

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**PIROLOTRİAZİNON YAPISI İÇEREN YENİ HETEROBİSİKLİK
BİLEŞİKLERİN TASARIMI SENTEZİ TEORİK HESAPLAMALARI VE
ÇEŞİTLİ BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Eylem KUZU
Danışman: Prof. Dr. Hasan GENÇ

VAN – 2025

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**PİROLOTRİAZİNON YAPISI İÇEREN YENİ HETEROBİSİKLİK
BİLEŞİKLERİN TASARIMI SENTEZİ TEORİK HESAPLAMALARI VE
ÇEŞİTLİ BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Eylem KUZU

Tez Savunma Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Erbil AĞAR (Başkan)

Prof. Dr. Hasan GENÇ (Danışman)

Doç. Dr. Meltem TAN UYGUN (Üye)

Dr. Öğr. Üyesi Volkan TAŞDEMİR (Üye)

Dr. Öğr. Üyesi Aybek YİĞİT (Üye)

Bu çalışma Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından
FDK-2023-10911 No'lu proje ile desteklenmiştir.

VAN – 2025

KABUL VE ONAY SAYFASI

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Hasan GENÇ danışmanlığında, Eylem KUZU tarafından sunulan “Pirolotriazinon Yapısı İçeren Yeni Heterobisiklik Bileşiklerin Tasarımı Sentezi Teorik Hesaplamaları ve Çeşitli Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 13/06/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Erbil AĞAR

İmza:

Üye: Prof. Dr. Hasan GENÇ

İmza:

Üye: Doç. Dr. Meltem TAN UYGUN

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Volkan TAŞDEMİR

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Aybek YİĞİT

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun / / tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

.....

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

İmza

Eylem KUZU



ÖZET

PIROLOTOTRIAZINON YAPISI İÇEREN YENİ HETEROBİSİKLİK BİLEŞİKLERİN TASARIMI SENTEZİ TEORİK HESAPLAMALARI VE ÇEŞİTLİ BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

KUZU, Eylem
Doktora Tezi, Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Hasan GENÇ
Temmuz 2025, 143 sayfa

Bu tez çalışması, pirrolotriazinon iskeletine sahip yeni bileşiklerin sentezi, karakterizasyonu ve farmakolojik potansiyellerinin araştırılmasına odaklanmaktadır. Heterosiklik bileşikler, özellikle pirrol ve triazinon türevleri, ilaç keşfi alanında önemli biyolojik aktiviteler sergileyebilen yapılar arasında yer almaktadır. Bu doğrultuda, farklı fonksiyonel gruplarla zenginleştirilmiş çeşitli pirrolotriazinon türevleri sentezlenmiş ve bu türevlerin biyolojik aktiviteleri kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir.

Bileşiklerin yapısal doğrulamaları, ¹H NMR, ¹³C NMR ve LC-MS/MS gibi ileri düzey spektroskopik ve spektrometrik yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, bileşiklerin moleküler özellikleri ve reaksiyon mekanizmaları, yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) hesaplamaları ile teorik olarak incelenmiş, bu sayede bileşiklerin kararlılığı ve etkileşim potansiyelleri hakkında derinlemesine bilgi sağlanmıştır. Tasarlanan moleküllerin sentezi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Biyolojik testler sonucunda, sentezlenen bileşiklerin çeşitli kanser hücre hatları üzerinde antiproliferatif etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Etkin bulunan bileşiklerin kanser hücrelerindeki PI3K seviyeleri ELISA yöntemiyle değerlendirilmiş ve bazı bileşiklerin PI3K seviyelerini düzenleyerek kanser hücrelerinin büyümesini engellediği gözlemlenmiştir. Ayrıca, moleküler docking yöntemiyle yapılan in vitro doğrulamalar, bu bileşiklerin hedef proteinlerle etkileşimlerini ve biyolojik aktivitelerinin mekanizmalarını anlamada önemli bir katkı sağlamıştır.

Sonuç olarak, bu çalışma, yeni pirrolotriazinon türevlerinin farmakolojik potansiyelini hem deneysel hem de teorik açıdan detaylı bir şekilde inceleyerek, bu bileşiklerin kanser tedavisi gibi terapötik uygulamalarda önemli adaylar olabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Antiproliferasyon, Moleküler docking, PI3K, Pirrolotriazinon, pre-ADMET



ABSTRACT

DESIGN, SYNTHESIS, THEORETICAL CALCULATIONS, AND INVESTIGATION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITIES OF NEW HETEROCYCLIC COMPOUNDS CONTAINING PYRROLOTRIAZINONE STRUCTURE

KUZU, Eylem

Ph.D. Thesis, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Hasan GENÇ

July 2025, 143 pages

This thesis focuses on the synthesis, characterization, and investigation of the pharmacological potential of novel compounds with a pyrrolo-triazine scaffold. Heterocyclic compounds, particularly pyrrole and triazine derivatives, are known to exhibit significant biological activities and are among the key structures in drug discovery. In this context, various pyrrolo-triazine derivatives, enriched with different functional groups, were synthesized, and their biological activities were systematically evaluated.

The structural confirmation of the synthesized compounds was carried out using advanced spectroscopic and spectrometric techniques such as ^1H NMR, ^{13}C NMR, and LC-MS. Furthermore, the molecular properties and reaction mechanisms of these compounds were theoretically investigated through Density Functional Theory (DFT) calculations, providing valuable insights into their stability and potential interactions. The designed molecules were successfully synthesized.

Biological assays revealed that the synthesized compounds exhibited antiproliferative effects on various cancer cell lines. The effects of the active compounds on the PI3K levels in cancer cells were evaluated using the ELISA method, and it was observed that certain compounds regulated PI3K levels, inhibiting cancer cell growth. Additionally, in vitro validation through molecular docking studies contributed to a better understanding of the interactions of these compounds with target proteins and the mechanisms underlying their biological activities.

In conclusion, this study provides a detailed experimental and theoretical examination of the pharmacological potential of new pyrrolo-triazine derivatives and demonstrates that these compounds could serve as promising candidates for therapeutic applications, such as cancer treatment.

Keywords: Antiproliferation, Molecular docking, PI3K, Pyrrolotriazinone, pre-ADMET



TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında, her türlü ilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Hasan GENÇ'e teşekkür ederim. Ayrıca, tez dönemimde her daim destekçim olan sevgili eşim Doç. Dr. Burak KUZU'ya, tezimin oluşmasında zamanından çaldığım sevgili kızım Gökçe KUZU'ya ve benim bu günlere gelmemde üzerimde büyük emekleri olan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

2025

Eylem KUZU





İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvii
EKLER DİZİNİ.....	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	3
2.1 Pirol ve Triazinon Bileşiklerinin Önemi	6
2.2 Pirolotriazinon Türevlerinin Çeşitli Biyolojik Aktiviteleri	9
2.3 Pirolotriazinon Türevlerinin Eldesi için Çeşitli Sentetik Yöntemler	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	27
3.1 Materyal.....	27
3.2 Yöntem	27
3.2.1 Sentez Yöntemleri.....	27
3.2.1.1 Pirol-2-karbaldehit Bileşiğinin Sentezi.....	27
3.2.1.2 Pirol-2-asetil Bileşiğinin Sentezi	28
3.2.1.3 Pirol-N-etilkarboksilat-2-karbaldehit Bileşiğinin Sentezi	29
3.2.1.4 Pirol-N-etilkarboksilat-2-asetil Bileşiğinin Sentezi.....	29
3.2.1.5 Karbaldehit Sübstitüe Pirol'den Tiyosemikarbazon Sentezi	30
3.2.1.6 Asetil Sübstitüe Pirol Yapısından Tiyosemikarbazon Sentezi	31
3.2.1.7 Tiyazol Sübstitüe Hidrazon Türevinin Sentezi.....	31
3.2.1.8 Karbaldehit Sübstitüe Pirol'den Tiyazol Hidrazon Sentezi.....	32
3.2.1.9 Propargil Sübstitüe Hidrazon Türevinin Sentezi	32
3.2.1.10 Propargil Sübstitüe Hidrazon Türevinin Halkalaşması	33
3.2.1.11 Tiyazol Sübstitüe Pirolotriazinon Türevlerinin Sentezi	34
3.2.2 Aktivite Yöntemleri	34
3.2.2.1 MTT Testi.....	34
3.2.2.2 PI3K Protein Seviyelerinin Ölçülmesi.....	35
3.2.3 Moleküler Doking Yöntemleri.....	35
3.2.4 Pre-ADMET Yöntemleri.....	36
3.3 İstatistik Analizler	37
4. BULGULAR.....	39

4.1	Kimyasal Bulgular.....	39
4.1.1	1 <i>H</i> -pirol-2-karbaldehit	39
4.1.2	1-(1 <i>H</i> -pirol-2-il)etan-1-on.....	40
4.1.3	Etil 2-formil-1 <i>H</i> -pirol-1-karboksilat	41
4.1.4	Etil 2-asetil-1 <i>H</i> -pirol-1-karboksilat.....	42
4.1.5	Etil 2-[(2-karbamotiyolhidraziniliden)metil]-1 <i>H</i> -pirol-1-karboksilat... 43	
4.1.6	(2-[1-(1 <i>H</i> -Pirol-2-il)etiliden]hidrazin-1-karbotiyoamit	44
4.1.7	(2-[1-(1 <i>H</i> -Pirol-2-il)etiliden]hidrazin-1-karbotiyoamit	45
4.1.8	(3,4-diklorofenil)tiyazol-2-il)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -pirol	46
4.1.9	(3-kloro-4-florofenil)tiyazol-2-il)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -pirol	47
4.1.10	2-(amino(prop-2-in-1-tiyo)metilen)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -pirol.....	48
4.1.11	3-(4-metiltiyazol-2-yl)pirolo[1,2-d][1,2,4]triazin-4(3H)-on.....	49
4.1.12	3-(4-(p-tolil)tiyazol-2-yl)pirolotriazin-4(3H)-on	50
4.1.13	3-(4-(p-tolil)tiyazol-2-yl)pirolotriazin-4(3H)-on	51
4.1.14	3-(4-(4-hidroksifenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on	52
4.1.15	3-(4-(4-metoksifenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on.....	53
4.1.16	3-(4-(4-nitrofenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on.....	54
4.1.17	3-(4-(4-(triflorometil)fenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on	55
4.1.18	3-(4-(4-florofenil)tiyazol-2-yl)p,rolo[1,2-d][1,2,4]triazin-4(3H)-on	56
4.1.19	3-(4-(4-klorofenil)tiyazol-2-il)pirolo[1,2-d][1,2,4]triazin-4(3H)-on	57
4.1.20	3-(4-(4-bromofenil)tiyazol-2-il)pirolo[1,2-d][1,2,4]triazin-4(3H)-on ..	58
4.1.21	3-(4-(3,4-dimetoksifenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on	59
4.1.22	3-(4-(3,4-diflorofenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on	60
4.1.23	3-(4-(3,4-diklorofenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on.....	61
4.1.24	3-(4-(3-kloro-4-florofenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on	62
4.1.25	3-(4-(2,4-diklorofenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on.....	63
4.1.26	3-(4-([1,1'-bifenil]-4-yl)tiyazol-2-yl)pirolotriazin-4(3H)-on	64
4.1.27	3-(4-(naftalen-2-il)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on	65
4.1.28	3-(4-(benzofuran-2-il)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on	66
4.1.29	3-(4-(furan-2-il)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on.....	67
4.1.30	3-(4-(tiyofen-2-il)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on.....	68
4.2	Biyolojik Aktivite Bulguları.....	69
4.2.1	Sitotoksisite Bulguları.....	69
4.2.2	PI3K Protein Seviyesi Bulguları	71
4.3	Moleküler Doking Bulguları	72
4.4	Pre-ADMET Hesaplamaları	76
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	79
	KAYNAKLAR.....	95
	EKLER	103

ÖZ GEÇMİŞ.....	143
----------------	-----



ÇİZELGELER LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 4.1 Bileşiklerin kanserli ve sağlıklı hücrelere karşı IC_{50} değerleri.....	69
Çizelge 4.2 Bileşiklerin ilgili hücrelere karşı seçicilik indeksleri	70
Çizelge 4.3 Bileşiklerin PI3K'ya karşı doking skorları.....	73
Çizelge 4.4 Bileşiklerin bazı ADMET profilleri	77





ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip pirol türevler	7
Şekil 2.2 Triazinon yapısının izomerik formları	7
Şekil 2.3 Triazinon içeren biyolojik olarak aktif bazı bileşikler	8
Şekil 2.4 Çeşitli biyolojik aktivitelere sahip pirolotriazinonlar.....	9
Şekil 2.5 Güçlü antifungal özelliğe sahip triazol içeren pirolotriazinon bileşiği	10
Şekil 2.6 Kortikotropin salıcı faktör (CRF1) antagonisti pirolotriazinon yapısı.....	10
Şekil 2.7 MCHR1 inhibitörü pirolotriazinon yapısı	11
Şekil 2.8 Prostaglandin reseptörü EP3 antagonisti pirolotriazinon yapısı.....	11
Şekil 2.9 PI3K (Fosfoinositid 3-kinaz) inhibitörü pirolotriazinon örnekleri.....	12
Şekil 2.10 Eg5 hedefli pirolotriazinon türevi	13
Şekil 2.11 Sepiapterin redüktaz (SPR) inhibitörü pirolotriazinon türevleri	13
Şekil 2.12 Ubiquitin-spesifik proteaz 7 (USP7) inhibitörü pirolotriazinon türevleri.....	14
Şekil 2.13 Stearoil-CoA Desatüraz (SCD) inhibitörü pirolotriazinon yapısı	14
Şekil 2.14 DPP IV inhibitörü pirolotriazinon yapısı	15
Şekil 2.15 Fosfodiesteraz 5 ve 9 inhibisyonuna sahip pirolotriazinon yapıları.....	15
Şekil 2.16 Trankiraz enzim inhibitörü etkiye sahip pirolotriazinon yapısı	16
Şekil 2.17 PI3K γ -PI3K δ dual inhibitörü etkiye sahip pirolotriazinon yapıları	16
Şekil 2.18 Çeşitli antimikrobiyal etkiye sahip pirolotriazinon yapıları.....	17
Şekil 2.19 Pirolotriazinon sentezinde genel yöntem	18
Şekil 2.20 Pirolotriazinon sentezinde genel yöntem	18
Şekil 2.21 Nükleofilik siklizasyon yolu ile pirolotriazinon sentezi.....	19
Şekil 2.22 Trifenil fosfin ve bromin ile pirolotriazinon sentezi	19
Şekil 2.23 1-Amino-2-pirolkarboksamit'in çeşitli aldehitlerle reaksiyonu	19
Şekil 2.24 Cu-II katalizli pirolotriazinon sentezi.....	20
Şekil 2.25 Pirolo[2,1-f][1,2,4]triazinler için basit bir sentez yöntemi.....	20
Şekil 2.26 Sübstitüe pirolotriazinonların sentez yöntemi.....	21
Şekil 2.27 S-Metil sübstitüe pirolotriazinon türevinin sentezi	21
Şekil 2.28 Çok kademeli pirolotriazinon sentezi.....	22
Şekil 2.29 β -Sübstitüe akrilat başlangıç reaktifinden hareketle pirolotriazinon sentezi	22
Şekil 2.30 2-Bromo-1,1-dimetoksietan reaktifinden pirolotriazinon sentezi	23

Şekil 2.31 N-Aminopirol ve aromatik aldehitin tepkimesi ile pirolotriazinon sentezi...	23
Şekil 2.32 Pirimidin/pirazol sübstitüe pirolotriazinon türevlerinin sentezi	24
Şekil 2.33 2-Alkinilbenzaldehit ile 1-amino-2-pirolkarboksamit'in reaksiyonu.....	24
Şekil 2.34 Literatürde bahsedilen pirolotriazinon sentezi için genel yöntemler	25
Şekil 2.35 PI3Kδ inhibitörü olarak hedeflenen pirolotriazinon türevleri	26
Şekil 3.1 Pirol-2-karbaldehit bileşiğinin sentezi.....	27
Şekil 3.2 Pirol-2-asetil bileşiğinin sentezi	28
Şekil 3.3 Pirol-N-etilkarboksilat-2-karbaldehit bileşiğinin sentezi	29
Şekil 3.4 Pirol-N-etilkarboksilat-2-karbaldehit bileşiğinin sentezi	29
Şekil 3.5 Pirol-N-etilkarboksilat-2-karbaldehit tiyosemikarbazon türevinin sentezi	30
Şekil 3.6 Pirol-N-etilkarboksilat-2-asetil tiyosemikarbazon türevinin sentezi.....	31
Şekil 3.7 Tiyazol sübstitüe hidrazon türevinin sentezi	31
Şekil 3.8 Tiyazol sübstitüe hidrazon türevi EK-8 ve EK-9'un sentezi.....	32
Şekil 3.9 Propargil sübstitüe hidrazon türevinin sentezi	32
Şekil 3.10 Propargil sübstitüe hidrazon türevinin sentezi	33
Şekil 3.11 Hedeflenen tiyazol sübstitüe pirolotriazinon türevlerinin sentezi	34
Şekil 4.1 EK-1 bileşiğinin molekül yapısı.....	39
Şekil 4.2 EK-2 bileşiğinin molekül yapısı.....	40
Şekil 4.3 EK-3 bileşiğinin molekül yapısı.....	41
Şekil 4.4 EK-4 bileşiğinin molekül yapısı.....	42
Şekil 4.5 EK-5 bileşiğinin molekül yapısı.....	43
Şekil 4.6 EK-6 bileşiğinin molekül yapısı.....	44
Şekil 4.7 EK-7 bileşiğinin molekül yapısı.....	45
Şekil 4.8 EK-8 bileşiğinin molekül yapısı.....	46
Şekil 4.9 EK-9 bileşiğinin molekül yapısı.....	47
Şekil 4.10 EK-10 bileşiğinin molekül yapısı.....	48
Şekil 4.11 EK-11 bileşiğinin molekül yapısı.....	49
Şekil 4.12 EK-12 bileşiğinin molekül yapısı.....	50
Şekil 4.13 EK-13 bileşiğinin molekül yapısı.....	51
Şekil 4.14 EK-14 bileşiğinin molekül yapısı.....	52
Şekil 4.15 EK-15 bileşiğinin molekül yapısı.....	53
Şekil 4.16 EK-16 bileşiğinin molekül yapısı.....	54

Şekil 4.17 EK-17 bileşiğinin molekül yapısı.....	55
Şekil 4.18 EK-18 bileşiğinin molekül yapısı.....	56
Şekil 4.19 EK-19 bileşiğinin molekül yapısı.....	57
Şekil 4.20 EK-20 bileşiğinin molekül yapısı.....	58
Şekil 4.21 EK-21 bileşiğinin molekül yapısı.....	59
Şekil 4.22 EK-22 bileşiğinin molekül yapısı.....	60
Şekil 4.23 EK-23 bileşiğinin molekül yapısı.....	61
Şekil 4.24 EK-24 bileşiğinin molekül yapısı.....	62
Şekil 4.25 EK-25 bileşiğinin molekül yapısı.....	63
Şekil 4.26 EK-26 bileşiğinin molekül yapısı.....	64
Şekil 4.27 EK-27 bileşiğinin molekül yapısı.....	65
Şekil 4.28 EK-28 bileşiğinin molekül yapısı.....	66
Şekil 4.29 EK-29 bileşiğinin molekül yapısı.....	67
Şekil 4.30 EK-30 bileşiğinin molekül yapısı.....	68
Şekil 4.31 MCF-7 (A) ve HepG2 (B) hücrelerinde PI3K protein düzeyleri	72
Şekil 4.32 Bileşik LASW1579 ile PI3K'nın 3D ve 2D ligand-protein etkileşimleri	74
Şekil 4.33 Bileşik EK-19 ile PI3K'nın 3D ve 2D ligand-protein etkileşimleri.....	75
Şekil 4.34 Bileşik EK-23 ile PI3K'nın 3D ve 2D ligand-protein etkileşimleri.....	75
Şekil 4.35 Bileşik EK-24 ile PI3K'nın 3D ve 2D ligand-protein etkileşimleri.....	76
Şekil 4.36 Bileşik EK-25 ile PI3K'nın 3D ve 2D ligand-protein etkileşimleri.....	76
Şekil 5.1 Pirolotriazinon izomerleri	80
Şekil 5.2 C2 ve N-substitüe pirol türevlerinin sentezi.....	80
Şekil 5.3 1,2-disüstitüe pirol türevlerinin tiosemikarbazit ile reaksiyonu	81
Şekil 5.4 Tiyosemikarbazon türevi bileşik 10'un hazırlanması	81
Şekil 5.5 Tiyosemikarbazon türevi EK-6'nın siklizasyon reaksiyonu	82
Şekil 5.6 Tiyazol süstitüe pirolotriazinonların sentezi	82
Şekil 5.7 Pirolotriazinonların sentezi yapısının oluşumu için önerilen mekanizma.....	83
Şekil 5.8 Mekanizmaya göre beklenen halkalaşma reaksiyonu ürünü.....	84
Şekil 5.9 EK-5 ve EK-5A'nın optimize edilmiş 3D yapıları ve atomik yükleri	84
Şekil 5.10 Optimize edilmiş EK-5'in HOMO ve LUMO 3D görüntüleri.....	85
Şekil 5.11 Optimize edilmiş bileşik EK-5A'nın HOMO ve LUMO 3D görüntüleri	86
Şekil 5.12 Bileşik EK-5B ve EK-12 siklizasyonu için hesaplanan serbest enerjiler.....	87

Şekil 5.13 Ticari bazı PI3K inhibitör ilaçları	89
Şekil 5.14 PI3K inhibitörleri olarak pirolotriazinon türevlerinin geliştirilmesi	89
Şekil 5.15 Hedefe Yönelik Kansere Tedavisinde Tiazol Tabanlı Kinaz İnhibitörleri	90
Şekil 5.16 Geliştirilen yöntemle sentezlenen bileşikler.....	91
Şekil 5.17 Bileşiklerin antiproliferatif aktivitesine ilişkin yapı-aktivite ilişkisi.....	92



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamalarıyla aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

μM

Mikromolar

mmol

Milimol

nM

Nanomolar

Kısaltmalar

Açıklama

A549

Akciğer Kanseri Hücre Hattı

BH4

Tetrahidropterin

CRF1

Kortikotropin Salıcı Faktör

CRH

Kortikotropin Salıcı Hormon

DFT

Yoğunluk Fonksiyoneli Metodu

DNA

Deoksiriboz Nükleik Asit

DPP IV

Dipeptidil Peptidaz IV

Eg5

Esansiyel Moleküler Motor Protein

EP3

Prostaglandin Reseptörü

FDA

Dünya Sağlık Örgütü

HepG2

Karaciğer Kanseri Hücre Hattı

LC-MS/MS

Sıvı Kromatografi Tandem Kütle Spektrometresi

MCHR1

Melanin Konsantrasyon Hormon Reseptörü

NIH/3T3

Fibroblast Hücre Hattı

NMR

Nükleer Manyetik Rezonans

P450

Sitokrom Enzimleri

PI3K

Fosfoinositol-3 Kinaz



EKLER DİZİNİ

	Sayfa
Ek 1. Sentezlenen bileşiklerin ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları.....	103
Ek 2. Kütle Spektrumları.....	135





1. GİRİŞ

Heterosiklik bileşiklerin geliştirilmesindeki yöntemler günümüzde her ne kadar tatmin edici seviyelere ulaşsa da bu bileşiklerde gözlenen terapötik sonuçlar ve çeşitli farmakolojik özellikler, çözümlenememiş birçok hastalığın altında yatan biyolojik süreçlere müdahalede yeterli değildir. Biyolojik süreçlerin şifresini çözecek yeni bileşikler tanımlamak veya ilaç keşfi için potansiyel başlangıç noktaları elde etmek için küçük moleküllere, özellikle yeni heterosiklik bileşiklere hala ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak çeşitli sentetik problemler, başlangıç reaktiflerine ulaşım, pahalı katalizörler gibi pek çok nedenden dolayı terapötik açıdan yararlı olabilecek birçok heterosiklik yapı iskeletlerinin üretimi sınırlı kalmaktadır.

Sunulan tez kapsamında, literatürde üzerinde oldukça sınırlı sayıda araştırma yapılan pirolotriazinon heterobisiklik bileşiklerinin mevcut sentez yöntemlerinin incelenmesi ve bu yöntemlerle elde edilen organik bileşiklerin çeşitli biyolojik aktivitelerinin araştırılması planlanmıştır. Literatürdeki kısıtlı sentez yöntemlerinden hareketle pirolotriazinonların sentezi için pratik, ekonomik ve yüksek verimli bir sentetik tasarım yapılarak süstitüe tiyazol halkası içeren yeni pirolotriazinon türevi bileşiklerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Tasarlanan sentetik prosedür ile ön çalışmalar yapılmış ve hedeflenen bileşiklerin karakterizasyonu tamamlanmıştır. Önerilen yöntem yeni tür pirolotriazinonların yüksek verimle üretilmesini sağlayabilmiş ve bu yöntemle elde edilen bir seri bileşiğin biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca sunulan sentetik tasarımın teorik hesaplamalar ile tepkime mekanizmasının aydınlatılması gelecekte pirolotriazinon türevi çeşitli bileşiklerin geliştirilmesi için literatüre anahtar bir yol açacaktır.

Tez kapsamında, hedeflenen bileşiklerin sentezlenmesi ile bu bileşiklerin kanserli hücrelerin yaşamsal fonksiyonlarını yerine getirmelerinde hayati öneme sahip fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) enziminin seçimli inhibisyonu ile yeni hedef odaklı antiproliferatif ajanların geliştirilmesi sağlanmıştır. Bu durum günümüzde stratejik antikanser ilaç tasarım çalışmalarında üzerinde yoğunlaşılın ‘antikanser ilaçların normal hücrelere karşı sitotoksik etkisini azaltması, etkili, seçici ve hedef odaklı olarak kanser hücrelerinde etki göstermesi’ konusundaki araştırmalara ışık tutacaktır.



2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Binlerce yıldır bitkilerden, hayvanlardan veya mikroplardan elde edilen doğal bileşikler çeşitli patolojik durumları tedavi etmek için kullanılmaktadır (Thomford vd., 2018). Zamanla bu doğal ürünlerdeki etkin içeriklerin tanımlanması ve karakterize edilmesiyle daha yüksek terapötik potansiyele ve daha az yan etkilere sahip yeni bileşikler geliştirilebilmiştir. Etkin içeriklerin geliştirilmesinde kullanılan sentetik organik kimya, ilgili bileşiklerin istenilen fizikokimyasal özelliklere, farmakokinetik ve farmakodinamik profillere sahip olabilmesini sağlayabilmektedir. Ayrıca bilgisayar destekli programlar ile hem sentez kimyasının araştırılması hem de geliştirilen bileşiklerin in silico tekniklerle biyoaktivite ön tahminlerinin yapılabilmesi medisinal kimyadaki gelişmeleri hızlandırmaktadır (Ma vd., 2010; Gomtsyan, 2012; Maggio vd., 2012). Özellikle, yeni ilaç benzeri moleküller elde etmek için öncü bileşiklerin optimizasyonu, ilaç keşfinde oldukça önemli bir basamağı temsil etmektedir (Lauria vd., 2006; Raffa vd., 2015; Costa vd., 2019; Alcaro ve Ortuso, 2020). Çeşitli fonksiyonel gruplar için biyoizosterler olarak heterosiklik yapıların kullanımı, klinik olarak daha güvenli ilaçlar elde etmek için stratejik bir yol olmakta ve böylece ilgili ilaç hedeflerine yönelik bileşiklerin afinite ve gücü artırılabilir (Patani ve Lavoie, 1996; Maggio vd., 2015).

Heterosiklik yapıların tasarımında çözünürlük, lipofilisite, polarite ve hidrojen bağlama kapasitesi gibi özellikleri modüle etmek, daha uygun ilaç yapılarına ulaşmayı artırmaktadır (Daidone vd., 2020). Yapılan bir analize göre, FDA onaylı küçük moleküllerde yer alan N-heterosiklik bileşikler, piyasadaki farmasötiklerin en yaygın yapısal iskeletini oluşturmaktadır. Gerçekten de toplam molekül sayısının yaklaşık %84'ü en az bir azot atomu içerirken, %59'u en az bir azot içeren heterosiklik yapıya sahiptir (Vitaku vd., 2014). Ek olarak, 2010 ve 2015 yılları arasında FDA tarafından onaylanan onkolojik ilaçlar hakkında Martins ve grubu tarafından bildirilen yakın tarihli bir analizde, ilaç keşfinde heterosiklik bileşiklerin kullanımı daha da ön plana çıktığı rapor edilmiştir. Bu zaman diliminde, yeni onaylanan 40 kemoterapötik ilaçtan 26'sı moleküler bileşimlerinde heterosiklik fragmanlar içerdiği ve bu fragmanların %73'ü azot bazlı olup, diğer nitrojen-oksijen- (%15), oksijen- (%8) ve azot-kükürt bazlı (%4) gibi fragmanlara kıyasla oldukça önde olduğu rapor edilmiştir (Martins vd., 2015).

Ancak günümüzde, heterosiklik bileşiklerin sentezlenmesinde oldukça fazla modern sentetik yöntemler geliştirilse de halen ulaşılamamış birçok heterosiklik yapı iskeleti keşfedilmeyi beklemektedir. Ayrıca çeşitli sentetik problemler, başlangıç reaktiflerine ulaşmadaki zorluklar, pahalı katalizörler gibi pek çok neden, terapötik açıdan yararlı olabilecek yapı iskeletlerinin üretimi kısıtlamaktadır. Kimyasal uzayın uçsuz bucaksızlığına bakıldığında, şimdiye kadar sadece çok küçük bir bölümünün keşfedilmiş olduğu kolayca anlaşılabılır. Örnek olarak, 2010 yılında, molekül ağırlığı 500 g/mol'nin altında olan ve ilaç keşfi için geliştirilen tüm olası moleküllerin sayısının 1060'a ulaştığı tahmin edilmiştir (Reymond vd., 2010). Bu nedenle, mevcut kimyasal kütüphaneler büyüyor olsa bile, hala eksik veya en azından yetersiz temsil edilen kimyasal yapı aileleri bulunmaktadır (Kerru vd., 2020).

Tüm bunlara ilaveten, geliştirilen birçok sentetik bileşiğin sergilediği eşsiz farmakolojik özellikler her ne kadar arzu edilir düzeyde olsa bile yeni hastalıklar, farmasötiklere karşı gelişen ilaç direnci ve halen tedavi edilemeyen patojenik sorunlar göz önüne alındığında, benzeri görülmemiş yapı iskeletleri (yapısal yeniliğe sahip) ilaç tasarımı için başlangıç noktası olarak seçilmektedir. Bu bağlamda, keşfedilecek yapı iskeletlerinin sayısını daraltmak için, azot içeren bileşiklere ve daha doğrusu azot bazlı heterosiklik bileşiklere odaklanmak akıllıca olacaktır. Şu anda piyasada bulunan FDA onaylı ilaçların (laktamlar, kinazolinler, benzodiazepinler gibi) %75'inden fazlası azot içeren heterosiklik yapılar içerdiğinden bu odaklanma oldukça mantıklıdır (Zhang vd., 2007). Ayrıca 2014 yılında ilaç başına ortalama azot atomu sayısının tüm küçük moleküllü ilaçlarda 2,3 N/ilaç iken, azotlu heterosiklik ilaçlarda 3,1 N/ilaç değerine ulaştığı dikkat çekmektedir. Bu durumda birden fazla azot atomu içeren heterosiklik bileşiklere odaklanmanın daha da uygun olduğu görünmektedir (Rishikesan vd., 2021; Sukanya vd., 2022).

Azot bazlı heterosiklik bileşiklerin yapısal özellikleri, oksijen bazlı heterosikliklere kıyasla geniş biyoaktivite ve gelişmiş suda çözünürlük sergileyebildikleri için ilaç keşfinde oldukça elverişlidir. Geçmişteki ilaç geliştirme çalışmalarında, sentetik yollarla elde edilen heterosiklik bileşiklerin hedeflerini araştırmak ana odak noktası olmuştur. Günümüz modern ilaç geliştirme çağında ise; hedef hastalığın seçilmesi ve bu hastalığın tedavisi için patojenik alt yolları hedefleyen ilaç adaylarının geliştirilmesi ana odak noktasıdır. Buradan hareketle, önemli sağlık sorunu oluşturan hastalığın

seçilmesi, bu hastalığın alt hedeflerinin belirlenmesi ve bu hedeflere yüksek selektivite sergileyebilecek yeni sentetik heterosiklik bileşiklerin tasarımı, sentezi ve farmakolojik aktivitelerinin araştırılması bu tez çalışmasının ana amacını oluşturmaktadır.

Tüm bu literatür verilerine dayanarak, azot bazlı heterosiklik bileşiklerin hedefleri arasında özellikle kanser hastalığı ön plana çıkmaktadır. Kanser dünyada yaşanan en büyük sağlık problemlerinden birisidir ve dünya sağlık örgütünün (DSÖ) verilerine göre nedeni bilinen ölümler arasında ikinci sırada yer almaktadır. Kanser kaynaklı ölümlerin 2030 yılına kadar 12 milyona ulaşacağı tahmin edildiğinden bu hastalığın seçilmesi tez çalışmasının önemini daha da artırmaktadır.

Kanser genel tanımıyla vücudun farklı bölgelerindeki doku ve organlardaki hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıyla oluşan hastalık grubudur. Birçok çeşit kanser tipi olmasına rağmen, kanser hücrelerinin ortak özelliği düzensiz ve aşırı çoğalmalarıdır. Kanser hastalıkları tedavisinde kullanılan yeni ve etkin kemoterapötik ajanlar geliştirilmesine rağmen, birçok kanser türünün ölüm oranlarında önemli bir düşüş sağlanamamıştır. Kanser türleri için spesifik etkili, daha az toksik bir ilacın geliştirilmesi halen ilaç araştırma konuları arasında ilk sırada yer almaktadır. Bu durum, günümüzde kanser ile ilgili ilaç keşfinde hala istenilen noktaya ulaşamadığını ortaya koymaktadır. Özellikle antikanser ilaç geliştirme araştırmalarında yeni bileşiklerin, etkilerinin ve mekanizmalarının belirlenmesi son derece önem taşımakta ve kanserin tanı ve tedavisi için ciddi yatırımlar yapılmaya devam etmektedir.

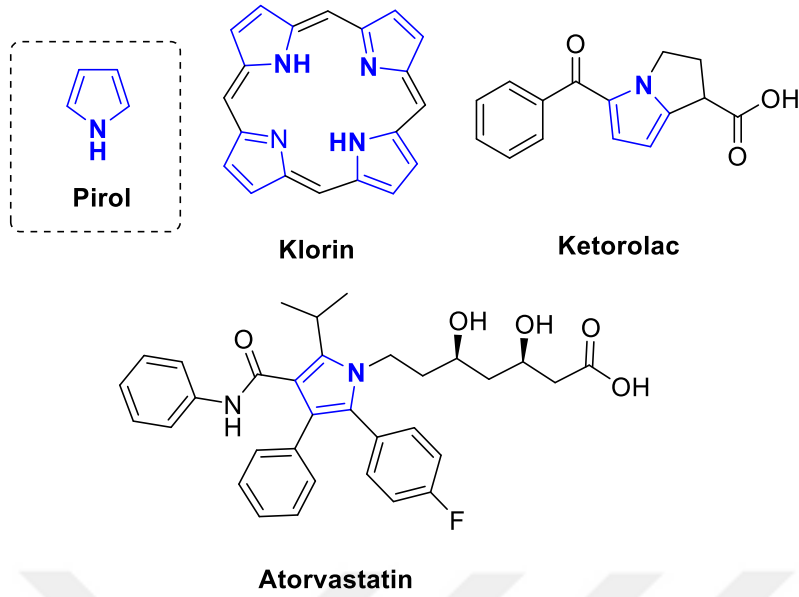
Kanser hastalığının birçok farklı alt hedefleri bulunmaktadır ve bunlar arasında protein kinazlar ön plana çıkmaktadır. Protein kinazlar, kanserli hücrelerde büyüme ve çoğalma fonksiyonlarını kontrol eder ve kanserin büyümesine yol açarlar. Ayrıca sinyal iletimi, hücrelerin çoğalması ve apoptosis gibi işlevleri kontrol ettiğinden, burada meydana gelen değişimler kanser gelişiminde önemli rol oynar. Bu makromoleküllerin çeşitli küçük moleküllerle susturulması kanserli hücrelerin aktivitelerini kaybetmelerine sebep olur. Kinaz enzim ailesi arasında fosfatidilinositol 3-kinazlar olarak da adlandırılan fosfoinositid 3-kinazlar (PI3K'lar), hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması, hareketliliği, hayatta kalması ve hücre içi trafik gibi hücresel işlevlerde yer alan ve kanserde rol oynayan önemli bir enzim ailesidir. Bu çalışma kapsamında özellikle PI3K'ın seçici inhibisyonunu sağlayabilecek heterobisiklik bileşiklerin tasarımı sentezi ve farmakolojik aktivitelerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Bu çalışmada, tiyazol halkası içeren yeni pirolotriazinon türevlerinin tasarımı ve ekonomik olarak uygulanabilir bir yöntemle sentezlenmesi hedeflenmiştir. Ardından, bu bileşiklerin kanser hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkileri MTT testi aracılığıyla değerlendirilmesiyle elde edilen sonuçların bileşiklerin sağlıklı hücreler üzerindeki etkileriyle karşılaştırılarak selektivite indeksleri hesaplanmış ve en seçici yapılar belirlenmiştir. Son aşamada ise, antiproliferatif etkisi yüksek olan bileşiklerin PI3K enzim aktivitesini inhibe etme potansiyelleri ELISA yöntemi kullanılarak doğrulanmıştır. Tasarlanan bileşiklerin PI3K enzimi ile etkileşimini değerlendirmek amacıyla moleküler doking çalışmaları gerçekleştirilmiş ve bu sayede en yüksek bağlanma afinitesine sahip aday moleküller belirlenmiştir.

2.1 Pirol ve Triazinon Bileşiklerinin Önemi

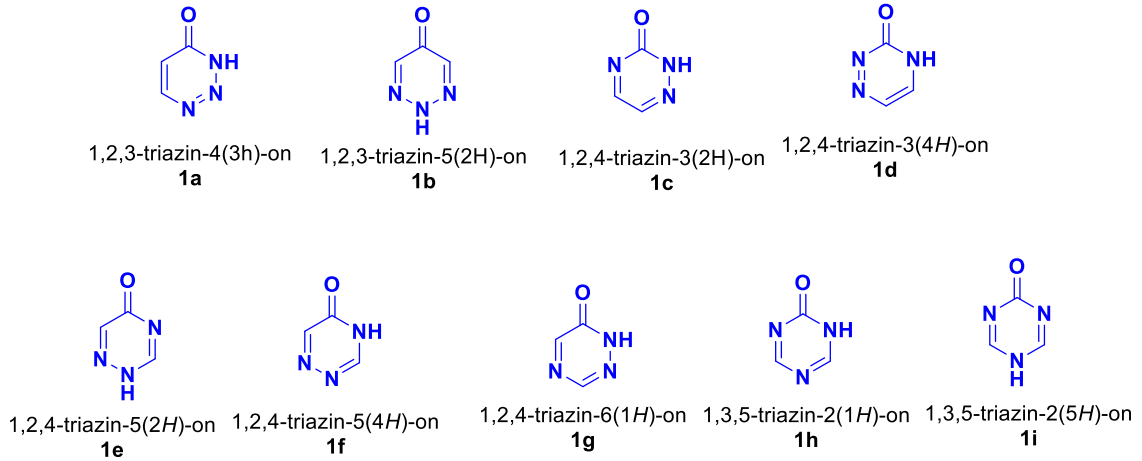
Yeni stratejik antikanser ilaç tasarımları, geliştirilecek antikanser ilaçların normal hücrelere karşı sitotoksik etkisini azaltması, etkili ve seçici olarak kanser hücrelerinde etki göstermesi üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu yaklaşımla, farklı ilaç yapılarındaki farmakofor gruplar aynı aktif molekül iskeletinde birleştirilerek yeni aktif bileşikler tasarlanmakta ve bu bileşiklerle yapılan *in vitro* ve *in vivo* test sonuçları, daha potent bileşikler elde edildiği bildirilmektedir. Bu yaklaşımla yeni biyoaktif moleküllerin geliştirilmesinde özellikle heterosiklik bileşikler üzerinde yoğun araştırmaların yapıldığı görülmektedir.

Heterosiklik bileşikler arasında azot atomu içeren beşli yapıdaki aromatik pirol halkası, çoğu doğal ürün ve ilaç etken maddelerinde sık karşılaşıldığından dolayı organik sentez açısından oldukça yüksek öneme sahiptir. Ayrıca pirol yapısından hareketle tasarlanan yeni bileşiklerin çeşitli uygulamalardaki eşsiz özelliği, bu halka yapısında çalışmaları daha da artırmaktadır. Örneğin fotodinamik terapide Klorin (Lu vd., 2015), kolesterol biyosentezinde Atorvastatin (Pahan, 2006), analjezik ve anti-inflamatuvar özelliğe sahip ilaç Ketorolak (Ammar vd., 2013) pirol içeren farmasötiklerden sadece birkaçıdır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip pirol türevler

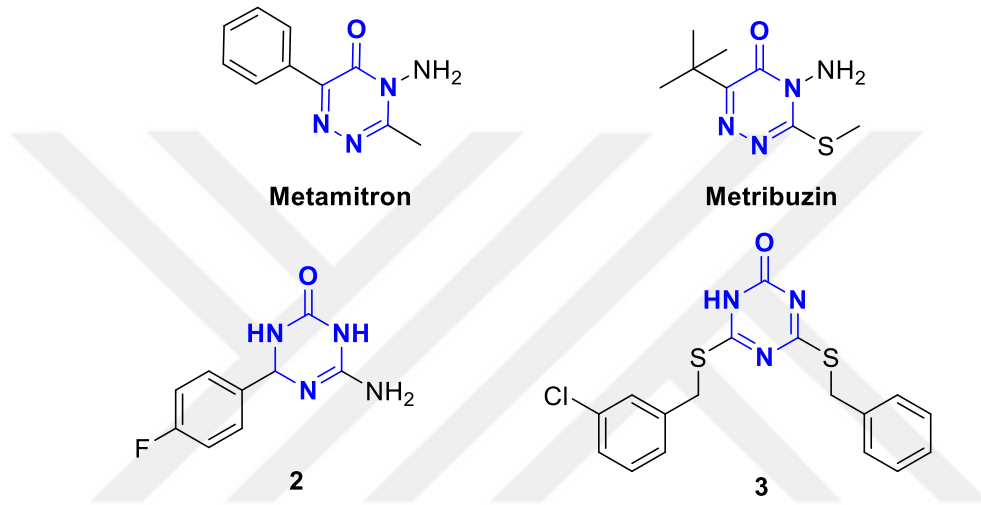
Diğer önemli heterosiklik halka yapısı olan triazinon, bir karbonil ve üç azot atomuna sahip altılı yapıdan oluşmaktadır. Azot atomlarının konumuna göre 1,2,3-, 1,2,4- ve 1,3,5-triazinonlar olarak adlandırılan bu yapılar (1a-i) çeşitli izomerik formlarda bulunmaktadır ve bunlar Şekil 2.2’de sunulmuştur.



Şekil 2.2 Triazinon yapısının izomerik formları

Triazinon türevlerinin herbisit, anti-kanser ve antimikrobiyal aktiviteleri açısından önemli bir halka olması, organik sentezdeki ilgileri de üzerine çekmektedir. Örneğin, 1,2,4-triazinon türevi Metamitron ve Metribuzin herbisit olarak etkilidir. Son

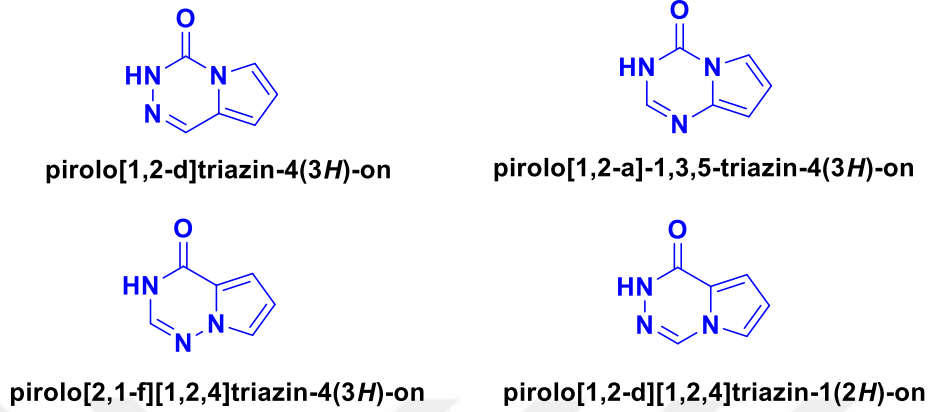
zamanlarda geliştirilen 1,3,5-triazinon türevlerinden bileşik 2, Alzheimer hastalığına neden olan anahtar enzimler olarak bilinen hem BACE-17'ye (aspartil proteaz β -sekretaz) hem de GSK-3 β 'ya (glikojen sentaz kinaz-3 β) karşı nörotoksisite olmaksızın iyi dengelenmiş inhibisyon aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (Prati vd., 2015). Başka bir 1,3,5-triazinon yapısına sahip bileşik 3, insan DNA'sında topoizomerazı II α 'yı inhibe ederek antikanser özelliğe sahip olduğu rapor edilmiştir (Pogorelčnik vd., 2015) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Triazinon içeren biyolojik olarak aktif bazı bileşikler

Yukarıda kısaca özetlenen çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip pirol ve triazinon yapılarının kaynaştırılması ile oluşturulan pirolotriazinon türevlerinin araştırılması bu tez önerisinin esas temelini oluşturmaktadır. Azolotriazinon'un bir sınıfı olan pirolotriazinonlar gerçekten kaynaşmış bir heterobisiklik sistem olup azot içeren heterosiklik bileşikler ile ortak özellikleri paylaşırlar. Elektron bakımından zengin pirolotriazinonlar hidrojen bağı, dipol-dipol etkileşimleri, hidrofobik etkiler, van der Waals kuvvetleri ve pi-pi etkileşimleri gibi özellikleri ile biyolojik hedeflere karşı yüksek afinite sergileyebilirler. Aşağıdaki Şekil 2.4'te literatürde araştırılmış olan pirolotriazinon yapısının birkaç yapısal izomeri sunulmuştur. Tabii ki diğer izomerler gerçekte mevcut olsalar da sentez prosedürlerindeki karmaşıklık, kararsız bileşik yapıları olmaları gibi nedenlerle geliştirilmemiştir. Ayrıca pirolotriazinonlar sınıfı bileşiklere ait bir ilaç günümüzde henüz piyasaya sürülmemiştir ancak şimdiye kadar geliştirilen

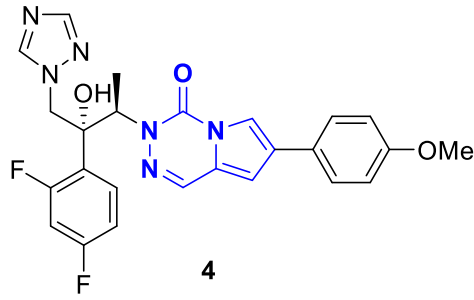
pirolotriazinon türevi bileşiklerin sergilediği biyolojik aktiviteler, gelecekteki ilaç adayı potansiyelleri konusunda oldukça yüksek umut vadetmektedir (Ge ve Cintrat, 2021).



Şekil 2.4 Çeşitli biyolojik aktivitelere sahip pirolotriazinonlar

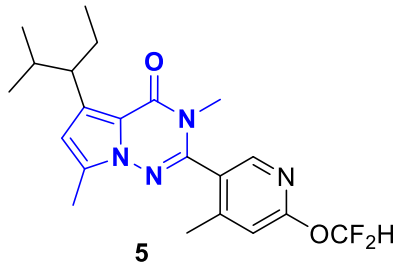
2.2 Pirolotriazinon Türevlerinin Çeşitli Biyolojik Aktiviteleri

Montoir ve grubu tarafından 2020 yılında geliştirilen ve sentezlenen pirolotriazinon türevi bileşik 4'ün oldukça yüksek antifungal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Şekil 2.5). Aslında geliştirilen bileşikteki triazol grubu, ana biyolojik aktiviteden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir. Fakat triazin halkası ile birlikte pirolotriazinon yapısının hibridizasyonu ile oluşturan bileşik, antifungal aktiviteden sorumlu ergosterol biyosentezinde sterol 14 α -demetilaz sitokrom P450 (CYP51) enziminin inhibisyonunu sağlayarak yeni bir azol antifungal bileşiklerin geliştirilmesinde öncü bileşik olma niteliğindedir. Bilhassa Bileşik 4 özellikle, flukonazole dirençli suşlar ve *Candida albicans* (MIC < 0.01 g mL⁻¹) dahil olmak üzere patojenik *Candida spp*'ye karşı *in vitro* aktif olduğu belirlenmiştir. Ayrıca aynı bileşik *Aspergillus fumigatus* gibi bazı ipliksi mantarlara karşı da aktiftir. Son olarak, bileşiğin ayrıca *Candida albicans*'ın neden olduğu öldürücü sistemik enfeksiyonların murin modellerinde umut verici *in vivo* aktivite (15 mg/kg) sergilediği bulunmuştur (Montoir vd., 2020).



Şekil 2.5 Güçlü antifungal özelliğe sahip triazol içeren pirolotriazinon bileşiği

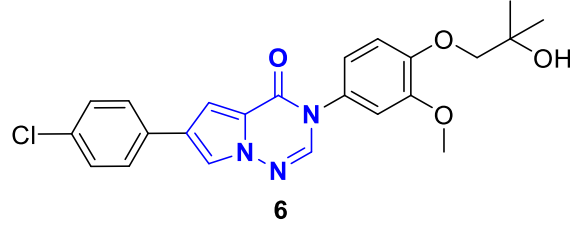
Saito ve grubu bir seri pirolotriazinon türevi tasarlayarak bu bileşiklerin anksiyete üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Aslında anksiyete için piyasada birçok tedavi yöntemi ve ilaç olmasına rağmen bazı yan etkilerden (gastrointestinal bozukluklar gibi) dolayı yeni potansiyel hedeflerin geliştirilmesi halen önemli bir noktadadır (Saito vd., 2012). Tache ve grubu da stres sırasında yükselen ve mide ağrısı, mide bulantısı, kafa karışıklığı, yorgunluk gibi iyi bilinen semptomlardan sorumlu olan kortikotropin salıcı hormon (CRH) olarak da bilinen kortikotropin salıcı faktör (CRF1) için geliştirdikleri bileşiğin antagonist etkisini araştırmışlardır (Şekil 2.6). Elde ettileri biyolojik aktivite sonuçlarına göre bileşik 5'in CRF1 reseptörü üzerinde oldukça bağlanma afinitesine (IC_{50} : 5.3 nM) ve antagonistik aktiviteye (EC_{50} : 3.2 nM) sahip olduğu bulunmuştur (Tache vd., 2009).



Şekil 2.6 Kortikotropin salıcı faktör (CRF1) antagonisti pirolotriazinon yapısı

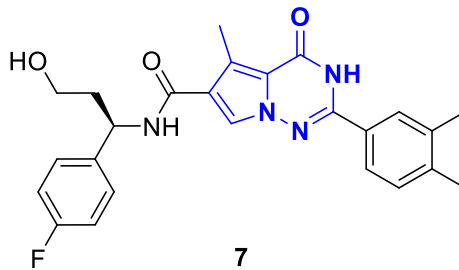
Singh ve grubu, obezite tedavisi için sıçan modelinde kilo alımında azalma sağlayabilecek yeni bir sınıf pirolotriazinon serisi tasarlamış ve sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin gıda alımını ve enerji homeostazının nöral düzenlenmesinde görev alan melanin-konsantre hormon reseptörü (MCHR1) üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Sonuçlar, Şekil 2.7'deki bileşik 6'nın insan (2.3 nM) ve sıçan (1.8 nM)

MCHR1 üzerinde oldukça etkili inhibisyon sabitine sahip olduğunu ve %6.9 kilo kaybı ile anti-obezite için bir aday olduğunu göstermiştir (Singh vd., 2009).



Şekil 2.7 MCHR1 inhibitörü pirolotriazinon yapısı

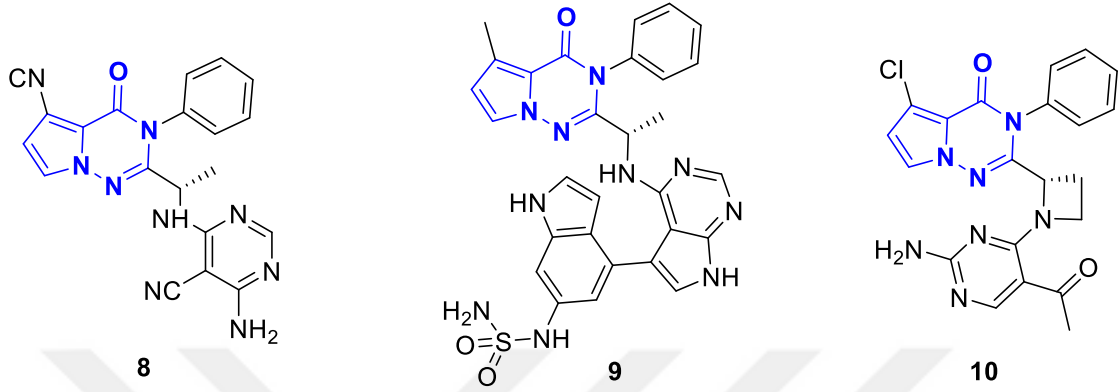
Candish ve grubu karboksamit süstitüe bir dizi pirolotriazinon yapısı sentezleyerek bileşiklerin aterosklerotik damarlardaki tromboz bozukluğu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Aterosklerotik damar duvarları düzeyinde arteriyel trombozun artması, miyokard enfarktüsü ve inme riskinde artışa neden olmaktadır. Mevcut antitrombotik tedavilerin ana sorunu, sağlıklı damarlardaki kanama riski de artırmasıdır. Spesifik olarak aterosklerotik damarlardaki tromboz, prostaglandin reseptörü (EP3) hedeflenerek azaltabilmektedir ve geliştirilen pirolotriazinon türevleri arasında bileşik 7 0.3 nM IC₅₀ değeri ile EP3 üzerinde yüksek antagonist etki sergilediği bulunmuştur (Şekil 2.8) (Candish vd., 2021).



Şekil 2.8 Prostaglandin reseptörü EP3 antagonisti pirolotriazinon yapısı

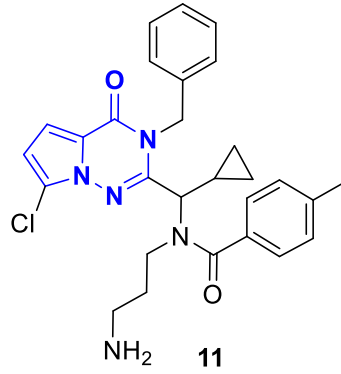
Erra ve grubu, anti-inflamatuvar hastalıkların tedavisi için pirolotriazinon yapısına pirimidin ve pürin türevlerinin eklenmesiyle bir seri bileşik türevi tasarlamış ve sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bileşiklerin otoimmün hastalıklar, lenfoma, lösemi ve bazı inflamatuvar hastalıklarda sıklıkla hedeflenen PI3K (Fosfoinositid 3-kinaz) enzimine karşı etkilerini araştırmışlardır. Sonuçlar, test edilen bileşikler arasında özellikle

bileşik 8 (IC_{50} : 2.6 nM), bileşik 9 (IC_{50} : 4 nM) ve bileşik 10'un (IC_{50} : 5 nM) PI3K enzimi üzerinde oldukça tatmin edici inhibisyon etkiye sahip olduğu görülmüştür (Şekil 2.9) (Erra vd., 2017; Erra vd., 2018).



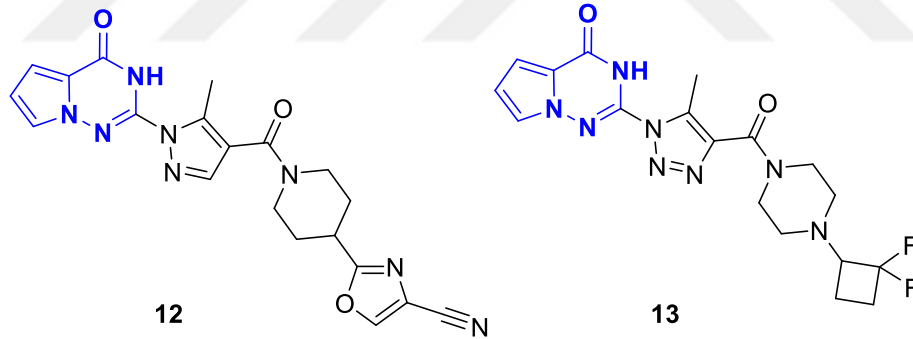
Şekil 2.9 PI3K (Fosfoinositid 3-kinaz) inhibitörü pirolotriazinon örnekleri

Bir başka çalışmada ise Kim ve grubu antitümör ajanı olarak yeni tür pirolotriazinon türevlerini tasarlamışlardır. Yapılan çalışmada, kanserli hücrelerde Eg5'in (bir tür esansiyel moleküler motor protein) aşırı ekspresyonu ile oluşan mitotik iğ oluşumu ve genetik düzensizliğin olduğu vurgulanmıştır. Bu enzimin inhibisyonu ile hücre proliferasyonun engellendiği ve kanserli hücrelerin M fazında durdurularak apoptoza götürüldüğü bilinmektedir (Wang vd., 2017). Geliştirilen pirolotriazinon türevlerinin (bileşik 11) lösemi modelinde gerçekten de Eg5'i hedefleyerek (IC_{50} : 60 nM) *in vitro* ve *in vivo* etkinlik gösterdiği bulunmuştur (Şekil 2.10). Ayrıca normal hücrelerde Eg5'in düşük ekspresiyona sahip olması, Eg5 hedefli bileşiklerin seçimli olarak kanser hücrelerinde apoptotik etki sağlayacaktır. Dolayısı ile test edilen pirolotriazinon bileşikleri mevcut anti-mitotik terapilere kıyasla önemli ölçüde daha az toksik olacaktır (Kim vd., 2006).



Şekil 2.10 Eg5 hedefli pirolotriazinon türevi

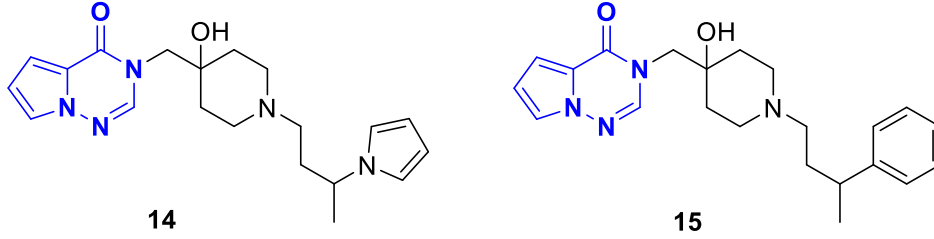
Pirolotriazinon türevleri üzerinde yapılan çalışmalardan birisi de sepiapterin redüktaz (SPR) enzim inhibisyonudur. SPR, hasarlı duyu nöronlarda ve iltihaplı dokularda ağrıya sebep olan tetrahidropterin (BH₄) biyosentezinden sorumludur (Fujita vd., 2020). Tebbe ve grubu SPR hedefli geliştirdikleri bir seri pirolotriazinon türevleri arasında özellikler bileşik 12 ve 13'ün ratlarda SPR'yi inhibe ederek (IC₅₀:1 nM) oldukça yüksek *in vivo* etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır (Şekil 2.11) (Tebbe vd., 2017).



Şekil 2.11 Sepiapterin redüktaz (SPR) inhibitörü pirolotriazinon türevleri

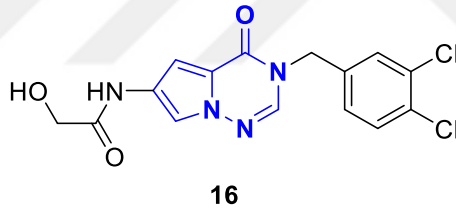
Ioannidis ve grubu ise pirolotriazinonlar için yeni bir hedef olan ubiquitin-spesifik proteaz 7 (USP7) enziminin inhibisyonu üzerinde çalışmışlardır. USP7, çeşitli patojenlerin oluşmasına yol açan protein bozunmasına ve düzensizliğine neden olmaktadır. Bu enzimin inhibisyonu, kanser ve immünolojik bozukluklar başta olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde önemli bir noktadır (Cartel vd., 2021). Bu amaç için tasarlanan bir seri pirolotriazinon arasında bileşik 14 ve 15, USP7 inhibisyonunda (IC₅₀:

200 nM’ın altında) en yüksek potansiyele sahip olduğu bulunmuştur (Şekil 2.12) (Ioannidis vd., 2018).



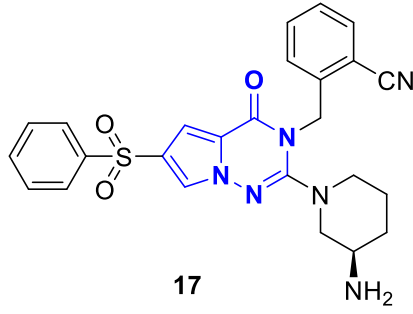
Şekil 2.12 Ubiquitin-spesifik proteaz 7 (USP7) inhibitörü pirolotriazinon türevleri

Koltun ve grubu, stearoil-CoA Desatüraz (SCD) inhibisyonu için bir seri pirolotriazinon türevi tasarlamış ve sentezlemişlerdir. SCD enziminin aşırı ekspresyonu diyabet, obezite ve hipertansiyon gibi metabolik hastalıklara neden olmaktadır (Oatman vd., 2021). Test edilen bileşikler arasında bileşik 16’nın en iyi SCD inhibisyon etkiye (IC_{50} : 250 nM) sahip olduğu rapor edilmiştir (Şekil 2.13) (Koltun vd., 2009).



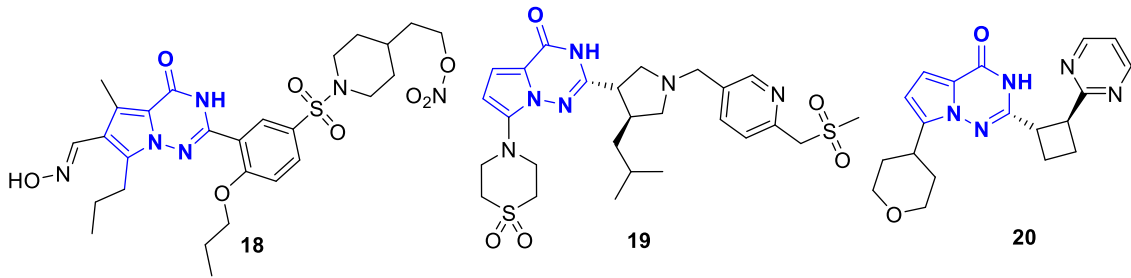
Şekil 2.13 Stearoil-CoA Desatüraz (SCD) inhibitörü pirolotriazinon yapısı

Zhao ve grubu ise diyabet tedavisinde dipeptidil peptidaz IV (DPP IV) enziminin inhibisyonu için pirolopirazin türevleri tasarlamışlardır. DPP IV enziminin inhibisyonu ile yetişkinlerde tip II diyabetin tedavisi için oral kullanılabilen birçok ilaç geliştirilmiştir (Zhao vd., 2018). Yapılan çalışmada geliştirilen pirolotriazinon türevleri arasında bileşik 17, oldukça yüksek DPP IV inhibisyonu (IC_{50} : 3.5 nM) sergileyerek *in vivo* fare modelinde kandaki glukoz seviyesinin önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir (Şekil 2.14) (Weber, 2004).



Şekil 2.14 DPP IV inhibitörü pirolotriazinon yapısı

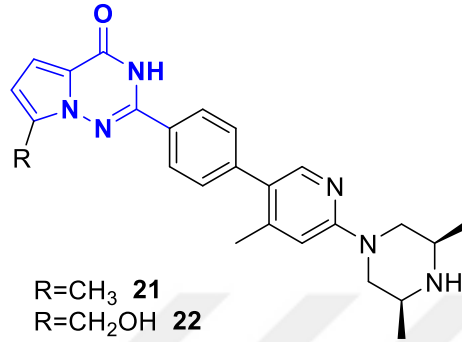
Pirolotriazinonların literatürde çalışılmış bir diğer hedefi de fosfodiesteraz (PDE) enzim inhibisyonudur. Birçok alt üniteye sahip olan fosfodiesteraz, birincil olarak korpus kavernozumun düz kasında bulunan ve cGMP'yi seçici olarak bölen ve 5'-GMP'ye indirgeyen bir enzimdir. Pirolotriazinonların hedeflediği PDE alt birimlerinden PDE-5 inhibitörleri erektil disfonksiyon tedavisi için; PDE-9 inhibitörleri ise merkezi sinir sistemi hastalıkları, uyku bozuklukları, şizofreni, kardiyovasküler hastalıklar, insülin direnci sendromu ve diyabet gibi tedaviler için kullanılmaktadır (Corbin, 2004; Singh ve Patra, 2014). Naef ve grubu tarafından geliştirilen pirolotriazinon türevi bileşik 18 PDE-5 inhibisyonu (IC_{50} : 4.1 nM) (Naef ve Tenor, 2017), Li ve grubu tarafından geliştirilen bileşik 19 ve 20 ise PDE-9 inhibisyonu (sırasıyla IC_{50} : 2 ve 10 nM) aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Şekil 2.15) (Li vd., 2018).



Şekil 2.15 Fosfodiesteraz 5 ve 9 inhibisyonuna sahip pirolotriazinon yapıları

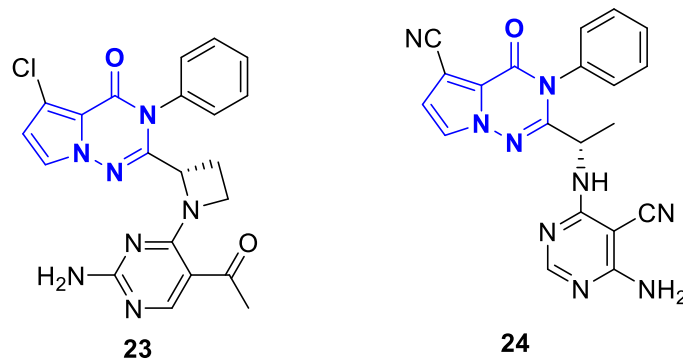
Antikanser ilaç geliştirme çalışmalarında hedeflenen yollardan birisi de WTN/katenin sinyal yolunun inhibisyonudur. WTN/katenin sinyal yolunun önemli bir aktivatörü olan trunkiraz, sinyalin aşırı aktivasyonuna yol açarak hücre proliferasyonunu artıran çeşitli kanser türlerine yol açmaktadır (Li vd., 2020). Bu bağlamda Johannes ve grubu bir dizi pirolotriazinon türevi tasarlayarak bunların kolon kanseri hücrelerinde

WNT/katenin yolağının ve trunkiraz enziminin inhibisyonunu araştırmışlardır. Sonuçlar, sentezlenen bir seri bileşik arasında 21 ve 22 nolu pirolotriazinon türevlerinin (sırasıyla IC₅₀: 8 ve 4 nM) trunkiraz enzim inhibitörü etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Şekil 2.16) (Johannes vd., 2015).



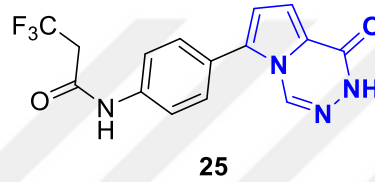
Şekil 2.16 Trankiraz enzim inhibitörü etkiye sahip pirolotriazinon yapısı

Jia ve grubu, bilinen fosfoinositol-3-kinaz (PI3K) inhibitörlerinden hareketle yeni tür pirolotriazinon türevleri tasarlamışlardır. PI3K enzimleri hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması, hareketi ve hayatta kalması gibi birçok hücresel fonksiyonlarda görevlidir. PI3K'ların hedeflenerek inhibisyonu antitümör çalışmalarda yaygın olarak çalışılmaktadır. Jia ve grubunun bu amaç için sentezlediği bir seri pirolotriazinon türevi arasında bileşik 23 oldukça yüksek potansiyel ve seçicilikle PI3K γ -PI3K δ dual inhibitörü olduğu bulunmuştur (Jia vd., 2019). Ayrıca bu molekül gruplarından hareketle geliştirilmiş ve birçok patente konu olmuş pirolotriazinon türevleri (bileşik 24) PI3K inhibitörleri olarak tanımlamıştır (Şekil 2.17) (Castro vd., 2013; Su vd., 2014; Bernal vd., 2012; Carrera vd., 2015).



Şekil 2.17 PI3K γ -PI3K δ dual inhibitörü etkiye sahip pirolotriazinon yapıları

Ayrıca son yıllarda pirolotriazinon heterobisiklik halka sistemine sahip bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerinde de çalışmalar devam etmektedir. Örneğin 2021 yılında Jebamani ve grubu sentezledikleri bir seri pirolotriazinon türevlerinin çeşitli mikroorganizmalardaki etkinliğini araştırmışlar ve şekildeki bileşiğin en yüksek antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bileşik 25'in 16-24 ug/ml konsantrasyonlarda gram pozitif bakterilere (*S. aureus*, *S. faecalis*, *B. Subtilis*), gram negatif bakterilere (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. Aeruginosa*) ve funguslara (*Scedosporium*, *Aspergillus niger* ve *Candida tenuis*) karşı geniş etki spektrumuna sahip olduğu bulunmuştur (Şekil 2.18) (Jebamani vd., 2021).



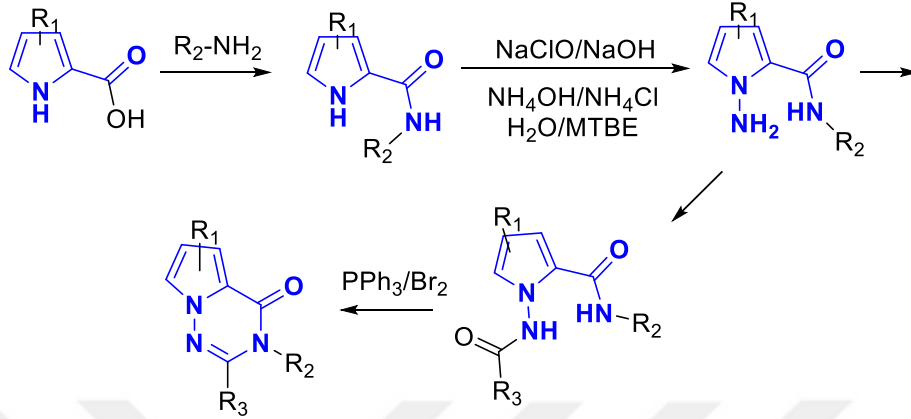
Şekil 2.18 Çeşitli antimikrobiyal etkiye sahip pirolotriazinon yapıları

Pirolotriazinonların şimdiye kadar literatürde bildirilen biyolojik aktivite bulgularından hareketle, diğer azot bazlı heterosiklik bileşiklerde olduğu gibi pirolotriazinonların da ilaç tasarımı için bir başlangıç yapı iskeleti olduğu söylenebilir. Ayrıca, pirolotriazinon türevlerinin günümüze kadar sadece yukarıda özetlenen biyolojik aktivite sonuçlarının bulunması, bu yapılardan hareketle keşfedilmeyi bekleyen birçok terapötik ajanların olabileceğini göstermektedir. Bu yüzden pirolotriazinonların tasarımı ve sentezi için literatür çalışmalarının araştırılması, yeni sentez yöntemlerinin geliştirilmesi oldukça önemlidir.

2.3 Pirolotriazinon Türevlerinin Eldesi için Çeşitli Sentetik Yöntemler

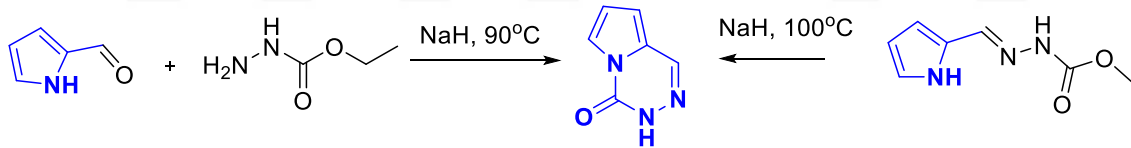
Pirolotriazinonların sentezi ile ilgili literatürde oldukça kısıtlı çalışma bulunmaktadır. Genellikle, pirolotriazinon izomerlerinin sentezinde benzer strateji bulunmaktadır. Bu yöntemde başlangıç maddesi olarak sübstitüe pirol-2-karboksilik asit, önce ilgili açıl klorürün amidasyonu yoluyla bir amit türevine dönüştürülmektedir. Daha sonra, faz transfer ile reaksiyon ortamında üretilen kloramin ile 1-amino-pirole dönüştürülür ve yine açıl klorür ile amin grubu açillir. Son kademedede ise elde edilen

ara ürün, PPh_3/Br_2 kullanılarak oksidatif koşullar altında halkalaşma reaksiyonu ile pirolotriazinon yapısına ulaşılmaktadır (Şekil 2.19) (Son ve Park, 2016).



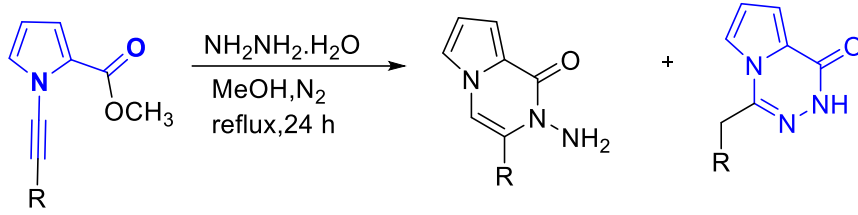
Şekil 2.19 Pirolotriazinon sentezinde genel yöntem

Bir diğer genel yöntem ise pirol-2-karbaldehit başlangıç reaktifinin etil hidrazit ile önce kondenzasyonu sonrasında sodyum hidrür gibi güçlü bir baz kullanılarak halkalaşması ile elde edilmektedir (Şekil 2.20) (Lancelot vd., 1980; Sakai vd., 1999).



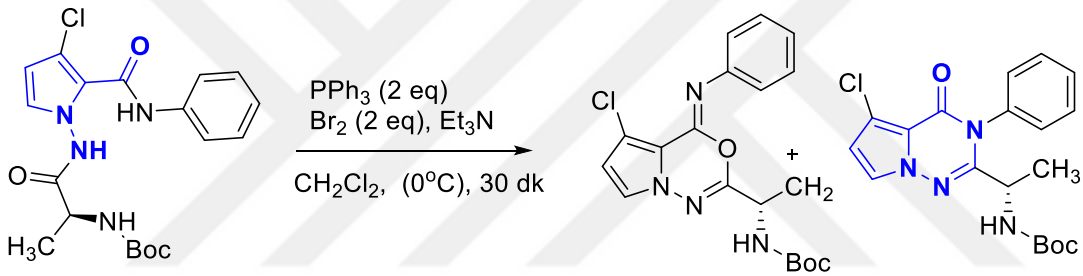
Şekil 2.20 Pirolotriazinon sentezinde genel yöntem

Bir başka sentez yönteminde ise, hidrazin monohidrat yoluyla N-alkin sübtitüe karboksilat türevleri siklizasyon reaksiyonlarını sonrası iki farklı ürün elde edilmiştir. Metil 1-(feniletinil)-1H-pirol-2-karboksilat, geri çeviren soğutucu altında, reflux sıcaklığında ve N_2 atmosferi altında MeOH içerisinde hidrazin monohidrat ile reaksiyonu sonrası Şekil 2.21'deki iki farklı ürün elde edilmiştir. Bu reaksiyon sonrası pirolopirazinon ve pirolotriazinon iskeletleri sırasıyla %67 ve %24 verimle oluşturulmuştur (Şekil 2.21) (Yenice vd., 2017).



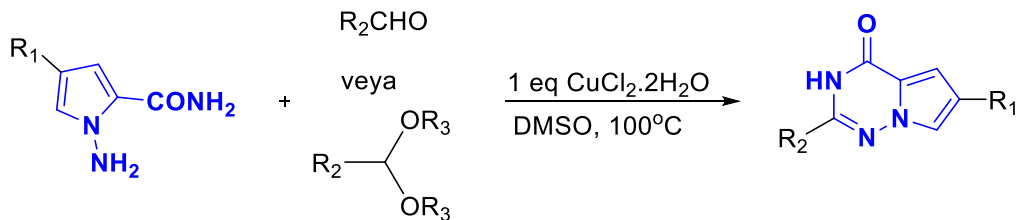
Şekil 2.21 Nükleofilik siklizasyon yolu ile pirolotriazinon sentezi

Son ve grubu, pirol-2-karboksilik asitten hareketle sentezledikleri şekilde başlangıç reaktifini trifenilfosfin ve bromin kullanarak trietilamin varlığında tepkimeye koymuşlardır. Reaksiyon trietilamin miktarı ve reaksiyon süresine bağlı olarak şekildeki pirolotriazinon ve piroloksadiazin regioizomerlerini elde etmişlerdir (Şekil 2.22) (Son ve Park, 2016).



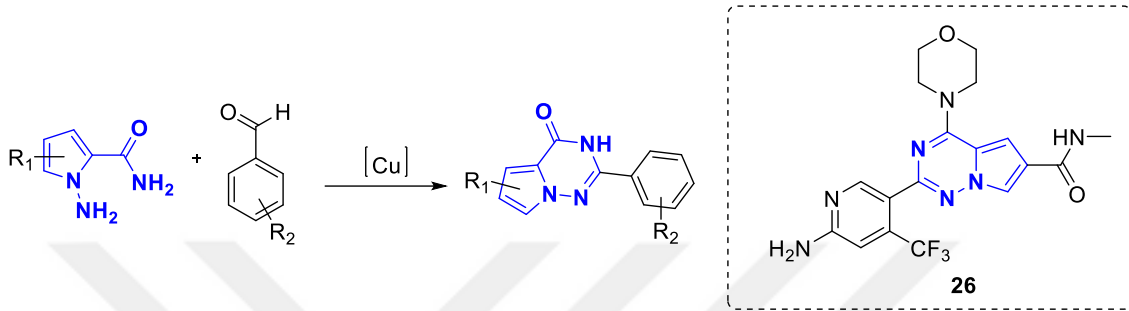
Şekil 2.22 Trifenil fosfin ve bromin ile pirolotriazinon sentezi

2013 yılında Chen ve grubu bakır (II) klorür destekli bir yöntemle 1-amino-2-pirolkarboksamit başlangıç reaktifinin çeşitli benzaldehit, heteroaril aldehit, alkil aldehit ve hatta asetallele tepkimesi sonrasında pirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4(3H)-on türevlerini yüksek verimli bir şekilde sentezlemişlerdir (Şekil 2.23) (Chen vd., 2013).



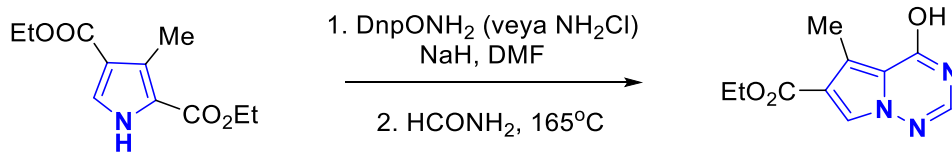
Şekil 2.23 1-Amino-2-pirolkarboksamit'in çeşitli aldehitlerle reaksiyonu

Aynı grup geliştirdikleri yöntemi kullanarak sentezledikleri bir seri pirolotriazinon türevlerini yeni PI3K inhibitörü olarak tasarlayarak sentezlemiştir. Test edilen bileşiklerin in vitro ortamda çeşitli kanser hücrelerinin çoğalmasını engellediği ve öncü bileşik olarak seçilen bileşik 26'nın PI3K inhibitörü (IC₅₀: 122 nM) olduğunu keşfetmişlerdir (Şekil 2.24) (Xiang vd., 2020).



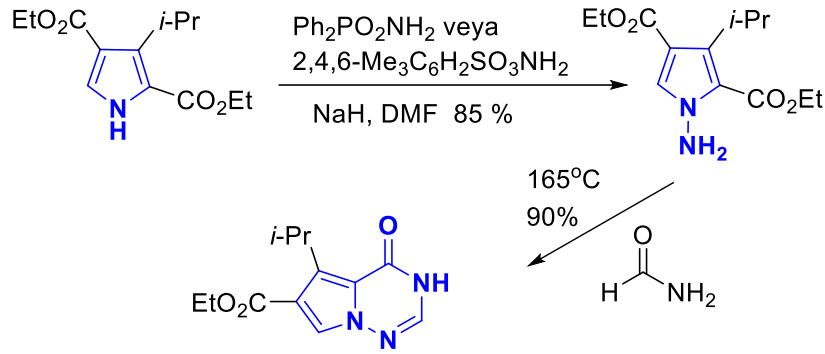
Şekil 2.24 Cu-II katalizli pirolotriazinon sentezi

Aslında uygulanan prosedür literatürde pirolo[2,1-f][1,2,4]triazinlerin basit bir sentezi için bildirilen N-süstitüe olmayan pirol türevinden önce NaH varlığında NH₂Cl ile N-amino pirol türevinin eldesi, ardından 165°C'de formamid ile siklizasyonu ile pirolotriazin'in tautomerinin eldesi şeklindedir (Wroblewski vd., 2008). Bu yöntemle p38α MAP kinaz inhibitörü birçok molekül geliştirilmiştir (Şekil 2.25) (Dyckman vd., 2011).



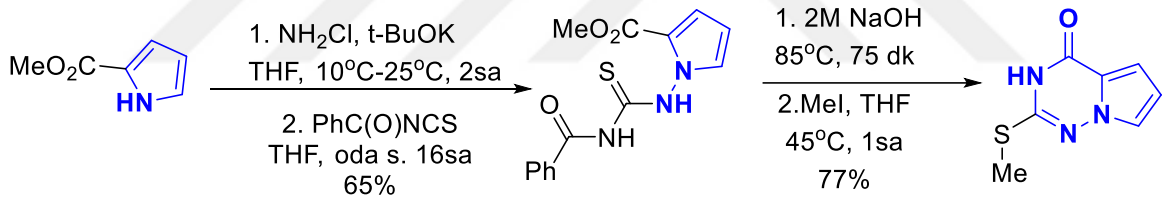
Şekil 2.25 Pirolo[2,1-f][1,2,4]triazinler için basit bir sentez yöntemi

Geliştirilen yöntem ile yeni pirolotriazinon türevlerinin sentezi gerçekleştirilebilmektedir. Örneğin şekildeki pirol yapısından hareketle *o*-(difenilfosfinil)hidroksilamin ya da *o*-(mesitilensülfonil)hidroksilamin kullanılarak elde edilen N-aminopirol, 165°C'de DMF içinde siklizasyonu pirolotriazinon türevini vermiştir (Şekil 2.26) (Borzilleri vd., 2005).



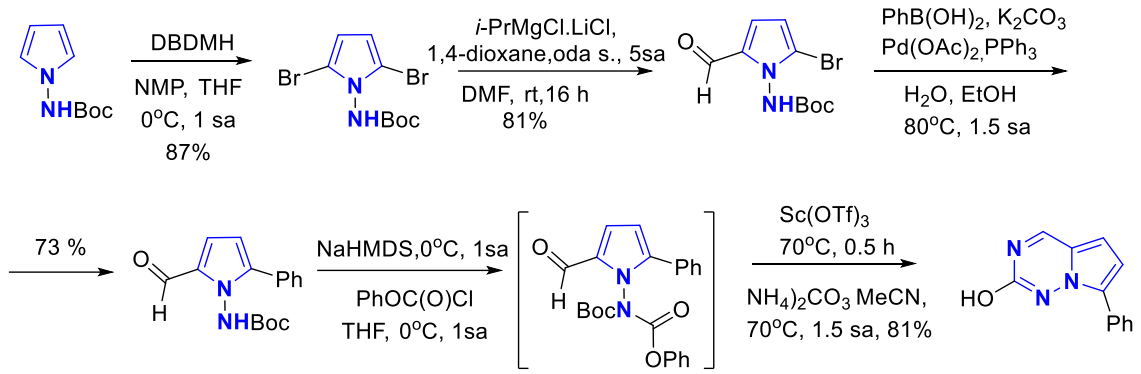
Şekil 2.26 Sübstitüe pirolotriazinonların sentez yöntemi

Pirolotriazinon yapısına sahip yeni kinaz inhibitörlerinin geliştirilmesi hedefinde uygulanan bir diğer yaklaşım ise başlangıç reaktifi olarak pirol-2-kaboksilatın kullanıldığı sentez yöntemidir. Yine pirol N-N bağının oluşturulmasında NH_2Cl kullanılmış olup ardından benzoil izotiyosiyanat ile reaksiyonu şekildeki ara ürün elde edilmiştir. Son basamakta ise 2 M NaOH içinde hidrolitik siklizasyon ile S-metilasyon grubuna sahip pirolotriazinon elde edilmiştir (Şekil 2.27) (Thieu vd., 2011).



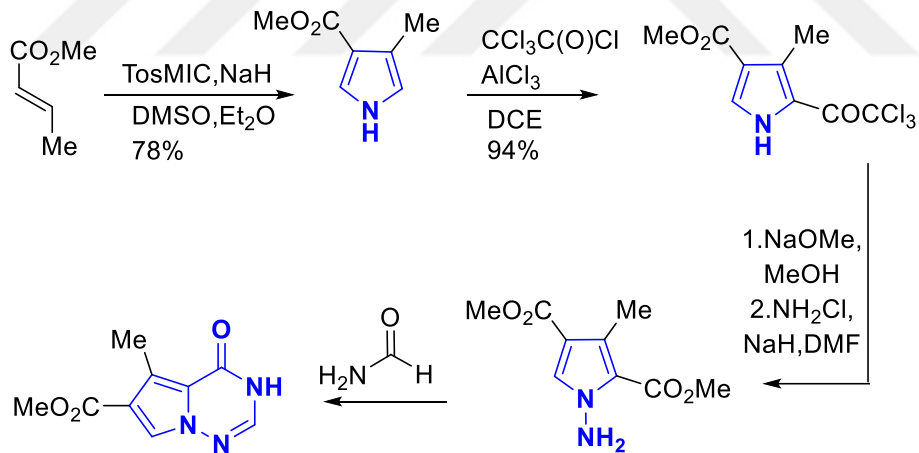
Şekil 2.27 S-Metil sübstitüe pirolotriazinon türevinin sentezi

Pirolotriazinonların eldesinde uygulanan benzer yöntem pirol-N-boc başlangıç reaktifinden hareketle önce diboromo türevinin eldesi, sonrasında DMF ile muamele ile 5-bromopirol-2-karbaldehit eldesi şeklindedir. Elde edilen ara ürünlerdeki brom grubunun fenil ile yer değiştirilmiş ve sonrasında NaHMDS varlığında kloroformat. N-Boc koruma grubunun seçici bölünmesi için $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ kullanılmıştır. Bu basamaktaki son ürün, $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ ile kondenzasyon reaksiyonuna tabii tutularak hedeflenen pirolotriazinon yapısının iminol tautomeri formu elde edilmiştir (Şekil 2.28).



Şekil 2.28 Çok kademeli pirolotriazinon sentezi

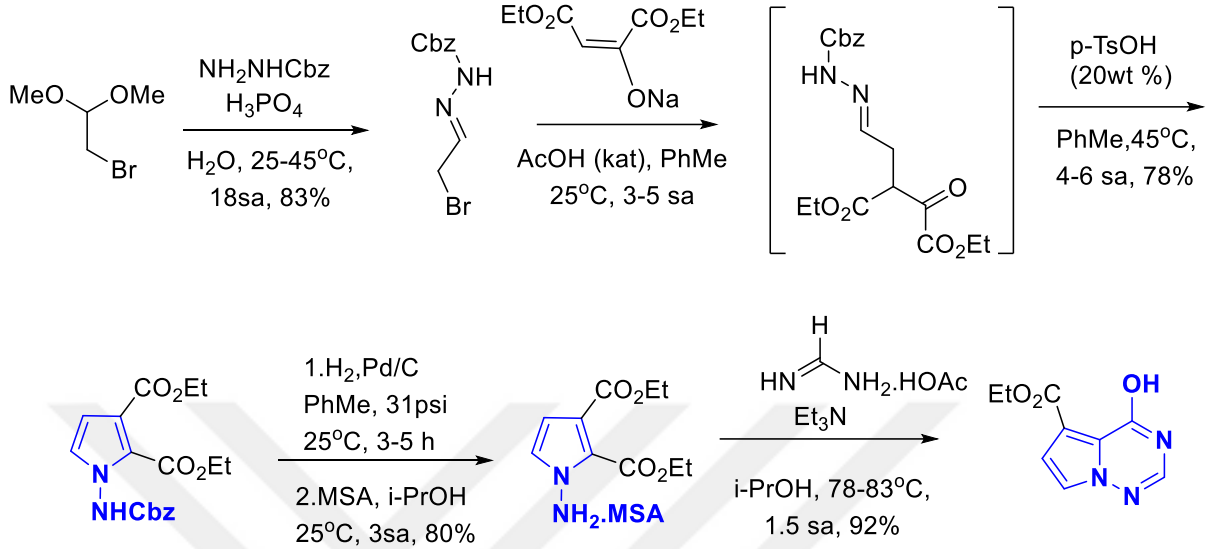
Wang ve grubu farklı bir yöntem olarak β -süstitüe akrilat başlangıç reaktifinden başlayarak pirolotriazinon yapısına ulaşmışlardır. Öncelikle disüstitüe pirol yapısının eldesi, takiben prolün 2-konumuna trikloroasetil süstitüsyonu ve hidrolizi ile N-aminasyonu sonrasında bileşiği elde etmişlerdir. Son basamakta formamit kullanılarak %82 verimle hedeflenen pirolotriazinon yapısına ulaşılmıştır (Şekil 2.29) (Wang vd., 2014).



Şekil 2.29 β -Süstitüe akrilat başlangıç reaktifinden hareketle pirolotriazinon sentezi

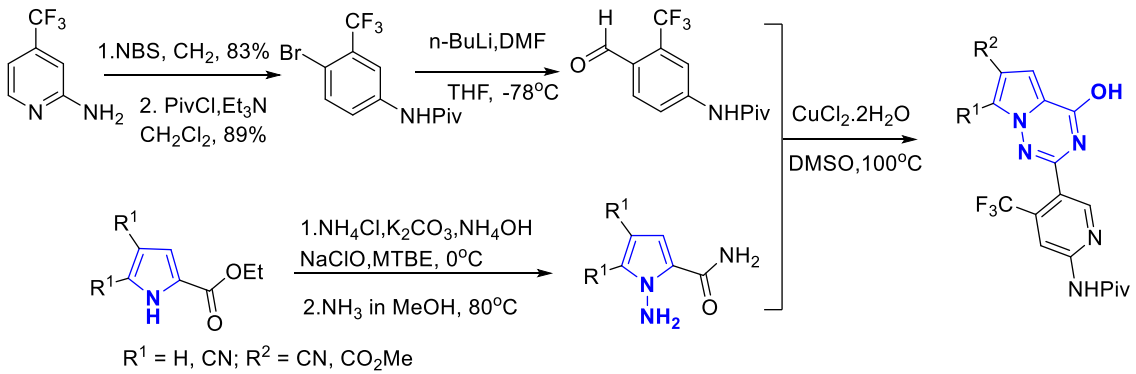
Pirolotriazinonların sentezinde altı aşamalı bir sentez yöntemi de Zheng ve grubu tarafından bildirilmiştir. Bu yöntemde öncelikle, 2-bromo-1,1-dimetoksietan'ın NH_2NHCbz ile asidik koşullar altında kondenzasyonu ile bromohidrazon türevi elde edilmiştir. Daha sonra bromo hidrazon türevinin 1,4-dietoksi-1,4-dioksobut-2-en-2-olat ile C-alkilasyonu, takibinde hidroliz ile 1-aminopirol türevinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen yapı amidin ile triazin anülasyonu ile pirolotriazinon

tautomeri formu pirolotriazinol yapısına dönüştürülmüştür (Şekil 2.30) (Zheng vd., 2012).



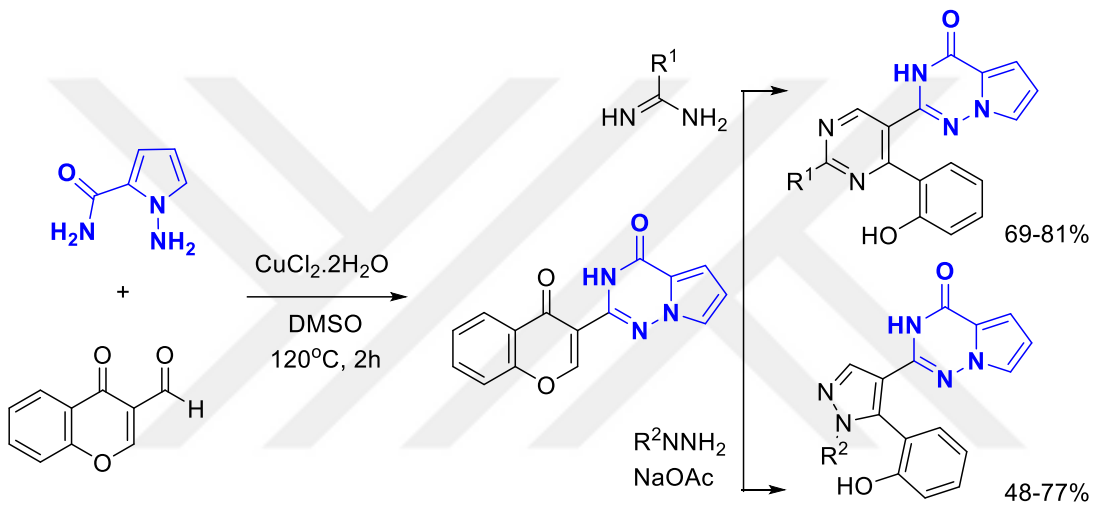
Şekil 2.30 2-Bromo-1,1-dimetoksietan reaktifinden pirolotriazinon sentezi

Bir diğer pirolotriazinol türevi sentezinde uygulanan çok adımlı prosedür, yine N-aminopirrol ve aromatik aldehitin tepkimesini içermektedir. Öncelikle 2-aminopiridin türevinin brominasyonu, amin açılması ve ardından n-BuLi ve DMF ile reaksiyonu ile aldehit grubuna sahip piridin türevi elde edilmiştir. Son kademedede ise, piridin-3-karbaldehit'in N-aminopirrol ile Cu-katalizli reaksiyonuyla hedeflenen pirolotriazinollere ulaşılmıştır. Ayrıca bu yöntemle geliştirilen bir seri bileşiğin insan kanser hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Şekil 2.31) (Xiang vd., 2020).



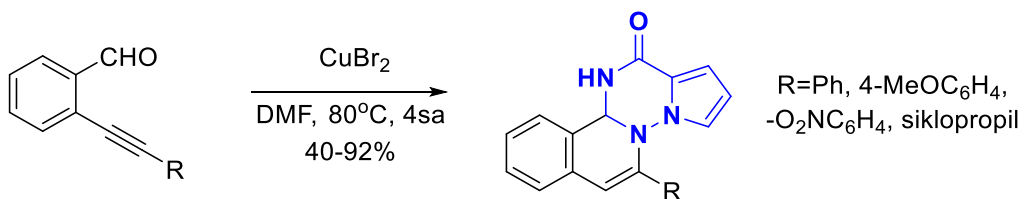
Şekil 2.31 N-Aminopirrol ve aromatik aldehitin tepkimesi ile pirolotriazinon sentezi

Aromatik aldehytlerle 1-amino-2-pirolkarboksamit reaktifinin tepkimesiyle pirolotriazinon eldesindeki bir diğer metot ise 4-okso-4H-kromen-3-karbaldehit başlangıç reaktifinin kullanıldığı yoldur. Bu başlangıç reaktifinin Cu(II) katalizli reaksiyonu ile hedeflenen pirolotriazinon türevlerinin sentezi 120°C'de CuCl₂·2H₂O/NaOAc/DMSO katalitik sistemi kullanılarak yüksek verimli bir şekilde elde edilmiştir. Ayrıca, sentezlenen ara ürün, NaOAc ortamında amidin veya hidrazin türevleri kullanılarak sırasıyla pirimidin veya pirazol süstitüe pirol-[2,1-f][1,2,4]triazin-4(3H)-on türevleri sentezlenmiştir (Şekil 2.32) (Xiang vd., 2013).



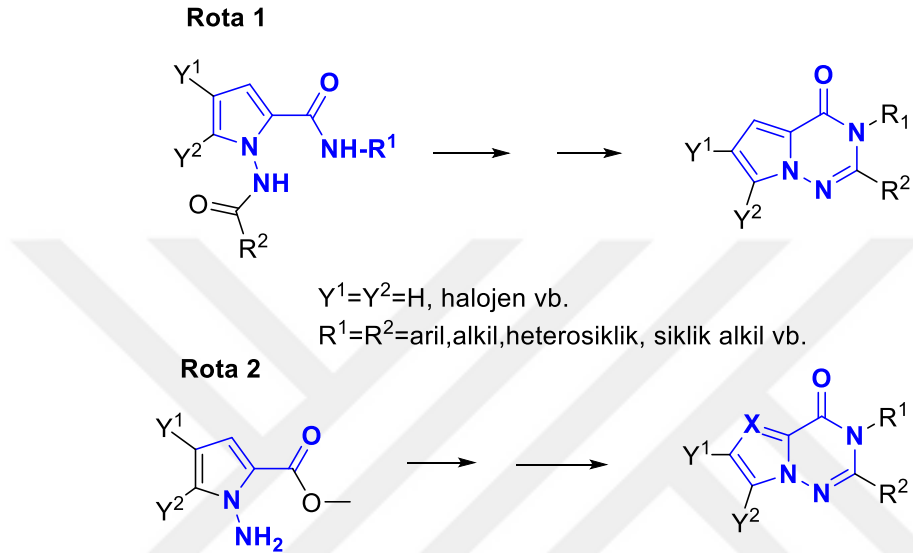
Şekil 2.32 Pirimidin/pirazol süstitüe pirolotriazinon türevlerinin sentezi

Benzer bir yaklaşım, Cu(II) katalizörü mevcudiyetinde 2-alkinilbenzaldehydler ile 1-amino-2-pirolkarboksamit reaktifinin kondenzasyon yoluyla izokinolin kaynaşmış pirolotriazinonların sentezidir. Geliştirilen yöntemde 2-alkinilbenzaldehytlerde elektron veren grupların olması halinde tepkime veriminin yüksek olduğu, ancak elektron çekici süstitüentler varlığında tepkime veriminin azaldığı rapor edilmiştir (Şekil 2.33) (Chen vd., 2014).



Şekil 2.33 2-Alkinilbenzaldehyt ile 1-amino-2-pirolkarboksamit'in reaksiyonu

Şu ana kadar bildirilen pirolotriazinon sentez yöntemleri kısaca özetlenecek olursa, 2-karbonil sübstitüe pirol bileşiklerinin N-amino veya N-amido türevleri kullanılarak geliştirilen yöntemlerdir. Ayrıca pirolotriazinonların sentezinde bildirilen bu yöntemler çok sınırlı olmasına ilaveten çoğunlukla sadece pirolo-[2,1-f][1,2,4]triazin-4(3H)-on izomerlerinin sentezine imkan sağlamaktadır (Şekil 2.34).



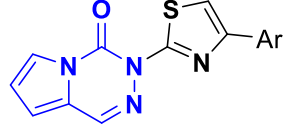
Şekil 2.34 Literatürde bahsedilen pirolotriazinon sentezi için genel yöntemler

Bu sonuç, diğer pirolotriazinon izomerlerinin eldesinde halen keşfedilmeyi bekleyen sentez yöntemlerinin olduğunu ve bu yöntemlerle sentezlenecek türevlerin çeşitli biyolojik aktivitelerinin araştırılmasının literatürdeki önemini ön plana çıkarmaktadır.

Literatürde bahsedildiği üzere çeşitli pirolotriazinonların izomerleri sentez yöntemleri ve bu yöntemlerden hareketle geliştirilen birçok farklı pirolotriazinon türevinin çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip olduğu görülmektedir. Pirolotriazinonların farmakolojik aktiviteleri göz önüne alındığında özellikle kanser araştırmalarında hedef odaklı antiproliferatif ajan oldukları ön plana çıkmaktadır.

Sentetik açıdan pirolotriazinon izomerleri arasında pirolo[1,2-d]triazin-4(3H)-on türevleri için literatürde oldukça sınırlı sayıda türev geliştirildiği ve bu türevlerin ise sadece tek bir yöntemle sentezlendiği görülmektedir. Bu kapsamda, sunulan bu çalışma ile pirolo[1,2-d]triazin-4(3H)-on türevleri için yeni bir sentetik strateji geliştirilmiş ve tepkime mekanizması teorik çalışmalar ile detaylandırılmıştır (Şekil 2.35). Ayrıca bu

yöntemle geliştirilecek bileşiklerin kanser hücre hatlarında PI3K enzim inhibisyonu üzerinden antiproliferatif etki potansiyelleri araştırılmıştır.



Hedeflenen bileşikler

Şekil 2.35 PI3K δ inhibitörü olarak hedeflenen pirolotriazinon türevleri

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

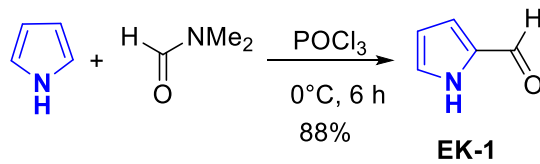
3.1 Materyal

Proton (^1H) ve karbon-13 (^{13}C) nükleer manyetik rezonans (NMR) spektraları, sırasıyla 400 MHz ve 100 MHz frekansta çalışan bir Varian-Agilent Inova spektrometresi kullanılarak elde edilmiştir; tetrametilsilan (Me_4Si) iç referans olarak kullanılmıştır. Sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) analizi, bir elektrospray iyonizasyonu (ESI) kaynağına sahip Thermo Scientific Q Exactive MS/MS sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Erime noktaları, açık cam kapiller kullanılarak bir Stuart Erime Noktası (SMP30) cihazı ile belirlenmiştir. Kolon kromatografisi, silika jel (60 mesh, Silicycle) üzerinde yapılmıştır. Tüm ticari olarak temin edilebilen reaktifler, ilave saflaştırma yapılmadan kullanılmıştır. Ayrıca hücre kültürü çalışmalarında MCF-7 (insan ER+ meme kanseri, HTB-22, ABD), A549 (insan küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, ATCC CRM-CCL-185, ABD), HepG2 (insan karaciğer kanseri, ATCC HB-8065, ABD) ve NIH/3T3 (fare embriyonik fibroblast, ATCC CRL-1658, ABD) hücreleri kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Sentez Yöntemleri

3.2.1.1 Piyol-2-karbaldehit Bileşiğinin Sentezi

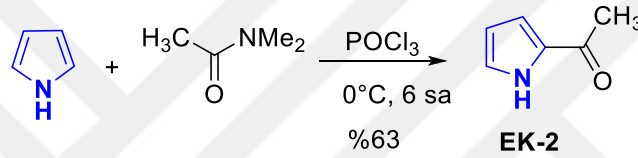


Şekil 3.1 Piyol-2-karbaldehit bileşiğinin sentezi

Bir buz banyosu içinde susuz N,N-dimetilformamit (2.32 g, 30.0 mmol) üzerine fosforiklorür POCl_3 (3.38 g, 30.0 mmol) yavaş yavaş eklendi ve reaksiyon karışımı bu sıcaklıkta 30 dakika karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımına piyol (1.25 g, 18.4

mmol) eklendi. Karışım 6 saat karıştırıldı ve sürenin tamamlanmasının ardından soğuk su ilavesiyle reaksiyon sonlandırıldı. Deiyonize H₂O (15 ml) içindeki NaOH (5 g) çözeltisi ilave edilerek elde edilen çözelti, 1 saat karıştırıldı. Reaksiyon karışımı, EtOAc (4 x 25 mL) ile ve 30 mL su kullanılarak ekstraksiyon yapıldı. Ekstreler tuzlu su (6 x 15 mL) ile yıkanarak, MgSO₄ üzerinde kurutuldu ve organik çözücü düşük vakumda rotari evaporatör yardımıyla buharlaştırıldı. Elde edilen ham ürün, kolon kromatografisiyle (mobil faz heksan-EtOAc, 3:1) silika jel üzerinden saflaştırıldı (Şekil 3.1) (Kuzu vd., 2021).

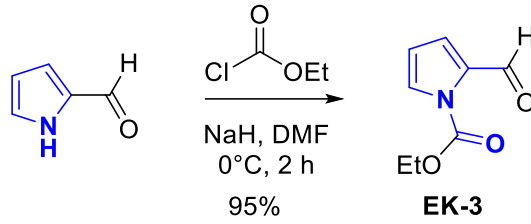
3.2.1.2 Prol-2-asetil Bileşiğinin Sentezi



Şekil 3.2 Prol-2-asetil bileşiğin sentezi

Bir buz banyosu içinde susuz N,N-dimetilasetamit (2.61 g, 30.0 mmol) üzerine fosforiklorür POCl₃ (3.38 g, 30.0 mmol) yavaş yavaş eklendi ve reaksiyon karışımı bu sıcaklıkta 30 dakika karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımına prol (1.25 g, 18.4 mmol) eklendi. Karışım 6 saat karıştırıldı ve sürenin tamamlanmasının ardından soğuk su ilavesiyle reaksiyon sonlandırıldı. Deiyonize H₂O (15 ml) içindeki NaOH (5 g) çözeltisi ilave edilerek elde edilen çözelti, 1 saat karıştırıldı. Reaksiyon karışımı, EtOAc (4 x 25 mL) ile ve 30 mL su kullanılarak ekstraksiyon yapıldı. Ekstreler tuzlu su (6 x 15 mL) ile yıkanarak, MgSO₄ üzerinde kurutuldu ve organik çözücü düşük vakumda rotari evaporatör yardımıyla buharlaştırıldı. Elde edilen ham ürün, kolon kromatografisiyle (mobil faz heksan-EtOAc, 3:1) silika jel üzerinden saflaştırıldı (Şekil 3.2) (Kuzu vd., 2021).

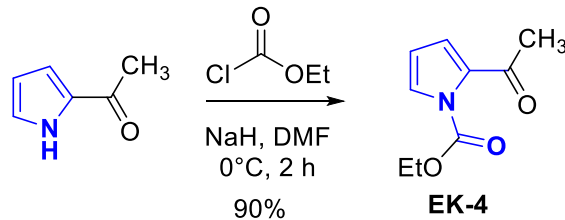
3.2.1.3 Pirol-N-etilkarboksilat-2-karbaldehit Bileşiğinin Sentezi



Şekil 3.3 Pirol-N-etilkarboksilat-2-karbaldehit bileşiğinin sentezi

Buz banyosu ortamında, 1 mmol pirol-2-karbaldehit 4 ml DMF içerisinde çözülerek üzerine porsiyonlar halinde NaH (0.072 g, %60, 1.8 mmol) ilave edildi ve 1 saat boyunca bu sıcaklıkta karıştırıldı. Sürenin tamamlanmasının ardından, kuru DMF (1 mL) içindeki etil kloroformat (0.115 ml, 1.2 mmol) çözeltisi 0.5 saatte damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı, oda sıcaklığında 2 saat karıştırıldı ve reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrol edildi. İTK’da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra H₂O (50 mL) ilavesi tepkime sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı, EtOAc (4 x 25 mL) ile ekstraksiyon yapıldı ve ekstratlar tuzlu su (2 x 15 mL) ile yıkanarak MgSO₄ üzerinde kurutuldu. Organik çözücü düşük vakumda rotari evaporatör yardımıyla buharlaştırıldı. Elde edilen ham ürün, kolon kromatografisiyle (mobil faz heksan-EtOAc, 8:1) silika jel üzerinden saflaştırıldı (Şekil 3.3) (Rogues vd., 1971).

3.2.1.4 Pirol-N-etilkarboksilat-2-asetil Bileşiğinin Sentezi

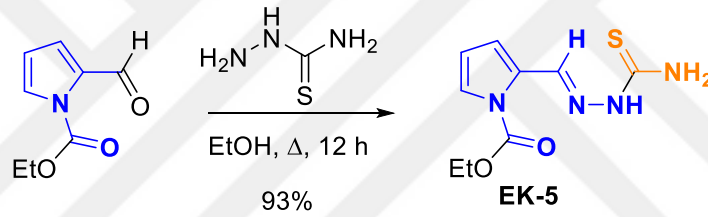


Şekil 3.4 Pirol-N-etilkarboksilat-2-karbaldehit bileşiğinin sentezi

Buz banyosu ortamında, 1 mmol 2-asetil-pirol 4 ml DMF içerisinde çözülerek üzerine porsiyonlar halinde NaH (0.072 g, %60, 1.8 mmol) ilave edildi ve 1 saat boyunca

bu sıcaklıkta karıştırıldı. Sürenin tamamlanmasının ardından, kuru DMF (1 mL) içindeki etil kloroformat (0.115 ml, 1.2 mmol) çözeltisi 0.5 saatte damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı, oda sıcaklığında 2 saat karıştırıldı ve reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrol edildi. İTK’da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra H₂O (50 mL) ilavesi tepkime sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı, EtOAc (4 x 25 mL) ile ekstraksiyon yapıldı ve ekstratlar tuzlu su (2 x 15 mL) ile yıkanarak MgSO₄ üzerinde kurutuldu. Organik çözücü düşük vakumda rotari evaporatör yardımıyla buharlaştırıldı. Elde edilen ham ürün, kolon kromatografisiyle (mobil faz heksan-EtOAc, 8:1) silika jel üzerinden saflaştırıldı (Şekil 3.4) (Rodrigues vd., 1971).

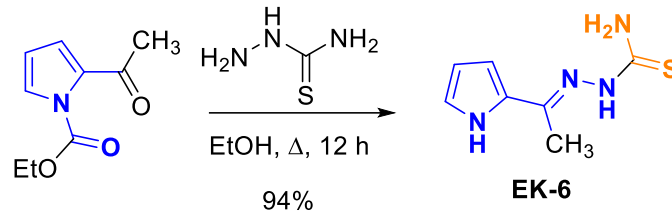
3.2.1.5 Karbaldehit Sübstitüe Pirol’den Tiyosemikarbazon Sentezi



Şekil 3.5 Pirol-N-etilkarboksilat-2-karbaldehit tiyosemikarbazon türevinin sentezi

Bir önceki kademede elde edilen (2 mmol) pirol-N-etilkarboksilat-2-karbaldehit bileşiği 10 ml etanolde çözülerek solüsyonuna tiyosemikarbazit (0.2 g, 2.2 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı, 12 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve İTK’da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Reaksiyon karışımına soğuk H₂O eklenerek bir çökelti oluşturuldu ve bu daha sonra oda sıcaklığında 10 dakika karıştırıldı. Ortamda oluşan katı parçacıklar süzülerek birkaç kez soğuk EtOH (3 ml) ve son olarak H₂O (2 mL) ile yıkandı. Ham katı ürün, açık havada kurumaya bırakıldı ve ilave saflaştırma yapılmaksızın bir sonraki basamakta kullanıldı (Şekil 3.5) (Normaya vd., 2020).

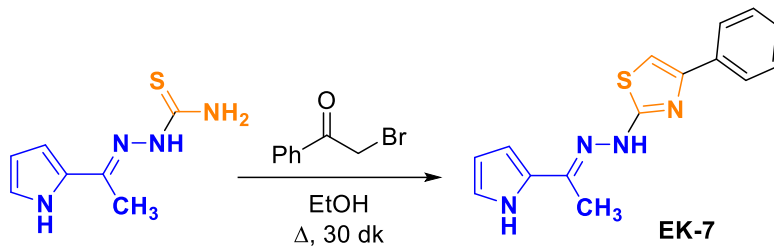
3.2.1.6 Asetil Sübstitüe Pirol Yapısından Tiyosemikarbazon Sentezi



Şekil 3.6 Pirol-N-etilkarboksilat-2-karbaldehit tiyosemikarbazon türevinin sentezi

2 mmol pirol-N-etilkarboksilat-2-asetil bileşiği, 10 ml etanolde çözülerek solüsyonuna tiyosemikarbazit (0.2 g, 2.2 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı, 12 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve İTK'da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Reaksiyon karışımına soğuk H₂O eklenerek bir çökelti oluşturuldu ve oda sıcaklığında 10 dakika karıştırıldı. Ortamda oluşan katı parçacıklar süzülerek birkaç kez soğuk EtOH (3 ml) ve son olarak H₂O (2 mL) ile yıkandı. Ham katı ürün, açık havada kurumaya bırakıldı ve ilave saflaştırma yapılmaksızın bir sonraki basamakta kullanıldı (Şekil 3.6) (Normaya vd., 2020).

3.2.1.7 Tiyazol Sübstitüe Hidrazon Türevinin Sentezi

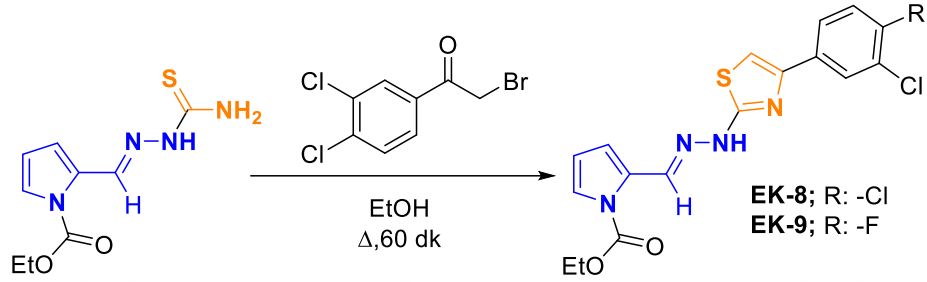


Şekil 3.7 Tiyazol sübstitüe hidrazon türevinin sentezi

Önceki kademedede elde edilen 1 mmol tiyosemikarbazon türevi EtOH (10 ml) içinde çözüldü. Reaksiyon çözeltisine oda sıcaklığında bromo asetofenon (1.05 mmol) ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve İTK'da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu.

Ortamda oluşan katı parçacıklar süzülerek ayrıldı ve birkaç kez soğuk EtOH (3 ml) ve son olarak su (2 ml) ile yıkandı. Ham katı ürün açık havada kurutuldu (Şekil 3.7).

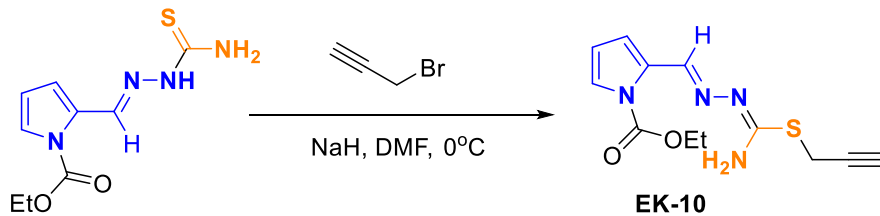
3.2.1.8 Karbaldehit Sübstitüe Pirol'den Tiyazol Hidrazon Sentezi



Şekil 3.8 Tiyazol sübstitüe hidrazon türevi EK-8 ve EK-9'un sentezi

Önceki kademelerde elde edilen 1 mmol pirol-2-karbaldehit türevinden hareketle sentezlenen tiyosemikarbazon türevi EtOH (10 ml) içinde çözüldü. Reaksiyon çözeltisine oda sıcaklığında 2-bromo-3,4-dikloro asetofenon (1.05 mmol) ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve İTK'da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Ortamda oluşan katı parçacıklar süzülerek ayrıldı ve birkaç kez soğuk EtOH (3 ml) ve son olarak su (2 ml) ile yıkandı. Ham katı ürün açık havada kurutuldu ve kolon kromatografisiyle uygun mobil faz kullanılarak silika jel üzerinden saflaştırıldı (Şekil 3.8).

3.2.1.9 Propargil Sübstitüe Hidrazon Türevinin Sentezi

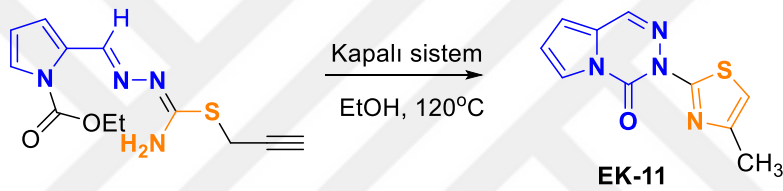


Şekil 3.9 Propargil sübstitüe hidrazon türevinin sentezi

Önceki kademelerde elde edilen 1 mmol pirol-2-karbaldehit türevinden hareketle sentezlenen tiyosemikarbazon türevi DMF (10 ml) içinde çözüldü. Reaksiyon çözeltisi

buz banyosunda soğutuldu ve üzerine 1.6 mmol NaH ilave edildi ve bu sıcaklıkta 30 dakika karıştırıldı. Sürenin tamamlanmasının ardından 1.8 mmol propargil bromür damla damla ilave edildi ve oda sıcaklığında karıştırılmaya bırakıldı. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve İTK’da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra H₂O (50 mL) ilavesi tepkime sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı, EtOAc (4 x 25 mL) ile ekstraksiyon yapıldı ve ekstratlar tuzlu su (2 x 15 mL) ile yıkanarak MgSO₄ üzerinde kurutuldu. Organik çözücü düşük vakumda rotari evaporatör yardımıyla buharlaştırıldı. Elde edilen ham ürün, kolon kromatografisiyle (mobil faz heksan-EtOAc, 8:1) silika jel üzerinden saflaştırıldı (Şekil 3.9).

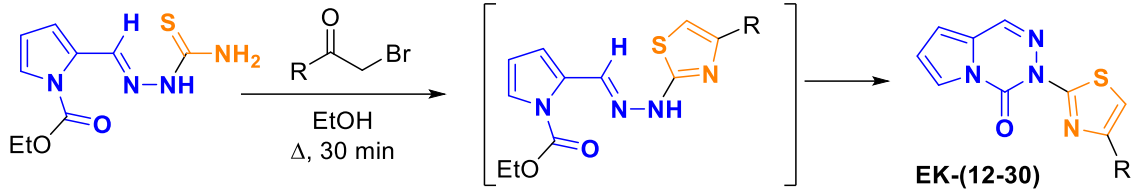
3.2.1.10 Propargil Sübstitüe Hidrazon Türevinin Halkalaşması



Şekil 3.10 Propargil sübstitüe hidrazon türevinin sentezi

Bir önceki kademede elde edilen 1 mmol Propargil sübstitüe hidrazon türevi EtOH (5 ml) içinde çözüldü. Reaksiyon çözeltisine kapalı sistem tüpü içerisine alındı ve ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve İTK’da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve H₂O (50 mL) ilavesi ile tepkime sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı, EtOAc (4 x 25 mL) ile ekstraksiyon yapıldı ve ekstratlar tuzlu su (2 x 15 mL) ile yıkanarak MgSO₄ üzerinde kurutuldu. Organik çözücü düşük vakumda rotari evaporatör yardımıyla buharlaştırıldı. Elde edilen ham ürün, kolon kromatografisiyle (mobil faz heksan-EtOAc, 8:1) silika jel üzerinden saflaştırıldı (Şekil 3.10).

3.2.1.11 Tiyazol Süstitüe Pirolotriazinon Türevlerinin Sentezi



Şekil 3.11 Hedeflenen tiyazol süstitüe pirolotriazinon türevlerinin sentezi

Bir önceki kademe 3.2.1.5'te elde edilen 1 mmol tiyosemikarbazon türevi, EtOH (10 ml) içinde çözüldü. Reaksiyon çözeltisine oda sıcaklığında bromo asetil türevleri (1.05 mmol) ilave edilip, geri çeviren soğutucu altında ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve İTK'da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Ortamda oluşan katı parçacıklar süzüldü ve birkaç kez soğuk EtOH (3 ml) ve son olarak su (2 ml) ile yıkandı. Ham katı ürün açık havada kurutuldu ve kolon kromatografisiyle uygun mobil faz kullanılarak silika jel üzerinden saflaştırıldı (Şekil 3.11).

3.2.2 Aktivite Yöntemleri

3.2.2.1 MTT Testi

MCF-7 (insan ER+ meme kanseri, HTB-22, ABD), A549 (insan küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, ATCC CRM-CCL-185, ABD), HepG2 (insan karaciğer kanseri, ATCC HB-8065, ABD) ve NIH/3T3 (fare embriyonik fibroblast, ATCC CRL-1658, ABD) hücreleri, %10 fetal inek serumu ve %1 penisilin/streptomisin ile takviye edilmiş DMEM ortamında bakıldı. Hücreler uygun koşullarda (37°C, %5 CO₂) inkübe edildi.

Yeni sentezlenen bileşiklerin antiproliferatif aktivitesi, daha önceki bir çalışmada açıklanan MTT testi kullanılarak ölçüldü (Puszek vd., 2019). Kısaca, hücreler 6x10³ hücre/kuvvet yoğunluğunda ekildi ve 24 saat boyunca 37°C, %5 CO₂ ortamda inkübe edildi. Daha sonra hücreler, bileşiklerin artan konsantrasyonları (1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µM) ile tedavi edilip 24 saat daha inkübe edildi. Ayrıca, bileşiklerin sonuçlarını

karşılaştırmak amacıyla hücreler doxorubisin (1, 5, 10, 25 ve 50 μ M) ile inkübe edildi ve sadece %1 DMSO ile tedavi edilen hücreler çözücü kontrolü olarak kullanıldı. İnkübasyonun ardından her kuvvetliye 20 μ l MTT çözeltisi (5 mg/mL PBS içinde) eklenip, plaka 4 saat süreyle aynı koşullarda inkübe edildi. Bu süre bitiminde ortam atılıp yerine DMSO eklenmiştir. Çözülen formazan kristallerinin absorbanısı bir multi-plate okuyucu kullanılarak ölçüldü. Her bir bileşiğin IC₅₀ değeri ve selektivite indeksi daha önce açıklanan şekilde hesaplandı (Puszek vd., 2019). IC₅₀ değeri 10 μ M'ın altında ve selektivite indeksi (sağlıklı hücrelerin kanser hücrelerine oranı) 2'den büyük olan bileşikler, daha ileri çalışmalar için potansiyel adaylar olarak kabul edildi.

3.2.2.2 PI3K Protein Seviyelerinin Ölçülmesi

MCF-7 ve HepG2 hücrelerinde PI3K protein seviyeleri, enzim bağlantılı immünosorbent test (ELISA) kitleri kullanılarak değerlendirildi. Hücreler, seçilen bileşiklerin IC₅₀ konsantrasyonları ile 24 saat boyunca tedavi edildi. İnkübasyon süresinin ardından ortam toplandı ve PI3K protein seviyeleri, üreticinin talimatlarına göre ELISA kitleri kullanılarak ölçüldü (Katalog no: ELK9879, ELK Biotechnology, Denver, ABD).

3.2.3 Moleküler Doking Yöntemleri

Moleküler yerleştirme (docking) çalışmaları, bileşiklerin EK-19, EK-23, EK-24, EK-25 ve referans yapı LASW1579 (Furet vd., 2013) ile PI3K'nin 3D yapısı arasındaki etkileşimleri incelemek amacıyla AutoDock 4.2 yazılımı kullanılarak yapılmıştır. PI3K'nin kristal yapısı (PDB ID: 5M6U) RCSB Protein Veri Bankası'ndan (www.rcsb.org) alınmıştır. Bileşiklerin ve referans yapısının moleküler yapıları GaussView 5.0 kullanılarak oluşturulmuş, ardından geometri optimizasyonu, Gaussian 03 paketinde uygulanan B3LYP metodu ve 6-31G temel seti kullanılarak yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) ile gerçekleştirilmiştir (Keating, 2017). Yerleştirme çalışmaları, PI3K kristal yapısından çözücü, su molekülleri ve ligandların çıkarılmasıyla başlamıştır. Yerleştirme simülasyonları, PI3K aktif bölgesi için x: 37.261, y: 16.906 ve z: 34.242 koordinatlarına odaklanmıştır. Yerleştirme bölgesini tanımlamak için 60×60×60 nokta boyutlarında ve 0.375 Å ızgara aralığına sahip bir ızgara kutusu

kullanılmıştır. En düşük enerji konformasyonları, ileri analiz için seçilmiştir. Su molekülleri AutoDockTools kullanılarak elimine edilmiş ve hedef yapıya kutupsal hidrojen atomları, Gasteiger kısmi yükleri ve Kollman yükleri eklenmiştir. Ayrıca, bileşiklerin esnekliği için yerleştirme sürecinde dönebilen bağlar tanımlanmıştır. Yerleştirme protokolünü doğrulamak amacıyla, yerli ligand yeniden yerleştirilmiş ve bağlanma durumu deneysel olarak belirlenen kristal yapısı ile karşılaştırılmıştır. Yerleştirme simülasyonları için Lamarckian genetik algoritması, 300 popülasyon büyüklüğüyle 10 iterasyon çalıştırılarak kullanılmıştır. PI3K ve yerleştirilen bileşikler arasındaki etkileşimler, Discovery Studio Client 4.1 kullanılarak analiz edilmiştir.

3.2.4 Pre-ADMET Yöntemleri

Bileşiklerin ilaç benzerliği ve emilim, dağılım, metabolizma, atılım ve toksisite (ADMET) özellikleri, çevrimiçi araçlar kullanılarak belirlenmiştir. Her bir bileşiğin SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System) yapıları, SwissADME platformundan elde edilmiştir. Bu yapılar kullanılarak bileşiklerin ilaç benzerlikleri, SwissADME aracılığıyla değerlendirilmiştir (Kuzu vd., 2021). SwissADME, moleküllerin fizikokimyasal özelliklerini analiz eden ve bu özelliklerin ilaç geliştirme sürecinde nasıl bir rol oynayabileceğini belirleyen bir çevrimiçi araçtır. Bu değerlendirme, bileşiklerin biyolojik aktiviteye uygunluğunu ve potansiyel ilaç olma olasılıklarını belirlemeye yardımcı olur.

ADMET (emilim, dağılım, metabolizma, atılım ve toksisite) parametrelerinin değerlendirilmesi, Deep-PK adlı başka bir çevrimiçi araç kullanılarak yapılmıştır (Kuzu vd., 2023). Deep-PK, özellikle ilaçların farmakokinetik profillerini analiz eden ve bu profillerin çeşitli biyolojik süreçlerle uyumluluğunu değerlendiren bir yapay zeka tabanlı modeldir. Bu araç, bileşiklerin vücutta nasıl dağıldığını, metabolize olduğunu ve atıldığını, ayrıca toksik etkilerinin olup olmadığını tahmin etmeye yardımcı olur. Bu değerlendirme, bileşiklerin potansiyel ilaç adayları olarak daha ileri testlere tabi tutulup tutulamayacağını belirlemeye olanak sağlar.

3.3 İstatistik Analizler

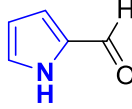
Tüm veriler üzerinde istatistiksel analiz yapılmış ve sonuçlar ortalama $\pm$ SD (standart sapma) olarak sunulmuştur. Analiz, deneylerin üç kez tekrarlanmasını içermektedir. Veriler, kontrol ve tedavi grupları arasındaki farkları karşılaştırmak için iki taraflı Student t-testi kullanılarak analiz edilmiştir ve p-değeri <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler, GraphPad Prism Software sürüm 8 (Windows için GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



4. BULGULAR

4.1 Kimyasal Bulgular

4.1.1 1*H*-pirol-2-karbaldehit

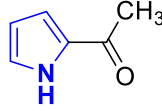


Şekil 4.1 EK-1 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.1’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Susuz N,N-dimetilformamid buz banyosunda POCl₃ ile yavaşça muamele edildi. Reaksiyon karışımı bu sıcaklıkta 30 dakika boyunca karıştırıldı. Daha sonra, reaksiyon karışımına pirol eklendi. Karışım 6 saat boyunca karıştırıldı ve ardından soğuk su ile reaksiyon sona erdirildi. NaOH (5 g) çözeltisi ile nötralizasyon sonrası ekstraksiyon yapıldı. Çözelti MgSO₄ ile kurutuldu ve buharlaştırıldı. Elde edilen kalıntı, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı.

Verim	: %88
Renk	: Renksiz kristal
Erime Noktası	: 43-45°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,81 Etilasetat/n-hekzan (1:5) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 11.02 (bs, 1H, -NH), 9.50 (d, J = 1.2 Hz, 1H, CH=O), 7.22–7.17 (m, 1H, Ar-H), 7.05–7.00 (m, 1H, Ar-H), 6.37–6.32 (m, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 179.6, 132.8, 127.7, 122.5, 111.5.
Elementel Analiz C ₅ H ₅ NO	: Hesaplanan; C: 63.15; H: 5.30; N: 14.73; Bulunan: C: 63.18; H: 5.32; N: 14.69.

4.1.2 1-(1*H*-pirol-2-il)etan-1-on

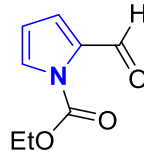


Şekil 4.2 EK-2 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.2’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Susuz N,N-dimetilasetamid buz banyosunda POCl₃ ile yavaşça muamele edildi. Reaksiyon karışımı bu sıcaklıkta 30 dakika boyunca karıştırıldı. Daha sonra, reaksiyon karışımına pirol eklendi. Karışım 6 saat boyunca karıştırıldı ve ardından soğuk su ile reaksiyon sona erdirildi. NaOH (5 g) çözeltisi, deiyonize su (15 ml) içinde hazırlandı ve elde edilen çözelti 1 saat boyunca karıştırıldı. Reaksiyon karışımı, EtOAc (4 × 25 ml) ile ekstrakte edildi. Ekstraktlar tuzlu su (brine) ile yıkandı (6 × 15 ml), MgSO₄ ile kurutuldu ve buharlaştırıldı. Elde edilen kalıntı, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (elüent: hekzan–EtOAc, 3:1). Saflaştırılan bileşiğin özellikleri literatürde belirtilenlerle uyumludur.

Verim	: %63
Renk	: Beyaz kristal
Erime Noktası	: 89-90°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,73 Etilasetat/n-hekzan (1:5) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 10.30 (bs, 1H, -NH), 7.09–7.05 (m, 1H, Ar-H), 6.95–6.91 (m, 1H, Ar-H), 6.29–6.24 (m, 1H, Ar-H), 2.45 (m, 3H, -CH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ= 188.3, 132.1, 125.1, 117.2, 110.7, 25.4.
Elementel Analiz	: Hesaplanan; C: 66.04; H: 6.47; N: 12.84;
C ₆ H ₇ NO	Bulunan: C: 66.07; H: 6.50; N: 12.79.

4.1.3 Etil 2-formil-1*H*-pirol-1-karboksilat

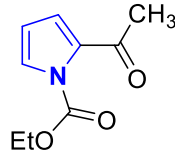


Şekil 4.3 EK-3 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.3'te verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Buz banyosu ortamında, pirol-2-karbaldehit 4 ml DMF içerisinde çözülerek üzerine porsiyonlar halinde NaH ilave edildi ve 1 saat boyunca bu sıcaklıkta karıştırıldı. Sürenin tamamlanmasının ardından, kuru DMF içindeki etil kloroformat çözeltisi 0.5 saatte damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı, oda sıcaklığında 2 saat karıştırıldı ve reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrol edildi. H₂O (50 mL) ilavesi tepkime sonlandırıldı, EtOAc (4 x 25 mL) ile ekstraksiyon yapıldı ve ekstratlar tuzlu su (2 x 15 mL) ile yıkanarak MgSO₄ üzerinde kurutuldu. Organik çözücü düşük vakumda rotari evaporatör yardımıyla buharlaştırıldı ve kolon kromatografisiyle (mobil faz heksan-EtOAc, 8:1) silika jel üzerinden saflaştırıldı (Şekil 45) (Roques vd., 1971).

Verim	: %95
Renk	: Koyu kahverengi
Erime Noktası	: Viskoz sıvı
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,85 Etilasetat/n-hekzan (1:5) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 10.32 (s, 1H, CH=O); 7.47–7.44 (dd, J = 1.7 Hz, J = 3.5 Hz, 1H, Ar-H), 7.17 (dd, J = 3.5 Hz, J = 1.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.30-6.27 (m, 1H, Ar-H), 7.15 (q, J = 7.1 Hz, 2H, -CH ₂ -), 1.42 (t, J = 7.1 Hz, 3H, -CH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 182.2, 149.9, 134.8, 127.1, 121.3, 112.2, 64.5, 14.1.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 168.0655;
C ₈ H ₁₀ NO ₃	Bulunan; m/z: 168.0679.

4.1.4 Etil 2-asetil-1*H*-pirol-1-karboksilat

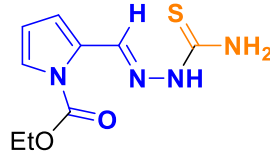


Şekil 4.4 EK-4 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.4'te verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Buz banyosu ortamında, 2-asetil-pirol 4 ml DMF içerisinde çözülerek üzerine porsiyonlar halinde NaH ilave edildi ve 1 saat boyunca bu sıcaklıkta karıştırıldı. Sürenin tamamlanmasının ardından, kuru DMF içindeki etil kloroformat çözeltisi 0.5 saatte damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı, oda sıcaklığında 2 saat karıştırıldı ve reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrol edildi. H₂O (50 mL) ilavesi tepkime sonlandırıldı, EtOAc (4 x 25 mL) ile ekstraksiyon yapıldı ve ekstratlar tuzlu su (2 x 15 mL) ile yıkanarak MgSO₄ üzerinde kurutuldu. Organik çözücü düşük vakumda rotari evaporatör yardımıyla buharlaştırıldı ve kolon kromatografisiyle (mobil faz heksan-EtOAc, 8:1) silika jel üzerinden saflaştırıldı (Şekil 45) (Roques vd., 1971).

Verim	: %90
Renk	: Açık pembe
Erime Noktası	: Viskoz sıvı
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,78 Etilasetat/n-hekzan (1:5) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 7.34 (dd, J = 3.1 Hz, J = 1.6 Hz, 1H, Ar-H), 6.88 (dd, J = 3.6 Hz, J = 1.6 Hz, 1H, Ar-H), 4.39 (q, J = 7.1 Hz, 2H, -CH ₂ -), 2.44 (s, 3H, -CH ₃); 1.36 (t, 3H, J = 7.1 Hz, -CH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 188.3, 150.4, 134.2, 127.8, 121.8, 110.3, 64.4, 27.7, 13.9.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 182.0817;
C ₉ H ₁₂ NO ₃	Bulunan; m/z: 182.0823.

4.1.5 Etil 2-[(2-karbamotiyolhidraziniliden)metil]-1*H*-pirol-1-karboksilat

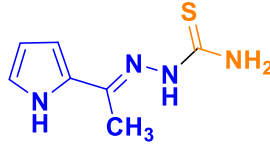


Şekil 4.5 EK-5 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.5'te verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. 2 mmol pirol-N-etilkarboksilat-2-karbaldehit bileşiği 10 ml etanolde çözülerek solüsyonuna tiyosemikarbazit (0.2 g, 2.2 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı, 12 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve İTK'da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Reaksiyon karışımına soğuk suya aktarıldı ve oluşan katı parçacıklar süzüldü. Ham katı ürün, açık havada kurumaya bırakıldı (Şekil 46) (Normaya vd., 2020).

Verim	: %93
Renk	: Açık kahverengi
Erime Noktası	: 190-193°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,55 Etilasetat/n-hekzan (1:5) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) ppm	: δ = 11.49 (s, 1H, -NH), 8.59 (s, 1H, -CHN), 8.12 (bs, 1H, -NH ₂), 7.79 (bs, 1H, -NH ₂), 7.39 (1H, dd, <i>J</i> = 3.3, <i>J</i> = 1.6 Hz, Ar-H), 7.08 (ddd, 1H, <i>J</i> = 3.3 Hz, <i>J</i> = 1.6 Hz, <i>J</i> = 0.5 Hz, Ar-H), 6.31 (t, 1H, <i>J</i> = 3.3 Hz, Ar-H), 4.37 (q, 2H, <i>J</i> = 7.1 Hz, -CH ₂ -), 1.34 (t, 3H, <i>J</i> = 7.1 Hz, -CH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) ppm	: δ = 178.0, 150.3, 135.8, 130.5, 124.1, 114.6, 112.6, 64.4, 14.4.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 241.0754;
C ₉ H ₁₃ N ₄ O ₂ S	Bulunan; m/z: 241.0776.

4.1.6 (2-[1-(1*H*-Piról-2-il)etiliden]hidrazin-1-karbotiyoamit

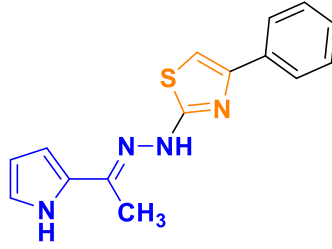


Şekil 4.6 EK-6 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.6’te verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. 2 mmol piról-N-etilkarboksilat-2-asetil bileşiği 10 ml etanolde çözülerek solüsyonuna tiyosemikarbazit (0.2 g, 2.2 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı, 12 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve İTK’da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Reaksiyon karışımına soğuk suya aktarıldı ve oluşan katı parçacıklar süzüldü. Ham katı ürün, açık havada kurumaya bırakıldı (Şekil 46) (Normaya vd., 2020).

Verim	: %94
Renk	: Açık yeşil
Erime Noktası	: 185-187°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,52 Etilasetat/n-hekzan (1:5) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) ppm	: δ = 11.37 (s, 1H, -NH), 10.03 (s, 1H, -NH), 8.23 (bs, 1H, -NH ₂), 8.12 (bs 1H, -NH ₂), 6.92–6.88 (m, 1H, Ar-H), 6.48–6.43 (m, 1H, Ar-H), 6.07–6.01 (m, 1H, Ar-H), 2.14 (s, 3H, -CH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) ppm	: δ = 178.5, 141.6, 130.7, 121.8, 111.5, 109.1, 13.8.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 183.0699;
C ₉ H ₁₃ N ₄ O ₂ S	Bulunan; m/z: 183.0691.

4.1.7 (2-[1-(1*H*-Pirrol-2-il)etiliden]hidrazin-1-karbotiyoamit

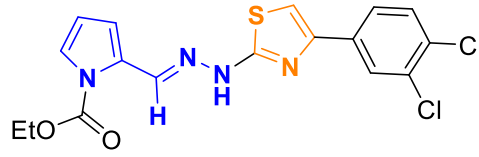


Şekil 4.7 EK-7 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.7’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol) EtOH içinde çözülerek üzerine bromoasetofenon (1.05 mmol) ilave edildi. Karışım, geri soğutucu altında ısıtılarak karıştırıldı ve reaksiyonun ilerleyişi İTK ile takip edildi. Başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutuldu, oluşan katı süzüldü, soğuk EtOH ve su ile yıkandı, ardından açık havada kurutuldu (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %96
Renk	: Açık yeşil
Erime Noktası	: 237-239°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,6 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 12.57 (bs, 1H, -NH); 9.12 (bs, 1H, -NH); 7.72–7.67 (m, 2H, Ar-H), 7.50–7.44 (m, 3H, Ar-H), 6.99–6.96 (m, 1H, Ar-H), 6.69 (s, 1H, Ar-H), 6.67–6.63 (m, 1H, Ar-H), 6.27 (dd, J = 6.2 Hz, J = 2.6 Hz, 1H, Ar-H), 2.46 (s, 3H, -CH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 168.5, 149.8, 140.7, 130.5, 129.6, 128.3, 127.2, 125.6, 122.8, 113.9, 110.5, 100.2, 15.6.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 283.1012;
C ₁₅ H ₁₅ N ₄ S	Bulunan; m/z: 283.1025.

4.1.8 (3,4-diklorofenil)tiyazol-2-il)hidraziniliden)metil)-1*H*-pirol

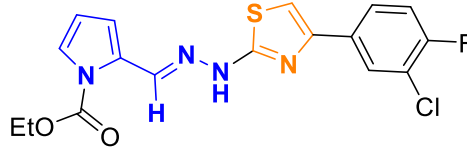


Şekil 4.8 EK-8 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.8’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. EK-5 bileşiği (1 mmol) EtOH içinde çözülerek üzerine bromo 3,4-dikloroasetofenon (1.05 mmol) ilave edildi. Karışım, geri soğutucu altında ısıtılarak karıştırıldı ve reaksiyonun ilerleyişi İTK ile takip edildi. Ortam soğutuldu, oluşan katı süzüldü, soğuk EtOH ve su ile yıkandı, ardından açık havada kurutuldu (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %90
Renk	: Açık kahverengi
Erime Noktası	: 197-199°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,85 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 9.50 (bs, 1H, -NH), 8.44 (s, 1H, -CH=N), 7.88 (d, J =2.1 Hz, 1H, Ar-H), 7.60 (dd, J = 2.1 Hz, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.41 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.32 (dd, J = 1.7 Hz, J = 3.3 Hz, 1H, Ar-H), 6.94-6.91 (m, 1H, Ar-H), 6.88 (s, 1H, Ar-H), 6.27 (t, J = 3.4 Hz, 1H, Ar-H), 4.40 (q, J = 7.1 Hz, 2H, -OCH ₂ -), 1.41 (t, J = 7.1 Hz, 3H, -CH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 166.1, 150.4, 148.9, 146.0, 135.4, 135.3, 134.7, 132.7, 131.3, 130.6, 130.1, 127.9, 127.7, 113.9, 104.9, 63.9, 21.2.
LC-MS/MS [M+H] ⁺ C ₁₇ H ₁₅ Cl ₂ N ₄ O ₂ S	: Hesaplanan; m/z: 409.0293; Bulunan; m/z: 409.0305.

4.1.9 (3-kloro-4-florofenil)tiayzol-2-il)hidraziniliden)metil)-1*H*-pirol

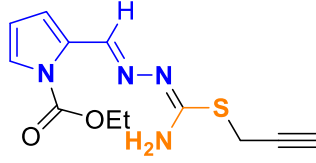


Şekil 4.9 EK-9 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.8’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. EK-5 bileşiği (1 mmol) EtOH içinde çözülerek üzerine bromo 4-floro-3-koloro-asetofenon (1.05 mmol) ilave edildi. Karışım, geri soğutucu altında ısıtılarak karıştırıldı ve reaksiyonun ilerleyişi İTK ile takip edildi. Ortam soğutuldu, oluşan katı süzüldü, soğuk EtOH ve su ile yıkandı, ardından açık havada kurutuldu (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %86
Renk	: Kahverengi
Erime Noktası	: 195-196°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
Rf	: 0,84 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.38 (s, 1H, -CH=N), 7.76 (dd, J= 1.4 Hz, J=5.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.58-7.56 (m, 1H, Ar-H), 7.25 (s, 1H, Ar-H), 7.05 (t, J= 8.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.85 (s, 1H, Ar-H), 6.74 (s, 1H, Ar-H), 6.19 (t, J= 3.0 Hz, 1H, Ar-H), 4.33 (q, J= 7.1 Hz, 2H, -OCH ₂ -), 1.34 (t, J= 7.1 Hz, 3H, -CH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ= 167.5, 149.4, 148.0, 134.3, 131.1, 129.2, 127.2, 124.5 (d, J= 7.1 Hz), 122.1, 120.1 (d, J= 18.0 Hz), 115.6 (d, J= 21.5 Hz), 112.9, 111.2, 103.0, 62.8, 13.2.
LC-MS/MS [M+H] ⁺ C ₁₇ H ₁₅ ClFN ₄ O ₂ S	: Hesaplanan; m/z: 393.0588; Bulunan; m/z: 393.0610.

4.1.10 2-(amino(prop-2-in-1-tiyo)metilen)hidraziniliden)metil)-1*H*-pirol

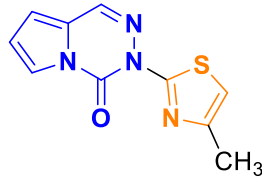


Şekil 4.10 EK-10 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.9’da verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Pirol-2-karbaldehit türevinden tiyosemikarbazon sentezlenip DMF içinde çözüldü. Karışım buz banyosunda soğutulduktan sonra NaH eklendi ve 30 dakika karıştırıldı. Ardından, propargil bromür damla damla eklenerek oda sıcaklığında karıştırıldı. Reaksiyon, İTK ile kontrol edildikten sonra su eklenerek sonlandırıldı. Karışım EtOAc ile ekstrakte edildi, tuzlu su ile yıkanıp MgSO₄ ile kurutuldu. Organik çözücü buharlaştırıldı ve ham ürün, silika jel kolon kromatografisiyle saflaştırıldı.

Verim	: %61
Renk	: Kahverengi
Erime Noktası	: Viskoz sıvı
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,92 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.94 (s, 1H, -CH=N), 7.39 (dd, J= 1.7 Hz, J= 3.3 Hz, 1H, Ar-H), 6.96-6.93 (m, 1H, Ar-), 6.24 (t, = 3.3 Hz, 1H, Ar-), 5.49 (bs, 2H, -NH ₂), 4.44 (q, J= 7.1 Hz, 2H, -CH ₂ -), 3.87 (d, J= 2.7 Hz, 2H, -CH ₂ -), 2.26 (t, J= 2.7 Hz, 1H, -CH), 1.42 (t, J= 7.13 Hz, 3H, -CH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 158.9, 150.4, 148.0, 131.3, 124.0, 114.6, 112.0, 79.4, 71.5, 63.8, 18.4, 14.2.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 279.0916;
C ₁₂ H ₁₅ N ₄ O ₂ S	Bulunan; m/z: 279.0932.

4.1.11 3-(4-metiltiyazol-2-yl)pirolo[1,2-d][1,2,4]triazin-4(3H)-on

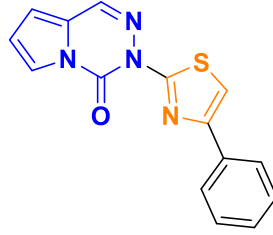


Şekil 4.11 EK-11 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.10'da verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. 1 mmol propargil sübtitüe hidrazon türevi, etanol (5 ml) içinde çözülüp, kapalı bir sistem tüpüne alınarak ısıtıldı ve karıştırıldı. Reaksiyon ilerlemesi ince tabaka kromatografisi ile kontrol edilip, başlangıç bileşiği tamamen ürüne dönüştükten sonra karışım oda sıcaklığına soğutuldu. H₂O (50 mL) eklenerek reaksiyon sonlandırıldı. Karışım, etil asetat (EtOAc) ile ekstrakte edildi, tuzlu su ile yıkandı ve MgSO₄ ile kurutuldu. Organik çözücü rotari evaporatör ile buharlaştırıldı. Elde edilen ham ürün, kolon kromatografisiyle saflaştırıldı.

Verim	: %81
Renk	: Kahverengi
Erime Noktası	: 165-166°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,85 Etilasetat/n-hekzan (1:5) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.32 (s, 1H, Ar-H), 7.91-7.88 (m, 1H, Ar-H), 6.85 (dd, J= 1.3 Hz, J= 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.84-6.80 (m, 2H, Ar-H), 2.50 (d, J= 1.0 Hz, 3H, -CH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 149.2, 134.2, 124.3, 119.2, 119.0, 116.8, 111.9, 111.8, 111.6, 17.6.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 233.0497;
C ₁₀ H ₉ N ₄ OS	Bulunan; m/z: 233.0491.

4.1.12 3-(4-(p-tolil)tiyazol-2-yl)pirolotriazin-4(3H)-on

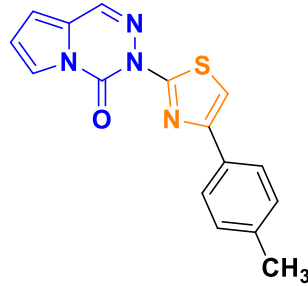


Şekil 4.12 EK-12 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. 3.2.1.5’te elde edilen 1 mmol tiyosemikarbazon türevi, EtOH (10 ml) içinde çözüldü. Reaksiyon çözeltisine oda sıcaklığında bromo asetofenon (1.05 mmol) ilave edilip, geri çeviren soğutucu altında ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve İTK’da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Ortamda oluşan katı parçacıklar süzüldü ve birkaç kez soğuk EtOH (3 ml) ve son olarak su (2 ml) ile yıkandı. Ham katı ürün açık havada kurutuldu ve kolon kromatografisiyle uygun mobil faz kullanılarak silika jel üzerinden saflaştırıldı (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %92
Renk	: Gri
Erime Noktası	: 176-178°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,74 Etilasetat/n-hekzan (1:5) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.35 (d, J= 0.5 Hz, 1H, Ar-H), 7.96-7.93 (m, 2H, Ar-H), 7.92-7.91 (m, 1H, Ar-H), 7.45-7.41 (m, 3H, Ar-H), 7.36-7.32 (m, 1H, Ar-H), 6.87 (dd, J= 1.3 Hz, J= 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.85-6.82 (m, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 156.0, 151.8, 143.6, 134.2, 134.1, 128.6, 128.2, 126.5, 124.3, 119.2, 116.9, 111.7, 111.2.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 295.0654;
C ₁₅ H ₁₁ N ₄ OS	Bulunan; m/z: 295.0648.

4.1.13 3-(4-(p-tolil)tiyazol-2-yl)pirolotriazin-4(3H)-on

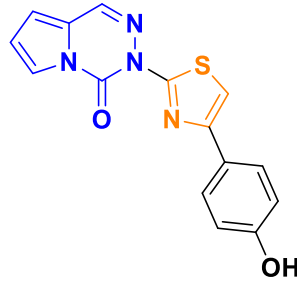


Şekil 4.13 EK-13 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. 3.2.1.5’te elde edilen 1 mmol tiyosemikarbazon türevi, EtOH (10 ml) içinde çözüldü. Reaksiyon çözeltisine oda sıcaklığında 2-Bromo-4’-metilasetofenon (1.05 mmol) ilave edilip, geri çeviren soğutucu altında ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve İTK’da başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüşümü gözlemlendikten sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Ham katı ürün açık havada kurutuldu ve kolon kromatografisiyle uygun mobil faz kullanılarak silika jel üzerinden saflaştırıldı (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %78
Renk	: Koyu gri
Erime Noktası	: 205-206°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,76 Etilasetat/n-hekzan (1:5) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.34 (s, 1H, Ar-H), 7.92-7.88 (m, 1H, Ar-H), 7.86-7.79 (m, AA’BB’ system, 2H, Ar-H), 7.35 (s, 1H, Ar-H), 7.24-7.19 (m, AA’BB’ system, 2H, Ar-H), 6.87-6.81 (m, 2H, Ar-H), 2.37 (s, 3H, Ar-CH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ= 157.8, 151.8, 143.6, 138.1, 134.2, 131.4, 129.3, 126.4, 124.3, 119.1, 116.9, 111.7, 110.4, 21.4.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 309.0810;
C ₁₆ H ₁₃ N ₄ OS	Bulunan; m/z: 309.0805.

4.1.14 3-(4-(4-hidroksifenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on

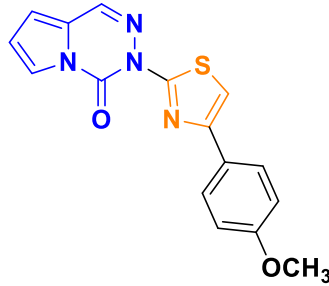


Şekil 4.14 EK-14 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11'de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-4'-hidroksiasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisiyle takip edilmiş, başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün süzülüp soğuk EtOH ve su ile yıkanmış, ardından açık havada kurutulmuş ve kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %65
Renk	: Açık kahverengi
Erime Noktası	: 150-151°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,60 Etilasetat/n-hekzan (1:5) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, <i>d</i> ₆ -DMSO) ppm	: δ = 9.64 (s, 1H, -OH), 8.59 (s, 1H, Ar-H), 7.97-7.93 (m, 1H, Ar-H), 7.80-7.76 (m, AA'BB' system, 2H, Ar-H), 7.74 (s, 1H, Ar-H), 7.00 (dd, J= 1.3 Hz, J= 3.6 Hz, 1H, Ar-H), 6.90 (dd, J= 3.1 Hz, J= 3.6 Hz, 1H, Ar-H), 6.84-6.80 (m, AA'BB' system, 2H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, <i>d</i> ₆ -DMSO) ppm	: δ = 158.2, 157.9, 150.9, 143.7, 134.9, 127.6, 125.8, 125.0, 119.3, 117.2, 115.9, 112.2, 110.4.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 311.0603;
C ₁₅ H ₁₁ N ₄ O ₂ S	Bulunan; m/z: 311.0597.

4.1.15 3-(4-(4-metoksifenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on

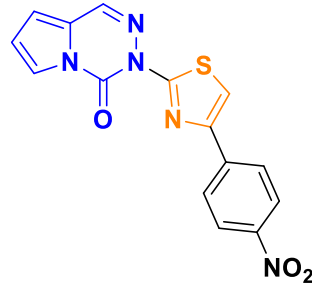


Şekil 4.15 EK-15 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-4’-metoksiasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisiyle takip edilmiş, başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün süzülüp soğuk EtOH ve su ile yıkanmış, ardından açık havada kurutulmuş ve kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %90
Renk	: Gri
Erime Noktası	: 150-152°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,92 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, <i>d</i> ₆ -DMSO) ppm	: δ = 8.59 (s, 1H, Ar-H), 7.97-7.93 (m, 1H, Ar-H), 7.92-7.87 (m, AA’BB’ system, 2H, Ar-H), 7.83 (s, 1H, Ar-H), 7.01-6.98 (m, 3H, Ar-H), 6.90-6.89 (m, 1H, Ar-H), 3.78 (s, 3H, -OCH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, <i>d</i> ₆ -DMSO) ppm	: δ = 164.4, 163.1, 155.3, 148.5, 139.7, 132.4, 132.0, 129.7, 124.1, 121.9, 119.3, 117.0, 115.9, 60.4.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 325.0759;
C ₁₆ H ₁₃ N ₄ O ₂ S	Bulunan; m/z: 325.0753.

4.1.16 3-(4-(4-nitrofenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on

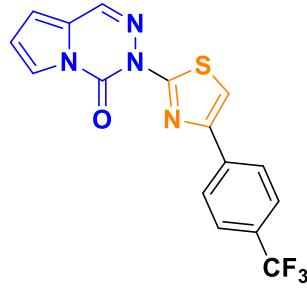


Şekil 4.16 EK-16 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-4’-nitroasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisiyle takip edilmiş, başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün süzülüp soğuk EtOH ve su ile yıkanmış, ardından açık havada kurutulmuş ve kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %70
Renk	: Sarı
Erime Noktası	: 241-242°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,65 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, <i>d</i> ₆ -DMSO) ppm	: δ = 8.64 (bs, 1H, Ar-H), 8.39-8.32 (m, 3H, Ar-H), 8.26-8.24 (m, AA’BB’ system, 2H, Ar-H), 8.01-7.96 (m, 1H, Ar-H), 7.04 (dd, <i>J</i> = 1.3 Hz, <i>J</i> = 3.6 Hz, 1H, Ar-H), 6.95-6.90 (m, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, <i>d</i> ₆ -DMSO) ppm	: δ = 159.1, 148.3, 147.2, 143.9, 140.4, 135.2, 127.2, 125.0, 124.8, 119.6, 117.3, 117.2, 112.5.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 340.0504;
C ₁₅ H ₁₀ N ₅ O ₃ S	Bulunan; m/z: 340.0498.

4.1.17 3-(4-(4-(triflorometil)fenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on

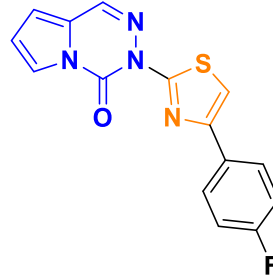


Şekil 4.17 EK-17 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-4'-triflorometilasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Elde edilen ürün kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %95
Renk	: Koyu gri
Erime Noktası	: 203-204°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,85 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.36 (s, 1H, Ar-H), 8.06 (m, AA'BB' system, 2H, Ar-H), 7.94-7.91 (m, 1H, Ar-H), 7.70-7.65 (m, AA'BB' system, 2H, Ar-H), 7.52 (s, 1H, Ar-H), 6.89 (dd, J= 1.3 Hz, J= 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.87-6.83 (m, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ= 158.4, 150.2, 143.6, 137.3, 134.4, 130.1, 126.6, 125.6 (q, J= 3.8 Hz), 124.3, 122.8, 119.3, 117.0, 113.0, 112.0.
LC-MS/MS [M+H] ⁺ C ₁₆ H ₁₀ F ₃ N ₄ OS	: Hesaplanan; m/z: 363.0527; Bulunan; m/z: 363.0521.

4.1.18 3-(4-(4-florofenil)tiyazol-2-yl)p,rolo[1,2-d][1,2,4]triazin-4(3H)-on

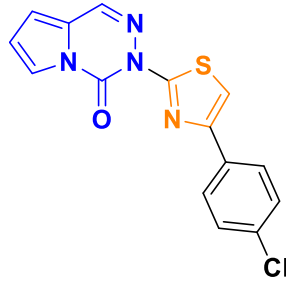


Şekil 4.18 EK-18 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-4’-floroasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisiyle takip edilmiş, başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün süzülüp soğuk EtOH ve su ile yıkanmış, ardından açık havada kurutulmuş ve kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %86
Renk	: Açık gri
Erime Noktası	: 199-200°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,87 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.27 (s, 1H, Ar-H), 7.88-7.82 (m, 3H, Ar-H), 7.27 (s, 1H, Ar-H), 7.07-7.01 (m, 2H, Ar-H), 6.82-6.75 (m, 2H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 162.82 (d, J = 247.4 Hz), 158.1, 150.9, 143.6, 134.3, 130.5, 128.3, 124.4, 119.3, 116.9, 115.7, 115.5, 111.8, 110.9.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 313.0559;
C ₁₆ H ₁₀ FN ₄ OS	Bulunan; m/z: 313.0553.

4.1.19 3-(4-(4-klorofenil)tiyazol-2-il)pirolo[1,2-d][1,2,4]triazin-4(3H)-on

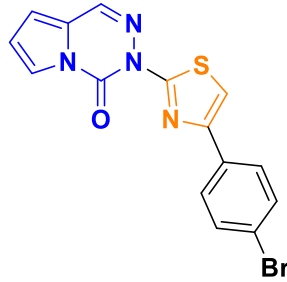


Şekil 4.19 EK-19 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-4’-kloroasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisiyle takip edilmiş, başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün süzülüp soğuk EtOH ve su ile yıkanmış, ardından açık havada kurutulmuş ve kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %93
Renk	: Gri
Erime Noktası	: 178-181°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,80 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.34 (d, J= 0.5 Hz, 1H, Ar-H), 7.91-7.90 (m, 1H, Ar-H), 7.90-7.86 (m, AA’BB’ system, 2H, Ar-H), 7.40-7.37 (m, 3H, Ar-H), 6.87 (dd, J= 1.3 Hz, J= 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.85-6.82 (m, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 158.2, 150.6, 134.3, 134.0, 132.6, 129.7, 128.8, 127.7, 124.3, 119.2, 116.9, 111.9, 111.5.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 329.0264;
C ₁₅ H ₁₀ ClN ₄ OS	Bulunan; m/z: 329.0258.

4.1.20 3-(4-(4-bromofenil)tiyazol-2-il)pirolo[1,2-d][1,2,4]triazin-4(3H)-on

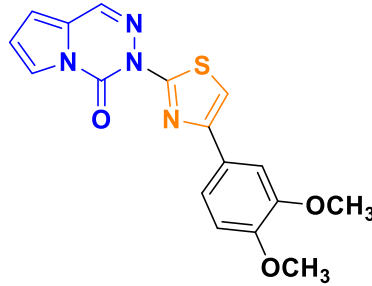


Şekil 4.20 EK-20 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-4’-bromoasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisiyle takip edilmiş, başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %88
Renk	: Kahverengi
Erime Noktası	: 207-208°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,78 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.62 (d, J= 0.6 Hz, 1H, Ar-H), 8.08 (s, 1H, Ar-H), 7.97 (ddd, J= 0.6 Hz, J= 1.3 Hz, J= 3.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.96-7.92 (m, AA’BB’ system, 2H, Ar-H), 7.68-7.64 (m, AA’BB’ system, 2H, Ar-H), 7.03 (dd, J= 1.3 Hz, J= 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.92 (d, J= 3.0 Hz, J= 3.7 Hz, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ= 158.7, 149.4, 143.8, 135.0, 133.7, 132.2, 128.3, 125.0, 121.7, 119.5, 117.3, 113.8, 112.4.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 372.9759;
C ₁₅ H ₁₀ BrN ₄ OS	Bulunan; m/z: 372.9753.

4.1.21 3-(4-(3,4-dimetoksifenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on

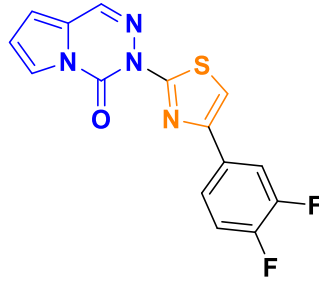


Şekil 4.21 EK-21 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-3’,4’-dimetoksiasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisiyle takip edilmiş, başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %71
Renk	: Gri
Erime Noktası	: 217-218°C.
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,55 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.33 (d, J=0.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.94-7.88 (m, 1H, Ar-H), 7.52-7.45 (m, 2H, Ar-H), 7.30 (s, 1H, Ar-H), 6.92 (d, J= 8.3 Hz, 1H, Ar-H), 6.87 (dd, J= 1.3 Hz, J= 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.84 (dd, J= 3.0 Hz, J= 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 3.99 (s, 3H, -OCH ₃), 3.93 (s, 3H, -OCH ₃).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ= 157.9, 151.8, 149.3, 149.0, 143.6, 134.1, 127.5, 124.4, 119.2, 119.1, 116.9, 111.7, 111.2, 110.0, 109.8, 56.0, 55.9.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 355.0865;
C ₁₇ H ₁₅ N ₄ O ₃ S	Bulunan; m/z: 355.0859.

4.1.22 3-(4-(3,4-diflorofenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on

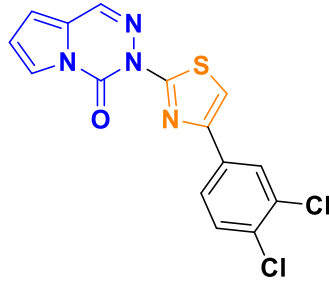


Şekil 4.22 EK-22 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-3’,4’-floroasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Elde edilen ham ürün kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır.

Verim	: %79
Renk	: Koyu kahverengi
Erime Noktası	: 193-194°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,77 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.34 (s, 1H, Ar-H), 7.93-7.86 (m, 1H, Ar-H), 7.82-7.73 (m, 1H, Ar-H), 7.69-7.61 (m, 1H, Ar-H), 7.35 (s, 1H, Ar-H), 7.20 (dt, J = 8.3 Hz, J = 10.1 Hz, 1H, Ar-H), 6.88 (dd, J = 1.3 Hz, J = 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.85-6.82 (m, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 158.3, 151.7 (dd, J = 12.4 Hz, J = 17.0 Hz), 149.7, 149.2 (dd, J =12.4 Hz, J = 17.0 Hz), 143.6, 134.4, 131.4, (dd, J = 3.7 Hz, J = 6.3 Hz), 124.3, 122.4 (dd, J =3.7 Hz, J = 6.3 Hz), 119.3, 117.5 (d, J = 17.0 Hz), 117.0, 115.6 (d, J = 17.0 Hz), 111.9, 111.7.
LC-MS/MS [M+H] ⁺ C ₁₅ H ₉ F ₂ N ₄ OS	: Hesaplanan; m/z: 331.0465; Bulunan; m/z: 331.0459.

4.1.23 3-(4-(3,4-diklorofenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on

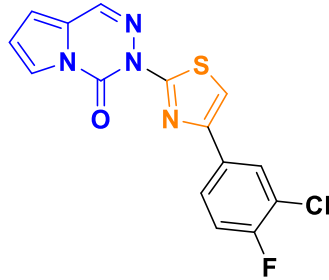


Şekil 4.23 EK-23 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-3’,4’-kloroasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisiyle takip edilmiş, başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %89
Renk	: Gri
Erime Noktası	: 200-201°C.
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,81 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.34 (s, 1H, Ar-H), 8.04 (d, J= 2.1 Hz, 1H, Ar-H), 7.91-7.88 (m, 1H, Ar-H), 7.75 (dd, J= 2.1 Hz, J= 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.46 (d, J= 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.41 (s, 1H, Ar-H), 6.88 (dd, J= 1.3 Hz, J= 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.85-6.81 (m, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ= 158.3, 149.3, 143.6, 134.4, 134.0, 132.9, 132.0, 130.4, 128.2, 125.4, 124.2, 119.2, 117.0, 112.5, 112.0.
LC-MS/MS [M+H] ⁺ C ₁₅ H ₉ Cl ₂ N ₄ OS	: Hesaplanan; m/z: 362.9874; Bulunan; m/z: 362.9868.

4.1.24 3-(4-(3-kloro-4-florofenyl)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on

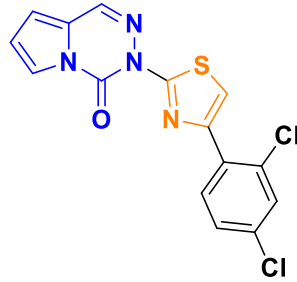


Şekil 4.24 EK-24 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-3’-kloro-4’-floroasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun tamamlandıktan sonra elde edilen katı ürün kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %91
Renk	: Açık yeşil
Erime Noktası	: 183-184°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,83 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.27 (bs, 1H, Ar-H), 7.93 (dd, J = 2.2 Hz, J = 7.1 Hz, 1H, Ar-H), 7.86-7.79 (m, 1H, Ar-H), 7.75-7.66 (m, 1H, Ar-H), 7.29 (s, 1H, Ar-H), 7.10 (t, J = 8.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.83-6.75 (m, 2H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 158.3, 158.0 (d, J = 250.1), 149.5, 143.6, 134.4, 131.5 (d, J = 4.0 Hz), 128.7, 126.2 (d, J = 7.3 Hz), 124.3, 121.4 (d, J = 18.1 Hz), 119.3, 117.0, 116.7 (d, J = 21.3 Hz), 112.0, 111.7.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 347.0170;
C ₁₅ H ₉ ClFN ₄ OS	Bulunan; m/z: 347.0164.

4.1.25 3-(4-(2,4-diklorofenil)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on

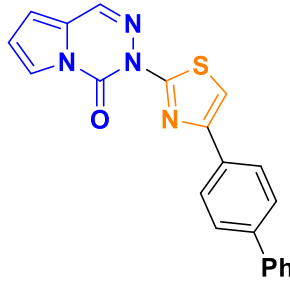


Şekil 4.25 EK-25 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-2’,4’-kloroasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır.

Verim	: %85
Renk	: Beyaz
Erime Noktası	: 181-182°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,82 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.26 (bs, 1H, Ar-H), 7.88 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.85 (ddd, J = 0.6 Hz, J = 1.3 Hz, J = 3.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.67 (s, 1H, Ar-H), 7.41 (d, J = 2.1 Hz, 1H, Ar-H), 7.26 (dd, J = 2.1 Hz, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.81 (dd, J = 1.3 Hz, J = 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.77 (dd, J = 3.0 Hz, J = 3.7 Hz, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 152.4, 142.3, 138.9, 129.6, 129.4, 127.9, 127.8, 126.9, 125.3, 122.6, 119.6, 114.5, 112.2, 112.0, 107.2.
LC-MS/MS [M+H] ⁺ C ₁₅ H ₉ Cl ₂ N ₄ OS	: Hesaplanan; m/z: 362.9874; Bulunan; m/z: 362.9869.

4.1.26 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-yl)tiyazol-2-yl)pirolotriazin-4(3H)-on

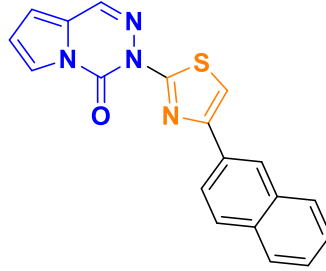


Şekil 4.26 EK-26 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11'de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-Bromo-4'-fenilasetofenon (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyon sonrası elde edilen ürün kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır.

Verim	: %95
Renk	: Açık kahverengi
Erime Noktası	: 226-228°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,88 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.62 (d, J= 0.6 Hz, 1H, Ar-H), 8.09-8.05 (m, 3H, Ar-H), 7.98-7.96 (m, 1H, Ar-H), 7.78-7.75 (m, AA'BB' system, 2H, Ar-H), 7.74-7.70 (m, AA'BB' system, 2H, Ar-H), 7.50-7.45 (m, 2H, Ar-H), 7.39-7.35 (m, 1H, Ar-H), 7.02 (dd, J= 1.3 Hz, J= 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.91 (dd, J= 3.0 Hz, J= 3.7 Hz, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ= 158.6, 150.2, 143.8, 140.1, 140.0, 135.0, 133.5, 129.4, 128.0, 127.5, 127.0, 126.9, 125.0, 119.4, 117.2, 113.2, 112.3.
LC-MS/MS [M+H] ⁺ C ₂₁ H ₁₅ N ₄ OS	: Hesaplanan; m/z: 371.0967; Bulunan; m/z: 371.0961.

4.1.27 3-(4-(naftalen-2-il)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on

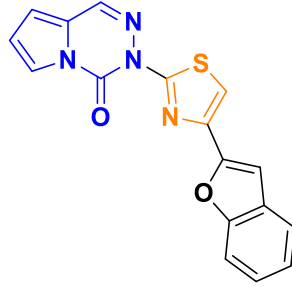


Şekil 4.27 EK-27 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11’de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek naftaçil bromür (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisiyle takip edilmiş, başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %96
Renk	: Açık gri
Erime Noktası	: 214-215°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,71 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.53-8.50 (m, 1H, Ar-H), 8.40-8.38 (m, 1H, Ar-H), 8.00 (dd, J = 1.8 Hz, J = 8.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.96-7.92 (m, 2H, Ar-H), 7.89 (d, J = 8.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.86-7.82 (m, 1H, Ar-H), 7.54 (s, 1H, Ar-H), 7.51-7.46 (m, 2H, Ar-H), 6.89 (dd, J = 1.3 Hz, J = 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.86-6.83 (m, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 158.1, 151.7, 143.7, 134.3, 133.5, 133.2, 131.4, 128.5, 128.3, 127.7, 126.3, 126.1, 125.6, 124.3, 124.2, 119.2, 116.9, 111.8, 111.7.
LC-MS/MS [M+H] ⁺ C ₁₉ H ₁₃ N ₄ OS	: Hesaplanan; m/z: 345.0810; Bulunan; m/z: 345.0804.

4.1.28 3-(4-(benzofuran-2-il)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on

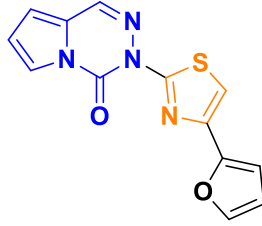


Şekil 4.28 EK-28 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11'de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-(bromoasetil)benzofuran (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisiyle takip edilmiş, başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün süzülüp soğuk EtOH ve su ile yıkanmış, ardından açık havada kurutulmuş ve kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %81
Renk	: Koyu kahverengi
Erime Noktası	: 231-232°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,85 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.36 (s, 1H, Ar-H), 7.92 (d, J = 2.3 Hz, 1H, Ar-H), 7.67-7.58 (m, 2H, Ar-H), 7.52 (d, J = 8.1 Hz, 1H, Ar-H), 7.30-7.22 (m, 3H, Ar-H), 6.93-6.80 (m, 2H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 158.6, 154.9, 151.3, 143.6, 143.2, 134.4, 128.9, 124.7, 124.3, 123.1, 121.5, 119.3, 117.0, 113.1, 112.0, 111.2, 103.9.
LC-MS/MS [M+H] ⁺ C ₁₇ H ₁₁ N ₄ O ₂ S	: Hesaplanan; m/z: 335.0603; Bulunan; m/z: 335.0597.

4.1.29 3-(4-(furan-2-il)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on

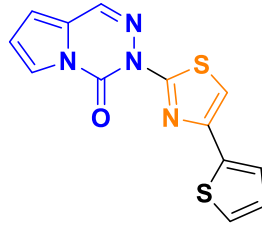


Şekil 4.29 EK-29 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11'de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-(bromoasetil)furan (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisiyle takip edilmiş, başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %77
Renk	: Beyaz
Erime Noktası	: 236-237°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,90 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.27 (d, J = 0.5 Hz, 1H, Ar-H), 7.84 (ddd, J = 0.7 Hz, J = 1.3 Hz, J = 3.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.39 (dd, J = 0.7 Hz, J = 1.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.29 (s, 1H, Ar-H), 6.84 (dd, J = 0.5 Hz, J = 3.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.80 (dd, J = 1.3 Hz, J = 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.77 (dd, J = 3.0 Hz, J = 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.42 (d, J = 1.8 Hz, J = 3.4 Hz, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 158.3, 149.8, 143.6, 143.5, 142.3, 134.3, 124.3, 119.3, 116.9, 111.9, 111.5, 110.4, 107.5.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 285.0446;
C ₁₃ H ₉ N ₄ O ₂ S	Bulunan; m/z: 285.0440.

4.1.30 3-(4-(tiyofen-2-il)tiyazol-2-il)pirolotriazin-4(3H)-on



Şekil 4.30 EK-30 bileşiğinin molekül yapısı

Sentez Yöntemi 3.2.1.11'de verilen reaksiyon prosedürü uygulanarak elde edilmiştir. Tiyosemikarbazon türevi (1 mmol), EtOH (10 ml) içinde çözülerek 2-(bromoasetil)tiyofen (1.05 mmol) ile karıştırılmış ve geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerlemesi ince tabaka kromatografisiyle takip edilmiş, başlangıç bileşiğinin tamamen ürüne dönüştüğü gözlemlendikten sonra karışım soğutulmuştur. Elde edilen katı ürün süzülüp soğuk EtOH ve su ile yıkanmış, ardından açık havada kurutulmuş ve kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır (Kuzu vd., 2023).

Verim	: %90
Renk	: Koyu kahverengi
Erime Noktası	: 211-213°C
Çözücü	: Metanol, Kloroform, Etil asetat
R _f	: 0,89 Etilasetat/n-hekzan (1:3) ve UV aktif
¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 8.34 (d, <i>J</i> = 0.5 Hz, 1H, Ar-H), 7.91-7.89 (m, 1H, Ar-H), 7.52 (dd, <i>J</i> = 1.2 Hz, <i>J</i> = 3.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.29 (dd, <i>J</i> = 1.2 Hz, <i>J</i> = 5.1 Hz, 1H, Ar-H), 7.26 (s, 1H, Ar-H), 7.07 (dd, <i>J</i> = 3.6 Hz, <i>J</i> = 5.1 Hz, 1H, Ar-H), 6.87 (dd, <i>J</i> = 1.3 Hz, <i>J</i> = 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.84-6.82 (m, 1H, Ar-H).
¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl ₃) ppm	: δ = 158.0, 146.4, 138.0, 134.3, 127.7, 125.3, 124.7, 124.3, 119.2, 116.9, 111.8, 110.2, 110.1.
LC-MS/MS [M+H] ⁺	: Hesaplanan; m/z: 301.0218;
C ₁₃ H ₉ N ₄ OS ₂	Bulunan; m/z: 301.0212.

4.2 Biyolojik Aktivite Bulguları

4.2.1 Sitotoksikite Bulguları

Yeni sentezlenen tüm tiyazol içeren pirolotriazinon türevlerinin antiproliferatif etkileri, MCF-7, A549 ve HepG2 kanser hücre hatlarının yanı sıra sağlıklı bir hücre hattı olan NIH/3T3 üzerinde MTT testi kullanılarak değerlendirildi. IC₅₀ değerleri, GraphPad programında uygulanan log (inhibitör) - normalize yanıt-değişken eğimi arasındaki doğrultuda doğrusal olmayan regresyon algoritması kullanılarak belirlendi [$Y = 100 / (1 + 10^{(X - \text{LogIC}_{50})})$], burada X inhibitör konsantrasyonunun logaritmasını, Y ise yanıtı temsil etmektedir]. Sonuçlar Çizelge 4.1’de sunulmuştur.

Çizelge 4.1 Bileşiklerin kanserli ve sağlıklı hücrelere karşı IC₅₀ değerleri

Bileşik	MCF-7	A549	HepG2	NIH/3T3
EK-11	182.18±0.26	195.72±1.63	138.95±0.41	183.7 ± 0.5
EK-12	165.12±1.13	127.06±0.42	153.27±0.16	159.2± 0.2
EK-13	140.59±0.57	169.02±1.05	168.01±0.73	142.1± 1.2
EK-14	129.71±0.69	108.9±0.84	141.18±0.29	143.3± 1.0
EK-15	117.23±1.18	109.15±1.04	129.28±0.93	157.4± 0.9
EK-16	79.19±0.61	109.17±1.94	102.61±1.22	164.4± 0.8
EK-17	61.76±1.42	79.51±1.13	52.83±0.79	148.8± 0.4
EK-18	39.81±0.54	44.54±0.51	69.74±1.26	196.2± 1.6
EK-19	11.19±0.12	39.16±1.41	10.23±0.95	106.4± 0.8
EK-20	55.63±1.05	71.19±0.74	51.85±0.23	93.4±0.7
EK-21	15.21±0.183	43.26±1.09	17.19±0.81	83.44± 0.15
EK-22	33.19±0.49	45.23±0.41	25.29±1.06	156.61± 0.5
EK-23	8.1±0.17	38.7±0.40	7.21±0.58	109.81± 0.6
EK-24	14.2±0.42	25.16±0.39	15.09±0.61	139.19± 0.2
EK-25	9.23±1.09	37.21±1.15	6.18±0.63	105.42± 0.3
EK-26	63.17±0.35	78.23±0.05	44.8±1.06	176.27± 0.4

Çizelge 4.1 Bileşiklerin kanserli ve sağlıklı hücelere karşı IC₅₀ değeri (devam)

Bileşik	MCF-7	A549	HepG2	NIH/3T3
EK-27	161.16±1.05	140.17±1.25	132.17±0.63	166.21±0.32
EK-28	129.15±0.91	134.39±0.67	107.15±1.31	203.17± 1.4
EK-29	91.15±1.06	104.04±0.57	103.26±0.43	174.03± 1.1
EK-30	83.71±0.81	121.16±0.26	101.72±1.16	203.26±1.1

Ayrıca, seçicilik indeksleri (SI: sağlıklı hücelerin IC₅₀ değeri / kanser hücelerinin IC₅₀ değeri) hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4.2 Bileşiklerin ilgili hücelere karşı seçicilik indeksleri

Bileşik	MCF-7	A549	HepG2
EK-11	1.01	0.94	1.32
EK-12	0.96	1.25	1.04
EK-13	1.01	0.84	0.85
EK-14	1.10	1.32	1.02
EK-15	1.34	1.44	1.22
EK-16	2.08	1.51	1.60
EK-17	2.41	1.87	2.82
EK-18	4.93	4.41	2.81
EK-19	9.51	2.72	10.40
EK-20	1.68	1.31	1.80
EK-21	5.49	2.85	4.85
EK-22	4.72	3.46	6.19
EK-23	13.60	2.84	15.20
EK-24	8.59	5.53	9.22
EK-25	10.30	2.83	14.01
EK-26	2.79	2.25	3.93
EK-27	1.03	1.19	1.26

Çizelge 4.2 Bileşiklerin ilgili hücrelere karşı seçicilik indeksleri (devam)

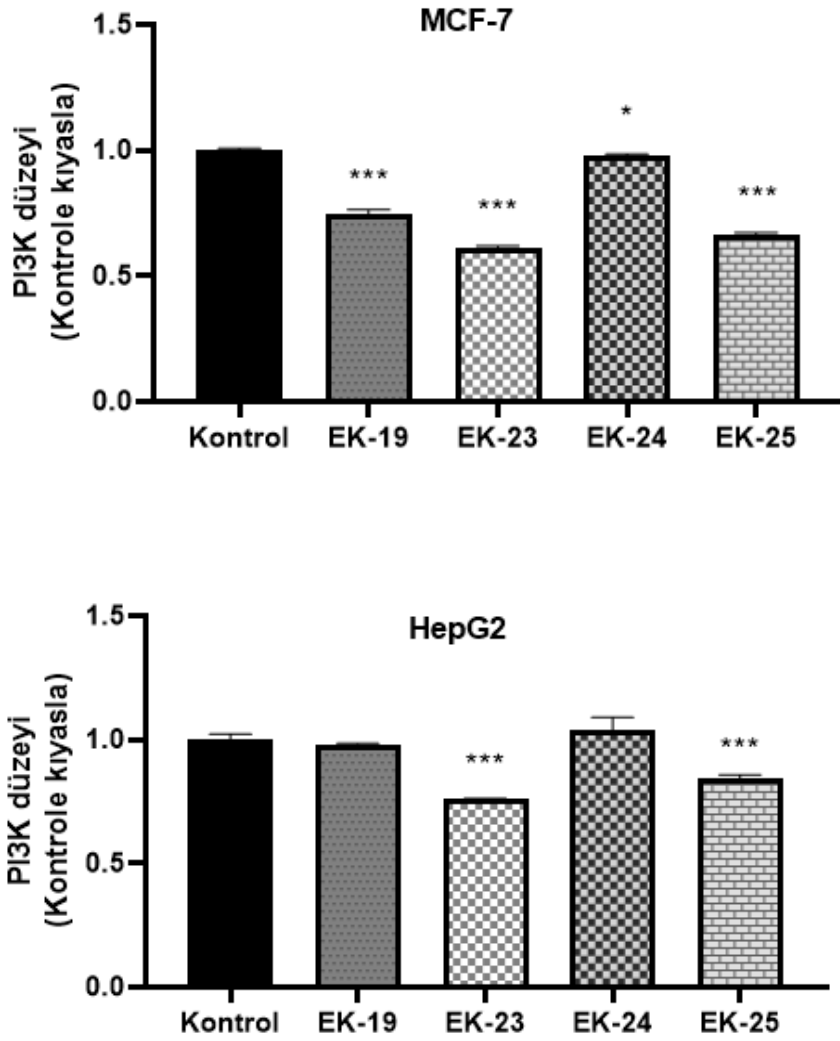
Bileşik	MCF-7	A549	HepG2
EK-28	1.57	1.51	1.90
EK-29	1.91	1.67	1.69
EK-30	2.43	1.68	2.00

4.2.2 PI3K Protein Seviyesi Bulguları

Bileşik EK-19, EK-23, EK-24 ve EK-25'in hücrelerdeki etkilerini değerlendirmek amacıyla, her bir bileşiğin IC₅₀ konsantrasyonları ile muamele edilen hücrelerde PI3K protein düzeyleri incelenmiştir. Bu analiz, ilgili bileşiklerin PI3K sinyal yolları üzerindeki potansiyel baskılayıcı etkilerini ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

MCF-7 meme kanseri hücrelerinde, tüm bileşiklerin uygulaması sonrasında PI3K protein düzeylerinde anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla, dört bileşiğin tamamı PI3K düzeylerini kayda değer şekilde düşürmüş ve bu durum Şekil 8A'da açıkça gösterilmiştir. Bu sonuç, söz konusu bileşiklerin MCF-7 hücrelerinde PI3K yolunu inhibe etme potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Öte yandan, HepG2 karaciğer kanseri hücre hattında yapılan analizlerde, PI3K protein düzeylerinde yalnızca bileşik EK-23 ve EK-25'in anlamlı bir düşüşe yol açtığı belirlenmiştir. Bileşik EK-19 ve EK-24'ün ise PI3K üzerinde belirgin bir etkisi gözlemlenmemiştir. Bu bulgular Şekil 4.31'de detaylı olarak sunulmuştur. Sonuçlar, bileşiklerin hücre tipine özgü etkiler gösterebildiğini ve özellikle bileşik EK-23 ve EK-25'in HepG2 hücrelerinde PI3K sinyal yolunu etkili şekilde baskılayabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.31 MCF-7 (A) ve HepG2 (B) hücrelerinde PI3K protein düzeyleri

4.3 Moleküler Doking Bulguları

Moleküler yerleştirme (docking) çalışmaları, MCF-7 ve HepG2 kanser hücrelerinde PI3K düzeylerine karşı etkinlikleri test edilen bileşik EK-19, EK-23, EK-24 ve EK-25'in bağlanma afinitesi ve bağlanma biçimini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda, PI3K kristal yapısında yardımcı ligand (coligand) olarak tanımlanmış ve pirolotriazinon iskelesi içeren, oral yoldan alınabilir bir PI3K inhibitörü olan LASW1579 referans olarak kullanılmıştır. LASW1579, moleküler

yerleştirme analizlerinde aktif bölgenin belirlenmesine yardımcı olmuş ve test edilen bileşiklerle karşılaştırma amacıyla kontrol olarak görev yapmıştır.

Bileşik EK-19, EK-23, EK-24 ve EK-25'in PI3K ile olan moleküler yerleştirme çalışmaları AutoDock 4.2 yazılımı kullanılarak, coligand'ın bağlandığı aktif bölge hedef alınarak yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3'te özetlenmiştir.

Çizelge 4.3 Bileşiklerin PI3K'ya karşı doking skorları

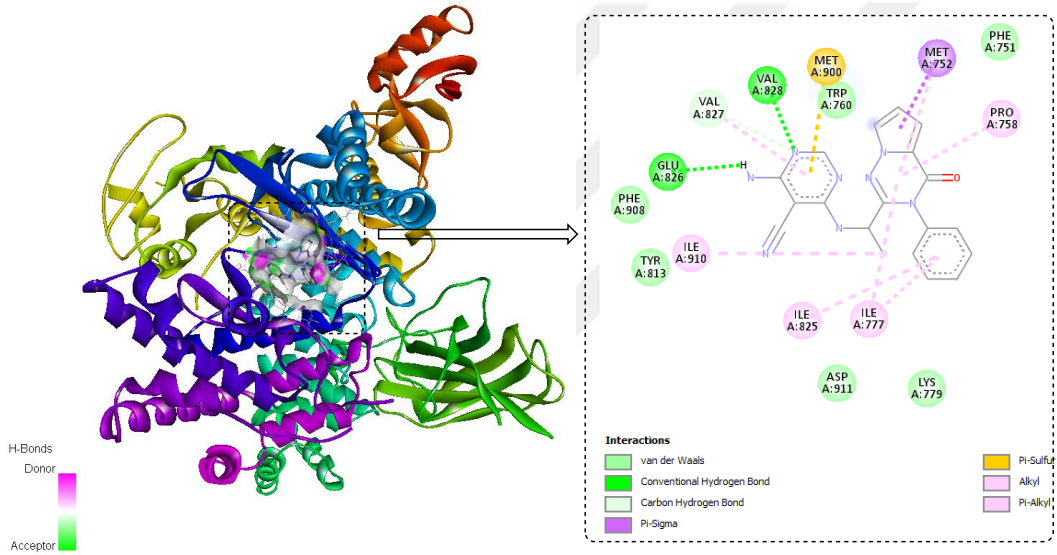
Bileşik	Cluster RMSD (Å)	Bağlanma (kcal/mol)	İnhibisyon (µM)
EK-19	0.64	-7.98	1.41
EK-23	0.70	-8.53	0.56
EK-24	0.57	-8.05	1.25
EK-25	0.35	-8.30	0.83
LASW1579	0.65	-8.01	1.37

Moleküler yerleştirme analizlerinde, bileşiklerin PI3K'nın hedef aktif bölgesine bağlanmasını doğrulamak için Küme kök ortalama kare sapma (Cluster RMSD) değeri hesaplanmıştır. Yerleştirme sonuçlarının geçerli sayılabilmesi için RMSD değerinin 0–2 Å aralığında olması gerekmektedir ve bu çalışmada test edilen tüm bileşikler için hesaplanan RMSD değerlerinin bu kabul edilebilir aralık içinde olduğu belirlenmiştir.

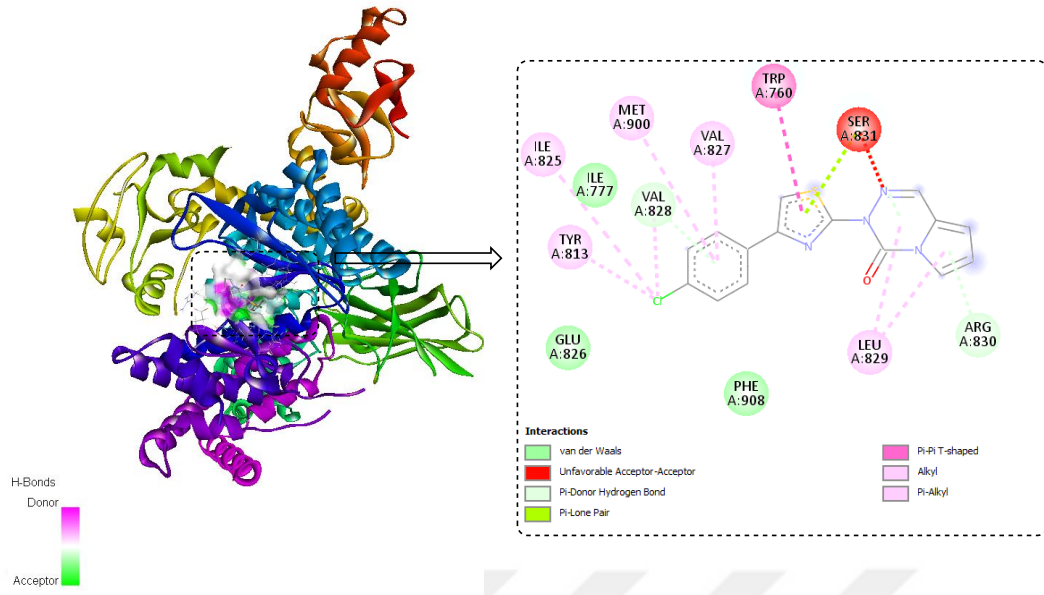
PI3K'nın aktif bölgesine bağlanma açısından değerlendirildiğinde, bileşik EK-19 (-7,98 kcal/mol) ve bileşik EK-24 (-8,05 kcal/mol) bağlanma afinitesi bakımından referans yapı LASW1579 (-8,01 kcal/mol) ile benzerlik göstermiştir. Öte yandan, bileşik EK-23 (-8,53 kcal/mol) ve bileşik EK-25 (-8,30 kcal/mol), daha yüksek bağlanma afinitesi sergileyerek, bu bileşiklerin *in vitro* deneylerde kanser hücrelerinde gözlenen PI3K protein düzeylerini düşürme etkileriyle uyumlu sonuçlar vermiştir.

Referans bileşik LASW1579, PI3K aktif bölgesinde Met752, Pro758, Ile777, Ile825, Glu826, Val827, Val828, Met900 ve Ile910 gibi birçok amino asit kalıntısı ile etkileşim göstermiştir. Test edilen bileşikler arasında, bileşik EK-24 yalnızca iki ortak kalıntı (Val287 ve Val828) ile etkileşim göstermiş olup, *in vitro* ortamda PI3K düzeyleri üzerinde anlamlı bir etki ortaya koymamıştır.

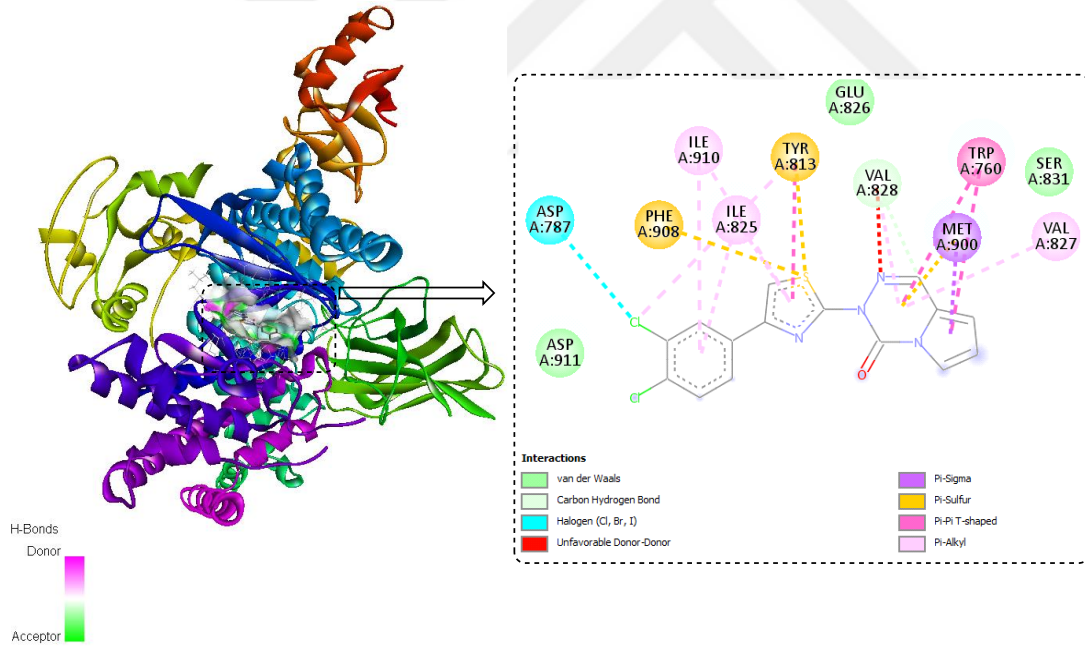
Buna karşın, bileşik EK-19; referans bileşik ile ortak olan Ile825, Val827 ve Met900 kalıntılarıyla etkileşim göstermiştir. Bu bileşik, HepG2 hücre hattında PI3K düzeylerinde değişiklik oluşturmazken, MCF-7 hücre hattında PI3K düzeylerini azaltmıştır. Bileşik EK-25, Met752, Pro758, Ile825, Val828 ve Ile910 kalıntılarıyla etkileşim göstererek, her iki kanser hücre hattında da PI3K düzeylerini düşürmüştür. Son olarak, in vitro testlerde en güçlü inhibitör aktiviteyi gösteren bileşik EK-23, referans bileşik LASW1579 ile benzer şekilde PI3K'nın aktif bölgesine uyumlu şekilde yerleşmiş ve Ile825, Val827, Val828, Met900 ve Ile910 kalıntıları ile etkileşime geçmiştir (Şekil 4.32, Şekil 4.33, Şekil 4.34, Şekil 4.35, Şekil 4.36).



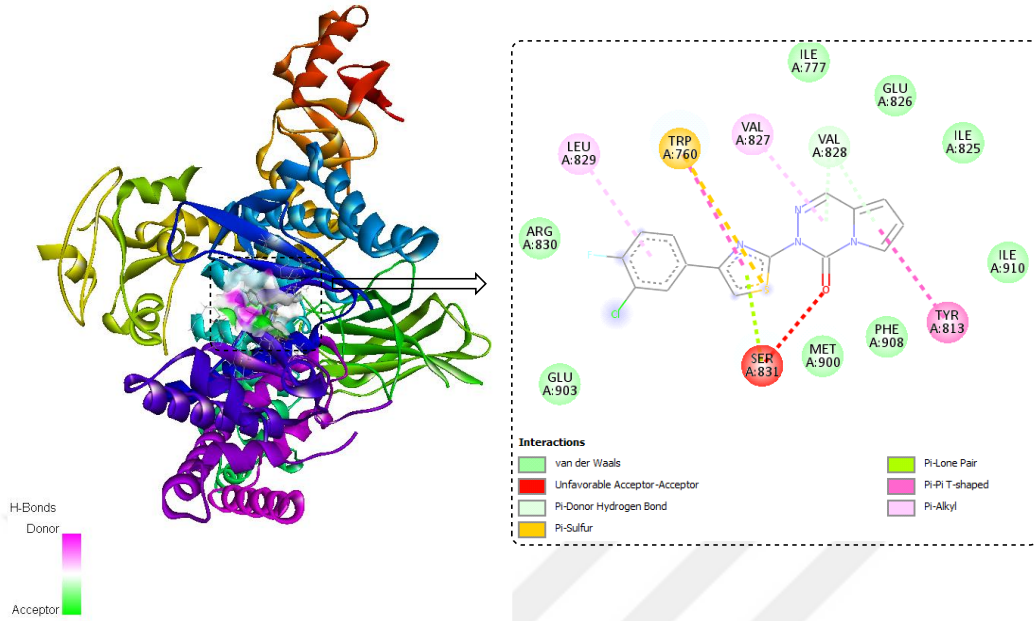
Şekil 4.32 Bileşik LASW1579 ile PI3K'nın 3D ve 2D ligand-protein etkileşimleri



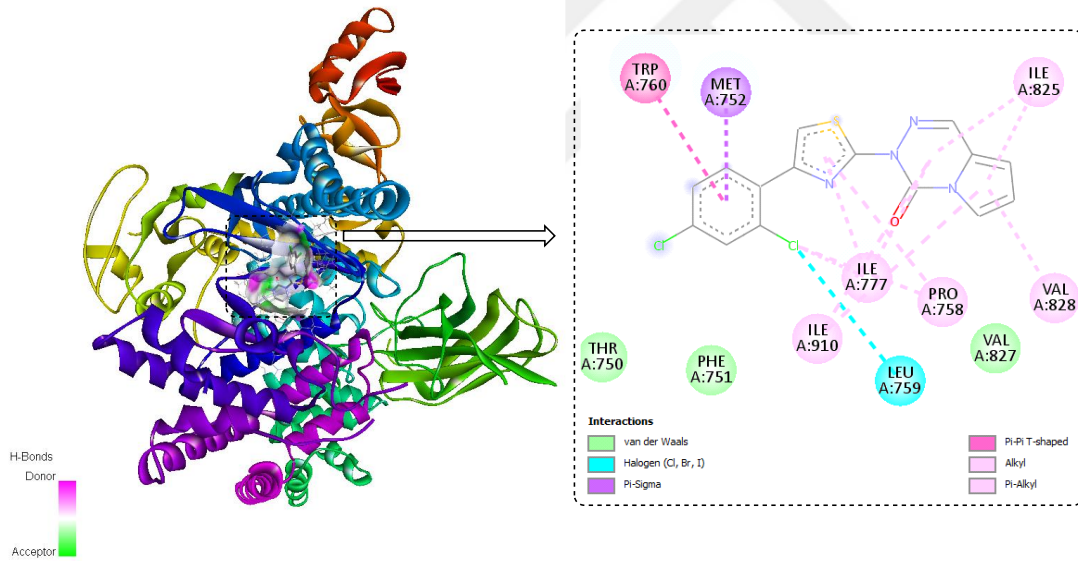
Şekil 4.33 Bileşik EK-19 ile PI3K'nın 3D ve 2D ligand-protein etkileşimleri



Şekil 4.34 Bileşik EK-23 ile PI3K'nın 3D ve 2D ligand-protein etkileşimleri



Şekil 4.35 Bileşik EK-24 ile PI3K'nın 3D ve 2D ligand-protein etkileşimleri



Şekil 4.36 Bileşik EK-25 ile PI3K'nın 3D ve 2D ligand-protein etkileşimleri

4.4 Pre-ADMET Hesaplamaları

İlaç geliştirme sürecinde in silico araçlarla ADMET (emilim, dağılım, metabolizma, atılım ve toksisite) özelliklerinin öngörülmesi önemli bir katkı sağlamaktadır. Bu nedenle, ilaç benzerliği (Lipinski'nin beşli kuralına göre) ve seçilmiş

bazı ADMET parametreleri, sırasıyla SwissADME ve Deep-PK araçları kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'te sunulmuştur.

Çizelge 4.4 Bileşiklerin bazı ADMET profilleri

ADMET	21	25	26	27
HIA	0.998	0.999	0.998	0.999
PPB (%)	96.13	99.45	96.1	99.87
Metabolizma	0.986	0.978	0.96	0.97
Klerans	6.66	5.82	5.59	5.68
Böbrek hasarı	Toxic (0.764)	Toxic (0.705)	Toxic (0.723)	Toxic (0.696)
hERG blokajı	Safe (0.034)	Safe (0.078)	Safe (0.076)	Safe (0.084)
Karsinojenlik	Safe (0.334)	Safe (0.327)	Safe (0.313)	Safe (0.326)

Yapılan analiz, dört bileşiğin de Lipinski'nin beşli kuralı ile uyumlu olduğunu ve insan bağırsaklarından emilebildiğini (HIA: Human Intestinal Absorption) ortaya koymuştur. Emilim oranı %30'un altında olan moleküller zayıf emilimli olarak kabul edilirken, bu bileşiklerin tümü yüksek emilim kapasitesine sahiptir.

Ayrıca, bu bileşiklerin plazma proteinlerine bağlanma oranları (PPB) oldukça yüksektir ve %96.1 ile %99.87 arasında değişmektedir. Bu durum, bileşiklerin büyük oranda plazma proteinlerine bağlı olarak dolaşımda bulunduğunu göstermektedir.

Tüm bileşiklerin CYP1A2 enzimini inhibe etme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir; bu da ilaç-ilaç etkileşimleri açısından dikkate alınması gereken bir durumdur.

Atılım (klirens) açısından değerlendirildiğinde, tahmin edilen değerler orta ila yüksek düzeyde klirens göstermektedir. En yüksek klirens değerine sahip olan bileşik EK-19 (6.66 Log mL/dk/kg) ile muhtemelen daha hızlı elimine edilmekte ve terapötik düzeylerin korunabilmesi için daha sık dozlama veya özel formülasyonlara ihtiyaç duyulabilir. Buna karşılık, bileşik EK-24, en düşük klirens değerine (5.59 Log mL/dk/kg) sahip olup, daha uzun bir yarı ömre ve birikme riskine sahip olabilir. Öngörülen toksisite analizleri, dört bileşiğin de karaciğere karşı orta derecede toksik olduğunu, ancak kardiyotoksisite (hERG bloklayıcıları) ve kanserojenite açısından güvenli olduklarını ortaya koymuştur.

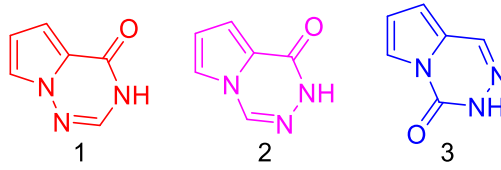


5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İlaç keşfi sürecinde, küçük moleküllerin tasarımı ve sentezi ile bu bileşiklerin farmakolojik aktivitelerinin araştırılması, yeni ilaç adaylarının geliştirilmesinde ilk adımları oluşturmaktadır (Beck vd., 2022; Maurer vd., 2022). Moleküler ağırlığı 500 g/mol'nin altında olan ilaç benzeri küçük moleküllerin terapötik amaçlarla geliştirilmesi, yakın gelecekte önemli bir artış gösterecektir (Reymond vd., 2010). Ancak, farmakolojik olarak aktif moleküllerden oluşan kimyasal kütüphaneler büyümesine rağmen, bu kütüphanelere yeni bileşiklerin eklenmesi bazı sentetik zorluklar, karmaşık katalizörler, pahalı reaktörler ve düşük verimlilik gibi engellerle karşılaşmaktadır (Raker ve Towns, 2012).

Son yıllarda, fragment temelli yaklaşımlar kullanılarak geliştirilen yeni heterosiklik bileşiklerin DNA, RNA veya protein hedeflerine yönelik tatmin edici sonuçlar vermesi, bu alana olan ilgiyi artırmıştır (Li, 2020; Kuzu vd., 2024). Özellikle azot içeren heterosiklik türevlerinin, oksijen bazlı heterosiklik bileşiklere kıyasla daha geniş farmakolojik aktiviteler göstermesi ve iyileştirilmiş suda çözünürlük özellikleri sunması, bu bileşiklerin ilaç keşfi için oldukça uygun hale gelmesini sağlamaktadır (Vitaku vd., 2014). Ancak, azot bazlı heterosiklik bileşiklerin sentezi ve biyolojik aktiviteleri konusunda yapılmış pek çok araştırmaya rağmen, hâlâ bazı sentetik zorluklar ve biyolojik etkinlikler üzerine yetersiz temsil edilen alanlar bulunmaktadır (Kerru vd., 2020). Bu bağlamda, biyolojik aktiviteler sergileyen pirrolotriazinonlar gibi azot içeren heterosiklik bileşikler önemli bir keşif alanıdır (Ge ve Cintrat, 2021).

Pirrolotriazinonlar, azolotriazinonlar ailesine ait, halkalı yapıya sahip birleşiklerdir. Azot içeren heterosiklik bileşiklerin özelliklerine sahip olan pirrolotriazinonlar, hedeflerine hidrojen bağları, dipol-dipol etkileşimleri, hidrofobik etkiler, van der Waals kuvvetleri ve π -yığılma gibi önemli etkileşimlerle bağlanarak istenilen farmakolojik özellikleri gösterebilirler.⁸ Bugüne kadar, pirolotriazinon ailesindeki çeşitli izomerik yapıların araştırılmasıyla sübstitüe olmayan pirolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4(3H)-on (1), pirolo[1,2-d][1,2,4]triazin-1(2H)-on (2) ve pirolo[1,2-d][1,2,4]triazin-4(3H)-on (3) gibi izomerik yapılar belirlenmiştir (Şekil 5.1). Bu yapılar, pirrolotriazinon türevlerinin biyolojik etkinlikleri açısından önemli bir temel oluşturmaktadır.

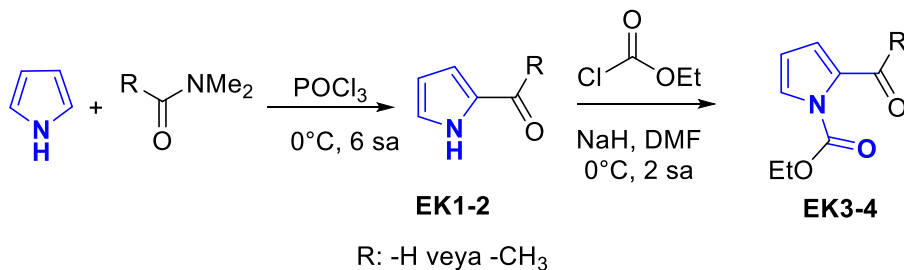


Şekil 5.1 Pirolotriazinon izomerleri

Bundan dolayı, azot içeren heterosiklik bileşiklerin, özellikle de pirolotriazinonların ilaç tasarımı ve biyolojik aktivite araştırmalarında daha fazla ele alınması, ilaç keşfi sürecine katkı sağlayabilir ve çeşitli terapötik alanlarda yeni ve etkili tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine olanak tanıyabilir. Bu tez kapsamında, pirolotriazinon türevlerinin sentezi, biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi ve farmakolojik özelliklerinin araştırılması hedeflenmiştir.

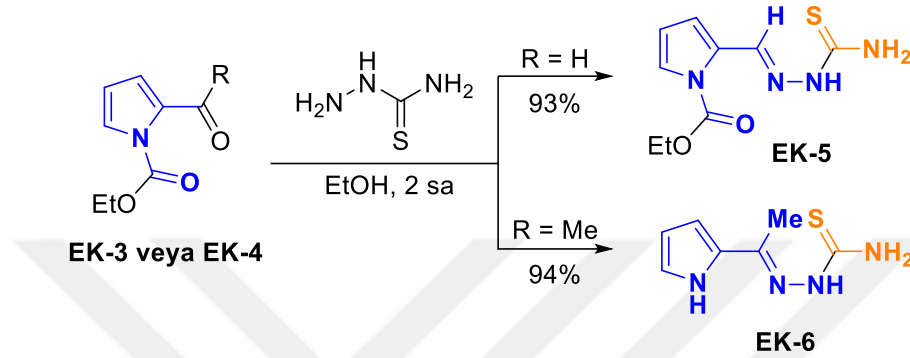
Bu literatür taramasına dayanarak, pirolo[1,2-d][1,2,4]triazin-4(3H)-on türevlerinin sentezi için yeni bir yol geliştirilmiş ve incelenmiştir. Yapılan çalışmalar kapsamında geliştirilen yöntem kolay, pratik, ucuz ve verimli bir sentez yöntemi sağlamaktadır. Ayrıca kullanılan sürecin reaksiyon mekanizması da araştırılmıştır.

İlk olarak, pirol, dimetil formamit kullanılarak pirol-2-karbaldehit (EK-1) ve dimetil asetamit kullanılarak 2-asetilpirol (EK-2) bileşikler Vilsmeier–Haack reaksiyonu ile elde edilmiştir (Kuzu vd., 2021). Hedeflenen disüstitüe pirol bileşikler EK-3 ve EK-4 bileşik EK-1 ve EK-2’de bulunan NH grubunun etil kloroformat ile yer değiştirilmesiyle elde edilmiştir (Şekil 5.2). Bu moleküller, daha sonra pirolo[1,2-d][1,2,4]triazin-4(3H)-on türevlerini elde etmek için başlangıç bileşenleri olarak kullanılmıştır.



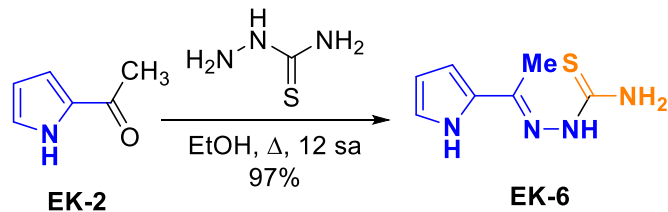
Şekil 5.2 C2 ve N-substitüe pirol türevlerinin sentezi

Bir sonraki adımda, 1,2-disübstitüe pirol türevleri EK-3 ve EK-4, tiosemikarbazit ile bir kondenzasyon reaksiyonuna tabi tutuldu. Ancak, 2-formil türevi EK-3 kondenzasyon ürünü EK-5'i verirken, 2-asetil türevi EK-4 etil N-karboksilat yapısının hidrolizi ve tiosemikarbazit ile kondenzasyonu sonucunda bileşik EK-6'yı verdi (Şekil 5.3).



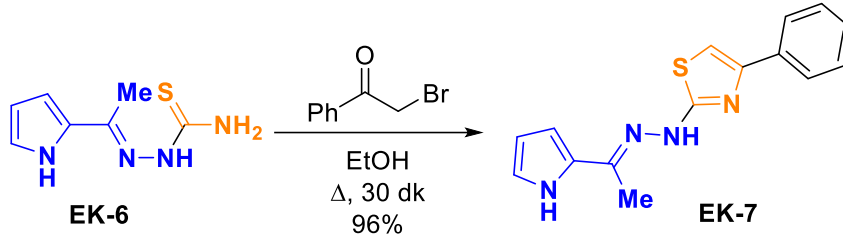
Şekil 5.3 1,2-disübstitüe pirol türevlerinin tiosemikarbazit ile reaksiyonu

Literatürde, pirol halkasındaki etil karboksilat yapısının bazik ortamda hidrolize olabileceği ve burada tiosemikarbazidin bir baz olarak görev alabileceği bilinmektedir (Hasan vd., 1981). Bu durum, aldehit grubundaki karbon atomunun, keton karbonil grubuna kıyasla daha elektrofilik bir karaktere sahip olmasıyla da açıklanabilir. Benzer şekilde, 2-asetil-substitüe NH-pirol EK-2, tiosemikarbazit ile reaksiyona girerek asetil grubunda aynı kondenzasyon ürününü, yani bileşik EK-6'yı vermiştir (Şekil 5.4).



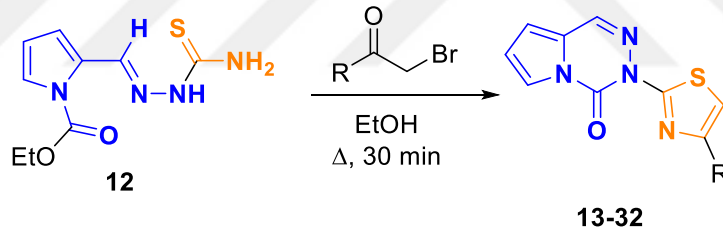
Şekil 5.4 Tiyosemikarbazon türevi EK-6'nın hazırlanması

Sentezlenen tiyosemikarbazon türevi EK-6, fenilasetil bromür ile EtOH ortamında ısıtılarak bir siklizasyon reaksiyonuna tabi tutulmuştur (Şekil 5.5).



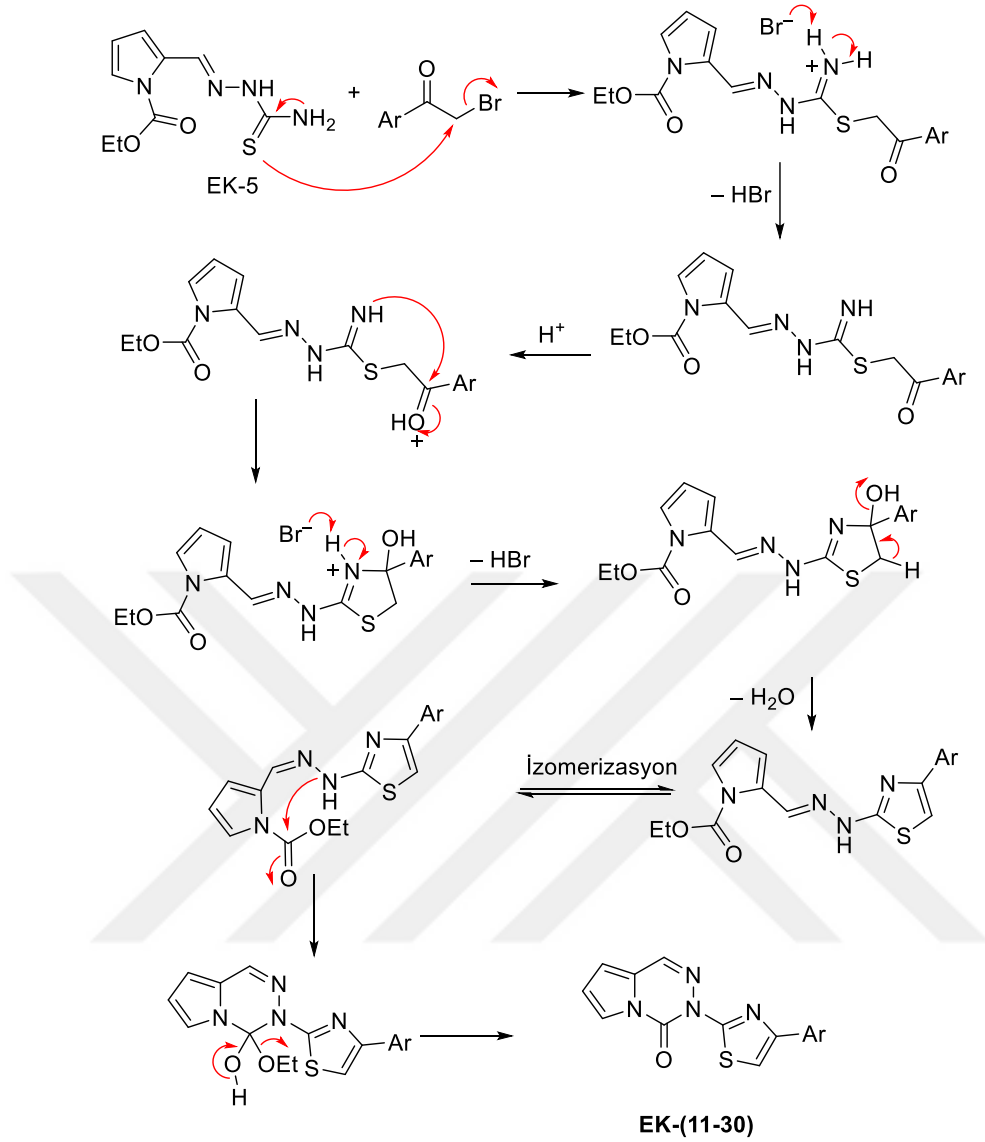
Şekil 5.5 Tiyosemikarbazon türevi EK-6'nın siklizasyon reaksiyonu

Ayrıca, bileşik EK-5'in yukarıda belirtilen reaksiyon prosedürü kullanılarak çeşitli fenilasetil bromürleri ile reaksiyonu incelenmiştir. Burada, tiyazol halkası içeren bileşik EK-7'nin oluşumu ile benzerlik gösterecek reaksiyonların meydana gelmesi beklenmektedir. Ancak, intramoleküler halkalaşma sonrasında, bir triazinon halkası içeren bileşikler EK-(11-30)'a dönmüştür (Şekil 5.6). Bu yöntem, elektron verici (OMe), elektron çekici (CF₃), halojen (Cl) veya p-fenil süstitüentleri içeren benzen halkası ile, polisiklik (naftil) ve heteroaril (2-tiyenil) gruplarının varlığında yüksek verimlilik gösterdiği keşfedilmiştir.



Şekil 5.6 Tiyazol süstitüe pirolotriazinonların sentezi

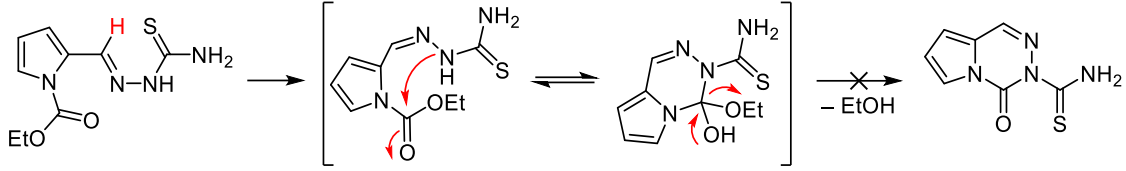
Yukarıda sunulan reaksiyonun mekanizması araştırılmış ve Şekil 5.7'de sunulan reaksiyon mekanizması önerilmiştir.



Şekil 5.7 Pirolotriazinonların sentezi yapısının oluşumu için önerilen mekanizma

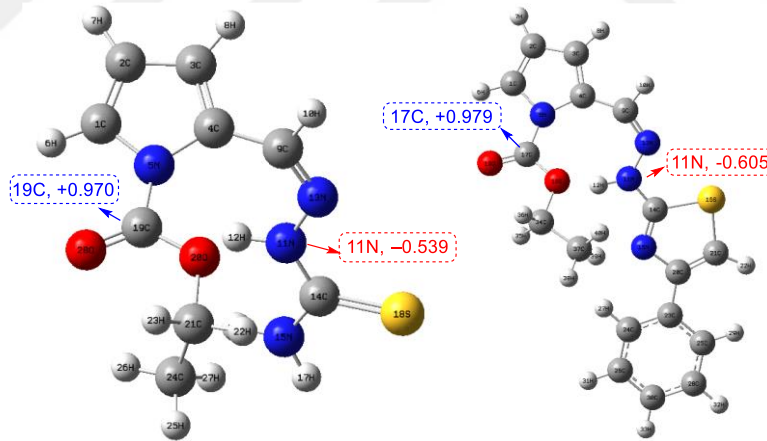
Önerilen reaksiyon mekanizmasına göre (Şekil 5.7), fenilasetil bromür türevlerinde brom atomunun, bileşik EK-5'in etkisiyle yer değiştirmesi ilk adımda gerçekleşir. Ardından, tiyazol halkası, asidik ortamda karbonil grubunun protonlanmış haliyle C=NH grubunun intramoleküler saldırısı sonucu oluşur ve tiyazol-süstitüe hidrazon türevi bileşiklerde, NH azotunun ester karbonil grubuna yaptığı diğer bir intramoleküler saldırı meydana gelir. Son adımda, hedef bileşikler EK-(11-30) hemiketal üzerinden 14a-g'den EtOH eliminasyonu sonrası oluşur. Aslında, EK-5'in sentez koşullarında, 12 saat süren geri akış şartlarında pirolotriazinon oluşmaması biraz ilginçtir.

Şekil 5.8'de sunulan reaksiyon mekanizmasına göre, pirolotriazinon türevinin *in situ* oluşması beklenir.



Şekil 5.8 Mekanizmaya göre beklenen halkalaşma reaksiyonu ürünü

Ancak, reaksiyon sıcaklığı ve süresi artırılmasına rağmen, pirolotriazinon türevi bileşiğin oluşumu yapılan çalışmalarda gözlemlenmemiştir. Bu nedenle, reaksiyon mekanizmasını açıklığa kavuşturmak ve siklizasyon denemesinin gerçekleştirilebilir olup olmadığını tahmin etmek için DFT hesaplamaları yapılmıştır. DFT hesaplamalarında, EK-5 ve EK-5'in tiyazol türevi EK-5A'nın geometrik ve enerji optimizasyonları, sentezlendikleri çözücü ortamına (EtOH) göre ayarlanmıştır. Optimizasyonu yapılan yapıların atomlarındaki yük yoğunluğu hesaplanmış ve Şekil 5.9'da sunulmuştur.

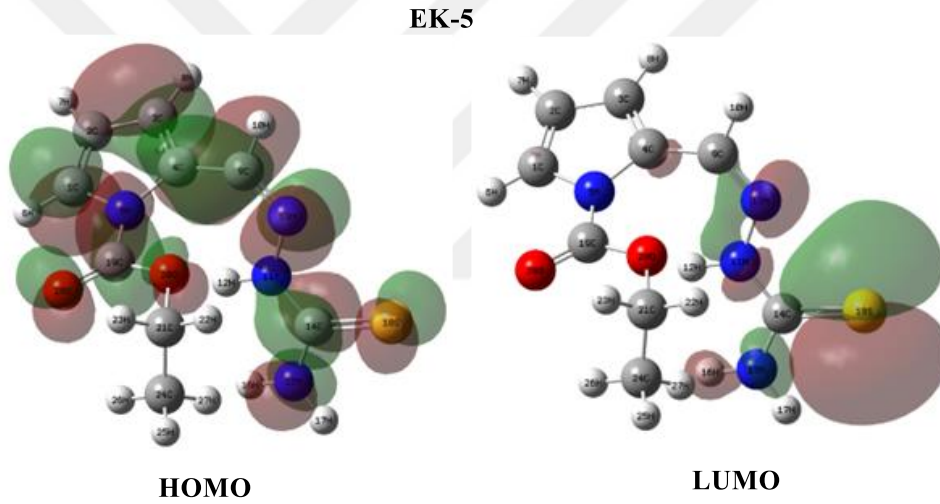


Şekil 5.9 EK-5 ve EK-5A'nın optimize edilmiş 3D yapıları ve atomik yükleri

EK-5'in karbamat karbonil karbonunun (C-19) atomik yükü +0.970 olarak hesaplanmış ve halkayı kapatmaya neden olacak tiyosemikarbazonun azot atomu (N-11) ise -0.539 olarak hesaplanmıştır. Ancak, bileşik EK-5A optimize edildiğinde, karbamat karbonil karbonu (C-17) +0.979 olarak hesaplanırken, hidrazon azotu (N-11) -0.605 olarak hesaplanmıştır.

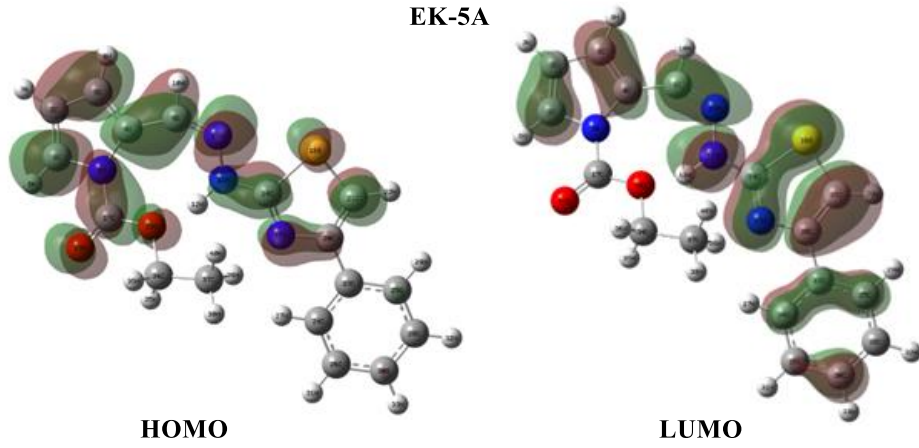
Bu durumda, bileşik EK-5'in tiyosemikarbazon grubunun fenilasetil bromür ile reaksiyona girerek oluşturduğu ürün EK-5A molekülünde, hem karbamat karbonilinin biraz daha pozitif olduğu, hem de saldırı olacak olan azot atomunun daha nükleofilik bir karakter kazandığı görülmektedir. Bu durum, bileşik EK-5A'nın siklizasyonu için daha uygun bir reaktivite kazanarak hedeflenen pirolotriazinon yapısının elde edilmesini açıklayabilir.

Benzer bir durum, moleküllerin HOMO ve LUMO'su ile de analiz edilebilir. Bileşik EK-5'in HOMO ve LUMO'sunu DFT ile optimizasyon yaparak belirlenmiştir. Şekil 5.10'da gösterildiği gibi, EK-5'in HOMO yoğunluğu neredeyse tüm molekül yüzeyine yayılırken, LUMO yoğunluğu ise tiyosemikarbazon grubundaki tiyokso grubunda yoğunlaşmaktadır.



Şekil 5.10 Optimize edilmiş EK-5'in HOMO ve LUMO 3D görüntüleri

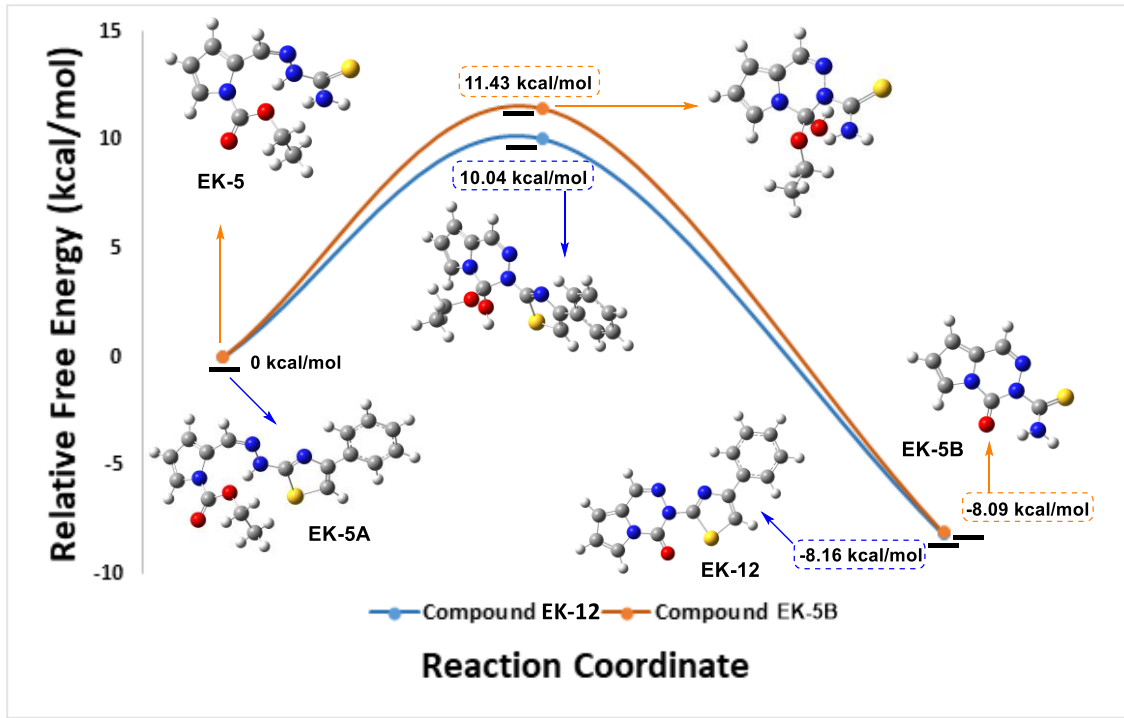
Ancak, bileşik EK-5A'daki durum biraz farklıdır. Burada, HOMO bileşik EK-5'deki gibi molekül yüzeyine yayılmışken, LUMO daha da fazla, tiyazol halkası ile birlikte nükleofilik saldırı sağlayacak olan azot atomu (N-11) üzerine yoğunlaşmıştır (Şekil 5.11). Bu durum, molekülün LUMO'su ile reaksiyon mekanizmasını destekleyen veriler sunmaktadır.



Şekil 5.11 Optimize edilmiş bileşik EK-5A'nın HOMO ve LUMO 3D görüntüleri

Ayrıca, tiyosemikarbazon türevi EK-5 ve tiyazol türevi EK-5A'dan sırasıyla siklik bileşiklerin EK-5B'nin ve EK-12'nin oluşumunun relatif serbest enerjilerini hesaplanmıştır. Şekil 5.12'de belirtilen reaksiyon mekanizmalarına göre, elimine olma işlemi gerçekleşmeden önce karbonil karbonuna hidrazit azot atomunun saldırısı ile oluşacak önerilen hemiketal ara ürünleri değerlendirilmiş ve bunlar reaksiyon koordinatlarına eklenmiştir. Bu siklizasyon adımı için başlangıç bileşenleri olan bileşik EK-5 ve tiyazol türevi EK-5A'nın serbest enerjisini 0 kcal/mol kabul edilmiştir. Triazinon türevlerini içeren reaksiyon yolunda, bileşik EK-5B'nin oluşumu için ara ürün bileşiğinin serbest serbest enerjisi +11.43 kcal/mol ve nihai ürününün serbest enerjisi –8.09 kcal/mol olarak belirlenmiştir. Ancak, EK-12 oluşumu için ara ürün bileşiğinin serbest enerjisinin +10.04 kcal/mol olduğu, ardından karşılık gelen nihai ürün EK-12'nin enerjisinin ise başlangıç bileşiğine kıyasla –8.16 kcal/mol olduğu tespit edilmiştir.

Böylece, nihai ürünlerin serbest enerji değerlerinin, bileşik EK-5B'nin ve EK-12'nin birbirine oldukça yakın olduğu (sırasıyla –8.16 ve –8.09 kcal/mol) görülmektedir. Ancak, ara ürünlerin sırasıyla 11.43 kcal/mol ve +10.04 kcal/mol olarak belirlenmiş olup EK-5B oluşumu için gerekli enerjisin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu, bileşik EK-(11-30)'un reaksiyon ortamında oldukça kolay bir şekilde elde edilmesinin, ancak bileşik EK-5B'nin, hemen önceki yapı olan ara ürün bileşiğinin yüksek serbest enerjisinden dolayı elde edilememesinin bir başka teorik açıklaması olabilmektedir.



Şekil 5.12 Bileşik EK-5B ve EK-12'nin siklizasyonu için hesaplanan serbest enerjiler

Sonuç olarak, organik kimya ve farmasötik kimya açısından önemli bir moleküler iskelet olan pirolotriazinon'un sentezi için bir tek adımlı tandem yöntem geliştirilmiştir (Kuzu ve Kuzu, 2023). Bu metodoloji, pirolotriazinon halkası sisteminin hazırlanması için oldukça çekici bir seçenek olup, çok yüksek verim, düşük reaksiyon süresi, katalizör gerektirmemesi ve literatürdeki tek prosedüre kıyasla basit bir saflaştırma prosedürü içermesi ile öne çıkmaktadır. Tiyazol ve triazinon halkalarının aynı anda kolayca sentezlenebileceği bu yöntemde, reaksiyon mekanizması DFT hesaplamaları ile uyumludur. Bu bağlamda tez çalışmasının devamı olarak, geliştirilen yöntem ile bir seri bileşiğin tasarımı ve sentezi planlanmış olup medisinal kimya alanında etkili olabilecek yeni organik bileşikler hedeflenmiştir ve detaylı literatür taraması yapılmıştır.

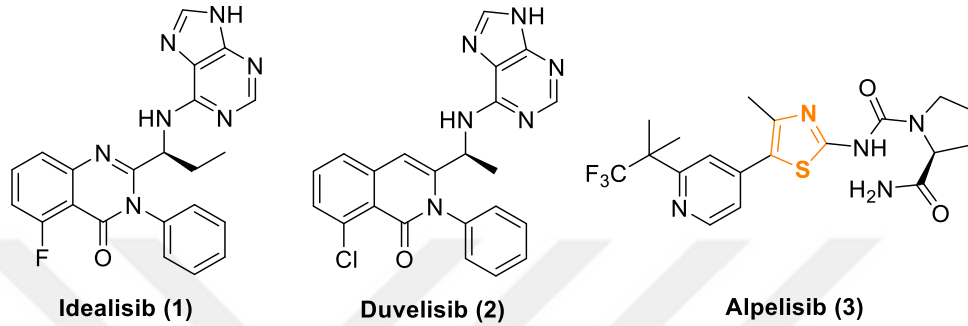
Heterosiklik bileşiklerin sentezine yönelik geliştirilen yöntemler önemli ölçüde ilerleme kaydetmiş olmakla birlikte, bu bileşiklerin terapötik etkinlikleri ve çeşitli farmakolojik özellikleri hâlen birçok çözülmemiş hastalığın biyolojik süreçlerini hedef almakta yetersiz kalmaktadır (Ebenezer vd., 2022). Söz konusu biyolojik süreçlerin daha derinlemesine anlaşılması ve bu süreçleri modüle edebilecek yeni bileşiklerin tanımlanması, özellikle yeni heterosiklik yapılar keşfetmeye yönelik araştırmalarda büyük önem taşımaktadır (Palacios, 2022).

Modern ilaç tasarımı küçük moleküller, özellikle heterosiklik bileşikler, ilaç geliştirme süreci için hâlen umut vaat eden başlangıç noktaları oluşturmaktadır (Singh vd., 2023). Günümüzde yeni hastalıkların ortaya çıkması, ilaç direnci gelişimi ve çözülmemiş patojenik mekanizmalar göz önüne alındığında, sıra dışı yapısal özelliklere sahip bileşikler ilaç tasarımı giderek daha fazla tercih edilmektedir. Ayrıca, güncel ilaç geliştirme süreçlerinde hedef hastalıkların seçilmesi ve bu hastalıklardaki patojenik sinyal yollarını spesifik olarak hedefleyen ilaç adaylarının geliştirilmesi temel öncelikler arasında yer almaktadır (Marshall vd., 2018).

Heterosiklik bileşiklerin en önemli hedeflerinden biri kanserdir. Kanser, günümüzde karşılaşılan en önemli küresel sağlık sorunlarından biridir ve Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre kanser kaynaklı ölümlerin 2030 yılı itibarıyla 12 milyona ulaşması beklenmektedir (Bray vd., 2024). Kanser, çok sayıda biyolojik süreci ve bunlara bağlı çeşitli alt hedefleri içeren karmaşık bir hastalık grubudur. Bu bağlamda, protein kinazlar önemli terapötik hedefler olarak öne çıkmaktadır. Protein kinazlar, kanser hücrelerinde büyüme ve çoğalma gibi temel hücresel işlevleri düzenleyerek hastalığın ilerleyişine katkıda bulunur (Cicenas vd., 2017). Hücre proliferasyonu, sinyal iletimi ve apoptoz gibi temel süreçleri düzenleyen bu enzimlerin işlevlerinde meydana gelen bozulmalar, kanser gelişiminde kritik rol oynamaktadır (You vd., 2023). Küçük moleküllerle protein kinazların inhibisyonu, kanser hücrelerinin aktivitelerinin baskılanmasına yol açmaktadır. Kinaz ailesi içerisinde fosfoinozitid 3-kinazlar (PI3K'ler), büyüme, çoğalma, hareketlilik ve hücresel hayatta kalma gibi işlevlerin düzenlenmesinde rol almaları nedeniyle kanser gelişiminde özel bir öneme sahiptir (Wymann ve Marone, 2005).

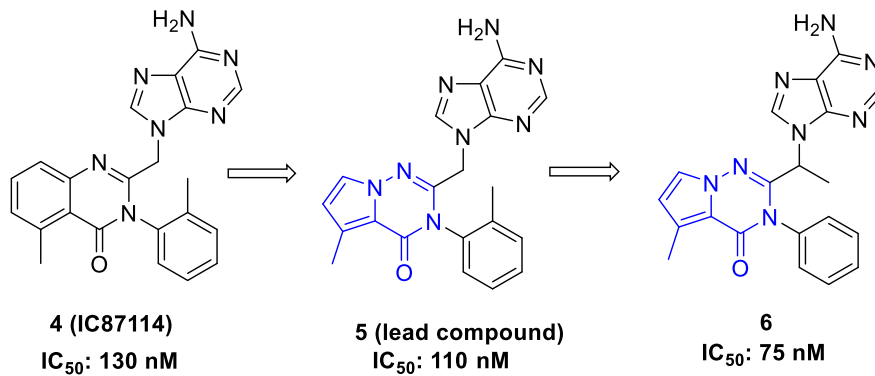
Halihazırda ticari olarak kullanılmakta olan PI3K inhibitörlerinin sayısı oldukça sınırlıdır. Bu inhibitörlerden biri olan İdelalisib (1), kronik lenfositik lösemi (CLL) tedavisinde kullanılmaktadır (Khan vd., 2014). Ancak, klinik kullanımında bağışıklık aracılı hepatotoksisite, diyare, ateş, yorgunluk, bulantı, öksürük, pnömoni, abdominal ağrı, titreme ve döküntü gibi çeşitli yan etkiler rapor edilmiştir. Bir diğer PI3K inhibitörü olan Duvelisib (2), genellikle küçük lenfositik lenfoma ve foliküler lenfoma gibi hastalıklarda son basamak tedavi seçeneği olarak tercih edilmektedir. Bununla birlikte, Duvelisib de diyare, lökopeni, döküntü, yorgunluk, ateş ve kas ağrısı gibi yaygın yan etkilerin yanı sıra nötrojeni ve enfeksiyonlar gibi daha ciddi advers etkilere yol açabilmektedir (Rodrigues vd., 2018).

Klinik olarak kullanılan bir diğer PI3K inhibitörü Alpelisib (3) ise bir tiazol halkası içermektedir. Ancak bu ilaç da yüksek kan şekeri, böbrek problemleri, ishal, döküntü, düşük kan hücresi sayısı, karaciğer sorunları, pankreatit, kusma ve saç dökülmesi gibi yan etkilerle ilişkilendirilmektedir (Şekil 5.13) (André vd., 2019; Wang vd., 2020; Miller vd., 2022; Tankova vd., 2022).



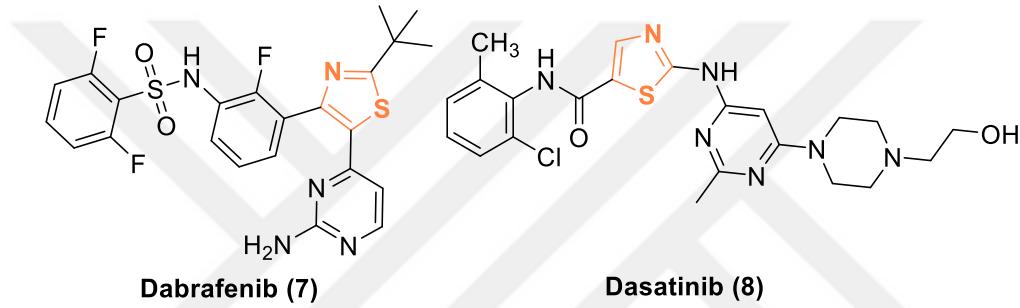
Şekil 5.13 Ticari bazı PI3K inhibitör ilaçları

Mevcut ilaçların ciddi yan etkileri, yeni PI3K inhibitörlerinin geliştirilmesine yönelik araştırmaları hızlandırmıştır. Bu doğrultuda, İdelalisib ve Duvelisib gibi moleküllerin yapısal özelliklerinden yola çıkılarak geliştirilen ilk bileşiklerden biri IC87114 (4) olup, PI3K enzimi için 130 nM'lik bir IC_{50} değeri ile potansiyel bir inhibitör olarak tanımlanmıştır (Berndt vd., 2010). Bununla birlikte, pirrolotriazinon yapısı içeren modifiye bir öncül bileşik (5), IC_{50} değeri 110 nM olarak belirlenen daha gelişmiş bir biyolojik etki göstermiştir (Erra vd., 2017). Bu yapının daha da optimize edilmesiyle elde edilen bileşik 6, 75 nM'lik IC_{50} değeriyle önemli ölçüde daha yüksek biyolojik aktivite sergilemiştir (Şekil 5.14) (Erra vd., 2018).



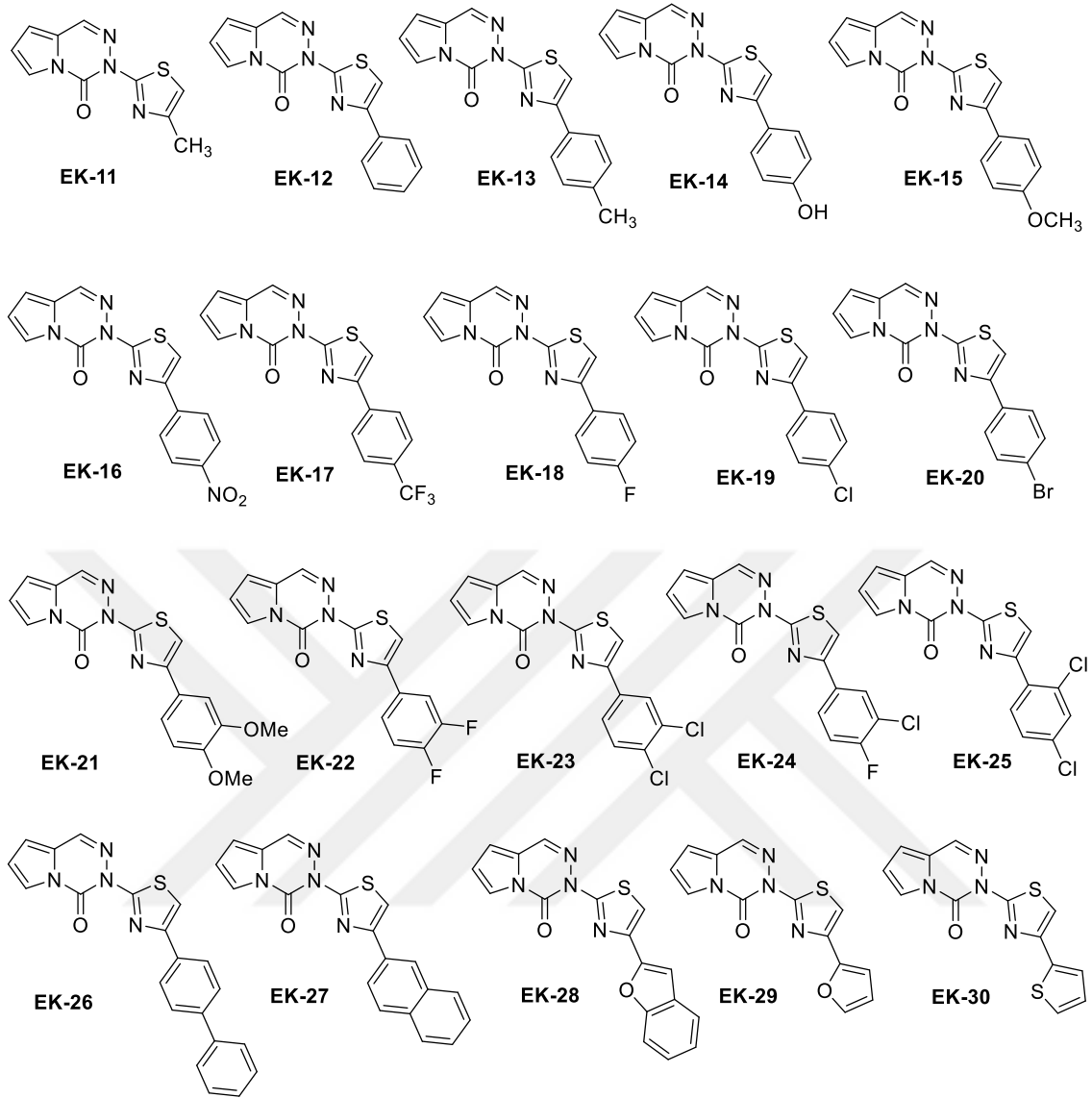
Şekil 5.14 PI3K inhibitörleri olarak pirrolotriazinon türevlerinin geliştirilmesi

Ayrıca, ilaç kimyasında geliştirilen çok sayıda tiazol türevi bileşiğin, belirli sinyal yollarını hedef alacak şekilde tasarlanarak güçlü antitümör ya da sitotoksik aktivite gösterdiği bilinmektedir (Leoni vd., 2014; Guerrero-Pepinosa vd., 2021). Örneğin, tiazol karboksamid türevli tubulinler (Peng vd., 2019), naftalin bağlı pirazolin-tiazol hibritleri (Çiftçi vd., 2024) ve bis-pirazolil-tiazol türevleri (Gürdere vd., 2017) çeşitli kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivite gösteren güçlü antitümör ajanlar olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, Alpelisib (3) (Puszkiel vd., 2019) Dabrafenib (7) (Furet vd., 2013) ve Dasatinib (8) (Keating, 2017) gibi 1,3-tiazol iskelesi içeren, kinaz inhibitör aktivitesi gösteren seçici antikanser ajanlar bu bağlamda dikkat çekmektedir (Şekil 5.15).



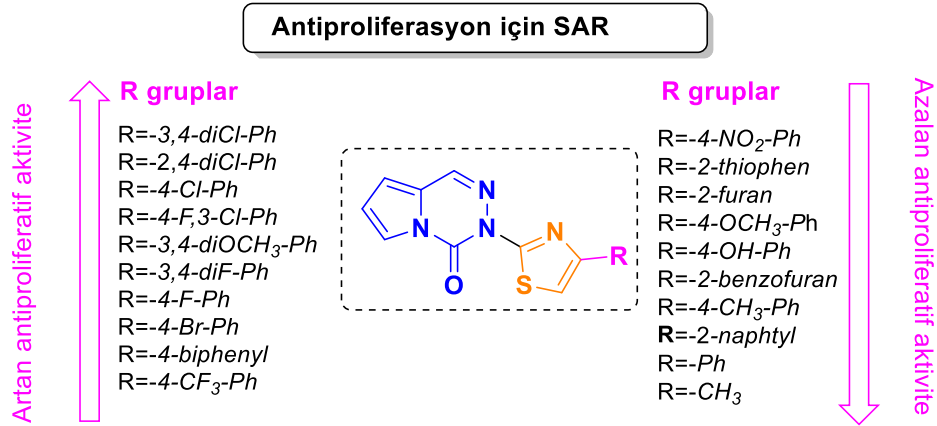
Şekil 5.15 Hedefe yönelik kanser tedavisinde tiazol tabanlı kinaz inhibitörleri

Literatürde yer alan tüm veriler dikkate alındığında, çeşitli antikanser ilaçlarda bulunan 1,3-tiazol halkası iskeleti, bu çalışmada PI3K inhibitör özelliği taşıyan pirrolotriazinon yapısı ile tek bir molekül çatısı altında birleştirilmiştir ve sentezlenen bileşikler Şekil 5.16’da sunulmuştur.



Şekil 5.16 Geliştirilen yöntemle sentezlenen bileşikler

Biyolojik bulgular bölümünde belirtildiği üzere, antiproliferatif aktivite sonuçlarına dayanarak, sentezlenen bileşikler için önemli yapısal-aktivite ilişkileri (SAR) kurulabilmektedir. Bileşiklerin kanser hücrelerindeki antiproliferatif etki potansiyeline göre hazırlanan yapı-aktivite ilişkisi Şekil 5.17’de özetlenmiştir.



Şekil 5.17 Bileşiklerin antiproliferatif aktivitesine ilişkin yapı-aktivite ilişkisi

Test edilen kanser hücre hatları genel olarak değerlendirildiğinde, alkil grubunda -CH₃ grubunu taşıyan bileşik EK-11, en düşük antiproliferatif aktiviteyi göstermektedir. Metil grubunun, bileşik EK-12’te fenil grubuyla değiştirilmesi, aktiviteyi biraz arttırmakta ve 4-CH₃, 4-OH ve 4-OCH₃ gibi elektron veren gruplar, sırasıyla bileşik EK-13, EK-14 ve EK-15’te, antiproliferatif aktivitede karşılık gelen bir artış göstermektedir. Bu hipotez, 3,4-dimetoksi grubunu içeren bileşik EK-21’in tatmin edici antiproliferatif aktivitesiyle daha da desteklenmektedir. Dahası, elektron çekici grupları içeren bileşikler EK-16 ve EK-17 (sırasıyla 4-NO₂ ve 4-CF₃) genellikle elektron veren gruplardan daha yüksek aktivite sergilemekle birlikte, aktiviteleri dimetoksi grubuna sahip bileşik EK-21’den düşük kalmaktadır. Bu durum, elektron veren ve çekici grupların antiproliferatif aktivite üzerindeki etkileri arasında hassas bir denge olduğunu göstermektedir. 4-CF₃ grubunu taşıyan bileşik EK-17, 4-NO₂ grubuna sahip bileşik EK-16’dan önemli ölçüde daha yüksek antiproliferatif aktivite göstermekte, bu da halojen substitüsyonunun antiproliferatif aktiviteyi artırmadaki önemini vurgulamaktadır.

Bu doğrultuda, 4-F, 4-Cl ve 4-Br substitüyonları taşıyan bileşikler EK-18, EK-19 ve EK-20’de sırasıyla, 4-Cl substitüyonuna sahip bileşik EK-19’un en yüksek aktivite gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu, büyük bir halojen grubunun (-Br gibi) elektron çekici etkisinin azalması nedeniyle antiproliferatif aktivitenin düşebileceğini öne sürmektedir. Ayrıca, 3,4-diF, 3,4-diCl ve 3-Cl,4-F yapılarında (sırasıyla bileşikler EK-22, EK-23 ve EK-24’te) bileşik EK-23’ün en yüksek antiproliferatif aktiviteyi sergilediği tespit edilmiştir. Bu bulgu, 4-pozisyonda -Cl substitüsyonunun antiproliferatif aktivitenin artırılmasındaki kritik rolünü vurgulamaktadır.

Sonuç olarak, 2,4-diCl substitüe edilmiş bileşik EK-25, 3,4-diCl substitüsyona sahip bileşik EK-23 ile karşılaştırılabilir antiproliferatif aktiviteye sahiptir. Ayrıca, bifenil ve naftil gibi poliaromatik grupları içeren bileşikler (bileşikler EK-26 ve EK-27) antiproliferatif aktivitenin azaldığını göstermektedir. Heteroaromatik sistemlerde ise, benzofuran yapısını içeren bileşik (bileşik EK-28), furan yapısını içeren bileşik (bileşik EK-29) ile karşılaştırıldığında daha az aktiftir, oysa antiproliferatif aktivite, tiyofen substitüe edilmiş bileşik EK-30'da nispeten artmıştır.

Sonuç olarak, bu veriler, elektron veren grupların aktivite üzerinde önemli bir rol oynadığını, poliaromatik ve heteroaromatik grupların ise aktiviteye daha az katkı sağladığını göstermektedir. Elektron çekici gruplar arasında ise, halojen içeren grupların özellikle aktiviteyi artırdığı gözlemlenmiştir. Özellikle, fenil grubunda 4-Cl substitüyünün antiproliferatif aktivitenin maksimize edilmesinde kritik olduğu belirlenmiştir. Bu bulgulara dayanarak, her biri 4-Cl substitüyonu taşıyan bileşikler EK-19, 25, 26 ve 27, MCF-7 ve HepG2 hücrelerinde PI3K protein seviyelerinin analiz edilmesi için seçilmiştir.

Bileşik EK-19, EK-23, EK-24 ve EK-25'in IC₅₀ konsantrasyonları ile gerçekleştirilen uygulamaların ardından hücrelerdeki PI3K protein düzeyleri değerlendirilmiştir. MCF-7 hücre hattında, söz konusu dört bileşiğin tamamı, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında PI3K protein düzeylerini anlamlı derecede azaltmıştır. Öte yandan, HepG2 hücrelerinde yalnızca EK-23 ve EK-25 numaralı bileşiklerin PI3K protein düzeylerini belirgin biçimde düşürdüğü gözlemlenmiştir. Bu nedenle, söz konusu bileşikler PI3K aracılı apoptoz yoluyla etkilerini gösterme olasılığı bulunan umut verici antikanser ilaç adayları olarak öne çıkmaktadır.

Ayrıca, moleküler doking çalışmaları, bileşik EK-19, EK-23, EK-24 ve EK-25'in PI3K enziminin aktif bölgesine bağlanma potansiyelini ortaya koymuştur. RMSD değerlerinin kabul edilebilir sınırlar içinde olması, doking sonuçlarının güvenilirliğini desteklemektedir. Bileşik EK-23 ve EK-25, referans inhibitör LASW1579 ile karşılaştırıldığında daha yüksek bağlanma afiniteleri sergilemiş ve aktif bölgedeki kritik amino asit residüleriyle benzer etkileşim profilleri göstermiştir. Bu durum, söz konusu bileşiklerin *in vitro* ortamda gözlemlenen PI3K inhibisyon düzeyleriyle uyumludur.

Özellikle bileşik EK-23, hem bağlanma enerjisi hem de etkileşim kalitesi bakımından en dikkat çekici aday olarak öne çıkmaktadır. Bu sonuçlar, bileşik EK-23 ve EK-25'in PI3K hedefli yeni antikanser ajanlar olarak geliştirilme potansiyelini desteklemektedir.

Kısaca, HepG2 ve MCF-7 kanser hücrelerinde PI3K protein düzeyleri üzerindeki etkileri değerlendirilen bileşik EK-19, EK-23, EK-24 ve EK-25'in bağlanma afiniteleri, oral uygulama için tasarlanmış pirolotriazinon yapısına sahip referans bir iskelet üzerinden biyolojik hedefe göre analiz edilmiştir. Moleküler doking çalışmaları, elde edilen *in vitro* verilerle uyumlu sonuçlar vermiş ve bu bileşiklerin PI3K inhibitörleri olarak potansiyel taşıdığını desteklemiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada bir dizi tiyazol-entegre pirolotriazinon türevi (bileşikler EK11-30) sentezlenmiş ve kanser tedavisinde apoptoz indükleyici ajanlar olarak potansiyelleri değerlendirilmiştir. Bileşikler, özellikle MCF-7 ve HepG2 kanser hücre hatlarına karşı önemli antiproliferatif aktivite göstermiştir. Yapı-aktivite ilişkisi (SAR) analizi, fenil-kloro sübstitüenti içeren türevlerin daha güçlü sitotoksik etkiler sergilediğini ortaya koymuştur. Test edilen bileşikler arasında EK-19, EK-23, EK-24 ve EK-25'in en güçlü etkiler gösterirken, EK-23 ve EK-25 numaralı bileşiklerin MCF-7 ve HepG2 hücrelerinde PI3K protein düzeylerini belirgin şekilde azalttığı bulunmuştur. Moleküler docking çalışmaları, bu bileşiklerin PI3K inhibitörleri olarak potansiyellerini doğrulamıştır. *In silico* ilaç benzerliği ve *pre*-ADMET özelliklerinin değerlendirilmesi, bu bileşiklerin uygun farmakokinetik profillere sahip olduğunu ve terapötik ajanlar olarak daha fazla gelişim için uygun olduklarını göstermiştir. Genel olarak, bu bulgular, tiyazol-entegre pirolotriazinon türevlerinin terapötik potansiyelini vurgulamaktadır ve PI3K gibi ana sinyal yollarını hedef alan yeni antikanser ajanlarının tasarımına dair önemli bilgiler sunmaktadır. Gelecekteki araştırmalar, bu bileşiklerin optimizasyonuna ve kanser tedavisindeki klinik potansiyellerinin keşfine odaklanmalıdır.

KAYNAKLAR

- Alcaro, S., Ortuso, F. (2020). Multi-target drug discovery: An opportunity for novel and repurposed bioactive compounds. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 192, 112188.
- Ammar, H. O., Ghorab, M., Mahmoud, A. A., Makram, T. S., Ghoneim, A. M. (2013). Rapid pain relief using transdermal film forming polymeric solution of ketorolac. *Pharmaceutical Development Technologies*, 18(9), 1005–1015.
- André, F., Ciruelos, E., Rubovszky, G., Campone, M., Loibl, S. (2019). Alpelisib for PIK3CA-mutated, hormone receptor-positive advanced breast cancer. *New England Journal of Medicine*, 380(20), 1929–1940.
- Beck, H., Härter, M., Haß, B., Schmeck, C., Baerfacker, L. (2022). Small molecules and their impact in drug discovery: A perspective on the occasion of the 125th anniversary of the Bayer Chemical Research Laboratory. *Drug Discovery Today*, 27(6), 1560–1574.
- Bernal Anchuela, F. J., Carrascal Riere, M., Caturla Javaloyes, J. F., Gracia Ferrer, J., Matassa, V. G., Terricabras Belart, E. (2012, October 31). Pyrrolotiazinone derivatives as PI3K inhibitors. European Patent EP2518070 A1.
- Berndt, A., Miller, S., Williams, O., Le, D. D., Houseman, B. T., Pacold, J. I., Williams, R. L. (2010). The p110 δ structure: Mechanisms for selectivity and potency of new PI(3)K inhibitors. *Nature Chemical Biology*, 6(2), 117–124.
- Borzilleri, R. M., Zheng, X., Qian, L., Ellis, C., Cai, Z. W., Wautlet, B. S., Bhide, R. S. (2005). Design, synthesis, and evaluation of orally active 4-(2, 4-difluoro-5-(methoxycarbamoyl) phenylamino) pyrrolo [2, 1-f][1, 2, 4] triazines as dual vascular endothelial growth factor receptor-2 and fibroblast growth factor receptor-1 inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(12), 3991–4008.
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263.
- Candish, L., Mueller, S., Suessmeier, F., Lindner, N., Gerdes, C., Pook, E., Partikel, K. (2021). Preparation of substituted 4-oxo-3, 4-dihydropyrrolo [2, 1-f][1, 2, 4] triazine-6-carboxamides as EP3 receptor antagonists. WO Patent WO2021094209A1.
- Carrera C. F., Perez Garcia, J. B., Vidal J. B., Sanchez Izquierdo, F., Serra Coma, M. C. (2015, December 3). (S)-2-(1-(6-amino-5-cyanopyrimidin-4-ylamino)ethyl)-4-oxo-3-phenyl-3,4-dihydropyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazine-5-carbonitrile. WO Patent WO2015181052 A1.
- Cartel, M., Mouchel, P. L., Gotanègre, M., David, L., Bertoli, S., Mansat-De Mas, V., Didier, C. (2021). Inhibition of ubiquitin-specific protease 7 sensitizes acute myeloid leukemia to chemotherapy. *Leukemia*, 35(2), 417–432.
- Castro, A. C., Chan, K., Evans, C. A., Janardanannair, S., Lescarbeau, A., Li, L., Liu, T., Liu, Y., Ren, P., Snyder, D. A., Tremblay, M. R. (2013, October 10). Heterocyclic compounds and uses thereof. U.S. Patent US 20130267521 A1.
- Chen, J., Liu, B., Chen, Y., He, Q., Yang, C. (2014). Copper (II)-catalyzed cascade approach for the synthesis of pyrrolo [2, 1-f][1, 2, 4] triazine-fused isoquinolines. *RSC Advances*, 4(22), 11168–11175.

- Chen, Y., Xiang, H., Tan, C., Xie, Y., Yang, C. (2013). A tandem copper (II)-promoted synthesis of 2-substituted pyrrolo [2, 1-f][1, 2, 4] triazin-4 (3H)-ones. *Tetrahedron*, 69(13), 2714–2719.
- Cicenas, J., Zalyte, E., Rimkus, A., Dapkus, D., Noreika, R., Urbonavicius, S. (2017). JNK, p38, ERK, and SGK1 inhibitors in cancer. *Cancers*, 10(1), 1.
- Corbin, J. D. (2004). Mechanisms of action of PDE5 inhibition in erectile dysfunction. *International Journal of Impotence Research*, 16(1), S4–S7.
- Costa, G., Rocca, R., Corona, A., Grandi, N., Moraca, F., Romeo, I., Talarico, C., Gagliardi, M. G., Ambrosio, F. A., Ortuso, F., Alcaro, S., Distinto, S., Maccioni, E., Tramontano, E., Artese, A. (2019). Novel natural non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase identified by shape- and structure-based virtual screening techniques. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 161, 1–10.
- Çiftçi, H., Otsuka, M., Fujita, M., Sever, B. (2024). New naphthalene-linked pyrazoline-thiazole hybrids as prominent antilung and antibreast cancer inhibitors. *Turkish Journal of Chemistry*, 48(6), 856–866.
- Daidone, G., D'Anneo, A., Raimondi, M.V., Raffa, D., Hamel, E., Plescia, F., Lauricella, M., Maggio, B. (2020). New complex polycyclic compounds: Synthesis, antiproliferative activity and mechanism of action. *Bioorganic Chemistry*, 101, 103989.
- Dyckman, A. J., Li, T., Pitt, S., Zhang, R., Shen, D. R., McIntyre, K. W., Leftheris, K. (2011). Discovery of pyrrolo [2, 1-f][1, 2, 4] triazine C6-ketones as potent, orally active p38 α MAP kinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(15), 4633–4637.
- Ebenezer, O., Jordaan, M. A., Carena, G., Bono, T., Shapi, M., Tuszynski, J. A. (2022). An overview of the biological evaluation of selected nitrogen-containing heterocycle medicinal chemistry compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8117.
- Erra, M., Taltavull, J., Bernal, F. J., Caturla, J. F., Carrascal, M., Pagès, L., Calbet, M. (2018). Discovery of a novel inhaled PI3K δ inhibitor for the treatment of respiratory diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(21), 9551–9567.
- Erra, M., Taltavull, J., Gréco, A., Bernal, F. J., Caturla, J. F., Gràcia, J., Lehner, M. D. (2017). Discovery of a potent, selective, and orally available PI3K δ inhibitor for the treatment of inflammatory diseases. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 8(1), 118–123.
- Fujita, M., Scheffer, D. D. L., Turnes, B. L., Cronin, S. J., Latrémolière, A., Costigan, M., Andrews, N. A. (2020). Sepiapterin reductase inhibition leading to selective reduction of inflammatory joint pain in mice and increased urinary sepiapterin levels in humans and mice. *Arthritis & Rheumatology*, 72(1), 57–66.
- Furet, P., Guagnano, V., Fairhurst, R. A., Imbach-Weese, P., Bruce, I. (2013). Discovery of NVP-BYL719, a potent and selective phosphatidylinositol-3 kinase alpha inhibitor selected for clinical evaluation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(13), 3741–3748.
- Ge, T., Cintrat, J. C. (2021). Pyrrolotriazinone as an underexplored scaffold in drug discovery. *Pharmaceuticals*, 14(12), 1275.
- Gomtsyan, A. (2012). Heterocycles in drugs and drug discovery. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 48(1), 7–10.

- Guerrero-Pepinosa, N. Y., Cardona-Trujillo, M. C., Garzon-Castano, S. C., Veloza, L. A., Sepúlveda-Arias, J. C. (2021). Antiproliferative activity of thiazole and oxazole derivatives: A systematic review of in vitro and in vivo studies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138, 111495.
- Gürdere, M. B., Kamo, E., Budak, Y., Yağlıoğlu, A. Ş., Ceylan, M. (2017). Synthesis and anticancer and cytotoxic effects of novel 1, 4-phenylene-bis-N-thiocarbamoylpyrazole and 1, 4-phenylene-bis-pyrazolylthiazole derivatives. *Turkish Journal of Chemistry*, 41(2), 179–189.
- Hasan, I., Marinelli, E. R., Lin, L. C. C., Fowler, F. W., Levy, A. B. (1981). Synthesis and reactions of N-protected 2-lithiated pyrroles and indoles. The tert-butoxycarbonyl substituent as a protecting group. *The Journal of Organic Chemistry*, 46(1), 157–164.
- Ioannidis, S., Talbot, A. C., Follows, B., Buckmelter, A. J., Wang, M., Campbell, A. M. (2018). Preparation of pyrrolotriazinones and imidazotriazinones as ubiquitin-specific protease 7 inhibitors. U.S. Patent 20160185786A1, 19 June 2018.
- Jebamani, J., Pranesh, S., Shivalingappa, J., Narayanarao, M., Pasha, M. (2021). Synthesis and biological activities of novel pyrrolo [1, 2-d][1, 2, 4] triazin-1 (2H)-one derivatives. *Synthetic Communications*, 51(6), 921–934.
- Jia, H., Dai, G., Su, W., Xiao, K., Weng, J., Zhang, Z., Bembenek, S. D. (2019). Discovery, optimization, and evaluation of potent and highly selective PI3Kγ–PI3Kδ dual inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(10), 4936–4948.
- Johannes, J. W., Almeida, L., Barlaam, B., Boriack-Sjodin, P. A., Casella, R., Croft, R. A., Wang, T. (2015). Pyrimidinone nicotinamide mimetics as selective tankyrase and wnt pathway inhibitors suitable for in vivo pharmacology. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 6(3), 254–259.
- Keating, G. M. (2017). Dasatinib: A review in chronic myeloid leukaemia and Ph+ acute lymphoblastic leukaemia. *Drugs*, 77(1), 85–96.
- Kerru, N., Gummidi, L., Maddila, S., Gangu, K. K., Jonnalagadda, S. B. (2020). A review on recent advances in nitrogen-containing molecules and their biological applications. *Molecules*, 25(8), 1909.
- Khan, M., Saif, A., Sandler, S., Mirrakhimov, A. E. (2014). Idelalisib for the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *International Scholarly Research Notices*, 2014(1), 931858.
- Kim, K. S., Lu, S., Cornelius, L. A., Lombardo, L. J., Borzilleri, R. M., Schroeder, G. M., Roussell, D. L. (2006). Synthesis and SAR of pyrrolotriazine-4-one based Eg5 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16(15), 3937–3942.
- Koltun, D., Zablocki, J., Parkhill, E. (2009). Pyrrolotriazinone derivatives for use as stearyl CoA desaturase inhibitors. WO Patent WO2009124259A1, 3 April 2009.
- Kuzu, B., Acikgoz, E., Cakir, M. (2024). Design, synthesis, and applications of nucleic acid-specific benzoxazole-N, N-dialkylphenylamines derivatives for nucleolus imaging in the cells. *Journal of Molecular Structure*, 1309, 138199.
- Kuzu, B., Ergüç, A., Karakuş, F., Arzuk, E. (2023). Design, synthesis, and antiproliferative activities of novel thiazolyl-pyrazole hybrid derivatives. *Medicinal Chemistry Research*, 32, 1690-1700.
- Kuzu, B., Gül, S., Tan, M., Menges, N., Balci, M. (2021). Synthesis of indolizines by dimerization of N-propargylated pyrroles via allene intermediates. *ChemistrySelect*, 6(9), 2366–2372.

- Kuzu, E., Kuzu, B. (2023). Tandem synthesis of novel thiazole-substituted pyrrolo [1, 2-d][1, 2, 4] triazin-4 (3 H)-one derivatives and their theoretical pharmacokinetic profiles. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 59(1), 80–87.
- Lancelot, J. C., Maume, D., Robba, M. (1980). Pyrrolo [1, 2-d] triazines-1, 2, 4. II. Etude des pyrrolo [1, 2-d] triazinones-1 et-4. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 17(4), 631–635.
- Lauria, A., Patella, C., Diana, P., Barraja, P., Montalbano, A., Cirrincione, G., Dattolo, G., Almerico, A. M. (2006). A synthetic approach to new polycyclic ring system of biological interest through domino reaction: indolo[2,3-e][1,2,3]triazolo[1,5-a]pyrimidine. *Tetrahedron Letters*, 47(18), 2187–2190.
- Leoni, A., Locatelli, A., Morigi, R., Rambaldi, M. (2014). Novel thiazole derivatives: A patent review (2008–2012; Part 1). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 24(2), 201–216.
- Li, B., Liang, J., Lu, F., Zeng, G., Zhang, J., Ma, Y., Chen, L. (2020). Discovery of novel inhibitor for Wnt/ β -catenin pathway by tankyrase 1/2 structure-based virtual screening. *Molecules*, 25(7), 1680.
- Li, J., Wang, L., Yang, M. (2018). Pyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazine-4(1H)-ketone derivatives as PDE9A inhibitors. CN Patent CN105669680A, 23 February 2018.
- Li, Q. (2020). Application of fragment-based drug discovery to versatile targets. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7, 180.
- Lu, K., He, C., Lin, W. (2015). A chlorin-based nanoscale metal–organic framework for photodynamic therapy of colon cancers. *Journal of the American Chemical Society*, 137(24), 7600–7603.
- Ma, X. H., Shi, Z., Tan, C., Jiang, Y., Go, M. L., Low, B. C., Chen, Y. Z. (2010). In-silico approaches to multi-target drug discovery. *Pharmaceutical Research*, 27, 739–749.
- Maggio, B., Raffa, D., Raimondi, M. V., Plescia, F., Trincavelli, M. L., Martini, C., Meneghetti, F., Basile, L., Guccione, S., Daidone, G. (2012). Synthesis, benzodiazepine receptor binding and molecular modelling of isochromeno[4,3-c]pyrazol-5(1H)-one derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 54, 709–720.
- Maggio, B., Raimondi, M. V., Raffa, D., Plescia, F., Cascioferro, S., Cancemi, G., Tolomeo, M., Grimaudo, S., Daidone, G. (2015). Synthesis and antiproliferative activity of 3-(2-chloroethyl)-5-methyl-6-phenyl-8-(trifluoromethyl)-5,6-dihydropyrazolo[3,4-f][1,2,3,5]tetrazepin-4-(3H)-one. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 96, 98–104.
- Marshall, L. J., Austin, C. P., Casey, W., Fitzpatrick, S. C., Willett, C. (2018). Recommendations toward a human pathway-based approach to disease research. *Drug Discovery Today*, 23(11), 1824–1832.
- Martins, P., Jesus, J., Santos, S., Raposo, L. R., Roma-Rodrigues, C., Baptista, P. V., Fernandes, A. R. (2015). Heterocyclic anticancer compounds: Recent advances and the paradigm shift towards the use of nanomedicine's toolbox. *Molecules*, 20(9), 16852–16891.
- Maurer, T. S., Edwards, M., Hepworth, D., Verhoest, P., Allerton, C. M. (2022). Designing small molecules for therapeutic success: A contemporary perspective. *Drug Discovery Today*, 27(2), 538–546.
- Miller, J., Armgardt, E., Svoboda, A. (2022). The efficacy and safety of alpelisib in breast cancer: A real-world analysis. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, 28(5), 1152–1156.

- Montoir, D., Guillon, R., Gazzola, S., Ourliac-Garnier, I., Soklou, K. E., Tonnerre, A., Logé, C. (2020). New azole antifungals with a fused triazinone scaffold. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 189, 112082.
- Naef, R., Tenor, H. (2017). 2-phenyl-3,4-dihydropyrrolo[2,1-f] [1,2,4]triazinone derivatives as phosphodiesterase inhibitors and uses thereof. WO Patent WO2017085056A1, 26 May 2017.
- Normaya, E., Baharu, N. A., Ahmad, M. N. (2020). Synthesis of thiosemicarbazone-based colorimetric chemosensor for Cu²⁺ ions' recognition in aqueous medium: Experimental and theoretical studies. *Journal of Molecular Structure*, 1212, 128094.
- Oatman, N., Dasgupta, N., Arora, P., Choi, K., Gawali, M. V., Gupta, N., Dasgupta, B. (2021). Mechanisms of stearyl CoA desaturase inhibitor sensitivity and acquired resistance in cancer. *Science Advances*, 7(7), eabd7459.
- Pahan, K. (2006). Lipid-lowering drugs. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 63, 1165–1178.
- Palacios, D. S. (2022). Drug hunting at the nexus of medicinal chemistry and chemical biology and the discovery of novel therapeutic modalities. *Journal of Medicinal Chemistry*, 65(20), 13594–13613.
- Patani, G. A., LaVoie, E. J. (1996). Bioisosterism: A rational approach in drug design. *Chemical Reviews*, 96(7), 3147–3176.
- Peng, X., Shao, M., Ma, S., Yao, L. (2019). Synthesis and antitumor activities of 2-(piperidin-4-yl)-thiazole-4-carboxamides analogues of tubulysins. *Turkish Journal of Chemistry*, 43(2), 676–686.
- Pogorelčnik, B., Janežič, M., Sosič, I., Gobec, S., Solmajer, T., Perdih, A. (2015). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23, 4218–4229.
- Prati, F., De Simone, A., Bisignano, P., Armirotti, A., Summa, M., Pizzirani, D., Scarpelli, R., Perez, D. I., Andrisano, V., Perez-Castillo, A., Monti, B., Massenzio, F., Polito, L., Racchi, M., Favia, A. D., Bottegoni, G., Martinez, A., Bolognesi, M. L., Cavalli, A. (2015). *Angewandte Chemie International Edition*, 54, 1578–1582.
- Puszekiel, A., Noé, G., Bellesoeur, A., Kramkimel, N., Paludetto, M. N., (2019). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of dabrafenib. *Clinical Pharmacokinetics*, 58, 451–467.
- Raffa, D., Maggio, B., Plescia, F., Cascioferro, S., Raimondi, M. V., Cancemi, G., D'Anneo, A., Lauricella, M., Cusimano, M. G., Bai, R., Hamel, E., Daidone, G. (2015). Synthesis, antiproliferative activity and possible mechanism of action of novel 2-acetamidobenzamides bearing the 2-phenoxy functionality. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23, 6305–6316.
- Raker, J. R., Towns, M. H. (2012). Problem types in synthetic organic chemistry research: Implications for the development of curricular problems for second-year level organic chemistry instruction. *Chemistry Education Research and Practice*, 13(3), 179–185.
- Reymond, J. L., Van Deursen, R., Blum, L. C., Ruddigkeit, L. (2010). Chemical space as a source for new drugs. *MedChemComm*, 1(1), 30–38.
- Rishikesan, R., Karuvalam, R. P., Muthipeedika, N. J., Sajith, A. M., Eeda, K. R., Pakkath, R., Muralidharan, A. (2021). Synthesis of some novel piperidine fused 5-thioxo-1 H-1, 2, 4-triazoles as potential antimicrobial and antitubercular agents. *Journal of Chemical Sciences*, 133, 1–12.

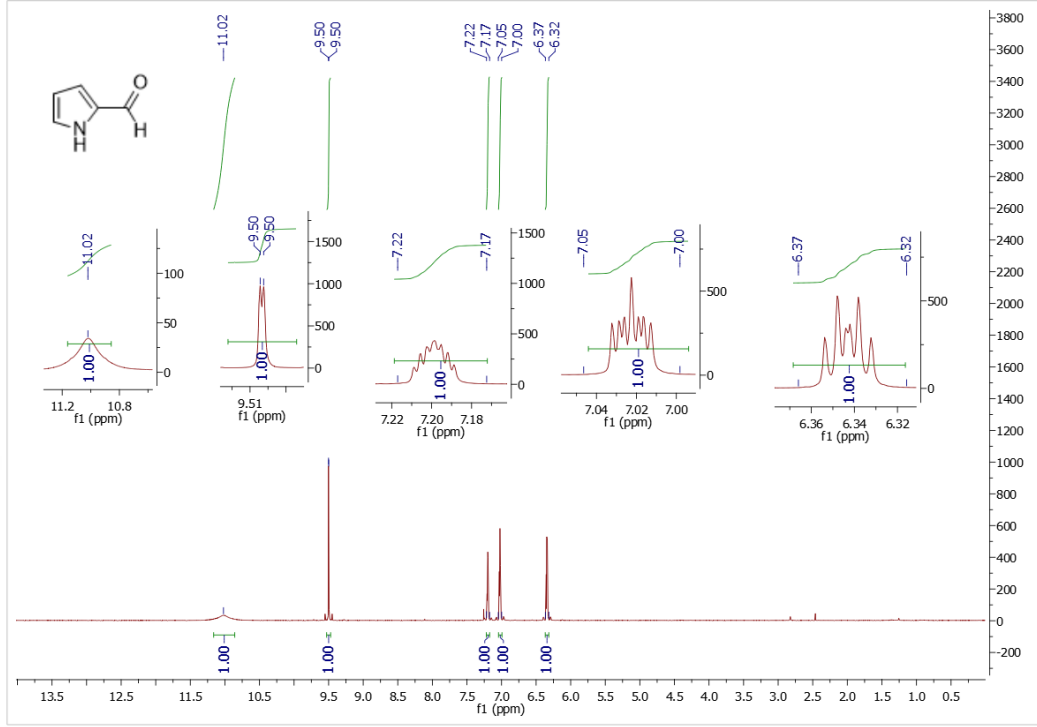
- Rodrigues, D. A., Sagrillo, F. S., Fraga, C. A. (2019). Duvelisib: A 2018 novel FDA-approved small molecule inhibiting phosphoinositide 3-kinases. *Pharmaceutics*, 12(2), 69.
- Roques, B., Jaureguiberry, C., Fournie-Zaluski, M. C., Combrisson, S. (1971). Effet Overhauser dans les systèmes en échange: Étude conformationnelle de formylpyrroles et stéréospecificité des couplages lointains. *Tetrahedron Letters*, 12(28), 2693–2696.
- Saito, T., Obitsu, T., Kohno, H., Sugimoto, I., Matsushita, T., Nishiyama, T., Takaoka, Y. (2012). Pyrrolo [1, 2-b] pyridazines, pyrrolo [2, 1-f] triazin-4 (3H)-ones, and related compounds as novel corticotropin-releasing factor 1 (CRF1) receptor antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20(2), 1122–1138.
- Sakai, N., Funabashi, M., Hamada, T., Minakata, S., Ryu, I., Komatsu, M. (1999). Synthesis of mesomeric betaines containing a pyrrolo-or imidazotriaziniumolate system and their cycloaddition with acetylenic dipolarophiles leading to triazocinone derivatives. *Tetrahedron*, 55(48), 13703–13724.
- Singh, J., Zeller, W., Zhou, N., Hategen, G., Mishra, R., Polozov, A., Gurney, M. E. (2009). Antagonists of the EP3 receptor for prostaglandin E2 are novel antiplatelet agents that do not prolong bleeding. *ACS Chemical Biology*, 4(2), 115–126.
- Singh, N., Patra, S. (2014). Phosphodiesterase 9: Insights from protein structure and role in therapeutics. *Life Sciences*, 106(1-2), 1–11.
- Singh, N., Vayer, P., Tanwar, S., Poyet, J. L., Tsaïoun, K., Villoutreix, B. O. (2023). Drug discovery and development: Introduction to the general public and patient groups. *Frontiers in Drug Discovery*, 3, 1201419.
- Son, K., Park, S. J. (2016). Synthesis of pyrrolo [2, 1-f][1, 2, 4] triazin-4 (3H)-ones: Rearrangement of pyrrolo [1, 2-d][1, 3, 4] oxadiazines and regioselective intramolecular cyclization of 1, 2-biscarbamoyl-substituted 1H-pyrroles. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 12(1), 1780–1787.
- Su, W.-G., Dai, G., Xiao, K., Jia, H., Venable, J. D., Bembenek, S. D. (2014). Novel heteroaryl and heterocycle compounds, compositions and methods. WO Patent WO2014015675 A1, January 30, 2014.
- Sukanya, S.H., Venkatesh, T., Aditya Rao, S.J., Muthipeedika, N. J. (2022). Efficient L-Proline catalyzed synthesis of some new (4-substituted-phenyl)-1,5-dihydro-2H-pyrimido[4,5-d][1,3]thiazolo[3,2a]-pyrimidine-2,4(3H)-diones bearing thiazolopyrimidine derivatives and evaluation of their pharmacological activities. *Journal of Molecular Structure*, 1247, 131324.
- Taché, Y., Kiank, C., Stengel, A. (2009). A role for corticotropin-releasing factor in functional gastrointestinal disorders. *Current Gastroenterology Reports*, 11(4), 270–277.
- Tankova, T., Senkus, E., Beloyartseva, M., Borštnar, S., Catrinoiu, D. (2022). Management strategies for hyperglycemia associated with the α -selective PI3K inhibitor alpelisib for the treatment of breast cancer. *Cancers*, 14(7), 1598.
- Tebbe, M. J., Atton, H. V., Avery, C., Bromidge, S. M., Kerry, M., Kotey, A. K., Monck, N. J., Meniconi, M., Ridgill, M. P., Tye, H. (2017). Preparation of heteroaryl derivatives as sepiapterin reductase inhibitors. WO Patent WO2017059191A1, April 6, 2017.
- Thieu, T., Sclafani, J. A., Levy, D. V., McLean, A., Breslin, H. J., Ott, G. R., Dorsey, B. D. (2011). Discovery and process synthesis of novel 2, 7-pyrrolo [2, 1-f][1, 2, 4] triazines. *Organic Letters*, 13(16), 4204–4207.

- Thomford, N. E., Senthebane, D. A., Rowe, A., Munro, D., Seele, P., Maroyi, A., Dzobo, K. (2018). Natural products for drug discovery in the 21st century: Innovations for novel drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), 1578.
- Vitaku, E., Smith, D. T., Njardarson, J. T. (2014). Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among U.S. FDA approved pharmaceuticals. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57, 10257–10274.
- Wang, D. G., Barrios, D. M., Blinder, V. S., Bromberg, J. F., Drullinsky, P. R. (2020). Dermatologic adverse events related to the PI3K α inhibitor alpelisib (BYL719) in patients with breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 183, 227–237.
- Wang, M., Gao, M., Zheng, Q. H. (2014). Synthesis of carbon-11-labeled 4-(phenylamino)-pyrrolo [2, 1-f][1, 2, 4] triazine derivatives as new potential PET tracers for imaging of p38 α mitogen-activated protein kinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24(16), 3700–3705.
- Wang, Y., Wu, X., Du, M., Chen, X., Ning, X., Chen, H., Yin, Y. (2017). Eg5 inhibitor YL001 induces mitotic arrest and inhibits tumor proliferation. *Oncotarget*, 8(26), 42510.
- Weber, A. E. (2004). Dipeptidyl peptidase IV inhibitors for the treatment of diabetes. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(17), 4135–4141.
- Wroblewski, S. T., Lin, S., Hynes Jr, J., Wu, H., Pitt, S., Shen, D. R., Leftheris, K. (2008). Synthesis and SAR of new pyrrolo [2, 1-f][1, 2, 4] triazines as potent p38 α MAP kinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(8), 2739–2744.
- Wymann, M. P., Marone, R. (2005). Phosphoinositide 3-kinase in disease: Timing, location, and scaffolding. *Current Opinion in Cell Biology*, 17(2), 141–149.
- Xiang, H. Y., Chen, Y. H., Wang, Y., Zhang, X., Ding, J., Meng, L. H., Yang, C. H. (2020). Design, synthesis and antiproliferative activity evaluation of a series of pyrrolo [2, 1-f][1, 2, 4] triazine derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 30(12), 127194.
- Xiang, H., Chen, Y., He, Q., Xie, Y., Yang, C. (2013). Pot, atom and step economic synthesis: A diversity-oriented approach to construct 2-substituted pyrrolo [2, 1-f][1, 2, 4] triazin-4 (3 H)-ones. *RSC Advances*, 3(17), 5807–5810.
- Yenice, I., Basceken, S., Balci, M. (2017). Nucleophilic and electrophilic cyclization of N-alkyne-substituted pyrrole derivatives: Synthesis of pyrrolopyrazinone, pyrrolotriazinone, and pyrrolooxazinone moieties. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 13(1), 825–834.
- You, M., Xie, Z., Zhang, N., Zhang, Y., Xiao, D., Liu, S., Tao, Y. (2023). Signaling pathways in cancer metabolism: Mechanisms and therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 196.
- Zhang, K.Y.J., Milburn, M.V., Artis, D.R. (2007). Scaffold-based drug discovery in structure-based drug discovery. In H. Jhoti & A.R. Leach (Eds.), *Structure-Based Drug Discovery* (pp. 129–153). Springer: Dordrecht, The Netherlands.
- Zhao, C., Zhang, R., He, B., Wei, N., Wu, Y., Zhou, T. (2018). Preparation of pyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazines as dipeptidyl peptidase-IV inhibitors useful for the treatment of diabetes. CN Patent CN103848835A, July 6, 2018.
- Zheng, B., Conlon, D. A., Corbett, R. M., Chau, M., Hsieh, D. M., Yeboah, A., Burt, J. (2012). Development of a practical synthesis of a functionalized pyrrolo [2, 1-f][1, 2, 4] triazine nucleus. *Organic Process Research & Development*, 16(11), 1846–1853.

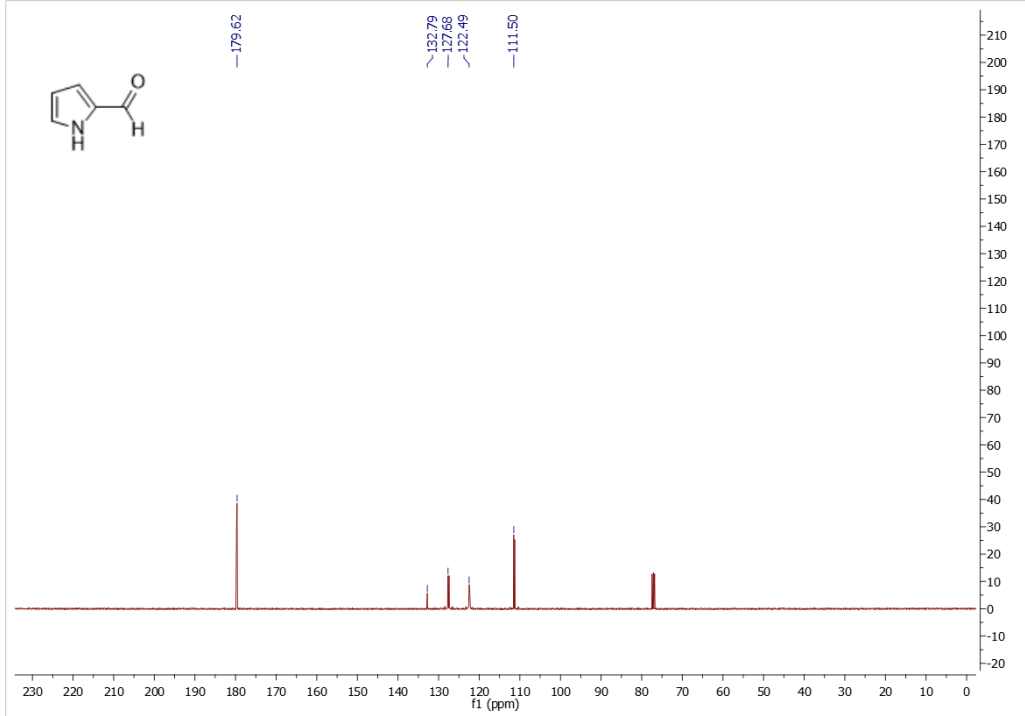


EKLER

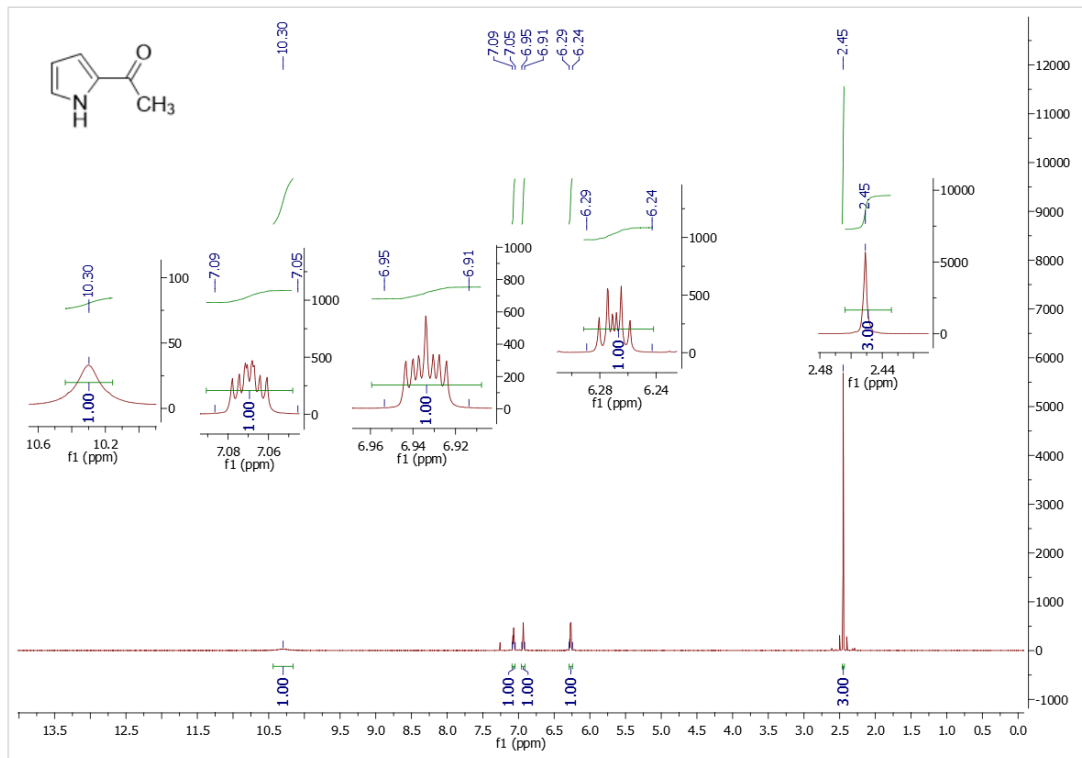
Ek 1. Sentezlenen bileşiklerin ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları



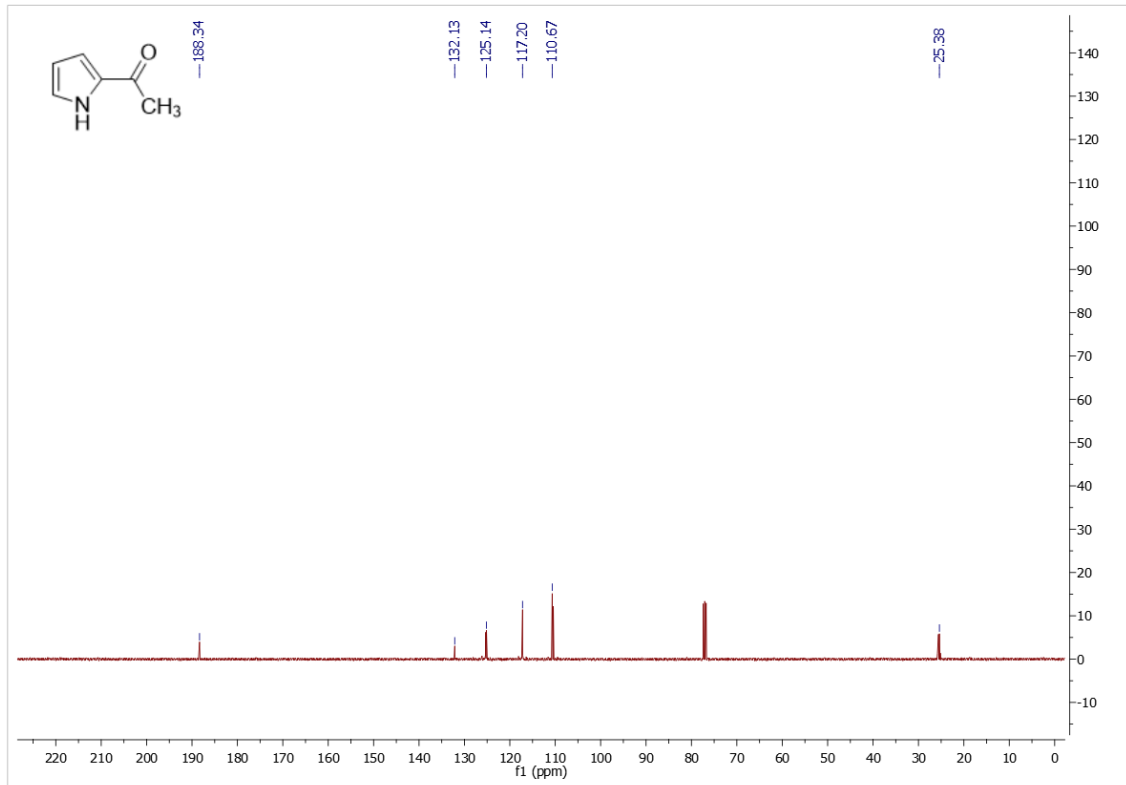
Şekil Ek1. EK-1 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



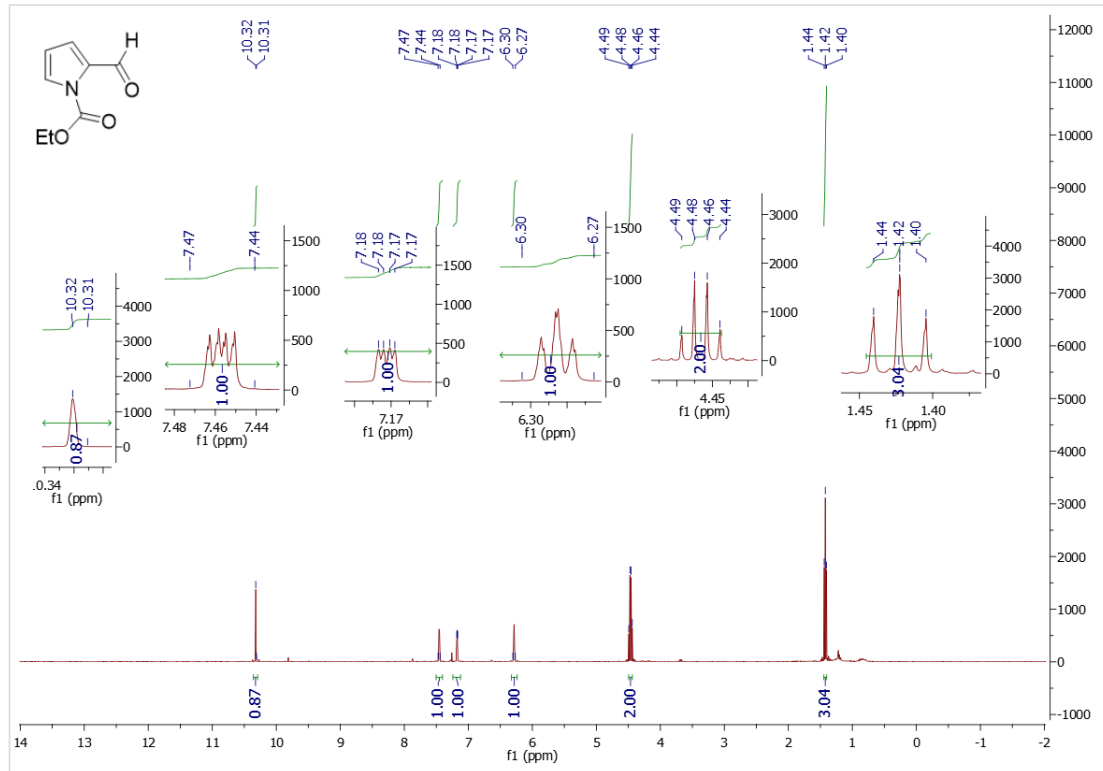
Şekil Ek2. EK-1 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



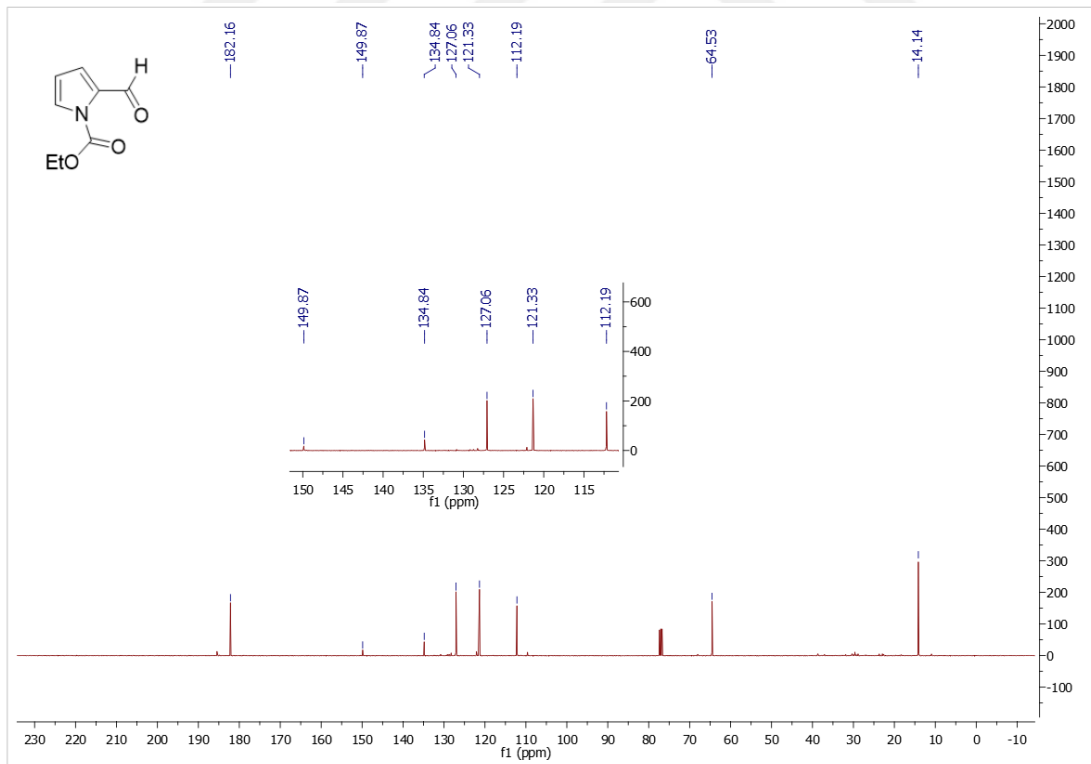
Şekil Ek3. EK-2 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



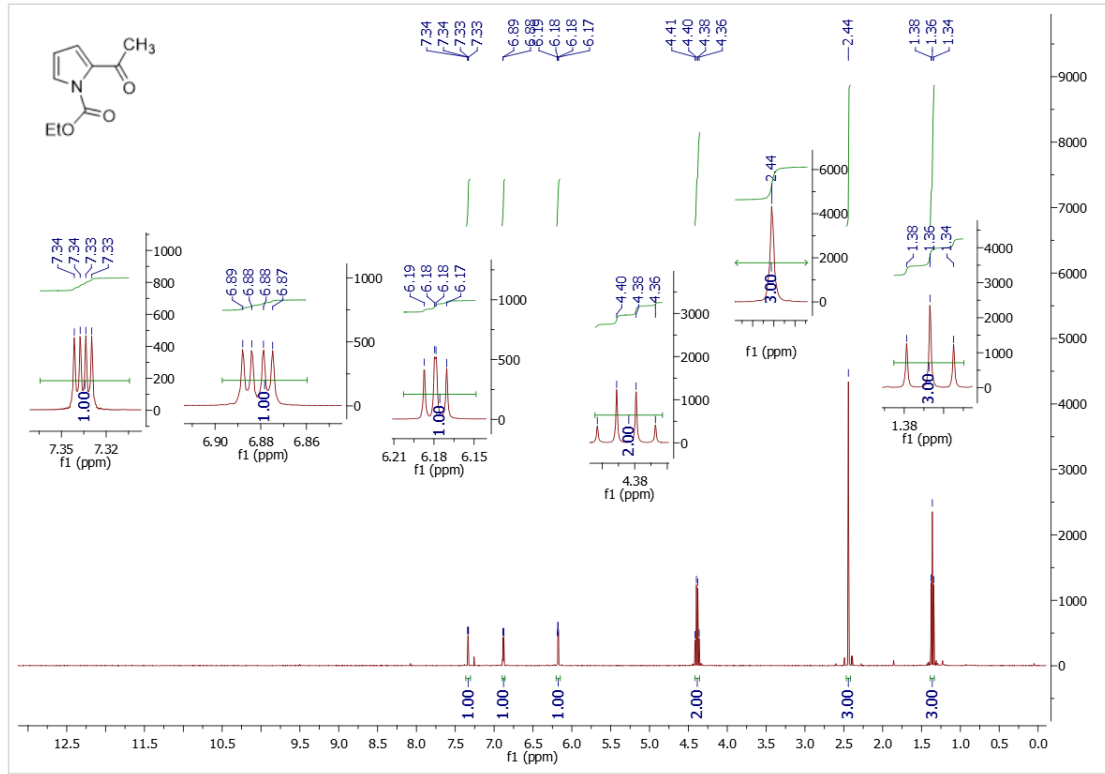
Şekil Ek4. EK-2 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



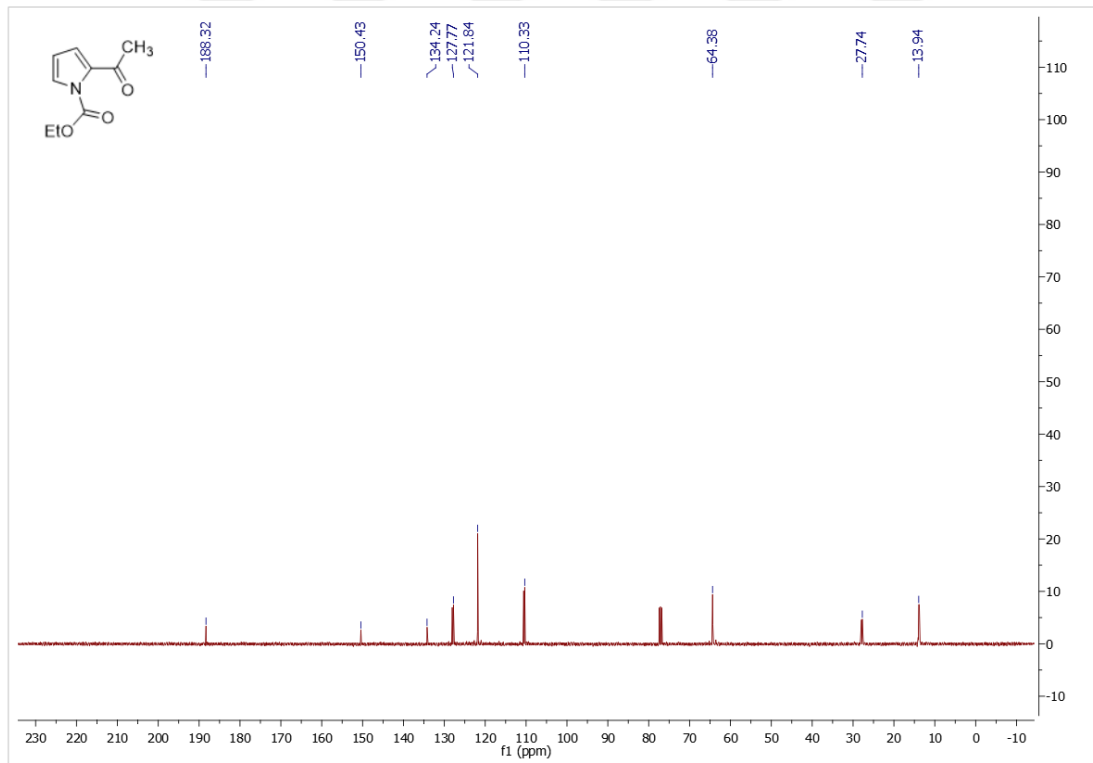
Şekil Ek5. EK-3 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



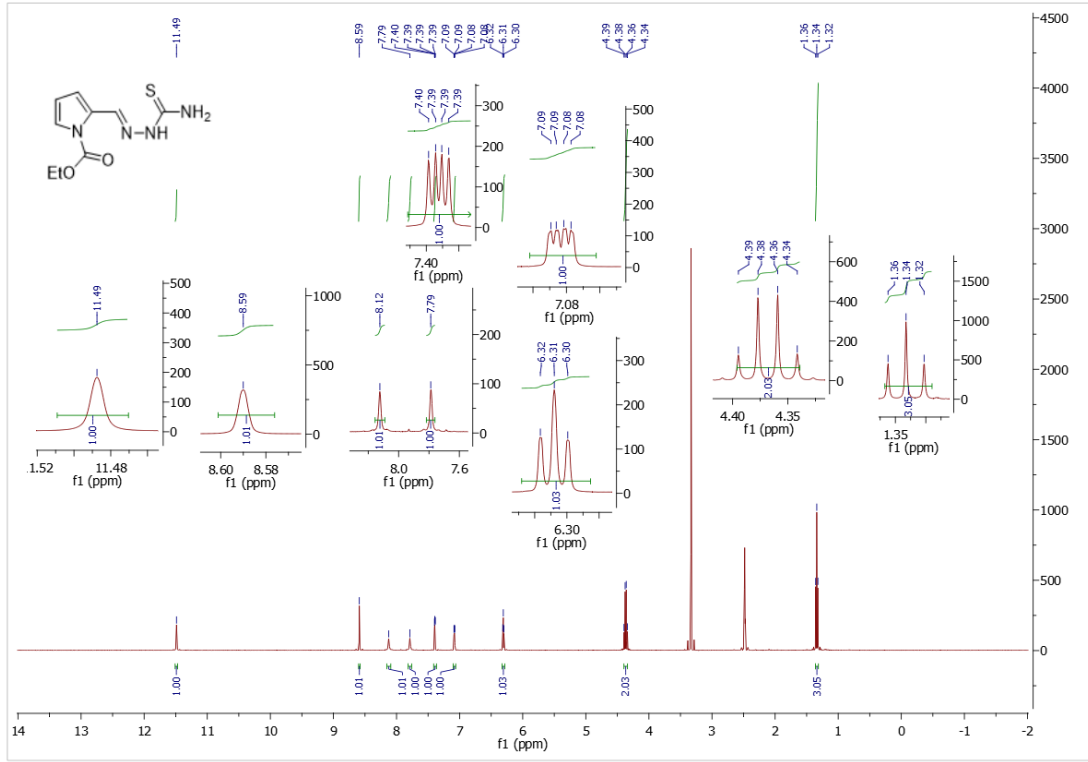
Şekil Ek6. EK-3 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



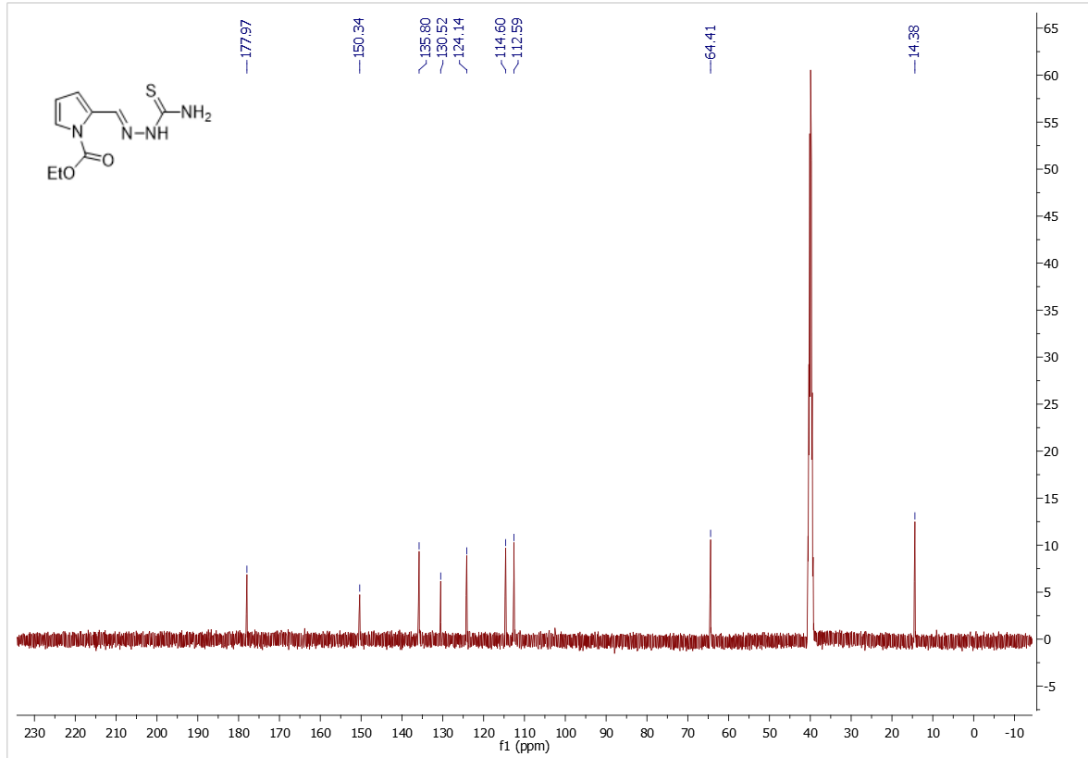
Şekil Ek7. EK-4 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



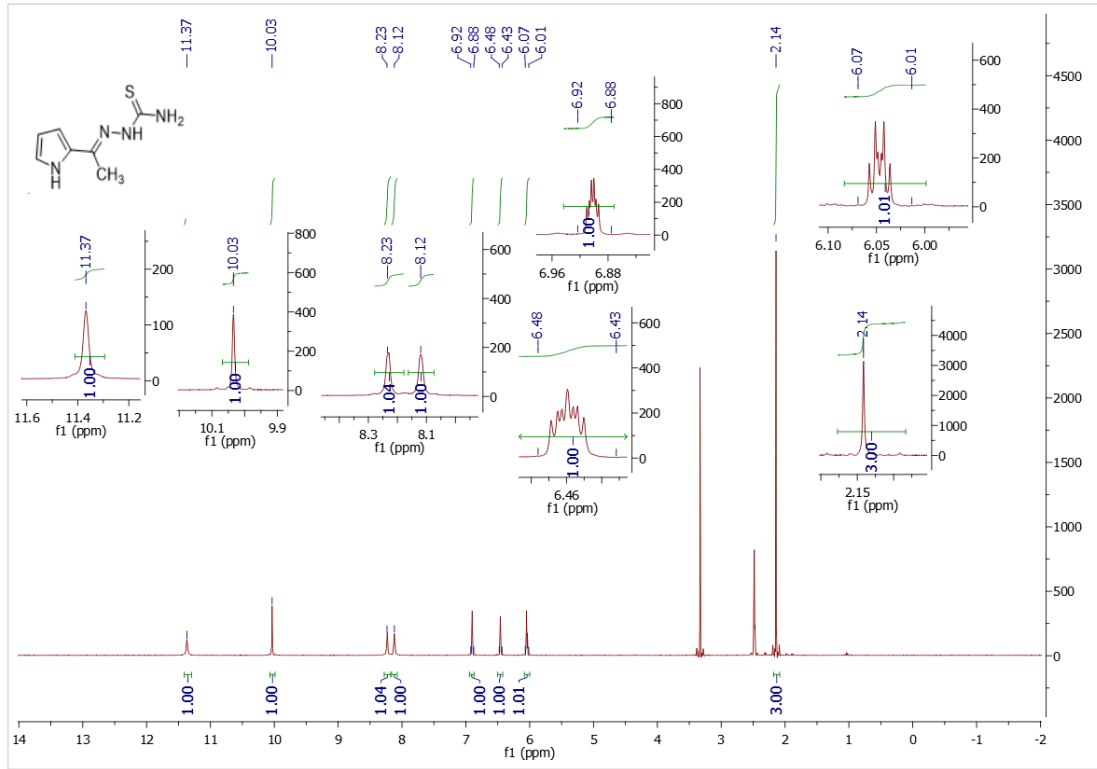
Şekil Ek8. EK-4 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



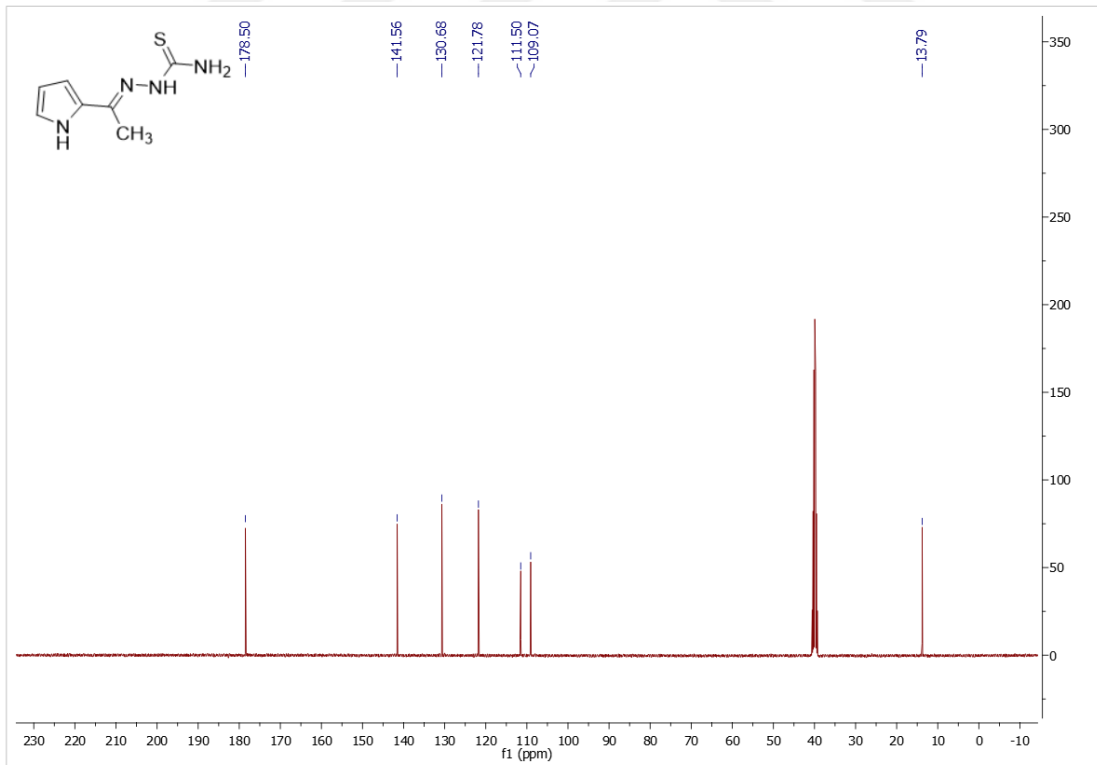
Şekil Ek9. EK-5 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



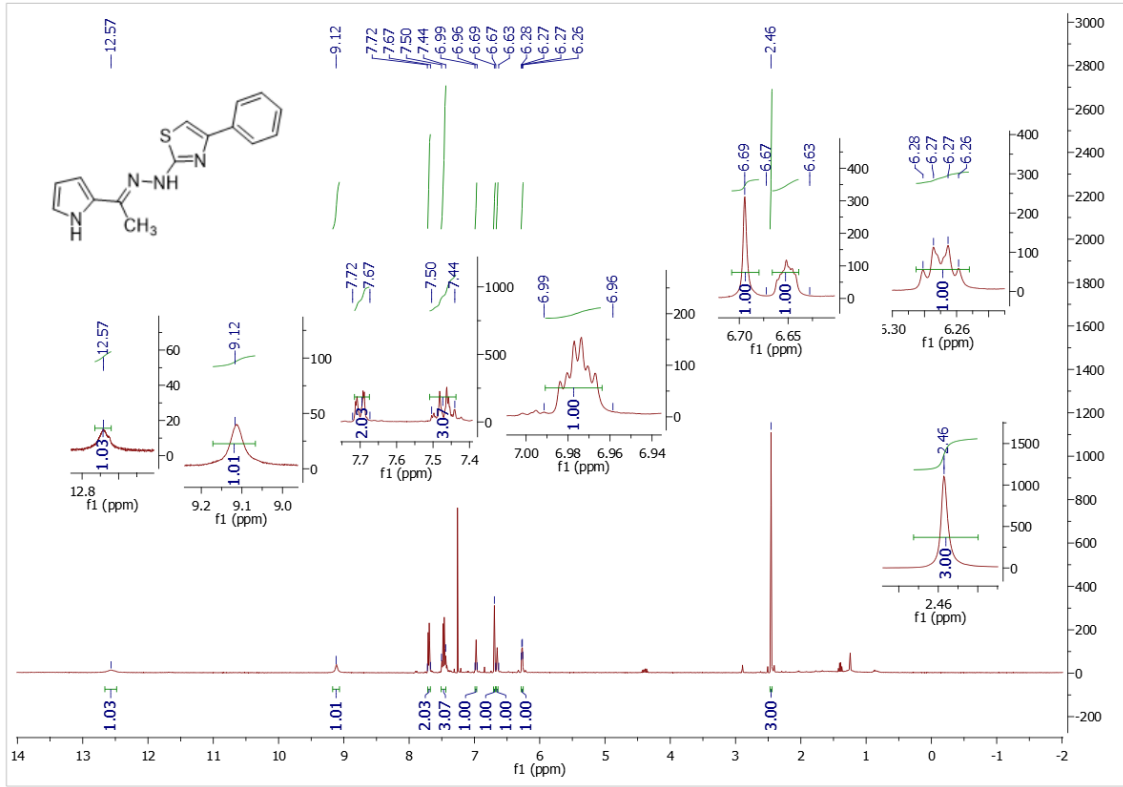
Şekil Ek10. EK-5 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



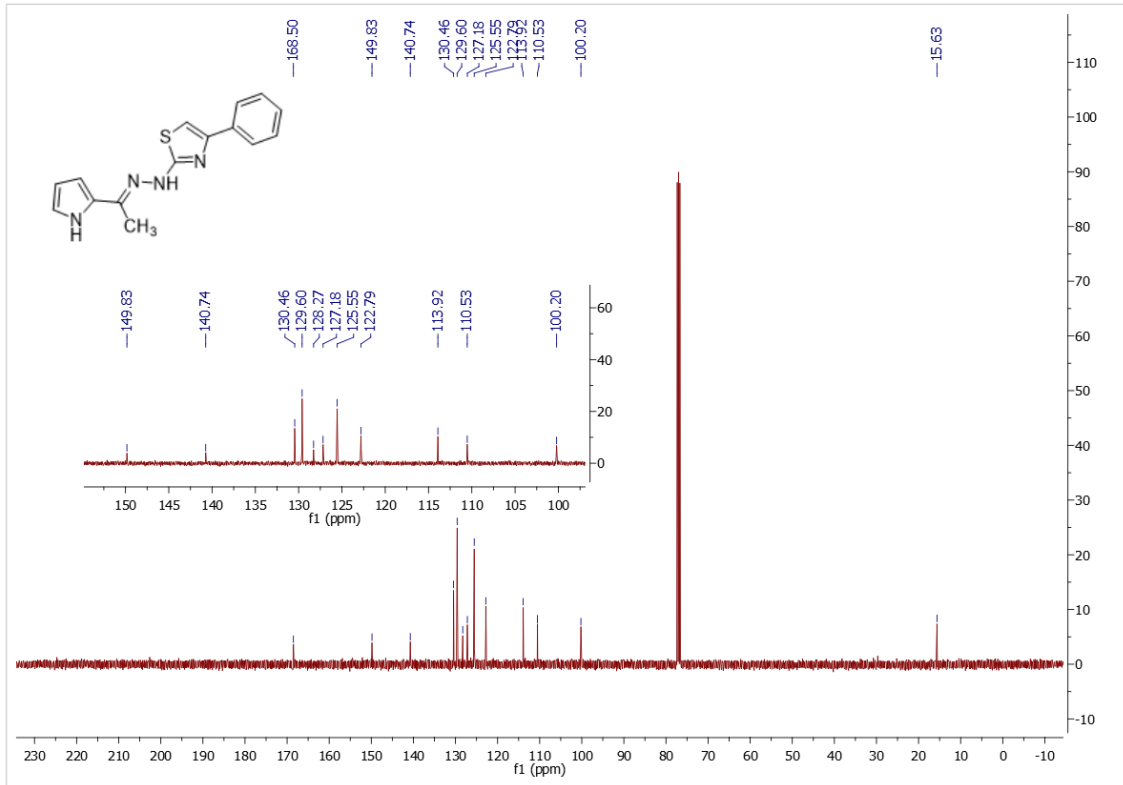
Şekil Ek11. EK-6 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



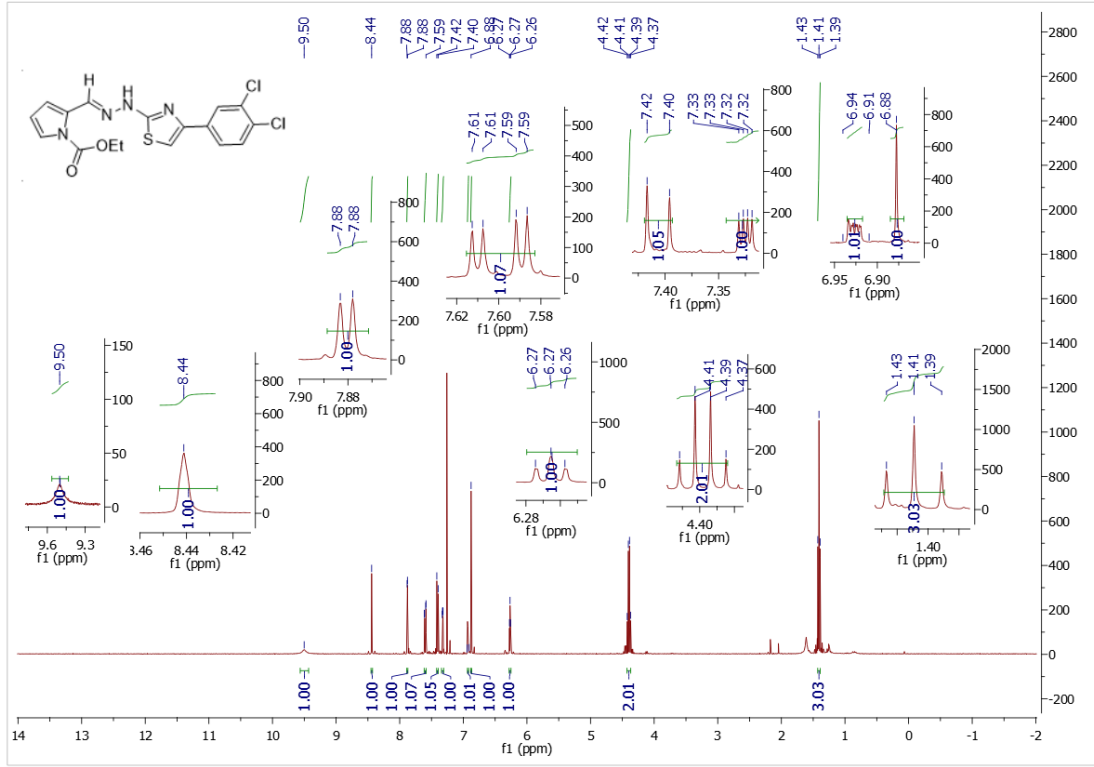
Şekil Ek12. EK-6 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



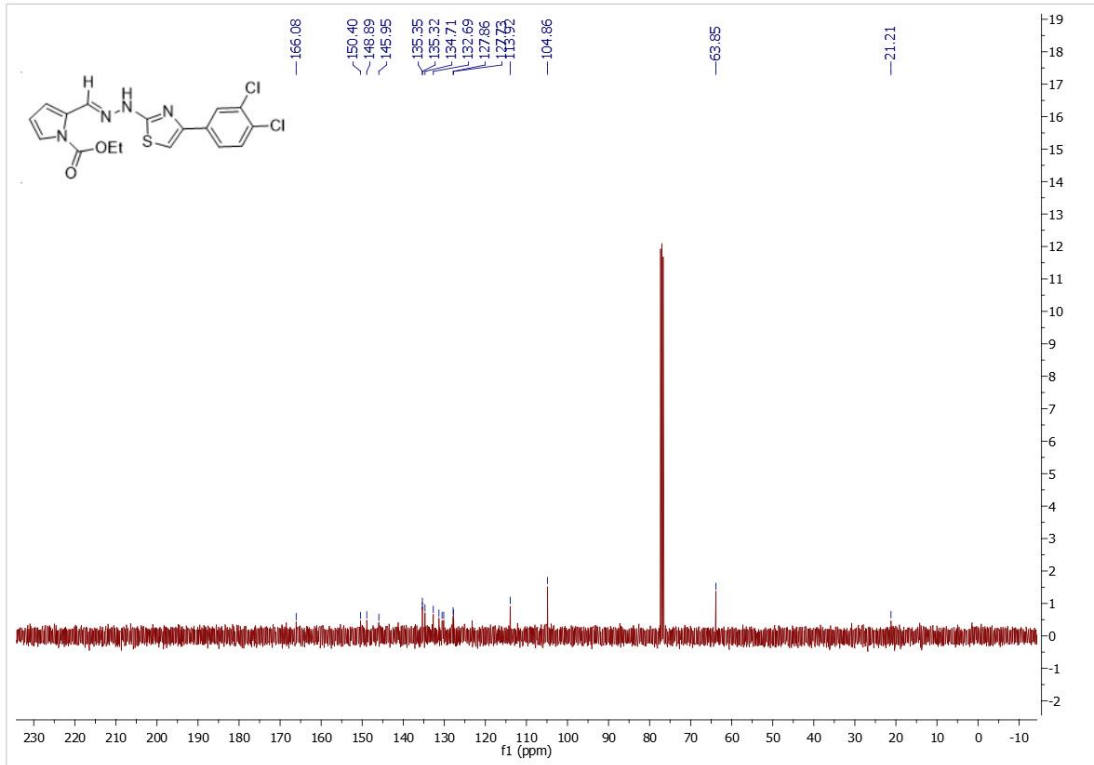
Şekil Ek13. EK-7 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



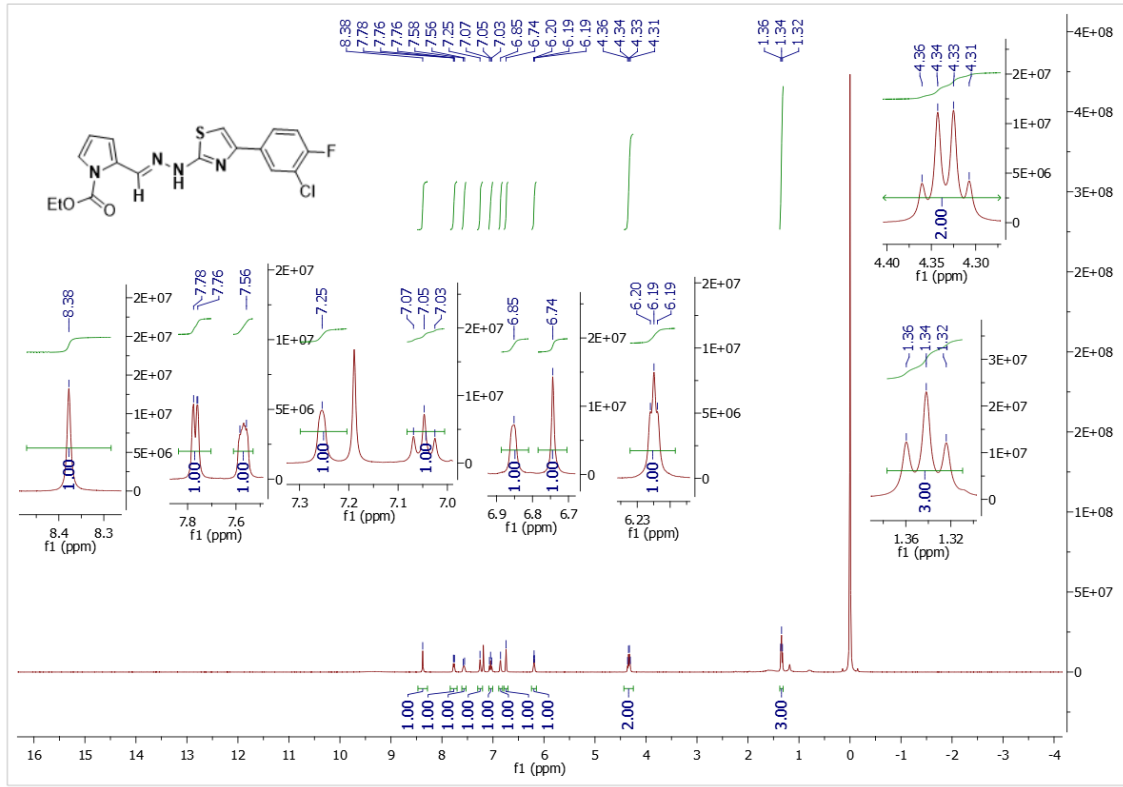
Şekil Ek14. EK-7 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



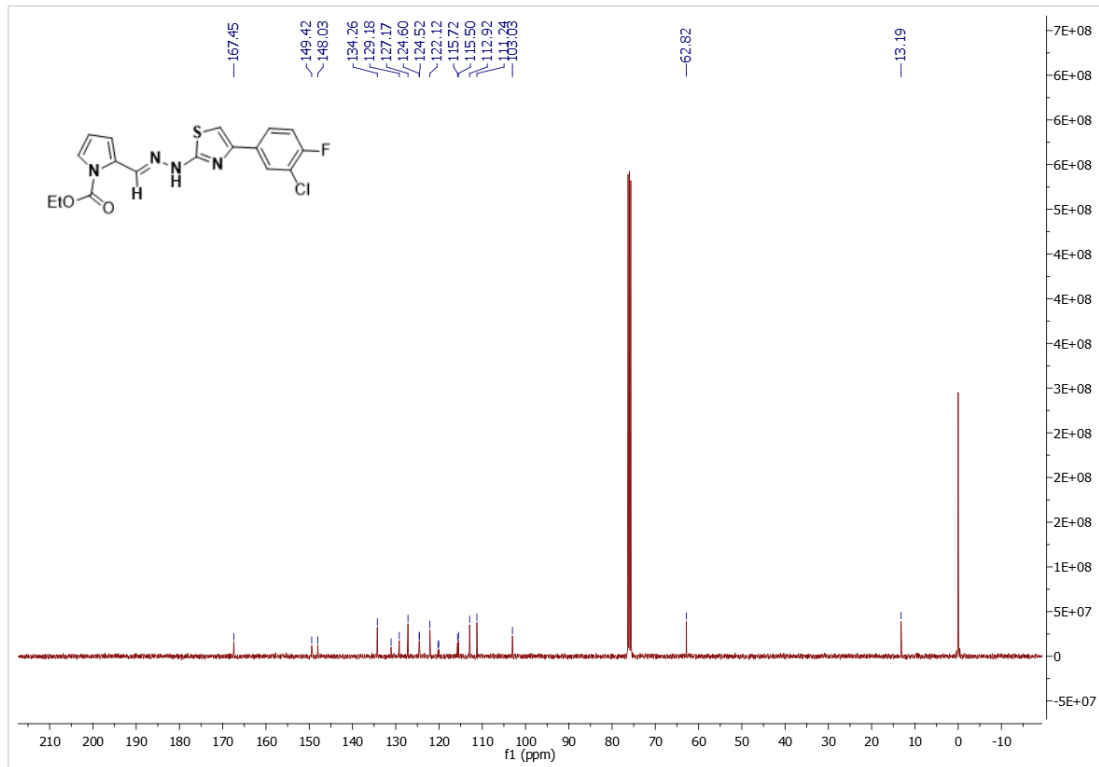
Şekil Ek15. EK-8 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



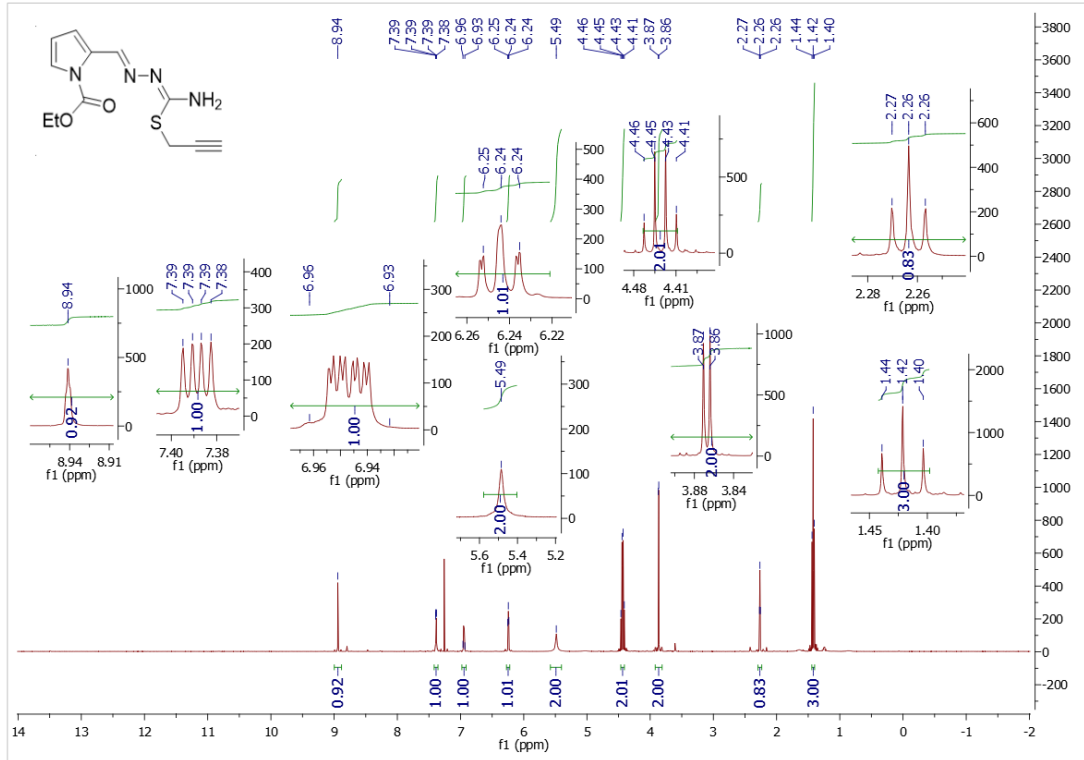
Şekil Ek16. EK-8 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



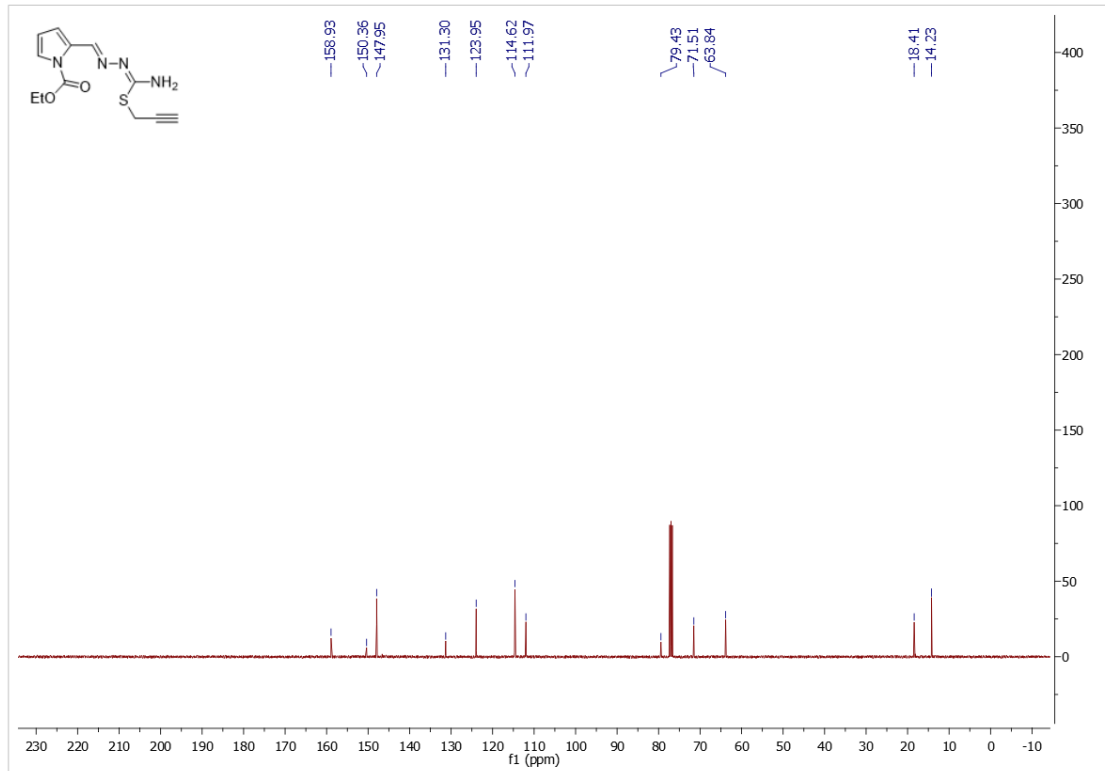
Şekil Ek17. EK-9 bileşiminin ¹H NMR spektrumu



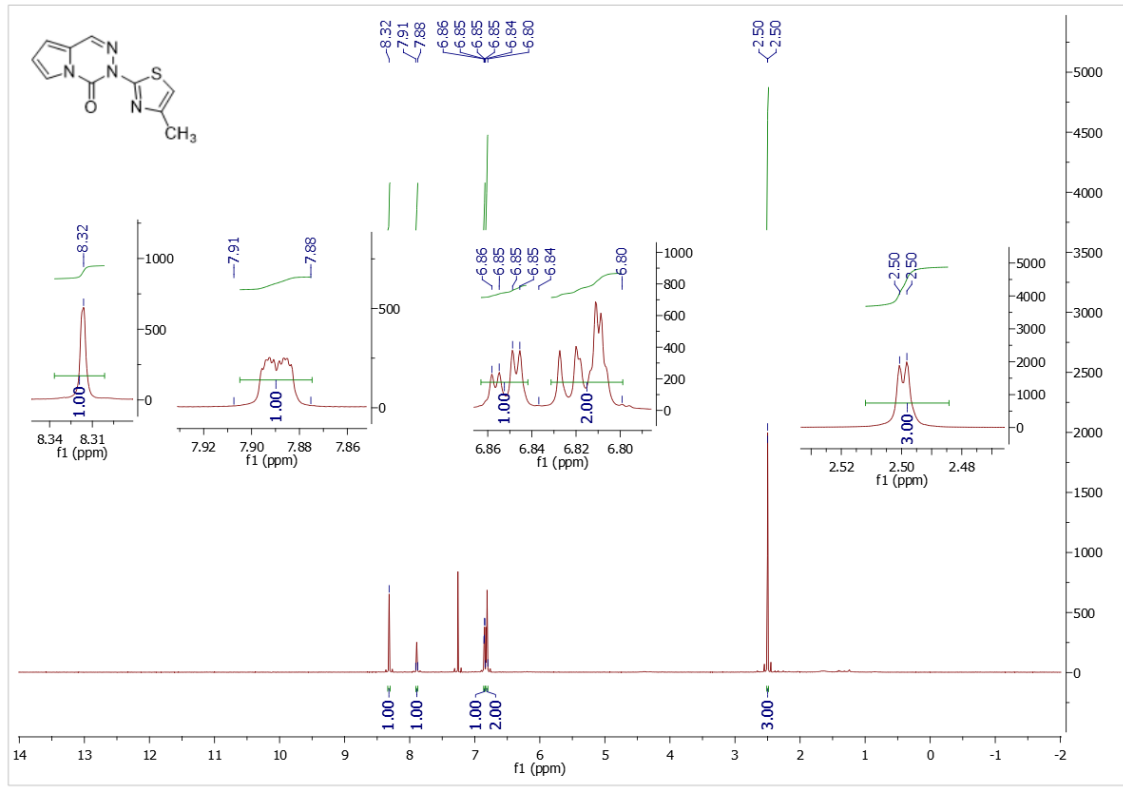
Şekil Ek18. EK-9 bileşiminin ¹³C NMR spektrumu



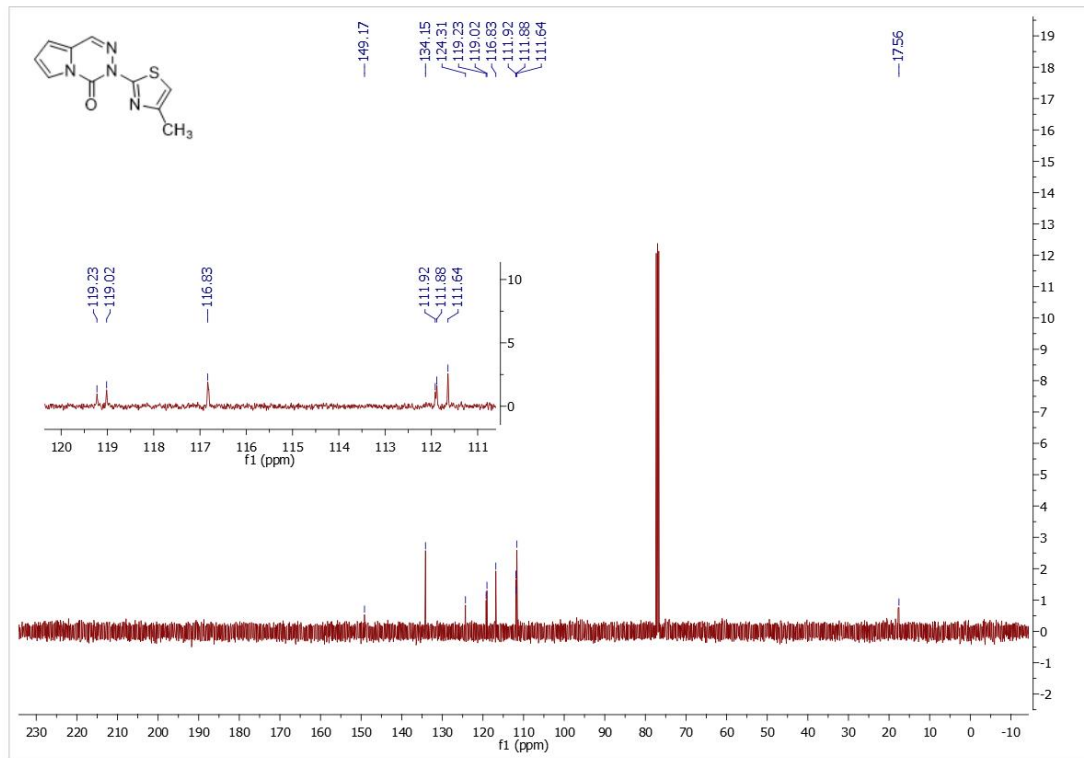
Şekil Ek19. EK-10 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



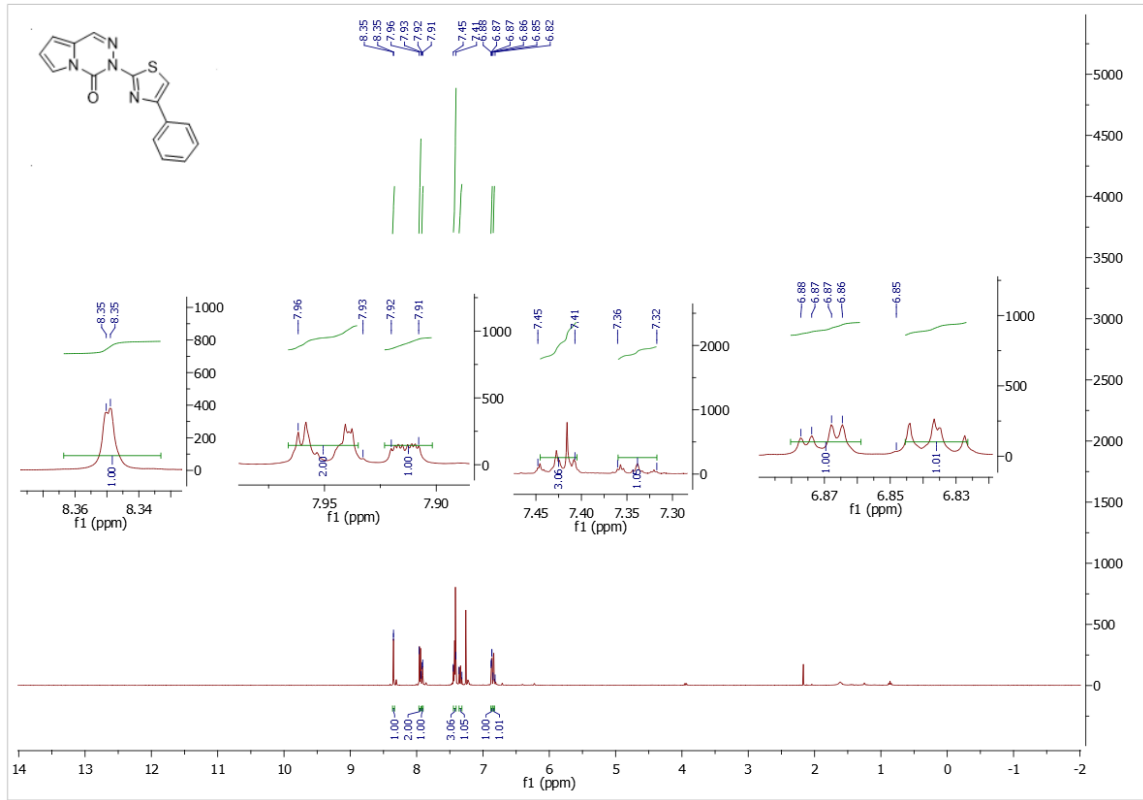
Şekil Ek20. EK-10 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



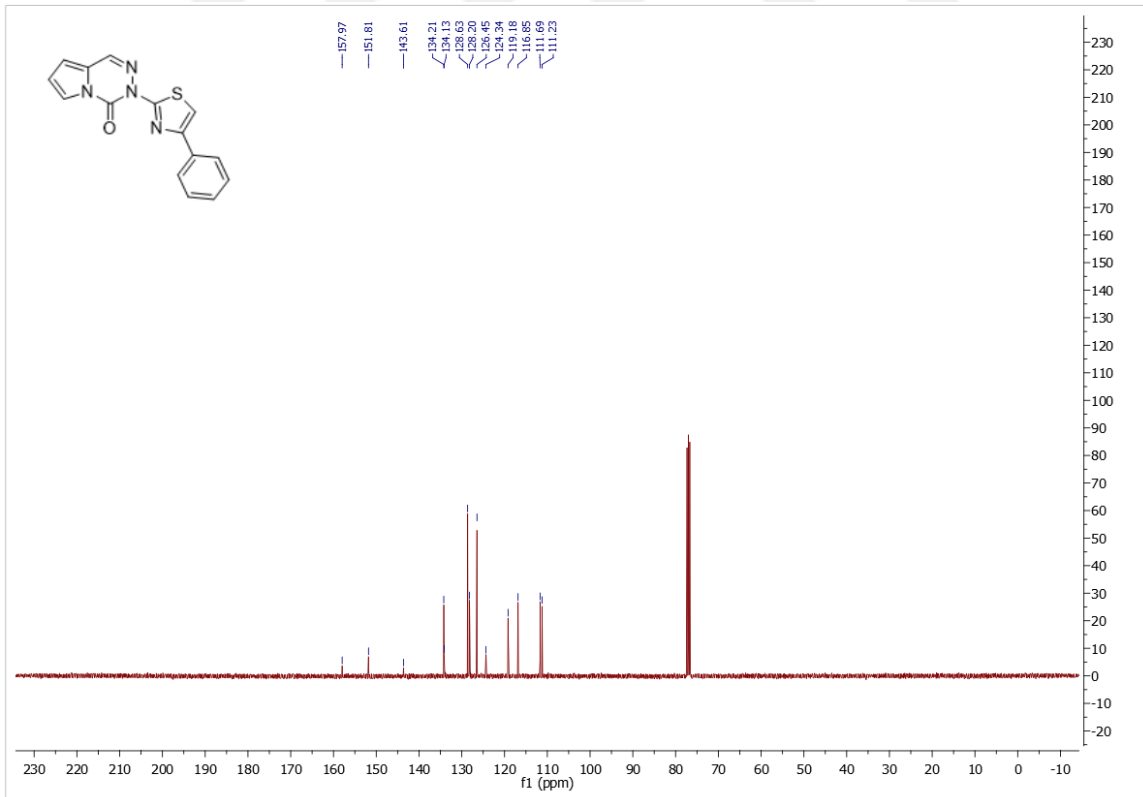
Şekil Ek21. EK-11 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



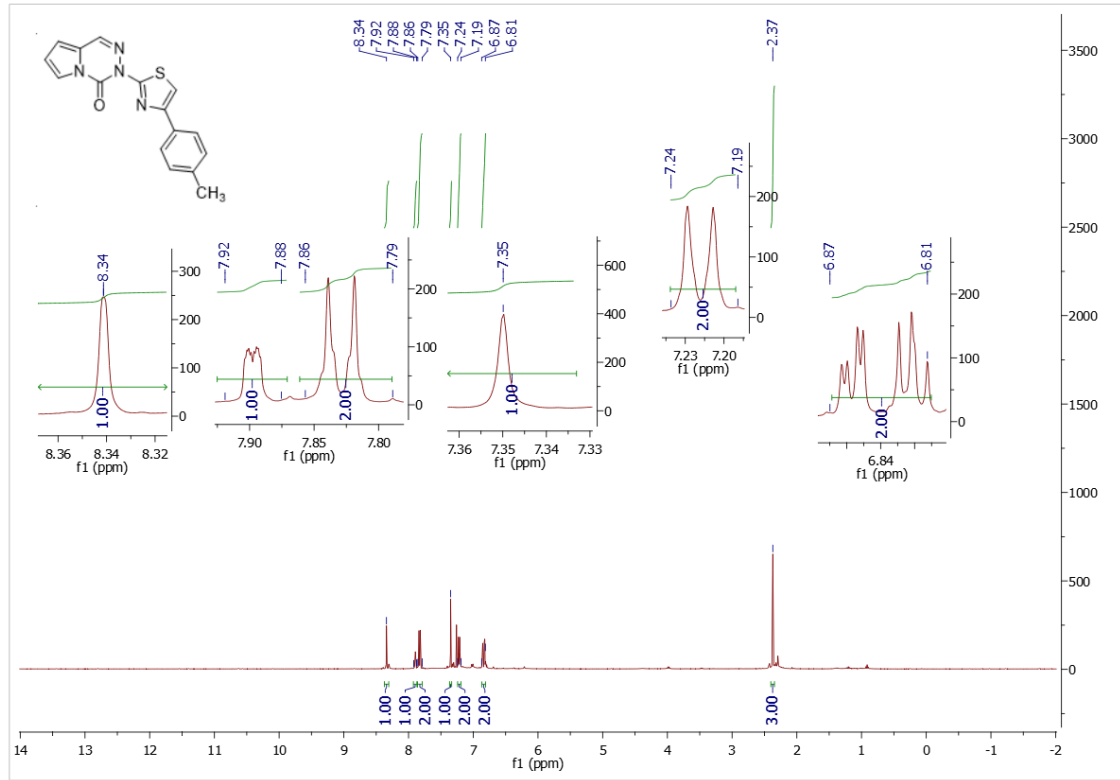
Şekil Ek22. EK-11 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



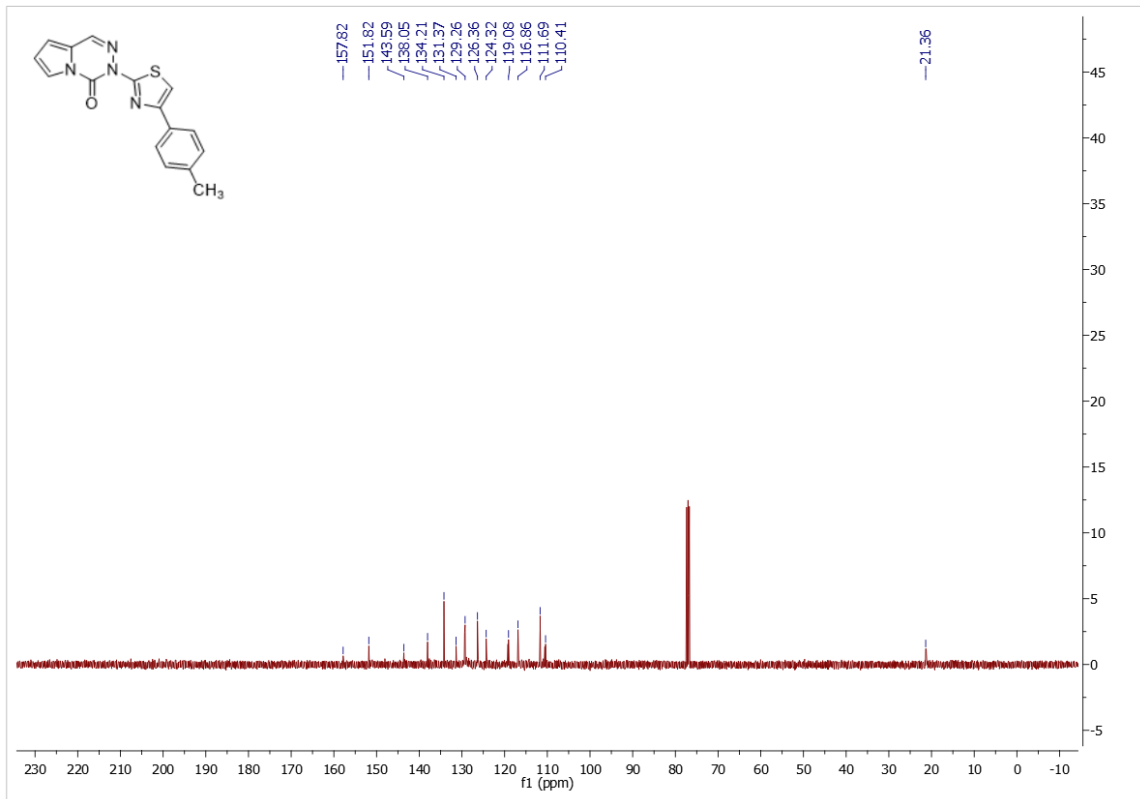
Şekil Ek23. EK-12 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



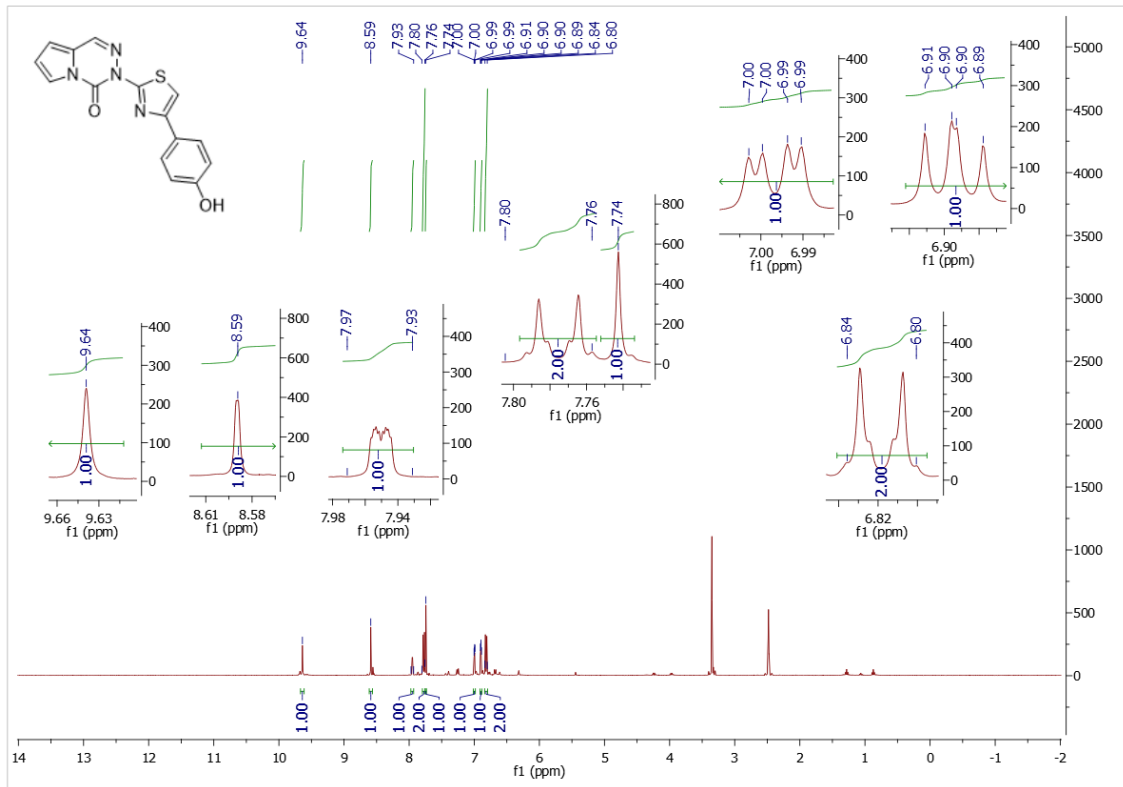
Şekil Ek24. EK-12 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



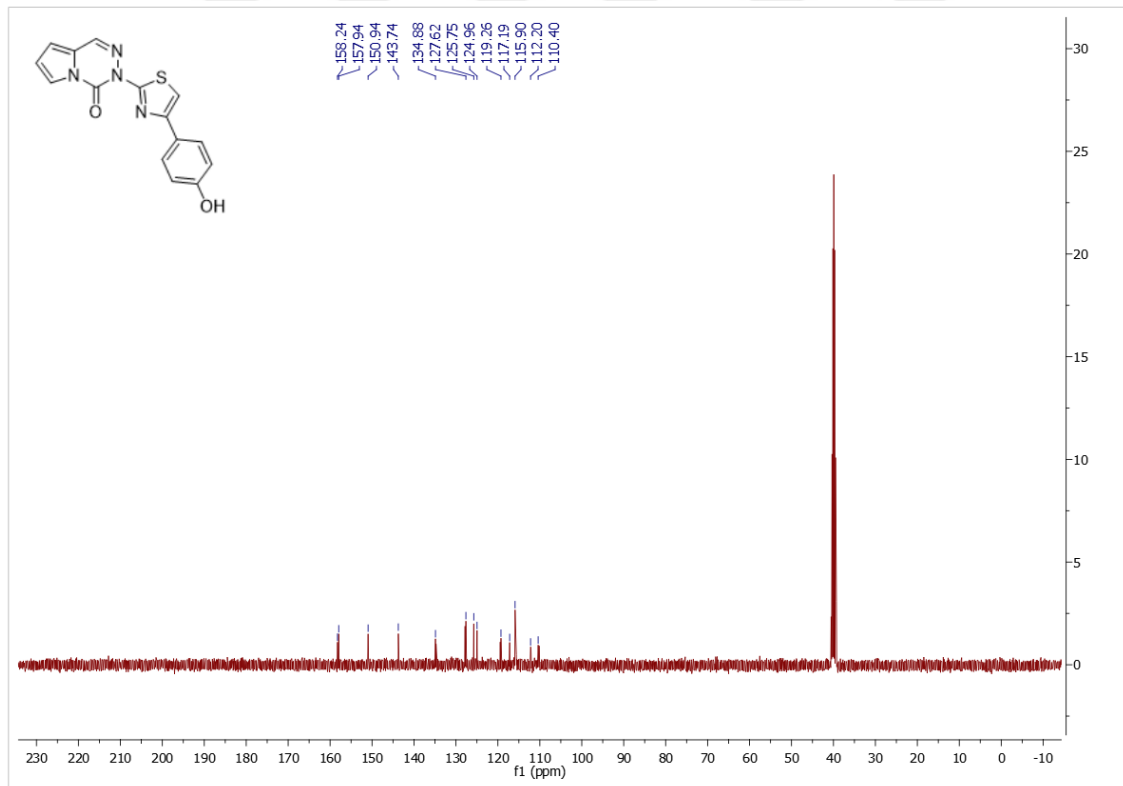
Şekil Ek25. EK-13 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



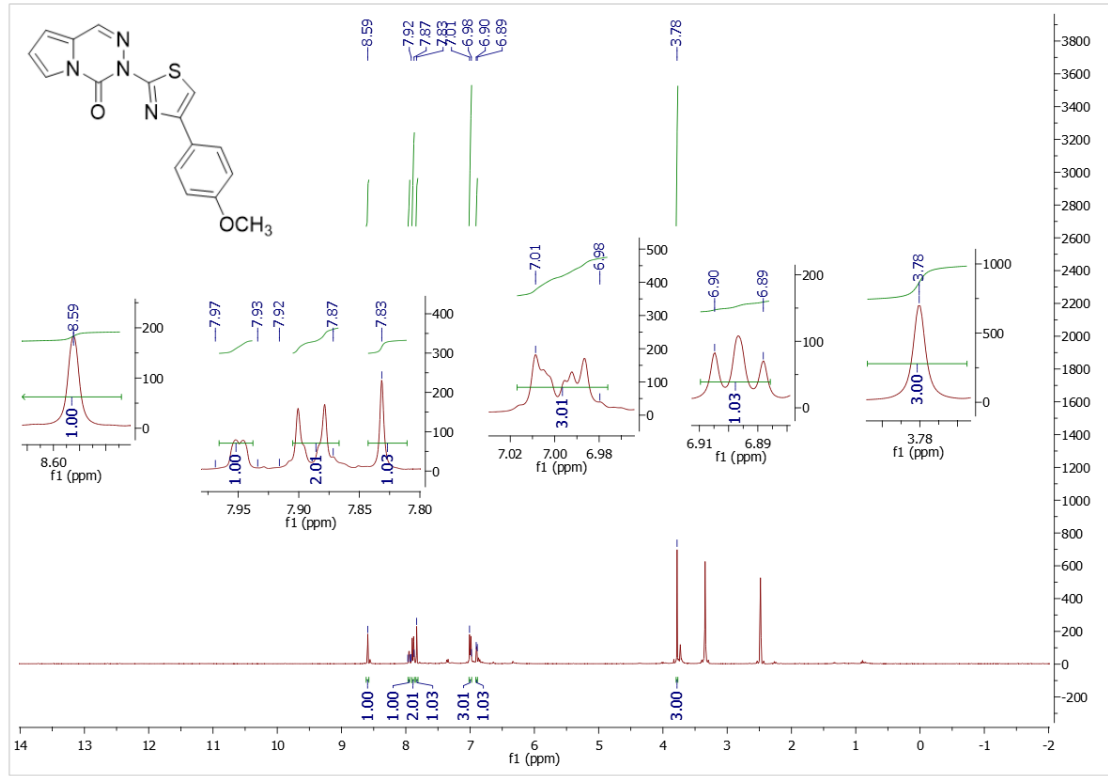
Şekil Ek26. EK-13 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



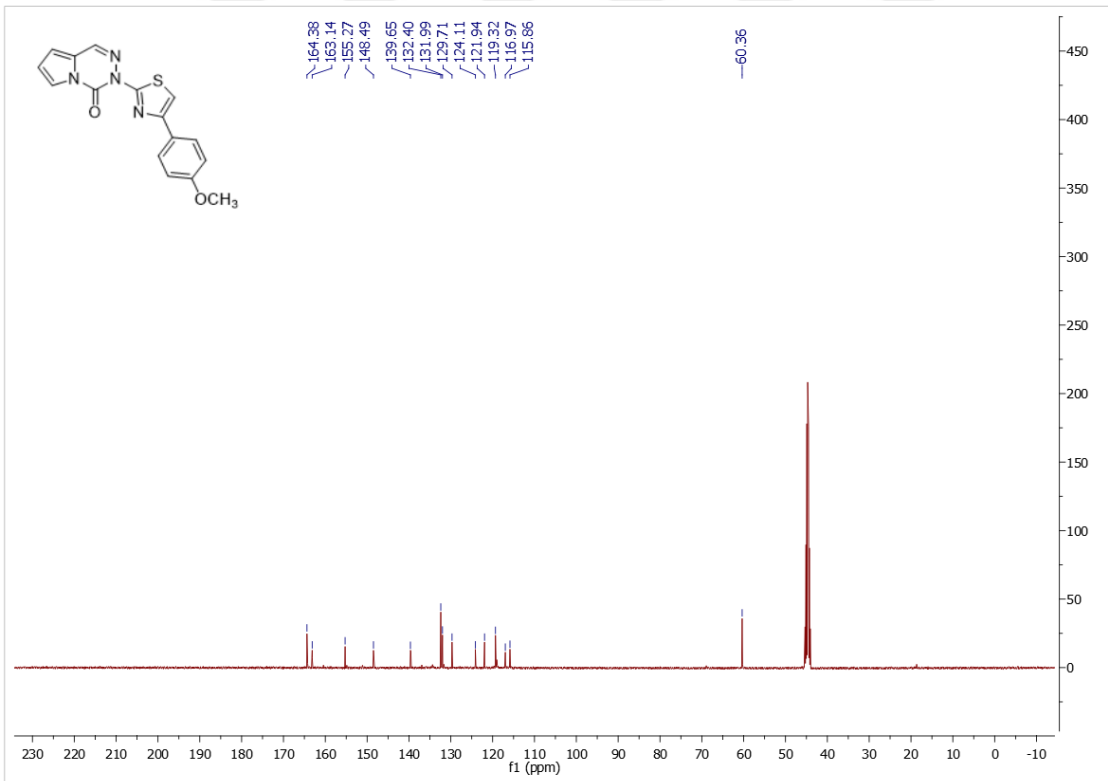
Şekil Ek27. EK-14 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



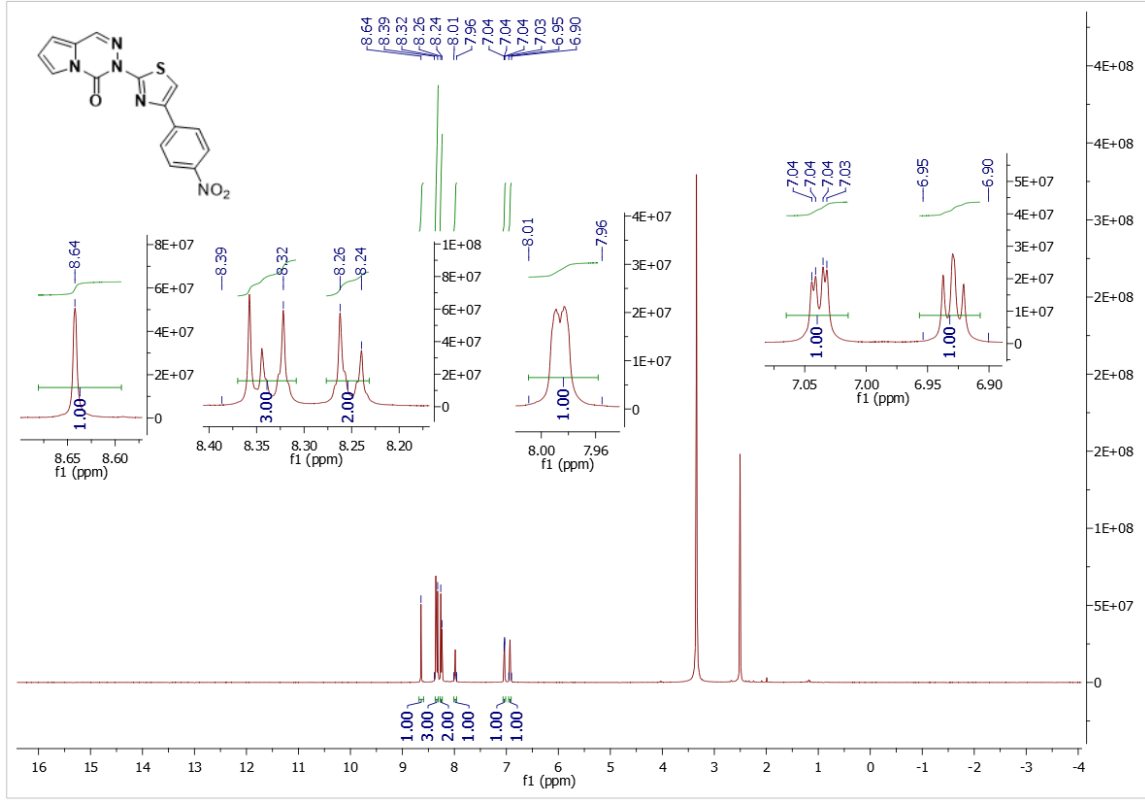
Şekil Ek28. EK-14 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



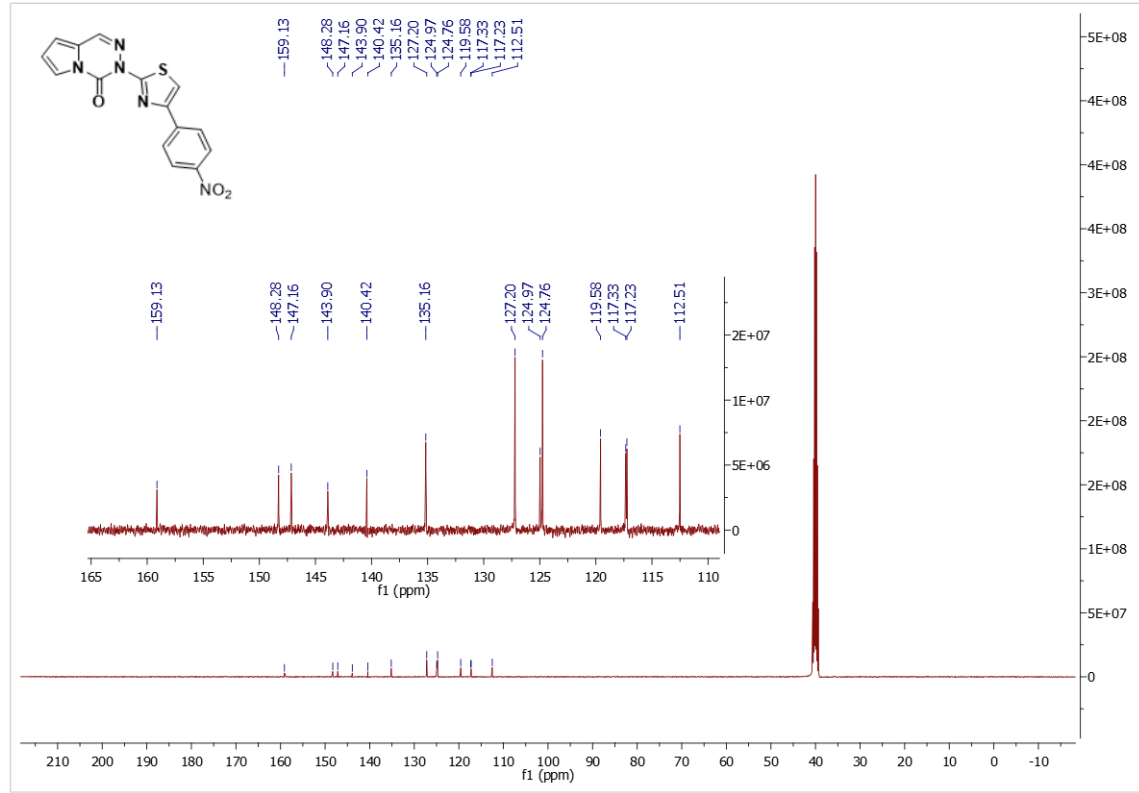
Şekil Ek29. EK-15 bileşiminin ¹H NMR spektrumu



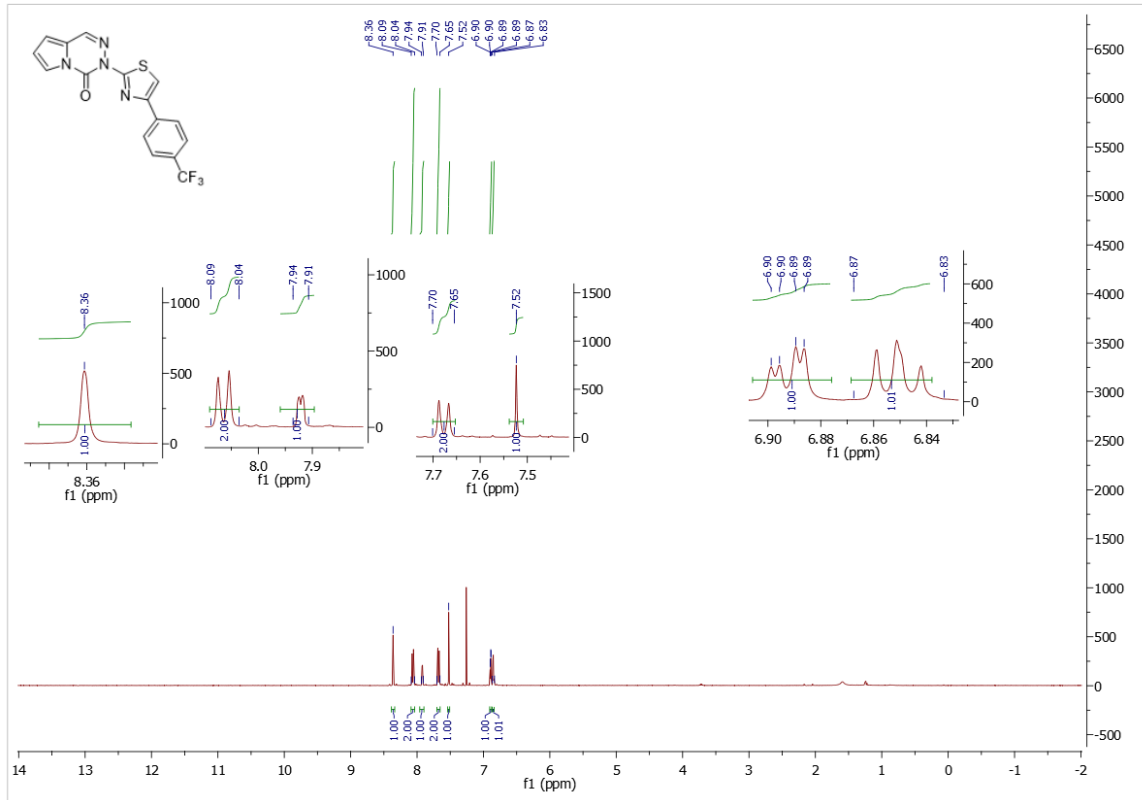
Şekil Ek30. EK-15 bileşiminin ¹³C NMR spektrumu



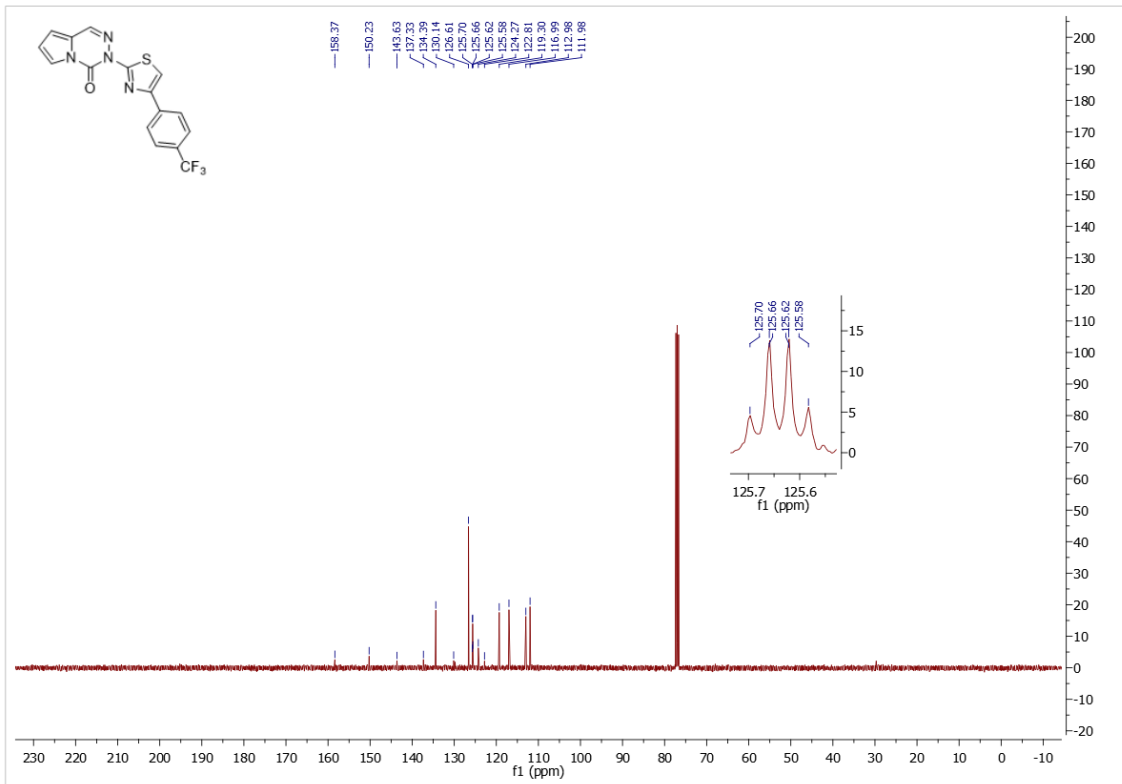
Şekil Ek31. EK-16 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



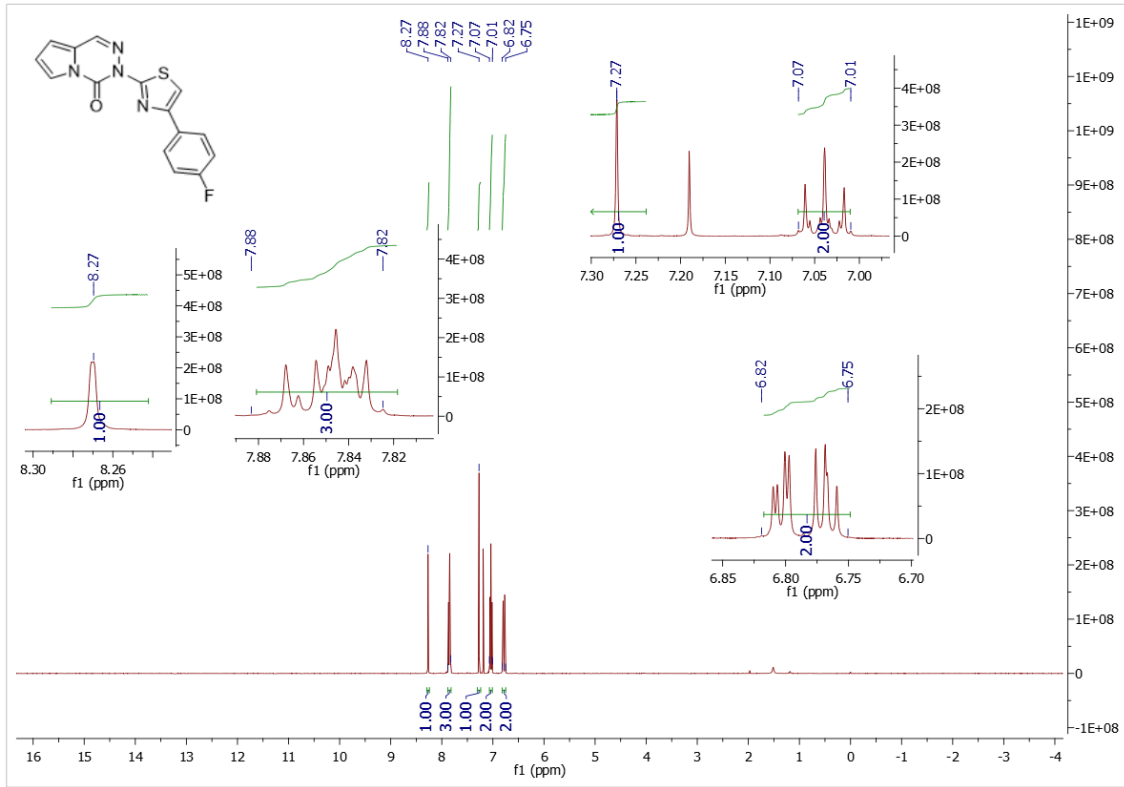
Şekil Ek32. EK-16 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



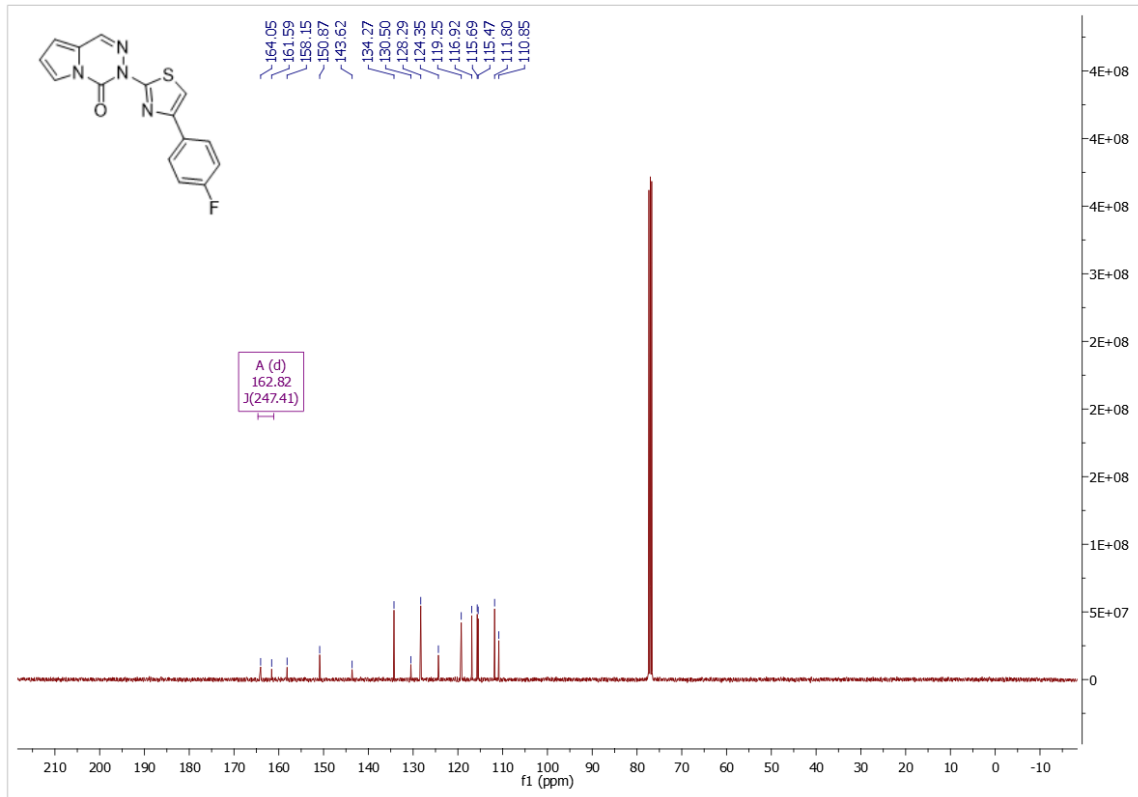
Şekil Ek33. EK-17 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



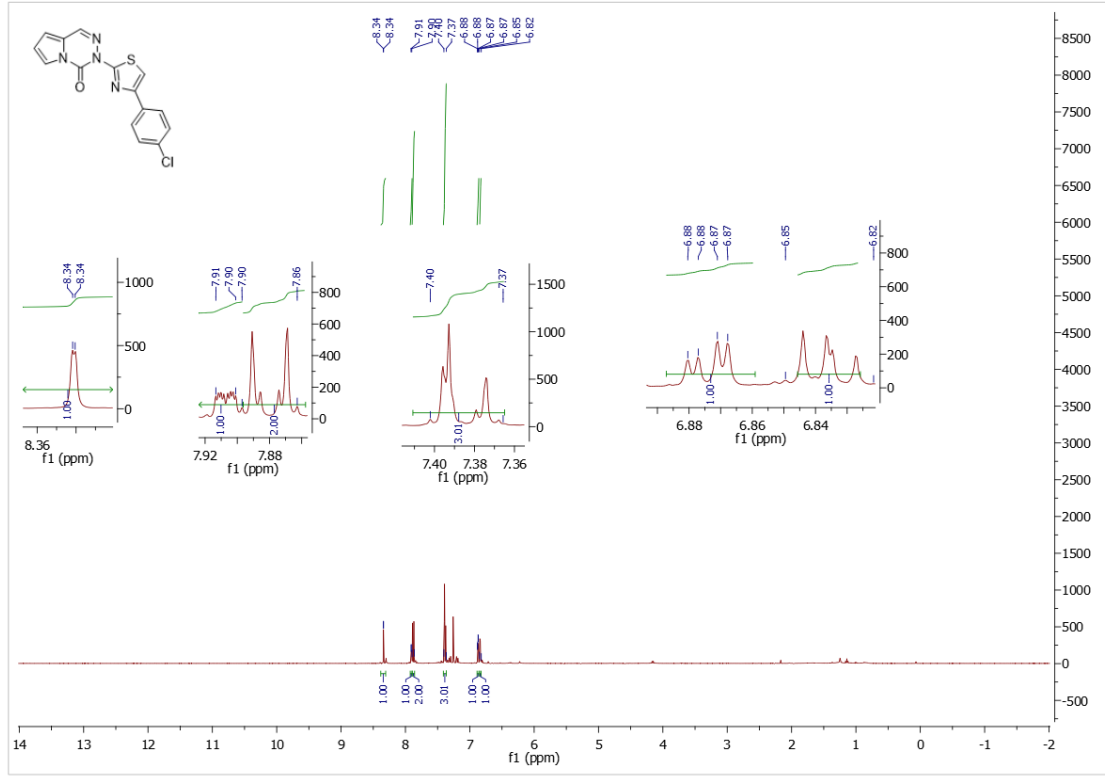
Şekil Ek34. EK-17 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



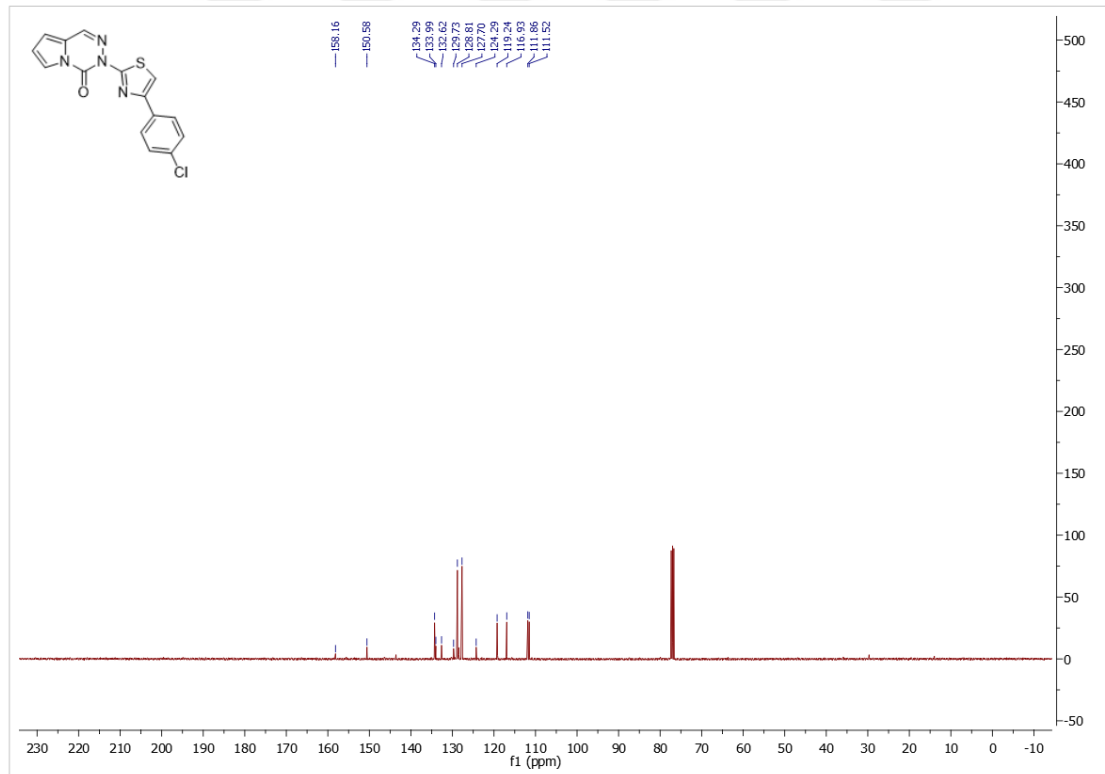
Şekil Ek35. EK-18 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



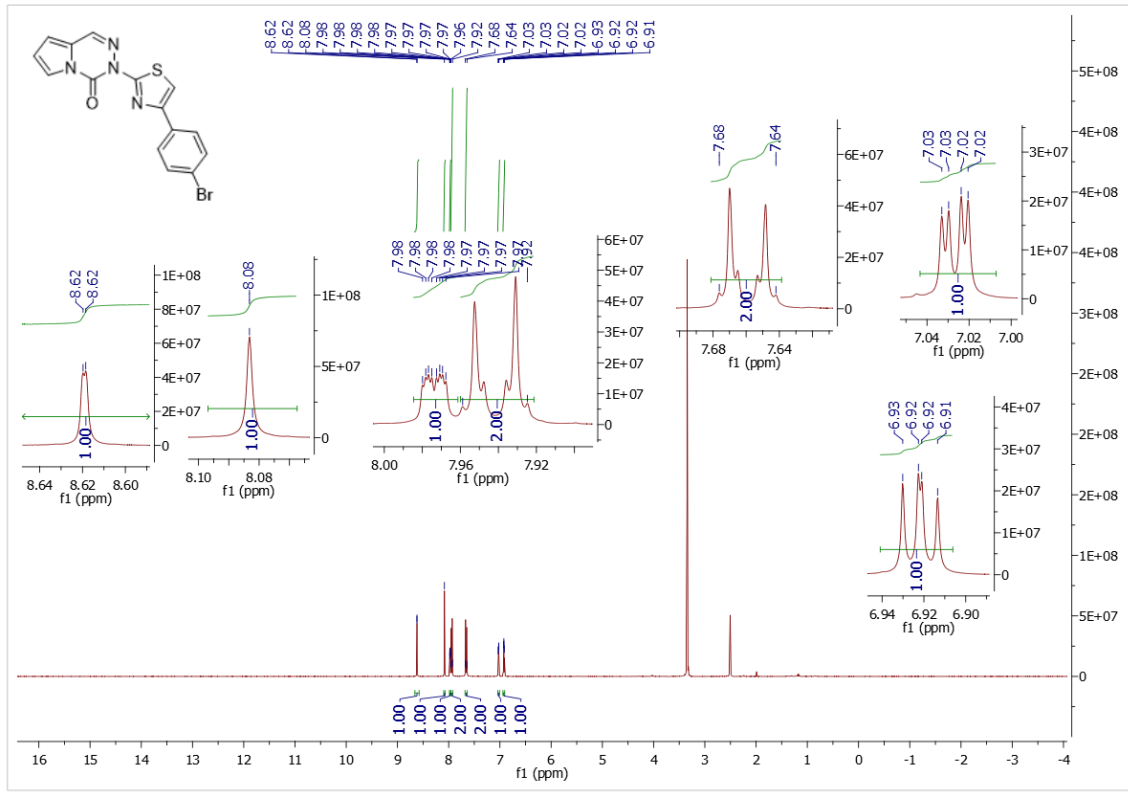
Şekil Ek36. EK-18 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



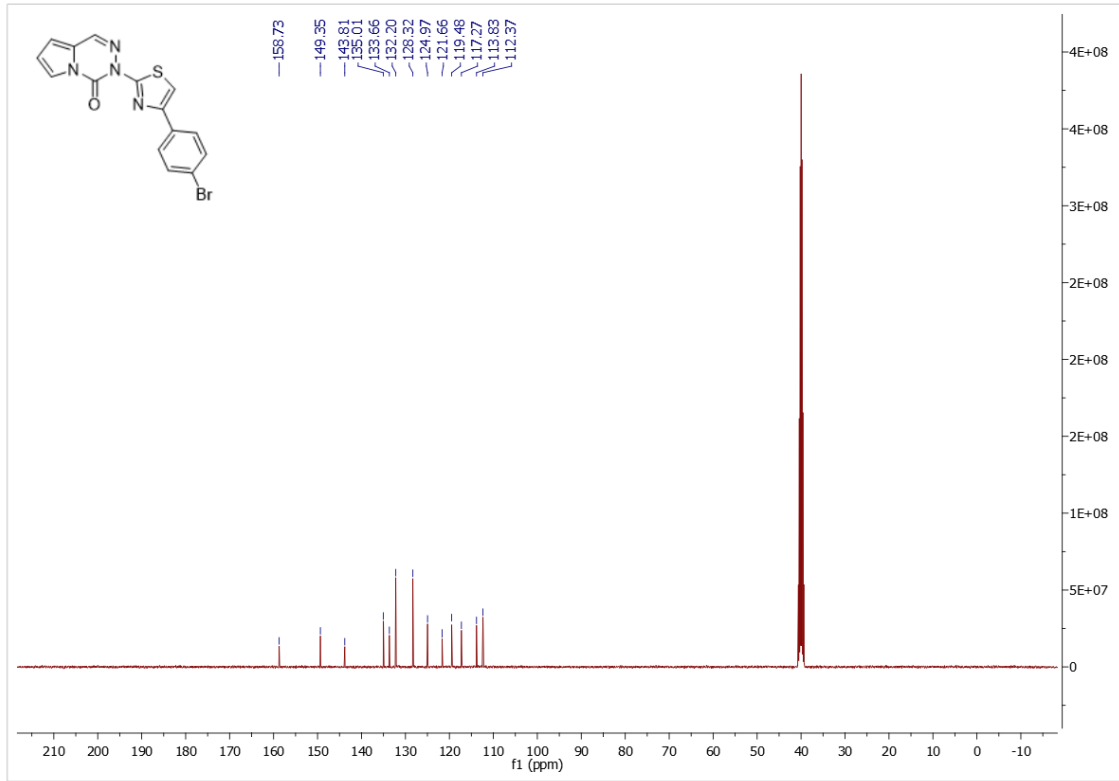
Şekil Ek37. EK-19 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



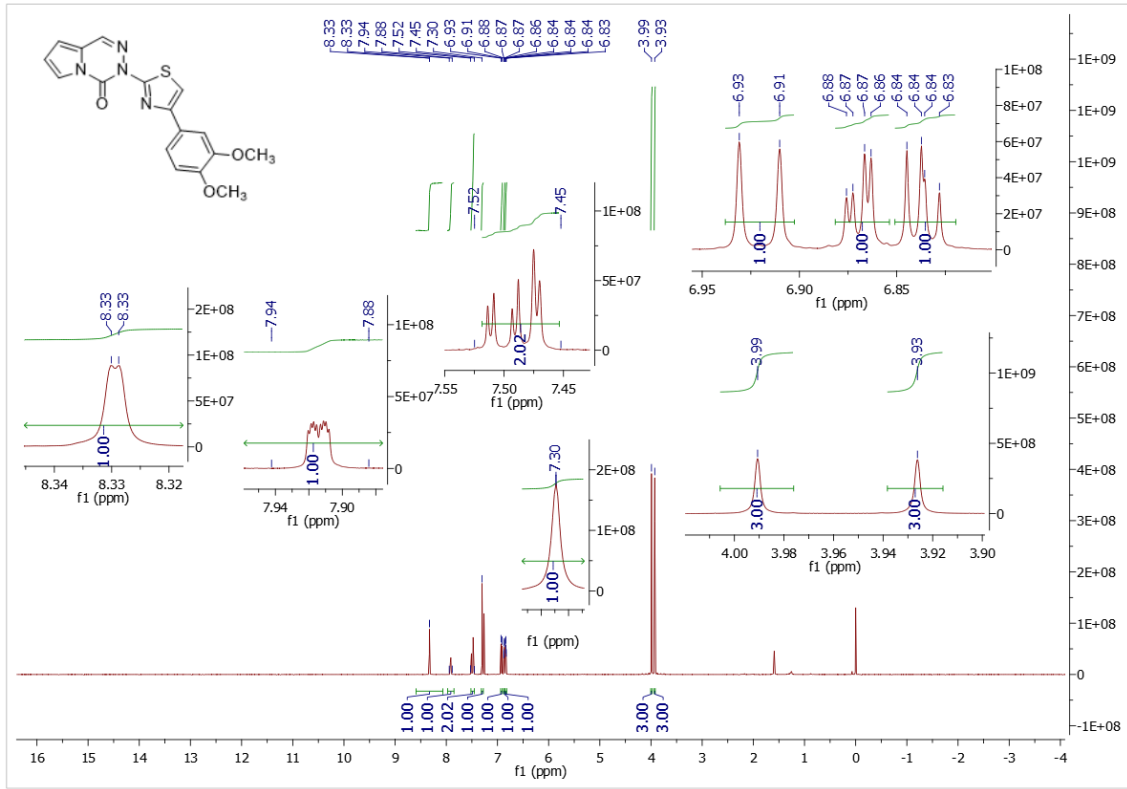
Şekil Ek38. EK-19 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



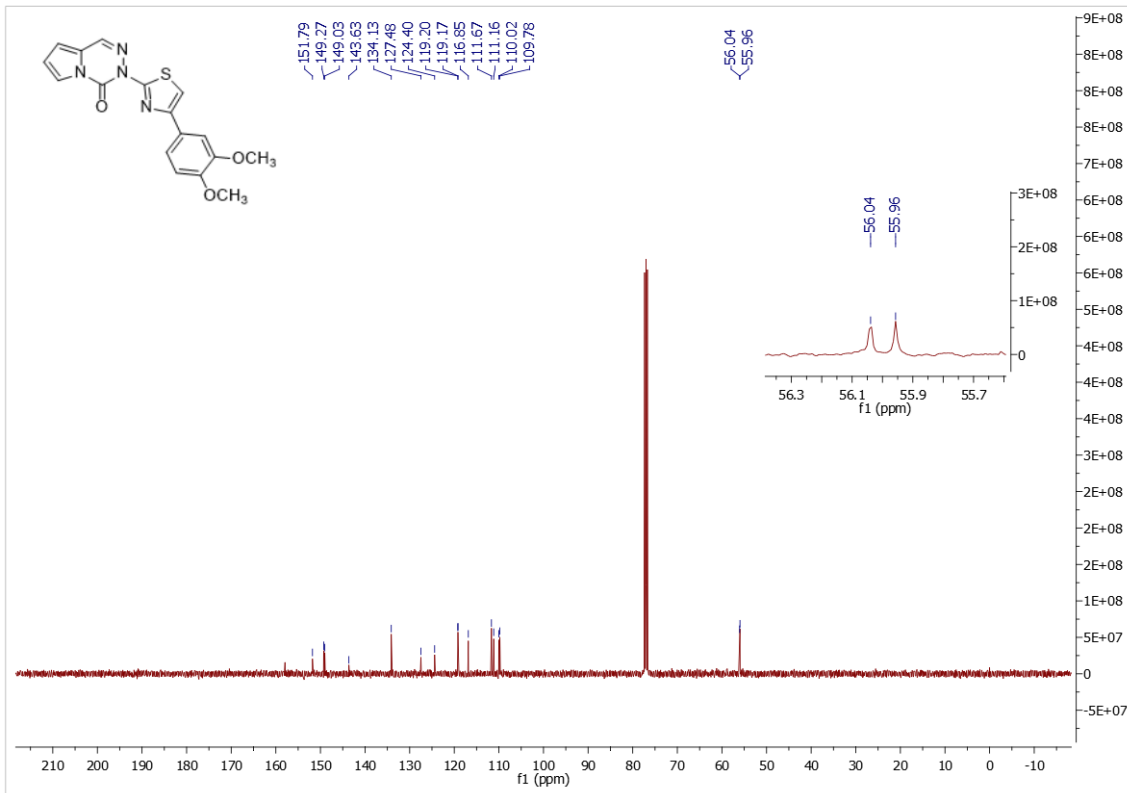
Şekil Ek39. EK-20 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



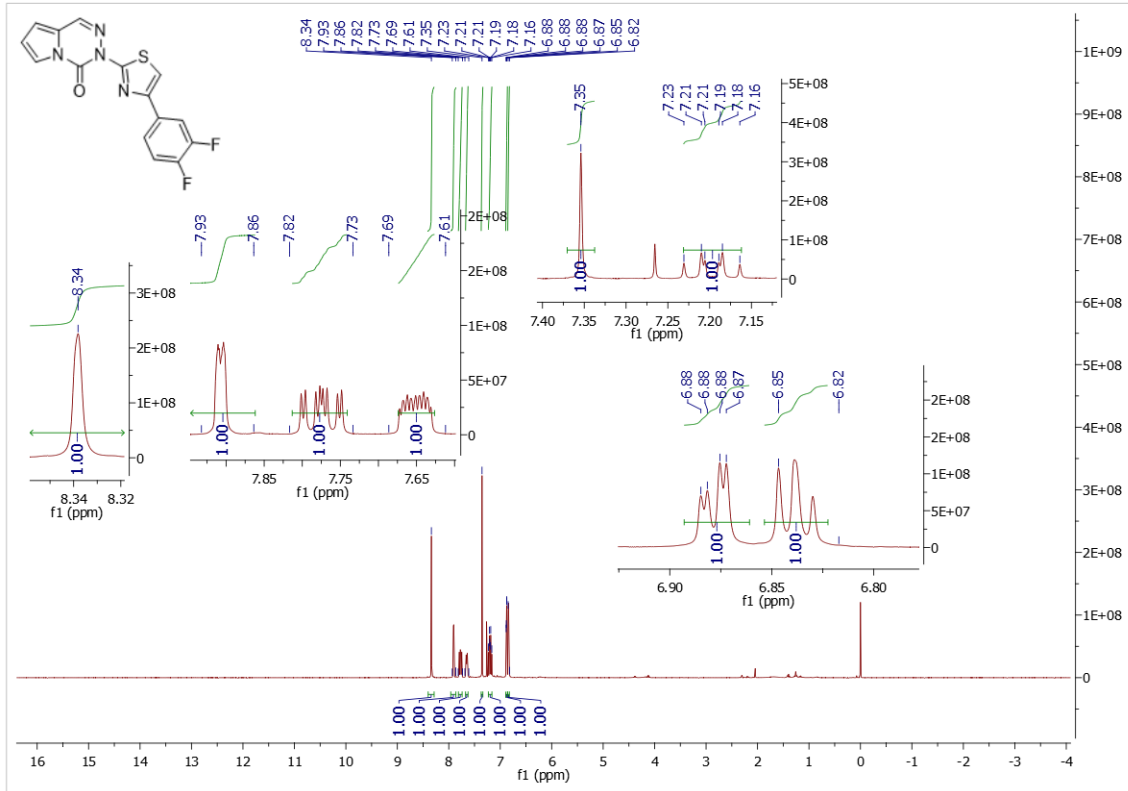
Şekil Ek40. EK-20 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



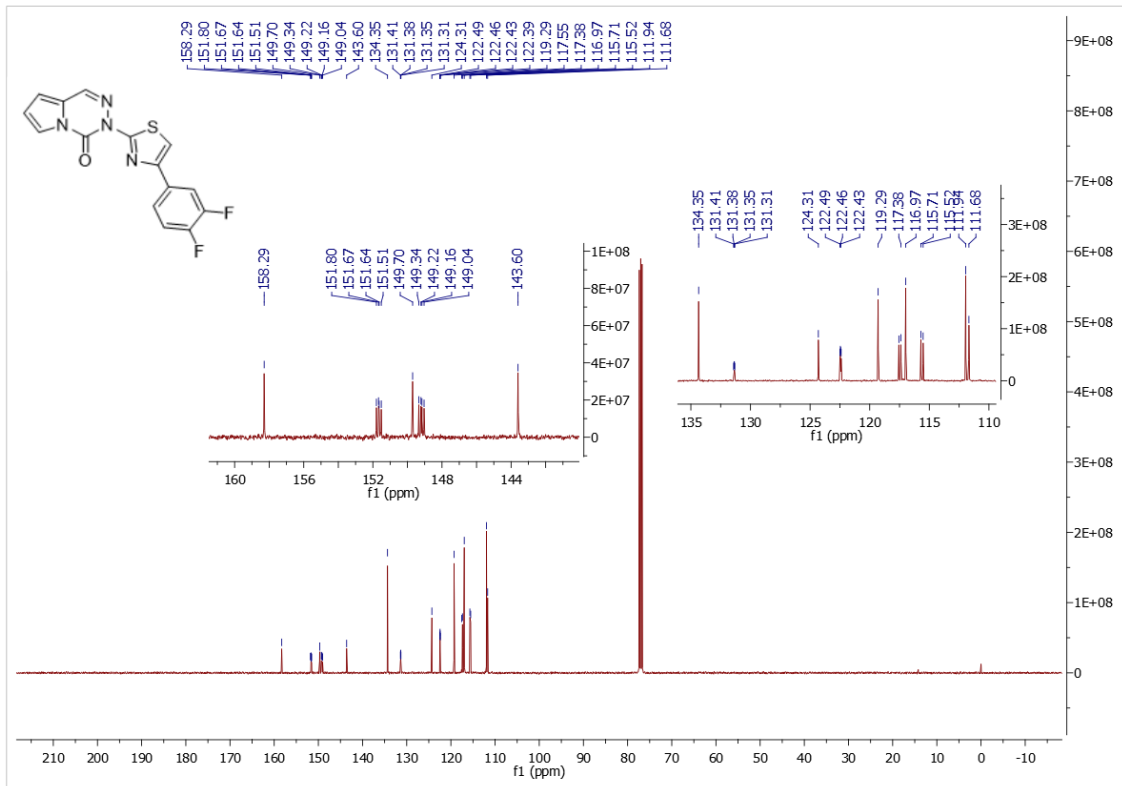
Şekil Ek41. EK-21 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



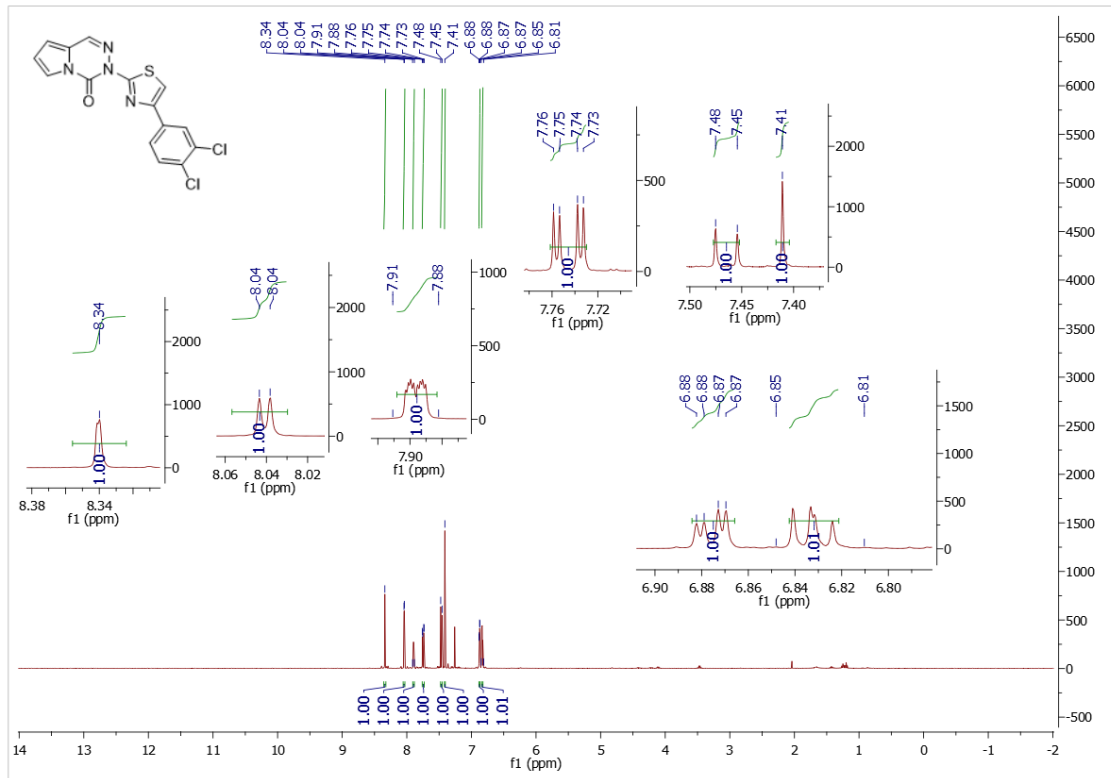
Şekil Ek42. EK-21 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



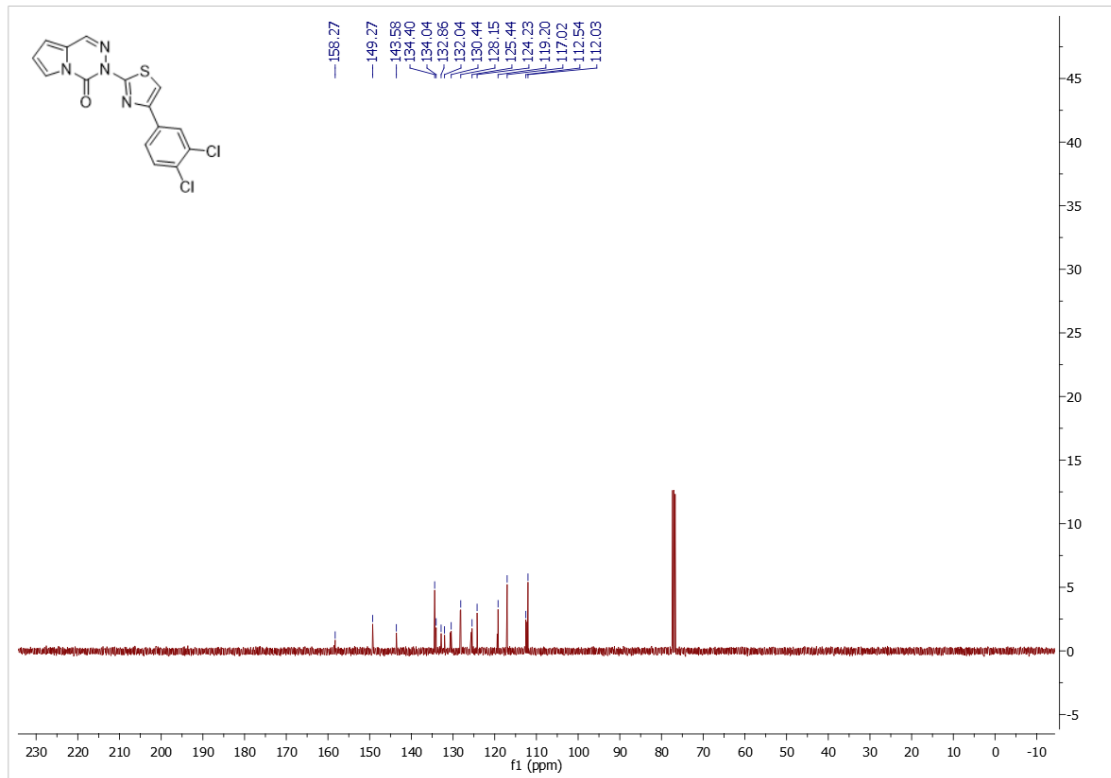
Şekil Ek43. EK-22 bileşiminin ¹H NMR spektrumu



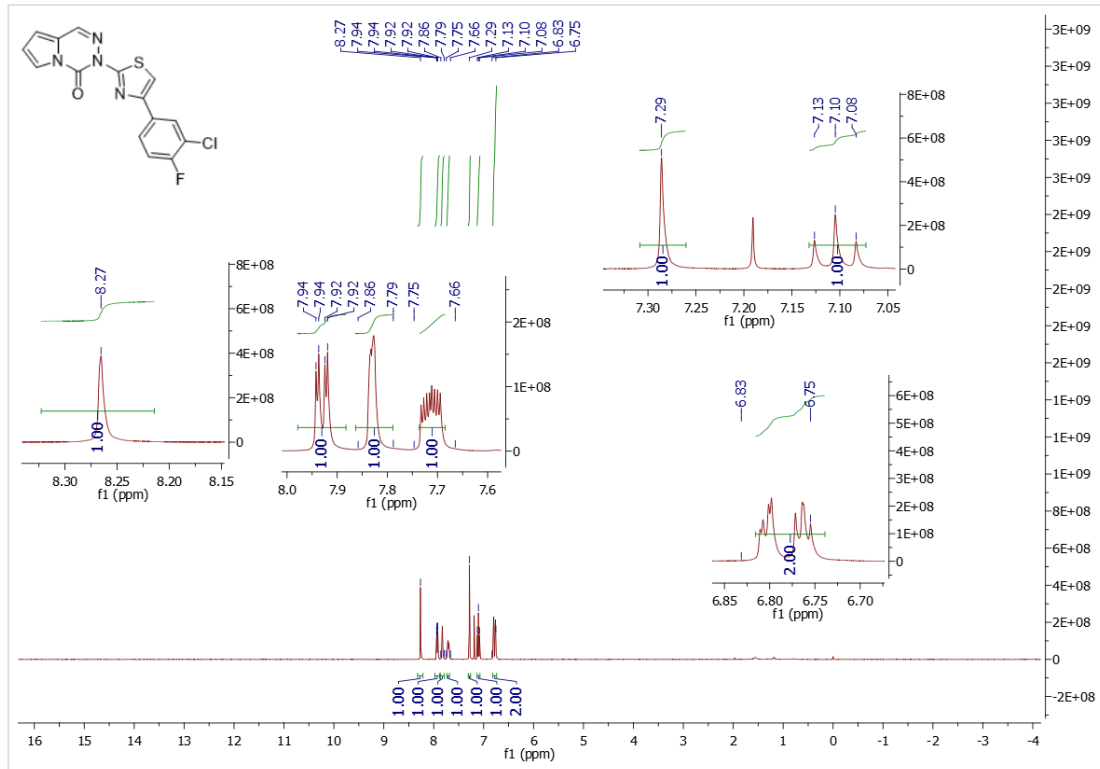
Şekil Ek44. EK-22 bileşiminin ¹³C NMR spektrumu



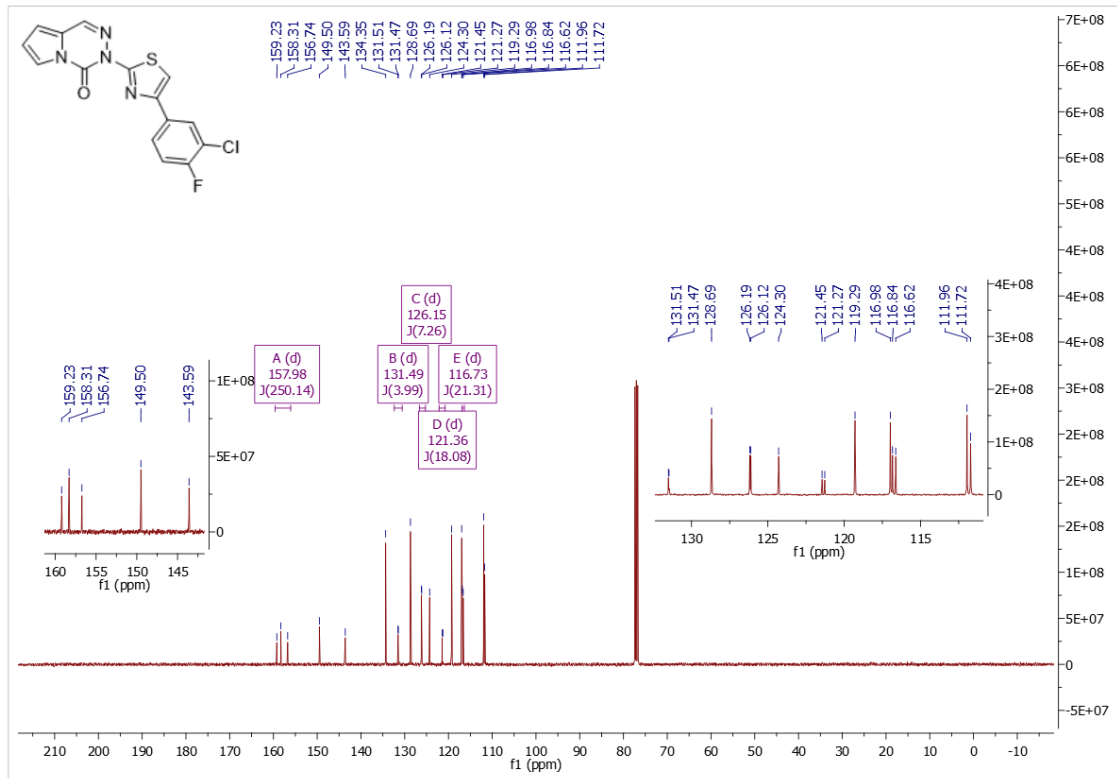
Şekil Ek45. EK-23 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



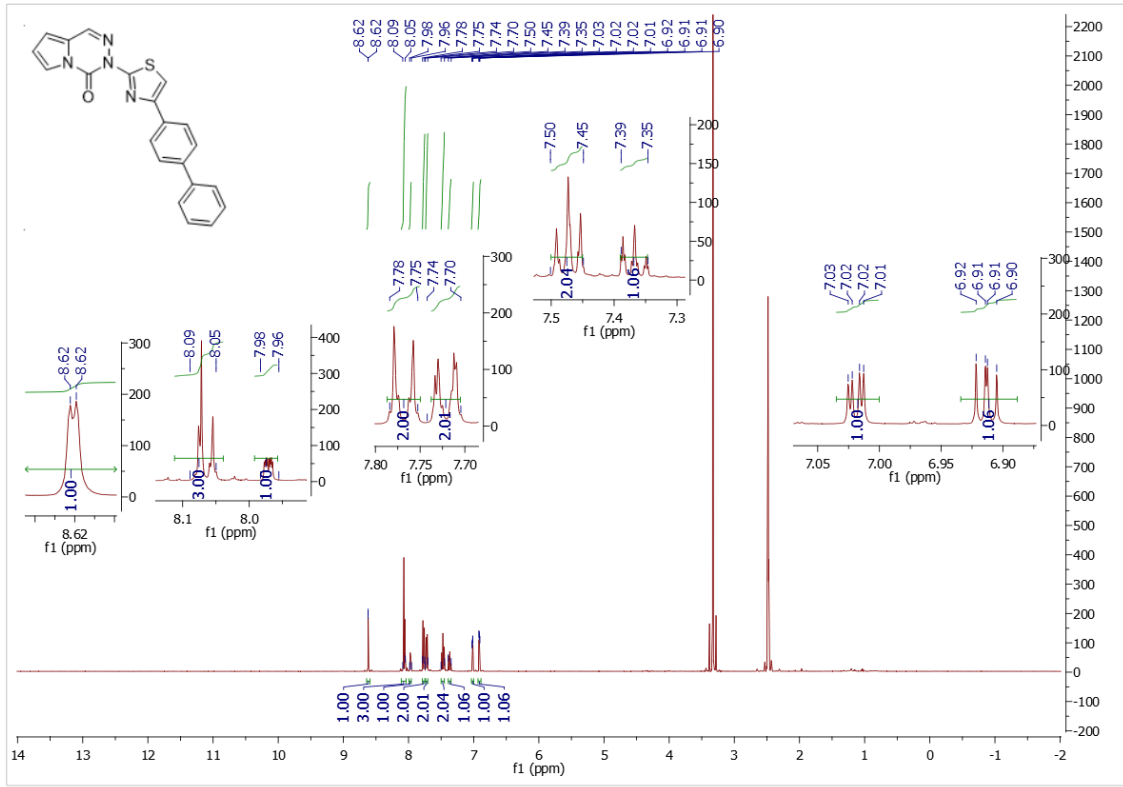
Şekil Ek46. EK-23 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



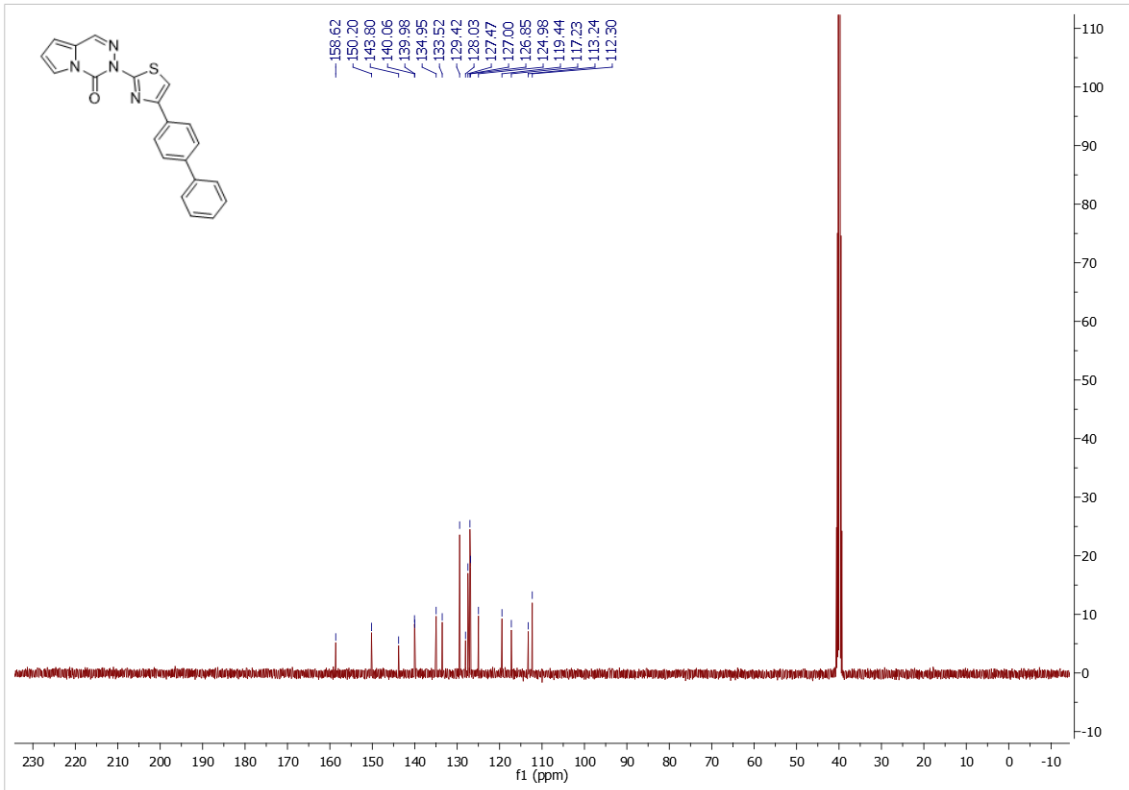
Şekil Ek47. EK-24 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



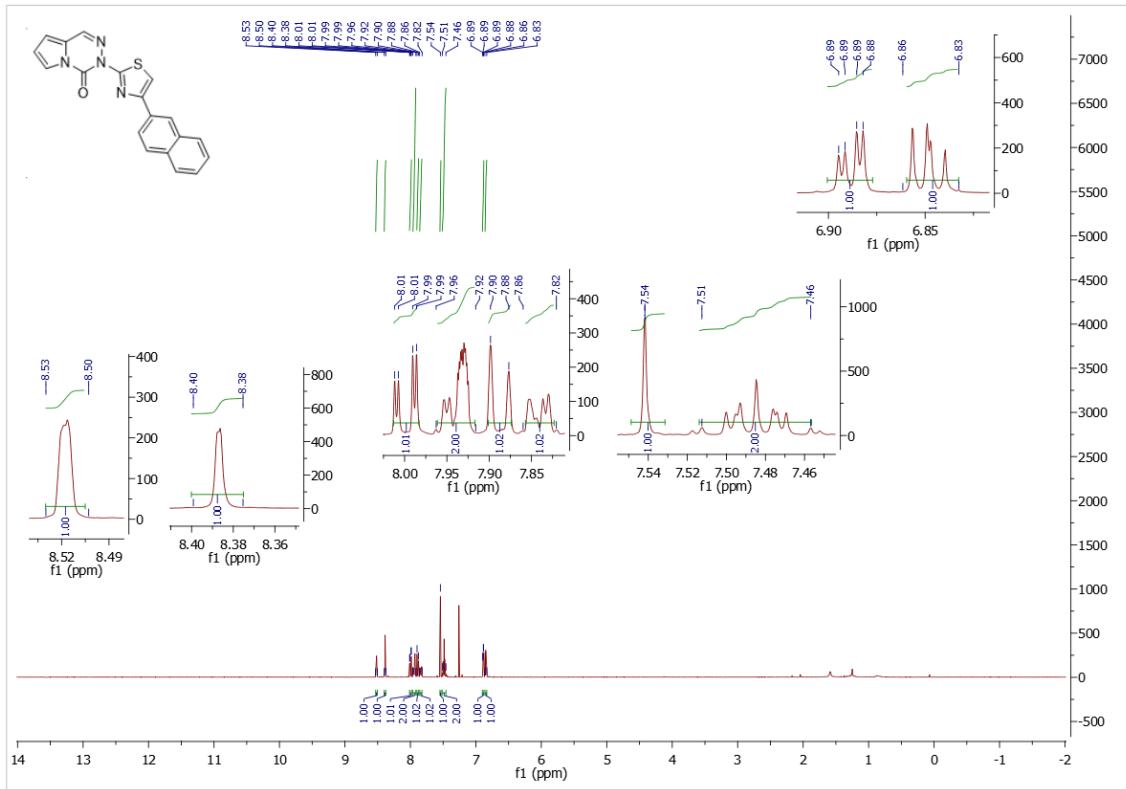
Şekil Ek48. EK-24 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



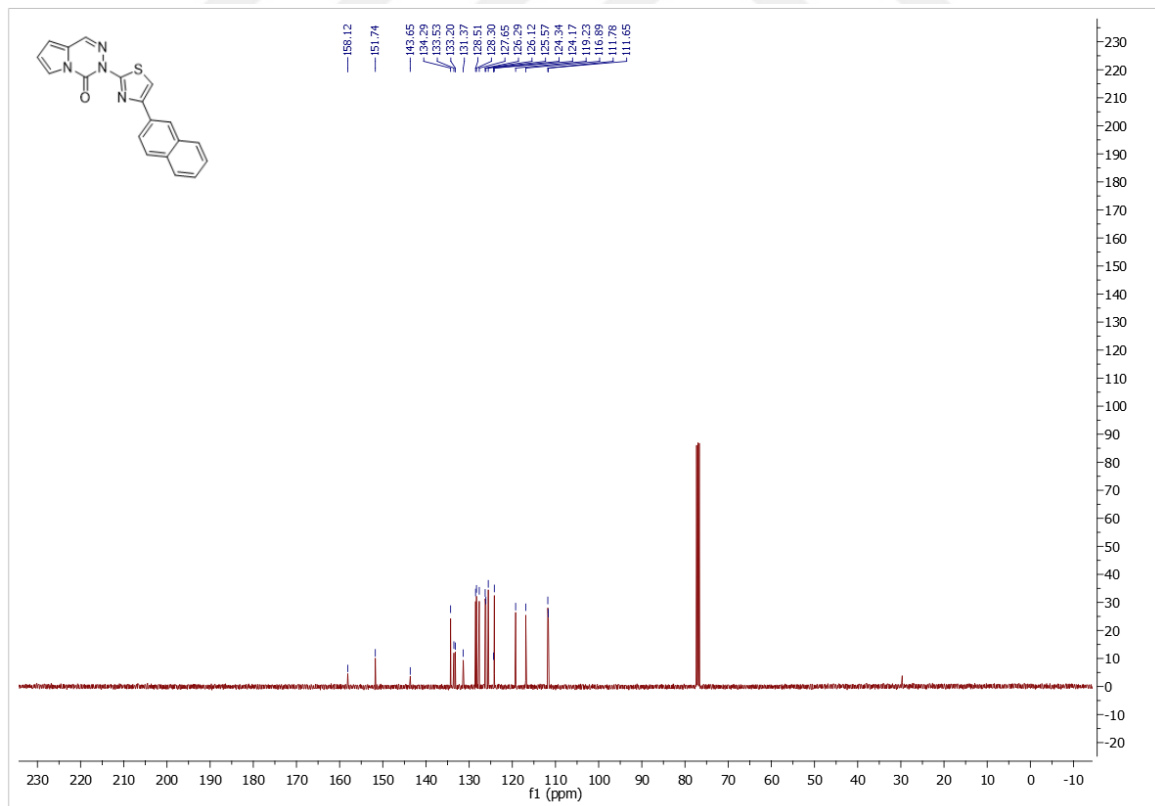
Şekil Ek51. EK-26 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



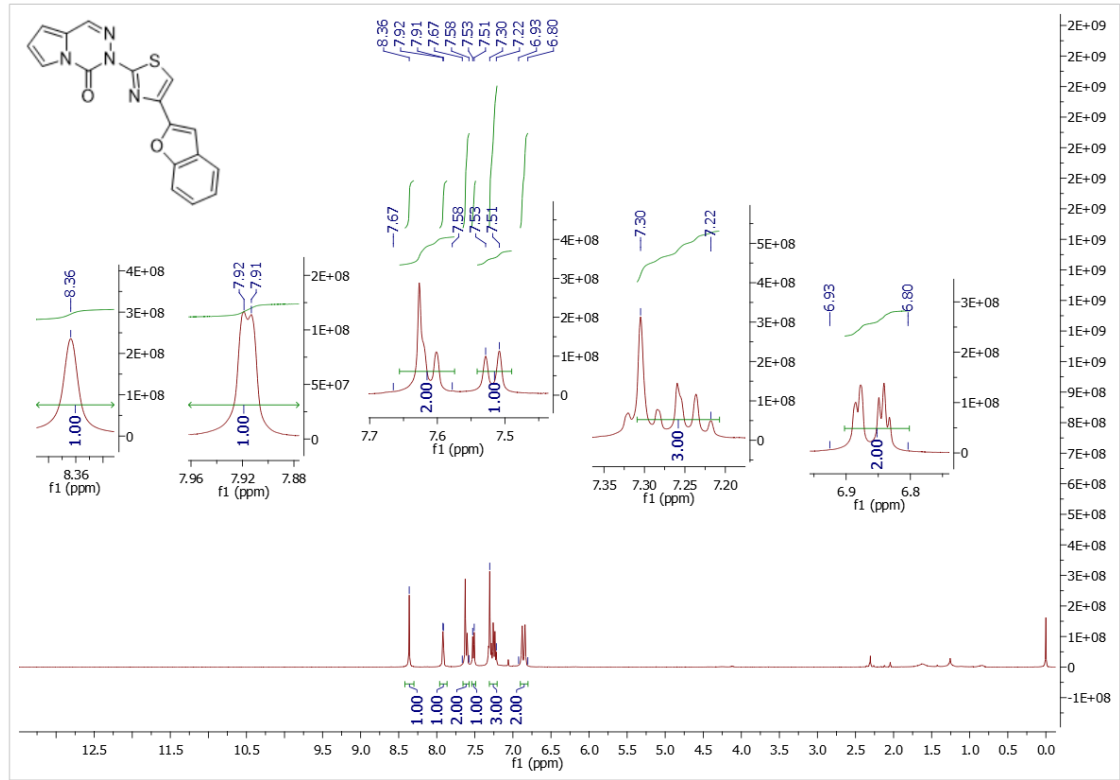
Şekil Ek52. EK-26 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



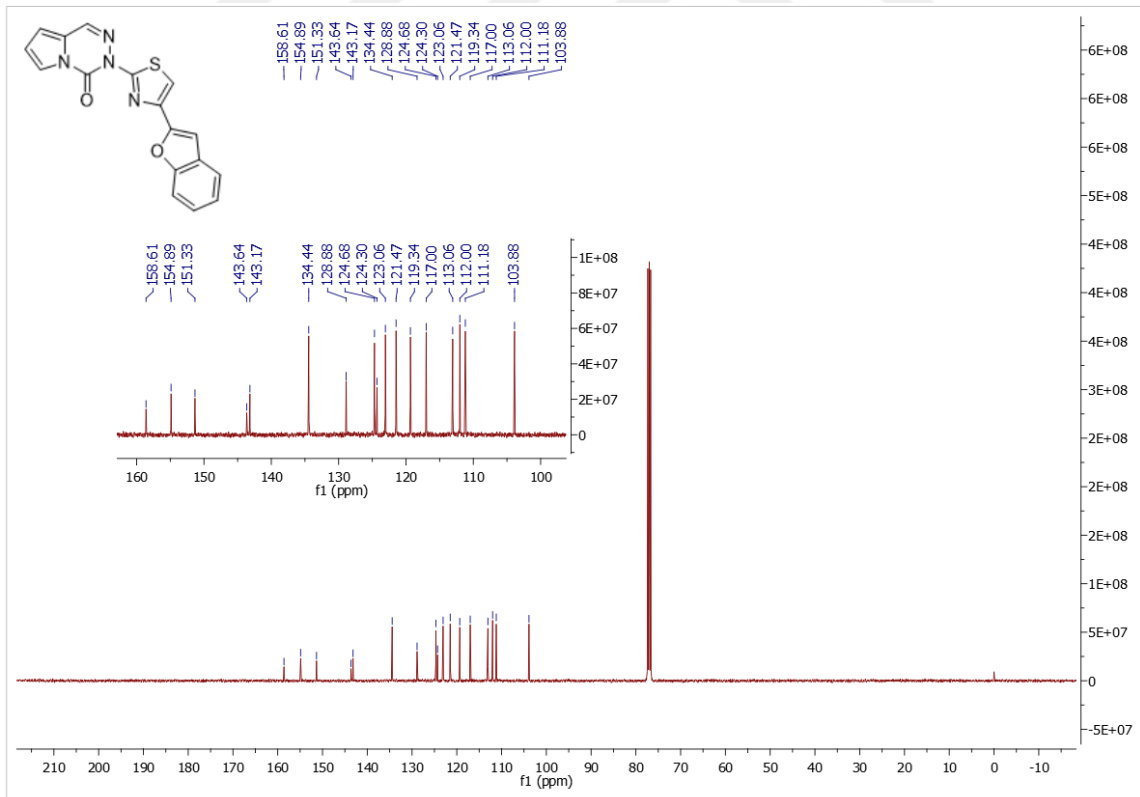
Şekil Ek53. EK-27 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



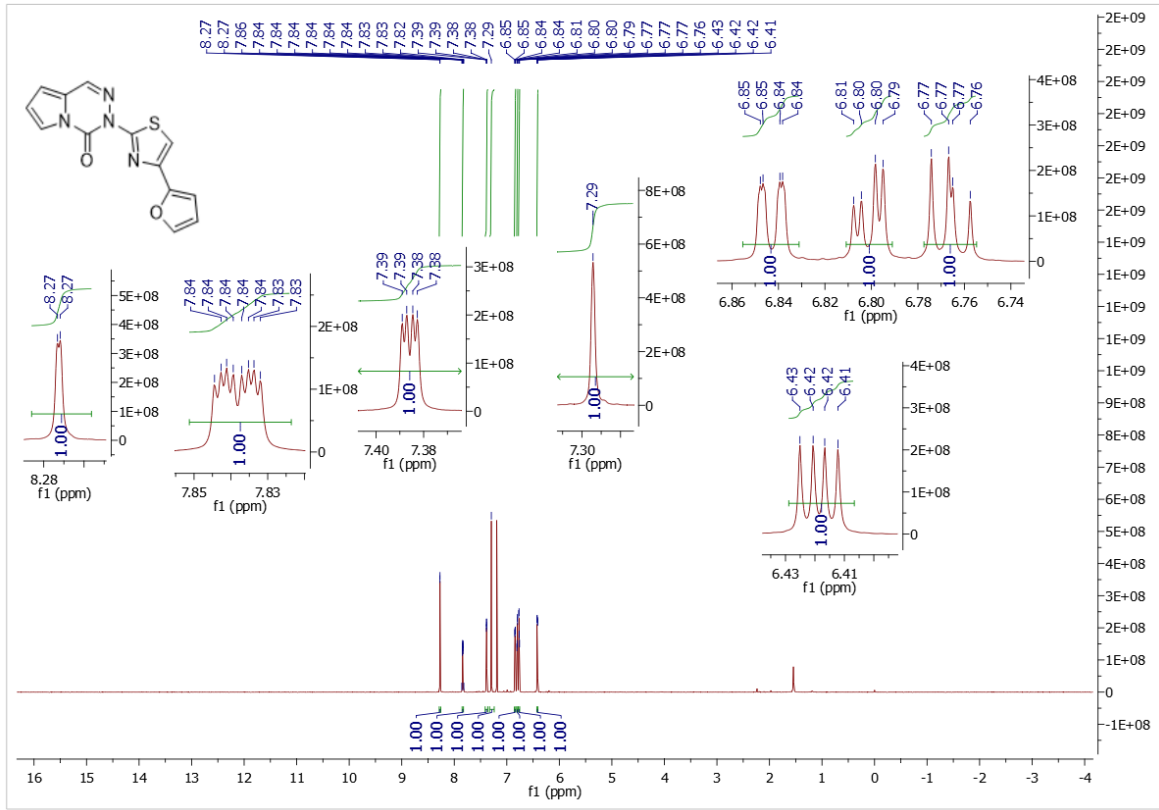
Şekil Ek54. EK-27 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



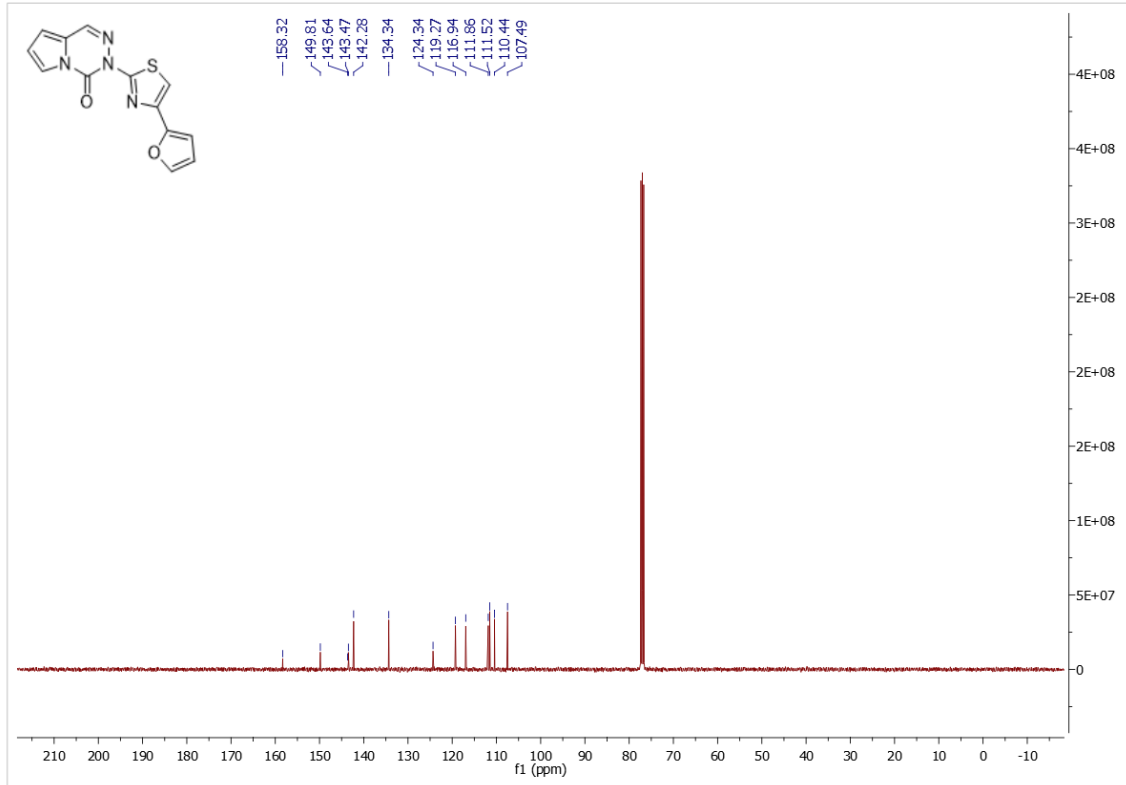
Şekil Ek55. EK-28 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu

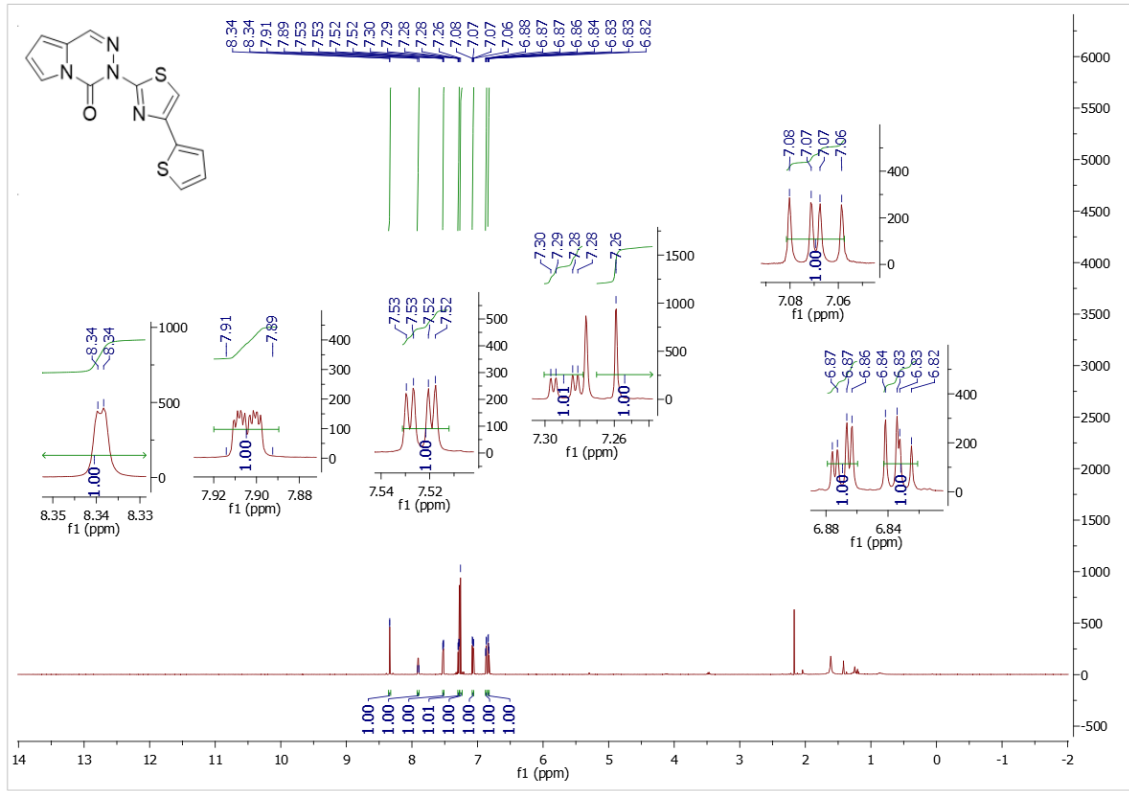


Şekil Ek56. EK-28 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu

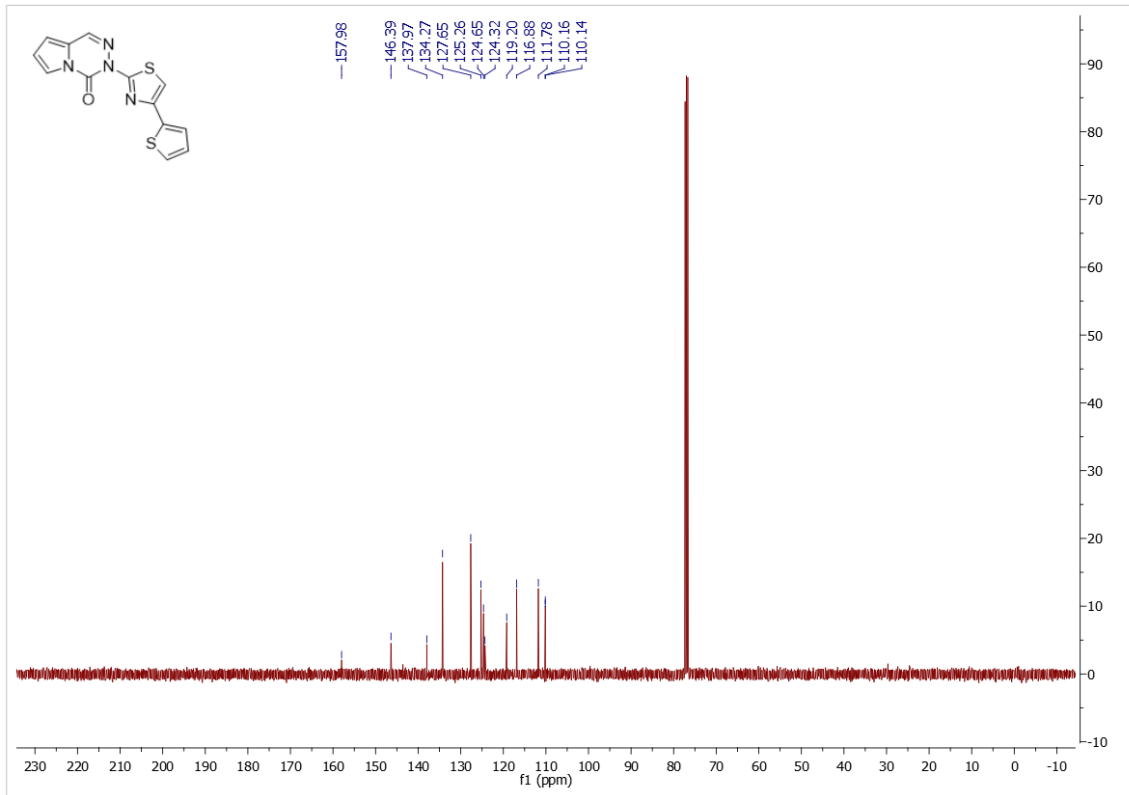


Şekil Ek57. EK-29 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu

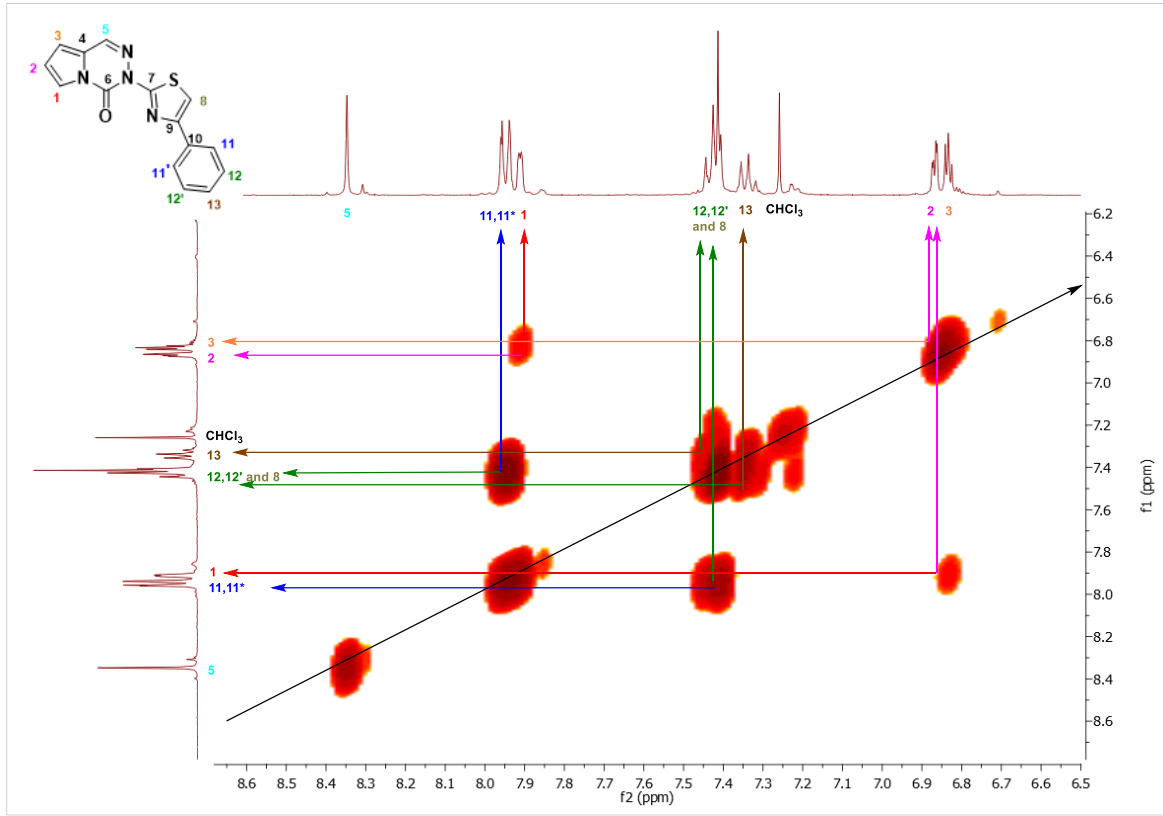




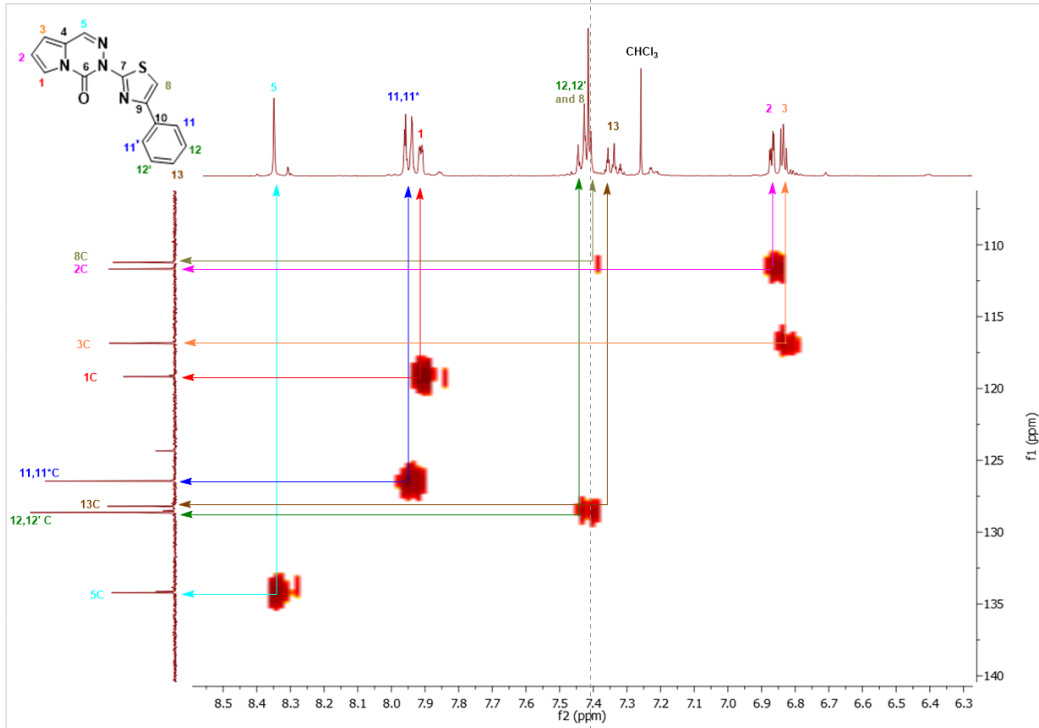
Şekil Ek59. EK-30 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



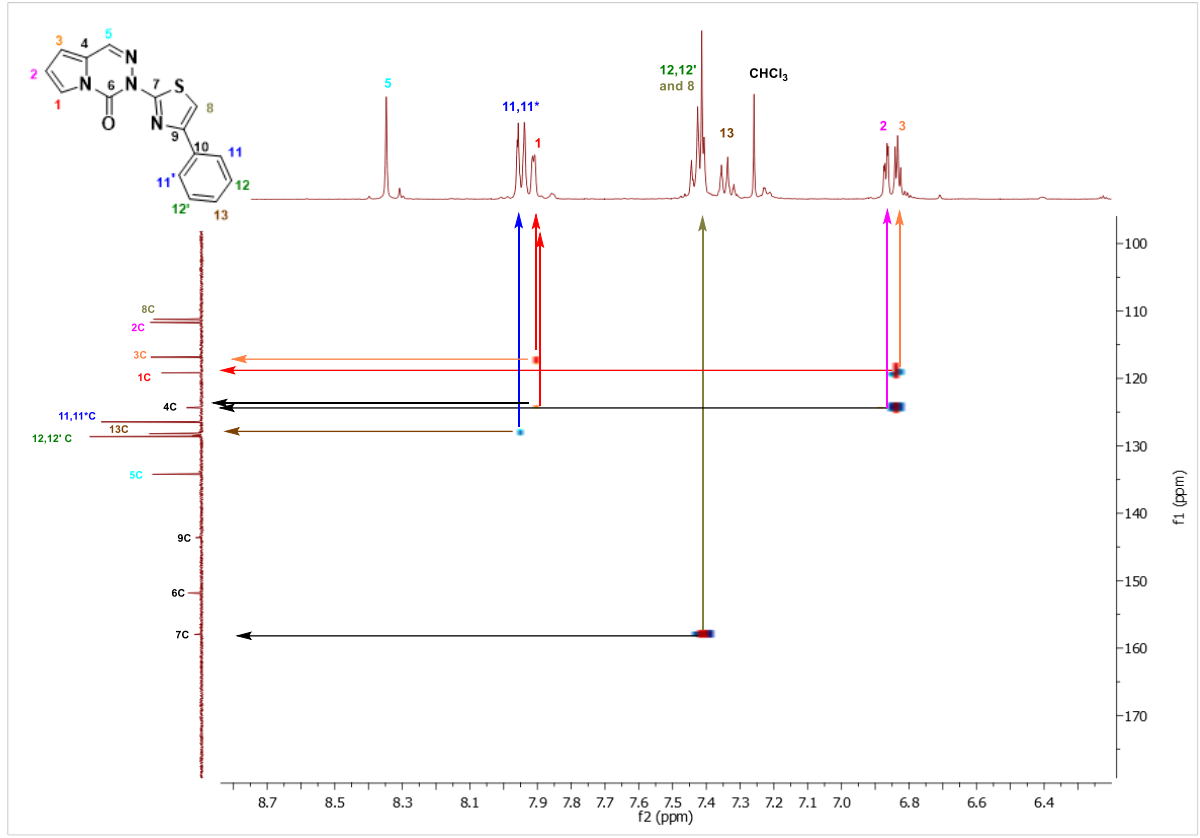
Şekil Ek60. EK-30 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



Şekil Ek61. EK-12 bileşiğinin COSY spektrumu



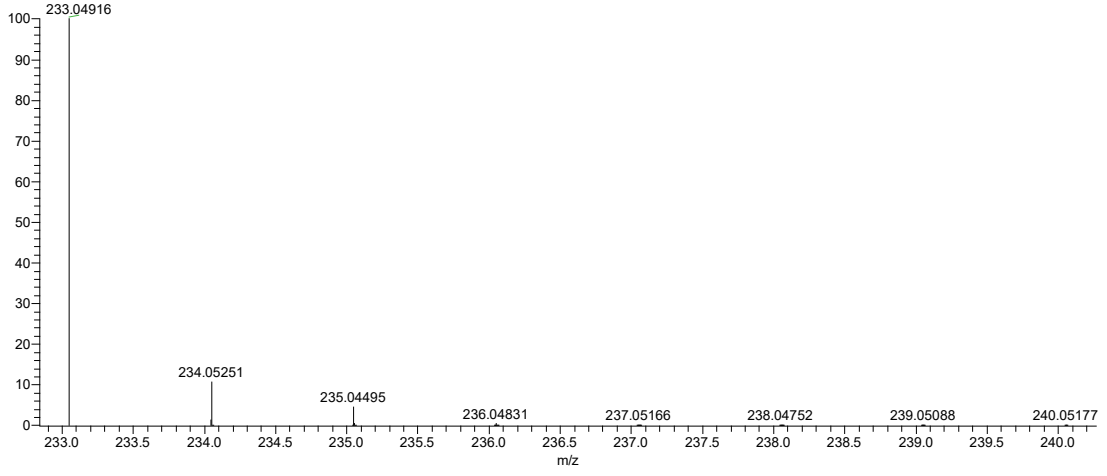
Şekil Ek62. EK-12 bileşiğinin HSQC spektrumu



Şekil Ek63. EK-12 bileşiğinin HMBC spektrumu

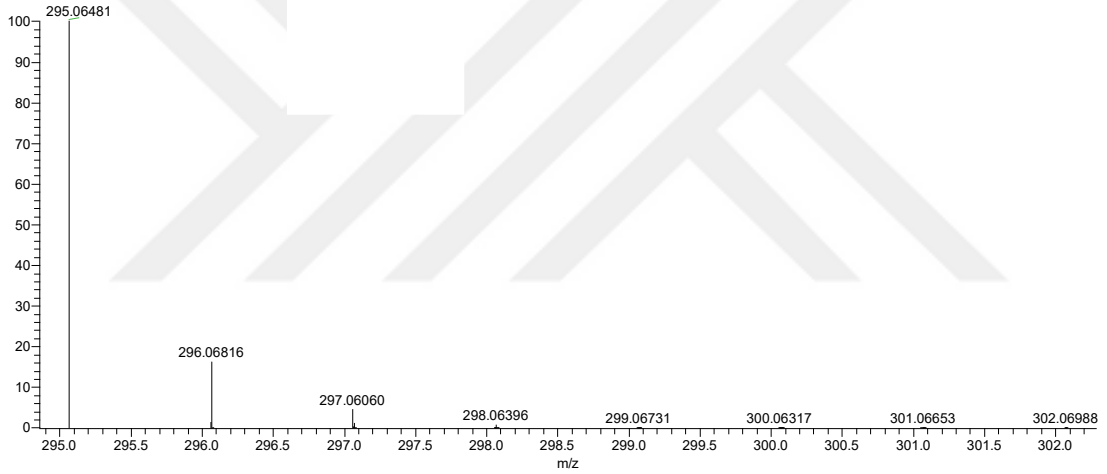
Ek 2. Bileşiklerin LC-MS/MS (Kütle) Spektrumları

C₁₀H₈N₄O₅ +H: C₁₀ H₉ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



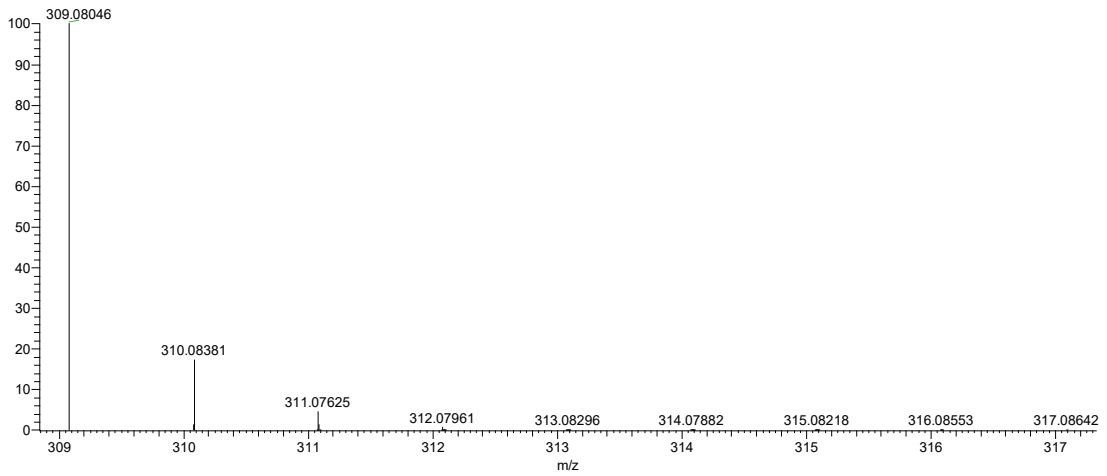
Şekil Ek64. EK-11 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₅H₁₀N₄O₅ +H: C₁₅ H₁₁ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



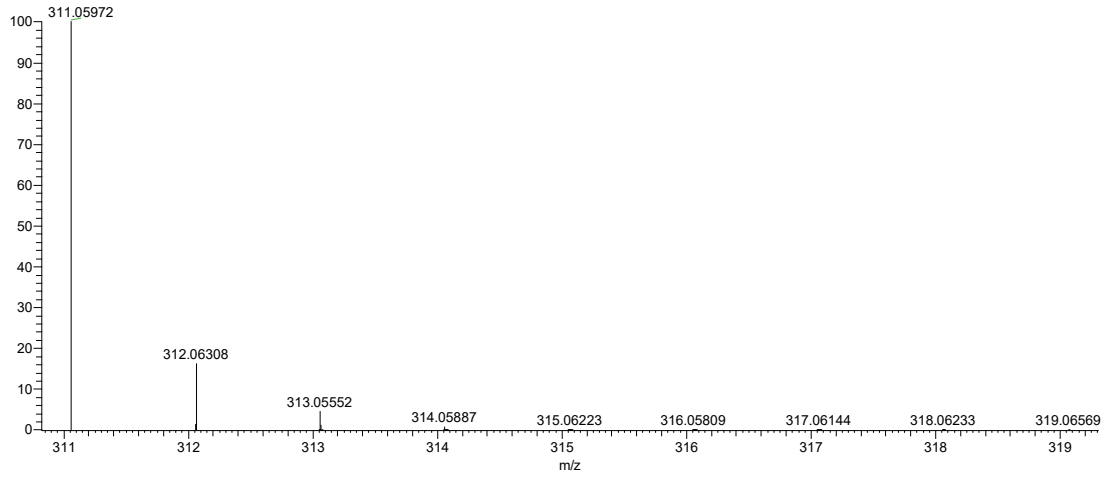
Şekil Ek65. EK-12 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₆H₁₂N₄O₅ +H: C₁₆ H₁₃ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



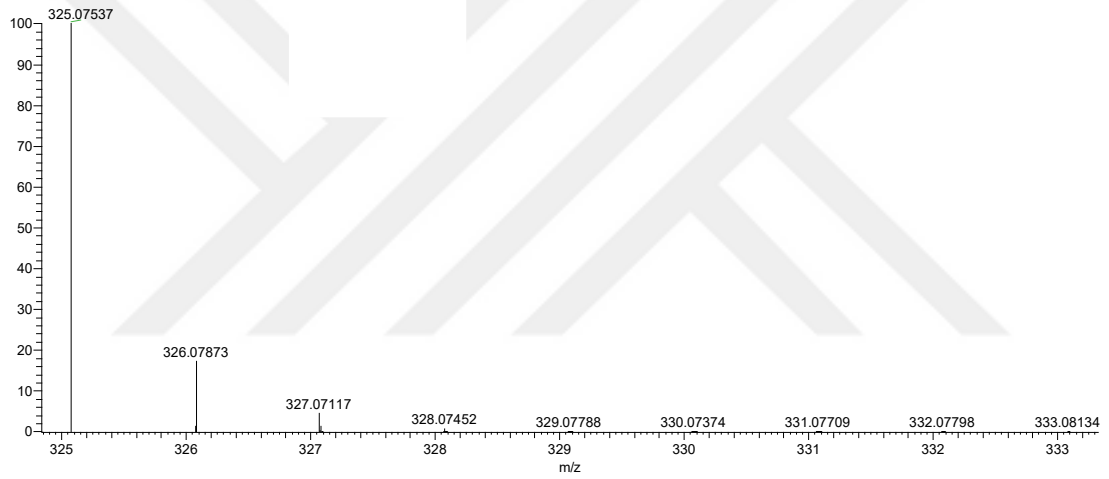
Şekil Ek66. EK-13 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₅H₁₀N₄O₂S +H: C₁₅H₁₁N₄O₂S₁ pa Chrg 1



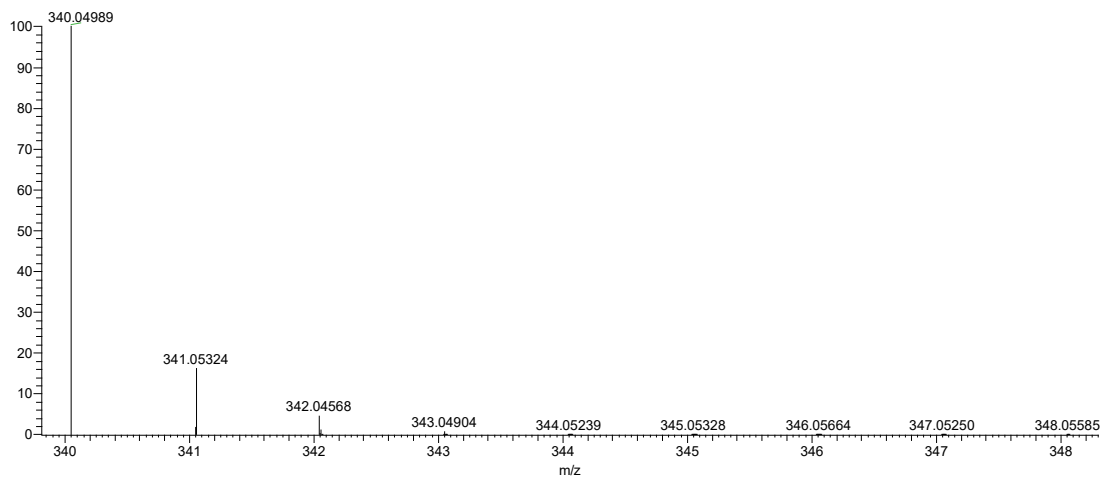
Şekil Ek67. EK-14 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₆H₁₂N₄O₂S +H: C₁₆H₁₃N₄O₂S₁ pa Chrg 1



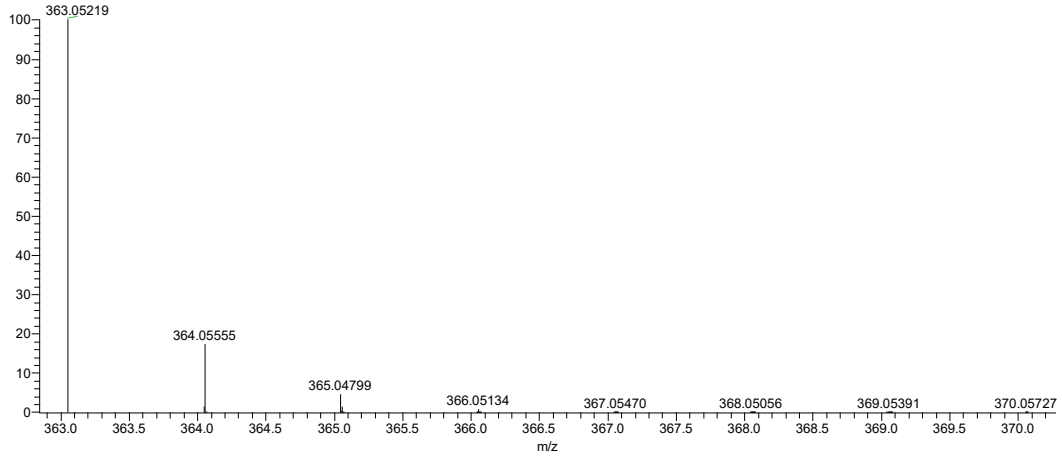
Şekil Ek68. EK-15 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₅H₉N₅O₃S +H: C₁₅H₁₀N₅O₃S₁ pa Chrg 1



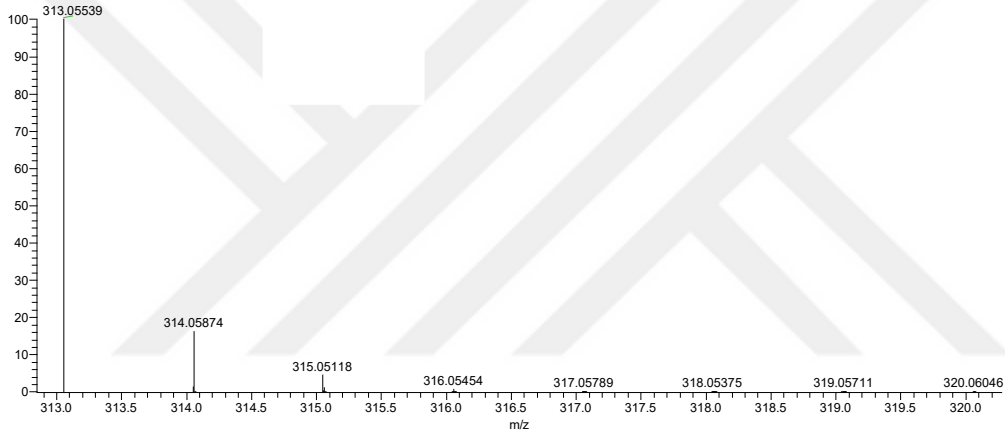
Şekil Ek69. EK-16 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₆H₉F₃N₄O₅ +H: C₁₆ H₁₀ F₃ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



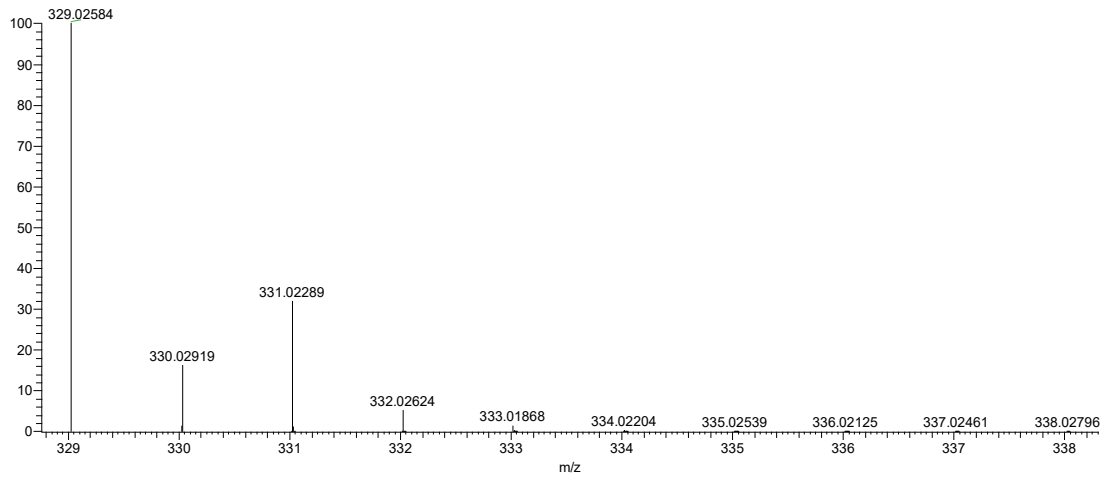
Şekil Ek70. EK-17 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₅H₉FN₄O₅ +H: C₁₅ H₁₀ F₁ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



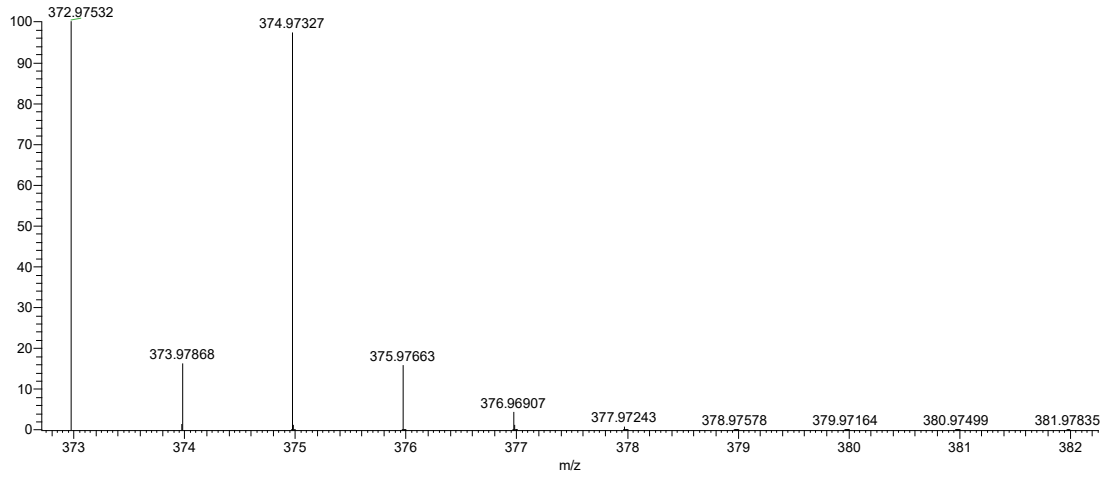
Şekil Ek71. EK-18 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₅H₉ClN₄O₅ +H: C₁₅ H₁₀ Cl₁ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



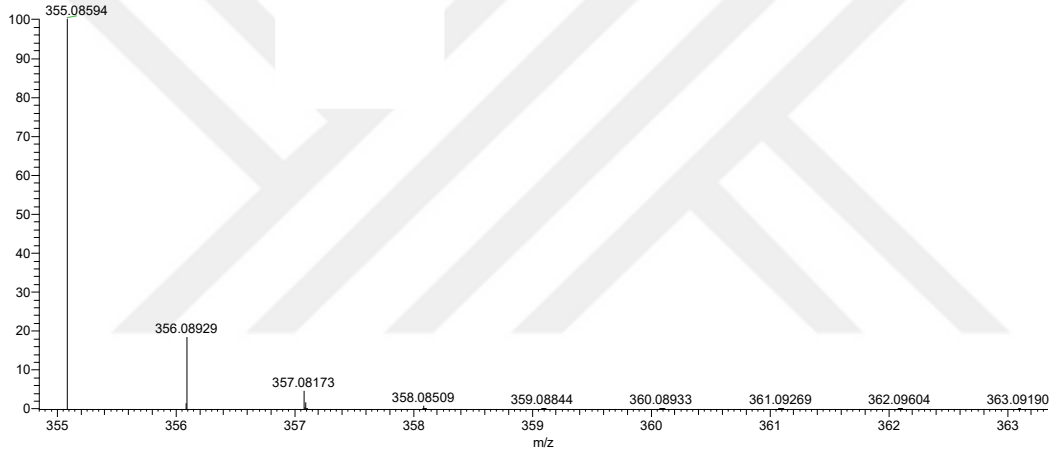
Şekil Ek72. EK-19 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₅H₉BrN₄O₅ +H: C₁₅ H₁₀ Br₁ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



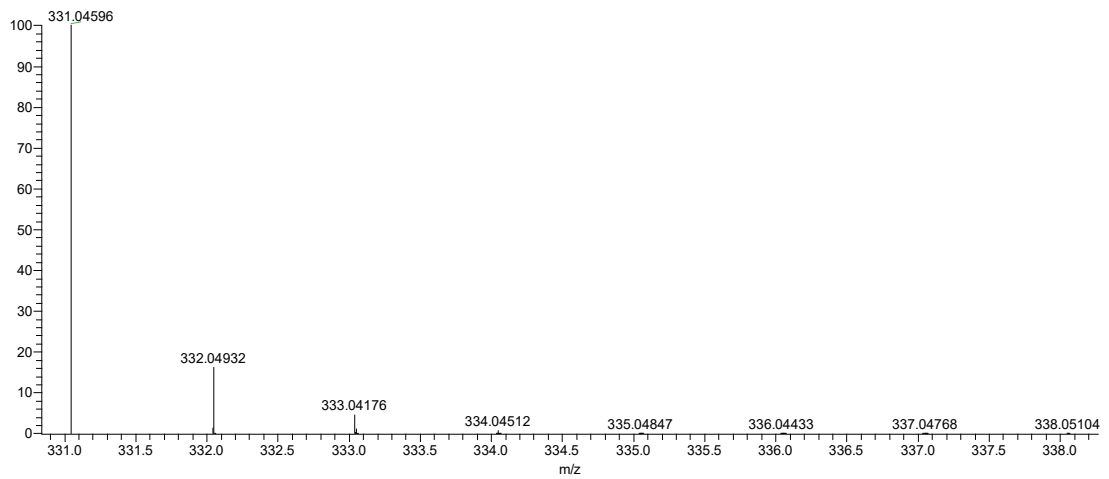
Şekil Ek73. EK-20 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₇H₁₄N₄O₃S +H: C₁₇ H₁₅ N₄ O₃ S₁ pa Chrg 1



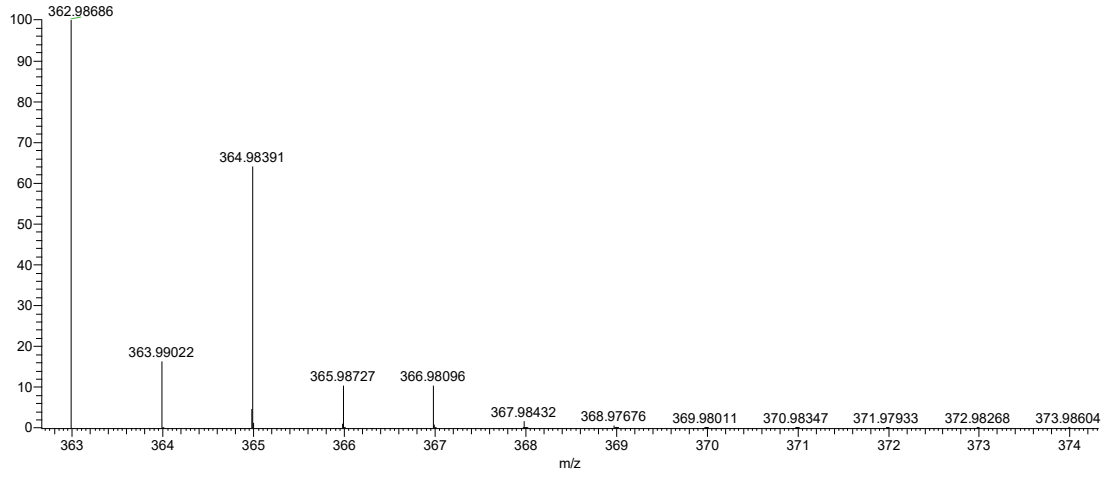
Şekil Ek74. EK-21 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₅H₈F₂N₄O₅ +H: C₁₅ H₉ F₂ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



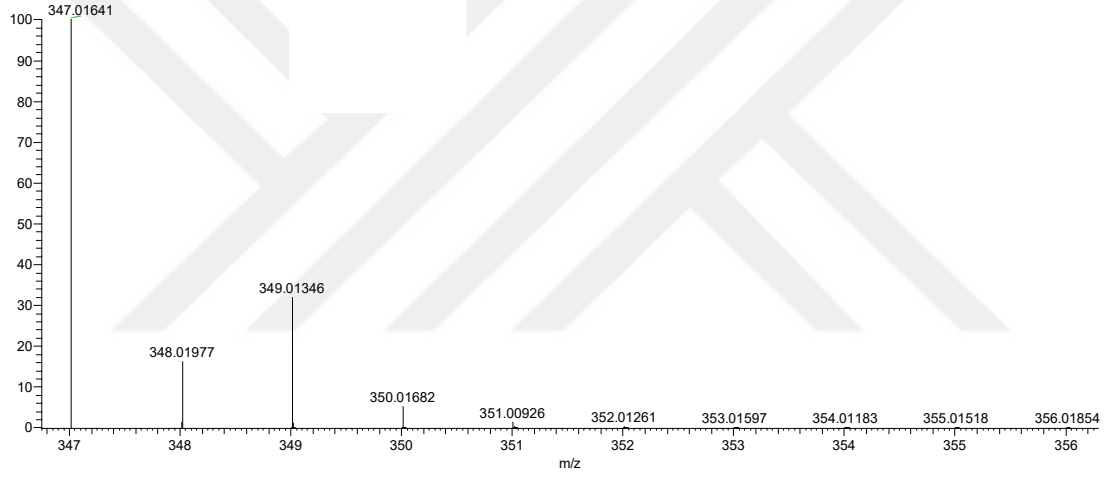
Şekil Ek75. EK-22 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₅H₈Cl₂N₄O₅ +H: C₁₅ H₉ Cl₂ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



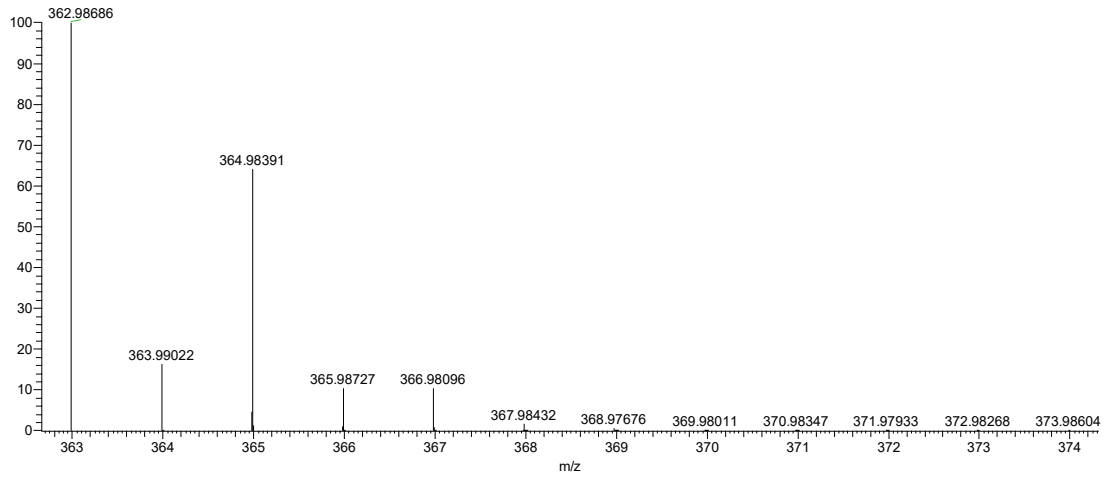
Şekil Ek76. EK-23 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₅H₈ClF₂N₄O₅ +H: C₁₅ H₉ Cl₁ F₁ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



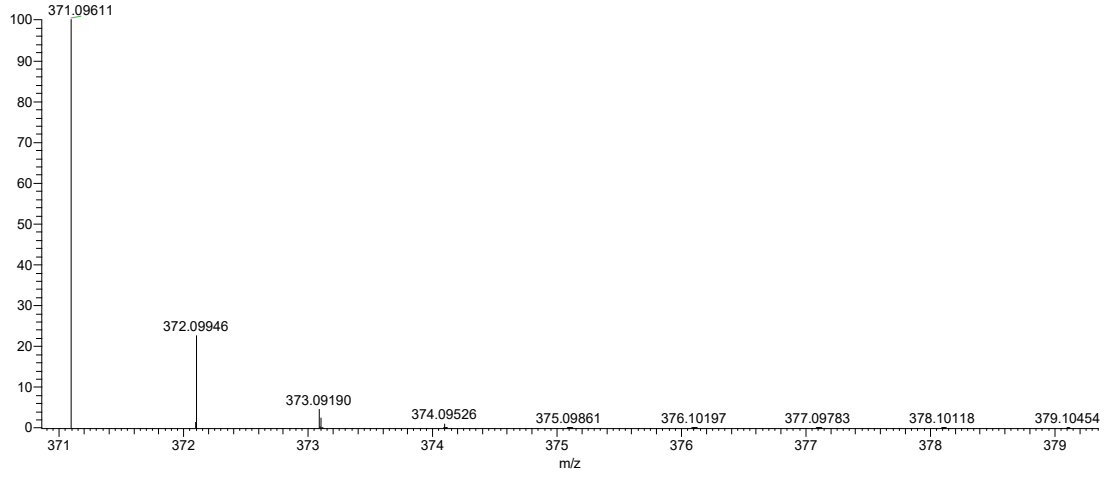
Şekil Ek77. EK-24 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₅H₈Cl₂N₄O₅ +H: C₁₅ H₉ Cl₂ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



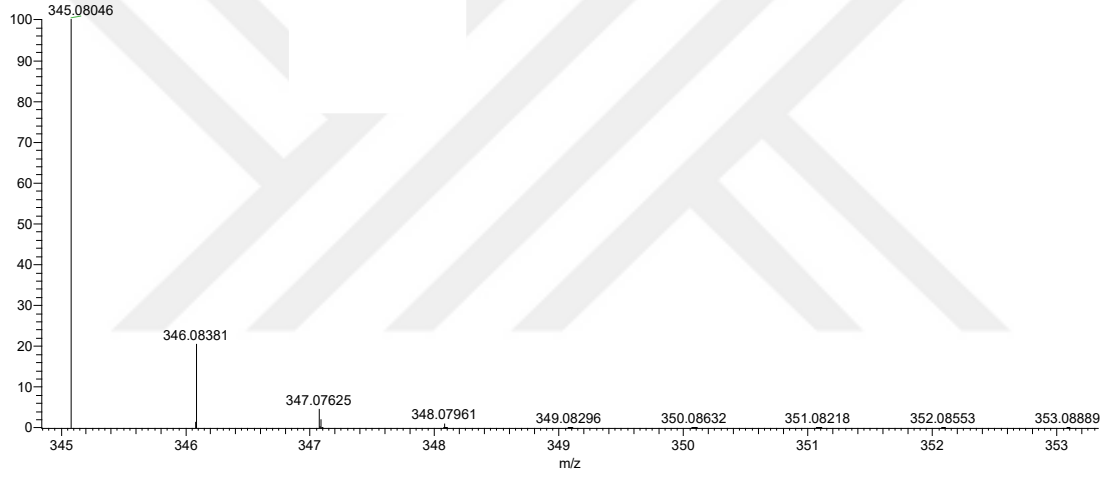
Şekil Ek78. EK-25 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₂₁H₁₄N₄O₅ +H: C₂₁ H₁₅ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



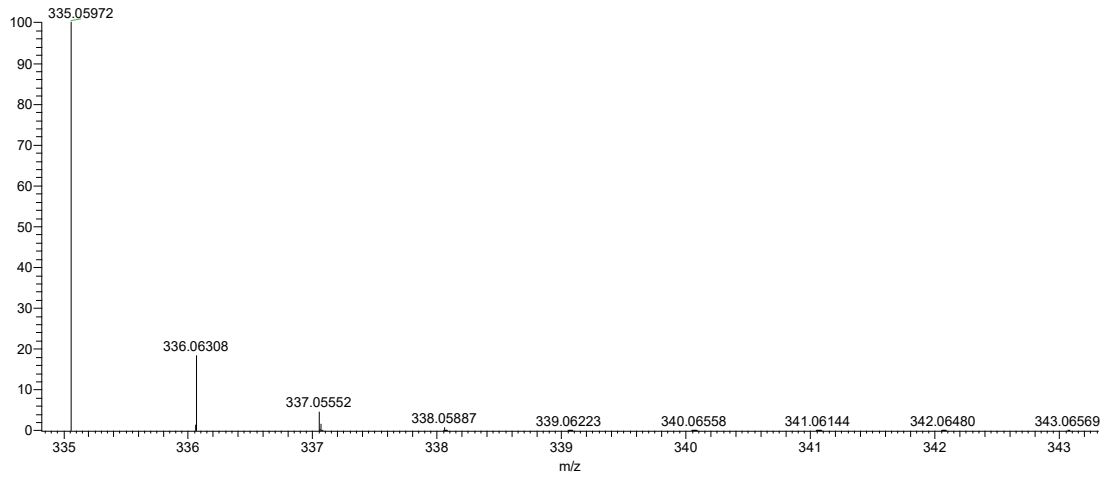
Şekil Ek79. EK-26 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₉H₁₂N₄O₅ +H: C₁₉ H₁₃ N₄ O₁ S₁ pa Chrg 1



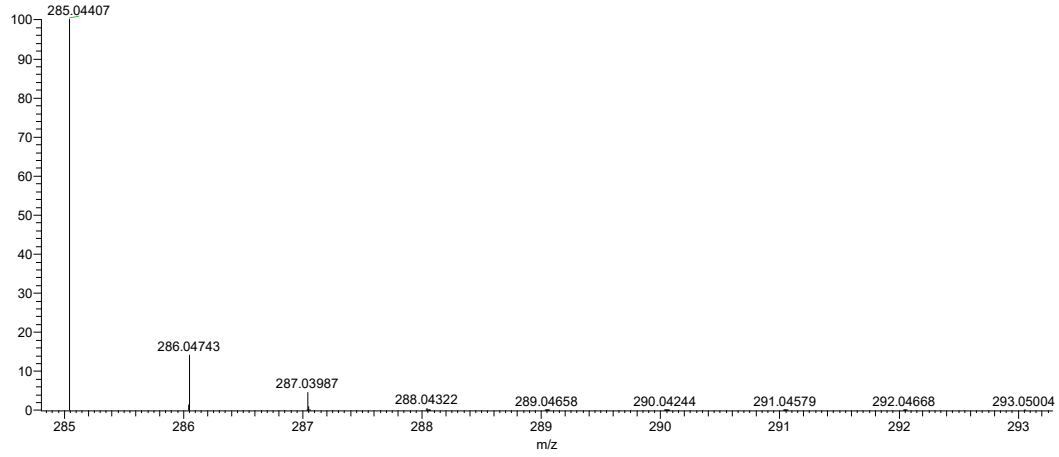
Şekil Ek80. EK-27 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₇H₁₀N₄O₂S +H: C₁₇ H₁₁ N₄ O₂ S₁ pa Chrg 1



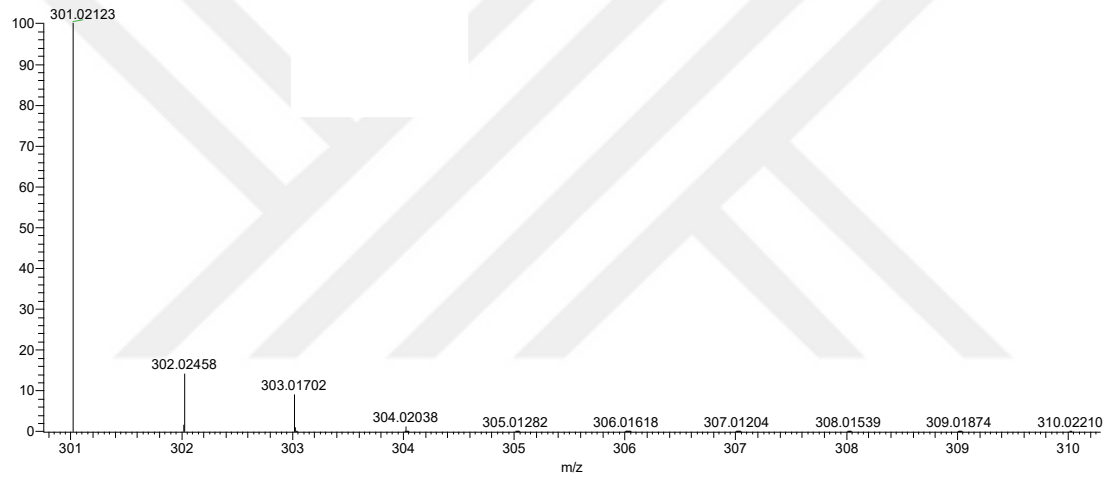
Şekil Ek81. EK-28 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₃H₈N₄O₂S +H: C₁₃ H₉ N₄ O₂ S1 pa Chrg 1



Şekil Ek82. EK-29 bileşiğinin HRMS spektrumu

C₁₃H₈N₄O₂S +H: C₁₃ H₉ N₄ O₁ S2 pa Chrg 1



Şekil Ek83. EK-30 bileşiğinin HRMS spektrumu



ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Eylem KUZU

Eğitim Bilgileri

Lisans

Üniversite : Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Fakülte : Eğitim Fakültesi

Bölüm : Kimya Öğretmenliği Programı

Mezuniyet Yılı : 2017

Yüksek Lisans

Üniversite : Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Enstitü : Fen Bilimleri Enstitüsü

Anabilim Dalı : Kimya

Mezuniyet Yılı : 2020

Akademik Yayınlar

- Kuzu, E., Kuzu, B. (2023). Tandem synthesis of novel thiazole-substituted pyrrolo [1, 2-d][1,2,4] triazin-4-(3H)-one derivatives and their theoretical pharmacokinetic profiles. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 59(1), 80–87.
- Kuzu, E., Arzuk, E., Karakuş, F., Kuzu, B., Genç, H. (2025). Synthesis of thiazole-integrated pyrrolotriazinones: evaluations of cytotoxicity and effects on PI3K levels in cancer cells. *Turkish Journal of Chemistry*, 49(2), 215-227.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

30/06/2025

PİROLOTRİAZİNON YAPISI İÇEREN YENİ HETEROBİSİKLİK
BİLEŞİKLERİN TASARIMI SENTEZİ TEORİK HESAPLAMALARI VE
ÇEŞİTLİ BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışmamın, kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç bölümlerinden oluşan toplam 143 (yüz kırk üç) sayfalık kısmına ilişkin, 30/06/2025 tarihinde Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından 'Turnitin' adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre tezimin benzerlik oranı %18 (onsekiz) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

30.06.2025

Adı Soyadı: Eylem KUZU

Öğrenci No: 21910001130

Anabilim Dalı: Kimya Anabilim Dalı (Doktora)

Programı: Kimya Anabilim Dalı (Doktora)

Statüsü: () Yüksek lisans (X) Doktora

DANIŞMAN
UYGUNDUR
Prof. Dr. Hasan GENÇ

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR