asit içerisinde yüksek sıcaklıkta ısıtılması sonucu da 3-süstitüe-6-benzilidentiyazolo[2,3-*c*]-1,2,4-triazol-5(6*H*)-on yapısındaki bileşikler elde edilmiştir (Şekil 2.30) (96,97).



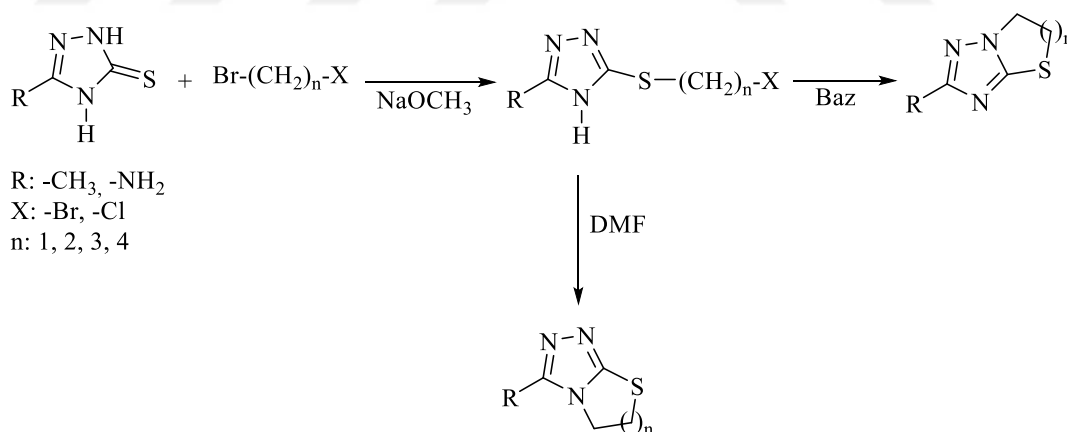
Şekil 2.30. 1,2,4-Triazol-5-tiyol bileşiklerinin susuz sodyum asetat varlığında kloroasetik asit ile reaksiyonu.

3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların asetik anhidrit ve asetik asit karışımı içerisinde susuz sodyum asetat varlığında kloroasetik asit ve çeşitli benzaldehitler ile tek kapta ısıtılması sonucunda ise 5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevi bileşikler elde edilmiştir (**Şekil 2.31**) (43–45,68,97–101).



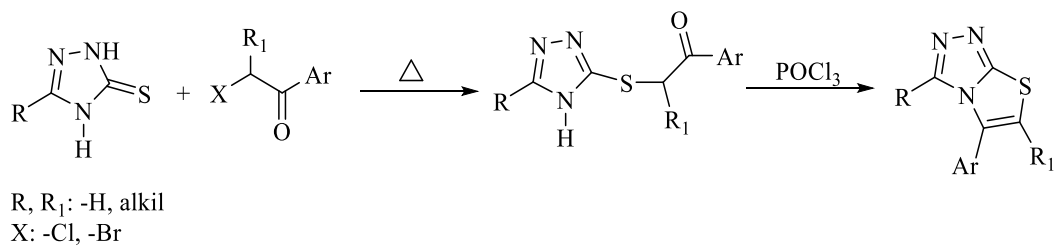
Şekil 2.31. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin asidik ortamda kloroasetik asit ve çeşitli benzaldehitler ile tek kapta reaksiyonu.

Prauda ve Reiter (102) 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerini dihaloalkanlar ile sodyum metoksit varlığında oda sıcaklığında reaksiyona sokarak ilk olarak *S*-alkil türevlerini sentezlemişlerdir. Ardından bu bileşikleri DMF içerisinde ısıtarak tiyazolo[2,3-*c*]-1,2,4-triazol türevlerini; oda sıcaklığında bir baz ile karıştırılması sonucunda ise tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşiklerini elde etmişlerdir (**Şekil 2.32**).



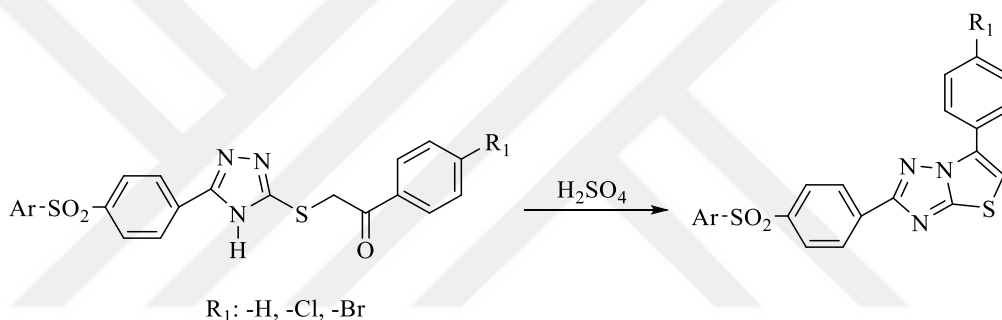
Şekil 2.32. 1,2,4-Triazol-5-tiyon türevlerinin dihaloalkanlar ile *S*-alkilasyon ürünlerinin çeşitli reaksiyonları.

3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin aril α -haloketonlar ile ısıtılmasıyla elde edilen *S*-arilketon bileşiklerinin fosforil klorür ile reaksiyonu sonucunda tiyazolo[2,3-*c*]-1,2,4-triazol bileşikleri elde edilmiştir (**Şekil 2.33**) (103).



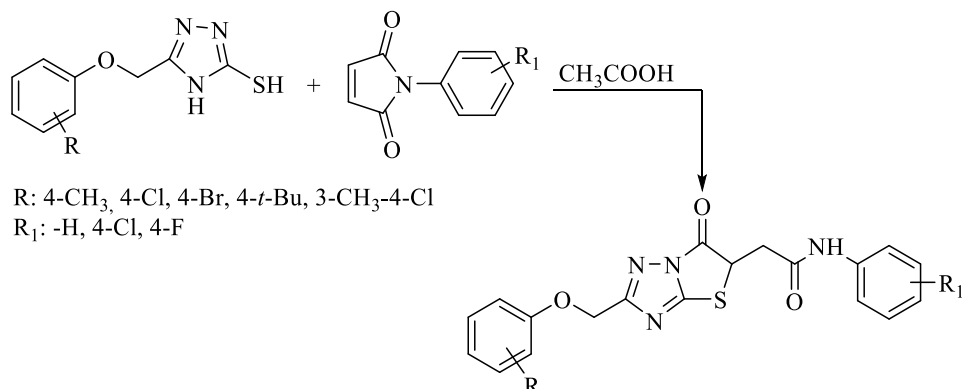
Şekil 2.33. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin aril alfa haloketonlar ile ısıtılmasıyla elde edilen *S*-arilketon bileşiklerinin fosforil klorür ile reaksiyonu.

Barbuceanu ve arkadaşları (104) ise benzer yapıdaki *S*-arilketon türevi bileşiklerin sülfürik asit varlığında ısıtılmasıyla halka siklizasyon reaksiyonu sonucu 2,6-disüstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol yapısında bileşikleri elde ettiklerini bildirmişlerdir (Şekil 2.34).



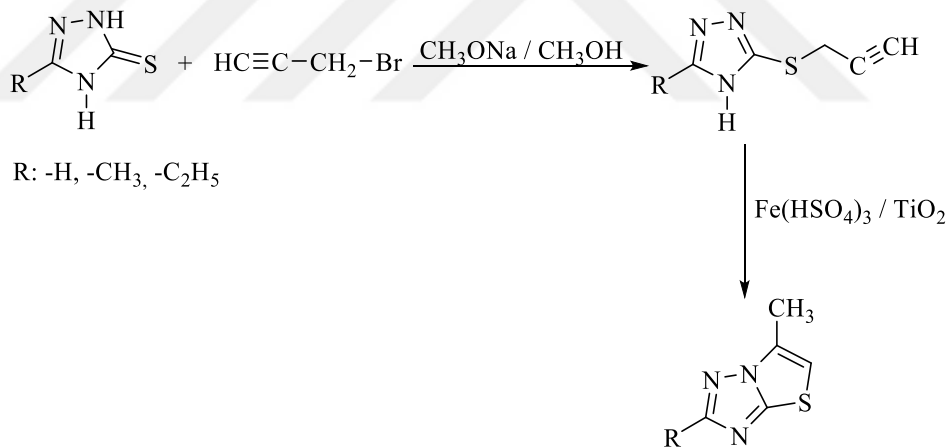
Şekil 2.34. *S*-arilketon yapısındaki 1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin halka siklizasyon reaksiyonu.

Loba ve arkadaşları (105) 3-süstitüe-5-merkapt-1,2,4-triazol türevlerini asetik asit varlığında 1-süstitüefenil-1*H*-pirol-2,5-dion bileşikleri ile ısıtarak 5 numaralı konumda asetamid yapısı taşıyan çeşitli tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on yapısında bileşikler elde etmişlerdir (Şekil 2.35).



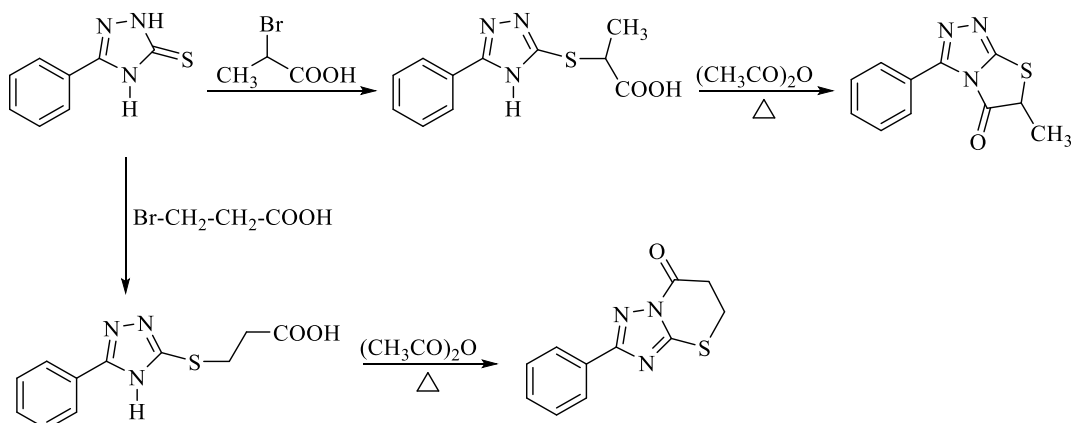
Şekil 2.35. 1,2,4-triazol-5-tiyol bileşiklerinin 1-sübstitüefenil-1*H*-pirol-2,5-dion bileşikleriyle reaksiyonu.

3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon türevi bileşiklerin metanol içerisinde sodyum metoksit varlığında propargil bromür ile ısıtılması sonucu elde edilen 3-sübstitüe-5-propargiltiyo-1,2,4-triazol bileşiklerinin ferri hidrojen sülfat ve titanyum dioksit ile asetik asit içerisinde ısıtılması sonucunda 2-sübstitüe-6-metil-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazoller sentezlenmektedir (**Şekil 2.36**) (106).



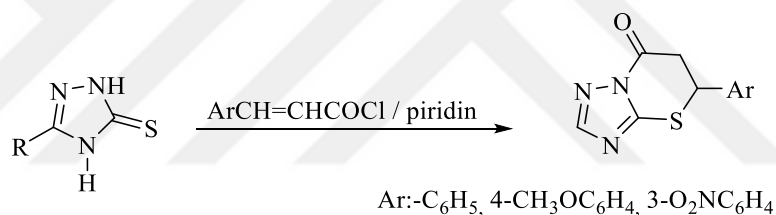
Şekil 2.36. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin propargil bromür ile ısıtılması sonucu elde edilen 3-sübstitüe-5-propargiltiyo-1,2,4-triazol bileşiklerinin ferri hidrojen sülfat ve titanyum dioksit ile reaksiyonu.

3-Fenil-1,2,4-triazol-5-tiyon 2-bromopropiyonik asit ile reaksiyona sokularak 2-[(3-fenil-1,2,4-triazol-5-il)tiyo]propanoik asit elde edilmiş, bu ürünün asetik anhidrit içerisinde ısıtılması sonucunda 6-metil-3-fenil-tiyazolo[2,3-*c*]-1,2,4-triazol-5(6*H*)-on bileşiği sentezlenmiştir. Aynı reaksiyonun 3-bromopropiyonik asit ile gerçekleştirilmesi sonucunda ise 7-feniltiyazino[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-4(2*H*,3*H*)-on bileşiğinin elde edildiği bildirilmiştir (**Şekil 2.37**) (107).



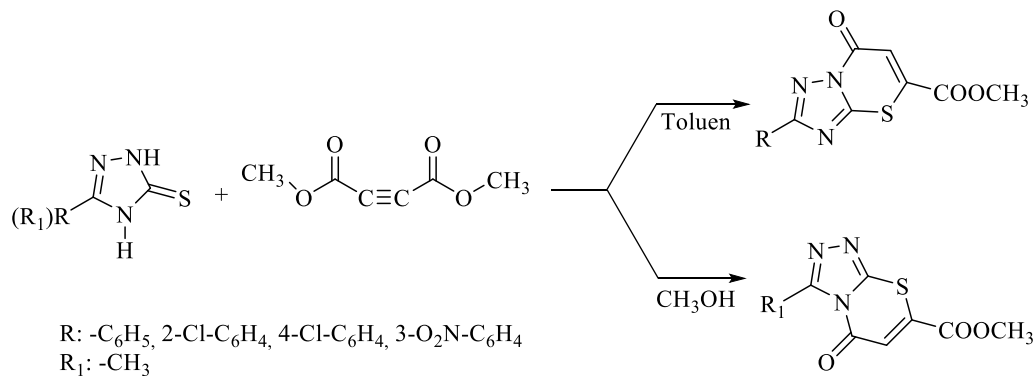
Şekil 2.37. 3-Fenil-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle tiyazolo[2,3-*c*]-1,2,4-triazol-5(6*H*)-on ve 7-feniltiyazino[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-4(2*H*,3*H*)-on bileşiklerinin eldesi.

Britsun ve arkadaşları (108) 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısındaki bileşikleri çeşitli sinnamoil klorürler ile piridin varlığında ısıtarak 5-aril-5,6-dihidro-7*H*-1,2,4-triazolo[3,2-*b*][1,3]tiyazin-7-on bileşiklerini elde etmişlerdir (Şekil 2.38).



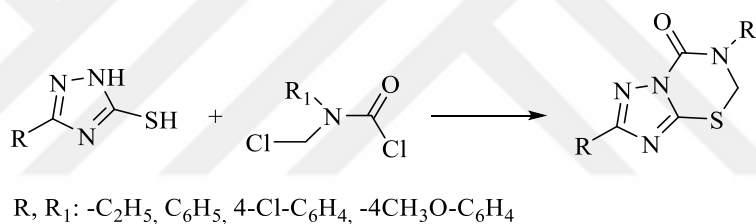
Şekil 2.38. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin çeşitli sinnamoil klorürler ile reaksiyonu.

Tozkoparan ve arkadaşları (109) 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerini dimetil asetilen dikarboksilat ile toluen içerisinde ısıtarak 5-karbmektoksi-2-sübstitüe-7*H*-1,2,4-triazolo[3,2-*b*][1,3]-tiyazin-7-on türevi bileşiklerini elde etmişlerdir. Giammona (110) ise aynı reaksiyonu metanol içerisinde gerçekleştirerek 7-karbmektoksi-3-sübstitüe-5*H*-1,2,4-triazolo[3,4-*b*][1,3]tiyazin-5-on bileşiklerini elde etmiştir (Şekil 2.39).



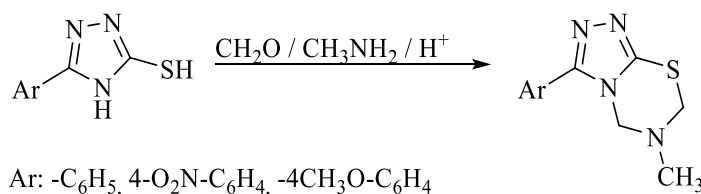
Şekil 2.39. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle 1,2,4-triazolo[3,2-*b*][1,3]-tiyazin-7-on ve 1,2,4-triazolo[3,4-*b*][1,3]tiyazin-5-on bileşiklerinin eldesi.

3-Aril-5-merkpto-1,2,4-triazol bileşiklerinin DMF içerisinde *N*-süstitüe-*N*-klorometilkarbamoil klorür ile susuz potasyum karbonat varlığında oda sıcaklığında reaksiyona sokulması sonucunda 2,6-disüstitüe-1,2,4-triazolo[3,2-*b*][1,3,5]tiyadiazin-7-on türevleri elde edilmiştir (**Şekil 2.40**) (111,112).



Şekil 2.40. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin *N*-süstitüe-*N*-klorometilkarbamoil klorür ile reaksiyonu.

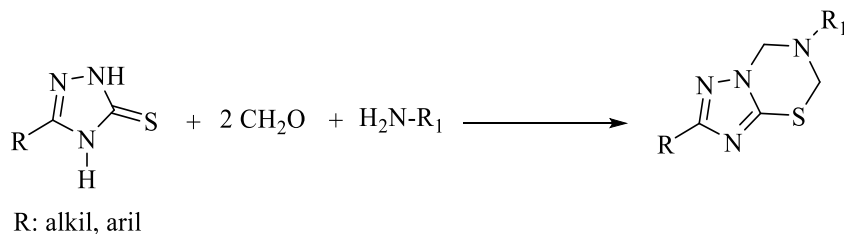
3-Süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyol türevlerinin asidik ortamda iki mol formaldehit ve bir mol metilamin ile etanol içerisinde ısıtılması sonucunda 3-aril-6-metiltriazol[3,4-*b*][1,3,5]tiyadiazin bileşikleri elde edilmiştir (**Şekil 2.41**) (113).



Şekil 2.41. 1,2,4-Triazol-5-tiyol bileşiklerinin iki mol formaldehit ve bir mol metilamin ile reaksiyonu.

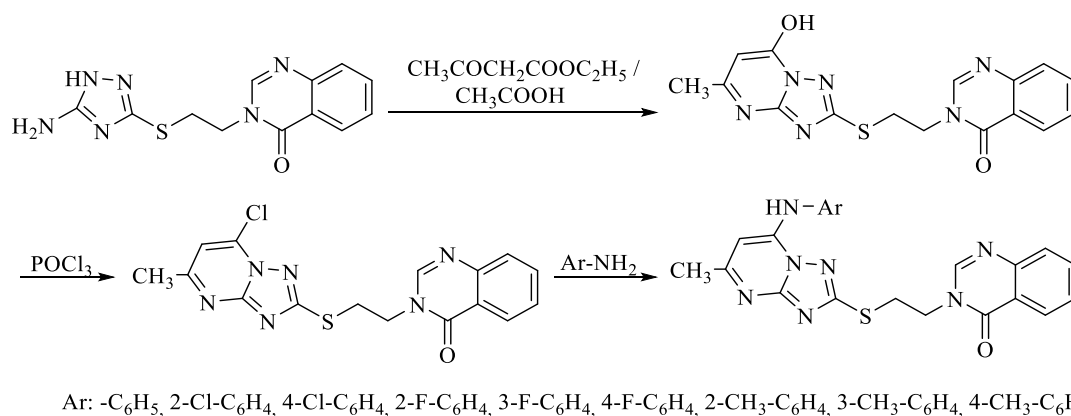
Benzer bir reaksiyonu uygulayan Sert-Özgür ve arkadaşları (114) ve Mahmoud ve arkadaşları (115) 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin absölü etanol

içerisinde ekimolar miktarda uygun primer aminler (benzilamin, bütilamin, (-)-1-fenetilamin ve 2-fenetilamin) ve iki mol formaldehit varlığında gerçekleştirilen *bis*-Mannich reaksiyonu sonucu 2,6-disübstitüe-5*H*-1,2,4-triazolo[3,2-*b*][1,3,5]tiyadiazin türevlerini elde ettiklerini bildirmişlerdir (Şekil 2.42).



Şekil 2.42. 1,2,4-Triazol-5-tiyon bileşiklerinin çeşitli primer aminler ve iki mol formaldehit varlığında gerçekleştirilen *bis*-Mannich reaksiyonu.

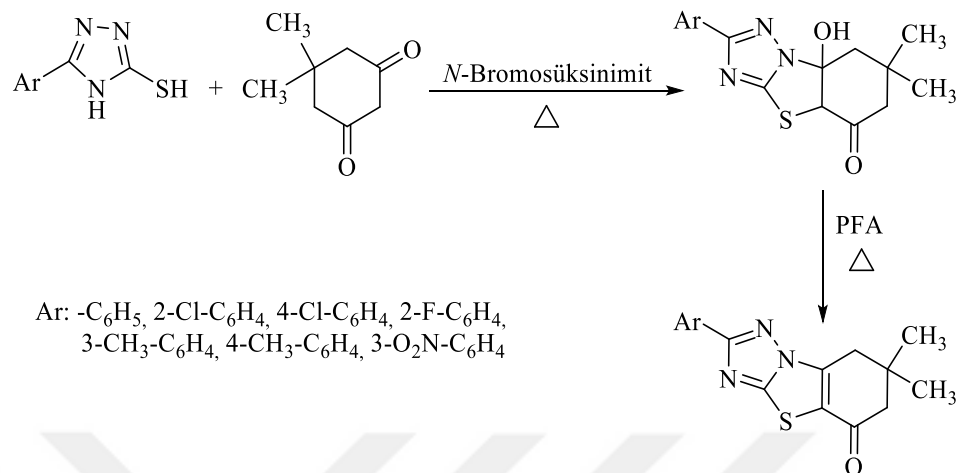
Du ve arkadaşları (116) 5-sübstitüe merkapt-3-amino-1,2,4-triazol türevi bileşikleri asetik asit içerisinde etil asetoasetat ile ısıtarak 3-[2-((7-hidroksi-5-metil-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pirimidin-2-il)tiyo)etil]kinazolin-4(3*H*)-onu elde etmişlerdir. Elde edilen bileşiğin fosforil klorür ile reaksiyonu sonucu hidroksil grubu yerine klor atomu getirilmiş, bu türevin de etanol içerisinde ve oda sıcaklığında çeşitli aril aminlerle reaksiyonu sonucunda 3-[2-((7-arilamino-5-metil-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pirimidin-2-il)tiyo)etil]kinazolin-4(3*H*)-on türevleri elde edilmiştir (Şekil 2.43).



Şekil 2.43. 3-Amino-5-sübstitüe merkapt-1,2,4-triazol türevi bileşiklerden hareketle 1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pirimidin bileşiklerinin sentezi.

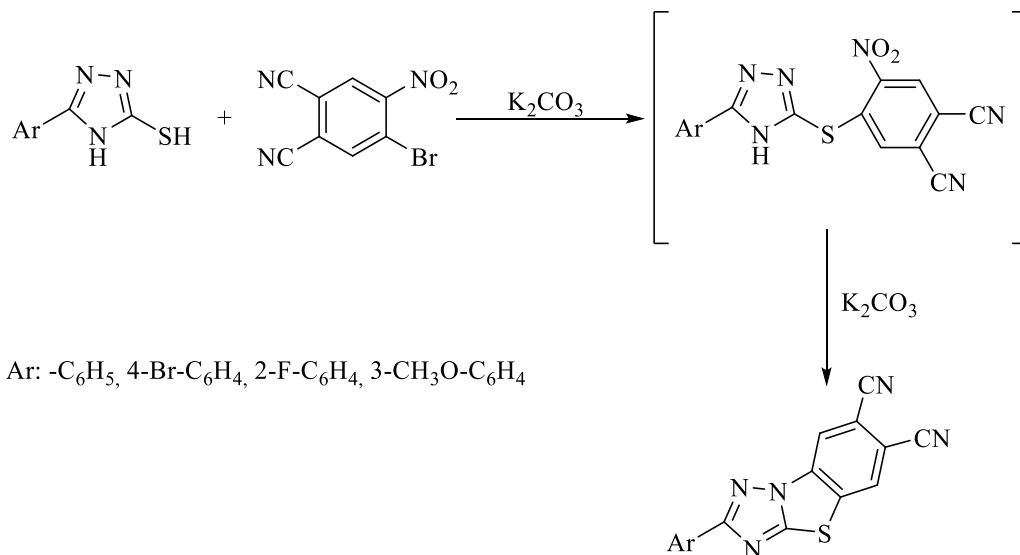
3-Aril-5-merkapt-1,2,4-triazollerin *N*-bromosüksinimit varlığında dimedon (5,5-dimetil-1,3-sikloheksadion) ile reaksiyonu sonucunda elde edilen 1,2,4-4*H*-triazolo[3,2-*b*]benzotiyazol türevlerinin polifosforik asit (PFA) varlığında ısıtılması

sonucunda 2-aril-7,7-dimetil-7,8-dihidro-benzo[4,5]tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-5(6*H*)-on türevleri elde edilmiştir (Şekil 2.44) (117).



Şekil 2.44. 1,2,4-Triazol-5-tiyol bileşiklerinin dimedon (5,5-dimetil-1,3-sikloheksadion) ile reaksiyonu.

Abramov ve arkadaşları (118) 3-aril-5-merkapt-1,2,4-triazol türevlerini potasyum karbonat varlığında 4-bromo-5-nitrofitalonitril ile reaksiyona sokarak 3-aril-1,2,4-triazolo[3,4-*b*]-1,3-benzotiyazol-6,7-dikarbonitril bileşiklerini elde etmişlerdir (Şekil 2.45).



Şekil 2.45. 1,2,4-Triazol-5-tiyol bileşiklerinin 4-bromo-5-nitrofitalonitril ile reaksiyonu.

2.1.3. 3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların Spektral Özellikleri

IR Spektrumları

Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısındaki bileşiklerin potasyum bromür ile alınan IR spektrumlarında $3500-3102\text{ cm}^{-1}$ aralığında N-H gerilim titreşimleri (95,119–121), $1640-1570\text{ cm}^{-1}$ aralığında C=N gerilim titreşimleri (95,122–126), $1515-1345\text{ cm}^{-1}$ aralığında C-N gerilim titreşimleri (127) ve $1353-1166\text{ cm}^{-1}$ aralığında C=S gerilim titreşimleri (95,124–126) görülmektedir.

1,2,4-Triazol-5-tiyon yapısındaki bileşikler tiyon-tiyol tautomerisi göstermesi nedeniyle IR spektrumlarında C=S gerilim titreşimi yerine veya buna ek olarak S-H gerilim titreşimleri de görülebilmektedir (122,128,129). Bazı araştırmacılar sentezledikleri merkaptotriazollerin IR spektrumlarında $2600-2550\text{ cm}^{-1}$ aralığında gördükleri bandın S-H gerilim bandı olduğunu, dolayısıyla halkanın tiyol formunda bulunduğunu IR spektrumundan yararlanarak kanıtlamışlardır (91,96,130,131).

¹H-NMR Spektrumları

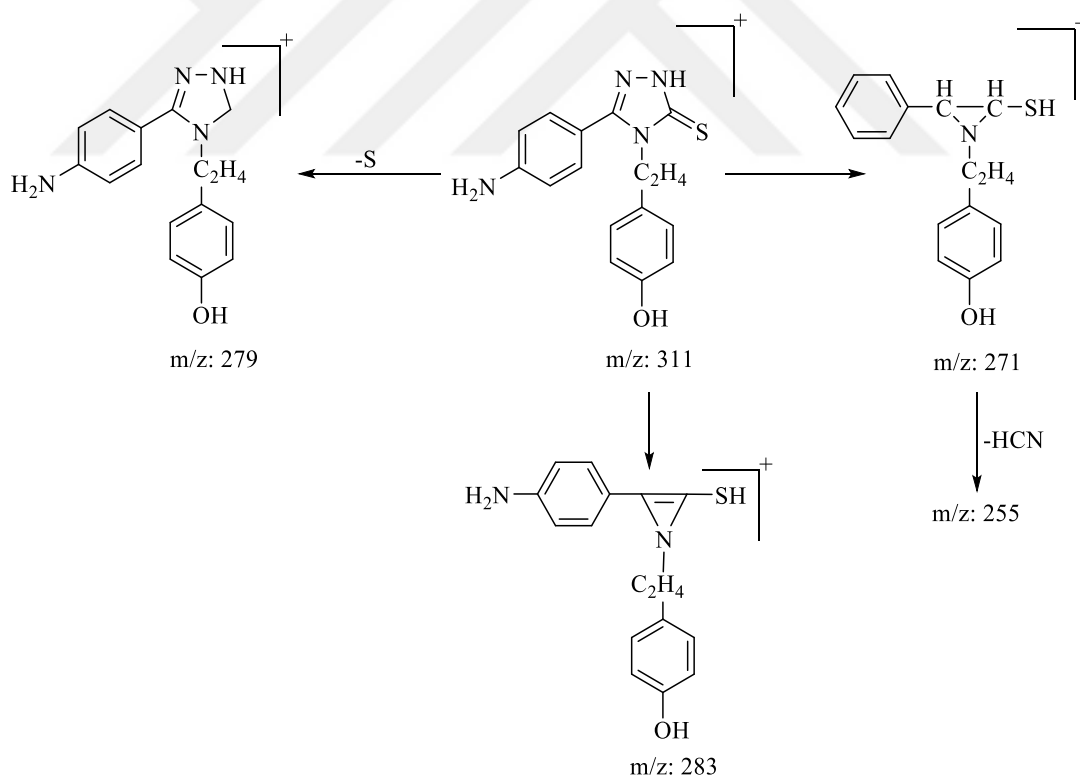
3-Sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısındaki bileşiklerin heteroatom protonlarının kimyasal kayma değerleri kullanılan çözücü, sıcaklık ve madde konsantrasyonuna bağlı olarak farklılık göstermektedir. Bu bileşiklerin çözelti halinde hem tiyon hem de tiyol tautomerik formunda bulunduğuna dair çalışmalar mevcuttur (132,133). Bileşiğin bulunduğu tautomerik forma göre ¹H-NMR spektrumları farklılık göstermektedir. Tiyon tautomerik formunda bulunan bileşiklerde 1 numaralı azot atomuna bağlı protonun genellikle $11,22-14,43\text{ ppm}$ arasında singlet olarak gözlemlendiği bildirilmiştir (120,134,135). Halkanın 4 numaralı konumundaki azot atomu üzerinde bulunan protonun ise kimyasal kayma değeri $10,42-14,89\text{ ppm}$ aralığında gözlenmiştir (69,129,136). 5 Numaralı konumda tiyon yerine tiyol tautomerik formunda bulunan bileşiklerde S-H protonlarının $12,23-14,00\text{ ppm}$ arasında singlet olarak gözlemlendiği bildirilmiştir (20,121).

¹³C-NMR Spektrumları

3-Süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısına sahip bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumları incelendiğinde, 3- ve 5-numaralı karbon atomlarının sırasıyla 144,9-152,1 ppm ve 147,5-170,0 ppm'de görüldüğü bildirilmiştir (120,129,134,137).

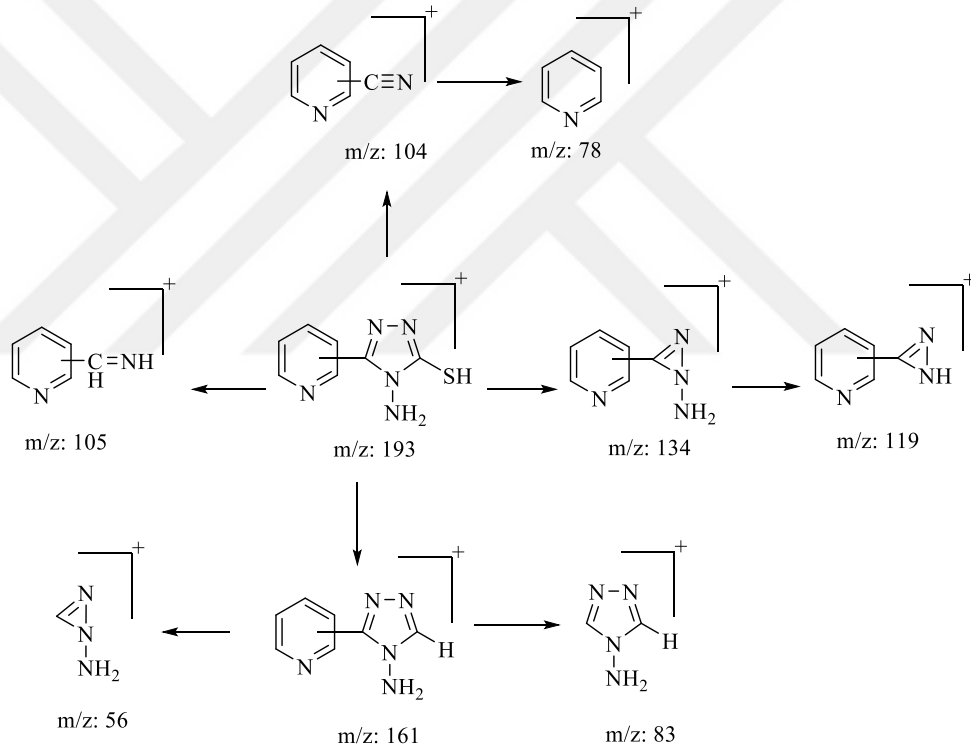
Kütle Spektrumları

3-(4-Aminofenil)-4-(4-hidroksifenetil)-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiğinin elektron iyonizasyon yöntemi kullanılarak alınan kütle spektrumunda, m/z: 311'de moleküler iyon piki görülmüş, tiyon grubunun ayrılması ile m/z: 279, triazol halkasının parçalanması ile m/z: 283 pikleri oluşmuştur. Farklı bir parçalanma yolağında ise triazol halkasının parçalanması ve yapıdan -NH₂ kopması sonucu m/z: 271, takiben -HCN kopması sonucunda m/z: 255 pikleri görülmüştür (Şekil 2.46) (138).



Şekil 2.46. 3-(4-Aminofenil)-4-(4-hidroksifenetil)-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiğinin elektron iyonizasyon yöntemi ile alınan kütle spektrumundaki parçalanmalar.

3-Piridil-4-amino-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşiğinin elektron iyonizasyon yöntemi ile alınan kütle spektrumunda moleküler iyon piki m/z : 193'de görülmektedir. Triazol halkasından kükürtün ayrılması sonucu m/z : 161 piki görülmekte ve devamında piridin halkasının kopması sonucu m/z : 83 iyonu oluşmaktadır. Diğer bir parçalanma yolağında bileşiğin yapısından -SH grubu koptuktan sonra triazol halkasının parçalanması sonucu m/z : 56 iyonu oluşmuştur. Farklı bir parçalanma yolağında ise yapıdan tiyosemikarbazitin ayrılması sonucu m/z : 104 ve devamında nitril grubunun kopması sonucunda m/z : 78 pikleri görülmektedir. Bunun dışında CNSH grubunun kopması sonucu m/z : 134, sonrasında amino grubunun kopması sonucu m/z : 119 pikleri oluşmaktadır (Şekil 2.47) (139).



Şekil 2.47. 3-Piridil-4-amino-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşiklerinin elektron iyonizasyon tekniği ile alınan kütle spektrumlarında görülen parçalanmalar.

2.1.4. 3-Süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyonların Biyolojik Özellikleri

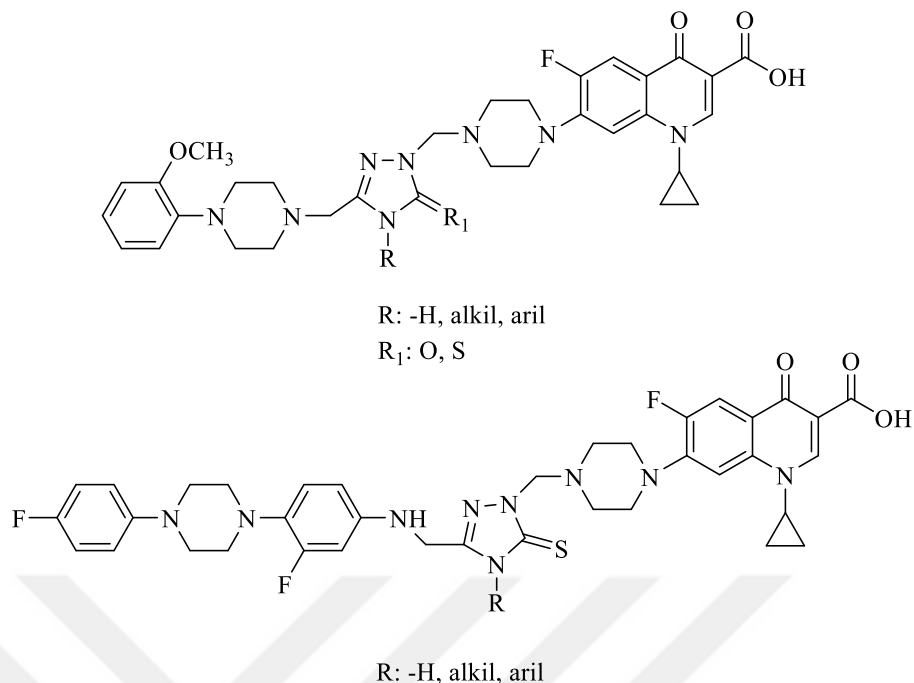
Literatürde 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısına sahip bileşiklerin antibakteriyel, antifungal, antikonvülsan, antidepresan, analjezik-antiinflamatuvar, antioksidan, antiviral ve antikanser aktiviteleri üzerine yapılmış birçok araştırma bulunmaktadır.

Antibakteriyel Aktiviteleri

3-Süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısına sahip ve bu yapı kullanılarak oluşturulan hibrit bileşiklerin antibakteriyel aktiviteleri üzerine birçok çalışma yapılmış ve birçok aktif türev literatüre kazandırılmıştır.

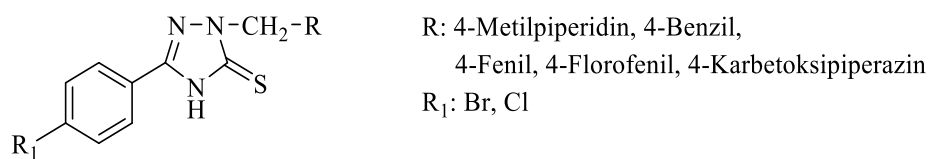
1,2,4-Triazol-5-tiyon yapısında üç numaralı konuma indol (140), kinolin (141,142), pirazol (143), pirimidin (145–146) ve triazol (144,147,148) gibi çeşitli heterosiklik halkaların getirilmesi ile elde edilen bileşiklerin çeşitli Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Demirbaş ve arkadaşları (149,150) yaptıkları çeşitli çalışmalarda üç ve dört numaralı konumlarından süstitüe 1,2,4-triazol-5-tiyonlar ile siprofloksasinden hareketle *Mannich* reaksiyonu ile çeşitli hibrit bileşikler sentezlemişler ve çeşitli Gram-pozitif ve Gram-negatif patojenlere karşı *in vitro* olarak test etmişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK < 0,24 µg/mL) standart olarak kullanılan ampisilinden (3,9-250 µg/mL) daha düşük bulunmuştur. Yapılan ileri çalışmalarda triazol halkasının üç numaralı konumunda fenil veya elektron donörü bir grubun bulunmasının antibakteriyel aktivite için gerekli olduğu ve dört numaralı azot atomu üzerinde kısa alkil gruplarının bulunmasının antibakteriyel aktiviteyi artırdığı belirtilmiştir (**Şekil 2.48**).



Şekil 2.48. Antibakteriyel etkili siprofloksasin artığı taşıyan 1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

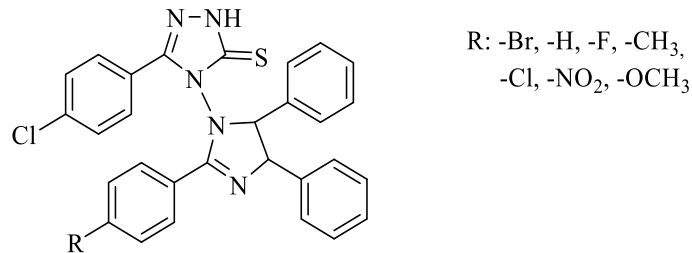
Tozkoparan ve arkadaşları (69) 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle bir dizi *Mannich bazı* sentezlemiş, sentezlenen bileşiklerin mikrodilüsyon yöntemi ile antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. Aktivite çalışmalarının sonucunda, üç numaralı konumunda 4-klorofenil bulunan türevlerin Gram-pozitif bakterilere karşı Gram-negatif bakterilere kıyasla daha aktif olduğu ve serideki bazı bileşiklerin *Candida albicans* 'a karşı etkili olduğu bildirilmiştir (**Şekil 2.49**).



Şekil 2.49. Antibakteriyel etkili 1,2,4-triazol-5-tiyon *Mannich bazları*.

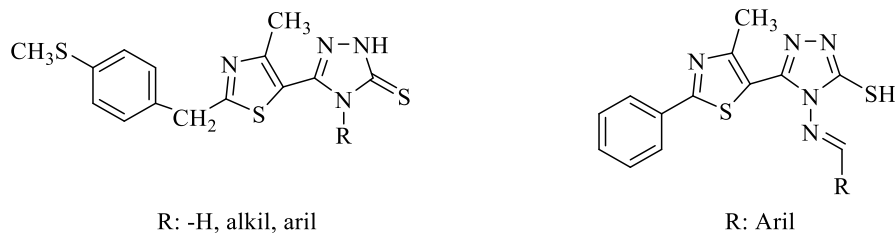
Ghasemzadeh ve arkadaşları (151) yaptıkları bir çalışmada 3-(4-klorofenil)-4-[2-(4-süstitüe fenil)-4,5-difenil-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-1-il)]- 1,2,4-triazol-5-tiyon türevi bileşiklerin *in vitro* olarak *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı yüksek antibakteriyel aktivite (inhibisyon bölgesi: 10-18 mm) gösterdiğini ve bileşiklerin

tetrasikline (inhibisyon bölgesi: 14-17 mm) benzer antibakteriyel özelliklere sahip olduğunu belirtmişlerdir (Şekil 2.50).



Şekil 2.50. Antibakteriyel etkili 3-(4-klorofenil)-4-[2-(4-süstitüe fenil)-4,5-difenil-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-1-il)]-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

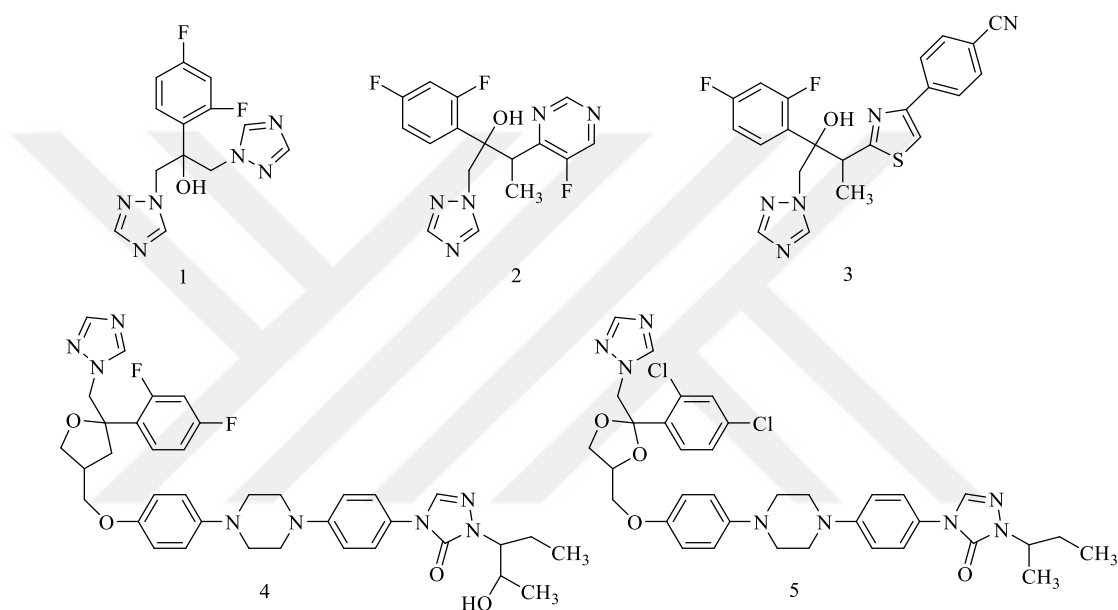
Santosh ve arkadaşları (152) 2018 yılında yaptıkları bir çalışmada 4-süstitüe-3-[2-(4-metiltiyobenzil)-4-metil-tiyazol-5-il]-1,2,4-triazol-5-tiyonları sentezlemiş, bu bileşiklerin düşük antibakteriyel aktivite (MİK: 4,48-77,63 mM) gösterdiğini ve bileşik yapısının modifiye edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Nastasa ve arkadaşları (153) 2018 yılında bu bileşikleri modifiye ederek 3-(4-metil-2-feniltiyazol-5-il)-4-(süstitüe amino)-1,2,4-triazol-5-tiyol türevi bileşikler sentezlemiş ve modifiye edilen bileşiklerin antibakteriyel aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar fenil halkasına getirilen halojen ve hidroksil gruplarının aktiviteyi azalttığını; nitro, metoksi, dimetil amino gibi süstitüentlerin aktiviteyi artırdığını gözlemişlerdir. Sentezlenen seride en aktif türev olan 4-[(4-bromobenziliden)amino]-3-(4-metil-2-fenil-tiyazol-5-il)-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşiğinin *Listeria monocytogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı MİK: 1,95 µg/mL aktivite göstermiş ve standart olarak kullanılan siprofloksasinden (MİK: 3,9 µg/mL) iki kat daha aktif bulunmuştur (Şekil 2.51).



Şekil 2.51. Antibakteriyel etkili 4-süstitüe-3-[2-(4-metiltiyobenzil)-4-metil-tiyazol-5-il]-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 3-(4-metil-2-feniltiyazol-5-il)-4-(süstitüe amino)-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşikleri.

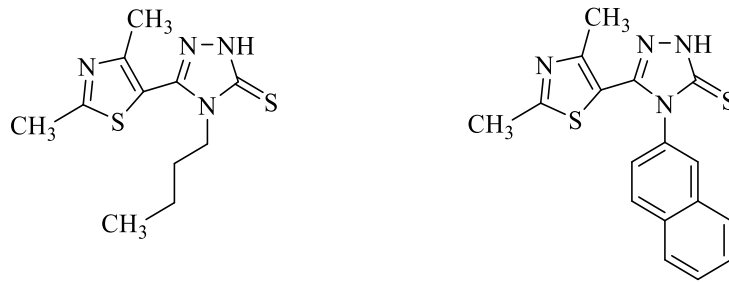
Antifungal Aktiviteleri

Günümüzde piyasada bulunan antifungal ilaçlardan flukonazol (1), ravukonazol (2), vorikonazol (3), itrakonazol (4) ve posakonazol (5) yapısında 1,2,4-triazol halkası içermektedir (Şekil 2.52). Bu nedenle triazol halkası antifungal aktivite göstermesi beklenen yeni bileşiklerin tasarımında oldukça yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Literatürde süstitüe 1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin antifungal aktivitesi üzerine yapılan birçok araştırma bulunmaktadır.



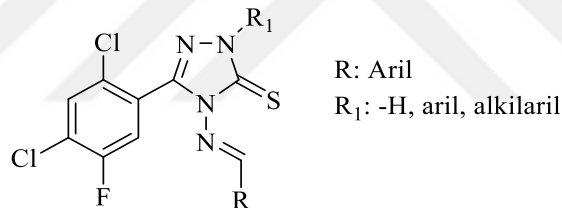
Şekil 2.52. Flukonazol (1), ravukonazol (2), vorikonazol (3), itrakonazol (4) ve posakonazol (5) bileşiklerinin yapıları.

Jalilian ve arkadaşları (154) yaptıkları bir çalışmada üç numaralı konumunda tiyazol veya 1,2,3-tiyadiazol taşıyan 4-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerini sentezlemiş ve antifungal aktivitelerini incelemişlerdir. Sentezlenen seride en aktif olan bileşikler 3,12-6,25 mg/mL MİK değerleri aralığında *Sacchromyces cerevisiae* ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı önemli antifungal aktivite gösterirken, *Aspergillus fumigatus* 'a karşı zayıf aktivite göstermiştir (Şekil 2.53).



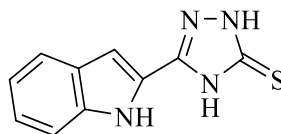
Şekil 2.53. Üç numaralı konumunda tiyazol taşıyan antifungal etkili 4-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

Karthikeyan ve arkadaşları (20) 2006 yılında yaptıkları çalışmada 3-(2,4-dikloro-5-florofenil)-1,4-disüstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısında *Schiff* ve *Mannich* bazları sentezlemiş, bu bileşiklerin *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytesin* ve *Penicillium marneffe*'e karşı antifungal aktivitelerini incelemişlerdir. Seri plaka seyreltme yöntemi ile yapılan tarama sonucunda en aktif bulunan dört bileşik flukonazol ile eşit aktivite göstermiş ve tüm fungal suşlara karşı aktif bulunmuştur (Şekil 2.54).



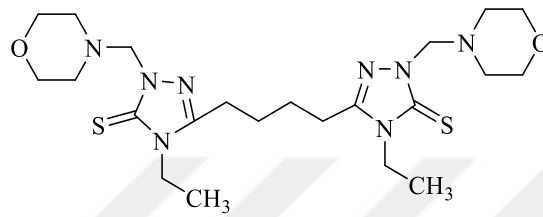
Şekil 2.54. Antifungal etkili 3-(2,4-dikloro-5-florofenil)-1,4-disüstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

El Ashry ve arkadaşlarının (155) 2013 yılında yaptıkları çalışmada 3-(1*H*-indol-2-il)-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri sentezlenerek *Aspergillus niger*, *Rhizoctonia solani* ve *Fusarium oxysporum*'a karşı antifungal aktiviteleri taranmıştır. En aktif bulunan triazol türevi, test edilen çoğu mikroorganizmaya karşı 5 mg/mL MİK değeri ile yüksek aktivite göstermiştir. Ayrıca ön tarama testinde *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı da iyi aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Şekil 2.55).



Şekil 2.55. Antifungal etkili 3-(1*H*-indol-2-il)-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

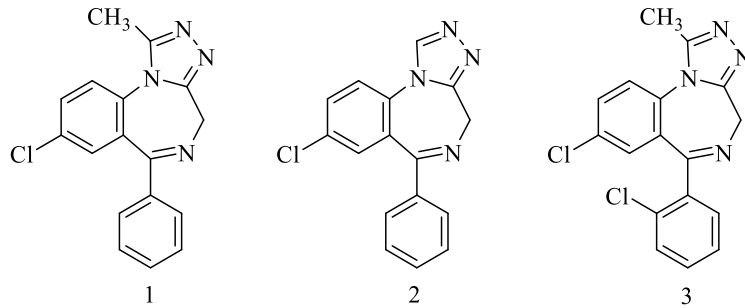
Koparır (156) 2013 yılında, 3,3'-bütan-1,4-diilbis[4-etil-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon] yapısına sahip yeni *Mannich bazları* sentezleyerek *Aspergillus flavus* ve *Candida albicans*'a karşı antifungal aktivitelerini taramıştır. Standart olarak flukonazolün kullanıldığı çalışmada 3,3'-bütan-1,4-diilbis[4-etil-1-(morfolin-4-ilmetil)-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon] bileşiğinin test edilen tüm mantar suşlarına karşı 1,56-3,12 µg/mL MİK değeri ile çok iyi antifungal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Şekil 2.56).



Şekil 2.56. Antifungal etkili 3,3'-bütan-1,4-diilbis[4-etil-1-(morfolin-4-ilmetil)-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon] bileşiği.

Antikonvülsan Aktiviteleri

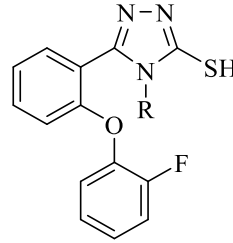
Günümüzde piyasada bulunan antikonvülsan ilaçlardan alprazolam (1), estazolam (2) ve triazolam (3) yapısında kondanse 1,2,4-triazol halka sistemi taşımaktadır. Literatürde 1,2,4-triazol-5-tiyonların antikonvülsan aktiviteleri üzerine yapılmış birçok araştırma bulunmaktadır (Şekil 2.57).



Şekil 2.57. Alprazolam (1), estazolam (2) ve triazolam (3) bileşiklerinin yapıları.

Al Masirad ve arkadaşları (157) 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada 2-(2-florofenoksi)benzoik asit hidrazitini önce potasyum tiyosiyanat, ardından tiyosemikarbazit ile reaksiyona sokarak elde ettikleri ara ürünü bazik ortamda siklize ederek 3-[2-(2-florofenoksi)fenil]-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol türevi bileşikleri elde etmişlerdir. Elde edilen bileşiklerin antikonvülsan aktivitesi maksimal elektroşok testi

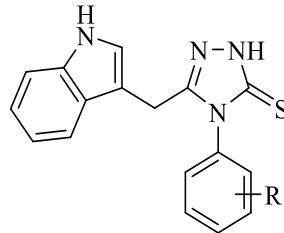
(MES testi) ve subkütan pentilentetrazol görüntüleme testi (scPTZ) ile incelenmiş ve bileşiklerin orta etkili olduğu bildirilmiştir (**Şekil 2.58**).



R: -H, alkil

Şekil 2.58. Antikonvülsan etkili 3-[2-(2-florofenoksi)fenil]-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşikleri.

Siddiqui ve arkadaşları (158) 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada antikonvülsan aktivite göstermesi beklenen 3-(1*H*-indol-3-il)metil-4-(sübstitüe aril)-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerini sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin aktiviteleri 30, 100 ve 300 mg/kg dozlarda MES testi ile fareler üzerinde incelenerek fenitoin sodyum ve karbamazepin ile karşılaştırılmıştır. 2-kloro, 2-metil ve 3-metil sübstitüe türevlerin 0,5 saat sonra fenitoin ve karbamazepine benzer MES aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir (**Şekil 2.59**).

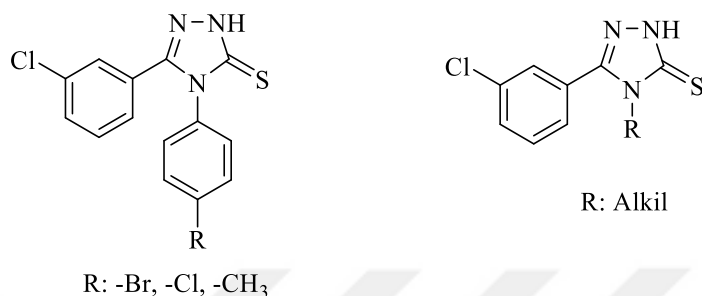


R: -F, -Cl, -CH₃, -OCH₃

Şekil 2.59. Antikonvülsan etkili 3-(1*H*-indol-3-il)metil-4-(sübstitüe aril)-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

Luszczki ve arkadaşları (159,160) 2012 yılında yaptıkları bir dizi çalışma ile 3-(3-klorofenil)-4-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısındaki bileşiklerin iyi antikonvülsan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. 2013 yılında, dört numaralı konumdaki alkil zinciri uzunluğunun antikonvülsan aktivite üzerine etkisini incelemek amacıyla; dört numaralı konuma çeşitli alkil grupları getirerek yeni bir seri bileşik sentezlemiş ve MES testi ile antikonvülsan aktivitelerini incelemişlerdir (161). Yapılan testler sonucunda en aktif türev olan 3-(3-klorofenil)-4-pentil-4*H*-1,2,4-

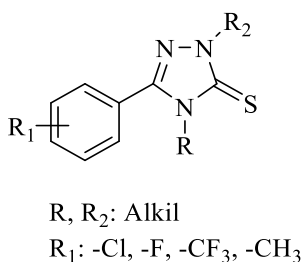
triazol-5-tiyonun 300 mg/kg dozda sodyum valproattan iki kat yüksek antikonvülsan aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Alkil zincirinin uzunluğunun artmasının aktiviteyi düşürdüğünü gözlemleyen araştırmacılar yapılan kromatografik testler sonucunda, uzun alkil zincirine sahip bileşiklerin kan-beyin bariyerini geçemediği ve bu nedenle aktivitesinin düşük olduğunu bildirmişlerdir (Şekil 2.60).



Şekil 2.60. Antikonvülsan etkili 3-(3-klorofenil)-4-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

Antidepresan Aktiviteleri

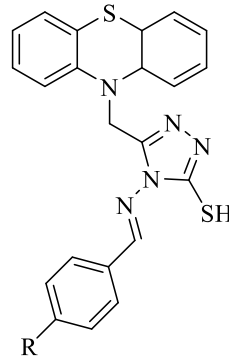
Kane ve arkadaşları (162) 1988 yılında yaptıkları bir çalışmada 3-süstitüe fenil-1,4-dialkil-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısındaki bileşikleri sentezlemiş ve antidepresan aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmada alkil gruplarının aktivite için gerekli olduğu, alkil gruplarının kaldırılmasının aktivite kaybına yol açtığı ve en aktif türevin bir ve dört numaralı konumlarda metil taşıyan türev olduğu bildirilmiştir (Şekil 2.61).



Şekil 2.61. Antidepresan etkili 3-süstitüe fenil-1,4-dialkil-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

Turan-Zitouni ve arkadaşları (163) 2002 yılında bazı yeni triazolilfenotiyazin türevi *Schiff bazı* yapısı taşıyan bileşikler sentezlemiş ve bileşikleri antidepresan ve anksiyolitik aktiviteleri açısından değerlendirmişlerdir. Buna göre triazol halkasının

dört numaralı konumunda nonsüstitüe, klor, metil, *N,N*-dimetilamino ve metoksi süstitüe aril grubu taşıyan *Schiff bazlarının* antidepresan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (**Şekil 2.62**).

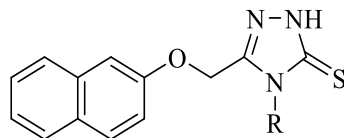


R: -H, -F, -Cl, -Br, -CH₃, -N(CH₃)₂, -OCH₃

Şekil 2.62. Antidepresan etkili triazolilfenotiyazin türevi *Schiff bazları*.

Analjezik-Antiinflamatuvar Aktiviteleri

Palaska ve arkadaşları (164) 2002 yılında yaptıkları çalışmada 3-(2-naftiloksimetil)-4-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon türevi bileşikler sentezlemiş, pençe ödemi testi (CPE) ve toplam polimorfonükleer lökosit sayısı (PMNL) ölçümleri ile bileşiklerin antiinflamatuvar aktivitelerini incelemişlerdir. Seride en aktif türev olan 3-(2-naftiloksimetil)-4-metil-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiğinin % 60,62±8,55 CPE inhibisyonu ve $32,43 \pm 3,15 \times 10^5/\text{cm}^3$ PMNL aktivite ile umut verici aktivitenin yanısıra standart olarak kullanılan nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlara göre düşük gastrik ülserasyon insidansı gösterdiği bildirilmiştir (**Şekil 2.63**).

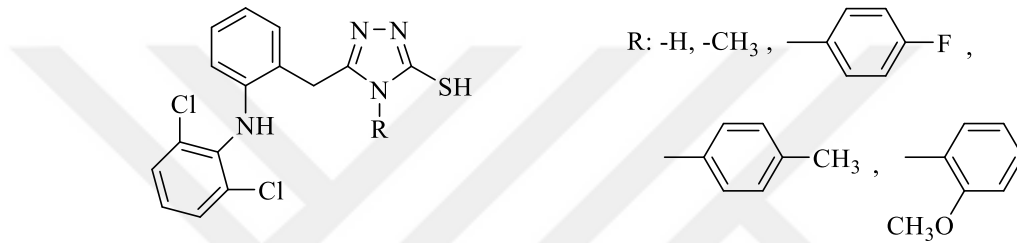


R: -CH₃, -C₂H₅, -CH₂-CH=CH₂, -C₆H₅

Şekil 2.63. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 3-(2-naftiloksimetil)-4-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikler.

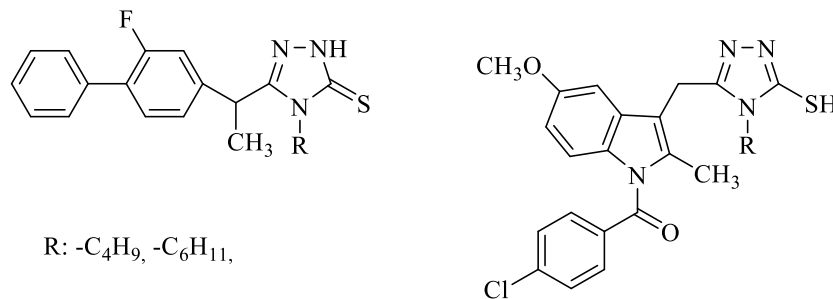
Amir ve Shikha (165) 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada, analjezik-antiinflamatuvar aktivitesi bilinen diklofenakın, triazol halkası ile hibrit türevlerini tasarlayarak 3-[2-(2,6-dikloro-anilino)benzil]-4-süstitüe-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol yapısında bileşikler sentezlemiş ve 10 mg/kg dozda CPE testi ile analjezik-

antiinflamatuvar aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda sentezlenen bileşiklerden dört numaralı konumda 2-metoksifenil ve 4-florofenil grubu taşıyan türevlerin sırasıyla % 81,90 ve % 79,80 değerleri ile iyi, diğer türevlerin ise orta düzeyde aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca; şiddet indeksi yöntemi ile bileşiklerin ülserojenik riski incelenmiş ve standart olarak kullanılan diklofenaktan daha düşük ülserojenik risk sergiledikleri bildirilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçlardan yola çıkarak diklofenak bileşiğindeki karboksilik asit grubunun triazol halkası ile değiştirilmesi sonucunda analjezik-antiinflamatuvar aktivitenin korunduğunu, ülserojenik riskin ise önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir (**Şekil 2.64**).



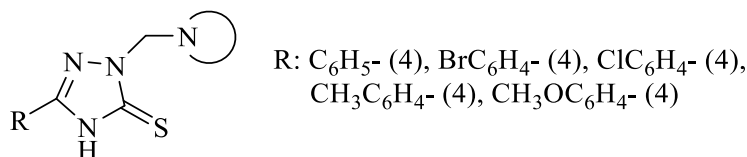
Şekil 2.64. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 3-[2-(2,6-dikloro-anilino)benzil]-4-sübstitüe-1H-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşikleri.

Amir ve Kumar (166) diklofenak-triazol hibrit bileşiklerinin umut verici aktivite göstermesi üzerine 2005 yılında triazol halkasının flurbiprofen ve indometazin ile hibritlerini tasarlayarak 3-(1-(2-floro-[1,1'-bifenil]-4-il)etil)-1H-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 3-[(1-(4-klorobenzoil)-5-metoksi-2-metilindol-3-il)metil]-4-butil-1H-1,2,4-triazol-5-tiyol yapısında bileşikleri sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin karagenin ile indüklenen pençe ödemi testi sonucu, orta düzeyde antiinflamatuvar aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Yapılan analjezik aktivite testleri sonucunda ise bileşiklerin standart olarak kullanılan flurbiprofen ve indometazine kıyasla düşük aktivite gösterdiği bildirilmiştir (**Şekil 2.65**).



Şekil 2.65. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 3-(1-(2-floro-[1,1'-bifenil]-4-il)etil)-1H-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 3-[(1-(4-klorobenzoil)-5-metoksi-2-metilindol-3-il)metil]-4-butil-1H-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşikleri.

Tozkoparan ve arkadaşları (69) 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada, 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle bir dizi *Mannich* bazı sentezlemiş ve analjezik-antiinflamatuvar aktivitelerini incelemişlerdir. Yapılan aktivite çalışmaları sonucunda triazol halkasının üç numaralı konumunda nonsüstitüe fenil halkası taşıyan türevlerin yüksek antiinflamatuvar aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Avcı ve Tozkoparan (71) 2020 yılında bu çalışmanın devamı niteliğinde, 3 numaralı konumunda naproksen artığı taşıyan bir dizi *Mannich* bazı sentezleyerek bileşiklerin analjezik-antiinflamatuvar aktivitelerini incelemişlerdir. Biyolojik etki çalışmaları sonunda bileşiklerin dikkat çekici antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu, ayrıca bileşiklerin birçoğunun naproksenden daha düşük gastrik toksisite sergilediği gösterilmiştir (**Şekil 2.66**).



Şekil 2.66. Analjezik-antiinflamatuvar etkili çeşitli 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

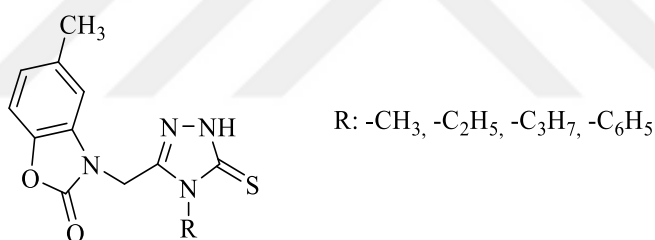
Tozkoparan ve arkadaşları (70) 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada, 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle 5 numaralı konumda alkiltiyo ve alkilsülfonil grupları taşıyan bir dizi bileşik sentezleyerek bileşiklerin analjezik-antiinflamatuvar aktivitelerini incelemişlerdir. Yapılan aktivite çalışmalarının sonucunda alkilsülfonil grubu taşıyan türevlerin diğer türevlere kıyasla daha aktif olduğunu ve sülfonil türevlerinde alkil zincirinin uzamasının analjezik ve antiinflamatuvar aktiviteyi artırdığını ve 5 numaralı konumda etilsülfonil grubu

taşıyan bileşiklerin yüksek antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğunu, bildirmişlerdir (Şekil 2.67).



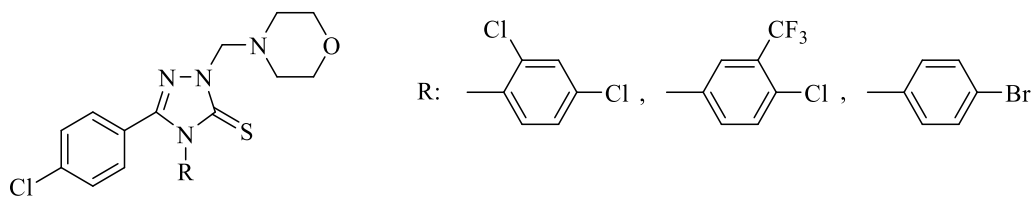
Şekil 2.67. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 3-sübstitüe-5-alkilsülfonil-1,2,4-triazol bileşikleri.

Salgın-Gökşen ve arkadaşları (60) 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada 3-[(5-metil-2-benzoksazolinon-3-il)metil]-4-sübstitüe-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon türevi bir dizi bileşik sentezleyerek analjezik-antiinflamatuvar aktivitelerini incelemişlerdir. Karagenin ile indüklenen pençe ödemi testinde 100 mg/kg dozda % 79,8 inhibisyon değeri ile 3-[(5-metil-2-benzoksazolinon-3-il)metil]-4-fenil-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiğinin en aktif türev olduğu bildirilmiştir. Bileşiklerin analjezik aktiviteleri Koster testi ile incelenmiş ve aynı türevin seri içerisinde en yüksek analjezik aktiviteye sahip bileşik olduğu belirtilmiştir (Şekil 2.68).



Şekil 2.68. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 3-[(5-metil-2-benzoksazolinon-3-il)metil]-4-sübstitüe-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

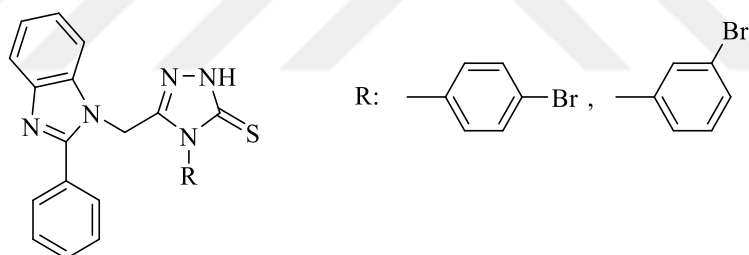
Joanna ve arkadaşları (167) 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada antinosiseptif aktivite göstermesini bekledikleri 3-(4-klorofenil)-1-(morfolin-4-ilmetil)-4-sübstitüe-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısında bir seri bileşik sentezlemiş, sıcak plaka testi ve kıvranma testi kullanarak bileşiklerin aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmada dört numaralı konumda sübstitüent olarak 2,4-dikloro fenil ve 4-kloro-(3-triflorometil)fenil taşıyan türevlerin, farelerin lokomotor aktivitesini baskıladığı ve 10 mg/kg dozda antiinflamatuvar aktivite gösterdiği, 4-bromofenil taşıyan türevin ise sıcak plaka ve kıvranma testinde güçlü, doza bağlı ve uzun süreli antinosiseptif etki gösterdiği bildirilmiştir (Şekil 2.69).



Şekil 2.69. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 3-(4-klorofenil)-1-(morfolin-4-ilmetil)-4-sübstitüe-1H-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

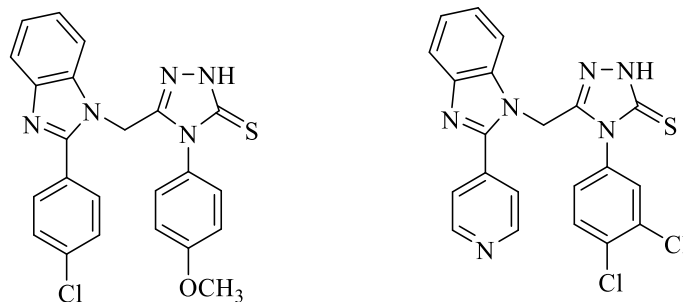
Antioksidan Aktiviteleri

Kuş ve arkadaşları (168) 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada 3-(2-fenilbenzimidazol-1-il-metil)-4-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısında bir dizi bileşik sentezlemiş ve NADPH-bağımlı lipid peroksidasyon deneyi ile antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Araştırmacılar bu çalışma sonucunda dört numaralı konumda *p*-bromofenil ve *m*-bromofenil sübstitüenti taşıyan bileşiklerin karaciğer lipid peroksidasyon seviyeleri üzerinde sırasıyla % 65 ve % 62 inhibitör aktiviteye sahip olduğunu ve pozitif kontrol olarak kullanılan bütilhidroksitoluen (% 65) ile eşit aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (**Şekil 2.70**).



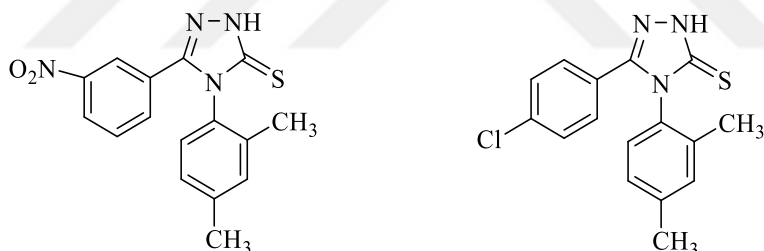
Şekil 2.70. Antioksidan etkili 3-(2-fenilbenzimidazol-1-il-metil)-4-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

Ayhan-Kılıçgil ve arkadaşları (169) 2005 yılında yaptıkları çalışmada üç numaralı konumda benzimidazol halkası taşıyan 1,2,4-triazol-5-tiyon türevlerini sentezlemiş ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme kapasitesi tekniği ile antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Araştırmacılar seri içerisindeki en aktif bileşikler olan 3-(2-(4-klorofenil)benzimidazol-1-il-metil)-4-metoksifenil-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 3-(2-(4-piridil)benzimidazol-1-il-metil)-4-(3,4-diklorofenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin IC₅₀ değerlerinin sırasıyla $5,4 \times 10^{-5}$ M ve $1,1 \times 10^{-4}$ M olduğunu, bu değerlerin standart olarak kullanılan bütilhidroksitoluenin IC₅₀ değerinden daha düşük olduğunu belirtmişlerdir (**Şekil 2.71**).



Şekil 2.71. Antioksidan etkili 3-(2-(4-klorofenil)benzimidazol-1-il-metil)-4-metoksifenil-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 3-(2-(4-piridil)benzimidazol-1-il-metil)-4-(3,4-diklorofenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

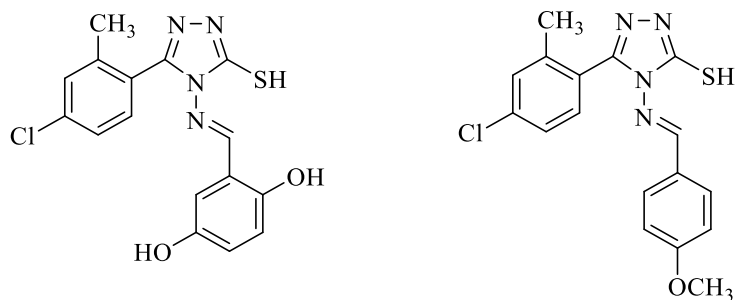
Khan ve arkadaşları (170) 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada 3,4-diaril-1,2,4-triazol-5-tiyon türevi bir dizi bileşik sentezlemiş ve DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemini kullanarak antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Aktivite çalışmaları sonucunda 3-(4-klorofenil)-4-(2,4-dimetilfenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 4-(2,4-dimetilfenil)-3-(3-nitrofenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin sırasıyla $292,38 \pm 1,60 \mu\text{M}$ ve $242,49 \pm 3,64 \mu\text{M}$ IC_{50} değerleri ile dikkat çekici antioksidan aktivite sergilediği belirtilmiştir (Şekil 2.72).



Şekil 2.72. Antioksidan etkili 4-(2,4-dimetilfenil)-3-(3-nitrofenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 3-(4-klorofenil)-4-(2,4-dimetilfenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

Aswathanarayanappa ve arkadaşları (171) 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada 1,2,4-triazol-5-tiyol halkası taşıyan bir seri *Schiff* bazı sentezlemiş ve bu bileşiklerin antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Seri içerisindeki 3-(4-kloro-2-metilfenil)-4-(2,5-dihidroksibenzilidenamino)-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşiğinin, eritrositleri hidrojen peroksit kaynaklı hemolize karşı koruduğu, 3-(4-kloro-2-metilfenil)-4-(4-metoksibenzilidenamino)-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşiğinin ise lipid peroksidasyonunu güçlü bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca bu iki bileşiğin DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemi kullanılarak yapılan aktivite testlerinde

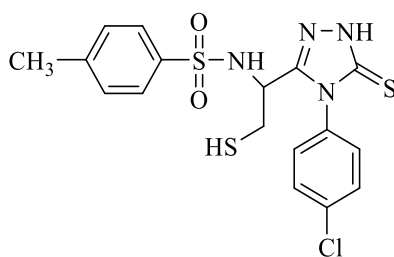
sırasıyla % 89,2 ve % 86,8 inhibisyon değerleri ile güçlü antioksidan aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (**Şekil 2.73**).



Şekil 2.73. Antioksidan etkili 3-(4-kloro-2-metilfenil)-4-(2,5-dihidroksibenziliden amino)-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol ve 3-(4-kloro-2-metilfenil)-4-(4-metoksi benzilidenamino)-4*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol bileşikleri.

Antiviral Aktiviteleri

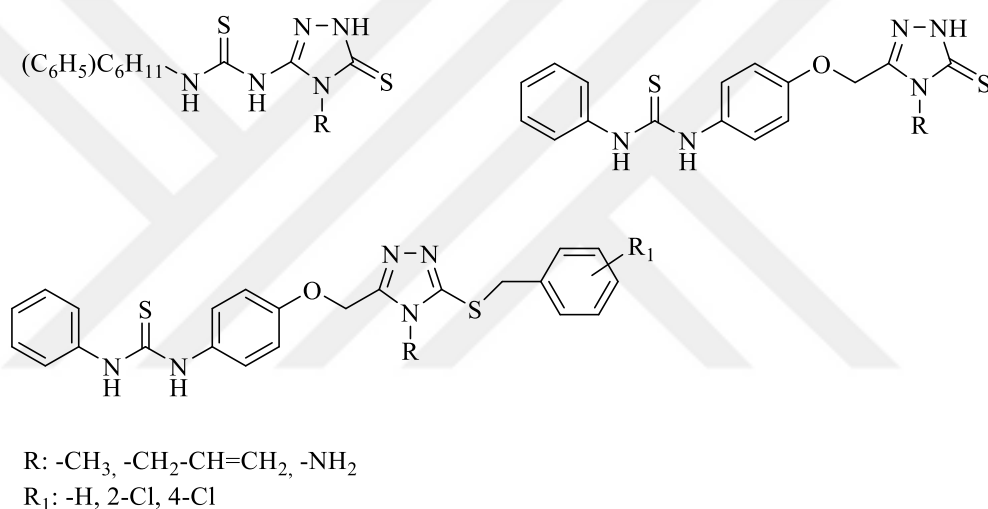
Akhtar ve arkadaşları (172) 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada 3-süstitüe-4-(4-klorofenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon türevi bir seri bileşik sentezleyerek MT-4 hücrelerinde HIV-1 (IIIB), HIV-2 (ROD), HSV-2, Influenza A H3N2 ve Influenza B virüslerine karşı antiviral aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda 4-(4-klorofenil)-3-[2-merkapt-1-(4-toluensülfonilamino)etil]-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiğinin bileşiğinin HIV-1 (IIIB) ve HIV-2 (ROD)'ye karşı sırasıyla 23,9 µg/mL ve 9,9 µg/mL EC₅₀ değerleri ile güçlü aktivite gösterdiği bildirilmiştir (**Şekil 2.74**).



Şekil 2.74. Antiviral etkili 4-(4-klorofenil)-3-[2-merkapt-1-(4-toluen sülfonilamino) etil]-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon.

Küçükgülzel ve arkadaşları (173,174) yaptıkları çalışmada 3-[(4-aminofenoksi)metil]-4-süstitüe-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon türevlerinden hareketle bir seri tiyoüre bileşiği sentezleyerek T-lenfosit (MT-4) hücrelerinde Herpes Simplex Virüs-1 (HSV-1), Herpes Simplex Virüs-2 (HSV-2), HIV-1 (IIIB) ve HIV-2 (ROD)suşlarına karşı *in vitro* antiviral aktivitelerini incelemişlerdir. Araştırmacılar

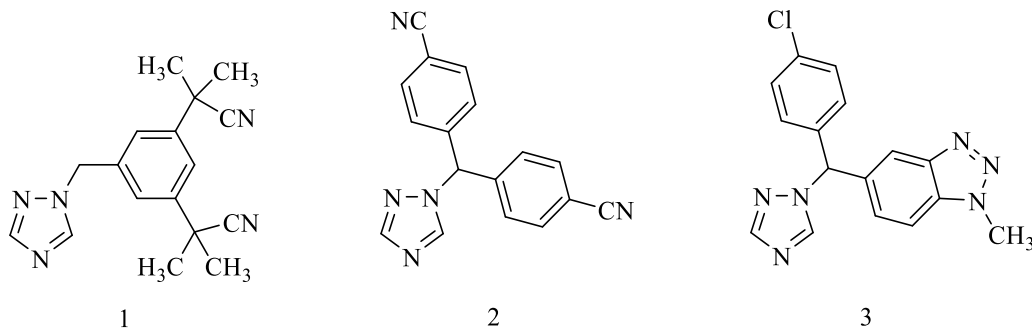
aktivite testleri sonucunda sentezlenen bileşiklerin HIV-1 (IIIB) ve HIV-2 (ROD)'ye karşı aktif olmadığını, HSV-1 ve HSV-2'ye karşı ise zayıf aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Bunun üzerine daha aktif türevler elde etmek amacıyla bileşiklerin tasarımında değişiklik yapan araştırmacılar 1-[4-[(5-(benziltiyo)-4-sübstitüe-1,2,4-triazol-3-il)metoksi]fenil]-3-feniltiyoüre yapısında yeni bir dizi bileşik sentezleyerek çeşitli virüs suşlarına karşı antiviral aktivitelerini incelemişlerdir. Yeni çalışmanın sonuçlarında triazol halkasının dört numaralı konumundaki azot atomu üzerinde allil grubu taşıyan türevin *Coxsackie* virüsüne karşı orta düzeyde koruma gösterdiği, *Varisella-zoster* virüsüne (TKş VZV, OKA suşu) karşı ise 9,9 mg/mL EC₅₀ değeri ile iyi aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Şekil 2.75).



Şekil 2.75. Antiviral etkili çeşitli 1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

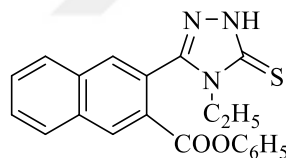
Antikanser Aktiviteleri

Günümüzde yapısında 1,2,4-triazol halka sistemi taşıyan anastrozol (1), letrozol (2) ve vorozol (3) gibi ilaçlar halen meme kanseri tedavisinde kullanılmaktadır (Şekil 2.76). Bu nedenle antikanser aktivite göstermesi beklenen yeni ilaç adayı bileşiklerin tasarımında triazol halka sistemi oldukça yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Bunun sonucu olarak literatürde süstitüe 1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin antikanser aktivitesi üzerine yapılan birçok araştırma bulunmaktadır.



Şekil 2.76. Anastrozol (1), letrozol (2) ve vorozol (3) bileşiklerinin yapıları.

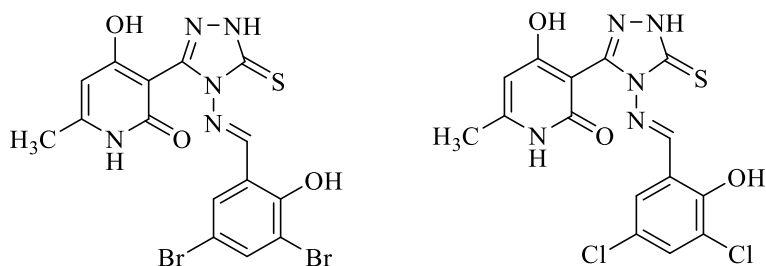
Duran ve arkadaşları (175) 2002 yılında yaptıkları bir çalışmada 1,4-dihidro-3-(3-hidroksi-2-naftil)-4-süstitüe-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısında bir seri yeni bileşik sentezleyerek antikanser etkisini incelemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerden 1,4-dihidro-3-(3-fenoksikarbonil-2-naftil)-4-etil-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiği Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından seçilerek böbrek, deri, lösemi, meme, küçük hücreli olmayan akciğer, kolon, prostat, sinir sistemi ve yumurtalık kanser hücre hat tiplerinde toplam 52 insan tümör hücre hattına karşı aktivitesi incelenmiş ve bileşiğin çeşitli hücre hatlarında yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Şekil 2.77).



Şekil 2.77. Antikanser etkili 1,4-dihidro-3-(3-fenoksikarbonil-2-naftil)-4-etil-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiği.

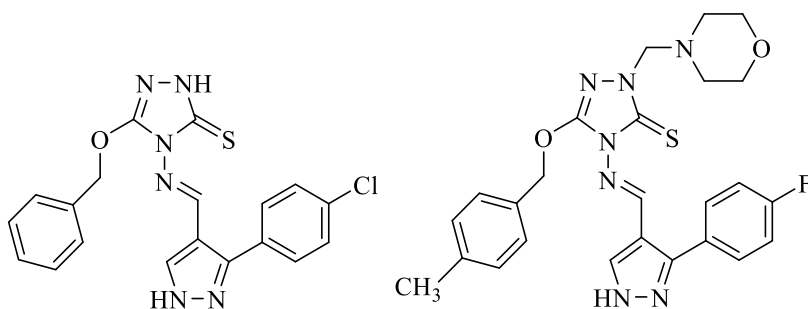
Yang ve Pan (176) 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada 3-[(4-hidroksi-6-metil-1*H*-2-piridinon)-3-il]-4-arilidenamino-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon yapısında bir grup *Schiff* bazı sentezlemiş ve antikanser aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmada insan hepatoselüler karsinom hücre hattı (Bel-7402) ve ağız epidermal kanser hücre hattı (KB) için Sülförödamın B (SRB) yöntemi, insan promiyelositik lösemi hücre hattı (HL-60) ve insan mide kanseri hücre hattı (BGC-823) için 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) yöntemi kullanılmıştır. Araştırmacılar triazol halkasının dört numaralı konumunda (2-hidroksi-3,5-dibromofenil)metilidenamino ve (2-hidroksi-3,5-diklorofenil)metilidenamino içeren türevlerin bütün hücre hatlarına karşı oldukça etkili olduğu ve fenil halkasının meta

konumunda brom ve klor gibi elektron çekici gruplar bulunmasının aktiviteyi artırdığını belirtmişlerdir (Şekil 2.78).



Şekil 2.78. Antikanser etkili 3-[(4-hidroksi-6-metil-1H-2-piridinon)-3-il]-4-arilidenamino-1H-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

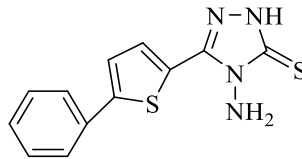
Sunil ve arkadaşları (177) 2011 yılında 3-süstitüe-4-amino-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinden hareketle yine bir dizi *Schiff* ve *Mannich* bazı sentezleyerek antikanser aktivitelerini incelemişlerdir. Bileşikler MTT testi kullanılarak insan hepatoselüler karaciğer karsinom hücre hattına (HepG2) karşı sitotoksik aktiviteleri açısından taranmış, çalışma sonunda 3-(benziloksi)-4-[[3-(4-klorofenil)-1H-pirazol-4-il]metiliden]amino]-1,2,4-triazol-5-tiyon (IC₅₀: 0,050 g/L) ve 4-[[3-(4-fluorofenil)-1H-pirazol-4-il]metiliden]amino]-3-((4-metilbenzil)oksi)-1-(morfolinometil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (IC₅₀: 0,017 g/L) bileşiklerinin standart olarak kullanılan doksorubisin (IC₅₀: 0,017 g/L) ile karşılaştırılabilir aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Şekil 2.79).



Şekil 2.79. Antikanser etkili 3-(benziloksi)-4-[[3-(4-klorofenil)-1H-pirazol-4-il]metiliden]amino]-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 4-[[3-(4-fluorofenil)-1H-pirazol-4-il]metiliden]amino]-3-((4-metilbenzil)oksi)-1-(morfolino metil)-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri.

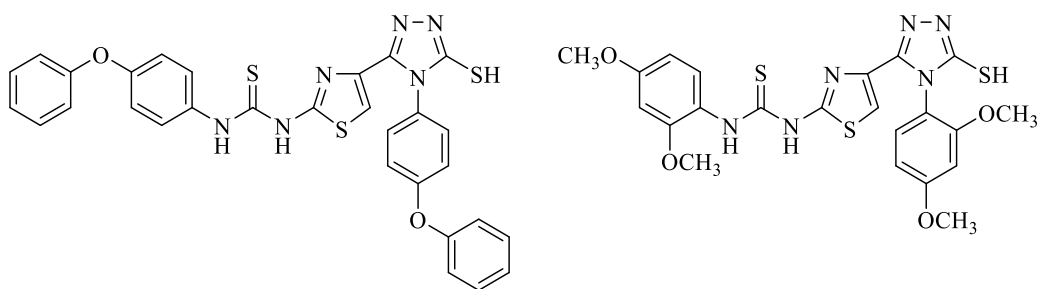
Mavrova ve arkadaşları (178) tarafından 2009 yılında 3,4-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon türevi bir seri yeni bileşik sentezlenmiş ve timosit hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir. Seride en aktif türev olan 4-amino-3-(5-feniltiyen-

2-il)-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiğinin 0,012 μM IC_{50} değeri ile dikkat çekici sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (**Şekil 2.80**).



Şekil 2.80. Antikanser etkili 4-amino-3-(5-feniltiyen-2-il)-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiği.

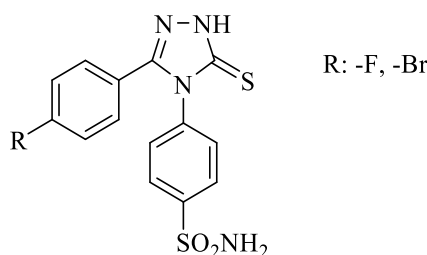
Hassan ve arkadaşları (179) 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada 3-(2-süstitüe tiyoüroidotiyazol-4-il)-4-süstitüe-1*H*-1,2,4-triazol-5-tiyol yapısında bir dizi bileşik sentezleyerek; bileşiklerin sitotoksik aktivitelerini HepG2, MCF7, kolon karsinoma hücre hattı (HCT116) ve akciğer kanser hücre hatlarına (A549) karşı MTT testi ile incelemişlerdir. Çalışma sonunda 1-[4-(5-merkapt-4-(4-fenoksifenil-1,2,4-triazol-3-il)tiyazol-2-il]-3-(4-fenoksifenil)tiyoüre bileşiğinin HCT116 ve MCF7 hücre hatlarına karşı sırasıyla LC_{50} : 23,5 μM ve 17,4 μM aktivite sergilediği, bu değerlerin standart olarak kullanılan doksorubisin ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada bileşiklerin dihidrofolat redüktaz enzim inhibisyonu aktiviteleri de incelenmiş, en aktif bileşik olarak bulunan 1-(2,4-dimetoksifenil)-3-[4-[4-(2,4-dimetoksifenil)-5-merkapt-1,2,4-triazol-3-il]tiyazol-2-il]tiyoüre bileşiğinin 0,03 μM IC_{50} değeriyle standart olarak kullanılan metotreksattan (IC_{50} : 0,08 μM) 2,7 kat daha aktif bulunduğu bildirilmiştir (**Şekil 2.81**).



Şekil 2.81. Antikanser etkili 1-[4-(5-merkapt-4-(4-fenoksifenil-1,2,4-triazol-3-il)tiyazol-2-il]-3-(4-fenoksifenil)tiyoüre ve 1-(2,4-dimetoksifenil)-3-[4-[4-(2,4-dimetoksifenil)-5-merkapt-1,2,4-triazol-3-il]tiyazol-2-il]tiyoüre bileşikler.

Sitaram ve arkadaşları (180) sentezledikleri bir grup benzensülfonamid grubu taşıyan 1,2,4-triazol-5-tiyon türevi bileşiğin karbonik anhidraz enziminin dört

izozimine (hCA I, II, IX ve XII) karşı aktivitelerini incelemişlerdir. Seride en aktif bulunan 4-[3-(4-florofenil)-5-tiyokso-1,5-dihidro-4*H*-1,2,4-triazol-4-il]benzen_sülfonamit ve 4-[3-(4-bromofenil)-5-tiyokso-1,5-dihidro-4*H*-1,2,4-triazol-4-il]benzen_sülfonamit bileşiklerinin söz konusu dört izozimin hepsine karşı standart bileşik asetazolamitten daha iyi inhibitör aktivite gösterdiği bildirilmiştir (**Şekil 2.82**).



Şekil 2.82. Antikanser etkili 4-[3-(4-florofenil)-5-tiyokso-1,5-dihidro-4*H*-1,2,4-triazol-4-il]benzen_sülfonamit ve 4-[3-(4-bromofenil)-5-tiyokso-1,5-dihidro-4*H*-1,2,4-triazol-4-il]benzen_sülfonamit bileşikleri.

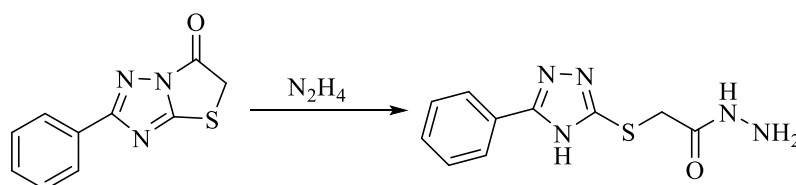
2.2. Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-onlar

2.2.1. Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-onların Sentez Yöntemleri

Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiklerinin sentez yöntemleri 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin “Kimyasal Özellikleri” başlığında incelendiği için bu bölümde tekrar ele alınmamıştır (bkz. sayfa 16).

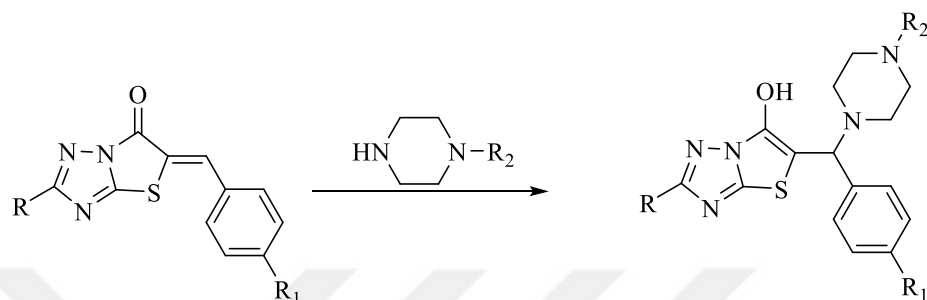
2.2.2. Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-onların Kimyasal Özellikleri

2-Fenil-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiğinin hidrazin hidrat ile ısıtılması sonucunda kondanse halkanın açıldığı ve 2-[(3-fenil-4*H*-1,2,4-triazol-5-il)tiyo]asetohidrazid bileşiğinin elde edildiği bildirilmiştir (**Şekil 2.83**) (107).



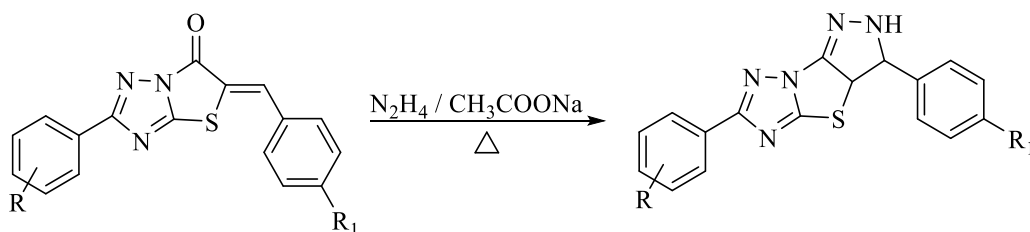
Şekil 2.83. 2-Fenil-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiğinin hidrazin hidrat ile reaksiyonu.

Tozkoparan ve arkadaşları (99,181,182) 2-sübstitüe-5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevi bileşiklerin kuru tetrahidrofuran içerisinde çeşitli piperazinler ile reaksiyonu sonucu *Michael katım reaksiyonu* ürünü 2-sübstitüe-5-(α -aminobenzil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-ol türevlerini elde ettiklerini bildirmişlerdir (Şekil 2.84).



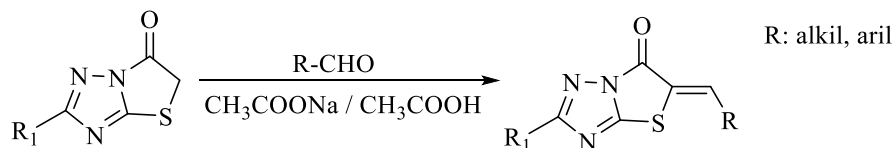
Şekil 2.84. 2-sübstitüe-5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiklerinin çeşitli piperazinler ile *Michael katım reaksiyonu*.

Mohan ve Kumar (183) 2-sübstitüe fenil-5-sübstitüe benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on yapısındaki bileşikleri etanol ve DMF içerisinde sodyum asetat varlığında hidrazin hidrat ile ısıtarak 3,6-(disübstitüe fenil)-3,3a-dihidro-2*H*-pirazolo[3',4':4,5]tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol yapısına sahip bileşikleri elde etmişlerdir (Şekil 2.85).



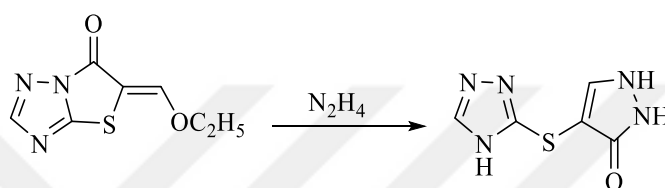
Şekil 2.85. 2-Sübstitüe fenil-5-sübstitüe benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on yapısındaki bileşiklerin sodyum asetat varlığında hidrazin hidrat ile reaksiyonu.

Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on yapısına sahip bileşiklerin sodyum asetat ve asetik asit varlığında alifatik/aromatik aldehitlerle ısıtılması sonucunda 5-sübstitüe metiliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevi bileşikler elde edilmektedir (Şekil 2.86) (184).



Şekil 2.86. Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiklerinin asidik ortamda aldehitlerle reaksiyonu.

Holota ve arkadaşları (185) 5-etoksimetiliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiğini etanol içerisinde hidrazin hidrat ile ısıtarak 4-[(4*H*-1,2,4-triazol-3-il)tiyo]-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-on bileşiğini elde etmişlerdir (**Şekil 2.87**).



Şekil 2.87. 5-Etoksimetilen-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiğinin hidrazin hidrat ile reaksiyonu.

2.2.3. Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-onların Spektral Özellikleri

IR Spektrumları

Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on yapısındaki bileşiklerin potasyum bromür ile alınan IR spektrumlarında başlangıç maddesinde görülen N-H ve C=S veya S-H titreşimleri gözlenmezken, 1766-1724 cm⁻¹ aralığında laktam karboniline ait C=O gerilim titreşimleri (44,68,186), 1654-1578 cm⁻¹ aralığında C=N gerilim titreşimleri (44,68,186,187) ve 816-754 cm⁻¹ aralığında C-S-C gerilim titreşimleri (188) görülmektedir.

¹H-NMR Spektrumları

Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on halka sistemi yapısında proton taşımadığı için ¹H-NMR spektrumunda bu yapıyı doğrulayacak herhangi bir pik görülmemektedir. Yapısında bu halka sistemini taşıyan bileşikler 3 ve 5 numaralı konuma getirilen sübstitüentlere bağlı olarak ¹H-NMR spektrumunda karakteristik pikler gösterirler. 5-Sübstitüebenzilidentiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on yapısındaki bileşiklerin spektrumlarında 5 numaralı konumdaki benzilik proton 1H

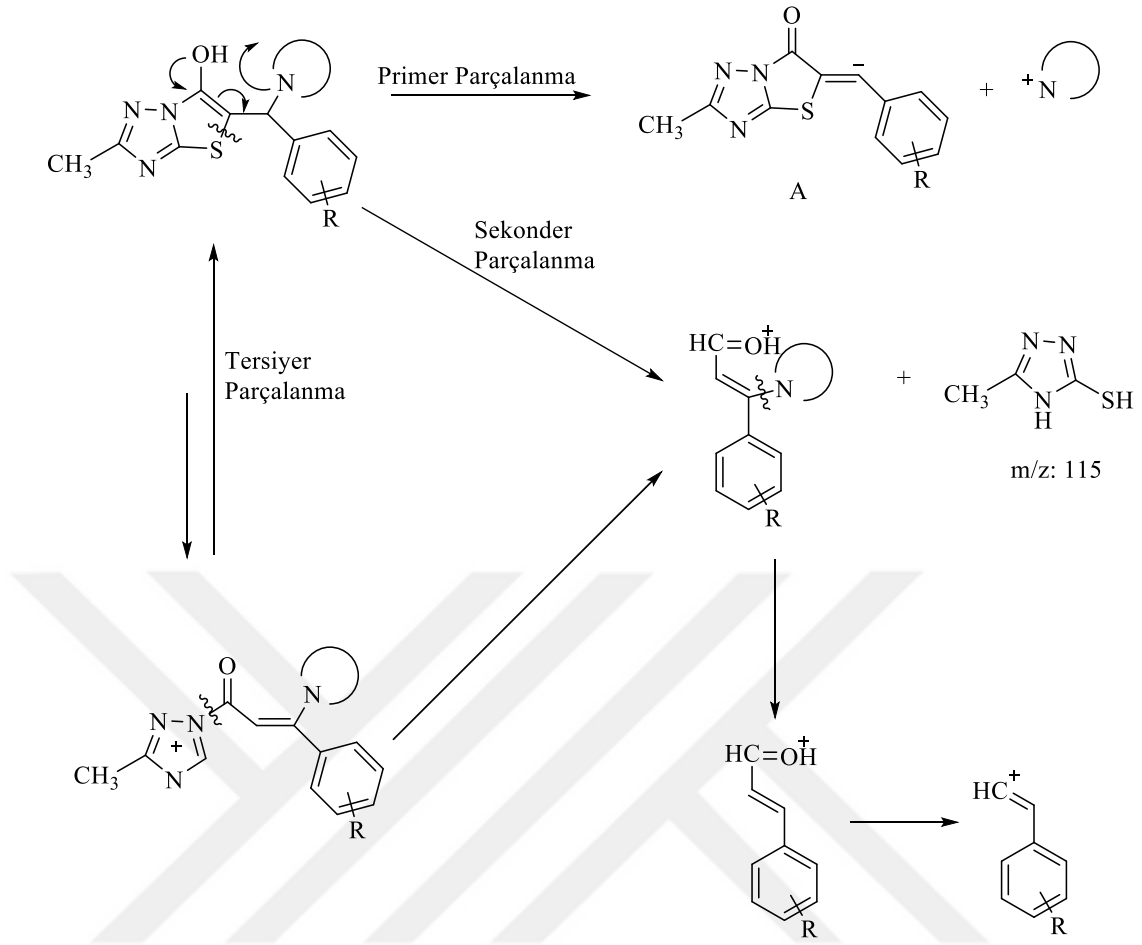
integrasyonunda δ 8,02-8,50 ppm aralıklarında singlet olarak gözlenmektedir (44,186,189).

¹³C-NMR Spektrumları

Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on yapısındaki bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumlarında 150,20-160,66 ppm arasında C=N ve 159,91-176,93 ppm arasında C=O pikleri görülmektedir. 5 Numaralı konumdaki benzilik karbon atomu ise 136,65-148,13 ppm aralıklarında gözlenmektedir (44,68,184,186,189).

Kütle Spektrumları

Tozkoparan ve arkadaşları (190) 2-metil-5- α -aminobenzil-6-hidroksi-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol yapısındaki bileşiklerin kütle spektrumlarını elektron iyonizasyon yöntemi ile almış, bileşiklerin moleküler iyon piklerini ve muhtemel parçalanma ürünlerini tespit etmişlerdir. Buna göre spektrumlardaki temel piki primer parçalanma sonucunda oluşan parçalanma ürünlerinden biri ya da amin grubunun sekonder parçalanması sonucu oluşan bileşikler oluşturmaktadır. Aminin yapıdan kopması ile oluşan bileşiğin kütlesi (A), A+H ya da A-H olarak da görülebilmektedir. Sekonder parçalanma sonucunda spektrumda 3-metil-1,2,4-triazol-5-tiyol ve benziliden pikleri gözlenirken, tersiyer parçalanma sonucunda da benziliden grubuna ait pik gözlenmiştir (Şekil 2.88).



Şekil 2.88. 2-Metil-5-α-aminobenzil-6-hidroksi-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşiğinin kütle spektrumundaki parçalanma yolları.

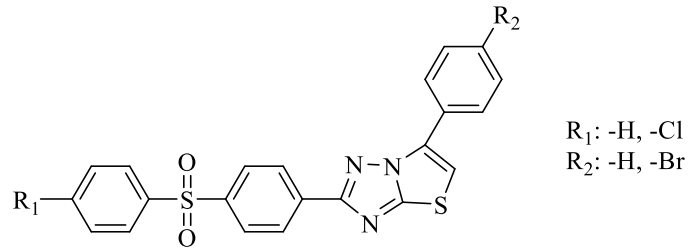
2.2.4. Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-onların Biyolojik Özellikleri

2,5-Disüstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-onlar medisinal kimya alanında önemi kanıtlanmış ve birçok farmakolojik etki çalışmasına konu olmuş kondanse heterosiklik bileşiklerdir. Literatürde söz konusu yapıya sahip bileşiklerin antibakteriyel, antifungal, antikonvülsan, analjezik-antiinflamatuvar, antioksidan ve antikanser aktiviteleri üzerine yapılmış araştırmalar bulunmaktadır.

Antibakteriyel Aktiviteleri

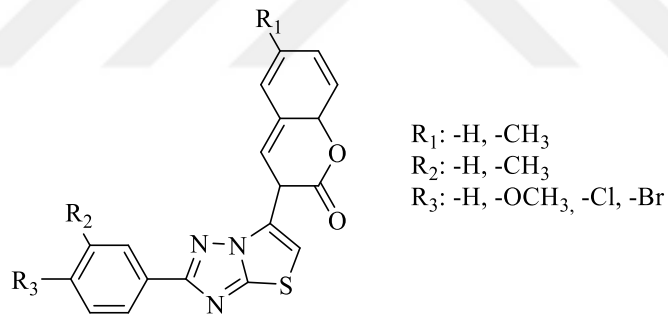
Barbuceanu ve arkadaşları (104) sentezini yaptıkları yapısında difenilsülfon grubu taşıyan bir grup tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol türevi bileşiğin *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. Aureus*'a karşı antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda sentezlenen bileşiklerin standart olarak kullanılan ampisilin ve

tetrasikline göre düşük aktivite gösterdiği, gözlenen bu düşük aktivitenin ise difenilsülfon grubundan kaynaklandığı belirtilmiştir (Şekil 2.89).



Şekil 2.89. Antibakteriyel etkili çeşitli tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşikleri.

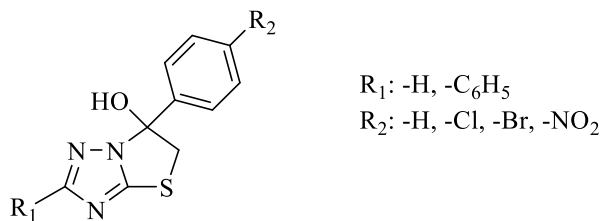
Jakhar ve Makrandi (191) 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada altı numaralı konumunda süstitüe kumarin halkası taşıyan bir seri tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol türevi bileşik sentezleyerek *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. typhii* ve *P. aeruginosa* 'ya karşı antibakteriyel aktivitelerini hendek difüzyonu (ditch diffusion) yöntemi ile incelemişlerdir. Yapılan aktivite çalışmaları sonucunda bileşiklerin düşük antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Şekil 2.90).



Şekil 2.90. Antibakteriyel etkili kumarin halkası taşıyan bir seri tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşikleri.

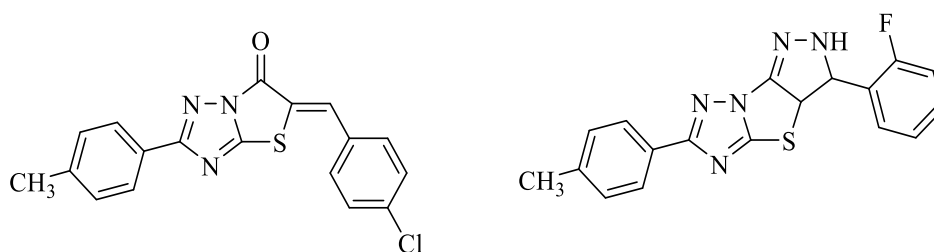
Antifungal Aktivitesi

Demir-Erol ve arkadaşları (187) sentezledikleri bir grup 2,6-disüstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol yapısında bileşiğin antifungal aktivitelerini çeşitli *Candida* suşlarına karşı incelemiş ve bileşiklerin zayıf antifungal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Şekil 2.91).



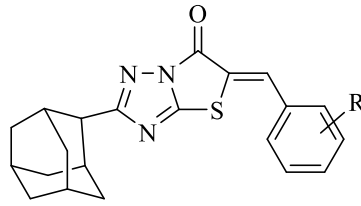
Şekil 2.91. Antifungal etkili 2,6-disüstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşikleri.

Seelam ve arkadaşları (192) 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada 2,5-disüstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on ve 3,6-disüstitüe-pirazolo[3',4':4,5]tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol yapısında iki farklı bileşik grubu sentezleyerek *C. albicans*, *A. fumigatus*, *Bortaris fabae* ve *Fusarium oxysporam*'a karşı antifungal aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda en aktif türev olarak bulunan 5-(4-klorobenziliden)-2-(4-metilfenil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on ve 3-(2-fluorofenil)-6-(4-metilfenil)-3,3a-dihidro-2*H*-pirazolo[3',4':4,5]tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşiklerinin *C. albicans*'a karşı 3,125 µg/mL MİK değeri ile standart olarak kullanılan triflukan ile eşdeğer aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Sentezlenen diğer bileşiklerin tüm suşlara karşı orta ile iyi arasında değişen aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (**Şekil 2.92**).



Şekil 2.92. Antifungal etkili 5-(4-klorobenziliden)-2-(4-metilfenil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on ve 3-(2-fluorofenil)-6-(4-metilfenil)-3,3a-dihidro-2*H*-pirazolo[3',4':4,5]tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşikleri.

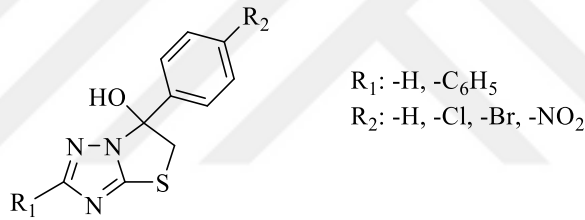
Tratrat ve arkadaşları (186) 2018 yılında sentezini gerçekleştirdikleri bir grup 5-benziliden-2-adamantiltiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on yapısında bileşiklerin *C. Albicans*, *A. versicolor*, *A. ochraceus* ve *Aspergillus fumigatus*'a karşı antifungal aktivitelerini incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda tüm bileşiklerin 3,67–34,6 x 10⁻² µmol/mL arasında değişen MİK değerleri ile standart olarak kullanılan ketokonazolden daha iyi aktivite gösterdiği ve bu halka sisteminin *A. fumigatus* ve *C. albicans* için farmakofor grup olabileceği belirtilmiştir (**Şekil 2.93**).



Şekil 2.93. Antifungal etkili 5-benziliden-2-adamantiltiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiklerinin genel yapısı.

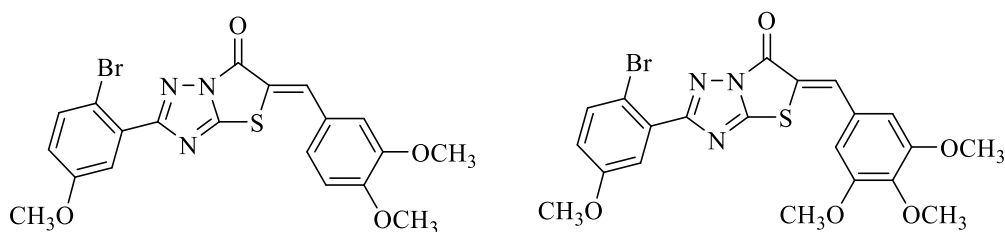
Antikonvülsan Aktiviteleri

Demir-Erol ve arkadaşları (187) 1995 yılında yaptıkları bir çalışmada 2,6-disübstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol yapısına sahip bir dizi bileşik sentezlemiş, pentilen tetrazol kaynaklı nöbet (ScMet) ve MES testi ile antikonvülsan aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda sentezlenen bileşiklerin 300 mg/kg dozda orta ile iyi arasında değişen aktivite gösterdiği bildirilmiştir (**Şekil 2.94**).



Şekil 2.94. Antikonvülsan etkili 2,6-disübstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşikleri.

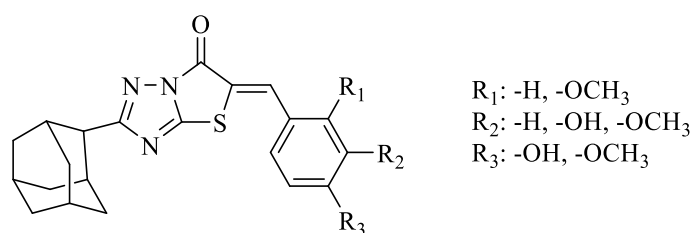
Raj ve Narayana (193) 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada iki ve beş numaralı konumlarında fenil sübstitüe bir seri tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşiği sentezlemiş ve PTZ testi ile antikonvülsan aktivitelerini incelemişlerdir. Araştırmacılar çalışma sonunda bileşiklerin fenil grupları üzerinde metoksi sübstitüentlerinin bulunmasının antikonvülsan aktiviteyi artırdığını, en aktif bulunan türev olan 2-(2-bromo-5-metoksifenil)-5-(3,4-dimetoksibenziliden)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on ve 2-(2-bromo-5-metoksifenil)-5-(3,4,5-trimetoksi_ benziliden) tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiklerinin 4 mg/kg dozda nöbet süresinde önemli bir azalma göstererek umut verici antikonvülsan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir (**Şekil 2.95**).



Şekil 2.95. Antikonvülsan etkili 2-(2-bromo-5-metoksifenil)-5-(3,4-dimetoksi benziliden)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on ve 2-(2-bromo-5-metoksifenil)-5-(3,4,5-trimetoksibenziliden)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşikleri.

Antioksidan Aktiviteleri

Djukic ve arkadaşları (194) 2018 yılında yaptıkları bir çalışmada 2-adamantil-5-süstitüe benzilidentiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on yapısına sahip bir seri bileşik sentezlemiş, DPPH testi, demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan güç yöntemi (FRAP) ve tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) testi ile antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda beş numaralı konumda 4-metoksi ve 4-hidroksi-3-metoksibenziliden taşıyan bileşiklerinin standart olarak kullanılan C ve E vitaminleri ile eşit aktivite gösterdiği ve bileşiklerin yapısında metoksi süstitüentlerinin bulunmasının antioksidan aktiviteyi artırdığı bildirilmiştir (Şekil 2.96).

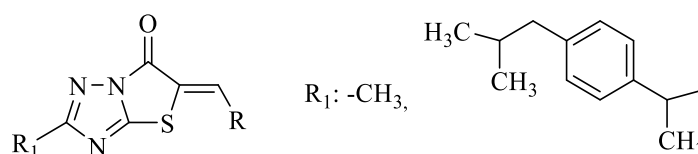


Şekil 2.96. Antioksidan etkili 2-adamantil-5-süstitüe benzilidentiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşikleri.

Analjezik-Antiinflamatuvar Aktiviteleri

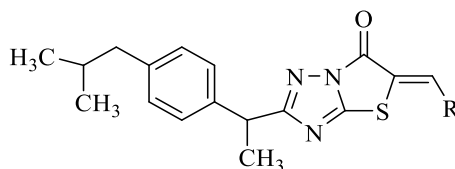
Tozkoparan ve arkadaşları (68) 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada ibuprofenden hareketle 5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevi bir seri bileşik sentezlemiş ve farelerde karagenin ile indüklenen pençe ödemi testi ile antiinflamatuvar aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda beş numaralı konumunda benziliden ve 4-klorobenziliden süstitüentleri taşıyan türevlerin iyi

antiinflamatuvar aktivite gösterdiği ve bileşiklerin 200 mg/kg dozda mide toksisitesi açısından güvenli olduğu bildirilmiştir. Tozkoaran (46) tarafından 2001 yılında iki numaralı konumunda ibuprofen yerine metil sübstitüenti taşıyan tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevi bir dizi bileşik de sentezlenmiş ancak çalışma sonunda bileşiklerin düşük antiinflamatuvar aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (**Şekil 2.97**).



Şekil 2.97. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşikleri.

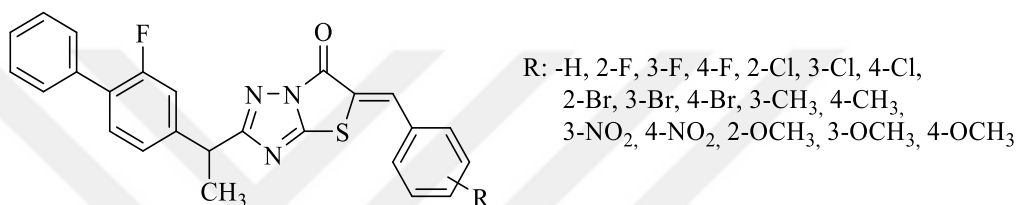
Farklı bir grup araştırmacı ibuprofenden hareketle sentezlenen bileşiklerin devamı niteliğinde olan bir başka çalışmada, sentezledikleri yeni bir seri bileşiğin antiinflamatuvar-analjezik aktivitelerini *in vivo* karagenin ile indüklenen pençe ödemi testi, sıcak plaka (hot plate) ve kuyruk çekme (tail flick) testleri ile incelemişlerdir. Buna göre, karagenin ile indüklenen pençe ödemi testi sonucunda bileşiklerin orta ila yüksek arasında değişen antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu, sıcak plaka ve kuyruk çekme testleri sonucunda ise sübstituent olarak 1-metilpirol, 2-metiltiyofen ve bifenil grupları taşıyan türevlerin 50 mg/kg dozda standart ibuprofen ile eşit analjezik aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca çalışmada bileşiklerin ülserojenik riskleri de değerlendirilmiş ve bileşiklerin tamamının standart olarak kullanılan ibuprofen ve indometasinden daha düşük ülserojenik risk taşıdığı, özellikle altı numaralı konumunda 3-fenil-2-propeniliden, (bifenil-4-il)metiliden ve (1-metilpirol-2-il)metiliden taşıyan türevlerin hiç ülserojenik risk göstermediği belirtilmiştir (**Şekil 2.98**) (44).



Şekil 2.98. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşikleri.

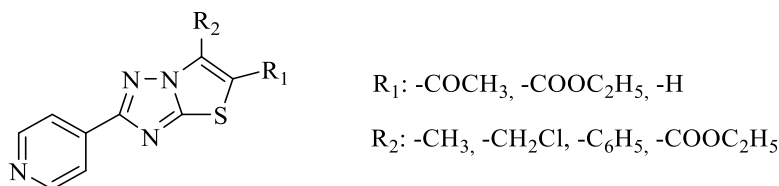
Doğdaş ve arkadaşları (45) benzer halka kapama reaksiyonunu flurbiprofene de uygulamış ve flurbiprofenden hareketle bir dizi 5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-

triazol-6(5*H*)-on türevi bileşikler sentezleyerek bileşiklerin *in vivo* analjezik ve antiinflamatuvar aktivitelerini incelemişlerdir. Bileşiklerin antiinflamatuvar aktiviteleri karagenin ile indüklenen pençe ödemi testi ile, analjezik aktiviteleri ise p-benzokinon (PBQ) ile indüklenen kıvrınma testi ile 100 mg/kg dozda belirlenmiştir. Çalışma sonunda benziliden halkası üzerinde flor süstitüenti taşıyan türevlerin iyi aktivite gösterdiği, brom taşıyan türevlerin ise yüksek ülserojenik risk gösterdiği belirtilmiştir. Sentezlenen bileşikler içerisinde 2-[1-(2-floro-[1,1'-bifenil]-4-il)etil]-5-(4-florobenziliden)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiği yüksek analjezik ve antiinflamatuvar aktivitesiyle dikkat çekmiştir (**Şekil 2.99**).



Şekil 2.99. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşikleri.

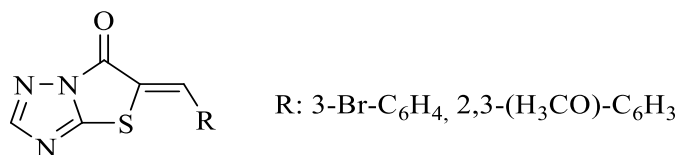
Toma ve arkadaşları (195) 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada; triazol-tiyol ve çeşitli asetofenon bileşiklerinden hareketle 2-(piridin-4-il)-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazollerini sentezleyerek analjezik-antiinflamatuvar aktivitelerini incelemiştir. Bileşiklerin analjezik aktiviteleri sıcak plaka testi, antiinflamatuvar aktiviteleri ise karagenin ile indüklenen pençe ödemi testi ile belirlenmiş; buna göre sentezlenen türevlerden beş numaralı konumda metil ve fenil taşıyan türevlerin iyi analjezik ve antiinflamatuvar aktivite sergilediği bulunmuştur (**Şekil 2.100**).



Şekil 2.100. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 2-(2,4-dikloro-5-florofenil)-6-süstitüe fenil-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşiklerinin genel yapısı.

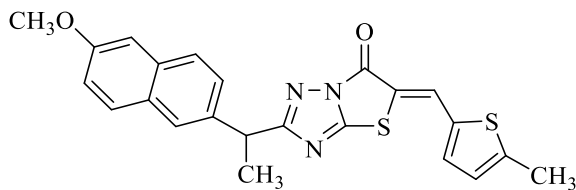
Hu ve arkadaşları (184) 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada bir dizi 5-süstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevi bileşik sentezleyerek antiinflamatuvar aktivitelerini *in vitro* deneyler ile incelemişlerdir. Kurkumin

bileşiğinin standart olarak kullanıldığı çalışmada bileşiklerin birçoğunun TNF- α ve IL-6'yı % 50 ila 87 arasında güçlü bir şekilde inhibe ederek yüksek antiinflamatuvar aktivite ve düşük toksisite gösterdiği bildirilmiştir (**Şekil 2.101**).



Şekil 2.101. Analjezik-antiinflamatuvar etkili çeşitli 5-süstitüe-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiklerinin genel yapısı.

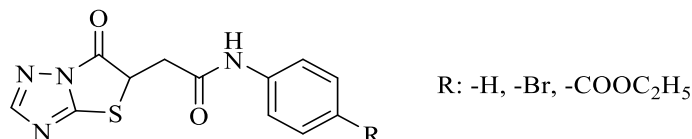
Sarıgöl ve arkadaşlarının (43) 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada naproksenden hareketle bir dizi 5-benziliden-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevi bileşik sentezlenerek bileşikler *in vivo* analjezik ve antiinflamatuvar aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Buna göre tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on halkasının beş numaralı konumunda metilfuran, metiltiyofen, bromotiyofen, bifenil ve 1-naftil süstitüentlerini taşıyan türevlerin yüksek analjezik ve antiinflamatuvar aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Bileşikler ayrıca ülserojenik potansiyelleri açısından test edilmiş ve sentezlenen tüm türevlerin standart olarak kullanılan indometasin ve naproksenden daha düşük ülserojenik risk gösterdiği belirtilmiştir. Çalışmada ayrıca önemli analjezik ve/veya antiinflamatuvar aktivitenin yanısıra düşük ülser skorlarına sahip bazı bileşiklerin siklooksijenaz-1 (COX-1) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimlerini inhibe etme potansiyelleri *in vitro* deneyler ile değerlendirilmiştir. Test edilen bileşikler arasında beş numaralı konumda 5-metiltiyofen taşıyan türevin en seçici COX-2 inhibitörü olduğu bildirilmiştir (COX-1 IC₅₀ > 100 μ M; COX-2 IC₅₀ = 20,5 μ M; SI > 4,87) (**Şekil 2.102**).



Şekil 2.102. Analjezik-antiinflamatuvar etkili 2-[1-(7-metoksinaftalen-3-il-)]etil-5-(5-metiltiyofen-2-il)-tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiği.

Antikanser Aktiviteleri

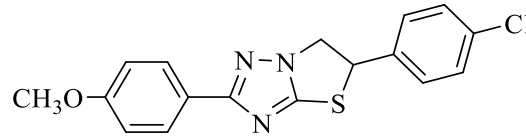
Lesyk ve arkadaşları (189) 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada 5 numaralı konumda *N*-fenil asetamido grubu taşıyan tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevi bir seri bileşik sentezlemiş ve çeşitli kanser hücre hatlarına karşı antikanser aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda nonsüstitüe fenil grubu taşıyan türevin küçük hücreli olmayan akciğer kanser hücre hattı (NCI-H23, logGI₅₀: -6,94), meme kanseri hücre hattı (BT-549, logGI₅₀: -6,47) ve kolon kanseri hücre hattına (SW-620, logGI₅₀: -5,94) karşı dikkat çekici aktivite gösterdiği; fenil grubunun dört numaralı konumunda brom ve etil karboksilat grubu taşıyan türevlerin ise lösemi kanser hücre hattına (RPMI-8226, logGI₅₀: -5,34) karşı güçlü büyüme inhibisyon aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir (**Şekil 2.103**).



Şekil 2.103. Antikanser etkili 5-(*N*-süstitüefenil)asetamidotiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşiği.

El-Sherief ve arkadaşları (196) 2018 yılında yaptıkları bir çalışmada tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol yapısında bir seri bileşik sentezlemiş ve bileşiklerin büyüme inhibisyonu aktivitelerini altmış farklı kanser hücre hattına karşı 10 µM dozda değerlendirmişlerdir. Bu deneyler sonucunda umut verici aktivite gösteren bileşikler MTT testi ile çeşitli hücre hatlarına karşı denenmiş ve dikkat çekici aktiviteye sahip (en düşük IC₅₀ değerine sahip) bileşikler *in vitro* testler ile EGFR ve tübülün polimerizasyon inhibitörü potansiyelleri açısından taranmıştır. Çalışma sonunda 5-(4-klorofenil)-2-(4-metoksifenil)-5,6-dihidrotiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşiğinin 1,5

μM IC_{50} değeri ile umut verici EGFR inhibisyonu gösterdiği belirtilmiştir (**Şekil 2.104**).



Şekil 2.104. Antikanser etkili 5-(4-klorofenil)-2-(4-metoksifenil)-5,6-dihidrotiyazolo [3,2-*b*]-1,2,4-triazol bileşiği.

2.3. Sitotoksik Aktivite (Sitotoksosite) Tayininde Kullanılan Yöntemler

Sitotoksik terimi kelime anlamıyla, hücrelerin yapı ve/veya işleyişinde bir hasara sebep olan veya hücrenin ölümüne yol açan anlamına gelmektedir. Sitotoksosite çalışmaları genellikle kimyasal bir maddenin veya bir etkenin hücreler üzerinde sitotoksik etkisinin olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılır. Sitotoksik etki sonucu hücre ölümü gözlemlenebilir. Kanser tedavisinde, kanserli hücrelerin çeşitli ilaçlar veya radyoterapi gibi uygulamalar ile öldürülmesi tedavinin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Bugün kanser tedavisinde kullanılan birçok antikanser ilaç da etkisini kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etki sonucu hücre ölümüne yol açarak göstermektedir. Hücre ölümü apoptoz, nekroz ve otofaji şeklinde üç farklı mekanizma ile gerçekleşebilmektedir (**Şekil 2.105**) (197).

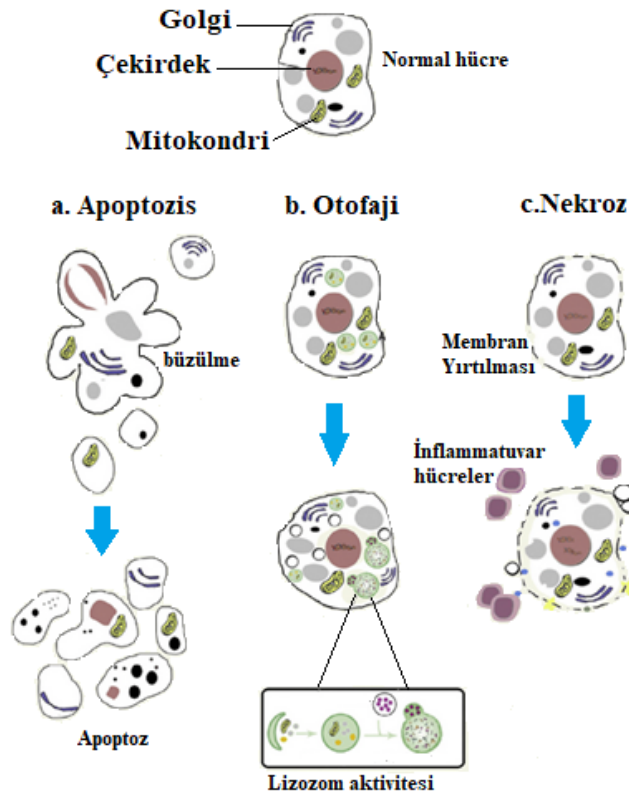
Apoptoz veya diğer adıyla “*programlanmış hücre ölümü*”, dokularda fonksiyonu bozulan ve gereksinim duyulmayan hücrelerin komşu hücrelere zarar vermeden öldürülmesi sürecidir. Apoptoz, insanın embriyo döneminden itibaren tüm yaşamı boyunca aktif olarak çalışır. Birçok dokunun devamlı olarak çalışması apoptoz ve hücre rejenerasyonuna bağlıdır. Çeşitli ilaçlar, radyasyon ve oksidatif stres apoptoza neden olabilir. Apoptozda hücre organelleri apoptotik cisimler ile parçalanır ve hücre küçülür, hücre DNA’sı enzimatik yollarla planlı bir şekilde parçalanır ve hücreler makrofajlar veya komşu hücreler vasıtasıyla fagosite edilirler. Bu süreç ATP’ye bağımlı olarak gerçekleşir. Apoptoz ile hücreler tek tek ölebildiği gibi birkaç hücre bir arada da ölebilir. Apoptoz sonucunda inflamasyon oluşmaz (198).

Bir diğer hücre ölümü olan **nekroz**, apoptozdan farklı olarak; programlanmış bir hücre ölümü değildir ve “*kazara*” hücre ölümü olarak da tanımlanır. Hücrelerin fiziksel ve kimyasal bir etkene maruz kalması, hipertermi veya viral kaynaklı sitoliz

gibi durumlar sonucunda ortaya çıkar. ATP gerektirmeyen pasif bir süreçtir. Nekroz sırasında hücre şişmesi sonucunda membran bütünlüğü kaybolur ve parçalanmaya başlar, organellerin yapısı bozulur ve işlevleri kaybolur, hücre lizisi gerçekleşerek hücre içeriği ekstraselüler sıvıya dağılır. Nekrozda hücrelerin gruplar halinde öldüğü bilinmektedir. Nekroz inflamasyona yol açabilir (199,200).

Otofaji temel olarak bir hücre ölümü değildir. Hücrelerde fonksiyonu bozulan veya işlevini yitiren organellerin lizozom veya vakuoller aracılığıyla sindirilmesi işlemidir. Ancak mekanizması tam olarak aydınlatılamamakla birlikte, apoptozun inhibe olduğu durumlarda otofajinin nekroza doğru ilerleyebildiği ve hücrenin kendi lizozomu tarafından sindirildiği literatürde bildirilmiştir (198).

Daha önce de belirtildiği gibi antikanser ilaçların önemli bir bölümü etkilerini sitotoksosite sonucu hücre ölümüne yol açarak göstermektedir. Antikanser ilaç adayı bileşiklerin sitotoksisitelelerini belirlemek ve hücre ölümüne sebep olan mekanizmaları tanımlayabilmek için çeşitli *in vitro* ve *in vivo* sitotoksosite tarama testleri geliştirilmiştir. Yapılan testin esası farketmeksizin, amaç çalışma sonunda canlı veya ölü hücre sayısının belirlenmesidir (197).



Şekil 2.105. Apoptoz, otofaji ve nekrozun şekilsel gösterimi.

2.3.1. Sitotoksik Aktivite Tayininde Kullanılan *in vitro* Yöntemler

Hücre temelli *in vitro* sitotoksik tarama testleri antikanser ilaç aday aday bileşiklerin sitotoksik etkilerinin tanımlanması için ilk basamaklardan biridir. *In vivo* test sonuçları ile uyumlu olması ve uygulama kolaylığı gibi avantajları bulunmaktadır (201-202).

Sitotoksik aktivite tayininde kullanılan *in vitro* yöntemler boya dışlama testleri, kolorimetrik testler, florometrik testler ve lüminometrik testler olmak üzere dört sınıf altında incelemiştir (203).

Boya Dışlama Testleri

Boya dışlama testlerinde hücre ortamına çeşitli yüklü boyar maddeler eklenerek hücrelerin bu boyar maddeleri sitoplazmalarına alıp almama durumlarına göre canlı/ölü hücre sayıları belirlenmektedir. Buna göre canlı hücreler bu boyar maddeleri sitoplazmalarına almazken, ölü ve membran yapısı bozulmuş hücreler bu boyaları sitoplazmalarına alırlar ve çeşitli renklerde boyanırlar. Hücrelerin membran bütünlüğü bu testler ile belirlenir. Boya dışlama testleri nispeten basit olmaları, hızlı sonuç vermeleri ve az sayıda hücre gerektirmeleri nedeniyle avantajlıdır. Bu yöntemde hücrelerin kullanılmadan önce süspansiyon haline getirilmesi gerekmektedir. Boya dışlama testleri kullanılarak canlı hücreler ölü hücrelerden ayırt edilebilir; fakat fonksiyonlarını kaybetmiş hücreler ile canlı hücreler bu yöntemler ile ayırt edilemezler (204,205). Boya dışlama testleri *tripan mavisi*, *eozin*, *kongo kırmızısı* ve *eritrosin B testleridir* (206-209).

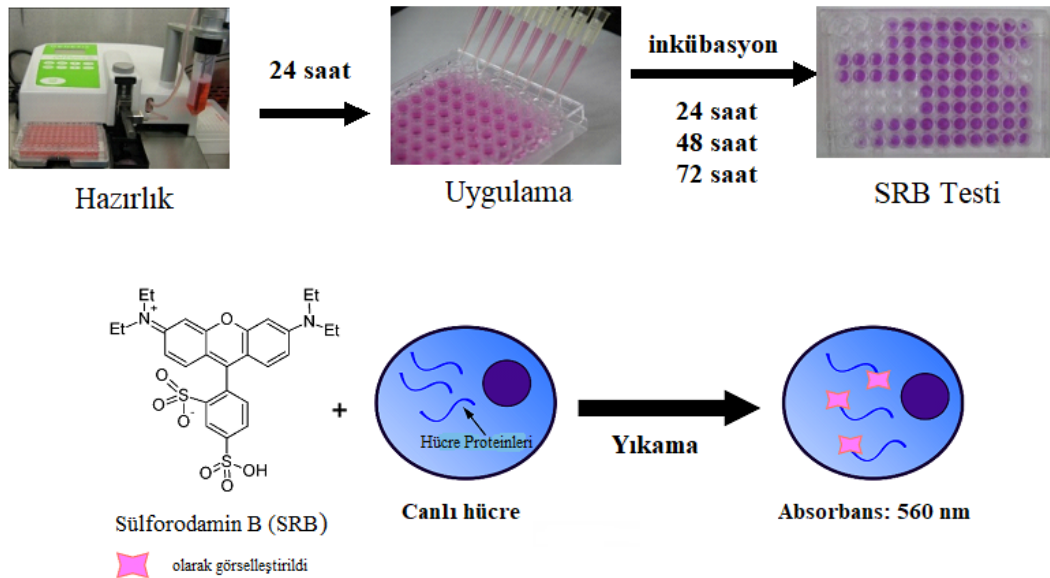
Kolorimetrik Testler

Kolorimetrik yöntemlerin esası hücrenin metabolik aktivitesinin belirlenmesi için bir biyobelirtecini ölçülmesine dayanır. Bu testlerde 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum (MTS) (203,211-212), 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) (203,208,211), 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum (WST) (211,214), 2,3-bis(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid (XTT) (211,213) gibi çeşitli tetrazolyum tuzları kullanılır. Canlı hücreler bu tuzları

sitoplazmalarına alarak metabolizma işlemleri sonucu indirgerler. Test sonunda bu tuzların indirgenmesi sonucu oluşan renk değişikliğinin spektrometrik yöntemler ile ölçülmesi ile canlı hücre miktarı belirlenir (210). Bu yöntemlerin dışında iyodonitrotetrazolyum (INT) tuzu kullanılan *laktat dehidrojenaz testi* (215,216) ve 3-amino-7-dimetil-amino-2-metilfenazin hidroklorür kullanılarak yapılan *neutral red uptake testi* (218) de aynı esasa dayanan kolorimetrik yöntemlerdir.

Sülforodamin B (SRB) Testi

Skehan ve arkadaşları tarafından (217) 1985 yılında bulunan sülforodamin B testi, hücre bölünmesinin incelenmesi amacıyla kullanılan bir sitotoksite testidir. Sülforodamin B koyu pembe renkli, sülfonik asit grubu içeren, negatif yüklü ve asidik ortamda amino asitlerin yapısına bağlanabilen bir boyar maddedir. SRB testinin esası boyar maddenin, trikloroasetik asit veya asetik asit ile fiks edilen hücrelerde temel amino asit kalıntılarına elektrostatik ve pH-bağımlı olarak bağlanması sonucunda oluşan renk değişiminin ölçülmesi esasına dayanır. SRB testi bu maddenin hücredeki temel amino asitlere bağlanması sonucunda oluşan renk değişiminin ölçülmesi esasına dayanır. Oluşan renk değişimi hücredeki total protein miktarı hakkında, total protein miktarı da hücre kültüründeki canlı hücre sayısı hakkında bilgi verir (Şekil 2.106).



Şekil 2.106. SRB Testi yapılışı ve mekanizması.

Sitotoksik aktivite testleri içerisinde sık kullanılan MTT testiyle kıyaslandığında daha kısa sürmesi, daha ucuz olması ve daha doğrusal sonuçlar vermesi nedeniyle son yıllarda bilimsel çalışmalarda tercih edilmektedir.

Florometrik Yöntemler

Florometrik sitotoksosite testleri genellikle floresans mikroskobu, florometre, floresans mikropilaka okuyucu veya akış sitometresi kullanılarak gerçekleştirilen testlerdir. Florometrik yöntemler boya dışlama ve kolorimetrik yöntemlere göre daha duyarlı ve gelişmiş yöntemlerdir. Bu yöntemler ile hücre hatları süspansiyon edilmeden kullanılır, yüzeye tutunmuş veya asılı şekildeki hücre hatları incelenebilir (219,220). Florometrik yöntemlere *alamar mavisi (AB) testi* (203,219-220), *5-karboksifloresan diasetat-asetoksimetil ester (CFDA-AM) testi* (220) ve *proteaz canlılık marker testi (GF-AFC testi)* (220) örnek verilebilir.

Lüminometrik Yöntemler

Lüminometrik yöntemler memeli hücrelerinde hücre proliferasyonunun ve sitotoksitenin hızlı ve basit bir şekilde belirlenmesini sağlarlar. Lüminometrik yöntemleri diğer yöntemlerden ayıran özellik, reaktif ilavesinden sonra üretilen kalıcı ve kararlı ışımadır. Bu sinyal ölçülerek hücre canlılığı hakkında değerlendirilmede bulunulur. Lüminometrik yöntemler *ATP testi* (203,220) ve *gerçek zamanlı canlılık (elektronik algılama ile gerçek zamanlı hücre büyümesinin izlenmesi testi)* testidir (221).

2.3.2. Sitotoksik Aktivite Tayininde Kullanılan *in vivo* Yöntemler

Sitotoksik veya antikanser etkili bileşiklerin aktivitelerinin tayininde *in vitro* yöntemlerin yanı sıra *in vivo* yöntemler de kullanılmaktadır. Bu yöntemler genel olarak hayvan modelleri oluşturulması esasına dayanmaktadır. Sitotoksik veya antikanser aktivite tayininde kullanılan *in vivo* hayvan modelleri 4 sınıfta incelenebilir:

- Kimyasal veya fiziksel karsinojenler ile oluşturulan modeller
- Spontan veya transplante edilebilen tümör modelleri
- Tümör ksenograft modeli
- Transgenik, knockout ve kimerik modeller (211).

Kimyasal veya Fiziksel Karsinojenler ile Oluşturulan Modeller

Bu yöntemde, deney hayvanlarına uygulanan kimyasallara ve uygulama şekillerine göre farklı özellikte çeşitli tümör modelleri oluşturulabilmektedir. Söz konusu kimyasal bileşiklere fibrosarkoma tümör modeli oluşturulmasında kullanılan 3-metilkolantren (222); meme tümör modeli oluşturulmasında kullanılan 7,12-dimetil benzantrasen (DMBA) (223) ve kolon kanseri tümör modeli oluşturulmasında kullanılan 1,2-dimetilhidrazin (224) örnek olarak verilebilir.

Spontan veya Transplante Edilebilen Tümör Modelleri

Bu grup içinde yer alan tümör modelleri hayvanlarda spontan olarak oluşan tümör hücrelerinin süspande edilmesi ve sonrasında transplante edilmesiyle oluşturulmaktadır. Bu modeller insan doku ve organlarında oluşan kanser türlerine kinetik olarak benzerlik göstermektedirler. Ehrlich-Lettre asit tümörü, Lewis akciğer karsinomu ve Wilm's renal tümörü bu grupta yer alan hayvan modellerine örnek verilebilir (202).

Tümör Ksenograft Modeli

Tümör ksenograft modeli, sitotoksik ve antikanser aktivite tayininde en sık kullanılan hayvan modellerinden biridir. Fareler üzerinde geliştirilen bu modelde insan orijinli tümör hücreleri farelerin ilgili doku veya organının içerisine transplante edilir. Bu işlem öncesinde farenin immün sistemi baskılanmaktadır. Daha sonra tümörün farede büyüüp gelişmesi beklenir ve aktivitesi tayin edilecek olan bileşik fareye uygulanarak bileşiğin aktivitesi tayin edilir (225).

Transgenik, Knockout ve Kimerik Modeller

Bu yöntemde; kendi genomunda farklı bir organizmaya ait rekombinant genleri taşıyan transgenik hayvanlar kullanılır. Belirli bir genin defekt edilmesi ile transgenik hayvanlar tümör oluşumuna yatkın hale getirilir. Ardından hayvanlardaki tümör gelişimi takip edilir ve tümör istenen büyüklüğe ulaştığında aktivitesi tayin edilecek olan bileşik hayvana uygulanarak bileşiğin aktivitesi belirlenir (202).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Materyal

Çalışmamızda kullandığımız sodyum asetat “Merck”; kloroasetik asit “ICN Biomedicals Inc”; trimetoksifenil benzoik asit, trimetoksifenil asetik asit, trimetoksifenil propiyonik asit, *N*-hidroksisüksinimit, tiyosemikarbazit, potasyum hidroksit, disikloheksilkarbodiimid (DCC), tetrahidrofuran, dimetilsülfoksit (DMSO) ve benzaldehitler “Sigma-Aldrich” firmasından temin edilmiştir.

3.1.2. Sentez Yöntemleri

3,4,5-Trimetoksibenzoiloksisüksinimit (2a)/ 2-(3,4,5-trimetoksifenil)asetil_oksiksüksinimit (2b)/ 3-(3,4,5-trimetoksifenil) propanoiloksisüksinimit (2c)

20 mmol Uygun karboksilli asit bileşiği (**1a-c**) 30 mL tetrahidrofuran ile çözülür ve üzerine 30 mL tetrahidrofuranda çözülen 2,30 g (20 mmol) *N*-hidroksisüksinimit eklenir. Karışıma 40 mL tetrahidrofuranda çözülen 5,15 g (25 mmol) DCC yavaşça eklenerek reaksiyon ortamı buz banyosunda dokuz saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra on iki saat boyunca 4 °C’de bekletilir, takiben ortamda çöken DCU (disikloheksil üre) vakum altında süzülerek uzaklaştırıldıktan sonra tetrahidrofuran alçak basınçta uçurulur. Elde edilen yağlı madde buz banyosuna alınarak üzerine soğuk dietil eter eklenerek katılaştırılır. Katı madde süzülerek kurutulur.

1-(3,4,5-Trimetoksibenzoil)tiyosemikarbazit (3a)/ 1-[2-(3,4,5-trimetoksifenil)asetil]tiyosemikarbazit (3b)/ 1-[3-(3,4,5-trimetoksifenil)propanoil]_tiyosemikarbazit (3c)

20 mmol Uygun süksinimit bileşiği (**2a-c**) 35 mL tetrahidrofuran içinde çözülür. Üzerine 10 mL DMSO’da çözülen 1,82 g (20 mmol) tiyosemikarbazit eklenir ve geri çeviren soğutucu altında dokuz saat ısıtılır. Reaksiyon bittikten sonra on iki saat boyunca 4 °C’de bekletilir. Reaksiyon ortamında çöken katı kısım süzülükten

sonra tetrahidrofuran alçak basınç altında yoğunlaştırılır. Kalan kısma buz eklenerek ürün çöktürülür.

3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (4)/ 3-(3,4,5-trimetoksibenzil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (5)/ 3-[2-(3,4,5-trimetoksifenil)etil]-1,2,4-triazol-5-tiyon (6)

10 mmol Uygun tiyosemikarbazit bileşiği (**3a-c**) üzerine 20 mL % 10'luk KOH eklenir ve geri çeviren soğutucu altında dört saat ısıtılır. Reaksiyon bittikten sonra ortamda çözünmeyen katı kısım süzülerek uzaklaştırılır. Süzüntü üzerine buz banyosunda damla damla derişik hidroklorik asit eklenerek pH 4'e getirilir. Çöken ürün vakum altında süzülerek distile su ile yıkanır. Kurutulduktan sonra etanol ile kristallendirilerek saflaştırılır.

Başlangıç maddeleri (**4-6**) literatürde kayıtlı oldukları için spektral analizleri yapılmadan sadece erime dereceleri kontrol edilerek bir sonraki aşamada kullanılmıştır (226,227).

5-(Süstitüe benziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenil)tiyazolo[3,2-b]-1,2,4-triazol-6(5H)-on (4a-j)/ 5-(süstitüe benziliden)-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)tiyazolo[3,2-b]-1,2,4-triazol-6(5H)-on (5a-j)/ 5-(süstitüe benziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenil) tiyazolo[3,2-b]-1,2,4-triazol-6(5H)-on (6a-j) Türevleri

2 mmol Uygun triazol bileşiği (**4-6**) üzerine 0,28 g (2 mmol) kloroasetik asit, 0,4 g (2 mmol) susuz sodyum asetat, 4 mL der. asetik asit, 3 mL asetik anhidrit ve (2 mmol) süstitüe benzaldehyt eklenerek, yağ banyosunda geri çeviren soğutucu altında 140 °C'de üç saat ısıtılır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra katı kısım süzülerek uzaklaştırılır. Ortamdan kristallenen ürün süzülerek alınır ve asetonitrilden kristallendirilerek saflaştırılır.

3.1.3. Analiz Yöntemleri

Erime Derecesi Tayini

Sentezlenen bileşiklerin erime dereceleri "Thomas Hoover Capillary Melting Point Apparatus" erime derecesi tayin cihazı ile belirlenmiştir. Verilen erime dereceleri düzeltilmemiş değerlerdir.

İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller

Materyal

Plaklar: Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır plaklar kullanılmıştır.

Solvan Sistemleri: Bileşiklerin kromatografik kontrolleri aşağıda belirtilen solvan sistemleri kullanılarak yapılmıştır:

S-1: Benzen: Aseton: Asetik Asit (75:24:1)

S-2: Etil Asetat: n-Hekzan (60:40)

S-3: Kloroform: Metanol (95:5)

Yöntem

Sürüklenme Şartları: Hazırlanan solvan sistemleri kromatografi tanklarına konulduktan sonra kapakları kapatılarak oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiş ve tankların solvan buharı ile doygunluğu sağlanmıştır. İTK plaklarına sentezlenen ürünler ile bu ürünlerin sentezlenmesi için kullanılan başlangıç maddelerinin uygun çözücülerdeki çözeltileri cam kılcallar ile tatbik edilmiş, oda sıcaklığında 10 cm'lik sürüklenme sonrasında R_f değerleri hesaplanmıştır.

Lekelerin Belirlenmesi: Kromatogramda bulunan sentez ürünleri ve başlangıç maddelerine ait lekeler UV ışığı altında 254 nm'de belirlenmiştir.

3.1.4. Spektrometrik Kontroller

IR Spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin IR spektrumları Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda, "Perkin Elmer FT-IR System Spectrum BX" spektrofotometresinde alınmış, spektrumlar dalga sayısı (cm⁻¹) cinsinden değerlendirilmiştir.

¹H-NMR ve ¹³C-NMR Spektrumları

Bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda "Varian Mercury 400" spektrometre cihazı ile 400 MHz'de, ¹³C-NMR spektrumları ise yine "Varian Mercury 400" spektrometre cihazı ile 100

MHz’de dötoro dimetil sülfoksit (DMSO-d₆) içerisinde, tetrametilsilan (TMS) internal standartı kullanılarak alınmış ve sonuçlar δ (ppm) skalasında değerlendirilmiştir. *J* değerleri Hz cinsinden verilmiştir.

Kütle Spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin kütle spektrumları Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı’nda ESI yöntemi ile “*Micromass ZQ LC-MS Spectrometer*” cihazı ve “*Mass Lynx*” yazılımı kullanılarak alınmıştır.

Elementel Analizler

Bileşiklerin karbon, hidrojen, azot ve kükürt elementlerinin analizleri Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı’nda “*Leco CHNS-932 analyzer*” cihazı ile yapılmıştır.

3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.2.1. Materyal

% 10 Fetal Bovine Serum, % 1 Penisilin-Streptomisin Solüsyonu (10.000 U/ml penisilin, 10 mg/ml streptomisin), % 1 L-glutamin ve RPMI 1640 kimyasalları “*Gibco*” firmasından temin edilmiştir. Muse Annexin V kiti, Muse Caspase 3/7 kiti ve Muse Mitopotential Kiti “*Millipore*” firmasından, M30 Cytodeath ELISA kiti ise “*Peviva*” firmasından temin edilmiştir.

Bileşiklerin spektral ve lüminetral ölçümleri “*LUMISar Omega Microplate Reader*” cihazı ile yapılmıştır.

3.2.2. Yöntemler

Hücre Kültürü

A549 (akciğer kanser hücre hattı), PC-3 (prostat kanser hücre hattı), HCT-116 (kolorektal kanser hücre hattı) ve BEAS-2B (bronşiyal epitel hücre hattı) FBS (% 10 Fetal Bovine Serum), % 1 Penisilin-Streptomisin Solüsyonu (10.000 U/ml penisilin,

10 mg/ml streptomisin), % 1 L-glutamin içeren RPMI 1640 besiyeri ortamı kullanılarak kültüre edilmiştir. MDA-MB-231 (meme kanseri hücre hattı) % 5 FBS, % 1 penisilin-streptomisin ve % 1 L-glutamin bulunan RPMI 1640 besiyeri ortamı kullanılarak kültüre edilmiştir.

Hücrelerin Stoktan Çıkartılması

Hücreleri çoğaltmak amacıyla, -80 °C'den çıkarılan kriyovialler sıcak su banyosunda hızlı bir şekilde çözülmüş, ardından hücre süspansiyonu; içerisinde 5-7 mL RPMI 1640 besiyeri ortamı olan falkon tüp içine alınmıştır. 800 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra falkon tüpün üzerindeki süpernatant kısmı uzaklaştırılmış ve hücre pelleti 1 mL besiyeri ile süspande hale getirilerek içerisinde 4 mL besiyeri bulunan 25 cm³'lik flasklara alınmıştır. Hücreler, 37 °C'de, % 5 CO₂ içeren ortamda inkübe edilmiştir.

Hücrelerin Pasajlanması

Parental A549, PC-3, HCT-116, MDA-231 ve BEAS-2B hücreleri, flask yüzeyini % 60-70 kapladığında pasaj işlemi gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, flask içerisindeki besiyeri uzaklaştırılarak 1X PBS (2 mL) ile hücre yüzeyinin yıkanması sağlanmıştır. Flask yüzeyine yapışan hücrelerin yüzeyden ayrılmalari, enzimatik olarak 0,5 mL % 0,05 Tripsin-EDTA ile muamele sonucu (37 °C'de, % 5 CO₂'li ortamda 5 dakika) sağlanmıştır. Hücrelerin yüzeyden ayrılmasını takiben hücre süspansiyonu, enzim inhibisyonu için, kullanılan hacmin on katı kadar besiyeri (serum içeren) ile sulandırılarak ve 800 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda, süpernatant kısmı uzaklaştırılmış ve hücre pelleti 1 mL besiyeri ile süspande edilerek 75 cm³'lik flasklarda, 37 °C'de, % 5 CO₂ içeren ortamda inkübe edilmiştir.

Hücrelerin Stoklanması

Hücreler konfluent hale geldikten sonra, flask içerisindeki besiyeri uzaklaştırılarak 1X PBS (4 mL) ile yıkanmış ve yukarıda belirtilen pasaj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj aşamasından sonra ise hücre pelleti üzerine her bir kriyovial için yaklaşık olarak $1,5-2 \times 10^6$ hücreye karşılık gelecek şekilde ışığa hassas olan

dondurucu besiyeri (% 10 FBS ve % 10 DMSO içeren DMEM besiyeri) ilave edilerek -80 °C'ye kaldırılmıştır.

Hemositometre ile Hücrelerin Sayımı

Hücre sayımı için; tripsinizasyon işlemi ile elde edilen hücre süspansiyonundan 10 µL alınarak üzerine % 0,5 tripan mavisi eklenmiş ve homojen şekilde karıştırılmıştır. Bu karışımdan 10 µL alınarak thoma lamı üzerinde beş farklı alanda hücre sayımı yapılmış, bulunan sayı sulandırma katsayısı ile çarpılarak 1 mL besiyerinde bulunan hücre sayısı belirlenmiştir.

Sülforodamine B (SRB) Canlılık Metodu

SRB yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen ön tarama çalışması için öncelikle hücreler, 5×10^3 hücre/kuyu olacak şekilde 96 kuyucuklu hücre kültür kaplarına ekilmiş ve bileşiklerin 10 µM konsantrasyonu ile muamele edilerek 48 saat süreyle 37 °C, % 5 CO₂'li ortamda inkübasyona bırakılmıştır.

Ön taramadan elde edilen bulgular dikkate alınarak, 10 µM konsantrasyonda etkili olan (% 50'den daha fazla canlılık azaltıcı etki gösteren) bileşik(ler) ve hücre(ler) seçilerek konsantrasyon-yanıt çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, **4b**, **5g**, **5h**, **6c** ve **6e** bileşiklerinin farklı konsantrasyonları (0-100 µM) hazırlanarak Beas2B ve A549 hücrelerini içeren 96 kuyucuklu hücre kültür kaplarına ekilmiştir. Hücreler bileşikler ile muamele edildikten sonra, 24-72 saat süreyle 37 °C, % 5 CO₂'li ortamda inkübasyona bırakılmıştır.

Kontrol grubu olarak sadece besiyeri ortamı içerisinde ekilen hücreler kullanılmış, kör olarak kullanılacak kuyulara da 200 µL besiyeri ilave edilmiştir.

Fiksasyon işlemi için 48 saatlik muamele sonunda her bir kuyuya 50 µL TCA (% 50) eklenmiş ve 4 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda TCA kuyulardan uzaklaştırılmış ve kuyular 5 kez distile su ile yıkanmıştır. Yıkama sonunda her kuyuya 50 µL SRB boyası (% 0,4; % 1 asetik asit içerisinde) eklenmiş ve 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından boya uzaklaştırılarak kuyular % 1 asetik asit çözeltisi ile 5 kez yıkanmıştır. Kuyular tamamen kuruduktan sonra boyanın çözünmesi için her kuyuya 150 µL Tris Bazı (10 mM, pH:10) eklenmiş ve orbital çalkalayıcıda 10 dakika 100 rpm'de bırakılmıştır. On dakika sonunda

hücrelerde oluşan renk şiddeti spektrofotometrede 564 nm dalga boyunda ölçülmüş ve okunan absorbanslar kullanılarak hücrelerin canlılık oranları belirlenmiştir.

Kontrol grubu hücrelerin canlılığı % 100 olarak kabul edilmiştir. Sentezlenen bileşikler ile uygulama yapılan hücrelerin canlılığı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır. Her çalışma birbirinden bağımsız üç farklı kuyuda tekrarlanmıştır.

$$\% \text{ Canlılık} = [100 \times (\text{Kimyasal uygulanan grubun absorbans ortalaması} - \text{Kör absorbans ortalaması}) / (\text{Kontrol grubunun absorbans ortalaması} - \text{Kör absorbans ortalaması})]$$

SRB testi sonucunda A549 hücre hattında en dikkat çekici aktivite gösteren 6e bileşiği bundan sonraki testlerde kullanılmak üzere seçilmiştir.

ATP (Adenozin Trifosfat) Canlılık Metodu

A549 ve Beas2B hücreleri 5×10^3 hücre/kuyu olacak şekilde 96 kuyucuklu hücre kültür kaplarına ekilmiş, hücreler 6e bileşiğinin farklı konsantrasyonları (0-100 μM) ile muamele edilerek 24-72 saat süreyle 37 °C, % 5 CO₂'li ortamda inkübasyona bırakılmıştır.

Negatif kontrol için 200 μL besiyeri içerisine ilgili hücreler için belirtilen sayılarda ekim yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak 100 μL hücre süspansiyonu içerisine hücre ölümünü % 100 indüklediği bilinen 100 μL % 1'lik Triton X-100 ilave edilmiştir. ATP canlılık testi 96 kuyucuklu hücre kültür kaplarında her konsantrasyon için 3 farklı kuyucuk kullanılarak ve en az 2 bağımsız deney olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

İnkübasyon sonrasında, hücrelerin intraselüler ATP içeriğini belirlemek için kuyulara 50 μL 5X TCER (Tumor Cell Extraction Reagent, DCS Innovative Diagnostik Systeme) eklenerek 20 dakika süreyle lizis işlemi gerçekleştirilmiş, hücre içerisindeki ATP'nin dışarı çıkması sağlanmıştır. Süre sonunda, hücre kültür süspansiyonundan 50 μL alınarak beyaz renkli 96 kuyulu hücre kültür kaplarına aktarılmış ve ardından her kuyuya 50 μL lusiferin-lusiferaz enzimi içeren çözelti eklenmiştir. Muamele yapılan hücrelerdeki ve kontrol hücrelerindeki ATP içeriği, lusiferin-lusiferaz biyoluminesans reaksiyonu yardımıyla ölçme zamanı 1 saniye

olacak şekilde luminometre kullanılarak ölçülmüştür. Sonuçlar rölatif ışık ünitesi (RLU) olarak alınmış ve % canlılık aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Canlılık (\%)} = [100 \times (\text{Örnek RLU})/(\text{Kontrol RLU})].$$

Kaspazla Kırılmış Sitokeratin 18 (M30) Düzeylerinin Belirlenmesi

ELISA yöntemiyle M30 Antijen fragmentini belirlemek için; A549 hücreleri 5×10^3 hücre/kuyu olacak şekilde 96 kuyucuklu hücre kültür kaplarına ekilerek 6e bileşiğinin IC₉₀ dozuyla (100 µM) 72 saat boyunca muamele edilmiştir.

Süre sonunda, hücrelerin lizis işlemi 10 µL % 10'luk NP-40 ile 15-20 dakika süreyle oda sıcaklığında 600 rpm çalkalayıcı kullanılarak gerçekleştirilmiş, tüm lizat toplanarak 2000 rpm'de 30 saniye süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında, M30 Cytodeath ELISA kiti içeriğine uygun olarak 2 bağımsız deney şeklinde uygulanmıştır. Yüzeyi CK18'i tanıyan fare monoklonal M30 antikoru kaplı kuyucuklara 25 µL süpernatantlar ile 75 µL horseradish peroksidaz konjugatı eklenerek 600 rpm çalkalayıcıda, oda sıcaklığında 4 saat inkübasyona bırakılmış, süre sonunda, kuyulara 250 µL yıkama çözeltisi ilave edilerek 5 kez yıkama yapılmıştır. Ardından ortama 200 µL TMB substratı eklenerek oda sıcaklığında karanlıkta 20 dakika boyunca bekletilmiştir. Reaksiyon, 1 N H₂SO₄ içeren 50 µL stop solüsyonu kullanılarak durdurulmuş ve oluşan renk şiddeti, spektrofotometre ile 450 nm'de ölçülmüştür.

Akım Sitometri Analizleri

Anneksin V Analizi

A549 hücreleri 1×10^5 hücre/kuyu olacak şekilde 6 kuyucuklu hücre kültür kaplarına ekilmiş ve 6e bileşiğinin IC₉₀ dozuyla (100 µM) 12-24 saat boyunca muamele edilmiştir. Ardından bileşik uygulanan kuyuların üst besiyeri 15 mL'lik santrifüj tüplerine toplanmış, kontrol grubunun kuyularındaki üst besiyeri ise uzaklaştırılmıştır. Hücreler tripsin ile kaldırılıp ilgili santrifüj tüplerine toplandıktan sonra 500 G'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası hücreler, 100 µL % 1 FBS içeren PBS içerisinde süspanse hâle getirilerek 1,5 mL'lik santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Muse Annexin V & Dead Cell Kiti içerisinde yer alan Muse Annexin V

& Dead Cell solüsyonu 100 µL olacak şekilde ilgili tüplere eklenmiş, vortekslenen örnekler karanlıkta 20 dk oda ısısında inkübe edilmiştir. Muse™ Cell Analyzer cihazı ile ölçüm yapılmıştır.

Kaspaz 3/7 Aktivasyonunun Belirlenmesi

Kaspaz 3/7 testi için A549 hücreleri Anneksin V testinde olduğu şekilde ekilmiş ve kimyasal uygulaması yapılmıştır. Süre sonunda 50 µL % 1 FBS içeren PBS ile süspande hâle getirilerek örnek içeren santrifüj tüplerine 5 µL “Caspase 3/7 working reagent” eklenmiş, kapakları açık olarak inkübatöre 30 dakika süresince bırakılmıştır. Sürenin sonunda örnekler 150 µL 7-AAD boyası eklenerek örnekler 5 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Muse™ Cell Analyzer cihazı ile ölçümleri yapılmıştır.

Mitokondri Membran Potansiyelinin Belirlenmesi

Mitokondri membran potansiyelinin değerlendirilmesi için A549 hücreleri Anneksin V testinde olduğu şekilde ekilmiş ve kimyasal uygulaması yapılmıştır. Süre sonunda 100 µL % 1 FBS içeren PBS ile süspande hâle getirilerek üzerine 95 µL 1X çalışma tampon çözeltisi ile sulandırılarak hazırlanan (1:1000) MitoPotential boyama solüsyonu eklenmiştir. Ardından hücreler 20 dakika boyunca 37 °C’de, % 5 CO₂’li inkübatörde inkübasyona bırakılmış, süre sonunda üzerlerine 5 µL 7-AAD boyası eklenen örnekler 5 dakika oda sıcaklığında tutulmuştur. Muse™ Cell Analyzer cihazı ile ölçüm yapılmıştır.

Western Blot Testi

Örneklerin hazırlanması aşamasında işaretlenen proteine uygun bir lizis tamponu seçilmiş, ardından proteinlerin hücrelerden salımı sağlanılarak protein lizati elde edilmiştir. Lizis işleminde, kontrol ve tedavi uygulanmış grupların süpernatantları, flakonlara toplanarak süspansiyon +4°C, 1000 g’de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatantlar uzaklaştırılarak pellet üzerine 0,05 ml 1X proteaz/fosfataz inhibitörü (Cell Signalling,100X) içeren lizis tamponu (RIPA lysis buffer, Santa Cruz Biotechnology) eklenmiş ve örnekler 45 dakika boyunca karanlıkta, buzda bekletilmiştir. Süre sonunda, +4°C, 10 000 g’de 30 dakika santrifüj edilmiştir.

Örnek süpernatantları 0,5 ml'lik tüplere toplanarak protein miktarları ölçülmüştür. Bu amaçla, biçinkoninik asit (BCA, Thermo Fischer) yöntemi üretici firmanın önerdiği protokol doğrultusunda kullanılmış ve total protein miktarı saptanarak. -20 °C' de saklanmıştır.

Elektroforez ve transfer aşamasında proteinler denatüre edilmiş ve indirgenerek *Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)* yöntemiyle jel üzerinde ayrılmaları sağlanmıştır. Örnekler istenen hacimlerde (%65 lizat çözeltisi) toplam protein miktarı 30 µg ve sample buffer (%25) ile reducing agent (%10) 1X olacak şekilde hazırlandı. Ardından, protein denatürasyonu için çözeltiler ısı banyosunda 95°C'de 7 dakika bekletildi. Protein miktarı, her grup için 30 µg olacak şekilde jele (BioRad TGXFastCast Acrylamide kit, %10) yükleme yapılarak elektroforez işlemi (100 V, 1 saat) gerçekleştirildi. Transfer işlemi için I-Blot jel transfer cihazı kullanıldı ve 8 dakika boyunca transfer işlemi (nitroselüloz membran) gerçekleştirilmiştir. Söz konusu membrana sırasıyla; bloklama, hedef proteine özgü antikor, bu antikoru tanıyan ve yapısına enzim ilave edilmiş ikincil bir antikor ile muamele uygulanarak proteinlerin işaretlenmesi sağlanmıştır.

Görüntüleme ve analiz aşamasında söz konusu enzimin substrat ile muamelesi sonucunda meydana gelen kimyasal ışımaya ile hedef proteinin membran üzerinde görüntülenmesi sağlanmıştır. Görüntüleme solüsyonu olarak, Lumiglo reagent A (20X, Cell Signaling, MA, USA) ve Peroksidaz reagent B (20X, Cell Signaling, MA, USA) ultrasaf H₂O ile 1X olacak şekilde hazırlanmış ve kemiluminesans sinyal, ImageQuant™ LAS 500 (GE Lifesciences) cihazı kullanılarak görüntülenmiştir.

Toplam protein izolasyonu için, A549 hücreleri 3×10⁵ hücre olacak şekilde 6 kuyucuklu kültür kaplarına ekilmiş, İlgili bileşiğinin EGFR aktivitesi üzerine etkisi (azalma) göstermek amacıyla hücreler, 100 uM (≈ sitostatik) ve 50 uM (≈ anti-proliferatif) dozları ile muamele edilmiş ve 24, 48 ve 72 saat süreyle 37 °C, %5 CO₂'li ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda ilgili gruplardan protein izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.3. Moleküler Kenetleme Çalışmaları

3.3.1. Ligandların hazırlanması

Sentezi yapılan bileşikler ChemDraw 2D (version 16.0) yazılımı kullanılarak iki boyutlu olarak çizilmiş, ardından ChemDraw 3D (version 16.0) yazılımına aktarılarak üç boyutlu modelleri elde edilmiştir. Ligandların enerji minimizasyonunda ChemDraw 3D yazılımının MM2 forcefield modülü kullanılmıştır.

3.3.2. Proteinin Hazırlanması

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR) üzerinde kenetleme çalışmaları yapmak amacıyla Protein Data Bank'tan (www.rcsb.org) 1M17 kodlu protein seçilmiştir. Bu protein EGFR reseptörünün ATP bağlanma bölgesidir ve tek zincirden oluşmaktadır. Proteinin bağlanma bölgesinde erlotinib inhibitörü bulunur.

Protein hazırlama işlemi kapsamında bağlanma bölgesinde liganda 5 Å'dan uzak olan su molekülleri BioVia Discovery Studio (version 4) yazılımı kullanılarak çıkarılmıştır. Autodock Tools (versiyon 1.5.6) yazılımında önce polar proteinler yapıya eklenmiş ardından Kollman yükleri atanmıştır.

3.3.3. Şekil Benzerliği

Tez çalışmasında şekil benzerliği taraması için OpenEye ROCS yazılımı kullanılmıştır. Benzerlik taramasında hedef bileşik olarak EGFR inhibitörü oldukları bilinen ve piyasada preparatları bulunan erlotinib, canertinib, dakomitinib, afatinib, gefitinib, lapatinib, neratinib, pelitinib ve vandetanib bileşikleri seçilmiştir. Sonuçların incelenmesinde benzerlik oranı için değerlendirme alt sınırı 0,7 olarak belirlenmiştir.

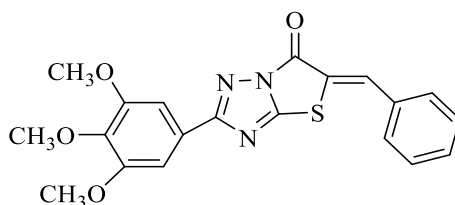
3.3.4. Kenetleme Çalışmaları

Moleküler kenetleme çalışmaları Autodock Vina yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Autodock Vina ile kenetleme işlemi için AutoDockTools arayüzü kullanılmıştır. Kenetleme arama alanının merkezi olarak proteinin aktif bölgesinde yer alan erlotinibin merkezi koordinatları (22,04; -0,31; 53,57) kullanılmış ve bu koordinatlara göre grid haritaları oluşturulmuştur.

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Çalışmalar

5-Benziliden-2-(3,4,5-trimetoksifenil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (4a)



0,534 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**4**) ve 0,2 mL (2 mmol) benzaldehitten (**a**) hareketle genel yöntemle göre elde edilen ürün asetonyril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,262 g (% 33,16).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 178-179 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonyrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3073 (C-H gerilim, aromatik); 2925 (C-H gerilim, alifatik); 1728 (C=O gerilim); 1598, 1579 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1131 (C-O gerilim); 863, 843 (aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

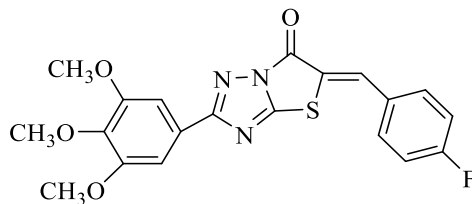
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 3,72 (3H, s, OCH_3); 3,86 (6H, s, OCH_3); 7,37 (2H, s, Ar.H); 7,56-7,62 (3H, m, Ar.H); 7,75 (2H, dd, $J_1=1,2$ Hz, $J_2=8$ Hz, Ar.H); 8,26 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 396,29 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ve 418,26 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ pikleri görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ (M.A.: 395,43 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	60,75	4,33	10,63	8,11
Bulunan :	60,43	4,30	10,76	8,22

5-(4-Florobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (4b)



0,534 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**4**) ve 0,248 g (2 mmol) 4-florobenzaldehitten (**b**) hareketle genel yöntemle göre elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,48 g (% 58,60).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 241-242 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3073 (C-H gerilim, aromatik); 2938 (C-H gerilim, alifatik); 1738 (C=O gerilim); 1594, 1504, 1476 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1163 (C-O gerilim); 838, 802 (Aromatik C-H bükülme) cm⁻¹ 'de pikler görülmektedir.

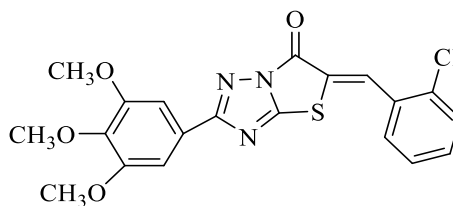
¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 3,72 (3H, s, OCH₃), 3,85 (6H, s, OCH₃), 7,33 (2H, s, Ar.H), 7,48 (2H, t, Ar.H); 7,65 (2H, dd, *J*₁=5,2 Hz, *J*₂=14 Hz, Ar.H); 8,23 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 414,31 [M+H]⁺ ve 436,23 [M+Na]⁺ pikleri görülmektedir.

Analiz : C₂₀H₁₆FN₃O₄S (M.A.: 413,42 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	58,11	3,90	10,16	7,75
Bulunan :	58,31	3,93	9,89	7,35

5-(2-Klorobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (4c)



0,534 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (4) ve 0,22 mL (2 mmol) 2-klorobenzaldehitten (c) hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonitril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,55 g (% 65,02).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 231-233 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonitrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3020 (C-H gerilim, aromatik); 2937 (C-H gerilim, alifatik); 1728 (C=O gerilim); 1604, 1502 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1125 (C-O gerilim); 850, 836 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

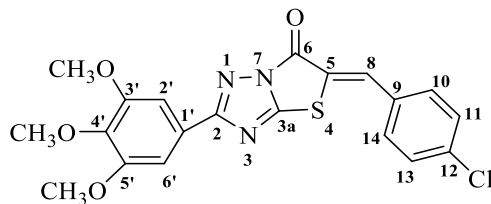
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 3,72 (3H, s, OCH_3); 3,86 (6H, s, OCH_3); 7,34 (2H, s, Ar.H); 7,59 (2H, m, Ar.H); 7,70 (2H, m, Ar.H); 8,20 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 430,19 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 432,20 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$; 452,16 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ve 454,16 $[\text{M}+\text{Na}+2]^+$ pikleri görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$ (M.A.: 429,88 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	55,88	3,75	9,78	7,46
Bulunan :	55,56	3,82	9,44	7,38

5-(4-Klorobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (4d)



0,534 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**4**) ve 0,281 g (2 mmol) 4-klorobenzaldehitten (**d**) hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,41 g (% 53,32).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 212-213 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 2932 (C-H gerilim, alifatik); 1742 (C=O gerilim); 1601, 1496 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1136 (C-O gerilim); 870, 842 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 3,72 (3H, s, OCH_3); 3,85 (6H, s, OCH_3); 7,36 (2H, s, Ar.H); 7,66 (2H, d, Ar.H); 7,76 (2H, d, Ar.H); 8,25 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

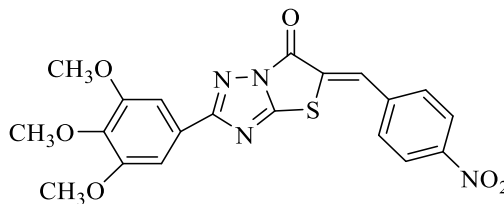
^{13}C -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 56,57 (*m*- OCH_3); 60,66 (*p*- OCH_3); 104,83; 124,64; 125,58; 130,18; 131,71; 132,65; 136,87; 138,50 ve 153,80 ($\text{C}_{1'-6'}$, C_{8-14}); 140,77; 156,22; 160,48 (C_2 , C_{3a} , C_5) ve 168,92 (C_6) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 430,18 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 432,18 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$; 452,16 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ve 454,15 $[\text{M}+\text{Na}+2]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$ (M.A.: 429,88 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	55,88	3,75	9,78	7,46
Bulunan :	55,52	3,69	9,85	7,11

5-(4-Nitrobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (4e)



0,534 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**4**) ve 0,302 g (2 mmol) 4-nitrobenzaldehyitten (**e**) hareketle genel yöntemle göre elde edilen ürün asetonitril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,47 g (% 53,96).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 228-229 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonitrilde az, asetonunda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3052 (C-H gerilim, aromatik); 2939 (C-H gerilim, alifatik); 1724 (C=O gerilim); 1583, 1509 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1182 (C-O gerilim); 845, 821 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

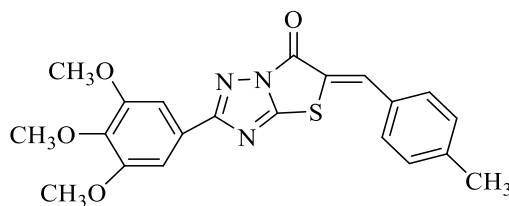
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 3,69 (3H, s, OCH_3); 3,72 (6H, s, OCH_3); 7,39 (2H, s, Ar.H); 7,80 (2H, d, Ar.H); 8,10 (1H, s, C=C-H); 8,20 (2H, d, Ar.H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 463,08 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ (M.A.: 440,43 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	54,54	3,66	12,72	7,28
Bulunan :	54,26	3,75	12,83	7,16

5-(4-Metilbenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (4f)



0,534 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**4**) ve 0,240 g (2 mmol) 4-metilbenzaldehyitten (**f**) hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,40 g (% 49,50).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 180-181 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3072 (C-H gerilim, aromatik); 2931 (C-H gerilim, alifatik); 1736 (C=O gerilim); 1612, 1581 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1132 (C-O gerilim); 847, 814 (Aromatik C-H bükülme) cm⁻¹'de pikler görülmektedir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 2,37 (3H, s, -CH₃); 3,72 (3H, s, OCH₃); 3,85 (6H, s, OCH₃); 7,36 (2H, s, Ar.H); 7,41 (2H, d, Ar.H); 7,64 (2H, d, Ar.H); 8,21 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

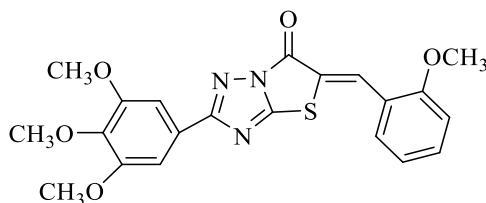
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 21,70 (Ar-CH₃); 56,49 (*m*-OCH₃); 60,65 (*p*-OCH₃); 104,57; 123,56; 124,77; 130,13; 130,77; 131,22; 139,88; 140,49 ve 153,77 (C_{1'-6'}, C₈₋₁₄); 142,86; 156,52; 160,62 (C₂, C_{3a}, C₅) ve 168,73 (C₆) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 410,25 [M+H]⁺ ve 432,22 [M+Na]⁺ pikler görülmektedir.

Analiz : C₂₁H₁₉N₃O₄S (M.A.: 409,46 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	61,60	4,68	10,26	7,83
Bulunan :	61,25	4,69	10,21	7,76

5-(2-Metoksibenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (4g)



0,534 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (4) ve 0,272 g (2 mmol) 2-metoksibenzaldehitten (g) hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonitril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,49 g (% 58,29).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 202-203 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonitrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3000 (C-H gerilim, aromatik); 2938 (C-H gerilim, alifatik); 1743 (C=O gerilim); 1589, 1499 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1126 (C-O gerilim); 846, 809 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

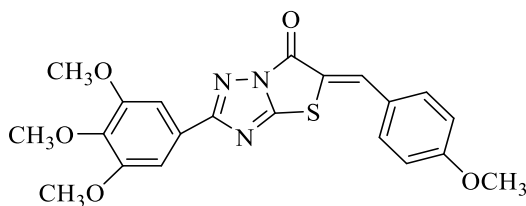
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 3,71 (3H, s, OCH_3); 3,85 (6H, s, OCH_3); 3,93 (3H, s, OCH_3); 7,15 (1H, t, Ar.H); 7,20 (1H, d, Ar.H); 7,38 (2H, s, Ar.H); 7,55-7,59 (2H, m, Ar.H); 8,31 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 426,23 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 448,20 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ (M.A.: 425,46 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	59,28	4,50	9,88	7,54
Bulunan :	58,73	4,51	9,76	7,42

5-(2-Metoksibenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (4h)



0,534 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (4) ve 0,272 g (2 mmol) 4-metoksibenzaldehitten (h) hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonitril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,53 g (% 66,40).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 183-184 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonitrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3009 (C-H gerilim, aromatik); 2995, 2939 (C-H gerilim, alifatik); 1724 (C=O gerilim); 1583, 1509 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1182 (C-O gerilim); 845, 821 (Aromatik C-H bükülme) cm⁻¹'de pikler görülmektedir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 3,72 (3H, s, OCH₃); 3,83 (3H, s, OCH₃); 3,85 (6H, s, OCH₃); 7,15 (2H, d, Ar.H); 7,35 (2H, s, Ar.H); 7,71 (2H, d, Ar.H); 8,20 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

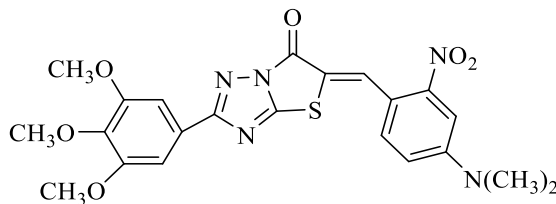
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 56,42 (*m*-OCH₃); 59,42 ve 60,35 (*p*-OCH₃); 105,60; 121,25; 124,12; 125,00; 131,63; 132,40; 136,10; 153,42 ve 162,12 (C_{1'-6'}, C₈₋₁₄); 138,41; 156,83; 161,12 (C₂, C_{3a}, C₅) ve 171,20 (C₆) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 426,22 [M+H]⁺; 448,19 [M+Na]⁺ piki görülmektedir.

Analiz : C₂₁H₁₉N₃O₅S (M.A.: 425,46 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	59,28	4,50	9,88	7,54
Bulunan :	58,85	4,55	9,87	7,47

**5-(4-Dimetilamino-2-nitrobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenil)tiyazolo
[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (4i)**



0,534 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (4) ve 0,388 g (2 mmol) 4-dimetilamino-2-nitrobenzaldehyitten (i) hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonitril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,61 g (% 63,25).

Turuncu renkli bir toz olup, erime noktası 192-193 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonitrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3002 (C-H gerilim, aromatik); 2991, 2936 (C-H gerilim, alifatik); 1723 (C=O gerilim); 1590, 1502 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1142 (C-O gerilim); 830, 811 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

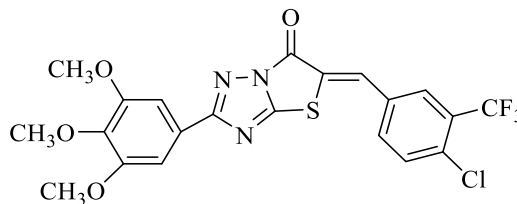
$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 3,10 (6H, s, -N- CH_3); 3,74 (3H, s, OCH_3); 3,87 (6H, s, OCH_3); 7,17 (1H, d, Ar.H); 7,35 (1H, s, Ar.H); 7,37 (2H, s, Ar.H); 7,62 (1H, d, Ar.H); 8,19 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 506,48 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ (M.A.: 483,50 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	54,65	4,38	14,49	6,63
Bulunan :	54,52	4,55	14,22	7,00

5-(4-Kloro-3-triflorometilbenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenil)tiyazolo [3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (4j)



0,534 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (4) ve 0,417 g (2 mmol) 4-kloro-3-triflorometilbenzaldehyitten (j) hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonitril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,59 g (% 59,41).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 172-173 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonitrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3002 (C-H gerilim, aromatik); 2990, 2942 (C-H gerilim, alifatik); 1712 (C=O gerilim); 1576, 1499 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1130 (C-O gerilim); 820, 817 (Aromatik C-H bükülme) cm⁻¹'de pikler görülmektedir.

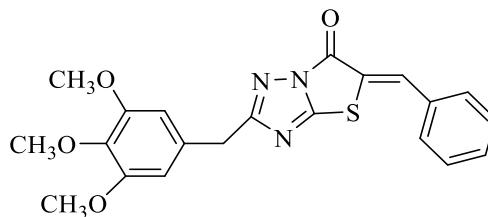
¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 3,72 (3H, s, OCH₃); 3,83 (6H, s, OCH₃); 7,35 (2H, s, Ar.H); 7,89 (1H, d, Ar.H); 7,95 (1H, d, Ar.H); 8,21 (1H, d, Ar.H); 8,28 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 520,93 [M+Na]⁺ ve 522,86 [M+Na+2]⁺ piki görülmektedir.

Analiz : C₂₁H₁₅ClF₃N₃O₄S (M.A.: 497,87 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	50,66	3,04	8,44	6,44
Bulunan :	50,85	3,35	8,72	6,47

5-Benziliden-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (5a)



0,562 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksibenzil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**5**) ve 0,2 mL (2 mmol) benzaldehitten (**a**) hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,320 g (% 39,11).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 190-192 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3004 (C-H gerilim, aromatik); 2941 (C-H gerilim, alifatik); 1750 (C=O gerilim); 1642, 1593, 1514 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1138 (C-O gerilim); 883, 815 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

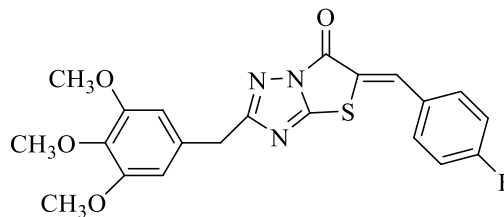
^1H -NMR spektrumunda ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 3,69 (3H, s, OCH_3); 3,73 (6H, s, OCH_3); 4,02 (2H, s, $-\text{CH}_2-$); 6,62 (2H, s, Ar.H); 7,53-7,60 (3H, m, Ar.H); 7,73 (2H, d, Ar.H); 8,12 (1H, s, $\text{C}=\text{C}-\text{H}$) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 432,38 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ (M.A.: 409,46 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	61,60	4,68	10,26	7,83
Bulunan :	61,79	4,89	10,39	7,97

5-(4-Florobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (5b)



0,562 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksibenzil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**5**) ve 0,248 g (2 mmol) 4-florobenzaldehitten (**b**) hareketle genel yönteme göre elde edilen ürün asetonitril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,67 g (% 78,60).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 246-247 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonitrilde az, asetonunda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3008 (C-H gerilim, aromatik); 2941, 2933 (C-H gerilim, alifatik); 1710 (C=O gerilim); 1636, 1560, 1512 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1131 (C-O gerilim); 840, 822 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

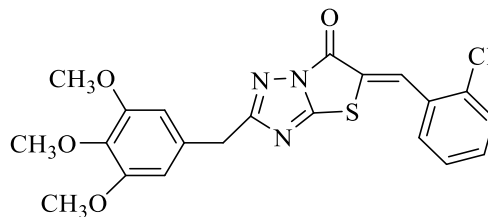
$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO-d_6) δ : 3,60 (3H, s, OCH_3); 3,73 (6H, s, OCH_3); 4,02 (2H, s, $-\text{CH}_2-$); 6,62 (2H, s, Ar.H); 7,43 (2H, t, Ar.H); 7,80 (2H, dd, $J_1=5,2$ Hz, $J_2=14$ Hz, Ar.H); 8,24 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 450,29 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_4\text{S}$ (M.A.: 427,45 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	59,01	4,24	9,83	7,50
Bulunan :	58,86	4,34	9,93	7,59

5-(2-Klorobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (5c)



0,562 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksibenzil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**5**) ve 0,22 mL (2 mmol) 2-klorobenzaldehitten (**c**) hareketle genel yönteme göre elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,66 g (% 75,38).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 170-171 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3004 (C-H gerilim, aromatik); 2948 (C-H gerilim, alifatik); 1728 (C=O gerilim); 1626, 1585, 1506 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1129 (C-O gerilim); 866, 850 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

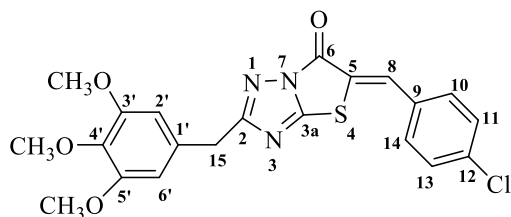
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 3,61 (3H, s, OCH_3); 3,73 (6H, s, OCH_3); 4,03 (2H, s, $-\text{CH}_2-$); 6,62 (2H, s, Ar.H); 7,55-7,71 (4H, m, Ar. H); 8,27 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 466,31 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ve 468,31 $[\text{M}+\text{Na}+2]^+$ pikleri görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$ (M.A.: 443,90 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	56,82	4,09	9,47	7,22
Bulunan :	56,65	4,25	9,71	7,29

5-(4-Klorobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (5d)



0,562 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksibenzil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**5**) ve 0,22 mL (2 mmol) 4-klorobenzaldehitten (**d**) hareketle genel yönteme göre elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,58 g (% 65,63).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 178-179 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3008 (C-H gerilim, aromatik); 2934 (C-H gerilim, alifatik); 1750 (C=O gerilim); 1626, 1585, 1508 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1138 (C-O gerilim); 870, 853 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 3,61 (3H, s, OCH_3); 3,73 (6H, s, OCH_3); 4,03 (2H, s, $-\text{CH}_2-$); 6,62 (2H, s, Ar.H); 7,65 (2H, m, Ar. H); 7,76 (2H, d, Ar.H); 8,22 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

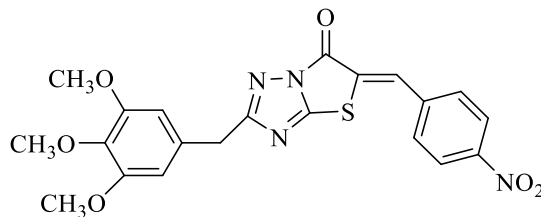
^{13}C -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 35,41 (C_{15}); 56,36 ($m\text{-OCH}_3$); 60,43 ($p\text{-OCH}_3$); 106,96; 125,69; 130,17; 131,71; 132,45; 132,68; 136,75; 136,87 ve 153,31 ($\text{C}_{1'-6'}$, C_{8-14}); 138,21; 156,27; 160,12 (C_2 , C_{3a} , C_5) ve 171,67 (C_6) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 466,93 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ve 468,94 $[\text{M}+\text{Na}+2]^+$ pikleri görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$ (M.A.: 443,90 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	56,82	4,09	9,47	7,22
Bulunan :	56,42	4,16	9,69	7,30

5-(4-Nitrobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (5e)



0,562 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksibenzil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**5**) ve 0,302 g (2 mmol) 4-nitrobenzaldehyitten (**e**) hareketle genel yönteme göre elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,64 g (% 71,64).

Kahverengi renkli bir toz olup, erime noktası 191-192 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonunda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3066 (C-H gerilim, aromatik); 2941 (C-H gerilim, alifatik); 1749 (C=O gerilim); 1612, 1581, 1504 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1121 (C-O gerilim); 832, 815 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

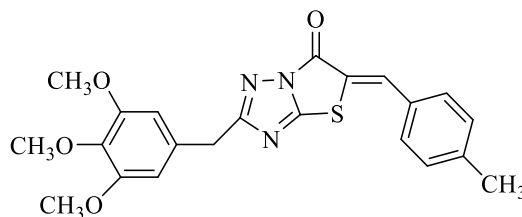
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 3,60 (3H, s, OCH_3); 3,72 (6H, s, OCH_3); 4,03 (2H, s, $-\text{CH}_2-$); 6,62 (2H, s, Ar.H); 7,98 (2H, d, Ar.H); 8,32 (1H, s, $\text{C}=\text{C}-\text{H}$); 8,36 (2H, d, Ar.H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 477,29 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ (M.A.: 454,46 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	55,50	3,99	12,33	7,05
Bulunan :	55,97	4,08	12,49	7,25

5-(4-Metilbenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (5f)



0,562 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksibenzil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**5**) ve 0,240 g (2 mmol) 4-metilbenzaldehyitten (**f**) hareketle genel yönteme göre elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,59 g (% 70,26).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 187-189 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3004 (C-H gerilim, aromatik); 2934 (C-H gerilim, alifatik); 1728 (C=O gerilim); 1620, 1585, 1542 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1138 (C-O gerilim); 870, 853 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 2,36 (3H, s, $-\text{CH}_3$); 3,60 (3H, s, OCH_3); 3,72 (6H, s, OCH_3); 4,02 (2H, s, $-\text{CH}_2-$); 6,61 (2H, s, Ar.H); 7,39 (2H, d, Ar. H); 7,62 (2H, d, Ar.H); 8,17 (1H, s, $\text{C}=\text{C}-\text{H}$) ppm'de pikler görülmektedir.

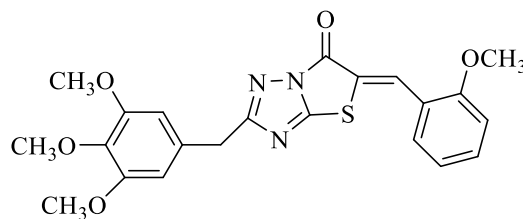
^{13}C -NMR spektrumunda (DMSO- d_6); 21,67 (Ar- CH_3); 35,41 (C_{15}); 56,38 (m - OCH_3); 60,43 (p - OCH_3); 106,98; 123,60; 130,11; 130,71; 131,20; 132,51; 136,89; 139,78 ve 153,31 ($\text{C}_{1'-6'}$, C_{8-14}); 142,77; 156,48; 160,19 (C_2 , C_{3a} , C_5) ve 171,57 (C_6) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 446,31 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ (M.A.: 423,49 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	62,40	5,00	9,92	7,57
Bulunan :	62,35	5,23	9,96	7,57

5-(2-Metoksibenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (5g)



0,562 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksibenzil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**5**) ve 0,272 g (2 mmol) 2-metoksibenzaldehyitten (**g**) hareketle genel yönteme göre elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,73 g (% 83,50).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 186-187 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3001 (C-H gerilim, aromatik); 2942 (C-H gerilim, alifatik); 1732 (C=O gerilim); 1602, 1588, 1511 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1125 (C-O gerilim); 840, 813 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

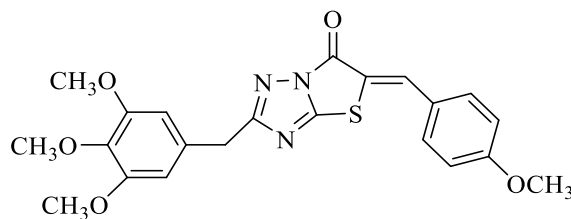
^1H -NMR spektrumunda ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 3,60 (3H, s, OCH_3); 3,72 (6H, s, OCH_3); 3,91 (3H, s, OCH_3); 4,01 (2H, s, $-\text{CH}_2-$), 6,61 (2H, s, Ar.H); 7,13 (1H, t, Ar.H); 7,19 (1H, d, Ar.H); 7,53 (1H, d, Ar.H); 7,55 (1H, t, Ar.H); 8,28 (1H, s, $\text{C}=\text{C}-\text{H}$) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 462,29 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ (M.A.: 439,49 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	60,13	4,82	9,56	7,29
Bulunan :	59,88	5,06	9,63	7,33

5-(4-Metoksibenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (5h)



0,562 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksibenzil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**5**) ve 0,272 g (2 mmol) 4-metoksibenzaldehitten (**i**) hareketle genel yönteme göre elde edilen ürün asetonitril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,70 g (% 80,03).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 195-196 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonitrilde az, asetonunda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3012 (C-H gerilim, aromatik); 2942 (C-H gerilim, alifatik); 1732 (C=O gerilim); 1607, 1595, 1505 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1125 (C-O gerilim); 840, 813 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 3,60 (3H, s, OCH_3); 3,72 (6H, s, OCH_3); 3,82 (3H, s, OCH_3); 4,02 (2H, s, $-\text{CH}_2-$); 6,62 (2H, s, Ar.H); 7,17 (2H, d, Ar. H); 7,33 (2H, d, Ar.H); 8,16 (1H, s, $\text{C}=\text{C}-\text{H}$) ppm'de pikler görülmektedir.

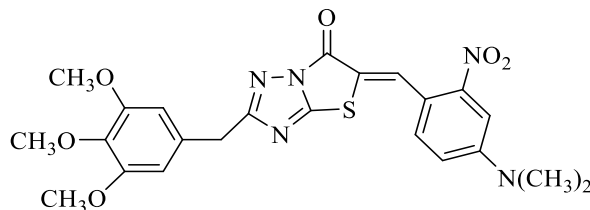
^{13}C -NMR spektrumunda (DMSO- d_6); 35,43 (C_{15}); 56,35 ($m\text{-OCH}_3$); 56,12 ve 60,43 ($p\text{-OCH}_3$); 106,92; 115,72; 121,25; 125,30; 132,56; 133,50; 136,82; 153,30 ve 162,56 ($\text{C}_{1'-6'}$, C_{8-14}); 139,84; 156,59 ve 160,00 (C_2 , C_{3a} , C_5) ve 171,48 (C_6) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 462,28 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ (M.A.: 439,49 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	60,13	4,82	9,56	7,29
Bulunan :	59,84	5,04	9,54	7,34

5-(4-Dimetilamino-2-nitro-benziliden)-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)tiyazolo [3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (5i)



0,562 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksibenzil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**5**) ve 0,388 g (2 mmol) 4-dimetilamino-2-nitrobenzaldehyitten (**i**) hareketle genel yöntemle göre elde edilen ürün asetonitril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,76 g (% 75,88).

Turuncu renkli bir toz olup, erime noktası 183-184 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonitrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3022 (C-H gerilim, aromatik); 2993, 2932 (C-H gerilim, alifatik); 1752 (C=O gerilim); 1570, 1492 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1169 (C-O gerilim); 810, 847 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 3,10 (6H, s, -N- CH_3); 3,74 (3H, s, OCH_3); 3,87 (6H, s, OCH_3); 4,02 (2H, s, - CH_2 -); 6,60 (2H, s, Ar.H); 7,12 (1H, dd, $J_1=2,8$ Hz, $J_2=8,8$ Hz, Ar.H); 7,34 (1H, d, $J=2,8$ Hz, Ar.H); 7,59 (1H, d, $J=8,8$ Hz, Ar.H); 8,19 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

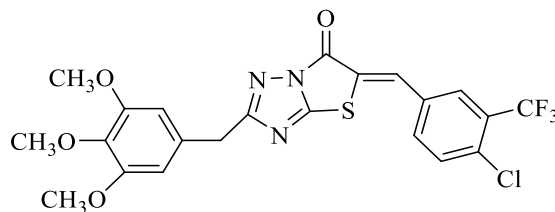
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 35,41 (C_{15}); 39,54 (N- CH_3); 56,32 (m - OCH_3); 60,43 (p - OCH_3); 106,89; 107,78; 111,78; 115,96; 122,61; 130,81; 132,56; 136,82; 151,68; 152,15 ($\text{C}_{1'-6'}$; C_{8-14}); 135,00; 156,30; 159,98 (C_2 , C_{3a} , C_5) ve 171,44 (C_6) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 498,22 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ve 520,20 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ (M.A.: 497,53 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	55,53	4,66	14,08	6,64
Bulunan :	55,59	4,81	14,05	6,53

5-(4-Kloro-3-triflorometilbenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)tiyazolo [3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (5j)



0,562 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksibenzil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**5**) ve 0,417 g (2 mmol) 4-kloro-3-triflorometilbenzaldehyitten (**j**) hareketle genel yöntemle göre elde edilen ürün asetonitril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,84 g (% 82,10).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 172-173 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonitrilde az, asetonunda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3000 (C-H gerilim, aromatik); 2991, 2910 (C-H gerilim, alifatik); 1723 (C=O gerilim); 1589, 1476 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1103 (C-O gerilim); 875, 830 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 3,61 (3H, s, OCH_3); 3,73 (6H, s, OCH_3); 4,03 (2H, s, $-\text{CH}_2-$), 6,62 (2H, s, Ar.H); 7,92 (1H, d, Ar.H); 7,97 (1H, d, Ar.H); 8,24 (1H, d, Ar.H); 8,33 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

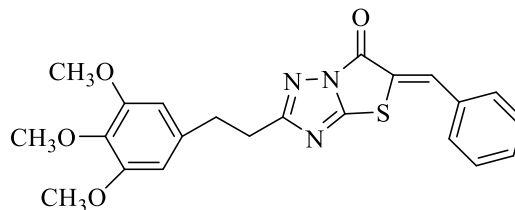
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 34,81 (C_{15}); 55,83 ($m\text{-OCH}_3$); 59,85 ($p\text{-OCH}_3$); 106,51; 120,93; 123,65; 127,15; 127,50; 130,33; 131,78; 136,15; 136,45 ve 152,76 ($\text{C}_{1'-6}$, C_{8-14}); 133,82 ($-\text{CF}_3$); 138,74; 155,408; 159,35 (C_2 , C_{3a} , C_5) ve 171,25 (C_6) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 512,14 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 534,11 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ve 536,08 $[\text{M}+\text{Na}+2]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ (M.A.: 511,90 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	51,62	3,35	8,21	6,26
Bulunan :	51,75	3,42	8,51	6,47

5-Benziliden-2-(3,4,5-trimetoksifenetil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (6a)



0,59 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenetil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**6**) ve 0,2 mL (2 mmol) benzaldehitten (**a**) hareketle genel yöntemle göre elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,61 g (%72,65).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 149-150 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonunda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3001 (C-H gerilim, aromatik); 2981, 2929 (C-H gerilim, alifatik); 1744 (C=O gerilim); 1611, 1592, 1508 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1125 (C-O gerilim); 843, 814 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

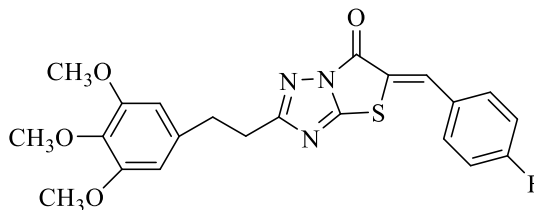
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 2,96 (2H, t, Ar- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$); 3,04 (2H, t, Ar- CH_2 -); 3,59 (3H, s, OCH_3); 3,73 (6H, s, OCH_3), 6,57 (2H, s, Ar.H); 7,55-7,60 (3H, m, Ar. H); 7,74 (2H, d, Ar.H); 8,21 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 446,24 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ (M.A.: 423,49 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	62,40	5,00	9,92	7,57
Bulunan :	62,18	5,21	9,94	7,53

5-(4-Florobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenetil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (6b)



0,59 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenetil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**6**) ve 0,248 g (2 mmol) 4-florobenzaldehitten (**b**) hareketle genel yöntemle göre elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,60 g (%68,26).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 162-163 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonunda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3059 (C-H gerilim, aromatik); 2941 (C-H gerilim, alifatik); 1736 (C=O gerilim); 1587, 1520, 1470 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1122 (C-O gerilim); 893, 856 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

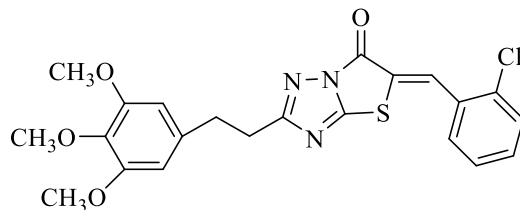
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 2,98 (2H, t, Ar- CH_2 - CH_2); 3,04 (2H, t, Ar- CH_2 -); 3,59 (3H, s, OCH_3); 3,72 (6H, s, OCH_3); 6,57 (2H, s, Ar.H); 7,43 (2H, t, Ar. H); 7,81 (2H, dd, $J_1=5,2$ Hz, $J_2=14$ Hz, Ar.H); 8,23 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 464,21 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{O}_4\text{S}$ (M.A.: 441,48 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	59,85	4,57	9,52	7,26
Bulunan :	59,98	4,79	9,63	7,32

5-(2-Klorobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (6c)



0,59 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenetil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**6**) ve 0,22 mL (2 mmol) 2-klorobenzaldehitten (**c**) hareketle genel yöntemle göre elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,67 g (%73,50)

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 142-143 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonunda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3002 (C-H gerilim, aromatik); 2931 (C-H gerilim, alifatik); 1744 (C=O gerilim); 1612, 1591, 1509 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1130 (C-O gerilim); 891, 843 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

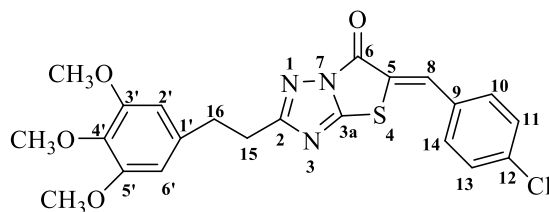
$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 2,98 (2H, t, Ar- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$); 3,07 (2H, t, Ar- CH_2 -); 3,61 (3H, s, OCH_3); 3,74 (6H, s, OCH_3); 6,58 (2H, s, Ar.H); 7,56-7,61 (2H, m, Ar. H); 7,68-7,73 (2H, m, Ar.H); 8,28 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 480,16 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ve 482,20 $[\text{M}+\text{Na}+2]^+$ pikleri görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$ (M.A.: 457,93 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	57,70	4,40	9,18	7,00
Bulunan :	57,32	4,54	9,36	7,00

5-(4-Klorobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenetil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (6d)



0,59 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenetil)-1,2,4-triazol-5-tiyon ve 0,22 mL (2 mmol) 4-klorobenzaldehitten hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,73 g (%80,31).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 162-163 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonunda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3008 (C-H gerilim, aromatik); 2936 (C-H gerilim, alifatik); 1741 (C=O gerilim); 1613, 1588, 1505 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1198 (C-O gerilim); 822, 813 (Aromatik C-H bükülme) cm⁻¹'de pikler görülmektedir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 2,97 (2H, t, Ar-CH₂-CH₂); 3,04 (2H, t, Ar-CH₂-); 3,63 (3H, s, OCH₃); 3,75 (6H, s, OCH₃); 6,61 (2H, s, Ar.H); 7,49 (2H, d, Ar. H); 7,62 (2H, d, Ar.H); 8,23 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

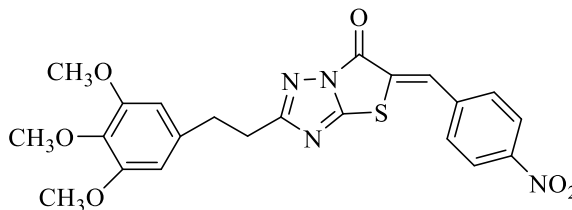
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆); 30,82 ve 33,42 (C₁₅ ve C₁₆); 56,26 (*m*-OCH₃); 60,40 (*p*-OCH₃); 106,11; 125,67; 130,17; 131,71; 132,69; 136,31; 136,66; 136,76 ve 153,22 (C_{1'-6'}, C₈₋₁₄); 138,30; 156,23 ve 159,89 (C₂, C_{3a}, C₅) ve 172,50 (C₆) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 480,16 [M+Na]⁺ ve 482,16 [M+Na+2]⁺ pikleri görülmektedir.

Analiz : C₂₂H₂₀ClN₃O₄S (M.A.: 457,93 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	57,70	4,40	9,18	7,00
Bulunan :	57,48	4,48	9,40	6,46

5-(4-Nitrobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenetil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (6e)



0,59 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenetil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**6**) ve 0,302 g (2 mmol) 4-nitrobenzaldehyitten (**e**) hareketle genel yöntemle göre elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,71 g (%76,18).

Kahverengi renkli bir toz olup, erime noktası 174-175 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3069 (C-H gerilim, aromatik); 2932 (C-H gerilim, alifatik); 1737 (C=O gerilim); 1617, 1591, 1505 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1133 (C-O gerilim); 855, 845 (Aromatik C-H bükülme) cm^{-1} 'de pikler görülmektedir.

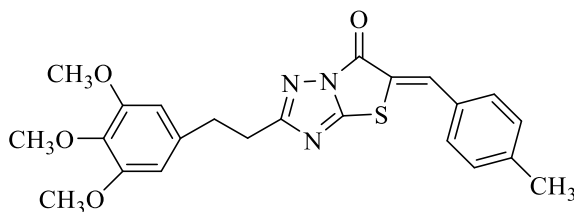
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ : 2,96 (2H, t, Ar- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$); 3,05 (2H, t, Ar- CH_2 -); 3,59 (3H, s, OCH_3); 3,73 (6H, s, OCH_3); 6,57 (2H, s, Ar.H); 7,97 (2H, d, Ar. H); 8,32 (1H, s, C=C-H); 8,37 (2H, d, Ar.H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 491,18 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki görülmektedir.

Analiz : $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ (M.A.: 468,48 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	56,40	4,30	11,96	6,84
Bulunan :	56,23	4,47	11,98	6,86

5-(4-Metilbenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenetil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (6f)



0,59 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenetil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**6**) ve 0,240 g (2 mmol) 4-metilbenzaldehyitten (**f**) hareketle genel yöntemle göre elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,71 g (%81,36).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 163-164 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonunda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3020 (C-H gerilim, aromatik); 2930 (C-H gerilim, alifatik); 1744 (C=O gerilim); 1612, 1592, 1509 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1123 (C-O gerilim); 843, 815 (Aromatik C-H bükülme) cm⁻¹'de pikler görülmektedir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 2,37 (3H, s, -CH₃); 2,97 (2H, t, Ar-CH₂-CH₂); 3,04 (2H, t, Ar-CH₂-); 3,59 (3H, s, OCH₃); 3,73 (6H, s, OCH₃); 6,57 (2H, s, Ar.H); 7,39 (2H, d, Ar. H); 7,63 (2H, d, Ar.H); 8,17 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

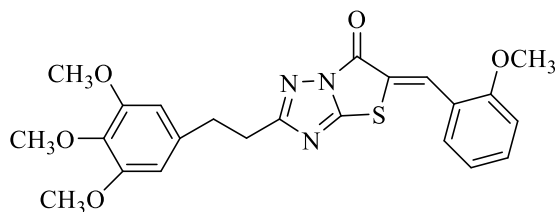
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 21,66 (Ar-CH₃); 30,82 ve 33,44 (C₁₅ ve C₁₆); 56,31 (*m*-OCH₃); 60,40 (*p*-OCH₃); 106,21; 123,53; 130,10; 130,69; 131,20; 136,43; 136,67; 139,91 ve 153,24 (C_{1'-6'}, C₈₋₁₄); 142,78; 156,29 ve 159,95 (C₂, C_{3a}, C₅) ve 172,43 (C₆) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 460,23 [M+Na]⁺ piki görülmektedir.

Analiz : C₂₃H₂₃N₃O₄S (M.A.: 437,51 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	63,14	5,30	9,60	7,33
Bulunan :	63,26	5,18	9,74	7,36

5-(2-Metoksibenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenetil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (6g)



0,59 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenetil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**6**) ve 0,272 g (2 mmol) 2-metoksibenzaldehitten (**g**) hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonitril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim:0,69 g (%75,64).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 152-153 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonitrilde az, asetonunda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3007 (C-H gerilim, aromatik); 2935 (C-H gerilim, alifatik); 1739 (C=O gerilim); 1622, 1590, 1505 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1130 (C-O gerilim); 845, 823 (Aromatik C-H bükülme) cm⁻¹'de pikler görülmektedir.

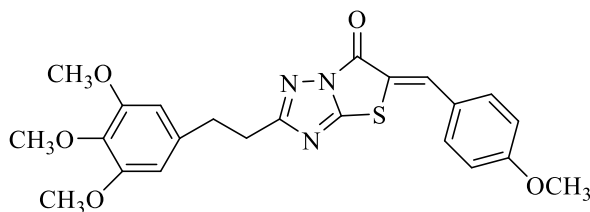
¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 2,98 (2H, t, Ar-CH₂-CH₂); 3,05 (2H, t, Ar-CH₂-); 3,61 (3H, s, OCH₃); 3,74 (6H, s, OCH₃); 3,93 (3H, s, OCH₃); 6,57 (2H, s, Ar.H); 7,14 (1H, t, Ar.H); 7,20 (1H, d, Ar.H); 7,56 (2H, m, Ar.H); 8,30 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 476,22 [M+Na]⁺ piki görülmektedir.

Analiz : C₂₃H₂₃N₃O₅S (M.A.: 453,51 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	60,91	5,11	9,27	7,07
Bulunan :	60,50	5,35	9,34	7,07

5-(4-Metoksibenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenetil)tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (6h)



0,59 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenetil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**6**) ve 0,272 g (2 mmol) 4-metoksibenzaldehitten (**h**) hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonyril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,72 g (%79,33).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 204-205 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonyrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3003 (C-H gerilim, aromatik); 2936 (C-H gerilim, alifatik); 1745 (C=O gerilim); 1601, 1580, 1516 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1136 (C-O gerilim); 843, 820 (Aromatik C-H bükülme) cm⁻¹'de pikler görülmektedir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 2,97 (2H, t, Ar-CH₂-CH₂); 3,04 (2H, t, Ar-CH₂-); 3,59 (3H, s, OCH₃); 3,73 (6H, s, OCH₃); 3,84 (3H, s, OCH₃); 6,56 (2H, s, Ar.H); 7,14 (2H, d, Ar.H); 7,72 (2H, d, Ar.H); 8,18 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

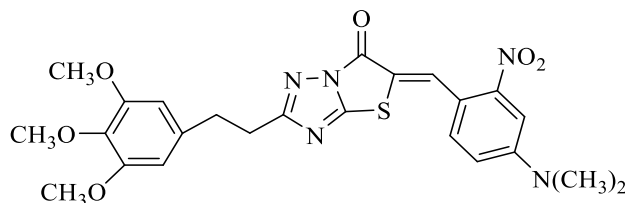
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 30,83 ve 33,48 (C₁₅ ve C₁₆); 56,30 (*m*-OCH₃); 56,15 ve 60,40 (*p*-OCH₃); 106,19; 121,25; 125,33; 133,51; 136,43; 136,39; 139,70; 153,23 ve 162,30 (C_{1'-6'}; C₈₋₁₄); 139,96; 156,44 ve 159,78 (C₂, C_{3a}, C₅) ve 172,32 (C₆) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 476,22 [M+Na]⁺ piki görülmektedir.

Analiz : C₂₃H₂₃N₃O₅S (M.A.: 453,51 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	60,91	5,11	9,27	7,07
Bulunan :	60,79	5,35	9,34	7,07

5-(4-Dimetilamino-2-nitrobenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenetil)tiyazolo [3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (6i)



0,59 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenetil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**6**) ve 0,388 g (2 mmol) 4-dimetilamino-2-nitrobenzaldehyitten (**i**) hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonytril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,83 g (% 81,50).

Turuncu renkli bir toz olup, erime noktası 175-176°C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve hekzanda çözünmez. Asetonytrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3002 (C-H gerilim, aromatik); 2990, 2942 (C-H gerilim, alifatik); 1712 (C=O gerilim); 1576, 1499 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1130 (C-O gerilim); 820, 817 (Aromatik C-H bükülme) cm⁻¹'de pikler görülmektedir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 2,98 (2H, t, Ar-CH₂-CH₂); 3,06 (2H, t, Ar-CH₂-); 3,11 (6H, s, -N-CH₃); 3,61 (3H, s, OCH₃); 3,75 (6H, s, OCH₃); 6,58 (2H, s, Ar.H); 7,16 (1H, dd, *J*₁=2,8 Hz, *J*₂=8,8 Hz, Ar.H); 7,37 (1H, d, *J*=2,8 Hz, Ar.H); 7,63 (1H, d, *J*=8,8 Hz, Ar.H); 8,18 (1H, s, C=C-H) ppm'de pikler görülmektedir.

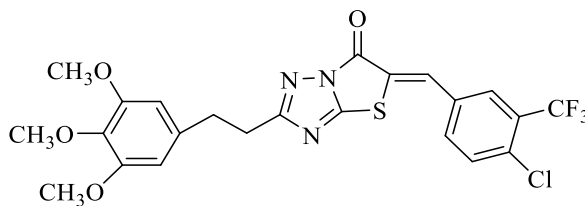
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 30,25; 32,89 (C₁₅ ve C₁₆); 39,64 (N-CH₃); 55,74 (*m*-OCH₃); 59,83 (*p*-OCH₃); 105,63; 107,22; 111,40; 115,39; 122,03; 130,29; 134,49; 136,11; 151,14; 152,67 (C_{1'-6'}, C₈₋₁₄); 135,85; 155,56; 159,16 (C₂, C_{3a}, C₅) ve 171,75 (C₆) ppm'de pikler görülmektedir.

Kütle spektrumunda (ESI), m/z 512,24 [M+H]⁺ ve 534,21 [M+Na]⁺ piki görülmektedir.

Analiz : C₂₄H₂₅N₅O₆S (M.A.: 511,55 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	56,35	4,93	13,69	6,27
Bulunan :	56,42	4,88	13,79	6,45

5-(4-Kloro-3-triflorometilbenziliden)-2-(3,4,5-trimetoksifenetil)tiyazolo [3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (6j)



0,59 g (2 mmol) 3-(3,4,5-Trimetoksifenetil)-1,2,4-triazol-5-tiyon (**6**) ve 0,417 g (2 mmol) 4-kloro-3-triflorometilbenzaldehyitten (**j**) hareketle genel yöntemle elde edilen ürün asetonitril ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim: 0,83 g (% 79,63).

Sarı renkli bir toz olup, erime noktası 179-180 °C'dir. Su, petrol eteri, etanol ve heksanda çözünmez. Asetonitrilde az, asetonda iyi çözünür.

IR spektrumunda, 3086 (C-H gerilim, aromatik); 2995, 2929 (C-H gerilim, alifatik); 1703 (C=O gerilim); 1569, 1471 (C=C gerilim ve C=N gerilim); 1162 (C-O gerilim); 893, 852 (Aromatik C-H bükülme) cm⁻¹'de pikler görülmektedir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 2,99 (2H, t, Ar-CH₂-CH₂); 3,06 (2H, t, Ar-CH₂-); 3,61 (3H, s, OCH₃); 3,75 (6H, s, OCH₃); 6,59 (2H, s, Ar.H); 7,99 (2H, d, Ar.H); 8,30 (1H, s, C=C-H); 8,46 (1H, d, Ar.H) ppm'de pikler görülmektedir.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ: 30,34; 32,92 (C₁₅ ve C₁₆); 55,75 (*m*-OCH₃); 59,90 (*p*-OCH₃); 105,56; 121,03; 123,75; 127,19; 127,53; 130,52; 132,02; 136,20; 136,45 ve 152,73 (C_{1'-6'}, C₈₋₁₄); 135,62 (-CF₃); 138,74; 155,39; 159,24 (C₂, C_{3a}, C₅) ve 172,49 (C₆) ppm'de pikler görülmektedir.

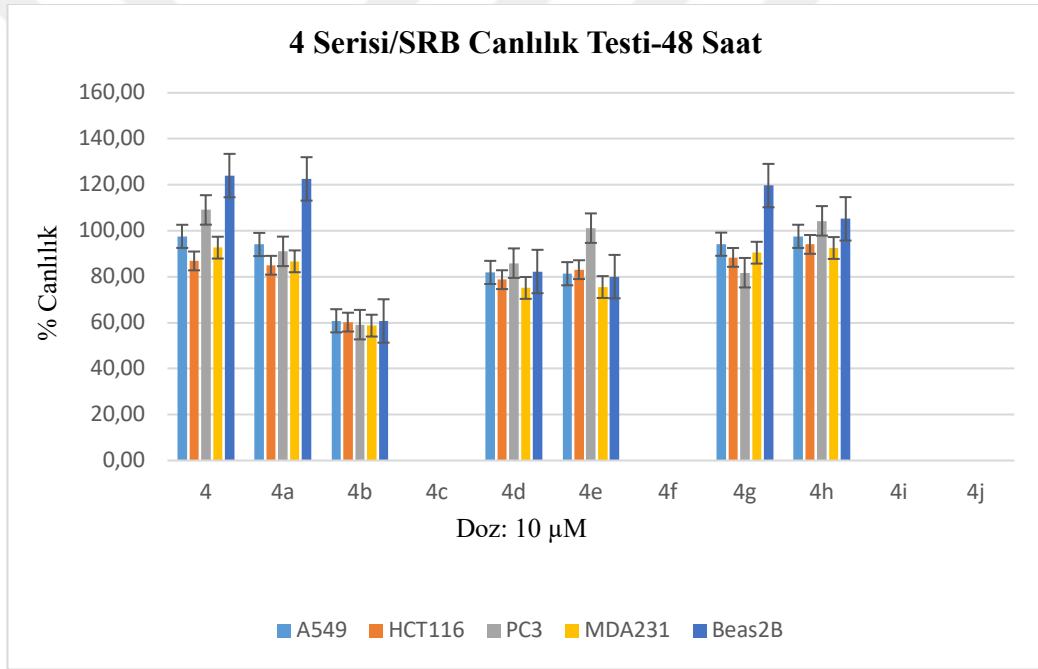
Kütle spektrumunda (ESI), m/z 526,16 [M+H]⁺ ve 548,12 [M+Na]⁺ ve 550,15 [M+Na+2]⁺ piki görülmektedir.

Analiz : C₂₃H₁₉ClF₃N₃O₄S (M.A.: 525,93 g/mol)

	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan :	52,53	3,64	7,99	6,10
Bulunan :	52,45	3,84	8,12	6,29

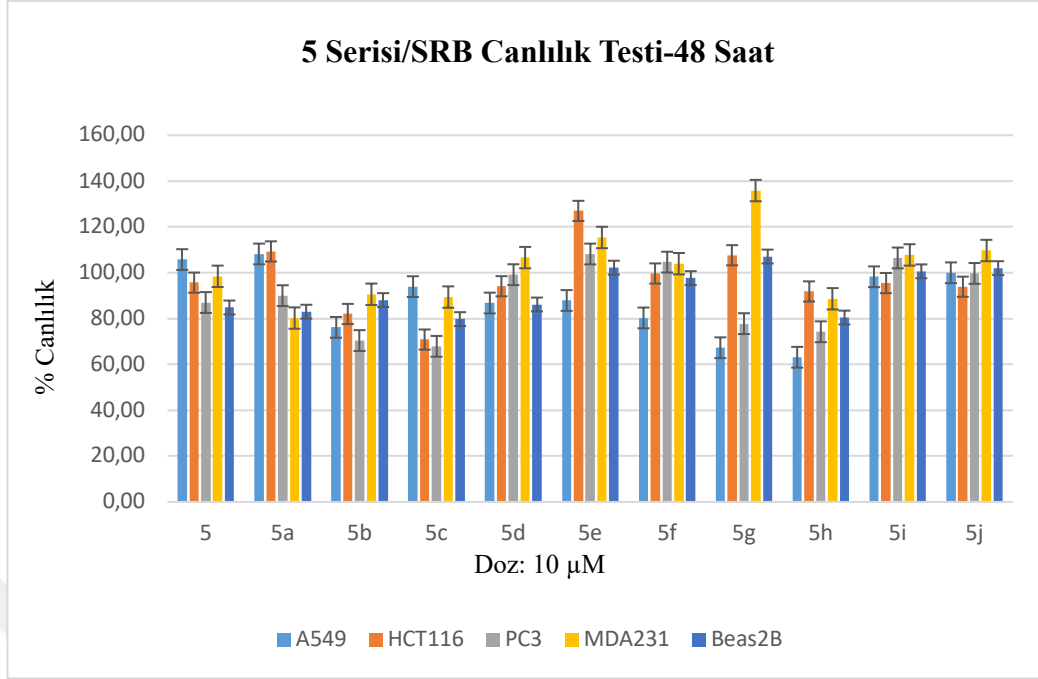
4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Sentezlenen bileşiklerin hücre canlılığı üzerine etkileri (sitotoksik aktiviteleri) A549 (akciğer kanseri hücre hattı), PC3 (prostat kanseri hücre hattı), HCT116 (kolon kanseri hücre hattı) ve MDA231 (meme kanseri hücre hattı) olmak üzere 4 farklı insan orijinli kanser hücre hatlarında ve Beas2B (akciğer epitel hücre hattı) insan orijinli sağlıklı hücre hattında SRB yöntemi ile 10 μ M konsantrasyonda incelenmiştir (Şekil 4.1-3). Test sonuçlarına göre sentezlenen bileşikler içerisinde A549 hücre hattında hücre canlılığını en çok azaltan ve test koşullarında çözünürlüğü en yüksek olan **4b**, **5g**, **5h**, **6c** ve **6e** bileşikler SRB yöntemi ile ileri analizlere götürülmek üzere seçilmiştir.

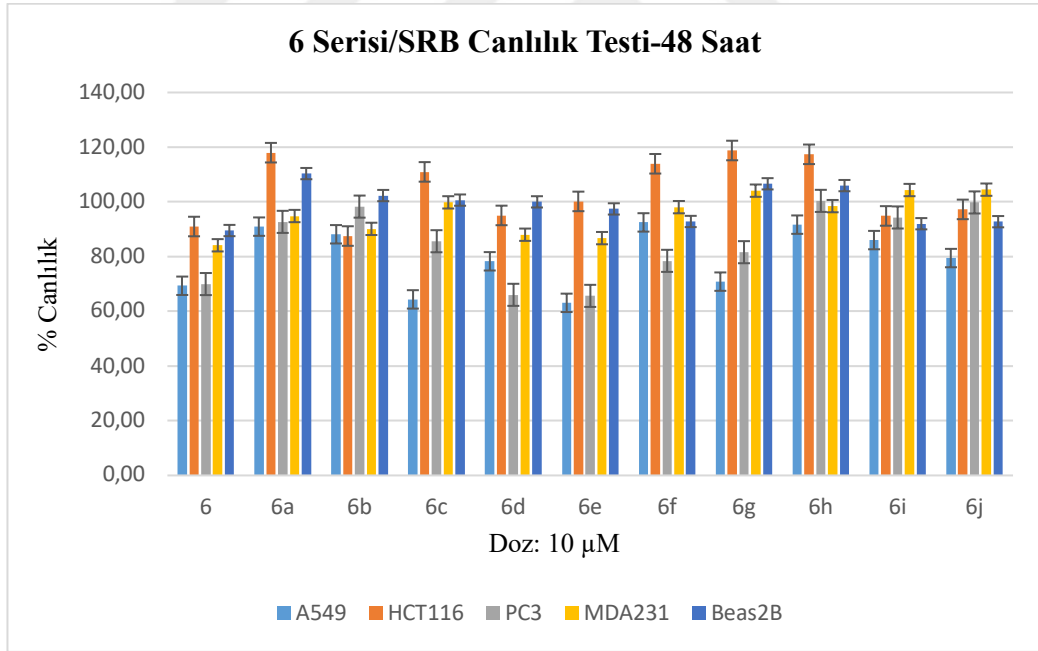


Şekil 4.1. Bileşik 4 ve 4a-j'nin 10 μ M konsantrasyonda SRB testi sonuçları.

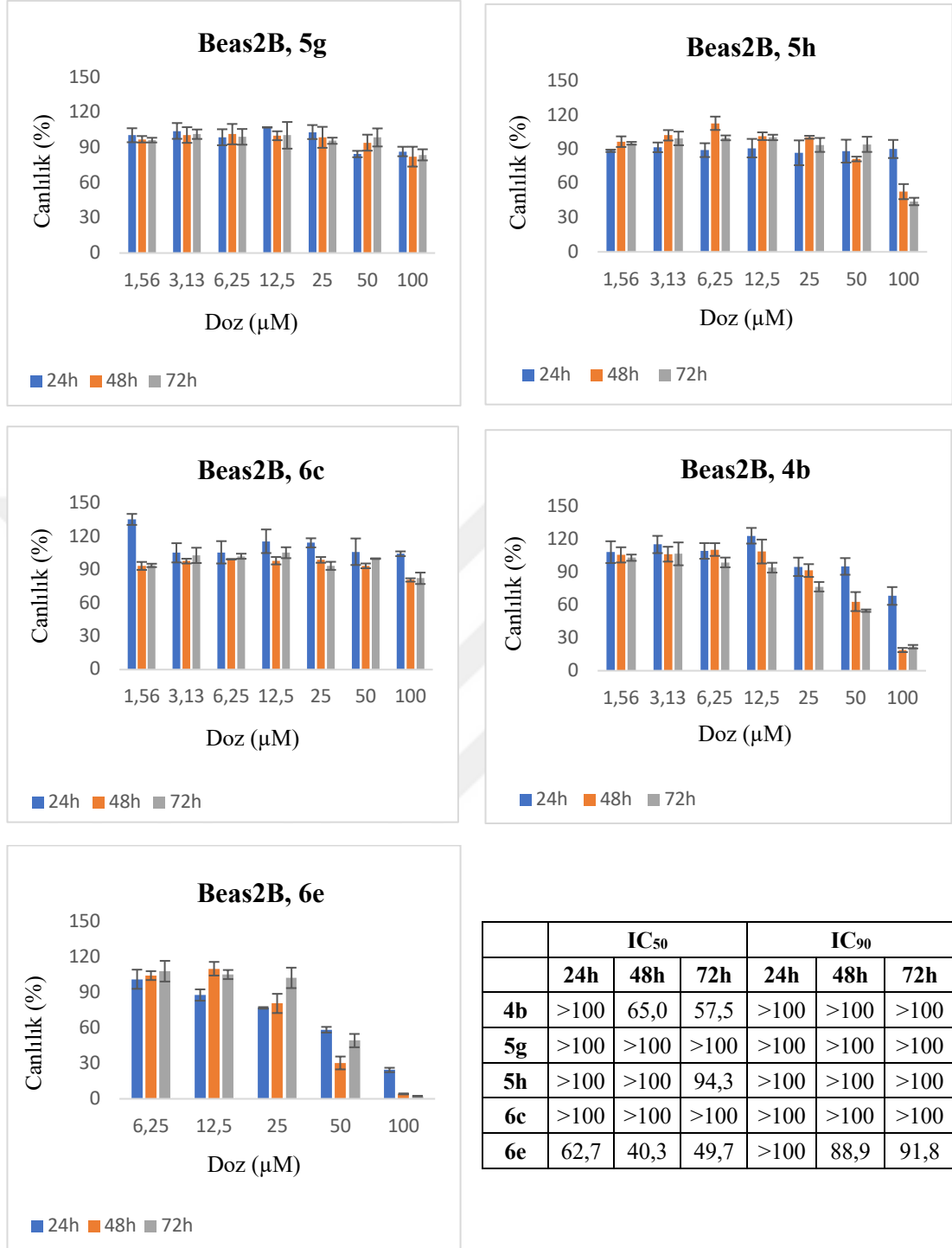
* 4c, 4f, 4i ve 4j maddeleri çözünürlük sorunu yaşanmasından dolayı test edilememiştir.



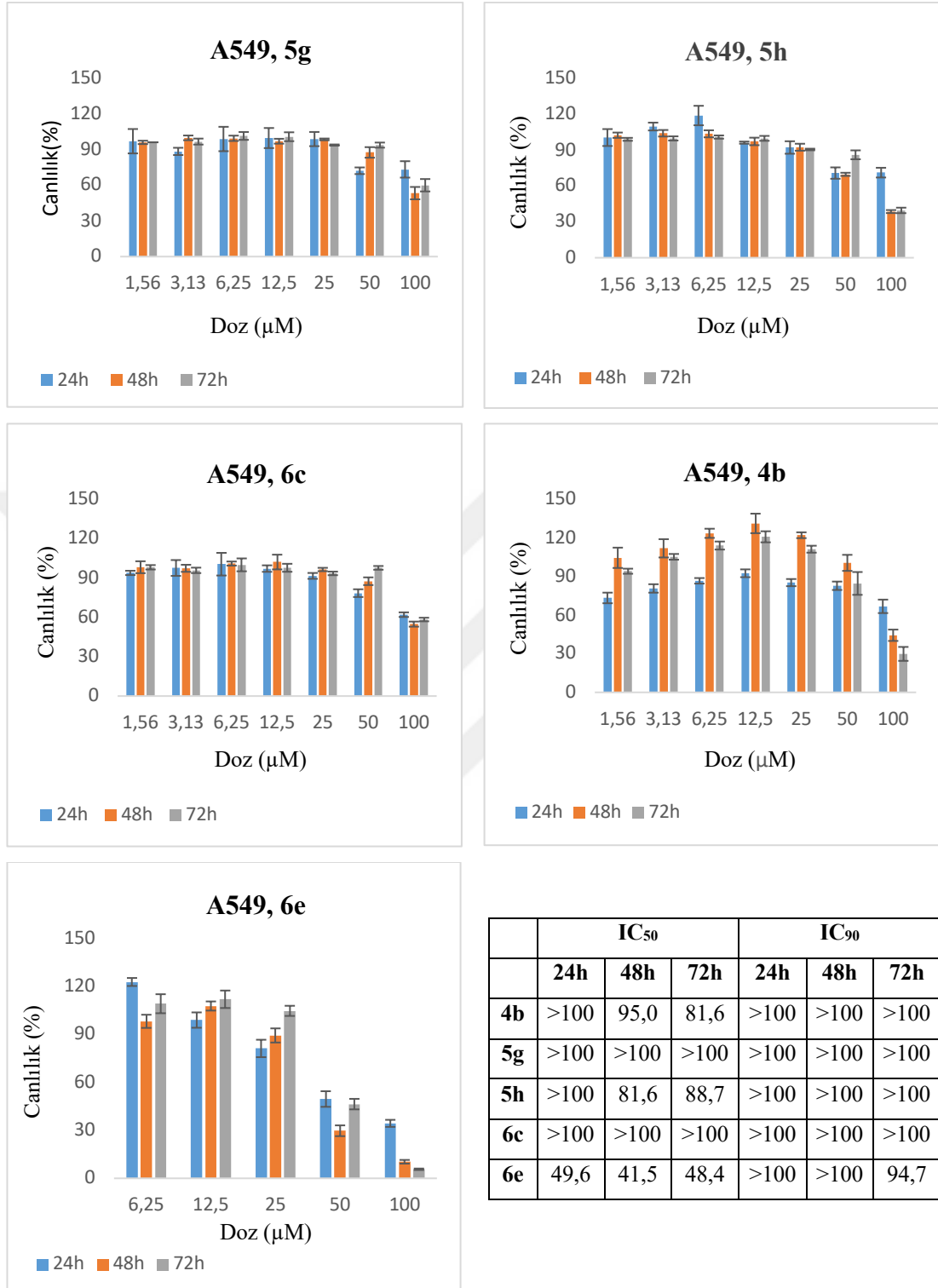
Şekil 4.2. Bileşik 5 ve 5a-j'nin 10 µM konsantrasyonda SRB testi sonuçları.



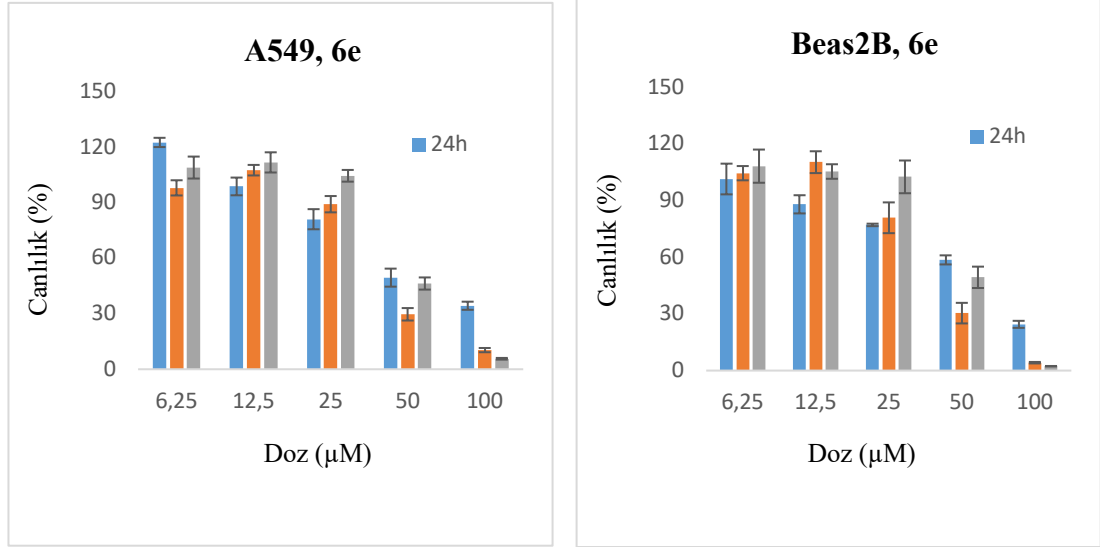
Şekil 4.3. Bileşik 6 ve 6a-j'nin 10 µM konsantrasyonda SRB testi sonuçları.



Şekil 4.4. Seçilen bileşiklerin 0-100 µM aralığında Beas2B hücre hattındaki SRB testi sonuçları.

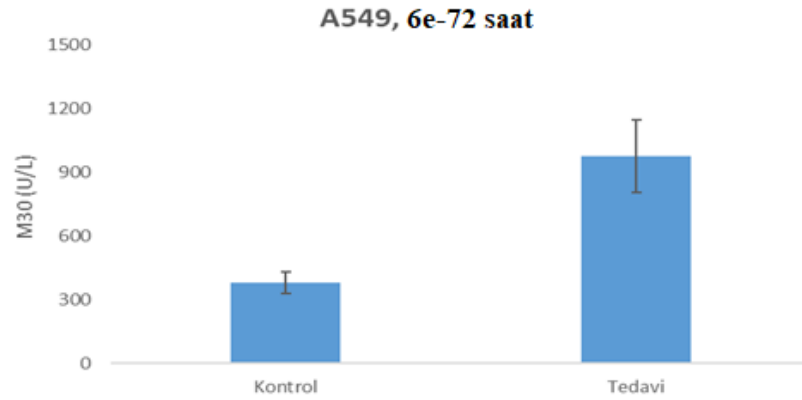


Şekil 4.5. Seçilen bileşiklerin 0-100 μ M aralığında A549 hücre hattındaki SRB testi sonuçları.

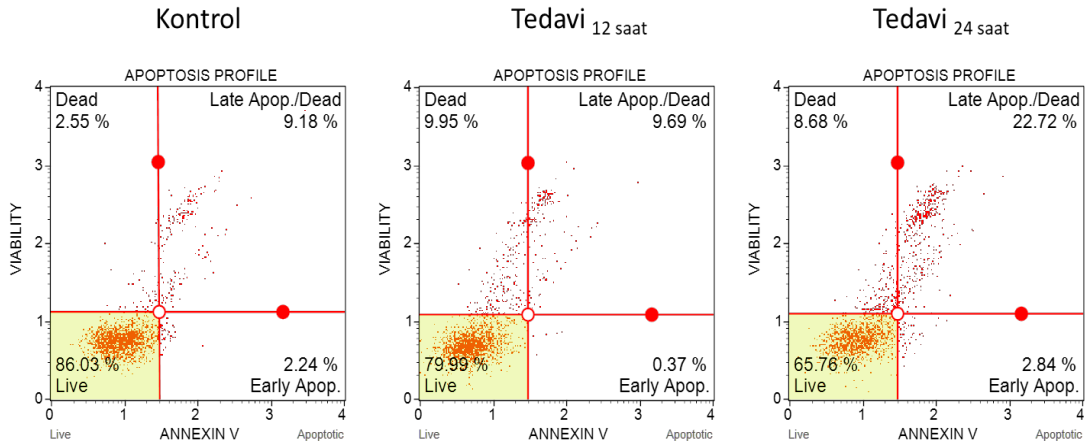


	IC ₅₀			IC ₉₀		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
A549	49,6	41,5	48,4	>100	100,9	94,7
Beas2B	62,7	40,3	49,7	>100	88,9	91,8

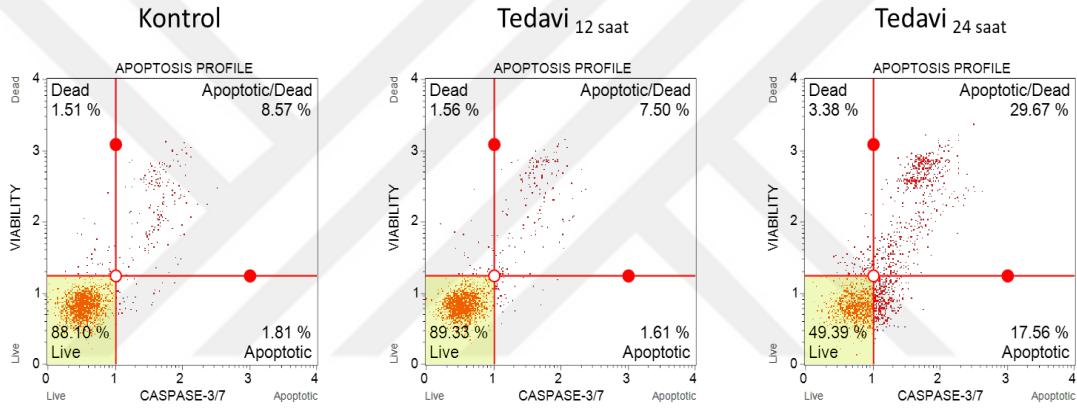
Şekil 4.6. 6e bileşiğinin A549 ve Beas2B hücre hatlarında 0-100 μM aralığındaki ATP Canlılık Testi sonuçları.



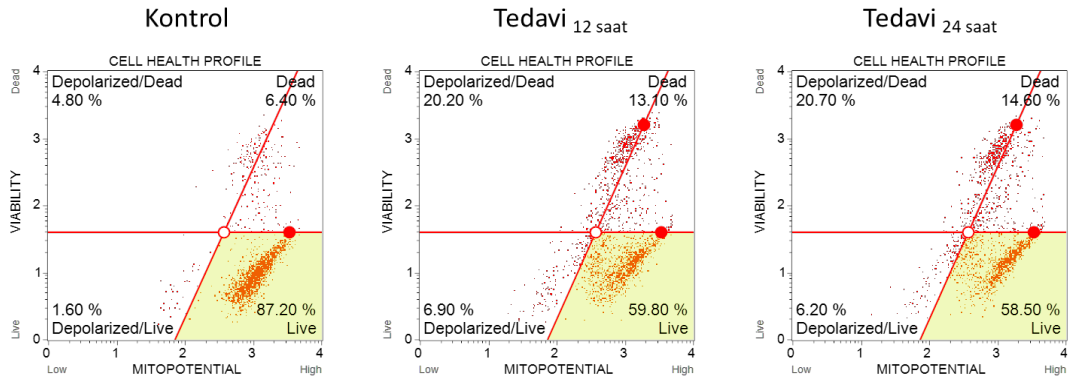
Şekil 4.7. 6e bileşiğinin A549 hücre hattında 100 μM'da M30 hücre ölümü testi sonucu.



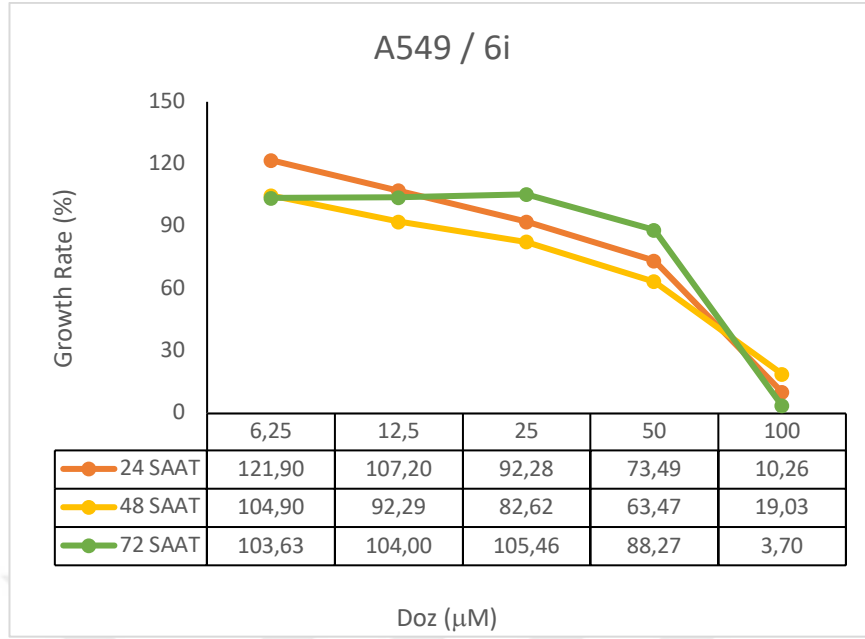
Şekil 4.8. 6e bileşiğinin Annexin V analiz sonucu.



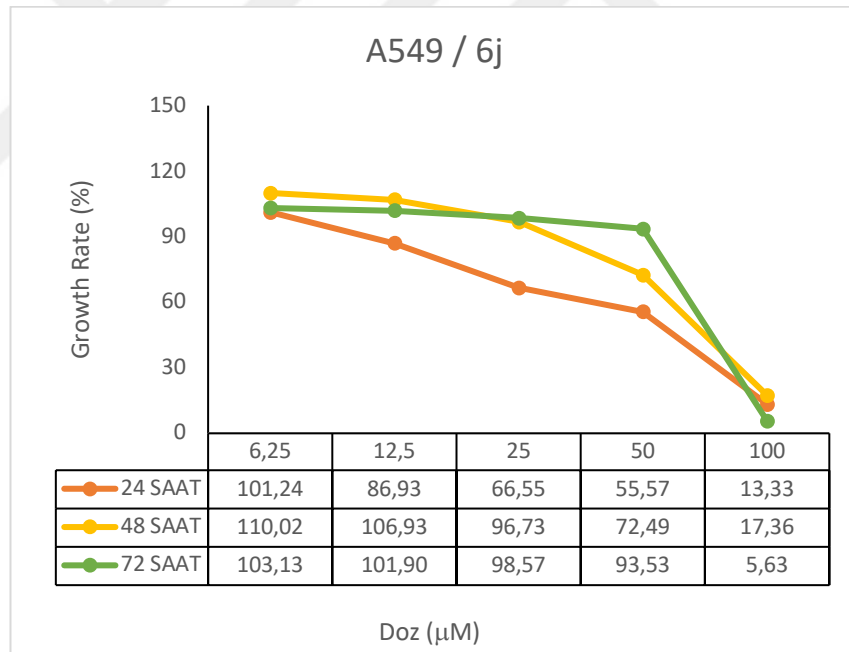
Şekil 4.9. 6e bileşiğinin Kaspaz 3/7 testi sonucu.



Şekil 4.10. 6e bileşiğinin mitokondri membran potansiyeli testi sonucu.



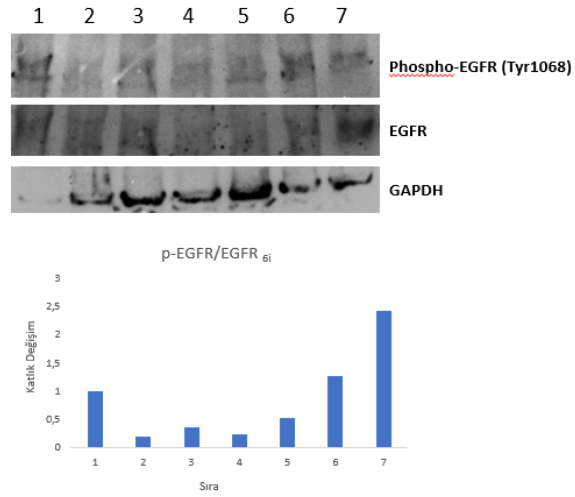
Şekil 4.11. 6i bileşiğinin büyüme eğrisi.



Şekil 4.12. 6j bileşiğinin büyüme eğrisi.

Hücre Hattı: A549
 Ana stok: 25 mM / DMSO
 Doz : 50 ve 100 μ M
 Zaman: 24 / 48 / 72 saat

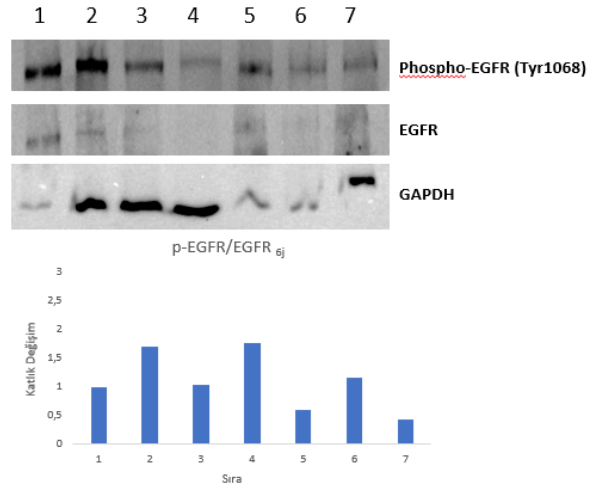
Sıra 1: Negatif Kontrol
 Sıra 2: 100 μ M-24 saat
 Sıra 3: 100 μ M-48 saat
 Sıra 4: 100 μ M-72 saat
 Sıra 5: 50 μ M-24 saat
 Sıra 6: 50 μ M-48 saat
 Sıra 7: 50 μ M-72 saat



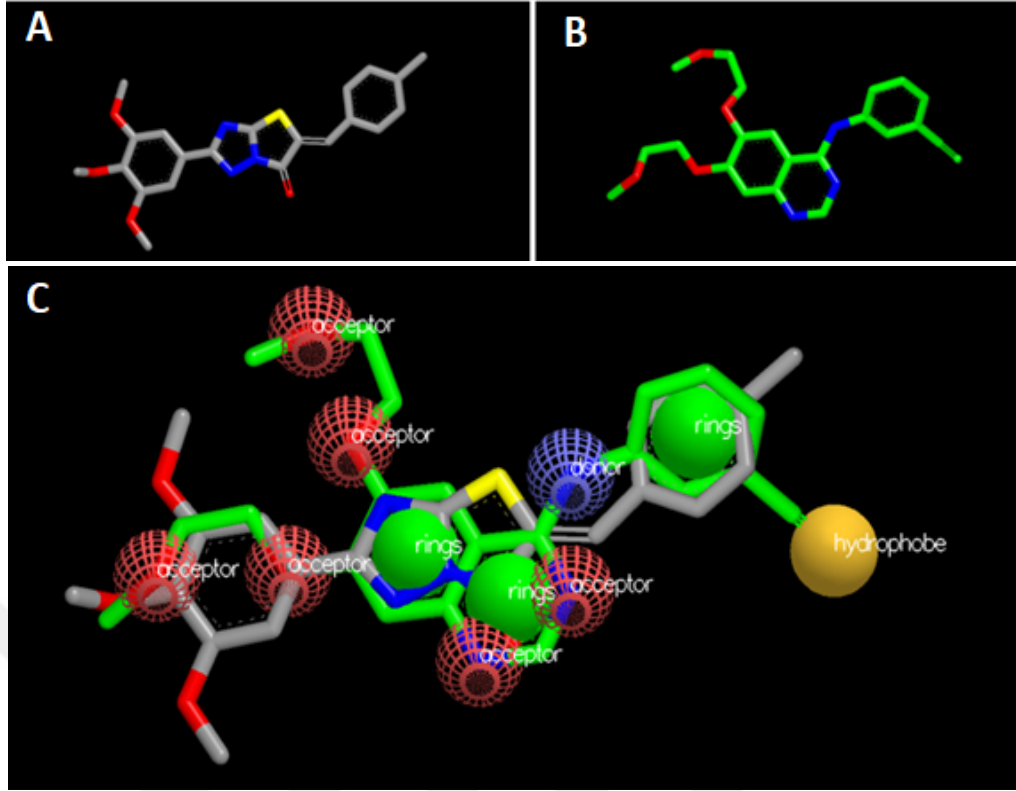
Şekil 4.13. 6i bileşiğinin Western Blot testi sonucu.

Hücre Hattı: A549
 Ana stok: 25 mM / DMSO
 Doz : 50 ve 100 μ M
 Zaman: 24 / 48 / 72 saat

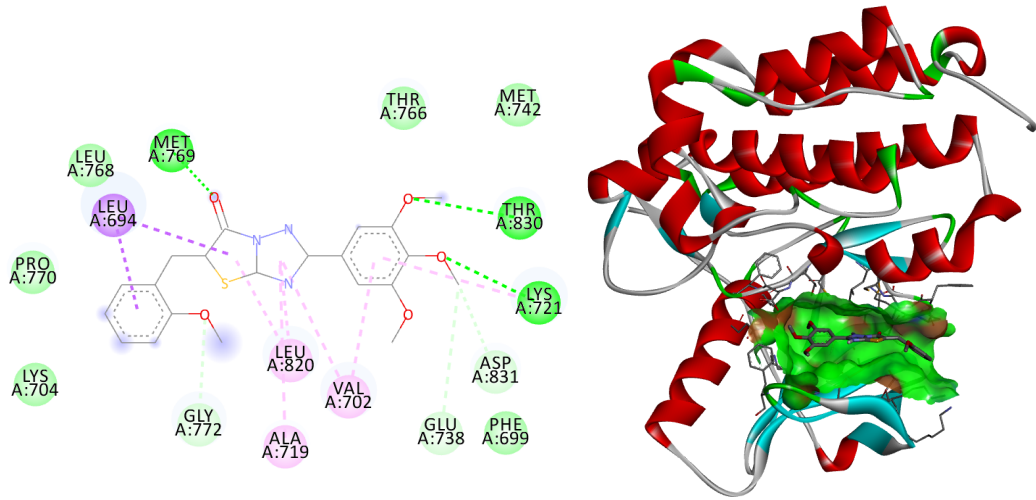
Sıra 1: Negatif Kontrol
 Sıra 2: 100 μ M-24 saat
 Sıra 3: 100 μ M-48 saat
 Sıra 4: 100 μ M-72 saat
 Sıra 5: 50 μ M-24 saat
 Sıra 6: 50 μ M-48 saat
 Sıra 7: 50 μ M-72 saat



Şekil 4.14. 6j bileşiğinin Western Blot testi sonucu.



Şekil 4.15. Bileşik 4g (A), Erlotinib (B) ve topolojik benzerliklerinin (C) üç boyutlu gösterimi.



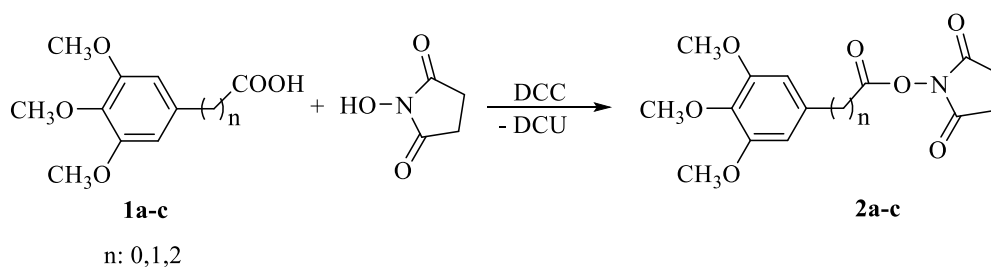
Şekil 4.16. Bileşik 4g'nin protein içindeki bağlanma modu ve amino asitler ile yaptığı etkileşimler.

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon ve sübstitüe benzaldehit türevleri kullanılarak sitotoksik aktivite göstermesi beklenen ve literatürde kayıtlı olmayan 30 adet yeni 2-sübstitüe-5-benzilidentiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on yapısında bileşik sentezlenmiş, erime dereceleri belirlenip yapı aydınlatma çalışmaları yapılmış ve sitotoksik aktiviteleri taranmıştır. Bileşiklerin *in vitro* sitotoksik aktiviteleri SRB yöntemi, ATP canlılık testi, M30 testi, Annexin V analizi, mitokondri membran potansiyeli testi ve Kaspaz 3/7 testleri ile incelenmiştir.

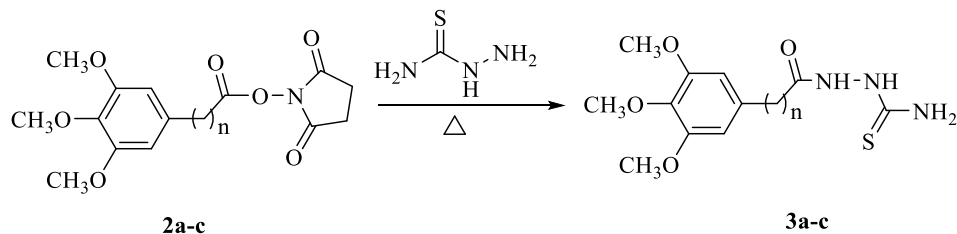
Sentezi yapılan bileşikler 3,4,5-trimetoksibenzoik asit, 3,4,5-trimetoksifenil asetik asit ve 3-(3,4,5-trimetoksifenil)propiyonik asitten hareketle elde edilen 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin asidik ortamda sübstitüe benzaldehit türevleri ile *Claisen-Schmidt* kondenzasyon reaksiyonu sonucunda elde edilmiştir.

Hedeflenen bileşiklerin sentezinde ilk olarak uygun karboksilli asit bileşiği (**1a-c**) soğuk ortamda *N*-hidroksisüksinimit ve DCC ile karıştırılarak ester yapısında bileşikler (**2a-c**) elde edilmiştir (**Şekil 5.1**). DCC bu basamakta su tutucu olarak kullanılmış ve reaksiyon sonunda ortamda çöken disikloheksil üre (DCU) süzülerek reaksiyon ortamından uzaklaştırılmıştır. Bu reaksiyonla karboksilli asit grubunun reaktivitesi daha yüksek olan ester grubuna dönüştürülmesi amaçlanmış ve reaksiyon % 65-83 verimle gerçekleşmiştir.



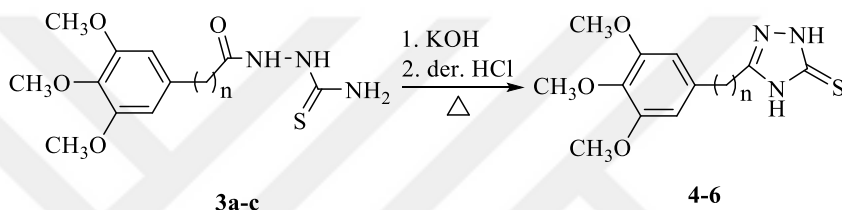
Şekil 5.1. Ester türevlerinin (**2a-c**) sentez yöntemi.

Elde edilen ester türevleri tiyosemikarbazit ile 8 saat ısıtılarak % 78-81 verimle açiltiyosemikarbazitler (**3a-c**) sentezlenmiştir (**Şekil 5.2**).



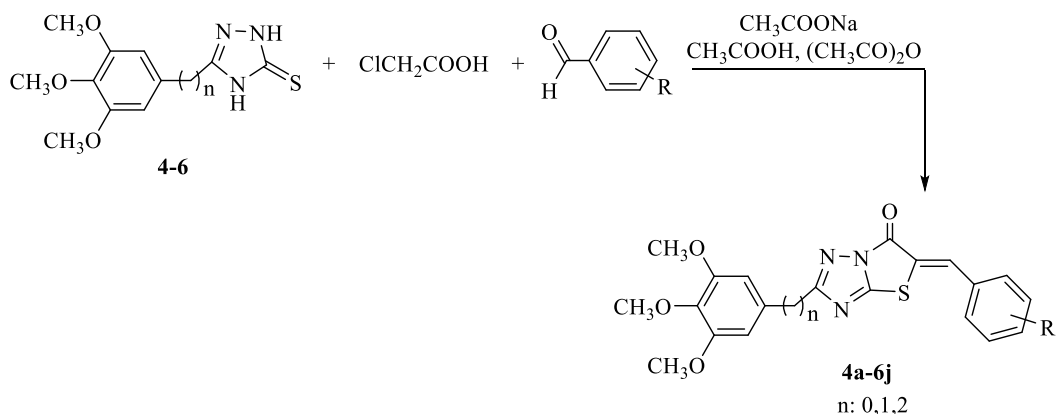
Şekil 5.2. Açiltiyosemikarbazit türevlerinin (**3a-c**) sentez yöntemi.

Ardından açiltiyosemikarbazit türevlerinin % 10'luk KOH çözeltisi içinde 4 saat ısıtılması sonucunda halka kapanması gerçekleştirilmiş ve % 84-89 verim ile 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon türevleri (**4-6**) elde edilmiştir (**Şekil 5.3**).



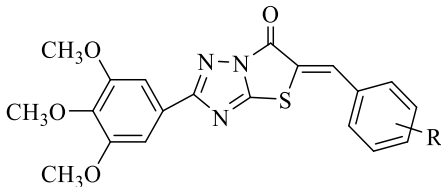
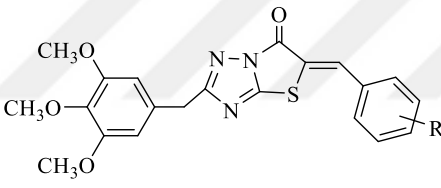
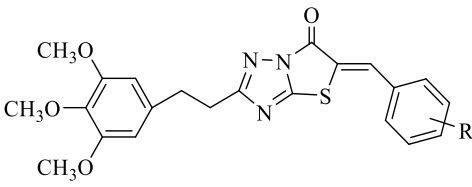
Şekil 5.3. 1,2,4-Triazol-5-tiyon türevlerinin (**4-6**) sentez yöntemi.

Reaksiyonun son basamağında ise elde edilen 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşikleri asetik asit ve asetik anhidrit içerisinde, susuz sodyum asetat katalizörlüğünde kloro asetik asit ve süstitüe benzaldehitler ile 140 °C'de 4 saat ısıtılarak % 33-84 verimle 2-süstitüe-5-benzilidentiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevleri (**4a-6j**) elde edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin genel yapıları, yüzde verimleri ve erime dereceleri Tablo 5.1' de verilmiştir (**Şekil 5.4**).

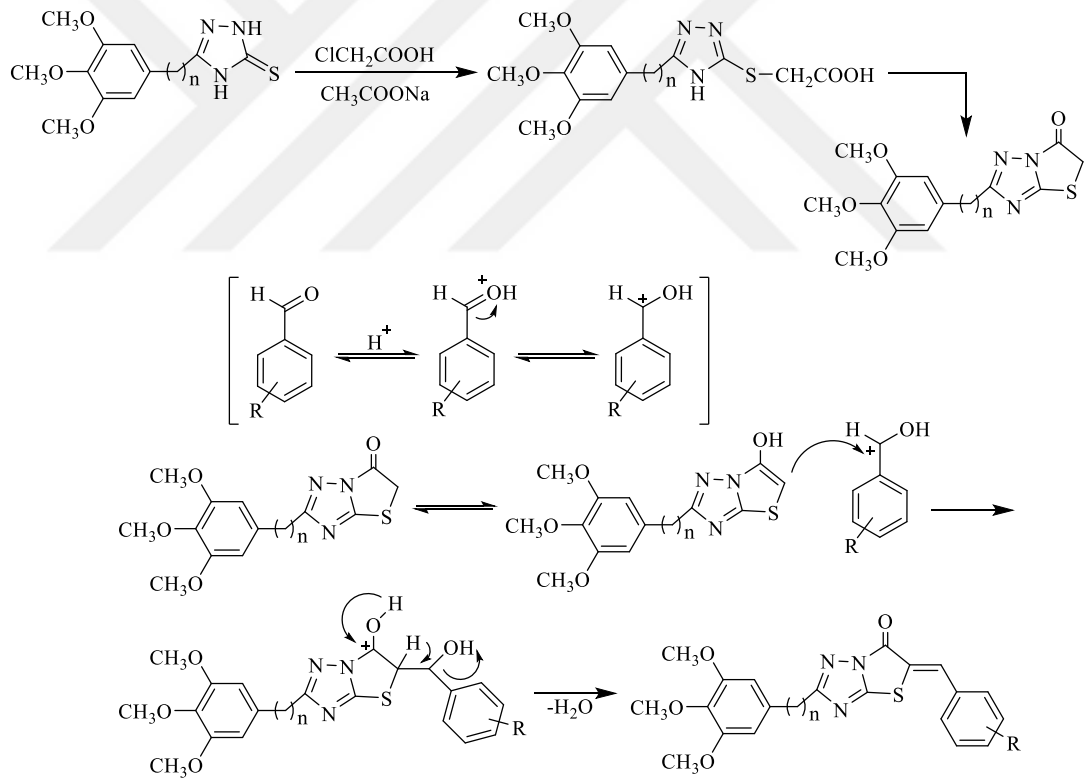


Şekil 5.4. Tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on türevlerinin (**4a-6j**) sentezi.

Tablo 5.1. Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları, erime dereceleri ve yüzde verimleri.

Molekül	Bileşik	R	E. D. (°C)	Verim (%)
	4a	-H	178-179	33,16
	4b	4-F	241-242	58,60
	4c	2-Cl	231-233	65,02
	4d	4-Cl	212-213	53,32
	4e	4-NO ₂	228-229	53,96
	4f	4-CH ₃	180-181	49,50
	4g	2-OCH ₃	202-203	58,29
	4h	4-OCH ₃	183-184	66,40
	4i	2-NO ₂ -4-N(CH ₃) ₂	192-193	63,25
	4j	3-CF ₃ -4-Cl	172-173	59,41
	5a	-H	190-192	59,11
	5b	4-F	246-247	78,60
	5c	2-Cl	170-171	75,38
	5d	4-Cl	178-179	65,63
	5e	4-NO ₂	191-192	71,64
	5f	4-CH ₃	187-189	70,26
	5g	2-OCH ₃	186-187	83,50
	5h	4-OCH ₃	195-196	80,03
	5i	2-NO ₂ -4-N(CH ₃) ₂	183-184	75,88
	5j	3-CF ₃ -4-Cl	172-173	82,10
	6a	-H	149-150	72,65
	6b	4-F	162-163	68,26
	6c	2-Cl	142-143	73,50
	6d	4-Cl	162-163	80,31
	6e	4-NO ₂	174-175	76,18
	6f	4-CH ₃	163-164	81,36
	6g	2-OCH ₃	152-153	75,64
	6h	4-OCH ₃	204-205	79,33
	6i	2-NO ₂ -4-N(CH ₃) ₂	175-176	81,50
	6j	3-CF ₃ -4-Cl	179-180	79,63

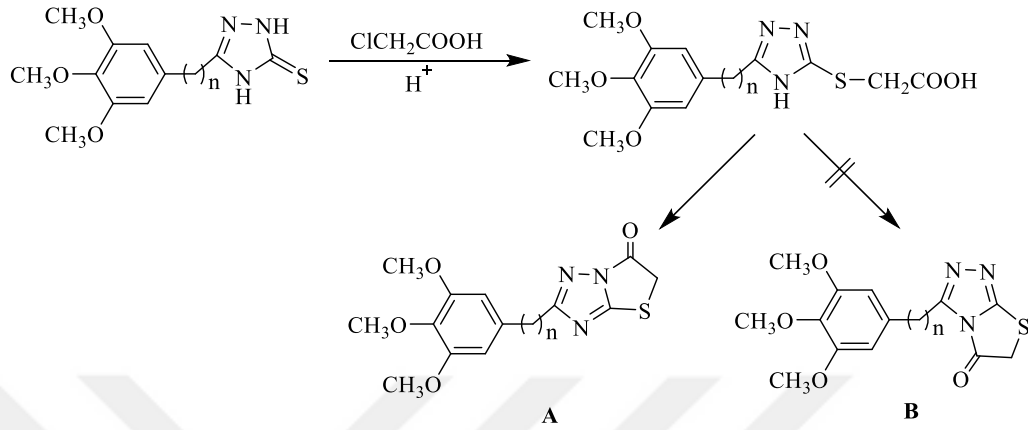
Tez çalışmamıza konu olan kondanse bileşiklerin sentezi *Claisen-Schmidt* kondenzasyon reaksiyonunun bir örneğidir. *Claisen-Schmidt* kondenzasyon reaksiyonunda α konumunda hidrojen taşımayan bir mol aldehit, α konumunda hidrojen taşıyan bir mol keton ile reaksiyona girerek α,β -doymamış karbonil bileşiklerini oluşturur. Bu reaksiyon asidik ve bazik ortamda farklı mekanizmalar ile gerçekleşmektedir (228). Tez çalışmamızda reaksiyon asidik ortamda gerçekleştirilmiştir. Asidik ortamda, tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on halkasının 6 numaralı konumundaki karbonil grubu keto-enol tautomerizasyonu sonucunda enol formuna dönüşür. Enol formunun oluşması ile aktif hale gelen 5 numaralı konumdaki metilen grubu, sübstitüe benzaldehitin asidik ortamda oluşan elektrofilik karbon atomuna atak yapar ve ortamdan 1 mol su çıkışı ile 2-sübstitüe-5-benzilidentiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on bileşikleri elde edilir (Şekil 5.5).



Şekil 5.5. 2-Sübstitüe-5-benzilidentiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-5(6*H*)-on türevlerinin (4a-6j) sentez mekanizması.

1,2,4-Triazol-5-tiyon halkasının çeşitli dielektrofillerle reaksiyonu sonucu tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol (**A**) veya tiyazolo[2,3-*c*]-1,2,4-triazol (**B**) olmak üzere yapı izomeri iki siklizasyon ürünü oluşabilir. Ancak çalışma grubumuzun bu yapı ile

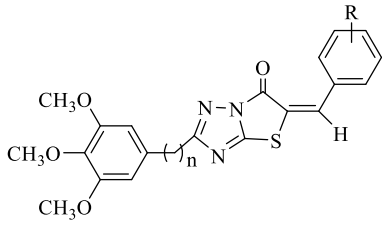
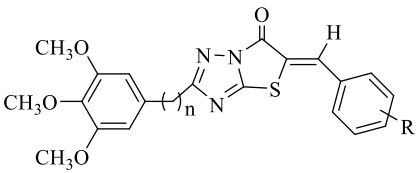
yapmış olduğu önceki çalışmalarda spektral veriler ve X-ışınları kristalografisi verileri ile reaksiyonun tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on ürününü verecek şekilde gerçekleştiği kanıtlanmıştır (**Şekil 5.6**) (229).



Şekil 5.6. Sentez reaksiyonunda oluşması muhtemel yapı izomerleri.

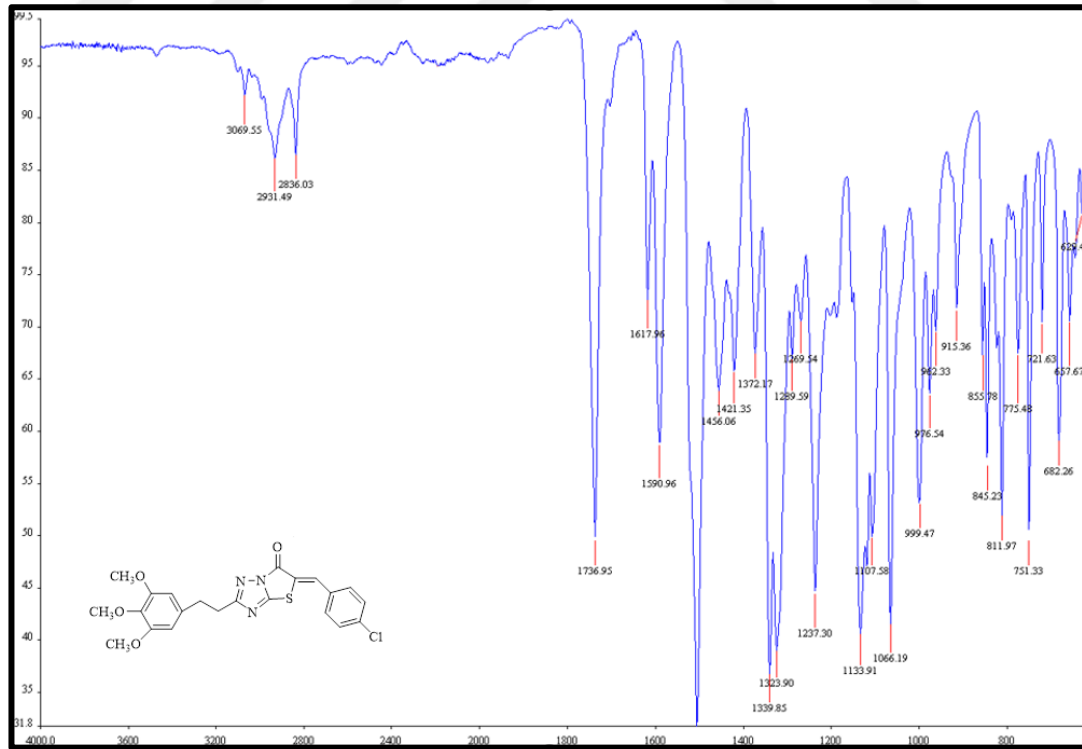
Sentezi yapılan bileşikler 5 numaralı konumundaki benziliden yapısından dolayı *E* ve/veya *Z* konfigürasyonunda bulunabilirler. Sentez çalışmaları sırasında İTK plaklarında sonuç ürünün tek leke olarak görülmesi ve ^1H -NMR spektrumlarında benzilik protonun singlet olarak tek pik halinde gözlenmesi elde edilen ürünün tek izomer formunda bulunduğunu düşündürmüştür. Sentezlenen bileşiklerin hangi izomer formunda bulunduğunu anlamak için; bileşiklerin tamamının *E* ve *Z* konfigürasyonları ChemDraw professional (versiyon: 16.0.1.4) yazılımı ile hazırlanarak enerjileri MM2 forcefield yöntemi ile minimize edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda bileşiklerin *Z* konfigürasyonlarının enerjilerinin *E* konfigürasyonlarına kıyasla daha düşük olduğu bulunmuş, bu nedenle bileşiklerin *Z* konfigürasyonunda bulunduğu düşünülmüştür. Çalışma grubumuzun bu halka sistemi ile yaptığı önceki çalışmalarda, sonuç ürünlerin bazılarının X-ışınları kristalografisi analizi sonucunda *Z* konfigürasyonunda bulunmuş olması bu hipotezimizi destekler niteliktedir (**Tablo 5.2**) (229).

Tablo 5.2. Sentezi yapılan bileşiklerin E ve Z konfigürasyonlarının enerjileri.

Bileşik	E (kcal/mol)	Z (kcal/mol)
		
4a	57,2209	53,7066
4b	57,1596	53,6723
4c	68,7988	67,0934
4d	57,6891	54,2190
4e	59,3213	56,2472
4f	57,1005	53,5762
4g	68,4845	68,2212
4h	62,9733	59,1112
4i	54,7561	52,2830
4j	59,9620	56,4862
5a	54,4497	50,9159
5b	54,3763	50,8678
5c	66,0079	64,2875
5d	54,9205	51,4284
5e	54,6011	48,0948
5f	54,3321	50,7987
5g	66,3347	65,4261
5h	60,2194	56,7267
5i	54,9753	50,0378
5j	56,3963	51,8820
6a	54,9688	52,8096
6b	54,8905	52,7580
6c	66,5557	66,2025
6d	55,4189	53,3031
6e	56,8754	58,4849
6f	54,8412	52,6800
6g	66,2659	62,4620
6h	60,7148	58,6189
6i	66,8639	62,7800
6j	66,2789	61,4690

Sentezlenen bileşiklerin yapıları IR, ^1H - ve ^{13}C -NMR, kütle spektroskopisi ve elementel analiz yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Tez çalışması kapsamında sentezlenen 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon (**4-6**) bileşikleri daha önce sentezlenmiş literatürde kayıtlı maddelerdir (226,227). Sentezlenen bu bileşiklerin erime dereceleri ilgili literatürler ile uyumlu olduğu için bileşiklerin spektral analizi yapılmaksızın sentez çalışmalarında kullanılmıştır.

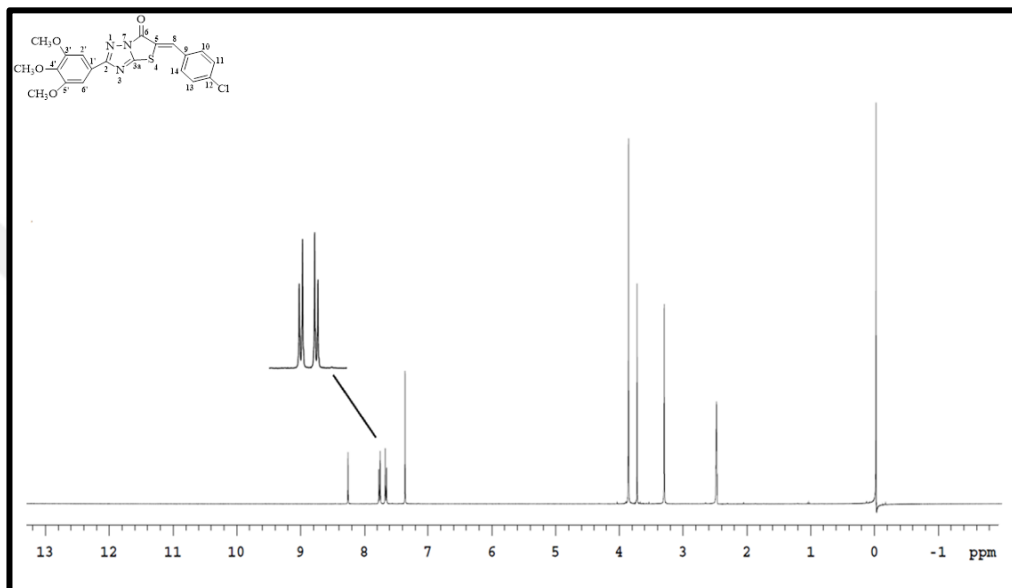
Sentezlenen sonuç bileşiklerin (**4a-6j**) IR spektrumlarında, 3079-3000 cm^{-1} aralığında C-H aromatik halka gerilim titreşimleri, 2925-2836 cm^{-1} aralığında alifatik C-H gerilim titreşimleri, 1760-1708 cm^{-1} aralığında C=O gerilim titreşimleri, 1612-1476 cm^{-1} aralığında C=C ve C=N gerilim titreşimleri, 1182-1100 cm^{-1} aralığında C-O gerilim titreşimleri ve 870-802 cm^{-1} aralığında aromatik C-H bükülme titreşimleri gözlenmiştir. İncelenen IR spektrumlarında başlangıç maddesi 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyona ait -NH gerilim titreşiminin görülmemesi ve 1760-1708 cm^{-1} aralığında C=O gerilim titreşimlerinin tespit edilmesi halka kondenzasyonunun gerçekleşerek tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on halkasının oluştuğunu düşündürmüştür (Şekil 5.7).



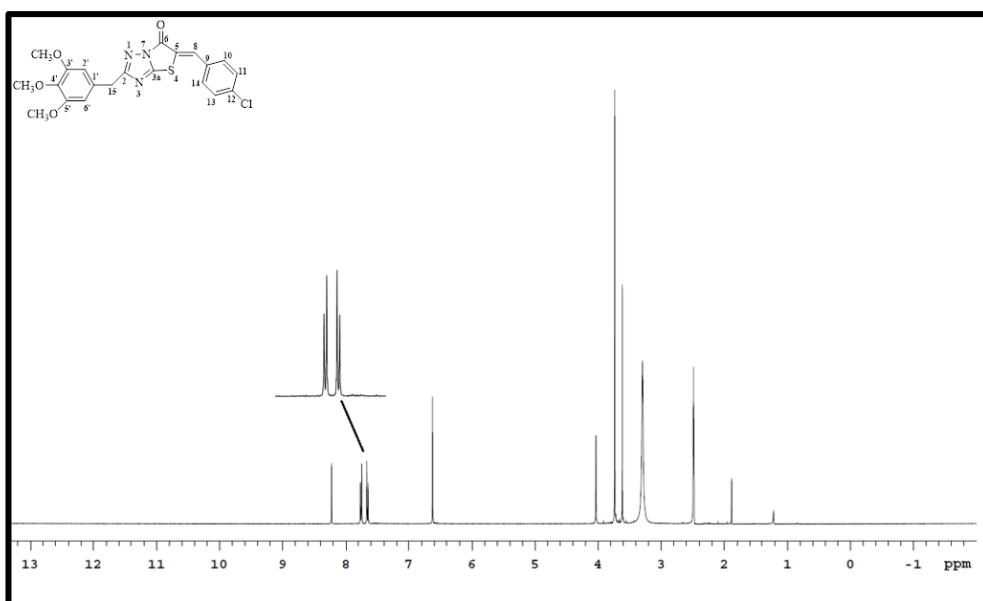
Şekil 5.7. Bileşik 6d'nin IR spektrumu.

Sentezi yapılan bileşiklerin (**4a-6j**) DMSO-*d*₆ içinde alınan ¹H-NMR spektrumlarında, 2 numaralı konumdaki sübstitüentler üzerinde bulunan metoksi gruplarından meta konumunda olanlar özdeş protonlara sahip oldukları için 6H integrasyonunda δ 3,80-3,82 ppm aralığında, para konumunda bulunanlar ise 3H integrasyonunda δ 3,69-3,71 ppm aralığında singlet olarak gözlenmiştir. İki numaralı konumdaki fenil halkasının aromatik protonları ise yine özdeş protonlar oldukları için aynı kimyasal kayma değerinde 2H integrasyonunda singlet olarak gözlenmiştir. Bu protonlar 4 numaralı bileşik serisinde (**4a-j**), bağlı oldukları tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on halkasının manyetik anizotropik etkisi nedeniyle δ 7,33-7,39 ppm de gözlenirken, 5 (**5a-j**) ve 6 (**6a-j**) numaralı bileşik serilerinde araya alkil gruplarının girmesi ve manyetik anizotropik etkinin ortadan kalkması ile δ 6,61-6,62 ppm arasında gözlenmiştir. 5 numaralı bileşik serisinin iki numaralı konumunda bulunan metilen protonları, kendisine bağlı fenil ve tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on halkalarının ikisinin de manyetik anizotropik etkisi nedeniyle düşük alana kayarak δ 4,01-4,03 ppm aralığında, 2H integrasyonunda singlet olarak gözlenmiştir. 6 numaralı bileşik serisinde ise iki numaralı konumda bulunan etilen grubuna iki uçtan fenil ve tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on halkalarının bağlı olması sebebiyle söz konusu serideki metilen potonları δ 2,96-2,99 ve δ 3,00-3,05 ppm aralığında, 2H integrasyonunda iki ayrı triplet olarak gözlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin (**4a-6j**) 5 numaralı konumundaki benziliden protonları δ 8,16-8,32 ppm aralığında 1H integrasyonunda singlet olarak gözlenirken, benziliden grubunun aromatik protonları δ 7,02-8,12 ppm aralığında gözlenmiştir. İncelenen ¹H-NMR spektrumlarında başlangıç maddesi 3-sübstitüe-1,2,4-triazol-5-tyona ait -NH pikinin görülmemesi ve δ 8,16-8,32 ppm aralığında benzilik protonun görülmesi halka kondenzasyonunun gerçekleşerek tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on çekirdeğinin elde edildiğini düşündürmüştür. Benziliden grubundaki fenil halkasının yalnız dört numaralı konumunda sübstitüent taşıyan türevlerin (**4d**, **4e**, **4f**, **4h**, **5d**, **5e**, **5f**, **5h**, **6d**, **6e**, **6f** ve **6h**) aromatik protonları, orto ve meta konumundaki protonların kendi aralarında özdeş olması sebebiyle 2H integrasyonuna sahip iki dublet şeklinde gözlenmiştir. 4-Florobenzaldehit kullanılarak sentezlenen **4b**, **5b** ve **6b** türevlerinin ¹H-NMR spektrumlarında ise bileşiklerin 10 ve 12 numaralı karbon atomlarındaki protonlar, florun (*I*_F: ½) NMR'da aktif olması sebebiyle dublete değil triplete yarılmıştır. 5

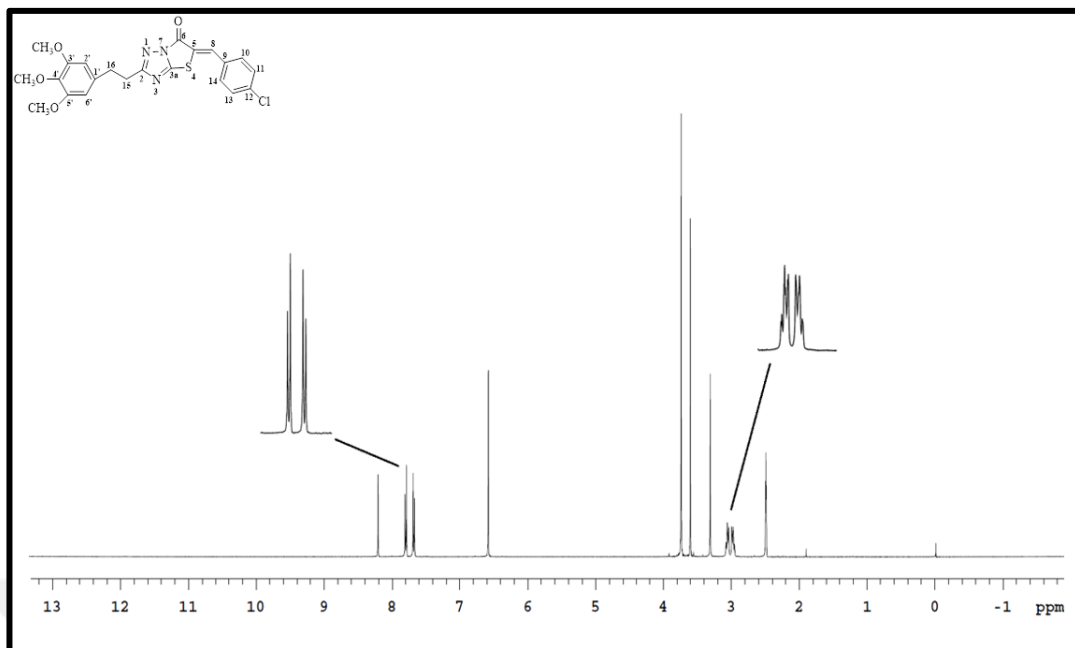
numaralı konumdaki benziliden grubunun fenil halkası üzerinde metil (**4f**, **5f**, **6f**) ve metoksi (**4g**, **4h**, **5g**, **5h**, **6g**, **6h**) sübstitüentleri taşıyan türevlerde metil ve metoksi gruplarının protonları sırasıyla δ 2,36-2,37 ppm ve δ 3,60-3,72 ppm aralığında 3H integrasyonunda singlet, dimetil amino (**4i**, **5i**, **6i**) sübstitüenti taşıyan türevlerde ise dimetil grupları δ 3,09-3,11 ppm aralığında 6H integrasyonunda singlet olarak gözlenmiştir (Şekil 5.8-10).



Şekil 5.8. Bileşik **4d**'nin DMSO içinde 400 MHz'de alınan ^1H -NMR spektrumu.



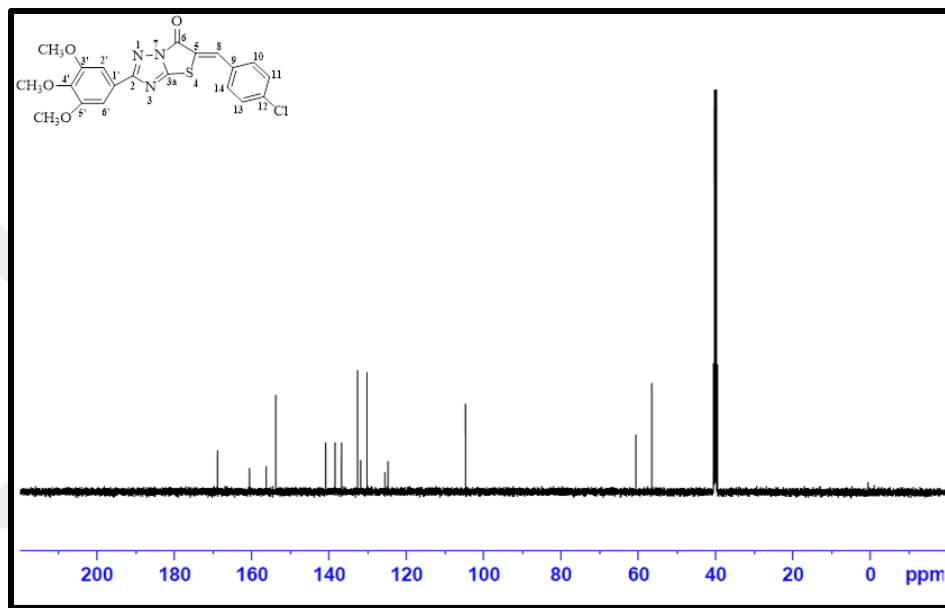
Şekil 5.9. Bileşik **5d**'nin DMSO içinde 400 MHz'de alınan ^1H -NMR spektrumu.



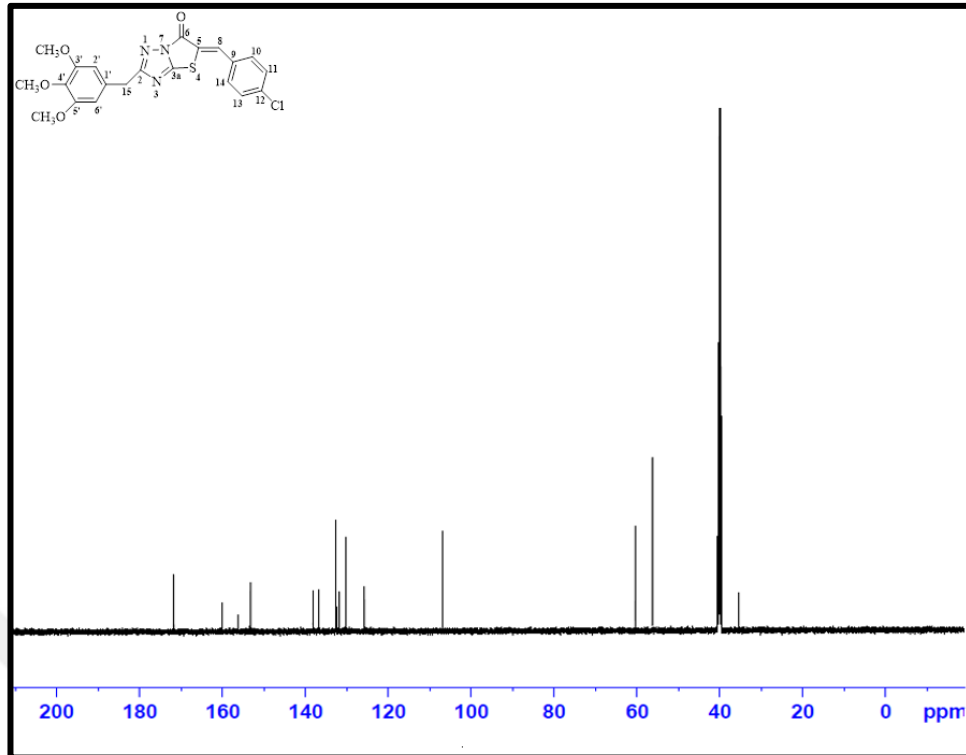
Şekil 5.10. Bileşik 6d'nin DMSO içinde 400 MHz'de alınan ^1H -NMR spektrumu.

Sentezlenen bileşikler içerisinde benziliden grubu üzerinde 4-kloro, 4-metil, 4-metoksi, 2-nitro-4-dimetilamino ve 3-triflorometil-4-kloro süstituentlerini taşıyan türevlerin (**4d**, **4f**, **4h**, **5d**, **5f**, **5h**, **5i**, **5j**, **6d**, **6f**, **6h**, **6i**, **6j**) ^{13}C -NMR spektrumları alınmıştır. DMSO- d_6 içinde alınan ^{13}C -NMR spektrumlarında, 2 numaralı konumdaki fenil halkası üzerinde bulunan metoksi gruplarının karbonları δ 56,02-60,76 ppm arasında gözlenmiş ve meta konumundaki metoksi karbonları özdeş oldukları için aynı ppm değerinde görülmüştür. Bileşiklerde fenil halkalarına ait olan karbon atomları, benziliden karbonu ve tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on halkasının 2, 3a ve 5 numaralı karbon atomları δ 141,83-159,95 ppm aralığında gözlenirken, 6 numaralı karbonil karbonu δ 168,73-172,50 ppm aralığında gözlenmiştir. **5** (**5a-j**) ve **6** (**6a-j**) serisi bileşiklerin ^{13}C -NMR spektrumlarında manyetik anizotropik etkinin ortadan kalkması sonucu ^1H -NMR spektrum verileriyle uyumlu olarak 2 numaralı konumdaki aromatik halkanın 2' ve 6' karbonları **4** (**4a-j**) serisine kıyasla daha yüksek alanda gözlenmiştir. İncelenen ^{13}C -NMR spektrumlarında aromatik bölgede benziliden karbonuna ait olduğu düşünülen bir adet fazla pik gözlenmesi ve karbonil karbonuna ait pikin tespit edilmesi halka siklizasyonunun gerçekleştiğini düşündürmüştür. Bunlara ilaveten 5 numaralı konumdaki benziliden grubunun fenil halkası üzerinde metil süstitüenti taşıyan türevlerde (**4f**, **5f**, **6f**) δ 21,66-21,80 ppm aralığında metil

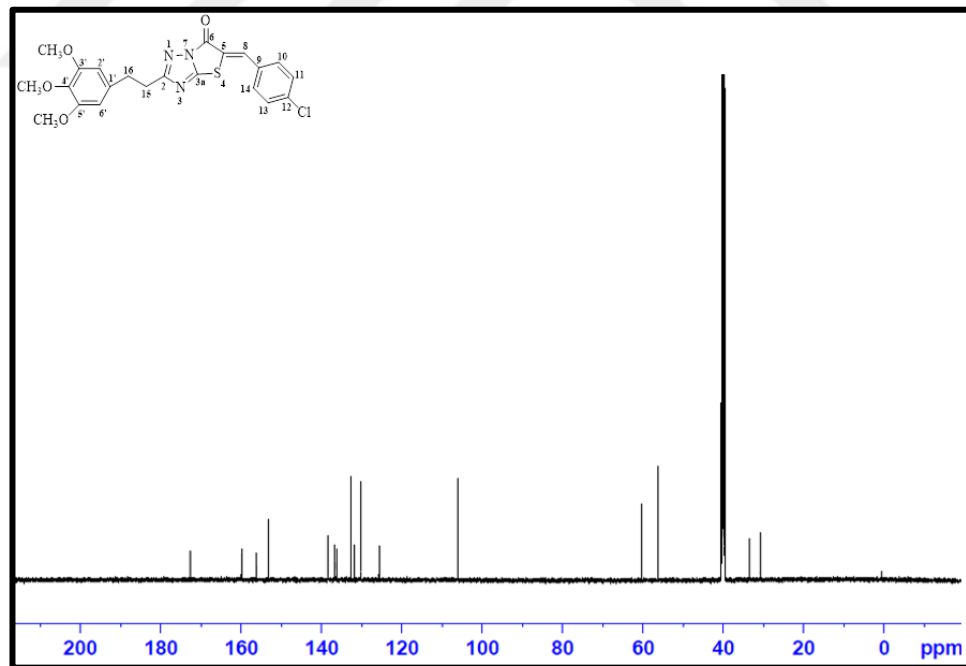
karbonu, metoksi süstitüenti taşıyan türevlerde (**4h,5h, 6h**) ise δ 56,12-59,42 ppm aralığında metoksi karbonu gözlenmiştir. 2-Nitro-4-dimetilaminobenzaldehit kullanılarak sentezlenen türevlerin (**5i, 6i**) ^{13}C -NMR spektrumlarında azot atomuna bağlı metil karbonları 39,54 ppm ve 39,64 ppm’de gözlenmiştir. 3-Triflorometil-4-klorobenzaldehit kullanılarak sentezlenen türevlerin (**5j, 6j**) ^{13}C -NMR spektrumlarında ise florun bağlı olduğu metil karbonları 133,82 ppm ve 135,62 ppm’de gözlenmiştir. (Şekil 5.11-13).



Şekil 5.11 Bileşik **4d**'nin DMSO içinde 100 MHz’de alınan ^{13}C -NMR spektrumu.

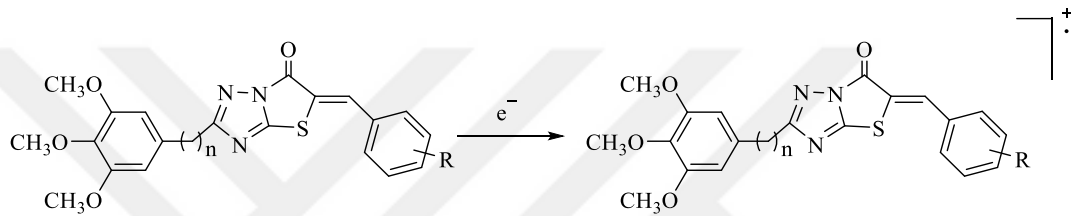


Şekil 5.12. Bileşik 5d'nin DMSO içinde 100 MHz'de alınan ^{13}C -NMR spektrumu.

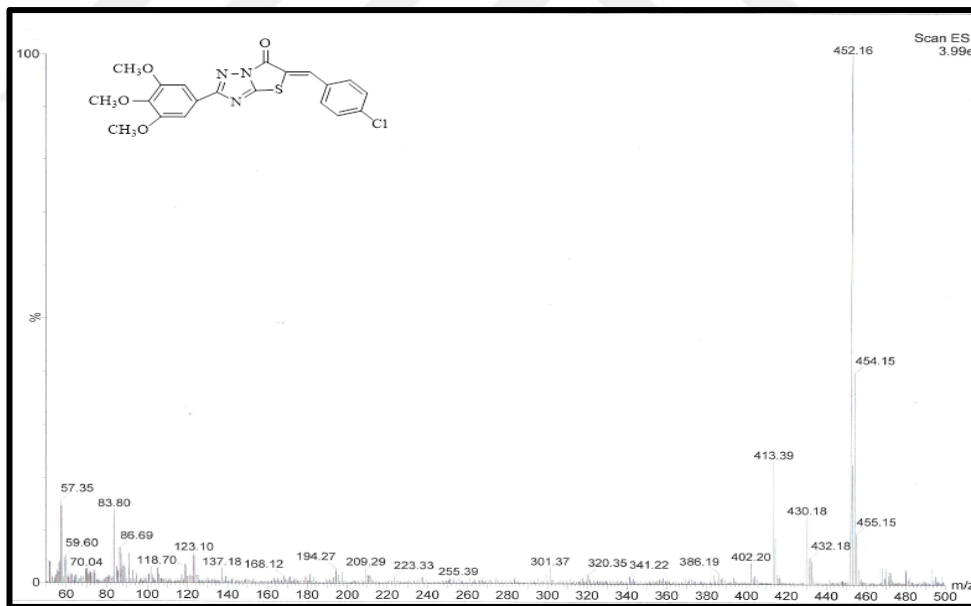


Şekil 5.13. Bileşik 6d'nin DMSO içinde 100 MHz'de alınan ^{13}C -NMR spektrumu.

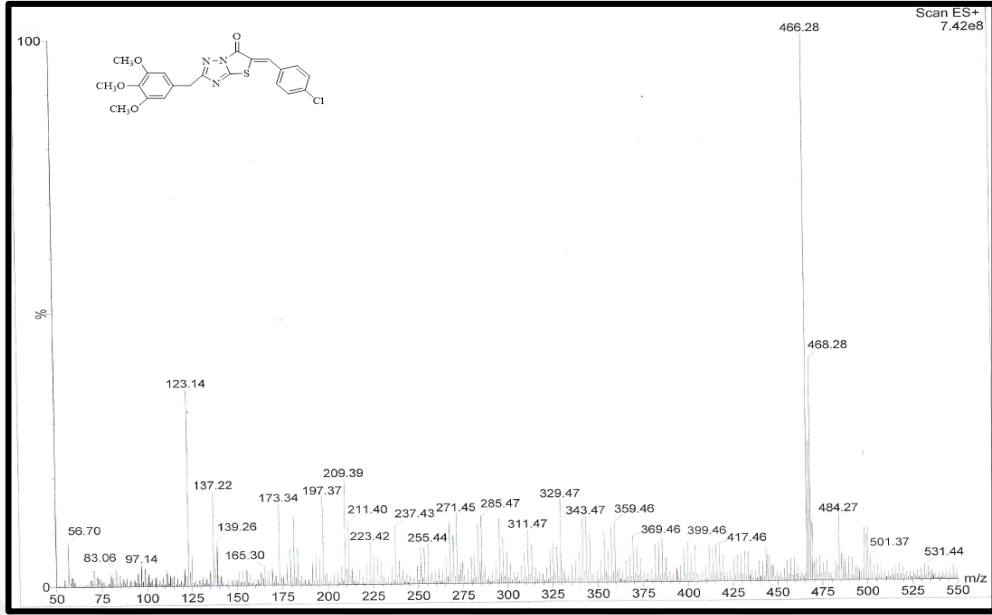
Sentezlenen bileşiklerin (**4a-6j**) Elektron Sprey İyonizasyon (ESI) yöntemi ile alınan kütle spektrumlarında moleküler iyon pikleri yerine bileşiklerin molekül ağırlığını doğrulayan $(M+H)^+$ ve/veya $(M+Na)^+$ pikleri tespit edilmiştir. Spektrumlarda görülen düşük bağıl bolluktaki parçalanmalar ortak bir kalıba uymamaktadır. Ayrıca molekül ağırlığını doğrulayan $(M+H)^+$ ve/veya $(M+Na)^+$ pikleri temel pik olarak gözlenmiştir. Yapılarında bir klor atomu taşıyan bileşiklerin (**4c**, **4d**, **4j**, **5c**, **5d**, **5j**, **6c**, **6d** ve **6j**) kütle spektrumlarında $(M+H)^+$ ve $(M+Na)^+$ piklerinin yanısıra bunların üçte biri şiddetinde $(M+H+2)^+$ ve $(M+Na+2)^+$ ^{37}Cl izotop pikleri de gözlenmiştir (Şekil 5.14-17).



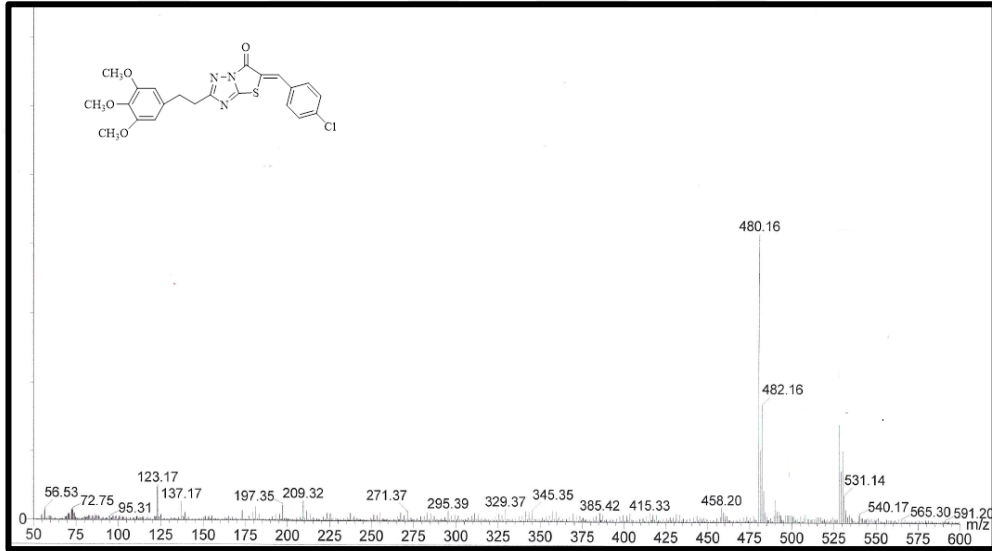
Şekil 5.14. Sentezlenen bileşiklerin kütle spektrumlarında öngörülen parçalanma.



Şekil 5.15. Bileşik **4d**'nin elektron spre y iyonizasyon yöntemi ile alınan kütle spektrumu.



Şekil 5.16. Bileşik 5d'nin elektron sprey iyonizasyon yöntemi ile alınan kütle spektrumu.



Şekil 5.17. Bileşik 6d'nin elektron sprey iyonizasyon yöntemi ile alınan kütle spektrumu.

Sentezlenen 30 adet bileşiğin sitotoksik aktivitelerinin incelenmesinde öncelikle bileşiklere SRB yöntemi ile genel tarama yapılmış ve bileşiklerin A549 (akciğer kanseri hücre hattı), PC3 (prostat kanseri hücre hattı), HCT116 (kolon kanseri hücre hattı) ve MDA231 (meme kanseri hücre hattı) olmak üzere 4 farklı insan orijinli kanser hücre hatlarında ve Beas2B (akciğer epitel hücre hattı) insan orijinli sağlıklı

hücre hattında 10 μ M konsantrasyonda hücre canlılığına etkileri incelenmiştir (**Şekil 4.1-3**). Yapılan SRB testi sonucunda bileşiklerin (**4a-6j**) hücre canlılığını maksimum % 40 oranında azalttığı gözlenmiştir. İncelenen test sonuçlarına göre 30 bileşik içinden, A549 hücrelerinde, hücre canlılığını en çok azaltan ve test koşullarında çözünürlüğü en yüksek olan **4b**, **5g**, **5h**, **6c** ve **6e** bileşikleri SRB yöntemi ile ileri analizlere götürülmek üzere seçilmiştir.

Seçilen bileşiklere 0-100 μ M konsantrasyon aralığında (1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25; 50 ve 100 μ M) A549 ve Beas2B hücre hatlarında SRB testi uygulanmış, sonuçlar ve hesaplanan IC₅₀ ve IC₉₀ değerleri Şekil 4.4- ve Şekil 4.5’de verilmiştir. Analizi yapılan 5 bileşik içinde en iyi sonuçları gösteren **6e** bileşiği A549 ve Beas2B hücre hatlarında ATP canlılık testi, M30 testi, Annexin V analizi, mitokondri membran potansiyeli testi ve Kaspaz 3/7 testi yapılmak üzere seçilmiştir. Bileşiğin en iyi aktivite sergilediği hücre hattı olan A549 ve Beas2B normal hücre hatlarında, 0-100 μ M aralığında ATP canlılık testi yapılarak sonuçlar doğrulanmış ve IC₅₀ ve IC₉₀ değerleri hesaplanmıştır (**Şekil 4.6**).

M30 Hücre Ölümü Testi ile uygulama yapılan hücrelerin M30 düzeylerinde kontrole kıyasla yaklaşık 600 U/L’lik artış gözlenmiştir. M30 antijeni, kaspazların sitokeratin 18 (CK18)’i kırması sonucunda oluşan bir biyobelirteçtir ve yapısal olarak CK18 proteininin bir fragmanını oluşturmaktadır. Apoptoz esnasında hücre ortamında M30 antijeninin miktarının artması bu proteinin apoptotik bir belirteç olarak kullanılmasını sağlar (230). **6e** Bileşiği ile tedavi sonrası M30 düzeyinin kontrole kıyasla artış göstermesi hücrelerin kaspaz bağımlı apoptoza uğradığına işaret etmektedir (**Şekil 4.7**).

6e Bileşiği kullanılarak yapılan Annexin V analizi ile 12 ve 24 saat sonunda diyagramın ölü, ölü/geç apoptoz ve erken apoptoz alanlarındaki hücre yüzdesinde zamana bağlı artış gözlenmiştir. Annexin V kalsiyum bağlayıcı bir proteindir ve floresan özellikli bir madde ile işaretlenerek test ortamında apoptozu uyaran bileşiklerin tespit edilmesini sağlamaktadır (231). Analiz esnasında ikinci bir boya olarak 7AAD kullanılmaktadır. 7AAD membran bütünlüğünü kaybetmiş hücrelerde pozitif sonuç vermektedir. **6e** Bileşiği ile yapılan 12 ve 24 saatlik uygulama sonucunda, zamana bağlı olarak, geç dönem apoptotik hücre (Annexin V ve 7AAD pozitif) oranında artış olduğu gözlenmiştir (**Şekil 4.8**).

Aynı şekilde **6e** bileşiği kullanılarak yapılan Kaspaz 3/7 testi ile, 12 ve 24 saatlik uygulama sonucunda, hücrelerde kaspaz aktivitesinin zamana bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar, **6e** bileşiğinin 24 saatlik uygulama sonunda hücrelerin kaspaz bağımlı apoptoza uğradığını göstermektedir ve test sonuçları hem Annexin V analizi hem de M30 sonuçları ile uyumludur (**Şekil 4.9**).

Mitokondri membran potansiyeli testi ile uygulama yapılan hücrelerde mitokondri membran potansiyelinin azaldığı (depolarizasyon) saptanmıştır. Mitokondrinin yapısal özelliklerinde meydana gelen değişiklikler hücre sağlığı hakkında önemli bilgiler verir. Hücrelerde apoptotik uyarıyı takiben mitokondri bütünlüğü bozulur ve bu durumun tespit edilmesi ile hücrelerin canlılığı belirlenir. Mitokondri bütünlüğünün bozulmasını tespit etmenin yollarından biri mitokondri membran potansiyelinin azalmasının (depolarizasyon) belirlenmesidir (230). **6e** Bileşiği kullanılarak yapılan mitokondri membran potansiyeli testi sonucunda depolarize/ölü hücre yoğunluğunun kontrole kıyasla % 28,27 arttığı tespit edilmiştir. Bu durum **6e** bileşiğinin 24 saatlik uygulama sonucunda hücrelerde mitokondri bağımlı apoptoza (intrinsik yolak) yol açtığına işaret etmektedir (**Şekil 4.10**).

Tüm bu bulgular ışığında sentezi yapılan bileşikler içerisinde **6e** bileşiğinin göreceli olarak yüksek dozlarda sitotoksik aktivite gösterdiği ve hücrelerde apoptozu indüklediği sonucuna ulaşılmıştır.

Sentezi yapılan bileşiklerin birçoğu dikkat çekici sitotoksik aktivite göstermemiştir. Ancak 1,2,4-triazol ve tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol halkalarının antikanser aktivite gösterdiklerine dair literatürde birçok yayın bulunmaktadır. Antikanser aktivite gösteren bileşikler bu özelliklerini sitotoksik ve/veya sitostatik etki ile gösterebilirler (232). Yapılan aktivite çalışmaları sonucunda sentezlenen bileşikler sitotoksik aktivite göstermediği için, bileşiklerin sitostatik etki ile antikanser aktivite gösterebileceği biyokimyasal yolların *in siliko* yöntemler ile araştırılması düşünülmüştür.

El-Sherief ve arkadaşlarının (196) 2018 yılında yaptıkları çalışmada tiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol halkası taşıyan bileşiklerin dikkat çekici EGFR inhibisyon aktivitesi gösterdiğini bildirmesi, bizi bu bağlamda sentezlediğimiz bileşiklerin “Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR)” inhibitörü olabileceğini düşündürmüştü ve EGFR proteini ile *in siliko* çalışmalar yapmaya yöneltmiştir.

In silico çalışmalarda ilk olarak sentezlenen bileşiklerin, EGFR inhibitörü olduğu bilinen ve piyasada preparatı bulunan etkin maddeler ile olan hacimsel ve 3 boyutlu topolojik benzerlikleri Openeye vROCS yazılımı ile araştırılmıştır. Elde edilen bulgular Tablo 5.3’de verilmiştir.



Tablo 5.3. Sentezlenen bileşiklerin vROCS skorları.

Bileşik Adı	vROCS Skorları								
	Erlotinib	Canertinib	Dakomitinib	Afatinib	Gefitinib	Lapatinib	Neratinib	Pelitinib	Vandetanib
4a	0,769	0,552	0,497	0,705	0,641	0,584	0,498	0,545	0,803
4b	0,767	0,564	0,496	0,717	0,638	0,585	0,535	0,527	0,808
4c	0,742	0,531	0,48	0,599	0,636	0,585	0,537	0,537	0,772
4d	0,608	0,559	0,458	0,711	0,611	0,588	0,533	0,531	0,804
4e	0,66	0,552	0,604	0,697	0,589	0,555	0,406	0,6	0,789
4f	0,767	0,563	0,586	0,717	0,631	0,583	0,535	0,537	0,809
4g	0,726	0,552	0,62	0,664	0,648	0,574	0,513	0,566	0,752
4h	0,716	0,555	0,57	0,703	0,611	0,57	0,418	0,577	0,794
4i	0,701	0,562	0,512	0,68	0,71	0,536	0,485	0,569	0,812
4j	0,749	0,589	0,555	0,701	0,723	0,563	0,501	0,593	0,83
5a	0,569	0,639	0,47	0,779	0,538	0,454	0,639	0,513	0,669
5b	0,593	0,629	0,545	0,441	0,568	0,623	0,549	0,495	0,645
5c	0,572	0,622	0,55	0,701	0,582	0,607	0,47	0,464	0,567
5d	0,59	0,542	0,569	0,735	0,583	0,604	0,513	0,5	0,65
5e	0,506	0,619	0,557	0,7	0,542	0,424	0,593	0,523	0,595
5f	0,593	0,53	0,528	0,426	0,6	0,591	0,563	0,509	0,659
5g	0,569	0,61	0,537	0,563	0,596	0,589	0,578	0,491	0,683
5h	0,595	0,562	0,572	0,722	0,57	0,598	0,611	0,499	0,647
5i	0,573	0,61	0,563	0,681	0,513	0,486	0,63	0,584	0,691
5j	0,596	0,638	0,539	0,671	0,589	0,506	0,604	0,541	0,61
6a	0,684	0,538	0,518	0,545	0,541	0,57	0,477	0,594	0,837
6b	0,665	0,527	0,508	0,557	0,532	0,57	0,507	0,583	0,862
6c	0,68	0,507	0,507	0,539	0,534	0,56	0,483	0,51	0,815
6d	0,666	0,524	0,4	0,553	0,534	0,614	0,506	0,587	0,86
6e	0,62	0,516	0,376	0,506	0,572	0,545	0,484	0,5	0,832
6f	0,668	0,464	0,399	0,554	0,532	0,479	0,506	0,461	0,859
6g	0,691	0,493	0,427	0,519	0,536	0,557	0,507	0,543	0,808
6h	0,65	0,627	0,467	0,527	0,593	0,533	0,496	0,445	0,837
6i	0,681	0,599	0,473	0,569	0,62	0,58	0,446	0,492	0,861
6j	0,65	0,521	0,493	0,512	0,587	0,593	0,46	0,525	0,814

Yapılan çalışma sonucunda **4** serisi bileşiklerin büyük kısmının erlotinib, afatinib ve vandetanib etkin maddeleri ile dikkat çekici düzeyde topolojik benzerlik gösterdiği, **5** serisi bileşiklerden **5a**, **5c**, **5d**, **5e** ve **5h**'nin afatinib ile benzerlik gösterdiği, **6** serisi bileşiklerin ise tamamının vandetanib ile dikkat çekici benzerlik gösterdiği bulunmuştur (**Şekil 4.15**).

Bunun üzerine sentezlenen bileşiklerin EGFR inhibitör aktivitesine sahip olabileceği düşünülmüş, potansiyel bağlanma modlarını ve bağlanma enerjilerini tespit edebilmek için bileşiklerin EGFR proteininin ATP bağlanma bölgesi ile kenetleme çalışmaları yapılmıştır.

Kenetleme çalışmalarının validasyonu için proteinin aktif cebindeki erlotinib aktif cep içerisinden çıkarılarak tekrar kenetleme işlemi yapılmış ve ilk konformasyon ile karşılaştırılarak Root Mean Square Deviation (RMSD) değeri hesaplanmıştır. Bu işlem sonunda erlotinib için RMSD değeri 0,89 bulunmuştur. Erlotinibin kenetleme çalışmaları sonrasında reseptör içerisindeki bağlanma enerjisi -7,2 kcal/mol olarak bulunmuştur. Aktif cep içerisindeki bağlanma şekli incelendiğinde erlotinibin Leu694, Ala719, Lys721, Leu764, Gln767 ve Leu820 amino asitleri ile hidrofobik etkileşimler gösterdiği, Met769 amino asidiyle ise hidrojen bağı yaptığı gözlenmektedir. Erlotinibin Met769 ile yaptığı hidrojen bağının EGFR inhibisyonu aktivitesi için önemli bir etkileşim olduğu literatürde belirtilmektedir (**Şekil 4.16**) (196).

Erlotinibin yeniden kenetlemesi yapıldıktan sonra sentezlenen bileşiklerin EGFR proteini ile kenetleme çalışmaları yapılmış, bulunan bağlanma enerjileri ve etkileşim görülen amino asitler Tablo 5.4' de verilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin bağlanma enerjilerinin çoğu erlotinibin bağlanma enerjisine eşit ya da erlotinibden daha iyi bulunmuştur.

Tablo 5.4. Sentezlenen bileşiklerin kenetleme sonucunda elde edilen bağlanma enerjileri ve gösterdikleri etkileşimler.

Bileşik	Bağlanma Enerjisi (kcal/mol)	Hidrojen Bağı
4a	-7,2	Met769
4b	-7,5	Met769
4c	-7,2	Met769
4d	-7,5	Met769
4e	-7,8	Met769, Glu738, Met742
4f	-7,7	Met769
4g	-7,2	Met769, Thr730, Lys721
4h	-7,3	Met769
4i	-7,5	Met769
4j	-7,4	Met769
5a	-7,4	Met769, Thr830, Thr766
5b	-7,0	Thr830, Lys721
5c	-7,0	Cys773
5d	-7,1	Met769, Thr830, Lys721
5e	-7,6	Thr830, Thr766, Lys704
5f	-7,1	Thr830, Lys721
5g	-7,0	Thr830, Lys721
5h	-7,4	Met769, Thr830, Thr766
5i	-7,6	Met769
5j	-7,3	Met769, Thr830
6a	-7,5	Met769
6b	-7,6	Met769
6c	-7,5	Met769
6d	-7,6	Met769
6e	-7,5	Met769, Leu764
6f	-7,7	Met769
6g	-7,4	Met769
6h	-7,6	Met769, Lys721
6i	-7,8	Met769, Thr830
6j	-7,5	Met769, Thr830, Thr766

Kenetleme çalışmaları sonrasında elde edilen pozlarda bileşiklerin amino asitler ile etkileşimleri incelendiğinde; **4** ve **6** serisi bileşiklerin tamamının EGFR inhibisyonu için kilit rol oynayan Met769 amino asidi ile hidrojen bağı yaptığı

gözlenmiştir. Bunun dışında çeşitli amino asitler ile hidrofobik etkileşimler de görülmektedir. **5** Serisi bileşiklerden ise **5a**, **5d** ve **5h** bileşiklerinin Met769 amino asidi ile hidrojen bağı yaptığı, bunun dışında farklı amino asitler ile hidrofobik etkileşimler de gösterdiği belirlenmiştir.

EGFR proteini ile yapılan *in siliko* çalışmaların sonucunda; elde edilen bağlanma enerjilerinin erlotinibin bağlanma enerjisine eşit veya daha iyi olması ve bileşiklerin büyük bir kısmının Met769 amino asidi ile hidrojen bağı göstermesi sentezlediğimiz bileşiklerin potansiyel EGFR inhibitörü olması tezini kuvvetlendirmiştir. Bu tezi kanıtlamak amacıyla sentezlenen bileşikler arasından çözünürlük açısından çalışmaya uygun olan ve *in siliko* çalışmalar açısından dikkat çeken **6i** ve **6j** bileşikleri seçilmiş ve A549 hücre hattında Western Blot Testi gerçekleştirilmiştir. Test dozunun belirlenmesi amacıyla bileşiklerin A549 hücre hattında büyüme eğrileri (growth rate) oluşturulmuş ve büyümeyi en çok inhibe eden 50 μ M ve 100 μ M dozları iki bileşik için de test dozu olarak belirlenmiştir (**Şekil 4.11 ve 12**).

Western Blot testi sonucunda **6i** bileşiği ile muamele sonrası 100 μ M dozda EGFR aktivitesinin kontrole kıyasla azaldığı gözlenmiştir (**Şekil 4.13**). 50 μ M dozda ise 24 saatte geçici bir azalmayı takiben 48 ve 72. saatte EGFR aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. **6j** bileşiği ile yapılan muamele sonrasında 100 μ M dozda EGFR aktivitesinin kontrole kıyasla arttığı, 50 μ M dozda ise EGFR aktivitesinin 24. saatte azaldığı, 48. saatte aktivasyon gerçekleştiği ve 72. saatte bu aktivasyonun tekrar azaldığı belirlenmiştir (**Şekil 4.14**). Yapılan bu çalışma sonrasında **6i** bileşiğinin 100 μ M, **6j** bileşiğinin ise 50 μ M dozunun EGFR üzerinde inhibisyona yol açtığı; **6i** bileşiğinin **6j** bileşiğinden daha yüksek aktivite sergilediği söylenebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında sitotoksik aktivite göstermesi beklenen ve literatürde kayıtlı olmayan 30 adet yeni 2-süstitüe-5-benzilidentiyazolo[3,2-*b*]-1,2,4-triazol-6(5*H*)-on (**4a-6j**) yapısında bileşik sentezlenmiştir.

Sentezi yapılan bileşikler 3,4,5-trimetoksi benzoik asit (**1a**); 3,4,5-trimetoksifenil asetik asit (**1b**) ve 3-(3,4,5-trimetoksifenil)propiyonik asitten (**1c**) hareketle elde edilen 3-süstitüe-1,2,4-triazol-5-tiyon bileşiklerinin (**3a-c**) asidik ortamda süstitüe benzaldehit türevleri ile *Claisen-Schmidt* kondenzasyon reaksiyonu sonucunda elde edilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin kromatografik kontrolleri yapıp erime noktaları belirlendikten sonra bileşiklerin yapıları IR, ¹H- ve ¹³C-NMR, kütle spektroskopisi ve elementel analiz yöntemleri ile aydınlatılmıştır.

Söz konusu bileşiklerin *in vitro* sitotoksik aktiviteleri önce SRB testi ile A549 (akciğer kanseri hücre hattı), P3 (prostat kanseri hücre hattı), HCT116 (kolon kanseri hücre hattı) ve MDA231 (meme kanseri hücre hattı) olmak üzere 4 farklı insan orijinli kanser hücre hatlarında ve Beas2B (akciğer hücre hattı) insan orijinli normal hücre hattında 10 µM konsantrasyonda incelenmiş, içlerinde en iyi sonuçları gösteren 5 bileşiğe (**4b**, **5g**, **5h**, **6c** ve **6e**) A549 ve Beas2B hücre hatlarında yine SRB testi ile 6,25 µM; 12,5 µM; 25 µM; 50 µM ve 100 µM konsantrasyonlarında detaylı tarama testleri yapılmıştır. Bu 5 bileşik içinde en iyi sonucu veren **6e** bileşiği ileri testlere götürülerek ATP canlılık testi, M30 testi, Annexin V analizi, mitokondri membran potansiyeli testi ve Kaspaz 3/7 testi ile sitotoksik akitivitesi incelenmiştir.

Bileşiklerin SRB testi sonuçları incelendiğinde, sentezlenen bileşiklerin çoğu kullanılan kanser hücre hatlarında dikkat çekici sitotoksik aktivite sergilememiştir. Genel tarama testinin sonuçlarına göre seçilen **4b**, **5g**, **5h**, **6c** ve **6e** bileşiklerinin SRB testi ile A549 ve Beas2B hücre hatlarında 72 saat uygulamanın ardından bulunan IC₅₀ değerleri Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’de verilmiştir. Bu 5 bileşik içinde en dikkat çekici aktiviteyi gösteren ve ileri testlere götürülen **6e**’nin M30 testi sonucunda M30 konsantrasyonunda kontrole kıyasla artış gözlenmiş, Annexin V analizi ile 24 saatlik uygulama sonrasında ölü ve geç apoptoz alanlarındaki toplam hücre yoğunluğu % 31,4; mitokondri membran potansiyeli testi ile 24 saatlik uygulama sonrasında depolarize ve ölü hücre alanlarındaki toplam hücre yoğunluğu % 35,30; Kaspaz 3/7

testi ile 24 saatlik uygulama sonrasında ölü ve apoptotik hücre alanlarındaki toplam hücre yoğunluğu % 50,61 olarak bulunmuştur. Bileşiğin ATP canlılık testi sonucunda A549 kanser hücre hattında IC₅₀ değeri 48,4 µM (72 saat) olarak belirlenmiştir. Tüm bu bulgular ışığında **6e** bileşiğinin apoptozu indüklediği ve zayıf sitotoksik aktivite gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Sentezi yapılan bileşiklerin dikkat çekici sitotoksik aktivite göstermemesi üzerine bileşiklerin sitostatik etki ile antikanser aktivite gösterebileceği biyokimyasal yollar *in silico* yöntemler ile araştırılmış ve bileşiklerin EGFR inhibisyonu aktivitesine sahip olabileceği düşünülmüştür. Bu teori, **6i** ve **6j** bileşikleriyle A549 hücre hattında “Western Blotting Testi” ile değerlendirilmiştir. Yapılan çalışma sonunda **6i** bileşiğinin 100 µM, **6j** bileşiğinin ise 50 µM dozunun EGFR üzerinde inhibisyona yol açtığı ve **6i** bileşiğinin **6j** bileşiğinden daha iyi aktivite sergilediği belirlenmiştir. Bu bilgiler ışığında **6i** ve **6j** bileşiklerinin EGFR inhibisyonu aktivite sergilediği ve potansiyel EGFR inhibitörü oldukları düşünülmüştür. Çalışmanın bundan sonraki aşamasında sentezlenen tüm bileşiklerin *in vitro* EGFR inhibisyon aktivitelerinin test edilmesi planlanmaktadır.

7. KAYNAKÇA

1. Cancer [İnternet]. 2020 [18.11.2020]. Erişim adresi: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1.
2. Boyle P, Levin BE, Editörler. World Cancer Report 2008. Lyon: WHO Press; 2008.
3. Stewart BW, Wild CP, Editörler. World Cancer Report 2014. Lyon: WHO Press; 2014.
4. Wild CP, Weiderpass E, Stewart BW, Editörler. World Cancer Report Cancer research for cancer prevention. Lyon: WHO Press; 2020.
5. What Causes Cancer? [İnternet]. 2020 [12.12.2020]. Erişim adresi: <https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes.html>.
6. Cancer [İnternet]. 2020 [12.12.2020]. Erişim adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
7. Yadav P, Lal K, Kumar A, Guru SK, Jaglan S, Brushan S. Green Synthesis and Anticancer Potential of Chalcone Linked-1,2,3-triazoles. *Eur J Med Chem.* 2017;126:944–953.
8. Treatments and Side Effects [İnternet]. 2020 [15.12.2020]. Erişim adresi: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects.html>.
9. Boulikas T. Introduction to Anticancer Therapeutics. (Missailidis S, ed.). John Wiley & Sons; 2008.
10. Hawash MMA, Baytas NS. Antiproliferative Activities of Some Biologically Important Scaffolds. *FABAD J Pharm Sci.* 2018;43(1):59–77.
11. Types of chemo drugs [İnternet]. 2020 [15.12.2020]. Erişim adresi: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/chemotherapy/how-chemotherapy-drugs-work.html>.
12. Kaur R, Dwivedi RA, Kumar B, Kumar V. Recent Developments on 1,2,4-Triazole Nucleus in Anticancer Compounds: A Review. *Anticancer Agents Med Chem.* 2016;16(4):465–489.
13. Hoy SM. Talazoparib: First Global Approval. *Drugs.* 2018;78(18):1939–1946.
14. Goss PE, Strasser-Weippl K. Aromatase inhibitors for chemoprevention. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2004;18(1):113–130.
15. Santen RJ. Inhibition of aromatase: Insights from recent studies. *Steroids.* 2003;68(7–8):559–567.
16. Ouyang X, Chen X, Piatnitski EL, Kiselyov AS, He H, Mao Y, ve ark. Synthesis and structure–activity relationships of 1,2,4-triazoles as a novel class of potent tubulin polymerization inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2005;15:5154–5159.
17. Zhang Q, Peng Y, Wang XI, Keenan SM, Arora S, Welsh WJ. Highly Potent Triazole-Based Tubulin Polymerization Inhibitors. *Eur J Med Chem.*

2007;50(4):749–754.

18. Abou-Seri SM. Synthesis and biological evaluation of novel 2, 4'-bis substituted diphenylamines as anticancer agents and potential epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Eur J Med Chem.* 2010;45:4113–4121.
19. Hou YP, Sun J, Pang ZH, Lv PC, Li DD, Yan L, ve ark. Synthesis and antitumor activity of 1, 2, 4-triazoles having 1, 4-benzodioxan fragment as a novel class of potent methionine aminopeptidase type II inhibitors. *Bioorg Med Chem.* 2011;19:5948–5954.
20. Karthikeyan MS, Prasad DJ, Poojary B, Subrahmanya Bhat K, Holla BS, Kumari NS. Synthesis and biological activity of Schiff and Mannich bases bearing 2,4-dichloro-5-fluorophenyl moiety. *Bioorganic Med Chem.* 2006;14(22):7482–7489.
21. Muralikrishna A, Venkatesh B, Padmavathi V, Padmaja A, Kondaiah P, Krishna NS. Synthesis, antimicrobial and cytotoxic activities of sulfone linked bis heterocycles. *Eur J Med Chem.* 2012;54:605–614.
22. Aytaç SP. Bazı yeni kondanse triazol türevlerinin sentezi ve antikanser aktivitelerinin araştırılması [Doktora Tezi]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2015.
23. Ilango K, Valentina P. Facile synthesis and cytotoxic activity of 3, 6-disubstituted 1, 2, 4-triazolo-[3, 4-b]-1, 3, 4-thiadiazoles. *Eur J Chem.* 2010;1:50–53.
24. Wu S, Guo W, Teraishi F, Pang J, Kaluarachchi K, Zhang L, ve ark. Anticancer Activity of 5-Benzylidene-2-Phenylimino-1, 3-Thiazolidin-4-one (BPT) Analogs. *Med Chem (Los Angeles).* 2006;2(6):597–605.
25. Liu X, Xie H, Luo C, Tong L, Wang Y, Peng T, ve ark. Discovery and SAR of thiazolidine-2,4-dione analogues as insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) inhibitors via hierarchical virtual screening. *J Med Chem.* 2010;53(6):2661–2665.
26. Salamone S, Colin C, Grillier-Vuissoz I, Kuntz S, Mazerbourg S, Flament S, ve ark. Synthesis of new troglitazone derivatives: Anti-proliferative activity in breast cancer cell lines and preliminary toxicological study. *Eur J Med Chem.* 2012;51:206–215.
27. El-Adl K, El-Helby AGA, Sakr H, Eissa IH, El-Hddad SSA, Shoman F. Design, synthesis, molecular docking and anticancer evaluations of 5-benzylidenethiazolidine-2,4-dione derivatives targeting VEGFR-2 enzyme. *Bioorg Chem.* 2020;102:104059. doi:10.1016/j.bioorg.2020.104059
28. Kolluri PK, Gurrapu N, Subhashini NJP, Putta S, Singh SS, Vani T, ve ark. Design, synthesis of novel (Z)-2-(3-(4-((3-benzyl-2,4-dioxothiazolidin-5-ylidene)methyl)-1-phenyl-1H-pyrazol-3-yl)phenoxy)-N-arylacetamide derivatives: Evaluation of cytotoxic activity and molecular docking studies. *J Mol Struct.* 2020;1202:127300. doi:10.1016/j.molstruc.2019.127300
29. Tilekar K, Upadhyay N, Jänsch N, Schweipert M, Mrowka P, Meyer-Almes FJ, ve ark. Discovery of 5-naphthylidene-2,4-thiazolidinedione derivatives as

- selective HDAC8 inhibitors and evaluation of their cytotoxic effects in leukemic cell lines. *Bioorg Chem.* 2020;95(December 2019):103522. doi:10.1016/j.bioorg.2019.103522
30. Romagnoli R, Baraldi PG, Salvador MK, Camacho EM, Balzarini J, Bermejo J, ve ark. Anticancer activity of novel hybrid molecules containing 5-benzylidene thiazolidine-2,4-dione. *Eur J Med Chem.* 2013;63:544–557. doi:10.1016/j.ejmech.2013.02.030
 31. Cronin KA, Lake AJ, Scott S, Sherman RL, Noone AM, Howlader N, ve ark. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, part I: National cancer statistics. *Cancer.* 2018;124(13):2785–2800
 32. Elkhalfa D, Siddique AB, Qusa M, Cyprian FS, Sayed KE, Alali F, ve ark. Design, synthesis, and validation of novel nitrogen-based chalcone analogs against triple negative breast cancer. *Eur J Med Chem.* 2020;187:111954. doi:10.1016/j.ejmech.2019.111954
 33. Huo PC, Guan XQ, Liu P, Song YQ, Sun M, He R, ve ark. Design, synthesis and biological evaluation of indanone–chalcone hybrids as potent and selective hCES2A inhibitors. *Eur J Med Chem.* 2021;209:112856. doi:10.1016/j.ejmech.2020.112856
 34. Go ML, Wu X, Liu X. Chalcones: An update on cytotoxic and chemoprotective properties. *Curr Med Chem.* 2005;12(4):481–499.
 35. Manikala V, Rao VM. Synthesis and biological evaluation of chalcone tethered quinoline derivatives as anticancer agents. *Chem Data Collect.* 2020;28:100423. doi:10.1016/j.cdc.2020.100423
 36. El-Wakil MH, Khattab SN, El-Yazbi AF, El-Nikhely N, Soffar A, Khalil HH. New chalcone-tethered 1,3,5-triazines potentiate the anticancer effect of cisplatin against human lung adenocarcinoma A549 cells by enhancing DNA damage and cell apoptosis. *Bioorg Chem.* 2020;105(October):104393. doi:10.1016/j.bioorg.2020.104393
 37. Kerru N, Singh P, Koorbanally N, Raj R, Kumar V. Recent advances (2015-2016) in anticancer hybrids. *Eur J Med Chem.* 2017;142:179–212.
 38. Nepali K, Sharma S, Sharma M, Bedi SMP, Dhar LG. Rational Approaches, Design Strategies, Structure Activity Relationship and Mechanistic Insights for Anticancer Hybrids. *Eur J Med Chem.* 2014;77:422–487.
 39. Sharma V, Kumar V, Kumar P. Heterocyclic Chalcone Analogues as Potential Anticancer Agents. *Anticancer Agents Med Chem.* 2013;13:422–432.
 40. Mahapatra DK, Bharti SK, Asati V. Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. *Eur J Med Chem.* 2015;98:69–114. doi:10.1016/j.ejmech.2015.05.004
 41. Karthikeyan C, Narayana Moorthy NSH, Ramasamy S, Vanam U, Manivannan E, Karunakaran D, ve ark. Advances in Chalcones with Anticancer Activities. *Recent Pat Anticancer Drug Discov.* 2015;10(1):97–115.
 42. FDA approves sunitinib malate for adjuvant treatment of renal cell carcinoma [Internet]. 2017 [14.11.2020]. Erişim

adresi: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-sunitinib-malate-adjuvant-treatment-renal-cell-carcinoma>

43. Sarigol D, Uzgoren-Baran A, Tel BC, Sonucuoglu EI, Kazkayası I, Ozadali-Sari K, ve ark. Novel thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazoles derived from naproxen with analgesic/anti-inflammatory properties: Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies. *Bioorg Med Chem*. 2015;23(10):2518–2528
44. Uzgören-Baran A, Tel BC, Sargöl D, Ozturk EI, Kazkayası I, Okay G, ve ark. Thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-one substituted with ibuprofen: Novel non-steroidal anti-inflammatory agents with favorable gastrointestinal tolerance. *Eur J Med Chem*. 2012;57:398–406.
45. Doğdaş E, Tozkoparan B, Kaynak FB, Eriksson L, Kupeli E, Yeşilada E, ve ark. Design and synthesis of some new thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-ones substituted with flurbiprofen as anti-inflammatory and analgesic agents. *Arzneimittel-Forschung/Drug Res*. 2007;57(4):196–202.
46. Tozkoparan B, Göknur Aktay EY, Ertan M. Synthesis of Some Thiazolo[3,2-b]-1,2,4- triazole-5(6H)-ones and Their Novel Michael Addition Products with Anti-inflammatory Activities. *ArzneimForschDrugRes*. 2001;51(1):470–477.
47. Bladin JA. Ueber von Dicyanphenylhydrazin abgeleitete Verbindungen. *Chem Ber*. 1885;18(1):1544–1551.
48. Bladin JA. Ueber Verbindungen, welche sich vom Dicyanphenylhydrazin ableiten. *Chem Ber*. 1886;19(2):2907–12.
49. Chande MS, Karnik BM, Inamdar AN GN. Design, synthesis and biological screening of new s-triazolothiadiazine derivatives. *J Indian Chem Soc*. 1990;67(3):220–222.
50. Pinto DC, Santos CM, Silva AM. Advanced NMR techniques for structural characterization of heterocyclic structures. *Rec Res Dev Het Chem*. 2007; 397-475.
51. Freund M. Ein Verfahren zur Darstellung des Triazols und seiner Homologen. *Berichte der Dtsch Chem Gesellschaft*. 1896;29(3):2483–2490.
52. Li Y, Yao W, Lin J, Li F, Wu Y, Xu J. Design, Synthesis, and Biological Activity of Novel Triazole Sulfonamide Derivatives Containing a Benzylamine Moiety. *J Heterocycl Chem*. 2019;56(8):2170–2178.
53. Fonović UP, Knez D, Hrast M, Zidar N, Proj M, Gobec S, ve ark. Structure-activity relationships of triazole-benzodioxine inhibitors of cathepsin X. *Eur J Med Chem*. 2020;193:1–17.
54. Xiao S, Wang X, Xu L, Li T, Cao J, Zhao Y. Novel panaxadiol triazole derivatives induce apoptosis in HepG-2 cells through the mitochondrial pathway. *Bioorg Chem*. 2020;102(July):104078. doi:10.1016/j.bioorg.2020.104078
55. Karabanovich G, Dušek J, Savková K, Pavlis O, Pavkova I, Korabecny J, ve ark. Development of 3,5-Dinitrophenyl-Containing 1,2,4-Triazoles and Their Trifluoromethyl Analogues as Highly Efficient Antitubercular Agents Inhibiting Decaprenylphosphoryl-β- d -ribofuranose 2'-Oxidase. *J Med Chem*.

2019;62(17):8115–8139.

56. Sonawane AD, Rode ND, Nawale L, Joshi RR, Josji RA, Likhite AR, ve ark. Synthesis and biological evaluation of 1,2,4-triazole-3-thione and 1,3,4-oxadiazole-2-thione as antimycobacterial agents. *Chem Biol Drug Des.* 2017;90(2):200–209.
57. Shafiee A, Sayadi A, Roozbahani MH, Foroumadi AK. Synthesis and in vitro antimicrobial evaluation of 5-(1-methyl-5-nitro-2-imidazolyl)-4H-1,2,4-triazoles. *Arch Pharm.* 2002;335(10):495–9.
58. Ovsepyan TR, Grboyan SV, Arsenyan FG M-OR. Synthesis and antitumor activity of furyl-2-substituted 1,3,4-thiadiazoles and 1,2,4-triazoles. *Pharm Chem J.* 2012;45(12):705–708.
59. D'Souza VT, Nayak J, D'Mello DE, Dayananda P. Synthesis and characterization of biologically important quinoline incorporated triazole derivatives. *J Mol Struct.* 2021;1229:129503. doi:10.1016/j.molstruc.2020.129503
60. Salgin-Gökşen U, Gökhan-Kelekçi N, Göktaş Ö, Koysal Y, Kiliç E, Isik S, ve ark. 1-Acylthiosemicarbazides, 1,2,4-triazole-5(4H)-thiones, 1,3,4-thiadiazoles and hydrazones containing 5-methyl-2-benzoxazolinones: Synthesis, analgesic-anti-inflammatory and antimicrobial activities. *Bioorg Med Chem.* 2007;15(17):5738–5751.
61. Sun GX, Yang MY, Shi YX, Sun ZH, Liu XH, Wu H, ve ark. Microwave assistant synthesis, antifungal activity and DFT theoretical study of some novel 1,2,4-triazole derivatives containing pyridine moiety. *Int J Mol Sci.* 2014;15(5):8075–8090.
62. Pagacz-Kostrzewa M, Sałdyka M, Bil A, Gul W, Wierzejewska M, Khomenko DM, ve ark. Phototransformations of 2-(1,2,4-Triazol-3-yl)benzoic Acid in Low Temperature Matrices. *J Phys Chem A.* 2019;123(4):841–850.
63. Faridoon, Hussein WM, Vella P, Islam N, Ollis D, Schenk G, ve ark. 3-Mercapto-1,2,4-triazoles and N-acylated thiosemicarbazides as metallo- β -lactamase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2012;22(1):380–386.
64. Rigo B CD. Studies on pyrrolidinones. Synthesis of 5-(5-oxo-2-pyrrolidinyl)-1,2,4-triazole-3-thione derivatives. *J Heterocycl Chem.* 1989;26(6):1723–1727.
65. Murty MSR, Katiki MR, Rao BR, Nanubolu JB, Buddana SK, Prakasham RS. Magnetically Recyclable Nano-Fe 2O 3-Catalyzed Chemoselective Synthesis and Antioxidant Activity of Diethyl (3-((5-Aryl-1H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)propyl) phosphonates. *Synth Commun.* 2014;44(18):2724–2737.
66. Chelamalla R, Akena V, Manda S. Synthesis of N'-arylidene-2-(5-aryl-1H-1,2,4-triazol-3-ylthio) acetohydrazides as antidepressants. *Med Chem Res.* 2017;26(7):1359–1366.
67. Westwood IM, Bhakta S, Russell AJ, Fullam E, Anderton MC, Kawamura A, ve ark. Identification of arylamine N-acetyltransferase inhibitors as an approach towards novel anti-tuberculars. *Protein Cell.* 2010;1(1):82–95.
68. Tozkoparan B, Gökhan N, Aktay G, Yeşilada E, Ertan M. 6-

- Benzylidenethiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-ones substituted with ibuprofen: Synthesis, characterization and evaluation of anti-inflammatory activity. *Eur J Med Chem.* 2000;35(7–8):743–750.
69. Tozkoparan, B, Kupeli E, Yesilada, E, Isik, S, Ozalp, Ertan M. Synthesis and evaluation of analgesic/anti-inflammatory and antimicrobial activities of 3-substituted-1,2,4-triazole-5-thiones. *Arzneimittelforschung-Drug Res.* 2005;55(9):533–540.
 70. Tozkoparan B, Kupeli E, Yesilada E, Ertan M. Preparation of 5-aryl-3-alkylthio-1,2,4-triazoles and corresponding sulfones with antiinflammatory-analgesic activity. *Bioorganic Med Chem.* 2007;15(4):1808–1814.
 71. Avcı A, Taşci H, Kandemir Ü, Can ÖD, Gökhan-Kelekçi N, Tozkoparan B. Synthesis, characterization, and in vivo pharmacological evaluation of novel mannich bases derived from 1,2,4-triazole containing a naproxen moiety. *Bioorg Chem.* 2020;100 (October 2019): 103892. doi:10.1016/j.bioorg.2020.103892
 72. Duschinsky R, Gainer H. Oxidation and reduction of 4- acetamidobenzaldehyde thiosemicarbazone. *J Am Chem Soc.* 1951;73(9):4464–4466.
 73. Ainsworth C. The Reaction of thiosemicarbazide with orthoesters. *J Am Chem Soc.* 1956;78(9):1973–1975.
 74. Kurzer F, Wilkinson M. Heterocyclic compounds from urea derivatives. Part XIV. The interaction of thiocarbohydrazide and diarylcarbodi-imides. *J Chem Soc C.* 1968;1(0):2099–2107.
 75. Heydenhauss D, Jaenecke G, Feuerstein B. Reactions with 1- acylamino-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimidin-2-thiones. *Zeitschrift Fur Chemie.* 1981;21(1):31–32.
 76. Malbec F, Milcent R, Barbier G. Derives de la dihydro-2,4-triazole-1,2,4 thione-3-et de lamino-2-thiadiazole-1,3,4 a partir de nouvelles thiosemicarbazones d'esters. *J Heterocycl Chem.* 1984;21:1689-1698.
 77. Kurzer F, Secker JL. Addition-cyclizations of ethoxycarbonyl isothiocyanate with hydrazine derivatives as a source of thiadiazoles and triazoles. *J Heterocycl Chem.* 1989;26(2):355–360.
 78. Yang SK, Kang JS, Oelschlaeger P, Yang KW. Azolylthioacetamide: A highly promising scaffold for the development of metallo- β -lactamase inhibitors. *ACS Med Chem Lett.* 2015;6(4):455–460.
 79. Hemdan MM, El-Mawgoude HKA. Synthesis and antimicrobial evaluation of thieno[2,3-d]-pyrimidine, thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,3,5]triazine, thieno[2,3-d]-1,3-thiazine and 1,2,4-triazole systems. *Chem Pharm Bull.* 2015;63(10):812–818.
 80. Labanauskas L, Udrenaite E, Gaidelis P, Bruktus A. Synthesis of 5-(2-,3- and 4-methoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives exhibiting anti-inflammatory activity. *Farmaco.* 2004;59(4):255–259.
 81. Foks H, Czarnocka-janowicz A, Rudnicka W, Trzeciak H. Synthesis of new 5-substituted 1,2,4-triazole-3-thione derivatives. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat*

- Elem. 2000;164:67–81.
82. Foks H, Janowiec M, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopéc E. Synthesis and tuberculostatic activity of some 2-piperazinmethylene derivatives 1,2,4-triazole-3-thiones. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat Elem.* 2005;180(2):537–543.
 83. Bayrak H, Demirbas A, Karaoglu SA, Demirbas N. Synthesis of some new 1,2,4-triazoles, their Mannich and Schiff bases and evaluation of their antimicrobial activities. *Eur J Med Chem.* 2009;44(3):1057–1066.
 84. Abd El-Salam FH. Synthesis and effect of some 5-alkyl-1,3,4-triazole-2-thione derivatives on corrosion behavior of molybdenum electrode in hydrochloric acid. *J Dispers Sci Technol.* 2010;31(10):1362–1369.
 85. Kane JM, Staeger MA, Dalton CR, Miller FP, Dudley MW, Ogden AML, ve ark. 5-Aryl-3-(alkylthio)-4H-1,2,4-triazole as selective antagonists of strychnine-induced convulsions and potential antispastic agents. *J Med Chem.* 1994;37(1):125–32.
 86. Ahirwar J, Ahirwar D, Lanjhiyana S, Jha AK, Dewangan D, Badwaik H. Analgesic and Anti-inflammatory Potential of Merged Pharmacophore Containing 1,2,4-triazoles and Substituted Benzyl Groups via Thio Linkage. *J Heterocycl Chem.* 2018;55(9):2130–2141.
 87. Riaz N, Iftikhar M, Saleem M, Rehman A, Hussaain S, Rehmat F, ve ark. New synthetic 1,2,4-triazole derivatives: Cholinesterase inhibition and molecular docking studies. *Results Chem.* 2020;2:100041. doi:10.1016/j.rechem.2020.100041
 88. Bakherad M, Kakav GA, Keivanloo A. Synthesis of Thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazoles through Pd-Catalyzed Copper-Free Sonogashira Coupling Reaction. *Chemistry Select.* 2019;4(31):9238–9240.
 89. El Ashry ESH, Kassem AA, Abdel-Hamid H, Louis FF, Khattab SAN, Aouad MR. Novel regioselective formation of s- and n-hydroxyl-alkyls of 5-(3-chlorobenzo[b]thien-2-yl)-3-mercapto-4H-1,2,4-triazole and a facile synthesis of triazolo-thiazoles and thiazolo-triazoles. Role of catalyst and microwave. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids.* 2007;26(5):437–451.
 90. Hanna NB, Dimitrijevic SD, Larson SB, Robins RK, Revankar GR. Synthesis and single-crystal X-ray diffraction studies of 1-b-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-sulfonamide and certain related nucleosides. *J Heterocycl Chem.* 1988;25:1857–1869.
 91. Blackman AJ, Polya JB. Triazoles. Part XI. Synthesis of 1,2,4-triazole-3-sulphonic acids by oxidation of 1,2,4-triazoline-3-thiones. *J Chem Soc C-Organic.* 1970;17:2403–2408.
 92. Chebabe D, Dermaj A, Chikh ZEAA, Hajjaji N, Rico-Lattes I, Lattes A. Synthesis of new surfactants mono and bipolar derived from 1,2,4-triazole-5-thione. *Synth Commun.* 2004;34(22):4189–4198.
 93. Siddiqui NU, Aslam M, Kumar R. Synthesis and Biological Activities of 3-Alkyl-5-substituted 1,2,4-Triazole Derivatives. *Chem Sci Trans.*

2013;2(2):423–428.

94. Nara H, Kaieda A, Sato K, Naito T, Mototani H, Oki H, et al. Discovery of novel, highly potent, and selective matrix metalloproteinase (MMP)-13 inhibitors with a 1,2,4-triazol-3-yl moiety as a zinc binding group using a structure-based design approach. *J Med Chem*. 2017;60(2):608–626.
95. Shneine JK, Alaraji YH. Chemistry of 1, 2, 4-Triazole: A Review Article. *Int J Sci Res*. 2016;5(3):1411–1423.
96. Sahu M, Nayak A. Studies on thiazolidinones. Part XX. Synthesis of thiazolo[2,3-c]-s-triazol-5(6H)-ones and their arylidene derivatives. *J Indian Chem Soc*. 1990;67(3):226–228.
97. Burbuliene MM, Jakubkiene V, Mekuskiene G, Vainilavicius P. Synthesis of novel derivatives of 5-(4,6-dimethyl-2-pyrimidinylsulfanyl)methyl-1,2,4-triazole-3-thione. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem*. 2003;178(11):2431–2440.
98. Assarzadeh MJ, Almasirad A, Shafiee A, Koopaei MN, Abdollahi M. Synthesis of new thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6h)-one derivatives as potent analgesic and antiinflammatory agents. *Med Chem Res*. 2014;23:948–957.
99. Tozkoparan B, Kılıçgil GA, Ertan R, Ertan M, Kelicen P. Synthesis and evaluation of anti-inflammatory activity of some thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6h)-ones and their michael addition products. *ArzneimForschDrugRes*. 1999;49(12):1006–1011.
100. Barbuceanu SF, Draghici C, Barbuceanu F, Bancescu G, Saramet G. Design, synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of some heterocyclic condensed systems with bridgehead nitrogen from thiazolotriazole class. *Chem Pharm Bull*. 2015;63(9):694–700.
101. Naveena CS, Poojary B, Kumar V. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activities of Some Novel Thiazoles and Thiazolo-[3,2-b]-[1,2,4]-triazole Derivatives. *J Appl Chem*. 2015;4(3):828–839.
102. Prauda I, Reiter J. Synthesis of isomeric amino-thiazolo-[1,2,4]triazole, amino-[1,2,4]thiazolo-[1,3]thiazine and -[1,3]thiazepine derivatives. *J Heterocycl Chem*. 2003;40(5):821–826.
103. El-Sherif H, Mahmoud A, Sarhan A, Hozien Z, Habib O. One pot synthesis of novel thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazoles: A useful synthetic application of the acidified acetic acid method. *J Sulfur Chem*. 2006;27(1):65–85.
104. Barbuceanu SF, Almajian GL, Saramet I, Draghici C, Tarcomnicu AI, Bancescu G. Synthesis, characterization and evaluation of antibacterial activity of some thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole incorporating diphenylsulfone moieties. *Eur J Med Chem*. 2009;44(11):4752–4757.
105. Loba PL, Poojary B, Manjunathaa K, Kumarib NS. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Some New 2-(6-Oxo-5,6-dihydro[1,3]thiazolo[3,2-b]-2-aryloxymethyl-1,2,4-triazol-5-yl)-N-arylacetamides. *Z Naturforsch*. 2010;65b(617–624).

106. Bakavoli M, Hedayati VR, Heravi MM, Davoodnia A, Eshghi H. Fe(HSO₄)₃ Supported on Nano-TiO₂: An Efficient Heterogeneous Catalyst for Intramolecular Cyclization of 3-Propargylmercapto Triazoles to 6-Methylthiazolo[3,2-*b*][1,2,4]triazoles. *Chem Sci Trans*. 2012;1(2):341–346.
107. Ali MI, Mostafa B, Soliman AA. Reactions with Thiazolo[3,2-*b*]-s-triazol-3(2H)-ones. *J Prak Chem*. 1976;318(1),12-18.
108. Britsun VN, Pirozhenko V V, Lozinskii MO. New Synthesis of 5-Aryl-5,6-dihydro-7H-[1,2,4]triazolo[5,1-*b*][1,3]thiazin-7-ones. *Rus. J. Or. Chem*. 2001;37(7):1056–1057.
109. Tozkoparan B, Aktay G, Yeşilada E. Synthesis of some 1,2,4-triazolo[3,2-*b*]-1,3-thiazine-7-ones with potential analgesic and antiinflammatory activities. *Farmaco*. 2002;57(2):145–152.
110. Giammona G. Reactions of azoesters and dimethyl acetylenedicarboxylate with 3-methyl-1,2,4-triazole-5-thione. *J. Heterocyclic Chem*. 1991;28:325-7
111. Liu S, Qian X, Chen J, Song G. Novel fused heterocycles: Synthesis and activity of 5,6-dihydro-7-thia-1,3,3a,5-tetraazainden-4-one and 1-thia-3,4a,9-triazafluoren-4-one derivatives. *Monatshefte fur Chemie*. 2000;131(9):953–957.
112. Britsun VN, Esipenko AN, Kudryavtsev AA, Lozinskii MO. Synthesis and Transformations of 2-R-5-Aryl-5,6-dihydro-7H-[1,2,4]-triazolo[5,1-*b*][1,3]thiazin-7-ones. *Rus J Org Chem*. 2004;40(7):232–238.
113. Wang Z, Shi H, Shi H. Novel synthesis of condensed heterocyclic systems containing 1,2,4-triazole ring. *Synth Commun*. 2001;31(18):2841–2848.
114. Sert-Ozgun S, Tel BC, Somuncuoglu EI, Kazkayasi I, Ertan M, Tozkoparan B. Design and Synthesis of 1,2,4-Triazolo[3,2-*b*]-1,3,5-thiadiazine Derivatives as a Novel Template for Analgesic/Anti-Inflammatory Activity. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2017;350(7):1–10.
115. Mahmoud AM, El-Sherif HAH, Habib OMA, Sarhan AAO. Synthesis and studies of triazolothiadiazines. An approach toward new biologically active heterocyclic compounds. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat Elem*. 2007;182(8):1757–1766.
116. Du H, Ding M, Luo N, Shi J, Huang J, Bao X. Design, synthesis, crystal structure and in vitro antimicrobial activity of novel 1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine-containing quinazolinone derivatives. *Mol Divers*. 2021;25(2):711–722.
117. Khazi IM, Mahajanshetti CS. Synthesis of 2-Aryl-6,6-dimethyl-8-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-1,2,4-4H-triazolo[3,2-*b*]benzothiazoles and their 3-Aryl-[3,4-*b*] Isomers. *Mon Chem*. 1995;766:759–766.
118. Abramov IG, Smirnov A V, Kalandadze LS, Gerasimova NP, Nozhnin NA, Sakharov VN. Synthesis of 3-Aryl[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3]benzothiazole-6,7-dicarbonitriles from 5-Aryl-4H-triazole-2-thiols and 5-Bromo-5-nitrophthalonitrile. *Chem of Het Com*. 2005;41(2):270–272.
119. Mostafa YAH, Hussein MA, Radwan AA, Kfayy AEHN. Synthesis and

- antimicrobial activity of certain new 1,2,4-triazolo[1,5-a] pyrimidine derivatives. *Arch Pharm Res.* 2008;31(3):279–293.
120. Saeed A, Ashraf Z, Nadeem H, Simpson J, Pérez H, Erben MF. An investigation of supramolecular synthons in 1,2,4-triazole-3(4H)-thione compounds. X-ray crystal structures, energetic and Hirshfeld surface analysis. *J Mol Struct.* 2019;1195:796–806.
 121. Alam MM, Nazreen S, Haider S, vd. Synthesis of some new S-alkylated 1,2,4-triazoles, their Mannich bases and their biological activities. *Arch Pharm (Weinheim).* 2012;345(3):203–214.
 122. Kubota S, Uda M, Ohtsuka M. 1,2,4-Triazoles .1. Methylation of 3- α -pyridyl-1,2,4-triazoline 5-thione. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 1971;19(11):2331.
 123. Kharb R, Shahar YM, Sharma CP. New Insights into Chemistry and Anti-Infective Potential of Triazole Scaffold. *Curr Med Chem.* 2011;18(21):3265–3297.
 124. Behalo MS, Amine MS, Fouda IM. Regioselective synthesis, antitumor and antioxidant activities of some 1,2,4-triazole derivatives based on 4-phenyl-5-(quinolin-8-yloxy)methyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiol. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat Elem.* 2017;192(4):410–417.
 125. Nadeem H, Ashraf Z. Regiospecific synthesis of some novel N-nucleosides of 4-amino-5-substituted-1,2,4-triazole-3-thiones and their in-vitro antimicrobial activity. *Eur J Chem.* 2012;3(4):485-492.
 126. Jin RY, Zeng CY, Liang XH, Sun XH, Liu YF, Wang YY, ve ark. Design, synthesis, biological activities and DFT calculation of novel 1,2,4-triazole Schiff base derivatives. *Bioorg Chem.* 2018;80(21673179):253–260.
 127. El-Serwy WS, Mohamed NA, Abbas EM, Abdel-Rahman RF. Synthesis and anti-inflammatory properties of novel 1,2,4-triazole derivatives. *Res Chem Intermed.* 2013;39(6):2543–2554.
 128. Gökce H, Öztürk N, Ceylan Ü, Alpaslan YB, Alpaslan G. Thiol-thione tautomeric analysis, spectroscopic (FT-IR, Laser-Raman, NMR and UV-vis) properties and DFT computations of 5-(3-pyridyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol molecule. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc.* 2016;163:170–180.
 129. Davari MD, Bahrami H, Haghighi ZZ, Zahedi M. Quantum chemical investigation of intramolecular thione-thiol tautomerism of 1,2,4-triazole-3-thione and its disubstituted derivatives. *J Mol Model.* 2010;16(5):841–855.
 130. Saramet I, Banciu MD, Draghici C. Synthesis and characterization of some 5-substituted-3-mercapto-1,2,4-triazoles. *Rev Roum Chim.* 1991;36(1–3):135–143.
 131. Wang Z, You T, Shi H. Synthesis of 3,6-disubstituted tetrahydro-striazolo[3,4-b][1,3,5] thiadiazines. *Mol Online.* 1996;1(8):89–92.
 132. Formagio ASN, Tonin LTD, Foglio MA, Madjarof J, Carvalho JE, Costa W, ve ark. Synthesis and antitumoral activity of novel 3-(2-substituted-1,3,4-oxadiazol-5-yl) and 3-(5-substituted-1,2,4-triazol-3-yl) β -carboline derivatives.

- Bioorg Med Chem. 2008;16(22):9660–9667.
133. Feng CT, Wang LD, Yan YG, Liu J, Li SH. Synthesis and antitumor evaluation of some 1,3,4-oxadiazole-2(3H)-thione and 1,2,4-triazole-5(1H)-thione derivatives. *Med Chem Res*. 2012;21(3):315–320.
 134. El Ashry ESH, Awad LF, Soliman SM, Abd Al Moaty MN, Ghabbour HA, Barakat A. Tautomerism aspect of thione-thiol combined with spectral investigation of some 4-amino-5-methyl-1,2,4-triazole-3-thione Schiff's bases. *J Mol Struct*. 2017;1146:432–440.
 135. Wu S, Zhang W, Qi L, Ren Y, Ma H. Investigation on 4-amino-5-substituent-1,2,4-triazole-3-thione Schiff bases an antifungal drug by characterization (spectroscopic, XRD), biological activities, molecular docking studies and electrostatic potential (ESP). *J Mol Struct*. 2019;1197:171–182.
 136. Vats L, Kumar R, Bua S, Nocentini A, Gratteri B, Supuran CT, ve ark. Continued exploration and tail approach synthesis of benzenesulfonamides containing triazole and dual triazole moieties as carbonic anhydrase I, II, IV and IX inhibitors. *Eur J Med Chem*. 2019;183:111698. doi:10.1016/j.ejmech.2019.111698
 137. Koparir M, Orek C, Parlak AE, Soylemez A, Koparir P, Karatepe M, ve ark. Synthesis and biological activities of some novel aminomethyl derivatives of 4-substituted-5-(2-thienyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones. *Eur J Med Chem*. 2013;63:340–346.
 138. Kaymakçioğlu BK, Oruç EE, Ünsalan S, Kabasakal L, Rollas S. High-pressure liquid chromatographic analysis for identification of in vitro and in vivo metabolites of 4-phenethyl-5-[4-(1-(2-hydroxyethyl)-3,5-dimethyl-4-pyrazolylazo)phenyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione in rats. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci*. 2006;831(1–2):184–189.
 139. Aslam MS, Subhan Ijaz A, Choudhary BA, Awan AJ, Javed I. Mass Spectrometric Fragmentation and Pharmacological Activities of 1,2,4 Triazole Derivatives. *Ind Res J Pharm Sci*. 2014;1(13):28–35.
 140. Varvaresou A, Tsantili-Kakoulidou A, Siatra-Papastaikoudi T, Tiligada E. Synthesis and biological evaluation of indole containing derivatives of thiosemicarbazide and their cyclic 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole analogs. *Arzneimittel-Forschung/Drug Res*. 2000;50(1):48–54.
 141. Eswaran S, Adhikari AV, Shetty NS. Synthesis and antimicrobial activities of novel quinoline derivatives carrying 1,2,4-triazole moiety. *Eur J Med Chem*. 2009;44(11):4637–4647.
 142. Zhang J, Wang S, Ba Y, Xu Z. 1,2,4-Triazole-quinoline/quinolone hybrids as potential anti-bacterial agents. *Eur J Med Chem*. 2019;174:1–8.
 143. Dhiman AM, Wadodkar KN, Patil SD. Synthesis and antimicrobial study of heterocyclyl substituted s-triazoles, 1,3,4-thiadiazoles, oxadiazoles and related heterocycles. *Indian J Chem Sect BOrganic Chem Incl Med Chem*. 2001;40(7):636–639.
 144. Bayrak H, Demirbas A, Demirbas N, Karaoglu SA. Synthesis of some new

- 1,2,4-triazoles starting from isonicotinic acid hydrazide and evaluation of their antimicrobial activities. *Eur J Med Chem.* 2009;44(11):4362–4366.
145. Cherukupalli S, Karpoormath R, Chandrasekaran B, Hampannavar GA, Thapliyal N, Palakollu VN. An insight on synthetic and medicinal aspects of pyrazolo[1,5-a]pyrimidine scaffold. *Eur J Med Chem.* 2017;126:298–352.
 146. Purushothaman B, Arumugam P, Kulsi G, Song JM. Design, synthesis, and biological evaluation of novel catecholopyrimidine based PDE4 inhibitor for the treatment of atopic dermatitis. *Eur J Med Chem.* 2018;145:673–690.
 147. Demirbas N, Karaoglu SA, Demirbas A, Sancak K. Synthesis and antimicrobial activities of some new 1-(5-phenylamino-[1,3,4] thiadiazol-2-yl)methyl-5-oxo-[1,2,4]triazole and 1-(4-phenyl-5-thioxo-[1,2,4] triazol-3-yl)methyl-5-oxo-[1,2,4]triazole derivatives. *Eur J Med Chem.* 2004;39(9):793–804.
 148. Datoussaid Y, Othman AA, Kirsch G. Synthesis and antibacterial activity of some 5,5'-(1,4-phenylene)-bis-1,3,4-oxadiazole and bis-1,2,4-triazole derivatives as precursors of new S-nucleosides. *South African J Chem.* 2012;65:30–35.
 149. Ozdemir SB, Cebeci YU, Bayrak H, Mermer A, Ceylan S, Demirbas A, ve ark. Synthesis and antimicrobial activity of new piperazine-based heterocyclic compounds. *Heterocycl Commun.* 2017;23(1):43–54.
 150. Mermer A, Demirci S, Ozdemir SB, Demirbas A, Ulker S, Ayaz FA, ve ark. Conventional and microwave irradiated synthesis, biological activity evaluation and molecular docking studies of highly substituted piperazine-azole hybrids. *Chinese Chem Lett.* 2017;28(5):995–1005.
 151. Ghasemzadeh E, Mohammad A, Basir A, Mohammad H, Zahra E. Synthesis of some novel imidazoles catalyzed by Co₃O₄ nanoparticles and evaluation of their antibacterial activities. *Com Chem High T Screening.* 2018;21(4):271–280.
 152. Santosh R, Selvam MK, Kanekar SU, Nagaraja GK, Kumar M. Design, Synthesis, DNA Binding, and Docking Studies of Thiazoles and Thiazole-Containing Triazoles as Antibacterials. *ChemistrySelect.* 2018;3(14):3892–3898.
 153. Nastasă C, Vodnar DC, Ionuț I, Stana A, Benedec D, Tamaian R, ve ark. Antibacterial evaluation and virtual screening of new thiazolyl-triazole schiff bases as potential DNA-gyrase inhibitors. *Int J Mol Sci.* 2018;19(1):1–18.
 154. Jalilian AR, Sattari S, Bineshmarvasti M, Daneshtalab M, Shafiee A. Synthesis and in vitro antifungal and cytotoxicity evaluation of substituted 4,5-dihydronaphtho[1,2-d][1,2,3]thia(or seleno)diazoles. *Farmaco.* 2003;58(1):63–68.
 155. El Ashry ESH, El Tamany ESH, Abd El Fattah MED, Boraie ATA, Abd El-Nabi HM. Regioselective synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of S-glycosides and S,N-diglycosides of 1,2-Dihydro-5-(1H-indol-2-yl)-1,2,4- triazole-3-thione. *Eur J Med Chem.* 2013;66:106–113.
 156. Koparir M. Synthesis and Biological Activities of Some New Mannich Bases of 5,5'-Butane-1,4-diylbis[4-ethyl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones.

Chem Sci Trans. 2013;2(3):701–710.

157. Almasirad A, Tabatabai SA, Faizi M, Kebriaeezadeh A, Mehrabi N, Dalvandi A, ve ark. Synthesis and anticonvulsant activity of new 2-substituted-5-[2-(2-fluorophenoxy)phenyl]-1,3,4-oxadiazoles and 1,2,4-triazoles. *Bioorganic Med Chem Lett.* 2004;14(24):6057–6059.
158. Siddiqui N, Alam MS, Ahsan W. Synthesis, anticonvulsant and toxicity evaluation of 2-(1H-indol-3-yl)acetyl-N-(substitutedphenyl)hydrazine carbothioamides and their related heterocyclic derivatives. *Acta Pharm.* 2008; 58(4):445-54
159. Łuszczki JJ, Plech T, Wujec M. Influence of 5-(3-chlorophenyl)-4-(4-methylphenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4- triazole-3-thione on the anticonvulsant action of 4 classical antiepileptic drugs in the mouse maximal electroshock-induced seizure model. *Pharmacol Reports.* 2012;64(4):970–978.
160. Łuszczki JJ, Plech T, Wujec M. Effect of 4-(4-bromophenyl)-5-(3-chlorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4- triazole-3-thione on the anticonvulsant action of different classical antiepileptic drugs in the mouse maximal electroshock-induced seizure model. *Eur J Pharmacol.* 2012;690(1–3):99–106.
161. Plech T, Łuszczki JJ, Wujec M, Flieger J, Pizoń M. Synthesis, characterization and preliminary anticonvulsant evaluation of some 4-alkyl-1,2,4-triazoles. *Eur J Med Chem.* 2013;60:208–215.
162. Kane JM, Dudley MW, Sorensen SM, Miller FP. 2,4-Dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones as potential antidepressant agents. *J Med Chem.* 1988;31(6):1253–1258.
163. Turan-Zitouni G, Kaplancikli ZA, Kiliç FS, Erol K. The synthesis of some triazolyphenothiazine derivatives and their antidepressant and anxiolytic activities. *Boll Chim Farm.* 2002;141(3):192–196.
164. Palaska E, Şahin G, Kelicen P, Durlu NT, Altinok G. Synthesis and anti-inflammatory activity of 1-acylthiosemicarbazides, 1,3,4-oxadiazoles, 1,3,4-thiadiazoles and 1,2,4-triazole-3-thiones. *Farmaco.* 2002;57(2):101–107.
165. Amir M, Shikha K. Synthesis and anti-inflammatory, analgesic, ulcerogenic and lipid peroxidation activities of some new 2-[(2,6-dichloroanilino) phenyl]acetic acid derivatives. *Eur J Med Chem.* 2004;39(6):535–545.
166. Amir M, Kumar S. Anti-inflammatory and gastro sparing activity of some new indomethacin derivatives. *Arch Pharm (Weinheim).* 2005;338(1):24–31.
167. Joanna L, Talarek S, Orzelska J, Fidecka S, Wujec M, Plech T. The antinociceptive effect of 4-substituted derivatives of 5-(4-chlorophenyl)-2-(morpholin-4-ylmethyl)-2,4-dihydro-3H-1,2, 4-triazole-3-thione in mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2014;387(4):367–375.
168. Kus C, Ayhan-Kilcigil G, Eke BC, Iscan M. Synthesis and Antioxidant Properties of Some Novel Benzimidazole Derivatives on Lipid Peroxidation in the Rat Liver. *Arch Pharm Res.* 2004;27(2):156–163.
169. Ayhan-Kilcigil G, Kuş C, Çoban T, Can-Eke B, Özbey S, Iscan M. Synthesis, antioxidant and radical scavenging activities of novel benzimidazoles. *J*

Enzyme Inhib Med Chem. 2005;20(5):503–514.

170. Khan I, Ali S, Hameed S, Hussain MT, Wadood A, Uddin R, ve ark. Synthesis, antioxidant activities and urease inhibition of some new 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives. *Eur J Med Chem.* 2010;45(11):5200–5207.
171. Aswathanarayanappa C, Bheemappa E, Bodke YD, Krishnegowda PS, Venkata SP, Ningegowda R. Synthesis and evaluation of antioxidant properties of novel 1,2,4-triazole-based schiff base heterocycles. *Arch Pharm (Weinheim).* 2013;346(12):922–930.
172. Akhtar T, Hameed S, Masoudi NAA, Khan KM. Synthesis and Anti-HIV Activity of New Chiral 1,2,4-Triazoles and 1,3,4-Thiadiazoles. *Heteroat Chem.* 2007;18(3):316–322.
173. Küçükgülzel I, Tatar E, Küçükgülzel ŞG, Rollas S, De-Clercq E. Synthesis of some novel thiourea derivatives obtained from 5-[(4-aminophenoxy)methyl]-4-alkyl/aryl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones and evaluation as antiviral/anti-HIV and anti-tuberculosis agents. *Eur J Med Chem.* 2008;43(2):381–392.
174. Küçükgülzel I, Küçükgülzel SG, Rollas S, Kiraz M. Some 3-thioxo/alkylthio-1,2,4-triazoles with a substituted thiourea moiety as possible antimycobacterials. *Bioorganic Med Chem Lett.* 2001;11(13):1703–1707.
175. Duran A, Dogan HN, Rollas S. Synthesis and preliminary anticancer activity of new 1,4-dihydro-3-(3-hydroxy-2-naphthyl)-4-substituted-5H-1,2,4-triazoline-5- thiones. *Farmaco.* 2002;57(7):559–564.
176. Yang JG, Pan FY. New 3-[(4-Hydroxy-6-Methly-2(1H)-Pyridinones)-3-yl]-4-Substituted-(1H)-1,2,4-Triazole-5-Thiones: Efficient Synthesis, X-Ray Crystallographic Analysis, and Antitumor Activity. *Lett Org Chem.* 2007;4(2):137–141.
177. Sunil D, Isloor AM, Shetty P, Chandrakantha B, Satyamoorthy K. Synthesis, characterization and in vitro cytotoxic properties of some new Schiff and Mannich bases in Hep G2 cells. *Med Chem Res.* 2011;20(7):1024–1032.
178. Mavrova AT, Wesselinova D, Tsenov YA, Denkova P. Synthesis, cytotoxicity and effects of some 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives on immunocompetent cells. *Eur J Med Chem.* 2009;44(1):63–69.
179. Hassan GS, El-Messery SM, Al-Omary FAM, Al-Rashood ST, Shabayek MI, Abulfadl YS, ve ark. Nonclassical antifolates, part 4. 5-(2-Aminothiazol-4-yl)-4-phenyl-4H-1,2, 4-triazole-3-thiols as a new class of DHFR inhibitors: Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study. *Eur J Med Chem.* 2013;66:135–145.
180. Sitaram, Celik G, Khloya P, Vullo D, Supuran CT, Sharma PK. Benzenesulfonamide bearing 1,2,4-triazole scaffolds as potent inhibitors of tumor associated carbonic anhydrase isoforms hCA IX and hCA XII. *Bioorganic Med Chem.* 2014;22(6):1873–1882.
181. Aktay G, Tozkoparan B, Ertan M. Investigation of antioxidant properties of some 6-(α -aminobenzyl) thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5-ol compounds. *J*

Enzyme Inhib Med Chem. 2009;24(3):898–902.

182. Tozkoparan B, Gökhan N, Küpeli N, Erdem ME. Synthesis, characterization and anti-inflammatory-analgesic properties of 6-(alpha-amino-4-chlorobenzyl)thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazol-5-ols. *Arzneimittelforschung-Drug Res.* 2004;54(1):35–41.
183. J Mohan, Kumar A. Condensed bridgehead nitrogen heterocyclic systems: Facile synthesis and antimicrobial activity of imidazo [2,1-b]-1,3,4-thiadiazoles. *Indian J Heterocycl Chem.* 2003;12(3):189–192.
184. Hu J, Wang Y, Wei X, Wu X, Chen G, Cao G, ve ark. Synthesis and biological evaluation of novel thiazolidinone derivatives as potential anti-inflammatory agents. *Eur J Med Chem.* 2013;64:292–301.
185. Holota S, Shylych Y, Derkach H, Karpenko O, Gzella A, Lesyk R. Synthesis of 4-(2H-[1,2,4]-triazol-5-ylsulfanyl)-1,2-dihydropyrazol-3-one via ring-switching hydrazinolysis of 5-ethoxymethylenethiazolo [3,2-b][1,2,4]triazol-6-one. *Molbank.* 2018;2018(4):2–8.
186. Tratat C, Haroun M, Papariva A, Geronikaki A, Kamoutsis C, Ciric A, ve ark. Design, synthesis and biological evaluation of new substituted 5-benzylideno-2-adamantylthiazol[3,2-b][1,2,4]triazol-6(5H)ones. Pharmacophore models for antifungal activity. *Arab J Chem.* 2018;11(4):573–590.
187. Demir-Erol D, Calis U, Demirdamar R, Ame N. Synthesis and Biological Activities of Some 3,6-DisubstitutedThiazolo[3,244 [1,2,4] triazoles. *J Pharm Sci.* 1995;84(4):462–465.
188. Aksuner N, Henden E, Yilmaz I, Cukurovali A. A novel optical chemical sensor for the determination of nickel(II) based on fluorescence quenching of newly synthesized thiazolo-triazol derivative and application to real samples. *Sensors Actuators, B Chem.* 2012;166–167:269–274.
189. Lesyk R, Vladzimirskaya O, Holota S, Zaprutko L, Gzella A. New 5-substituted thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-6-ones: Synthesis and anticancer evaluation. *Eur J Med Chem.* 2007;42(5):641–648.
190. Birsan Tozkoparan. Biyolojik etkili kondanse tiyazolo[3,2-b]-1,2,4-triazol-5-(6H)-on türevleri üzerinde sentez çalışmaları. [Yüksek Lisans Tezi]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 1993.
191. Jakhar K, Makrandi JK. A green synthesis and antibacterial activity of 2-aryl-5-(coumarin-3-yl)- thiazolo [3,2-fri [1 ,2,4]triazoles. *Indian J Chem - Sect B Org Med Chem.* 2012;51(10):1511–1516.
192. Seelam N, Shrivastava SP, Prasanthi S, Gupta S. Synthesis and in vitro study of some fused 1,2,4-triazole derivatives as antimycobacterial agents. *J Saudi Chem Soc.* 2016;20(4):411–418.
193. Raj KVV, Narayana B. The one step synthesis of 2-(2-bromo-5-methoxyphenyl)-5-(3-arylidene)-1,3-thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazol-6-(5H)-ones and the evaluation of the anticonvulsant activity. *Pho. Sul. Rel. El.* 2006; 181(9):1971-1981.
194. Djukic M, Fesatidou M, Xenikakis I, Geronikaki A, Angelova VT, Savic V, ve

- ark. In vitro antioxidant activity of thiazolidinone derivatives of 1,3-thiazole and 1,3,4-thiadiazole. *Chem Biol Interact.* 2018;286(February):119–131.
195. Toma A, Mogosan C, Vlase L, Leonte D, Zaharia V. Synthesis, characterization and evaluation of the antiinflammatory activity of thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole derivatives bearing pyridin-3/4-yl moiety. *Med Chem Res.* 2017;26:2602-2613.
 196. El-Sherief HAM, Youssif BGM, Abbas Bukhari SN, Abdelazeem AH, Abdel-Aziz M, Abdel-Rahman HM. Synthesis, anticancer activity and molecular modeling studies of 1,2,4-triazole derivatives as EGFR inhibitors. *Eur J Med Chem.* 2018;156:774–789.
 197. Ehrich M, Sharova L. In Vitro Methods for Detecting Cytotoxicity. *Curr Protoc Toxicol.* 2000;3(1):1–27.
 198. Cummings BS, Wills LP, Schnellmann RG. Measurement of cell death in unit 12.8 mammalian cells. *Curr Protoc Pharmacol.* 2012;(SUPPL.56):1–24.
 199. Abdel-Latif L, Murray BK, Renberg RL, O'Neil KL, Porter H, Jensen JB, ve ark. Cell death in bovine parvovirus-infected embryonic bovine tracheal cells is mediated by necrosis rather than apoptosis. *J Gen Virol.* 2006;87:2539–2548.
 200. MİS L, Yeltekin AÇ. Apoptosis. *BEU J Sci.* 2014;3(1):102–112.
 201. Niles AL, Moravec RA, Riss TL. Update on in vitro cytotoxicity assays for drug development. *Expert Opin Drug Discov.* 2008;3(6):655–669.
 202. Zeybek Ü. Kanser araştırmaları ve deneysel modeller. *Deney Tıp Araş Enst.* 2013;2(5):1–12.
 203. Aslantürk ÖS. In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages; 2018.
 204. Fraser TJ, Bhuyan BK, Loughman BE, Day KJ, Company TU. Comparison viability of different after methods of determining compounds exposure Cell survival after treatment with different agents (chemicals, heat, freezing, radiation, etc.) has often been determined by : (1) cloning efficiency. 1 , 21 ; 2. *Cancer.* 1976;97.
 205. Krause AW, Carley WW, Webb WW. Fluorescent erythrosin B is preferable to trypan blue as a vital exclusion dye for mammalian cells in monolayer culture. *J Histochem Cytochem.* 1984;32(10):1084–1090.
 206. Johnston G. Automated handheld instrument improves counting precision across multiple cell lines. *Biotechniques.* 2010;48(4):325–327. doi:10.2144/000113407
 207. Wiley MM. Diagnosis Related Groups (DRGs): Measuring Hospital Case Mix. *Encycl Biostat.* Published online 2005. doi:10.1002/0470011815.b2a4a007
 208. Stone V, Johnston H, Schins RPF. Development of in vitro systems for nanotoxicology: Methodological considerations in vitro methods for nanotoxicology Vicki Stone et al. *Crit Rev Toxicol.* 2009;39(7):613–626.
 209. Kim SI, Kim HJ, Lee HJ, Lee K, Hong D, Lim H, ve ark. Application of a non-hazardous vital dye for cell counting with automated cell counters. *Anal*

- Biochem. 2016;492(3):8–12.
210. Präbst K, Engelhardt H, Ringgeler S, Hübner H. Chapter 2 of Cell Viability Assays. C 1601; 2017.
 211. Doğan A, Aksu P, Erdağ D, Bayezit M, Doğan E, Özcan E. Farelerde 3-metilkolantren ile indüklenen fibrosarkoma üzerine sisteaminin etkileri. Kafkas Univ Vet Fak Der. 2013;19(1):7-12.
 212. Malich G, Markovic B, Winder C. The sensitivity and specificity of the MTS tetrazolium assay for detecting the in vitro cytotoxicity of 20 chemicals using human cell lines. Toxicology. 1997;124(3):179–192.
 213. Scudiero DA, Shoemaker RH, Paull KD, Monks A, Tierney S, Nofziger T, ve ark. Evaluation of a Soluble Tetrazolium/Formazan Assay for Cell Growth and Drug Sensitivity in Culture Using Human and Other Tumor Cell Lines. Cancer Res. 1988;48(17):4827–4833.
 214. Kuramoto T. NII-Electronic Library Service. Chem Pharm Bull. 1994;17(11):1460–1462.
 215. Decker T, Lohmann-Matthes ML. A quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor (TNF) activity. J Immunol Methods. 1988;115(1):61–69.
 216. Lappalainen K, Jääskeläinen I, Syrjänen K, Urtti A, Syrjänen S. Comparison of Cell Proliferation and Toxicity Assays Using Two Cationic Liposomes. Pharm Res. 1994;11(8):1127–1131.
 217. Skehan P, Storeng R, Scudiero D, vd. New Colorimetric Cytotoxicity Assay for. J Natl Cancer Inst. 1990;82(13):1107–1112.
 218. Borenfreund E, Puerner JA. A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assays (HTD/NR-90). J Tissue Cult Methods. 1985;9(1):7–9.
 219. Page B, Page M, Noel C. A new fluorometric assay for cytotoxicity measurements in vitro. Int J Oncol. 1993;3(3):473–476.
 220. Riss TL, Moravec RA, Niles AL, vd. Cell Viability Assays. Assay Guidance Manual; 2004:1–25. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23805433>
 221. Duellman SJ, Zhou W, Meisenheimer P, vd. Bioluminescent, Nonlytic, Real-Time Cell Viability Assay and Use in Inhibitor Screening. Assay Drug Dev Technol. 2015;13(8):456–465.
 222. Doğan A, Aksu P, Erdağ D, Bayezit M, Doğan E, Özcan K. Farelerde 3-metilkolantren ile indüklenen fibrosarkoma üzerine sisteaminin etkileri. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2013;19(1):7–12.
 223. Gençoğlu H, Tuzcu Z, Orhan C, Akdemir F, Tuzcu O, Özercan IH, ve ark. Sıçanlarda, 7,12 Dimetil Benzantrasen ile Oluşturulan Yumuşak Doku Sarkomunda Genisteinin Koruyucu Rolü. F Ü Sağ Bil Vet Derg. 2018;32(2):111–116.
 224. Ugochukwu U, David AO, Obioma TAE. The Effect of Aqueous Extract of

- Ocimum gratissium (Linn) on 1, 2 - Dimethyl Hydrazine induced Colon Cancer in Male Wistar Rats. *Int J Hum Anat.* 2020;2(1):21–35.
225. Richmond A, Su YJ. Mouse xenograft models vs GEM models for human cancer therapeutics. *Dis Model Mech.* 2008;1(2–3):78–82.
 226. Samelyuk YG, Kaplaushenko AG. Synthesis of 3-alkylthio(sulfo)-1,2,4-triazoles, Containing methoxyphenyl substituents at c5atoms, Their antipyretic activity, Propensity to adsorption and acute toxicity. *J Chem Pharm Res.* 2014;6(5):1117–1121.
 227. Tozkoparan B, Aytaç SP, Gürsoy Ş, Aktay G. Design and synthesis of some thiazolotriazolyl esters as anti-inflammatory and analgesic agents. *Med Chem Res.* 2012;21(2):192–201.
 228. Lauge T, Plagens A. Namen- und Schlahwort-reaktionen der Organischen Chemie. Teuber Stud Chemie. Germany: Springer, 2004.
 229. Tozkoparan B, Akgun H, Ertan M, Rubsemanb K. Synthesis of some thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-ones as potential platelet aggregation inhibitors. *Arc Pharm.* 1995;5:169–173.
 230. Selvi S. Potent bir anti-kanser bileşik: terpiridin içeren dinükleer palladyum(II) kompleksinin {[PD(SAC)(TERPY)](SAC)} [PD₂(TERPY)₂(M-TAS-N1,N4)]SO₄.11H₂O meme kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik/sitostatik etkilerinin ve mekanizmalarının araştırılması [Yüksek Lisans Tezi]. İstanbul: İstinye Üniversitesi, 2019.
 231. Aztopal N. Meme kanseri kök hücrelerinde histon modifikasyonları ile hücre ölümü arasındaki ilişkilerin araştırılması [Doktora Tezi]. Bursa: Uludağ Üniveristesi, 2017.
 232. Darzynkiewicz Z, Carter SP, Mikulski SM, Ardelt WJ, Shogen K. Cytostatic and Cytotoxic Effects of Pannon (P-30 Protein), A Novel Anticancer Agent. *Cell Prolif.* 1988;21(3):169–182.

8. EKLER

Ek 1. Dijital makbuz



Digital Receipt

This receipt acknowledges that Turnitin received your paper. Below you will find the receipt information regarding your submission.

The first page of your submissions is displayed below.

Submission author: Ahmet Avcı
Assignment title: tez son
Submission title: tez son
File name: tez_bas_m.pdf
File size: 7.89M
Page count: 144
Word count: 27,262
Character count: 167,128
Submission date: 09-Aug-2021 10:49AM (UTC+0300)
Submission ID: 1629485379

İ.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI YENİ TİYAZOLİDİ-4,2,4-TRIAZOL-6(5H)-İN
TÜREVLERİNİN SİNTEZİ VE SİTOKİNİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Ahmet Avcı

Farmakolojik Bilimler Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA
2021

Ek 2. Orjinallik ekran görüntüsü

ORJİNALLİK RAPORU

%24

BENZERLİK ENDEKSİ

%19

İNTERNET KAYNAKLARI

%7

YAYINLAR

%13

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

Submitted to TechKnowledge Turkey

Öğrenci Ödevi

%9

2

www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

%3

3

www.ogr.sabil.hacettepe.edu.tr

İnternet Kaynağı

%2

4

openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

%1

5

Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK)

Öğrenci Ödevi

%1

6

Submitted to Gaziantep Aniversitesi

Öğrenci Ödevi

%1

7

www.freepatentsonline.com

İnternet Kaynağı

%1

8

avesis.hacettepe.edu.tr

İnternet Kaynağı

%1

9

acikerisim.istinye.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

9. ÖZGEÇMİŞ

