

TARİFNAME

YENİ TİYOAMİD İKAMELİ PİPERAZİNİL-1,2,4-TRİAZİNLERİN SENTEZİ VE *in vitro* ANTİTÜMOR AKTİVİTELERİ

5

Teknik Alan

Bu buluş, yeni tiyoamid ikamelı pıperazınıl-1,2,4-triazınlere ve bunların kanser gibi habis hastalıkların tedavisinde kullanım potansiyellerine yöneliktir.

10

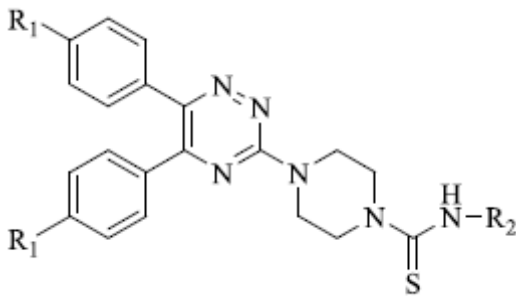
Önceki Teknik

Günümüzde kanser tedavisi hala karmaşık ve zorlu bir süreçtir. Kanser teşhisi konan kişilerin önemli bir oranı genellikle daha sonraki aşamalarda ölmektedir. Kanser tedavisi, radyoterapi, immünoterapi, cerrahi ve küçük moleküller içeren ilaç tedavisi gibi çeşitli yöntemlerden oluşmaktadır. Gliomalardan kaynaklanan beyin tümörleri kötü huylu, agresif ve tedavisi zordur. Beyin tümörlerinin tedavisinde temozolomid, sisplatin, kinaz inhibitörleri veya cAMP seviyelerini etkileyen bazı bileşikler gibi sadece birkaç ilaç bulunmaktadır. Bu bileşiklerin hiçbirisi son derece seçici veya güçlü değildir, ayrıca gliomalar için ilaç geliştirmede en çok hangi mekanik yol üzerinde durulması gerektiği çok açık değildir. Bu nedenle, glioma ve glioblastomalara karşı yeni güçlü büyüme inhibitörlerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

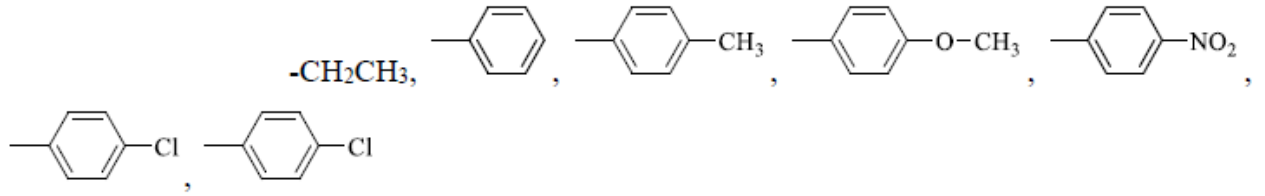
20

Buluşun Detaylı Açıklaması

25 Mevcut buluş, aşağıda gösterilen Formül I'in genel formülüne sahip yeni bileşiklere yöneliktir;



Burada R1, -H, -Cl, -OCH₃ içeren bir gruptan seçilebilmektedir ve R2, şunları içeren bir gruptan seçilebilmektedir;

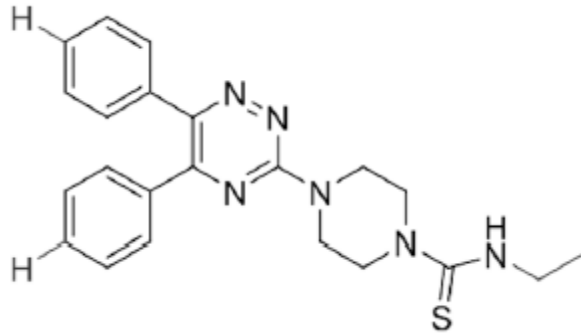


5

Buluşun bir yapılandırmasında, formül I'de gösterilen R1 grupları -H, -Cl, -OCH₃'ten seçilenlerle aynı olabilmektedir veya formül I'de gösterilen R1 grupları bağımsız olarak -H, -Cl, -OCH₃ grubundan seçilebilmektedir. Örneğin bir R1 grubu -H iken diğer R1 grubu -Cl vb. olabilmektedir.

10

Buluşun bir yapılandırmasında; mevcut buluşa göre bileşik, aşağıda gösterilen kimyasal yapıya sahip formül Ia olarak adlandırılmaktadır;

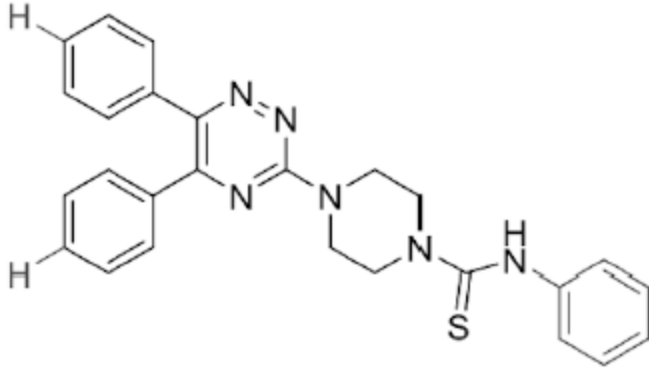


15

Formül Ia

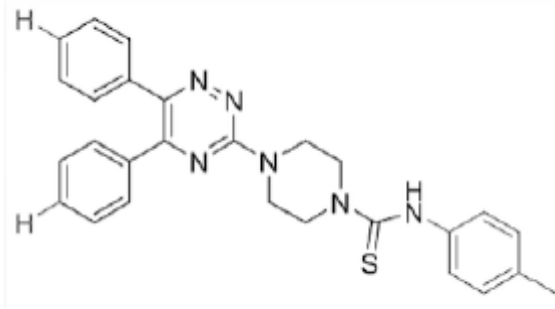
Buluşun bir yapılandırmasında; mevcut buluşa göre bileşik, aşağıda gösterilen kimyasal yapıya sahip formül Ib olarak adlandırılmaktadır;

20



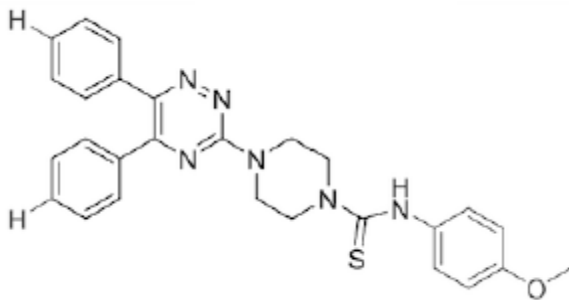
Formül Ib

- 5 Buluşun bir yapılandırmasında; mevcut buluşa göre bileşik, aşağıda gösterilen kimyasal yapıya sahip formül Ic olarak adlandırılmaktadır;



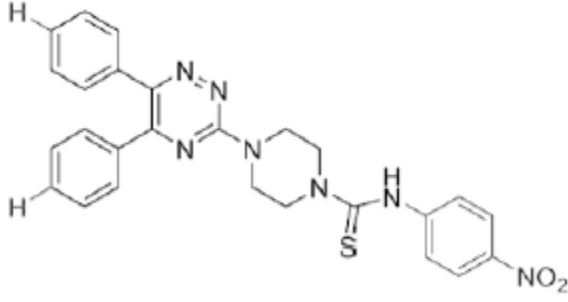
10 Formül Ic

- Buluşun bir yapılandırmasında; mevcut buluşa göre bileşik, aşağıda gösterilen kimyasal yapıya sahip formül Id olarak adlandırılmaktadır;



Formül Id

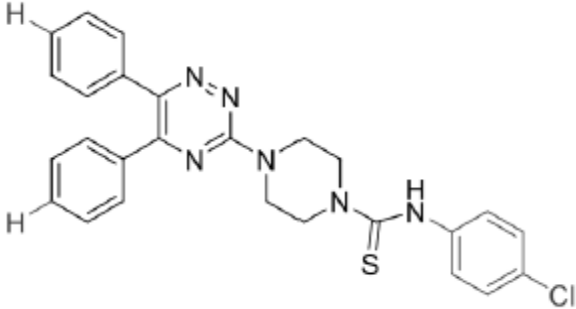
Buluşun bir yapılandırmasında; mevcut buluşa göre bileşik, aşağıda gösterilen kimyasal yapıya sahip formül Ie olarak adlandırılmaktadır;



Formül Ie

10

Buluşun bir yapılandırmasında; mevcut buluşa göre bileşik, aşağıda gösterilen kimyasal yapıya sahip formül If olarak adlandırılmaktadır;

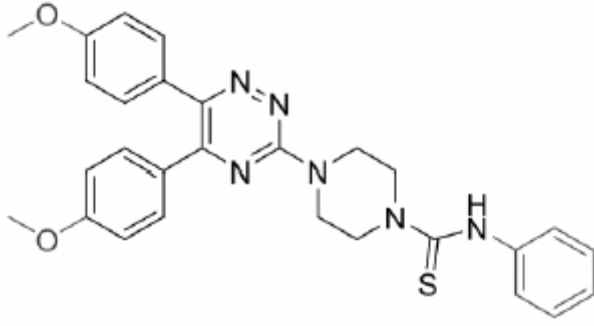


15

Formül If

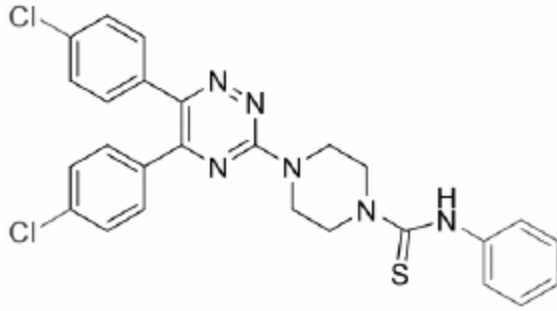
Buluşun bir yapılandırmasında; mevcut buluşa göre bileşik, aşağıda gösterilen kimyasal yapıya sahip formül Ig olarak adlandırılmaktadır;

20



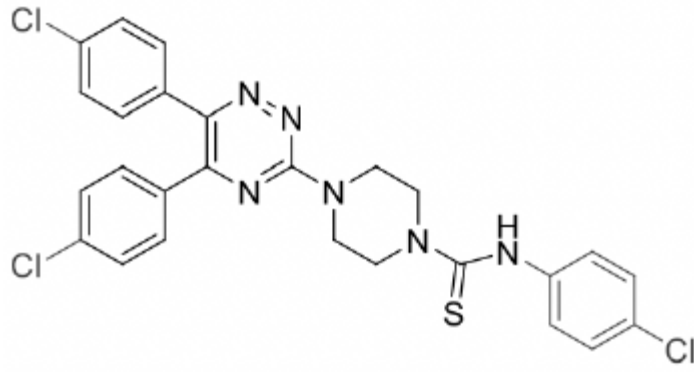
Formül Ig

- 5 Buluşun bir yapılandırmasında; mevcut buluşa göre bileşik, aşağıda gösterilen kimyasal yapıya sahip formül Ih olarak adlandırılmaktadır;



10 Formül Ih

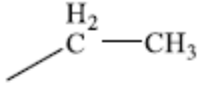
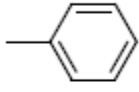
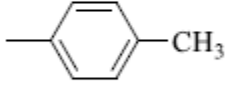
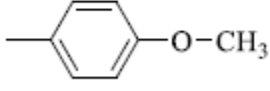
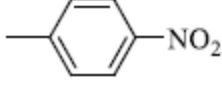
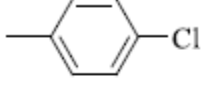
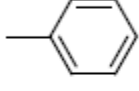
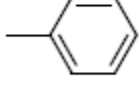
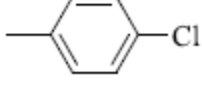
Buluşun bir yapılandırmasında; mevcut buluşa göre bileşik, aşağıda gösterilen kimyasal yapıya sahip formül Ii olarak adlandırılmaktadır;



Formül Ii

- 5 Buluşun tercih edilen bir yapılandırmasında, mevcut buluşa göre Formül Ia-i bileşikleri, R1 ve R2 gruplarına göre aşağıda Tablo 1’de gösterilmektedir;

Formül I		
Bileşik	R1	R2

Ia	H	
Ib	H	
Ic	H	
Id	H	
Ie	H	
If	H	
Ig	OCH3	
Ih	Cl	
Ii	Cl	

Tablo 1: Formül I'e göre bileşiklerin örnekleri

Buluşun bir başka yönüne göre, tarif edildiği gibi genel Formül I ile gösterilen moleküller,
5 neoplastik hastalıkların tedavisinde kullanılabilmektedir.

Buluşun bir yönü, neoplastik hastalıkların tedavisinde kullanım için genel formül I bileşiklerine yöneliktir.

10 Buluşun tercih edilen bir yapılandırması, neoplastik hastalıkların tedavisinde kullanım için formül Ia veya formül Ib veya formül Ic veya formül Id veya formül Ie veya formül If veya

formül Ig veya formül Ih veya formül Ii ile ilgilidir.

Buluş kapsamında kullanılan “neoplastik hastalıklar” terimi, örneğin malign tümörler veya kontrolsüz hücre büyümesi ile karakterize edilen kanser gibi fizyolojik bir duruma yöneliktir.

5 “Neoplastik hastalıklar” ve “kanser” terimleri birbirinin yerine kullanılabilir. Kanser örnekleri bunlarla sınırlı olmamakla birlikte karsinomları, lenfomaları, blastom sarkomlarını ve lösemiye içermektedir.

10 Burada kullanıldığı şekliyle karsinom, epitel hücrelerinden oluşan bir kanser tipini ifade etmektedir.

Burada kullanıldığı şekliyle lenfoma, lenfositlerden gelişen bir kanser türünü tanımlamaktadır.

15 Burada kullanıldığı şekliyle blastom, blast hücreleri olarak da bilinen öncü hücrelerden ilerleyen bir kanser tipini tanımlamaktadır.

Burada kullanıldığı şekliyle sarkom, mezenkimal orijinli değişmiş hücrelerden kaynaklanan kanser tipini ifade etmektedir.

20

Burada kullanıldığı şekliyle lösemi, kemik iliğinde indüklenen ve yüksek sayıda anormal beyaz kan hücresi oluşumuna neden olan kanser türünü ifade etmektedir.

25 Kanser türleri ile ilgili spesifik örnekler, meme kanseri, prostat kanseri, kolorektal kanser, cilt kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, mezotelyom, gastrointestinal kanser, pankreas kanseri, glioblastom, vulva kanseri, rahim ağzı kanseri, endometriyal karsinom, yumurtalık kanseri, karaciğer kanseri, hepatom, mesane kanseri, böbrek kanseri, tükürük bezi karsinomu, tiroid kanseri ve çeşitli baş ve boyun kanserlerini içermektedir. Buluşun tercih edilen bir yapılandırması, nöroblastoma, glioblastoma ve/veya
30 meme kanseri tedavisinde kullanım için Formül I veya Formül Ia, Formül Ib, Formül Ic, Formül Id, Formül Ie, Formül If, Formül Ig, Formül Ih, Formül Ii’ye ait bileşiktir.

Mevcut buluşa göre bileşikler, C6 glioma, U87MG glioblastoma, MCF7 meme tümörü, SH-SY5Y nöroblastoma ve HEK293 ve NIH3T3 sağlıklı hücre hatlarına karşı test edildi.

Buluş ayrıca buluşa göre genel Formül I ile gösterilen bileşikler içeren farmasötik bir bileşim ile ilgilidir.

- 5 Buluş ayrıca buluşa göre formül Ia veya formül Ib veya formül Ic veya formül Id veya formül Ie veya formül If veya formül Ig veya formül Ih veya formül Ii'ye ait bileşiği içeren farmasötik bir bileşim ile ilgilidir.

- 10 Söz konusu farmasötik bileşimler, genel Formül I ile gösterilen bileşiklere ek olarak veya tercih edilen bir yapılandırmada, buluşa göre formül Ia veya formül Ib veya formül Ic veya formül Id veya formül Ie veya formül If veya formül Ig veya formül Ih veya formül Ii'ye ait bileşiğe ek olarak en az bir başka aktif madde içerebilmektedir.

- 15 Buluşun bir başka yapılandırmasına göre, Formül I ile gösterilen buluşa ait bileşikler, antineoplastik ve/veya sitotoksik ve/veya antimetastatik etkileri olan diğer aktif maddelerle veya bu maddelerin ikisini/üçünü içeren kombinasyonlarla birlikte kullanılabilir. İkinci aktif madde sadece Formül I ile gösterilen bileşiklerle birlikte formüle edilmekle kalmaz, aynı zamanda Formül I'e ait bileşikten ayrı formüle edildikten sonra birlikte kullanılmaya uygun ambalajlarda da satılabilmektedir.

- 20 Buluşun başka bir yapılandırmasına göre, buluşa göre formül Ia veya formül Ib veya formül Ic veya formül Id veya formül Ie veya formül If veya formül Ig veya formül Ih veya formül Ii ile gösterilen buluşun bileşikler, antineoplastik ve/veya sitotoksik ve/veya antimetastatik etkileri olan diğer aktif maddelerle birlikte veya bu maddelerin ikisini/üçünü içeren kombinasyonlarla kullanılabilir. İkinci aktif madde sadece buluşa göre formül Ia veya formül Ib veya formül Ic veya formül Id veya formül Ie veya formül If veya formül Ig veya formül Ih veya formül Ii ile gösterilen bileşiklerle birlikte formüle edilmekle kalmaz, aynı zamanda Formül I'e ait bileşikten ayrı olarak formüle edildikten sonra birlikte kullanılmaya uygun ambalajlarda da satılabilmektedir.

- 30 Buluşun tercih edilen bir yapılandırmasına göre, Formül I ile gösterilen bileşikler, antineoplastik etkilere sahip en az bir aktif madde ile birleştirilmektedir.

Formül I ile gösterilen bileşiklerle kombinasyon halinde kullanılabilen söz konusu

antineoplastik etkileri sağlayan aktif bileşikler, siklofosamid, ifosfamid, temozolomid, kapesitabin, 5-floro urasil, metotreksat, gemitabin, pemetreksed, mitomisin, bleomisin, epirubisin, doksorubisin, etoposid, paklitaksel, irinotekan, osdosetaksel, vinkristin, opkarboplatin, sisplatin, okaliplatin, setkabesab, dibabesab, dibabek, rituksimab, sunitinib, zoledronat, abirateron, anastrozol, bikalutamid, eksemestan, goserelin, medroksiprogesteron, oktreotid, tamoksifen, bendamustin, karmustin, klorambusil, lomustin, melfalan, prokarbazin, streptozotosin fludarabin, raltitreksed, aktinomisin D, daktinomisin, doksorubisin, mitoksantron, eribulin, topotekan, vinblastin, vinorelbin, afatinib, aflibersept, krisotinib, dabrafenib, interferon, ipilimumab, lapatinib, nivolumab, panitumumab, pembrolizumab, pertuzumab, sorafenib, trastuzumab, emtansin, temsoril, vemurafenib, ibandronik asit, pamidronat, beksarotan, buserelin, Siproteron, degareliks, folinik asit, fulvestrant, lanreotid, lenalidomid, letrozol, leuprorelin, megestrol, mesna, talidomid veya bahsedilen maddelerden iki veya üçünü içeren kombinasyonlarından oluşan gruptan seçilebilmektedir.

15 Buluşun başka bir yapılandırmasına göre, en azından başka bir aktif madde, Formül I ile gösterilen bileşiklerle birlikte veya bunlardan ayrı olarak formüle edilebilmektedir ve en azından söz konusu diğer aktif maddeler, Formül I'e ait bileşikler ile aynı doza veya farklı bir doza sahip olabilmektedir.

20 Formül I'e ait bileşiklerle birlikte yukarıda bahsedilen en az bir başka aktif maddenin kullanılması durumunda, diğer aktif madde, Formül I'e ait madde(ler) ile aynı anda, art arda veya sırayla uygulanabilmektedir.

Formül Ia veya formül Ib veya formül Ic veya formül Id veya formül Ie veya formül If veya formül Ig veya formül Ih veya formül Ii'ye ait bileşiklerle birlikte yukarıda belirtilen en az bir başka aktif maddenin kullanılması durumunda, diğer aktif madde, formül Ia veya formül Ib veya formül Ic veya formül Id veya formül Ie veya formül If veya formül Ig veya formül Ih veya formül Ii'ye sahip maddelerle aynı anda, art arda veya sırayla uygulanabilmektedir.

30 Buluşa göre formülasyonlar, genel Formül I ile gösterilen aktif maddeye ek olarak en az bir ekşiپیان içerebilmektedir.

Buluşun tercih edilen bir yapılandırmasında, buluşa göre formülasyonlar, formül Ia veya formül Ib veya formül Ic veya formül Id veya formül Ie veya formül If veya formül Ig veya

formül I_h veya formül I_i ile gösterilen aktif maddeye ek olarak en az bir eksipiyan içerebilmektedir.

5 Formül I ile birlikte kullanılacak aktif maddelerin dozaj aralığı hastanın gereksinimlerine, hastalığın evresine ve kullanılacak aktif maddeye göre belirlenecektir. Spesifik bir duruma göre bir dozun belirlenmesi, teknikte uzman kişilerce bilinmektedir.

Buluş kapsamındaki “içeren” ifadesi aynı zamanda “kapsayan” anlamında da kullanılmaktadır.

10

Teknik olarak uygun olduğu durumlarda, buluşun yapılandırmaları birleştirilebilmektedir.

Yapılandırmalar, burada bahsedilen özellikleri/elemanları içerecek şekilde tarif edilmiştir. Açıklama, esasen, bahsedilen özellikleri/elemanları içeren yapılandırmaları veya bu 15 özelliklerden/elemanlardan oluşturulan diğer yapılandırmaları kapsamaktadır.

Patentler ve başvurular benzer teknik referanslarla bu belgelere dahil edilmiştir.

20 Açıkça açıklanan özel yapılandırmalar, tek başına veya birkaç yapılandırma ile birlikte feragat için bir temel oluşturabilmektedir.

Buluş, aşağıda sadece açıklama amacıyla verilmiş olan ve buluşun kapsamını sınırlandıracak şekilde yorumlanmaması gereken örneklere referansta bulunularak daha ayrıntılı olarak açıklanacaktır.

25

Örnekler:

Örnek 1: Mevcut buluşa göre bileşiklerin kimyasal sentezi

30 Tüm başlangıç malzemeleri, solventler ve reaktifler Sigma-Aldrich, VWR'den satın alındı ve Kızılötesi spektrumlar, Perkin Elmer Spectrum Two cihazında kaydedildi. ¹H ve ¹³C NMR spektrumları, Bruker 300-MHz UltraShield NMR Spektrofotometresinde (Bruker Corp, Billerica, Massachusetts, ABD); ve standart TMS kullanılarak DMSO-d₆'da ¹³C NMR, Bruker 75-MHz UltraShield NMR Spektrofotometresinde (Bruker Corp, Billerica,

Massachusetts, ABD) kaydedildi. Tüm ara bileşiklerin saflıkları, bir Silika Jel 60 F254 TLC plakası (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) ile ince tabaka kromatografisi (TLC) kullanılarak kontrol edildi. Erime noktaları, bir Stuart Erime Noktası Aparatı SMP30 (Staffordshire, BK) ile ölçüldü ve bileşiğin erimeye başladığı nokta kaydedilerek tanımlandı.

5 Bileşiklerin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumları, elektron püskürtme yöntemiyle (ESI) bir kütle spektrometresi kullanılarak bir Shimadzu 8040 LC/MS/MS ITTOF sistemi (Shimadzu, Tokyo, Japonya) üzerinde belirlendi.

Örnek 2: Benzil ve bis 4-metoksi benzil türevlerinin sentezi

10

Aldehit (1 eşdeğer) mutlak etanol içinde çözündürüldü ve 1.1 eşdeğer sodyum siyanür eklendi. Karışım, yaklaşık 2-3 saat süren reaksiyon tamamlanana kadar geri akıtıldı. Reaksiyon, solvent sistemi etil asetat 1:4 petrol eteri ile TLC ile kontrol edildi. Çöken ürün süzüldü ve her iki türev için su ve ardından etanol ile yıkandı. Ham ürün etanolden yeniden kristalleştirildi.

15 Elde edilen benzoin türevleri daha sonra benzil türevi elde etmek için AcOH içinde amonyum nitrat, bakır (II) asetat ile geri akıtıldı. Benzil (**1a**) erime noktası (95-96°C) açısından kontrol edildi ve yaygın literatür verileriyle uyumluydu. 4-metoksibenziller (1,2-bis-(4-metoksifenil)etandion) (**1b**) erime noktası beklendiği gibi 130-133°C olarak ölçülmüştür.

Örnek 3: Bis 4-klorobenzil sentezi

20

Aldehit (1 eşdeğer) mutlak etanol içinde çözündürüldü ve tiamin HCl (0.05 eşdeğer), TEA (0.3 eşdeğer) Stetter prosedürü 24 saat izlenerek ilave edildi. Tamamlandıktan sonra su ilave edildi ve ham ürün çöktüldü. Bir sonraki adımda kullanılmak üzere etanolden yeniden kristallendirildi.

25

Örnek 4: 3-metiltio-5,6-diaril-1,2,4-triazin türevlerinin sentezi

Önceki bir makaleyi takiben, bu türevler (**2a-c**), S-metil tiyosemikarbazid HI tuzu [7] kullanılarak benzillerden sentezlendi.

30

Örnek 5: 5,6-diaril-3-(piperazin-1-il)-1,2,4-triazin türevlerinin sentezi (3a-c)

Önceki adımın ürünü olarak, S-metil triazin türevi (1 eşdeğer) ve piperazin (4 eşdeğer) piridin

içinde çözündürüldü ve metil merkaptan kokusu tamamlanana kadar 6 saat geri akıtıldı. Reaksiyon karışımı soğutuldu, su eklendi ve meydana gelen çökelti süzüldü. Daha sonra su ile yıkandı ve kurutuldu. Bir sonraki adımda kullanılmak üzere etanolden yeniden kristallendirildi[7].

5

Örnek 6: Formül Ia-I bileşiklerinin genel sentezi

Önceki adımdan (1 eşdeğer) piperazinil triazin türevi, etanol içinde uygun izotiyosiyanat türevi (1 eşdeğer) ile reaksiyona sokuldu ve 6 saat geri akıtıldı. Oluşan çökeltme süzüldü ve etanolden yeniden kristalleştirildi.

10

4-(5,6-difenil-1,2,4-triazin-3-il)-N-etilpiperazin-1-karbotioamid (Formül Ia)

Verim: %70 mp.: 236-238°C. FT-IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3288.5 (N-H), 3053.1-2878.6 (C-H). ¹H NMR (300 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 1.13 (3H, t, *J*: 7.23 Hz, CH₃), 3.56 (2H, q, *J*: 5.29 Hz, CH₂), 3.98 (8H, brs, pip-CH₂), 7.24-7.29 (7H, m, Ar ve NH), 7.39-7.48 (3H, m, Ar), 7.79 (1H, d, *J*: 4.94 Hz, Ar). ¹³C NMR (75 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 15.01 (CH₃), 40.62 (etil CH₂), 43.14 (piperazin CH₂), 46.82 (piperazin CH₂), 126.88, 127.18, 127.83, 128.73, 129.38, 129.90, 130.27, 130.69, 131.77, 136.57, 136.68, 148.93 (triazin C₆), 155.88 (triazin C₅), 159.60 (triazin C₃), 181.64 (C=S). C₂₂H₂₄N₆S.

20

4-(5,6-difenil-1,2,4-triazin-3-il)-N-fenilpiperazin-1-karbotioamid (Formül Ib)

Verim: %75 mp.: 228-231°C. FT-IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3244.6 (N-H), 3050-2874 (C-H). ¹H NMR (300 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 4.05 (4H, brs, pip-CH₂), 4.12 (4H, brs, pip-CH₂), 7.09-7.17 (1H, m, Ar), 7.26-7.41 (11H, m, Ar), 7.41-7.50 (3H, m, Ar), 9.45 (1H, s, NH). ¹³C NMR (75 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 43.21 (piperazin CH₂), 47.80 (piperazin CH₂), 124.90, 125.83, 128.52, 128.77, 129.40, 129.92, 130.32, 130.73, 136.58, 136.69, 141.40, 149.01 (triazin C₆), 155.95 (triazin C₅), 159.62 (triazin C₃), 182.07 (C=S). C₂₆H₂₄N₆S.

30

4-(5,6-difenil-1,2,4-triazin-3-il)-N-(p-tolil)piperazin-1-karbotioamid (Formül Ic)

Verim: %71 mp.: 226-227.5°C. FT-IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3347.9 (N-H), 3100-2800 (C-H). ¹H NMR (300 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 2.28 (3H, s, CH₃), 4.04 (4H, brs, pip-CH₂), 4.11 (4H, brs,

pip-CH₂), 7.12 (2H, d, *J*: 8.25 Hz, Ar), 7.20 (2H, d, *J*: 8.46 Hz, Ar), 7.32-7.40 (7H, m, Ar), 7.41-7.50 (3H, m, Ar), 7.41-7.50 (3H, m, Ar), 9.38 (1H, s, NH). ¹³C NMR (75 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 21.01 (CH₃), 43.21 (piperazin CH₂), 47.73 (piperazin CH₂), 126.04, 128.76, 129.00, 129.40, 129.92, 130.27, 130.72, 134.11, 136.58, 136.69, 138.80, 149.00 (triazin C₆),
5 155.93 (triazin C₅), 159.62 (triazin C₃), 182.14 (C=S). C₂₇H₂₆N₆S.

4-(5,6-difenil-1,2,4-triazin-3-il)-N-(4-metoksifenil)piperazin-1-karbotioamid (Formül Id)

10 Verim: %64 mp.: 216-218°C. FT-IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3346 (N-H), 3100-2800 (C-H). ¹H NMR (300 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 3.75 (3H, s, OCH₃), 4.05 (4H, brs, pip-CH₂), 4.12 (4H, brs, pip-CH₂), 6.89 (2H, dd, *J*: 8.81 Hz, 1.94 Hz, Ar), 7.23 (2H, dd, *J*: 8.81 Hz, 1.94 Hz, Ar), 7.28-7.55 (10H, m, Ar), 9.34 (1H, s, NH). ¹³C NMR (75 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 43.21 (piperazin CH₂), 47.63 (piperazin CH₂), 55.67 (OCH₃), 113.73, 127.95, 128.74, 129.40, 129.92, 130.71,
15 134.24, 136.58, 136.70, 148.97 (triazin C₆), 155.89 (triazin C₅), 157.01 (triazin C₃), 159.61 (Ar C-OCH₃), 182.30 (C=S). C₂₇H₂₆N₆OS.

4-(5,6-difenil-1,2,4-triazin-3-il)-N-(4-nitrofenil)piperazin-1-karbotioamid (Formül Ie)

20 Verim: %60 mp.: 232-235°C. FT-IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3300.7 (N-H), 3100-2800 (C-H). ¹H NMR (300 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 4.08 (4H, brs, pip-CH₂), 4.15 (4H, brs, pip-CH₂), 7.32-7.40 (7H, m, Ar), 7.41-7.50 (3H, m, Ar), 7.67 (2H, d, *J*: 9.07 Hz, Ar), 8.18 (2H, dd, *J*: 7.09 Hz, 1.97 Hz, Ar), 9.97 (1H, s, NH). ¹³C NMR (75 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 43.18 (piperazin CH₂), 48.41 (piperazin CH₂), 123.12, 124.46, 128.77, 129.40, 129.91, 130.74, 136.55, 136.66,
25 142.60, 148.22, 149.07 (triazin C₆), 155.95 (triazin C₅), 159.58 (triazin C₃), 181.42 (C=S). C₂₆H₂₃N₇O₂S.

N-(4-klorofenil)-4-(5,6-difenil-1,2,4-triazin-3-il)piperazin-1-karbotioamid (Formül If)

30 Verim: %60 mp.: 222-225°C. FT-IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3323.6 (N-H), 3100-2800 (C-H). ¹H NMR (300 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 4.06 (4H, brs, pip-CH₂), 4.12 (4H, brs, pip-CH₂), 7.33-7.41 (11H, m, Ar), 7.41-7.50 (3H, m, Ar), 9.51 (1H, s, NH). ¹³C NMR (75 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 43.18 (piperazin CH₂), 47.84 (piperazin CH₂), 127.36, 127.87, 128.38, 128.77, 129.40, 129.92, 130.73, 136.58, 136.68, 140.42, 149.03 (triazin C₆), 155.96 (triazin C₅), 159.61

(triazin C₃), 181.91 (C=S). C₂₆H₂₃ClN₆S.

**4-(5,6-bis(4-metoksifenil)-1,2,4-triazin-3-il)-N-fenilpiperazin-1-karbotioamid
(Formül Ig)**

5

Verim: %80 mp.: 193-196°C. FT-IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3345 (N-H), 3100-2838.7(C-H). ¹H NMR (300 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 3.78 (6H, s, CH₃), 4.02 (4H, brs, pip-CH₂), 4.11 (4H, brs, pip-CH₂), 6.93 (2H, d, *J*: 5.90 Hz, Ar), 6.96 (2H, d, *J*: 5.81 Hz, Ar), 7.09-7.16 (1H, m, Ar), 7.27-7.37 (6H, m, Ar), 7.48 (2H, d, *J*: 8.88 Hz, Ar), 9.44 (1H, s, NH). ¹³C NMR (75 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 43.22 (piperazin CH₂), 47.84 (piperazin CH₂), 55.70 (OCH₃), 114.25, 114.34, 125.81, 128.51, 128.65, 129.29, 130.57, 131.66, 141.41, 148.61 (triazin C₆), 154.99 (triazin C₅), 159.46 (triazin C₃), 159.72 (Ar C-OCH₃), 161.44 (Ar C-OCH₃), 182.05 (C=S). C₂₈H₂₈N₆O₂S.

10

15 **4-(5,6-bis(4-klorofenil)-1,2,4-triazin-3-il)-N-fenilpiperazin-1-karbotioamid (Formül Ih)**

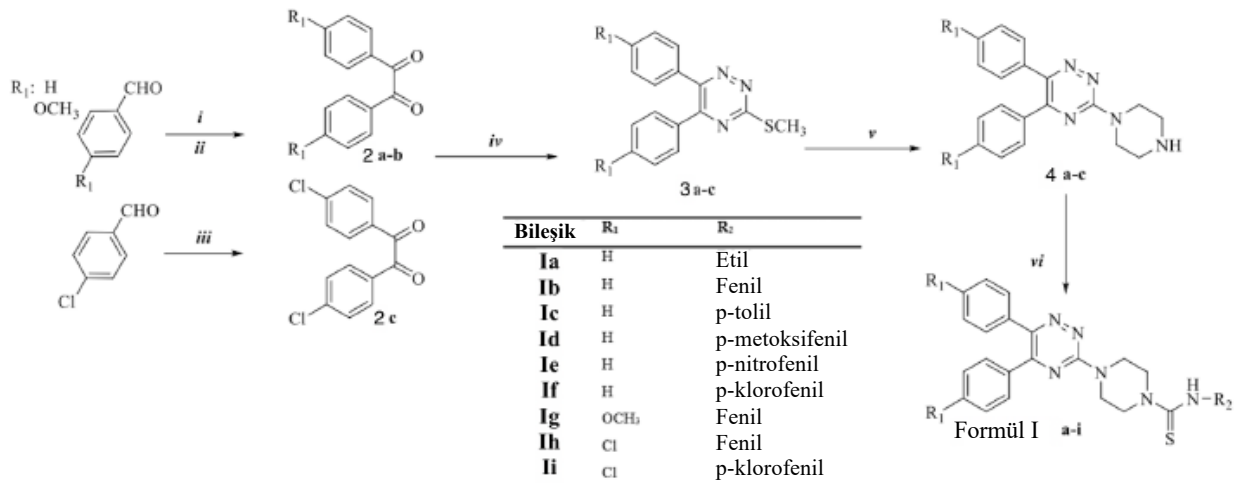
Verim: %76 mp.: 220-222.8°C. FT-IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3347.6 (N-H), 3000-2850 (C-H). ¹H NMR (300 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 4.06 (4H, brs, pip-CH₂), 4.11 (4H, brs, pip-CH₂), 7.09-7.16 (1H, m, Ar), 7.28-7.36 (4H, m, Ar), 7.37-7.53 (8H, m, Ar), 9.45 (1H, s, NH). ¹³C NMR (75 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 43.21 (piperazin CH₂), 47.77 (piperazin CH₂), 124.91, 125.82, 128.52, 129.01, 131.18, 131.84, 133.73, 135.23, 135.34, 135.81, 141.38, 147.76 (triazin C₆), 154.90 (triazin C₅), 159.55 (triazin C₃), 182.09 (C=S). C₂₆H₂₂Cl₂N₆S

20

25 **4-(5,6-bis(4-klorofenil)-1,2,4-triazin-3-il)-N-(4-klorofenil)piperazin-1-karbotioamid (Formül Ii)**

Verim: %75 mp.: 191-197°C. FT-IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3300 (N-H), 2868.5-3000 (C-H). ¹H NMR (300 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 4.06 (4H, brs, pip-CH₂), 4.12 (4H, brs, pip-CH₂), 7.35-7.40 (4H, m, Ar), 7.40-7.52 (8H, m, Ar), 9.50 (1H, s, NH). ¹³C NMR (75 MHz) DMSO-*d*₆ δ (ppm): 43.17 (piperazin CH₂), 47.80 (piperazin CH₂), 127.36, 128.39, 128.81, 129.02, 131.18, 131.83, 133.74, 135.22, 135.33, 135.82, 140.40, 147.78 (triazin C₆), 154.91 (triazin C₅), 159.53 (triazin C₃), 181.91 (C=S). C₂₆H₂₁Cl₃N₆S

30



Şema 1: Mevcut buluşa göre bileşiklerin sentezi için örnek sentetik yol (*i*: 1 eşdeğer aldehit, 1.1 eşdeğer sodyum siyanür, etanol, geri akış 2 saat; *ii*: amonyum nitrat, bakır(II)asetat, benzoin türevi, AcOH geri akış 4 saat; *iii*: tiamin HCl (0.05 eş), aldehit (1 eş), etanol, TEA (0.3 eş), oda sıcaklığı 24 saat; *iv*: NaHCO₃, CH₃OH, geri akış 3 saat; *v*: piridin, geri akış 6 saat, *vi*: EtOH, geri akış, 6 saat).

Örnek 7: Biyolojik aktivite testleri

Hücre kültürü

Çalışmada kullanılan hücre hatları şu şekildedir: SH-SY5Y, C6, HEK293, U87MG, MCF7, NIH3T3. Tüm hücreler, hacim cinsinden %10 Fetal Bovin Serum (Kat. No:10500064, Gibco, ABD), hacim cinsinden %10 Penisilin-Streptomisin (10,000 U/mL) (Kat. No:15140122, Gibco, ABD) içeren Dulbecco Modifiye Eagle MEM - yüksek glikozda (Kat. No:41966029, Gibco, ABD) kültürlendi ve çoğaltıldı.

MTT analizi

Hücrelerin canlılığını değerlendirmek için MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)) yöntemi uygulandı. Başlangıçta hücreler 96 kuyucuklu plakalara (VWR-10062900) 10,000 hücre/kuyucuk yoğunluğunda ekildi ve inkübatörde 37°C'de %5 CO₂ ile 24 saat inkübe

edildi. Daha sonra hücreler, 24 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda test edilen bileşiklerle inkübe edildi. Moleküllerde inkübasyonun tamamlanmasından sonra, tüm ortamlar çıkarıldı ve her kuyucuğa 50 µl MTT (Gold Biotechnology T-030) solüsyonu eklendi ve plaklar 3 saat daha inkübe edildi, akabinde izopropanol (Kat. No:278475, Sigma-Aldrich, Almanya) içinde %0.1 Triton X-100 (Kat. No:A4025, Biomatik, ABD) ve 4mM HCl (Kat. No:07102, Sigma-Aldrich, Almanya) içeren 150 µl MTT çözündürme karışımı eklendi. Solüsyon, MTT formazan kristallerini çözmek için 15 dakika yavaş yavaş karıştırıldı ve her kuyucuğun absorbansı, 570 nm dalga boyunda HIDEK Sense Mikroplaka Okuyucusu (Kat. No:425-301, HIDEK, Finlandiya) ile ölçüldü. Yüzde sitotoksosite ve IC₅₀ değerleri hesaplandı ve sonuçlar aşağıdaki Tablo 2’de gösterilmektedir.

	% inhibisyon (50 µM)			IC ₅₀ (µM)			SI
	SH-SY5Y	C6	HEK293	U87MG	MCF7	NIH-3T3	U87MG/NIH3T3, MCF7/NIH3T3
1a	47.33	37.10	97.30	29.68	62.83	33.16	0.89, 1.89
1b	84.90	86.10	96.10	45.98	ND	42.57	1.08, ND
1c	61.60	46.80	92.60	ND	73.12	ND	ND, ND
1d	68.00	93.30	98.00	55.02	61.56	ND	ND, ND
1e	21.90	94.40	95.90	ND	ND	ND	ND, ND
1f	94.10	66.60	73.60	59.15	ND	65.32	0.90, ND
1g	46.20	63.70	97.40	68.12	91.15	76.03	0.89, 1.19

1h	87.90	77.90	87.40	ND	77.16	40.17	ND, 1.92
1i	83.60	78.30	68.40	98.57	ND	81.53	1,21, ND
Sisplatin	97.80	79.02	52.60	10.01	3.55	2.05	4.88, 1.73

REFERANSLAR

[1] P.L. Bedard, D.M. Hyman, M.S. Davids, L.L. Siu, Small molecules, big impact: 20 years of targeted therapy in oncology, *Lancet*, 395 (2020) 1078-1088.

[2] K. Bukowski, M. Kciuk, R. Kontek, Mechanisms of Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapy, *Int J Mol Sci*, 21 (2020).

[3] I.R. Whittle, D.M. Short, R.F. Deighton, L.E. Kerr, C. Smith, J. McCulloch, Proteomic analysis of gliomas, *Br J Neurosurg*, 21 (2007) 576-582.

[4] R. Sengupta, T. Sun, N.M. Warrington, J.B. Rubin, Treating brain tumors with PDE4 inhibitors, *Trends Pharmacol Sci*, 32 (2011) 337-344.

[5] P. Goldhoff, N.M. Warrington, D.D. Limbrick, Jr., A. Hope, B.M. Woerner, E. Jackson, A. Perry, D. Piwnica-Worms, J.B. Rubin, Targeted inhibition of cyclic AMP phosphodiesterase-4 promotes brain tumor regression, *Clin Cancer Res*, 14 (2008) 7717-7725.

[6] Z. Sahin, S.N. Biltekin, L. Yurttas, B. Berk, Y. Ozhan, H. Sipahi, Z.G. Gao, K.A. Jacobson, S. Demirayak, Novel cyanothiouracil and cyanothiocytosine derivatives as concentration-dependent selective inhibitors of U87MG glioblastomas: Adenosine receptor binding and potent PDE4 inhibition, *Eur J Med Chem*, 212 (2021) 113125.

[7] L. Yurttas, S. Demirayak, S. Ilgin, O. Atli, In vitro antitumor activity evaluation of some 1,2,4-triazine derivatives bearing piperazine amide moiety against breast cancer cells, *Bioorg Med Chem*, 22 (2014) 6313-6323.

[8] T.T. Kucukkilinc, K.S. Yanghagh, B. Ayazgok, M.A. Roknipoor, F.H. Moghadam, A. Moradi, S. Emami, M. Amini, H. Irannejad, Synthesis and neuroprotective activity of novel 1,2,4-triazine derivatives with ethyl acetate moiety against H₂O₂ and A beta-induced neurotoxicity, *Med Chem Res*, 26 (2017) 3057-3071.

5

[9] F.E. Bleeker, R.J. Molenaar, S. Leenstra, Recent advances in the molecular understanding of glioblastoma, *J Neuro-Oncol*, 108 (2012) 11-27.

[10] F.E. Bleeker, S. Lamba, C. Zanon, R.J. Molenaar, T.J.M. Hulsebos, D. Troost, A.A. van Tilborg, W.P. Vandertop, S. Leenstra, C.J.F. van Noorden, A. Bardelli, Mutational profiling of kinases in glioblastoma, *Bmc Cancer*, 14 (2014).

[11] J. Pei, K.S. Moon, S. Pan, K.H. Lee, H.H. Ryu, T.Y. Jung, I.Y. Kim, W.Y. Jang, C.H. Jung, S. Jung, Proteomic Analysis between U87MG and U343MG-A Cell Lines: Searching for Candidate Proteins for Glioma Invasion, *Brain Tumor Res Treat*, 2 (2014) 22-28.

15

[12] S. Cascioferro, B. Parrino, V. Spano, A. Carbone, A. Montalbano, P. Barraja, P. Diana, G. Cirrincione, An overview on the recent developments of 1,2,4-triazine derivatives as anticancer compounds, *Eur J Med Chem*, 142 (2017) 328-375.

20

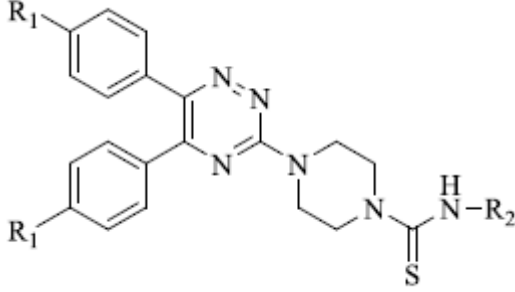
[13] S. Cascioferro, B. Parrino, V. Spano, A. Carbone, A. Montalbano, P. Barraja, P. Diana, G. Cirrincione, 1,3,5-Triazines: A promising scaffold for anticancer drugs development, *Eur J Med Chem*, 142 (2017) 523-549.

[14] M.K. Abou-Elregal, A.T.A. Mohamed, A.S.A. Youssef, M.M. Hemdan, S.S. Samir, W.S.I. Abou-Elmagd, Synthesis and antitumor activity evaluation of some 1, 2, 4-triazine and fused triazine derivatives, *Synthetic Commun*, 48 (2018) 2347-2357.

25

İSTEMLER

1. Formül I'e ait formül ile gösterilen bir antineoplastik bileşik olup,



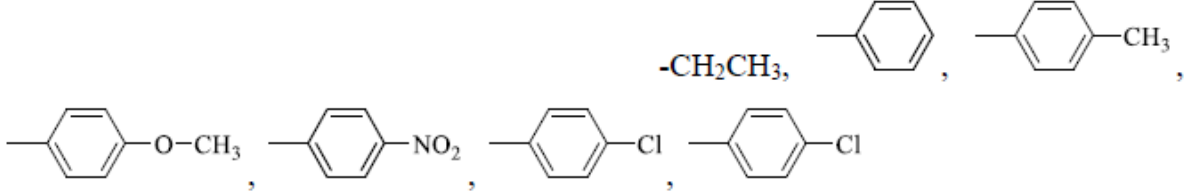
5

burada;

- R1, -H, -Cl, -OCH₃ içeren bir gruptan seçilmektedir ve

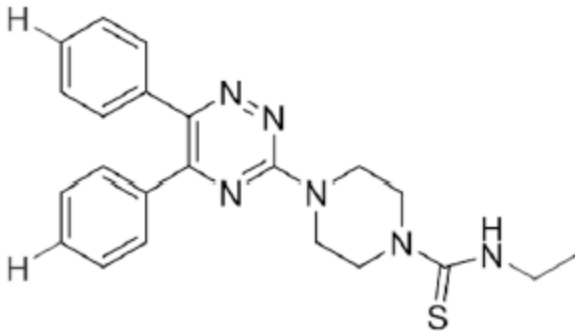
10

- R2, şunları içeren bir gruptan seçilmektedir;



2. İstem 1'e göre formül I'e ait bir bileşik olup, formül Ia ile gösterilen kimyasal yapıya sahiptir

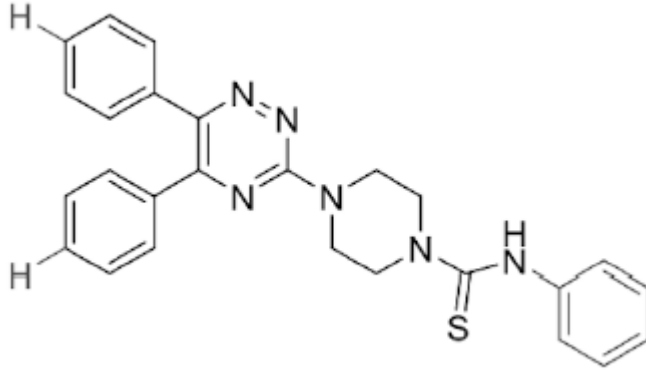
15



Formül Ia

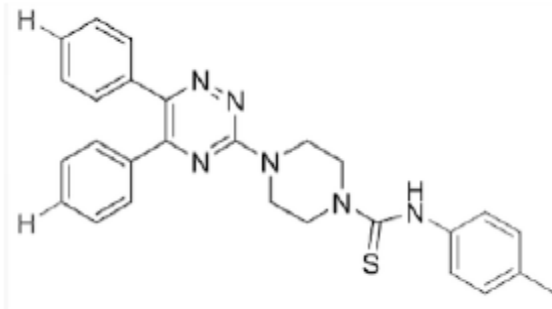
3. İstem 1'e göre formül I'e ait bir bileşik olup, formül Ib ile gösterilen kimyasal yapıya sahiptir

5



Formül Ib

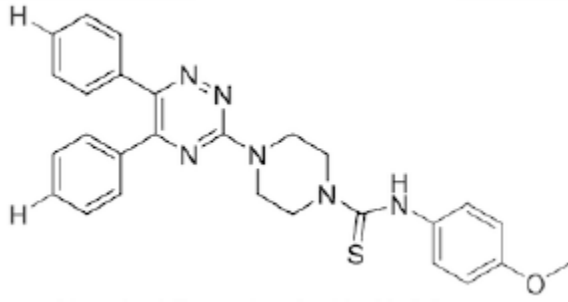
- 10 4. İstem 1'e göre formül I'e ait bir bileşik olup, formül Ic ile gösterilen kimyasal yapıya sahiptir



15

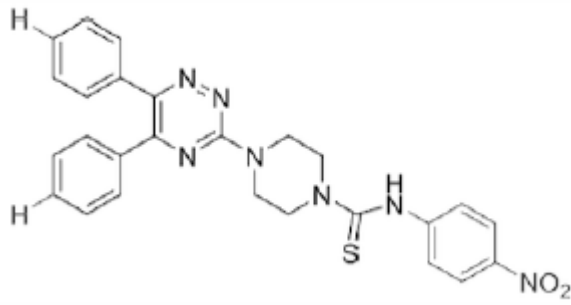
Formül Ic

5. İstem 1'e göre formül I'e ait bir bileşik olup, formül Id ile gösterilen kimyasal yapıya sahiptir



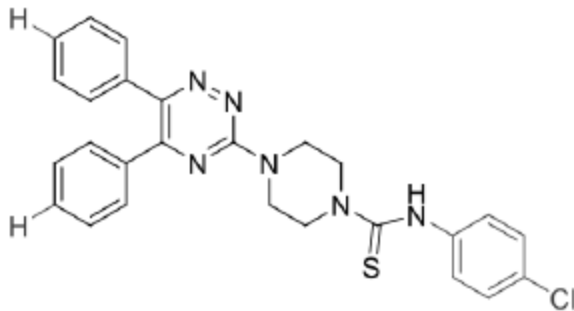
Formül Id

- 5 6. İstem 1'e göre formül I'e ait bir bileşik olup, formül Ie ile gösterilen kimyasal yapıya sahiptir



10 Formül Ie

7. İstem 1'e göre formül I'e ait bir bileşik olup, formül If ile gösterilen kimyasal yapıya sahiptir

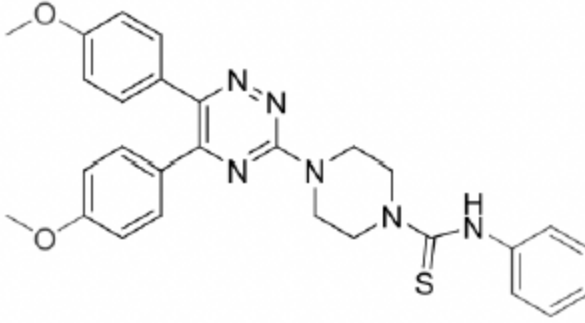


15

Formül If

8. İstem 1'e göre formül I'e ait bir bileşik olup, formül Ig ile gösterilen kimyasal yapıya sahiptir

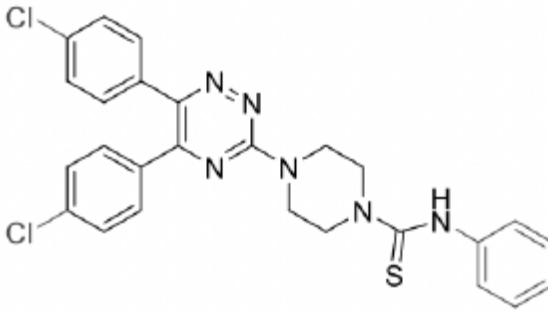
5



Formül Ig

10

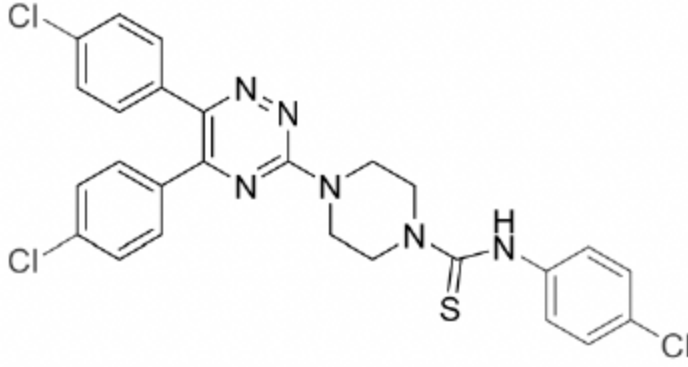
9. İstem 1'e göre formül I'e ait bir bileşik olup, formül Ih ile gösterilen kimyasal yapıya sahiptir



15

Formül Ih

10. İstem 1'e göre formül I'e ait bir bileşik olup, formül Ii ile gösterilen kimyasal yapıya sahiptir



Formül Ii

- 5 **11.** Neoplastik hastalıkların tedavisinde kullanım için istemler 1-10'dan herhangi birine göre formül I'e ait bileşik.
- 10 **12.** Meme kanseri, prostat kanseri, kolorektal kanser, cilt kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, mezotelyom, gastrointestinal kanser, pankreas kanseri, glioblastoma, vulva kanseri, rahim ağzı kanseri, endometriyal karsinom, yumurtalık kanseri, karaciğer kanseri, hepatom, mesane kanseri, böbrek kanseri, tükürük bezi kanseri, tiroid kanseri ve çeşitli baş ve boyun kanserlerinin tedavisinde kullanım için istem 11'e göre formül I'e ait bileşik.
- 15 **13.** Nöroblastoma, glioblastoma ve/veya meme kanseri tedavisinde kullanım için istem 11 veya 12'ye göre formül I'e ait bileşik.
- 20 **14.** Aktif madde olarak istemler 1-10'dan herhangi birine göre formül I'in bir bileşimini içeren farmasötik bileşimler.
- 15.** Ayrıca antineoplastik maddeler, sitotoksik maddeler ve/veya antimetastatik maddeler arasından seçilen en az bir başka aktif madde içeren istem 14'e göre farmasötik bileşim.
- 25 **16.** Ayrıca farmasötik olarak kabul edilebilir en az bir ekşiپیان içeren istemler 14 veya 15'ten herhangi birine göre farmasötik bileşim.

ÖZET

YENİ TİYOAMİD İKAMELİ PİPERAZİNİL-1,2,4-TRİAZİNLERİN SENTEZİ VE IN VİTRO ANTİTÜMOR AKTİVİTELERİ

5

Bu buluş, yeni tiyoamid ikameli piperazinil-1,2,4-triazinlere ve bunların kanser gibi habis hastalıkların tedavisinde kullanım potansiyellerine yöneliktir.