

**BAZI TİYAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ
ve AROMATAZ İNHİBİSYONU ve
ANTİKANSER ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Zafer ŞAHİN

Yüksek Lisans Tezi

**BAZI TİYAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ
VE AROMATAZ İNHİBİSYONU VE
ANTİKANSER ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Zafer ŞAHİN

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Eskişehir, Haziran 2015

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Leyla YURTTAŞ

İkinci Danışman : Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK

Bu tez çalışması, Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No. 14105421)

Jüri ve Enstitü Onayı

Zafer Şahin'in 'Bazı tiyazol türevlerinin sentezi, aromataz inhibisyonu ve antikanser etkilerinin araştırılması'' başlıklı, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'ndaki Yüksek Lisans tezi, 22.06.2015 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	Yard. Doç. Dr. Leyla Yurttaş Anadolu Üniversitesi 
Üye	Doç. Dr. Barkın Berk İstanbul Medipol Üniversitesi	
Üye	Doç. Dr. Ahmet Çağrı Karaburun Anadolu Üniversitesi 

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
26.05.2015 tarih ve/14..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof.Dr.Dilek AK



ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı ve soyadı : Zafer ŞAHİN
Doğum tarihi ve yeri : 28.06.1990 / ŞİŞLİ-İSTANBUL
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
Adres : İncirköy Mah. Harmantepe Sk.
No:130/1 Beykoz/İST
Telefon/Mail : 05379873090 / sahinzfr@gmail.com

Eğitim Durumu

İlköğretim : Beykoz İshakağa İlköğretim Okulu (1996-2001), Beykoz Ziya Ünsal İlköğretim Okulu (2001-2002), Eskişehir Metin Sönmez İlköğretim Okulu (2002-2004)
Lise : Eskişehir Fatih Fen Lisesi (2004-2007)
Üniversite : Eskişehir Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2007-2012)
Yabancı dil : İngilizce

Mesleki Deneyim

Araştırma Görevlisi, İstanbul Medipol Üniversitesi (İMÜ) Eczacılık Fakültesi (2013-halen)

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

Merve Ertas, Zafer Sahin, Barkin Berk, Sukran Ozdatli, Seref Demirayak; Studies Over Non-Steroidal Aromatase Enzyme Inhibitors; 4-(Aryl/Heteroaryl)-2-(Pyrimidine-2-yl)Thiazole Derivatives. IX. Joint Meeting in Medicinal Chemistry, 7-10.6.2015 Atina, Yunanistan

Zafer Sahin, Merve Ertas, Barkin Berk, LeylaYurttas, Seref Demirayak; Synthesis and investigation of aromatase inhibition and anticancer effects of newly synthesized thiazoles. ISOPS-11, 9-12.6.2015 Ankara, Türkiye

Ümit Can Erim, Hayati Celik, Zafer Şahin, Caner Filinte, Barkin Berk; Determination of pKa Values And Protonation Behavior of Neostigmine Methyl Sulfate In Aqueous Buffer Solutions. 9th Aegean Analytical Chemistry Days, 29.9-3.10.2014, Chios, Yunanistan

Bilimsel Etkinlikler

Projeler : Anadolu Üniversitesi Yüksek Lisans Projesi Proje No:14105421

Organizasyonunda bulunulan

Toplantılar : İlaç ve Eczacılık Kongresi(İVEK, 28-30 Kasım 2014), International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS, 9-12.06.2015)

Katılınan kurslar ve eğitim

Programları : Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, Programı (İMÜ)

TEŞEKKÜR

Bilime hizmet etme amacıyla çıktığım ve başında bulunduğum bu yola girmemi sağlayan tez danışmanım Yrd.Doç.Dr.Leyla YURTTAŞ'a, lisans ve yüksek lisans döneminde derin bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, maddi ve manevi anlamda her zaman yanımda olan ve bu çalışmanın temelini oluşturan ikinci danışmanım Prof.Dr.Şeref DEMİRAYAK'a, her gün yeni bir şey öğrenmemi sağlayan ve çalışmamızın her basamağında problemlerimize sabırla yardımcı olan Doç.Dr.Barkın BERK'e, bu çalışmaya vakit harcamamı kolaylaştıran çalışma arkadaşım Merve ERTAŐ'a; emeklerinden, desteklerinden ve yardımlarından dolayı teşekkür ediyorum.

BAZI TİYAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ ve AROMATAZ İNHİBİSYONU ve ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Meme kanseri, dünya çapında tedavisi genellikle östrojenin vücutta kendiliğinden sentezlenmesinin engellenmesi yoluyla yapılan, kadınlarda yaygın olarak görülen bir kanser türüdür. Aromataz, isminin de yansıttığı üzere, aromatik olmayan androjen halka sistemine aromatiklik kazandırıldığı östrojen sentezinin son aşamasında rol alan bir enzimdir. Tedavi amacıyla genellikle steroidler kullanılır. Steroidlerin büyük yapıları, aktiviteleri ile birlikte önemli yan etkileri beraberinde getirir. İşte bu amaçla non-steroidal türevlerin geliştirilmesi son yıllarda üzerinde çalışmaya değer bir alan haline gelmiştir. Bu tip ilaçların geliştirilmesinde eşdeğer bir etkinin oluşması için aromatik halkaya bağlı tiyazol türevleri düşünülmüştür. Aromataz enzimi aynı zamanda bir hem grubu içerdiğinden buradaki demirle kompleks yapılarak da spesifik inhibitör etki sağlanabilir. Metabolizasyonun en iyi şekle getirilmesi ve etkinin maksimum olması için tiyazol türevine bağlı fonksiyonel gruplar üzerinde yapılacak türevlendirmeler seçicilik ve toksisite açısından önemlidir. Çalışmamızda bu amaçla sentezlenmiş olan 2-piridil-4-fenolsüstitüe tiyazol türevlerinin, insan plasental aromataz sitokrom P450 enzimi üzerinde moleküler modelleme çalışmaları yapılmış ve bunu takiben XTT ölçüm yöntemiyle antikanser etkileri araştırılmıştır. Hantzsch yöntemine göre sentezlenen tiyazol türevi bileşiklerimizin fiziksel analizleri ve yapı aydınlatma çalışmaları yapılmıştır. Reaksiyon verimleri literatüre uyum göstermiş, spektral çalışmalar ise bileşiklerimizin öngörülen kimyasal yapıda olduklarını desteklemiştir. Sentezlenen bileşikler içinde 7 numaralı 2-(2-piridil)-4-(4-hidroksifenil-1,3-tiyazol) bileşiği, yapılan XTT antikanser aktivite çalışmaları sonucu MCF7 hücre dizisine karşı en etkili bileşik olarak bulunmuştur. Ayrıca moleküler modelleme sonuçları, yapıların etkinliğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Antikanser, moleküler modelleme, tiyazol, aromataz, non-steroidal inhibitör

EVALUATION OF ANTICANCER AND AROMATASE INHIBITION ACTIVITY OF NEWLY SYNTHESIZED THIAZOLE DERIVATIVES

ABSTRACT

Breast cancer is a cancer type which has been treating by inhibiting of estrogen synthesis in human body, and commonly seen in women. Aromatase, can be thought from its name, provides an aromatic ring to a non-aromatic cycle, so that the estrogen. Caused by important side effect feedbacks about steroid inhibitors which was used as primary agents in breast cancer, an alternative treatment is required. For this reason, non-steroidal inhibitors of aromatase developed consist a thiazole ring with aromatic functional groups on both sides. Additionally, as aromatase is a CYP450 enzyme, includes a haem group and iron. Complexion by this iron group by a specific function group can provide specific activity. For the optimization of drug metabolism and obtaining best activity, functional groups on both sides of thiazole have considerable importance. In our study, 2-pyridyl -4-phenolesubstituted thiazole derivatives which are synthesized for this aim, have been evaluated for their anticancer activity by XTT assay. Compounds were synthesized by Hantzsch method and physical analysis and structural determination studies were performed. Reaction yields showed compatibility with literature and spectral studies verified the structure of compounds compared expectations. Among the synthesized compounds, compound 7 (showed best anticancer activity with the XTT method by its IC_{50} value. Furthermore, results of molecular modelling results showed convenience to biological evaluation.

Key Words: Anticancer, molecular modelling, thiazoles, aromatase, non-steroidal inhibitor

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	i
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	3
Tiyazoller Hakkında Genel Bilgi	3
<i>Tiyazol halka sisteminin tanımlanma ve numaralandırılması</i>	3
<i>Tiyazol halka sisteminin kimyasal ve fizikokimyasal özellikleri</i>	4
<i>Tiyazollerin genel sentez yöntemleri</i>	5
Tiyazol Halka Sistemi İçeren Bazı Bileşiklerin Farmakolojik Etkileri	6
<i>Antimikrobiyal etkileri</i>	6
<i>Antifungal etkileri</i>	7
<i>Antitüberküler etkileri</i>	8
<i>Santral sinir sistemi etkileri</i>	8
<i>Anti-inflamatuvar etkileri</i>	9
<i>Antioksidan etkileri</i>	9
<i>Antiviral etkileri</i>	10
<i>Antikanser etkileri</i>	10
Meme Kanseri ve Temel Tedavi Yaklaşımı	11
<i>Aromataz</i>	11
<i>Aromataz inhibitörleri</i>	12
<i>Prototip aromataz inhibitörleri (birinci kuşak inhibitörler)</i>	13
<i>İkinci kuşak inhibitörler</i>	13
<i>Üçüncü kuşak inhibitörler</i>	14
<i>Anastrozol</i>	14

<i>Letrozol</i>	14
<i>Ekzemestan</i>	15
Resveratrol Analogu Bileşikler	15
GEREÇLER	17
Kullanılan Kimyasal Maddeler	17
Kullanılan aletler	17
YÖNTEMLER	18
Başlangıç Maddelerinin Eldesi	18
<i>2-Bromo-(2'/3'/4'-hidroksi)asetofenon türevlerinin eldesi</i>	18
<i>Tiyopikolinamit'in eldesi</i>	18
2-(2,3,4-Piridil)-4-(2'/3'/4'-hidroksifenil)-1,3-tiyazol Türevlerinin Eldesi	18
Elde Edilen Bileşiklerin Analizi	19
<i>Erime noktası tayini</i>	19
<i>Kromatografik analizler</i>	19
<i>Elementel analiz</i>	19
<i>Infra-red(IR) spektrumlarının alınması</i>	19
<i>¹H-NMR spektrumlarının alınması</i>	19
<i>¹³C-NMR spektrumlarının alınması</i>	19
<i>Kütle spektrumlarının alınması</i>	19
Moleküler Modelleme Çalışmaları	19
<i>Kullanılacak ligand setin hazırlanması</i>	20
<i>Kullanılacak hedefin hazırlanması</i>	20
<i>Aktif yöreye ait GRID lerin hazırlanması</i>	20
<i>Docking ve skortlama</i>	20
<i>Etkileşim grafikleri ve şekillerin hazırlanması</i>	20
Biyolojik Aktivite Testleri	20
<i>XTT kanser hücresi aktivite ölçümü</i>	20
BULGULAR ve TARTIŞMA	22
Başlangıç Maddelerinin Eldesi	22
<i>2-Bromo(2'-hidroksi)asetofenon bileşiğinin eldesi</i>	22
<i>2-Bromo(3'-hidroksi)asetofenon bileşiğinin eldesi</i>	22
<i>2-Bromo(4'-hidroksi)asetofenon bileşiğinin eldesi</i>	23
<i>Tiyopikolinamit bileşiğinin eldesi</i>	23
Sonuç Bileşiklerinin Eldesi	23

<i>2-(2-Piridil)-4-(2-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 1)</i>	25
<i>2-(3-Piridil)-4-(2-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 2)</i>	26
<i>2-(4-Piridil)-4-(2-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 3)</i>	27
<i>2-(2-Piridil)-4-(3-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 4)</i>	28
<i>2-(3-Piridil)-4-(3-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 5)</i>	29
<i>2-(4-Piridil)-4-(3-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 6)</i>	30
<i>2-(2-Piridil)-4-(4-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 7)</i>	31
<i>2-(3-Piridil)-4-(4-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 8)</i>	32
<i>2-(4-Piridil)-4-(4-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 9)</i>	33
Spektral Verilerin Değerlendirilmesi	34
<i>IR spektral verilerinin değerlendirilmesi</i>	34
<i>¹H-NMR spektral verilerinin değerlendirilmesi</i>	34
<i>¹³C-NMR spektral verilerinin değerlendirilmesi</i>	35
<i>Mass spektral verilerinin değerlendirilmesi</i>	36
<i>Antikanser aktivite sonuçlarının değerlendirilmesi</i>	36
<i>Moleküler modelleme sonuçlarının değerlendirilmesi</i>	37
SONUÇ ve ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	41
EKLER	49
Ek 1 Bileşik 1'e ait IR spektrumu	50
Ek 2 Bileşik 2'ye ait IR spektrumu	51
Ek 3 Bileşik 3'e ait IR spektrumu	52
Ek 4 Bileşik 4'e ait IR spektrumu	53
Ek 5 Bileşik 5'e ait IR spektrumu	54
Ek 6 Bileşik 6'ya ait IR spektrumu	55
Ek 7 Bileşik 7'ye ait IR spektrumu	56
Ek 8 Bileşik 8'e ait IR spektrumu	57
Ek 9 Bileşik 9'a ait IR spektrumu	58
Ek 10 Bileşik 1'e ait ¹ H-NMR spektrumu	59
Ek 11 Bileşik 2'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	60
Ek 12 Bileşik 3'e ait ¹ H-NMR spektrumu	61
Ek 13 Bileşik 4'e ait ¹ H-NMR spektrumu	62
Ek 14 Bileşik 5'e ait ¹ H-NMR spektrumu	63
Ek 15 Bileşik 6'ya ait ¹ H-NMR spektrumu	64

Ek 16 Bileşik 7'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	65
Ek 17 Bileşik 8'e ait ¹ H-NMR spektrumu	66
Ek 18 Bileşik 9'a ait ¹ H-NMR spektrumu	67
Ek 19 Bileşik 1'e ait ¹³ C-NMR spektrumu	68
Ek 20 Bileşik 2'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	69
Ek 21 Bileşik 3'e ait ¹³ C-NMR spektrumu	70
Ek 22 Bileşik 4'e ait ¹³ C-NMR spektrumu	71
Ek 23 Bileşik 5'e ait ¹³ C-NMR spektrumu	72
Ek 24 Bileşik 6'ya ait ¹³ C-NMR spektrumu	73
Ek 25 Bileşik 7'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	74
Ek 26 Bileşik 8'e ait ¹³ C-NMR spektrumu	75
Ek 27 Bileşik 9'a ait ¹³ C-NMR spektrumu	76
Ek 28 Bileşik 1'e ait kütle spektrumu	77
Ek 29 Bileşik 2'ye ait kütle spektrumu	78
Ek 30 Bileşik 3'e ait kütle spektrumu	79
Ek 31 Bileşik 4'e ait kütle spektrumu	80
Ek 32 Bileşik 5'e ait kütle spektrumu	81
Ek 33 Bileşik 6'ya ait kütle spektrumu	82
Ek 34 Bileşik 7'ye ait kütle spektrumu	83
Ek 35 Bileşik 8'e ait kütle spektrumu	84
Ek 36 Bileşik 9'a ait kütle spektrumu	85

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA
Şekil 1 Anastrazol, Letrozol ve Formestan Yapıları	1
Şekil 2 Resveratrol ve Aromataz İnhibitör Etkileri Araştırılan Türevleri	1
Şekil 3 Sentezlenen Bileşikler	2
Şekil 4 Tiyazol İçeren Doğal ve Sentetik Bazı Maddeler	3
Şekil 5 Tiyazolde Geçerli Olan Numaralandırma	4
Şekil 6 Tiyazol İçin Yapılmış İsimlendirme ve Numaralandırmalar	4
Şekil 7 Tiyazol'ün Rezonans Yapıları	4
Şekil 8 Tiyazol Halkası Oluşumunun Bağ Şeması	5
Şekil 9 Hantzsch Tiyazol Sentezinin Genel Gösterimi	5
Şekil 10 Gabriel Tiyazol Sentez Şeması	6
Şekil 11 Cook – Heilbronn Tiyazol Sentez Şeması	6
Şekil 12 Antimikrobiyal Etkisi Test Edilen Moleküller	7
Şekil 13 Antimikrobiyal Etkisi Test Edilen Moleküller	7
Şekil 14 Antifungal Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevi	7
Şekil 15 Antifungal Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevi	7
Şekil 16 Antitüberküler Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevi	8
Şekil 17 Antitüberküler Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevi	8
Şekil 18 A ₃ R Reseptör Antagonisti Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevleri	8
Şekil 19 A ₃ R Antagonisti Etkisi Test Edilen 4-fenil-5-piridil-1,3-tiyazol Türevi	9
Şekil 20 Santral Sinir Sistemi Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevleri	9
Şekil 21 Anti-İnflamatuvar Etkileri Test Edilen Tiyazol Türevleri	9
Şekil 22 Antioksidan Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevi	9
Şekil 23 Antiviral Etkisi Test Edilen 2-(N-sübstitüe)tiyoüre-1,3-tiyazol Türevi	10
Şekil 24 Antiviral Etkisi Test Edilen 4-(4-klorofenil)-3-fenil-2-N-(2-pirimidinil)imin-1,3-tiyazolin Bileşiği	10
Şekil 25 Antikanser Etkisi Test Edilen 5-(2-metilbenzimidazol-1-il)-1,3-tiyazol Türevi	10
Şekil 26 Antikanser Etkisi Test Edilen 4-karboksamidotiyazol Türevi	11
Şekil 27 Östrojen Biyosentezi ve Aromataz Enziminin İşlevi	11
Şekil 28 Farklı Gruplar Taşıyan Aromataz İnhibitörleri	12
Şekil 29 Resveratrol ve Biyoizosteri Bileşikler	15
Şekil 30 2-Bromo-(2'/3'/4'-hidroksi)asetofenon Türevlerinin Eldesi	18

Şekil 31	2-(<i>N</i> -piridil)-4-(<i>N'</i> -hidroksifenil)-1,3-tiyazol Türevlerinin Genel Sentez Şeması	18
Şekil 32	Asetofenon Bromürlerin Oluşum Reaksiyonu	22
Şekil 33	Tiyopikolinamid Eldesi Reaksiyon Mekanizması	23
Şekil 34	Sonuç Bileşiklerinin Oluşum Reaksiyon Mekanizması	24
Şekil 35	¹ H-NMR İçin Hidrojen Konumlarının Tanımlanması	34
Şekil 36	Bileşik 7'nin Aktif Yöredeki Pozu	37
Şekil 37	4-(2-(Piridin-2-il)tiyazol-4-il)fenol (Bileşik 7) Yapısına Ait Hidroksil Grubu ile 3EQM Yapısına Ait Ala 306 ve Thr 310 Aminoasitleri Arasında H Bağ Olasılıkları ve Mesafeleri	37
Şekil 38.	4-(2-(Piridin-2-il)tiyazol-4-il)fenol (Bileşik 7) Yapısı ile 3EQM Arasındaki Hidrofobik Etkileşmeler	38
Şekil 39.	Resveratrol, Türetilen Yapılar ve Aromataz İnhibisyonları	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

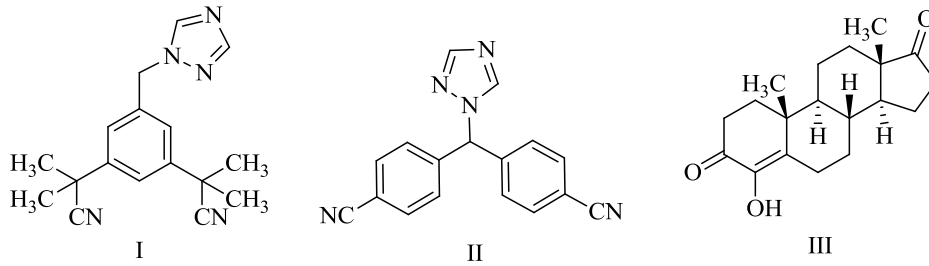
ÇİZELGE NO ve ADI	SAYFA
Çizelge 1 Bileşiklerin Aromataz Aktiviteleri	15
Çizelge 2 Bileşiklerin MCF7 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkileri ($\mu\text{g/ml}$, μM)	36
Çizelge 3 Bileşiklerin NIH 3T3 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkileri ($\mu\text{g/ml}$, μM)	36

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

^{13}C -NMR	: Karbon 13 nükleer magnetik rezonans
^1H -NMR	: Hidrojen nükleer magnetik rezonans
4-OHA	: 4-hidroksiandrostandion
5-HT	: 5- hidroksitriptamin
COMFA	: Karşılaştırmalı molekül yapı analizi yöntemi
CYP450	: Sitokrom P450
ESI	: Elektron sprey yöntemi
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FT-IR	: Fourier Transform Infra-Red
GABA	: Gama aminobütirik asit
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HTVS	: High throughput virtual screening
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
Met-374	: Metiyonin 374 aminoasidi
MOE	: Molecular Environment Operations
NADPH	: Nikotinamitadeninükleotit fosfat
P_4S_{10}	: Fosforpentasülfür
PDB	: Moe programına ait veri tabanı
QSAR	: Kantitatif yapı-etki ilişkileri
UV	: Ultra viyole spektroskopisi
XTT	: (2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfenil)-2 <i>H</i> -tetrazolyum-5-karboksanilit)

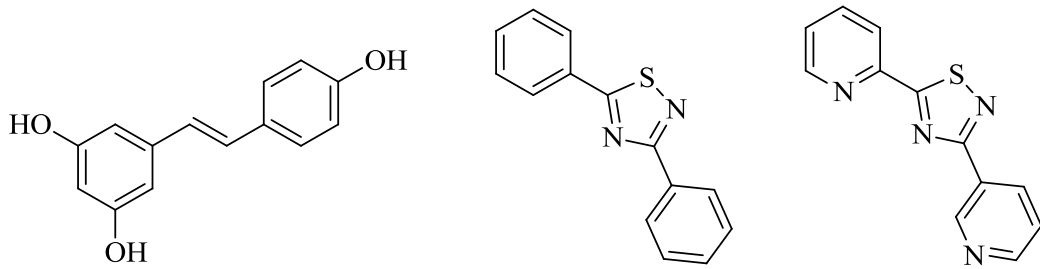
GİRİŞ ve AMAÇ

Bilimin gelmiş olduğu düzeye rağmen, kanser hastalığı hala insanlık için çözüm bekleyen önemli bir problemdir. Kanser oluşumu, çok değişik nedenlere ve biyokimyasal mekanizmalara bağlıdır. Kanser hücrelerini yok etmeye dayalı ilaç araştırma gelişme çalışmaları da bu mekanizmaların durdurulması veya yavaşlatılmasını hedeflemektedir. Meme kanseri, kanser tipleri arasında en sık görülen alt tiplerden biridir ve oluşumunda östrojen hormonunun rolü olduğu bilinmektedir. Östrojen hormon sentezinin son basamağını katalizleyen, aromataz enziminin inhibisyonunu sağlayan, anastrozol (I), letrozol (II) ve formestan (III) gibi ilaç moleküllerinin, yan etkilerine rağmen, klinikte kullanımları yaygındır. Ancak daha az yan etkiye sahip ve etkinliği yüksek yeni moleküllerin araştırılmasına ihtiyaç vardır (Miller ve ark., 1989, Ghosh ve ark., 2009).



Şekil 1. Anastrozol, letrozol ve formestan yapıları

Tiyazol ve fenol, resveratrol, tiazofurin, bleomisin gibi antikanserojen etkiye sahip doğal bileşiklerin ve ilaç moleküllerinin yapısında sıkça rastlanan fonksiyonel gruplardır. Yanısıra, literatürde, bu fonksiyonel grupları taşıyan bileşiklerin aromataz enzim inhibisyonları ile ilgili kısıtlı sayıda çalışma da bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, doğal bir antioksidan olan resveratroldeki etilenik köprünün tiyazol halka sistemiyle, fenol gruplarının ise piridin gruplarıyla değiştirildiğinde aromataz inhibisyonu etkisinin 6000 kata kadar arttığı tespit edilmiştir. (Mayhoub ve ark., 2012^a, Mayhoub ve ark., 2012^b)

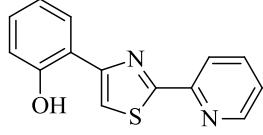


Şekil 2. Resveratrol ve aromataz inhibisyonu etkisi araştırılan türevleri

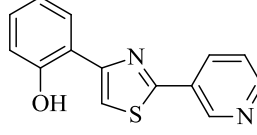
Bu çalışmaların ışığında, fenol, piridin ve tiyazol halka sistemlerinin bir arada bulunduğu, antikanser etkili 2-(2,3,4-piridil)-4-(2',3',4'-hidroksifenil)-1,3-tiyazol yapıları yeni bileşiklerin tasarlanması, sentezleri, İnfra Red (IR), Hidrojen Nükleer Magnetik Rezonans (¹H-NMR), Karbon 13 Nükleer Magnetik Rezonans (¹³C-NMR) ve kütle spektral yöntemleri ile yapılarının aydınlatılması ve aktivitelerinin (2, 3-Bis- (2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanilit (XTT) sitotoksitesite yöntemi ile araştırılması amaçlanmıştır.

Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları **Şekil 3**'te verilmektedir.

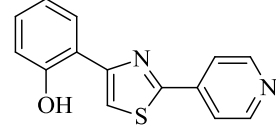
2-(2-Piridil)-4-(2-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol



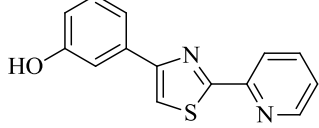
2-(3-Piridil)-4-(2-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol



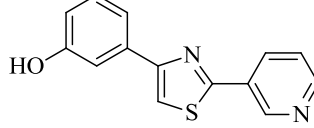
2-(4-Piridil)-4-(2-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol



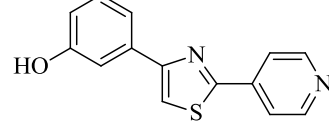
2-(2-Piridil)-4-(3-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol



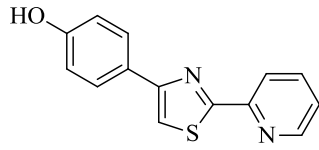
2-(3-Piridil)-4-(3-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol



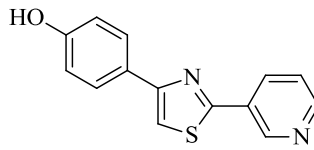
2-(4-Piridil)-4-(3-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol



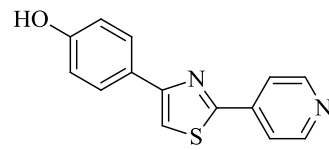
2-(2-Piridil)-4-(4-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol



2-(3-Piridil)-4-(4-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol



2-(4-Piridil)-4-(4-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol

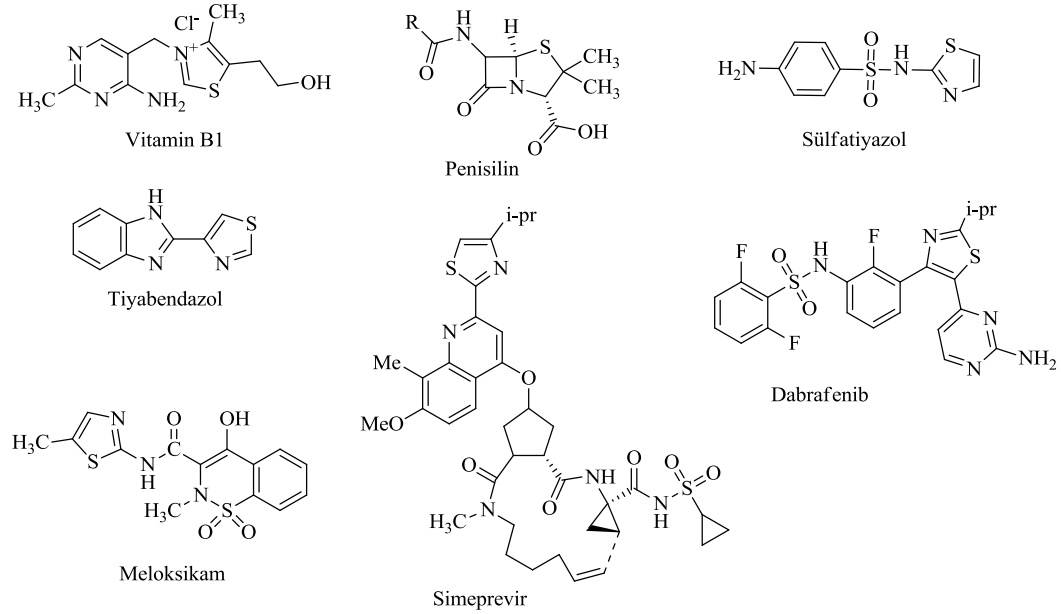


Şekil 3. Sentezlenen Bileşikler

KAYNAK BİLGİSİ

Tiyazoller Hakkında Genel Bilgi

Tiyazol halka sistemi, ilk kez Hantzsch ve Weber tarafından, α -tiyosiyanoasetonimin yapısı üzerinde yaptıkları çalışmalar sırasında tanımlanmıştır (Hantzsch ve Weber, 1887; Weissberger, 1979). Daha sonra halka sisteminin, penisilin ve B1 vitamini gibi önemli fizyolojik etkisi olan bileşiklerin yapısında bulunduğu tespit edilmiştir. Yanısıra, diğer heterosiklik halka sistemleriyle olan benzerlikleri ve halkanın farklı farmakolojik etkinliklerde rol alması, halka yapısı ve türevleri üzerindeki çalışmaları arttırmıştır. Halka sistemi ve türevleri, antifungal, antiviral, antibiyotik, antikanser gibi çeşitli aktivitelere sahip olmakla birlikte yakın zamanda Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış simeprevir (Genotip 1 Hepatit C tedavisi), dabrafenib (ileri derece melanoma tedavisi) gibi yeni ilaçların yapısında da yer almaktadır (Yong-Jin Wu, 2014).

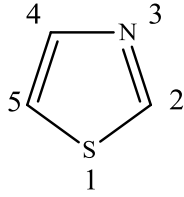


Şekil 4. Tiyazol İçeren Doğal ve Sentetik Bazı Maddeler

Tiyazol halka sisteminin tanımlanma ve numaralandırılması

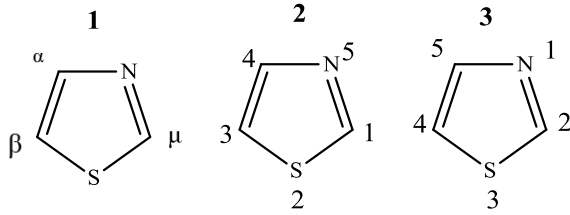
Hantzsch ve Weber tarafından tanımlanan tiyazol halkası, üç adet karbon, birer adet kükürt ve azot atomu içeren beş üyeli heterosiklik bir halka sistemidir ve piridin ile tiyofene benzer elektronik ve kimyasal özellikleri bir arada bulundurmaktadır.

Günümüzde yalnızca ‘tiyazol’ denildiğinde, 1,3-tiyazol izomeri anlaşılmalıdır. Chemical Abstracts’a ait “The Ring Index” te kabul edilmiş numaralandırma yöntemine göre bu izomer, kükürt atomuna birinci konum verilip başlandıktan sonra azot atomu küçük numarayı alacak şekilde numaralandırılmaktadır (Patterson ve ark., 1960).



Şekil 5. 1,3-Tiyazol İçin Geçerli Olan Numaralandırma

Halka elemanları eski literatürlerde, farklı araştırmacılar tarafından farklı sistemler ile de numaralandırılmaktadır; Hantzsch ve Weber, 2, 4, 5 numaralı konumları sırasıyla μ , α ve β olarak isimlendirmişlerdir (1) (Hantzsch ve Weber, 1887). T.B. Johnson, halkanın 2 numaralı pozisyonuna 1 numara vererek saat yönünde (2), J.Metzger ve arkadaşları ise azota 1 numara vererek saat yönünde (3) numaralandırmalarını yapmışlardır (Weissberger, 1979).



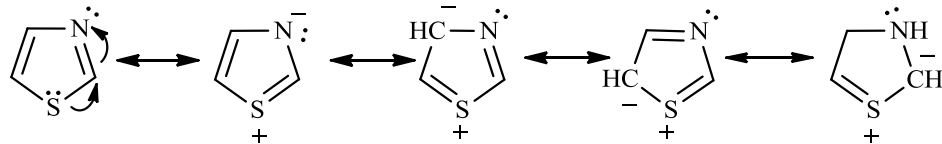
Şekil 6. Tiyazol İçin Yapılmış İsimlendirme ve Numaralandırmalar

Tiyazol halka sisteminin kimyasal ve fizikokimyasal özellikleri

5 üyeli olmasına karşın, tiyazol halka sistemi; kaynama noktası, bazlık derecesi, suda çözünürlük, reaktivite bakımından önemli ölçüde 6 üyeli piridin ve pirimidine benzemekle birlikte furan, oksazol ve pirol gibi 5 üyeli halkalardan oldukça farklıdır (Ganapathi, 1952).

Molekülün bağ uzunlukları ölçüldüğünde, en kısa bağların, 1.3 \AA ile azot atomunun komşu karbonlar ile yaptığı, en uzun olanların ise yaklaşık 1.7 \AA ile, kükürt atomunun komşu karbonlarla yaptığı bağlar olduğu belirlenmiştir (Salah ve ark., 2013).

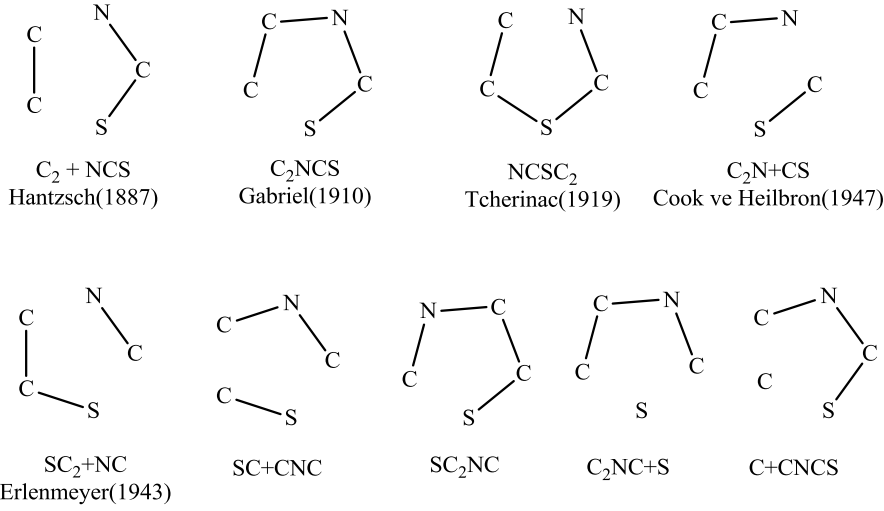
Tiyazol molekülünde, N=C-S sistemi halkanın elektronik açıdan anlamlı merkezini oluşturur. **Şekil 7**'de tiyazol halka sisteminin rezonans yapıları verilmiştir. Kükürte göre daha az sayıda eşleşmemiş elektron taşıyan azot, bu elektronlarını, rezonans hibritlerine sunmaz. Bununla beraber kükürt (S) atomu, eşleşmemiş elektronlarını halka sistemine sunarak 6π elektronunu tamamlar ve yapının rezonans hibritlerine katkı sağlar. (Zagade, 2011).



Şekil 7. Tiyazol'ün Rezonans Yapıları

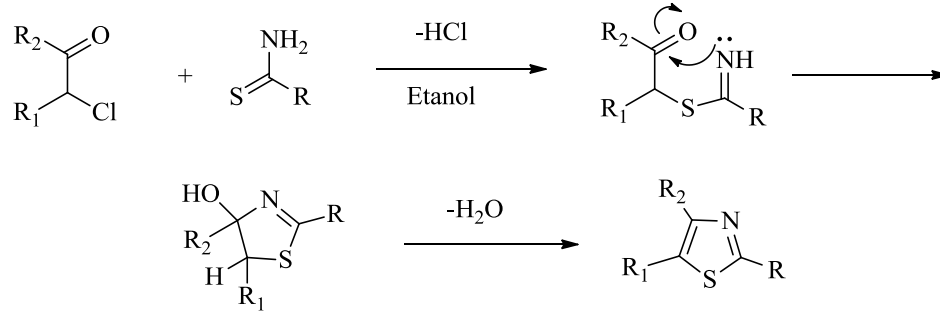
Tiyazollerin genel sentez yöntemleri

Tiyazol halka sistemi, 19. yüzyılın sonları ve 20. yüzyılın başlarında yapılan sentez çalışmaları ile elde edilmiştir. 1887 yılında Hantzsch ve Weber, günümüzde de en sık kullanılan tiyazol sentez yöntemini gerçekleştirmiştir (Hantzsch ve Weber, 1887). 1889'da, Prop ve arkadaşları tarafından tiyazollerin türevlendirmeleri yapılmış ve bu türevlerden günümüzde en sık rastlanan 2-aminotiyazol türevleri elde edilmiştir (Akbarzadeh ve ark., 2012). Daha sonra, 1910 yılında Gabriel tarafından Robinson-Gabriel oksazol sentez yönteminin farklı bir uygulamasıyla tiyazol sentezlenmiştir (Gabriel, 1910). 1919 yılında Tcherinac, α -tiyosiyanatoketonların siklizasyonu ile tiyazol sentezlenmiştir (Vernin, 1982). Erlenmeyer, merkaptoketon bileşiği ile nitrillerin reaksiyonundan yine tiyazol sentezi yapmıştır. Son olarak 1949'da Cook ve Heilbron, α -aminonitril ve α -aminoamitler ile karbondisülfürün reaksiyonundan tiyazol sentezini gerçekleştirmiştir (Cook ve ark., 1949).



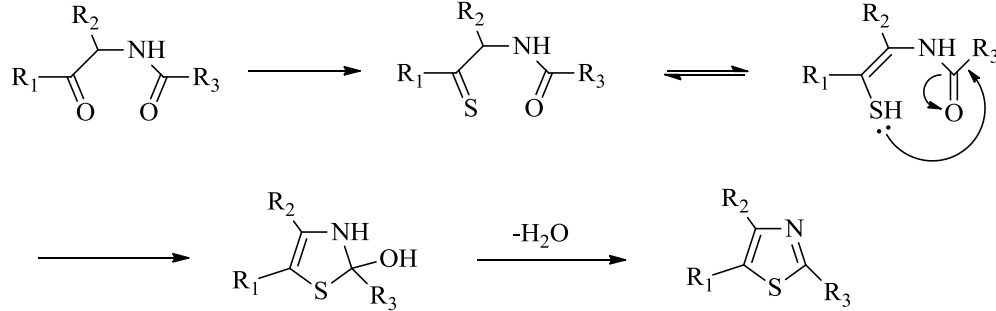
Şekil 8. Tiyazol Halkası Oluşumunun Bağ Şeması

Hantzsch yönteminde; α -halokarbonil bileşikleri ile nükleofil olarak bir N-C-S yapısı içeren tyoamit, tyoüre benzeri bileşikler kaynar alkol içinde reaksiyona sokulur. Bu yöntem, günümüzde de tiyazol sentezleri arasında en çok bilinen ve kullanılan yöntemdir. Yöntemin genel reaksiyon şeması aşağıda gösterilmektedir (Aguilar, 1994; Egan ve ark., 1968).



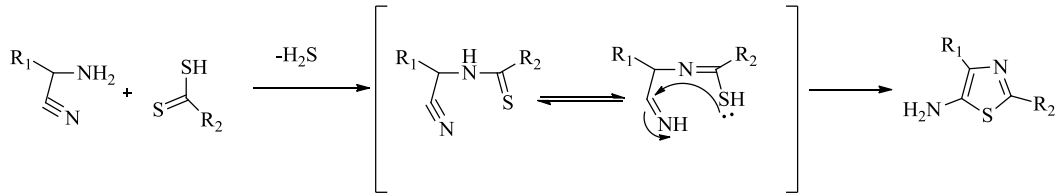
Şekil 9. Hantzsch Tiyazol Sentezinin Genel Gösterimi

Gabriel yönteminde; Dakin-West yöntemiyle elde edilen α -açilaminoketonların eşit miktarda fosforpentasülfür (P_4S_{10}) ile yüksek sıcaklıkta reaksiyona girmesi sonucu 2-sübstitüe, 5-sübstitüe ve 2,5-disübstitüe alkil, aril ve alkoksi tiyazol türevleri sentezlenebilmektedir (Gabriel, 1910a; Gabriel, 1910b).



Şekil 10. Gabriel Tiyazol Sentez Şeması

Cook-Heilbron yöntemi; sübstitüe 2 ve 4-aminotiyazollerin sentezi için çok yönlü bir uygulamadır. α -aminonitriller ile karbonsülfür, karbondisülfür ditiyoasit ve esterlerinin reaksiyonuyla 5-aminotiyazollerin elde edildiği bir yöntemdir. Yöntemin genel reaksiyon şeması aşağıda verilmiştir (Cook ve ark., 1949).



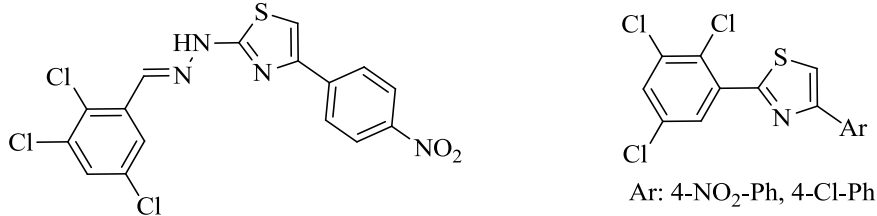
Şekil 11. Cook - Heilbron Tiyazol Sentez Şeması

Tiyazol Halka Sistemi İçeren Bazı Bileşiklerin Farmakolojik Etkileri

Günümüzde kullanılmakta olan ilaçlardan; abafungin, tiyabendazol (antifungal), ritonavir, simeprevir (antiviral), sefdinir, sefepim, seftriakson, sefiksim, seftazimit (antibiyotik), famotidin, nizatidin, ebrotidin (antihistaminik), pramipeksol (anti-parkinson), klometiyazol (hipnotik-sedatif), meloksikam, sudoksikam (anti-inflamatuvar), sülfatiyazol (antibakteriyel), bleomisin, tiazofurin (antikanser) gibi bazıları, tiyazol halka sistemi içermektedirler. Tiyazol üzerinde devam eden araştırmalara bazı örnekler aşağıda verilmiştir.

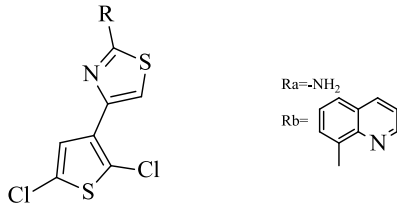
Antimikrobiyal etkileri

Tiyazol halka sisteminin, penisilin yapısında yer aldığı öğrenilmesi antimikrobiyal etki çalışmalarının yapılmasını teşvik etmiştir. Günümüzde klinikte kullanılmakta olan üçüncü kuşak sefepim, seftriakson, sefiksim, seftazimit gibi tiyazol halka sistemi içeren geniş spektrumlu sefalosporinler bulunmaktadır.



Şekil 12. Antimikrobiyal Etkisi Test Edilen Moleküller

Holla ve arkadaşları tarafından sentezlenen bir grup yeni 4-aril/kloroalkil-2-(2,3,5-triklorofenil)-1,3-tiyazol türevinden **Şekil 12'deki** bileşikler *E.coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmalarına karşı test edilmiş ve etkili bileşikler olarak tanımlanmıştır (Holla ve ark., 2008).

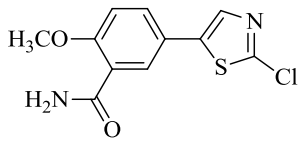


Şekil 13. Antimikrobiyal Etkisi Test Edilen Moleküller

Sarojini ve arkadaşları, sentezledikleri 2-süstitüe-4-(2,5-diklorotiyenil)-1,3-tiyazollerini *C.tropicalis* ve *B.subtilis*'e karşı test etmiş, moleküler modelleme çalışmaları ile antimikrobiyal etkisinin temellerini araştırmıştır. Bu çalışmada **Şekil 13'te** yapısı verilen moleküller, belirtilen mikroorganizmalara karşı etkili bulunmuştur (Sarojini ve ark., 2010).

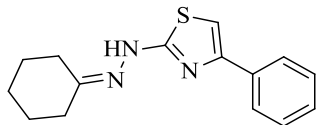
Antifungal etkileri

Tiyazollerin antifungal etkilerinin araştırılması için başta 2-aminotiyazol türevleri olmak üzere birçok çalışma yapılmıştır (De Logu ve ark., 2005).



Şekil 14. Antifungal Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevi

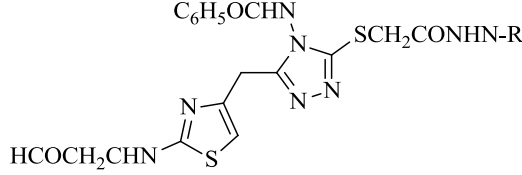
Narayana ve arkadaşları tarafından sentezlenen 5-(2-substitüe-1,3-tiyazol-5-il)-2-alkoksibenzamit ve 5-(2-N-(substitüearil)-1,3-tiyazol-5-il)-2-alkoksibenzamit türevi bileşiklerden **Şekil 14'teki** bileşik, antifungal etkileri bakımından incelenmiş ve etkili bulunmuştur (Narayana ve ark., 2004).



Şekil 15. Antifungal Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevi

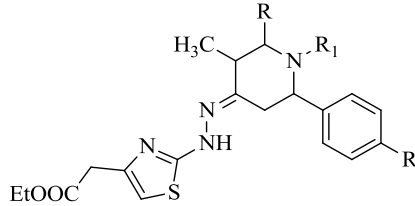
Logu ve arkadaşlarının 2-aminotiyazol türevleri üzerinde yaptıkları çalışmada **Şekil 15**'teki "sikloheksiliden hidrazo-4-feniltiyazol" bileşiğinin antifungal etkileri, izole *Candida spp.* ve flukonazole dirençli *Candida albicans*'a karşı test edilmiştir (De Logu ve ark., 2005).

Antitüberküler etkileri



Şekil 16. Antitüberküler Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevi

Shiradkar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, tiyazolil triazin yapılarının antitüberküler etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Shiradkar ve ark., 2007).

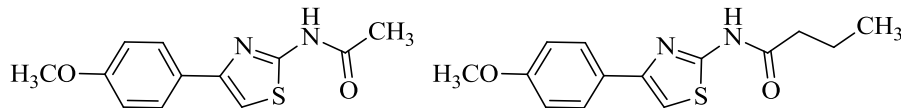


Şekil 17. Antitüberküler Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevi

Aridoss ve arkadaşlarının sentezlediği tiyazol ve tiyazolidinon türevi bazı bileşiklerin antitüberküler etkisi rifampisin ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiş ve *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı inhibitör etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (Aridoss ve ark., 2009).

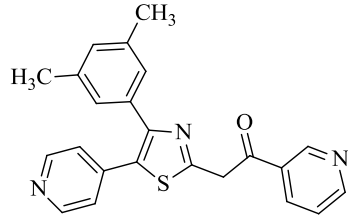
Santral sinir sistemi etkileri

Mishra ve arkadaşları tarafından yapılan bir derleme çalışmasında, santral sinir sisteminde yer alan adozin, dopamin, glutamat, gama aminobütirik asit (GABA), 5-hidroksitriptamin (5-HT), asetilkolin, opioid ve kannabinoid reseptörler gibi reseptörler üzerine etkili tiyazol türevleri tanıtılmıştır. Ayrıca tiyazol türevlerinin antikonvülzan, nöroprotektif, nitrik oksit sentaz inhibitörü, anti-alzheimer gibi etkilerinden bahsedilmiştir (Mishra ve ark., 2015).



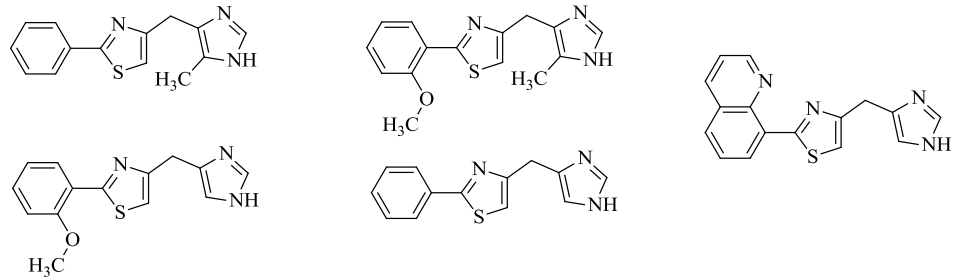
Şekil 18. A₃R Reseptör Antagonisti Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevleri

Jung ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, test ettikleri bileşikler arasında **Şekil 18**'deki deki bileşiklerin adozin A₃R reseptör antagonisti etkilerini en yüksek bulmuştur (Jung ve ark., 2004).



Şekil 19. A₃R Antagonisti Etkisi Test Edilen 4-fenil-5-piridil-1,3-tiyazol Türevi

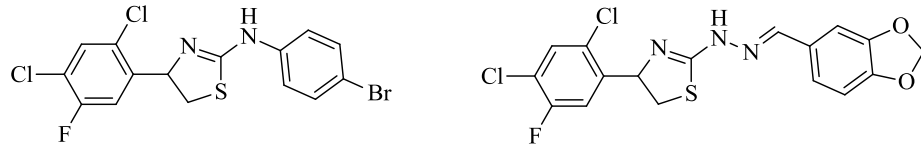
Adenozin reseptörleri üzerine yapılan bir diğer tiyazol çalışmasında ise, 4-fenil-5-piridil-1,3-tiyazol türevleri arasında en aktif A₃R antagonisti, **Şekil 19**'da verilen bileşiktir (Miwatashi ve ark., 2008).



Şekil 20. Santral Sinir Sistemi Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevleri

5-HT₃ reseptör antagonistlerinin araştırıldığı bir çalışmada, ratlarda serotonin kaynaklı bradikardi oluşturma yöntemiyle yapılan testler sonucu, **Şekil 20**'de verilen bileşikler etkili bileşikler olarak gösterilmiştir (Rosen ve ark., 1990).

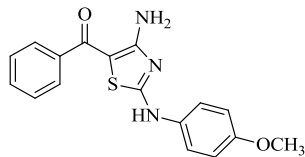
Anti-inflamatuvar etkileri



Şekil 21: Anti-İnflamatuvar Etkileri Test Edilen Tiyazol Türevleri

Holla ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada **Şekil 21**'de verilen molekül, ratlarda ibuprofenle karşılaştırmalı değerlendirilmiş ve etkili bulunmuştur (Holla ve ark., 2003).

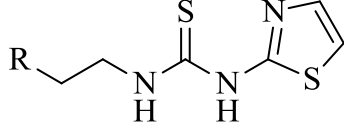
Antioksidan etkileri



Şekil 22. Antioksidan Etkisi Test Edilen Tiyazol Türevi

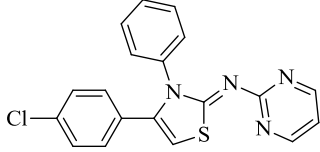
Devasagayam ve arkadaşları, dendroin analogları olarak bilinen 4-amino-5-benzoil-2-(4metoksifenil amino)tiyazol türevleriyle yaptıkları çalışmada, **Şekil 22'**de yer alan bileşiğin yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmiştir (De ve ark., 2008).

Antiviral etkileri



Şekil 23. Antiviral Etkisi Test Edilen 2- (N-sübstitüe)tiyoüre-1, 3-tiyazol Türevi

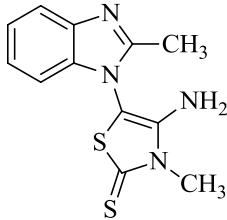
Feniltiyazoliltiyoüre türevleriyle yapılan bir çalışmada, bu grup bileşikler anti-İnsan Bağışıklık Yetmezlik Vüüsü (HIV) etkili olarak tanımlanmıştır. Test edilen bileşikler içinde IC₅₀ değeri bakımından N-(2-fenetil)-N'-(2-tiyazolil)tiyoüre (**Şekil 23**) en etkili bileşik bulunmuştur (Bell ve ark., 1995).



Şekil 24. Antiviral Etkisi Test Edilen 4- (4-klorofenil)-3-fenil-2-N- (2-pirimidinil)imin-1, 3-tiyazolin Bileşiği

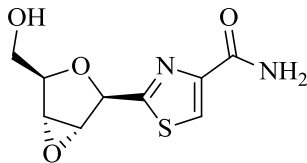
Turan-Zitouni ve arkadaşları tarafından 3,4-diaril-3H-tiyazol-2-ilidenpirimidin-2-il türevleri anti-HIV etkisi bakımından test edilmiştir. Sentezlenen bileşikler içinde **Şekil 24'**teki bileşiğin anti-HIV etkisi belirtilmiştir (Turan-Zitouni ve ark., 2000).

Antikanser etkileri



Şekil 25. Antikanser Etkisi Test Edilen 5- (2-metilbenzimidazol-1-il)-1, 3-tiyazol Türevi

Ramla ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada **Şekil 25'**teki 1-sübstitüe-2-metilbenzimidazol türevi bileşiğin atitümör aktivitesi en yüksek bulunmuştur (Ramla ve ark., 2006).



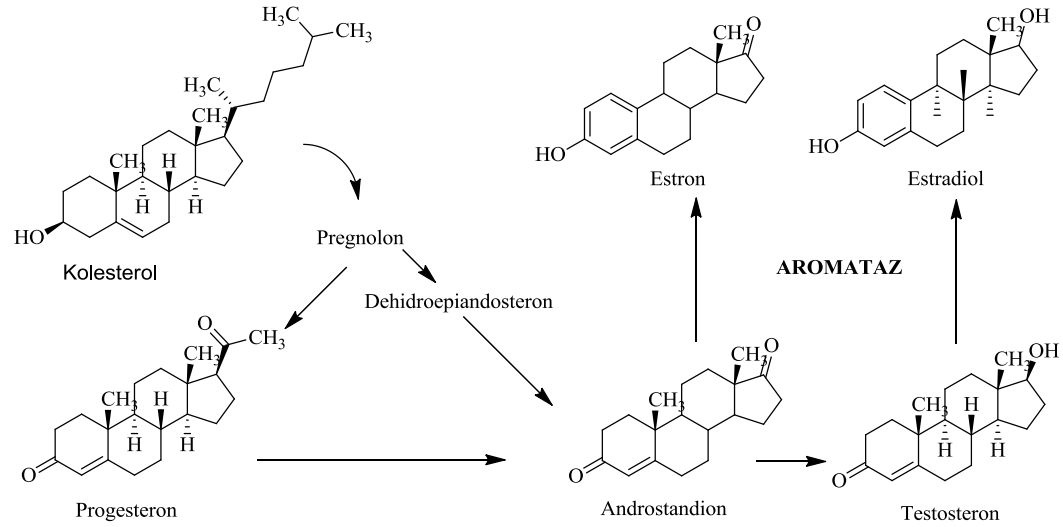
Şekil 26. Antikanser Etkisi Test Edilen 4-karboksamidotiyazol Türevi

Popsavin ve arkadaşlarının K562 malign hücre dizilerine karşı test ettiği 2-(2,3-anhidrofuranozil)tiyazol-4-karboksamit(2',3'-anhidro tiyazofurin) türevleri 0.09-0.49 µM arasında IC₅₀ değerleri vermiştir (Popsavin ve ark., 2007).

Tiyazol halka sistemi içeren bileşiklerde test edilen etki çalışmaları daha geniş alanda yapılmaktadır. Antihipertansif, antiallerjik, antihelmintik, antidiyabetik, anti-alzheimer gibi birçok alanda çalışılmaktadır (Kashyap ve ark., 2012).

Meme Kanseri ve Temel Tedavi Yaklaşımı

Meme kanseriyle ilgili araştırma geçmişi, birçok tümörün oluşumu ve gelişiminin östrojen bağımlı mekanizmalarla yürüdüğünü önermektedir (Miller, 1996). Buna bağlı olarak, östrojen baskılanmasının, bu kanserlerin oluşumunu önleyebileceğini ya da oluşmuş olan tümörlerin gerilemesini sağlayabileceğini kabul edebiliriz (Henderson ve Canellos, 1980a; Henderson ve Canellos, 1980b). Bu yaklaşım, meme kanserinin önlenmesinin ve hastalığıdaki hormonal düzenin sağlanmasının temelini oluşturur. Geçen 25 yılda hormon terapisi; endokrin bezlerin cerrahi ve radyasyon kullanılarak geri dönüşümsüz tahrip edilmesinden, ilaçlarla östrojen sentezi ya da etkisinin geri dönüşümlü olarak engellenmesi ve böylece daha az yan etkili yöntemler geliştirilmesine kadar ilerlemiştir.



Şekil 27. Östrojen Biyosentezi ve Aromataz Enziminin İşlevi

Aromataz

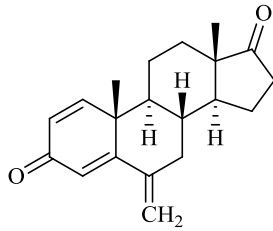
Östrojenler, steroid transformasyonları sırasında oluşan son ürünlerdir. Her basamaktaki dönüşümler üzerinde durularak östrojen sentezi azaltılabilmekle birlikte, en spesifik baskılanma son basamağın inhibe edilmesiyle gerçekleşir. Bu son basamakta androjenler östrojene çevrilir. 3-Hidroksilasyonda, elektron donörü olarak Nikotinamitadeninükleotitfosfat (NADPH) kullanılır. Dönüşüm sırasında, 19 numaralı karbona ait metil grubunun eliminasyonu ve steroid A halkasının aromatikleşmesi gerçekleşir (Fishman ve Goto, 1981). Bundan tek bir enzim (aromataz) sorumludur (Means ve ark., 1989). Sitokrom P450 (CYP450) alt tipi P450arom ve NADPH sitokrom P450 redüktaza sahiptir (Bulun ve Simpson, 1994). Aromatazın, östrojen biyosentezindeki bu anahtar rolü, kabul görür ilaçların

geliştirilebilmesi ve endokrin kaynaklı tümörlerde kullanılabilmesi için ciddi bir ilgi odağı oluşturmaktadır.

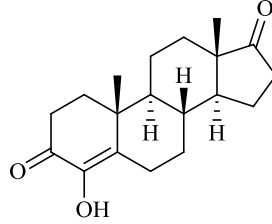
Aromataz inhibitörleri

Bu grup ilaçlar, kimyasal yapılarına ya da etki mekanizmasına göre sınıflandırılırlar. Genel olarak; Tip I inhibitörlerin enzimin substrata hassas aktif yöresine, Tip II inhibitörlerin ise sitokrom P450 parçasına etki ettiği bilimsel olarak kabul edilen mekanizmalardır. Non-steroidal inhibitörler olarak anılan Tip II inhibitörler, genelde bir azol yapısı içerir ve etkisinin hem sitokrom P450 parçası hem de substrat bağlanma parçası üzerinde çift taraflı olduğu da düşünülmektedir.

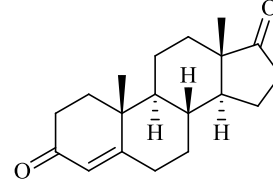
Steroidial



Ekzemestan

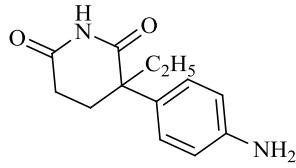


Formestan

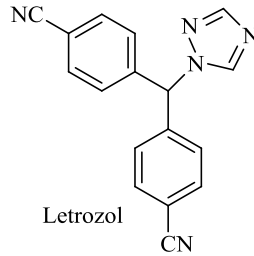


Androstandion

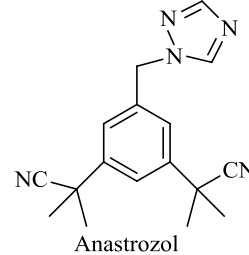
Non-steroidal



Aminoglutetimit



Letrozol



Anastrozol

Şekil 28. Farklı Gruplar Taşıyan Aromataz İnhibitörleri

Tip 1 inhibitörler genellikle Tip 2 inhibitörlere göre daha seçicidir. Formestan ve ekzemestan gibi inhibitörler enzimin metabolik ilişkili kısmına bağlandıklarında aktif metabolitlerine dönüşürler, geri dönüşümsüz bir bağlanma gerçekleşir ve böylece enzim aslında kendi kendini inhibe etmiş olur. Bu yüzden bu tip ilaçlara intihar inhibitörler adı verilir (Johnston, 1984). Bu durumlarda enzim geri dönüşümsüz inaktive olduğundan, bu tip ilaçların kullanımı sonrasında bazı etkiler görülmeye devam edebilir. Bu durumun giderilmesi ancak yeni enzimlerin sentezi ile mümkündür. Tip 2 inhibitörler ise bundan farklı olarak, enzimi geri dönüşümsüz olarak inhibe etmezler ve bu yüzden etkileri devamlı olarak inhibitörün ortamda varlığını gerektirir. Açıklandığı gibi, enzimin sitokrom P450 bölgesine bağlanırlar ve hem grubundaki demirle etkileşirler (Kao ve ark., 1996). Tip 2 inhibitörlerin bağlanmalarındaki seçicilik, aromatazın substrat bağlanma bölgesiyle olan uyumun kusursuzluğuna ve farklılıklarına bağlıdır çünkü, aromataza ait olan sitokrom P450 familyasının aminoasit dizisi diğerlerine oranla ciddi farklılıklar göstermektedir (Vanden Bossche ve ark., 1994). Bu farklılıklar dikkate alınarak istenen özellikleri en çok sağlayan bileşiklere ulaşılmasının önü açılacaktır (Kao ve ark., 1996).

Prototip aromataz inhibitörleri (Birinci kuşak inhibitörler)

Testololakton ve aminoglutetimit gibi bazı ilaçlar aromataz inhibitörü etkileri bilinmeden kullanılmıştır (Barone ve ark., 1979; Griffithis ve ark., 1983; Lipton ve Santen, 1973; Segaloff, 1982). Aminoglutetimitin meme kanseri üzerinde etkisi hakkında yapılan araştırmalarda elde edilen veriler, süregelen çalışmalar için iyi bir kaynak oluşturmuştur. İlk kullanıldığı zamanlarda antiepileptik etkisi üzerinde çalışmalar yapılan aminoglutetimitin adrenal steroid sentezini inhibe ettiğinin tespit edilmesi üzerine meme kanserinin ileri safhaları için bile kullanılabileceği öngörülüp tarama testlerine girmiştir (Hughes, 1970).

Postmenopozal kadınlarda periferel dokularda östrojen sentezinde öncü bileşik olarak androjen olması, aminoglutetimitin kullanımına temel oluşturmaktadır (Griffithis ve ark., 1983). Bu ilaç, steroidin sentezini durdurmak için yeterli dozda verildikten sonra, adrenal bir yetersizlikle karşılaşmamak için kortikoidlerle yerine koyma terapisi yapılır (Thompson ve ark., 1974). Bunların dışında, bu yerine koyma terapisinin gerekliliği Santen ve Misbin, (1981), letarji, ataksi, bulantı, kusma gibi yan etkilerin sık bildirilmiş olması ve sadece plazma östrojen seviyesini düşürebilmesi sebebiyle, aminoglutetimit ileri safha meme kanseri için ideal bir ilaç değildir (Hughes, 1970).

İkinci kuşak inhibitörler

4-hidroksiandrostandion (4-OHA) yani formestan, imidazol ve fadrozol (CGS16949A), ikinci kuşak inhibitörlerden steroidal ve non-steroidal olanlara örnektir. 1970 yılında Drs Harry ve Angela Brodie tarafından aromataz inhibitörü olarak sentezlenmiş 200 bileşikten biri olan 4-OHA yarışmalı şekilde substrata bağlanmasının yanında, oluşan metabolitleri enzim üzerinde geri dönüşümsüz etki gösteren bir ilaçtır (Brodie ve ark., 1977; Schwarzel ve ark., 1973; Brodie ve ark., 1981).

Plasenta mikrozomları üzerinde yapılan çalışmalara göre de aminoglutetimitten 60 kat daha etkili bulunmuştur (Johnston, 1984). Bir ilacın etkisinin yalnızca tarama testleriyle verdiği sonuçlarla ispatlanamayacağı gerçeğine uygun olarak, bu ilaç postmenopozal kadınlarda oral yoldan istenilen biyolojik etkiyi sağlamamıştır (Cunningham ve ark., 1987; Dowsett ve ark., 1989; Mac Neill ve ark., 1995; Coombes ve ark., 1984).

Bir başka ikinci kuşak inhibitör olan fadrozol, içerdiği imidazol yapısının katkısıyla insan plasentası ve kemirgen yumurtalığında aminoglutetimitten 400 ila 1000 kat etkili bulunmuş Bhatnagar (1987), paralel olarak etkili de bir antitümör ajan olduğu belirlenmiştir (Schieweck ve ark., 1988). Bir dezavantaj olarak saymak gerekirse; fadrozol yüksek etkili olmasına rağmen yarı ömrü kısa olan Lonning (1991) aynı zamanda kortizol ile aldosteron sentezini inhibe eden bir ilaçtır (Demers ve ark., 1990; Stein ve ark., 1990; Dowsett ve ark., 1994).

Üçüncü kuşak inhibitörler

Anastrozol, letrozol ve ekzemestan üçüncü kuşak inhibitör örnekleridir. Letrozol ve anastrozol, enzimin substrata bağlanan kısmıyla iyi bir uyum sağlayan, düz aromatik halkaya sahip olan triazolollerdir. Buna ek olarak, aromataz hem grubunda bulunan demir ile koordine olan ve aromataz için hidrosilleme reaksiyonlarını etkili bir şekilde engelleyen halka yapısının bir kısmı

bulunmaktadır. “Hem” grubu ve aktif bölgeye bağlanan kombinasyon, yüksek etki ve hedefe daha iyi özgüllük sağlar. Ekzemestan, formestanla aynı yolla, aromatazı inaktive eden androjen analogudur.

Üçüncü kuşaktaki bu ilaçlar, *in vitro* aromataz aktivitesi değerlendirildiğinde aminoglutetimiten daha etkilidirler. Öyle ki aminoglutetimitte etki mikromolar seviyelerdeyken bu ilaçlarda nanomolar düzeyindedir. Ayrıca farmakokinetik özellikleri *in vivo* olarak daha etkilidir. Bu sayede normal bir dozu vücuttaki bütün aromatazı bloke eder ve kan östrojen seviyelerini düşürür (Lonning, 1996). Bunların dışında düşünülmesi gereken ise uzun süreli kullanım sonunda oluşturabileceği etkilerin henüz belirlenmemiş olmasıdır. Dolayısıyla bu özelliklerin belirlenip en az toksik, en seçici ve düşük dozdaki ilaçların bulunması gerekmektedir.

Anastrozol

Bu triazol yapısı *in vivo* koşullarda etkili, 1 mg dan 10 mg a kadar olan günlük dozlarda postmenopozal kadınlarda anlamlı aromataz baskılaması göstermiştir. Diğer steroid hormonlarda saptanabilir bir değişiklik olmadan plazma östron, östradiol ve östron sülfat, % 80 e kadar olan bir oranda azalma göstermiştir. Meme kanserli hastalarda etkili antitümör etki de gözlenmiştir (Geisler ve ark., 1996).

Letrozol

Letrozol, postmenopozal kadınlarda periferel dokulardaki aromatazı etkili bir biçimde inhibe eder ve endojen östrojeni baskılar (Dowsett, 1996). Çok düşük dozlarda bile östron, östradiol ve östron sülfat etkili bir biçimde baskılanmış ve bu etkiler ikinci nesil inhibitörlerin kullanılmasından sonra gözlendiğinde daha iyi sonuçlar elde edilmiştir (Demers, 1994). Letrozol ve fadrozolün direkt karşılaştırılmasında fadrozol yalnızca % 70 in üzerinde bir orana ulaşabilirken, letrozolün incelenen tüm dozlarda (0.1-5mg/gün) plazma östrojen seviyesini baskılamada çok daha etkili olduğu bulunmuştur (Demers, 1994).

Klinik olarak, diğer endokrin terapilerine ve kemoterapiye dirençli meme kanseri hastası postmenopozal kadınlarda letrozol, tümör gerilemesini sağlamıştır.

Letrozol, ilerleme zamanı açısından aminoglutetimidten daha güçlü bir etkiye sahiptir (Gershanovich ve ark., 1998).

Ekzemestan

Oral alındığında etkili olan steroidal yapıli antitümör etkili inhibitördür. *In vivo* çalışmalarda 25 mg/gün dozu, % 98 e varan aromataz inhibisyonu yaratmıştır. Ekzemestanın, aminoglutetimitte nükseden hastalarda östrojen seviyesini azaltacağı öngörülmektedir (Johannessen ve ark., 1997).

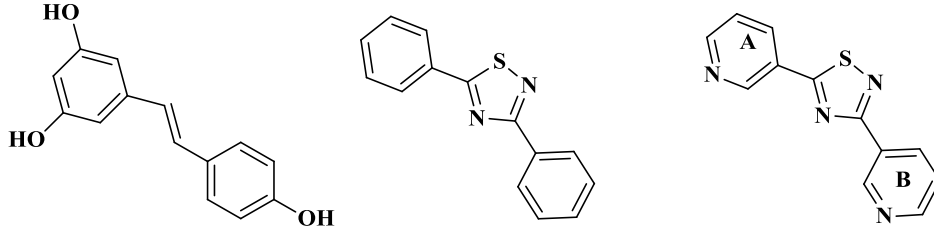
Çizelge 1. Bileşiklerin Aromataz Etkileri (Aromataze Inhibitors; B.J.A. Furr (Ed) isimli kitaptan değiştirilmeden alınmıştır)

	Plasental mikrozoamlar		Meme kanseri homojenatları		Memeli fibroblast kültürleri	
	IC ₅₀ (nM)	Görelî kuvvet	IC ₅₀ (nM)	Görelî kuvvet	IC ₅₀ (nM)	Görelî kuvvet
Aminoglutetimit	3000	1	4500	1	8000	1
Anastrozol	12	250	10	450	14	570
Letrozol	12	250	2.5	1800	0.8	10 000
Formestan	50	60	30	150	45	180
Ekzemestan	50	60	15	300	5	1600

	Inhibisyon(%)	Artık etki(%)
Ekzemestan	97.9	2.1
Formestan(i.m.)	91.9	8.1
Aminoglutetimit	90.6	9.4
Anastrozol	96.7	3.3
Letrozol	98.9	1.1

Resveratrol Analöü Bileşikler

Resveratroldeki çift bağın yerine 2 atomluk mesafeyi sağlayan tiyazol halka sisteminin getirilmesi ile etkinin 100 kat arttığı ve fenil halkalarının yerine piridin halkaları getirildiğinde Metiyonin (Met374) ile bağlanma sonucu 6000 kat aktivite sağlandığı literatürde belirlenmiştir. B halkasının hidroksillenmesi ya da hidrojen akseptör grupların eklenmesiyle aktivitede bir değişim gözlenmemiştir (Mayhoub ve ark., 2012b).



Şekil 29. Resveratrol ve Biyoizosteri Bileşikler

Bilgisayar yardımıyla ilaç tasarımında moleküler docking, kantitatif yapı-etki ilişkileri (QSAR) ve high throughput virtual screening (HTVS) önemli bir yer tutmaktadır. Bu konuyla ilgili detaylı bilgi ilgili kaynaklarda ayrıntılı olarak açıklanmıştır (Iveson ve ark., 1993; Van der wall ve ark., 1993; Wouters ve ark., 1994). Docking yazılımları temelde ligand-protein ya da protein-protein etkileşimlerini görsel olarak tanımlar ve 'poz' oluşturur ki bu bir anlık fotoğraf anlamı taşır. İkinci fonksiyon olarak ise pozların matematiksel işlemlerle skorlanmasını gerçekleştirir. Yazılımlar arasındaki farklar bu parametrelerdeki değişkenleri içerir. Standart yazılımların hemen hepsi pozları tutarlılıkla ölçebilmektedir ancak skorlamalarında farklılıklar vardır.

Modelleme çalışmalarına X ray çalışmaları temel oluşturur. Öyle ki Ghosh ve arkadaşlarının aromatazın X ray kristallografisini göstermesinden sonra aromatazın

modelleme çalışmaları yapılmış ve bazıları aşağıda listelenmiştir (Bulun ve Simpson, 1994).

Awasthi ve arkadaşları 45 doğal flavonoid bileşiği için östrojen bağlantılı meme kanserinde Karşılaştırmalı Molekül Yapı Analizi (COMFA) tekniği ile yaptıkları QSAR çalışmasında, flavonoid veri-tabanını tarayarak docking yöntemiyle aromataz aktivitesi ölçümlemişlerdir. Bileşiklerden 7-hidroksiflavonon beta-D-glukopiranosit en aktif bileşik olarak bulunmuştur (Awasthi ve ark., 2015).

Bir başka çalışmada Ferlin ve arkadaşları tarafından sentezlenen pirolo[2, 3-h]kinolin ve pirolo[3, 2-f]kinolin türevlerinin aromataz CYP17 ve 22 enzimlerini inhibe ederken letrozol standartına karşı CYP11B1 ve CYP17 enzimlerini inhibe etmediklerini belirlemişlerdir. Docking yardımıyla aromataz enziminin moleküllerle etkileşimleri incelenmiş ve etkileşimde rol alan aminoasitler belirlenmiştir (Ferlin ve ark., 2013a).

Favia ve arkadaşları bir çalışmasında ise aromataz inhibitörlerinin tasarımında kullanılan bilgisayarlı tekniklerini tanımlamış, özetlemişlerdir (Favia ve ark., 2013b).

Konu hakkında diğer çalışmalar literatürde bulunmaktadır. Çalışmaların çoğu farklı QSAR bağlantılı docking çalışmalarını içermektedir (Narayana ve ark., 2012; Caporuscio ve ark., 2011; Dai, 2010; Roy ve Roy, 2010).

GEREÇLER

Kullanılan kimyasal maddeler

Bakır-2-bromür	: Merck
Etil asetat	: Sigma Aldrich
Sodyum karbonat anhidr	: Sigma Aldrich
Tiyoizonikotinamit	: Alfa Aesar
Tiyonikotinamit	: Alfa Aesar
Pikolinonitril	: Merck
2-Hidroksi asetofenon	: Sigma Aldrich
3-Hidroksi asetofenon	: Sigma Aldrich
4-Hidroksi asetofenon	: Sigma Aldrich
Sodyum asetat trihidrat	: Sigma Aldrich
Etanol	: Merck
Petrol eteri	: J. T. Baker
Silikajel kaplı alüminyum İTK plağı	: Merck

Kullanılan aletler

Erime Derecesi Aleti: Stuart Melting Point Apparatus SMP30

Elementel analiz aleti: Leco

İnfrared Spektrofotometresi (IR): Perkin Elmer Spektrum Two FT-IR Spectrometer

¹H-Nükleer Magnetik Rezonans Spektrometresi (NMR): Bruker 500 MHz UltraShield NMR Spektrofotometre

¹³C-Nükleer Magnetik Rezonans Spektrofotometresi: Bruker 125 MHz UltraShield NMR Spektrofotometre

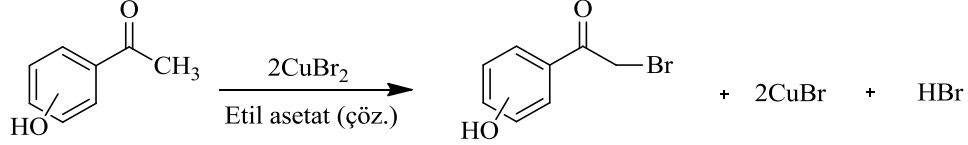
Kütle Spektrometresi (MS): Agilent 1100 MSD kütle spektrometresi

Rotary evaporator: Heidolph

YÖNTEMLER

Başlangıç Maddelerinin Eldesi

2-Bromo- (2'/3'/4'-hidroksi)asetofenon türevlerinin eldesi (Yöntem A)



Şekil 30. 2-Bromo- (2'/3'/4'-hidroksi)asetofenon Türevlerinin Eldesi

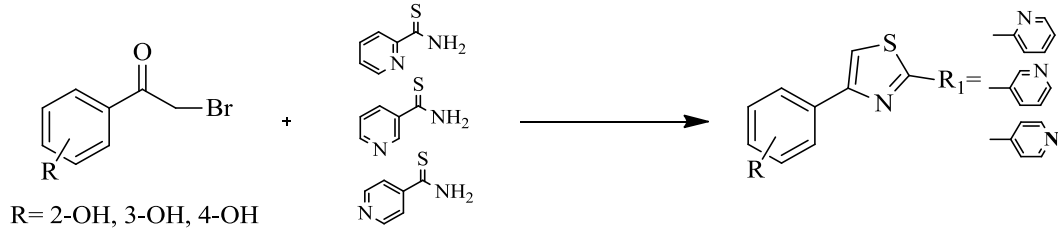
Uygun bir hidroksiasetofenon türevi (0.1 mol, 13.6 g), etil asetat içinde (100 ml) CuBr_2 (0.2 mol, 44.7 g) geri çeviren soğutucu altında yeşil renk kaybolana kadar yaklaşık 6-8 saat ısıtılır. Karışım bir gece bekletildikten sonra oluşan CuBr çökeleği süzülerek ayrılır. Etil asetat fazı suyla yıkanır. Sodyum sülfat ile kurutulur ve düşük basınç altında uçurulur. Ham ürün daha farklı bir temizleme işlemine tabi tutulmadan sonraki basamaklarda kullanılır (Vekariya ve Patel, 2014).

Tiyopikolinamid'in eldesi (Yöntem B)

Pikolinonitril (0.1 mol, 10.4 g), dioksan (200 ml) içinde çözülür. Karışıma P_4S_{10} (0.1 mol, 44.4 g) ilave edilip 48 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Karışıma 500 ml buzlu su ilave edilerek iyice karıştırılır. Süzülerek berak bir çözelti elde edilir. Bu çözeltinin üzerine ortam bazik olana kadar amonyak çözeltisi ilave edilerek soğukta kristallenmeye bırakılır. Oluşan kristaller süzülerek alınır (Polshettiwar ve Kaushik, 2006).

2-(2,3,4-Piridil)-4-(2'/3'/4'-hidroksifenil)-1,3-tiyazol Türevlerinin Eldesi (Yöntem C)

Uygun bir piridintiyoamid türevi (3.6 mmol, 0.5 g), 50 ml etanol içerisinde uygun bir 2-bromo-(2'/3'/4'-hidroksi)asetofenon (3.6 mmol, 0.77g) türevi ile oda sıcaklığında 30 dakika karıştırılır. Daha sonra geri çeviren soğutucu altında 1 saat kaynatılır. Soğutulunca oluşan çökelek alınır, suda çözülür, doymuş sodyum asetat çözeltisiyle muamele edilir. Oluşan çökelek süzülerek alınır, kurutulur, etanolden kristallendirilir.



Şekil 31. 2- (2, 3, 4-piridil)-4- (2'/3'/4'-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol Türevlerinin Genel Sentez Şeması

Elde Edilen Bileşiklerin Analizi

Erime noktası tayini

Tüm bileşiklerin erime noktaları, toz edilmiş numuneler bir ucu kapalı kapiler borulara yaklaşık 0.5 cm yüksekliğinde konularak Stuart Melting Point Apparatus SMP30 cihazında erimeye başladıkları sıcaklık kaydedilerek ölçülmüştür.

Kromatografik analizler

Reaksiyonlar sırasında ve sonucunda tüm bileşikler İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile analiz edilmiştir. İnce tabaka kromatografisinde 20x20 ebatlı, Silikajel 60 F₂₅₄ kaplı alüminyum plaklar kullanılmıştır. Lekelerin belirlenmesinde ise 254 ve 366 nm dalgaboyundaki Ultra viyole (UV) lambaları kullanılmıştır.

Elementel analiz

Kristalize bileşiklerin C, H, N yüzdelерinin analizi Leco elementel analiz cihazı kullanılarak yapılmıştır.

Infra-red (IR) spektrumlarının alınması

Sentezlenen bileşiklerin IR spektrumları, bileşikler agat havanda ince toz edildikten sonra vakum etüvünde kurutularak direkt sıkıştırma yöntemiyle Perkin Elmer Spektrum Two FT-IR Spectrometer cihazında alınmıştır.

¹H-NMR spektrumlarının alınması

Bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları, 20-30 mg maddenin heksadötöro dimetilsülfoksit (DMSO-*d*₆) içindeki çözeltisinde TMS internal standardı eklenerek Bruker 500 MHz UltraShield NMR Spektrofotometre’de alınmıştır.

¹³C-NMR spektrumlarının alınması

Bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumları, Bruker 125 MHz UltraShield NMR Spektrofotometre cihazında alınmıştır.

Kütle spektrumlarının alınması

Bileşiklerin kütle spektrumları, maddenin metanol’deki çözeltisi kullanılarak elektron sprey yöntemiyle (ESI) Agilent 1100 MSD kütle spektrometresi cihazında alınmıştır.

Moleküler Modelleme Çalışmaları

Moleküler modelleme çalışmaları sırasında, X-ray kristal yapısı olarak, RCSB protein veri bankası Berman ve ark., (2000) içeriğinde yer alan “Androstendion ile kompleks halde bulunan insan plasental aromataz sitokrom P450 kristal yapısı” (Pdb ID; 3EQM) Ghosh ve ark., (2009) na ait kristallografik veriler PDB formatında kaydedilmiş ve genel kullanıma sunulmuştur.

Protein yapısı, docking işlemlerinde kullanılan GRID dosyalarının hazırlanması ve çeşitli algoritmalarla gerçekleştirilen docking ve skorlama işlemleri Maestro (Schrodinger Inc, ABD) yazılımı ve ilgili alt üniteleri ile gerçekleştirilmiştir. Etkileşimin doğasının ve olasılıklarının incelenmesine ait grafikler ve şekiller, Moleculer Environment Operations (MOE) (Chemical Computing Group Inc., Kanada) yazılımına ait özel yazılım olan “Ligand-receptor contacts (visualization+scoring) SVL” yardımıyla sağlanmıştır. Bilgisayar gerektiren tüm

işlemler, İstanbul Medipol Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi bünyesindeki iş tasyonları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kullanılacak ligand setin hazırlanması

Bileşiklerin tümünün yapısı Maestro (Schrodinger Inc, ABD) program modülleri yardımıyla üç boyutlu olarak çizilmiştir. Yapıların, ligprep modülü kullanılarak, enerjileri minimize edilmiş, pH 7 (± 2) iyonize formları, tautomerleri hazırlanmış, tekrar eden ve tuz formunda olanlar ayıklanmıştır.

Kullanılacak hedefin hazırlanması

Protein veri bankası içeriğinden “Androstendion ile kompleks halde bulunan insan plasental aromataz sitokrom P450 kristal yapısı” (Pdb ID; 3EQM) na ait kristalografik veriler PDB formatında indirilmiştir. Takiben Maestro (Schrodinger Inc, USA) programının altında bulunan “protein preparation wizard” yardımıyla yapının hidrojenleri eklenmiş ve bağ yapıları program yazılımına uygun olarak tekrar düzenlenmiştir. Rotasyona açık olan aminoasitlerin uygun yan zincir pozisyonları ve olası protein içi H bağlar belirlendikten sonra tüm yapının hidrojenleri OPLS 2005 enerji parametreleri kullanılarak minimize edilmiştir.

Aktif yöreye ait GRID lerin hazırlanması

Maestro (Schrodinger Inc, USA), Glide-Grid preparation modülü kullanılarak aktif yöreye ait çeşitli etkileşim haritaları hazırlanmıştır. Dosyanın hazırlanması sırasında orjinal ligand merkez noktası olarak alınmış, Van der Waals ölçümleme faktörleri yazılıma özgü değerler kullanılarak yapılmıştır.

Docking ve skorlama

Daha önce hazırlanmış ligandların optimize edilmiş GRID dosyası yardımı ile Maestro (Schrodinger Inc), Glide-docking ara yüzü kullanılarak HTVS ve XP formunda dock edilmiştir. Her basamakta skorlama, maksimum docking ve maksimum e-model skorları ile ölçümlenmiş, artan sırada düzenlenmiş ve pozlar incelenmiştir. Son basamakta biyolojik aktivitesi belirlenmiş maddeye ait seçilen poz ve hazırlanmış protein yapısı pdb uzantısı ile kaydedilmiştir.

Etkileşim grafikleri ve şekillerin hazırlanması

Docking işlemi sırasında kaydedilen pdb dosyaları MOE (Chemical Computing Group Inc., Kanada) yazılımı yardımıyla tekrar açılmış ve olası bozulmalara karşın kontrol edilmiştir. Daha sonra modül ile kullanılabilen bir özel yazılım olan “Ligand-receptor contacts (visualization+scoring) SVL” yardımıyla ligand-aktif yöre arası etkileşim olasılıkları ve mesafe hesapları yapılmış ve yorumlanmıştır. Hesaplamalar sonucunda oluşan grafikler ve etkileşimler, yüksek çözünürlüklü resim formatında kaydedilerek metin içeriğine yerleştirilmiştir.

Biyolojik Aktivite Testleri

XTT kanser hücresi aktivite ölçümü

Çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin sitotoksik etkisi canlı hücrelerin tetrazolium tuzunu, formazan boyasına dönüştürebilmesi prensibine dayanan XTT (2, 3-Bis- (2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanilit) testi ile belirlenir. Yöntemin esası canlı hücreler tarafından XTT’den oluşturulabilen

formazan boyasının fotometrik ölçümüne dayanır. Fotometrik değer, canlı hücrelerin sayısı ile doğru orantılıdır.

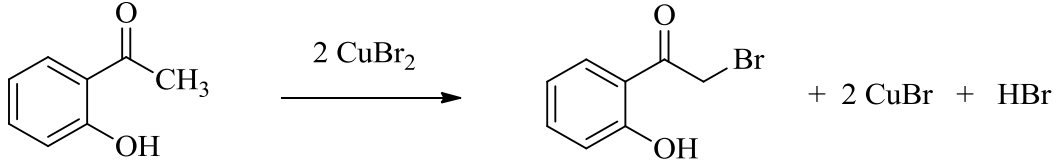
Sitotoksosite testinde MCF7 (insan meme adenokarsinoma) ve NIH 3T3 (fare embriyonik fibroblast) hücre hatları kullanılır. MCF7 hücreleri fetal bovine serum (FBS), 100 IU/mL penisilin ve 100 mg/mL streptomisin ilave edilmiş RMPI 1640 dan oluşan besiyeri ortamında, 37 °C ve % 5 CO₂ de inkübe edilir. NIH 3T3 hücreleri ise FBS, 100 IU/mL penisilin ve 100 mg/mL streptomisin ilave edilmiş DMEM den oluşan besiyeri ortamında, 37°C ve % 5 CO₂ de inkübe edilir. NIH 3T3 ve MCF7 hücrelerin yeterince çoğalıp çoğalmadığının ve hücre canlılığının değerlendirilmesi için, hücreler tripan mavisi ile boyanarak sayım yapılır. Yeterli sayıya ulaşan hücreler, 96'lık kuyucuklara her bir kuyucukta 200 µl de 50.000 hücre olacak şekilde besiyeri ortamında ekilir. 24 saatlik inkübasyon süresinden sonra kuyucukların içindeki besiyeri uzaklaştırılır ve gerekli seyreltmeler yapılarak 500-3, 9 µg/ml konsantrasyonları arasında her bileşikten sekiz farklı konsantrasyonda eklenir. 24 saat inkübe edildikten sonra, Cytotox-XTT 1 Parameter Cytotoxicity Kit (Xenometrix AG, Gewerbertrasse, Switzerland) ile NIH/3T3 ve MCF7 hücrelerin mitokondrial aktivitelerini ölçmek için sitotoksosite testi uygulanır. Öncelikli olarak hücreler fosfat tamponu (PBS) ile yıkanır; ardından 200 µl/kuyucuk taze hazırlanmış medyum eklenir. XTT I ve XTT II solüsyonları 1:100 oranında eklenerek karıştırılır. Daha sonra bu karışımdan 50 µl alınarak her kuyucuğa eklenir ve plakalar 2 saat boyunca 37°C, % 5 CO₂' de inkübe edilir. 2 saatin sonunda kuyucuklar pipetaj yapılarak karıştırılır. Plakaların optik densisite (OD) değerleri 480 nm de, referans dalga boyu olarak 680 nm ile ölçülür. Bileşiğin her bir konstrasyonu için % inhibisyon hesaplanır. IC₅₀ değeri non-linear regresyon analizi ile tahmin edilir. Pozitif kontrol olarak Letrozol, Anastrozol, Ekzemestan, Formestan kullanılır. Bileşiklerin stok solüsyonu DMSO ile hazırlanır ve daha sonra taze medyum ile dilüe edilir. En son DMSO derişimi % 0,1 in altında olmalıdır. Çalışmada, hücrelerin besiyeri ortamında kültüre edildiği 'kontrol' ve besiyeri ortamında % 0,1 oranında DMSO içeren 'DMSO kontrol' grupları da oluşturulur. Bütün deneyler dublike yapıldı. (Yurttaş ve ark, 2014).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, tiyopikolinamid, tiyonikotinamid veya tiyoizonikotinamid türevleri ile 2-bromo-2'-hidroksiasetofenon, 2-bromo-3'-hidroksiasetofenon veya 2-bromo-4'-hidroksiasetofenon türevleri reaksiyona sokularak yeni bazı tiyazol türevleri elde edilmiştir.

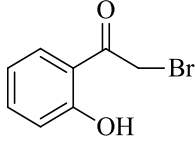
Başlangıç Maddelerinin Eldesi

Hidroksi süstitüe asetofenon türevleri etil asetat içinde bakır (II) bromür kullanılarak sentezlenmişlerdir. Asetofenon türevlerinin klasik bromlama reaksiyonu olan asetik asit içerisinde brom ile yapılan bromlama reaksiyonu, buradaki türevlerimizin fenolik bileşikler olmasından dolayı uygulanamamıştır.



Şekil 32. Asetofenon Bromürlerin Oluşum Reaksiyonu

2-Bromo (2'-hidroksi)asetofenon bileşiğinin eldesi



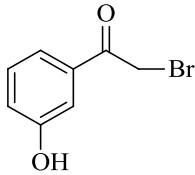
0.1 mol 2-hidroksiasetofenon (13.6g) ve 0.2 mol bakır (II) bromür (44.7 g), 100 ml etil asetat içinde Yöntem A'ya göre reaksiyona sokularak 2-bromo (2'-hidroksi)asetofenon elde edilir.

Verim : % 73

E.n. : 41 °C

E.n. : 40 °C (King, 1964)

2-Bromo (3'-hidroksi)asetofenon bileşiğinin eldesi

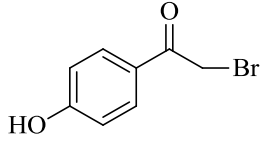


0.1 mol 2-hidroksiasetofenon (13.6g) ve 0.2 mol bakır (II) bromür (44.6 g), 100 ml etil asetat içinde Yöntem A'ya göre reaksiyona sokularak 2-bromo(2'-hidroksi)asetofenon elde edilir.

Verim : % 70

Sıvı halde izole edildi.

2-Bromo (4'-hidroksi)asetofenon bileşiğinin eldesi



0,1 mol 2-hidroksiasetofenon (13.6g) ve 0.2 mol bakır (II) bromür (44.6 g), 100 ml etil asetat içinde Yöntem A'ya göre reaksiyona sokularak 2-bromo-(2'-hidroksi)asetofenon elde edilir.

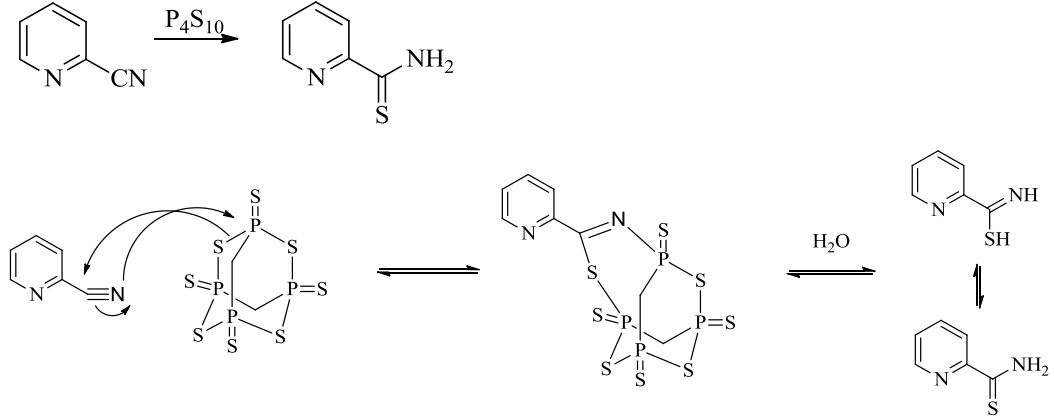
Verim : % 77

E.n. : 127 °C

E.n. : 124-126 °C (King, 1964)

Tiyopikolinamid bileşiğinin eldesi

Başlangıç maddelerinden tiyopikolinamid, pikolinonitrilin dioksan içerisinde fosforpentasülfür ile reaksiyonundan "Yöntem B" 'ye göre elde edilerek sonraki reaksiyonlarda kullanılmıştır.



Şekil 33. Tiyopikolinamid Eldesi Reaksiyon Mekanizması

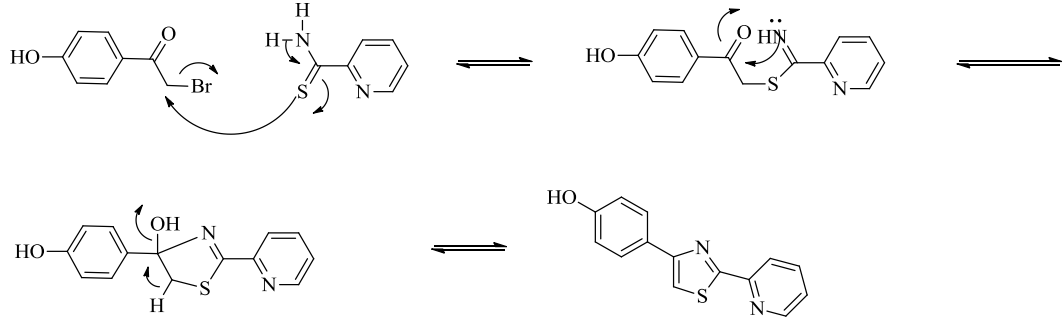
Verim: % 85

E.n. : 136.5 °C

E.n. : 134-135 °C (Goswami ve Das, 2007)

Sonuç Bileşiklerinin Eldesi

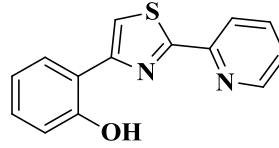
Hidroksiasetofenonbromür bileşikleri ile tiyoamid türevlerinin reaksiyonu, tiyazol bileşiklerini vermiştir. Hantzsch Yöntemi, tiyazol sentezinde en yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Reaksiyon şeması aşağıda gönderilmiştir. Reaksiyonun ilk basamağında, tiyoamidin kükürtünün bromoasetofenondaki bromon bağlı olduğu karbona atak ettiği kinetik çalışmalar sonunda tespit edilmiştir. İkinci basamak, azotun karbonil grubuna atağı ile ilgilidir. Son olarak bir molekül su atımıyla tiyazol halka sistemi oluşmuş olur (Weissberger, 1979).



Şekil 34. Sonuç Bileşiklerinin Oluşum Reaksiyon Mekanizması

Sonuç bileşiklerinin reaksiyon verimi % 65-82 aralığındadır. Bu da Hantzsch Yöntemi için beklenen bir durumdur (Weissberger, 1979).

2-(2-Piridil)-4-(2-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 1)



3.6 mmol (0.77g) 2-hidroksi asetofenonbromür ile 3.6mmol (0.5g) tiyopikolinamid kullanılarak Yöntem C 'ye göre elde edildi.

Verim: % 76

E.n.: 124.3 °C

Elementel Analiz: (C₁₄H₁₀N₂OS)

Hesaplanan:	C: 66.12	H: 3.96	N: 11.02
Bulunan:	C: 66.08	H: 3.96	N: 11.08

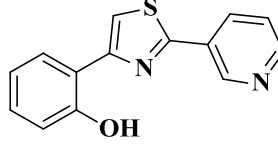
IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3104-3039 (Aromatik C-H gerilmeleri), 1620-1581 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri), 1247 (C-O gerilmesi)

¹H NMR (500MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 6.95 (1H, t, *J*: 7.50 Hz, *j*: 7.50 Hz, Ar C₅-H), 7.01 (1H, d, *J*: 8.13 Hz, Ar C₃-H), 7.23 (1H, t, *J*: 7.64 Hz, 7.64 Hz, Ar C₄-H), 7.54 (1H, dd, *J*: 7.49 Hz, *j*: 4.66 Hz, piridin 4-H), 8.02 (1H, t, *J*: 7.72 Hz, *j*: 7.72 Hz, piridin 5-H), 8.17 (1H, d, *J*: 7.7, Ar C₆-H), 8.25 (1H, d, *J*: 7.213 Hz, piridin 3-H), 8.31 (1H, s, tiyazol 5-H), 8.68 (1H, dd, *J*: 4.68 Hz, *j*: 0.6 Hz, piridin 6-H), 10.56 (1H, s, O-H)

¹³C NMR: 116.98 (tiyazol, C₅), 119.43 (Ar, C₃), 119.77 (Ar, C_{1,5}), 120.121 (Ar, C₆), 125.72 (Ar, C₄), 129.05 (piridin, C₄), 129.73 (piridin, C₅), 138.33 (piridin, C₃), 150.27 (piridin, C₆), 150.71 (piridin, C₂), 153.17 (tiyazol, C₄), 155.53 (tiyazol, C₃), 167.29 (Ar, C₂)

Mass (ESI), m/z: 255 (M+1)

2-(3-Piridil)-4-(2-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 2)



3.6 mmol (0.77g) 2-hidroksi asetofenonbromür ile 3.6 mmol (0.5g) tiyonikotinamid kullanılarak Yöntem C'ye göre elde edildi.

Verim: % 67

E.n: 134.1 °C

Elementel Analiz: (C₁₄H₁₀N₂OS)

Hesaplanan:	C: 66.12	H: 3.96	N: 11.02
Bulunan:	C: 66.05	H: 3.98	N: 11.03

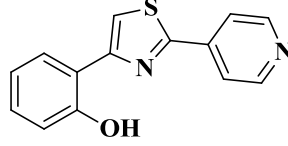
IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3120-3000 (Aromatik C-H gerilmeleri), 1618-1581 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri), 1248 (C-O gerilmesi)

¹H NMR (500MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 6.95 (1H, t, *j*: 7.49 Hz, *J*: 7.49 Hz, Ar C₅-H), 7.01 (1H, d, *J*: 8.08 Hz, Ar C₃-H), 7.21-7.25 arası (1H, m, Ar C₄-H), 7.59 (1H, dd, *j*: 4.83 Hz, *J*: 7.99 Hz, Ar C₆-H), 8.19 (1H, d, *J*: 7.79 Hz, piridin 5-H), 8.32 (1H, s, tiyazol 5-H), 8.39-8.41 (1H, m, piridin 4-H), 8.71 (1H, d, *J*: 4.79 Hz, piridin 6-H), 9.22 (1H, d, *J*: 1.64 Hz, piridin 2-H), 10.55 (1H, s, O-H)

¹³C-NMR: 116.94 (tiyazol C₅), 119.43 (Ar C₃), 119.78 (Ar C₁), 120.13 (Ar C₅), 124.78 (piridin C₅), 129.29 (Ar C₄), 129.31 (piridin C₄), 129.81 (Ar C₆), 134.14 (piridin C₃), 147.45 (piridin C₆), 151.47 (piridin C₂), 152.97 (tiyazol C₄), 155.53 (tiyazol C₂), 162.95 (Ar, C₂)

Mass (ESI), m/z: 255 (M+1)

2-(4-Piridil)-4-(2-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 3)



3.6 mmol (0.77 g) 2-hidroksiasetofenonbromür ile 3.6 mmol (0.5 g) tiyoizonikotinamit kullanılarak Yöntem C'ye göre elde edildi.

Verim: % 69

E.n.: 131 °C

Elementel Analiz: (C₁₄H₁₀N₂OS)

Hesaplanan:	C: 66.12	H: 3.96	N: 11.02
Bulunan:	C: 66.11	H: 3.92	N: 11.01

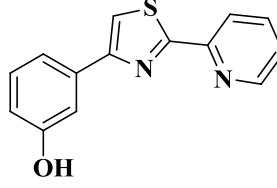
IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3131.3-2856.8 (Aromatik C-H gerilmeleri), 1600.7-1551.9 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri), 1279.58 (C-O gerilmesi)

¹H NMR (500MHz), (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 6.96 (1H, t, *j*: 7.47 Hz, *J*: 7.47 Hz, Ar C₅-H), 7.02 (1H, d, *J*: 8.07 Hz, Ar C₃-H), 7.24 (1H, t, *J*: 7.64 Hz, *j*: 7.65 Hz, Ar C₄-H), 7.97 (2H, d, *J*: 5.4 Hz, piridin 3, 5-H), 8.19 (1H, dd, *j*: 1.35 Hz, *J*: 7.79 Hz, Ar C₆-H), 8.38 (1H, s, tiyazol 5-H), 8.74 (2H, d, piridin 2, 6-H), 10.55 (1H, s, O-H)

¹³C-NMR: 116.94 (tiyazol C₅), 119.33 (Ar C₃), 119.81 (Ar C₄), 120.56 (Ar C_{1,5}), 129.36 (piridin C₅), 129.29 (Ar C₄), 129.31 (piridin C₄), 129.36 (Ar C₃), 129.92 (piridin C₅), 139.87 (piridin C₄), 151.24 (piridin C_{2,6}), 153.31 (tiyazol C₄), 155.55 (tiyazol C₂), 163.29 (Ar C₂)

Mass (ESI) *m/z* : 255 (M+1)

2-(2-Piridil)-4-(3-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 4)



3.6 mmol (0.77 g) 3-hidroksiasetofenonbromür ile 3.6 mmol (0.5 g) tiyopikolinamid kullanılarak Yöntem C'ye göre elde edildi.

Verim: % 82

E.n.: 172.4 °C

Elementel analiz: (C₁₄H₁₀N₂OS)

Hesaplanan:	C: 66.12	H: 3.96	N: 11.02
Bulunan:	C: 66.08	H: 3.96	N: 11.08

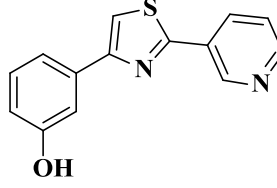
IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3133.3 (Aromatik C-H gerilmeleri), 1613.49-1583.37 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri), 1235.02 (C-O gerilmesi)

¹H NMR (500MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 6.82 (1H, dd, *j*: 2.21 Hz, *J*: 7.95 Hz, Ar C₄-H), 7.29 (1H, t, *J*: 7.85, *j*: 7.85 Hz, Ar C₅-H), 7.48-7.50 (1H, m, Ar C₂-H), 7.50-7.53 (2H, m, piridin 5-H, Ar C₆-H), 8.01 (1H, td, *j*: 1.53 Hz, *j*: 7.72 Hz, *J*: 7.72 Hz, piridin 4-H), 8.17 (1H, s, tiyazol 5-H), 8.24 (1H, d, *J*: 7.87, piridin 3-H), 8.66 (1H, d, *J*: 4.78 tiyazol 5-H), 9.57 (1H, s, O-H)

¹³C-NMR: 113.49 (tiyazol C₅), 115.82 (Ar C₆), 117.27 (Ar C₄), 117.41 (Ar C₂), 119.69 (Ar C₅), 125.65 (Ar C₁), 130.31 (piridin C₄), 135.72 (piridin C₅), 138.24 (piridin C₃), 150.20 (piridin C₆), 150.91 (piridin C₂), 156.22 (tiyazol C₄), 158.27 (tiyazol C₂), 168.55 (Ar C₃)

Mass (ESI), m/z: 255 (M+1)

2-(3-Piridil)-4-(3-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 5)



3.6 mmol (0.77g) 3-hidroksi asetofenonbromür ile 3.6mmol (0.5g) tiyonikotinamid kullanılarak Yöntem C'ye göre elde edildi.

Verim: % 78

E.n.: 193.2 °C

Elementel analiz: (C₁₄H₁₀N₂OS)

Hesaplanan:	C: 66.12	H: 3.96	N: 11.03
Bulunan:	C: 66.10	H: 3.95	N: 11.06

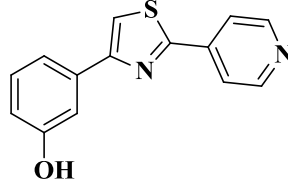
IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3173.3-2976 (Aromatik C-H gerilmeleri), 1616.24-1455.22 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri), 1274.60 (C-O gerilmesi)

¹H NMR (500MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 6.81 (1H, dd, *j*: 2.24 Hz, *J*: 7.96 Hz, Ar C₄-H), 7.29 (1H, t, *J*: 7.80 Hz, *j*: 7.80 Hz, Ar C₅-H), 7.48 (1H, s, Ar C₂-H), 7.50 (1H, d, *J*: 8.6 Ar C₆-H), 7.59 (1H, dd, *j*:4.77 Hz, *J*: 7.93 Hz, piridin 5-H) 8.19 (1H, s, tiyazol 5-H), 8.38 (1H, dt, *j*: 1.88 Hz, *j*: 1.88 Hz, *J*: 7.97 Hz, piridin 4-H), 8.71 (1H, dd, *j*: 1.39 Hz, *J*: 4.77 Hz, piridin 6-H), 9.21 (1H, d, *J*: 2.20 Hz, piridin 2-H), 9.56 (1H, s, O-H)

¹³C-NMR:113.60 (tiyazol C₅), 115.91 (Ar C₆), 117.50 (Ar C_{2,4}), 124.76 (Ar C₅), 129.51 (Ar C₁), 130.34 (piridin C₅), 134.11 (piridin C₄), 135.47 (piridin C₃), 147.41 (piridin C₆), 151.45 (piridin C₂), 156.11 (tiyazol C₄), 158.25 (tiyazol C₂), 164.20 (Ar C₃)

Mass (ESI) m/z : 255 (M+1)

2-(4-Piridil)-4-(3-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 6)



3.6 mmol (0.77g) 3-hidroksi asetofenonbromür ile 3.6 mmol (0.5g) tiyoizonikotinamit kullanılarak Yöntem C'ye göre elde edildi.

Verim: % 80

E.n.: 234 °C

Elementel analiz: (C₁₄H₁₀N₂OS)

Hesaplanan:	C: 66.12	H: 3.96	N: 11.03
Bulunan:	C: 66.08	H: 3.97	N: 11.03

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3556.37-2986.72 (Aromatik C-H gerilmeleri), 1613.52-1455.59 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri), 1262.25 (C-O gerilmesi)

¹H NMR (500MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 6.84 (1H, dd, *j*: 2.24 Hz, *J*: 8.11 Hz, Ar C₄-H), 7.31 (1H, t, *j*: 8.08 Hz, *J*: 8.08 Hz, Ar C₅-H), 7.50-7.52 (2H, m, Ar C_{2,6}-H), 8.26 (2H, d, piridin 3,5-H), 8.42 (1H, s, tiyazol 5-H) 8.90 (2H, d, *J*: 4.42 Hz, piridin 2,6-H), 9.62 (1H, s, O-H)

¹³C-NMR: 113.67 (tiyazol C₅), 116.25 (Ar C₂), 117, 59 (Ar C₄), 119.01 (Ar C₆), 121.88 (piridin C_{3,5}), 130.44 (Ar C₅), 135.07 (Ar C₁), 143.39 (piridin C₄), 147.82 (piridin C_{2,6}), 157.04 (tiyazol C₄), 158.33 (tiyazol C₂), 163.13 (Ar C₃)

Mass (ESI) *m/z* : 255 (M+1)

2- (2-Piridil)-4- (4-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol (Bileşik 7)



3.6 mmol (0.77g) 4-hidroksi asetofenonbromür ile 3.6mmol (0.5g) tiyopikolinamid kullanılarak Yöntem C'ye göre elde edildi.

Verim: % 70

E.n.: 148.2 °C

Elementel analiz: (C₁₄H₁₀N₂OS)

Hesaplanan:	C: 66.12	H: 3.96	N: 11.02
Bulunan:	C: 66.10	H: 3.95	N: 11.06

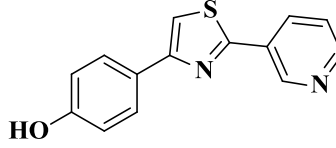
IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3109.26 (Aromatik C-H gerilmeleri), 1612.86-1435.81 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri), 1247.79 (C-O gerilmesi)

¹H NMR (500MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 6.88 (2H, d, *J*: 8.57 Hz, Ar C_{3,5}-H), 7.52 (1H, dd, *j*: 4.93 Hz, *J*: 6.86 Hz, piridin 4-H), 7.89 (2H, d, *J*: 8.56 Hz, Ar C_{2,6}-H), 7.99-8.02 (2H, m, piridin 5-H, tiyazol 5-H), 8.24 (1H, d, *J*: 7.87 Hz, piridin 3-H) 8.66 (1H, d, *J*: 4.73 Hz, piridin 6-H), 9.66 (1H, s, O-H)

¹³C-NMR:114.58 (tiyazol C₅), 116.02 (Ar C_{3,5}), 119.68 (Ar C₁), 125.57 (piridin C₄), 125.79 (piridin C₅), 127.99 (Ar C_{2,6}), 138.22 (piridin C₃), 150.18 (piridin C₆), 151.01 (piridin C₂), 156.48 (tiyazol C₄), 158.14 (tiyazol C₂), 168.33 (Ar C₄)

Mass (ESI) m/z : 255 (M+1)

2- (3-Piridil)-4- (4-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol (Bileşik 8)



3.6 mmol (0.77g) 4-hidroksi asetofenonbromür ile 3.6 mmol (0.5g) tiyonikotinamid kullanılarak Yöntem C'ye göre elde edildi.

Verim: % 65

E.n.: 252.8 °C

Elementel analiz: (C₁₄H₁₀N₂OS)

Hesaplanan:	C: 66.12	H: 3.96	N: 11.02
Bulunan:	C: 66.15	H: 3.97	N: 11.03

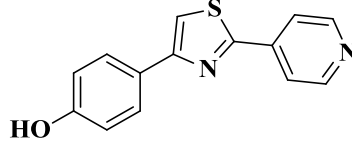
IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3093.77-2805.3 (Aromatik C-H gerilmeleri), 1611.20-1444.70 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri), 1257.70-1241.32 (C-O gerilmesi)

¹H NMR (500MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 6.87 (2H, d, *J*: 8.68 Hz, Ar C_{3,5}-H), 7.59 (1H, dd, *j*: 4.69 Hz, *J*: 7.80 Hz, piridin 5-H), 7.90 (2H, d, *J*: 8.65 Hz, Ar C_{2,6}-H), 8.02 (1H, s, tiyazol 5-H), 8.39 (1H, d, *J*: 7.99 Hz, piridin 4-H) 8.72 (1H, s, piridin 6-H), 9.23 (1H, s, piridin 2-H), 9.68 (1H, s, O-H)

¹³C-NMR: 113.13 (tiyazol C₅), 116.03 (Ar C_{3,5}), 124.83 (Ar C₁), 125.56 (piridin C₅), 128.14 (Ar C_{2,6}), 134.11 (piridin C_{2,4}), 147.30 (piridin C₆), 151.25 (piridin C₂), 156.38 (tiyazol C₄), 158.24 (tiyazol C₂), 163.95 (Ar C₄)

Mass (ESI) m/z: 255 (M+1)

2-(4-Piridil)-4-(4-hidroksifenil)-1, 3-tiyazol (Bileşik 9)



3.6 mmol (0.77g) 4-hidroksi asetofenonbromür ile 3.6mmol (0.5g) tiyoizonikotinamit kullanılarak Yöntem C'ye göre elde edildi.

Verim: % 73

E.n.: 270.5 °C

Elementel analiz: (C₁₄H₁₀N₂OS)

Hesaplanan:	C: 66.12	H: 3.96	N: 11.01
Bulunan:	C: 66.09	H: 3.98	N: 11.04

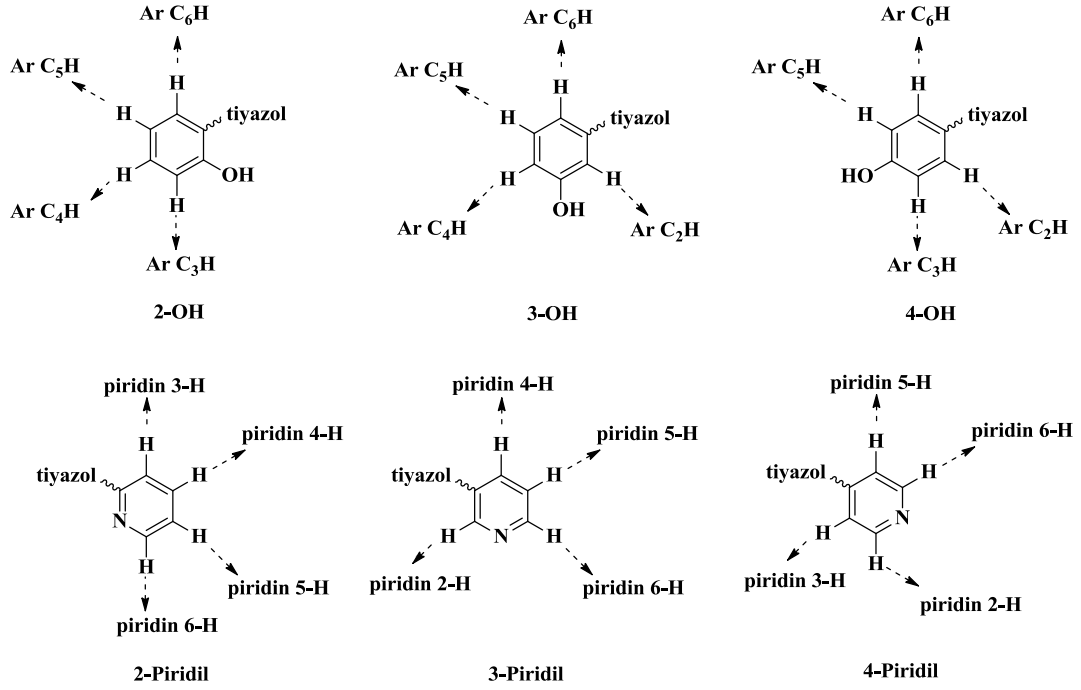
IR ν_{\max} (cm⁻¹): 3118-3006.76 (Aromatik C-H gerilmeleri), 1602.14-1437.12 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri), 1260.03-1241.86 (C-O gerilmesi)

¹H NMR (500MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 6.88 (2H, d, *J*: 8.57 Hz, Ar C_{3,5}-H), 7.90 (2H, d, *J*: 8.56 Hz, C_{2,6}-H), 7.97 (2H, d, *J*: 4.70 Hz, piridin 3,5-H), 8.11 (1H, s, tiyazol 5-H), 8.39 (1H, d, *J*: 7.99 Hz, piridin 4-H) 8.78 (2H, d, piridin 2,6-H), 9.70 (1H, s, O-H)

¹³C-NMR:114.40 (tiyazol C₅), 116.07 (Ar C_{3,5}), 120.60 (Ar C₁), 125.42 (piridin C_{3,5}), 128.18 (Ar C_{2,6}), 140.13 (piridin C₄), 151.18 (piridin C_{2,6}), 156.77 (tiyazol C₄), 158.35 (tiyazol C₂), 164.39 (Ar C₄)

Mass (ESI) m/z: 255 (M+1)

Spektral Verilerin Değerlendirilmesi



Şekil 35. ¹H-NMR için Hidrojen Konumlarının Tanımlanması

IR spektral verilerinin değerlendirilmesi

Tüm bileşikler için 3200-2900 cm⁻¹ civarında aromatik yapıya ait C-H, 1650-1450 cm⁻¹ civarında C=C ve C=N ikili bağ, 1200 cm⁻¹ civarında C-O bağlarına ait gerilim bantları gözlenmiştir.

¹H-NMR spektral verilerinin değerlendirilmesi

Bileşiklerimizin en karakteristik pikleri O-H ve tiazol C₅-H'tir. 9 bileşiğin tamamı için en yüksek pik değeri, 9.6-11 ppm arasında ve singlet olarak fenil halkasına bağlı olan hidroksil grubuna ait hidrojeni tanımlamaktadır.

Tiyazol halkasının tek hidrojeni olan 5.konumdaki C-H hidrojeni, halkadaki heteroatomların elektron çekici etkisiyle kimyasal kaymaya uğramış ve yine 9 bileşiğin tümü için 8.00-8.42 ppm civarında komşu atomlarda H bulunmadığından singlet olarak gözlenmiştir. (1 bileşikte multiplet tanımlandı) .

Fenil halkasında karbon atomları üzerinde yer alan toplam 4 hidrojene ait pikler, hidroksil grubunun bağlı olduğu C'ye uzaklıklarına göre 6.80-8.20 aralığında gözlenmiştir. Buna göre hidroksilin bağlı olduğu karbonun *orto* ve *para* konumunda yer alan C-H hidrojenlerinin üzerindeki elektron yoğunluğu, hidroksilin halkaya rezonans olarak elektron vermesi ve o- p- yönlendirici olmasından dolayı artmış, bu da m- konumundaki hidrojenlere göre daha düşük ppm'de gözlemlenmelerine neden olmuştur.

2-OH yapısındaki ilk 3 bileşik için 2 farklı meta konumu bulunduğundan bu hidrojenler de farklı davranır. Bu bileşiklerde tiyazol halkası ile süstitüe olan karbona komşu konumdaki C-H'a ait pik, tiyazolün elektron çekiciliğinden dolayı meta konumundaki diğer Ar C₄-H'a göre daha yüksek ppm değerinde gözlenmiştir.

3-OH yapısındaki 3 bileşikte; Ar C₂-H hidrojenleri, orto konumunda bulunmasına karşın tiyazol'un elektron çekiciliğinden dolayı 7.4-7.5 ppm arasında gözlenmiştir. Komşuluğunda hidrojen bulunmadığından singlet olarak gözlenmiş ancak ppm değerleri çok yakın olduğundan 5 ve 6 bileşiklerinde integrasyonu ArC₆-H ile bir arada gözlemlenmiştir. Orto konumundaki diğer hidrojen (Ar C₄-H), elektron yoğunluğu arttığından en düşük ppm'de (6.8 civarı) gözlenmiştir. Para konumundaki ArC₆-H, tiyazol halkasından etkilendiğinden, 7.3 civarında görülen Ar C₄-H pikinden biraz daha yüksek ppm'de, 7.5 civarında gözlenmiştir.

4-OH yapısındaki 3 molekül için 2,6 ve 3,5. konumlar kendi içlerinde simetrik olduğundan üstüste 2H şeklinde ve dublet olarak (her birinin komşuluğunda toplam 1 hidrojen vardır) görülmüştür.

Piridin halkası üzerinde yer alan 4 hidrojen, halka azotuna ve sübstitüsyon karbonuna uzaklıklarına göre 7.52 ile 9.2 ppm arasında pik vermiştir. Piridin halkasında, azot atomunun eşleşmemiş elektronları halka delokalizasyonuna katılmadığından indüktif etkisini korumaktadır. Bu ve tiyazolün elektron çekici etkisi göz önüne alınarak pikler yorumlanabilir.

2-piridil yapısındaki 3 bileşikte azot atomuna doğrudan komşu olan C-H (piridin 6-H) indüktif olarak kuvvetle çekildiğinden dublet olarak 8.5-9 ppm'e kadar kaymış ve piridin hidrojenleri arasında en yüksek ppm'de gözlenmiştir. Azota ve tiyazol sübstitüsyonuna en uzak konumda bulunan piridin 4-H, piridin üzerindeki 4 hidrojen arasında en düşük ppm'de görülür. 2-piridil yapılarında piridin 3-H ve piridin 6-H pikleri komşuluğunda bir hidrojen bulunduğundan dublet olarak gözlenir.

3-piridil yapısındaki 3 bileşikte piridin 2-H, hem azot, hem halkanın etkisinde kalarak singlet şeklinde ve 9.21-9.23 ppm aralığında piridin hidrojenleri içinde en yüksek değerli pik olarak görülür. 3-piridil yapılarında piridine ait 4 hidrojenden en düşük ppm'de gelen ise, azota ve sübstitüsyona uzaklığından dolayı piridin 5-H pikleridir. Azotun indüktif etkisi tiyazol halkasının elektron çekiciliğinden fazla olduğundan, piridin 6-H, piridin 4-H'tan biraz daha yüksek ppm'de görülür.

4-piridil yapısındaki 3 bileşikte piridin 2, 6-H ve piridin 3, 5-H pikleri simetrik olarak üst üste ve 2H olarak görülür. Yine indüktif etkiden dolayı bu pikler 7.8-8.7 civarında görülür. Azota komşu olan piridin 2-H ve piridin 6-H pikleri piridin 3 ve 5-H piklerinden daha yüksek ppm'de gözlenmiştir.

¹³C-NMR spektral verilerinin değerlendirilmesi

9 bileşiğin tümünde tüm bileşikler için en yüksek değerli pik, 160-170 arasında hidroksilin bağlı olduğu karbon atomunun piki olarak görülmüştür. Bu pikler dışındaki pikler, ¹H NMR'da olduğu gibi indüktif ve rezonans etkiler ile açıklanabilir. Örneğin tiyazol üzerinde sırasıyla ikinci ve dördüncü konuma ait karbon pikleri, -OH bağlı C'dan sonra en yüksek değerli pikleri oluşturur. Daha sonra sırasıyla, piridin üzerinde azota komşu karbonlar, piridin üzerindeki tiyazol sübstitüsyonuna komşu karbon, piridin diğer iki karbonu ve fenil halkasına ait karbonlar görülmüştür. Son olarak tüm bileşiklerde tiyazol halkasının 5. konumundaki C atomu 113-117 arasında ve tüm karbon piklerinden daha düşük değerde görülmüştür.

Mass spektral verilerinin değerlendirilmesi

Bileşiklerin kütle spektrumları alınırken elektron sprey (ESI) yöntemi kullanıldığından parçalanma vermemiştir. Bileşikler için M+1 pikleri görülmüştür.

Antikanser Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Çizelge 2: Bileşiklerin MCF7 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkileri (µg/ml, µM)

Bileşik	IC ₅₀ (µg/ml)	IC ₅₀ (µM)
1	251.4	988.7
2	331.2	1302.2
3	254.9	1002.2
4	423.6	1665.6
5	2863.1	11258.5
6	689.1	2709.9
7	40.4	159.1
8	367.9	1446.7
9	550.3	2164.0
Letrazol	3369.3	11809.5
Ekzemestan	181.1	610.8
Anastrazol	8685.0	29604.7
Formestan	1377.0	4553.5

Çizelge 3: Bileşiklerin NIH 3T3 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkileri (µg/ml, µM)

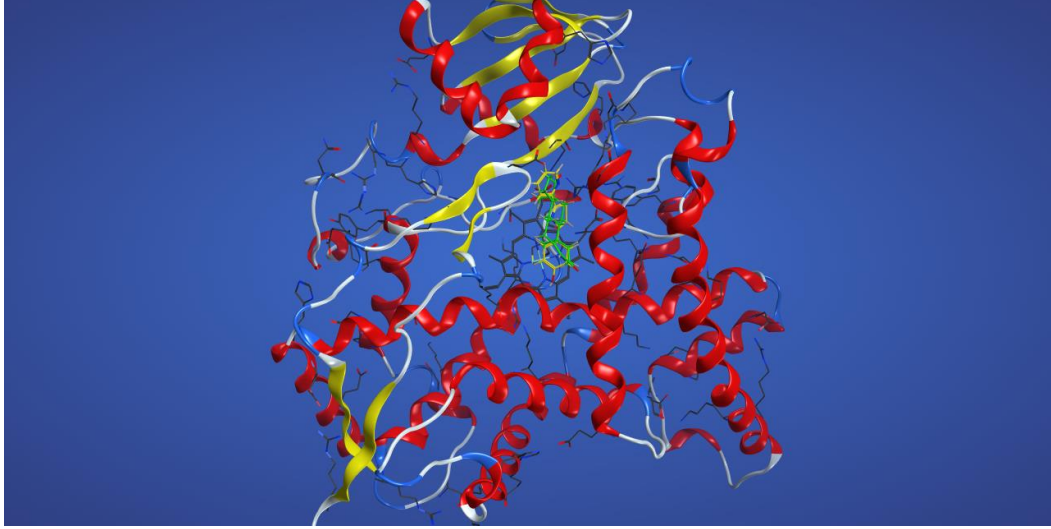
Bileşik	IC ₅₀ (µg/ml)	IC ₅₀ (µM)
1	1.0	3.8
2	1187.9	4671.2
3	102403.8	402673.3
4	197.5	776.5
5	91.4	359.4
6	1645.6	6470.9
7	762.3	2997.5
8	520.3	2045.8
9	721.9	2838.7
Letrazol	158.9	557.1
Ekzemestan	291.7	984.2
Anastrazol	130.1	443.3
Formestan	2.9	9.7

Sonuçlara göre bütün bileşikler MCF7 hücreleri üzerinde antiproliferatif etki göstermiştir. Bileşik 7, MCF7 hücreleri üzerinde en yüksek sitotoksik aktiviteyi göstermiştir. Bileşiklerin IC₅₀ değerleri **Çizelge 2'** de verilmiştir. Bileşiklerin NIH 3T3 hücrelerine göre IC₅₀ değerleri **Çizelge 3'**te verilmiştir.

Ayrıca Bileşik 3'ün sitotoksik aktivite sonuçları NIH3T3 ve MCF7 hücreleri karşılaştırıldığında en yüksek seçiciliği gösterdiği görülmüştür.

Moleküler modelleme çalışmalarının değerlendirilmesi

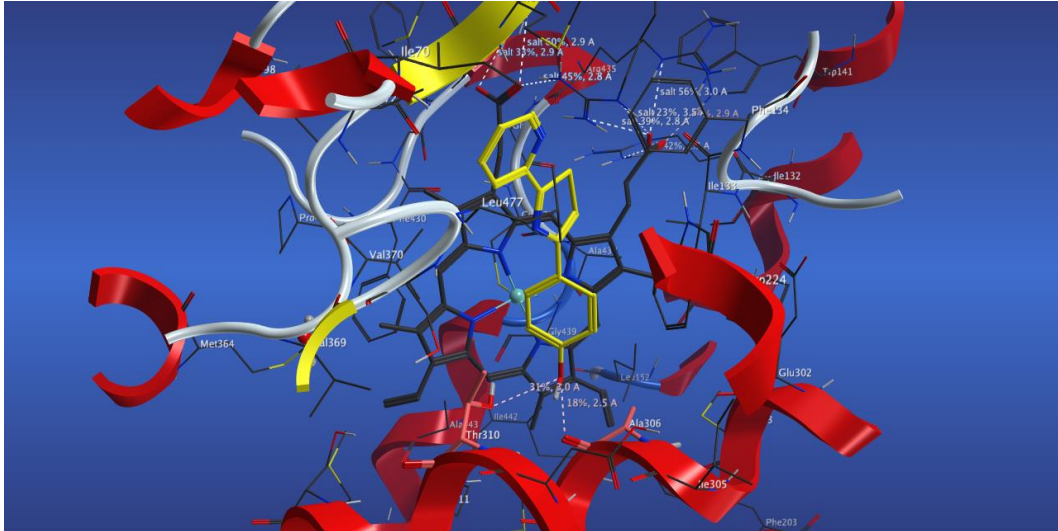
Tüm bileşiklerin docking sonuçları ve e-model skorları ölçümlenen biyolojik aktiviteler ile paralellik göstermektedir. X-ray kristal yapısı içerisinde bulunan orjinal ligand 4-androsten-3,17-dion yapısı ve en yüksek biyolojik aktiviteye sahip olan bileşik 7'nin docking sonucu elde edilen pozunun aktif yöre içerisine yerleşimleri karşılaştırmalı olarak aşağıda verilmektedir (**Şekil 36**).



Şekil 36. Bileşik 7'nin Aktif Yöredeki Pozu (C: Sarı, O: kırmızı, N: Mavi) ve 4-androsten-3,17-dion (C: Yeşil, O: kırmızı, N: Mavi)

Bileşik 7'ye ait HTVS ve XP protokolleri ile elde edilen e-model skorları sırasıyla -52,801 ve -50,408 dir.

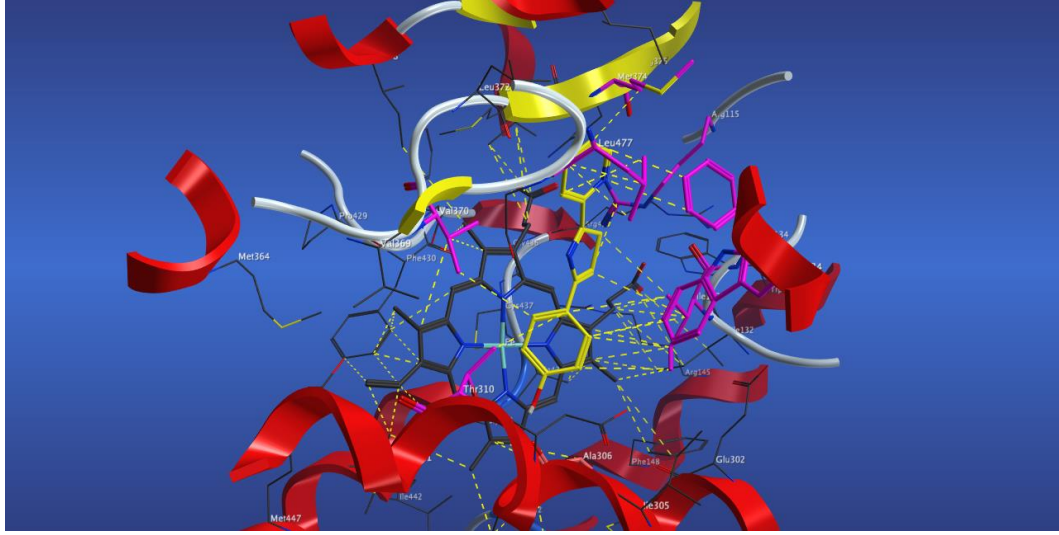
“Ligand-receptor contacts (visualization+scoring) SVL” yardımıyla bileşik-aktif yöre arası etkileşim olasılıkları ve mesafe hesapları aşağıda verilmektedir. (**Şekil 37 ve 38**).



Şekil 37. 4-(2-(Piridin-2-il)tiyazol-4-il)fenol (Bileşik 7) Yapısına Ait Hidroksil Grubu ile 3EQM Yapısına Ait Ala 306 ve Thr 310 Aminoasitleri Arasında H Bağ Olasılıkları ve Mesafeleri (C (ligand): sarı, C (Ala 306 ve Thr 310): pembe, N: Mavi)

Yapının fenol artığına ait hidroksil grubu, 3,0 Å uzaklıktaki Ala 306'a ait hidroksil grubu ile %31 olasılıkla, 2,5 Å uzaklıktaki Thr 310 amino asidinin karbonil grubu ile % 18 olasılıkla hidrojen bağı yapma potansiyeline sahiptir (**Şekil 37**).

Bileşik 7 yapısında bulunan piridinil grubu Phe 134, Met 374 ve Leu 477 amino asitleri ile sınırlandırılan hidrofobik cep arasına yerleşmiştir. Yanısıra yapı içeriğinde bulunan santral tiyazol grubu Arg 115 ve İle133 amino asitleri ile benzer etkileşim içerisindedir. Yapının diğer terminal halkası olan fenol ise İle133, Val370, Thr310 ve Trp224 ile hidrofobik etkileşimler içerisindedir (**Şekil 38**).

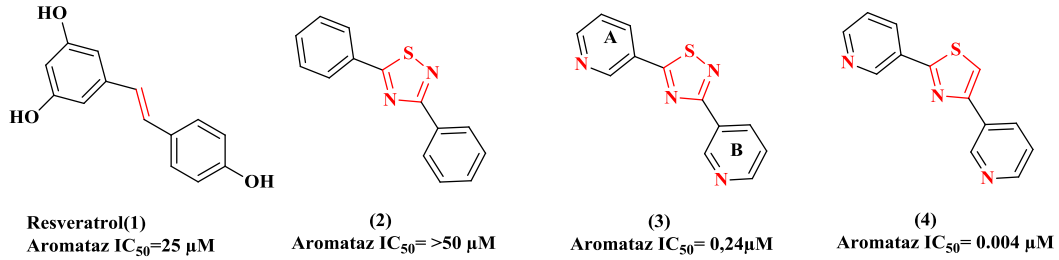


Şekil 38. 4-(2-(Piridin-2-il)tiyazol-4-il)fenol (Bileşik 7) Yapısı ile 3EQM Arasındaki Hidrofobik Etkileşimler (C (ligand): sarı, C (Ala 306): pembe, C (aktif hidrofobik amino asitler); eflatun, N: mavi)

SONUÇ ve ÖNERİLER

Resveratrol (1) yapısı karsinogenezde birçok basamağı module edebilmekle beraber etkinliği ve kullanım dezavantajları yüksek bir yapıdır. Resveratrol yapısının merkezi etilenik yapısı 1,3,5-tiyadiazol halka sistemi ile değiştirildiğinde ve aromataz inhibitör aktivitesi orjinal yapıdan fazladır (Ogas ve ark., 2013). Literatürler incelendiğinde Mayhaub ve arkadaşlarının iki çalışması elde ettiğimiz sonuçları destekleyici karakterdedir (Mayhoub ve ark., 2012^a, Mayhoub ve ark., 2012^b).

Bu çalışmaların ilkinde araştırmacılar, merkez halka sistemi olarak simetrik 2,4-arildisüstitüetiadiazol bileşiklerini (2,3) geliştirmişlerdir. Türevlerin aromataz aktivitelerini ölçümlendiğinde, ana yapının 3 ve 4 üncü pozisyonlarına piridin yapılarının getirilmesi ile, 0,2-0,8 µM konsantrasyonlarda inhibitör aktivite saptanmıştır (Mayhoub ve ark., 2012^a).



Şekil 39. Resveratrol, Türetilen Yapılar ve Aromataz İnhibisyonları

Aynı grubun takip eden çalışmalarında 2,4-di(piridin-3-il)tiyazol bileşiğinde (4) inhibitör aktivitenin nanomolar düzeye indiği belirlenmiştir. A fenil halkası yerine pirimidin halka yapısının getirilmesinin, aktif yörede bulunan Met374 ile etkileşmeyi sağladığı, B halkasına Thr310'nun hidroksil grubu ile etkileşebilecek hidrojen akseptör grupların konulmasının ise aktiviteyi arttırmadığı öne sürülmüştür (Mayhoub ve ark., 2012^b).

Çalışmamızda elde ettiğimiz bileşiklerin antikanser etkileri, MCF7 hücrelerinde, letrazol, anastrazol, ekzemestan ve formestan standartlarına karşı test edilmiştir. En etkili bileşiğin, 40.4 µg/ml konsantrasyon ile 2-(2-piridil)-4-(4-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 7) yapısı olduğu saptanmıştır. Bu değer standart aromataz inhibitörü bileşiklerin tümünden, yapının daha etkin olduğunu göstermektedir. Yanısıra, 2-(2-piridil)-4-(2-hidroksifenil)-1,3-tiyazol (Bileşik 1), 251.4 µg/ml konsantrasyonda, ekzemestan hariç diğer tüm standartlardan daha etkindir.

Çalışmamızda, piridil kalıntısı taşıyan bileşiklerde, azotunun 2 numarada olmasının ve hidroksil grubunun fenil halkasının 4 ve 2 numaralı pozisyonlarına süstitüe olmasının aktiviteyi arttırdığı gözlemlenmiştir.

Docking çalışmalarımız göstermiştir ki, 4-(2-(piridin-2-il)tiyazol-4-il)fenol (Bileşik 7) yapısının bir parçası olan piridin halka sistemi Mayhaub ve arkadaşlarının önerdiği Met374 ile hidrofobik etkileşme içerisindedir. Yanısıra yapıdaki fenol grubunun 4 numaralı konumdaki hidroksili hem Ala 306 hem de Thr 310 aminoasitleri ile H-bağı dönör etkileşimi içerisindedir. Bu hidrojen bağı olasılığının Mayhaub ve arkadaşlarının belirttiğinin tersine aminoasitler ile olan ilişkisi aktive üstünde diğer bileşiklerden daha yüksek skor almasına sebep olduğu

gözlemlenmektedir. Yapılara ait elde edilen pozlar, skorlar ve biyolojik aktivite sonuçları bu veriyi desteklemektedir.

İlerki çalışmalarımızda, 2-pirimidinil yapısı ve farklı pozisyonlarda iki hidroksil grubu taşıyan fenolik yapıların, 1,3-tiyazol merkezi halka sistemine eklenmesi ile türev bileşikler elde edilmesi, bu çalışma kapsamında sentezlenmiş ve yukarıda bahsi geçen yapıların, hücresel boyutta XTT yönteminin alternatif MTT ile karşılaştırılması ve enzimatik boyutta aktivite ölçümlerinin gerçekleştirilmesi planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

Aguilar, E., Meyers, A.I., Reinvestigation of a modified Hantzsch thiazole synthesis, *Tetrahedron Lett.*, 35 (16), 2473-76 (1994).

Akbarzadeh, A., Soleymani, R., Miladtaheri Synthesis New and Novel Aryl Thiazole Derivatives Compounds, *Orient. J. Chem.*, 28 (1), 153-64 (2012).

Aridoss, G., Amirthaganesan, S., Kim, M.S., Kim, J.T., Jeong, Y.T., Synthesis, spectral and biological evaluation of some new thiazolidinones and thiazoles based on t-3-alkyl-r-2, c-6-diarylpiperidin-4-ones, *Eur. J. Med. Chem.*, 44 (10), 4199-210 (2009).

Awasthi, M., Singh, S., Pandey, V.P., Dwivedi, U.N., Molecular docking and 3D-QSAR-based virtual screening of flavonoids as potential aromatase inhibitors against estrogen-dependent breast cancer, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 33 (4), 804-19 (2015).

Barone, R.M., Shamonki, I.M., Siiteri, P.K., Judd, H.L., Inhibition of peripheral aromatization of androstenedione to estrone in postmenopausal women with breast cancer using delta 1-testololactone, *J. Clin. Endocr. Metab.*, 49 (5), 672-6 (1979).

Bell, F.W., Cantrell, A.S., Hogberg, M., Jaskunas, S.R., Johansson, N.G., Jordan, C.L., Phenethylthiazolethiourea (PETT) compounds, a new class of HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. 1. Synthesis and basic structure-activity relationship studies of PETT analogs, *J. Med. Chem.*, 38 (25), 4929-36 (1995).

Berman, H.M., Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.*, 28 (1), 235-42 (2000).

Bhatnagar, A.H., Fortschritte in der Entwicklung neuer wirksamer und selektiver aromatasehemmer., *Aktuelle Onkologie*, 38, 23-8 (1987).

Brodie, A.M., Garrett, W.M., Hendrickson, J.R., Tsai-Morris, C.H., Marcotte, P.A., Robinson, C.H., Inactivation of aromatase in vitro by 4-hydroxy-4-androstene-3, 17-dione and 4-acetoxy-4-androstene-3, 17-dione and sustained effects in vivo, *Steroids*, 38 (6), 693-702 (1981).

Brodie, A.M., Schwarzel, W.C., Shaikh, A.A., Brodie, H.J., The effect of an aromatase inhibitor, 4-hydroxy-4-androstene-3, 17-dione, on estrogen-dependent processes in reproduction and breast cancer, *Endocrinology*, 100 (6), 1684-95 (1977).

Bulun, S.E., Simpson, E.R., Regulation of aromatase expression in human tissues, *Breast Cancer Res. Tr.*, 30 (1), 19-29 (1994).

Caporuscio, F., Rastelli, G., Imbriano, C., Del Rio, A., Structure-based design of potent aromatase inhibitors by high-throughput docking, *J. Med. Chem.*, 54 (12), 4006-17 (2011).

Cook, A. H., Heilbron, I., MacDonald, S.F., Mahadevan, A.P., *J. Chem. Soc.*, 1064 (1949).

Coombes, R.C., Goss, P., Dowsett, M., Gazet, J.C., Brodie, A., 4-Hydroxyandrostenedione in treatment of postmenopausal patients with advanced breast cancer, *Lancet*, 2 (8414), 1237-9 (1984).

Cunningham, D., Powles, T.J., Dowsett, M., Hutchison, G., Brodie, A.M., Ford, H.T., Oral 4-hydroxyandrostenedione, a new endocrine treatment for disseminated breast cancer, *Cancer Chemoth. Pharm.*, 20 (3), 253-5 (1987).

Dai, Y., Wang, Q., Zhang, X., Jia, S., Zheng, H., Feng, D., Molecular docking and QSAR study on steroidal compounds as aromatase inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.*, 45 (12), 5612-20 (2010).

De Logu, A., Saddi, M., Cardia, M.C., Borgna, R., Sanna, C., Saddi, B., In vitro activity of 2-cyclohexylidenehydrazo-4-phenyl-thiazole compared with those of amphotericin B and fluconazole against clinical isolates of *Candida* spp. and fluconazole-resistant *Candida albicans*, *J. Antimicrob. Chemoth.*, 55 (5), 692-8 (2005).

De, S., Adhikari, S., Tilak-Jain, J., Menon, V.P., Devasagayam, T.P., Antioxidant activity of an aminothiazole compound: possible mechanisms, *Chem-Biol. Interact.*, 173 (3), 215-23 (2008).

Demers, L.M., Lipton, A., Harvey, H.A., Kambic, K.B., Grossberg, H., Brady, C., The efficacy of CGS 20267 in suppressing estrogen biosynthesis in patients with advanced stage breast cancer, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 44 (4-6), 687-91 (1993).

Demers, L.M., Melby, J.C., Wilson, T.E., Lipton, A., Harvey, H.A., Santen, R.J., The effects of CGS 16949A, an aromatase inhibitor on adrenal mineralocorticoid biosynthesis, *J. Clin. Endocr. Metab.*, 70 (4), 1162-6 (1990).

Demers, L.M., Effects of Fadrozole (CGS 16949A) and Letrozole (CGS 20267) on the inhibition of aromatase activity in breast cancer patients, *Breast Cancer Res. Treat.*, 30 (1), 95-102 (1994).

Dowsett, M., Cunningham, D.C., Stein, R.C., Evans, S., Dehennin, L., Hedley, A., Dose-related endocrine effects and pharmacokinetics of oral and intramuscular 4-hydroxyandrostenedione in postmenopausal breast cancer patients, *Cancer Res.*, 49 (5), 1306-12 (1989).

Dowsett, M., Smithers, D., Moore, J., Trunet, P.F., Coombes, R.C., Powles, T.J., Endocrine changes with the aromatase inhibitor fadrozole hydrochloride in breast cancer, *Eur. J. Cancer*, 30A (10), 1453-8 (1994).

Dowsett, M., Biological background to aromatase inhibition, *The Breast*, 5, 196-201 (1996).

Egan, R.S., Garmaise, D.L., Gaunce, A.P., Intermediates in the Hantzsch thiazole synthesis. *J. Org. Chem.*, 33 (12), 4422-26 (1968).

Favia, A.D., Nicolotti, O., Stefanachi, A., Leonetti, F., Carotti, A., Computational methods for the design of potent aromatase inhibitors, *Expert Opin. Drug Dis.*, 8 (4), 395-409 (2013).

Ferlin, M.G., Carta, D., Bortolozzi, R., Ghodsi, R., Chimento, A., Pezzi, V., Design, synthesis, and structure-activity relationships of azolymethylpyrroloquinolines as nonsteroidal aromatase inhibitors, *J. Med. Chem.*, 56 (19), 7536-51 (2013).

Fishman, J., Goto, J., Mechanism of estrogen biosynthesis. Participation of multiple enzyme sites in placental aromatase hydroxylations, *J. Biol. Chem.*, 256 (9), 4466-71 (1981).

Gabriel, S., Eine Synthese von Oxazolen und Thiazolen. I. Ber. Dtsch. Chem., 43, 134 (1910).

Gabriel, S., Synthese von Oxazolen und Thiazolen II. Ber. Dtsch. Chem., 43 (2), 1283 (1910).

Ganapathi, K., Chemistry of the thiazoles. Part V. Fine structure and orientation, P. Indian Acad. Sci. A., 38 (1), 45-57 (1952).

Geisler, J., King, N., Dowsett, M., Ottestad, L., Lundgren, S., Walton, P., Influence of anastrozole (Arimidex), a selective, non-steroidal aromatase inhibitor, on in vivo aromatisation and plasma oestrogen levels in postmenopausal women with breast cancer, Br. J. Cancer, 74 (8), 1286-91 (1996).

Gershanovich, M., Chaudri, H.A., Campos, D., Lurie, H., Bonaventura, A., Jeffrey M, et al. Letrozole, a new oral aromatase inhibitor: randomised trial comparing 2.5 mg daily, 0.5 mg daily and aminoglutethimide in postmenopausal women with advanced breast cancer. Letrozole International Trial Group (AR/BC3), Ann. Oncol., 9 (6), 639-45 (1998).

Ghosh, D., Griswold, J., Erman, M., Pangborn, W., Structural basis for androgen specificity and oestrogen synthesis in human aromatase, Nature, 457 (7226), 219-23 (2009).

Goswami, S.M., Das, N.K., Advanced reagent for thionation: Rapid synthesis of primary thioamides from nitriles at room temperature. J. Sulfur Chem., 28 (3), 233-7 (2007).

Griffiths, C.T., Hall, T.C., Saba, Z., Barlow, J.J., Nevinny, H.B., Preliminary trial of aminoglutethimide in breast cancer, Cancer, 32 (1), 31-7 (1973).

Hantzsch, A.R., Weber, J.H., Uerbindungen des Thiazols (Pyridins der Thiophenreihe). Dtsch. Chem. Ges., 20, 3118-32 (1887).

Henderson, I.C., Canellos, G.P., Cancer of the breast: the past decade (second of two parts), New Engl. J. Med., 302 (2), 78-90 (1980^a).

Henderson, I.C., Canellos, G.P., Cancer of the breast: the past decade (first of two parts), New Engl. J. Med., 302 (1), 17-30 (1980^b).

Holla, B.S., Karthikeyan, M.S., Prasad, D.J., Mahalinga, M., Kumari, N.S., Synthesis of some novel 2, 4-disubstituted thiazoles as possible antimicrobial agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 43, 261–67 (2008).

Holla, B.S., Malini, K.V., Rao, B.S., Sarojini, B.K., Kumari, N.S., Synthesis of some new 2, 4-disubstituted thiazoles as possible antibacterial and anti-inflammatory agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 38 (3), 313-8 (2003).

Hughes, S., Aminogluthetimide: a 'side effect' turned to therapeutic advantage, *Postgrad. Med. J.*, 46, 409-16 (1970).

Iveson, T.J., Smith, I.E., Ahern, J., Smithers, D.A., Trunet, P.F., Dowsett, M., Phase I study of the oral nonsteroidal aromatase inhibitor CGS 20267 in postmenopausal patients with advanced breast cancer, *Cancer Res.*, 53 (2), 266-70 (1993).

Johannessen, D.C., Engan, T., Di Salle, E., Zurlo, M.G., Paolini, J., Ornati, G., Endocrine and clinical effects of exemestane (PNU 155971), a novel steroidal aromatase inhibitor, in postmenopausal breast cancer patients: a phase I study, *Clin. Cancer Res.*, 3 (7), 1101-8 (1997).

Johnston, J.O., Metacalf, B.W., Aromatase: a target enzyme in breast cancer, In: *Novel approaches to cancer chemotherapy*, ed. Sunkara, P., Academic Press, New York, 307-28 (1984).

Jung, K.Y., Kim, S.K., Gao, Z.G., Gross, A.S., Melman, N., Jacobson, K.A., Structure-activity relationships of thiazole and thiadiazole derivatives as potent and selective human adenosine A3 receptor antagonists, *Bioorgan. Med. Chem.*, 12 (3), 613-23 (2004).

Kao, Y.C., Cam, L.L., Laughton, C.A., Zhou, D., Chen, S., Binding characteristics of seven inhibitors of human aromatase: a site-directed mutagenesis study, *Cancer Res.*, 56 (15), 3451-60 (1996).

Kashyap, S.J., Sharma, P.K., Kumar, N., Dudhe, R., Gupta, J.K., Thiazoles: having diverse biological activities, *Med. Chem. Res.*, 21, 2123–32 (2012).

King, L.C., Selective Bromination with Copper (II) Bromide. *J. Org. Chem.*, 29, 3459-61 (1964).

Lipton, A., Santen, R.J., Proceedings: Medical adrenalectomy using aminoglutethimide and dexamethasone in advanced breast cancer, *Cancer*, 33 (2), 503-12 (1974).

Lonning, P.E., Jacobs, S., Jones, A., Haynes, B., Powles, T., Dowsett, M., The influence of CGS 16949A on peripheral aromatisation in breast cancer patients. *Brit. J. Cancer*, 63 (5), 789-93 (1991).

Lonning, P.E., Pharmacology of new aromatase inhibitors, *The Breast*, 5, 196-201 (1996).

MacNeill, F.A., Jacobs, S., Dowsett, M., Lonning, P.E., Powles, T.J., The effects of oral 4-hydroxyandrostenedione on peripheral aromatisation in post-menopausal breast cancer patients, *Cancer Chemoth. Pharm.*, 36 (3), 249-54 (1995).

Mayhoub AS, Marler L, Kondratyuk TP, Park E-J, Pezzuto JM, Cushman M. Optimizing thiadiazole analogues of resveratrol versus three chemopreventive targets. *Bioorg. Med. Chem.*, 2012;20(1):510-20.

Mayhoub AS, Marler L, Kondratyuk TP, Park EJ, Pezzuto JM, Cushman M. Optimization of the aromatase inhibitory activities of pyridylthiazole analogues of resveratrol. *Bioorg. Med. Chem.*, 2012;20(7):2427-34.

Means, G.D., Mahendroo, M.S., Corbin, C.J., Mathis, J.M., Powell, F.E., Mendelson, C.R., Structural analysis of the gene encoding human aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis, *J. Biol. Chem.*, 264 (32), 19385-91 (1989).

Miller, W.R., Aromatase inhibitors--where are we now? *Brit. J. Cancer*, 73 (4), 415-7 (1996).

Mishra, C.B., Kumari, S., Tiwari, M., Thiazole: a promising heterocycle for the development of potent CNS active agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 92, 1-34 (2015).

Miwatashi, S., Arikawa, Y., Matsumoto, T., Uga, K., Kanzaki, N., Imai, Y.N., Synthesis and biological activities of 4-phenyl-5-pyridyl-1, 3-thiazole derivatives as selective adenosine A3 antagonists, *Chem. Pharm. Bull.*, 56 (8), 1126-37 (2008).

Narayana, B., Vijaya, K.K., Ashalatha, B.V., Kumari, N.S., Sarojini, B.K., Synthesis of some new 5- (2-substituted-1, 3-thiazol-5-yl)-2-hydroxy benzamides and their 2-alkoxy derivatives as possible antifungal agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 39 (10), 867-72 (2004).

Narayana, B.L., Kishore D.P., Balakumar, C., Rao, K.V., Kaur, R., Rao, A.R., Molecular modeling evaluation of non-steroidal aromatase inhibitors, *Chem. Biol. Drug Des.*, 79 (5), 674-82 (2012).

Ogas T, Kondratyuk TP, Pezzuto JM. Resveratrol analogs: promising chemopreventive agents. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2013;1290:21-9.

Patterson, A.M., Capell, L.T., ve Walker, D.F. *The Ring Index*, ACS, 2nd:1 (1960)

Plourde, P.V., Dyroff, M., Dukes, M., Arimidex: A potent and selective fourth-generation aromatase inhibitor, *Breast Cancer Res. Tr.*, 30 (1), 103-11 (1994).

Polshettiwar, V., Kaushik, M.P., Alumina encapsulated phosphorus pentasulfide mediated thionation of long chain amides, *Tetrahedron Lett.*, 47, 2315-17 (2006).

Popsavin, M., Spaic, S., Svircev, M., Kojic, V., Bogdanovic, G., Popsavin, V., Synthesis and antitumor activity of new tiazofurin analogues bearing a 2, 3-anhydro functionality in the furanose ring, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 17 (15), 4123-7 (2007).

Ramla, M.M., Omar, M.A., El-Khamry, A.M., El-Diwani, H.I., Synthesis and antitumor activity of 1-substituted-2-methyl-5-nitrobenzimidazoles, *Bioorgan. Med. Chem.*, 14 (21), 7324-32 (2006).

Rosen, T., Nagel, A.A., Rizzi, J.P., Ives, J.L., Daffeh, J.B., Ganong, A.H., Thiazole as a carbonyl bioisostere. A novel class of highly potent and selective 5-HT₃ receptor antagonists, *J. Med. Chem.*, 33 (10), 2715-20 (1990).

Roy, P.P., Roy, K., Docking and 3D-QSAR studies of diverse classes of human aromatase (CYP19) inhibitors, *J. Mol. Model.*, 16 (10), 1597-616 (2010).

Belaidi, S.R.M., Belaidi, H., Lanez, T., Bouzidi, D., Electronic structure and physico-chemical property relationship for thiazole derivatives, *Asian J. Chem.*, 25 (16), 9241-5 (2013).

Santen, R.J., Misbin, R.I., Aminoglutethimide: review of pharmacology and clinical use, *Pharmacotherapy*, 1 (2), 95-120 (1981).

Sarojini, B.K., Darshanraj, C.G., Bharath, B.R., Manjunatha, H., Synthesis, characterization, in vitro and molecular docking studies of new 2, 5-dichloro thienyl substituted thiazole derivatives for antimicrobial properties, *Eur. J. Med. Chem.*, 45 (8), 3490–96 (2010).

Schieweck, K., Bhatnagar, A.S., Matter, A., CGS 16949A, a new nonsteroidal aromatase inhibitor: effects on hormone-dependent and -independent tumors in vivo, *Cancer Res.*, 48 (4), 834-8 (1988).

Schwarzel, W.C., Kruggel, W.G., Brodie, H.J., Studies on the mechanism of estrogen biosynthesis. The development of inhibitors of the enzyme system in human placenta, *Endocrinology*, 92 (3), 866-80 (1973).

Segaloff, A., Delta 1-testololactone: Clinical Trials, *Cancer Res.*, 42 (8 Suppl), 3387-8 (1982).

Shiradkar, M.R., Murahari, K.K., Gangadasu, H.R., Suresh, T., Kalyan, C.A., Panchal, D., Synthesis of new s-derivatives of clubbed triazolyl thiazole as anti-mycobacterium tuberculosis agents, *Bioorg. Med. Chem.*, 15 (12), 3997-4008 (2007).

Stein, R.C., Dowsett, M., Davenport, J., Hedley, A., Ford, H.T., Gazet, J.C., Preliminary study of the treatment of advanced breast cancer in postmenopausal women with the aromatase inhibitor, CGS 16949A. *Cancer Res.*, 50 (5), 1381-4 (1990).

Thompson, E.A., Siiteri, P.K., Utilization of oxygen and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate by human placental microsomes during aromatization of androstenedione, *J. Biol. Chem.*, 249 (17), 5364-72 (1974).

Turan-Zitouni, G., Chevallet, P., Kilic, F.S., Erol, K., Synthesis of some thiazolyl-pyrazoline derivatives and preliminary investigation of their hypotensive activity, *Eur. J. Med. Chem.*, 2000;35 (6):635-41.

Van der Wall, E., Donker, T.H., De Frankrijker, E., Nortier, H.W., Thijssen, J.H., Blankenstein, M.A., Inhibition of the in vivo conversion of androstenedione to estrone by the aromatase inhibitor vorozole in healthy postmenopausal women, *Cancer Res.*, 53 (19), 4563-6 (1993).

Vanden Bossche, H.V., Moereels, H., Koymans, L.M., Aromatase inhibitors--mechanisms for non-steroidal inhibitors, *Breast Cancer Res. Treat.*, 30 (1), 43-55 (1994).

Vekariya, R.H., Patel, H.D., Synthesis of α -bromocarbonyl compounds: recent advances, *Tetrahedron Lett.*, 70, 3949-61 (2014).

Vernin, G., General synthetic methods for thiazole and thiazolium salts. In: Vernin G, editor. *The chemistry of heterocyclic flavouring and aroma compounds*, Ellis Horwood Ltd., England, 35, 375 (1982).

Weissberger, A., Taylor, E.C., Properties and reactions of thiazole, Part 1, in (Metzger, J.V., Ed.) In: J.V M, editor. *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*, : Wiley, New York, 34, (1979).

Wouters, W., Snoeck, E., De Coster, R., Vorozole, a specific non-steroidal aromatase inhibitor. *Breast Cancer Res. Treat.*, 30 (1), 89-94 (1994).

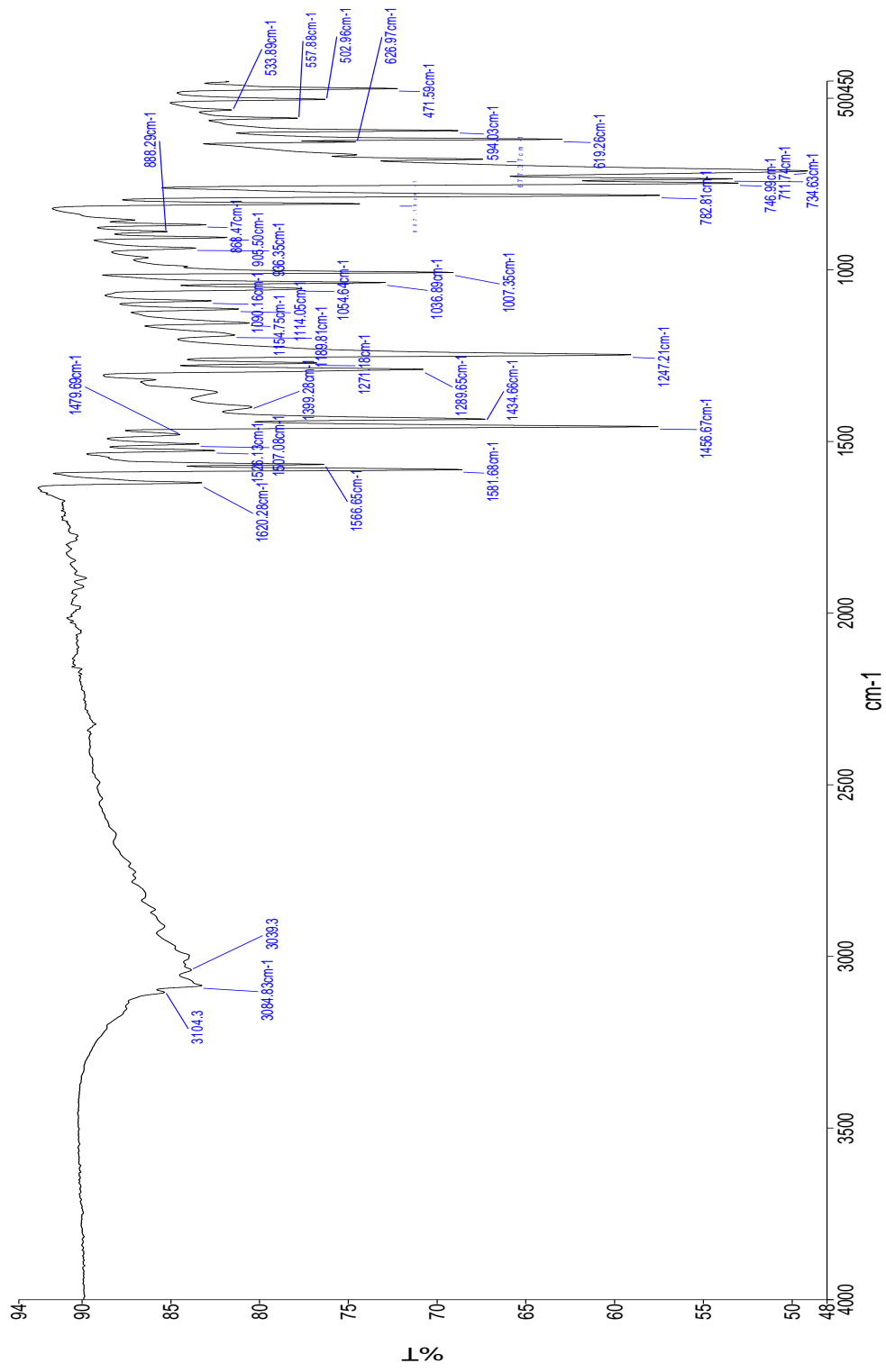
Yong-Jin Wu, B.W., Five-Membered Ring Systems: With N and S (Se) Atoms. In: Gribble Gordon W. JJA, editor. *Progress in Heterocyclic Chemistry.. First ed.*: Elsevier; USA, 26, 279-300 (2014).

Yurttas, L., Demirayak, S., Ilgin, S., Atli, O., In Vitro antitumor activity evaluation of some 1, 2, 4-triazine derivatives bearing piperazine amide moiety against breast cancer cells. *Bioorg. Med. Chem.*, 22 (22), 6313-23, (2014)

Zagade, G.P., Thiazole: A valuable insight into recent advances, synthesis and biological activities, *Pharma Chemica*, 3 (1), 523-37 (2011).

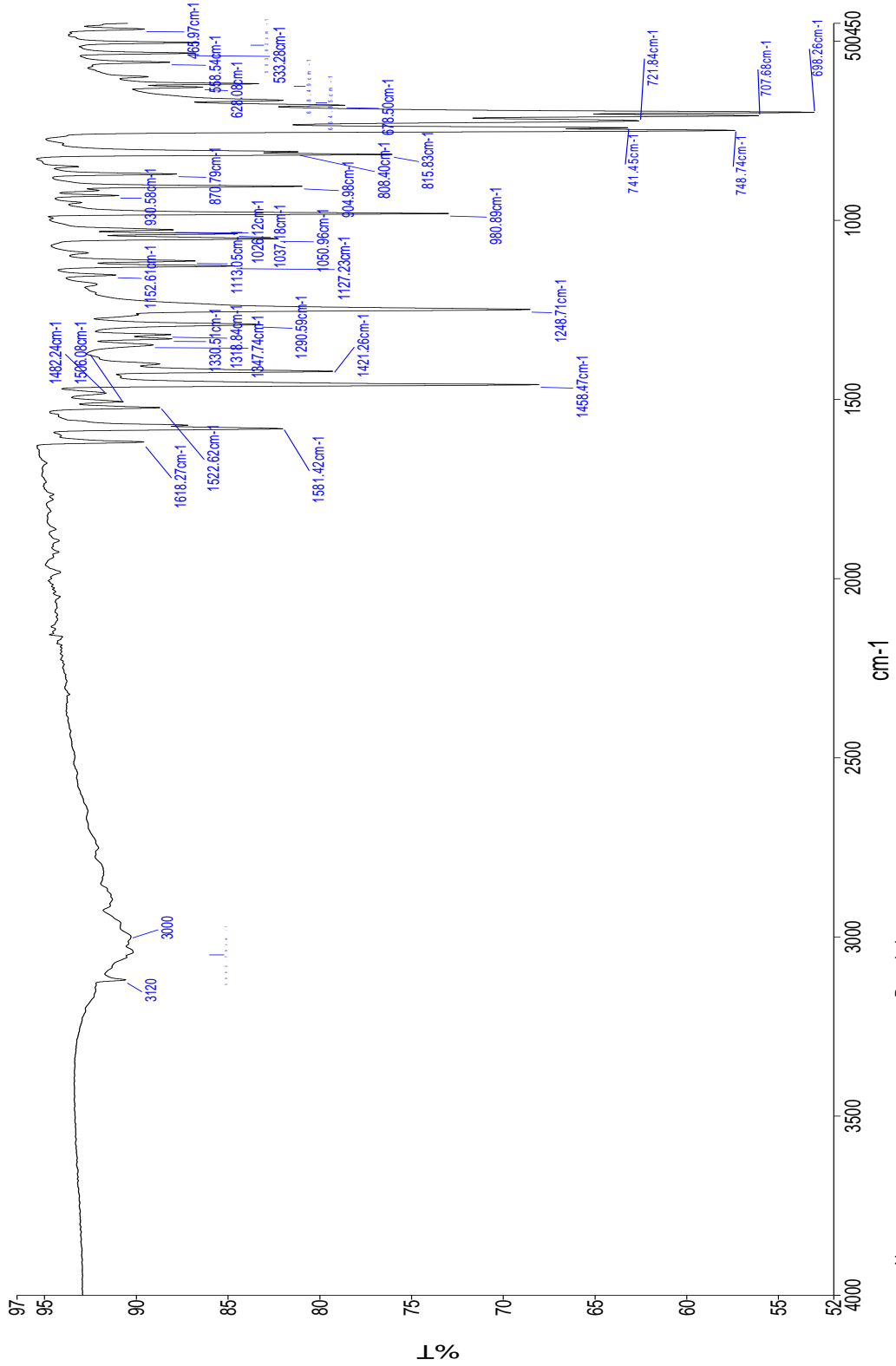
EKLER

Ek 1 Bileşik 1'e ait IR Spektrumu



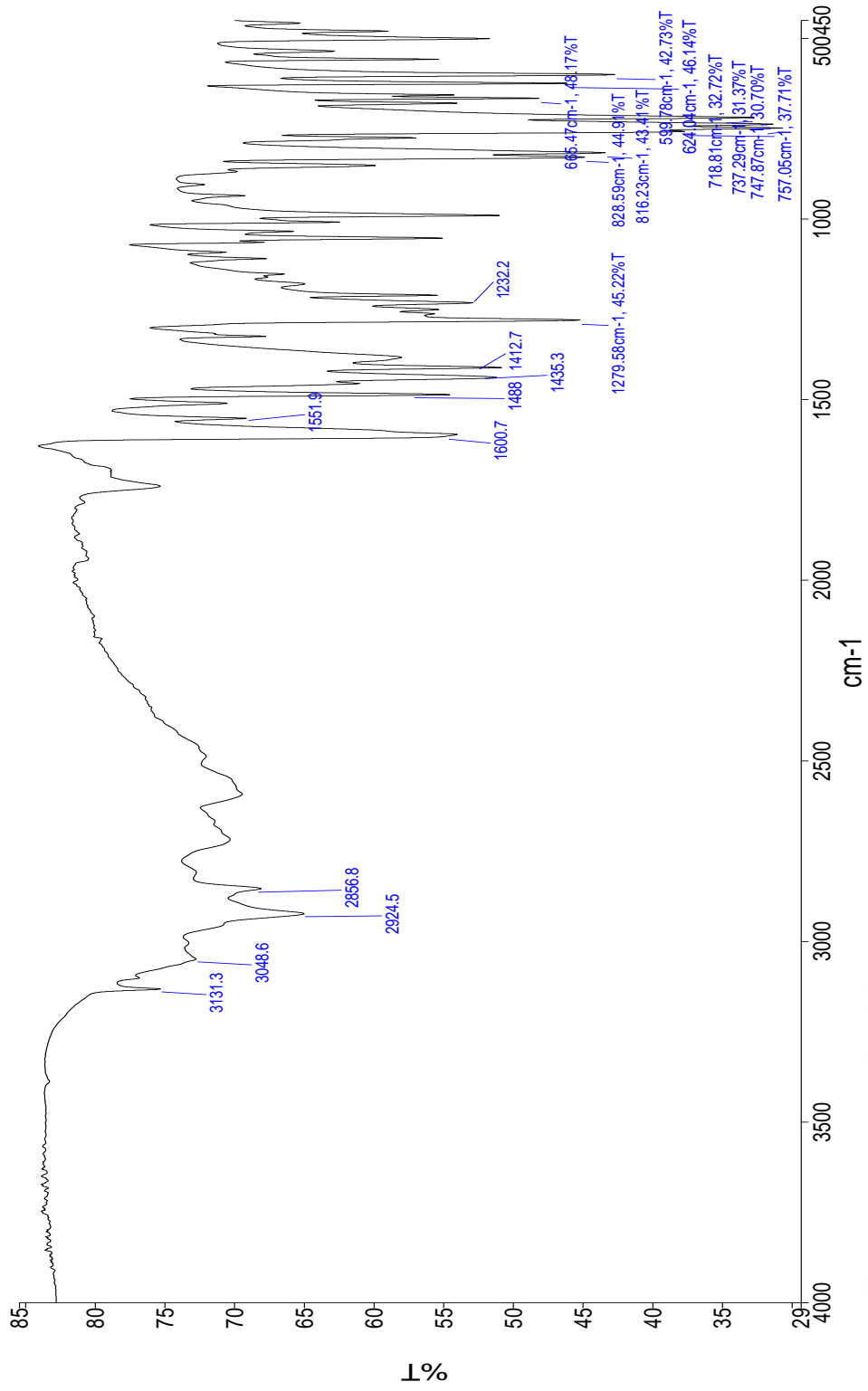
Name Description
 2-OH-pikolin Sample 002 By Date PerkinElmer FT-IR C89671Friday, July 18 2014

Ek 2 Bileşik 2'ye ait IR Spektrumu



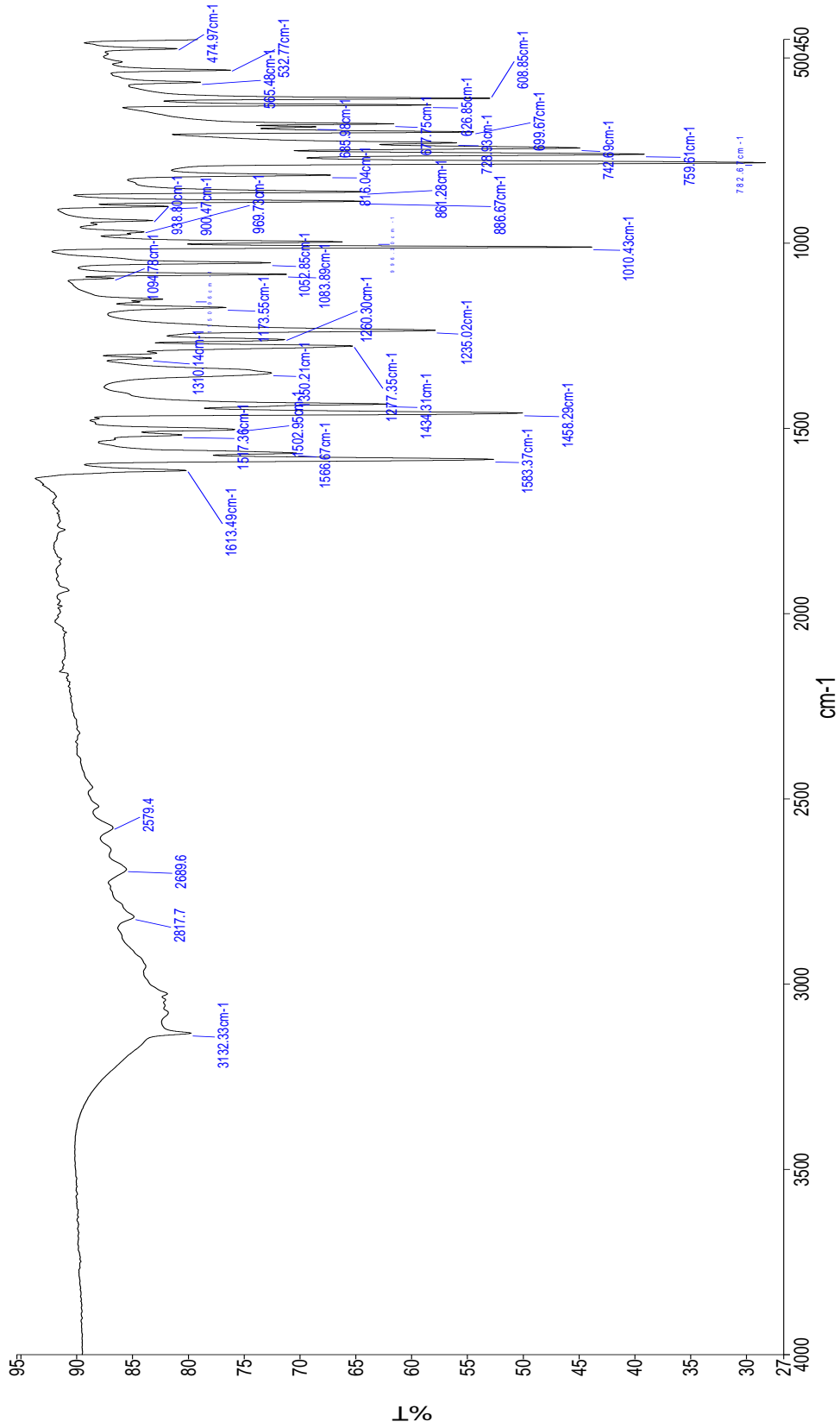
Name: 2-OH-nikotin
 Description: Sample 001 By Date PerkinElmer FT-IR C89671Friday, July 18 2014

Ek 3 Bileşik 3'e ait IR Spektrumu



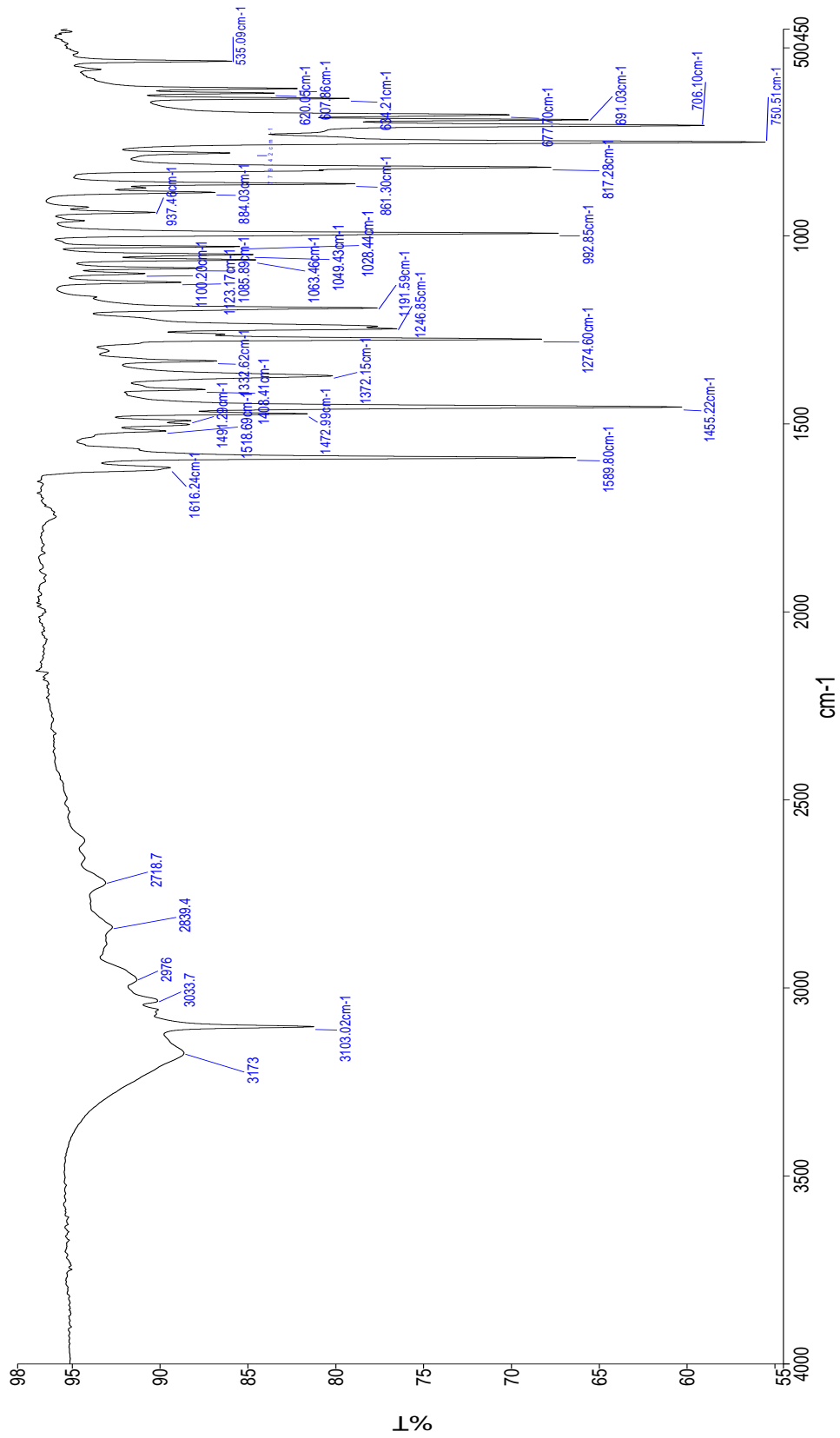
Name Description
 MZ12 Sample 001 By medchem Date Friday, May 15 2015

Ek 4 Bileşik 4'e ait IR spektrumu



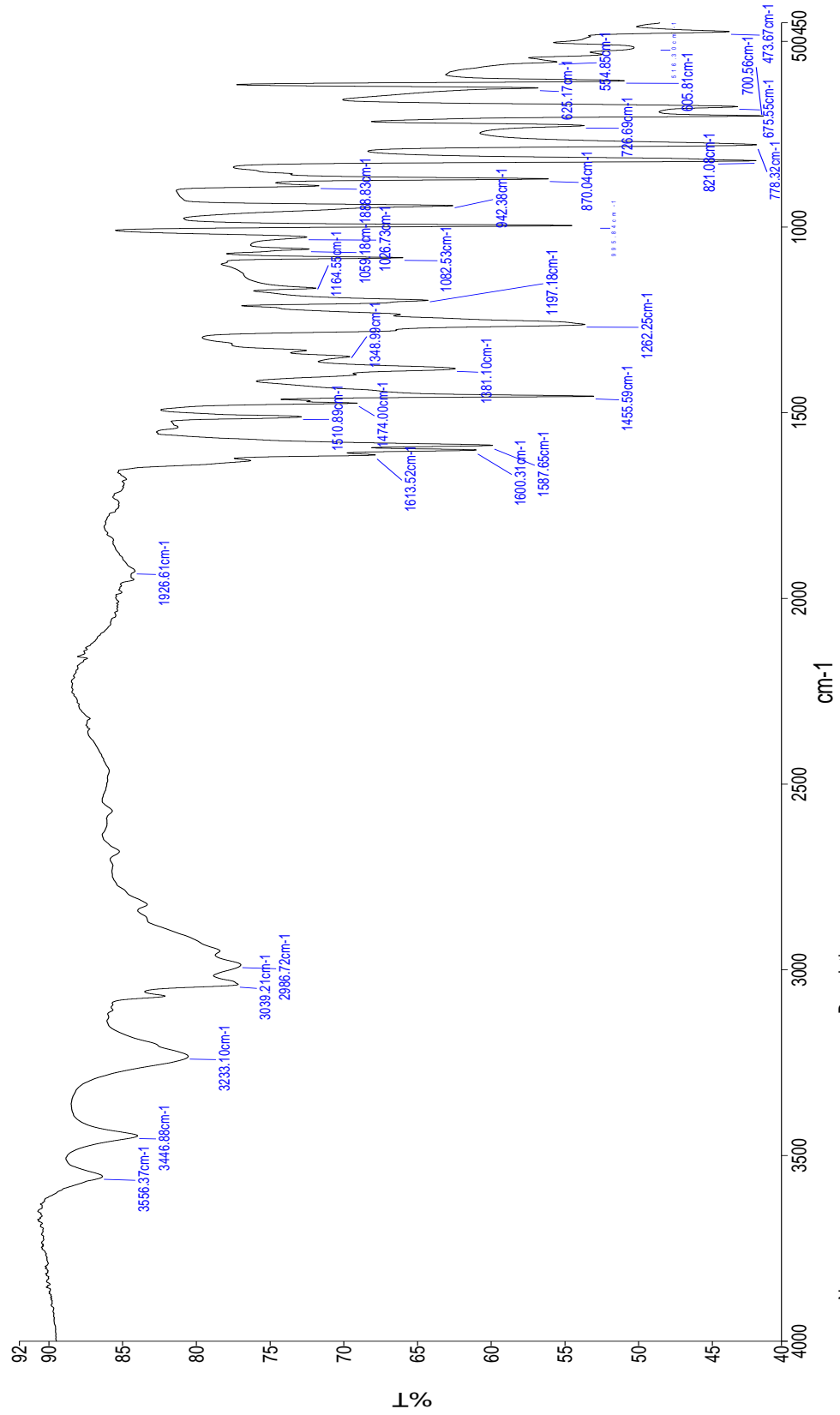
Name: 3-OH-pikolin
 Description: Sample 002 By Date PerkinElmer FT-IR C89671 Friday, July 18 2014

Ek 5 Bileşik 5'e ait IR Spektrumu



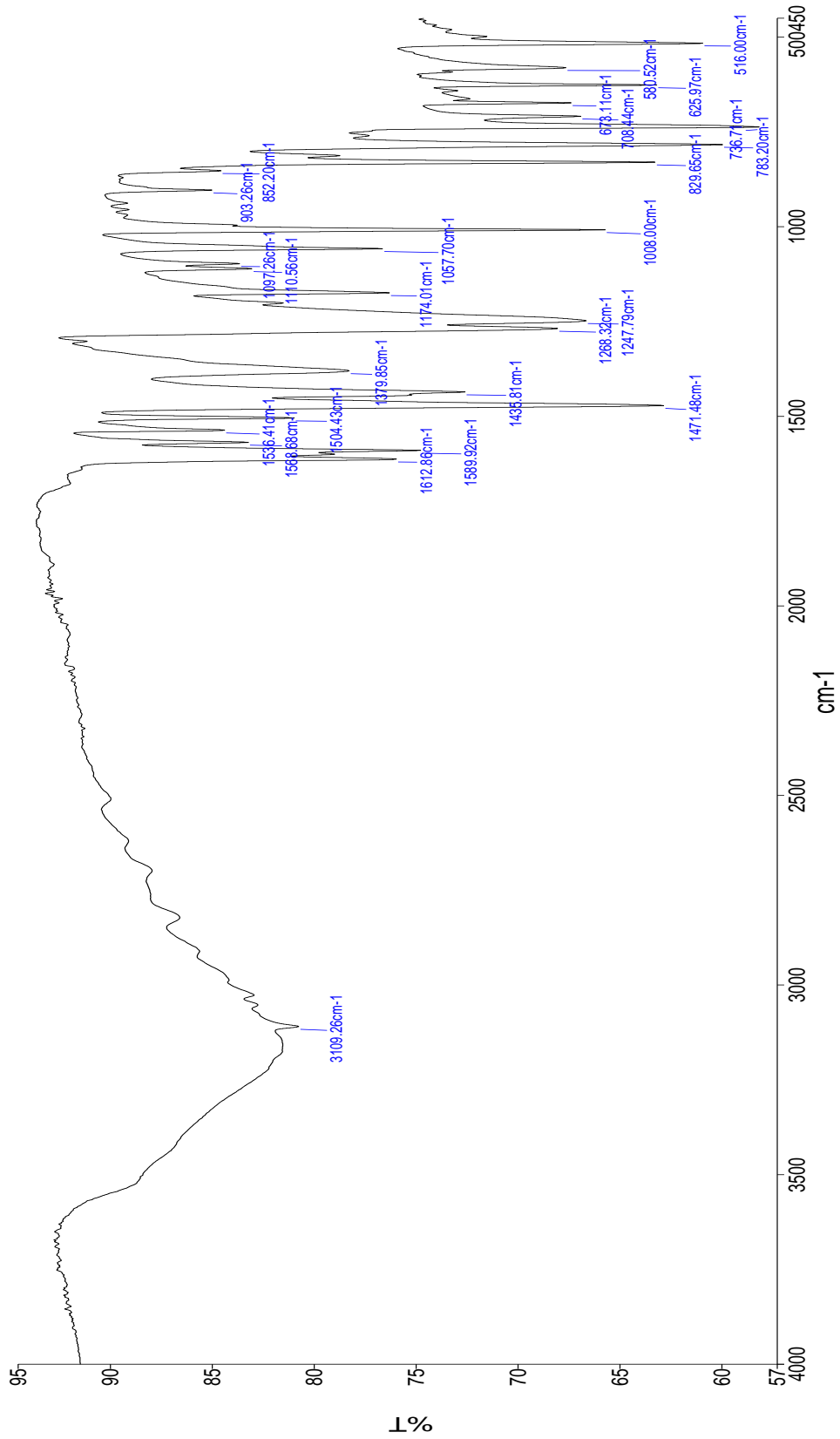
Name Description
 3-OH-nikotin Sample 003 By Date PerkinElmer FT-IR C89671Friday, July 18 2014

Ek 6 Bileşik 6'ya ait IR Spektrumu



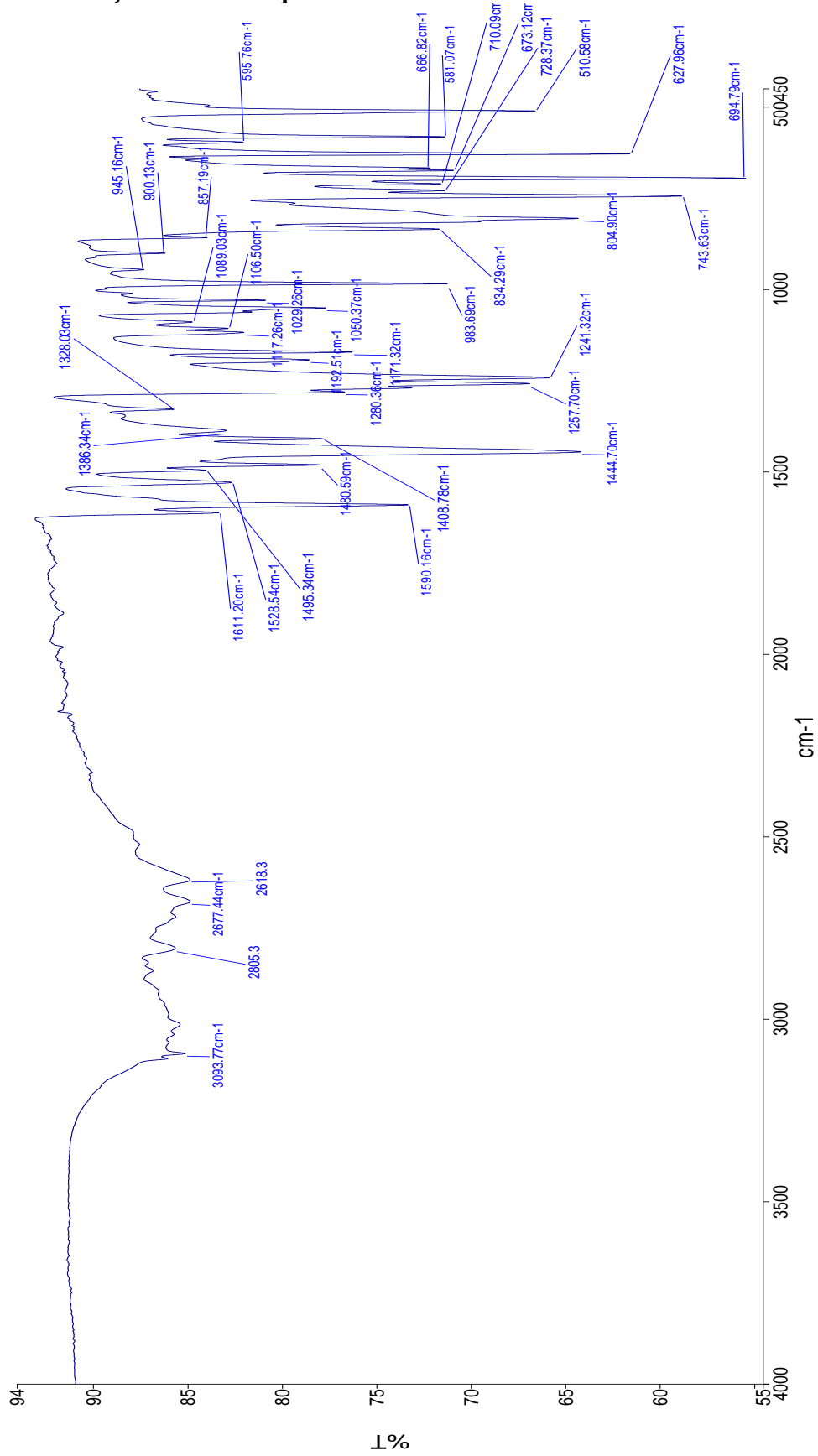
Name Description
 3-OH-izonikotin Sample 001 By Date PerkinElmer FT-IR C89671Friday, July 18 2014

Ek 7 Bileşik 7'ye ait IR Spektrumu



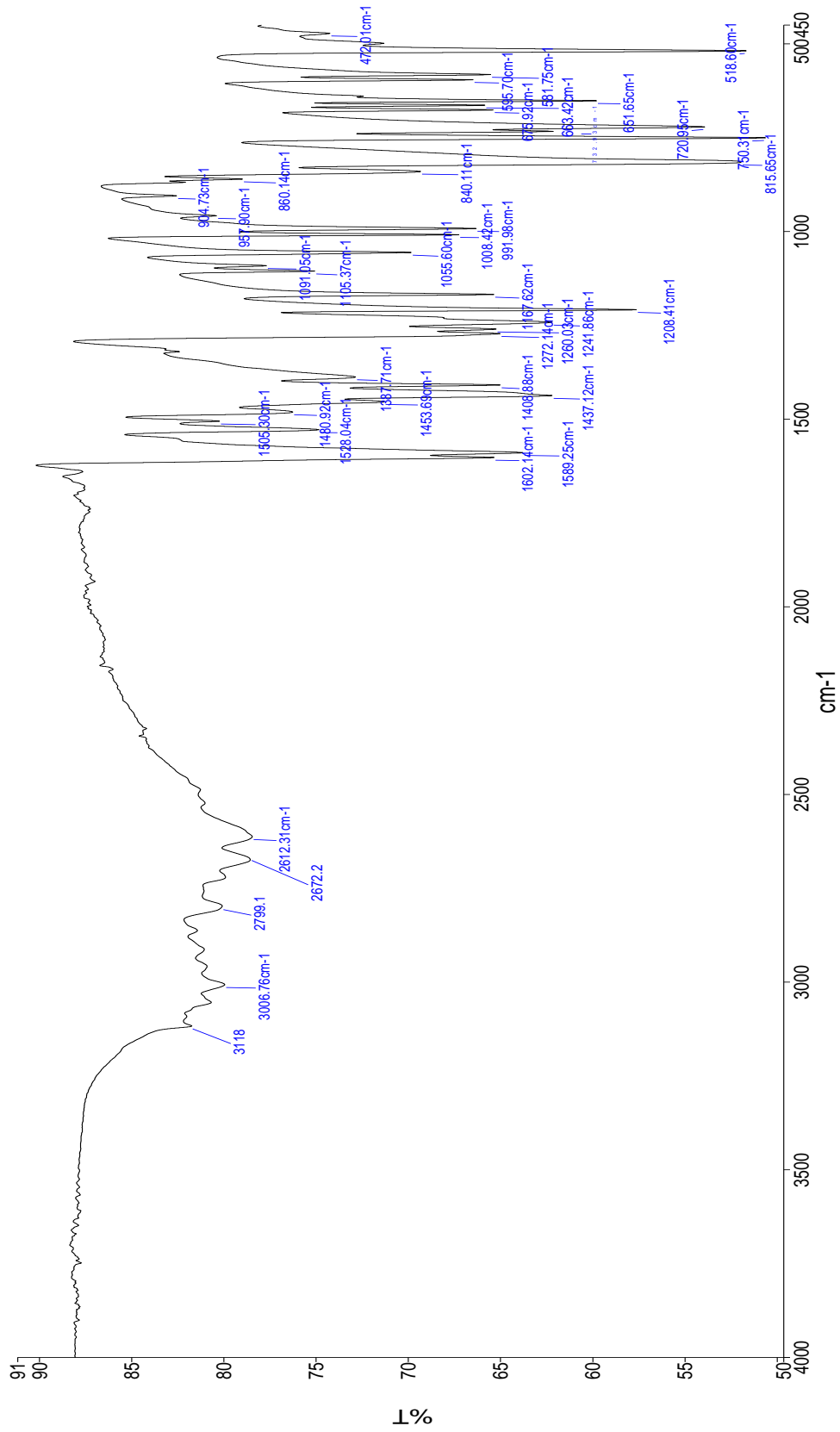
Name Description
 4-oh-pikolin Sample 001 By Date PerkinElmer FT-IR C89671 Thursday, July 17 2014

Ek 8 Bileşik 8'e ait IR Spektrumu



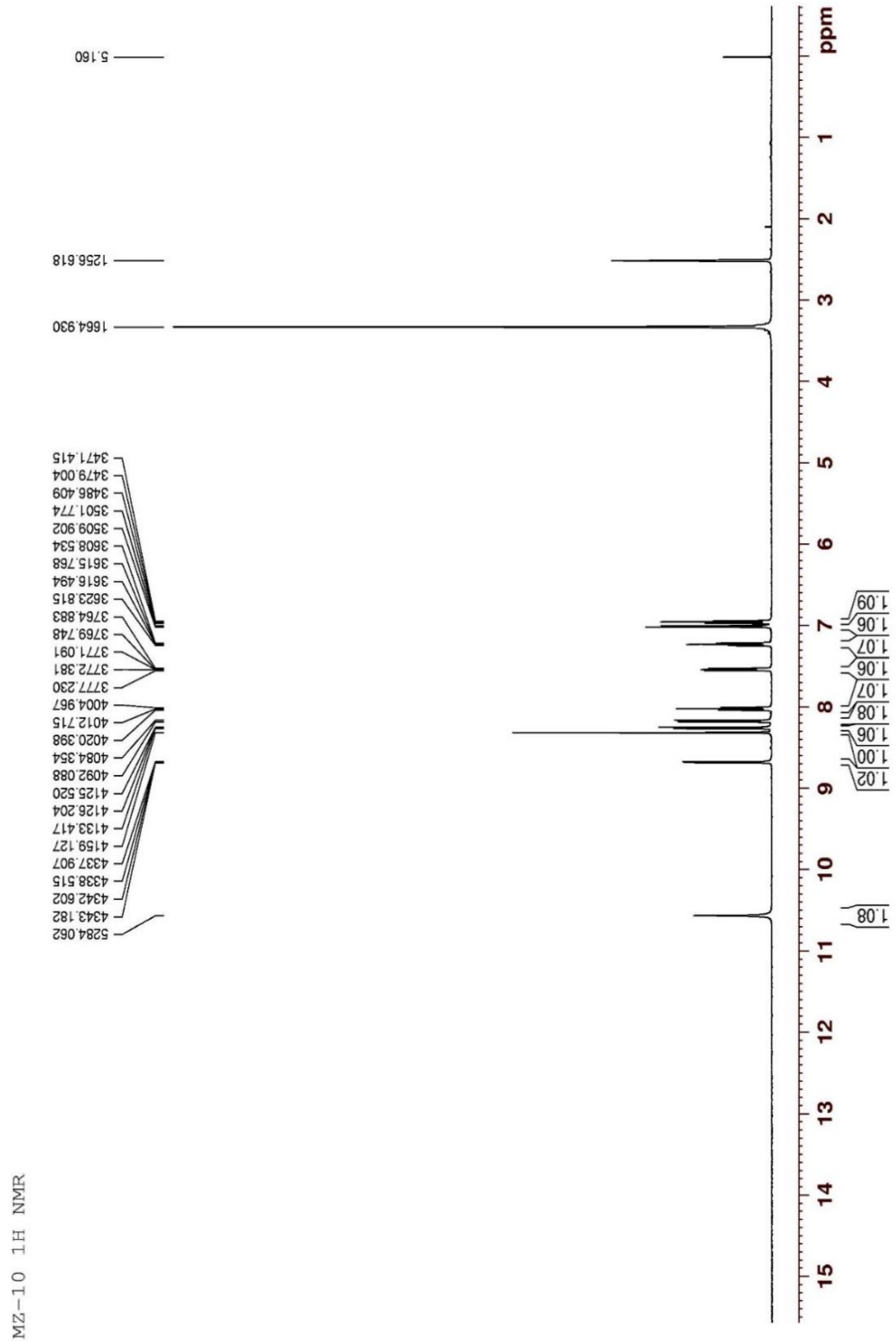
Name: 4-OH-nikotin
 Description: Sample 001 By Date PerkinElmer FT-IR C89671Friday, July 18 2014

Ek 9 Bileşik 9'a ait IR Spektrumu

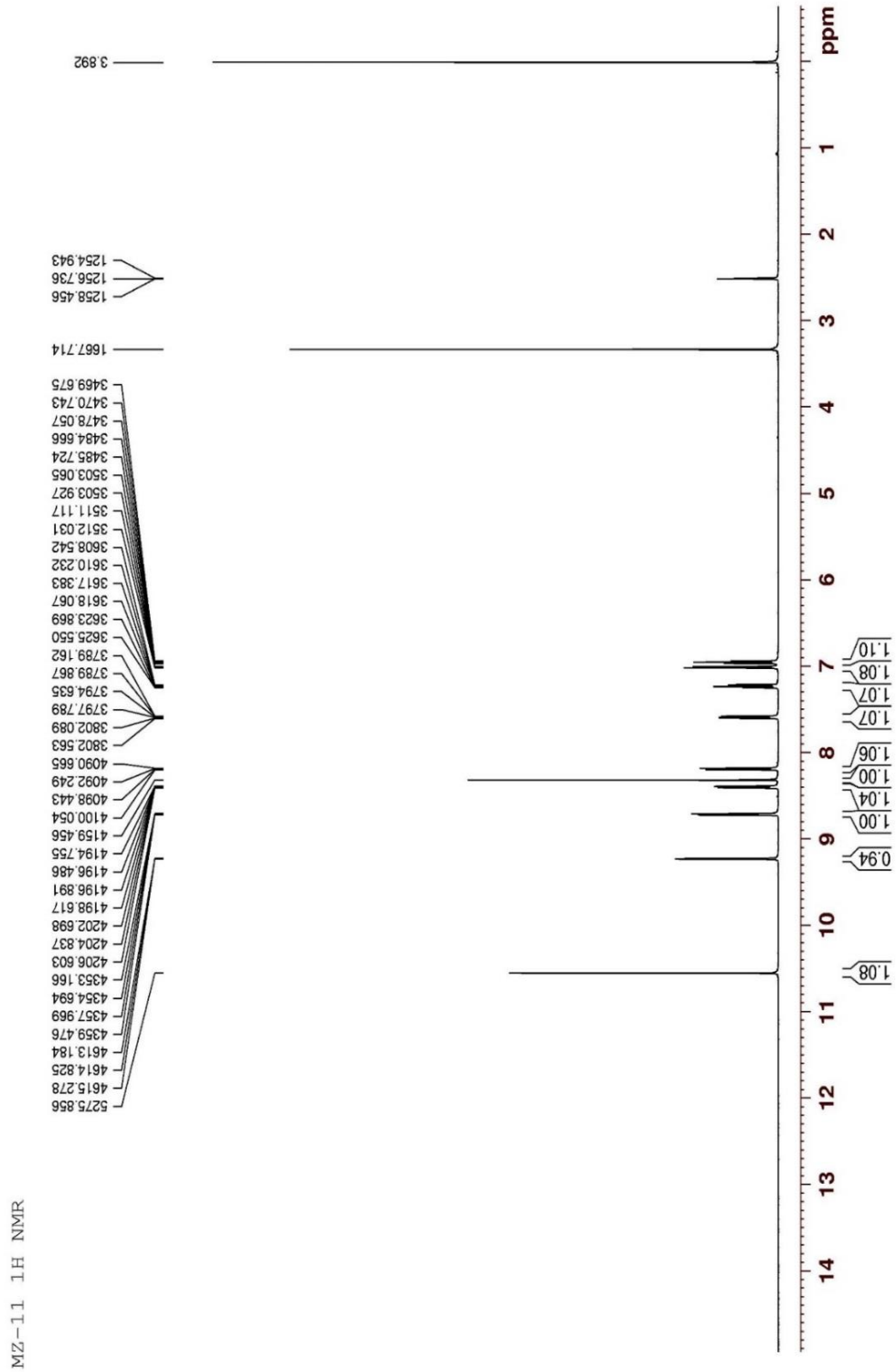


Name Description
 4-OH-izonikotin Sample 001 By Date PerkinElmer FT-IR C89671Friday, July 18 2014

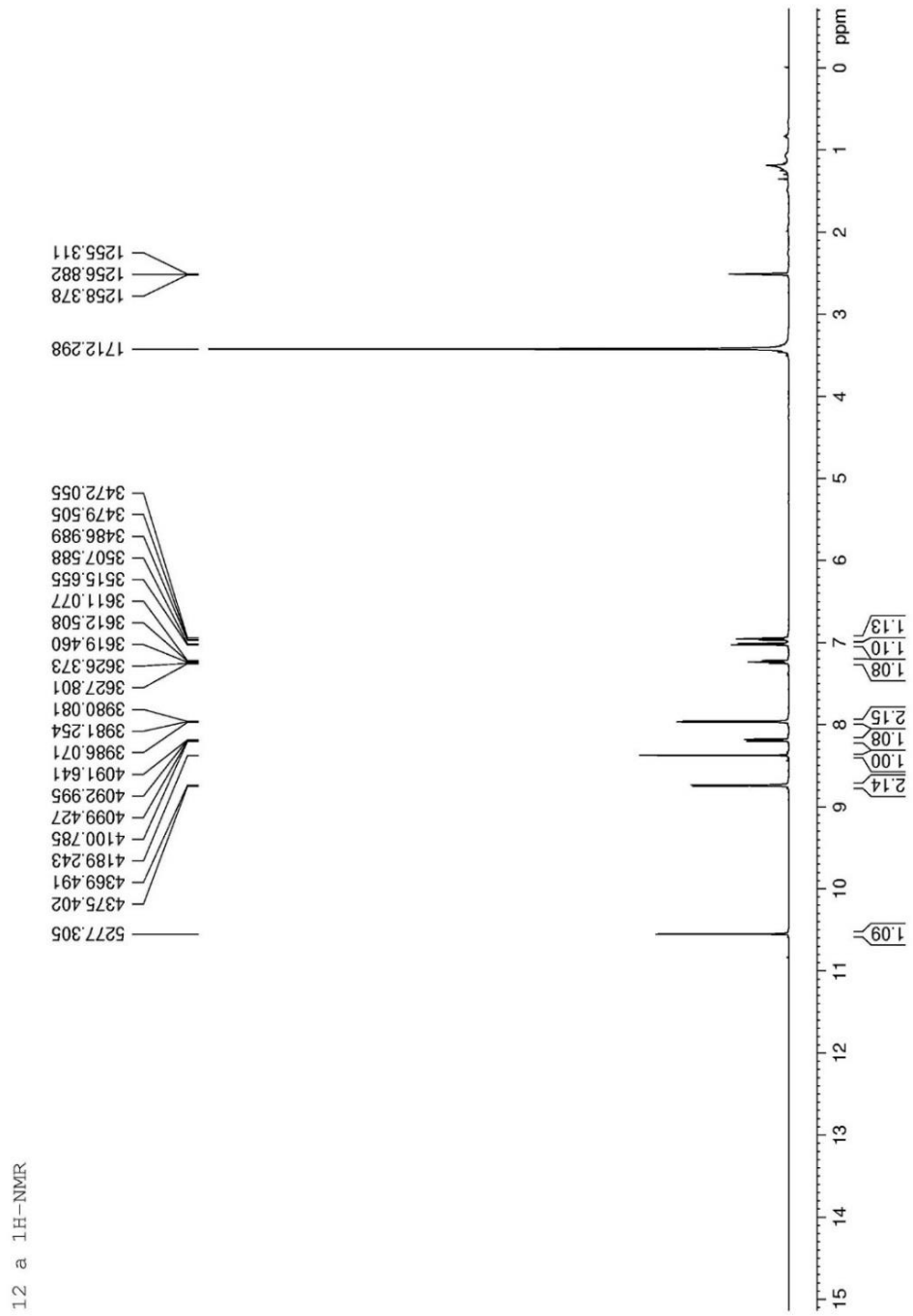
Ek 10 Bileşik 1'e ait ¹H-NMR Spektrumu



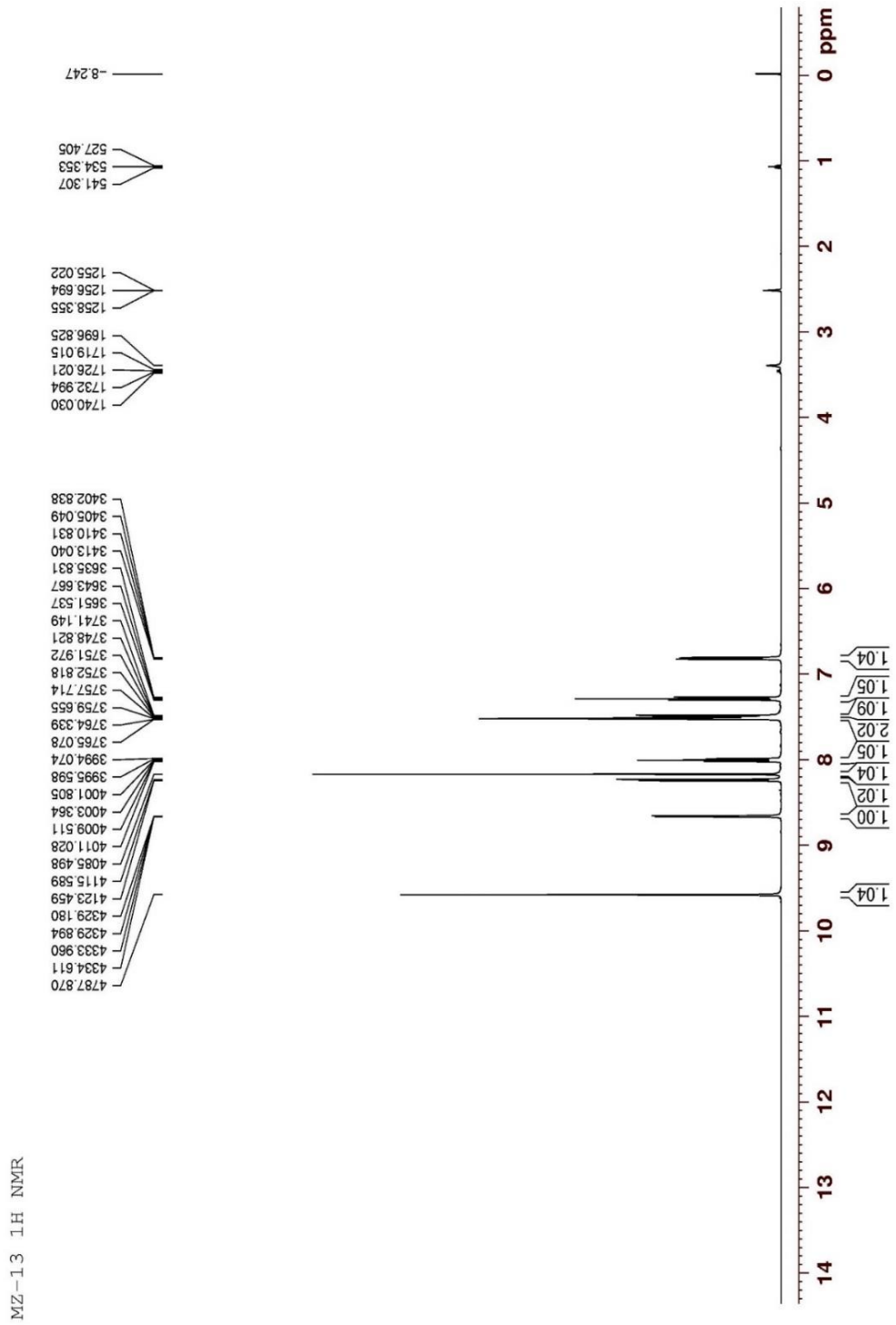
Ek 11 Bileşik 2'ye ait ¹H-NMR Spektrumu



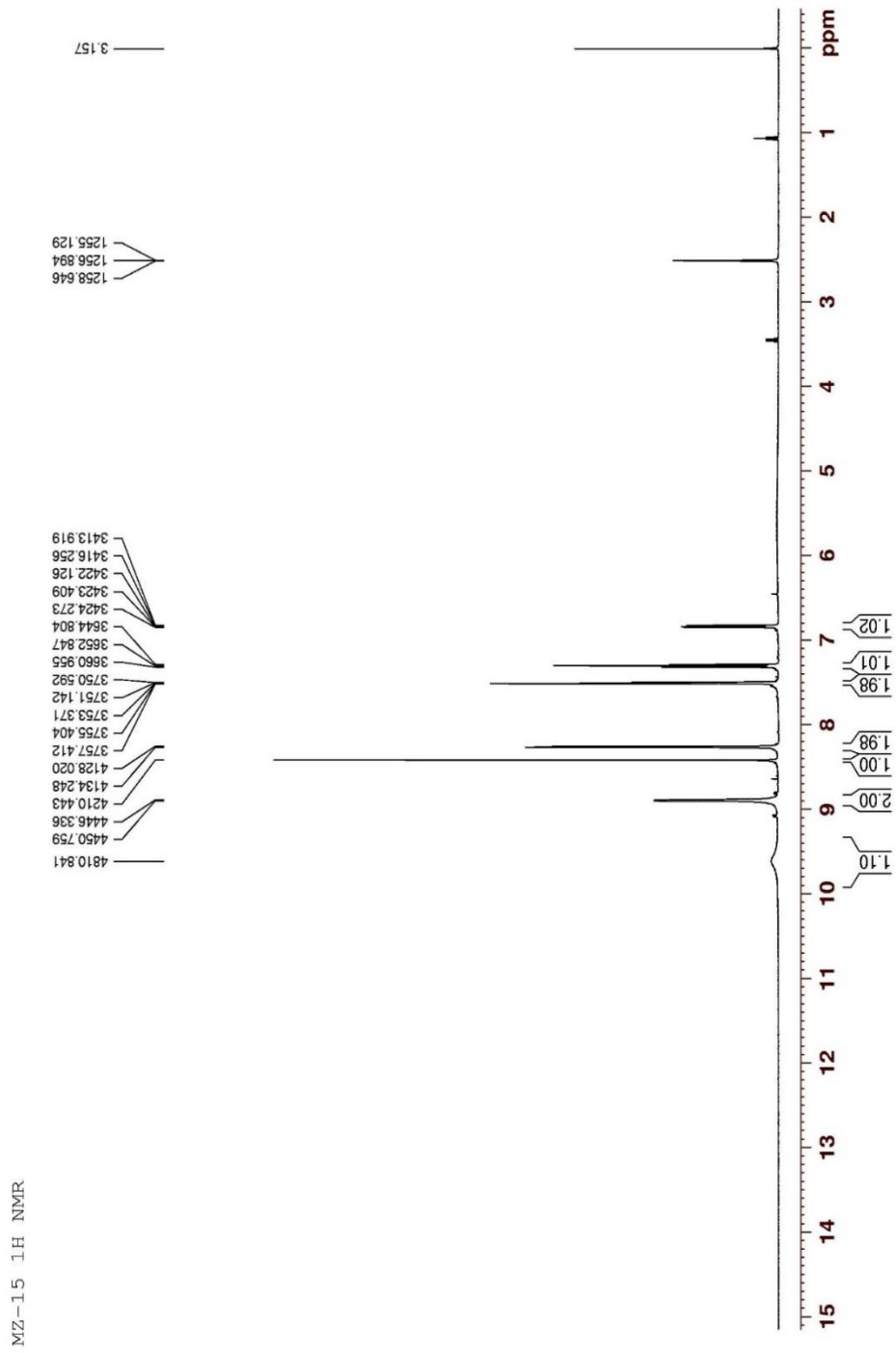
Ek 12 Bileşik 3'e ait $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



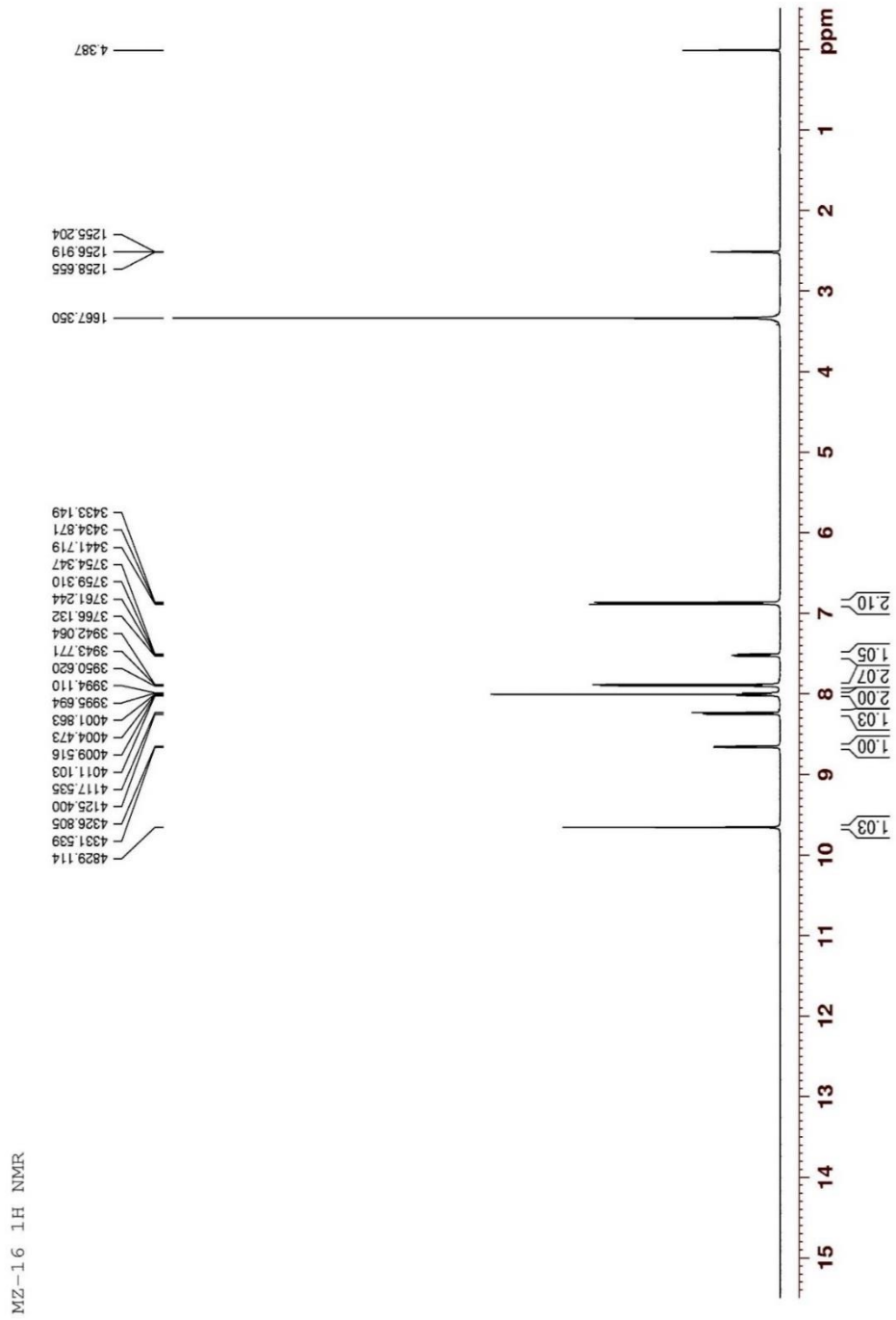
Ek 13 Bileşik 4'e ait $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



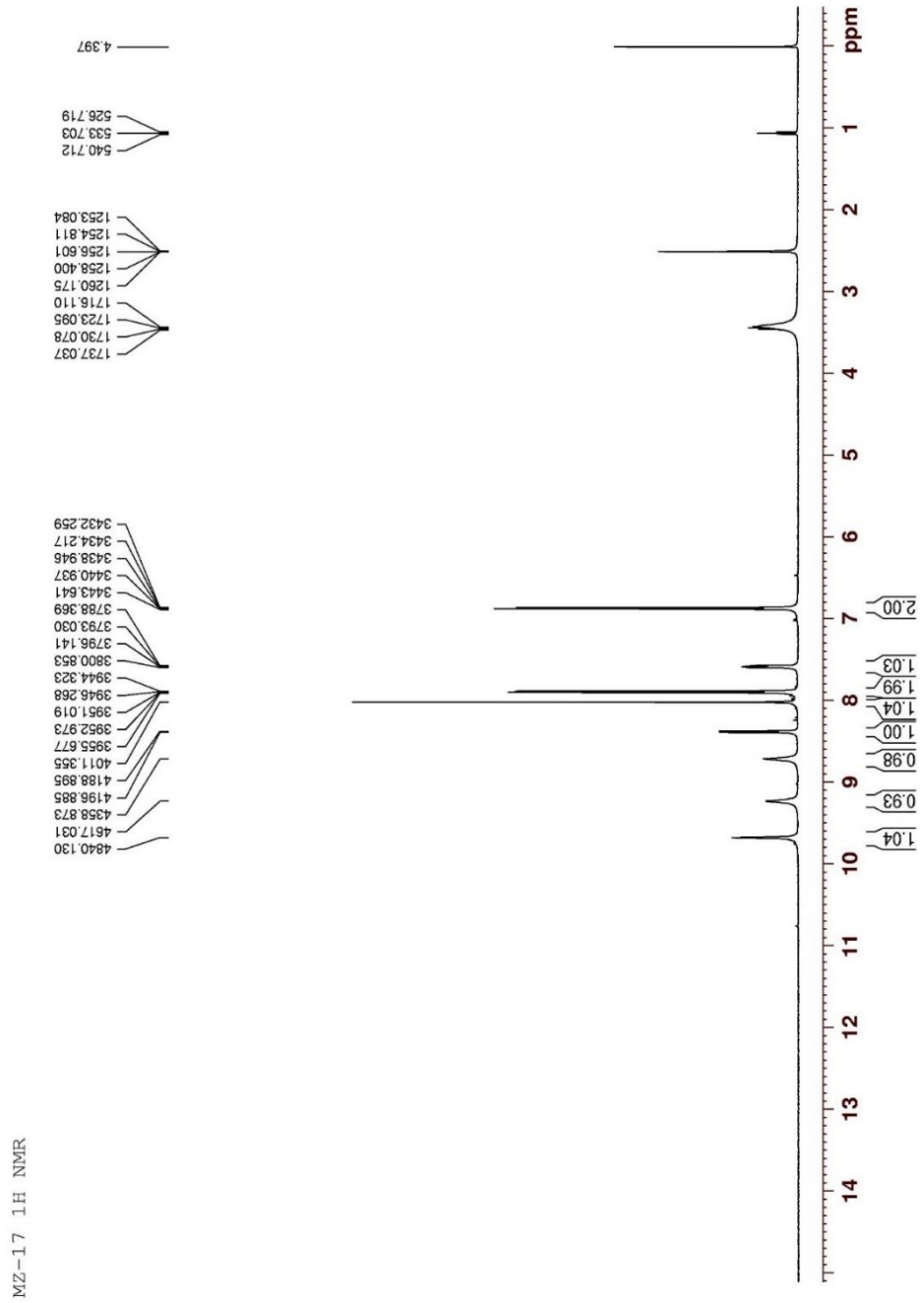
Ek 15 Bileşik 6'ya ait ¹H-NMR Spektrumu



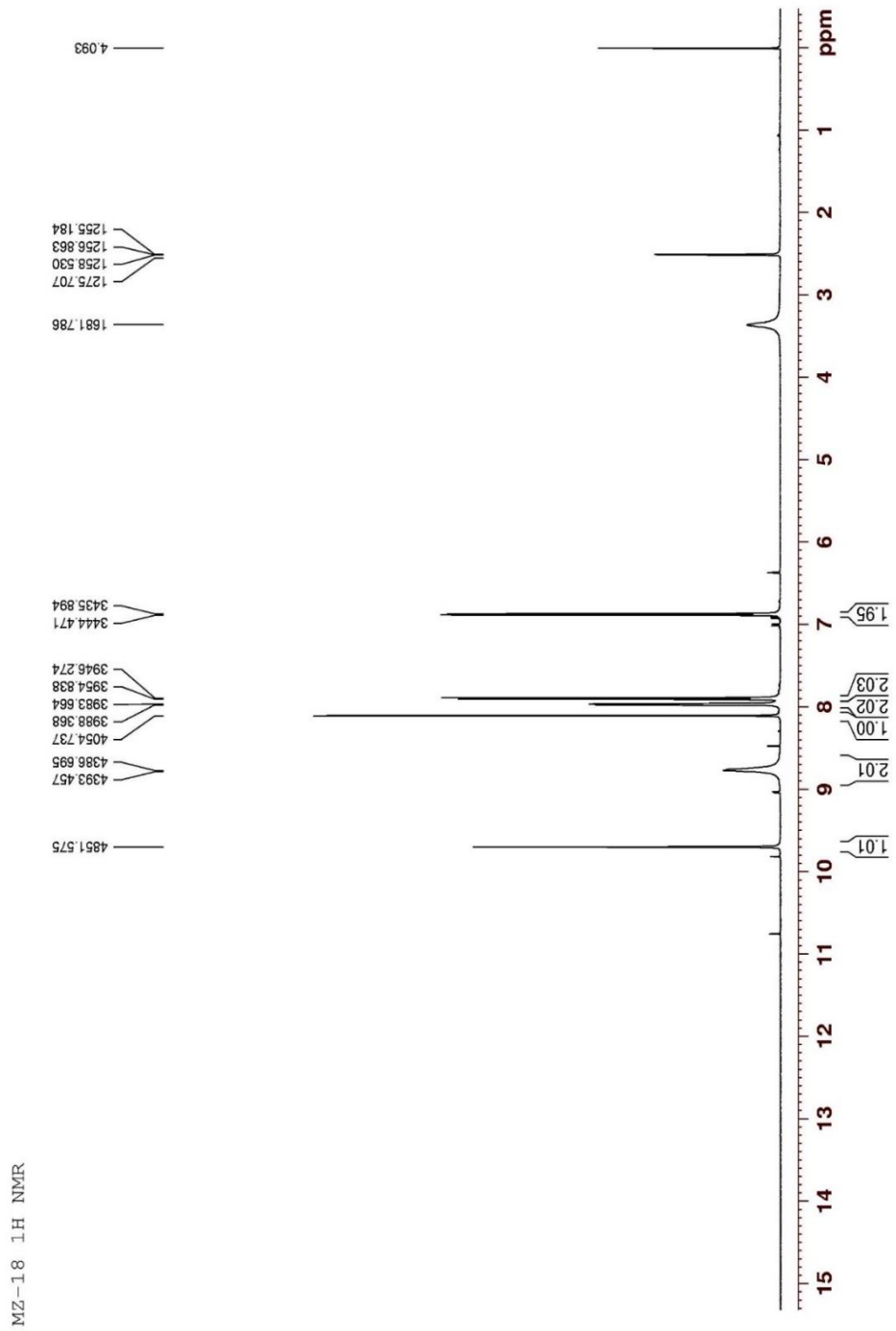
Ek 16 Bileşik 7'ye ait ¹H-NMR Spektrumu



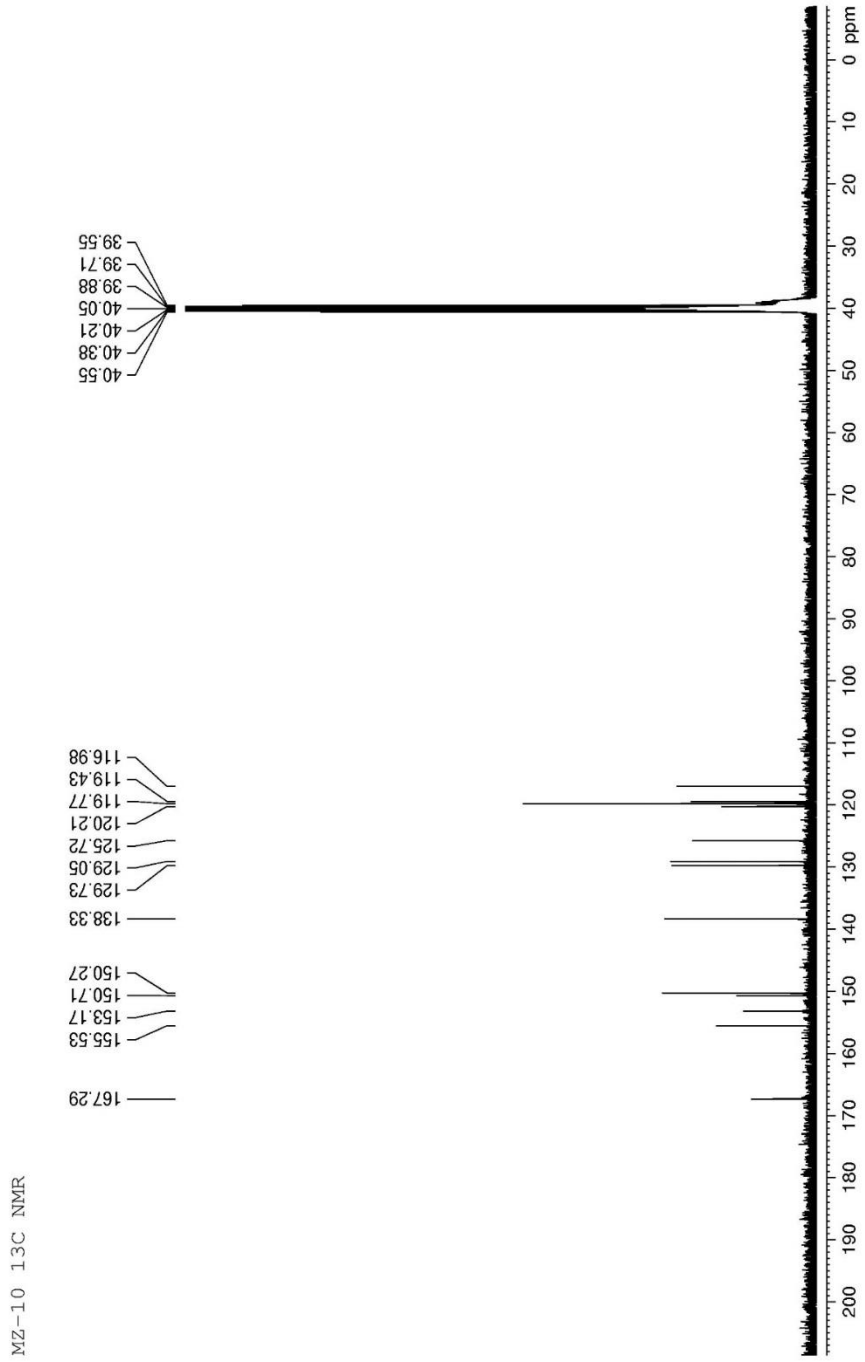
Ek 17 Bileşik 8'e ait ¹H-NMR Spektrumu



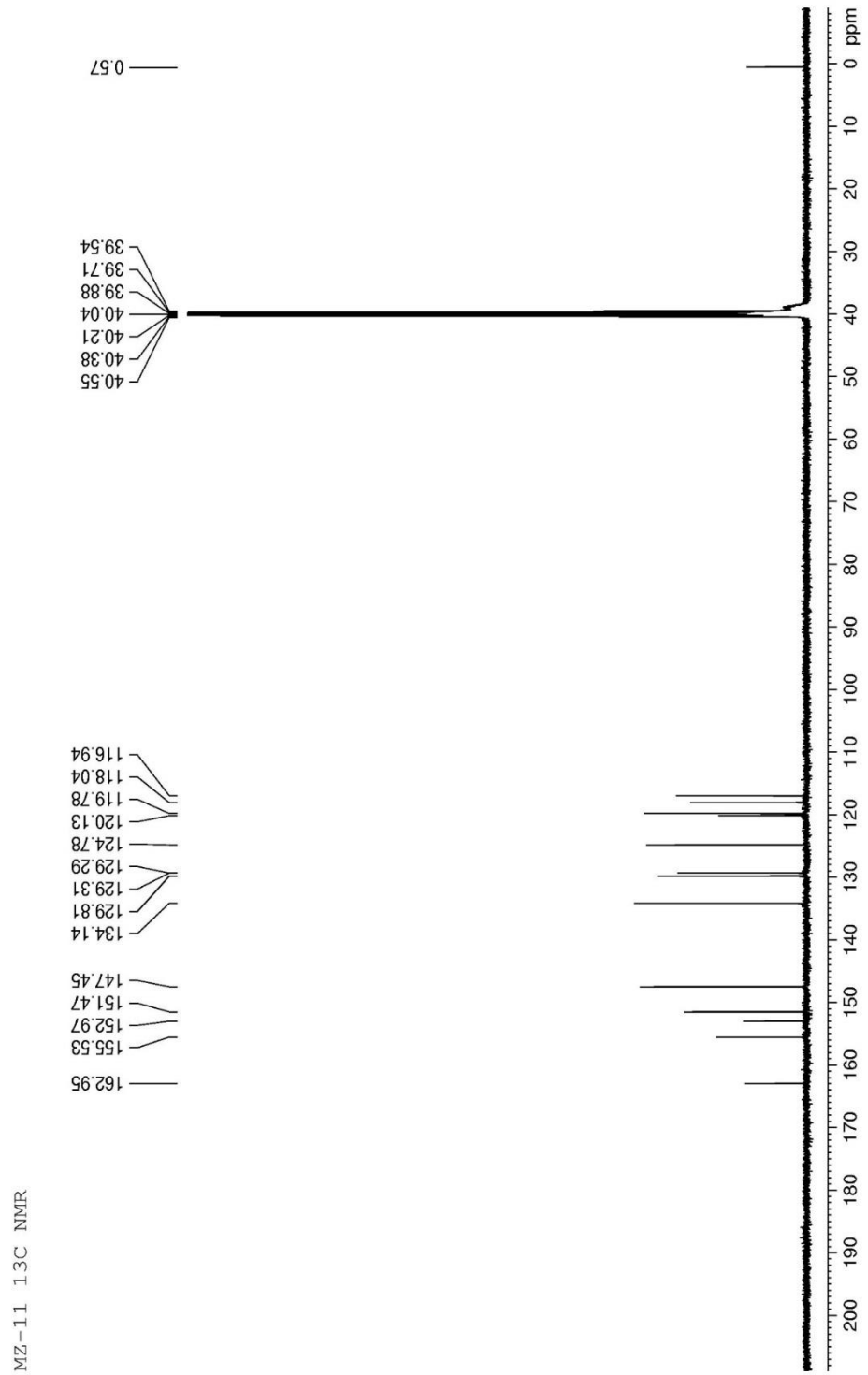
Ek 18 Bileşik 9'a ait $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



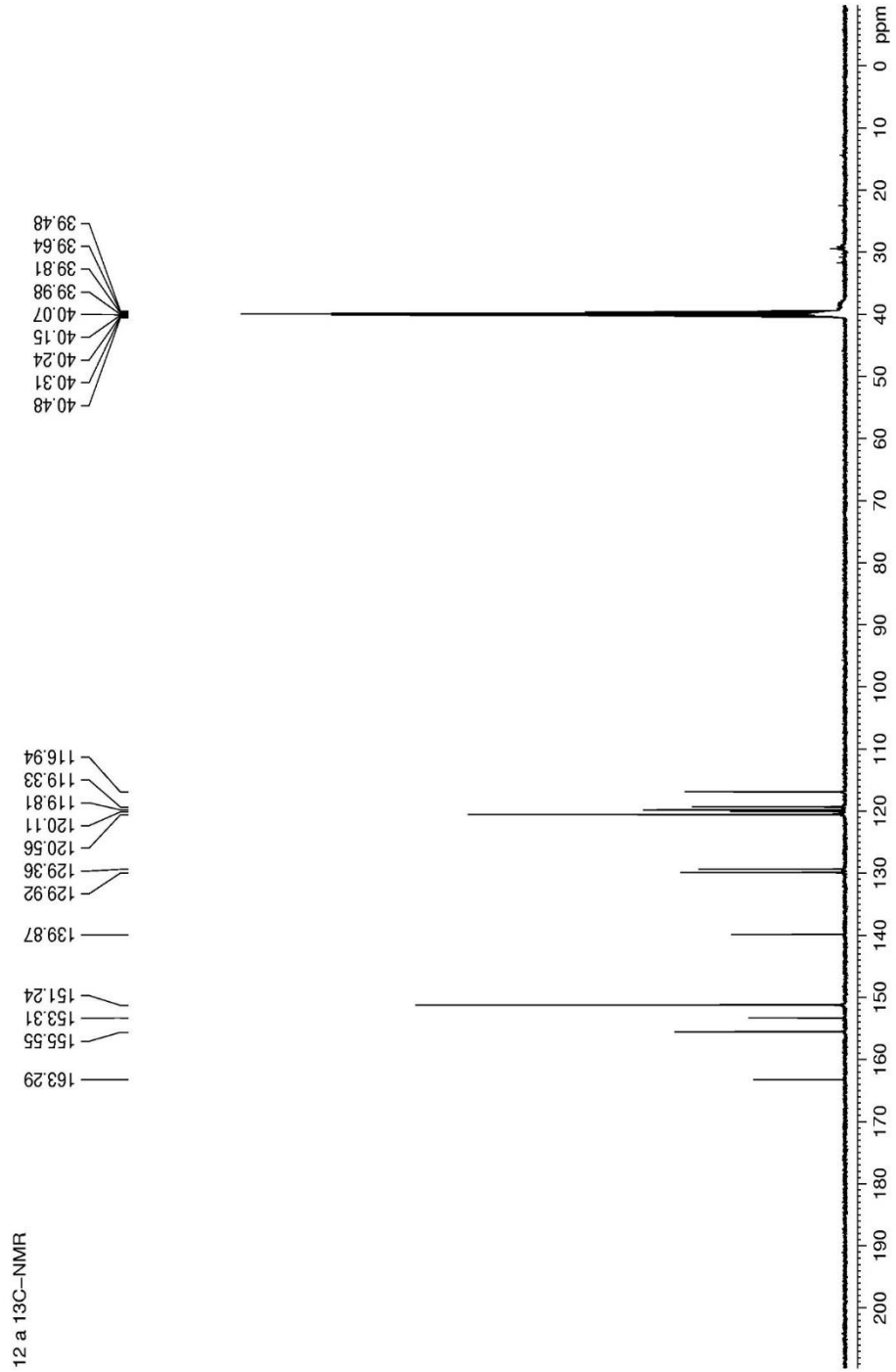
Ek 19 Bileşik 1'e ait ^{13}C -NMR Spektrumu



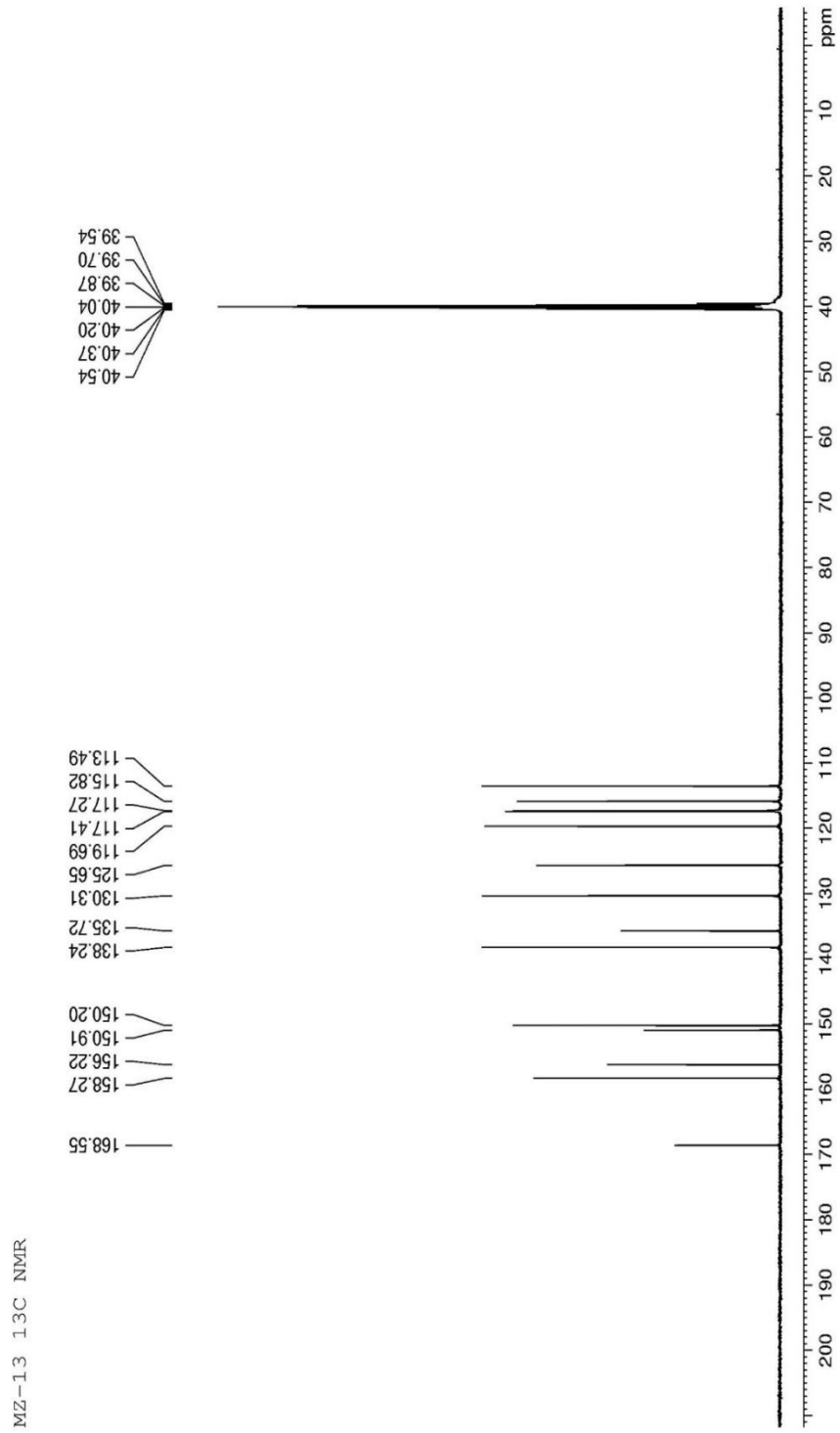
Ek 20 Bileşik 2'ye ait ^{13}C -NMR Spektrumu



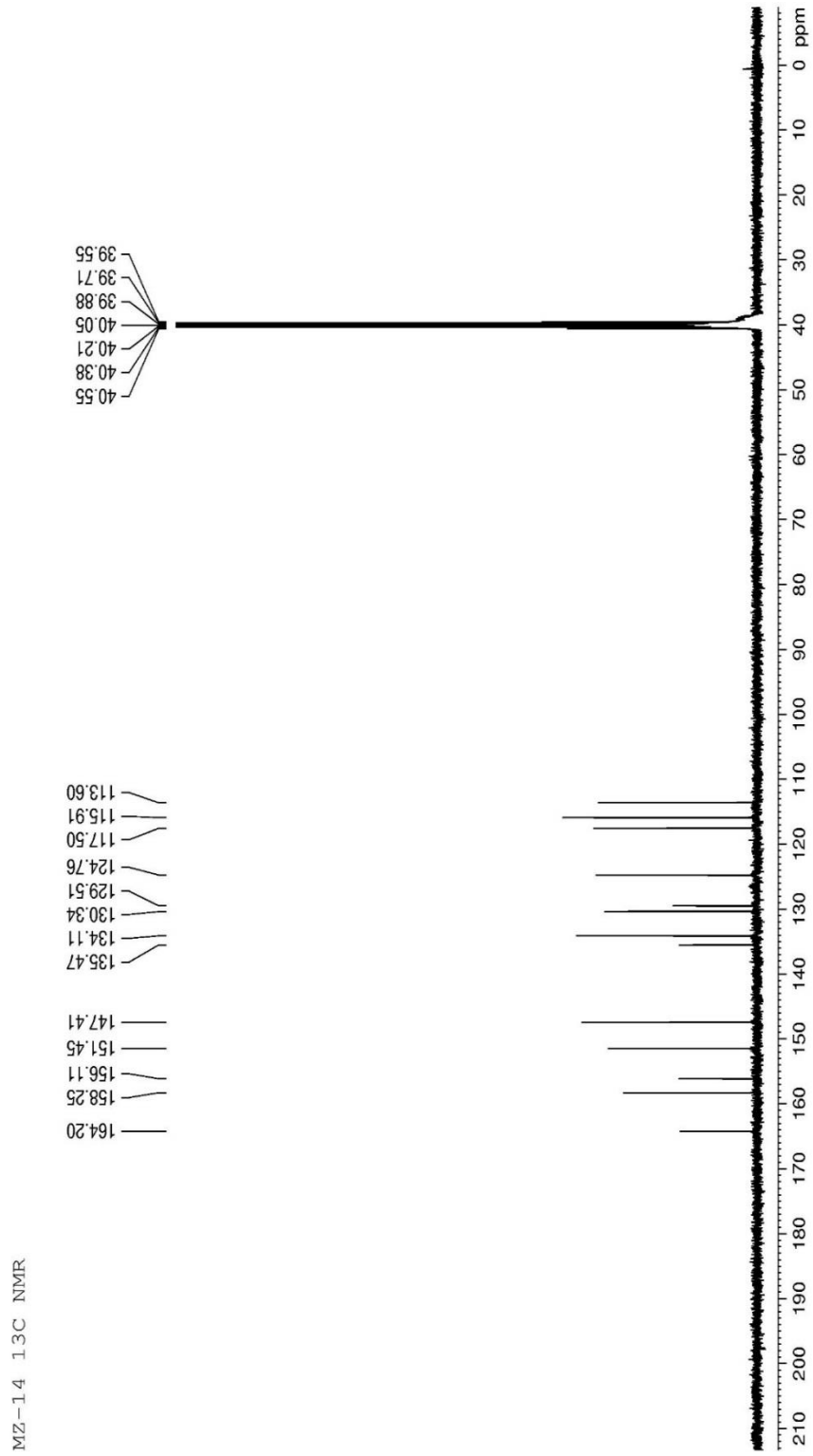
Ek 21 Bileşik 3'e ait ^{13}C -NMR Spektrumu



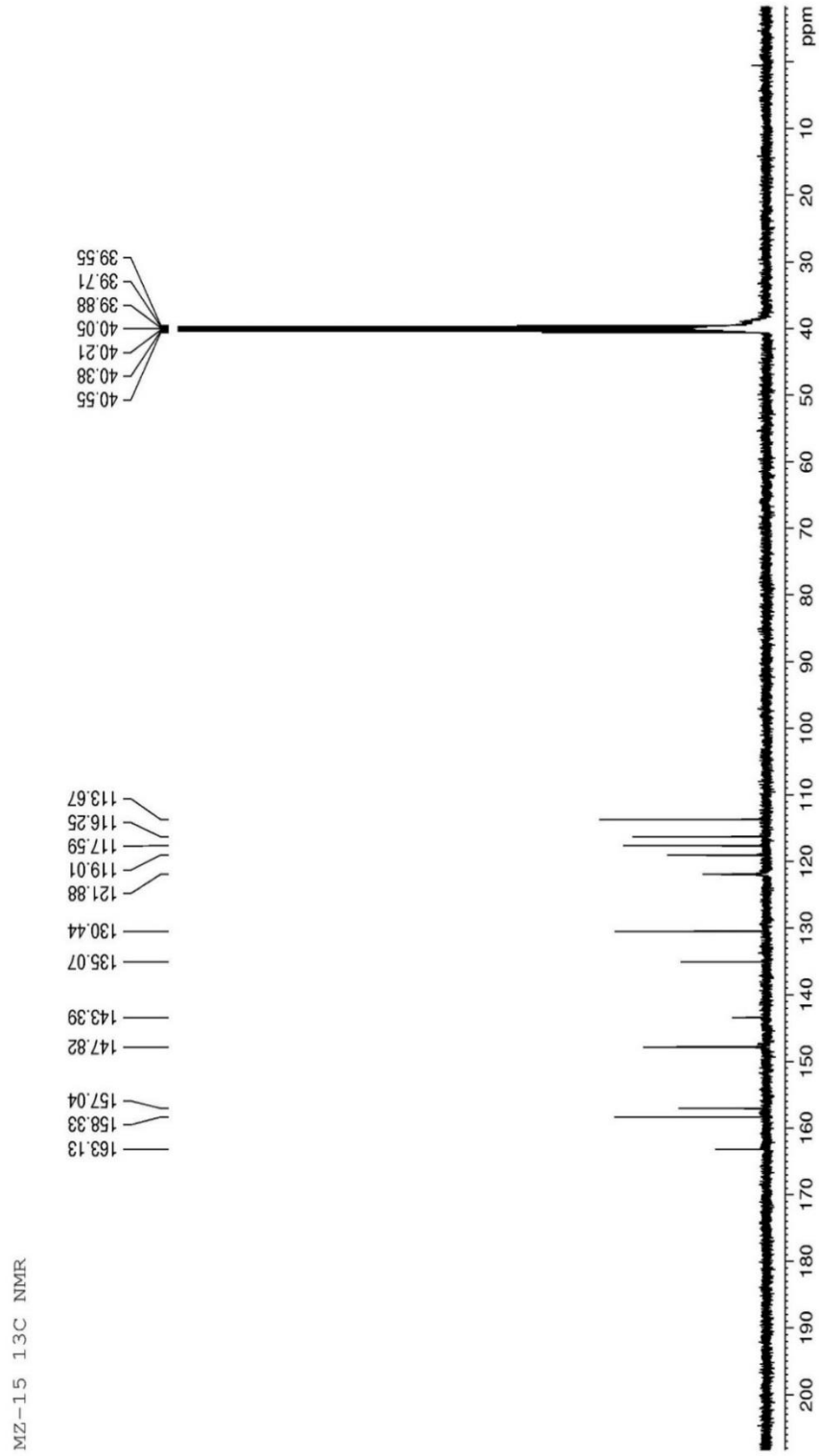
Ek 22 Bileşik 4'e ait ^{13}C -NMR Spektrumu



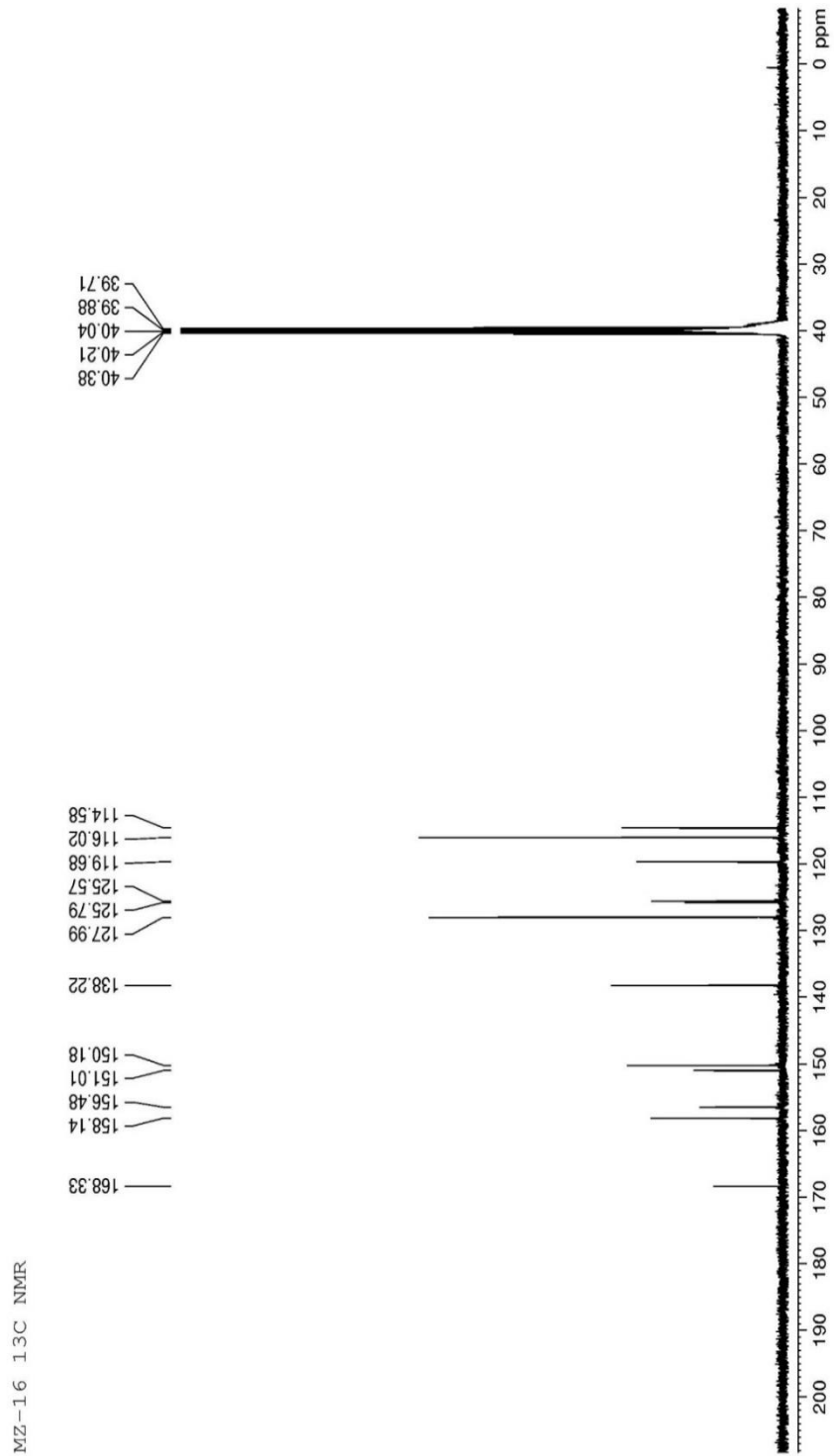
Ek 23 Bileşik 5'e ait ^{13}C -NMR Spektrumu



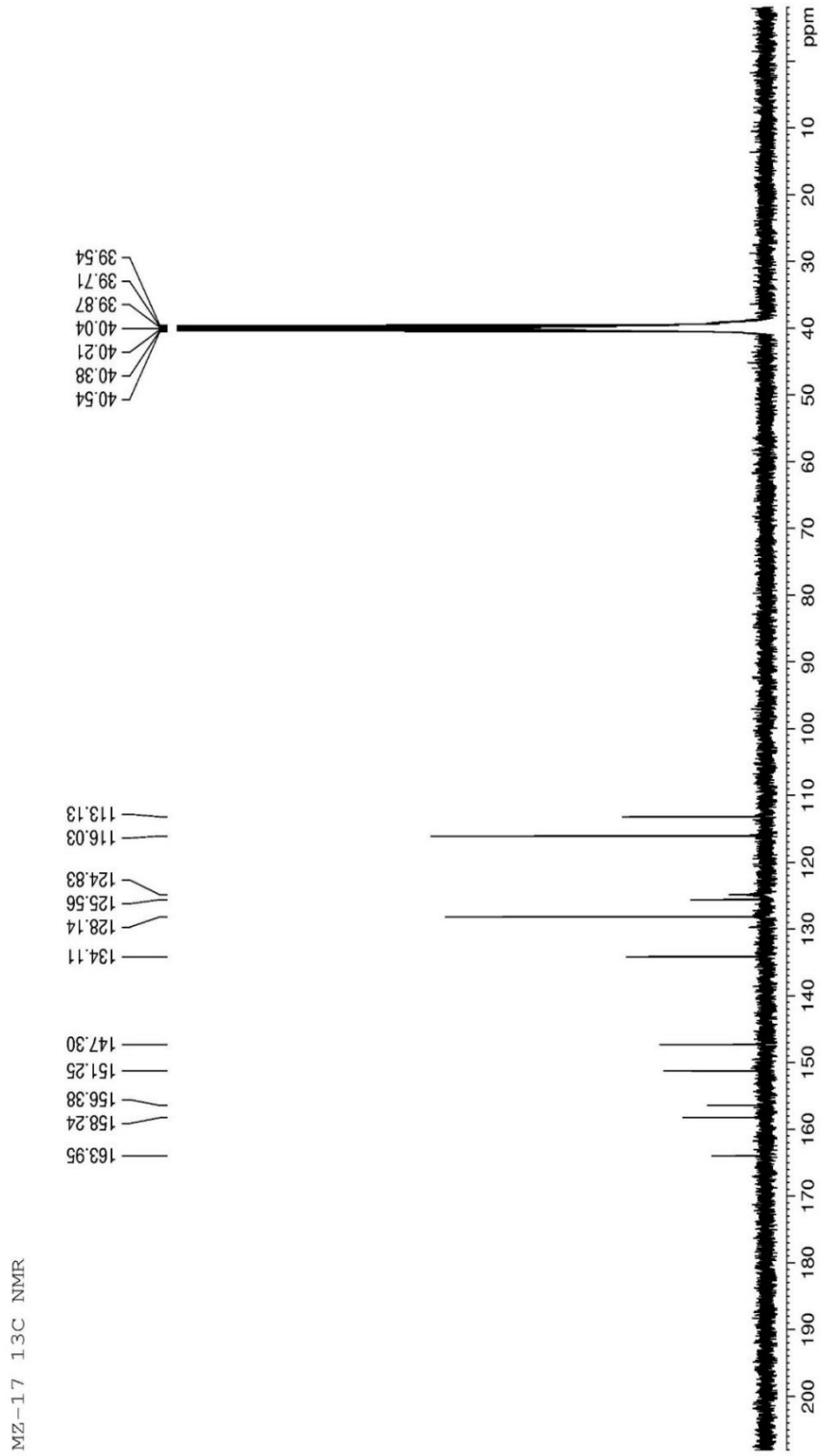
Ek 24 Bileşik 6'ya ait ^{13}C -NMR Spektrumu



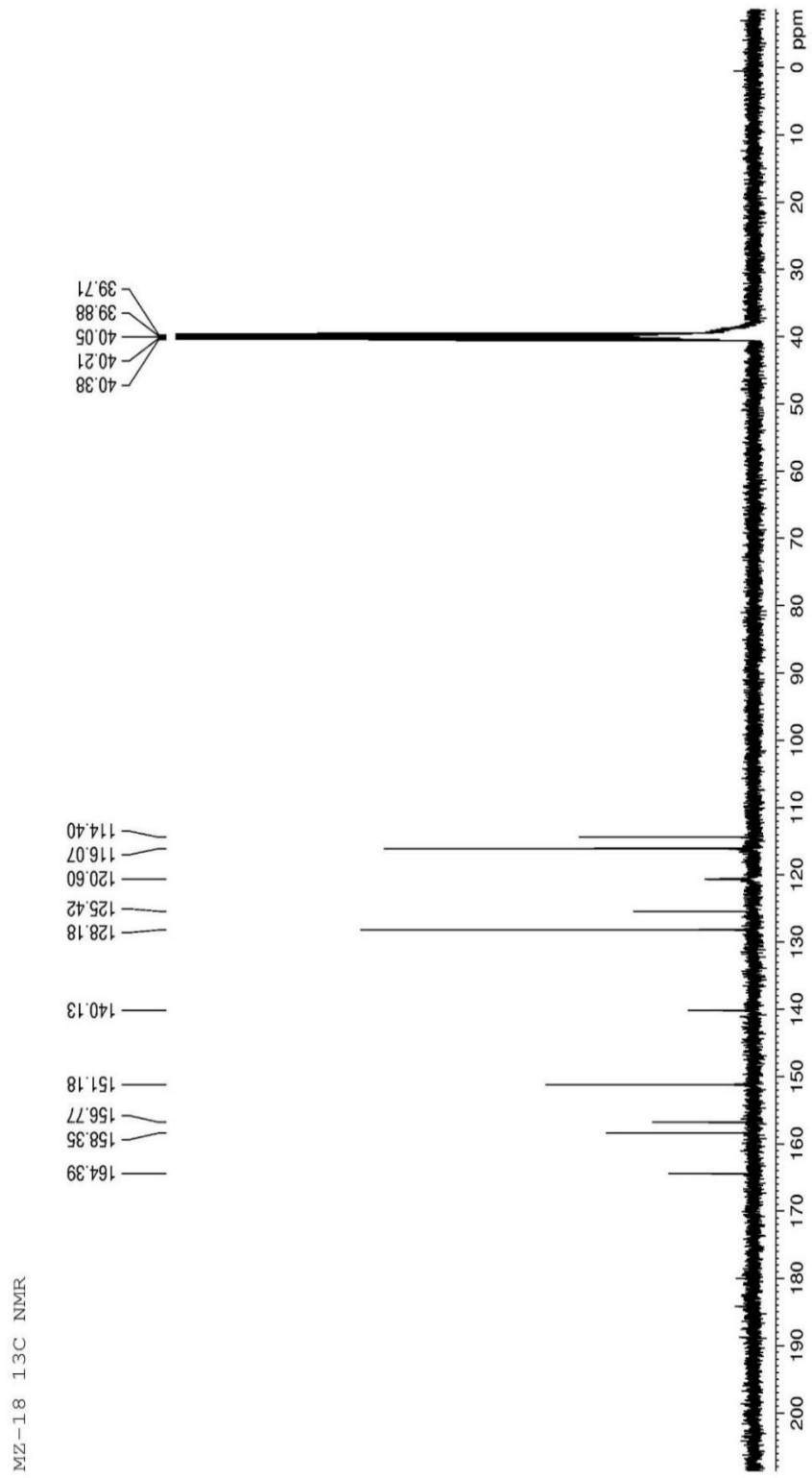
Ek 25 Bileşik 7'ye ait ^{13}C -NMR Spektrumu



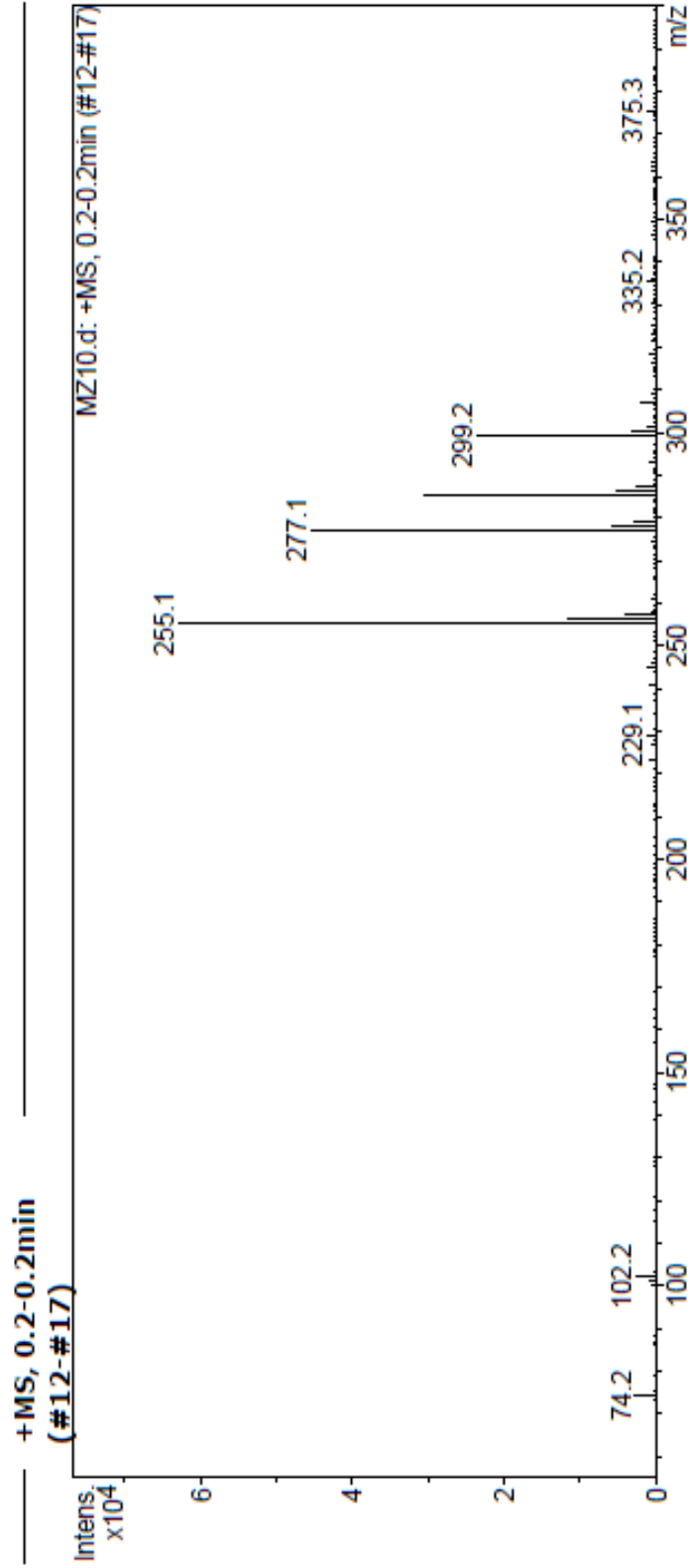
Ek 26 Bileşik 8'e ait ^{13}C -NMR Spektrumu



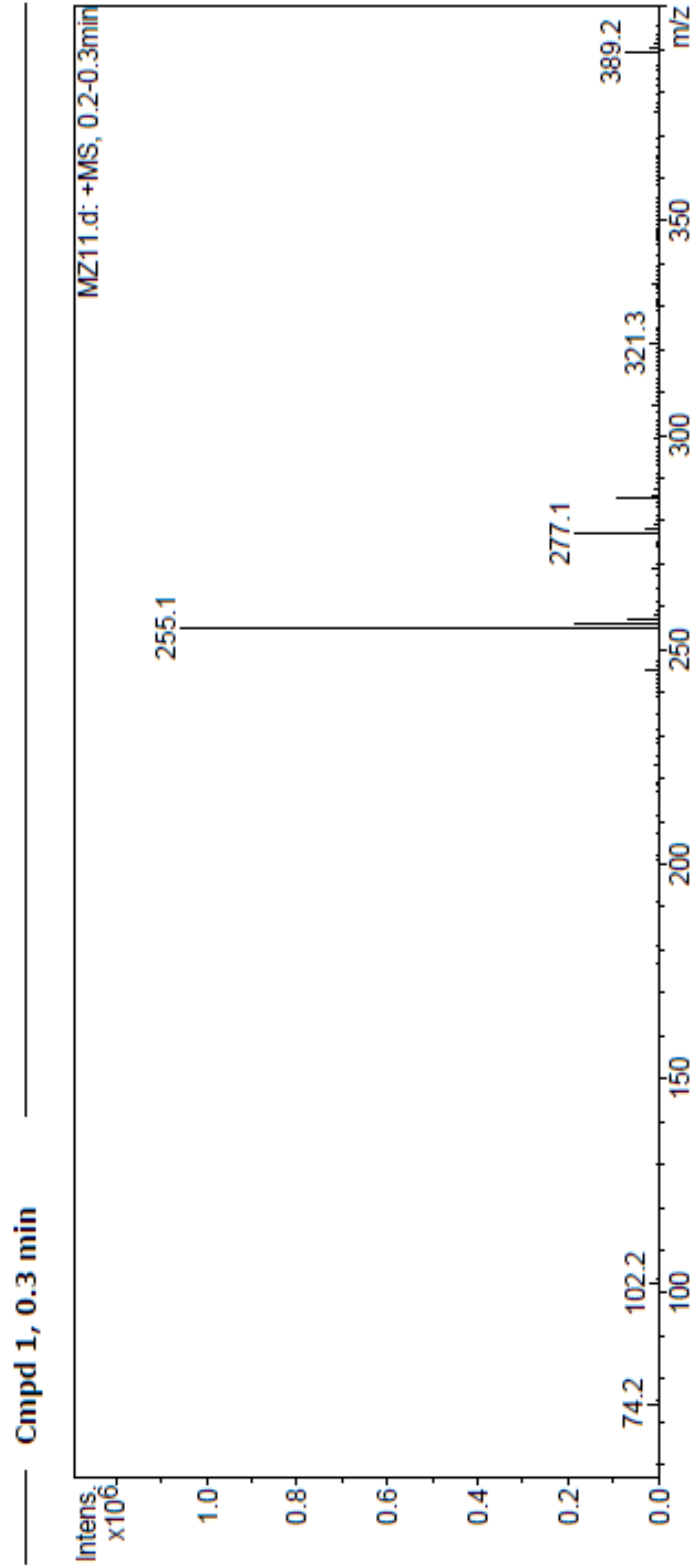
Ek 27 Bileşik 9'a ait ^{13}C -NMR Spektrumu



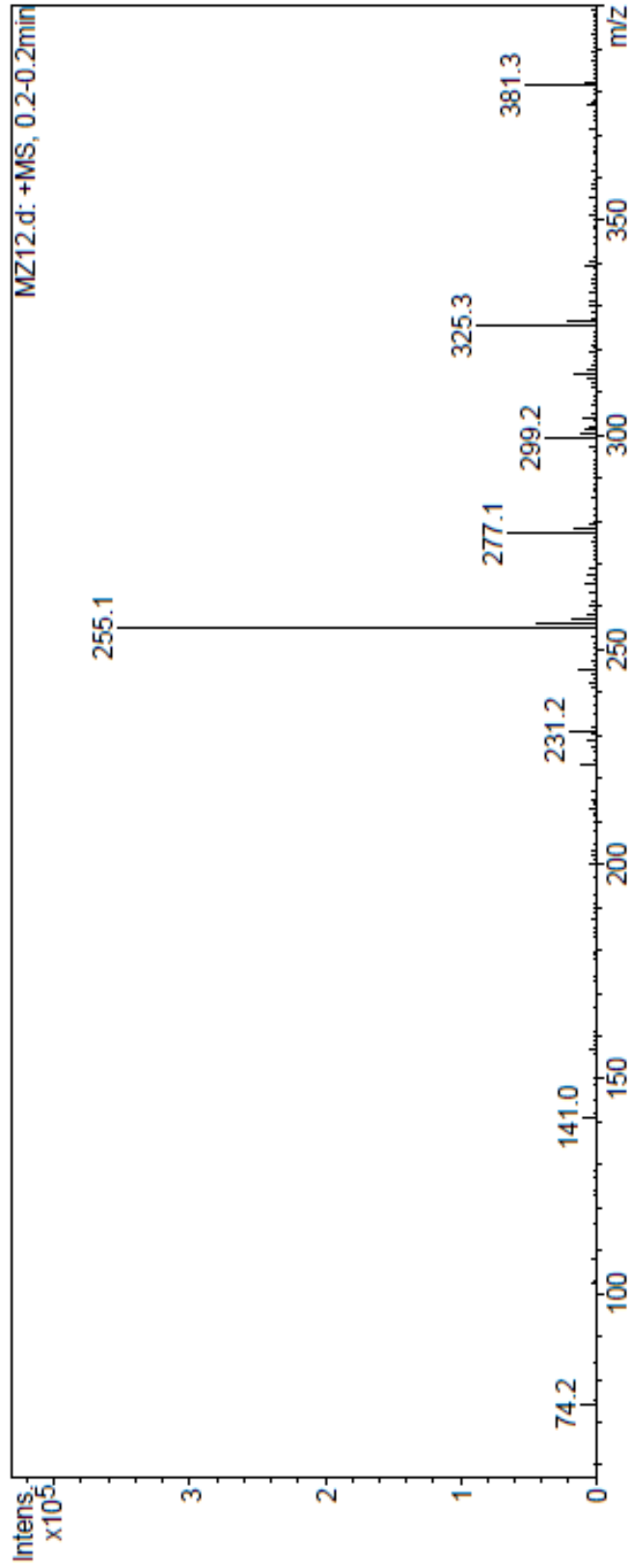
Ek 28 Bileşik 1'e ait Kütle Spektrumu



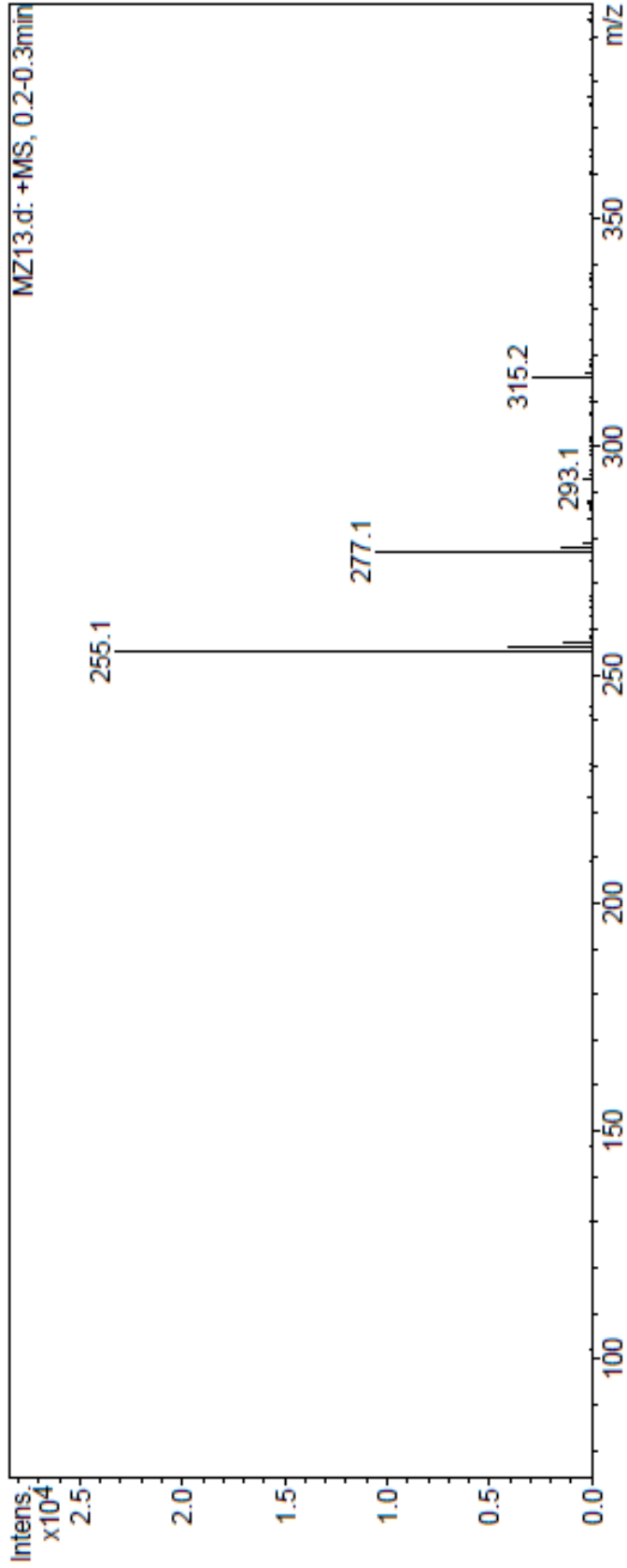
Ek 29 Bileşik 2'ye ait Kütle Spektrumu



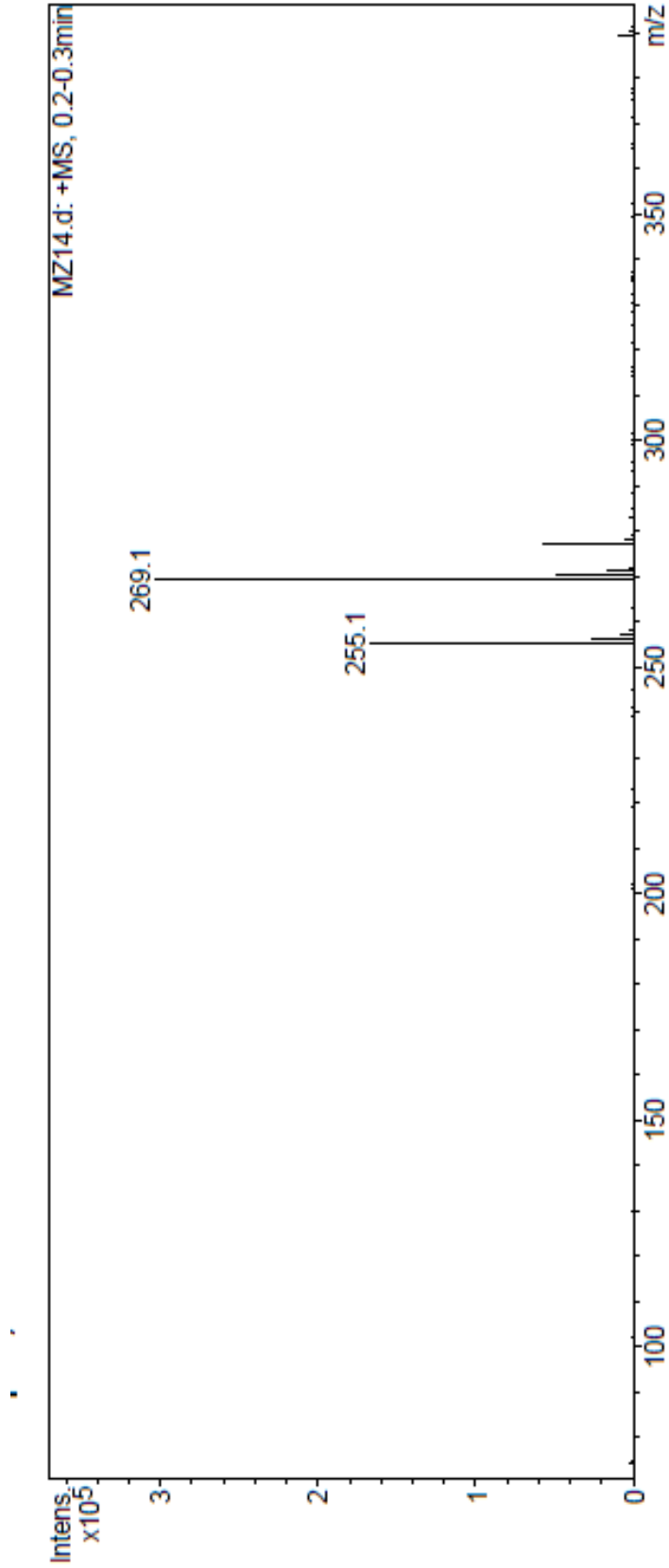
Ek 30 Bileşik 3'e ait Kütle Spektrumu



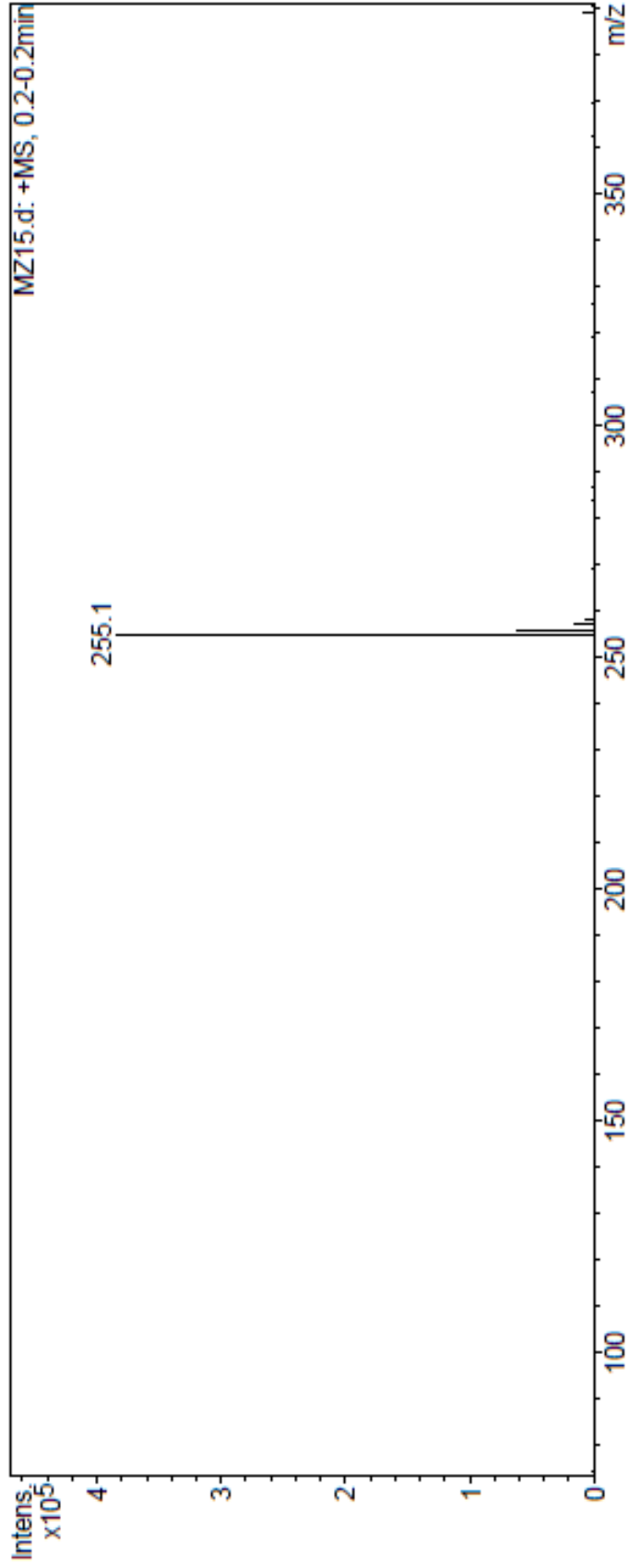
Ek 31 Bileşik 4'e ait Kütle Spektrumu



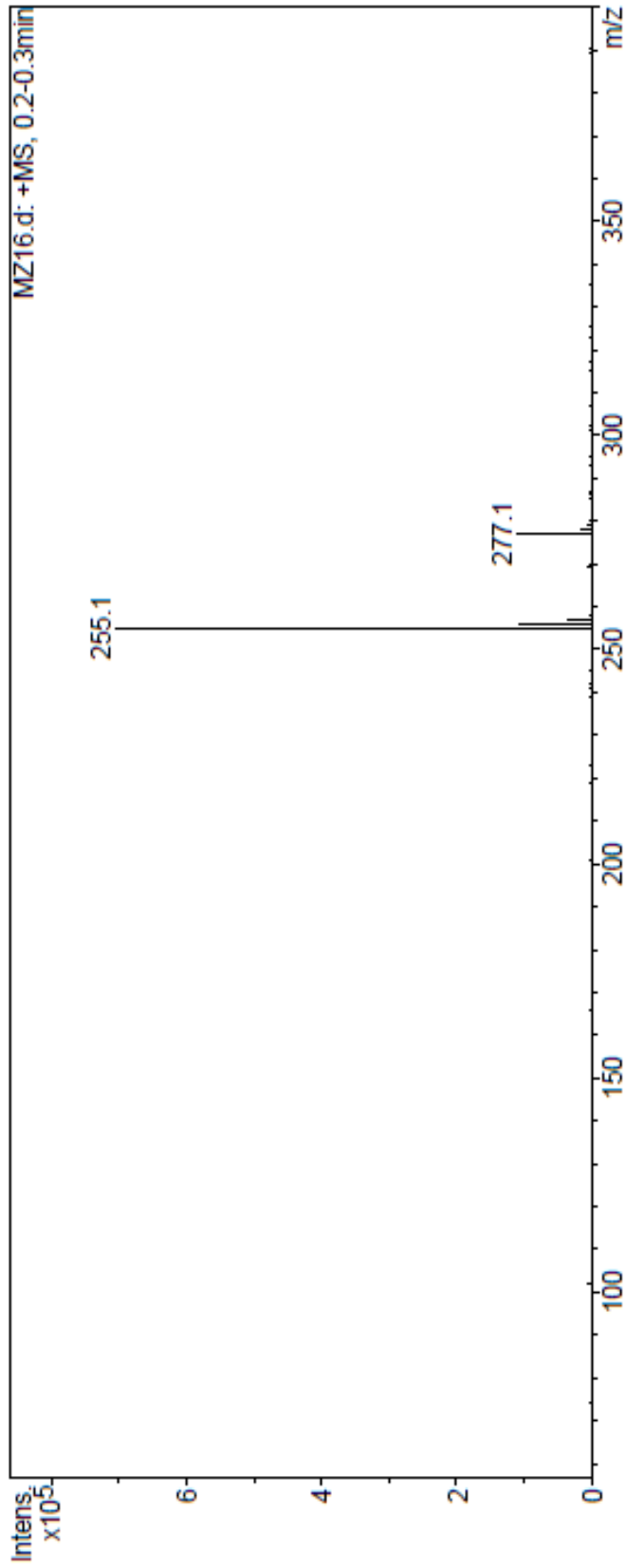
Ek 32 Bileşik 5'e ait Kütle Spektrumu



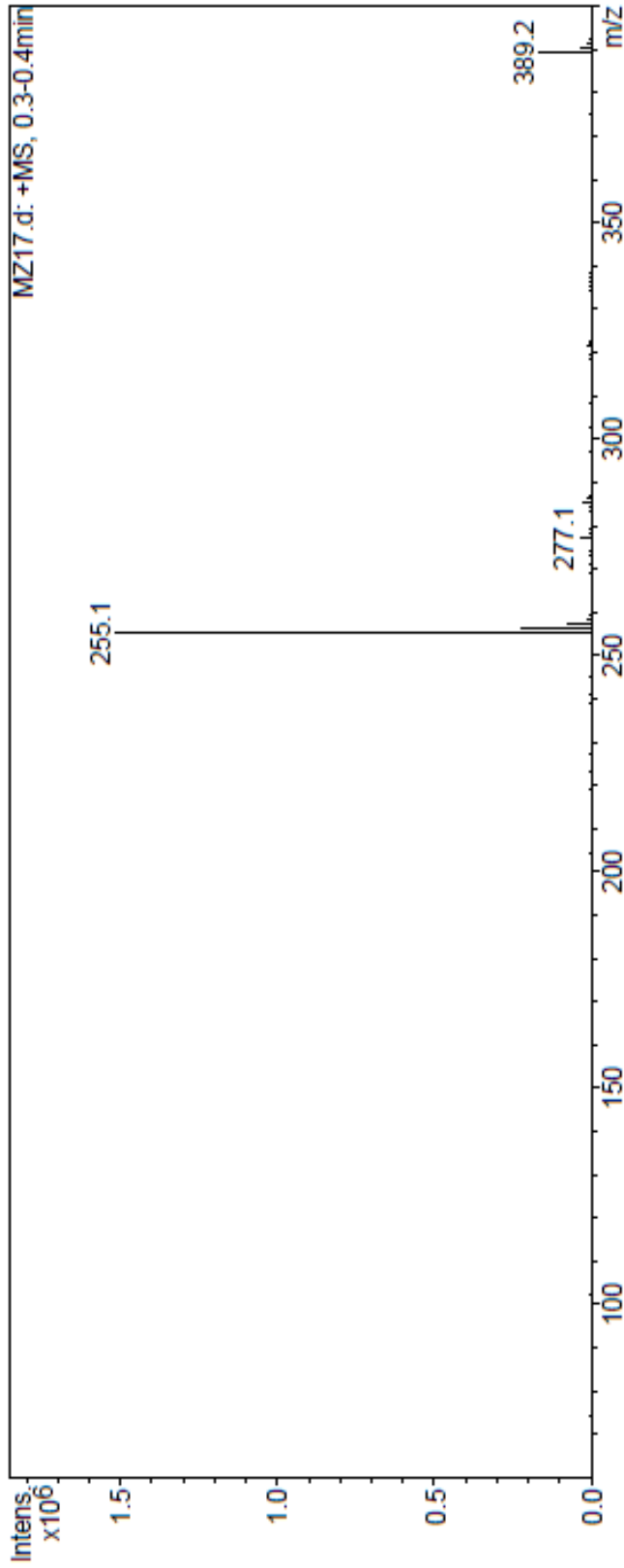
Ek 33 Bileşik 6'ya ait Kütle Spektrumu



Ek 34 Bileşik 7'ye ait Kütle Spektrumu



Ek 35 Bileşik 8'e ait Kütle Spektrumu



Ek 36 Bileşik 9'a ait Kütle Spektrumu

