

**BAZI 1,2,3-TRİSÜBSTİTÜE  
PİRAZİNOBENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN  
SENTEZİ ve ANTİKANSER ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Leyla Yurttaş**

Yüksek Lisans Tezi



**BAZI 1,2,3-TRİSÜBSTİTÜE PİRAZİNO  
BENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN  
SENTEZİ ve ANTİKANSER ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Leyla Yurттаş**

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Eskişehir, Ocak 2009

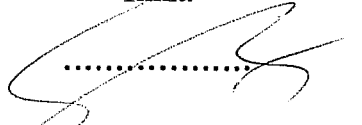
**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK**

Bu tez çalışması, Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir ( Proje No. 070335 )



## Jüri ve Enstitü Onayı

Ecz. Leyla YURTTAŞ'ın "Bazı 1,2,3-Trisüstitüe Pirazinobenzimidazol Türevlerinin Sentezi ve Antikanser Etkilerinin Araştırılması" başlıklı, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'ndaki Yüksek Lisans Tezi, 26.01.2008 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	Prof. Dr.Şeref DEMİRAYAK Anadolu Üniversitesi	
Üye	Prof.Dr. İlkay KÜÇÜKGÜZEL Marmara Üniversitesi	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Ahmet Çağrı KARABURUN Anadolu Üniversitesi	

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

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü : Prof. Dr. Yasemin YAZAN



## ÖZGEÇMİŞ

### Bireysel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Leyla YURTTAŞ  
Doğum tarihi ve yeri : 1984, SARIKAMIŞ  
Uyruğu : T.C.  
Medeni durumu : Bekar  
İletişim adresleri

:Uluönder Mah. Şehit Abdülkadir Fidan  
Sokak No:11/15 ESKİŞEHİR  
0 (222) 335 05 80/ 3783  
lyurttas@anadolu.edu.tr

### Eğitim Durumu

İlkokul : Kandilli Güvenç İlkokulu/ ERZURUM  
Ortaokul : Hayrabolu Anadolu Lisesi/ TEKİRDAĞ  
Lise : Isparta Anadolu Lisesi  
Üniversite : Anadolu Üniversitesi/ Eczacılık Fakültesi  
Yabancı dil(ler) : İngilizce

### Mesleki Deneyim

2006'dan beri Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde Araştırma Görevliliği

### Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar

Farmasötik ve Medisinal Kimya Derneği

### Yayımlar

S. Demirayak, İ. Kayagil, L. Yurttaş, Synthesis of some 1,3-diarylpyrazino[1,2-a]benzimidazole and investigation their anticancer activities, **6th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium**, July 8-11, 2007, İstanbul, Turkey PB-69, p.109

### Bilimsel Etkinlikler

Projeler :

Bazı Sübstitüe Benziliden-Auron veya Auron Analogu Bileşiklerin Sentezi ve Antikanser Etkilerinin Araştırılması (2007). **Proje No: 050301**, Araştırmacı

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım süresince benden ilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK'a,

Gerek maddi gerekse manevi her zaman yanımda olan aileme,

Çalışmalarım sırasında BİBAM'ın imkanlarından yararlanmamızı sağlayan, Müdür, Prof. Dr. Rıdvan SAY'a ve Müdür Yardımcısı, Yard. Doç. Dr. Lütfi GENÇ'e

Tez çalışmalarımı maddi olarak destekleyen Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Komisyonu'na teşekkürlerimi sunuyorum.



# BAZI 1,2,3-TRİSÜBSTİTÜE PİRAZİNOBENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

## ÖZET

Bu çalışmada, bazı yeni pirazino[1,2-a]benzimidazol türevlerinin sentezi ve antikanser etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bunun için, 2-asetilbenzimidazol, uygun 2-bromo asetofenon türevleriyle, aseton içinde potasyum karbonat varlığında reaksiyona sokularak, 1-[2-(aril-2-okzoetil)]-2-asetilbenzimidazol türevleri hazırlanmıştır. Bu şekilde elde edilen diketon bileşikler, uygun bir benzilamin türeviyle asetik asit içinde ısıtılarak 1-metilen-2-benzil-3-aril-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol türevlerine ulaşılmıştır. Bileşiklerin yapıları, IR ve <sup>1</sup>H-NMR spektral analiz verileri ve elementel analiz sonuçları yardımıyla kanıtlanmıştır.

Elde edilen bileşiklerin tümü, Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsüne (NCI) sunulmuş, seçilen bileşiklerin antikanser etkileri, dokuz kanser tipine ait altmış hücre serisine karşı *in vitro* olarak incelenmiştir ve sonuçlar yüzde büyüme değerleri olarak verilmiştir. Diketon bileşiklerinin düşük büyüme yüzdeleriyle oldukça etkili bileşikler olduğu görülmüştür. En etkili bileşik, % 24.53'lük büyüme yüzdesi değeriyle 1-[2-(3-klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazoldür.

**Anahtar Kelimeler:** 2-asetilbenzimidazol, pirazino[1,2-a]benzimidazol, antikanser etki.

## THE SYNTHESIS AND ANTICANCER ACTIVITY OF SOME 1,2,3-TRISUBSTITUTED PYRAZINOBENZIMIDAZOLE DERIVATIVES

### ABSTRACT

The synthesis of some new pyrazino[1,2-a]benzimidazole derivatives and investigation of their anticancer activities were aimed in this work. Thus, 2-acetylbenzimidazole was reacted with 2-bromoacetophenone derivatives and potassium carbonate in acetone to give 1-(2-phenyl-2-oxoethyl)-2-aryloyl-4,5-diarylimidazoles. These diketone compounds were reacted with appropriate benzylamine in acetic acid to obtain 1-methylene-2-benzyl-3-aryl-1,2-dihydropyrazino[1,2-a]benzimidazole derivatives. The structure of the compounds obtained were elucidated by using IR and <sup>1</sup>H-NMR spectral data and elemental analysis results.

All of the compounds were offered to American National Cancer Institute (NCI). Anticancer activities of the selected compounds were evaluated *in vitro* against approximately sixty human cell lines derived from nine neoplastic diseases and the results were given as growth percentage values. It was observed that the diketones were remarkable active compounds with low growth percentage. The most active compound was 1-[2-(3-chlorophenyl-2-oxoethyl)]-2-acetylbenzimidazole with the growth percentage of 24.53.

**Key Words:** 2-acetylbenzimidazole, pyrazino[1,2-a]benzimidazole, anticancer activity.

## İÇİNDEKİLER

JÜRİ ve ENSTİTÜ ONAYI	i
ÖZGEÇMİŞ	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	3
İmidazo[1,2-a]pirazin Türevleri	5
Pirazino[1,2-a]benzimidazol Türevleri	5
GEREÇLER	8
Kullanılan Maddeler	8
Kullanılan Aletler	8
Elde Edilen Bileşiklerin Analizi	9
<i>Erime Noktası Tayini</i>	9
<i>C, H, N Tayini</i>	9
<i>IR Spektrumlarının Alınması</i>	9
<i>NMR Spektrumlarının Alınması</i>	9
YÖNTEMLER	10
Yöntem A : 2-Bromoasetofenonların Genel Elde Etme Yöntemi	10
Yöntem B: 2-(1-Hidroksietil)benzimidazolün Elde Edilmesi	10
Yöntem C: 2-Asetilbenzimidazolün Elde Edilmesi	10
Yöntem D: 1-(2-Aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazolün Genel Elde Edilme Yöntemleri	11
Yöntem E:1-Metilen-2-(4-sübstitüe benzil)-3-(4-aril)pirazino[1,2-a] benzimidazolün Genel Elde Edilme Yöntemi	11
Biyolojik Etki Testleri	12
Yöntem H: Antikanser Etki Testleri	12
BULGULAR ve TARTIŞMA	13
Sentez Çalışmaları	13
<i>2-Bromoasetofenon</i>	13
<i>3'-Kloro-2-bromoasetofenon</i>	13
<i>4'-Kloro-2-bromoasetofenon</i>	13
<i>2-(1-Hidroksietil) benzimidazol</i>	14
<i>2-Asetilbenzimidazol</i>	14
<i>1-(2-Aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol Türevlerinin Eldesi</i>	15
<i>1-(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol A1</i>	15
<i>1-[2-(3-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol A2</i>	15
<i>1-[2-(4-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol A3</i>	16
<i>1-Metilen-2-sübstitüe benzil-3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol Türevlerinin Eldesi</i>	17
<i>1-Metilen-2-benzil-3-fenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B1</i>	17

<i>1-Metilen-2-(3-klorobenzil)-3-fenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B2</i>	17
<i>1-Metilen-2-(4-klorobenzil)-3-fenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B3</i>	18
<i>1-Metilen-2-benzil-3-(3-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B4</i>	19
<i>1-Metilen-2-(3-klorobenzil)-3-(3-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B5</i>	20
<i>1-Metilen-2-(4-klorobenzil)-3-(3-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B6</i>	20
<i>1-Metilen-2-benzil-3-(4-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B7</i>	21
<i>1-Metilen-2-(3-klorobenzil)-3-(4-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B8</i>	22
<i>1-Metilen-2-(4-klorobenzil)-3-(4-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B9</i>	23
<b>Uygulanan Sentez Yöntemlerinin Değerlendirilmesi</b>	24
<b>Spektral Verilerin Değerlendirilmesi</b>	26
<b>IR Bulguları</b>	26
<b>NMR Bulguları</b>	26
<b>Antikanser Aktivite Test Sonuçları</b>	27
<b>Etki Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi</b>	28
<b>Çizelgeler</b>	29
<b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	31
<b>KAYNAKLAR</b>	32
<b>EKLER</b>	36
<b>EK 1 Bileşik B1'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu</b>	36
<b>EK 2 Bileşik B1'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge)</b>	37
<b>EK 3 Bileşik B2'ye ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu</b>	38
<b>EK 4 Bileşik B2'ye ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge)</b>	39
<b>EK 5 Bileşik B3'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu</b>	40
<b>EK 6 Bileşik B3'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge)</b>	41
<b>EK 7 Bileşik B4'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu</b>	42
<b>EK 8 Bileşik B4'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge)</b>	43
<b>EK 9 Bileşik B5'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu</b>	44
<b>EK 10 Bileşik B5'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge)</b>	45
<b>EK 11 Bileşik B6'ya ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu</b>	46
<b>EK 12 Bileşik B6'ya ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge)</b>	47
<b>EK 13 Bileşik B7'ye ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu</b>	48
<b>EK 14 Bileşik B7'ye ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge)</b>	49
<b>EK 15 Bileşik B8'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu</b>	50
<b>EK 16 Bileşik B8'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge)</b>	51
<b>EK 17 Bileşik B9'a ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu</b>	52
<b>EK 18 Bileşik B9'a ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge)</b>	53
<b>EK 19 NCI Antlaşması</b>	54
<b>EK 20 Bileşik A2'ye ait Hücrelerin Büyüme Yüzdeleri</b>	56

## ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA	
Şekil 1	1-(2-Aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol Türevleri	2
Şekil 2	1-Metilen-2-süstitüe benzil-3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol Türevleri	2
Şekil 3	Bazı $\alpha,\beta$ -Doymamış Karbonil Kalıntısı Taşıyan Doğal Bileşikler	3
Şekil 4	Bazı Sentetik $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lakton Kalıntısı Taşıyan Bileşikler	4
Şekil 5	Kinon Metid Türevlerinin Etki Mekanizması	4
Şekil 6	6,8-Diarilimidazo[1,2-a]pirazin Türevlerinin Elde Edilmesi	5
Şekil 7	Bazı pirazino-benzimidazol ve pirido-benzimidazol Türevlerinin Elde Edilmesi	6
Şekil 8	Bazı 1-(2-arilvinil)-3-arilpirazino-benzimidazol Türevlerinin Elde Edilmesi	6
Şekil 9	1-Metilen-2,3-diarilpirazino[1,2-a]benzimidazol Türevlerinin Elde Edilmesi	7
Şekil 10	Yöntem A için Genel Sentez Şeması	10
Şekil 11	Yöntem B için Genel Sentez Şeması	10
Şekil 12	Yöntem C için Genel Sentez Şeması	10
Şekil 13	Yöntem D için Genel Sentez Şeması	11
Şekil 14	Yöntem E için Genel Sentez Şeması	11
Şekil 15	1-(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol	23
Şekil 16	1(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazolün Önerilen Sentez Mekanizması	23
Şekil 17	1-Metilen-2-benzil-3-fenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]-benzimidazol	24
Şekil 18	1-Metilen-2-benzil-3-fenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]-benzimidazol	24

## ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI	SAYFA	
Çizelge 1	Bileşiklerin Büyüme Yüzdeleri	29
Çizelge 2	Standart Olarak Kullanılan Maddeler için Büyüme Yüzdeleri	30

## SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

CDCl <sub>3</sub>	: Döterokloroform
CrO <sub>3</sub>	: Kromtrioksit
DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	: Döterodimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
E.N.	: Erime Noktası
HCl	: Hidroklorik asit
GABA	: Gama-aminobütirik asit
IR	: Kızılötesi Spektroskopisi
KBr	: Potasyum bromür
NCI	: National Cancer Institute ( Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü)
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
RNA	: Ribonükleik asit
SRB	: Sülfarodamin
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi
TMS	: Tetrametilsilan





## GİRİŞ ve AMAÇ

Kanser, yüksek ölümcül özelliği nedeniyle en çok korkulan hastalıktır. Tedavisi için sayısız kemoterapötik madde geliştirilmiş ve kullanılmış olmasına rağmen, tümör hücrelerine karşı gelişen direnç bu hücrelerin yok edilmelerini çok zorlaştırır ve bu sebeple çoğu zaman hastalığın tamamen ortadan kaldırılması mümkün olamamaktadır. Buna rağmen, ilaca dayalı tedavi yaklaşımları, hala en çok uygulanan yöntemleri oluşturmaktadır (Wolf, 1979; Canca, 1981; Delgado ve Remers, 1991; Alican, 1993; Pratt ve Ruddon, 1994; Foye, 1995; Foye ve ark., 1995; Thurston, 2007).

Kanser, hücrelerin kontrol dışı ve engellenemez bir şekilde bölünmeye başlamasıyla ortaya çıkar ve tümör dediğimiz olgu meydana gelir (Guyton and Hall, 2006). Bu kontrol dışı bölünmeyi, kalıtsal ve endojen faktörler yanında eksojen faktörler de başlatıp tetikleyebilir. Endojen faktörler, mutasyonlar, genetik materyalin artması ya da azalması, epigenetik değişiklikler ve modifiye edilmiş gen ekspresyonları olabilir. Eksojen faktörlerse, mikroorganizmalar, kimyasal maddeler, radyasyon ve bizzat antikanser ilaçların kendisi olabilir (Thurston, 2007).

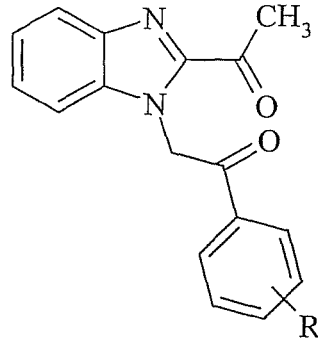
Kanserin tedavisi, oluşan tümör dokusunun cinsine bağlı olarak, cerrahi müdahale, radyasyon tedavisi ve immünoterapinin yanı sıra en yaygın yöntem olarak kemoterapi kullanılarak yapılmaya çalışılmıştır. Ancak, kanser hücrelerinin vücudun diğer normal hücrelerine çok benzer özelliklere sahip olması nedeniyle, yok edilmeleri zorlaşmaktadır. Zira, kullanılan ilaç, kanserli hücreler yanında normal hücrelere de zarar vermektedir.

Literatürde, kanser kemoterapisinde yaygın olarak kullanılan ilaçların başlıcaları, DNA sentezi için gerekli olan folat, purin ve pirimidin nükleozidlerinin antagonistleri, doğrudan DNA, RNA veya bazı enzimlere bağlanarak bunların işlevlerini bozan alkilleyici ajanlarla, bazı antibiyotikler, topoizomerez inhibitörleri ve bazı steroid yapılı hormonlardır (Pratt ve ark., 1994; Kayaalp, 2002; Thurston, 2007).

Bunların dışında, antikanser ilaç araştırma çalışmaları büyük bir hızla devam etmektedir (Pratt ve ark., 1994; Thurston, 2007). Bu bağlamda, laboratuvarımızda da antikanser etkili madde araştırma çalışmaları yapılmaktadır. Bu çalışmalarda, imidazo[1,2-a]pirazin (Demirayak ve Kayagil, 2005; Kayagil, 2007) ve pirazino[1,2-a]benzimidazol (Demirayak ve Abu Mohsen, 2002) çekirdeği içeren türevler sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin dokuz türde olmak üzere altmış kadar insan tümör hücre çeşidi üzerinde antikanser etkileri denenmiş ve özellikle lösemi hücreleri üzerinde olmak üzere, oldukça iyi etki düzeyleri elde edilmiştir.

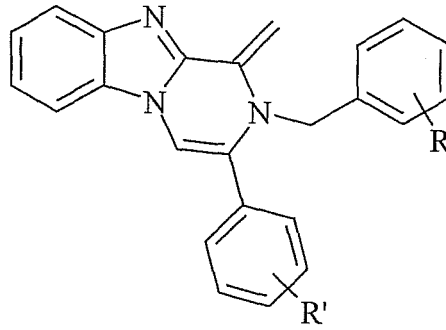
Terpenik yapılı doğal bileşiklerden bazı  $\alpha$ -metilen lakton türevlerinin (Hellenalin A, Elephantopin, Öpatundin ve Vernelopin) ve kinon metid kalıntısı içeren pek çok bileşiğin antikanser etki gösterdiği belirtilmiştir.

Bu gözlemler ışığında, bu çalışmada, önceki çalışmalarımızın bir devamı olarak, kinon metid analogu olarak kabul edilebilecek olan bazı 1-metilen-2-süstitüe benzil-3-aril-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol türevlerinin sentezlenmesi ve antikanser etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır (**Şekil 1-2**).



Bileşikler	R
A1	H
A2	3-Cl
A3	4-Cl

Şekil 1. 1-(2-Aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol Türevleri

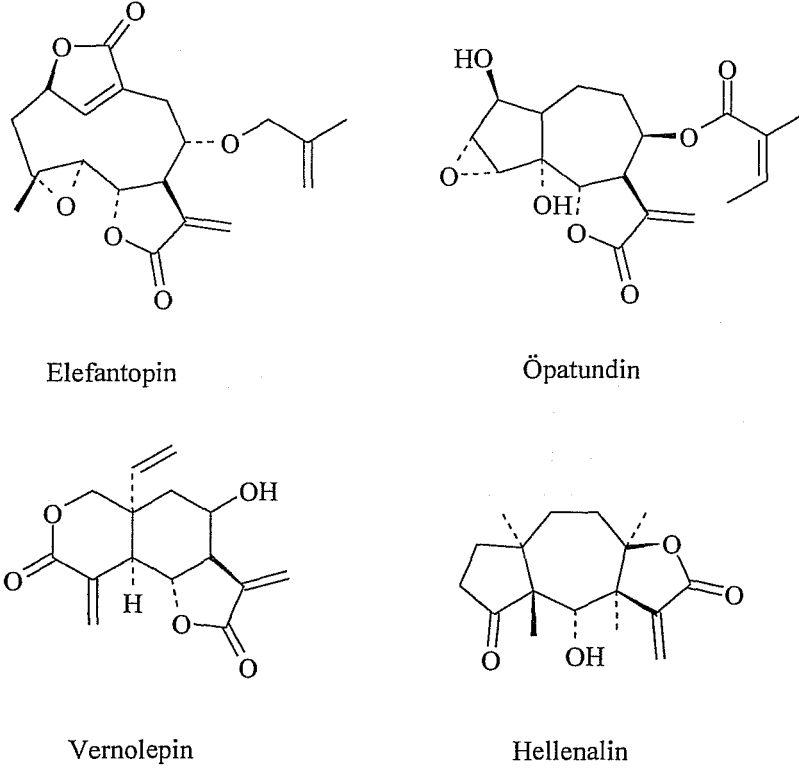


Bileşikler	R	R'
B1	H	H
B2	3-Cl	H
B3	4-Cl	H
B4	H	3-Cl
B5	3-Cl	3-Cl
B6	4-Cl	3-Cl
B7	H	4-Cl
B8	3-Cl	4-Cl
B9	4-Cl	4-Cl

Şekil 2. 1-Metilen-2-süstitüe benzil-3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol Türevleri

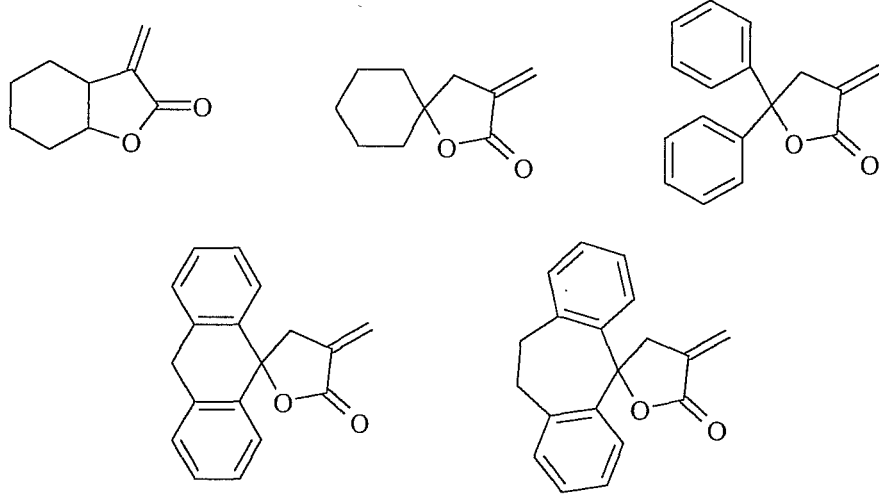
## KAYNAK BİLGİSİ

Antikanser ilaç araştırma ve geliştirme çalışmaları sonucunda, DNA'ya bağlanan ilaçların etki mekanizmalarına benzer şekilde etki ettikleri düşünülen  $\alpha,\beta$ -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 (Kupchan ve ark., 1971; Howie ve ark., 1974; Hernandez ve ark., 1994). Bunların en tanınışları Elephantopin, Öpatundin, Vernolepin ve Hellenalin'dir (Şekil 3).



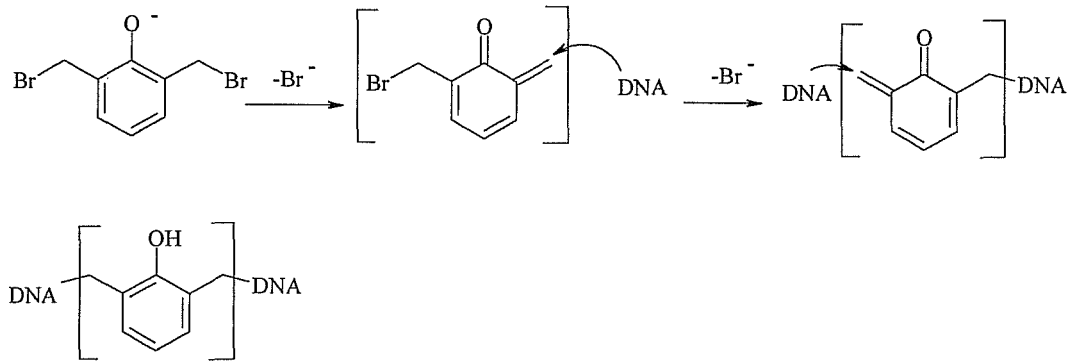
Şekil 3. Bazı  $\alpha,\beta$ -Doymamış Karbonil Kalıntısı Taşıyan Doğal Bileşikler

Karbon iskeletlerinde büyük değişiklikler göstermelerine rağmen, bu bileşiklerin biyolojik aktiviteleri,  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lakton yapısına bağlıdır. Bu doğal seskiterpen laktonların kullanımı, yüksek toksisiteleri nedeniyle sınırlıdır. Bundan dolayı, bu bileşiklerdeki biyofonksiyonel grup olan  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lakton kalıntısının, değişik yapıların üzerinde oluşturulması düşünülmüştür. Bu şekilde elde edilen daha basit yapıli bileşiklerin daha az yan etki ve oldukça yüksek antikanser etki verdikleri saptanmıştır (Cavallito ve Haskell, 1946; Rosowsky ve Papathanasopoulos, 1974) Bu bileşiklerden birkaçı aşağıda verilmiştir. (Şekil 4).



**Şekil 4. Bazı Sentetik  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lakton Kalıntısı Taşıyan Bileşikler**

$\alpha,\beta$ -Doymamış karbonil kalıntısı taşıyan önemli bir grup da kinon metid türevleridir (Lin ve ark., 1972; Lin ve ark., 1974; Lin ve ark., 1974a; Moore 1977). Kinon metid türevleri, aşırı reaktif olmalarından dolayı, öncül molekülleri kullanılmaktadır. Kinon metid öncülü olarak, indol, benzimidazol ve kinazolin halka kalıntıları taşıyan bileşikler bilinmektedir (Skibo, 1986; Lee ve Skibo, 1987; Lemus ve Skibo, 1988; Lemus ve Lee, 1989; Skibo, 1992; Boruah ve Skibo, 1993; Moody ve Swann, 1997; Quyang ve Skibo, 1998). Gerek  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lakton ve gerekse kinon metid grubu, konjuge çift bağ üzerinden biyolojik nükleofillerle Michael katım reaksiyonu yoluyla etkin bir alkilleyici bileşik olarak DNA moleküllerine bağlanır.  $\alpha,\beta$ -Doymamış karbonil kalıntısı taşıyan bu bileşiklerin antikanser etki mekanizmasına ait şematik bir örnek aşağıda verilmiştir (Şekil 5).

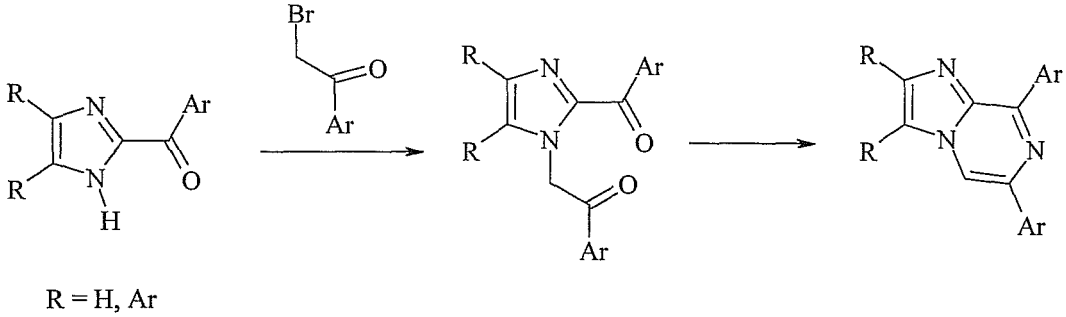


**Şekil 5. Kinon Metid Türevlerinin Etki Mekanizması**

Çalışmada sentezlenmesi amaçlanan 1-metilen-2-sübstitüe benzil-3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol türevleri de kinon metid türevi olarak değerlendirilebilirler.

## İmidazo[1,2-a]pirazin Türevleri

Demirayak ve Kayagil (2005) tarafından geliştirilen yöntemde, 2-ariloilimidazol türevleriyle fenasilbromürlerin reaksiyonundan elde edilen ve bir diketon türevi olan, 1-(2-aril-2-okzoetil)-2-ariloilimidazol kullanılarak, 6,8-diarilimidazo[1,2-a]pirazin türevleri elde edilmiştir (Şekil 6).



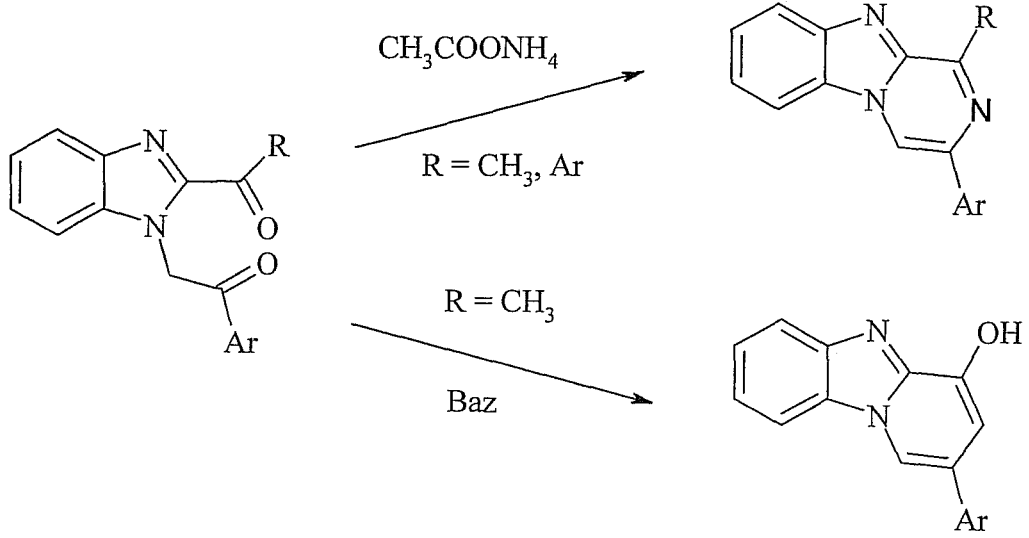
Şekil 6. 6,8-Diarilimidazo[1,2-a]pirazin Türevlerinin Elde Edilmesi

İmidazo[1,2-a]pirazin türevleriyle ilgili olarak yapılan kaynak taramasında, üzerinde en çok çalışılan farmakolojik etkilerin, inotropik, antihipertansif, antiülser, antienflamatuar, GABA reseptör ligandı, ve antikanser etkiler olduğu görülmüştür.

## Pirazino[1,2-a]benzimidazol Türevleri

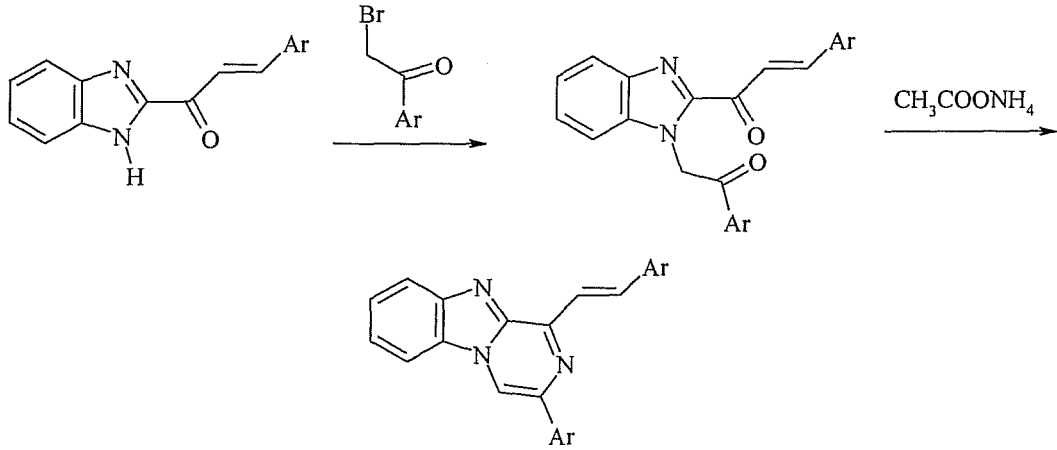
Çalışma konusunu oluşturan pirazino[1,2-a]benzimidazoller, imidazo[1,2-a]pirazin halka sisteminin benzo analogudur. Pirazino[1,2-a]benzimidazol halka sistemi üzerinde yapılmış çok az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Bu konudaki ilk çalışma Shedov ve arkadaşlarınca yapılmıştır. 2-Benzoilbenzimidazol türevlerinin  $\alpha$ -bromoasetofenon ile verdiği 1-(2-aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol bileşiklerinin amonyum asetat ile asetik asid içinde ısıtılmasıyla 1-fenil-3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol türevleri elde edilmiştir (Shedov ve Altukhova, 1970). Bu çalışmadan sonra, Grinev ve Druzhinina 2-formilbenzimidazol'un dietilasetali ve 2-etilokzalilbenzimidazol'un  $\alpha$ -bromoasetofenon ile verdikleri ara ürünlerin halka kapatılmasıyla da yine pirazinobenzimidazol türevlerine ulaşılmıştır.

Demirayak tarafından yapılan bir çalışmada 2-asetil ve 2-ariloilbenzimidazol türevlerinden hareketle 1-(2-aril-2-okzoetil)-2-asetil, veya 1-(2-aril-2-okzoetil)-2-ariloilbenzimidazol türevleri hazırlanmıştır (Demirayak ve Güven, 1995). Bu bileşikler, amonyum asetatla asetik asid içinde ısıtılmalarıyla 1-metil veya 1,3-diarilpirazino[1,2-a]benzimidazol türevlerini vermişlerdir. R konumunda CH<sub>3</sub> olan bileşiklerden hareketle bazik ortamda 2-aril-4-hidroksipirido[1,2-a]benzimidazol türevlerini oluşturmuşlardır (Şekil 7). Elde edilen bu bileşiklerin antikanser etkileri araştırılmış ve önemli sayılabilecek seviyede etki gösterdikleri saptanmıştır (Demirayak ve Mohsen, 1998).



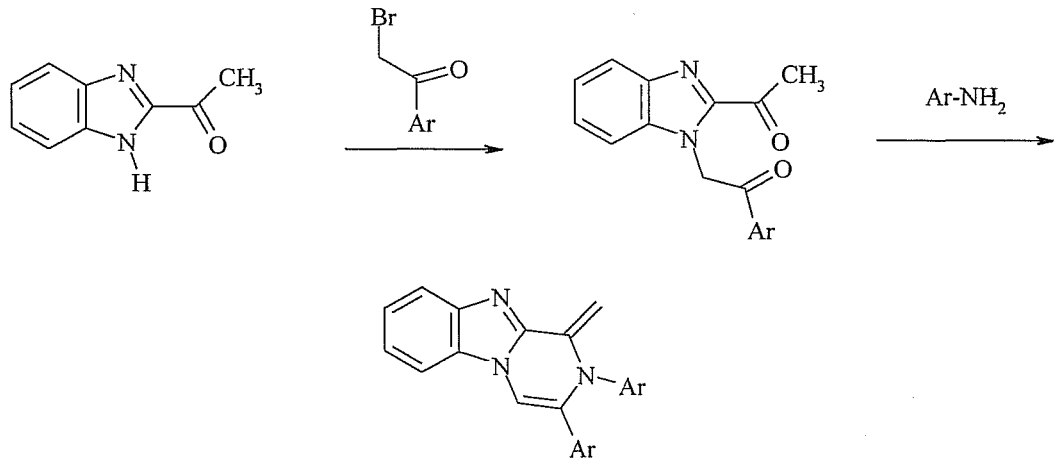
**Şekil 7. Bazı pirazino-benzimidazol ve pirido-benzimidazol Türevlerinin Elde Edilmesi**

Bazı sinnamoilbenzimidazol türevlerinin 2-bromoasetofenon türevleriyle verdikleri ürünlerin amonyum asetat ile asetik asitli ortamda ısıtılmalarıyla 1-(2-arilvinil)-3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol türevleri elde edilmiştir (Demirayak ve ark., 1996) (Şekil 8).



**Şema 8. Bazı 1-(2-arilvinil)-3-arilpirazino-benzimidazol Türevlerinin Elde Edilmesi**

Bir başka çalışmada, 2-asetilbenzimidazol ile 2-bromoasetofenon türevlerini bazik ortamda reaksiyona sokulmasıyla elde edilen 1-(2-aril-2-oksoetil)-2-asetilbenzimidazol türevlerinin değişik anilin türevleriyle asetik asit içinde reaksiyona sokulmasıyla, 1-metilen-2,3-diarilpirazino[1,2-a]benzimidazol türevleri elde edilmiştir (Demirayak ve Mohsen, 2002) (Şekil 9).



**Şekil 9. 1-Metilen-2,3-diarilpirazino[1,2-a]benzimidazol Türevlerinin Elde Edilmesi**

## GEREÇLER

### Kullanılan Maddeler

Amonyak	(Teknik, Türkiye)
Asetik asit	(Merck, Almanya )
Asetofenon	(Merck, Almanya)
Aseton	(Merck, Almanya)
Benzilamin	(Merck, Almanya)
Brom	(Merck, Almanya)
Etil alkol	(Teknik, Türkiye)
1,2-Diaminobenzen	(Merck, Almanya)
Hidrobromik asit	(Merck, Almanya)
3'-Kloroasetofenon	(Merck, Almanya)
4'-Kloroasetofenon	(Merck, Almanya)
3-Klorobenzilamin	(Merck, Almanya)
4-Klorobenzilamin	(Merck, Almanya)
Kromtrioksit	(Merck, Almanya)
Laktik Asit	(Teknik, Türkiye)
Potasyum karbonat	(Merck, Almanya)
Sodyum bikarbonat	(Merck, Almanya)
Sodyum hidroksit	(Merck, Almanya)
İTK plakları F <sub>254</sub>	(Merck, Almanya)

### Kullanılan Aletler

Erime Noktası Tayin Cihazı:	Electrothermal 9100 Dijital
Element Analiz Aleti:	Leco CHNS
Kızılötesi Spektrofotometresi:	Shimadzu 8400 FTIR
NMR Spektrometresi:	Bruker DPX 500



## **Elde Edilen Bileşiklerin Analizi**

### ***Erime Noktası Tayini***

Elde edilen bileşiklerin erime noktalarının saptanması, toz edilmiş maddenin bir ucu açık kılcal borulara 0,5 cm kadar doldurularak erime noktası tayin cihazında yapılmıştır.

### ***C, H, N Tayini***

Kristalize bileşiklerin C, H, N yüzdelerinin analizi bir elementel analiz aleti kullanılarak alınmıştır.

### ***IR Spektrumlarının Alınması***

Elde edilen bileşiklerin IR spektrumları, maddenin yaklaşık % 1 oranında KBr içinde karıştırılarak hazırlanan pelletleri kullanılarak spektrofotometrede alınmıştır.

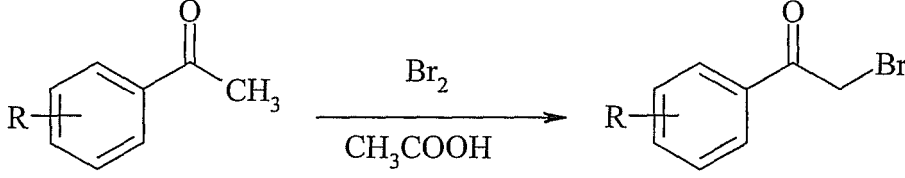
### ***NMR Spektrumlarının Alınması***

Elde edilen bileşiklerin <sup>1</sup>H-NMR spektrumları, yaklaşık 10 mg kadar maddenin DMSO-*d*<sub>6</sub> veya CDCl<sub>3</sub> içindeki çözeltisinde TMS'e karşı bir spektrometrede alınmıştır. **Bileşik B1-18** için elde edilen <sup>1</sup>H-NMR spektrumları **Ek 1-18**'de verilmiştir.

## YÖNTEMLER

### Genel Sentez Yöntemleri

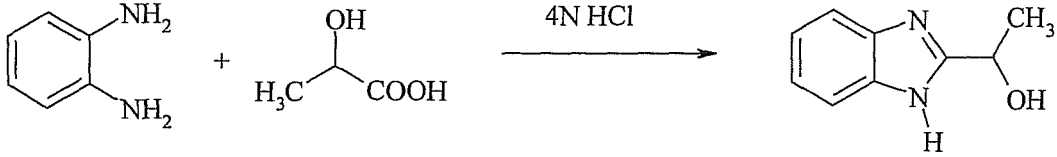
#### *Yöntem A: 2-Bromoasetofenonların Genel Elde Edilme Yöntemi*



Şekil 10. Yöntem A için Genel Sentez Şeması

Süstitüe asetofenon türevi (100 mmol) 100 mL asetik asit içinde çözülmüş, 1 mL hidrobromik asit ilave edilerek, elde edilen çözeltinin üzerine, brom (100 mmol, 16 g, 5.15 mL), soğuk su banyosunda karıştırılarak damla damla ilave edilmiştir. İlave işlemi bittikten sonra karışım, bir litre buzlu suya dökülmüş ve çöken madde emilerek süzülmüştür. Ham ürün, etanolden kristallendirilmiştir.

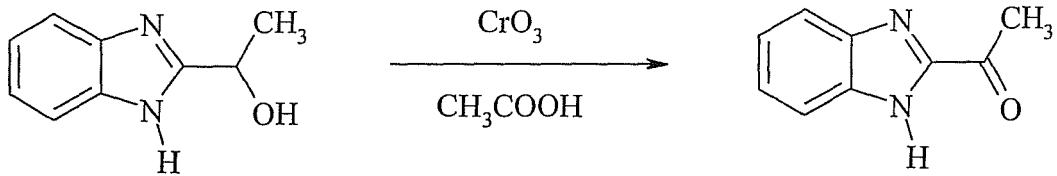
#### *Yöntem B: 2-(1-Hidroksietil)benzimidazolün Elde Edilmesi*



Şekil 11. Yöntem B için Genel Sentez Şeması

1,2- Diaminobenzen (100 mmol, 10,8 g) ve laktik asit (100 mmol, 9 g) ve 100ml 4 N HCl ile 8 saat kaynatılmıştır. Soğutulmuş karışım amonyak çözeltisiyle nötrleştirilerek oluşan çökelek süzülerek alınmış, etanol-su karışımından kristallendirilmiştir.

#### *Yöntem C: 2-Asetilbenzimidazolün Elde Edilmesi*

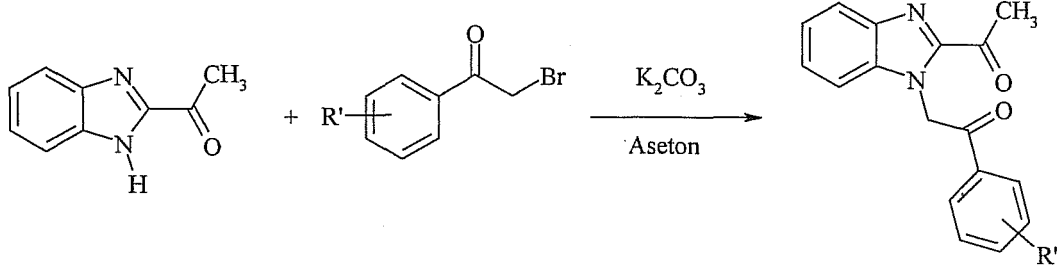


Şekil 12. Yöntem C için Genel Sentez Şeması

2-(1-Hidroksietil)benzimidazol (10 mmol, 1,62 g) 100 mL asetik asitte çözülmüş, elde edilen çözelti 90 °C'ye kadar ısıtılmıştır. Çözelti bu sıcaklıkta iken, CrO<sub>3</sub> (7.5 mmol, 0.75 g)'in 15 mL sudaki çözeltisi damla damla ilave edilmiştir. Bu arada sıcaklığın 90 °C'yi geçmemesine dikkat edilmiştir. İlave işlemi bittikten sonra,

karışım oda sıcaklığına kadar soğutulmuş hacmi kadar su ilave edilerek 1 saat bekletilmiş, oluşan çökelek süzülerek atılmıştır. Süzüntü kloroforma çekilmiş, kloroform fazı, düşük basınç altında uçurulmuştur. Kalıntı toluenden kristallendirilmiştir.

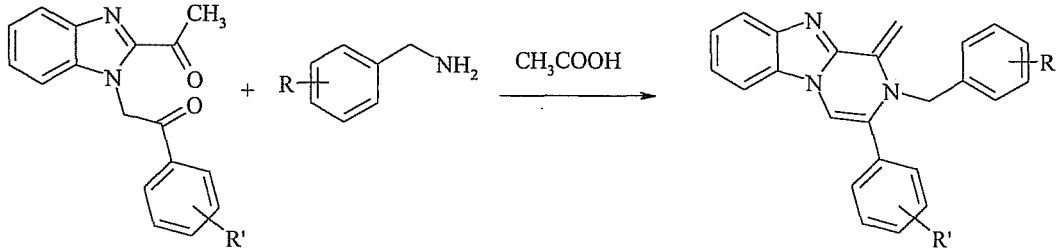
**Yöntem D: 1-(2-Aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazollerin Genel Elde Edilme Yöntemi**



Şekil 13. Yöntem D için Genel Sentez Şeması

2-Asetilbenzimidazol (10 mmol, 1,6 g), uygun bir 2-bromoasetofenon (0,01 mol) ve potasyum karbonat (10 mmol, 1,38 g) 50 mL aseton içerisinde oda sıcaklığında 3 saat karıştırılmış, aseton düşük sıcaklıkta uçurularak kalıntı suyla ve alkolle yıkanmıştır. Ham ürün etanolden kristallendirilmiştir.

**Yöntem E: 1-Metilen-2-(4-süstitüe benzil)-3-(4-aril)pirazino[1,2-a]benzimidazollerin Genel Elde Edilme Yöntemi**



Şekil 14. Yöntem E için Genel Sentez Şeması

1-(2-Aril-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol (5 mmol, 1,39 g) ve süstitüe benzilamin türevi (5 m mol) 50 mL asetik asit içerisinde 8 saat kaynatılmıştır. Karışım buzlu suya dökülerek sodyum karbonat ile ortam nötrleştirilmiştir. Çökelek süzülerek alınmış ve etanolden kristallendirilmiştir.

## Biyolojik Etki Testleri

### *Yöntem H: Antikanser Etki Testleri*

Bileşiklerin antikanser etkileri dokuz kanser tipinden (lösemi, akciğer, kolon, santral sinir sistemi, melanoma, yumurtalık, böbrek, prostat ve meme.) elde edilmiş, altmış değişik insan hücre dizisine karşı *in vitro* olarak denenmiştir. Bu etki testleri, NCI (Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü) tarafından geliştirilmiş ve yine aynı merkezde uygulanmıştır<sup>(1)</sup> (Boyd, 1989).

Test bileşiği DMSO'da çözülmüş ve  $10^{-4}$  ile  $10^{-8}$  M aralığında seyreltmeleri hazırlanıp, kanserli hücreler ilave edilmiş, bu arada test bileşiğinin bulunmadığı kontrol grubu da hazırlanarak 48 saatlik inkübasyon sonunda sülforodamin (SRB) protein boyama testi ile canlı hücrelerin varlığı ve büyümeleri spektrofotometrik olarak kontrol grubuna karşı değerlendirilmiştir.

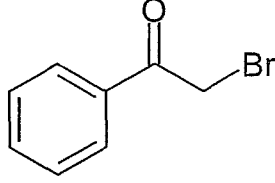
---

<sup>(1)</sup> Bileşiklerin antikanser etkilerinin National Cancer Instituted (NCI)'de yapılabilmesini sağlayan antlaşma metni, Ek. 19'da verilmiştir.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

### Sentez Çalışmaları

#### *2-Bromoasetofenon*

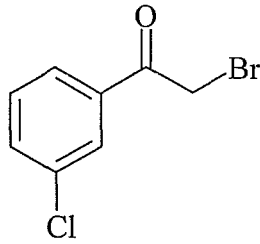


Asetofenon (100 mmol, 12 g, 11.6 mL) kullanılarak Yöntem A'ya göre elde edilmiştir.

E.N.: 49-51 °C

Bu bileşiğin erime noktası, literatürde 50 °C olarak bildirilmiştir (Cawper ve Davidson, 1943).

#### *3'-Kloro-2-bromoasetofenon*

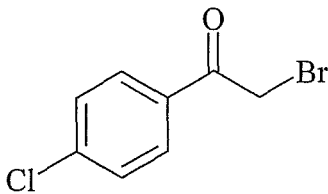


4'-Kloroasetofenon (0,1 mol, 15,45 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre elde edilmiştir.

E.N.: 41-43 °C

Bu bileşiğin erime noktası, literatürde 39-42 °C olarak bulunmuştur (Ling ve Xin, 2007).

#### *4'-Kloro-2-bromoasetofenon*

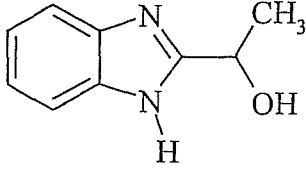


4'-Kloroasetofenon (100 mmol, 15,45 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre elde edilmiştir.

E.N.: 95-97 °C

Bu bileşimin erime noktası, literatürde 96-97 °C olarak bulunmuştur (Kröhnke, 1936).

### *2-(1-Hidroksietil) benzimidazol*

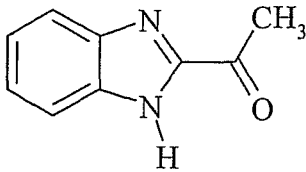


1,2- Diaminobenzen (100 mmol, 10,8 g) kullanılarak Yöntem B'ye göre elde edilmiştir.

E.N.: 178-180 °C

Bu bileşimin erime noktası, literatürde 178.5-179.5 °C olarak bulunmuştur (Siegart ve Day, 1957).

### *2-Asetilbenzimidazol*



2-(1-Hidroksietil)benzimidazol (10 mmol, 1,62 g) kullanılarak Yöntem C'ye göre elde edilmiştir.

E.N.: 188-190 °C

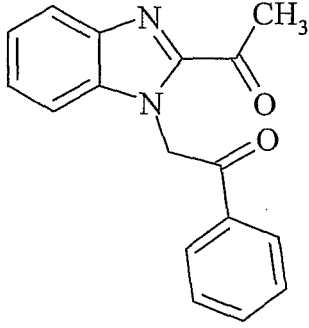
Bu bileşimin erime noktası, literatürde 188-189 °C olarak bulunmuştur (Cheeseman, 1964).

IR(KBr) $\nu_{\text{maks}}$ ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3288-2400 (N-H gerilim bandı), 1674 ( C=O gerilim bandı), 1600-1420 (C=C, C=N gerilim bandı).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz)(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 2.71 3H, s, COCH<sub>3</sub>), 7,36-7,48 (2H, m, Ar-H), 7.86-8.14 (2H, m, Ar-H), 12.4 (1H, yayvan s, N-H).

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

#### *1-(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol A1*



2-Asetilbenzimidazol (10 mmol, 1,6 g) ve 2-bromoasetofenon (10 mmol, 2,00 g) kullanılarak Yöntem D'ye göre elde edilmiştir.

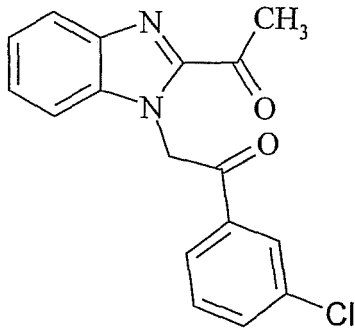
E.N. : 166-168 °C

Bu bileşiğin erime noktası, literatürde 166-168 °C olarak bulunmuştur (Demirayak ve Güven, 1995).

IR(KBr) $\nu_{\text{maks}}$ ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3132-3061 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2937-2850 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1686 (C=O gerilim bandı), 1593-1446 (C=C, C=N gerilim bandı).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz)(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 2.71 (3H, s, COCH<sub>3</sub>), 6.23 (2H, s, CH<sub>2</sub>CO), 7.36-7.48 (2H, m, Ar-H), 7.60 (1H, m, Ar-H), 7.72-7.82 (2H, m, Ar-H), 7.92 (2H, d, J : 7.95 Hz) Ar-H), 8.13 (2H, d, J : 8.09 Hz, Ar-H).

#### *1-[2-(3-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol A2*



2-Asetilbenzimidazol (10 mmol, 1,6 g) 3'-kloro-2-bromoasetofenon (10 mmol, 2,33 g) kullanılarak Yöntem D'ye göre elde edilmiştir.

Verim : % 72

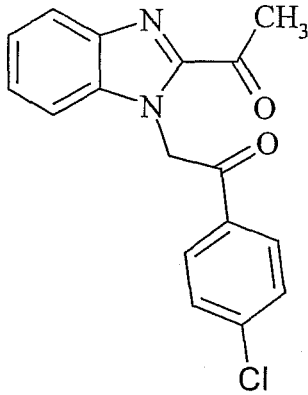
E.N.:151-153 °C

Analiz	: C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Hesaplanan (%)	: C:65.29 H:4.19 Cl:11.34 N:8.96 O:10.23
Bulunan (%)	: C:63.56 H: 4.02 Cl:11.59 N: 8.11 O:9.95

IR(KBr) $\nu_{maks}$ (cm<sup>-1</sup>): 3068-3020 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2993-2931 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1695 ( C=O gerilim bandı), 1620-1452 (C=C, C=N gerilim bandı).

<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)(DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 2.71 3H, s, COCH<sub>3</sub>), 6.24 (2H, s, CH<sub>2</sub>CO), 7.39-7.42 (1H, m, Ar-H), 7.45-7.49 (1H, m, Ar-H), 7.69 (1H, t, J : 7.94 Hz, J : 7.88 Hz, J : 7.91 Hz, Ar-H), 7.82 (1H, d, J : 8.24 Hz, Ar-H), 7.84-7.87 (1H, m, Ar-H), 7.91 (1H, d, J : 8.13 Hz, Ar-H), 8.06-8.09 (1H, m, Ar-H), 8.17 (1H, t, J : 1.82 Hz, J : 1.77 Hz, J : 1.81 Hz, Ar-H).

### 1-[2-(4-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol A3



2-Asetilbenzimidazol (10 mmol, 1,6 g) 4'-kloro-2-bromoasetofenon (10 mmol, 2,33 g) kullanılarak Yöntem D'ye göre elde edilmiştir.

E.N.:161-162 °C

Bu bileşiğin erime noktası, literatürde 161-162 °C olarak bulunmuştur (Demirayak ve Güven, 1995).

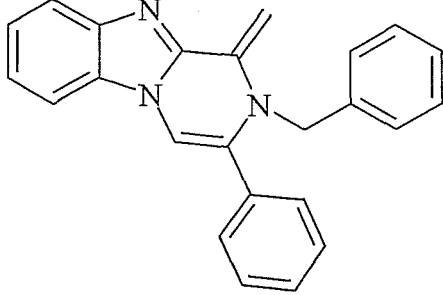
IR(KBr) $\nu_{maks}$ (cm<sup>-1</sup>): 3045-3025 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2933-2833 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1695 ve 1674 ( C=O gerilim bandı), 1587-1452 (C=C, C=N gerilim bandı).

<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)(DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 2.73 3H, s, COCH<sub>3</sub>), 6.24 (2H, s, CH<sub>2</sub>CO), 7.39-7.44 (2H, m, Ar-H), 7.70 (2H, d, J : 6.12 Hz, Ar-H), 7.96-7.97 (1H, m, Ar-H), 8.10 (2H, d, J : 8.15 Hz, Ar-H), 8.22 (1H, d, J : 7.75 Hz, Ar-H).



**1-Metilen-2-sübstitüe benzil-3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol Türevlerinin Eldesi**

**1-Metilen-2-benzil-3-fenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B1**



1-(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol (2 mmol, 0.556 g) ve benzilamin (2.2 mmol, 0.235 g, 0.24 mL) kullanılarak Yöntem E ye göre elde edilmiştir.

Verim: % 52

E.N.: 82-84 °C

Analiz

: C<sub>24</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>

Hesaplanan (%)

: C: 82.49

H: 5.48

N: 12.03

Bulunan (%)

: C: 82.44

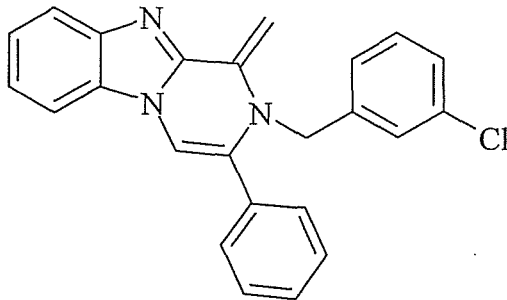
H: 5.17

N: 12.28

IR(KBr) $\nu_{\text{maks}}$ (cm<sup>-1</sup>): 3057-3000 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2926-2852 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1601-1471 (C=C, C=N gerilim bandı).

<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)(DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 4.64 (2H, d, J : 6.22 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>-), 6.62 (1H, s, Ar-H), 7.13 (1H, t, J : 6.34 Hz, J : 6.22 Hz, J : 6.28 Hz, Ar-H), 7.23 (1H, t, J : 7.27 Hz, J : 7.38 Hz, J : 7.33 Hz, Ar-H), 7.32-7.38 (4H, m, Ar-H), 7.45-7.50 (5H, m, Ar-H), 7.68 (2H, d, J : 8.02 Hz, Ar-H), 7.83 (1H, d, J : 8.16 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.35 (1H, d, J : 8.14 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.64 (1H, s, pirazinobenzimidazol C<sub>4</sub>-H).

**1-Metilen-2-(3-klorobenzil)-3-fenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B2**



1-(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol (2 mmol, 0.556 g) ve 3-klorobenzilamin (2.2 mmol, 0.313 g, 0.27 mL) kullanılarak Yöntem E ye göre elde edilmiştir.

Verim: % 56 E.N.: 74-75 °C

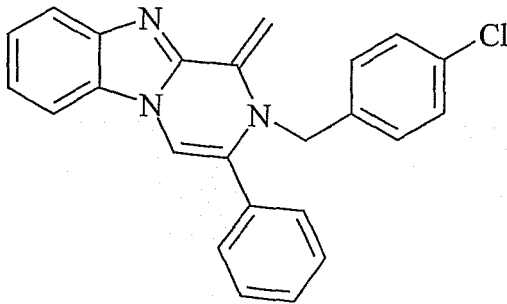
Analiz : C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>

Hesaplanan (%) : C: 75.09 H: 4.73 N: 10.95  
Bulunan (%) : C: 75.24 H: 4.77 N: 11.10

IR(KBr) $\nu_{\text{maks}}$ (cm<sup>-1</sup>): 3055-3030 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2837 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1585-1479 (C=C, C=N gerilim bandı).

<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)(DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 4.65 (2H, d, J : 6.03 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>-), 6.56 (1H, s, Ar-H), 7.25-7.55 (10H, m, Ar-H), 7.69 (2H, d, J : 8.07 Hz, Ar-H), 7.84 (1H, d, J : 8.21 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.36 (1H, d, J : 8.0 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.66 (1H, s, pirazinobenzimidazol C<sub>4</sub>-H).

### *1-Metilen-2-(4-klorobenzil)-3-fenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B3*



1-(2-Fenil-2-okzoetil)-2-asetilbenzimidazol (2 mmol, 0.556 g) ve 4-klorobenzilamin (2.2 mmol, 0.313 g, 0.27 mL) kullanılarak Yöntem E ye göre elde edilmiştir.

Verim: % 65 E.N.: 104-106 °C

Analiz : C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>

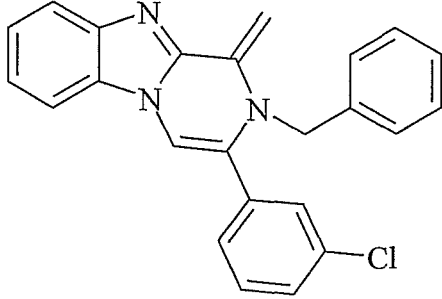
Hesaplanan (%) : C: 75.09 H: 4.73 N: 10.95  
Bulunan (%) : C: 74.95 H: 5.02 N: 10.68

IR(KBr) $\nu_{\text{maks}}$ (cm<sup>-1</sup>): 3057-3032 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2893-2845 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1562-1481 (C=C, C=N gerilim bandı).

<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)(DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 4.64 (2H, d, J : 6.38 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>-), 6.53 (1H, s, Ar-H), 7.22 (1H, t, J : 6.48 Hz, J : 6.43 Hz, J : 6.59 Hz, Ar-H), 7.35-7.40 (4H, m, Ar-H), 7.46-7.50 (5H, m, Ar-H), 7.69 (2H, d, J : 7.73 Hz, Ar-H), 7.83

(1H, d, J : 8.18 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.35 (1H, d, J : 8.10 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.66 (1H, s, pirazinobenzimidazol C<sub>4</sub>-H).

**1-Metilen-2-benzil-3-(3-klorofenil) -1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B4**



1-[2-(3-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (2 mmol, 0.624 g) ve benzilamin (2.2 mmol, 0.235 g, 0.24 mL) kullanılarak Yöntem E ye göre elde edilmiştir.

Verim: % 55

E.N.: 85-86 °C

Analiz

: C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>

Hesaplanan (%)

: C: 75.09    H: 4.73    N: 10.95

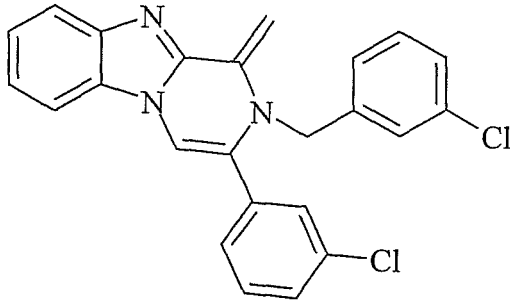
Bulunan (%)

: C: 75.24    H: 4.97    N: 10.90

IR(KBr) $\nu_{maks}$ (cm<sup>-1</sup>): 3059-3035 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2887 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1589-1465 (C=C, C=N gerilim bandı).

<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)(DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 4.66 (2H, d, J : 6.28 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>-), 6.56 (1H, s, Ar-H), 7.13 (1H, t, J : 6.34 Hz, J : 6.31 Hz, J : 6.32 Hz, Ar-H), 7.23 (1H, t, J : 7.49 Hz, J : 7.21 Hz, J : 7.35 Hz, Ar-H), 7.32-7.44 (4H, m, Ar-H), 7.46-7.52 (4H, m, Ar-H), 7.65 (1H, d, J : 7.74 Hz, Ar-H), 7.78-7.80 (1H, m, Ar-H), 7.84 (1H, d, J : 8.23 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.37 (1H, d, J : 8.15 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.74 (1H, s, pirazinobenzimidazol C<sub>4</sub>-H).

**1-Metilen-2-(3-klorobenzil)-3-(3-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]-benzimidazol B5**



1-[2-(3-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (2 mmol, 0.624 g) ve 3-klorobenzilamin (2.2 mmol, 0.313 g, 0.27 mL) kullanılarak Yöntem E ye göre elde edilmiştir.

Verim: % 72

E.N.: 105-106 °C

Analiz

: C<sub>24</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>

Hesaplanan (%)

: C: 68.91 H: 4.10 N: 10.04

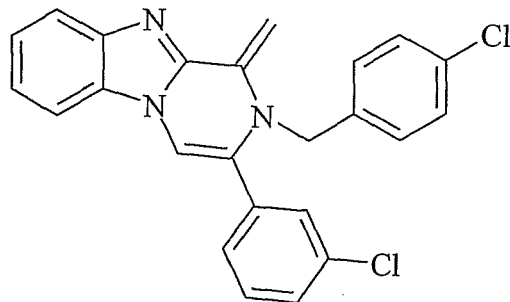
Bulunan (%)

: C: 69.22 H: 4.07 N: 10.2

IR(KBr) $\nu_{maks}$ (cm<sup>-1</sup>): 3097-3020 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2840 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1591-1471 (C=C, C=N gerilim bandı).

<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)(DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 4.65 (2H, d, J : 6.03 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>-), 6.56 (1H, s, Ar-H), 7.28-7.58 (9H, m, Ar-H), 7.67 (1H, d, J : 7.76, Hz, Ar-H), 7.80 (1H, s, Ar-H), 7.84 (1H, d, J : 8.26 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.38 (1H, d, J : 8.12 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.76 (1H, s, pirazinobenzimidazol C<sub>4</sub>-H).

**1-Metilen-2-(4-klorobenzil)-3-(3-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]-benzimidazol B6**



1-[2-(3-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (2 mmol, 0.624 g) ve 4-klorobenzilamin (2.2 mmol, 0.313 g, 0.27 mL) kullanılarak Yöntem E ye göre elde edilmiştir.

Verim: % 60

E.N.: 106-108 °C

Analiz

: C<sub>24</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>

Hesaplanan (%)

: C: 68.91 H: 4.10 N: 10.04

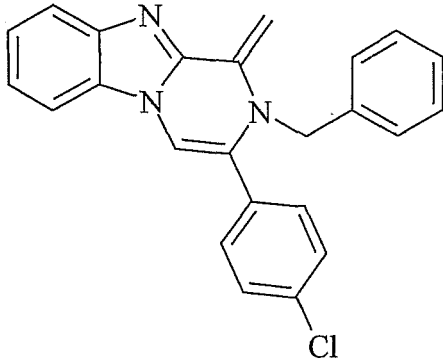
Bulunan (%)

: C: 69.10 H: 4.27 N: 10.10

IR(KBr) $\nu_{\text{maks}}$ (cm<sup>-1</sup>): 3051-3000 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2841 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1589-1465 (C=C, C=N gerilim bandı).

<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)(DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 4.65 (2H, d, J : 6.39 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>-), 6.55 (1H, s, Ar-H), 7.21 (1H, t, J : 6.41 Hz, J : 6.41 Hz, J : 6.41 Hz, Ar-H), 7.38-7.44 (4H, m, Ar-H), 7.47-7.52 (4H, m, Ar-H), 7.67 (1H, d, J : 7.74 Hz, Ar-H), 7.80 (1H, s, Ar-H), 7.84 (1H, d, J : 8.18 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.36 (1H, d, J : 8.17 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.75 (1H, s, pirazinobenzimidazol C<sub>4</sub>-H).

**1-Metilen-2-benzil-3-(4-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol B7**



1-[2-(4-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (2 mmol, 0.624 g) ve benzilamin (2.2 mmol, 0.235 g, 0.24 mL) kullanılarak Yöntem E ye göre elde edilmiştir.

Verim: % 54

E.N.: 174-176 °C

Analiz

: C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>

Hesaplanan (%)

: C: 75.09 H: 4.73 N: 10.95

Bulunan (%)

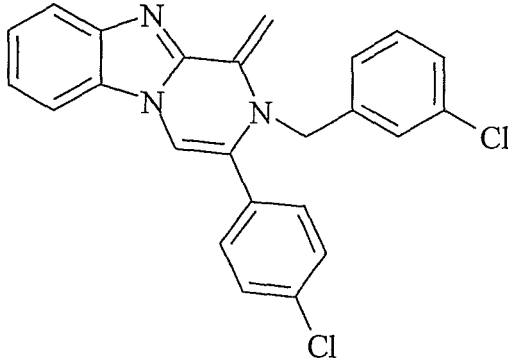
: C: 75.20 H: 4.57 N: 10.78

IR(KBr) $\nu_{\text{maks}}$ (cm<sup>-1</sup>): 3051 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2850 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1560-1464 (C=C, C=N gerilim bandı).

<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)(DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 4.64 (2H, d, J : 6.30 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>-), 6.54 (1H, s, Ar-H), 7.14 (1H, t, J : 6.40 Hz, J : 6.34 Hz, J : 5.93 Hz, Ar-H), 7.23 (1H, t,

J : 7.33 Hz, J : 7.36 Hz, J : 7.35, Hz, Ar-H), 7.33-7.39 (3H, m, Ar-H), 7.46-7.50 (3H, m, Ar-H), 7.53 (2H, d, J : 9.63 Hz, Ar-H), 7.73 (2H, d, J : 8.58 Hz, Ar-H), 7.83 (1H, d, J : 8.16 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.33 (1H, d, J : 8.18 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.70 (1H, s, pirazinobenzimidazol C<sub>4</sub>-H).

**1-Metilen-2-(3-klorobenzil)-3-(4-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]-benzimidazol B8**



1-[2-(3-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (2 mmol, 0.624 g) ve 3-klorobenzilamin (2.2 mmol, 0.313 g, 0.27 mL) kullanılarak Yöntem E ye göre elde edilmiştir.

Verim: % 62

E.N.: 191-193 °C

Analiz

: C<sub>24</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>

Hesaplanan (%)

: C: 68.91 H: 4.10 N: 10.04

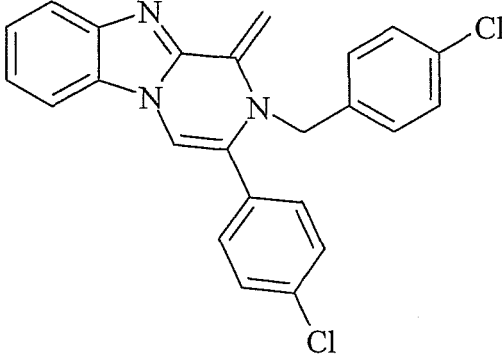
Bulunan (%)

: C: 68.66 H: 4.35 N: 10.20

IR(KBr) $\nu_{maks}$ (cm<sup>-1</sup>): 3049 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2864 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1558-1460 (C=C, C=N gerilim bandı).

<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)(DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 4.66 (2H, d, J : 6.42 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>-), 6.53 (1H, s, Ar-H), 7.24 (1H, t, J : 6.51 Hz, J : 6.45 Hz, J : 6.48 Hz, Ar-H), 7.36-7.40 (3H, m, Ar-H), 7.48-7.55 (3H, m, Ar-H), 7.54 (2H, d, J : 8.51 Hz, Ar-H), 7.74 (2H, d, J : 8.63 Hz, Ar-H), 7.84 (1H, d, J : 8.19 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.35 (1H, d, J : 8.18 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.70 (1H, s, pirazinobenzimidazol C<sub>4</sub>-H).

**1-Metilen-2-(4-klorobenzil)-3-(4-klorofenil)-1,2-dihidropirazino[1,2-a]-benzimidazol B9**



1-[2-(4-Klorofenil)-2-okzoetil]-2-asetilbenzimidazol (2 mmol, 0.624 g) ve 4-klorobenzilamin (2.2 mmol, 0.313 g, 0.27 mL) kullanılarak Yöntem E ye göre elde edilmiştir.

Verim: % 68

E.N.: 213-215 °C

Analiz

: C<sub>24</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>

Hesaplanan (%)

: C: 68.91 H: 4.10 N: 10.04

Bulunan (%)

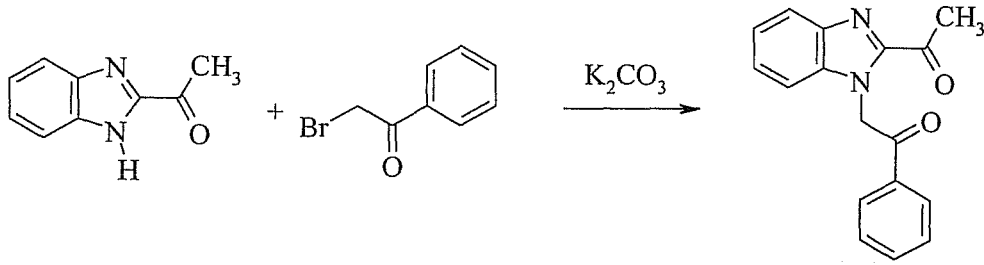
: C: 68.75 H: 3.92 N: 9.90

IR(KBr) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ : 3041 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2897 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1587-1460 (C=C, C=N gerilim bandı).

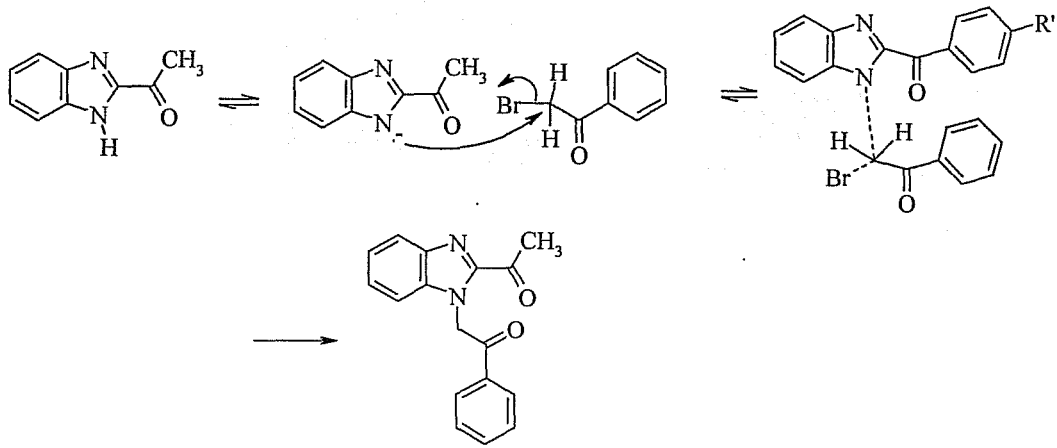
<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)(DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 4.64 (2H, d, J : 6.42 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>-), 6.53 (1H, s, Ar-H), 7.24 (1H, t, J : 6.51 Hz, J : 6.45 Hz, J : 6.48 Hz, Ar-H), 7.36-7.40 (3H, m, Ar-H), 7.47-7.51 (3H, m, Ar-H), 7.54 (2H, d, J : 8.76 Hz, Ar-H), 7.74 (2H, d, J : 8.63 Hz, Ar-H), 7.84 (1H, d, J : 8.19 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.35 (1H, d, J : 8.18 Hz, =CH<sub>2</sub>), 8.70 (1H, s, pirazinobenzimidazol C<sub>4</sub>-H).

## Uygulanan Sentez Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

1-Metilen-2-benzil-3-aril-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol türevlerinin sentezi iki basamak halinde verilebilir. İlk basamakta, 2-asetilbenzimidazol ile 2-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. Benzimidazolün N-H protonu asidik karakterdedir ve bazlarla kolayca kopartılarak metal tuzlarını oluşturduğu bilinmektedir (Preston ve ark., 1981). Bu nedenle benzimidazol yapısı bir nükleofil olarak  $\alpha$ -bromoasetofenon ile süstitüsyon reaksiyonuna ( $S_N2$ ) girerek beklenen ürün verdiği söylenebilir. **Bileşik A2** ilk kez bu çalışmada sentezlenmiş ve yapısı aydınlatılmıştır.



Şekil 15. 1-[2-(Fenil-2-okzoetil)]-2-asetilbenzimidazol

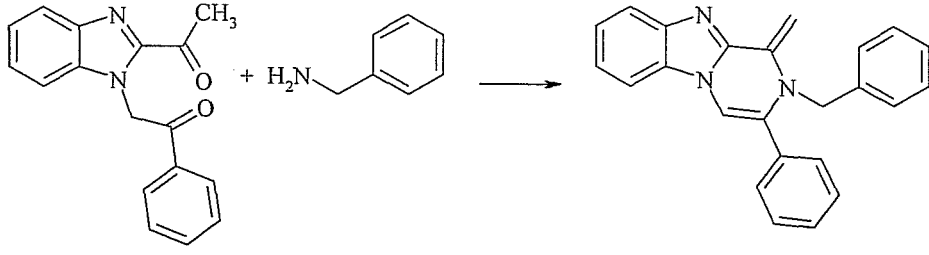


Şekil 16. 1-[2-(Fenil-2-okzoetil)]-2-asetilbenzimidazolün Önerilen Sentez Mekanizması

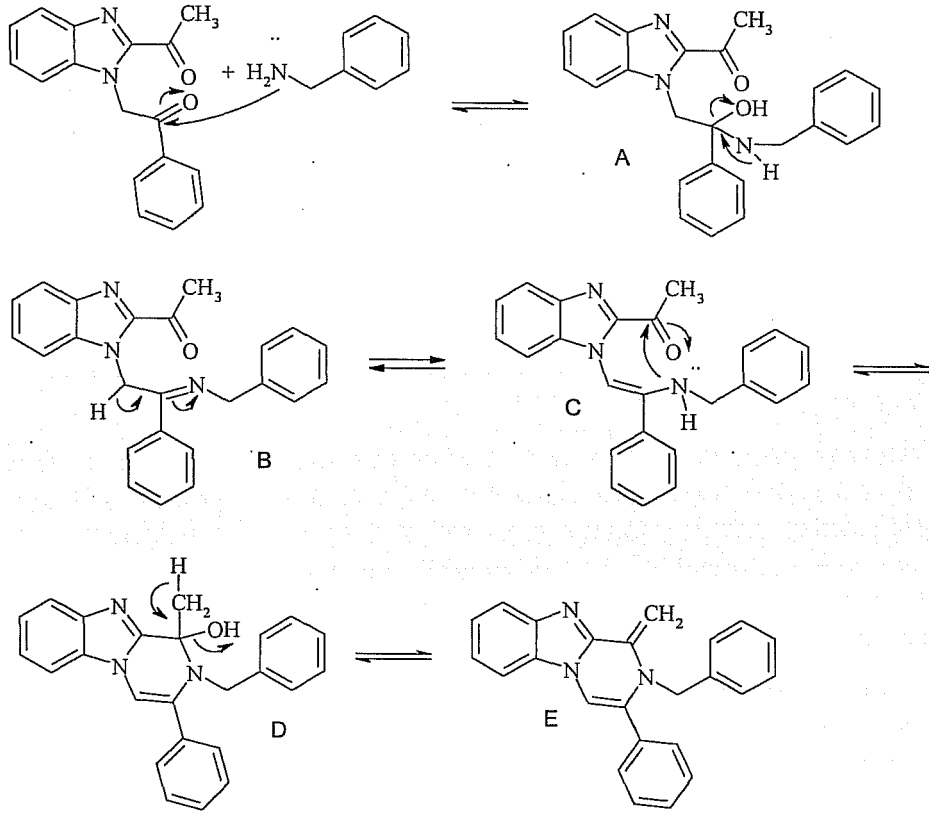
Kaynak bilgisi bölümünde belirtildiği gibi yüksek sıcaklıklarda veya kuvvetli bazik ortamda yapılan reaksiyonlar sonucunda bir intramoleküler kondenzasyon sonucu pirido[1,2-a]benzimidazol türevleri meydana gelmiştir (Demirayak ve Güven, 1995). Bu nedenle reaksiyon sırasında sıcaklığın düşük tutulmasına 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 benzilamin türevleriyle asetik asit içinde reaksiyona sokulmuştur. Bu reaksiyon için önerilen mekanizma Şekil 17 ve Şekil 18'de verilmiştir.





Şekil 17. 1-Metilen-2-benzil-3-fenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazol



Şekil 18. 1-Metilen-2-benzil-3-fenil-1,2-dihidropirazino[1,2-a]benzimidazolün önerilen sentez mekanizması

Önerilen reaksiyon mekanizmasına göre, benzilamin azotunun aroil karboniline atağıyla oluşan A türü, bir molekül su kaybıyla B türünü vermiştir. B türünün, enamin türü C ile mezomerik denge içerisinde olduğu varsayılarak, aminin, asetil karboniline atağıyla siklizasyonun sağlandığı ve D türünün oluştuğu söylenebilir. D türünün bir molekül su kaybıyla ekzosiklik metilen kalıntısına sahip olan bileşik E elde edilmiştir. Kaynak Bilgisi bölümünde de açıklandığı gibi, amin türevleri yerine amonyak öncülü olarak davranan amonyum asetat kullanılarak yapılan çalışmalarda yine pirazino-benzimidazol halka sistemi elde edilmiş ancak beklendiği gibi 2-metilen fonksiyonu oluşmamıştır (Demirayak ve Güven, 1995).

## Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

### *IR Bulguları*

Başlangıç maddesi olarak kullanılan 2-asetilbenzimidazolün IR spektrumunda benzimidazol halkasını karakterize eden N-H gerilim bandı, literatürde de belirtildiği gibi, 3300-2400  $\text{cm}^{-1}$  arasında yayvan bir bant olarak gözlenmiştir (Perchard ve Novan, 1968). Asetil kalıntısının karbonil grubuna ait bant, 1674  $\text{cm}^{-1}$  gözlenmiştir. 2-Asetilbenzimidazol ile 2-bromoasetofenonların reaksiyonundan elde edilen 1-[2-(aril-2-okzoetil)]-2-asetilbenzimidazol türevleri, ikişer tane karbonil grubu içermelerine rağmen sadece bir türev için, IR spektrumunda iki bant elde edilmiştir. Karbonil gruplarına ait bantlar 1695-1674  $\text{cm}^{-1}$  arasında kuvvetli gerilim bantları olarak gözlenmiştir. Bu süstitüsyon reaksiyonu sonucu, benzimidazol kalıntısının N-H grubuna ait karakteristik yayvan bant kaybolmuştur.

Diketon bileşiklerinin benzilamin türevleriyle halka kapanması reaksiyonu sonucunda söz konusu karbonil grupların kaybolması nedeniyle elde edilen bileşikler karakterize eden IR bantları artık gözlenememişlerdir (Demirayak ve Güven, 1995).

Sonuç maddelerimizin hepsi için ortak olan C=N ve C=C gerilim bandları 1600-1460  $\text{cm}^{-1}$  arası frekanslarda elde edilmiştir (Silverstein ve Webster, 1998).

### *NMR Bulguları*

2-Asetilbenzimidazol ile 2-bromoasetofenonların reaksiyonundan elde edilen 1-[2-(aril-2-okzoetil)]-2-asetilbenzimidazol türevlerinin NMR spektumları incelendiği zaman, asetil grubunun metil kalıntısı ve fenasil grubuna ait metilen kalıntısının en karakteristik pikler olduğu görülmüştür. Metil kalıntısına ait pikler, 2.7 ppm civarında gözlenirken, metilen protonları, 6.23 veya 6.24 ppm'de ve singletler olarak gözlenmişlerdir.

Diketon bileşiklerinden halka kapanması sonucu, başlangıç maddelerini karakterize eden metil pikleri kaybolmuş, oluşan metilen grubunun protonları, çok daha aşağı alana kayarak, aromatik proton pikleri arasında ve geminal bölünme kalıbına uygun olarak birbirinden oldukça uzak olarak ikişer dublet şeklinde 7,83-7.84 ve 8,35-8.38 ppm de gözlenmişlerdir. Bu dubletlere ait J değerleri 8,1-8,2 Hz civarında bulunmuştur.

Diketon bileşiklerindeki fenasil kalıntısının metilen protonlarına ait pikler halka kapanması sonucu, beklendiği gibi kaybolmuş, oluşan pirazinobenzimidazol halka kalıntısının C<sub>4</sub>-H protonları daha aşağı alana kayarak 8.7 ppm civarında singlet olarak gözlenmişlerdir.

Halka kapanmasından sonra, benzil aminlerden ileri gelen metilen kalıntıları, 4.65 ppm civarında J 6-6.4 Hz arası değerlerde dubletler olarak rezonansa uğramışlardır. Singlet olarak rezonans vermesi beklenen bu protonların, dublet olarak gözlenmesinin nedeni, benzil grubunun konformasyonel durumlarından dolayı, protonların kimyasal eşitsizliğe uğramasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Aromatik protonlara ait pikler, beklenen yerlerde ve beklenen yarımla değerlerine uygun olarak gözlenmişlerdir. 2-benzil grubuna ait aromatik protonlar, 3-aril protonlarına göre daha yüksek alanda gözlenmişlerdir. Söz konusu aril grupları monosübstitüe 1,3- veya 1,4-disübstitüedirlir. Bu duruma uygun olarak spektrumlarda beklenen yarımlar gözlenmiştir (Silverstein ve Webster, 1998)..

Benzimidazolün 1-sübstitüe olmayan türevlerinde N-H protonu N-1 ve N-3 arasında tautomerik denge göstermesi nedeniyle, C<sub>4</sub>-H ile C<sub>7</sub>-H ve C<sub>5</sub>-H ile C<sub>6</sub>-H' i protonları aynı alanda multipler olarak gözlenirken (Preston ve ark., 1981) bizim türevlerimizde birinci konum sübstitüe olmasından dolayı N-H tautomerin olamayacağı için pirazinobenzimidazol çekirdeğindeki C<sub>5</sub>-H ile C<sub>8</sub>-H protonlarının kimyasal çevreleri farklılaşmıştır ve farklı alanlarda pik vermişlerdir. Bunlardan C<sub>5</sub>-H protonları, çok karakteristik bir şekilde, diğer tüm aromatik proton piklerinden daha aşağı alanda 6.5 ppm civarında ve singletler olarak rezonansa uğramışlardır. C<sub>6</sub>-H, C<sub>7</sub>-H ve C<sub>8</sub>-H protonları ise genellikle diğer aromatik protonlarla çakışarak multipler içinde yer almışlardır.

### Antikanser Aktivite Test Sonuçları

NCI (Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü) tarafından yapılan ön denemeler ve değerlendirmelerden sonra sentezlenen bileşiklerden beşi seçilerek, daha sonraki test aşamasına kabul edilmiştir. Testler Yöntem H'ye göre yapılmıştır.

Bileşiklerin antikanser etkileri klinik olarak izole edilmiş dokuz kanser tipinden elde edilmiş altmış 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 (Central Nervous System 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. Öncelikle, söz konusu kanser hücrelerine karşı, seçilen bileşiklerin 10<sup>-5</sup> M derişimdeki büyüme yüzdeleri saptanmıştır. Bu değerlerin gösterildiği A2'ye ait bir örnek, Ek 3'de verilmiştir. İncelenen bileşiklere ait büyüme yüzdeleri Çizelge 1'de verilmiştir. Standart madde olarak melfalan ve *cis*-platin (*cis*-diaminodikloroplatin) kullanılmıştır. Bu bileşiklere ait büyüme yüzdeleri, değişik derişimlerde yapılmış ve Çizelge 2'de verilmiştir.

Testin esası, belirli derişim aralığında çözeltileri hazırlanan test bileşiğinin kanserli hücrelere karşı büyümei inhibe edici etkilerinin saptanmasıdır. Bu da canlı ve cansız hücrelerin saptanması, dolayısıyla yüzde inhibisyonun belirlenmesi, hücrelerin sülfomodamin (SRB) ile boyanarak spektrofotometrik olarak kontrol grubuna karşı değerlendirilmesi suretiyle gerçekleştirilmiştir.

Yüzde büyüme(PG) hesabı şu şekilde yapılır:

Eğer (ortalama OD<sub>test</sub> - ortalamaOD<sub>tsifir</sub>) ≥ 0 ise,

$$PG = 100 \times \frac{\text{OrtalamaOD}_{\text{test}} - \text{OrtalamaOD}_{\text{tsifir}}}{\text{OrtalamaOD}_{\text{kontrol}} - \text{OrtalamaOD}_{\text{tsifir}}}$$

Eğer (ortalama OD<sub>test</sub> - ortalamaOD<sub>tsfır</sub>) < 0 ise,

$$PG= 100x \frac{\text{OrtalamaOD}_{test} - \text{OrtalamaOD}_{tsfır}}{\text{OrtalamaOD}_{tsfır}}$$

Buradaki:

*OrtalamaOD<sub>tsfır</sub>*: Hücrelerin test bileşiğine maruz kalmasından hemen önceki SRB ile oluşturulan rengin optik dansite ölçüm değerlerinin ortalamasıdır.

*OrtalamaOD<sub>test</sub>*: Hücrelerin test bileşiğine maruz kalmasından 48 saat sonra SRB ile oluşturulan rengin optik dansite ölçüm değerlerinin ortalamasıdır.

*OrtalamaOD<sub>kontrol</sub>*: Hücrelerin test bileşiğine maruz bırakılmaksızın 48 saat sonra SRB ile oluşturulan rengin optik dansite ölçüm değerlerinin ortalamasıdır.

### ***Etki Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi***

İncelenen bileşiklere ait büyüme yüzdeleri, maddelerin 10<sup>-5</sup> M derişiminde saptanmış ve **Çizelge 1**'de verilmiştir. Standart madde olarak, kanser tedavisinde kullanılan iki önemli ilaç olan, melfalan ve *cis*-platin kullanılmıştır. Bu bileşiklere ait büyüme yüzdeleri, değişik derişimlerde yapılmıştır ve NCI tarafından da kullanılan değerlerdir. Bunların içinden bileşiklerimiz için kullanılan derişim olan 10<sup>-5</sup> M'a yakın olan derişimlerdeki değerler alınarak **Çizelge 2**'de toplu olarak verilmiştir. Her ne kadar, tam 10<sup>-5</sup> M derişimde değerler bulunmasa da ekstrapolasyon yoluyla, bu derişimdeki değerler yaklaşık olarak saptanabilir.

**Çizelge 1**'de verilen ortalama % büyüme yüzdesi değerleri incelendiği zaman, en düşük değer, % -31.30 ve bunun da bileşik A2'ye ait olduğu görülmüştür. Bu değer, ovaryum kanseri hücre tiplerinden OVCAR-3'e aittir. Bu olağan dışı duruma rağmen, bileşiklerimize karşı en duyarlı kanser hücre tiplerinin ovaryum kanseri değil lösemili hücreler olduğu açıkça görülmüştür.

Ortalama değerlere bakıldığı zaman en düşük değer yine, **Bileşik A2**'ye ait ve % 24.53 olduğu görülmüştür. Bundan sonraki diğer iki düşük değer, % 36.59 ve % 38.22'dir ve bunlar sırasıyla **Bileşik A1** ve **A3**'e aittir. Bu bileşiklerimiz, pirazinobenzimidazol türevlerinin başlangıç maddeleri olan diketon bileşikleridir.

Diketon bileşikleri için elde edilmiş olan büyüme yüzdesi değerlerinin, test yöntemine göre ve standart maddeler için elde edilen değerlerle kıyaslandığında, oldukça yüksek etki seviyesinde oldukları söylenebilir.

İncelemesi yapılan diğer maddeler, pirazinobenzimidazol türevleri olan **Bileşik B2, B3, B4** ve **B7**'dir. Bu bileşiklerin büyüme yüzdeleri, % 80 ve üzerindedir. Bu değerler, test yöntemine göre, bu bileşiklerin etki düzeylerinin düşük olduğunu göstermektedir.

**Çizelge 1. Bileşiklerin Büyüme Yüzdeleri**

Hücre Dizileri	Büyüme Yüzdeleri						
	A1	A2	A3	B2	B3	B4	B7
<b>NSCLC</b>							
A549/ATCC	32	15.25	16	184.54	70.56	79.22	87.16
EKVX	103	17.06	92	71.27	70.79	73.42	81.17
HOP-62	22	55.75	39	118.31	105.64	130.11	125.50
HOP-92	54	75.62	16	77.44	73.65	58.30	75.61
NCI-H226	74	104.70	53	80.83	76.86	96.17	92.71
NCI-H23	55	36.61	47	54.18	73.41	78.37	80.87
NCI-H322M	20	48.22	52	100.79	96.01	113.70	96.97
NCI-H460	14	4.22	16	81.32	88.22	88.60	91.76
NCI-H522	-10	-15.98	23	57.28	66.35	72.77	73.54
<b>CC</b>							
COLO 205	89	116.88	90	71.05	104.70	84.08	104.39
HCC-2998	61	29.91	-	80.42	89.23	86.84	92.03
HCT-116	21	5.82	21	63.48	63.02	64.02	79.97
HCT-15	19	27.32	42	67.35	78.20	75.21	82.16
HT29	101	93.95	59	88.80	77.45	77.55	91.79
KM12	33	8.72	25	95.44	86.88	93.62	103.84
SW-620	14	23.03	22	92.66	86.94	81.97	127.83
<b>BC</b>							
BT-549	34	34.85	43	97.82	142.39	143.00	117.67
HS 578T	14	18.99	60	103.87	87.01	91.32	196.08
MCF7	9	1.85	19	53.99	62.95	79.30	85.59
MDA-MB-231/AT	17	28.06	30	90.09	85.37	94.86	106.86
MDA-MB-435	4	-27.42	29	97.89	98.10	96.58	94.07
MDA-MB468	-	32.66	-	80.79	59.06	89.00	107.90
NCI/ADR-RES	4	13.86	14	62.68	79.44	68.58	84.12
T-47D	35	-11.32	22	48.05	66.04	46.13	67.12
<b>OC</b>							
IGROV1	27	-	20	55.23	106.30	74.40	75.59
OVCAR-3	27	-31.30	25	85.41	92.16	93.80	111.35
OVCAR-4	39	22.93	40	71.56	-8.06	91.53	103.76
OVCAR-5	161	47.52	-	72.08	99.92	86.75	101.70
OVCAR-8	20	10.07	29	91.12	75.61	79.22	92.27
SK-OV-3	8	17.49	63	85.83	83.45	107.63	107.66
<b>L</b>							
CCRF-CEM	23	5.08	22	86.32	78.93	80.25	99.07
HL-60(TB)	-7	-28.87	6	53.04	60.15	62.86	43.76
K-562	17	-0.21	19	59.25	59.12	47.48	60.26
MOLT-4	30	4.87	27	64.80	58.46	57.36	67.96
RPMI-8236	31	-11.83	24	30.93	35.25	48.43	76.68
SR	5	-12.63	32	-2.20	23.70	52.13	42.75
<b>RC</b>							
786-0	40	35.81	17	94.03	89.51	84.84	85.38
A498	95	88.52	102	90.46	84.69	84.40	108.49
ACHN	45	51.27	-	89.53	81.38	88.85	94.72
CAKI-1	29	5.79	32	85.71	79.01	95.53	88.09
RXF 393	40	2.00	66	77.53	65.65	76.37	86.88
SN12C	42	31.88	42	92.21	95.15	109.51	105.78
TK-10	94	34.34	112	137.90	119.12	121.76	103.27
UO-31	-14	28.28	48	52.18	48.24	80.35	66.41
<b>M</b>							
LOX IMVI	29	36.89	8	87.54	90.54	94.21	104.80
M14	35	16.58	21	81.15	85.22	99.69	94.15
MALME-3M	44	90.58	26	99.30	94.53	108.81	59.59
SK-MEL-2	49	61.92	61	70.43	69.73	42.17	71.80
SK-MEL-28	53	67.72	48	88.91	147.42	100.22	126.92
SK-MEL-5	-1	-13.23	-	72.35	79.06	89.96	111.93
UACC-257	73	36.52	38	89.97	75.41	94.84	91.88
UACC-62	24	31.46	10	68.02	71.03	93.19	90.88
<b>PC</b>							
DU-145	40	5.27	52	103.14	103.20	94.60	132.14
PC-3	27	-	34	-	-	-	-
<b>CNSC</b>							
SF-268	41	13.16	33	96.09	90.33	84.58	124.80
SF-295	6	8.35	62	94.91	89.78	85.19	100.83
SF-539	28	-31.29	44	104.61	96.39	107.64	104.20
SNB-19	50	24.10	44	79.14	85.27	73.40	85.11
SNB-75	70	20.99	-	103.24	-	105.08	120.62
U-251	20	14.31	27	92.84	90.92	85.09	91.67
<b>Ortalama</b>	36.59	24.53	38.22	80.08	80.77	85.51	94.57

**Çizelge 2. Standart Olarak Kullanılan Maddeler için Büyüme Yüzdeleri**

Hücre Dizileri	Büyüme Yüzdeleri					
	Melfalan			Cis-Platin		
	10 <sup>-6,6</sup>	10 <sup>-5,6</sup>	10 <sup>-4,6</sup>	10 <sup>-6,3</sup>	10 <sup>-5,3</sup>	10 <sup>-4,3</sup>
<b>NSCLC</b>						
A549/ATCC	104	101	23	93	9	-65
EKVX	95	79	56	65	19	1
HOP-62	84	73	12	63	6	1
HOP-92	86	68	17	33	-20	-46
NCI-H226	98	87	39	58	32	-99
NCI-H23	91	84	27	39	-64	-20
NCI-H322M	91	65	24	69	18	-100
NCI-H460	99	69	2	89	-9	-100
NCI-H522	68	13	-39	6	-65	-81
<b>CC</b>						
COLO 205	102	79	1	91	-100	-100
HCC-2998	98	87	8	40	3	-68
HCT-116	106	104	24	34	2	-100
HCT-15	87	98	24	98	5	-87
HT29	96	86	-45	97	6	-100
KM12	99	84	14	78	6	-23
SW-620	98	93	3	57	1	-100
RKOp53RE1	-	-	-	55	-100	-100
<b>BC</b>						
BT-549	-	-	-	71	21	-44
HS 578T	92	87	18	56	9	-61
MCF7	99	83	7	86	9	2
MDA-MB-231/ATCC	101	97	83	104	34	-42
MDA-MB-435	87	81	25	71	12	-84
NCI/ADR-RES	-	-	-	55	2	-70
T-47D	144	153	40	25	7	-100
MDA-N	88	87	52			
<b>OC</b>						
IGROV1	66	27	7	30	4	-75
OVCAR-3	96	59	-68	7	5	-
OVCAR-4	90	89	48	38	-18	-33
OVCAR-5	94	88	62	44	2	-36
OVCAR-8	108	94	6	42	3	-92
SK-OV-3	-	-	-	105	11	1
<b>L</b>						
HL-60(TB)	91	69	-32	6	1	1
K-562	-	-	-	97	6	1
MOLT-4	84	23	-75	23	1	1
RPMI-8226	106	99	13	56	-	-27
SR	100	73	-68	-	-	-
<b>RC</b>						
786-0	97	94	15	40	-100	-100
A498	103	91	45	-	-	-
ACHN	100	94	13	75	-100	-84
CAKI-1	91	66	-15	30	-25	-58
RXF 393	82	78	-19	39	-26	-26
SN12C	91	79	2	-	-	-
TK-10	103	99	61	88	20	-17
UO-31	96	92	43	93	28	-96
<b>M</b>						
LOX IMVI	63	35	3	26	-1	-94
M14	101	95	26	68	4	1
MALME-3M	85	56	2	42	-2	-100
SK-MEL-2	105	103	78	107	22	-33
SK-MEL-28	89	85	38	87	11	-36
SK-MEL-5	111	97	29	-	-	-
UACC-257	90	81	39	62	22	-92
UACC-62	-	-	-	62	16	1
<b>PC</b>						
DU-145	95	92	69	86	-100	-100
PC-3	-	-	-	18	8	1
<b>CNSC</b>						
SF-268	94	77	-6	28	-91	-91
SF-295	103	107	13	-	-	-
SF-539	98	87	7	51	-100	-100
SNB-19	101	96	18	80	7	-
SNB-75	97	91	22	98	11	16
U-251	84	79	-30	46	2	-100
<b>Ortalama</b>	<b>94.85</b>	<b>82.13</b>	<b>14.36</b>	<b>59.39</b>	<b>-10.11</b>	<b>-56.79</b>

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, diketon bileşikleri olan, **Bileşik A1, A2 ve A3**, oldukça yüksek etki değerlerine sahiptirler. Bundan önce yapılmış (Demirayak ve Mohsen, 2002; Demirayak ve Kayagil, 2005) veya devam etmekte olan diğer çalışmalarımızda da, benzer şekilde başlangıç maddeleri olan diketon bileşiklerinin, bunlardan halka kapanması sonucu elde edilen pirazinobenzimidazol veya imidazopirazin türevlerinden daha etkili oldukları saptanmıştı. Bundan sonraki çalışmalarımızda, diketon bileşikleri üzerinde yoğunlaşarak daha yüksek etki değerlerine ulaşmak hedeflenmektedir. Bu çalışmada, süstitüe olmayan aril kalıntıları yanında, 3- veya 4-kloroaril grupları seçilmiştir. En etkili olan bileşiğin 3-kloroaril grubu taşıyan bir türev olduğu göz önüne alınarak, daha sonra yapılacak çalışmalarda, 2- ve 3-kloroaril gruplarının oluşturulması denenecektir. Ayrıca kloro grubu yanında, biyoizosterik grup olarak floro ve metoksi gruplarının da yerleştirilmesine çalışılacaktır.

## KAYNAKLAR

Alican, F., Kanser, Afa Matbaacılık, İstanbul, 1-88, 1993.

Boruah, R.C., Skibo, E.B., 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).

Boyd, M.R., Status of the NCI preclinical antitumor drug discovery screen, Principles and Practice of Oncology, 3, 2-7 (1989).

Canca, M.Ş., İnsan ve Kanser, Sivas Kanser Savaş Derneği Yayınları No:2, Sivas, 1-20, 1981.

Cavallito, C.J., Haskell, T.H.,  $\alpha$ -Methylene Butyrolactone from Erythronium Americanum, J. Am. Chem. Soc., 68, 2332-2334 (1946).

Cawper, R.N., Davidson, L.H.,  $\alpha$ -Bromoacetophenone, Org. Syn. Coll. Vol., 2, 480-482 (1943).

Cheeseman, G.W., 2-Acetylbenzimidazole, J. Chem. Soc., 4645-4646 (1964).

Delgado, J.N., Remers, W.A., Witson And Gisvold's Textbook Of Organic Medicinal And Pharmaceutical Chemistry, 9th Ed., Lippincott, J. B., 313-358 1991.

Demirayak, Ş., Abu Mohsen, U., Karaburun, A.Ç., Synthesis and anticancer and anti-HIV testing of some pyrazino[1,2-a]benzimidazole derivatives, Eur. J. Med. Chem., 37, 255-260 (2002).

Demirayak, Ş., Güven, K., Synthesis of some pyrido- and pyrazino-benzimidazole derivatives and their antifungal activity, Pharmazie, 50, 527-529 (1995).

Demirayak, Ş., Kayagil, İ., Synthesis of some 6,8-diarylimidazo[1,2-a]pyrazine derivatives by using either reflux or microwave irradiation method and investigation of their anticancer activities, J. Heterocyclic Chem., 42, 319-325 (2005).

Demirayak, Ş., Mohsen, U.A., Anticancer and Anti-HIV Activities of some pyrido/pyrazino-benzimidazole Derivatives, Acta Pharm. Turc., 41, 9-12 (1998).

Demirayak, Ş., Mohsen, U.A., Chevallet, P., Erdeniz, H., Kiraz, M., Synthesis of some 1-(2-arylvinyl)-3-Arylpyrazino[1,2-a]benzimidazole Derivatives and Their Antimicrobial Activities, Farmaco, 51, 825-827 (1996).

Foye, W.O., Cancer Chemotherapeutic Agents, American Chemical Society, Washington DC, 1-212, 1995.



Foye, W.O., Lemke, T.L., Williams, D.A., Principles Of Medicinal Chemistry, 4th Ed., Williams And Wilkins, London, 822-845, 1995.

Grinev, A.N., Druzhinina, A.A., Sorokino, I.K., Khim. Geterotskil, Soedin, 1266-1268 (1976), Chem. Abstr. 86, 29761 (1977).

Guyton, A.C., Hall, J.E., Tibbi Fizyoloji, Çev. Ed. Çavuşoğlu, H., Çağlayan-Yeğen, B., Nobel Matbaacılık, Ankara, 1-78, 2006.

Hernandez, R., Velazquez, S.M., Suarez, E., Synthesis of (+)-8-Deoxyvernolepin. J. Org. Chem., 59, 6395-6403 (1994).

Howie, G.A., Manni, P.E., Cassady, J.M., Synthesis of Alkyl- Substituted  $\alpha,\beta$ -Unsaturated  $\gamma$ -Lactones as Potential Antitumor Agents, J. Med. Chem., 17, 840-843 (1974).

Kayaalp, O., Rasyonel Tedavi Yönünden Farmakoloji Ders Kitabı, 10. Baskı, Hacettepe-Taş Yayınevi, Ankara, Cilt I, 372-407, 2002.

Kayagil, İ., Bazı 2,3,6,8-Tetraarilimidazo[1,2-a]Pirazin Türevlerinin Isıtma ve Mikrodalga Işıma Yöntemleri Kullanılarak Sentezi ve Antikanser Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2007)

Kröhnke, F., Theory and practice of the halogenation of active methyl and methylene groups, Chem. Ber., 69B, 921-935 (1936).

Kupchan, S.M., Eakin, M.A., Thomas, A.M., Tumor Inhibitors. 69. Structure-Cytotoxicity Relationships among the Sesquiterpene Lactones, J. Med. Chem., 14, 1147-1152 (1971).

Lee, C.H., Skibo, E.B., 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).

Lemus, R.H., Lee, C.H., Skibo, E.B., 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).

Lemus, R.H., Skibo, E.B., Studies of Extended Quinone Methides. Design of Reductive Alkylating Agents Based on The Quinazoline Ring System, J. Org. Chem., 53, 6099-6105 (1988).

Lin, A.J., Cosby, L.A., Shansky, C.W., Sartorelli, A.C., Potential Bioreductive Alkylating Agents. 1. Benzoquinone Derivatives, J. Med. Chem., 15, 1247-1252 (1972).

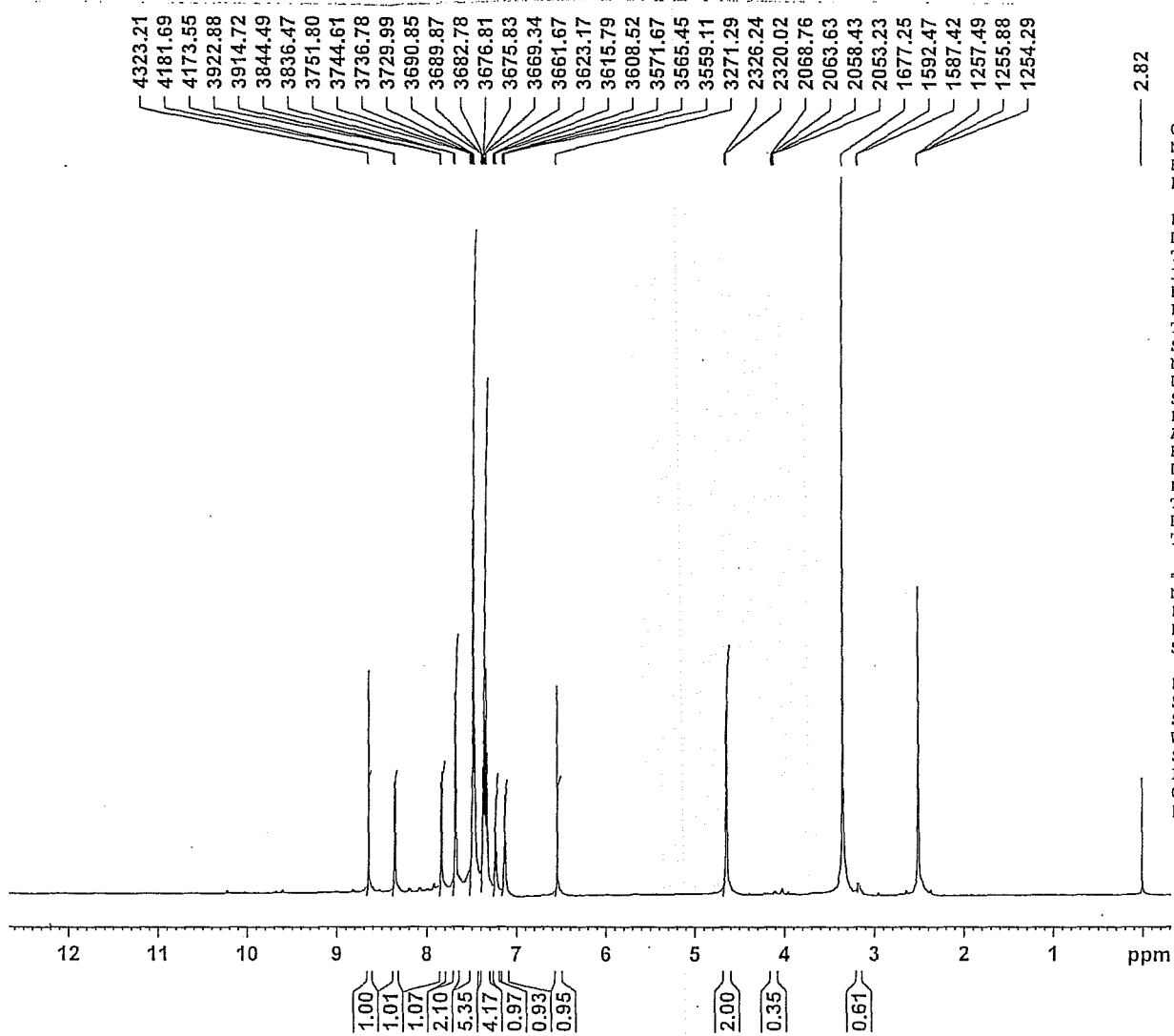
- Lin, A.J., Cosby, L.A., Shansky, C.W., Sartorelli, A.C., Potential Bioreductive Alkylating Agents. 3. Synthesis and Antineoplastic Activity of Acetoxymethyl and Corresponding Ethyl Carbamate Derivatives of Benzoquinones, *J. Med. Chem.*, 17, 558-561 (1974a).
- Lin, A.J., Pardini, R.S., Lillis, B.J., Sartorelli, A.C., Potential Bioreductive Alkylating Agents. 4. Inhibition of Coenzyme Q Enzyme Systems by Lipoidal Benzoquinone and Naphthoquinone Derivatives, *J. Med. Chem.*, 17, 668-672 (1974b).
- Ling, S., Xin, Z., Qing, Z., Jian-Bing, L., Jin Zhong, J. ve Jian-Xin, F., Synthesis, Structure, and Biological Activity of Novel 1H-1,2,4-Triazol-1-yl-thiazole Derivatives, *Synth. Commun.*, 37, 199-207 (2007).
- Moore, H.W., Bioactivation as a Model for Drug Design Bioreductive Alkylation, *Sciences*, 197, 527-532 (1977).
- Moody, C.J., Swann, E., Novel Bioreductive Anticancer Agents Based on Indolequinones, *Il Farmaco*, 52, 271-279 (1997).
- Perchard, C., Novan, A., Far-Infrared Spectra and Hydrogen-Bond Frequencies of Imidazole, *J. Chem. Phys.*, 48, 3079-3084 (1968).
- Pratt, W.B., Ruddon, R.W., Ensminger, W.D., Maybaum, J., *The Anticancer Drugs*, 2nd Ed., Oxford Univ. Press, New York, 69-198, 1994.
- Preston, P.N., Smith, D.M., Tennant, G., *Benzimidazoles and Congeneric Tricyclic Compounds, Part I and II*, John Wiley and Sons, New York, 1981.
- Quyang, A., Skibo, E.B., Design of a Cyclopropyl Quinone Methide Reductive Alkylating Agent, *J. Org. Chem.*, 63, 1893-1900 (1998).
- Rosowsky, A., Papathanasopoulos, N., Lazarus, H., Foley, G. E., Modest, E. J., Cysteine Scavengers.2. Synthetic  $\alpha$ -Methylenebutyrolactones as Potential Tumor Inhibitors, *J. Med. Chem.*, 17, 672-676 (1974).
- Shedov, V.I. Altukhova, L.B., Chernysshkova, L. A., Grinev, A. N., *Khim. Farm. Zh.*, 3, 15-19, (1969), *Chem. Abstr.*, 72, 66899 (1970).
- Siegart, W.R., Day, A.R., Metabolit Analogs. VII. Preparation of Some Benzimidazolyl Analogs of Ethyl Pteroylglutamate, *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 4391-(1957).
- Silverstein, R.M., Webster, F.X., *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 6th Ed., John Wiley & Sons, New York, 144-216 (1998).

Skibo, E.B., Studies of Extended Quinone Methides. The Hydrolysis Mechanism of 1-Methyl-2-(bromomethyl)-4,7-dihydroxybenzimidazole, *J. Org. Chem.*, 51, 522-527 (1986).

Skibo, E.B., Formation and Fate of Benzimidazole-Based Quinone Methides. Influence of pH on Quinone Methide Fate. *J. Org. Chem.*, 57, 5874-5878 (1992).

Thurston, D.E., Chemistry and pharmacology of anticancer drugs, CRC Press, New York, 37-125, 2007.

Wolf, M.E., Burger's Medicinal Chemistry Part II, 4th Ed., John Wiley And Sons, New York, 2-45, 1979.



2.82

```

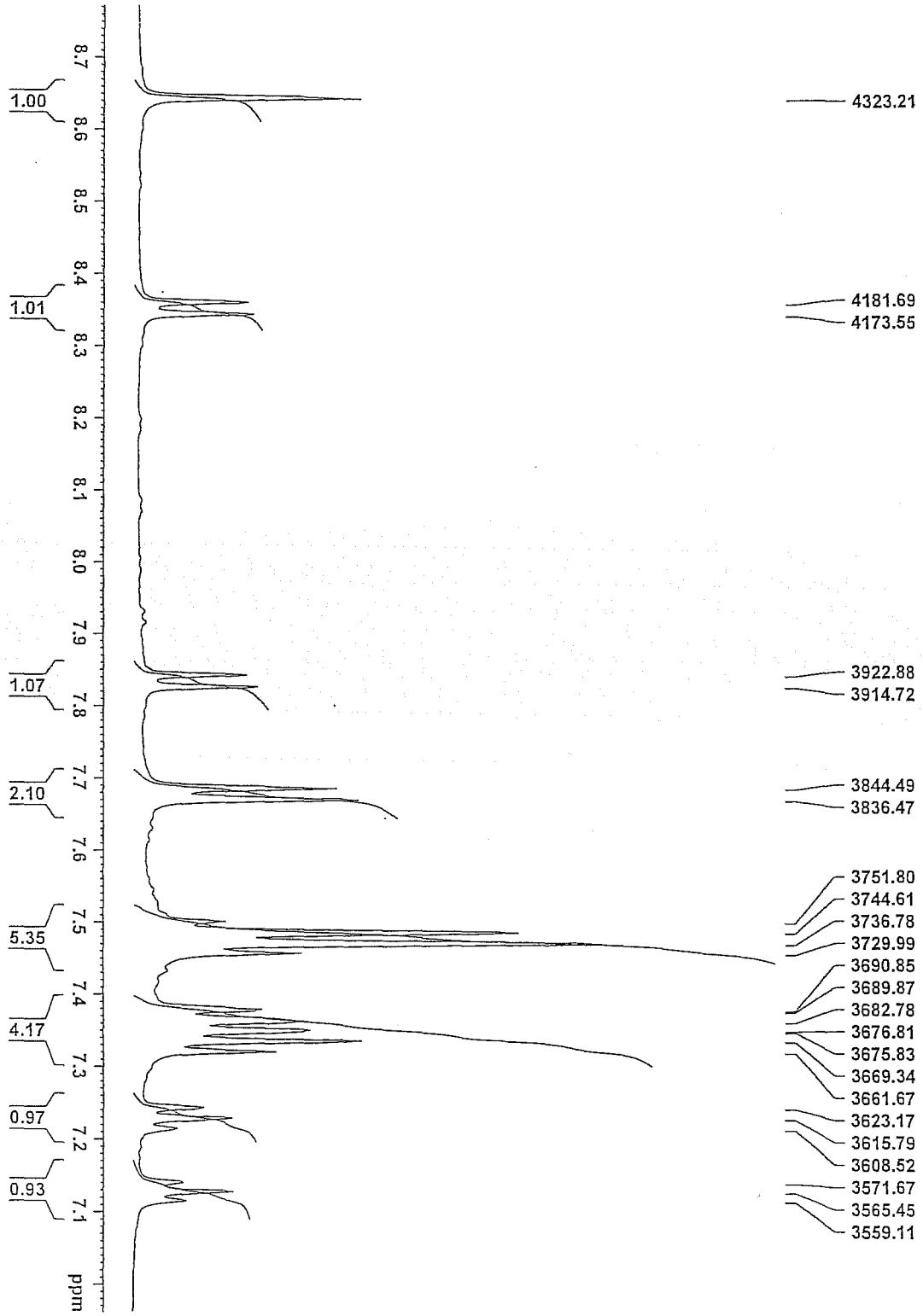
Current Data Parameters
NAME      SEREF DEMIRAYAK
EXPNO     64
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date      20080526
Time      11.59
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm PABBO BB-
PULPROG   zg30
TD         65536
SOLVENT   DMSO
NS         16
DS         2
SWH        10330.578 Hz
FIDRES     0.157632 Hz
AQ         3.1719923 sec
RG         287
DW         48.400 usec
DE         6.00 usec
TE         294.6 K
D1         1.0000000 sec
TD0        1

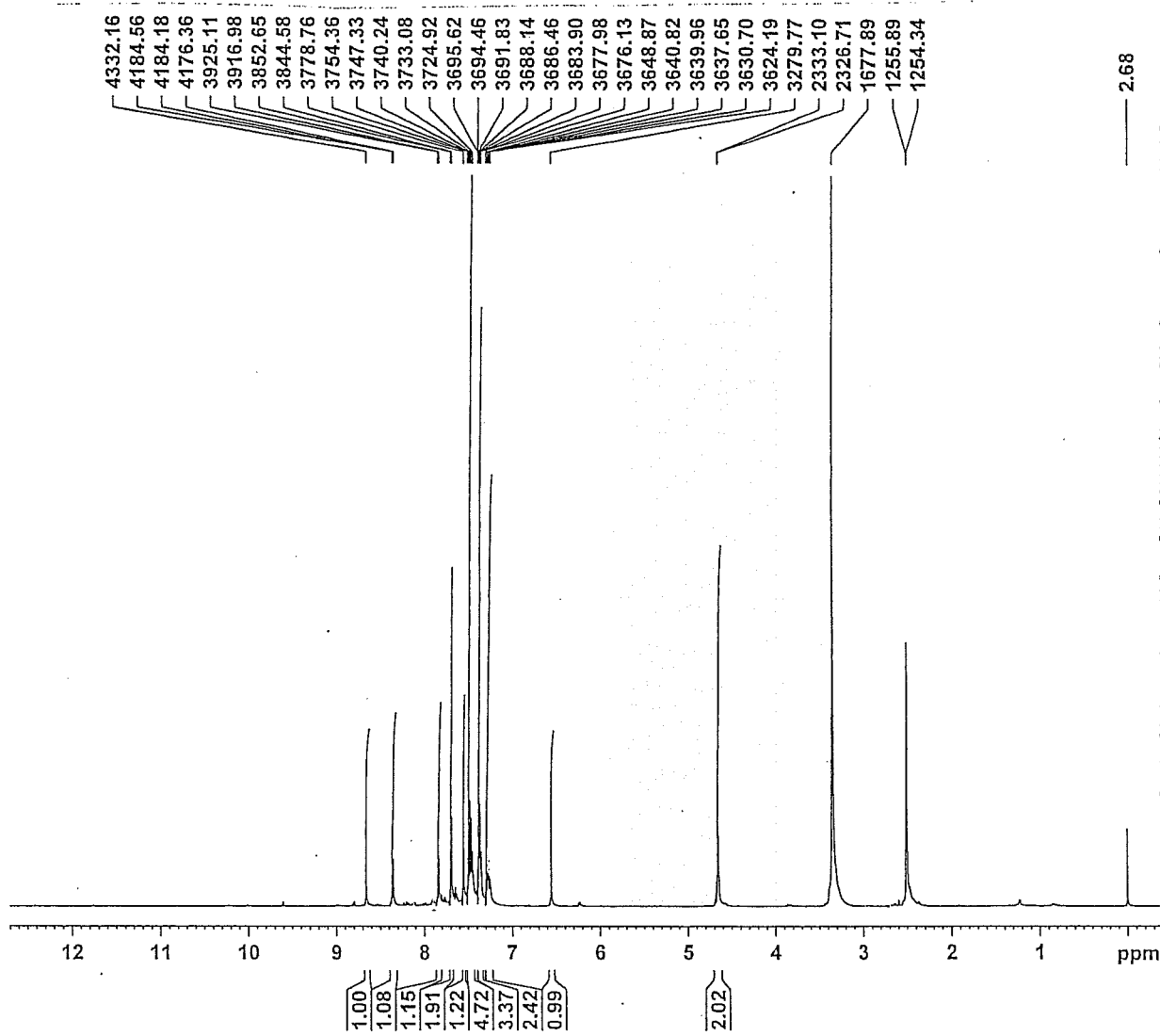
===== CHANNEL f1 =====
NUC1       1H
P1         14.15 usec
PL1        1.42 dB
SF01       500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         500.1300000 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.30 Hz
GB         0
PC         1.00
    
```

**EKLER**  
Ek 1 Bileşik B1'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu



Ek 2 Bileşik B1'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge genişletilmiş)



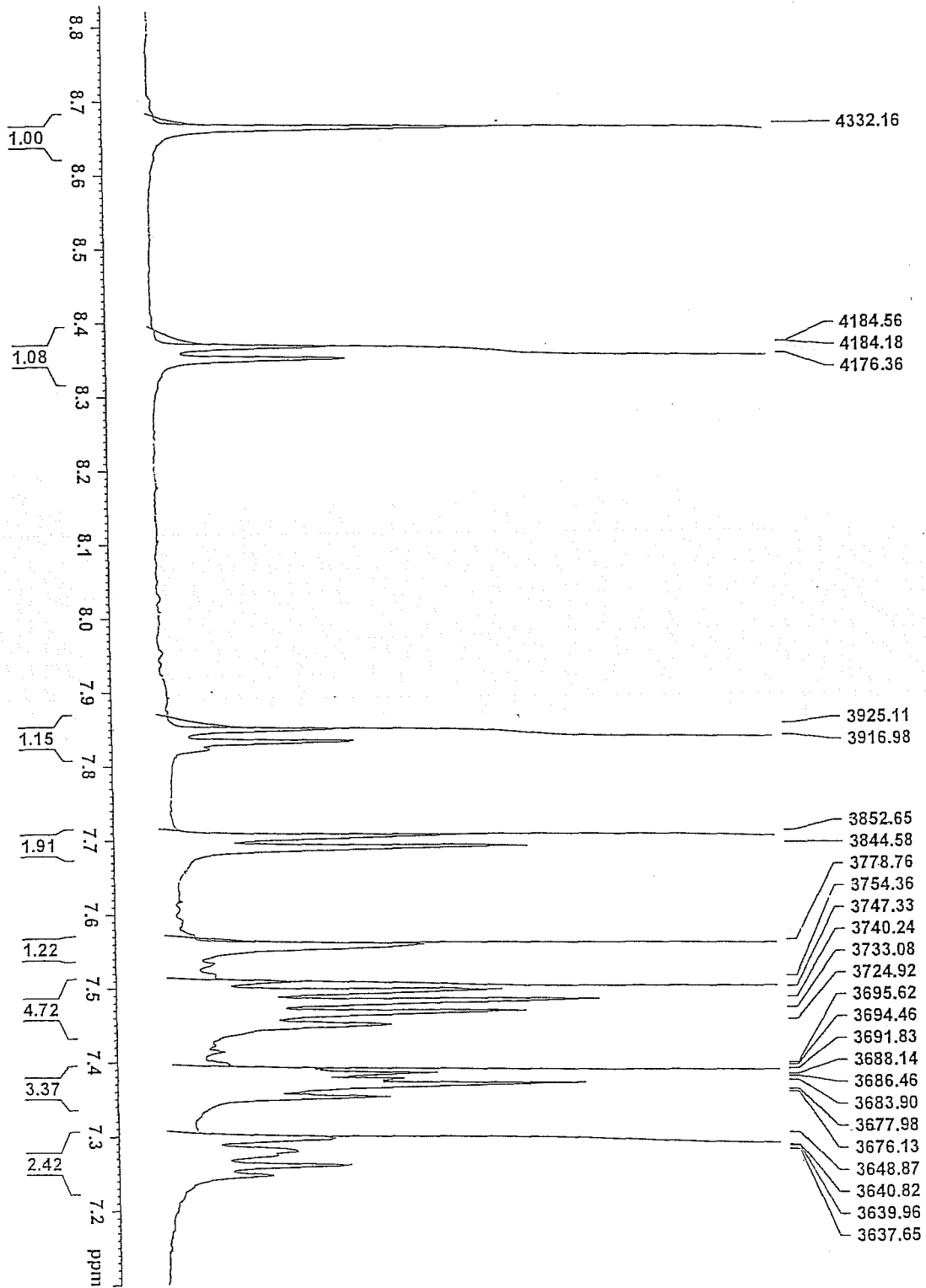
Current Data Parameters  
 NAME SEREF DEMIRYAK  
 EXPNO 65  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date 20080526  
 Time 12.11  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm PABBO BB-  
 PULPROG zg30  
 TD 65536  
 SOLVENT DMSO  
 NS 16  
 DS 2  
 SWH 10330.578 Hz  
 FIDRES 0.157632 Hz  
 AQ 3.1719923 sec  
 RG 287  
 DW 48.400 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 294.6 K  
 D1 1.00000000 sec  
 TD0 1

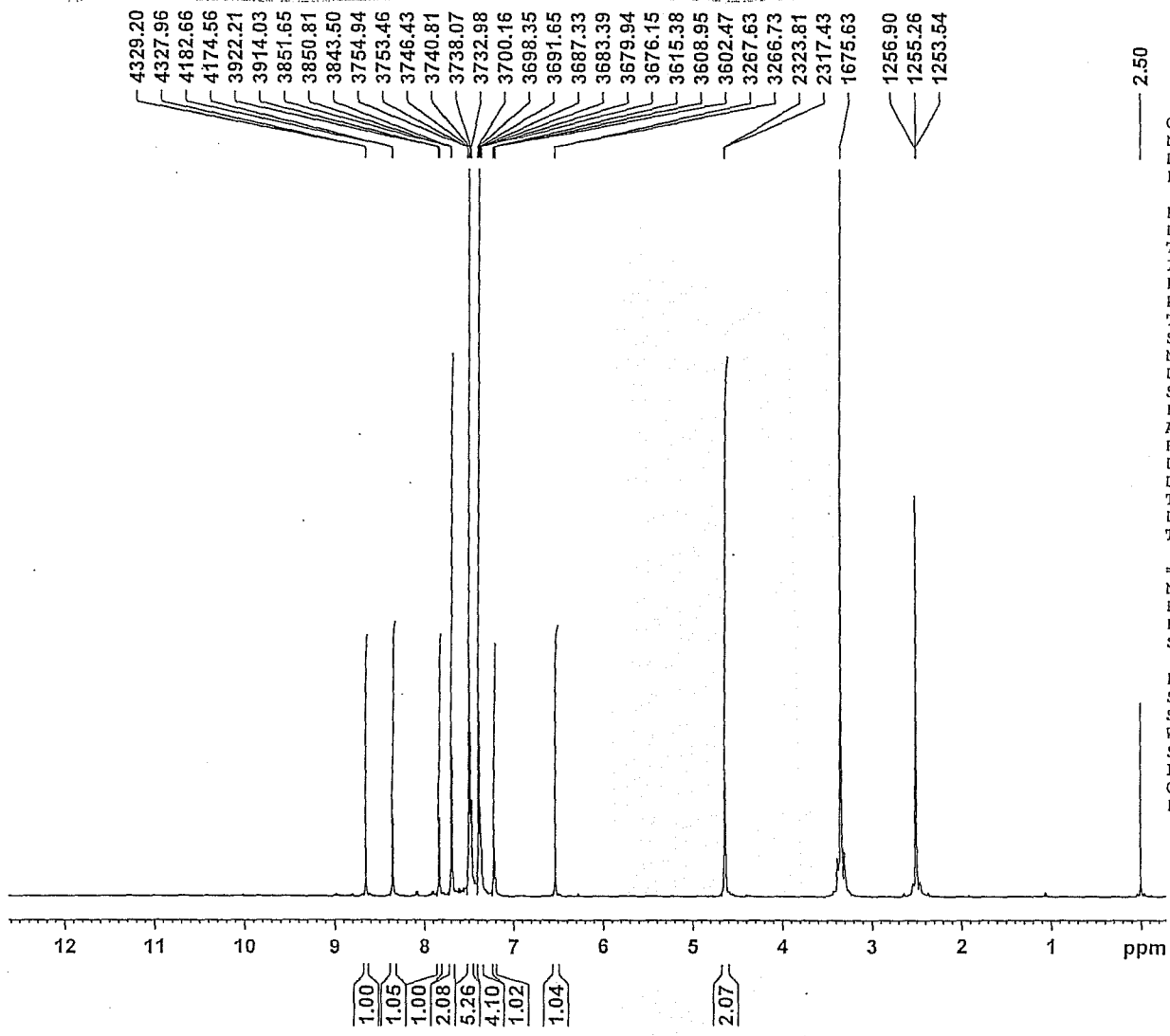
==== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 14.15 usec  
 PL1 1.42 dB  
 SFO1 500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 500.1300000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Ek 3 Bileşik B2'ye ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu



Ek 4 Bilesik B2'ye ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge genişletilmiş)



```

Current Data Parameters
NAME      SEREF DEMIRYAK
EXPNO     67
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20080527
Time_     10.05
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm PABBO BB-
PULPROG   zg30
TD         65536
SOLVENT   DMSO
NS         16
DS         2
SWH        10330.578 Hz
FIDRES     0.157632 Hz
AQ         3.1719923 sec
RG         203
DW         48.400 usec
DE         6.00 usec
TE         294.6 K
D1         1.00000000 sec
TD0        1

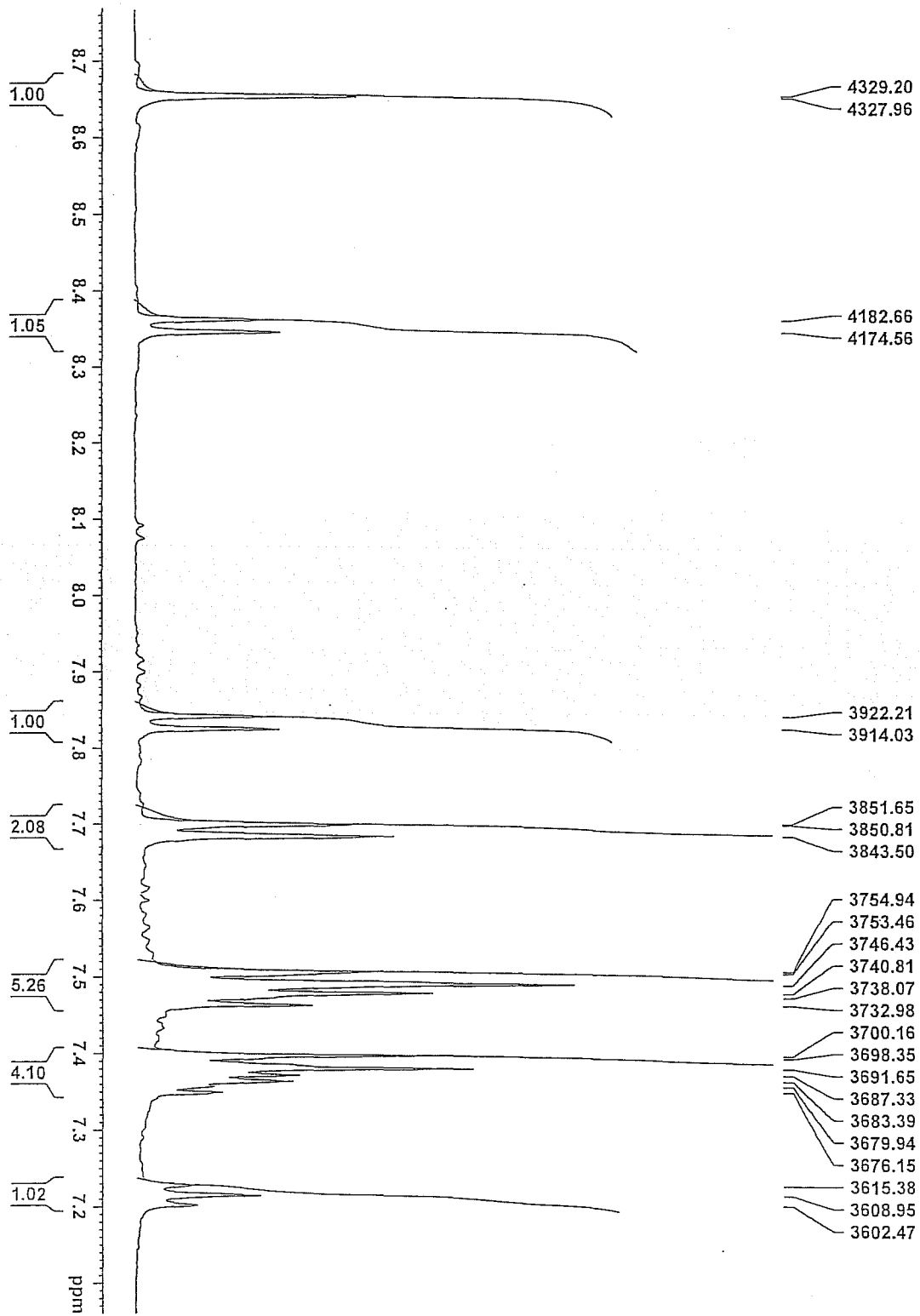
===== CHANNEL f1 =====
NUC1       1H
P1         14.15 usec
PL1        1.42 dB
SFO1       500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         500.1300000 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.30 Hz
GB         0
PC         1.00

```

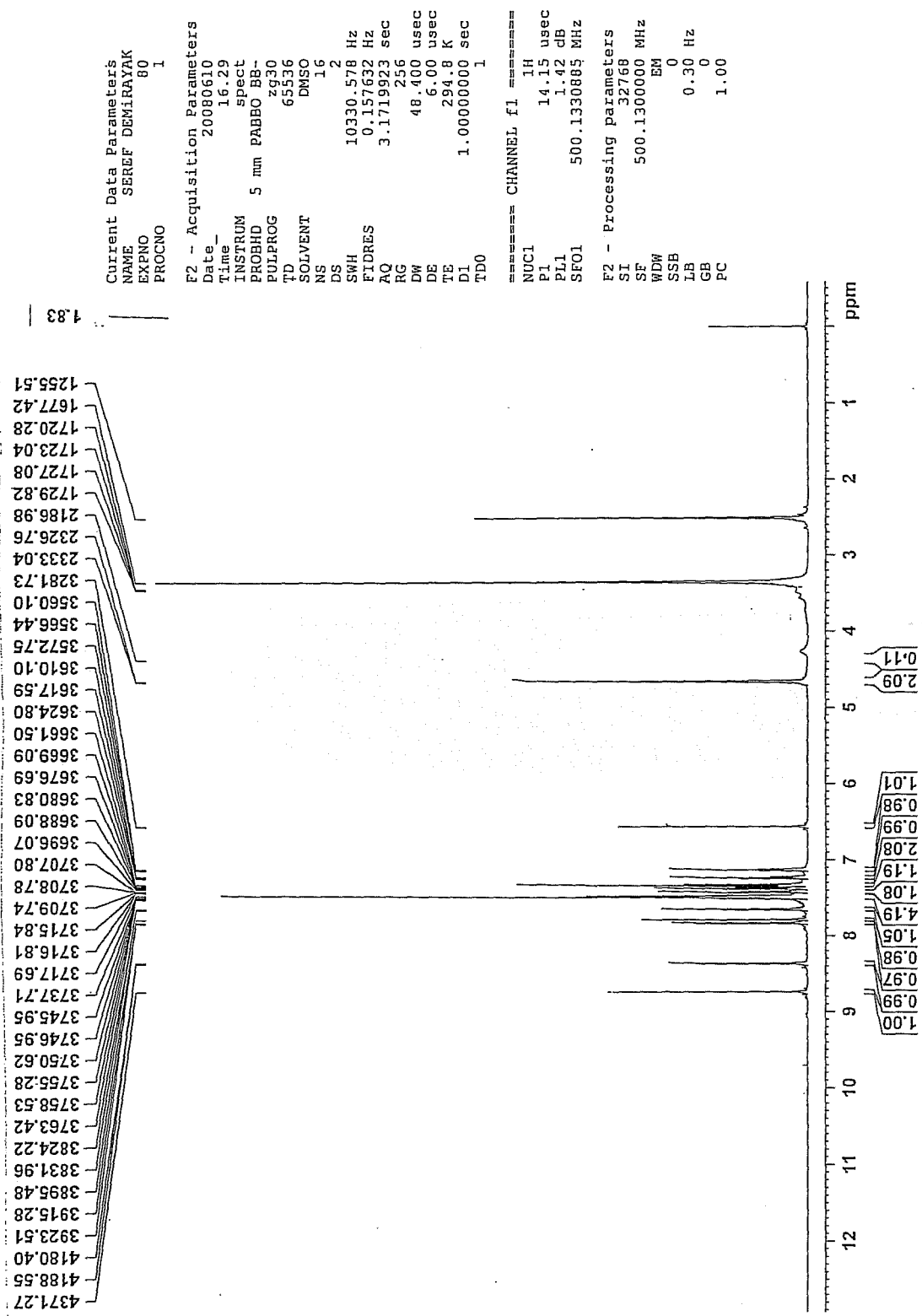
Ek 5 Bileşik B3'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu

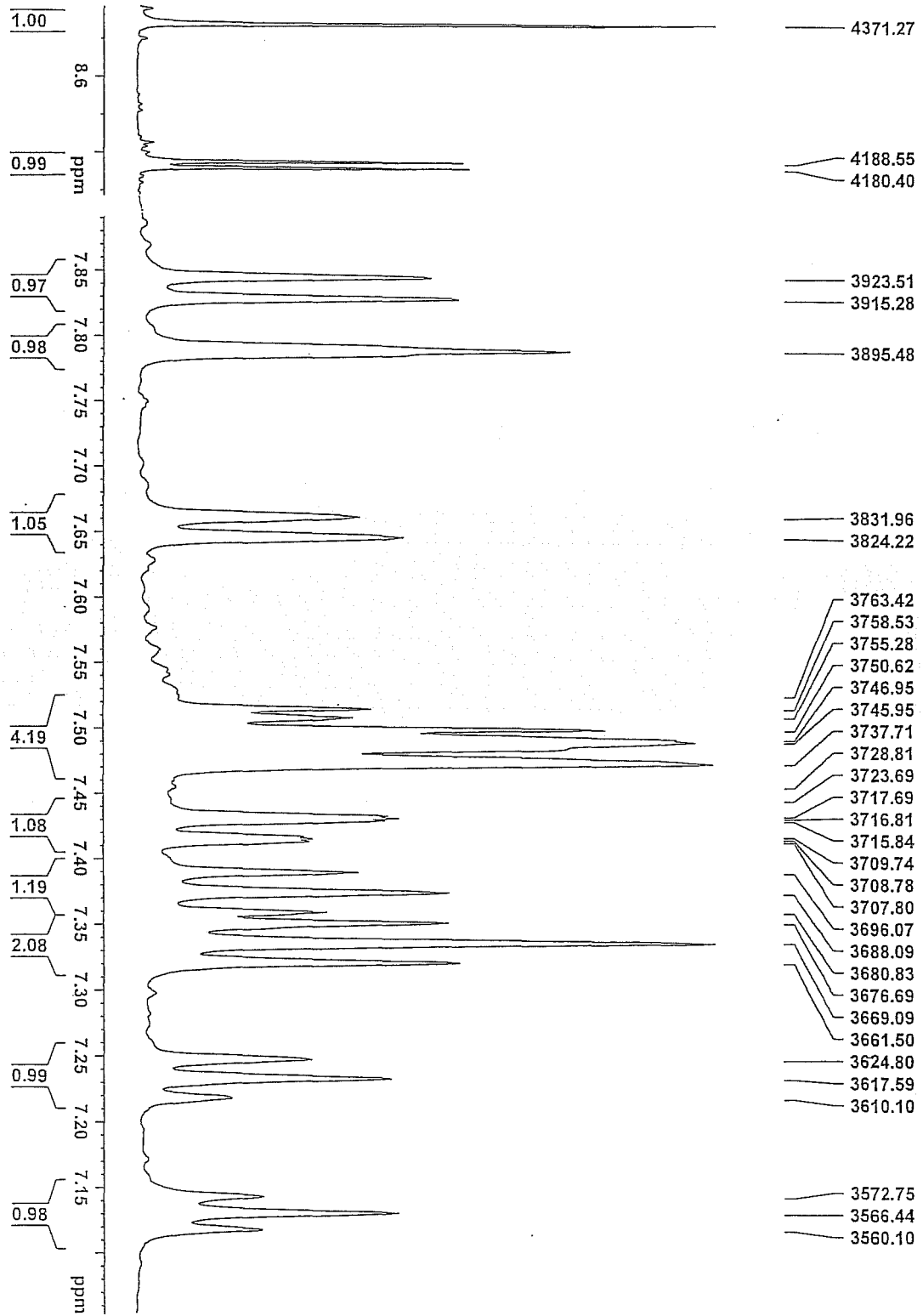


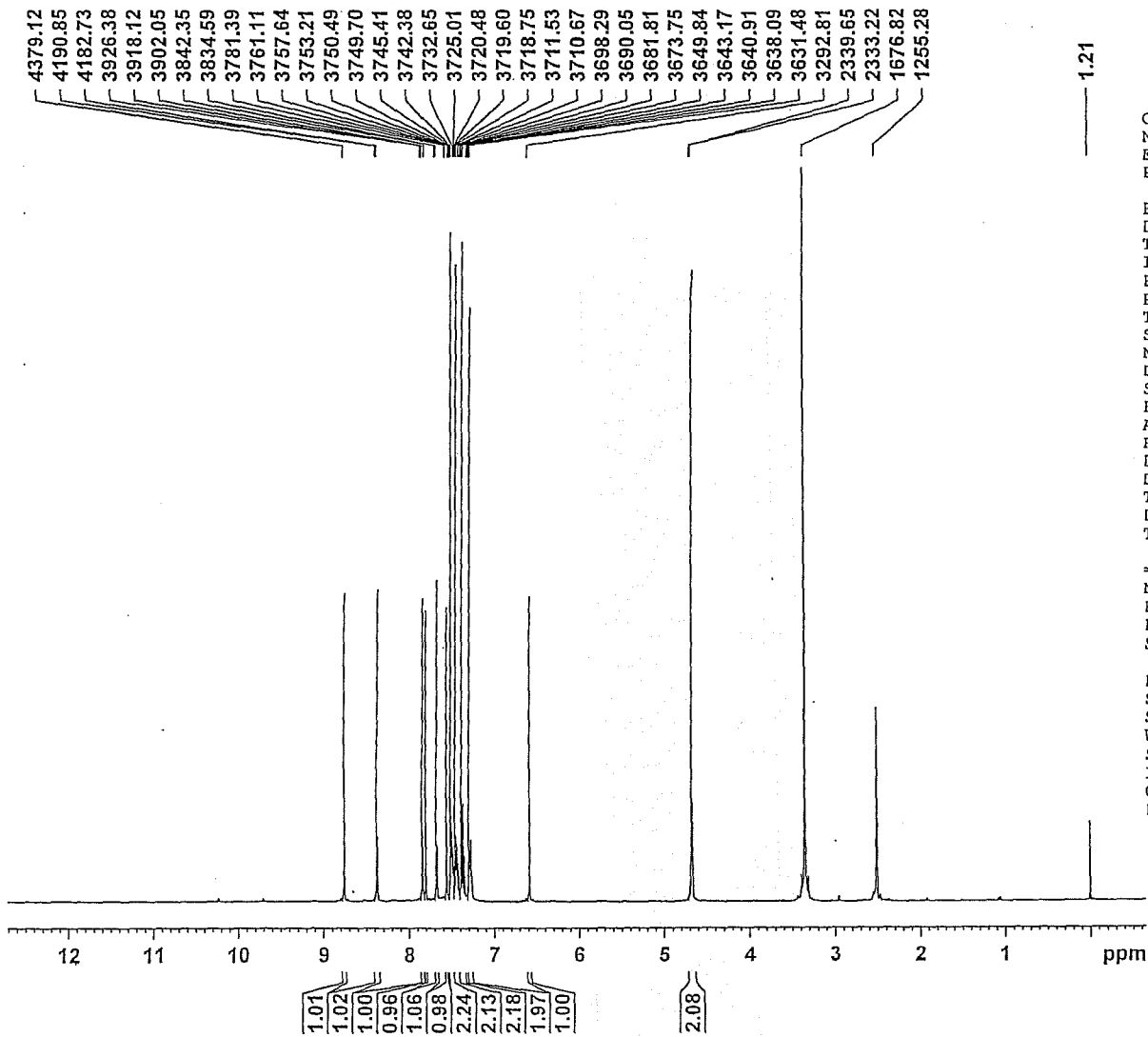


Ek 6 Bileşik B3'e ait  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu (Aromatik bölge genişletilmiş)

Ek 7 Bileşik B4'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu



EK 8 Bileşik B4e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge genişletilmiş)



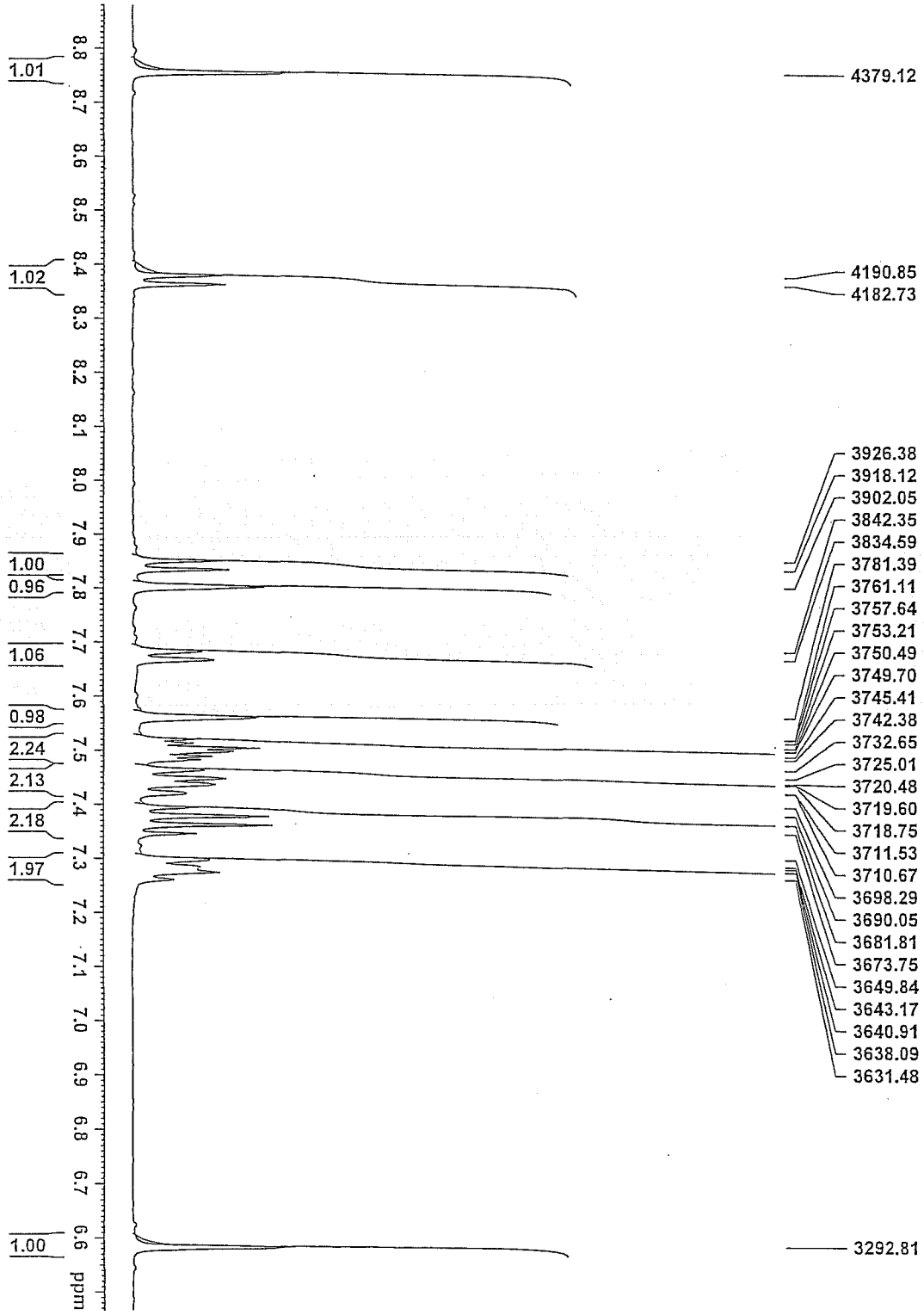
Current Data Parameters  
 NAME SEREF DEMIRAYAK  
 EXPNO 83  
 PROCNO 1

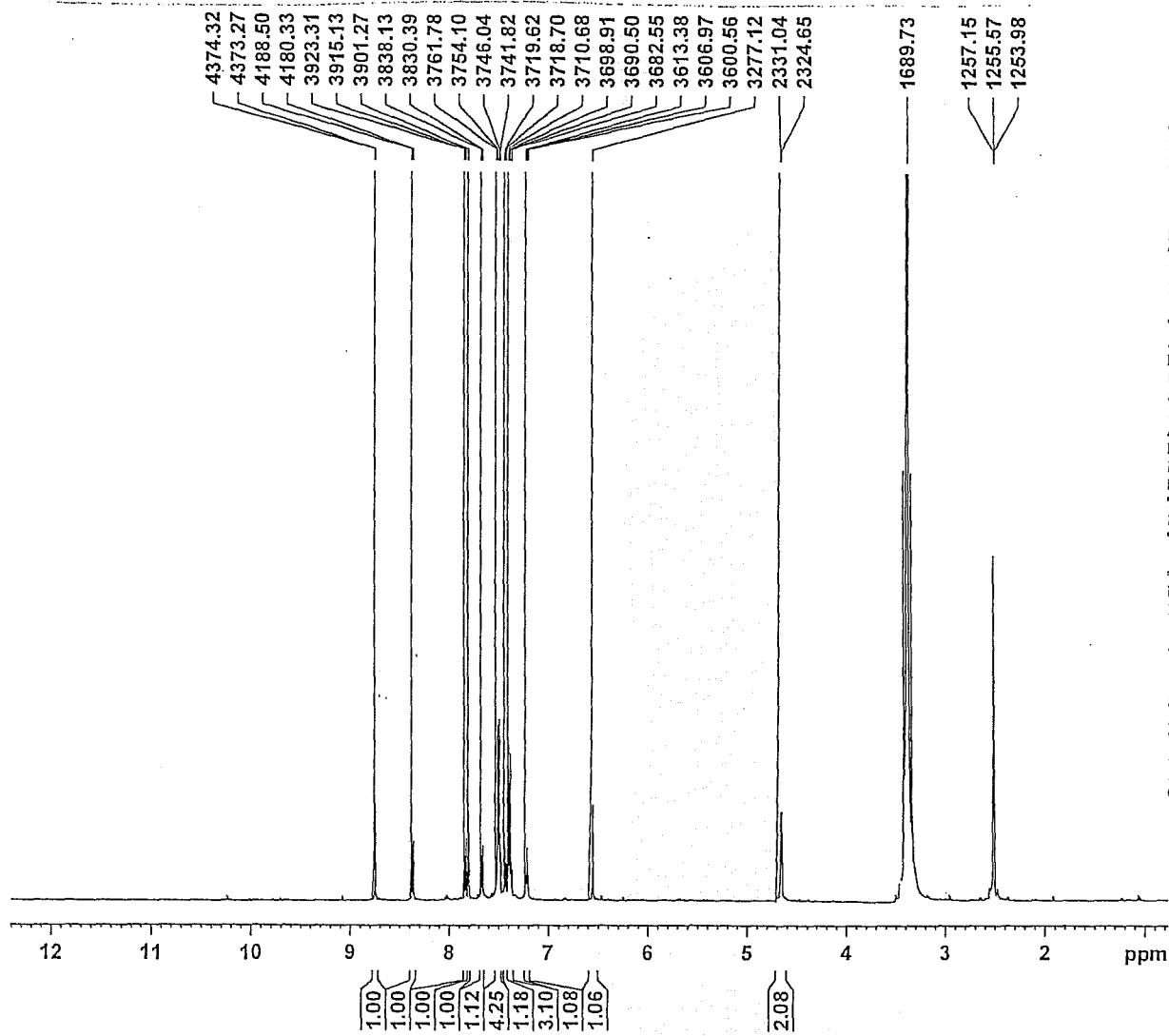
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20080610  
 Time\_ 16.43  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm PABBO BB-  
 PULPROG zg30  
 TD 65536  
 SOLVENT DMSO  
 NS 16  
 DS 2  
 SWH 10330.578 Hz  
 FIDRES 0.157632 Hz  
 AQ 3.1719923 sec  
 RG 256  
 DW 48.400 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 294.7 K  
 D1 1.0000000 sec  
 TDO 1

==== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 14.15 usec  
 PL1 1.42 dB  
 SF01 500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 500.1300000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Ek 9 Bilesik B5'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu

EK 10 Bilesik B5'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge genişletilmiş)



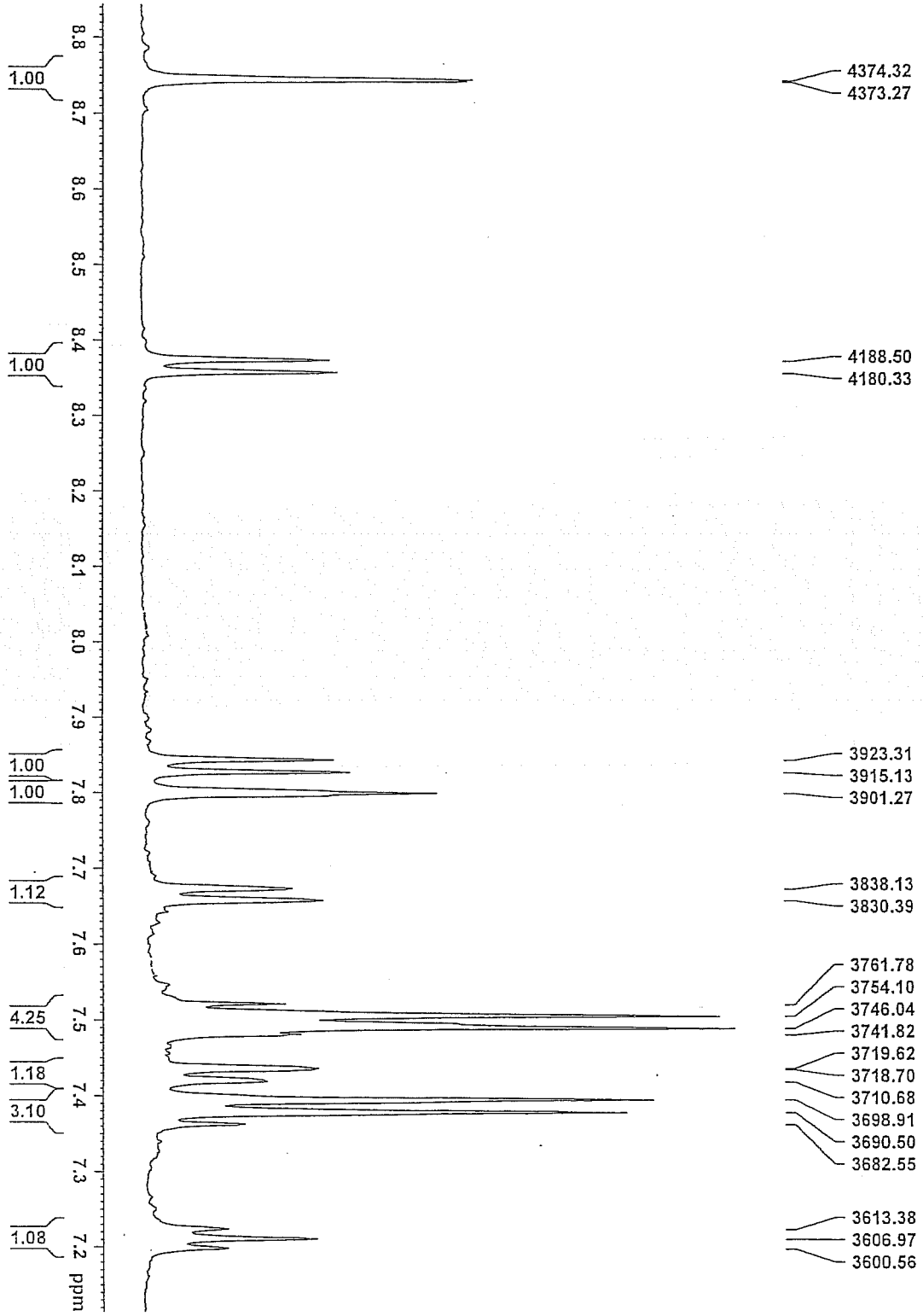
Current Data Parameters  
 NAME SEREF DEMIRAYAK  
 EXPNO 81  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date 20080610  
 Time 16.34  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm PABBO BB-  
 PULPROG zg30  
 TD 65536  
 SOLVENT DMSO  
 NS 16  
 DS 2  
 SWH 10330.578 Hz  
 FIDRES 0.157632 Hz  
 AQ 3.1719923 sec  
 RG 256  
 DW 48.400 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 294.8 K  
 D1 1.00000000 sec  
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 14.15 usec  
 PL1 1.42 dB  
 SFO1 500.1330885 MHz

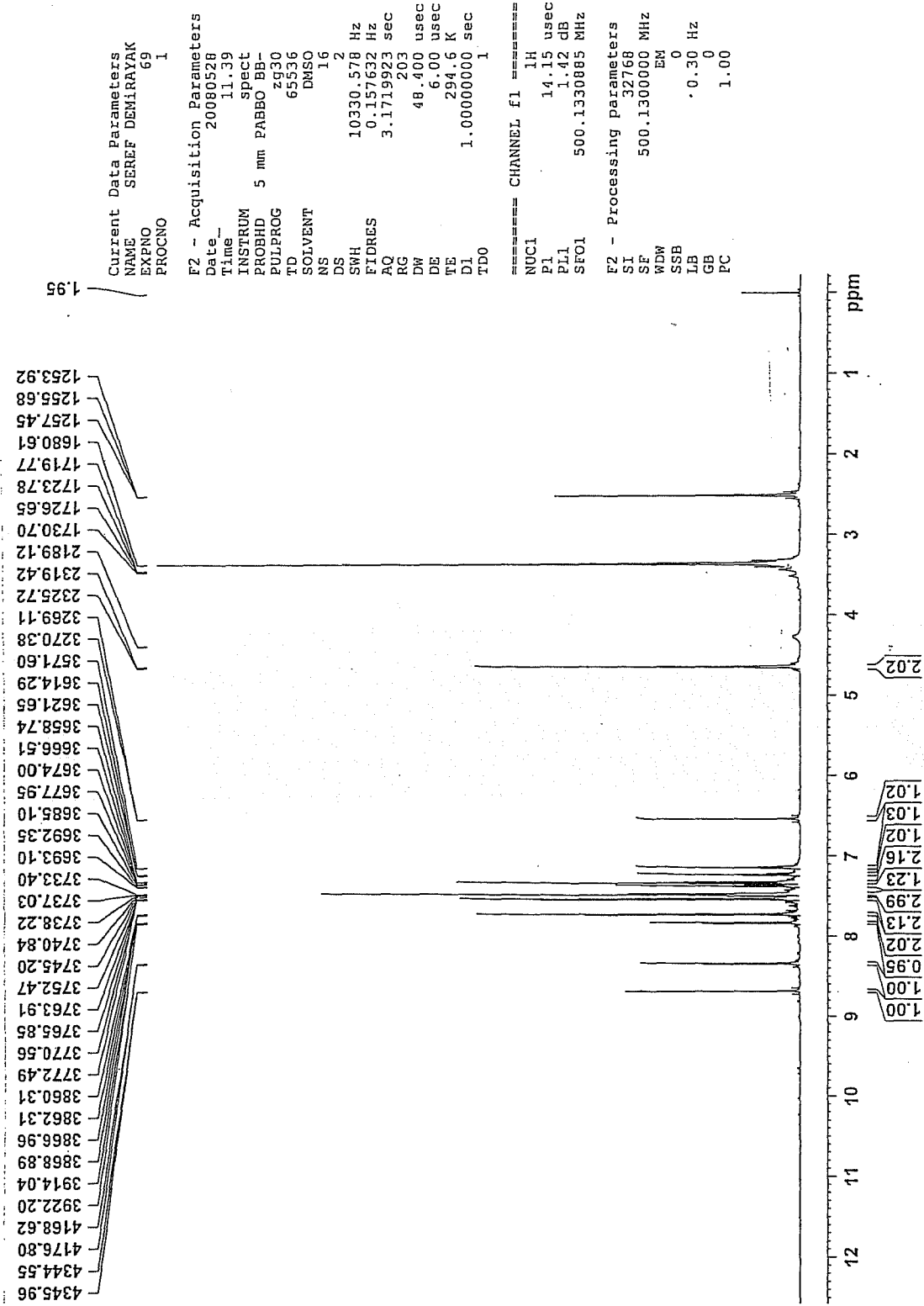
F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 500.1300000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Ek 11 Bileşik B6'ya ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu

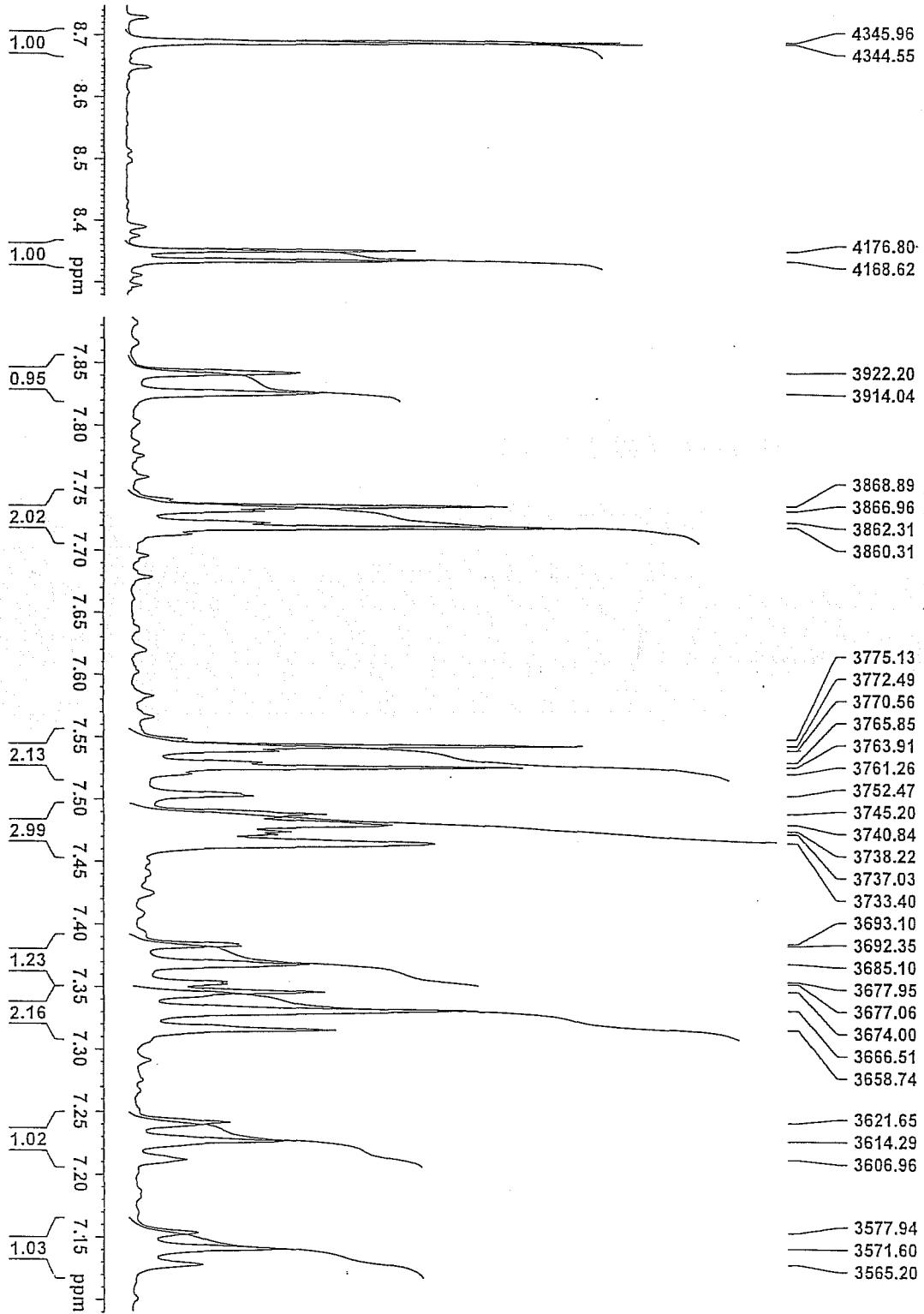


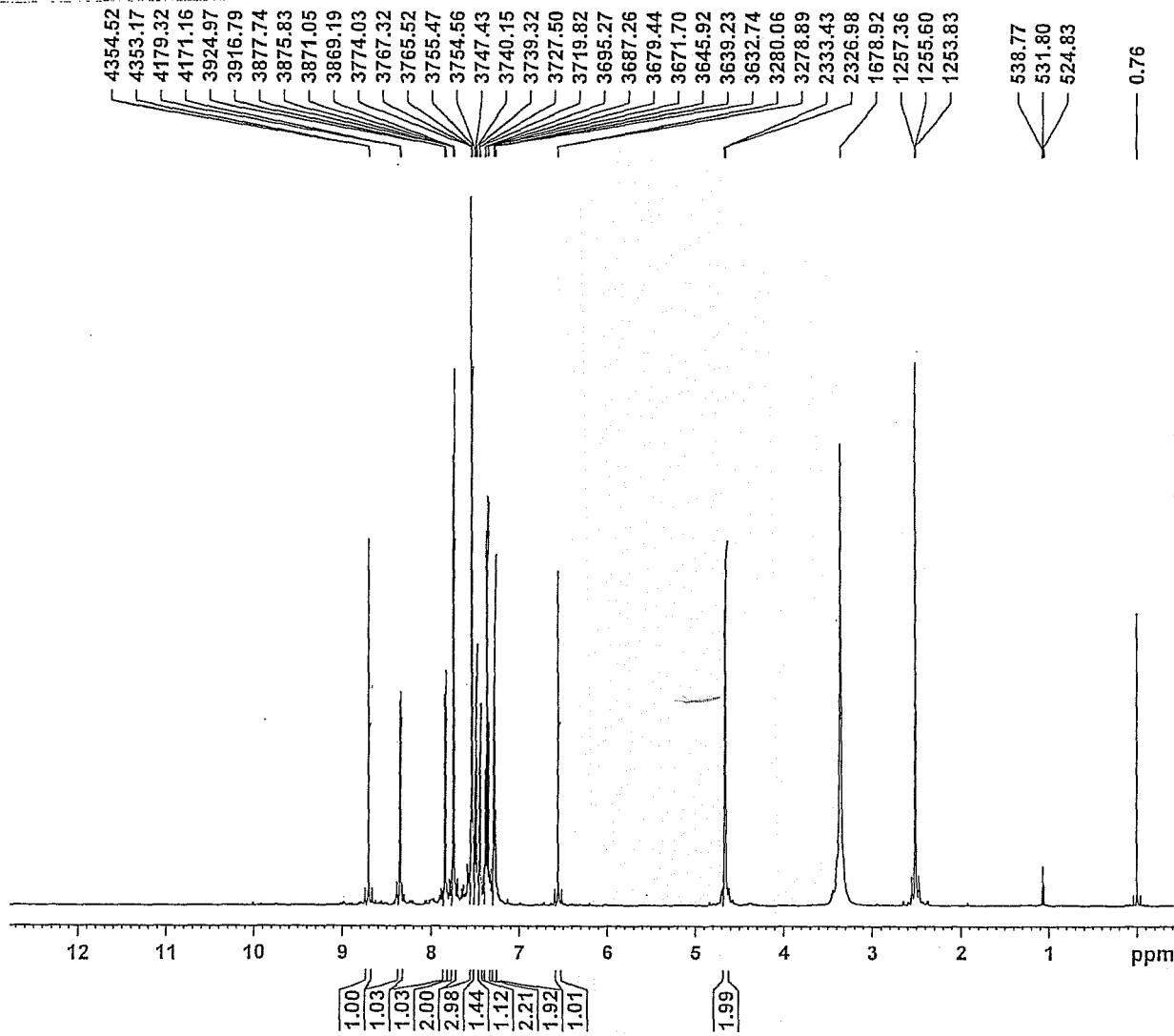
Ek 12 Bileşik B6'ya ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge genişletilmiş)

Ek 13 Bileşik B7'ye ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu





EK 14 Bileşik B7'ye ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge genişletilmiş)



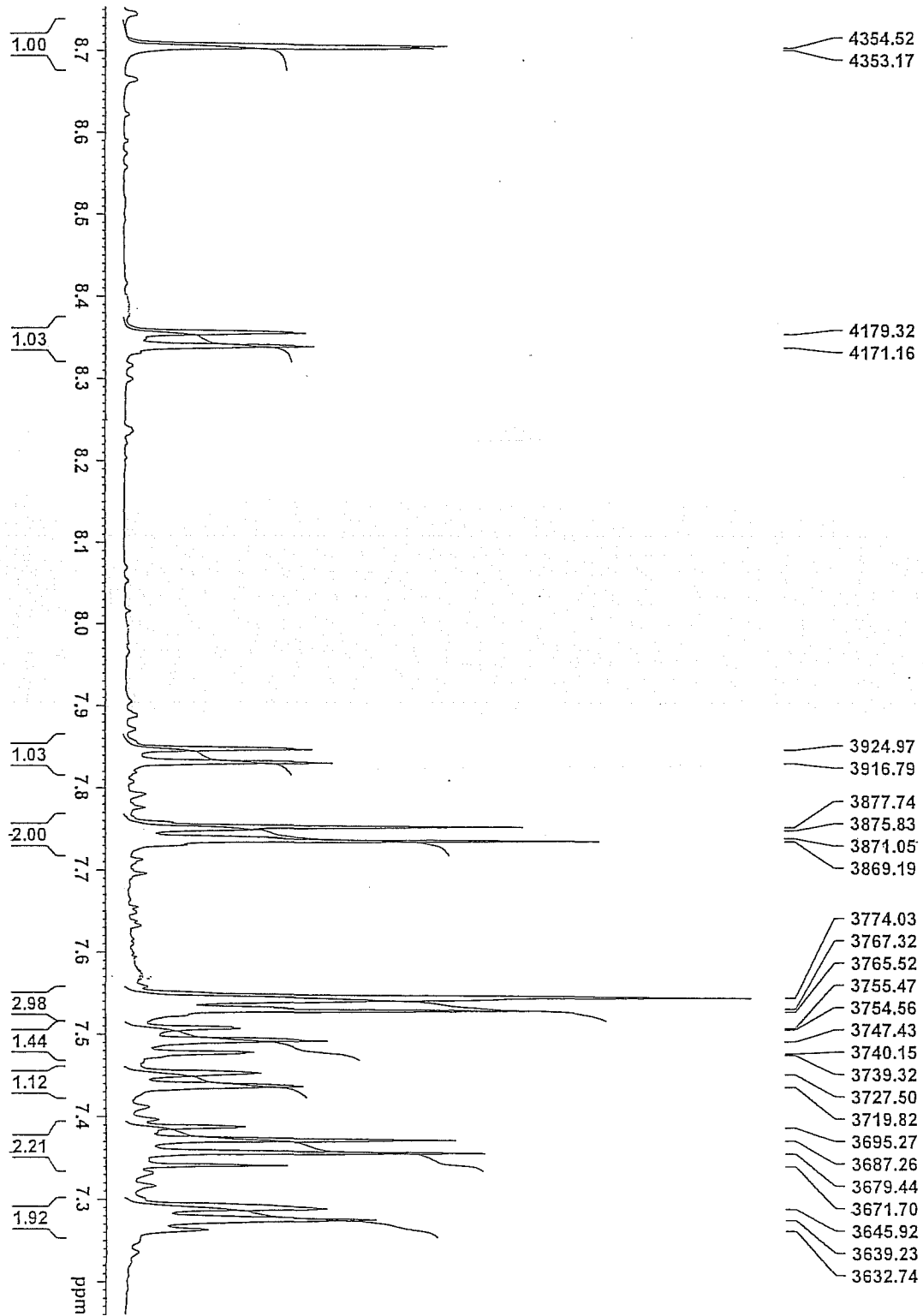
Current Data Parameters  
 NAME SEREF DEMIRYAK  
 EXPNO 71  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date 20080528  
 Time 12.03  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm PABBO BB-  
 PULPROG zg30  
 TD 65536  
 SOLVENT DMSO  
 NS 16  
 DS 2  
 SWH 10330.578 Hz  
 FIDRES 0.157632 Hz  
 AQ 3.171923 sec  
 RG 203  
 DW 48.400 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 294.6 K  
 D1 1.00000000 sec  
 TDO 1

==== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 14.15 usec  
 PL1 1.42 dB  
 SFO1 500.1330885 MHz

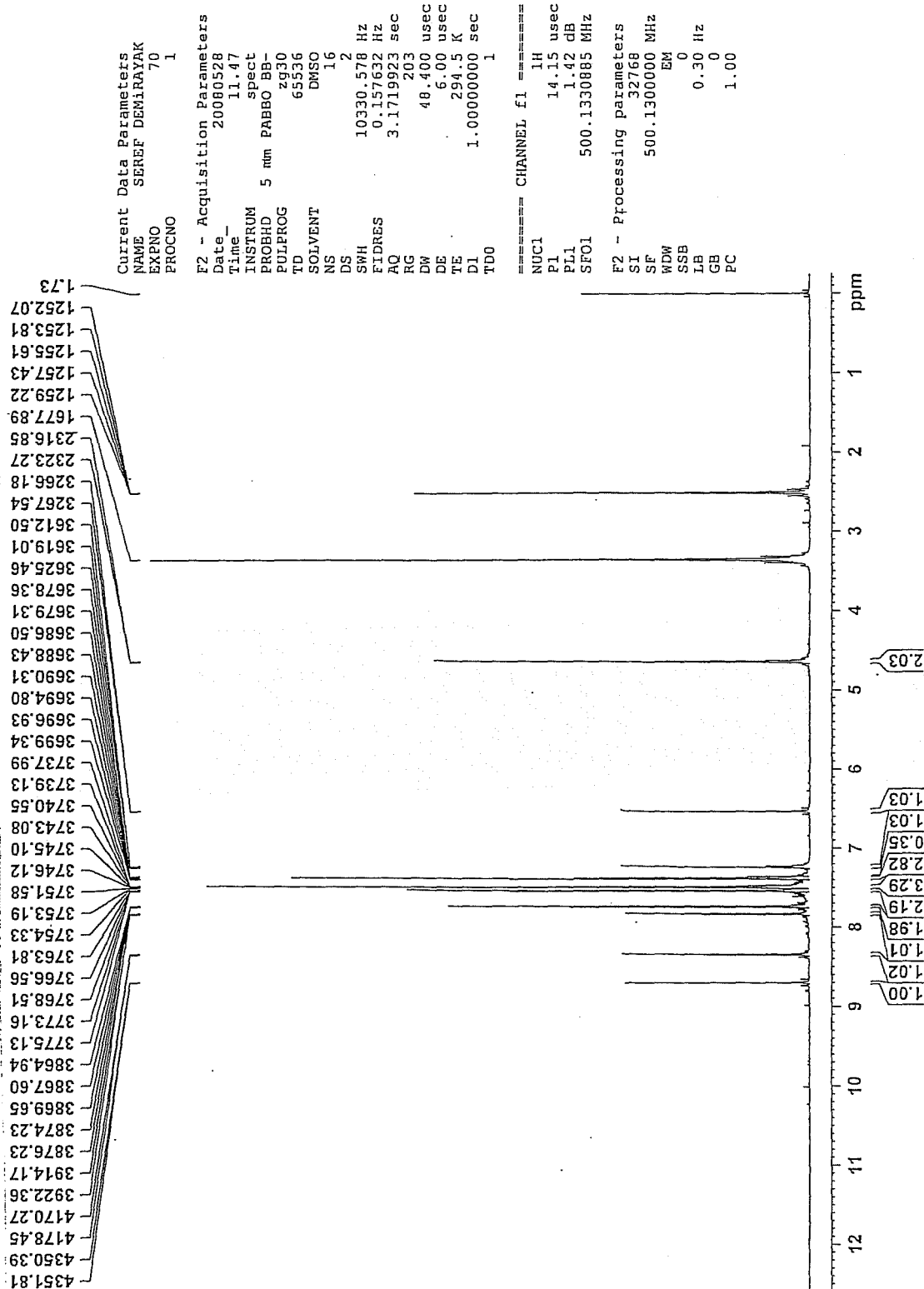
F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 500.1300000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

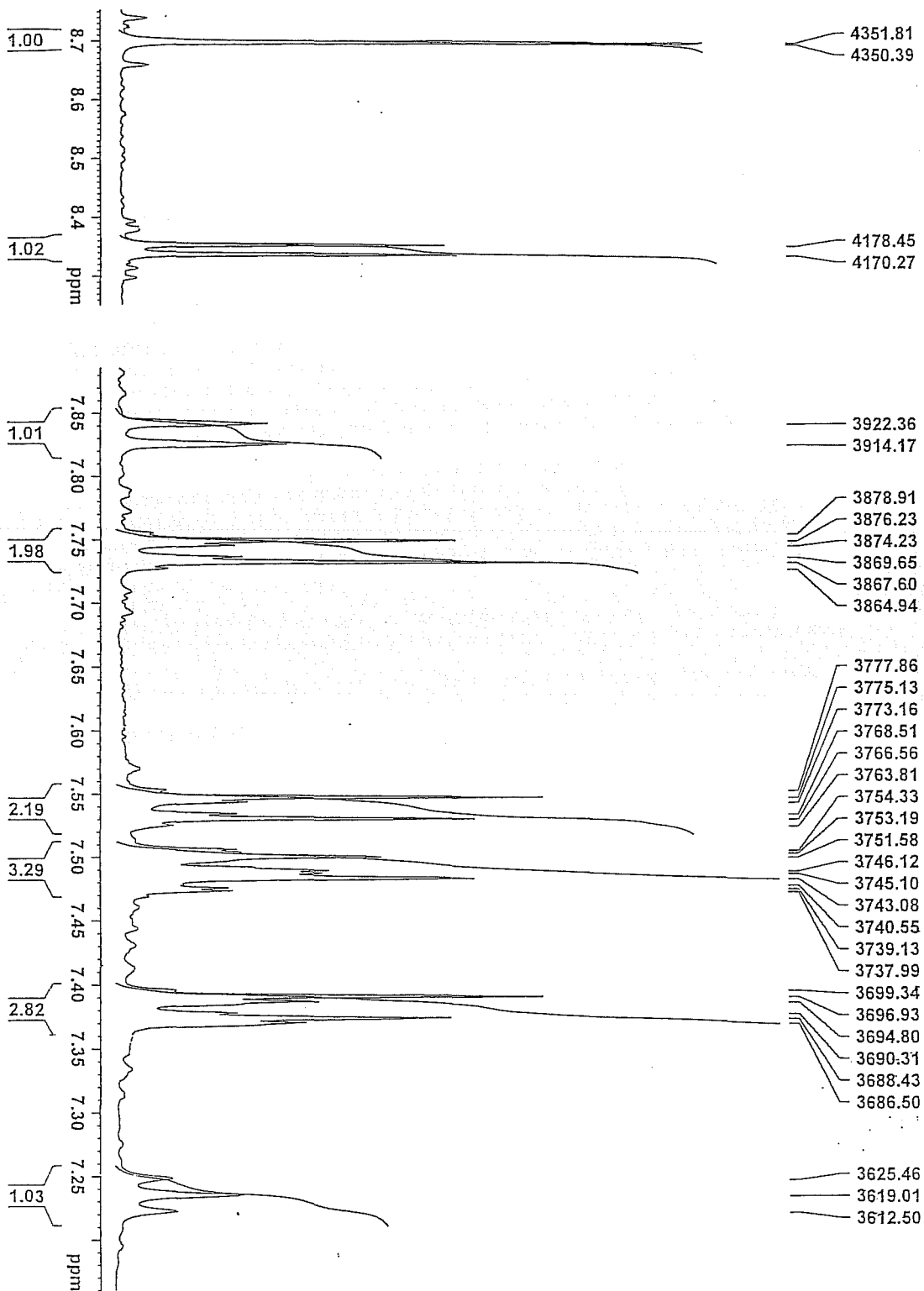
Ek 15 Bilisik B8'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu



EK 16 Bileşik B8'e ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge genişletilmiş)

# Ek 17 Bileşik B9'a ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu





Ek 18 Bilesik B9'a ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (Aromatik bölge genişletilmiş)



NCI Liaison Office

Avenue E. Mounier 83. Bte 10.  
B-1200 Brussels  
BELGIUM

Tel: +32-2-772 22 17

+32-2-770 71 47

Fax: +32-2-770 47 54

E-mail: NCI.LO@eortc.be

U.S. Department of Health  
and Human Services  
Public Health Service  
National Institutes of Health

Dr. Seref Demirayak  
Faculty of Pharmacy  
Universite of Anadolu  
26470 Eskisehir  
Turkey

Brussels, August 6, 2001

Dear Dr. Demirayak,

Subject: Secondary evaluation of compounds submitted to NCI's anticancer screening program

The purpose of this letter is to inform you about an initiative in collaboration with the British Cancer Research Campaign (CRC) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC).

For many years now the US National Cancer Institute (NCI), the CRC and EORTC have been cooperating actively in many areas of cancer research. In 1986 the three organizations signed a joint agreement to combine expertise and resources to enhance the discovery and development of new anticancer drugs. The scope of this agreement has recently been expanded to further reinforce the already close collaboration which has proven very effective.

Your contributions as a supplier of compounds to NCI's anticancer drug screening program are considered extremely important in our efforts to discover new anticancer agents for the treatment of cancer patients. The Biological Evaluation Committee, DCTD, NCI, reviews the initial *in-vitro* anti-tumour data of new compounds and determines what further secondary testing and subsequent *in-vivo* evaluations should be carried out. As an increasing number of substances with "interesting profiles" are identified, prioritization for rapid *in-vivo* evaluation is mandated.

Our European partners have considerable experience in carrying out secondary screening and *in-vivo* testing of anticancer drugs, and have proposed to assist the NCI in evaluating new molecules. Therefore the NCI has arranged for a restricted group of European experts to review, on a confidential basis, a number of selected candidate drugs from the NCI screens, and carry out specific secondary testing studies.

If one or several of your compounds are identified for further joint evaluation, you will be notified, and we will ensure that all the screening data generated on these substances will be made available to you. Any pre-clinical evaluation and further clinical development could be carried out under the same terms and conditions as stipulated in any current agreement between you and DCTD/NCI.

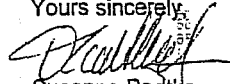
We are aware that your compounds may have already appeared in a publication and some of the information may be in the public domain. We will assure, however, that information from our database will only be made available to our collaborators on the basis of a signed confidentiality agreement in order to protect any proprietary rights you may have.

August 6, 2001, Page 2  
Dr. Seref Demirayak/ Turkey

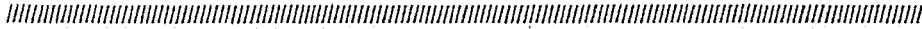
We are convinced that this initiative will facilitate our efforts to improve the speed and efficiency of anticancer drug development and utilize resources to their greatest advantage through the concerted efforts of CRC/EORTC and NCI. This will further expedite the clinical evaluation of new drugs for cancer treatment.

We would appreciate your signing and returning the enclosed copy of this letter for concurrence. Should you have any questions on this matter please do not hesitate to contact us.

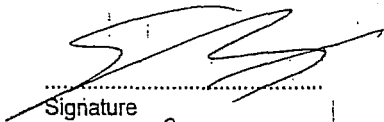
Yours sincerely,



Susanne Radtke  
Acting Head  
NCI Liaison Office



I herewith grant my approval to give the European experts access to structural/biological information on the compounds submitted by me to the anticancer drug screening program. It is understood that the information will only be made available on the basis of a signed confidentiality agreement in order to protect any proprietary rights I may have.



Signature

Seref Demirayak

Printed Name

University of Anadolu

Organization/Institute

Date: August 2001

Ek 20 Bileşik A2'ye ait Hücrelerin Büyüme Yüzdeleri

