

**BAZI 1-METİLEN-2,3-DİARİL-1,2-DİHİDROPIRAZİNO-
[1,2-a]BENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
ANTİKANSER VE ANTI-HIV ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Uzm. Ecz. Usama Abu Mohsen

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Farmasötik Kimya Anabilimdalı'nda
DOKTORA TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK

Ocak 1999

tezinin bir kopyasını veya tamamını
fotokopi çekilebilir.

2

Usama Abu Mohsen'in DOKTORA tezi olarak hazırladığı "BAZI 1-METİLEN-2,3-DİARİL-1,2-DİHİDROPIRAZİNO[1,2-a]BENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE ANTİKANSER VE ANTİ-HIV ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI" başlıklı bu çalışma jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

08/01/1999

Üye: Prof. Dr. Aysel GÜRSOY

Üye: Prof. Dr. Öznur ATEŞ

Üye: Prof. Dr. Serap DEMİRAYIK

Üye: Prof. Dr. Gülhan ZİTOUWİ

Üye: Prof. Dr. Ümit HÜCCU

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 21.12.1998 gün ve ...37/1... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

Bu çalışmada, bazı 1-metilen-2,3-diaril-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol türevlerinin sentezlenmesi ve antikanser ve anti-HIV-1 etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Bileşikleri sentez etmek için önce, 2-asetilbenzimidazol ile değişik α -bromoasetofenon türevleri aseton içinde potasyum karbonat varlığında reaksiyona sokularak, sonra başlangıç maddeleri olan 1-(2-aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol türevleri elde edildi. Bu bileşiklerin uygun anilin türevleriyle asetik asid içerisinde ısıtılmasıyla yeni onbir adet 1-metilen-2,3-diaril-1,2-dihidropyrazino[1,2-a]benzimidazol türevleri elde edildi.

Elde edilen bileşiklerin saflıkları İTK ile kontrol edildikten sonra erime dereceleri saptandı. Bileşiklerin yapıları, UV, IR, $^1\text{H-NMR}$ ve MS spektroskopik analiz verileri ve elementel analiz sonuçları kullanılarak aydınlatıldı.

Bileşiklerin antikanser ve anti-HIV-1 etkilerini araştırıldı. Elde edilen sonuçlara göre bileşiklerin kayda değer antikanser etkiye sahip oldukları saptandı. Anti-HIV-1 etki testi verilerine göre ise bileşiklerimizin etkisiz oldukları görüldü.

ANAHTAR KELİMELER

Pirazino[1,2-a]benzimidazol, sentez, yapı aydınlatma, antikanser etki ve anti-HIV etki.

SUMMARY

In this study, it was aimed to investigate the synthesis, anticancer and anti-HIV-1 activity of some 1-methylene-2,3-diaryl-1,2-dihydropyrazino[1,2-a]benzimidazole derivatives.

To synthesize the compounds, firstly, 2-acetylbenzimidazole was reacted with various α -bromo-acetophenone in the presence of potassium carbonate in acetone and thus, the starting materials which were 1-(2-aryl-2-oxoethyl)-2-acetylbenzimidazole derivatives were prepared. After, heating these compounds with appropriate aniline derivatives in acetic acid, eleven new 1-methylene-2,3-diaryl-1,2-dihydropyrazino[1,2-a]benzimidazole derivatives were obtained.

The purity of the compounds were controlled by TLC and then melting points were determined. The chemical structures of the synthesized compounds were elucidated by their UV, IR, $^1\text{H-NMR}$ and MS and elementary analysis data.

Anticancer and anti-HIV-1 activities of the compounds were investigated. According to the test results, it was observed that the compounds have remarkable anticancer, but no anti-HIV-1 activity.

KEY WORDS

Pyrazino[1,2-a]benzimidazole; Synthesis; Structure elucidation, Anticancer activity and Anti-HIV activity.

TEŞEKKÜR

Değerli fikir, eleştiri ve yönlendirmeleriyle çalışmamın gerçekleşmesini sağlayan, danışmanım Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK'a,

Tez çalışmalarımı maddi olarak destekleyen Anadolu Üniversitesi, Araştırma Fon Saymanlığı'na,

Çalışmalarım sırasında T.B.A.M.'nin imkanlarından yararlanmamıza izin veren Merkez Müdürü ve Eczacılık Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Kemal Hüsnü Can BAŞER'e ve yardımlarını esirgemeyen, T.B.A.M.'nde görevli arkadaşlarıma,

UV Spektrofotometrik çalışmalarındaki katkılarından dolayı Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Erden Güler ve Yard. Doç. Dr. Lütfi Genç'e,

Daima yakın ilgi ve desteklerini gördüm, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'ndaki hocalarıma ve arkadaşlarıma,

Doktora programı süresince her türlü destek ve fedakarlıklarından dolayı aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
SUMMARY	ii
TEŞEKKÜR	iii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.KAYNAK BİLGİLERİ	4
2.1. Kanser Hakkında Genel Bilgiler	4
2.2. Antikanser ilaçlar	5
2.2.1. Antimetabolit İlaçlar	6
2.2.2. DNA Bağlayıcı İlaçlar	8
2.2.3. Kromatin Fonksiyon İnhibitörleri	14
2.2.4. Endokrin Fonksiyonları Etkileyen İlaçlar	16
2.3. Yeni Antikanser Bileşik Araştırmaları	17
2.4. Aıds Hakkında Genel Bilgiler	23
2.5. Anti-HIV-1 etkili bileşikler	23
2.6. Pirazino[1,2-a]benzimidazoller Hakkında Genel Bilgiler	27
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER	30
3.1. Araç ve Gereçler	30
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
3.1.2. Kullanılan Elektronik Aletler	30
3.2. Kromatografik Çalışmalar	31
3.3. Başlangıç Maddelerinin Eldesi	31
3.3.1. α -Bromoasetofenon Türevlerinin Eldesi Genel Yöntem	31
3.3.2. 2-(1-Hidroksietil)benzimidazol	31
3.3.3. 2-Asetilbenzimidazol	31
3.3.4. 1-(2-Aril-2-okzoetil)benzimidazol	32
3.3.5. 1-Metilen-2- (4-sübstitüe fenil)-3-(4-sübstitüe fenil)- prazino[1,2- a]benzimidazol Türevlerinin Eldesi.	32
3.4.Elde Edilen Bileşiklerin Analizi	32
3.4.1. Erime Derecesi Tayini	32
3.4.2. C, H, N, Tayini	32
3.4.3. Ultraviyole Spektrumlarının Alınması	33
3.4.4. Infrared Spektrumlarının Alınması	33
3.4.5. Nükleer Magantik Rezonans Spektrumlarının Alınması	33
3.4.6. Kütle Spektrumlarının Alınması	33

3.5. Biyolojik Aktivite deneyleri	33
3.5.1. Antikanser etki testi	33
3.5.2. Anti-HIV Etki testi	34
4.SONUÇ VE TARTIŞMA	35
4.1. Bileşiklerin Sentezi	35
4.1.1. Başlangıç Maddelerinin Eldesi	
4.1.2. 1-Metilen-2- (4-sübstitüe fenil)-3-(4-sübstitue fenil)- prazino[1,2-a]benzimidazol Türevlerinin Eldesi.	39
4.2. Elde Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini	71
4.2.1. Spektral Verilerin değerlendirilmesi	71
4.2.1.1. IR Bulguları	71
4.2.1.2. NMR Bulguları	71
4.2.1.3. MS Bulguları	72
4.3. Biyolojik Aktivite Bulguları	80
4.3.1. Antikanser Aktivite bulguları	80
4.3.2. Anti-HIV-1 Aktivite Bulguları	91
5.KAYNAKLAR	93
ÖZGEÇMİŞ	110

ŞEKİLLER, TABLOLAR VE ŞEMALAR

sayfa

Şekiller

Şekil 4.1. Bileşik 1'e ait UV Spektrumu	41
Şekil 4.2. Bileşik 1'e ait IR Spektrumu	42
Şekil 4.3. Bileşik 1'e ait NMR Spektrumu	42
Şekil 4.4. Bileşik 1'e ait EI-MS Spektrumu	43
Şekil 4.5. Bileşik 2'ye ait IR Spektrumu	45
Şekil 4.6. Bileşik 2'ye ait NMR Spektrumu	45
Şekil 4.7. Bileşik 3'e ait NMR Spektrumu	47
Şekil 4.8. Bileşik 3'e ait EI-MS Spektrumu	48
Şekil 4.9. Bileşik 4'e ait EI-MS Spektrumu	50
Şekil 4.10. Bileşik 6'ya ait EI-MS Spektrumu	53
Şekil 4.11. Bileşik 7'ye ait NMR Spektrumu	56
Şekil 4.12. Bileşik 8'e ait UV spektrumu	58
Şekil 4.13. Bileşik 8'e ait IR Spektrumu	59
Şekil 4.14. Bileşik 8'e ait NMR Spektrumu	59
Şekil 4.15. Bileşik 9'e ait EI-MS spektrumu	61
Şekil 4.16. Bileşik10'e ait IR Spektrumu	63
Şekil 4.17. Bileşik 10'e ait NMR Spektrumu	64
Şekil 4.18. Bileşik 10'e ait EI-MS Spektrumu	64
Şekil 4.19. Bileşik 11'e ait UV Spektrumu	66
Şekil 4.20. Bileşik 11'e ait IR Spektrumu	67
Şekil 4.21. Bileşik 11'e ait NMR Spektrumu	68
Şekil 4.22. Doz-cevab Eğrileri	83
Şekil 4.23. $\log_{10}GI_{50}$ grafiği	84
Şekil 4.24. $\log_{10}TGI$ grafiği	85
Şekil 4.25. $\log_{10}LC_{50}$ grafiği	86
Şekil 4.26. Bileşik 1'nin anti-HIV etki sonuçları	92

Tablolar

Tablo 4.1. Veri tablosu	82
Tablo 4.2. $\log_{10}GI_{50}$ değerleri	87
Tablo 4.3. $\log_{10}TGI$ değerleri	87
Tablo 4.4. $\log_{10}LC_{50}$ değerleri	88

Şemalar

Şema 1.1. Sentezlenmesi amaçlanan bileşikler	3
Şema 2.1. Bazı antimetabolitler	7
Şema 2.2. Bazı azotlu hardal bileşikleri	8
Şema 2.3. Azotlu hardalların etki mekanizması	9
Şema 2.4. Bazı nitrosüreler	10
Şema 2.5. Nitrosürelerin etki mekanizması	11
Şema 2.6. Bazı aziridin bileşikleri	11
Şema 2.7. Mitomisin etki mekanizması	12
Şema 2.8. Bazı antikanser etkili antibiyotikler	13
Şema 2.9. Bazı Kromatin fonksiyon inhibitörleri	15
Şema 2.10. Bazı östrojen antagonistleri	16
Şema 2.11. Bazı seskiterpenik α -metilen- lakton türevleri	17
Şema 2.12. α -Metilen- lakton türevlerinin etki mekanizması	18
Şema 2.13. Bazı α -metilen- lakton türevleri	18
Şema 2.14. α -Metilen- lakton kalıntısı taşıyan hormon türevleri	19
Şema 2.15. α,β -Doymamış keton türevleri	19
Şema 2.16. Mannich bazlarının deaminasyon reaksiyonu	20
Şema 2.17. Kinon metid türevlerinin etki mekanizması	20
Şema 2.18. Kinon metid kalıntısı taşıyan indol türevlerinin etki mekanizması	21
Şema 2.19. Kinon metid kalıntısı taşıyan benzimidazol türevlerinin etki mekanizması	21
Şema 2.20. Kinon metid kalıntısı taşıyan kinazolin türevlerinin etki mekanizması	22
Şema 2.21. Enaminlerin etki mekanizması	22
Şema 2.22. Nükleozid yapılı anti-HIV-1 etkili ilaçlar	24
Şema 2.23. Primidin-2,4-dion ve piridin-2-on türevi bileşikler	25
Şema 2.24. Bazı kondanse diazepin türevi bileşikler	25
Şema 2.25. Bazı α -APA türevi bileşikler	26
Şema 2.26. Bazı Ariltiyazolobenzimidazol türevi bileşikler	26
Şema 2.27. Bazı Ariltiyazolobenzimidazol ve Nevirapine'nin uzaysal yapıları	26
Şema 2.28. Bazı pirazinobenzimidazol türevlerinin sentezi	27
Şema 2.29. Bazı pirazino-benzimidazol ve pirido-benzimidazol türevlerinin sentezi	28
Şema 2.30. Bazı 1-(2-arilvinil)-3-arilpirazino-benzimidazol türevlerinin sentezi	29
Şema 4.1. Bileşiklerin sentezi	70
Şema 4.2. Bileşik 1'in MS parçalanma şeması	74
Şema 4.3. Bileşik 3'ün MS parçalanma şeması	75
Şema 4.4. Bileşik 4'ün MS parçalanma şeması	76
Şema 4.5. Bileşik 6'nın MS parçalanma şeması	77
Şema 4.6. Bileşik 9'un MS parçalanma şeması	78
Şema 4.7. Bileşik 10'un MS parçalanma şeması	79
Şema 4.8. 1-Metil-3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol türevleri	89
Şema 4.9. Bileşik 1'in metil merkptoasetat ile reaksiyonu	89
Şema 4.10. Tamoksifen'in yayısıyla Bileşik 1'in,benzotyofen ve indol türevlerinin yapıları	90
Şema 4.11. Sentezi düşünülen bileşikler	91

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Latince'de yengeç anlamına gelen kanser (Karsinoma), eski çağlardan beri en önemli sağlık problemlerinden birisi olagelmıştır⁽¹⁻⁶⁾ . Bir yengecin bulunduğu yere pençeleriyle tutunması, kanserin çevre dokulara yayılma ve ilerleme özelliğine benzetilerek bu ad verilmiştir. Kanser pek çok bilimsel yayın yanında, günlük basında da geniş bir yer bulması, konunun önemini gözler önüne sermektedir. Gerçekte kanser, bir tek hastalığın değil, bir grup hastalığın ortak adıdır. Bugüne kadar yüzden fazla kanser tipine tanı konmuştur. Bunu, antikanser ilaçların genellikle belirli tipteki kanser türlerine etkili olması da göstermektedir. Ancak tümörlerin üniversal olarak kabul edilen hiçbir isimlendirme sistemi yoktur. Bazı tümörler, hastalığı ilk kez tanımlayan kişinin adıyla adlandırılırlar. Örneğin, Ewing kemik tümörü, Paget hastalığı, Hodgkins hastalığı gibi. Bazıları da oluşturduğu dokuya göre adlandırılırlar. Örneğin, papiller, sistik, foliküler tümör gibi. Yıllardır bütün dünyada bilim çevrelerince, kanser üzerinde yoğun çalışmalar giderek artan bir hızla sürdürülmektedir. Bu da, kanserin önemini o ölçüde daha iyi anlaşılır hale getirmektedir.

İstatistiklere göre, her yüzbin kişiden, 1930 yılında 143, 1950 yılında 157, 1986 yılında 171 kişi kanserden ölmüştür. Görüldüğü gibi oran, yıllar içinde artmıştır. Akciğer kanseri ise bu artışın başlıca sebebidir. 1986 Yılına ait verilerden kanserden ölüm vakalarının %50'sinin akciğer kanserine bağlı olduğu gösterilmiştir. Kanser, kardiyovasküler rahatsızlıklardan hemen sonra en sık rastlanan bir hastalık olmasına rağmen, en çok korkulan hastalıktır.

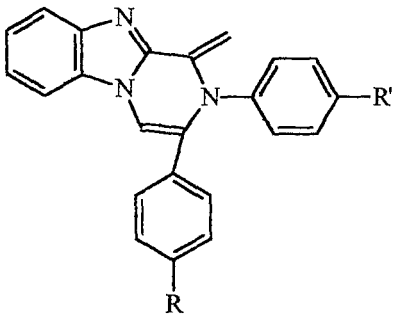
Kanser, canlı dokudaki hücrelerin vücudun otonom kontrolü dışında ve durdurulamaz bir şekilde bölünmeye başlamasıyla ortaya çıkar ve böylece tümör denilen olgu meydana gelir. İyi huylu, dokunun belirli bir yerinde bulunup yayılmayan ve vücuda

zararlı olmayan tümörler kanser sayılmamaktadır. Kanser, kötü huylu tümörlerin çevreye dağılarak doku ve organları harap etmesiyle kendini gösterir. Kanser tedavisinde kanserin cinsine göre, cerrahi müdahale, radyasyon tedavisi, immunoterapi yanında en yaygın yöntem olarak kemoterapi kullanılmıştır^(5,7). Kemoterapinin, bakteriyel, protozoer ve fungal enfeksiyonlarda başarıyla kullanılıyor olması, aşırı şekilde çoğalan kötü huylu hücrelerin de kemoterapiyle yok edilebileceğini akla getirir. Aslında hem mikrobu hem de kanserli hücrenin kemoterapisinin temel ilkesi, diğer normal hücrelere zarar vermeden mikrobu veya kanserli hücrenin öldürülmesi veya çoğalmasının durdurulmasıdır. Ancak mikrobik hücrelerin vücut hücrelerinden çok farklı özelliklere sahip olması, kemoterapiyi başarılı kılarken, kanserli hücrelerin vücudun diğer normal hücrelerine çok benzer özelliklere sahip olması nedeniyle kemoterapide kullanılan ajanın selektivitesini azaltır. İlaç, kanserli hücreler yanında normal hücrelere de zarar verir. Aynı zamanda kanserli hücrelerin tamamını da yok edemezler. Örneğin 100 gr ağırlığındaki bir kanserli doku, 10^{11} hücre içerir. Kemoterapiyle bu hücrelerin %99.9'u öldürülebilmiş bile olsa, geride hala 10^8 kanserli hücre kalır. Bu oran da hastanın immun tepkisi için çok fazladır. Ancak, aynı tedavi küçük bir kanserli dokuya uygulanmasıyla 10^2 - 10^3 kadar hücre kalır ki, bu da vücudun immün sistemi yardımıyla zararsız hale getirilebilir⁽⁶⁾. Kanser kemoterapisi son 40-50 yıldır önemli aşamalar katetmiş durumdadır ve pek çok kanser türü için 5-10 yıllık bir sağlıklı yaşantı sağlanabilmiştir⁽⁵⁾.

1981 yılından beri bilinen AIDS(Acquired Immunodeficiency Syndrome, kazanılmış immun yetmezlik sendromu) hastalığı da, kanser kadar korkulan bir hastalıktır. Bulaşma yollarının bilinmesine rağmen enfeksiyona yakalanma oranı hızla artmaktadır. Ülkemizde de son yıllarda AIDS vakalarına rastlanmıştır.

Literatürde, kanser kemoterapisinde yaygın olarak kullanılan ilaçların başlıcaları, DNA sentezi için gerekli olan folat, purin ve pirimidin nükleosidlerinin antagonistleri, doğrudan DNA, RNA veya bazı enzimlere bağlanarak bunlarının işlevlerini bozan alkilleyici ajanlarla, bazı antibiyotikler, topoizomeraz inhibitörleri ve bazı steroid yapılı hormonlardır (Bölüm 2.2). Bunların dışında, antikanser ilaç araştırma çalışmaları büyük bir hızla devam etmektedir⁽⁵⁾. Terpenik yapılı doğal bileşiklerden bazı α -metilen lakton türevlerinin (**Hellenalin A**, **Elefantopin**, **Öpatundin** ve **Vernelopin**) ve kinonmetid kalıntısı içeren pek çok bileşiğin antikanser etki gösterdiği belirtilmiştir (Bölüm 2.3). AIDS tedavisi için geliştirilen ilaçların büyük bir bölümü gerçekte antimetabolit yapıdaki

ve ilk kullanım amaçları antitümör etki olan bileşiklerdir. Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada, kinon metid analogu kalıntı taşıyan bazı 1-metilen-2,3-diaril-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol türevleri sentezlenerek antikanser ve anti-HIV etkilerinin araştırılması düşünülmüştür (Şema 1.1).



R ve R' = H, CH₃, OCH₃, Cl

Şema 1.1. Sentezlenmesi amaçlanan bileşikler.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Kanser Hakkında Genel Bilgiler

Kanser olgusunu ve antikanser ilaç gruplarının özelliklerini açıklayabilmek için hücre bölünmesiyle ilgili olarak hücre dönemleri ve bunları belirleyen simgelerin aşağıdaki gibi kısaca özetlenmesi gerekebilir⁽⁷⁻⁹⁾.

i. İstirahat dönemi (G_0): Bu dönemde hücrede çoğalmayla ilgili metabolik bir faaliyet yoktur.

ii. Sentez hazırlık dönemi (G_1): DNA sentezi ile ilgili enzimlerin ve RNA'nın sentezlendiği en uzun süren dönemdir.

iii. DNA sentezi yani replikasyon dönemi (S): Bu dönemde RNA sentezi devam ederken, protein sentezi de en yüksek düzeydedir. Bu arada, hücre kalıtsal yapısını iki katına çıkartmak için DNA sentezine başlamıştır.

iv. Mitoza hazırlık dönemi (G_2): Özel RNA'ların ve proteinlerin sentez edildiği ve mitoz içiğinin oluştuğu dönemdir.

v. Mitoz dönemi (M): Bu dönemde hücredeki bütün bileşenler çiftleşmiştir ve bunların bölünmeyle iki yavru hücre oluşmuştur.

Hücre dönemi, yeni bir hücrenin doğuşundan itibaren kendisinin de bölünmesine kadar geçen zamandır. Hücre, bölünebilmek için önce bütün bileşenlerini çiftleştirmek durumundadır. DNA çiftlenmesi ise en önemli çiftlenme olayıdır. Hücreler G_0 durumundan her hangi bir eksiklik durumunda (hormonlar gibi, herhangi bir protein gibi) G_1 'e dönebilirler.

Kanser, bazı hücrelerin normaldeki büyüme ve bölünme sınırlarına uymamalarına yol açan bir değişikliğe uğramasının sonucudur^(8,9). Bu hücreler, normalde, bir dokuda belirli bir sayıya ulaşan hücrelerin büyüme ve çoğalmasını durduran kontrole artık bağlı

değildirler. Normal hücrelerle kanserli hücreler arasındaki fark kesin olarak bilinmemektedir. Ancak yapılan araştırmalar kanser hücrelerinin genetik yapılarının normal hücrelerden farklı olduğunu göstermiştir. Hücre kültüründe büyüyen kanser hücreleri normal hücrelerden farklıdır. Normal hücreler kültür tabağını örten düzgün bir hücre tabakası teşkil edene kadar büyürler. Kanserli hücreler ise sınırsız bir şekilde büyümeye devam ederler.

Araştırmacılara göre, kanser, her zaman çekirdekteki genetik sistemin bir bölümünün mutasyona uğramasından doğmaktadır. Mutasyon ise, kendi kendine oluşabildiği gibi bazı durumlarda irritan maddelerden, ışınlanmalardan veya hücrede bir virüsün varlığından ileri gelebilmektedir. Bazı durumlarda ilaç olarak kullanılan bileşiklerin, hatta kanser tedavisinde kullanılan ilaçların bile, kanser oluşumuna yol açtığı belirtilmiştir. Örneğin, azotlu hardalardan **Siklofosamid**, **Melfalan**, **Klorambusil**, alkilsülfonatlardan **Busulfan**, Nitrosoürelerden **Karmustin**, diğer gruplardan **Prokabazin** ve **Etoposid** gibi kemoterapötik kanser ilaçlarının lösemiye neden olduğu bildirilmiştir. Mutasyona uğrayan hücrede büyüme ve çoğalmayı sınırlayan otonom kontrol artık ortadan kalkmıştır. Sonsuz büyüme ve çoğalmayla bu hücrelerin sayısı eksponansiyel olarak artacaktır. Kanserli doku, besin bakımından normal dokuların payına ortak olur ve sonuçta kanserli hücrelerin sayısı gün geçtikçe büyük bir hızla artacağından dolayı bunların besin isteği vücutta var olan besinin tamamını kapsamaya başlar. Bu suretle normal dokular gitgide artan bir açlıkla besin yetersizliği ölümüne sürüklenirler.

2.2. Antikanser İlaçlar

Antikanser ilaçlar etki mekanizmalarına göre başlıca dört grupta incelenebilirler⁽⁵⁾.

1-Antimetabolitler

2- DNA bağlayıcı ilaçlar

a-kovalan bağ yapanlar

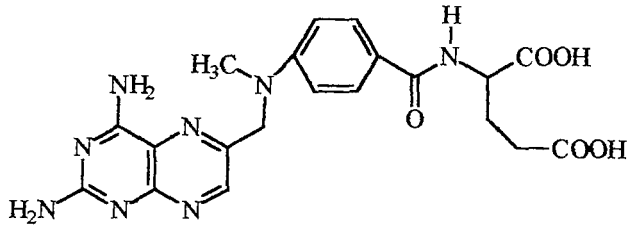
b-nonkovalan bağ yapanlar

3-Kromatin fonksiyon inhibitörleri

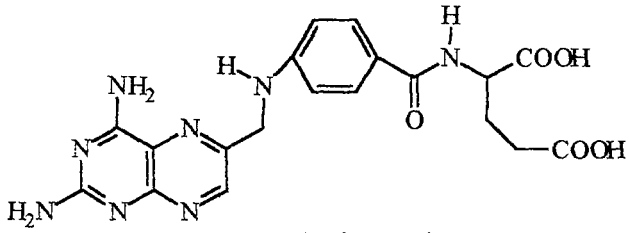
4-Endokrin fonksiyonları etkileyen ilaçlar

2.2.1. Antimetabolit İlaçlar

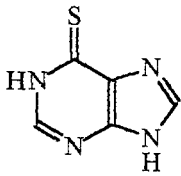
Nükleik asidlerin sentez yoluna müdahale ederler⁽⁵⁾. Bu ilaçların bazıları DNA sentezinin prekürsörleri olan deoksiribonükleosid trifosfatların üretimini inhibe ederler. Bunun sonucunda da replikasyon işlemi inhibe edilmiş olur. Folik asid antimetabolitleri bu grubu ilaçlardandır. Bazı antimetabolitler de, nükleosid trifosfatların sentezini engellemeleri yanında nükleosid sentezinde kullanılan purin ve pirimidinlere yapısal olarak benzerlikleri nedeniyle, onlarla anabolik enzimler için kompetisyona girerek normal prekürsörlerin oluşumunu inhibe ettikleri gibi, aynı zamanda onların substratı olarak da kullanılabilirler. Purin ve pirimidin antimetabolitleri de bu grubu ilaçlardandır. Döneme özgü ilaçlar da denen bu grubu ilaçlar G₁ ve S dönemlerinde etkilidirler. Bu grubu ilaçlardan bazıları folik asid antimetabolitlerinden⁽¹⁰⁻¹⁹⁾ **Metotreksat, Aminopterin**, purin antimetabolitlerinden⁽²⁰⁻²⁴⁾ **6-Merkaptopurin, 6-Thiyoguanin, Hipoksantin, Allopurinol** ve pirimidin antimetabolitlerinden⁽²⁵⁻³⁵⁾ **Sitarabin, 5-Florourasil, 5-Azasitidin** olarak sayılabilir (Şema 2.1).



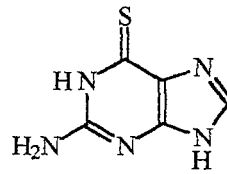
Metotreksat



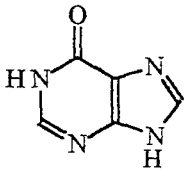
Aminopterin



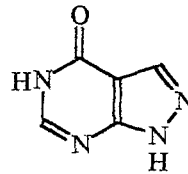
6-Merkaptopurin



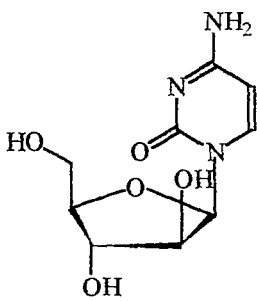
6-Tiyoguanin



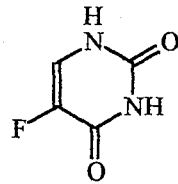
Hipoksantin



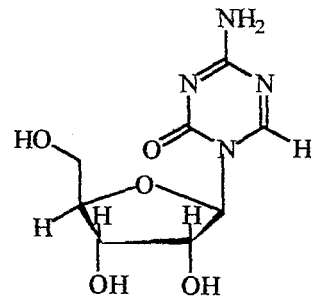
Allopurinol



Sitarabin



5-Florourasil



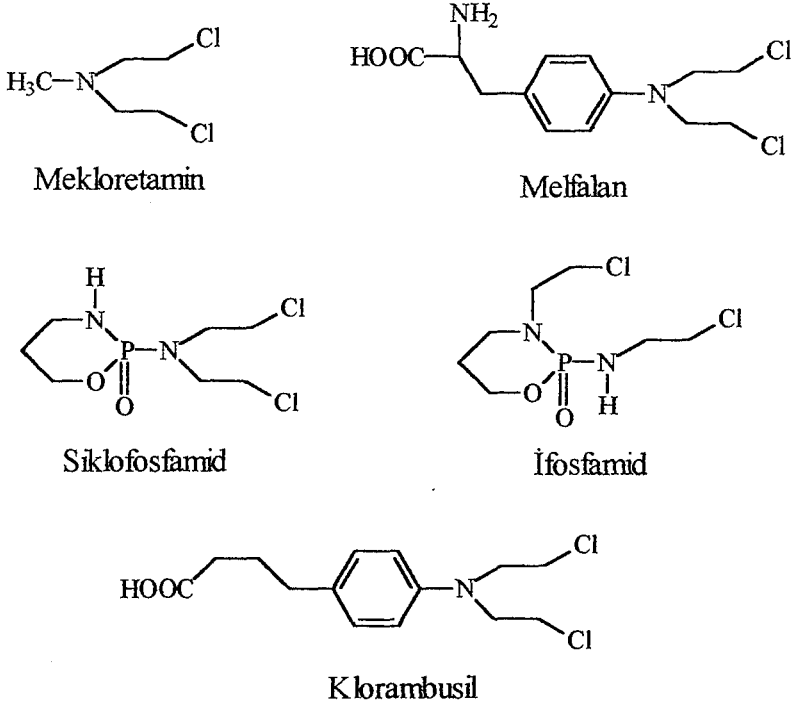
5-Azasitidin

Şema 2.1. Bazı antimetabolitler.

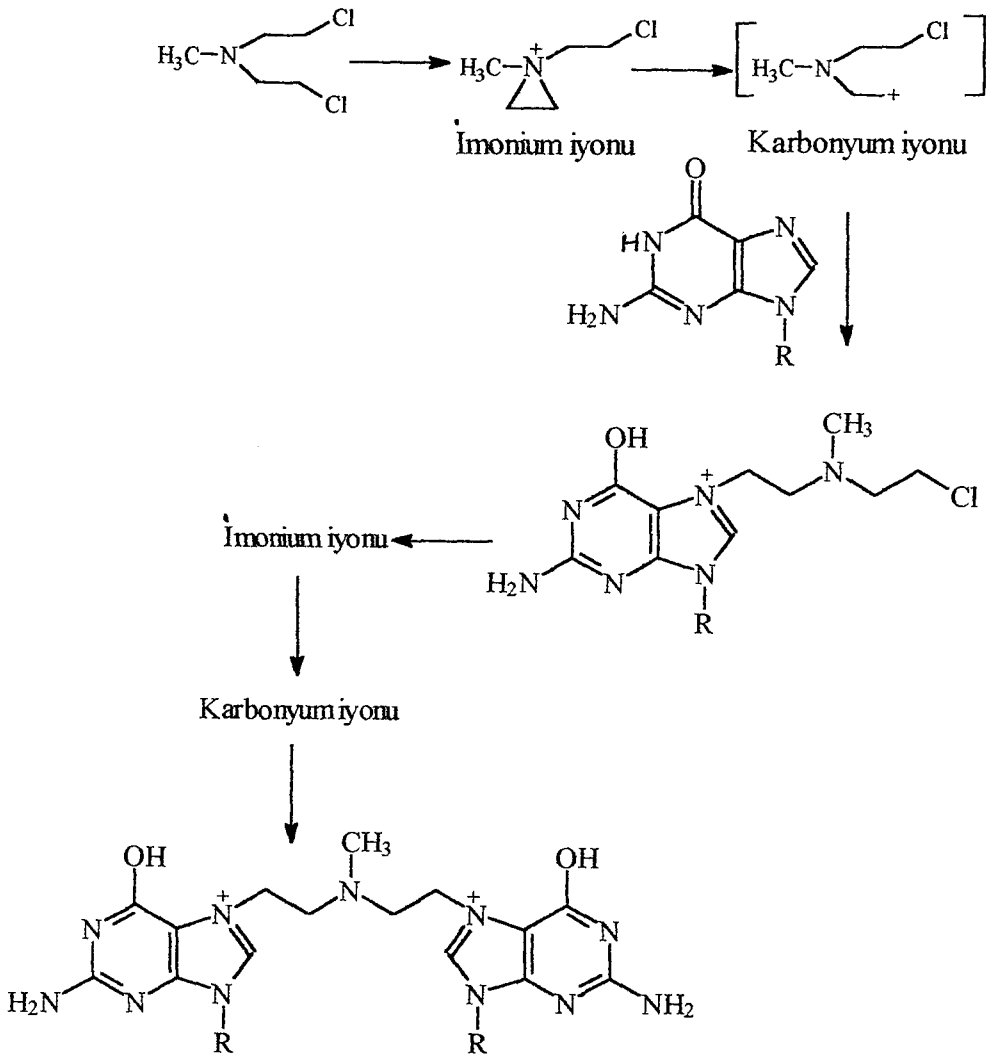
2.2.2. DNA Bağlayıcı İlaçlar

a-Kovalan bağla DNA bağlayan ilaçlar

Bu ilaç grubunda, azotlu hardallar, alkilsülfonatlar, nitrozürelere ve etileniminlerin içinde bulunduğu alkilleyici ajanlar yer almaktadır. Alkilleyici ajanlar oldukça yüksek reaktiviteye sahiptirler ve vücuttaki nükleofilik grupların çoğuyla kovalan bağlar oluştururlar. Böyle bir bağlanmayla DNA ve RNA molekülleri yanında protein ve enzim molekülleri de bloke edilmiş olur. Bu makromoleküllerin artık vücut için yabancılaşmış yeni şekilleri nedeniyle bu ilaçların sitotoksik etkileri yanında mutajenik ve karsinojenik etkileri de ortaya çıkabilir. Azotlu hardallar, 'pro-drug'lardır. Vücuda verildiklerinde etilenimonyum türevlerine dönüşürler, daha sonra amino, karboksil, sülfidril veya imidazol kalıntıları gibi nükleofilik gruplar karşısında karbonyum ara basamağı üzerinden bunlarla kovalan bağlarla bağlanırlar. Bu ilaçlardan bazıları **Mekloreタミン**, **Melfalan**, **Siklofosfamid**, **İfosfamid** ve **Klorambusil** olarak sayılabilir⁽³⁶⁻⁴⁰⁾ (Şema 2.2). Örnek bir bağlanma reaksiyonu Şema 2.3'de gösterilmiştir.



Şema 2.2. Bazı azotlu hardal bileşikleri.

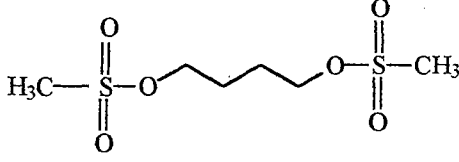


Şema 2.3. Azotlu hardalların etki mekanizması.

Bu grup ilaçlar, kanda iyonik bileşikler halinde bulunmaları nedeniyle, yağlı bir doku olan santral sinir sisteminde oluşan tümörlerin yok edilmesinde kan-beyin engelini aşamaları yüzünden başarısız kalmaktadırlar⁽⁵⁾.

Alkilsulfonatlar, nükleofillerle SN_2 mekanizmasıyla reaksiyona girerler. Yani reaksiyon hızı, hem alkilsulfonatin hem de nükleofilin konsantrasyonuna bağlıdır. Bu yönüyle azotlu hardallardan ayrılırlar. Alkili hardalların nükleofillerle reaksiyona girmesinde hız sınırlayan basamak etilen immonium iyonunun oluşması basamağıdır. Yani

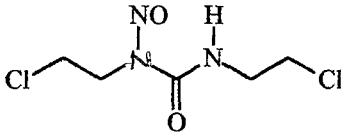
reaksiyon, SN₁ mekanizmasına göre yürümektedir⁽⁵⁾. Bu grupta tedavide kullanılan bileşik olarak Busulfan'dan söz edilebilir⁽⁴¹⁾ (Formül 2.1).



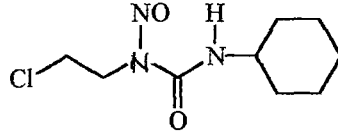
Busulfan

Formül 2.1.

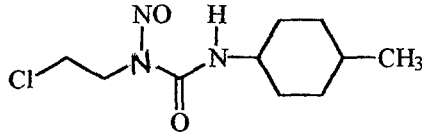
Nitrosürelere yapı olarak azotlu hardallara benzemelerine rağmen etki mekanizmaları onlarınkinden biraz farklıdır. Hem alkilleyici ajan olarak hem de karbamoilleyici ajan olarak etki ederler. Karmustin, Lomustin ve Semustin (Şema 2.4) gibi ilaçların yer aldığı bu grup ilaçların etki mekanizmaları Şema 2.5'deki gibi önerilebilir^(5,42-43)



Karmustin

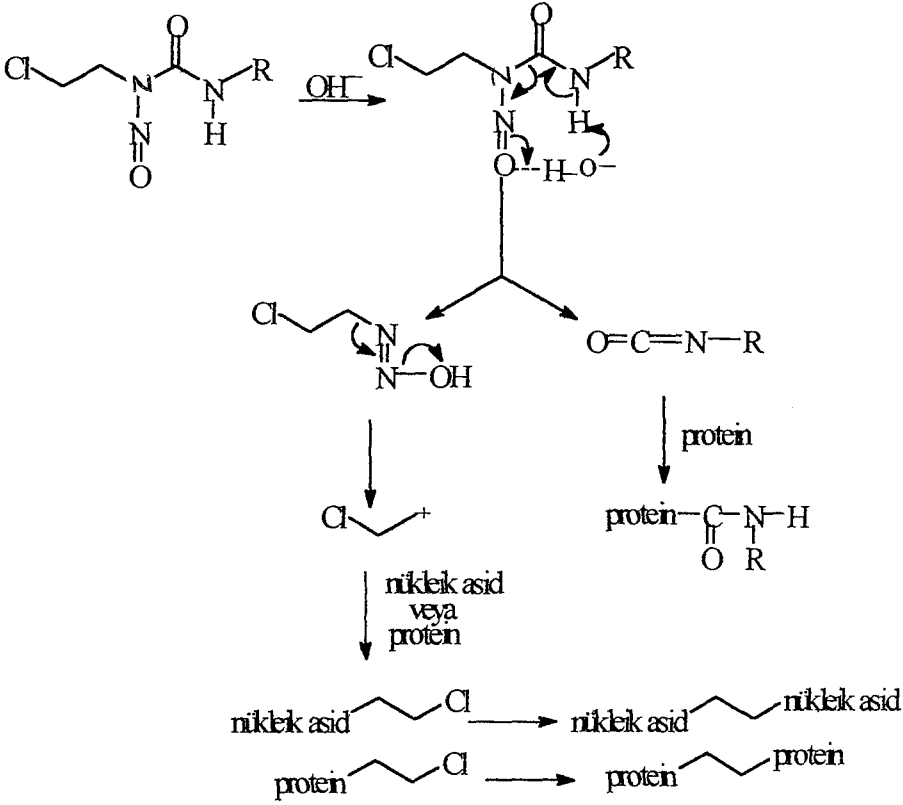


Lomustin



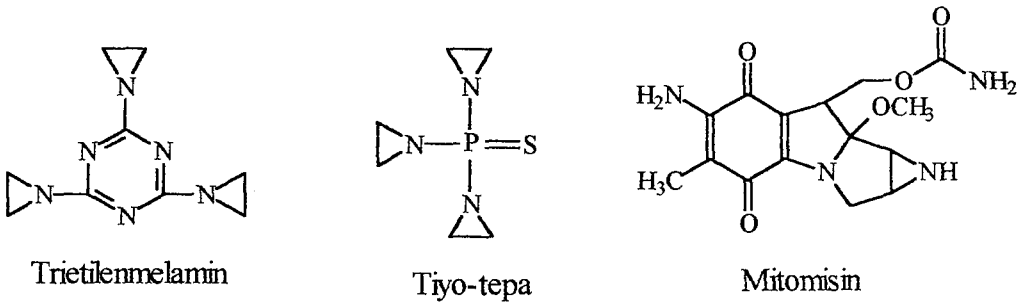
Semustin

Şema 2.4. Bazı nitrosürelere.

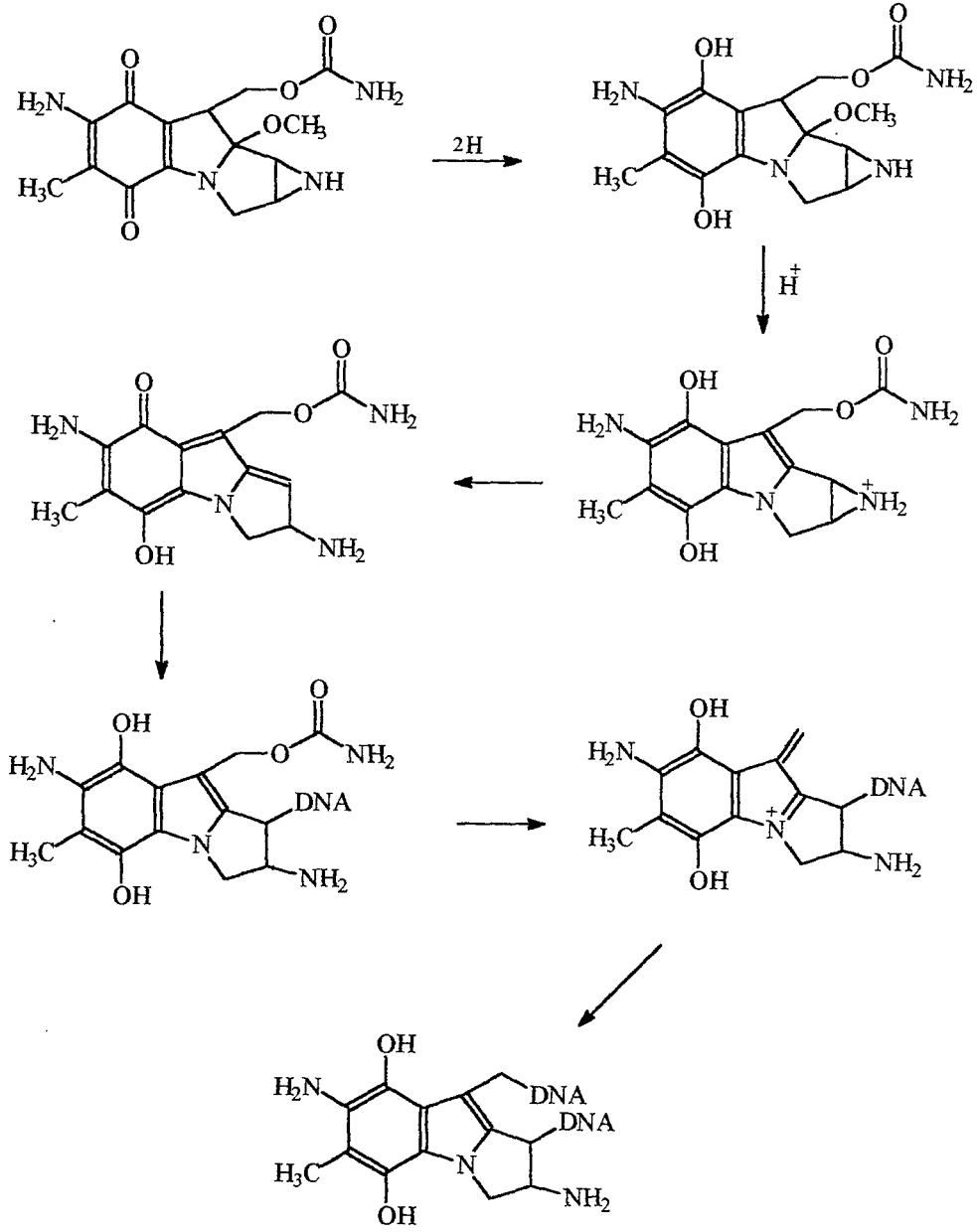


Şema 2.5. Nitrosürelerin etki mekanizması.

Aziridinler de denilen etileniminlerdeki gergin halka yapısı nedeniyle nükleofillerle kolayca reaksiyona girerek kovalan bağlar oluşturabilirler, bu gergin halka yapısı azotlu hardallardaki immonium iyon intermedietine analog yapı olarak düşünülebilir. **Trietilenmelamin**, **Thiyo-tepa** ^(44,45) ve **Mitomisin**'in ⁽⁴⁶⁻⁵¹⁾ sayılabileceği bu grub ilaçların(Şema 2.6) etki mekanizmaları Şema 2.7'deki gibi önerilebilir⁽⁵⁾.



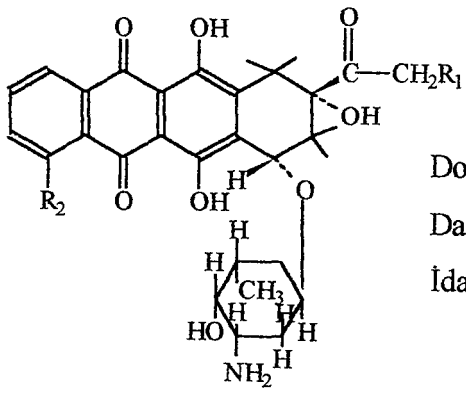
Şema 2.6. Bazı aziridin bileşikleri.



Şema 2.7. Mitomycin'in etki mekanizması.

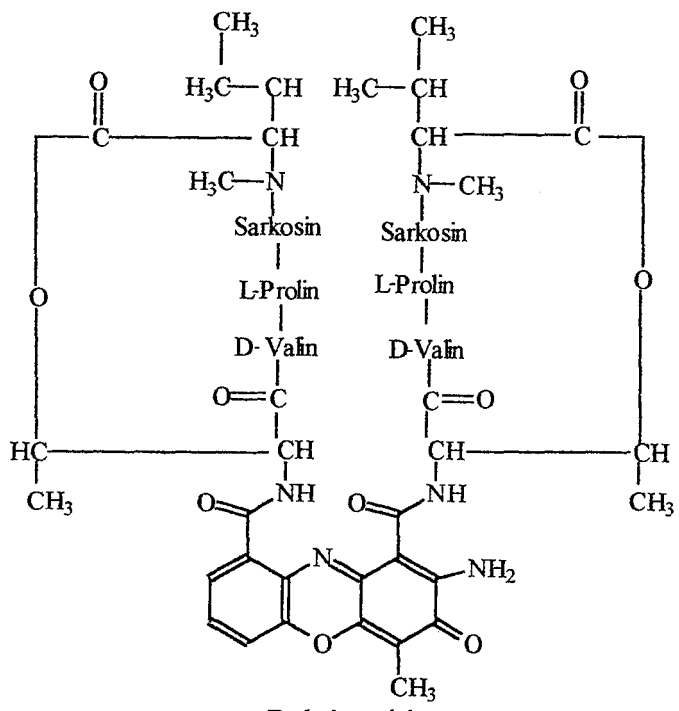
b-Nonkovalan DNA bağlayan ilaçlar

Antrasiklin'ler, Daktinomisin, Bleomisin ve Plikamisin antibiyotiklerinin ve **mitoksantron**'ların içinde bulunduğu bu grup ilaçlar (Şema 2.8) kelat bağlarla DNA moleküllerine bağlanırlar⁽⁵²⁻⁵⁵⁾. Böylece RNA ve DNA sentezi inhibe edilmiş olur.

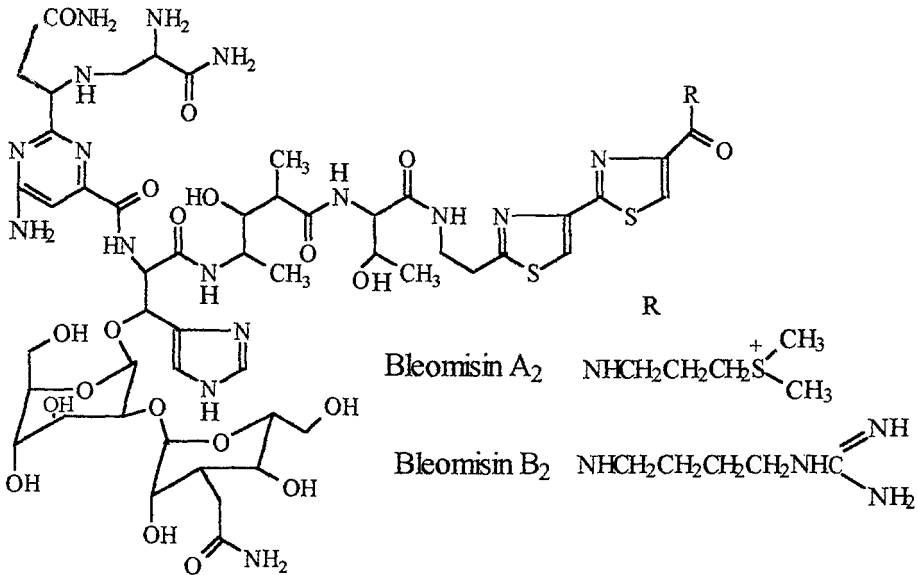


	R ₁	R ₂
Doksorubisin	OH	OCH ₃
Daunorubisin	H	OCH ₃
İdarubisin	H	H

Antrasiklinler

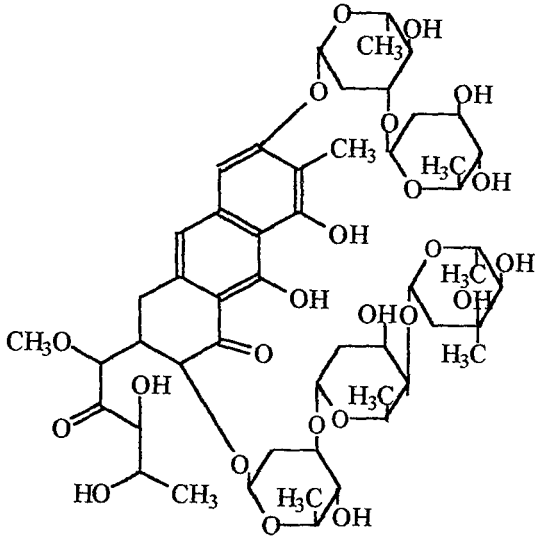


Daktinomisin

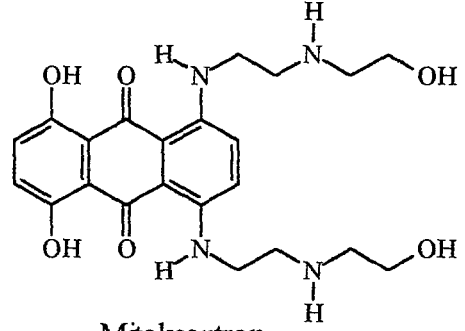


Bleomisin A ₂	NHCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ S ⁺ (CH ₃) ₂
Bleomisin B ₂	NHCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHC(=NH)NH ₂

Şema 2.8. Bazı antikanser etkili antibiyotikler.



Plikamisin

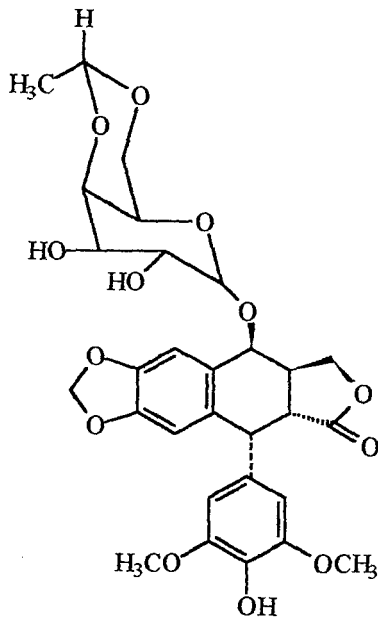


Mitoksantron

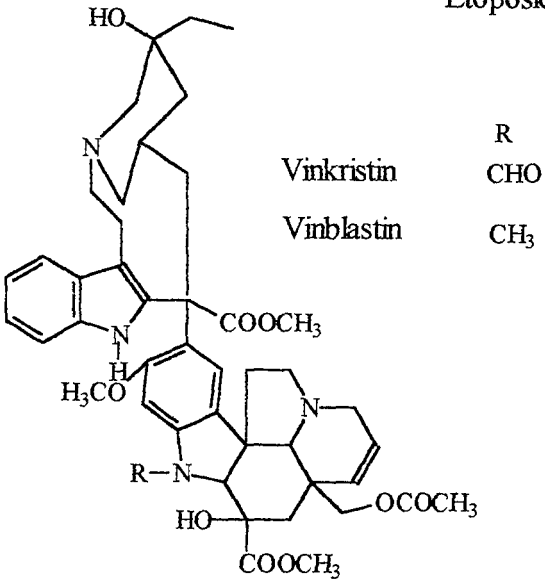
Şema 2.8'in devamı bazı antikanser etkili antibiyotikler.

2.2.3. Kromatin fonksiyon inhibitörleri

Bu grup ilaçlar, DNA liflerinin sarmal yapısını sağlayan topoizomerazların inhibitörleri ile hücre morfolojisini ve hareketliliğini sağlayan protein yapıdaki mikrotübüllerin inhibitörleridirler. **Etoposid**, **Amsakrin** ve **Kamptotesin**'in yer aldığı topoizomeraz inhibitörleri, DNA lifciklerinin bir araya gelmesini engelleyerek denature olmalarını sağlarlar. **Vinka alkaloidleri** ve **Taksol**'ün yer aldığı mikrotübül inhibitörleri de topoizomeraz inhibitörlerinininkine benzer şekilde hücrede RNA ve DNA sentezi için gerekli olan proteinlerin denaturasyonunu sağlayarak etki gösterirler⁽⁵⁶⁻⁵⁹⁾ (Şema 2.9).



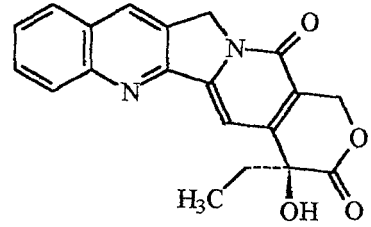
Etoposid



Vinkristin

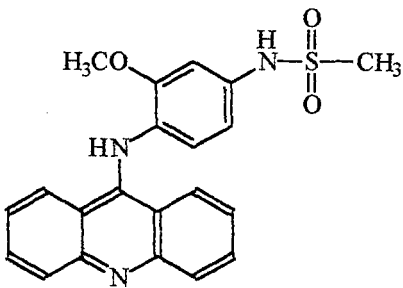
Vinblastin

R
CHO
CH₃

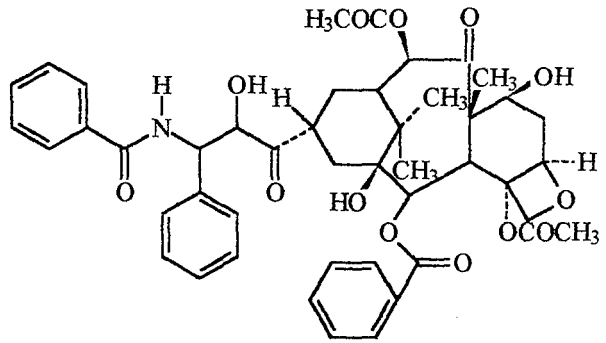


Kamptotesin

Vinka Alkaloidler



Amsakrin

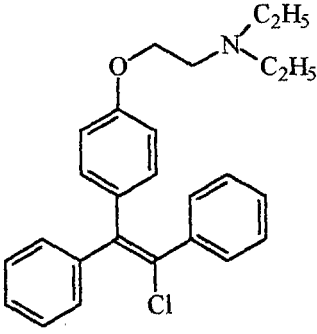


Taksol

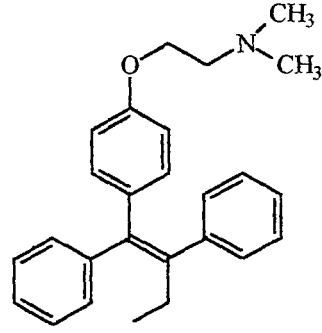
Şema 2.9. Bazı kromatin fonksiyon inhibitörleri.

2.2.4. Endokrin fonksiyonları etkileyen ilaçlar

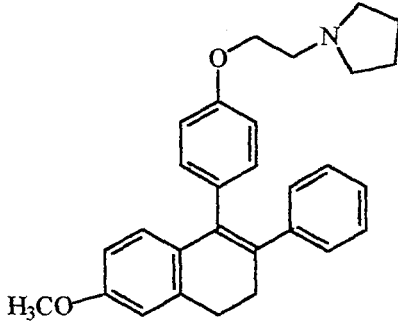
Antikanser ajan olarak cinsiyet hormonları (androjenler, estrogenler ve projestinler) ve glukokortikoidler kullanılmaktadırlar⁽⁵⁻⁷⁾. Bu ilaçlar, normalde hormona bağımlı olarak proliferasyona uğrayan veya hormon tarafından proliferasyonu baskı altında tutulan dokulardan kaynaklanan neoplazmaların tedavisinde kullanılırlar. Hormona bağımlı hücrelerin kanserleşmesi durumunda söz konusu hormona bağımlılıklarını genellikle korurlar. Bu özellik de bu hormonların ilgili dokuların tümörlerine karşı kullanılmasını mümkün hale getirir. Androjenler, menopoz veya menopoz öncesi dönemdeki kadınların meme kanserlerinde kullanılabilirler. Estrojenler de erkeklerde prostat kanserine karşı kullanılabilir. Antiöstrojen etkili sentetik bileşiklerden **Klomifen**, **Nafoksidin** ve **Tamoksifen** (Şema 2.10), estrogen reseptörleriyle östrojene karşı yarışarak etkileşmeleri nedeniyle son zamanlarda bazı kanser türlerinde oldukça etkin bir şekilde kullanılabildiği belirtilmektedir^(5,7).



Klomifen



Tamoksifen

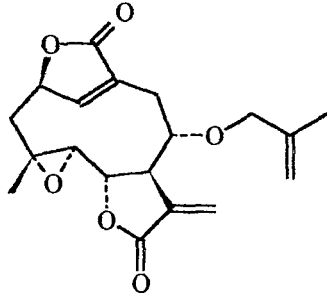


Nafoksidin

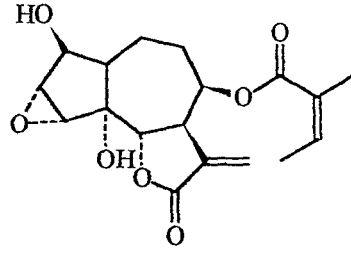
Şema 2.10. Bazı östrojen antagonistleri.

2.3. Yeni Antikanser Bileşik Araştırmaları

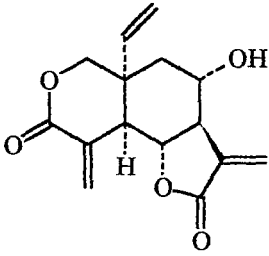
Antikanser ilaç araştırma ve geliştirme çalışmaları sonucunda, ikinci gruptaki ilaçların etki mekanizmalarına benzer şekilde etki ettikleri düşünülen α,β -doymamış karbonil kalıntısı taşıyan bileşikler ve kinon metid türevi doğal veya sentetik bileşiklere ulaşılmıştır. Bitkisel kaynaklardan antikanser ilaç araştırmaları sırasında pek çok önemli sitotoksik seskiterpen lakton izole edilmiştir^(60,61). Bunların en tanınışları **Elefantopin**, **Öpatundin**, **Vernolepin** ve **Hellenalin**'dir (Şema 2.11).



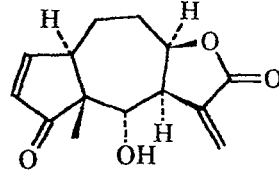
Elefantopin



Öpatundin



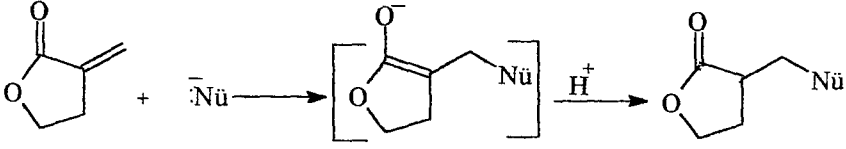
Vernolepin



Hellenalin

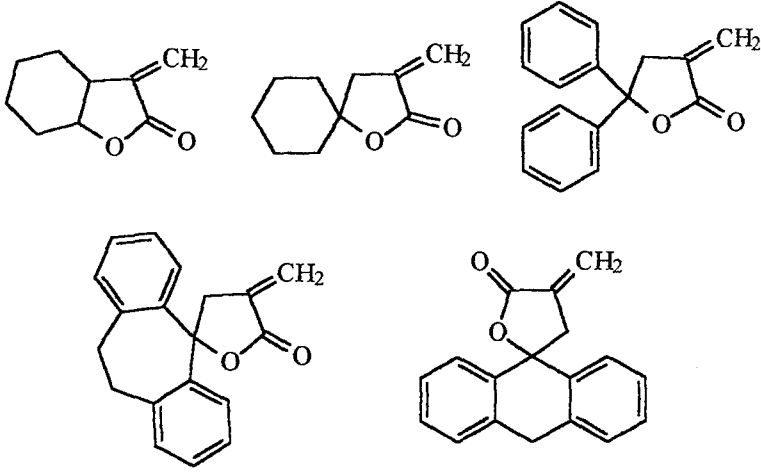
Şema 2.11. Bazı seskiterpenik α -metilen- lakton türevleri.

Bu bileşiklerin, karbon iskeletlerinde büyük değişiklikler göstermelerine ve çeşitli fonksiyonel grupların kombinasyonununa sahip olmalarına rağmen, biyolojik aktiviteleri α -metilen- γ -lakton yapısına bağlıdır. α -Metilen- γ -lakton grubu, konjuge çift bağ üzerinden biyolojik nükleofillerle Michael adisyonu yoluyla bir alkilleyici ajan olarak etki göstermektedir. Etki mekanizması Şema 2.12'deki gibi önerilmiştir.



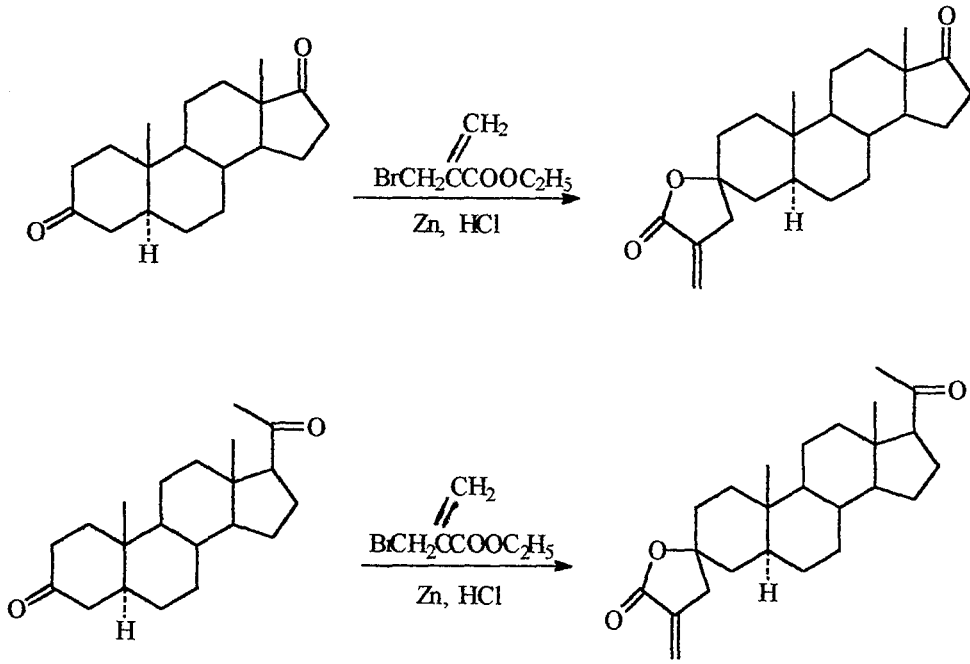
Şema 2.12. α -Metilen-lakton türevlerinin etki mekanizması.

Ancak bu doğal seskiterpen laktonların kullanımı yüksek toksisiteleri nedeniyle sınırlıdır. Bu nedenle bu bileşiklerdeki biyofonksiyonel grup olan α -metilen- γ -lakton kalıntısının, değişik yapıların üzerinde oluşturulması düşünülmüştür. Bu şekilde elde edilen bileşiklerin de oldukça yüksek antikanser etki gösterdikleri saptanmıştır⁽⁶²⁻⁶⁴⁾. Bu bileşiklerden bir kaçı Şema 2.13’de verilmiştir.



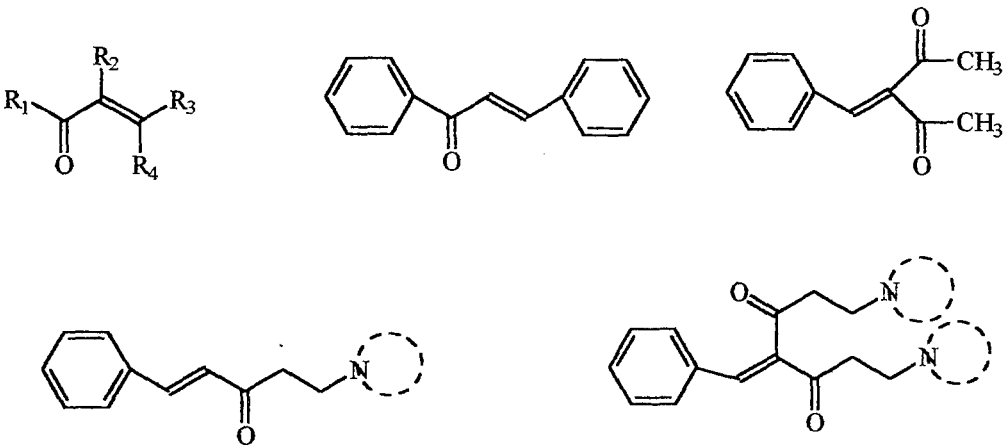
Şema 2.13. Bazı α -metilen-lakton türevleri.

Diğer bir çalışmada ise α -metilenbutirolakton grubu steroidal hormonal taşıyıcı kalıntı üzerine inşa edilmiştir. Bir reaksiyon örneği Şema 2.14’de verilmiştir. Böylece, α,β -doymamış karbonil grubunun etkisiyle hormonal yapının etkisi kombine edilmiştir⁽⁶⁵⁾.



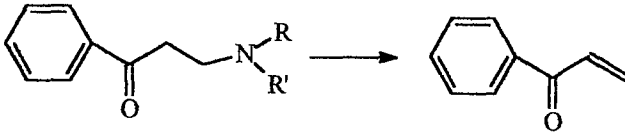
Şema 2.14. α -Metilen-lakton kalıntısı taşıyan hormon türevleri.

Biyofonksiyonel grup, α -metilenbutirolakton kalıntısındaki α -metilen karbonil yapısına indirgenebilir. Böylece daha basit yapılara ulaşılması da sağlanarak α,β -doymamış keton türevleri elde edilmiştir⁽⁶⁶⁻⁶⁹⁾ (Şema 2.15).



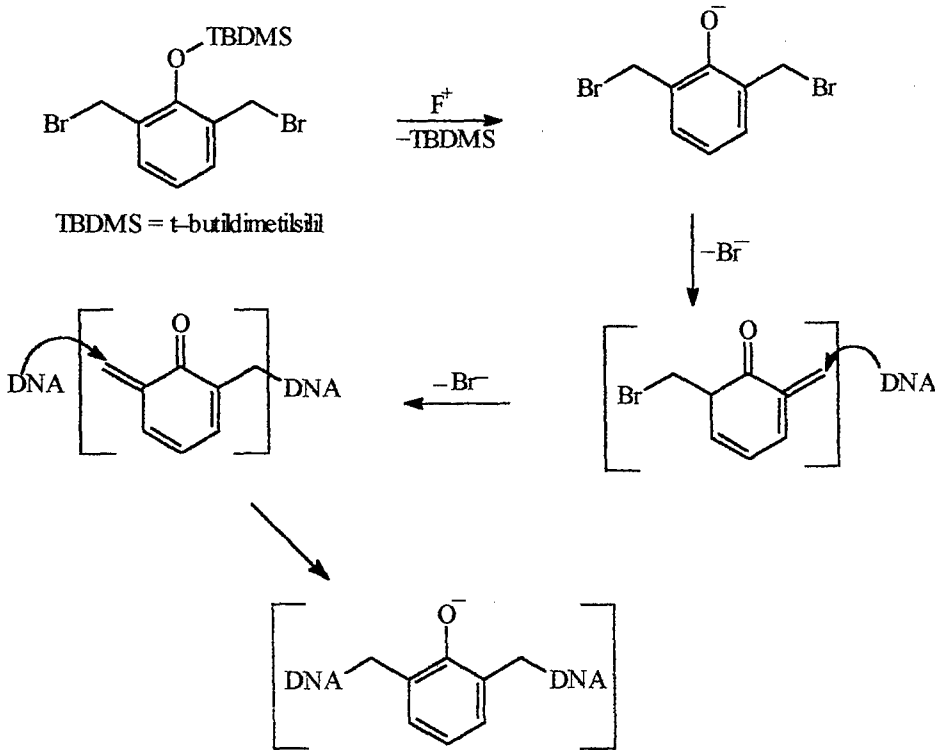
Şema 2.15. Bazı α,β -doymamış keton türevleri.

Mannik bazları kolayca deaminasyona uğrayarak α,β -doymamış karbonil grubunu verebilirler⁽⁶⁹⁻⁷²⁾ (Şema 2.16). Mannich bazları kolayca tuzlarını oluşturabilir ve suda çözünür hale gelebilirler. Bu özellikleriyle de α,β -doymamış karbonil türevlerine göre tercih nedeni olabilirler.



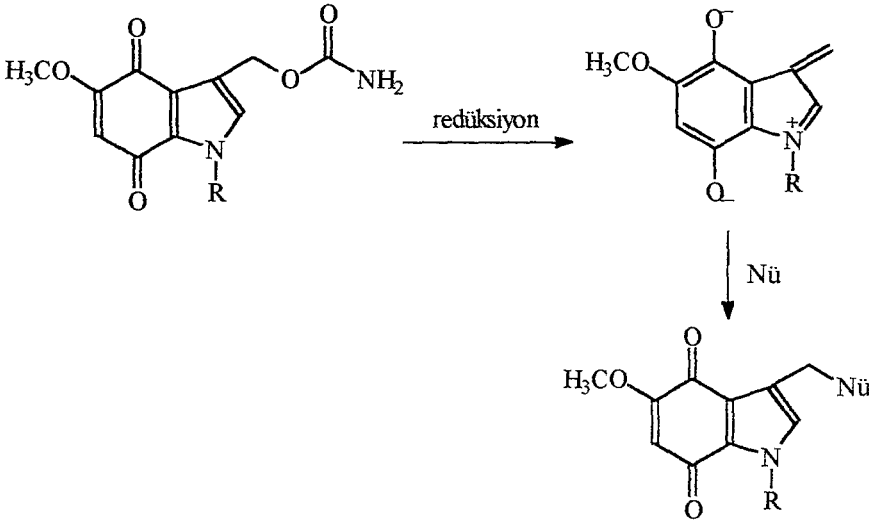
Şema 2.16. Mannich bazlarının deaminasyon reaksiyonu.

α,β -Doymamış karbonil kalıntısı taşıyan önemli bir grup da kinon metid türevleridir⁽⁷³⁻⁷⁸⁾. Kinon metidin yapısının kendisi genellikle çok aktif olmasından dolayı prekürsörü olarak kullanılır⁽⁷⁹⁻⁸⁰⁾. Bu bileşikler de *in vivo* olarak kinon metide dönüşürler. Kinon metid, Michael adisyon reaksiyonu yoluyla potent bir alkilleyici ajan olarak DNA moleküllerine bağlanır (Şema 2.17).



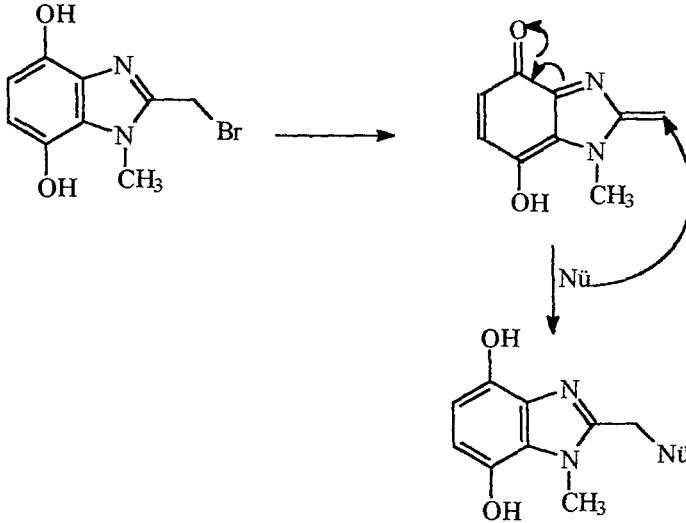
Şema 2.17. Kinon metid türevlerinin etki mekanizması.

Kinon metid yapısı veya prekürsörü, indol^(81,82), benzimidazol⁽⁸³⁻⁸⁷⁾ veya kinazolin^(88,89) çekirdekleri gibi heterosiklik halka sistemleri üzerinde de oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu tür bileşikler için asıl çıkış noktası Mitomisin grubu antibiyotiklerdir. Kinon metid kalıntısı taşıyan indol türevlerinin DNA molekülleriyle etkileşme mekanizması Şema 2.18'deki gibi önerilmiştir⁽⁵⁾.

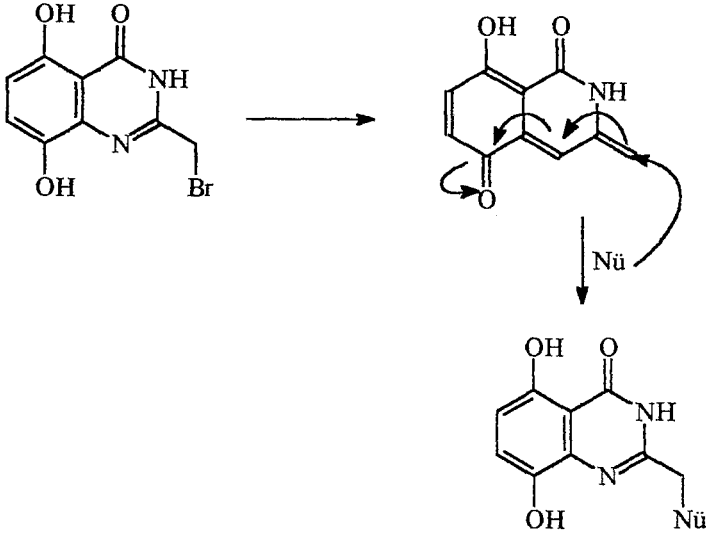


Şema 2.18. Kinonmetid kalıntısı taşıyan indol türevlerinin etki mekanizması.

İndol türevlerinden sonra, biyoizoster ilişkileri göz önüne alınarak benzimidazol ve kinazolin türevlerine ulaşılmıştır⁽⁸³⁻⁸⁹⁾. Benzimidazol⁽⁸⁷⁾ ve kinazolin⁽⁸⁸⁾ türevleri için örnek birer DNA bağlanma reaksiyonu, Şema 2.19 ve 2.20'de gösterilmiştir.

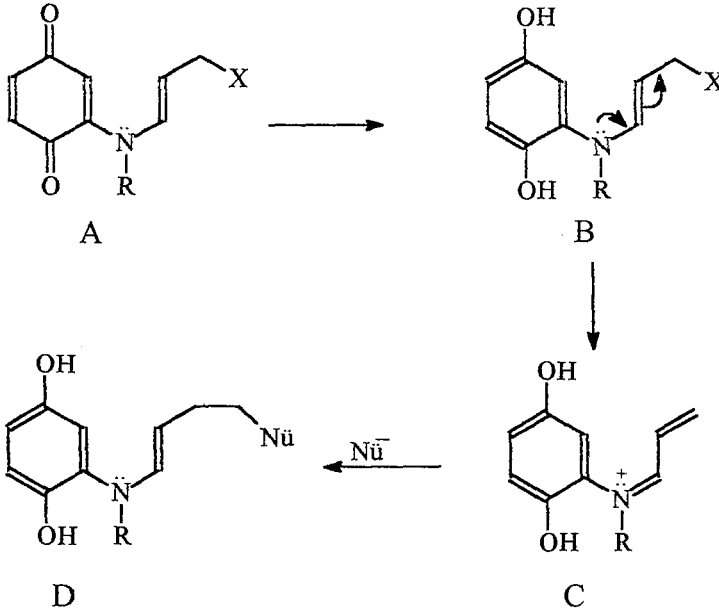


Şema 2.19. Kinon metid kalıntısı taşıyan benzimidazol türevlerinin etki mekanizması.



Şema 2.20. Kinon metid kalıntısı taşıyan kinazolin türevlerinin etki mekanizması.

Aktifleştirilmiş enaminler Şema 2.21’de görüldüğü gibi kolayca ayrılabilen bir X’in bağlı bulunduğu enaminlerdir. Buradaki X, halojenür, asetiloksi, tosilat ve benzeri bir grup olabilir. X’in *in vivo* olarak ayrılmasıyla kinon metide benzer bir yapı oluşur(C). Bu aktif yapı C, nükleofillerle etkileşerek kovalan bağ oluşturur⁽⁷³⁾.



Şema 2.21. Enaminlerin etki mekanizması.

2.4. AIDS Hakkında Genel Bilgiler

AIDS, bir retrovirüsün neden olduğu öldürücü patojenik bir hastalıktır^(6,7,90,91). İnfekte olmuş karşı cinsle seksüel ilişki ve kan transfüzyonu yoluyla bulaştığı bilinmektedir. Yaygın olan tip, insan immün yetmezliği virüs tipi HIV-1'in neden olduğu hastalıktır. Bunun yanında çok nadiren rastlanıyor olsa da HIV-2 tipi virüs enfeksiyonuna da rastlanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü, dünyada 15 milyon kadar infekte hastanın olduğunu belirtmiştir.

HIV, retrovirüs tipinde bir RNA virüsüdür. Bu virüs özellikle kan ve lenfoid dokuda bulunan CD4-T lenfositlerini etkiler. Bunun nedeni, bu virüsün T lenfositleri yüzeyindeki CD4 reseptörlerine yüksek bir affiniteyle tutunmasından ve lenfositlerin içine bu reseptör aracılığı ile kolayca girmesindedir. Böylece lenfositler değişik mekanizmalarla yıkılır ve sonuçta immün yetmezlik ortaya çıkar. Viral bir enfeksiyon olmasına karşın, henüz AIDS'e karşı bir aşı üretimi, yoğun çalışmalara rağmen gerçekleştirilememiştir. Bunun nedeni pek çok faktöre bağlıdır. Öncelikle aşının faz III denemeleri sırasında gönüllü denek bulma zorluğu söz konusudur. Daha önemlisi, virüsün aşırı mutasyon hızı nedeniyle bir izolata karşı elde edilen immunizasyonun diğer bir izolata karşı etkili olabileceği garanti edilememektedir⁽⁶⁾.

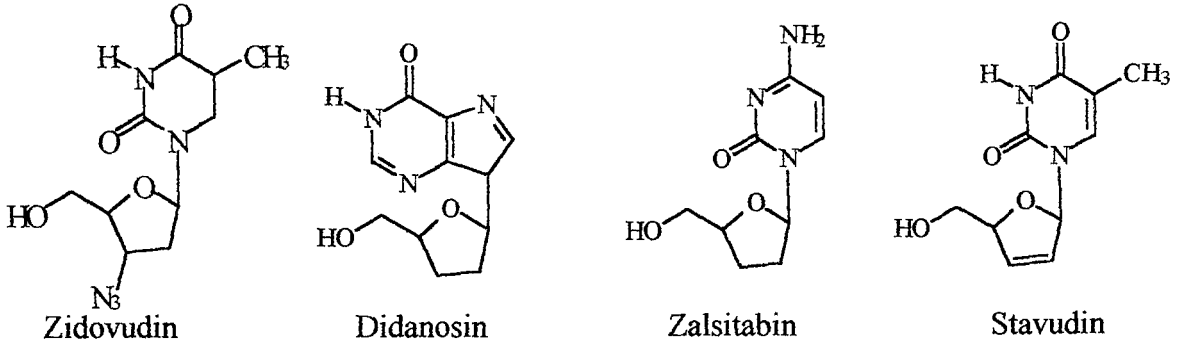
2.5. Anti-HIV-1 Etkili Bileşikler

Anti-HIV-1 bileşik geliştirme çalışmalarında, virüsün hayat siklusunun göz önüne alınması gerekir. AIDS virüsü çoğunlukla hücre içinde bulunur. Bu nedenle inhibitör maddenin virüse ulaşabilmesi için öncelikle hücre membranından geçmesi gerekmektedir. Bir diğer zorluk, inhibitör bileşiğin, virüsün infekte ettiği hücrelerle infekte olmayan hücreleri ayırdedememesidir. Virüsce infekte hücrelerin membran yapısıyla, infekte olmamış hücrelerin membranlarının yapıları arasında önemli bir farklılık bulunmamaktadır. Bu nedenle, infekte olmamış hücrelere anti-HIV bileşiğin girmesi durumunda, toksik olmaması istenirken, infekte hücreye giren bileşiğin virüsü yok etmesi gerekir. Böyle bir durumda, infekte olmamış hücrenin zarar görmemesi beklenemez⁽⁶⁾.

İmmün yetmezlik durumu nedeniyle anti-AIDS ilaçlarla tedavi sırasında, konakçının immünitesi yardım edemez. Bu da, AIDS tedavisinde önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Diğer önemli bir sorun, santral sinir sisteminin infekte olması durumunda, kan-beyin engeli nedeniyle buradaki infeksiyonun tedavisinin çok zor olmasıdır⁽⁶⁾.

AIDS tedavisinde kullanılan bileşikler, etki mekanizmaları açısından başlıca üç gruba ayrılabilirler: i. RNA replikasyonu için gerekli enzimleri inhibe edenler. Bu enzimlerin başlıcaları revers transkriptaz, proteaz veya glukosidazdır; ii. Virüs RNA'sının replikasyonunu inhibe edenler; iii. Gen oluşumu ve gen ürünlerini inhibe edenler.

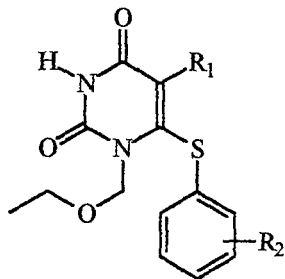
Bunların içinde, üzerinde en yoğun çalışılan konu, revers transkriptaz(RT) enziminin inhibisyonuna yöneliktir^(6,92). AIDS tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmiş mevcut ilaçlar, 2',3'-dideoksinükleozid yapılı RT inhibitörleridir. Bu ilaçlar, **Zidovudin** (3'-Azido-2',3'-dideoksitimidin,AZT), **Didanosin** (2',3'-Dideoksiinozin, DDI), **Zalsitabin** (2',3'-Dideoksisitidin, DDC), **Stavudin** (2',3'-Dideoksi-2',3'-didehidrotimidin, D4T), Şema 2.22. da gösterilmiştir⁽⁹³⁻⁹⁹⁾. 2',3'-Dideoksinükleozidler, kinazlar tarafından fosforile edildikten sonra doğal nükleotid substratlara yapısal olarak benzer hale gelirler. Ancak bu bileşikler RT inhibisyonu yanında DNA sentezi ile ilgili diğer bazı enzimleri de inhibe etmesi bir yan etki olarak ortaya çıkmaktadır.



Şema 2.22. Nükleozid yapılı anti-HIV-1 etkili ilaçlar.

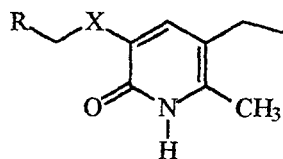
Anti-AIDS etkili bileşik geliştirme çalışmalarında, RT inhibitörü olarak nükleozid yapılı bileşikler yanında non-nükleozid yapılı bileşikler üzerinde de sayısız çalışma yapılmıştır⁽⁹²⁾. Bu çalışmalar sonunda pirimidin-2,4-dion, piridin-2-on, kondanse diazepin ve α -anilinofenilasetamid(α -APA) ve tiyazolobenzimidazol türevi bileşiklere ulaşılmıştır.

Bunlardan pirimidin-2,4-dion^(92,100-107), ve piridin-2-on^(92,108) türevleri yapısal olarak nükleozid analoglarına benzemektedirler (Şema 2.23.). Ancak bu bileşiklerin kinazlar tarafından metabolik aktivasyona uğramaları gerekmez.



$R_1 = \text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, \text{CH}(\text{CH}_3)_2$

$R_2 = \text{H}, \text{CH}_3$

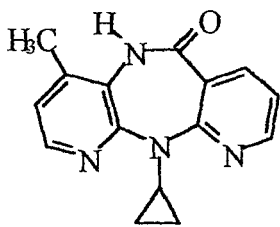


$X = \text{NH}, \text{CH}_2$

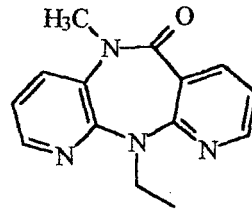
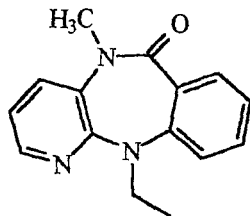
$R = 2\text{-benzofuranil}, 2\text{-benzoksazolil},$
 $2\text{-(1,3-diokso)benzo[c]pirolinil}$

Şema 2.23. Pirimidin-2,4-dion ve piridin-2-on türevi bileşikler.

Nükleozid veya yapısal olarak bunlara benzeyen bileşikler dışında tamamen farklı yapıda olan non-nükleozid bileşiklerden en tanınmışları kondanse diazepin , α -APA ve tiyazolobenzimidazol türevleridir⁽⁹²⁾. Kondanse diazepin türevlerden **Nevirapin**, klinik deneme aşamasında olan bir bileşiktir (Şema 2.24.). Selektivitesinin oldukça yüksek, buna karşın sitotoksitesinin düşük olduğu gösterilmiştir.



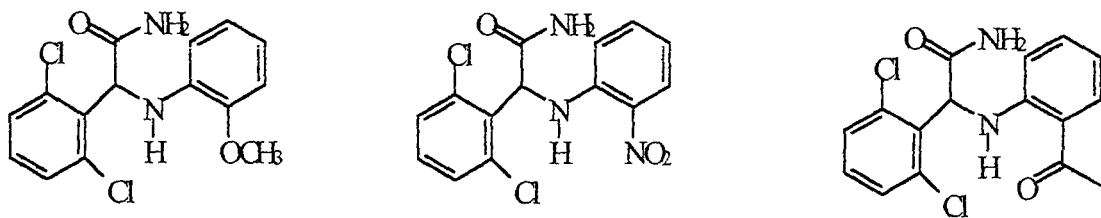
Nevirapin



Şema 2.24. Bazı kondanse diazepin türevi bileşikler.

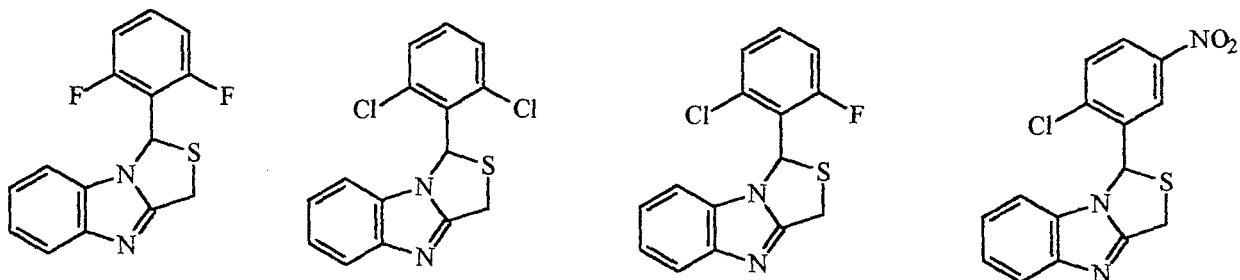
Nevirapin grubu bileşiklerin, halkasız daha basit yapıdaki analogları olarak değerlendirebileceğimiz α -APA türevlerinin oldukça yüksek seçiciliğe sahip anti-HIV-1

etki gösterdikleri belirtilmiştir^(92,109) (Şema 2.25.). Potansiyel aktiviteye sahip türevler klinik çalışmalara alınmış durumdadırlar.

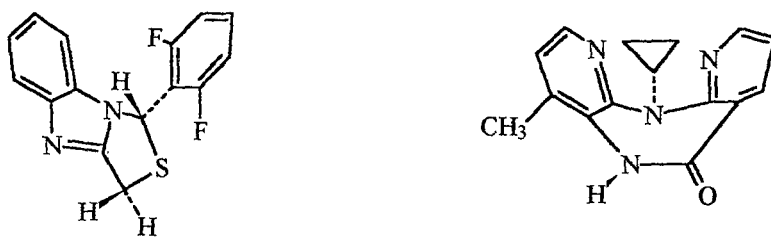


Şema 2.25. Bazı α -APA türevi bileşikler

Son yıllarda Chimirri ve arkadaşlarınca 1-aril-1H,3H-tiyazolo[3,4-a]benzimidazol türevlerinin *in vitro* anti-HIV-1 aktivite gösterdikleri saptanmıştır⁽¹¹⁰⁻¹¹³⁾ (Şema 2.26.). Ariltiyazolobenzimidazol türevleri üzerinde yapılan kristalografik çalışmalar yapının Nevirapine benzediği gösterilmiştir (Şema 2.27.).



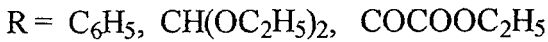
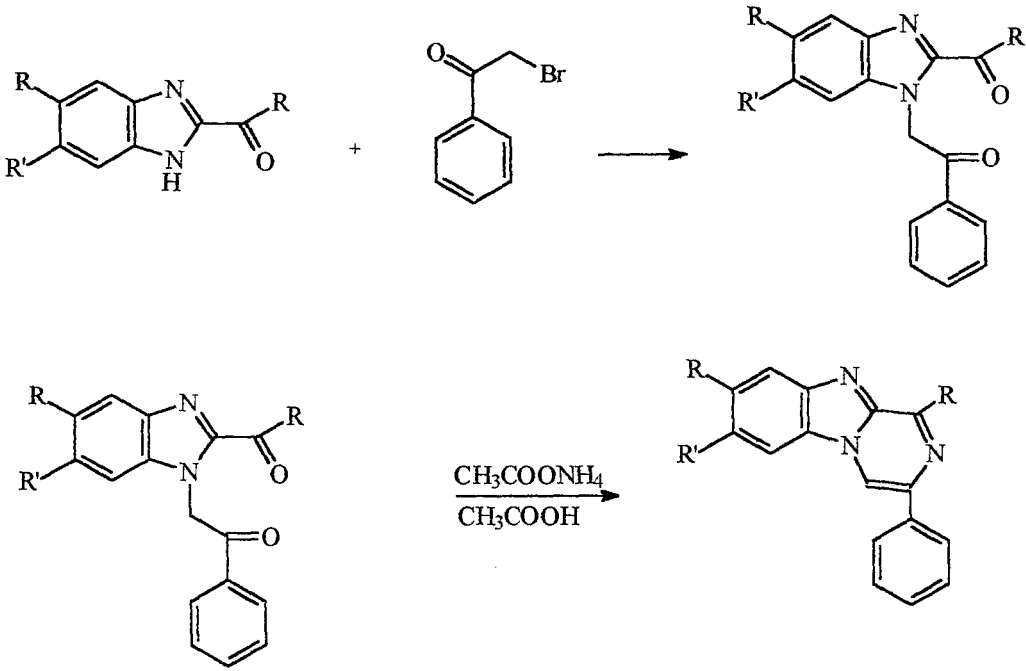
Şema.2.26. Bazı Ariltiyazolobenzimidazol türevi bileşikler.



Şema.2.27. Ariltiyazolobenzimidazol ve Nevirapin'in uzaysal yapıları.

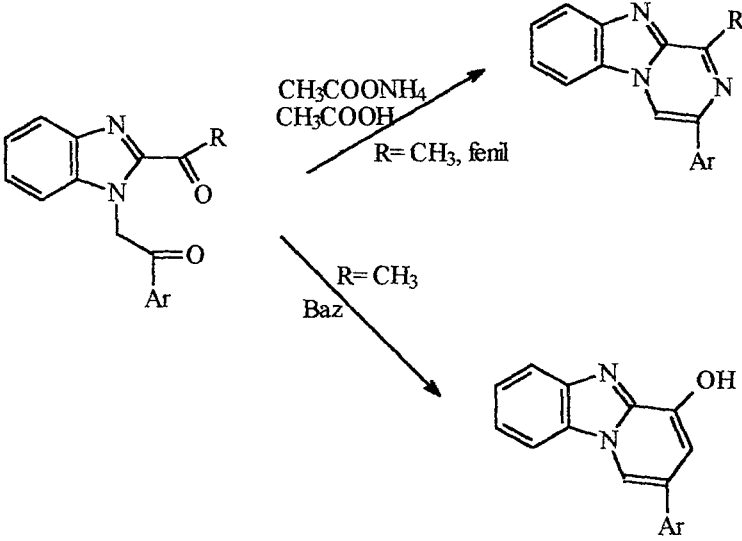
2.6. Pirazino[1,2-a]benzimidazol Türevleri Hakkında Genel Bilgi

Çalışmamızın konusunu oluşturan pirazino[1,2-a]benzimidazol halka sistemi üzerinde yapılmış çok az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Bu konudaki ilk çalışma Shedov ve arkadaşlarınca yapılmıştır. 2-Benzoilbenzimidazol türevlerinin α -bromoasetofenon ile verdiği ürünün amonyum asetat ile asetik asid içinde ısıtılmasıyla 1,3-difenilpirazino[1,2-a]benzimidazol türevleri elde edilmiştir⁽¹¹⁴⁾. Bu çalışmadan sonra, Grinev ve grubu, 2-formilbenzimidazol'un dietilasetali ve 2-etilokzalilbenzimidazol'un α -bromoasetofenon ile verdikleri ara ürünlerin halka kapatılmasıyla da yine pirazinobenzimidazol türevlerine ulaşılmıştır⁽¹¹⁵⁾ (Şema 2.28).



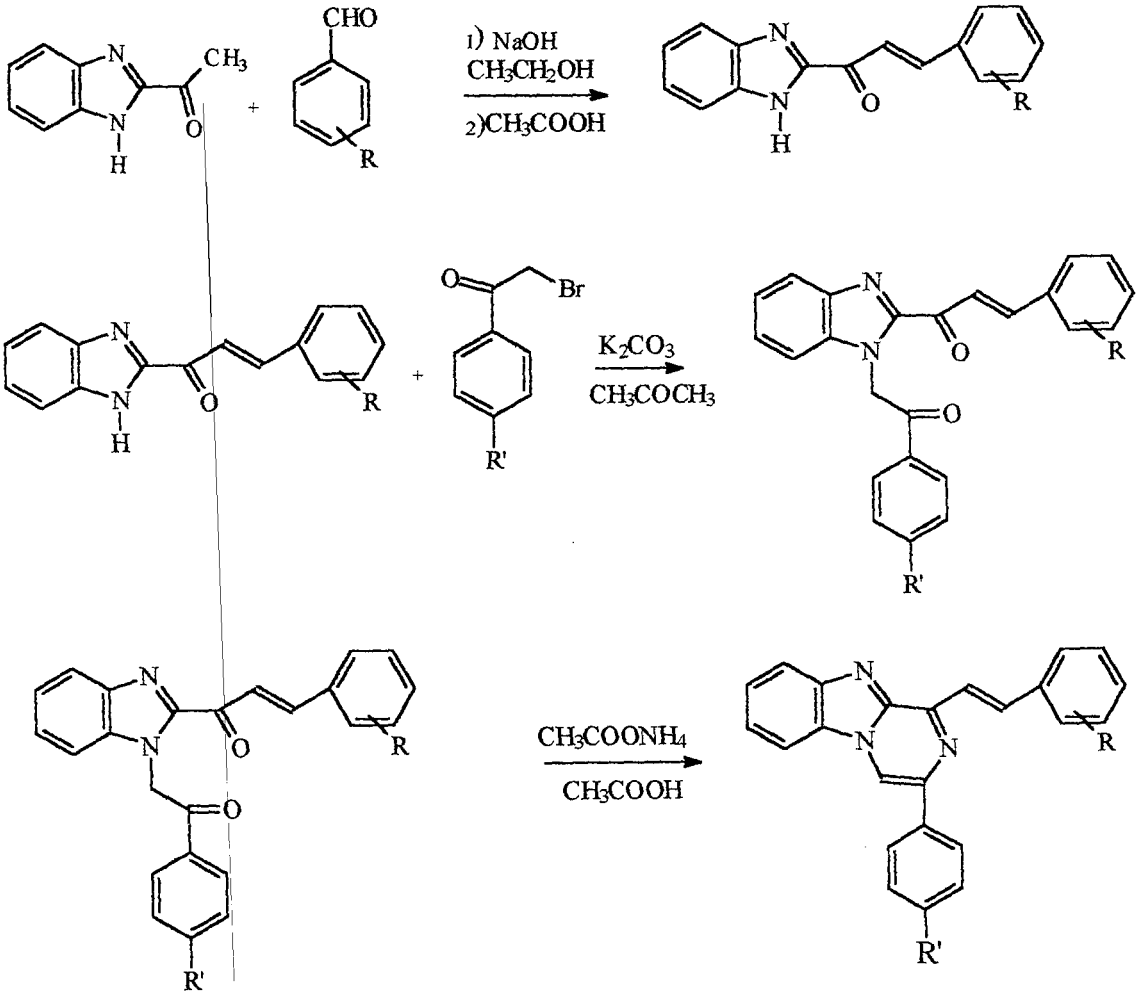
Şema 2.28. Bazı pirazino-benzimidazol türevlerinin sentezi.

Demirayak tarafından yapılan bir çalışmada 2-asetil ve 2-benzoilbenzimidazol türevlerinden hareketle 1-(2-aril-2-okzoetil)-2-asetil, veya 1-(2-aril-2-okzoetil)-2-benzoilbenzimidazol türevleri hazırlanmıştır⁽¹¹⁶⁾. Bu bileşiklerin, amonyum asetatla asetik asid içinde ısıtılmasıyla 1-metil veya 1-fenil-3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol türevlerini vermişlerdir. R=CH₃ olan bileşiklerin bazik ortamda ısıtılmalarıyla 2-aril-4-hidroksipirido[1,2-a]benzimidazol türevleri oluşmuştur. Elde edilen bu bileşiklerin antikanser ve anti-HIV etkileri araştırılmış ve önemli sayılabilecek seviyede etki gösterdikleri saptanmıştır⁽¹¹⁷⁾ (Şema 2.29).



Şema 2.29. Bazı pirazino-benzimidazol ve pirido-benzimidazol türevlerinin sentezi.

Son çalışmanın bir devamı olarak, bazı sinneril-benzimidazol türevlerinin α -bromoasetofenon türevleriyle verdikleri ürünlerin amonyum asetat ile asetik asitli ortamda ısıtılmalarıyla 1-(2-arilvinil)-3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol türevleri elde edilmiştir⁽¹¹⁸⁾ (Şema 2.30).



Şema 2.30. Bazı 1-(2-arilvinil)-3-arilpirazino-benzimidazol türevlerinin sentezi

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Araç ve Gereçler

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

1,2-Diaminobenzen (Merck)

Laktik asid(Merck)

Asetofenon (Merck)

4- Metilasetofenon (Merck)

4- Metoksiasetofenon (Merck)

4-Kloroasetofenon (Merck)

Brom (Merck)

Anilin(Merck)

4-Metilanilin (Merck)

4-Metoksianilin (Merck)

4-Kloroanilin (Merck)

Asetik asid (Merck)

3.1.2. Kullanılan Elektronik Aletler

Erime Derecesi Aleti: Gallenkamp Melting Point Apparatus

Elementel Analiz Aleti: Leco CHNS Elementel Analiz Aleti

Ultraviyole ve Görünür Alan Spektrofotometresi : Shimadzu UV-Vis-160A

Spektrofotometre

Infrared Spektrofotometresi : Shimadzu 435 IR Spektrofotometre

Nükleer Magnetik Rezonans Spektrometre : Bruker DPX 400 Spektrometre, Bruker 250

MHz NMR Spektrometre, Jeol JNM-EX 90A FT NMR Spektrometre

Kütle Spektrometre: VG platform Kütle Spektrometre

3.2. Kromatografik Çalışmalar

Yapılan sentez çalışmaları süresince reaksiyonun süresi ile son ürünün saflığı ince tabaka kromatografisi (İTK) yardımıyla saptanmıştır. Adsorban olarak 0,25 mm kalınlığında Silikajel GF₂₅₄, çözücü sistem olarak: Sistem 1 (S1): Hekzan: Etil asetat (3:1) ve Sistem 2 (S2): Benzen: Hekzan: Aseton (5:4,5:0,5) kullanılmıştır. Lekelerin belirlenmesi, UV ışığı (254 ve 366 nm) altında yapılmıştır.

3.3. Başlangıç Maddelerinin Eldesi

3.3.1. α -Bromoasetofenon türevlerinin eldesi

Genel yöntem:

Asetofenon türevi (0,1 mol) 100 ml asetik asidde çözüldü, 1 ml hidrobromik asid ilave edildi. Elde edilen çözeltiliye soğuk su banyosunda karıştırılarak brom (0,1 mol, 16 g) damla damla ilave edildi. İlave işlemi bittikten sonra karışım 1 litre buzlu suya döküldü, çöken madde süzüldü, kurutuldu. Etanolden kristallendirildi.

3.3.2. 2-(1-Hidroksietil) benzimidazol

1,2- Diaminobenzen (0,1 mol, 10,8 g) ve laktik asit (0,1 mol, 9 g) ve 100 ml 4N HCl ile 8 saat kaynatıldı. Soğutulan karışım amonyak çözeltisiyle nötralize edildi, oluşan çökelek süzülerek alındı, etanol-su karışımından kristallendirildi.

3.3.3. 2- Asetilbezimidazol

2-(1-Hidroksietil) benzimidazol (0,02 mol, 3,24 g) 15 ml asetik asitte çözüldü, çözeltili 90°C ye kadar ısıtıldı, çözeltili bu sıcaklıkta iken CrO₃ (0,015 mol, 1,5 g)'in 5 ml sudaki çözeltisi damla damla ilave edildi. Bu arada sıcaklığın 90°C'yi geçmemesine dikkat edildi. İlave işlemi bittikten sonra, karışım oda sıcaklığına kadar soğutularak hacmi kadar su ilave edilerek 1 saat bekletildi, oluşan çökelek süzülerek atıldı. Süzüntü kloroform ile ekstrakte edildi. Kloroform düşük basınç altında uçuruldu. Kalıntı toluenden kristallendirildi.

3.3.4. 1-(2-Aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol

Genel Yöntem:

2-Asetilbenzimidazol (0,01 mol, 1,6 g) , α -bromo-4-sübsitütaasetofenon (0,01 mol, 2 g) ve potasyum karbonat (0,01 mol, 1,38 g) 50 ml aseton içerisinde oda sıcaklığında 3 saat karıştırıldı, aseton düşük sıcaklıkta evapore edildi, kalıntı suyla ve alkolle yıkandı. Ham ürün etanolden kristallendirildi.

3.3.5. 1-Metilen-2,3diaril-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol Türevleri 1-11

Genel Yöntem:

1-(2-Aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol (0.005 mol, 1,39 g) ve 4-sübsitüta anilin türevi (0.005 mol, 0,46 g) 50 ml asetik asit içerisinde 8 saat kaynatıldı. **1, 5, 7, 8, 10, 11** No'lu bileşikler için çözelti bir gece soğukta bekletilerek, oluşan kristaller süzülerek alındı. Ham ürün asetik asitten kristallendirildi. **2, 3, 4, 6, 9** No'lu bileşikler için çözelti buzlu suya dökülerek sodyum karbonat ile ortam nötralize edildi. Çökelek süzülerek alındı ve etanolden kristallendirildi.

3.4 Elde Edilen Bileşiklerin Analizi

3.4.1. Erime Derecesi Tayini

Elde edilen bileşiklerin erime derecesinin saptanması, toz edilmiş maddenin, bir ucu açık kapiller borulara ½ cm kadar doldurularak Gallenkamp erime derecesi tayin cihazında yapılmış ve bulunan değerler düzeltilmemiştir.

3.4.2. C, H, N Tayini

Kristalize bileşiklerin C,H,N yüzdelerinin analizi bir Leco CHNS Elementel Analiz Aleti kullanılarak yapılmıştır.

3.4.3. Ultraviyole Spektrumlarının alınması

Elde edilen bileşiklerin UV spektrumları, maddenin etanoldeki 10^{-5} molar civarındaki çözeltileri kullanılarak Shimadzu UV-VIS-160A Spektrofotometrede alınmıştır.

3.4.4. Infrared Spektrumlarının alınması

Elde edilen bileşiklerin IR sepktumları maddenin yaklaşık %1 oranında KBr içine karıştırılarak hazırlanan tabletleri kullanılarak Shimadzu 435 IR Spektrofotometrede alınmıştır.

3.4.5. Nükleer Magnetik Rezonans Spektrumlarının alınması

Elde edilen bileşiklerin NMR spektrumları yaklaşık 10 mg kadar maddenin DMSO- d_6 içindeki çözeltilisinde TMS'e karşı Bruker DPX 400 Spektrometre, veya Jeol JNM-EX 90A FT NMR Spektrometrede alınmıştır.

3.4.6. Kütle Spektrumlarının alınması

Elde edilen bileşiklerin MS spektrumları maddenin asetonitrildeki çözeltilisi kullanılarak **Electron Impact(EI)** ve **Electron Sprey(ES)** teknikleri kullanılarak VG Platform Kütle Spektrometre'de alınmıştır.

3.5. Biyolojik Aktivite Deneyleri

3.5.1. Antikanser aktivite Testi* (Bakınız 34. Sayfadaki dipnota)

Bileşiklerin antikanser etkileri dokuz kanser tipinden (lösemi, akciğer, kolon, santral sinir sistemi, melanoma, yumurtalık böbrek, prostat ve meme) elde edilmiş, elliüç değişik insan hücre dizisine karşı *in vitro* olarak denenmiştir.

Testin Uygulanması

Test bileşiği DMSO'da çözülür 10^{-4} ile 10^{-8} M aralığında dilusyonları hazırlanır, kanserli hücreler ilave edilir. Bu arada test bileşiğinin bulunmadığı kontrol grubu da hazırlanır, 48 saatlik inkubasyon sonunda sulforodamin (SRB) protein boyama testi ile

canlı hücrelerin varlığı ve büyümeleri spektrofotometrik olarak kontrol grubuna karşı değerlendirilir.

3.5.2. Anti-HIV aktivite testi *

Testin esası, virusün oluşum mekanizmasının her hangi bir basamağında, test bileşiğinin etkisinin belirlenmesi esasına dayanır. Test işlemi HIV tarafından oluşturulan T4 lenfositlerinin öldürülmesiyle ilgilidir. HIV'in küçük bir miktarı hücrelere ilave edilir ve istenilen hücre ölümünü elde edebilmek için, virüs oluşum mekanizmasının iki siklus zamanı kadar bir zaman beklemek gerekir. Bütün testler, aynı şartlar altında standart ilaç AZT'nin kullanıldığı bir kontrol test ile kıyaslanır.

Testin Uygulanması

Test bileşiği DMSO'da çözülür. Seri olarak dilusyonları hazırlanır. Hücre kültürü içinde nihai seyreltme yapıldıktan sonra T4 lenfositleri ilave edilir. Bazı hücrelere test bileşiği ilave etmeden bırakılır. Bunlar toksisite kontrolü için değerlendirilirler. Kültür ortamları %5 CO₂ atmosferinde 37°C de 6 gün inkübe edilirler. Bütün hücrelere tetrazolyum tuzu ilave edilir ve böylece yaşama yeteneği olan hücrelerin formazon renk oluşturmaları sağlanmış olur. Her bir çukurun formazon oluşum miktarını saptamak üzere spektrofotometrik analiz yapılır. Test bileşiğinin ilave edildiği çukurlar test bileşiğinin ilave edilmemiş hücreleriyle kıyaslanır. Test bileşiğinin konsantrasyonunun logaritmasına karşı infekte olmamış hücrelerin yüzdesi şeklinde açıklanan test değerleri grafiğe edilir. Grafikten HIV sitopatik etkilere karşı %50 etkili konsantrasyon (EC₅₀) hücre büyümesinin engellenmesi açısından %50 inhibe edici konsantrasyon (IC₅₀) ve terapodik index (TI = IC₅₀ /EC₅₀) hesaplanır.

*Antikanser etki ve anti-HIV etki test yöntemi NCI (National Cancer Instituted) tarafından geliştirmiştir.^(119,120). Testler yine aynı merkezde yapılmışlardır. Testlerin yapımında emeği geçen tüm NCI personeline, özellikle Bölüm Şefi Dr.V.L. Narayanan'a teşekkür ederiz.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

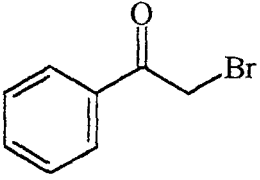
4.1. Bileşiklerin Eldesi

Bileşiklerin eldesi iki basamakta verilmiştir

4.1.1. Başlangıç Maddelerinin Eldesi

α -Bromoasetofenon Türevlerinin Eldesi

α -Bromoasetofenon

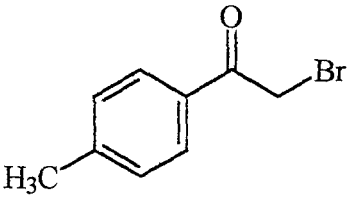


Asetofenon (0,1 mol, 12 g) ve brom (0,1 mol, 16 g) kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen yönteme göre elde edildi.

E.n.:49-51 °C

Lit.⁽¹²¹⁾ E.n.:50 °C

4-Metil- α - bromoasetofenon

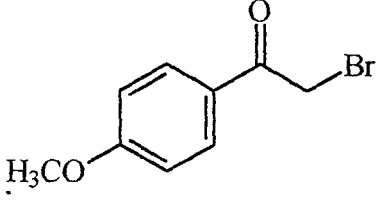


4-Metilasetofenon (0,1 mol, 13,4 g) ve brom (0,1 mol, 16 g) kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen yönteme göre elde edildi.

E.n.:50 °C

Lit.⁽¹²²⁾ E.n.: 50-51°C

4-Metoksi- α -bromoasetofenon

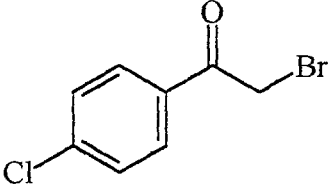


4-Metoksiasetofenon (0,1 mol, 15 g) ve brom (0,1 mol, 16 g) kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen yöntemle elde edildi.

E.n.: 70 °C

Lit. ⁽¹²³⁾ E.n.: 70-71 °C

4-Kloro- α -bromoasetofenon

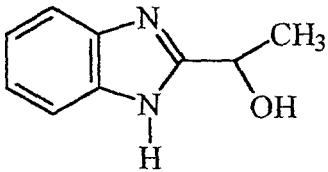


4-Kloroasetofenon (0,1 mol, 15,45 g) ve brom (0,1 mol, 16 g) kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen yöntemle elde edildi.

E.n.: 95-97 °C

Lit. ⁽¹²⁴⁾ E.n.: 96-97 °C

2-(1-Hidroksietil) benzimidazol

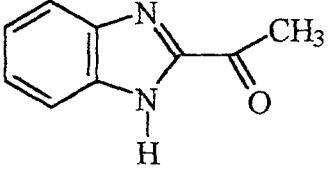


1,2-Diaminobenzen (0,1 mol, 10,8 g) ve laktik asit (0,1 mol, 9 g) kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen yöntemle elde edildi.

E.n.: 178-180 °C

Lit. ⁽¹²⁵⁾ E.n.: 178.5-179.5 °C

2- Asetilbenzimidazol



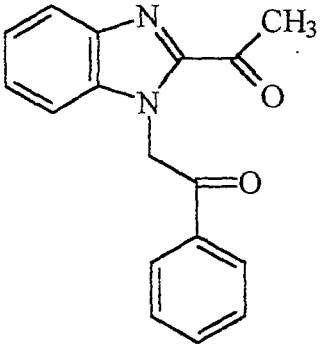
2-(1-Hidroksietil)benzimidazol (0,01 mol, 1,62 g) asetik asid içerisinde kromtrioksit ile oksitlenmesiyle Bölüm 3.3'de verilen yöntemle elde edildi.

E.n.: 188-190 °C

Lit. ⁽¹²⁶⁾ E.n.: 188-189 °C

1-[2-(Aril-2-okzoetil)]-2-asetilbenzimidazol Türevlerinin Eldesi

1-(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol

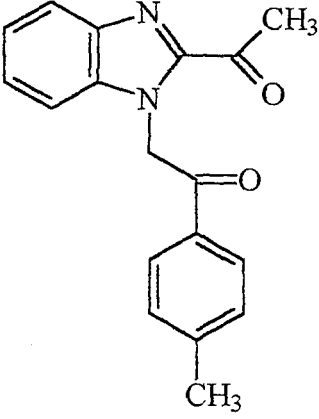


2-Asetilbenzimidazol (0,01 mol, 1,6 g) α-bromoasetofenon (0,01 mol, 2,00 g) kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen yöntemle elde edildi.

E.n. : 166-168 °C

Lit. ⁽¹¹⁶⁾ E.n.: 166-168 °C

1-[2-(4-Metilfenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol

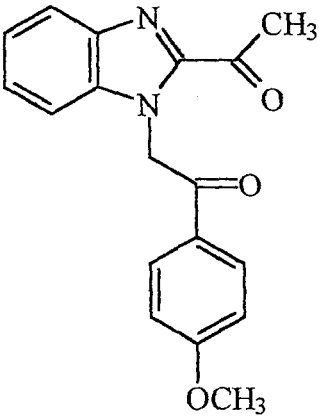


2-Asetilbenzimidazol (0,01 mol, 1,6 g) 4-metil- α -bromoasetofenon (0,01 mol, 2,14 g) kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen yönteme göre elde edildi.

E.n.: 144-145 °C

Lit. ⁽¹¹⁶⁾ E.n.: 144-145 °C

1-[2-(4-Metoksifenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol

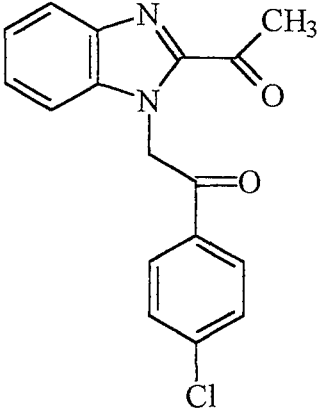


2-Asetilbenzimidazol (0,01 mol, 1,6 g) 4-metoksi- α -bromoasetofenon (0,01 mol, 2,3 g) kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen yönteme göre elde edildi.

E.n.: 141-142 °C

Lit. ⁽¹¹⁶⁾ E.n.: 141-142 °C

1-[2-(4-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol



2-Asetilbenzimidazol (0,01 mol, 1,6 g) 4-kloro- α -bromoasetofenon (0,01 mol, 2,33 g) kullanılarak Bölüm 3.3’de verilen yönteme göre elde edildi.

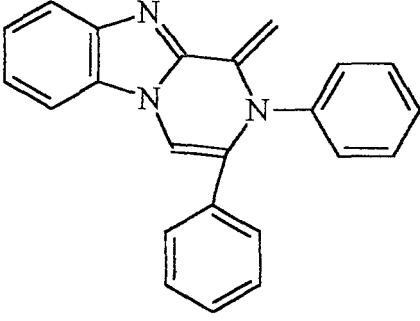
E.n.:161-162 °C

Lit. ⁽¹¹⁶⁾ E.n.:161-162 °C

4.1.2. 1-Metilen-2,3-diaril-1,2-dihidroprazino[1,2-a]-benzimidazol Türevlerinin Eldesi.

Bölüm 3.3’de verilen başlangıç maddelerinden 1-(2-aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol türevleri ile 4-süstitüe anilin türevlerinin reaksiyona sokulmasıyla onbir adet yeni bileşik sentezlenmiştir.

1-Metilen-2,3-difenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol 1



1-(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol(0,005 mol, 1,39 g) ve anilin (0,005 mol, 0,46 g) 50 ml asetik asid kullanılarak Bölüm 3.3’de verilen genel yöntemle göre elde edildi. Ham ürün asetik asidden kristallendirildi.

Verim: %60

E.n.: 125-126 °C

Kromatografi

: Sistem S1: Rf 0,5

Sistem S2: Rf 0,62

Analiz

: C₂₃H₁₇N₃ . CH₃COOH . 1/2H₂O için

Hesaplanan

: C:74,23 H:5,48 N:10,38

Bulanan

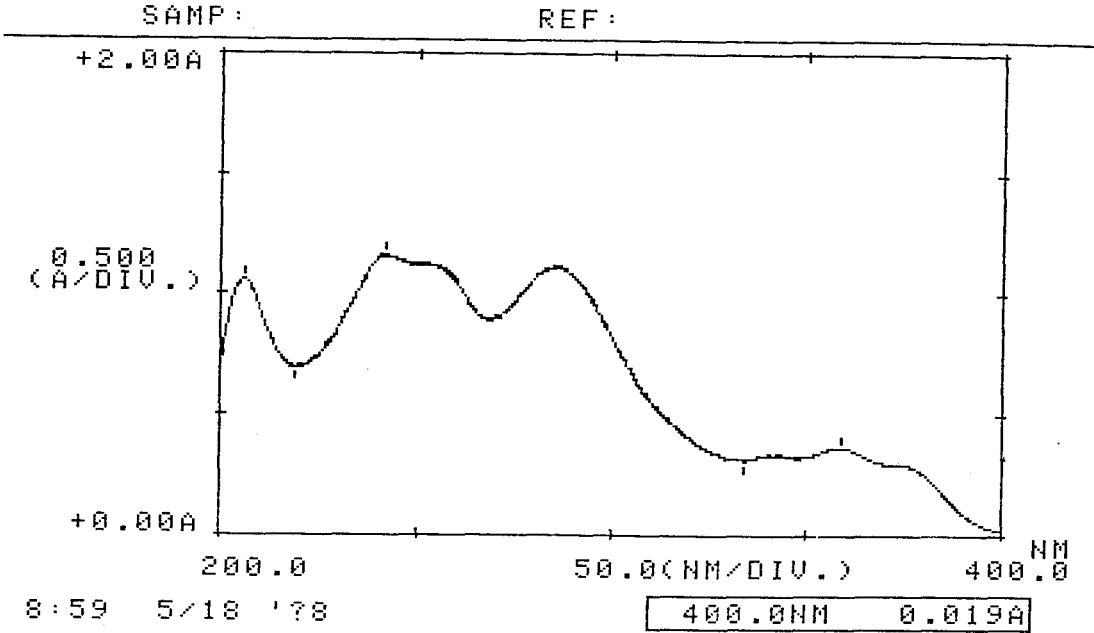
: C:74,35 H:5,91 N:10,64

UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ) : 206,0 (4,43), 241,8 (4,47), 248,0 (omuz, 4,45), 284,0 (4,43),
358,8 (3,97)

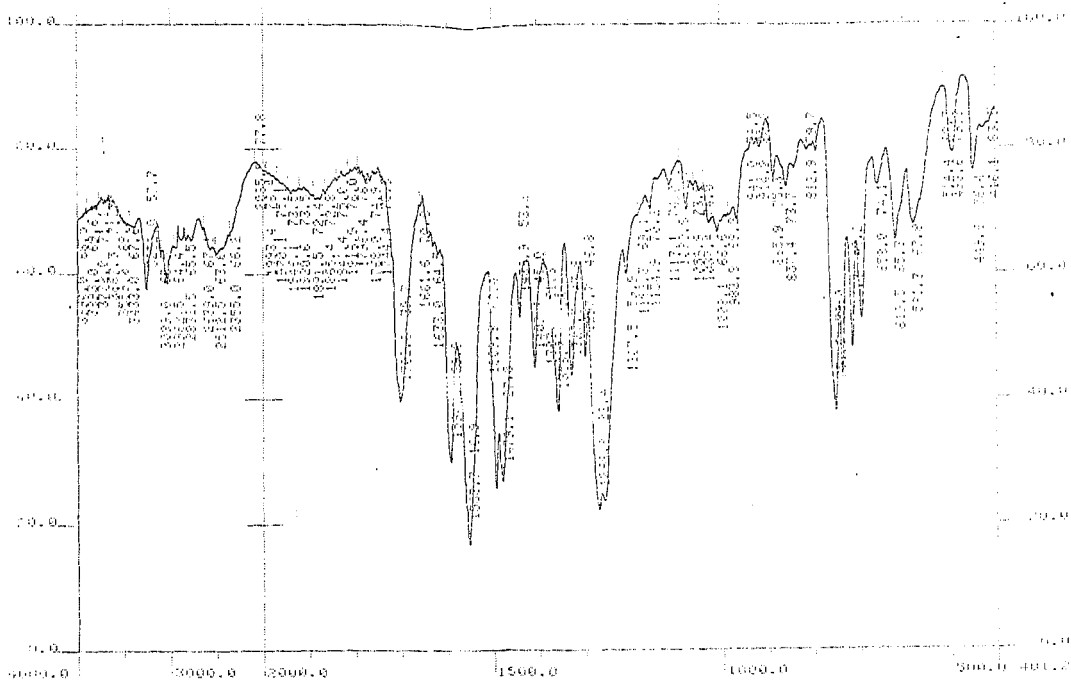
IR(KBr) $v_{maks}(cm^{-1})$: 3433-3252 (asetik asid ve su O-H gerilim bandı), 3099 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2902 (Alifatik C-H gerilim bandı), 2600-2350 (N^+ -H gerilim bandı), 1708 (Asetik asid C=O gerilim bandı), 1594-1479 (C=N ve C=C gerilim bandı), 1270 (C-O gerilim bandı), 751,690 (Monosübstitüe benzen).

1H -NMR (400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 1,89 (3H, s, CH_3COOH), 7,00 (1H, t, 2-fenil C_4 -H protonu), 7,33-7,51(11H, m, 2-fenil C_2 -H, C_3 -H, C_5 -H ve C_6 -H protonları, 3-fenil C_2 -H, C_3 -H, C_4 -H, C_5 -H ve C_6 -H protonları, bezimidazol'ün C_5 -H protonu), 7,73 (2H, d, j; 7,63 Hz bezimidazol'ün C_6 -H ve C_7 -H protonları), 7,85 (1H, d, j; 8,16 Hz metilen protonu), 8,39 (1H, d, j; 8,11 Hz metilen protonu), 8,58 (1H, s, benzimidazol'ün C_8 -H protonu), 8,83 (1H, s, pirazinobenzimidazol'ün C_4 -H protonu), 12,00 (1H, s, Asetik asid O-H protonu).

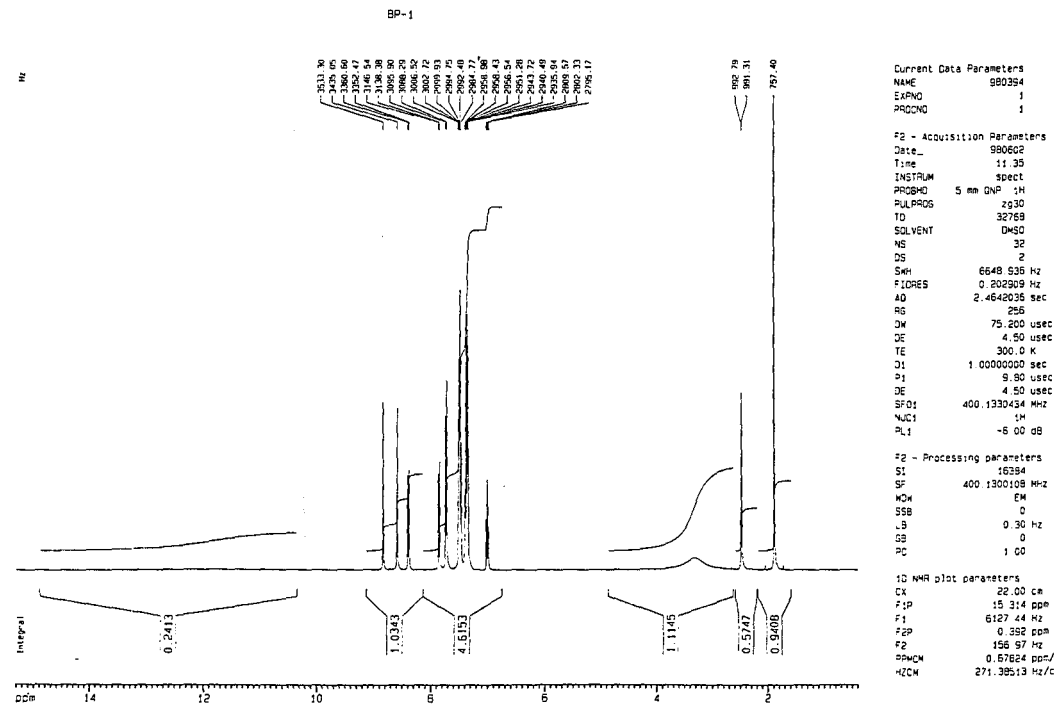
MS (EI) m/z : 336.5 ($M+1$, %15), 335.5 (M^+ , %55), 334.5 ($M-1$ %100), 258, 167, 142
MS (ES) $M+1$: m/z:336.2 (%100)



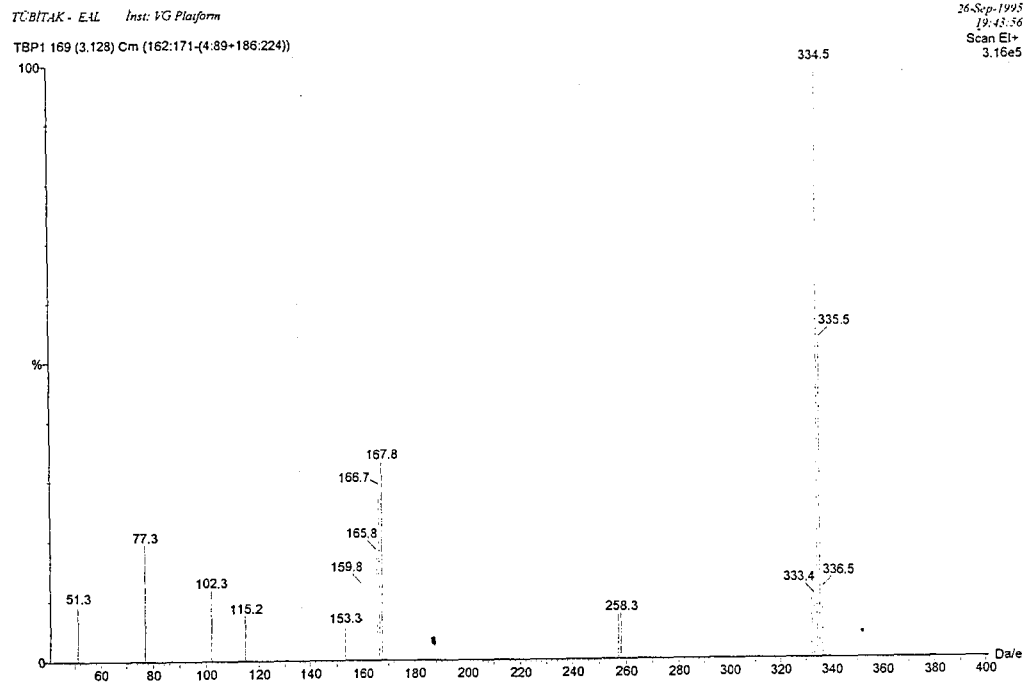
Şekil 4.1 Bileşik 1'in UV Spektrumu



Şekil 4.2. Bileşik 1'in IR Spektrumu

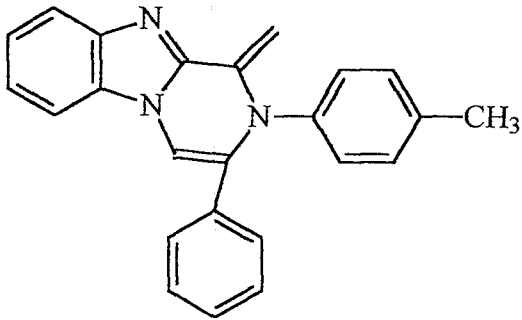


Şekil 4.3. Bileşik 1'in NMR Spektrumu



Şekil 4.4. Bileşik 1'in EI-MS Spektrumu

1-Metilen-2-(4-metilfenil)-3-fenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol 2



1-(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol(0,005 mol, 1,39 g) ve 4-metilanilin (0,005 mol, 0,53 g) 50 ml asetik asid kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen genel yönteme göre elde edildi. Ham ürün etanolden kristallendirildi.

1-(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol(0,005 mol, 1,39 g) ve 4-metilanilin (0,005 mol, 0,53 g) 50 ml asetik asid kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen genel yöntemle göre elde edildi. Ham ürün etanolden kristallendirildi.

Verim: %65 E.n.: 201-202⁰C (dekomp)

Kromatografi : Sistem S1: Rf 0,58
Sistem S2: Rf 0,64

Analiz : C₂₄H₁₉N₃ . 2H₂O için

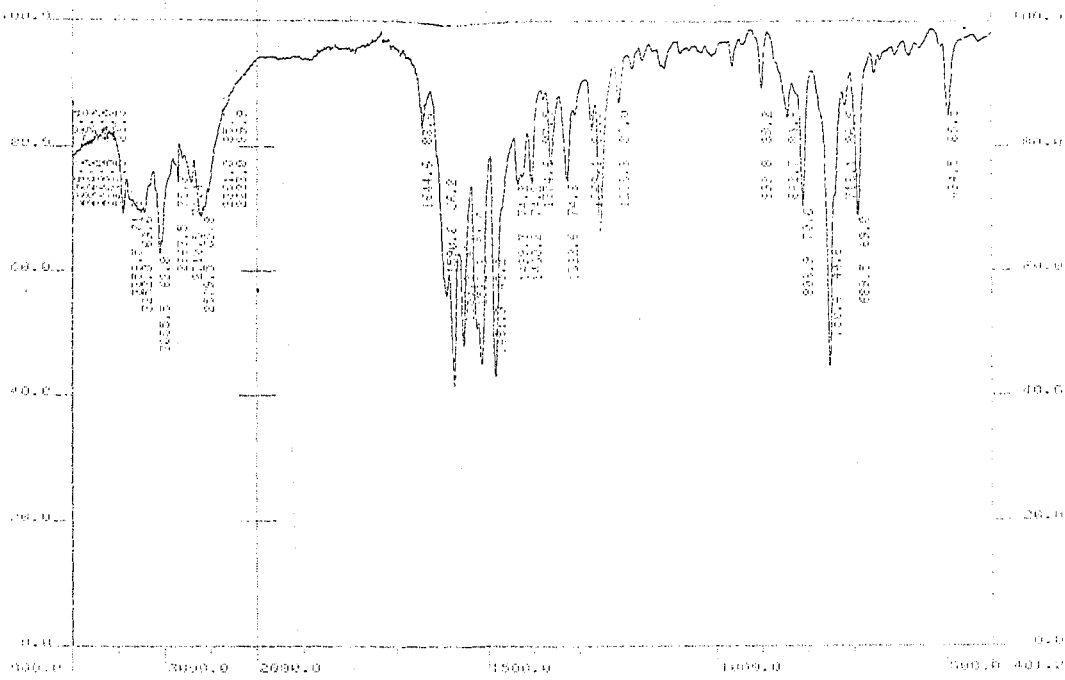
Hesaplanan : C:74,77 H:6,01 N:10,90

Bulanan : C:74,73 H:5,33 N:10,93

UV(EtOH)λ(nm)(log ε) : 205,8 (4,53), 244,0 (4,55), 248 (omuz, 4,45), 290,0 (4,50), 357,8 (4,06)

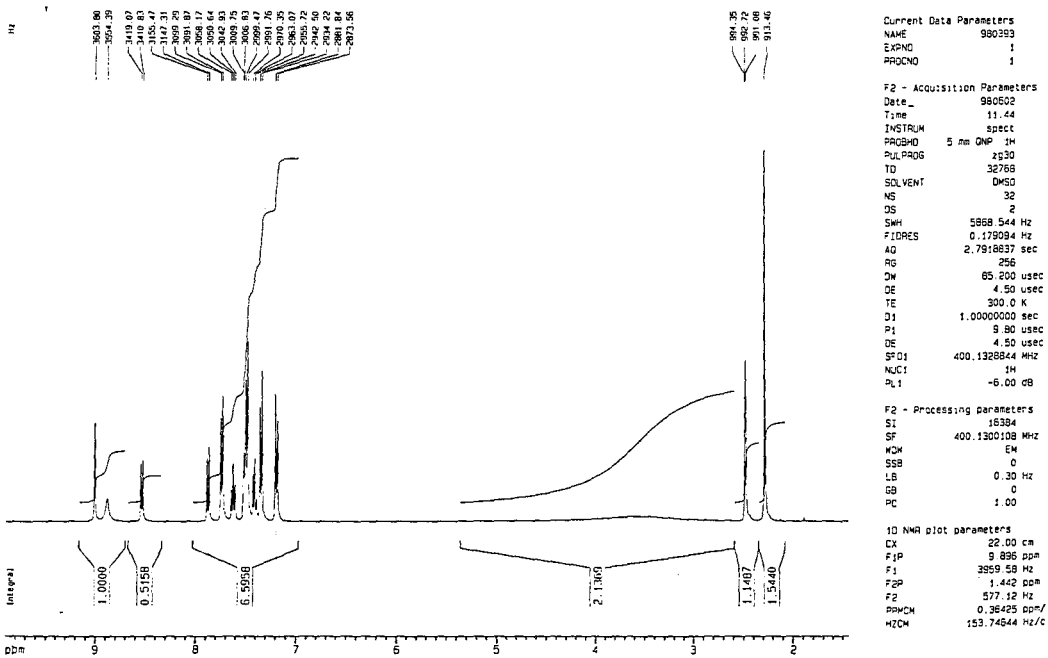
IR(KBr)v_{maks}(cm⁻¹): 3360-3252 (Su O-H gerilim bandı), 3055 (Aromatik C-H gerilim bandı), 1590-1481 (C=N ve C=C gerilim bandı), 809 (1,4 disüstitüe benzen), 750,690 (Monosüstitüe benzen).

¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-d₆) δ (ppm): 2,28 (3H, s, 2-(4-metilfenil)'in CH₃ protonları), 7,19 (2H, d, j; 8,28 Hz 2-(4-metilfenil)'in C₃-H ve C₅-H protonları), 7,33-7,64 (8H, m, 3-fenil C₂-H, C₃-H, C₄-H, C₅-H ve C₆-H protonları, bezimidazol'ün C₅-H, C₆-H ve C₇-H protonları), 7,73 (2H, d, j; 7,63 Hz 2-(4-metilfenil)'in C₂-H ve C₆-H protonları), 7,87 (1H, d, j; 8,16 Hz metilen protonu), 8,53 (1H, d, j; 8,11 Hz metilen protonu), 8,88 (1H, s, benzimidazol'ün C₈-H protonu), 9,00 (1H, s, pirazinobenzimidazol'ün C₄-H protonu).



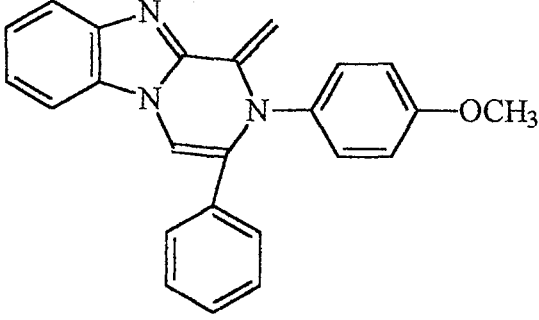
Şekil 4.5. Bileşik 2'nin IR Spektrumu

BP-2



Şekil 4.6. Bileşik 2'nin NMR Spektrumu

1-Metilen-2-(4-metoksifenil)-3-fenil-1,2-dihidroprazino[1,2-a]benzimidazol 3



1-(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol (0,005 mol, 1,39 g) ve 4-metoksianilin (0,005 mol, 0,61 g) 50 ml asetik asid kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen genel yöntemle göre elde edildi. Ham ürün alkolden kristallendirildi.

Verim: %54

E.n.:196-197°C (dekompozisyon)

Kromatografi : Sistem S1: Rf 0,42
Sistem S2: Rf 0,40

Analiz : C₂₄H₁₉N₃O . H₂O için

Hesaplanan : C:75,17 H:5,51 N:10,92

Bulanan : C:75,25 H:5,71 N:11,02

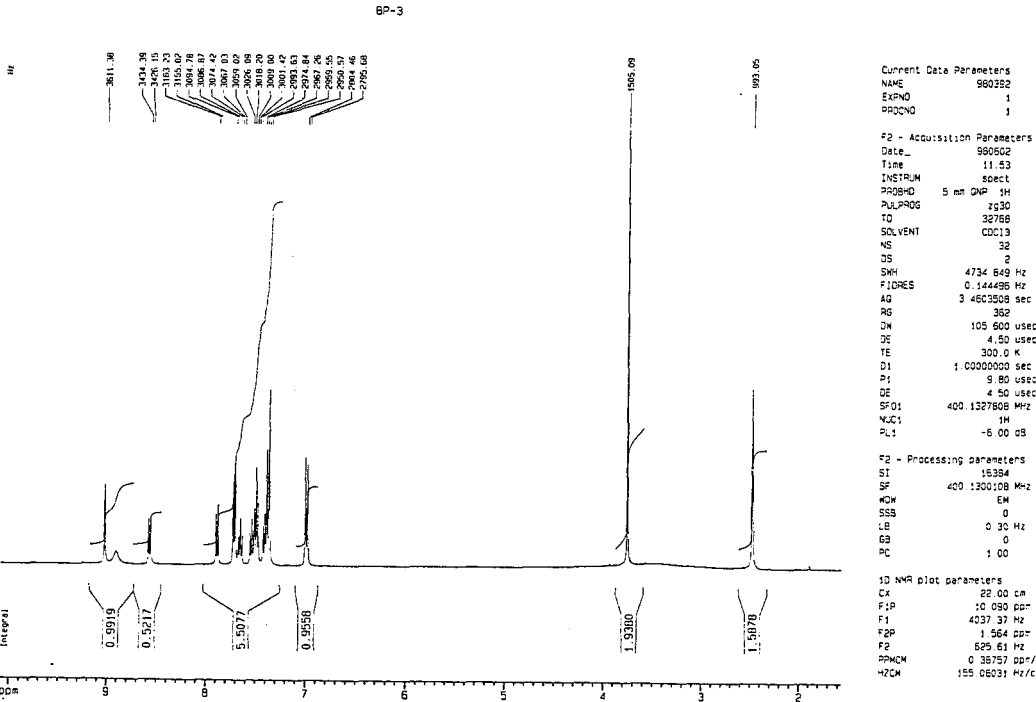
UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ) : 208,0 (4,59), 246,0 (4,64), 250 (omuz, 4,64), 290,0 (4,54), 357,6 (4,16)

IR(KBr) ν_{maks} (cm⁻¹): 3443 (Su O-H gerilim bandı), 3104 (Aromatik C-H gerilim bandı), 1598-1490 (C=N ve C=C gerilim bandı), 1240 (C-O gerilim bandı), 820 (1,4

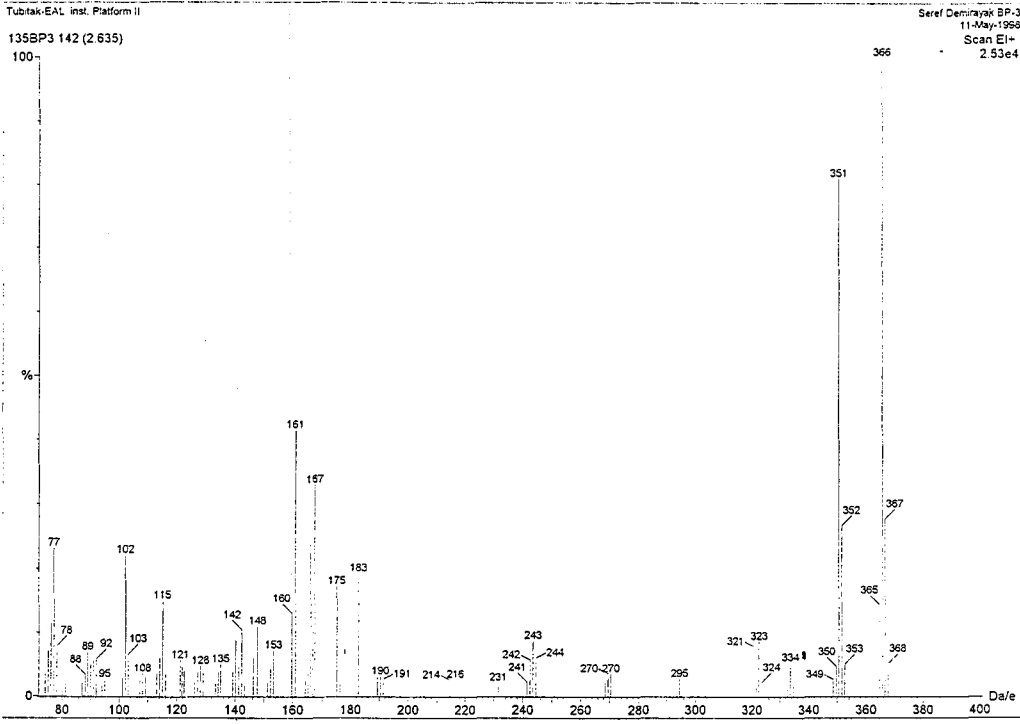
disüstitüe benzen), 750,692 (Monosüstitüe benzen).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 3,76 (3H, s, 2-(4-metoksifenil)'in OCH_3 protonları), 7,00 (2H, d, j; 8,78 Hz 2-(4-metoksifenil)'in $\text{C}_3\text{-H}$ ve $\text{C}_5\text{-H}$ protonları), 7,37-7,68 (8H, m, 3-fenil $\text{C}_2\text{-H}$, $\text{C}_3\text{-H}$, $\text{C}_4\text{-H}$, $\text{C}_5\text{-H}$ ve $\text{C}_6\text{-H}$ protonları, bezimidazol'ün $\text{C}_5\text{-H}$, $\text{C}_6\text{-H}$ ve $\text{C}_7\text{-H}$ protonları), 7,72 (2H, d, j; 7,63Hz 2-(4-metoksifenil)'in $\text{C}_2\text{-H}$ ve $\text{C}_6\text{-H}$ protonları), 7,89 (1H, d, j; 8,16 Hz metilen protonu), 8,57 (1H, d, j; 8,11 Hz metilen protonu), 8,91 (1H, s, benzimidazol'ün $\text{C}_8\text{-H}$ protonu), 9,02 (1H, s, pirazino-benzimidazol'ün $\text{C}_4\text{-H}$ protonu).

MS (EI) m/z : 366 ($\text{M}+1$, %100), 365 (M^+ , %18), 351, 334, 258, 244, 167.

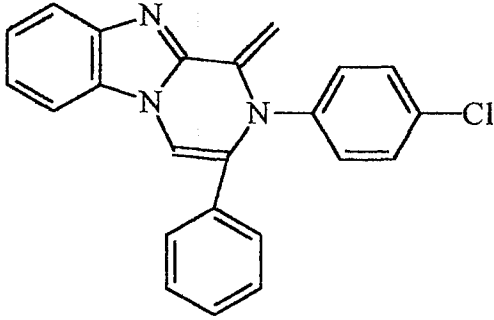


Şekil 4.7. Bileşik 3'ün NMR Spektrumu



Şekil 4.8. Bileşik 3'ün EI- MS Spektrumu

1-Metilen-2-(4-klorofenil)-3-fenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol 4



1-(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol (0,005 mol, 1,39 g) ve 4-kloroanilin (0,005 mol, 0,63 g) 50 ml asetik asit kullanılarak bölüm 3.3'de verilen genel yöntemle elde edildi. Ham ürün alkolden kristallendirildi.

Verim: %66

E.n.: 147-148⁰C

Kromatografi : Sistem S1: Rf 0,55
Sistem S2: Rf 0,63

Analiz : C₂₃H₁₆ClN₃ · 1/2H₂O için

Hesaplanan : C:72,91 H:4,52 N:11,09

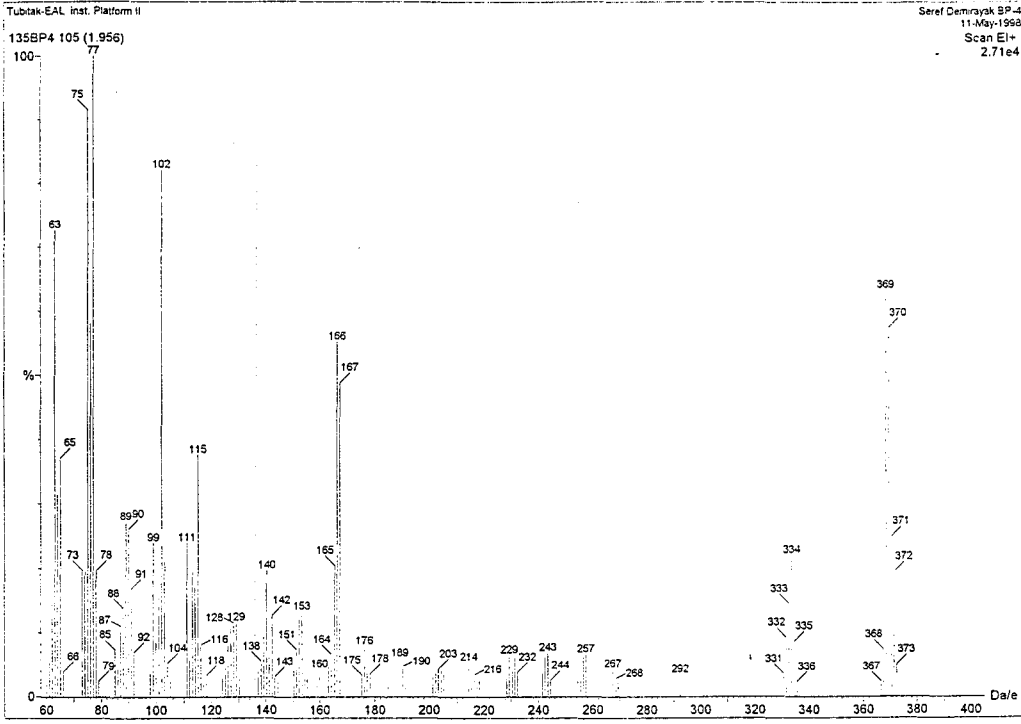
Bulanan : C:75,82 H:4,66 N:11,09

UV(EtOH)λ(nm)(log ε) : 206,4 (4,60), 242,2 (4,62), 250 (omuz, 4,58), 292,0 (4,62), 359,2
(4,13)

IR(KBr)v_{maks}(cm⁻¹): 3429 (Su O-H gerilim bandı), 3108 (Aromatik C-H gerilim bandı),
1595-1462 (C=N ve C=C gerilim bandı), 732 (1,2 disübstitüe benzen), 755,698
(Monosübstitüe benzen).

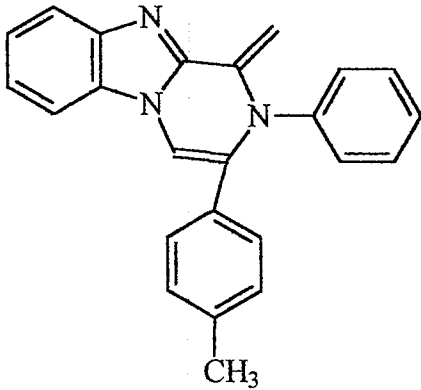
¹H-NMR (90 MHz) (DMSO-d₆) δ (ppm): 7,08-7,95 (15H, m, Ar-H), 8,09 (1H, d, j; 1,45
Hz pirazinbenzimidazol'ün C₄-H protonu).

MS (EI) m/z : 369 (M, %63), 370 (M⁺, %60), 334, 292, 258, 257, 167, 115,102.



Şekil 4. 9. Bileşik 4'ün EI-MS Spektrumu

1-Metilen-2-fenil-3-(4-metilfenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol 5



1-[2-(4-Metilfenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (0,005 mol, 1,46 g) ve anilin (0,005 mol, 0,46 g) 50 ml asetik asid kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen genel yönteme göre elde edildi. Ham ürün asetik asitten kristallendirildi.

1-[2-(4-Metilfenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (0,005 mol, 1,46 g) ve anilin (0,005 mol, 0,46 g) 50 ml asetik asid kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen genel yöntemle göre elde edildi. Ham ürün asetik asidden kristallendirildi.

Verim: %65

E.n.: 131-132°C

Kromatografi : Sistem S1: Rf 0,55
Sistem S2: Rf 0,59

Analiz : $C_{24}H_{19}N_3 \cdot 2CH_3COOH$ için

Hesaplanan : C:71,62 H:5,79 N:8,94

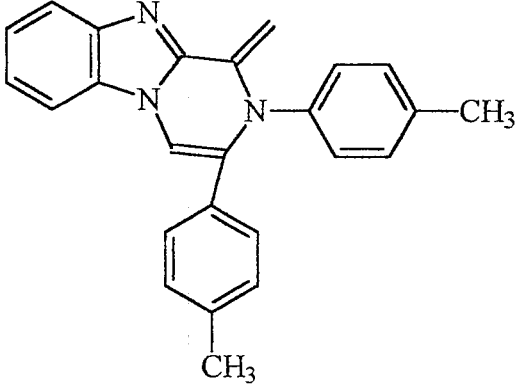
Bulanan : C:71,22 H:6,01 N:8,89

UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ) : 207,2 (4,68), 246,0 (4,72), 250 (omuz, 4,68), 284,0 (4,76), 359,8 (4,22).

IR(KBr) ν_{maks} (cm^{-1}): 3257 (Asetik asid O-H gerilim bandı), 3098 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2999-2857 (Alifatik C-H gerilim bandı), 2600-2340 (N^+ -H gerilim bandı), 1700 (Asetik asid C=O gerilim bandı), 1618-1494 (C=N ve C=C gerilim bandı), 1256 (C-O gerilim bandı), 825 (1,4 disübstitüe benzen), 750,690 (Monosübstitüe benzen).

1H -NMR (90 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 1,95 (6H, s, CH_3COOH), 2,37 (3H, s, 3-(4-metilfenil)'in CH_3 protonları), 7,24-8,48 (15H, m, Ar-H), 8,75 (1H, s, pirazinbenzimidazol'ün C_4 -H protonu), 12,00 (1H, s, Asetik asid O-H protonu).

1-Metilen-2-(4-metilfenil)-3-(4-metilfenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol 6



1-[2-(4-Metilfenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (0,005 mol, 1,46 g) ve 4-metilanilin (0,005 mol, 0,53 g) 50 ml asetik asid kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen genel yönteme göre elde edildi. Ham ürün alkolden kristallendirildi.

Verim: %58

E.n.: 129-130⁰C

Kromatografi : Sistem S1: Rf 0,57
Sistem S2: Rf 0,63

Analiz : C₂₅H₂₁N₃ . H₂O için

Hesaplanan : C:78,70 H:6,07 N:11,01

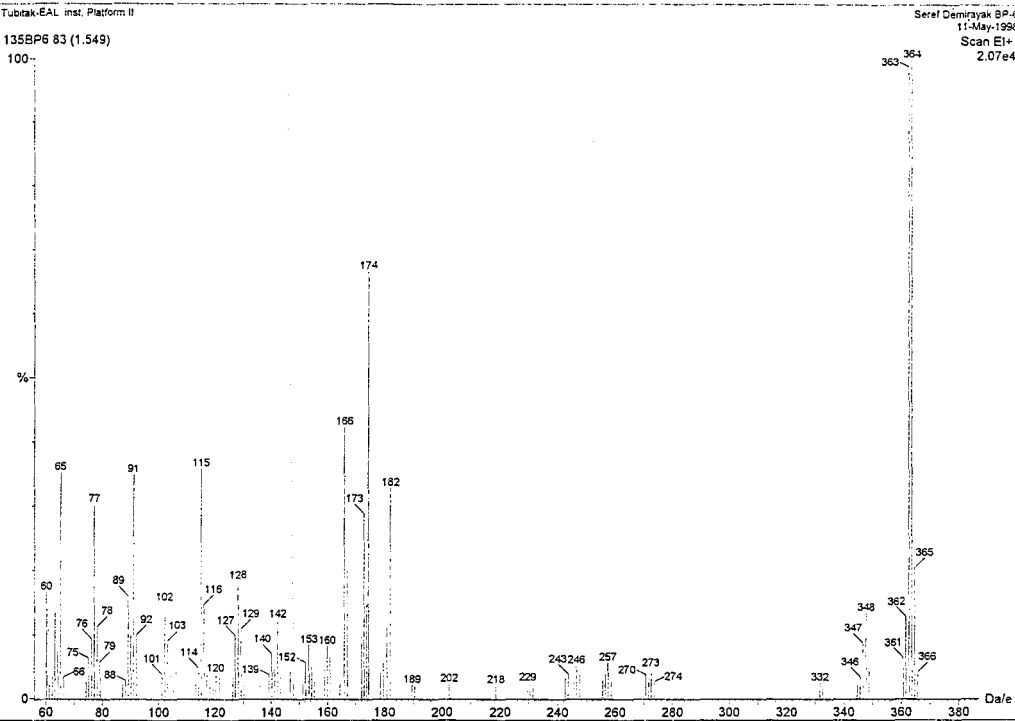
Bulanan : C:77,90 H:5,92 N:11,00

UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ) : 213,3 (4,52), 246,0 (4,50), 249,0 (omuz, 4,49), 283,2 (4,53),
359,2 (4,00).

IR(KBr) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 3556 (Su O-H gerilim bandı), 3103 (Aromatik C-H gerilim bandı), 1598-1479 (C=N ve C=C gerilim bandı), 820 (1,4disübstitüe benzen).

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 2,35 (3H, s, 3-(4-metilfenil)'in CH_3 protonları), 2,39 (3H, s, 2-(4-metilfenil)'in CH_3 protonları), 7,22-8,02 (14H, m, Ar-H), 8,56 (1H, s, pirazinobenzimidazol $\text{C}_4\text{-H}$ protonu).

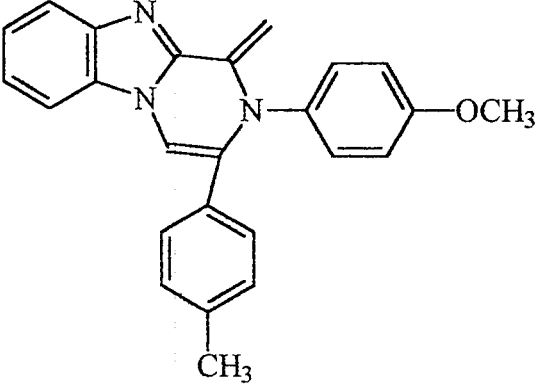
MS (EI) m/z : 364 ($\text{M}+1$, %100), 363 (M^+ , %99), 348, 272, 257, 232, 218, 167.



Şekil 4.10. Bileşik 6'nın EI-MS Spektrumu

1-Metilen-2-(4-metoksifenil)-3-(4-metilfenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol

7



1-[2-(4-Metilfenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (0,005 mol, 1,46 g) ve 4-metoksianilin (0,005 mol, 0,61 g) 50 ml asetik asid kullanılarak bölüm 3.3'de verilen genel yönteme göre elde edildi. Ham ürün asetik asidden kristallendirildi.

Verim: %65

E.n.: 106-107°C

Kromatografi : Sistem S1: Rf 0,51
Sistem S2: Rf 0,53

Analiz : C₂₅H₂₁N₃O . CH₃COOH için

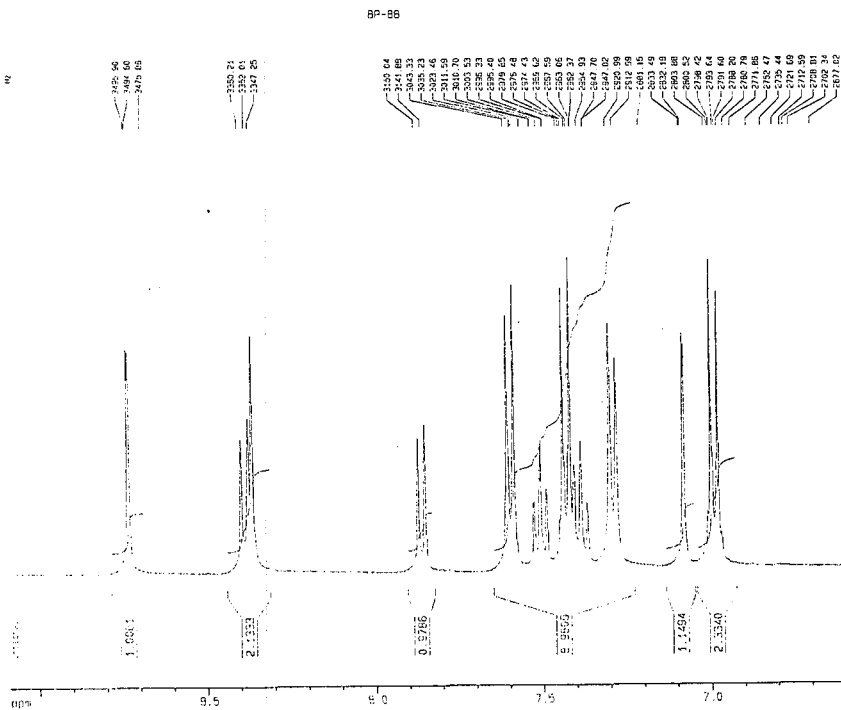
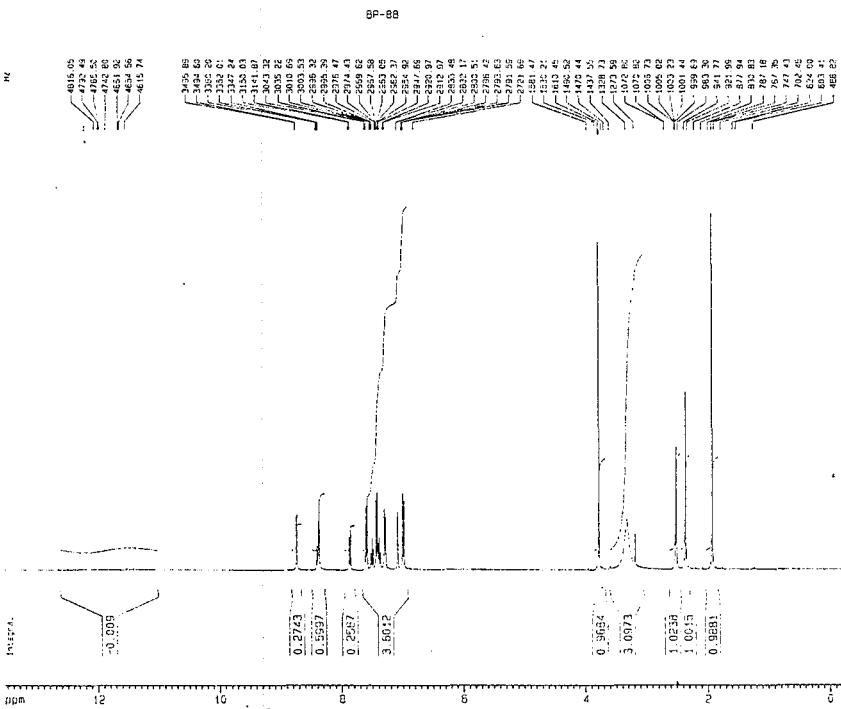
Hesaplanan : C:73,78 H:5,73 N:9,56

Bulanan : C:73,53 H:5,68 N:9,65

UV(EtOH)λ(nm)(log ε) : 206,0 (4,57), 246,0 (4,59), 249,0 (omuz, 4,58), 283,0 (4,62),
357,8 (4,06).

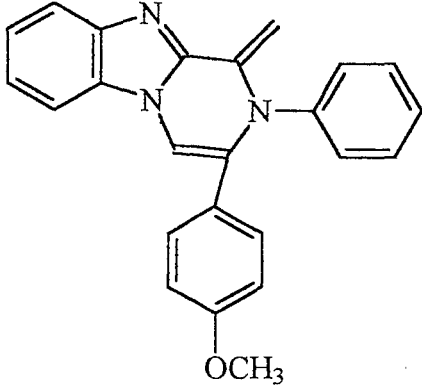
IR(KBr) v_{maks} (cm^{-1}): 3463 (Asetik asid O-H gerilim bandı), 3036 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2901 (Alifatik C-H gerilim bandı), 2600-2300 (N^+ -H gerilim bandı), 1592-1480 (C=N ve C=C gerilim bandı), 1236 (C-O gerilim bandı), 824 (1,4 disübstitüe benzen).

1H -NMR (400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 1,91 (3H, s, CH_3COOH), 2,35 (3H, s, 3-(4-metilfenil)'in CH_3 protonları), 3,77 (3H, s, 2-(4-metoksifenil)'in OCH_3 protonları), 6,98 (2H, d, j; 8,92 Hz, 2-(4-metoksifenil)'in C_3 -H ve C_5 -H protonları), 7,29 (2H, d, j; 8,00 Hz, 3-(4-metilfenil)'in C_3 H ve C_5 H protonları) , 7,43 (2H, d, j; 8,89 Hz 2-(4-metoksifenil)'in C_2 -H ve C_6 -H protonları), 7,59 (2H, d, j; 8.10 Hz, 3-(4-metilfenil)'in C_2 -H ve C_6 -H protonları) 7,36-7,55(2H, m, benzimidazol'ün C_6 -H ve C_7 -H protonları), 7,08(1H, s, benzimidazol'ün C_5 -H protonu), 7,86 (1H, d, j ;8.16 Hz metilen protonu), 8,39 (1H, d, j; 8,11 Hz metilen protonu), 8,36 (1H, s, benzimidazol'ün C_8 -H protonu), 8,73 (1H, s, pirazinobenzimidazol'ün C_4 -H protonu), 12,00 (1H, s, Asetik asid O-H protonu).



Şekil 4.11. Bileşik 7'nin NMR Spektrumu

1-Metilen-2-fenil-3-(4-metoksifenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol 8



1-[2-(4-Metoksifenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (0,005 mol, 1,54 g) ve anilin (0,005 mol, 0,46 g) 50ml asetik asid kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen genel yöntemle elde edildi. Ham ürün asetik asitten kristallendirildi.

Verim: %60

E.n.: 140-141°C

Kromatografi : Sistem S1: Rf 0,45
Sistem S2: Rf 0,50

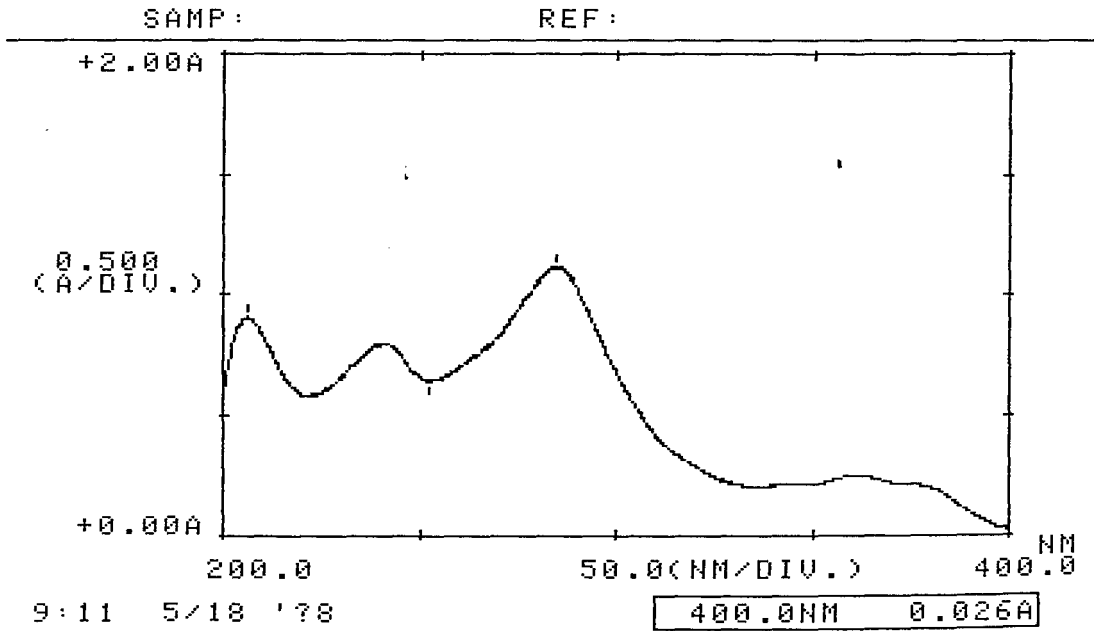
Analiz : C₂₄H₁₉N₃O . CH₃COOH için

Hesaplanan : C:73,39 H:5,44 N:9,87
Bulanan : C:73,61 H:5,02 N:9,94

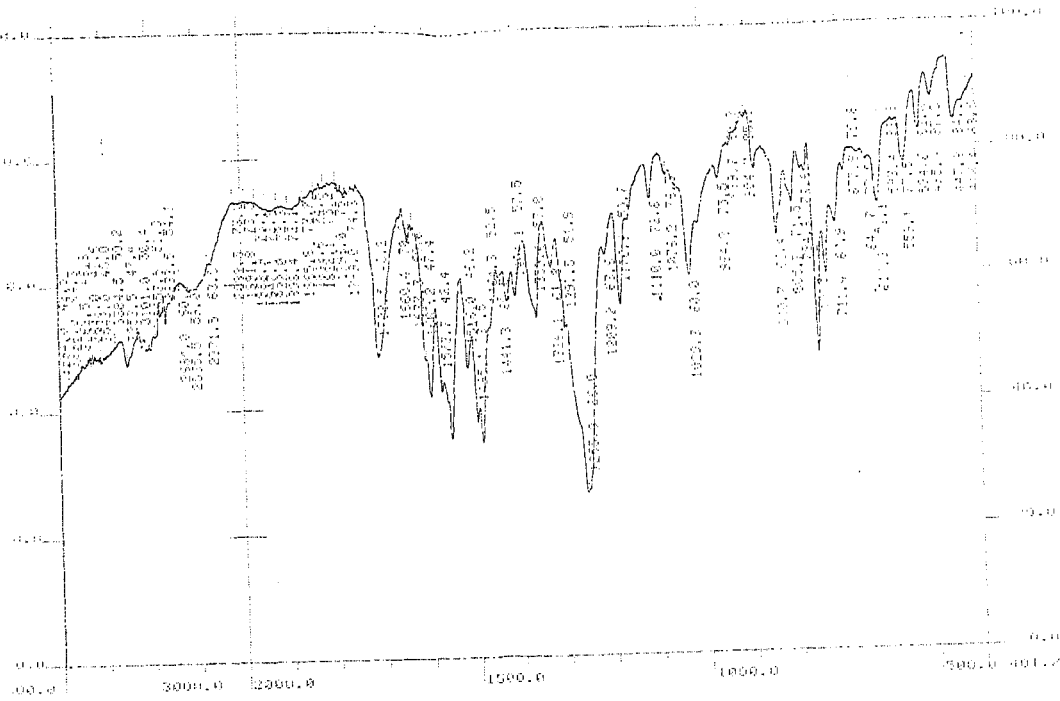
UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ) : 206,2 (4,50), 244,0 (4,46), 284,2 (4,59), 358,0 (4,02).

IR(KBr) v_{maks} (cm^{-1}): 3252 (Asetik asid O-H gerilim bandı), 3101 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2833 (Alifatik C-H gerilim bandı), 2650-2300 (N^+ -H gerilim bandı), 1708 (Asetik asid C=O gerilim bandı), 1607-1495 (C=N ve C=C gerilim bandı), 1256 (C-O gerilim bandı), 840 (1,4 disüstitüe benzen), 752,711 (Monosüstitüe benzen).

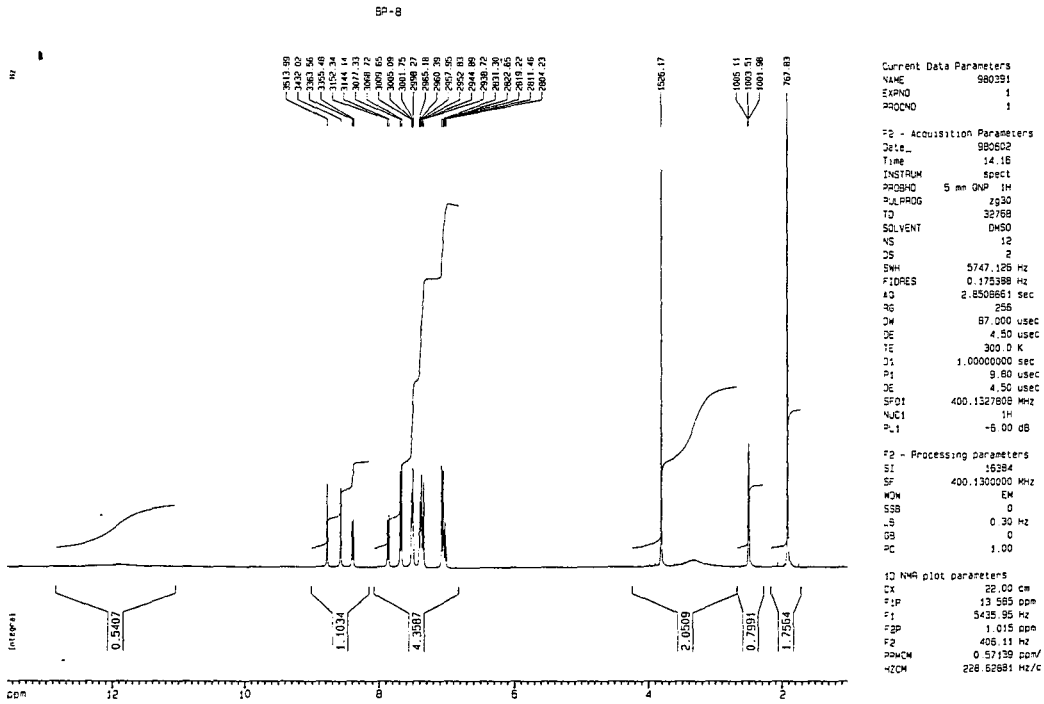
1H -NMR (400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 1,91 (3H, s, CH_3COOH), 3,81 (3H, s, 3-(4-metoksifenil)'in OCH_3 protonları), 7,02 (1H, t, 2-fenil'in C_4 -H protonu), 7,06 (2H, d, j; 8,65 Hz, 3-(4-metoksifenil)'in C_3 -H ve C_5 -H protonları), 7,34-7,52 (7H, m, 2-fenil'in C_2 -H, C_3 -H, C_5 -H ve C_6 -H protonları, benzimidazol'ün C_5 -H, C_6 -H ve C_7 -H protonları), 7,68 (2H, d, j; 8,61 Hz, 3-(4-metoksifenil)'in C_2 -H ve C_6 -H protonları), 7,87 (1H, d, j; 8,16 Hz metilen protonu), 8,39 (1H, d, j; 8,11 Hz metilen protonu), 8,58 (1H, s, benzimidazol'ün C_8 -H protonu), 8,78 (1H, s, pirazinobenzimidazol'ün C_4 -H protonu), 12,00 (1H, s, Asetik asid O-H protonu).



Şekil 4. 12. Bileşik 8'in UV Spektrumu

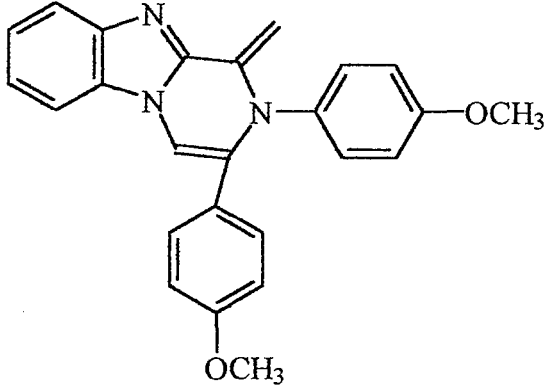


Şekil 4.13. Bileşik 8'in IR Spektrumu



Şekil 4.14. Bileşik 8'in NMR Spektrumu

**1-Metile-2-(4-metoksifenil)-3-(4-metoksifenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]-
benzimidazol 9**



1-[2-(4-Metoksifenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (0,005 mol, 1,54 g) ve 4-metoksi anilin (0,005 mol, 0,61 g) 50 ml asetik asid kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen genel yönteme göre elde edildi. Ham ürün etanolden kristallendirildi.

Verim: %61

E.n.: 180-181°C

Kromatografi : Sistem S1: Rf 0,45
Sistem S2: Rf 0,46

Analiz : C₂₅H₂₁N₃O₂ . 5/2 H₂O için

Hesaplanan : C:68,18 H:5,90 N:9,54

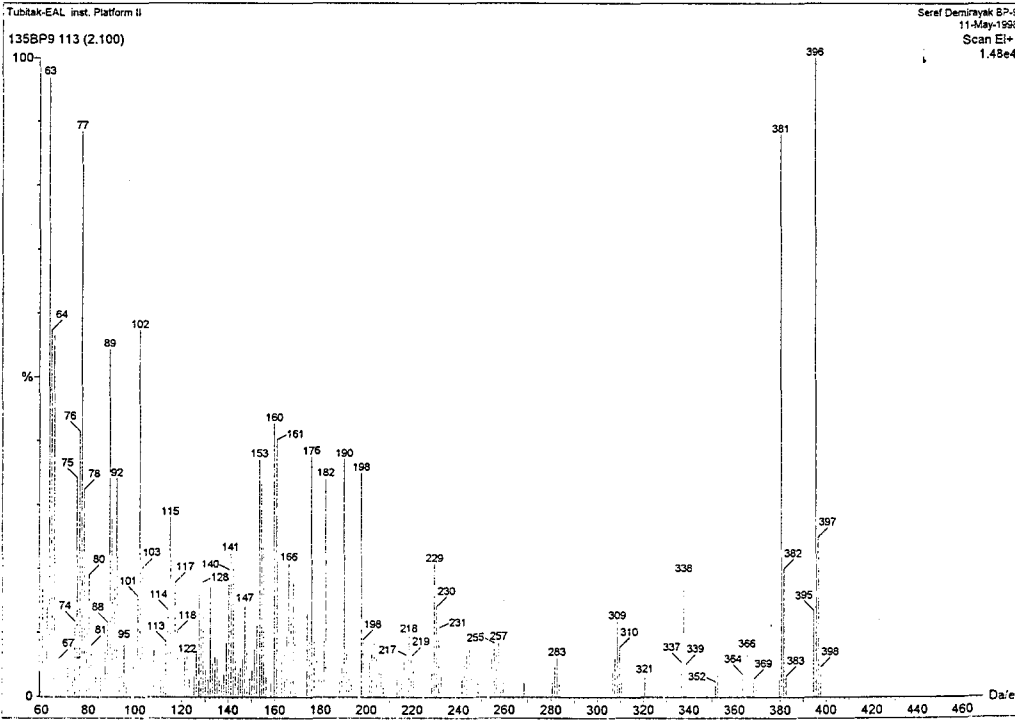
Bulanan : C:68,42 H:5,42 N:9,84

UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ) : 206,2 (4,50), 244,0 (4,46), 284,2 (4,59), 358,0 (4,09).

IR(KBr) ν_{maks} (cm⁻¹): 3413 (Su O-H gerilim bandı), 3159, 3041 (Aromatik C-H gerilim bandı), 1612-1482(C=N ve C=C gerilim bandı), 1242 (C-O gerilim bandı), 820 (1,4 disübstitüe benzen).

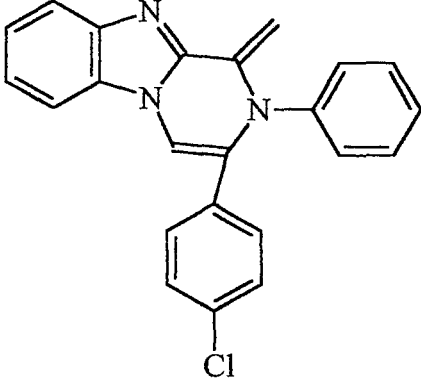
$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz) (DMSO-d_6) δ (ppm): 3,55 (3H, s, 3-(4-metoksifenil)'in OCH_3 protonları), 3,79 (3H, s, 2-(4-metoksifenil)'in OCH_3 protonları) 6,92-7,67 (14H, m, Ar-H), 8,91 (1H, d, j ;1,45 Hz pirazinobenzimidazol'ün $\text{C}_4\text{-H}$ protonu)

MS (EI) m/z : 396 (M^+ , %100), 395 (M^+ , %18), 381, 364, 338, 353, 257, 244, 166



Şekil 4. 15. Bileşik 9'un EI-MS Spektrumu

1-Metilen-2-fenil-3-(4-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol 10



1-[2-(4-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (0,005 mol, 1,56 g) ve anilin (0,005 mol, 0,46 g) 50 ml asetik asid kullanılarak Bölüm 3.3'de verilen genel yöntemle göre elde edildi. Ham ürün asetik asitten kristallendirildi.

Verim: %68

E.n.: 137-138⁰C

Kromatografi : Sistem S1: Rf 0,56
Sistem S2: Rf 0,60

Analiz : C₂₃H₁₆ClN₃ . 2CH₃COOH . 1/4H₂O için

Hesaplanan : C:65,58 H:4,93 N:8,39

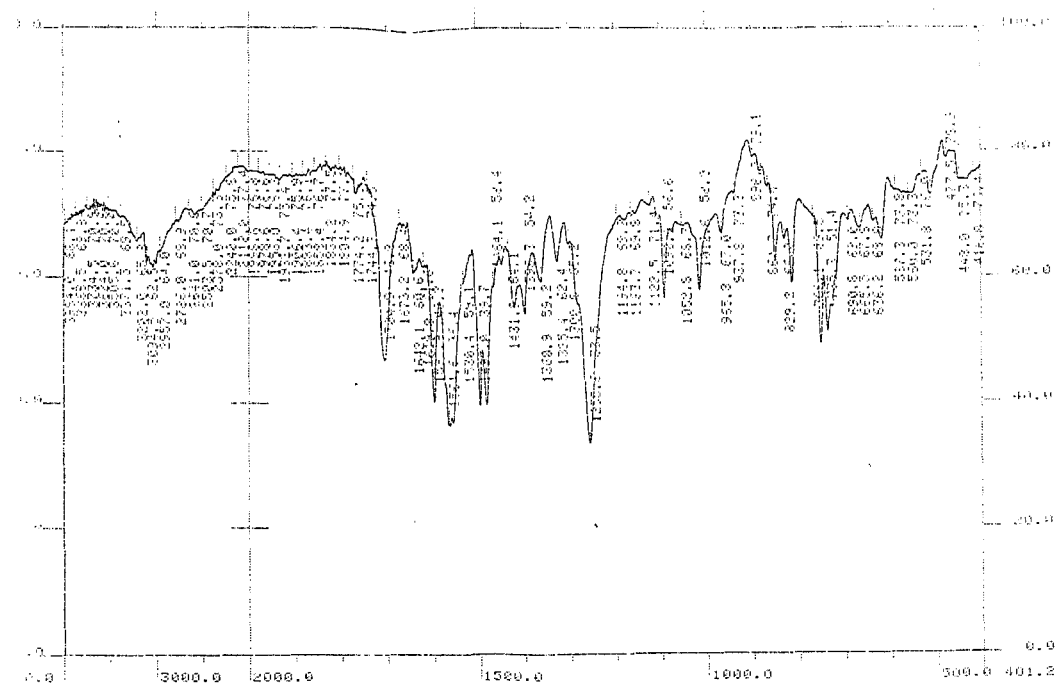
Bulanan : C: 65,40 H:5,13 N:8,73

UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ) : 205,2 (4,38), 257,2 (4,38), 259,6 (omuz, 4,33), 290,0 (4,38),
358,0 (4,08)

IR(KBr)v_{maks}(cm⁻¹): 3300-3202 (Asetik asid ve su O-H gerilim bandı), 3094 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2957 (Alifatik C-H gerilim bandı), 2660-2240 (N⁺-H gerilim bandı), 1704 (Asetik asid C=O gerilim bandı), 1597-1464 (C=N ve C=C gerilim bandı), 1255 (C-O gerilim bandı), 829 (1,4 disübstitüe benzen), 750, 690 (Monosübstitüe benzen)

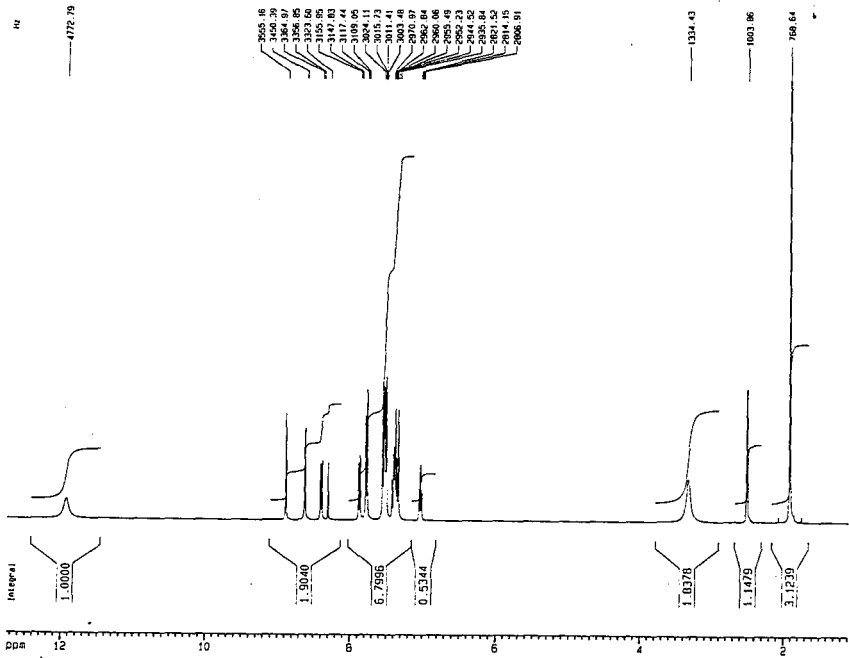
¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-d₆) δ (ppm):): 1,92 (3H,s,CH₃COOH), 7,03 (1H, t, 2-fenil'in C₄-H protonu), 7,35 (2H, d, j ;8.68Hz, 3-(4-klorofenil)'in C₃-H ve C₅-H protonları), 7,33-7,56 (7H, m, 2-fenil'in C₂-H, C₃-H, C₅-H ve C₆-H protonları, benzimidazol'ün C₅-H, C₆-H ve C₇-H protonları), 7,78 (2H, d, j ;8.39 Hz, 3-(4-klorofenil)'in C₂-H ve C₆-H protonları) 7,87 (1H, d, j; 8,16 Hz metilen protonu), 8,40 (1H, d, j; 8,11 Hz metilen protonu), 8,62 (1H, s, benzimidazol'ün C₈-H protonu) 8,88 (1H, s, pirazinobenzimidazol'ün C₄-H protonu), 12,00 (1H, s, Asetik asid O-H protonu).

MS (EI-MS) m/z : 369 (M⁺, %49), 166(%100), 334, 292, 258, 167,142.



Şekil 4. 16. Bileşik 10'un IR spektrumu

BP-10



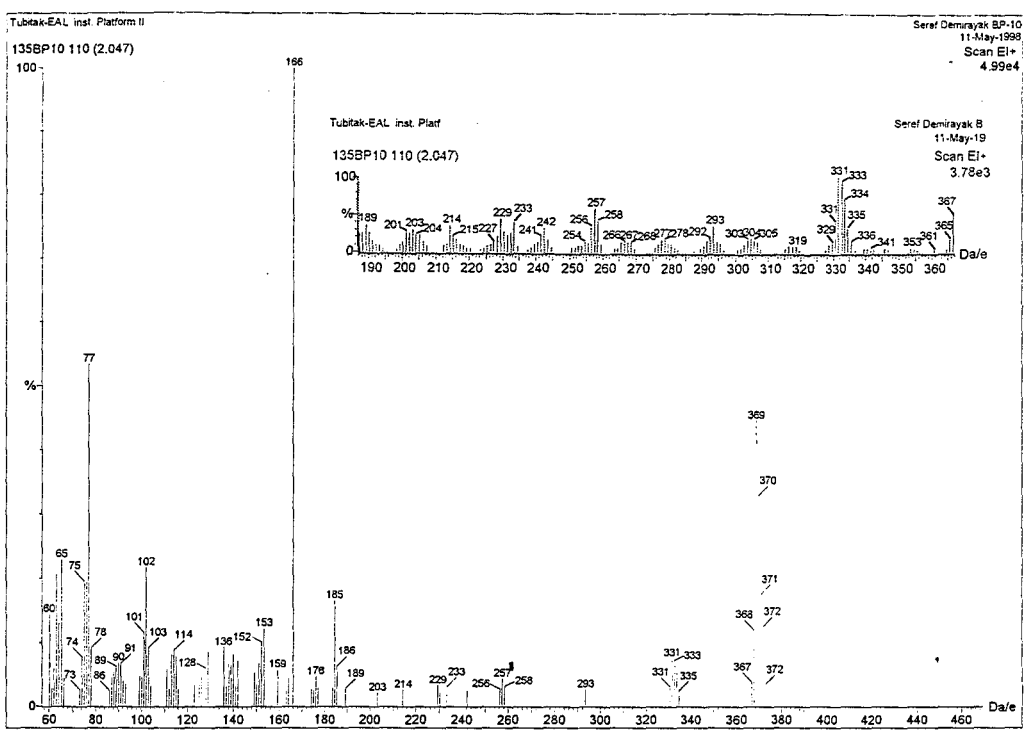
Current Data Parameters
 NAME 980502
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 980502
 Time 14.21
 INSTRUM spect
 P2-PROB 5 mm QNP 1H
 P1-PRDG 4930
 T2 32769
 SOLVENT DMSO
 NS 8
 DS 2
 SWH 4930.966 Hz
 FIDRES 0.150481 Hz
 AQ 3.527253 sec
 RG 256
 SW 101.400 usec
 DE 4.50 usec
 TE 300.0 K
 D1 1.0000000 sec
 F1 9.90 usec
 DE 4.50 usec
 SFO1 400.1327677 MHz
 NUC1 1H
 P1 -5.00 dB

F2 - Processing parameters
 SI 65384
 SF 400.1300000 MHz
 WCW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PR 1.00

F2 - NMR plot parameters
 CX 22.00 ce
 F1 12.742 ppm
 F2 5098.38 Hz
 F3 1.096 ppm
 F4 439.35 Hz
 SMCW 0.52938 ppm/
 HZCW 211.61973 Hz/c

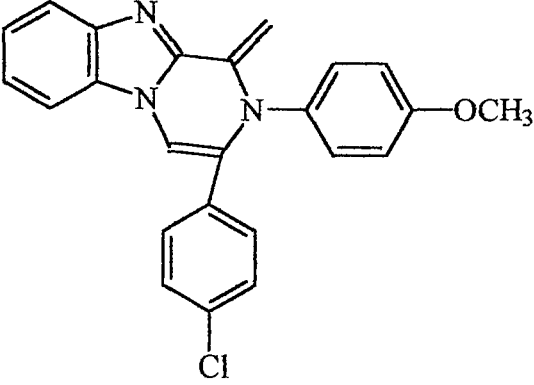
Şekil 4.17. Bileşik 10'un NMR Spektrumu



Şekil 4.18. Bileşik 10'un EI-MS Spektrumu

1-Metilen-2-(4-metoksifenil)-3-(4-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol

11



1-[2-(4-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (0,005 mol, 1,56 g) ve 4-metoksianilin (0,005 mol, 0,61 g) 50 ml asetik asid kullanılarak bölüm 3.3'de verilen genel yöntemle elde edildi. Ham ürün asetik asitten kristallendirildi.

Verim: %67

E.n.: 127-128⁰C

Kromatografi : Sistem S1: Rf 0,41
Sistem S2: Rf 0,44

Analiz : C₂₄H₁₈ClN₃O . CH₃COOH için

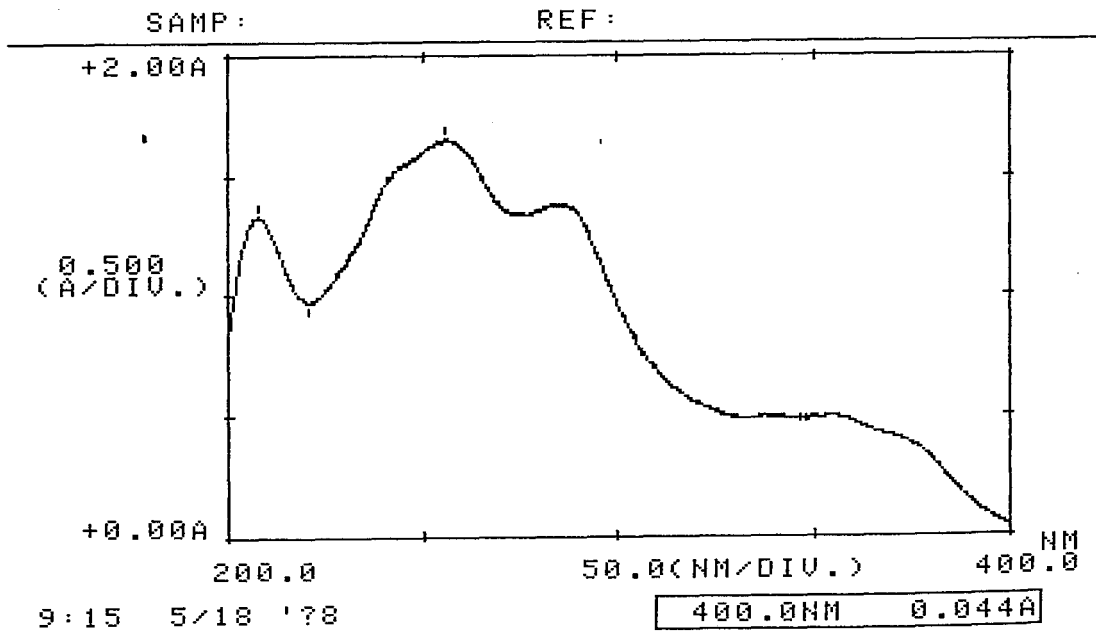
Hesaplanan : C: 67,89 H: 4,32 N: 9,14

Bulanan : C: 67,70 H: 4,66 N: 9,36

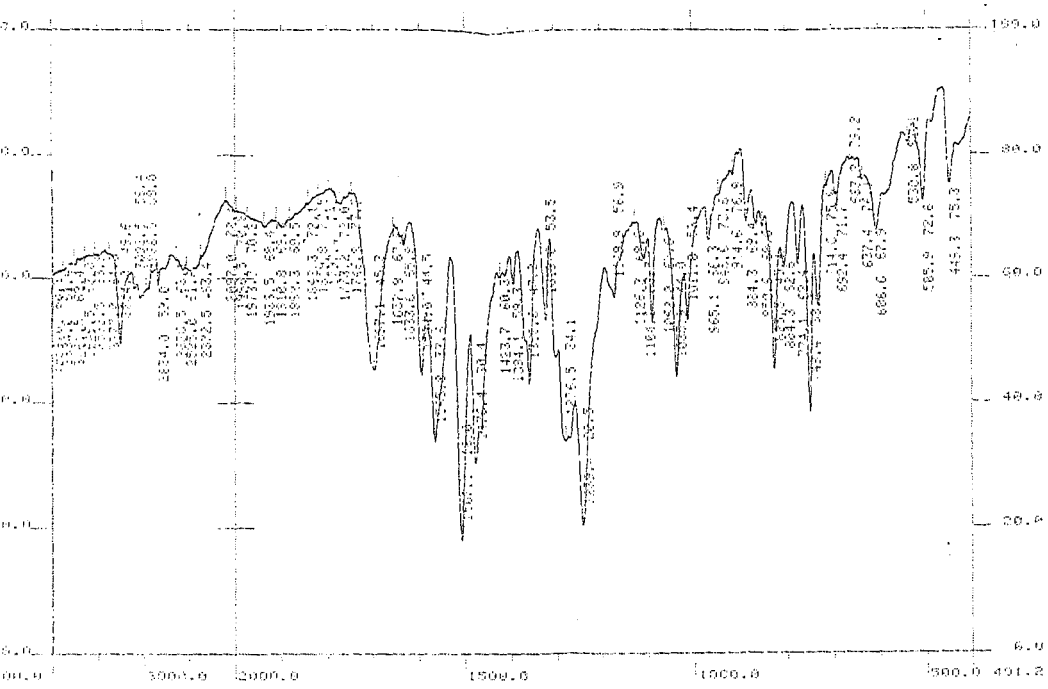
UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ) : 207,6 (4,59), 256,0 (4,68), 259,6 (omuz, 4,64), 290,0 (4,61),
358,0 (4,16).

IR(KBr) $v_{maks}(cm^{-1})$: 3377-3254 (Asetik asid ve su O-H gerilim bandı), 3092 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2966, 2843 (Alifatik C-H gerilim bandı), 2636-2250 (N^+ -H gerilim bandı), 1697 (Asetik asid C=O gerilim bandı), 1594-1476 (C=N ve C=C gerilim bandı), 1239 (C-O gerilim bandı), 825 (1,4 disübstitüe benzen).

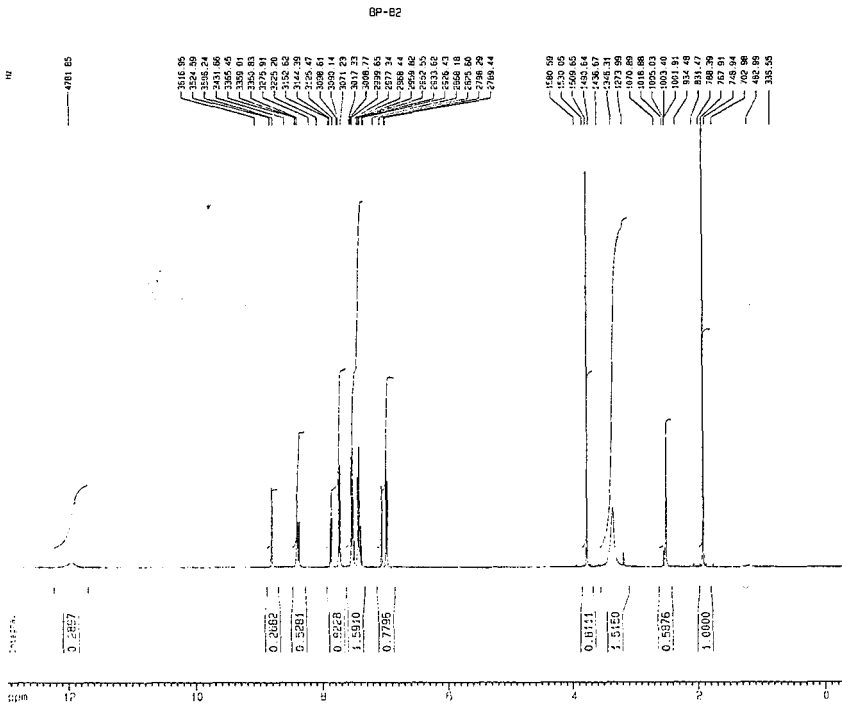
1H -NMR(400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm):): 1,91 (3H,s,CH₃COOH), 3,77 (3H, s, 2-(4-metoksifenil)'in OCH₃ protonları), 6,98 (2H, d, j; 8,85 Hz, 2-(4-metoksifenil)'in C₃-H ve C₅-H protonları), 7,53 (2H, d, j; 8,56 Hz, 3-(4-klorofenil)'in C₃-H ve C₅-H protonları), 7,43 (2H, d, j; 8,90 Hz, 2-(4-metoksifenil)'in C₂-H ve C₆-H protonları), 7,73 (2H, d, j; 8,47 Hz, 3-(4-klorofenil)'in C₂-H ve C₆-H protonları), 7,31-7,49 (2H, m, benzimidazol'ün C₆-H ve C₇-H protonları), 7,06 (1H, s, benzimidazol'ün C₅-H protonu), 7,87(1H, d, j; 8,16 Hz metilen protonu), 8,38 (1H, d, j; 8,11 Hz metilen protonu), 8,41(1H, s, benzimidazol'ün C₈-H protonu), 8,81 (1H, s, pirazinobenzimidazol'ün C₄-H protonu), 12,00 (1H, s, Asetik asid O-H protonu).



Şekil 4.19. Bileşik 11'in UV Spektrumu



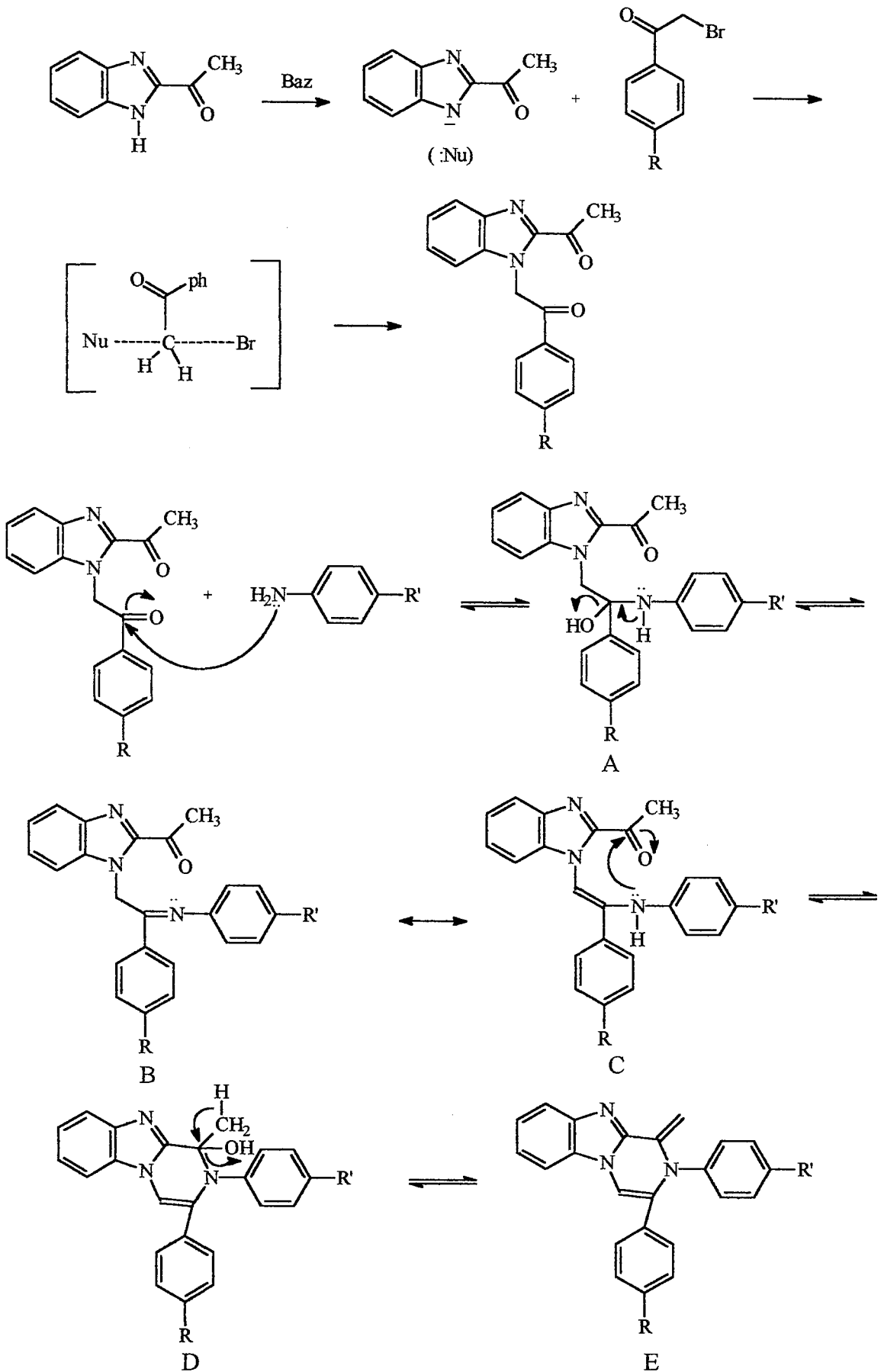
Şekil 4.20. Bileşik 11'in IR Spektrumu



Çalışmada elde ettiğimiz onbir adet yeni 1-metilen-2,3-diaril-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol türevinin sentezi iki basamak halinde verilebilir. İlk basamakta, 2-asetilbenzimidazol ile α -bromoasetofenon türevlerinin bazik ortamda reaksiyona sokulmasıyla 1-(2-aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol türevleri elde edilmiştir. Reaksiyon, aseton içinde, baz olarak potasyum karbonat kullanılarak oda sıcaklığında karıştırılarak yapılmıştır⁽¹¹⁴⁻¹¹⁸⁾. Benzimidazol'ün N-H protonu asidik karakterdedir ve bazlarla kolayca kopartılarak metal tuzlarını oluşturduğu bilinmektedir^(127,128). Bu nedenle benzimidazol yapısı bir nükleofil olarak α -bromoasetofenon ile süstitüsyon reaksiyonuna (SN_2) girerek beklenen ürün verdiği söylenebilir.

Bölüm 2.6'de belirtildiği gibi yüksek sıcaklıklarda veya kuvvetli bazik ortamda yapılan reaksiyonlar sonucunda bir intermoleküler kondenzasyon sonucu pirido[1,2-a]benzimidazol türevleri meydana gelmiştir⁽¹¹⁶⁾. Bu nedenle reaksiyon sırasında sıcaklığın düşük tutulmasına ve reaksiyon süresinin kontrol altında tutulmasına dikkat edilmiştir. Hedef bileşiklere ulaşmak için, ilk basamakta elde edilmiş olan 1-(2-aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol türevleri, değişik anilin türevleriyle asetik asit içinde reaksiyona sokulmuştur. Bu reaksiyon için önerilen mekanizma Şema 4.1'de verilmiştir.

Önerilen reaksiyon mekanizmasına göre, anilin azotunun aroil karboniline atağıyla oluşan A türü, bir molekül su kaybıyla B türünü vermiştir. B türünün, enamın türü C ile mezomerik denge içerisinde olduğu varsayılarak, aminin, asetil karboniline atağıyla siklizasyonun sağlandığı D türünün oluştuğu söylenebilir. D türünün bir molekül su kaybıyla ekzosiklik metilen kalıntısına sahip olan E türü elde edilmiştir. Bölüm 2.6'da da açıklandığı gibi anilin türevleri yerine bir amonyak prekürsörü olarak davranan amonyum asetat kullanılarak yapılan çalışmalarda yine pirazino-benzimidazol halka sistemi elde edilmiş ancak beklendiği gibi metilen fonksiyonu oluşmamıştır⁽¹¹⁴⁻¹¹⁸⁾.



Şema 4.1. Bileşiklerin sentezi

4.2. Elde Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini

Tüm bileşiklerimiz için yapılan C, H, N analizlerinde elde edilen değerlerin, hesaplanan teorik değerlerle uyum içinde olması bileşiklerin yapılarını doğrular yöndedir.

4.2.1. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

4.2.1.1. IR Bulguları

IR spektrumlarında, kristal yapısında asetik asid bulunduran bileşiklerde asetik asid ile ilgili O-H ve C-O gerilim bandları beklenen değerlerde gözlenmiştir^(129,130). Asetik asid, molekül yapısında tuz oluşturmuş halde bulunmasından dolayı O-H gerilim bandı 3500 cm^{-1} 'den daha düşük gerilim bandlarına kayarak 3300-3200 cm^{-1} civarında geldiği gözlenmiştir.

Bunun yanında benzimidazol çekirdiğindeki piridin tipi azotun protonlanmış olmasından dolayı amonyum grublarına özgü $\text{N}^+\text{-H}$ bandları 2600-2250 cm^{-1} 'e kadar kayan geniş bandlar elde edilmesine neden olmuştur⁽¹³¹⁾. Başlangıç maddesi olarak kullandığımız diketon bileşiklerini karakterize eden 1700-1675 cm^{-1} arasında gözlenen kuvvetli ikişer karbonil gerilim bandı, halka kapanması sonunda söz konusu karbonil grupların kaybolması nedeniyle artık gözlenememişlerdir⁽¹¹⁶⁾. Ancak yukarıda belirtildiği gibi asetik asid'den gelen bir karbonil bandı 1708-1697 cm^{-1} arasında gözlenmiştir. Sonuç maddelerimizin hepsi için ortak olan C=N ve C=C gerilim bandları 1618-1462 cm^{-1} arası frekanslarda elde edilmiştir. Mono süstitüe ve 1,4-disüstitüe benzen kalıntılarını karakterize eden bandlar, beklenen frekanslarda gözlenmişlerdir.

4.2.1.2. NMR Bulguları

NMR verileri incelendiği zaman, kristal yapısında asetik asid bulunduran bileşiklerde, asetik asidi karakterize eden, 1,89-1,95 ppm civarında metil protonlarına ait pikler ve 12 ppm civarında karboksilik asid protonuna ait piklerin varlığı dikkat çekmiştir⁽¹³¹⁾. Kristal yapılarında bulunan asetik asid moleküllerin sayısına bağlı olarak söz

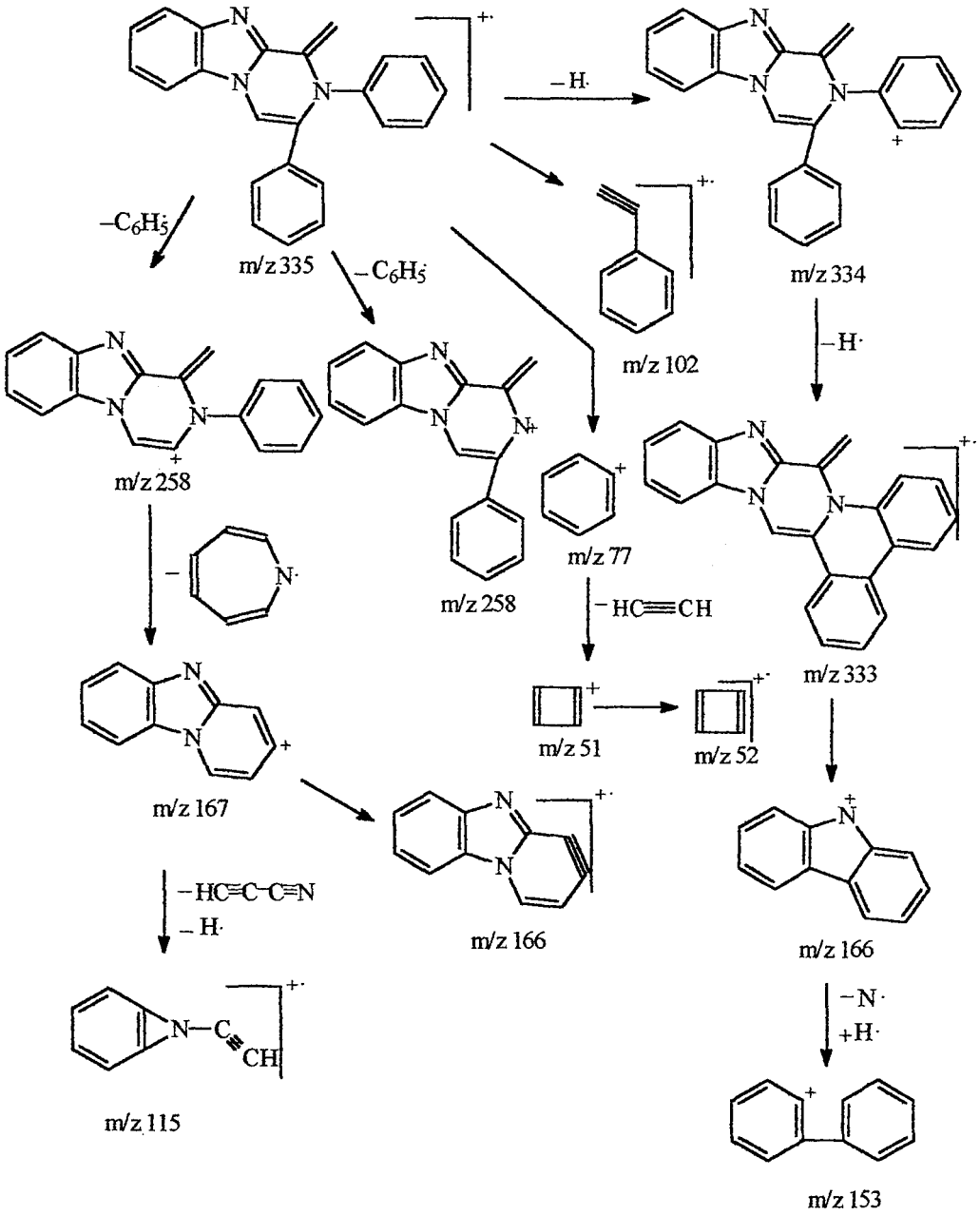
konusu protonlara ait integrasyon değerlerinin uyum içinde oldukları saptanmıştır. Metilen protonları aromatik proton pikleri arasında ve geminal bölünme kalıbına uygun olarak birbirinden oldukça uzak olarak iki dublet şeklinde 7,85-8,57 ppm de gözlenmişlerdir. Bu dubletlere ait J değeri 8,11-8,16 Hz civarında bulunmuştur. Aromatik protonlara ait pikler beklenen yerlerde ve beklenen yarımla değerlerine uygun olarak gözlenmişlerdir⁽¹²⁹⁾. 400 MHz NMR cihazından elde edilmiş olan spektrumlardan aromatik proton piklerine ait veriler, yapı aydınlatma çalışmalarında daha ayrıntılı bilgiler vermiştir. 2-Aril grubuna ait protonlar diğer aril protonlarına göre daha yüksek alanda gözlenmişlerdir. 2- ve 3-Aril grupları ya monosüstitüe yada 1,4-disüstitüedir. Bu duruma uygun olarak spektrumlarda beklenen yarımlar gözlenmiştir. C₄-H protonları singlet olarak ve diğer aromatik protonlarına göre daha düşük alanda 8,09-9,02 ppm civarında gözlenmişlerdir. Birinci konumundan süstitüe olmayan Benzimidazol türevlerinde N-H protonu N-1 ve N-3 arasında tautomerik denge göstermesi nedeniyle C₄-H ile C₇-H ve C₅-H ile C₆-H protonları aynı alanda multipler olarak gözlenirken⁽¹²⁷⁾, bizim türevlerimizde birinci konum süstitüe olmasından dolayı N-H tautomerisi olamayacağı için benzimidazol çekirdeğindeki C₅-H ile C₈-H protonlarının kimyasal çevreleri farklılaşmıştır ve farklı alanlarda pik vermişlerdir. C₈-H'a ait pikler 8,36-8,91 ppm civarında ve singlet olarak gözlenmişlerdir. Bileşik 2 ve 3'te bu pikler yayvan singletler olarak elde edilmiştir.

4.2.1.3. MS Bulguları

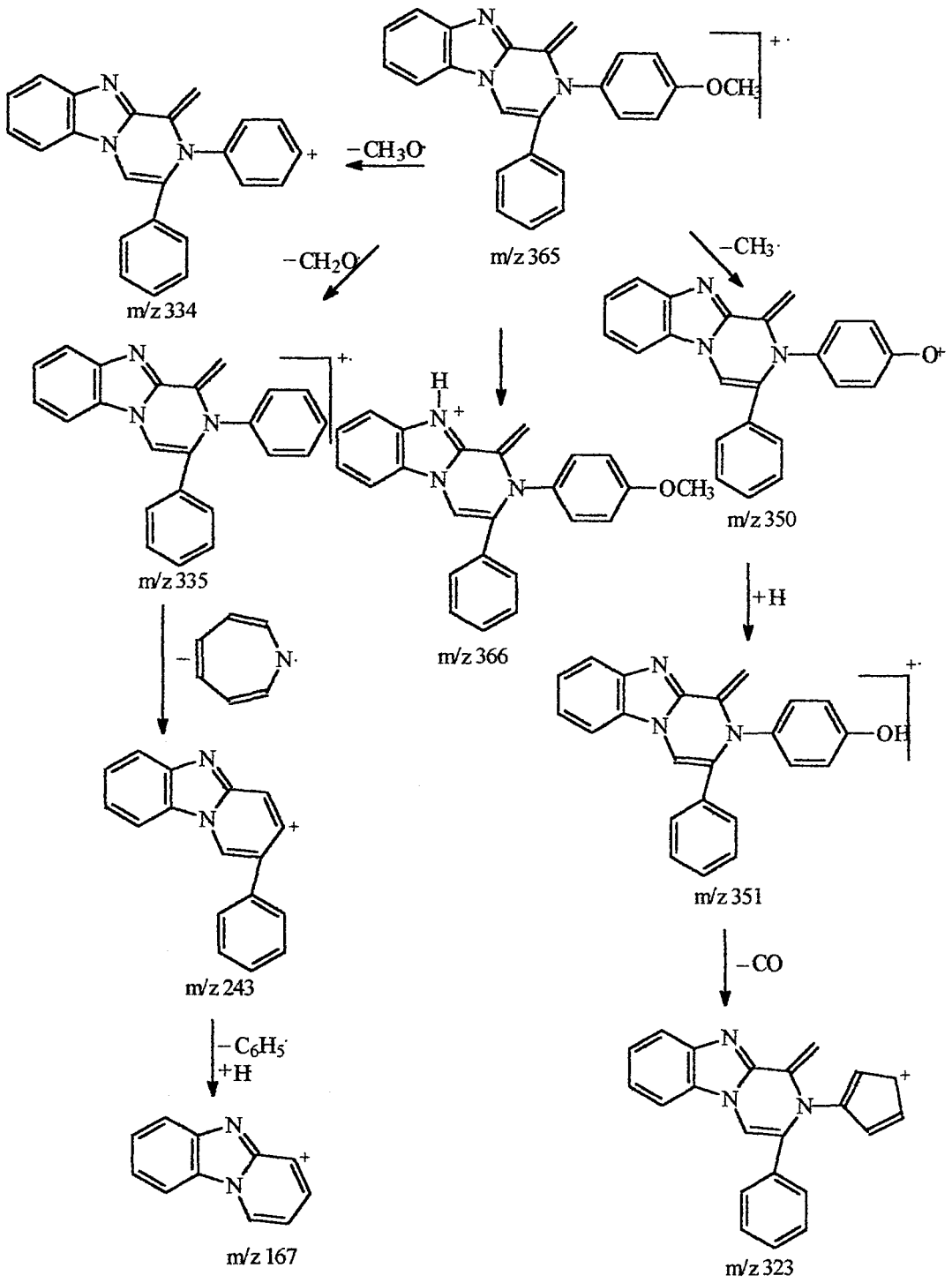
Bileşik 1, 3, 4, 6, 9, 10 için elde edilen EI-MS spektrumlarında moleküler iyon piki elde edilebilmiştir. M⁺ piki hiçbir bileşik için temel pik değil iken, M-1 piki Bileşik 1 için, M+1 piki de Bileşik 4, 6 ve 9 için temel pikleri oluşturmuşlardır, Bileşik 3 ve 10'un temel pikleri sırasıyla m/z 77 ve 166 olarak edilmiştir.

Yapısında klor atomu bulunduran Bileşik 4 ve 10'un spektrumlarında moleküler iyon pikinin yaklaşık %45-50'sine tekabül eden M+1, %30'una tekabül eden M+2 ve %10'una tekabül eden M+3 piklerinin elde edilmiş olması, klor içeren bileşikler için karakteristik bir durumdur⁽¹²⁸⁾. Bileşik 1 için elde edilen ES-MS spektrumunda M+1 piki, temel piki oluşturarak yöntemin bir özelliği olarak elde edilmiştir⁽¹²⁸⁾ (Şema 4.2).

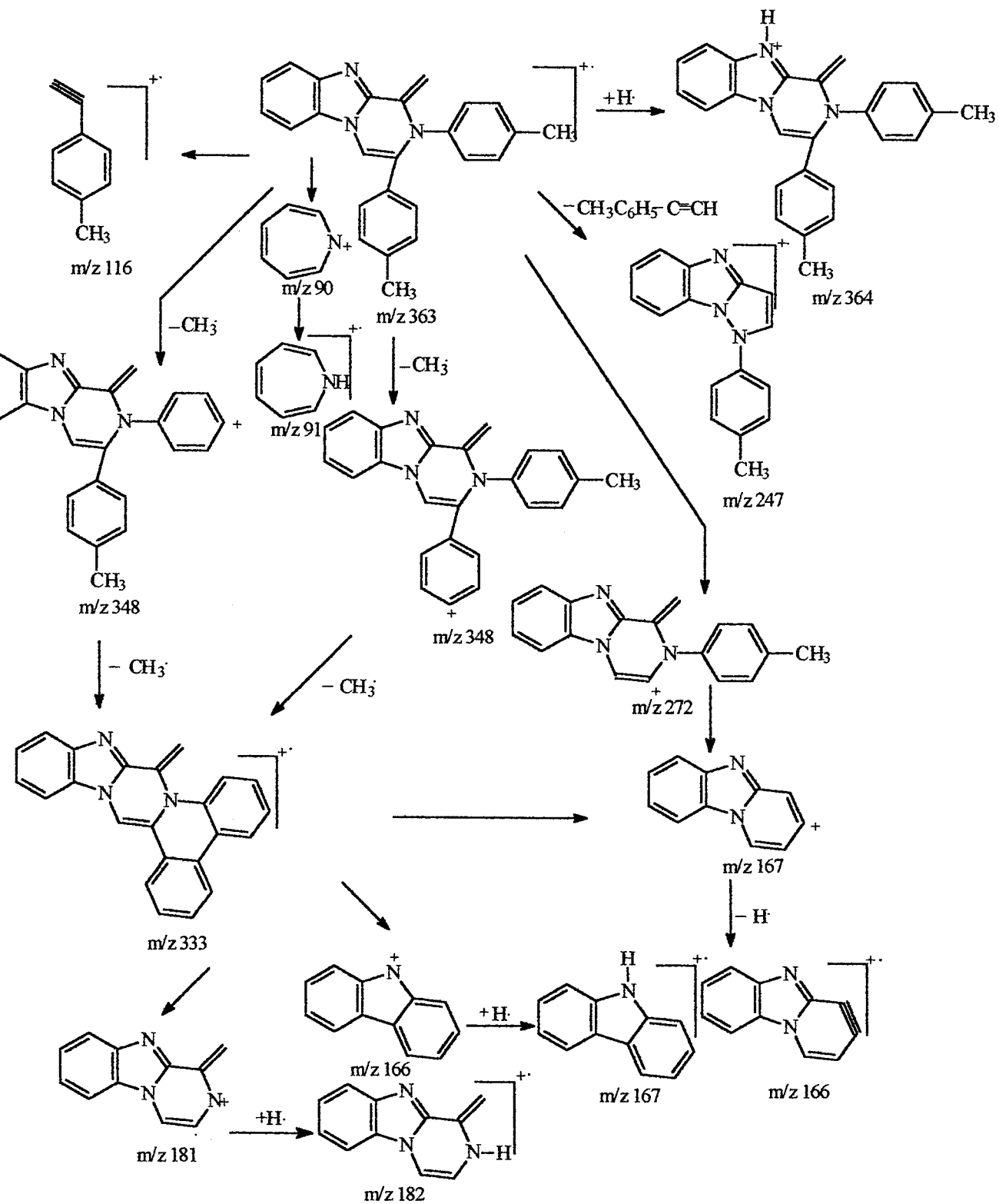
Süstituent taşımayan ilk bileşigimiz Bileşik 1'in spektrumu en sade spektrum görünümündedir (Şema 4.2) ve temel parçalanmaların olduğu yerleri göstermesi açısından önemli bilgiler vermiştir. Ancak bileşikler kondanse benzimidazol veya pirazin türevleri olması nedeniyle, basit benzimidazol veya pirazin bileşikleri için literatürde belirtilmiş parçalama kalplarına uymamaktadır^(132,133). Molekülden fenil gruplarından birinin ayrılmasıyla iki önemli parçalanma yoluna ait m/z 258 ve 77 pikleri elde edilmiştir. m/z 258 Parçasından azepin kalıntısının atılmasıyla oluşan piridobenzimidazol iyonu m/z 167 pikini vermiştir. m/z 167 İyonu diğer bileşiklerimiz için de önemli bir parçalanma yolunu işaret etmektedir. Bu iyonun parçalanmasıyla oluşan m/z 115 parçası da tüm bileşiklerimizin spektrumlarında elde edilmiştir. Bileşik 1'de temel pikin M-1 olduğu daha önce belirtilmişti, M-1 yanında M-2'nin de elde edilmiş olması ve benzer durumların diğer bazı bileşikler için de gözlenmesi, Şema 4.2'deki parçalanma yolunu önermemize neden olmuştur. Metil, metoksi ve klor süstitüentlerini içeren türevlerde, metil, metoksi ve klor kaybıyla oluşan iyonlar belirgin bir şekilde gözlenmiştir. Bütün bileşiklerde, aril gruplarının ayrılmasıyla 166, 167 parçaları elde edilmiştir. Elde edilen MS parçalanma kalıpları Şema 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 ve 4.7.' de verilmiştir. Bileşik 6'nın MS spektrumunda görülen % 70 bağıl bolluğa sahip m/z 174 parçası, hiçbir parçalanma kalıbına uydurulamadığı için aydınlatılamamıştır.



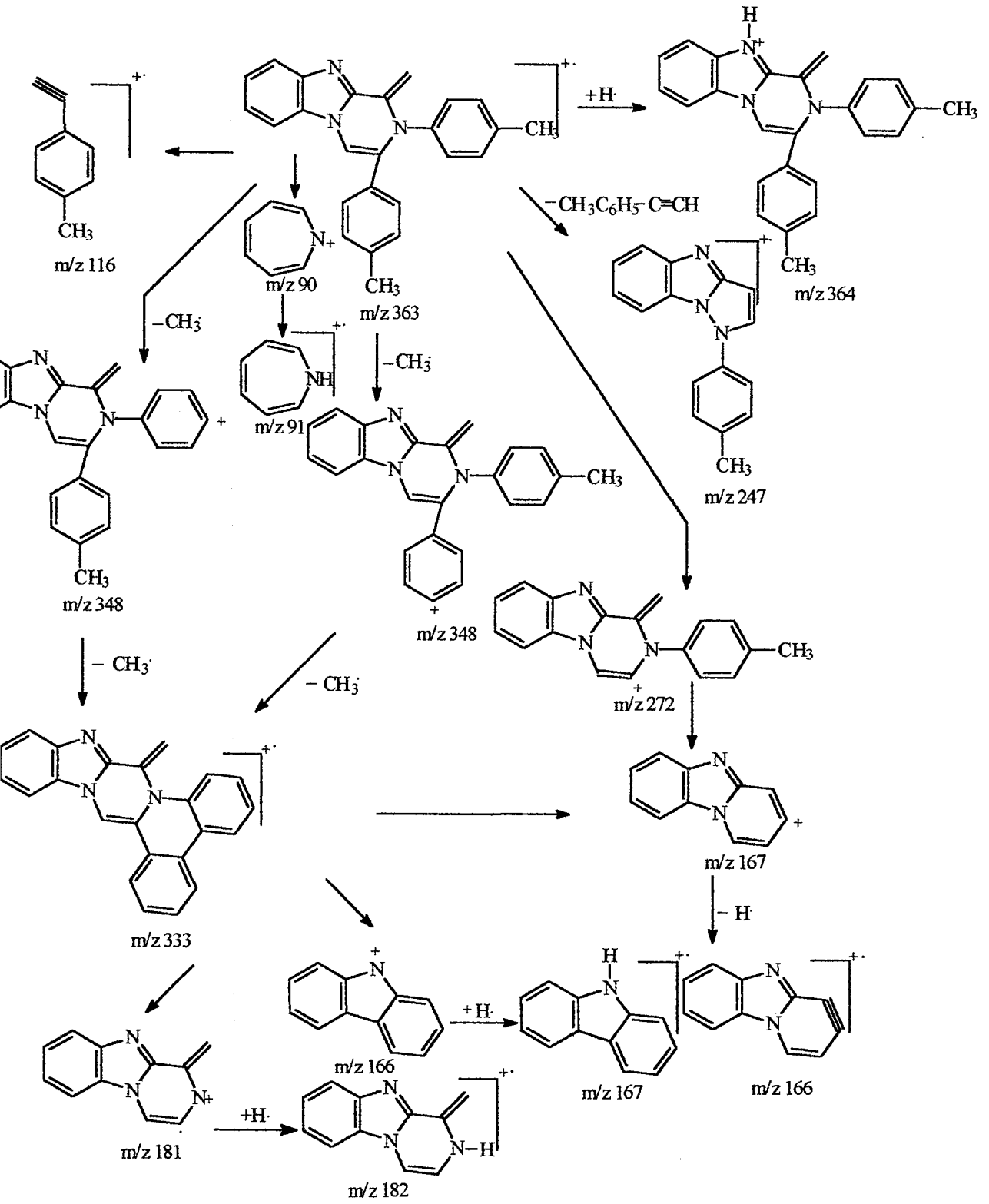
Şema 4.2. Bileşik 1'in MS parçalanma şeması.



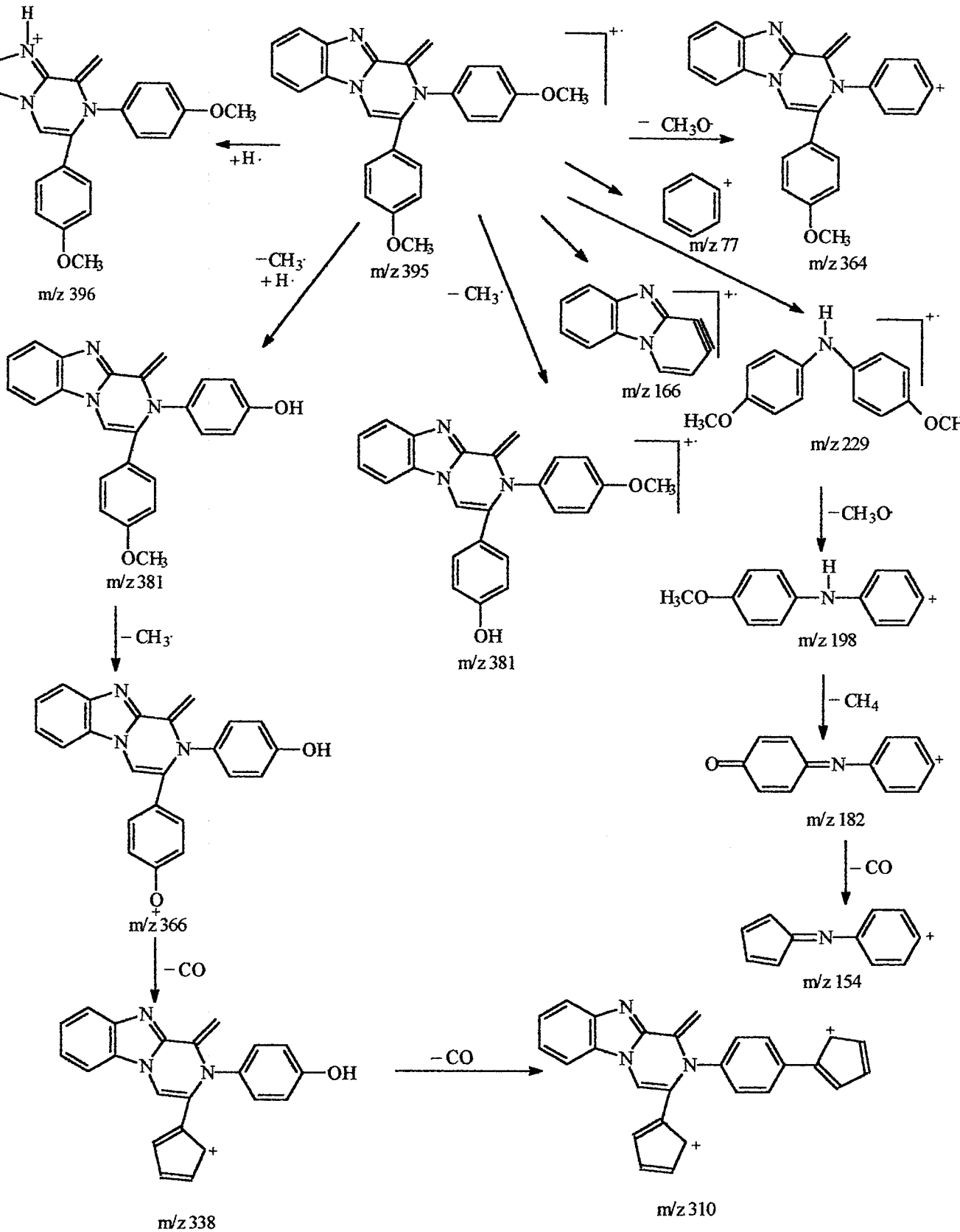
Şema 4.3. Bileşik 3'ün MS parçalanma şeması.



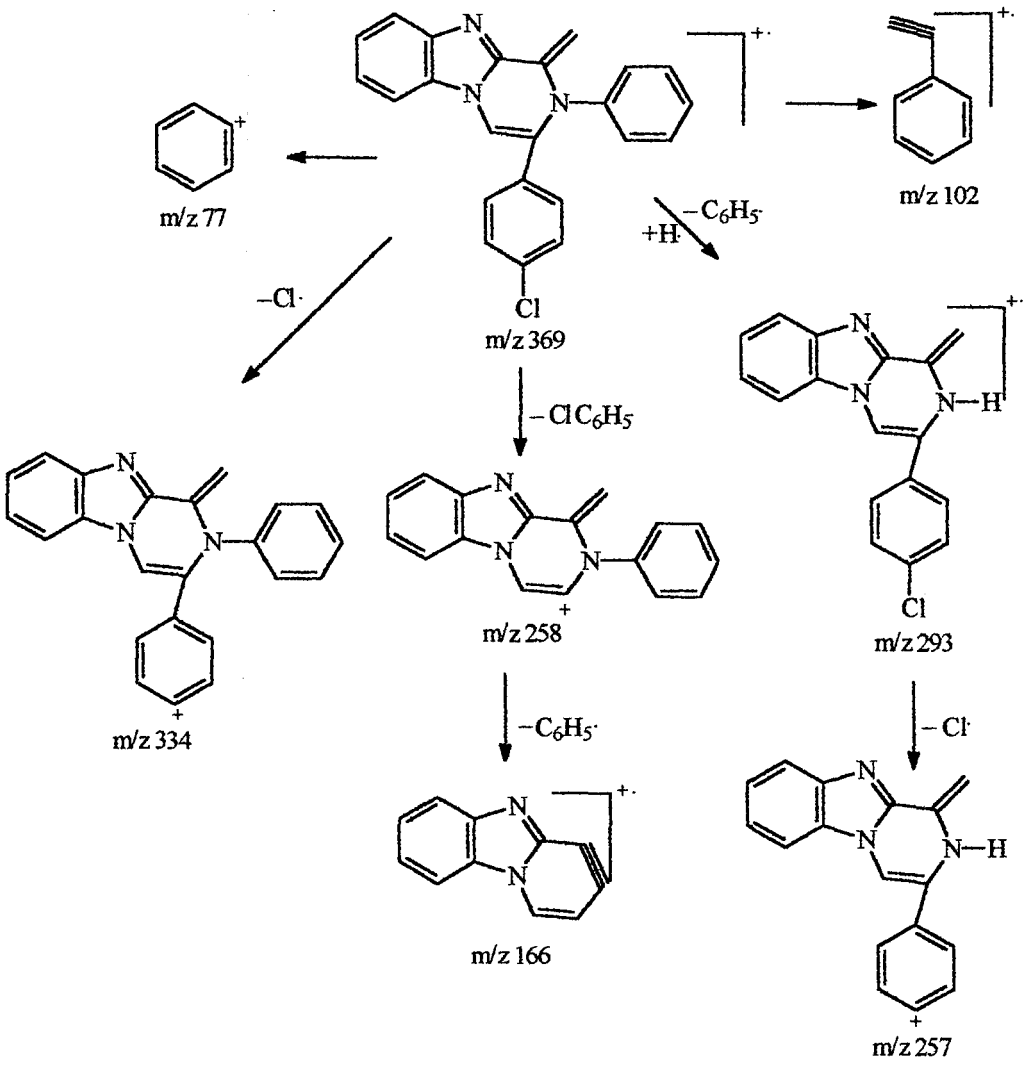
Şema 4.4. Bileşik 4'ün MS parçalanma şeması.



Şema 4.5. Bileşik 6'nın MS parçalanma şeması.



Şema 4.6. Bileşik 9'un MS parçalanma şeması.



Şema 4.7. Bileşik 10'un MS parçalanma şeması.

4.3. Biyolojik Aktivite Bulguları

4.3.1. Antikanser Aktivite Bulguları

Bileşiklerin antikanser etkileri klinik olarak izole edilmiş dokuz kanser tipinden elde edilmiş elliüç değişik insan hücre dizisine karşı *in vitro* olarak denenmiştir. Kanser tipleri, lösemi (Leukemia, L), akciğer (Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC), kolon (Colon Cancer, CC), santral sinir sistemi (CNS Cancer, CNSC), melanoma (Melanoma, M), yumurtalık (Ovarian Cancer, OC), böbrek (Renal Cancer, RC), prostat (Prostate Cancer, PC) ve meme (Breast Cancer, BC) kanserleridir. Her bir kanser tipine ait hücre dizisi NCI tarafından verilen sembollerle belirlenmiştir. (Tablo 4.1) . Testin esası, belirli konsantrasyon aralığında çözeltileri hazırlanan test bileşiğinin kanserli hücelere karşı büyümeyi inhibe edici etkilerinin saptanmasıdır. Bu da canlı ve cansız hücrelerin saptanması, dolayısıyla yüzde inhibisyonun belirlenmesi, hücrelerin sulforodamin (SRB) ile boyanarak spektrofotometrik olarak kontrol grubuna karşı değerlendirilmesi suretiyle gerçekleştirilmiştir. Test bileşiğinin sitotoksik konsantrasyonu $\log_{10}M$ olarak belirtilmiştir.

Yüzde büyüme(PG) hesabı şu şekilde yapılır.

Eğer(ortalama OD_{test} - ortalama OD_{tzero}) ≥ 0 ise,

$$PG = 100 \times (\text{ortalama } OD_{test} - \text{ortalama } OD_{tzero}) / (\text{ortalama } OD_{ctrl} - \text{ortalama } OD_{tzero})$$

Eğer(ortalama OD_{test} - ortalama OD_{tzero}) < 0 ise,

$$PG = 100 \times (\text{ortalama } OD_{test} - \text{ortalama } OD_{tzero}) / \text{Ortalama } OD_{tzero}$$

Buradaki:

Ortalama OD_{tzero} : Hücrelerin test bileşiğine maruz kalmasından hemen önceki SRB ile oluşturulan rengin optik dansite ölçüm değerlerinin ortalaması

Ortalama OD_{test} : Hücrelerin test bileşiğine maruz kalmasından 48 saat sonra SRB ile oluşturulan rengin optik dansite ölçüm değerlerinin ortalaması

Ortalama OD_{ctrl} : Hücrelerin test bileşiğine maruz bırakılmaksızın 48 saat sonra SRB ile oluşturulan rengin optik dansite ölçüm değerlerinin ortalaması

Veri Tablosu : Bu tablo her bir hücre dizisine karşı elde edilen deneysel verileri içerir (Tablo 4.1). Tablodaki ilk iki kolon kanser türlerini (lösemi, akciğer, kolon vs) ve hücre dizilerini (CCRF-CEM vs) gösterir. Sonraki iki kolon ortalama OD_{zero} ve ortalama OD_{ctrl} değerlerinin listesini verir. Sonraki beş kolon, beş farklı konsantrasyonun her biri için ortalama OD_{test} değerlerini temsil eder. Herbir konsantrasyon \log_{10} M konsantrasyonu ifade eder. Sonraki beş kolon, her bir konsantrasyon için hesaplanan PG değerlerinin listesidir. Cevap parametreleri, GI_{50} (%50 büyüme inhibisyonu) TGI_{50} (total büyüme inhibisyonu) LC_{50} (letal konsantrasyon), PG'nin +50, 0, -50 deki konsantrasyonunu temsil eden değerlere interpolate edilirler. Bazen bu cevap parametreleri interpolasyonla elde edilmezler. Eğer, verilen bir dizideki PG değerlerinin hepsi de +50yi aşarsa, üç parametrenin hiçbiri interpolasyonla elde edilemezler. Böyle bir durumda, her bir cevap parametresi için verilen değer test edilen en yüksek konsantrasyonudur ve önüne > işareti konur. Bu uygulama, bir cevap parametresinin elde edilmediği, diğer mümkün durumlara benzer şekilde yaygınlaştırılabilir.

Doz-Cevap Eğrileri : Doz-cevap eğrileri her hücre dizisine karşılık gelen konsantrasyonun logaritmasına karşı PG değerlerinin grafiklerinden oluşmuştur. (Şekil 4.22). Bu eğriler her bir kanser türü için gruplandırılmışlardır. Yatay çizgiler +50, 0, -50 PG değerlerine karşı gelir. Bu çizgileri eğrilerin kestiği noktalara karşılık gelen konsantrasyonlar sırasıyla GI_{50} , TGI ve LC_{50} değerleridir.

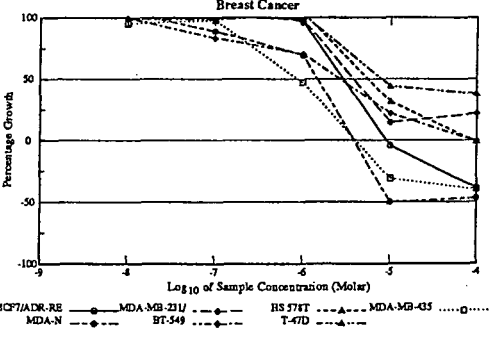
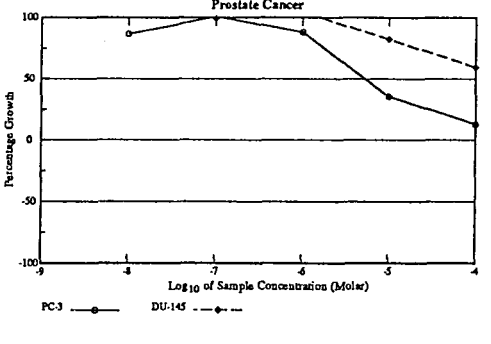
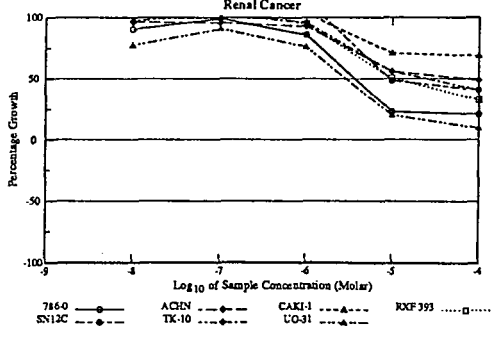
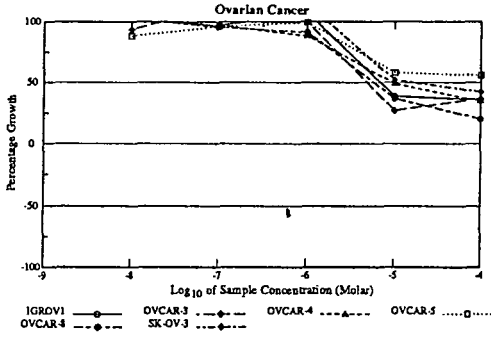
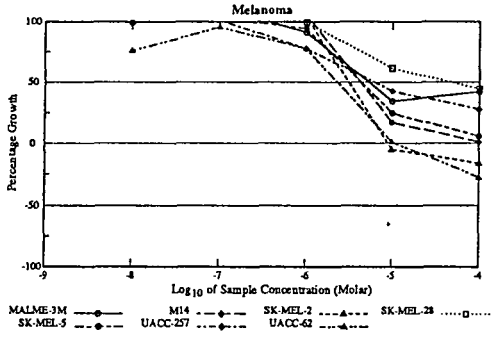
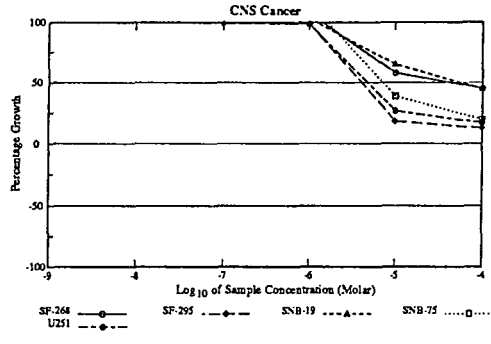
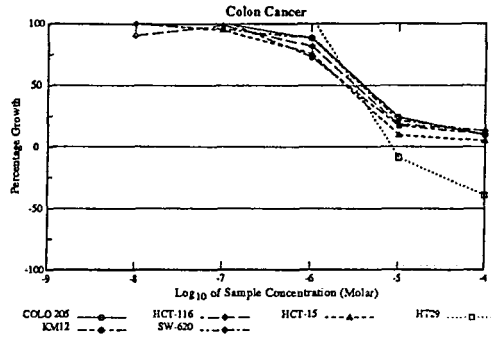
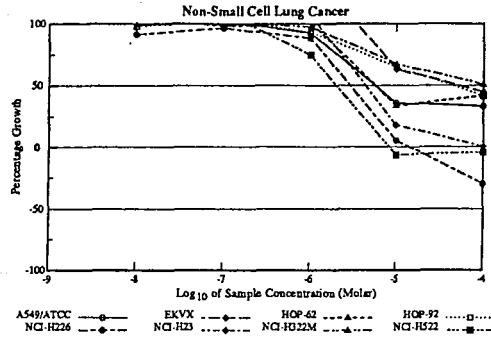
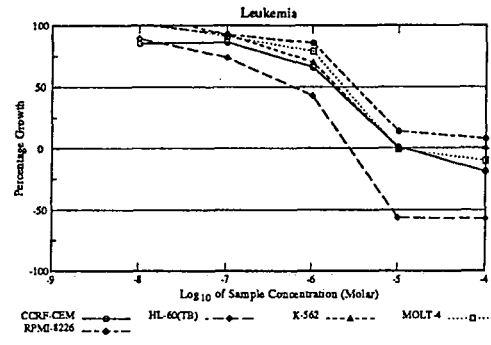
Ortalama Grafikleri : Ortalama grafikleri seçilen bir cevap parametresiyle ilgili olarak her bir hücre dizisi veya her bir kanser türü için verileri anlaşılır hale getirir (Şekil 4.23, 4.24 ve 4.25). Farklı parametreler karşılaştırıldığı zaman aynı hücre dizisine karşı aynı bileşikler için belli selektivite modelindeki farklılıklar görülebilir. Ortalama grafikleri temel cevap parametrelerinin GI_{50} , TGI ve LC_{50} her birindeki ortalama grafikleri gösterir. Sağa doğru uzanan koyu çizgiler test bileşiğine hücre dizisinin duyarlılığını gösterir. Sola doğru uzanan koyu çizgiler ortalamadan daha az duyarlılığı ifade eder. Eğer belirli ilaç ve hücre dizisi için interpolasyonla istenen cevap parametresini belirlemek mümkün olmazsa, bu koyu çizginin uzunluğu ya test edilen en yüksek konsantrasyonu (cevap parametresi logaritmasının önüne bir > işareti konur) ya da test edilen en düşük konsantrasyonu (cevap parametresi logaritmasının önüne bir < işareti konur), hem > hem < de limitindeki değerler ortalama grafiği için kullanılan ortalamadan da hesaplanırlar. Bu nedenle ortalama grafikte kullanılan ortalamar GI_{50} 'nin gerçek değeri olamaz. Bu

nedene bu değeri MG-MID (ortalama grafiğin orta noktası) olarak belirtilir. Bu değerler Tablo 4.2'de verilmiştir.

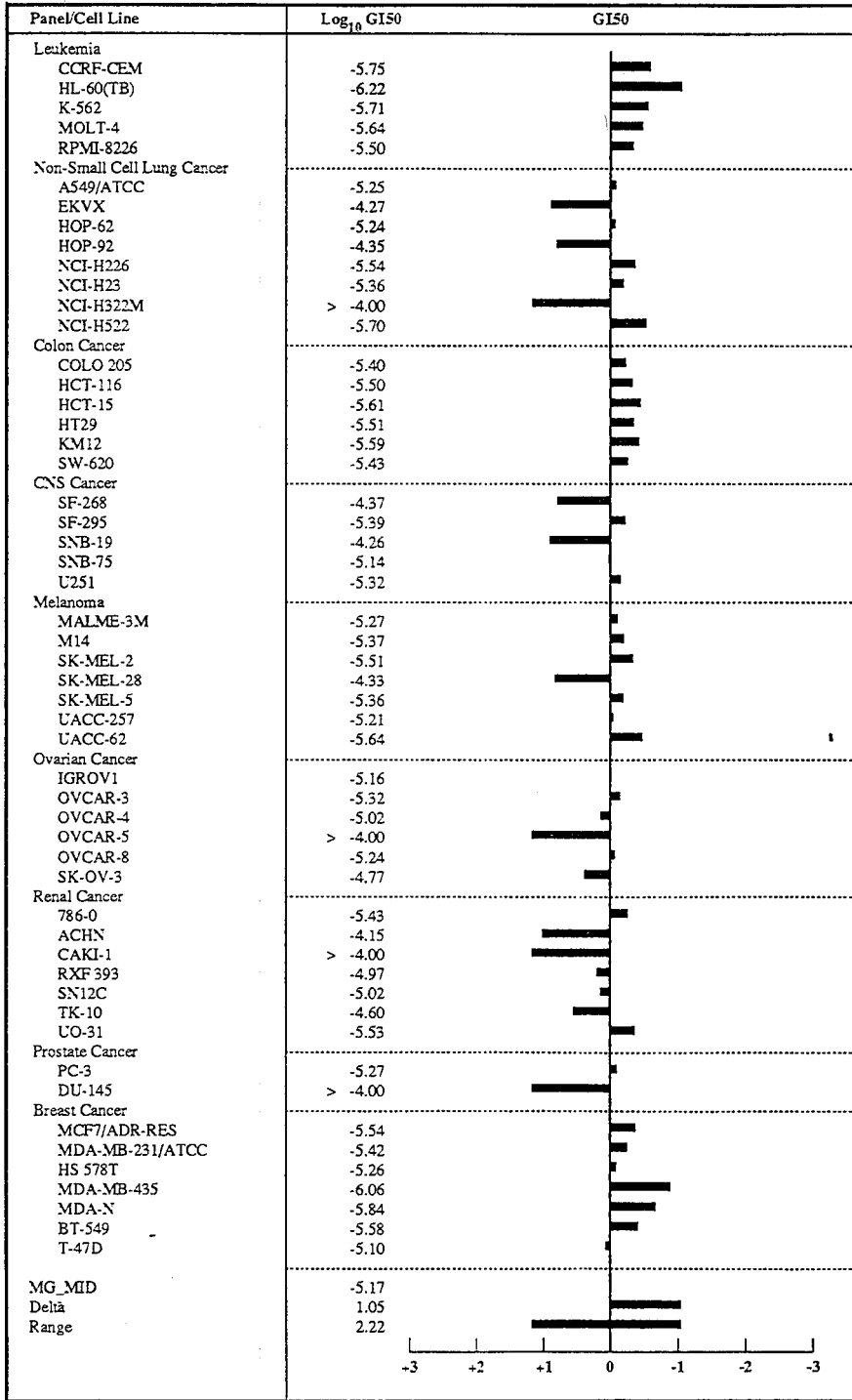
National Cancer Institute Developmental Therapeutics Program In-Vitro Testing Results

Panel/Cell Line	Time Zero	Mean Optical Densities							Percent Growth				GI50	TGI	LC50	
		Ctrl	-8.0	-7.0	-6.0	-5.0	-4.0	-3.0	-2.0	-1.0	0	1				2
Leukemia																
CCRF-CEM	0.268	0.863	0.775	0.781	0.662	0.274	0.218	85	86	66	1	-19	1.77E-06	1.13E-05	>1.00E-04	
HL-60 (TB)	0.131	0.416	0.385	0.342	0.254	0.057	0.056	89	74	43	-56	-57	6.01E-07	2.71E-06	8.61E-06	
K-562	0.232	1.007	1.069	0.949	0.775	0.233	0.237	108	93	70	0	1	1.94E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
MOLT-4	0.333	1.057	1.073	0.992	0.905	0.331	0.300	102	91	79	-1	-10	2.31E-06	9.79E-06	>1.00E-04	
RM1-8226	0.620	2.064	2.074	1.958	1.857	0.823	0.738	101	93	86	14	8	3.15E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
Non-Small Cell Lung Cancer																
A549/ATCC	0.190	1.034	1.049	1.048	0.970	0.495	0.473	102	102	92	36	34	5.66E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
ERVX	0.299	0.541	0.591	0.616	0.643	0.452	0.408	121	131	142	63	45	5.33E-05	>1.00E-04	>1.00E-04	
HOP-82	0.394	1.091	1.125	1.075	1.097	0.629	0.688	105	98	101	34	42	5.71E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
HOP-92	0.462	0.975	0.963	0.993	0.941	0.795	0.678	98	104	93	65	42	4.44E-05	>1.00E-04	>1.00E-04	
NCI-H226	0.414	1.358	1.276	1.323	1.248	0.467	0.292	91	96	88	6	-30	2.91E-06	1.44E-05	>1.00E-04	
NCI-H23	0.480	1.398	1.600	1.378	1.460	0.647	0.485	122	98	107	18	0	4.37E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
NCI-H322M	0.621	1.841	1.829	1.846	1.809	1.446	1.241	99	100	97	68	51	>1.00E-04	>1.00E-04	>1.00E-04	
NCI-H522	0.383	0.941	1.008	0.991	0.800	0.359	0.367	112	109	75	-8	-4	2.01E-06	8.34E-06	>1.00E-04	
Colon Cancer																
COLO 205	0.219	0.845	0.852	0.847	0.772	0.371	0.282	101	100	88	24	10	3.97E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
HCT-116	0.142	1.310	1.200	1.294	1.096	0.359	0.300	91	99	82	19	14	3.18E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
HCT-15	0.129	1.099	1.102	1.049	0.863	0.226	0.182	100	95	76	10	5	2.46E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
HT29	0.149	0.626	0.670	0.662	0.650	0.137	0.091	109	107	105	-8	-39	3.05E-06	8.43E-06	>1.00E-04	
KM12	0.180	0.986	1.067	1.007	0.769	0.321	0.268	110	103	73	17	11	2.59E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
SW-620	0.168	1.236	1.234	1.191	1.109	0.398	0.309	100	96	88	22	13	3.74E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
CNS Cancer																
SF-268	0.346	0.865	0.903	0.925	0.903	0.648	0.581	107	112	107	58	45	4.30E-05	>1.00E-04	>1.00E-04	
SF-295	0.322	1.507	1.558	1.496	1.496	0.541	0.475	104	99	99	18	13	4.06E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
SNB-19	0.423	1.105	1.144	1.133	1.125	0.867	0.729	106	104	103	65	45	5.55E-05	>1.00E-04	>1.00E-04	
SNB-75	0.531	0.997	1.024	1.039	1.074	0.712	0.623	106	109	117	39	20	7.17E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
U251	0.188	1.063	1.078	1.074	1.051	0.422	0.339	102	101	99	27	17	4.75E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
Melanoma																
MALME-3M	0.581	1.161	1.233	1.224	1.110	0.781	0.826	112	111	91	34	42	5.32E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
M14	0.200	0.863	0.908	0.918	0.899	0.314	0.208	107	108	105	17	1	4.25E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
SK-MEL-2	0.654	1.361	1.517	1.395	1.385	0.622	0.548	122	105	103	-5	-16	3.11E-06	9.01E-06	>1.00E-04	
SK-MEL-28	0.453	1.664	1.715	1.755	1.659	1.196	0.992	104	108	100	61	45	4.73E-05	>1.00E-04	>1.00E-04	
SK-MEL-5	0.115	1.079	1.070	1.102	1.025	0.354	0.172	99	102	94	25	6	4.34E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
UACC-257	0.429	1.766	1.806	1.782	1.467	1.000	0.802	103	101	78	43	28	6.18E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
UACC-62	0.280	1.283	1.041	1.238	1.058	0.292	0.203	76	96	78	1	-27	2.30E-06	1.10E-05	>1.00E-04	
Ovarian Cancer																
IGROV1	0.327	1.023	1.036	1.000	1.071	0.599	0.578	102	97	107	39	36	6.86E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
OVCA9-3	0.343	0.945	0.906	1.021	0.942	0.507	0.567	94	113	99	27	37	4.84E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
OVCA9-4	0.263	0.987	0.998	0.965	0.903	0.618	0.516	102	97	88	49	35	9.45E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
OVCA9-5	0.421	1.345	1.235	1.307	1.339	0.959	0.939	88	96	99	58	56	>1.00E-04	>1.00E-04	>1.00E-04	
OVCA9-8	0.280	1.291	1.316	1.244	1.205	0.654	0.488	102	95	91	37	21	5.76E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
SK-OV-3	0.471	1.074	1.103	1.150	1.159	0.786	0.727	105	113	114	52	42	1.68E-05	>1.00E-04	>1.00E-04	
Renal Cancer																
785-0	0.205	1.062	0.981	1.053	0.941	0.402	0.386	91	99	86	23	21	3.73E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
ACHN	0.163	1.022	0.991	0.986	0.962	0.646	0.584	96	96	93	56	49	7.13E-05	>1.00E-04	>1.00E-04	
CAKI-1	0.607	1.597	1.600	1.612	1.627	1.310	1.289	100	101	103	71	69	>1.00E-04	>1.00E-04	>1.00E-04	
RFX 193	0.440	1.106	1.135	1.183	1.070	0.777	0.659	104	112	95	51	33	1.07E-05	>1.00E-04	>1.00E-04	
SN12C	0.317	1.388	1.501	1.406	1.531	0.897	0.756	110	102	113	48	41	9.48E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
TK-10	0.384	1.352	1.325	1.376	1.311	0.927	0.780	97	102	96	56	41	2.53E-05	>1.00E-04	>1.00E-04	
UO-31	0.628	1.663	1.427	1.569	1.416	0.837	0.729	77	91	76	20	10	2.93E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
Prostate Cancer																
PC-3	0.503	1.969	1.776	1.977	1.796	1.027	0.695	87	101	88	36	13	5.35E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
DU-145	0.465	1.791	1.883	1.779	1.846	1.557	1.257	107	99	104	82	60	>1.00E-04	>1.00E-04	>1.00E-04	
Breast Cancer																
MCF7/ADR-RES	0.656	1.406	1.556	1.506	1.377	0.628	0.402	120	113	96	-4	-39	2.88E-06	9.05E-06	>1.00E-04	
MDA-MB-231/ATCC	0.385	0.746	0.770	0.750	0.738	0.438	0.465	107	101	98	15	22	3.77E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	
HS 578T	0.306	0.648	0.677	0.659	0.660	0.414	0.303	108	103	103	31	-1	5.52E-06	9.33E-05	>1.00E-04	
MDA-MB-435	0.271	1.456	1.399	1.427	0.830	0.187	0.163	95	98	47	-31	-40	8.80E-07	4.00E-06	>1.00E-04	
MDA-N	0.297	1.781	1.836	1.618	1.332	0.148	0.158	104	89	70	-50	-47	1.46E-06	3.82E-06	>1.00E-04	
BT-549	0.543	1.143	1.140	1.043	0.966	0.675	0.540	99	83	71	22	-1	2.65E-06	9.45E-05	>1.00E-04	
T-470	0.787	1.967	1.951	1.948	1.989	1.309	1.237	99	98	102	44	38	7.93E-06	>1.00E-04	>1.00E-04	

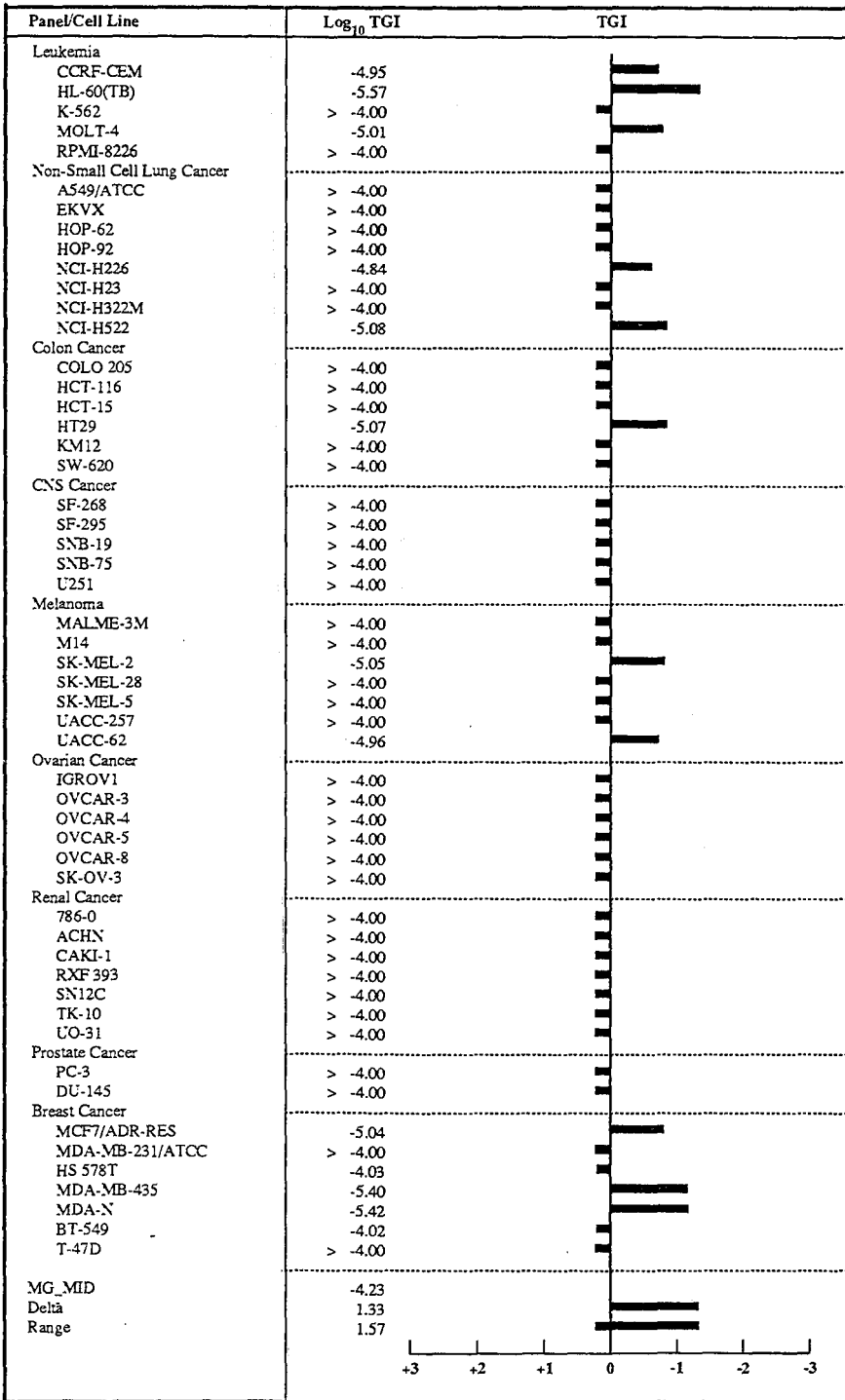
Tablo 4.1. Veri tablosu.



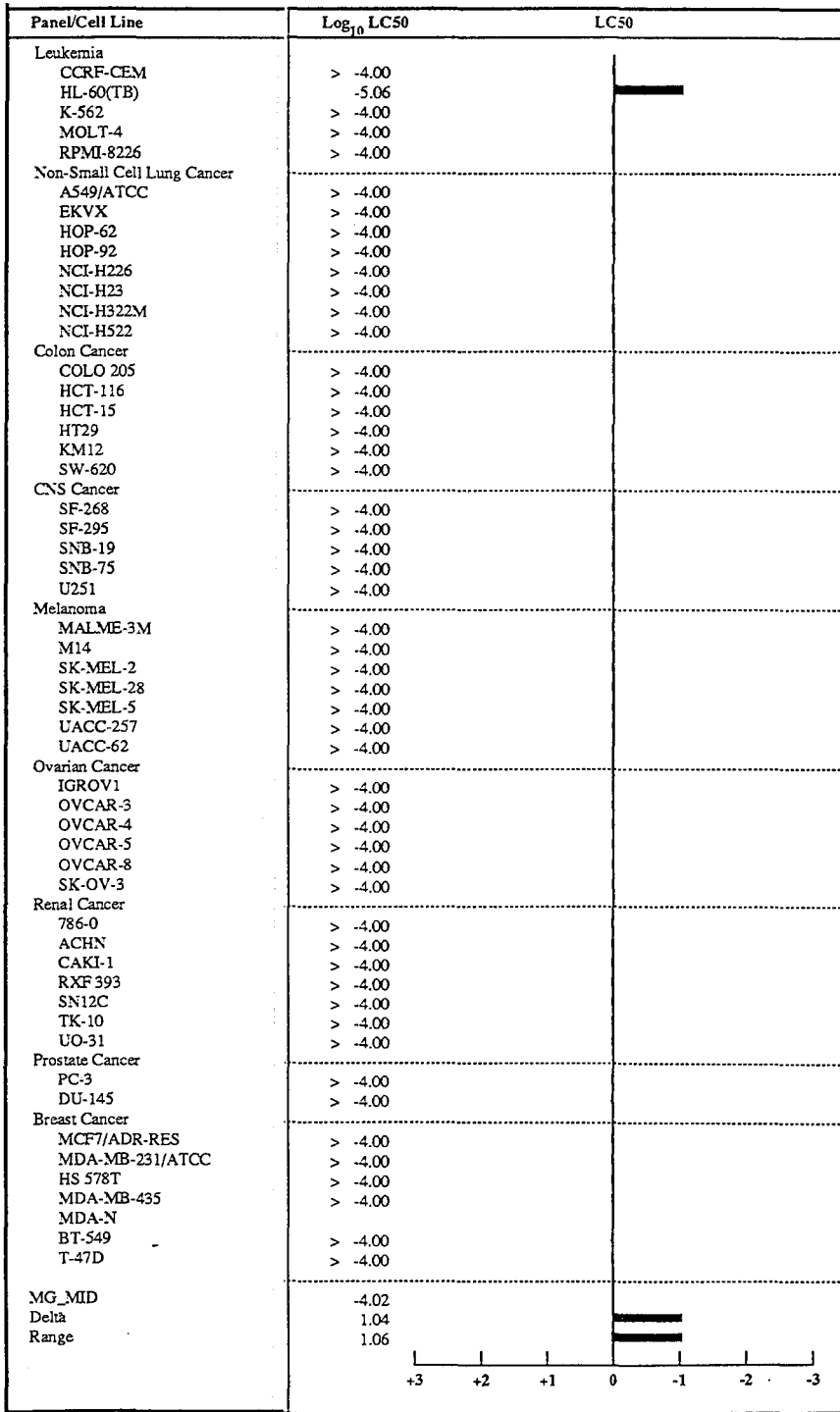
Şekil 4.22. Doz-Cevap eğrileri



Şekil 4.23. log₁₀GI₅₀ grafiği.



Şekil 4.24. log₁₀TGI grafiği.



Şekil 4.25. $\log_{10} LC_{50}$ grafiği.

Tablo 4.2. Log₁₀GI₅₀ değerleri.

Bileşik	L	NSCLC	CC	CNSC	M	OC	RC	PC	BC	MG-MID
1	-4,50	-4,36	-4,65	-4,29	-4,27	-4,20	-4,27	-4,23	-4,45	-4,37
2	-4,62	-4,18	-4,47	-4,05	-4,19	-4,09	-4,27	-4,15	-4,33	-4,27
3	-4,64	-4,86	-4,75	-4,91	-4,68	-4,62	-4,69	-4,65	-4,66	-4,72
4	-4,13	-4,65	-4,64	-5,10	-4,76	-4,89	-4,80	-4,35	-4,51	-4,66
5	-5,52	-5,43	-5,63	-5,49	-5,55	-5,06	-4,85	-5,51	-5,83	-5,42
6	-4,54	-4,82	-4,73	-4,38	-4,45	-4,39	-4,22	-4,41	-4,79	-4,54
7	-5,02	-4,43	-5,05	-4,18	-4,44	-4,00	-4,03	-4,47	-4,67	-4,47
8	-5,76	-4,96	-5,50	-4,89	-4,24	-4,91	-4,81	-4,63	-5,54	-5,17
9	-4,23	-4,74	-4,56	-5,14	-4,65	-4,88	-5,03	-4,64	-4,81	-4,75
10	-4,42	-5,22	-4,78	-5,03	-4,75	-4,87	-4,74	-4,53	-4,78	-4,82
11	-4,43	-5,07	-4,96	-5,31	-5,02	-5,07	-5,28	-4,81	-5,17	-5,02

Tablo 4.3. Log₁₀TGI değerleri.

Bileşik	L	NSCLC	CC	CNSC	M	OC	RC	PC	BC	MG-MID
1	-4,00	-4,01	-4,17	-4,00	-4,01	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,02
2	-4,00	-4,00	-4,11	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,01
3	-4,00	-4,24	-4,30	-4,46	-4,18	-4,11	-4,27	-4,00	-4,19	-4,21
4	-4,00	-4,13	-4,08	-4,61	-4,15	-4,08	-4,38	-4,00	-4,14	-4,18
5	-4,00	-4,54	-4,65	-4,47	-4,50	-4,23	-4,09	-4,15	-4,87	-4,43
6	-4,00	-4,16	-4,13	-4,00	-4,06	-4,00	-4,00	-4,00	-4,05	-4,05
7	-4,09	-4,04	-4,07	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,20	-4,05
8	-4,70	-4,24	-4,17	-4,00	-4,28	-4,00	-4,00	-4,00	-4,55	-4,23
9	-4,00	-4,06	-4,08	-4,44	-4,15	-4,22	-4,38	-4,00	-4,17	-4,18
10	-4,00	-4,53	-4,38	-4,61	-4,25	-4,44	-4,37	-4,00	-4,30	-4,35
11	-4,00	-4,54	-4,43	-4,82	-4,40	-4,56	-4,59	-4,27	-4,60	-4,48

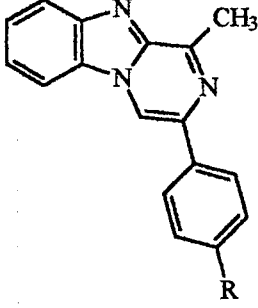
Tablo 4.4. Log₁₀LC₅₀ değerleri

Bileşik	L	NSCLC	CC	CNSC	M	OC	RC	PC	BC	MG-MID
1	-4,00	-4,00	-4,03	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00
2	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00
3	-4,00	-4,08	-4,12	-4,20	-4,00	-4,00	-4,06	-4,00	-4,03	-4,05
4	-4,00	-4,04	-4,00	-4,27	-4,00	-4,00	-4,09	-4,00	-4,02	-4,04
5	-4,00	-4,27	-4,40	-4,00	-4,03	-4,00	-4,00	-4,00	-4,10	-4,11
6	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00
7	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00
8	-4,12	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,00	-4,02
9	-4,00	-4,00	-4,00	-4,02	-4,00	-4,02	-4,07	-4,00	-4,02	-4,02
10	-4,00	-4,23	-4,16	-4,27	-4,07	-4,13	-4,12	-4,00	-4,12	-4,13
11	-4,00	-4,16	-4,16	-4,37	-4,08	-4,15	-4,22	-4,00	-4,11	-4,15

Tablo 4.2'deki değerler incelendiği zaman tüm bileşiklerimiz için elde edilen log₁₀GI₅₀ değerlerinin -4 den küçük olduğu görülmektedir. -4 ve daha büyük değerlere sahip bileşiklerin etkisiz sayıldığı belirtilmektedir^(119,120). Buna göre tüm bileşiklerimizin kayda değer bir etki düzeyini sağladığı söylenebilir. Kanser türlerine karşı elde edilen etki değerleri incelendiği zaman, belirli türlere karşı bileşiklerimizin daha etkili ya da etkisiz şeklinde bir yorum yapmamız mümkün görülmemektedir. Kanser türlerine karşı ortalama etkilerin, verildiği MG-MID değerleri incelendiği zaman -5 den daha düşük değere sahip üç bileşik göze çarpmaktadır. Bunlar Bileşik 5 (-5,42), Bileşik 8 (-5,17) ve Bileşik 11 (-5,02)dir. Bu bileşiklere -4,5 dan daha küçük MG-MID değerine sahip bileşikler de ilave edilerek incelenirse süstitüentlere bağlı olarak belirgin bir aktivite farklılığının göze çarpmadığı söylenebilir.

Kinon metid kalıntısı taşıyan bileşiklerin, kovalan bağla DNA bağlayarak antikanser etki gösterdikleri Bölüm 2.3'de belirtilmiştir. Bileşiklerimizin yapısında da kinon metid analogu bir kalıntının bulunmasından dolayı benzer şekilde etki göstermesi beklenebilir. Yapımızın kinon metide benzerliğini sağlayan en önemli süstituent, pirazinobenzimidazol'un birinci konumundaki metilen kalıntısıdır. Ancak söz konusu

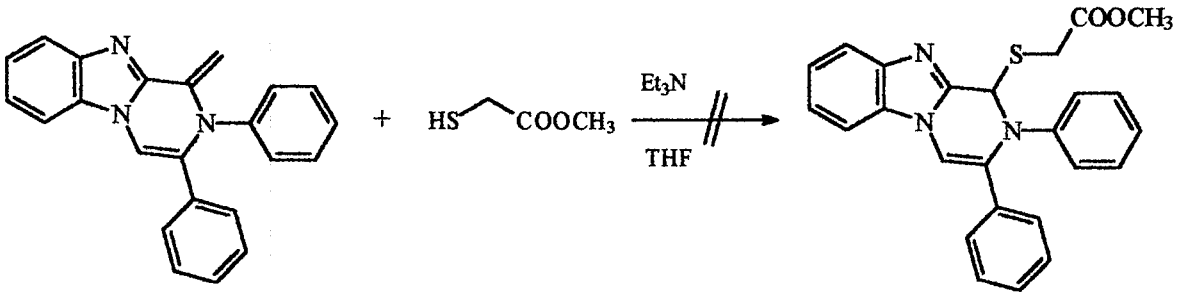
metilen kalıntısının indirgenmiş şekli olarak düşünebileceğimiz metil grubunun yer aldığı 1-metil-3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol türevlerinin de (Şema 4.8) oldukça yüksek antikanser etki seviyesine sahip oldukları daha önceki bir çalışmamızda belirtilmişti⁽¹¹⁷⁾.



R=H, CH₃, OCH₃, Cl, Br, NO₂

Şema 4.8. 1-Metil-3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol türevleri

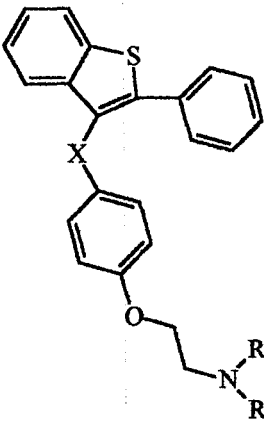
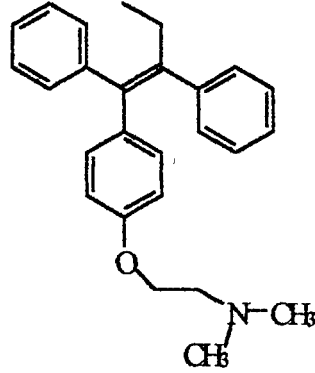
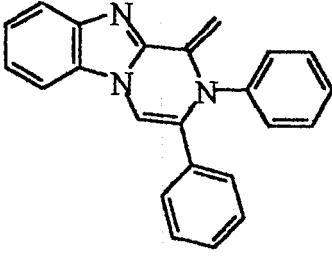
Kinon metid kalıntının DNA molekülündeki başta sulfidril grupları olmak üzere reaktif nükleofillere atak ederek etki gösterdikleri göze önüne alınarak, bileşiklerimizin de benzer bir etkileşmeye girebileceği düşünülerek, Bileşik 1, metil merkaptasetat ile trietilamin varlığında kondenzasyon reaksiyonuna sokuldu. Ancak beklenen ürün elde edilemedi (Şema 4.9). Bu özellik de bileşiklerimizin alkilleyici bir ajan olarak etki göstermediklerini kanıtlar yönde görülebilir.



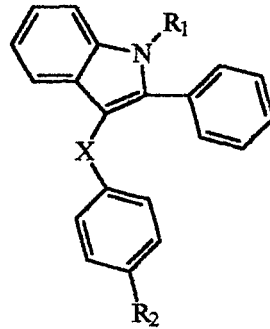
Şema 4.9. Bileşik 1'in metil merkaptasetat ile reaksiyonu.

Bileşiklerin nonkovalan bağla DNA bağlayarak etki gösterdiğini söyleyebilmek için ise, gerekli testler yapılmamış olduğundan bu konuda bir model önerilememiştir. Bu testler, nonkovalan DNA bağlanma testleri, topoizomeraz veya mikrotübül inhibitörü etki testleri olarak sayılabilir.

Bütün bunların dışında bileşiklerimizin yapılarının östrojen antagonisti bileşikler olan Tamoksifen grubu ilaçların yapılarına benzer olduğu göze önüne alınarak, benzer bir mekanizmayla etki gösterebileceği söylenebilir (Şema 4.10). Ancak bu özelliğin açıklığa kavuşturulabilmesi için bileşiklerin östrojen reseptörlerine bağlanma testlerinin yapılması gereği açıktır. Bu yaklaşımlar ışığında, antikanser etki düzeyini artırabilmek üzere molekülümüzün Tamoksifen grubu bileşiklere yapısal olarak benzerliğini pekiştirebilmek için çalışmalarımız devam etmektedir. Bu bağlamda, sentezini düşündüğümüz genel yapı Şema 4.11’de gösterilmiştir. Benzer yaklaşımlar, benzotiyofen ve indol türevleri ile de düşünülmüş ve dizayn edilen bileşiklerin östrojen reseptörlerine olan affiniteleri incelenmiştir^(134,135).

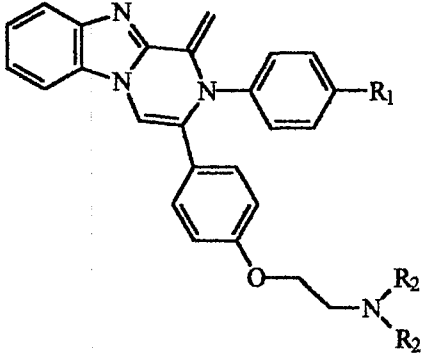


X= CH₂, O, S, NH, CO
R= Alkil



X= CH₂, CO
R₁= H, CH₃, CH₂CH₃
R₂= H, OH

Şema 4.10. Tamoksifen’in yapısıyla Bileşik 1’in, benzotiyofen ve indol türevlerinin yapıları.



$R_1 = H, CH_3, OCH_3, Cl$

$R_2 = \text{Alkil}$

Şema 4.11. Sentezi düşünölen bileşikler

4.3.2. Anti-HIV-1 Aktivite Bulguları

Şekil 4.26'daki grafik, test bileşiminin konsantrasyonunun logaritmasına karşı, hem infekte edilmemiş hem de test bileşiğıyle muamele edilmemiş kontrol değerlerinin yüzdesi olarak ifade edilen test değerlerinin grafiğini gösterir. Grafikteki kesiksiz çizgi, infekte edilmemiş ve test bileşiğı ile muamele edilmemiş kontrole göre test bileşiğı ile muamele edilmiş canlı HIV-infekte hücrelerin yüzdesini ifade etmektedir. Bu çizgi, bileşimin *in vitro* anti-HIV aktivitesini belirtmektedir. Kesik çizgilerden oluşan çizgi, yine infekte edilmemiş ve bileşik ile muamele edilmemiş kontrole göre test bileşiğıyle muamele edilmiş infekte edilmemiş canlı hücrelerin yüzdesini anlatmaktadır. Bu çizgi, bileşimin *in vitro* büyümeyi inhibe edici özelliğini açıklamaktadır. Deneydeki viral sitopatik etki, noktalı referans çizgisiyle belirlenmiştir. Bu çizgi ise, bileşik ile muamele edilmemiş virüslerce hücrelerin tahrip edilmesinin derecesini göstermektedir ve bir kalite kontrol parametresi olarak kullanılmaktadır. Bu parametrenin %50'sinden daha az canlılık değerleri, devam eden işlemde kabul edilebilir olarak alınabilir. Koruma yüzdesi, verilerden hesaplanmış ve grafiğin sol tarafında gösterilmiştir.

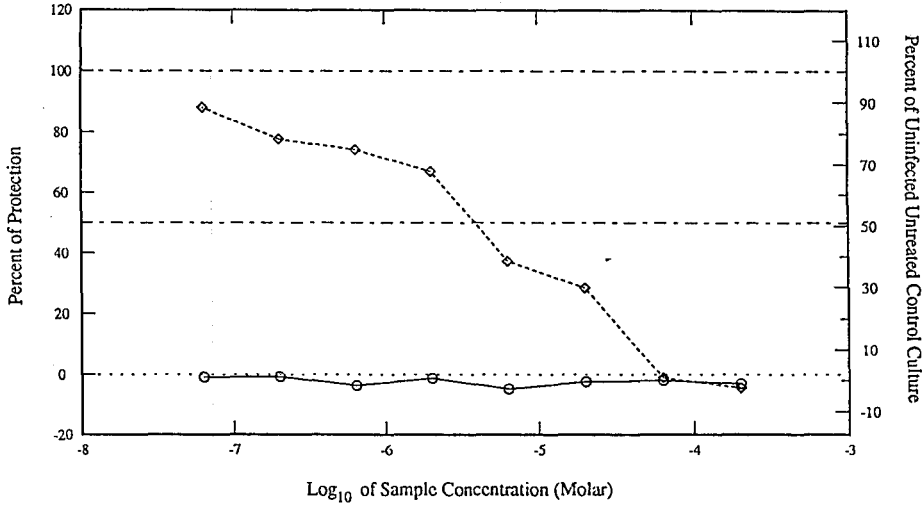
Doz-cevap verilerinin çizgi haline getirilmesi : Grafikteki eğrilerin sayısal olarak listelenmesini sağlar. HIV sitopatik etkilere karşı %50 etkili konsantrasyonu EC_{50} hücre büyümesi için %50 inhibisyon konsantrasyonu IC_{50} ve terapodik indeks $(TI = IC_{50} / EC_{50})$

için yaklaşık değerler her bir test için hesaplanmıştır. Sonuç olarak test edilen bileşiğin aktivitesi sol alt köşede belirtilmiştir.

Test sonuçları incelendiği zaman, bileşiklerimizin hiçbirisinin belirgin derecede anti-HIV-1 aktiviteye sahip olmadığı görülmüştür. Elde edilen değerler, kabul edilebilir sınırlarının çok altında olması nedeniyle tablo haline getirilmemiştir.

**National Cancer Institute
Developmental Therapeutics Program
In Vitro Testing Results**

**In Vitro Anti-HIV Drug Screening Results
Primary Screen**



100%, 50% Reference Lines Viral Cytopathic Effect Infected Treated Culture Uninfected Treated Culture

Summary		Dose (Molar)	Percent of Protection	Percent of Control	
Index	Concentration			Infected	Uninfected
IC50 (Molar)	4.02×10^{-6}	6.35×10^{-8}	-0.96	1.06	88.28
EC50 (Molar)		2.00×10^{-7}	-0.82	1.20	78.13
TI50 (IC/EC)		6.34×10^{-7}	-3.69	-1.62	74.74
Conclusion		2.00×10^{-6}	-1.32	0.71	67.69
CONFIRMED INACTIVE		6.33×10^{-6}	-4.85	-2.75	38.50
		2.00×10^{-5}	-2.47	-0.42	29.76
		6.32×10^{-5}	-2.04	0.00	0.85
		2.00×10^{-4}	-3.12	-1.06	-2.40

Şekil 4.26. Bileşik 1'in anti-HIV etki sonuçları.

5-KAYNAKLAR

1. M.E. Wolf Burger's Medicinal Chemistry, Part II, 4 th Ed. John Wiley and Sons New York, (1979).
2. M. Ş. Canca, İnsan ve Kanser, Sivas Kanser Savaş Derneği Yay. No. 2 (1981).
3. J. N. Delgado. W.A. Remers, Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, 9th Ed. J. B. Lippincott (1991).
4. F. Alican, Kanser, Afa Matbaacılık, İstanbul, (1993).
5. W. B. Pratt, R.W. Ruddon, W. D. Ensminger, J. Maybaum, The Anticancer Drugs, 2nd, Ed. Oxford Univ. Press, New York (1994).
6. W.O.Foye, T.L. Lemke, D. A. Williams, Principles of Medicinal Chemistry, 4th Ed. Williams and Wilkins, London (1995).
7. O. Kayaalp, Rasyonel Tedavi Yönünden Farmakoloji Ders Kitabı, Cilt 1, Ankara (1991).
8. Arthur C. Guyton, Fizyoloji, Cilt 1, İngilizce 5. Baskısından Türkçe'ye çevrilmiş 1. Baskı, Güven Yayınları, Ankara (1977).
9. Nurettin Başaran, Tibbi Genetik, Bilim Teknik Yayınevi (1994)
10. E. C. Taylor, New Patways from Pteridines. Design and Synthesis of a New Class of Potent and Selective Antitumor Agents, **J. Heterocyclic Chem.**, 27, 1-12 (1990).

11. L. H. Matherly, C. K. Barlowe, I. D. Goldman, Antifolate Polyglutamylation and Competitive Drug Displacement at Dihydrofolate Reductase as Important Elements in Leucovorin Rescue in L1210 Cells, **Cancer Res.**, 46, 588-593 (1986).
12. M. G. Nair, E. B. Otis, R. L. Kisliuk, Y. Gaumont, Folate Analogues. 20. Synthesis and Antifolate Activity of 1', 2', 3', 4', 5', 6'- Hexahydrohomofolic Acid, **J. Med. Chem.**, 26, 135-140 (1983).
13. M. G. Nair, O. C. Salter, R. L. Kisliuk, Y. Gaumont, G. North, Folate Analogues. 22. Synthesis and Biological Evaluation of Two Analogues of Dihydrofolic Acid Possessing a 7,8-Dihydro-8-oxapterin Ring System, **J. Med. Chem.**, 26, 1164-1168 (1983).
14. A. Rosowsky, C. S. Yu, Methotrexate Analogues. 18. Enhancement of the Antitumor Effect of Methotrexate and 3',5'-dichloromethotrexate by the Use of Lipid-Soluble Diesters, **J. Med. Chem.**, 26, 1448-1452 (1983).
15. A. Rosowsky, R. Forsh, J. Uren, M. Wick, A. A. Kumar, J. H. Freisheim, Methotrexate Analogues. 20. Replacement of Glutamate by Longer-Chain Amino Diacides: Effects on Dihydrofolate Reductase Inhibition, Cytotoxicity, and *In Vivo* Antitumor Activity, **J. Med. Chem.**, 26, 1719-1724 (1983).
16. C. Hansch, B. A. Hathaway, Z. Guo, C. D. Selassie, S. W. Dietrich, J. M. Blaney, R. Langridge, K. W. Volaz, B. T. Kaufman, Crystallography, Quantitative Structure-Activity Relationships, and Molecular Graphics in a Comparative Analysis of the Inhibition of Dihydrofolate Reductase from Chicken Liver and *Lactobacillus casei* by 4,6-Diamino-1,2-dihydro-2,2-dimethyl-1-(substituted-phenyl)-s-triazines, **J. Med. Chem.**, 27, 129-143 (1984).
17. J. B. Hynes, Y. C. S. Yang, J. E. McGill, S. J. Harmon, W. L. Washtien, Improved Synthesis and Antitumor Evaluation of 5,8-Dideazaaisofolic Acid and Closely Related Analogues, **J. Med. Chem.**, 27, 232-235 (1984).

18. L. L. Anderson, G. J. Collins, Y. Ojima, R. D. Sullivan. A study of the Distribution of Methotrexate in Human Tissues and Tumors, **Cancer Res.**, 30,1344-1348 (1970).
- 19 E. F. Elslager, J. L. Johnson, L. M. Werbel: Folate Antagonists. 20. Synthesis and Antitumor and Antimalarial Properties of Trimetrexate and Related 6-[(Phenylamino)methyl]-2,4-quinazolinediamines, **J. Med. Chem.**, 26, 1753-1760 (1983).
20. L. L. Wotring, J. L. RotiRoti, Thioguanine-induced S and G₂ Blocks and their Significance to the Mechanism of Cytotoxicity, **Cancer Res.**, 40, 1458-1462 (1980).
21. I. Antonini, G. Cristalli, P. Franchetti, M. Grifantini, S. Martelli, G. Lupidi, F. Riva, Adenosine Deaminase Inhibitors. Synthesis of Deaza Analogues of erythro-9-(2-Hydroxy-3-nonyl)adenine, **J. Med. Chem.**, 27, 274-278 (1984).
22. N. T. Christie, S. Drake, R. E. Meyn, and J. A. Nelson:6-Thioguanine-induced DNA Damage as a Determinant of Cytotoxicity in Cultured Chinese Hamster Ovary Cells, **Cancer Res.**, 44, 3665-3671 (1984).
23. V. Nelson, H. S. El Khadem, Synthesis and Antitumor Activity of 7- and 9-(6'-Deoxy- α -L-talofuranosyl)hypoxanthine and 9-(6'-Deoxy- α -L-talofuranosyl)-6-thiopurine, **J. Med. Chem.**,26, 1527-1530 (1983).
24. Y. H. Ling, J. A. Nelson, Y. C. Cheng, R. S. Anderson, K. L. Beattie, 2'-deoxy-6-Thiyoguanosine 5'-Triphosphate as a Substrate for Purified Human DNA Polymerases and Calf Thymus Terminal Deoxynucleotidyl Transferase *In Vitro*, **Mol. Pharmacol.**, 40,508-514 (1991).
25. W. L. Washtien, D. V. Santi: Assay of Intracellular Free and Macromolecular-bound Metabolites of 5-Fluorodeoxyuridine and 5-Fluorouracil, **Cancer Res.**, 39, 3397-3404 (1979).

26. R. D. Armstrong, M. Lewis, S. G. Stern, E. C. Cadman: Acute Effect of 5-Fluorouracil on Cytoplasmic and Nuclear Dihydrofolate Reductase Messenger RNA Metabolism, **J. Biol. Chem.**, 261, 7366-7370 (1986).
27. K. A. Watanabe, T. L. Su, R. S. Kelin, C. K. Chu, A. Matsuda, M. W. Chun, C. Lopez, J. J. Fox, Nucleosides. 123. Synthesis of Antiviral Nucleosides: 5-Substituted 1-(2-Deox-2-halogeno- β -D-arabinofuranosyl)cytosines and -uracils. Some Structure-Activity Relationships, **J. Med. Chem.**, 26, 152-156 (1983).
28. T. S. Lin, W. R. Mancini, Synthesis and Antineoplastic Activity of 3'-Azido and 3'-Amino Analogues of Pyrimidine Deoxyribonucleoside, **J. Med. Chem.**, 26, 544-548 (1983).
29. E. Clercq, J. Descamps, J. Balzarini, J. Gziewicz, P. J. Barr, M. J. Robins, Nucleic Acid Related Compounds. 40. Synthesis and Biological Activities Of 5-Alkynyluracil Nucleosides, **J. Med. Chem.**, 26, 661-666 (1983).
30. T. S. Lin, Y. S. Gao, W. R. Mancini, Synthesis and Biological Activity of Various 3'-Azido and 3'-Amino Analogues of 5-Substituted Pyrimidine Deoxyribonucleoside, **J. Med. Chem.**, 26, 1691-1696 (1983).
31. S. Ajmera, A. R. Bapat, K. Danenberg, P. V. Danenberg, Synthesis and Biological Activity of 5-Fluoro-2',3'-dideoxy-3'-fluorouridine and Its 5'-Phosphate, **J. Med. Chem.**, 27, 11-14 (1984).
32. K. A. Watanabe, T. Su, U. Reichman, N. Greenberg, C. Lopez, J. J. Fox, Nucleosides. 129. Synthesis of Antiviral Nucleosides: 5-Alkenyl-1-(2-deoxy-2-fluoro- β -D-arabino-furanosyl) uracils, **J. Med. Chem.**, 27, 91-94 (1984).
33. G. E. Wright, J. J. Gambino, Quantitative Structure-Activity Relationships of 6-Anilinouracils as Inhibitors of *Bacillus Subtilis* DNA Polymerase III, **J. Med. Chem.**, 27, 181-185 (1984).

34. D.W. Kufe, P. Scotte, R. Fram, P. Major, Biologic Effect of 5-fluoro-2'-deoxyuridine Incorporation in L1210 Deoxyribonucleic Acid, **Biochem. Pharmacol.**, 32, 1337-1340 (1983).
35. P.V. Danenberg, L. C. Shea, and K. Danenberg: Effect of 5-fluorouracil Substitution on the Self-splicing Activity of Tetrahymena Ribosomal RNA, **Cancer Res.**, 50,1757-1763 (1990).
36. H. B. Brewer, J. P. Comstock, and L. Aronow: Effects of Nitrogen Mustard on Protein and Nucleic and Synthesis in Mouse Fibroblasts Growing *In Vitro*, **Biochem. Pharmacol.** 8, 281 (1961).
37. P.D. Lawley, P. Brookes: Interstrand Cross-Linking of DNA by Difunctional Alkylating Agents, **J. Mol. Biol.**, 25,143-160 (1967).
38. R. F. Struck, M. C. Kirk, L. B. Mellet, S. El Dareer, D.L. Hill: Urinary Metabolites of the Antitumor Agent Cyclophosphamide, **Mol. Pharmacol.**, 7:519 (1971).
39. D. T. Visstica, J. N. Toel, M. Rabinovitz: Amino Acid Conferred Protection Against melphalan: Interference with Leucine Protection of Melphalan Cytotoxicity by the Basic Amino Acids in Cultured Murine L1210 Lekuemia Cells, **Mol. Pharmacol.**, 14,1136-1142 (1978).
40. T. A. Connors, P. J. Cox, P. B. Farmer, A. B. Foster, M. Jarman: Some Studies of the Active Intermediates Formed in the Microsomal Metabolism of Cyclophosphamide and Isophosphamide, **Biochem. Pharmacol.**, 23,115-129 (1974).
41. W. P. Tong , D. B. Ludlum: Crosslinking of DNA by Busulfan Formation of Diguanyl Derivatives, **Biochim. Biophys. Acta.**, 608,174-186 (1980).

42. D. J. Reed, H. E. May, R. B. Boose, K. M. Gregory, M. A. Beilstein, 2-Chloroethanol Formation as Evidence for a 2-Chloroethyl Alkylating Intermediate During Chemical Degradation of 1-(2-Chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourea and 1-(2-Chloroethyl)-3-(trans-4-methylcyclohexyl)-1-nitrosourea, **Cancer Res.**, 35, 568-576 (1975).
43. J. A. Montgomery, R. James, G. S. McCaleb, M. C. Kirk, T. P. Johnston: Decomposition of N-(2-chloroethyl)-N-nitrosoureas in Aqueous Media, **J. Med. Chem.**, 18,568 (1975).
44. C. H. Ruttly , T.A. Connors, *In Vitro* Studies With Hexamethylmelamine, **Biochem. Pharmacol.**, 26, 2385-2391 (1977).
45. M. M. Ames, M.E. Sanders, W. S. Tiede: Role of N-methylpentamethylmelamine in the Metabolic Activation of Hexamethylmelamine, **Cancer Res.**, 43, 500-504 (1983).
46. I.S.Iyengar, H. Jau Line, L. Cheng, W. A. Remers, Development of New Mitomycin C and Porfiromycin Analogues, **J. Med. Chem.**, 24, 975-981(1981).
47. E. B. Skibo, I. Islam, M. J. Heileman, W. G. Schulz, Structure- Activity Studies of Benzimidazol- Based DNA-Cleaving Agents. Comparison of Benzimidazole, Pyrrolbenzimidazole, and Tetrahydropyridobenzimidazole Analogues, **J. Med. Chem.**, 37, 78-92 (1994).
48. E. O. M. Orlemans, W. Verboom, M. W. Scheltinga, D. N. Reinhoudt, P. Lelieveld, H. H. Fiebig, B. R. Winterhalter, J. A. Double, M. C. Bibby, Synthesis, Mechanism of Action, and Biological Evaluation of Mitosenes, **J. Med. Chem.**, 32,1612-620 (1989).
49. J. C. Hodges, W.A. Remers, Synthesis and Antineoplastic Activity of Mitosene Analogues of the Mitomycins, **J. Med. Chem.**, 24, 1184-1191 (1981).
50. M. A. Naylor, E. Swann, S. A. Everett, M. Jaffar, J. Nolan, Indolequinone Antitumor Agents: Reductive activation and Elimination from (5-Methoxy-1-methyl-4,7-

dioxindol-3-yl)methyl Derivatives and Hypoxia-Selective Cytotoxicity *In Vitro*, **J. Med. Chem.**, 41, 2720-2731 (1998).

51. M. Maliepaard, N. J. Mol, M. Tomasz, D. Gargiulo, L. H. M. Janssen, J. P. M. Duynhoven, E. J. J. Velzen, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, Mitosene-DNA Adduct. Characterization of Two Major DNA Monoadducts Formed by 1,10-Bis(acetoxy)-7-methoxymitosene upon Reductive Activation, **Biochemistry**, 36, 9211-9220 (1997).
52. M. Waring, Variation of the Supercoils in Closed Circular DNA by Binding of Binding of Antibiotics and Drugs: Evidence for Molecular Models Involving Intercalation, **J. Mol. Biol.**, 54, 247-279 (1970).
53. A. H. J. Wang, G. Ughetto, G.J. Quigley, A. Rich: Interactions Between an Anthracycline Antibiotic and DNA: Molecular Structure of Daunomycin Complexed to d(CpGpTpApCpG) at 1.2-Å resolution, **Biochemistry**, 26, 1152 (1987).
54. R. L. Momparler, M. Karon, S. E. Siegel, F. Avila: Effect of Adriamycin on DNA, RNA and Protein Synthesis in Cell-Free Systems and Intact Cells, **Cancer Res.**, 36, 2891-2895 (1976).
55. N. S. Mizuno, B. Zakis, R. W. Decker: Binding of Daunomycin to DNA and the Inhibition of RNA and DNA Synthesis, **Cancer Res.**, 35, 1542-1546 (1975).
56. E. B. Skibo, S. Gordon, L. Bess, R. Boruah, M.J. Heileman, Studies of Pyrrolo[1,2-a]benzimidazolequinone DT-Diaphorase Substrate Activity, Topoisomerase II Inhibition Activity, and DNA Reductive Alkylation, **J. Med. Chem.**, 40, 1327-1339 (1997).
57. W. A. Denny, G. W. Rewcastle, B. C. Baguley, Potential Antitumor Agents. 59. Structure- Activity Relationships for 2-Phenylbenzimidazole-4-carboxamides, a New Class of 'Minimal' DNA- Intercalating Agents Which May Not via Topoisomerase II, **J. Med. Chem.**, 33, 814-819 (1990).

58. W. Ross, T. Rowe, B. Glisson, J. Yalowich, L. Liu: Role of Topoisomerase II in Mediating Epipodophyllotoxin-Induced DNA Cleavage, **Cancer Res.**, 44, 5857-5860 (1984).
59. D. A. Gewirtz: Does Bulk Damage to DNA Explain the Cytostatic and Cytotoxic Effects of Topoisomerase II Inhibitors? **Biochem. Pharmacol.**, 42, 2253-2258 (1991).
60. S. M. Kupchan, M. A. Eakin, A. M. Thomas, Tumor Inhibitors. 69. Structure-Cytotoxicity Relationships Among the Sesquiterpene Lactones, **J. Med. Chem.**, 14, 1147-1152 (1971).
61. R. Hernandez, S. M. Velazquez, E. Suarez, Synthesis of (+)-8-Deoxyvernolepin. **J. Org. Chem.**, 59, 6395-6403 (1994).
62. C. J. Cavallito, T. H. Haskell, α -Methylene Butyrolactone from *Erythronium americanum*, **J. Am. Chem. Soc.**, 68, 2332-2334 (1946).
63. A. Rosowsky, N. Papathanasopoulos, H. Lazarus, G. E. Foley, E. J. Modest, Cysteine Scavengers. 2. Synthetic α -Methylenebutyrolactones as Potential Tumor Inhibitors, **J. Med. Chem.**, 17, 672-676 (1974).
64. G. A. Howie, P. E. Manni, J.M. Cassady, Synthesis of Alkyl- Substituted α,β -Unsaturated γ -Lactones as Potential Antitumor Agents, **J. Med. Chem.**, 17, 840-843 (1974).
65. K. H. Lee, T. Ibuka, S. H. Kim, B. R. Vestal, I. H. Hall, Antitumor Agents. 16. Steroidal α -Methylene- γ -Lactones, **J. Med. Chem.**, 18, 812-817(1975).
66. C. F. Bernasconi, G. D. Leonarduzzi, Nucleophilic Addition to Olefins. 2. Reaction of Benzylidene Meldrum's Acid with Water, Hydroxide Ion, and Aryloxide Ions.

Complete Kinetic Analysis of the Hydrolytic Cleavage of the C=C Double Bond, **J. Am. Chem. Soc.**, 102, 1361-1366 (1980).

67. J. R. Dimmock, S. K. Raghavan, G. E. Bigam, Evaluation of Mannich bases of 2-arylidene-1,3-diketones Versus Murine P338 Leukemia, **Eur. J. Med. Chem.**, 23, 111-117 (1988).
68. E. Erciyas, H. I. Erkaleli, G. Cosar, Antimicrobial Evaluation of Some Styryl Ketone Derivatives and Related Thiol Adducts, **Sciences**, 83, 545-548 (1994).
69. J. R. Dimmock, S. C. Vashishtha, S. A. Patil, N. Udupa, S. B. Dinesh, P. U. Devi, R. Kamath, Cytotoxic and Anticancer Activities of some 1-aryl-2-dimethylaminomethyl-2-propen-1-one hydrochlorides, **Pharmazie**, 53, 702-706 (1998).
70. J. R. Dimmock, K. Shyam, P. J. Smith, Decomposition of 1-Aryl-3-dimethylamino-1-propanone Methobromides under Weakly Acidic Conditions, **Pharmazie**, 39, 467-470 (1984).
71. J. R. Dimmock, K. Shyam, B. M. Logan, P. J. Smith, B. M. Cross, Synthesis and Evaluation of Some Mannich Bases Derived from Acetophenones Against P388 Lymphocytic Leukemia and Toxicological Assessment of 3-Dimethyl-amino-2-dimethylaminomethyl-1-(4-methoxyphenyl)-1-propanone Dihydrochloride in Rats, **Sciences**, 73, 471-477 (1984).
72. J. R. Dimmock, S. C. Vashishtha, J. W. Quail, U. Pugazhenthii, Z. Zimpel, A. M. Sudom, T. M. Allen, G. Y. Kao, J. Balzarini, E. De Clercq, 4-(β -arylvinyl)-3-(β -arylvinylketo)-1-ethyl-4-piperidinols and Related Compounds: A Novel Class Of Cytotoxic and Anticancer Agents, **J. Med. Chem.**, 41, 4012-4020 (1998).
73. H. W. Moore, Bioactivation as a Model for Drug Design Bioreductive Alkylation, **Sciences**, 197, 527-532 (1977).

74. A. J. Lin, L. A. Cosby, C. W. Shansky, A. C. Sartorelli. Potential Bioreductive Alkylating Agents. 1. Benzoquinone Derivatives, **J. Med. Chem.**, 15, 1247-1252 (1972).
75. A. J. Lin, R. S. Pardini, L. A. Cosby, B. J. Lillis, C. W. Shansky, A. C. Sartorelli, Potential Bioreductive Alkylating Agents. 2. Antitumor Effect and Biochemical Studies of Naphthoquinone Derivatives, **J. Med. Chem.**, 16, 1268-1271 (1973).
76. A. J. Lin, , C. W. Shansky, A. C. Sartorelli, Potential Bioreductive Alkylating Agents. 3. Synthesis and Antineoplastic Activity of Acetoxymethyl and Corresponding Ethyl Carbamate Derivatives of Benzoquinones, **J. Med. Chem.**, 17, 558-561 (1974).
77. A. J. Lin, R. S. Pardini, B. J. Lillis, A. C. Sartorelli, Potential Bioreductive Alkylating Agents. 4. Inhibition of Coenzyme Q Enzyme Systems by Lipoidal Benzoquinone and Naphthoquinone Derivatives, **J. Med. Chem.**, 17, 668 (1974).
78. R. L. Hanson, H. A. Lardy, Inhibition of Phosphofructokinase by Quinone Methide and α -Methylene Lactone Tumor Inhibitors, **Sciences**, 168, 378-380 (1970).
79. Q. Zeng, S. E. Rokita, Tandem Quinone Methide Generation for Cross-Linking DNA, **J. Org. Chem.**, 61, 9080-9081 (1996).
80. S. E. Rokita, J. Yang, Quinone Methide Alkylation of Deoxycytidine, **J. Org. Chem.**, 62, 3010-3012 (1997).
81. C. J. Moody, E. Swann, Novel Bioreductive Anticancer Agents Based on Indolequinones, **II Farmaco**, 52, 271-279 (1997).
82. A. Ouyang, E. B. Skibo, Design of a Cyclopropyl Quinone Methide Reductive Alkylating Agent, **J. Org. Chem.**, 63, 1893-1900 (1998).

83. E. B. Skibo, Studies of Extended Quinone Methides. The Hydrolysis Mechanism of 1-Methyl-2-(bromomethyl)-4,7- dihydroxybenzimidazole, **J. Org. Chem.**, 51, 522-527 (1986).
84. C. H. Lee, E. B. Skibo, Active-Site-Directed Reductive Alkylation of Xanthine Oxidase by Imidazo[4,5-g]quinazoline-4,9-diones Functionalized with a Leaving Group, **Biochem.**, 26, 7355-7362 (1987).
85. R. H. Lemus, C. H. Lee, E. B. Skibo, Studies of Extended Quinone Methides. Synthesis and Physical Studies of Purine-like Monofunctional and Bifunctional Imidazo[4,5-g]quinazoline Reductive Alkylating Agents, **J. Org. Chem.**, 54, 3611-3618 (1989).
86. E. B. Skibo, Formation and Fate of Benzimidazole-Based Quinone Methides. Influence of PH on Quinone Methide Fate, **J. Org. Chem.**, 57, 5874-5878 (1992).
87. R. C. Boruah, E. B. Skibo, A Mechanistic Study of 2- Vinylbenzimidazole Formation from 2-(2-Haloethyl)benzimidazoles. Synthesis of Highly Electron-Rich Vinylic Compounds by General Base and Specific Acid-General Base Catalysis, **J. Org. Chem.**, 58, 7797-7803 (1993).
88. R. H. Lemus, E. B. Skibo, Studies of Extended Quinone Methides. Design of Reductive Alkylating Agents Based on The Quinazoline Ring System, **J. Org. Chem.**, 53, 6099-6105 (1988).
89. R. H. Lemus, E. B. Skibo, Design of Pyrimido[4,5-g]quinazoline-Based Anthraquinone Mimics. Structure- Activity Relationship for Quinone Methide Formation and the Influence of Internal Hydrogen Bonds on Quinone Methide Fate, **J. Org. Chem.**, 57, 5649-5660 (1992).
90. R. C. Gallo, Frequent Detection and Isolation of Cytopathic Retroviruses (HTLV-III) from Patients with AIDS and at Risk for AIDS, **Sciences**, 224, 500-503 (1984)

91. J. A. Levy, Isolation of Lymphocytopathic Retroviruses from San Francisco Patients with AIDS, **Sciences**, 225, 840-842 (1984)
92. M. Artico, Non-Nucleoside Anti-HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs): A Chemical Survey from Lead Compounds to Selected Drugs for Clinical Trials, **Farmaco**, 51, 305-331. (1996).
93. T. S. Lin, R. Schinazi, B. P. Griffith, Potent and Selective In Vitro Activity of 3'-deoxythymidin-2-ene (3'-deoxy-2',3'-didehydrothymidine) Against Human Immunodeficiency Virus, **Biochem. Pharmacol.**, 36, 2713-2718 (1987).
94. K. A. Watanabe, T. L. Su, R. S. Kelen, C. K. CHU, A. Matsuda, M.W.Chun, C. Lopez, J. J. Fox, Nucleosides. 123. Synthesis of Antiviral Nucleosides: 6-Substituted 1-(2-Deoxy-2-halogeno- β -D-arabinofuranosyl)cytosines and -uracils. Some Structure-Activity Relationships, **J. Med. Chem.**, 26, 152-156 (1983).
95. Y. F. Shealy, C. A. O'Dell, W. M. Shannon, G. Arnett, Carbocyclic Analogues of 5-Substituted Uracil Nucleosides: Synthesis and Antiviral Activity, **J. Med. Chem.**, 26, 156-161(1983).
96. T. Lin, Y. Gao, Synthesis and Biological Activity of 5-(Trifluoromethyl)- and 5-(Pentafluoroethyl)pyrimidine Nucleoside Analogues, **J. Med. Chem.**, 26, 598-601(1983).
97. J. A. Coderre, D. V. Santi, A. Matsuda, K. A. Watanabe, J. J. Fox, Mechanism of Action of 2',5-Difluoro-1- arabinosyluracil, **J. Med. Chem.**, 26, 1149-1152 (1983).
98. D. E. Bergstrom, J. L. Ruth, P. A. Reddy, E. Clercq, Synthesis of (E)-5-(3,3,3-Trifluoro-1-propenyl)-2'-deoxyuridine and Related Analogues: Potent and Unusually Selective Antiviral Activity of (E)-5- (3,3,3-Trifluoro-1-propenyl)-2'-deoxyuridine against Herpes Simplex Virus Type1, **J. Med. Chem.**, 27, 279-284 (1984).

99. L. Sansebastiano, L. Mosti, G. Menozzi, P. Schenone, O. Muratore, A. Petta, E. Debbia, A. P. Schito, G. C. Schito, Synthesis, Antiviral (HSV-1) and Antimycotic of Ethyl or Methyl 2,4-Disubstituted 5-Pyrimidinecarboxylates, 2,4-Disubstituted 5-Pyrimidinecarboxylic Acids and 2,4- Disubstitued Pyrimidines, **Farmaco**, 48, 335-355 (1993).
100. T. Miyasaka, H. Tanaka, M. Baba, H. Hayakawa, T. R. Walker, J. Balzarini, E. De Clercq, A Novel Lead for Specific anti-HIV-1 Agents: 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine, **J. Med. Chem.**, 32, 2507-2509 (1989).
101. H. Tanaka, M. Baba, H. Hayakawa, T. Sakamaki, T. Miyasaka, M. Ubasawa, H. Takashima, K. Sekiya, I. Nitta, A New Class of HIV-1 Specific 6-substituted Acyclouridine Derivatives: Synthesis and anti-HIV-1 Activity of 5-or 6-substituted Analogs of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT), **J. Med. Chem.**, 34, 349-357 (1991).
102. H. Tanaka, M. Baba, S. Saito, T. Miyasaka, H. Takashima, K. Sekiya, M. Ubasawa, I. Nitta, R. Walker, Specific anti-HIV-1 Acyclonucleosides which cannot be phosphorylated: Synthesis of Some Deoxy Analogs of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine, **J. Med. Chem.**, 34, 1508-511 (1991).
103. H. Tanaka, M. Baba, M. Ubasawa, H. Takashima, K. Sekiya, I. Nitta, S. Shigeta, R. Walker, E. De Clercq, T. Miyasaka, Synthesis and anti-HIV-1 Activity of 2-, 3-, and 4-substituted Analogs of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT), **J. Med. Chem.**, 34, 1394-1399 (1991).
104. H. Tanaka, H. Takashima, M. Ubasawa, K. Sekiya, I. Nitta, M. Baba, S. Shigeta, R. Walker, E. De Clercq, T. Miyasaka, Structure-Activity Relationships of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine Analogs: Effect of Substitutions at the C-6 phenyl Ring and at the C-5 Position on anti-HIV-1 Activity, **J. Med. Chem.**, 35, 337-345 (1992).

105. H. Tanaka, H. Takashima, M. Ubasawa, K. Sekiya, I. Nitta, M. Baba, S. Shigeta, R. Walker, E. De Clercq, T. Miyasaka, Synthesis and Antiviral of Deoxy Analogs of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT) as Potent and Selective anti-HIV-1 Agents, **J. Med. Chem.**, 35, 4713-3719 (1992).
106. M. Baba, S. Shigeta, H. Tanaka, T. Miyasaka, M. Ubasawa, K. Umezu, R. Walker, R. Pauwels, E. De Clercq, High Potent and Selective Inhibition of HIV-1 Replication by 6-phenylthiouracil Derivatives, **Antiviral Res.**, 17, 245-264 (1992), CA 117: 19678h.
107. R. A. Nugent, S. T. Schlachter, M. J. Murphy, G. J. Cleek, T. J. Poel, D. G. Wishka, D. R. Graber, Y. Yagi, B. J. Keiser, R. A. Olmsted, L. A. Kopta, S. M. Swaney, S.M. Poppe, J. Morris, W. G. Tarpley, R. C. Thomas, Pyrimidine Thioethers: A Novel Class of HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors with Activity Against BHAP-Resistant HIV, **J. Med. Chem.**, 41, 3793-3803 (1998).
108. W.S. Saari, J. M. Hoffman, J. S. Wai, T. E. Fisher, C. S. Rooney, A. M. Smith, C. M. Thomas, M. E. Goldman, J. A. O'Brien, 2-Pyridinone Derivatives: A New Class of Nonnucleoside, Reverse Transcriptase Inhibitors, **J. Med. Chem.**, 34, 2922-2925 (1991).
109. R. Pauwels, K. Andries, Z. Debyser, P. Van Daele, D. Schols, P. Stoffels, K. De Vreese, R. Woestenborghs, A. M. Vandamme, Potent and Highly Selective Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Inhibition by A Series of α -anilinophenylacetamide Derivatives Targeted at HIV-1 Reverse Transcriptase, **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 90, 1711 (1993), CA 118: 224923w.
110. A. Chimirri, S. Grasso, A. M. Monforte, P. Monforte, M. Zappala, Anti-HIV Agents. I: Synthesis and *In Vitro* Anti-HIV Evaluation of Novel 1H,3H-Thiazolo[3,4-a]benzimidazoles, **Farmaco**, 46, 817-823 (1991).

111. A. Chimirri, S. Grasso, A. M. Monforte, P. Monforte, M. Zappala, Anti-HIV Agents. I: Synthesis and *In Vitro* Anti-HIV Activity of Novel 1H,3H-Thiazolo[3,4-a]benzimidazoles, **Farmaco**, 46, 925-933 (1991).
112. A. Chimirri, S. Grasso, C. Molica, A. M. Monforte, P. Monforte, M. Zappala, Anti-HIV Agents. IV: Synthesis and *In Vitro* Anti-HIV Activity of Novel 1-(2,6-Difluorophenyl)-1H,3H-Thiazolo[3,4-a]benzimidazoles, **Farmaco**, 51, 279-282 (1996).
113. A. Chimirri, S. Grasso, A. M. Monforte, P. Monforte, A. Rao, M. Zappala, G. Bruno, F. Nicolo, R. Scopelliti, Anti-HIV Agents. V: Synthesis, Structure and *In Vitro* Anti-HIV Activity of Novel 1H,3H-Naphtho[2',3':4,5]imidazo[1,2-c]thiazoles, **Farmaco**, 52, 673-677 (1997).
114. Shvedov, V.I. Altukhova, L.b. Chernysshkova, L. A. Grinev, Pyrazino[1,2-a]benzimidazole-aza Analogs of β -Carboline, **A. N. Khim. Farm. Zh.** 3, 15-20 (1969), CA 72: 66899t.
115. A. N. Grinev, A. A. Druzhinina, I. K. Sorokino, New Derivatives of Pyrazino[1,2-a]benzimidazole, **Khim. Geterotskil, Soedin**, 1266 (1976), CA 86: 29761k.
116. Ş. Demirayak, K. Güven, Synthesis of Some Pyrido- and Pyrazino-Benzimidazole Derivatives and their Antifungal Activity, **Pharmazie**, 50, 527-529 (1995).
117. Ş. Demirayak, U. A. Mohsen, Anticancer and Anti- HIV Activities of Some Pyrido/Pyrazino-Benzimidazole Derivatives, **Acta pharm. Turc.**, 41, 9-12 (1998).
118. Ş. Demirayak, U. A. Mohsen, P. Chevallet, H. Erdeniz, M. Kiraz, Synthesis of Some 1-(2-Arylvinyl)-3-arylpyrazino[1,2-a]benzimidazole Derivatives and Their Antimicrobial Activities, **Farmaco**, 51, 825-827 (1996).

119. M. R. Boyd, Status of the NCI Preclinical Antitumor Drug Discovery Screen, *Principles and Practice of Oncology*, 3, 2 (1989)
120. O.W. Weislow, R. Kiser, D. Fine, J. Bader, R. H. Shoemaker, M. R. Boyd, New Soluble-Formazon Assay for HIV-1 Cytopathic Effect: Application to High-Flux Screening of Synthetic and Natural Products for AIDS-Antiviral Activity, *J. Natl. Cancer Inst.*, 81, 877 (1989).
121. R. N. Cawper, L. H. Davidson, α -Bromoacetophenone, *Org. Syn. Coll. Vol.*, 2, 480 (1943)
122. M. I. Shevchuk, A. V. Dombrovskii, Preparation of α -Monobromomethyl Aryl Ketones by Bromination of Methyl Aryl Ketones in Dioxane, *Zhur. Obshchei-Khim.*, 33, 1135-1136 (1963) CA 59: 9921g.
123. V. I. Maksimov, Z. A. Pryakhina, Analogs of Steroid Hormones. I. Preparation of 3-(4-oxocyclohexyl)-2-methylcyclopentanol, *Zhur. Obshchei Khim.*, 28, 246-253 (1958) CA 52: 12816h.
124. F. Kröhnke, Theory and Practice of the Halogenation of Active Methyl and methylene Groups, *Chem. Ber.*, 69B, 921-935, (1936).
125. W. R. Siegart, A. R. Day, Metabolite Analogs. VII. Preparation of Some Benzimidazolyl Analogs of Ethyl Pteroylglutamate, *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 4391 (1957).
126. G. W. Cheeseman, 2-Acetylbenzimidazole, *J. Chem. Soc.*, 4645 (1964).
127. P. N. Perston, D. M. Smith, G. Tennant, Benzimidazoles and Congeneric Tricyclic Compounds, Part I and II, John Wiley and Sons, New York, 1981.

128. Ş.Demirayak, C. Öğretir, Proton-Loss Behaviours of Some Benzimidazole Derivatives and Their Hammett Relationships, **Chim. Acta Turc.**, 18, 119-124 (1990).
129. R.M. Silverstein, G. C. Bassler, T. C. Morrill, Spectrometric Identification of Organic Compounds, John Wiley & Sons, New York, 1991.
130. N. Ergen, A. Gürsoy, Ö. Ateş, İlaçların Tanınması ve kantitatif Tayini, İstanbul Üniv. Yay. No. 3566 İstanbul, 1989.
131. K. J. Morgan, The Infrared Spectra of Some Simple Benzimidazoles, **J.Chem. Soc.**, 2343-2347 (1961).
132. T. Nishiwaki, Mass Spectrometric Studies on 2-Alkylbenzimidazoles. Some Evidence for Fragmentation via Quinoxalinium Ions, **J. Chem. Soc.**, 428-430 (1968).
133. G. Spiteller, Mass Spectrometry of Heterocyclic Compounds, **Physical Methods in Heterocyclic Chem.**, 3, 223-296 (1971).
134. A. D. Palkowitz, A. L. Glasebrook, K. J. Thrasher, K. L. Hauser, L. L. Short, D. L. Phillips, B. S. Muehl, M. Sato, P. K. Shetler, G. J. Cullinan, T. R. Pell, h. U. Bryant, Discovery and Synthesis of [6-Hydroxy-3-[4-[2-(1-piperidinyl)ethoxy]phenoxy]-2-(4-hydroxyphenyl)]benzo[b]thiophene: A Novel, Highly Potent, Selective Estrogen Receptor Modulator, **J. Med. Chem.**, 40, 1407-1416 (1997).
135. S. Josef, A. Erwin, Synthesis and Estrogen Receptor Affinity of 2,3-Diarylindoles, **Arch. Pharm.**, 320, 407-417 (1987)