

**2-(SÜBSTİTÜFENİL)-5-(SÜBSTİTÜEHETEROARİL)-
1H-BENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ
ve BİYOLOJİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Ulviye ACAR ÇEVİK

Eskişehir 2019

**2-(SÜBSTİTÜFENİL)-5-(SÜBSTİTÜEHETEROARİL)-1H-
BENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ULVIYE ACAR ÇEVİK

DOKTORA TEZİ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Mayıs 2019

Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 1706S381 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Bize Şans Getiren Meleğim Nil'ime...

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Ulviye ACAR ÇEVİK'in "2-(Sübstitüfenil)-5-(sübstitüeheteroaril)-1H-benzimidazol türevlerinin sentezi ve biyolojik etkilerinin araştırılması" başlıklı tezi 08.05.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Doktora Yeterlik Tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY	
Üye	: Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI	
Üye	: Doç. Dr. Sinem ILGIN	
Üye	: Doç. Dr. Mehmet ALP	
Üye	: Doç. Dr. Meltem ÜNLÜSOY	

Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN
Enstitü Müdürü



ÖZET

2-(SÜBSTİTÜFENİL)-5-(SÜBSTİTÜEHETEROARİL)-1H-BENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ ve BİYOLOJİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ulviye ACAR ÇEVİK

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mayıs 2019

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Dünya genelinde insan ölümlerinin başlıca nedenlerinden biri olan kanser, normal hücrelerin kontrolsüz büyümesidir. Antikanser ajanların keşfinde kapsamlı ilerlemeler olmasına rağmen, daha az yan etkisi ve tümör hücreleri üzerinde daha iyi seçiciliği olan yeni antikanser ilaçların geliştirilmesine hala büyük oranda ihtiyaç duyulmaktadır.

Topoizomeraz enzimleri, DNA replikasyonu ve transkripsiyonu sırasında DNA topolojisinin korunmasına ilişkin işlevleri gerçekleştirmekte ve bu nedenle kemoterapötik ajanların hedefi olmaktadır. Kanser tedavisi için topoizomeraz enzimlerinin seçici hedeflenmesi, temel ve klinik araştırmaların oldukça aktif bir alanı olmaya devam etmektedir. Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada, bazı benzimidazol-oksadiazol türevleri sentezlenmiş ve HeLa, MCF7, A549, HepG2 ve C6 dahil olmak üzere beş kanser hücre hattında *in vitro* antikanser aktiviteleri test edilmiştir. Bileşiklerin yapıları IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR ve yüksek çözünürlüklü kütle spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Antikanser aktivitenin selektivitesi NIH3T3 (fare embriyo fibroblast hücre dizisi) hücre dizisinde değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşikler arasında; **5a**, **5b**, **5d**, **5e**, **5k**, **5l**, **5n** ve **5o** kodlu türevler çeşitli kanser hücre dizilerine karşı güçlü selektif sitotoksik aktivite sergilemişlerdir. Ayrıca, bu öncü sitotoksik ajanlar, insan Topoizomeraz I inhibisyon potansiyeli açısından değerlendirilmiş ve **5a**, **5b**, **5d**, **5e**, **5k**, **5l**, **5n** ve **5o** kodlu bileşiklerin Topoizomeraz I enzimini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca, Annexin V/PI testi ile **5a**, **5b**, **5d**, **5e**, **5k**, **5l**, **5n** ve **5o** bileşiklerinin hücrelerde apoptozu indükleyerek sitotoksik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bileşikler için docking çalışmaları gerçekleştirilmiş ve ilgili bileşiklerin DNA-Topo I enzim kompleksi ile olası etkileşimleri belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Benzimidazol, 1,3,4-Oksadiazol, Antikanser, DNA Topo I.

ABSTRACT

SYNTHESIS and INVESTIGATION of BIOLOGICAL EFFECTS of 2-(SUBSTITUTEDPHENYL)-5-(SUBSTITUTEDHETEROARYL)-1H BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES

Ulviye ACAR ÇEVİK

Department of Pharmaceutical Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, May 2019

Supervisor: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Cancer, a major cause of human deaths worldwide, is uncontrolled growth of normal cells. Although the extensive advances in discovering anticancer agents, there is still a great demand for development of new anticancer drugs with less side effects and improved selectivity on tumor.

The topoisomerase enzymes perform functions related to the maintenance of DNA topology during DNA replication, and transcription and thus they are the targets of a chemotherapeutic agents. Selective targeting of the topoisomerase enzymes for cancer treatment continues to be a highly active area of basic and clinical research. In the light of this information, in this study, some benzimidazole-oxadiazole derivatives were synthesized and tested for their *in vitro* anticancer activities on five cancer cell lines, including HeLa, MCF7, A549, HepG2 and C6. Their structures were elucidated by IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR and HRMS spectroscopic methods. The selectivity of anticancer activity was evaluated in NIH3T3 (mouse embryo fibroblast cell line) cell lines. Among all screened compounds; **5a**, **5b**, **5d**, **5e**, **5k**, **5l**, **5n** and **5o** exhibited potent selective cytotoxic activities against various tested cancer cell lines. Furthermore, these potent lead cytotoxic agents were evaluated in terms of their inhibition potency against Topoisomerase I and it was determined that compounds **5a**, **5b**, **5d**, **5e**, **5k**, **5l**, **5n** and **5o** inhibited the Topoisomerase I. Furthermore, it was found that compounds **5a**, **5b**, **5d**, **5e**, **5k**, **5l**, **5n**, and **5o** showed cytotoxic activity by inducing apoptosis in cells by Annexin V / PI test. Docking studies for these compounds were performed and probable interactions in the DNA-Topo I enzyme complex was determined.

Keywords: Benzimidazole, 1,3,4-Oxadiazole, Anticancer, DNA Topo I.

TEŞEKKÜR

05/05/2019

Lisansüstü eğitim hayatımda desteğini her zaman hissettiğim, akademik kariyer ve çalışmalarını örnek aldığım, her sıkıntılı süreçte yanımda olan ve beni dinleyen, değerli bilgi ve katkılarıyla desteklerini hiç esirgemeyen, benim için çok değerli ve kıymetli olan danışman hocam Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bana her zaman zamanını ayıran, yönlendirmeler ve fikirleriyle akademik hayatıma yön veren, yüzümüzde her zaman gülümsemeye sebep olan, kimyayı daha çok sevdiren sayın hocam Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI'ya çok teşekkür ederim.

Her anımda yanımda olan, karşılaştığımız bütün sıkıntılara birlikte çözüm bulduğum, bu tez sürecinde en az benim kadar emek harcayan, stresli anlarımı anlayışla karşılayan canım dostum, iş arkadaşım, oda arkadaşım Arş. Gör. Begüm Nurpelin Sağlık'a çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince benimle birlikte aynı heyecanı paylaşan, bu tez süresince büyük emek ve özveri harcayan, desteklerini hayatımın her alanında hiçbir şekilde benden esirgemeyen değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Derya OSMANİYE, Öğr. Gör. Serkan LEVENT, Öğr. Gör. Asaf Evrim EVREN, Arş. Gör. A. Burak KARADUMAN ve Arş. Gör. Betül KAYA ÇAVUŞOĞLU'na;

Her zaman sevgi ve desteklerini hissettiğim Farmasötik Kimya Anabilim Dalındaki saygıdeğer hocalarıma,

Hayatım boyunca aldığım her kararda benim yanımda olan, desteklerini hep hissettiğim, mutluluğumu ve mutsuzluğumu benimle birlikte yaşayan, böyle bir anne ve babanın çocuğu olduğum için hep gurur duyduğum babam Yusuf ACAR, annem Ayşe ACAR ve ablam Güllü ATUG'a,

Bu hayatta şanslı olduğumu her zaman bana hissettiren, bu hayatta tanıdığım en anlayışlı insan olan, hayatıma girdiği andan itibaren hayatımı güzelleştiren, tez sürecinde sonsuz anlayışı ve yardımlarıyla yanımda olan, tezi bitirdiğimde benden daha çok rahatlayacak 😊 canım eşim Hüseyin ÇEVİK'e

Melek olarak hayatıma giren, çok küçük olmasına rağmen bu kadar anlayışlı olmasıyla beni şaşırtan, gülen yüzüyle bana her zaman güç veren, iyi ki benim kızım olmuş dediğim mis kokulum Nil ÇEVİK'e,

En içten teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BAŞLIĞI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	iii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	i
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1. Hücre Döngüsü ve Kanser	2
1.2. Topoizomerazları Hedefleyen Antikanser İlaçların Sınıflandırılması.....	6
2. KAYNAK BİLGİSİ	15
2.1. Benzimidazol.....	15
2.1.1. Genel özellikleri.....	15
2.1.2. Adlandırma	15
2.1.3. Tautomerik karakter	16
2.1.4. Erime noktaları, kaynama noktaları, ayrışma derecesi	17
2.1.5. Baziklik ve elektronik yapı.....	18
2.1.6. Psödoasidik karakter	19
2.1.7. Kimyasal özellikleri.....	19
2.1.8. Benzimidazollerin biyolojik aktiviteleri.....	20
2.1.9. Benzimidazollerin genel sentez yöntemleri.....	21
2.1.9.1. Açillenmiş o-nitroarilaminlerden hareketle	21
2.1.9.2. Dinitrobenzen türevlerinden hareketle	22

2.1.10. <i>o</i> -Fenilendiaminlerden hareketle.....	22
2.1.10.1. <i>Karboksilik asitler, asit anhidritleri, esterler ya da amidlerden hareketle</i>	22
2.1.10.2. <i>Nitrillerle reaksiyonuyla</i>	23
2.1.10.3. <i>İminoeterler veya iminotiyo eterler ile reaksiyonuyla</i>	24
2.1.10.4. <i>Aldehit ya da ketonlar ile reaksiyonuyla</i>	24
2.1.10.5. <i>2-Metiltiyopsödoüre sülfat ile reaksiyonuyla</i>	25
2.1.10.6. <i>Siyanojenbromür ile reaksiyonuyla</i>	26
2.2. Bisbenzimidazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri.....	26
2.2.1. <i>o</i> -Fenilendiaminler ve diasitlerin reaksiyonuyla (Philips Metodu)	27
2.2.2. 4-İmidazolin- <i>o</i> -fenilendiamin veya 4-amidin- <i>o</i> -fenilendiaminden hareketle.....	27
2.2.3. Benzimidazolden hareketle	28
2.3. Oksadiazoller	29
2.3.1. Oksadiazollerin genel sentez yöntemleri.....	30
2.4. Antikanser Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Bis-benzimidazol Türevleri	32
2.5. Antikanser Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Benzimidazol-Oksadiazol Türevleri	53
3. GEREÇLER.....	60
3.1. Kullanılan Maddeler	60
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	62
4. YÖNTEMLER	63
4.1. Sentez çalışmaları.....	63
4.1.1. 2-(4-Süstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karboksilik asit türevlerinin sentezi (Yöntem A).....	63

4.1.2. 2-Kloro-1-(4-sübstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on türevlerinin sentezi (Yöntem B)	63
4.1.3. Metil 2-(4-sübstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karboksilat türevlerinin sentezi (Yöntem C).....	64
4.1.4. 2-(4-Sübstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karbohidrazit türevlerinin sentezi (Yöntem D).....	64
4.1.5. 2-((4-Sübstitüefenil)-(6-(5-merkpto-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol türevlerinin sentezi (Yöntem E).....	65
4.1.6. 2-((5-(2-(4-Sübstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-sübstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on türevlerinin sentezi (Yöntem F)	65
4.2. İTK Çalışmaları ve Rf Değerlerinin Saptanması.....	66
4.3. Erime Noktalarının Tespiti	66
4.4. IR Spektrumlarının Alınması	67
4.5. ¹ H NMR Spektrumlarının Alınması	67
4.6. ¹³ C NMR Spektrumlarının Alınması.....	67
4.7. 2D NMR Spektrumlarının Alınması	67
4.8. Kütle Spektrumlarının Alınması	68
4.9. Antikanser Aktivite Çalışmaları.....	68
4.9.1. MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi....	68
4.9.1.1. Hücrelerin çoğaltılması.....	68
4.9.1.2. Hücrelerin plakalara ekilmesi	69
4.9.1.3. MTT Sitotoksosite Testinin Uygulanması	69
4.9.2. BrdU proliferasyon yöntemi ile bileşiklerin antiproliferatif etkilerinin belirlenmesi	70
4.9.2.1. Hücrelerin plakalara ekilmesi	70
4.9.2.2. BrdU Proliferasyon Yönteminin Uygulanması	70

4.9.3. Anneksin V/PI yöntemi ile bileşiklerin apoptotik etkilerinin belirlenmesi	71
4.9.3.1. Hücrelerin Plakalara Ekilmesi	71
4.9.3.2. Anneksin/PI Yönteminin Uygulanması.....	71
4.10. DNA Topoizomerez I enzim inhibisyon çalışmaları	72
4.11. Moleküler docking	73
5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR	74
5.1. Sentez Çalışmaları.....	74
5.1.1. 2-(4-Sübstütüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karboksilik asit (1a-1c)	74
5.1.2. 2-Kloro-1-(4-sübstütüepiperazin-1-il)-etan-1-on türevleri (1d-1h)	74
5.1.3. Metil 2-(4-sübstütüefenil)- 1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karboksilat (2a-2c)	75
5.1.3.1. Metil 2-(4-hidroksifenil)- 1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karboksilat (2a)	76
5.1.3.2. Metil 2-(4-metoksifenil)- 1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karboksilat (2b)	81
5.1.3.3. Metil 2-(4-etoksifenil)- 1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karboksilat (2c)	86
5.1.4. 2-(4-Sübstütüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karbohidrazit (3a-3c)	91
5.1.5. 2-((4-Sübstütüefenil)-(6-(5-merkpto-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>] imidazol (4a-4c).....	91
5.1.5.1. 2-((4-Hidroksifenil)-(6-(5-merkpto-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>] imidazol (4a)	92
5.1.5.2. 2-((4-Metoksifenil)-(6-(5-merkpto-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>] imidazol (4b)	97

5.1.5.3. 2-((4-Etoksifenil)-(6-(5-merkпто-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol (4c)	102
5.1.6. 2-((5-(2-(4-Sübstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-sübstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on (5a-5o) türevleri.....	107
5.1.6.1. 2-((5-(2-(4-Hidroksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-metil-piperazin-1-il)-etan-1-on (5a).....	107
5.1.6.2. 2-((5-(2-(4-Hidroksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-etil-piperazin-1-il)-etan-1-on (5b).....	112
5.1.6.3. 2-((5-(2-(4-Hidroksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(fenil)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5c).....	117
5.1.6.4. 2-((5-(2-(4-Hidroksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(piridin-2-il)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5d)	122
5.1.6.5. 2-((5-(2-(4-Hidroksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(pirimidin-2-il)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5e)	127
5.1.6.6. 2-((5-(2-(4-Metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-metil-piperazin-1-il)-etan-1-on (5f)	132
5.1.6.7. 2-((5-(2-(4-Metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-etil-piperazin-1-il)-etan-1-on (5g).....	137
5.1.6.8. 2-((5-(2-(4-Metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(fenil)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5h)	142

5.1.6.9. 2-((5-(2-(4-Metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(piridin-2-il)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5i).....	147
5.1.6.10. 2-((5-(2-(4-Metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(pirimidin-2-il)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5j).....	152
5.1.6.11. 2-((5-(2-(4-Etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-metil-piperazin-1-il)-etan-1-on (5k).....	157
5.1.6.12. 2-((5-(2-(4-Etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-etil-piperazin-1-il)-etan-1-on (5l).....	162
5.1.6.13. 2-((5-(2-(4-Etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(fenil)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5m).....	167
5.1.6.14. 2-((5-(2-(4-Etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(piridin-2-il)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5n).....	172
5.1.6.15. 2-((5-(2-(4-Etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(pirimidin-2-il)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5o).....	177
5.2. Sentez Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	182
5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi	182
5.3.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi	182
5.3.2. NMR spektrumlarının değerlendirilmesi	183
5.3.2.1. ¹ H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi	183
5.3.2.2. ¹³ C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi	185
5.3.2.3. 2D-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi	185
5.3.3. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi	188

5.4. Antikanser Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	189
5.4.1. MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etki sonuçları.....	189
5.4.2. BrdU proliferasyon yöntemi ile bileşiklerin antiproliferatif etki sonuçları	192
5.4.3. Anneksin V/PI yöntemi ile bileşiklerin apoptotik etki sonuçları.....	197
5.5. DNA Topoizomeraz I İnhibitör Etkileri	203
5.6. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi	205
5.6.1. İnsan DNA Topoizomeraz I Enziminin Yapısı.....	205
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	224
KAYNAKÇA.....	226
ÖZGEÇMİŞ	239

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1. Antikanser ilaç grupları ve özellikleri	4
Tablo 1.2. Antikanser aktivitelerinin incelenmesi planlanan sentez ürünleri	14
Tablo 5.1. 5e Kodlu bileşiğin 2 boyutlu NMR ile tespit edilen hidrojen ve karbon değerleri	186
Tablo 5.2. Bileşiklerin A549, MCF-7, C6, HepG2 ve HeLa hücre dizilerine ait IC ₅₀ değerleri (µM)	190

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Normal hücre ile kanser hücresinin çoğalması.....	1
Şekil 1.2. Kanser belirteçleri	2
Şekil 1.3. Kanser belirteçleri	3
Şekil 1.4. Topoizomerazların sınıflandırılması	5
Şekil 1.5. Topoizomeraz enzimlerinin etki mekanizmaları	6
Şekil 1.6. DNA Topoizomeraz I inhibitörlerine örnekler.....	8
Şekil 1.7. DNA Topoizomeraz II inhibitörlerine örnekler	9
Şekil 1.9. Benzimidazol yapısı içeren antikanser ilaçlar	11
Şekil 1.10. Hoechst 33258 ve Hoechst 33342 bileşikleri	11
Şekil 1.11. Elde edilmesi planlanan bileşiklere ait genel sentez şeması	13
Şekil 2.1. Benzimidazol molekülünün yapısı	15
Şekil 2.2. Benzimidazol izomerleri	15
Şekil 2.3. Benzimidazol molekülünün numaralandırma sistemi	16
Şekil 2.4. Benzimidazol halkasının tautomer formları	16
Şekil 2.5. 1,2,5-Trimetilbenzimidazol ve 1,2,6-Trimetilbenzimidazol eldesi	16
Şekil 2.6. 2-Metil, 5,6-Dimetil ve 4,7-Dimetil benzimidazol yapısı	17
Şekil 2.7. 3-Nitro-4-asetamido-benzoik Asit ve 4-Nitro-3-asetamidobenzoik asitin redüksiyonu	17
Şekil 2.8. Benzimidazol rezonans formülleri	18
Şekil 2.9. Benzimidazolun bazik yapısı.....	19
Şekil 2.10. Benzimidazol ve DNA bazları	20
Şekil 2.11. Benzimidazol halkası taşıyan ilaç moleküllerine örnekler.....	21
Şekil 2.12. Hoebrecker'ın benzimidazol sentezi	22
Şekil 2.13. Dinitrobenzen türevlerinden hareketle benzimidazol sentezi	22
Şekil 2.14. Ladenburg'un benzimidazol sentezi.....	22
Şekil 2.15. Philips yöntemine göre benzimidazol sentezi	23
Şekil 2.16. <i>o</i> -Fenilendiamin ile nitrillerden hareketle benzimidazol sentezi	24
Şekil 2.17. <i>o</i> -Fenilendiaminle iminoeterler veya iminotiyo eterler ile reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.....	24
Şekil 2.18. <i>o</i> -Fenilendiaminle aldehit ile reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.....	24

Şekil 2.19. <i>o</i> -Fenilendiamin ve aldehit türevlerinin nitrobenzen varlığında reaksiyonu ile benzimidazol sentezi.....	25
Şekil 2.20. <i>o</i> -Fenilendiamin ve benzaldehitin sodyumbisülfit tuzu ile reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.....	25
Şekil 2.21. <i>o</i> -Fenilendiamin ve ketonlar ile reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.....	25
Şekil 2.22. <i>o</i> -Fenilendiamin ve 2-metiltiyopsödoüre sülfat ile reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.....	26
Şekil 2.23. <i>o</i> -Fenilendiaminin bromosiyanürile reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.....	26
Şekil 2.24. Philips metoduna göre bisbenzimidazol sentezi.....	27
Şekil 2.25. Diesterlerden bis-benzimidazol oluşumu	27
Şekil 2.26. Diaminlerden bis-benzimidazol oluşumu.....	28
Şekil 2.27. 4-Halo- <i>o</i> -fenilendiaminden hareketle bis-benzimidazol sentezi.....	28
Şekil 2.28. Benzimidazolden Na metali ile bis-benzimidazol oluşumu	29
Şekil 2.29. Oksadiazol izomerleri (I. 1,2,4-oksadiazol, II. 1,2,3-oksadiazol, III. 1,3,4- oksadiazol, IV. 1,2,5-oksadiazol)	29
Şekil 2.30. Seryumamonyum-4-nitrat varlığında 1,3,4-oksadiazol sentezi.....	30
Şekil 2.31. 1,3,4-Oksadiazol-5-tiyon sentezi.....	30
Şekil 2.32. 5-Merkapto-1,3,4-oksadiazol sentezi	30
Şekil 2.33. 1,3,4-Oksadiazollerin POCl ₃ varlığında hidrazin hidratlardan sentezi.....	30
Şekil 2.34. 2-Amino-4-aril/alkil-1,3,4-oksadiazollerin eldesi	31
Şekil 2.35. Tiyoniklorür varlığında 1,3,4-oksadiazollerin sentezi	31
Şekil 2.36. Semikarbazondan 1,3,4-oksadiazol sentezi.....	31
Şekil 2.37. Açılsemikarbazitlerden ve açiltiyosemikarbazitlerden 1,3,4-oksadiazol sentezi	32
Şekil 2.38. Hoechst 33342 türevi bileşikler.....	32
Şekil 2.39. 2-(4-Sübtitüefenil)-5-(4-metil-1-piperazinil)-2,5-bi-1 <i>H</i> -benzimidazol (1) ve 2-[[4-[<i>N,N</i> -bis(2-Kloroetilamino)]fenil]alkil]-5-(4-metil-1-piperazinil)-2,5-bi-1 <i>H</i> benzimidazol (2) türevleri	33
Şekil 2.40. KBV-1 Hücreleri üzerinde etkili terbenzimidazol türevleri.....	34

Şekil 2.41. 2-[2-[4-(Bromoasetamido)fenil]-6-benzimidazolil]-6-(1-metil-4-piperazinil) benzimidazol (5) ve 2-[2-[4-[2-(Bromoasetamido)etoksi]fenil]-6-benzimidazolil]-6-(1-metil-4-piperazinil)benzimidazol (9).....	35
Şekil 2.42. 2'-Süstitüe-fenil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-2,5'-bi-1 <i>H</i> -benzimidazol türevleri	35
Şekil 2.43. RPMI 8402 Hücreleri üzerinde etkili terbenzimidazol türevleri.....	36
Şekil 2.44. Kantitatif yapı etki ilişkilerine konu olan terbenzimidazol türevleri	37
Şekil 2.45. Pirolo bis-benzimidazol türevi	37
Şekil 2.46. 5-Fenil-2-(2'-(indol-5-il)benzimidazol-5'-il)benzimidazol (8) ve 5-fenil-2-(2'-(indol-6-il)benzimidazol-5'-il)benzimidazol (9)	38
Şekil 2.47. 2''-Süstitüe-5-fenilterbenzimidazol türevi	38
Şekil 2.48. 5-Fenilterbenzimidazol ve 5-bromoterbenzimidazol türevleri.....	39
Şekil 2.49. Asimetrik 2,2-bisbenzimidazol türevleri	39
Şekil 2.50. 2,2-Bis[4-(3-dimetilamino-1-propiloksi)fenil]-5,5-bi-1 <i>H</i> -benzimidazol bileşiği	40
Şekil 2.51. Tris-benzimidazol türevi bileşikler	40
Şekil 2.52. 2-[4-[3-(9-Akridinilamino)-5-hidroksimetilanilino]-karbonilpropoksifenil]-5-(4-metil-1-piperazinil)-2,5-bi-1 <i>H</i> -benzimidazol.....	41
Şekil 2.53. 2-[2-(4-süstitüefenil)-6-benzimidazolil]-6-(1-metil-4-piperazinil)-benzimidazol türevleri.....	42
Şekil 2.54. Amidin fonksiyonel grubu taşıyan Hoechst türevleri.....	42
Şekil 2.55. Süstitüe bisbenzimidazol (a) ve terbenzimidazol (b) bileşikleri.....	43
Şekil 2.56. (5-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-[2'-(3,4-dimetoksifenil)-5'-benzimidazolil]benzimidazol ve metoksi ve hidroksi grubu taşıyan (5-(4-metilpiperazin-1-il)-2-[2'-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-5''-benzimidazolil]-5'-benzimidazolil]benzimidazol	43
Şekil 2.57. Benzimidazol halkası taşıyan bileşiğe ait kimyasal yapı	44
Şekil 2.58. Dimerik bisbenzimidazol türevi	44
Şekil 2.59. 4-(6-(5-(4-Metilpiperazin-1-il)-benzimidazol-2-il)-benzimidazol-2-il)-fenil-2-(2-(3-(2-kloroetil)-3-nitrosoureido)asetamid/propanamid/butanamid) etilkarbammat türevi bileşikler	45
Şekil 2.60. Dimerik yapıda bis-benzimidazol	45
Şekil 2.61. Pozisyon izomeri bis-2-(n-piridil)-1 <i>H</i> -benzimidazol türevleri	46

Şekil 2.62. Hoechst-33342 analogu TBZ ve DMA bileşikleri	46
Şekil 2.63. Fluoresan özellikleri incelenen bisbenzimidazol türevleri	47
Şekil 2.64. 2,5-Bis [2-(5-(<i>N</i> -izopropilamidinobenzimidazolil)]-3,4-etilenedioksitiofen (5) bileşiği	47
Şekil 2.65. Bis (5-metil-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-2-il) metan ve bis (5,6-dimetil-1 <i>H</i> - benzo[<i>d</i>]imidazol-2-il) metan bileşikleri.....	48
Şekil 2.66. 2,2-Di-[[3,5-dimetil-4-metoksi]piridin-2-il]metilentiyo]-5,5'-bis-1 <i>H</i> ,10 <i>H</i> - benzimi- dazol (8) bileşiği.....	48
Şekil 2.67. 2-Aril-5-sübstitüe-2,5-bisbenzimidazol türevi bileşikler (6a-6d)	49
Şekil 2.68. 2,2'-Bis(naftalen-2-il)-1 <i>H</i> ,1 <i>H</i> '-[5,5']-bisbenzimidazol (7) ve 2,2'-Bis-(indol-3-il) -1 <i>H</i> , 1 <i>H</i> '-[5,5']-bisbenzimidazol (8) bileşiği	49
Şekil 2.69. 5,5'-Oksi-bis[2-(4'-metoksifenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol] (8) bileşik	50
Şekil 2.70. 8 Kodlu bileşik	50
Şekil 2.71. STK295900 Kodlu bileşik.....	51
Şekil 2.72. DBP (n) kodlu bileşik.....	51
Şekil 2.73. 3-(4-Florofenilsülfonil)-1',7-dimetil-2-propil-1'H,3H-2',5- bibenzo[<i>d</i>]imidazol (FDPB) bileşiği	52
Şekil 2.74. Bisbenzimidazol türevi bileşiklerin genel yapısı.....	52
Şekil 2.75. 2'-(4-(3,3-Dimetilbutoksi) fenil)-6-(4-metilpiperazin-1-il)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'- bibenzo [<i>d</i>]imidazol (2e) bileşiği	53
Şekil 2.76. 2-(4-(1,2,4-Oksadiazol-2-il)fenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-4-karboksamid bileşiği	53
Şekil 2.77. 4-(Benzimidazol-2-il)-1,2,5-oksadiazol-3-amin türevi bileşikler	54
Şekil 2.78. [1-(1 <i>H</i> -Benzo[<i>d</i>]imidazol-2-il)-3-(5-(4-amino-2,6-dibromofenil-1,3,4- oksadiazol-2-il) propan-1-on] (4j) bileşiği.....	54
Şekil 2.79. 1-(1 <i>H</i> -Benzo[<i>d</i>]imidazol-2-il)-3-(5-(2,4-diklorofenil)-1,3,4-oksadiazol-2- il)propan-1-on bileşiği.....	55
Şekil 2.80. 2-Naftalen-1-ilmetil-1- [5-(4-nitro-fenil)-[1, 3,4] oksadiazol-2-ilmetil]-1 <i>H</i> - benzimidazol (7c) bileşiği	55
Şekil 2.81. 1-((5-Etil-1,3,4-oksadiazol-2-il)-metil)-2-((pirimidin-2-iltiyo)metil) -1 <i>H</i> - benzo[<i>d</i>]imidazol (5b) bileşiği	56

Şekil 2.82. (3-(4-(5-Floro-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-2-il)fenil)-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-1,2,4-oksadiazol) (5l) ve (3-(4-(5-metoksi-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-2-il)fenil)-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-1,2,4-oksadiazol) (5x)	57
Şekil 2.83. 3-((5-(3-(1 <i>H</i> -Benzo[<i>d</i>]imidazol-2-il)-3-oksopropil)-1,3,4-oksadiazol-2-il) metil)-5-metil pirimidin-2,4 (1 <i>H</i> , 3 <i>H</i>) -dion (4f) bileşiği ..	57
Şekil 2.84. 1-[(5-Alkenil/ hidroksialkenilsubstitue)-1,3,4-oksadiazol-2-il]-metil]-2-metil-1 <i>H</i> -benzimidazol türevi bileşikler.....	58
Şekil 2.85. 2-((5-((2-(4-Metoksibenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-1-il]metil)-1,3,4-oksadiazol-2-tiyo)etanol bileşiği	59
Şekil 2.86. 2-((1 <i>H</i> -Benzo[<i>d</i>]imidazol-2-il) metil)-5-(4-klorofenil)-1,3,4-oksadiazol (7a) ve 2-((1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-2-il)metil)-5-(4-metoksifenil)-1,3,4-oksadiazol (7n) bileşikleri	59
Şekil 4.1. 2-(4-Süstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karboksilik asit türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi	63
Şekil 4.2. 2-Kloro-1-(4-süstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi	64
Şekil 4.3. Metil 2-(4-süstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karboksilat (2) türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi	64
Şekil 4.4. 2-(4-Süstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karbohidrazit türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi	65
Şekil 4.5. 2-((4-Süstitüefenil)-(6-(5-merkapt-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol) türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi	65
Şekil 4.6. 2-((5-(2-(4-Süstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-süstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on (5a-5o) türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi	66
Şekil 5.1. 2-(4-Süstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karboksilik asit (1a-1c) türevlerinin sentezi için önerilen reaksiyon mekanizması	74
Şekil 5.2. 2-Kloro-1-(4-süstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on (1d-1h) türevlerinin sentezi için önerilen reaksiyon mekanizması	75
Şekil 5.3. Metil 2-(4-süstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karboksilat (2a-2c) türevlerinin sentezi için önerilen reaksiyon mekanizması.....	76
Şekil 5.4. Bileşik 2a 'ya ait IR spektrumu.....	77
Şekil 5.5. Bileşik 2a 'ya ait ¹ HNMR spektrumu	78

Şekil 5.6. Bileşik 2a'ya ait ¹³ CNMR spektrumu	79
Şekil 5.7. Bileşik 2a'ya ait kütle spektrumu.....	80
Şekil 5.8. Bileşik 2b'ye ait IR spektrumu	82
Şekil 5.9. Bileşik 2b'ye ait ¹ HNMR spektrumu	83
Şekil 5.10. Bileşik 2b'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	84
Şekil 5.11. Bileşik 2b'ye ait kütle spektrumu	85
Şekil 5.12. Bileşik 2c'ye ait IR spektrumu.....	87
Şekil 5.13. Bileşik 2c'ye ait ¹ HNMR spektrumu.....	88
Şekil 5.14. Bileşik 2c'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	89
Şekil 5.15. Bileşik 2c'ye ait kütle spektrumu	90
Şekil 5.16. 2-(4-Süstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-6-karbohidrazit (3a-3c) türevlerinin sentezi için önerilen reaksiyon mekanizması	91
Şekil 5.17. 2-((4-Süstitüefenil)-(6-(5-merkapt-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1 <i>H</i> - benzo[<i>d</i>]imidazol (4a-4c) türevlerinin sentezi için önerilen reaksiyon mekanizması.....	92
Şekil 5.18. Bileşik 4a'ya ait IR spektrumu.....	93
Şekil 5.19. Bileşik 4a'ya ait ¹ HNMR spektrumu	94
Şekil 5.20. Bileşik 4a'ya ait ¹³ CNMR spektrumu	95
Şekil 5.21. Bileşik 4a'ya ait kütle spektrumu.....	96
Şekil 5.22. Bileşik 4b'ye ait IR spektrumu	98
Şekil 5.23. Bileşik 4b'ye ait ¹ HNMR spektrumu	99
Şekil 5.24. Bileşik 4b'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	100
Şekil 5.25. Bileşik 4b'ye ait kütle spektrumu	101
Şekil 5.26. Bileşik 4c'ye ait IR spektrumu	103
Şekil 5.27. Bileşik 4c'ye ait ¹ HNMR spektrumu.....	104
Şekil 5.28. Bileşik 4c'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	105
Şekil 5.29. Bileşik 4c'ye ait kütle spektrumu.....	106
Şekil 5.30. Bileşik 5a'ya ait IR spektrumu.....	108
Şekil 5.31. Bileşik 5a'ya ait ¹ HNMR spektrumu	109
Şekil 5.32. Bileşik 5a'ya ait ¹³ CNMR spektrumu	110
Şekil 5.33. Bileşik 5a'ya ait kütle spektrumu.....	111
Şekil 5.34. Bileşik 5b'ye ait IR spektrumu	113
Şekil 5.35. Bileşik 5b'ye ait ¹ HNMR spektrumu	114

Şekil 5.36. Bileşik 5b'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	115
Şekil 5.37. Bileşik 5b'ye ait kütle spektrumu	116
Şekil 5.38. Bileşik 5c'ye ait IR spektrumu	118
Şekil 5.39. Bileşik 5c'ye ait ¹ HNMR spektrumu.....	119
Şekil 5.40. Bileşik 5c'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	120
Şekil 5.41. Bileşik 5c'ye ait kütle spektrumu	121
Şekil 5.42. Bileşik 5d'ye ait IR spektrumu	123
Şekil 5.43. Bileşik 5d'ye ait ¹ HNMR spektrumu	124
Şekil 5.44. Bileşik 5d'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	125
Şekil 5.45. Bileşik 5d'ye ait kütle spektrumu	126
Şekil 5.46. Bileşik 5e'ye ait IR spektrumu	128
Şekil 5.47. Bileşik 5e'ye ait ¹ HNMR spektrumu.....	129
Şekil 5.48. Bileşik 5e'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	130
Şekil 5.49. Bileşik 5e'ye ait kütle spektrumu	131
Şekil 5.50. Bileşik 5f'ye ait IR spektrumu	133
Şekil 5.51. Bileşik 5f'ye ait ¹ HNMR spektrumu	134
Şekil 5.52. Bileşik 5f'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	135
Şekil 5.53. Bileşik 5f'ye ait kütle spektrumu	136
Şekil 5.54. Bileşik 5g'ye ait IR spektrumu.....	138
Şekil 5.55. Bileşik 5g'ye ait ¹ HNMR spektrumu	139
Şekil 5.56. Bileşik 5g'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	140
Şekil 5.57. Bileşik 5g'ye ait kütle spektrumu.....	141
Şekil 5.58. Bileşik 5h'ye ait IR spektrumu	143
Şekil 5.59. Bileşik 5h'ye ait ¹ HNMR spektrumu	144
Şekil 5.60. Bileşik 5h'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	145
Şekil 5.61. Bileşik 5h'ye ait kütle spektrumu	146
Şekil 5.62. Bileşik 5i'ye ait IR spektrumu.....	148
Şekil 5.63. Bileşik 5i'ye ait ¹ HNMR spektrumu	149
Şekil 5.64. Bileşik 5i'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	150
Şekil 5.65. Bileşik 5i'ye ait kütle spektrumu.....	151
Şekil 5.66. Bileşik 5j'ye ait IR spektrumu	153
Şekil 5.67. Bileşik 5j'ye ait ¹ HNMR spektrumu	154
Şekil 5.68. Bileşik 5j'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	155

Şekil 5.69. Bileşik 5j 'ye ait kütle spektrumu	156
Şekil 5.70. Bileşik 5k 'ya ait IR spektrumu	158
Şekil 5.71. Bileşik 5k 'ya ait ¹ HNMR spektrumu	159
Şekil 5.72. Bileşik 5k 'ya ait ¹³ CNMR spektrumu	160
Şekil 5.73. Bileşik 5k 'ya ait kütle spektrumu	161
Şekil 5.74. Bileşik 5l 'ye ait IR spektrumu.....	163
Şekil 5.75. Bileşik 5l 'ye ait ¹ HNMR spektrumu	164
Şekil 5.76. Bileşik 5l 'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	165
Şekil 5.77. Bileşik 5l 'ye ait kütle spektrumu.....	166
Şekil 5.78. Bileşik 5m 'ye ait IR spektrumu	168
Şekil 5.79. Bileşik 5m 'ye ait ¹ HNMR spektrumu	169
Şekil 5.80. Bileşik 5m 'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	170
Şekil 5.81. Bileşik 5m 'ye ait kütle spektrumu	171
Şekil 5.82. Bileşik 5n 'ye ait IR spektrumu	173
Şekil 5.83. Bileşik 5n 'ye ait ¹ HNMR spektrumu	174
Şekil 5.84. Bileşik 5n 'ye ait ¹³ CNMR spektrumu	175
Şekil 5.85. Bileşik 5n 'ye ait kütle spektrumu	176
Şekil 5.86. Bileşik 5o 'ya ait IR spektrumu.....	178
Şekil 5.87. Bileşik 5o 'ya ait ¹ HNMR spektrumu	179
Şekil 5.88. Bileşik 5o 'ya ait ¹³ CNMR spektrumu	180
Şekil 5.89. Bileşik 5o 'ya ait kütle spektrumu.....	181
Şekil 5.90. 5e Kodlu bileşiğe ait 2D HSQC spektrumu	187
Şekil 5.91. 5e Kodlu bileşiğe ait 2D HMBC spektrumu	187
Şekil 5.92. 5e Kodlu bileşiğe ait 2D COSY spektrumu	188
Şekil 5.93. A549 hücre dizisinde bileşik 5n ile doksorubisin'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri	192
Şekil 5.94. MCF-7 hücre dizisinde bileşik 5a, 5d, 5e, 5o ve doksorubisin'in 24 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri	193
Şekil 5.95. MCF-7 hücre dizisinde bileşik 5a, 5d, 5e, 5o ve doksorubisin'in 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri	194
Şekil 5.97. C6 hücre dizisinde bileşik 5k ile doksorubisin'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri	196

Şekil 5.98. HeLa hücre dizisinde bileşikler 5b, 5l, 5n ve doksorubisin ile 24 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri	197
Şekil 5.99. HeLa hücre dizisinde bileşikler 5b, 5l, 5n ve doksorubisin ile 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri	197
Şekil 5.100. A549 hücre dizisinde bileşik 5n ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı	199
Şekil 5.101. MCF-7 hücre dizisinde bileşik 5a, 5d, 5e, 5o ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı	200
Şekil 5.102. C6 hücre dizisinde bileşik 5k ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı	201
Şekil 5.103. HepG2 hücre dizisinde bileşik 5a ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı	202
Şekil 5.104. HeLa hücre dizisinde bileşik 5b, 5l, 5n ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı	203
Şekil 5.105. Bileşikler 5a, 5b, 5d, 5e, 5k, 5l, 5n, 5o ile Hoechst 33342 ve kamptotesinin Topoizomeraz I üzerindeki inhibe edici etkisinin elektroforez yöntemiyle görüntülenmesi	204
Şekil 5.107. Hoechst 33342'in DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle iki boyutlu etkileşimi	207
Şekil 5.108. 5d Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesine yerleşimi	210
Şekil 5.109. 5d Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle etkileşimi	211
Şekil 5.110. 5d Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi	211
Şekil 5.111. 5d Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi	212
Şekil 5.112. 5e Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesine yerleşimi	213
Şekil 5.113. 5e Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle etkileşimi	214
Şekil 5.114. 5e Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi	215

Şekil 5.115. 5e Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi	216
Şekil 5.116. 5n Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesine yerleşimi	217
Şekil 5.117. 5n Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle etkileşimi	218
Şekil 5.118. 5n Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi	219
Şekil 5.119. 5n Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi	220
Şekil 5.120. 5o Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesine yerleşimi	221
Şekil 5.121. 5o Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle etkileşimi	222
Şekil 5.122. 5o Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi	222
Şekil 5.123. 5o Kodlu bileşiğin DNA-topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi	223

KISALTMALAR DİZİNİ

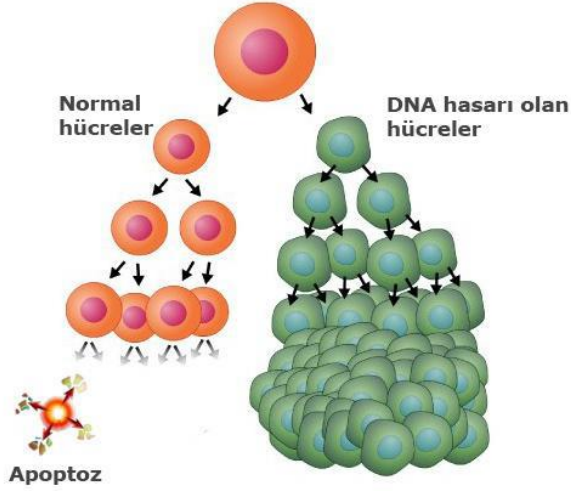
A431	: İnsan epidermoid karsinomu
A-2780	: İnsan yumurtalık karsinomu hücresi
A498	: İnsan böbrek karsinomu hücresi
A549	: İnsan akciğer karsinoma hücresi
A:	: Adenin
AGS	: İnsan mide adenokarsinomu
ATP	: Adenozin trifosfat
BGC-823	: İnsan mide karsinomu hücresi
BM-1	: Nazofaringal karsinoma hücresi
BrdU	: Bromodeoksiüridin
BT-20	: Meme kanseri hücresi
BT-549	: İnsan meme karsinoma hücresi
C	: Sitozin
C6	: Rat beyin karsinoma hücresi
Caco-2	: İnsan epitel hücresi
CAN	: Seryum amonyum-4-nitrat
CCRF-CEM	: T lenfoblastoid hücresi
Cis-A2780	: Siplatine dirençli hücre
¹³ CNMR	: Karbon Nükleer Magnetik Rezonans
COX-2	: Siklooksijenaz-2
CPT	: Kamptotesin
DBTRG	: Glioblastoma multiforme
CS ₂	: Karbondisülfür
DMF	: Dimetilformamid
DMSO- <i>d</i> ₆	: Dötoryodimetilsülfoksit
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
EC ₅₀	: Maksimum etkinin %50'sini oluşturan ilaç konsantrasyonu
DU-145	: İnsan prostat kanseri hücresi
E. coli	: Escherichia coli
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
E.n.	: Erime noktası

ESI	: Elektrosprey iyonlaşması
5-FU	: 5-Fluorourasil
G	: Guanin
HaCaT	: İnsan keratinosit hücresi
HCT-116	: İnsan kolon kanseri hücresi
HCT-15	: İnsan kolon adenokarsinomu hücresi
HeLa	: İnsan serviks kanser hücre hattı
Hep2	: İnsan epidermoid larynx karsinom hücresi
Hep3B	: Karaciğer kanser hücresi
HepG2	: Rat karaciğer karsinoma hücresi
HL-60	: İnsan lösemi hücresi
HoP-92	: Akciğer kanser hücresi
¹ HNMR	: Proton Nükleer Magnetik Rezonans
HRMS	: Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi
HONE-1	: Nazofaringal karsinoma hücresi
HT-29	: Nazofaringal karsinoma hücresi
IC ₅₀	: % 50 İnhibisyon konsantrasyonu
IR	: Infrared (Kızıl ötesi)
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
J	: Eşleşme sabiti
KB3-1	: İnsan epidermoid karsinom hücresi
KBV-1	: İnsan meme kanseri hücre hattı
K ₂ CO ₃	: Potasyum karbonat
M	: Mitoz
MCF-7	: İnsan meme karsinoma hücresi
MCF-10A	: Sağlıklı meme hücresi
MDA-MB-468	: İnsan meme karsinomu hücresi
MDA-MD-231	: İnsan meme karsinomu hücresi
MHz	: Megahertz
MiaPaCa	: İnsan pankreas kanseri hücresi
MTT	: (3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür)
MX-1	: Meme karsinoma
NCI	: Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü

NCI-H358	: Bronşiyoloalveoler karsinom
NCI-H322M	: İnsan akciğer karsinomu hücresi
NIH3T3	: Fare fibroblast hücresi
OD	: Optik yoğunluk
P388	: Lösemi hücresi
PA-1	: İnsan yumurtalık teratokarsinom hücresi
PARP-1	: Poli (ADP-riboz) polimeraz 1
RNA	: Ribo Nükleik asit
RPMI	: İnsan multipl miyelomu hücresi
SK-MEL-28	: İnsan cilt melanomu hücresi
SK-Mel-128	: Melanom hücre hattı
SKOV-3	: İnsan yumurtalık kanseri hücresi
SNB-19	: İnsan glioblastoma hücresi
SNU-398	: Hepatosellüler kanser hücresi
U87	: İnsan birincil glioblastom hücresi
U937	: İnsan histiyositik lenfoma hücresi
UO-31	: Renal kanser hücre hattı
T	: Timin
TEA	: Trietilamin
THF	: Tetrahidrofuran
TK-10	: Böbrek kanser hücresi
TMS	: Tetrametilsilan
XTT	: 2,3-Bis-(2- methoxy 4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide salt

1. GİRİŞ VE AMAÇ

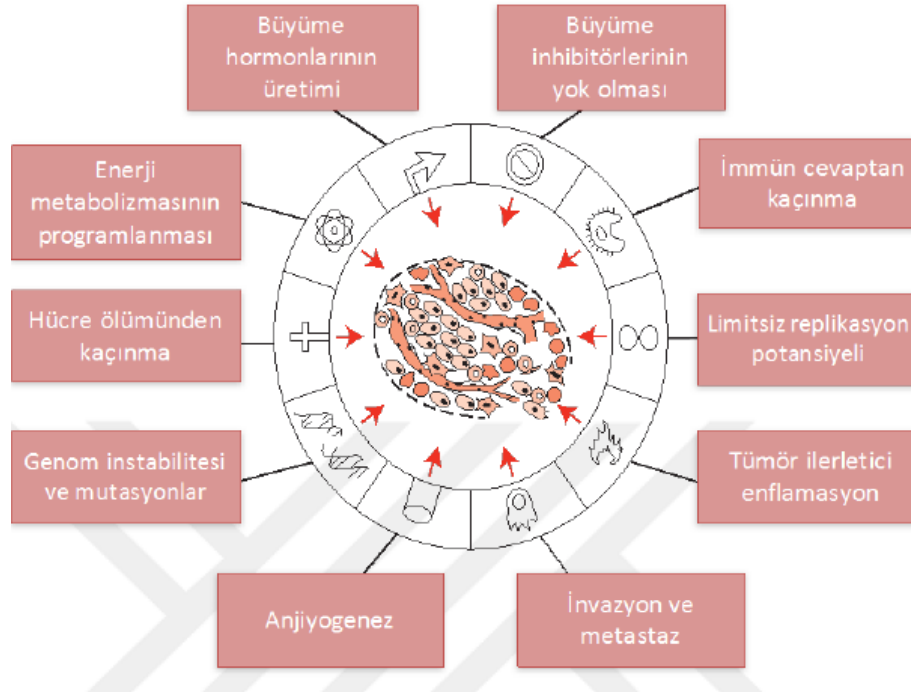
Ölümcül hastalıklar içinde kalp hastalıklarından sonra ikinci sırada gelen ve son yıllarda üzerinde en çok araştırma yapılan konulardan biri olan kanser, çeşitli genetik ve hücresel değişiklikler sonucunda ortaya çıkar. Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması ve anormal bir şekilde büyümesi ile karakterizedir [1-4].



Şekil 1.1. Normal hücre ile kanser hücresinin çoğalması [5]

Çoğalma sırasında kanser hücresinde, normal hücelere göre yapısal farklılıklar ortaya çıkabildiği gibi, işlevleri açısından da farklılıklar meydana gelmektedir. Bazen hücre normalde yaptığı işlevlerini yapamazken, bazen de normalde olmayan bazı yeni işlevleri yapmaya başlayabilmektedir. Anormal şekilde çoğalmaya başlayan bu hücreler, buldukları yerdeki doku ve organları hatta bazen daha uzaktaki organları işgal etmekte ve işgal ettiği bu bölümlerin görevlerini engellemektedir [6].

Tümör dokusunun oluşması ve tümörün metastaz özelliği kazanarak kanserleşmesi için birtakım belirteçlerin olduğu tespit edilmiş olup, bu belirteçler hastalığın oluşumu ve gelişiminde kademeli olarak gözlemlenmektedir. Kanser en önemli belirteçleri Şekil 2’de belirtilmiştir [7].



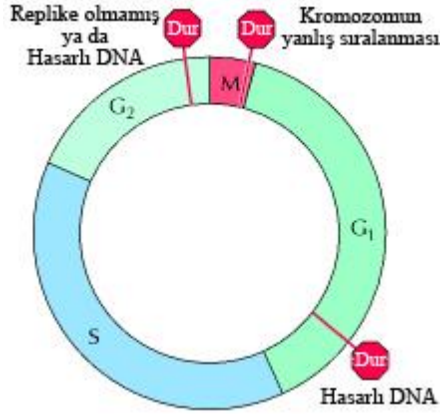
Şekil 1.2. *Kanserin belirteçleri [7]*

Anormal hücrelerin dokuda çoğalarak büyümesi olarak tanımlanan tümör, benign (iyi huylu) ve malign (kötü huylu) olarak ikiye ayrılmaktadır. Buna göre benign tümör, başlangıç noktalarıyla sınırlı kalarak oldukça yavaş çoğalan hücrelerden meydana gelir. Bunlar vücudun diğer bölgelerine yayılma göstermezler. Cerrahi müdahale ile tamamı çıkarılırsa tekrar oluşma ihtimalleri oldukça azdır. Malign tümör, sayılarını çok kısa bir sürede artıran hücrelerden oluşmaktadır. Bu tümörler başlangıç noktalarıyla sınırlı kalmayıp diğer doku ve organlara ulaşarak oradaki sağlam hücreleri yok etme eğilimindedir. Bu hücrelerin normal genetik yapıları bozulduğundan ürettikleri protein çeşidi değişmektedir. Ayrıca bu hücreler sayılarını çok hızlı bir şekilde artırma eğilimine sahip olduğundan kanserin tedavi sürecini zorlaştırmaktadır. Bu özellikleri sayesinde patolojik olarak diğer hücrelerden kolayca ayırt edilebilirler [8,9].

1.1. Hücre Döngüsü ve Kanser

Normalde hücreler proliferatif uyarılara bağlı olarak gereken durumlarda bölünürler. Kanserli hücrelerde ise mutasyonlar sonucunda normal hücrelerde görülen kontrollü büyüme süreci kaybolmuştur. Hücre proliferasyonu, hücre döngüsü içinde yer alan bazı kontrol noktaları tarafından kontrol edilmektedir. Kanser hücrelerinde sıklıkla hücre döngüsünün düzenlenmesinde bir hata söz konusudur. Hücre siklusunda G1-S

geçisinde, G₂-M geçişinde ve M evresinde metafaz-anafaz geçişinde kontrol noktaları vardır. Bu kontrol noktalarında hücrenin siklusa devam edip etmeyeceği kararı verilir ve gerekli olan durumlarda apoptoz (programlı hücre ölümü) aktive edilir. Kanser hücrelerindeki genetik bozukluğun en önemli nedenlerinden biri hücre döngüsünün kontrolünün herhangi bir basamakta bozulmasını sağlayan mutasyonlardır [10,11].



G₁ fazı: Mitoz ve DNA sentezinin başlamasından önceki fazdır. Bu fazda DNA sentezine hazırlık yapılır.

S fazı: DNA sentez fazıdır.

G₂ fazı: DNA sentezi sonrası ve mitoz öncesi fazdır. Bu fazda mitoz fazı için gerekli hazırlıklar yapılır.

M: Mitoz fazıdır.

G₀ fazı: Hücrelerin tekrar bölünme fazına girmek için dinlendikleri fazdır. G₀ fazında hücreler bölünme fonksiyonu olmayan non-proliferatif hücrelere dönüşürler [12].

Şekil 1.3 Kanser belirteçleri [7]

Kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemler olmak üzere başlıca üç yaklaşım bulunmaktadır. Bunların içerisinde en sık kullanılan yöntem olan kemoterapide, kimyasal ajanlarla kanser hücrelerinin apoptozu hedeflenirken aynı zamanda kanserin durdurularak yayılması da engellenir. Kemoterapötik ajanlara karşı kanser dokuları tarafından direnç oluşturulması, bu tedavi yaklaşımının önündeki en büyük engeldir. İlaç direnci; kanser hücrelerinin genomik kararsızlığı, ilaç hasarlarına karşı hızlı bir adaptasyon süreci yaşaması ve kanser hücrelerinin hayatta kalma mücadelesi sonucunda meydana gelir. Tam etkin olamayan kanser ilaçları, kanserleşmiş dokuların zamanla ilaca direnç göstermesi ve çoğu ilacın sağlıklı hücre ve dokular üzerinde toksik etki göstermesi nedeniyle, yeni kanser ilaçları üzerindeki araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir [7].

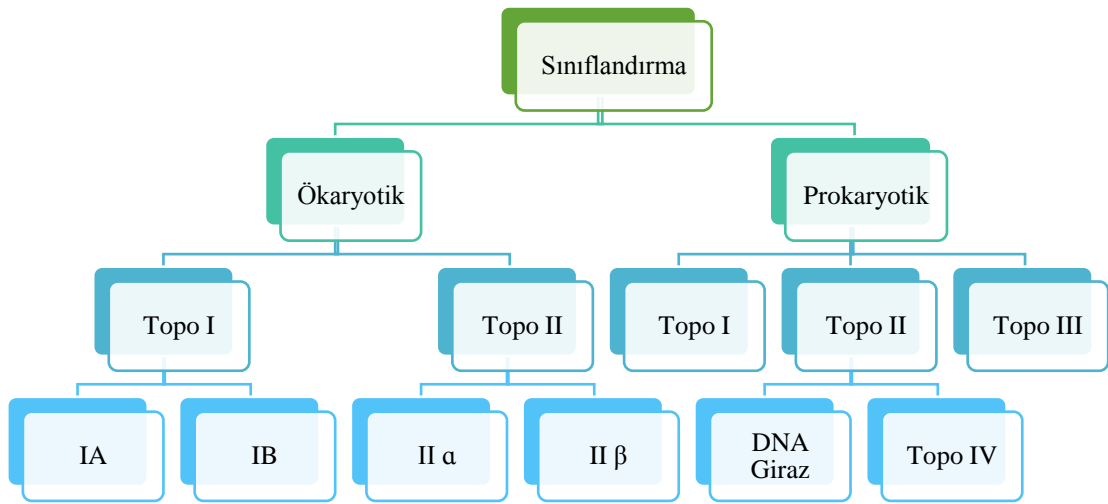
Tablo 1.1. Antikanser ilaç grupları ve özellikleri [13]

Antikanser ilaç grubu	Etki Mekanizması	Örnek İlaç
Alkilleyiciler	DNA'da hasar oluşturur ve replikasyonu engeller.	Klorambusil, Cisplatin, Busulfan, Tiyotepa
Antimetabolitler	Nükleik asitlerin yapıtaşları yerine girerek oluşumlarını engeller.	Fluorourasil, Folik asit, Metotreksat,
Mitoz inhibitörler	Mitoz (M) için gerekli enzimleri inhibe ederek, hücreleri M fazında durdurur.	Kolşisin, Teniposit, Kamptotesin, İrinotekan
Hormon ve hormon antagonistleri	Kanser tedavisinde semptomları giderici olarak kullanılır.	Tamoksifen, Klomifen, Flutamit, Mopidamol
Sitostatik antibiyotikler	Enfeksiyonlarda kullanılan antibiyotikler gibi değildir. DNA interkalasyonu yaparak replikasyonu engeller.	Mitomisin C, Mitoksantron, Doksorubisin
Diğer sitostatikler	-	Asparajinaz, Miltefosin, Mopidamol
Radyoaktif izotoplar	Radyoaktif izotoplarla tümör tedavisi ışın tedavisinin yardımcı bir şeklidir.	Radyoaktif fosfor (³² P), Radyoaktif iyot (¹³¹ I)
İnterferon	Tümör hücre gelişimini antiproliferatif olarak inhibe eder. Bu etki sistemi ile antiviral etki mekanizması yanında sitoplazma membran özelliğini de değiştirir.	İnterferon alfa, İnterferon beta, İnterferon gama

Kanserin moleküler biyolojisi üzerinde yapılan çalışmaların yanında kemoterapotik ilaçlarla yapılan tedavi etkili olmaya ve gün geçtikçe bu konudaki araştırmalar hız kazanmaya başlamıştır. Kanserin oluşum mekanizmaları moleküler düzeyde aydınlatılmaya çalışılarak, hücre döngüsünün farklı evrelerinde müdahale şansları denenmektedir. Bu ilaçların en önemli etki şekillerinden biri de kanser hücrelerinde nükleik asit sentezinin inhibe edilmesidir. Bu nedenle pek çok kemoterapötik ilaç, DNA-ilaç kompleksleri meydana getirerek DNA'ya bağımlı RNA polimerazı inhibe ederler. Tümör hücrelerinde DNA metabolizmasında yer alan enzimlerin sentez hızının yüksek olması nedeniyle antitümör ilaç tasarımında DNA metabolizması ile ilgili enzimler hedef moleküller olarak seçilmektedir [1,14].

Topoizomerazlar, hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda DNA replikasyon, transkripsiyon ve rekombinasyon işlemlerinde mutlak gerekli olan enzimlerdir. “Hücre proliferasyonunda gerekli olan topoizomeraz enzimlerinin inhibisyonu, kontrolsüz ve hızlı olarak bölünen kanser hücrelerinin çoğalmasını durdurabilir” mantığı bu proteinleri antikanser ilaç hedefleri haline getirmiştir [15,16].

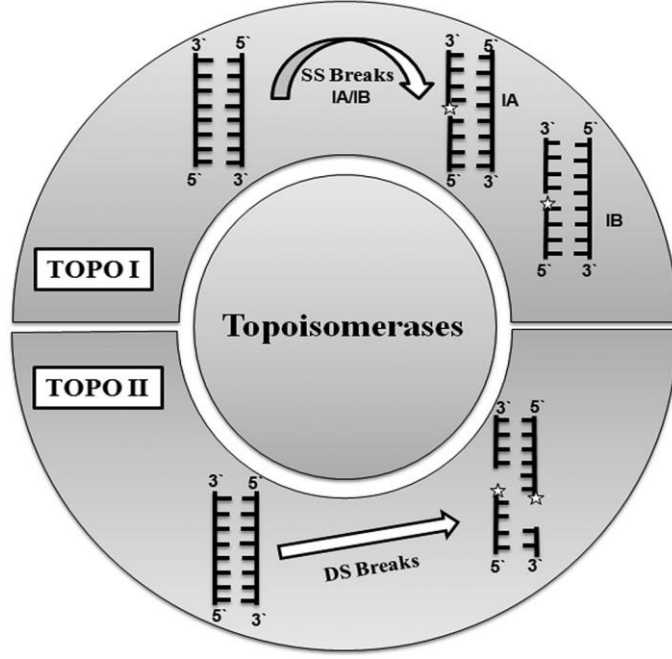
DNA topoizomeraz keşfi 1971'de James Wang tarafından *E. coli*'de gerçekleştirilmiştir. Topoizomerazlar, bir seferde DNA tek iplikçliğini kesmelerine veya DNA'da çift-iplikçikli kırmalarına göre iki ana aile olarak sınıflandırılırlar; tip I ve tip II topoizomeraz. DNA topoizomeraz I ilk defa 1971'de, DNA topoizomeraz II ise 1976'da tanımlanmıştır [17]. Her bir topoizomeraz tipi de sahip oldukları amino asit dizisi, reaksiyon mekanizmaları ve yapısal farklılıklarına bağlı olarak alt sınıflara ayrılırlar Tip I topoizomerazlar kendi içinde iki alt bölümlere ayrılır: tip IA ve tip IB. Buna göre kırık DNA'nın 5'P ucuna bağlanan topoizomerazlar Tip IA iken 3'OH ucuna bağlananlar Tip IB enzimlerdir. Topoizomeraz I enzimleri DNA'nın tek iplikçiginde geçici kırıklar yaratarak topolojisini değiştirirler. Bunu karşısındaki sağlam iplikçigin bu kırıktan geçmesi (tip IA) veya çifte sarmalın kırığın etrafındaki kontrollü rotasyonu (tip IB) izler. Ökaryotik topoizomeraz I, tip IB olarak sınıflandırılır.



Şekil 1.4. Topoizomerazların sınıflandırılması

Tip II topoizomerazlar bir DNA çift sarmalının iki iplikçliğini birden keser, kırığın içinden diğer kesilmemiş DNA sarmalını geçirir ve sonra kırık iplikçigi yeniden birleştirir. Tip II topoizomerazlar fonksiyonunu yerine getirmek için ATP (Adenozin trifosfat) enerjini kullanırlar. Tip II enzimler de tip II α ve tip II β olmak üzere iki alt sınıfa ayrılırlar.

Prokaryotik tip II topoizomeraz iki tiptir: DNA giraz ve Topoizomeraz IV [18,19].



Şekil 1.5. Topoizomeraz enzimlerinin etki mekanizmaları [20]

1.2. Topoizomerazları Hedefleyen Antikanser İlaçların Sınıflandırılması

DNA, genetik bilgiyi taşıyan molekül olduğundan canlının devamlılığı için büyük önem taşımaktadır. Canlının sahip olduğu bütün genetik materyali barındıran DNA, gerek prokaryotlarda gerek ökaryotlarda oldukça büyük bir moleküldür (örneğin insan DNA'sının uzunluğu yaklaşık olarak 1,8-2 metre civarındadır). Bu uzunluktaki bir molekülün mikron boyutundaki hücrelere sığabilmesi ancak molekülün kompaktlaşması ve kendi etrafında katlanması/dönmesi ile sağlanabilir. DNA molekülünün kendi üzerinde dönerek/kıvrılarak oluşturduğu bu yapıya “süpersarmal” denir [19]. Hücrenin topoizomerazlara gereksinimi, DNA'nın çift heliks yapıda olmasından ileri gelir. Transkripsiyon, replikasyon, rekombinasyon gibi olayların hepsinde DNA heliksini ya kısmen ya da tamamen açılması gerekir. Bu durumda bakteriyel kromozomların halkasal yapısı ve ökaryot kromozomlarının da büyük boyutlarda oluşu açılma sırasında topolojik sorunların ortaya çıkmasına neden olur. DNA topoizomerazlar, çekirdek enzimleri olup DNA'nın süper kıvrımlı yapısını çözerek onun replikasyonuna izin verir.

Topoizomeraz aktivitesini inhibe eden mekanizmalar oldukça farklıdır ve iki sınıfa ayrılır. Birincisi; topoizomeraz zehirleri, ikincisi; katalitik inhibitörlerdir. Topoizomerazlar, DNA'ya kovalent olarak bağlanır ve bir ara ürün olarak geçici topoizomeraz-DNA kesim kompleksini oluşturur (cleavage kompleksi). Enzim sonradan

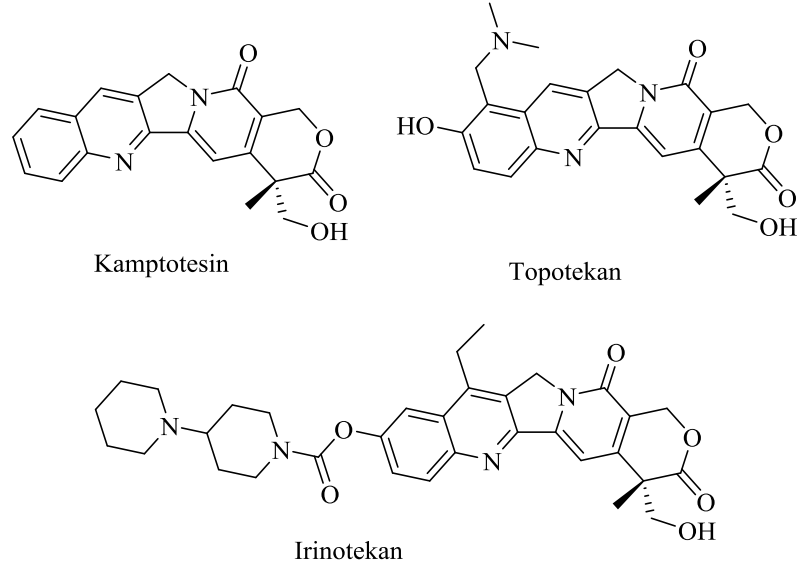
ya tek zincir (topoizomeraz I durumunda) ya da çift zincir (topoizomeraz II durumunda) kırıklarının oluşturur, kırıklardan DNA sarmalı geçtikten sonra bu kırıkları tekrar birleştirir. Birbiri ardına gelen bu döngüler çift sarmalın topolojik yapısını yeterli bir şekilde değiştirerek DNA replikasyonu ve transkripsiyonuna izin verir. Birçok antitümör ajan, bu geçici topoizomeraz-DNA kesim komplekslerini stabilize ederek topoizomerazları inhibe ederler yani topoizomerazların geçici olarak kırılan DNA zincirlerini yeniden birleştirme aktivitesini yok eder ve böylece reaksiyon kesime doğru kayar (DNA molekülü durmadan kesilir). Bu topoizomeraz zehirleri aracılığıyla oluşan tek ve çift zincir kırıklarının birikmesi, sonuç olarak hücreyi ölüme (apoptoz) götürür.

Katalitik inhibitörler ise DNA'ya bağlanarak ya da topoizomerazlara bağlanarak DNA'nın enzime bağlanmasını engelleyerek kovalent DNA-topoizomeraz enzim kompleksi oluşumunu engellerler. Bu nedenle topoizomeraz katalitik inhibitörleri olarak adlandırılırlar. Her iki tip ilaç için de DNA'ya özgül bağlanma şart değildir. Bunların çoğu geniş hidrofobik yüzeyleri ile DNA ile ilişki kurabilir ve DNA, RNA, protein sentezinin inhibe olmasına neden olabilirler. Bunun yanında DNA ile hiç ilişki kurmadan yalnızca topoizomerazları inhibe eden ilaçlar da mevcuttur. Topoizomeraz hedefli ilaçlardan bazıları yalnızca I. tip topoizomerazlara, bazıları yalnızca II. Tip topoizomerazlara, bazıları ise her ikisine de etki edebilir [1,14, 16].

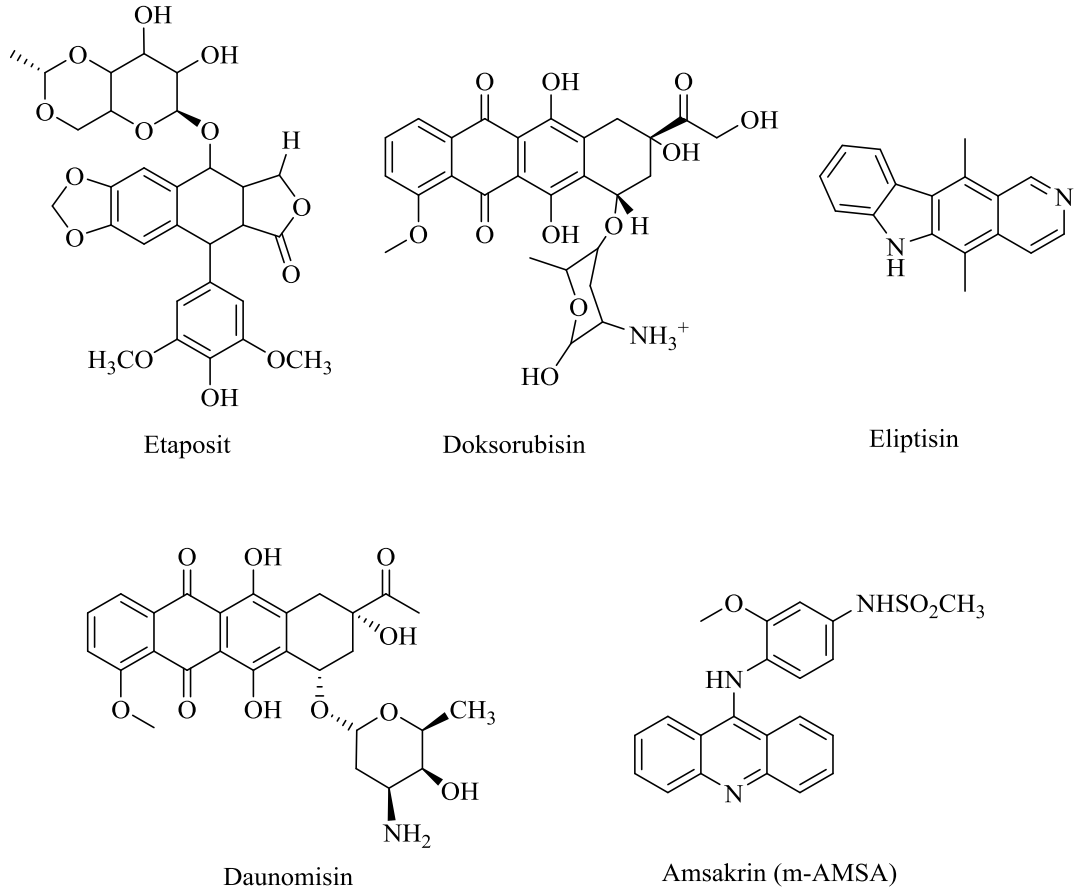
Tüm hücrelerin topoizomerazları içermesine rağmen kemoterapi de topoizomeraz-hedefli antikanser ilaçlarının seçilmesinde üç faktör göz önünde bulundurulmaktadır:

- ✓ Topoizomeraz hedefli ilaçlar topoizomerazların daha yüksek seviyede bulunduğu hücrelerde daha öldürücü hale gelirler. Hızlı büyüyen hücrelerde topoizomerazlar, genellikle, daha yüksek seviyede bulunur. Ayrıca, kanser hücreleri çoğunlukla topoizomerazların çok daha yüksek seviyelerini içerirler. Bu nedenle ilaç muamelesi daha fazla DNA kırığı ortaya çıkarır ve daha yüksek toksisiteye neden olur.
- ✓ Topoizomerazlar tarafından DNA'da meydana getirilen kırıklar normal koşullarda geçicidirler. Fakat, bu kırıklar DNA replikasyon kompleksleri ile karşılaştıklarında kalıcı DNA kırıklarına dönüşürler. Kalıcı DNA kırıklarının yüksek konsantrasyonları onarım proseslerini baskılar ve hücre ölüm yollarını indükler.

- ✓ Kanser hücreleri sıklıkla bozulmuş hücre döngüsü kontrol noktalarına veya DNA onarım yollarına sahiptir. Bu nedenle, normal hücelere göre DNA hasarı yaratan ajanların etkilerine karşı çok daha hassastırlar [16].

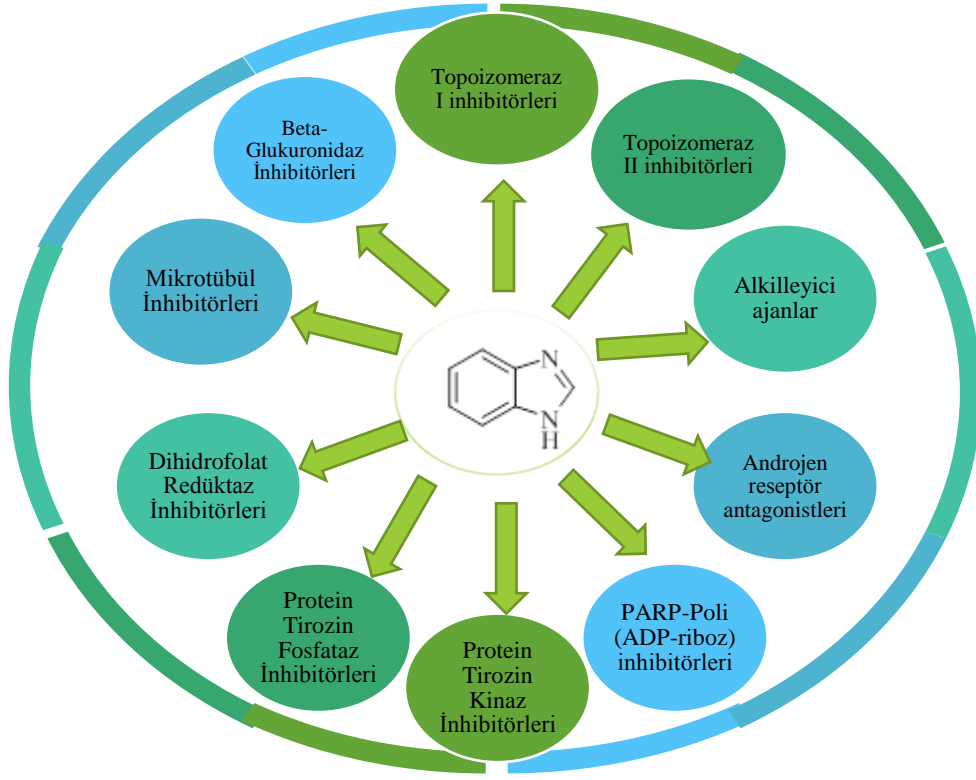


Şekil 1.6. DNA Topoizomerez I inhibitörlerine örnekler



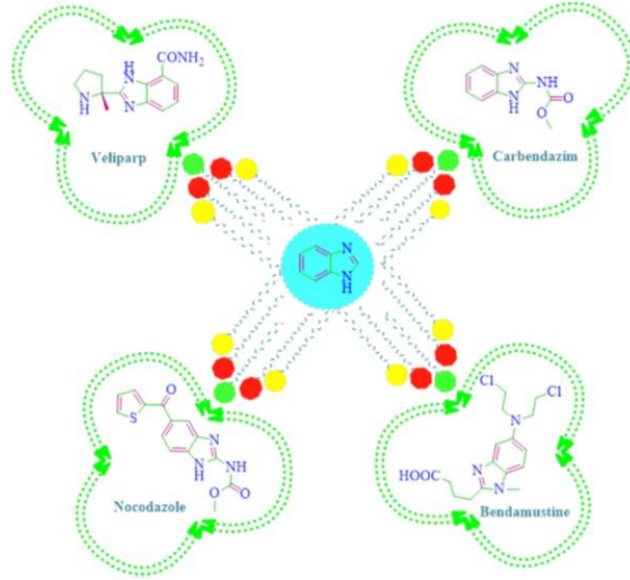
Şekil 1.7. DNA Topoizomeraz II inhibitörlerine örnekler

Benzimidazol, farklı farmakolojik ve biyolojik cevaplar oluşturabilen, bu özelliğinden dolayı klinik uygulama ve çalışmalarda yaygın olarak yer alan heterosiklik bir bileşiktir. Benzimidazol halka sistemi nükleotid bazlarının yapısını oluşturan pürin halkasına benzerliği, biyolojik olarak aktif birçok bileşiğin yapısında bulunan önemli bir farmakofor grup olması nedeniyle ilaç keşfinde anahtar rol oynayan önemli bir yapıdır [21,22].



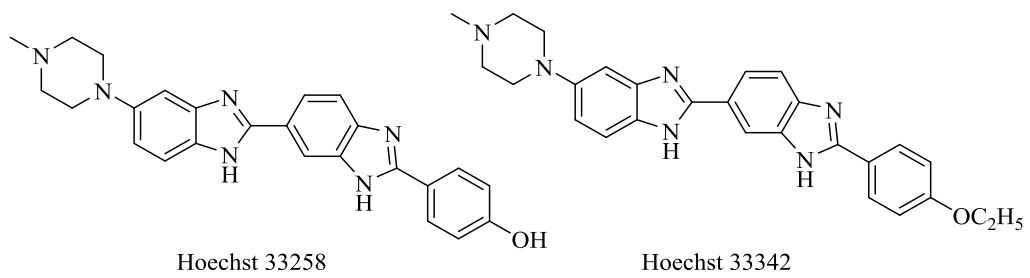
Şekil 1.8. Antikanser ajanlar olarak benzimidazolün farklı hedefleri [23]

Benzimidazol halkasını taşıyan antikanser ilaç sayısı az olmasına rağmen, halka sisteminin antikanser etkinliği üzerine literatürde çok sayıda çalışma bulunmaktadır [24-33].



Şekil 1.9. Benzimidazol yapısı içeren antikanser ilaçlar

Benzimidazol türevi olan ve topoizomerazları inhibe ettikleri belirlenen terbenzimidazoller, antikanser ilaç araştırmalarında son yıllarda üzerinde durulan bir konu haline gelmiştir. Terbenzimidazoller gibi bibenzimidazol türevlerinin de topoizomeraz enzimini inhibe ettiklerinin belirlenmesiyle, bibenzimidazol türevi bileşiklerin antikanser aktiviteleri üzerinde önemli araştırmalar yapılmış, topoizomeraz I zehiri olup DNA bağlayıcı etki gösterdikleri belirlenen iki bileşik (Hoechst 33258 ve Hoechst 33342) oldukça ilgi uyandırmıştır [34].



Şekil 1.10. Hoechst 33258 ve Hoechst 33342 bileşikleri

Hoechst 33258 pibenzimol olarak bilinir ve L1210 fare lösemine karşı aktif olduğu belirlenmiştir. İnsan faz I klinik denemelerinde, pankreas kanserine etki göstermesine rağmen faz II de herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Öte yandan Hoechst 33258 ve Hoechst 33342 bileşiklerinin kanserli hücrelerde topoizomeraz I enzimini

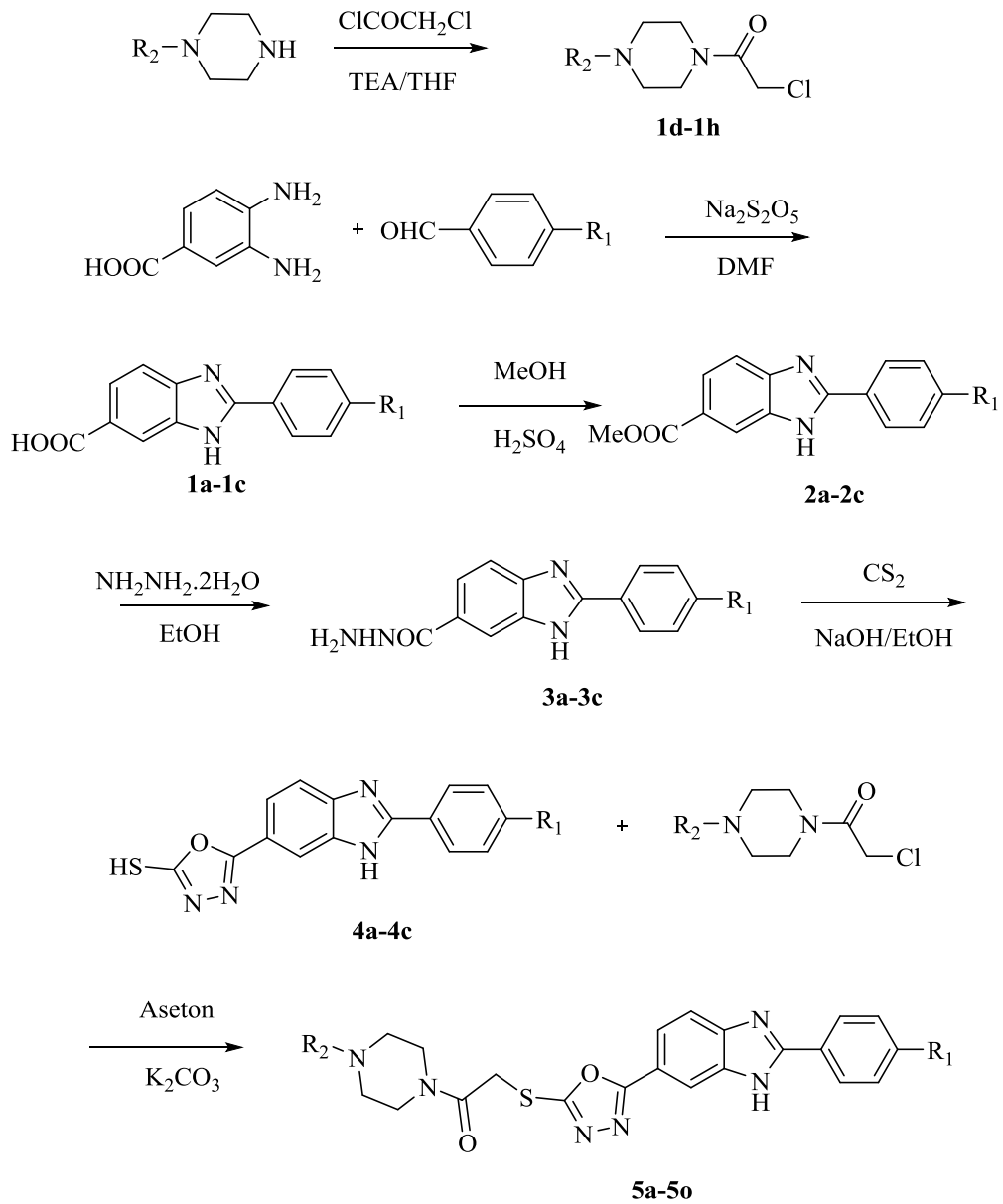
inhibe ettiği bulunmuştur. Hoechst 33258 ve Hoechst 33342 bileşiklerinin AT (adenin-timin) zengince bölgelere seçici bağlandığı bilinmektedir [35, 36].

Yapı-aktivite çalışmalarında Beerman ve arkadaşları, Hoechst 33258 analogu birçok bileşiğin DNA bağlanma afinitesi ve topoizomerez I inhibisyonu arasında lineer bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Benzimidazol halkasının iki azot taşıması inhibitör potansiyelini arttırmaktadır. Benzimidazol çekirdeğine azot atomunun ilavesi ile (benzimidazol→piridoimidazol) enzim inhibisyonunun artması söz konusu olabilmektedir. Hoechst 33258'in alışılmışın dışında DNA'ya bağlanma özelliğine sahip olduğu gösterilmiştir. A(Adenin)-T(Timin) dizilerinin minör yarıklarına girmesinin yanı sıra, G(Guanin)-C(Sitozin) ile zengin dizileri ile de etkileşebilmektedir [37].

Hoechst 33258 bileşiğindeki hidroksil grubu hidrojenin, etil radikaliyle değişimi sonucunda oluşan, 2'-(4-etoksifenil)-5-(4-metil-1-piperazinil)-2,5'-bi-1*H*-benzimidazol (Hoechst 33342), Hoechst 33258'den daha lipofilik özelliktedir. Bileşikteki etoksi sübstitüentinin, bileşiğin membran geçirgenliğini ve ilacın sitotoksitesini arttırdığı görülmüştür [38].

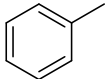
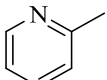
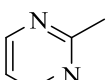
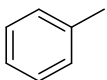
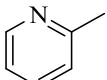
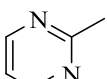
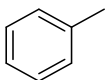
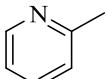
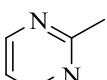
Beerman ve arkadaşlarının Hoechst 33258 ve türevlerinin topoizomerez I'i inhibe etmesini keşfinden sonra Liu ve arkadaşlarının Hoechst 33342 üzerinde yaptıkları çalışmalarda, topoizomerez I'e bölünebilir komplekslerin bağlanmasında Hoechst 33342'nin CPT ile aynı aktiviteye sahip olduğunu rapor edilmiştir. Hoechst 33342'nin, hem *in vitro* hem de insan tümör hücrelerinde sadece topoizomerez I'i geri dönüşümlü bölünebilir komplekslere çevirmesine rağmen, topoizomerez II'yi bu şekilde etkilemediğini belirlemişlerdir. Yapılan bir araştırmada da, Hoechst 33342'nin topoizomerez I inhibitörü etkisinin yanısıra, önemli bir topoizomerez II inhibitörü olarak da etki gösterdiği ortaya konulmuştur [39, 40].

Yukarıda bahsedilen bilgiler ışığında, bu araştırmada yeni antikanser etkili bileşiklerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, Hoechst bileşikleri öncü bileşik olarak belirlenmiştir. Hoechst bileşiklerinde fenil halkasının para konumunda bulunan hidroksi (-OH) ve etoksi (-OC₂H₅) sübstitüentlerine ek olarak metoksi (-OCH₃) sübstitüenti de kullanılmıştır. Bisbenzimidazol yerine benzimidazol halkasına bağlı 1,3,4-oksadiazol halkası sentezlenmiştir. Piperazinin 4. konumundan sübstitüsyon yapılmış ve metil, etil, piridin, pirimidin ve fenil sübstitüentlerinin aktivite üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.



Şekil 1.11. Elde edilmesi planlanan bileşiklere ait genel sentez şeması

Tablo 1.2. Antikanser aktivitelerinin incelenmesi planlanan sentez ürünleri

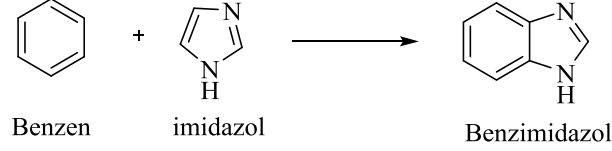
Bileşik	R1	R2
5a	-OH	-CH ₃
5b	-OH	-C ₂ H ₅
5c	-OH	
5d	-OH	
5e	-OH	
5f	-OCH ₃	-CH ₃
5g	-OCH ₃	-C ₂ H ₅
5h	-OCH ₃	
5i	-OCH ₃	
5j	-OCH ₃	
5k	-OC ₂ H ₅	-CH ₃
5l	-OC ₂ H ₅	-C ₂ H ₅
5m	-OC ₂ H ₅	
5n	-OC ₂ H ₅	
5o	-OC ₂ H ₅	

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Benzimidazol

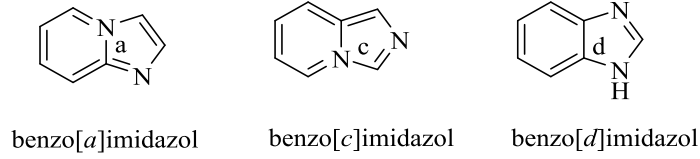
2.1.1. Genel özellikleri

Benzimidazol molekülü, imidazol halkasının 4. ve 5. konumlarından benzene bağlanması ile meydana gelmiş heteroaromatik bir halka sistemidir [41].



Şekil 2.1. Benzimidazol molekülünün yapısı

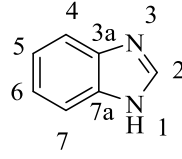
Benzimidazol molekülü aşağıda gösterildiği gibi üç izomere sahiptir [42].



Şekil 2.2. Benzimidazol izomerleri

2.1.2. Adlandırma

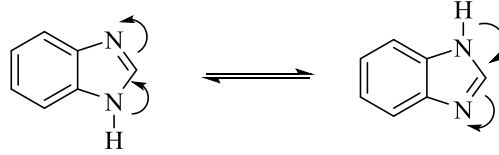
Benzimidazol halka yapısı iki farklı yapıda azot atomu taşımaktadır. Bu halka sisteminde numaralandırılmaya üzerinde hidrojen atomu taşıyan “imino azotu” veya “pirol azotu” olarak adlandırılan azot atomuna bir (1) numara verilerek başlanır. Bu azot sp^3 hibritleşmesi yapar ve kendisine bağlı hidrojenle beraber proton verici merkezi oluşturur. İmino azotunun taşıdığı hidrojen atomuna “imino hidrojeni” adı verilir. Numaralandırmaya tersiyer yapıdaki “piridin azotu” veya “tersiyer azot” olarak adlandırılan azot atomuna üç (3) numara verilerek devam edilmektedir. Bu azot sp^2 hibritleşmesi yapar ve proton alıcısı olarak davranır. Benzimidazol bu şekilde yapısında iki aktif merkeze sahiptir. Çekirdekte oluşan reaksiyonların yönlendirilmesinde bu iki aktif merkezin oldukça büyük bir önemi vardır. Bir ilaç molekülünde benzimidazol yapısının yer alması halinde ilacın dağılımı, taşınması, reseptörlere bağlanması ve metabolize olmasında bu merkezlerin rolü büyüktür [43, 44].



Şekil 2.3. Benzimidazol molekülünün numaralandırma sistemi

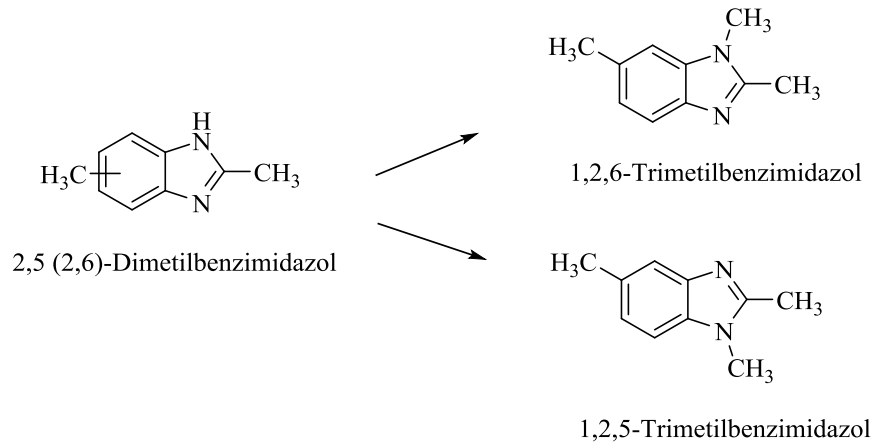
2.1.3. Tautomerik Karakter

Serbest imino hidrojenine sahip benzimidazoller tautomerik karakter gösterirler. Bu serbest hidrojenin süstitüsüyonu tautomerizm ihtimalini ortadan kaldırır ve böylece kesin yapıya ulaşılabilir. Böyle bir durumda numaralandırma süstitüe azot üzerinden başlanarak yapılır [45].



Şekil 2.4. Benzimidazol halkasının tautomer formları

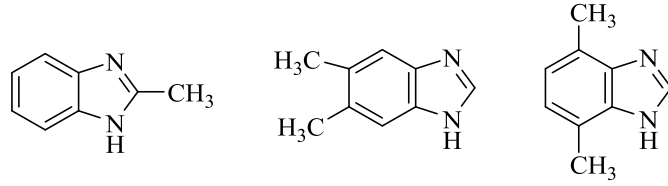
Benzimidazol yapısının benzen halkası üzerinde simetri düzlemini bozacak şekilde süstitüent taşıması durumunda imino hidrojeni süstitüe edilirse, iki farklı izomer karışımı elde edilmektedir. Örneğin 2,5(2,6) dimetilbenzimidazolün imino hidrojeni alkilendirildiğinde 1,2,5-trimetilbenzimidazol ve 1,2,6-trimetilbenzimidazol elde edilir [44, 46].



Şekil 2.5. 1,2,5-Trimetilbenzimidazol ve 1,2,6-Trimetilbenzimidazol eldesi

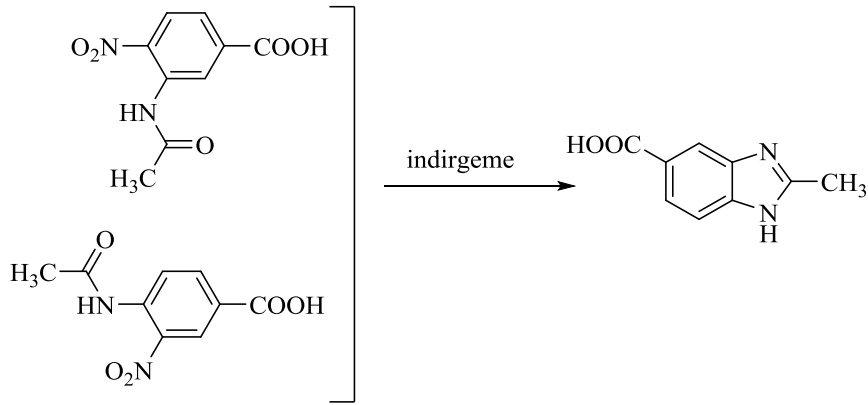
Bu tür özellik gösteren yani bir simetri düzlemine sahip olmayan benzimidazol türevlerinde kesin yapıyı tanımlamak mümkün olmayabilir. Bu durum imino azotunun varlığından kaynaklanmaktadır [47].

Benzimidazol ve simetri düzlemi içeren türevlerin tautomerik formları ise birbirinin aynısıdır ve kesin yapıyı belirlemek mümkündür. Örneğin; 2-metil, 5,6-dimetil ve 4,7-dimetil benzimidazol simetri düzlemine sahiptir [44].



Şekil 2.6. 2-Metil, 5,6-dimetil ve 4,7-dimetil benzimidazol yapısı

Benzimidazollerin tautomerik karakteri nedeniyle 3-nitro-4-asetamido-benzoik asit ve 4-nitro-3-asetamidobenzoik asitin redüksiyonu ile tek ve aynı benzimidazol elde edilmiştir [48].



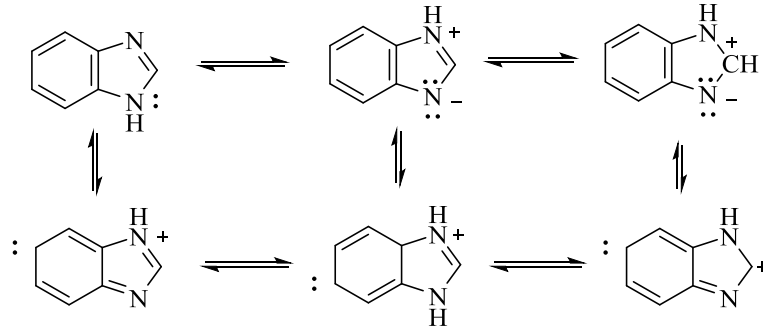
Şekil 2.7. 3-Nitro-4-asetamido-benzoik Asit ve 4-Nitro-3-asetamidobenzoik asitin redüksiyonu

2.1.4. Erime Noktaları, Kaynama Noktaları, Ayrışma Derecesi

Benzimidazol türevi bileşiklerin polar çözücülerde çok, polar olmayan çözücülerde ise az çözüldüğü bilinmektedir. Benzimidazol ve türevleri genel olarak kristal yapılı, oldukça yüksek erime ve kaynama noktasına sahip bileşiklerdir. Benzimidazolün erime noktası 170 °C, kaynama noktası 360 °C' dir. İmino hidrojeninin süstitüsüonu, kaynama ve erime noktalarını önemli ölçüde düşürür [49].

2.1.5. Baziklik ve Elektronik Yapı

Molekülde bulunan tersiyer azottaki eşleşmemiş elektron çiftini reaksiyona girdiği gruba vermesinden dolayı bazik özellik göstermektedir. Diğer yandan imino hidrojenin bulunması asidik özellik göstermesine neden olmaktadır [41]. Benzimidazol ile imidazol moleküllerinin pKa değerleri karşılaştırıldığında benzimidazolün (pKa 5.5), imidazolden (pKa 7.0) daha zayıf bir baz olduğu görülür. Bunun nedeni imidazol ile benzen halkaları arasındaki konjugasyondur. Bu konjugasyondan dolayı meydana gelen rezonans, halka dayanıklılığını artırır ve böylece piridin azotunun (tersiyer azot) bazik karakteri azalmaktadır. Benzen halkası üzerindeki süstitüe gruplar da bazik gücü etkilemektedir. Elektron çekici gruplar bazik gücü azaltırken, elektron salıcı gruplar bazik gücü artırmaktadır [50, 51].



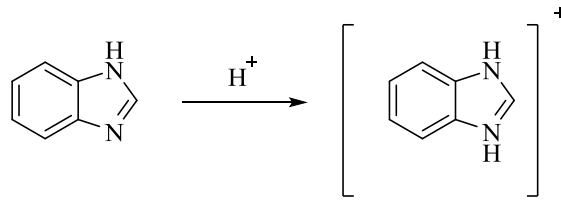
Şekil 2.8. Benzimidazol rezonans formülleri

Rezonans formüllerinde görüldüğü gibi, azot üzerindeki elektronların benzen halkasına geçmesiyle meydana gelen yapılar, 5(6) konumunun elektrofilik süstitüsyona karşı reaktif olmasını sağlamaktadır. Çok güçlü asidik şartlarda bile, elektrofilik süstitüsyon, heterosiklik halkaya değil, 5 numaralı karbona doğru gerçekleşir ve 5-monosüstitüe benzimidazol türevi meydana gelir [52].

Benzen üzerindeki süstitüentin karakteri azot üzerinden süstitüsyonu etkilemekte ve genellikle farklı verimlerde izomerlerin oluşmasına neden olmaktadır. 4. Konum süstitüentleri önemli ölçüde elektrostatik, termodinamik ve sterik etkilere sahip olurken, 5. konumdaki süstitüentlerde bu etkilerin yeterince baskın olmamasından dolayı izomer oluşum oranının bu etkilere bağlı olarak değiştiği de bildirilmiştir. Benzimidazolün 5(6). konum süstitüentlerinin tautomerik denge üzerindeki etkisinin az olması nedeni ile bu

tip sübstütüentler varlığında, hemen hemen eşdeğer miktarda regioizomerlerin oluştuğu bildirilmiştir [53].

Benzimidazoller, aynı zamanda bazik bileşikler oldukları için asitlerle tuz oluşturma kabiliyetine sahiptirler. Rogers ve Clayton (1972) yaptıkları bir çalışmada benzimidazol halkasının asitlerle protonlandığını, floresans dalga boylarına bakarak kanıtlamıştır. Protonlanan benzimidazoller 365 nm de floresans verirken, protonlanmamış benzimidazol türevleri ise 305 nm de floresans vermektedir. Bu bazik karakter özelliği piridin azotunun proton yakalama özelliğinden kaynaklanmaktadır [54].



Şekil 2.9. Benzimidazolun bazik yapısı

2.1.6. Psödoasidik Karakter

Benzimidazoller, amfoterik bileşikler oldukları için metallerle tuz oluştururlar. Kaynar sudaki benzimidazol çözeltisine AgNO_3 ilave edilirse suda az çözünen gümüş tuzu oluşur. Bu tuz seyreltik mineral asitlerde ve asetik asitte çözünür. Benzimidazollerin asidik karakterlerinin diğer bir göstergesi ise Grignard bileşikleri ile reaksiyona girerek N-magnezyum halojenürleri vermesidir. Benzimidazolün imino hidrojeninin sübstütüsyonu pseudo-asidik karakteri ortadan kaldırır [46, 51].

2.1.7. Kimyasal Özellikleri

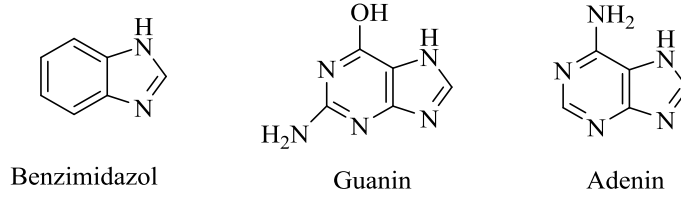
Benzimidazolün kimyasal aktiviteleri, taşıdığı azotlardan dolayı tuz oluşturma, açilasyon, alkilasyon ve benzen halkası üzerinde yürüyen elektrofilik sübstütüsyonlardır [54].

Benzimidazollerin en belirgin özelliklerinden biri kimyasal dayanıklılıklarıdır. Asitler ve bazlarla en etkin şekilde muameleye bile direnç gösterirler. İmidazol halkası yükseltgenmeye karşı çok dirençlidir. Benzimidazol KMnO_4 ile etkileştirildiğinde benzen halkası yükseltgenerek parçalanır ve 4,5-imidazolkarbosiklik asit oluşur.

2.1.8. Benzimidazollerin Biyolojik Aktiviteleri

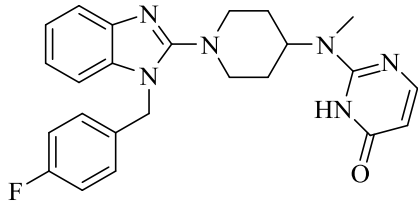
Benzimidazol ve türevlerinin enzim sistemlerine bağlanabilmesi için imidazol yapısındaki N-H grubu oldukça önemlidir. Hidrojen yerine başka bir grup geçtiğinde etkinlik azalmakta bazen yok olabilmektedir.

Canlı sistemlerde benzimidazol halkası B₁₂ vitamini ve serotonin gibi aminoasitlerin yapısında yer almaktadır. Aynı zamanda DNA bazlarının (adenin, guanin) temel yapılarının izosteri olduğundan pürin antimetaboliti olabilirler ve bu özellikleri sayesinde canlı sistemlerdeki biyopolimerlerle daha kolay etkileşime girebileceği düşünülmektedir [54, 55].

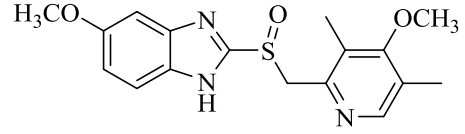


Şekil 2.10. Benzimidazol ve DNA bazları

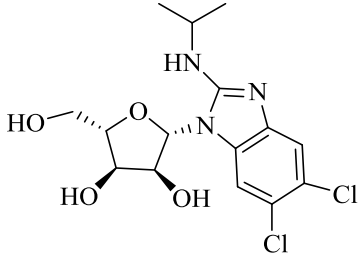
Benzimidazol halkası biyolojik olarak etkin birçok bileşikte bulunmaktadır. Bunlar antihelmintik etkili Tiyabendazol, Mebendazol, Albendazol, Parbendazol, Oksibendazol, Fenbendazol, Oksfendazol; antiülser etkili Omeprazol, Lansoprazol, Rabeprazol, Pantaprazol, Esomeprazol, Timoprazol, Pikoprazol, TU-199, YJA-20379, TY-11345, NC-1300; antihistaminik etkili Astemizol, Mizolastin; antipsikotik etkili Droperidol, Benperidol, Pimozid; antiviral etkili Maribavir; fungusid etkili Benomil; vazodilatör etkili Pimobendan'dır [22].



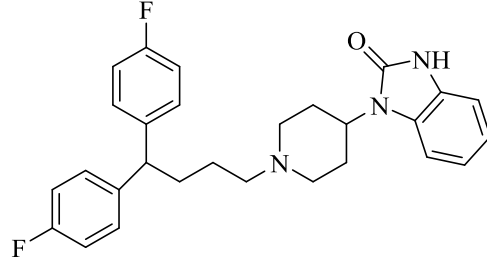
Mizolastin



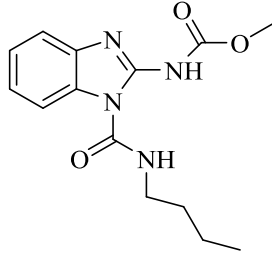
Omeprazol



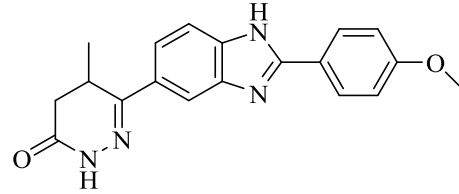
Maribavir



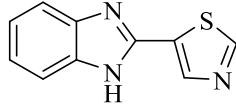
Pimozid



Benomil



Pimobendan



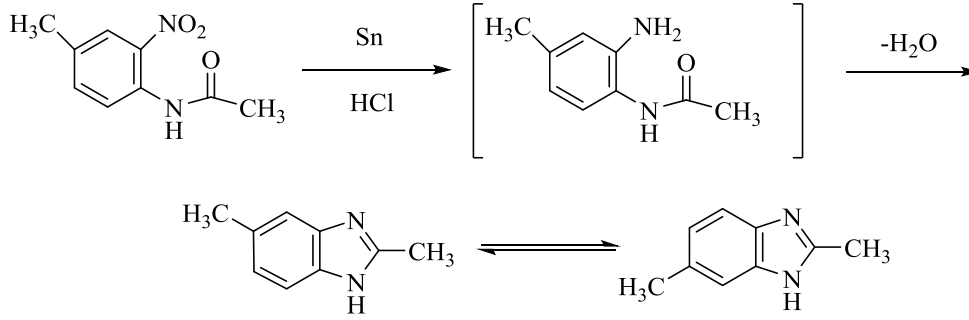
Tiyabendazol

Şekil 2.11. Benzimidazol halkası taşıyan ilaç moleküllerine örnekler

2.1.9. Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri

2.1.9.1. Açillenmiş o-nitroarilaminlerden hareketle;

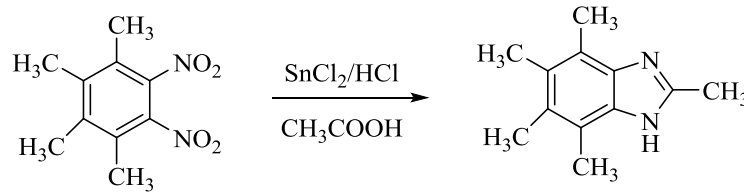
İlk benzimidazol bileşiği, 1872 yılında Hoebrecker tarafından 2-nitro-4-metilasetanilidin SnCl_2/HCl varlığında indirgenme reaksiyonu ile 2,5(2,6)-dimetilbenzimidazol sentezlenmiştir [56].



Şekil 2.12. *Hoebrecker'in benzimidazol sentezi*

2.1.9.2. Dinitrobenzen türevlerinden hareketle;

o-Dinitrobenzen türevlerinin kalay klorür ile hidroklorik asit ve asetik asit varlığında redüksiyonu sonucu 2-metilbenzimidazol türevleri elde edilmektedir [57].

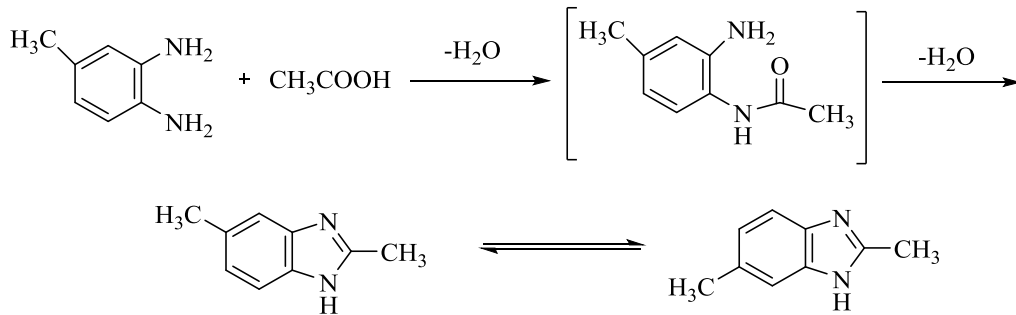


Şekil 2.13. *Dinitrobenzen türevlerinden hareketle benzimidazol sentezi*

2.1.10. *o*-Fenilendiaminlerden hareketle

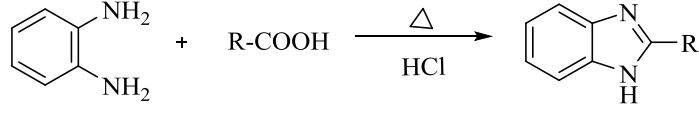
2.1.10.1. *Karboksilik asitler, asit anhidritleri, esterler ya da amidlerden hareketle:*

Ladenburg 1875 yılında, 3,4-diaminotolueni asetik asitle geri soğutucu altında kaynatarak 2,5/6-dimetilbenzimidazolü elde etmiştir [41].



Şekil 2.14. *Ladenburg'un benzimidazol sentezi*

Benzimidazol sentezinde en çok kullanılan metod, *o*-fenilendiaminlerin d. HCl'deki (genellikle 4N HCl) çözeltisi ile karboksilik asit ya da asit anhidritinin reaksiyonudur. Bu yöntem, Phillips'in benzimidazol sentezi olarak bilinmektedir [58].



Şekil 2.15. Phillips yöntemine göre benzimidazol sentezi

o-Fenilendiamin ile formik asit reaksiyona girerse, hiçbir süstitüent taşımayan benzimidazol halkası elde edilir [59].

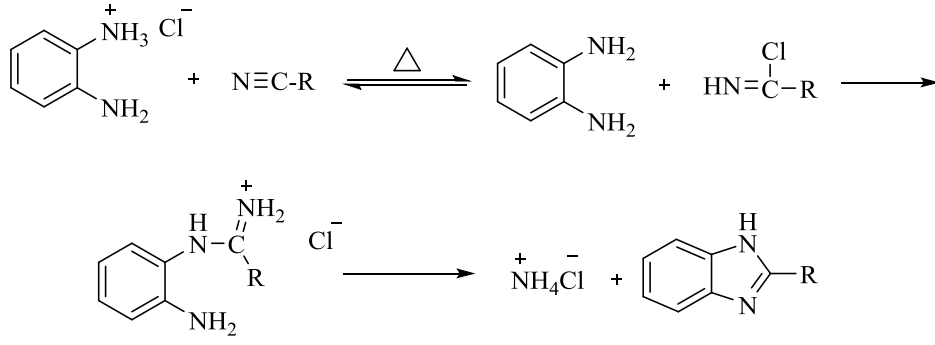
o-Fenilendiamin türevi bileşiklerin, polifosforik asit ile alkil ya da aril karboksilik asitlerle reaksiyonu sonucunda yüksek verimle 2-alkil/aril benzimidazol türevleri elde edilmektedir.

1996 yılından beri *o*-fenilendiaminlerle karboksilik asit türevlerinin reaksiyonu farklı solvan farklı katalizörler varlığında ya da katalizör kullanmadan mikrodalga yöntemi ile yapılabilmekte ve çok daha kısa sürede daha yüksek verimle sonuç elde edilebilmektedir.

Mikrodalga yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen bir sentez çalışmasında 2-alkil ya da 2-aril süstitüe benzimidazol türevlerinin polifosforik asit varlığında eldesinin konvansiyonel benzimidazol sentez yöntemlerine göre verimi arttırdığı ve reaksiyon süresini düşürdüğü bildirilmiştir [60].

2.1.10.2. Nitrillerle reaksiyonuyla

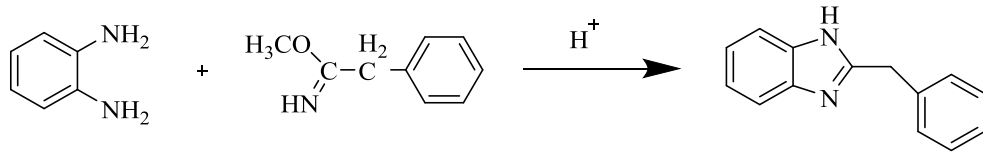
o-Fenilendiamin'in HCl tuzu ile bir alifatik ya da aromatik nitrilin 200 °C de reaksiyonuyla 2-alkil/arilsüstitüe benzimidazol yapısı elde edilmektedir [61].



Şekil 2.16. *o*-Fenilendiamin ile nitrillerden hareketle benzimidazol sentezi

2.1.10.3. İminoeterler veya iminotiyo eterler ile reaksiyonuyla

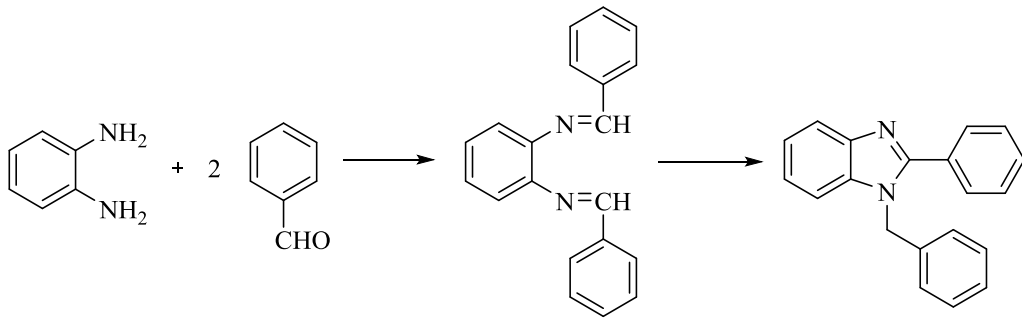
o-Fenilendiamin ile fenasetiminometil eterin metanoldeki solüsyonunun ısıtılması ile 2-benzilbenzimidazol elde edilmektedir [62].



Şekil 2.17. *o*-Fenilendiaminle iminoeterler veya iminotiyo eterler ile reaksiyonuyla benzimidazol sentezi

2.1.10.4. Aldehit ya da ketonlar ile reaksiyonuyla

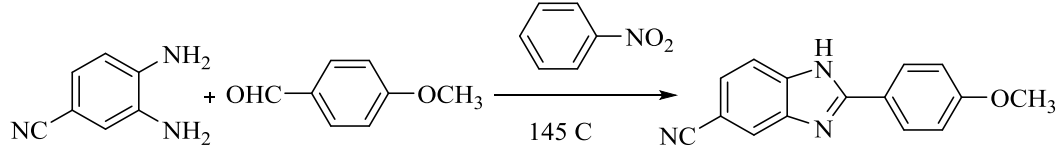
Bir mol *o*-fenilendiaminin iki mol aldehit ile Schiff bazı oluşturarak yürütülen reaksiyon sonucunda 1-benzil-2-fenilbenzimidazol elde edilmektedir [60].



Şekil 2.18. *o*-Fenilendiaminle aldehit ile reaksiyonuyla benzimidazol sentezi

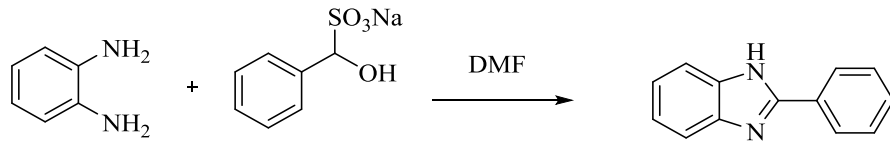
Aldehitlerle gerçekleştirilen reaksiyonlarda katalizör olarak bakır asetat kullanılarak verim arttırılabilir [63].

Birbirine eşit moldeki *o*-fenilendiamin ve aldehit türevlerinin nitrobenzen varlığında 145-150 °C de reaksiyona girmesiyle, benzimidazol türevi bileşikler elde edilmektedir [64, 65].



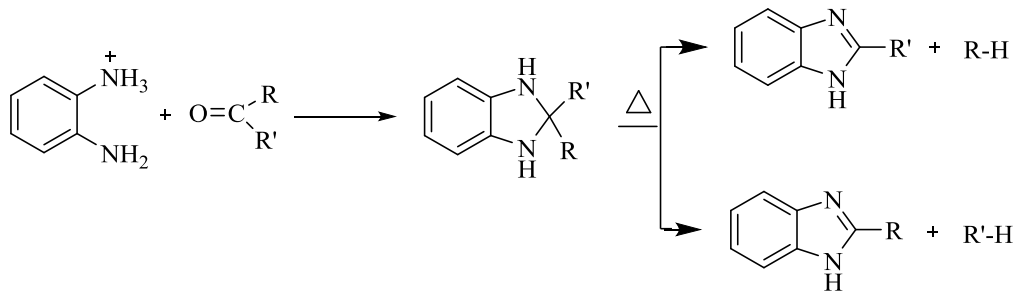
Şekil 2.19. *o*-Fenilendiamin ve aldehit türevlerinin nitrobenzen varlığında reaksiyonu ile benzimidazol sentezi

o-Fenilendiamin ile benzaldehitin sodyumbisülfid tuzu DMF içerisinde reaksiyona sokularak 2-fenil-1*H*-benzo[*d*]imidazol elde edilmektedir [63, 66].



Şekil 2.20. *o*-Fenilendiamin ve benzaldehitin sodyumbisülfid tuzu ile reaksiyonuyla benzimidazol sentezi

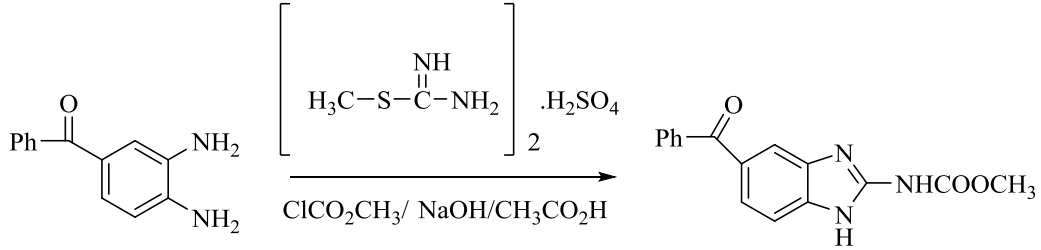
o-Fenilendiamin, ketonlarla muamele edildiğinde 2,2-disüstitüe benzimidazolinleri verir ve bu oluşan ürün ısıtıldığında parçalanarak 2-süstitüe benzimidazol ve hidrokarbon yapılarını verir [67].



Şekil 2.21. *o*-Fenilendiamin ve ketonlar ile reaksiyonuyla benzimidazol sentezi

2.1.10.5. 2-Metiltiyopsödoüre sülfat ile reaksiyonuyla

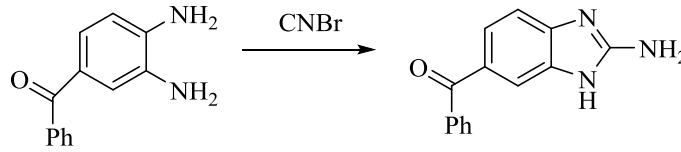
o-Fenilendiaminler 2-metiltiyopsödoüre sülfat ve metilkloroformat ile bazik ortamda reaksiyonu girdiğinde 1*H*-benzimidazol-2-karbamatu verir [68].



Şekil 2.22. *o*-Fenilendiamin ve 2-metiltiyopsödoüre sülfat ile reaksiyonuyla benzimidazol sentezi

2.1.10.6. Siyanojenbromür ile reaksiyonuyla

3,4-diaminobenzofenon ile bromo siyanür sulu ortamda karıştırıldığında, 2-amino-5(6)-benzoil-1*H*-benzimidazol elde edilir [69].



Şekil 2.23. *o*-Fenilendiaminin bromosiyaniür ile reaksiyonuyla benzimidazol sentezi

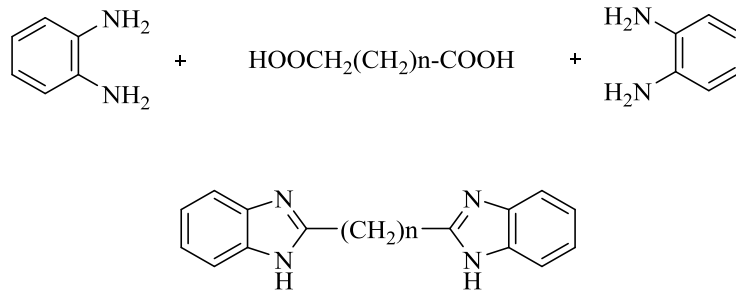
2.2. Bisbenzimidazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri

Geniş biyolojik aktivite spektrumuna sahip olan benzimidazoller üzerinde yapılan yapısal modifikasyon çalışmalarında, yüksek biyolojik aktivitelere sahip bisbenzimidazol türevlerinin elde edildiği görülmektedir. Bisbenzimidazol ve türevlerinin sentezlerinde iki benzimidazol çekirdeğinin belirli bağlantı noktalarından çeşitli bağlayıcılarla halkaların birbiriyle bağlandığı çalışmalar yapılmaktadır. Literatürde iki tip bisbenzimidazol yapıları yer almaktadır. Birinci grup bağlayıcı grupların bulunduğu simetrik yapılar, ikinci grup tekrarlayan yapıların olduğu bisbenzimidazol türevleridir. Bu yapısal permütasyonlar ve kombinasyonlar farmakolojik ve biyolojik araştırmalar için çok sayıda bisbenzimidazol türevi geliştirilmesine olanak sağlayacak durumdadır. Bağlayıcı grup taşıyan bisbenzimidazol türevlerinde, alkil/alifatik, aromatik ve heteroaromatik bağlayıcılarla iki benzimidazol çekirdeğinin birleştirildiği belirlenmiştir.

Simetrik bisbenzimidazol bileşiklerinin sentezinde farklı reaksiyon şartlarında tek basamaklı sentez çalışması doğrudan bağlama yoluyla yapılmıştır [70].

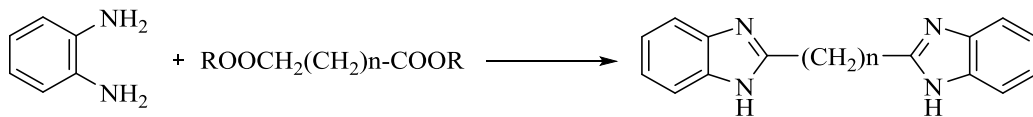
2.2.1. *o*-Fenilendiaminler ve diasitlerin reaksiyonuyla (Philips Metodu)

Bu yöntemde mono karboksilik asitlerin kullanılması ile 2-süstitüe-1*H*-benzimidazol, dikarboksilik asitlerin kullanılması durumunda ise bisbenzimidazol türevleri elde edilmektedir. Bis-benzimidazoller ise iki mol *o*-fenilendiamin ile bir mol dikarboksilli asidin, seyreltik HCl'li ortamda ısıtılması sonucu major ürün olarak elde edilir [71].



Şekil 2.24. Philips metoduna göre bisbenzimidazol sentezi

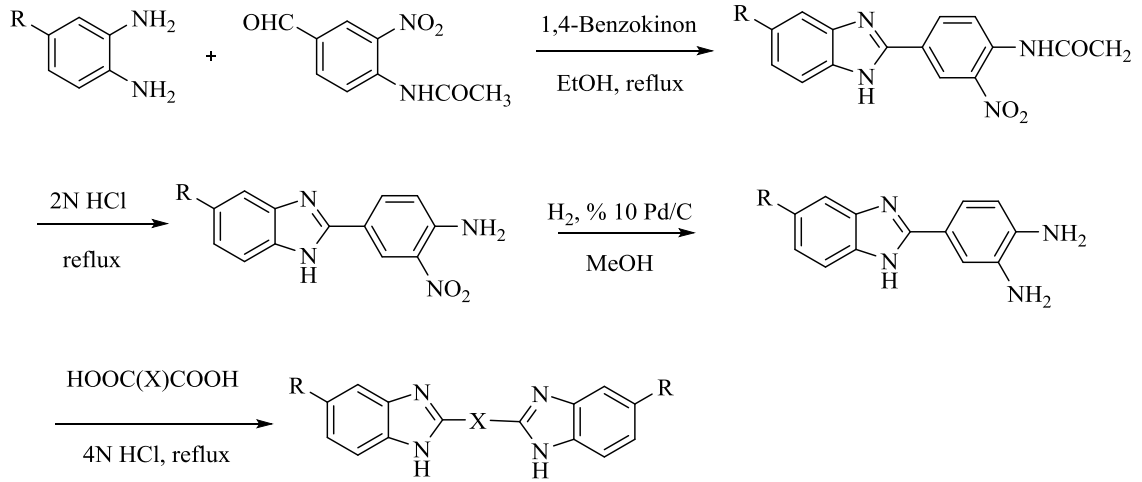
1,2-Fenilendiamin ve diesterlerin fosforik asit içinde azot altında yüksek sıcaklıkta ısıtılması ile bis-benzimidazoller elde edilmektedir [72].



Şekil 2.25. Diesterlerden bis-benzimidazol oluşumu

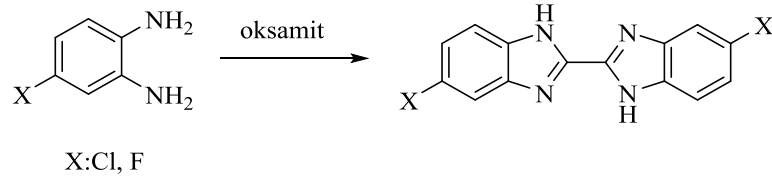
2.2.2. 4-İmidazolin-*o*-fenilendiamin veya 4-amidin-*o*-fenilendiaminden hareketle

Uygun diaminin 4N HCl içinde iyi karıştırılmış çözeltisine diasit ilave edilerek geri soğutucu altında ısıtılmasıyla da bisbenzimidazoller sentezlenmektedir [73].



Şekil 2.26. Diaminlerden bis-benzimidazol oluşumu

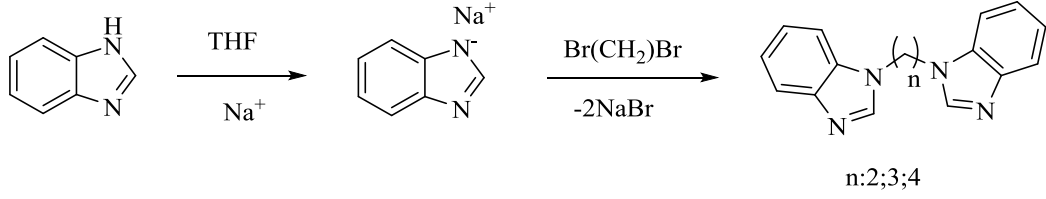
4-Halo-*o*-fenilendiaminden hareketle 4. konumda halojen süstitüenti taşıyan *o*-fenilendiamin türevlerinin oksamit ile geri çeviren soğutucu altında ısıtılmaları ile bir çeşit aminoliz tepkimesiyle halka kapanarak 2,2'-bisbenzimidazoller elde edilmektedir [74].



Şekil 2.27. 4-Halo-*o*-fenilendiaminden hareketle bis-benzimidazol sentezi

2.2.3. Benzimidazolden Hareketle

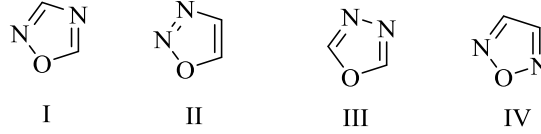
Benzimidazol veya 5-süstitübenzimidazolün kuru THF varlığında metalik Na ile etkileştirilmesinden bileşiğin Na tuzu oluşur. Oluşan benzimidazol veya 5-süstitübenzimidazolün Na tuzunun dibromalkanlar ile tepkimesinden bis-benzimidazoller oluşur [75].



Şekil 2.28. Benzimidazolden Na metali ile bis-benzimidazol oluşumu

2.3. Oksadiazoller

Oksadiazoller furan halkasındaki (-CH=) grupları yerine piridin tipi (-N=) gruplarının gelmesi ile yapılanmışlardır. Beş üyeli halka; iki karbon atomu, iki azot atomu, bir oksijen atomu ve iki çift bağ bulundurur. Genel formülü $C_2H_2N_2O$ olarak gösterilebilir. Halkadaki azot atomlarının pozisyonlarına bağlı olarak oksadiazollerin 4 izomeri mevcuttur; 1,2,4-oksadiazol, 1,2,3-oksadiazol, 1,3,4-oksadiazol, 1,2,5-oksadiazol [76, 77].



Şekil 2.29. Oksadiazol izomerleri (I. 1,2,4-oksadiazol, II. 1,2,3-oksadiazol, III. 1,3,4- oksadiazol, IV. 1,2,5-oksadiazol)

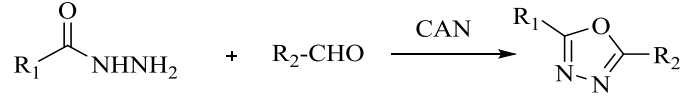
1,2,4-Oksadiazol, 1,2,5-oksadiazol, ve 1,3,4-oksadiazol bileşikleri bilinen oksadiazollerdir fakat 1,2,3-izomeri kararsızdır ve diazoketon tautomerine dönüşür. Kararlı olan diğer oksadiazoller ise birçok ilacın içerisinde bulunurlar.

Oksadiazol halkasındaki karbon atomuna elektrofilik süstitüsyon, elektron çekici azot atomunun elektron yoğunluğunu azaltması nedeniyle çok zordur. Eğer oksadiazol halkası elektron verici gruplar ile süstitüe edilirse elektrofilik süstitüsyon ancak azot üzerinde meydana gelir. Oksadiazol halkası genellikle nükleofilik saldırıya uğramaz.

Oksadiazollerin yüksek hidrolitik ve metabolik kararlılıkları, farmakokinetik davranışları, gözlemlenen *in vivo* performansları; bu bileşikleri ilaç endüstrisi açısından önemli yapmıştır. İlaç kimyasındaki bu önemli rollerinden dolayı kimyacılar tarafından yakından incelenmektedirler [78].

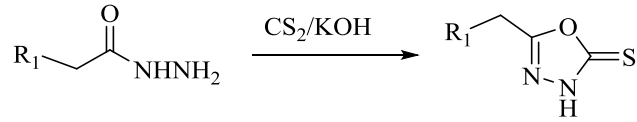
2.3.1. Oksadiazollerin Genel Sentez Yöntemleri

Açilhidrazitlerin seryum amonyum-4-nitrat (CAN) varlığında aldehitlerle reaksiyonu sonucu 1,3,4-oksadiazoller elde edilmektedir.

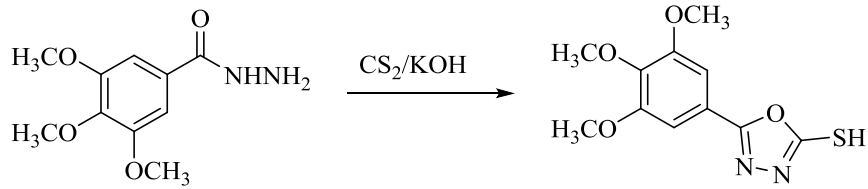


Şekil 2.30. Seryumamonyum-4-nitrat varlığında 1,3,4-oksadiazol sentezi

Karboksilik asid hidrazitlerinin alkali ortamda karbon sülfürle reaksiyonu sonucu 1,3,4-oksadiazol-5-tiyonlar ve 3,4,5-trimetoksibenzoik asid hidrazitin karbon sülfürle reaksiyonu sonucu ise 5-merkpto-1,3,4-oksadiazoller elde edilmektedir [79].

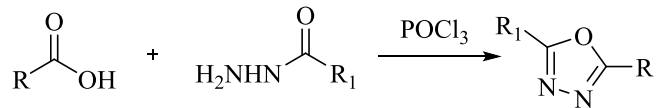


Şekil 2.31. 1,3,4-Oksadiazol-5-tiyon sentezi



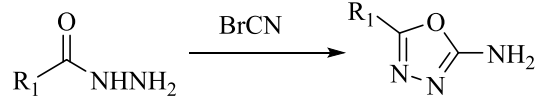
Şekil 2.32. 5-Merkpto-1,3,4-oksadiazol sentezi

Literatürde kayıtlı 1,3,4-oksadiazol türevlerinin neredeyse tamamı hidrazit türevlerinden elde edilmiştir. Hidrazitlerin karboksilli asitler ile POCl₃ varlığında muamelesinden 1,3,4-oksadiazoller elde edilmiştir [80].



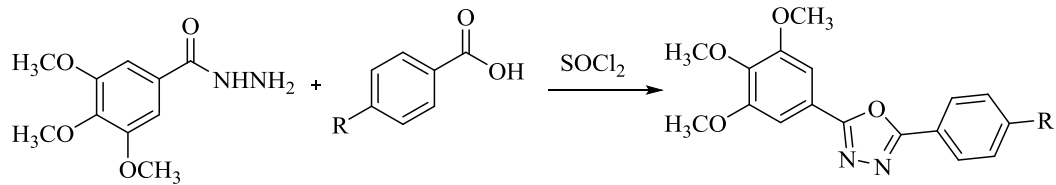
Şekil 2.33. 1,3,4-Oksadiazollerin POCl₃ varlığında hidrazin hidratlardan sentezi

Literatürde kayıtlı olan diğer bir 1,3,4-oksadiazol türevi ise hidrazitin karbon disülfür yerine siyanojen bromür kullanılması ile 2-amino-1,3,4-oksadiazollerdir [81].



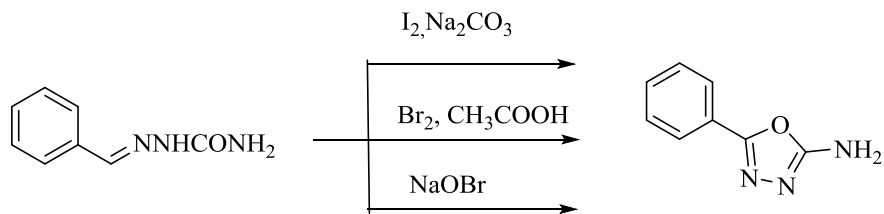
Şekil 2.34. 2-Amino-4-aril/alkil-1,3,4-oksadiazollerin eldesi

Hidrazitlerin karboksili asitler ile tyoniklorür varlığında reaksiyonlarıyla da yüksek verimde oksadiazoller elde edilmiştir [82].



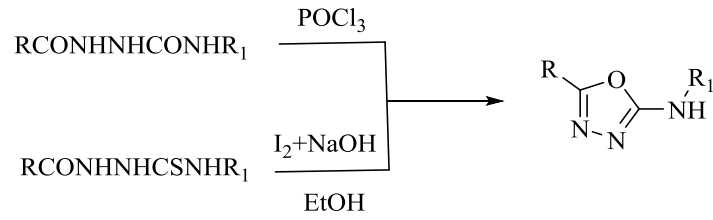
Şekil 2.35. Tyoniklorür varlığında 1,3,4-oksadiazollerin sentezi

2-Amino-1,3,4-oksadiazol sentezinde semikarbazonlar da çıkış bileşiği olarak kullanılabilir. Semikarbazonların, sodyum karbonatlı ortamda iyot, bromun buzlu asetik asitteki çözeltisi veya sodyum hipobromit ile tepkimelerinden 2-amino-5-fenil-1,3,4-oksadiazoller sentezlenmiştir.



Şekil 2.36. Semikarbazondan 1,3,4-oksadiazol sentezi

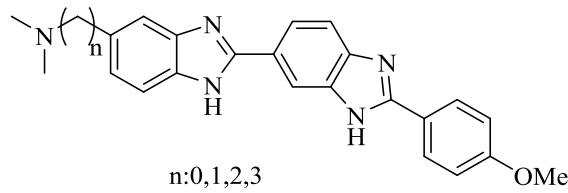
Açılsemikarbazitlerin, fosforoksi klorür ile ısıtılmaları sonucu 2-aril/alkilamino-5-aril/alkil-1,3,4-oksadiazol yapısındaki bileşiklerin oluştuğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra açiltiyosemikarbazitler de sodyum hidroksit ve iyot ile etanol içerisinde ısıtıldıklarında aynı ürünleri vermektedir [83].



Şekil 2.37. Açılsemikarbazitlerden ve açiltiyosemikarbazitlerden 1,3,4-oksadiazol sentezi

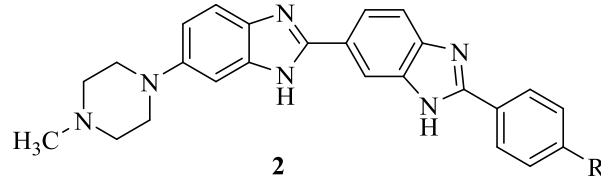
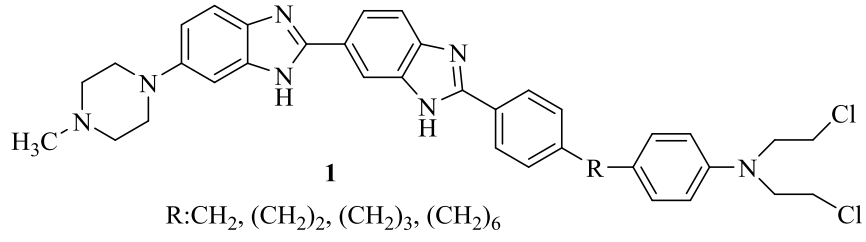
2.4. Antikanser Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Bis-benzimidazol Türevleri

Sun ve diğerleri (1994), bazı Hoechst 33342 türevi bileşikleri sentezleyerek bu grup bileşiklerin topoizomeraz I zehirleyici aktivitelerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada, benzimidazol halkasının 5-konumunda bulunan tersiyer alkilamin yapısının aktivitede önemli rol oynadığını belirtmişlerdir. Ayrıca, sentezlenen bisbenzimidazol bileşiklerinin 5-konumunda piperazin varlığında en yüksek sitotoksik aktivite görülmüştür. Yine aynı konumda metilen grupları bağlanmış tersiyer alkilamin grubu taşıyan bileşiklerde topoizomeraz I zehir etkisinde artış gözlenmiştir [39].



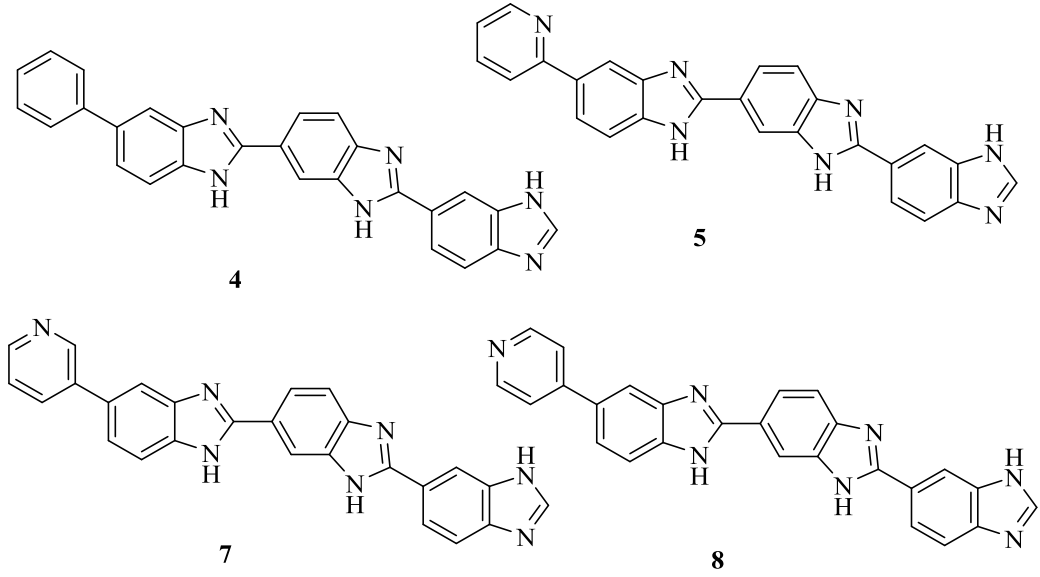
Şekil 2.38. Hoechst 33342 türevi bileşikler

Gravatt ve diğerleri (1994) tarafından yapılan bir çalışmada, 2-(4-Süstitüefenil)-5-(4-metil-1-piperazinil)-2,5-bi-1H-benzimidazol ve 2-[[4-[N,N-bis(2-kloroetilamino)]fenil]alkil]-5-(4-metil-1-piperazinil)-2,5-bi-1H-benzimidazol türevlerinin sentezleri gerçekleştirilmiş ve bu türevlerin antikanser etkileri üç farklı kanser hücre tipi (P388, AA8, UV4) üzerinde incelenmiştir. Çalışma sonucunda sentezlenen bileşiklerin tamamının P388 (insan lösemi hücre hattı) hücreleri üzerinde son derece yüksek antikanser aktivite gösterdiği saptanmıştır [84].



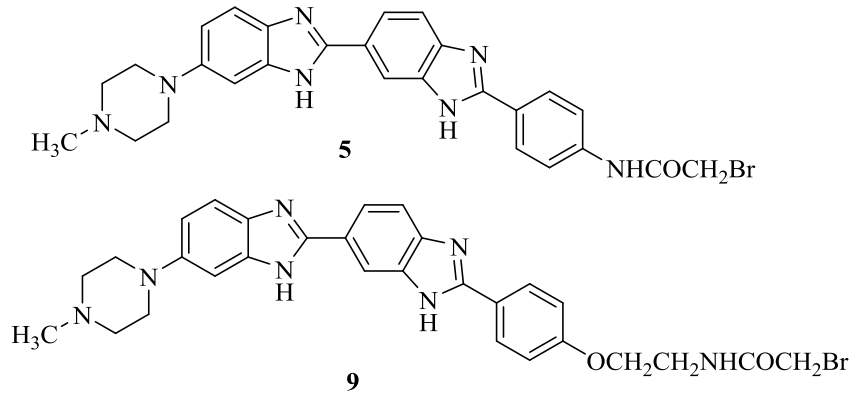
Şekil 2.39. 2-(4-Süstitüefenil)-5-(4-metil-1-piperazinil)-2,5-bi-1H-benzimidazol (**1**) ve 2-[[4-[N,N-bis(2-Kloroetilamino)]fenil]alkil]-5-(4-metil-1-piperazinil)-2,5-bi-1H benzimidazol (**2**) türevleri

Sun ve diğerleri (1995) tarafından yürütülen bir başka çalışmada 8 adet terbenzimidazol ve 2 adet bisbenzimidazol türevi bileşik sentezlenmiştir. Sentez ve antikanser aktivite çalışmalarında Hoechst 33342 bileşiğini referans olarak almışlardır. Bu çalışmada, topoizomeras zehri olarak aktif olan terbenzimidazol türevlerinin bazılarında önemli sitotoksitenin görülmediğini tespit etmişlerdir. Bu sitotoksite kaybını, terbenzimidazollerin hücre içine zayıf penetrasyonu ile açıklamışlardır. RPMI, CPT-K5, KB3-1, ve KBV-1 kanser hücreleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda 4,5,6 ve 7 numaralı bileşiklerin KBV-1 hücreleri (insan meme kanseri hücre hattı) üzerinde referans ilaçtan daha etkili olduğu ortaya konmuştur. Terbenzimidazoller üzerinde 5-fenil yada 5-piridil grupları varlığında topoizomeras I zehir aktivitesinde azalma olduğu belirlenmiştir [64].



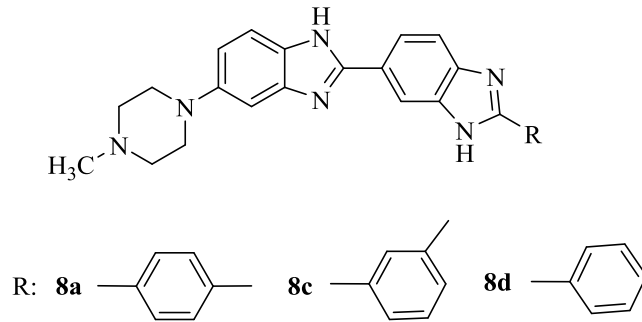
Şekil 2.40. KBV-1 Hücreleri üzerinde etkili terbenzimidazol türevleri

Wiederholt ve diğerleri (1996) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise sentezlenen bileşiklerde Hoechst 33258 bileşiğinde yer alan fenol grubu yerine DNA bağlama özelliği ve floresans özelliğini koruyabilecek farklı fonksiyonel gruplar kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin fluoresan özellikleri incelenmiş ve referans ilaç Hoechst 33258 ile kıyaslanmıştır. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlara göre sentezlenen yeni türevlerin DNA-bağlama özelliklerinin referans ilaca göre daha üstün olduğu bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda, fenol halkasının fluoresans özelliğini kaybetmeden istenilen bağlayıcıya bağlanmak için uygun bir yer olarak kullanılabilceğini kanıtlanmıştır [85].



Şekil 2.41. 2-[2-[4-(Bromoasetamido)fenil]-6-benzimidazolil]-6-(1-metil-4-piperazinil) benzimidazol (5) ve 2-[2-[4-[2-(Bromoasetamido)etoksi]fenil]-6-benzimidazolil]-6-(1-metil-4-piperazinil)benzimidazol (9)

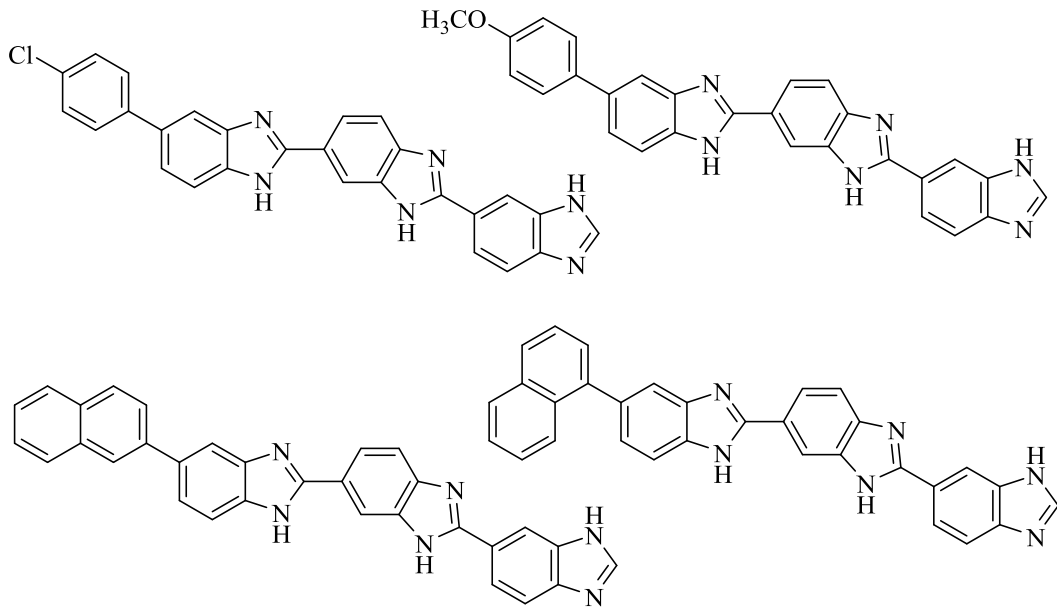
Sun Kim ve diğerleri (1996) yaptıkları çalışmada 2'-aril-5-substitute-2,5'-bi-1*H*-benzimidazol türevlerini sentezlemişler ve topoizomeraz I zehri olarak etkisini değerlendirip insan lenfoblast hücresine (RPMI 8402) karşı sitotoksitelerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada 5-siyano, 5-(aminokarbonil) ve 5-(4-metilpiperazinil) grupları üzerine odaklanılmıştır. Bu bibenzimidazoller arasında, 2'-fenil türevlerinin farmakolojik aktivitesi ile 2'-tolil ve 2'-naftil gruplarının farklı pozisyonel izomerlerinin sitotoksite ve topoizomeraz I inhibitör aktivitesi üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, 5-(4-metilpiperazinil) yapısı taşıyan bileşiklerin Hoechst 33342'ye benzer bir etki gösterdiği, 2-sübstitüe fenil yapısı içeren bileşiklerin aktivitesinin düştüğü bulunmuştur [86].



Şekil 2.42. 2'-Sübstitüe-fenil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-2,5'-bi-1*H*-benzimidazol türevleri

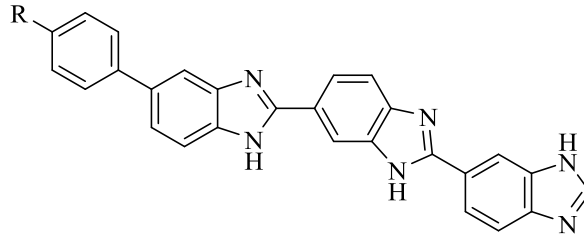
Kim ve diğerleri (1997) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, topoizomeraz I zehirleri ve sitotoksik ajanlar olarak 4,5 ve 5,6-benzo kaynaşmış terbenzimidazol yapıları ile 4-fenil ve 5-naftilbenzimidazollerin RPMI 8402 hücreleri üzerine etkileri 5-

fenilbenzimidazol ile karşılaştırılmıştır. 5,6-benzoterbenzimidazollerin topoizomeraz I zehri olarak etkisiz olduğu ve önemli bir sitotoksik aktivite sergilemedikleri bulunmuştur. Buna karşın, 4,5-benzoterbenzimidazollerin topoizomeraz I zehri olarak aktivitelerini korudukları bulunmuştur. Naftilterbenzimidazoler, 5-(*p*-metoksifenil)terbenzimidazol ve 5-(*p*-klorofenil)terbenzimidazolün RPMI 8402 hücresine karşı sitotoksitesi ve topoizomeraz I zehirleri olarak göreceli aktiviteleri saptanmıştır. 5-(2-naftil)terbenzimidazolün, 5-fenilterbenzimidazole benzer aktiviteye sahip olup 5-(1-naftil)terbenzimidazolün daha az sitotoksik olduğu belirlenmiştir [65].



Şekil 2.43. RPMI 8402 Hücreleri üzerinde etkili terbenzimidazol türevleri

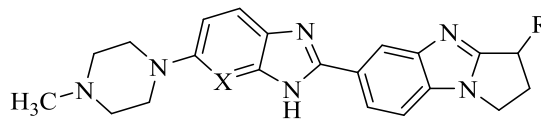
Terbenzimidazol yapıları 14 bileşiğin konu alındığı kantitatif yapı etki ilişkileri çalışmasında (1998), ilgili bileşikler π ve σ parametreleri hesaplanarak sitotoksik aktivitelerine karşı analizlenmiştir. Elde edilen yapı-etki ilişkileri eşitliklerinde, bileşiklerin π değerleri ile gözlenen biyolojik aktivite arasında önemli ölçüde anlamlılık olduğu ifade edilmiş ve terbenzimidazol grubu bileşiklerde lipofilitenin göstergesi olan π değerinin antikanser aktivite üzerinde önemli rol oynadığı sonucuna varılmıştır [87].



R: 1-Naftil, 2-Naftil, Propil, Fenil, Br, Piperidin, Cl, F, H, OCH₃, NO₂, CN, OH, NH₂

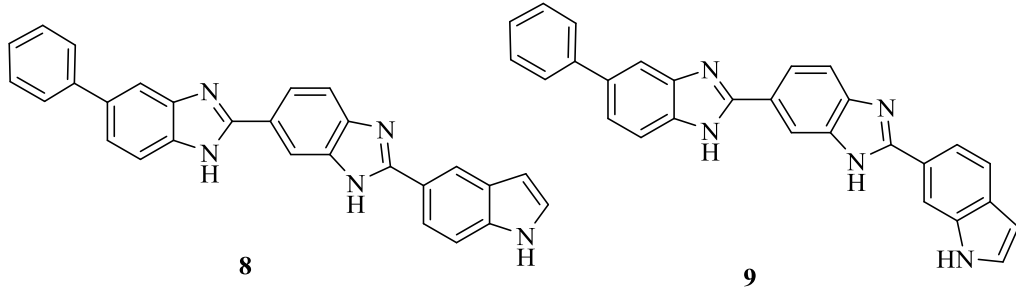
Şekil 2.44. *Kantitatif yapı etki ilişkilerine konu olan terbenzimidazol türevleri*

Satyanarayana ve Lown tarafından 2000 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada Hoechst 33258 analogları baz alınarak pirolbenzimidazol türevleri sentezlenmiş ve insan tümör helikazlarını seçici inhibisyon potansiyelleri araştırılmıştır. Bileşikler piperazine bağlı benzimidazol yapısının benzen halkası için piridin, diğer benzimidazol yapısı için pirol kullanılarak türevlendirilmiştir. Pirol benzimidazol halkası içeren türevler lösemi dışında bazı tümör hücrelerine karşı belirgin sitotoksosite göstermiştir. Özellikle 3-süstitüe pirolbenzimidazol halkasının hem sitotoksosite hem de DNA alkilasyonunun tipi ve derecesi üzerinde önemli etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. 3. Konumda ester grubunun varlığının optimum sitotoksosite için gerekli olduğu ayrıca hidrojen bağlama fonksiyonunun DNA bağlanmasında ve lipofilite de önemli olduğu sonucuna varılmıştır [88].



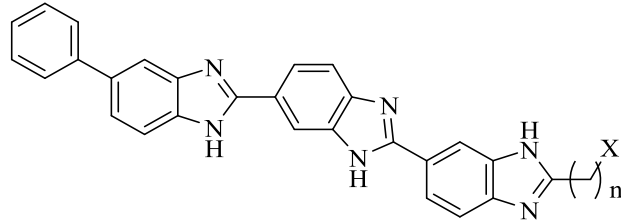
Şekil 2.45. *Pirol bis-benzimidazol türevi*

Jin ve diğerleri (2000) yaptığı çalışmada, 5-fenil-2,5'-1*H*-bibenzimidazol türevi bileşikler, topoizomeraz I zehirleyici etkileri ve sitotoksiteleri yönünden incelenmiştir. Bu çalışmada 2'-konumda molekül içi hidrojen bağına sebep olan grup ya da atomların bulunması halinde aktivitede önemli değişikliklerin olduğunu ortaya koymuşlardır [40].



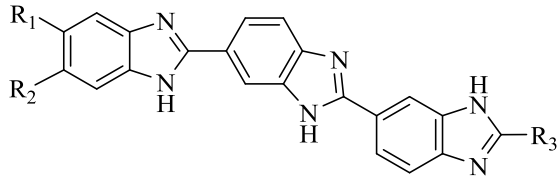
Şekil 2.46. 5-Fenil-2-(2'-(indol-5-il)benzimidazol-5'-il)benzimidazol (8) ve 5-fenil-2-(2'-(indol-6-il)benzimidazol-5'-il)benzimidazol (9)

Rangarajan ve diğerleri (2000) yaptıkları çalışmada 5-fenil-2''-süstitüe terbenzimidazollerin etkileri ile yapıları arasındaki ilişki incelenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin fizikokimyasal özellikleri değerlendirilmiştir. Çalışmada etki potensi yüksek topoizomeraz I zehirleri arasında olan 5-fenilterbenzimidazol türevlerinin RPMI 8402 hücrelerine karşı daha güçlü sitotoksisite gösterdiği ifade edilmiştir [89].



Şekil 2.47. 2''-Süstitüe-5-fenilterbenzimidazol türevi

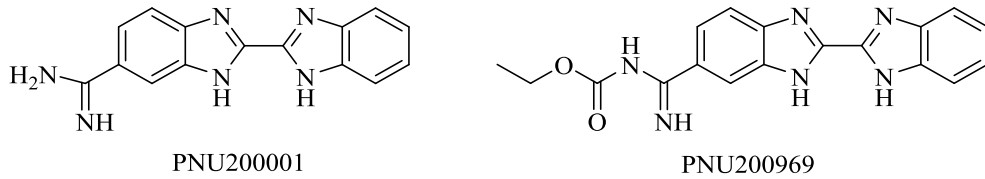
Rangarajan ve diğerlerinin (2000) yaptıkları diğer bir çalışmada 2''-konumunda klor ya da trifluorometil süstitüenti varlığında 5,6-dibromoterbenzimidazol'un topoizomeraz I zehir etkisi ve sitotoksisitesinin nasıl etkileneceği araştırılmıştır. Bu çalışmada, terbenzimidazol türevlerinin sitotoksisitesi üzerinde belirgin bir etkiye sahip olan, iki yapısal değişiklik ortaya konulmuştur. 5 ve 6. Konumunda lipofilik süstitüentlerin varlığı halinde sitotoksisite görülmüştür. 5,6-Benzo halka kaynaşması sitotoksik aktivitede önemli oranda azalmaya neden olmuştur. Bununla birlikte, 5- ve 6-konumunda fonksiyonel grup varlığı halinde sitotoksik aktivitede önemli bir azalma görülmemiştir. Ayrıca, 2''-konumunda klor ya da trifluorometil süstitüentinin bulunması halinde RPMI 8402 hücrelerine karşı aktivitede herhangi bir değişiklik olmadığı ortaya konulmuştur [90].



Şekil 2.48. 5-Fenilterbenzimidazol ve 5-bromoterbenzimidazol türevleri

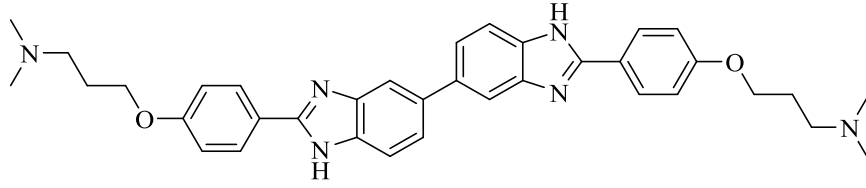
R ₁	R ₂	R ₃
Fenil	H	H
Br	Br	Cl
	Fenil	CF ₃
	-OCH ₃	OH
		-CH ₂ CH ₂ CH ₃

2001 yılında yapılan bir çalışmada yapısında amidin fonksiyonel grubunu barındıran asimetrik 2,2-bisbenzimidazol yapıları iki bileşiğin sentezi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bu bileşiklerin kanser hücreleri üzerine etkileşimleri ve metabolizasyon özellikleri incelenmiştir. Sentezlenen PNU200001 kodlu bileşiğin, PNU200969 kodlu bileşiğe göre metabolizasyonunun daha hızlı olduğu buna bağlı olarak da kanserli hücreler ile daha hızlı biçimde etkileştiği vurgulanmıştır [91].



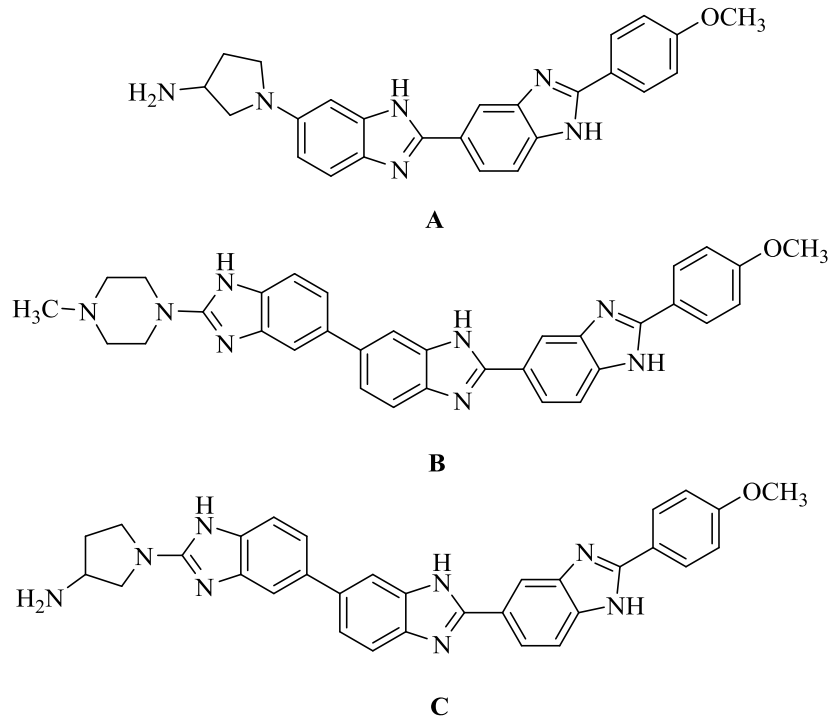
Şekil 2.49. Asimetrik 2,2-bisbenzimidazol türevleri

2001 yılında gerçekleştirilen başka bir çalışmada simetrik bisbenzimidazol yapıları üç bileşiğin sentezi gerçekleştirilmiş ve antitümoral aktiviteleri incelenmiştir. Çalışma sonucu elde edilen bileşiklerden 2,2-bis[4-(3-dimetilamino-1-propiloksi)fenil]-5,5-bis-1*H*-benzimidazol bileşiğinin ovaryum kanser hücreleri üzerinde, referans ilaç Hoechst 33258'e kıyasla son derece yüksek aktivite gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca bu bileşik, Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından 60 farklı kanser tipi üzerinde incelenmiştir ve 60 kanser hücre tipi üzerinde ortalama 0.21 µM GI₅₀ değeri ile güçlü inhibisyon etki gösterdiği bildirilmiştir [92].



Şekil 2.50. 2,2-Bis[4-(3-dimetilamino-1-propiloksi)fenil]-5,5-bi-1H-benzimidazol bileşiği

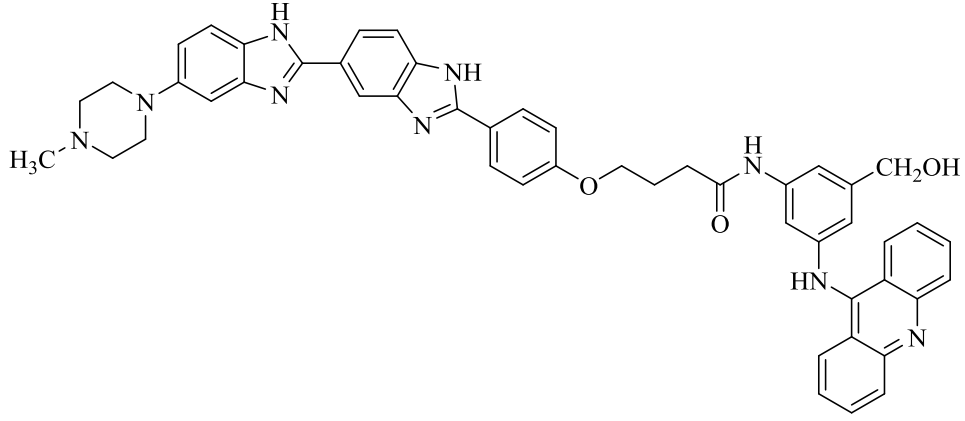
Ji ve diğerleri (2001) yaptıkları çalışmada bis-benzimidazollerin bilinen yapılarına dayanarak tris-benzimidazoller sentezlenmiştir. Hoecsht 33258 bileşiğindeki fenol grubu yerine metoksi-fenil kullanılmıştır. Benzimidazolün 6. konumunda Hoecsht gibi 4-metil piperazin kullanılmış ve buna ek olarak da 4-metil piperazin yerine 2-aminopirolidin taşıyan bileşik sentezlenmiştir. Bu bileşiğin DNA'ya daha güçlü bağlandığı ortaya çıkmıştır [93].



Şekil 2.51. Tris-benzimidazol türevi bileşikler

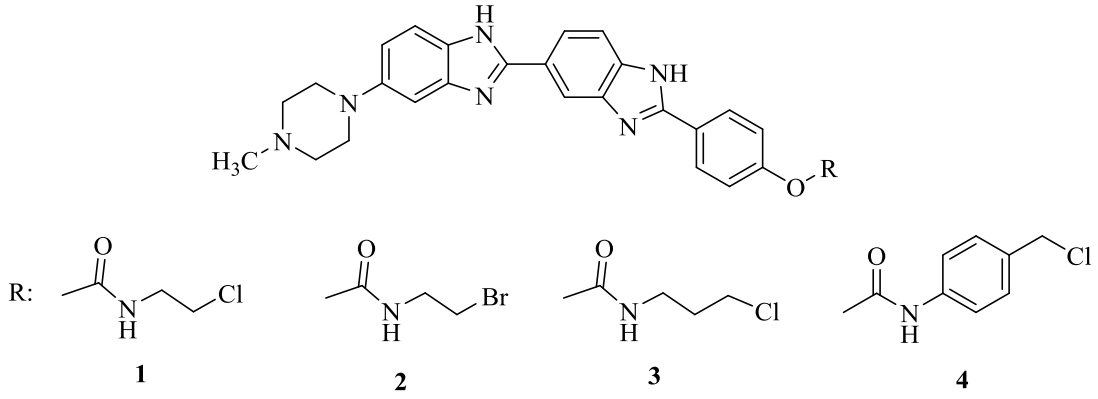
Rastogi ve diğerleri (2002) antikanser özellikleri bilinen akridin ve bisbenzimidazol yapılarını aynı kimyasal iskelet üzerinde taşıyacak şekilde gerçekleştirdikleri sentez sonucunda 2-[4-[3-(9-akridinilamino)-5-hidroksimetilanilino]-karbonilpropoksifenil]-5-(4-metil-1-piperazinil)-2,5-bi-1H-benzimidazol bileşiğini elde etmişlerdir. Elde edilen bileşiğin kolon HT-29, nazofaringal karsinoma HONE-1 ve BM-1, Hepatoma Hepa-G2,

Glioblastoma multifomi DBTRG, meme karsinomu MX-1 ve T hücre akut lenfositik lösemi CCRF-CEM hücreleri üzerindeki antikanser özellikleri araştırılmış ancak etkili olmadığı saptanmıştır [94].



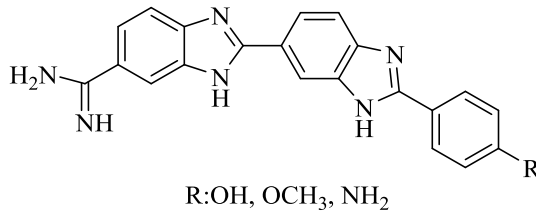
Şekil 2.52. 2-[4-[3-(9-Akridinilamino)-5-hidroksimetilanilino]-karbonilpropoksifenil]-5-(4-metil-1-piperazinil)-2,5-bi-1H-benzimidazol

Bielawski ve diğerleri (2002) yaptıkları bir çalışmada antikanser ajan olarak Hoechst 33258 bileşiğinin karbamat türevlerini sentezlemişlerdir. Bu yeni bileşikler (1-4), Hoechst 33258'e kloroetil, bromoetil, kloropropil veya 4-(klorometil) fenil izosiyanatlar ilave edilerek yüksek verimlerle hazırlanmıştır. Sitotoksik aktiviteleri MCF-7 (insan meme hücresi) üzerinde değerlendirilmiş ve sonuç olarak bileşikler Hoechst 33258 göre daha sitotoksik çıkmıştır. Özellikle 4 nolu bileşiğin Hoechst 33258'den 3 kat daha güçlü sitotoksik olduğu bulunmuştur. Bu bileşiklerin DNA bağlama yeteneği, buzağı timus DNA'sı kullanılarak bir ultrafiltrasyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda bileşiklerin sitotoksik etkisinin, DNA'ya affinitelerindeki artış ile uyumlu olduğu görülmüştür [95].



Şekil 2.53. 2- [2- (4-sübstitüefenil)-6-benzimidazolil]-6-(1-metil-4-piperazinil)-benzimidazol türevleri

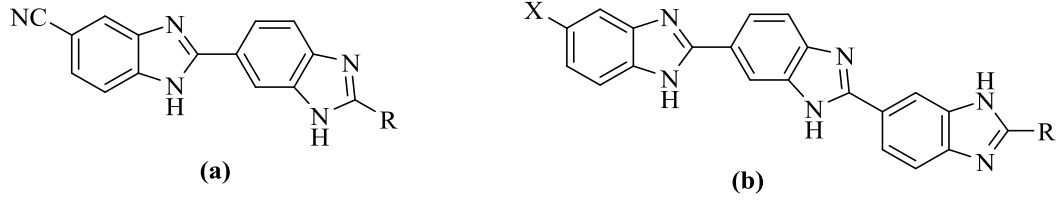
Tanious ve diğerleri (2003) tarafından yürütülen bir çalışmada Hoechst adlı antikanser ilacın kimyasal yapısında bulunan 1-metilpiperazin grubu yerine amidin fonksiyonel grubu getirilerek üç yeni bileşik sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin DNA bağlayıcı özellikleri incelenmiş ve bu üç bileşiğin de kanserli hücre DNA'sına yüksek oranda bağlanarak hücre çoğalmasını inhibe ettiği tespit edilmiştir [96].



Şekil 2.54. Amidin fonksiyonel grubu taşıyan Hoechst türevleri

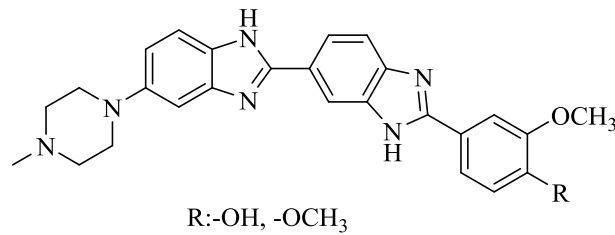
Alper ve diğerlerinin (2003) yaptıkları bir çalışmada, bir seri yeni bis ve terbenzimidazol yapıları bileşiklerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Genel olarak terbenzimidazolün 5. konumu enzim inhibitör aktiviteleri için önemli bir konumdur. Bu konumda fenil, naftil gibi grupların bulunması sitotoksik aktivitede önemlidir. Buna ek olarak, 5. konumunda p-sübstitüefenil grubu, topoizomeraz I zehirleyici etki için gereklidir. Ayrıca, 2''-konumunda elektronegatif bir süstitüent bulunması topoizomeraz I zehirleyici etkiyi arttırmaktadır. Sentezlenen bibenzimidazol türevi bileşiklerde de 2''-naftil süstitüenti taşıyan türevlerin daha güçlü sitotoksik aktiviteye sahip olduğu anlaşılmıştır. Bu bileşiklerin para konumunda bir lipofilik süstitüentin ve 2''-konumunda

bir heterosiklik halkanın bulunması topoizomeraz I inhibisyon aktivitesini arttırdığı bulunmuştur [97].



Şekil 2.55. Sübstitüe bisbenzimidazol (a) ve terbenzimidazol (b) bileşikleri

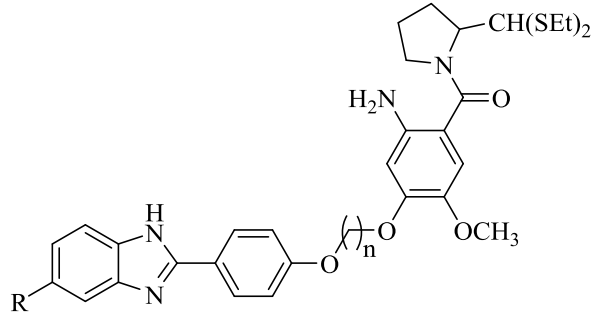
Tawar ve diğerleri (2003) Hoechst 33258 ve Hoechst 33342 mutajenisiteleri ve sitotoksisiteleri, radyoterapi sırasında normal dokuların koruyucuları ve kazara radyasyona maruz kalma sırasında biyolojik radyo koruyucuları olarak kullanımlarını sınırlandırdığından yeni disüstitübenzimidazol türevleri sentezlemişlerdir. Bu gözlemlere dayanarak, iki metoksi grubu taşıyan (5-(4-metilpiperazin-1-il)-2-[2'-(3,4-dimetoksifenil)-5'-benzimidazolil] benzimidazol ve metoksi ve hidroksi grubu taşıyan (5-(4-metilpiperazin-1-il)-2-[2'2''-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-5''-benzimidazolil]-5'-benzimidazolil]benzimidazol olarak iki yeni bileşik sentezlemişlerdir. Hücre büyümesi ve metabolik canlılığı analiz edilerek test edilen sitotoksisite, her iki bileşiğinde, 72 saat sonra 100 µM'de toksik olmadığını, buna karşılık Hoechst 33342'nin, bu hücrelerin % 77'sinin 24 saat içinde parçaladığını göstermiştir [98].



Şekil 2.56. (5-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-[2'-(3,4-dimetoksifenil)-5'-benzimidazolil] benzimidazol ve metoksi ve hidroksi grubu taşıyan (5-(4-metilpiperazin-1-il)-2-[2'2''-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-5''-benzimidazolil]-5'-benzimidazolil]benzimidazol

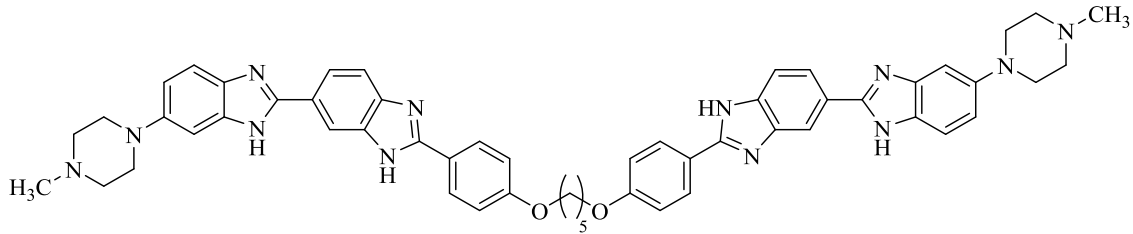
Kamal ve diğerleri (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, antikanser bir ajan olan Hoechst-33258 bileşiğinden türeyen ve benzimidazol çekirdeği taşıyan birtakım bileşiklerin antikanser aktiviteleri incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda Hoechst-

33258'in sadece *in vitro* antitümör aktivite göstermekle kalmayıp aynı zamanda DNA topoizomeraz enzimini de inhibe ettiği tespit edilmiştir [99].



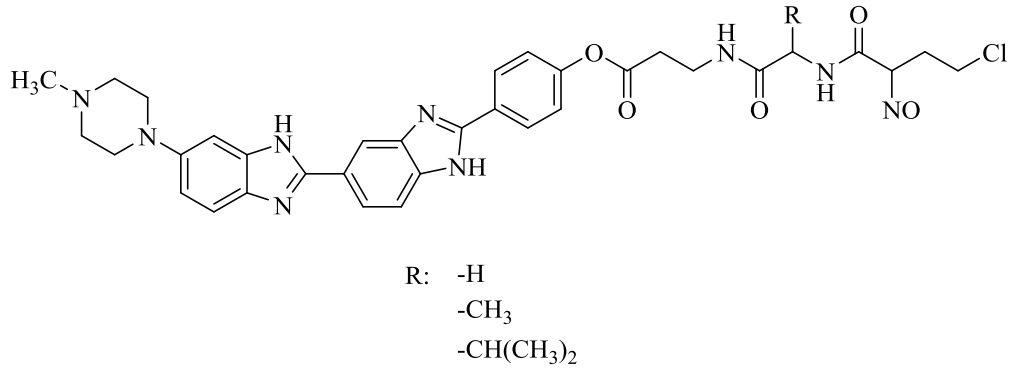
Şekil 2.57. Benzimidazol halkası taşıyan bileşiğe ait kimyasal yapı

Gromyko ve diğerleri (2004) tarafından dimeric bisbenzimidazol (DIBI) bileşiği sentezlenmiş ve bileşiğin DNA bağlayıcı özelliği incelenmiştir. Dimerik yapıya sahip bu bileşiğin kanserli hücre DNA'sına referans ilaç olan Hoechst'e kıyasla daha yüksek oranda bağlanarak antikanser aktivite sergilediği tespit edilmiştir [100].



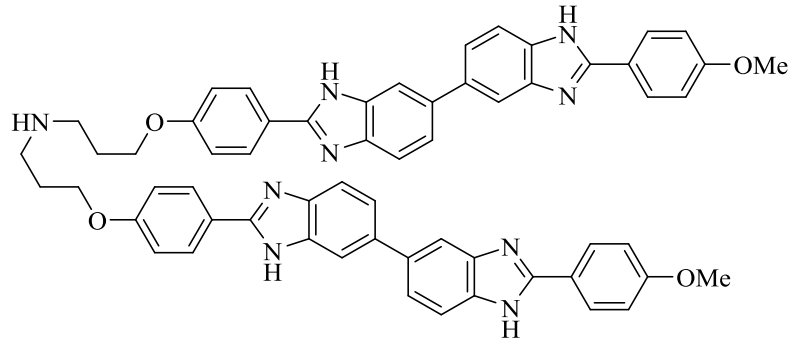
Şekil 2.58. Dimerik bisbenzimidazol türevi

Bielawski ve diğerleri (2005) tarafından Hoechst 33258'in 2-kloroetilnitrosourea türevleri sentezlenmiş ve meme kanseri hücre hattı üzerinde sitotoksiteleri incelenmiştir. Ayrıca, sentezlenen bileşiklerin topoizomeraz I ve II üzerinde inhibisyon etkileri değerlendirilmiştir. MTT deneyi yapılarak meme kanseri üzerinde yapılan sitotoksite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerin Hoechst 33258'den çok daha aktif olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda sentezlenen bileşiklerin topoizomeraz I ve II üzerinde inhibitör etki gösterdiği ortaya çıkmıştır [101].



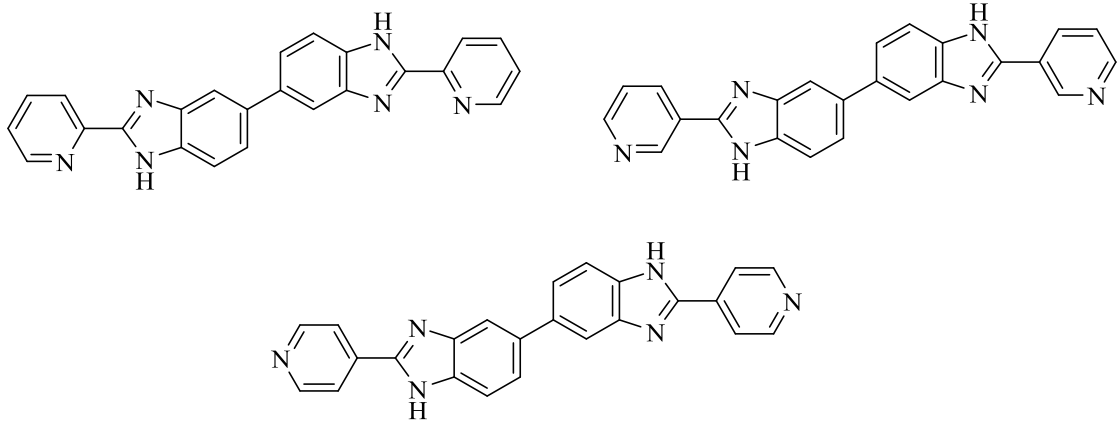
Şekil 2.59. 4-(6-(5-(4-Metilpiperazin-1-il)-benzimidazol-2-il)- benzimidazol-2-il)-fenil-2-(2-(3-(2-kloroetil)-3-nitrosoureido) asetamid/propanamid/butanamid)etilkarbamat türevi bileşikler

Le Sann ve diğerleri (2006) tarafından yapılan bir çalışmada simetrik ve dimerik bis-benzimidazol türevleri sentezlenmiş ve 9 kanser hücre hattına karşı etkileri incelenmiştir. Dimerik yapıda olan bis-benzimidazolun MCF-7 hücresine karşı 50 nM, H838 hücre hattına karşı 80 nM, IC₅₀ değerine sahip olduğu bulunmuştur [102].



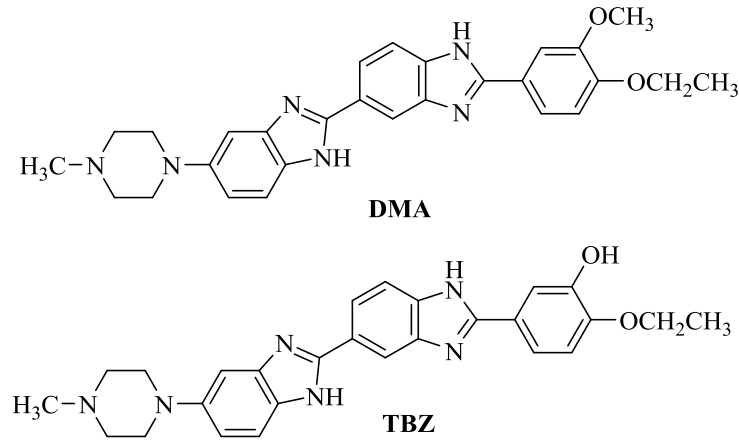
Şekil 2.60. Dimerik yapıda bis-benzimidazol

Chaudhuri ve diğerleri tarafından (2007) yapılan bir çalışmada simetrik bis-2-(n-piridil)-1H-benzimidazol (n=2,3,4) türevinin sentezi gerçekleştirildikten sonra bu bileşiklerin kanserli hücre DNA'sı üzerindeki etkinlikleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda, yapısında meta piridin ve para piridin bulunan iki bileşiğin yapısında *orto* piridin bulunan bileşiğe göre daha aktif olduğu rapor edilmiştir [103].



Şekil 2.61. Pozisyon izomeri bis-2-(*n*-piridil)-1*H*-benzimidazol türevleri

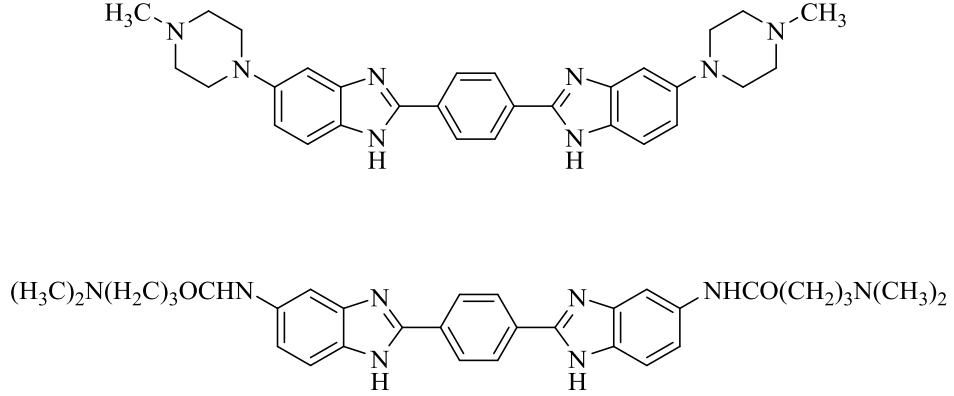
Tawar ve diğerleri (2007) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Hoechst 33342 bileşiği referans ilaç olarak kullanılmış ve bu bileşiğin türevleri olan 5-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-[2-(3,4-dimetoksifenil)-benzimidazol-5-il] benzimidazol (DMA) ve 5-(4-metilpiperazin-1-il)-2-[2-[2-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-benzimidazol-5-il]-benzimidazol (TBZ) bileşiklerinin DH5 hücrelerinin DNA'ları üzerinde meydana getirdikleri hasarlar incelenmiştir. Antikanser aktivite çalışmaları sonucunda test edilen bileşiklerin referans ilaca kıyasla daha etkili olduğu bildirilmiştir [104].



Şekil 2.62. Hoechst-33342 analogu TBZ ve DMA bileşikleri

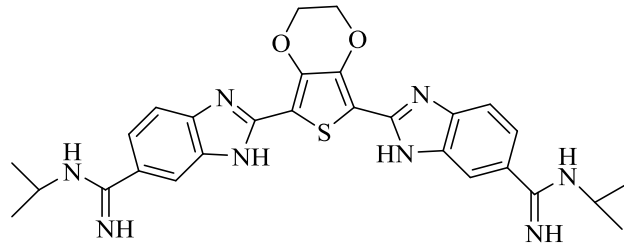
Sibirtsev (2007) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, sentezlenen bisbenzimidazol yapıları iki bileşiğin, kanserli hücrelerle etkileşimi incelenmiş ve bileşiklerin floresan özellikleri referans ilaç Hoechst ile kıyaslanmıştır. Çalışma

sonucunda sentezlenen bileşiklerin DNA'ya bağlanma potansiyellerinin referans ilaca oranla daha düşük düzeyde olduğu rapor edilmiştir [105].



Şekil 2.63. Fluoresan özellikleri incelenen bisbenzimidazol türevleri

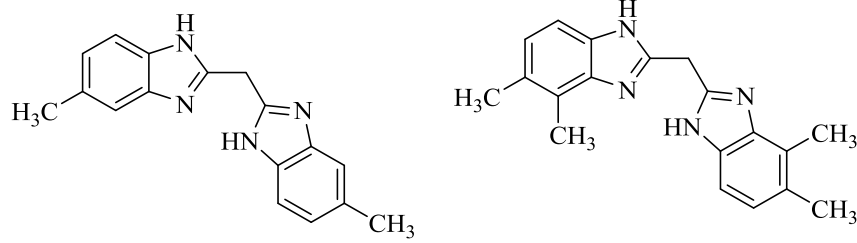
Stolic ve diğerleri (2009) tarafından yapılan bir çalışmada tiyofen yapısı ile birleştirilen bisbenzimidazol yapısında bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşikler arasından **5** kodlu bileşiğin 8 kanser hücre hattına (MCF-7, AGS, NCI-H358, HEp2, Caco-2, HeLa, HT-29 ve MiaPaCa) karşı yüksek inhibitör etki gösterdiği bulunmuştur. Fluoresans mikroskobu ile **5** kodlu bileşiğin 30 dk. içinde HeLa canlı hücresine girdiği ve 2.5 saat sonra bile çekirdekte birikme olmadığı bulunmuştur [106].



Şekil 2.64. 2,5-Bis [2-(5-(N-izopropilamidinobenzimidazolil))-3,4-etilenedioksitiofen (**5**) bileşiği

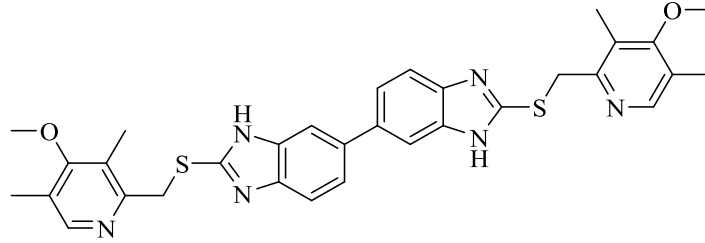
Alpan ve diğerleri (2009) tarafından yapılan bir çalışmada di(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)metan yapısı içeren bileşikler sentezlenmiş ve memeli DNA topoisomerase I kullanılarak gevşeme tayini yapılmış ayrıca HeLa, MCF7, A431 hücre hatlarına karşı etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre bis-benzimidazollerin malonik asit türevlerinin, yani bis (5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)metan ve bis (5,6-dimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)metanın, DNA topoizomerez I ve aynı zamanda MCF7

ve A431 hücrelerine karşı sitotoksik olduğu bulunmuştur. Bu bileşikler potansiyel antikanser ajanlar olarak değerlendirilebileceği rapor edilmiştir [107].



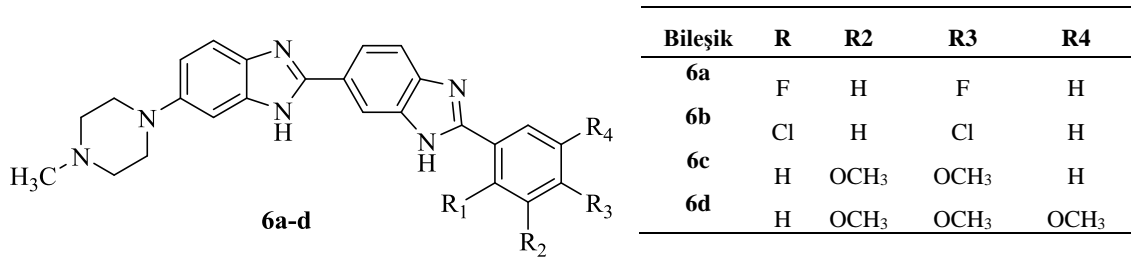
Şekil 2.65. Bis (5-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il) metan ve bis (5,6-dimetil-1H-benzo[d]imidazol-2-il) metan bileşikleri

Yang ve diğerleri (2009) tarafından yapılan bir çalışmada DNA bağlayıcı olarak bis-benzimidazol türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin SKOV-3, HeLa ve BGC-823 hücrelerine karşı sitotoksik etkileri incelenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden **8** kodlu bileşiğin SKOV-3 hücresine karşı etkili olduğu bulunmuştur [35].



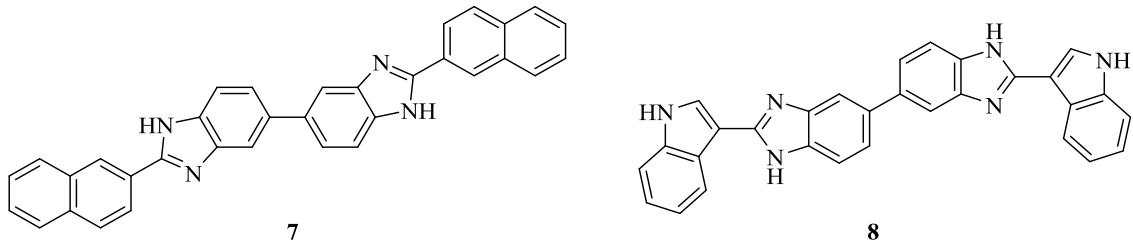
Şekil 2.66. 2,2-Di-[[3,5-dimetil-4-metoksi]piridin-2-il]metilentiyo]-5,5'-bis-1H,10H-benzimidazol (**8**) bileşiği

Singh ve Tandon (2011) tarafından yapılan bir çalışmada 2-aril-5-sübstitüe-2,5-bisbenzimidazol türevleri sentezlenmiş ve topoizomeraz I varlığında DNA bölünmesini indükleme yeteneği değerlendirilmiştir. Ayrıca sentezlenen bileşikler U87, MCF7 ve HeLa insan tümör hücrelerine karşı sitotoksiteleri değerlendirilmiş ve Hoechst ve Kamptotesin referans ilaç olarak kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda, **6a** ve **6b**'nin test edilen kanser hücrelerine karşı **6c** ve **6d**'den daha etkili olduğu bulunmuştur [108].



Şekil 2.67. 2-Aril-5-sübstitüe-2,5-bisbenzimidazol türevi bileşikler (**6a-6d**)

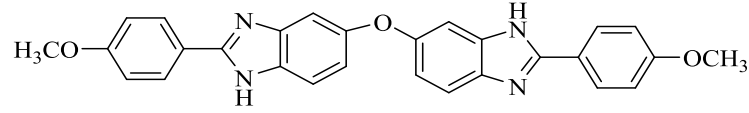
Işıklıdağ ve diğeri (2011) tarafından yapılan bir çalışmada 2,2-bis-aril-1*H*,1'*H*-[5,5']-bisbenzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiş ve HT29, MCF7 hücre hatlarına karşı antikanser etkinlikleri incelenmiştir. Öncelikle MTT deneyi ile bileşiklerin sitotoksiteleri belirlenmiştir. Daha sonra sitotoksik aktiviteye sahip olan bileşikler için DNA sentez inhibisyonu analiz edilmiştir. Yapılan test sonucunda **7** kodlu bileşiğin her iki kanser hücre hattına karşı etkili olduğu bulunmuştur. 3-İndolil yapısı taşıyan **8** kodlu bileşik ise HT-29 hücre hattına karşı etkili bulunmuştur. DNA sentez inhibisyon çalışmaları sonucunda **7** ve **8** kodlu bileşiklerin DNA'ya zarar vererek antikanser aktivite gösterdiği bildirilmiştir [109].



Şekil 2.68. 2,2'-Bis(naftalen-2-il)-1*H*,1*H*'-[5,5']-bisbenzimidazol (**7**) ve 2,2'-Bis(indol-3-il)-1*H*,1*H*'-[5,5']-bisbenzimidazol (**8**) bileşiği

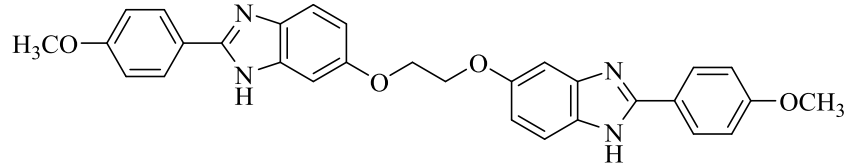
Wang ve diğeri (2012) tarafından yapılan çalışmada bis-benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin çoğunun Hoechst 33258 ile karşılaştırıldığında daha yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Bu bileşiklerden **8** kodlu bileşiğin HL60 hücre hattına karşı 0.56 µM ve U937 hücre hattına karşı 0.58 µM IC₅₀ değerine sahip olduğu bulunmuştur. İnsan periferel kan mononükleer hücrelerinde (PBMC) yapılan toksisite çalışmasında, bileşik **8**'in 5-FU'ya göre daha az toksik olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, apoptoz ve otofajinin HL60 hücre hattında **8** kodlu

bileşik tarafından indüklendiği ve otofajinin 3-MA tarafından inhibe edilmesi ile indüklenen apoptozu azalttığı bulunmuş ve tümör hücresinin ölümünde sinerjik etki gösterdikleri sonucuna varılmıştır [110].



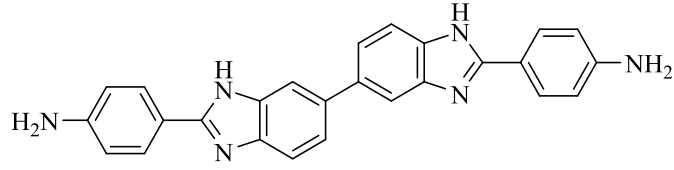
Şekil 2.69. 5,5'-Oksi-bis[2-(4'-metoksifenil)-1H-benzimidazol] (8) bileşik

Wang ve diğerleri (2012) tarafından yapılan başka bir çalışmada bisbenzimidazol türevleri sentezlenmiş ve antikanser etkileri Hoechst 33258 ve 5-FU ile karşılaştırılmıştır. Sentezlenen bileşiklerden 8 kodlu bileşiğin U937 hücre hattına karşı 0.78 μM , HL60 hücre hattına karşı 5.62 μM ve Hela hücre hattına karşı da 6.97 μM IC_{50} değerine sahip olduğu bulunmuştur. İnsan periferel kan mononükleer hücreleri (PBMC) üzerine yapılan toksisite çalışması, bileşik 8'in paklitaksel ve 5-FU'ya göre daha az toksisite sergilediğini göstermiştir [111].



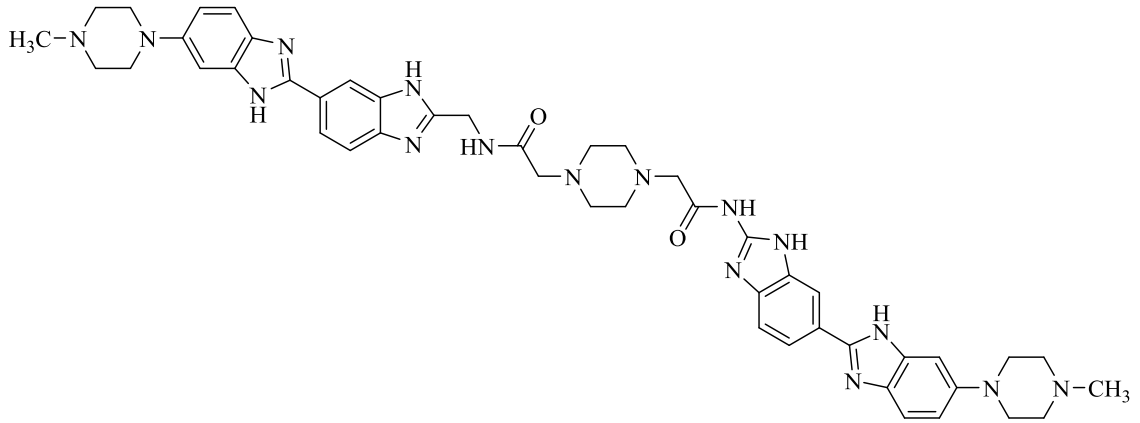
Şekil 2.70. 8 Kodlu bileşik

Kim ve diğerleri (2013) tarafından yapılan bir çalışmada simetrik bibenzimidazol yapısı taşıyan STK295900 kodlu bileşiğin çeşitli kanser hücrelerine karşı etkili olduğu bulunmuştur. HeLa hücre hattına olan etkisi incelendiğinde DNA hasarına neden olmadan G2 fazını indüklediği ortaya çıkmıştır. Topoizomeraz I ve Topoizomeraz II aracılığı ile DNA gevşemesini engellediği bulunmuştur. Hoechst 33342 bileşiğinin hem normal hem de kanser hücrelerine karşı sitotoksik etki göstermesine rağmen, STK295900 kodlu bileşik sitotoksik özelliğini sadece kanser hücresi üzerinde göstermektedir. Bundan dolayı, STK295900 kodlu bileşik potansiyel antikanser etkili bileşik olarak sonraki çalışmalarda geliştirilebileceği rapor edilmiştir [112].



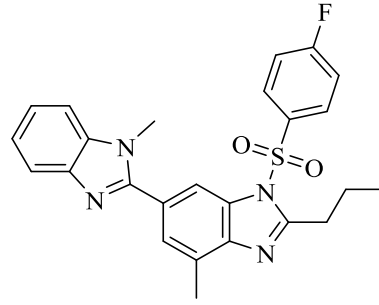
Şekil 2.71. STK295900 Kodlu bileşik

Ivanov ve diğerleri (2015) tarafından yapılan bir çalışmada bisbenzimidazol türevleri sentezlenmiş ve ökaryotik DNA topoizomeraz I ve prokaryotik DNA metiltransferaz üzerinde inhibitör etkileri incelenmiştir. DBP(n) kodlu bileşiğin mikromolar konsantrasyonlarda inhibitör etki gösterdiği bulunmuştur. Düşük sitotoksitesinden dolayı hücre DNA'sını korumak için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır [113].



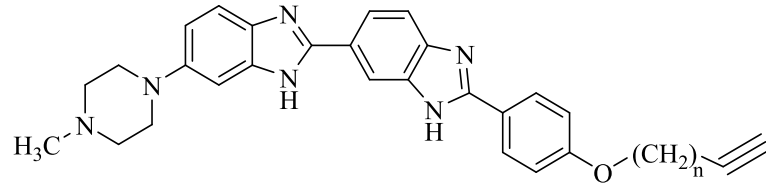
Şekil 2.72. DBP (n) kodlu bileşik

Roopashree ve diğerleri (2015) tarafından yapılan bir çalışmada yeni bisbenzimidazol türevi bileşikler sentezlenip, antikanser etkileri incelenmiştir. Sentezlenen bileşikler arasından 3-(4-florofenilsülfonyl)-1,7-dimetil-2-propil-1H,3H-2,5-bibenzo[d]imidazol (FDPB) bileşiğinin HeLa, HCT116 ve A549 hücre hatlarına karşı etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu bileşiğin normal Vero hücreleri üzerinde sitotoksik olmadığı bildirilmiştir [114].



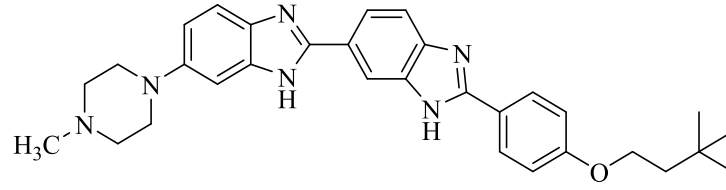
Şekil 2.73. 3-(4-Florofenilsülfolil)-1',7-dimetil-2-propil-1'H,3H-2',5-bibenzo[d]imidazol (FDPB) bileşiği

Ranjan ve diğlerleri (2017) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Hoechst 33258 bileşiğinin mono ve bisbenzimidazol türevleri sentezlenmiş ve *E. coli* DNA topoizomeraz I üzerindeki inhibisyon etkileri incelenmiştir. Alkil zincirleri taşıyan bisbenzimidazoller DNA topoizomeraz I üzerinde $IC_{50} < 5 \mu M$ değeri ile yüksek aktivite göstermişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda uzun alkil zincirine sahip bileşiklerin DNA topoizomeraz I enzimi ile daha fazla etkileşime girdiği bildirilmiştir [115].



Şekil 2.74. Bisbenzimidazol türevi bileşiklerin genel yapısı

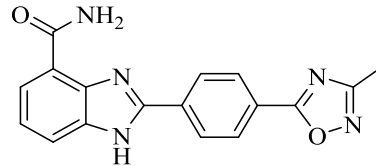
Patil ve diğlerleri (2017) tarafından yapılan bir çalışmada bisbenzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiş ve insan meme kanseri (MDA-MB-468, MDA-MB-231 ve MCF7) ve yumurtalık kanseri (A2780, Cis-A2780 ve PA-1) hücre hatları üzerinde etkileri incelenmiştir. Sentezlenen bileşikler arasında **2e** kodlu bileşik bütün hücre hatları üzerinde etkili bulunmuştur. Ayrıca meme kanseri ve yumurtalık kanseri ile ilişkili olduğu bilinen V-ATPaz pompasını inhibe ettiği bildirilmiştir. Güçlü bir V-ATPaz inhibitörü olan Bafilomisin pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Bileşiklerin yapılarında hidrofilik ve hidrofobik gruplar kullanılmıştır. Yapılan aktivite testi sonucunda, hidrofobik yan zincir yapısı taşıyan **2e** kodlu bileşiğin en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Ancak, bu bileşiğin normal meme epitel hücresine (MCF10A) karşı seçiciliğinin düşük olduğu rapor edilmiştir [116].



Şekil 2.75. 2'-((3,3-Dimetilbutoksi) fenil)-6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H, 1'H-2,5'-bibenzo [d]imidazol (2e) bileşiği

2.5. Antikanser Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Benzimidazol-Oksadiazol Türevleri

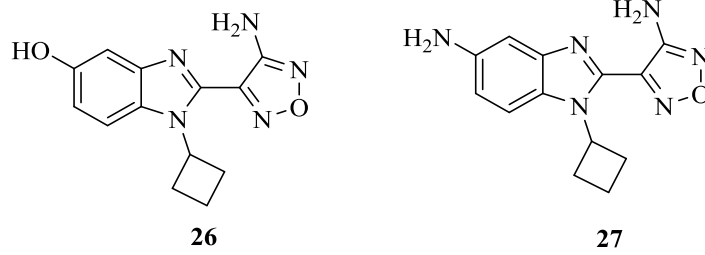
Tong ve diğerleri (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, kanserle mücadelede tek başına etkili olan potansiyel terapötik madde olarak görülen PARP-1 inhibitörü olarak küçük yapıli moleküller sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerde benzimidazol yapısına ek olarak doymamış heterosiklik yapılar kullanmışlardır. Sentezlenen bileşiklerin çoğu yüksek enzimsel potansiyele sahip olmalarının yanı sıra birçoğu da yüksek hücrel aktivite göstermişlerdir. Özellikle oksadiazol yapısı taşıyan bileşik, $EC_{50} = 3.7$ nM değeri ile yüksek aktivite göstermiştir [117].



Şekil 2.76. 2-(4-(1,2,4-Oksadiazol-2-il)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-4-karboksamid bileşiği

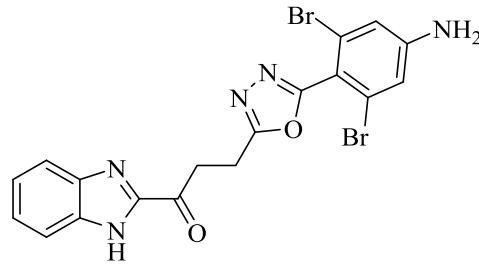
Bandarage ve diğerleri (2009) tarafından yapılan bir çalışmada p70S6K enziminin aktif bölgeleri olan cep A ve cep B göz önünde bulundurularak benzimidazol ve oksadiazol yapısı içeren bileşikler sentezlenmiştir. Öncelikle benzimidazol N-1 konumuna metil gibi küçük gruplar eklendiğinde aktivitenin orta derecede olduğu gözlenmiştir. Daha sonra N-1 konumunda siklobutil, siklopentil, sikloheksil gibi daha büyük yapılar yer aldığıda aktivitenin önemli derecede arttığı görülmüştür. P70S6K enziminin diğer aktif bölgesi olan cep B için benzimidazolün N-1 konumuna siklobutil sabit tutulmuştur. Benzimidazolün 5. konumuna hidroksil, amino gibi küçük polar gruplar eklenmiştir. 5. Konumda asetamino gibi büyük gruplar yer aldığıda cebe yerleşmediği

gözlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda sentezlenen bileşikler arasında **26** ve **27** kodlu bileşiklerin en yüksek aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir [118].



Şekil 2.77. 4-(Benzimidazol-2-il)-1,2,5-oksadiazol-3-amin türevi bileşikler

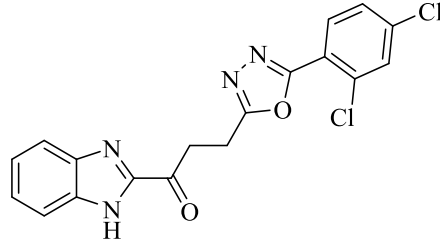
Husain ve diğerleri (2012) tarafından yapılan bir çalışmada benzimidazol-oksadiazol yapısı içeren [1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-3-(5-sübstitüe-1,3,4-oksadiazol-2-il) propan-1-on] (**4a-4l**) ve triazol-tiyadiazol yapısı içeren [1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-3-(6-(sübstitüe)-[1,2,4] triazolo [3,4-*b*] [1,3,4] tiadiazol-3-il) propan-1-on] (**7a-7e**) türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşikler Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından 60 kanser hücresi üzerinde antikanser etkileri incelenmiştir. Bu bileşikler arasında **4j** kodlu bileşik 0.49 µM-48.0 µM arasında değişen GI₅₀ değerleri ile HCT-15 hücre hattı dışında bütün kanser hücreleri üzerinde etkili olduğu bulunmuştur [119].



Şekil 2.78. [1-(1*H*-Benzo[*d*]imidazol-2-il)-3-(5-(4-amino-2,6-dibromofenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)propan-1-on] (**4j**) bileşiği

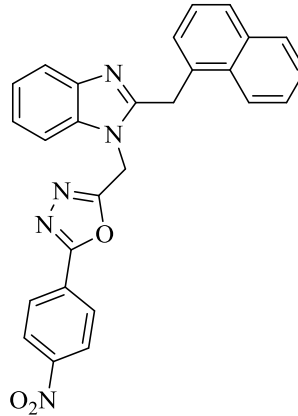
Rashid ve diğerleri (2012) tarafından yapılan bir çalışmada benzimidazol-oksadiazol yapısı içeren bileşikler sentezlenmiş, Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından antikanser aktiviteleri taranmıştır. İlk adım olarak 10 µM konsantrasyonunda tarama yapılmıştır. Bu tarama sonucunda 1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-3-(5-(2,4-diklorofenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)propan-1-on bileşiği seçilmiş ve 5 farklı konsantrasyonda (0.01, 0.1, 1, 10 ve 100 µM) antikanser aktivitesi değerlendirilmiştir.

Yapılan aktivite testi sonucunda seçilen bileşiğin çoğu kanser hücre hattına karşı GI₅₀ değeri 0.79 ile 17.8 µM arasında değişen değerlerde etkin olduğu bulunmuştur. MDA-MB-468 (Meme Kanseri), A498 (Renal Kanseri) ve HOP-92 (Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanseri) karşı sırasıyla 0.797, 1.53 and 1.77 µM GI₅₀ değerleri ile yüksek aktivite gösterirken, DU-145 (Prostat Kanseri) and SNB-19 (CNS Kanseri) karşı sırasıyla 18.7, 17.8 and 17.4 µM GI₅₀ değerleri ile daha düşük aktivite göstermiştir [120].



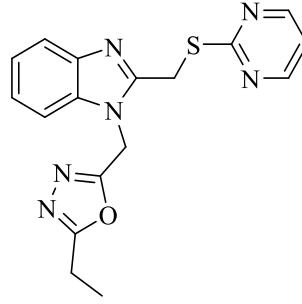
Şekil 2.79. 1-(1H-Benzo[d]imidazol-2-yl)-3-(5-(2,4-diklorofenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)propan-1-on bileşiği

Salahuddin ve diğerleri (2014) tarafından yapılan bir çalışmada 2- (naftalen-1-ilmetil / naftalen-2-iloksimetil)-1-[5-(süstitüefenil)-[1,3,4]oksadiazol-2-ilmetil]-1H-benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiş ve Ulusal Kanseri Enstitüsü (NCI) tarafından 60 kanser hücre hattına karşı etkinlikleri değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden **7c** kodlu bileşiğin MDA-MB-468 (Breast cancer) and SK-MEL-28 (Melanoma) hücre hatlarına karşı en yüksek aktiviteyi gösterdiği bildirilmiştir [121].



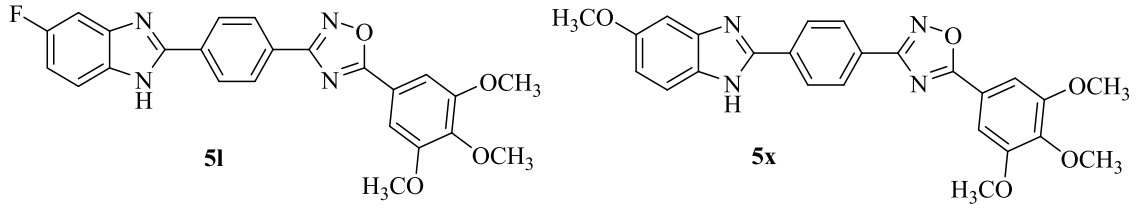
Şekil 2.80. 2-Naftalen-1-ilmetil-1-[5-(4-nitro-fenil)-[1,3,4] oksadiazol-2-ilmetil]-1H-benzimidazol (**7c**) bileşiği

Rathore ve diğeri (2014) tarafından yapılan bir çalışmada 1-((5-süstitüe alkil/aryl-1,3,4-oksadiazol-2-il)metil)-2-((pirimidin-2-iltiyo-metil)-1*H*-benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiş Cox-2 inhibitör aktivitesinin yanı sıra Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından da 60 kanser hücre hattına karşı etkinlikleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda **5b** kodlu bileşiğin %39.11 inhibisyon değeri ile UO-31 hücre hattına karşı, 20.0 µM IC₅₀ değeri ile de COX-2 enzimine karşı yüksek inhibisyon gösterdiği bulunmuştur [122].



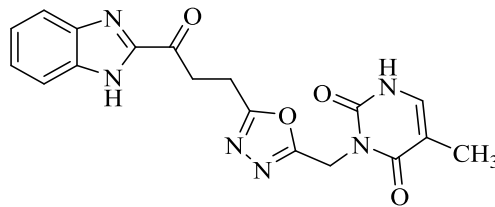
Şekil 2.81. 1-((5-Etil-1,3,4-oksadiazol-2-il)-metil)-2-((pirimidin-2-iltiyo)metil)-1*H*-benzo[d]imidazol (**5b**) bileşiği

Kamal ve diğeri (2015) tarafından 2-aryl-1,2,4-oksadiazolo-benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiş Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından 60 kanser hücre hattına karşı antikanser etkileri değerlendirilmiştir. **5I**, **5x** kodlu bileşikler tek doz deneyinde birçok hücre hattına karşı sitotoksik etki göstermiştir. Bu bileşikler için 5 alt konsantrasyondaki (0.01, 0.1, 1, 10 ve 100 µM) sitotoksik etkileri üç parametre (GI₅₀, TGI and LC₅₀) ile değerlendirilmiştir. **5I** kodlu bileşik, 1.30 µM GI₅₀ değeri ile NCI-H322M, 8.27 µM GI₅₀ değeri ile de TK-10 hücre hatlarına karşı en yüksek sitotoksik etkiyi göstermiştir. **5x** kodlu bileşik ise sırasıyla 0.52 ve 0.71 µM GI₅₀ değerleri ile BT-549, SR hücre hatlarına karşı en yüksek sitotoksik etkiyi göstermiştir. Ayrıca, bu bileşiklerin, mitokondriyal membran depolarizasyonunun yanı sıra DNA fragmentasyonu ve kromatin yoğunlaşması ile apoptozu uyardığı bildirilmiştir. Bileşiklerin yapı-aktivite ilişkileri incelendiğinde yüksek sitotoksik etki gösteren **5I** ve **5x** kodlu bileşiklerin R1, R2 ve R3 konumlarında metoksi grubu içerdiği bildirilmiştir. Ayrıca, benzimidazol halkası üzerinde yer alan klor gibi elektron çekici grupların aktiviteyi düşürdüğü rapor edilmiştir [123].



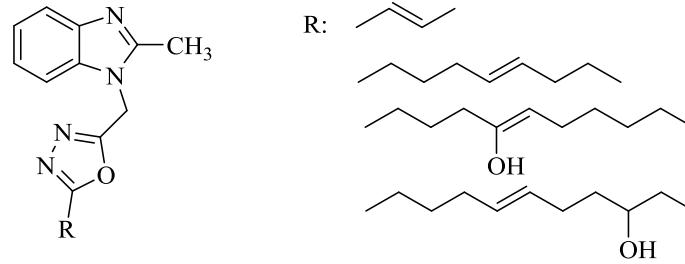
Şekil 2.82. (3-(4-(5-Floro-1H-benzo[d]imidazol-2-il)fenil)-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-1,2,4-oksadiazol) (**5I**) ve (3-(4-(5-metoksi-1H-benzo[d]imidazol-2-il)fenil)-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-1,2,4-oksadiazol) (**5x**)

Rashid ve diğerleri (2015) tarafından yapılan farklı bir çalışmada hedef moleküllerin tasarımı yapılırken bendamustin halkası sabit tutularak oksadiazol, tiyadiazol, triazol ve tiyadiazin halkaları içeren bileşikler sentezlenmiştir. Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından 60 kanser hücre hattına karşı sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Öncelikle tez doz için tarama yapılarak bileşikler arasında etkili olanlar seçilerek 5 alt konsantrasyonlardaki etkileri değerlendirilmiştir. Yapılan tek doz çalışma sonucunda **4f** kodlu bileşik NCI tarafından 5 alt konsantrasyon için seçilen en aktif bileşik olmuştur. Yapılan beş doz çalışma sonucunda **4f** kodlu bileşiğin çok yüksek sitotoksik etki gösterdiği ayrıca, NCI'nın Biyolojik Değerlendirme Komitesi tarafından ileriki çalışmalar için önerilmiştir. **4f** kodlu bileşik 0.09 ile 16.2 μM arasında değişen GI_{50} değerlerinde antikanser etki göstermiştir. Yapı-aktivite çalışmaları değerlendirildiğinde benzimidazol-oksadiazol yapısı içeren bileşiklerin diğer türevlere göre antikanser etkinliklerinin çok daha yüksek olduğu görülmüştür. Aromatik halkanın *orto* konumunda oksijen olması, *meta* ve *para* konumunda elektron çekici grupların bulunması antikanser etki için önemli olduğu vurgulanmıştır [124].



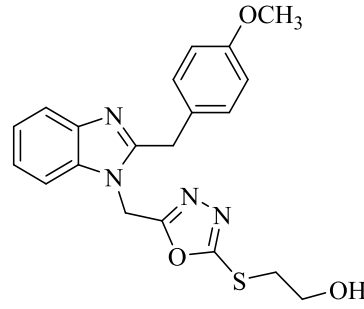
Şekil 2.83. 3-((5-(3-(1H-Benzimidazol-2-il)-3-oksopropil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)metil)-5-metil pirimidin-2,4 (1H, 3H) -dion (**4f**) bileşiği

Varshney ve diğeri (2015) tarafından yapılan bir çalışmada 1-[(5-alkenil/hidroksialkenilsubstitue)-1,3,4-oksadiazol-2-il]-metil]-2-metil-1H-benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiş ve Hep3B, MCF-7 ve HeLa hücre hatlarına karşı sitotoksik etkileri incelenmiştir. Sitotoksite testi için Doksorubisin ve 5-fluorourasil referans ilaçlar olarak kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin üç kanser hücre hattına karşı da iyi aktivite gösterdiği bildirilmiş özellikle doymamış alkenil/hidroksialkenil grupları taşıyan bileşiklerde daha yüksek aktivite gözlenmiştir. Bileşiklerin yapılarındaki zincir uzunluklarının ve zincirlerdeki süstitüsyonların da aktivite üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Karbon sayıları dikkate alındığında C=17 olan bileşiğe göre C=10 olan bileşiğin daha yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Yapıda terminal çift bağının varlığının, kanser hücrelerine karşı inhibitör aktivitenin artırılmasında önemli bir rol oynadığı görülmüştür. Özet olarak, test edilen tüm bileşikler arasında, hemen hemen bütün bileşiklerin HeLa ve Hep3B hücre dizilerine karşı mükemmel sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir [125].



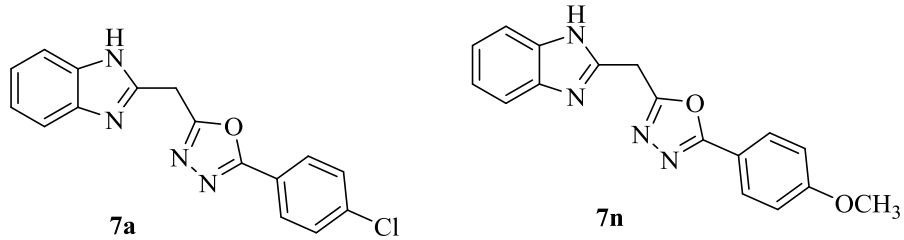
Şekil 2.84. 1-[(5-Alkenil/ hidroksialkenilsubstitue)-1,3,4-oksadiazol-2-il]-metil]-2-metil-1H-benzimidazol türevi bileşikler

Karaali ve Mentşe (2016) tarafından yapılan bir çalışmada 1,2,4-triazol, 1,3,4-oksadiazol ve hidrazinkarbotiyoamid yapıları içeren 1,2-disüstitüe benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin beş insan kanser hücresi göğüs (BT-20), melanoma (SK-Mel 128), prostat (DU-145), karaciğer (SNU-398) ve akciğer (A549) hücre hatları üzerinde sitotoksik etkileri incelenmiştir. Oksadiazol yapısı içeren bileşiğin düşük sitotoksik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir [126].



Şekil 2.85. 2-((5-((2-(4-Metoksibenzil)-1H-benzimidazol-1-il)metil)-1,3,4-oksadiazol-2-tiyo)etanol bileşiği

Akhtar ve diğerleri (2017) tarafından yapılan bir çalışmada benzimidazol-oksadiazol yapısı içeren bileşikler sentezlenmiş ve kanser tedavisinde umut verici olduğu düşünülen EGFR ve ERBB2 reseptör inhibitör etkinlikleri incelenmiştir. Ayrıca, MCF7 (meme), HaCaT (insan derisi), MDA-MB231 (meme) HepG2 (karaciğer) ve A549 (akciğer) kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik etkinlikleri değerlendirilmiştir. Sentez edilen bileşikler arasında **7a** ve **7n** bileşiklerinin en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Fenil halkası üzerinde elektron açısından zengin olan klor grubunun yer alması MCF-7 kanser hücre hattına karşı sitotoksik etkiyi arttırdığı bildirilmiştir. Fenil halkasının para konumunda klor süstitüenti içeren bileşik, benzimidazolün 6. konumunda klor içeren ve 2,4-diklor yapısı içeren bileşiklerle kıyaslandığında daha yüksek aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, *para* konumunda metoksi süstitüenti içeren **7n** kodlu bileşikte 2.5 μM IC_{50} değeri ile klor içeren bileşiklerle karşılaştırılabilir sitotoksik etki göstermiştir [127].



Şekil 2.86. 2-((1H-Benzo[d]imidazol-2-il)metil)-5-(4-klorofenil)-1,3,4-oksadiazol (**7a**) ve 2-((1H-benzo[d]imidazol-2-il)metil)-5-(4-metoksifenil)-1,3,4-oksadiazol (**7n**) bileşikleri

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

Kloroasetil klorür	: Merck, Almanya
Trietilamin	: Merck, Almanya
Tetrahidrofur	: Merck, Almanya
Aseton	: Sigma-Aldrich, Almanya
Potasyum karbonat	: Merck, Almanya
4-Hidroksi benzaldehit	: Merck, Almanya
4-Metoksi benzaldehit	: Merck, Almanya
4-Etoksi benzaldehit	: Merck, Almanya
Sodyum disülfid	: Merck, Almanya
Dimetilformamid	: Sigma-Aldrich, Almanya
3,4-Diamino benzoik asit	: Merck, Almanya
Hidrazin hidrat	: Alfa Aesar, ABD
Sodyum hidroksit	: Carlo Erba, Fransa
Karbon disülfür	: Sigma-Aldrich, Almanya
Hidroklorik asit	: Sigma-Aldrich, Almanya
4-Metil piperazin	: Merck, Almanya
4-Etil piperazin	: Merck, Almanya
4-Fenil piperazin	: Merck, Almanya
4-Piridin piperazin	: Merck, Almanya
4-Pirimidin piperazin	: Merck, Almanya
Eter	: Sigma-Aldrich, Almanya
Petrol eteri	: Merck, Almanya
Ethanol	: Tekim, Türkiye

Etil asetat	: Sigma-Aldrich, Almanya
Silikajel 60 F254 kaplı alüminyum İTK plağı	: Merck, Almanya
Tripsin	: Sigma, Almanya
Fetal bovine serum	: Capricorn, Güney Amerika
DMEM	: Sigma, Almanya
RPMI	: Sigma, Almanya
MCF-7 Hücre Hattı	: ATCC, ABD
C6 Hücre Hattı	: ATCC, ABD
A549 Hücre Hattı	: ATCC, ABD
HepG2 Hücre Hattı	: ATCC, ABD
HeLa Hücre Hattı	: ATCC, ABD
NIH3T3 Hücre Hattı	: ATCC, ABD
PBS	: Gibco, Birleşik Krallık
MTT Boyası	: Sigma, Almanya
BrdU kiti	: Roche, Almanya
DMSO	: Sigma, Almanya
Apoptoz ve Nekroz Kantitatif Kit	: Biotium, USA

3.2. Kullanılan Cihazlar

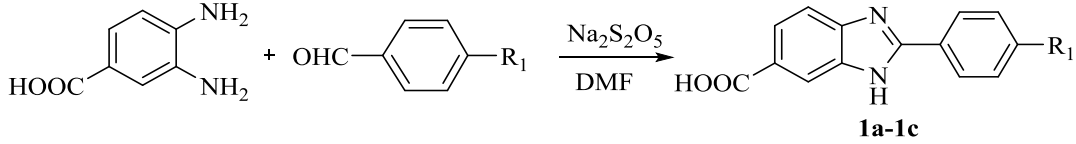
Magnetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı	: Heidolph, MR 3003, Almanya
Elektronik terazi	: Shimadzu, Libror EB-330 HU, Japonya
Ultraviyole lambası	: Camag, Cabinet, İsviçre
Erime derecesi tayin cihazı	: Mettler Toledo-MP90 Melting Point System
Infrared spektrofotometresi	: Shimadzu-IR Affinity-IS, Japonya
Nükleer magnetik rezonans spektrometresi	: Bruker, UltraShield 300 MHz, ABD
Kütle spektrometresi	: Shimadzu, LCMS-IT-TOF, Japonya
Mikroplaka okuyucu	: BioTek-Synergy H1, ABD
Vorteks	: Wisemix, Güney Kore
Steril Kabin	: Class II TypeA2 (CHC-222A2-60), Güney Kore
İnkübatör	: Heraeus, Almanya

4. YÖNTEMLER

4.1. Sentez çalışmaları

4.1.1. 2-(4-Sübstüüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilik asit türevlerinin sentezi (Yöntem A)

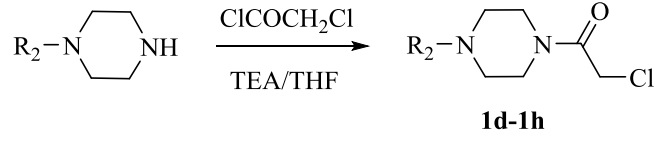
Mikrodalga sentez reaktörü vialı (30 mL) içerisine 4-sübstüü benzaldehit (0.03 mol), sodyum disülfid (0.03 mol, 5.7 g) ve DMF (10 mL) konulmuştur. Reaksiyon karışımı mikrodalga sentez reaktöründe 240 °C’de yaklaşık 10 bar basınç altında 5 dakika tutulmuştur. Bu süre sonunda karışım reaktörden çıkartılarak üzerine 3,4-diamino benzoik asit (0.03 mol, 4.56 g) ilave edilmiş ve aynı reaksiyon şartları altında 5 dakika daha mikrodalga ışımaya tabi tutulmuştur. Reaksiyon süresi bitiminde ürün buzlu suya dökülerek çöktürülmüş, süzöldükten sonra bol su ile yıkanmış ve etanolden kristallendirilmiştir.



Şekil 4.1. 2-(4-Sübstüüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilik asit türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi

4.1.2. 2-Kloro-1-(4-sübstüüepiperazin-1-il)-etan-1-on türevlerinin sentezi (Yöntem B)

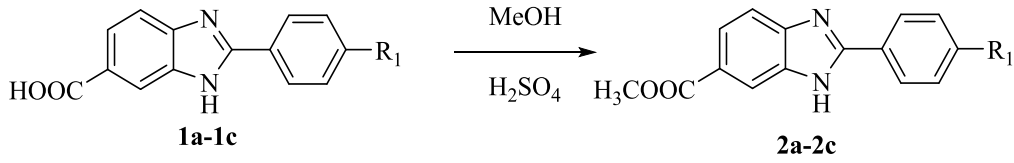
4-Sübstüüepiperazin türevleri (0.012 mol), tetrahidrofuran (THF) (50 mL) içerisinde çözülmüştür. Çözelti, trietilamin (0.0132 mol, 1.90 mL,) ilave edilerek damlatma hunisine alınmıştır. Bir balona kloroasetil klorür (0.014 mol, 1.056 mL) ve THF (15 mL) konulmuş ve manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı üzerinde hazırlanan buz banyosuna alınmıştır. 4-Sübstüüepiperazin içeren karışım çok dikkatli bir şekilde damla damla buz banyosu üzerindeki reaksiyon ortamına ilave edilmiştir. Bu esnada reaksiyon içeriğinin kuvvetli bir şekilde karıştırılmasına özen gösterilmiştir. Damlatma işlemi bitirildiğinde reaksiyon ortamı buz banyosundan alınıp oda ısısında bir saat karıştırılmıştır. Elde edilen kalıntı süzölerek alınmış ve su ile yıkanmıştır.



Şekil 4.2. 2-Kloro-1-(4-süstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi

4.1.3. Metil 2-(4-süstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat türevlerinin sentezi (Yöntem C)

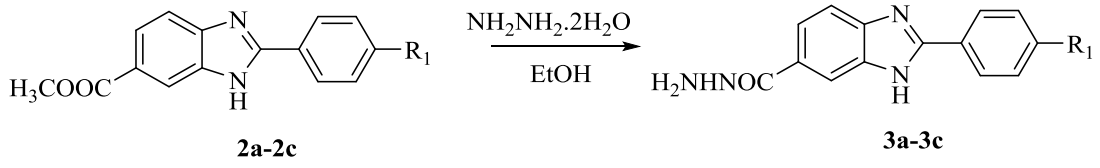
2-(4-Süstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilik asit (**1a-1c**) türevi bileşik (0.025 mol) metanolde çözündürülerek üzerine birkaç damla sülfürik asit ilave edilmiştir. Karışım geri çeviren soğutucu altında 72 saat kaynatılmış, çöken kısım süzülerek alınmıştır.



Şekil 4.3. Metil 2-(4-süstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat (2) türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi

4.1.4. 2-(4-Süstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit türevlerinin sentezi (Yöntem D)

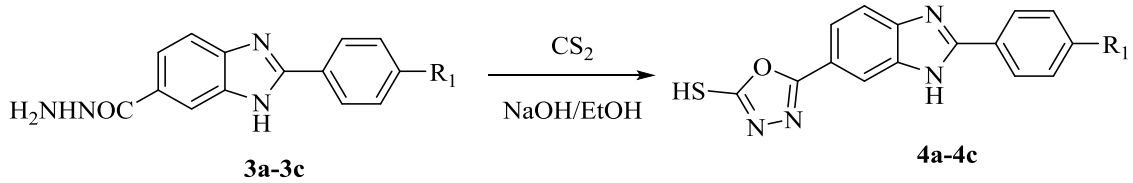
Mikrodalga sentez reaktörü vialı (30 mL) içerisine metil 2-(4-süstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat (**2a-2c**) (0.018 mol), etanol (15 mL) ve hidrazin hidrat (5 mL) ilave edilmiştir. Reaksiyon karışımı mikrodalga sentez reaktöründe 240 °C'de yaklaşık 10 bar basınç altında 10 dakika tutulmuştur. Reaksiyon bitiminde ürün buzlu suya dökülerek çöktürülmüş, süzülükten sonra bol su ile yıkanmış ve etanolden kristallendirilmiştir.



Şekil 4.4. 2-(4-Sübstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi

4.1.5. 2-((4-Sübstitüefenil)-(6-(5-merkaptto-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol türevlerinin sentezi (Yöntem E)

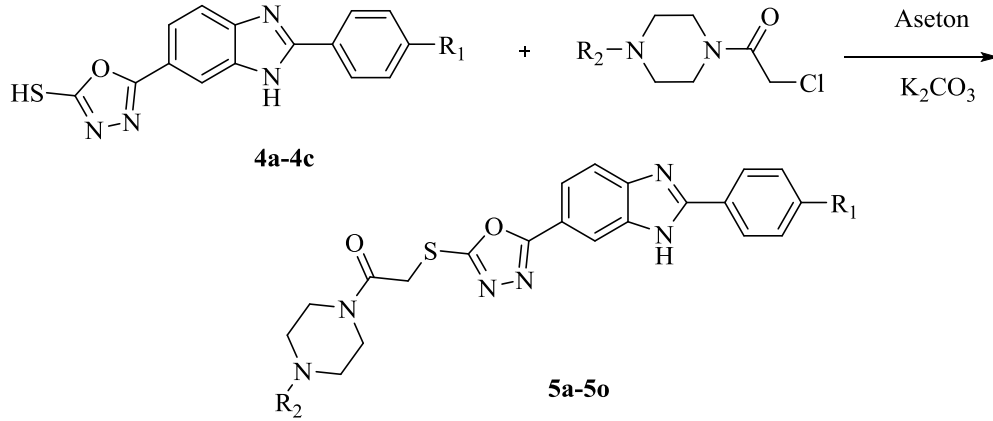
2-(4-Sübstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit (**3a-3c**) türevi bileşiğin (0.01mol) 20 mL etanoldeki çözeltisi üzerine NaOH (0.01 mol, 0.4 g)'in 20 mL etanoldeki çözeltisi ve CS₂ (0.01mol, 0.60 mL) ilave edilerek geri çeviren soğutucu altında 8 saat kaynatılmıştır. Bu süre sonunda oda sıcaklığına soğutulan çözelti, seyreltik HCl ile nötrleştirilmiş, bir gece boyunca buz dolabında bekletilmiş ve çöken ürün süzülerek alınmıştır. Ham ürün etanolden kristallendirilmiştir.



Şekil 4.5. 2-((4-Sübstitüefenil)-(6-(5-merkaptto-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi

4.1.6. 2-((5-(2-(4-Sübstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-sübstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on türevlerinin sentezi (Yöntem F)

2-((4-Sübstitüefenil)-(6-(5-merkaptto-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol (**4a-4c**) (0.001 mol), potasyum karbonat (0.001 mol, 0.138 g) ve 2-kloro-1-(4-sübstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on (0.0015 mol) türevi, aseton (50 mL) içerisinde geri çeviren soğutucu altında 40 °C'de 6 saat karıştırılmıştır. Reaksiyon bitimi İTK kontrolü ile tayin edildikten sonra aseton ağzı açık bir kap içerisinde çeker ocak içinde uçurulmuştur. Elde edilen kalıntı su ile yıkanmıştır. Ham ürün kuruduktan sonra etanolden kristallendirilmiştir.



Şekil 4.6. 2-((5-(2-(4-Süstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-süstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on (**5a-5o**) türevlerinin eldesi için reaksiyon denklemi

4.2. İTK Çalışmaları ve Rf Değerlerinin Saptanması

Anlatılan bütün sentez çalışmalarında reaksiyonların kontrolü İTK uygulamaları ile gerçekleştirilmiştir. Belli zaman aralıkları ile deney balonlarından alınan numuneler ve sentezlerde kullanılan başlangıç maddelerinin etanoldeki çözeltileri adsorban olarak seçilen silika jel 60 F254 kaplı, önceden uygun çözücü karışımları ile doyurulmuş alüminyum plaklara kılcal boru yardımıyla tatbik edilmiş ve hareketli fazlar içerisinde sürüklenmesi sağlanmıştır. Lekelerin saptanmasında, ultraviyole ışığı (254 nm ve 366 nm) kullanılmıştır. İTK sonucuna göre reaksiyonlara son verilmiş ya da devam edilmiştir. Tez kapsamındaki her bir sentezin kontrolü için uygun İTK hareketli fazları, farklı çözücü karışımları denenerak bulunmuştur. Yöntem A, B ve C'deki anlatılan sentezlerin kontrolü için uygun hareketli fazın petrol eteri:etil asetat (1:1), yöntem D, E ve F'deki sentezlerin kontrolü için uygun hareketli fazın petrol eteri:etil asetat (3:1) olduğuna karar verilmiştir.

4.3. Erime Noktalarının Tespiti

Sentezlenen bileşiklerin erime noktaları Mettler Toledo-MP90 Melting Point System kullanılarak tespit edilmiştir. Bir ucu kapalı kılcal borulara ½ cm kadar konulan sentez bileşikleri cihazın haznelere yerleştirilmiş. İşlem bittiğinde cihazdan alınan videolar izlenerek erime noktası tayini yapılmıştır.

4.4. IR Spektrumlarının Alınması

Shimadzu-IR Affinity-IS cihazı kullanılarak bileşiklerin IR spektrumları elde edilmiştir. IR spektrofotometresi ATR ataçmanına toz maddeler uygulanarak spektrumlar çekilmiştir.

4.5. ¹H NMR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen orijinal bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları DMSO-*d*₆ içindeki çözeltilerinin, tetrametilsilana (TMS) karşı Bruker 300 MHz'lik NMR spektrometresine uygulanması sonucu alınmıştır.

4.6. ¹³C NMR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen orijinal bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumları DMSO-*d*₆ içindeki çözeltilerinin, tetrametilsilana (TMS) karşı Bruker 300 MHz'lik NMR spektrometresine uygulanması sonucu alınmıştır.

4.7. 2D NMR Spektrumlarının Alınması

2 boyutlu NMR yöntemi tek boyutlu NMR tekniklerinden kesin yapı tayini için gerekli verilerin alınamadığı durumlarda sıklıkla başvurulanan, iki tane tek boyutlu NMR spektrumunun korelasyonu ile ortaya çıkan NMR tekniğidir. Temel olarak, korelasyonda kullanılan çekirdeklere göre homonükleer ve heteronükleer olarak ikiye ayrılır. COSY (Correlation Spectroscopy) en sık kullanılan homonükleer spektroskopi tekniğidir. COSY'de her iki ekseninde de proton NMR spektrasi mevcuttur ve bir protonun hangi diğer protonlarla eşleştiği (coupling) hakkında bilgi verir. HSQC (Heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy) ve HMBC (Heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy) eksenlerin birinde proton diğerinde ise karbon spektrumunun korelasyonundan elde edilen heteronükleer spektroskopi yöntemleridir. HSQC'de protonun doğrudan bağlı olduğu karbon arasındaki etkileşimler hakkında bilgi alınırken, HMBC'de ise 2 ila 4 bağ mesafesindeki hidrojen ve karbon arasındaki etkileşimler görülür.

4.8. Kütle Spektrumlarının Alınması

Elde edilen orijinal bileşiklere ait kütle spektrumları, numunelerin asetonitril içerisindeki çözeltileri LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto, Japonya) cihazına enjekte edilerek ve elektron sprey iyonizasyon (ESI) iyonlaştırma tekniği kullanılarak negatif ve pozitif modda alınmıştır.

4.9. Antikanser Aktivite Çalışmaları

Bileşiklerin antikanser aktivitesinin araştırılmasında, A549 (akciğer karsinoma hücre dizisi), HeLa (rahim ağzı hücre dizisi), MCF-7 (insan meme adenokarsinoma hücre dizisi), HepG2 (insan karaciğer karsinoma hücre dizisi) ve C6 (sıçan glioma hücre dizisi) hücre dizileri kullanılmıştır. Antikanser aktivitenin selektivitesi NIH3T3 (fare embriyo fibroblast hücre dizisi) hücre dizilerinde değerlendirilmiştir. Besiyeri olarak fetal calf serum ve 100 IU/mL penisilin ve 100 mg/mL streptomisin ilave edilmiş A549, HeLa, MCF-7, HepG2 ve C6 hücre dizileri için RPMI 1640, NIH3T3 hücre dizileri için DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin antikanser etkinliklerinin kıyaslanabilmesi amacı ile günümüzde kanser tedavisinde rutin olarak kullanılan doksorubisin ve öncü bileşiğimiz olan Hoechst 33342 kullanılmıştır.

4.9.1. MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi

4.9.1.1. Hücrelerin çoğaltılması

Deneylerde kullanılan A549, HeLa, MCF-7, HepG2, C6 ve NIH3T3 hücre dizilerinin çoğaltılması ve deneye hazırlanması için 2-3 günde bir rutin olarak pasajlama işlemi yapılmıştır. İnkübatörden alınan hücre kültür şişesi, ölü hücrelerin besiyeri çözeltilisine geçmesini sağlamak için hafifçe çalkalanmış ve sonra steril bir pipetle kültür şişesi içindeki besiyeri alınarak atılmıştır. Hücrelerin yıkanması için kültür şişesine 5 ml fosfat tamponu ilave edilerek yıkanmıştır ve yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırılmıştır. Kültür şişesine tripsin EDTA çözeltisi (1X) (75 cm²' lik kültür şişelerine 3-5 ml, 25 cm²' lik 1-3 ml) konularak hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatörde yaklaşık 5 dk. bekletilmiştir (% 5 CO₂, % 95 nem ve 37 °C). İnkübatörden alınan kültür şişelerinin üzerine 20–25 ml besiyeri ilave edilerek hücreler süspansiyon edilmiş ve 1:2, 1:3 oranlarında

bölünerek yeni kültür şişelerine alınmıştır. Kültür şişeleri inkübatöre konularak inkübasyona bırakılmıştır (% 5 CO₂, % 95 nem ve 37 °C).

4.9.1.2. Hücrelerin plakalara ekilmesi

İnkübatörden alınan hücre kültür şişesi, ölü hücrelerin besiyeri çözeltilisine geçmesi sağlanmak için hafifçe çalkalandı ve sonra steril bir pipetle kültür şişesi içindeki besiyeri alınarak atılmıştır. Kültür şişesine tripsin-EDTA çözeltilisi (1X) (75 cm²' lik kültür şişelerine 3-5 mL, 25 cm²' lik 1-3 mL) konularak hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatörde yaklaşık 5 dk. bekletilmiştir (%5 CO₂, %95 nem ve 37 °C). İnkübatörden alınan kültür şişelerinin içine besiyeri ilave edilerek (ilave edilen tripsin EDTA çözeltilisinin en az iki katı kadar besiyeri ilave edildi) pipet yardımıyla santrifüj tüpüne alınmıştır. Santrifüj tüpü içindeki hücre süspansiyonu çalkalandıktan sonra 10 µL alınarak otomatik hücre sayma cihazında sayılmıştır. Hücre süspansiyonu küvetlere alındı ve 200 µL/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu hücre kültür plakasına dağıtılarak (1.10⁴ hücre/100 µL) 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO₂, %95 nem ve 37 °C).

4.9.1.3. MTT Sitotoksikite Testinin Uygulanması

24 saatlik inkübasyon süresi sonunda plakalar ters çevrilerek besiyeri ortamdan uzaklaştırılmıştır. Bileşiklerin 0.000316 mM-1 mM 8 seri konsantrasyonu (stok çözeltiler DMSO içinde hazırlandı) pozitif kontroller ile birlikte plakalara uygulanmıştır. 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO₂, %95 nem ve 37 °C). 24 saatlik inkübasyon süresinden sonra hücre kültürlerinin üst kısmı ters çevrilerek atılmıştır. Hücreler fosfat tamponu ile yıkandı ve yıkama çözeltilisi ortamdan uzaklaştırılmıştır. MTT çözeltilisi (5 mg/ml) ve besiyeri 1:10 oranında karıştırıldı. Hücre kültür plakasına 100 µL/kuyucuk olacak şekilde bu çözelti karışımından ilave edildi. 3 saat inkübasyona bırakıldı (%5 CO₂, %95 nem ve 37 °C). 3 saatlik inkübasyon süresi sonunda plakalar ters çevrilerek üst kısmı atılmıştır. Hücre kültür plakasına DMSO çözeltilisinden 100 µL/kuyucuk olacak ilave edilmiş ve kuyucukların ELISA'da 540 nm' de OD değerleri okunmuştur. Test maddelerinin her bir konsantrasyonu için % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Non-lineer regresyon analizi ile maddelerin inhibitör konsantrasyon (IC₅₀) değerleri hesaplanmış ve maddelerin sitotoksik özellikleri yorumlanmıştır [128-131]. Sitotoksik aktivitenin selektivitesinin değerlendirilmesi için bileşiklerin farklı hücre dizilerine karşı

elde edilen IC₅₀ değerleri ile bileşiklerin her biri için selektivite indeksi (NIH3T3 hücre dizisi IC₅₀ değeri / Kanser hücre dizisi IC₅₀ değeri) hesaplanmıştır. Bu değer 1'den ne kadar büyük olursa bileşiklerin antikanser aktiviteleri değer kazanmaktadır [132-134].

4.9.2. BrdU proliferasyon yöntemi ile bileşiklerin antiproliferatif etkilerinin belirlenmesi

4.9.2.1. Hücrelerin plakalara ekilmesi

İnkübatörden alınan hücre kültür şişesi, ölü hücrelerin besiyeri çözeltilisine geçmesi sağlanmak için hafifçe çalkalanmış ve sonra steril bir pipetle kültür şişesi içindeki 48 besiyeri alınarak atılmıştır. Kültür şişesine tripsin-EDTA çözeltilisi (1X) (75 cm²' lik kültür şişelerine 3-5 ml, 25 cm²' lik 1-3 ml) konularak hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatörde yaklaşık 5 dk. bekletilmiştir (%5 CO₂, %95 nem ve 37 °C). İnkübatörden alınan kültür şişelerinin içine besiyeri ilave edilerek (ilave edilen tripsin EDTA çözeltilisinin en az iki katı kadar besiyeri ilave edildi) pipet yardımıyla santrifüj tüpüne alınmıştır. Santrifüj tüpü içindeki hücre süspansiyonu çalkalandıktan sonra 10 µL alınarak otomatik hücre sayma cihazında sayılmıştır. Hücre süspansiyonu küvetlere alındı ve 200 µL/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu hücre kültür plakasına dağıtılarak (1.10⁴ hücre/100 µL) 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO₂, %95 nem ve 37 °C).

4.9.2.2. BrdU Proliferasyon Yönteminin Uygulanması

24 saatlik inkübasyon süresi sonunda plakalar ters çevrilerek besiyeri ortamdan uzaklaştırıldı. Bileşiklerin ve pozitif kontrollerin IC_{50/2}-IC₅₀-2*IC₅₀ olacak şekilde hazırlanan 3 seri dilüsyonları plakalara uygulanmıştır ve 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO₂, %95 nem ve 37 °C). 24 Saatlik inkübasyon süresi sonunda hücre kültür plakasının üst kısmı atılmadan her bir göze 100 µL BrdU labelling çözeltilisi ilave edilerek 3 saat inkübe edilmiştir (%5 CO₂, %95 nem ve 37°C). İnkübasyon süresi sonunda plakaların üst kısmı ters çevrilerek uzaklaştırılmıştır. Plakalara adsorban kâğıt yerleştirilmiş ve 2-8°C' de kurumaya bırakılmıştır. Plaka kurduktan sonra her bir göze 200 µL Fix Denat çözeltilisi ilave edilmiş ve 30 dk. oda ısısında bekletilmiştir. Süre sonunda Fix Denat çözeltilisi plakalar ters çevrilerek uzaklaştırılmış ve sonra 100 µL BrdU-POD çalışma çözeltilisi kuyucuklara ilave edilmiştir. 90 dk. oda ısısında bekletilmiştir. Süre sonunda BrdU-POD çalışma çözeltilisi plaka ters çevrilip uzaklaştırıldıktan sonra 200 µL yıkama çözeltilisi ile plakalar 3 kez yıkanmıştır. Yıkama

çözeltisi ortamdan uzaklaştırılmış ve her bir kuyucuğa 100 µL substrat çözeltisi ilave edilmiş ve 5-30 dk. oda ısısında bekletilmiştir. Süre sonunda plakanın her bir gözüne 25 µL 1 M H₂SO₄ çözeltisi ilave edilmiş ve OD₄₅₀ değerleri okunmuştur. Her bir bileşik için % DNA sentezi inhibisyonu hesaplanmıştır [142].

4.9.3. Anneksin V/PI yöntemi ile bileşiklerin apoptotik etkilerinin belirlenmesi

4.9.3.1. Hücrelerin Plakalara Ekilmesi

İnkübatörden alınan hücre kültür şişesi, ölü hücrelerin besiyeri çözeltisine geçmesi sağlanmak için hafifçe çalkalandı ve sonra steril bir pipetle kültür şişesi içindeki besiyeri alınarak atılmıştır. Kültür şişesine tripsin-EDTA çözeltisi (1X) (75 cm²' lik kültür şişelerine 3-5 mL, 25 cm²' lik 1-3 ml) konularak hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatörde yaklaşık 5 dk. bekletilmiştir (%5 CO₂, %95 nem ve 37 °C). İnkübatörden alınan kültür şişelerinin içine besiyeri ilave edilerek (ilave edilen tripsin EDTA çözeltisinin en az iki katı kadar besiyeri ilave edildi) pipet yardımıyla santrifüj tüpüne alınmıştır. Santrifüj tüpü içindeki hücre süspansiyonu çalkalandıktan sonra 10 mL alınarak otomatik hücre sayma cihazında sayılmıştır. Hücre süspansiyonu küvetlere alındı ve 2 mL/kuyucuk olacak şekilde 6 kuyucuklu hücre kültür plakasına dağıtılarak (25.10⁴ hücre/100 µL) 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO₂, %95 nem ve 37 °C).

4.9.3.2. Anneksin/PI Yönteminin Uygulanması

MTT sitotoksosite testi ile selektivite indeksleri yüksek olan bileşiklerin ve pozitif kontrol olarak doksorubisin'in A549, HeLa, MCF7, HepG2 ve C6 hücre dizilerinde Anneksin/PI testi ile canlı, apoptotik ve nekrotik hücre yüzdeleri belirlenmiştir.

24 saatlik inkübasyon süresi sonunda plakalar ters çevrilerek besiyeri ortamdan uzaklaştırıldı. Bileşiklerin ve pozitif kontrollerin IC₅₀ konsantrasyonları 2 tekrarlı olacak şekilde plakalara uygulanmıştır. 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO₂, %95 nem ve 37 °C). 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücre kültürlerinin üst kısmı atılmadan santrifüj tüplerine toplanmıştır. Plakalara 500 µL tripsin-EDTA çözeltisi ilave edilmiş ve 3 dk. inkübasyona bırakılmıştır. İnkübatörden alınan plakaların içine besiyeri ilave edilerek pipet yardımıyla santrifüj tüplerine alınmış ve +4°C, 1200 g'de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj tüpündeki besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra hücre pelleti 1 mL fosfat tamponu ile süspanse edilmiş ve tekrar +4°C, 1200 g'de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Fosfat tamponu uzaklaştırıldıktan sonra hücre pellet'i 1x Annexin V Binding Buffer ile 1 x 10⁶

hücre/ml olacak şekilde süspansiyon edilmiştir. Farklı tüplere birbirine karışmayacak şekilde 5 µL Annexin V ve 5 µL PI ilave edildikten sonra tüplere 100 µL hücre süspansiyonu ilave edilmiştir. Tüpler 15 dk. oda ısısında ışıktan korunarak bekletilmiştir. Süre sonunda 400 µL 1x Annexin V Binding Buffer tüplere ilave edildi ve akış sitometri cihazında (Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi, Hücre Kültürü Laboratuvarında) analiz edilmiştir [135].

4.10. DNA Topoizomeraz I enzim inhibisyon çalışmaları

DNA Topoizomeraz I süper sarmal aktivitesinin inhibisyonunun tespiti için DNA topoizomeraz I kullanılmıştır. Yöntem, tedarikçi (SKU TG1018-2A, TopoGen, ABD) tarafından tarif edilen kit protokolüne göre uygulanmıştır. Deney tamponu 10 mM Tris-Cl pH 7.5, 0.15 M NaCl, 1 mM EDTA, 0.1% BSA, 0.1 mM Spermidin, 5% gliserol, 10% sodyum dodesil sülfat, 0.5 mg/ml proteinaz K formülasyonuna göre hazırlanmıştır. Her bir madde için reaksiyon ortamına, 1 ünite (U) DNA Topoizomeraz I, 1U DNA topoizomeraz I için 5 katı kadar deney tamponu (5 µL) eklenmiştir. Deney ortamına en son kimyasal madde ilave edilmiştir. Kamptotesin ve Hoechst 33342 referans ilaç olarak kullanılmıştır. Tüm kimyasal maddeler ve referans ilaçlar 50 µM konsantrasyonunda reaksiyon ortamına eklenmiş ve karışım suyla 20 µL'ye tamamlanmıştır. Karışım bir saat boyunca 37°C'de inkübe edildikten sonra, karışıma 5 µL durdurma tamponu, ardından da 1 µL proteinaz K koyulmuştur. Karışım bekletilmeden 30 dakika boyunca 37°C'de tekrar inkübe edilip üzerine 20 µL kloroform:izoamil alkol (24:1) ilave edildikten sonra vortekslenmiştir. Son olarak, mavi faz ortamdan alınarak, %1 agaroz jel üzerine TAE tamponu ile eklenmiştir. Bu işlemler kimyasal madde içeren üç reaksiyon ortamıyla birlikte amacıyla %1'lik DMSO içeren karışım için de uygulanmıştır. Pozitif kontrol amacıyla da süper sarmal DNA ve relaks DNA (süper sarmal DNA+DNA topoizomeraz I) içeren ortamlar hazırlanıp agaroz jel üzerine aynı şekilde eklenmiştir. Tüm deneyler jele eklendikten sonra, ortama 1.5-2 V/cm elektrik verilerek elektroforez yöntemi uygulanmıştır. Karışım, jelin %80'ine kadar ilerlemediğinde, jel moleküler görüntüleme cihazıyla görüntülenmiştir.

4.11. Moleküler docking

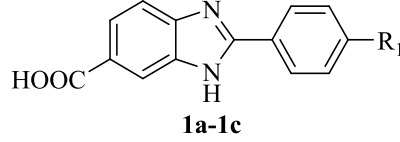
Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşik serisi içerisinde antikanser etki gösteren **5d**, **5e**, **5n** ve **5o** kodlu bileşiklerin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesindeki bağlanma ve etkileşim noktalarını belirlemek amacıyla yapı temelli *in silico* docking metodu uygulanmış ve DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi kristal yapısı (PDB Kodu: 1T8I) [136] üzerinde protein-ligand etkileşim analizi gerçekleştirilmiştir.

Kristal yapısı öncelikle *Schrödinger Suite 2015 Update 2*'de [137] yer alan *Protein Preparation Wizard* protokolü uygulanarak docking çalışmaları için hazır hale getirilmiş, OPLS 2005 kuvvet alanı kullanılarak bağ uzunlukları düzenlenmiş, yüklü amino asitlerin üzerindeki atomların belirtilen ortam koşullarındaki olası yükleri otomatik olarak belirlenmiştir. Dock edilecek bileşikler *LigPrep 3.8* [138] modülü ile docking için hazırlanmıştır. *Glide 7.1* [139] ile grid oluşturulmuş ve yine aynı modül kullanılarak single precision (SP) ile docking işlemi gerçekleştirilmiştir.

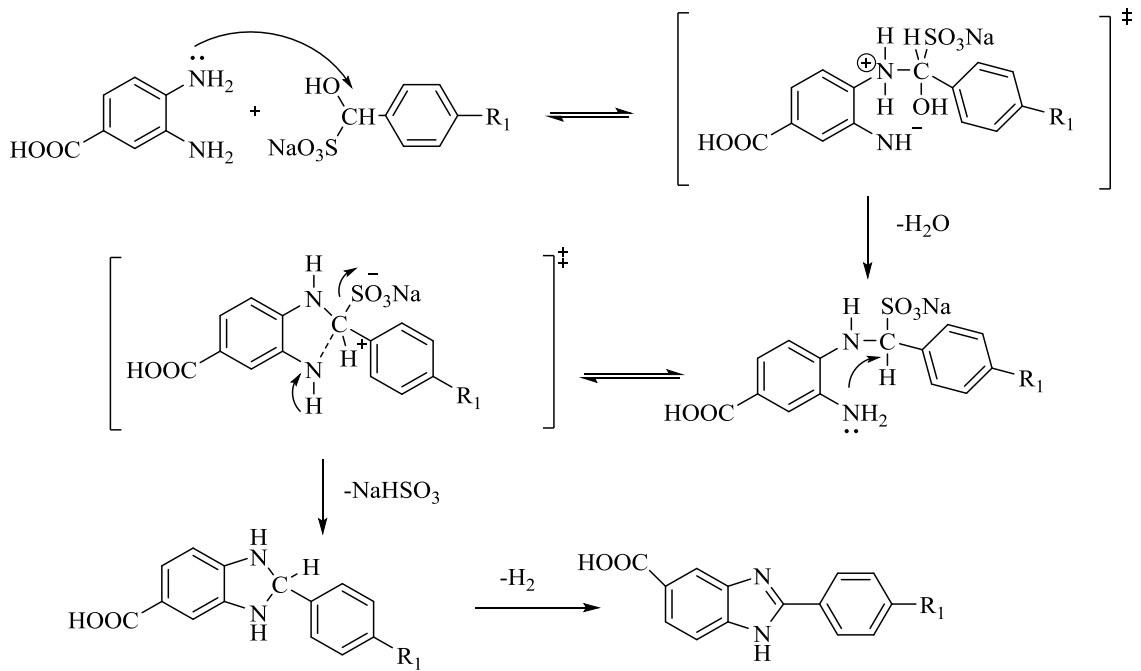
5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR

5.1. Sentez Çalışmaları

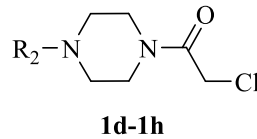
5.1.1. 2-(4-Sübstüüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilik asit (1a-1c)



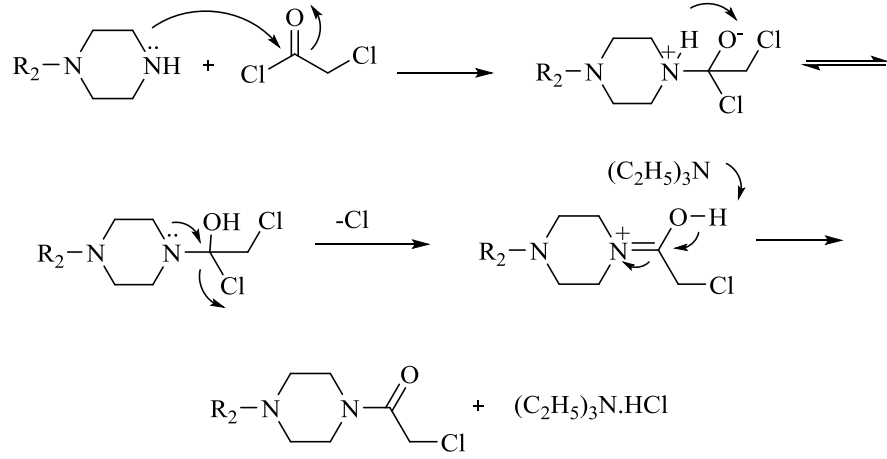
Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir. Verim: % 75-83.



5.1.2. 2-Kloro-1-(4-sübstüüepiperazin-1-il)-etan-1-on türevleri (1d-1h)

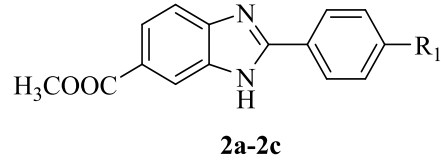


Yöntem B'ye göre sentezlenmiştir. Verim: % 68-78.

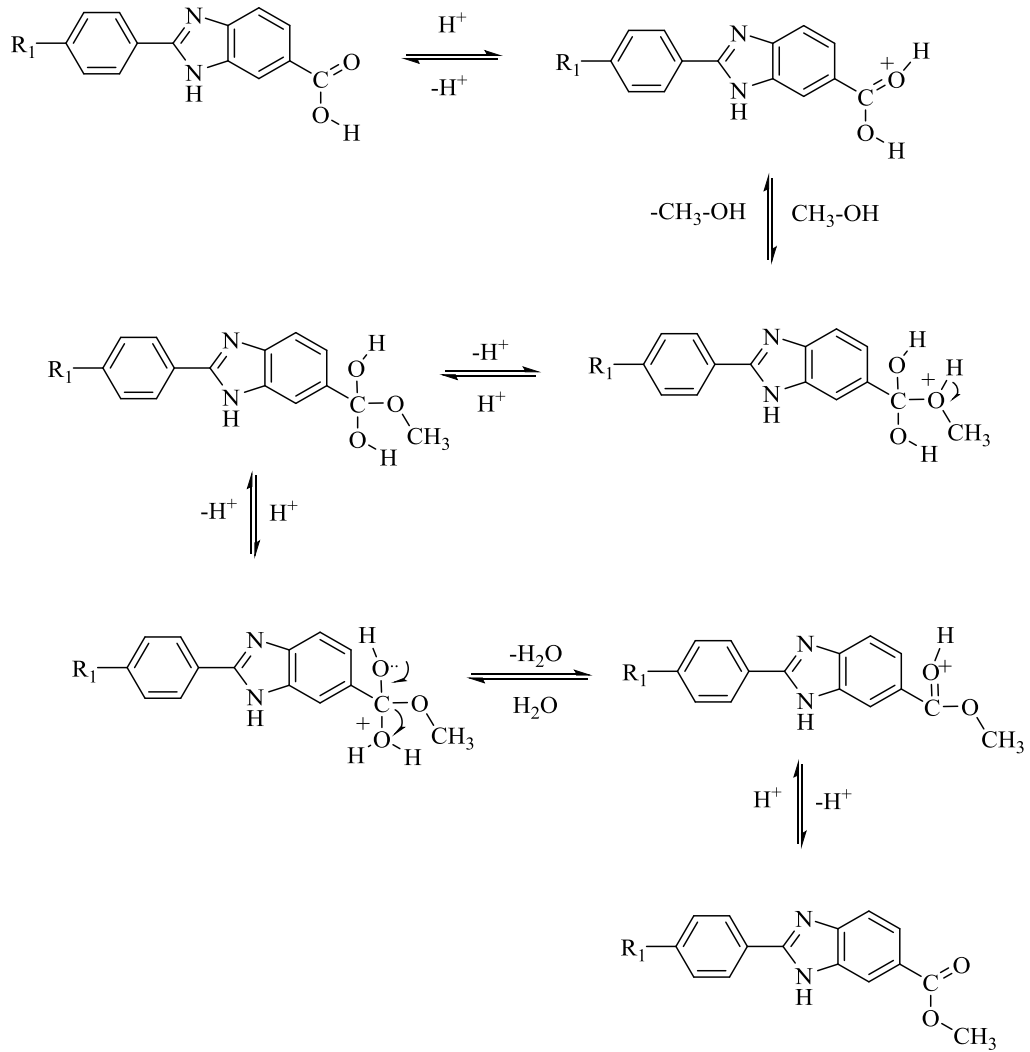


Şekil 5.2. 2-Kloro-1-(4-sübstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on (**1d-1h**) türevlerinin sentezi için önerilen reaksiyon mekanizması

5.1.3. Metil 2-(4-sübstitüefenil)- 1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat (**2a-2c**)

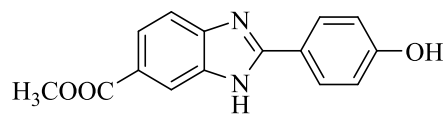


Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Verim: %75-60.



Şekil 5.3. Metil 2-(4-sübstitüefenil)- 1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat (2a-2c) türevlerinin sentezi için önerilen reaksiyon mekanizması

5.1.3.1. Metil 2-(4-hidroksifenil)- 1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat (2a)



2a

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.N.:306.1-307.5 °C. Verim: %75.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3334 (N-H gerilim bandı), 1687 (C=O gerilim bandı), 844 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.88 (3H, s, -CH₃), 6.95 (2H, d, *J*=8.70 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.62 (1H, d, *J*=8.34 Hz, benzimidazol-C₄), 7.82 (1H, dd, *J*₁=8.43 Hz,

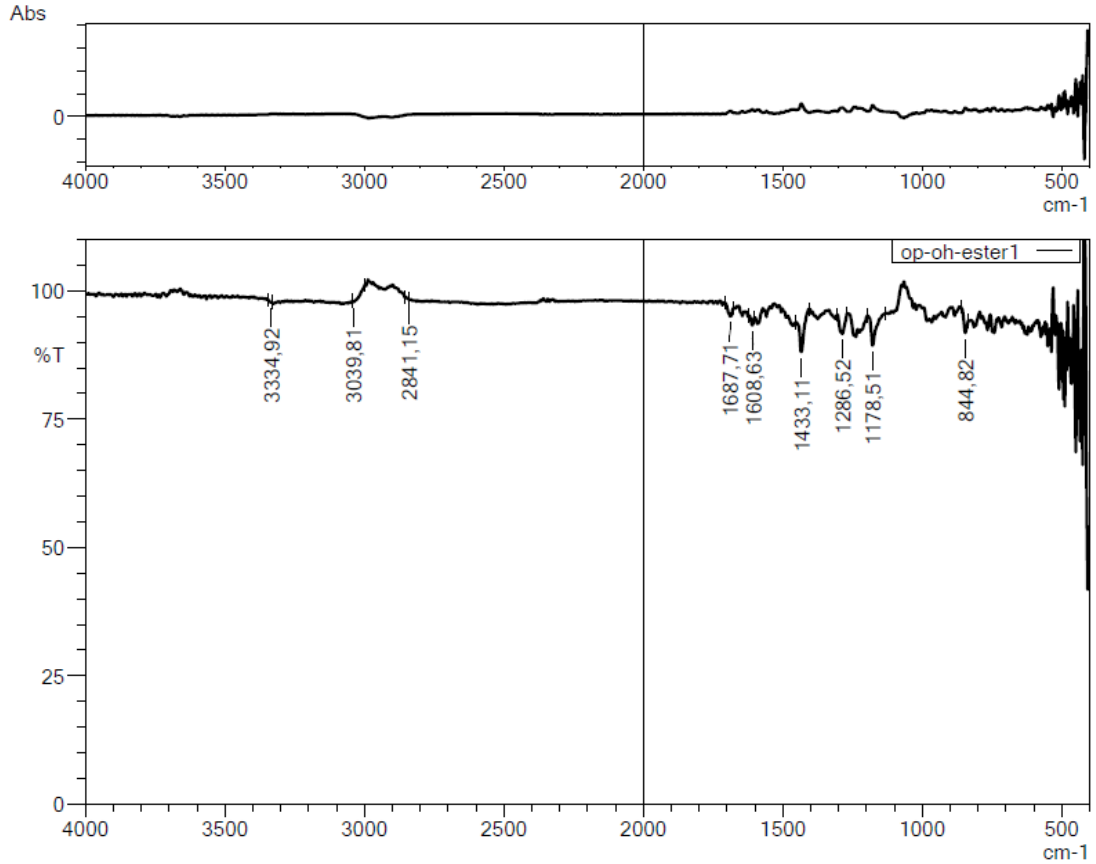
$J_2=1.26$ Hz, benzimidazol- C_5), 8.04 (2H, d, $J=8.64$ Hz, 1,4-disübstitübenzen), 8.14 (1H, s, benzimidazol- C_7), 10.05 (1H, s, N-H).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ : 52.41, 107.48, 111.94, 116.26, 120.89, 123.40, 126.28, 129.02, 130.54, 134.46, 154.79, 160.14, 167.28.

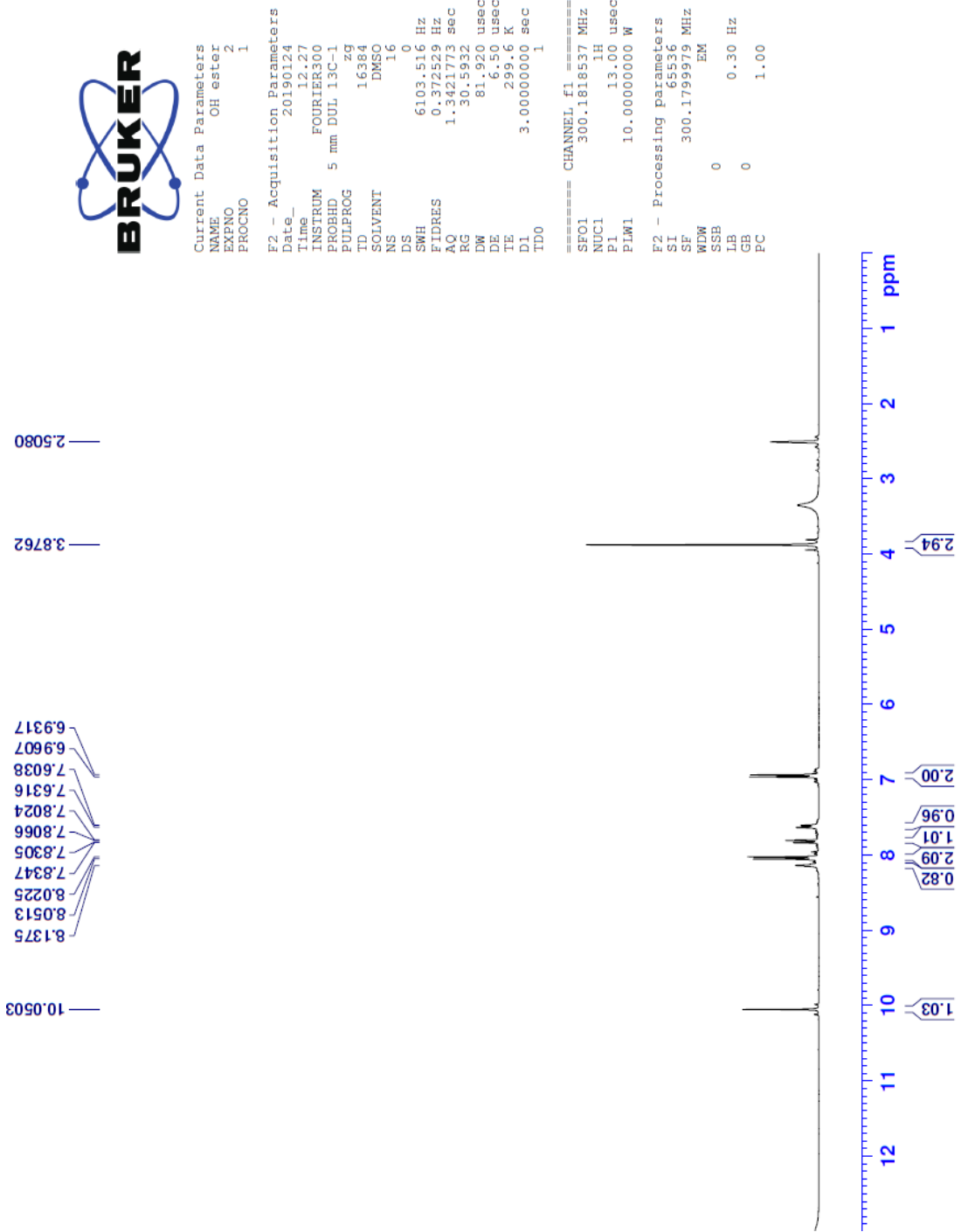
HRMS (-m/z): $[M+H]^+$: $C_{15}H_{12}N_2O_3$ için Hesaplanan: 269.0910, Bulunan: 269.0921.

DOPNALAB

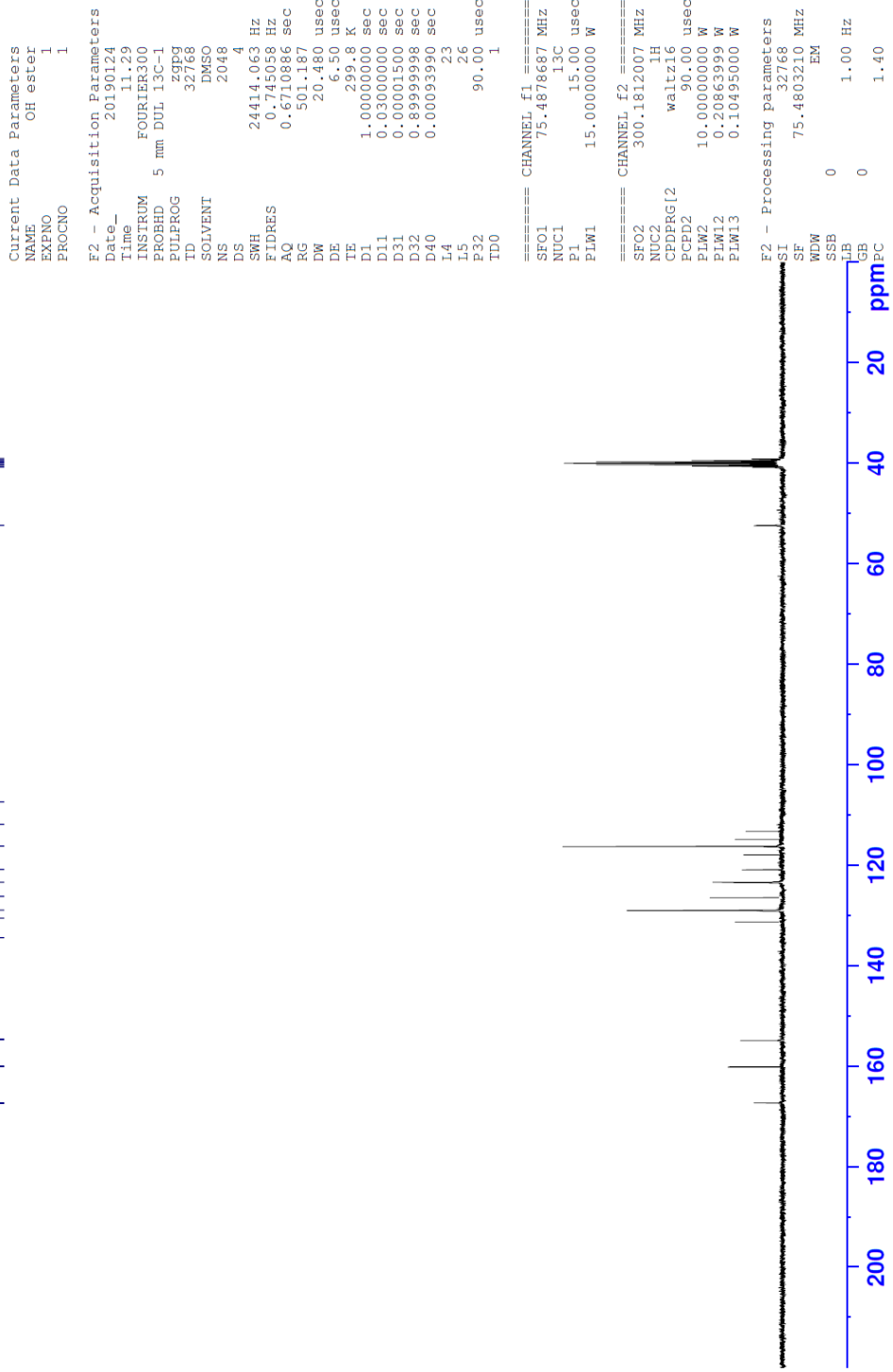
Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 14:11:07
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\iderya\OP\op-oh-ester1.ispd
Spectrum name	op-oh-ester1
Sample name	oh-ester
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.4. Bileşik 2a'ya ait IR spektrumu



Şekil 5.5. Bileşik 2a'ya ait ^1H NMR spektrumu



Şekil 5.6. Bileşik 2a'ya ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\luc\OH-E_3.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	3	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 15

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 22.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

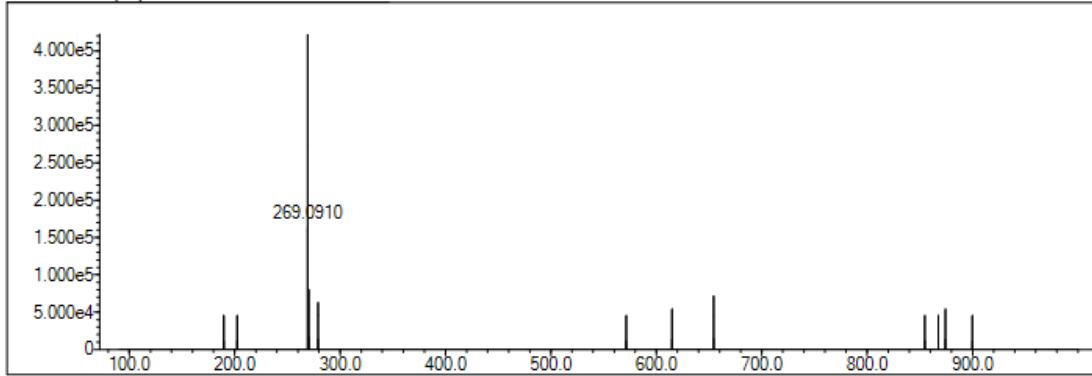
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

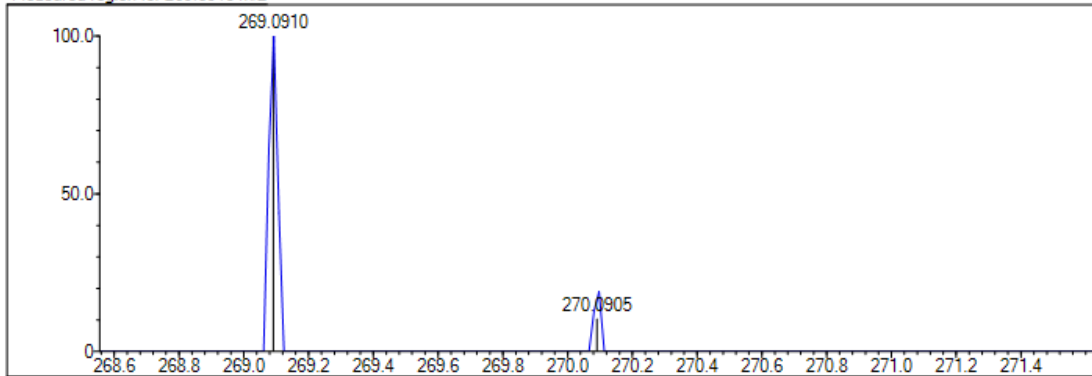
Isotope Res: 9000

Max Results: 500

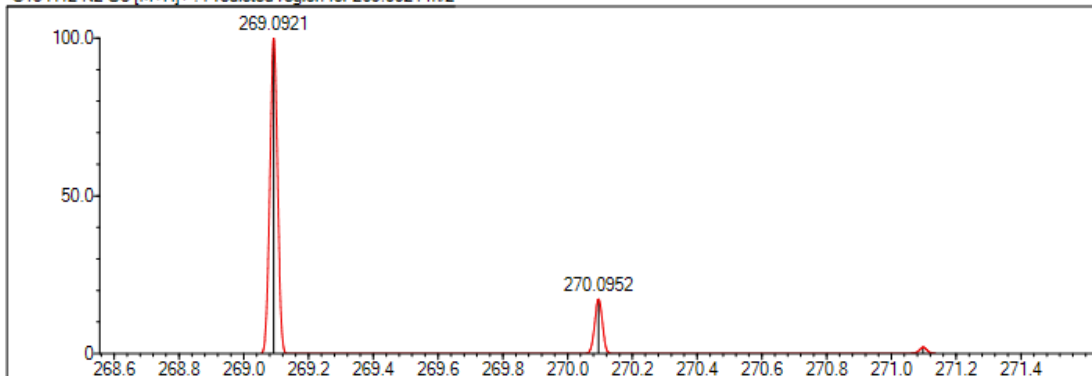
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 5.213 Scan#: 783



Measured region for 269.0910 m/z



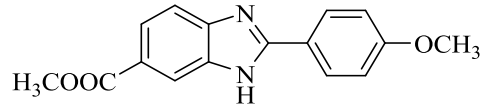
C15 H12 N2 O3 [M+H]+ : Predicted region for 269.0921 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	76.27	C15 H12 N2 O3	[M+H]+	269.0910	269.0921	-1.1	-4.09	82.66	11.0

Şekil 5.7. Bileşik 2a'ya ait kütle spektrumu

5.1.3.2. Metil 2-(4-metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat (2b)



2b

Yöntem B'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.N.: 230.4-231.7 °C. Verim: % 68.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3520 (N-H gerilim bandı), 1695 (C=O gerilim bandı), 839 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

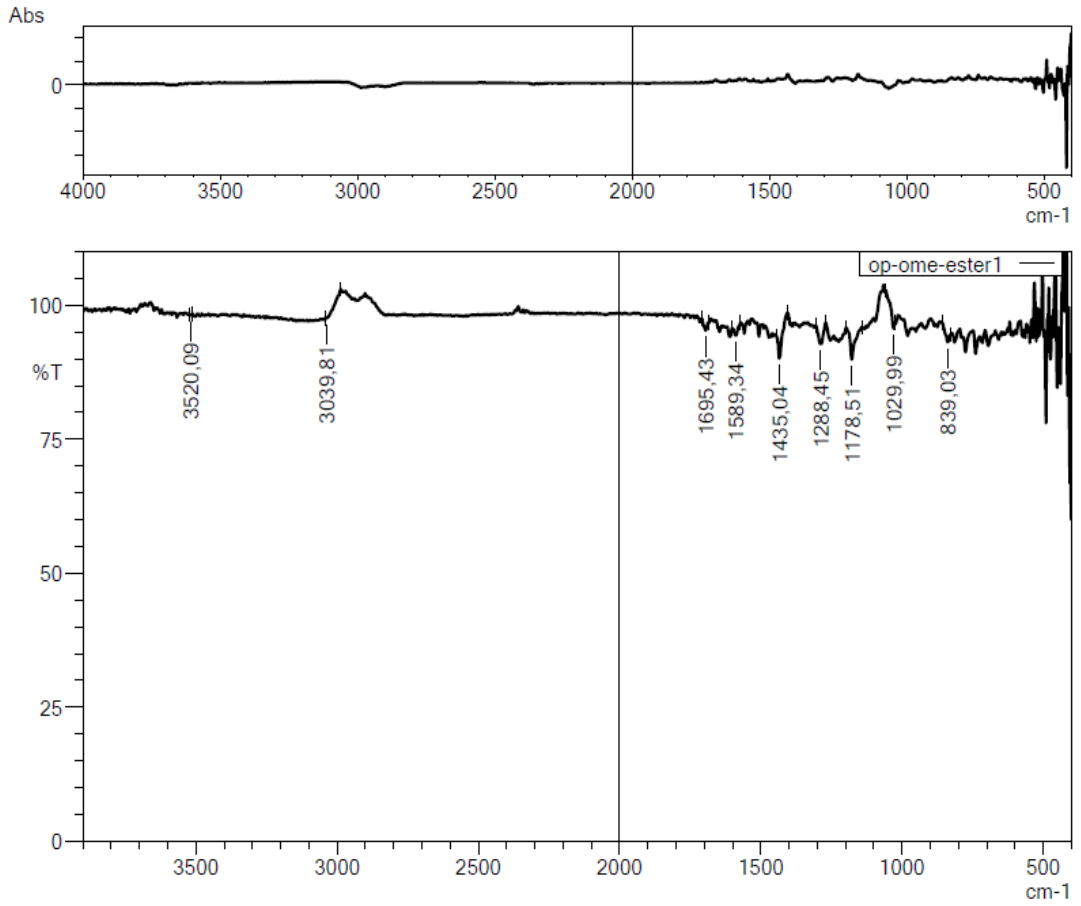
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 3.85 (3H, s, -OCH₃), 3.87 (3H, s, -COOCH₃), 7.13 (2H, d, $J=8.85$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.65 (1H, br.s., benzimidazol-C-H), 7.83 (1H, d, $J=7.95$ Hz, benzimidazol C-H), 8.14 (2H, d, $J=8.85$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 8.22 (1H, br.s., benzimidazol, C-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): δ : 52.43, 55.87, 111.49, 113.08, 115.31, 118.69, 120.49, 122.45, 123.29, 123.56, 128.88, 130.43, 161.55, 167.26.

HRMS (-m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$: C₁₆H₁₄N₂O₃ için Hesaplanan: 283.1083, Bulunan: 283.1077.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 14:13:17
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\denyalOP\op-ome-ester1.ispd
Spectrum name	op-ome-ester1
Sample name	ome-ester
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.8. Bileşik 2b'ye ait IR spektrumu



Current Data Parameters
NAME OMe ester
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20190124
Time 12.30
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.3421773 sec
RG 14.8779
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 300.0 K
D1 3.0000000 sec
TD0 1

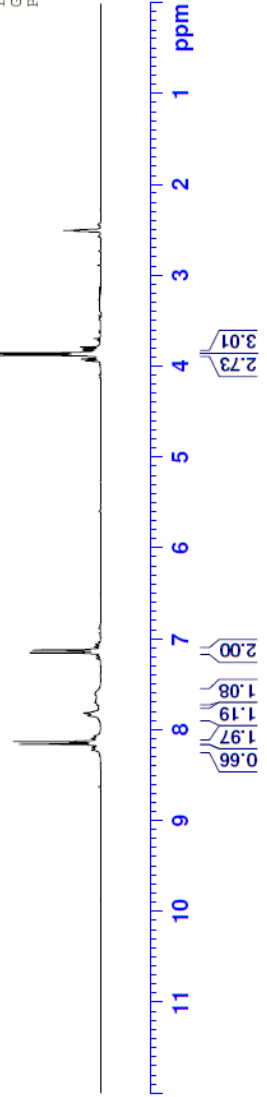
==== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1818537 MHz
NUC1 13C
PI 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

2.5123
2.5063
2.5003
2.4942
2.4884

3.8715
3.8488

8.2203
8.1555
8.1260
7.8391
7.8126
7.6961
7.6870
7.6807
7.6010
7.1483
7.1188



Şekil 5.9. Bileşik 2b'ye ait ^1H NMR spektrumu



Current Data Parameters
 NAME Ome ester
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20190124
 Time 12.32
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zgpg
 ID 32768
 SOLVENT DMSO
 NS 8192
 DS 4
 SWH 24414.063 Hz
 FIDRES 0.745058 Hz
 AQ 0.6710886 sec
 RG 501.187
 DW 20.480 usec
 DE 6.50 usec
 TE 300.5 K
 D1 1.00000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 D31 0.00015000 sec
 D32 0.89999998 sec
 D40 0.00093990 sec
 L4 23
 L5 26
 P32 90.00 usec
 TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
 SFO1 75.4878687 MHz
 NUC1 13C
 P1 15.00 usec
 PLW1 15.0000000 W

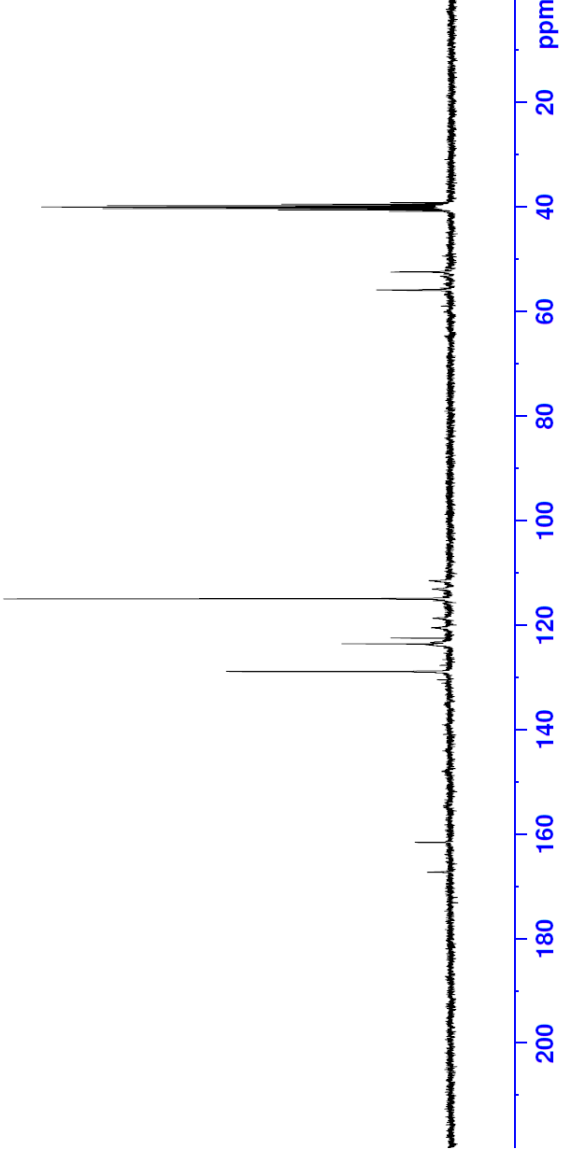
==== CHANNEL f2 =====
 SFO2 300.1812007 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG2 waltz16
 PCPD2 90.00 usec
 PLW2 10.0000000 W
 PLW12 0.20863999 W
 PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4803210 MHz
 EM
 WDW 0
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

39.43
 39.71
 39.98
 40.26
 40.54
 52.43
 55.84
 55.87

111.49
 113.08
 115.31
 118.69
 120.49
 122.45
 123.29
 123.56
 128.88
 130.43

161.55
 167.26



Şekil 5.10. Bileşik 2b'ye ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uac\OM-E_4.Icd

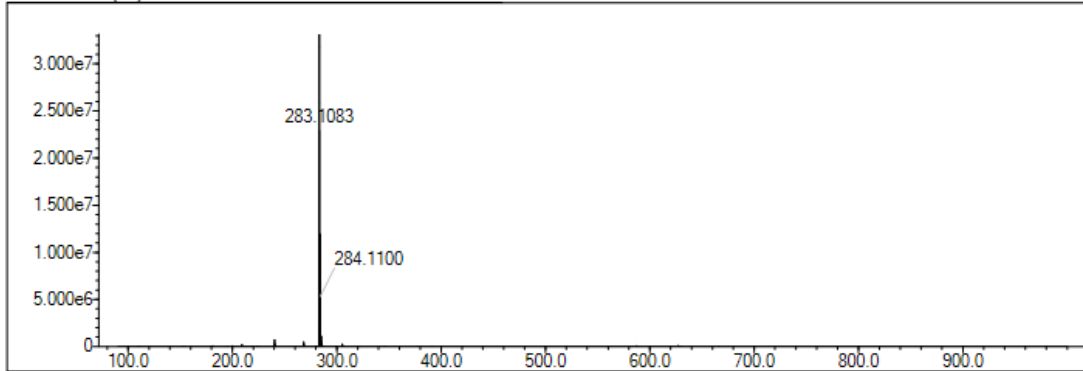
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	2	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

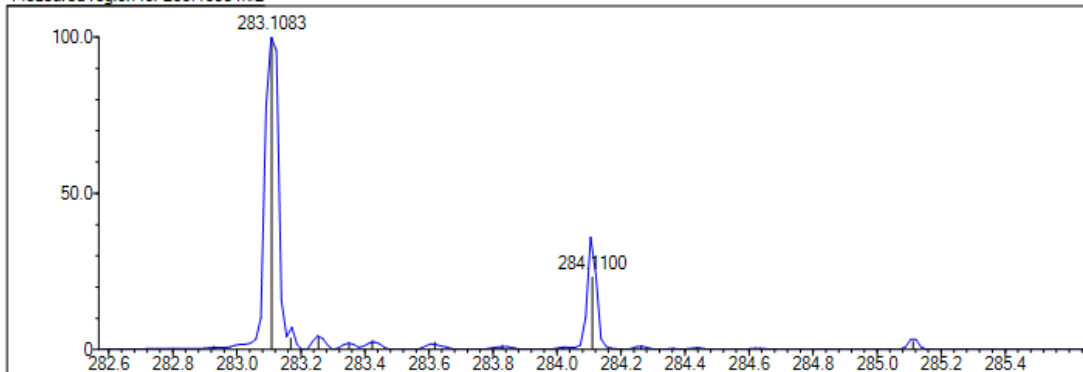
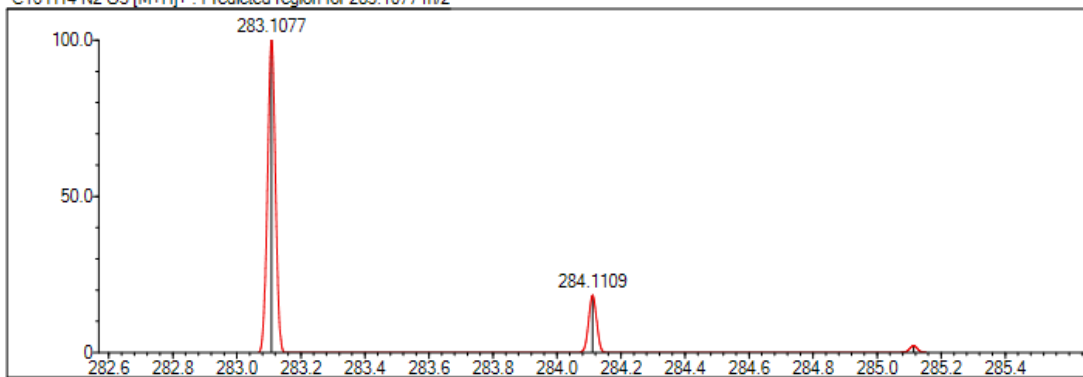
DBE Range: 5.0 - 22.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.813 -> 4.813 Scan#: 723 -> 723



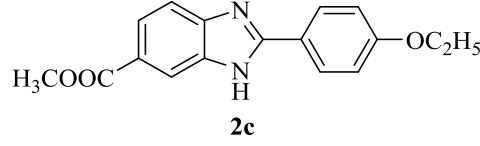
Measured region for 283.1083 m/z

C16 H14 N2 O3 [M+H]⁺ : Predicted region for 283.1077 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	64.36	C16 H14 N2 O3	[M+H] ⁺	283.1083	283.1077	0.6	2.12	66.21	11.0

Şekil 5.11. Bileşik 2b'ye ait kütle spektrumu

5.1.3.3. Metil 2-(4-etoksifenil)-1H-benzimidazol-6-karboksilat (2c)



Yöntem B'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.N.:252.8-254.4 °C. Verim: % 60.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3477 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 844 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

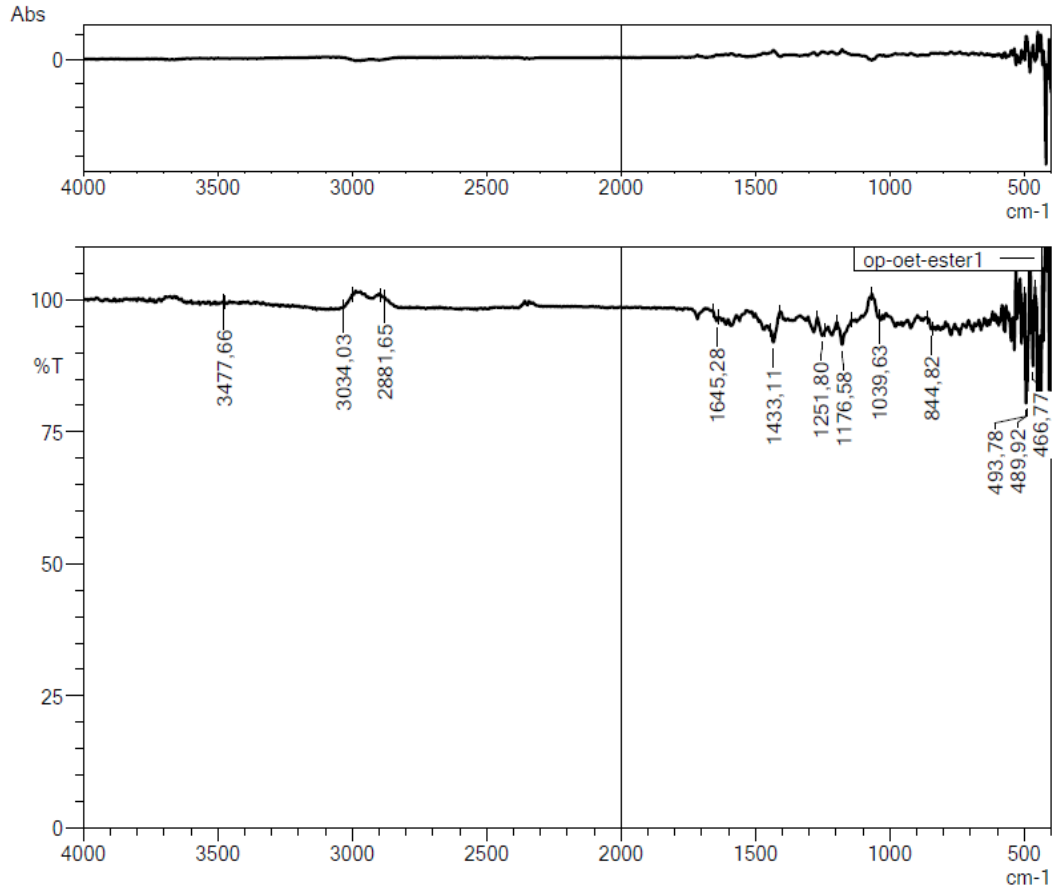
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 1.36 (3H, t, $J=6.96$ Hz, -CH₃), 3.87 (3H, s, -CH₃), 4.11 (2H, q, $J=6.96$ Hz, -CH₂), 7.11 (2H, d, $J=8.88$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.63 (1H, d, $J=8.43$ Hz, benzimidazol-C₄), 7.83 (1H, dd, $J_1=8.40$ Hz, $J_2=1.59$ Hz, benzimidazol-C₅), 8.12 (2H, d, $J=8.88$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 8.1 (1H, s, benzimidazol-C₇), 13.07 (1H, s, N-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): δ : 15.04, 52.38, 63.81, 114.39, 115.33, 116.22, 118.31, 119.34, 122.31, 123.53, 128.49, 128.88, 154.40, 160.84, 167.26.

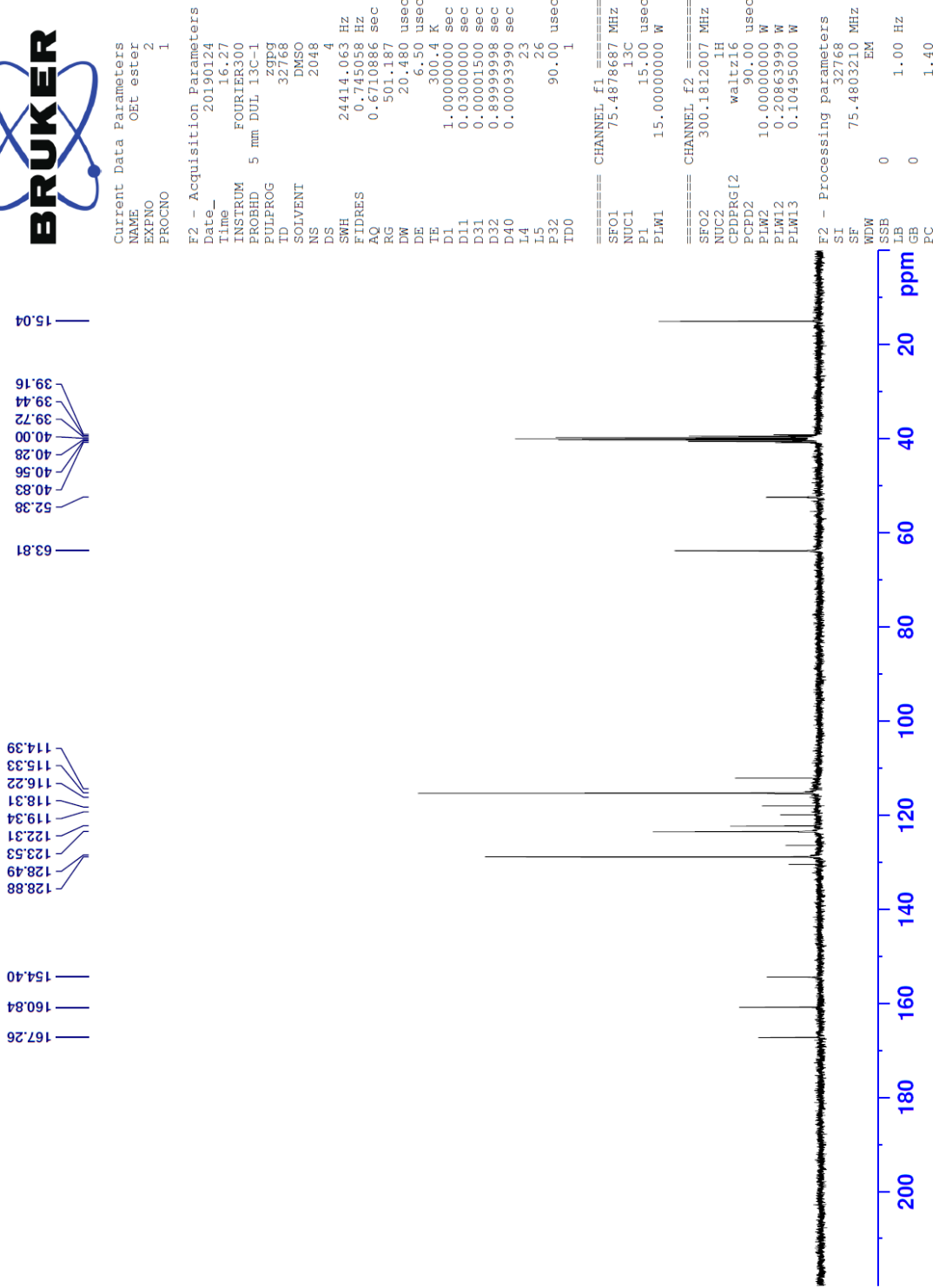
HRMS (-m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$: C₁₇H₁₆N₂O₃ için Hesaplanan: 297.1232, Bulunan: 297.1234

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 14:09:09
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\denyalOP\op-oet-ester1.ispd
Spectrum name	op-oet-ester1
Sample name	oet-ester
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.12. Bileşik 2c'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.14. Bileşik 2c'ye ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uac\ET-E_4.lcd

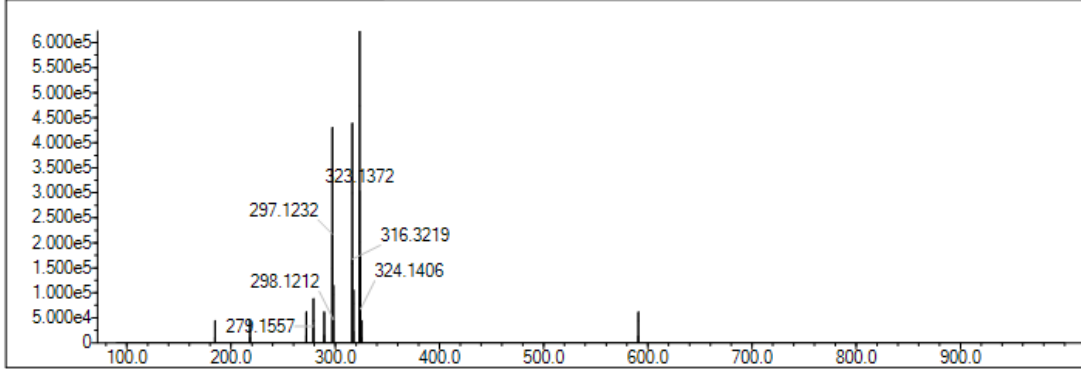
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	3	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 15
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

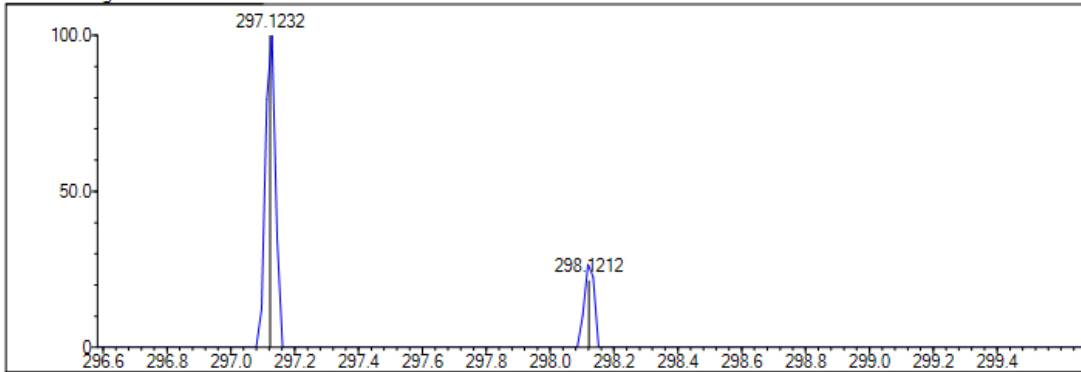
DBE Range: 5.0 - 22.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

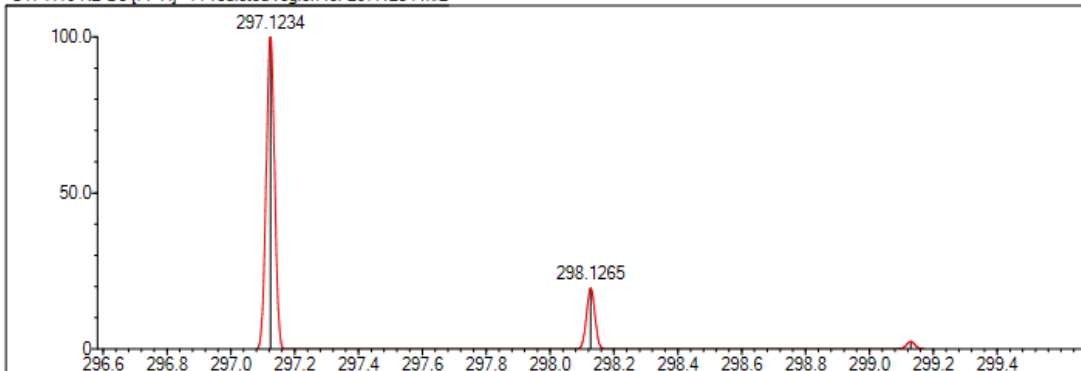
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 5.947 Scan#: 893



Measured region for 297.1232 m/z



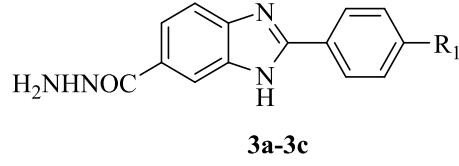
C17 H16 N2 O3 [M+H]⁺ : Predicted region for 297.1234 m/z



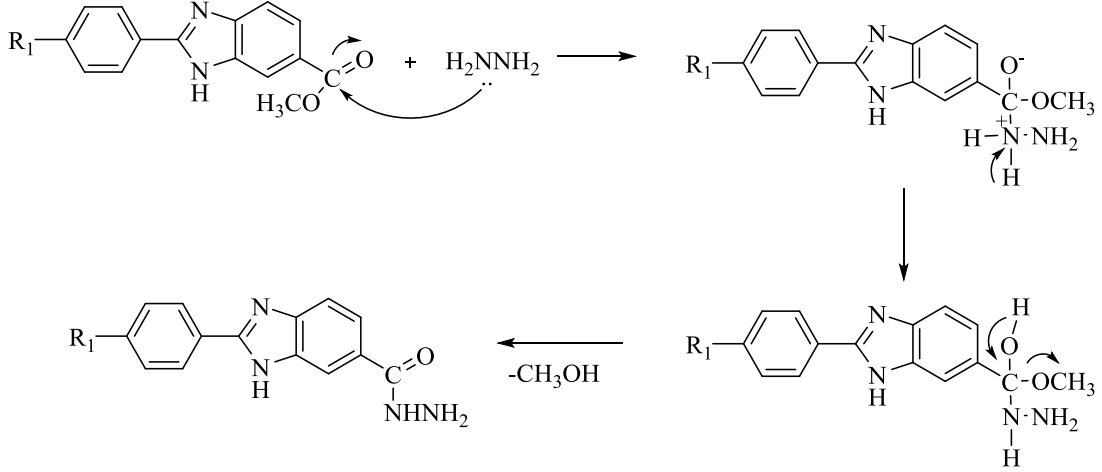
Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	52.20	C17 H16 N2 O3	[M+H] ⁺	297.1232	297.1234	-0.2	-0.67	52.20	11.0

Şekil 5.15. Bileşik 2c'ye ait kütle spektrumu

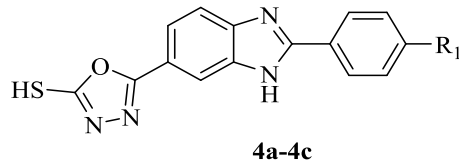
5.1.4. 2-(4-Süstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit (3a-3c)



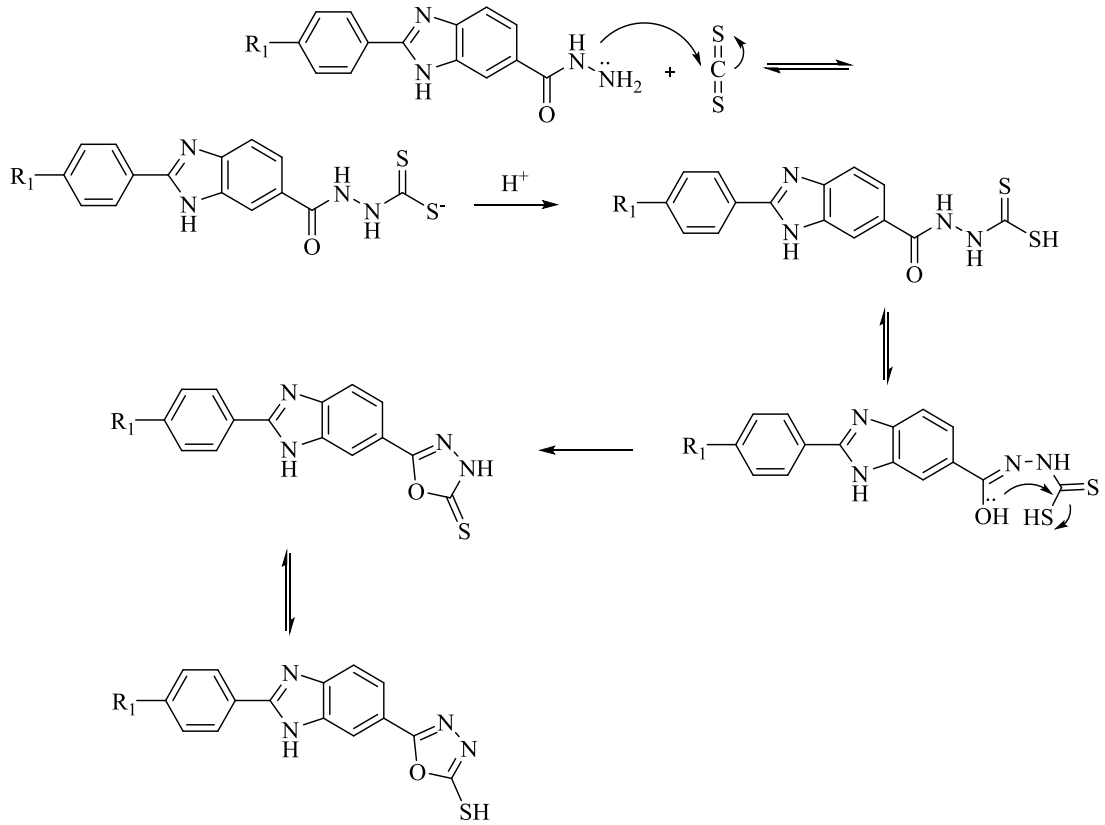
Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir. Verim: % 68-79.



5.1.5. 2-((4-Süstitüefenil)-(6-(5-merkaptto-1,3,4-oksadiazol-2-il))-1H-benzo[d]imidazol (4a-4c)

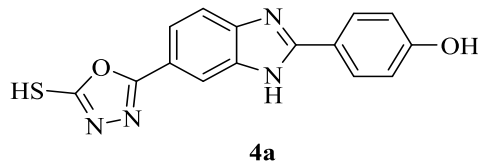


Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. Verim: % 84-78.



Şekil 5.17. 2-((4-Süstitüefenil)-(6-(5-merkapt-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol (**4a-4c**) türevlerinin sentezi için önerilen reaksiyon mekanizması

5.1.5.1. 2-((4-Hidroksifenil)-(6-(5-merkapt-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol (**4a**)



Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.N.: 226.8-228.3 °C. Verim: %81.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3483 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 844 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

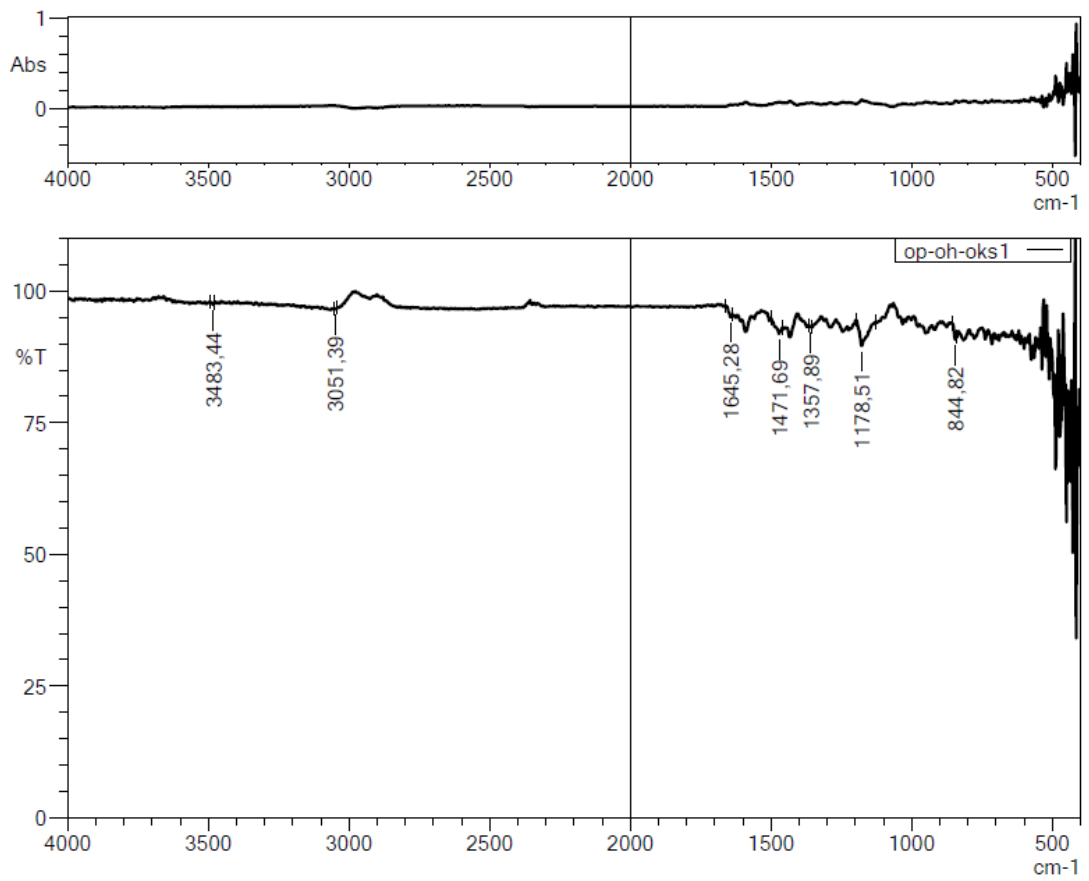
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 7.06 (2H, d, *J*=8.76 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.89 (2H, m, benzimidazol-C-H), 8.10 (1H, s, benzimidazol-C-H), 8.24 (2H, d, *J*=8.70 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 10.75 (1H, s, O-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 112.11, 115.27, 115.48, 116.86, 118.85, 122.86, 130.64, 134.41, 136.72, 152.40, 160.92, 162.58, 177.83.

HRMS (-*m/z*): [M+H]⁺: C₁₅H₁₀N₄O₂S için Hesaplanan: 311.0595, Bulunan: 311.0597.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 14:06:58
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\op-oh-oks1.ispd
Spectrum name	op-oh-oks1
Sample name	oh-oks
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.18. Bileşik 4a'ya ait IR spektrumu

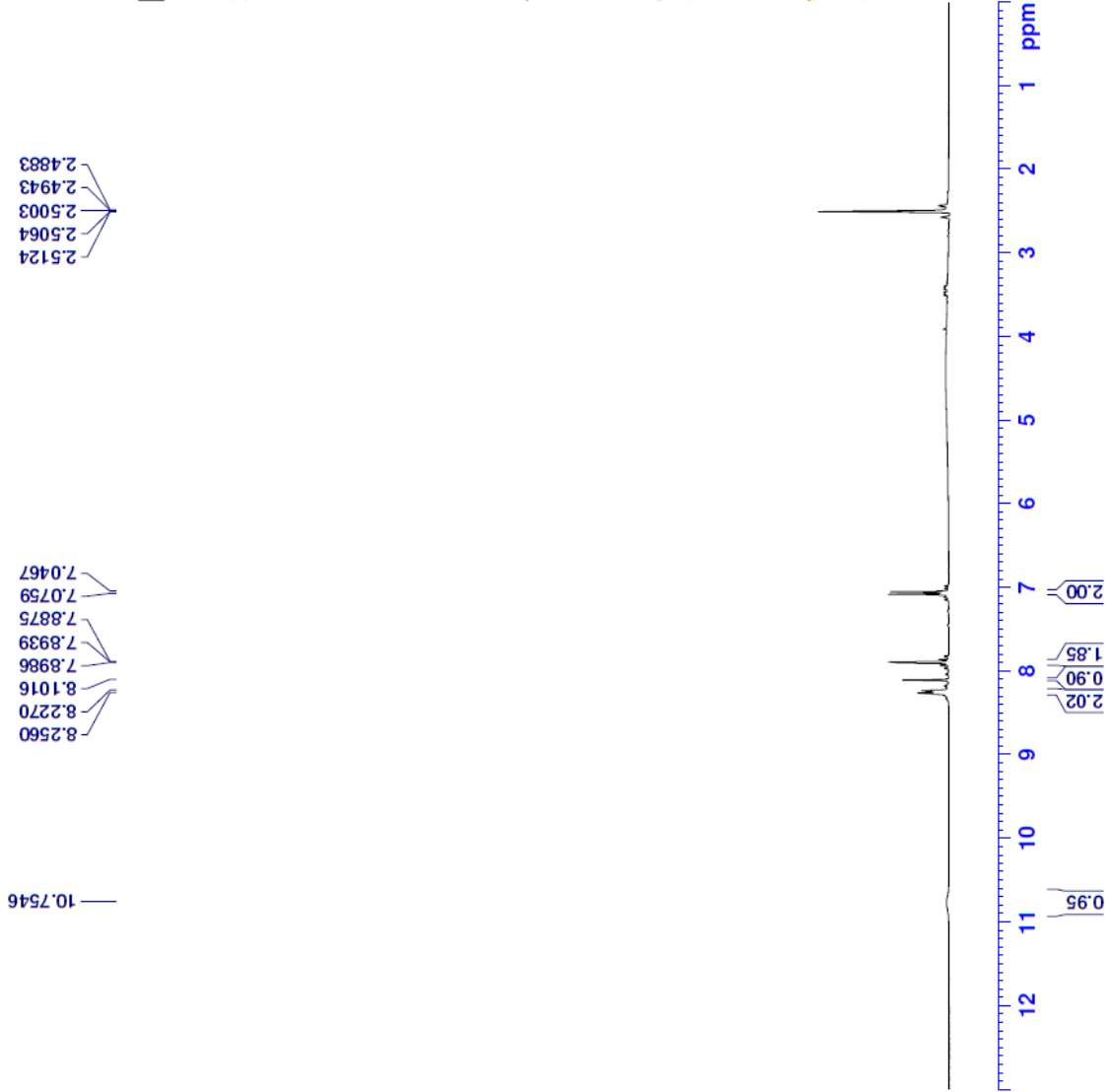


Current Data Parameters
NAME OH oxa
EXPNO 1
PROCNO 1

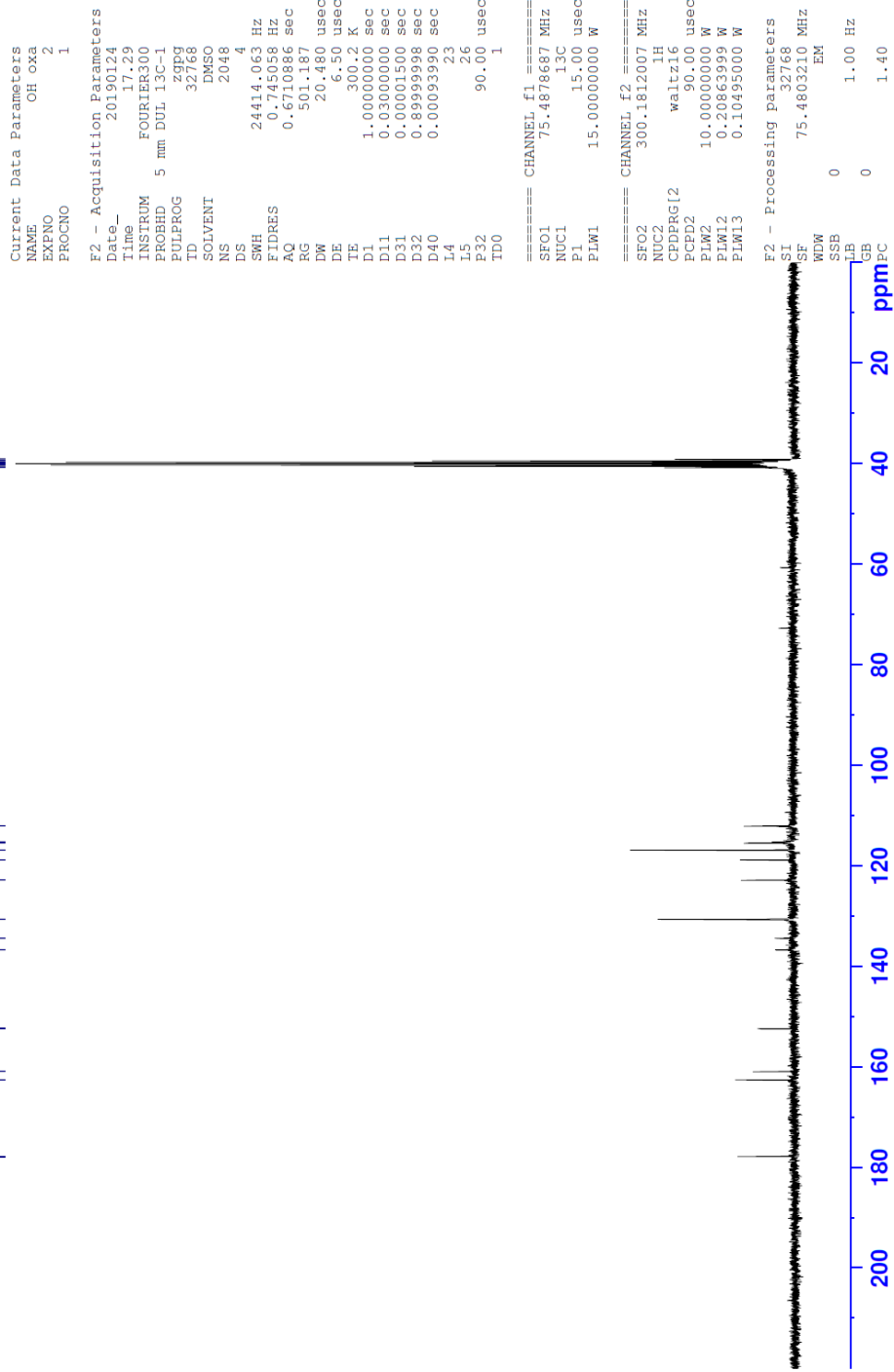
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20190124
Time_ 17.27
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.3421773 sec
RG 32.2469
DW 61.920 usec
DE 6.50 usec
TE 300.1 K
D1 3.0000000 sec
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1818537 MHz
NUC1 1H
PI 13.00 usec
PLW1 10.0000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.19. Bileşik 4a'ya ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 5.20. Bileşik 4a'ya ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uacl\OH-OKS_4.lcd

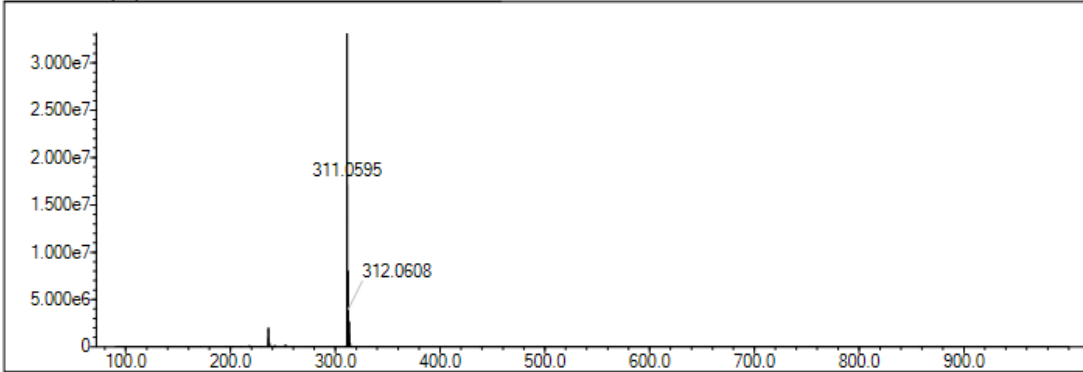
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	2	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 15
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

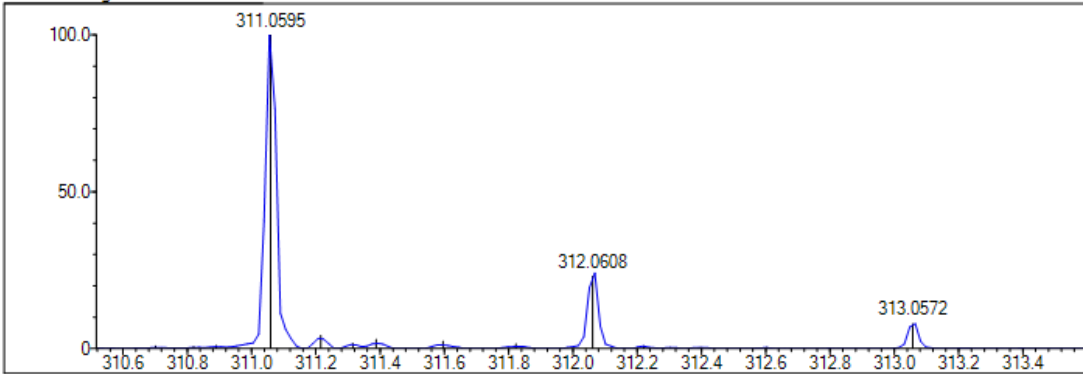
DBE Range: 5.0 - 22.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

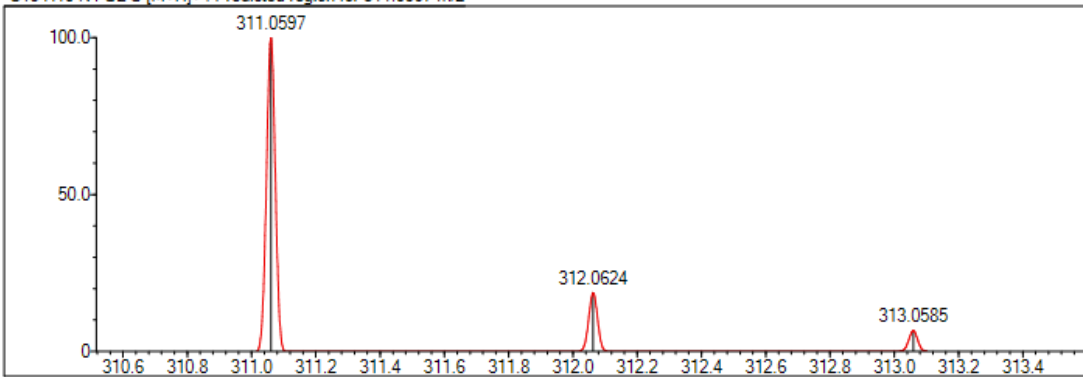
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.253 -> 4.253 Scan#: 639 -> 639



Measured region for 311.0595 m/z



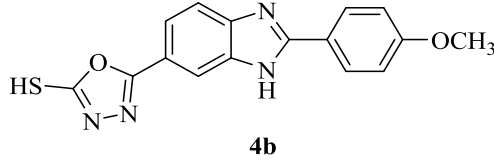
C15 H10 N4 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 311.0597 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	85.30	C15 H10 N4 O2 S	[M+H] ⁺	311.0595	311.0597	-0.2	-0.64	85.30	13.0

Şekil 5.21. Bileşik 4a'ya ait kütle spektrumu

5.1.5.2. 2-((4-Metoksifenil)-(6-(5-merkпто-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol (4b)



Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.N.:274.4-276.5 °C. Verim: %78.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3381 (N-H gerilim bandı), 1633 (C=O gerilim bandı), 837 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

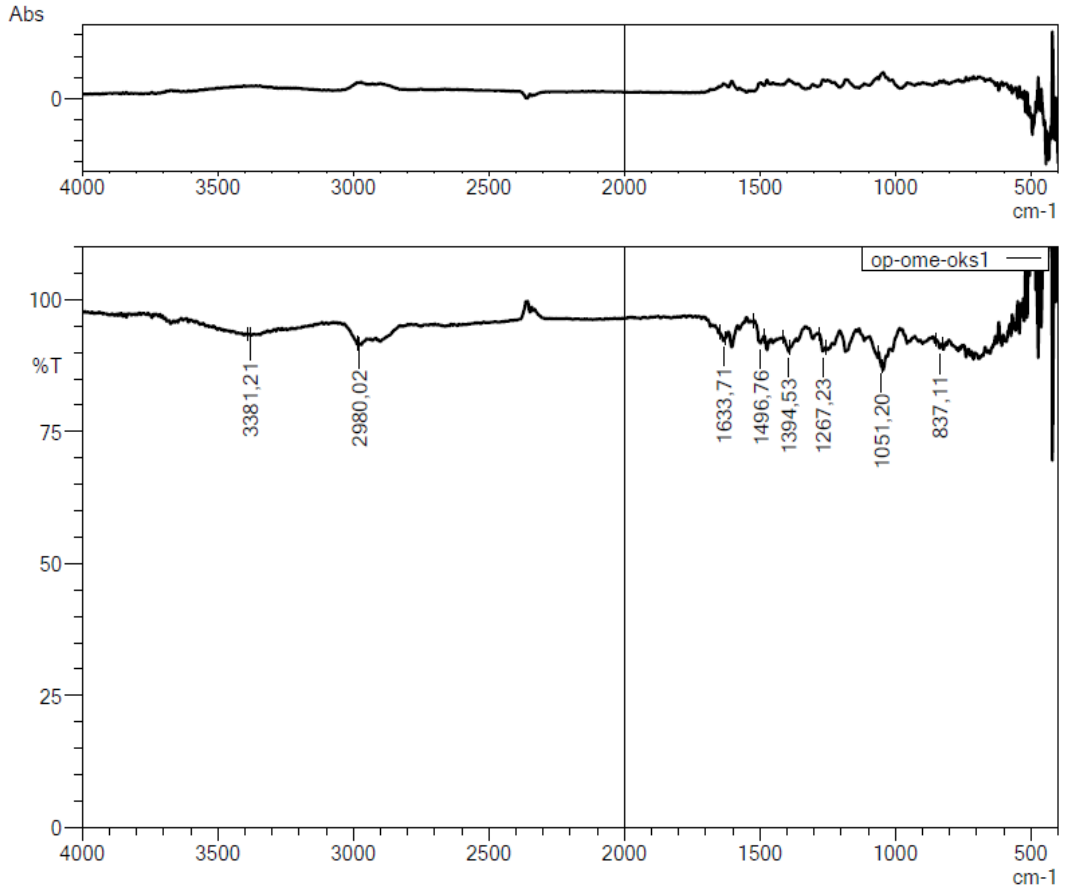
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ : 3.90 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 7.24-7.28 (2H, m, 1,4-disübstitüebenzen), 7.89 (1H, s, benzimidazol C-H), 8.12 (1H, s, benzimidazol C-H), 8.32 (2H, d, $J=8.70$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 8.40 (1H, s, benzimidazol C-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ : 56.25, 111.07, 114.23, 115.49, 115.76, 119.97, 122.60, 130.24, 130.49, 133.74, 152.25, 160.86, 162.73, 177.22.

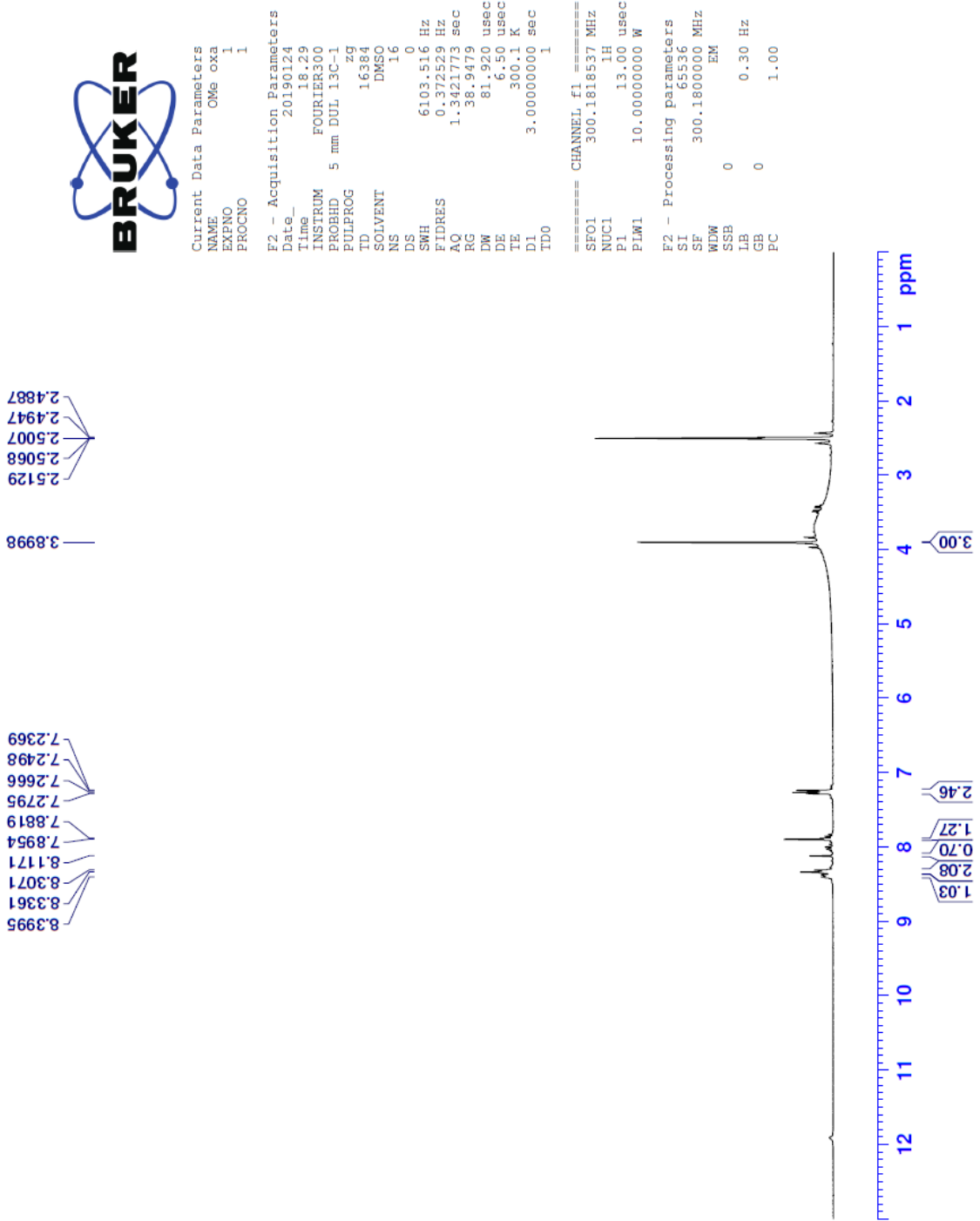
HRMS ($-m/z$): $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ için Hesaplanan: 325.0748, Bulunan: 325.0754

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 14:01:22
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\op-ome-oks1.ispd
Spectrum name	op-ome-oks1
Sample name	ome-oks
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.22. Bileşik 4b'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.23. Bileşik 4b'ye ait ¹H NMR spektrumu



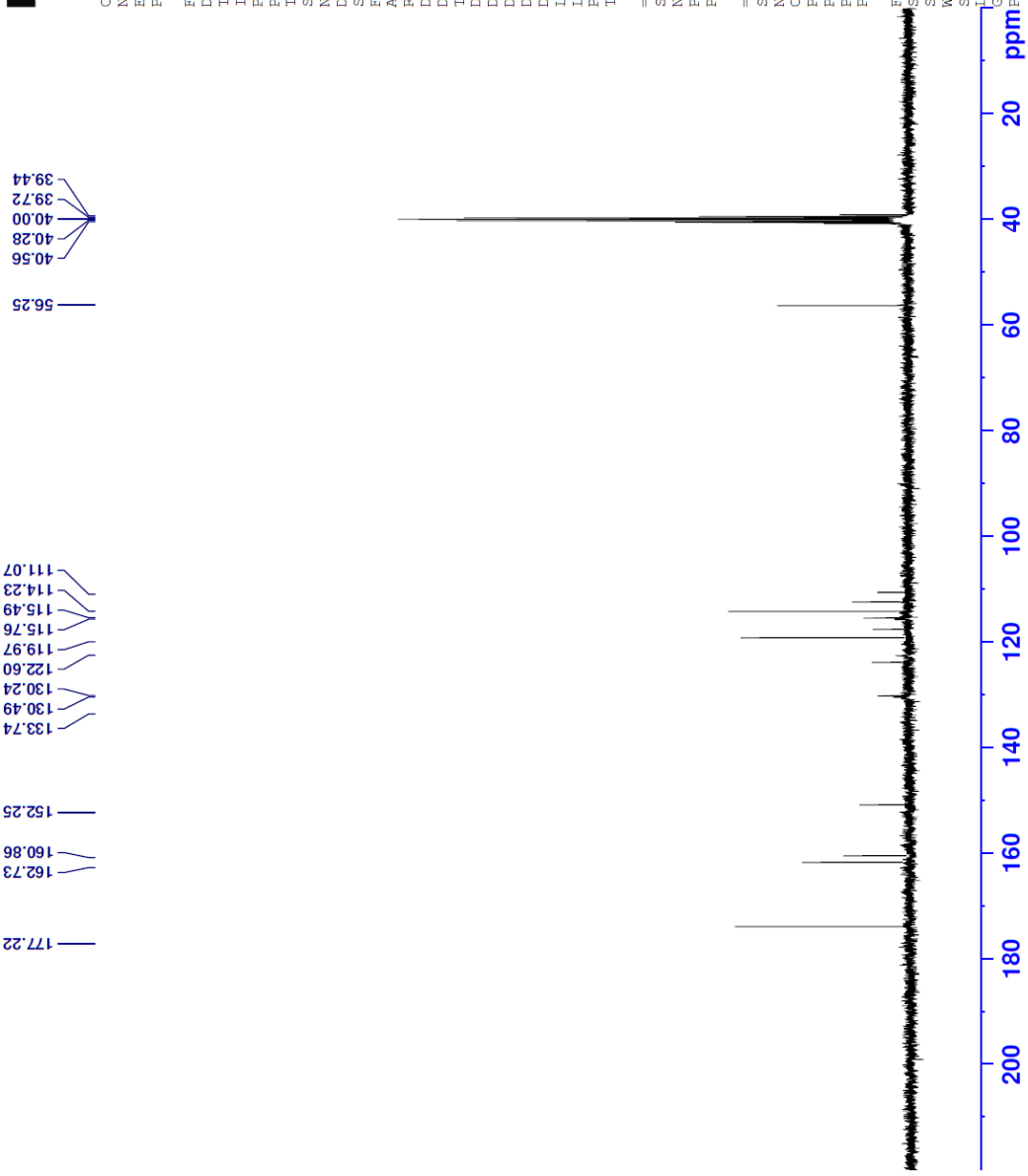
Current Data Parameters
NAME OMe_oxa
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20190124
Time 18.31
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg
TD 32768
SOLVENT DMSO
NS 2048
DS 4
SWH 24414.063 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
DW 20.480 usec
DE 6.50 usec
TE 300.0 K
D1 1.0000000 sec
D11 0.0300000 sec
D31 0.0000150 sec
D32 0.8999998 sec
D40 0.0009399 sec
L4 23
L5 26
P32 90.00 usec
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
SF01 75.4878687 MHz
NUC1 13C
P1 15.00 usec
PLW1 15.0000000 W

==== CHANNEL f2 =====
SF02 300.1812007 MHz
NUC2 1H
CPDPRG2 waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLW2 10.0000000 W
PLW12 0.20863999 W
PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4803210 MHz
EM
WDW 0
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



Şekil 5.24. Bileşik 4b'ye ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uacl\OM2_7.lcd

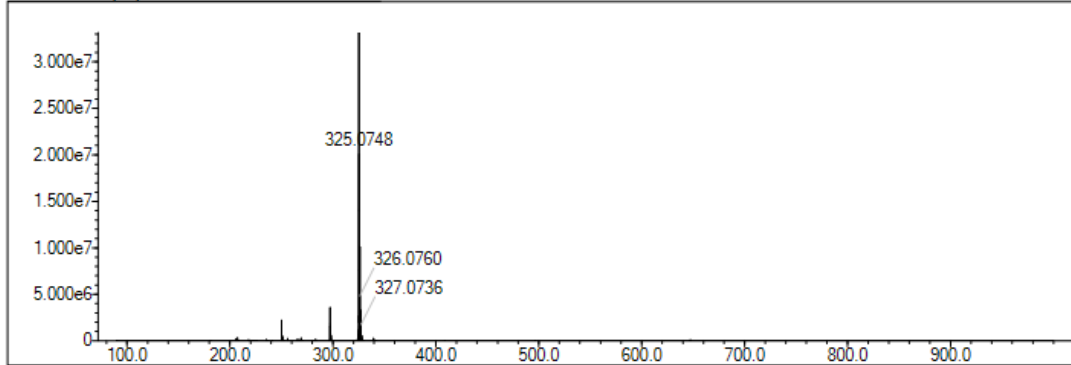
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	2	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 15
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

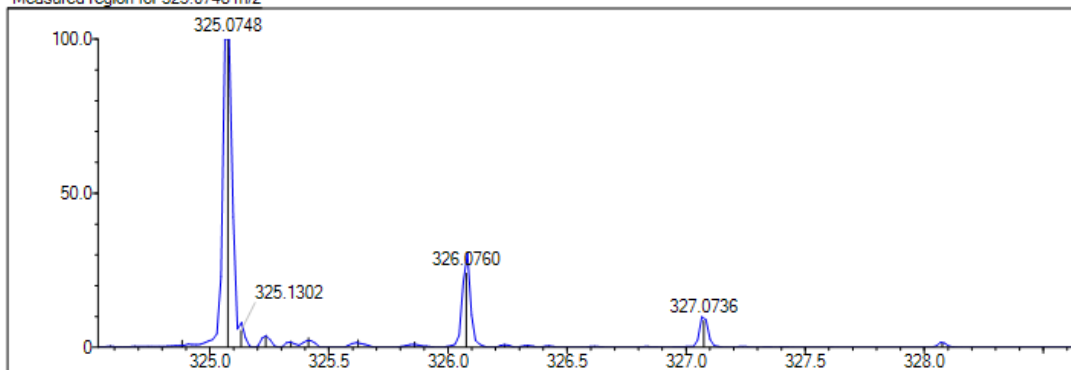
DBE Range: 5.0 - 22.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

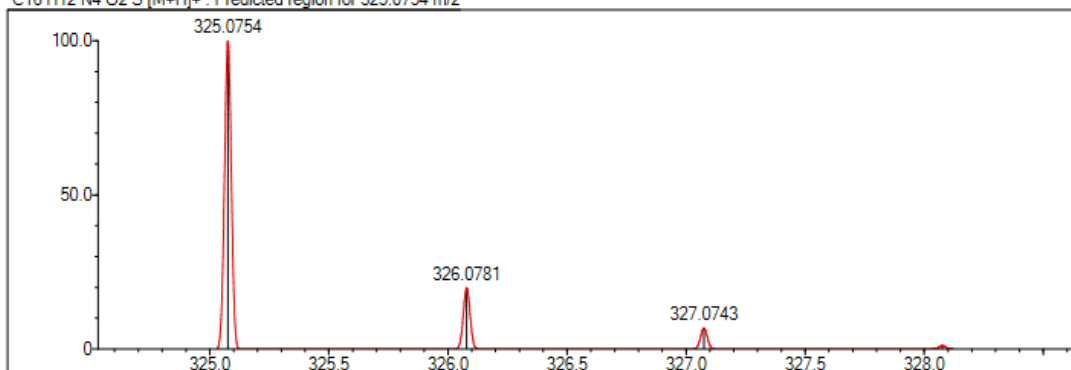
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 5.253 Scan#: 789



Measured region for 325.0748 m/z



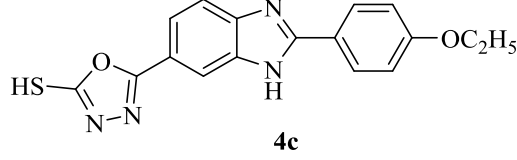
C16 H12 N4 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 325.0754 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	80.05	C16 H12 N4 O2 S	[M+H] ⁺	325.0748	325.0754	-0.6	-1.85	81.79	13.0

Şekil 5.25. Bileşik 4b'ye ait kütle spektrumu

5.1.5.3. 2-((4-Etoksifenil)-(6-(5-merkpto-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol
(4c)



Yöntem E'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.N.: 288.2-289.9 °C. Verim: %84.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3402 (N-H gerilim bandı), 1624 (C=O gerilim bandı), 846 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

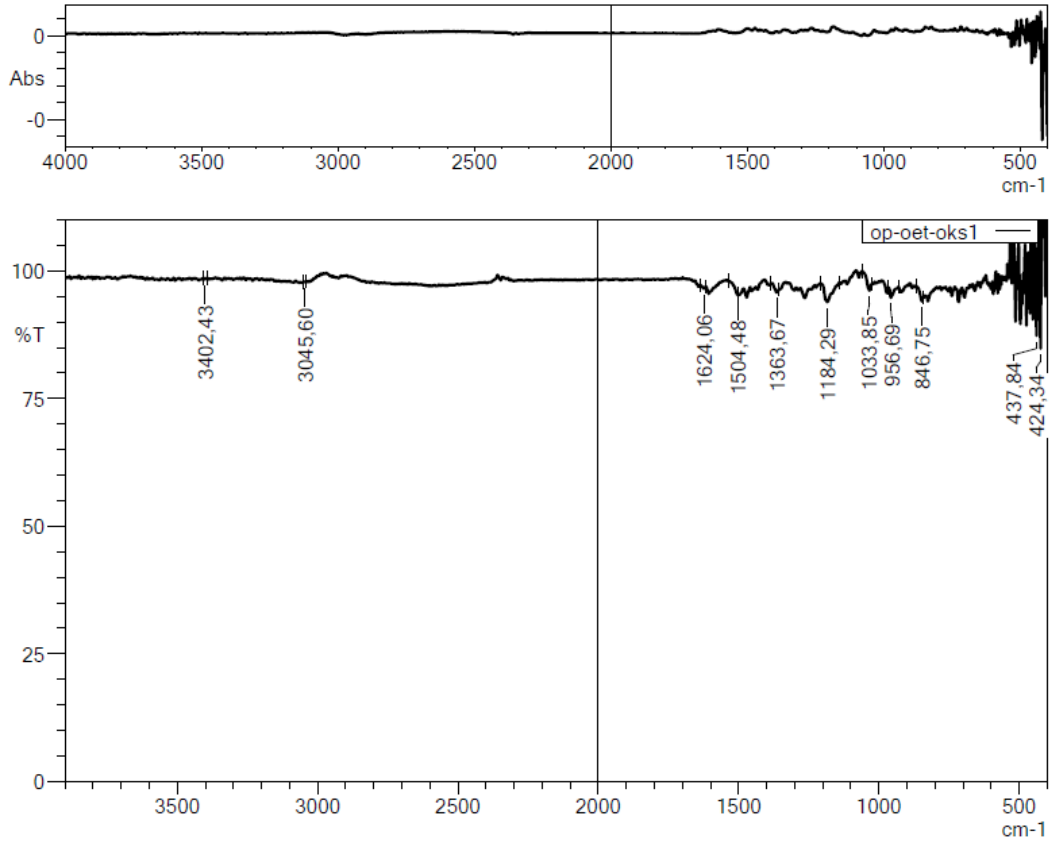
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 1.38 (3H, t, $J=6.90$ Hz, $-\text{CH}_3$), 4.17 (2H, q, $J=6.96$ Hz, $-\text{CH}_2$), 7.23 (2H, d, $J=8.28$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.91-7.93 (2H, m, benzimidazol-C-H), 8.12 (1H, s, benzimidazol-C-H), 8.24 (2H, d, $J=7.47$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): δ : 14.92, 64.35, 112.17, 115.55, 115.96, 116.14, 119.30, 123.28, 130.57, 133.78, 135.98, 151.83, 155.14, 162.99, 177.88.

HRMS ($-m/z$): $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ için Hesaplanan: 339.0910, Bulunan: 339.0910.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 14:04:57
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\denya\OPl\op-oet-oks1.ispd
Spectrum name	op-oet-oks1
Sample name	oet-oks
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.26. Bileşik 4c'ye ait IR spektrumu



Current Data Parameters
NAME oet-oks
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20190221
Time 15.10
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.342173 sec
RG 12.4443
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 299.8 K
D1 3.0000000 sec
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1818537 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W

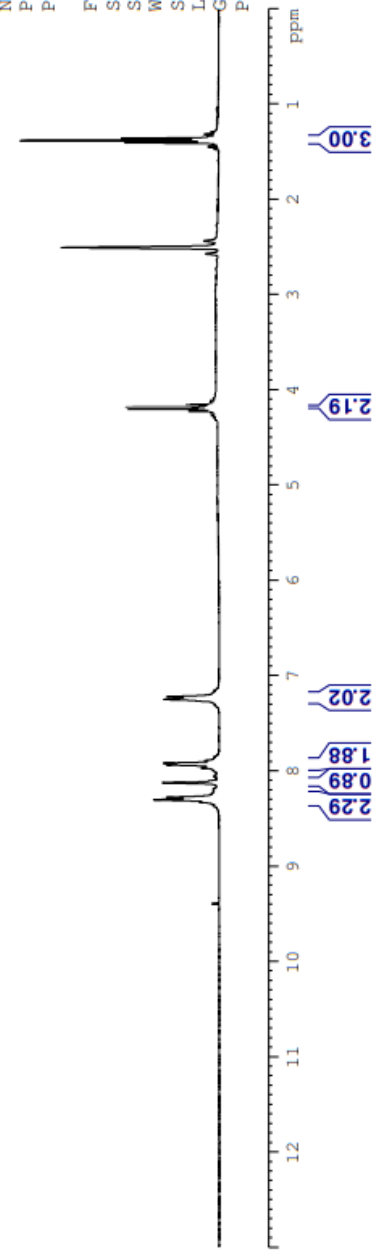
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

1.3542
1.3774
1.4004

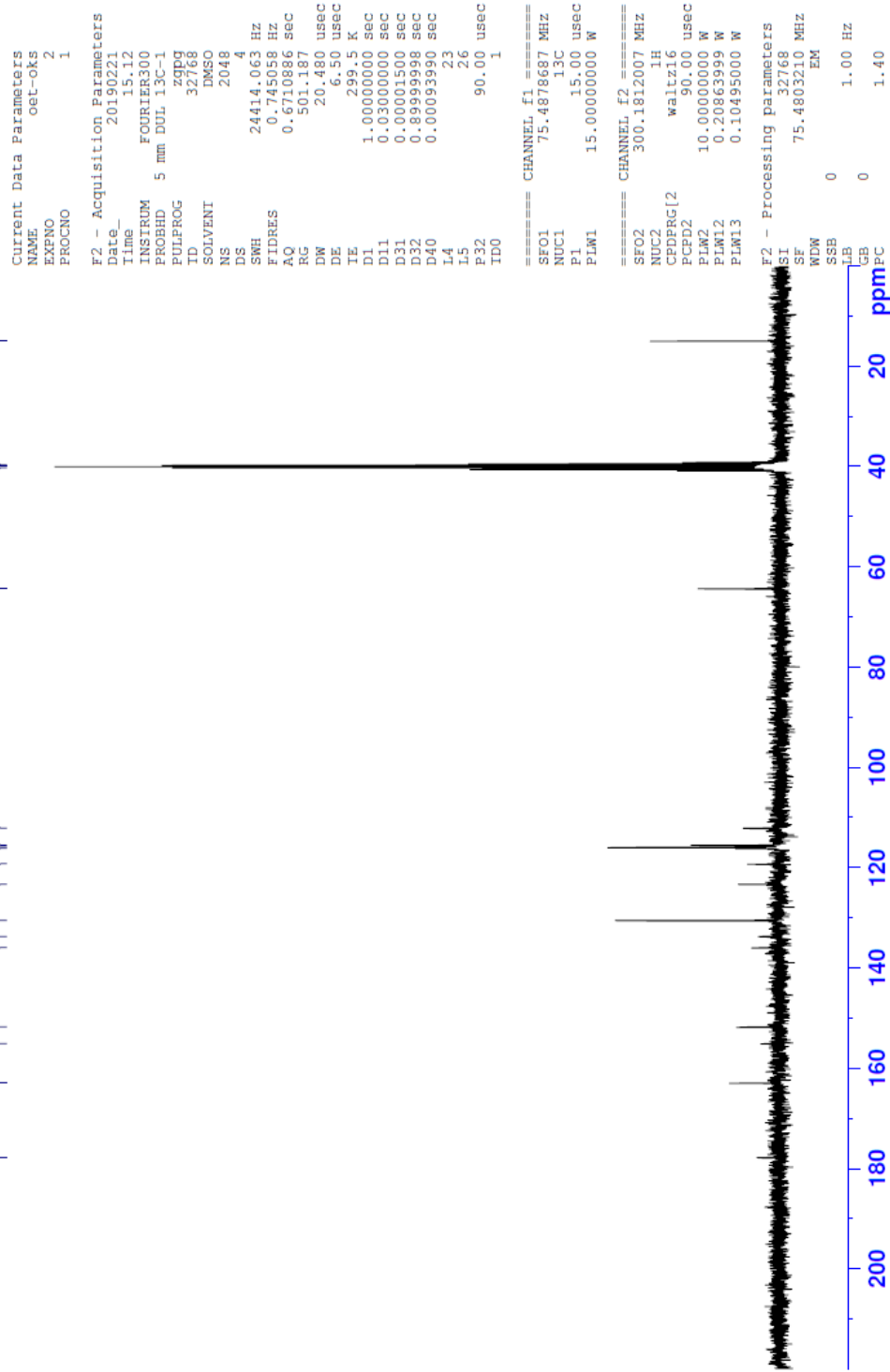
2.5002

4.1426
4.1658
4.1890
4.2117

7.2166
7.2442
7.9146
7.9298
8.1197
8.2732
8.2981



Şekil 5.27. Bileşik 4c'ye ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 5.28. Bileşik 4c'ye ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\luac\ETO_6.lcd

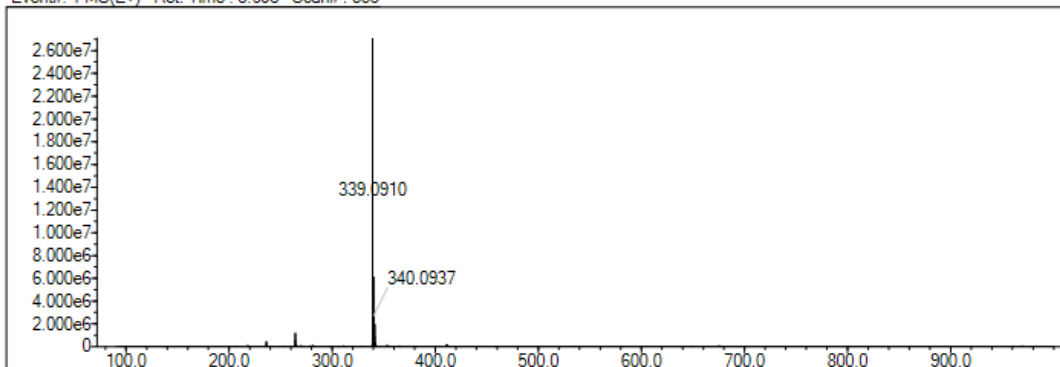
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	2	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

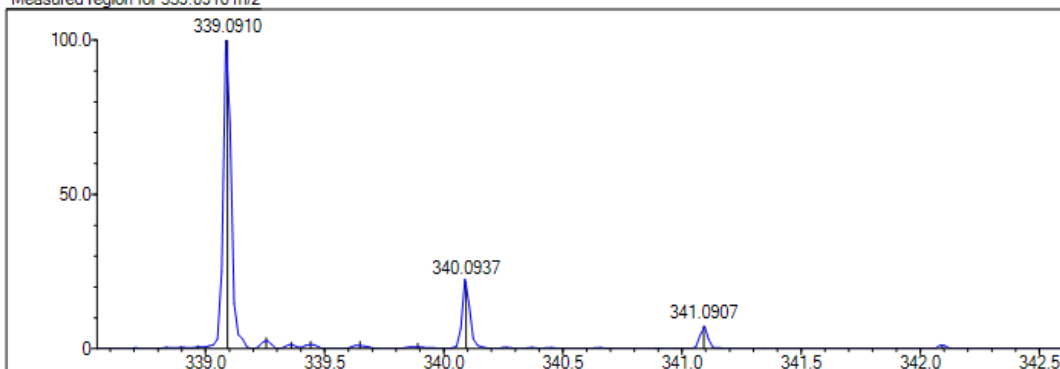
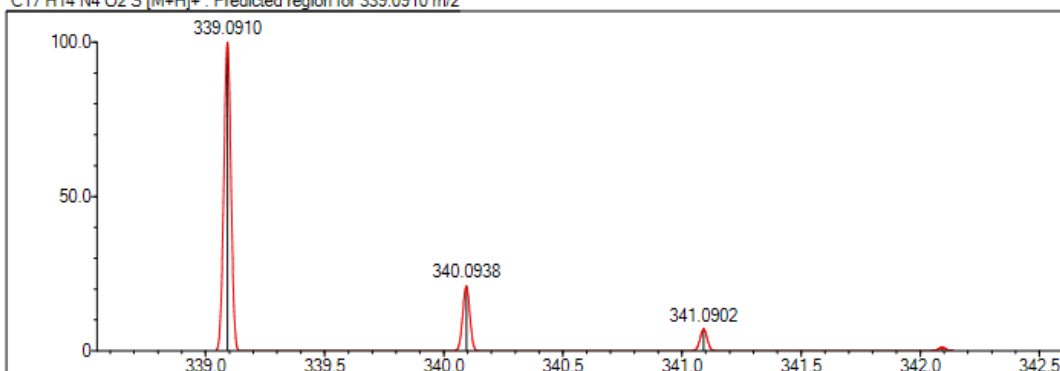
DBE Range: 5.0 - 22.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 5.693 Scan#: 855



Measured region for 339.0910 m/z

C17 H14 N4 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 339.0910 m/z

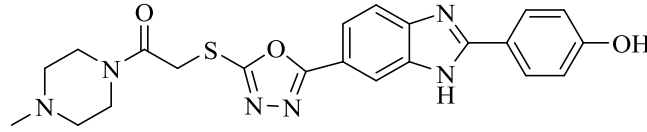
Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	80.01	C17 H14 N4 O2 S	[M+H] ⁺	339.0910	339.0910	-0.0	0.00	80.01	13.0

Şekil 5.29. Bileşik 4c'ye ait kütle spektrumu

5.1.6. 2-((5-(2-(4-Sübstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-sübstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on (5a-5o) türevleri

Yöntem F'ye göre sentezlenmiştir.

5.1.6.1. 2-((5-(2-(4-Hidroksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-metil-piperazin-1-il)-etan-1-on (5a)



Deneysel E.N.: 161.3-163.4 °C. **Verim:** %65.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3618 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 840 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

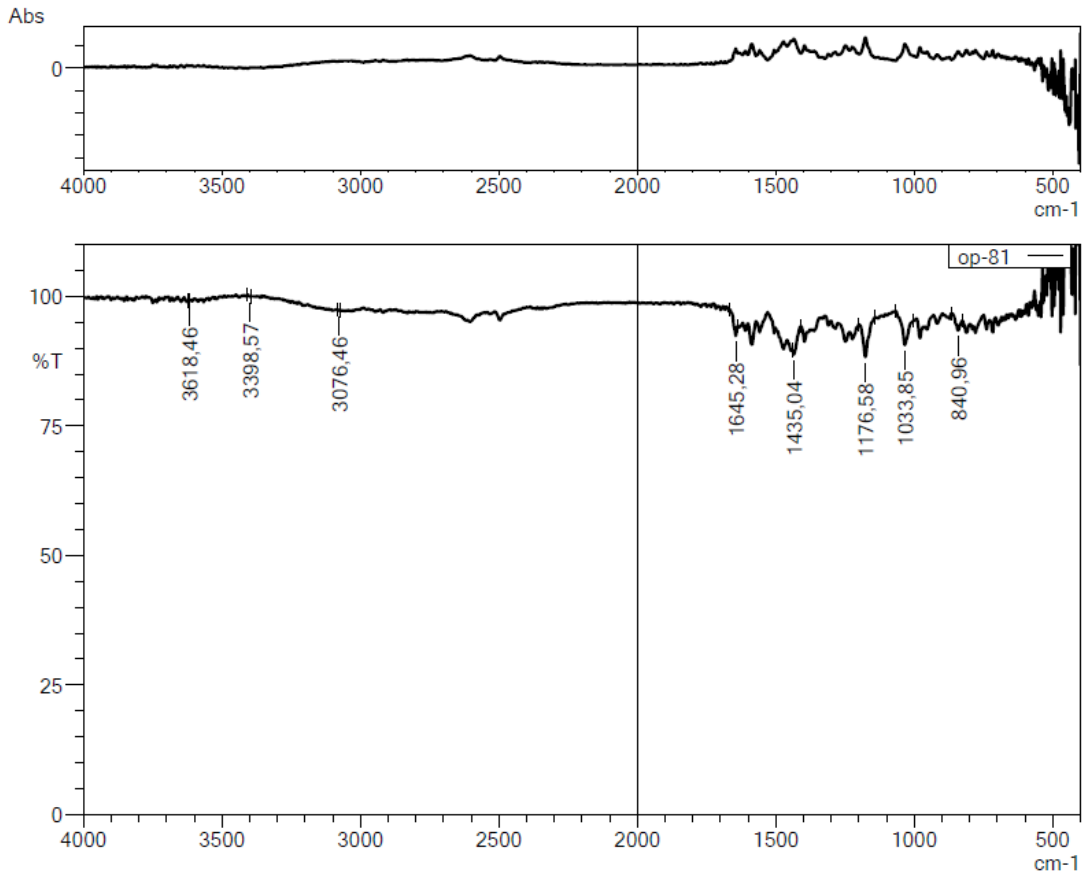
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 2.76 (3H, s, -CH₃), 3.35 (8H, br.s., piperazin), 4.64 (2H, s, -CH₂), 6.96 (2H, d, $J=8.64$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.71 (1H, d, $J=8.28$ Hz, benzimidazol-C₄), 7.80 (1H, dd, $J_1=8.40$ Hz, $J_2=1.15$ Hz, benzimidazol-C₅), 8.09 (2H, d, $J=8.61$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 8.13 (1H, s, benzimidazol-C₇), 10.20 (1H, s, O-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): δ : 36.76, 42.47, 45.75, 52.23, 52.44, 60.63, 112.96, 115.85, 116.47, 117.52, 118.66, 121.59, 129.67, 153.79, 161.14, 163.26, 165.68, 166.19, 167.30, 169.40.

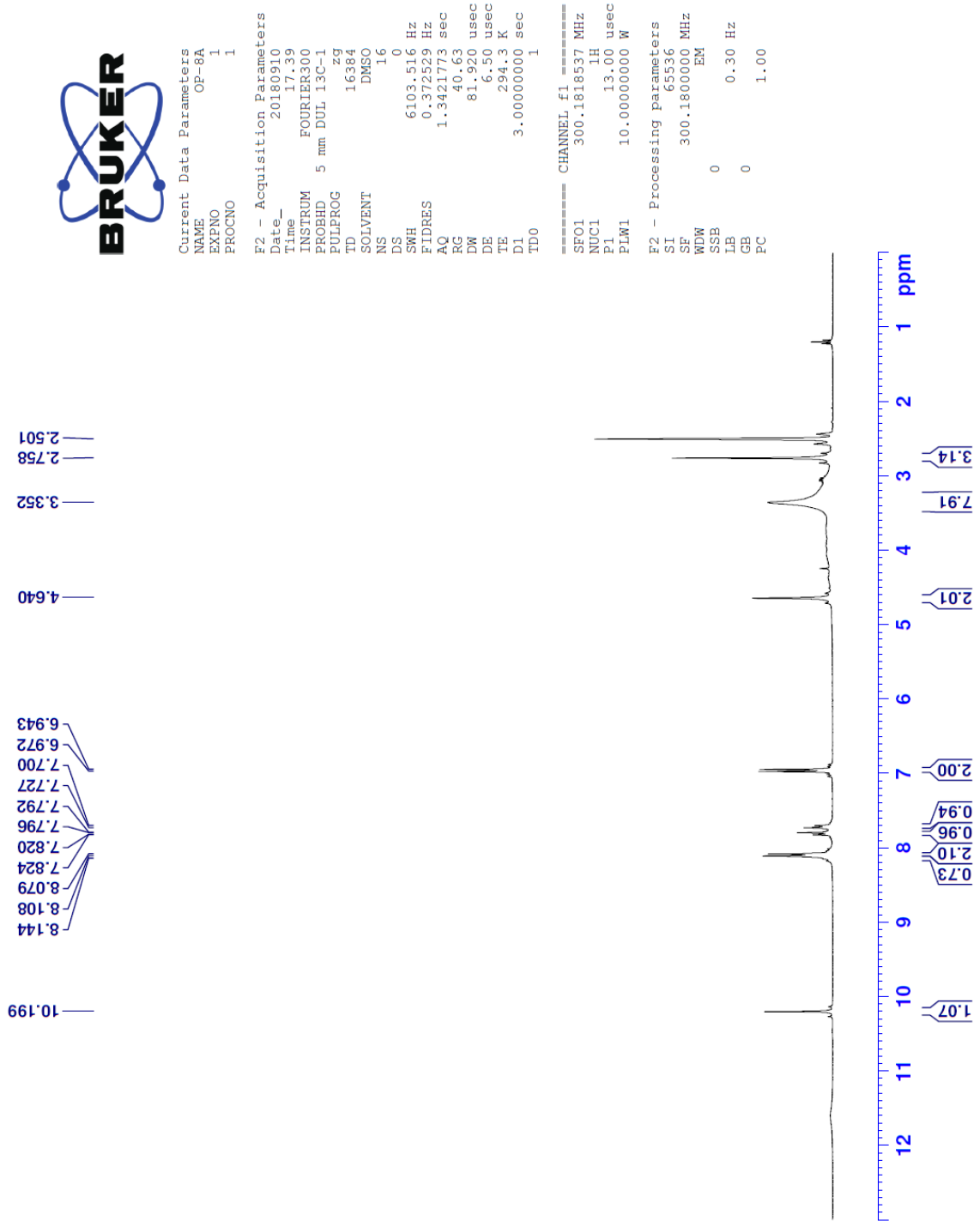
HRMS ($-m/z$): $[\text{M}+\text{H}]^+ / 2$: C₂₂H₂₂N₆O₃S için Hesaplanan: 226.0804, Bulunan: 226.0810.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 12:08:37
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\op-81.ispd
Spectrum name	op-81
Sample name	OP-8
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.30. Bileşik 5a'ya ait IR spektrumu



Şekil 5.31. Bileşik 5a'ya ait ^1H NMR spektrumu



Current Data Parameters
NAME Op-8
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20161013
Time 22.44
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg
TD 32768
SOLVENT DMSO
NS 2048
DS 4
SWH 24414.063 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
DM 20.480 usec
DE 6.50 usec
TE 298.0 K
D1 1.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
D31 0.00001500 sec
D32 0.89999998 sec
D40 0.00009390 sec
L4 23
L5 26
P32 90.00 usec
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.4878687 MHz
NUC1 13C
P1 15.00 usec
PLW1 15.00000000 W

==== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.1812007 MHz
NUC2 1H
PCPDPRG[2] waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLW2 10.00000000 W
PLW12 0.20863999 W
PLW13 0.10495000 W

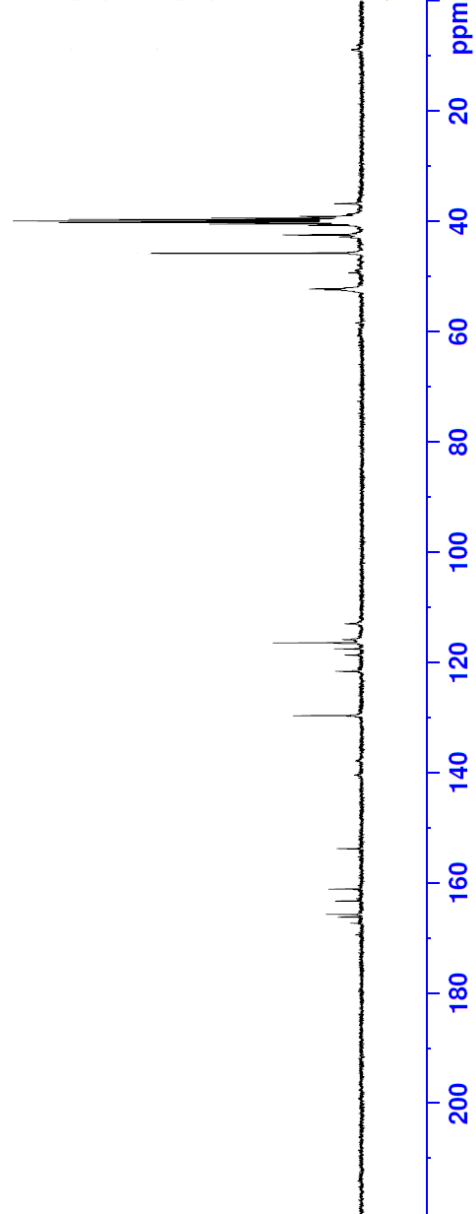
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4803210 MHz
EM

WDW 0
SSB 0 1.00 Hz
LB 0
GB 0
PC 1.40

60.63
52.44
52.23
45.75
42.47
40.73
40.45
39.89
39.62
39.34
39.06
36.76

129.67
121.59
118.66
117.52
116.47
115.85
112.96

169.40
167.30
166.19
165.68
163.26
161.14
153.79



Şekil 5.32. Bileşik 5a'ya ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uacl\OP-8_3.lcd

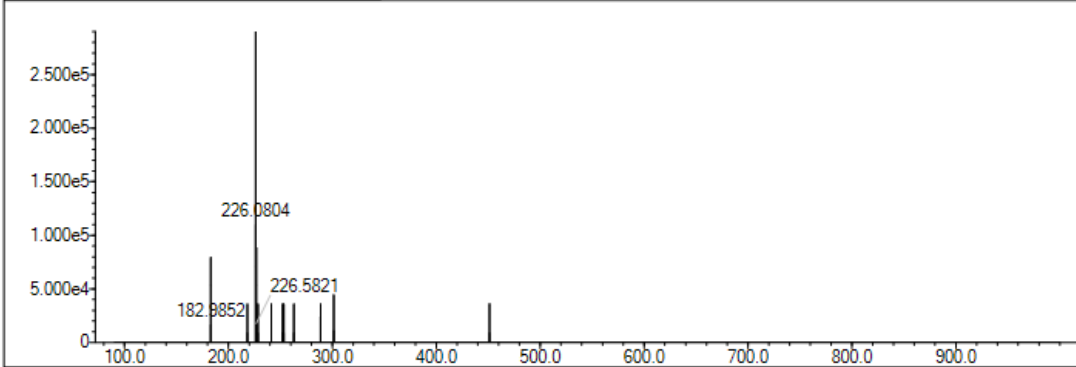
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	3	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 15
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

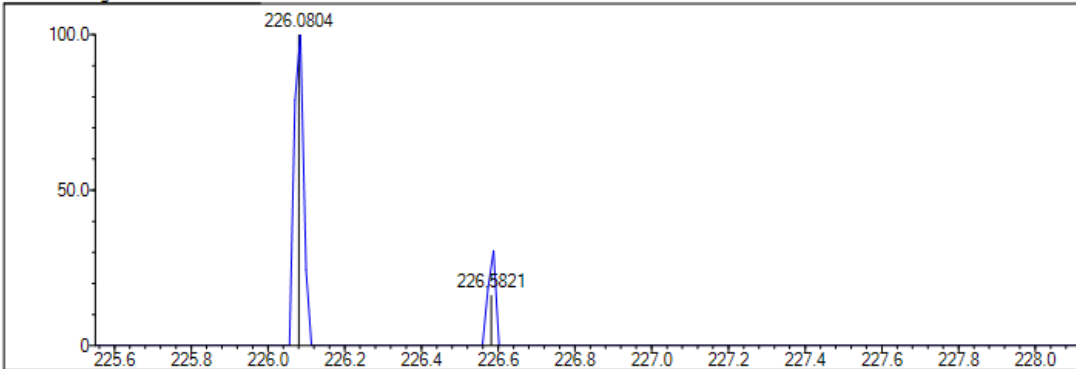
DBE Range: 12.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

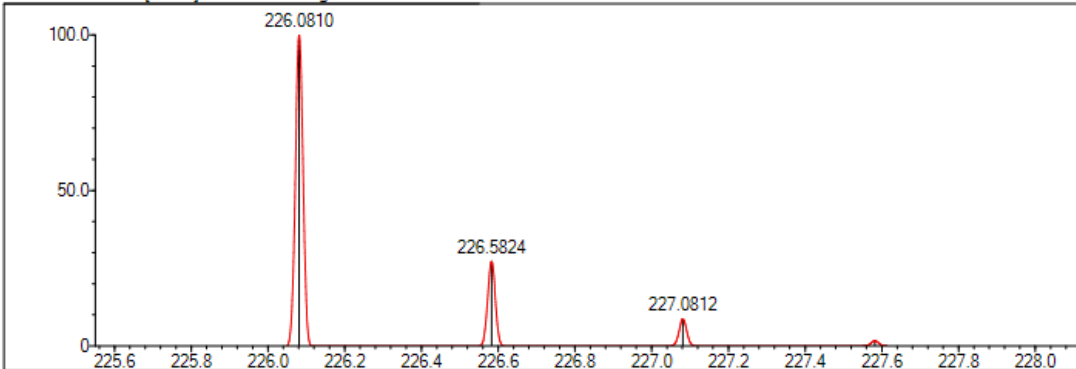
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.907 Scan#: 287



Measured region for 226.0804 m/z



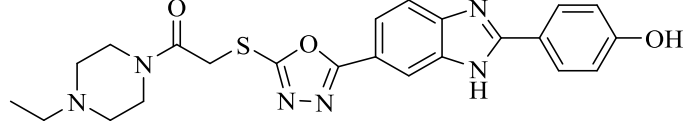
C22 H22 N6 O3 S [M+2H]2+ : Predicted region for 226.0810 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	0.00	C22 H22 N6 O3 S	[M+2H]2+	226.0804	226.0810	-0.6	-2.65	0.00	15.0

Şekil 5.33. Bileşik 5a'ya ait kütle spektrumu

5.1.6.2. 2-((5-(2-(4-Hidroksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-etil-piperazin-1-il)-etan-1-on (5b)



Deneysel E.N.: 199.9-201.2 °C. **Verim:** %78.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3311 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 839 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

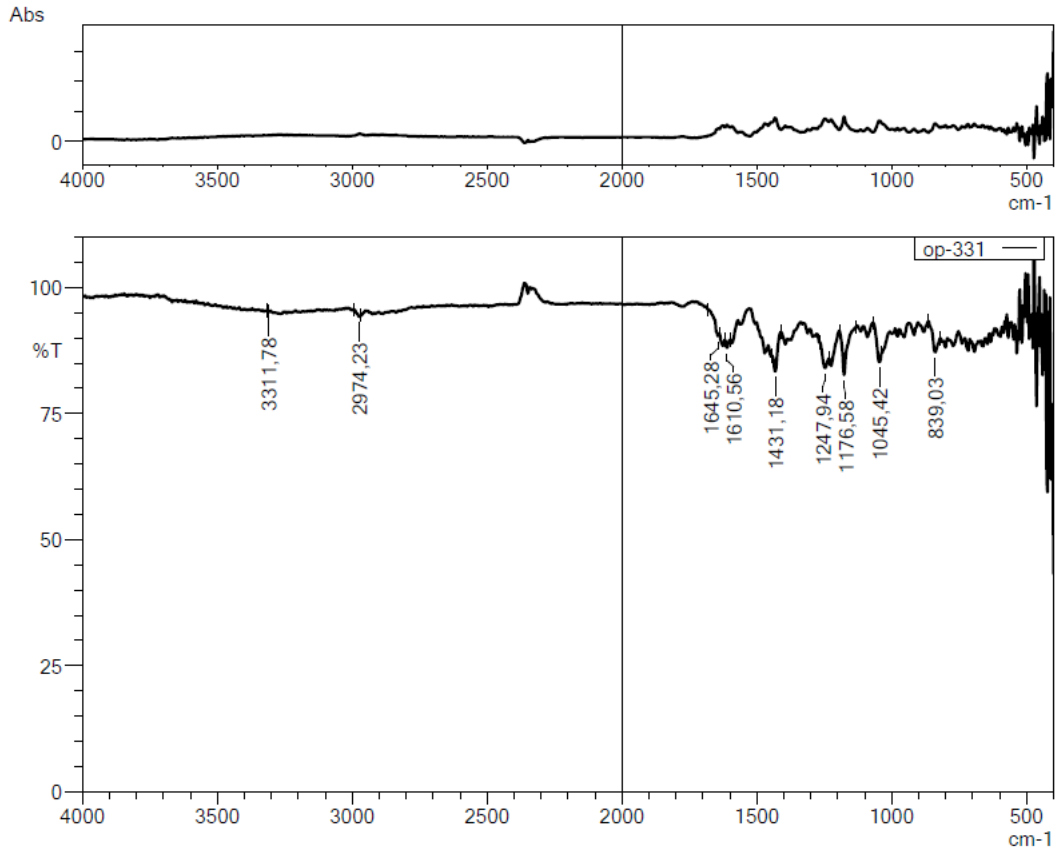
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 1.01 (3H, t, $J=7.16$, CH_3), 2.34-2.51 (6H, m, CH_2 , piperazin), 3.48-3.50 (4H, m, piperazin), 4.56 (2H, s, CH_2), 6.90 (2H, d, $J=8.70$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.67 (1H, d, $J=8.46$ Hz, benzimidazol- C_4), 7.74 (1H, dd, $J_1=8.39$ Hz, $J_2=1.65$ Hz, benzimidazol- C_5), 8.06 (2H, d, $J=8.70$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 8.09 (1H, sbenzimidazol- C_7).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): δ : 12.32, 37.04, 42.23, 45.85, 51.91, 52.31, 52.79, 113.41, 116.30, 116.45, 116.70, 120.38, 129.02, 155.20, 155.45, 161.21, 163.08, 165.06, 165.89, 166.58, 168.44.

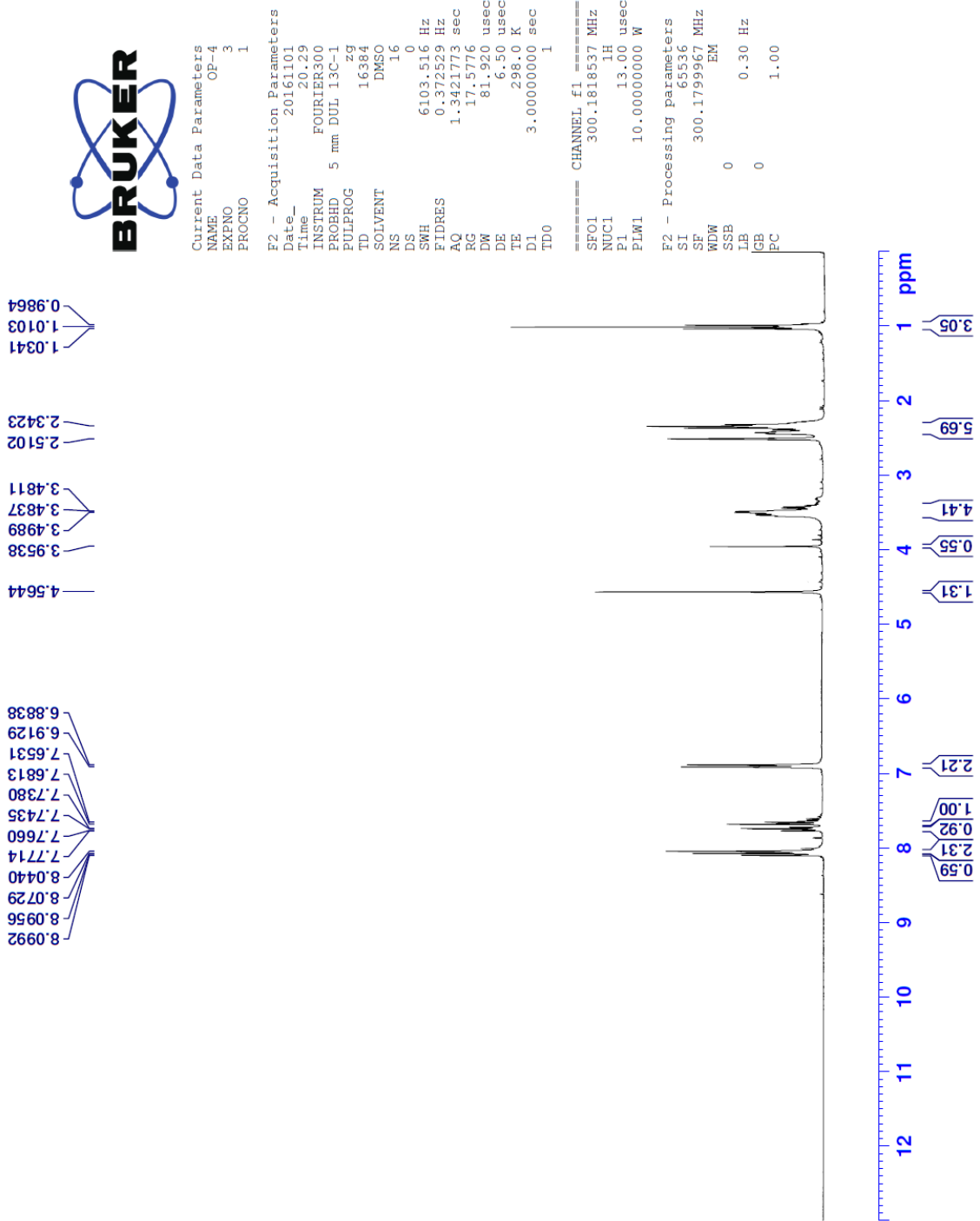
HRMS ($-m/z$): $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$ için Hesaplanan: 465.1692, Bulunan: 465.1703.

DOPNALAB

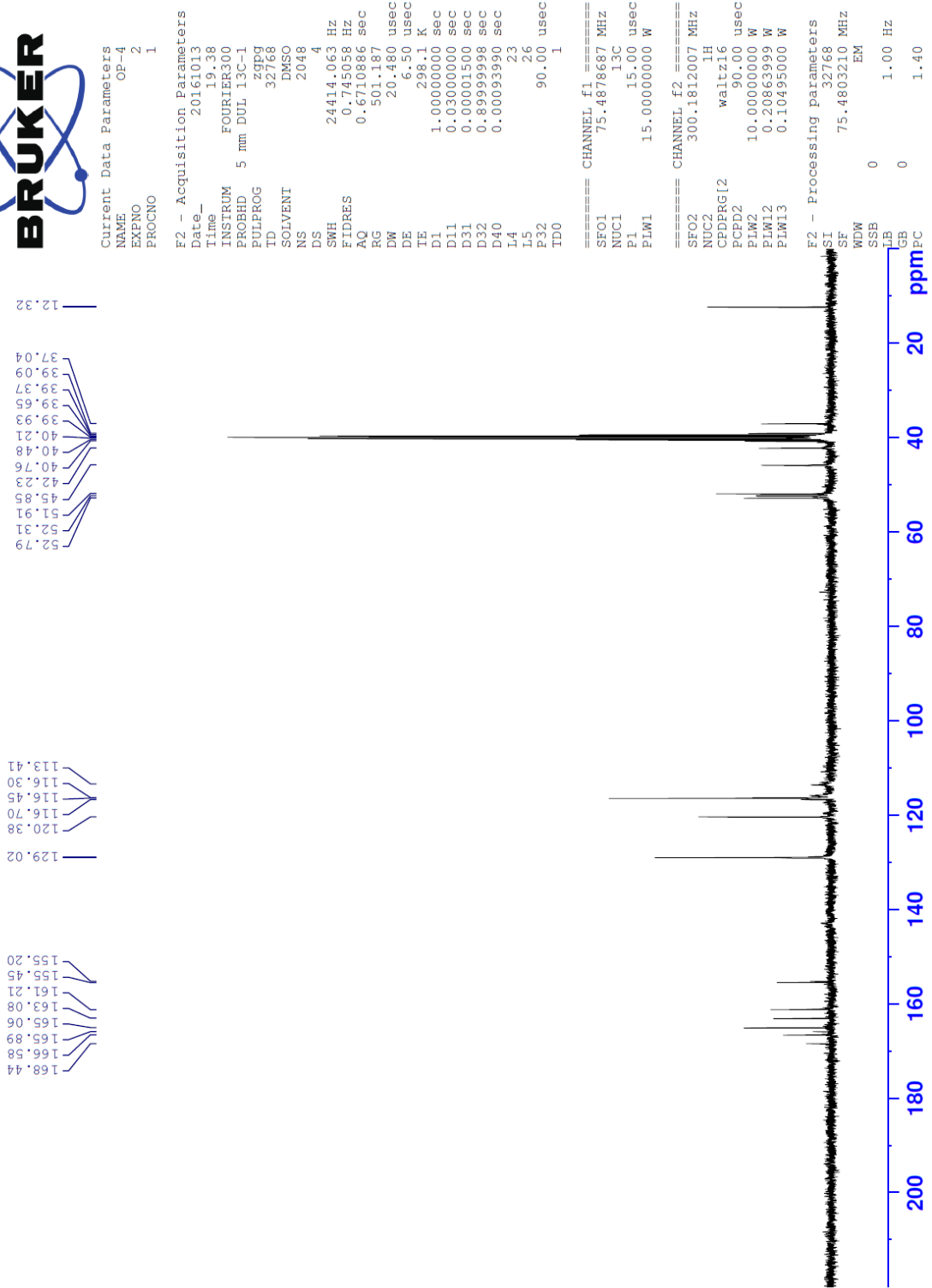
Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 13:51:36
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\op-331.ispd
Spectrum name	op-331
Sample name	OP-33
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.34. Bileşik 5b'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.35. Bileşik 5b'ye ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 5.36. Bileşik 5b'ye ait ^{13}C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\luac\OP-4_5.lcd

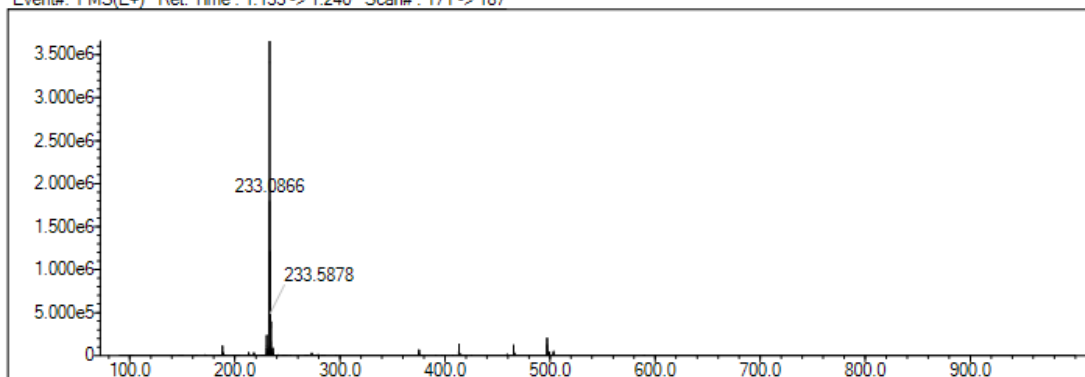
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	3	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	1	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	6	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

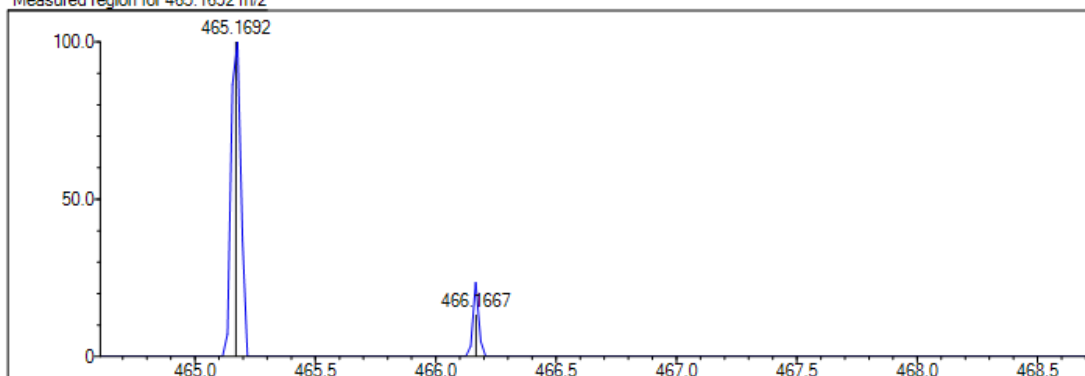
DBE Range: 12.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

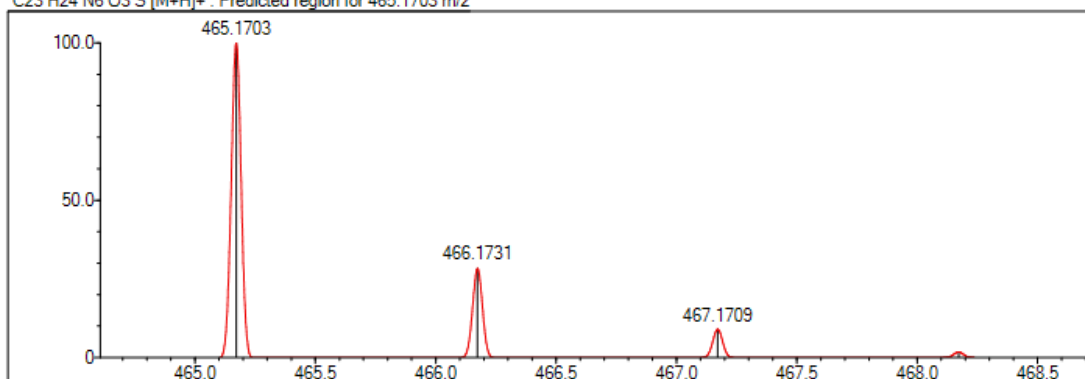
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.133-> 1.240 Scan#: 171-> 187



Measured region for 465.1692 m/z



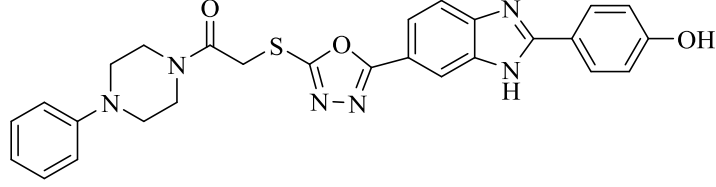
C23 H24 N6 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 465.1703 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	0.00	C23 H24 N6 O3 S	[M+H] ⁺	465.1692	465.1703	-1.1	-2.36	0.00	15.0

Şekil 5.37. Bileşik 5b'ye ait kütle spektrumu

5.1.6.3. 2-((5-(2-(4-Hidroksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(fenil)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5c)



Deneysel E.N.: 271.1- 273.4 °C. **Verim:** %72.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3365 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 840 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

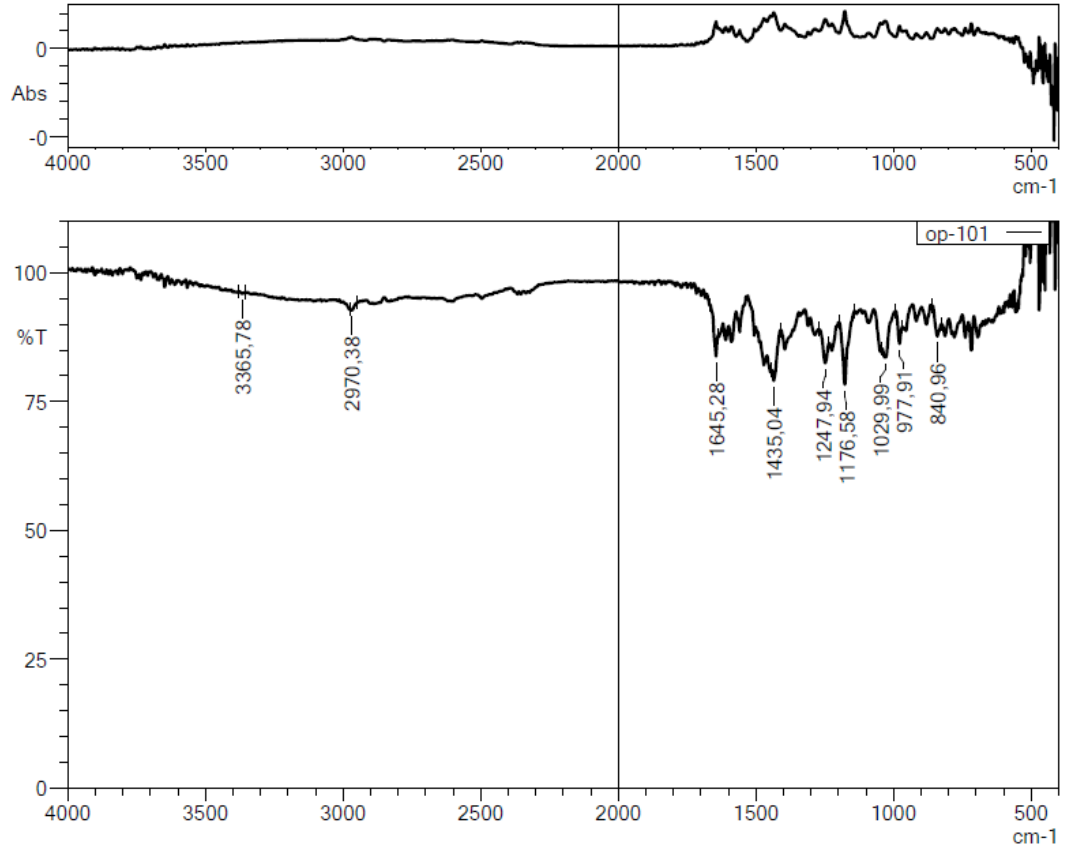
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 3.13-3.26 (4H, m, piperazin), 3.63-3.70 (4H, m, piperazin), 4.64 (2H, s, -CH₂), 6.82 (1H, t, $J=7.23$ Hz, fenil C-H), 6.99- 6.93 (4H, m, 1,4-disübstitüebenzen, fenil C-H), 7.24 (2H, t, $J=7.29$ Hz, fenil C-H), 7.66 (1H, br.s., benzimidazol-C₄), 7.81 (1H, d, $J=8.34$ Hz, benzimidazol-C₅), 8.01-8.06 (3H, m, 1,4-disübstitüebenzen, benzimidazol-C₇), 10.10 (1H, s, O-H), 13.09 (1H, s, N-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): δ : 37.03, 42.06, 45.66, 48.63, 48.97, 116.21, 116.28, 116.37, 116.77, 119.18, 119.85, 120.83, 121.11, 128.86, 129.03, 129.48, 151.15, 159.93, 160.18, 162.08, 163.22, 165.26, 166.46.

HRMS (-m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$: C₂₇H₂₄N₆O₃S için Hesaplanan: 513.1699, Bulunan: 513.1703.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 12:20:47
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\op-101.ispd
Spectrum name	op-101
Sample name	OP-10
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.38. Bileşik 5c'ye ait IR spektrumu

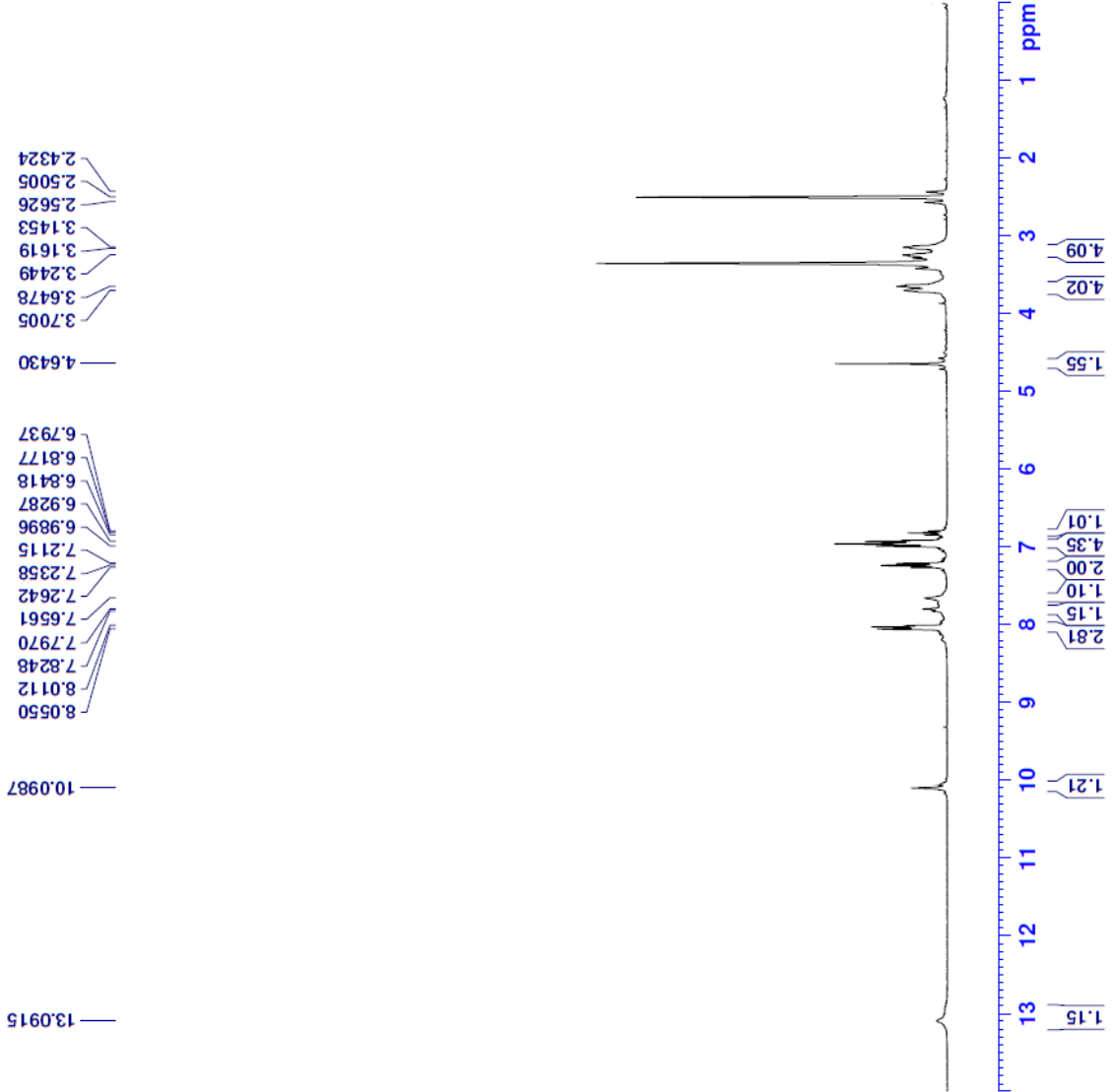


Current Data Parameters
 NAME OP-10
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20180911
 Time 1.53
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zg
 TD 16384
 SOLVENT DMSO
 NS 16
 DS 0
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 0.372529 Hz
 AQ 1.3421773 sec
 RG 42.9487
 DW 81.920 usec
 DE 6.50 usec
 TE 293.3 K
 D1 3.0000000 sec
 TDO 1

==== CHANNEL f1 =====
 SF01 300.1618537 MHz
 NUC1 1H
 P1 13.00 usec
 PLW1 10.0000000 W

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 300.1800000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00



Şekil 5.39. Bileşik 5c'ye ait ¹H NMR spektrumu



Current Data Parameters
 NAME OP-10
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20161102
 Time 1.40
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zgpg
 ID 32768
 SOLVENT DMSO
 NS 2048
 DS 4
 SWH 24414.063 Hz
 FIDRES 0.745058 Hz
 AQ 0.6710886 sec
 RG 501.187
 DW 20.480 usec
 DE 6.50 usec
 TE 298.0 K
 D1 1.00000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 D31 0.00015000 sec
 D32 0.89999998 sec
 D40 0.00093990 sec
 L4 23
 L5 26
 P32 90.00 usec
 TDO 1

==== CHANNEL f1 =====
 SFO1 75.4878687 MHz
 NUC1 13C
 P1 15.00 usec
 PLW1 15.00000000 W

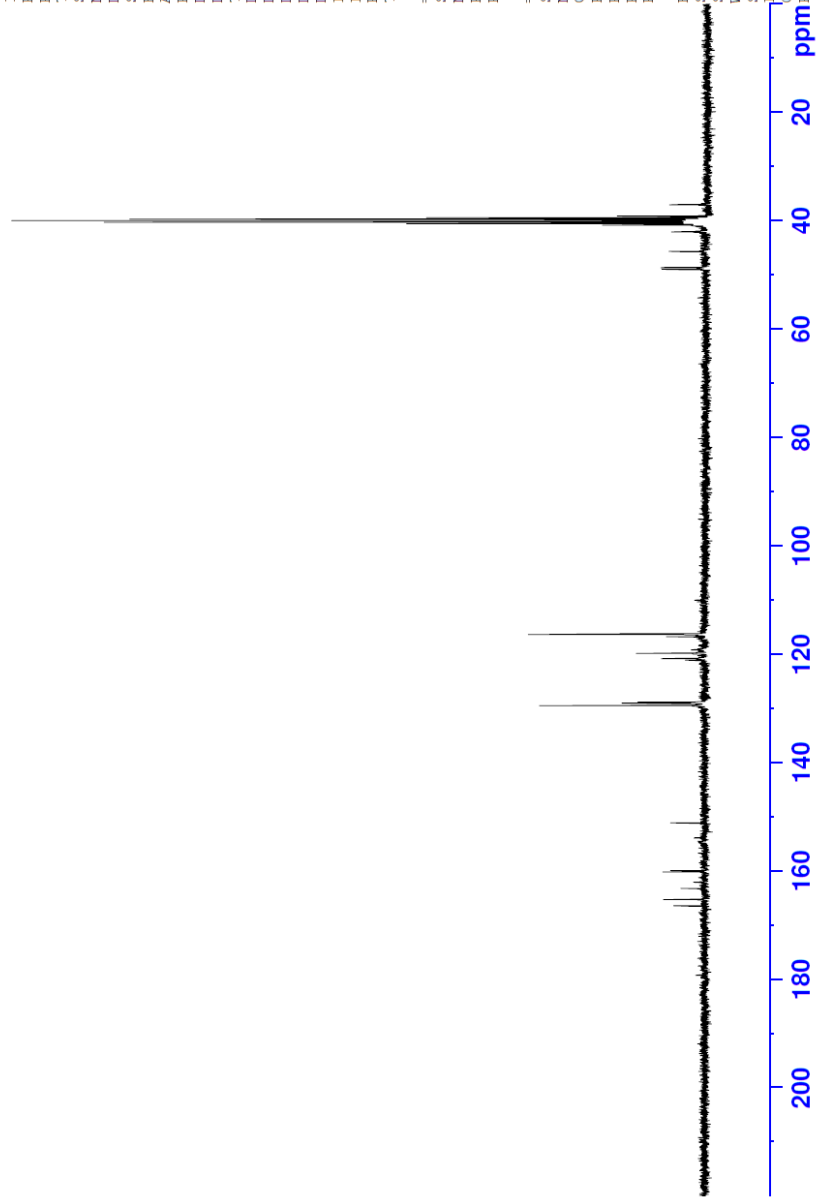
==== CHANNEL f2 =====
 SFO2 300.1812007 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG2 waltz16
 EPCD2 90.00 usec
 PLW2 10.00000000 W
 PLW12 0.20863999 W
 PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4803210 MHz
 WDW 0
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

48.97
 48.63
 45.66
 42.06
 40.81
 40.53
 40.25
 39.97
 39.70
 39.42
 39.14
 37.03

129.48
 129.03
 128.86
 121.11
 120.83
 119.85
 119.18
 116.77
 116.37
 116.28
 116.21

166.46
 165.26
 163.22
 162.08
 160.18
 159.93
 151.15



Şekil 5.40. Bileşik 5c'ye ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\BKaya\OP-10_14.lcd

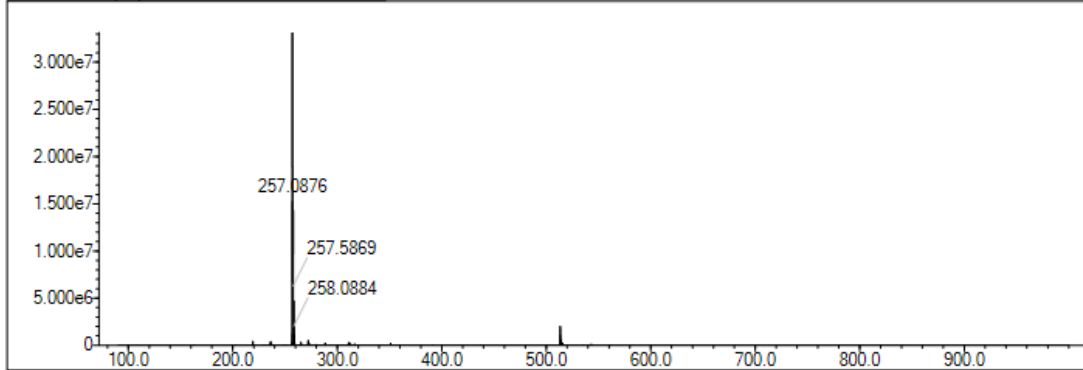
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	1	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	1	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 15
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

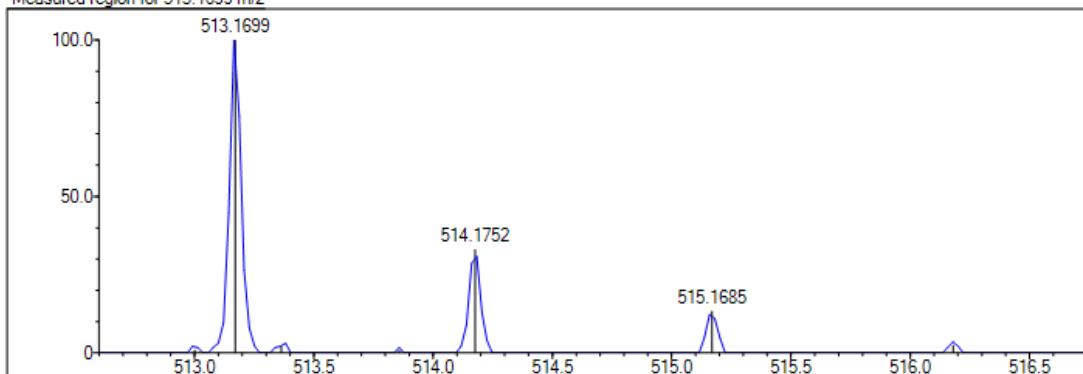
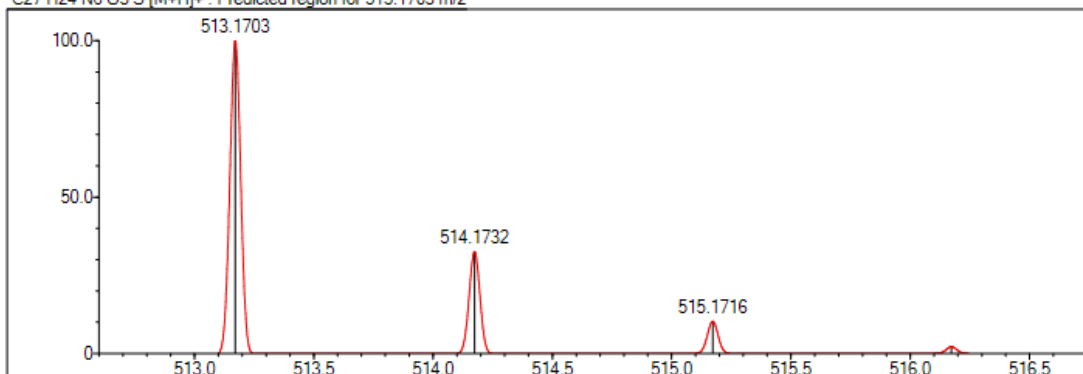
DBE Range: 16.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.840 Scan#: 727



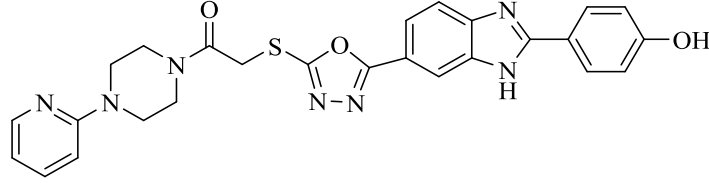
Measured region for 513.1699 m/z

C27 H24 N6 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 513.1703 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	77.73	C27 H24 N6 O3 S	[M+H] ⁺	513.1699	513.1703	-0.4	-0.78	77.73	19.0

Şekil 5.41. Bileşik 5c 'ye ait kütle spektrumu

5.1.6.4. 2-((5-(2-(4-Hidroksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(piridin-2-il)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5d)



Deneysel E.N.: 247.6-248.9 °C. **Verim:** %69.

IR (ATR) vmaks (cm⁻¹): 3628 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 840 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

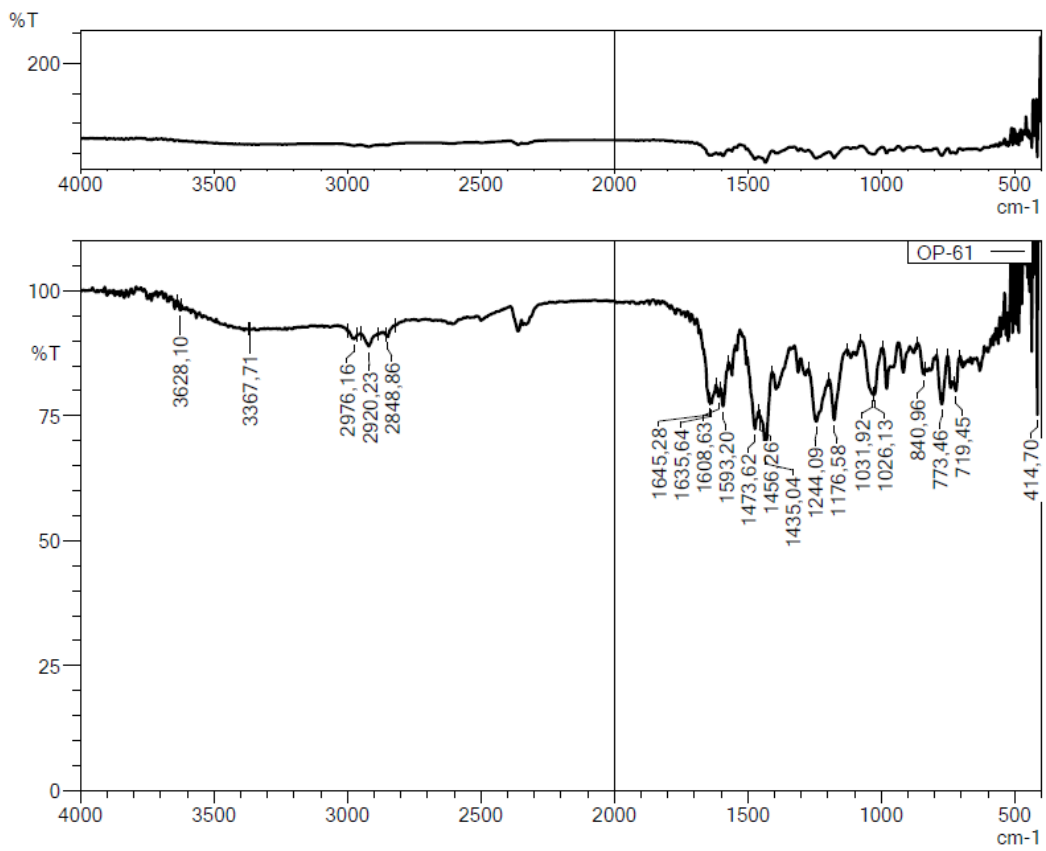
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.56-3.66 (8H, m, piperazin), 4.65 (2H, s, CH₂), 6.68-6.69 (2H, m, piridin C-H), 6.99 (2H, d, *J*= 8.73 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.57-7.58 (2H, m, piridin C-H), 7.72 (1H, d, *J*= 8.37 Hz, benzimidazol-C₄), 7.82 (1H, dd, *J*₁=5.40 Hz, *J*₂=1.53 Hz, benzimidazol-C₅), 8.11-8.14 (2H, m, 1,4-disübstitüebenzen, benzimidazol-C₇), 10.26 (1H, s, O-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 37.17, 41.83, 44.74, 44.99, 45.41, 107.88, 113.21, 113.79, 114.59, 116.27, 116.73, 117.11, 120.67, 120.74, 129.13, 138.24, 147.83, 154.66, 158.94, 160.34, 163.22, 165.40, 165.49, 166.47.

HRMS (-*m/z*): [M+H]⁺ : C₂₆H₂₃N₇O₃S için Hesaplanan: 514.1636, Bulunan: 514.1656.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 11:41:35
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\OP-61.ispd
Spectrum name	OP-61
Sample name	OP-6
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.42. Bileşik 5d'ye ait IR spektrumu



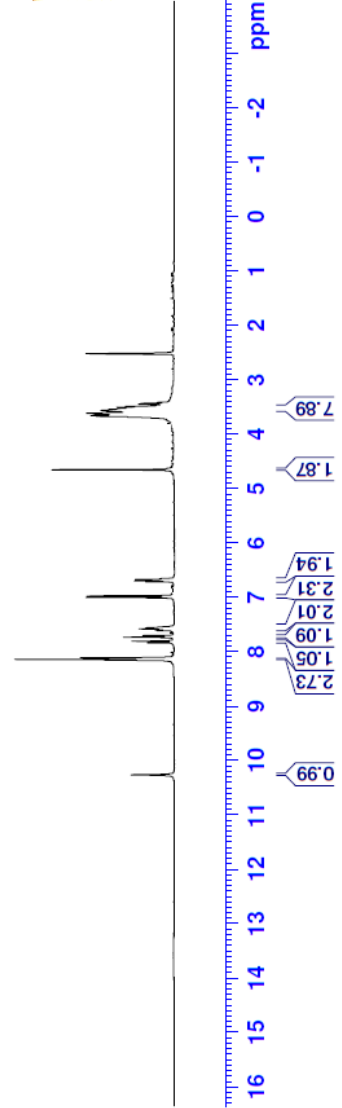
Current Data Parameters
NAME OP-6
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20161102
Time_ 17.17
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.342173 sec
RG 12.0906
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 298.0 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1818537 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PIW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1799946 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

10.2618
8.1391
8.1094
7.8341
7.8290
7.8061
7.8009
7.7313
7.7034
7.5842
7.5787
7.5732
7.5688
7.0004
6.9713
6.6931
6.6861
4.6501
3.6582
3.6088
3.5606
3.5392
2.5222
2.5163
2.5104



Şekil 5.43. Bileşik 5d'ye ait ¹H NMR spektrumu



Current Data Parameters
 NAME OP-6
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20161102
 Time_ 17.19
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zgpg
 ID 32768
 SOLVENT DMSO
 NS 2048
 DS 4
 SWH 24414.063 Hz
 FIDRES 0.745058 Hz
 AQ 0.6710886 sec
 RG 501.187
 DW 20.480 usec
 DE 6.50 usec
 TE 298.1 K
 D1 1.00000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 D31 0.00001500 sec
 D32 0.89999998 sec
 D40 0.00093990 sec
 L4 23
 L5 26
 F32 90.00 usec
 TD0 1

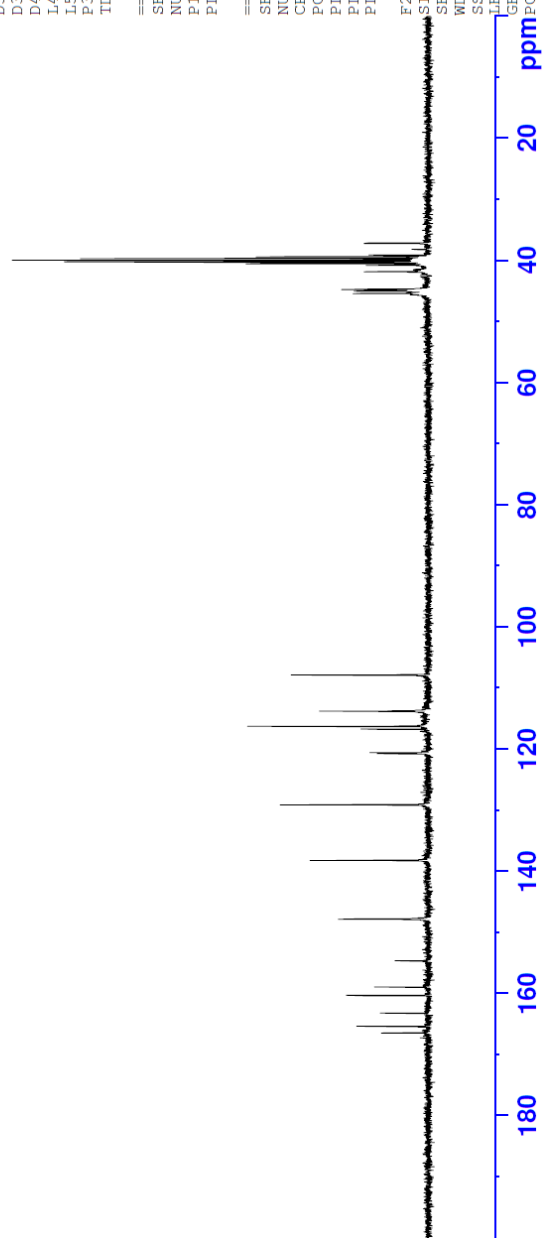
==== CHANNEL f1 =====
 SFO1 75.4878687 MHz
 NUC1 13C
 P1 15.00 usec
 PLW1 15.00000000 W

==== CHANNEL f2 =====
 SFO2 300.1812007 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG2 waltz16
 PCPD2 90.00 usec
 PLW2 10.00000000 W
 PLW12 0.20863999 W
 PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4803210 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0
 GB 0
 PC 1.40

51.04
 45.41
 44.99
 44.74
 42.64
 41.83
 40.80
 40.52
 40.24
 39.96
 39.68
 39.41
 39.13
 38.17
 37.17

166.47
 165.49
 165.40
 163.22
 160.34
 158.94
 154.66
 147.83
 138.24
 129.13
 120.74
 120.67
 120.59
 117.11
 116.73
 116.27
 114.59
 113.79
 113.21
 107.88



Şekil 5.44. Bileşik 5d'ye ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\aac\OP-6_5.lcd

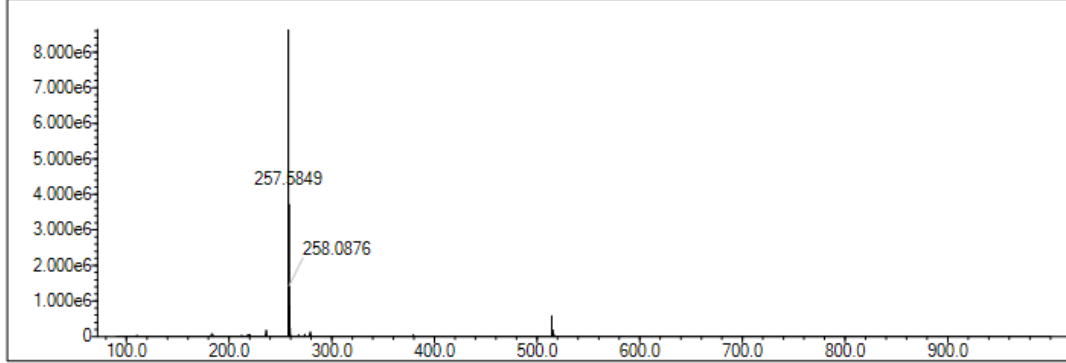
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	3	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	1	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	7	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

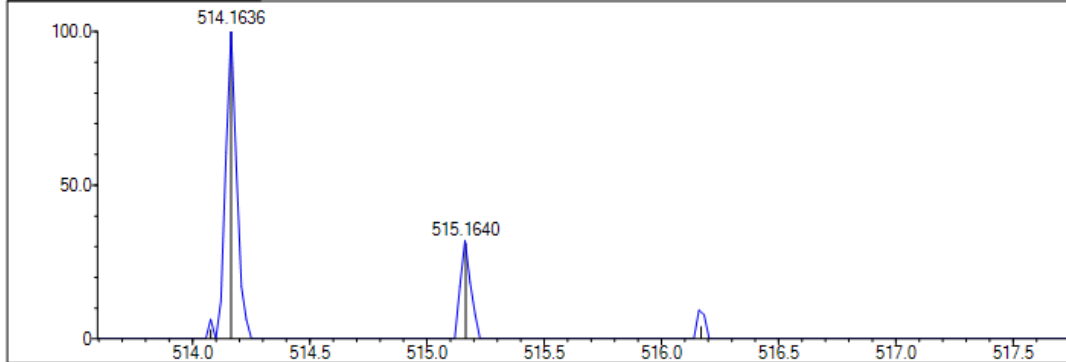
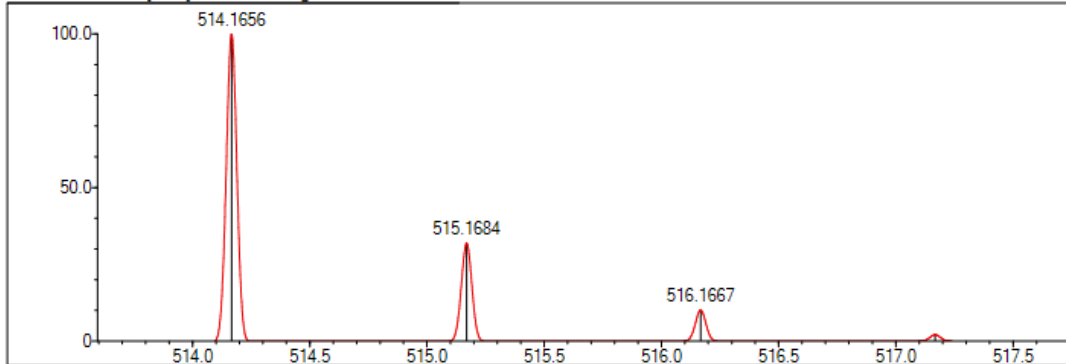
DBE Range: 12.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.560 -> 2.560 Scan#: 385 -> 385



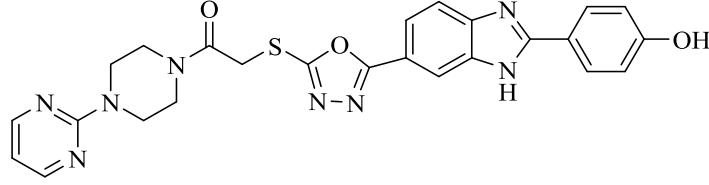
Measured region for 514.1636 m/z

C26 H23 N7 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 514.1656 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	72.50	C26 H23 N7 O3 S	[M+H] ⁺	514.1636	514.1656	-2.0	-3.89	78.14	19.0

Şekil 5.45. Bileşik 5d'ye ait kütle spektrum

5.1.6.5. 2-((5-(2-(4-Hidroksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(pirimidin-2-il)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5e)



Deneyisel E.N.: 181.4-183.2 °C. **Verim:** %78.

IR (ATR) vmaks (cm⁻¹): 3587 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 840 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

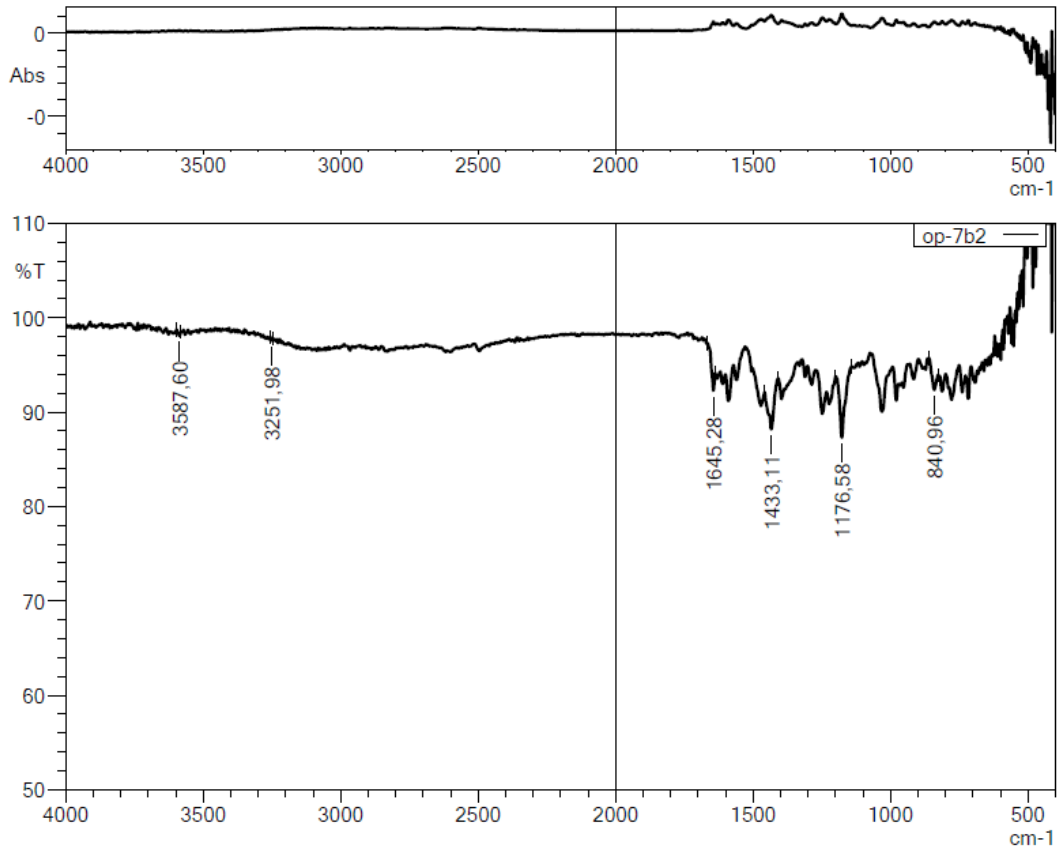
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.60 (2H, br.s, piperazin), 3.67 (2H, br.s., piperazin), 3.79 (2H, br.s., piperazin), 3.90 (2H, brs., piperazin), 4.64 (2H, s, CH₂), 6.74 (1H, *J*=4.80, pirimidin), 7.09 (2H, *J*=8.76 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.92 (1H, d, *J*=8.55 Hz, benzimidazol-C₄), 8.03 (1H, dd, *J*₁=8.60 Hz, *J*₂=1.17 Hz, benzimidazol-C₅), 8.21 (1H, s, benzimidazol-C₇), 8.35 (2H, d, *J*=8.73 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 8.44 (2H, d, *J*=4.83 Hz, pirimidin).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 37.43, 41.82, 43.67, 43.95, 45.37, 110.86, 111.87, 113.24, 115.16, 117.01, 120.25, 124.09, 131.19, 132.41, 134.34, 151.27, 158.26, 159.99, 163.40, 164.30, 165.12, 165.37.

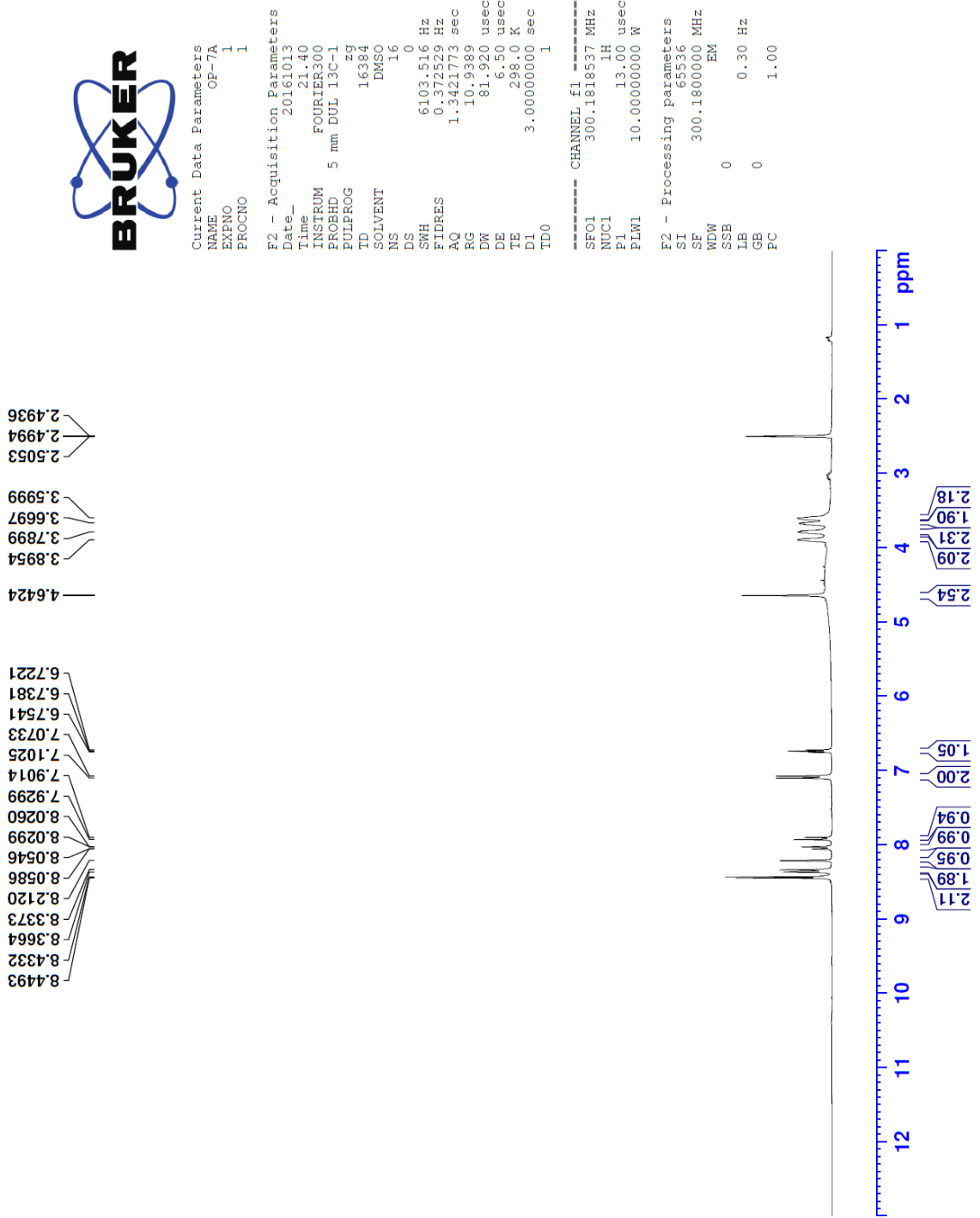
HRMS (-*m/z*): [M+H]⁺ : C₂₅H₂₂N₈O₃S için Hesaplanan: 515.1610, Bulunan: 515.1608.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 12:02:18
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\op-7b2.ispd
Spectrum name	op-7b2
Sample name	OP-7B
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.46. Bileşik 5e'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.47. Bileşik 5e'ye ait ¹H NMR spektrumu



Current Data Parameters
 NAME OF-7A
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20161013
 Time_ 21.42
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zgpg
 ID 32768
 SOLVENT DMSO
 NS 2048
 DS 4
 SWH 24414.063 Hz
 FIDRES 0.745058 Hz
 AQ 0.6710886 sec
 RG 501.187
 DW 20.480 usec
 DE 6.50 usec
 TE 298.1 K
 D1 1.0000000 sec
 D11 0.0300000 sec
 D31 0.0001500 sec
 D32 0.8999998 sec
 D40 0.0009999 sec
 I4 22
 L5 26
 P32 90.00 usec
 ID0 1

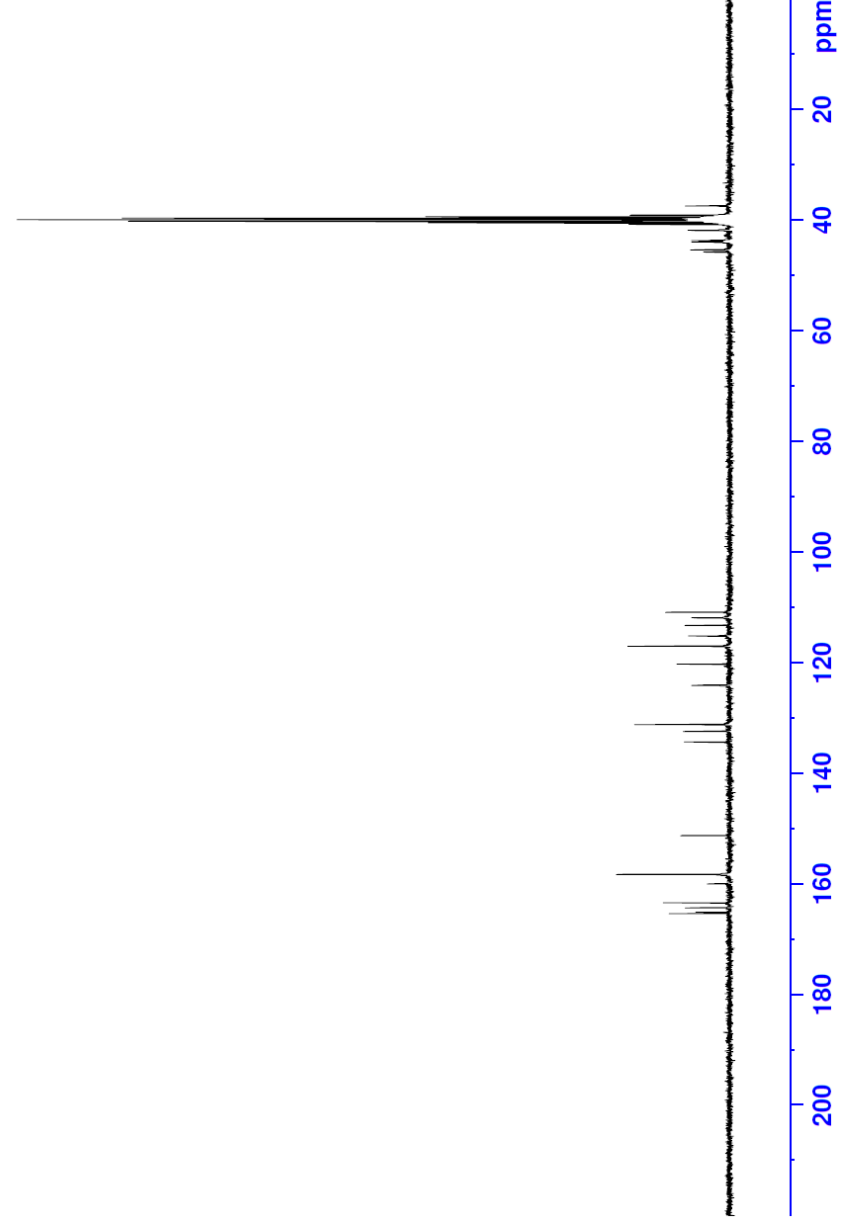
==== CHANNEL f1 =====
 SFO1 75.4878687 MHZ
 NUC1 13C
 P1 15.00 usec
 PLW1 15.0000000 W
 ===== CHANNEL f2 =====
 SFO2 300.1812007 MHZ
 NUC2 1H
 PCPD2 waitz16
 PCPD2 90.00 usec
 PLW2 10.0000000 W
 PLW12 0.20863999 W
 PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4803210 MHZ
 EM
 WDW 0
 SSB 0
 LB 0
 GB 0
 PC 1.40

45.37
43.95
43.67
41.82
40.75
40.47
40.20
39.92
39.64
39.36
39.08
37.43

134.34
132.41
131.19
124.09
120.25
117.01
115.16
113.24
111.87
110.86

165.37
165.12
164.30
163.40
159.99
158.26
151.27



Şekil 5.48. Bileşik 5e'ye ait ¹³C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\luac\OP-7_3.lcd

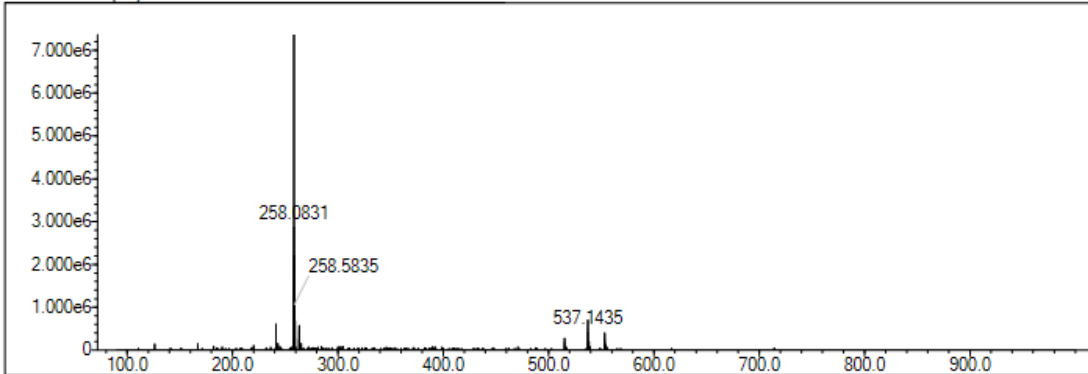
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	3	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

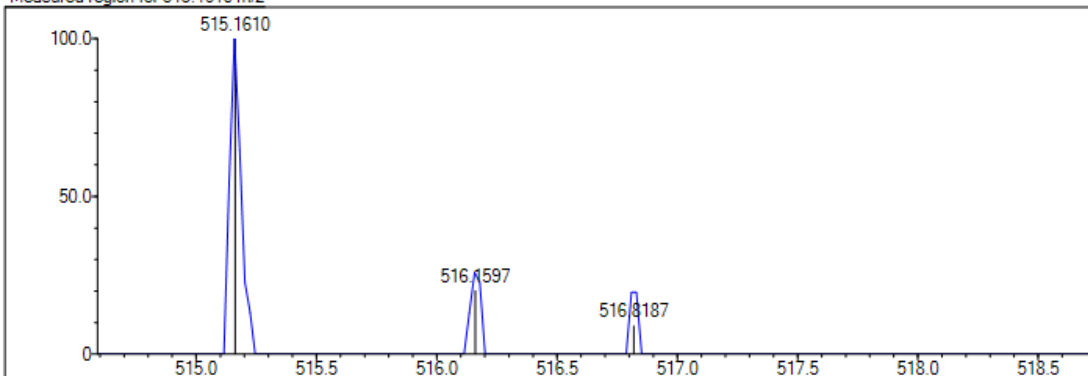
DBE Range: 12.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

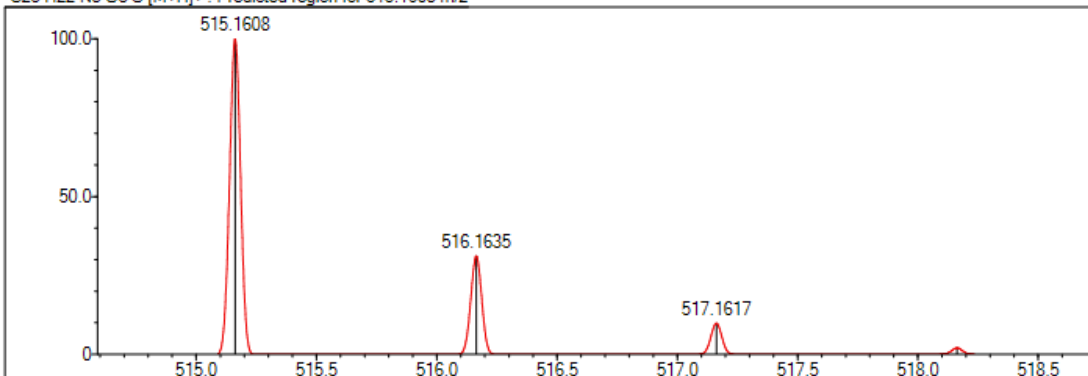
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.253 -> 4.253 Scan# : 639 -> 639



Measured region for 515.1610 m/z



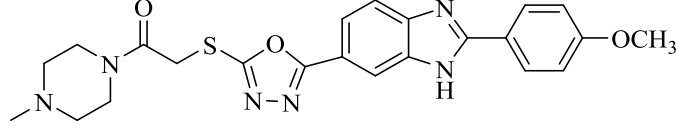
C25 H22 N8 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 515.1608 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	0.00	C25 H22 N8 O3 S	[M+H] ⁺	515.1610	515.1608	0.2	0.39	0.00	19.0

Şekil 5.49. Bileşik 5e'ye ait kütle spektrum

5.1.6.6. 2-((5-(2-(4-Metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-metil-piperazin-1-il)-etan-1-on (5f)



Deneyisel E.N.: 156.6- 158.7 °C. **Verim:** %74.

IR (ATR) vmaks (cm⁻¹): 3446 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 835 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

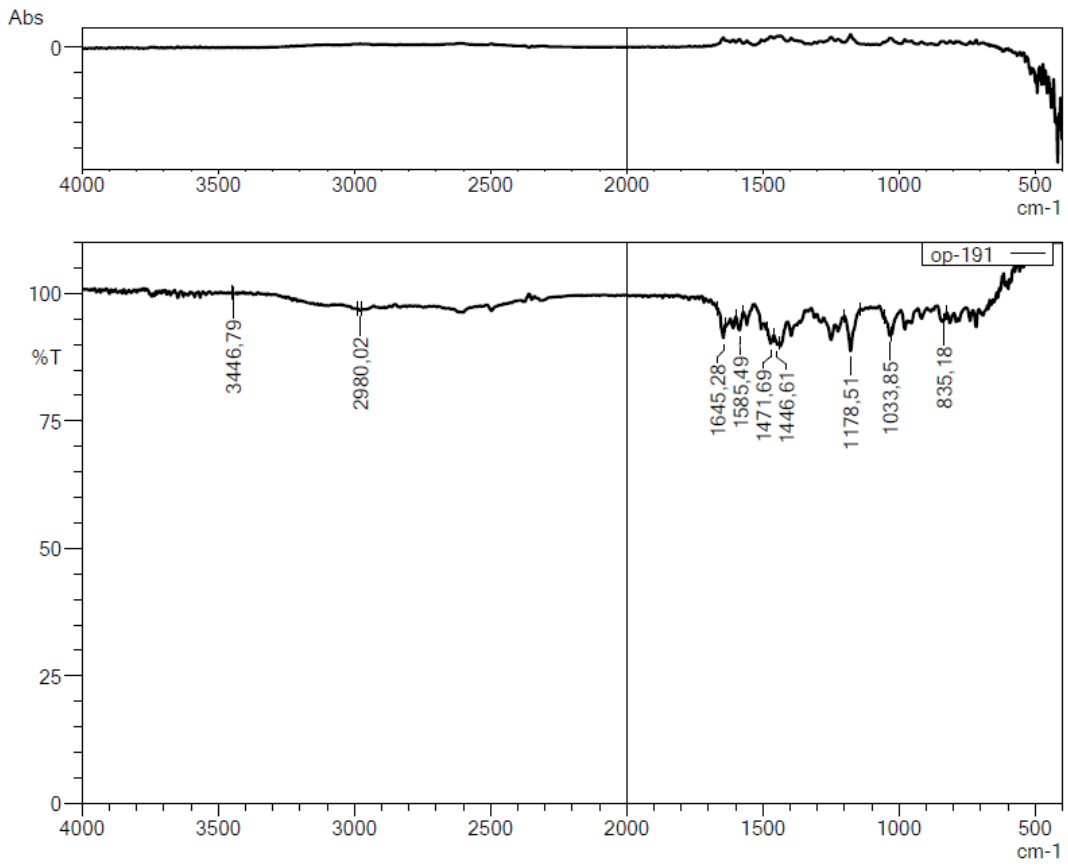
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 2.78 (3H, s, -CH₃), 3.43 (6H, br.s., piperazin), 3.65 (2H, br.s., piperazin), 3.87 (3H, s, -OCH₃), 4.64 (2H, s, -CH₂), 7.17 (2H, d, *J*= 8.91 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.78 (1H, d, *J*= 8.46 Hz, benzimidazol-C₄), 7.87 (1H, dd, *J*₁= 8.43 Hz, *J*₂= 1.50 Hz benzimidazol-C₅), 8.16 (1H, br.s. benzimidazol-C₇), 8.25 (2H, d, *J*=8.82 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 11.38 (1H, s, N-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 36.82, 42.40, 42.79, 45.66, 52.19, 52.42, 56.00, 113.15, 113.44, 115.09, 115.98, 117.70, 120.46, 121.70, 124.59, 129.56, 153.34, 162.18, 163.31, 165.67, 166.15.

HRMS (-*m/z*): [M+H]⁺ : C₂₃H₂₄N₆O₃S için Hesaplanan: 465.1703, Bulunan: 465.170.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 12:16:02
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\op-191.ispd
Spectrum name	op-191
Sample name	OP-19
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.50. Bileşik 5f'ye ait IR spektrumu

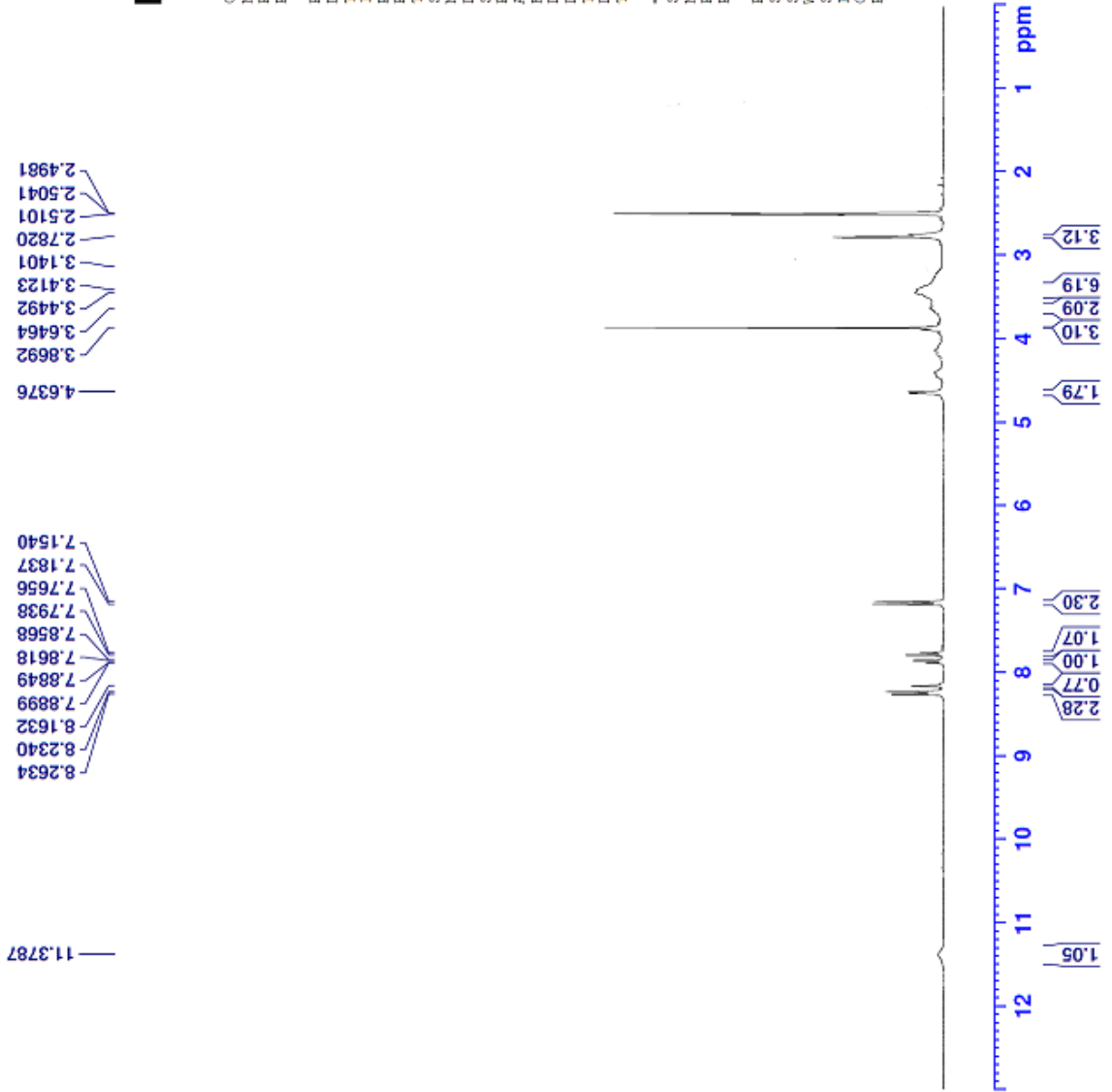


Current Data Parameters
NAME OP-19
EXPNO 3
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20161102
Time_ 16.19
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DOL 13C-1
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.3421773 sec
RG 34.4254
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 287.9 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1

----- CHANNEL f1 -----
SF01 300.1818537 MHz
NUC1 13
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing Parameters
SI 65536
SF 300.1799985 MHz
WDW EM
SSE 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.51. Bileşik 5f'ye ait ^1H NMR spektrumu



```

Current Data Parameters
NAME      OP-19
EXPNO    6
PROCNO   1

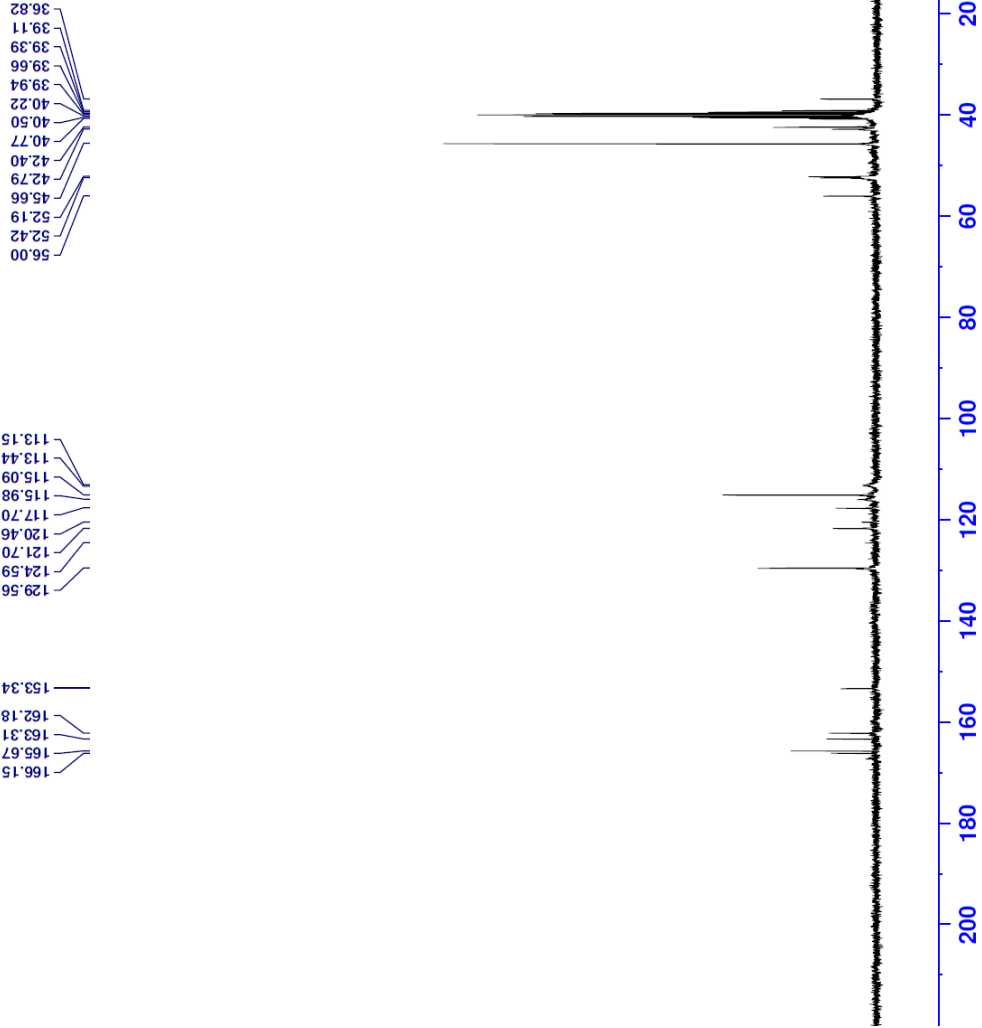
F2 - Acquisition Parameters
Date_    20180913
Time     11.05
INSTRUM  FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG  zgpg30
TD       32768
SOLVENT  DMSO
NS       2048
DS       4
SWH      24414.063 Hz
FIDRES   0.745058 Hz
AQ       0.6710886 sec
RG       501.187
DW       20.480 usec
DE       6.50 usec
TE       293.8 K
D1       1.00000000 sec
D11      0.03000000 sec
D31      0.00001500 sec
D32      0.89999998 sec
D40      0.00093900 sec
L4       23
L5       26
P32      90.00 usec
TD0      1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1     75.487687 MHz
NUC1     13C
P1       15.00 usec
PLW1     15.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2     300.1812007 MHz
NUC2     1H
P2       15.00 usec
PLW2     15.00000000 W

===== CHANNEL f3 =====
SFO3     300.1812007 MHz
NUC3     1H
P3       15.00 usec
PLW3     15.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI       32768
SF       75.4803210 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       1.00 Hz
GB       0
PC       1.40
  
```



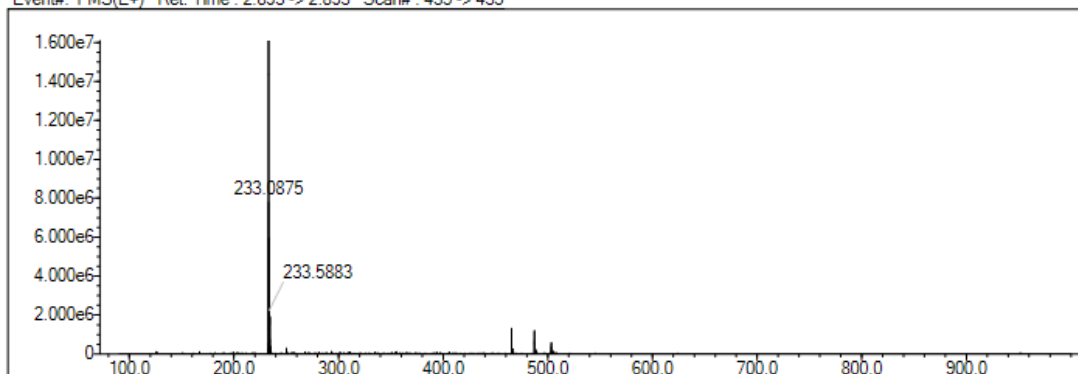
Şekil 5.52. Bileşik 5f'ye ait ^{13}C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uacl\OP-19_7.lcd

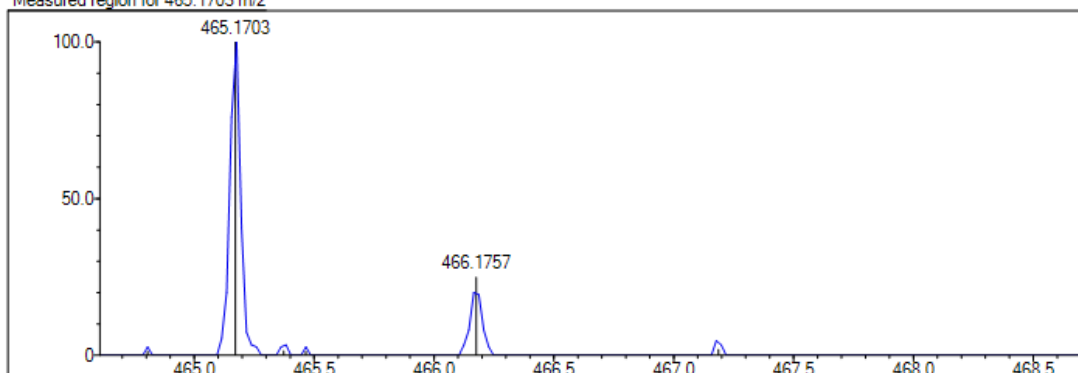
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	1	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 DBE Range: 12.0 - 20.0
 Electron Ions: both
 HC Ratio: unlimited
 Apply N Rule: yes
 Use MSn Info: yes
 Max Isotopes: 3
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Iso RI (%): 10.00
 MSn Logic Mode: AND
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

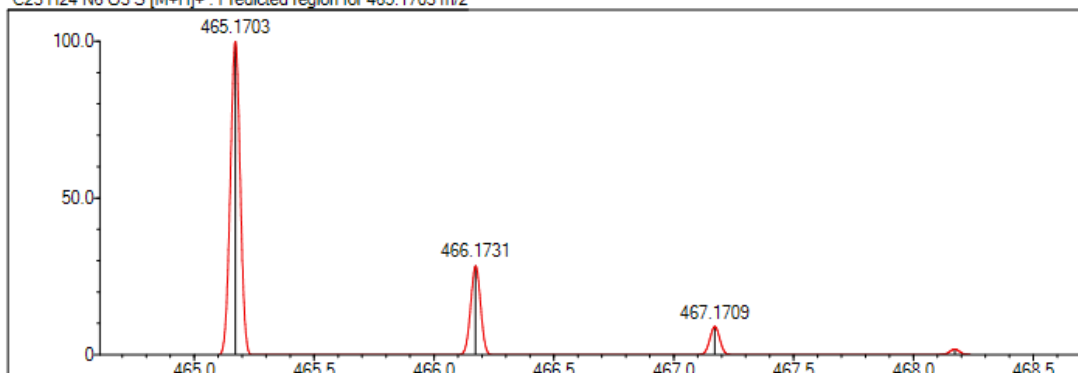
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.893 -> 2.893 Scan# : 435 -> 435



Measured region for 465.1703 m/z



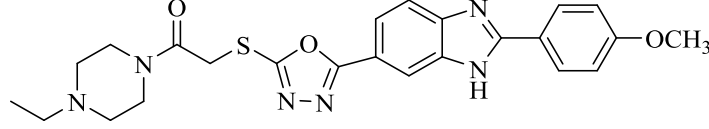
C23 H24 N6 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 465.1703 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	41.53	C23 H24 N6 O3 S	[M+H] ⁺	465.1703	465.1703	-0.0	0.00	41.53	15.0

Şekil 5.53. Bileşik 5f'ye ait kütle spektrum

5.1.6.7. 2-((5-(2-(4-Metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-etil-piperazin-1-il)-etan-1-on (5g)



Deneysel E.N.: 180.4- 181.9 °C. **Verim:** %66.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3334 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 840 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

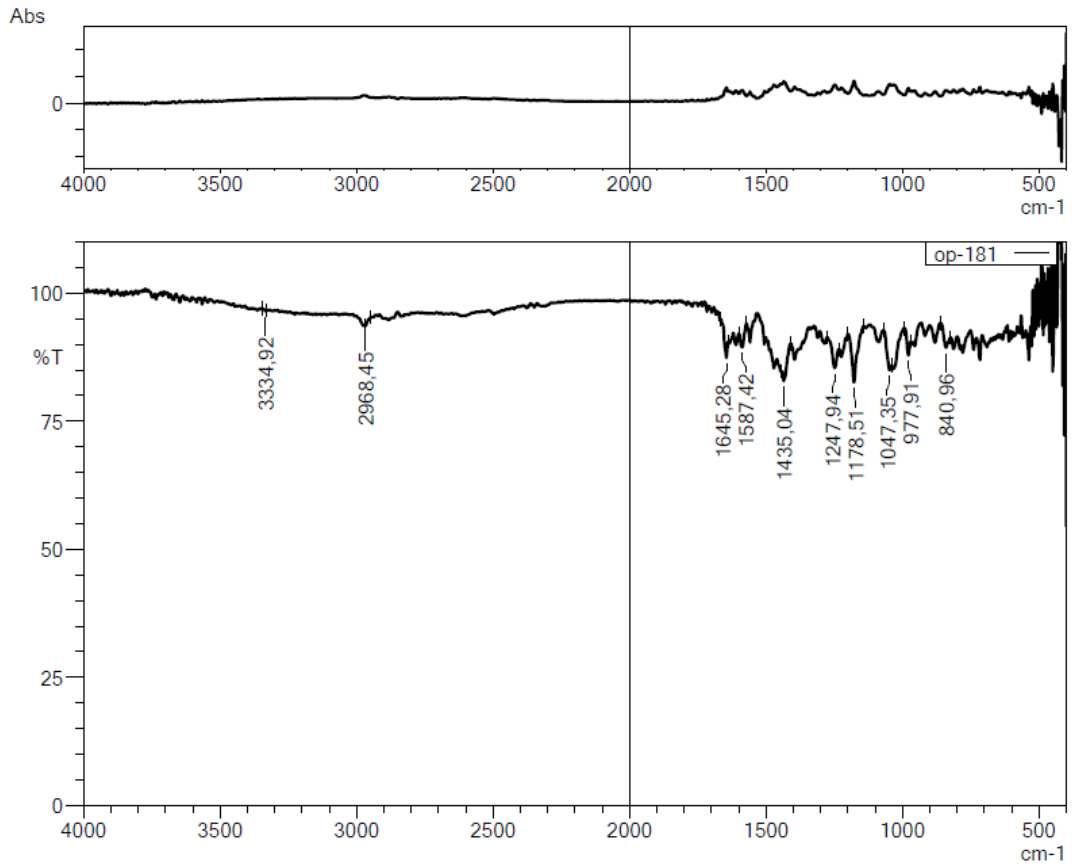
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 1.01 (3H, t, $J=7.08$ Hz, CH_3), 2.34 (2H, m, CH_2), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.47-3.53 (8H, m, piperazin), 4.56 (2H, s, CH_2), 7.13 (2H, d, $J=8.79$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.71 (1H, d, $J=8.40$ Hz, benzimidazol- C_4), 7.80 (1H, dd, $J_1=8.42$ Hz, $J_2=1.44$ Hz benzimidazol- C_5), 8.13 (1H, br.s., benzimidazol- C_7), 8.17 (2H, d, $J=8.88$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): δ : 12.36, 37.10, 42.23, 45.85, 51.92, 52.32, 52.80, 55.85, 114.88, 119.77, 120.02, 120.63, 122.75, 128.71, 128.93, 153.30, 154.66, 161.25, 161.42, 163.19, 165.05, 166.48.

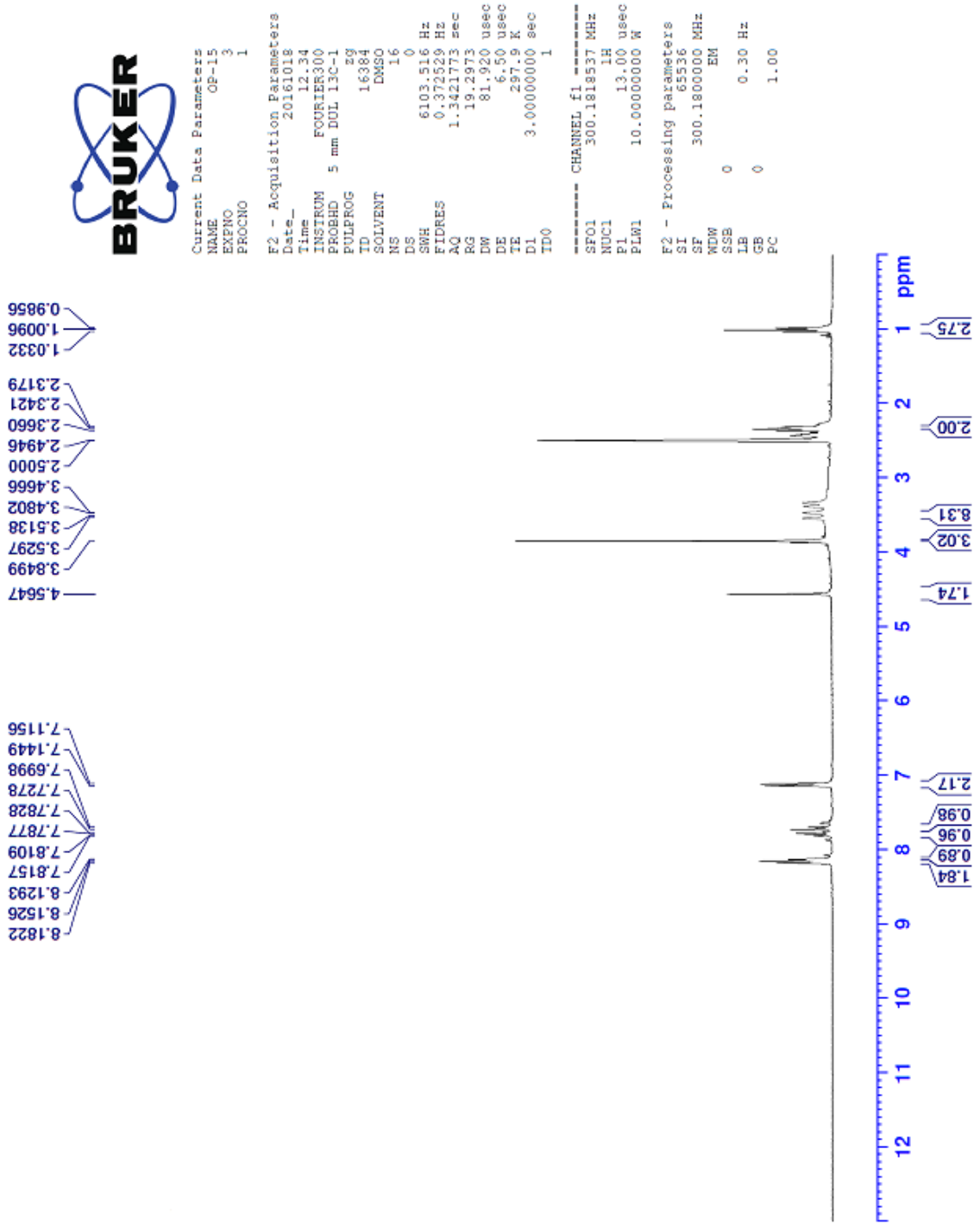
HRMS ($-m/z$): $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$ için Hesaplanan: 479.1872, Bulunan: 479.1860.

DOPNALAB

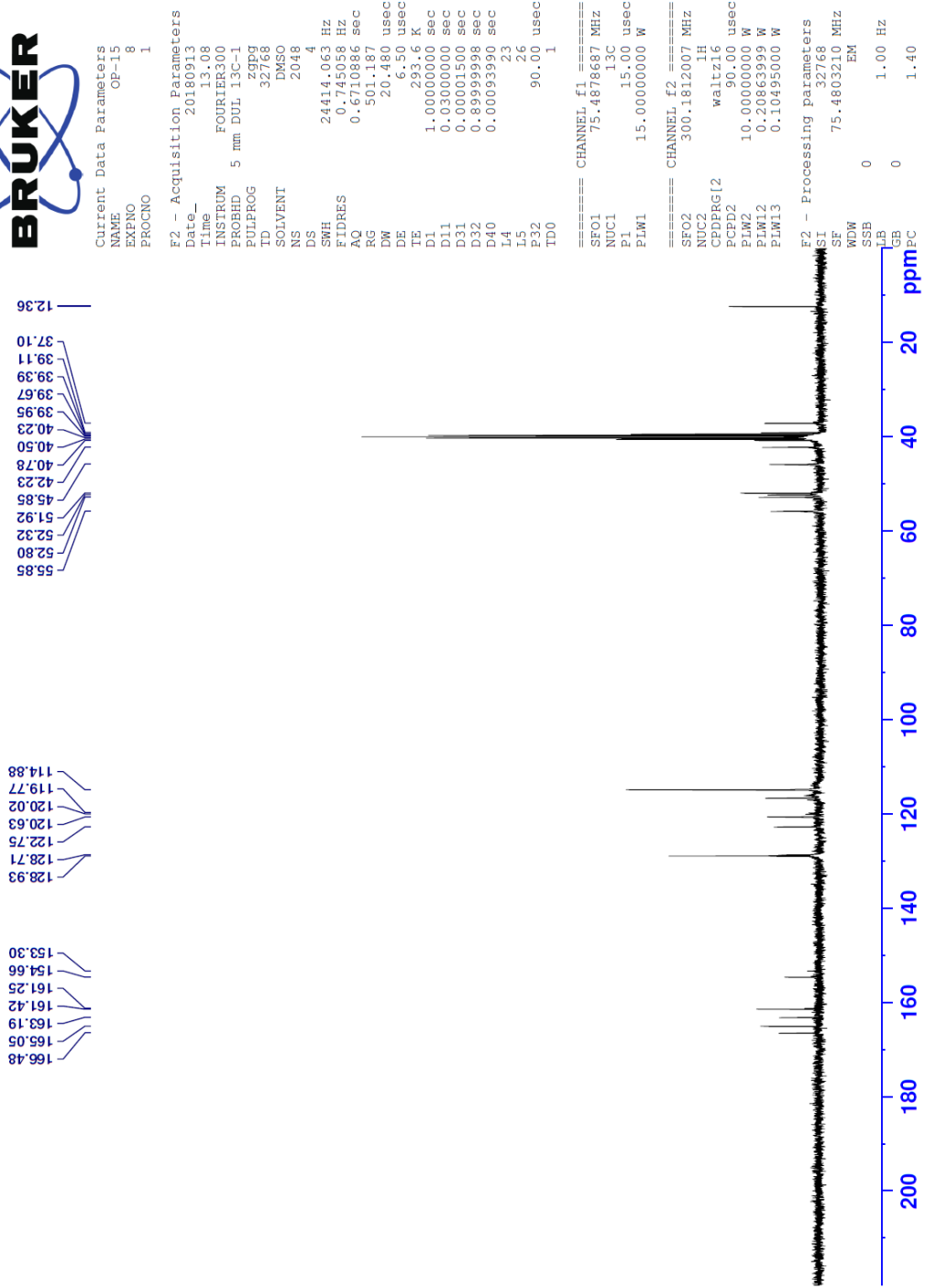
Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 12:18:12
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\op-181.ispd
Spectrum name	op-181
Sample name	OP-18
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.54. Bileşik 5g'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.55. Bileşik 5g'ye ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 5.56. Bileşik 5g'ye ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uac\OP-15_8.lcd

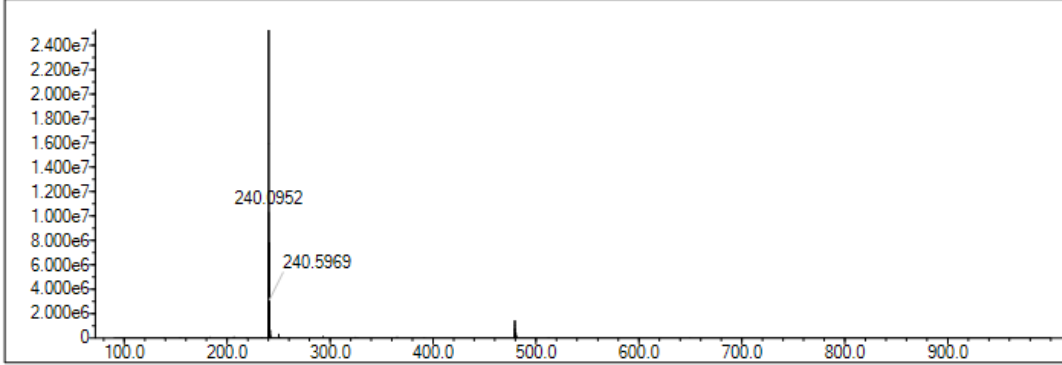
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	3	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

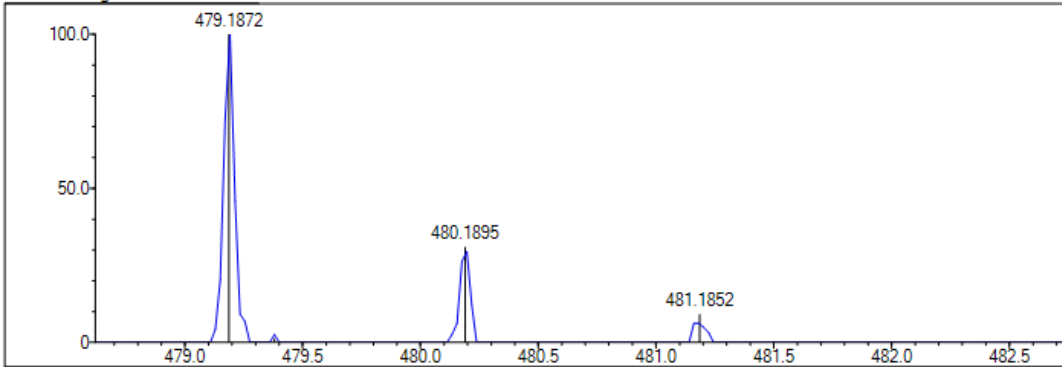
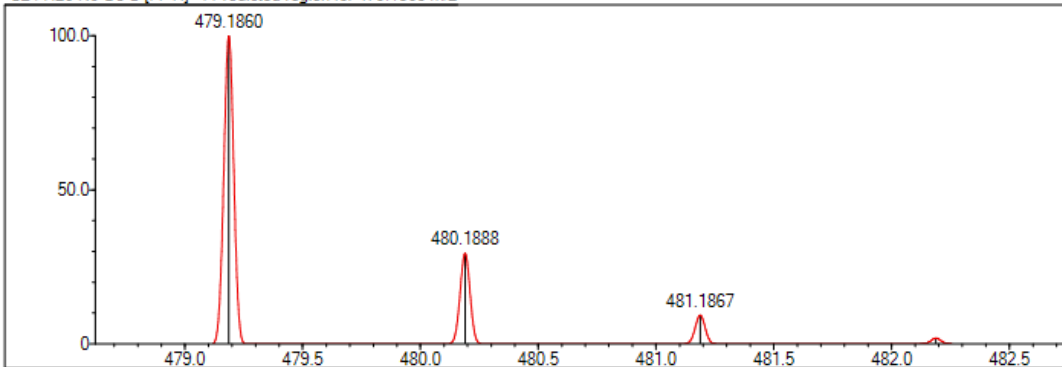
DBE Range: 12.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.773 Scan#: 417



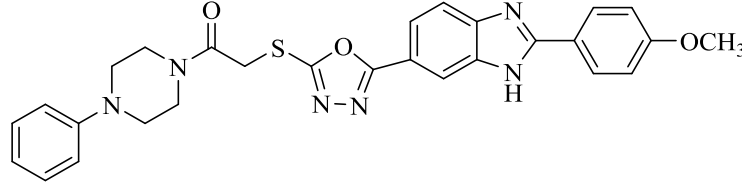
Measured region for 479.1872 m/z

C24 H26 N6 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 479.1860 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	62.55	C24 H26 N6 O3 S	[M+H] ⁺	479.1872	479.1860	1.2	2.50	64.99	15.0

Şekil 5.57. Bileşik 5g'ye ait kütle spektrum

5.1.6.8. 2-((5-(2-(4-Metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(fenil)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5h)



DeneySEL E.N.: 166.7-169.2 °C. **Verim:** %77.

IR (ATR) vmaks (cm⁻¹): 3367 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 840 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

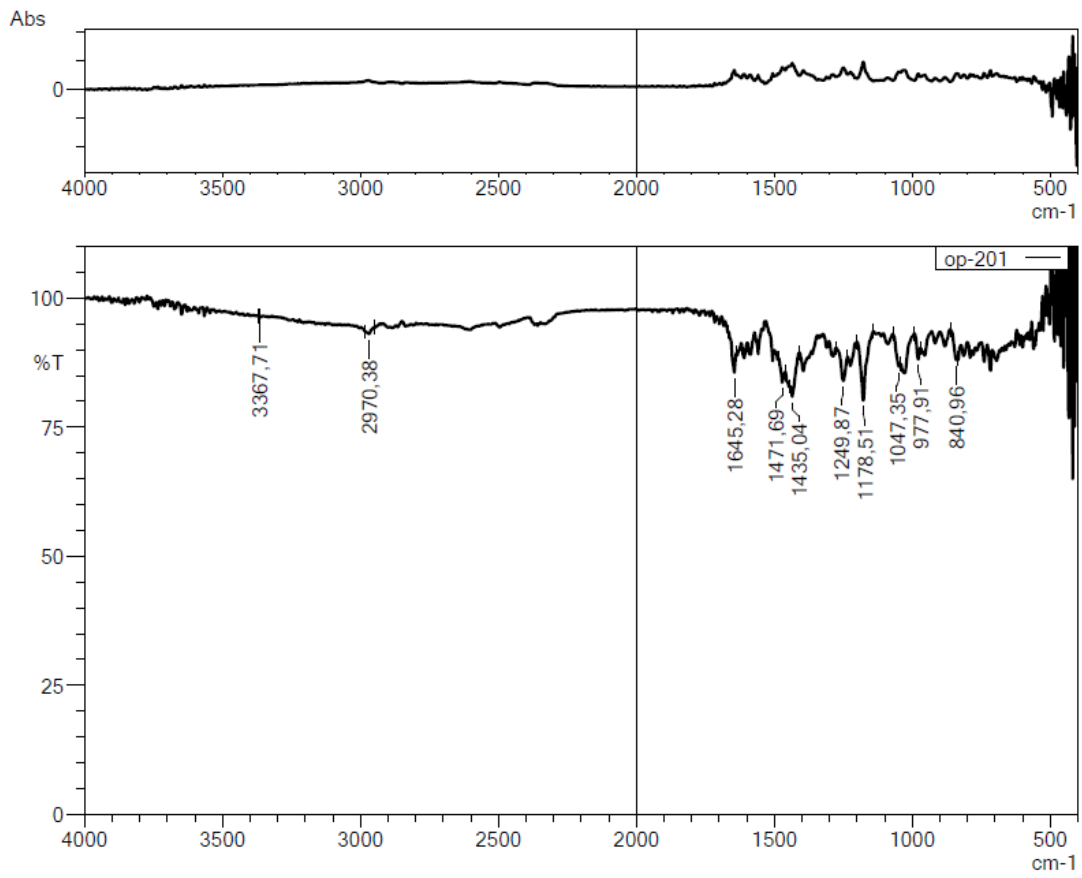
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.19 (4H, br.s., piperazin), 3.67 (4H, br.s., piperazin), 3.85 (3H, s, -OCH₃), 4.63 (2H, s, -CH₂), 6.81 (1H, t, *J*=7.14 Hz, fenil C-H), 6.97 (2H, d, *J*=7.92 Hz, fenil C-H), 7.14 (2H, d, *J*=8.79 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.23 (2H, d, *J*=7.47 Hz, fenil C-H), 7.76 (1H, d, *J*=8.46 Hz, benzimidazol C₄), 7.80 (1H, dd, *J*₁= 8.37 Hz, *J*₂= 1.20 Hz, benzimidazol-C₅), 8.16 (1H, br.s. benzimidazol-C₇), 8.29 (2H, d, *J*=8.70 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 10.72 (1H, s, N-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 42.23, 45.85, 51.92, 52.32, 52.80, 55.85, 114.88, 116.12, 116.63, 117.06, 119.77, 120.02, 120.63, 122.75, 122.86, 128.71, 128.93, 153.30, 154.66, 161.25, 161.42, 163.19, 165.05, 166.48.

HRMS (-*m/z*): [M+H]⁺ : C₂₈H₂₆N₆O₃S için Hesaplanan: 527.1849, Bulunan: 527.1860.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 12:22:15
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\op-201.ispd
Spectrum name	op-201
Sample name	OP-20
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.58. *Bileşik 5h'ye ait IR spektrumu*



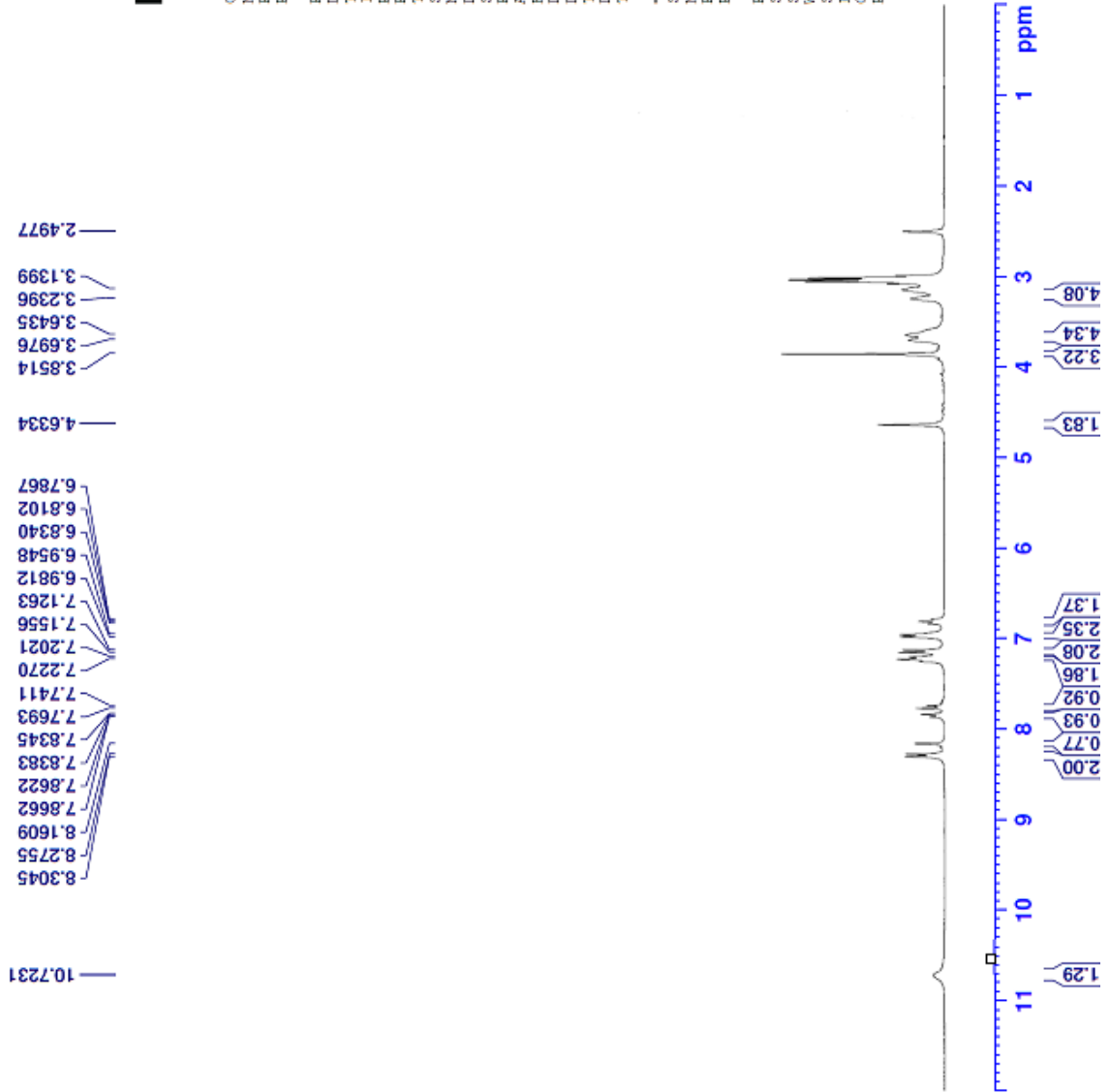
```

Current Data Parameters
NAME          OP-21
EXPNO         1
PROCNO        1

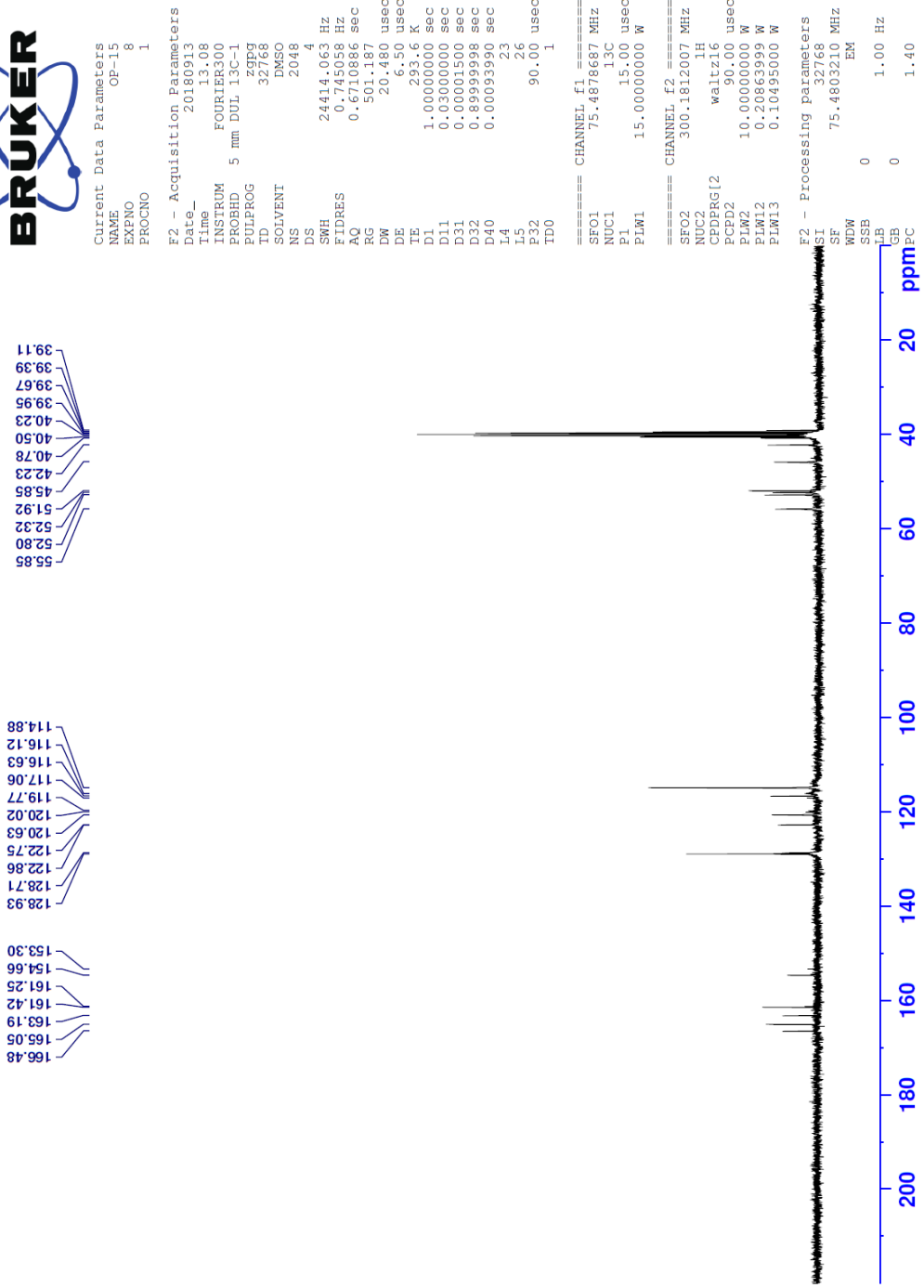
F2 - Acquisition Parameters
Date_         20161102
Time          20.23
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD        5 mm DOL 13C-1
PULPROG       zg
TD            16384
SOLVENT       DMSO
NS            16
DS            0
SWH           6103.516 Hz
FIDRES        0.372529 Hz
AQ            1.3421773 sec
RG            7.6747
DW            81.920 usec
DE            6.50 usec
TE            297.9 K
D1            3.00000000 sec
TD0           1

----- CHANNEL f1 -----
SFO1          300.1818337 MHz
NUC1          1H
P1            13.00 usec
PLW1          10.00000000 W

F2 - Processing Parameters
SI            65536
SF            300.1800000 MHz
WDW           EM
SSB           0
LB            0.30 Hz
GB            0
PC            1.00
  
```



Şekil 5.59. Bileşik 5h'ye ait ^1H NMR spektrum



Şekil 5.60. Bileşik 5h'ye ait ^{13}C NMR spektrum

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\ualc\OP-21_7.lcd

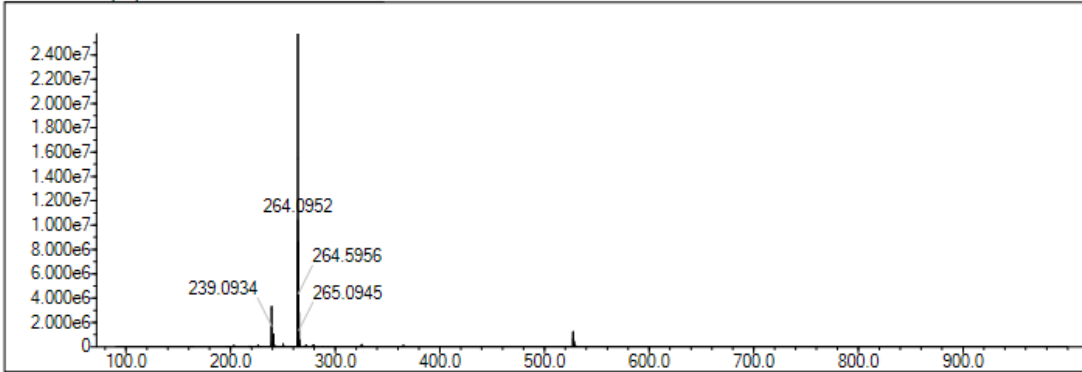
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	1	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 15
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

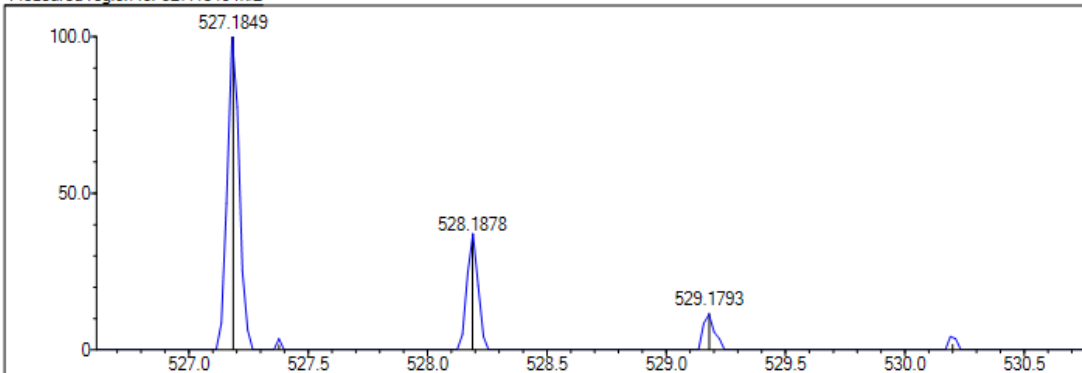
DBE Range: 16.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

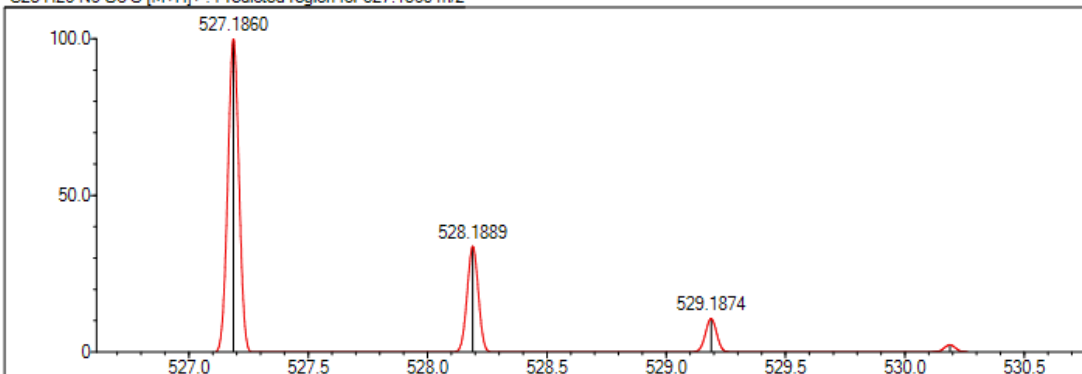
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 5.613 Scan#: 843



Measured region for 527.1849 m/z



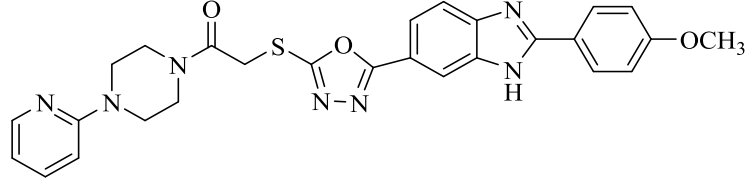
C28 H26 N6 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 527.1860 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	62.15	C28 H26 N6 O3 S	[M+H] ⁺	527.1849	527.1860	-1.1	-2.09	63.89	19.0

Şekil 5.61. Bileşik 5h'ye ait kütle spektrum

5.1.6.9. 2-((5-(2-(4-Metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(piridin-2-il)-piperazin-1-il)-etan-1-on (51)



Deneysel E.N.: 168.3-170.1 °C. **Verim:** %72.

IR (ATR) vmaks (cm⁻¹): 3350 (N-H gerilim bandı), 1651 (C=O gerilim bandı), 829 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

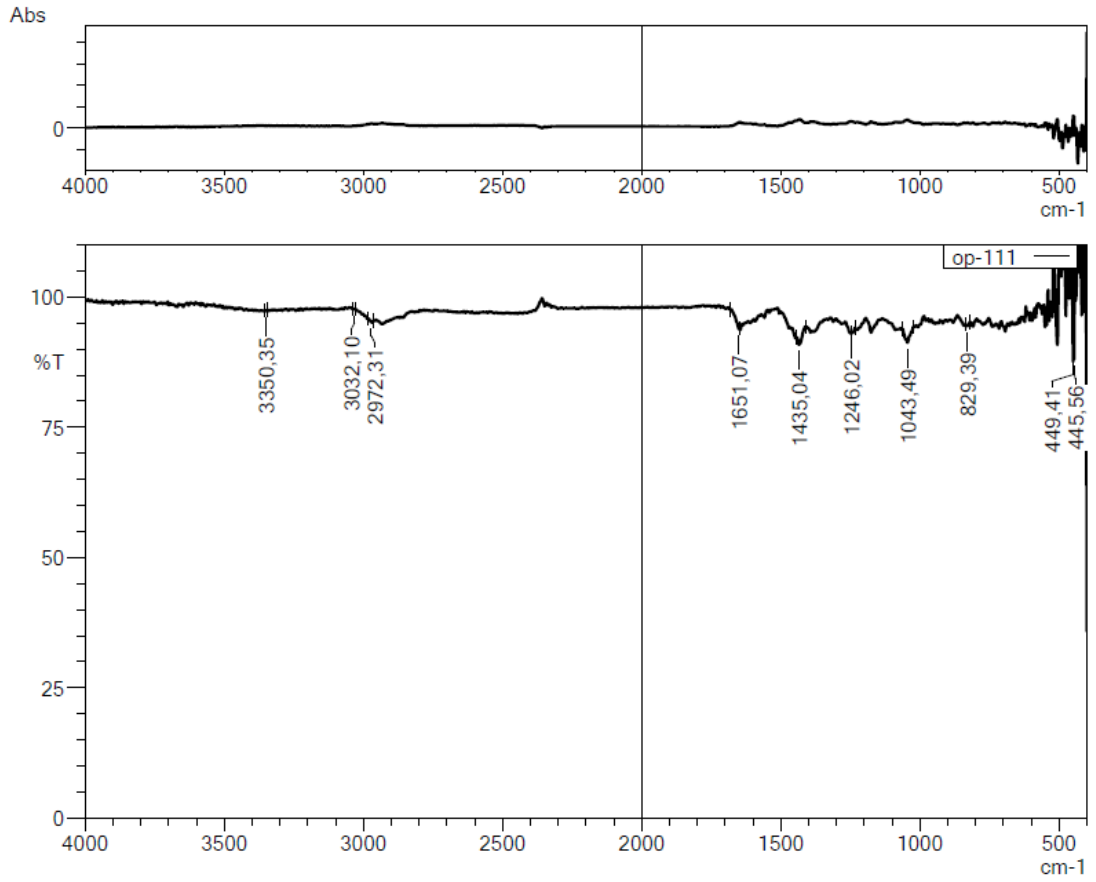
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.52-3.54 (2H, m, piperazin), 3.61-3.65 (6H, m, piperazin), 3.83 (3H, s, -OCH₃), 4.62 (2H, s, CH₂), 6.65-6.69 (1H, m, piridin C-H), 6.85-6.87 (1H, m, piridin C-H), 7.07 (2H, d, *J*= 8.91 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.53-7.58 (1H, m, piridin C-H), 7.64 (1H, s, benzimidazol-C₄), 7.70 (1H, dd, *J*₁=8.37 Hz, *J*₂=1.50 Hz, benzimidazol-C₅), 8.09 (1H, s, benzimidazol-C₇), 8.12-8.14 (1H, m, piridin C-H), 8.20 (2H, d, *J*=8.85 Hz, 1,4-disübstitüebenzen).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 37.12, 41.83, 44.72, 44.97, 45.42, 55.75, 107.77, 113.80, 114.03, 114.61, 114.82, 115.23, 116.07, 119.53, 124.75, 128.70, 128.80, 138.12, 142.46, 148.04, 159.09, 160.87, 162.71, 165.43, 167.01.

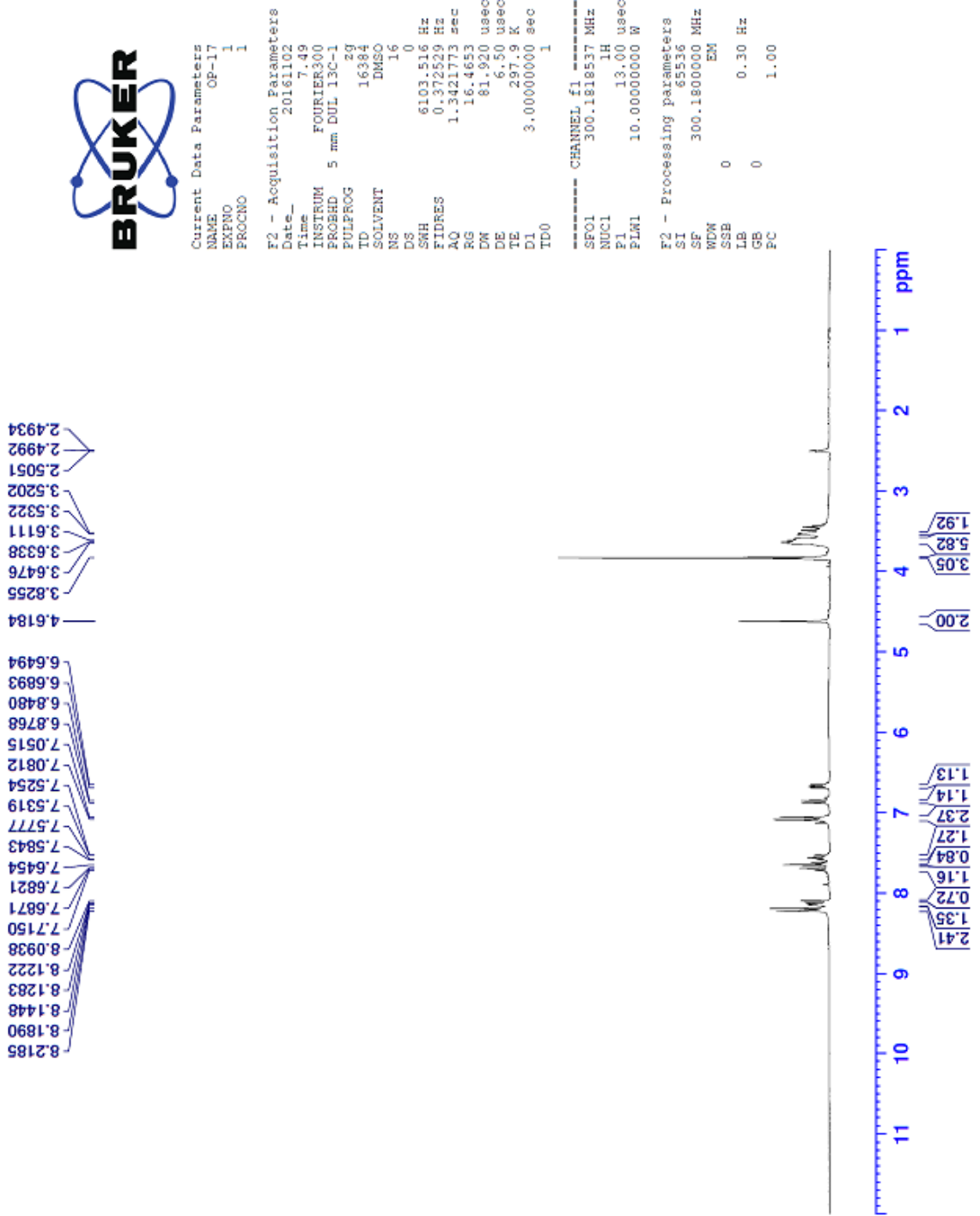
HRMS (-*m/z*): [M+H]⁺ : C₂₇H₂₅N₇O₃S için Hesaplanan: 528.1825, Bulunan: 528.1812.

DOPNALAB

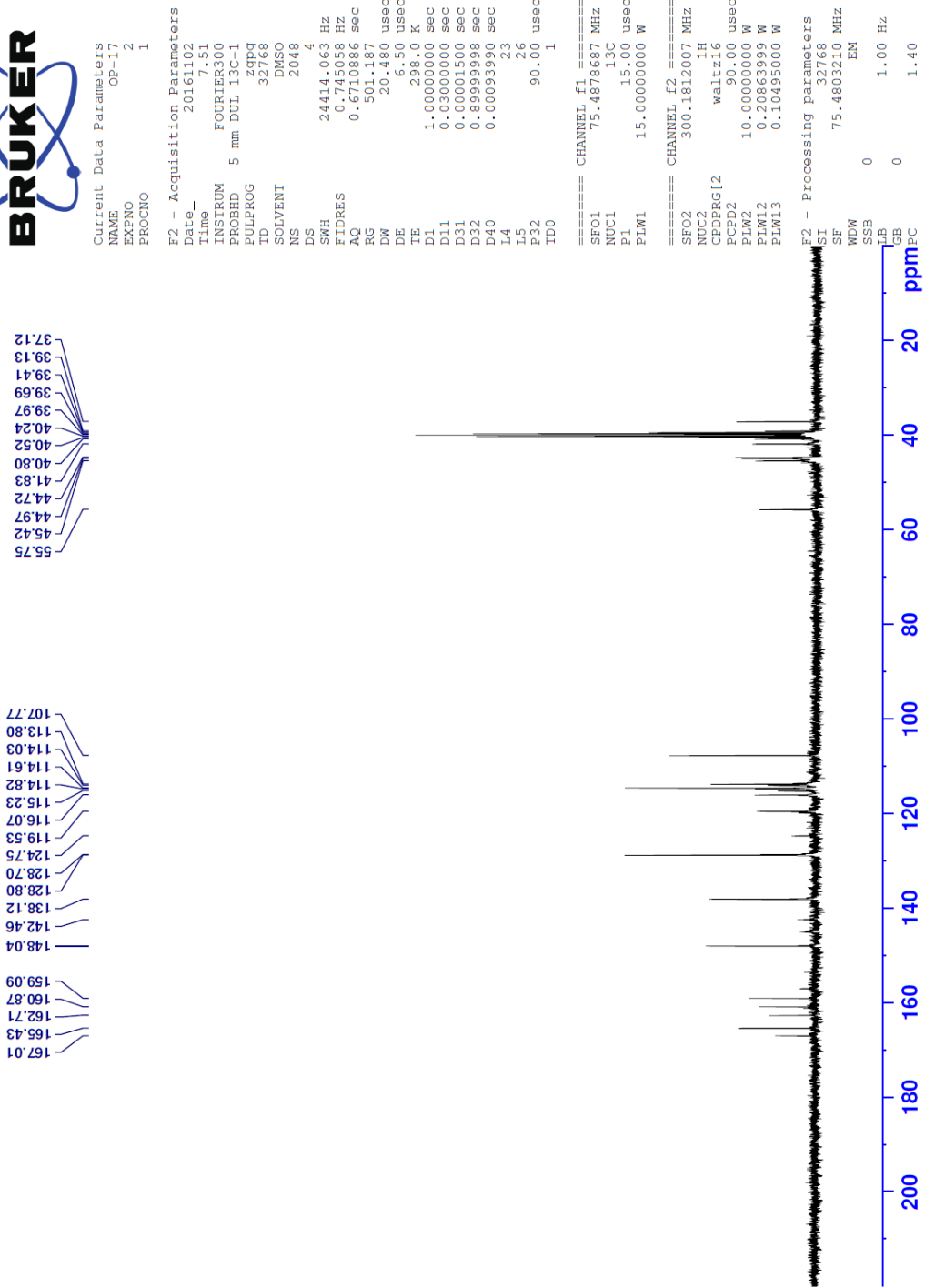
Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 13:59:03
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\op-111.ispd
Spectrum name	op-111
Sample name	OP-11
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.62. Bileşik 5v'ya ait IR spektrumu



Şekil 5.63. Bileşik 5t'ya ait ^1H NMR spektrum



Şekil 5.64. Bileşik 5t'ya ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uac\OP-17_6.lcd

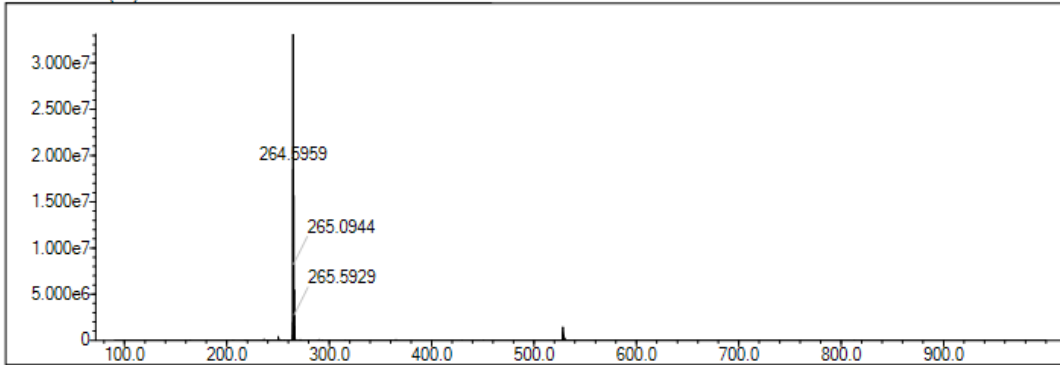
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	1	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

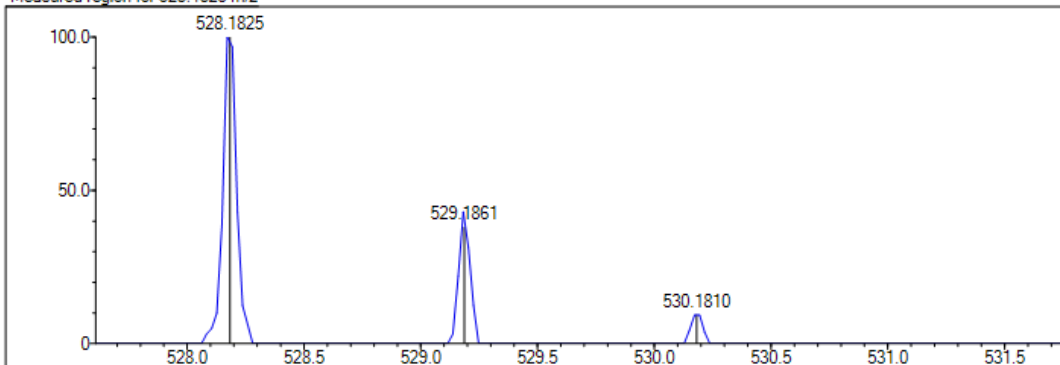
DBE Range: 12.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

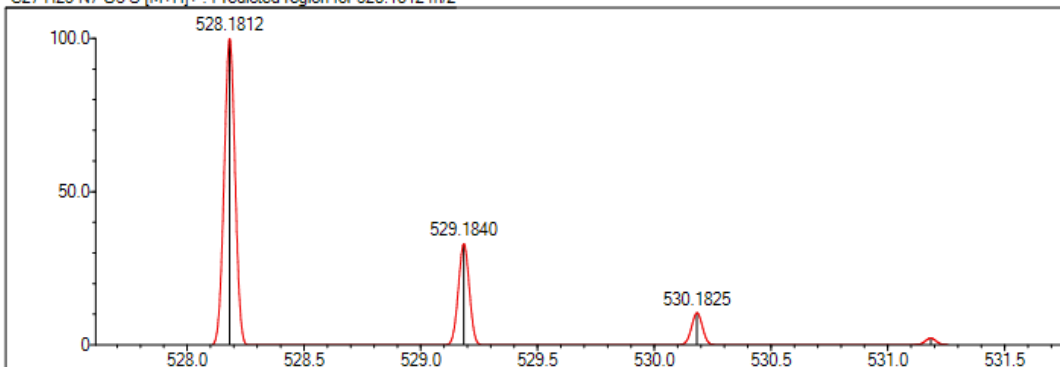
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.653 -> 3.653 Scan#: 549 -> 549



Measured region for 528.1825 m/z



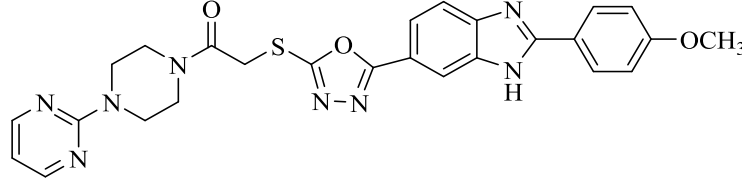
C27 H25 N7 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 528.1812 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	71.96	C27 H25 N7 O3 S	[M+H] ⁺	528.1825	528.1812	1.3	2.46	74.69	19.0

Şekil 5.65. Bileşik 5t'ya ait kütle spektrum

5.1.6.10. 2-((5-(2-(4-Metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(pirimidin-2-il)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5j)



Deneysel E.N.: 118.7- 120.3 °C. **Verim:** %80.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3406 (N-H gerilim bandı), 1627 (C=O gerilim bandı), 839 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

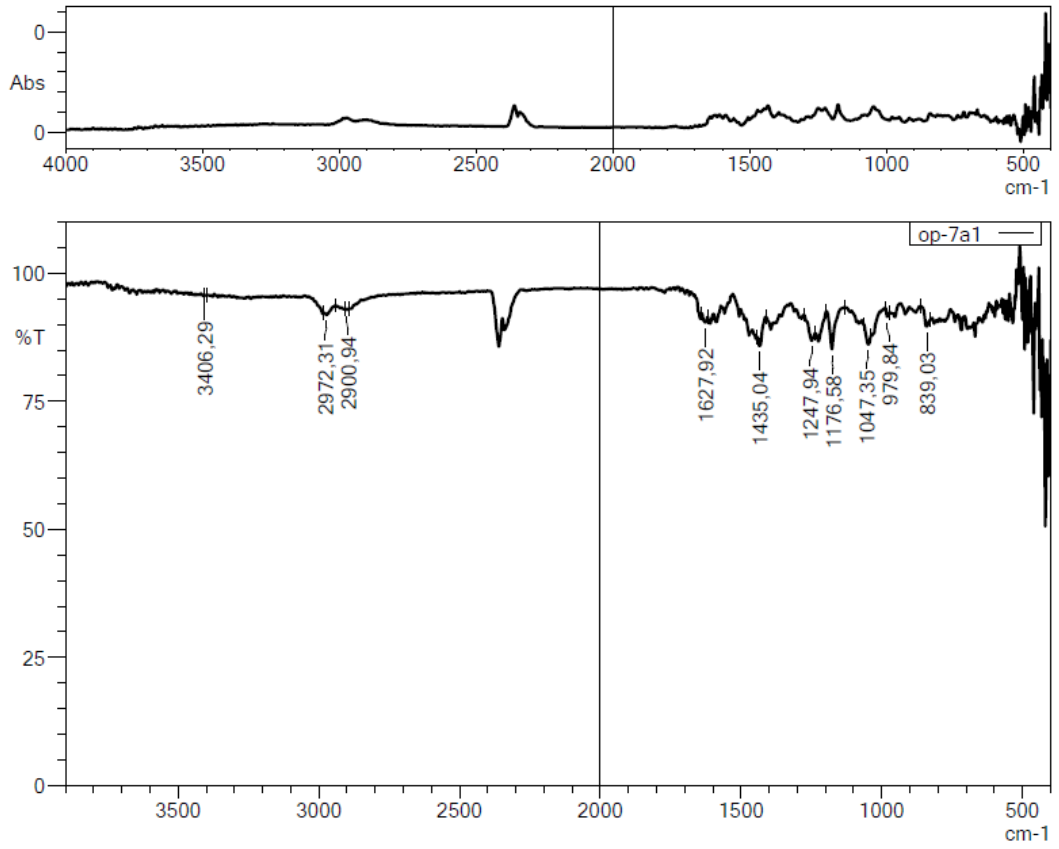
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 3.64 (2H, br.s, piperazin), 3.72-3.76 (6H, m, piperazin), 3.82 (3H, s, -OCH₃), 4.62 (2H, s, CH₂), 6.68 (1H, t, $J=4.71$, pirimidin), 7.12 (2H, $J=8.91$ Hz, 1,4 disübstitüebenzen), 7.70 (1H, d, $J=8.31$ Hz, benzimidazol C₄), 7.79 (1H, dd, $J_1= 8.43$ Hz, $J_2= 1.47$ Hz, benzimidazol-C₅), 8.13 (1H, br.s. benzimidazol-C₇), 8.20 (2H, $J=8.85$ Hz, 1,4 disübstitüebenzen), 8.40 (2H, d, $J=4.74$ Hz, pirimidin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): δ : 37.22, 41.94, 43.77, 45.53, 52.71, 55.71, 110.54, 110.91, 110.96, 114.09, 114.52, 116.10, 119.28, 125.13, 128.82, 158.43, 158.46, 160.74, 161.53, 161.62, 162.61, 165.49, 167.55, 168.04.

HRMS (-m/z): [M+H]⁺ : C₂₆H₂₄N₈O₃S için Hesaplanan: 529.1755, Bulunan: 529.1765.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 13:53:06
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\deryal\OP\op-7a1.ispd
Spectrum name	op-7a1
Sample name	OP-7A
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.66. Bileşik 5j'ye ait IR spektrumu



Current Data Parameters
 NAME OP-18A
 EXPNO 1
 PROCNO 1

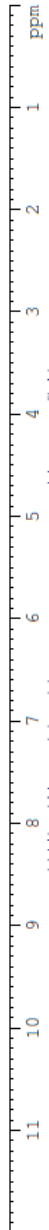
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20161014
 Time 3.51
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zg
 TD 16384
 SOLVENT DMSO
 NS 16
 DS 0
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 0.372529 Hz
 AQ 1.3421773 sec
 RG 22.0453
 DW 81.920 usec
 DE 6.50 usec
 TE 298.0 K
 D1 3.00000000 sec
 TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
 SFO1 300.1818537 MHz
 NUC1 1H
 P1 13.00 usec
 PLW1 10.00000000 W

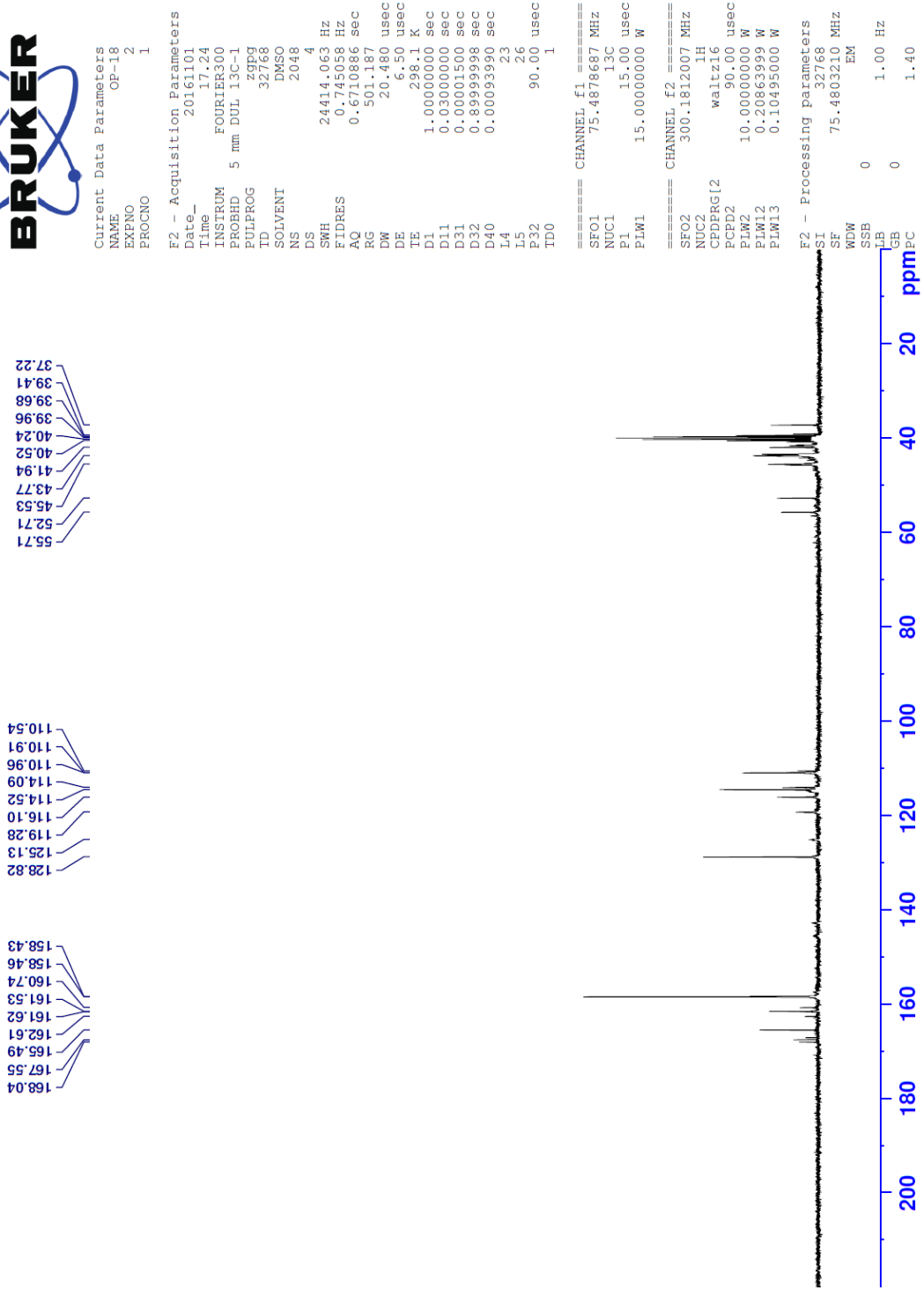
F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 300.1800000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0
 GB 0
 PC 1.00

4.6360
 3.8462
 3.779
 3.7641
 3.7438
 3.6643
 3.6453
 3.5870
 3.3595
 2.5040
 2.4983
 2.4923

8.4067
 8.3909
 8.2179
 8.1884
 8.1342
 7.8047
 7.7998
 7.7766
 7.7718
 7.7159
 7.5882
 7.1302
 7.1005
 6.6942
 6.6785
 6.6626



Şekil 5.67. Bileşik 5j'ye ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 5.68. Bileşik 5j'ye ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\luc\OP-18_2.lcd

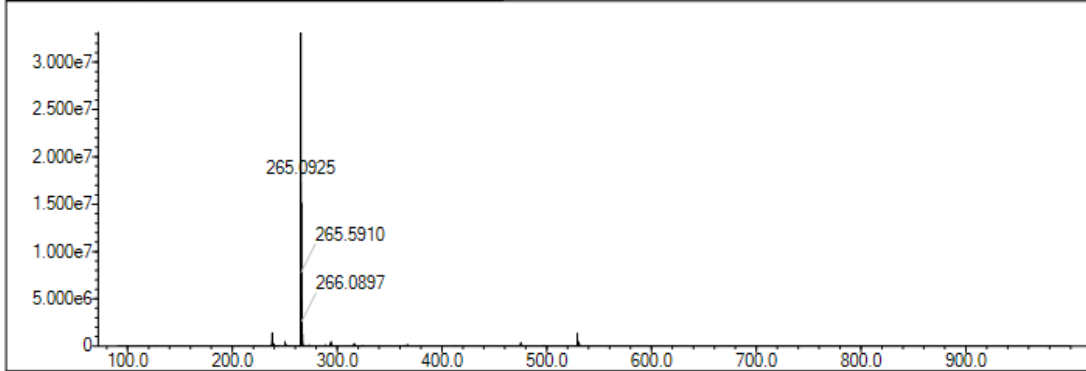
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	1	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

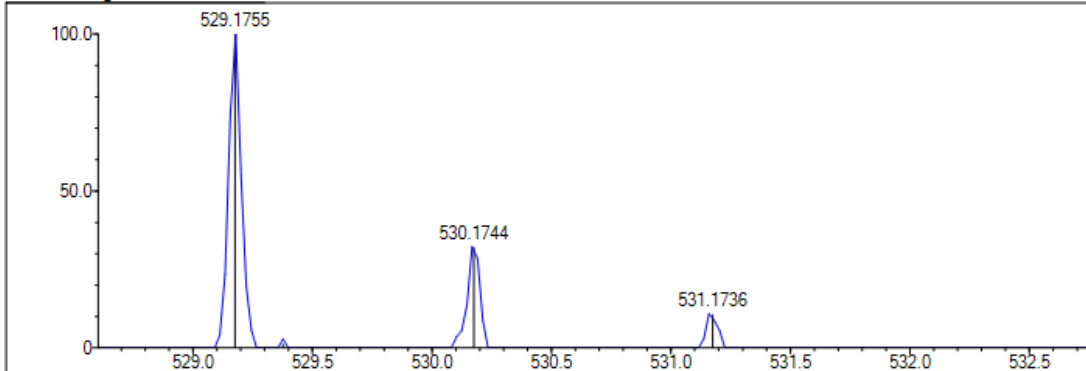
DBE Range: 12.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

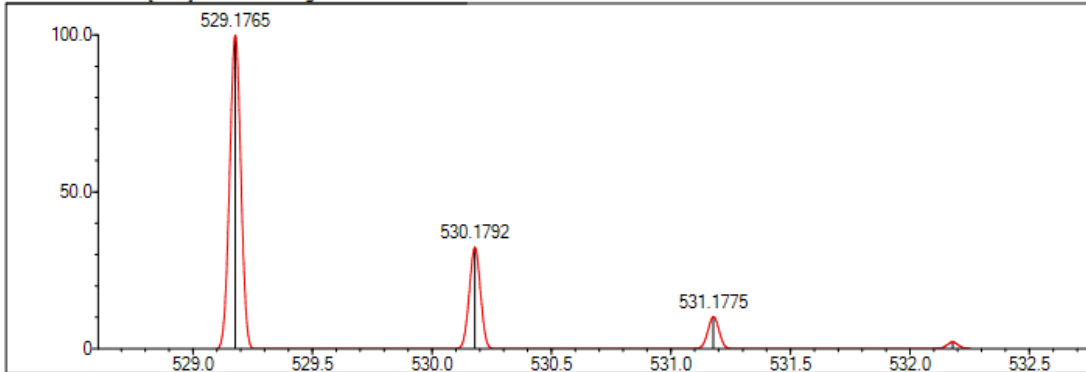
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.827 -> 4.827 Scan#: 725 -> 725



Measured region for 529.1755 m/z



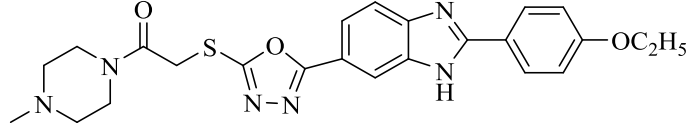
C26 H24 N8 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 529.1765 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	76.98	C26 H24 N8 O3 S	[M+H] ⁺	529.1755	529.1765	-1.0	-1.89	78.73	19.0

Şekil 5.69. Bileşik 5j'ye ait kütle spektrum

5.1.6.11. 2-((5-(2-(4-Etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-metil-piperazin-1-il)-etan-1-on (5k)



Deneysel E.N.: 181.2- 183.5 °C. **Verim:** %79.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3360 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 833 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

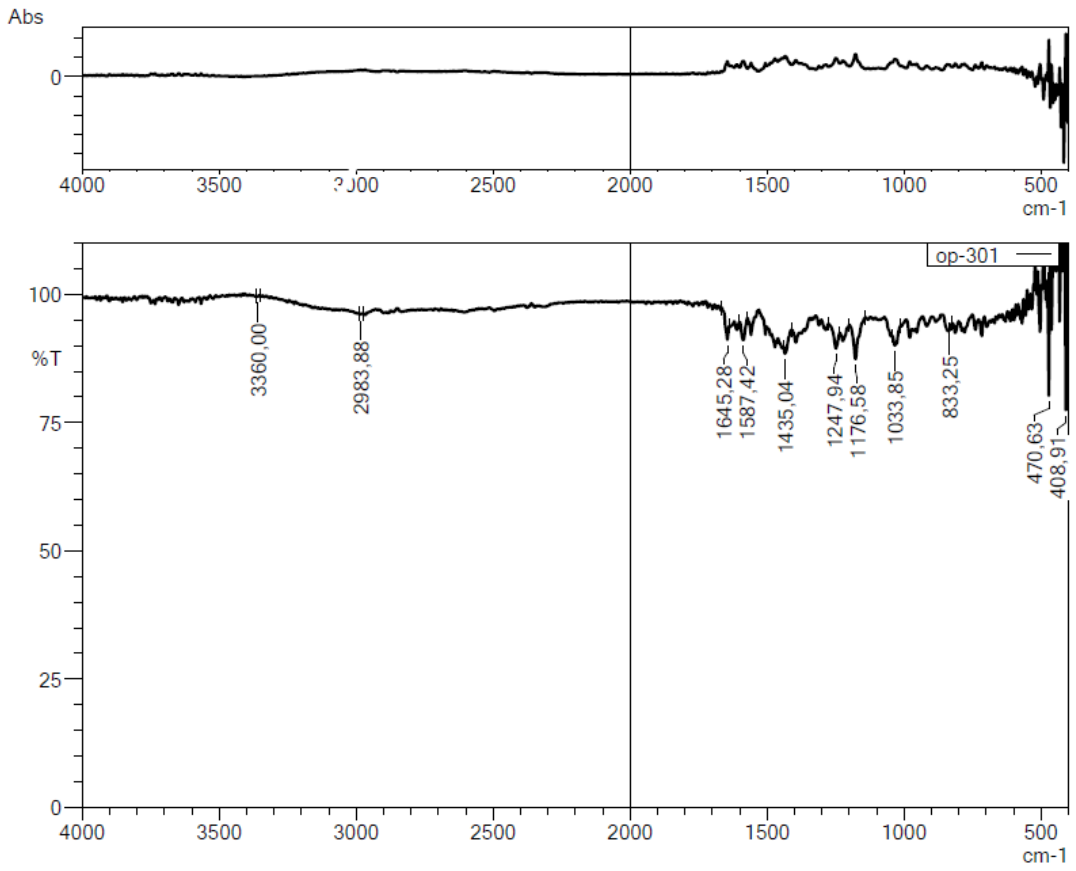
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 1.37 (3H, t, $J=6.81$ Hz, $-\text{CH}_3$), 2.75 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.39 (4H, br.s., piperazin), 3.60 (4H, br.s., piperazin), 4.47-4.50 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 4.66 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.21 (2H, d, $J=8.67$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.88 (1H, d, $J=8.67$ Hz, benzimidazol- C_4), 7.99 (1H, d, $J=8.55$ Hz, benzimidazol- C_5), 8.22 (1H, s, benzimidazol- C_7), 8.38 (2H, d, $J=8.16$ Hz, 1,4-disübstitübenzen), 11.55 (1H, s, N-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): δ : 14.96, 36.87, 39.11, 42.38, 42.74, 45.66, 52.18, 64.25, 112.48, 115.79, 117.36, 119.21, 121.51, 123.22, 126.03, 128.45, 130.51, 151.88, 162.62, 163.81, 165.63, 165.80.

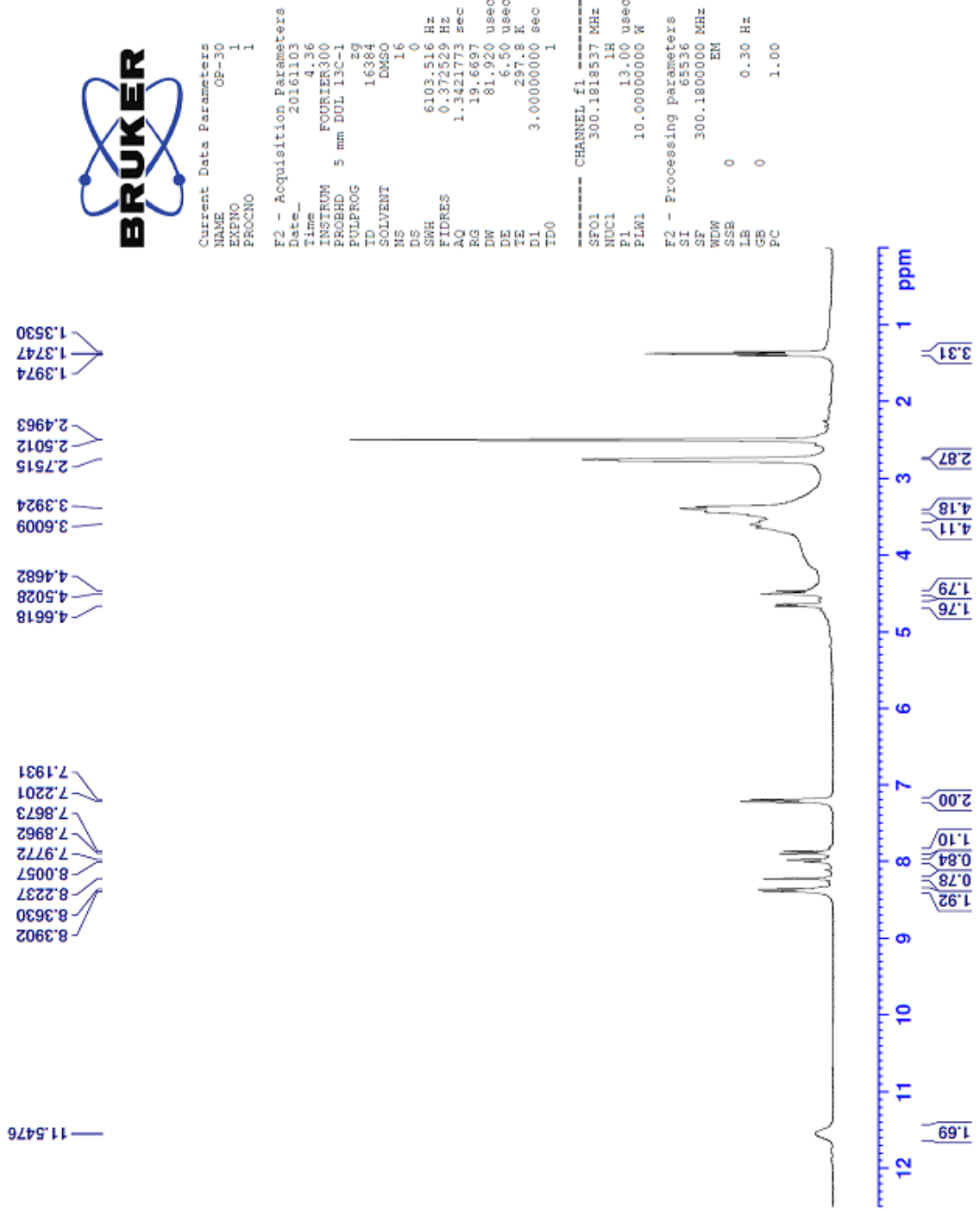
HRMS ($-\text{m/z}$): $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$ için Hesaplanan: 479.1873, Bulunan: 479.1860.

DOPNALAB

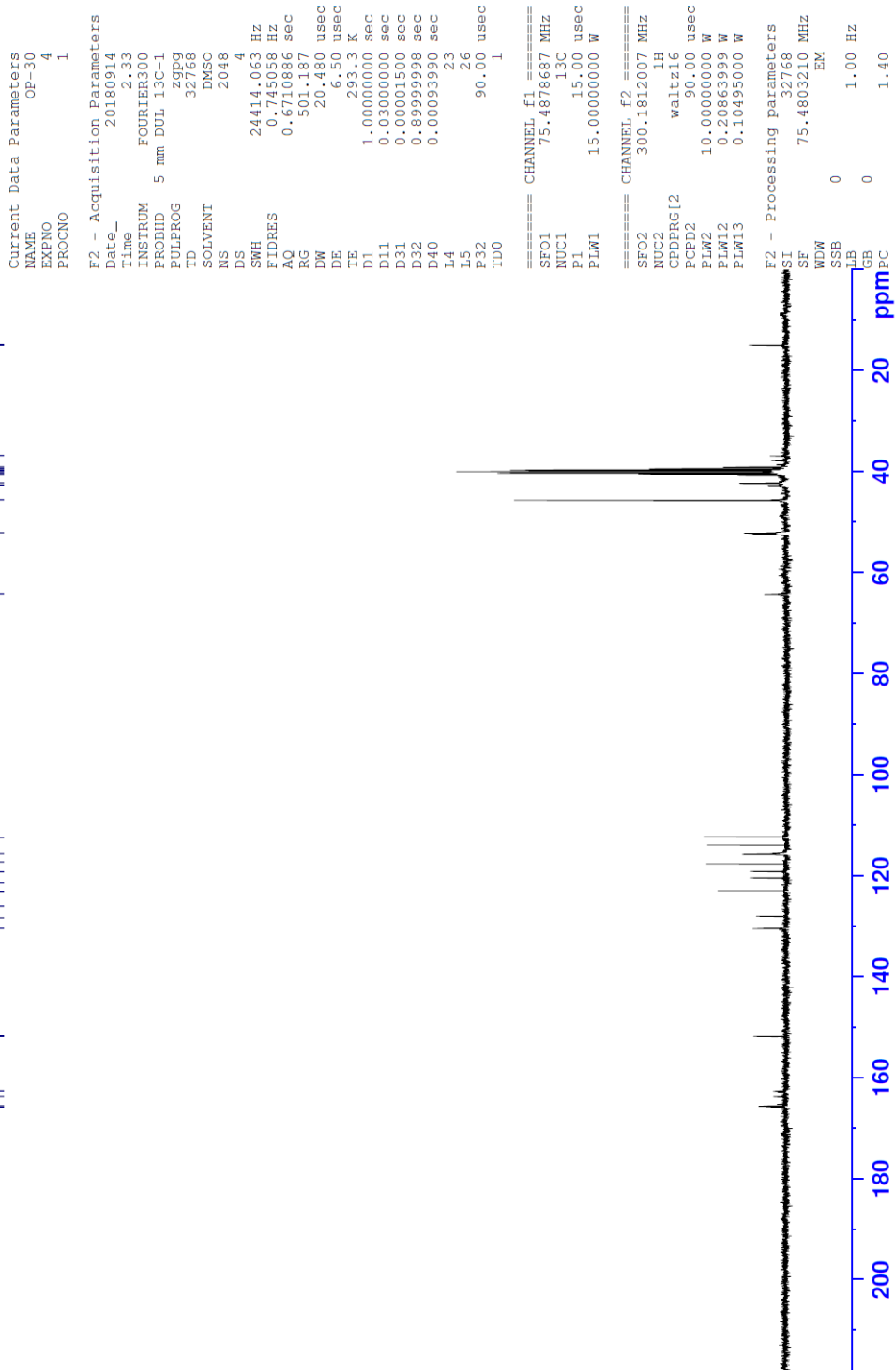
Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 12:14:00
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\op-301.ispd
Spectrum name	op-301
Sample name	OP-30
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.70. Bileşik 5k'ya ait IR spektrumu



Şekil 5.71. Bileşik 5k'ya ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 5.72. Bileşik 5k'ya ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\luac\OP-30_8.lcd

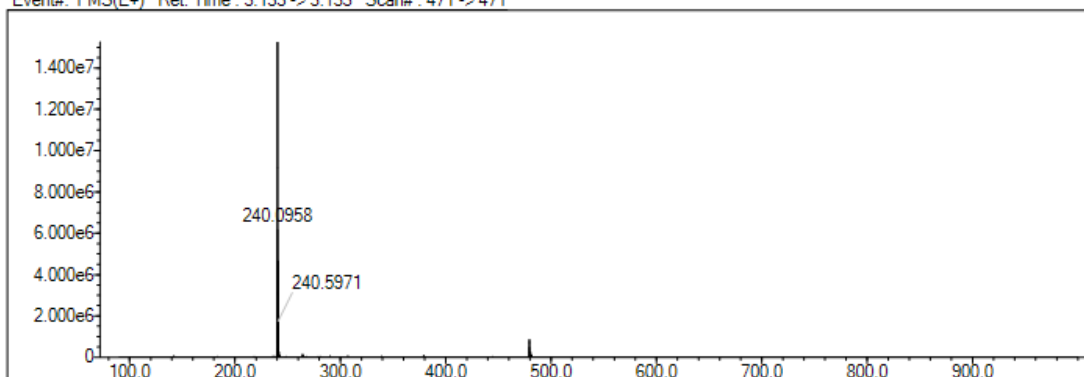
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	1	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	1	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

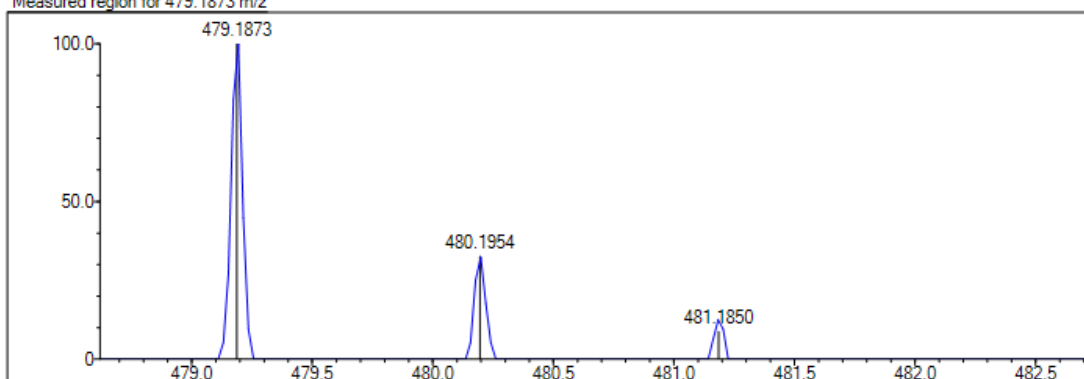
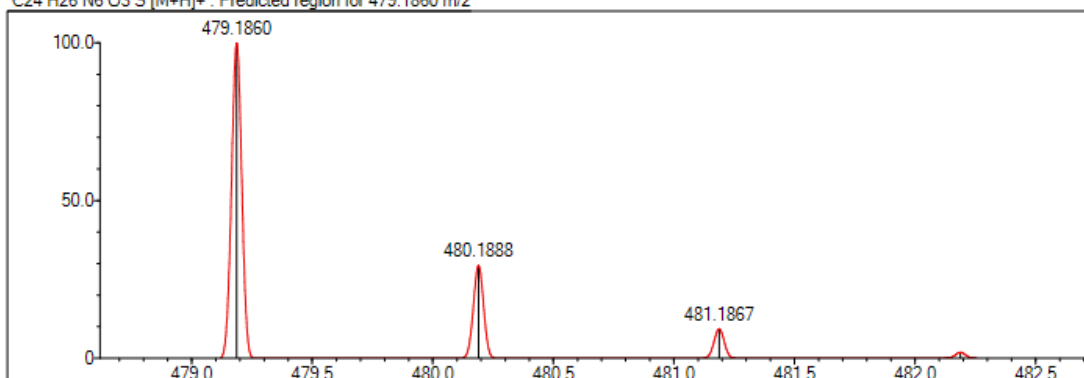
DBE Range: 12.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.133 -> 3.133 Scan#: 471 -> 471



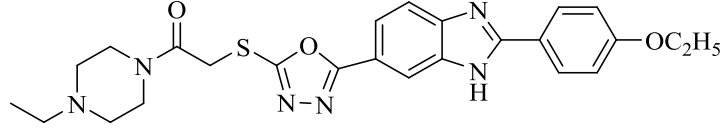
Measured region for 479.1873 m/z

C24 H26 N6 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 479.1860 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	69.10	C ₂₄ H ₂₆ N ₆ O ₃ S	[M+H] ⁺	479.1873	479.1860	1.3	2.71	72.19	15.0

Şekil 5.73. Bileşik 5k'ya ait kütle spektrum

5.1.6.12. 2-((5-(2-(4-Etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-etil-piperazin-1-il)-etan-1-on (5l)



Deneysel E.N.: 109.4- 110.8 °C. **Verim:** %77.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3429 (N-H gerilim bandı), 1653 (C=O gerilim bandı), 827 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

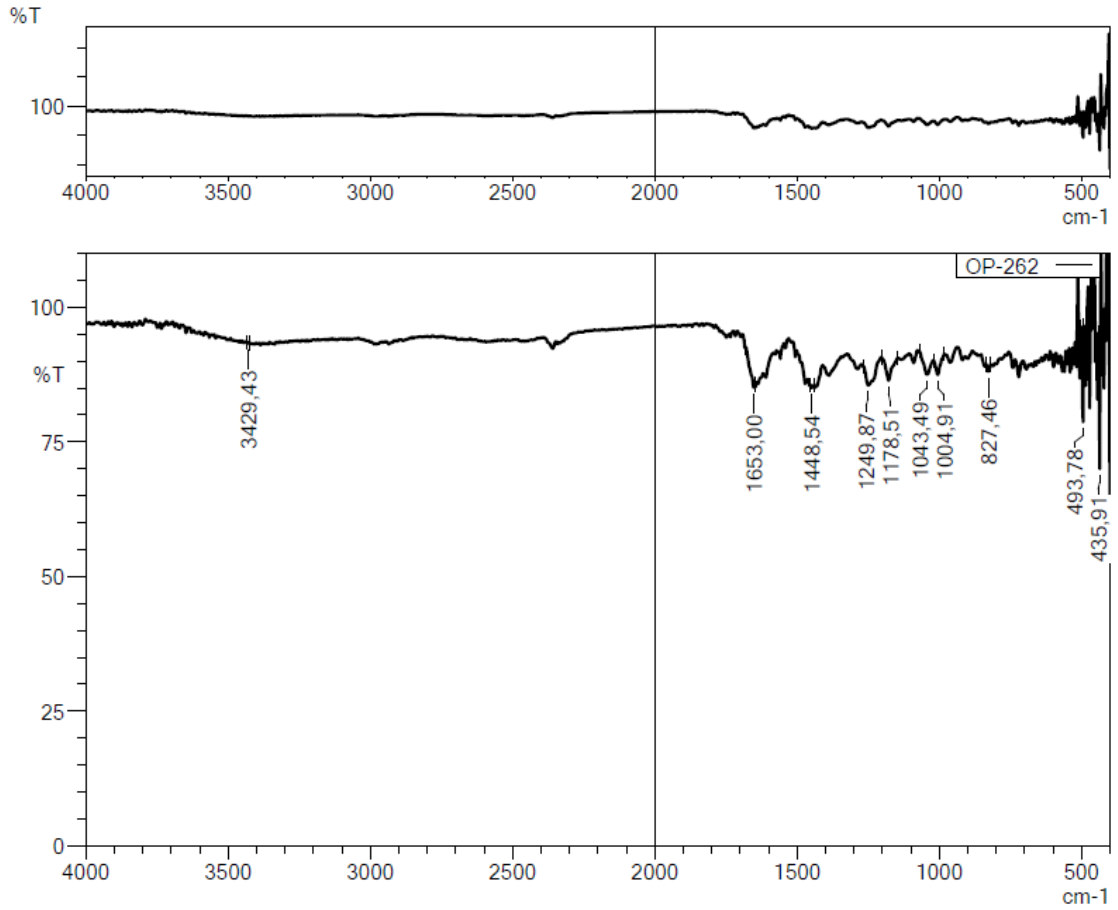
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 1.19-1.21 (3H, m, -CH₃), 1.36 (3H, t, $J=6.90$ Hz, -CH₃), 2.93-2.98 (2H, m, -CH₂), 3.80-3.90 (8H, m, piperazin), 4.10-4.13 (2H, m, -CH₂), 4.62 (2H, s, -CH₂), 7.10 (2H, d, $J=8.91$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.73 (1H, d, $J=8.40$ Hz, benzimidazol-C₄), 7.81 (1H, dd, $J_1=8.37$ Hz, $J_2=1.50$ Hz, benzimidazol-C₅), 8.13 (1H, s, benzimidazol-C₇), 8.22 (2H, d, $J=8.82$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): δ : 15.06, 36.81, 37.88, 43.45, 50.57, 50.98, 51.22, 60.65, 63.81, 113.08, 115.28, 116.74, 120.76, 122.30, 125.99, 127.43, 129.02, 132.31, 154.34, 160.80, 163.07, 165.51, 165.61.

HRMS (-m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$: C₂₅H₂₈N₆O₃S için Hesaplanan: 493.2019, Bulunan: 493.2016.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 11:35:11
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\OP\OP-262.ispd
Spectrum name	OP-262
Sample name	OP-26
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.74. Bileşik 5I'ye ait IR spektrumu



1.1860
1.1976
1.2090
1.3323
1.3556
1.3786
1.3786
2.4931
2.4991
2.5050
3.7950
3.8196
3.8391
3.8391
3.8614
3.9049
4.1050
4.1132
4.1280
4.6231

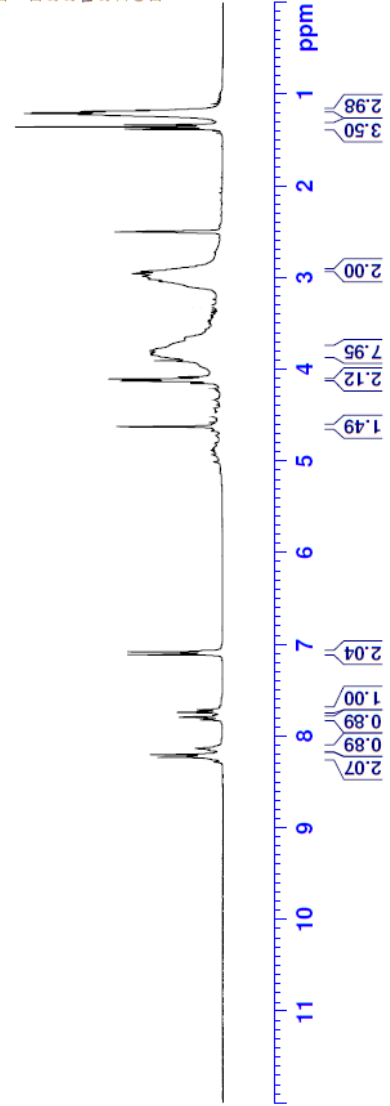
7.0808
7.1105
7.7132
7.7412
7.7890
7.7942
7.8171
7.8171
7.8221
8.1340
8.2017
8.2311

Current Data Parameters
NAME Of-26
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20161103
Time 0.29
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.3421773 sec
RG 7.45141
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 297.9 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1818537 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSE 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.75. Bileşik 5I'ye ait ¹H NMR spektrumu



Current Data Parameters
 NAME OP-26
 EXENO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20161103
 Time 0.31
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zgpg30
 TD 32768
 SOLVENT DMSO
 NS 2048
 DS 4
 SWH 24414.063 Hz
 FIDRES 0.745038 Hz
 AQ 0.6710886 sec
 RG 501.187
 DW 20.480 usec
 DE 6.50 usec
 TE 298.1 K
 D1 1.00000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 D31 0.00015000 sec
 D32 0.89999998 sec
 D40 0.00093900 sec
 L4 23
 L5 26
 F32 90.00 usec
 ID0 1

==== CHANNEL f1 =====
 SF01 75.4878687 MHz
 NUC1 13C
 P1 15.00 usec
 PLW1 15.00000000 W

==== CHANNEL f2 =====
 SF02 300.1812007 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG[2] waitz16
 PCPD2 90.00 usec
 PLW2 10.00000000 W
 PLW12 0.20863999 W
 PLW13 0.10495000 W

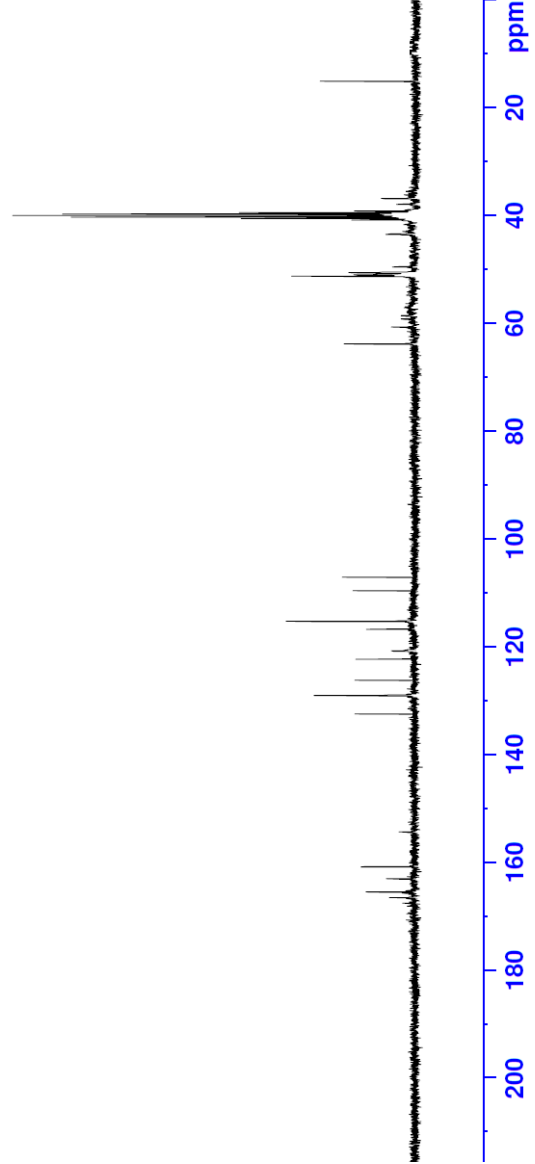
F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4803210 MHz
 EM

WDW 0
 SSB 0
 GB 0
 PC 1.40

63.81
 60.65
 51.22
 50.98
 50.57
 43.45
 40.80
 40.53
 40.25
 39.97
 39.69
 39.41
 39.14
 37.88
 36.81
 15.06

132.31
 129.02
 127.43
 125.99
 122.30
 120.76
 116.74
 115.28
 113.08

165.61
 165.51
 163.07
 160.80
 154.34



Şekil 5.76. Bileşik 51'ye ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analizuac\OP-26_6.lcd

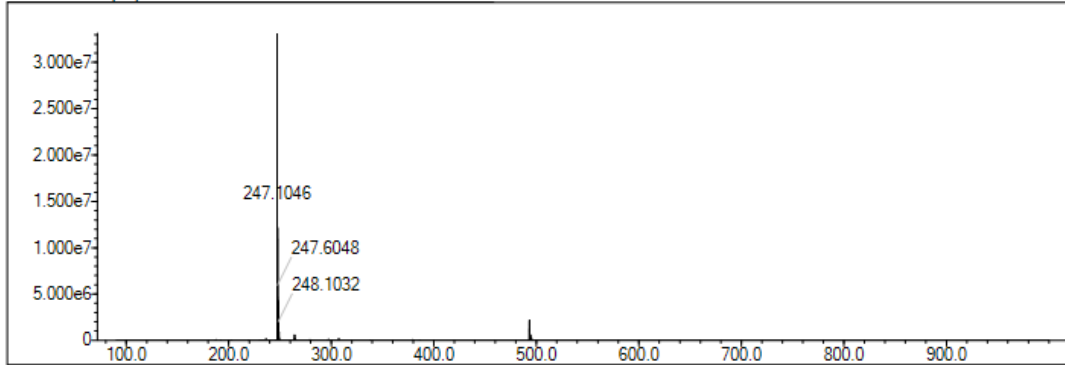
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	1	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	1	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 15
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

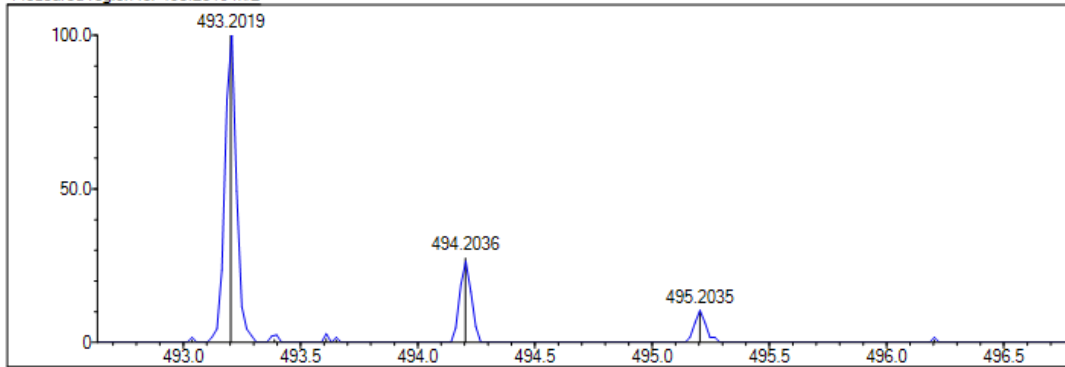
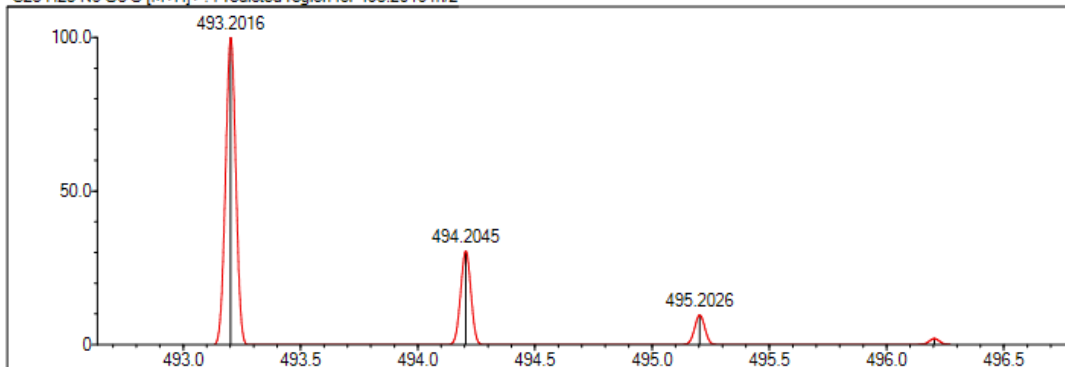
DBE Range: 12.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.307 -> 3.307 Scan#: 497 -> 497



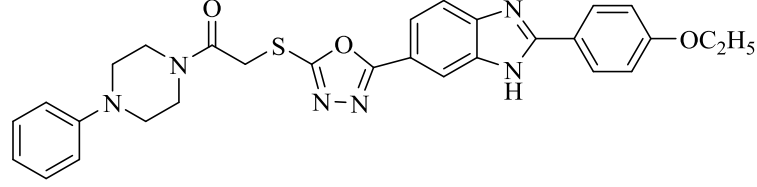
Measured region for 493.2019 m/z

C25 H28 N6 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 493.2016 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	91.18	C25 H28 N6 O3 S	[M+H] ⁺	493.2019	493.2016	0.3	0.61	91.18	15.0

Şekil 5.77. Bileşik 5I'ye ait kütle spektrum

5.1.6.13. 2-((5-(2-(4-Etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(fenil)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5m)



Deneysel E.N.: 262.5- 263.9 °C. **Verim:** %70.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3367 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 840 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

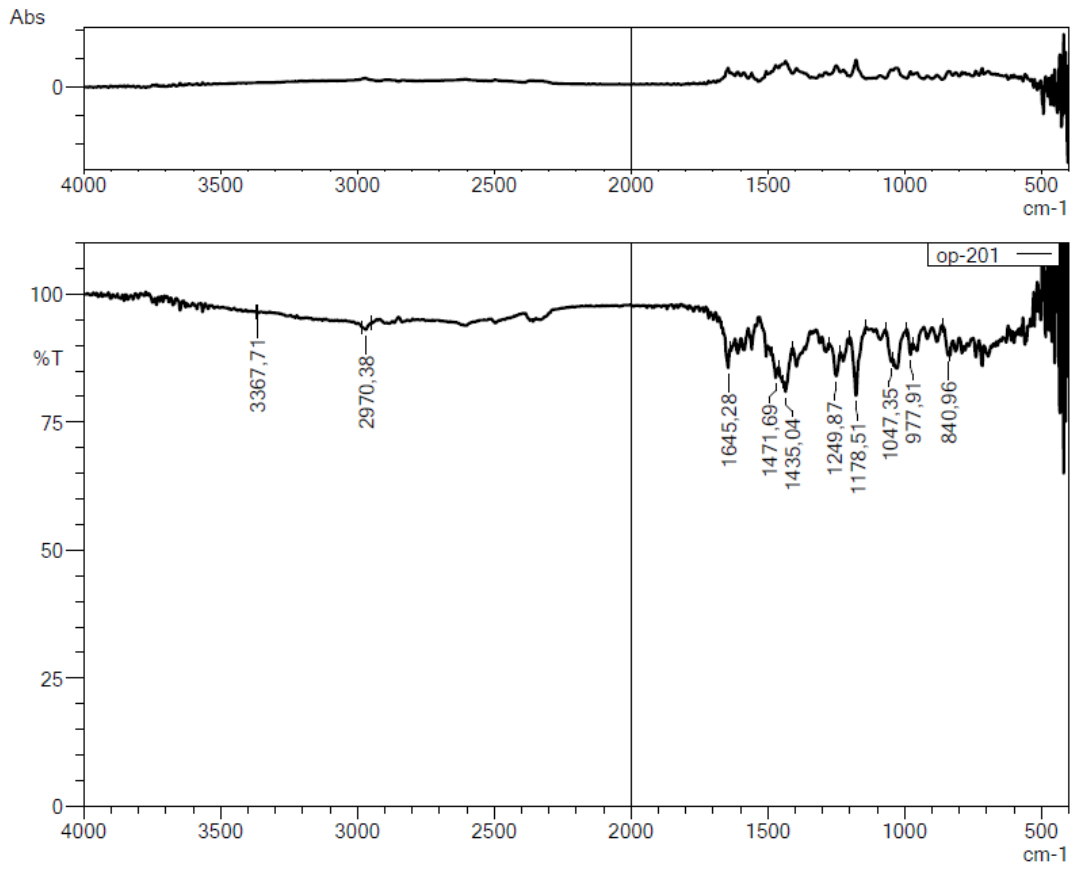
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 1.35 (3H, t, $J=6.93$ Hz, $-\text{CH}_3$), 2.32 (2H, br.s., piperazin), 2.41 (2H, br.s., piperazin), 3.52 (4H, br.s., piperazin), 4.11 (2H, q, $J=6.96$ Hz, $-\text{CH}_2$), 4.53 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.15 (2H, d, $J=8.94$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.44-7.47 (3H, m, fenil C-H), 7.66-7.69 (2H, m, fenil C-H), 7.76 (1H, d, $J=8.46$ Hz, benzimidazol C₄), 7.81-7.85 (1H, m, benzimidazol-C₅), 8.15 (1H, br.s. benzimidazol-C₇), 8.28 (2H, d, $J=8.85$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 10.70 (1H, s, N-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): δ : 36.75, 42.72, 45.68, 50.38, 50.84, 55.91, 59.07, 114.95, 115.83, 117.01, 121.02, 121.93, 128.76, 129.03, 129.09, 129.18, 129.83, 130.20, 131.01, 131.89, 154.05, 161.69, 162.99, 163.10, 165.59, 166.41, 169.44.

HRMS ($-m/z$): $[\text{M}+\text{H}]^+$: C₂₉H₂₈N₆O₃S için Hesaplanan: 541.2002, Bulunan: 541.2016.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 12:22:15
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\deryal\OP\op-201.ispd
Spectrum name	op-201
Sample name	OP-20
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.78. Bileşik 5m'ye ait IR spektrumu

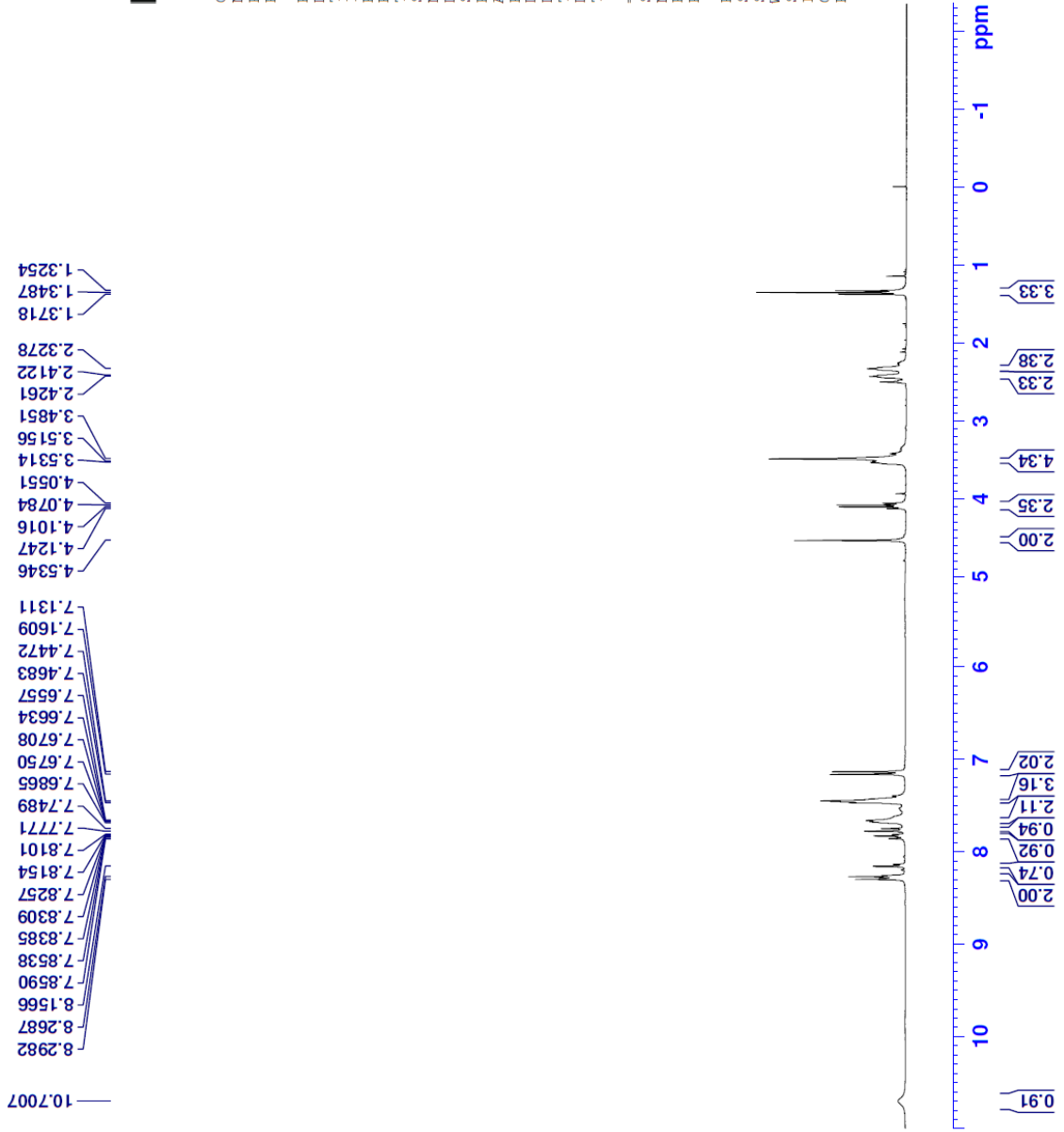


Current Data Parameters
NAME OP-33
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20161103
Time_ 5.38
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.342173 sec
RG 14.2661
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 297.9 K
D1 3.0000000 sec
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
SF01 300.1818537 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.0000000 W

F2 - Processing Parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.79. Bileşik 5m 'ye ait ¹H NMR spektrumu



Current Data Parameters
NAME OP-20
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20161102
Time_ 19.23
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg
TD 32768
SOLVENT DMSO
NS 2048
DS 4
SWH 24414.063 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
DW 20.480 usec
DE 6.50 usec
TE 298.2 K
D1 1.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
D31 0.00001500 sec
D32 0.89999998 sec
D40 0.00093990 sec
L4 23
L5 26
P32 90.00 usec
TD0 1

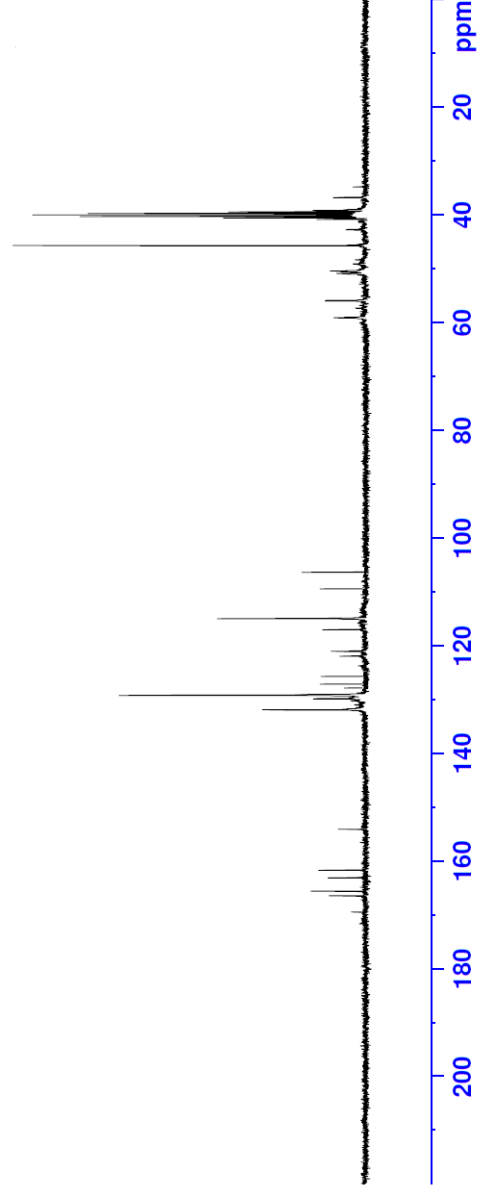
==== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.4878687 MHz
NUC1 13C
P1 15.00 usec
PLW1 15.00000000 W

==== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.1812007 MHz
NUC2 1H
PCPRG2 waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLW2 10.00000000 W
PLW12 0.20863999 W
PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4803210 MHz
EM
WDW 0
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

36.75
39.14
39.42
39.69
39.97
40.25
40.53
40.81
42.72
45.68
50.38
50.84
55.91
59.07

114.95
115.83
117.01
121.02
121.93
128.76
129.03
129.09
129.18
129.83
130.20
131.01
131.89
134.05
154.05
161.69
162.99
163.10
165.59
166.41
169.44



Şekil 5.80. Bileşik 5m'ye ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\luac\OP-20_1.lcd

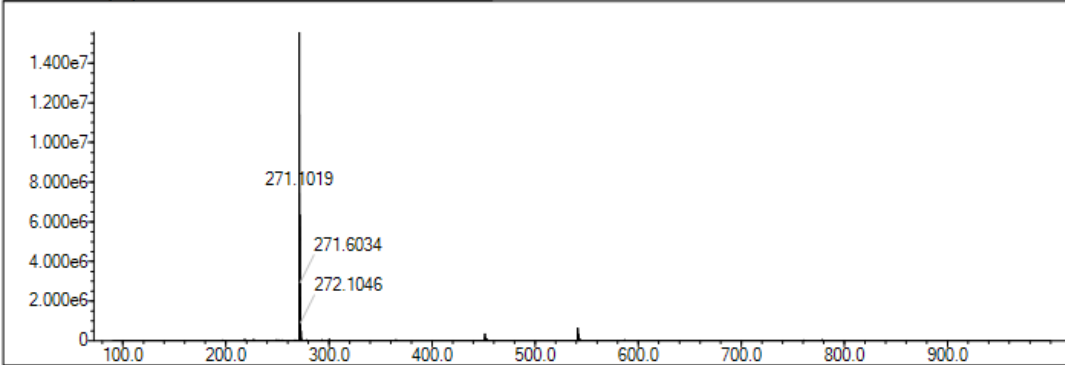
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	1	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	0	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

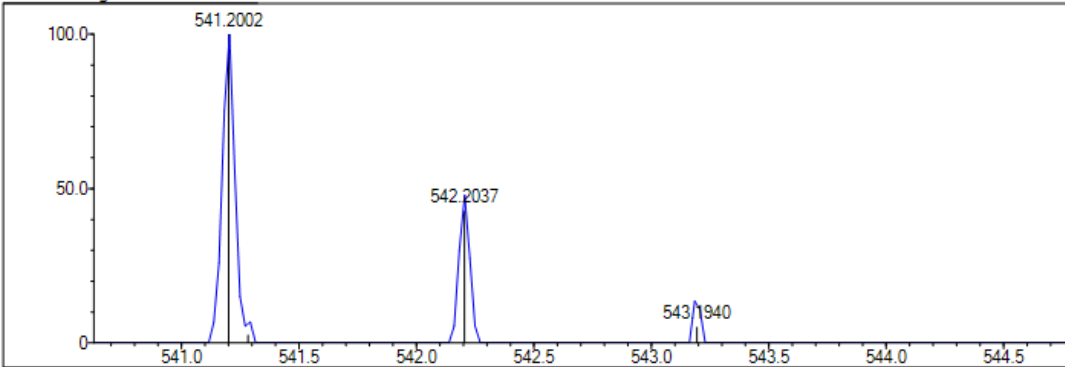
DBE Range: 16.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

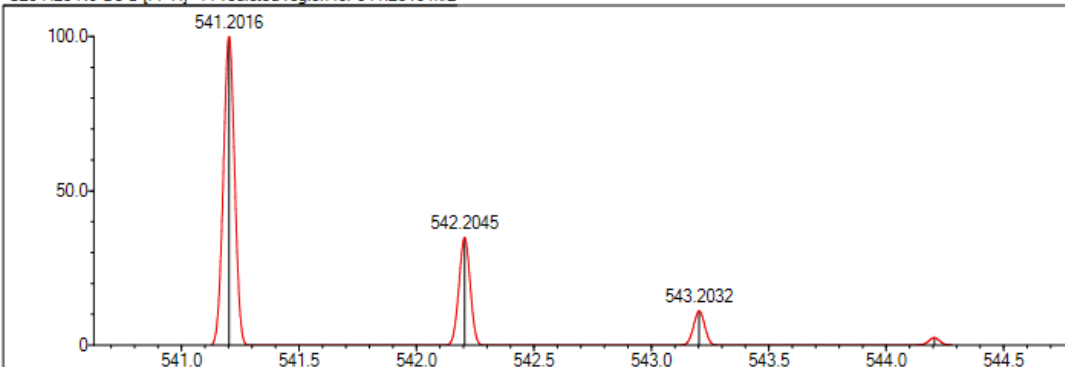
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.693 -> 3.693 Scan#: 555 -> 555



Measured region for 541.2002 m/z



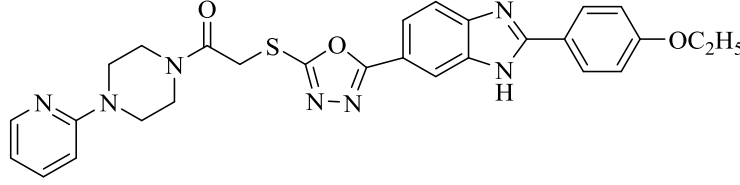
C29 H28 N6 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 541.2016 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	45.66	C29 H28 N6 O3 S	[M+H] ⁺	541.2002	541.2016	-1.4	-2.59	47.55	19.0

Şekil 5.81. Bileşik 5m 'ye ait kütle spektrum

5.1.6.14. 2-((5-(2-(4-Etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(piridin-2-il)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5n)



Deneysel E.N.: 168.3- 170.4 °C. **Verim:** %71.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3361 (N-H gerilim bandı), 1635 (C=O gerilim bandı), 840 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

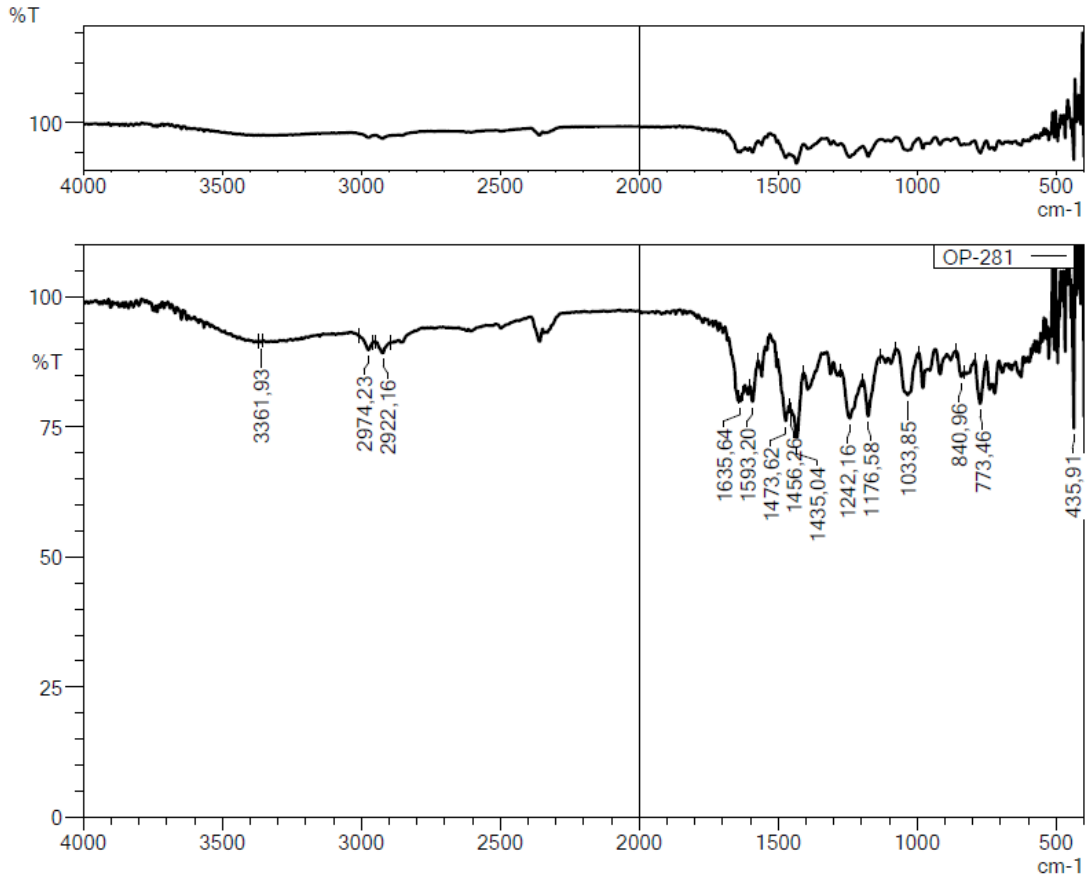
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ : 1.37 (3H, t, $J=6.93$ Hz, $-\text{CH}_3$), 3.52-3.54 (2H, m, piperazin), 3.59-3.65 (6H, m, piperazin), 4.13 (2H, q, $J=6.99$ Hz, $-\text{CH}_2$), 4.65 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 6.66-6.70 (1H, m, piridin C-H), 6.88 (1H, d, $J= 8.61$ Hz, piridin-C-H), 7.11 (2H, d, $J= 8.85$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.54-7.60 (1H, m, benzimidazol- C_4), 7.80 (2H, m, piridin C-H, benzimidazol C-H), 8.06-8.15 (2H, m, piridin C-H, benzimidazol C-H), 8.18 (2H, d, $J=8.49$ Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 13.50 (1H, s, N-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ : 15.07, 37.18, 41.84, 44.72, 44.98, 45.42, 63.81, 107.80, 113.82, 114.63, 115.31, 116.84, 119.76, 122.26, 123.67, 125.16, 128.96, 130.02, 138.15, 141.90, 148.04, 159.08, 160.83, 164.04, 165.40, 166.45.

HRMS ($-\text{m/z}$): $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_3\text{S}$ için Hesaplanan: 542.1982, Bulunan: 542.1969.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 11:39:48
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\denyalOP\OP-281.ispd
Spectrum name	OP-281
Sample name	OP-28
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.82. *Bileşik 5n'ye ait IR spektrumu*



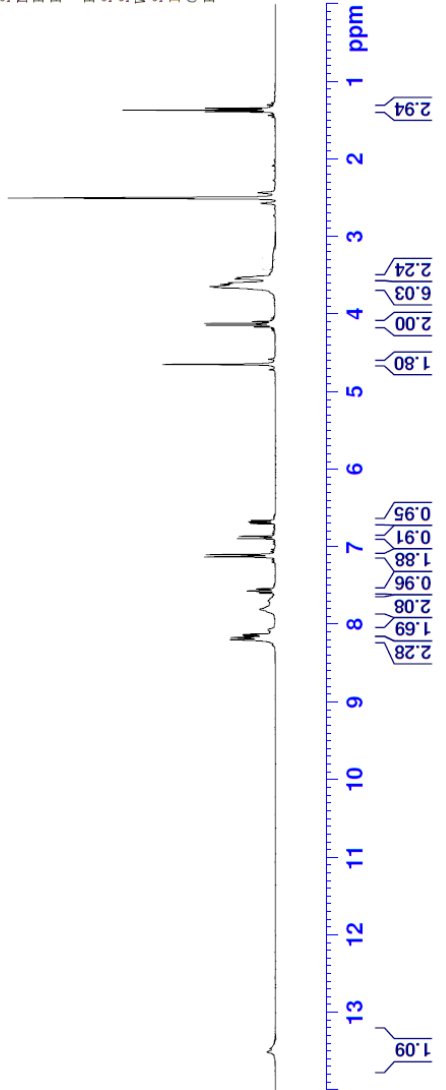
Current Data Parameters
NAME OP-28A
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20180910
Time 19.43
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372559 Hz
AQ 1.3421773 sec
RG 45.548
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 294.1 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1

CHANNEL f1
SFO1 300.1818537 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

1.3437
1.3670
1.3901
2.4949
3.5240
3.5355
3.5933
3.6031
3.6419
3.6542
4.0936
4.1168
4.1401
4.1631
4.6461
6.6578
6.6743
6.6974
6.8630
6.8917
7.0980
7.1275
7.5361
7.5600
7.5657
7.5885
7.8045
8.0645
8.1266
8.1476
8.1680
8.1963
13.5085



Şekil 5.83. Bileşik 5n'ye ait ¹H NMR spektrumu



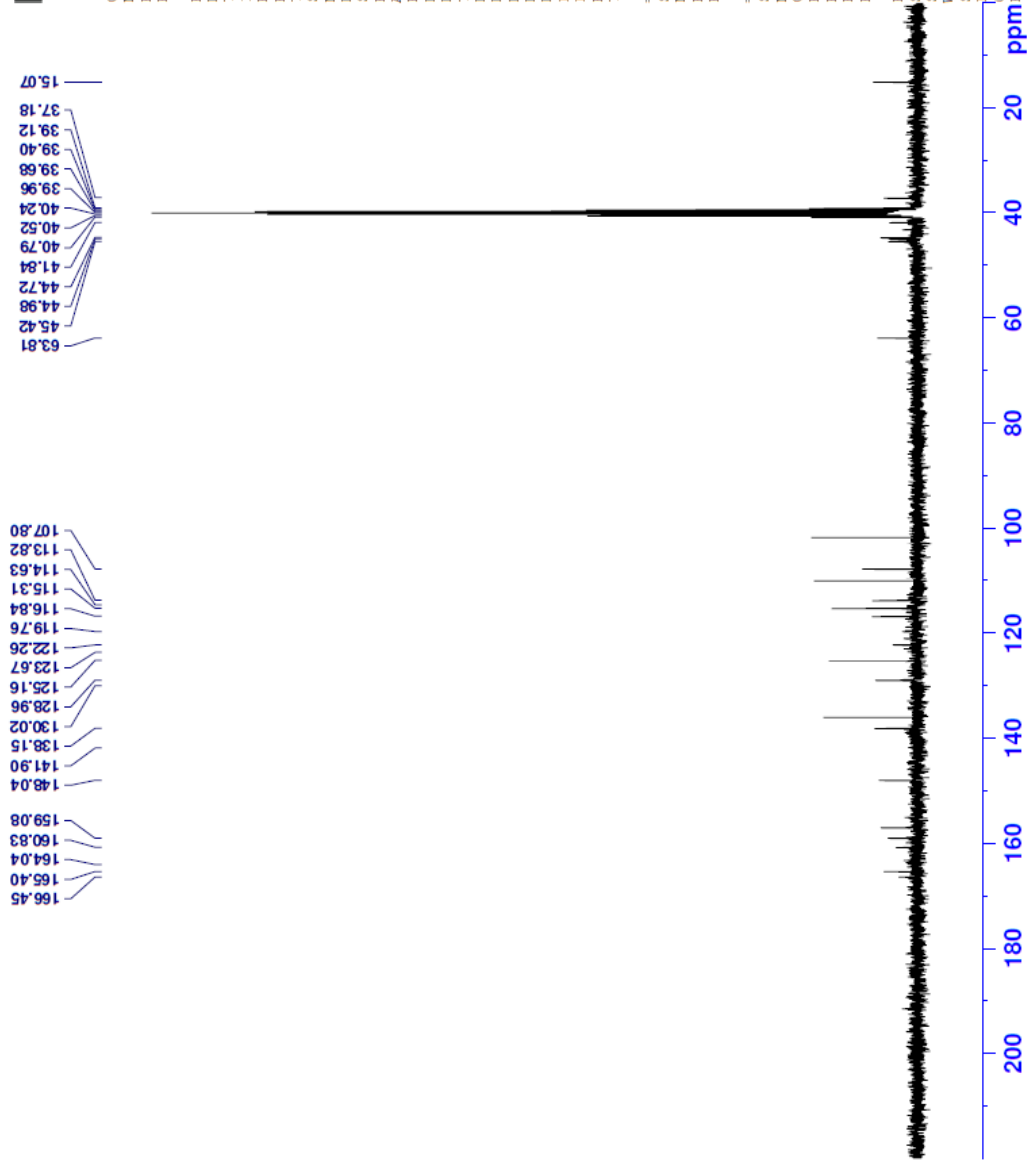
Current Data Parameters
 NAME OP-28A
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20180910
 Time_ 19.45
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zgpg
 ID 32768
 SOLVENT DMSO
 NS 2048
 DS 4
 SWH 24414.063 Hz
 FIDRES 0.745058 Hz
 AQ 0.6710886 sec
 RG 501.187
 DW 20.480 usec
 DE 6.50 usec
 TE 294.0 K
 D1 1.00000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 D31 0.00001500 sec
 D32 0.89999998 sec
 D40 0.00093990 sec
 L4 23
 L5 26
 F2 90.00 usec
 ID0 1

==== CHANNEL f1 =====
 SFO1 75.4878687 MHz
 NUC1 13C
 P1 15.00 usec
 PLW1 15.0000000 W

==== CHANNEL f2 =====
 SFO2 300.1812007 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG2 waltz16
 PCPD2 90.00 usec
 PLW2 10.0000000 W
 PLW12 0.20863999 W
 PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4803210 MHz
 EM
 WDW 0
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



Şekil 5.84. Bileşik 5n'ye ait ¹³CNMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uac\OP-28_11.lcd

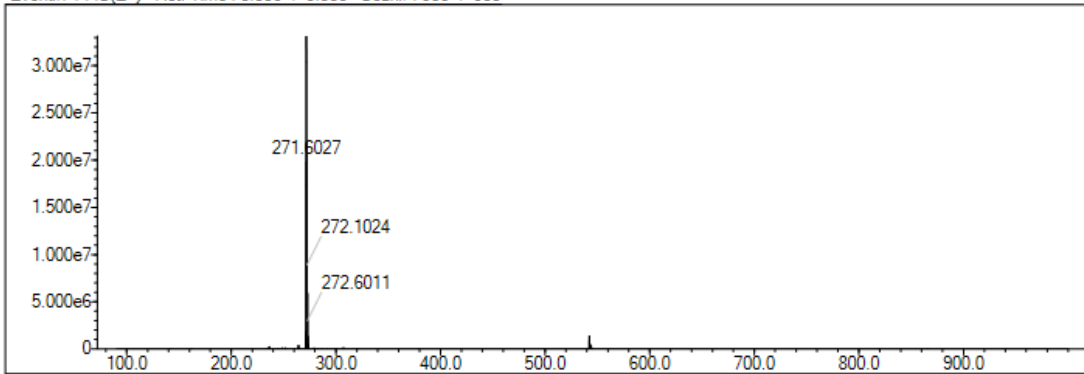
Elmnt	Val.	Min	Max	Elmnt	Val.	Min	Max	Elmnt	Val.	Min	Max	Elmnt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	1	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	1	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

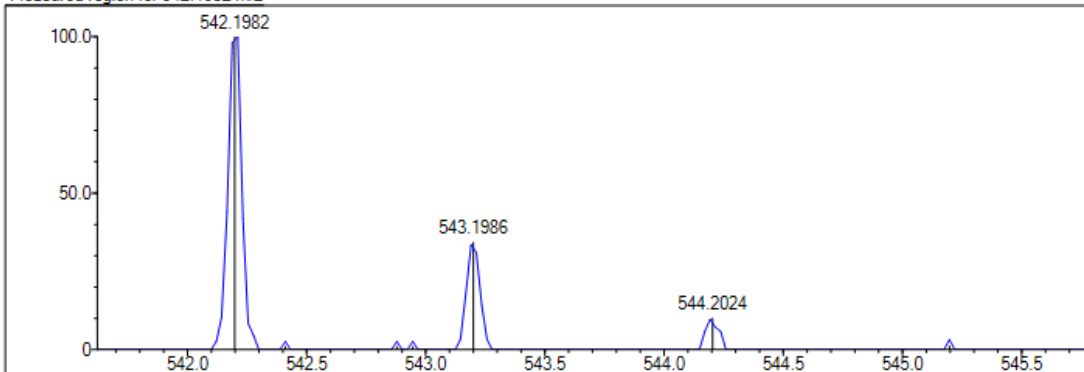
DBE Range: 16.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

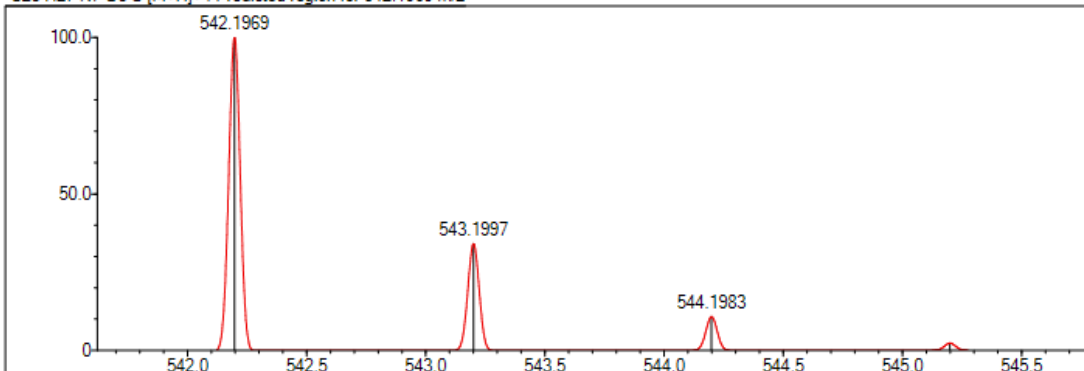
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 3.880 -> 3.880 Scan#: 583 -> 583



Measured region for 542.1982 m/z



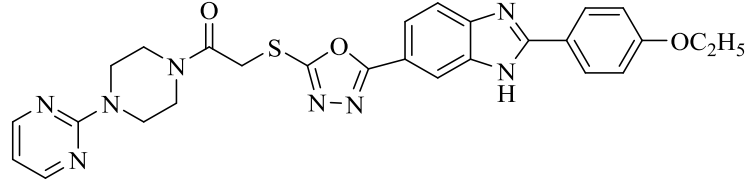
C28 H27 N7 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 542.1969 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	95.38	C28 H27 N7 O3 S	[M+H] ⁺	542.1982	542.1969	1.3	2.40	98.84	19.0

Şekil 5.85. Bileşik 5n'ye ait kütle spektrum

5.1.6.15. 2-((5-(2-(4-Etoksifenil)-1H-benzimidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-(pirimidin-2-il)-piperazin-1-il)-etan-1-on (5o)



Deneysel E.N.: 118.7-120.5 °C. **Verim:** %67.

IR (ATR) vmaks (cm⁻¹): 3334 (N-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 871 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

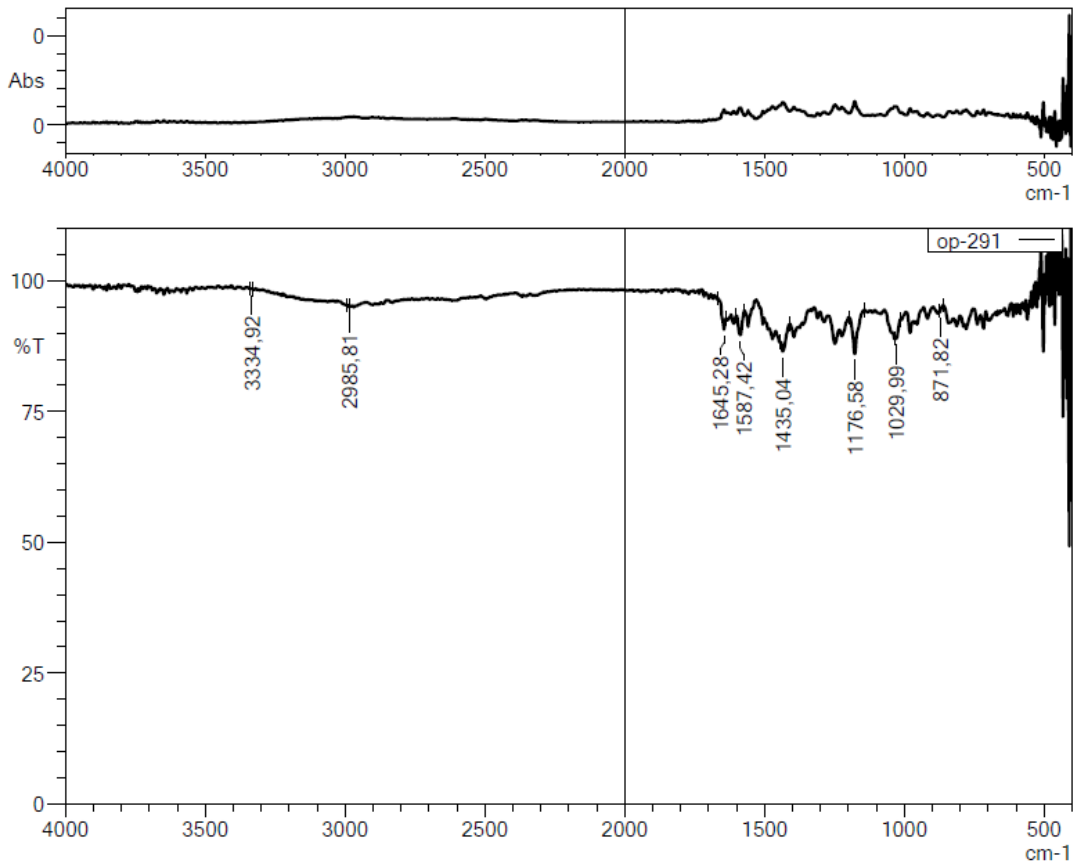
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 1.37 (3H, t, *J*=6.90 Hz, -CH₃), 3.59 (2H, br.s., piperazin), 3.65 (2H, br.s., piperazin), 3.75-3.76 (4H, m, piperazin), 4.11 (2H, q, *J*=6.99 Hz, -CH₂), 4.64 (2H, s, -CH₂), 6.67 (1H, t, *J*=4.77 Hz, pirimidin), 8.09 (2H, d, *J*= 8.73 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.70 (1H, d, *J*=7.70 Hz, benzimidazol-C₄), 7.79 (1H, dd, *J*₁=8.40 Hz, *J*₂=1.59 Hz, benzimidazol-C₅), 7.89 (1H, s, benzimidazol-C₇), 8.15 (2H, d, *J*= 8.73 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 8.40 (2H, d, *J*=4.71 Hz, pirimidin).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 15.08, 37.25, 41.95, 43.41, 43.68, 45.53, 63.76, 110.99, 115.23, 116.27, 119.73, 119.96, 120.37, 122.71, 123.06, 128.72, 128.91, 153.41, 158.48, 160.54, 162.13, 163.06, 165.46, 166.66, 179.63.

HRMS (-*m/z*): [M+H]⁺ : C₂₇H₂₆N₈O₃S için Hesaplanan: 543.1907, Bulunan: 543.1921.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	5.02.2019 12:11:29
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\denyal\OP\op-291.ispd
Spectrum name	op-291
Sample name	OP-29
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.86. Bileşik 50'ya ait IR spektrumu



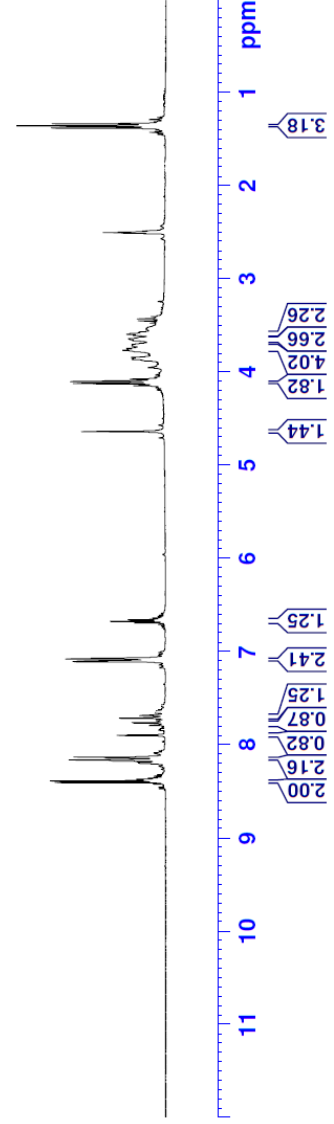
Current Data Parameters
NAME OP-29
EXPNO 4
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20180913
Time_ 18.16
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.3421773 sec
RG 17.6156
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 293.7 K
D1 3.00000000 sec
TDO 1

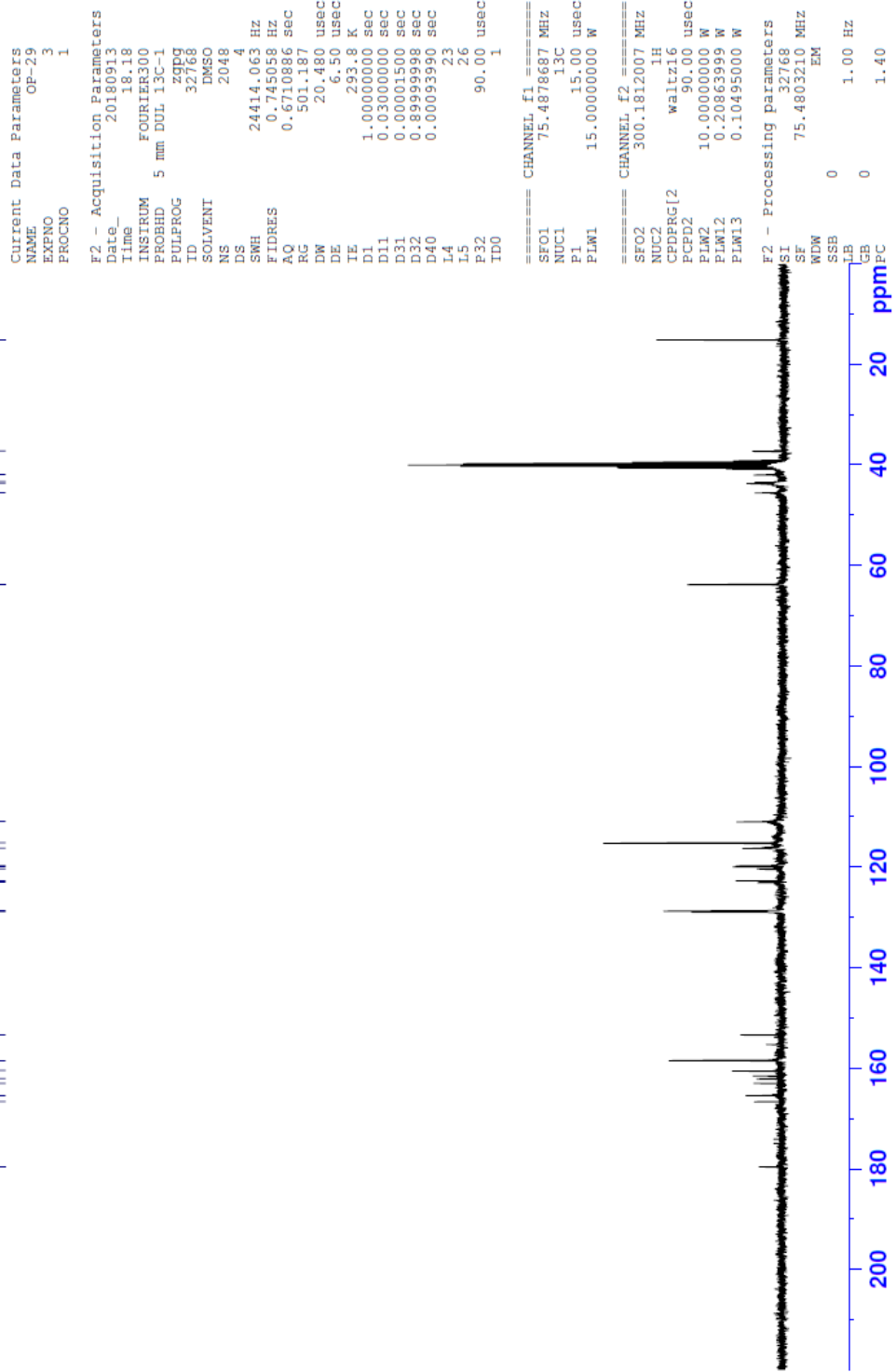
CHANNEL f1
SFO1 300.1818537 MHz
NUC1 1H
PI 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

- 1.3331
- 1.3564
- 1.3794
- 2.4952
- 2.5012
- 2.5072
- 3.5863
- 3.5939
- 3.6426
- 3.6607
- 3.7549
- 3.7647
- 4.0768
- 4.1001
- 4.1234
- 4.1433
- 4.6375
- 6.6587
- 6.6746
- 6.6904
- 7.0772
- 7.1070
- 7.6853
- 7.7139
- 7.7607
- 7.7661
- 7.7888
- 7.7941
- 7.8981
- 8.1363
- 8.1608
- 8.3892
- 8.4049



Şekil 5.87. Bileşik 50'ya ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 5.88. Bileşik 50'ya ait ^{13}C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\luac\OP-29_13.lcd

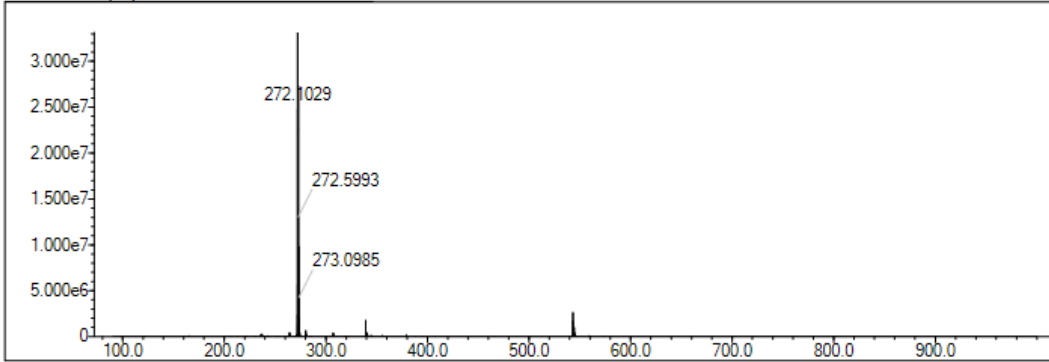
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	20	40	O	2	1	5	S	2	1	1	Ru	2	0	0	H
C	4	15	30	F	1	0	1	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	6	8	P	3	0	0	Br	1	0	1	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

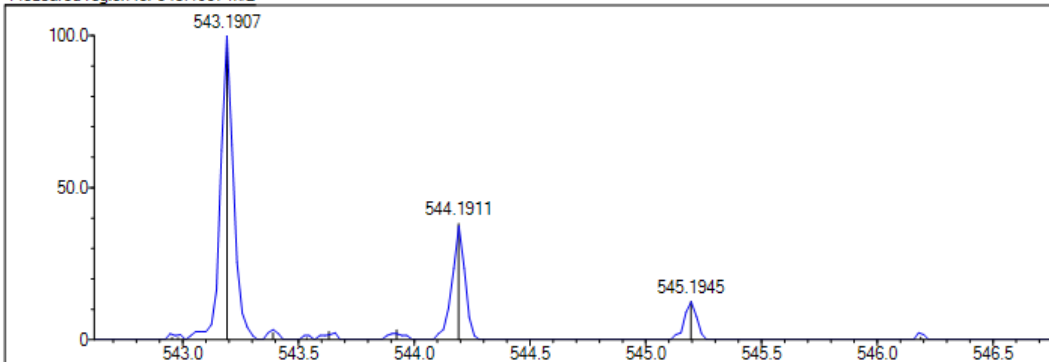
DBE Range: 16.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

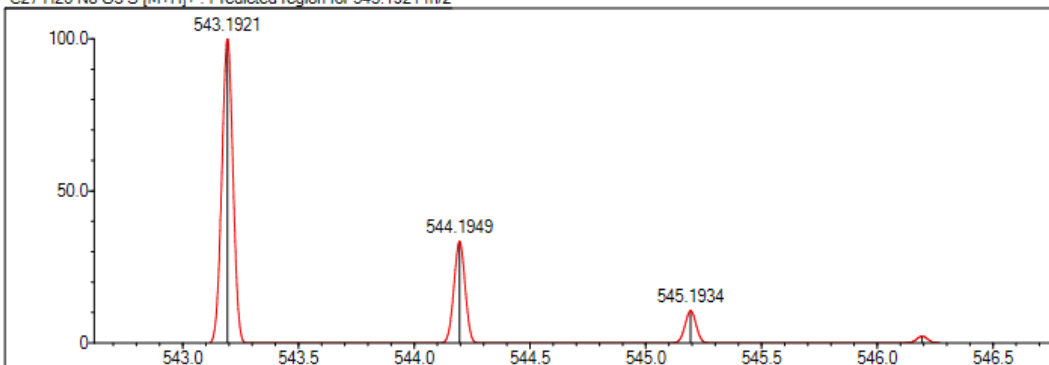
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 5.253 Scan#: 789



Measured region for 543.1907 m/z



C27 H26 N8 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 543.1921 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	79.47	C27 H26 N8 O3 S	[M+H] ⁺	543.1907	543.1921	-1.4	-2.58	82.74	19.0

Şekil 5.89. Bileşik 5o 'ya ait kütle spektrum

5.2. Sentez Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Yürütülen tez kapsamında sentezleri gerçekleştirilen bileşikler, bisbenzimidazol türevi olan ve antikanser etkinliği saptanmış Hoechst 33258 ve Hoechst 33342 bileşiklerinin kimyasal yapısı dikkate alınarak tasarlanmıştır.

Sentez çalışmalarının birinci basamağında 4-süstitüe benzaldehit ile sodyum disülfid, dimetilformamid içerisinde mikrodalga ışınması altında reaksiyona tabi tutulmuş, elde edilen benzaldehit sodyum bisülfid katım ürünü ile 3,4-diamino benzoik asit'in mikro dalga ışınması altında meydana gelen kondenzasyon reaksiyonu sonucunda 2-(4-süstitüefenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-karboksilik asit (**1a-1c**) türevleri elde edilmiştir. Çeşitli 1-süstitüepiperazin türevleri ile kloroasetil klorür arasında gerçekleşen asetilasyon reaksiyonu sonucu 2-kloro-1-(4-süstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on türevleri (**1d-1h**) kazanılmıştır. Karboksilik asit fonksiyonel grubu taşıyan, benzimidazol bileşikleri (**1a-1c**) metanol içerisinde, sülfürik asit katalizörlüğünde esterleşme reaksiyonuna tabi tutulmuş ve metil 2-(4-süstitüefenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-karboksilat (**2a-2c**) türevleri elde edilmiştir. Bir sonraki basamakta **2a-2c** bileşikleri mikrodalga ışınması altında hidrazin hidrat ile muamele edilerek 2-(4-süstitüefenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-karbohidrazit (**3a-3c**) bileşikleri elde edilmiştir. Sentezlenen hidrazit türevlerinin (**3a-3c**) etanol içerisinde, bazik ortamda karbon disülfür ile oksadiazol halkası kapanmasına yönelik reaksiyonu sonucu 2-((4-süstitüefenil)-(6-(5-merkapto-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**4a-4c**) bileşikleri kazanılmıştır. Son reaksiyon basamağı **4a-4c** türevleri ile **1d-1h** bileşikleri arasında gerçekleştirilmiş ve 2-((5-(2-(4-süstitüefenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-süstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on hedef bileşikleri (**5a-5o**) elde edilmiştir.

5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

Sentezi gerçekleştirilen orjinal bileşiklerin yapıları IR, ¹HNMR, ¹³CNMR ve Kütle Spektroskopisi yöntem verileri ile aydınlatılmıştır. Spektrum yapı değerlendirmeleri, ilgili spektroskopik yöntem başlığı altında verilmiştir.

5.3.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapıları incelendiğinde, bütün bileşiklerde ortak olarak karbonil (C=O) fonksiyonel grubunun mevcut olduğu göze çarpmaktadır. Bileşiklere ait IR spektrumlarında bu grup üzerinde yer alan karbonile ait spesifik gerilim

bandı 1627-1653 cm⁻¹ aralığında elde edilmiştir. Yine spektrumlar incelendiğinde benzimidazol gruba ait N-H spesifik gerilim bandı 3311-3628 cm⁻¹ aralığında gözlenmiştir. Spektrumlardan elde edilen her iki gerilim bandına ait değerler literatür verileri ile uyum göstermektedir [140].

Sentez ürünlerinin hepsinde ortak olarak bulunan diğer bir yapı 1,4-disübstitüe benzen halkasıdır. IR spektrumları incelendiğinde bu halkaya ait spesifik düzlem dışı deformasyon bandları 827-871 cm⁻¹ aralığında elde edilmiştir. Spektrumlardan elde edilen gerilim bantları geçmiş çalışmalarda bildirilen veriler ile uyum içerisindedir [141].

5.3.2. NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

5.3.2.1. ¹H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

2-((5-(2-(4-sübstitüefenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-sübstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on (**5a-5o**) türevlerinin kimyasal yapılarında ortak olarak benzimidazol, 1,4-disübstitüebenzen ve piperazin halka sistemleri mevcuttur. Benzimidazolün 2. konumunda yer alan 4-sübstitüefenil halkası üzerinde yer alan protonların pikleri 6.90-8.09 ppm ve 8.06-8.38 ppm aralıklarında olmak üzere iki dublet şeklinde gözlenmiştir. Benzen halkası 1,4-disübstitüe halde iken AA'BB' spin sistemine uyar. Bu durumda halkaya bağlı olan sübstitüentlerin elektron verici veya çekici özelliklerine göre, benzen halkasına ait aromatik protonların 7.27 ppm de singlet olarak verdikleri pikin değeri ve şeklinde değişiklikler olur. Proton etrafındaki yüksek elektron yoğunluğu protonu perdeleyerek daha yüksek alan şiddetinde rezonansa yol açar ve ppm değeri azalır. Proton etrafındaki düşük elektron yoğunluğu ise protonu perdelemeyerek daha düşük alan şiddetinde rezonansa yol açar ve ppm değeri artar. Aromatik halkaya elektron çekici bir grup bağlandığı zaman halkada elektron yoğunluğu azalacağından, halka protonlarının perdelenmesi de azalır ve buna bağlı olarak aromatik halka protonlarının kimyasal kayma değerleri aşağı alana doğru kayar. Benzen halkası 1,4-disübstitüe halde iken, halka üzerindeki sübstitüentlerin, elektronik özelliklerine bağlı olarak spektrumda singlet, iki dublet veya quartet şeklinde pikler gözlenebilir. Genellikle 2 dublet şeklinde gözlenen 1,4-disübstitüe fenil halkası pikleri, sübstitüentlerin elektronik özelliklerinin birbirine çok yakın olması durumunda, quartet ve hatta singlet şeklinde bile elde edilebilir [142, 143].

5a-5e Kodlu bileşiklerde fenil halkasının 4. konumunda bulunan -OH sübstitüenti **5a**, **5c** ve **5e** bileşiklerinde 10.10-10.26 ppm aralığında singlet şeklinde gözlenmiştir. **5b**,

5e Kodlu bileşiklerde -OH süstitüentine ait pik gözlenmemiştir. **5f**, **5g**, **5h**, **5i** ve **5j** Kodlu bileşiklerin fenil halkasının 4. konumundaki -CH₃ grubuna ait protonlar 3.82-3.87 ppm aralığında singlet şeklinde gözlenmiştir. **5k**, **5l**, **5m**, **5n** ve **5o** Kodlu bileşiklerin fenil halkasının 4. konumundaki -OC₂H₅ süstitüentine ait protonlardan -CH₃ protonları 1.35-1.37 ppm aralığında triplet olarak gözlenmiştir. -CH₂ protonları ise **5m**, **5n** ve **5o** kodlu bileşiklerde 4.11-4.13 ppm aralığında quartet şeklinde gözlenirken, **5k** ve **5l** kodlu bileşiklerde 4.10-4.50 ppm aralığında multipler olarak gözlenmiştir.

Bileşiklerin tamamında ortak yapı olarak bulunan benzimidazol halkasının 4. konumunda bulunan proton **5c**, **5i** ve **5n** bileşikleri hariç diğer tüm bileşiklerde 7.64-7.92 ppm aralığında dublet olarak gözlenmiştir. Benzimidazol halkasının 5. konumunda bulunan protona ait pik **5c**, **5k**, **5m** ve **5n** bileşikleri hariç diğer tüm bileşiklerde 7.74-8.03 ppm aralığında dubletin dubleti şeklinde gözlenmiştir. *Orto* konumunda bulunan proton dublet yarılma sağlarken, *meta* konumunda bulunan proton dublet pikin tekrar yarılmasına neden olmuştur. 7. Konumunda bulunan proton ise 7.89-8.22 ppm aralığında singlet şeklinde gözlenmiştir. Benzimidazol halkası pirol azotuna ait protonlar **5c**, **5f**, **5h**, **5i**, **5k**, **5m** ve **5n** kodlu bileşiklerde yayvan ya da singlet şeklinde 10.70-13.50 ppm aralığında gözlenmiştir ve bu değerler literatür verileri ile uyum göstermektedir [144]. Diğer bileşiklerde N-H süstitüentine ait pik gözlenmemiştir.

Bileşiklerin tamamında ortak olarak bulunan diğer grup karbonil komşuluğu konumunda bulunan metilen (-CH₂)'dir. -CH₂ protonlarına ait pikler 4.53-4.65 ppm aralığında singlet şeklinde gözlenmiştir. Spektrumlarından elde edilen pik literatür verileri ile benzerlik göstermektedir [140].

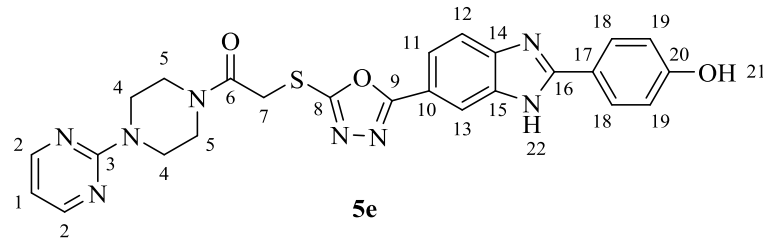
Bileşiklerin tamamında ortak olan diğer bir yapı da 4. konumundan süstitüe olmuş piperazin halkasıdır. Piperazin halkası içinde yer alan metilen (-CH₂) protonlarına ait pikler 2.32-3.90 ppm aralıklarında gözlenmiştir. Piperazin halkasına bağlı metil protonları **5a**, **5f** ve **5k** bileşiklerinde 2.75-2.78 ppm aralıklarında gözlenmiştir. Yine piperazin halkasının 4. konumunda **5b**, **5g** ve **5l** bileşiklerine ait -C₂H₅ protonlarından metil protonları 1.01-1.19 ppm aralığında, -CH₂ protonları ise 2.34-2.78 ppm aralığında gözlenmiştir. Piperazin halkasına bağlı fenil süstitüentinin aromatik protonları **5c**, **5h** ve **5m** bileşiklerinde 6.81-7.69 ppm aralığında, piridin halkasına ait protonlar **5d**, **5l** ve **5n** bileşiklerinde 6.65-8.14 ppm aralığında ve **5e**, **5j**, **5o** bileşiklerinin yapısında bulunan piperazinin 4. konumunda yer alan pirimidin protonları ise 6.67-8.44 ppm aralığında gözlenmiştir.

5.3.2.2. ¹³C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerde ortak yapısal parçacıklar ¹³C-NMR spektrumlarında genel olarak beklendiği gibi pikler vermiştir. Sentezlenen bileşiklerin spektrumlarında, karbon atomlarından elektronik çevrelerine göre özdeş olanlar dikkate alınarak toplam karbon sayısı belirlenmiş ve beklenen sayıda pik gözlenmiştir.

Bileşiklere ait spektrumlarda spesifik fonksiyonel gruplardan karbonil (C=O) 165.61-169.44 ppm aralığında gözlenmiş olup literatür verileri ile uyum içerisindedir [145]. Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapıları incelendiğinde, bütün bileşiklerde ortak olarak bulunan piperazin halkasına ait karbonlar 39.11-55.91 ppm aralığında gözlenmiştir. Yine bütün sentezlenen bileşiklerde ortak olarak bulunan karbonile komşu -CH₂ karbonları 36.75-37.88 ppm aralığında pik vermiştir. **5a**, **5f**, **5k** kodlu bileşiklerde piperazin halkasına bağlı metil (-CH₃) karbonları 42.38-42.47 ppm aralığında gözlenmiştir. **5b**, **5f** kodlu bileşiklerde piperazin halkasına bağlı etil (-C₂H₅) sübstitüentinin metil (CH₃) karbonları 12.32-12.36 ppm aralığında gözlenirken, -CH₂ karbonları 42.23 ppm de gözlenmiştir. **5f**, **5g**, **5h**, **5i** ve **5j** kodlu bileşiklerde ortak olarak bulunan fenil halkasına bağlı -OCH₃ karbonları 55.71-56.00 ppm aralığında pik vermiştir. **5k**, **5l**, **5n** ve **5o** kodlu bileşiklerde fenil halkasına bağlı etoksi (-OC₂H₅) sübstitüentine ait metil karbonları 14.96-15.08 ppm aralığında gözlenirken, -CH₂ karbonları 63.81-64.25 ppm aralığında gözlenmiştir. Bunun dışında kalan aromatik karbonlar ise 107.77-179.63 ppm aralığında pik vermiştir.

5.3.2.3. 2D-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi



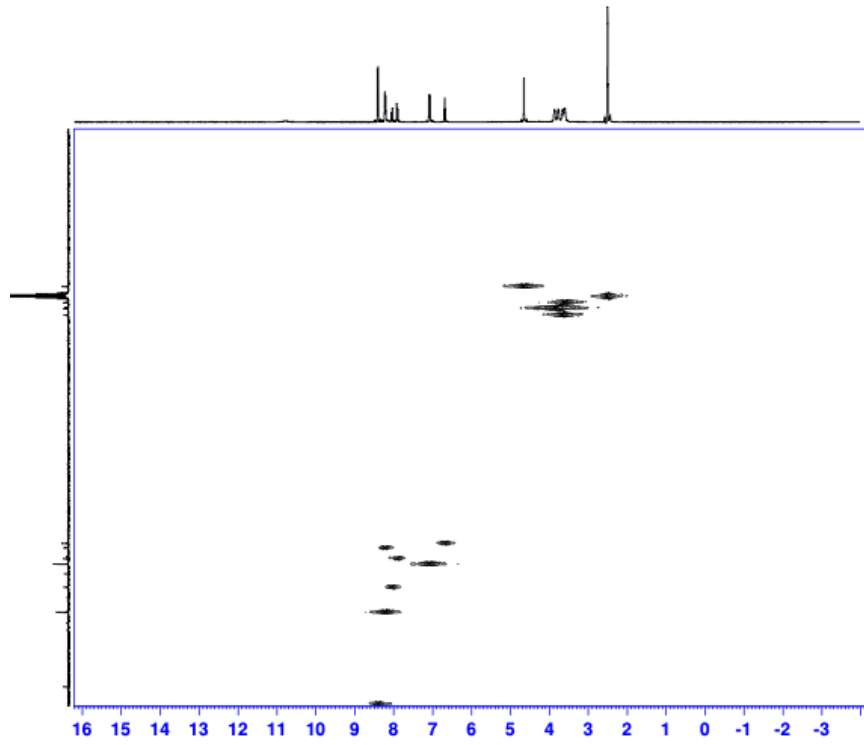
Sentezi gerçekleştirilen bileşikler arasında **5e** kodlu bileşiğin 2 boyutlu ileri NMR çalışmaları (HSQC, HMBC, COSY) gerçekleştirilmiştir. HSQC'den elde edilen karbon hidrojen korelasyonu sayesinde 1, 2, 4, 5, 7, 11, 12, 13, 18, 19 konumlarındaki hidrojen ve karbon değerleri tespit edilmiştir. HSQC verilerini de dikkate alarak HMBC çalışmasında 3, 6, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 17, 20 konumlarındaki karbonlar belirlenmiştir.

COSY çalışması ile de $^1\text{H-NMR}$ 'da bazı bileşiklerde tespit edilemeyen benzimidazole ait N-H piki tespit edilmiştir (**Tablo 5.1.**)

2D analiz sonucunda elde edilen veriler $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ bulgularını desteklemiş ve ilgili bileşiğin farklı konumlarındaki hidrojen ve karbonlara ait piklerin tespiti sonucu bileşiğin yapısı net biçimde aydınlatılmıştır.

Tablo 5.1. 5e Kodlu bileşiğin 2 boyutlu NMR ile tespit edilen hidrojen ve karbon değerleri

Konum	^1H	^{13}C
1	6,68	111,0
2	8,39	158,5
3	-	161,4
4	3,60-3,86	42,0-45,5
5	3,65-3,77	43,4-43,7
6	-	165,4
7	4,62	37,3
8	-	152,3
9	-	165,3
10	-	136,0
11	7,98	123,6
12	7,86	115,4
13	8,15	112,3
14	-	119,7
15	-	134,0
16	-	164,2
17	-	114,8
18	8,22	130,7
19	7,06	116,9
20	-	162,8
21	10,88	-
22	12,69	-



```
Current Data Parameters
NAME      CP-7
EXPNO     1
PROCNO    1

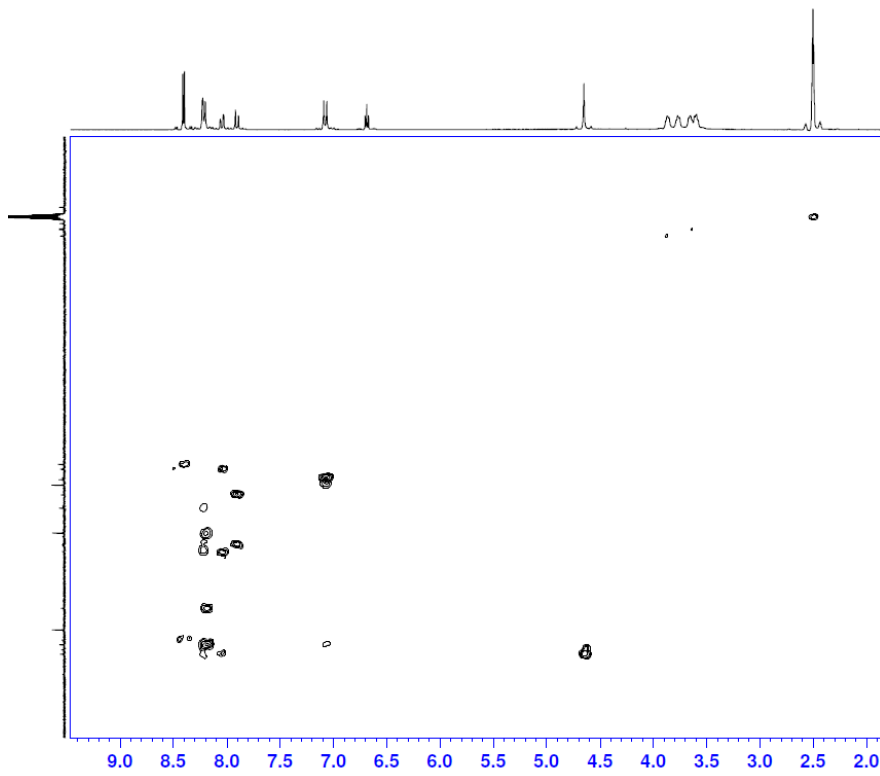
F2 - Acquisition Parameters
Date_     20190402
Time      12.37
INSTRUM   VOXIM300
PROBHD    5 mm QNP 1H-2
PULPROG   hmcgpprogdf
TD        65536
SOLVENT   DMSO
NS         128
DS         16
SWH        6103.516 Hz
FIDRES    2.980332 Hz
AQ         0.147772 sec
RG         501.187
SQ         81.320 usec
DE         5.50 usec
TE         300.0 K
===== CHANNEL f1 =====
NUC1       13C
P1         13.00 usec
PL1        0.00 usec
PL12       10.0000000 W
===== CHANNEL f2 =====
NUC2       1H
PCPRG2     zgpg30
P2         12.00 usec
PL2        0.00 usec
PL12       10.0000000 W
===== CHANNEL f3 =====
NUC3       13C
PCPRG3     zgpg30
P3         15.00 usec
PL3        0.00 usec
PL12       10.0000000 W
===== GRADIENT CHANNEL =====
CPGRAM1[1]  GR1.1
CPGRAM1[2]  GR1.1
CPGRAM1[3]  GR1.1
CP2[1]       50.00 %
CP2[2]       70.00 %
CP2[3]       40.10 %
G1[1]        1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
ID         128
SF01       75.480110 MHz
FIDRES    131.002114 Hz
SW         222.266 ppm
FANODE     QF

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         300.180000 MHz
WDW        SINE
SSB        0
LB         0 Hz
GB         0
PC         1.40

F1 - Processing parameters
SI         1024
SF         75.480110 MHz
WDW        SINE
SSB        0
LB         0 Hz
GB         0
PC         1.40
```

Şekil 5.90. 5e Kodlu bileşiğe ait 2D HSQC spektrumu



```
Current Data Parameters
NAME      CP-7
EXPNO     1
PROCNO    1

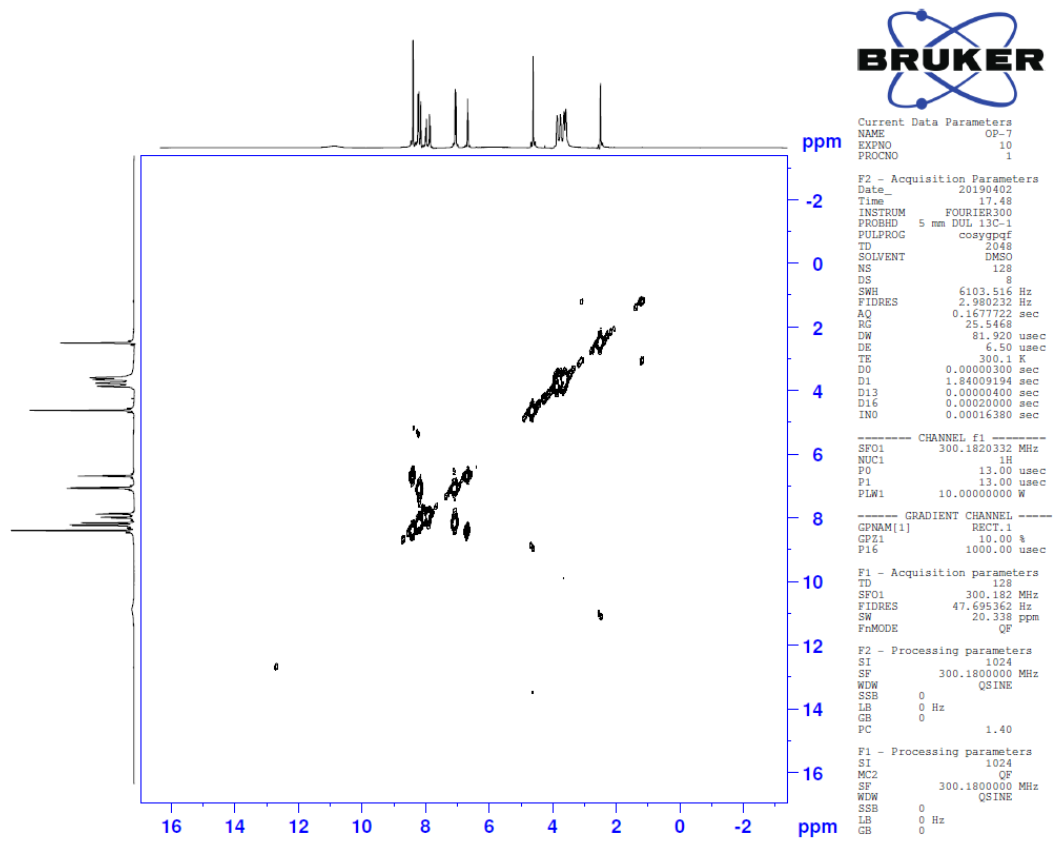
F2 - Acquisition Parameters
Date_     20190402
Time      12.37
INSTRUM   VOXIM300
PROBHD    5 mm QNP 1H-2
PULPROG   hmcgpprogdf
TD        65536
SOLVENT   DMSO
NS         128
DS         16
SWH        6103.516 Hz
FIDRES    2.980332 Hz
AQ         0.147772 sec
RG         501.187
SQ         81.320 usec
DE         5.50 usec
TE         300.0 K
===== CHANNEL f1 =====
NUC1       13C
P1         13.00 usec
PL1        0.00 usec
PL12       10.0000000 W
===== CHANNEL f2 =====
NUC2       1H
PCPRG2     zgpg30
P2         12.00 usec
PL2        0.00 usec
PL12       10.0000000 W
===== CHANNEL f3 =====
NUC3       13C
PCPRG3     zgpg30
P3         15.00 usec
PL3        0.00 usec
PL12       10.0000000 W
===== GRADIENT CHANNEL =====
CPGRAM1[1]  GR1.1
CPGRAM1[2]  GR1.1
CPGRAM1[3]  GR1.1
CP2[1]       50.00 %
CP2[2]       70.00 %
CP2[3]       40.10 %
G1[1]        1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
ID         128
SF01       75.480110 MHz
FIDRES    131.002114 Hz
SW         222.266 ppm
FANODE     QF

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         300.180000 MHz
WDW        SINE
SSB        0
LB         0 Hz
GB         0
PC         1.40

F1 - Processing parameters
SI         1024
SF         75.480110 MHz
WDW        SINE
SSB        0
LB         0 Hz
GB         0
PC         1.40
```

Şekil 5.91. 5e Kodlu bileşiğe ait 2D HMBC spektrumu



Şekil 5.92. 5a Kodlu bileşiğe ait 2D COSY spektrumu

5.3.3. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentez edilen bileşiklerin kütle spektrumları, elektron spray yöntemi kullanılarak pozitif iyonlaştırma tekniği ile çekilmiştir. Kütle spektrumları, gerçekte katyonların ve radikal katyonların molekül ağırlığı değerlerine göre değil, m/e değerlerine karşı bağlı bolluklarının grafiğe alınması sonucu elde edilir. Molekül iyonu ve kaydedilen molekül bölünmeleri +1 yük taşıdıklarından m/e değerleri molekül ağırlığı değerleri ile uyumluluk gösterir [146]. Bu nedenle hesaplanan molekül ağırlıklarından bir fazla sayısal değere sahip piklerin (moleküler iyon pikleri; M+1 pikleri) spektrumlarda gözlenmesi beklenir. Spektrumlar incelendiğinde beklenen şekilde, bileşiklerin molekül ağırlıkları ile elde edilen M+1 piklerinin uyumlu olduğu görülmektedir. 5a Kodlu bileşikte (M+1) / 2 pikinin gözlemlenmesi, bileşiğin +2 iyonlaşmaya uğradığını göstermektedir.

5.4. Antikanser Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi

5.4.1. MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etki sonuçları

Tetrazolium tuzları olan XTT (2,3-bis[2-metoksi-4-nitro-5-sülfenil]-2H-tetrazolum-5-karboksianilit tuzu) ve MTT (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium bromür) canlı hücrelerdeki metabolik aktivitenin ölçülmesinde kullanılmaktadır. Tetrazolium tuzlarını metabolizma ve solunum zinciri intakt hücrelerde mitokondriyal süksinat dehidrogenaz enzimi ile formazana dönüşmektedir. Mitokondriyal süksinat dehidrogenaz sarı renkli tetrazolyum tuzunu elektron kenetli reaktif varlığında çözünür turuncu renkli formazana dönüştürmektedir [147].

Sentezlenen bileşiklerin A549 hücre dizisi üzerinde sitotoksik etkileri değerlendirildiğinde **5n** kodlu bileşiğin IC₅₀ değerinin (7,388 µM) doksorubisininkinden (12,42 µM) daha düşük olduğu, Hoechst 33342'in IC₅₀ değerine (0,42 µM) göre ise daha yüksek olduğu belirlenmiştir. A549 hücre dizisi ile kıyaslandığında **5n** bileşiğinin, NIH3T3 hücre dizisi üzerindeki sitotoksitesisi (IC₅₀ =188,57 µM) daha düşük seviyededir. Kontrol bileşikleri ve **5n** bileşiğinin A549 hücre dizisi için selektiviteleri kıyaslandığında, **5n**, doksorubisin ve Hoechst 33342'in selektivite indeksleri sırasıyla, 25,52, 89,44 ve 17,59 olarak hesaplanmıştır. Buna göre, **5n** kodlu bileşiğin A549 hücrelerine karşı selektivitesi doksorubisine göre daha düşükken, Hoechst 33342 bileşiğine göre daha yüksektir.

Tablo 5.2. Bileşiklerin A549, MCF-7, C6, HepG2, HeLa ve NIH3T3 hücre dizilerine ait IC₅₀ değerleri (μM)

Bileşik	A549	MCF-7	C6	HepG2	HeLa	NIH3T3
5a	43,256±1,785	5,704±0,254	15,614±0,615	5,695±0,283	13,960±0,65	39,105±1,940
5b	≥100	≥100	≥100	≥100	0,698±0,032	944,360±7,625
5c	≥100	≥100	≥100	21,860±0,991	20,285±1,101	44,556±0,221
5d	≥100	9,148±0,391	38,93±1,921	≥100	≥100	720,645±5,032
5e	≥100	7,318±0,352	≥100	≥100	≥100	54,026±2,682
5f	≥100	≥100	≥100	≥100	≥100	-
5g	≥100	≥100	≥100	≥100	≥100	-
5h	≥100	≥100	≥100	≥100	≥100	-
5i	≥100	≥100	≥100	≥100	≥100	-
5j	≥100	≥100	≥100	≥100	≥100	-
5k	22,254±1,054	38,705±1,875	3,204±0,152	≥100	11,167±0,467	74,630±3,631
5l	31,017±1,530	≥100	≥100	≥100	0,224±0,011	113,451±5,472
5m	≥100	≥100	32,167±1,552	≥100	≥100	52,264±2,512
5n	7,388±0,325	≥100	≥100	≥100	0,205±0,010	188,570±8,728
5o	≥100	6,442±0,287	24,951±1,237	59,369±2,589	≥100	44,072±2,104
Doks.	12,420±0,521	10,525±0,472	28,690±1,228	16,482±0,804	14,280±0,704	1110,80±8,254
Hoechst 33342	0,422±0,020	2,404±0,118	1,051±0,307	27,815±1,190	0,306±0,015	7,388±0,269

Sentezlenen bileşiklerin MCF7 hücre dizine karşı IC₅₀ değerleri ile doksorubisin ve Hoechst 33342'in IC₅₀ değerleri karşılaştırıldığında **5a**, **5d**, **5e** ve **5o** kodlu bileşiklerin IC₅₀ değerlerinin doksorubisin'e oranla daha düşük olduğu, Hoechst 33342 göre ise daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bileşiklerin IC₅₀ değerleri **5a** için 5,704 μM, **5d** için 9,148 μM, **5e** için 7,318 μM ve **5o** için 6,442 μM olarak kaydedilirken, referans ilaçların IC₅₀ değerleri doksorubisin için 10,52 μM ve Hoechst 33342 için ise 2,404 μM olarak belirlenmiştir. Ayrıca bütün bileşikler ve referans ilaçların MCF7 hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkileri NIH3T3 hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkilerinden daha yüksektir (**Tablo 5.2**). Bileşiklerin selektivite indeksleri **5a** için 6,86, **5d** için 78,78, **5e** için 7,38,

5o için 6,84, doksorubisin için 105,59 ve Hoechst 33342 için 3,07'dir. Buna göre, bu bileşiklerin doksorubisine göre selektiviteleri daha düşük iken Hoechst 33342 bileşiğine göre daha yüksek düzeydedir.

Bileşiklerin C6 hücre dizisinde belirlenen IC₅₀ değerleri doksorubisin ile karşılaştırıldığında **5a**, **5k** ve **5o** bileşiklerinin doksorubisine göre daha düşük IC₅₀ değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir (**Tablo 5.2**). Bu bileşiklerin IC₅₀ değerlerinin Hoechst 33342 göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin NIH3T3 hücre dizisine karşı sitotoksik etkilerinin, C6 hücre dizisinde tespit edilen IC₅₀ değerlerinden daha yüksek konsantrasyonlarda ortaya çıktığı belirlenmiştir (**Tablo 5.2**). Bileşiklerin selektivite indeksleri **5a** için 2,50, **5k** için 23,29 ve **5o** için 1,77 iken doksorubisin için 38,72 ve Hoechst 33342 için 7,03'dür. Bileşiklerin selektiviteleri doksorubisinden daha düşüktür. Buna rağmen **5a** ve **5o** kodlu bileşikler Hoechst 33342'den daha az selektif iken **5k** bileşiği daha yüksek selektivite göstermiştir.

Bileşiklerin HepG2 hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkileri değerlendirildiğinde, **5a** (5.695 µM) kodlu bileşiğin doksorubisine (16,482 µM) ve Hoechst 33342'ye (27,815 µM) göre daha düşük IC₅₀ değerine sahip olduğu dikkat çekmektedir. Ayrıca, **5a** kodlu bileşiği NIH3T3 hücre dizisine karşı sitotoksik etkisini, HepG2 hücre dizisinde tespit edilen IC₅₀ değerlerinden daha düşük konsantrasyonlarda göstermektedir. **5a** Kodlu bileşiğin selektivite indeksi 6,87 olarak hesaplanırken, doksorubisin selektivite indeksi 67,40, Hoechst 33342 bileşiğinkini ise 0,26'dır. Buna göre, bileşik **5a** doksorubisine göre daha az selektif iken Hoechst 33342'ye göre daha selektiftir.

Bileşiklerin HeLa hücre dizisine karşı sitotoksiteleri ile doksorubisinin sitotoksitesi karşılaştırıldığında **5a**, **5b**, **5k**, **5l**, **5n** bileşiklerinin IC₅₀ değerlerinin doksorubisinin IC₅₀ değerinden düşük olduğu tespit edilmiştir (**Tablo 5.2**). Bu bileşiklerin IC₅₀ değerleri Hoechst 33342'in IC₅₀ değeri ile karşılaştırıldığında **5l** (0, 224 µM) ve **5n** (0,205 µM) kodlu bileşiklerin IC₅₀ değerlerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu bileşikler NIH3T3 hücre dizisi üzerinde HeLa hücre dizisine göre daha düşük düzeyde sitotoksite göstermiştir. Selektivite indeksleri **5a**, **5b**, **5k**, **5l**, **5n**, doksorubisin ve Hoechst 33342 için sırasıyla; 2,80, 1.352,95, 6,68, 506,48, 919,85, 77,79 ve 24,14'dür. Buna göre, **5b**, **5l** ve **5n** bileşiklerinin selektivitelerinin doksorubisin ve Hoechst 33342'den çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

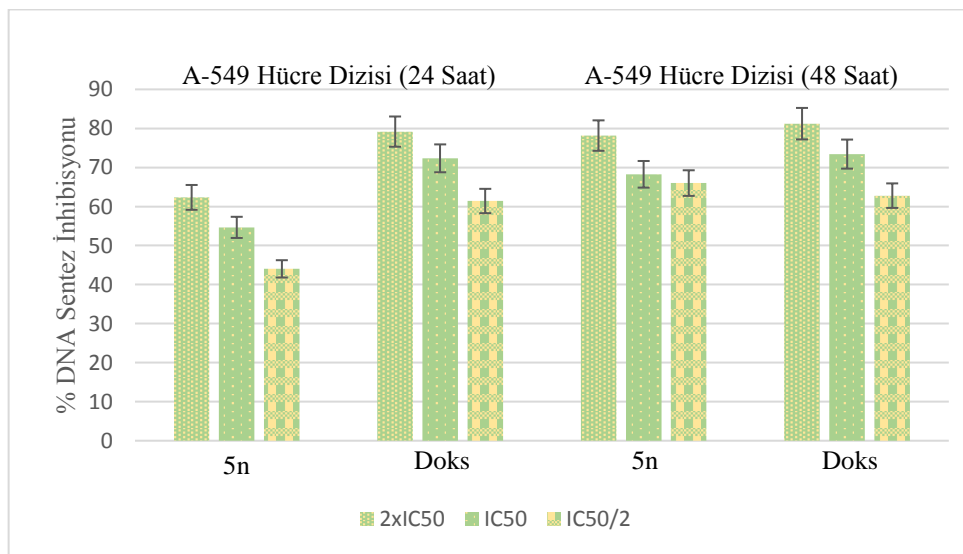
Bileşiklerin A549, MCF-7, C6, HepG2 ve HeLa kanser hücre dizileri ve NIH3T3 sağlıklı hücre hattı üzerindeki etkileri ve selektiviteleri göz önüne alınarak sonraki

deneysel aşamalara geçilmiştir. Buna göre A549 hücresi için **5n**; MCF-7 hücresi için **5a**, **5d**, **5e**, **5o**; C6 hücresi için **5k**; HepG2 hücresi için **5a**; HeLa hücresi için **5b**, **5l** ve **5n** bileşikleri BrdU proliferasyon testi ve Annexin/PI ile apoptoz testi için seçilmiştir.

5.4.2. BrdU proliferasyon yöntemi ile bileşiklerin antiproliferatif etki sonuçları

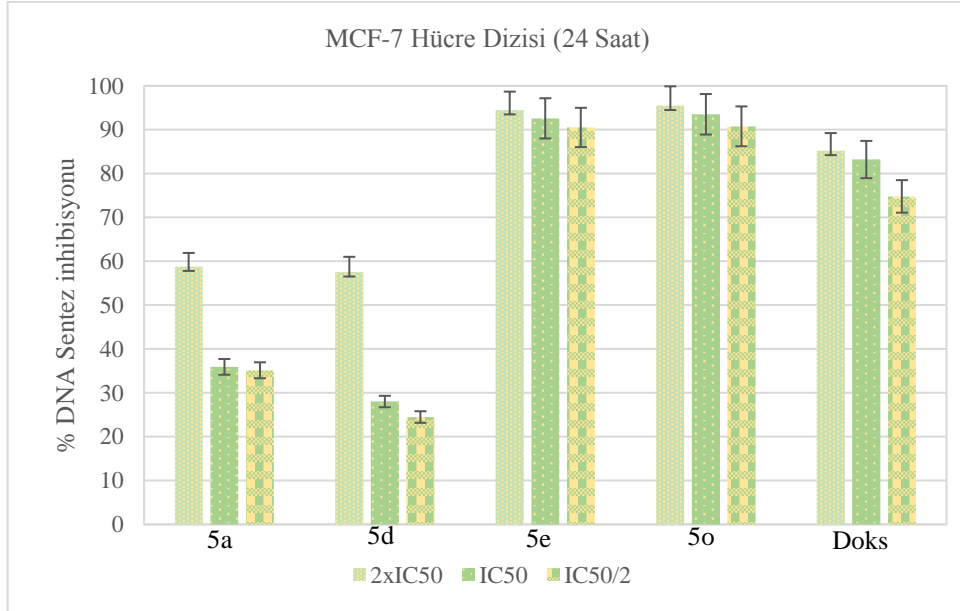
5-Bromo-2'-deoksiüridin (BrdU) replike olan hücrelerin DNA'sına girdiğinde replikasyon esnasında timidinin yerini alarak DNA'nın yapısına katılmakta ve sonrasında kendisi için spesifik monoklonal antikolarla (anti-BrdU antikoru) tespit edilebilmektedir. Hücre içindeki BrdU miktarı çoğalan hücre miktarı ile orantılıdır ve fikse olan hücrelerde direkt ELISA ile hesaplanabilmektedir [148]. MTT sitotoksosite testi ile selektivite indekslerine göre seçilen bileşiklerin ve pozitif kontrol olarak doksorubisin'in A549, HeLa, MCF7, HepG2 ve C6 hücre dizilerinde BrdU testi ile antiproliferatif etkileri belirlenmiştir.

BrdU proliferasyon testi sonuçlarına göre bileşik **5n**'nin A549 hücre dizisinde % DNA sentez inhibisyon değerlerinin zamana ve doza bağlı olarak da arttığı tespit edilmiştir. Ancak bileşiklerin $2xIC_{50}$, IC_{50} ve $IC_{50}/2$ konsantrasyonlarında 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde % DNA sentez inhibisyon değerleri doksorubisin'e oranla daha düşük olarak hesaplanmıştır. (Şekil 5.93'de) A549 hücre dizisinde bileşik **5n** ile doksorubisin'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında %DNA sentez inhibisyon aktivite grafikleri sunulmuştur.

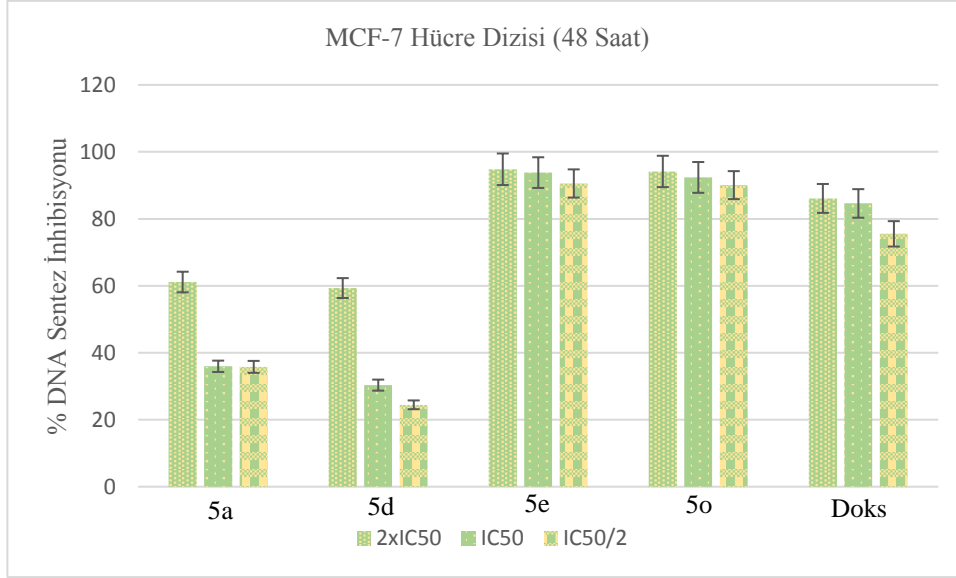


Şekil 5.93. A549 hücre dizisinde bileşik **5n** ile doksorubisin'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri

MCF7 hücre dizisinde BrdU proliferasyon testi sonuçlarına göre **5a**, **5d**, **5e** ve **5o** bileşikleri ile doksorubisin'in antiproliferatif etkinliklerinin doza bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ayrıca, **5e** ve **5o** kodlu bileşiklerin $2xIC_{50}$, IC_{50} ve $IC_{50}/2$ konsantrasyonlarında, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde % DNA sentez inhibisyon değerlerinin doksorubisin'e oranla daha yüksek olduğu, **5a** ve **5d** bileşiklerine ait değerlerin ise daha düşük olduğu hesaplanmıştır. (Şekil 5.94. ve Şekil 5.95'de) MCF7 hücre dizisinde bileşikler **5a**, **5d**, **5e** ve **5o** ile doksorubisin'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktivite grafikleri sunulmuştur.

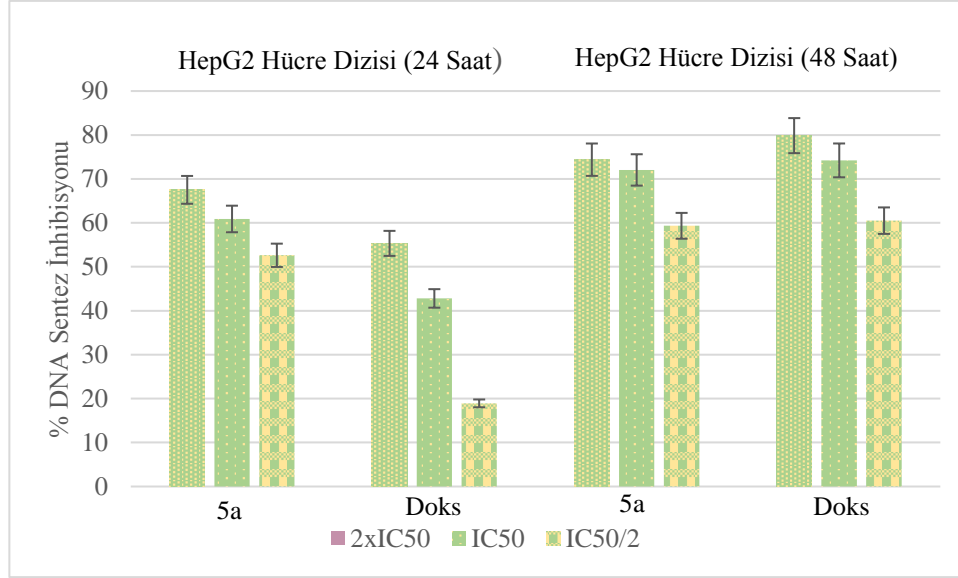


Şekil 5.94. MCF-7 hücre dizisinde bileşik **5a**, **5d**, **5e**, **5o** ve doksorubisin'in 24 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri



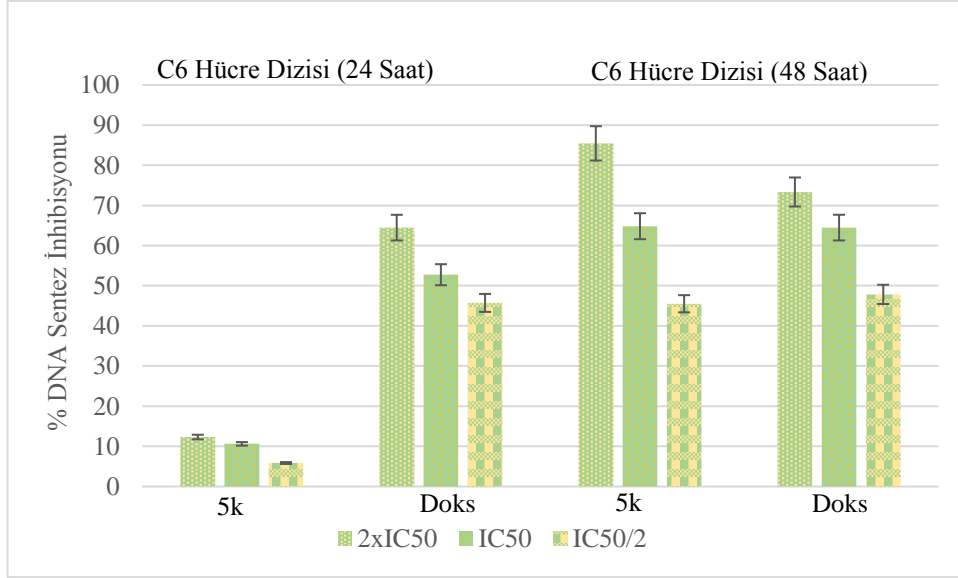
Şekil 5.95. MCF-7 hücre dizisinde bileşik **5a**, **5d**, **5e**, **5o** ve doksorubisin'in 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri

BrdU proliferasyon testi sonuçlarına göre HepG2 hücre dizisinde bileşik **5a** ile doksorubisin'in antiproliferatif etkinliklerinin doza ve zamana bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Bileşik **5a**'nın 2xIC₅₀, IC₅₀ ve IC₅₀/2 konsantrasyonlarında 24 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon değerleri doksorubisin'e oranla daha yüksek olarak hesaplanmıştır. Ancak 48 saatlik inkübasyon sonrasında % DNA sentez inhibisyon değerleri doksorubisin'e çok yakın değerlerde hesaplanmıştır. (Şekil 5.96'da) HepG2 hücre dizisinde bileşik **5a** ile doksorubisin'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktivite grafikleri sunulmuştur.



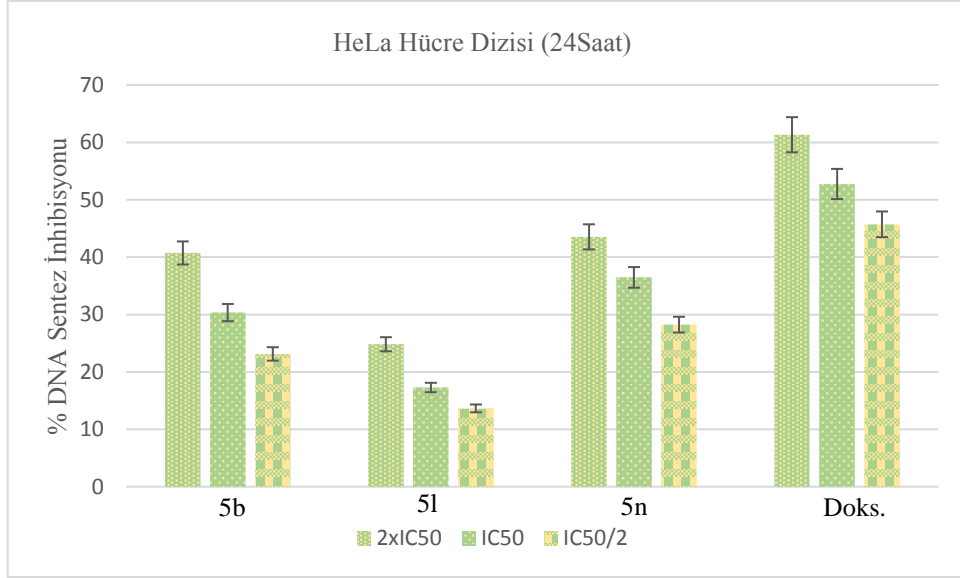
Şekil 5.96. HepG2 hücre dizisinde bileşik 5a ile doksorubisin'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri

C6 hücre dizisinde BrdU proliferasyon testi sonuçlarına göre bileşik **5k** ile doksorubisin'in antiproliferatif etkinliklerinin doza bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ayrıca bileşik **5k** ve doksorubisin'in bu hücre dizisinde % DNA sentez inhibisyon değerlerinin zamana bağlı olarak da arttığı tespit edilmiştir. Bileşik **5k**'nın 2xIC₅₀, IC₅₀ ve IC₅₀/2 konsantrasyonlarında 24 saatlik inkübasyon süresinde % DNA sentez inhibisyon değerleri doksorubisin'e oranla daha düşük olarak hesaplanmıştır. Bileşik **5k**'nın 2xIC₅₀ konsantrasyonunda 48 saatlik inkübasyon süresinde % DNA sentez inhibisyon değeri doksorubisin'e oranla daha yüksek olarak tespit edilmiş, IC₅₀ ve IC₅₀/2 konsantrasyonlarında ise çok yakın değerlerde hesaplanmıştır. (Şekil 5.97' de) C6 hücre dizisinde bileşik **5k** ile doksorubisin'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktivite grafikleri sunulmuştur.

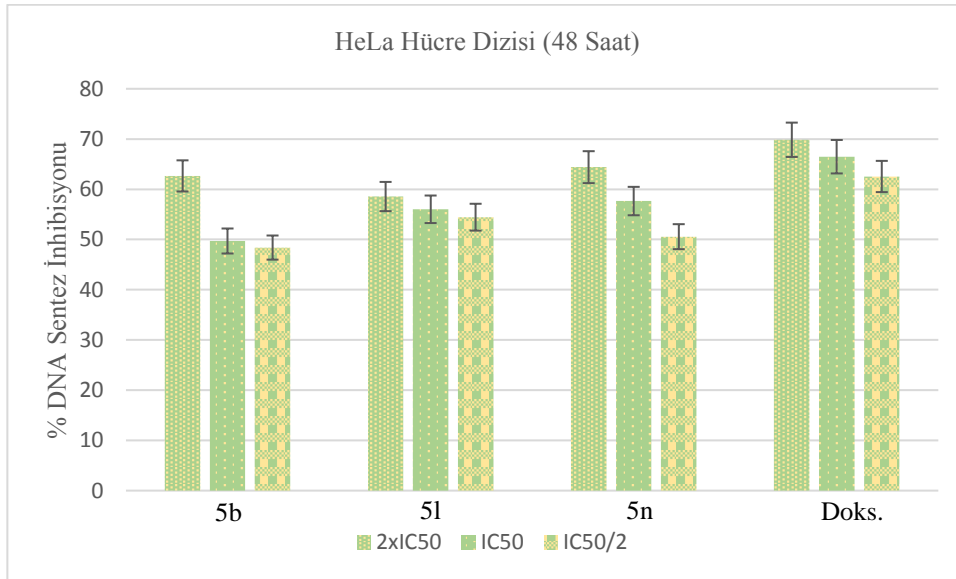


Şekil 5.97. C6 hücre dizisinde bileşik 5k ile doksorubisin'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri

HeLa hücre dizisinde BrdU proliferasyon testi sonuçlarına göre bileşikler **5b**, **5l**, **5n** ile doksorubisin'in antiproliferatif etkinliklerinin doza bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ancak bileşiklerin 2xIC₅₀, IC₅₀ ve IC₅₀/2 konsantrasyonlarında 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde % DNA sentez inhibisyon değerleri doksorubisin'e oranla daha düşük olarak hesaplanmıştır. HeLa hücre dizisinde bileşikler **5b**, **5l**, **5n** ile doksorubisin'in 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktivite grafikleri sunulmuştur (**Şekil 5.98** ve **Şekil 5.99**'da).



Şekil 5.98. HeLa hücre dizisinde bileşikler **5b**, **5l**, **5n** ve doksorubisin ile 24 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri



Şekil 5.99. HeLa hücre dizisinde bileşikler **5b**, **5l**, **5n** ve doksorubisin ile 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında % DNA sentez inhibisyon aktiviteleri

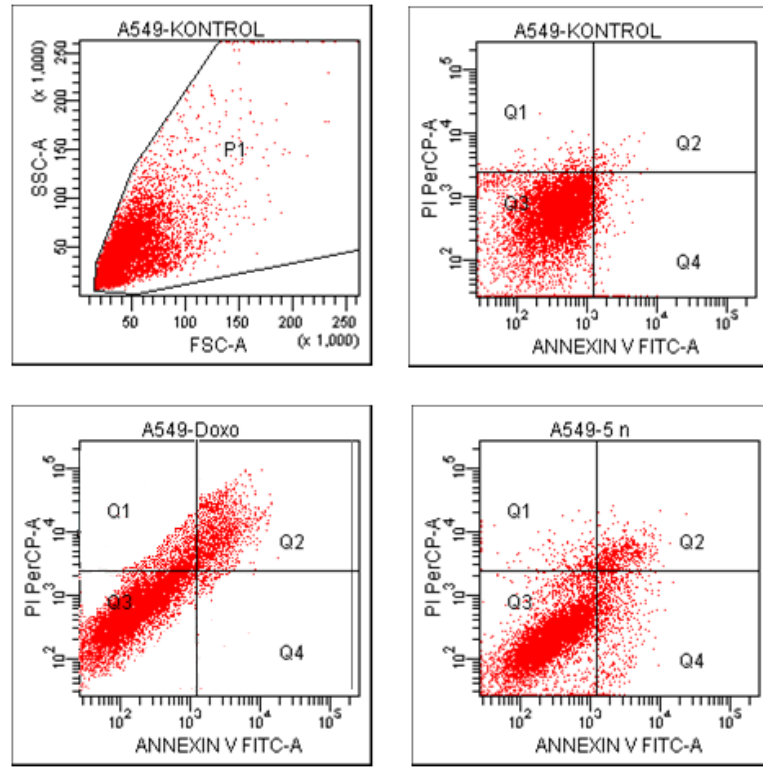
5.4.3. Anneksin V/PI yöntemi ile bileşiklerin apoptotik etki sonuçları

Hücre apoptoz uyarısı alırsa hücre zarının sitoplazmik yüzeyindeki bulunan fosfatidilserin hücre zarının dış lipid tabakasına geçmektedir. Bu yer değiştirme apoptozun erken döneminde gerçekleşmektedir. Anneksin V fosfatidilserine bağlanabilen bir protein olduğu için, bu protein floresan bir madde ile (FITC) işaretlenerek apoptotik

hücre görünür hale getirilmektedir. Bu bağlanma oranı da akış sitometri cihazı ile ölçülebilmektedir. Nekrotik hücrelerde de anneksin bağlanması görülebileceği için ayrıca vital bir boya olan propidiyum iyodür (PI) boyaması da yapılmaktadır. Canlı hücrelerin zarları sağlam olduğu için PI boyası ile boyanmamaktadır. Canlı hücreler FITC Anneksin V (-) / PI (-), erken apoptotik hücreler FITC Anneksin V (+) / PI (-) ve geç apoptotik veya nekrotik hücreler FITC (+) / PI (+) olarak ayırt edilmektedir [146]. MTT sitotoksitesite testi ile selektif antikanser etkinlikleri tespit edilen bileşiklerin ve pozitif kontrollerin Anneksin V/PI yöntemi ile apoptotik etkileri belirlenmiştir. Üst sol kadran nekrotik (Q1; Anneksin V-negatif/PI-pozitif); üst sağ kadran geç apoptotik hücreler (Q2; Anneksin V-pozitif/PI-pozitif); alt sol kadran canlı hücreler Q3; Anneksin V-negatif/PI-negatif) ve alt sağ kadran erken apoptotik hücreleri (Q4; Anneksin V-pozitif/PI-negatif) göstermektedir.

A549 hücre dizisinde Anneksin/PI analizi bileşiklerin IC₅₀ konsantrasyonları ile 24 saatlik inkübasyon süresi sonrasında gerçekleştirildi (**5n** için IC₅₀ değeri 7,388 µM; doksorubisin için IC₅₀ değeri 12,420 µM). Test edilen bileşiklerin % Q1, Q2, Q3 ve Q4 değerleri: Kontrol için 1,8, 0,7, 94,1 ve 3,4; doksorubisin için 4,1, 17,0, 58,7 ve 2,2; **5n** için 2,4, 5,7, 76,7 ve 7,3'tür.

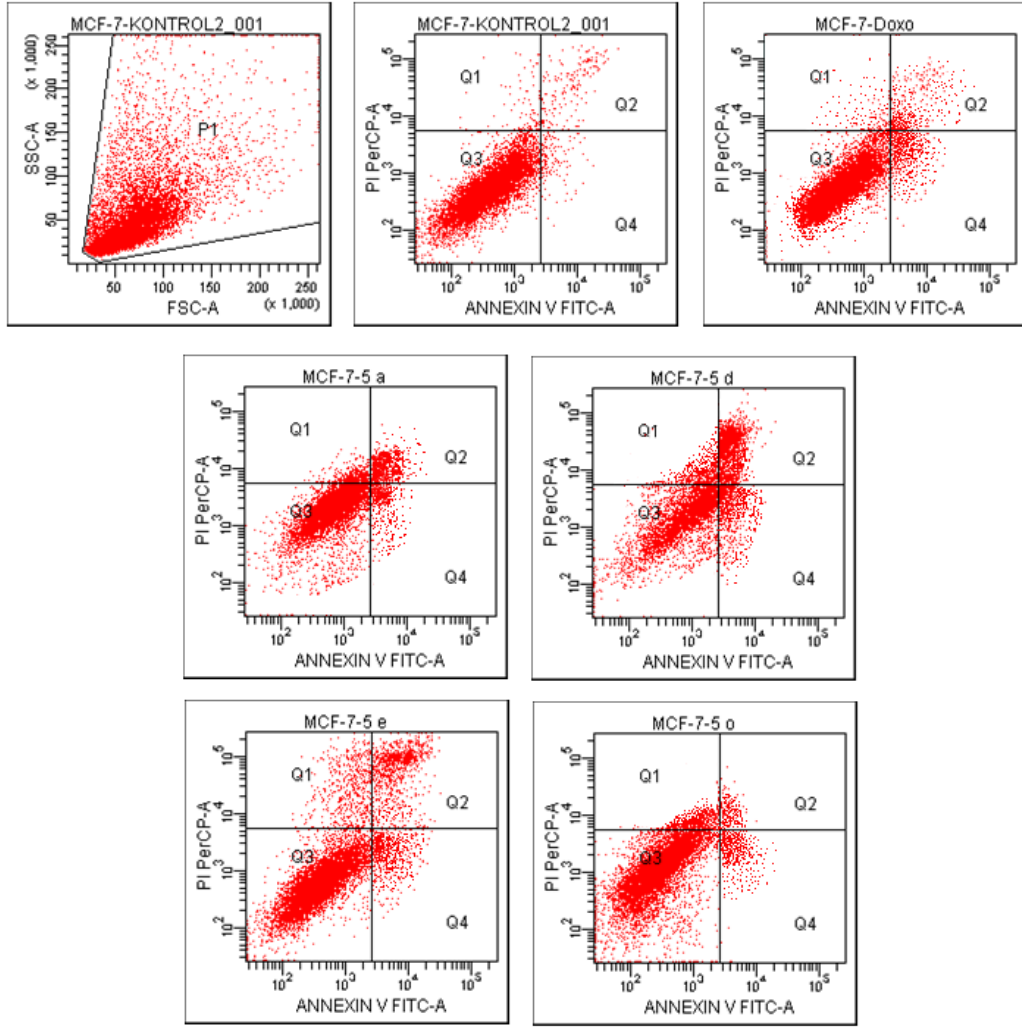
A549 hücre dizisinde **5n** kodlu bileşik ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı (**Şekil 5.100**'de) sunulmuştur. Buna göre IC₅₀ konsantrasyonlarında apoptotik hücre yüzdesi doksorubisin için % 19.2, **5n** için % 13 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.100. A549 hücre dizisinde bileşik **5n** ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı

MCF-7 hücre dizisinde Anneksin/PI analizi bileşiklerin IC_{50} konsantrasyonları ile 24 saatlik inkübasyon süresi sonrasında gerçekleştirildi (**5a** için IC_{50} değeri $5,704 \mu M$; **5d** için $9,148 \mu M$; **5e** için $7,318 \mu M$; **5o** için $6,442 \mu M$; doksorubisin için IC_{50} değeri $10,525 \mu M$). Test edilen bileşiklerin %Q1, Q2, Q3 ve Q4 değerleri: Kontrol için 1,9, 5,8, 90,6 ve 1,7; doksorubisin için 1,2, 7,4, 86,1 ve 5,3; **5a** için 5,2, 7,3, 79,4 ve 8,1; **5d** için 26,9, 16,6, 50,8 ve 5,7; **5e** için 5,8, 9,9, 81,1 ve 3,2; **5o** için 7,8, 4,5, 83,5 ve 4,2'dir.

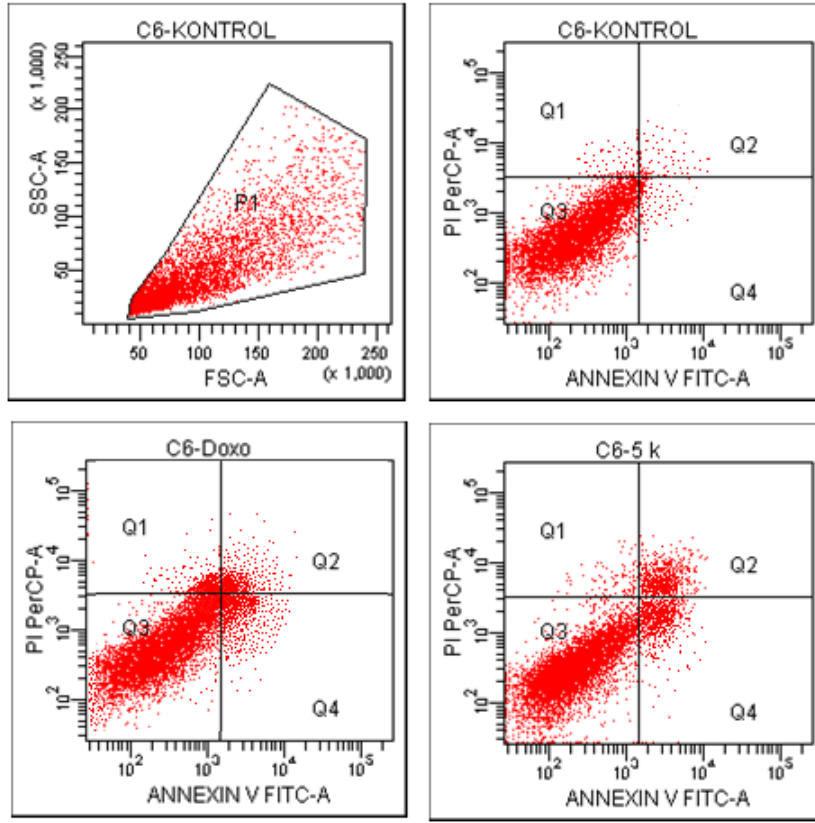
MCF-7 hücre dizisinde bileşikler **5a**, **5d**, **5e** ve **5o** ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı (Şekil 5.101'de) sunulmuştur. Buna göre IC_{50} konsantrasyonlarında apoptotik hücre yüzdesi doksorubisin için %12,7, **5a** için %15,4, **5d** için %22,3, **5e** için %13,1 ve **5o** için %8,7 olarak hesaplanmıştır. Dolayısıyla IC_{50} konsantrasyonlarında ve 24 saatlik inkübasyon süresinde bileşikler **5a**, **5d** ve **5e**'nin MCF-7 hücre dizisinde doksorubisin'e oranla daha fazla apoptotik hücre ölümünü indüklediği söylenebilir.



Şekil 5.101. MCF-7 hücre dizisinde bileşik 5a, 5d, 5e, 5o ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı

C6 hücre dizisinde Annexin/PI analizi bileşiklerin IC₅₀ konsantrasyonları ile 24 saatlik inkübasyon süresi sonrasında gerçekleştirildi (**5k** için IC₅₀ değeri 3,204 µM; doksorubisin için IC₅₀ değeri 28,690 µM). Test edilen bileşiklerin %Q1, Q2, Q3 ve Q4 değerleri: Kontrol için 1,2, 1,8, 94,3 ve 2,7; doksorubisin için 2,4, 7,2, 83,9 ve 6,5; **5k** için 1,7, 6,8, 86,0 ve 5,5'dir.

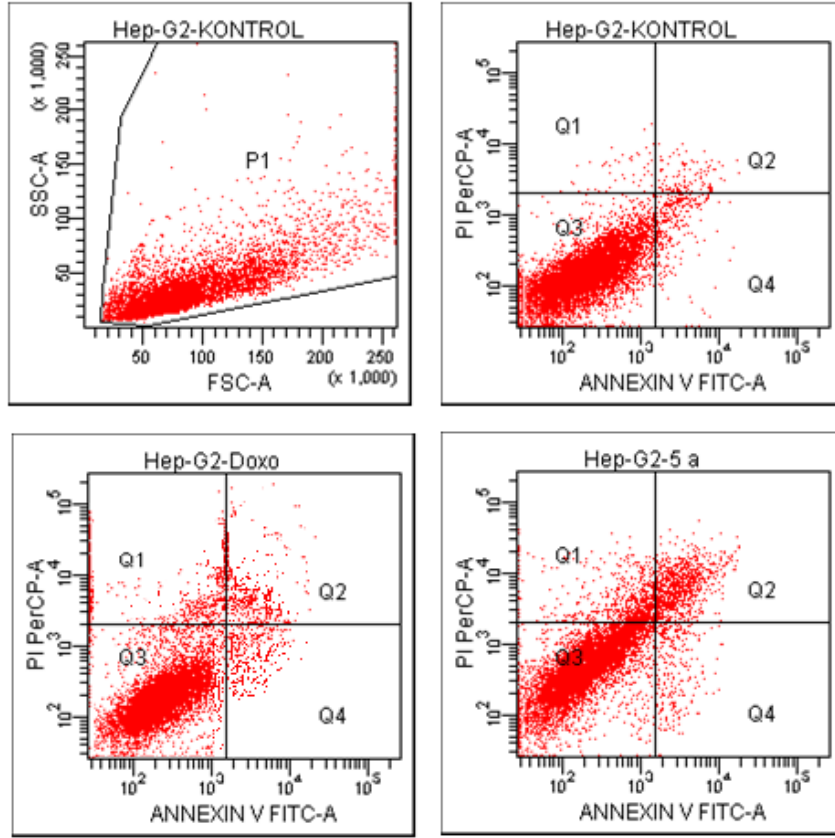
C6 hücre dizisinde bileşik **5k** ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı (Şekil 5.102'de) sunulmuştur. Buna göre IC₅₀ konsantrasyonlarında apoptotik hücre yüzdesi doksorubisin için %13,7 ve **5k** için %12,3 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.102. C6 hücre dizisinde bileşik 5k ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı

HepG2 hücre dizisinde Anneksin/PI analizi bileşiklerin IC₅₀ konsantrasyonları ile 24 saatlik inkübasyon süresi sonrasında gerçekleştirilmiştir (**5a** için IC₅₀ değeri 5,695 µM; doksorubisin için IC₅₀ değeri 16,482 µM). Test edilen bileşiklerin %Q1, Q2, Q3 ve Q4 değerleri: Kontrol için 0,5, 1,1, 95,2 ve 3,1; doksorubisin için 3,7, 4,8, 86,9 ve 4,6; **5a** için 8,8, 10,1, 78,0 ve 3,1'dir.

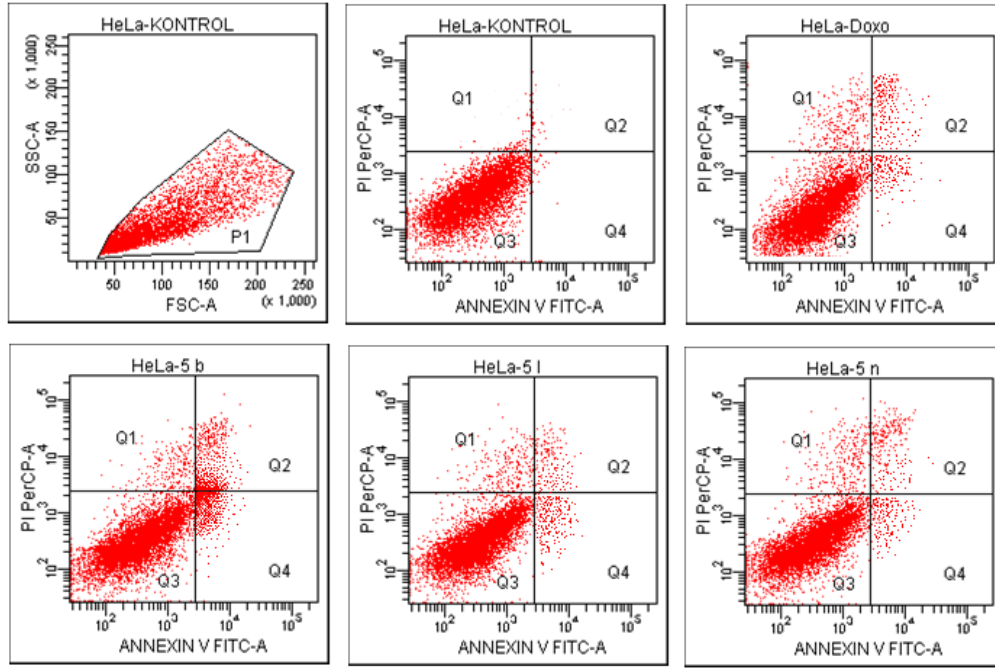
HepG2 hücre dizisinde bileşik **5a** ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı (Şekil 5.103'de) sunulmuştur. Buna göre IC₅₀ konsantrasyonlarında apoptotik hücre yüzdesi doksorubisin için %9,4 ve **5a** için %13,2 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak IC₅₀ konsantrasyonlarında ve 24 saatlik inkübasyon süresinde bileşik **5a**'nın HepG2 hücre dizisinde doksorubisin'e oranla apoptotik hücre ölümünü daha fazla indüklediği gözlenmektedir.



Şekil 5.103. HepG2 hücre dizisinde bileşik 5a ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı

HeLa hücre dizisinde Anneksin/PI analizi bileşiklerin IC_{50} konsantrasyonları ile 24 saatlik inkübasyon süresi sonrasında gerçekleştirilmiştir (**5b** için IC_{50} değeri $0,698 \mu M$; **5l** için $0,224 \mu M$; **5n** için $0,205 \mu M$; doksorubisin için IC_{50} değeri $14,280 \mu M$). Test edilen bileşiklerin %Q1, Q2, Q3 ve Q4 değerleri: Kontrol için 1,3, 1,1, 96,8 ve 0,8; doksorubisin için 4,2, 7,5, 80,9 ve 7,4; 5b için 5,6, 10,8, 77,0 ve 6,6; 5l için 6,4, 7,3, 85,0 ve 1,3; 5n için 7,6, 12,8, 77,2 ve 2,4'tür.

Doksorubisin ve **5b**, **5l**, **5n** bileşiklerinin HeLa hücre dizisi üzerindeki akış sitometrik analiz diyagramı (Şekil 5.104'de) sunulmuştur. Buna göre IC_{50} konsantrasyonlarında apoptotik hücre yüzdesi doksorubisin için %14,9, **5b** için %17,4, **5l** için % 8,6, **5n** için %15,2 olarak hesaplanmıştır. Bu bulgu IC_{50} konsantrasyonlarında ve 24 saatlik inkübasyon süresinde **5b** ve **5n** bileşiklerinin doksorubisin'e oranla apoptotik hücre ölümünü daha fazla indüklediğine işaret etmektedir.

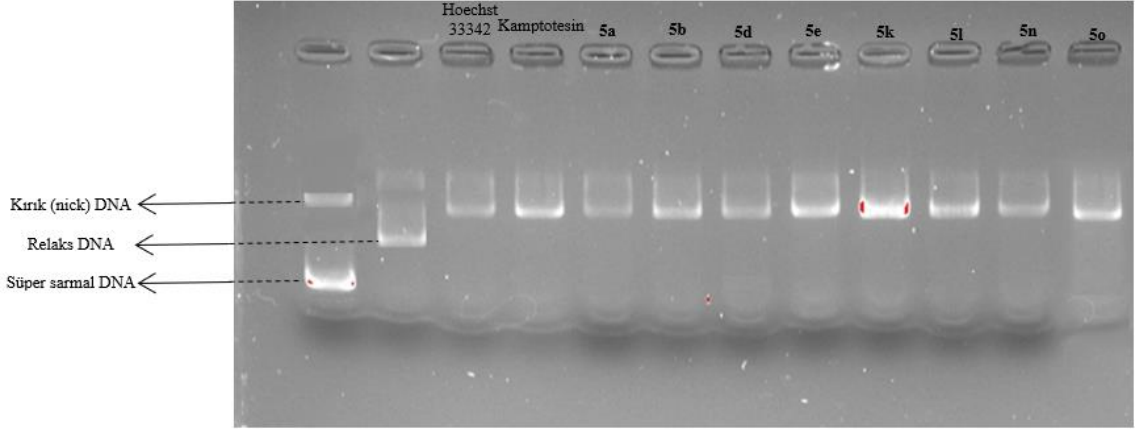


Şekil 5.104. HeLa hücre dizisinde bileşik **5b**, **5l**, **5n** ile doksorubisin'e ait akış sitometrik analiz diyagramı

5.5. DNA Topoizomeraz I İnhibitör Etkileri

Hoechst 33258 ve Hoechst 33342 bileşiklerinin yapıları göz önüne alınarak sentezlenen yeni 2-((5-(2-(4-sübstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-sübstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on (**5a-5o**) türevlerinin antikanser etkinlikleri MTT yöntemi ile belirlenerek IC₅₀ değerleri hesaplanmış ve aktivite açısından ön plana çıkan **5a**, **5b**, **5d**, **5e**, **5k**, **5l**, **5n** ve **5o** türevlerinin DNA Topoizomeraz I inhibitör etkileri değerlendirilmiştir.

Bileşiklerin Topoizomeraz I etkilerini araştırmak için Topogen'in Topoizomeraz I İlaç Tarama Kiti (TopoGEN Topoisomerase I Drug Screening Kit) kullanılmıştır. Bu kit ile Topo I aktivitesini inhibe eden bileşiklerin katalitik inhibitör olarak mı yoksa topoizomeraz zehri olarak mı etki ettiği tespit edilmektedir.



Şekil 5.105. Bileşikler **5a**, **5b**, **5d**, **5e**, **5k**, **5l**, **5n**, **5o** ile Hoechst 33342 ve kamptotesinin *Topoizomeraz I* üzerindeki inhibe edici etkisinin elektroforez yöntemiyle görüntülenmesi

Bileşikler **5a**, **5b**, **5d**, **5e**, **5k**, **5l**, **5n**, **5o** ile Hoechst 33342 ve kamptotesinin *in vitro* ortamda *Topoizomeraz I* inhibisyon aktiviteleri değerlendirilmiş ve reaksiyon ürünlerinin analizi elektroforez yöntemiyle görüntülenmiştir (**Şekil 5.105**). Kontrol grubu olarak süper sarmal halde bulunan plazmid DNA'sı (pHOT 1) kullanılmıştır. Diğer bir kontrol grubu olarak da plazmid DNA'sı ve *Topoizomeraz I* kullanılarak DNA'nın relaks hale dönüşmesi sağlanmıştır. Pozitif kontrol olarak da *topoizomeraz zehri* olarak bilinen Hoechst 33342 ve kamptotesin kullanılmıştır.

Hoechst 33342 ile kamptotesin'in jel görüntülerine bakıldığında kırılmış (nick) DNA bandının kontrole göre kalınlaştığı ve ortamda süper sarmal DNA'ya ait band olmadığı gözlenmektedir. Kullanılan kontrollerin, topo I enziminin oluşturduğu tek zincirli DNA kırıklarının tekrar birleşmesini engelleyerek tek zincirli DNA kırıklarının (nick) artmasına neden olmakta ve *topoizomeraz zehri* olarak güçlü inhibisyon etki göstermekte olduğu bulunmuştur. Şekilde, referans ilaçlar ile sentez bileşiklerinin oldukça benzer görüntülere sahip olduğu görülmekte olup süper-sarmal DNA yapısına ait bir yapı görülmemektedir. Bu da bileşiklerimizin *topoizomeraz zehri* olarak güçlü inhibisyon etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Eğer bileşikler enzimin katalitik aktivitesini inhibe etmiş olsalardı, DNA relaks hale dönüşemeyip jel görüntüsünde süper kıvrımlı formda band gözlenirdi. Eğer bileşiklerin topo I üzerinde hiçbir aktivitesi olmasaydı topo I enzimi DNA'yı relaks hale getirirdi ve jel görüntüsünde relaks formda band gözlenirdi.

5.6. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi

5.6.1. İnsan DNA Topoizomeraz I Enziminin Yapısı

Ökaryotik topoizomeraz I (tip 1B) enzimlerinin çoğu benzer diziler içermekte ve dört ana domainden oluşmaktadır. İnsan DNA topoizomeraz I enziminde bu yapılar sırasıyla; N-terminal domaini, çekirdek (kor) domaini, bağlayıcı (linker) domain ve C-terminal domainidir.

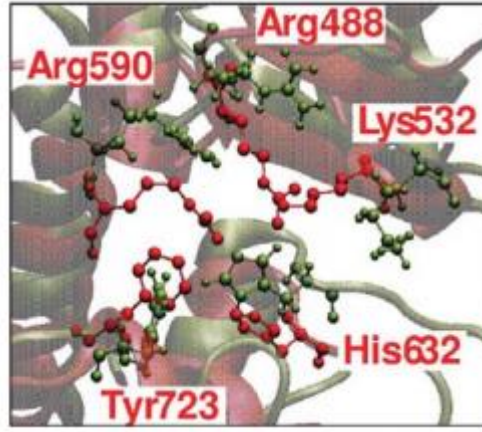
N-terminal domaini (1-214 amino asit arası); zayıf olarak korunmuş, yüksek oranda yüklüdür. Çok düşük oranda hidrofobik amino asit içerir ve büyük oranda düzensizdir. Bu bölge beş nükleer lokalizasyon dizisi ve hedefleyici sinyaller içerir.

Çekirdek (Kor) domaini (215-635 amino asit arası); yüksek oranda korunmuş ve DNA'ya bağlanması için gereklidir. Birçok katalitik dizi içerir.

Bağlayıcı (linker) domain (636-712 amino asit arası); 77 aminoasitten oluşan bu domain düşük oranda korunmuştur, proteaz duyarlı ve enzimin katalitik aktivitesi için zorunlu değildir. Enzimin DNA'ya bağlanma afinitesini artırdığı bilinmektedir.

C-terminal domain (713-765 amino asit arası); yüksek oranda korunmuştur ve DNA'nın relaks forma dönüşmesi için mutlak gerekli olan aktif 723. amino asit tirozin (tyr723) rezidüsünü içerir. Bu tirozin amino asidi, DNA'nın 3'ucu ile enzim arasında kovalent bir bağ oluşturur. Bu da zincir geçişine izin veren tek zincirli DNA kırıklarının (nick) oluşumunu sağlar.

Bu domainlerden ikisinin birbirlerine bağlanması enzimatik aktiviteyi düzenlerken kor ve C-terminal domainler *in vitroda* DNA replikasyonu için gerekli minimal gereksinimi göstermektedir. Bu iki domain; ökaryotik Tip IB grubu enzimleri arasında iyi korunmuş beş aktif bölge (Tyr 723, Arg 590, Arg 488, Lys 532 ve His/Asn 632) aminoasit rezidüsünü içerir [149,150].



Şekil 5.106. *İnsan topoizomeraz I yapısında yer alan aktif 5 amino asit ve yerinin gösterilmesi*

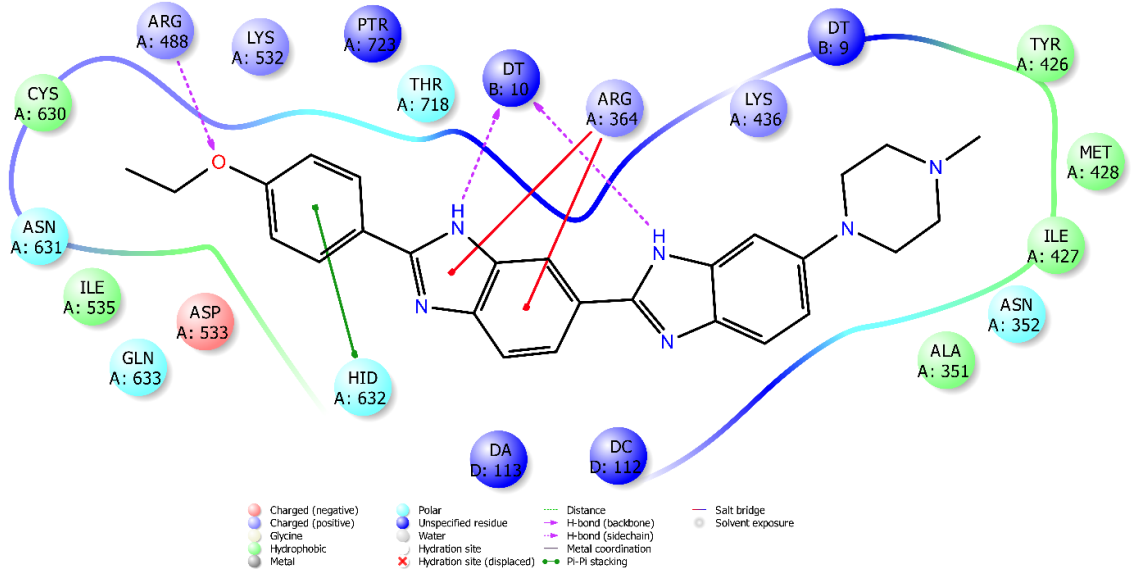
Modelleme çalışmaları esnasında güncel literatür bilgileri incelenmiş ve Topoizomeraz I enzim aktivite çalışmalarında kullandığımız enzim yapısına uygun kristal yapının Homo sapiens sınıfı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca içerisinde kamptotesin ligandının yer alması ve insan vücudundan elde edilerek yapısı aydınlatılmış olması sebebiyle de bu tip kristal yapısı tercih edilmiştir.

Aktivitesi yüksek bulunan bileşiklerin olası etkileşimlerini belirlemek için DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksine ait yüksek çözünürlüğe sahip kristal yapısı (PDB Kodu: 1T8I) [136,151-154] üzerinde docking çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda Glide 7.1 [139] programı ile gerçekleştirilen docking tekniği uygulanmış ve GlideScore SP ile en olası pozlar üretilmiştir.

Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşikler arasında antikanser etkinliği olan ve topoizomeraz I enzim aktivitesi gösteren bileşiklerin (**5d**, **5e**, **5n** ve **5o**) moleküler docking çalışmalarıyla bağlanma noktalarının analizini gerçekleştirmeden önce Hoechst 33342 molekülü ilgili kristal yapısı ile docking çalışmasına alınmış ve etkileşimleri incelenerek protokol doğrulaması yapılmıştır.

Hoechst 33342'in DNA-Topoizomeraz I enzim kompleks aktif bölgesiyle iki boyutlu etkileşimi Şekil 5.107'de verilmiştir. Yapıda yer alan etoksi grubundaki oksijen atomu Arg488 amino asidinin amino grubuyla hidrojen bağı oluşturmuştur. Etoksi grubunun bağlı olduğu fenil halkası Hid632'nin imidazol halkasıyla π - π etkileşimi kurmuştur. Fenil halkasına komşu olan benzimidazol halkasının hem polar hem apolar etkileşimler açısından oldukça önemli olduğu görülmüştür. Benzimidazol halkasının

benzen ve imidazol yapıları Arg364'ün amino grubuyla ayrı ayrı katyon- π etkileşimi oluşturmuştur. Hoechst 33342'in yapısında art arda gelen benzimidazol halkalarının aynı konumda yer alan azot atomlarının her biri DNA-Topoizomeraz enzim kompleksinin D zincirinde yer alan timinin (DT10) karbonili ile hidrojen bağı kurmuştur. Ayrıca Hoechst 33342'in elde edilen bu etkileşim analizlerinin literatür verileriyle benzer ve uyumlu olduğu tespit edilmiştir [155].



Şekil 5.107. Hoechst 33342'in DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle iki boyutlu etkileşimi

Sentezi yapılan bileşikler arasında yüksek aktivite gösteren **5d**, **5e**, **5n** ve **5o** kodlu bileşiklerin docking pozları **Şekil 5.108-5.123**'de verilmiştir. Bu bileşiklerin docking pozları incelendiğinde ilgili tüm bileşiklerin hem enzim aktif bölgesindeki amino asitlerle hem de kompleks kristalinde yer alan DNA'nın belli bölgeleriyle etkileşim içinde olduğu ve böylelikle DNA zincirinde kırıklara sebep olarak hasar oluşturdukları, topoizomeraz enziminin DNA'ya bağlanmasında önleyici etki yaptıkları görülmüştür (**Şekil 5.108-5.109**, **Şekil 5.112-5.113**, **Şekil 5.116-5.117**, **Şekil 5.120-5.121**). Ayrıca, bileşiklerin kimyasal yapılarına bakıldığında benzimidazol, oksadiazol, süstitüe fenil, piridin ve pirimidin yapılarının benzer etkileşimler gösterdiği görülmüştür.

Benzimidazol halka sistemi polar ve apolar etkileşimler yönünden dikkat çekmiştir. **5d** Kodlu bileşikte benzimidazolün benzen ve imidazol halkaları Lys532'nin amino grubuyla katyon- π etkileşimi oluşturmuştur. Benzer şekilde π - π etkileşimleri **5e**, **5n** ve

5o kodlu bileşiklerde ise benzimidazolün benzen ve imidazol halkalarında ayrı ayrı olarak DNA zincirindeki adeninin (DA113) pürin halkası arasında gözlenmiştir. Ayrıca yine bu bileşiklerde (**5e**, **5n** ve **5o**) benzimidazolün benzeni Arg364 ile π - π etkileşimi oluşturmuştur. Polar etkileşimler açısından benzimidazol halkasındaki azot atomunun önemli olduğu tespit edilmiştir. **5d** Kodlu bileşikte yapıdaki azot atomu Thr718'in hidroksili ile hidrojen bağı oluştururken **5e** ve **5o** kodlu bileşiklerde aynı hidrojen bağı kurulumu Arg364'ün amino grubuyla görülmüştür (**Şekil 5.109**, **Şekil 5.113**, **Şekil 5.117**, **Şekil 5.121**).

Moleküler modelleme çalışmalarına dahil edilen bileşiklerden **5d**, **5e**, **5n** ve **5o** kodlu bileşiklerin yapısında yer alan oksadiazol halkasının DNA-Topoizomeraz I enzim kompleks aktif bölgesine bağlanmada katkı sağladığı görülmüştür (**Şekil 5.109**, **Şekil 5.113**, **Şekil 5.117**, **Şekil 5.121**). Oksadiazol halkası **5d** kodlu bileşikte DNA'da adeninin (DA113) pürin halkası ile, **5n** ve **5o** kodlu bileşiklerde ise sitozinin (DC112) pirimidini ile π - π etkileşimi oluşturmuştur. **5o** Kodlu bileşikte benzer şekilde gözlenen bu π - π etkileşimlerine ek olarak oksadiazol ile Lys425'in amino grubu arasında katyon- π etkileşimi tespit edilmiştir. Ayrıca **5e** kodlu bileşikte oksadiazolün azot atomu ile Lys425'in amino grubu arasında hidrojen bağı gözlenmiştir.

Docking çalışmaları yapılan bileşiklerin (**5d**, **5e**, **5n** ve **5o**) kimyasal yapılarında yer alan karbonil grubunun özellikle DNA zincirine bağlanmada önemli ve etkili olduğu tespit edilmiştir (**Şekil 5.109**, **Şekil 5.113**, **Şekil 5.117**, **Şekil 5.121**). **5d**, **5n** ve **5o** Kodlu bileşiklerde karbonil grubu DNA'nın adeninin (DA113) pürin halkasındaki amino grubuyla, bileşik **5e**'de ise yine adeninin (DA114) pürin halkasındaki amino grubuyla hidrojen bağı kurmuştur.

5d, **5e**, **5n**, **5o** Kodlu bileşiklerin kimyasal yapıları incelendiğinde **5d** ve **5e**'nin **5n** ve **5o**'dan en genel anlamda yapısal farklılığının para-hidroksifenil ve para-etoksifenil halkalarını içeriyor oldukları görülmektedir. Bileşikler **5d** ve **5e**'de yer alan para konumundaki hidroksil grubu **5d**' de Asn631'in karbonili ile hidrojen bağı oluştururken **5e**'de ise Thr718'in hidroksili ile aynı hidrojen bağını oluşturmuştur. Ayrıca gözlenen bu hidrojen bağlarına ek olarak bileşik **5d**'nin para-hidroksifenil halkası ile Hid632'nin imidazolü arasında π - π etkileşimi görülmüştür (**Şekil 5.109** ve **Şekil 5.113**).

Bileşikler **5n** ve **5o**'da yer alan para konumundaki etoksi grubunun oksijen atomu her iki bileşikte de Thr718'in hidroksili ile hidrojen bağı oluşturmuştur. **5n** Kodlu

bileşikte para-etoksifenil ile Lys532'nin amino grubu arasında ilave bir katyon- π etkileşimi görülmüştür (**Şekil 5.117** ve **Şekil 5.121**).

Moleküler docking çalışmaları yürütülen bileşiklerin kimyasal yapılarında piperazin halkasına komşu piridin ve pirimidin halkalarının yer aldığı görülmektedir. Bu bileşikler arasında **5d** ve **5n** kodlu bileşiklerde piridin halkası yer alırken **5e** ve **5o** kodlu bileşiklerde ise pirimidin halkası bulunmaktadır. Seri içerisinde yer alan diğer bileşiklerden farklı olarak piperazin halkasının 4. konumunda yer alan bu piridin ve pirimidin gibi halka sistemlerinin DNA-Topoizomerez I enzim kompleks aktif bölgesine bağlanmada oldukça etkili olduğu yapılan docking çalışmaları neticesinde tespit edilmiştir. Bu söz konusu halka sistemlerinde yer alan azot atomlarının ilgili yöreye bağlanmada oldukça etkili ve önemli olduğu görülmüştür.

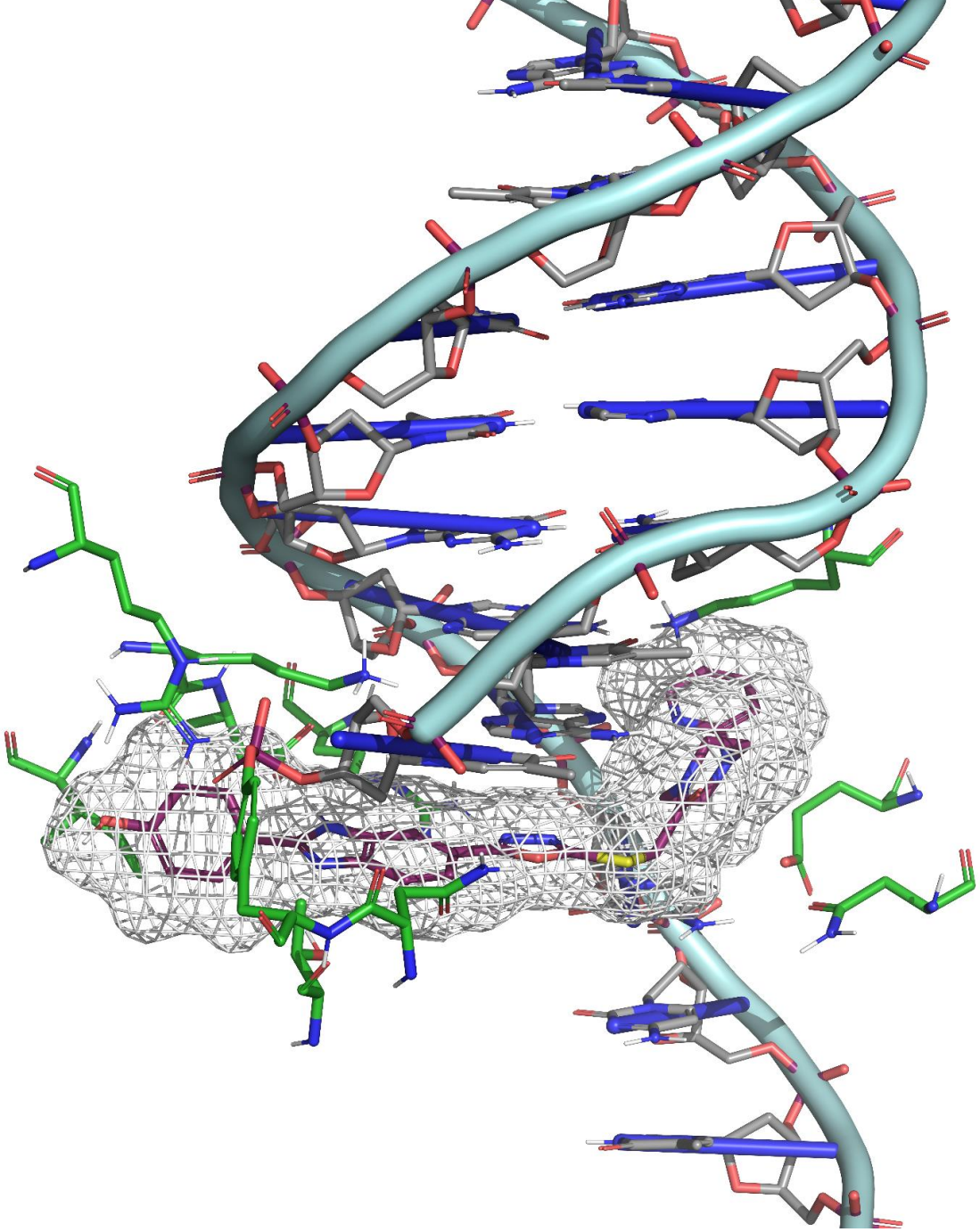
Bilindiği üzere bu halka sistemlerindeki azot atomları üzerlerindeki ortaklanmamış elektron çiftlerini halka elektron sistemi içerisine dahil etmeden halka dışında tutmaları sayesinde elektron donörü gibi davranarak hidrojen bağı yapabilme kabiliyetlerine sahip olmaktadır. Bu özellikleri sayesinde aktif bölgeyle özellikle hidrojen bağı oluşturarak bileşiklerin bağlanma profillerini güçlendirmektedirler.

Bileşik **5d**'de yer alan piridin azotu ile Glu356'nın hidroksili arasında hidrojen bağı gözlenirken, **5n** kodlu bileşikte Ile427'nin amino grubuyla hidrojen bağı oluşumu görülmüştür. Ayrıca **5d**'da yer alan piridin ile Lys425'in amino grubuyla katyon- π etkileşimi gözlenmiştir (**Şekil 5.109** ve **Şekil 5.113**).

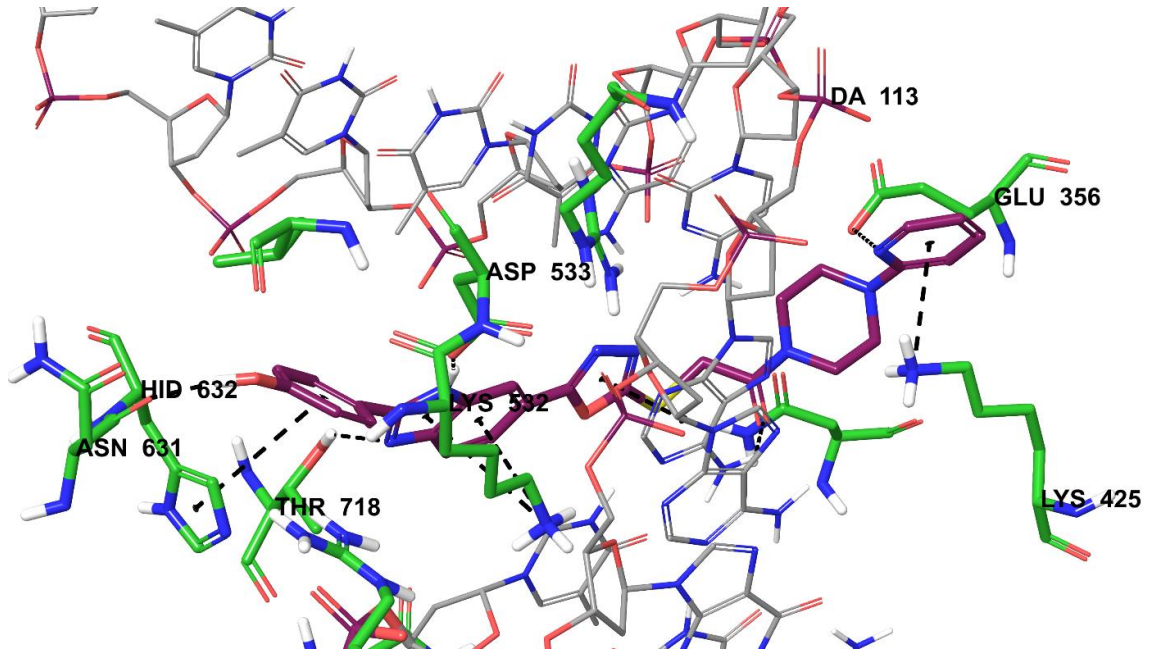
Bileşik **5e**'de yer alan pirimidin halkasında azot atomu Asn352'nin amino grubuyla hidrojen bağı oluştururken, **5o**'da aynı hidrojen bağı Met428'in amino grubuyla gözlenmiştir. Bu etkileşimlere ilaveten **5o** kodlu bileşikte pirimidin ile Lys436'nın amino grubu arasında katyon- π etkileşimi tespit edilmiştir (**Şekil 5.113** ve **Şekil 5.121**).

Şekil 5.110, **Şekil 5.111**, **Şekil 5.114**, **Şekil 5.115**, **Şekil 5.118**, **Şekil 5.119**, **Şekil 5.122** ve **Şekil 5.123**'de moleküler docking çalışmalarına eklenen bileşiklerin (**5d**, **5e**, **5n** ve **5o**) DNA-Topoizomerez I enzim kompleks aktif bölgesiyle olan van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri verilmiştir. Van der Waals etkileşimlerinde izlenen docking analiz prosedürüne göre kırmızı ve pembe renkli amino asit ve nükleik asitler güçlü van der Waals etkileşimlerini işaret etmektedir. Buna göre van der Waals etkileşimleri açısından Asn352, Glu356, Lys425, Lys532, Asp533 ve Ile535 amino asitleri ile DNA'da yer alan DT10, DC112 ve DA113 nükleik asitlerinin önemli rol oynadığı görülmektedir. Docking analiz prosedürüne göre güçlü elektrostatik etkileşimler benzer şekilde kırmızı

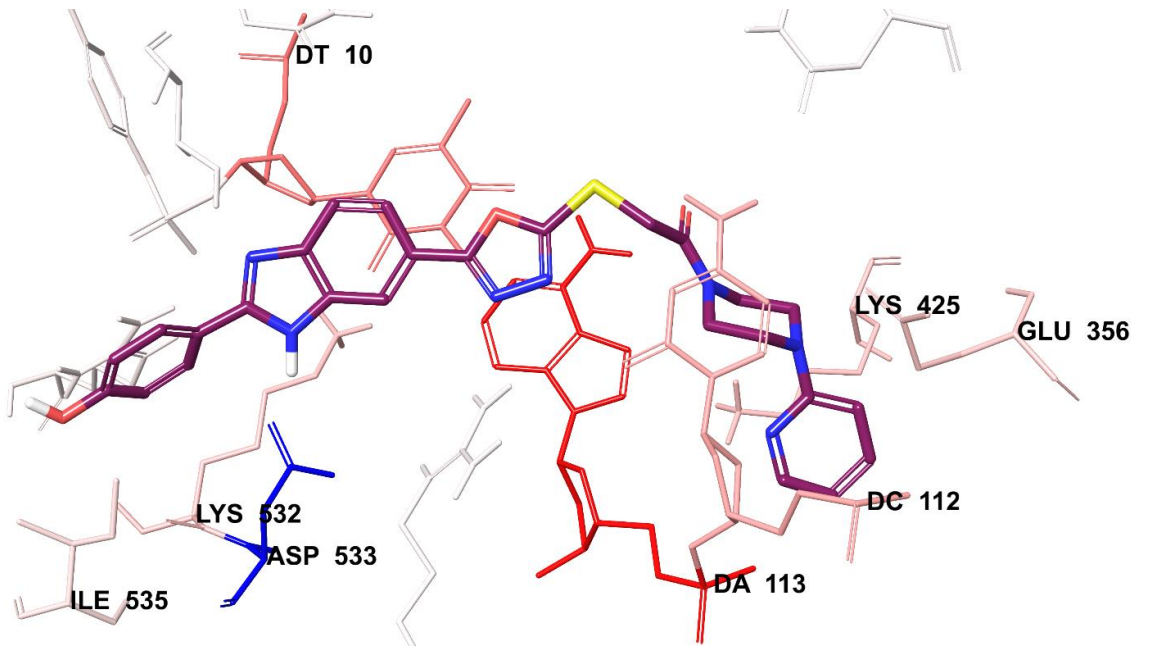
ve mavi renkli amino asit ve nükleik asitlerle temsil edilmektedir. Elektrostatik etkileşimler açısından ise Glu356, Arg364, Lys425, Arg488, Lys532, Asp533 ve Thr718 amino asitleri ile DNA'da yer alan DT10, DC112 ve DA113 nükleik asitlerinin önemli rol oynadığı görülmektedir.



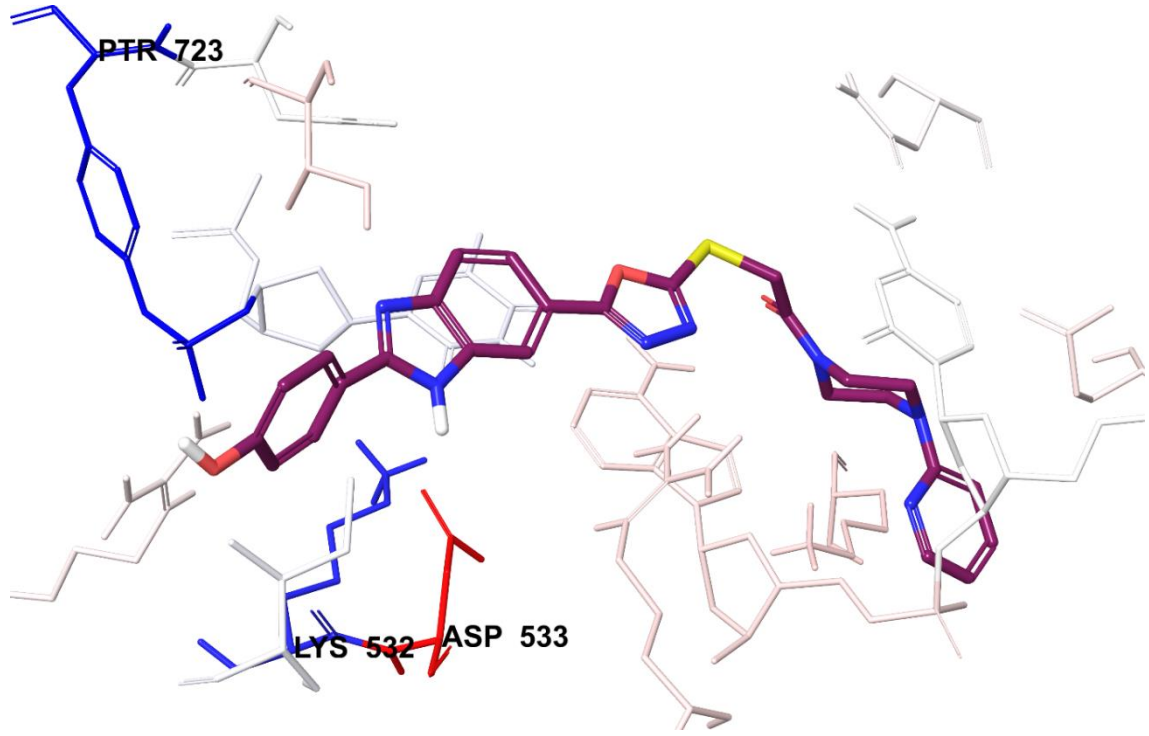
Şekil 5.108. *5d Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesine yerleşimi*



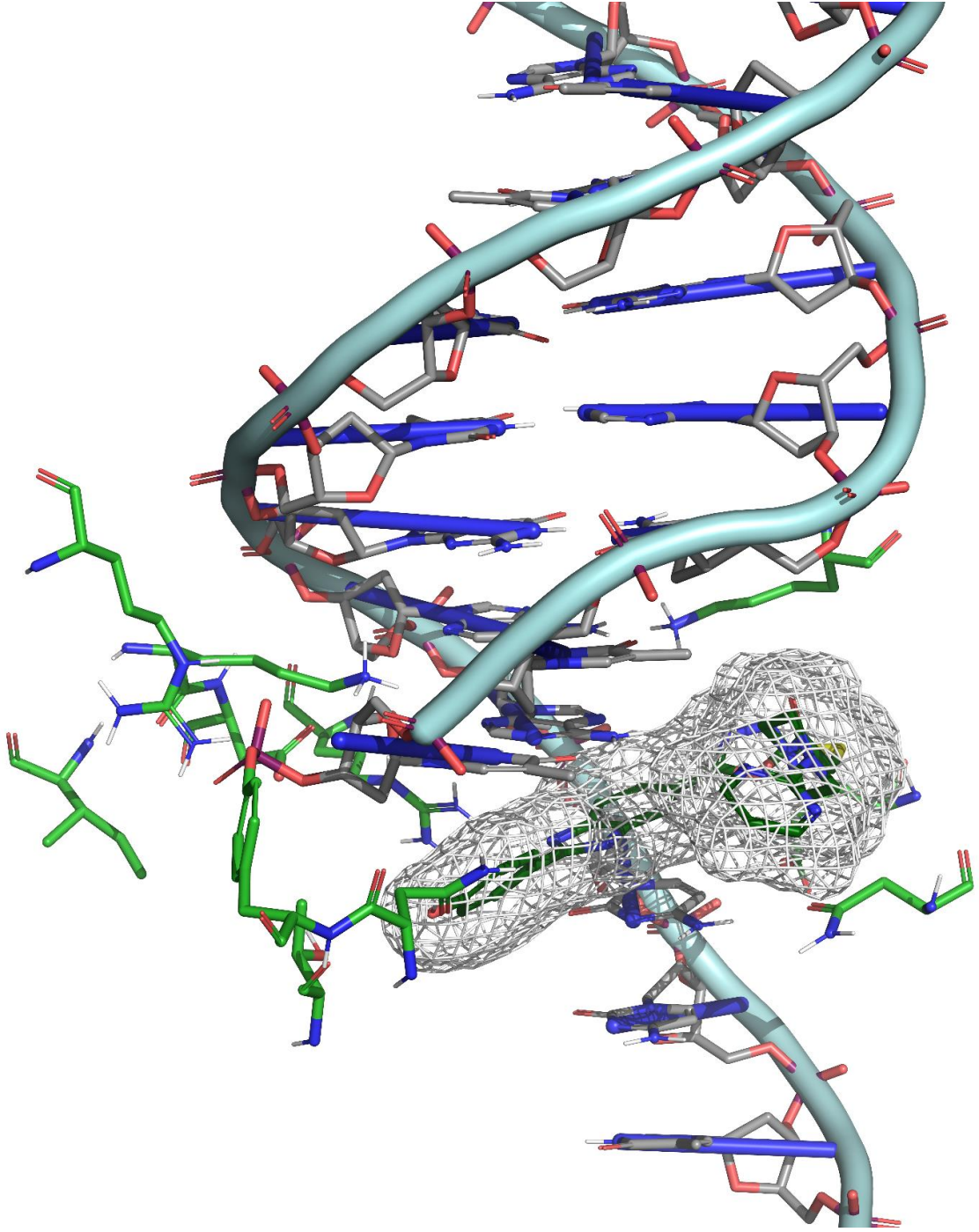
Şekil 5.109. 5d Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle etkileşimi



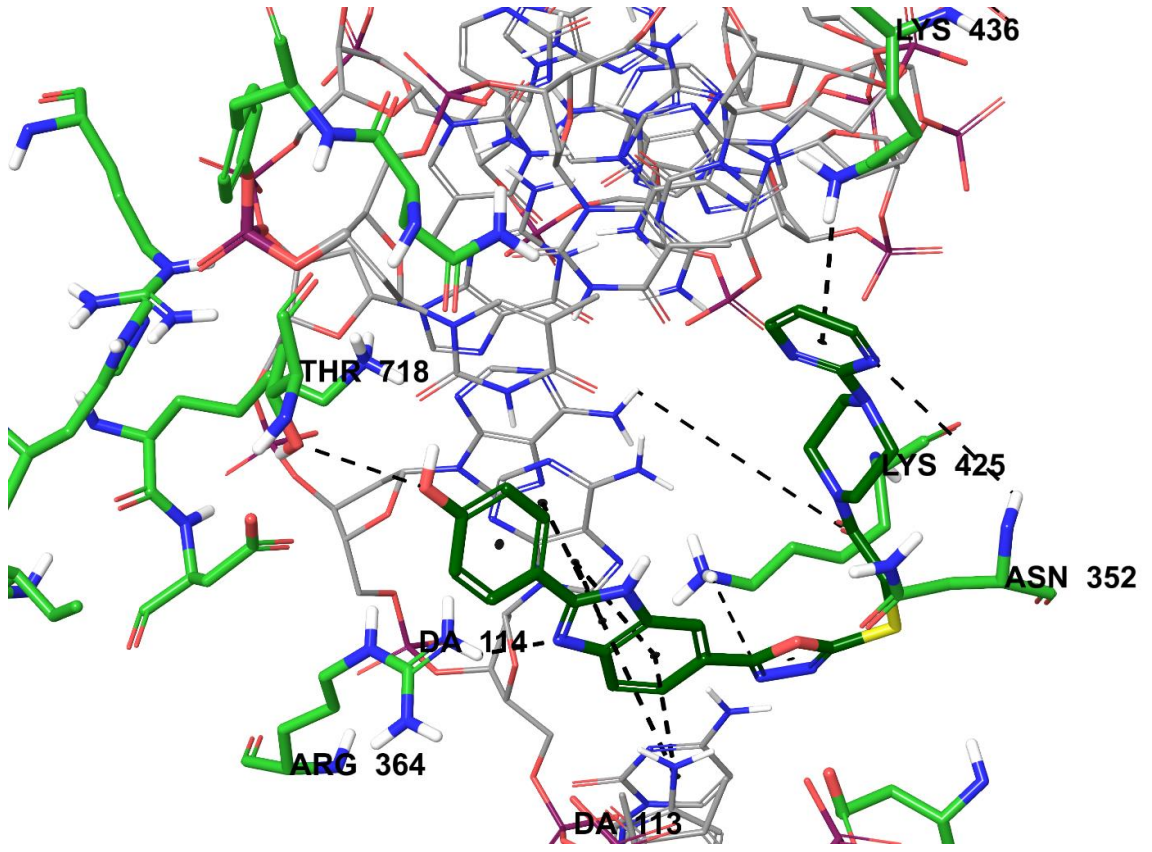
Şekil 5.110. 5d Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi



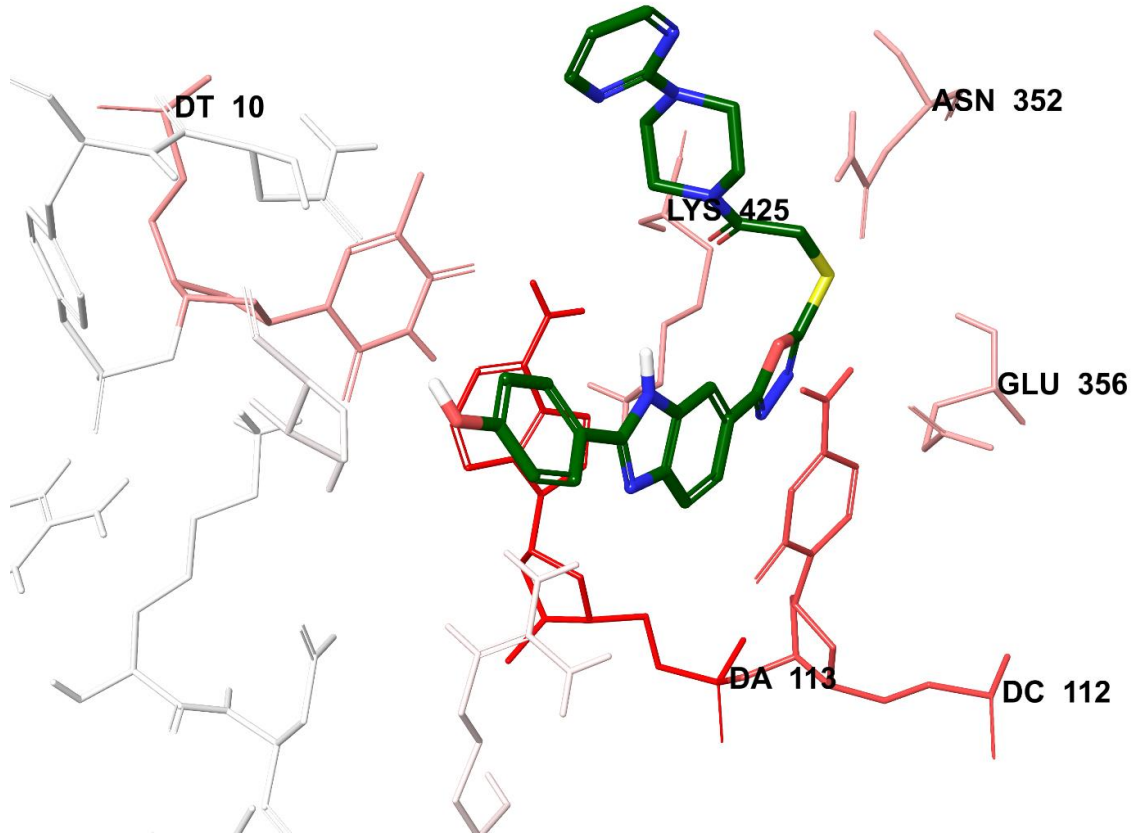
Şekil 5.111. *5d* Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi



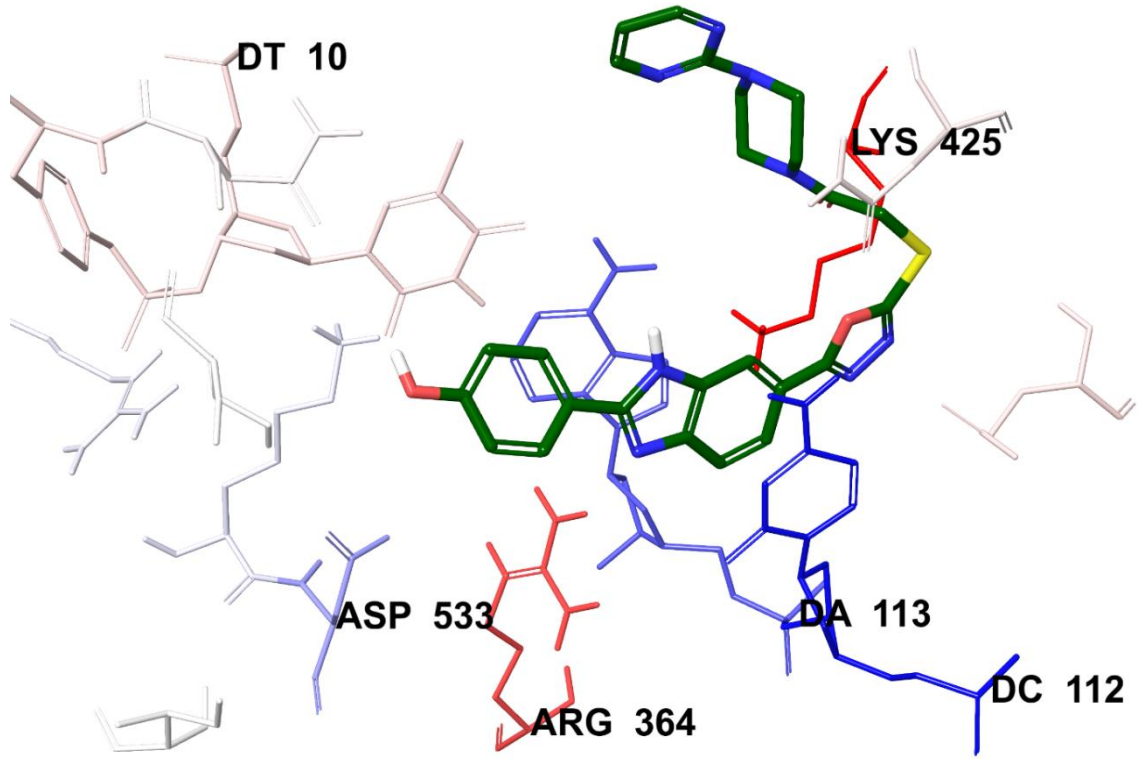
Şekil 5.112. *5e Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesine yerleşimi*



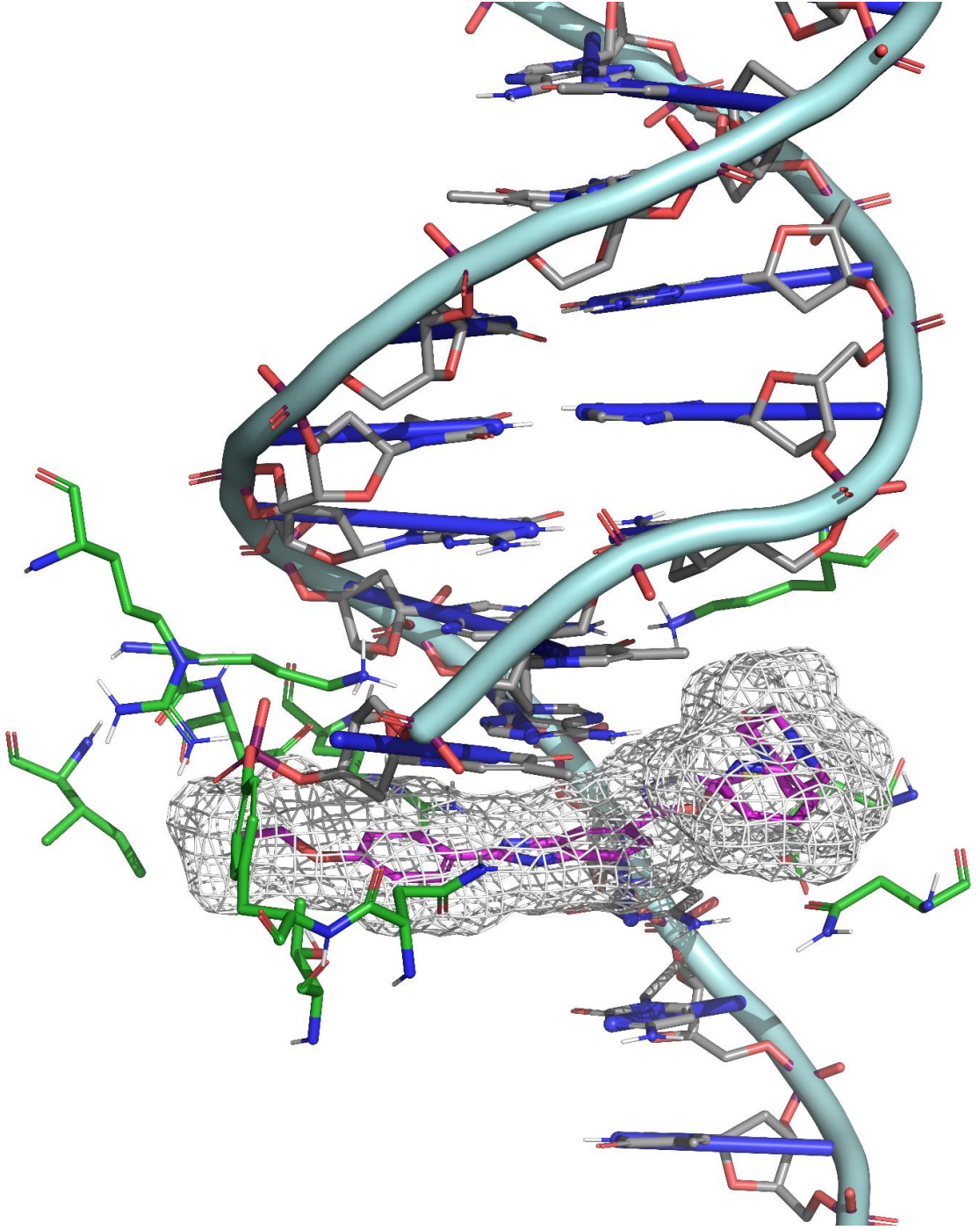
Şekil 5.113. 5e Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle etkileşimi



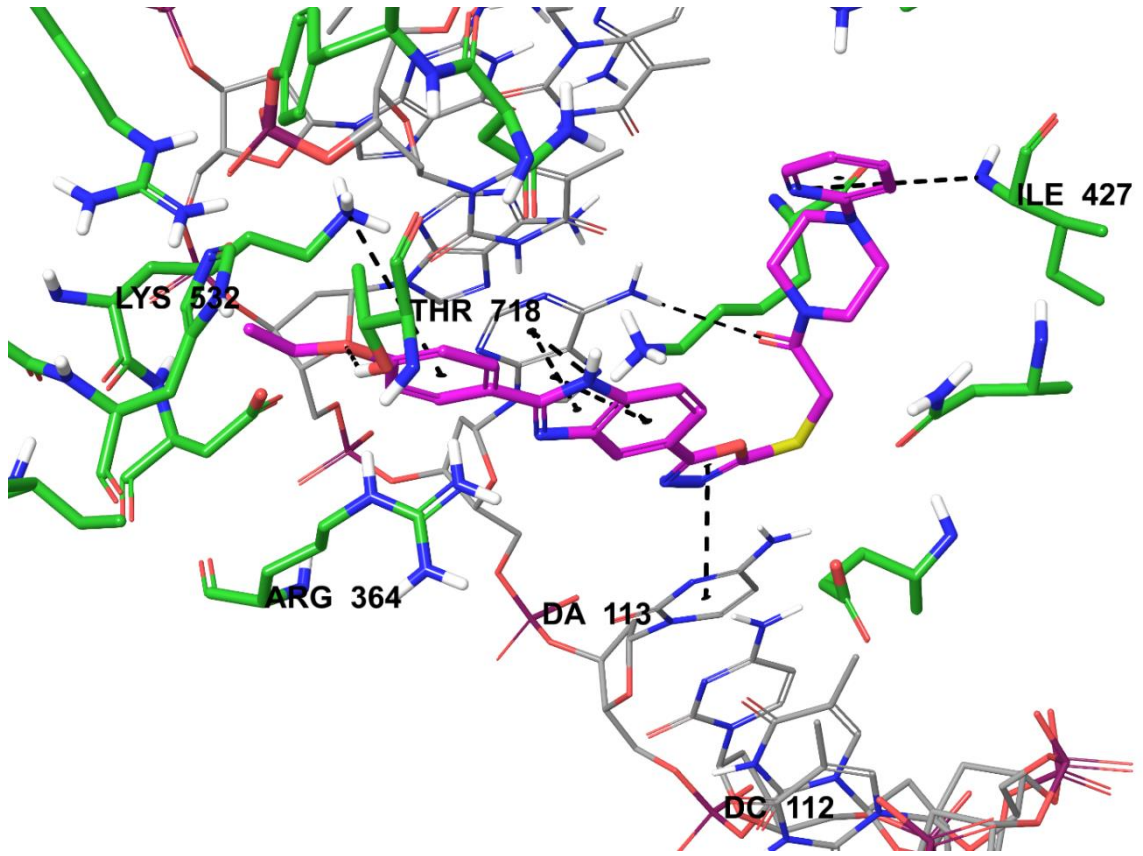
Şekil 5.114. *5e* Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi



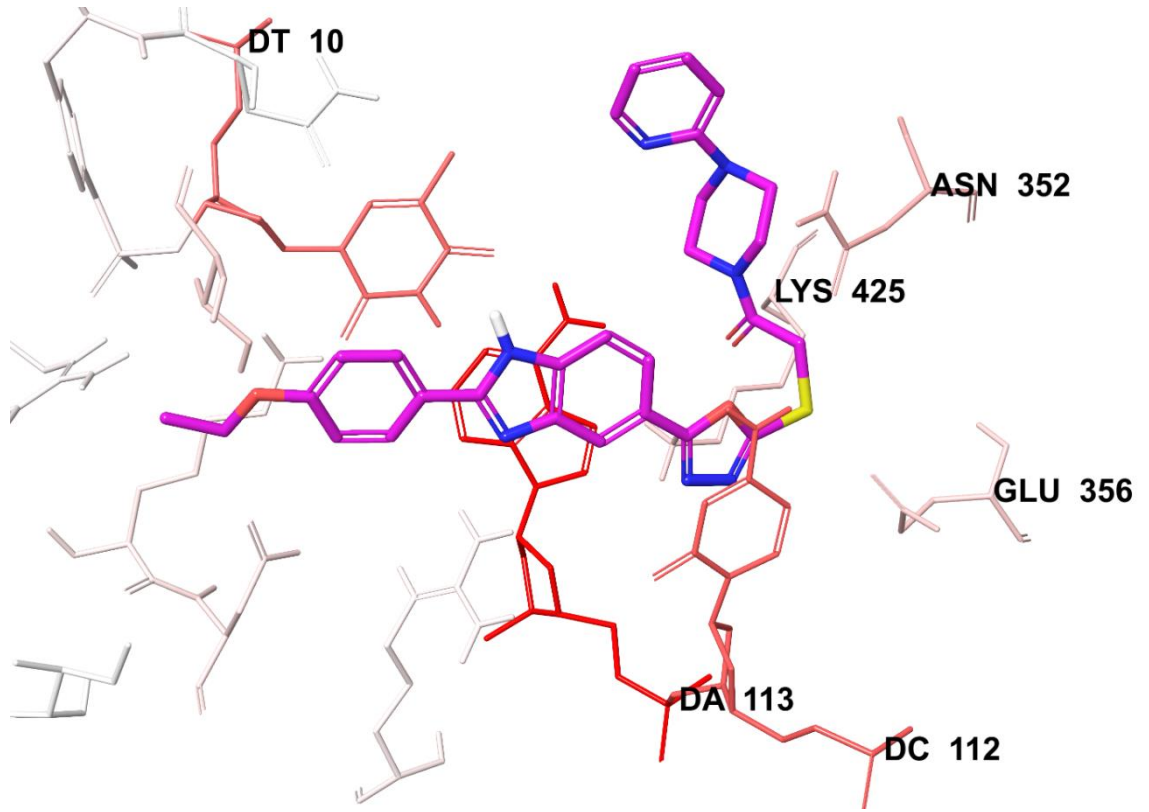
Şekil 5.115. 5e Kodlu bileşğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi



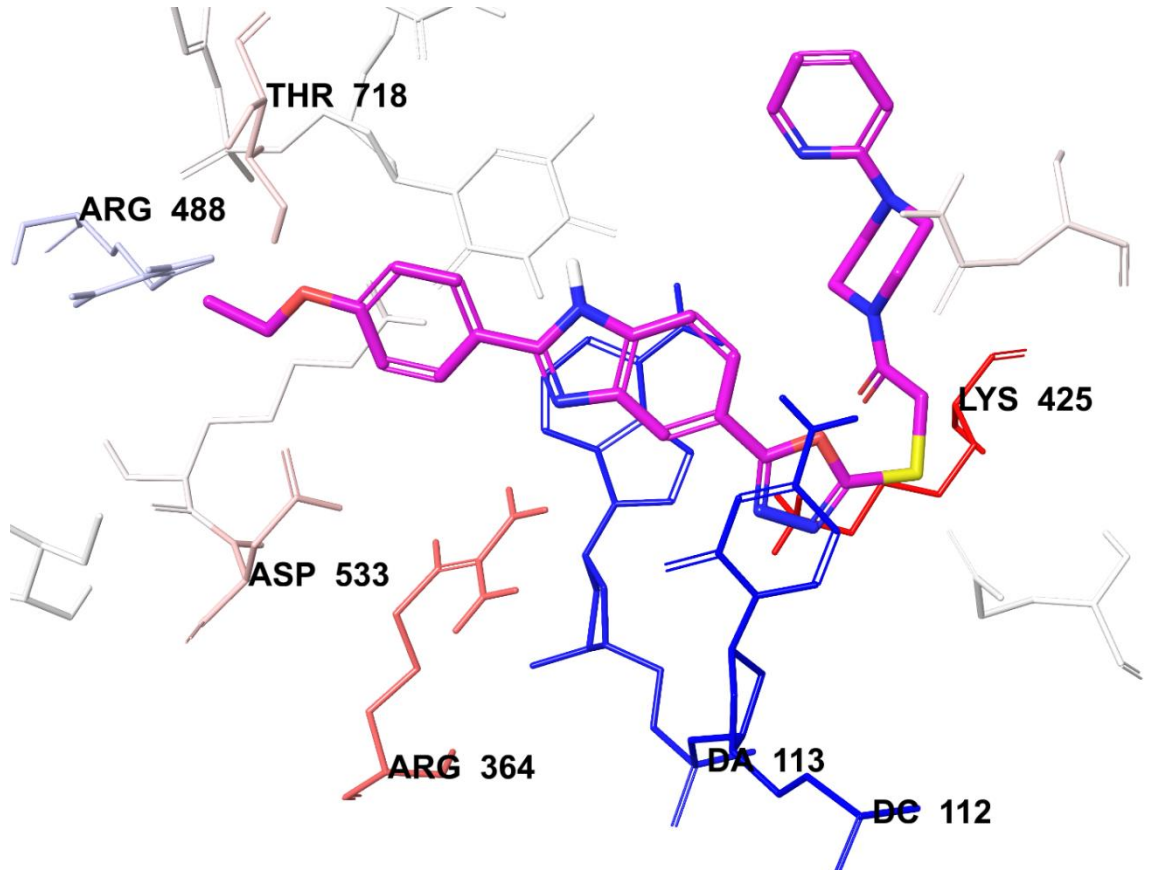
Şekil 5.116. *5n* Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesine yerleşimi



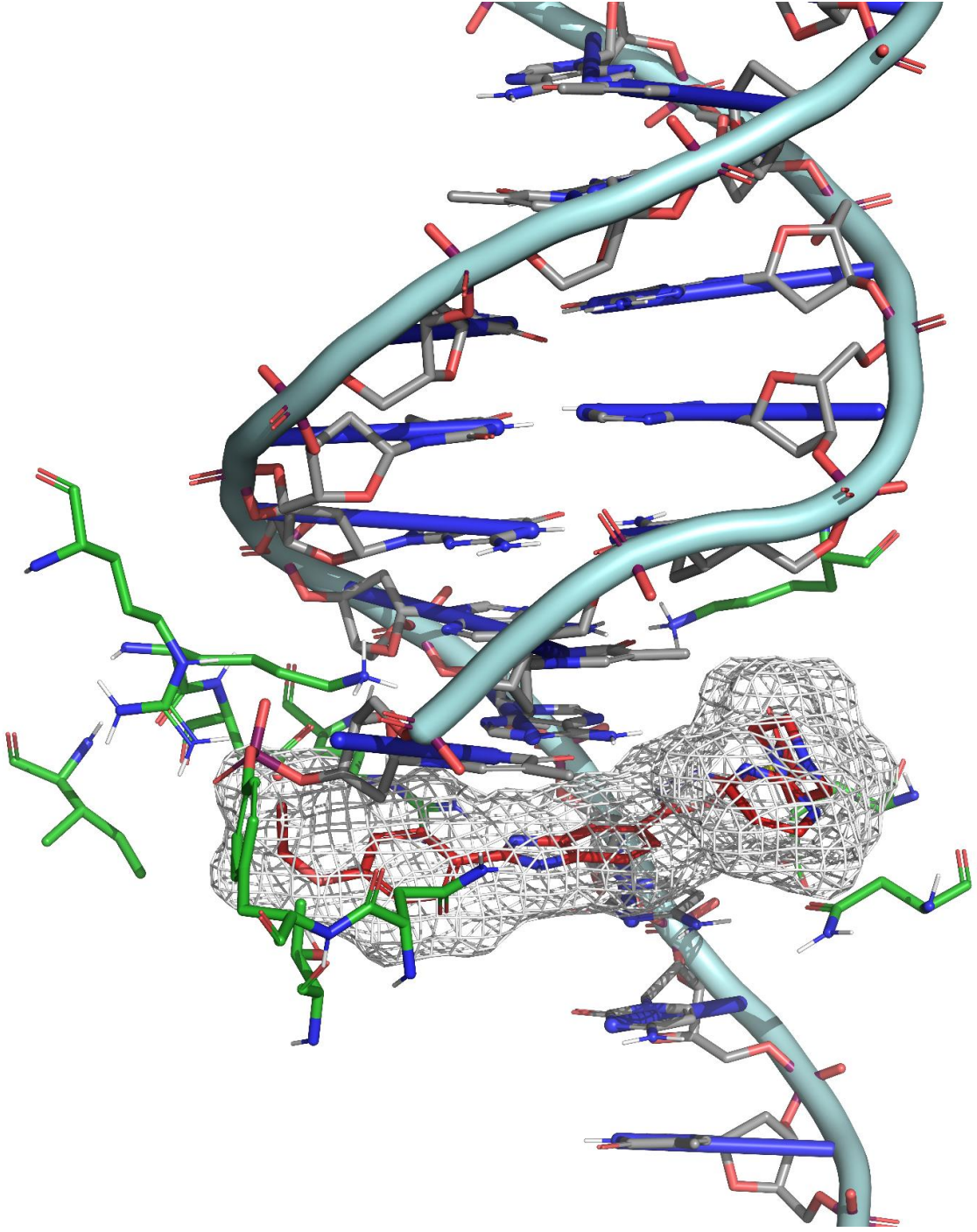
Şekil 5.117. 5n Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle etkileşimi



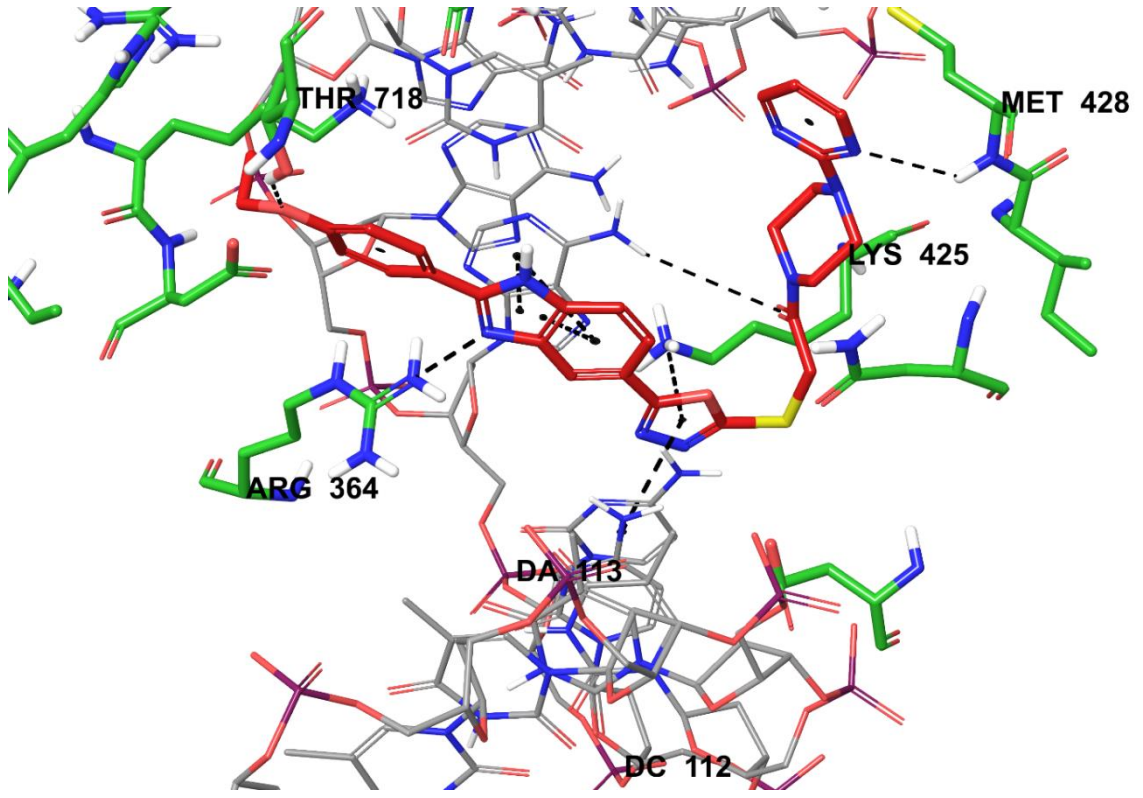
Şekil 5.118. *5n* Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi



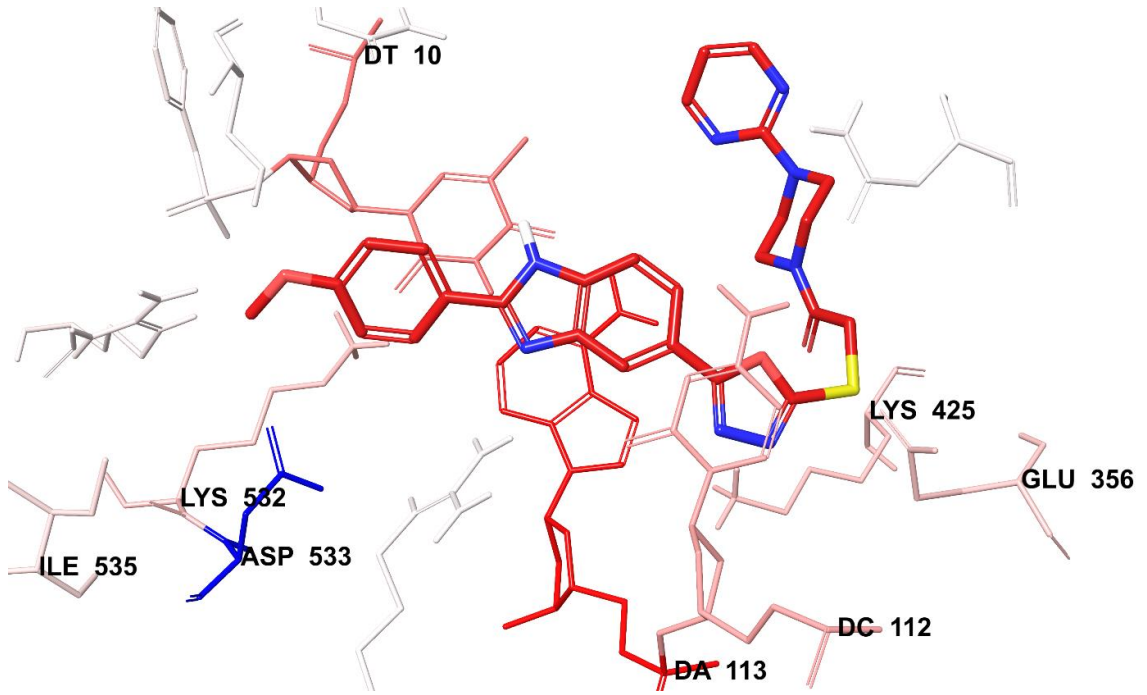
Şekil 5.119. *5n* Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomerez I enzim kompleksi aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi



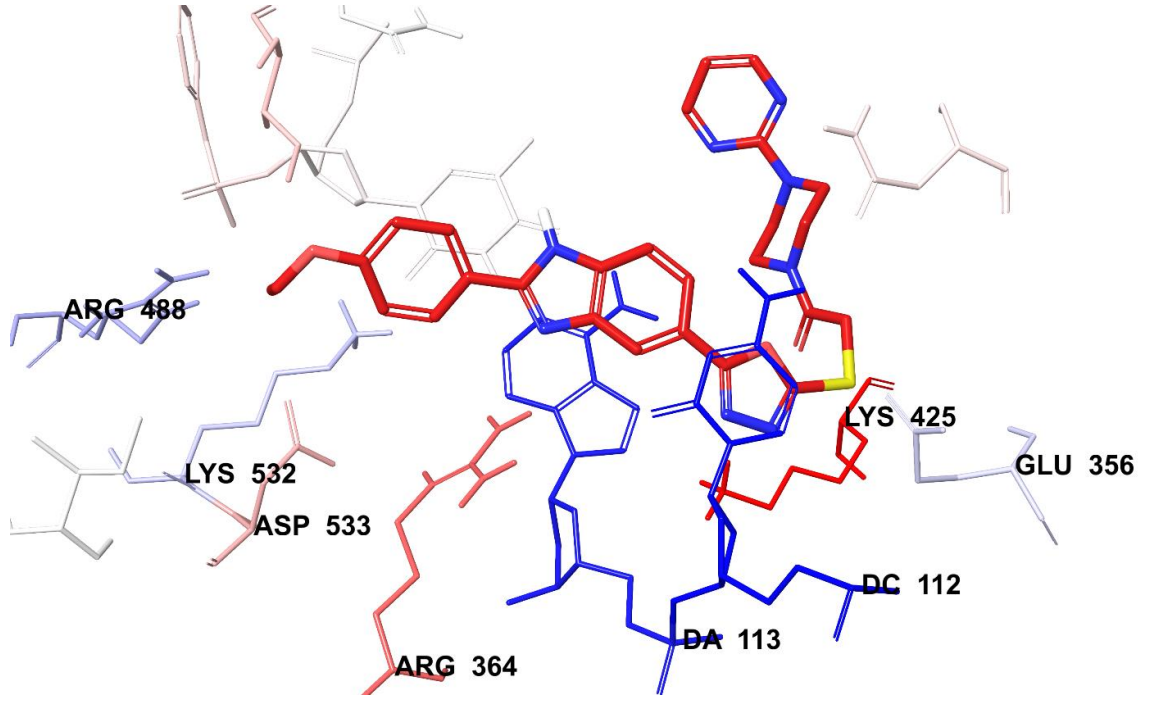
Şekil 5.120. 5o Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomerez I enzim kompleksi aktif bölgesine yerleşimi



Şekil 5.121. 5o Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle etkileşimi



Şekil 5.122. 5o Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomeraz I enzim kompleksi aktif bölgesiyle van der Waals etkileşimi



Şekil 5.123. 5o Kodlu bileşiğin DNA-Topoizomerez I enzim kompleksi aktif bölgesiyle elektrostatik etkileşimi

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu doktora tez çalışmasında, antikanser etkili bir ajan olan Hoechst 33258 ve Hoechst 33342'den hareketle sentezi gerçekleştirilen 15 adet orijinal bileşik literatüre kazandırılmıştır. Elde edilen bileşiklerin yapıları IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, yüksek çözünürlüklü kütle spektroskopisi ve 2D-NMR spektroskopisi yöntemleri ile doğrulanmıştır.

HeLa, MCF7, A549, HepG2 ve C6 kanser hücreleri üzerinde antikanser aktivitesi incelenen bileşiklerin, HeLa kanser hücre dizisine karşı daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bileşikler arasında **5l** ve **5n** kodlu bileşiklerin HeLa hücre dizisine karşı 0,224 µM ve 0,205 µM, IC₅₀ değerleri ile serinin en aktif bileşikler olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin referans ilaç olarak kullanılan doksorubisin (14,280 µM) ve Hoechst 33342'ye (0,306 µM) göre daha etkin oldukları tespit edilmiştir. Bileşiklerin kanser hücrelerine karşı seçicilikleri NIH3T3 hücre dizisinde değerlendirilmiş ve **5l**, **5n** kodlu bileşiklerin HeLa hücresine karşı 77,79 ve 24,14 seçicilik indekslerine sahip oldukları tespit edilmiştir. Bu bulgu bileşiklerin HeLa hücre dizisine karşı antikanser ajan olma şansını arttırmış ve daha kapsamlı çalışmalar ile etki mekanizmasının aydınlatılması gerekliliğini ortaya koymuştur. DNA sentez inhibisyonu çalışmasında **5l** ve **5n** kodlu bileşiklerin HeLa hücresi üzerinde inhibisyonlarının zamana ve doza bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Bileşikler üzerinde gerçekleştirilen Flow sitometri çalışmasıyla **5n** kodlu bileşiğin IC₅₀ konsantrasyonlarında apoptotik hücre ölümünü doksorubisin'e oranla daha fazla indüklediği bulunmuştur.

Ayrıca, A549 hücresi için **5n**; MCF-7 hücresi için **5a**, **5d**, **5e**, **5o**; C6 hücresi için **5k**; HepG2 hücresi için **5a**; HeLa hücresi için **5b** bileşikler de yüksek aktivite ve selektivite göstererek BrdU proliferasyon testi ve Annexin/PI ile apoptoz testi için seçilmiştir. Bu bileşiklerin de bu hücre hatları üzerinde DNA sentez inhibisyonu yaptıkları ve bu inhibisyonun zamana ve doza bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Akış sitometri çalışması ile de apoptozu indükledikleri bulunmuştur.

Aktivite açısından ön plana çıkan **5a**, **5b**, **5d**, **5e**, **5k**, **5l**, **5n** ve **5o** türevlerinin DNA Topoizomeraz I inhibitör etkileri değerlendirilmiştir. Test edilen bileşiklerin DNA topoizomeraz I enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri incelendiğinde topoizomeraz I enzimi üzerinde zehir etkisi gösterdikleri saptanmıştır. Bu güçlü inhibisyon etkisini ise kovalent bağlı DNA-topoizomeraz I enzim-kesim kompleksini stabilize ederek DNA tek

zincir kırıklarının tekrar birleşmesini önleyerek yaptığı ve böylece kalıcı DNA tek zincir kırıklarının birikimine sebep olduğu bulunmuştur.

Antikanser aktivite sonuçları değerlendirildiğinde 4-hidroksi ve 4-etoksi fenil yapısı taşıyan türevlerin daha aktif olduğu tespit edilmiştir. Buna göre fenil halkasının 4. konumunda hidroksi ve etoksi sübstitüentlerinin antikanser aktiviteyi pozitif yönde arttırdığı söylenebilir. Buna rağmen, fenil halkasının 4.konumunda metoksi sübstitüenti taşıyan bileşiklerde aktivite gözlenmemiştir. Hidroksi sübstitüentinin elektron donörü olarak hidrojen bağı yapması aktiviteye olumlu katkı sağlamaktadır. Etoksi sübstitüentinin ise enzimin aktif bölgesiyle olan etkileşimi sonucunda aktiviteye olumlu yönde katkı sağladığı görülmektedir.

Piperazin üzerinde yapılan sübstitüsyonlar aktivite açısından değerlendirildiğinde fenil halkası içeren bileşiklerin daha düşük aktiviteye sahip olduğu göze çarpmaktadır. Metil ve etil sübstitüentlerinin ise daha yüksek aktiviteye sahip olduğu dikkate alındığında aromatikliğin aktiviteyi azalttığı söylenebilir. Buna rağmen, piridin ve pirimidin sübstitüentleri taşıyan bileşiklerin de aktif olduğu bulunmuştur. Bu bileşikler aromatik olmasına rağmen taşıdığı heteroatom üzerindeki ortaklanmamış elektron çifti sayesinde elektron donörü olarak bağ yapması aktiviteye olumlu katkı sağlamıştır.

Bu çalışma ile 2-((5-(2-(4-Sübstitüefenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-sübstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on türevlerinin kanser hücreleri üzerinde etkili olduğu bulunmuş ve aynı zamanda etkili bulunan bileşiklerin bu etkilerini DNA topoizomeraz I enzimi üzerinden gösterdiği kanıtlanmıştır.

Bu çalışmanın devamı olarak nitelendirilebilecek ileriki çalışmalarda yapı-etki ilişkilerinde bahsedilen bulgulardan faydalanarak benzer kimyasal yapılara sahip daha etkili olabileceği düşünülen yeni bileşiklerin sentezleri planlanmaktadır.

KAYNAKÇA

- [1] Foto, E. (2007). *Bazı benzoksazin türevlerinin ökaryotik DNA topoizomeraz I enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin incelenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [2] Tatlı, V. (2015). *Kanserin rengi (prostat kanserli hastalarda renk tercihleri, hastalığın evresi ile ilişkisi ve meme ile akciğer kanserli hastaların verileri ile karşılaştırması*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Manisa: Celal Bayar Üniversitesi, Üroloji Anabilim Dalı.
- [3] Bakan, E. (2017). *Kumarin-tiyazol içeren ve bazı anyonlara duyarlı yeni kemosensör Schiff bazları ile Pd(II), Pt(II) komplekslerinin sentezi ve insan kanser hücreleri üzerinde in vitro anti kanser aktiviteleri*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [4] Cici, M. (2017). *Fare meme kanseri modeli primer tümör ve metastazlarında ccm1, ccm2, ccm3 ekspresyonlarının değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Antalya: Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [5] Karataş, Ö.F. (2014). *İnsan skuamöz hücreli larenks karsinomunda kanser kök hücrelerine özgü mirna' ların profillenmesi ve mir-145' in larenks kanseri ve kanser kök hücrelerindeki fonksiyonunun araştırılması*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [6] Yıldırım, S. (2015). *Kanser tanısı ile izlenen hastaların yakınlarının kanser ile ilgili başvurdukları bilgi kaynaklarının değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı.
- [7] Kaçar, Ö. (2016). *Çeşitli kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkili paladyum türevlerinin moleküler etki mekanizmalarının aydınlatılması*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [8] Yenidünya, E. (2014). *Farklı pirazolil açıl tiyoüre bileşiklerinin kolon, karaciğer, kemik ve meme kanseri hücre hatlarında antikanser etkilerinin belirlenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [9] Nursal, A.F. (2012). *Meme kanserli olgularda her2 ve top2a gen düzensizlikleri ve kanserle ilişkili diğer genlerin epigenetik durumu ile ilişkilendirilmesi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [10] Aktaş, S.H. (2010). *Kemoterapinin kolon kanseri, meme kanseri ve mide kanserinde VEGF düzeylerine etkisinin in vivo ve in vitro incelemesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü.
- [11] Belder, N. (2013). *Sporadik kolorektal kanser vakalarında genom ebadında kopya sayısı değişimlerinin ve transkriptom profilinin belirlenmesi ile kanserin*

- gelişmesinde ve ilerlemesinde etken yeni genlerin tanımlanması*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü.
- [12] Bülbül, E.F. (2017). *Bazı sübstitüe tiyazolil sülfonamit türevlerinin sentezi ve antikanser etkilerinin araştırılması*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [13] Akgün, H., Balkan, A., Bilgin, A.A., Çalış, Ü., Dalkara, S., Erol, D.D., Erdoğan, H., Ertan, M., Şafak, C., Tozkoparan, B., Saraç, S., Palaska, E., Özkanlı, F., Kelekçi, N.G. (2004). Kinolonlar, M. Ertan ve B. Tozkoparan (Eds.), *Farmasötik Kimya içinde* (s. 1079-1093). Ankara: Hacettepe Üniversitesi.
- [14] Zilifdar, F. (2009). *Bazı benzoksazin türevlerinin rec yöntemi ile genotoksik potansiyellerinin ve ökaryotik DNA topoizomeras I enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [15] Pindur, U. ve Lemster, T. (1998). Antitumour drug design: DNA binding ligands, which inhibit the topoisomerase I. *Die Pharmazie*, 53 (2), 79-86.
- [16] Kaplan, Ç. (2009). *Bazı benzazol türevlerinin ökaryotik DNA topoizomeras I ve II enzimleri üzerine inhibisyon etkilerinin araştırılması*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji (Moleküler Biyoloji) Anabilim Dalı.
- [17] Öztürk, Ö. (2013). *DNA topoizomeras II enzim inhibitörü yeni heterosiklik bileşiklerin in siliko tasarım çalışmaları*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi.
- [18] Mammadov, B. (2008). *Effect of DNA topoisomerase II β on transdifferentiation of mesenchymal stem cells into neural cells*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. İstanbul: Fatih Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [19] Kuşkuç, M. (2017). *Eliptisin türevlerinin insan DNA Topoizomeras enzimleri üzerindeki etkilerinin araştırılması*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. İzmir: Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [20] Bansal, S., Bajaj, P., Pandey, S., Tandon, V. (2017). Topoisomerases: resistance versus sensitivity, how far we can go? *Med. Res. Rev.*, 37 (2), 404-438.
- [21] Uzun, B. (2014). *Bazı 2-sübstitüe-5-(benzotiyazol-2-il)-1H-benzimidazol türevlerinin sentezleri ve antikanser etkilerinin incelenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [22] Yurttaş, L. (2012). *Bazı 1-(2-aril-2-okzoetil)-2-[(morfolin-4-il)tiyoksometil] benzimidazol türevlerinin sentezi ve antikanser etkilerinin araştırılması*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [23] Shrivastava, N., Naim, M.J., Alam, M.J., Nawaz, F., Ahmed, S., Alam, O. (2017). Benzimidazole scaffold as anticancer agent: synthetic approaches and structure-activity relationship. *Arch. Pharm.*, 350 (6), e201700040.

- [24] Gryshchenko, A.A., Tarnavskiy, S.S., Levchenko, K.V., Bdzhola, V.G., Volynets, G.P., Golub, A.G., Ruban, T.P., Vygranenko, K.V., Lukash, L.L., Yarmoluk, S.M. (2016). Design, synthesis and biological evaluation of 5-amino-4-(1H-benzimidazol-2-yl)-phenyl-1, 2-dihydro-pyrrol-3-ones as inhibitors of protein kinase FGFR1. *Bioorg. Med. Chem.*, 24 (9), 2053-2059.
- [25] Abdullaziz, M.A., Abdel-Mohsen, H.T., El Kerdawy, A.M., Ragab, F.A., Ali, M. M., Abu-bakr, S.M., Girgis, A.S., El Diwani, H. I. (2017). Design, synthesis, molecular docking and cytotoxic evaluation of novel 2-furybenzimidazoles as VEGFR-2 inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 136, 315-329.
- [26] El-Gohary, N.S., ve Shaaban, M.I. (2017). Synthesis and biological evaluation of a new series of benzimidazole derivatives as antimicrobial, antiquorum-sensing and antitumor agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 131, 255-262.
- [27] El-Gohary, N.S. ve Shaaban, M.I. (2017). Synthesis, antimicrobial, antiquorum-sensing and antitumor activities of new benzimidazole analogs. *Eur. J. Med. Chem.*, 137, 439-449.
- [28] Chojnacki, K., Wińska, P., Skierka, K., Wielechowska, M., Bretner, M. (2017). Synthesis, *in vitro* antiproliferative activity and kinase profile of new benzimidazole and benzotriazole derivatives. *Bioorg. Chem.*, 72, 1-10.
- [29] Abdelgawad, M.A., Bakr, R.B., Omar, H.A. (2017). Design, synthesis and biological evaluation of some novel benzothiazole/benzoxazole and/or benzimidazole derivatives incorporating a pyrazole scaffold as antiproliferative agents. *Bioorg. Chem.*, 74, 82-90.
- [30] Çevik, U.A., Sağlık, B.N., Korkut, B., Özkay, Y., İlgin, S. (2018). Antiproliferative, cytotoxic, and apoptotic effects of new benzimidazole derivatives bearing hydrazone moiety. *J. Heterocycl. Chem.*, 55 (1), 138-148.
- [31] Çevik, U.A., Sağlık, B.N., Ardiç, C.M., Özkay, Y., Atlı, Ö. (2018). Synthesis and evaluation of new benzimidazole derivatives with hydrazone moiety as anticancer agents. *Turk. J. Biochem.*, 43 (2), 151-158.
- [32] Kuang, W.B., Huang, R.Z., Qin, J.L., Lu, X., Qin, Q.P., Zou, B.Q., Chen, Z.F., Liang, H., Zhang, Y. (2018). Design, synthesis and pharmacological evaluation of new 3-(1H-benzimidazol-2-yl)quinolin-2-(1H)-one derivatives as potential antitumor agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 157, 139-150.
- [33] Chojnacki, K., Wińska, P., Wielechowska, M., Łukowska-Chojnacka, E., Tölzer, C., Niefind, K., Bretner, M. (2018). Biological properties and structural study of new aminoalkyl derivatives of benzimidazole and benzotriazole, dual inhibitors of CK2 and PIM1 kinases. *Bioorg. Chem.*, 80, 266-275.
- [34] Alpan, A.S. (2005). *Bazı süstitüe Benzimidazol türevlerinin sentezi ve bu bileşiklerin yapı-etki çalışmaları*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. İzmir: Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- [35] Yang, Y.H., Cheng, M.S., Wang, Q.H., Nie, H., Liao, N., Wang, J., Chen, H. (2009). Design, synthesis, and anti-tumor evaluation of novel symmetrical bis-benzimidazoles. *Eur. J. Med. Chem.*, 44 (4), 1808-1812.
- [36] Chen, A.Y., Yu, C., Bodley, A., Peng, L.F., Liu, L.F. (1993). A new mammalian DNA topoisomerase I poison Hoechst 33342: cytotoxicity and drug resistance in human cell cultures. *Cancer Res.*, 53 (6), 1332-1337.
- [37] Liu, X., Chen, H., Qu, F., Huang, X. (1999). Potassium ferricyanide oxidative cyclization of arylaldehyde with *o*-phenylenediamine and *o*-aminophenol to 2-arylbenzimidazoles and 2-arylbenzoxazoles. *J. Wuhan Univ. Natur. Sci.*, 4 (3), 355-357.
- [38] Kühholzer, B. ve Prather, R.S. (2001). Synchronization of porcine fetal fibroblast cells with topoisomerase-inhibitor Hoechst 33342. *Anim. Reprod. Sci.* 66, 109-116.
- [39] Sun, Q., Gatto, B., Yu, C., Liu, A., Leroy, L.F., La Voie, E.J. (1994). Structure activity of topoisomerase I poisons related to Hoechst 33342. *Bioorg. Med. Chem.*, 4 (24), 2871-2876.
- [40] Jin, S., Kim, J.S., Sim, S., Liu, A., Pilch, D.S., Liu, L.F., La Voie, E.J. (2000). Heterocyclic bibenzimidazole derivatives as topoisomerase I inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 10 (8), 719-723.
- [41] Kutlu, H. (1976). Farmasötik Kimya IV (Heterosiklik Seri İlaçlar 1), İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fak. Farmasötik Kimya Kürsüsü, 512.
- [42] Demirayak, S., Güven, K. (1995). Synthesis of some pyrido- and pyrazino-benzimidazole derivatives and their antifungal activity. *Die Pharmazie*, 50 (8), 527-529.
- [43] Hoffmann, K. (1953). Imidazole and Its Derivatives, Interscience Publishers, New York.
- [44] Konak, H.K. (2013). *2,4-Dihidroksipirido[1,2-a] benzimidazolün sentezlenmesi ve yapısının aydınlatılması*. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Burdur: Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [45] Rogers, K.S. ve Clayton, C.C. (1972). The effects of pH on benzimidazole fluorescence. *Anal. Biochem.*, 48, 199-201.
- [46] Robinowitz, J.L., Wagner, E.R. (1951). Reaction of tautomerism in the amidine system by hydrogen bonding the case of 4(7)-nitrobenzimidazole. *J. Am. Chem. Soc.*, 73 (7), 3030-3037.
- [47] Green, H. ve Day, A.R. (1942). The tautomeric character of the imidazole ring. *J. Am. Chem. Soc.*, 64 (5), 1167-1173.

- [48] Çapan, İ. (2010). *Benzimidazol sübstitüe 1,2,4-triazol ve 1,3,4-tiyadiazollerin mikrodalga destekli sentezleri*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Kayseri: Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [49] Demirmen, S. (2014). *Piridil-benzimidazol ligantları içeren metal komplekslerinin sentezi, karakterizasyonu ve katalitik özellikleri*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale: Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [50] Kaplan, Ç. (2009). *2-(Ariksimetil) sübstitüe benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol türevlerinin sentezi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Malatya: İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [51] Ficken, G.E., Fry, D.J. (1963). The nitration of 5-nitro- and 2-methyl-5-nitro benzimidazoles. *J. Org. Chem.*, 28, 736-738.
- [52] Kiper, T. (2007). *Yeni bazı benzimidazol türevi bileşiklerin sentez, yapı aydınlatılması ve biyolojik aktiviteleri üzerinde çalışmalar*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [53] Alagöz, Z.A. (1998). *Retinoidal etkili bazı benzimidazol ve/veya indol türevi bileşiklerin sentezleri ve yapı tayini çalışmaları*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Ankara Üniveritesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [54] Spasov, A.A., Yozhitsa, I.N., Bugaeva, L.I., Anisimova, V.A. (1999). Benzimidazole derivatives: spectrum of pharmacological activity and toxicological properties (a review). *Pharm. Chem. J.*, 33 (5), 232-243.
- [55] Güven, M. (2000). *Benzimidazol türevlerinin sentez ve özelliklerinin incelenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Malatya: İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [56] Hoebrecker, F. (1872). Ueber Reductionsprodukte der Nitracetamidverbindung. *Chem. Rev.* 5 (2), 920-924.
- [57] Kerimov, İ. (2011). *Bazı yeni oksadiazol- benzimidazol türevlerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [58] Phillips, M.A. (1928). The formation of 2-substituted benzimidazoles. *J. Chem. Soc.*, 2393-2399.
- [59] Pool, W.O., Harwood, H.J. ve Ralston, A.W. (1937). 2-Alkylbenzimidazoles as derivatives for the identification of aliphatic acids. *J. Am. Chem. Soc.*, 59 (1), 178-179.
- [60] Karaaslan, Ç. (2014). *Bazı yeni mono ve dikasyonik benzimidazol karboksamidin türevlerinin sentezi yapılarının aydınlatılması ve antimikrobiyal, antikanser etkilerinin incelenmesi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- [61] Wagner, E.C. (1940). Some reactions of amidines as ammonio-carboxylic acids or esters. *J. Org. Chem.*, 5 (2), 133-141.
- [62] King, F.E., Acheson, R.M. (1949). The synthesis of benzimidazoles from ortho-phenylenediamines and imino-ethers. *J. Chem. Soc.*, 1396-1400.
- [63] Ridley, H.F., Spickett, R.G.W., Timmis, G.M. (1965). A new synthesis of benzimidazoles and aza-analogs. *J. Heterocyclic Chem.*, 2 (4), 453-456.
- [64] Sun, Q., Gatto, B., Yu, C., Liu, A., Liu, L.F., Lavoie, E.J. (1995). Synthesis and evaluations of terbenzimidazoles as topoisomerase I inhibitors. *J. Med. Chem.*, 38 (18), 3638-3644.
- [65] Kim, J.S., Yu, C., Liu, A., Liu, L.F., Lavoie, E.J. (1997). Terbenzimidazoles: influence of 2'',4, and 5-substituents on cytotoxicity and relative potency as topoisomerase I poisons. *J. Med. Chem.*, 40 (18), 2818-2824.
- [66] Atabey, D. (2006). *Bazı yeni 2-arilamino-1H-benzimidazol türevlerinin sentez, yapı-aydınlatmaları ve Staphylococcus aureus ve metisilin-rezistans Staphylococcus aureus (MRSA) türlerine karşı antimikrobiyal etkilerinin incelenmesi*. Yayımlanmamış Doktora Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [67] Elderfield, R.C., Mc Carthy, J.R. (1951). The reaction of o-phenylenediamines with carbonyl compounds aliphatic ketones. *J. Am. Chem. Soc.*, 73 (3), 975-984.
- [68] Racymaekers, A.H.M., Van Gelder, J.L.N., Roevensi, L.F.C., Janssen, P.A.J. (1978). Synthesis and antihelmintic activity of alkyl-(5-acyl-1H-benzimidazol-2-yl)carbamates. *Arzneim-Forsch/Drug Res.*, 28 (4), 586-594.
- [69] Ohemeng, K.A. ve Roth, B. (1994). Receptor-based design of novel dihydrofolate reductase inhibitors: benzimidazole and indole derivatives. *J. Med. Chem.*, 34 (4), 1383-1394.
- [70] Ersan, R.H. (2015). *Bazı bisbenzimidazol türevi bileşiklerin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve biyolojik etkilerinin araştırılması*. Yayımlanmamış Doktora Tezi. Samsun: On Dokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [71] Vyas, P.C., Oza, C.K., Goyal, A.K. (1980). A simple synthesis of 2,2'-bisbenzimidazoles. *Chem, Ind.*, 7, 287-288.
- [72] Chatterjee, S., Wolski, J. (1966). Heterocyclic systems. I. Synthesis of selected bis(benzimidazolyl)ethanes. *J. Indian Chem. Soc.* 43, 660-662.
- [73] Lombardy, R.L., Tanious, F.A., Ramachandran, K., Tidwell, R.R., Wilson, W.D. (1996). Synthesis and DNA interactions of benzimidazole dications which have activity against opportunistic infections. *J. Med. Chem.* 39 (7), 1452-1462.
- [74] Glahn, B.V., Kramer, W., Neidlein, R. (1999). Syntheses and reactions of 2,2'-bisbenzimidazole systems. *J. Heterocyclic Chem.* 36 (4), 1001-1012.

- [75] Beldüz, A. (2015). *Triazol ve tiyadiazol türevi içeren yeni bisbenzimidazol bileşiklerinin mikrodalga yardımcı sentezi ve bazı biyolojik özelliklerinin incelenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Rize: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [76] Rajak, H., Kharya, M.D. ve Mishra, P. (2009). Biologically active 2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazoles. *Inter. J. Pharma. Sci. Nanotechnol.* 2, 390-406.
- [77] Rajak, H., Kharya, M.D., Mishra, P. (2011). Biologically active 2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazoles. *Cheminform*, 42, 21-58.
- [78] Nagaraj, C.K., Niranjan, M.S., Kiran, S. (2011). 1,3,4 Oxadiazole: A Potent Drug Candidate With Various Pharmacological Activities. *Inter. J. Pharm. Pharma. Sci.* 3, 9-16.
- [79] Chikhaliya, K.H., Vashi, D.B. ve Patel, M.J. (2009). Synthesis of a novel class of some 1,3,4-oxadiazole derivatives as antimicrobial agents. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 24 (3), 617-622.
- [80] Amir, M. ve Shikha, K. (2004). Synthesis and anti-inflammatory, analgesic, ulserogenic and lipid peroxidation activities of some new 2-[(2,6-dichloroanilino)phenyl]acetic acid derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 39 (6), 535-545.
- [81] Almasirad, A., Tabatabai, S.A., Faizi, M., Kebriazeezadeh, A., Mehrabi, N., Dalvandi, A., Shafiee, A. (2004). Synthesis and anticonvulsant activity new 2-substituted-5-[2-(2-fluorophenoxy)phenyl]-1,3,4-oxadiazoles and 1,2,4-triazoles. *Bioorg. Med. Chem.*, 14 (24), 6057-6059.
- [82] Somani, R.R., Shirodkar, P.Y. (2009). Oxadiazole: A biologically important heterocycle. *Der. Pharma. Chemica.*, 1 (1), 130-140.
- [83] Çetin, A. (2015). *Bazı yeni 9-((5-(alkiltiyo)-1,3,4-oksadiazol-2-il)metil)-9H-pürin-6-amin türevlerinin sentezi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [84] Gravatt, G.L., Baguley, B.C., Wilson, W.R., Denny, W.A. (1994). DNA-Directed alkylating agents, 6. Synthesis and antitumor activity of DNA minor groove-targeted aniline mustard analogs of pibenzimol Hoechst 33258. *J. Med. Chem.*, 37 (25), 4338-4345.
- [85] Wiederholt, K., Rajur, S.B., Giuliano, J., O'Donnel, M.J., McLaughlin, L.W. (1996). DNA-Tethered Hoechst groove-binding agents duplex stabilization and fluorescence characteristics, *J. Am. Chem. Soc.*, 118 (30), 7055-7062.
- [86] Kim, J.S., Gatto, B., Yu, C., Liu, A., Liu, L.F., LaVoie, E.J. (1996). Substituted 2,5'-bi-1H-benzimidazoles: topoisomerase I inhibition and cytotoxicity. *J. Med. Chem.*, 39 (4), 992-998.

- [87] Kim, J.S., Yu, C., Liu, A., Liu, L.F., LaVoie, E.J. (1998). Quantitative structure-activity relationships on 5-substituted terbenzimidazoles as topoisomerase I poisons and antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem.*, 6 (2), 163-172.
- [88] Satyanarayana, Y., Lown, J.W. (2000). Design and synthesis of a new class of pyrrolobenzimidazole based agents to target human tumor helicases. *Heterocycl. Commun.*, 6 (3), 199-208.
- [89] Rangarajan, M., Kim, J.S., Jin, S., Sim, S.P., Liu, A., Pilch, D.S., LaVoie, E.J. (2000). 2"-Substituted-5-phenylterbenzimidazoles as topoisomerase I poisons. *Bioorg. Med. Chem.*, 8 (6), 1371-1382.
- [90] Rangarajan, M., Kim, J.S., Sim, S.P., Liu, A., Liu, L.F., LaVoie, E.J. (2000). Topoisomerase I inhibition and cytotoxicity of 5-bromo and 5-phenylterbenzimidazoles. *Bioorg. Med. Chem.*, 8 (11), 2591-2600.
- [91] Schipper, N.G.M., Osterberg, T., Wrange, U., Westberg, C., Sokolowski, A., Rai, R., Young, W., Sjoström, B. (2001). *In vitro* intestinal permeability of factor Xa inhibitors: Influence of chemical structure on passive transport and susceptibility to efflux. *Pharm. Res.*, 18 (12), 1735-1741.
- [92] Mann, J., Baron, A., Opoku-Boahen, Y., Johansson, E., Parkinson, G., Kelland, L.R., Neidle, S. (2001). A new class of symmetric bisbenzimidazole-based DNA minor groove-binding agents showing antitumor activity. *J. Med. Chem.*, 44 (2), 138-144.
- [93] Ji, Y.H., Bur, D., Häsler, W., Schmitt, V.R., Dorn, A., Bailly, C., Waring, M.J., Hochstrasser, R., Leupin, W. (2001). Tris-benzimidazole derivatives: design, synthesis and DNA sequence recognition. *Bioorg. Med. Chem.*, 9 (11), 2905-2919.
- [94] Rastogi, K., Chang, J.Y., Pan, W.Y., Chen, C.H., Chou, T.C., Chen, L.T., Su, T.L. (2002). Antitumor AHMA linked to DNA minor groove binding agents: Synthesis and biological evaluation. *J. Med. Chem.*, 45 (20), 4485-4493.
- [95] Bielawski, K., Bielawska, A., Wolczynski, S. (2002). Synthesis, DNA-binding activity and cytotoxicity of carbamate derivatives of Hoechst 33258 in breast cancer MCF-7 cells. *Biol. Pharm. Bull.*, 25 (7), 916-919.
- [96] Tanious, F.A., Hamelberg, D., Bailly, C., Czarny, A., Boykin, D.W., Wilson, W.D. (2004). DNA sequence dependent monomer-dimer binding modulation of asymmetric benzimidazole derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, 126 (1), 143-153.
- [97] Alper, S., Arpacı, O.T., Aki-Şener, E., Yalcin, I. (2003). Some new bi- and terbenzimidazole derivatives as topoisomerase I inhibitors. *Farmaco.* 58 (7), 497-507.
- [98] Tawar, U., Jain, A.K., Dwarakanath, B.S., Chandra, R., Singh, Y., Chaudhury, N.K., Khaitan, D., Tandon, V. (2003). Influence of phenyl ring disubstitution on bisbenzimidazole and terbenzimidazole cytotoxicity: synthesis and biological evaluation as radioprotectors. *J. Med. Chem.*, 46 (18), 3785-3792.

- [99] Kamal, A., Ramulu, P., Srinivas, O., Ramesh, G., Kumar, P.P. (2004). Synthesis of C8-linked pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepine–benzimidazole conjugates with remarkable DNA-binding affinity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14 (18), 4791–4794.
- [100] Gromyko, A.V., Streltsov, S.A., Zhuze, A.L. (2004). A DNA-specific dimeric bisbenzimidazole. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, 30 (4), 400–401.
- [101] Bielawski, K., Bielawska, A., Anchim, T., Wołczyński, S. (2005). Synthesis, DNA binding, topoisomerase inhibition and cytotoxic properties of 2-chloroethylnitrosourea derivatives of Hoechst 33258. *Biol. Pharma. Bull.*, 28 (6), 1004-1009.
- [102] Le Sann, C., Baron, A., Mann, J., Van den Berg, H., Gunaratnam, M., Neidle, S. (2006). New mustard-linked 2-aryl-bis-benzimidazoles with anti-proliferative activity. *Org. Biomol. Chem.*, 4 (7), 1305-1312.
- [103] Chaudhuri, P., Ganguly, B., Bhattacharya, S. (2007). An experimental and computational analysis on the differential role of the positional isomers of symmetric bis-2-(pyridyl)-1*H*-benzimidazoles as DNA binding agents. *J. Org. Chem.*, 72 (6), 1912-1923.
- [104] Tawar, U., Bansal, S., Shrima, S., Singh, M., Tandon, V. (2007). Nuclear condensation and free radical scavenging a dual mechanism of bisbenzimidazoles to modulate radiation damage to DNA. *Mol. Cell Biochem.*, 305, 221–233.
- [105] Sibirtsev, V.S. (2007). Fluorescent DNA probes: Study of mechanisms of changes in spectral properties and features of practical application. *Biochem.*, 72 (8), 887-900.
- [106] Stolić, I., Mišković, K., Magdaleno, A., Silber, A.M., Piantanida, I., Bajić, M., Glavaš-Obrovac, L. (2009). Effect of 3, 4-ethylenedioxy-extension of thiophene core on the DNA/RNA binding properties and biological activity of bisbenzimidazole amidines. *Bioorg. Med. Chem.*, 17 (6), 2544-2554.
- [107] Alpan, A.S., Zencir, S., Zupkó, I., Coban, G., Réthy, B., Gunes, H.S., Topcu, Z. (2009). Biological activity of bis-benzimidazole derivatives on DNA topoisomerase I and HeLa, MCF7 and A431 cells. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 24 (3), 844-849.
- [108] Singh, M., ve Tandon, V. (2001). Synthesis and biological activity of novel inhibitors of topoisomerase I: 2-Aryl-substituted 2-bis-1*H*-benzimidazoles. *Eur. J. Med. Chem.*, 46 (2), 659-669.
- [109] Işıklıdağ, İ., Özkay, Y., İncesu, Z., Akalın, G. (2011). Anticancer activity of some bisbenzimidazoles. *Z. Naturforsch. C.*, 66, 465-470.
- [110] Wang, X.J., Chu, N.Y., Wang, Q.H., Liu, C., Jiang, C.G., Wang, X.Y., Ikejima, T., Cheng, M.S. (2012). Newly synthesized bis-benzimidazole derivatives exerting anti-tumor activity through induction of apoptosis and autophagy. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 22 (19), 6297-6300.

- [111] Wang, X.J., Wang, Q.H., Liu, C. (2012). A new series of bisbenzimidazole derivatives: synthesis, antitumor activity and low toxicity on PBMC. *Heterocycles*, 85, 2231-2240.
- [112] Kim, S.O., Sakchaisri, K., Thimmegowda, N.R., Soung, N.K., Jang, J.H., Kim, Y.S., Lee, K.S., Kwon, Y.T., Asami, Y., Ahn, J.S., Erikson, R.L., Kim, B.Y. (2013). STK295900, a Dual inhibitor of topoisomerase I and II, induces G2 arrest in the absence of DNA damage. *PloS one*, 8 (1), 53908.
- [113] Ivanov, A.A., Koval, V.S., Susova, O.Y., Salyanov, V.I., Oleinikov, V.A., Stomakhin, A.A., Shalginskikh, N.A., Kyasha, M.A., Kirsanova, O.V., Gromova, E.S., Zhuze, A.L. (2015). DNA specific fluorescent symmetric dimeric bisbenzimidazoles DBP (n): The synthesis, spectral properties, and biological activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 25 (13), 2634-2638.
- [114] Roopashree, R., Mohan, C.D., Swaroop, T.R., Jagadish, S., Raghava, B., Balaji, K. S., Jayarama, S., Rangappa, K.S. (2015). Novel synthetic bisbenzimidazole that targets angiogenesis in Ehrlich ascites carcinoma bearing mice. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 25 (12), 2589-2593.
- [115] Ranjan, N., Story, S., Fulcrand, G., Leng, F., Ahmad, M., King, A., Sur, S., Wang, W., Tse Dinh, Y.C., Arya, D. P. (2017). Selective inhibition of *E. coli* RNA and DNA topoisomerase I by Hoechst 33258 derived mono- and bisbenzimidazoles. *J. Med. Chem.*, 60 (12), 4904-4922.
- [116] Patil, R., Kulshrestha, A., Tikoo, A., Fleetwood, S., Katara, G., Kolli, B., Siebel, W., Gilman-Sachs, A., Patil, S.A., Beaman, K.D. (2017). Identification of novel bisbenzimidazole derivatives as anticancer vacuolar (H⁺)-ATPase Inhibitors. *Molecules*, 22 (9), 1559.
- [117] Tong, Y., Bouska, J.J., Ellis, P.A., Johnson, E.F., Leverson, J., Liu, X., Marcotte, P.A., Olson, A.M., Osterling, D.J., Przytulinska, P., Rodriguez, L.E., Shi, Y., Soni, N., Stavropoulos, J., Thomas, S., Donawho, J.K., Frost, D.J., Luo, Y., Giranda, V.I., Penning, T.D. (2009). Synthesis and evaluation of a new generation of orally efficacious benzimidazole-based poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) inhibitors as anticancer agents. *J. Med. Chem.*, 52 (21), 6803-6813.
- [118] Bandarage, U., Hare, B., Parsons, J., Pham, L., Marhefka, C., Bemis, G., Tang, Q., Moody, C.S., Rodems, S., Shah, S., Adams, C., Bravo, J., Charonnet, E., Savic, V., Come, J.H., Green, J. (2009). 4-(Benzimidazol-2-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-ylamine derivatives: potent and selective P70S6 kinase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 19 (17), 5191-5194.
- [119] Husain, A., Rashid, M., Mishra, R., Parveen, S., Shin, D.S., Kumar, D. (2012). Benzimidazole bearing oxadiazole and triazolo-thiadiazoles nucleus: Design and synthesis as anticancer agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 22 (17), 5438-5444.
- [120] Rashid, M., Husain, A., Mishra, R. (2012). Synthesis of benzimidazoles bearing oxadiazole nucleus as anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 54, 855-866.

- [121] Shaharyar, M., Mazumder, A., Ahsan, M.J. (2014). Synthesis, characterization and anticancer evaluation of 2-(naphthalen-1-ylmethyl/naphthalen-2-yloxymethyl)-1-[5-(substituted phenyl)-[1,3,4] oxadiazol-2-ylmethyl]-1*H*-benzimidazole. *Arab. J. Chem.*, 7 (4), 418-424.
- [122] Rathore, A., Rahman, M.U., Siddiqui, A.A., Ali, A., Shaharyar, M. (2014). Design and synthesis of benzimidazole analogs endowed with oxadiazole as selective COX-2 inhibitor. *Arch. Pharm.*, 347 (12), 923-935.
- [123] Kamal, A., Reddy, T.S., Vishnuvardhan, M.V.P.S., Nimbarte, V.D., Rao, A.S., Srinivasulu, V., Shankaraiah, N. (2015). Synthesis of 2-aryl-1,2,4-oxadiazolo-benzimidazoles: Tubulin polymerization inhibitors and apoptosis inducing agents. *Bioorg. Med. Chem.*, 23 (15), 4608-4623.
- [124] Rashid, M., Husain, A., Mishra, R., Karim, S., Khan, S., Ahmad, M., Al-wabel, N., Husain, A., Ahmad, A., Khan, S.A. (2015). Design and synthesis of benzimidazoles containing substituted oxadiazole, thiadiazole and triazolo-thiadiazines as a source of new anticancer agents. *Arab. J. Chem.*
- [125] Varshney, H., Ahmad, A., Rauf, A., Sherwani, A., Owais, M. (2015). Multistep synthesis of 1-[(5-alkenyl/hydroxyalkenylsubstituted)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]-methyl]-2-methyl-1*H*-benzimidazole series and *in vitro* anticancer screening, SAR studies. *Med. Chem. Res.*, 24 (3), 944-953.
- [126] Karaali, N. ve Mentese, E. (2016). Synthesis and study of antitumor activity of some new 2-(4-methoxybenzyl)-1*H*-benzimidazole derivatives bearing triazole, oxadiazole and ethanol moiety. *Rev. Roum. Chim.*, 61 (3), 187-192.
- [127] Akhtar, M.J., Siddiqui, A.A., Khan, A.A., Ali, Z., Dewangan, R.P., Pasha, S., Yar, M.S. (2017). Design, synthesis, docking and QSAR study of substituted benzimidazole linked oxadiazole as cytotoxic agents, EGFR and ERBB2 receptor inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 126, 853-869.
- [128] Demir Özkay, Ü., Can, Ö.D., Sağlık, B.N., Acar Çevik, U., Levent, S., Özkay, Y., İlgin, S., Atlı, Ö. (2016). Design, synthesis, and AChE inhibitory activity of new benzothiazole-piperazines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 26 (22), 5387-5394.
- [129] Sağlık, B.N., İlgin, S. ve Özkay, Y. (2016). Synthesis of new donepezil analogues and investigation of their effects on cholinesterase enzymes. *Eur. J. Med. Chem.*, 124,1026-1040.
- [130] Altıntop, M.D., Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., İlgin, S., Atlı, Ö., Demirci, F., Kaplancıklı, Z.A. (2014). Synthesis and *in vitro* evaluation of new nitro-substituted thiazolyl hydrazone derivatives as anticandidal and anticancer agents. *Molecules*, 19 (9), 14809-14820.
- [131] Altıntop, M.D., Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., İlgin, S., Atlı, Ö., Demirel, R., Kaplancıklı, Z.A. (2015). A novel series of thiazolyl-pyrazoline derivatives: synthesis and evaluation of antifungal activity, cytotoxicity and genotoxicity. *Eur. J. Med. Chem.*, 92, 342-352.

- [132] Aljewari, H.S., Nader, M.I., Alfaisal, A.H.M., Weerapreeyakul, N. (2010). High efficiency, selectivity against cancer cell line of purified L-asparaginase from pathogenic *E. coli*. *Int. J. Med. Health Biomed. Bioengineer. Pharma. Engineer.*, 4 (5), 199-204.
- [133] Musa, M.A., Badisa, V.L., Latinwo, L.M., Waryoba, C., Ugochukwu, N. (2010). *In vitro* cytotoxicity of benzopyranone derivatives with basic side chain against human lung cell lines. *Anticancer Res.*, 30(11), 4613-4617.
- [134] Souza, A.O. ve Silva, C.L. (2010). Antimycobacterial and cytotoxicity activities of free and liposome-encapsulated 3-(4'-bromo[1,1'-biphenyl-4-yl]-3-(4-bromophenyl)-N,N-dimethyl-2-propen-1-amine. *Quim. Nova.*, 33 (4), 871-874.
- [135] Yurttas, L., Demirayak, S., Ilgin, S., Atlı, Ö. (2014). *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), 6313-6323.
- [136] Staker, B.L., Feese, M.D., Cushman, M., Pommier, Y., Zembower, D., Stewart, L., Burgin, A.B. (2005). Structures of three classes of anticancer agents bound to the human topoisomerase I-DNA covalent complex. *J. Med. Chem.*, 48 (7), 2336-2345.
- [137] Schrödinger, LLC, New York, NY, (2016).
- [138] LigPrep, version 3.8, Schrödinger, LLC, New York, NY, (2016).
- [139] Glide, version 7.1, Schrödinger, LLC, New York, NY, (2016).
- [140] Turan-Zitouni, G., Demirayak, Ş., Özdemir, A., Kaplancıklı, Z.A., Yıldız, M.T. (2003). Synthesis of some 2-[(benzazole-2-yl)thioacetyl amino]thiazole derivatives and their antimicrobial activity and toxicity. *Eur. J. Med. Chem.*, 39 (3), 267-272.
- [141] Nagarapu, L., Apuri, S. ve Kantevari, S. (2006). Potassium dodecatungstocobaltate trihydrate (K₅CoW₁₂O₄₀·3H₂O): A mild and efficient reusable catalyst for the one-pot synthesis of 1,2,4,5-tetrasubstituted imidazoles under conventional heating and microwave irradiation. *J. Mol. Cat. A.*, 266, 104-108.
- [142] Erdik, E. (1993). Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler, Fersa Matbaacılık San. Tic. Ltd. Şti., Ankara.
- [143] Balcı, M. (2000). Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi, Gökçe Ofset Matbaacılık Ambalaj, Tur. San. Ve Tic. Ltd. Şti., Ankara, 25-206.
- [144] Ranjith, P.K., Rajeesh, P., Haridas, K.R., Susanta, N. K., Row, T.N.G., Rishikesan, R., Kumari, N.S. (2013). Design and synthesis of positional isomers of 5 and 6-bromo-1-[(phenyl)sulfonyl]-2-[(4-nitrophenoxy)methyl]-1*H*-benzimidazoles as possible antimicrobial and antitubercular agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 23 (18), 5228-5234.
- [145] Uzgören Baran, A. (2013). Comparative study of microwave-assisted and conventional synthesis of ibuprofen-based acyl hydrazone derivatives. *Turk. J. Chem.*, 37 (6), 927-935.

- [146] Jayakumar, S., Haridass, S. ve Krishnamurthy, V. (2012). Anticancer activity of Punica Granatum Rind extracts against human lung cancer cell line. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 5 (2), 204-210.
- [147] Berridge, M.V., Herst, P.M. ve Tan, A.S. (2005). Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. *Biotechnol. Annu. Rev.*, 11, 127-152.
- [148] Maghni, K., Nicolescu, O.M. ve Martin, J.G. (1999). Suitability of cell metabolic colorimetric assays for assessment of CD4+ T cell proliferation: comparison to 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) ELISA. *J. Immunol. Methods.*, 223 (2), 185-194.
- [149] Stewart, L., Redinbo, M.R., Qiu, X., Hol, W.G.J., Champoux, J.J. (1998). A model for the mechanism of human topoisomerase I. *Science*, 279 (5356), 1534-1541.
- [150] Larsen, A.K. ve Gobert, C. (1999). DNA Topoisomerase I in oncology: Dr Jekyll or Mr Hyde? *Pathol. Oncol. Res.*, 5 (3), 171-178.
- [151] Xu, Y., Wu, L., Rashid, H.U., Jing, D., Liang, X., Wang, H., Liu, X., Jiang, J., Wang, L., Xie, P. (2018). Novel indolo-sophoridinic scaffold as Topo I inhibitors: Design, synthesis and biological evaluation as anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 156, 479-492.
- [152] Xu, Y., Jing, D., Chen, R., Rashid, H.U., Jiang, J., Liu, X., Jiang, J., Wang, L., Xie, P. (2018). Design, synthesis and evaluation of novel sophoridinic imine derivatives containing conjugated planar structure as potent anticancer agents. *Bioorg. Med. Chem.*, 26 (14), 4136-4144.
- [153] Arepalli, S.K., Lee, C., Sim, S., Lee, K., Jo, H., Jun, K.Y., Kwon, Y., Kang, J.S., Jung, J.K., Lee, H. (2018). Development of 13*H*-benzo[*f*]chromeno [4,3-*b*][1,7] naphthyridines and their salts as potent cytotoxic agents and topoisomerase I/II α inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.*, 26 (18), 5181-5193.
- [154] Arthur, D.E. ve Uzairu, A. (2018). Molecular docking study and structure-based design of novel camptothecin analogues used as topoisomerase I inhibitor. *J. Chin. Chem. Soc.*, 65 (10), 1160-1178.
- [155] Bansal, S., Sur, S. ve Tandon, V. (2019). Benzimidazoles: Selective Inhibitors of Topoisomerase I with Differential Modes of Action. *Biochem.*, 58, 809–817

Demir Özkay, Ü., Devrim, C.Ö., Sağlık, B.N., Acar Çevik, U., Levent, S., Özkay, Y., Ilgın, S., Atlı, Ö. (2016). Design, synthesis, and AChE inhibitory activity of new benzothiazole-piperazines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 26 (22), 5387-5394.

Acar Çevik, U., Levent, S., Sağlık, B.N., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A. (2017). Synthesis of novel 4-(dimethylaminoalkyl)piperazine-1-carbodithioate derivatives as cholinesterase inhibitors. *Lett. Drug Des. Discov.*, 14(5), 528-539.

Acar Çevik, U., Nurpelin Sağlık, B., Özkay, Y., Canturk, Z., Bueno, J., Demirci, F., Savas Koparal, A. (2017). Synthesis of new fluoro-benzimidazole derivatives as an approach towards the discovery of novel Intestinal antiseptic drug candidates. *Curr. Pharma. Des.* 23(15), 2276-2286.

Levent, S., Acar Çevik, U., Sağlık, B.N., Özkay, Y., Can, Ö.D., Demir Özkay, Ü., Uçucu, Ü. (2017). Anticholinesterase activity screening of some novel dithiocarbamate derivatives including piperidine and piperazine moieties. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem.* 192 (4),469-474.

Gençer, H.K., Levent, S., Çevik, U. A., Özkay, Y., Ilgın, S. (2017). New 1, 4-dihydro [1,8] naphthyridine derivatives as DNA gyrase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 27(5), 1162-1168.

Karaca Gençer, H., Acar Çevik, U., Levent, S., Sağlık, B.N., Korkut, B., Özkay, Y., Ilgın, S., Öztürk, Y. (2017). New benzimidazole-1,2,4-triazole hybrid compounds: Synthesis, anticandidal activity and cytotoxicity evaluation, *Molecules*, 22(4), 507.

Karaca Gençer, H., Acar Çevik, U., Kaya Çavuşoğlu, B., Sağlık, B. N., Levent, S., Atlı, Ö., ... & Kaplancıklı, Z. A. (2017). Design, synthesis, and evaluation of novel 2-phenylpropionic acid derivatives as dual COX inhibitory-antibacterial agents. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 32(1), 732-745.

Can, N.Ö., Acar Çevik, U., Sağlık, B.N., Özkay, Y., Atlı, Ö., Baysal, M., Demir Özkay, Ü., Can, Ö.D. (2017). Pharmacological and toxicological screening of novel benzimidazole-morpholine derivatives as dual-acting inhibitors, *Molecules*, 22(8), 1374.

Can, N.Ö., Acar Çevik, U., Sağlık, B.N., Levent, S., Korkut, B., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A., Koparal, A.S. (2017). Synthesis, molecular docking studies and antifungal activity evaluation of new benzimidazole-triazole as potential lanosterol 14 α -demethylase inhibitors. *J. Chem.*, 22(8), 1374.

Acar Çevik, U., Sağlık, B.N., Korkut, B., Özkay, Y., Ilgın, S. (2017). Antiproliferative, cytotoxic, and apoptotic effects of new benzimidazole derivatives bearing hydrazone moiety. *J. Heterocyclic Chem.* 14(8), 1-14.

Levent, S., Kaya Çavuşoğlu, B., Sağlık, B.N., Osmaniye, D., Acar Çevik, U., Atlı, Ö., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A. (2017). Synthesis of oxadiazole-thiadiazole hybrids and their anticandidal activity. *Molecules*, 22(1), 2004.

Kaplancıklı, Z.A., Levent, S., Osmaniye, D., Sağlık, B.N., Acar Çevik, U., Kaya Çavuşoğlu, B., Özkay, Y., Ilgın, S. (2017). Synthesis and anticandidal activity evaluation of new benzimidazole-thiazole derivatives, *Molecules*, 22(12), 2051.

Ilgın, S., Osmaniye, D., Levent, S., Sağlık, B.N., Acar Çevik, U., Kaya Çavuşoğlu, B., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A. (2017). Design and synthesis of new benzothiazole compounds as selective hMAO-B inhibitors. *Molecules*, 22(12), 2187.

Acar Çevik, U., Sağlık, B.N., Ardiç, C.M., Özkay, Y., Atlı, Ö. (2018). Synthesis and evaluation of new benzimidazole derivatives with hydrazone moiety as anticancer agents, *Turk. J. Biochem.*, 14(8), 1-14.

Turan-Zitouni, G., Kaya Çavuşoğlu, B., Sağlık, B.N., Acar Çevik, U. (2018). Synthesis and antimicrobial activities of some novel thiazole compounds. *Turk. J. Biochem.*, 14(8), 1-14.

Demir Özkay, Ü., Kaya, C., Acar Çevik, U., Can, Ö. (2017). Synthesis and antidepressant activity profile of some novel benzothiazole derivatives. *Molecules*, 22(9), 1490.

Osmaniye, D., Kaya Cavusoglu, B., Saglik, B. N., Levent, S., Acar Cevik, U., Atli, O., ... & Kaplancikli, Z.A. (2018). Synthesis and anticandidal activity of new imidazole-chalcones. *Molecules*, 23(4), 831.

Turan-Zitoun, G., Sağlık, B. N., Çevik, U. A., Levent, S., Ilgın, S., & Hussein, W. (2018). Synthesis and antimicrobial activity of new 2-((1-furan-2-yl) ethylidene) hydrazono)-4-phenylthiazol-3 (2H)-amine derivatives and their schiff bases with 4-nitrobenzaldehyde. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem.* 1-8.

Karaburun, A., Acar Çevik, U., Osmaniye, D., Sağlık, B., Kaya Çavuşoğlu, B., Levent, S., ... & Kaplancıklı, Z. (2018). Synthesis and Evaluation of New 1, 3, 4-Thiadiazole Derivatives as Potent Antifungal Agents. *Molecules*, 23(12), 3129.

Işık, A., Acar Çevik, U., Sağlık, B. N., & Özkay, Y. Synthesis, Characterization, and Molecular Docking Study of Some Novel Imidazole Derivatives as Potential Antifungal Agents. *J. Heterocyclic Chem.* 56(1), 142-152.

Sağlık, B. N., Çavuşoğlu, B. K., Osmaniye, D., Levent, S., Çevik, U. A., Ilgın, S., ... & Öztürk, Y. (2018). In vitro and in silico evaluation of new thiazole compounds as monoamine oxidase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*. 85, 97-108.

Çavuşoğlu, B., Sağlık, B., Osmaniye, D., Levent, S., Acar Çevik, U., Karaduman, A., ... & Kaplancıklı, Z. (2018). Synthesis and Biological Evaluation of New Thiosemicarbazone Derivative Schiff Bases as Monoamine Oxidase Inhibitory Agents. *Molecules*, 23(1), 60.

Karaburun, A., Kaya Çavuşoğlu, B., Acar Çevik, U., Osmaniye, D., Sağlık, B., Levent, S., ... & Kaplancıklı, Z. (2019). Synthesis and Antifungal Potential of Some Novel Benzimidazole-1, 3, 4-Oxadiazole Compounds. *Molecules*, 24(1), 191.

Acar Cevik, U., Saglik, B. N., Levent, S., Osmaniye, D., Kaya Cavuşoglu, B., Ozkay, Y., & Kaplancikli, Z. A. (2019). Synthesis and AChE-Inhibitory Activity of New Benzimidazole Derivatives. *Molecules*, 24(5), 861.

Altındağ, F. D., Sağlık, B. N., Çevik, U. A., Işıkdag, İ., Özkay, Y., Gençer, H. K. (2019). Novel imidazole derivatives as antifungal agents: Synthesis, biological evaluation, ADME prediction and molecular docking studies. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem.*

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

Acar, U., Özkay, Ü.D., Cantürk, Z. International Conference on Antimicrobial Research (ICAR) konferansı dahilinde 'Synthesis and Biological Activity of Some Novel Thiadiazole Derivatives. Code: 452, Madrid, Spain, 1-3 Ekim., 2014.

Acar, U., Cantürk, Z., Demir Özkay, Ü. International Conference on Antimicrobial Research (ICAR) konferansı dahilinde "Synthesis antifungal and anticholinesterase activity evaluation of some substituted carbodithioic acid (3,4-disubstituted-phenylcarbamoyl)-methyl esters", Code: 449, Madrid, Spain, 1-3 Ekim, 2014.

Acar, U., Demir Ozkay, U. Fourth International Meeting on Pharmacy&Pharmaceutical Sciences (IMPPS-4) konferansı dahilinde "Abstract Book" bildiri kitapçığındaki "Design, synthesis and biological evaluation of some piperazinedithiocarbamate derivatives as anticholinesterase inhibitors", PP236-180 pp., Istanbul, Turkey, Eylül, 2014.

Acar, U., Demir Ozkay, U. Fourth International Meeting on Pharmacy&Pharmaceutical Sciences (IMPPS-4) konferansı dahilinde "Abstract Book" bildiri kitapçığındaki "Antifungal and anticholinesterase inhibitory effects of some triazole derivatives", PP235-180 pp., Istanbul, Turkey, Eylül, 2014.

Sağlık, B.N., Acar, U., Özkay, Ö. Synthesis and Cholinesterase Inhibitory Potential of New 1-[4-(4-substitutedpiperazine-1-yl)phenyl]-3-phenylprop-2-en-1-one Derivatives. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, (ISOPS-11), June 9-12, Ankara-Turkey, 2015.

Levent, S., Sağlık, B.N., Acar, U., Özkay, Ö. Synthesis and Anticholinesterase Activity of Novel Imidazole Derivatives. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, (ISOPS-11), June 9-12, Ankara-Turkey, 2015.

Acar, U., Sağlık, B.N., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Some Piperazinedithiocarbamate Derivatives as Cholinesterase Inhibitors. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, (ISOPS-11), June 9-12, Ankara-Turkey, 2015.

Acar, U., Sağlık, B.N., Özkay, Y. Synthesis of Some Novel Benzazole Derivatives as Cox Inhibitors. Frontiers in Medicinal Chemistry (FMC) Antwerp, Belgium - September 14-16, 2015.

Levent, S., Sağlık, B.N., Acar, U., Özkay, Y. Synthesis of Novel Piperidine Compounds as Anticholinesterase Agents. Frontiers in Medicinal Chemistry Antwerp, Belgium - September 14-16, 2015.

Osmaniye, D., Acar, U., Sağlık, B.N., Özkay, Y. Synthesis and Mao Enzymes Inhibitory Activity of Some New Benzimidazole Derivatives Containing Propargyl Side Chain. *Frontiers in Medicinal Chemistry* Antwerp, Belgium - September 14-16, 2015.

Kaya, B., Acar U., Ozkay Y. Synthesis And Cox Inhibition Effect Of Some New Arylproponic Acid Derivatives. *Frontiers in Medicinal Chemistry* Antwerp, Belgium - September 14-16, 2015.

Sağlık, B.N., Acar Cevik, U., Levent S., Özkay, Ö. Synthesis Of New 2,5-Disubstituted Benzimidazole Compounds And Evaluation Of Their Inhibition Potency Against Cholinesterase Enzymes. *International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development(DRD)* 15-17 Ekim, Eskişehir, Turkey. 2015.

Osmaniye D., Acar Cevik U., Sağlık, B.N., Özkay, Y., Bueno J., Demirci F. Synthesis And Antimicrobial Activity Evaluation Of Some 2-((4-(1H-Imidazol-1-Yl)Phenyl)Amino)-2-Oxoethyl Substituted Piperidine/Piperazine-1-Carbodithioate. *International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development(DRD)* 15-17 Ekim, Eskişehir, Turkey, 2015.

Acar Cevik, U., Özkay, Y., Bueno, J., Cantürk, Z., Demirci, F. Synthesis Of New Benzimidazole Derivatives Including Nifuroxazide Analoges And Investigation Of Their Antimicrobial Effects. *International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development(DRD)* 15-17 Ekim, Eskişehir, Turkey, 2015.

Uzun, B., Uçucu, Ü., Özkay, Y., Dikmen, M., Acar Çevik, U. Anticancer Profile Of New Benzothiazole-Benzimidazole Compounds. *International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development (DRD)* 15-17 Ekim, Eskişehir, Turkey, 2015

Sağlık, B.N., Levent, S., Acar Cevik, U., Özkay, Ö. Synthesis And Cholinesterase Inhibitory Potential Of New Substituted Piperazine Derivatives. *1st International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS)*, November 12-15, Antalya Turkey, 2015.

Acar Cevik, U., Özkay, Y., Bueno, J., Demirci, F. Synthesis And Antimicrobial Activity Of Novel Disubstituted Oxadiazole Derivatives. *1st International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS)*, November 12-15, Antalya Turkey, 2015.

Uçucu, Ü., Özkay, Y., Işıkdag, İ., Acar, U., Can, Ö. D., Demir Özkay, Ü. Synthesis of Novel 4-Substituted-Piperazine-1-Carbodithioic Esters and Investigation of Their Inhibitory Activity against Cholinesterase Enzyme. *Spanish-Italian Medicinal Chemistry Congress (SIMCC)*, 12-15 July, Barcelona, Spain, 2015.

Acar Cevik, U. Levent, S. Özkay, Y. Öztürk, Y. Paraben Analysis on Sport and Energy Drink by LC-MS-IT-TOF. *21. st annual Congress of the European College of Sport Science Crossing Borders Through Sport Science*, 6-9 July, Vienna-Austria, 2016.

Acar Cevik, U., Levent, S., Özkay, Y. Analysis of parabens in protein based food supplements. *International Conference on Pharmaceutical Chemistry*, Frankfurt-Germany, September 05-07, 2016.

Kaya, B., Turan-Zitouni, G., Acar, U., Sağlık, B.N., Synthesis and anticholinesterase activity of some new benzofuranone derivatives, International Conference on Pharmaceutical Chemistry, Frankfurt-Germany, September 05-07, 2016.

Levent S., Acar U. Synthesis of novel disubstituted oxadiazole derivatives and antimicrobial activity. International Conference on Pharmaceutical Chemistry, Frankfurt-Germany, September 05-07, 2016.

Turan-Zitouni, G., Tabbi, A., Hussein, W., Acar, U., Sağlık, B.N., Kaplancıklı, Z.A. In favor of identifying effective antimicrobial agents: Synthesis and antimicrobial studies on new cyclopentyl-acetamide derivatives bearing thiazoline moiety, IV. International Conference on Antimicrobial Research Conference (ICAR 2016), Malaga-Spain, June 29-July 01, 2016.

Turan-Zitouni, G., Hussein, W., Acar, U., Sağlık, B.N. To struggle the problem of antibacterial resistance: Synthesis and antimicrobial activity of new 2-[(1-Furan-2-yl)ethylidene)hydrazono]-4-phenylthiazol-3(2H)-amine derivatives, International Conference On Computation For Science And Technology (ICCST-2016), Langkawi-Malaysia, November 03-04, 2016.

Turan-Zitouni, G., Çavuşoğlu, B.K., Sağlık, B.N., Çevik, UA. Synthesis and Antimicrobial Activities of Some Novel Thiazole Compounds. 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (IVEK 2017). İstanbul, April, 26-29, 2017.

Sağlık, B.N., Çevik, UA. Gençer, H.K., Ilgin, S., Korkut, B., Özkay, Y. Synthesis and Anticandidal Activity of New Benzimidazole- 1,2,4-Triazole Derivatives. 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (IVEK 2017). İstanbul, April, 26-29, 2017.

Çevik, U.A., Levent, S., Gencer, H., Özkay, Y., Ilgin, S. Synthesis, Characterization and Molecular Docking Study of Some Novel Fluroquinolone Derivatives as Potential DNA Gyrase Inhibitors. 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (IVEK 2017). İstanbul, April, 26-29, 2017.

Osmaniye, D., Sağlık, B.N., Çevik, U.A., Atlı, Ö., Korkut, B., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A. Synthesis And Mao Enzymes Inhibitory Activity of New Benzylamine Derivatives. 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (IVEK 2017). İstanbul, April, 26-29, 2017.

Çevik, U.A., Atlı, Ö., Ardiç, C.M., Özkay, Y. Design, synthesis and evaluation of anticancer activity of new benzimidazole-hydrazone derivatives. 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (IVEK 2017). İstanbul, April, 26-29, 2017.

Çevik, U.A., Levent, S., Osmaniye, D., Sağlık, B.N., Özkay, Y. Bebek mamalarında koruyucu madde analizi. 1. Sağlık bilimleri kongresi. 29.06.2017-01.0.2017, Aydın.

Çavuşoğlu, B.K., Levent, S., Osmaniye, D., Çevik, U.A., Özkay Y. Marketlerden satın alınan bebek mamalarında içerik analizi. 1. Sağlık bilimleri kongresi. 29.06.2017-01.0.2017, Aydın.

Korkut, B., Acar Çevik, U., Özkay, Y., Atlı, Ö. Design, synthesis molecular docking study and antifungal activity evaluation of new benzimidazole–triazole derivatives, 1st Molecules Medicinal Chemistry Symposium (MMCS 2017), Barcelona-Spain, September 08 (2017).

Karaduman, A.B., Acar Çevik, U., Osmaniye, D., Özkay, Y., Ilgın, S., Synthesis and antimicrobial activity of newly synthesized 2-((5-(4-(5(6)fluoro-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)thio)-derivatives, 1st Molecules Medicinal Chemistry Symposium (MMCS 2017), Barcelona-Spain, September 08 (2017).

Sağlık, B.N., Işık, A., Acar Çevik, U., Özkay, Y., Levent, S., Synthesis, anticandidal activity and molecular docking study of some new imidazole derivatives, 1st Molecules Medicinal Chemistry Symposium (MMCS 2017), Barcelona-Spain, September 08 (2017).

Sağlık, B.N., Acar Çevik, U., Levent, S., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A., Synthesis of new benzimidazole derivatives and evaluation of their anticholinesterase activity, 3rd International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development'17 (DRD 2017), Erzurum-Turkey, P-05, October 05-07 (2017).

Uslu, H., Osmaniye, D., Acar Çevik, U., Özkay, Y., Benkli, K., Kaplancıklı, Z.A., Anticandidal activity screening of novel triazole derivatives, 3rd International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development'17 (DRD 2017), Erzurum-Turkey, P-16, October 05-07 (2017).

Osmaniye, D., Levent, S., Acar Çevik, U., İnci, B., Ilgın, S., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A., Synthesis of new benzothiazole-hydrazone derivatives as potential mao enzymes inhibitors, 3rd International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development'17 (DRD 2017), Erzurum-Turkey, P-85, October 05-07 (2017).

Levent, S., Osmaniye, D., Acar Çevik, U., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A., Synthesis and enzyme activity studies of novel quinoxaline-hydrazone derivatives as monoamine oxidase inhibitors, 2nd International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS 2017), Gazi University Faculty of Pharmacy, Ankara-Turkey, P-163, October 11-13 (2017).

Acar Çevik, U., Levent, S., Kaya Çavuşoğlu, B., Sağlık, B.N., Atlı, Ö., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A., Synthesis and human monoamine oxidase inhibitory activity of thiazole-hydrazone scaffold, 2nd International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS 2017), Gazi University Faculty of Pharmacy, Ankara-Turkey, P-165, October 11-13 (2017).

Osmaniye, D., Levent, S., Acar Çevik, U., Sağlık, B.N., Demir, Y., Özkay, Y., Ilgın, S., Korkut, B., Beydemir, Ş., Kaplancıklı, Z.A., Synthesis and carbonic anhydrase inhibitory activity of some novel sulfonamides, 2nd International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS 2017), Gazi University Faculty of Pharmacy, Ankara-Turkey, P-178, October 11-13 (2017).

Sağlık, B.N., Kaya Çavuşoğlu, B., Kaplancıklı, Z.A., Acar Çevik, U., Osmaniye, D., Levent, S., Beril, İ., Özkay, Y. Synthesis of newbenzothiazole-thiadiazole derivatives

as cholinesterase and monoamine oxidase inhibitors. Isops, 26.06.2018 - 29.06.2018, Ankara.

Kaya Çavuşoğlu, B., Kaplancıklı, Z.A., Acar Çevik, U., Levent, S., Osmaniye, D., Özkay, Y., Karaduman A.B., Sağlık B.N. 1,3,4-thiadiazole derivatives bearing benzylamine moiety:synthesis and monoamine oxidase inhibitory activity evaluation. Isops, 26.06.2018-29.06.2018, Ankara.

Osmaniye D., Levent, S., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A., Sağlık, B.N., Çavuşoğlu, B.K., Beril, İ., Çevik, U.A. Synthesis of newthiazolyl hydrazine derivatives as monoaminoxidase inhibitors. Isops, 26.06.2018-29.06.2018, Ankara.

Levent, S., Çevik, U.A., Sağlık, B.N., Özkay, Y., Çavuşoğlu, B.K., Kaplancıklı, B.K., Korkut, B., Osmaniye, D. Design, synthesis and MAO enzymes inhibitory activity evaluation of new benzothiazol ethiazolyl hydrazine derivatives. Isops, 26.06.2018-29.06.2018, Ankara.

Çevik, U.A., Sağlık, B.N., Levent, S., Osmaniye D., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A., Korkut, B., Çavuşoğlu, B.K. Synthesis, characterization and antifungal evaluation of benzazole derivatives. Isops, 26.06.2018-29.06.2018, Ankara.

Özkay, Y., Osmaniye, D., Çavuşoğlu, B.K., Sağlık, B.N., Levent, S., Çevik, U.A., Atlı, Ö., Kaplancıklı, Z.A. Synthesis and anticancer activity potential of bis(1,3,4-thiadiazole) derivatives. ISOPS, 26.06.2018-29.06.2018, Ankara.

Kaplancıklı, Z.A., Özkay, Y., Osmaniye D., Çavuşoğlu, B.K. Çevik, U.A., Sağlık, B.N., İlgin, S., Behçet, M., Levent, S. Synthesis of new thiadiazole derivatives as anticandidal agents. ISOPS, 26.06.2018 - 29.06.2018, Ankara.

Kaya Çavuşoğlu, B., Osmaniye, D., Acar Çevik, U., Sağlık, B.N., Levent, S. Karaduman, A.B., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A. Design, synthesis and antifungal activity of pyrazoline, thiazole and imidazole bearing hybrid compounds. 2nd International Conference On Pharmaceutical Chemistry. 16.07.2018-17.07.2018. Paris.

Osmaniye, D., Acar Çevik, U., Sağlık, B.N., Levent, S. Kaya Çavuşoğlu, B., Korkut, B., Kaplancıklı, Z.A., Özkay, Y. Synthesize of novel 1,3,4-thiadiazole derivatives as anticancer agents. 2nd International Conference On Pharmaceutical Chemistry. 16.07.2018-17.07.2018. Paris.

Acar Çevik, U., Sağlık, B.N., Levent, S. Kaya Çavuşoğlu, B., Osmaniye, D., Atlı, Ö.E., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A. Synthesis and evaluation of new thiadiazole derivatives as monoamine oxidase inhibitors. 2nd International Conference On Pharmaceutical Chemistry. 16.07.2018-17.07.2018. Paris.

Projeler

Yeni Benzimidazol-Triazol Türevlerinin Antileishmanial Aktivitelerinin Araştırılması. Anadolu Üniversitesi, Yayın ve Araştırma Teşvik Projeleri.

MAO Enzim İnhibitörü Olarak Yeni Hidrazon Yapısı Taşıyan Benzotiyazol Türevlerinin Sentezi, Genotoksik ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması. Anadolu Üniversitesi, Yayın ve Araştırma Teşvik Projeleri.

Mikrodalga Destekli İmino-tiyazolin Halka Kapanması Reaksiyonu İçin Optimum Reaksiyon Şartlarının Belirlenmesi, Anadolu Üniversitesi, Yayın ve Araştırma Teşvik Projeleri.

Schiff Bazlarının İndirgenmesinde Optimum Reaksiyon Verimi için Katalizör Belirlenmesi. Anadolu Üniversitesi, Yayın ve Araştırma Teşvik Projeleri.

Yeni 2-sübstitübenzotiyazol türevlerinin antikolinesteraz etkilerinin araştırılması. Anadolu Üniversitesi, Yayın ve Araştırma Teşvik Projeleri.

Yeni Fenilpropionik Asit Türevlerinin COX Enzimleri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması. Anadolu Üniversitesi, Yayın ve Araştırma Teşvik Projeleri.

Mikrodalga Destekli Benzoksazol Halka Kapanması Reaksiyonu İçin Optimum Reaksiyon Şartlarının Belirlenmesi. Anadolu Üniversitesi, Yayın ve Araştırma Teşvik Projeleri.

Yeni Benzofuranon Türevlerinin Sentezlenmesi ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin Araştırılması. Anadolu Üniversitesi, Genel Amaçlı Proje.

Nifuroksazit Analogları İçeren Yeni Benzimidazol Türevlerinin Sentezleri ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması. Anadolu Üniversitesi Yüksek Lisans Tez Projeleri. Proje No: 1502S060, 24/06/2015.

Narkotik Etkili AM 630, CP 47 497 ve JWH 015 Maddelerinin Çeşitli Farmakolojik Etkilerinin Araştırılması. Anadolu Üniversitesi, Genel Amaçlı Proje.

Bazı Yeni 2-[4-(Sübstitüemetil)fenil]propionik Asit Türevlerinin Sentezlenmesi ve Biyolojik Etkilerinin Araştırılması. Anadolu Üniversitesi, Genel Amaçlı Proje.