T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Dr. Öğr. Üyesi Serap YILMAZ

BENZAZOL TÜREVİ BAZI YENİ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ, ANTİKANSER AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ VE MOLEKÜLER MODELLEME ÇALIŞMALARI

(Yüksek Lisans Tezi)

Gözde YENİCE ÇAKMAK

Referans no: 10186277

EDİRNE – 2019

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Dr. Öğr. Üyesi Serap YILMAZ

BENZAZOL TÜREVİ BAZI YENİ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ, ANTİKANSER AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ VE MOLEKÜLER MODELLEME ÇALIŞMALARI

(Yüksek Lisans Tezi)

Gözde YENİCE ÇAKMAK

Tez No: 10186277

EDİRNE – 2019

TC.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Dr. Öğr. Üyesi Serap YILMAZ danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Gözde YENİCE ÇAKMAK tarafından tez başlığı "BENZAZOL TÜREVİ BAZI YENİ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ, ANTİKANSER AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ VE MOLEKÜLER MODELLEME ÇALIŞMALARI" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 14/06/2019 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "Yüksek Lisans Tezi" olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İlkay YILDIZ
Ankara Üniversitesi
JÜRİ BAŞKANI

Dr. Öğr. Üyesi
Hakan KOLANCILAR
Trakya Üniversitesi
ÜYE

Dr. Öğr. Üyesi
Serap YILMAZ
Trakya Üniversitesi
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Tammam SİPAHİ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren tezimin her aşamasında beni sabırla dinleyen, maddi manevi her türlü destek olan, benden zamanını ve yardımlarını esirgemeyen, bana yol gösteren, benim için sonsuz güvenin tanımlarından biri olan tez danışmanım, Sayın Hocam Dr. Öğr. Üyesi Serap YILMAZ'a,

Her zaman sevgi ve desteklerini hissettiğim, yüksek lisans eğitimi boyunca bana emek veren, bilgi ve becerilerini paylaşan Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi ve Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü değerli öğretim üyelerine,

Tez çalışmamın büyük bir kısmını laboratuvarlarında yürütmeme olanak veren başta Prof.Dr. İsmail YALÇIN, Prof.Dr. Esin Akı-YALÇIN ve Prof.Dr. İlkay YILDIZ hocalarım olmak üzere tüm Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı değerli öğretim üyelerine,

Hayatım boyunca aldığım her kararda, her zaman içtenlikleriyle yanımda olduklarını bildiğim, desteklerini her zaman yanımda hissettiğim sevgili annem Remziye YENİCE ve babam Mehmet YENİCE'ye,

Hayatımın her alanında en güzel anılarımızı biriktirdiğimiz, birbirimize her daim destek olduğumuz, benim için her daim küçük kardeş olarak kalacak olan biricik kardeşim Merve YENİCE'ye,

Her anımda bana destek olan, tez çalışmaları sürecinde sahip olduğum stres nedeniyle yaşattığım tüm negatiflikleri tolere eden, her sorunumda elinden geldiğince yardımcı olan, bendeki yerini tarif etmemin mümkün olmadığı sevgili eşim Erkan ÇAKMAK'a,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ **1**
GENEL BİLGİLER **3**
KANSER 3
BENZAZOL HALKASI İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER 6
AMİT GRUBU HAKKINDA GENEL BİLGİLER 12
BENZOTİYAZOL HALKASININ ANTİKANSER AKTİVİTESİ 28
GEREÇ VE YÖNTEMLER **45**
BULGULAR **56**
TARTIŞMA **101**
SONUÇLAR **105**
ÖZET **108**
SUMMARY **110**
KAYNAKLAR **112**
ŞEKİLLER LİSTESİ **123**
ÖZGEÇMİŞ **131**

SİMGE VE KISALTMALAR

Ark	Arkadaşları
A549:	İnsan Alveolar Bazal Epitelyal Hücre Hattı, Adenocarcinomic Human Alveolar Basal Epithelial Cells
ACS:	American Cancer Society
ADME:	Absorbsiyon, Dağılım, Metabolizma ve Emilim
CDK-2:	Siklin Bağımlı Kinaz-2
C-NMR:	Karbon 13-Nükleer Manyetik Rezonans
DCE	Dikloroetan
DME:	Dimetil Eter
DMF:	Dimetillformamit
DNA:	Dezoksiribonükleik Asit
ERK1/2:	Ekstrasellüler Sinyal Regüle Kinaz
ESI:	Elektrosprey İyonizasyonu
GI_{50}:	%50 Büyüme İnhibisyonu

HBA	Hidrojen bağı akseptörü sayısı
HBD	Hidrojen bağı donörü sayısı
HCT-116	İnsan Kolorektal Karsinoma Hücre Hattı, Human Colon Colorectal Carcinoma Cell Line
HDAC:	Histon Deasetilaz
HeLa:	İnsan Serviks Kanseri Hücre Hattı, Human Cervical Cancer Cell Line
HEP-3B:	İnsan Hepatoselüler Karsinoma Hücre Hattı, Human Hepatocellular Carcinoma Cell Line
HepG-2	Hepatoselüler karsinom hücre hattı
HFIP:	Heksafloroizopropanol
hGSTP-1:	İnsan Glutatyon S-Transferaz-1, Human Glutathione S-Transferase-1
HIA:	İnsan intestinal absorbsiyonu, human intestinal absorption
H-NMR:	Hidrojen-Nükleer Manyetik Rezonans
Hsp90 (IŞP 90):	Heat Shock Protein, Isı Şoku Proteini
HT-29:	İnsan Kolorektal Adenokarsinomu Hücre Hattı, human colorectal adenocarcinoma cell line
IARC:	Uluslararası Kanser Araştırmaları, International Agency For Research On Cancer
IC_{50}:	%50 İnhibitör Konsantrasyonu
IUPAC:	International Union of Pure and Applied Chemistry
İTK:	İnce Tabaka Kromatografisi
K562:	İnsan Kemik İliği Kronik Miyeloid Lösemi Hücre Hattı, Homo sapiens, bone marrow chronic myelogenous leukemia cell line
K-Ras	Kirsten Rat Sarkoma
K-Ras G12C	Kirsten Rat Sarkoma Glisin 12-Sistein 12 Mutasyonu
M_A:	Moleküler Ağırlık

MAPK:	Mitojenler Tarafından Aktive Edilen Protein Kinazlar
MCF-7:	İnsan Meme Adenokarsinoma Hücre Hattıı, Michigan Cancer Foundation-7 Cell Line
MDA-468:	İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı, Homo Sapiens Mammary Gland/Breast Pleural Effusion Adenocarcinoma
MeCN	Asetonitril
MEK-1:	Mitojenle Aktive Protein Kinaz Kinaz-1
MTT:	3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromid
NIH3T3:	Fare Embriyo Fibroblast Hücre Hattı
PC-3:	İnsan Prostat Kanseri Hücre Hattı, Homo Sapiens Prostate Grade IV Adenocarcinoma Cell Line
PCC:	Piridinyum Klorokroma
***p*-TsOH**	*p*-Toluen sülfonik asit
Ras	Rat sarkoma virüs proteini
RNA:	Ribonükleik Asit
SDH:	Süksinat dehidrojenaz enzimi
Sİ	Seçicilik indeksi
TFOH, TfOH:	Triflik asit
TMOS:	Tetrametil ortosilikat
TMS:	Tetrametilsilan
Top II	Topoizomeraz II
TÜİK:	Türkiye İstatistik Kurumu
UV:	Ultraviyole
VEGF:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
WHO-DSÖ:	World Health Organization – Dünya Sağlık Örgütü

GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, birçok farklı doku/hücreleri tutabilen sayısız endojen ve eksojen karsinojenik ajanları ve çeşitli etiyolojik mekanizmaları olan hastalıklar bütünüdür (1). Başka bir deyişle, bir grup anormal hücrenin normal hücre bölünmesi kurallarına uymaksızın kontrolsüz büyümesidir (2).

Normal hücreler büyüme, başka hücrelere farklılaşma ve ölüme sebep olan sinyallerle sürekli olarak kontrol edilmektedir. Ancak kanserli hücrelerde bu sinyallerden özerk bir şekilde kontrolsüz büyüme ve proliferasyon görülmektedir. Hücre genomunda değişiklikler veya mutasyonlar ile üretilen proteinlerle hücresel denge bozulur ve böylelikle kanser hücresi oluşumu tetiklenir. Proliferasyonun devamı ve yayılması fataldir. Kansere bağlı ölümlerde neredeyse %90'ında sebep; metastazdır (2).

Tüm dünyada kanser insidansı ve mortalitesi hızlı bir şekilde büyümektedir. 2005-2015 yılları arasında nüfus artışı ve yaşlanmasına bağlı olarak insidans %33 oranında artmıştır. 2015 yılında görülen 17,5 milyon kanser vakasından 8,7 milyonu ölümle sonuçlanmıştır (3). Buna bağlı olarak araştırmacıların kanser üzerine olan ilgileri artmış ve kontrolsüz hücre çoğalmasını engelleyecek yeni bileşiklerin keşfi üzerine yapılan çalışmalara yönlenmişlerdir.

Benzazol halkaları (benzotiyazol, benzimidazol, benzoksazol, indol) özellikle DNA (Dezoksiribonükleik asit) yapısında bulunan adenin ve guanin halkalarının biyoizosteri olarak

kabul edildiğinden ve organizmadaki biyopolimerlerle kolay etkileşim sağlayabilmesinden dolayı antikanser bileşiklerin geliştirilmesinde öncü bir yapı olarak belirlenmiştir.

Yüksek lisans tezi kapsamında 2. konuma bağlı benzil grubunun *para* pozisyonuna bir amid zinciriyle bağlanan çeşitli aromatik halkaları taşıyan benzotiyazol türevi bileşiklerin sentezleri; sentezlenen bileşiklerin ^{1}H-NMR (Hidrojen-Nükleer Manyetik Rezonans), ^{13}C-NMR (Karbon 13-Nükleer Manyetik Rezonans) ve Kütle Spektroskopisi kullanılarak yapılarının aydınlatılması; A549 (İnsan alveolar bazal epitelyal hücre hattı, adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells), MCF-7 (İnsan meme adenokarsinoma hücre hattı, Michigan cancer foundation-7), PC-3 (İnsan prostat kanseri hücre hattı, homo sapiens prostate grade ıv adenocarcinoma cell line), HEP-3B (İnsan hepatoselüler karsinoma hücre hattı, human hepatocellular carcinoma cell line), HeLa (İnsan serviks kanseri hücre hattı, human cervical cancer cell line), HT-29 (İnsan kolorektal adenokarsinomu hücre hattı, human colorectal adenocarcinoma cell line), K562 (insan kemik iliği kronik miyeloid lösemi hücre hattı, Homo sapiens bone marrow chronic myelogenous leukemia cell line), Raji (insan Burkitt lenfoma hücre hattı), NIH3T3 (fare embriyo fibroblast hücre hattı) hücre hatları üzerinden antikanser aktivitelerinin incelenmesi; biyolojik aktivite sonuçları doğrultusunda ısı şoku proteini (Hsp90, IŞP90), siklin bağımlı kinaz-2 (CDK-2), Topoizomeraz-II (Top II) , K-Ras (Kirsten Rat Sarkoma) ve K-Ras G12C (Kirsten Rat Sarkoma Guanin12-Sitozin12 Mutasyonu) proteinleri üzerinden moleküler doking teknikleri kullanılarak biyolojik etki mekanizmalarının aydınlatması ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda farmasötik ve medisinal kimya alanına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

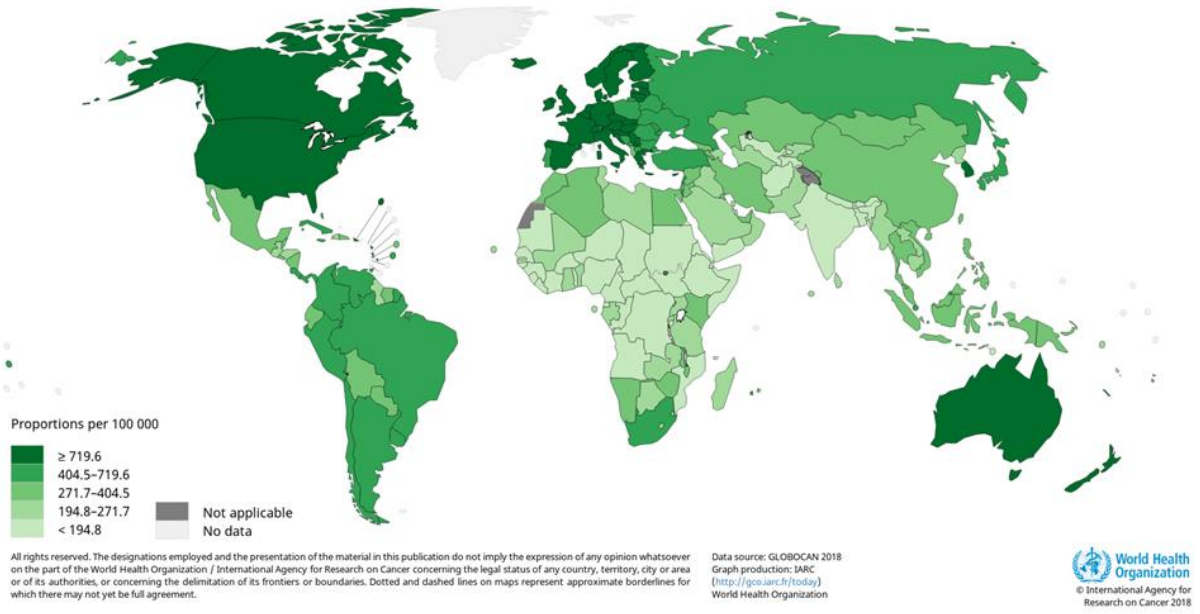
KANSER

Kanser, kontrolsüz hücre büyümesi ve hücrelerin başlangıç bölgesinden vücudun diğer bölgelerine invazyonu ve yayılımı ile karakterize hastalıklar bütünüdür (4). Tüm kanser türlerinde, normal hücreler bir seri değişiklik ile tümörijenik ve sonrasında malign hale gelirler (5). Kansere sebep olan majör faktörler farklı dokularda görülen kanser türlerine göre değişiklik gösterir; örn: güneşteki ultraviyole (UV) radyasyonu kolayca deriyi hedef alıyorken, sigara dumanı inhalasyonu ise direkt olarak akciğerleri hedef alabilir (4). Karsinojenez; kanser hücreleri tarafından oluşturulan bir proses, vital regülatör yolaklarında hata oluşumuyla sonuçlanan çok aşamalı bir mekanizmadır (6). Karsinojenezdeki hücre tipi ve başlangıç bölgedeki hücre yayılım paternlerindeki moleküler mekanizma farklılıkları, her kanser türü için farklı tedavi rejimlerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur (4). Ancak, altta yatan hücresel ve moleküler rotaların farklı olmasına rağmen, sonuç hepsinde aynıdır (4). Kanserli hücrenin büyüme avantajı elde etme ve tümör oluşumu süreçlerini karakterize eden birkaç farklı özelliği tanımlanmıştır. Bunlar; kontrolsüz proliferasyon, büyümeyi süprese edici mekanizmalarından kaçınma, hücre ölümüne karşı rezistans, limitsiz replikasyon kapasitesi, anjiogenezin

indüklenmesi, invazyon ve metastaz yeteneğinin aktivasyonu, enerji metabolizmasındaki değişimler, immün sistem komponentlerinin etkisizleştirilmesidir (5).

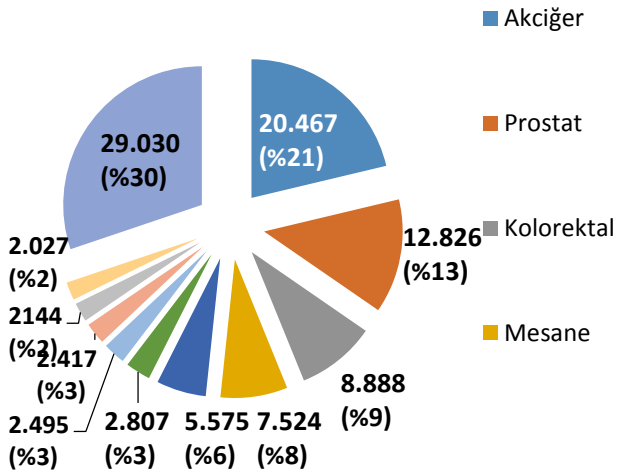
Kanser tüm dünyayı ilgilendiren önemli bir toplumsal sorundur. Ülke çapında kanser vakalarının bildirim eksiklikleri nedeniyle dünya popülasyonlarındaki çeşitli formlardaki kanser sayıları net olarak tespit edilememektedir. Çeşitli ulusal ve uluslararası organizasyonların yıllık olarak düzenledikleri raporlarla kanser insidansı ve mortalitesi tahmin edilebilmektedir. Bu organizasyonlar; Amerika için; American Cancer Society ve National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER). Uluslararası kanser araştırmaları; International Agency for Research on Cancer, World Health Organization ve Cancer Research UK (5). Bulaşıcı olmayan hastalıklar şu anda tüm dünyadaki ölümlerin büyük bir kısmından sorumludur (7) ve kanserin 21. yüzyılda her ülkede yaşam beklentisinin artması önünde tek önemli bariyer olacağı ve ölüm nedenleri arasında liderliği alacağı öngörülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nin 2018 yılındaki verilerine göre; 172 ülkenin 91'inde 70 yaş öncesi ölüm sebepleri arasında kanser birinci veya ikinci sırada, diğer 22 ülkede de üçüncü veya dördüncü sırada yer almaktadır (Şekil 1) (3).

Tüm dünyada kanser insidansı ve mortalitesi hızlı bir şekilde büyümektedir. 2005-2015 yılları arasında nüfus artışı ve yaşlanmasına bağlı olarak insidans %33 oranında artmıştır. 2015 yılında görülen 17,5 milyon kanser vakasından 8,7 milyonu ölümle sonuçlanmıştır. Erkeklerde en sık görülen kanser prostat kanseri iken, trakea, bronş ve akciğer kanserleri de mortalite ve morbiditeye neden olurlar. Kadınlarda ise en sık görülen kanser türü meme kanseridir ve mortalite ve morbidite oranları oldukça yüksetir (3).

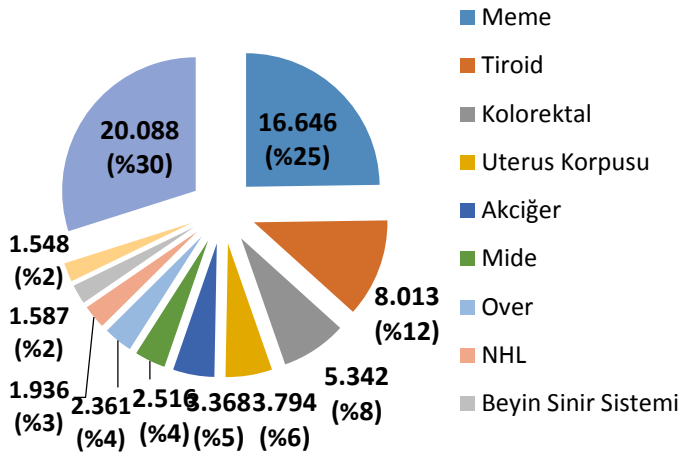


Şekil 1. 2018 yılında yayınlanan harita grafiğinde kanser vakalarının 5 yıllık prevalansının tüm dünyada dağılımı görülmektedir. er sıralama grubu (sol alt) temsil edilen ülkeleri belirtmektedir (7)

Türkiye İstatistik Kurumu'nun (TÜİK) 2015 yılı verileri incelendiğinde, tüm ölüm vakalarının %20 kadarını kanser oluşturduğu görülmektedir. Ülkemizdeki verilere göre, son 5 yıl içerisinde kanser vakalarında artış veya azalış olmadığı ve refah düzeyi daha yüksek olan ülkelere göre kanserin prevalansının daha düşük olduğu görülmektedir Türkiye'de erkeklerde en sık görülen kanser türleri prostat ve akciğer kanserleridir (Şekil 2). Kadınlarda her 4 kişiden birinde görülen meme kanseri en sık karşılaşılan kanser türüdür (Şekil 3). Obeziteye bağlı kanser vakaları da daha çok kadınlarda bildirilmiştir. Kolorektal kanser, erkek ve kadınlarda üçüncü düzey sıklıkta görülen kanser türüdür. Çocuklarda en sık görülen kanser türünün lösemi olduğu bildirilmiştir (8).



Şekil 2. Türkiye'de erkeklere en çok görülen kanser türleri (%) (8)



Şekil 3. Türkiye'de kadınlarda en çok görülen kanser türleri (%) (8)

BENZAZOL HALKASI İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER

Halkada farklı türde heteroatoma (genellikle azot, kükürt veya oksijen) sahip siklik yapıdaki bileşiklere heterosiklik bileşikler adı verilir (9). Heterosiklik yapıdaki bileşikler doğada oldukça geniş alana yayılım göstermekte ve çok sayıda esansiyel bileşiğin yapısında yer almaktadır (örneğin; çeşitli şekerler ve türevleri, vitaminler, koenzimler, porfirin, DNA, RNA (Ribonükleik Asit) vb.) (9, 10).

Benzazol halkası yapısında en az bir tane azot atomu taşıyan 5 üyeli maksimum doymamışlıktaki halkaya kondanse benzen halkasından oluşan polisiklik halka sistemleridir. Bu sistemler içerisinde indol, benzimidazol, benzoksazol, benzotiyazol gibi halka sistemlerini içermektedir(9).

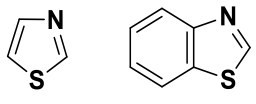
Benzotiyazol Halkası ile İlgili Genel Bilgiler

Benzotiyazol, erime noktası 2°C, kaynama noktası 227-228°C olan, renksiz, kısmen viskoz sıvı halde bulunur. Yoğunluğu 1,24 g/mL, moleküler kütlesi 135,19 g/mol olan benzotiyazol endüstride ve araştırmalarda kullanılmaktadır (11).

Heterosiklik yapıdaki bileşikler üzerine yapılan çalışmalar, bu bileşiklerin çeşitli farmakolojik aktivitelerinden dolayı medisinal kimyada uzun zamandır ilgi duyulan bir alan olmuştur. Azot ve kükürt içeren çok sayıda heterosiklik türev, ilaç geliştirme çalışmaları kapsamında fonksiyonel iskelet görevi görmektedir (12).

Genellikle birçok deniz ürünü ve bitkisel üründe görülen heterosiklik çekirdeklerden biri olan benzotiyazol; antikanser (13, 14), antimikrobiyal (15-18), antidiyabetik (19, 20), anti-inflamatuar (21), antiviral (22), antihelmentik (23) ve antifungal (24) gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip ayrıcalıklı bir bisiklik halka sistemidir

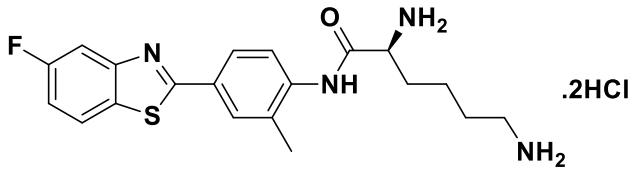
Tiyazol (Şekil 4, A) yapısal olarak tiyofen ve piridinle ilişkilidir (Şekil 4), ama özelliklerinin çoğunda piridine benzemektedir. Tiyazol halkası, ilk kez 1887 yılında Hantzsch ve Waber tarafından tanımlanmıştır.1889 yılında Popp yapıyı doğrulamıştır. Tiyazolün numaralandırılması kükürt atomundan başlamaktadır. Benzotiyazol (Şekil 4, B), pozisyonlarından tiyazol ile birleşmiş benzen halkasından oluşmakta ve birlikte 1,3-benzotiyazol çekirdeğini meydana getirmektedir (25). Yapılan yapı-aktivite ilişkisi çalışmaları; C-2 pozisyonunda bulunan sübstitüent grubun yapısındaki değişikliklerin genellikle biyoaktivitede değişikliklere neden olduğunu ortaya koymaktadır. 2- sübstitüe benzotiyazoller arasında, flor bağlı türevler potansiyel biyoaktiviteleri nedeniyle büyük ilgi görmüştür (26).



A B

Şekil 4. Tiyazol (A), benzotiyazol (B) halka yapıları

Birleşik Krallık Kanser Araştırma Kurumu'ndan (Cancer Research UK) Stevens ve arkadaşları benzotiyazol ve bununla ilişkili bileşiklerin antikanser potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Meme, over, böbrek, akciğer ve kolon kanseri hücrelerine karşı aktiviteye sahip olan ajan Phortress çalışmanın ana bileşiği olmuştur (NSC 710305, Şekil 4) (11).



Şekil 5. (S)-2,6–diamino–N-(4-(5-florobenzotiyazol-2-il)-2-metilfenil)hekzanamid, Phortress (11)

Heterosiklik bir bileşik olarak benzotiyazol daha büyük, genellikle biyolojik olarak aktif yapılar oluşturulmasında başlangıç materyali olarak kullanılmaya yatkın yapılardır. Aromatik oluşu yapıyı nispeten kararlı hale sokmakta; ayrıca heterosiklik bir yapı olduğundan fonksiyonalizasyonunu kolaylaştıran reaktif bölgeleri bulunmaktadır (11).

Benzotiyazol Halkasına Ait Bazı Sentez Yöntemleri

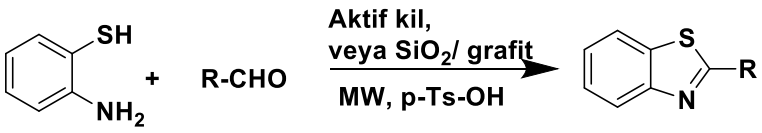
Literatürde benzatiyazolün sentezi için geleneksel metodlar yer almaktadır. En çok kullanılan yöntemlerden bazılarına aşağıda yer verilmiştir.

Khalid Mohammed Khan ve arkadaşları (ark.) 2-sübstitüe benzotiyazollerin solvent dimetillformamit (DMF) ve sodyum metabisülfit ($Na_2S_2O_5$) katalizörü varlığında 2-aminotiyofenol ve aldehitler üzerinden yürüyen bir reaksiyon ile yürüyen sentezini bildirmişlerdir (Şekil 6) (27).



Şekil 6. 2-aminotiyofenol ve aldehitler üzerinden yürüyen 2-sübstitüe benzotiyazol sentezi, DMF ve $Na_2S_2O_5$ (katalizör) (27)

Rostamizadeh ve ark. *p*-Ts-OH (*p*-Toluen sülfonik asit) varlığında, 2-amiotiyofenol ve aldehitler üzerinden herhangi bir oksidizasyon ajanı kullanılmadan 2- sübstitüe benzotiyazol sentezlemişlerdir (Şekil 7) (28).



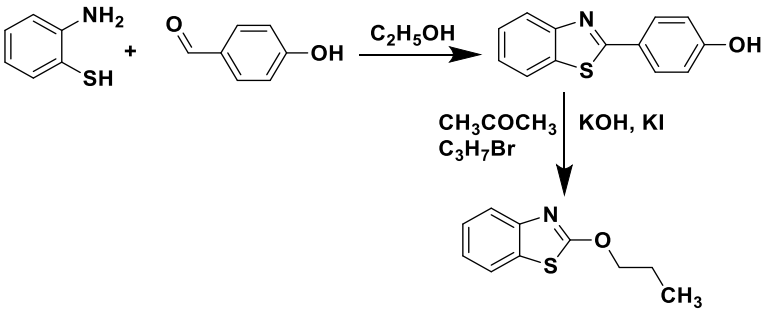
Şekil 7. *p*-Ts-OH varlığında, 2-amiotiyofenol ve aldehitler üzerinden antioksidan kullanılmadan 2- sübstitüe benzotiyazol sentezi (28)

Perumal ve arkadaşları 2-arilbenzotiyazollerin yeni türevlerinin sentezi için, silika jel üzerinde Piridinyum klorokroma (PCC) ile pekiştirilmiş tiyofenolik ve fenolik schiff bazlarının oksidatif siklizasyonu olan verimli ve uygun bir yöntem geliştirilmişlerdir (Şekil 8) (29).



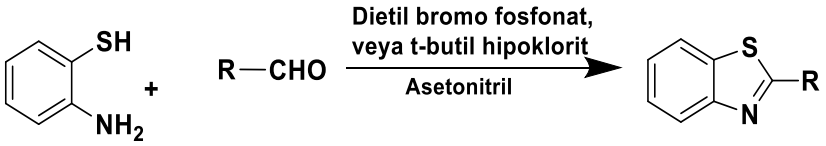
Şekil 8. Silikajel üzerinde PCC varlığında, tiyofenolik ve fenolik schiff bazlarının oksidatif siklizasyonu ile 2-arilbenzotiyazol sentezi (29)

Ha ve ark. 2-aminotiyofenol ve 4-hidroksi benzaldehiti 6 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılmasıyla 2-(4-propiloksifenil)benzotiyazol sentezlemişlerdir (Şekil 9) (30).



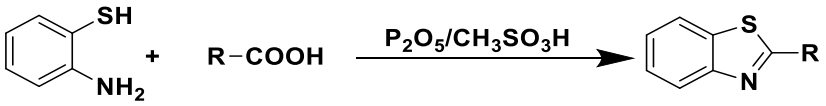
Şekil 9. 2-aminotiyofenol ve 4-hidroksi benzaldehitin 6 saat geri soğutucu altında ısıtılmasıyla yapılan 2-(4-propiloksifenil)benzotiyazol sentezi (30) .

Bobade ve ark. basit, verimli ve çevre dostu bir proses ile, asetonitril içinde dietil bromo fosfonat veya tersiyer-butil hipoklorit olan iki farklı oksidatif ajan varlığında benzotiyazol sentezi gerçekleştirmişlerdir (Şekil 10) (31).



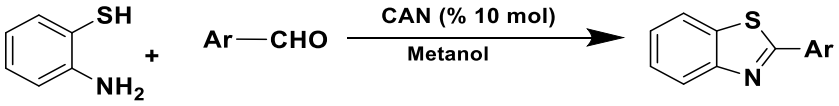
Şekil 10. Asetonitril içerisinde dietil bromo fosfonat veya tersiyer-butil hipoklorit varlığında benzotiyazol sentezi (31)

Boger ve ark.'nın bildirdiği 2-sübstitüe benzotiyazol sentezi ise; 2-aminotiyofenol ve karboksilik asitin P_2O_5/CH_3SO_3H varlığında direkt olarak ısıtılması esasına dayanmaktadır (Şekil 11) (32).



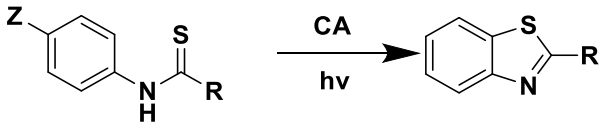
Şekil 11. 2-aminotiyofenol ve karboksilik asitin P_2O_5/CH_3SO_3H varlığında ısıtılması ile 2-sübstitüe benzotiyazol sentezi (32)

Sadek ve ark.'nın raporladığı 2-arilbenzotiyazol sentezi; 2-aminotiyofenol ve aromatik aldehitlerin orta etkili oksidan olan Seryum (IV) amonyum nitrat aracılığı ile reaksiyonundan oluşmaktadır (Şekil 12) (33).



Şekil 12. 2-aminotiyofenol ve aromatik aldehitlerden, Seryum (IV) amonyum nitrat (CAN) aracılığı ile yürüyen 2-arilbenzotiyazol sentezi (33)

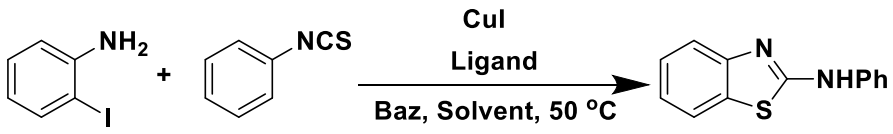
Penenory ve ark.'ın 80°C'de 1,2-dikloroetan ve toluen içerisindeki kloranil ile indüklenmiş tiyoformanilidin radikal siklizasyonu sonucu 2-sübstitüe benzotiyazol sentezlemişlerdir. Geliştirilen metod orta-iyi verimde, oldukça basit ve izolasyonu kolay ürün sağlamaktadır (Şekil 13) (34).



Z=-H, -OMe; R= *t*-But, Ph, 4-C_6H_4-Y (Y= Me, *t*-But)

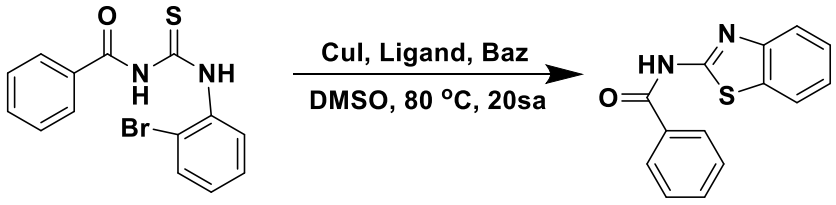
Şekil 13. Tiyoformanilidin 1,2-dikloroetan ve toluen içerisindeki kloranil varlığında ısıtılmasıyla oluşan 2-sübstitüe benzotiyazol sentezi (34)

Xiaodan He ve ark. verimli ve pratik bir sentez geliştirmişlerdir. Bu metoda göre; 2-iyodobenzenaminin farklı ligand kombinasyonları ile (1,10-fenantrolin, glisin, prolin), ılımlı reaksiyon koşullarında, bakır(I) katalizli, baz ve çeşitli solventler (Toluen, THF, dimetil eter (DME) , dikloroetan (DCE), dioksan, asetonitril (MeCN) altında 2-aminobenzotiyazol sentezini gerçekleştirmişlerdir (Şekil 14) (35).



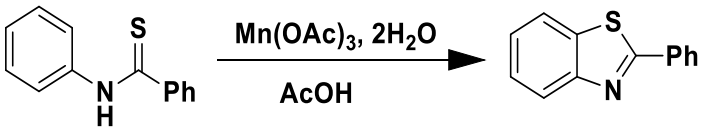
Şekil 14. 2-iyodobenzenaminin farklı ligandlarla (1,10-fenantrolin, glisin, prolin), bakır(I) katalizli, baz ve çeşitli solventler altında oluşan 2-aminobenzotiyazol sentezi (35)

Pan ve ark. 1-benzoil-3-(2-bromofenil)tiyoüre'nin bakır katalizinde intamoleküler siklizasyonu ile bir seri N-benzatiyazol-2-il-amid türevleri sentezlemişlerdir (Şekil 15) (36).



Şekil 15. Bakır katalizi altında 1-benzoil-3-(2-bromofenil)tiyoüre'den, N-benzatiyazol-2-il-amid türevleri sentez şeması (36)

Zou ve ark. sübstitüe tiyoformanilidlerin radikal siklizasyonunda yeni bir reaktif olan manganez triasetatı kullanarak sentez gerçekleştirmişlerdir.Bu metodla mikrodalga altında 6 dk. ısıtılması sonucu verimi yüksek 2-sübstitüe benzotiyazoller elde edilebilir (Şekil 16) (37).

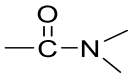


Şekil 16. Sübstitüe tiyoformanilidlerin radikal siklizasyonu sonucu 2-sübstitüe benzotiyazol eldesi (37)

AMİT GRUBU HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Amitler, proteinler, enzimatik kataliz (neredeyse bütün bilinen enzimler proteindir), taşıma/ depolama (hemoglobin), bağışıklığın korunması (antikorlar) ve mekanik destek (kollajen) gibi biyolojik işlevlerin hemen hemen hepsinde önemli rol oynayan kimyasal gruplardır (38).

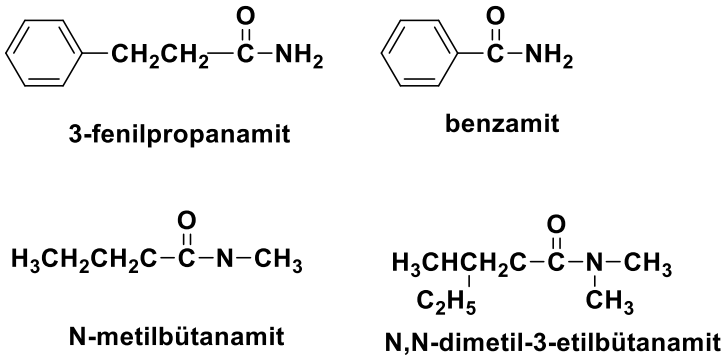
Amit bağı peptit, proteinler, beta-laktam antibiyotiklerin ve sayısız sentetik polimerlerin spesifik özelliklerine katkıda bulunan oldukça önemli bir fonksiyonel gruptur. Karboksamit grubunun bilinen ilaçların ¼'ünden fazlasında bulunması bu yapıların medisinal kimyacılar için kilit bir role sahip olduğunu ortaya koymaktadır (39). Amit bağı oluşum reaksiyonları, farmasötik preparatlarda, doğal ürünlerde ve biyolojik olarak aktif bileşiklerde amitlerin yaygın olarak ortaya çıkması nedeniyle organik kimya ve biyokimyada önemli yere sahiptir (40).

Bir amit fonksiyonu, üç değerlikli (trivalan) gruba  dayanmakta; ve bu grubun üç serbest valansına çeşitli radikallerin eklenmesi üzerine, birçok bileşik sınıfı elde edilebilir (41).

Amitlerde azot atomunun hibridizasyonu sp^{2}'dir ve azot bağları aynı düzlemde uzanır. C-N bağı, amitlerde daha kısadır ve bu bağın etrafında dönme için aktivasyon enerjisi, aminlerinkinden daha fazladır (42).

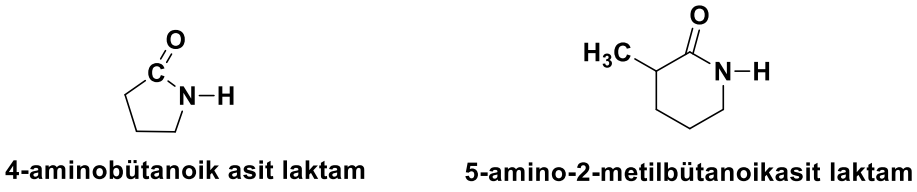
Bir amitte, $-NH_2$, -NHR veya $–NR_2$ gibi bir grup bir açil grubuna bağlanır. Amitler, asitler için kullanılan (-oik asit) son ekin; -amit ile değiştirilmesiyle adlandırılır. -Karboksamit eki, sikloalkankarboksilik asitlerden türetilmiş amitleri belirtir. Primer amit yapısında, bir $–NH_2$

grubu açil karbonuna bağlanmakta iken; sekonder ve tersiyer amit gruplarında sırasıyla N- veya N, N- ön eki, bir veya daha fazla alkil veya aril grubunun azot atomuna bağlı olduğunu göstermektedir (Şekil 17) (43).



Şekil 17. Çeşitli amit yapıdaki gruplara örnekler (43)

Laktamlar; amino asitlerden oluşan siklik yapıdaki amitlerdir. Bu bileşikler IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) adlandırmasına göre ilişkili aminoasite laktam kelimesi getirilerek isimlendirilir. Veya –ik asit eki –olaktam olarak değiştirilir (Şekil 18) (43).



Şekil 18. Çeşitli laktam yapısına sahip moleküllere örnekler

Amitler büyük organik bileşik sınıflarında en polar yapılar arasındadır. Aşağıdaki Tablo 4'te gösterildiği gibi; asetik asit 1.9 D dipol momente sahip iken; bu değer asetamit, N-metilasetamit ve N, N-dimetilasetamit için 3.8 - 4.4 D arasında değişmektedir (41, 42). Bu artan polarite, moleküller arası daha güçlü çekici kuvvetlere yol açar ve amitlerin kaynama noktalarında yükselmelerle sonuçlanır. Ayrıca, tablodaki NH bağı içeren iki amit için daha yüksek erime noktasına neden olurlar. N, N-Dimetilasetamit, katı fazı karakterize eden hidrojen

bağlarına katılmaz ve tablodaki bileşiklerin en düşük erime noktasına sahip iken; asetamid, hidrojen bağlanma yeteneğine sahip iki NH protona sahiptir ve kristalde birbiri üzerine istiflenmiş düz hidrojen bağlı dimer levhalarından oluşur (42).

Tablo 1. Asetamit, N-metilasetamit ve N, N-dimetilasetamit ve asetik asit molekülleri arası kuvvetler (42)

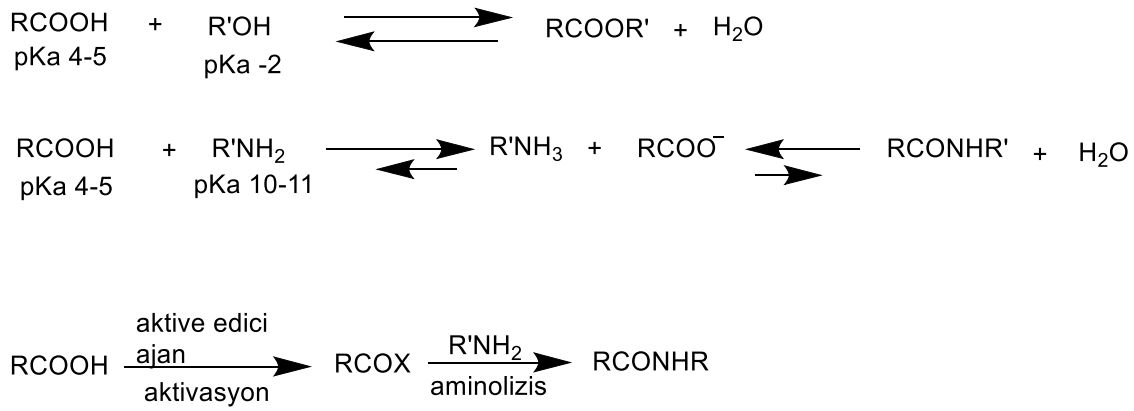
	Asetik Asit	N, N-Dimetilasetamit	N-metil asetamit	Asetamit
H bağı için uygun H sayısı	1	0	1	2
Dipol moment, D	1.9	3.8	4.4	3.9
Erime noktası, °C	17	-20	31	80
Kaynama noktası, °C	118	165	206	221

Amit Fonksiyonel Grubuna Ait Bazı Sentez Yöntemleri

Amitlerin sentezine yönelik yaygın yöntem, açil klorürler, anhidritler veya esterler gibi aktifleştirilmiş karboksilik asit türevlerinin, aminlerle reaksiyonunu veya alternatif olarak, karboksilik asitlerin, karbodiimitler veya 1H-benzotriazol türevleri stoikiometrik miktarlarda birleştirme reaktifleri gibi aminlerle doğrudan birleştirilmesini içermektedir (40).

Bir asit ile sırasıyla bir amin veya bir alkol arasında amit veya ester bağı oluşumu kondensasyon tepkimeleridir. Esterifikasyon reaksiyonları bir denge reaksiyonudur, oysa bir aminin bir karboksilik asit ile karıştırılması üzerine ilk önce kararlı bir tuz oluşturmak için bir asit-baz reaksiyonu meydana gelir. Başka bir deyişle, dengenin yönü sentezden ziyade hidroliz tarafında olduğundan; amid bağı oluşumu Şekil 49' daki gibi ters termodinamik ile mücadele etmelidir (44). Tuz yapısının kondensasyonu genellikle yüksek sıcaklıkta (160-180 °C) elde edilebilir (45) bu da diğer işlevlerle geçimsiz bir durum oluşmasına neden olabilmektedir. Bu

nedenle, asit grubuna amino grubu tarafından saldırıya elverişli hale getirmek için bir ayrılabilen grubun asidin açil karbonuna bağlanması gerekir (Şekil 19).

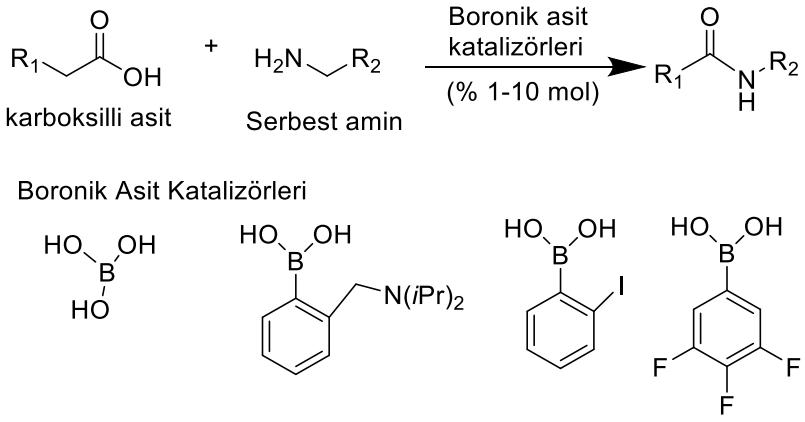


Şekil 19. Ester ve amit bağları oluşumunu gösteren temel denklem

Ancak, bu klasik yaklaşımların atom etkinliğinde (veya atom ekonomisinde) düşük olduğu ve büyük miktarlarda atık ürünler üreterek çevresel profillerini olumsuz hale getirdiği bilinmektedir. Bu nedenle, ACS (American Cancer Society) ve dünya çapında önde gelen ilaç şirketlerini bu durumların organik kimyadaki en büyük zorluklardan biri olarak tanımlamışlardır (46-48). Bu nedenle, bu önemli bileşik sınıfına erişmek için yeni, verimli ve sürdürülebilir sentetik yolların gerekliliği ortaya çıkmıştır (49-53).

Geleneksel amit sentezi, reaktif olmayan bir karboksilik asidi, amit oluşturmak üzere aminler ile reaksiyona sokmak için aktifleştirilmiş bir karboksilat haline dönüştürmek için bir birleştirme reaktifine dayanır. Birleştirme reaktifinin yokluğunda, karboksilik asit ve amin, amit oluşturucu reaksiyonun elverişsiz termodinamiği nedeniyle, ürün olarak amit oluşturmaktan ziyade bir karboksilat-amonyum tuzu oluşturur. Bu sebeple birleştirme reaktifinin yokluğunda karboksilik asit ve aminden hareketle doğrudan amit elde edebilmek için umut verici birkaç katalizör ortaya çıkmaya başlamıştır (54, 55).

En belirgin olanı boronik asit katalizörlüğünde gerçekleştirilmiş olanıdır (Şekil 20).



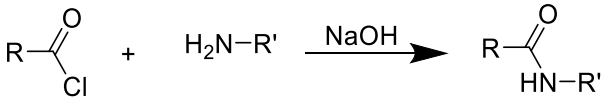
Şekil 20. Boranik asit katalizörlüğünde gerçekleştirilmiş olan geleneksel amit sentezi (54)

1. Karboksi bileşikleriyle aminlerin reaksiyonu üzerinden amit sentezi

Aminlerin aktifleştirilmiş karboksilik asitlerle açilasyonu, modern ilaçların sentezinde en sık rastlanan reaksiyondur; bu, son zamanlarda incelenen medisinal kimya verilerine göre tüm reaksiyonların% 16'sını oluşturmaktadır (56).

Karboksi bileşikleri, açil halojenürler, açil azitler, açilimidazoller, anhidritler, esterler vb. olarak aktifleştirilebilir. Açil halojenürler; açil klorür, açil florür, açil bromürler olarak 3 grupta toplanabilirler. Açil klorürler (veya asit klorür); asidin en kolay aktive edildiği metottur ve piyasada sayısız açil klorür bileşiği bulunmaktadır. Karşılık gelen asitlerinden açil klorürler üretmek için tiyonil klorür ($SOCl_2$), okzalil klorür ($(COCl)_2$), fosfor triklorür (PCl_3), fosfor oksiklorür ($POCl_3$) ve fosfor pentaklorür (PCl_5) gibi klorürleyici ajanlar yaygın olarak kullanılır (38).

Schotten-Baumann reaksiyonu**,** bir açil halojenürü veya anhidriti bir amin ve baz ile reaksiyona girdiğinde bir amite veya bir alkol ve baz ile reaksiyona girdiğinde bir estere dönüştürmek için kullanılan organik bir reaksiyondur. Amin ile reaksiyon, asidi halojenürün karbonil karbonuna saldıran azot ile başlar, bu da halojenürü dışarı atar. Baz ile deprotonasyon daha sonra elde edilecek amit ürününü sağlar (Şekil 21) (57, 58).

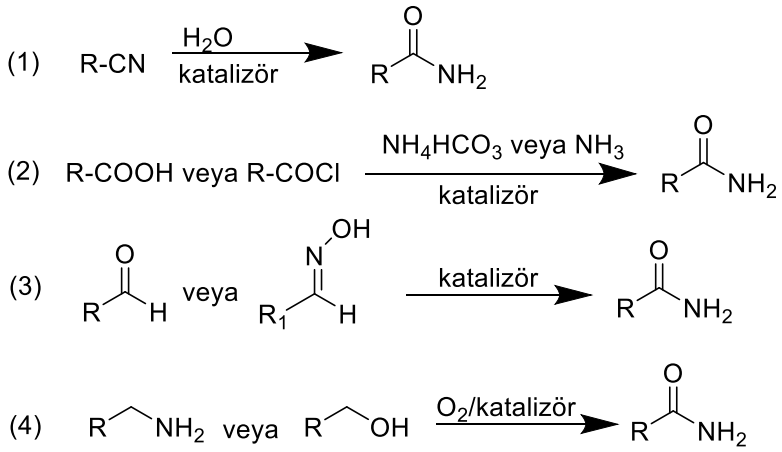


Şekil 21. Schotten-Baumann reaksiyonu genel şeması

Açil klorürlerde görülen; rasemizasyon ve yan reaksiyon problemlerinden aktif ara maddeler olarak açil florürler kullanılarak kaçınılabilir. Açil florürler, açil klorürlerden daha az neme duyarlıdır ve aminlere karşı daha reaktiftir. Açil klorürler ile benzer şekilde reaksiyona girerler (38).

2. Nitrillerin parsiyel hidrolizi ile amit sentezi

Primer amidlerin sentezi karşılık gelen nitrillerin hidrolizi (59-66), amonyak ile asitlerin veya asit klorürlerin amidasyonu (46-48); karşılık gelen aldehitlerin veya aldoksimlerin oksidatif amidasyonu (49-53); primer aminlerin veya alkollerin oksidasyonu (67-69) olmak üzere dört grupta toplanabilir (Şekil 22).

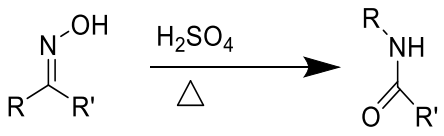


Şekil 22. Primer amit hazırlanmasında kullanılabilecek metotlar

3. Beckmann Düzenlemesi ile amit sentezi

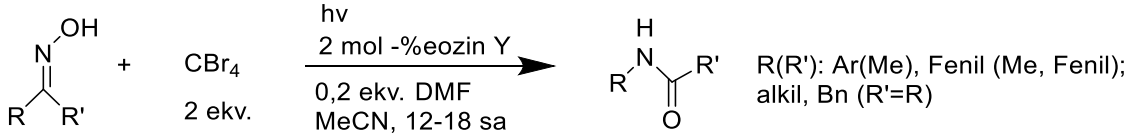
Alman kimyager Ernst Otto Beckmann tarafından 1853-1923'ten beri geliştirilen Beckmann düzenlemesi bir oksimin bir amide asitle katalize edilen bir düzenlemesidir (70-72). Siklik oksimler laktamları verir. Beckmann düzenlemesinin (İng: Beckmann Rearrangement, BR) 1896'da keşfedilmesinden bu yana, ardısıra incelemeler birçok şekilde ve büyük ölçüde yapılmış, uygulanmıştır. Hem C-C bağının bölünmesini hem de C-N bağının oluşumunu gerçekleştiren bir çekirdek düzenlemesidir. Azot atomunun hem siklik ve asiklik sisteme dahil edilmesi ve ayrıca çeşitli alkaloitlerin sentezi için çok faydalı ve verimli bir yöntem haline gelmiştir (40).

Beckmann düzenlemesinin reaksiyon mekanizmasının genel olarak hidrolizi takiben bir nitrilyum iyonu oluşturmak üzere bir hidroksil grubunun çıkarılmasıyla bir alkil migrasyonundan oluştuğuna inanılmaktadır. Beckmann düzenlemesinin ana reaksiyon şeması aşağıda gösterilmiştir (Şekil 23);



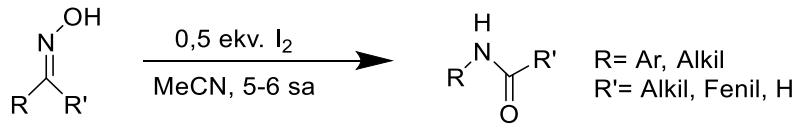
Şekil 23. Beckmann Düzenlemesi'nin ana denklemi

Srivastava ve arkadaşlarının oda sıcaklığında etkin bir Beckmann düzenlemesinin gerçekleştirilmesi yoluyla aldoksitten amid bileşiklerini sentezlemişlerdir; bunlar, CBr_4'ten Vilsmeier-Haack reaktifinin yerinde bir eozin Y katalizli, görünür ışık aracılı yerinde oluşumunu ve katalitik miktarda DMF'yi içermektedir. Ketoksim aktivasyonu için bu basit yöntem, herhangi bir korozif, suya duyarlı reaktif ve yüksek sıcaklık ihtiyacını önler. Beckmann Yeniden Düzenlemesinin reaksiyon şeması (Şekil 24), aşağıda belirtilmiştir (73);



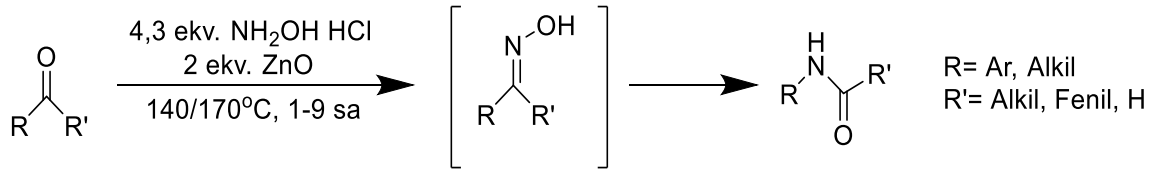
Şekil 24. Srivastava ve arkadaşları tarafından raporlanan oksim türevlerinden amid türevlerinin sentez denklemi (73)

Ganguly ve arkadaşlarının 2010 yılında raporladığı bir çalışmaya göre; etkili bir iyot aracılı Beckmann Yeniden Düzenlemesi gerçekleştirerek hafif nötr koşullar altında ketoksimlerden amit sentezlenmiştir. Beckmann Yeniden Düzenlemesinin reaksiyon şeması aşağıda belirtilmiştir(Şekil 25) (74).



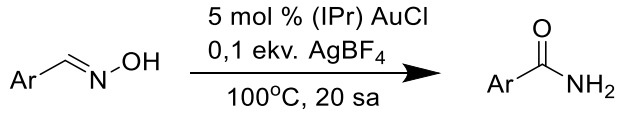
Şekil 25. Ganguly ve arkadaşlarının ortaya koyduğu oksim türevlerinden amid türevlerinin hazırlanmasına ait genel reaksiyon denklemi (74)

Sharghi ve arkadaşları (75) tarafından Çinko Oksit kullanarak solventsiz ve tek adımlı Beckmann düzenlemesi ile keton ve aldehitlerden amitler sentezlenmiştir. Beckmann Düzenlemesi'nin reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir (Şekil 26).



Şekil 26. Shargi ve arkadaşlarının ortaya koyduğu oketon türevlerinden amid türevlerinin hazırlanmasına ait genel reaksiyon denklemi(75)

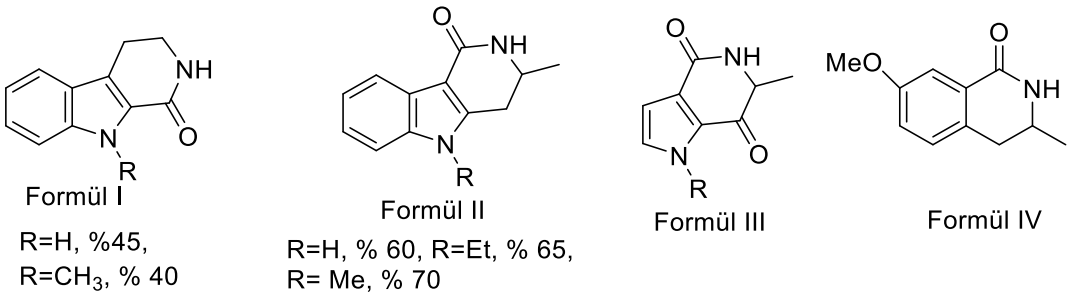
Ramon ve arkadaşları tarafından (76) solvent ve asitsiz koşullar altında Au / Ag katalizörlüğünde Beckmann Düzenlenmesi gerçekleştirilerek aldoksimden amitleri sentezlenmiştir. Beckmann Düzenlemesinin reaksiyon şeması aşağıda belirtilmiştir (Şekil 27).



Şekil 27. Ramon ve arkadaşları tarafından oksim türevlerinden amid türevlerinin hazırlanmasına ait genel denklem (76)

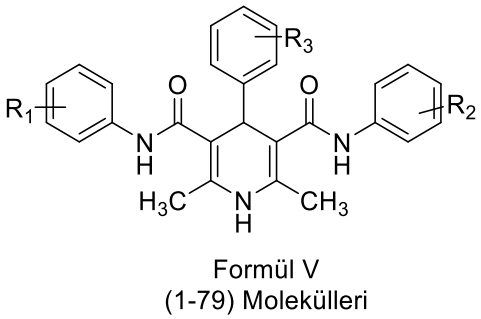
Kusurkar ve arkadaşlarının yayınladığı 2010 yılındaki bildiriye göre (77); Beckmann yeniden düzenlemesini başarıyla gerçekleştirerek biyolojik olarak aktif yapı iskelelerinin türevlerini sentezlemişlerdir. İki β-karbolinon, üç yeni γ-karbolinon, yeni pirolopiridinon ve tetrahidroizokinolinon türevlerinin sentezi iyi ve orta verimde elde edilmiştir. Kusurkar ve

arkadaşlarının sentezlemiş oldukları bileşikler, açık formülleri (I-IV) aşağıda gösterilmiştir (Şekil 28);



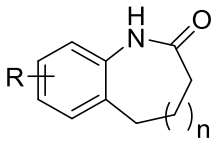
Şekil 28. Beckmann Düzenlemesi ile oluşturulmuş bileşikler, Formül I-IV (77)

Shah ve arkadaşları, 2010 yılında 97 çeşitli simetrik, simetrik olmayan ve N-sübstitüe 1,4 dihidropiridin sentezlemişlerdir. Sentezlenen moleküller, rifampin standardı varlığında M. tuberculosis H37Rv suşuna karşı etkinlikleri bakımından test edilmiş ve yüzde inhibisyon değeri % 3-93 aralığında bulunmuştur. Yapı ve aktivite arasındaki ilişkiyi anlamak için, 3D-QSAR çalışmaları da gerçekleştirildi. QSAR modellerinin üretilmesi için, sentezlenen molekülleri temsil eden 35 farklı molekülden oluşan bir çalışma seti kullanılmıştır. Moleküller, CoMFA ve CoMSIA modelleri gibi teknikler kullanılarak hizalanmıştır. QSAR modelleri, sübstitüentlerin antitüberküler aktivitedeki konformasyonel esnekliğinin önemini ortaya koymuştur. Shah ve arkadaşları genel olarak Beckmann Yeniden Düzenleme işlemini gerçekleştirerek formül V bileşiği olarak belirtilen bileşiklerin sentezini gerçekleştirmişlerdir (78) (Şekil 29).



Şekil 29. Beckmann Düzenlemesi ile oluşturulmuş türevler, Formül V (78)

Spring ve arkadaşları (79), Beckmann halkalı oksimlerin yeniden düzenlenmesiyle benzen ile kaynaştırılmış yedi ve sekiz üyeli halka yapıdaki laktamların sentezi için uygun, etkili ve genel bir yöntem geliştirmişlerdir. İşlem teknik olarak basittir, tamamen yumuşak bir koşulda tam bir rejioselektivite ile ilerlemekte ve genellikle başka yöntemlerle sentezlenmesi zor olan biyolojik olarak ürünler oluşturulmaktadır. Sonrasında sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri de değerlendirilmiştir. Tarama kitaplıklarının bu tür bileşiklerle zenginleştirilmesi, daha önce kullanılmayan kimyasal alan bölgelerinin örneklenmesine izin verecek ve böylece yeni biyolojik olarak aktif olan küçük moleküllü ajanların keşfedilmesini kolaylaştıracaktır. Bu nedenle, bu metodoloji yapısal olarak çeşitli küçük molekül koleksiyonlarının çeşitlilik odaklı sentezinde değerli olduğunu kanıtlamaktadır. Spring ve arkadaşları, Beckmann Yeniden Düzenleme işlemini gerçekleştirerek formül VI bileşiği olarak aşağıdaki bileşik grubunu sentezlemişlerdir (Şekil 30);



Formül VI

n=1, 2

Şekil 30. Beckmann Düzenlemesi ile oluşturulmuş türevler, Formül VI (79)

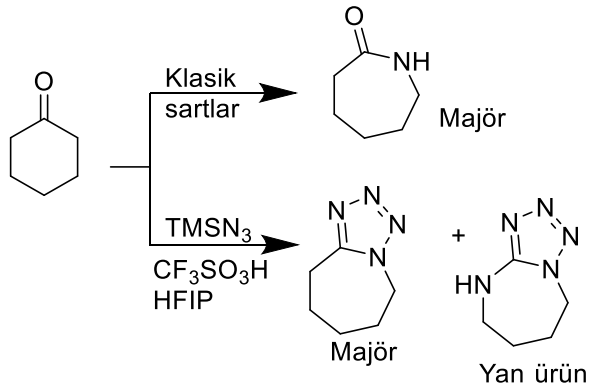
4. Schmidt Reaksiyonu ile amitlerin sentezi

Schmidt reaksiyonu, bir azidin bir azot atılması ile bir amin veya amit vermek üzere bir karbonil grubu ile reaksiyona girdiği organik reaksiyondur. İlk olarak 1924'de benzofenon ve hidrazoik asidi benzanilite dönüştürerek rapor eden Karl Friedrich Schmidt'in (1887-1971) ismini almıştır. İlginçtir ki, intramoleküler reaksiyon 1991 yılına kadar rapor edilmemiş; ancak doğal ürün sentezinde önemli hale gelmiştir. Schmidt reaksiyonunun ana reaksiyon şeması aşağıda gösterilmiştir (Şekil 31) (80).



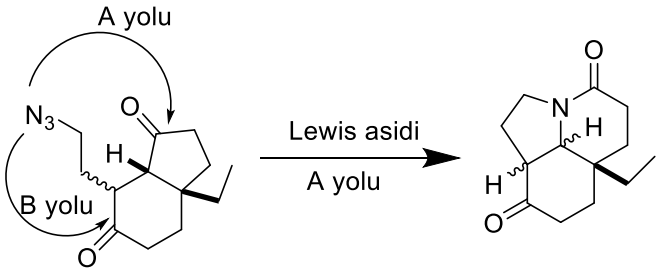
Şekil 31. Alkil azidlerin intramoleküler Schmidt reaksiyonu genel reaksiyon denklemi (80)

Aube ve arkadaşları (81), hekzafloroizopropanol (HFIP) çözücüsü içindeki keton elektrofillerinin incelendiği iki varyasyonda Schmidt reaksiyonu gerçekleştirmişlerdir. $TMSN_3$, triflik asit (TfOH) promotörü varlığında ketonlarla reaksiyona sokulduğunda, ana ürünler olarak tetrazoller elde edilir. Bu gözlem, genellikle başlıca ürünler olarak formal NH yerleştirilmesinden kaynaklanan amitlere veya laktamlara yol açan yerleşik yöntemlerin aksinedir. TFOH promotörünün HFIP içinde uygulanmasının, bir hidroksialkil azitin, başlangıçta oluşturulmuş iminyum eterin nükleofilik açılmasının ardından laktamlar veren, daha önce bildirilen yöntemlerden daha verimli bir şekilde bir keton ile reaksiyona sokulduğu da bulunmuştur. Schmidt reaksiyonunun Aube ve arkadaşları tarafından uygulandığı reaksiyon şeması aşağıda verilmiştir (Şekil 32);



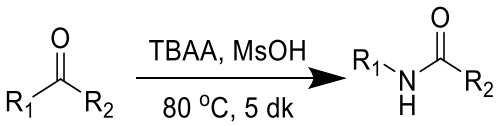
Şekil 32. Schmidt reaksiyonu ile keton türevleri üzerinden amit eldesi (81)

Iyengar ve arkadaşlarının (82) kilit adım olarak intramoleküler bir Schmidt reaksiyonu içeren total (+) aspidospermidinin sentezini açıklamıştır. Stereokimyanın ve koruyucu grup durumunun bu reaksiyondaki rejiyoselektivite ve kemoselektivite üzerindeki etkileri incelenmiştir. Anahtar trisiklik laktamın hazırlanması için iki rejiyoizomerik ketondan sadece birine girme seçiciliğinin gerekli olduğu zorlu bir molekül içi Schmidt reaksiyonunu inceleme fırsatı olması umut verici olmuştur. Schmidt reaksiyonunun reaksiyon şeması aşağıda belirtilmiştir (Şekil 33).



Şekil 33. İntramoleküler Schmidt reaksiyonu. Iyengar ve arkadaşları tarafından ketondan amit türevlerinin hazırlanmasını gösteren reaksiyon denklemi (82)

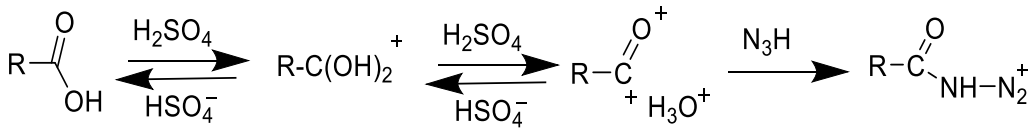
Jia ve arkadaşları (83), kuvvetli bir asit varlığında hidroazoik asit ile reaksiyonu ile, ketonları doğrudan amitlere dönüştüren ve geniş ölçüde organik sentezde uygulanan Schmidt reaksiyonunu bildirmiştir. Bu iletişimde, ketonların Schmidt reaksiyonu, sürekli akışlı bir mikro reaktör içinde DME çözeltisinde gerçekleştirilmiş ve amit ürünleri elde edilmiştir. Mikro reaktörün kapalı küçük hacimli özelliği bu reaksiyonu güvenli, hızlı ve uygun maliyetli hale getirmiştir. Schmidt reaksiyonunun Jia ve arkadaşları tarafından bildirilen denklemi aşağıda belirtilmiştir (Şekil 34):



Şekil 34. Jia ve arkadaşları tarafından ketondan amit türevlerinin hazırlanmasını gösteren reaksiyon denklemi(83)

Huntress ve arkadaşları (84), primer, sekonder ve tersiyer asitten amit hazırlanmasını içeren Schmidt reaksiyonunu açıklamaktadır. Organik asidin hidroazoik asit ile sadece pozitif iyon şeklinde reaksiyona girdiği gösterilmiştir, çünkü sistemde organik asidin iyonlaşmasının azalmasına neden olan değişiklikler de eksik reaksiyona yol açmaktadır. Hem karbonmonoksit hem de karbondioksit veren reaksiyonda, organik asitlerin kompleks iyonlaşması varsayılır, dihidroksi-karbon iyonları (85) karbon dioksit ve primer aminler oluşturmak için reaksiyona girer ya da bölünebilirler, oksokarbon iyonları (86) karbonmonoksit oluşturmak üzere reaksiyona girerler (primer amin için geçerli değildir). Bu yorum, aşağıdaki gözlemleri açıklamaya yöneliktir: reaksiyon, karbonmonoksit verimini düşürmek üzere ayarlandığı için

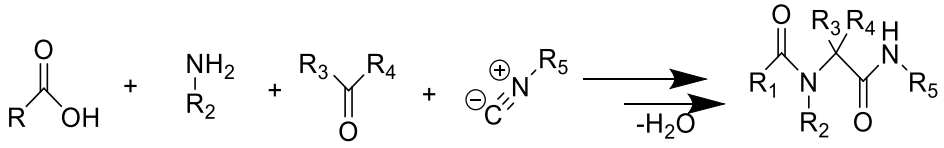
primer amin verimi artar. Oluşan karbonmonoksit oranı, gösterilen mobil dengeyi tersine çevirecek faktörlerle (reaksiyon ürünlerinin seyreltilmesi ve birikmesi) azalır. Karbonmonoksit gelişmemişse, ilk aminin parçalanma ürünlerine oranının, reaksiyon ortamının seyreltilmesine bağlı olarak değişmediği görülmüştür (Şekil 35).



Şekil 35. Amid türevlerinin asit türevlerinden hazırlanmasına ait Huntress ve arkadaşlarının bildirdiği genel reaksiyon denklemi

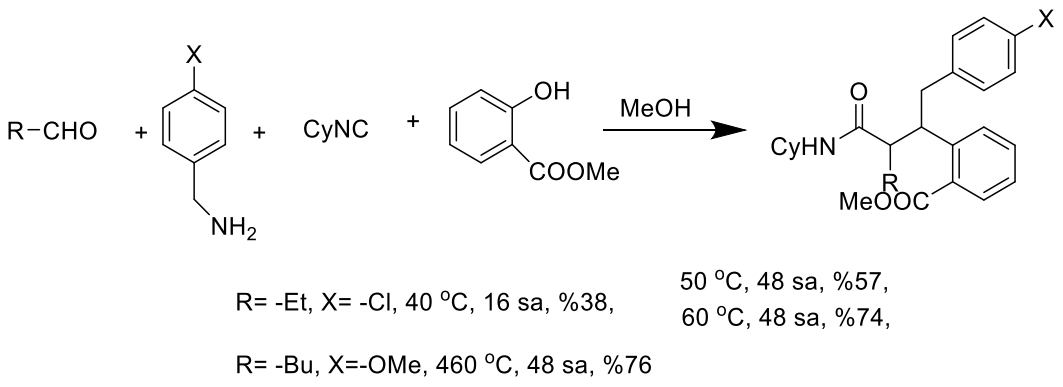
5. UGI Reaksiyonu ile amit sentezi

UGI reaksiyonu, bir bis-amid (87) oluşturmak için bir keton veya aldehit, bir amin, bir izosiyanid ve bir karboksilik asit içeren organik kimyada çok bileşenli bir reaksiyondur. Bu reaksiyonu ilk kez 1959'da bildiren Ivar Karl Ugi'den sonra bu ismi almıştır. UGI reaksiyonunun reaksiyon şeması aşağıda belirtilmiştir (Şekil 36):



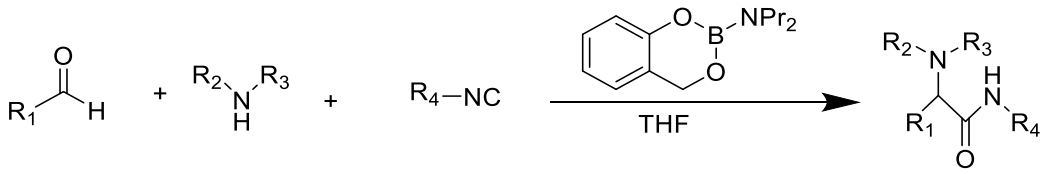
Şekil 36. UGI reaksiyonu şeması

Grimaud ve arkadaşları (87), hali hazırda mevcut substratlardan yeni ve çok etkili bir dört bileşenli reaksiyonu açıklamıştır. Hidrolize karşı oldukça dirençli olması gereken dört bağın oluşturulması, bu işlemi özellikle farmasötik ve agrokimyasal kütüphanelerin tasarımı için çekici kılmaktadır. Dahası, bu eklentilerin basit bir şekilde hazırlanması çeşitli heterosiklik yapılara kolay erişim sağlar. Bu MCR sisteminin kapsamını ve sınırlarını daha ayrıntılı bir şekilde incelemek için daha ileri çalışmalar yürütülmektedir. Grimaud ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen UGI reaksiyonunun reaksiyon şeması aşağıda belirtilmiştir (Şekil 37):



Şekil 37. Aldehit, amin, siyano ve ester türevleri arasındaki reaksiyondan amit türevlerinin hazırlanmasını gösteren denklem(87)

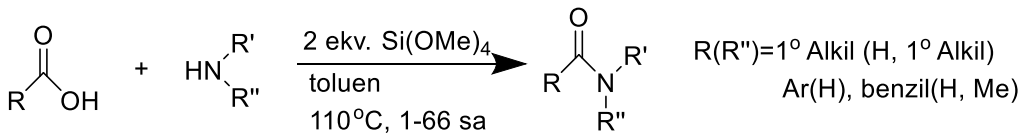
Suginome ve arkadaşları (88) UGI reaksiyonunda bir iminyum iyon jeneratörü olarak aminoboran kullanılarak çeşitli ikincil aminlerin kullanıldığını açıklamaktadır. Aldehitler, sekonder aminler ve izosiyanitler oda sıcaklığında aminoboran varlığında birleştirilir ve uygun verilere karşılık gelen α-amino amitler elde edilir. Asidik olmayan reaksiyon koşulları, mevcut UGI tipi reaksiyonda aldimin işlevselliğinin bozulmadan kaldığı eşsiz kemoselektivite için faydalıdır. Suginome ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen UGI reaksiyonunun reaksiyon şeması aşağıda belirtilmiştir (Şekil 38):



Şekil 38. Suginome ve arkadaşları tarafından amit türevlerinin, aminoboran varlığında aldehit, sekonder aminler ve izosiyanitler arasındaki reaksiyondan, hazırlanması (88)

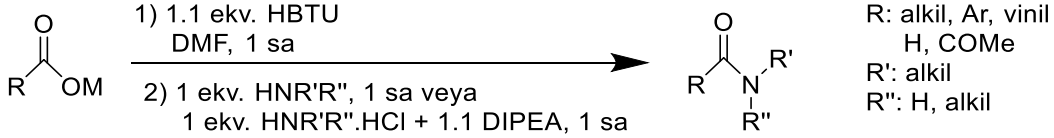
6. Son yıllarda yayınlanan bazı amit sentezleri

Tetrametil ortosilikat (TMOS), alifatik ve aromatik karboksilik asitlerin çok iyi verimlerde aminler ve anilinlerle doğrudan amit oluşumu için etkili bir reaktiftir. Amit ürünleri, işlemden hemen sonra saflaştırmaya gerek kalmayıp doğrudan saf halde elde edilir (Şekil 39) (89).



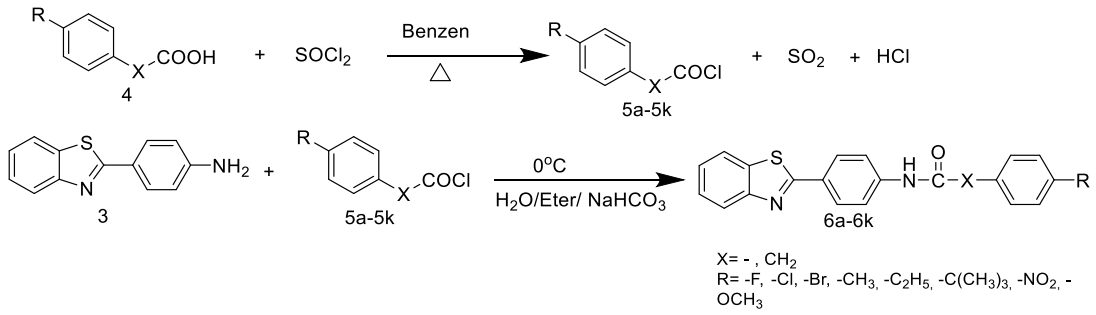
Şekil 39. Braddock ve arkadaşlarının raporladığı amidasyon oluşumunu gösteren denklem (89)

Goodreid ve arkadaşlarının 2014 yılında bildirdiği bir sentezde (90); serbest aminler veya bunların amonyum hidroklorür tuzları ile karboksilat tuzlarının etkili bir şekilde yok edilmesi, HBTU Hünig'in bazı ile 1-2 saat süre beklenerek çok iyi verimlerde elde edilmiştir. Protokol, karşılık gelen karboksilik asitlerin veya açil kloritlerin kararsız olduğu karboksilatların birleştirilmesi için değerlidir. Lityumlanmış son alkene karbondioksit eklenmesi, tek aşamada asetilenik amitlerin sentezini sağlar (Şekil 40).



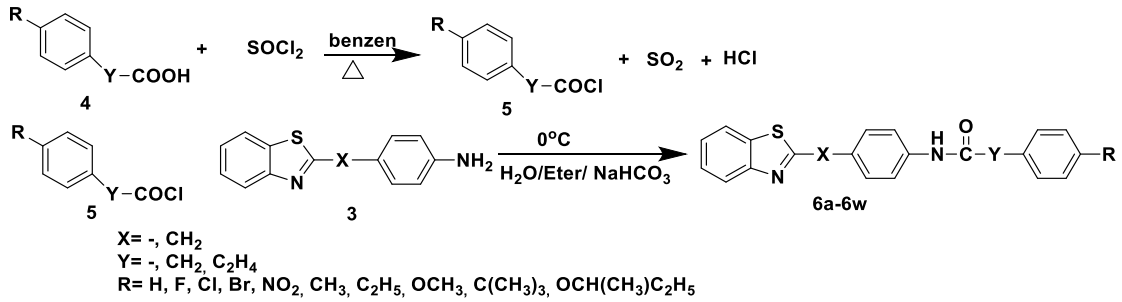
Şekil 40. Godreid ve arkadaşlarının 2014 yılında bildirdiği amit sentezini gösteren denklem (90)

2012 yılında Bolelli, ve arkadaşları bir seri 2- [4- (4-sübstitüte benzamido / fenilasetamido) fenil] benzotiyazol türevleri, (6a-k) sentezlenmiş ve çeşitli suşlara karşı antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir(91). Burada sonuç ürün, 2- [4- (4-sübstitüe benzamido / fenilasetatamido) fenil] benzotiyazol türevleri (6a-k), benzen içindeki tiyonil klorür ve uygun karboksilik asit ısıtılarak sentezlenmiştir (Şekil 41) (92).



Şekil 41. Bollelli ve arkadaşları tarafından rapor edilen amit yapısı içeren 2- [4- (4-substitutedbenzamido/ fenilasetamido) fenil] benzotiyazol türevleri genel sentez şeması (91)

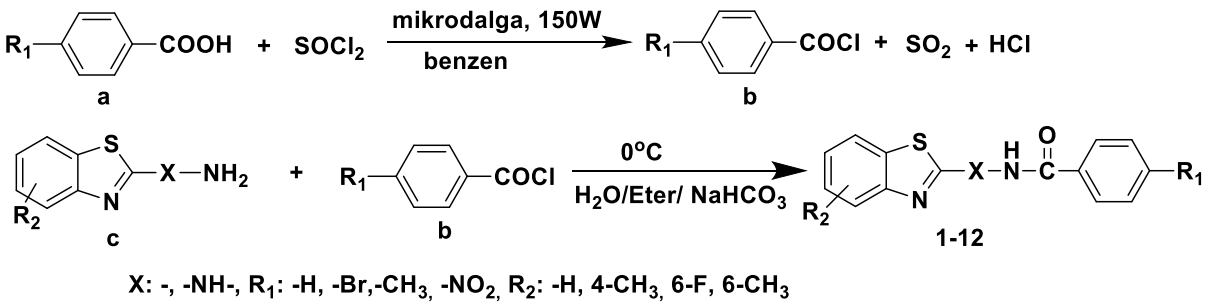
Yılmaz ve arkadaşlarının raporladığı 2013 yılındaki bir bildiriye göre (93) ; Yeni bir 2-[4-(4-sübstitüebenzamido/fenilasetatamido/fenilpropiyonamido)benzil/fenil]benzotiyazol türevleri (6a-6w) sentezlenmiş ve çeşitli suşlara karşı antibakteriyel ve antifungal aktiviteler için değerlendirilmiştir. Hedef bileşiklerin hazırlanmasına yönelik sentetik yolda ilk aşamada başlangıç materyali olan 2- (4 aminobenzil / fenil) benzotiyazol (3), uygun aminofenollerin ve uygun asitlerin polifosforik asit içinde kondensasyonu ile elde edilmiştir. İkinci aşamada ise, 2-(4-aminobenzil/fenil) benzotiyazol, amit yapısındaki 6a-6w bileşiklerini elde etmek için, tiyonil klorür ile uygun karboksilik asit kullanılarak elde edilen uygun karboksilik klorür ile reaksiyona sokulmuştur (Şekil 42).



Şekil 42. Yılmaz ve arkadaşları tarafından raporlanan amit yapısı içeren benzotiyazol türevleri (6a-6w) genel sentez şeması(93)

Bolelli ve arkadaşlarının yayınlamış olduğu 2017 yılına ait bir bildiride; çok sayıda insan tümöründe aşırı eksprese olan ve birçok antikanser ilaca direnç geliştirmede rol oynayan en önemli proteinlerden biri olan İnsan GSTP1-1 proteinine karşı 12 adet benzotiyazol türevi

bileşik sentezlemiş ve hGSTP1-1 için in vitro inhibe edici aktiviteleri açısından taranmıştır. Hedeflenen bileşiklere ulaşmak için, uygun karboksilik asit (4-bromo / metil / nitro benzoik asit veya sübstitüe edilmemiş benzoik asit), ve tiyonil klorür/ benzen karışımında mikrodalga enerjisine maruz bırakılmıştır. Oluşan açil klorür rezidüsü hazırlanan amin yapılı bileşik ve uygun çözücülerle muamele edilerek amit yapısı içeren benzotiyazol türevleri (bileşik 1-12) elde edilmiş oldu (Şekil 43) (94).

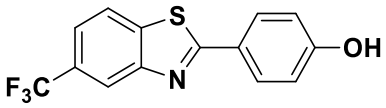


Şekil 43. Bolelli ve arkadaşları tarafından raporlanan amit yapısı içeren benzotiyazol türevleri (1-12) genel sentez şeması

BENZOTİYAZOL HALKASININ ANTİKANSER AKTİVİTESİ

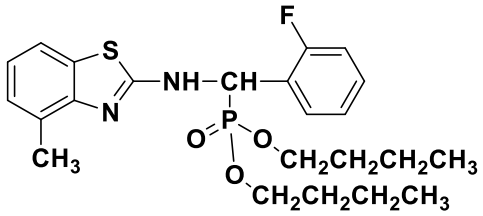
Günümüzde kanser insanlığı tehdit eden en büyük tehlikelerden biridir. Yılda neredeyse 7 milyon insanın ölümüne neden olan bu hastalık medisinal bilimlerin güncel araştırma konularından biridir. Şuanki çalışmalar yeni potent antineoplastik ajanlar geliştirilmesi ve yeni biyolojik hedeflerin bulunması üzerine yoğunlaşmıştır (11).

2008 yılında Aiello ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada yeni florlanmış 2-aril-benzotiazol, -benzoksazol ve -kromen-4-on türevleri sentezlenmiş ve MCF-7, MDA468 meme kanseri hücre hatları üzerinde antitümör aktiviteleri değerlendirilmiştir. Çalışmadaki benzoksazol çekirdeğine sahip serinin MDA468 hücrelerine karşı daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu ve 4-(5-(triflorometil)benzotiyazol-2-il)fenol bileşiğinin bu hücrelere gösterdiği 0.10μM GI50 (%50 Büyüme İnhibisyonu) inhibisyon değeri ile bu serinin en aktif bileşiği olduğu bildirilmiştir(Şekil 44) (95).



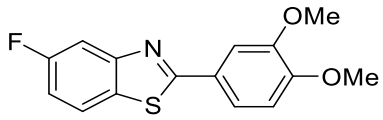
Şekil 44. 4-(5-(triflorometil)benzotiyazol-2-il)fenol (95)

Jin ve ark. tarafından 2006 yılında Mannich-tipi katılımı yolu ile sentezlenen benzotiyazol ve flor içeren α-aminofosfonatların da antikanser etkileri araştırılmış; bunun için PC3, A431, A375 ve Bcap37 hücrelerine karşı sitotoksik etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre dibütil ((2-florofenil) ((4-metilbenzotiyazol-2-il) amino) metil)fosfonat bileşiği 10μM konsantrasyonda %89.1 inhibisyon oranı ile PC3 hücrelerine karşı yüksek, %72.1 inhibisyon oranı ile A431 hücrelerine karşı orta derece inhibitör aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Şekil 45) (96).



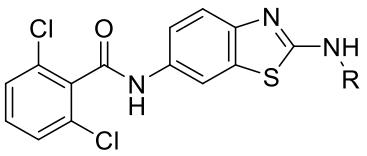
Şekil 45. Dibütil ((2-florofenil)((4-metilbenzotiyazol-2-il)amino)metil) fosfonat (96)

Mortimer ve ark. tarafından sentezlenen yeni 2-benzotiyazol türevi bileşiklerden 2-(3,4-dimetoksifenil) -5-florobenzotiyazol'ün MCF-7 ve MDA 468 hücreleri üzerinde GI50< 0.1nM değeri ile güçlü ve seçici in vitro antitümör aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Şekil 46) (97).



Şekil 46. 2- (3,4-dimetoksifenil)-5-florobenzotiyazol (97)

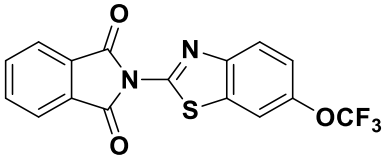
Chen ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptığı bir çalışmada; bir seri benzotiyazol türevi üzerine gerçekleştirdiği kantitatif yapı-aktivite ilişkileri (Quantitative Structure Activity Relationship, QSAR) çalışmaları sonucu teorik olarak dizayn edilen 4 yeni bileşiğin tümör hücrelerine karşı potent ve selektif sitotoksik etkileri olabileceği bildirilmiştir (Şekil 47) (98).



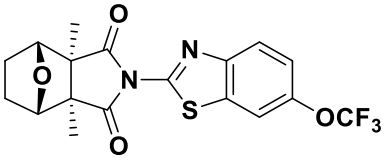
R: -COF, $-CF_3$, $-CF_2OCH_3$, $-COOCH_3F$

Şekil 47. Antiproiliferatif etkiye sahip olduğu düşünülen benzotiyazol bileşiklerinin genel yapısı (98)

Kok ve ark. tarafından tek aşamada sentezlenen fitalik imid türevlerinin (fitalimid içeren benzotiyazol bileşikleri) (Şekil 48, A) insan kanser hücreleri üzerine in vitro sitotoksik etkileri olduğu ve ayrıca fitalimid içeren yeni benzotiyazol bileşiklerinin kaspaz-bağımlı ve bağımsız yollarda apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Bunun dışında kantaridin içeren benzotiyazol bileşikleri (Şekil 48, B) de sentezlenmiş ve çeşitli kanser hücre hatları üzerinde sitotoksisiteye sahip oldukları bildirilmiştir (99).



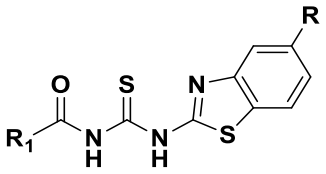
(A)



(B)

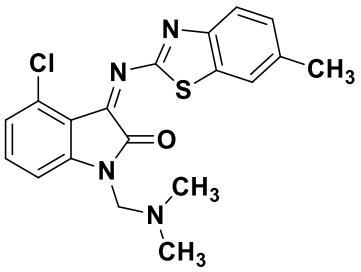
Şekil 48. 2- (6- (triflorometoksi) benzotiyazol-2-il) izoindolin-1,3-dion (A) ve (3aS, 4R,7S,7aS)-4-hidroksi-3a,7,7a-trimetil-2-(6-(triflorometoksi) benzotiyazol-2-il) hekzahidro-1 H-izoindol-1,3(2H) –dion (B) (99)

Saeed ve ark., 5 seri benzotiyazol içeren tiyoüre türevleri sentezlemişler; antimikrobiyal ve antikanser aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Buna göre MCF-7 ve HeLa hücrelerine karşı 18-26 ve 38-46 μM arasında değişen IC50 (%50 İnhibitör Konsantrasyonu) değerleri ile sitotoksik etkili tiyoüre türevleri rapor edilmiştir (Şekil 49) (100).



Şekil 49. Benzotiyazol içeren tiyoüre türevlerinin genel iskeleti. R/R_1: 2-tiyofen/Br, 4-morfolin/NH_2, 4-morfolin/Br (100)

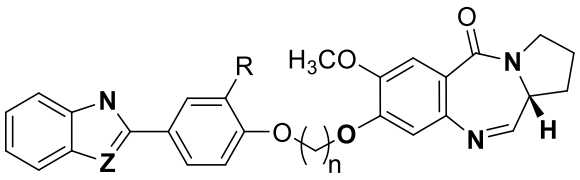
Solomon ve ark. tarafından hibrit farmakofor yaklaşımı ile dizayn edilip sentezlenmiş olan izatin-benzotiyazol analoglarının meme kanseri üzerine inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır. Buna göre sentezlenen tüm bileşiklerin tüm kanser hatları üzerine etkili olduğu; aralarından benzotiyazol türevi 4-kloro-1-dimetilaminometil-3-(6-metil-benzotiyazol-2-ylimino)-1,3-dihidroindol-2-on moleküllünün meme kanseri hücreleri üzerinde en yüksek inhibitör aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, izatin bağlı benzotiyazol analoğu ileride geliştirilecek yeni ajanların prototip molekülü olmaya adaydır (Şekil 50) (101).



Şekil 50. 4-kloro-1-dimetilaminometil-3-(6-metil-benzotiazol-2-ylimino)-1,3-dihidroindol- 2-on (101)

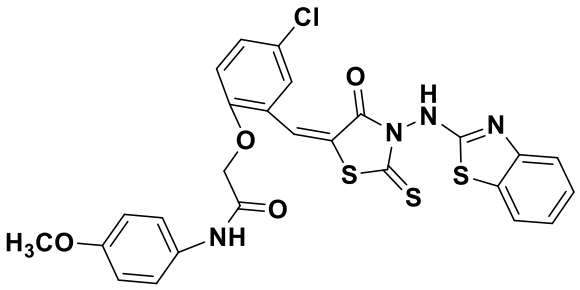
Kamal ve ark. benzotiyazol bağlı pirolobenzodiyazepin konjugatları olan bir seri molekül sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin 60 adet insan kanser hücre hattı üzerinde sitotoksisite çalışmaları gerçekleştirilmiş; bunlardan biri olan 7-metoksi-8-(5-[4-(1,3-benzotiazol-2-il)-2-metoksi-fenoksi]pentil)oksi(11,a,S)1,2,3,11-tetra-hidro-5H-pirolo-[2,1-c] [1,4]benzodiazepin-5-on bileşiklerin özellikle lösemi hücreleri ve diğer hücre hatları üzerinde yüksek inhibitör aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir. Bu gruptaki bir molekülün submikromolar düzeyde, potent antikanser aktvitesi, DNA bağlama yeteneği gösterdiği ve

hücre siklusunda apoptozla sonuçlanan G0/G1 faz arrestine neden olduğu bildirilmiştir (Şekil 51) (102).



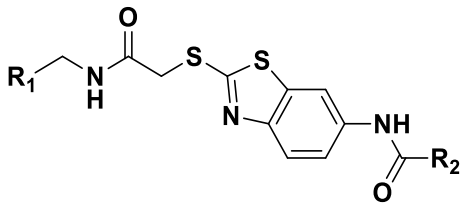
Şekil 51. Tiyazol bağlı pirolobenzodiyazepin türevleri. (n/R/Z: 5/OCH_3/S) (102)

Havrylyuk ve arkadaşları, benzotiyazol içeren 4-tiyazolidindion türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından in vitro antikanser aktiviteleri test edilen bu bileşiklerin ikisinde lösemi, melanoma, akciğer, kolon, over, prostat, böbrek ve santral sinir sistemi kanserleri üzerinde potent etkileri olduğu saptanmıştır. 2-(2[3-(benzotiazol-2-ilamino)-4-okso-2-tiokso-tiazolidin-5-ilidenmetil-4-klorofenoksi)-N-(4-metoksifenil)–asetamid molekülünün -5.38 logGI50 ve -4.45 logTGI değerleri ile serinin en aktif bileşiği olduğu bildirilmiştir (GI_{50} % 50 net hücre büyümesini engelleyen bileşiğin molar konsantrasyonu; TGI toplam inhibisyona yol açan bileşiğin molar konsantrasyonu) (Şekil 52) (103).



Şekil 52. 2-(2-[3-(benzotiazol-2-ilamino)-4-okso-2-tiokso-tiazolidin-5-ilidenmetil]-4-klorofenoksi)-N-(4-metoksifenil)–asetamit (103)

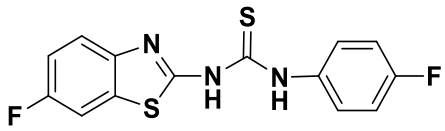
Wang ve arkadaşları tarafından yeni benzotiyazol-2-tiyol türevleri sentezlenmiş ve HepG2 ve MCF-7 hücreleri üzerindeki antiproliferatif aktiviteleri araştırılmıştır. Çoğu bileşiğin hücre gelişimi üzerine inhibitör etkide olduğu ve N-(2-((2-((4-klorobenzil) amino)-2-oksoetil)tiyo)benzotiyazol-6-il) -2-metoksibenzamit (Şekil 26, *A*) ve N-benzil-2-((6-(2-kloroasetamido)benzotiyazol-2-il)tiyo)asetamit (Şekil 26, *B*) bileşiklerinin farklı kanser hücre hatları üzerinde düşük mikromolar aralıkta IC_{50} değerleri ile sisplatinden daha etkili olduğu bildirilmiştir (Şekil 53) (104).



R_1/R_2:4-klorofenil/2-metoksifenil*(A)*, fenil/klorometil *(B)*

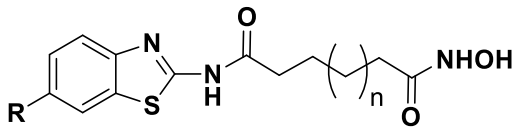
Şekil 53. Benzotiyazol 2-tiyo türevleri genel iskeleti *(104)*

Kumbhare ve ark. sentezlediği benzotiyazolil tiyokarbamid türevlerinin 2 insan monositik hücreleri (U 937, THP-1) ve fare melonama hücreleri (B-16-F10) üzerinde antiproliferatif aktivitelerine bakılmış; bunlardan 1-(6-florobenzotiyazol-2-il)-3-(4-florofenil)tiyoüre molekülünün U 937 hücrelerine 16.23± 0.81 μM IC_{50} değeri ile standart molekül etoposidten (IC_{50}: 17.94± 0.89) daha yüksek inhibitör aktivitesi olduğu bildirilmiştir (Şekil 54) (105).



Şekil 54. 1-(6-florobenzotiyazol-2-il)-3-(4-florofenil)tiyoüre (105)

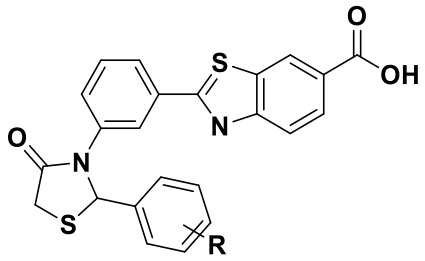
Kanser tedavisi üzerinde umut veren sonuçlar ortaya koyan sınıf I ve sınıf II histon deasetilaz (HDAC) enzim inhibitörleri üzerine yapılan bir çalışmada; Oanh ve arkadaşları bu enzimlere hedeflenmiş; bir seri yeni benzotiyazol içeren daha önce FDA tarafından kütanoz T-hücre lenfoma tedavisi için onay almış vorinostat (SAHA®, Zolinza®) analogları sentezlemişler ve çeşitli tümör hücrelerine karşı sitotoksik aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Buna göre 6C-köprülü benzotiyazol türevlerinin çeşitli kanser hücre hatları üzerinde 0.29-6.61 arasında değişen IC_{50} değerleriyle neredeyse SAHA ile eşdeğer düzeyde potent inhibitör etkileri olduğu bildirilmiştir (Şekil 55) (106).



n:3, R: -H, -CH_3, -OCH_3, -NO_2

Şekil 55. Sentezlenen benzotiyazol türevleri ana iskeleti (106)

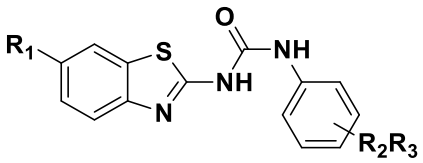
Prabhu ve arkadaşları bir seri yeni 2(3-(4-okso-2-sübstütüefeniltiyazolidin-3-il)fenil)benzotiyazol-6-karboksilik asit türevlerini sentezlemişler. Özellikle 4 bileşiğin serviks kanserine karşı inhibitör aktivite gösterdiği, ancak; bu aktivitelerin standart inhibitör ajan sisplatine göre daha az olduğu kaydedilmiştir (Şekil 56) (107).



R: *p*-Cl, *p*-OCH_3, *p*-CH_3, *p*-OH

Şekil 56. 2-(3-(4-okso-2-sübstitüefeniltiyazolidin-3-)il)fenil)benzotiyazol-6-karboksilik asit türevleri genel iskeleti (107)

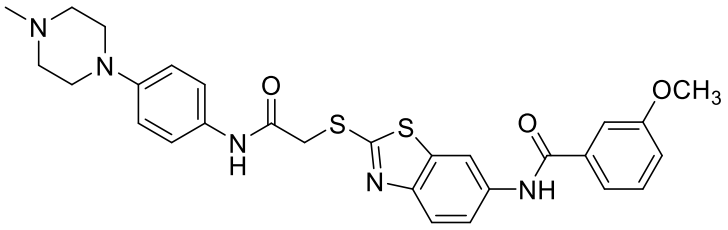
Caputo ve arkadaşlarının sentezlediği C-2'de arilüre ve arilamit içeren iki seri benzotiyazol türevlerinin in vitro primer antikanser analizinde 60 adet insan tümör hücresi üzerinde inhibitör aktivitesi değerlendirilmiştir. Buna göre 1-(4-florofenil)-3-(6-triflorometoksibenzotiyazol-2-il) üre (Şekil 57, *A)* ve 1-(4-siyanofenil)-3-(6-triflorometoksibenzotiazol 2-il)üre (Şekil 57, *B)* bileşiklerinin standart molekül 5-florourasile (5-FU) kıyasla benzer/yüksek olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca benzotiyazol-2-il üre türevlerinin fenil halkasının para-pozisyonda elektron çekici bir grubun bulunması antikanser aktiviteyi olumlu yönde etkilediği rapor edilmiştir (108).



$R_1/R_2/R_3$: -OCF_3/4-F/-H *(A)*, -OCF_3/4-CN/-H *(B)*)

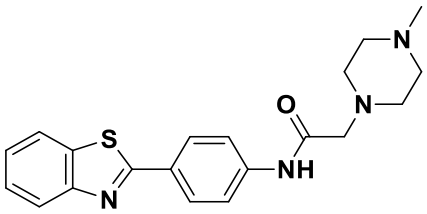
Şekil 57. Benzotiyazol-2-il üre türevleri (108)

2012 yılında yapılan bir çalışmada, Xiang ve ark. yeni benzotiyazol-2-tiyol, benzimidazol-2-tiyol ve benzoksazol-2-tiyol türevleri sentezleyip çeşitli hücre hatları üzerinde antiproliferatif aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bunun sonucunda serideki benzotiyazol türevi 3-metoksi-N-(2-((2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-2-oksoetil)tiyo)-benzotiyazol-6-il)benzamit bileşiğinin antitümör aktivitesinin olduğu bildirilmiştir (Şekil 58) (109).



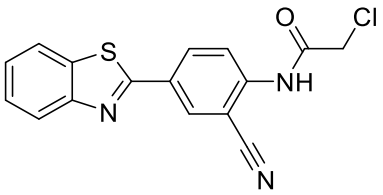
Şekil 58. 3-metoksi-N-(2-((2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-2-oksoetil) tiyo) benzotiyazol-6-il)benzamit

2013 yılında bir seri benzotiyazol ve benzoksazol türevi bileşik sentezlenmiş, çeşitli meme kanseri hücre hatlarında (MCF-7 ve MDA-231) inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiş ve bunlar moleküler doking çalışmaları ile desteklenmiştir. Test edilen bileşiklerin çoğu nanomolar düzeylerde antitümör potansiyeli gösterdiği, serideki N-(4-Benztiyazol-2-ilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)-asetamit molekülünün MDA-231 hücrelerine karşı IC_{50} :8 , MCF-7 hücrelerine karşı IC_{50} :10 değerleri ile ön plana çıktığı kaydedilmiştir. Moleküler doking çalışamalarından elde edilen verilere göre molekülün aktif bölgede Pro-770 amino asiti ile hidrojen bağı yaptığı gösterilmiştir (Şekil 59) (110).



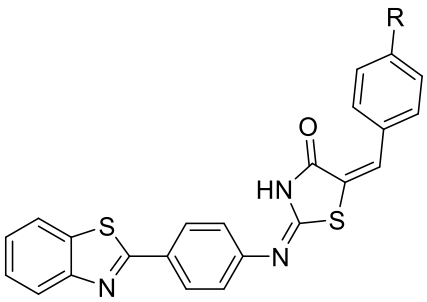
Şekil 59. N-(4-Benztiyazol-2-ilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)-asetamit (110)

2013 yılında Kandeel ve ark.tarafından yapılan çalışmada; 2. konumdan, amino ve/veya karbonitril içeren fenil halkası ile sübstitüsyona uğramış benzoksazol ve benzotiyazol türevleri sentezlenmiş ve insan meme kanseri hücre hattında (MCF-7) potent antitümör aktiviteleri test edilmiştir. Bileşiklerden bazılarının özellikle N-[4-(Benzotiyazol-2-il)-2-siyanofenil]-2-kloroasetamit bileşiğinin IC_{50}: 0.011µM değeri ile iyi düzeyde antikanser etkinliğe sahip olduğu ve sübstitüe amino grubu ile kloroasetil klorürün yüksek sitotoksik aktivite sağladığı rapor edilmiştir (Şekil 60) (111).



Şekil 60. N-[4-(Benzotiyazol-2-il)-2-siyanofenil]-2-kloroasetamit (111)

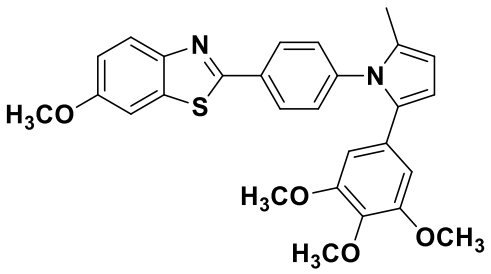
Abdelgawad ve ark. bazı yeni sübstitüe benzotiyazol ve benzoksazol içeren tiyazolidinon türevi bileşikler sentezlemiş ve çeşitli hücre hatlarındaki antikanser etkileri değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden olan benzotiyazol türevi p-metoksi-5-benzilidin-4-tiyazolidinon bileşiğinin (A) HEPG2 kanser hücrelerine karşı IC_{50}: 0.026 nM değeri ile potent antitümör aktivitesi gösterdiği, MCF7 kanser hücrelerine karşı p-nitro-5-benziliden-4-tiyazolidinon türevi benzotiyazol bleşikleri (B) IC_{50}:48Nm değeri ile geniş spektrum antikanser etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 61) (112).



R: -OCH_3*(A)*, -NO_2 *(B)*

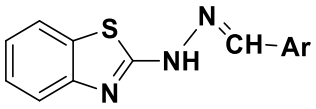
Şekil 61. (*E*)–2-((4-(benzotiyazol–2–il)fenil)imino)–5-((*E*)-4-metoksi benziliden)tiyazolidin-4-on(A), (*E*)-2-((4-(benzotiyazol-2-il)fenil) imino)-5-((*E*)-4-nitrobenziliden)tiyazolidin- 4-on (B) (112)

2013 yılında yapılan bir çalışmada benzotiyazol-pirol bazlı konjugatlar sentezlenmiş, ve antikanser aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin birçoğunun MCF-7 hücre hattı üzerinde önemli düzeyde sitotoksisite gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca moleküllerden biri olan 6-metoksi-2-(4-(2-metil-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-1H-pirol-1-il)fenil)benzotiyazol'ün onkojenik Ras (Rat sarkoma virüs proteini) ve onun MEK-1 (Mitojenle aktive protein kinaz kinaz-1), ERK1/2 (Ekstrasellüler sinyal regüle kinaz), p38, MAPK (Mitojenler tarafından aktive edilen protein kinazlar) ve VEGF (Vasküler endotelyal büyüme faktörü) gibi efektörlerinin ekspresyonunun down regülasyonundan sorumlu olduğu bildirilmiştir. Bu konjugatın MCF-7 hücrelerinde kaspaz-9 ekspresyonunu arttırarak apoptozisi indüklediği kanıtlanmıştır. Böylelikle sentezlenen bu yeni bileşiklerin hücre proliferasyonunu ve malign meme kanserinde invazyon proseslerini kontrol edilebilme potansiyelleri olduğu bildirilmiştir (Şekil 62) (113).



Şekil 62. 6-metoksi-2- (4- (2-metil-5- (3,4,5-trimetoksifenil) -1 H-pirol-1-il) fenil) benzotiyazol (113)

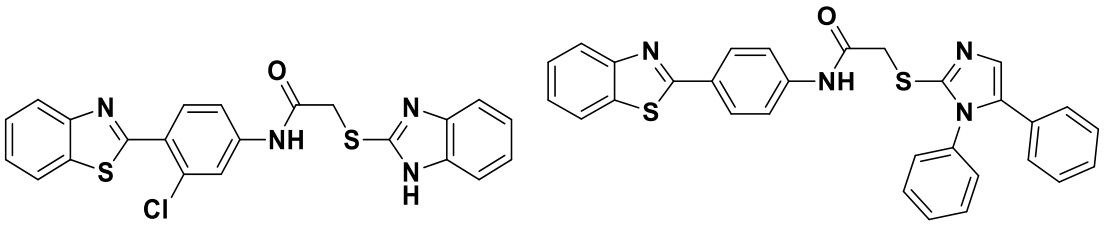
Lindgren ve ark.'larının 2014 yılında yayınladığı bir çalışmaya göre; benzotiyazol hidrazon türevleri sentezlenmiş ve çeşitli hücre hatları üzerinde in vitro antiprolferatif aktiviteleri değerlendirilmiştir. Buna göre sentezlenen bileşiklerden ikisinin iyi düzeyde sitotoksik etkide ve bundan sonraki antikanser ilaç tasarımı çalışmalarında ana moleküller olabileceği konusunda umut verici oldukları kaydedilmiştir (Şekil 63) (114).



Ar: 2,4-$(OH)_2C_6H_3$)./ 2,5-$(OH)_2C_6H_3$

Şekil 63. (*E*)-2-benzotiyazolhidrazon türevleri genel iskeleti (114)

Yurttaş ve ark. tarafından 2014 yılında N-[4-(benzotiyazol-2-il)fenil] asetamid türevleri sentezlemişler ve bileşiklerin 60 adet tümör hücre hattında antitümör aktiviteleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en potent bileşikler N-[4-(benzotiyazol-2-il)-3-klorofenil]-2-[(benzimidazol-2-il)tiyo]asetamid (Şekil 64, A) ve N-[4-(benzotiyazol-2-il) fenil]-2-[(1,5-difenil-1H-imidazol-2-il)tiyo]asetamit (Şekil 64, B) olarak bildirilmiştir (115).

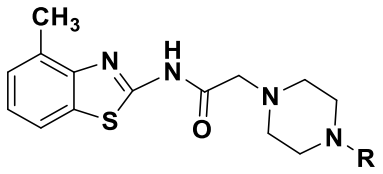


(A) (B)

Şekil 64. N-[4-(benzotiyazol-2-il)-3-klorofenil]-2-[(benzimidazol-2-il)tiyo] asetamid (A) ve N-[4-(Benzotiyazol-2-il)fenil-2-[(1,5-difenil-1H-imidazol-2-il) tiyo] asetamid (B) (115)

2015 yılında yayınlanmış olan bir çalışmada bazı yeni benzotiyazol-piperazin türevleri sentezlenmiş ve bileşiklerin hepatoselüler kanser (HUH-7), meme kanseri (MCF-7) ve kolorektal kanser (HCT-116) hücre hatlarında in vitro sitotoksisiteleri değerlendirilmiştir. Elde

edilen GI_{50} sonuçlarına göre yeni moleküllerin çoğunun antikanser aktivitelerinin olduğunu bunlardan aril sübstitüe iki bileşik N-(4-metil-1,3-benzotiazol-2-il)-2-(4-benzoil piperazin-1-il)asetamid (Şekil 65, A) ve N-(4-metil-1,3-benzotiazol-2-il)-2-[4-(2-furoil)piperazin-1-il] asetamid (Şekil 65, B) bileşiklerinin standat inhibitör en yüksek aktiviteye sahip oldukları ve bu aktivitelerini subG1 fazında hücre döngüsü arresti ile apoptozisi indükleyerek gerçekleştirdikleri bildirilmiştir (Tablo 2) (116).

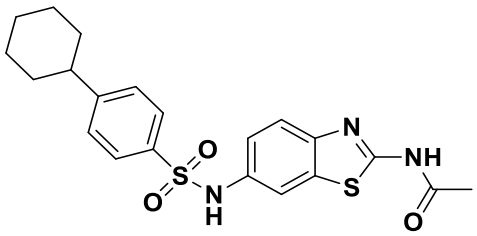


Şekil 65. N- (4-metilbenzotiyazol-2-il)-2-(4-sübstitüepiperazinil)asetamid türevleri, R: benzoil/2-furoil (116)

Tablo 2. N-(4-metil-1,3-benzotiazol-2-il) -2- (4-benzoil piperazin-1-il) asetamid (A) ve N-(4-metil-1,3-benzotiazol-2-il)-2-[4-(2-furoil)piperazin-1-il] asetamid (B) bileşiklerinin ve standart molekül 5-florourasilin (5-FU) 3 ayrı kanser hücre hattı üzerindeki GI_{50} değerleri (µM) (116)

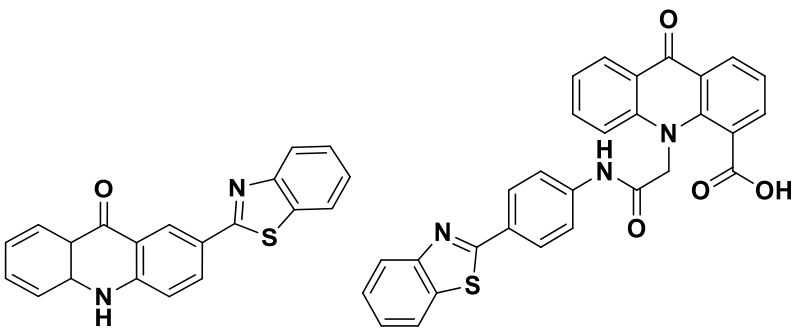
Bileşik	**HCT-116**	**MCF-7**	**HUH-7**
A	0.9	9.2	1.0
B	1.3	4.3	4.5
5-FU	30.66	3.51	18.67

Sadhasivam ve ark.'nın yürüttüğü bir çalışmada 2,6-disübstitüe benzotiyazol türevleri sentezlenmiş ve MCF-7, HeLa ve MG63 hücreleri üzerinde sitotoksisite çalışmaları yürütülmüştür. Buna göre; sentezlenen bileşiklerde N-(6-(((4-siklohekzilfenil)sülfonil)amino) -1,3-benzotiyazol-2-il)asetamit'in en yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Şekil 66) (117).



Şekil 66. N-(6–(((4-siklohekzilfenil)sülfonil)amino)-1,3-benzotiazol-2-il)asetamit

2016 yılında Kandeel ve ark. tarafından akridin halkası üzerinde benzotiyazol, benzoksazol ve benzimidazol içeren yeni bileşikler sentezlenmiş ve insan hepatoselüler karsinom (HepG-2), kolon kanseri (HCT-116), meme kanseri (MCF-7) hücre hatları üzerine antiproliferatif etki potansiyelleri araştırılmıştır. Buna göre; doksorubisinin referans inhibitör molekül olduğu testte sentezlenen moleküllerden 2-(benzotiyazol-2-il))akridin-9(10H)–on (Şekil 40, A) ve 10-(2-((4-(benzotiyazol-2-il)fenil)amino)-2-oksoetil)-9-okso-9,10-dihidroakridin-4-karboksilik asit (Şekil 40, B) bileşiklerinin doksorubisin ile benzer/kıyaslanabilir düzeyde inhibitör aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Şekil 67) (Tablo 3) (118).



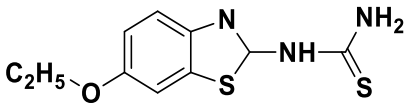
(A) (B)

Şekil 67. (A) 2-(Benzotiyazol-2-il))akridin-9(10H)–on ve (B) 10-(2-((4-(Benzotiyazol-2-il)fenil)amino)-2-oksoetil)-9-okso-9,10-dihidroakridin–4-karboksilik asit moleküleri (118)

Tablo 3. (A) 2-(Benzotiyazol-2-il))akridin-9(10H)–on ve (B) 10-(2-((4-(Benzotiyazol-2-il)fenil)amino)-2-oksoetil)-9-okso-9,10-dihidroakridin-4-karboksilik asit bileşiklerinin ve standart molekül doksorubisinin 3 ayrı kanser hücre hattı üzerindeki IC_{50} değerleri (µM/mL) (118)

Bileşik	HepG2	HCT-116	MCF-7
Doksorubisin	3.75	7.25	4.63
(A)	13.80	4.82	>200
(B)	6.25	4.75	8.03

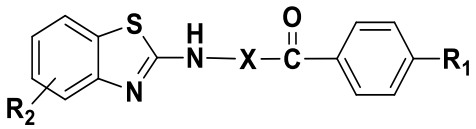
2017 yılında yapılan çalışmada, bir seri benzotiyazol tiyoüre türevleri üzerine çalışılmış ve sentezlenen bileşiklerin sitotoksisiteleri MCF-7, HeLa, HT-29, K-562, Neuro-2a hücreleri üzerindeki referans molekül sisplatinle karşılaştırılmıştır. Buna göre; benzotiyazoliltiyokarbamidlerin kanser hücre hatları üzerinde apoptozisi indüklediği rapor edilmiş. Flow sitometri analizlerine göre, 1-(6-etoksi-1,3-benzotiyazol-2-il)tiyoüre bileşiğinin HT-29 hücrelerinde %79 oranında apoptotik hücre oluşumuna neden olduğu ve aynı konsantrasyonda referans molekül olan sisplatinden (%65.28) 1.2 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Şekil 68) (119).



Şekil 68. 1-(6-etoksi-1,3-benzotiyazol-2-il)tiyoüre (119)

Bolelli, ve ark. tarafından 2018 yılında yapılan bir çalışmada birçok kanser türünde aşırı salınımı olan ve kanser tedavisinde önemli bir hedef olan hGSTP-1 (İnsan Glutatyon S-Transferaz-1, Human Glutathione S-Transferase-1) proteini üzerine yoğunlaşılmış; 12 adet benzotiyazol türevleri sentezlenmiş ve bu protein üzerinde inhibitör etkileri araştırılmıştır. Sentezlenen bileşiklerden ikisi olan 2-(4′-bromobenzamido)benzotiyazol (A) (IC_{50}:12 µM) ve 2-(4′-bromobenzamido)4-metilbenzotiyazol (B) (IC_{50}:15.1 µM)'nin referans ilaç etaktinik asitle(IC_{50}:10.2 µM) kıyaslanabilir/benzer aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu bileşiklerin proteindeki bağlanma bölgesi etkileşimlerinin tahmini için moleküler modelleme çalışmaları yapılmıştır. Sonuç olarak aktivitesi yüksek iki bileşiğin hGSTP1-1 proteinine H-bölgesine bir substrat olarak bağlanarak inhibitör aktiviteye sahip olduğu, benzotiyazole 2

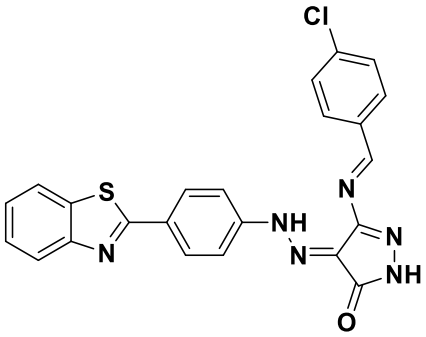
numaralı pozisyondan sübstitüe benzamid parçasındaki fenil halkasının para pozisyonundan elektron dansitesini düşüren bir hidrofobik grup ile substitüsyonun H bölgesi aktif Tyr108 rezidüsü ile etkileşim için gerekli olduğu rapor edilmiştir (Şekil 42) (94).



	R_1	**R_2**
(A)	Br	H
(B)	Br	4- CH_3

Şekil 69. 2-(4′-bromobenzamido)benzotiyazol (A) ve 2-(4′-bromobenzamido)-4-metilbenzotiyazol (B) bileşikleri (94)

2017 yılında Belal ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada benzotiyazol/benzoksazol ve pirazol hibrit molekülleri sentezlenmiş ve bunların normal fibroblast hücreleri yanında akciğer, meme ve karaciğer kanseri hücre hatları üzerinde sitotoksik etki profilleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak sentezlenen yeni hibrit bileşiklerden 4-[(4-benzotiyazol-2-ilfenil)hidrazono]-5-[(4-klorobenzilidin)amino]-2,4-dihidropirazol-3-on ’un kanser hücre hatları üzerinde selektif ve potent inhibitör etki gösterdiği kaydedilmiştir (Tablo 3) (Şekil 43) (120).

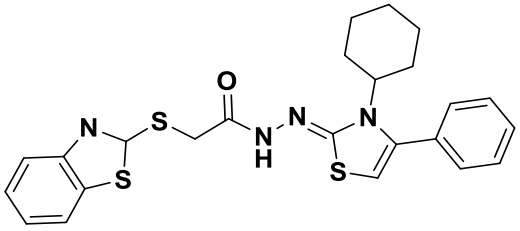


Şekil 70. 4-[(4–benzotiyazol–2–ilfenil) hidrazono]-5-[(4-klorobenzilidin)amino]-2,4 dihidropirazol-3-on (120)

Tablo 4. 4-[(4-benzotiyazol–2-il-fenil)hidrazono]-5-[(4-klorobenzilidin)amino]-2,4-dihidropirazol-3-on bileşiğinin IC_{50} ve S.İ. değerleri (µM). Seçicilik indeksi (Sİ)= test bileşiğin normal hücrelerdeki IC_{50} değeri/kanser hücre hattındaki IC_{50} değeri (120)

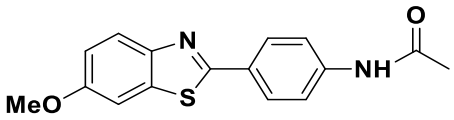
A549 IC_{50}(µM)	S.İ.	MCF7 IC_{50}(µM)	S.İ.	Hep3b IC_{50}(µM)	S.İ.	Normal Fibroblast Hücreleri IC_{50}(µM)
131.99	4.32	34.39	16.59	155.35	3.67	570.62

2017 yılında Osmaniye ve ark.'nın yaptığı bir çalışmaya göre 2-(benzotiyazol-2-iltiyo)-N-(3-sübstitüe-4-(3,4-sübstitüe-fenil)tiyazol-2(*3H*)-*ili*den)asetohidrazit türevleri sentezlenmiş ve çeşitli kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Buna göre en etkili bileşik 2-(benzotiyazol-2-iltiyo)-N-(3-sikloheksil-4-feniltiazol-2(*3H*)-*ili*den) asetohidrazid'in C6 hücrelerinde 0.03 mM IC_{50} değeri ile standart inhibitör sisplatinle benzer sitotoksik etki gösterdiği kaydedilmiştir. Bunun dışında sübstitüe siklohekzil bulunan serilerdeki antikanser aktivitenin sübstitüe fenil bulunan serilere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiş; bu yapının antikanser aktiviteyi olumlu yönde etkilemiş olacağı öne sürülmüştür (Şekil 71) (121).



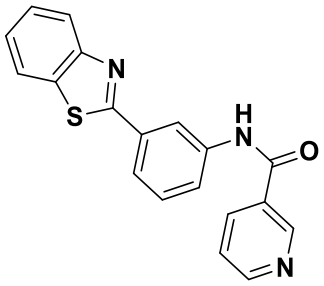
Şekil 71. 2-(benzotiyazol-2-iltiyo)-N-(3-sikloheksil-4-feniltiazol-2(*3H*)-*ili*den) asetohidrazid (121)

2018 yılında yapılan bir çalışmaya göre bir seri yeni 2-fenil benzotiyazol türevi sentezlenmiş ve meme kanseri hücre hattı üzerinde sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiş. Buna göre N-(4-(6-metoksibenzotiyazol-2-il)fenil)asetamid bileşiği 19.7 ±3.1 IC_{50} değeri ile aktivitesi en yüksek bileşik olarak bildirilmiştir. Ayrıca yapıdaki amino grubunun asetilasyonu, metoksi grubunun varlığı aktiviteyi olumlu yönde etkilerken; brom grubunun 2-aril grubundan çıkarılması bileşiğin aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir (Şekil 72) (122).



Şekil 72. N-(4-(6-metoksibenzotiyazol-2-il)fenil) (122)

Zhang ve ark. tarafından sentezlenen bir seri 2-(3-aminofenil)-benzotiyazol analoglarının daha sonra çeşitli kanser hücreleri üzerinde antikanser aktiviteleri araştırılmıştır. Buna göre N-(3-(benzotiyazol-2-il)fenil)nikotinamid bileşiğinin A549 ve MV4-11 hücre hatları üzerinde en yüksek antiproliferatf aktiviteye sahip olduğu kaydedilmiştir. Flow sitometrik analizlerden elde edilen bilgilere göre bu molekülün A549 hücre döngüsünün G1 Fazını bloke ettiği ve apoptozis-indükleyici bir ajan olduğu rapor edilmiştir (Şekil 73) (123).



Şekil 73. N-(3-(benzotiyazol-2-il)fenil)nikotinamid (123)

GEREÇ VE YÖNTEMLER

KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

Sentez Aşamasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sentez ve saflaştırma çalışmalarında, 2-aminotiyofenol (Merck), 4-aminofenilasetik asit (Merck), polifosforik asit (PPA) (Acros Organics), tiyonil klorür (Fluka), 2-tiyofen karbokslik asit (Aldrich), furan-2-karboksilik asit (Aldrich), pirazin karboksilik asit (fluka), indol-2-karboksilik asit (Merck), 2-naftoik asit (Acros), benzofuran-2-karboksilik asit (Fluka), 4-(4-metoksi fenil)- bütirik asit (Fluka), 4-fenil bütirik asit (Acros), Hidrosinnamik asit (Aldrich), 4-(4-metoksifenil) bütirik asit (Fluka), sodyum bikarbonat (Riedel-de Haën), etil asetat (Merck), etanol (Riedel-de Haën), metanol (Sigma-Aldrich), dietileter (Carlo-Erba), aseton (Sigma- Aldrich), sodyum hidroksit (Riedel-de Haën), diklorometan (Riedel-de Haën), kloroform (Sigma-Aldrich) tetrametilsilan (Sigma-Aldrich), dimetilsülfoksit-d6 (Sigma-Aldrich), $CDCl_3$ (Sigma-Aldrich), SilicaGel 60 GF254 alüminyum plaklar (Merck) kullanılmıştır.

Sentez ve Yapı Aydınlatma Aşamasında Kullanılan Cihazlar

Sentez, saflaştırma ve yapı aydınlatma işlemlerinde, Camag UV çalışma kabini, Heidolph Hei-VAP Value Rotary Evaparatör, CEM Discover SP Mikrodalga cihazı, Varian Mercury 400 High Performance Digital FT-NMR Spektrometre, Waters 2695 Alliance Mikromass ZQ marka LC/MS spektrometre Melting Point Meter (MPM-H2), Schorpp-Gerätetechnik erime noktası tayin cihazı kullanılmıştır.

Biyolojik Aktivite Tayininde Kullanılan Biyolojik ve Kimyasal Maddeler

Antikanser aktivitenin tayininde A549, MCF-7, PC-3, HEP-3B, HeLa, HT-29, K562, Raji, NIH3T3 hücre hatları, 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromid (MTT) (Sigma-Aldrich), DMSO (Sigma-Aldrich), izopropanol (Merck), fosfat tamponu (PBS) (Sigma-Aldrich), sodyum dodesil sülfat (SDS) (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır.

Moleküler Modelleme İşlemlerinde Kullanılan Cihaz ve Programlar

Moelküler modelleme ve doking işlemlerinde Hp marka Intel(R) Core ™ i5-6200U CPU @ 2.30 GHz 2.40 GHz özelliklerine sahip bilgisayar, Accelrys Discovery Studio 3.5, Chem Draw Professional version 15.0.0.106 kullanılmıştır.

YÖNTEMLER

Bileşiklerin Sentez ve Saflaştırma Yöntemleri

Sentez çalışmaları Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Oganik Kimya Laboratuvarı ve Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

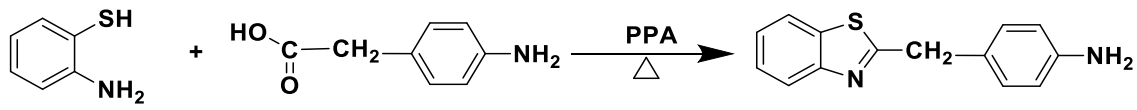
Enstrümantal analiz sonuçları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştrilmiştir.

2-(4-aminobenzil)benzotiyazol bileşiğinin sentezi, reaksiyon denklemleri ve saflaştırma yöntemleri (Yöntem A)

2-(4-aminobenzil)benzotiyazol bileşiği elde edilmek üzere; 0,1511g (1mmol) p-amino fenilasetik asit ve 0,1252 g (1mmol) o-aminotiyofenol bileşikleri 2,4 g polifosforik asit

(polyphosphoric acid, PPA) içerisinde yağ banyosunda (160-200°C) geri çeviren soğutucu altında 4 saat karıştırılarak ısıtılır. Reaksiyonun tamamlandığı ince tabaka kromatografisi (İTK) bakılarak karar verildiğinde tüm içerik buza dökülerek reaksiyon içeriğinin tamamının çözünmesi sağlanır. Bu işlem sonrasında turnusol kağıdı ile kontrol edilerek %10 NaOH çözeltisi ile ortam hafif alkali hale getirilir. Ortamın alkali hale dönüşmesiyle çözelti içerisinde çökelti oluşur, oluşan çökeltiler düz süzgeç kağıdından süzülerek alınır. Elde edilen çökelti etanol içerisinde ısı yardımı ile çözülür, aktif kömürden geçirilerek istenmeyen safsızlıklarından ayrılması sağlanır. Çözücünün fazlası buharlaştırılarak kristalizayon için buzdolabında bekletilir ve kristal oluşumu sağlanır. Oluşan kristaller oda ısısında kurutulur.

Sentezlenen bileşik aşağıda verilen reaksiyon denklemi (Şekil 74) doğrultusunda elde edilmiştir ve bir sonraki reaksiyon basamağında başlangıç maddesi olarak kullanılır.

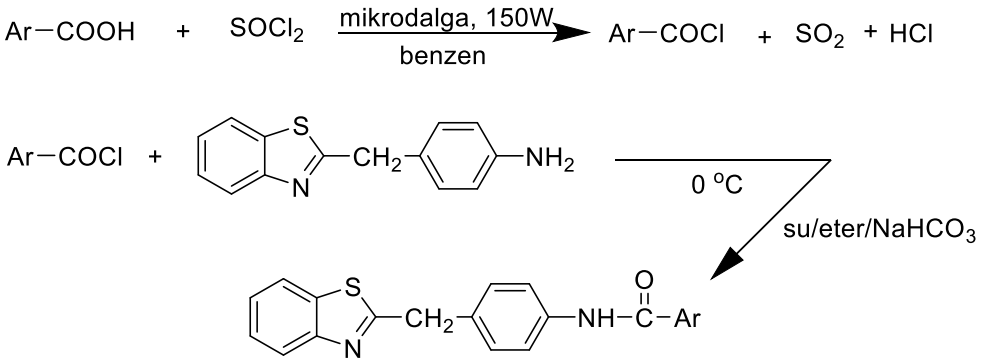


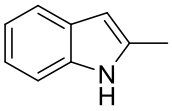
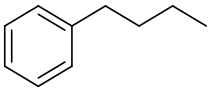
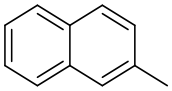
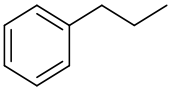
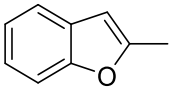
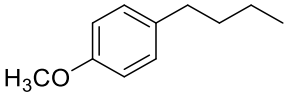
Şekil 74. 2-(4-aminobenzil)benzotiyazol bileşiğinin sentez denklemi

N-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)amit türevi bileşiklerin sentezi, reaksiyon denklemleri ve saflaştırma yöntemleri (Yöntem B)

Sentezlenecek bileşiklere ulaşmak üzere; öncelikle çeşitli karboksilik asit bileşikleri (2 mmol) benzen (0,3 mL) / $SOCl_2$ (0,3 mL) içerisinde 150 W gücünde mikrodalga enerjisine 5 dakika maruz bırakılarak açillenir. Süre bitiminde benzenin ve tiyonilklorürün aşırısı evoporatörde uçurulduktan sonra kalan bakiye dietileter içerisinde çözülür. Bu işlem sonunda elde edilen çözelti, buz banyosunda soğutulan önceden sentezlenmiş olan başlangıç maddesi 2-(4-aminobenzil)benzotiyazol 0,4771 g (2 mmol), sodyum bikarbonat (2 mmol), eter (10 mL), su (10 mL) karışımı içerisine damla damla ilave edilir. 12 saat boyunca buz banyosunda karıştırılan karışım süre sonunda süzülür. Bakiye, sırasıyla su, 2N HCl, su ve eter ile yıkanır. Elde edilen ürün etanolde çözülerek kristallendirilir ve oluşan kristaller vakum etüvünde kurutulur.

Sentezlenen bileşikler aşağıda verilen reaksiyon denklemi doğrultusunda elde edilmiştir (Şekil 75).

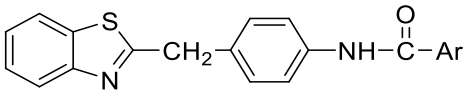


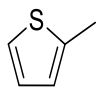
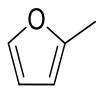
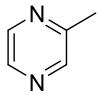
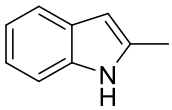
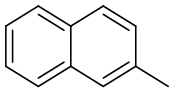
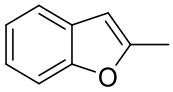
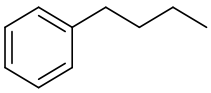
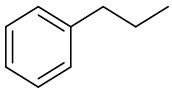
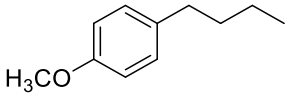
Ar-					
1		4		7	
2		5		8	
3		6		9	

Şekil 75. N-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)amit türevi bileşiklerin sentez denklemi

Şekil 75'te belirtilen sentez yönteminin uygulanması sonucunda, karboksamit grubu taşıyan, 9 adet yeni benzotiyazol türevi bileşik sentezlenmiştir. Sentezi ilk defa bu çalışmada gerçekleştirilen bu bileşikler tabloda gösterilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Sentezlenen benzotiyazol türevi bileşikler



Bileşik No	Sübstitüentler (Ar-)
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	

İTK ile Reaksiyon ve Saflık Kontrolü

Yapılan bütün sentez çalışmalarında İTK uygulamaları ile reaksiyonların kontrolleri gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon esnasında reaksiyon balonlarından belli zaman aralıkları ile alınan numuneler ve sentezlerde kullanılan başlangıç maddelerinin etil asetat içerisindeki çözeltileri adsorban olarak seçilen silikajel 60 F254 üzerine kılcal boru yardımıyla tatbik edilmiş ve mobil fazlar içerisinde sürüklenmiş; maddeye spesifik olarak oluşan lekelerin saptanmasında, ultraviyole ışığı (254 nm ve 366nm) kullanılmıştır. Reaksiyonlar İTK sonuçlarına göre bitirilmiş ya da devam ettirilmiştir. Tezde yer alan her bir sentezin kontrolü için uygun İTK mobil fazları, farklı çözücü karışımları denenerek bulunmuştur. Yöntem A'da anlatılan sentezlerin kontrolü için uygun çözücü sistemi (M1): n-Hekzan: Etil asetat (2:1).yöntem B'deki sentezlerin kontrolü için uygun çözücü sistemi olarak (M2): Kloroform: Metanol (20: 1) olarak belirlenmiştir. Ayrıca sentezlenen bileşiklerin İTK ile saflıkları her iki çözücü sistemleri ile kontrol edilmiştir.

Erime Noktalarının Tespiti

Sentezlenen bileşiklerin erime noktaları Melting Point Meter (MPM-H2), Schorpp-Gerätetechnik cihazı kullanılarak tespit edilmiştir. Bir ucu kapalı kılcal borulara 4 mm kadar konulan nihai sentez bileşikleri cihazın haznelerine yerleştirilmiş ve ısı uygulanarak erime noktalarının tespiti yapılmıştır. İşlem üç kere tekrarlanarak erime derecelerinin kontrolleri sağlanmıştır.

^{1}H NMR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen orijinal bileşiklerin ^{1}H NMR spekrumları DMSO-d_6 içindeki çözeltilerinin, tetrametilsilana (TMS) karşı Varian Mercury 400 High Performance Digital FT-NMR Spektrometre cihazına uygulanması sonucu alınmıştır.

^{13}C NMR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen orijinal bileşiklerin ^{13}C NMR spekrumları DMSO-d_6 içindeki çözeltilerinin, TMS'ye karşı Varian Mercury 400 High Performance Digital FT-NMR Spektrometre cihazına uygulanması sonucu alınmıştır.

Kütle Spektrumlarının Alınması

Elde edilen orijinal bileşiklere ait kütle spektrumlarının tespiti Waters 2695 Alliance Mikromass ZQ marka LC/MS spektrometre cihazında, Elektrosprey İyonizasyonu (ESI) yöntemi uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

Antikanser Aktivite Çalışmaları

Sentezlenen bileşiklerin hücre kültürleri üzerindeki antikanser aktivite çalışmaları Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür.

Bileşiklerin antikanser aktivitesinin araştırılmasında A549, MCF-7, PC-3, HEP-3B, HeLa, HT-29, K562, Raji, NIH3T3 hücre hatları kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin antikanser aktivitelerini değerlendirebilmek amacıyla; klinikte kanser tedavisinde kullanılan etoposid bileşiği referans olarak aktivite çalışmalarında kullanılmıştır.

MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi

Tez çalışması kapsamında sentezlenen bileşiklerin antikanser etkinlikleri MTT deneyi ile değerlendirilmiştir. MTT analizi mitokondriyal solunumlara bağlıdır ve dolaylı olarak bir hücrenin hücresel enerji kapasitesini değerlendirmeye yarar. MTT'nin MTT-formazan'a enzimatik indirgenmesi mitokondriyal süksinat dehidrojenaz enzimi (SDH) ile katalizlendiğinden (124); ve çoğu hücre popülasyonu için, toplam mitokondriyal aktivite canlı hücrelerin sayısı ile ilişkili olduğundan, bu analiz yöntemi; ilaçların hücre hatları veya primer hasta hücreler üzerindeki in vitro sitotoksik etkilerini ölçmek için yaygın olarak kullanılır.

MTT yöntemi renksiz, substratlar olup canlı hücrelerin mitokondriyal aktivitesi sonucu renkli ürün oluşumu görülen tetrazolium tuzlarının (MTT, XTT, WST-1) mitokondriyal enzim sistemleri tarafından indirgenmesine dayanır. MTT, yalnız canlı hücreler tarafından (125) mitokondrilerinde SDH enzimine spesifik olarak bağlanarak suda çözünmeyen mavi-mor formazan ürününe indirgenebilen, sarı renkte çözünür bir tetrazolium tuzudur. Canlı ve aktif mitokondriyal fonksiyona sahip hücreler bu tuzları oluşturmaya devam edebilirken, ölü hücrelerde bu durum oluşamaz. Böylelikle Üretilen MTT-formazan miktarı, uygun bir çözücü içinde çözündürüldükten (DMSO, izopropanol gibi organik solventler) sonra optik dansiteleri spektrofotometrik olarak belirlenebilir (126). Böylece, canlı hücre sayısı ile formazan miktarı birbiriyle doğru orantılı olarak değişeceğinden; spektrofotometrik olarak elde edilen değer,

%100 canlılığı gösteren değer ile kıyaslanarak test edilen bileşiklerin sitoksisite etkinlikleri belirlenir (127).

a. MTT testi protokolü ve MTT çözeltisinin hazırlanışı

Bu çalışmada kullanılacak yöntem için ticari olarak satın alınan kit kullanıldı. Paket içinde bulunan 5 mg MTT boyası, 1 mL steril fosfat tamponu (PBS) içinde çözündürüldü. Daha sonra iyice vortekslenerek ve çözünmeyen kısımlar santrifüjlenerek üstte kalan sıvı steril bir ependorfa alındı.

b. 96 Kuyucuklu mikroplakalarda hücre kültürlerinin hazırlanması

Yukarıda belirtilen çeşitli insan kanser hücre hatları öncelikle sayımları yapılarak kuyucuk başına 10.000 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu plakalara ekildi. Bu hücreler inkübatörde 24 saat boyunca inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyon sonunda hücrelere, 10 µM konsantrasyonda hazırlanmış test edilecek bileşikler eklendi ve tekrar inkübatöre kaldırıldı.

c. MTT deneyinin yapılışı

48 saatlik süre sonunda inkübatörden çıkarılan kuyucuklardaki hücre besiyeri pipetle çekilip atıldı ve 200 µl PBS eklenerek kuyucuklar iyice temizlendi. PBS çekilerek taze hazırlanan hücre besiyerinden 100 µl bütün kuyucuklara dağıtıldı. Daha sonra her bir kuyucuğa 10µL MTT solüsyonu eklenerek 4 saat süre boyunca inkübatörde inkübe edildi. 4 saatlik sürenin sonunda kuyucuklara 100 µl sodyum dodesil sülfat (SDS) eklenerek MTT ile olusan formazon kristallerini çözmek için 12 saat boyunca 37°C'de CO_2 inkübatöründe inkübe edildi. Kültür plağı mikroplaka okuyucusuna konularak 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Kontrol kültürlerinden (bu kültürlere hiç madde eklenmedi) elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması alınmasıyla elde edilen değer %100 kabul edildi. Sentez molekül içeren kültürlerden elde edilen absorbans değerleri kontrol absorbans değerine oranlandı ve hücrelerin canlılık oranları % olarak ifade edildi. Bu deneyler en az 3 tekrar olarak yapıldı.

Moleküler Modelleme Çalışmaları

Yüksek lisans tezi kapsamında sentezlenen ve antikanser aktivite potansiyellerine sahip olduğu düşünülen bileşiklerin kanserde rol oynayan çeşitli reseptörler üzerinden protein-ligand etkileşim analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda Hsp90, CDK-2, Top II, K-Ras ve K-Ras G12C proteinleri (sırasıyla PDB Kodu: 5GGZ, 5IEY, 3QX3, 4EPR, 4L8G)

kullanılmış ve proteinlerin aktif bölgelerinde gerçekleşen bağlanma ve etkileşim noktalarını belirlemek amacıyla reseptör yapısına dayanan in silico doking metodu uygulanmıştır. Ayrıca sentezlenen bileşiklerin çeşitli fizikokimyasal ve farmakokinetik özellikleri Discovery Studio 3.5 programı (128) kullanılarak tespit edilmiştir.

Geniş bir şaperon ailesine dahil olan Hsp'ler, protein katlanması ve bozulma, oksidatif stres, hipoksi ve termal strese karşı koruma ve çeşitli proteinlerin olgunlaşmasında rol oynamaktadır. Genel olarak düzenleyiciler sınıfında olup; hücre proliferasyonu, farklılaşma kanser gelişimi ve ilerlemesinin moleküler boyutlarında önemli yerlere sahiptir. Tümör hücreleri proliferasyon ve hayatta kalma için normal hücrelere göre daha fazla Hsp90 şaperonlarına bağlıdır, çünkü kanser hücrelerinde onkoproteinler sıklıkla yanlış katlanır ve düzeltme için arttırılmış bir aktivite gerektirir (129). Hsp'ler kanser teşhisi ve prognozu için biyobelirteçler olarak ve tedavide terapötik hedefler olarak potansiyel klinik kullanıma sahiptir. Bunun yanında Hsp'ler apoptoza ve bazı antikanser ilaçlara karşı dirence aracılık ederler (130). Bu durum hem preklinik hem de klinik olarak ümit vaat eden çeşitli Hsp90 inhibitörlerinin ve diğer Hsp'lerin geliştirilmesine yol açmaktadır.

Protein kinaz ailesinin bir üyesi olan CDK-2 ökaryotik hücre bölünme döngüsünün çeşitli olaylarının düzenlenmesinde kritik role sahiptir. Aşırı CDK-2 ekspresyonunun, kanser hücrelerinde hiperproliferasyonla doğrudan ilişkili olan hücre döngüsünün anormal düzenlemesine neden olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, CDK-2, kanser tedavisinde potansiyel terapötik bir hedef olarak kabul edilmektedir (131).

Top II'ler DNA replikasyonu, transkripsiyon ve kromozomların ayrılması dahil olmak üzere hücresel olaylarda kritik rol oynar (132). Tip II topoizomerazlar katalitik sikluslarında DNA iplikçik kopmalarını gerekli bir ara madde gibi ürettikleri için, her fonksiyonlarında genomu parçalama potansiyeline sahiptir. Dolayısıyla, bu enzimler çoğalan hücrelerin hayatta kalması için temel olmakla birlikte, aynı zamanda önemli genotoksik etkilere de sahiptir(133). Top II'nin biyolojik fonksiyonları genomik bütünlüğü sağlamak için önemli olsa da, bu proteine müdahale ederek ve enzim aracılı DNA hasarı oluşturma yeteneği kanser kemoterapisi için etkili bir stratejidir (132).

Ras proteini hücre büyümesinin regülasyonunda ve malign transformasyonda ana faktör olan sinyallenme yolağını kontrol eder. RAS'taki herhangi bir aktivasyon yukarı veya aşağı sinyallenme yolaklarında farklılıklar meydana getirir. Bu proteinlerdeki aktive edici mutasyon, insan kanserlerinin yaklaşık % 30'unda bulunur. RAS, tümörün oluşumunda ve devamında

önemli bir rol oynar ve bu nedenle antikanser tedavisi için uygun bir hedeftir (134). Yapılan çalışmalarla üç adet izoformu bulunan Ras genlerinin (KRas, HRas; NRas) kanser türleri üzerinde en çok KRas geni üzerindeki mutasyonlardan kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu nedenle antikanser tedavi çalışmalarında genellikle KRas proteini ve onun üzerindeki mutasyonlara yoğunlaşılmıştır (135).

Proteinlerin hazırlanması

Hsp90, CDK-2, Top II, K-Ras ve K-Ras G12C proteinlerinin kristal yapıları Protein Veri Bankası'ndan (sırasıyla PDB Kodu: 5GGZ, 5IEY, 3QX3, 4EPR, 4L8G) elde edilmiştir. Proteinleirn hazırlanması için öncelikle Discovery Studio 3.5'ta (128) yer alan Protein Preparation protokolü kullanılmış, sonrasında CHARMm (136) kuvvet alanı kullanılarak bağ uzunlukları düzenlenmiş ve yüklü amino asitlerin üzerindeki atomların belirtilen ortam koşullarındaki olası yükleri otomatik olarak belirlenmiştir. Proteinlerin içerisinde yer alan ligandların bağlanma bölgelerinden yola çıkılarak her bir protein için aktif bağlanma bölgeleri belirlenmiş, proteinler içerisinde yer alan ligandlar aktif bölge içerisinden çıkartılmıştır.

Ligandların hazırlanması

Docking işleminde kullanılacak tüm bileşikler ChemDraw Professional v.15 programı kullanılarak çizilmiş ve Accelrys Discovery Studio 3.5 (128) programına aktarılmıştır. CHARMm kuvvet alanı uygulandıktan sonra adopted basis newton (ABNR) (137) minimizasyon metodu kullanılarak minimize edilmiş ve 3 boyutlu yapıları oluşturulmuştur.

Doking işlemi

Yüksek lisans tez çalışması kapsamında sentezlenen bileşikler, Hsp90, CDK-2, Topoizomeraz II, K-Ras ve K-Ras G12C proteinlerinin belirlenen aktif bölgelerine Discovery Studio 3.5 programı (128) ile CDocker (138) yöntemi kullanılarak doking işlemi gerçekleştirilmiştir. CDocker yöntemiyle reseptörlerin yapıları sabit tutuluken, ligandlar esnek şekilde hareketlerine devam ederek reseptörün aktif bölgesinde rastgele 3000 farklı konformasyonla etkileşimleri sağlanmıştır. Buradan elde edilen sonuçlarda her bir molekül için 10 farklı poz elde edilmiştir. Daha sonra bu ligandlar ve proteinin bağlanma enerjileri hesaplanarak bu pozlardan en düşük bağlanma enerjisine sahip olanlar seçilmiştir.

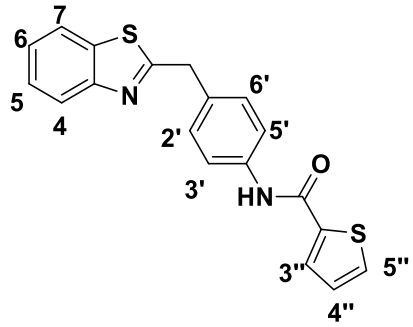
Fizikokimyasal ve Farmakokinetik Özelliklerin İncelenmesi

Yüksek lisans tezi kapsamında sentezlenen bileşiklerin partisyon katsayısı (LogP), moleküler ağırlık (MA), hidrojen bağı akseptörü (HBA) ve donörü sayısı (HBD), dönebilen bağ sayısı, aromatik halka sayısı, polar yüzey alanı (PSA) gibi fizikokimyasal özellikleriyle birlikte çözünürlük, absorpsiyon, kan-beyin bariyerini geçiş, plazma proteinlerine bağlanma, karaciğerden CYP2D6 enzimiyle metabolize olma ve hepatotoksisitesi gibi farmakokinetik özellikleri Discovery Studio 3.5 programı (128) kullanılarak hesaplanmıştır

BULGULAR

SENTEZ VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI

Bileşik 1



Şekil 76. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)tiyofen-2-karboksamit (Bileşik 1)

Yöntem B'ye göre gerçekleştirilen 1 numaralı bileşiğin (Şekil 76) sentezinde 0,002 mol 2-(*p*-aminobenzil)benzotiyazol (sentezi Yöntem A'da verilmektedir), 0,002 mol 2-tiyofenkarboksilik asit, 0,002 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 57 verimle 400 mg saf ürün elde edilmiştir.

Erime Noktası: 219,6 - 221,4 ºC

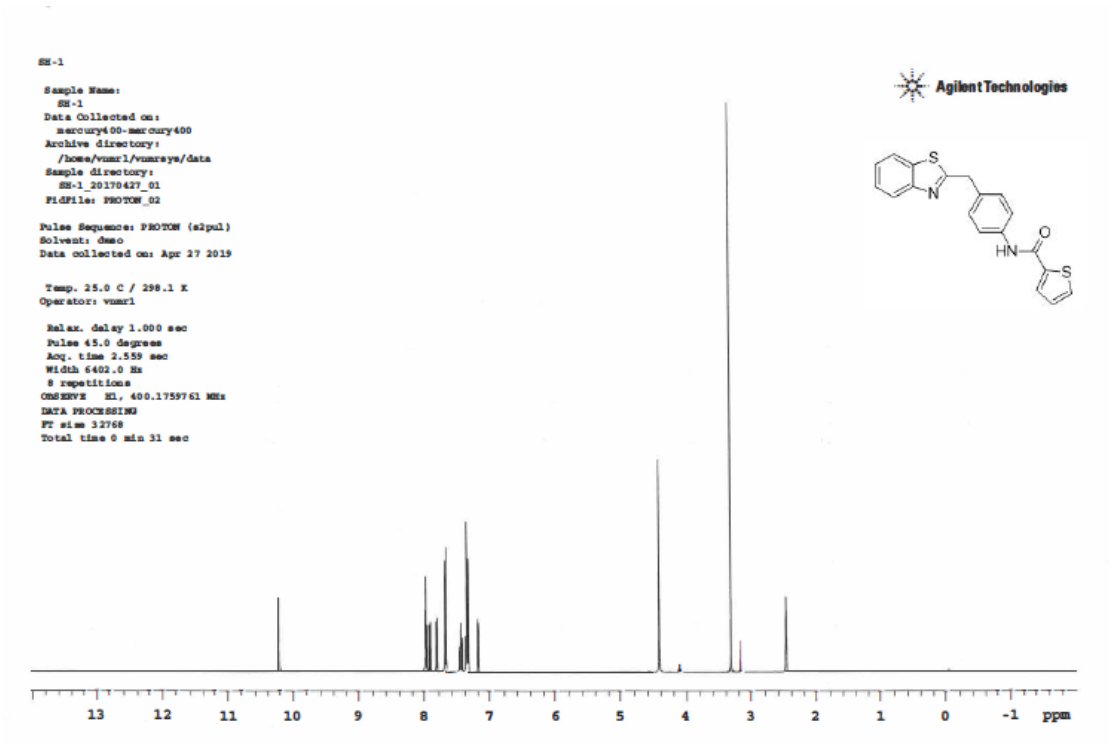
***[1]H*-NMR Spektrumu (400MHz, TMS, DMSO-*d*$_6$) δ ppm:** 10,20 (s, 1H, NH protonu), 8,05-7,97 (m, 2H, 3'' ve 4 protonları), 7,93 (d, *J*=7.6,1H, 7 protonu), 7,83 (d, 1H, *J*=5.2, 5'' protonu), 7,70 (d, *J*=8.8, 3', 5' protonları), 7,37-7,34 (m, 3H, 2', 6' ve 5/6 protonları), 7,461 (t, 1H 5/6 protonu), 7,200 (t, H, 4'' protonu), 4,42 (s, 2H, -CH_2- protonları).

***[13]C*-NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ:** 171.275, 159.822, 152.888, 139.979, 137.686, 135.019, 132.755, 131.833, 129.433, 129.075, 128.016, 126.050, 124.823, 122.270, 122.072, 120.624.

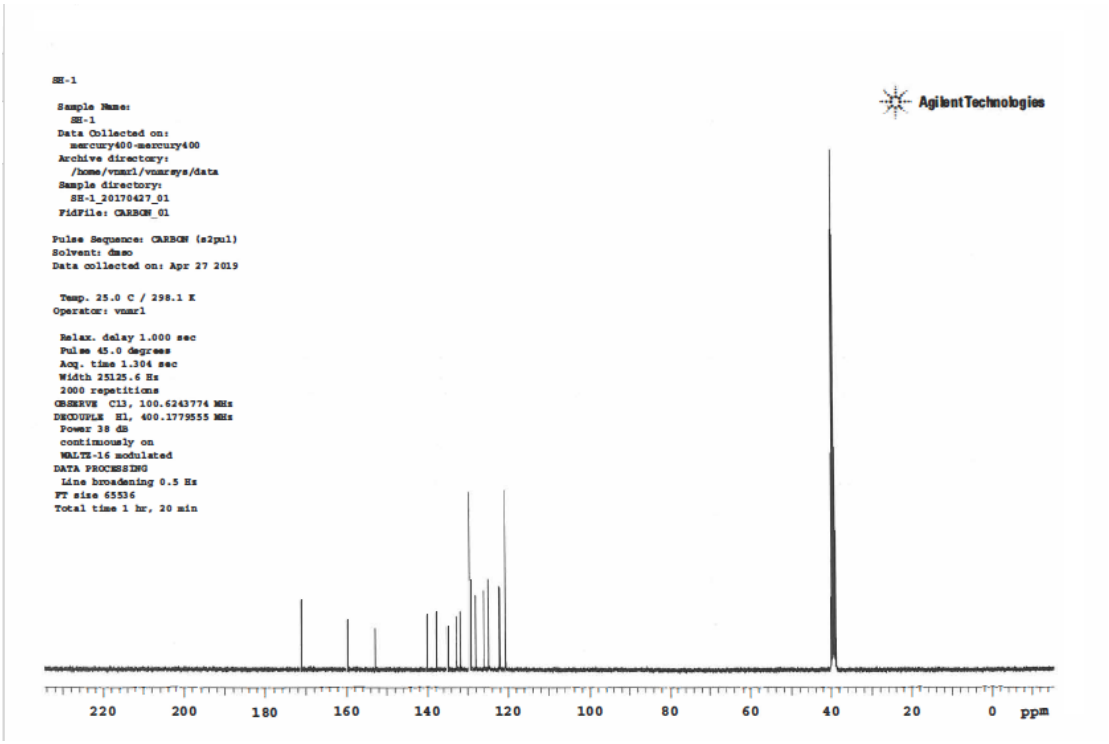
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X): 351,3 (M^++H)(%100).

Kapalı Formülü ve Molekül Ağırlığı: $C_{19}H_{14}N_2OS_2$; 350,46 g/mol

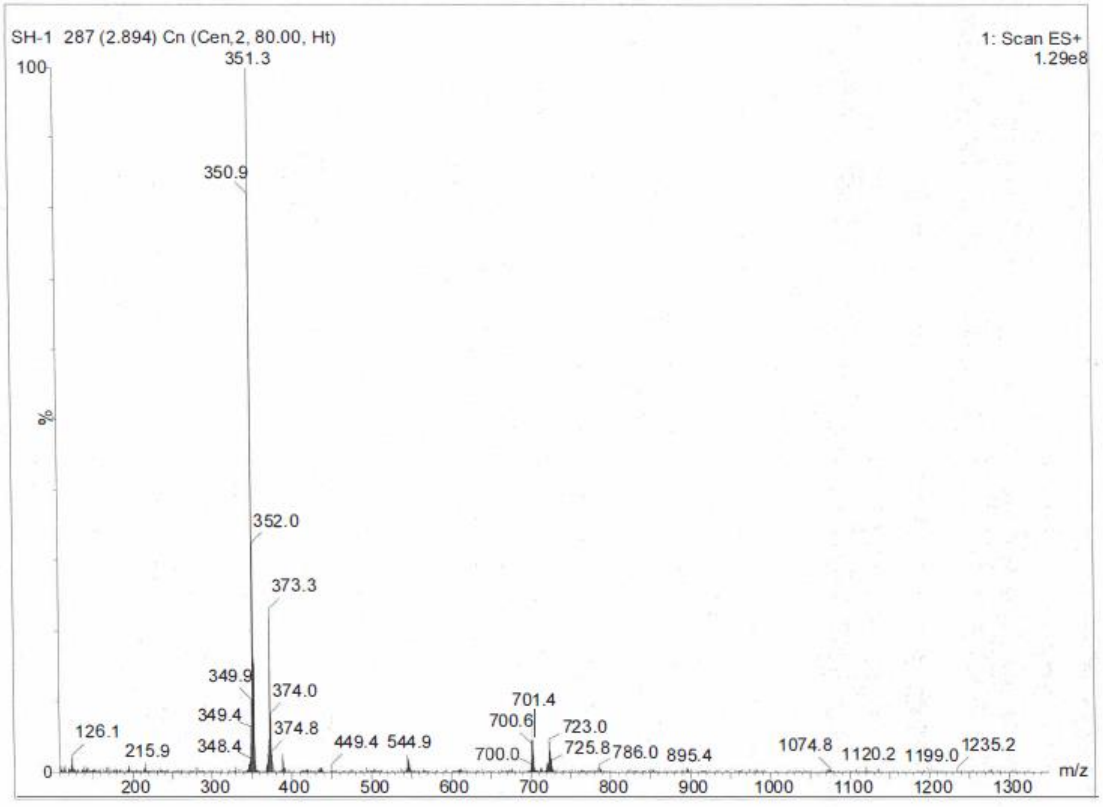
Bileşiğe ait *[1]H*-NMR (Şekil 77), *[13]C*-NMR (Şekil 78) ve Kütle spektrumları (Şekil 79) aşağıda verilmiştir.



Şekil 77. 1 nolu bileşiğin *[1]H*-NMR spektrumu

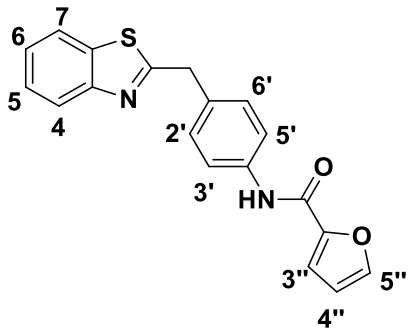


Şekil 78. 1 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu



Şekil 79. 1 nolu bileşiğin kütle spektrumu

Bileşik 2



Şekil 80. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)furan-2-karboksamit (Bileşik 2)

Yöntem B'ye göre gerçekleştirilen 2 numaralı bileşiğin (Şekil 80) sentezinde 0,002 mol 2-(*p*-aminobenzil)benzotiyazol (sentezi Yöntem A'da verilmektedir), 0,002 mol furan-2-karboksilik asit, 0,002 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 59 verimle 394 mg saf ürün elde edilmiştir.

Erime Noktası: 162,6 - 165,2 °C

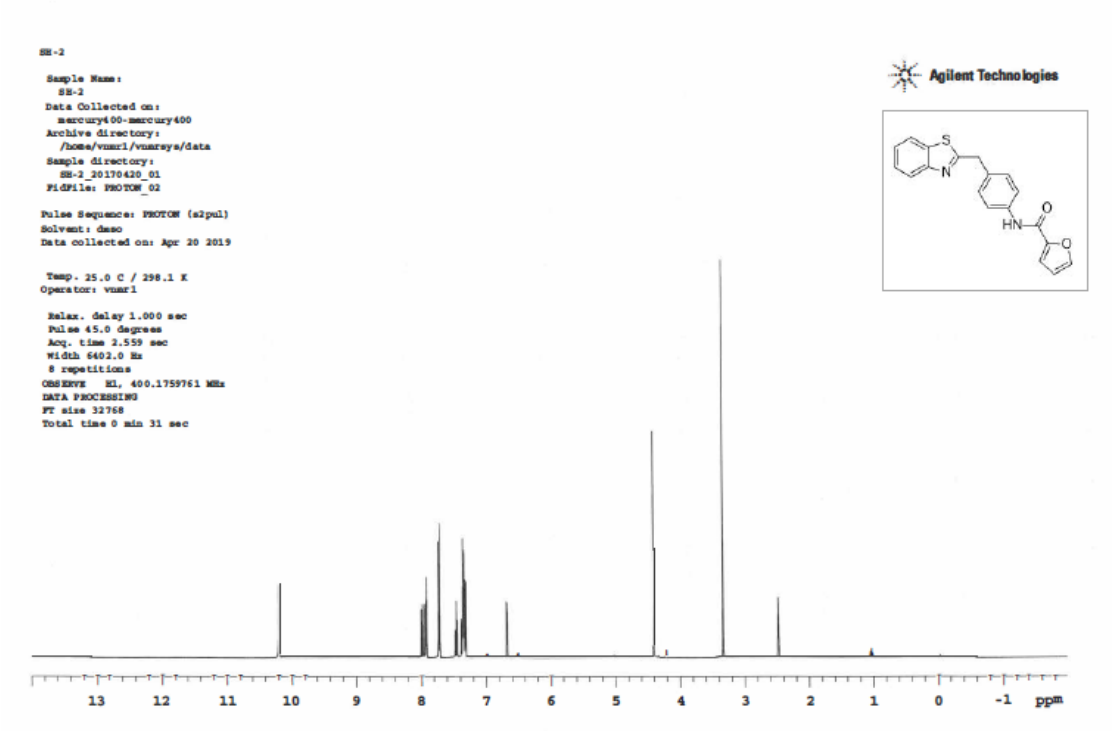
***[1]H*-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO-d_6) δ ppm:** 10,23 (s, H, NH protonu), 7,98 (d, H, J=8 Hz, 4 protonu), 7,94-7,90 (m, 2H, 7 ve 3'' protonları), 7,72 (d, J=8.4, 3', 5' protonları), 7,461 (t, 1H 5/6 protonu), 7,38 - 7,31 (m, 4H, 2', 6', 5/6, 5'' protonları), 6,68-6,67 (m, H, 4'' protonu), 4,41 (s, 2H, -CH_2- protonları).

***[13]C*-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ:**171.291, 156.149, 152.888, 147.470, 145.664, 137.495, 135.019, 132.748, 129.395, 126.050, 124.815, 122.262, 122.064, 120.632, 114.696, 112.112.

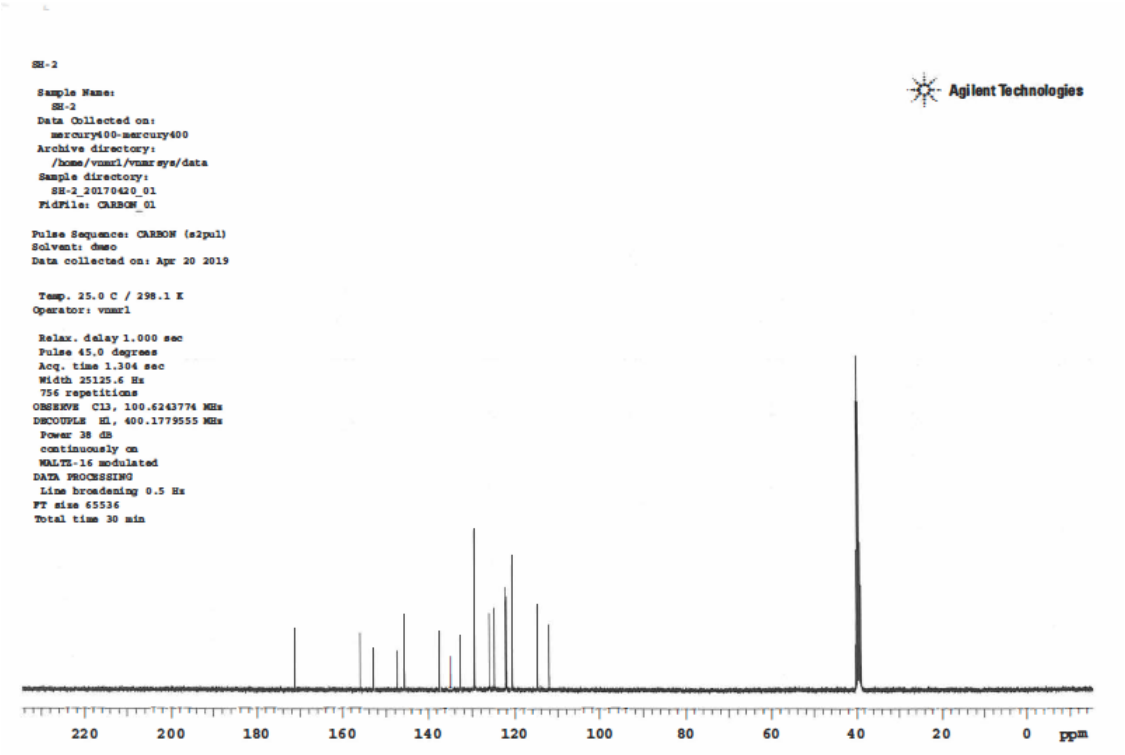
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X): 335,2 (M++H) (%100)

Kapalı Formülü ve Molekül Ağırlığı: $C_{19}H_{14}N_2O_2S$; 334,39 g/mol

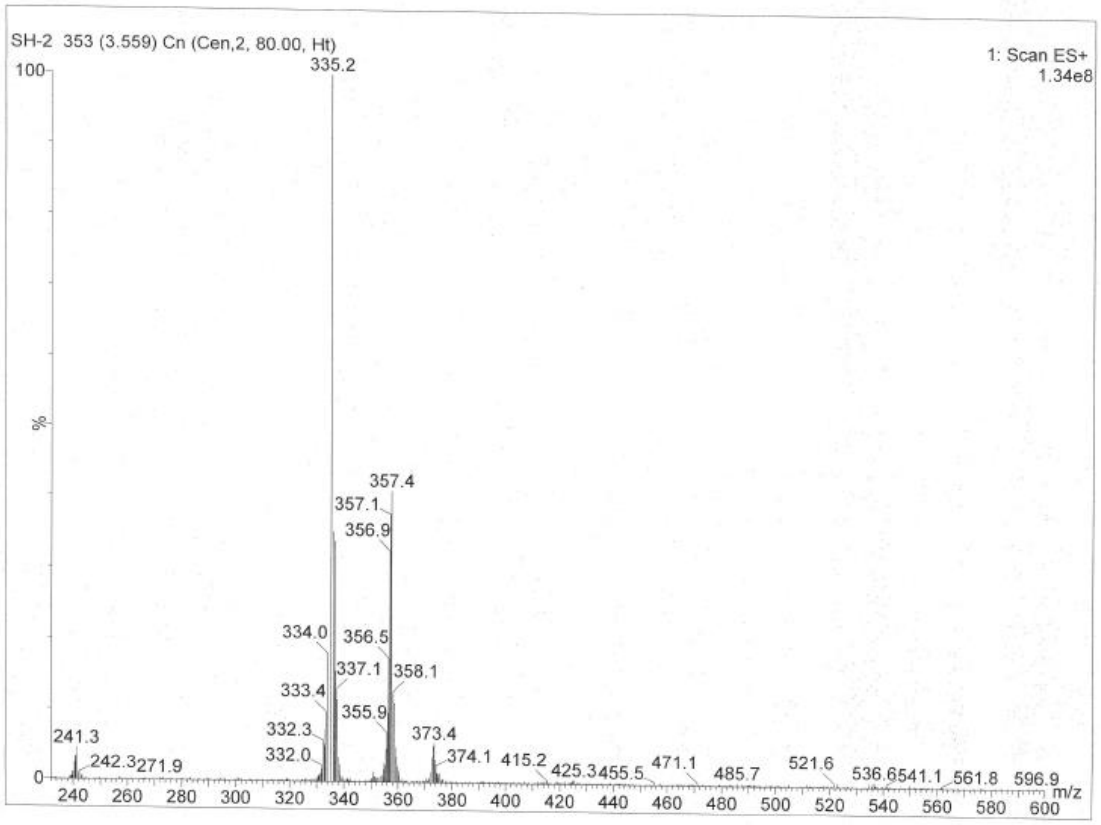
Bileşiğe ait ^1H-NMR (Şekil 81), ^{13}C-NMR (Şekil 82) ve Kütle spektrumları (Şekil 83) aşağıda verilmiştir.



Şekil 81. 2 nolu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu

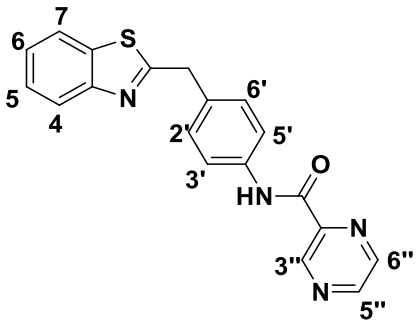


Şekil 82. 2 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu



Şekil 83. 2 Nolu bileşiğin kütle spektrumu

Bileşik 3



Şekil 84. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)pirazin-2-karboksamit (Bileşik 3)

Yöntem B'ye göre gerçekleştirilen 3 numaralı bileşiğin (Şekil 84) sentezinde 0,002 mol 2-(*p*-aminobenzil)benzotiyazol (sentezi Yöntem A'da verilmektedir), 0,002 mol 2-

tiyofenkarboksilik asit, 0,002 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 57 verimle 394 mg saf ürün elde edilmiştir.

Erime Noktası: 190,3 - 191,3 ºC

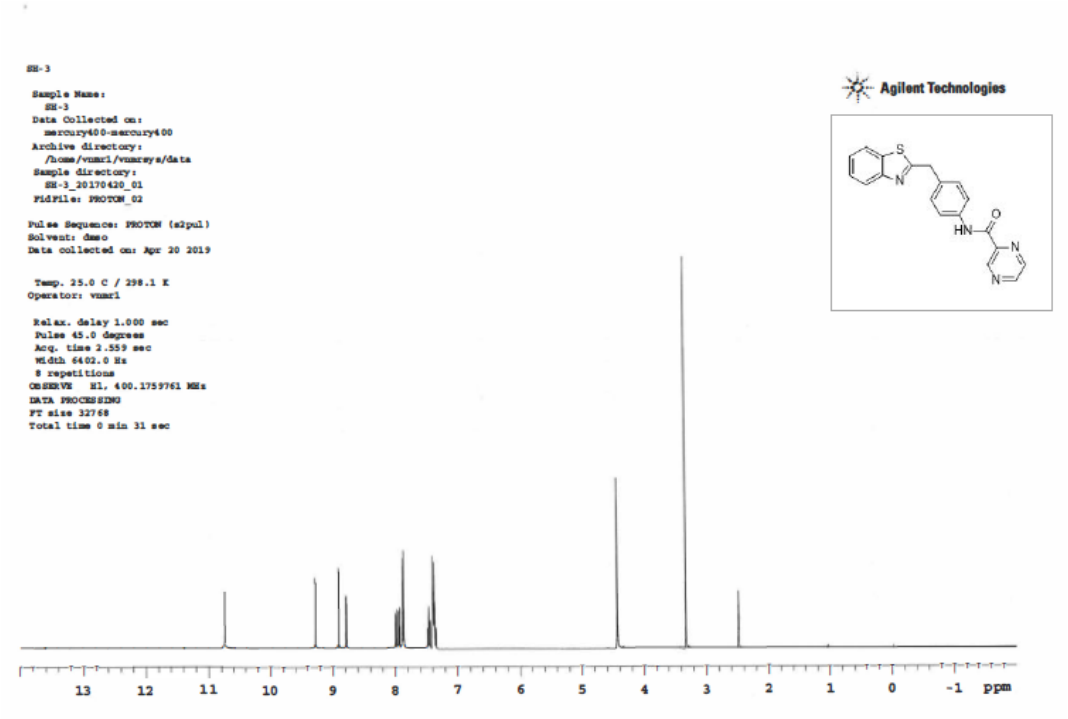
***^1H*-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO-d_6) δ ppm:** 10,74 (s, H, NH protonu), 9,28 (s, H, 3'' protonu), 8,91 (d, H, J=2.8, 6'' protonu), 8,78 (d, H, J=2.4 Hz, 5'' protonu), 7,98 (d, H, J= 7.6 Hz, 4 protonu), 7,93 (d, H, J=7.2 Hz, 7 protonu), 7,87 (d, 2H, J= 8.4 Hz, 3' ve 5' protonları), 7,46 (t, H, 5/6 protonu), 7,39-7,34 (m, 3H, 2',6' ve 5/6 protonları), 4,43 (s, 2H, -CH_2- protonları).

***^{13}C*-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ:**171.192, 161.613, 152.880, 147.660, 145.001, 144.018, 143.180, 137.114, 135.003, 133.312, 129.456, 126.050, 124.823, 122.270, 122.064, 120.838.

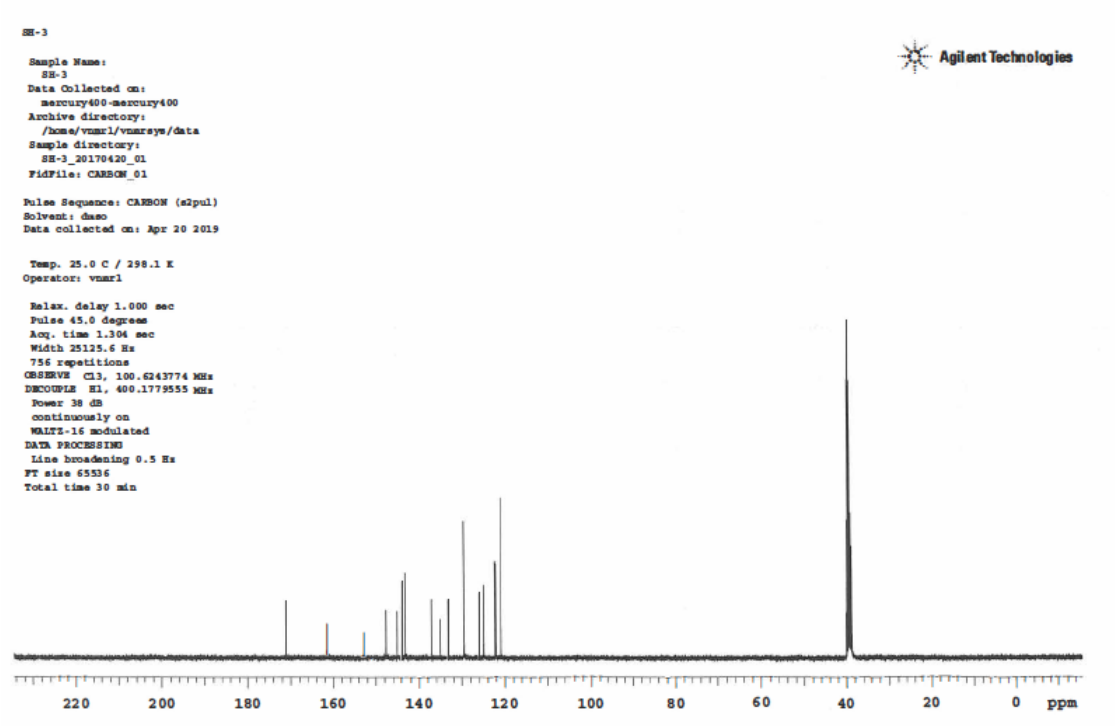
Kütle Spektrumu m/z (%X): 347,2 (M^++H)(% 100)

Kapalı Formülü ve Molekül Ağırlığı: $C_{19}H_{14}N_4OS$, 346,41 g/mol

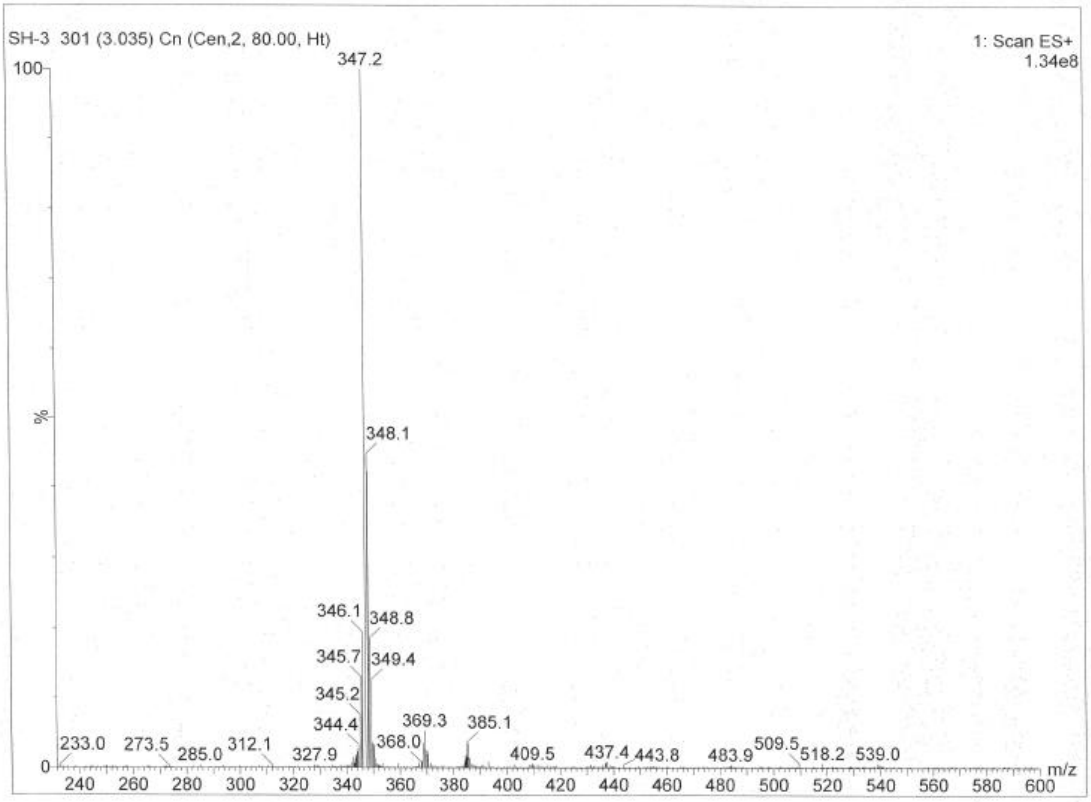
Bileşiğe ait *^1H*-NMR (Şekil 85), *^{13}C*-NMR (Şekil 86) ve Kütle spektrumları (Şekil 87) aşağıda verilmiştir.



Şekil 85. 3 nolu bileşiğin *^1H*-NMR spektrumu

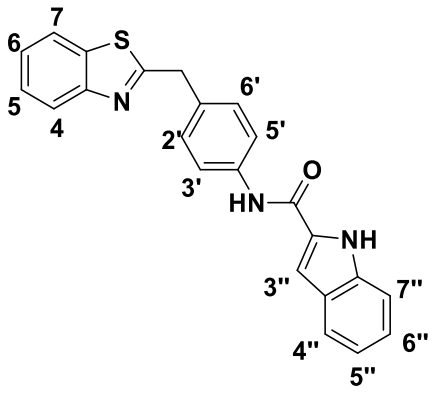


Şekil 86. 3 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu



Şekil 87. 3 nolu bileşiğin kütle spektrumu

Bileşik 4



Şekil 88. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)-*1H*-indol-2-karboksamit (Bileşik 4)

Yöntem B'ye göre gerçekleştirilen 4 numaralı bileşiğin (Şekil 88) sentezinde 0,002 mol 2-(*p*-aminobenzil)benzotiyazol (sentezi Yöntem A'da verilmektedir), 0,002 mol indol-2-karboksilik asit, 0,002 mol sodyum bikarbonat kullanılmıştır. Sentez sonunda % 55 verimle 421 mg saf ürün elde edilmiştir.

Erime Noktası: 243,1 - 244 ºC

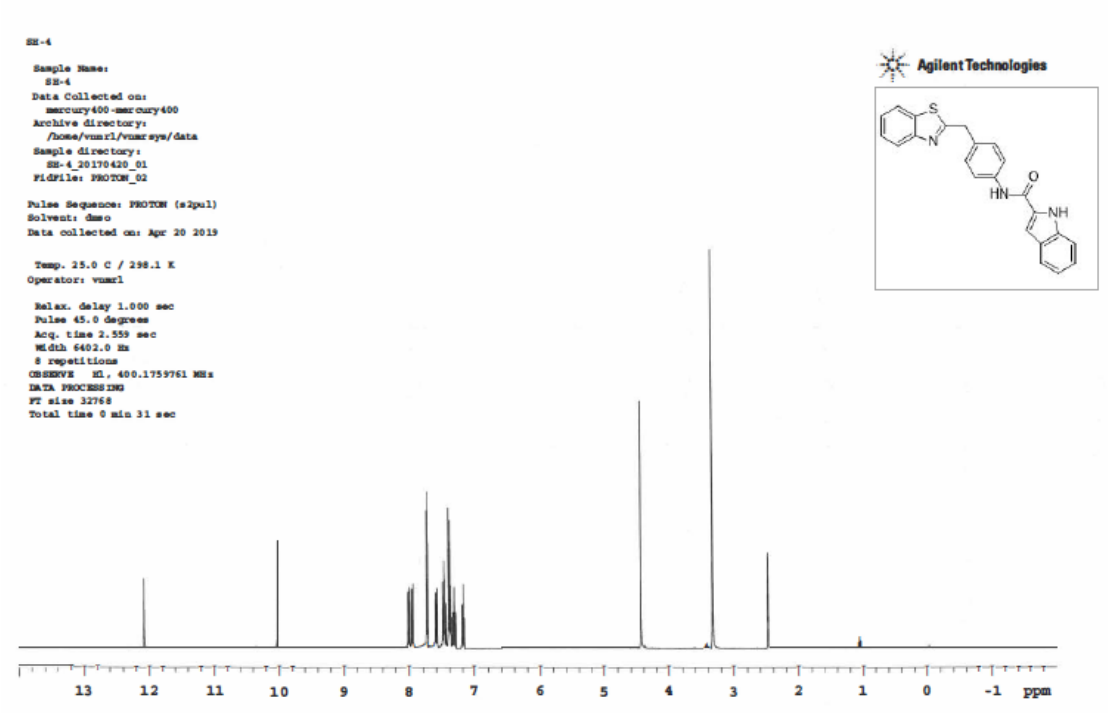
***[1]H*-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO-*d*$_6$) δ ppm:** 12,08 (s, H, indole ait NH protonu), 10,03 (s, H, NH protonu), 7,99 (d, H, J=8.4 Hz, 4 protonu), 7,94 (d, H, J= 8 Hz, 7 protonu), 7,73 (d, 2H, J= 8.8 Hz, 2', 6' protonları), 7,59 (d, H, 7'' protonları), 7,50 – 7,45 (m, 2H, 5/6 ve 4'' protonları), 7,41-7,30 (m, 4H, 5/6, 2', 6' ve 3''protonları), 7,31 (t, H, 5''/6'' protonu),7,18 (t, H, 5''/6'' protonu), 4,44 (s, 2H, -CH_2- protonları).

***[13]C*-NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ:** 171,283, 158,367, 152,903, 137,427, 135,034, 134,455, 133,068, 129,624, 127,155, 126,073, 125,044, 124,846, 122,285, 122,080, 120,355, 118,551.

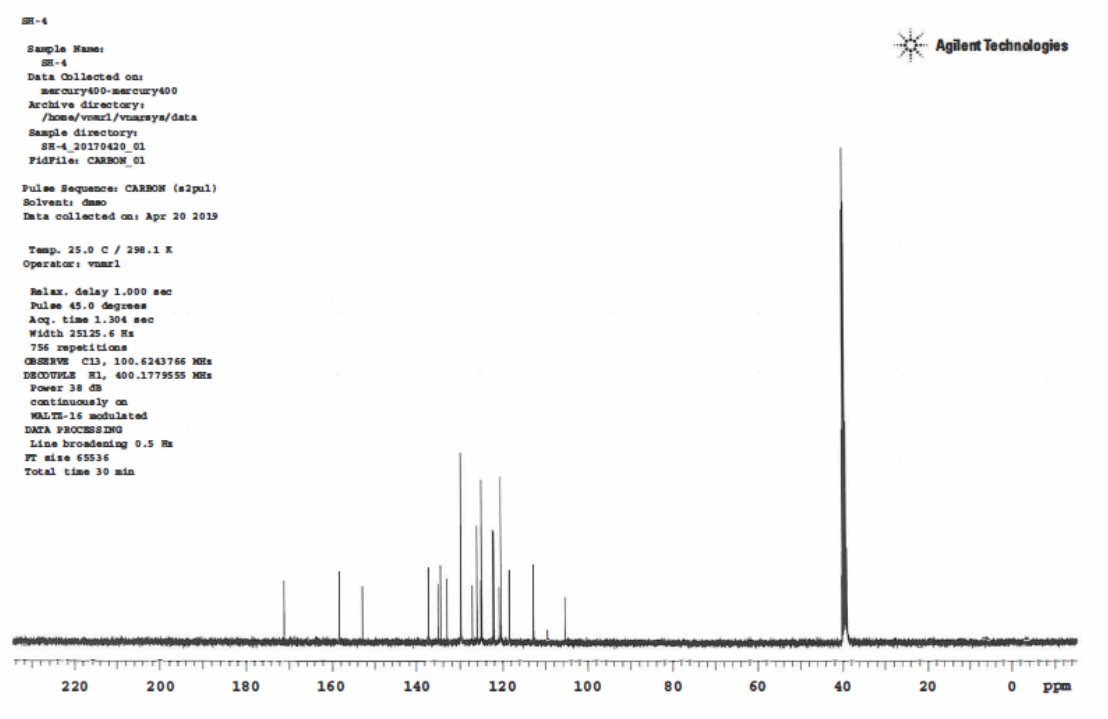
Kütle Spektrumu m/z (%X): 418,5 ((M+33) (M+CH_3OH+H)) (%100)

Kapalı Formülü ve Molekül Ağırlığı: $C_{23}H_{17}N_3OS$; 383,47 g/mol

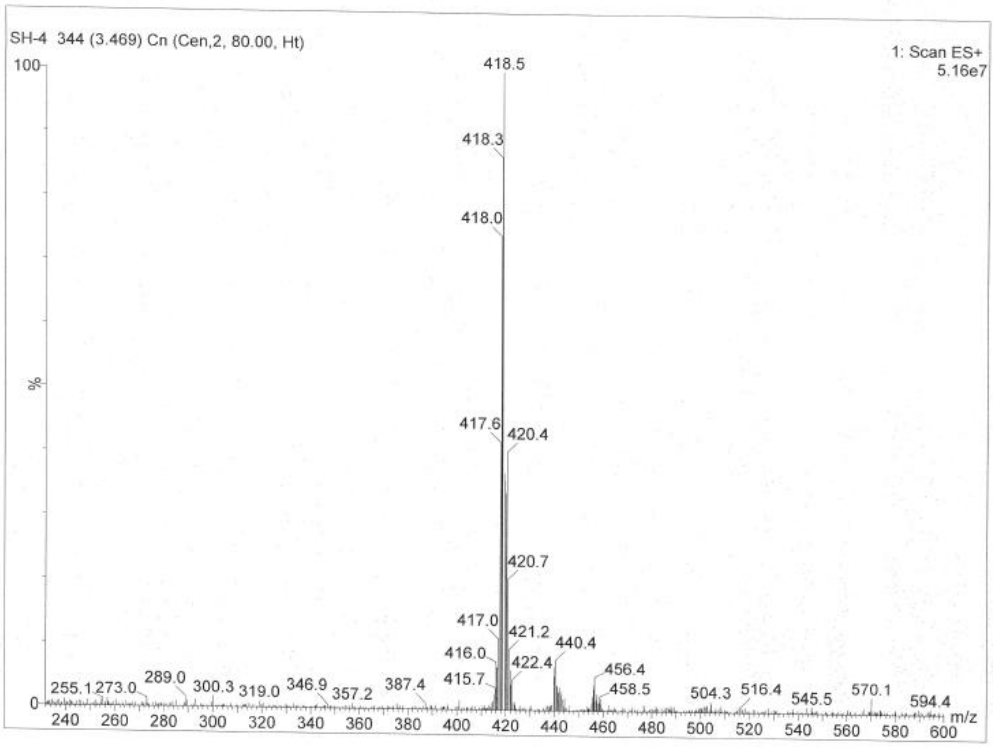
Bileşiğe ait *[1]H*-NMR (Şekil 89), *[13]C*-NMR (Şekil 90) ve Kütle spektrumları (Şekil 91) aşağıda verilmiştir.



Şekil 89. 4 nolu bileşiğin *[1]H*-NMR spektrumu

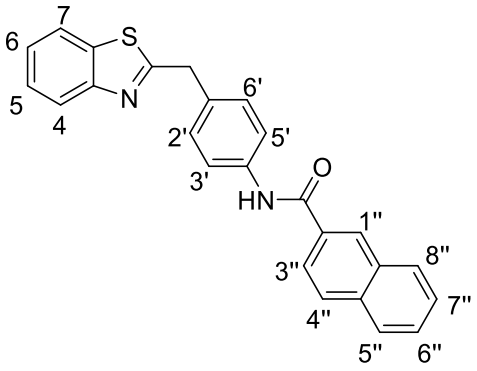


Şekil 90. 4 nolu bileşiğin *[13]C*-NMR spektrumu



Şekil 91. 4 nolu bileşiğin kütle spektrumu

Bileşik 5



Şekil 92. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil) fenil)-2-naftamit (Bileşik 5)

Yöntem B'ye göre gerçekleştirilen 5 numaralı bileşiğin (Şekil 92) sentezinde 0,002 mol 2-(*p*-aminobenzil)benzotiyazol (sentezi Yöntem A'da verilmektedir), 0,002 mol 2-naftoik asit,

0,002 mol sodyum bikarbonat kullanılmıştır. Sentez sonunda % 56 verimle 441 mg saf ürün elde edilmiştir.

Erime Noktası: : 198 – 199,2 ºC

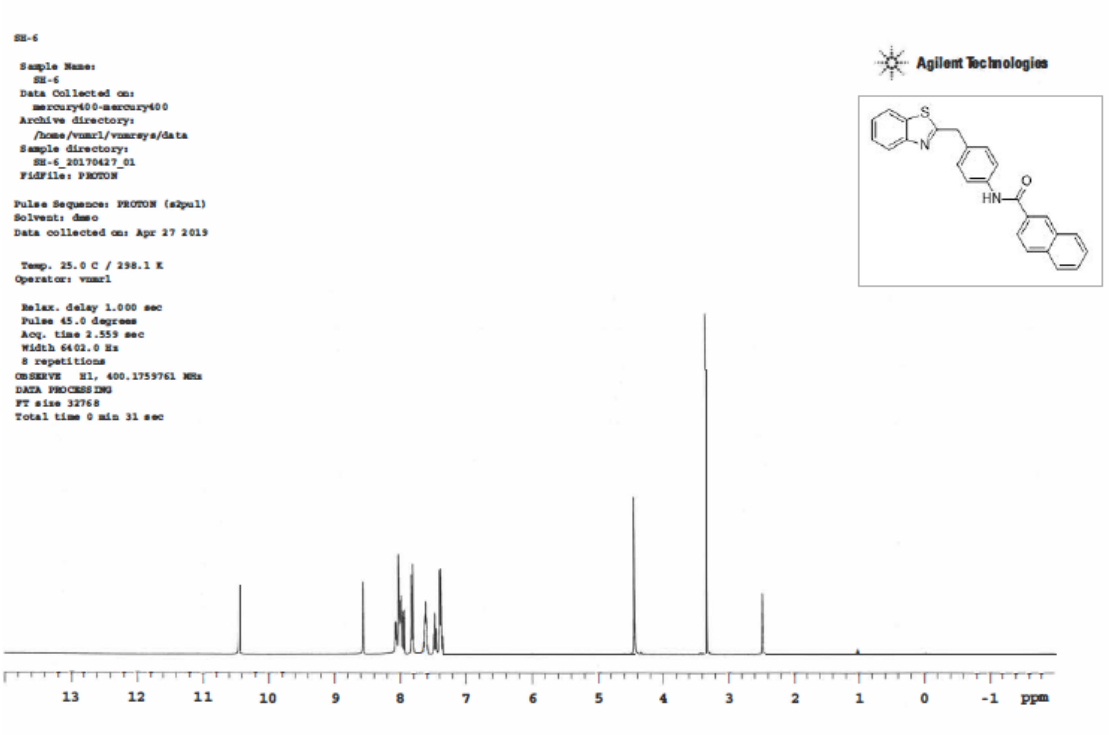
***^{1}H*-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO-d_6) δ ppm:** 10,447 (s, H, NH protonu), 8,57 (s, H, 1'' protonu), 8,07 – 7,93 (m, 6H, 4, 7, 3'', 4'', 5'' ve 8'' protonları), 7,81 (d, 2H, J=8 Hz, 3', 5' protonları), 7,64–7,57 (m, 2H, 6'' ve 7'' protonları), 7.47 (t, H, 5/6 protonu), 7,45 – 7,35 (m, 3H, 5/6, 2' ve 6' protonları) 4,440 (s, H, CH_2 protonu).

***^{13}C*-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ:**171.367, 165.530, 152.903, 138.234, 135.041, 134.241, 132.687, 132.207, 132.054, 129.425, 128.915, 127.978, 127.940, 127.787, 127.642, 126.819, 126.057, 124.823, 124.427, 122.278, 122.072, 120.632.

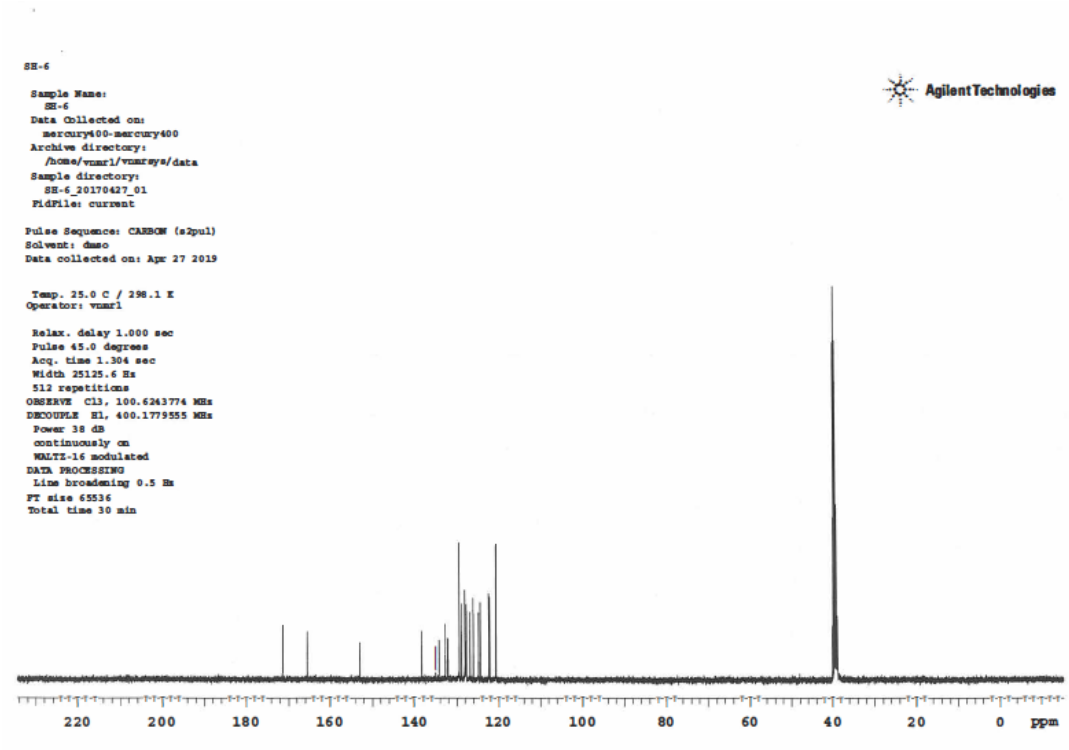
Kütle Spektrumu m/z (%X): 395,5 (M^++H)(%100)

Kapalı Formülü ve Molekül Ağırlığı: $C_{25}H_{18}N_2OS$; 394,49 g/mol

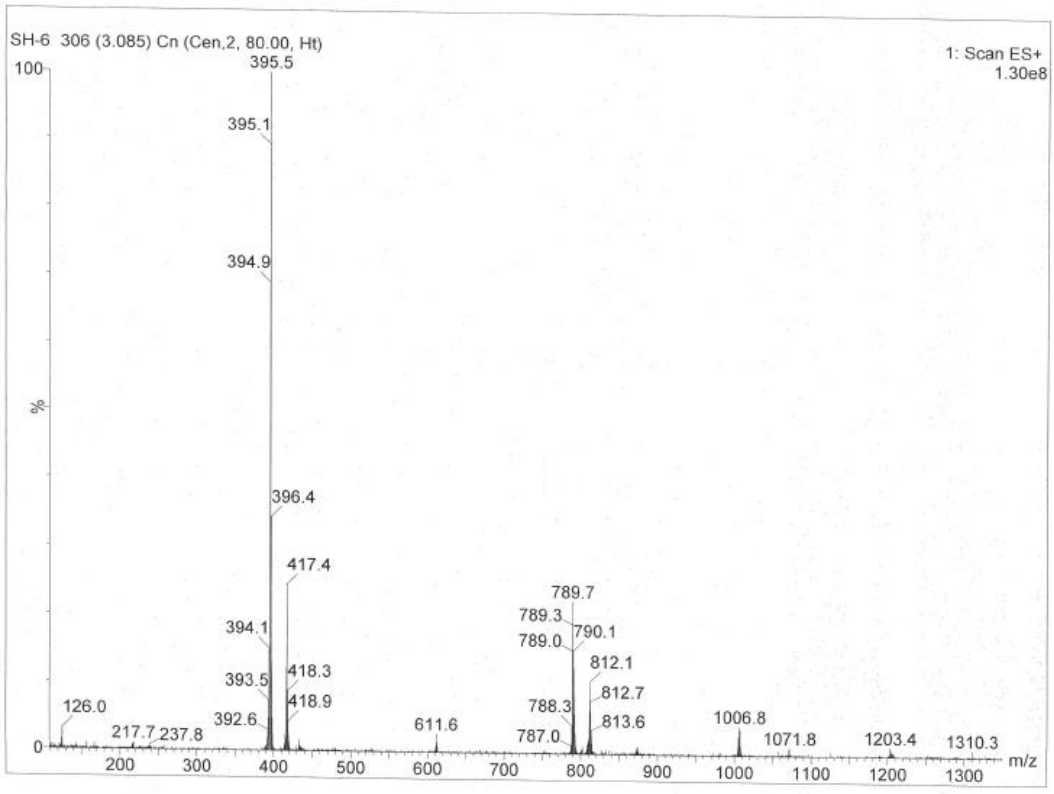
Bileşiğe ait ^{1}H-NMR (Şekil 93), ^{13}C-NMR (Şekil 94) ve Kütle spektrumları (Şekil 95) aşağıda verilmiştir.



Şekil 93. 5 nolu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu

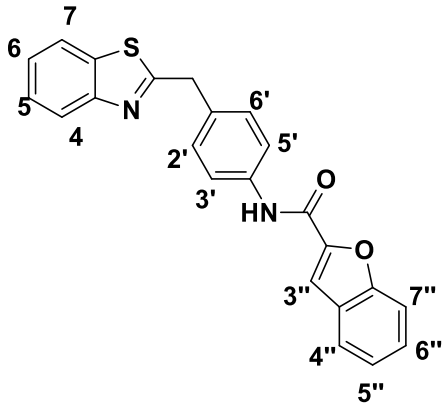


Şekil 94. 5 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu



Şekil 95. 5 nolu bileşiğin kütle spektrumu

Bileşik 6



Şekil 96. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)benzofuran-2-karboksamit (Bileşik 6)

Yöntem B'ye göre gerçekleştirilen 6 numaralı bileşiğin (Şekil 96) sentezinde 0,002 mol 2-(*p*-aminobenzil)benzotiyazol (sentezi Yöntem A'da verilmektedir), 0,002 mol benzofuran-2-

karboksilik asit, 0,002 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 57 verimle 438 mg saf ürün elde edildi.

Erime Noktası: : 198,8 - 200,7 ºC

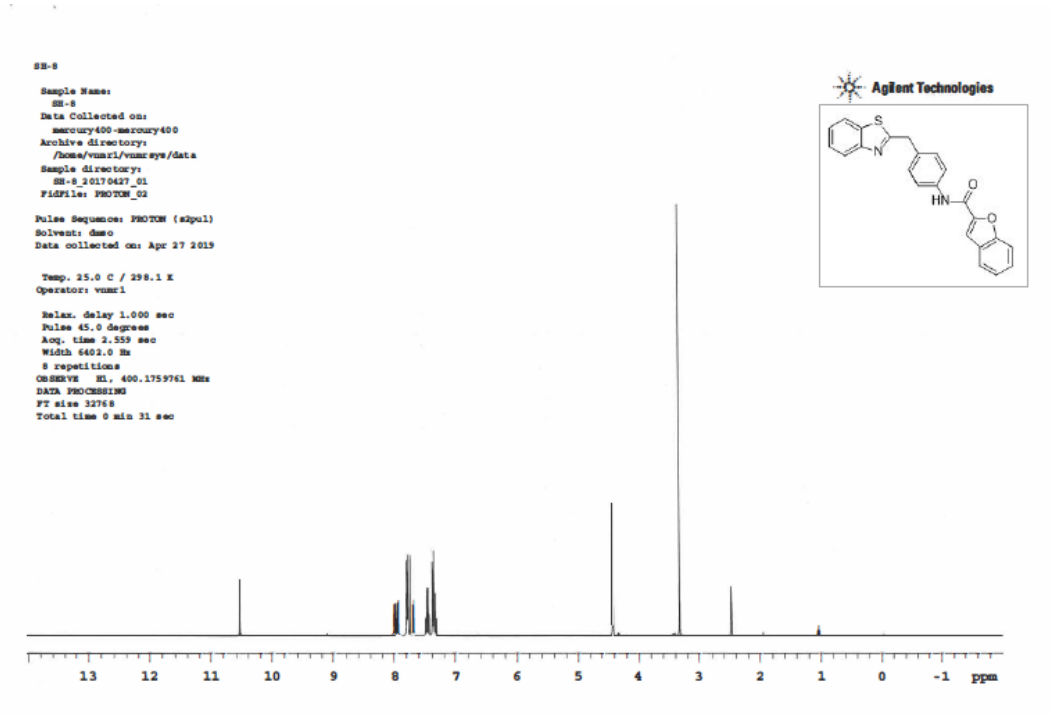
***[1]H*-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO-d_6) δ ppm:** 10,54 (s, H, NH protonu), 7,98 (d, H, J=7,6 Hz, 4 protonu), 7,93 (d, H, J= 8 Hz, 7 protonu), 7,80 – 7,68 (m, 5H, 3', 5', 3'', 4'' ve 7'' protonları), 7,50 – 7,32 (m, 6H, 5, 6, 2', 6', 5'' ve 6'' protonları), 4,432 (s, 2H, CH_2 protonu).

***[13]C*-NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ:** 171.222, 156.599, 154.420, 152.888, 148.735, 137.312, 135.019, 133.121, 129.471, 127.124, 127.109, 126.057, 124.830, 123.817, 122.887, 122.270, 122.072, 120.792, 111.914, 110.657.

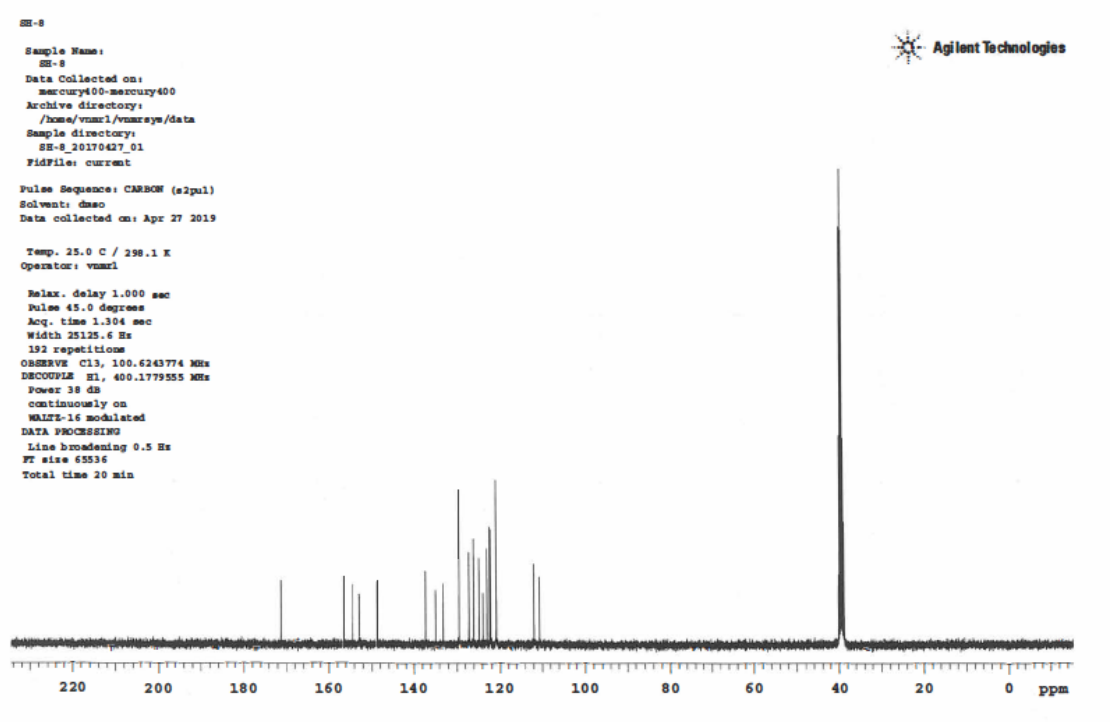
Kütle Spektrumu m/z (%X): 385,2 (M^++H)(%)

Kapalı Formülü ve Molekül Ağırlığı: $C_{23}H_{16}N_2O_2S$; 384,45 g/mol.

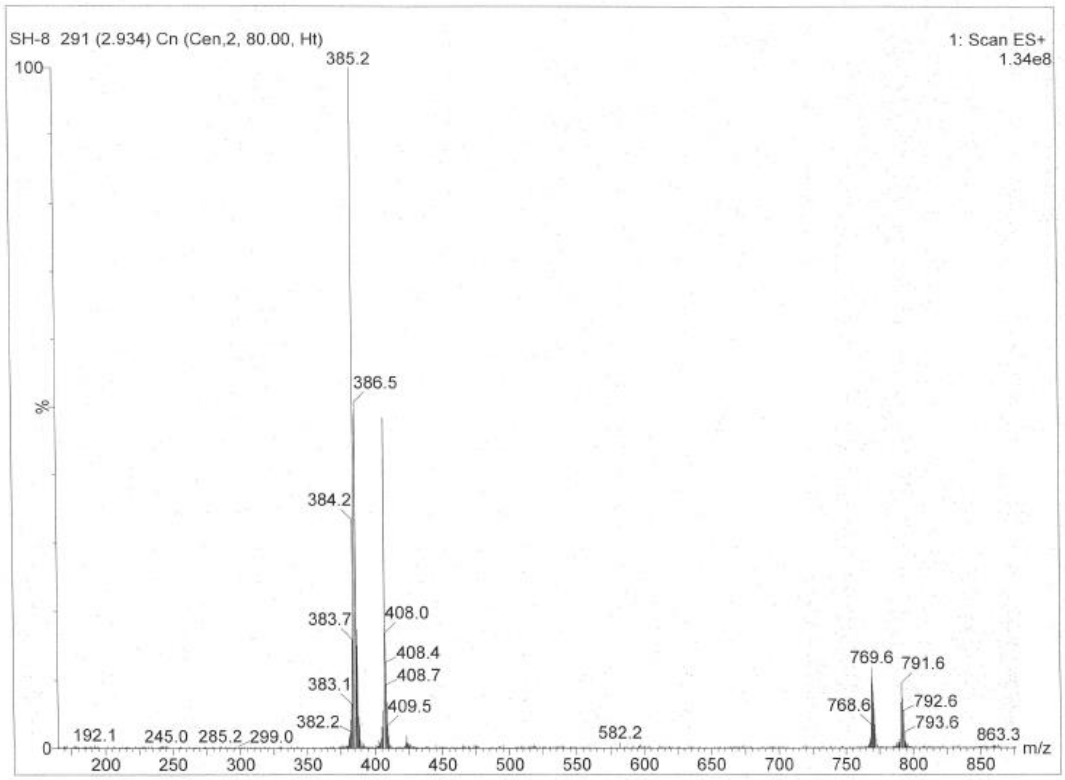
Bileşiğe ait *[1]H*-NMR (Şekil 97), *[13]C*-NMR (Şekil 98) ve Kütle spektrumları (Şekil 99) aşağıda verilmiştir.



Şekil 97. 6 nolu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu

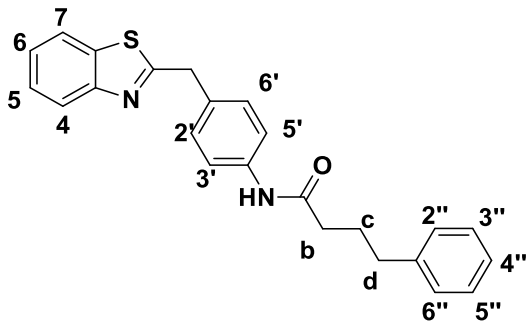


Şekil 98. 6 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu



Şekil 99. 6 nolu bileşiğin kütle spektrumu

Bileşik 7



Şekil 100. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)-4-fenilbütanamit (Bileşik 7)

Yöntem B'ye göre gerçekleştirilen 7 numaralı bileşiğin (Şekil 100) sentezinde 0,002 mol 2-(*p*-aminobenzil)benzotiyazol (sentezi Yöntem A'da verilmektedir), 0,002 mol 4-fenil bütirik asit, 0,002 mol sodyum bikarbonat kullanılmıştır. Sentez sonunda % 59 verimle 456 mg saf ürün elde edilmiştir.

Erime Noktası: : 174,8 – 176,1 ºC

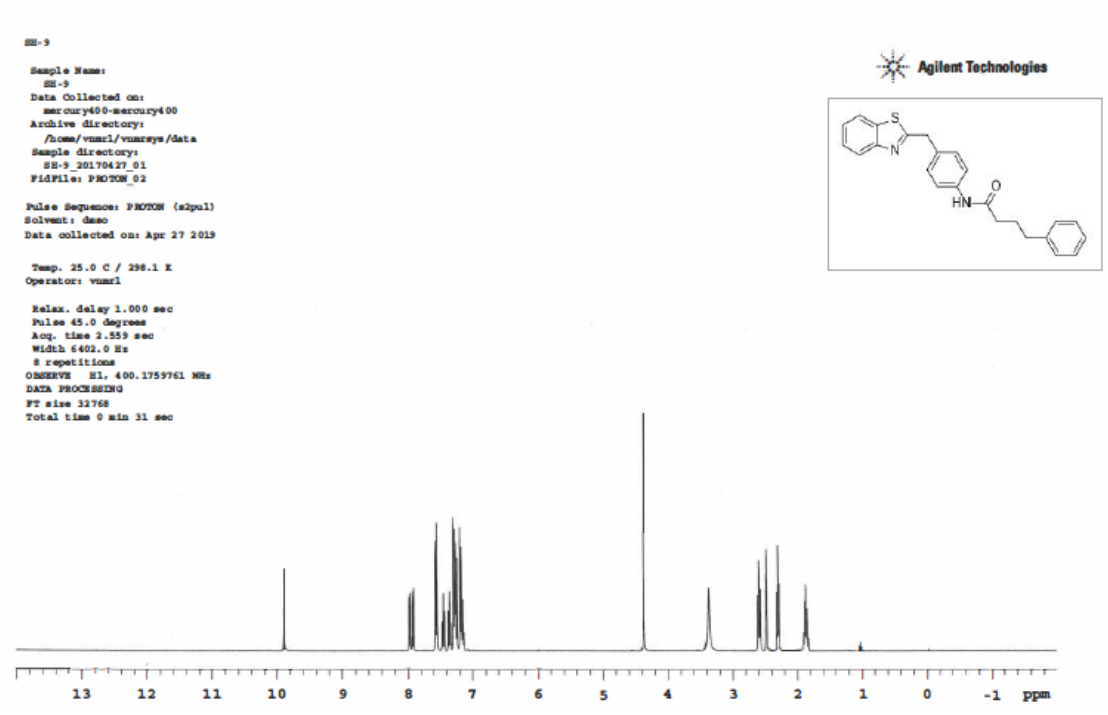
***[1]H*-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO-*d*$_6$) δ ppm:** 9,89 (s, 1H, NH protonu), 7,97 (d, 1H, J= 7,6 Hz, 4 protonu), 7,92 (d, 1H, J= 7,6 Hz, 7 protonu), 7,56 (d, 2H, J= 8,4 Hz, 3' ve 5' protonları), 7,45, (t, H, 5/6 protonu), 7,35 (t, H, 5/6 protonu), 7,29 -7,24 (m, 4H, 2',6', 3'' ve 5'' protonları), 7-19-7,13 (m, 3H, 2'', 4'', 6'' protonları), 4,37 (s, 2H, -CH_2- protonları), 2,59, (t, 2H, b/d protonları), 2,30 (t, 2H, b/d protonları), 1,90 – 1,83 (m, 2H, c protonları).

***[13]C*-NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ:** 171.451, 170.887, 152.880, 141.642, 138.311, 135.011, 131.887, 129.403, 128.305, 128.267, 126.027, 125.753, 124.792, 122.240, 122.042, 119.321, 35.713, 34.593, 26.729.

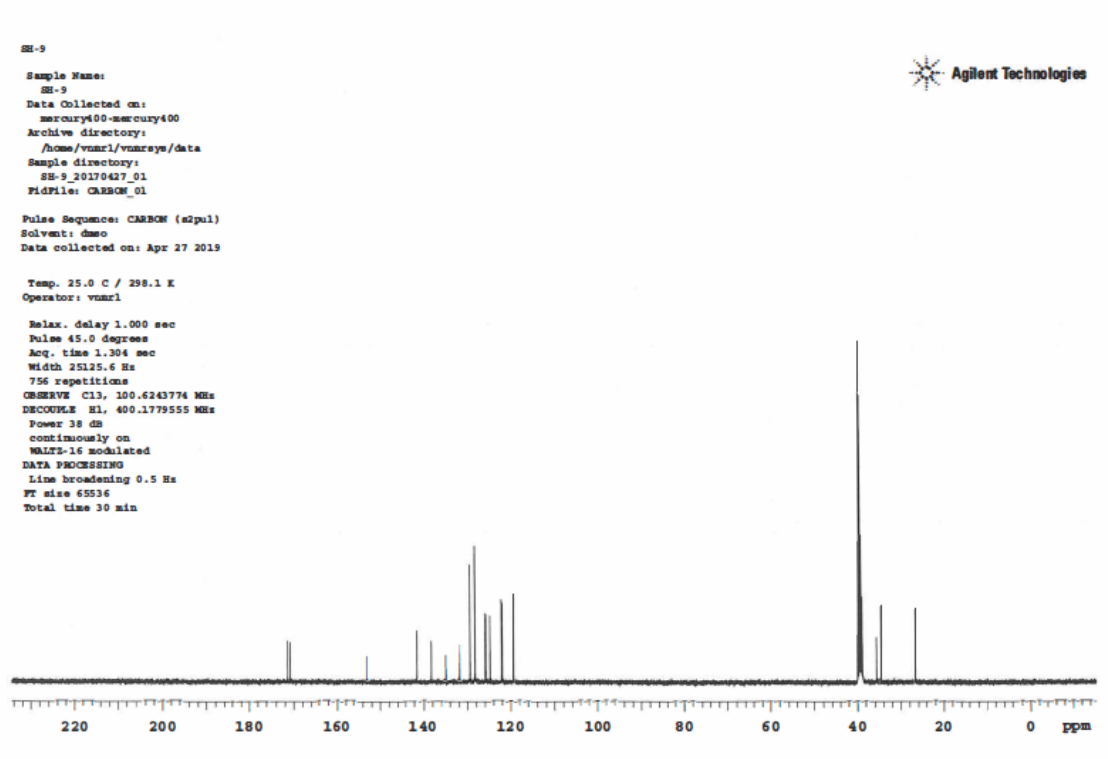
Kütle Spektrumu m/z (%X): 387,3 (M^++H)(%)

Kapalı Formülü ve Molekül Ağırlığı: $C_{24}H_{22}N_2OS$, 386,51 g/mol

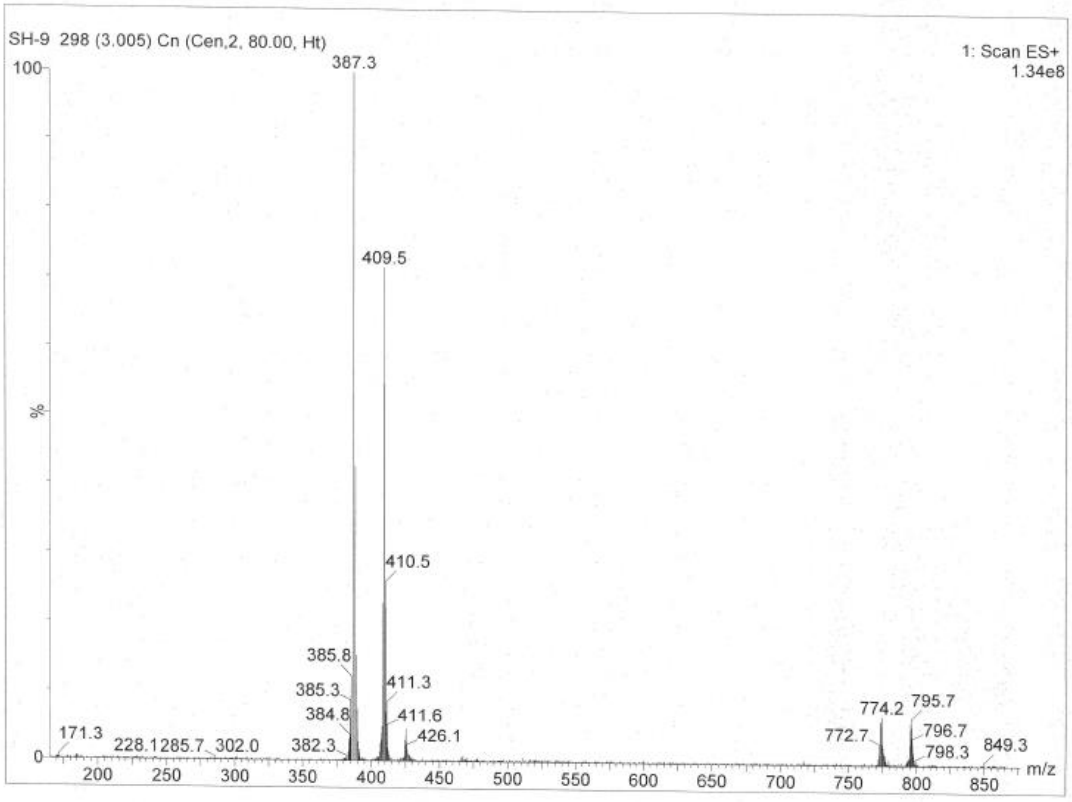
Bileşiğe ait *[1]H*-NMR (Şekil 101), *[13]C*-NMR (Şekil 102) ve kütle spektrumları (Şekil 103) aşağıda verilmiştir.



Şekil 101. 7 nolu bileşiğin *[1]H*-NMR spektrumu

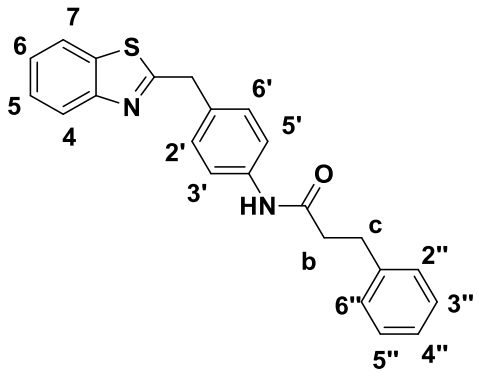


Şekil 102. 7 nolu bileşiğin *[13]C*-NMR spektrumu



Şekil 103. 7 nolu bileşiğin kütle spektrumu

Bileşik 8



Şekil 104. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)-3-fenilpropanamit (Bileşik 8)

Yöntem B'ye göre gerçekleştirilen 8 numaralı bileşiğin (Şekil 105) sentezinde 0,002 mol 2-(*p*-aminobenzil)benzotiyazol (sentezi Yöntem A'da verilmektedir), 0,002 mol 3-fenilpropanoik asit (hidrosinnamik asit), 0,002 mol sodyum bikarbonat kullanılmıştır. Sentez sonunda % 58 verimle 432 mg saf ürün elde edilmiştir.

Erime Noktası: : 161,8 – 162,4 ºC

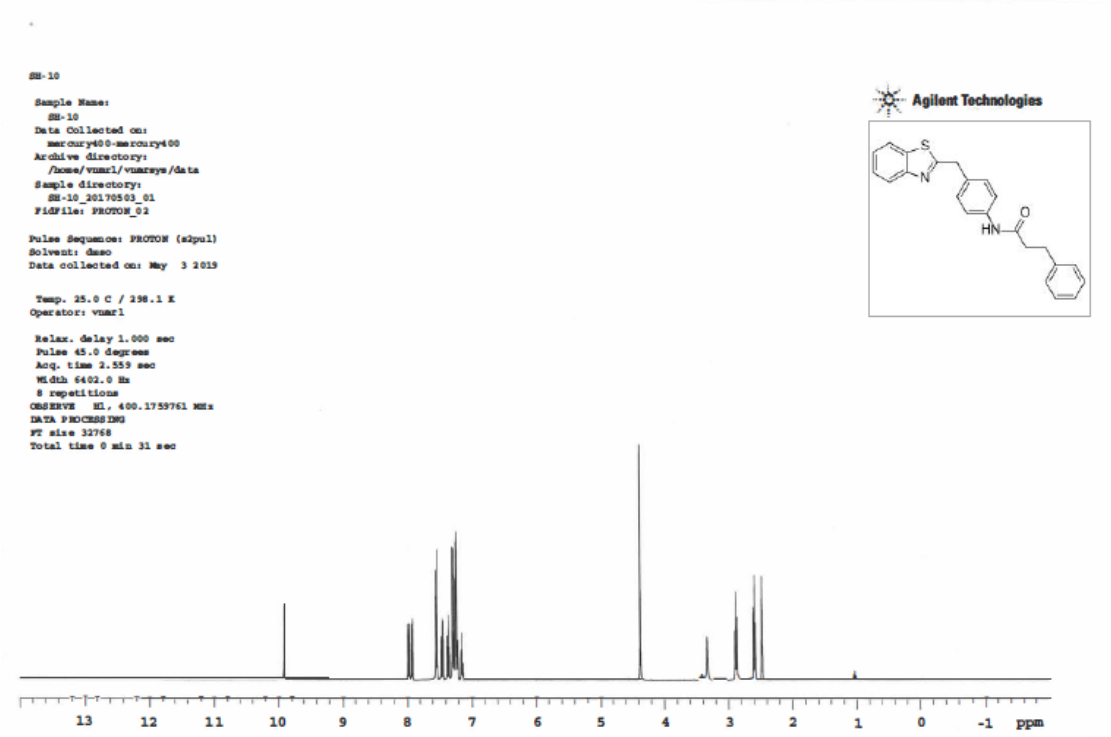
***[1]H*-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO-*d*$_6$) δ ppm:** 9,91 (s, 1H, NH protonu), 7,98 (d, Hz, J= 8.4, 1H, 4 protonu), 7,91 (d, 1H, J= 8 Hz, 7 protonu), 7,54 (d, 2H, J=8,8 Hz, 3' ve 5' protonları), 7,45 (t, 1H, 5/6 protonu), 7,35 (t, 1H, 5/6 protonu), 7,29 -7,13 (m, 7H, 2',6', 2'', 3'', 4'', 5'' ve 6'' protonları), 4,37 (s, 2H, -CH_2- protonları), 2,88 (t, 2H, b/c protonları), 2,59 (t, 2H, b/c protonları).

***[13]C*-NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ:** 171.045, 170.308, 152.880, 141.145, 138.196, 135.003, 131.971, 129.433, 128.275, 128.199, 126.027, 125.897, 124.792, 122.240, 122.042, 119.306, 37.885, 30.775,

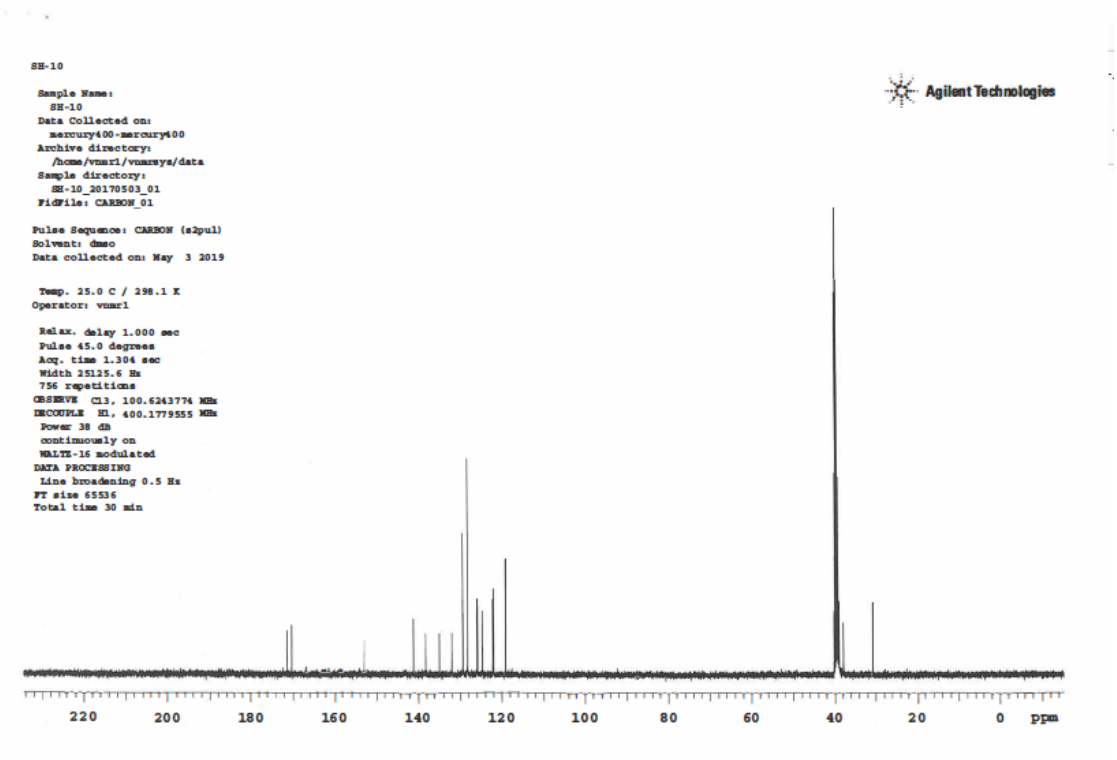
Kütle Spektrumu m/z (%X): 373,4 (M^++H) (%100)

Kapalı Formülü ve Molekül Ağırlığı: $C_{23}H_{20}N_2OS$; 372,49 g/mol

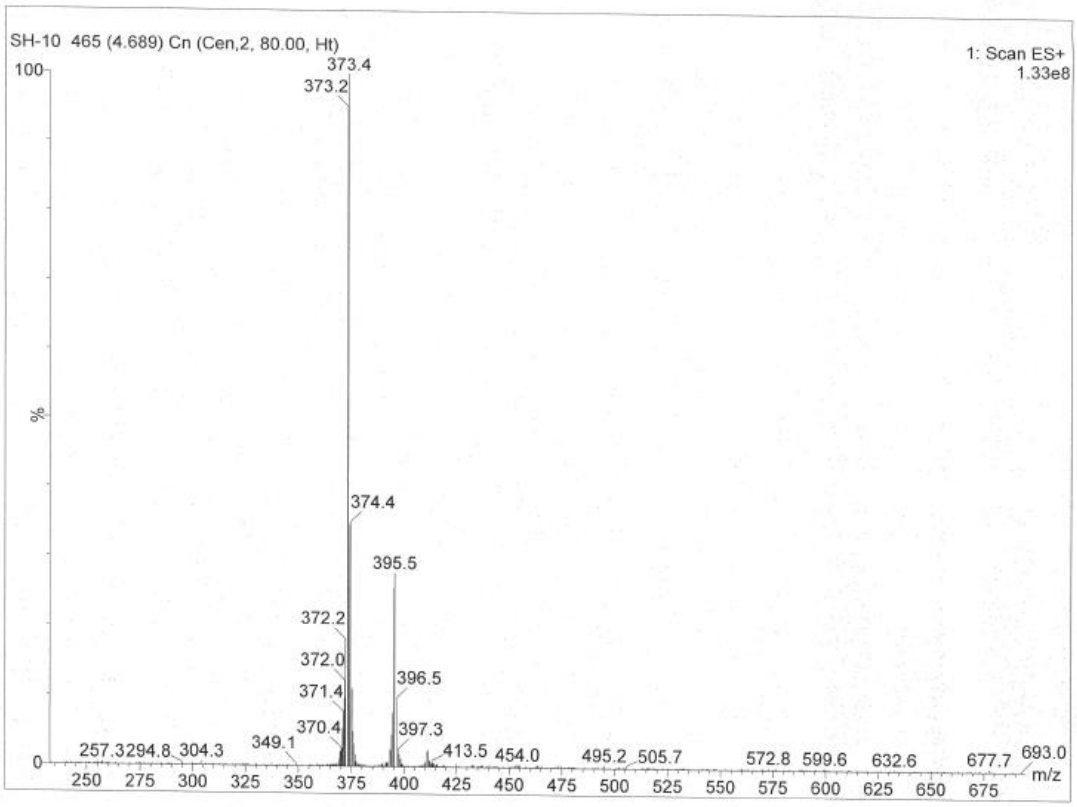
Bileşiğe ait *[1]H*-NMR (Şekil 105), *[13]C*-NMR (Şekil 106) ve Kütle spektrumları (Şekil 107) aşağıda verilmiştir.



Şekil 105. 8 nolu bileşiğin *^{1}H*-NMR spektrumu

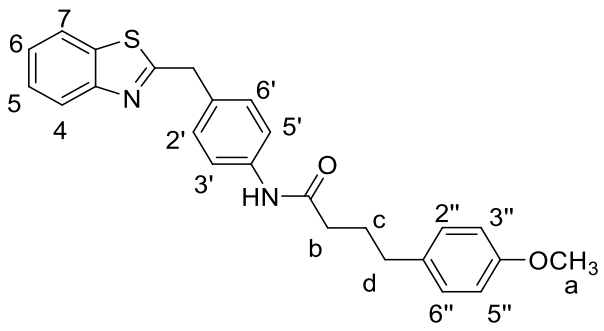


Şekil 106. 8 nolu bileşiğin *^{13}C*-NMR spektrumu



Şekil 107. 8 Nolu bileşiğin kütle spektrumu

Bileşik 9



Şekil 108. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)-4-(4-metoksifenil)bütanamit (Bileşik 9)

Yöntem B'ye göre gerçekleştirilen 9 numaralı bileşiğin (Şekil 108) sentezinde 0,002 mol 2-(*p*-aminobenzil)benzotiyazol (sentezi Yöntem A'da verilmektedir), 0,002 mol 4-(4-

metoksifenil)bütirik asit, 0,002 mol sodyum bikarbonat kullanılmıştır. Sentez sonunda % 62 verimle 516 mg saf ürün elde edilmiştir.

Erime Noktası: : 144,4 -145,8 ºC

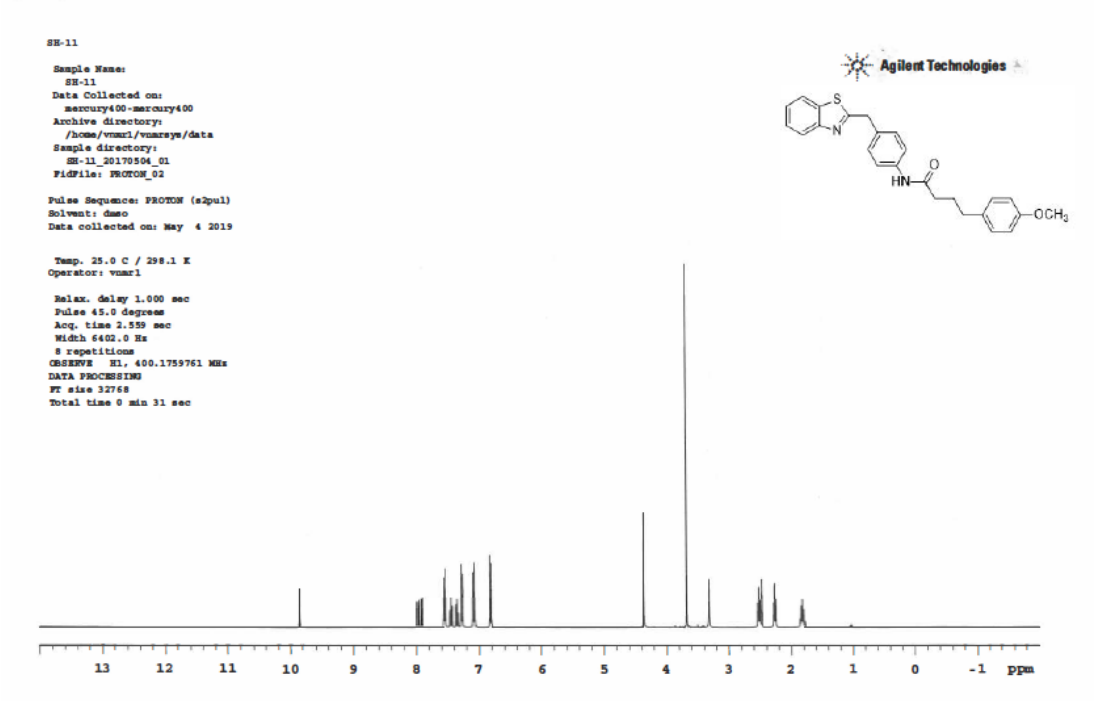
***[1]H*-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO-*d_6*) δ ppm:** 9,86 (s, 1H, NH protonu), 7,97 (d, 1H, J =7,2 Hz, 4 protonu), 7,91 (d, 1H, J=8 Hz, 7 protonu), 7,55 (d, 2H, J= 8,8 Hz, 3' ve 5' protonları), 7,45 (t, 1H, 5/6 protonu), 7.35 (t, 1H, 5/6 protonu), 7,27 (d, 2H, J= 8,8 Hz, 2', 6' protonları), 7,09 (d, 2H, J=6,8 Hz, 2'' ve 6'' protonları), 6,82 (d, 2H, J=6,8 Hz, 3'' ve 5'' protonları), 4,37 (s, 2H, -CH_2- protonları), 3,68 (s, 3H, -OCH_3 protonları), 2,52 (t, 2H, b/d protonları), 2,27 (t, 2H, b/d protonları), 1,82 (m, 2H, c protonları).

***[13]C*-NMR (75 MHz, DMSO-*d_6*): δ:** 171.451, 170.940, 157.414, 152.880, 138.318, 135.318, 135.011, 133.464, 131.879, 129.403, 129.220, 126.034, 124.792, 122.240, 122.042, 119.314, 113.690, 54.923, 35.682, 33.693, 26.965.

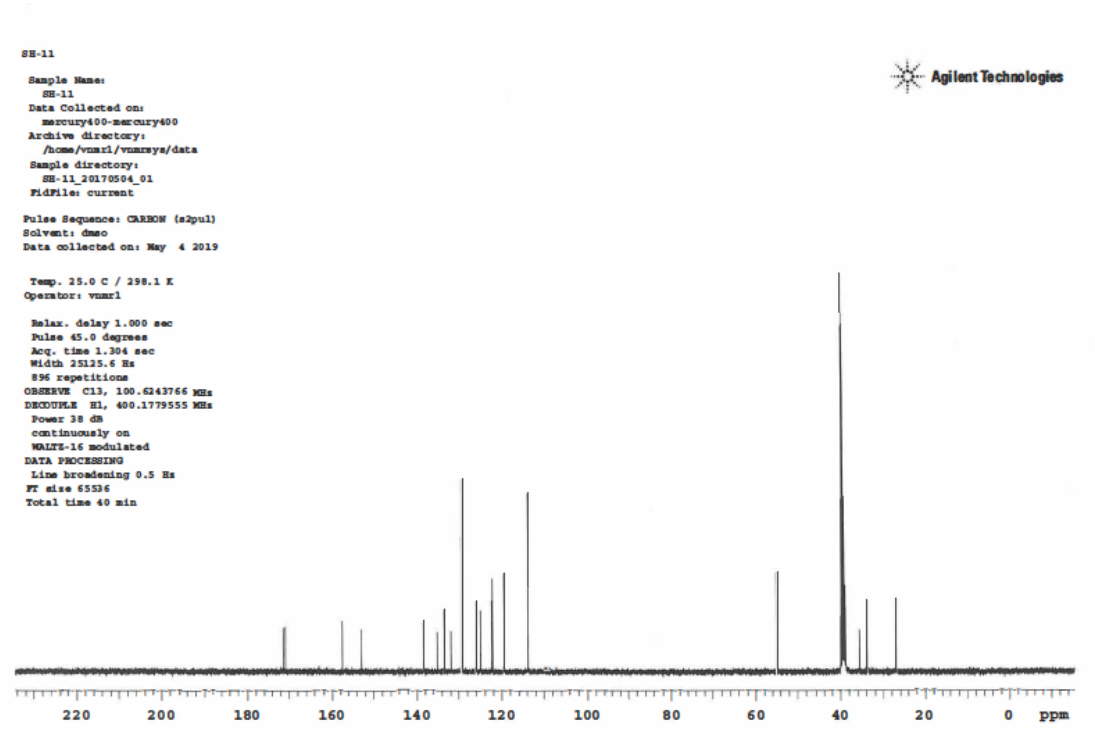
Kütle Spektrumu m/z (%X): 417,4 (M^++H)(%100).

Kapalı Formülü ve Molekül Ağırlığı: $C_{25}H_{24}N_2O_2S$; 416,54 g/mol

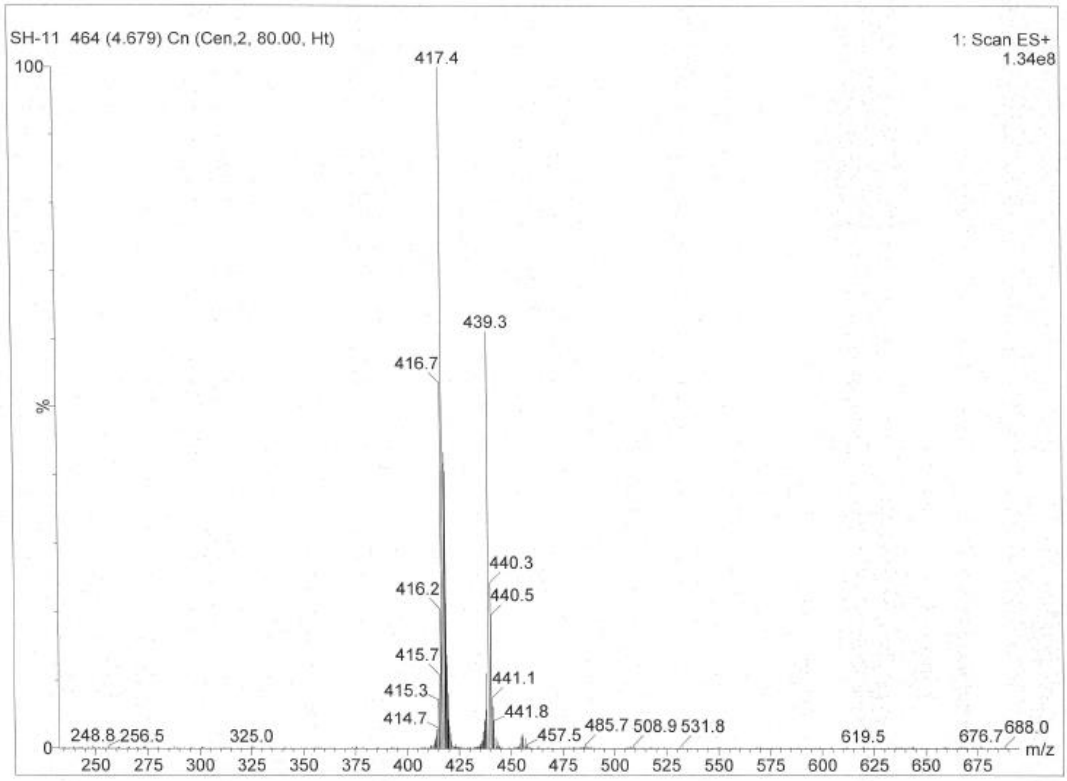
Bileşiğe ait *[1]H*-NMR (Şekil 109), *[13]C*-NMR (Şekil 110) ve Kütle spektrumları (Şekil 111) aşağıda verilmiştir.



Şekil 109. 9 nolu bileşiğin *[1]H*-NMR spektrumu



Şekil 110. 9 nolu bileşiğin *[13]C*-NMR spektrumu



Şekil 111. 9 nolu bileşiğin kütle spektrumu

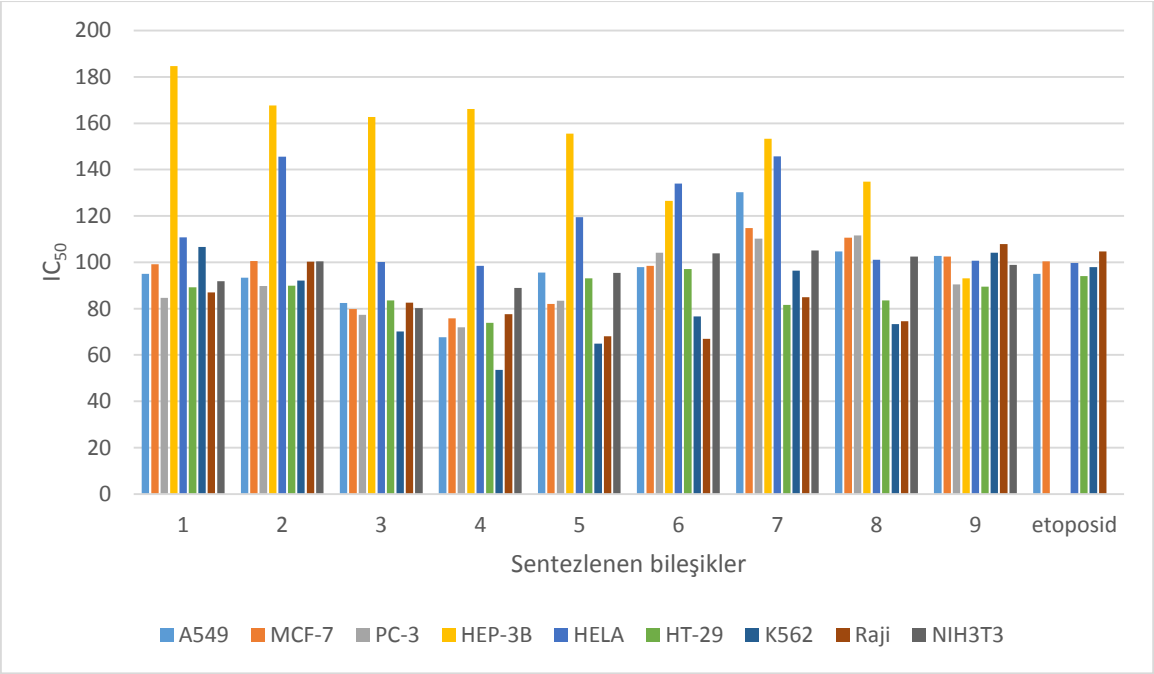
ANTİKANSER AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

MTT Yöntemi İle Bileşiklerin Antiproliferatif Etki Sonuçları

Yüksek lisans tezi kapsamında sentezlenen bileşiklerin ve referans bileşik olarak seçilen etopozidin, A549, MCF-7, PC-3, HEP-3B, HeLa, HT-29, K562, Raji, NIH3T3 hücre hatları üzerindeki MTT yöntemi kullanılarak test edilen antiproliferatif etkileri IC_{50} değerleri Tablo 6 ve Şekil 112'de sunulmuştur.

Tablo 6. Sentezlenen bileşiklerin MTT analizi sonrası çeşitli hücrelerde ölçülen IC_{50} değerleri (b: bileşik, h: hücre hattı)

h \ b	1	2	3	4	5	6	7	8	9	etoposid
A549	95,05	93,40	82,39	67,61	95,52	97,88	130,27	104,72	102,69	95,01
MCF-7	99,21	100,58	79,84	75,81	82,00	98,42	114,76	110,66	102,49	100,40
PC-3	84,68	89,71	77,38	71,93	83,45	104,08	110,19	111,52	90,39	*
HEP-3B	184,70	167,70	162,69	166,15	155,45	126,54	153,28	134,73	93,12	*
HeLa	110,76	145,53	100,06	98,47	119,48	133,98	145,75	101,13	100,67	99,73
HT-29	89,23	89,94	83,60	73,90	93,09	97,05	81,62	83,60	89,46	93,97
K562	106,57	92,13	70,19	53,52	64,86	76,62	96,44	73,33	104,17	97,97
Raji	87,04	100,20	82,54	77,59	68,11	66,92	84,92	74,62	107,83	104,73
NIH3T3	91,86	100,46	80,27	88,87	95,44	103,78	105,14	102,41	98,84	*



Şekil 112. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) A549, MCF-7, PC-3, HEP-3B, HeLa, HT-29, K562, Raji, NIH3T3 hücre hatlarına ait referans bileşik etoposid varlığında IC_{50} değerleri (µM)

MOLEKÜLER MODELLEME ÇALIŞMALARI

Moleküler Doking Sonuçları

Tez çalışması kapsamında sentezlenmiş olan bileşiklerin çeşitli kanserle ilişkisi olduğu bilinen proteinler üzerilerindeki etkilerini değerlendirmek üzere yapılan doking çalışmasında Protein Veri Bankası (PDB)'ndan alınan Hsp90 (pdb:5GGZ), CDK-2 (pdb:5IEY), Topoizomeraz II (pdb:3QX3), K-Ras (pdb:4EPR), K-Ras G12C (pdb:5V9O ve 4L8G) kodlu kristal yapıdaki proteinler üzerinde protein-ligand etkileşimleri analiz edilmiştir. Bileşiklerin bu proteinlerin bağlanma bölgelerinde yaptığı etkileşimler doğrultusunda elde edilen en düşük bağlanma enerjileri sırasıyla Tablo 7, Tablo 8, Tablo 9, Tablo 10, Tablo 11 ve Tablo 12'de verilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 5GGZ proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri Tablo 7'de gösterilmiştir;

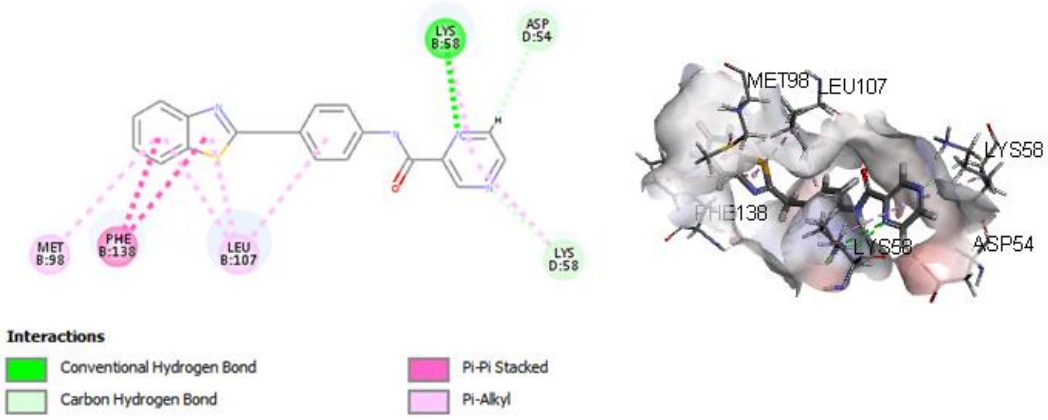
Tablo 7. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 5GGZ proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri ve çeşitli aminoasitler/rezidüler ile etkileşimleri

Bileşik	Bağlanma Enerjisi	Etkileştiği Aminoasitler/ Rezidüler
1	-65,6236	LYS58(B)[a,f], LYS58(D)[e], ASP57(D)[j], LEU107(B)[e], ILE110(B)[e], VAL186(B)[e], PHE138(B)[b], MET98(B)[e], VAL150(B)[e]
2	-68,6842	LYS58(B)[a], LYS58(D)[e], PHE138(B)[b], LEU107(B)[e]
3	-91,8223	PHE138(B)[b,] LYS58(B)[a,e], LYS58(D)[c,e], MET98(B)[e], LEU107(B)[e], ASP54(D)[c]
4	-44,1648	LYS58(D)[f,e], LYS58(B)[e, c], ASP57(D)[j], ILE110(B)[e], PHE138(B)[b], LEU107(B)[e]
5	-79,6508	TYR139(B)[d], PHE138(B)[d], LYS58(B)[f,e], LYS58(D)[e], ILE96B)[e], LEU107(B)[g,e]
6	-46,0393	MET98(B)[e], PHE138(B)[b], LEU107(B)[e], LYS58(B)[e,f], LYS58(D)[e]
7	-60,1325	LYS58(D)[e], LYS58(B)[e,f,a], PHE138(B)[b], LEU120(B)[e]
8	-67,7619	PHE138(B)[b], LEU107(B)[e], LYS58(B)[a,f] , LYS58(D)[e], TYR61(D)[d]
9	-78,7659	MET98(B)[g], ASN51(B)[c], LYS58(B)[a,f,e] , LYS58(D)[f, e], ASP57(D)[j], ILE110(B)[e]

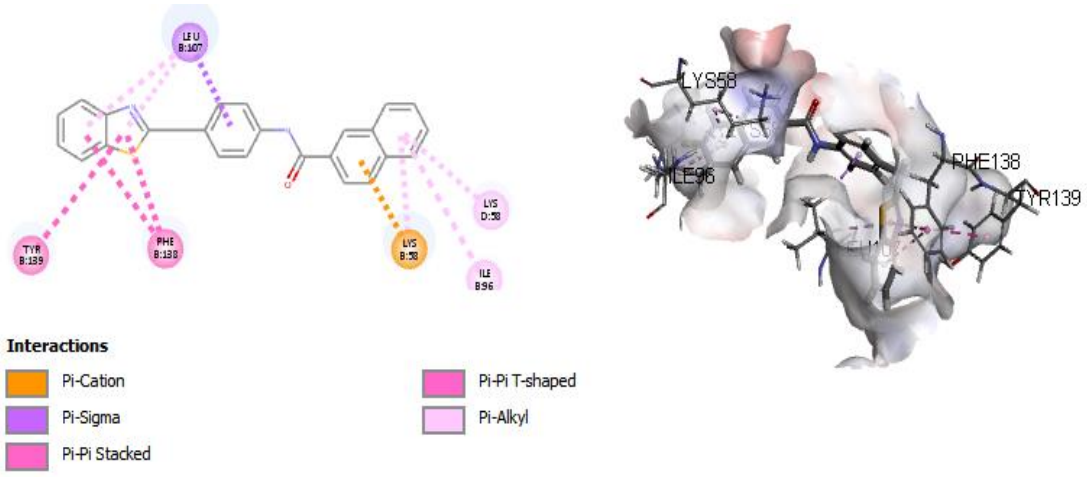
a: Konvansiyonel H bağı, b: π-π Stacked, c: Karbon Hidrojen bağı, d: π-π T shaped, e: π-alkyl, alkyl, f: π-katyon, g: π -sülfur, h: π -donör H bağı, j: π-anyon, k: amit Pi-Stacked, m: π -sigma, n:metal akseptör.

5GGZ proteinine en düşük enerjili bağlanma gösteren bileşikler 3 ve 5'tir (Tablo 7). Bileşik 3'ün benzotiyazol halkasında 3 adet π etkileşimi bulunmaktadır. Bunlar proteine ait B zincirinde Phe138 aminoasiti ile π-π T shaped, ve Leu107 ve Met98 ile de π-alkil

etkileşimleridir. Benzotiyazol halkasının ikinci konumuna bağlı olan benzil halkası yine Leu107 aminoasiti ile π-alkil etkileşimi bulunmaktadır. Amit yapısındaki asit bölgesine ait fenil halkasında kurulan etkileşimler de; proteinin A zincirindeki Lys58 ile konvansiyonel H bağı ve π-alkil etkileşimi, D zincirindeki Asp54 aminoasiti ile Karbon Hidrojen bağı, ve D zincirindeki Lys58 aminoasiti ile Karbon Hidrojen bağı ve π-alkil etkileşimidir (Tablo 7, Şekil 113).



Şekil 113. Bileşik 3'ün 5GGZ proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü



Şekil 114. Bileşik 5'in 5GGZ proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü

Bileşik 5'in benzotiyazol halkasında 5GGZ protieini ile 3 adet π etkileşimi bulunmaktadır. Bunlar proteine ait B zincirinde Tyr139 Phe138 aminoasitleri ile π-π T shaped, ve Leu107 ile de π-alkil etkileşimleridir. Benzotiyazol halkasının ikinci konumuna bağlı olan benzil halkası B zincirinde Leu107 aminoasiti ile π-sigma etkileşimi kurmaktadır. Amit yapısındaki asit bölgesine ait naftalen halkasında kurulan etkileşimler de; proteinin B

zincirindeki Lys58 ile π-katyon ve π-alkil etkileşimi, D zincirindeki Lys58 ve B zincirindeki Ile96 aminoasitleri ile π-alkil etkileşimleridir (Tablo 7, Şekil 114).

Tablo 8. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 5IEY proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri ve çeşitli aminoasitler/rezidülerle etkileşimleri

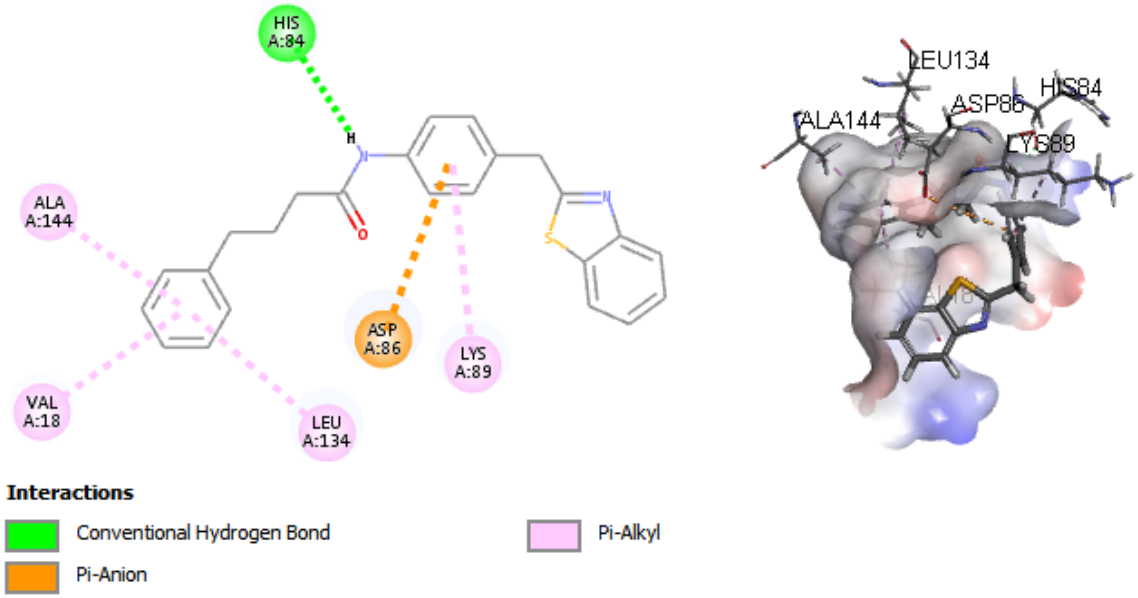
Bileşik	Bağlanma Enerjisi	Etkileştiği Aminoasitler/ Rezidüler
1	-47,5435	LYS89[a], ILE110[e], LEU134[e], VAL18[e], ALA144[e]
2	-52,7046	ALA144[e], VAL18[e], LEU134[e], ILE10[e], LYS89[a]
3	-21,5616	ALA144[e], VAL18[e], LEU134[e], ALA31[e], ILE10[a], LYS53[a]
4	-58,0135	ASP86[a], LEU134[e], ILE10[e], ALA31[e], ALA144[e], VAL18[e], LYS89[e]
5	-71,897	ALA144[e], VAL18[e], LEU134[e], ILE10[e], ASP86[a], GLY11[c]
6	-46,8336	ALA144[e], VAL18[e], LEU134[e], ILE10[e], ALYS89[e], ASP86[a]
7	-75,7542	HIS84[a], ALA144[e], VAL18[e], LEU134[e], ASP86[f], LYS89[e]
8	-64,9889	ALA144[e], VAL18[e], LEU134[e], LYS89[e], ASP86[a]
9	-82,9848	ALA144[e], VAL18[e], LEU134[e], ASP86[f]

a: Konvansiyonel H bağı, b: π-π Stacked, c: Karbon Hidrojen bağı, d: π-π T shaped, e: π-alkyl, alkyl, f: π-katyon, g: π -sülfur, h: π -donör H bağı, j: π-anyon, k: amit Pi-Stacked, m: π -sigma, n:metal akseptör.

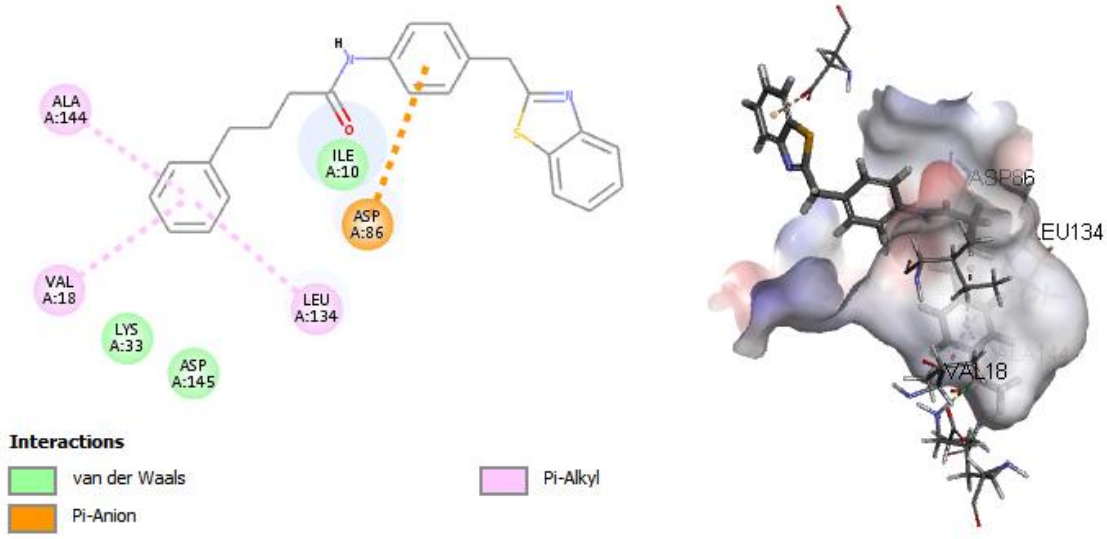
5IEY proteinine ait en düşük enerjili bağlanma gösteren bileşikler 7 ve 9'dur (Tablo 8). Bileşik 7'nin benzotiyazol halkasının ikinci konumuna bağlı olan benzil halkasına Lys89 ve Asp86 aminoasitleri ile sırasıyla π-alkil ve π-anyon etkileşimleri bulunmaktadır. Amit yapısının azot atomuna ait H atomu ile proteine ait His84 aminoaisti ile konvansiyonel hidrojen bağı

yaptığı, amit yapısının asit grubunun fenil halkası üzerinde Val18, Leu134, Ala144 aminoasitleri ile π-alkil etkileşimi yaptığı görülmektedir (Şekil, 115, Tablo 9).

Bileşik 9'un benzotiyazol halkasının ikinci konumuna bağlı olan benzil halkasına Asp86 aminoasiti ile π-anyon etkileşimi bulunmaktadır. Amit yapısının asit grubunun fenil halkası üzerinde Val18, Leu134, Ala144 aminoasitleri ile π-alkil etkileşimi yaptığı görülmektedir (Şekil 116, Tablo 8).



Şekil 115. Bileşik 7'nin 5IEY proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü



Şekil 116. Bileşik 9'un 5IEY proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü

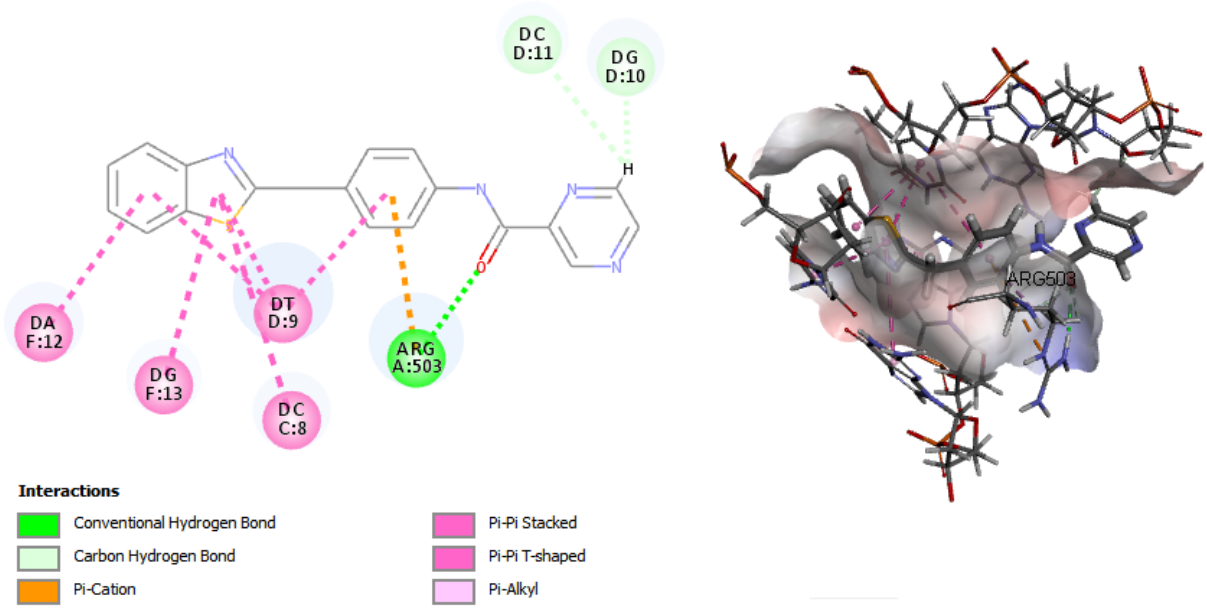
Tablo 9. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 3QX3 proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri ve çeşitli aminoasitler/rezidülerle etkileşimleri

Bileşik	Bağlanma Enerjisi	Etkileştiği Aminoasitler/ Rezidüler
1	-48,5679	DG13(F)[b], DA12(F)[b, c] , DT9(D)[b], DC8(C)[b], ARG503(A)[e], DG10(D)[a]
2	-47,6865	DG13(F)[b], DA12(F)[b, c] , DT9(D)[g, d], DC8(C)[b], ARG503(A)[e], DG10(D)[a]
3	-95,1796	DA12(F)[b], DG13(F)[b], DT9(D)[b], DC8(C)[b], ARG503(A)[a,f,] DC11(D)[c], DG10(D)[c]
4	-92,2613	ARG503(A)[e,f], DG13(F)[b], DA12(F)[b], DC8(C)b, DT9(D)[b,d,g], GLN778(A)[a], MET782(A)[a,e]
5	-84,3315	ARG503(A)[e,f], DG13(F)[b], DA12(F)[b], DC8(C)[b], DT9(D)[a, b,] , MET782(A)[e]
6	-52,4095	DG13(F)[b], DT9(D)[b], DC8(C)[b], ARG503(A)[e], DA12(F)[c], DG10(D)[a]
7	-78,1374	ARG503(A)[e,f], DG13(F)[b], DA12(F)[b], DC8(C)[a], DT9(D)[g,d], GLN778(A)[k], MET782(A)[g]
8	-54,5615	ARG503(A)[f,e], DA12(F)[b], DC8(C)[a], DT9(D)[g, b,d]
9	-83,2909	ARG503(A)[f,e], DT9(D)[g,b,d], MET782(A)[g]

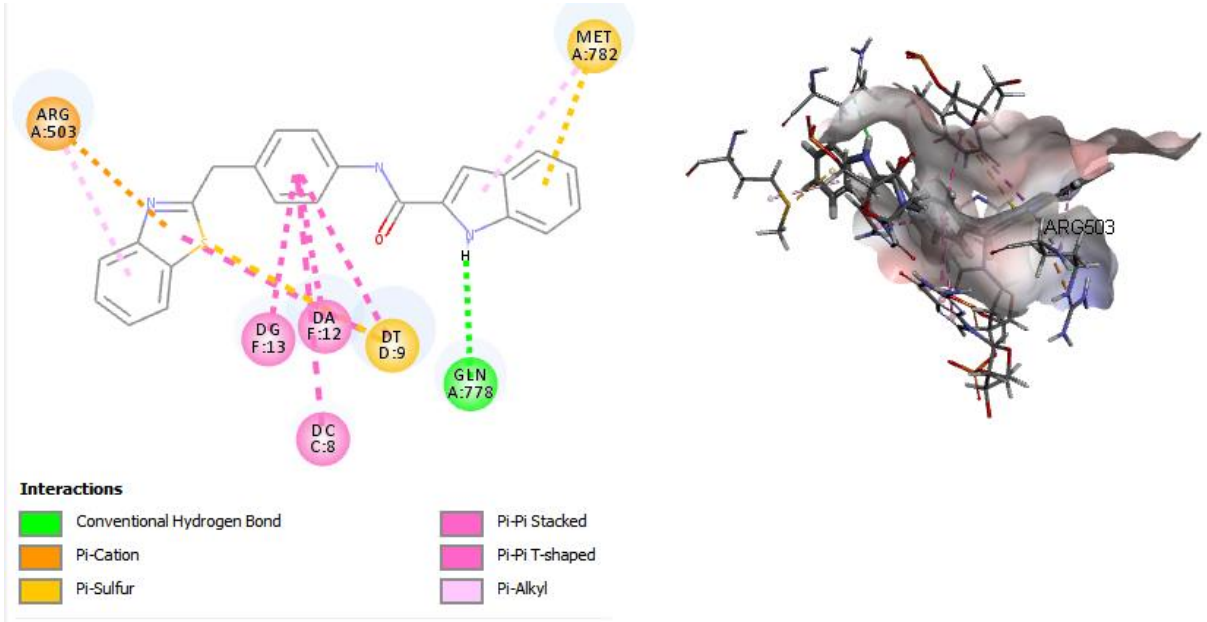
a: Konvansiyonel H bağı, b: π-π Stacked, c: Karbon Hidrojen bağı, d: π-π T shaped, e: π-alkyl, alkyl, f: π-katyon, g: π -sülfur, h: π -donör H bağı, j: π-anyon, k: amit Pi-Stacked, m: π -sigma, n:metal akseptör.

3QX3 proteinine en düşük enerjili bağlanma gösteren bileşikler 3 ve 4'tür (Tablo 9). Bileşik 3'ün benzotiyazol halkasında 4 adet π etkileşimi bulunmaktadır. Bunlar F zincirlerindeki DNA'ya ait adenin 12 (DA12) ve guanin 13 (DG13) ile, C zincirindeki DNA'ya ait sitozin 8 (DC8) ile ve D zincirindeki DNA'ya ait timin 9 (DT9) ile π-π Stacked etkileşimleri, D zincirindeki DNA'ya ait timin 9 ile (DT9) ayrıca π-π T shaped etkileşimi görülmektedir. A zincirinde bulunan Arg503 aminoasiti benzotiyazol halkasının ikinci konumuna bağlı olan

benzil halkası ile π- katyon etkileşimi ve amit yapısının O atomu ile konvansiyonel H bağı etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Ayrıca D zincirinde bulunan DNA'ya ait sitozin 11 (DC11) ve guanin 10 (DG10) ile karbon hidrojen bağı etkileşimi bulunmaktadır (Şekil 117, Tablo 9).



Şekil 117. Bileşik 3'ün 3QX3 proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü



Şekil 118. Bileşik 4'ün 3QX3 proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü

Bileşik 4'ün benzotiyazol halkasında 4 adet π etkileşimi bulunmaktadır. Bunlar A zincirine ait Arg503 aminoasiti ile π-katyon, F zincirindeki DNA'ya ait adenin 12 (DA12) ile π-π T Shaped ve D zincirindeki DNA'ya ait timin 9 (DT9) ile π-sülfür etkileşimleridir. Benzotiyazol halkasının ikinci konumuna bağlı olan benzil halkası F zincirlerindeki DNA'ya ait adenin 12 (DA12) ve guanin 13 (DG13), D zincirindeki DNA'ya ait timin 9 (DT9), C zincirindeki DNA'ya ait sitozin 8 (DC8) ile π-π Stacked ve ayrıca D zincirindeki DNA'ya ait timin 9 (DT9)π-π T shaped etkileşimleri bulunur. Amit yapısının asit grubuna ait indol halkası üzerindeki etkileşimler ise proteinin A zincirine ait Met782 aminoasiti ile π-sülfür ve π-alkil etkileşimleri; yine A zincirine ait Gln778 ile de konvansiyonel H bağı etkileşimlerinin bulunduğu görülmektedir (Şekil 118, Tablo 9).

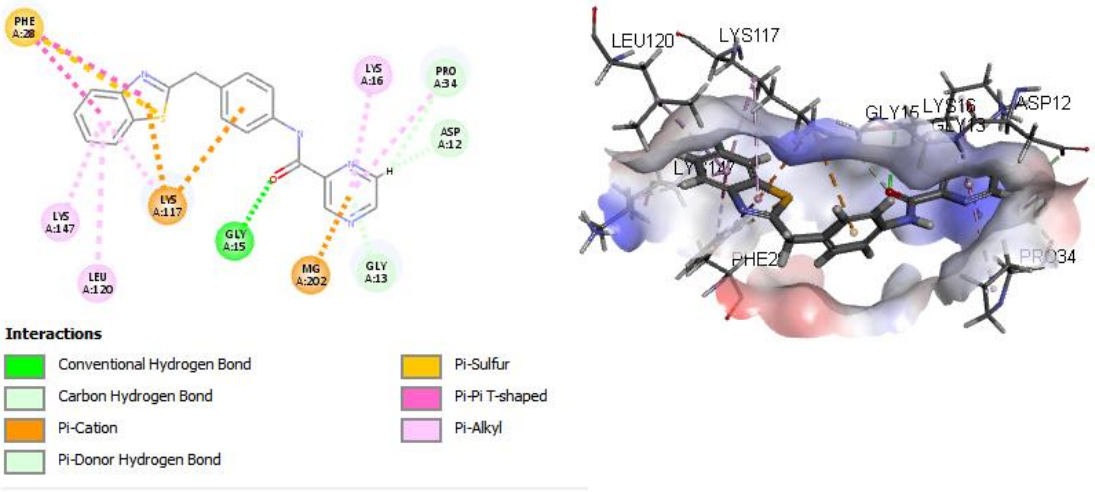
Tablo 10. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 4EPR proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri ve çeşitli aminoasitler/rezidülerle etkileşimleri

Bileşik	Bağlanma Enerjisi	Etkileştiği Aminoasitler/ Rezidüler
1	-56,2497	PRO34[e], LYS16[e], MG202[f], GLY13[c], GLY15[a], PHE28[m], LYS117[f], LEU120[e], LYS147[e]
2	-79,3301	PRO34e, MG202f, SER17a, LYS16a,e, GLY15a, LYS117f, LYS147e, LEU120e, ALA18e, THR58c, GLY13c, PHE28d,g
3	-113,843	PHE28[g,d], LYS147[e], LEU120[e], LYS117[e,f], GLY15[a], MG202[f], GLY13[h], ASP12[c], PRO34[c,e], LYS16[e]
4	-114,229	PRO34[e], PHE28[d], ALA18[e], LYS117[a], LEU120[e], SER17[c], GLY13[h], MG202[f]
5	-112,943	LYS16[a], SER17[a], GLY15[a], PRO34[e], MG202[f], GLY13[h], ALA18[e], LEU120[e], LYS147[e], LYS117[c]
6	-99,0463	LYS16[a], SER17[a], GLY15[a], LYS117[a,f], MG202[f], GLY13[c], PRO34[e], ALA18[e], PHE28[d], LEU120[e]
7	-93,3059	LYS16[e], PRO34[e], GLY13[h], MG202[f], GLY15[c], PHE28[m], LYS147[f], LYS117[f], ASP30[a]
8	-105,953	LYS16[a], SER17[a], PRO34[e], GLY13[c], MG202[f], ALA18[e], LYS117[a], LEU120[e]
9	-112,976	LYS147[f], PHE2[m,g], ASP30[a], THR58[c], ASP12[c], PRO34[c,e], LYS16[a], GLY13[k], GLY15[c], LYS117[f]

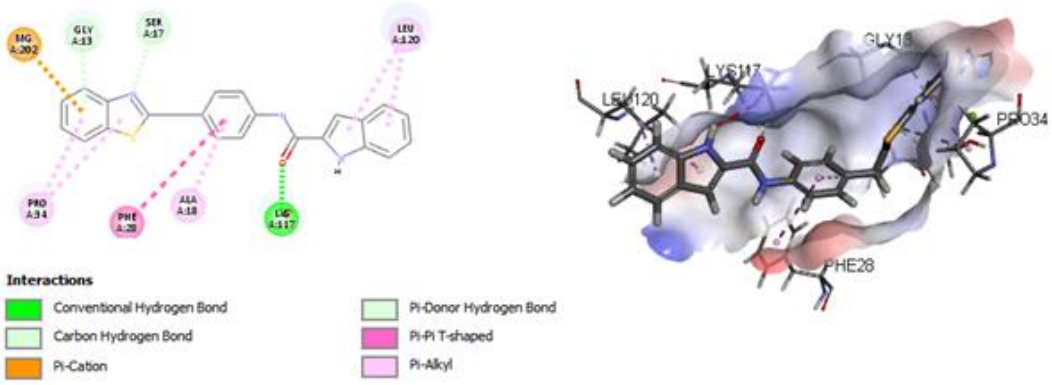
a: Konvansiyonel H bağı, b: π-π Stacked, c: Karbon Hidrojen bağı, d: π-π T shaped, e: π-alkyl, alkyl, f: π-katyon, g: π -sülfur, h: π -donör H bağı, j: π-anyon, k: amit Pi-Stacked, m: π -sigma, n:metal akseptör.

4EPR proteinine en düşük enerjili bağlanma gösteren bileşikler 3 ve 4'tür (Tablo 10). Bileşik 3'ün benzotiyazol halkasında 6 adet π etkileşimi bulunmaktadır. Bunlar Phe28 aminoasiti ile π-sülfür ve π- π T shaped etkileşimleri, Lys117 ile π-katyon ve π-alkil, Lys147 ve Leu120 aminoasitleri ile π- alkil etkileşimleridir. Lys117 aminoasitinin ayrıca benzotiyazol halkasının ikinci konumuna bağlı olan benzil halkası ile π- katyon etkileşimi yaptığı

görülmektedir.π-π T shaped etkileşimi görülmektedir. Proteine ait Gly15 aminoasitinin bileşik 3'te bulunan amit yapısının O atomu ile konvansiyonel H bağı etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Ayrıca amit yapısındaki asit grubunda yer alan pirazin halkası Mg202 ile π-katyon, Lys16 ile π-alkil, Pro34 ile π-alkil ve karbon hidrojen bağı, Asp12 aminoasiti ile de karbon hidrojen bağı etkileşimlerine sahiptir (Şekil 119, Tablo 10).



Şekil 119. Bileşik 3'ün 4EPR proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü



Şekil 120. Bileşik 4'ün 4EPR proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü

Bileşik 4'ün benzotiyazol halkasında 4 adet π etkileşimi bulunmaktadır. Bunlar Mg202 ile π-katyon, Gly13, Ser17 ve Pro34 aminoasitleri ile sırasıyla karbon hidrojen bağı , π- donör Hidrojen bağı ve π-alkil etkileşimlerinin olduğu görülmektedir. Phe28 aminoasitinin ayrıca benzotiyazol halkasının ikinci konumuna bağlı olan benzil halkası ile π- π T shaped etkileşimi

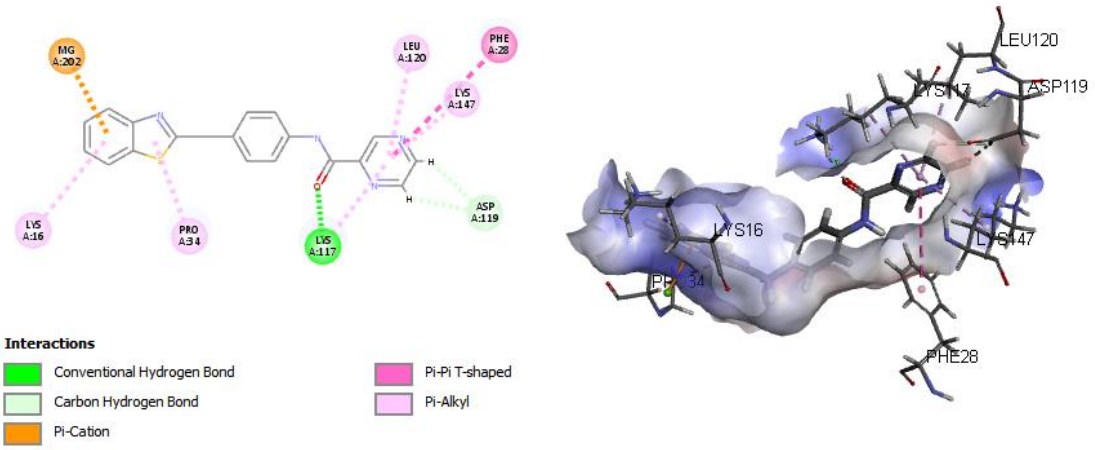
ve Ala18 aminoasitinin π-alkil etkileşimleri bulunur. Lys117 aminoasiti ile amit yapısının O atomu ile konvansiyonel H bağı etkileşiminde bulunduğu ve ayrıca amit yapısındaki asit grubunda yer alan indol halkası Leu120 ile etkileşimlerinde bulunduğu görülmektedir (Şekil 120, Tablo 10).

Tablo 11. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 5V9O proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri

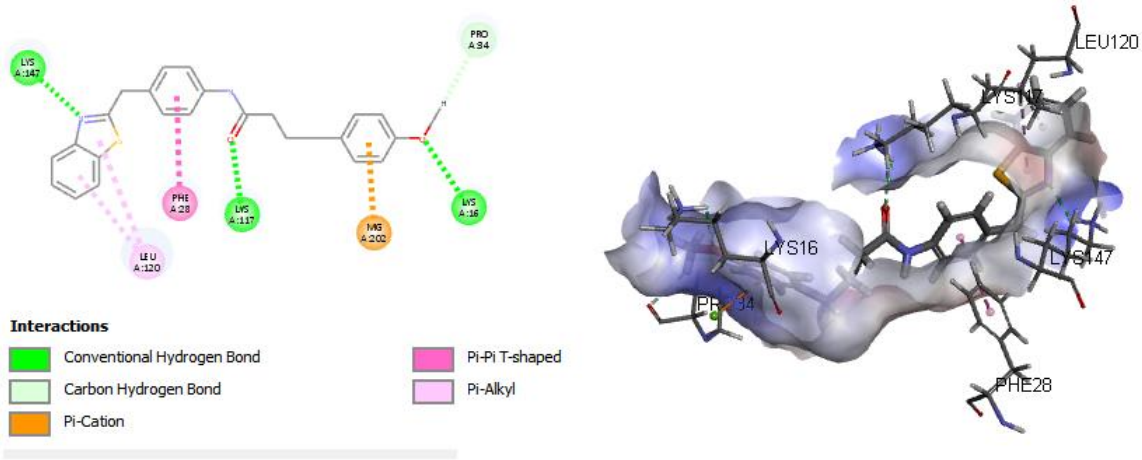
Bileşik	Bağlanma Enerjisi	Etkileştiği Aminoasitler/ Rezidüler
1	-76,9791	MG202[f], LYS16[e], PRO34[e], PHE28[g, d], LYS117[a], LYS147[e], LEU120[e]
2	-88,3257	PRO34[m,e], ALA18[e], ASN116[a], ASP119[c], LEU120[e], LYS147[e], LYS117[f]
3	-98,4994	MG202[f], LYS16[e], PRO34[e], LYS117[a], ASP119[c], LYS147[d,e], PHE28[c], LEU120[e]
4	-95,3611	CYS12[g], MG202[n], PHE28[m,f], LYS117[f], LEU120[e], LYS147[e], ALA18[e], PRO34[g]
5	-82,6855	CYS12[e], PRO34[e], LYS117[a], MG202[f]
6	-95,3006	GLY15[a], LYS147[f], LYS117[a], PHE28[d], ALA18[e], MG202[f], CYS12[e], GLY13[h], PRO34[e]
7	-96,5719	LYS117[a], ASP30[a], VAL29[a], MG202[f], PHE28[d], LEU120[e]
8	-98,307	LYS117[a,f], ASP30[a], VAL29[a], MG202[f], PHE28[d], ALA18[e], LEU120[e], ASN85[h]
9	-115,734	LYS147[a], LEU120[e], PHE28[f], LYS117[a], MG202[f], LYS16[a], PRO34[c]

a: Konvansiyonel H bağı, b: π-π Stacked, c: Karbon Hidrojen bağı, d: π-π T shaped, e: π-alkyl, alkyl, f: π-katyon, g: π -sülfur, h: π -donör H bağı, j: π-anyon, k: amit Pi-Stacked, m: π -sigma, n:metal akseptör.

5V9O proteinine ait en düşük enerjili bağlanma gösteren bileşikler 3 ve 9'dur (Tablo 11). Bileşik 3'ün benzotiyazol halkasında 3 adet π etkileşimi bulunmaktadır. Bunlar Mg202 ile π-katyon, Lys16, ve Pro34 aminoasitleri ile π-alkil etkileşimleridir. Proteine ait Lys117 aminoasitinin bileşik 3'te bulunan amit yapısının O atomu ile konvansiyonel H bağı etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Ayrıca amit yapısındaki asit grubunda yer alan 2. konumundan bağlı olan pirazin halkası Phe28 ile π- π T shaped, Leu120, Lys147 ve Lys117 aminoasitleri ile π-alkil, Asp119 aminoasitleri ile karbon hidrojen bağı etkileşimlerine sahiptir (Şekil 121, Tablo 11).



Şekil 121. Bileşik 3'ün 5V9O proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü



Şekil 122. Bileşik 9'un 5V9O proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü

Bileşik 9'un benzotiyazol halkası ile Leu120 aminoasiti üzerinde π-alkil ve Lys147 aminoasiti ile konvansiyonel hidrojen bağı etkileşimleri bulunmaktadır. Benzotiyazol

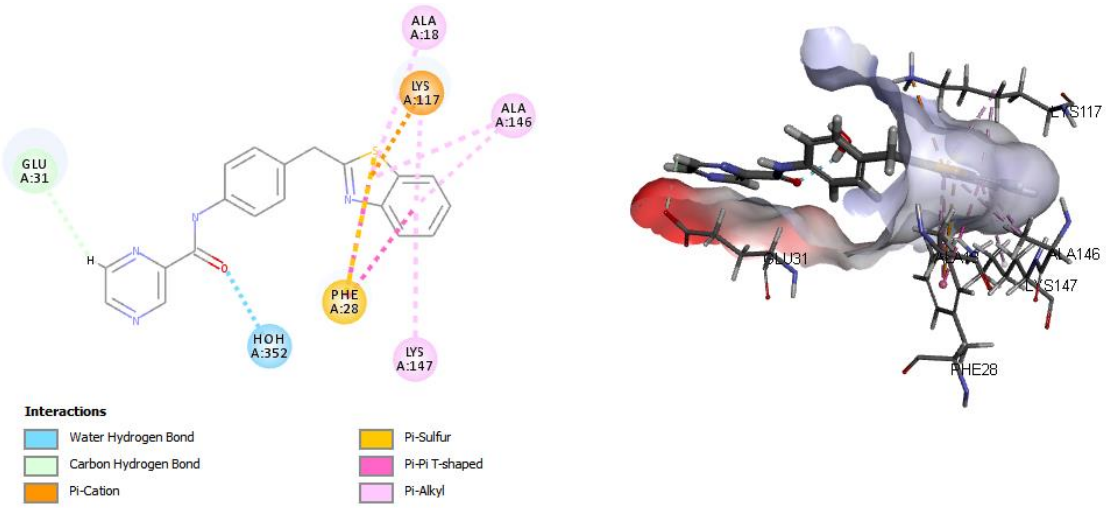
halkasının 2. Konumundan bağlı olan benzil grubunun üzerinde Phe28 aminoasiti ile π- π T shaped etkileşimi olduğu görülür. Proteine ait Lys117 aminoasitinin bileşik 9'da bulunan amit yapısı O atomu ile konvansiyonel H bağı etkileşiminde bulunmaktadır. Amit yapısındaki asit grubunda yer alan 2. konumundan bağlı olan pirazin halkası Mg202 ile π-katyon ve Pro34 ile karbon hidrojen bağı etkileşimlerine ve sahiptir. Ayrıca burada bulunan metoksi grubuna ait H atomu ile Lys16 aminoasiti arasında konvansiyonel hidrojen bağı etkileşimi bulunmaktadır (Şekil 122, Tablo 11).

Tablo 12. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 4L8G proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri ve çeşiti aminoasitler/rezidülerle etkileşimleri

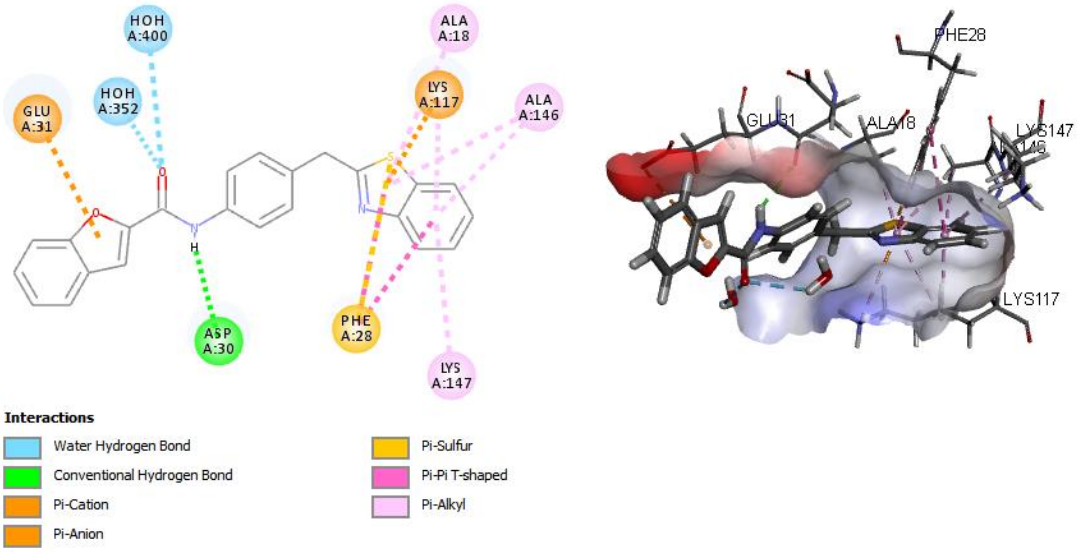
Bileşik	Bağlanma Enerjisi	Etkileştiği Aminoasitler/ Rezidüler
1	-55,8046	LYS117[f,e], GLY15[c], ASP30[a], GLU31[j], ALA18[e], ALA146[e], PHE28[g], LYS147[e]
2	-58,68	GLY15[c], ASP30[a], GLU31[f], ALA18[e], ALA146[e], LYS117[f], PHE28[g,d,] LYS147[e]
3	-58,3673	GLU31[c], PHE28[g,d], LYS147[e], ALA146[e], ALA18[e], LYS117[f]
4	-47,2122	ALA18[e], GLY15[c], ASP30[a], GLU31[j], ALA146[e], LYS147[e], LYS117[f,e], PHE28[g,d]
5	-	-
6	-68,4389	ASP30[a], PHE28[g,d], LYS147[e], GLU31[f], LYS117[f], ALA18[e], ALA146[e]
7	-34,7919	LYS117[e], ALA146[e], ALA18[e], LYS147[e,] PHE28[d], GLU31[c]
8	-49,1933	ALA146[e], ALA18[e], LYS117[f], PHE28[d], ASP30[a]
9	-	-

a: Konvansiyonel H bağı, b: π-π Stacked, c: Karbon Hidrojen bağı, d: π-π T shaped, e: π-alkyl, alkyl, f: π-katyon, g: π -sülfur, h: π -donör H bağı, j: π-anyon, k: amit Pi-Stacked, m: π -sigma, n:metal akseptör.

4L8G proteinine ait en düşük enerjili bağlanma gösteren bileşikler 3 ve 6'dır (Tablo 12). Bileşik 3'ün benzotiyazol halkasında 5 adet π etkileşimi bulunmaktadır. Bunlar Lys117 ile π-katyon ve π-alkil, Ala18, Ala146 ve Lys117 aminoasitleri ile π-alkil, Phe28 ile π-sülfür etkileşimleridir. Ayrıca bileşiğin amit yapısına ait asit grubunda 2. konumdan bağlı olan pirazin halkasının 6. Konumunda bulunan hidrojen atomu ile Glu31 aminoasitinin karbon hidrojen bağı etkileşimine sahip olduğu görülmektedir (Şekil 123, Tablo 12).



Şekil 123. Bileşik 3'ün 4L8G proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü



Şekil 124. Bileşik 6'nın 4L8G proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü

Bileşik 6'nın benzotiyazol halkasında 5 adet π etkileşimi bulunmaktadır. Bunlar Lys117 ile π-katyon ve π-alkil, Ala18, Ala146 ve Lys147 aminoasitleri ile π-alkil, Phe28 ile π-sülfür ve π-π T Shaped etkileşimleridir. Bileşiğin amit yapısına bağlı amino grubunun azot atomu ile ASP30 aminoasiti arasında konvansiyonel hidrojen bağı etkileşimi; ayrıca bileşiğin amit yapısına ait asit grubunda benzofuran halkası ile Glu31 aminoasitinin π-anyon etkileşimine sahip olduğu görülmektedir (Şekil 124, Tablo 12).

Fizikokimyasal ve Farmakokinetik Parametreler

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ilaç olarak geliştirilen bileşiklerin biyolojik aktiivtelerinin yüksek, toksik etkilerinin düşük olmasının yanı sıra maksimum oral biyoyararlanım gösterebilmesi için çeşitli fizikokimyasal özelliklerinin de optimum sevide tutulması gerektiğinin üzerinde durulmaktadır. Bu nedenle çeşitli araştırmacılar bileşiklerin fizikokimyasal özelliklerinin taşıması gereken optimum özellikleri ilaç benzerlik özellikleri olarak çeşitli kurallar çerçevesinde belirlemiştir. Bunlardan en yaygın kullanılanlardan bazıları aşağıda verilmiştir.

1. Lipinski'nin 5 kuralı (139)
    - Molekülün moleküler ağırlığının (M_A) 500'ün altında olmalı
    - Molekülün partisyon katsayısının (logP) 5'ten küçük olmalı
    - Moleküldeki HBA (Hidrojen bağı akseptörü) sayısının 10'dan az olmalı
    - Moleküldeki HBD (Hidrojen bağı donörü) sayısının 5'ten az olmalı
    - Eğer molekül aktif taşıyıcı sistemlerle taşınıyorsa bu özellikler aranmamalı
2. Veber Kuralları (140)
    - Moleküldeki dönebilen bağ sayısı 10'dan az veya eşit olmalı
    - Molekülün polar yüzey alanı 140 $Å^2$'den az veya eşit olmalı
    - Moleküldeki HBA ve HBD sayısının toplamı 12'den az veya eşit olmalı
3. MDDR (MACCS-II Drug Data Report) benzerlik kuralı (141)
    - Moleküldeki dönebilen bağ sayısı 6'ya eşit veya fazla olmalı
    - Moleküldeki sabit bağ sayısı 18'e eşit veya fazla olmalı
    - Moleküldeki halka sayısı 3'e eşit veya fazla olmalı
4. Ghose filtresi (39)
    - Molekülün partisyon katsayısı (logP) -0,4 ila 5,6 arasında olmalı
    - Molekülün molar refraktivitesi 40 ila 130 arasında olmalı

- Molekülün M_A değeri 160 ila 480 arasında olmalı
- Molekülün atom sayısı 20 ila 70 arasında olmalı
- Molekülün polar yüzey alanı 140 $Å^2$'den az olmalı

Yüksek lisans tez çalışmasında sentezlenen ve antikanser etkileri incelenen bileşiklerin çeşitli fizikokimyasal parametre değerleri Discovery Studio 3.5 (128) programı kullanılarak hesaplanmış ve aşağıdaki Tablo 19'da sunulmuştur.

Tablo 13. Sentezlenen Bileşiklerin Fizikokimyasal Parametreleri

Bileşik	Log P	M_A	HBA Sayısı	HBD Sayısı	Dönebilen Bağ Sayısı	Aromatik Halka Sayısı	Polar Yüzey Alanı (PSA)
1	4,61	350,46	2	1	4	4	41,37
2	4,05	334,39	2	1	4	4	53,93
3	2,79	346,41	4	1	4	4	63,89
4	5,24	383,47	2	2	4	5	56,43
5	5,57	394,49	2	1	4	5	41,37
6	5,25	384,45	2	1	4	5	53,93
7	5,61	386,51	2	1	7	4	41,37
8	5,15	372,48	2	1	6	4	41,37
9	5,59	416,54	3	1	8	4	50,30

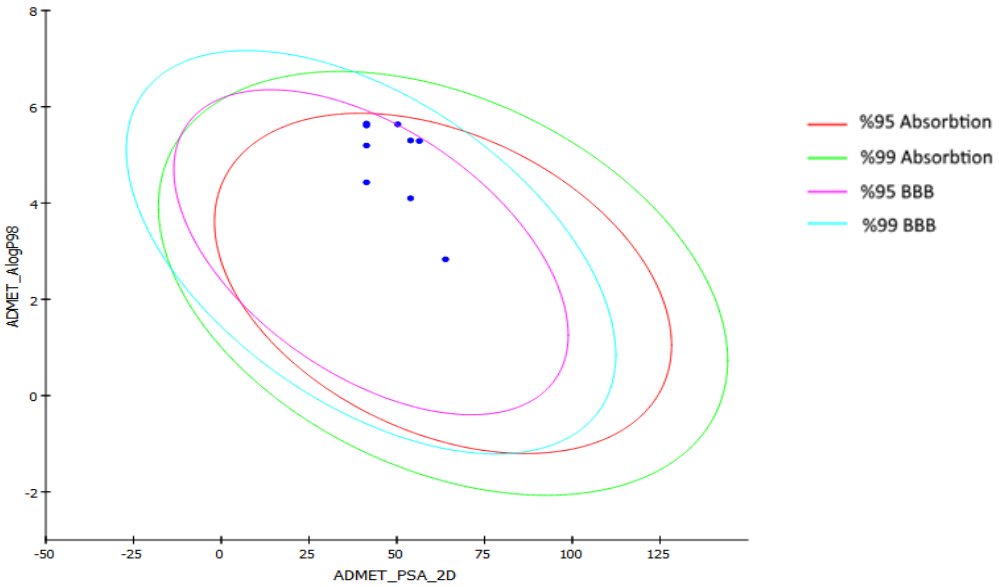
İlaç olmaya aday bir bileşiğin yüksek farmakolojik aktivite ve düşük toksisite profiline sahip olmasının yanında ideal bir farmakokinetiğe sahip olması gerekmektedir. Son yıllarda bilgisayar destekli ilaç geliştirme çalışmaları kapsamında ilaç adaylarının absorbsiyon, dağılım, metabolizma ve emilim (ADME) profillerinin tahminleri de yapılabilmektedir. Bu amaç doğrultusunda sentezlenen bileşiklerin çeşitli farmakokineitk parametre değerleri Discovery Studio 3.5 (128) programı kullanılarak hesaplanmış ve Tablo 14'te sunulmuştur.

Tablo 14. Sentezlenen Bileşiklerin Farmakokinetik Parametreleri

Bileşik	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
ADMET Çözünürlük log(Sw)	-5,80	-5,51	-4,48	-6,91	-7,15	-6,92	-6,33	-6,10	-6,23
ADMET Çözünürlük Düzeyi	2	2	2	1	1	1	1	1	1
ADMET Absorpsiyon Düzeyi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ADMET KBB logBB	0,56	0,26	-0,29	0,59	0,93	0,63	0,94	0,78	0,79
ADMET KBB Düzeyi	1	1	2	1	0	1	0	0	0
ADMET PPB	7,30	-2,35	1,11	5,78	5,21	4,64	1,32	1,34	0,89
ADMET PPB Tahmini	doğru	yanlış	doğru	doğru	doğru	doğru	doğru	doğru	doğru
ADMET CYP2D6	-6,85	-8,20	-7,01	-11,97	-7,67	-8,56	-7,04	-5,68	-6,97
ADMET CYP2D6 Tahmini	yanlış	yanlış	yanlış	yanlış	yanlış	yanlış	yanlış	yanlış	yanlış
Hepatotoksisite	5,70	0,64	2,26	4,36	5,36	6,56	-1,75	-2,16	0,56
Hepatotoksisite Tahmini	doğru	doğru	doğru	doğru	doğru	doğru	doğru	doğru	doğru

Çözünürlük: log(Sw) < -8.0: son derece az (0); -8.0 < log(Sw) < -6.0: çok az çözünür (1); -6.0 < log(Sw) < -4.0: az çözünür (2); -4.0 < log(Sw) < -2.0: çözünür (3); -2.0 < log(Sw) 0.0: ideal çözünür (4); 0.0 < log(Sw): çok çözünür (5) Absorbsiyon seviyesi: 0: iyi; 1: orta; 2: az; 3: çok az. logBB (KBB): logBB ≥ 0.7: çok yüksek geçiş (0); 0 ≤ logBB < 0.7: yüksek geçiş (1), -0.52 < logBB < 0: orta düzeyde geçiş (2), logBB ≤ -0.52: düşük geçiş (3). PPB: doğru: plazma proteinlerine bağlanır, yanlış: plazma proteinlerine bağlanmaz. CYP2D6: doğru: CYP2D6 tarafından metabolizasyon; yanlış: CYP2D6 üzerinden metabolize olmaz Hepatotoksisite: doğru: hepatotoksik, yanlış: hepatotoksik değil.

İnsan intestinal absorbsiyonu (HIA) oral uygulamadan sonra absorbe bir yüzde olarak tanımlanır ve iyi absorbe bir bileşik, insanlarda kan dolaşımına en az % 90 oranında geçer. Sentezlenen bileşiklerin intestinal absorbsiyon modeli, ADMET_PSA_2D, ADMET_AlogP98 düzleminde % 95 ve% 99 güven elipslerini içemektedir (Şekil 125) (142, 143)



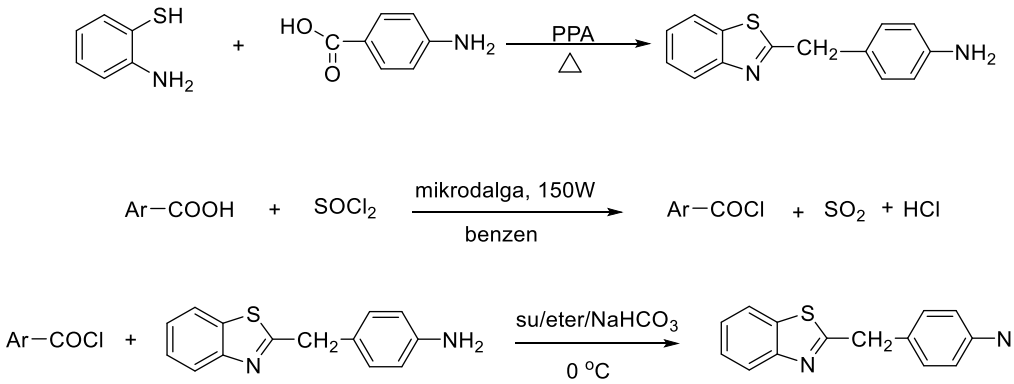
Şekil 125. Sentezlenen bileşiklerin intestinal absorbsiyon modeli

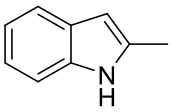
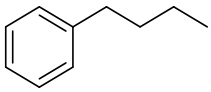
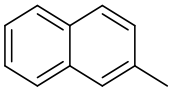
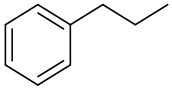
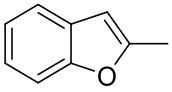
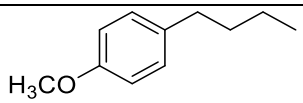
Elipsler, iyi absorbe olan bileşiklerin bulunması beklenen bölgeleri tanımlar: %95 oranında absorbe olan bileşiklerin %95'lik elips içerisine düşmesi beklenirken, %99 absorbe olan bileşiklerin %99'luk elips içine düşmesi beklenir. Bununla birlikte, genel olarak, absorpsiyon %95 elipsin dışına çıktıkça oldukça hızlı bir şekilde düşme eğilimindedir (142).

TARTIŞMA

Yapılan yüksek lisans tez çalışmasında 9 adet orijinal *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)amit türevi bileşiğin sentezlenmesi, yapılarının ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR ve Kütle Spektroskopisi kullanılarak yapılarının aydınlatılması; A549, MCF-7, PC-3, HEP-3B, HeLa, HT-29, K562, Raji, NIH3T3 hücre hatları üzerinden antikanser aktivitelerinin incelenmesi; biyolojik aktivite sonuçları doğrultusunda Hsp90, CDK-2, Topoizomeraz-II, K-Ras ve K-Ras G12C proteinleri üzerinden moleküler doking tekniklerini kullanarak biyolojik etki mekanizması aydınlatma çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Tasarlanan bileşiklerin sentezi için öncelikle 2-aminotiyofenol fenil asetik asitle PPA katalizörlüğünde ve 160-200 °C sıcaklıkta 4 saat süreyle reaksiyona sokulmuş ve bir sonraki reaksiyon basamağı için başlangıç maddesi olan 2-(4-aminobenzil)benzotiyazol bileşiği sentezlenmiştir. Sonraki basamakta amit türevlerini hazırlamak için öncelikle uygun karboksilik asitler tiyonil klorür varlığında mikrodalga enerjisi kullanarak açillenmiş ve elde edilen açiller, 2-(4-aminobenzil)benzotiyazol bileşiği ile $NaHCO_3$/eter/su karışımı içerisinde 12 saat boyunca buz banyosunda reaksiyona sokulmuştur. Sonuç ürünler etanolden kristallendirilerek saflaştırılmış, İTK ile saflıkları kontrol edilmiş ve %55-62 verimle *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)amit türevi bileşikler elde edilmiştir.



Ar-					
1		4		7	
2		5		8	
3		6		9	

Şekil 126. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)amit türevi bileşiklerin sentezleri

Bileşiklerin yapılarını aydınlatmak üzere ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR ve Kütle spektroskopisinden yararlanılmıştır.

^{1}H-NMR spektrumları incelendiğinde amit yapısana ait -NH protonunun 10,74 -9,86 ppm değerleirnde singlet olarak, benzotiyazol halkasının 4. ve 7. konumunda bulunan -H'lerin 8,05 – 7,16 ppm aralığında dublet olarak, benzotiyazol halkasının 5. ve 6. konumunda bulunan -H'lerin 7,47 – 7,35 ppm aralığında triplet olarak, benzil yapısında 3'-5' ve 2'-6' konumlarında bulunan H'lerin 7,87 – 7,26 ppm aralığında A2X2 sistemiyle iki dublet olarak, benzil yapısındaki -CH_2- grubunun H'leri 4,44 – 4,36 ppm aralığında singlet olarak, 1. bileşikteki tiyofen halkasının aromatik H'leri 7,82 - 7,20 ppm aralığında, 2. bileşikteki furan halkasının aromatik H'leri 7,94 - 6,68 ppm aralığında, 3. bileşikteki pirazin halkasının aromatik H'leri 9,28 - 8,78 ppm aralığında, 4. bileşikteki indol halkasının -NH grubunun protonu 12,07 ppm'de singlet, aromatik H'leri 7,59 – 7,18 ppm aralığında, 5. bileşikteki naftalen halkasındaki aromatik H'leri 8,56-7,57 ppm aralığında, 6. bileşikteki benzofuran halkasının aromatik H'leri

7,70-7,32 ppm aralığında, 7. bileşikteki fenil halkasının aromatik H'leri 7,22-7,18 ppm aralığında, alifatik zincirdeki 6 tane -CH_2- grubunun H'leri 2,59 – 1,86 ppm aralığında, 8. bileşikteki fenil halkasının aromatik H'leri 7,39-7,11 ppm aralığında, alifatik zincirdeki 4 tane -CH_2- grubunun H'leri 2,88 – 2,59 ppm aralığında, 9. bileşikteki fenil halkasının aromatik H'leri 7,08 - 6,81 ppm aralığında, -OCH_3 grubundaki H'ler 3,68 ppm'de, alifatik zincirdeki 6 tane -CH_2- grubunun H'leri 2,52 - 1,82 ppm aralığında gözlenmiştir. ^{13}C-NMR spektrumları incelendiğinde bileşiklerdeki aromatik yapılara ait C'lar 100-160 ppm civarlarında, amit grubunun C'nu 170 ppm civarında, benzil C'nu 110 – 120 ppm aralığında, alifatik yapılardaki C'lar 25–60 ppm aralığında gözlenmiştir. Bileşikleirn kütle spektrumlarında temel pik olarak M+1 pikleri gözlenmiş, bileşik 4'te (M+33) (M+CH_3OH+H) piki gözlenmiştir.

Sentezlenen ve yapıları aydınlatılan bileşiklerin, A549, MCF-7, PC-3, HEP-3B, HeLa, HT-29, K562, Raji, NIH3T3 hücre hatları üzerinde IC_{50} değerleri hesaplanmıştır.

Bileşikler, A549 hücre hattı karşısında 67,61 - 130,27 μM aralığında, MCF-7 hücre hattı karşısında 75,81 - 114,76 μM aralığında, PC-3 hücre hattı karşısında 71,93- 111,52 μM aralığında, HEP-3B hücre hattı karşısında 93,11 - 184,70 μM aralığında, HeLa hücre hattı karşısında 98,47 - 145,75 μM aralığında, HT-29 hücre hattı karşısında 73,90 - 97,05 μM aralığında, K562 hücre hattı karşısında 53,52- 106,57 μM aralığında, Raji hücre hattı karşısında 66,92 - 107,83 μM aralığında, NIH3T3 hücre hattı karşısında 80,27 - 105,14 μM aralığında etki göstermiştir.

Moleküler modelleme çalışmaları doğrultusunda bileşikler Hsp90, CDK-2, Topoizomeraz-II, K-Ras ve K-Ras G12C proteinleri üzerinden moleküler doking tekniklerini kullanarak test edilmiş ve biyolojik etkinin mekanizmasının aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Hsp90 için PDB'den 5GGZ kodlu protein seçilmiş ve bileşikler bu proteinin bağlanma bölgesiyle -91,8223 ila -44,1648 kcal/mol bağlanma enerjisiyle çeşitli H bağları ve π-etkileşimleri göstererek bağlanmıştır. CDK-2için PDB'den 5IEY kodlu protein seçilmiş ve bileşikler bu proteinin bağlanma bölgesiyle -82,9848 ila -21,5616 kcal/mol bağlanma enerjisiyle çeşitli H bağları ve π-etkileşimleri göstererek bağlanmıştır. Topoizomeraz-II için PDB'den 3QX3 kodlu protein seçilmiş ve bileşikler bu proteinin bağlanma bölgesiyle -95,1796 ila -47,6865 kcal/mol bağlanma enerjisiyle çeşitli H bağları ve π-etkileşimleri göstererek hem protein hem de DNA ile bağlanmıştır. K-Ras için PDB'den 4EPR kodlu protein seçilmiş ve bileşikler bu proteinin bağlanma bölgesiyle -112,976 ila -56,2497 kcal/mol bağlanma enerjisiyle çeşitli H bağları ve π-etkileşimleri göstererek bağlanmıştır. K-Ras G12C için 5V9O

ve 4L8G kodlu proteinler seçilmiş, 5V9O kodlu proteinin bağlanma bölgesiyle bileşikler -115,734 ila -76,9791 kcal/mol bağlanma enerjisiyle çeşitli H bağları ve π-etkileşimleri göstererek bağlanmış, 4L8G kodlu proteinin bağlanma bölgesiyle bileşikler (6 ve 11 nolu bileşikler hariç, bu bileşikler etkileşim göstermemiştir) -68,4389 ila -34,7919 kcal/mol bağlanma enerjisiyle çeşitli H bağları ve π-etkileşimleri göstererek bağlanmıştır.

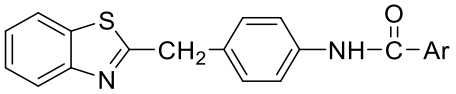
Sentezlenen bileşiklerin oral biyoyararlanımları açısından ilaç benzerlik özellikleri incelendiğinde Lipinski'nin 5 kuralı, Veber kuralları, MDDR ilaç benzerlik kuralları ve Ghose filtresine göre hidrojen bağı akseptör / donör sayıları, molekül ağırlıkları, halka sayıları, dönebilen bağ sayısı ve polar yüzey alanları açısından kurallara uygun oldukarı ancak 4-9 nolu bileşiklerin LogP değeri 5'in üzerinde olmasından dolayı lipinski kurallarına uyum sağlamadığı ancak 7 nolu bileşik hariç bu bileşiklerin Ghose filtresine göre LogP değerlerinin kabul edilebilir olduğu bulunmuştur.

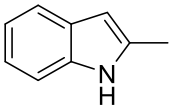
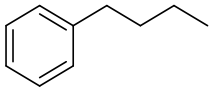
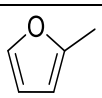
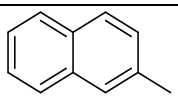
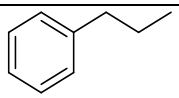
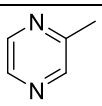
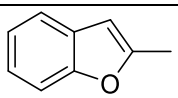
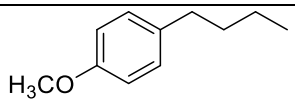
Sentezlenen bileşiklerin farmakokinetik özellikleri değerlendirildiğinde genellikle suda az çözündükleri, ancak iyi absorbe oldukları, kan-beyin bariyerini 3 nolu bileşiğin en az diğerlerinin fazla geçtiği, 2 nolu bileşik hariç plazma proteinlerine bağlandığı, CYP2D6 enzimi ile metabolize edilmediği ve hepsinin hepatotoksik olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca bileşiklerin oral uygulamadan sonra insan intestinal absorbsiyonlarının %95'in üstünde olacağı tahmin edilmektedir.

SONUÇLAR

Yüksek lisans tezi kapsamında sentezlenen 9 adet orijinal N-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)amit türevi bileşiğin yapılarının ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR ve Kütle Spektroskopisi kullanılarak yapılarının aydınlatılmış ve A549, MCF-7, PC-3, HEP-3B, HeLa, HT-29, K562, Raji, NIH3T3 hücre hatları üzerinden antikanser aktiviteleri MTT testi uygulanarak IC_{50} değerleri olarak hesaplanmış ayrıca biyolojik aktivite sonuçları doğrultusunda Hsp90, CDK-2, Topoizomeraz-II, K-Ras ve K-Ras G12C proteinleri üzerinden moleküler doking tekniklerini kullanarak biyolojik etkinin mekanizmasının aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Bu çalışma kapsamında sentezi gerçekleştirilen 1-9 numaralı bileşiklerin kimyasal yapılarındaki farklılıklar en sondaki Ar- ile gösterilen yapı farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Bunlar 2. konumda bağlı benzil yapısının *para* pozisyonuna amit fonksiyonlu grubuyla bağlanan tiyofen, furan, pirazin, indol, naftalen, benzofuran halkaları ve propil/butil zinciriyle bağlı fenil/4-metoksifenil yapılarından oluşmaktadır.



Ar-					
1		4		7	
2		5		8	
3		6		9	

Şekil 127. Sentezlenen bileşikler (1-9)

MTT analizi sonuçlarına göre K562 hücre hattındaki **3** ve **4** ve **5** nolu bileşiklerin, A549 hücre hattında **4** nolu bileşiğin ve Raji hcre hattında **5** ve **6** numaralı bileşiğin sitotoksik etkinliklerinin doza bağlı olarak varlığı belirlenmiştir. Özellikle 4 nolu bileşik çoğu kanser türünde diğerlerine oranla daha iyi bir inhibisyon gösterirken **7-8-9** nolu bileşiklerin inhibisyon dereceleri oldukça az olduğu saptanmıştır. Bileşiklerin yapıları incelendiğinde aktivitesi yüksek olarak saptanan **3**, **4**, **5** ve **6** numaralı bileşiklerin kondanse halka sistemleri olması ve/veya halkaların heteroatom içermesinin aktiviteyi arttırdığı yönünde ve bir benzazol yapısında olan indol halkasının (**4** nolu bileşik) biyolojik aktivite üzerinde kayda değer sonuçlar gösterdiği tespit edilmiştir. Amit yapısı ile aromatik halka arasındaki zincir uzadıkça (**7-8-9** nolu bileşikler) aktivitenin azaldığı gözlemlenmiş, **9** nolu bileşiği -OCH_3 grubunun eklenmesi bu üç bileşik arasında etkisini biraz arttırmış olmasına rağmen genel olarak bakıldığında yine etkisiz kalmıştır. Yapıya amit grubuyla bağlanan aromatik halkanın özellikle N taşıyan bir heterohalka olması aktivite üzerinde olumlu sonuçlar gözlenmesine neden olmuştur.

Yapılan doking çalışmaları sonucunda bileşiklerin hepsi ilgili proteinlerle düşük enerjilerle etkileşimler göstermektedir. Ancak Tablo 15'i dikkatli incelersek en düşük bağlanma enerjilerinin sırasıyla KRas (pdb:4EPR), Kras G12C (pdb:5V9O) ve Topoizomeraz II (pdb:3QX3) enzimiyle olan etkileşimler oldukları öne çıkmaktadır

.

Tablo 15. Doking çalışmaları sonucunda elde edilen bağlanma enerjileri

	5GGZ	5IEY	3QX3	4EPR	5V9O	4L8G
Bileşik	**Bağlanma Enerjisi**	**Bağlanma Enerjisi**	**Bağlanma Enerjisi**	**Bağlanma Enerjisi**	**Bağlanma Enerjisi**	**Bağlanma Enerjisi**
1	-65,6236	-47,5435	-48,5679	-56,2497	-76,9791	-55,8046
2	-68,6842	-52,7046	-47,6865	-79,3301	-88,3257	-58,68
3	-91,8223	-21,5616	-95,1796	-113,843	-98,4994	-58,3673
4	-44,1648	-58,0135	-92,2613	-114,229	-95,3611	-47,2122
5	-79,6508	-71,897	-84,3315	-112,943	-82,6855	-
6	-46,0393	-46,8336	-52,4095	-99,0463	-95,3006	-68,4389
7	-60,1325	-75,7542	-78,1374	-93,3059	-96,5719	-34,7919
8	-67,7619	-64,9889	-54,5615	-105,953	-98,307	-49,1933
9	-78,7659	-82,9848	-83,2909	-112,976	-115,734	-

Yapılan bazı araştırmalarda akciğer kanserinin en önemli nedenlerinden birinin Ras proteininde görülen mutasyonlar olduğu bildirilmiştir. Gerçekleştirilen yüksek lisans tezinde elde edilen sonuçlara göre de özellikle 4 nolu bileşiğin A549 hücre hattı üzerindeki inhibisyon etkisi bundan sonra yapılacak olan çalışmalar için yol gösterici nitelik taşımaktadır. Bu çalışmalardan yola çıkılarak aromatik halka sübstitüenti yerine N taşıyan farklı heterohalkaların getirilmesiyle daha etkili yeni bileşiklerin geliştirilmesi ileriki çalışmalar olarak planlanmaktadır.

ÖZET

Kanser, gen ekspresyonundaki çoklu değişikliklerin neden olduğu anormal bir hücre büyümesidir. Hücre proliferasyonunun ve hücre ölümünün disregülasyonuna neden olmakta ve sonuçta dokuları istila edebilen ve tedavi edilemeyecek şekilde ciddi morbiditeye neden olarak uzak bölgelere metastaz yapan bir hücre popülasyonuna dönüşen, tedavi edilemezse de konağın ölümü ile sonuçlanan vücudun çeşitli organ ve sistemlerinde ortaya çıkan karmaşık bir hastalıktır. Klinikte kanser, farklı fenotipik özelliklere sahip farklı hastalıklar gibi görünmektedir. Ancak moleküler düzeyde tüm kanserlerin birçok ortak yanı bulunmaktadır (6).

Kanser, dünyanın birçok yerinde görülen büyük bir halk sağlığı sorunudur. Küresel kanser yükü, ekonomik olarak gelişmekte olan ülkelerde sigara gibi kanser gelişimini tetikleyici alışkanlıkların gün geçtikçe benimsenmesinin yanı sıra, dünya nüfusunun yaşlanması ve artması nedeniyle büyümeye devam etmektedir (144). Tüm bunların yanı sıra her geçen gün yeni bir kanser türünün tanımlanması, günümüzde var olan antikanser ilaçların toksisitelerinin yüksek, selektivitelerinin düşük oluşu ve bunlara karşı olan direnç gelişimi gibi dezavantajlar yeni antikanser ajan geliştirme çalışmalarının tüm hızıyla devam etmesine neden olmaktadır.

Heterosiklik bileşikler, ana yapılarda yaygın olarak bulunan, farmakolojik aktiviteleri nedeniyle medisinal kimyada önemli yere sahip yapılardır (11). Çalışmamızda yeni antikanser ilaçlar geliştirmek üzere bazı benzatiyazol türevi bileşikler tasarlanmış, moleküler modelleme

çalışmaları ile in silico etkinlikleri gözlemlenmiş ve daha az toksik ve gelişmiş ADME yapısına sahip olduğu öngörülen bileşikler sentezlenmiş ve sitotoksik aktiviteleri A549, MCF-7, PC-3, HEP-3B, HeLa, HT-29, K562, Raji ve NIH3T3 hücre hatları üzerindeki MTT yöntemi kullanılarak referans bileşik etopozidle kıyaslanarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, K562 hücre hattındaki 3 ve 4 ve 5 nolu bileşiklerin, Raji hücre hattında 5 ve 6 nolu bileşiğin, A549 hücre hattında 4 nolu bileşiğin etoposid'le kıyaslanabilir düzeyde inhibitör etkileri olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler Benzotiyazol, Doking, İlaç Tasarımı, Kanser, Moleküler Modelleme

THE SYNTHESIS OF SOME NEW BENZAZOL DERIVATIVES, THE INVESTIGATION OF ANTICANCER ACTIVITIES AND MOLECULAR MODELING STUDIES

SUMMARY

Cancer is an abnormal cell growth caused by multiple changes in gene expression. It is a complex disease characterized by dysregulation of cell proliferation and cell death, and ultimately transforms into a population of cells that can invade the tissues and metastasize to distant areas, leading to severe morbidity. It can occur in the various organs and systems of the body, and result in death of the host if could not be treated. In the clinic, cancer appears to be different diseases with different phenotypic features. However, all cancers have many common characteristics at the molecular level (6).

Cancer is a major public health problem in many areas of the world. Global cancer burden continues to grow due to the aging and growth of the world's population as well as the adoption of habits that trigger cancer development, such as cigarettes in economically developing countries (144). In addition, the definition of a new type of cancer, the high toxicity of the current anticancer drugs, the low selectivity and the development of resistance against them cause the development of new anticancer agent studies at full speed.

Heterocyclic compounds are commonly found in major structures and have important roles in medial chemistry due to their pharmacological activities (11). In our study, some benzathiazole derivatives were designed to develop new anticancer drugs, in silico activities were observed with molecular modeling studies and synthesized compounds predicted to have a less toxic and improved ADME structure and cytotoxic activities was evaluated by comparison with reference compound etoposide using MTT method on cell lines of A549, MCF-7, PC-3, HEP-3B, HeLa, HT-29, K562, Raji, NIH3T3. The results were compared to etoposide; showed that compounds 3, 4 and 5 had inhibitory activity against K562, compounds 5 and 6 had inhibitory activities on Raji cells, and compound 4 had inhibitory activity against A562 cells.

Keywords: Benzothiazole, Cancer, Docking, Drug Design, Molecular Modelling

KAYNAKLAR

1. Coleman WB, Tsongalis GJ, Cancer epidemiology: incidence and etiology of human neoplasms, in The Molecular Basis of Human Cancer. 2017; Springer. p. 1-24.

2. Hejmadi M, Introduction to cancer biology. 2009: Bookboon.

3. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A, Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J. Clin., 2018; 68(6): p. 394-424.

4. Pecorino L, The Molecular biology of cancer: mechanisms, targets, and therapeutics. 2012. 357.

5. R. Love R, Manual of clinical oncology. 1994.

6. Ruddon RW, Cancer biology. 2007: Oxford University Press.

7. WHO. Cancer mortality database. 2018 [cited 2019 27.05.2019]; Available from: http://www-dep.iarc.fr/WHOdb/WHOdb.htm.

8. Sağlık B. Kanser istatistikleri. 2017 [cited 2019 27.05.2019]; Eklenti 8635]. Available from: https://www.saglik.gov.tr/Eklenti/8635,kanser-istatistikleridocx.docx?0.

9. Yadav PS, Dahiya DD, Senthikumar GP, Benzothiazole: different method of synthesis and diverse biological activities. Int. J. Pharm. Sci. Drug Res., 2011; 3(1): p. 1-7.

10. D QL, Tyrell JA, Fundamentals of heterocyclic chemistry: Importance in nature and in the synthesis of pharmaceuticals. 2010: John Wiley & Sons.

11. Ali R, Siddiqui N, Biological aspects of emerging benzothiazoles: a short review. J. Chem. Chem. Eng., 2013: p. 1-12.

12. Patel NB, Shaikh FM, New 4-thiazolidinones of nicotinic acid with 2-Amino-6-methylbenzothiazole and their biological activity. Sci. Pharm., 2010; 78(4): p. 753-65.

13. Trapani V, Patel V, Leong C, Ciolino H, Yeh G, Hose C, Trepel J, Stevens M, Sausville E, Loaiza-Perez A, DNA damage and cell cycle arrest induced by 2-(4-amino-3-methylphenyl)-5-fluorobenzothiazole (5F 203, NSC 703786) is attenuated in aryl hydrocarbon receptor deficient MCF-7 cells. Br. J. Cancer, 2003; 88(4): p. 599.

14. Huang S-T, Hsei I-J, Chen C, Synthesis and anticancer evaluation of bis (benzimidazoles), bis (benzoxazoles), and benzothiazoles. Bioorganic & medicinal chemistry, 2006; 14(17): p. 6106-19.

15. Trapani G, Latrofa A, Franco M, Armenise D, Morlacchi F, Liso G, Synthesis and antimicrobial activity of some N-alkenyl-2-acylalkylidene-2,3-dihydro-1,3-benzothiazoles. Arzneimittelforschung, 1994; 44(8): p. 969-71.

16. Yalcin I, Oren I, Sener E, Akin A, Ucarturk N, The synthesis and the structure-activity relationships of some substituted benzoxazoles, oxazolo(4,5-b)pyridines, benzothiazoles and benzimidazoles as antimicrobial agents. Eur. J. Med. Chem., 1992; 27(4): p. 401-6.

17. Yildiz-Oren I, Yalcin I, Aki-Sener E, Ucarturk N, Synthesis and structure–activity relationships of new antimicrobial active multisubstituted benzazole derivatives. Eur. J. Med. Chem., 2004; 39(3): p. 291-8.

18. Küçükbay H, Durmaz B, Antifungal activity of organic and organometallic derivatives of benzimidazole and benzothiazole. Arzneimittelforschung, 1997; 47(5): p. 667-70.

19. Pattan S, Suresh C, Pujar V, Reddy V, Rasal V, Koti B, Synthesis and antidiabetic activity of 2-amino [5'(4-sulphonylbenzylidine)-2, 4-thiazolidinedione]-7-chloro-6-fluorobenzothiazole. 2005.

20. Prous J, Mealy N, Castaner J, Zopolrestat: symptomatic antidiabetic, aldose reductase inhibitor. Drugs of the Future, 1995; 20(1): p. 33-6.

21. Gurupadayya B, Gopal M, Padmashali B, Valdya V, Synthesis and biological activities of fluoro benzothiazoles. Indian J. Heterocycl. Chem., 2005; 15(2): p. 169-72.

22. Akhtar T, Hameed S, Al-Masoudi N, Loddo R, Colla P, In vitro antitumor and antiviral activities of new benzothiazole and 1, 3, 4-oxadiazole-2-thione derivatives. Acta pharmaceutica, 2008; 58(2): p. 135-49.

23. Suresh C, Rao J, Jayaveera K, Subudhi H, Synthesis and anthelminitc activity of 3 (2-hydrazino benzothiazoles)-substituted indole-2-one. IJPR, 2011; 2: p. 257-61.

24. Ra CS, Jung BY, Park G, The fungicidal benzothiazole methoxyacrylates: Synthesis, conformational analysis and fungicidal activity. Heterocycles, 2004; 62(1): p. 793-802.

25. Stierle AA, Cardellina II JH, Singleton FL, Benzothiazoles from a putatitve bacterial symbiont of the marine sponge Tedania ignis. Tetrahedron Lett., 1991; 32(37): p. 4847-8.

26. Gupta A, Rawat S, Synthesis and cyclization of benzothiazole. J Curr Pharm Res, 2010; 3: p. 13-23.

27. Rahim F, Samreen S, Taha M, Saad S, Perveen S, Khan DM, Tanveer Alam M, Khan K, Choudhary M, Antileishmanial activities of benzothiazole derivatives. J. Chem. Soc. Pak., 2015; 37: p. 157-61.

28. Rostamizadeh S, Housaini SAG, Microwave-assisted preparation of 2-substituted benzothiazoles. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 2005; 180(5-6): p. 1321-6.

29. Praveen C, Kumar KH, Muralidharan D, Perumal PT, Oxidative cyclization of thiophenolic and phenolic Schiff's bases promoted by PCC: a new oxidant for 2-substituted benzothiazoles and benzoxazoles. Tetrahedron, 2008; 64(10): p. 2369-74.

30. Ha S-T, Koh T-M, Ong S-T, Lee T-L, Sivasothy Y, Synthesis of 2-(4-propyloxyphenyl) benzothiazole. Molbank, 2009; 2009(3): p. M609.

31. Patil S, Bobade V, Simple and efficient one-pot synthesis of 2-substituted benzoxazole and benzothiazole. Synth. Commun., 2009; 40(2): p. 206-12.

32. Boger DL, A convenient preparation of 2-substituted benzothiazoles. The Journal of Organic Chemistry, 1978; 43(11): p. 2296-7.

33. Al-Qalaf F, Mekheimer RA, Sadek KU, Cerium (IV) ammonium nitrate (CAN) catalyzed one-pot synthesis of 2-arylbenzothiazoles. Molecules (Basel, Switzerland), 2008; 13(11): p. 2908-14.

34. Rey V, Soria-Castro SM, Argüello JE, Peñéñory AB, Photochemical cyclization of thioformanilides by chloranil: An approach to 2-substituted benzothiazoles. Tetrahedron Lett., 2009; 50(33): p. 4720-3.

35. Ding Q, Cao B, Zong Z, Peng Y, Silica gel-promoted Tandem Addition− cyclization reactions of 2-alkynylbenzenamines with isothiocyanates. J. Comb. Chem., 2010; 12(3): p. 370-3.

36. Wang J, Peng F, Jiang J-l, Lu Z-j, Wang L-y, Bai J, Pan Y, Synthesis of N-benzothiazol-2-yl-amides by a copper-catalyzed intramolecular cyclization process. Tetrahedron Lett., 2008; 49(3): p. 467-70.

37. Mu X, Zou J, Zeng R, Wu J, Catalytic asymmetric reactions in organic chemistry. Tetrahedron Lett., 2005; 46 p. 4345-7.

38. Montalbetti CA, Falque V, Amide bond formation and peptide coupling. Tetrahedron, 2005; 61(46): p. 10827-52.

39. Ghose AK, Viswanadhan VN, Wendoloski JJ, A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A

qualitative and quantitative characterization of known drug databases. J. Comb. Chem., 1999; 1(1): p. 55-68.

40. Rajput P, Sharma A, Synthesis and biological importance of amide analogues. Journal of Pharmacology and Medicinal Chemistry, 2018; 2(1).

41. Zabicky J, Chemistry of amides. 1970.

42. Carey FA, Giuliano RM, Organic chemistry. 2017.

43. Ouellette RJ, Rawn JD, 22 - Carboxylic Acid Derivatives, in Organic Chemistry (Second Edition), Ouellette RJ, Rawn JD, Editors. 2018; Academic Press. p. 665-710.

44. Ulijn RV, Moore BD, Janssen AEM, Halling PJ, A single aqueous reference equilibrium constant for amide synthesis–hydrolysis. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2, 2002;(5): p. 1024-8.

45. Jursic BS, Zdravkovski Z, A simple preparation of amides from acids and amines by heating of their mixture. Synth. Commun., 1993; 23(19): p. 2761-70.

46. Khalafi-Nezhad A, Parhami A, Soltani Rad MN, Zarea A, Efficient method for the direct preparation of amides from carboxylic acids using tosyl chloride under solvent-free conditions. Tetrahedron Lett., 2005; 46(40): p. 6879-82.

47. Khalafi-Nezhad A, Mokhtari B, Soltani Rad MN, Direct preparation of primary amides from carboxylic acids and urea using imidazole under microwave irradiation. Tetrahedron Lett., 2003; 44(39): p. 7325-8.

48. Srinivasan S, Manisankar P, Formamide as an ammonia synthon in amination of acid chlorides. Synth. Commun., 2010; 40(23): p. 3538-43.

49. Fujiwara H, Ogasawara Y, Yamaguchi K, Mizuno N, A One-Pot synthesis of primary amides from aldoximes or aldehydes in water in the presence of a supported rhodium catalyst. Angew. Chem., 2007; 119(27): p. 5294-7.

50. Shie J-J, Fang J-M, Direct conversion of aldehydes to amides, tetrazoles, and triazines in aqueous media by one-pot tandem reactions. The Journal of Organic Chemistry, 2003; 68(3): p. 1158-60.

51. Owston NA, Parker AJ, Williams JMJ, Highly efficient ruthenium-catalyzed oxime to amide rearrangement. Org. Lett., 2007; 9(18): p. 3599-601.

52. Park S, Choi Y-a, Han H, Ha Yang S, Chang S, Rh-Catalyzed one-pot and practical transformation of aldoximes to amides. ChCom, 2003;(15): p. 1936-7.

53. Gnanamgari D, Crabtree RH, Terpyridine ruthenium-catalyzed one-pot conversion of aldehydes into amides. Organometallics, 2009; 28(3): p. 922-4.

54. Marcelli T, Mechanistic insights into direct amide bond formation catalyzed by boronic acids: halogens as Lewis Bases. Angew. Chem. Int. Ed., 2010; 49(38): p. 6840-3.

55. Ishihara K, Dehydrative condensation catalyses. Tetrahedron, 2009; 65(6): p. 1085-109.

56. Roughley SD, Jordan AM, The Medicinal chemist's toolbox: an analysis of reactions used in the pursuit of drug candidates. J. Med. Chem., 2011; 54(10): p. 3451-79.

57. Schotten C, Ueber die oxydation des piperidins. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, 1884; 17(2): p. 2544-7.

58. Baumann E, Ueber eine einfache methode der darstellung von benzoësäureäthern. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, 1886; 19(2): p. 3218-22.

59. Westfahl JC, Gresham TL, Vinylidene cyanide. VI. the aluminum chloride catalyzed reaction with t-alkanes. J. Am. Chem. Soc., 1955; 77(4): p. 936-9.

60. Bendale PM, Khadilkar BM, Selective hydrolysis of nitriles to amides using NaOH-PEG under microwave irradiation. Synth. Commun., 2000; 30(10): p. 1713-8.

61. Goto A, Endo K, Saito S, RhI-catalyzed hydration of organonitriles under ambient conditions. Angew. Chem. Int. Ed., 2008; 47(19): p. 3607-9.

62. Li Z, Wang L, Zhou X, An efficient and practical protocol for catalytic hydrolysis of nitriles by a copper(ı) complex in water. Adv. Synth. Catal., 2012; 354(4): p. 584-8.

63. Liu Y-M, He L, Wang M-M, Cao Y, He H-Y, Fan K-N, A general and efficient heterogeneous gold-catalyzed hydration of nitriles in neat water under mild atmospheric conditions. ChemSusChem, 2012; 5(8): p. 1392-6.

64. Marcé P, Lynch J, Blacker AJ, Williams JMJ, A mild hydration of nitriles catalysed by copper(ii) acetate. ChCom, 2016; 52(7): p. 1436-8.

65. Mitsudome T, Mikami Y, Mori H, Arita S, Mizugaki T, Jitsukawa K, Kaneda K, Supported silver nanoparticle catalyst for selective hydration of nitriles to amides in water. ChCom, 2009;(22): p. 3258-60.

66. Matsuoka A, Isogawa T, Morioka Y, Knappett BR, Wheatley AEH, Saito S, Naka H, Hydration of nitriles to amides by a chitin-supported ruthenium catalyst. RSC Advances, 2015; 5(16): p. 12152-60.

67. Zweifel T, Naubron J-V, Grützmacher H, Catalyzed dehydrogenative coupling of primary alcohols with water, methanol, or amines. Angew. Chem. Int. Ed., 2009; 48(3): p. 559-63.

68. Owston NA, Parker AJ, Williams JMJ, Iridium-catalyzed conversion of alcohols into amides via oximes. Org. Lett., 2007; 9(1): p. 73-5.

69. Kim JW, Yamaguchi K, Mizuno N, Heterogeneously catalyzed efficient oxygenation of primary amines to amides by a supported ruthenium hydroxide catalyst. Angew. Chem. Int. Ed., 2008; 47(48): p. 9249-51.

70. Beckmann E, Isonitroso compounds. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, 1886; 19: p. 988-93.

71. Gawley RE, The Beckmann Reactions: rearrangements, elimination-additions, fragmentations, and rearrangement-cyclizations. Organic Reactions, 1988; 35: p. 1-420.

72. Donaruma L, Heldt W, The Beckmann Rearrangement. Organic Reactions, 1960; 11: p. 2-36.

73. Srivastava VP, Yadav AK, Yadav LDS, The Beckmann Rearrangement executed by visible-light-driven generation of Vilsmeier–Haack reagent. Synlett, 2014; 25(05): p. 665-70.

74. Ganguly NC, Mondal P, Efficient iodine-mediated Beckmann Rearrangement of ketoximes to amides under mild neutral conditions. Synthesis, 2010; 2010(21): p. 3705-9.

75. Sanz R, Aguado R, Pedrosa MR, Arnáiz FJ, Simple and selective oxidation of thiols to disulfides with dimethylsulfoxide catalyzed by dichlorodioxomolybdenum (VI). Synthesis, 2002; 2002(07): p. 0856-8.

76. Ramón RS, Bosson J, Díez-González S, Marion N, Nolan SP, Au/Ag-cocatalyzed aldoximes to amides rearrangement under solvent- and acid-free conditions. The Journal of Organic Chemistry, 2010; 75(4): p. 1197-202.

77. Naik PN AN, Kusurkar RS. , Beckmann rearrangement for the synthesis of derivatives of β-and γ-carbolinones, dihydropyrrolopyridinone and tetrahydroisoquinolinone. ARKIVOC, 2015; 7: p. 362-76.

78. Manvar AT, Pissurlenkar RRS, Virsodia VR, Upadhyay KD, Manvar DR, Mishra AK, Acharya HD, Parecha AR, Dholakia CD, Shah AK, Coutinho EC, Synthesis, in vitro antitubercular activity and 3D-QSAR study of 1,4-dihydropyridines. Mol. Divers., 2010; 14(2): p. 285-305.

79. Jayne L. Kenwright WRJDG, Lars Wortmann & David R. Spring, Mild and efficient synthesis of benzo-fused seven- and eight-membered ring lactams: a convenient approach to biologically ınteresting chemotypes. Synthetic Communications - An International Journal for Rapid Communication of Synthetic Organic Chemistry, 2013; 43(11): p. 1508-16.

80. Aube J, Milligan GL, Intramolecular Schmidt reaction of alkyl azides. J. Am. Chem. Soc., 1991; 113(23): p. 8965-6.

81. Motiwala HF, Charaschanya M, Day VW, Aubé J, Remodeling and enhancing Schmidt Reaction pathways in hexafluoroisopropanol. The Journal of Organic Chemistry, 2016; 81(4): p. 1593-609.

82. Iyengar R, Schildknegt K, Aubé J, Regiocontrol in an intramolecular Schmidt Reaction: total synthesis of (+)-aspidospermidine. Org. Lett., 2000; 2(11): p. 1625-7.

83. Chen Y, Liu B, Liu X, Yang Y, Ling Y, Jia Y, Schmidt reaction of ketones in DME solution in a continuous-flow microreactor. Organic Process Research & Development, 2014; 18(11): p. 1589-92.

84. Schuerch C, Huntress EH, The Schmidt Reaction. I. conditions and reaction mechanism with primary, secondary and tertiary aliphatic acids. J. Am. Chem. Soc., 1949; 71(6): p. 2233-7.

85. Papa M, Chiarotto I, Feroci M, Willgerodt-Kindler Reaction of benzaldehydes: a comparative study for a sustainable synthesis of secondary thiobenzamides. ChemistrySelect, 2017; 2(10): p. 3207-10.

86. Eftekhari-Sis B, Vahdati S, Motahhareh Amini S, Zirak M, Saraei M, Willgerodt-Kindler reaction of arylglyoxals with amines and sulfur in aqueous media: A simple and efficient synthesis of -ketothioamides. Journal of Sulfur Chemistry, 2013; 34(5): p. 464-73.

87. El Kaïm L, Grimaud L, Oble J, Phenol Ugi–Smiles systems: strategies for the multicomponent N-Arylation of primary amines with isocyanides, aldehydes, and phenols. Angew. Chem. Int. Ed., 2005; 44(48): p. 7961-4.

88. Tanaka Y, Hasui T, Suginome M, Acid-free, aminoborane-mediated Ugi-type Reaction leading to general utilization of secondary amines. Org. Lett., 2007; 9(22): p. 4407-10.

89. Braddock DC, Lickiss PD, Rowley BC, Pugh D, Purnomo T, Santhakumar G, Fussell SJ, Tetramethyl orthosilicate (TMOS) as a reagent for direct amidation of carboxylic acids. Org. Lett., 2018; 20(4): p. 950-3.

90. Goodreid JD, Duspara PA, Bosch C, Batey RA, Amidation reactions from the direct coupling of metal carboxylate salts with amines. The Journal of Organic Chemistry, 2014; 79(3): p. 943-54.

91. Bolelli K, Yalcin I, Ertan-Bolelli T, Ozgen S, Onurdag F, Yildiz I, Aki E, Synthesis of novel 2-[4-(4-substitutedbenzamido/phenylacetamido)phenyl]benzothiazoles as antimicrobial agents. Med. Chem. Res., 2012; 21(11): p. 3818-25.

92. Yalcin I, Kaymakçioğlu B, Yildiz I, Aki E, Temiz-Arpaci O, Akin A, Altanlar N, Synthesis and microbiological activity of some novel N-(2-hydroxyl-5-substitutedphenyl)benzacetamides, phenoxyacetamides and thiophenoxyacetamides as the possible metabolites of antimicrobial active benzoxazoles. Farmaco, 1997; 52: p. 685-9.

93. Yilmaz S, Yalcin I, Kaynak-Onurdag F, Ozgen S, Yildiz I, Aki E, Synthesis and in vitro antimicrobial activity of novel 2-(4-(Substituted-carboxamido)benzyl / phenyl)benzothiazoles. Croat. Chem. Acta, 2013; 86(2): p. 223–31.

94. Bolelli K, Musdal Y, Aki E, Mannervik B, Yalcin I, Synthesis and activity mechanism of some novel 2-substituted benzothiazoles as hGSTP1-1 enzyme inhibitors. SAR QSAR Environ. Res., 2017; 28(11): p. 927-40.

95. Aiello S, Wells G, Stone EL, Kadri H, Bazzi R, Bell DR, Stevens MF, Matthews CS, Bradshaw TD, Westwell AD, Synthesis and biological properties of benzothiazole, benzoxazole, and chromen-4-one analogues of the potent antitumor agent 2-(3, 4-dimethoxyphenyl)-5-fluorobenzothiazole (PMX 610, NSC 721648). J. Med. Chem., 2008; 51(16): p. 5135-9.

96. Jin L, Song B, Zhang G, Xu R, Zhang S, Gao X, Hu D, Yang S, Synthesis, X-ray crystallographic analysis, and antitumor activity of N-(benzothiazole-2-yl)-1-(fluorophenyl)-O,O-dialkyl-α-aminophosphonates. Bioorg. Med. Chem. Lett., 2006; 16(6): p. 1537-43.

97. Mortimer CG, Wells G, Crochard J-P, Stone EL, Bradshaw TD, Stevens MF, Westwell AD, Antitumor benzothiazoles. 26. 2-(3, 4-Dimethoxyphenyl)-5-fluorobenzothiazole (GW 610, NSC 721648), a simple fluorinated 2-arylbenzothiazole, shows potent and selective inhibitory activity against lung, colon, and breast cancer cell lines. J. Med. Chem., 2006; 49(1): p. 179-85.

98. Chen J, Qian L, Shen Y, Chen L, Zheng K, A QSAR study and molecular design of benzothiazole derivatives as potent anticancer agents. Science in China Series B: Chemistry, 2008; 51(2): p. 111-9.

99. Kok SHL, Gambari R, Chui CH, Yuen MCW, Lin E, Wong RSM, Lau FY, Cheng GYM, Lam WS, Chan SH, Synthesis and anti-cancer activity of benzothiazole containing phthalimide on human carcinoma cell lines. Biorg. Med. Chem., 2008; 16(7): p. 3626-31.

100. Saeed S, Rashid N, Jones PG, Ali M, Hussain R, Synthesis, characterization and biological evaluation of some thiourea derivatives bearing benzothiazole moiety as potential antimicrobial and anticancer agents. Eur. J. Med. Chem., 2010; 45(4): p. 1323-31.

101. Solomon VR, Hu C, Lee H, Hybrid pharmacophore design and synthesis of isatin–benzothiazole analogs for their anti-breast cancer activity. Biorg. Med. Chem., 2009; 17(21): p. 7585-92.

102. Kamal A, Reddy KS, Khan MNA, Shetti RV, Ramaiah MJ, Pushpavalli S, Srinivas C, Pal-Bhadra M, Chourasia M, Sastry GN, Synthesis, DNA-binding ability and anticancer activity of benzothiazole/benzoxazole–pyrrolo [2, 1-c][1, 4] benzodiazepine conjugates. Biorg. Med. Chem., 2010; 18(13): p. 4747-61.

103. Havrylyuk D, Mosula L, Zimenkovsky B, Vasylenko O, Gzella A, Lesyk R, Synthesis and anticancer activity evaluation of 4-thiazolidinones containing benzothiazole moiety. Eur. J. Med. Chem., 2010; 45(11): p. 5012-21.

104. Wang Z, Shi X-H, Wang J, Zhou T, Xu Y-Z, Huang T-T, Li Y-F, Zhao Y-L, Yang L, Yang S-Y, Synthesis, structure–activity relationships and preliminary antitumor evaluation of benzothiazole-2-thiol derivatives as novel apoptosis inducers. Bioorg. Med. Chem. Lett., 2011; 21(4): p. 1097-101.

105. Kumbhare RM, Dadmal T, Kosurkar U, Sridhar V, Rao JV, Synthesis and cytotoxic evaluation of thiourea and N-bis-benzothiazole derivatives: A novel class of cytotoxic agents. Bioorg. Med. Chem. Lett., 2012; 22(1): p. 453-5.

106. Oanh DTK, Van Hai H, Park SH, Kim H-J, Han B-W, Kim H-S, Hong J-T, Han S-B, Nam N-H, Benzothiazole-containing hydroxamic acids as histone deacetylase inhibitors and antitumor agents. Bioorg. Med. Chem. Lett., 2011; 21(24): p. 7509-12.

107. Prabhu PP, Panneerselvam T, Shastry C, Sivakumar A, Pande SS, Synthesis and anticancer evaluation of 2-phenyl thiaolidinone substituted 2-phenyl benzothiazole-6-carboxylic acid derivatives. Journal of Saudi Chemical Society, 2015; 19(2): p. 181-5.

108. Caputo R, Calabrò ML, Micale N, Schimmer AD, Ali M, Zappalà M, Grasso S, Synthesis of benzothiazole derivatives and their biological evaluation as anticancer agents. Med. Chem. Res., 2012; 21(9): p. 2644-51.

109. Xiang P, Zhou T, Wang L, Sun C-Y, Hu J, Zhao Y-L, Yang L, Novel benzothiazole, benzimidazole and benzoxazole derivatives as potential antitumor agents: synthesis and preliminary in vitro biological evaluation. Molecules, 2012; 17(1): p. 873-83.

110. Abdelgawad MA, Belal A, Omar HA, Hegazy L, Rateb ME, Synthesis, anti-breast cancer activity, and molecular modeling of some benzothiazole and benzoxazole derivatives. Arch. Pharm., 2013; 346(7): p. 534-41.

111. Kandeel MM, Eman A, Abd El Hamid M, Abdelgawad MA, Philoppes JN, Synthesis and in vitro antitumor activity of new benzothiazole and benzoxazole derivatives. J. Chem. Pharm. Res., 2013; 5: p. 16-21.

112. Abdelgawad MA, Belal A, Ahmed OM, Synthesis, molecular docking studies and cytotoxic screening of certain novel thiazolidinone derivatives substituted with benzothiazole or benzoxazole. J. Chem. Pharm. Res., 2013; 5(2): p. 318-27.

113. Kamal A, Faazil S, Ramaiah MJ, Ashraf M, Balakrishna M, Pushpavalli S, Patel N, Pal-Bhadra M, Synthesis and study of benzothiazole conjugates in the control of cell proliferation by modulating Ras/MEK/ERK-dependent pathway in MCF-7 cells. Bioorg. Med. Chem. Lett., 2013; 23(20): p. 5733-9.

114. Lindgren EB, de Brito MA, Vasconcelos TR, de Moraes MO, Montenegro RC, Yoneda JD, Leal KZ, Synthesis and anticancer activity of (E)-2-benzothiazole hydrazones. Eur. J. Med. Chem., 2014; 86: p. 12-6.

115. Yurttaş L, Tay F, Demirayak Ş, Synthesis and antitumor activity evaluation of new 2-(4-aminophenyl) benzothiazole derivatives bearing different heterocyclic rings. J. Enzyme Inhib. Med. Chem., 2015; 30(3): p. 458-65.

116. Ece Gurdal E, Buclulgan E, Durmaz I, Cetin-Atalay R, Yarim M, Synthesis and anticancer activity evaluation of some benzothiazole-piperazine derivatives. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents), 2015; 15(3): p. 382-9.

117. Sadhasivam G, Kulanthai K, Natarajan A, Synthesis and anti-cancer studies of 2, 6-disubstituted benzothiazole derivatives. Oriental Journal of Chemistry, 2015; 31(2): p. 819-26.

118. M Kandeel M, M Ali S, A Abdelgawad M, Sadek Abdel-Bakky M, EA Mohamed F, Synthesis and cytotoxic activity of acridine derivatives substituted with benzimidazole, benzoxazole and benzothiazole. 2016.

119. Eshkil F, Eshghi H, Saljooghi AS, Bakavoli M, Rahimizadeh M, Benzothiazole thiourea derivatives as anticancer agents: design, synthesis, and biological screening. uss. J. Bioorg. Chem., 2017; 43(5): p. 576-82.

120. Belal A, Abdelgawad MA, New benzothiazole/benzoxazole-pyrazole hybrids with potential as COX inhibitors: design, synthesis and anticancer activity evaluation. Res. Chem. Intermed., 2017; 43(7): p. 3859-72.

121. Osmaniye D, Levent S, Ardıç CM, Atlı Ö, Özkay Y, Kaplancıklı ZA, Synthesis and anticancer activity of some novel benzothiazole-thiazolidine derivatives. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 2018; 193(4): p. 249-56.

122. Firoozpour L, Mokhtari A, Moghimi S, Safavi M, Foroumadi A, Synthesis and biological evaluation of 2-phenyl benzothiazole derivatives as cytotoxic agents. J. Sci., Islamic Repub. Iran, 2018; 29(4): p. 335-40.

123. Zhang J, Cheng Z-Q, Song J-L, Tao H-R, Zhu K, Muehlmann LA, Jiang C-S, Zhang H, Synthesis and biological evaluation of 2-(3-aminophenyl)-benzothiazoles as antiproliferative and apoptosis-inducing agents. Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly, 2018; 149(11): p. 2093-102.

124. Chacon E, Acosta D, Lemasters JJ, Primary cultures of cardiac myocytes as in vitro models for pharmacological and toxicological assessments, in In Vitro Methods in Pharmaceutical Research, Castell JV, Gómez-Lechón MJ, Editors. 1997; Academic Press: San Diego. p. 209-23.

125. Liu Y, Peterson DA, Kimura H, Schubert D, Mechanism of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction. JNeur, 1997; 69(2): p. 581-93.

126. Plumb JA, Cell sensitivity assays: The MTT assay. Cancer Cell Culture, 2004; 88: p. 165-9.

127. Beekman AC, Barentsen ARW, Woerdenbag HJ, Van Uden W, Pras N, Konings AWT, El-Feraly FS, Galal AM, Wikström HV, Stereochemistry-dependent cytotoxicity of some artemisinin derivatives. J. Nat. Prod., 1997; 60(4): p. 325-30.

128. Discovery Studio (Computer program). 2012; Accelrys, Editor.

129. Chatterjee S, Burns TF, Targeting heat shock proteins in cancer: a promising therapeutic approach. Int. J. Mol. Sci., 2017; 18(9): p. 1978.

130. Wu J, Liu T, Rios Z, Mei Q, Lin X, Cao S, Heat shock proteins and cancer. Trends Pharmacol. Sci., 2017; 38(3): p. 226-56.

131. Chohan TA, Qian H, Pan Y, Chen JZ, Cyclin-dependent kinase-2 as a target for cancer therapy: progress in the development of CDK2 inhibitors as anti-cancer agents. Curr. Med. Chem., 2015; 22(2): p. 237-63.

132. Nitiss JL, Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy. Nature reviews. Cancer, 2009; 9(5): p. 338-50.

133. McClendon AK, Osheroff N, DNA topoisomerase II, genotoxicity, and cancer. Mutat. Res., 2007; 623(1-2): p. 83-97.

134. Saxena N, Lahiri S, Hambarde S, Tripathi R, RAS: target for cancer therapy. Cancer Invest., 2008; 26(9): p. 948-55.

135. Waters AM, Der CJ, KRAS: the critical driver and therapeutic target for pancreatic cancer. Cold Spring Harb. Perspect. Med., 2018; 8(9): p. 1-17.

136. Momany FA, Rone R, Validation of the general purpose QUANTA® 3.2/CHARMm® force field. JCoCh, 1992; 13(7): p. 888-900.

137. Chu J-W, Trout BL, Brooks BR, A super-linear minimization scheme for the nudged elastic band method. The Journal of chemical physics, 2003; 119(24): p. 12708-17.

138. Wu G, Robertson DH, Brooks III CL, Vieth M, Detailed analysis of grid-based molecular docking: A case study of CDOCKER—A CHARMm-based MD docking algorithm. JCoCh, 2003; 24(13): p. 1549-62.

139. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Advanced drug delivery reviews, 2012; 64: p. 4-17.

140. Veber DF, Johnson SR, Cheng H-Y, Smith BR, Ward KW, Kopple KD, Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. J. Med. Chem., 2002; 45(12): p. 2615-23.

141. Oprea TI, Property distribution of drug-related chemical databases. J. Comput.-Aided Mol. Des., 2000; 14(3): p. 251-64.

142. Egan WJ, Lauri G, Prediction of intestinal permeability. Adv. Drug Del. Rev., 2002; 54(3): p. 273-89.

143. Egan WJ, Merz KM, Baldwin JJ, Prediction of drug absorption using multivariate statistics. J. Med. Chem., 2000; 43(21): p. 3867-77.

144. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D, Global cancer statistics. CA Cancer J. Clin., 2011; 61(2): p. 69-90.

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİLLER

Şekil 1. 2018 yılında yayınlanan harita grafiğinde kanser vakalarının 5 yıllık prevalansının tüm dünyada dağılımı görülmektedir. er sıralama grubu (sol alt) temsil edilen ülkeleri belirtmektedir (7) 5

Şekil 2. Türkiye'de erkeklere en çok görülen kanser türleri (%) (8) 6

Şekil 3. Türkiye'de kadınlarda en çok görülen kanser türleri (%) (8) 6

Şekil 4. Tiyazol (A), benzotiyazol (B) halka yapıları 7

Şekil 5. (S)-2,6–diamino–N-(4-(5-florobenzotiyazol-2-il)-2-metilfenil)hekzanamid, Phortress (11) 8

Şekil 6. 2-aminotiyofenol ve aldehitler üzerinden yürüyen 2-sübstitüe benzotiyazol sentezi, DMF ve $Na_2S_2O_5$ (katalizör) (27) 8

Şekil 7. *p*-Ts-OH varlığında, 2-amiotiyofenol ve aldehitler üzerinden antioksidan kullanılmadan 2- sübstitüe benzotiyazol sentezi (28) 9

Şekil 8. Silikajel üzerinde PCC varlığında, tiyofenolik ve fenolik schiff bazlarının oksidatif siklizasyonu ile 2-arilbenzotiyazol sentezi (29) 9

Şekil 9. 2-aminotiyofenol ve 4-hidroksi benzaldehitin 6 saat geri soğutucu altında ısıtılmasıyla yapılan 2-(4-propiloksifenil)benzotiyazol sentezi (30) 9

Şekil 10. Asetonitril içerisinde dietil bromo fosfonat veya tersiyer-butil hipoklorit varlığında benzotiyazol sentezi (31)..... 10

Şekil 11. 2-aminotiyofenol ve karboksilik asitin P_2O_5/CH_3SO_3H varlığında ısıtılması ile 2-sübstitüe benzotiyazol sentezi (32) 10

Şekil 12. 2-aminotiyofenol ve aromatik aldehitlerden, Seryum (IV) amonyum nitrat (CAN) aracılığı ile yürüyen 2-arilbenzotiyazol sentezi (33)..... 10

Şekil 13. Tiyoformanilidin 1,2-dikloroetan ve toluen içerisindeki kloranil varlığında ısıtılmasıyla oluşan 2-sübstitüe benzotiyazol sentezi (34) 11

Şekil 14. 2-iyodobenzenaminin farklı ligandlarla (1,10-fenantrolin, glisin, prolin), bakır(I) katalizli, baz ve çeşitli solventler altında oluşan 2-aminobenzotiyazol sentezi (35)..... 11

Şekil 15. Bakır katalizi altında 1-benzoil-3-(2-bromofenil)tiyoüre'den, N-benzatiyazol-2-il-amid türevleri sentez şeması (36)..... 11

Şekil 16. Sübstitüe tiyoformanilidlerin radikal siklizasyonu sonucu 2-sübstitüe benzotiyazol eldesi (37)..... 12

Şekil 17. Çeşitli amit yapıdaki gruplara örnekler (43) 13

Şekil 18. Çeşitli laktam yapısına sahip moleküllere örnekler 13

Şekil 19. Ester ve amit bağları oluşumunu gösteren temel denklem 15

Şekil 20. Boranik asit katalizörlüğünde gerçekleştirilmiş olan geleneksel amit sentezi (54) .. 16

Şekil 21. Schotten-Baumann reaksiyonu genel şeması 16

Şekil 22. Primer amit hazırlanmasında kullanılabilecek metotlar..... 17

Şekil 23. Beckmann Düzenlemesi'nin ana denklemi..... 18

Şekil 24. Srivastava ve arkadaşları tarafından raporlanan oksim türevlerinden amid türevlerinin sentez denklemi (73) 18

Şekil 25. Ganguly ve arkadaşlarının ortaya koyduğu oksim türevlerinden amid türevlerinin hazırlanmasına ait genel reaksiyon denklemi (74)..... 19

Şekil 26. Shargi ve arkadaşlarının ortaya koyduğu oketon türevlerinden amid türevlerinin hazırlanmasına ait genel reaksiyon denklemi(75)..... 19

Şekil 27. Ramon ve arkadaşları tarafından oksim türevlerinden amid türevlerinin hazırlanmasına ait genel denklem (76)..... 19

Şekil 28. Beckmann Düzenlemesi ile oluşturulmuş bileşikler, Formül I-IV (77)..... 20

Şekil 29. Beckmann Düzenlemesi ile oluşturulmuş türevler, Formül V (78) 20

Şekil 30. Beckmann Düzenlemesi ile oluşturulmuş türevler, Formül VI (79)..... 21

Şekil 31. Alkil azidlerin intramoleküler Schmidt reaksiyonu genel reaksiyon denklemi (80) 21

Şekil 32. Schmidt reaksiyonu ile keton türevleri üzerinden amit eldesi (81) 22

Şekil 33. İntramoleküler Schmidt reaksiyonu. Iyengar ve arkadaşları tarafından ketondan amit türevlerinin hazırlanmasını gösteren reaksiyon denklemi (82) 23

Şekil 34. Jia ve arkadaşları tarafından ketondan amit türevlerinin hazırlanmasını gösteren reaksiyon denklemi(83)..... 23

Şekil 35. Amid türevlerinin asit türevlerinden hazırlanmasına ait Huntress ve arkadaşlarının bildirdiği genel reaksiyon denklemi..... 24

Şekil 36. UGI reaksiyonu şeması 24

Şekil 37. Aldehit, amin, siyano ve ester türevleri arasındaki reaksiyondan amit türevlerinin hazırlanmasını gösteren denklem(87) 25

Şekil 38. Suginome ve arkadaşları tarafından amit türevlerinin, aminoboran varlığında aldehit, sekonder aminler ve izosiyanitler arasındaki reaksiyondan, hazırlanması (88)..... 25

Şekil 39. Braddock ve arkadaşlarının raporladığı amidasyon oluşumunu gösteren denklem (89) 26

Şekil 40. Godreid ve arkadaşlarının 2014 yılında bildirdiği amit sentezini gösteren denklem (90) 26

Şekil 41. Bollelli ve arkadaşları tarafından rapor edilen amit yapısı içeren 2- [4- (4-substitutedbenzamido/ fenilasetamido) fenil] benzotiyazol türevleri genel sentez şeması (91) 27

Şekil 42. Yılmaz ve arkadaşları tarafından raporlanan amit yapısı içeren benzotiyazol türevleri (6a-6w) genel sentez şeması(93) 27

Şekil 43. Bolelli ve arkadaşları tarafından raporlanan amit yapısı içeren benzotiyazol türevleri (1-12) genel sentez şeması 28

Şekil 44. 4-(5-(triflorometil)benzotiyazol-2-il)fenol (95) 28

Şekil 45. Dibütil ((2-florofenil)((4-metilbenzotiyazol-2-il)amino)metil) fosfonat (96) 29

Şekil 46. 2- (3,4-dimetoksifenil)-5-florobenzotiyazol (97)..... 29

Şekil 47. Antiproiliferatif etkiye sahip olduğu düşünülen benzotiyazol bileşiklerinin genel yapısı (98)..... 30

Şekil 48. 2- (6- (triflorometoksi) benzotiyazol-2-il) izoindolin-1,3-dion (A) ve (3aS, 4R,7S,7aS)-4-hidroksi-3a,7,7a-trimetil-2-(6-(triflorometoksi) benzotiyazol-2-il) hekzahidro-1 H-izoindol-1,3(2H) –dion (B) (99)..... 30

Şekil 49. Benzotiyazol içeren tiyoüre türevlerinin genel iskeleti. R/R_1: 2-tiyofen/Br, 4-morfolin/NH_2, 4-morfolin/Br (100)..... 31

Şekil 50. 4-kloro-1-dimetilaminometil-3-(6-metil-benzotiazol-2-ylimino)-1,3-dihidroindol- 2-on (101) 31

Şekil 51. Tiyazol bağlı pirolobenzodiyazepin türevleri. (n/R/Z: 5/OCH_3/S) (102) 32

Şekil 52. 2-(2-[3-(benzotiazol-2-ilamino)-4-okso-2-tiokso-tiazolidin-5-ilidenmetil]-4-klorofenoksi)-N-(4-metoksifenil)–asetamit (103)..... 32

Şekil 53. Benzotiyazol 2-tiyo türevleri genel iskeleti *(104)*..... 33

Şekil 54. 1-(6-florobenzotiyazol-2-il)-3-(4-florofenil)tiyoüre (105) 33

Şekil 55. Sentezlenen benzotiyazol türevleri ana iskeleti (106)..... 34

Şekil 56. 2-(3-(4-okso-2-sübstitüefeniltiyazolidin-3-)il)fenil)benzotiyazol-6-karboksilik asit türevleri genel iskeleti (107)..... 34

Şekil 57. Benzotiyazol-2-il üre türevleri (108) 35

Şekil 58. 3-metoksi-N-(2-((2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-2-oksoetil) tiyo) benzotiyazol-6-il)benzamit..... 35

Şekil 59. N-(4-Benztiyazol-2-ilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)-asetamit (110) 36

Şekil 60. N-[4-(Benzotiyazol-2-il)-2-siyanofenil]-2-kloroasetamit (111) 36

Şekil 61. (*E*)–2-((4-(benzotiyazol–2–il)fenil)imino)–5-((*E*)-4-metoksi benziliden)tiyazolidin-4-on(A), (*E*)-2-((4-(benzotiyazol-2-il)fenil) imino)-5-((*E*)-4-nitrobenziliden)tiyazolidin- 4-on (B) (112)..... 37

Şekil 62. 6-metoksi-2- (4- (2-metil-5- (3,4,5-trimetoksifenil) -1 H-pirol-1-il) fenil) benzotiyazol (113) 37

Şekil 63. (*E*)-2-benzotiyazolhidrazon türevleri genel iskeleti (114) 38

Şekil 64. N-[4-(benzotiyazol-2-il)-3-klorofenil]-2-[(benzimidazol-2-il)tiyo] asetamid (A) ve N-[4-(Benzotiyazol-2-il)fenil-2-[(1,5-difenil-1H-imidazol-2-il) tiyo] asetamid (B) (115)..... 38

Şekil 65. N- (4-metilbenzotiyazol-2-il)-2-(4-sübstitüepiperazinil)asetamid türevleri, R: benzoil/2-furoil (116) 39

Şekil 66. N-(6–(((4-siklohekzilfenil)sülfonil)amino)-1,3-benzotiazol-2-il)asetamit 40

Şekil 67. (A) 2-(Benzotiyazol-2-il))akridin-9(10H)–on ve (B) 10-(2-((4-(Benzotiyazol-2-il)fenil)amino)-2-oksoetil)-9-okso-9,10-dihidroakridin–4-karboksilik asit moleküleri (118) . 40

Şekil 68. 1-(6-etoksi-1,3-benzotiyazol-2-il)tiyoüre (119) 41

Şekil 69. 2-(4′-bromobenzamido)benzotiyazol (A) ve 2-(4′-bromobenzamido)-4-metilbenzotiyazol (B) bileşikleri (94) 42

Şekil 70. 4-[(4–benzotiyazol–2–ilfenil) hidrazono]-5-[(4-klorobenzilidin)amino]-2,4 dihidropirazol-3-on (120) 42

Şekil 71. 2-(benzotiyazol-2-iltiyo)-N-(3-sikloheksil-4-feniltiazol-2(*3H*)-*ili*den) asetohidrazid (121) 43

Şekil 72. N-(4-(6-metoksibenzotiyazol-2-il)fenil) (122) 44

Şekil 73. N-(3-(benzotiyazol-2-il)fenil)nikotinamid (123) 44

Şekil 74. 2-(4-aminobenzil)benzotiyazol bileşiğinin sentez denklemi 47

Şekil 75. N-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)amit türevi bileşiklerin sentez denklemi 48

Şekil 76. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)tiyofen-2-karboksamit (Bileşik 1) 56

Şekil 77. 1 nolu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu 57

Şekil 78. 1 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu 58

Şekil 79. 1 nolu bileşiğin kütle spektrumu 58

Şekil 80. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)furan-2-karboksamit (Bileşik 2) 59

Şekil 81. 2 nolu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu 60

Şekil 82. 2 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu 60

Şekil 83. 2 Nolu bileşiğin kütle spektrumu 61

Şekil 84. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)pirazin-2-karboksamit 61

Şekil 85. 3 nolu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu 62

Şekil 86. 3 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu 63

Şekil 87. 3 nolu bileşiğin kütle spektrumu 63

Şekil 88. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)-*1H*-indol-2-karboksamit (Bileşik 4) 64

Şekil 89. 4 nolu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu 65

Şekil 90. 4 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu 65

Şekil 91. 4 nolu bileşiğin kütle spektrumu 66

Şekil 92. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil) fenil)-2-naftamit (Bileşik 5) 66

Şekil 93. 5 nolu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu 68

Şekil 94. 5 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu 68

Şekil 95. 5 nolu bileşiğin kütle spektrumu 69

Şekil 96. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)benzofuran-2-karboksamit (Bileşik 6) 69

Şekil 97. 6 nolu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu 71

Şekil 98. 6 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu 71

Şekil 99. 6 nolu bileşiğin kütle spektrumu 72

Şekil 100. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)-4-fenilbütanamit (Bileşik 7) 72

Şekil 101. 7 nolu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu 74

Şekil 102. 7 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu 74

Şekil 103. 7 nolu bileşiğin kütle spektrumu 75

Şekil 104. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)-3-fenilpropanamit (Bileşik 8) 75

Şekil 105. 8 nolu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu 77

Şekil 106. 8 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu 77

Şekil 107. 8 Nolu bileşiğin kütle spektrumu 78

Şekil 108. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)-4-(4-metoksifenil)bütanamit (Bileşik 9) 78

Şekil 109. 9 nolu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu 80

Şekil 110. 9 nolu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu 80

Şekil 111. 9 nolu bileşiğin kütle spektrumu 81

Şekil 112. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) A549, MCF-7, PC-3, HEP-3B, HeLa, HT-29, K562, Raji, NIH3T3 hücre hatlarına ait referans bileşik etoposid varlığında IC_{50} değerleri (µM) 82

Şekil 113. Bileşik 3'ün 5GGZ proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü 85

Şekil 114. Bileşik 5'in 5GGZ proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü85

Şekil 115. Bileşik 7'nin 5IEY proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü 87

Şekil 116. Bileşik 9'un 5IEY proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü 87

Şekil 117. Bileşik 3'ün 3QX3 proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü 89

Şekil 118. Bileşik 4'ün 3QX3 proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü 89

Şekil 119. Bileşik 3'ün 4EPR proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü92

Şekil 120. Bileşik 4'ün 4EPR proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü92

Şekil 121. Bileşik 3'ün 5V9O proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü 94

Şekil 122. Bileşik 9'un 5V9O proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü 94

Şekil 123. Bileşik 3'ün 4L8G proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü96

Şekil 124. Bileşik 6'nın 4L8G proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin 2B ve 3B görünümü 96

Şekil 125. Sentezlenen bileşiklerin intestinal absorbsiyon modeli 100

Şekil 126. *N*-(4-(benzotiyazol-2-ilmetil)fenil)amit türevi bileşiklerin sentezleri 102

Şekil 127. Sentezlenen bileşikler (1-9) 106

TABLOLAR

Tablo 1. Asetamit, N-metilasetamit ve N, N-dimetilasetamit ve asetik asit molekülleri arası kuvvetler (42) 14

Tablo 2. N-(4-metil-1,3-benzotiazol-2-il) -2- (4-benzoil piperazin-1-il) asetamid (A) ve N-(4-metil-1,3-benzotiazol-2-il)-2-[4-(2-furoil)piperazin-1-il] asetamid (B) bileşiklerinin ve standart molekül 5-florourasilin (5-FU) 3 ayrı kanser hücre hattı üzerindeki GI_{50} değerleri (μM) (116) 39

Tablo 3. (A) 2-(Benzotiyazol-2-il))akridin-9(10H)–on ve (B) 10-(2-((4-(Benzotiyazol-2-il)fenil)amino)-2-oksoetil)-9-okso-9,10-dihidroakridin-4-karboksilik asit bileşiklerinin ve standart molekül doksorubisinin 3 ayrı kanser hücre hattı üzerindeki IC_{50} değerleri (μM/mL) (118) 41

Tablo 4. 4-[(4-benzotiyazol–2-il-fenil)hidrazono]-5-[(4-klorobenzilidin)amino]-2,4-dihidropirazol-3-on bileşiğinin IC_{50} ve S.İ. değerleri (μM). Seçicilik indeksi (Sİ)= test bileşiğin normal hücrelerdeki IC_{50} değeri/kanser hücre hattındaki IC_{50} değeri (120)..... 43

Tablo 5. Sentezlenen benzotiyazol türevi bileşikler..... 49

Tablo 6. Sentezlenen bileşiklerin MTT analizi sonrası çeşitli hücrelerde ölçülen IC_{50} değerleri (b: bileşik, h: hücre hattı) 82

Tablo 7. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 5GGZ proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri ve çeşitli aminoasitler/rezidüler ile etkileşimleri..... 84

Tablo 8. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 5IEY proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri ve çeşitli aminoasitler/rezidülerle etkileşimleri..... 86

Tablo 9. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 3QX3 proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri ve çeşitli aminoasitler/rezidülerle etkileşimleri..... 88

Tablo 10. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 4EPR proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri ve çeşitli aminoasitler/rezidülerle etkileşimleri..... 91

Tablo 11. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 5V9O proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri 93

Tablo 12. Sentezlenen bileşiklerin (1-9) moleküler modelleme ile 4L8G proteini üzerinde doking işlemi uygulanması sonrasında elde edilen bağlanma enerjileri ve çeşiti aminoasitler/rezidülerle etkileşimleri..... 95

Tablo 13. Sentezlenen Bileşiklerin Fizikokimyasal Parametreleri 98

Tablo 14. Sentezlenen Bileşiklerin Farmakokinetik Parametreleri..... 99

Tablo 15. Doking çalışmaları sonucunda elde edilen bağlanma enerjileri..... 107

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Edirne'de doğan Gözde YENİCE ÇAKMAK, ilk ve orta öğrenimini Edirne/Merkez 50. Yıl İlkokulu ve Atatürk İlköğretim Okulu'nda, lise eğitimini 2002-2006 yılları arasında Edirne/Merkez Anadolu Öğretmen Lisesi'nde tamamladı. Lisans eğitimini 2007-2012 yılları arasında Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde tamamladıktan sonra eczacı ünvanını aldı. 2012-2014 yılında Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji (Ecz) bölümünde tezsiz yüksek lisans programını tamamladıktan sonra, 2017 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüs2ü Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 02/2013-05/2014 yılları arasında İstanbul Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Eczanesi'nde ve 05/2014-01/2017 yılları arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Eczanesi'nde eczacı olarak çalıştıktan sonra 01/2017 tarihinden beri Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi kadrosunda halen çalışmaya devam eden Arş. Gör. Gözde Yenice Çakmak; Farmasötik Kimya alanında çeşitli kongre ve seminerlere katılmıştır.