



**BENZİMİDAZOL HALKASI İÇEREN YENİ
EGFR KİNAZ İNHİBİTÖRÜ
BİLEŞİKLERİNİN TASARIMI, SENTEZİ
VE BİYOLOJİK AKTİVİTE
ÇALIŞMALARI**

DOKTORA TEZİ

Gresa HALIMI

Eskişehir 2025

**BENZİMİDAZOL HALKASI İÇEREN YENİ EGFR KİNAZ İNHİBİTÖRÜ
BİLEŞİKLERİNİN TASARIMI, SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTE
ÇALIŞMALARI**

Gresa HALIMI

DOKTORA TEZİ

Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ekim 2025

Eskişehir

***Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi Koordinatörlüğü tarafından TDK-2025-2753 proje numarası ile
desteklenmiştir.***

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Gresa HALIMI 'nin “Benzimidazol Halkası İçeren Yeni EGFR Kinaz İnhibitörü Bileşiklerinin Tasarımı, Sentezi ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları” başlıklı tezi 02/10/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Anabilim dalında Doktora Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

		<u>Ünvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Danışman)	:	Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY	
Üye	:	Prof. Dr. Sinem ILGIN	
Üye	:	Doç. Dr. Derya OSMANİYE	
Üye	:	Doç. Dr. Betül KAYA	
Üye	:	Dr. Öğr. Üy. Harun USLU	

Prof. Dr. Nazıf Öncü CAN

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

BENZİMİDAZOL HALKASI İÇEREN YENİ EGFR KİNAZ İNHİBİTÖRÜ BİLEŞİKLERİNİN TASARIMI, SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Gresa HALIMI

Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı

Doktora Programı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ekim 2025

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Akciğer kanseri, dünya genelinde kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerinden biri olmaya devam etmekte ve vakaların çoğunu küçük hücreli dışı akciğer kanseri (NSCLC) oluşturmaktadır. Epidermal büyüme faktörü reseptörünün (EGFR) hedeflenmesi, EGFR'nin tümör büyümesi ve ilerlemesinde kritik bir rol oynaması nedeniyle NSCLC için umut verici bir terapötik strateji haline gelmiştir.

Bu doktora tezinde, potansiyel EGFR inhibitörü ve antikanser aktivitesine sahip yeni benzimidazol/morfolin türevlerinin tasarımı, sentezi ve biyolojik aktivite değerlendirmesi gerçekleştirilmiştir. Gefitinib başlangıç bileşiği olarak seçilmiş ve biyolojik aktivitenin artırılması amacıyla çeşitli yapısal modifikasyonlar uygulanmıştır.

Sentezlenen bileşikler, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, 2D-NMR, IR ve yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) kullanılarak yapısal olarak karakterize edilmiştir. Antikanser etkinlikleri, A549 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı MTT deneyi ile değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşikler arasında **5d**, **5e**, **5h** ve **5i** A549 hücrelerinde yüksek antikanser aktivitesi sergilemiştir. Ayrıca, *in silico* çalışmalarda en aktif bileşikler, EGFR enzim inhibisyonu için önemli hidrojen bağları oluşturmuştur.

Anahtar Sözcükler: Benzimidazol, Morfolin, Antikanser, EGFR İnhibitörleri.

ABSTRACT

DESIGN, SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY STUDIES OF NOVEL EGFR KINASE INHIBITOR COMPOUNDS CONTAINING BENZIMIDAZOLE RING

Gresa HALIMI

Department of Pharmaceutical Chemistry

Doctorate Program

Graduate School of Anadolu University, October 2025

Supervisor: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Lung cancer remains one of the leading causes of cancer-related deaths globally, with non-small cell lung cancer (NSCLC) representing most cases. Targeting the epidermal growth factor receptor (EGFR) has become a promising therapeutic strategy for NSCLC, as EGFR plays a critical role in tumor growth and progression. In this doctorate thesis, was performed the design, synthesis, and biological evaluation of a new series of benzimidazole/morpholine derivatives with potential EGFR inhibitory and anticancer activity. Gefitinib was selected as the starting compound and various structural modifications were applied to increase biological activity.

The synthesized compounds were structurally characterized using ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, and high-resolution mass spectrometry (HRMS). Their anticancer efficacy was evaluated via MTT assay against the A549 and MCF-7 cell lines. Among the synthesised compounds, **5d**, **5e**, **5h**, and **5i** exhibited high anticancer activity in A549 cells. Furthermore, *in silico* studies have shown that the most active compounds form important hydrogen bonds for EGFR enzyme inhibition.

Keywords: Benzimidazole, Morpholine, Anticancer, EGFR Inhibitors.

TEŞEKKÜR

Doktora tezimin hazırlık aşamalarının her birinde bana sabırla destek olan, bilgi ve tecrübesiyle yol gösteren, iş ahlakı ve mesleğine olan tutkusu ile bana örnek olan ve akademik gelişimime önemli katkılarda bulunan değerli danışmanım ve hocam Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY'a sonsuz saygı ve içten teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca desteğini ve rehberliğini her zaman hissettiren, yoğun iş programına rağmen bana zaman ayırarak motivasyon kaynağı olan Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLİ'ya minnettarlığımı ifade etmek isterim.

Tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana rehberlik eden, her aşamada desteğini hissettiren, Farmasötik Kimyaya olan ilgimi artıran, laboratuvarında birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım ve işinde kararlılığı ve disipliniyle örnek aldığım çok değerli hocam Doç. Dr. Derya OSMANİYE'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin deneysel aşamalarında laboratuvar olanaklarını kullanmama izin veren ve analizlerde bana yardımcı olan Doç. Dr. Begüm Nurpelin SAĞLIK ÖZKAN ve Dr. Öğr. Üyesi Serkan LEVENT'e de teşekkür ederim. Süreç boyunca deneyimlerini paylaşan, sorularımı sabırla yanıtlayan, beni motive eden ve yönlendiren tüm desteklerini daima minnetle hatırlayacağım.

Bu süreçte bana sağladığı yardım, deneyimlerini paylaşarak sorularımı sabırla yanıtlaması, motivasyon ve yönlendirmeleri için Doç. Dr. Ulviye Acar ÇEVİK'e içtenlikle teşekkür ederim.

Bölümümün değerli hocalarına katkıları ve sarsılmaz destekleri için; birlikte çalışma fırsatı bulduğum tüm araştırma arkadaşlarıma ve çalışmama katkıda bulunan herkese teşekkür ederim. Ayrıca doktora eğitimimi destekleyen Türkiye Bursları programına da şükranlarımı sunarım.

Bu noktaya gelmemde en büyük paya sahip olan, hayatımın her anında yanımda olan, beni koşulsuz destekleyen, sevgilerini ve güvenlerini hissettiren aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım: babam Naser HALİMİ, annem Magbule HALİMİ, kız kardeşlerim Erēmira, Donjeta, Ema ve Gonxhe, sevgili yeğenlerim Malva ve Malti ve sevgili halam Hirmize HALİMİ, ki kendisi her zaman yanımda olup destek ve sevgisini esirgememişti. Onların varlığı, sevgisi ve desteği bu yolculuğun en güçlü temeli olmuştur. Onlar, benim en büyük gurur kaynağım ve sahip olduğum en değerli servettir.

Ve sevgili eşim Fidan Syl'a'ya... Varlığı bana ne kadar şanslı olduğumu her gün hatırlatan, tanıdığım en anlayışlı insan, hayatıma neşe ve anlam katan en büyük desteğim. Bu tez yolculuğu boyunca sarsılmaz sabrı, sonsuz desteği ve ilgisiyle yanımda oldu. Tez bitince, benim hissettiğim rahatlamayı en az benim kadar, belki benden bile fazla yaşayacağını biliyorum.



ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

(İmza)

Gresa HALIMI

ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında, yürütülmesinde, verilerin analizinde Etik Kurul İzni'ne gerek yoktur.



ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken (örneğin ChatGPT, Gemini, DALL-E vb.) üretken yapay zekâ programlarından destek almadığımı beyan ederim.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....

(İmza)

Gresa HALIMI

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖN SÖZ /TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vii
ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ	viii
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI	ix
İÇİNDEKİLER	x
TABLolar DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xxiii
1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2 ALAN YAZIN	9
2.1. Tirozin kinazların düzenlenmesi, düzensizliği ve terapötik hedeflenmesi.....	9
2.2. Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR) ve Tirozin Kinaz İnhibitörleri ..	11
2.3. Gefitinib	13
2.4. Benzimidazolün biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri.....	14
2.5. Benzimidazol İçeren Moleküller Üzerindeki Antikanser Aktivite Çalışmaları ...	17
2.6. Morfolin İçeren Moleküller Üzerindeki Antikanser Aktivite Çalışmaları	26
3 GEREÇLER.....	31
3.1. Çalışmaya Dahil Edilen Maddeler	31
3.2. Deneysel Çalışmalara Dahil Edilen Cihazlar	34
4 MATERYAL VE METOT	35
4.1. Sentez Prosedürleri ve Deneysel Çalışmalar.....	35
4.1.1. 4-Morfolinobenzaldehit türevinin sentezi (Yöntem A	35
4.1.2. 4-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)morfolin / Metil 2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat türevlerinin sentezi (Yöntem B)	35
4.1.3. Etil 2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetat türevinin sentezi (Yöntem C).....	36
4.1.4. 2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid / 2-(2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid türevlerinin sentezi (Yöntem D)	36
4.1.5. Hedef bileşiklerin sentezi (4a-4j) (Yöntem E)	37
4.1.6. Hedef bileşiklerin sentezi (5a-5j) (Yöntem F)	37
4.2. İTK çalışmaları ve Rf Değerlerinin Belirlenmesi	38
4.3. Erime Noktalarının Saptanması.....	38

4.4. IR spektrum verilerinin elde edilmesi	38
4.5. ¹ H-NMR spektrum verilerinin elde edilmesi	39
4.6. ¹³ H-NMR spektrum verilerinin elde edilmesi	39
4.7. 2D-NMR spektrum verilerinin elde edilmesi	39
4.8. Kütle spektrum verilerinin elde edilmesi	39
4.9. Antikanser biyolojik etkileri araştırılması.....	39
4.9.1. MTT bazlı hücre canlılığı analizleri ile bileşiklerin antikanser etkinliğinin ölçülmesi	40
4.9.1.1. Hücrelerin çoğaltılması.....	40
4.9.1.2. Hücrelerin plakalara ekilmesi	40
4.9.1.3. MTT Yöntemi Kullanılarak Sitotoksosite Değerlendirmesi	41
4.9.2. BrdU proliferasyon yöntemi ile bileşiklerin antiproliferatif etkilerinin belirlenmesi.....	41
4.9.2.1. Hücrelerin plakalara ekilmesi	41
4.9.2.2. BrdU proliferasyon yönteminin uygulanması	42
4.9.3. Anneksin V/PI yöntemi ile bileşiklerin apoptotik etkilerinin belirlenmesi..	43
4.9.3.1. Hücrelerin plakalara ekilmesi	43
4.9.3.2. Anneksin/EI yönteminin uygulanması	43
4.10. Fizikokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi	44
4.11. Moleküler Modelleme Çalışmaları.....	44
4.12. Moleküler Dinamik Çalışmaları	44
5 BULGULAR.....	45
5.1 Sentez çalışmaları.....	45
5.1.1. 4-Morfolinobenzaldehit (1).....	45
5.1.2. 4-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)morfolin/ Metil 2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat (2a, 2b)	46
5.1.3. Etil 2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetat (3a)	47
5.1.4. 2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid / 2-(2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (3b / 4).....	47
5.1.5. N'-Benziliden-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4a)	49
5.1.6. N'-(3-Metilbenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4b).....	54
5.1.7. N'-(4-Metoksibenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4c)	59
5.1.8. N'-(4-Florobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4d).....	64
5.1.9. N'-(4-Klorobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4e)	69

5.1.10. 2-(4-Morfolinofenil)-N'-(4-nitrobenziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4f)	74
5.1.11. N'-(4-Siyanobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4g).....	79
5.1.12. N'-(2,4-Diklorobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4h).....	84
5.1.13. N'-(2-Kloro-6-florobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4i).....	89
5.1.14. N'-(4-(Metiltiyo)benziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4j).....	94
5.1.15. N'-Benziliden-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5a).....	95
5.1.16. N'-(3-Metilbenziliden) -2-(2-(4-morfolinofenil) -1H-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5b)	104
5.1.17. N'-(4-Metoksibenziliden) -2-(2-(4-morfolinofenil) -1H-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5c).....	109
5.1.18. N'-(4-Florobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5d)	114
5.1.19. N'-(4-Klorobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5e).....	119
5.1.20. 2-(2-(4-Morfolinofenil) -1H-benzo[d]imidazol-1-il) - N'-(4-nitrobenziliden) asetohidrazid (5f)	124
5.1.21. N'-(4-Siyanobenziliden) -2-(2-(4-morfolinofenil) - 1H-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5g)	129
5.1.22. N'-(2,4-Diklorobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5h)	134
5.1.23. N'-(2-Kloro-6-florobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5i)	139
5.1.24. N'-(4-(Metiltiyo)benziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5j)	144
5.2. Spektral Sonuçların Değerlendirilmesi	149
5.2.1. IR spektral sonuçların değerlendirilmesi.....	149
5.2.2. NMR spektral sonuçların değerlendirilmesi	149
5.2.2.1. 1H-NMR spektral sonuçların değerlendirilmesi.....	149
5.2.2.2. 13C-NMR spektral sonuçların değerlendirilmesi	151
5.2.2.3. 2D-NMR spektral sonuçların değerlendirilmesi.....	152
5.2.3. Kütle spektral sonuçların değerlendirilmesi.....	158
5.3. Antikanser aktivite sonuçların değerlendirilmesi.....	158
5.3.1. Bileşiklerin sitotoksik etki sonuçlarının MTT yöntemi ile değerlendirilmesi.....	158
5.3.2. Annexin V/EI yöntemi kullanılarak bileşiklerin apoptotik etkileri.....	160

5.4. Yapı-etki ilişkilerinin değerlendirilmesi	162
5.5. Moleküler docking sonuçların değerlendirilmesi.....	163
5.5.1. EGFR tirozin kinaz enzimi üzerine yapılan moleküler modelleme çalışmalarının değerlendirilmesi	163
5.6. Moleküler dinamik sonuçların değerlendirilmesi.....	170
5.7. Bileşiklerin Fizikokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi	181
6 SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	183
KAYNAKÇA.....	185
ÖZ GEÇMİŞ	



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Antikanser özelliklerinin araştırılması için sentezlenen bileşikler	8
Tablo 2.1. Reseptör ve Reseptör Olmayan Tirozin Kinazların Sınıflandırılması, Özellikleri ve Temsilci Örnekleri	10
Tablo 5.1. (Z)-2-(4-Morfolinofenil)-N'-(4-nitrobenziliden)-1H-benzo[d]imidazol -6-karbohidrazid (4f).....	153
Tablo 5.2. A549, MCF-7 ve NIHT3T3 hücre hatlarına karşı bileşiklerin IC ₅₀ değerleri (μM).....	159
Tablo 5.3. Bileşiklerin 5d , 5e , 5h , 5i RMSF değerleri.....	180
Tablo 5.4. Hedef bileşiğin fizikokimyasal özellikleri, farmakokinetik profili, ilaç benzeri özellikleri ve sentetik erişilebilirliği (4'a-4'j ; 5a-5j).....	182

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Sağlıklı ve malign hücrelerin proliferasyonu	1
Şekil 1.2. İyi huylu ve kötü huylu neoplazmalar ve tümörler	2
Şekil 1.3. Hücre döngüsü aşamaları ve kontrol noktaları	3
Şekil 1.4. Protein kinazlar, fosfat gruplarının ATP'den diğer proteinlere transferini katalize ederek hücre içindeki sinyal yollarını etkiler	4
Şekil 1.5. EGFR inhibitör direncinin mekanizmaları ve tedavi stratejileri	5
Şekil 1.6. Hedef bileşiklerin sentezlenmesi için izlenen yol	7
Şekil 2.1. Onaylanmış EGFR inhibitörleri	12
Şekil 2.2. EGFR inhibitörü Gefitinib ve tasarladığımız 5e bileşiği.....	14
Şekil 2.3. Benzimidazol iskeleti içeren klinik olarak onaylanmış ilaçlar.....	16
Şekil 2.4. 2-Kloro-N-(2-(p-tolil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)asetamid	17
Şekil 2.5. 2-(((6-Kloro-1H-benzo[d]imidazol-2-il)metil)tiyo)-N-(4-metoksifenil)-6-fenilpirimidin-4-amin.....	17
Şekil 2.6. N-(5-(Etoksimetil)-1-((1r,4r)-4-hidroksisikloheksil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-3-(triflorometil)benzamid.....	18
Şekil 2.7. 2-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)-1-(3,5-bis(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)etan-1-on.....	18
Şekil 2.8. N-Metil-5-((2-fenil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)metil)-1,3,4-tiadiazol-2-amin	19
Şekil 2.9. 2-((5-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-feniletan-1-on.....	19
Şekil 2.10. 2-((1H-Benzo[d]imidazol-2-il)tiyo)-1-feniletan-1-on.....	19
Şekil 2.11. 2-(2-Siklopentiliden Hidrazinil)-4-(1-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tiyazol.....	20
Şekil 2.12. 4-(3-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-6-il)benzonitril	20
Şekil 2.13. 2-(1-(3-(4-Klorofenil)-3-oksopropil)piperidin-4-il)-1H-benzo[d]imidazol-4-karboksamid	21
Şekil 2.14. 5-(3-(2-(5-((1-Metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)metilen)-2,4-dioksotiazolidin-3-il)etil)-1,2,4-oksadiazol-5-il)jizoftalonitril	21

Şekil 2.15. 2-(4-((4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)-2-metoksifenoksi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoik asit.....	22
Şekil 2.16. Etil 1-(tert-butil)-2-(4-klorofenil)-1H-benzo[d]imidazol-5-karboksilat.....	22
Şekil 2.17. 2-((2,6-Dioksopiperidin-4-il)amino)-1-(4-hidroksifenetil)-N-(4-(triflorometil)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-5-karboksamid	23
Şekil 2.18. 2-((4-Etil-5-(2-(4-metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo)-1-(4-(2-pirimidinil)piperazin-1-il)etanon	23
Şekil. 2.19. 4-(((1H-Benzo[d]imidazol-2-il)metil)amino)-N'-(2-hidroksi-4-metoksibenziliden)benzohidrazid	24
Şekil 2.20. 2-(4-Klorofenil)-N'-(4-nitrobenziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid	24
Şekil 2.21. 3-(4-Klorobenzil)-5,6-dimetil-1-(2-morfolinoetil)-1H-benzo[d]imidazol-3-ium klorür	25
Şekil 2.22. 2-((5-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-N-(2,6-diklorofenil) asetamid	25
Şekil 2.23. 3-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)-1-(3-metoksifenil)prop-2-en-1-on	25
Şekil 2.24. N-(3-((5-kloro-2-((4-(morfolinometil)fenil)amino)pirimidin-4-il)amino)fenil)akrilamid.....	26
Şekil 2.25. 1-(3-(Tert-bütil)-2-metoksifenil)-N-(4-morfolinofenil)metanimin bakır (II)	26
Şekil 2.26. (E)-4-(4-{ 1-[metil(5-[(metilamino)metil]pirimidin-4-il)amino]etil} fenil)morfolin)bakır(II) perklorat.....	27
Şekil 2.27. 4-(5-((2-(Morfolin-4-karbonil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)metil)-1H-pirazol-3-il)benzonitril	27
Şekil 2.28. 6-Morfolino-2-(2-((2-(6-morfolino-5-nitro-1,3-diokso-2,3-dihidro-1H-fenalen-2-il)etil)amino)etil)-5-nitro-1H-benzo[de]izokinolin-1,3(2H)-dion	28
Şekil 2.29. 2-((4-Florofenil)amino)-1-morfolinoetan-1-on	28
Şekil 2.30. 4-((1-(2-(5-(3,5-Dimetilfenil)-1,2,4-oksadiazol-3-il)etil)-1H-imidazol-2-il)metil)morfolin	29
Şekil 2.31. Benzimidazol-tiyosemikarbazon türevinin Cu(II) kompleksi.....	29
Şekil 2.32. (1S,2R,3S)-2-(4-Benzilpiperazin-1-karbonil)-6'-bromo-3-(4-metoksifenil)spiro[siklopropan-1,3'-indolin]-2'-on	30
Şekil 2.33. (E)-3-(2-(1H-İndazol-4-il)-4-morfolinotieno[3,2-d]pirimidin-6-il)-N-(2-hidroksietil)akrilamid.....	30
Şekil 4.1. 4-Morfolinobenzaldehit'in sentezine yönelik reaksiyon denklemi	35

Şekil 4.2. 4-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)morfolin'in / Metil 2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat'ın sentezine yönelik reaksiyon denklemi.....	36
Şekil 4.3. Etil 2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il) asetat'ın sentezine yönelik reaksiyon denklemi	36
Şekil 4.4. 2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid'in / 2-(2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid'in sentezine yönelik reaksiyon denklemi	37
Şekil 4.5. 4a-4j türevlerinin hazırlanmasına yönelik reaksiyon denklemi	37
Şekil 4.6. 5a-5j türevlerinin hazırlanmasına yönelik reaksiyon denklemi	38
Şekil 5.1. 4-Morfolino benzaldehit.....	45
Şekil 5.2. Bileşik 1'e ait LC-MS spektrumu	46
Şekil 5.3. 4-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)morfolin/ Metil 2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat.....	46
Şekil 5.4. Bileşik 2b'ye ait LC-MS spektrumu	47
Şekil 5.5. Etil 2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il) asetat.....	47
Şekil 5.6. 2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid / 2-(2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid	47
Şekil 5.7. Bileşik 3b'ye ait HRMS spektrumu	48
Şekil 5.8. N'-Benziliden-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4a).....	49
Şekil 5.9. Bileşik 4a'ya ait IR spektrumu	50
Şekil 5.10. Bileşik 4a'ya ait ¹ H-NMR spektrumu	51
Şekil 5.11. Bileşik 4a'ya ait ¹³ C-NMR spektrumu	52
Şekil 5.12. Bileşik 4a'ya ait HRMS spektrumu.....	53
Şekil 5.13. N'-(3-Metilbenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4b).....	54
Şekil 5.14. Bileşik 4b'ye ait IR spektrumu.....	55
Şekil 5.15. Bileşik 4b'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	56
Şekil 5.16. Bileşik 4b'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	57
Şekil 5.17. Bileşik 4b'ye ait HRMS spektrumu	58
Şekil 5.18. N'-(4-Metoksibenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4c)	59

Şekil 5.19. Bileşik 4c'ye ait IR spektrumu	60
Şekil 5.20. Bileşik 4c'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	61
Şekil 5.21. Bileşik 4c'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	62
Şekil 5.22. Bileşik 4c'ye ait HRMS spektrumu.....	63
Şekil 5.23. N'-(4-Florobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4d).....	64
Şekil 5.24. Bileşik 4d'ye ait IR spektrumu.....	65
Şekil 5.25. Bileşik 4d'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	66
Şekil 5.26. Bileşik 4d'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	67
Şekil 5.27. Bileşik 4d'ye ait HRMS spektrumu	68
Şekil 5.28. N'-(4-Klorobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4e)	69
Şekil 5.29. Bileşik 4e'ye ait IR spektrumu	70
Şekil 5.30. Bileşik 4e'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	71
Şekil 5.31. Bileşik 4e'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	72
Şekil 5.32. Bileşik 4e'ye ait HRMS spektrumu.....	73
Şekil 5.33. 2-(4-Morfolinofenil)-N'-(4-nitrobenziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4f).....	74
Şekil 5.34. Bileşik 4f'ye ait IR spektrumu	75
Şekil 5.35. Bileşik 4f'ye ait ¹ H-NMR spektrumu.....	76
Şekil 5.36. Bileşik 4f'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	77
Şekil 5.37. Bileşik 4f'ye ait HRMS spektrumu	78
Şekil 5.38. N'-(4-Siyanobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4g).....	79
Şekil 5.39. Bileşik 4g'ye ait IR spektrumu.....	80
Şekil 5.40. Bileşik 4g'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	81
Şekil 5.41. Bileşik 4g'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	82
Şekil 5.42. Bileşik 4g'ye ait HRMS spektrumu	83
Şekil 5.43. N'-(2,4-Diklorobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4h).....	84
Şekil 5.44. Bileşik 4h'ye ait IR spektrumu.....	85
Şekil 5.45. Bileşik 4h'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	86

Şekil 5.46. Bileşik 4h'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	87
Şekil 5.47. Bileşik 4h'ye ait HRMS spektrumu	88
Şekil 5.48. N'-(2-Kloro-6-florobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4i)	89
Şekil 5.49. Bileşik 4i'ye ait IR spektrumu.....	90
Şekil 5.50. Bileşik 4i'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	91
Şekil 5.51. Bileşik 4i'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	92
Şekil 5.52. Bileşik 4i'ye ait HRMS spektrumu	93
Şekil 5.53. N'-(4-(Metiltiyo)benziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4j).....	94
Şekil 5.54. Bileşik 4j'ye ait IR spektrumu.....	95
Şekil 5.55. Bileşik 4j'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	96
Şekil 5.56. Bileşik 4j'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	97
Şekil 5.57. Bileşik 4j'ye ait HRMS spektrumu	98
Şekil 5.58. N'-Benziliden-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5a)	99
Şekil 5.59. Bileşik 5a'ya ait IR spektrumu	100
Şekil 5.60. Bileşik 5a'ya ait ¹ H-NMR spektrumu	101
Şekil 5.61. Bileşik 5a'ya ait ¹³ C-NMR spektrumu	102
Şekil 5.62. Bileşik 5a'ya ait HRMS spektrumu.....	103
Şekil 5.63. N'-(3-Metilbenziliden) -2-(2-(4-morfolinofenil) -1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5b).....	104
Şekil 5.64. Bileşik 5b'ye ait IR spektrumu.....	105
Şekil 5.65. Bileşik 5b'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	106
Şekil 5.66. Bileşik 5b'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	107
Şekil 5.67. Bileşik 5b'ye ait HRMS spektrumu	108
Şekil 5.68. N'-(4-Metoksibenziliden) -2-(2-(4-morfolinofenil) -1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5c).....	109
Şekil 5.69. Bileşik 5c'ye ait IR spektrumu	110
Şekil 5.70. Bileşik 5c'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	111
Şekil 5.71. Bileşik 5c'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	112
Şekil 5.72. Bileşik 5c'ye ait HRMS spektrumu.....	113

Şekil 5.73. N'-(4-Florobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5d).....	114
Şekil 5.74. Bileşik 5d'ye ait IR spektrumu.....	115
Şekil 5.75. Bileşik 5d'ye ait ¹ H-NMR spektrumu.....	116
Şekil 5.76. Bileşik 5d'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	117
Şekil 5.77. Bileşik 5d'ye ait HRMS spektrumu.....	118
Şekil 5.78. N'-(4-Klorobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5e).....	119
Şekil 5.79. Bileşik 5e'ye ait IR spektrumu.....	120
Şekil 5.80. Bileşik 5e'ye ait ¹ H-NMR spektrumu.....	121
Şekil 5.81. Bileşik 5e'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	122
Şekil 5.82. Bileşik 5e'ye ait HRMS spektrumu.....	123
Şekil 5.83. 2-(2-(4-Morfolinofenil) -1H-benzo[d]imidazol-1-il) -N'-(4-nitrobenziliden)asetohidrazid (5f).....	124
Şekil 5.84. Bileşik 5f'ye ait IR spektrumu.....	125
Şekil 5.85. Bileşik 5f'ye ait ¹ H-NMR spektrumu.....	126
Şekil 5.86. Bileşik 5f'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	127
Şekil 5.87. Bileşik 5f'ye ait HRMS spektrumu.....	128
Şekil 5.88. N'-(4-Siyanobenziliden) -2-(2-(4-morfolinofenil) -1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5g).....	129
Şekil 5.89. Bileşik 5g'ye ait IR spektrumu.....	130
Şekil 5.90. Bileşik 5g'ye ait ¹ H-NMR spektrumu.....	131
Şekil 5.91. Bileşik 5g'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	132
Şekil 5.92. Bileşik 5g'ye ait HRMS spektrumu.....	133
Şekil 5.93. N'-(2,4-Diklorobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5h).....	134
Şekil 5.94. Bileşik 5h'ye ait IR spektrumu.....	135
Şekil 5.95. Bileşik 5h'ye ait ¹ H-NMR spektrumu.....	136
Şekil 5.96. Bileşik 5h'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	137
Şekil 5.97. Bileşik 5h'ye ait HRMS spektrumu.....	138
Şekil 5.98. N'-(2-Kloro-6-florobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5i).....	139

Şekil 5.99. Bileşik 5i'ye ait IR spektrumu	140
Şekil 5.100. Bileşik 5i'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	141
Şekil 5.101. Bileşik 5i'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	142
Şekil 5.102. Bileşik 5i'ye ait HRMS spektrumu	143
Şekil 5.103. N'-(4-(Metiltiyo)benziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5j)	144
Şekil 5.104. Bileşik 5j'ye ait IR spektrumu.....	145
Şekil 5.105. Bileşik 5j'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	146
Şekil 5.106. Bileşik 5j'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	147
Şekil 5.107. Bileşik 5j'ye ait HRMS spektrumu	148
Şekil 5.108. (Z)-2-(4-Morfolinofenil)-N'-(4-nitrobenziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4f).....	152
Şekil 5.109. Bileşik 4f'ye ait ¹ H-NMR spektrumu.....	154
Şekil 5.110. Bileşik 4f'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	155
Şekil 5.111. Bileşik 4f'ye ait NOESY spektrumu	156
Şekil 5.112. Bileşik 4f'ye ait HMQC spektrumu.....	157
Şekil 5.113. Bileşik 4f'ye ait HMBC spektrumu.....	157
Şekil 5.114. A549 hücre hattında 5e , 5d , 5h ve 5i bileşiklerinin akış sitometrisi analiz diyagramları	161
Şekil 5.115. Etkili EGFR inhibitörleri olarak sentezlenmiş benzimidazol türevlerinin yapı-aktivite ilişkisi.....	163
Şekil 5.116. 5d bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin iki boyutlu diyagramı	164
Şekil 5.117. 5d bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin üç boyutlu diyagramı	165
Şekil 5.118. 5e bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin iki boyutlu diyagramı	166
Şekil 5.119. 5e bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin üç boyutlu diyagramı	167

Şekil 5.120. 5h bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin iki boyutlu diyagramı	168
Şekil 5.121. 5h bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin üç boyutlu diyagramı	168
Şekil 5.122. 5i bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin iki boyutlu diyagramı	169
Şekil 5.123. 5i bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin üç boyutlu diyagramı	170
Şekil 5.124. Enzim aktif bölgesine bağlanan 5d bileşiğinin moleküler dinamik simülasyon sonuçları.....	173
Şekil 5.125. Enzim aktif bölgesine bağlanan 5e bileşiğinin moleküler dinamik simülasyon sonuçları.....	175
Şekil 5.126. Enzim aktif bölgesine bağlanan 5h bileşiğinin moleküler dinamik simülasyon sonuçları.....	177
Şekil 5.127. Enzim aktif bölgesine bağlanan 5i bileşiğinin moleküler dinamik simülasyon sonuçları.....	179

KISALTMALAR DİZİNİ

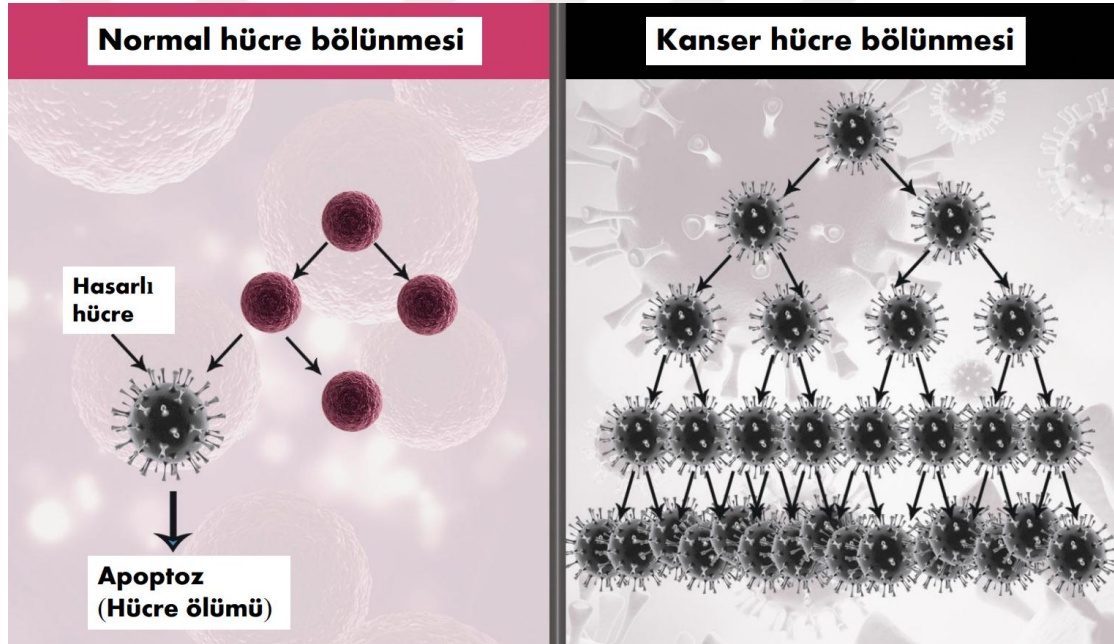
ATP	: Adenozin Trifosfat
ABL	: Abelson Tirozin Kinaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
A549	: İnsan Akciğer Karsinoma Hücresi
ATP	: Adenozin Trifosfat
BrdU	: Bromodeoksiüridin
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DMSO-<i>d</i>6	: Dötoryodimetilsülfoksit
DMF	: Dimetilformamit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
E.N.	: Erime Noktası
FDA	: Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
HMBC	: Heteronükleer Çok-Bağ Korelasyon Spektroskopisi
HRMS	: Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometrisi
HSQC	: Heteronükleer Tek-Kuantum Korelasyon Spektroskopisi
IC₅₀	: %50 İnhibisyon Konsantrasyonu
IR	: Infrared (Kızıl ötesi)
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
MCF-7	: İnsan Meme Karsinoma Hücresi
MTT	: (3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-dibenzenltetrazolyum bromür)
NOESY	: Çekirdek overhauser etki spektroskopisi
NSCLC	: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
NRTK	: Reseptör Olmayan Tirozin Kinaz
RTK	: Reseptör Tirozin Kinaz

TKİ	: Tirozin Kinaz İnhibitorü
¹H-NMR	: Proton Nükleer Magnetik Rezonans
¹³C-NMR	: Karbon Nükleer Magnetik Rezonans
2D-NMR	: İki boyutlu Nükleer Magnetik Rezonans



1 GİRİŞ VE AMAÇ

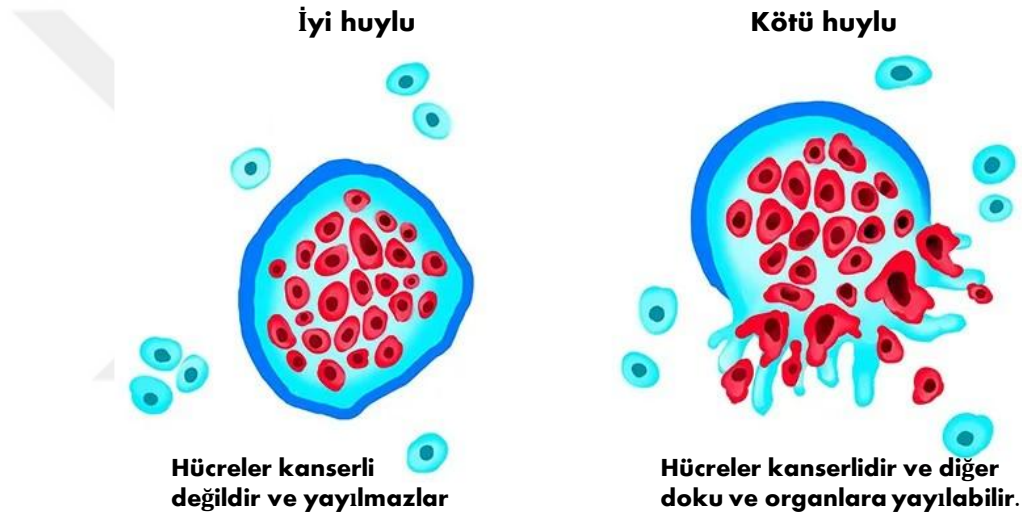
Kanser, tedavi stratejilerinde sürekli yenilik gerektiren, karmaşık ve küresel bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Özellikle son on yıllarda kanser vakalarında ciddi bir artış gözlenmiştir; bu artış, büyük ölçüde yaşam tarzı değişiklikleri, çevresel faktörler ve artan yaşam süresiyle ilişkilendirilmektedir. Günümüzde her dört kişiden biri yaşamı boyunca kansere yakalanma riski taşımakta ve kanser, dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biri olup, her yıl 10 milyondan fazla ölüme neden olmaktadır. Günümüzde hala kullanılan cerrahi tedavi, kemoterapi ve hatta radyoterapi gibi mevcut tedavi seçenekleri, sıklıkla ciddi toksisiteye ve sağlıklı dokularda seçici olmayan hasara yol açmaktadır (Bray vd., 2018; Han vd., 2020; Roy & Saikia, 2016; Shiels Meredith S., 2022; Siegel vd., 2024; You & Henneberg, 2018)



Şekil 1.1. Sağlıklı ve malign hücrelerin proliferasyonu (*The Difference Between Normal and Cancer Cells*, n.d.)

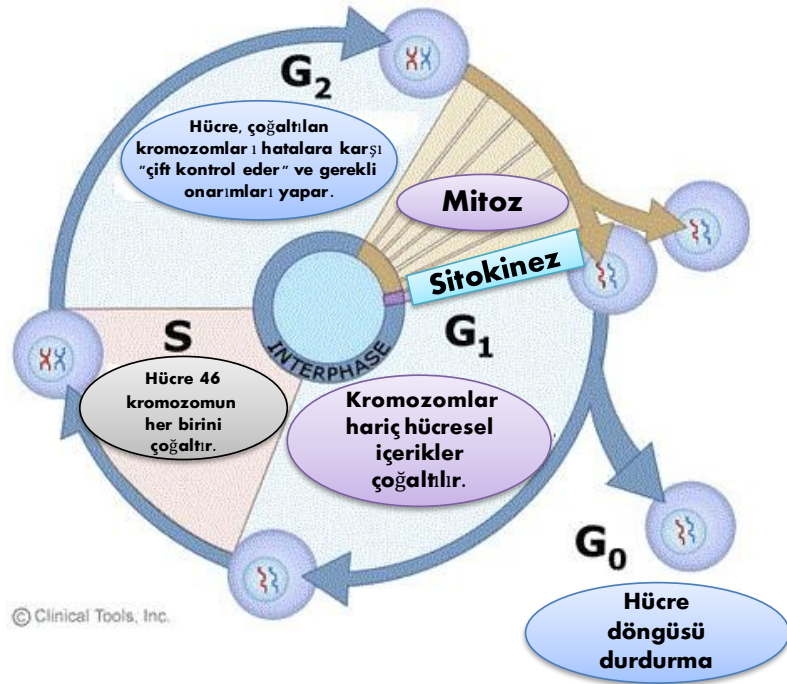
Kanserin temel özelliklerinden biri genetik olarak klonal bir yapı göstermesidir; bu da hastalığın genellikle tek bir mutant hücreden geliştiği göstermektedir. Mutasyonlar sonucu ortaya çıkan bu anormal hücreler, çoğalma kontrolünden kaçarak hızla çoğalabilirler. Bu süreçte, doğal seçim sürecinde, büyüme avantajı sağlayan varyantlar baskın hale gelir ve neoplastik dönüşüm gerçekleşir. Mutasyon oranı ve hücresel çoğalma hızı, bu sürecin ana belirleyicileridir; dolayısıyla, bu parametreleri etkileyen genetik bozukluklar, kanser gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır (Michael Andreeff vd., 2003).

Tümör, anormal hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla oluşur ve tümörlerin sınıflandırılmalarından biri, benign veya iyi huylu tümörler ya da malign veya sözde kötü huylu tümörler şeklindedir. İyi huylu (benign) olan tümörler sınırlı büyüme gösterip genellikle bulundukları bölgede kalırken; cerrahi olarak çıkarıldığında tekrarlama olasılıkları düşüktür. Kötü huylu tümör tipleri genellikle hızlı büyüme ve yayılma ile karakterize olup, sadece çevre dokularda değil, daha uzak organlara da yayılabilir, sağlıklı hücrelere zarar verebilir. Kötü huylu hücrelerdeki genetik değişiklikler, ürettikleri proteinlerin yapısında da değişikliğe yol açmakta ve bu durum, patolojik olarak tanımlanmalarını kolaylaştırmaktadır (Hanahan & Weinberg, 2011; Michael Andreeff vd., 2003; Weinberg, 2013).



Şekil 1.2. İyi huylu ve kötü huylu neoplazmalar ve tümörler (American Cancer Society, n.d.).

Normalde hücreler, proliferatif uyarılara yanıt olarak ve uygun koşullarda bölünürken, kanser hücrelerinde bu kontrol mekanizması mutasyonlar nedeniyle bozulmuştur. Hücre çoğalması, hücre döngüsündeki belirli kontrol noktaları tarafından düzenlenir. Kanser hücrelerinde, hücre döngüsü kontrol mekanizmalarında sıklıkla hatalar meydana gelir. Bu kontrol noktaları, hücrenin G1-S geçişi, G2-M geçişi ve metafaz ile anafaz arasındaki M fazı arasında yer alır. Bu noktalarda, hücrenin döngüye devam edip etmeyeceği belirlenir ve gerekirse apoptoz (programlanmış hücre ölümü) başlatılır. Ancak kanser hücrelerinde bu kontrol noktaları işlevini yitirebilir; bu durum, tümör hücrelerinin genetik yapısında bozulmalara ve tedaviye karşı direnç gelişimine yol açar (Matthews vd., 2022; Weinberg, 2013).



Şekil 1.3. Hücre döngüsü aşamaları ve kontrol noktaları (The University of Leicester, n.d.).

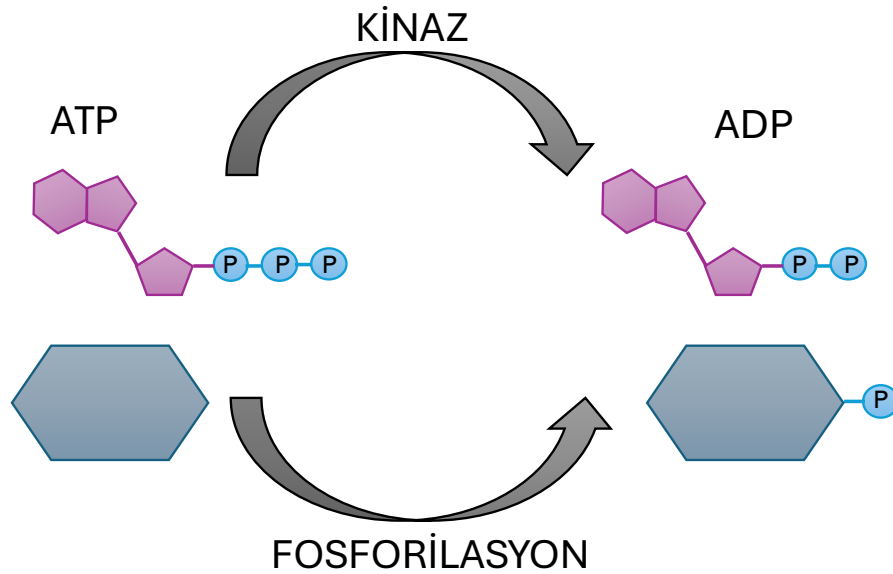
Cerrahi, kemoterapi ve radyasyon tedavisi, kanser tedavisinde tek veya kombinasyon tedavileri olarak kullanılan birkaç seçenekten biridir. Kanser tedavisi tipik olarak tümör kitlesini azaltmak için cerrahi müdahale veya radyoterapi ile başlar, ardından kalan kanser hücrelerini hedef almak için kemoterapi veya immünoterapi uygulanır. En yaygın kullanılan yaklaşım olan kemoterapi, sitotoksik ajanlar aracılığıyla tümör büyümesini engellemeyi, metastazı önlemeyi ve kanser hücresi ölümünü indüklemeyi hedeflemektedir. Ancak, yaygın kullanımına rağmen, mevcut kemoterapötik ilaçlar ve bunların kombinasyonları birçok kanser türünde tam remisyon sağlamakta yetersiz kalmaktadır. En büyük zorluklardan biri, kanser hücrelerinin genomik istikrarsızlığı ve hızla adapte olma ve hayatta kalma yeteneklerinden kaynaklanan ilaç direncinin gelişmesidir. Ayrıca, birçok kemoterapötik ajan sağlıklı dokulara zarar vererek önemli yan etkilere neden olmaktadır. Bu sınırlamalar yeni, daha etkili ve daha az toksik kanser tedavilerinin geliştirilmesine duyulan acil ihtiyacı vurgulamaktadır (Abbas & Rehman, 2018; Debela vd., 2021; Knight, 2021; Mokhtari vd., 2017).

Kanser hücrelerini geleneksel kemoterapi ile seçici olarak hedeflemek, normal hücrelere çok benzedikleri için zordur. Bu zorluğun üstesinden gelmek amacıyla, hücre döngüsünün durdurulması, apoptozun tetiklenmesi, hücre çoğalmasının engellenmesi ve metabolik yeniden programlamanın bozulması gibi belirli hücresel mekanizmalar yoluyla

hareket eden hedefe yönelik ilaç tedavileri geliştirilmiştir (Debela vd., 2021; Valter vd., 2017).

Kinazlar, hücrelerdeki sinyalizasyon süreçlerinin temel düzenleyicilerini temsil eder ve işlevlerindeki bozukluklar birçok hastalığın gelişimiyle ilişkilidir. Bu nedenle, kinazların substratlarının fosforilasyonunu nasıl gerçekleştirdiklerini anlamak çok önemlidir, çünkü bu bilgi hücre biyolojisinin temel mekanizmalarını çözmeye ve terapötik stratejiler tasarlamaya yardımcı olur. Protein kinazlar, fosfat gruplarının ATP'den diğer proteinlere transferini katalize eden ve böylece hücre içindeki sinyal yollarını etkileyen bir grup enzimi oluşturur. Her kinaz, özellikle çevresel değişikliklere göre hareket etmek için substratlarını tam olarak tanımalıdır. Birçok substratla etkileşime girebilir ve belirli sinyaller tarafından aktive edilenleri seçebilirler, bu da işlevlerini sinyal iletiminde ve hücresel süreçlerin kontrolünde çok önemli hale getirir (Clark & Cullati, 2025).

Protein kinaz aktivitesinin düzensizliği, birçok enflamatuvar hastalıkta, otoimmün, sinirsel ve kardiyovasküler hastalıklarda ve kanserde mevcuttur ve bu da onu içinde bulunduğumuz yüzyılda önemli bir ilaç hedefi haline getirmektedir (Roskoski, 2025).

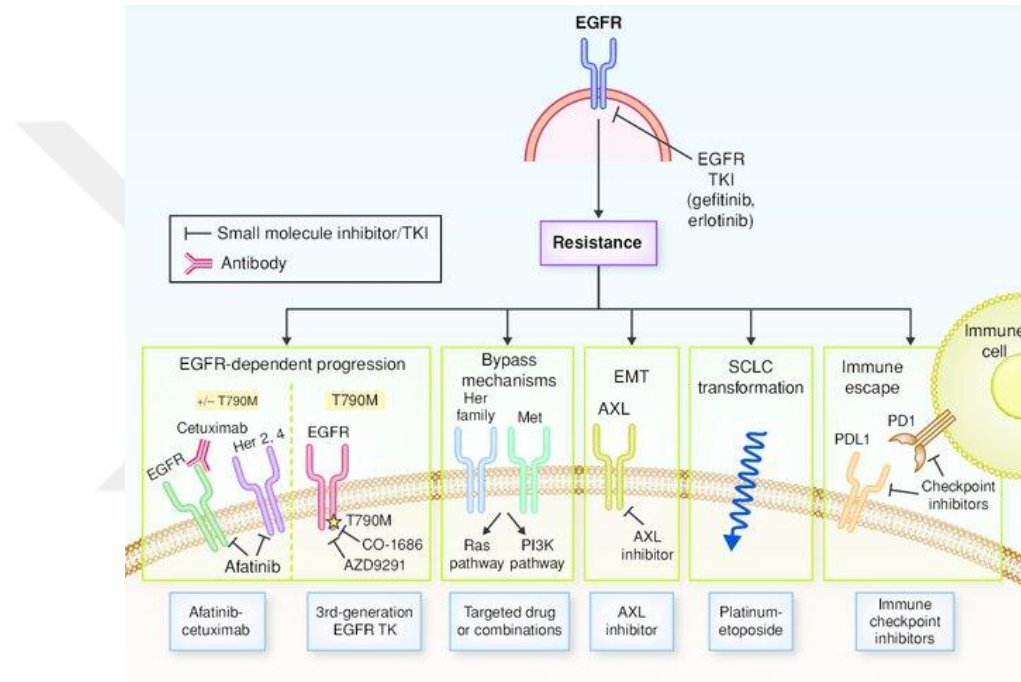


Şekil 1.4. Protein kinazlar, fosfat gruplarının ATP'den diğer proteinlere transferini katalize ederek hücre içindeki sinyal yollarını etkiler (Carl Peters, n.d.).

Tirozin kinaz ailesiyle ilişkili epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), akciğer, meme, kolon ve pankreas gibi çeşitli kanser türlerinde anormal şekilde aktive olabilmektedir. Sinyal iletim yollarının merkezinde yer alan EGFR, proliferasyon, apoptoz, anjiyogenez ve metastaz süreçlerinin düzenlenmesinde merkezi bir rol oynamaktadır. Bu anormal aktivasyon, kontrolsüz hücre çoğalmasına ve tümör gelişimine

yol açarak EGFR'yi antikanser ilaçlar için kritik bir hedef haline getirmektedir (Sigismund vd., 2018; Yamaoka vd., 2017).

EGFR'yi spesifik olarak hedef alan inhibitörler, bu reseptörün aktivitesini bloke ederek kanserin ilerlemesine katkıda bulunan sinyal yollarını engelleyebilir (Sharma et al., 2021). EGFR'nin bu hayati rolleri hem normal hücrel işlevlerdeki önemini hem de kanser progresyonundaki kritik etkisini ortaya koymaktadır. EGFR inhibitörleri, tümör hücrelerinin büyümesi ve çoğalmasını engellemeye yönelik olarak kullanılan önemli bir ilaç sınıfıdır.



Şekil 1.5. EGFR inhibitör direncinin mekanizmaları ve tedavi stratejileri(Gibbons & Byers, 2014).

Rasyonel olarak tasarlanmış ilk kinaz inhibitörü olan imatinib'in 2001 yılında onaylanmasından bu yana, yeni kinaz inhibitörlerinin geliştirilmesi büyük ilgi görmüştür (Bruce E. Johnson vd., 2003).

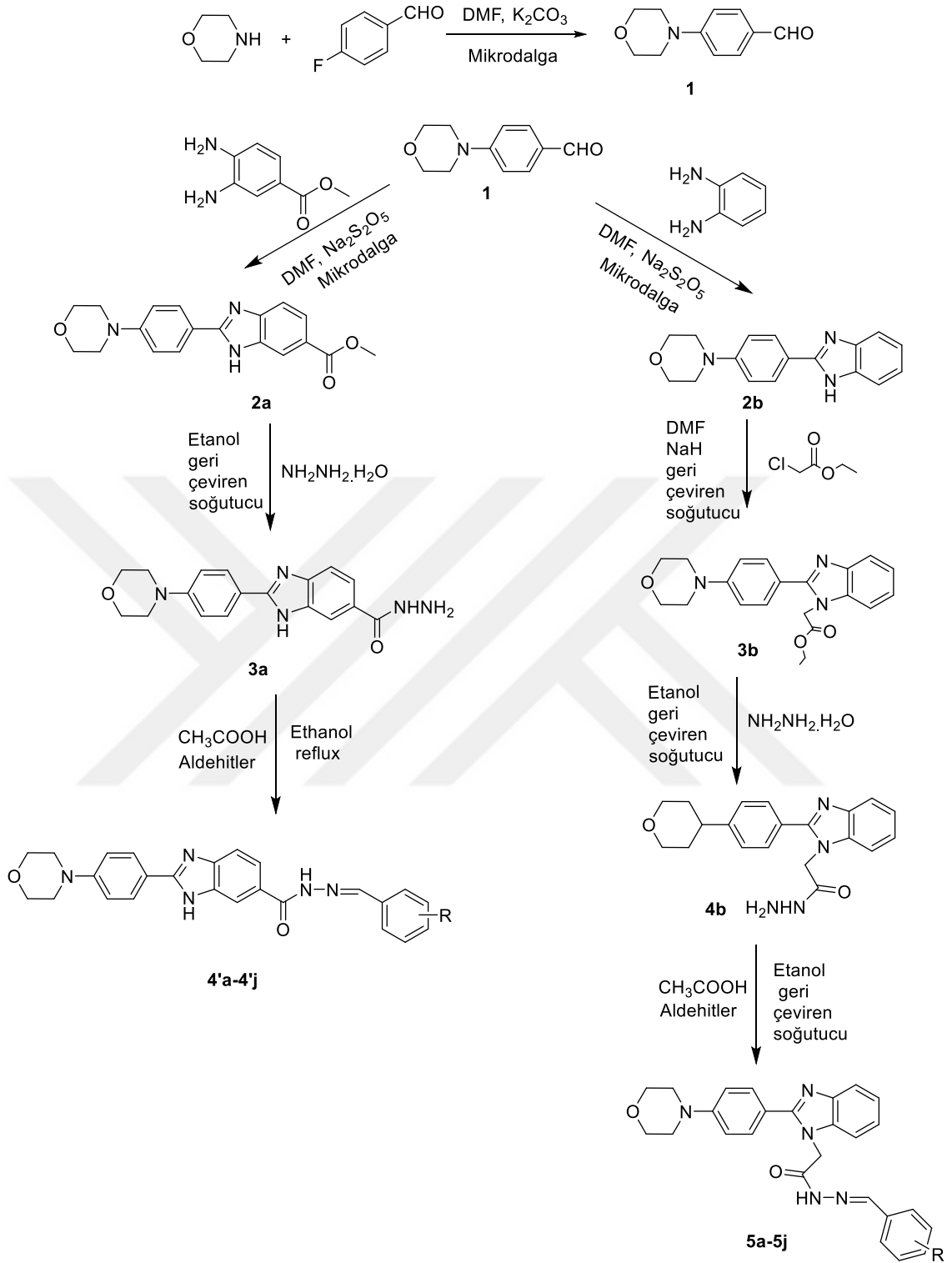
Hastalarda en sık görülen ve en ölümcül potansiyele sahip kanser türlerinden biri akciğer kanseridir ve önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır (Bilfinger vd., 2018; Siegel vd., 2024). Tanı ve tedavi alanındaki gelişmelere rağmen, akciğer kanseri hastaları hala kötü prognozlarla karşı karşıya kalmaktadır. Bunun temel sebeplerinden biri, çoğu vakanın ileri evrelerde teşhis edilmesi ve daha etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yönelik devam eden gereksinimdir (Bade & Dela Cruz, 2020).

EGFR inhibitörlerinin geliştirilmesi, potansiyelini göstermiş ve akciğer kanseri tedavisi için umut yaratmaktadır. EGFR yolunu hedefleyen birkaç küçük molekülü tirozin kinaz inhibitörü ve monoklonal antikor önemli klinik faydalar göstermiştir (Ayati vd., 2020; Del Re vd., 2020; Duma vd., 2019).

EGFR inhibitörleri, özellikle küçük hücreli dışı akciğer kanseri (NSCLC) başta olmak üzere çeşitli malignitelerde umut vaat etmektedir. Ancak, ilaç direnci ve yan etkiler gibi sorunlar, tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için daha fazla araştırma yapılmasını gerekli kılmaktadır.

Bu tez çalışması, yukarıda özetlenen bilgiler ışığında, antikanser potansiyele sahip yeni bileşiklerin tasarımı, sentezi ve biyolojik değerlendirilmesini amaçlanmaktadır. Morfolin halkası içeren, bilinen bir kinazolin bazlı antikanser ajan olan Gefitinib, öncü yapı olarak seçilmiştir. Yapısal çeşitlilik sağlamak ve biyolojik aktiviteyi artırmak amacıyla kinazolin halkası, antikanser etkileri literatürde belgelenmiş olan bir benzimidazol halkası ile değiştirilmiştir. Kinazolin, benzimidazol ve pirimidin gibi heterosiklik iskeletler, ATP bağlanmasını etkili bir şekilde taklit ederek hedef proteinlerin menteşe bölgesi ile hidrojen bağları oluşturma yetenekleri nedeniyle ilaç tasarımında çok önemlidir.

Bu çalışmada, benzimidazol ve morfolin halkalarını, ayrıca bir hidrazid fonksiyonel grubu içeren yeni bir bileşik serisi tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Çözünürlük ve farmakokinetik özellikleri iyileştirmek amacıyla hidroksil ve amin gibi polar fonksiyonel gruplar moleküllere dahil edilmiştir; π - π istifleme etkileşimlerini desteklemek üzere aromatik sistemler sentez stratejisine dahil edilmiştir. Sonuç olarak, bu doktora tezin kapsamında toplam 20 yeni bileşik sentezlenmiş ve antikanser aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir (**Şekil 1.6**).



Şekil 1.6. Hedef bileşiklerin sentezlenmesi için izlenen yol

Tablo 1.1. Antikanser özelliklerinin araştırılması için sentezlenen bileşikler

BİLEŞİK	R
4'a, 5a	-H
4'b, 5b	-3-CH ₃
4'c, 5c	-4-OCH ₃
4'd, 5d	-4-F
4'e, 5e	-4-Cl
4'f, 5f	-4-NO ₂
4'g, 5g	-4-CN
4'h, 5h	-2,4-di-Cl
4'i, 5i	-2-Cl-6-F
4'j, 5j	-4-S-CH ₃

2 ALAN YAZIN

2.1. Tirozin kinazların düzenlenmesi, düzensizliği ve terapötik hedeflenmesi

Tirozin kinazlar iki ana kategoriye ayrılır. İlk grup, hücre membranında bulunan ve reseptör tirozin kinazlar (RTK) olarak bilinen enzimlerdir. Bu enzimlerin iki temel bölgesi vardır: biri hücre dışında yer alır ve belirli moleküllere (ligandlara) bağlanır, diğeri ise hücre içinde bulunur ve kinaz aktivitesini gerçekleştirir. İkinci grup ise reseptör olmayan tirozin kinazlar (NRTK) olarak adlandırılır ve hücre zarına gömülü değildir. Bunun yerine sitoplazma, çekirdek veya hücre membranının hemen altı gibi hücre içi bölgelerde yer alırlar.

Sağlıklı ve bölünmeyen hücrelerde bu kinazların aktivitesi sıkı bir şekilde kontrol edilir; bu nedenle yalnızca düşük seviyelerde fosforlanmış tirozin proteinleri bulunur. Tüm tirozin kinazlar, katalitik bölgelerinde benzer bir yapıya sahiptir: ATP ve magnezyumu bağlayan daha küçük N-terminal lob ve aktivasyon döngüsünü içeren daha büyük C-terminal lob. Bu iki lob arasındaki boşluk, substrat proteinlerinin bağlanarak fosforilasyonun gerçekleştiği yerdir (Jiao vd., 2018; Krause & Van Etten, 2005).

İnsan genomunun analizi, toplamda 518 kinaz geni bulunduğunu ortaya koymuştur. Bunlardan 90'ı protein tirozin kinazlar (PTK'lar) olarak sınıflandırılmıştır. Tirozin kinazların geniş ailesinin tüm üyeleri arasında reseptör tirozin kinaz (RTK) grubu 58 üyeden oluşurken, reseptör olmayan tirozin kinaz (NRTK) adı verilen diğer grup 32 üyeden oluşmaktadır (Jiao vd., 2018; Robinson vd., 2000).

Reseptör tirozin kinazlar, hücre fonksiyonların kontrolünde merkezi bir rol oynar ve EGFR, VEGFR, PDGFR ve InsR gibi önemli reseptör ailelerini içerir. Kanseri araştırmalarında bu reseptörlerin ve ilgili ligandların, tümörlerin gelişiminde kritik roller üstlendiği gösterilmiştir. Pek çok kanserde, büyüme faktörlerinin aşırı üretilmesi RTK'ların anormal aktivasyonuna ve hücre içi tirozin fosforilasyon sinyallerinin artmasına yol açar. Bu durum, kontrolsüz hücre çoğalmasına ve tümör ilerlemesine katkıda bulunur (Annenkov, 2014; Jiao vd., 2018; Jiménez vd., 2012).

Tablo 2.1. *Reseptör ve Reseptör Olmayan Tirozin Kinazların Sınıflandırılması, Özellikleri ve Temsilci Örnekleri* (Jiao vd., 2018; Robinson vd., 2000).

Sınıf	Alt sınıf	Tanım-Özellik	Örnek	Yerleşim
Tirozin Kinazlar	-	Proteinlerin tirozin kalıntılarını fosforile eden enzimlerdir.	-	
1. Reseptör Tirozin Kinazlar (RTK)	20'den fazla alt aile içerir	Hücre zarında yer alır; ligand bağlanması ile aktive olurlar.	EGFR, VEGFR, PDGFR, InsR	Hücre membranı
	ErbB Ailesi	Hücre büyümesi, proliferasyon, farklılaşma süreçlerinde rol oynar.	EGFR (HER1), HER2, HER3, HER4	Hücre membranı
	VEGFR Ailesi	Anjiyogenezde önemli rol oynar.	VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3	Hücre membranı
	PDGFR Ailesi	Hücre göçü ve çoğalmasında rol oynar	PDGFR- α , PDGFR- β	Hücre membranı
	InsR Ailesi	Metabolik süreçlerin kontrolünde görev alır.	InsR, IGF-1R	Hücre membranı

Tablo 2.1. (Devam) Reseptör ve Reseptör Olmayan Tirozin Kinazların Sınıflandırılması, Özellikleri ve Temsilci Örnekleri

2. Reseptör Olmayan Tirozin Kinazlar (NRTK)	9 alt aile	Hücre içi yerleşimli, reseptör yapısı olmayan kinazlardır.	Src, Abl, FAK, JAK	Sitoplazma, çekirdek
	Src Ailesi	Hücre iskeleti düzeni ve adezyonla ilişkilidir	Src, Yes, Fyn	Sitoplazma/membran
	Abl Ailesi	DNA hasar yanıtı ve hücre stresine yanıt verir.	Abl1, Abl2	Çekirdek/sitoplazma
	JAK Ailesi	Sitokin sinyal iletiminde rol oynar.	JAK1, JAK2, JAK3, TYK2	Sitoplazma

2.2. Hedefli Tedavilerde EGFR ve Tirozin Kinaz İnhibitörlerinin Rolü

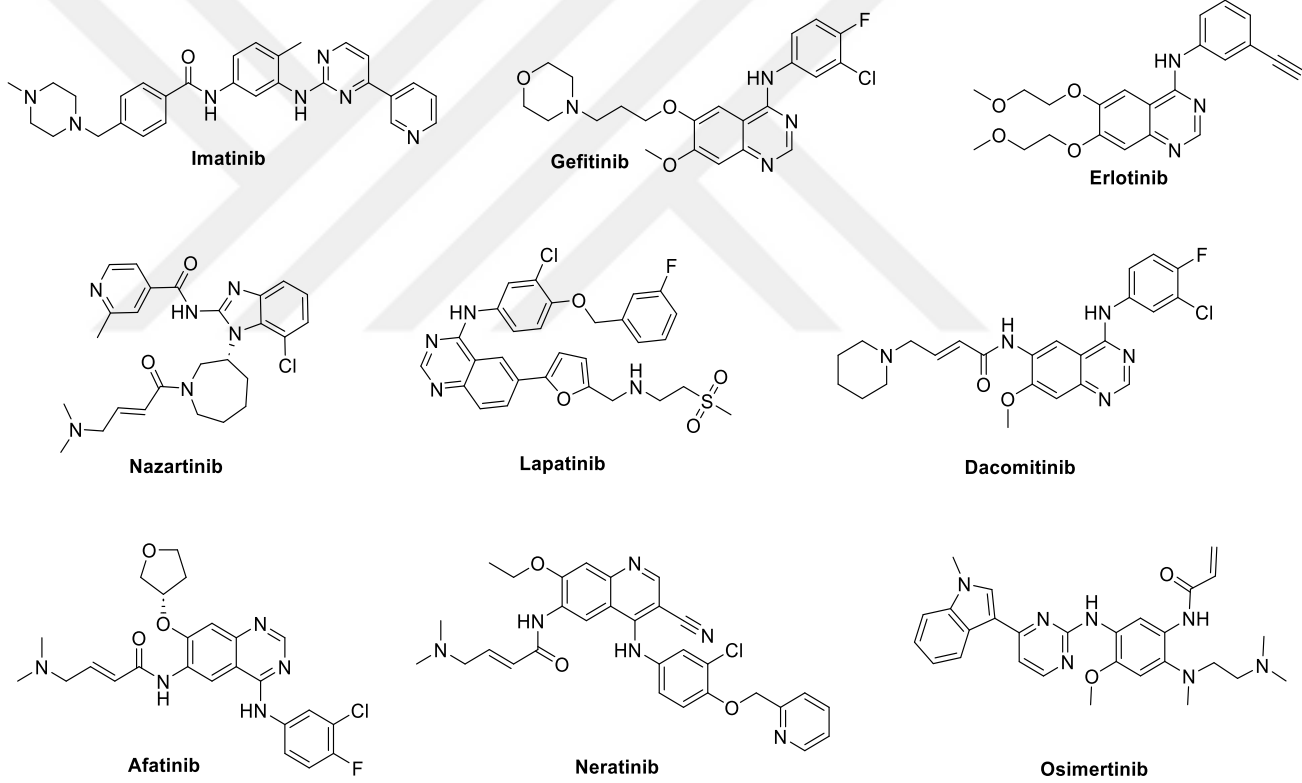
ErbB1 veya HER1 olarak da bilinen epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), hücre proliferasyonu ve sinyal iletiminde görevli epidermal büyüme faktörü ailesi için bir reseptördür. ErbB ailesi ayrıca HER2 (ErbB-2), HER3 (ErbB-3) ve HER4 alt tiplerini de içerir (Herbst, 2004). EGFR, hücre proliferasyonu, anjiyogenez, invazyon, metastaz ve apoptoz gibi tümör gelişiminin bir çok yönüyle ilişkilidir. EGFR'nin aşırı ekspresyonu çeşitli kanser türleriyle bağlantılıdır. Bu nedenle, küçük hücreli dışı akciğer (NSCLC), baş-boyun, meme, glioma, rahim ağzı ve mesane kanseri gibi hastalıklarda, EGFR küçük molekül inhibitörleri ile tedavi için önemli bir hedef haline gelmiştir. Birinci, ikinci ve üçüncü nesil EGFR inhibitörleri, bu hastalıkların prognozunu önemli ölçüde iyileştirmiştir (Abdullahi vd., 2023; Belal vd., 2022).

İlk EGFR-TKI (Tirozin Kinaz İnhibitörü) olan Gefitinib, 2003 yılında NSCLC tedavisi için onaylanmıştır (Cohen vd., 2005). Gefitinib, tümörlerinde belirli EGFR mutasyonları bulunan metastatik NSCLC hastalarının tedavisinde kullanılmıştır. FDA, 13 Temmuz 2015'te metastatik EGFR mutasyon pozitif NSCLC tedavisinde kullanılmasına izin vermiştir (Kazandjian vd., 2016). Düşük nanomolar konsantrasyonlarda Gefitinib; A549

NSCLC, MCF-7 meme kanseri, HX62 over kanseri, prostat ve kolorektal karsinom gibi çeşitli insan tümör ksenograft modellerinde güçlü anti-proliferatif etkiler göstermiştir (Zubair vd., 2022).

Erlotinib, ikinci nesil EGFR-TKI olarak 2004 yılında FDA onayı almıştır (Cohen vd., 2005). Lapatinib ise üçüncü nesil bir EGFR-TKI olup, kapesitabin ile kombinasyon halinde meme kanseri tedavisinde 2007 yılında onaylanmıştır (Ryan vd., 2008).

Sonraki yıllarda farklı kanser türlerinin tedavisinde kullanılmak üzere toplam on bir EGFR-TKI onaylanmıştır. Bunlardan afatinib, brigatinib, dakomitinib, neratinib, osimertinib, pyrotinib ve vandetanib FDA onaylıdır. İkotinib, almonertinib ve simotinib 2011-2020 arasında Çin'de, olmutinib ise 2016'da Güney Kore'de onaylanmıştır (Belal vd., 2022).



Şekil 2.1. Onaylanmış EGFR inhibitörleri (Belal vd., 2022).

Şu anda piyasada iki ana anti-EGFR ilaç sınıfı bulunmaktadır:

1. EGFR'nin hücre içi katalitik bölgesine bağlanan küçük moleküllü tirozin kinaz inhibitörleridir (TKI)
2. EGFR'nin hücre dışı bölgesine bağlanarak dimerizasyonu engelleyen monoklonal antikorlar (mAb).

Setuksimab ve panitumumab, etkili EGFR monoklonal antikor inhibitörlerindendir. Setuksimab, kolorektal kanser ve baş-boyun skuamöz hücreli karsinom (HNSCC) tedavisinde etkili bulunmuştur. Panitumumab ise metastatik kolorektal kanser tedavisinde etkilidir. Bir çalışmada, setuksimab ile kemoterapi kombinasyonu metastatik kolorektal kanserli hastalarda progresyonsuz sağkalımı artırmıştır. Başka bir çalışmada ise, radyoterapiye setuksimab eklenmesinin HNSCC hastalarında sağkalımı iyileştirdiği görülmüştür. Bu sonuçlar, EGFR inhibitörlerinin kolorektal kanser ve baş-boyun skuamöz hücreli karsinomu (HNSCC) için umut verici bir tedavi olarak önemini vurgulamaktadır (Battaglin vd., 2019; Liao vd., 2016).

EGFR inhibitörleri, özellikle NSCLC başta olmak üzere birçok kanserin tedavisinde umut vadeden bileşiklerdir. Son yıllarda araştırmacılar, bu inhibitörlerin etkinliğini artırmak, EGFR'nin mutant formlarını hedeflemek ve direnç mekanizmalarını aşmak amacıyla çok sayıda yeni bileşik tasarlamış ve sentezlemiştir.

2.3. Gefitinib

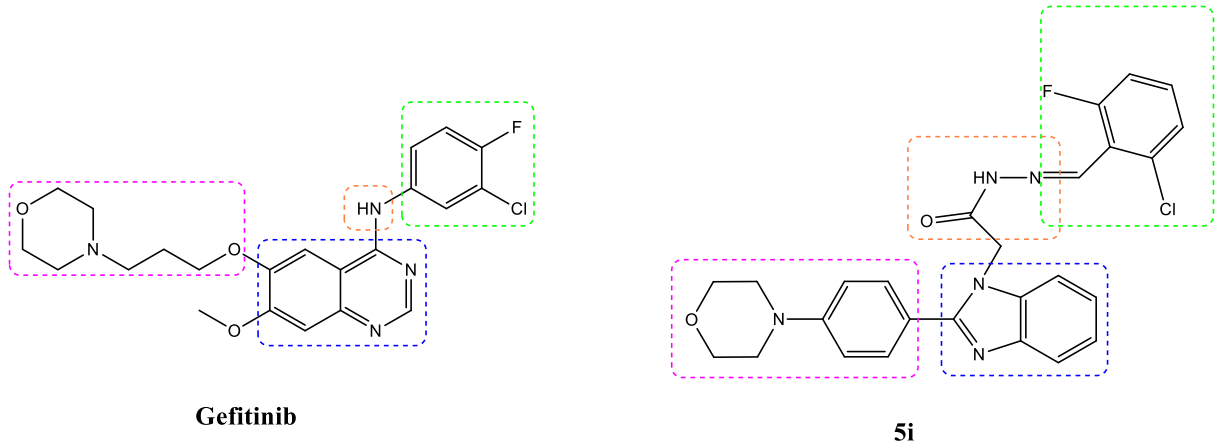
Gefitinib, sonuçları ile seçici ve umut verici epidermal büyüme faktörü reseptörü tirozin kinaz inhibitörlerinden (EGFR-TKI) biridir ve aktivasyonla ilişkili EGFR mutasyonları taşıyan küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin (NSCLC) tedavisinde önemli bir yer edinmiştir. Gefitinib, EGFR kinaz alanının ATP bağlanma bölgesini özel olarak hedef alarak, hücre çoğalması ve sağ kalımında kritik rol oynayan reseptör ve sinyal yollarının (örneğin, RAS/RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT) otofosforilasyonunu baskılar (Asami, 2014; Dickerson vd., 2024; Du vd., 2023; Fu vd., 2022; Zhang & Chang, 2006). EGFR genindeki somatik mutasyonlar (özellikle ekson 19 delesyonları ve ekson 21 L858R nokta mutasyonu), bu inhibitörün etkinliğini önemli ölçüde artırır ve Gefitinib'e yanıt veren tümörleri, geleneksel kemoterapiye duyarsız NSCLC alt tiplerinden ayırır (Meisel, 2020; Murtuza, 2019; (Engelman & Jänne, 2005; Meisel & Hochmair, 2020; Murtuza vd., 2019; Ueno vd., 2005).

Gefitinib, 4-anilinokinazolin yapısına sahip küçük bir molekül inhibitörüdür. Kinazolin halkası, ATP'nin adenozin kısmını taklit ederek kinaz alanında yer alır ve rekabetçi inhibisyon sağlar. Bu halka, özellikle Met793 olmak üzere önemli kalıntılarla hidrojen bağları oluşturarak bağlanma gücünü belirleyen birincil farmakofor grubunu oluşturur. Molekül ayrıca şunları içerir:

- Lipofilik etkileşimler yoluyla bağlanmayı destekleyen bir 3-kloro-4-floroanilin grubu.
- Bir 7-metoksi grubu, molekülün düzlemselliğini artırarak π -elektron sistemine katkıda bulunur.
- Bir 3-morfolinilpropoksi zinciri, kinaz alanının suya maruz kalan bölgesine uzanarak çözünürlüğü ve farmakokinetik profili iyileştirir (Stamos vd., 2002)

Bu farmakoforik yapılandırma, gefitinibin hem bağlanma afinitesini hem de hedef seçiciliğini artırır. Molekülün geri dönüşümlü bağlanma kapasitesi, tedaviye hızlı yanıt alınmasını kolaylaştırır, ancak zamanla edinilmiş direnç gelişebilir. En yaygın direnç mekanizmalarından biri, Gefitinib'in bağlanma bölgesinde konformasyonel bir değişikliğe neden olan ve inhibitörün etkinliğini azaltan kinaz alanındaki T790M mutasyonudur (X. Liu vd., 2018; Yun vd., 2008).

Bu direnç gelişimi, yeni nesil tirozin kinaz inhibitörlerinin (örneğin Erlotinib, Afatinib, Osimertinib) geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Bu ilaçlar, geri dönüşümsüz bağlanma kapasiteleri veya T790M gibi direnç mutasyonlarını hedefleme yetenekleriyle öne çıkarlar. Bu nedenle, geleneksel kemoterapiden kişiselleştirilmiş tedaviye geçişte önemli bir dönüm noktasını oluşturmaktadırlar (Diao vd., 2020; Liao vd., 2016; Sebastian vd., 2014).



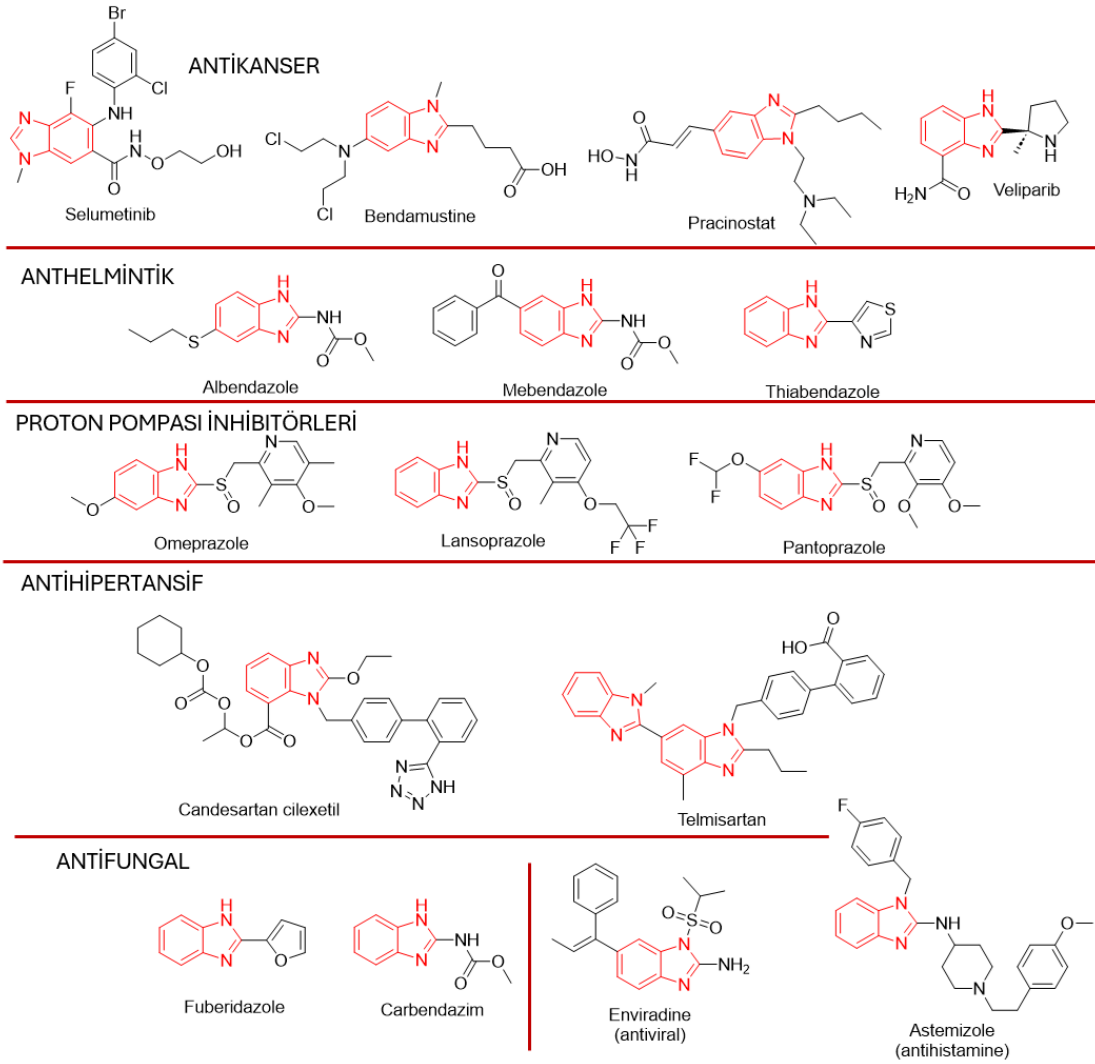
Şekil 2.2. EGFR inhibitörü Gefitinib ve tasarladığımız **5i** bileşiği

2.4. Benzimidazolün biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri

Benzimidazol, benzen halkasının 4. ve 5. pozisyonlarındaki imidazol halkasıyla birleşmesiyle oluşan bisiklik aromatik organik bir moleküldür. Benzimidazol ve türevlerinin geniş spektrumlu farmakolojik aktiviteleri, antikanser, antimikrobiyal, antiviral, antiülser, antifungal, proton pompası inhibitörü, antihipertansif, antikonvülsan,

antimalaryal ve antiinflamatuvar özellikler de dahil olmak üzere tıbbi kimya alanında onları önemli bir odak noktası haline getirmiştir (Çevik vd., 2022; J. Chen vd., 2023; Ebenezer vd., 2023; Ganie vd., 2019; Jain vd., 2010; Lee vd., 2023; Morcoss vd., 2020; Mulugeta & Samuel, 2022; Noor vd., 2017; Okombo vd., 2019; Omotuyi vd., 2023; Radhamanalan vd., 2018; Rep vd., 2022; Sagam vd., 2022; D. Song & Ma, 2016; Veerasamy vd., 2021; Wagih vd., 2025; Wu vd., 2020; Zubair vd., 2022). Biyolojik olarak aktif türevlerin geliştirilmesi için benzimidazol halkasında ikame için en önemli bölgeler 1, 2, 5 ve 6'dır. Benzimidazol bazlı bileşikler, tümör ilerlemesinde kritik öneme sahip EGFR, VEGFR ve PI3K dahil olmak üzere temel moleküler yolları hedefleyerek umut verici bir antikanser potansiyeli göstermiştir. Terapötik çok yönlülükleri nedeniyle, birkaç benzimidazol türevi çeşitli terapötik uygulamalar için klinik onay almıştır. Örneğin, albendazol, tiyabendazol ve mebendazol yaygın olarak antihelmintik ajanlar olarak kullanılırken, proton pompası inhibitörleri olarak pantoprazol, omeprazol ve lansoprazol kullanılmaktadır. Ayrıca, astemizol bir antihistaminik ilaçtır, enviradene antiviral özellikler gösterir ve kandesartan sileksetil ve telmisartan antihipertansif ilaçlar olarak kullanılır. Dahası, benzimidazol iskeleleri çeşitli terapötik alanlarda ilaç geliştirme için temel çerçeveler görevi görür (Bansal & Silakari, 2012; Brishty vd., 2021; Ebenezer vd., 2023; Haider & Shahar Yar, 2022; Narasimhan vd., 2012; Sagam vd., 2022; Veerasamy vd., 2021; Wagih vd., 2025; Yadav & Ganguly, 2015).

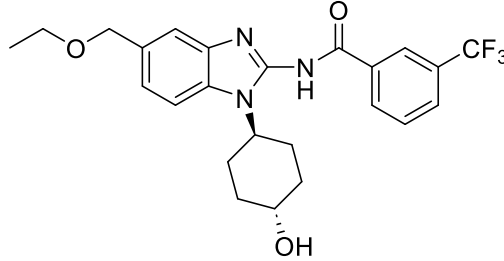
Ayrıca, protein kinaz inhibitörü olarak da umut vadederler. Geniş biyolojik aktivite spektrumları, bu bileşikleri kanser, mikrobiyal ve viral hastalıkların tedavisinde önemli hale getirmektedir. Son yıllarda yapılarında benzimidazol halkası içeren yeni bir EGFR inhibitörü sınıfı kanser tedavisinde ilgi görmeye başlamıştır (Mirgany vd., 2024).



Şekil 2.3. Benzimidazol iskeleti içeren klinik olarak onaylanmış ilaçlar (Bansal & Silakari, 2012; Brishty vd., 2021; Ebenezer vd., 2023; Haider & Shahar Yar, 2022; Narasimhan vd., 2012; Sagam vd., 2022; Veerasamy vd., 2021; Wagih vd., 2025; Yadav & Ganguly, 2015).

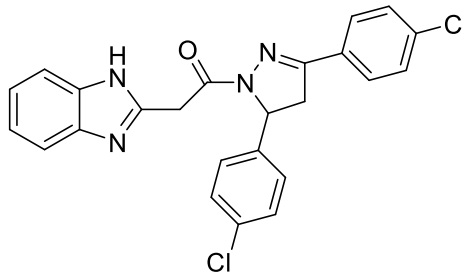
Benzimidazol halkası EGFR inhibitörlerinden biri olan Nazartinib, EGF816 olarak da bilinen, ağızdan alınabilen, üçüncü nesil, mutant-selektif ve geri dönüşümsüz bir EGFR inhibitörüdür ve antineoplastik etki potansiyeline sahiptir. EGF816, T790M mutasyonu da dahil olmak üzere, EGFR'nin mutant formlarına kovalent olarak bağlanır ve EGFR aracılı sinyalleşmeyi engeller (Lelais vd., 2016). Bu etki, tümör hücrelerinin ölümüne neden olabilir ve EGFR aşırı eksprese eden tümörlerde büyümeyi durdurabilir. EGF816, özellikle T790M gibi edinilmiş direnç mutasyonlarına karşı etkilidir ve diğer EGFR tirozin kinaz inhibitörlerine kıyasla T790M aracılı direnç gösteren tümörlerde terapötik avantaj sağlayabilir (Liao vd., 2016). EGF816'nın hedef profili, T790M mutasyonlarına

dönüştürüldüğünü rapor etmişlerdir. Ayrıca, bu bileşiğin L858R-T790M EGFR mutantına karşı submikromolar düzeyde aktivite ve vahşi tipe karşı yüksek seçicilik sergilediği belirlenmiş ve terapötik potansiyeli vurgulanmıştır (Lelais vd., 2016).



Şekil 2.6. *N-(5-(Etoksimetil)-1-((1r,4r)-4-hidroksisikloheksil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-3-(triflorometil)benzamid*

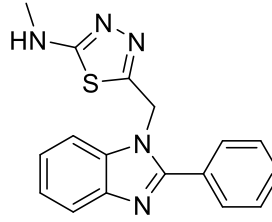
Akhtar ve diğerleri (2018) tarafından, benzimidazol ile bağlı yeni bir pirazol türevleri serisi sentezlenmiş ve bunların antikanser potansiyelleri ile EGFR inhibitörlük aktivitelerini değerlendirmiştir. Bu seride 2-benzo[d]imidazol ve 1-(3,5-bis(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol) ikameleri içeren etan-1-on türevi, A549 akciğer kanseri hücrelerine karşı 2.2 μM IC_{50} değeri ile en güçlü antikanser etkiyi göstererek en umut verici aday olarak öne çıkmıştır. Ayrıca, EGFR'ye bağlanma afinitesi de 0.97 μM IC_{50} değeri ile oldukça yüksek bulunmuştur. Mekanik olarak, bu bileşiğin A549 hücrelerinde apoptozu indüklendiği ve belirgin bir G2/M fazı hücre döngüsü duraklamasına yol açtığı belirlenmiştir (Akhtar vd., 2018).



Şekil 2.7. *2-benzo[d]imidazol ve 1-(3,5-bis(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol) ikameleri içeren etan-1-on türevi*

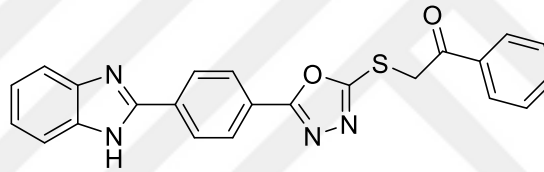
Çelik ve diğerleri (2019) tarafından tiyosemikarbazid, triazol veya tiyadiazol parçaları içeren bir dizi benzimidazol türevi sentezlenmiş ve bunların EGFR inhibitör aktivitelerini *in vitro* olarak değerlendirmiştir. Bileşiklerin çoğu Erlotinib'in (%91) inhibisyonuna kıyasla orta düzeyde inhibisyon (%6-42) göstermiştir. Seriler arasında, 2. pozisyonunda fenil halkası ve *N*-Metilamino-süstitüe tiyadiazol içeren 5. pozisyonunda (2-fenil-1H-benzimidazol-1-il)metil ikamesi bulunan *N*-metil-1,3,4-tiadiazol-2-amin türevi,

Erlotinib'e (%60) kıyasla en yüksek antiproliferatif aktiviteyi (%25) göstermiştir (Celik vd., 2019).



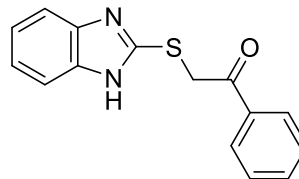
Şekil 2.8. *N-Metil-5-((2-fenil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)metil)-1,3,4-tiadiazol-2-amin*

Çevik ve diğerleri (2019) tarafından yeni benzimidazol-oksadiazol türevleri sentezlendi ve antikanser etkileri çeşitli kanser hücre hatları A549 ve HepG2'ye karşı araştırılmıştır. Bu serideki tüm bileşiklerden 1-Feniletan-1-on türevi, (5-(4-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)fenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tio-2 pozisyonunda ikame edilmiş, A549 ($IC_{50} = 13 \pm 1 \mu M$) ve HepG2 ($IC_{50} = 3 \pm 0.7 \mu M$) hücre hatlarına karşı etki sergilemiştir (Çevik vd., 2019).



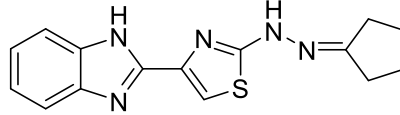
Şekil 2.9. *2-((5-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-feniletan-1-on*

Al-Warhi ve diğerleri (2020) tarafından, 2-((Imidazol- veya benzimidazol-2-il)tiyo)-1-feniletan-1-onların sentezi için yeni bir yol bildirmiştir. *In vitro* çalışmalar, özellikle benzimidazol türevlerinin, imidazol türevlerine kıyasla daha güçlü antiproliferatif etkiler sergilediğini ortaya koymuştur. En aktif bileşik olan 2-((1H-Benzo[d]imidazol-2-il)tiyo)-1-feniletan-1-on, elde edilen verilere göre, T-47D hücrelerinde $8,04 \pm 0,32 \mu M$ ve MCF-7 hücrelerinde $12,90 \pm 1,04 \mu M$ IC_{50} değerleri ile sitotoksik aktivite göstermiştir, bu da MCF-7 hücrelerine kıyasla T-47D hücrelerinde daha güçlü bir etki olduğunu göstermektedir (Al-Warhi vd., 2020).

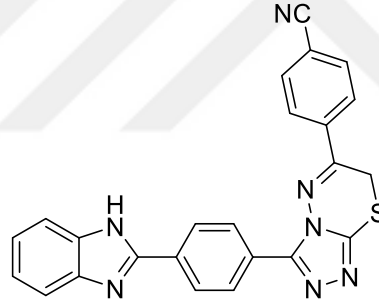


Şekil 2.10. *2-((1H-Benzo[d]imidazol-2-il)tiyo)-1-feniletan-1-on*

Srouer ve diğerkleri (2020) tarafından, yeni tiazol-benzimidazol türevleri sentezleyip EGFR inhibitörleri olarak değerklendirmiştir. En etkili bileşik olan 2-siklopentiliden hidrazinil ve 4-(1-metilbenzo[d]imidazol-2-il) ikameli tiyazol, MCF-7 hücrelerine karşı $IC_{50} = 6,30 \pm 0,37 \mu M$ değerkinde aktivite göstermiştir. Aynı bileşik, G2/M fazında hücre döngüsü durmasına, belirgin apoptoza, p53, kaspaz-3 ve Bax/Bcl-2 oranında artışa ve PARP-1 seviyesinde azalmaya yol açmıştır (Srouer vd., 2020).

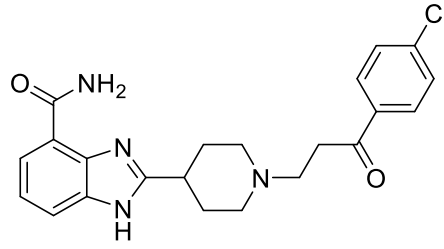


Şekil 2.11. 2-(2-Siklopentiliden Hidrazinil)-4-(1-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il) tiyazol
Çevik ve diğerkleri (2020) tarafından, bir dizi benzimidazol-triazolotiyadiazin türevi elde edilmiştir ve test için meme kanseri hücreleri (MCF-7) seçilmiştir. Ayrıca *in vitro* aromataz inhibisyon testinde, 4-benzonitril bağılı triazolo-tiadiyazin türevi, 4-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)fenil ikameli, letrozole yakın aktivite göstermiştir ($IC_{50} = 0,032 \pm 0,042 \mu M$; letrozol için $IC_{50} = 0,024 \pm 0,001 \mu M$) (Acar Çevik vd., 2020).



Şekil 2.12. 4-(3-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-6-il)benzonitril

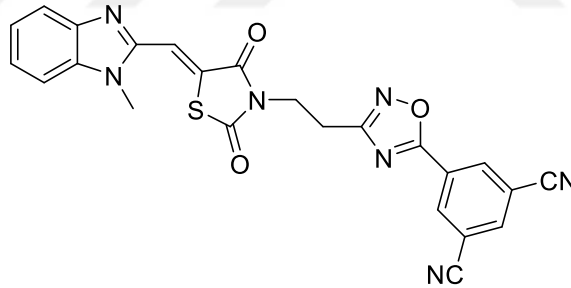
Zhang ve diğerkleri (2020) tarafından potansiyel PARP-1 inhibitörleri olarak bir dizi piperidil benzimidazol karboksamid türevi sentezlenmiş ve antikanser aktiviteleri değerklendirilmiştir. Bu bileşikler arasında fenil keton alkil türevleri, enzim inhibisyonu ve hücre proliferasyon deneylerine göre güçlü PARP-1 inhibitör etkileri göstermiştir. Özellikle 2-(1-(3-(4-Klorofenil)-3-oksopropil)piperidin-4-il)-1H-benzo[d]imidazol-4-karboksamid bileşiğı, PARP-1 inhibisyonunda $IC_{50} = 2.4 \mu M$ değeri ile aktivite göstermiştir (Zhang vd., 2020).



Şekil 2.13. 2-(1-(3-(4-Klorofenil)-3-oksopropil)piperidin-4-il)-1H-benzo[d]imidazol-4-karboksamid

Venu ve diğerleri (2022) tarafından, tek kapta (one pot) sentez yöntemiyle yeni benzimidazol-tiyazolidin-2,4-dion-1,2,4-oksadiazol hibritleri geliştirilmiştir.

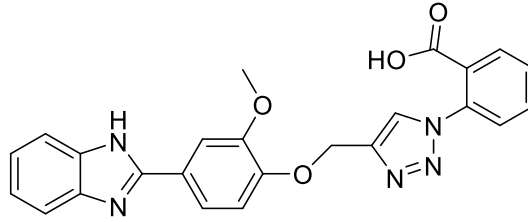
Bu bileşiklerden, 5-izoftalonitril iskeletinin 3 ve 5 pozisyonlarında sırasıyla etil bağlı 2-(5-((1-Metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)metilen)-2,4-dioksotiazolidin-3-il) ve oksadiazol grupları içeren, elde edilen verilere göre, MCF-7, A-549 ve HepG2 hücre hatlarında sırasıyla $1,32 \pm 0,05 \mu\text{M}$, $19,72 \pm 0,67 \mu\text{M}$ ve $11,27 \pm 0,54 \mu\text{M}$ IC_{50} değerleri ile erlotinib'e kıyasla daha güçlü *in vitro* antikanser aktivitesi göstermiştir. Ayrıca EGFR tirozin kinaz inhibisyonunda $\text{IC}_{50} = 0,26 \pm 0,02 \mu\text{M}$ ile erlotinibin $\text{IC}_{50} = 0,40 \pm 0,01 \mu\text{M}$ değerine göre yaklaşık iki kat daha güçlü inhibisyon etkisi sergilemiştir (Venu vd., 2022).



Şekil 2.14. 5-(3-(2-(5-((1-Metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)metilen)-2,4-dioksotiazolidin-3-il)etil)-1,2,4-oksadiazol-5-il)izoftalonitril

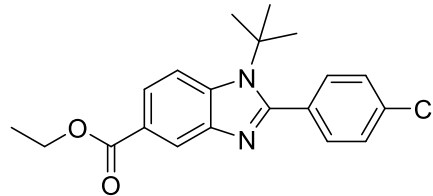
Alzahrani ve diğerleri (2022) tarafından 1,2,3-triazol-benzimidazol hibritleri geliştirilmiştir ve antikanser aktiviteleri açısından test edilmiştir. Test edilen bileşikler arasında, triazol grubunun 2. pozisyonunda 1H-1,2,3-triazol-1-il ikameleri ve 4. pozisyonunda 4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)-2-metoksifenoksi metil ikameleri bulunan benzoik asit türevi, en etkili bileşik olarak öne çıkmış ve farklı kanser hücre hatlarında $1,49\text{--}2,35 \mu\text{M}$ aralığında IC_{50} değerleri ile doksorubisine (IC_{50} : $1,45\text{--}2,12 \mu\text{M}$) benzer etkinlik göstermiştir. Ayrıca EGFR inhibisyonunda $\text{IC}_{50} = 0,52 \mu\text{M}$ ile güçlü aktivite sergilemiş, HCT-116 hücrelerine karşı $\text{IC}_{50} = 2,35 \mu\text{M}$ değerine ulaşmıştır. Bu bileşik

ayrıca doksorubisine karşı eşdeğer (IC_{50} = 1.82 μ M) ve tamoksifene kıyasla 11.87 kat daha güçlü (IC_{50} = 21.76 μ M) bulunmuştur (Alzahrani vd., 2022).



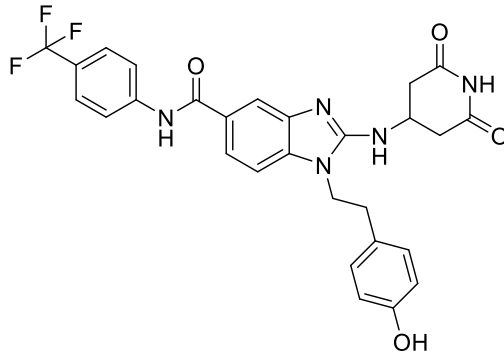
Şekil 2.15. 2-(4-((4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)-2-metoksifenoksi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoik asit

Abdullah ve diğerleri (2023) tarafından fenil halkası üzerinde farklı pozisyonlarda kloro ve nitro grupları içeren N-sec ve tert-butil-2-fenilbenzimidazol türevleri sentezlenmiş ve antikanser aktiviteleri değerlendirilmiştir. Kloro sübstitüe bileşikler, meme kanseri hücrelerinde nitro analoglarına göre daha güçlü antiproliferatif etki göstermiştir. Bu bileşikler arasında Etil karboksilat bağlı 1-(tert-butil)-2-(4-klorofenil) benzo[d]imidazol türevi MCF-7'ye karşı IC_{50} = 54,62 μ M ile en aktif bileşik olarak belirlenmiş ve ayrıca MDA-MB-231 hücrelerine karşı IC_{50} = 90,6 μ M değerinde inhibisyon göstermiştir (Abdullah vd., 2023).



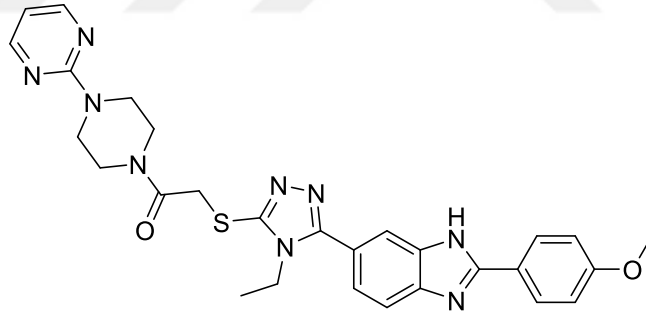
Şekil 2.16 Etil 1-(tert-butil)-2-(4-klorofenil)-1H-benzo[d]imidazol-5-karboksilat

Theodore ve diğerleri (2023) tarafından, 1H-benzo[d]imidazol türevlerinden oluşan bir seri tasarlanmış ve bu bileşiklerin MCF-7 ve HCT116 kanser hücre hatlarında antikanser aktiviteleri araştırılmıştır. Bileşikler, normal Vero hücre hattını etkilemeden seçici sitotoksikite göstermiştir. Bunlar arasında 2-((2,6-Dioksopiperidin-4-il)amino)-1-(4-hidroksifenetil)-N-(4-(triflorometil)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-5-karboksamid, EGFR yaban tip (WT) ve L858R/T790M mutantları üzerinde en güçlü inhibitör etkiyi sergilemiştir. Bu bileşik, EGFR WT için IC_{50} = 4.38 nM ve L858R/T790M için IC_{50} = 5.69 nM IC_{50} değerleri ile en yüksek inhibisyonu göstermiştir. Ayrıca MCF-7 hücrelerinde IC_{50} = 2.07 $\pm$ 0.18 μ M ve HCT116 hücrelerinde IC_{50} = 6.72 $\pm$ 0.38 μ M değerleri ile serideki diğer bileşiklere kıyasla üstün antikanser aktivite göstermiştir (Theodore vd., 2023).



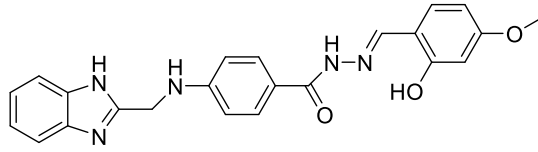
Şekil 2.17. 2-((2,6-Dioksopiperidin-4-il)amino)-1-(4-hidroksifenetil)-N-(4-(triflorometil)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-5-karboksamid

Çevik ve diğerleri (2024) tarafından yeni bir benzimidazol-triazol serisi sentezlenmiş ve A549 akciğer karsinomu ile C6 sıçan gliyoma hücre hatlarında sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Bunlar arasında 1-(4-(2-Pirimidinil)piperazin-1-il)etanon bağlı bileşik, etil ve 2-(4-metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il ikameleri içeren 4H-1,2,4-triazol-3-il tiyol grubu ile, A549 hücrelerinde $IC_{50} = 4,56 \pm 0,18 \mu M$ standart ilaç doksorubisini ($IC_{50} = 12,420 \pm 0,5 \mu M$) geride bırakmıştır. Ayrıca, bu bileşik, DNA topoizomeraza karşı belirgin inhibitör aktivite göstererek potansiyel bir öncü antikanser aday bileşik olarak öne çıkmıştır (Çevik vd., 2024)



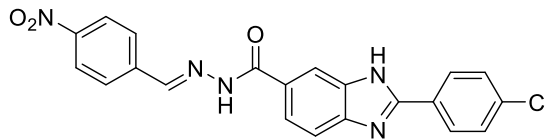
Şekil 2.18. 2-((4-Etil-5-(2-(4-metoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyo)-1-(4-(2-pirimidinil)piperazin-1-il)etanon

Mirgany ve diğerleri (2024) tarafından EGFR ve HER2 üzerinde çift inhibitör etkisine sahip benzimidazol-hidrazon türevleri sentezlenmiş ve antikanser aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu bileşikler arasında 4-(((1H-Benzo[d]imidazol-2-il)metil)amino)-N'-(2-hidroksi-4-metoksibenziliden)benzohidrazid, EGFR ve HER2 tirozin kinazlarını çift yönlü inhibe ederek hücre döngüsü durmasına ve apoptoz indüksiyonuna yol açmıştır. Ayrıca bu bileşik, HCT-116 hücrelerinde $IC_{50} = 14.6 \pm 1.1 \mu M$, HepG-2 hücrelerinde $IC_{50} = 10.83 \pm 0.8 \mu M$ ve MCF-7 hücrelerinde $IC_{50} = 13.26 \pm 1.0 \mu M$ değeri ile anlamlı antikanser aktivite sergilemiştir (Mirgany vd., 2024).



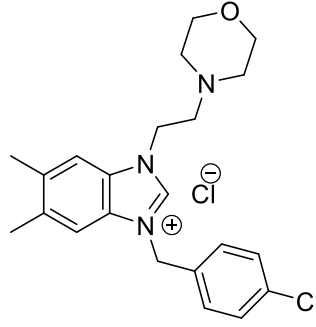
Şekil. 2.19. 4-(((1H-Benzo[d]imidazol-2-il)metil)amino)-N'-(2-hidroksi-4-metoksibenziliden)benzohidrazid

Youssif ve diğerleri (2024) tarafından EGFR ve BRAF üzerinde çift inhibitör etkiye sahip yeni bir benzimidazol türevleri sentezlenmiş ve antikanser aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu bileşikler arasında 2-(4-Klorofenil)-N'-(4-nitrobenziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid, EGFR ($IC_{50} = 0.11 \pm 0.01 \mu M$) ve BRAFV600E ($IC_{50} = 0.31 \pm 0.07 \mu M$) inhibisyonuna güçlü aktivite göstermiştir. Ayrıca GI_{50} değerleri 0.420-8.99 μM aralığında bulunmuş ve lösemi hücrelerine karşı 5.96'lık seçicilik oranı ile öne çıkmıştır. Ayrıca bu bileşik, lösemi hücrelerinde %90'ın üzerinde, kolorektal kanser hücrelerinde %70-97, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde %40-94, böbrek kanserinde %50-100, meme kanserinde %63-138, melanomda %33-100, yumurtalık kanserinde %39-88 ve prostat kanserinde %57-78 oranında hücre inhibisyonu göstermiştir. Aynı bileşik PC-3 hücrelerinde kaspaz-3 (365 ± 12), kaspaz-8 ve Bax düzeylerini artırmış, anti-apoptotik Bcl-2 proteinini azaltmış ve Bax düzeylerini 26 kat (185 pg/mL) artırarak staurosporinden daha yüksek apoptotik etki göstermiştir (Youssif vd., 2024).



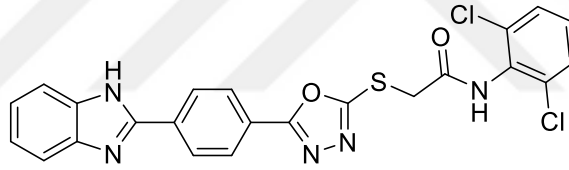
Şekil 2.20. 2-(4-Klorofenil)-N'-(4-nitrobenziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid

Zouaghi ve diğerleri (2024) tarafından yeni bir benzimidazol türevleri serisi sentezlenmiş ve MDA-MB-231, MCF-7, HT-29, ve sağlıklı fibroblast (HF) tüm bu hücre hatlarına karşı antikanser aktiviteleri test edilmiştir. Bileşikler, sağlıklı hücrelere karşı seçiciliğini korurken kanser hücre hatlarına karşı belirgin şekilde artmış sitotoksikite göstermiştir. Özellikle 3-(4-Klorobenzil)-5,6-dimetil-1-(2-morfolinoetil)-1H-benzo[d]imidazol-3-ium klorür, MDA-MB-231 hücrelerine karşı güçlü sitotoksik aktivite sergileyerek 165,02'lik göreceli sitotoksikite değeri ile öne çıkmıştır (Zouaghi vd., 2024).



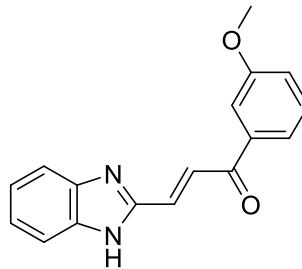
Şekil 2.21. 3-(4-Klorobenzil)-5,6-dimetil-1-(2-morfolinoetil)-1H-benzo[d]imidazol-3-ium klorür

Bostancı ve diğerleri (2025) tarafından yeni bir benzimidazol-oksadiazol türevleri serisi sentezlenmiş ve antikanser, antioksidan, antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra karbonik anhidraz (CA) I, II ve IX inhibisyon potansiyelleri değerlendirilmiştir. Bu bileşikler arasında Tiyo-bağlı oksadiazol benzo[d]imidazol türevi, N-(2,6-diklorofenil)asetamid ikameli, insan karbonik anhidraz izoformu hCA I'e karşı en güçlü inhibitör olarak öne çıkmış ve $IC_{50}=0,276\mu M$ değeri ile referans ilaç asetazolamidi ($IC_{50}=18,110\mu M$) geride bırakmıştır (Bostancı vd., 2025).



Şekil 2.22. 2-((5-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-N-(2,6-diklorofenil)asetamid

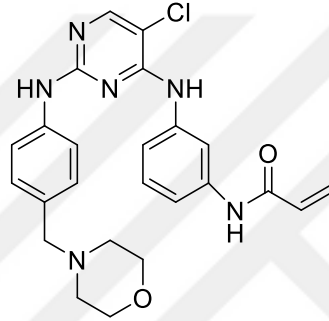
Koné ve diğerleri (2025) tarafından yeni bir 3-benzimidazolil retrokalkon serisi sentezlenmiş ve meme kanseri ve kolorektal adenokarsinom hücre hatlarında antikanser aktiviteleri test edilmiş. Bileşikler dikkate değer antikanser potansiyeli göstermiş olup, 3-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)-1-(3-metoksifenil)prop-2-en-1-on, tüm hücre hatlarında $IC_{50} < 1,56 \mu M$ ile en güçlü aktiviteyi sergilemiştir (Koné vd., 2025).



Şekil 2.23. 3-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)-1-(3-metoksifenil)prop-2-en-1-on

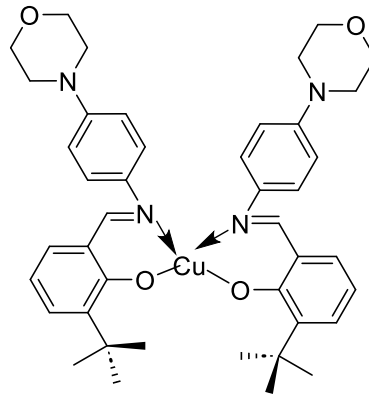
2.6. Morfolin İçeren Moleküller Üzerindeki Antikanser Aktivite Çalışmaları

Song ve diğerleri (2017) tarafından gefitinib dirençli NSCLC için potansiyel EGFR^{T790M} inhibitörleri olarak morfolin grupları içeren difenilpirimidin türevleri geliştirilmiştir. Bu bileşikler arasında *N*-(3-((5-Kloro-2-((4-(morfolinometil)fenil)amino)pirimidin-4-il)amino)fenil)akrilamid, rociletinib'e göre üstün etkinlik göstermiştir ve H1975 ksenograft modellerinde vücut ağırlığını etkilemeden güçlü antitümör aktivite sergilemiştir. Ayrıca EGFR^{T790M/L858R} kinazı IC₅₀ = 0.71 nM ile güçlü şekilde inhibe etmiş, H1975 hücre proliferasyonunu IC₅₀ = 0.037 µM ile baskılamış ve vahşi tip EGFR'ye kıyasla EGFR^{T790M} için 631.9'luk seçicilik indeksi (SI) ile yüksek seçicilik göstermiştir (Z. Song vd., 2017).



Şekil 2.24. *N*-(3-((5-kloro-2-((4-(morfolinometil)fenil)amino)pirimidin-4-il)amino)fenil)akrilamid

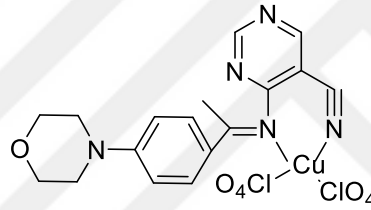
Dhahagani ve diğerleri (2018) tarafından morfolin bazlı Schiff baz ligandları ve bunların Cu(II) kompleksleri sentezlenmiş, spektroskopik, elektrokimyasal, X-ışını kristalografisi ve DFT analizleri ile karakterize edilmiştir. 1-(3-(Tert-bütil)-2-metoksifenil)-*N*-(4-morfolinofenil)metanimin bakır (II) kompleksi, t-butil grubundan kaynaklanan artmış hidrofobikliği sayesinde güçlü DNA ve protein bağlanma özelliği ile birlikte gelişmiş antibakteriyel ve antikanser aktiviteleri sergilemiştir (Dhahagani vd., 2018).



Şekil 2.25 1-(3-(Tert-bütil)-2-metoksifenil)-*N*-(4-morfolinofenil)metanimin bakır (II)

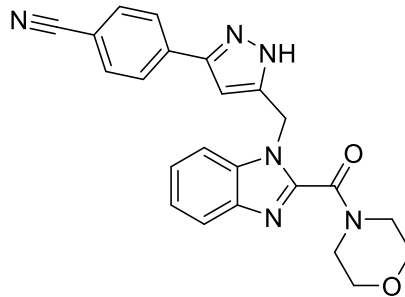
Sankargarnesh ve ark. (2018), 4-morfolinoasetofenon ve 4-amino-5-pirimidinkarbonitrilden yeni bir Schiff baz ligandı ve bunun Cu(II) ve Zn(II) kompleksleri sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir.

Spektroskopik analizler bileşiklerin kare düzlemsel geometriye sahip olduğunu doğrulamış, DFT hesaplamaları ise kompleks 1 ((E)-4-(4-{1-[Metil(5-[(metilamino)metil]pirimidin-4-il)amino]etil}fenil)morfolin)bakır(II) perklorat) için LMCT mekanizmasını desteklemiştir. Her iki kompleks de liganda kıyasla daha güçlü antimikrobiyal aktivite ve DNA oluk bağlanma etkileşimleri göstermiştir. Kompleks 1, daha yüksek DNA kesme kabiliyeti sergilemiş ve normal hücrelere karşı düşük toksisite ile orta derecede antikanser aktivitesi göstermiştir. Elde edilen verilere göre, bileşik MCF-7, HeLa ve HEP2 kanser hücre hatlarında sırasıyla 62,21, 69,35 ve 71,08 µg/mL IC₅₀ değerleri ile sitotoksik etki göstermiş ve NHDF normal hücrelerinde 106,12 µg/mL IC₅₀ ile daha düşük toksisiteye sahip olmuştur (Sankargarnesh vd., 2018).



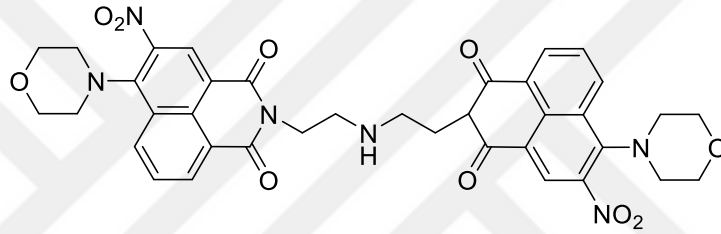
Şekil 2.26. (E)-4-(4-{1-[metil(5-[(metilamino)metil]pirimidin-4-il)amino]etil}fenil)morfolin)bakır(II) perklorat

Sagam ve diğerleri (2022) tarafından bir dizi morfolin-benzimidazol-pirazol hibriti sentezlenmiş ve MCF-7, PC-3 ve A549 hücre hatlarında gözlemlenen antikanser etkileri araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre, 4-(5-((2-(Morfolin-4-karbonil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)metil)-1H-pirazol-3-il)benzonitril, MCF-7, PC-3 ve A549 hücre hatlarında sırasıyla 0,042 µM, 0,61 µM ve 0,76 µM IC₅₀ değerleri ile yüksek antikanser potansiyeli göstermiş ve etoposidin standart ilaç aktivitesini aşmıştır (Sagam vd., 2022).



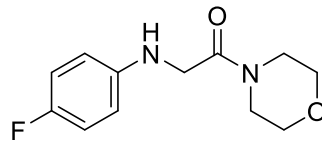
Şekil 2.27. 4-(5-((2-(Morfolin-4-karbonil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)metil)-1H-pirazol-3-il)benzonitril

Chen ve diğerleri (2023) tarafından yeni bir dizi naftalimid türevi sentezlenmiş ve T24, MGC-803, CNE-2 VE A2780 kanser hücre hatlarına karşı antitümör aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu bileşikler arasında 6-Morfolino-2-((2-((6-morfolino-5-nitro-1,3-diokso-2,3-dihidro-1*H*-fenalen-2-il)etil)amino)etil)-5-nitro-1*H*-benzo[*de*]izokinolin-1,3(2*H*)-dion, DNA ve Topo I hedeflemesiyle güçlü sitotoksik aktivite göstermiştir. Ayrıca CDK2-siklin E kompleksini inhibe ederek hücre döngüsünün S fazında durmasına neden olmuş, CNE-2 hücrelerinde apoptozu tetiklemiş ve MGC-803 ksenograft modellerinde %46,0 oranında tümör büyümesini baskılamıştır. Bu bileşik, T24 ($IC_{50} = 1.24 \pm 0.12 \mu M$), MGC-803 ($IC_{50} = 0.09 \pm 0.06 \mu M$), CNE-2 ($IC_{50} = 0.41 \pm 0.05 \mu M$), A2780 ($IC_{50} = 0.62 \pm 0.09 \mu M$) hücre hatlarında yüksek antitümör potansiyel sergilemiştir (X.-M. Chen vd., 2023).



Şekil 2.28. 6-Morfolino-2-((2-((6-morfolino-5-nitro-1,3-diokso-2,3-dihidro-1*H*-fenalen-2-il)etil)amino)etil)-5-nitro-1*H*-benzo[*de*]izokinolin-1,3(2*H*)-dion

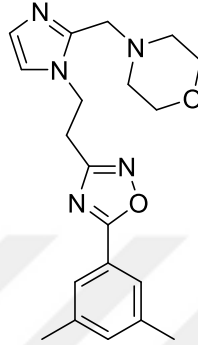
Sheikh ve diğerleri (2023) tarafından bir dizi morfolin asetamid türevi tasarlanmış, sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Bu bileşiklerin antikanser aktiviteleri ve karbonik anhidraz (CA) enzim inhibisyonları değerlendirilmiştir. Çalışmada 2-((4-Florofenil)amino)-1-morfolinoetan-1-on bileşiği, özellikle CA-IX izoformu üzerinde asetazolamid ile karşılaştırılabilir düzeyde güçlü inhibisyon göstermiştir ($IC_{50} = 8.12 \mu M$, asetazolamid $IC_{50} = 7.51 \mu M$). Aynı bileşik, MTT testi ile değerlendirilen antikanser aktivitesinde de dikkat çekici sonuçlar vermiş ve sisplatine yakın bir etki göstermiştir ($IC_{50} = 9.47 \pm 0.73 \mu M$, sisplatin $IC_{50} = 8.50 \pm 0.23 \mu M$) (Sheikh vd., 2023).



Şekil 2.29. 2-((4-Florofenil)amino)-1-morfolinoetan-1-on

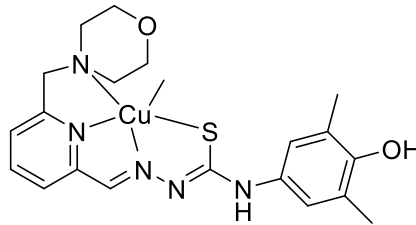
Kannekanti ve diğerleri (2024) tarafından, farmakofor hibridizasyon stratejisi kullanılarak yeni imidazol-morfolin-1,2,4-oksadiazol hibritleri sentezlemiştir. Bu bileşiklerden 4-((1-(2-(5-(3,5-Dimetilfenil)-1,2,4-oksadiazol-3-il)etil)-1*H*-imidazol-2-

il)metil)morfolin, farklı insan kanser hücre hatlarında 5-fluorourasilden (5-FU) daha yüksek antikanser aktivite göstermiştir ((IC₅₀ = 3.7–8.9 µM; MCF-7 = 4.3 ± 0.2 µM, MDA-MB-468 = 3.7 ± 0.1 µM, MDA-MB-231 = 8.9 ± 0.2 µM; 5-FU'ya kıyasla). Ayrıca bu bileşik EGFR tirozin kinaz enzimine karşı Erlotinib ile karşılaştırılabilir düzeyde güçlü inhibisyon göstermiştir (IC₅₀ = 0.47 µM; Erlotinib IC₅₀ = 0.43 µM)(Kannekanti vd., 2024).



Şekil 2.30. 4-((1-(2-(5-(3,5-Dimetilfenil)-1,2,4-oksadiazol-3-il)etil)-1H-imidazol-2-il)metil)morfolin

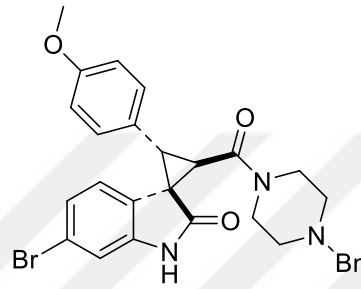
Milunovic ve diğerleri (2024) tarafından, morfolin türevli piridin halkaları içeren bakır(II) tiyosemikarbazon (TSC) kompleksleri tasarlanmış ve bu komplekslerin hem R2 ribonükleotid redüktaz (RNR) hem de tubulin polimerizasyonunu çift inhibitörü olarak hedefleyebileceği gösterilmiştir. Bu komplekslerden en etkilisi olan kompleks 6, hem insan uterin sarkoma hücreleri (MES-SA; IC₅₀ = 0.29 ± 0.04 µM) hem de çoklu ilaç dirençli MES-SA/Dx5 hücrelerinde (IC₅₀ = 1.4 ± 0.2 µM) Triapine'den daha güçlü sitotoksik aktivite göstermiştir. Ayrıca, saflaştırılmış tübülün üzerinde yapılan polimerizasyon testlerinde, kompleks 6 en yüksek inhibisyonu (tübülün inhibisyon IC₅₀ = 5,0 ± 0,3 µM) göstermiştir ve bu değer kolşisinle karşılaştırılabilir düzeydedir (kolşisin IC₅₀ = 5,8 ± 5 µM) (Milunovic vd., 2024).



Şekil 2.31. Benzimidazol-tiyosemikarbazon türevinin Cu(II) kompleksi

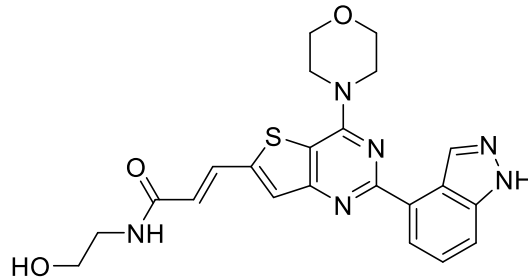
Dastari ve diğerleri (2025) tarafından, çift inhibisyon için bir dizi spirosiklopropil oksindol-piperazin/morfolin karboksamid türevi tasarlanmıştır. Bileşik (1S,2R,3S)-2-(4-Benzilpiperazin-1-karbonil)-6'-bromo-3-(4-metoksifenil)spiro[siklopropan-1,3'-

indolin]-2'-on, HepG-2 hücrelerine karşı güçlü sitotoksiste ($IC_{50} = 1.88 \mu M$), VEGFR inhibisyonu ($IC_{50} = 1.52 \mu M$), (84%) ile tübülün polimerizasyonunun inhibisyonu ve çift anti-anjiyojenik ve mikrotübül bozucu etkiler göstermiştir. ROS birikimini indüklemiştir, G0/G1 hücre döngüsü durmasını neden olmuştur ve hücre göçünü inhibe ederek çok yönlü bir antikanser mekanizması sergilemiştir. Ancak, bileşik 8g'de olduğu gibi piperazin halkasının morfolin grubu ile değiştirilmesi, aktivitenin azalmasına neden olmuştur (Dastari vd., 2025).



Şekil 2.32. *(1S,2R,3S)-2-(4-Benzilpiperazin-1-karbonil)-6'-bromo-3-(4-metoksifenil)spiro[siklopropan-1,3'-indolin]-2'-on*

Liu ve diğerleri (2025) tarafından yeni tieno[3,2-d]pirimidin türevleri tasarlanmış, sentezlenmiş ve biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir. 3-(2-(1*H*-indazol-4-il)-4-morfolinotieno[3,2-d]pirimidin-6-il) ve *N*-(2-hidroksietil) ikameli akrilamid türevi, PC-3, 22RV1, MDA-MB-231 ve MDA-MB-453 hücrelerine karşı güçlü PI3K α inhibisyonu ($IC_{50} = 0,039 \mu M$) ve güçlü antiproliferatif etkiler göstermiştir. MDA-MB-453 hücrelerinde koloni oluşumunu bastırmıştır, Bcl-XL, Bcl-2 ve Bax protein seviyelerini modüle ederek apoptozu indüklemiştir ve PI3K/AKT/mTOR sinyalini inhibe etmiştir (J. Liu vd., 2025).



Şekil 2.33. *(E)-3-(2-(1H-İndazol-4-il)-4-morfolinotieno[3,2-d]pirimidin-6-il)-N-(2-hidroksietil)akrilamid*

3 GEREÇLER

3.1. Çalışmaya Dahil Edilen Maddeler

Morfolin	Merck (Almanya)
p-Florobenzaldehyt	Merck (Almanya)
K ₂ CO ₃ (potasyum karbonat)	Merck (Almanya)
Dimetilformamid	Sigma Aldrich (Almanya)
o-Fenilendiamin	Sigma Aldrich (Almanya)
Sodyum disülfid	Merck (Almanya)
Sodyum hidrit	Sigma Aldrich (Almanya)
Metil 3,4-diaminobenzoat	BLDpharm (Hindistan)
Etanol	Tekim (Türkiye)
Hidrazin hidrat	Sigma Aldrich (Almanya)
Etil asetat	Sigma Aldrich (Almanya)
Asetik asit	Sigma Aldrich (Almanya)
Eter	Sigma Aldrich (Almanya)
Benzaldehyt	Merck (Almanya)
4-Metoksi benzaldehyt	Merck (Almanya)

3-Metil benzaldehit	Merck (Almanya)
4-Floro benzaldehit	Merck (Almanya)
4-Kloro benzaldehit	Merck (Almanya)
4-Nitro benzaldehit	Carl Roth GmbH (Almanya)
4-Siyano benzaldehit	Merck (Almanya)
2,4-Dikloro benzaldehit	ABCR GmbH (Almanya)
2-kloro-6-floro benzaldehit	Merck (Almanya)
p-(Metiltiyo)benzaldehit	Acros Organics (ABD)
Tripsin	Sigma Aldrich (Almanya)
Petrol eteri	Merck (Almanya)
Etil kloroasetat	Sigma Aldrich (Almanya)
Alüminyum destekli, Silika jel 60 F254 kaplı İTK plağı	Merck (Almanya)
Fetal Bovine Serum	Capricorn (Güney Amerika)
A549 Hücre Hattı	ATCC (ABD)
DMEM	Sigma Aldrich (Almanya)
NIH3T3 Hücre Hattı	ATCC (ABD)

PBS	Gibco (İngiltere)
DMSO	Sigma Aldrich (Almanya)
MTT Boyası	Sigma Aldrich (Almanya)
DMSO- d_6	Merck (Almanya)
Asetonitril	Carlo Erba (Almanya)
RPMI	Sigma Aldrich (Almanya)
EGFR Kinaz Testi Kiti 96 reaksiyon	BPSBioscience (ABD)
EGFR (T790M) Kinaz Testi Kiti 96 reaksiyon	BPS Bioscience (ABD)
EGFR (L858R) Kinaz Testi Kiti 96 reaksiyon	BPS Bioscience (ABD)

3.2. Deneysel Çalışmalara Dahil Edilen Cihazlar

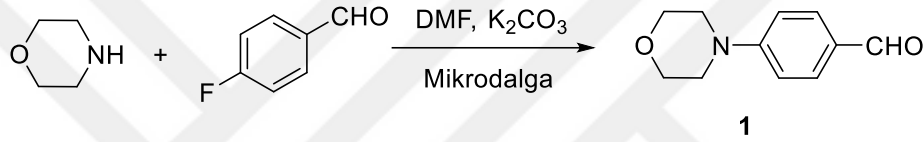
Manyetik karıştırıcı ve ısıtıcı cihazı	Heidolph, MR 3003, Almanya
Laboratuvar tipi elektronik teraziler	Schimadzu, Libror EB-330 HU, Japonya
Ultraviyole ışık cihazı	Camag, Cabinet, İsviçre
Laboratuvar erime noktası cihazı	Mettler Toledo-MP90 Melting Point System
Laboratuvar tipi IR spektrofotometre	Shimadzu-IR Affinity-IS, Japonya
Nükleer manyetik rezonans cihazı	Bruker, UltraShield 300 MHz, ABD
Laboratuvar kullanımı için kütle spektrometresi	Shimadzu, LCMS-IT-TOF, Japonya
Laboratuvar tipi vorteks cihazı	Wisemix, Kore
Laboratuvar tipi steril kabin	Class II TypeA2 (CHC-222A2-60), Güney Kore
Hücre kültürü inkübatörü	Heraeus, Almanya
Mikroplaka okuma cihazı	Bio-Tek, ELx808-IU, ABD
Hücre analizi akış sitometrisi	CytoFLEX, ABD

4 MATERYAL VE METOT

4.1. Sentez Prosedürleri ve Deneysel Çalışmalar

4.1.1. 4-Morfolinobenzaldehit türevinin sentezi (Yöntem A)

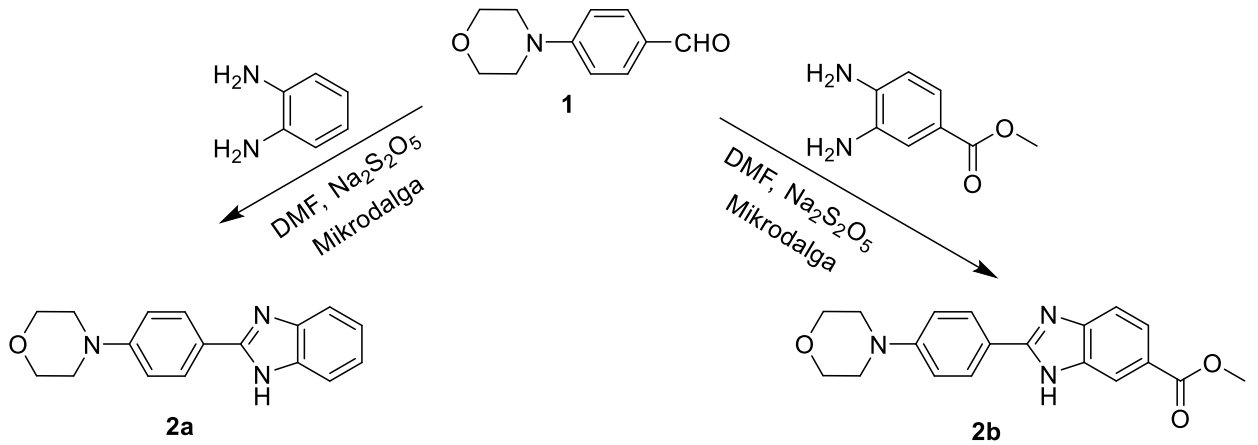
Morfolin (0.114 mol, 10 gr) *N,N*-dimetilformamid (DMF, 30 ml) içerisinde çözölmüş, ardından 4-Florobenzaldehit (0.114 mol, 14.25 gr) ve potasyum karbonat (0.114 mol, 15.88 gr) eklenmiştir. Reaksiyon karışımı mikrodalga ışınlamasına tabi tutulmuş ve ilerleyişi İTK (İnce Tabaka Kromatografisi) ile takip edilmiştir. Reaksiyon tamamlanmasının ardından, karışım buzlu su (10 ml) içeren bir beher içeresine dökölmüştür. Oluşan çökelti süzülmüş, kurutulmuş ve ardından etanol ile aktif kömür kullanılarak yeniden kristalize edilmiştir (Şekil 4.1) (Tintori vd., 2016).



Şekil 4.1. 4-Morfolinobenzaldehit'in sentezine yönelik denklem

4.1.2. 4-(4-(1*H*-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)morfolin / Metil 2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[d]imidazol-6-karboksilat türevlerinin sentezi (Yöntem B)

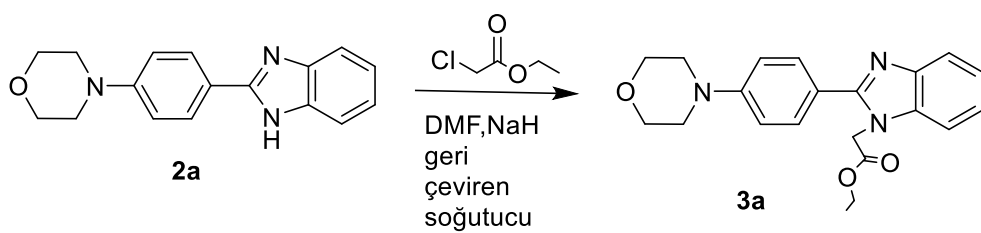
4-Morfolin benzaldehit (0.0261 mol, 5 gr), *N,N*-dimetilformamid (DMF, 20 ml) çözelti hazırlanmış. Ardından sırasıyla sodyum bisülfid (0.0261 mol, 4.97 gr) ve *o*-fenilendiamin (0.0261 mol, 2.82 gr, 2a) / metil 3,4-diaminobenzoat (0.0261 mol, 4.34 gr) eklenmiştir. Elde edilen reaksiyon karışımı, İTK ile izlenerek 5–10 dakika boyunca mikrodalga ışınlamasına tabi tutulmuştur. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından karışım, dikkatlice 10 ml buzlu su içeren bir beher içeresine dökölmüştür. Oluşan çökelti süzölerek izole edilmiş, kurutulmuş ve etanol ile aktif kömür kullanılarak yeniden kristalize edilmiştir (Şekil 4.2) (Abd El-Aleam vd., 2022).



Şekil 4.2. 4-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)morfolin'in / Metil 2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat'ın sentezine yönelik denklem

4.1.3. Etil 2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetat türevinin sentezi (Yöntem C)

4-(4-(1H-Benzodimidazol-2-yl) fenil) morfolin (0.0179 mol, 5 gr) DMF (20 ml) içerisinde çözülmüştür. Ardından, 1.2 eşdeğer sodyum hidrit (NaH) ve 1.2 eşdeğer etil kloroasetat sırayla reaksiyon karışımına ilave edilmiştir. Elde edilen karışım, İTK ile takip edilerek mikrodalga ışınlaması altında 3-4 saat süreyle reaksiyona bırakılmıştır. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından, karışım dikkatlice 10 ml buzlu su içeren bir beher içine dökülmüş. Oluşan çökelti süzülerek izole edilmiş, kurutulmuş ve etanol ile aktif kömür kullanılarak yeniden kristalize edilmiştir (Şekil 4.3) (Osmaniye vd., 2022).

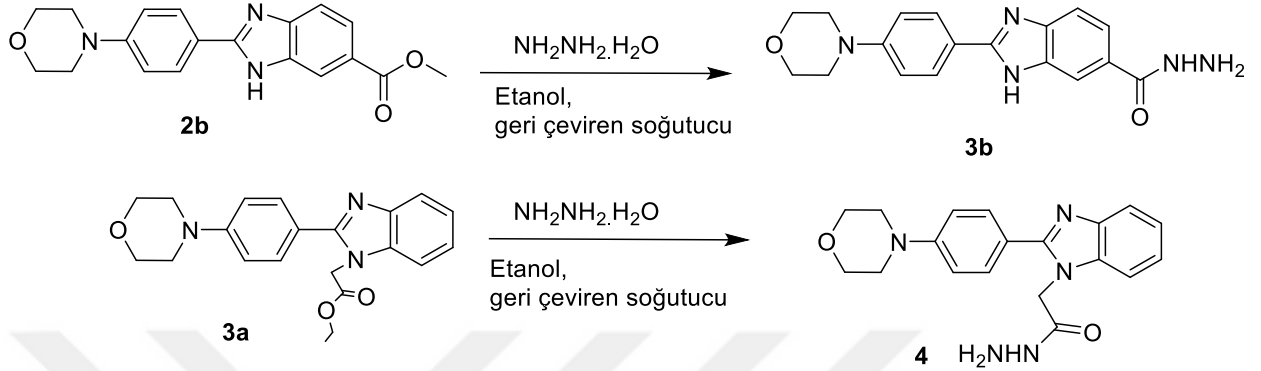


Şekil 4.3. Etil 2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetat'ın sentezine yönelik denklem

4.1.4. 2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid / 2-(2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid türevlerinin sentezi (Yöntem D)

Etil 2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetat (0.0136 mol, 5 gr)/ Metil 2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat (0.0148 mol, 5 gr), etanol

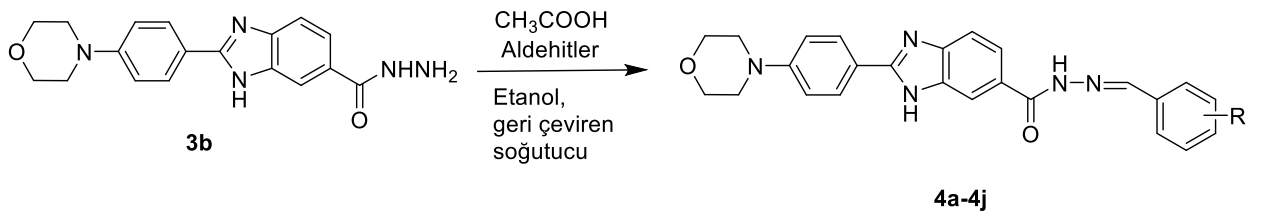
içerisinde çözülmüştür. Çözeltiye fazla miktarda hidrazin hidrat ilave edilmiştir. Elde edilen karışım, İTK ile takip edilerek (5-6 saat), geri çeviren soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun tamamlandığında oluşan ürün süzülerek izole edilmiş, kurutulmuş ve etanol ile aktif kömür kullanılarak yeniden kristalize edilmiştir (Şekil 4.4) (Osmaniye vd., 2023).



Şekil 4.4. 2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid'in / 2-(2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid'in sentezine yönelik denklem

4.1.5. Hedef moleküllerin sentez çalışmaları (4a-4j) (Yöntem E)

2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid, etanol içerisinde aldehit türevleri ile asetik asit katalizörlüğünde (3-4 saat) geri çeviren soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyonun ilerleme durumu İTK tekniği kullanılarak izlenmiştir. Reaksiyon tamamlandığında oluşan ürünler süzülerek izole edilmiş, kurutulmuş ve ardından etanol ile aktif kömür kullanılarak yeniden kristalize edilmiştir (Şekil 4.5).

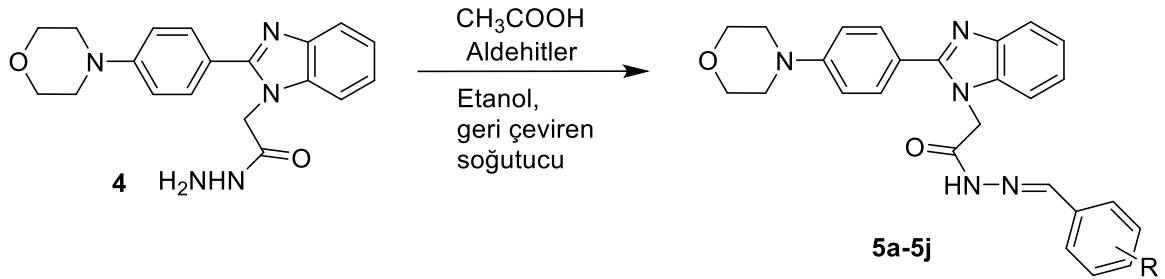


Şekil 4.5. 4a-4j türevlerinin hazırlanmasına yönelik denklem

4.1.6. Hedef moleküllerin sentez çalışmaları (5a-5j) (Yöntem F)

2-(2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid, etanol içerisinde aldehit türevleri ile asetik asit katalizörlüğünde, sentez sırasında, reaksiyonun tamamlanmasını sağlamak için karışım geri akış soğutucusu altında 3-4 saat ısıtıldı. Reaksiyonun ilerleme durumu İTK tekniği kullanılarak izlenmiştir. Reaksiyon

tamamlandığında oluşan ürünler süzülerek izole edilmiş, kurutulmuş ve ardından etanol ile aktif kömür kullanılarak yeniden kristalize edilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. 5a-5j türevlerinin hazırlanmasına yönelik denklem

4.2. İTK araştırmaları ve R_f sonuçlarının belirlenmesi

Tez kapsamında gerçekleştirilen tüm sentez çalışmalarında reaksiyonların ilerleyişi ve tamamlanması, İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile takip edilmiştir. Reaksiyon süresince deney balonlarından düzenli aralıklarla numuneler alınmış ve reaksiyonda kullanılan başlangıç malzemelerinin etanol çözeltileri kılcal tüpler aracılığıyla sabit faz olarak 60 F254 silika jel ile kaplanmış ve uygun bir çözücü karışımı ile kaplanmış alüminyum plakalara uygulanmıştır. Uygulanan numuneler, plakalar üzerinde belirtilen mobil faz ile çalıştırıldı, ardından lekeler ultraviyole ışık altında (254 ve 366 nm) gözlemlendi. Yapılan deneyler sonucunda, Sentezleri doğrulamak amacıyla, Yöntem A–D'de mobil faz olarak petrol eteri ve etil asetat (1:1) oranı kullanılmış ve Yöntem E ve F için en uygun mobil fazın petrol eteri:etil asetat (3:1) olduğu belirlenmiştir. Reaksiyonlar İTK sonuçlarına göre ya sonlandırılmış ya da devam ettirilmiştir.

4.3. Sentezlenen Bileşiklerin Erime Noktalarının Belirlenmesi

Çalışmada sentezlenen tüm bileşiklerin erime noktaları, Mettler Toledo MP90 cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Laboratuvar tipi tek uçlu kapalı kapiler tüpler, bileşiklerle yaklaşık yarısına kadar doldurulup cihazın ilgili bölmelerine yerleştirilmiştir. Cihaz çalıştırılarak video kayıtları alınmış ve kayıtları incelenerek bileşiklerin erime noktaları belirlenmiştir.

4.4. IR spektrum verilerinin elde edilmesi

Shimadzu-IR Affinity-1S cihazı kullanılarak, sentezlenen ürünlerin IR spektrumları belirlenmiştir. Ölçümler, spektrofotometrenin ATR aparatı kullanılarak toz numunelerin doğrudan uygulanmasıyla gerçekleştirildi.

4.5. ¹H-NMR spektrum verilerinin elde edilmesi

Tüm yeni sentezlenen bileşiklerin proton nükleer manyetik rezonans (¹H-NMR) spektrumları DMSO-*d*₆ çözeltisinde hazırlanmış ve TMS iç standardı kullanılarak Bruker 300 MHz NMR cihazı ile kaydedilmiştir.

4.6. ¹³C-NMR spektrum verilerinin elde edilmesi

Tüm yeni sentezlenen bileşiklerin proton nükleer manyetik rezonans (¹³C-NMR) spektrumları DMSO-*d*₆ çözeltisinde hazırlanmış ve TMS iç standardı kullanılarak Bruker 300 MHz NMR cihazı ile kaydedilmiştir.

4.7. 2D-NMR spektrum verilerinin elde edilmesi

İki boyutlu NMR, tek boyutlu NMR tekniklerinin yetersiz kaldığı durumlarda kesin yapı tayini için kullanılan ve iki farklı tek boyutlu NMR spektrumunu ilişkilendirerek elde edilen bir yöntemdir. Prosedür sırasında kullanılan çekirdeklerin türüne göre homonükleer veya heteronükleer olarak sınıflandırılır. En yaygın homonükleer teknik, protonlar arasındaki eşleşmeler hakkında bilgi sağlayan COSY'dir. Heteronükleer teknikler arasında HSQC, proton ile doğrudan bağlı olduğu karbon arasındaki etkileşimleri tespit ederken, HMBC 2-4 bağ uzaklıktaki hidrojen-karbon etkileşimlerini tespit eder.

4.8. Kütle spektrum verilerinin elde edilmesi

Tüm sentezlenen bileşikler, asetonitril çözeltileri ile LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto, Japonya) cihazına enjekte edilerek pozitif ve negatif modlarda elektron püskürtme iyonizasyonu (ESI) yöntemi ile analiz edildi.

4.9. Antikanser biyolojik etkileri araştırılması

Bileşiklerin antikanser aktivitelerini değerlendirmek için A549 (akciğer karsinomu) ve MCF-7 (meme karsinom) hücre hatları kullanıldı ve aktivitenin seçiciliği NIH3T3 (fare embriyo fibroblastı) hücre hattında test edildi. Hücre kültürü çalışmaları için, A549 ve HT-29 hücre hatları, %10 fetal dana serumu, 100 IU/mL penisilin ve 100 µg/mL streptomisin içeren RPMI 1640 besiyerinde yetiştirildi; NIH3T3 hücreleri, %10 fetal dana serumu ve antibiyotikler (100 IU/mL penisilin, 100 µg/mL streptomisin) ile zenginleştirilmiş DMEM besiyerinde yetiştirildi. Elde edilen ürünlerin etkinliğini

karşılaştırmak için birçok kanser türünün tedavisinde kullanılan bir ilaç doksorubisin ve öncü bileşik Hoechst 33342 referans olarak kullanıldı.

4.9.1. MTT bazlı hücre canlılığı analizleri ile bileşiklerin antikanser etkinliğinin ölçülmesi

4.9.1.1. Hücre çoğalması süreci

A549, MCF-7 ve NIH3T3 hücre hatlarının deneylerde kullanılmak üzere hazırlanması ve çoğaltılması için, rutin pasaj 2-3 günlük periyotlarda yapıldı. Hücre şişesini inkübatörden çıkardıktan sonra, ölü hücrelerin besiyerine karışması için hafifçe çalkalanmış, ardından ortam steril pipetle uzaklaştırılmış. Bunun ardından, ortamdaki yıkama solüsyonunu çıkarma ve hücreleri kültür şişesinde 5 ml fosfat tamponu ile yıkama prosedürü uygulanmıştır. Daha sonra, 75 cm²'lik şişelere 1-3 ml, 25 cm²'lik şişelere ise 0,5-1,5 ml olacak şekilde tripsin-EDTA (1X) çözeltisi eklenmiştir. Hücreler yaklaşık 5 dakika boyunca %5 CO₂ atmosfer, 37°C sıcaklık, %95 bağıl nem hafifçe çalkalanarak inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra, süspansiyon oluşturmak için hücrelere 20-25 ml taze besiyeri eklendi. Hücreler 1:2 veya 1:3 oranında ayrıldıktan sonra yeni kültür şişelerine aktarılmıştır. Yeni şişeler tekrar inkübatöre alınarak inkübasyon koşulları altında çoğaltmaya bırakılmıştır.

4.9.1.2. Plakalarda hücrelerin ekilmesi prosedürü

Ölü hücrelerin besiyerine aktarılmasını sağlamak için, kültür şişesi inkübatörden çıkarıldıktan sonra hafifçe çalkalanmıştır. Ardından, steril pipet kullanılarak şişedeki besiyeri uzaklaştırıldı. Tripsin-EDTA çözeltisi (1X) kültür şişesine eklendi (75 cm²'lik şişeler için 3-5 ml, 25 cm²'lik şişeler için 1-3 ml) ve hafifçe salladıktan sonra, yaklaşık olarak 5 dakika boyunca %5 CO₂ atmosfer, 37°C sıcaklık, %95 bağıl nem inkübatörde bekletildi. Daha sonra, kültür şişelerine besiyeri ilave edilerek (eklenen miktar, kullanılan tripsin-EDTA çözeltisi miktarının en az iki katıydı) içerik pipet yardımıyla santrifüj tüplerine aktarıldı. Tüpteki hücre çözeltisi karıştırıldı ve otomatik hücre sayıcısında sayılmak üzere 10 µL kaydedildi. Elde edilen hücre çözeltisi, 96 kuyucuk içeren hücre kültürü plakasında 200 µL/kuyucuk (1×10⁴ hücre/100 µL) olarak şekilde dağıtıldı ve %5 CO₂ atmosfer, 37°C sıcaklık, %95 bağıl nem 24 saat inkübe edildi.

4.9.1.3. MTT Yöntemi Kullanılarak Sitotoksikite Değerlendirmesi

Besiyerini ortamdan uzaklaştırmak için, plakalar 24 saatlik inkübasyondan sonra ters çevrilir. DMSO içinde hazırlanan stok çözeltilerden elde edilen 0,0000316 mM ile 1 mM aralığındaki 10 farklı konsantrasyondaki bileşikler, pozitif kontroller de kullanılarak plakalara uygulandı. Plakalar 24 saat süreyle inkübe edildi, CO₂ seviyesi %5, ortam nemi %95 ve sıcaklık 37°C olmalıdır. Süre sonunda, hücre kültürlerinin üst fazı uzaklaştırılmış, yıkama solüsyonu ortamdan çıkarılır ve hücreler fosfat tamponu ile yıkanır. MTT solüsyonu (5 mg/ml) besiyerine 1:10 oranında karıştırılmış ve her kuyucuğa 100 µL eklenerek aynı koşullar altında 3 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra plakalar ters çevrilerek üst kısımları atılmış, ardından her kuyucuğa 100 µL DMSO eklenmiştir. Kuyucukların optik yoğunluk (OD) değerleri, bir ELISA okuyucusunda 540 nm'de ölçülmüştür.

Ürünlerin sitotoksik özellikleri değerlendirildi ve IC₅₀ değerleri doğrusal olmayan regresyon analizi kullanılarak belirlendi ve her konsantrasyon için % inhibisyon değerleri hesaplandı (M. Altıntop vd., 2014; M. D. Altıntop vd., 2015; Demir Özkay vd., 2016; Sağlık vd., 2016). Sitotoksik aktivitenin seçiciliğini değerlendirmek amacıyla, farklı hücre hatlarında her molekül için elde edilen IC₅₀ değerleri kullanılarak, NIH3T3 hücre hattının IC₅₀ değeri ile kanser hücre hattının IC₅₀ değerinin oranı değerlendirilerek selektivite indeksi hesaplanmıştır. Selektivite indeksi değeri 1'den büyük olduğunda bileşikler daha yüksek antikanser aktivitesi göstermektedir (Aljewari Hazim Saadoon vd., 2010; Musa Musılıhyu A. vd., 2010; Souza vd., 2010).

4.9.2. BrdU geçirgenlik testi ile bileşiklerin hücre proliferasyonu üzerindeki inhibe edici etkilerinin belirlenmesi

Gefitinib'i pozitif kontrol olarak kullanarak, MTT sitotoksikite testi açısından en aktif bileşikler, A549 akciğer kanseri hücre hatları ve MCF-7 hücre hatlarının proliferasyonu BrdU testi ile incelendi.

4.9.2.1. Plakalarda hücrelerin ekilmesi prosedürü

Ölü hücrelerin besiyerine aktarılmasını sağlamak için, kültür şişesi inkübatörden çıkarıldıktan sonra hafifçe çalkalanmıştır. Ardından, steril pipet kullanılarak şişedeki besiyeri uzaklaştırıldı. Tripsin-EDTA çözeltisi (1X) kültür şişesine eklendi (75 cm²'lik şişeler için 3-5 ml, 25 cm²'lik şişeler için 1-3 ml) ve hassas bir çalkalama işleminden

sonra, yaklaşık 5 dakika boyunca %5 CO₂, %95 nem ve 37 °C'de inkübatörde bekletildi. Daha sonra, kültür şişelerine besiyeri ilave edilerek (eklenen miktar, kullanılan tripsin-EDTA çözeltisi miktarının en az iki katıydı) içerik pipet yardımıyla santrifüj tüplerine aktarıldı. Tüpteki hücre çözeltisi karıştırıldı ve otomatik hücre sayıcısında sayılmak üzere 10 µL kaydedildi. Elde edilen hücre çözeltisi (hücreler 96 kuyulu plakalara ekilmiştir) 100 µL/kuyucuk (1×10^4 hücre/100 µL) olarak şekilde dağıtıldı ve %5 CO₂ atmosfer, 37°C sıcaklık, %95 bağıl nem 24 saat inkübe edildi.

4.9.2.2. BrdU geçirgenlik testi ile bileşiklerin hücre proliferasyonu üzerindeki inhibe edici etkilerinin belirlenmesi

Besiyerini ortamdan uzaklaştırmak için, plakalar 24 saatlik inkübasyondan sonra ters çevrilir. Bileşikler ve pozitif kontroller, hücrelere yarı, iki kat ve IC₅₀ konsantrasyonlarında uygulandı ve etkinlik açısından karşılaştırılmış, üçlü seri seyreltmeler hazırlanmış ve plakalara uygulanmıştır. Hücreler, %5 CO₂ atmosfer, 37°C sıcaklık, %95 bağıl nem koşullarında 24 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon süresi tamamlandıktan sonra, hücre kültürü plakasının kapağı açılmadan her kuyuya 100 µL BrdU çözeltisi uygulandı ve aynı inkübasyon koşullarında 3 saat boyunca bekletildi. Süre tamamlandığında, plakalar ters çevrilerek sıvı uzaklaştırılmış, adsorban kağıt yerleştirilmiş 2 ila 8°C sıcaklık aralığında kurumaya bırakılır. Kuruyan plakalara her kuyucuğa 200 µL Fix Denat çözeltisi eklenmiş, 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş ve ardından ters çevrilerek çözeltilerden arındırılmıştır. Her kuyucuğa 100 µL 1× BrdU-POD çalışma solüsyonu eklenmiş, hafif çalkalama ile oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiştir. Yıkama süresinin sonunda çözelti uzaklaştırılmış, plakalar 300 µL yıkama solüsyonu kullanılarak üç kez yıkanmıştır. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra, her kuyucuğa 100 µL 1× HRP-bağılı antikor çözeltisi ilave edildikten sonra, oda sıcaklığında 1 saat inkübasyona bırakıldı. Tekrar üç kez yıkama işlemi yapılmış ve ardından 100 µL substrat solüsyonu eklenerek oda sıcaklığı 5-30 dakika boyunca sabit tutulur. Reaksiyon, her kuyucuğa 100 µL durdurma çözeltisi eklenerek sonlandırılmıştır. Son kısımda, OD₄₅₀ değerleri ölçülmüş ve her ürün için, yüzde olarak ifade edilen DNA sentezinin inhibisyonu hesaplanmıştır (Yurttaş vd., 2014).

4.9.3. Annexin V/PI yöntemi kullanılarak ürünlerin apoptotik etkilerinin saptanması

Çalışmada, Gefitinib pozitif kontrol olarak alındı ve MTT testinin sonucu olarak en aktif bileşikler, A549 ve MCF-7 hücre hatlarında apoptotik aktivitelerini değerlendirmek için Annexin V/PI yöntemi ile incelenmiştir.

4.9.3.1. Kültür plakalarına hücre ekimi

Ölü hücrelerin besiyerine aktarılmasını sağlamak için, kültür şişesi inkübatörden çıkarıldıktan sonra hafifçe çalkalanmıştır. Ardından, steril pipet kullanılarak şişedeki besiyeri uzaklaştırıldı. 1X tripsin-EDTA çözeltisi, 75 cm²'lik şişelere 3–5 ml ve 25 cm²'lik şişelere 1–3 ml olarak hücre kültürü şişelerine eklendi ve şişeler hafifçe çalkalandı., 5 dakika boyunca %5 CO₂ atmosfer, 37°C sıcaklık, %95 bağıl nem koşullarında inkübatörde bekletildi. Daha sonra, kültür şişelerine besiyeri ilave edilerek (eklenen miktar, kullanılan tripsin-EDTA çözeltisi miktarının en az iki katıydı) içerik pipet yardımıyla santrifüj tüplerine aktarıldı. Tüpteki hücre çözeltisi karıştırıldı ve otomatik hücre sayıcısında sayılmak üzere 10 µL kaydedildi. 7,5 mL hücre süspansiyonu (25×10⁴ hücre/100 µL) 25 cm²'lik şişelere eklenmiş ve %5 CO₂, %95 nem, 37°C koşullarında 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

4.9.3.2. Annexin/PI metodunun uygulanması

Besiyerini ortamdan uzaklaştırmak için, plakalar 24 saatlik inkübasyondan sonra ters çevrilir. Bileşiklerin ve pozitif kontrolün IC₅₀ konsantrasyonları, iki tekrar halinde flaskalara uygulanmış ve %5 CO₂, %95 nem ve 37 °C koşullarında 24 saatlik bir inkübasyon dönemine tabi tutuldu. Hücre kültürü süpernatantı, inkübasyon süreci tamamlandıktan sonra atılmadan uygun santrifüj tüplerinde toplanmıştır. Tripsin-EDTA çözeltisi, 1500 µl miktarında şişelere eklenmiş ve 3 dakika inkübe edilmiştir. İlk olarak, hücrelere 4,5 ml ortam eklendi ve pipet kullanılarak santrifüj tüplerine aktarıldı. Ardından, +4 °C'de 1200 g'de 5 dakika boyunca santrifüjlendi. Süpernatant çıkarıldıktan sonra, elde edilen hücre peleti 1 ml fosfat tamponu içinde süspansiyon haline getirildi ve aynı koşullar altında tekrar santrifüjlendi. Fosfat tamponu atıldıktan sonra, hücre peleti 1×10⁶ hücre/ml yoğunlukta 1x Annexin V Bağlanma Tamponu içinde süspansiyon haline getirildi. Her tüpe ayrı ayrı 5 µl Annexin V ve 5 µl Etidyum İyodür eklendi, ardından 100 µl hücre süspansiyonu eklendi. Tüpler ışık almayacak şekilde her tüpe 400 µL 1× Annexin V Bağlanma Tamponu eklendi ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Numuneler

akış sitometrisi cihazında (Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı) analiz edilmiştir (Yurttaş vd., 2014).

4.10. Fiziko-kimyasal Özelliklerin Değerlendirilmesi

Bileşiklerin biyodağılım ve metabolizma özellikleri ve kan-beyin bariyeri (BBB) geçirgenliklerinin tahmini SwissADME yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Daina vd., 2017).

4.11. Moleküler Modelleme Çalışmaları

Moleküler docking çalışmaları, PDB ID: 4HJO (Park & Lemmon, 2012) kristal yapısı kullanılarak, aktif bileşiklerin EGFR enziminin aktif bölgesine bağlanma şekillerini *in-silico* bir yaklaşımla incelemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. EGFR'nin kristal yapısı, Protein Data Bank (PDB) veri tabanından elde edilmiştir. Bu hesaplamalı yöntem, moleküler etkileşimlerin ve potansiyel bağlanma modlarının ayrıntılı olarak analiz edilmesini sağlamakta, böylece EGFR inhibisyonunun temel moleküler mekanizmalar hakkında değerli bilgiler sağlar. Enzim yapısı Schrödinger Maestro (Maestro, 2020) arayüzünde oluşturulmuş ve Schrödinger Suite 2018 yazılımındaki Protein Preparation Wizard protokolü ile optimize edilmiştir. Ligand molekülleri, protonasyon durumlarının ve atom tiplerinin belirlenmesi amacıyla LigPrep modülü (Schrödinger, LigPrep, 2020) ile hazırlanmıştır. Bu aşamada bağlanma sıraları atanmış, hidrojen atomları yapıya eklenmiştir. Bağlanma ızgaraları Glide modülü (Schrödinger, Glide, 2020) ile tanımlanmış ve yerleştirme çalışmaları standart hassasiyet (SP) yerleştirme modu kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4.12. Moleküler Dinamik Çalışmaları

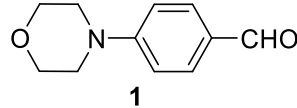
Moleküler dinamik (MD) simülasyonları, ilaç-reseptör komplekslerinde ligandın zamana bağlı kararlılığını değerlendirmek için kullanılan önemli bir hesaplama yöntemidir. Bu çalışmada, yerleştirme sonuçlarından seçilen komplekslerin kararlılığını incelemek amacıyla 100 ns süreyle MD simülasyonları gerçekleştirilmiştir (X. Liu vd., 2018). Simülasyonlar, Schrödinger Suite'in Desmond uygulaması (M.D.I. Tools, Schrödinger Release 2018-3: Prime, 2018, Schrödinger LLC: New York, NY, USA (2020), n.d.) kullanılarak yapılmıştır. Sistem, 3 noktalı TIP3P su modeli ve ardından kompleksin enerji minimizasyonu (Sureshkumar vd., 2018) ile transfer edilebilir bir moleküller arası potansiyele sahip Schrödinger Suite'in standart kuvvet alanı (OPLS3e) kullanılarak

gerçekleştirilmiştir. Fizyolojik koşulları taklit etmek amacıyla Na⁺ ve Cl⁻ iyonları eklenerek 0.15 M nihai tuz konsantrasyonu sağlanmış ve sistem nötralize edilmiştir. Simülasyonlar, sabit sıcaklık (310.55 K) ve basınç (1.01325 bar) koşullarında, NPT topluluğu altında yürütülmüştür. Hareket denklemleri RESPA entegratörü(Humphreys et al., 1994) ile çözülmüş ve sıcaklık kontrolü için Nose-Hoover termostadı (Hoover, 1985) ve basınç kontrolü için Martyna-Tobias-Klein (MTK) yöntemi (Martyna vd., 1994) kullanılmıştır. Simülasyonlar sırasında uzun menzilli elektrostatik kuvvetleri belirlemek için Particle Mesh Ewald (PME) yaklaşımı kullanılmıştır (Essmann vd., 1995), kısa menzilli elektrostatik ve van der Waals etkileşimleri 9.0 Å kesme mesafesi ile hesaplanmıştır. Sistemin dengelemesi, Desmond'un varsayılan protokolü kullanılarak, kademeli kısıtlamalarla yapılan minimizasyon ve kısa süreli ön-simülasyon adımlarını içermiştir. MD simülasyonu tamamlandıktan sonra, Rg (dönme yarıçapı), RMSF (kök ortalama kare dalgalanma) ve RMSD (kök ortalama kare sapma) değerleri Desmond uygulaması tarafından hesaplanmıştır .

5 BULGULAR

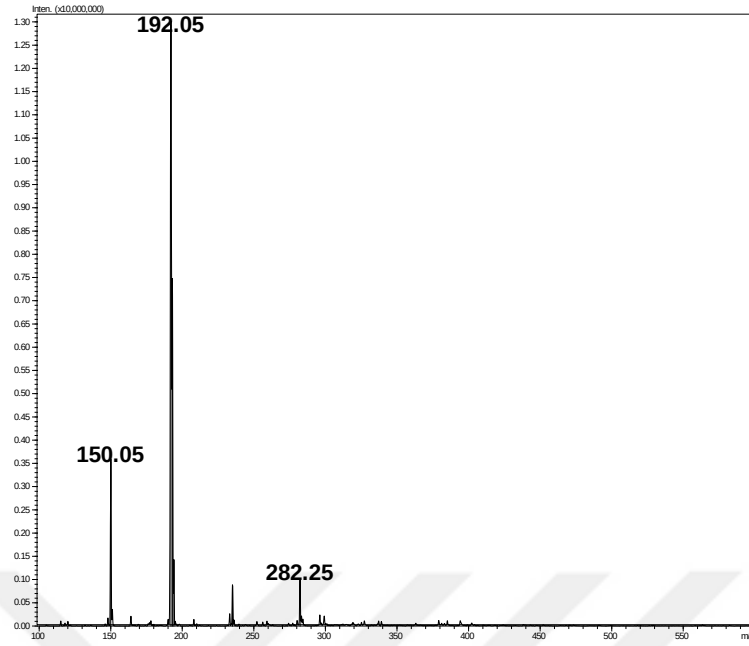
5.1. Sentez çalışmaları

5.1.1. 4-Morfolinobenzaldehit (1)



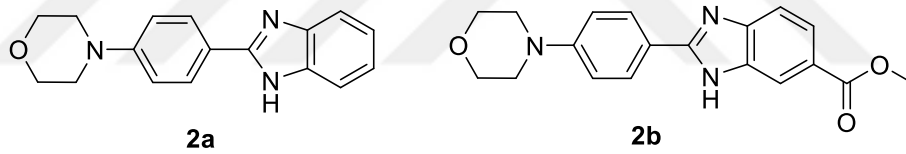
Şekil 5.1. 4-Morfolino benzaldehit

Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir. Verim: 75 %. ESI-MS [M + H]⁺: 192.05.



Şekil 5.2. Bileşik 1'in sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS) spektrumu

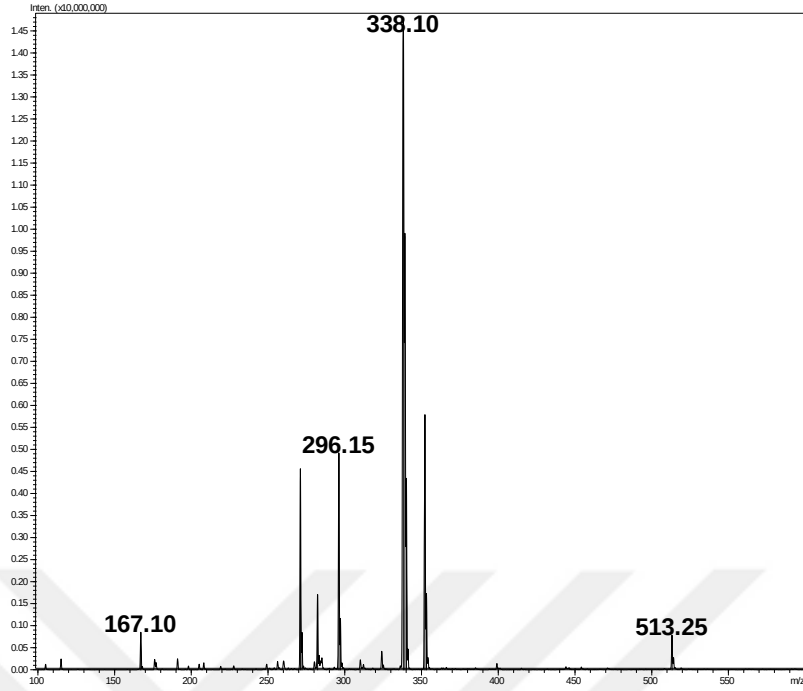
5.1.2. 4-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)morfolin/ Metil 2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat (2a, 2b)



Şekil 5.3. 4-(4-(1H-Benzo[d]imidazol-2-il)fenil)morfolin/ Metil 2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat

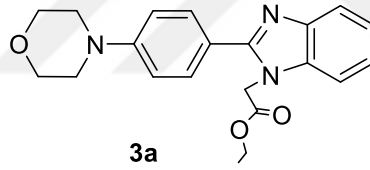
Bu bileşik, Yöntem B kullanılarak sentezlendi. Verim: 2a (80 %), 2b (85 %).

2b: ESI-MS [M + H]⁺: 338.10.



Şekil 5.4. Bileşik 2b'nin sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS) spektrumu

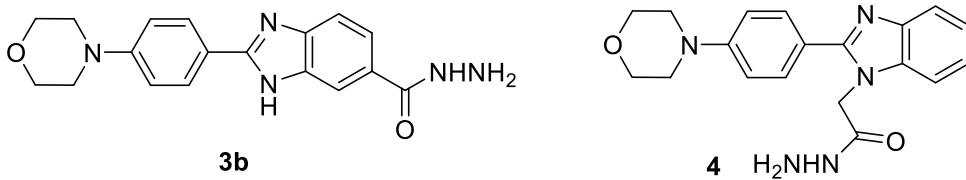
5.1.3. Etil 2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il) asetat (3a)



Şekil 5.5. Etil 2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il) asetat

Bu bileşik, Yöntem C kullanılarak sentezlendi. Verim: 70 %.

5.1.4. 2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid / 2-(2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (3b / 4)



Şekil 5.6. 2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid / 2-(2-(4-Morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid

Bu bileşik, Yöntem D kullanılarak sentezlendi. Verim: 3b (65 %), 4 (65 %).

3b: HRMS (ESI) analizinde, $C_{18}H_{19}N_5O_2$ bileşiğindeki $[M+H]^+$ iyonu için hesaplanan kütle 338,1612 olarak kaydedildi ve bulunan kütle 338,1598 olarak kaydedildi.

Formula Predictor Report - GT-2_574.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GT-2_574.lcd

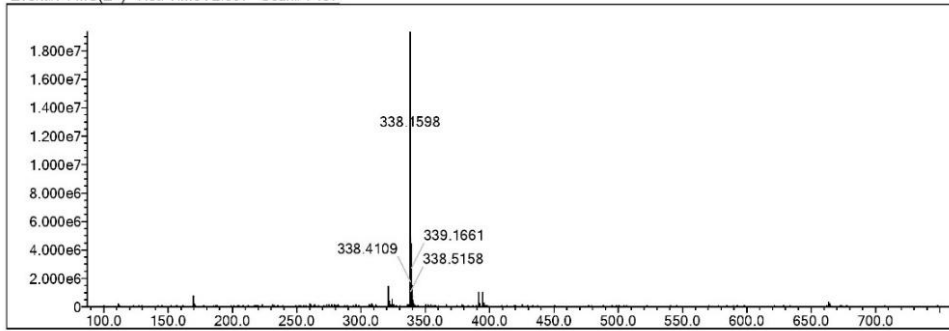
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	33	O	2	0	5	S	2	0	0	Ru	2	0	0	H
C	4	10	32	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	Na
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

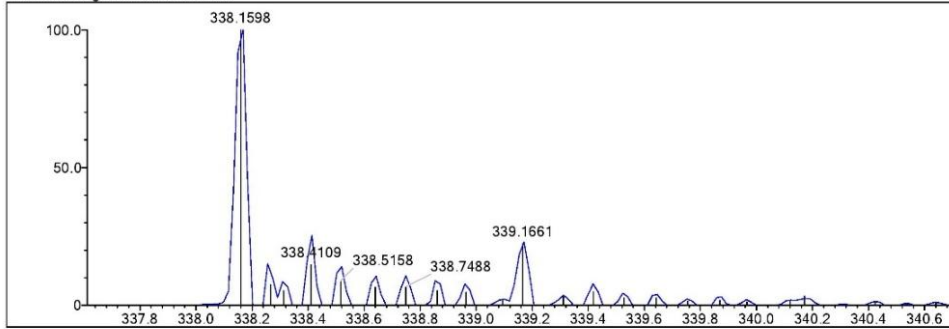
DBE Range: 0.0 - 30.0
 Apply N Rule: no
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

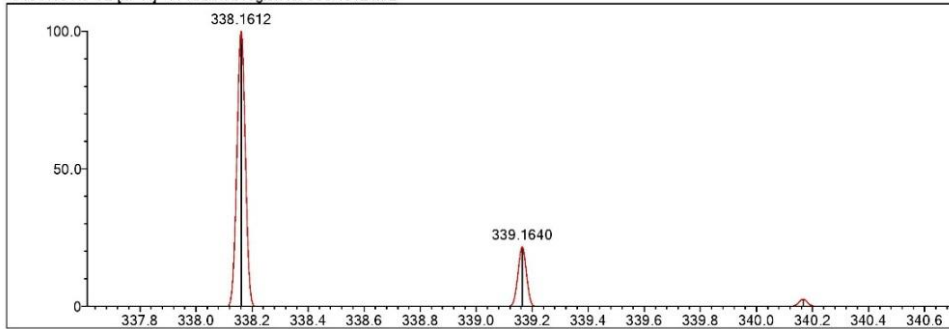
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.907 Scan#: 437



Measured region for 338.1598 m/z



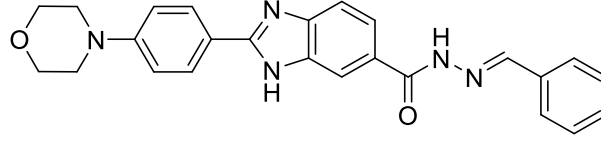
$C_{18}H_{19}N_5O_2$ $[M+H]^+$: Predicted region for 338.1612 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
2	58.89	$C_{18}H_{19}N_5O_2$	$[M+H]^+$	338.1598	338.1612	-1.4	-4.14	63.91	12.0

Şekil 5.7. Bileşik **3b**'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.5. N'-Benziliden-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4a)



Şekil 5.8. *N'*-Benziliden-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (**4a**)

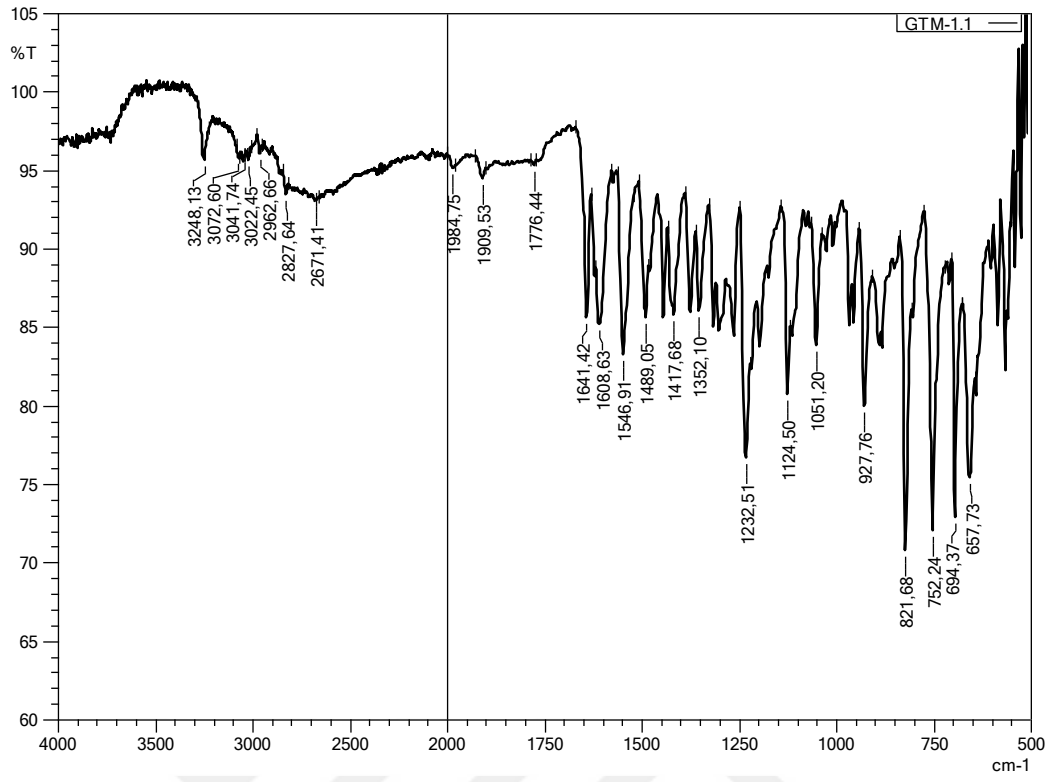
Bu bileşik, Yöntem E kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 320 °C. Verim: %75.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3248.13 (N-H bağına ait band), 3072.60 (C-H bağına ait band), 1641.42 (C=O bağına ait band).

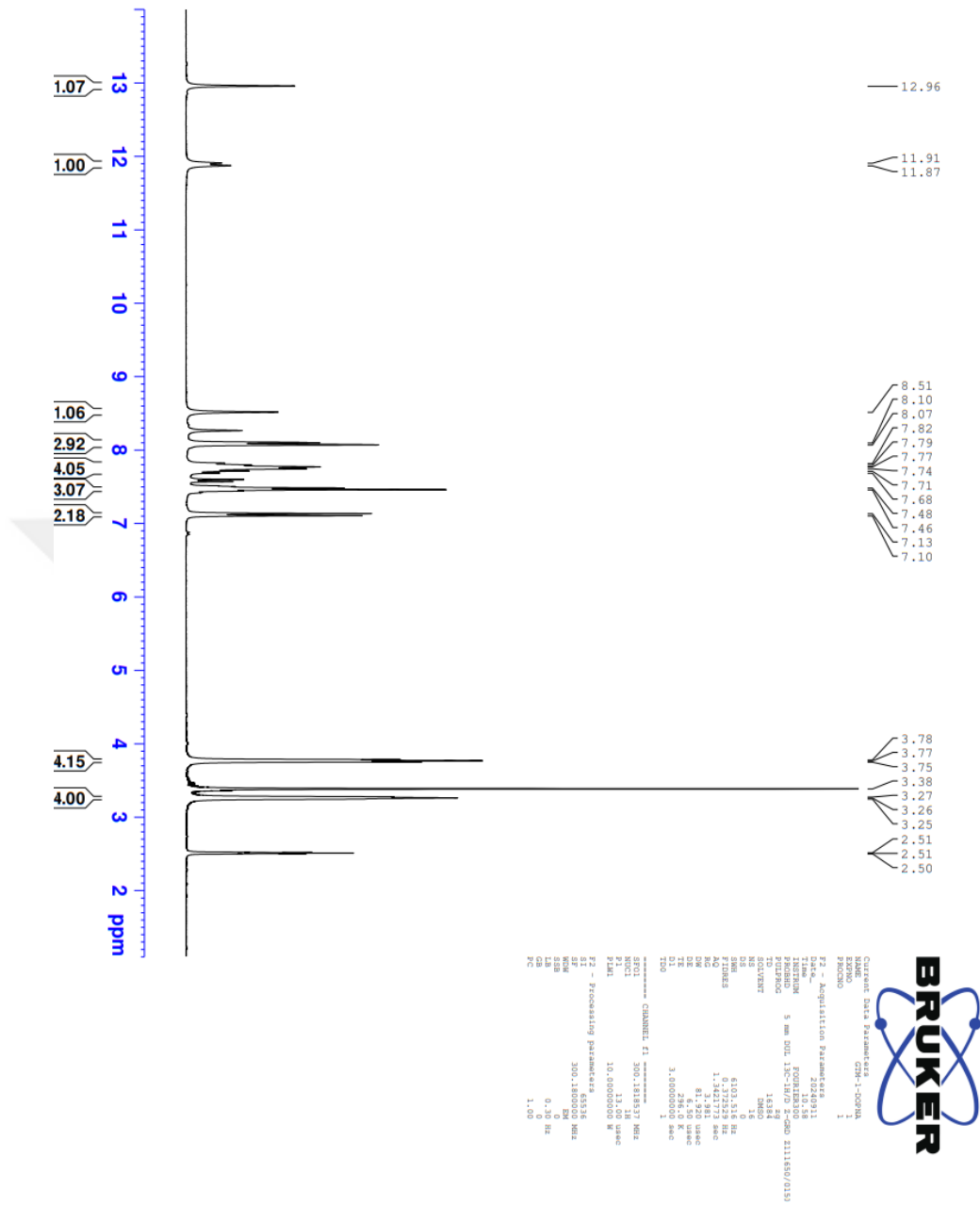
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ : 3.26 (4H, s-y., Morfolin), 3.74-3.78 (4H, m, Morfolin), 7.11 (2H, d, $J=8.85$ Hz, Benzen-H), 7.45-7.48 (3H, m, Benzen-H), 7.68-7.81 (4H, m, Benzen-H), 8.07 (3H, d, $J=8.80$ Hz, Benzimidazol-H), 8.51 (1H, s, -CH=N), 11.88 (1H, s-y., -NH), 12.95 (1H, s, Benzimidazol-NH).

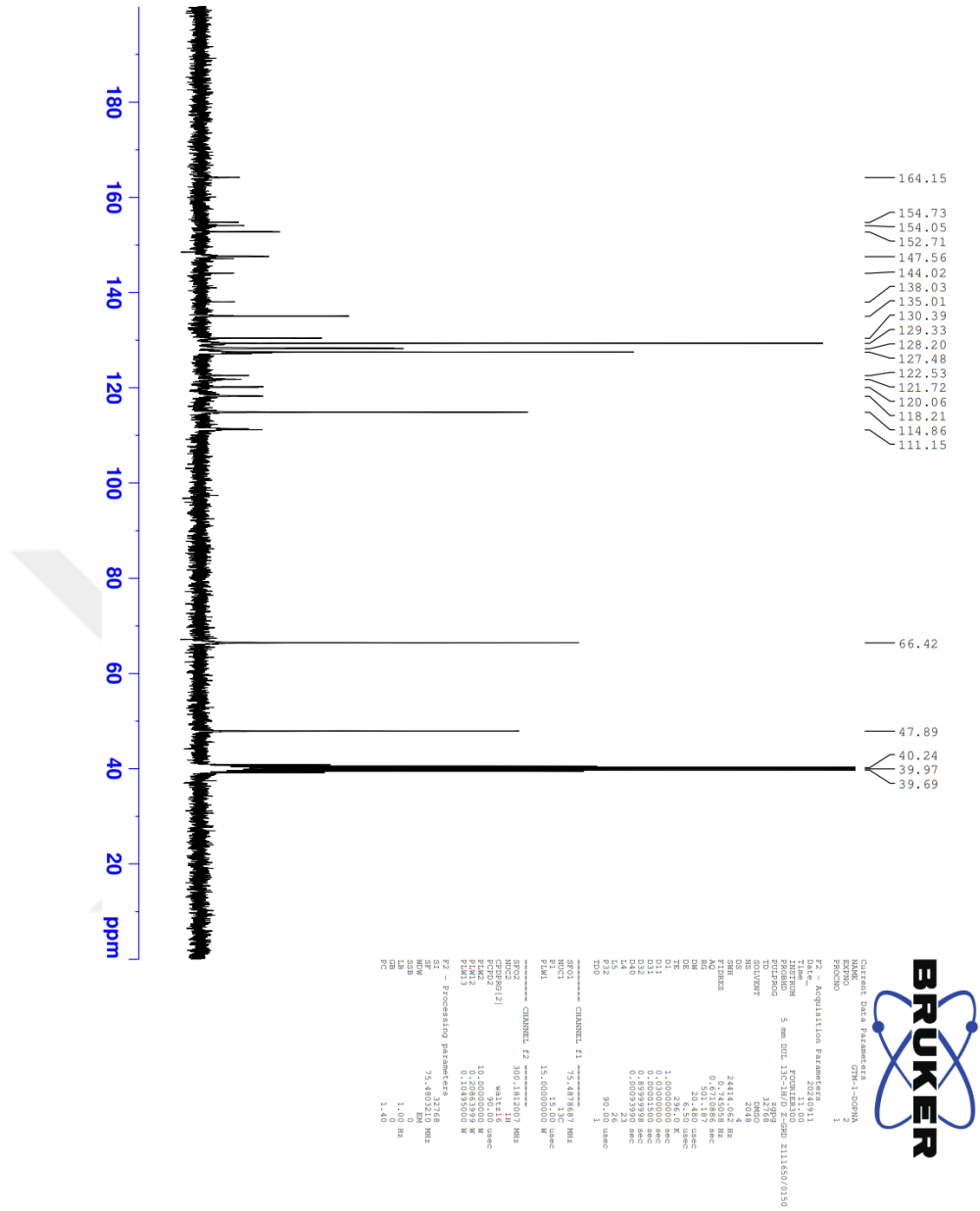
$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ : 47.89, 66.42, 111.15, 114.86, 118.21, 120.06, 121.72, 122.53, 127.48, 128.20, 129.33, 130.39, 135.01, 138.03, 144.02, 147.56, 152.71, 154.05, 154.73, 164.15.

HRMS (ESI) analizinde $[\text{M}+\text{H}]^+$ iyonu için $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2$ bileşiğinde hesaplanan kütle: 426.1925 ve bulunan kütle: 426.1923 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.9. Bileşik 4a'nın kızılötesi (IR) spektrumu





Şekil 5.11. Bileşik 4a'nın karbon-13 nükleer manyetik rezonans (^{13}C -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GTM-1_600.lcd

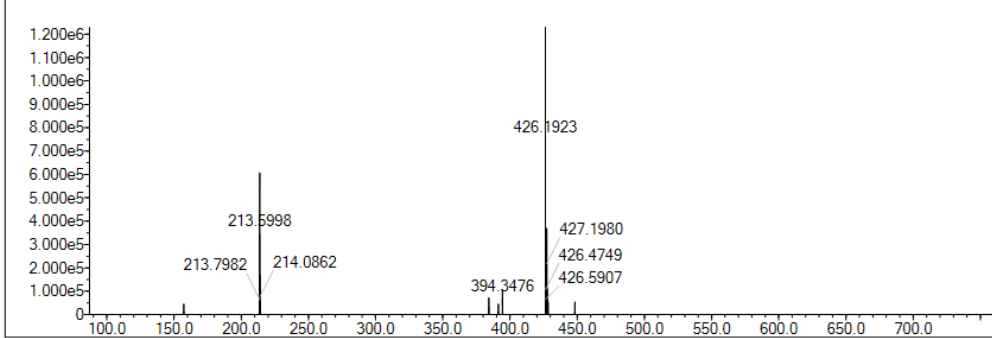
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	3	S	2	0	0	Ru	2	0	0	H
C	4	4	32	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

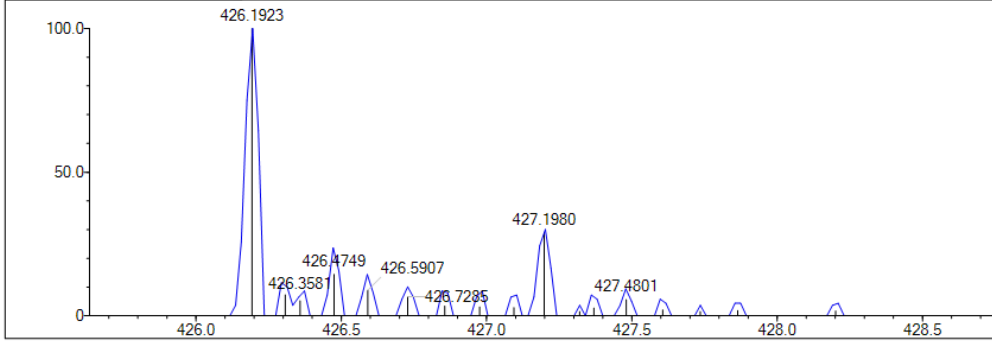
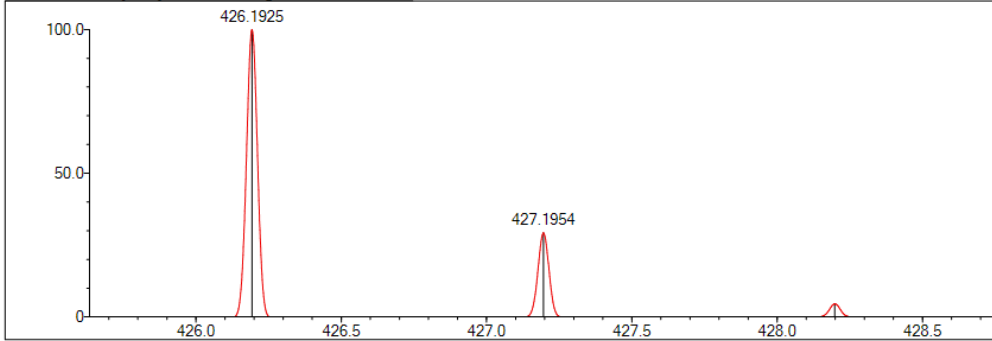
DBE Range: 0.0 - 30.0
 Apply N Rule: no
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.827 Scan#: 425



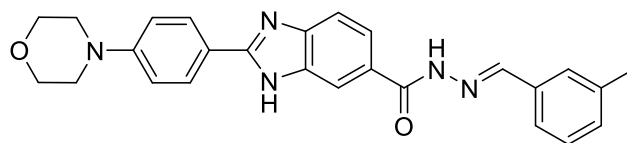
Measured region for 426.1923 m/z

C25 H23 N5 O2 [M+H]⁺ : Predicted region for 426.1925 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	91.00	C25 H23 N5 O2	[M+H] ⁺	426.1923	426.1925	-0.2	-0.47	91.00	17.0

Şekil 5.12. Bileşik 4a'nın yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.6. *N'*-(3-Metilbenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-karbohidrazid (4b)



Şekil 5.13. *N'*-(3-Metilbenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-karbohidrazid (4b)

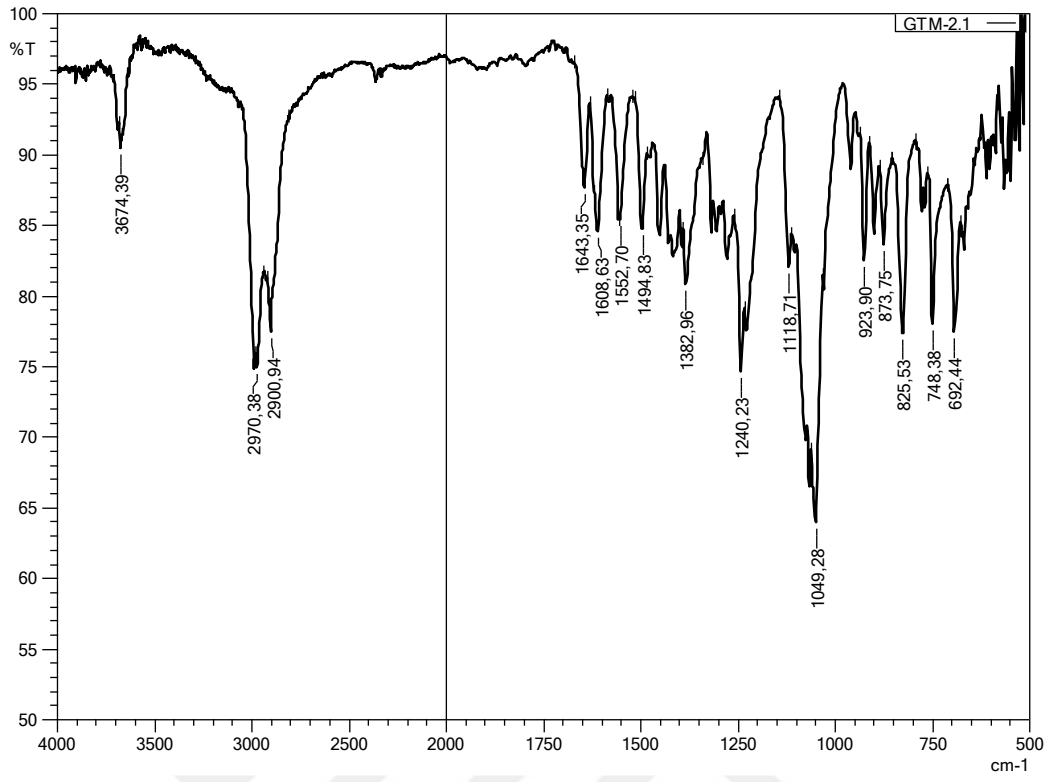
Bu bileşik, Yöntem E kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 228 °C. Verim: %79.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3674.39 (N-H bağına ait band), 2900.94 (C-H bağına ait band), 1643.35 (C=O bağına ait band).

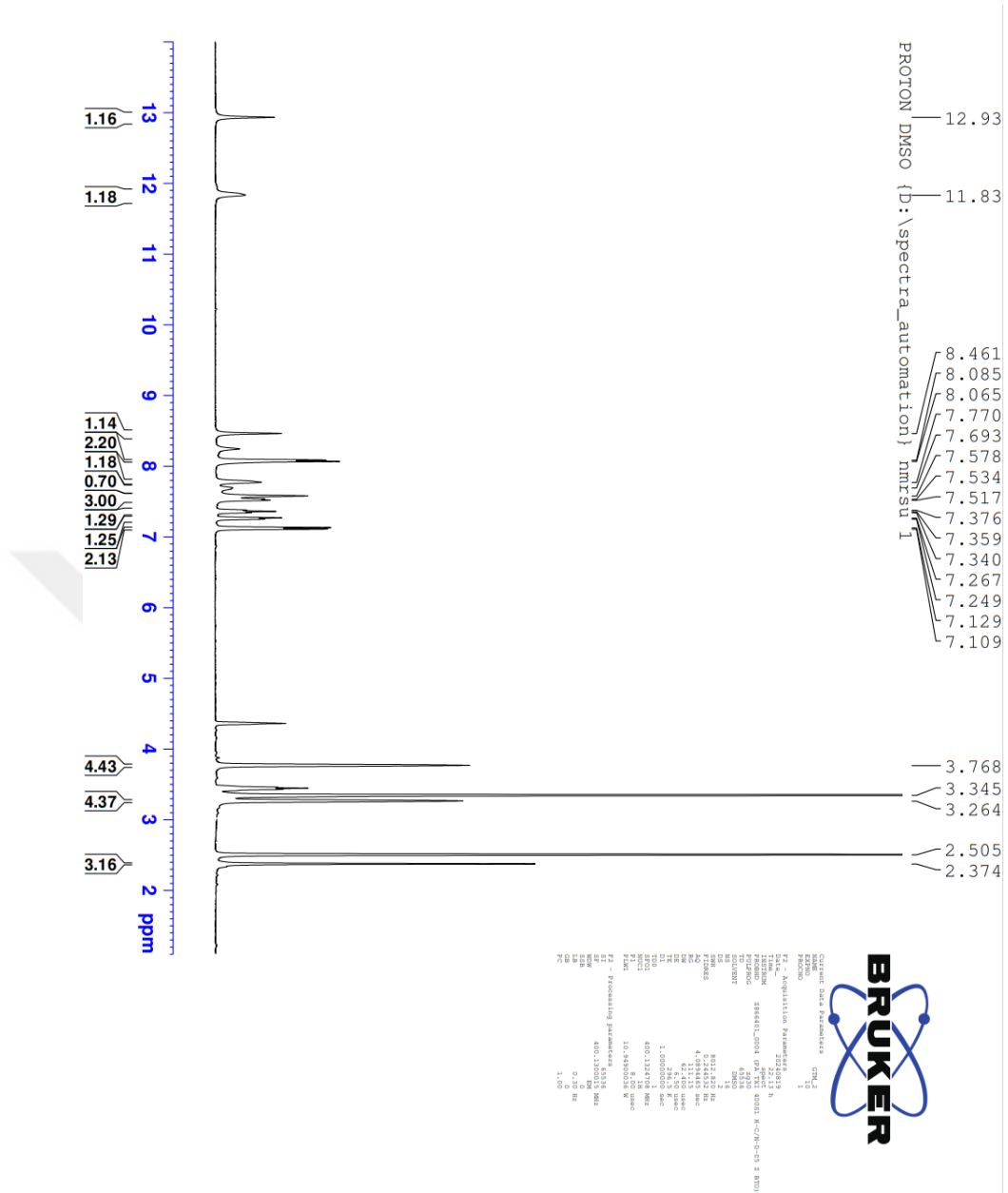
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 2.37 (3H, s, -CH₃), 3.26 (4H, s, Morfolin), 3.76 (4H, s, Morfolin), 7.11 (2H, d, *J*=8.21 Hz, Benzen-H), 7.24-7.26 (1H, m, Benzen-H), 7.35 (1H, t, *J*=7.56 Hz, Benzen-H), 7.51-7.57 (3H, m, Benzimidazol-H), 7.69 (1H, s-y., Benzen-H), 7.76 (1H, s-y., Benzen-H), 8.07 (2H, d, *J*=8.20 Hz, Benzen-H), 8.46 (1H, s, -CH=N), 11.86 (1H, s-y., -NH), 12.93 (1H, s, Benzimidazol-NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 21.38, 47.88, 66.42, 114.86, 120.11, 122.13, 124.90, 127.21, 127.76, 128.27, 129.21, 131.11, 134.96, 138.53, 147.63, 152.74, 154.35, 164.13.

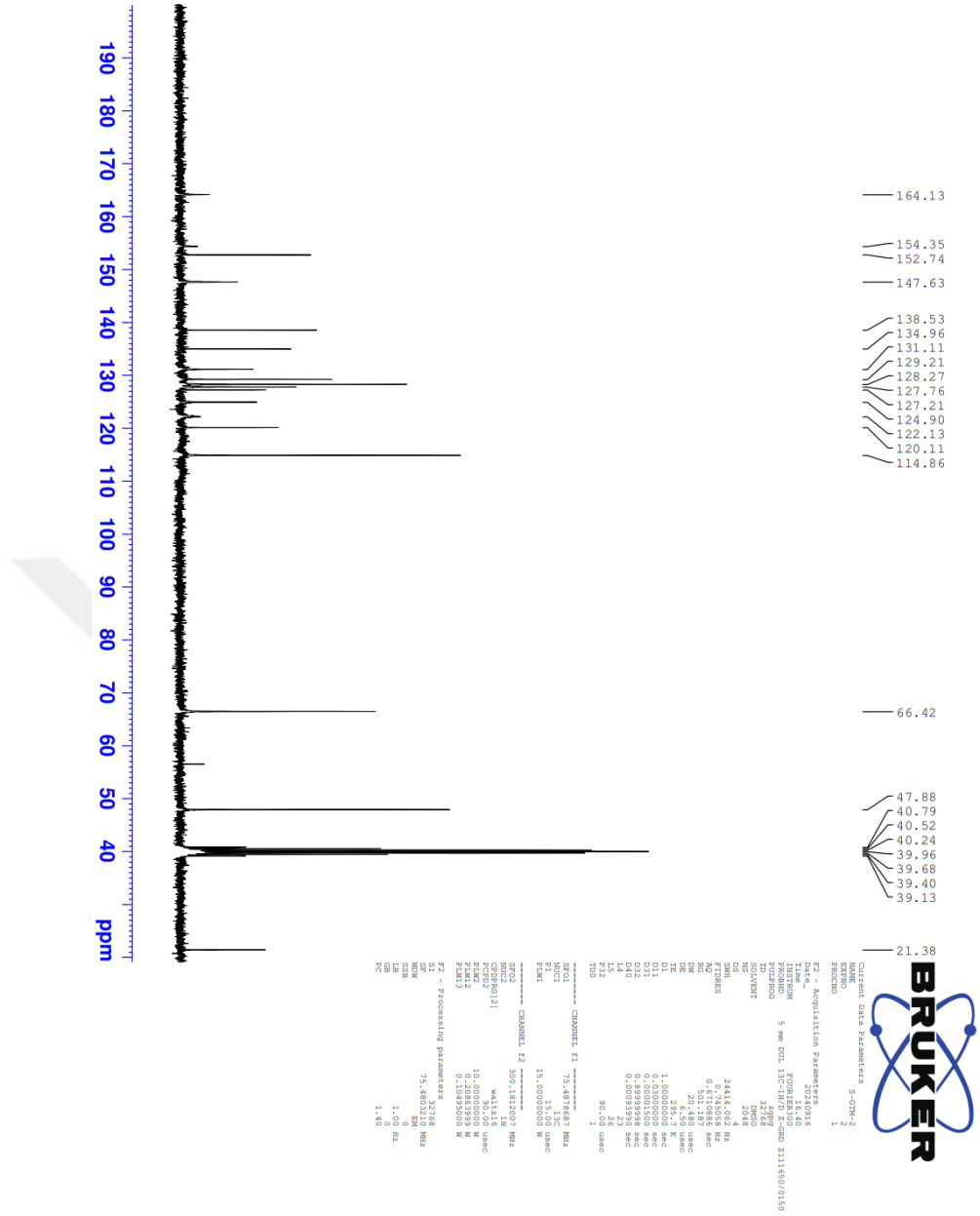
HRMS (ESI) analizinde [M+H]⁺ iyonu için C₂₆H₂₅N₅O₂ bileşiğinde hesaplanan kütle: 440.2081, ve bulunan kütle: 440.2072 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.14. Bileşik 4b'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.15. Bileşik 4b'nin proton nükleer manyetik rezonans (^1H -NMR) spektrumu



Şekil 5.16. Bileşik 4b'nin karbon-13 nükleer manyetik rezonans (^{13}C -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GTM-2_601.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	3	S	2	0	0	Ru	2	0	0	H
C	4	4	32	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 30.0

Apply N Rule: no

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

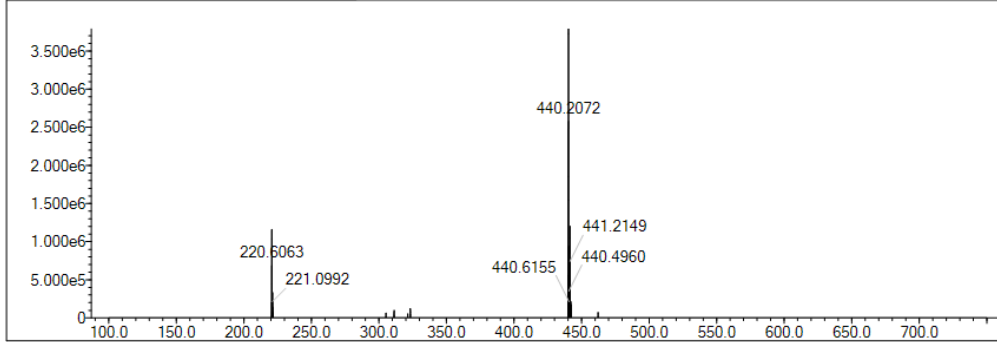
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

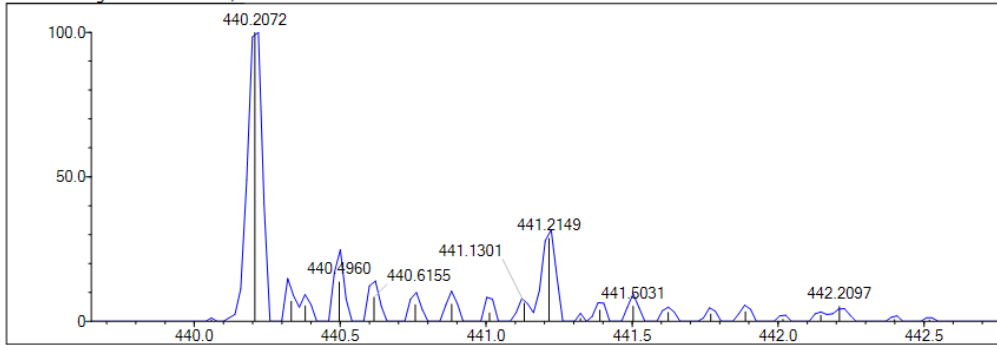
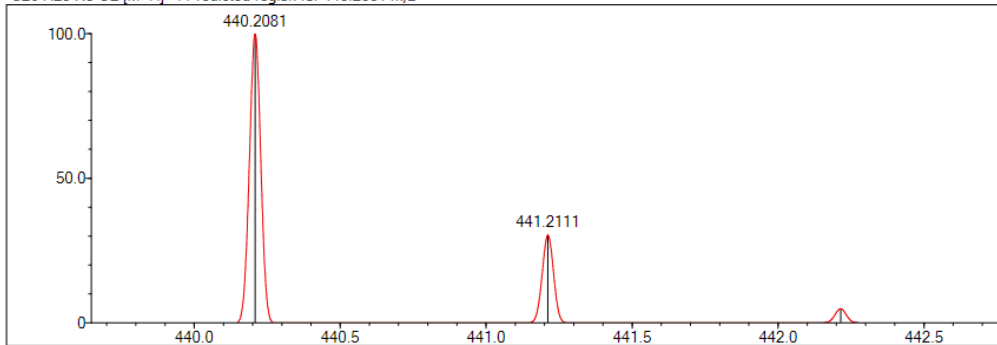
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 2.947 Scan#: 443



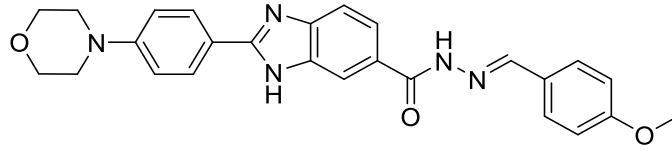
Measured region for 440.2072 m/z

C26 H25 N5 O2 [M+H]⁺ : Predicted region for 440.2081 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	90.76	C26 H25 N5 O2	[M+H] ⁺	440.2072	440.2081	-0.9	-2.04	93.18	17.0

Şekil 5.17. Bileşik 4b'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.7. *N'*-(4-Metoksibenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4c)



Şekil 5.18. *N'*-(4-Metoksibenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (**4c**)

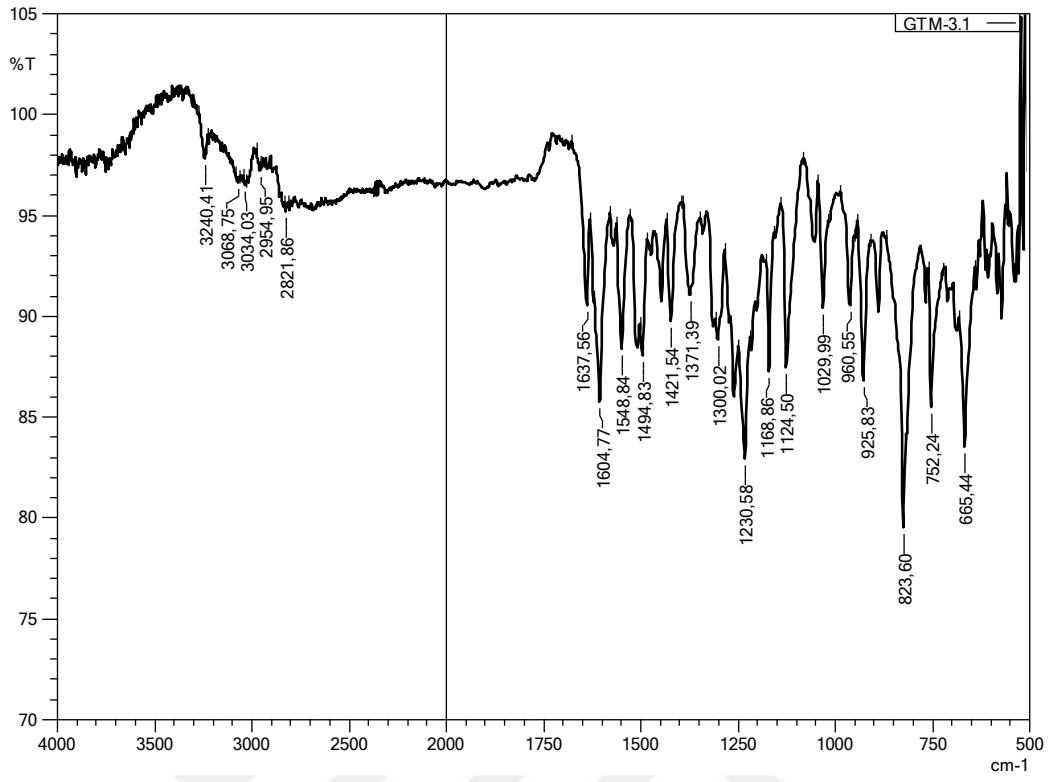
Bu bileşik, Yöntem E kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 329 °C. Verim: %85.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3240.41 (N-H bağına ait band), 3068.75 (C-H bağına ait band), 1637.56 (C=O bağına ait band), 1230.58 (C-O-C bağına ait band).

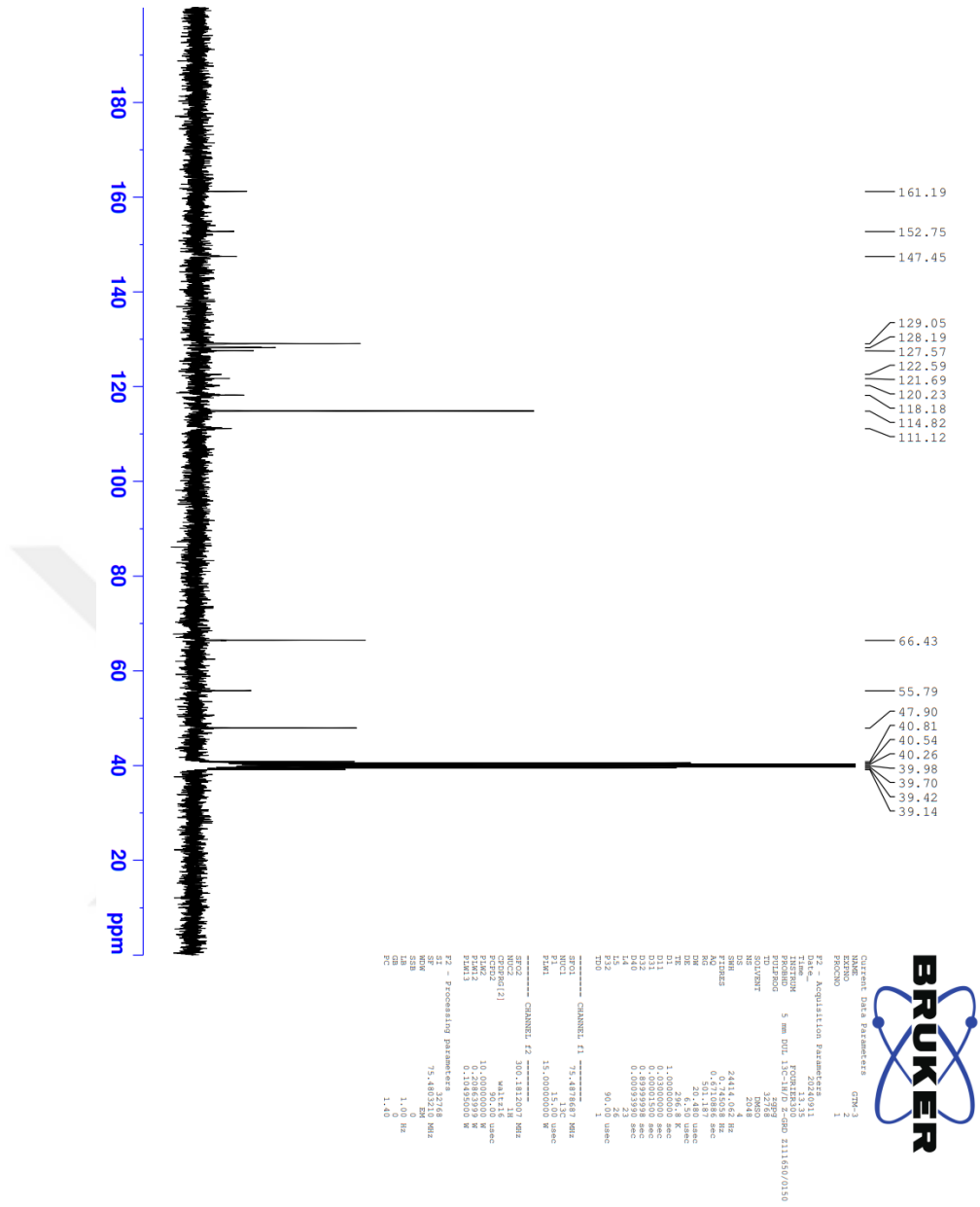
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.26 (4H, s, Morfolin), 3.76 (4H, s, Morfolin), 3.82 (3H, s, -O-CH₃), 7.03 (2H, d, *J*=7.43 Hz, Benzen-H), 7.11 (2H, d, *J*=8.15 Hz, Benzen-H), 7.55-7.57 (1H, m, Benzen-H), 7.68 (2H, s-y., Benzen-H), 7.76 (1H, t, *J*=8.42 Hz, Benzen-H) 8.03-8.07 (3H, m, Benzimidazol-H), 8.44 (1H, s, -CH=N), 11.70-11.74 (1H, m, -NH), 12.91 (1H, s, Benzimidazol-NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 47.90, 55.79, 66.43, 111.12, 114.82, 118.18, 120.23, 121.69, 122.59, 127.57, 128.19, 129.05, 147.45, 152.75, 161.19.

HRMS (ESI) analizinde [M+H]⁺ iyonu için C₂₆H₂₅N₅O₃ bileşiğinde hesaplanan kütle: 456.2030, ve bulunan kütle: 456.2028 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.19. Bileşik 4c'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.21. Bileşik 4c'nin karbon-13 nükleer manyetik rezonans (^{13}C -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GTM-3_602.lcd

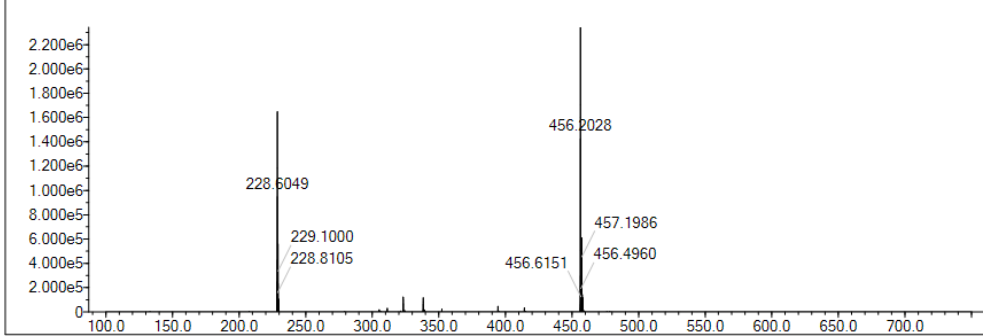
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	3	S	2	0	0	Ru	2	0	0	H
C	4	4	32	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

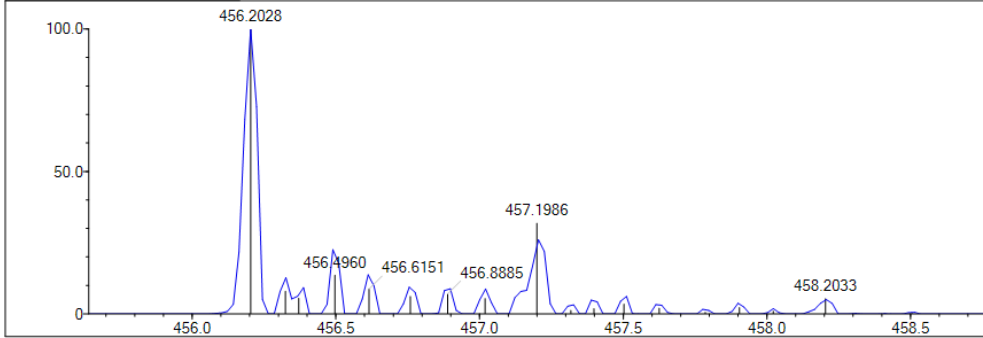
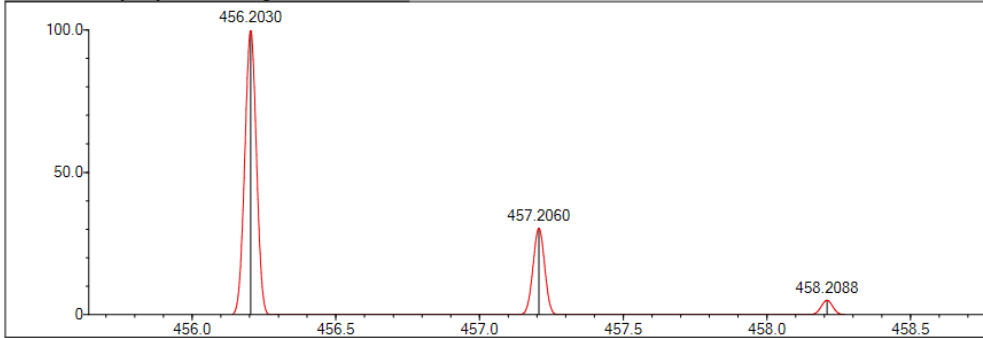
DBE Range: 0.0 - 30.0
 Apply N Rule: no
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.800 -> 3.400 Scan# : 421 -> 511



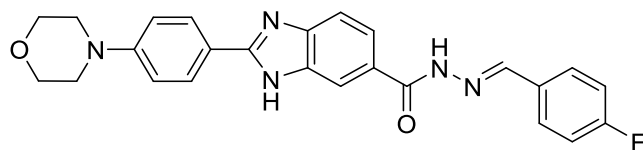
Measured region for 456.2028 m/z

C26 H25 N5 O3 [M+H]⁺ : Predicted region for 456.2030 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	71.77	C26 H25 N5 O3	[M+H] ⁺	456.2028	456.2030	-0.2	-0.44	71.77	17.0

Şekil 5.22. Bileşik 4c'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.8. *N'*-(4-Florobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4d)



Şekil 5.23. *N'*-(4-Florobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (**4d**)

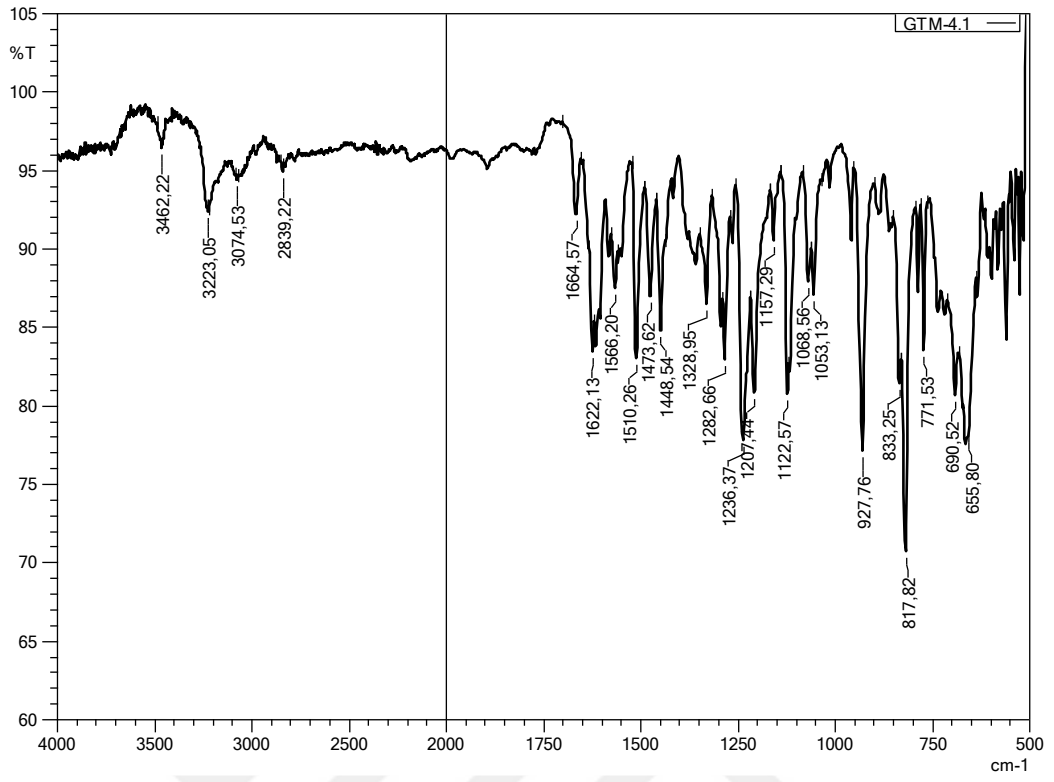
Bu bileşik, Yöntem E kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 326 °C. Verim: %80.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3223.05 (N-H bağına ait band), 3074.53 (C-H bağına ait band), 1622.13 (C=O bağına ait band).

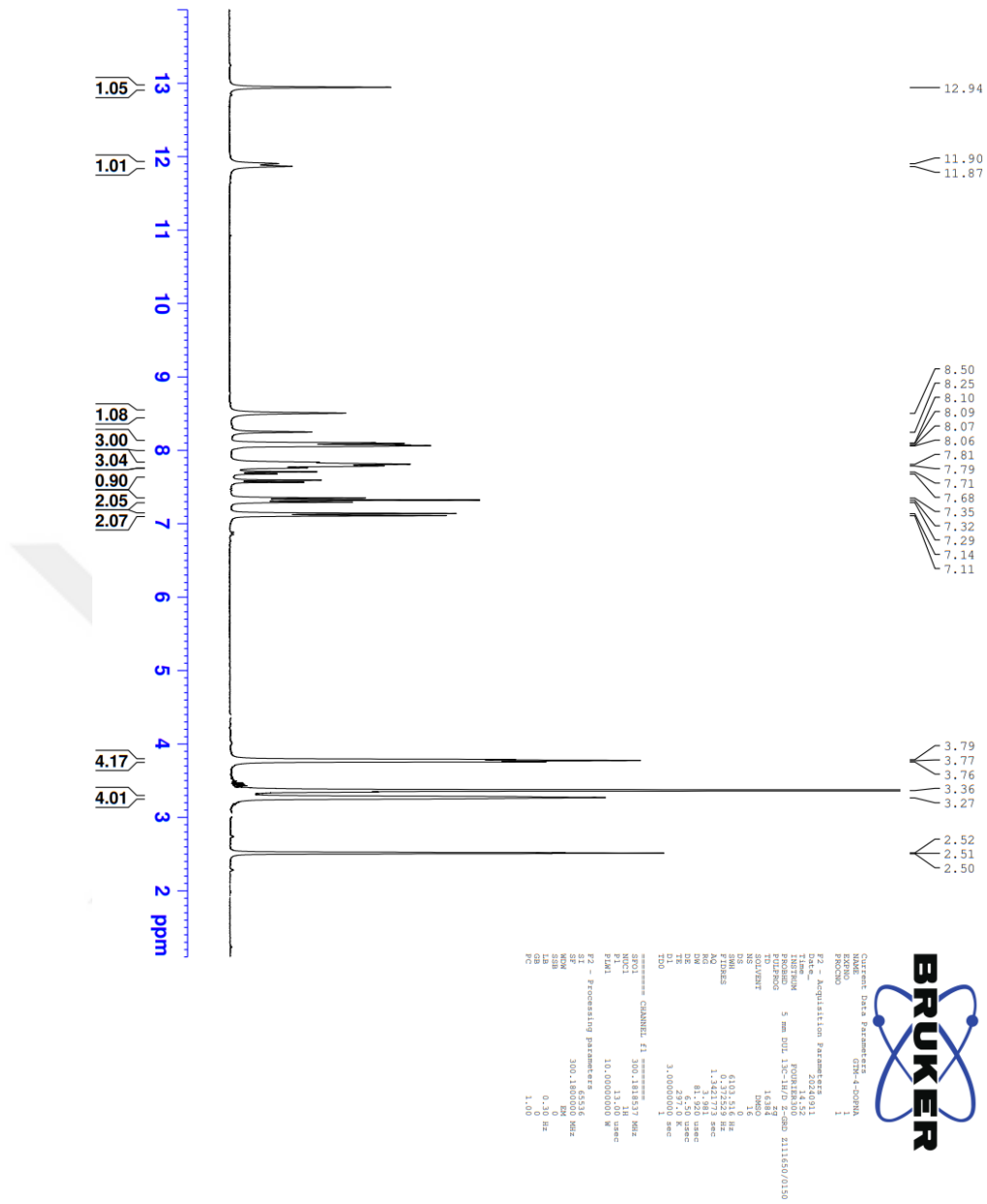
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.26 (4H, s-y., Morfolin), 3.75-3.78 (4H, m, Morfolin), 7.10-7.13 (2H, d, *J*=8.65 Hz, Benzen-H), 7.29-7.34 (2H, t, *J*=8.81 Hz, Benzen-H), 7.67-7.70 (1H, m, Benzen-H), 7.78-7.80 (3H, m, Benzen-H) 8.06-8.09 (3H, m, Benzimidazol-H), 8.50 (1H, s, -CH=N), 11.87-11.90 (1H, m, -NH), 12.94 (1H, s, Benzimidazol-NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 47.90, 66.43, 111.16, 114.87, 116.24, 116.53, 118.20, 120.16, 121.77, 122.51, 127.09, 128.19, 129.67, 131.61, 146.38, 152.71, 154.04, 161.85, 165.13.

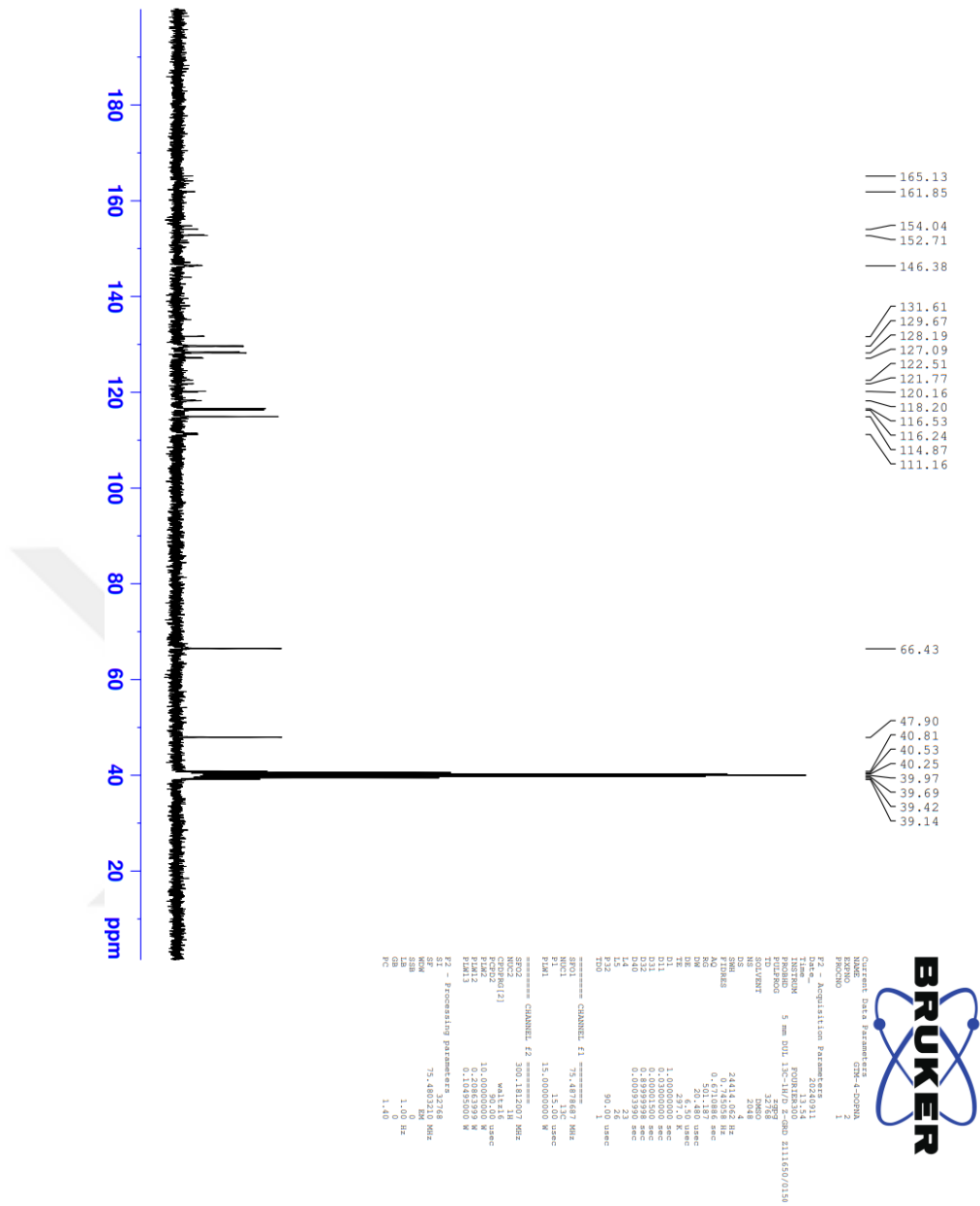
HRMS (ESI) analizinde [M+H]⁺ iyonu için C₂₅H₂₂N₅O₂F bileşiğinde hesaplanan kütle: 444.1830, ve bulunan kütle: 444.1818 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.24. Bileşik 4d'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.25. Bileşik 4d'nin proton nükleer manyetik rezonans (^1H -NMR) spektrumu



Şekil 5.26. Bileşik 4d'nin karbon-13 nükleer manyetik rezonans (^{13}C -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GTM-4_603.lcd

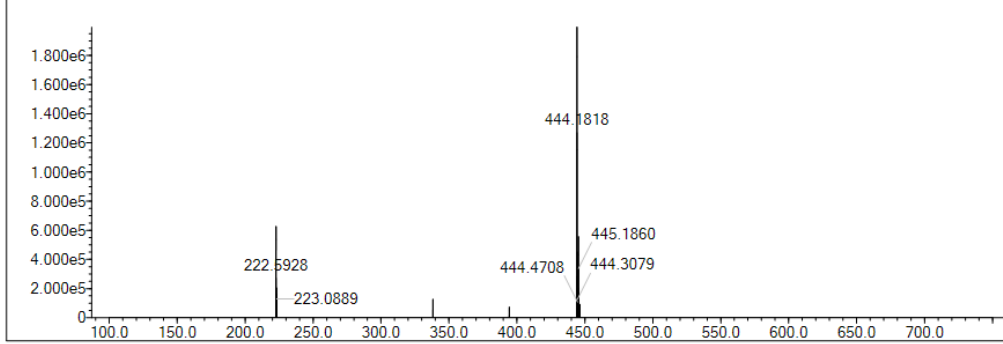
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	3	S	2	0	0	Ru	2	0	0	H
C	4	4	32	F	1	1	1	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

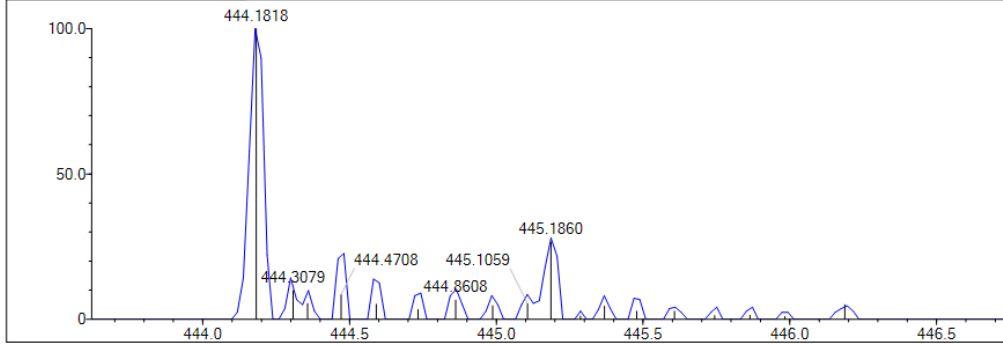
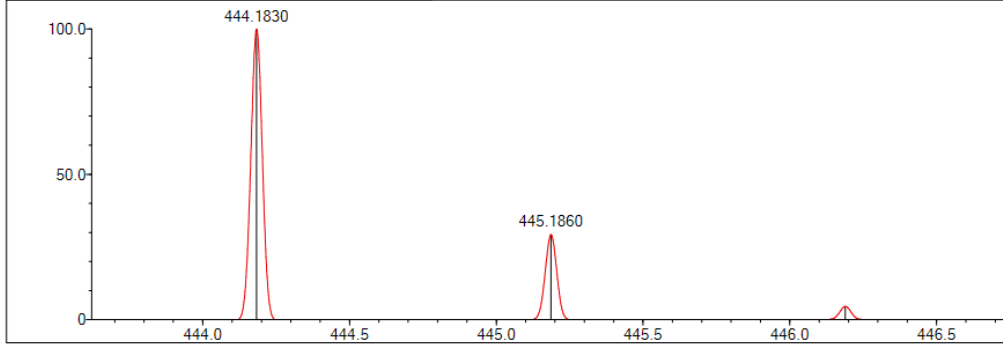
DBE Range: 0.0 - 30.0
 Apply N Rule: no
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

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



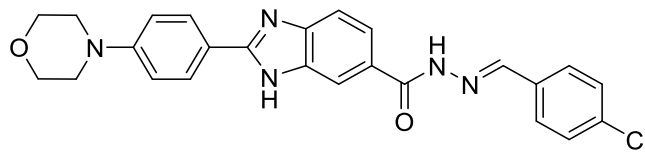
Measured region for 444.1818 m/z

C25 H22 N5 O2 F [M+H]⁺ : Predicted region for 444.1830 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	95.75	C25 H22 N5 O2 F	[M+H] ⁺	444.1818	444.1830	-1.2	-2.70	100.00	17.0

Şekil 5.27. Bileşik 4d'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.9. N'-(4-Klorobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-karbohidrazid (4e)



Şekil 5.28. *N'*-(4-Klorobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-karbohidrazid (**4e**)

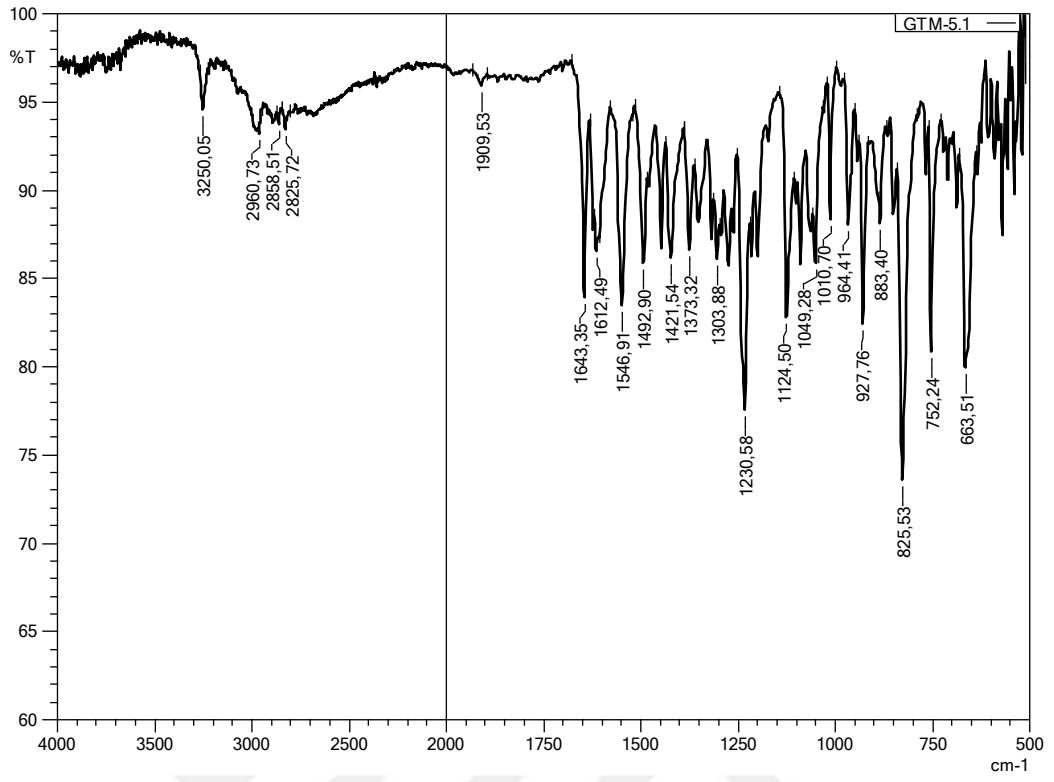
Bu bileşik, Yöntem E kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 325 °C.
Verim: %82.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3250.05 (N-H baġina ait band), 2960.73 (C-H baġina ait band), 1643.35 (C=O baġina ait band).

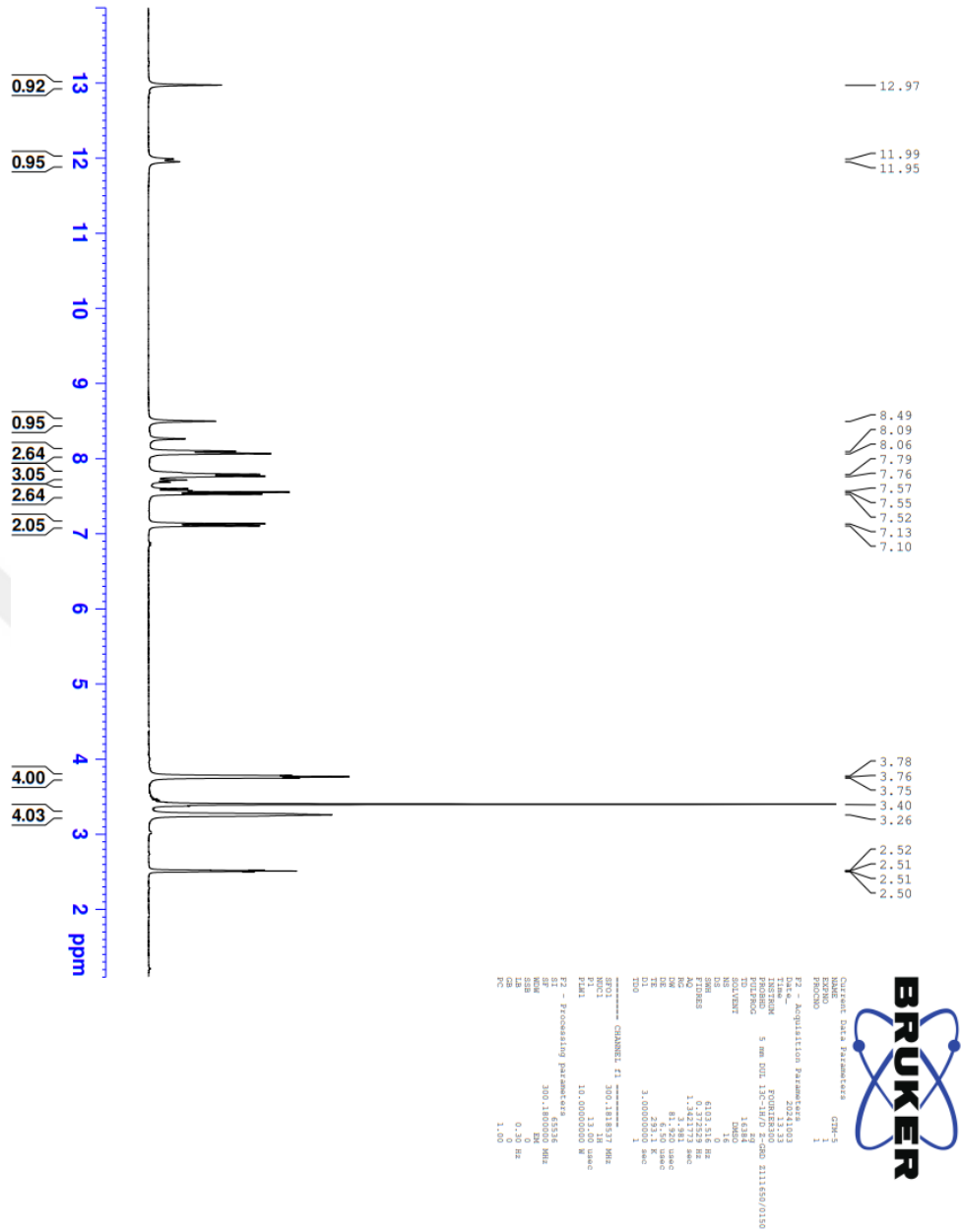
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.26 (4H, s, Morfolin), 3.74-3.77 (4H, m, Morfolin), 7.11 (2H, d, *J*=8.74 Hz, Benzen-H), 7.52-7.56 (3H, m, Benzen-H), 7.76-7.78 (3H, m, Benzen-H) 8.06-8.09 (3H, m, Benzimidazol-H), 8.49 (1H, s, -CH=N), 11.94-11.98 (1H, m, -NH), 12.98 (1H, s, Benzimidazol-NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 47.87, 66.42, 111.21, 114.86, 118.23, 120.14, 122.57, 127.13, 128.20, 129.10, 129.42, 133.96, 134.79, 144.00, 146.16, 152.71, 154.07, 154.77, 164.14.

HRMS (ESI) analizinde $[M+H]^+$ iyonu için $C_{25}H_{22}N_5O_2Cl$ bileşiğinde hesaplanan kütle: 460.1535, ve bulunan kütle: 460.1548 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.29. Bileşik 4e'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.30. Bileşik 4e'nin proton nükleer manyetik rezonans (^1H -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GTM-5_604.lcd

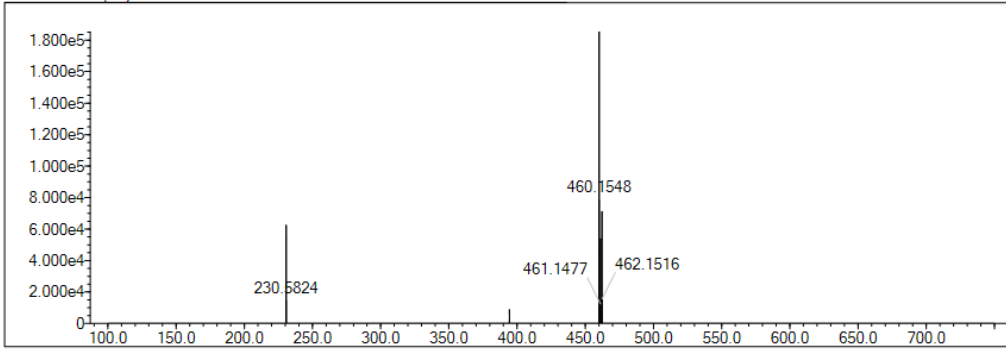
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	3	S	2	0	0	Ru	2	0	0	H
C	4	4	32	F	1	0	0	Cl	1	1	1	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

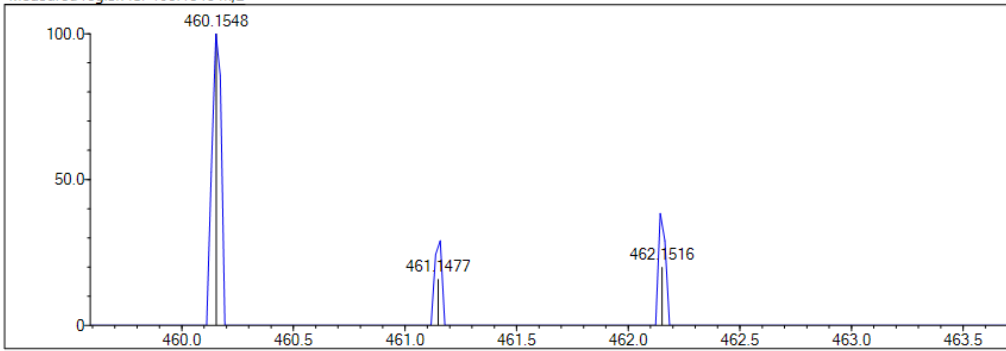
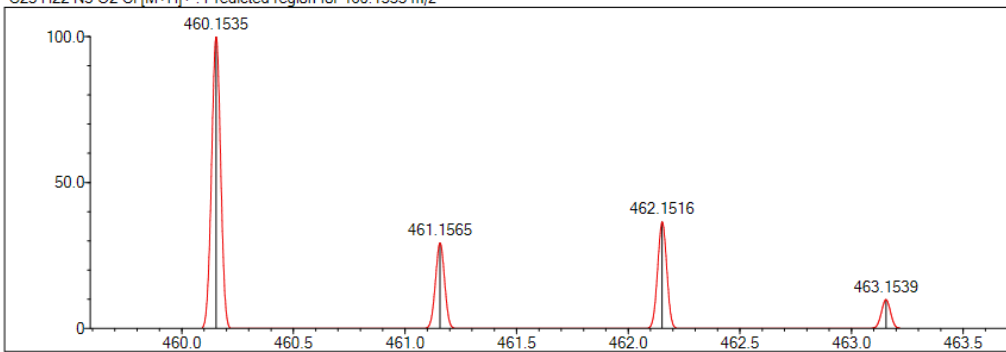
DBE Range: 0.0 - 30.0
 Apply N Rule: no
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 3.333 - 5.827 -> 9.119 Scan#: 501 - 875 -> 1369



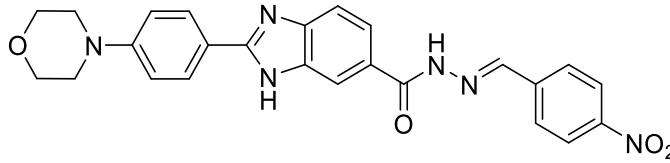
Measured region for 460.1548 m/z

C25 H22 N5 O2 Cl [M+H]⁺ : Predicted region for 460.1535 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	79.41	C25 H22 N5 O2 Cl	[M+H] ⁺	460.1548	460.1535	1.3	2.83	83.22	17.0

Şekil 5.32. Bileşik 4e'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.10. 2-(4-Morfolinofenil)-N'-(4-nitrobenziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4f)



Şekil 5.33. 2-(4-Morfolinofenil)-N'-(4-nitrobenziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4f)

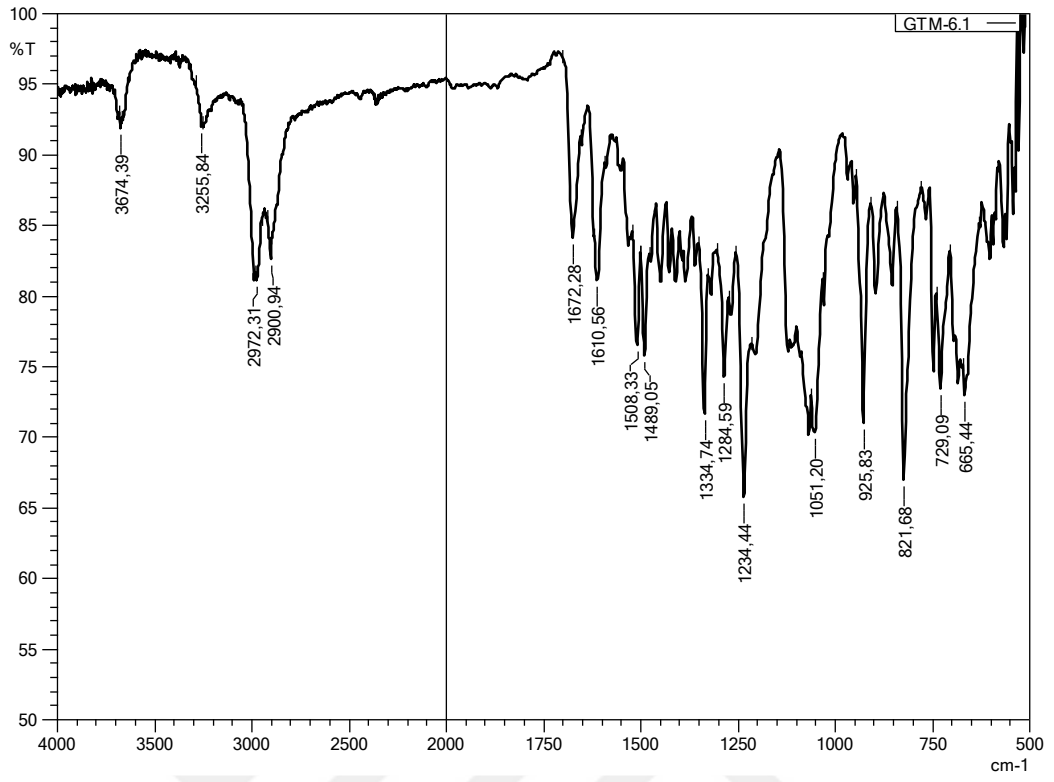
Bu bileşik, Yöntem E kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 305 °C. Verim: %86.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3255.84 (N-H bağına ait band), 2972.31 (C-H bağına ait band), 1672.28 (C=O bağına ait band).

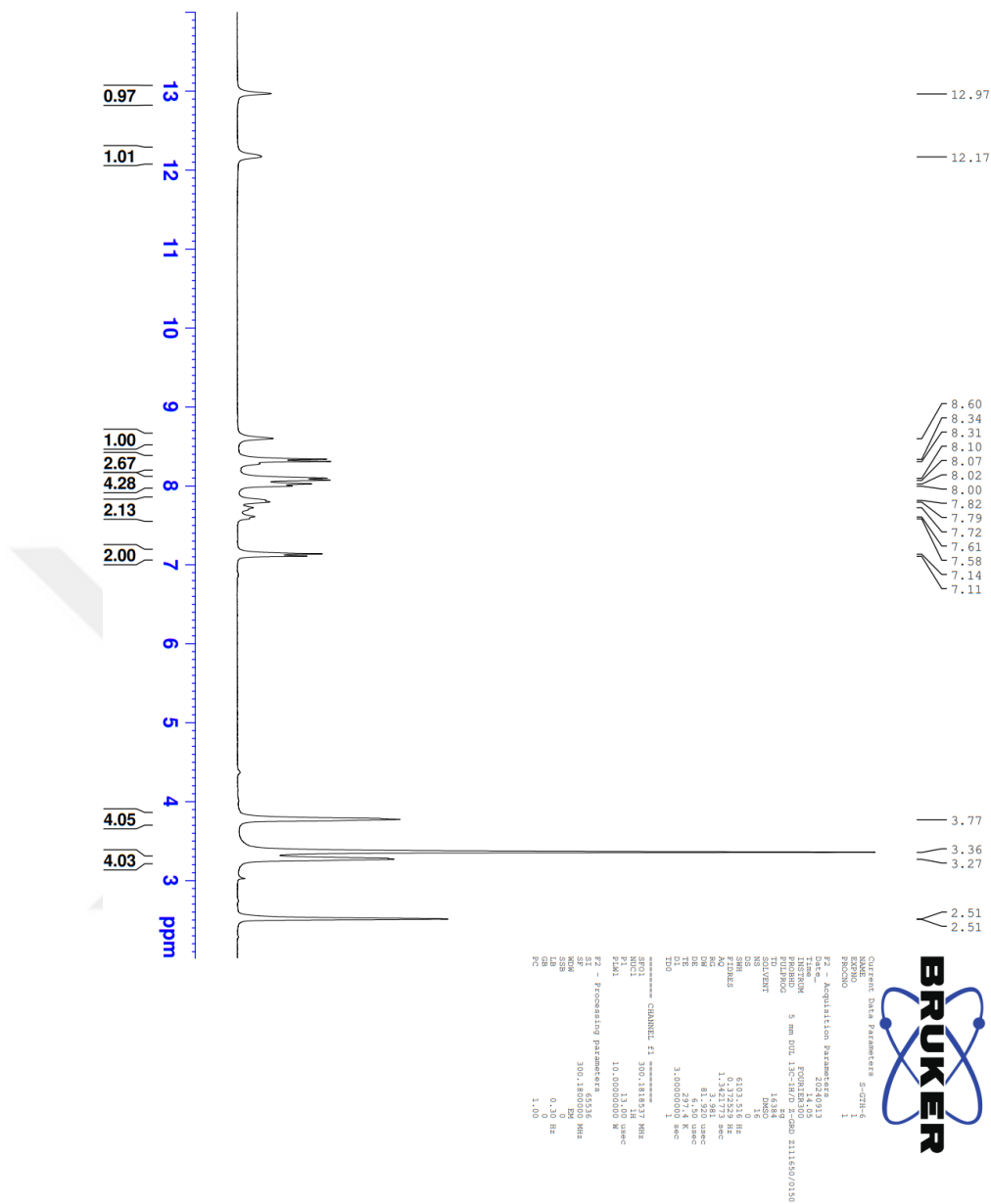
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.26 (4H, s, Morfolin), 3.77 (4H, s, Morfolin), 7.11 (2H, d, *J*=8.57 Hz, Benzen-H), 7.58-7.81 (2H, m, Benzen-H), 7.99-8.09 (4H, m, Benzen-H) 8.30-8.33 (3H, m, Benzimidazol-H), 8.59 (1H, s, -CH=N), 12.16 (1H, s-y., -NH), 12.96 (1H, s, Benzimidazol-NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 47.88, 66.43, 111.26, 114.85, 118.32, 120.09, 122.67, 124.59, 126.74, 128.36, 135.51, 138.11, 141.38, 144.97, 148.21, 152.76, 154.26, 164.37.

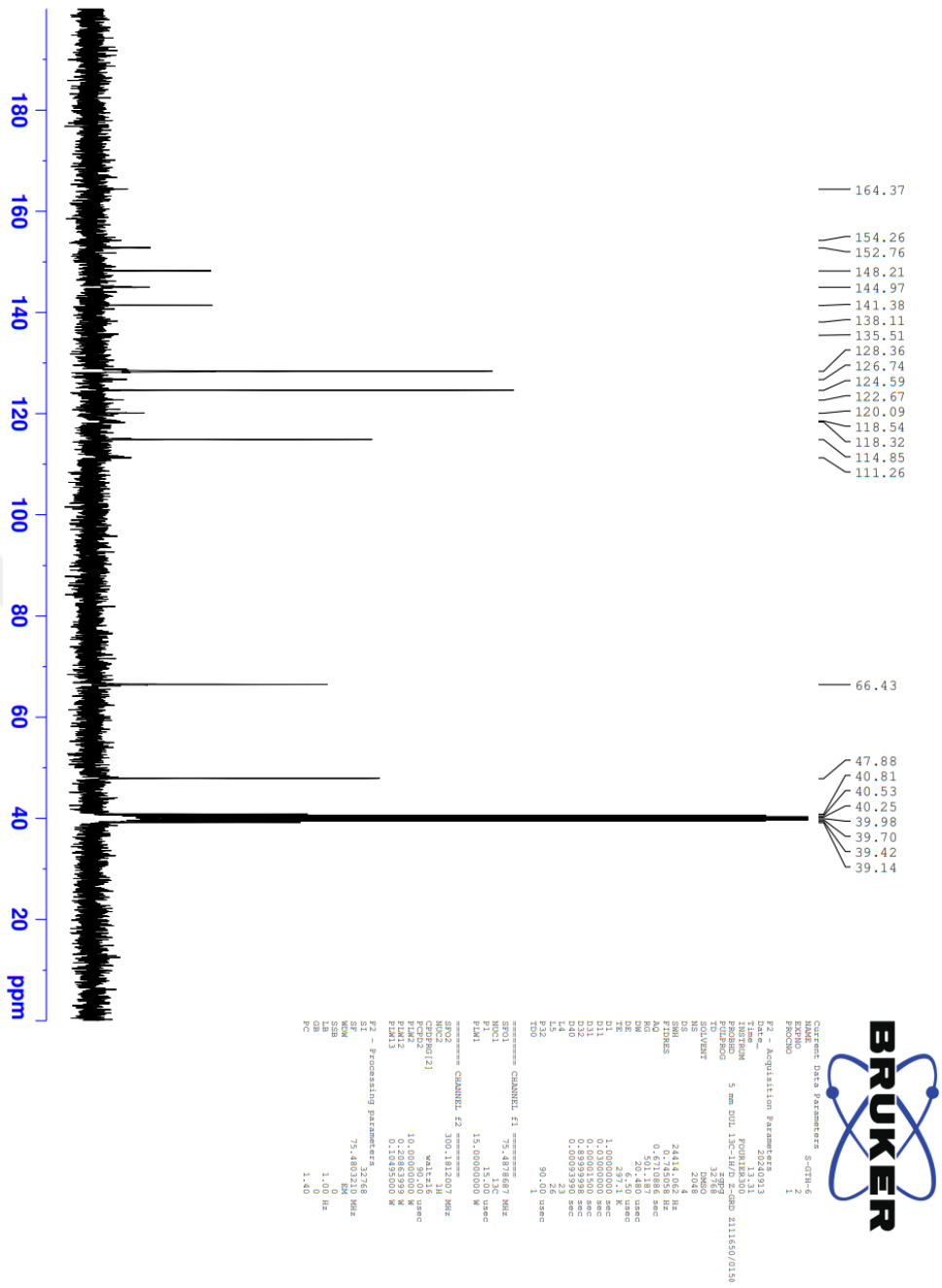
HRMS (ESI) analizinde [M+H]⁺ iyonu için C₂₅H₂₂N₆O₄ bileşiğinde hesaplanan kütle: 471.1775, ve bulunan kütle: 471.1779 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.34. Bileşik 4f'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.35. Bileşik 4f'nin proton nükleer manyetik rezonans (^1H -NMR) spektrumu



Şekil 5.36. Bileşik 4f'nin karbon-13 nükleer manyetik rezonans (^{13}C -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GTM-6_605.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	0	Ru	2	0	0	H
C	4	4	32	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 30.0

Apply N Rule: no

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

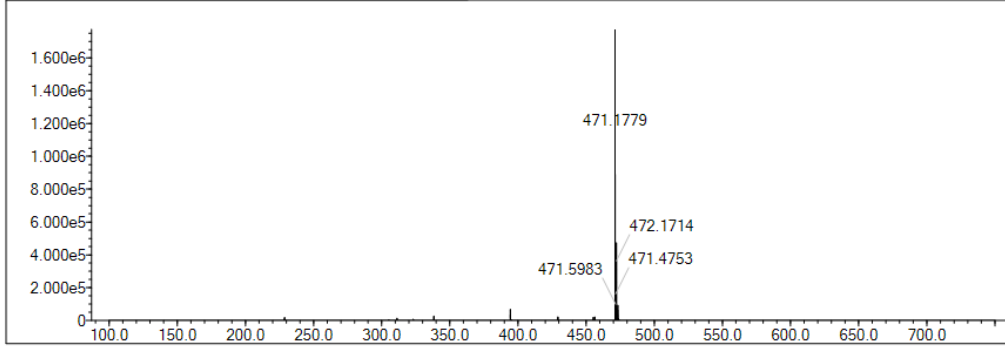
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

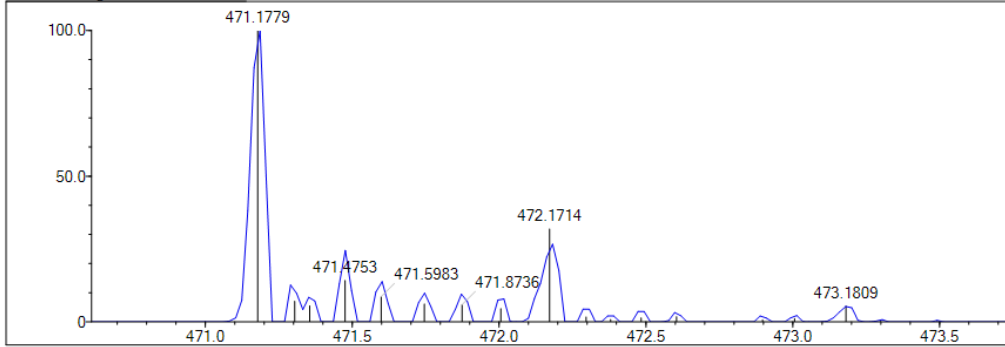
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

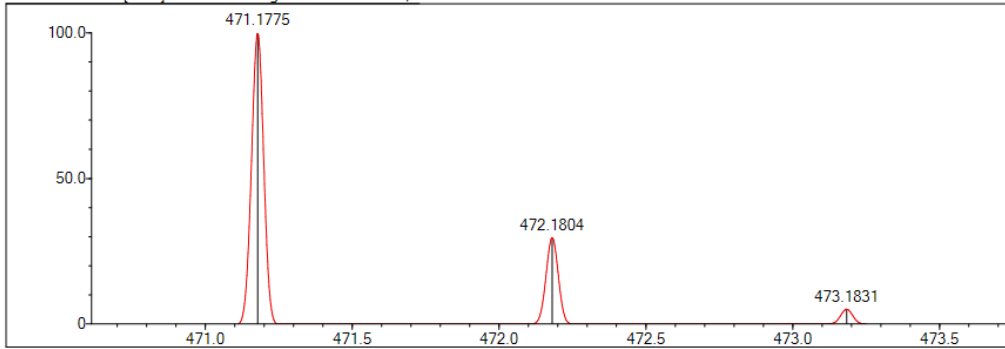
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.827 -> 3.240 Scan#: 425 -> 487



Measured region for 471.1779 m/z



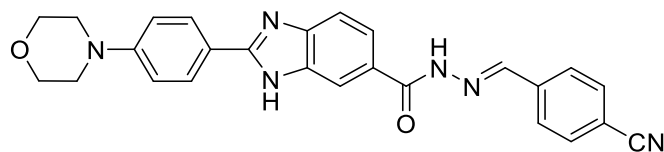
C25 H22 N6 O4 [M+H]+ : Predicted region for 471.1775 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	70.06	C25 H22 N6 O4	[M+H]+	471.1779	471.1775	0.4	0.85	70.06	18.0

Şekil 5.37. Bileşik 4f'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.11. N'-(4-Siyanobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4g)



Şekil 5.38. N'-(4-Siyanobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4g)

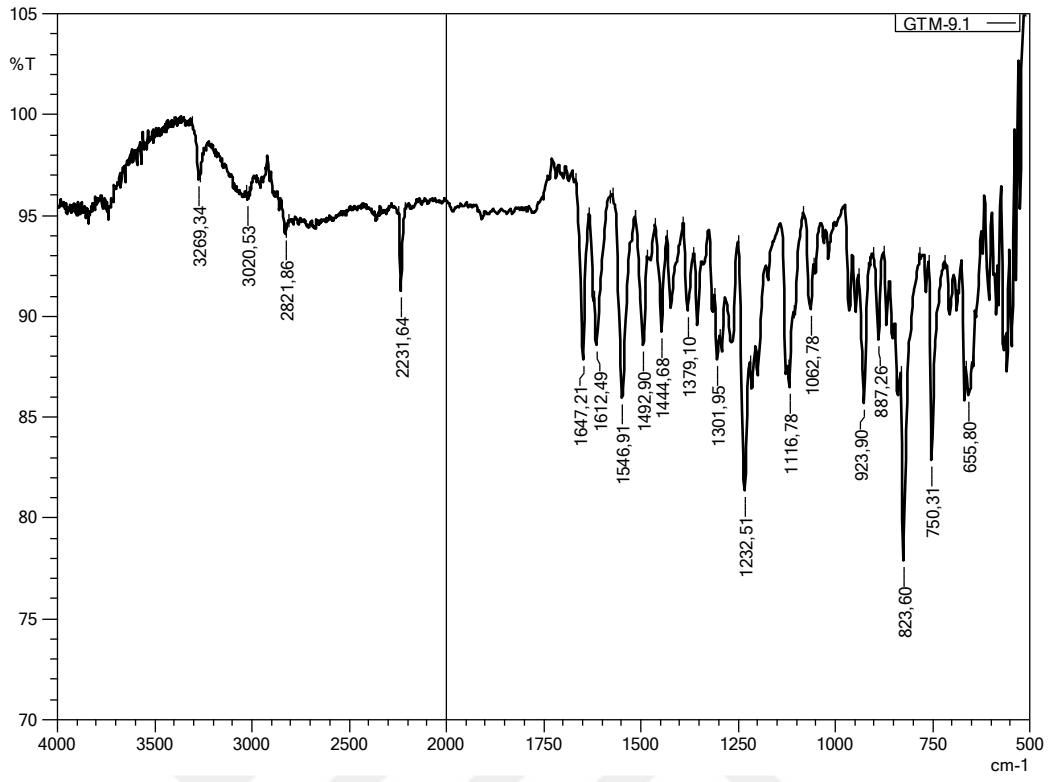
Bu bileşik, Yöntem E kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 300 °C. Verim: %78.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3269.34 (N-H bağına ait band), 3020.53 (C-H bağına ait band), 1647.21 (C=O bağına ait band).

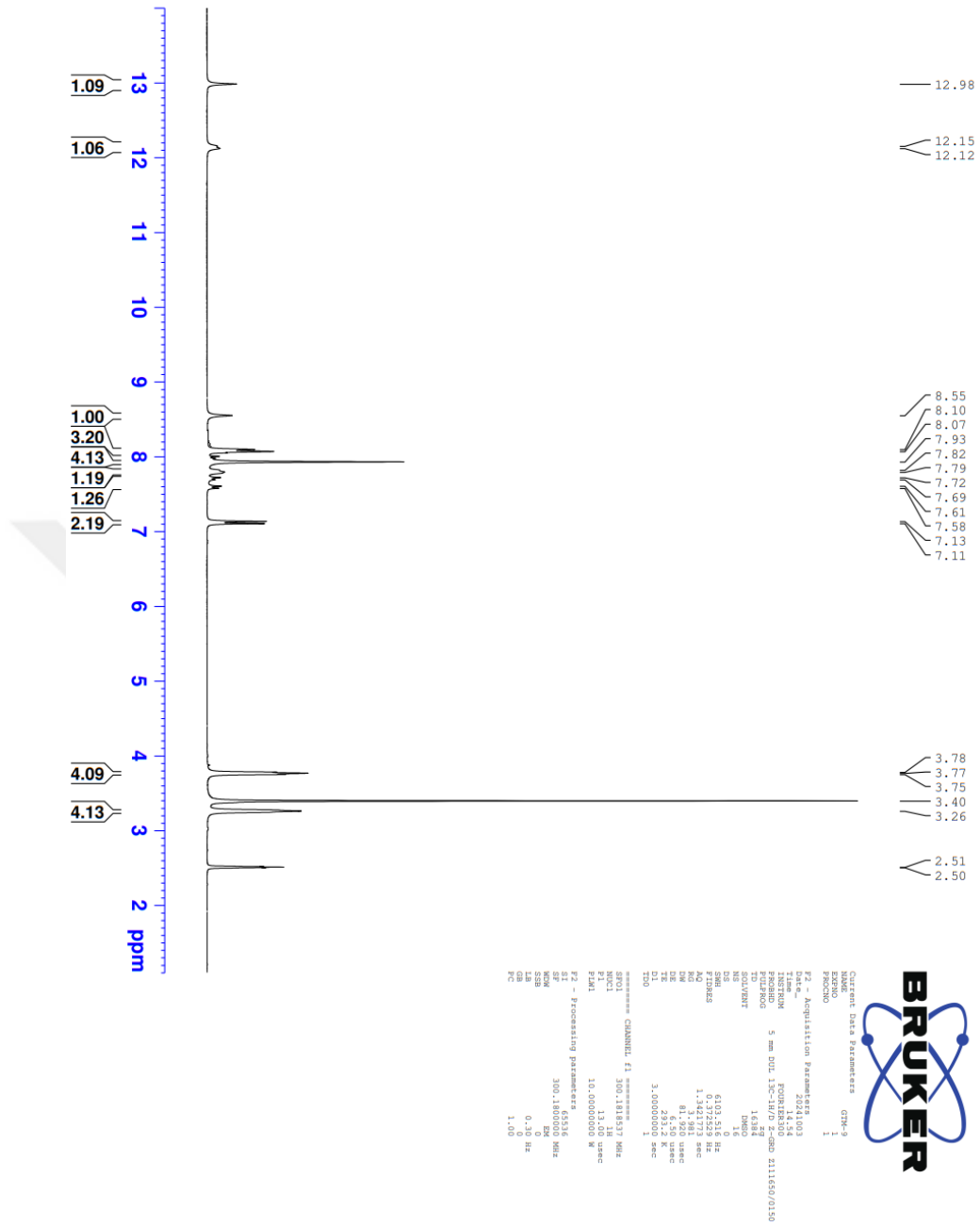
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.26 (4H, s-y., Morfolin), 3.75-3.78 (4H, m, Morfolin), 7.11 (2H, d, *J*=8.87 Hz, Benzen-H), 7.57-7.72 (1H, m, Benzen-H), 7.80 (1H, s-y., Benzen-H) 7.93 (4H, s, Benzen-H), 8.06-8.09 (3H, m, Benzimidazol-H), 8.55 (1H, s, -CH=N), 12.13 (1H, s-y., -NH), 12.98 (1H, s, Benzimidazol-NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 47.85, 66.42, 111.26, 111.52, 112.16, 114.85, 118.26, 119.20, 120.10, 121.83, 122.83, 126.87, 128.01, 129.49, 135.14, 138.18, 139.51, 143.99, 145.49, 147.27, 152.73, 154.14, 154.87, 161.07, 164.37.

HRMS (ESI) analizinde [M+H]⁺ iyonu için C₂₆H₂₂N₆O₂ bileşiğinde hesaplanan kütle: 451.1877, ve bulunan kütle: 451.1883 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.39. Bileşik 4g'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.40. Bileşik 4g'nin proton nükleer manyetik rezonans (^1H -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GTM-9 ALT_608.lcd

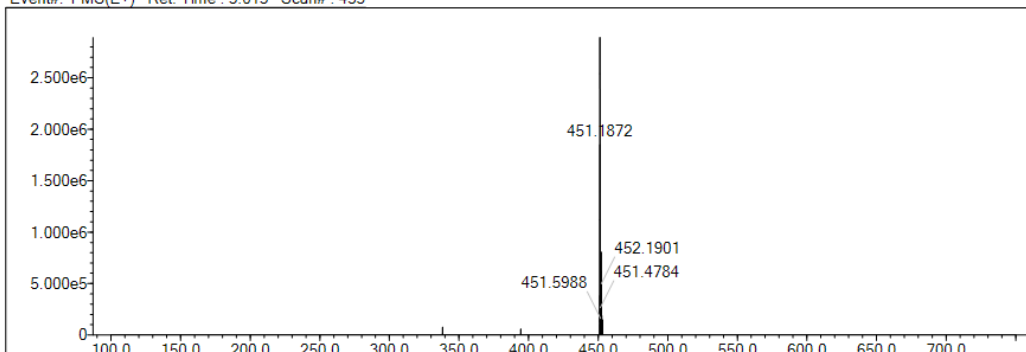
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	0	Ru	2	0	0	H
C	4	4	32	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

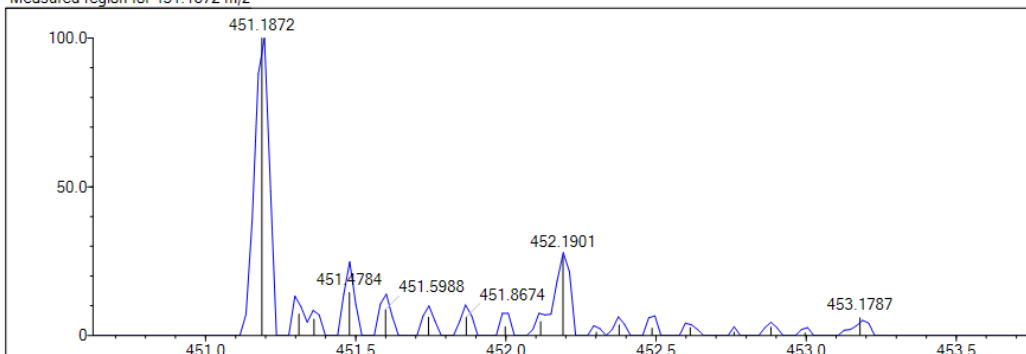
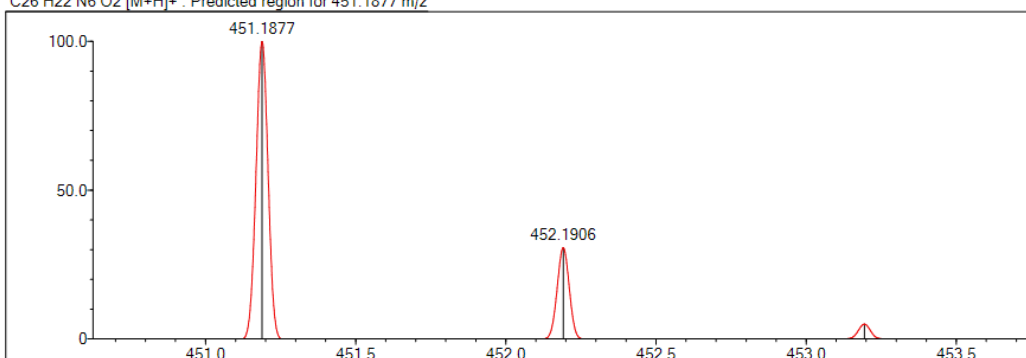
DBE Range: 0.0 - 30.0
 Apply N Rule: no
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.013 Scan#: 453



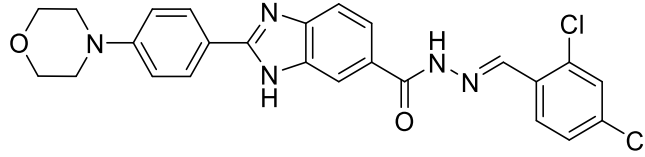
Measured region for 451.1872 m/z

C26 H22 N6 O2 [M+H]⁺ : Predicted region for 451.1877 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	68.74	C26 H22 N6 O2	[M+H] ⁺	451.1872	451.1877	-0.5	-1.11	68.93	19.0

Şekil 5.42. Bileşik 4g'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.12. N'-(2,4-Diklorobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4h)



Şekil 5.43. N'-(2,4-Diklorobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4h)

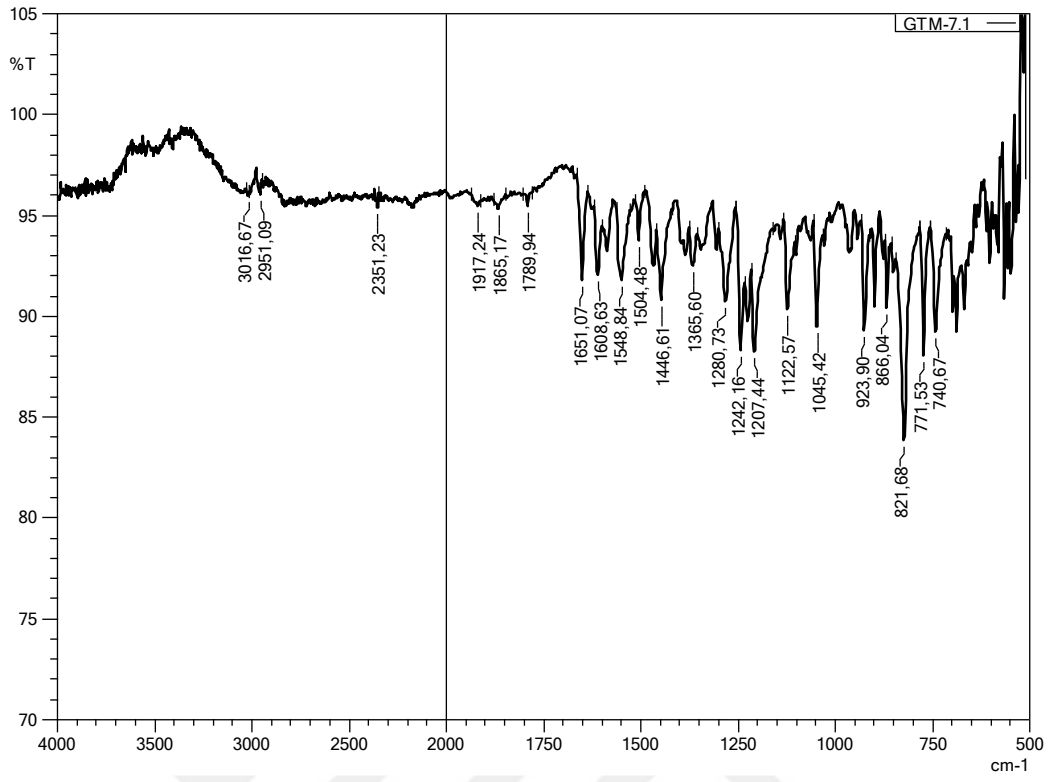
Bu bileşik, Yöntem E kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 206 °C. Verim: %84.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3016.67 (N-H bağına ait band), 2951.09 (C-H bağına ait band), 1651.07 (C=O bağına ait band).

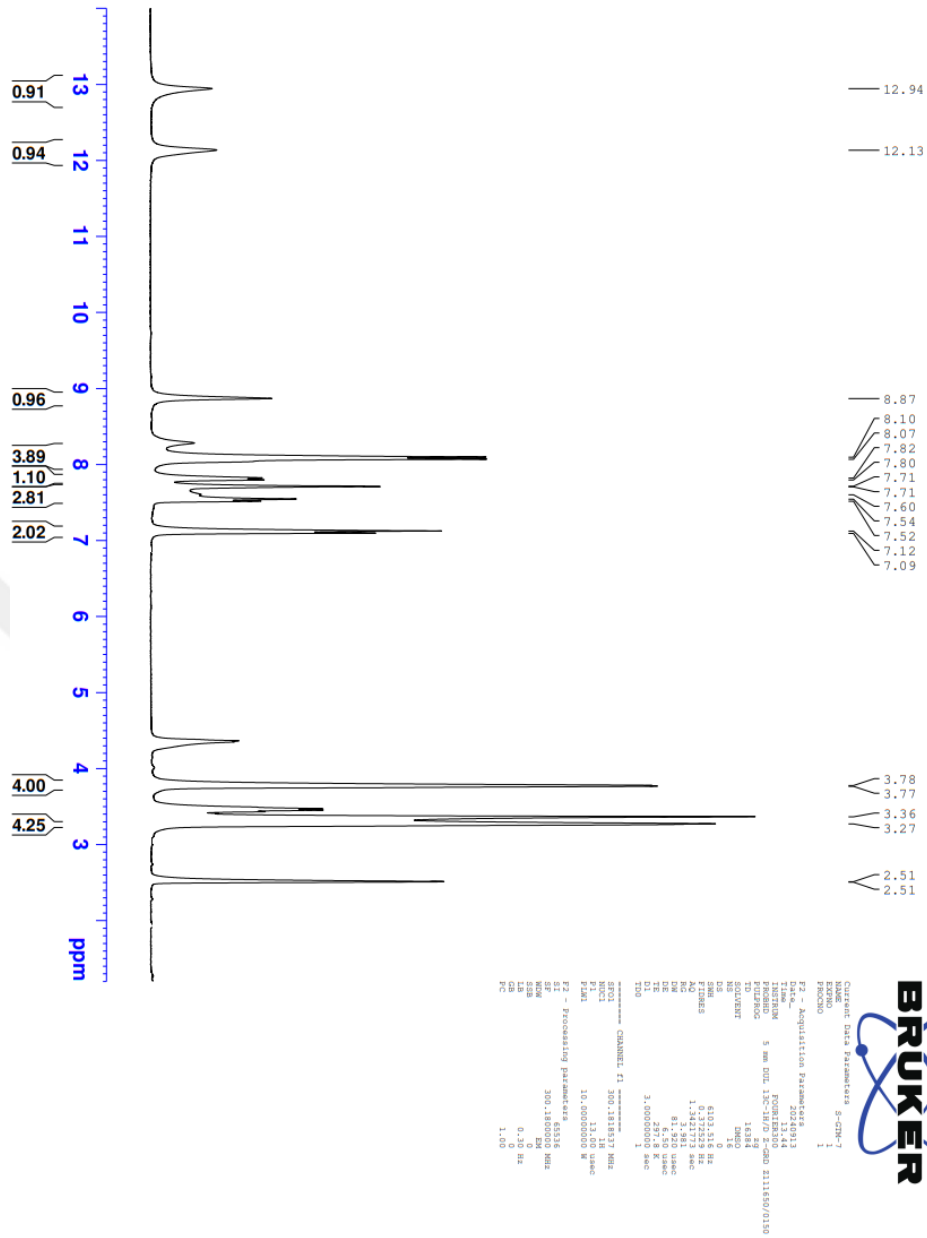
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ : 3.27 (4H, s, Morfolin), 3.76 (4H, s-y., Morfolin), 7.10 (2H, d, $J=8.71$ Hz, Benzen-H), 7.51-7.60 (3H, m, Benzimidazol-H), 7.79-7.82 (1H, m, Benzen-H) 8.06-8.09 (4H, m, Benzen-H), 8.86 (1H, s, -CH=N), 12.13 (1H, s-y., -NH), 12.94 (1H, s-y., Benzimidazol-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ : 47.88, 66.43, 111.25, 114.84, 118.34, 120.09, 122.56, 126.80, 128.29, 128.48 129.84, 131.41, 134.22, 135.35, 142.32, 144.02, 152.75, 154.13, 164.17.

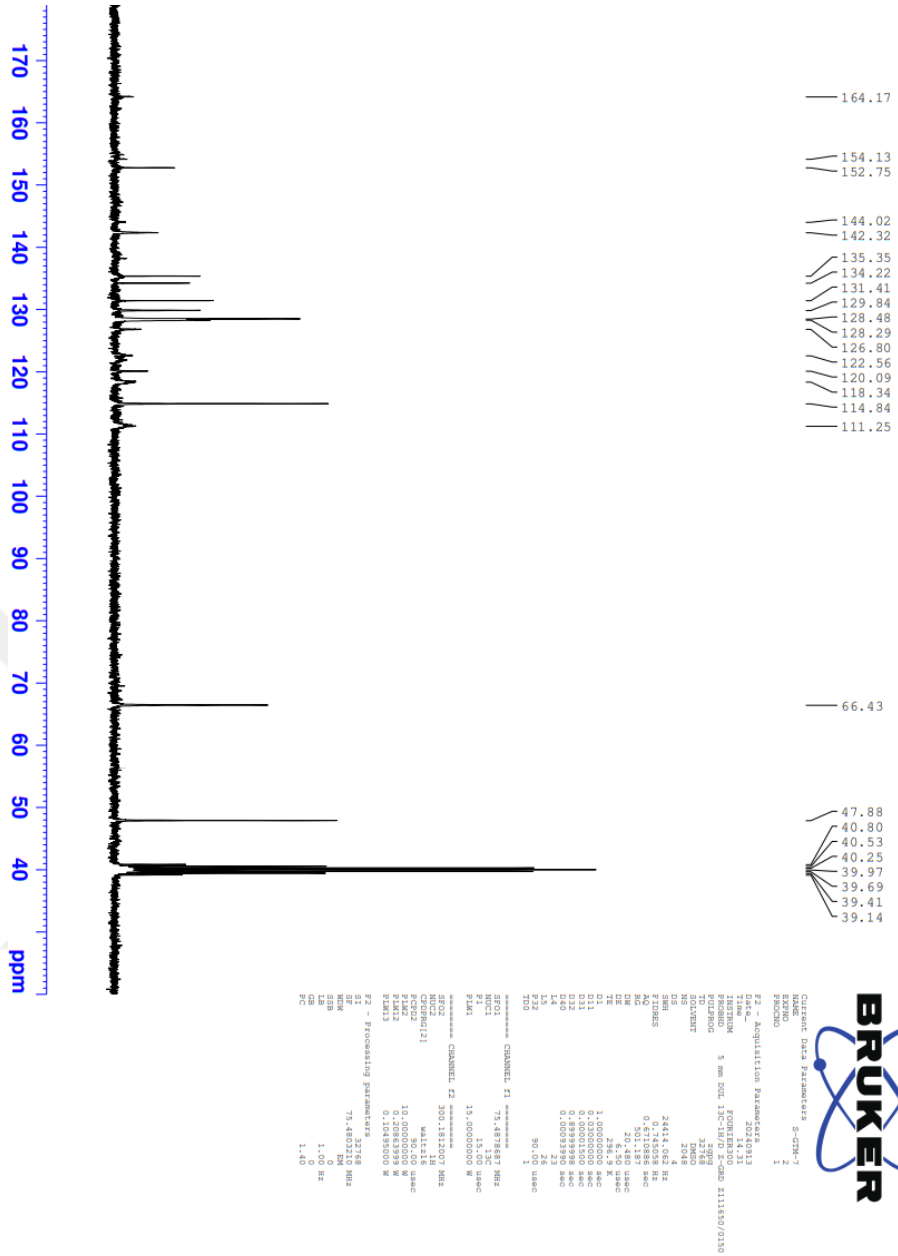
HRMS (ESI) analizinde $[\text{M}+\text{H}]^+$ iyonu için $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_2\text{Cl}_2$ bileşiğinde hesaplanan kütle: 494.1145, ve bulunan kütle: 494.1145 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.44. Bileşik 4h'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.45. Bileşik 4h'nin proton nükleer manyetik rezonans (^1H -NMR) spektrumu



Şekil 5.46. Bileşik 4h'nin karbon-13 nükleer manyetik rezonans (^{13}C -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GTM-7_606.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	0	Ru	2	0	0	H
C	4	4	32	F	1	0	0	Cl	1	2	2	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 30.0

Apply N Rule: no

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

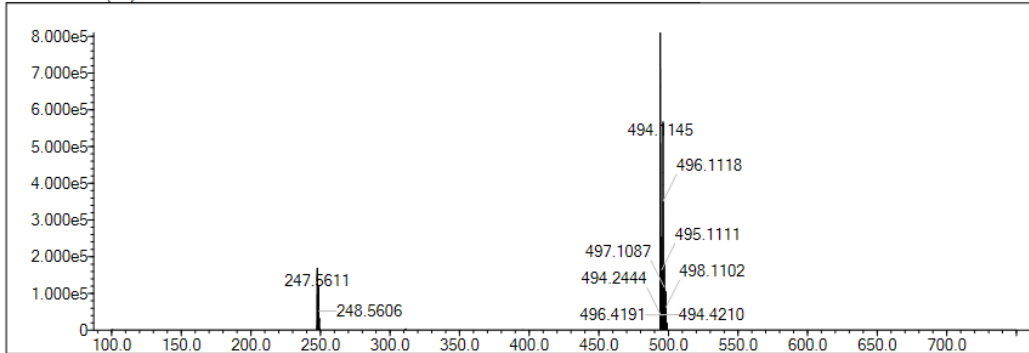
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

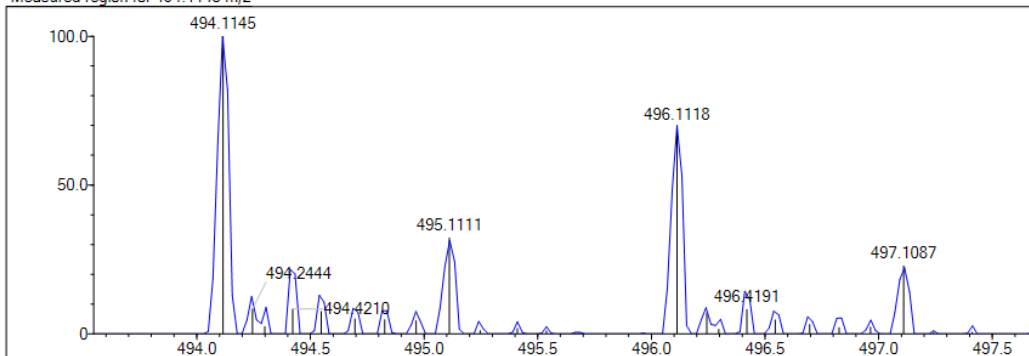
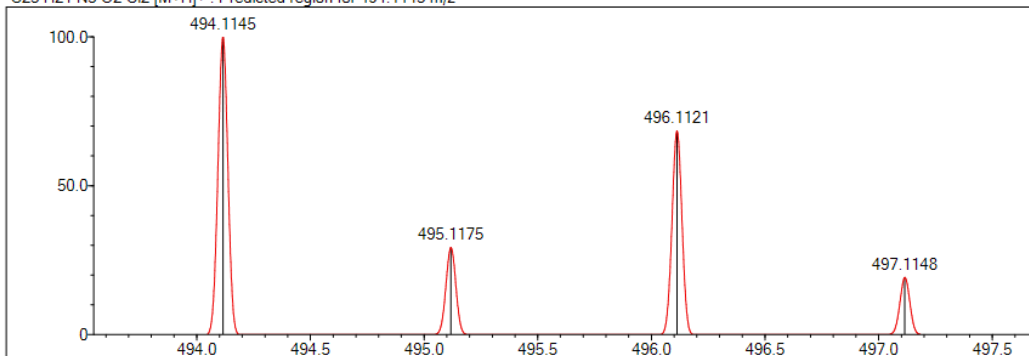
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.280 -> 3.560 - 7.880 -> 8.745 Scan#: 493 -> 535 - 1183 -> 1313



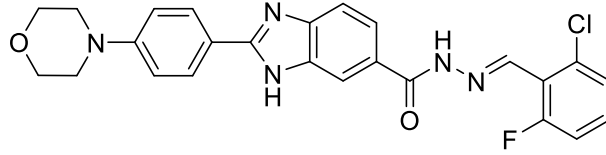
Measured region for 494.1145 m/z

C25 H21 N5 O2 Cl2 [M+H]⁺ : Predicted region for 494.1145 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	78.89	C25 H21 N5 O2 Cl2	[M+H] ⁺	494.1145	494.1145	-0.0	0.00	78.89	17.0

Şekil 5.47. Bileşik 4h'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.13. *N'*-(2-Kloro-6-florobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4i)



Şekil 5.48. *N'*-(2-Kloro-6-florobenziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (**4i**)

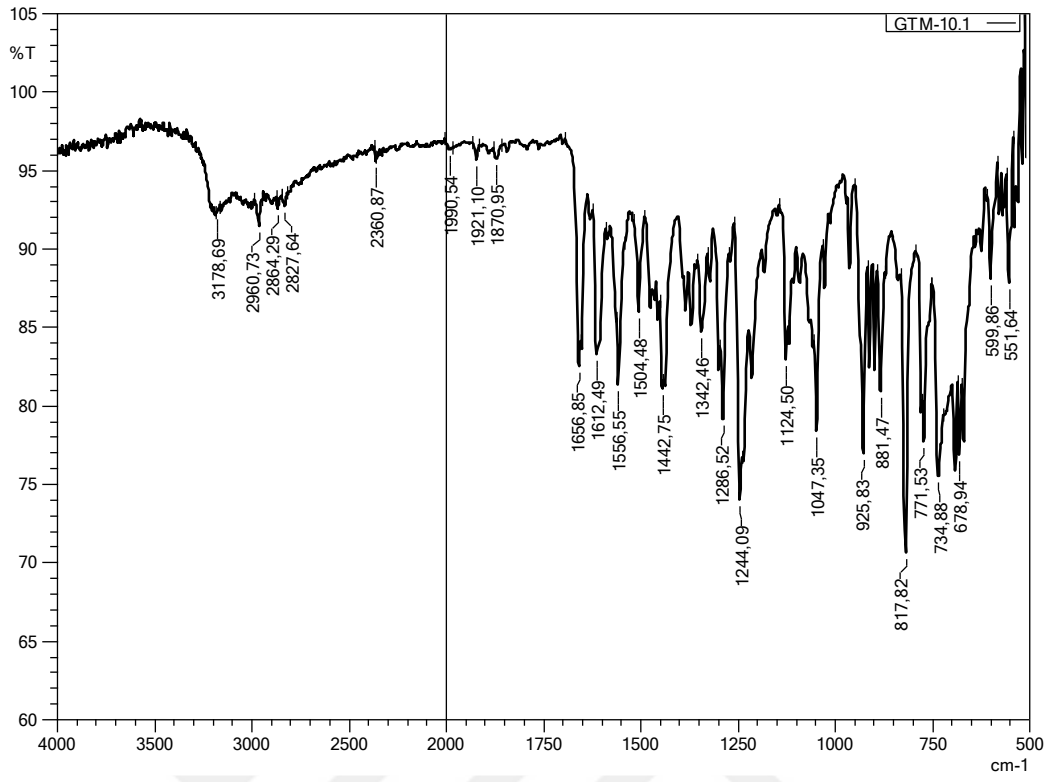
Bu bileşik, Yöntem E kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 197 °C. Verim: %85.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3178.69 (N-H bağına ait band), 2960.73 (C-H bağına ait band), 1656.85 (C=O bağına ait band).

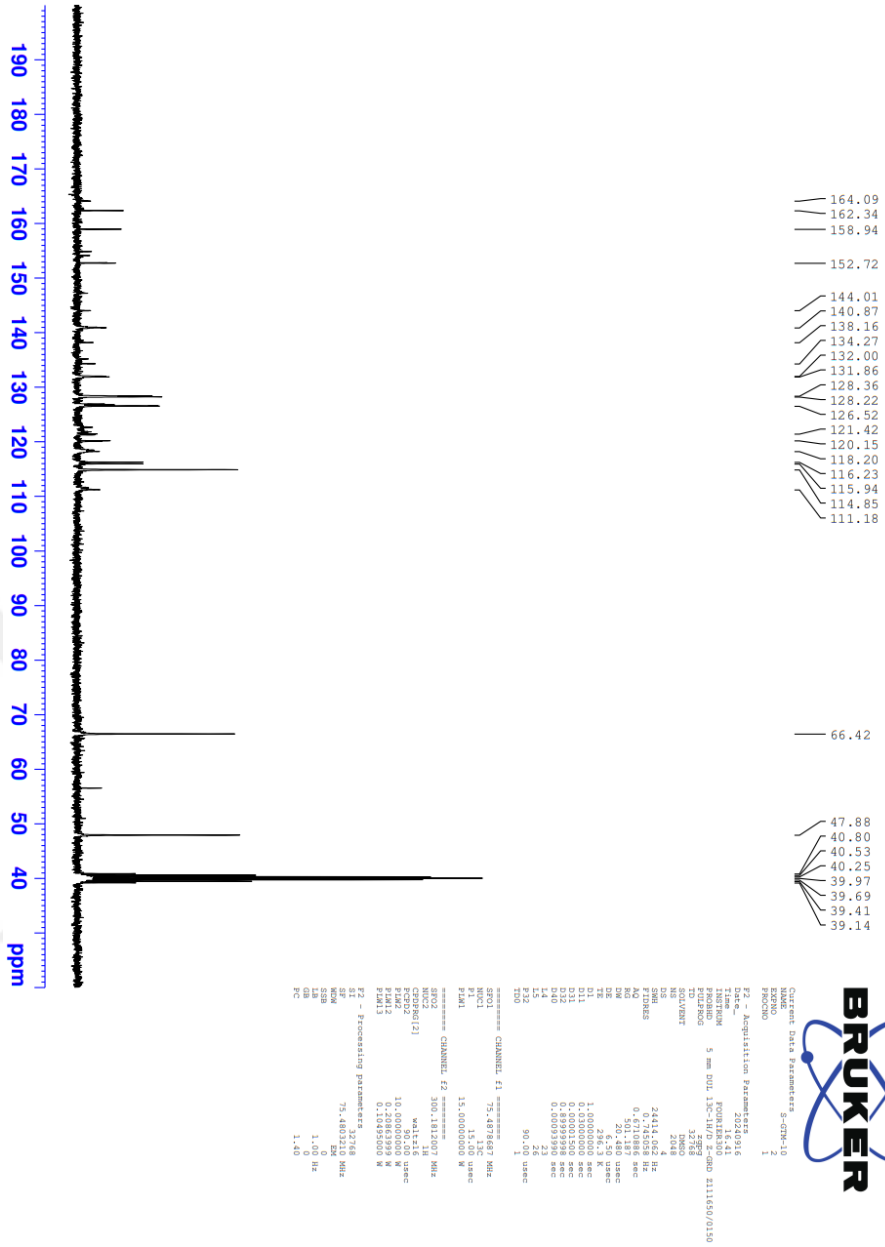
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.26 (4H, s, Morfolin), 3.76 (4H, s, Morfolin), 7.11 (2H, d, *J*=8.35 Hz, Benzen-H), 7.31-7.37 (1H, m, Benzen-H), 7.42-7.49 (2H, m, Benzen-H), 7.57-7.71 (1H, m, Benzen-H), 7.80 (1H, s-y., Benzen-H), 8.07-8.10 (3H, m, Benzimadazol-H), 8.76 (1H, s, -CH=N), 12.07 (1H, s-y., -NH), 12.94 (1H, s-y., Benzimadazol-NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 47.88, 66.42, 111.18, 114.85, 115.94, 116.23, 118.20, 120.15, 121.24, 126.51, 126.56, 128.22, 131.92, 134.27, 138.16, 140.87, 144.01, 152.72, 164.09.

HRMS (ESI) analizinde [M+H]⁺ iyonu için C₂₅H₂₁N₅O₂FCI bileşiğinde hesaplanan kütle: 478.1441, ve bulunan kütle: 478.1430 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.49. Bileşik 4i'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.51. Bileşik 4i'nin karbon-13 nükleer manyetik rezonans (^{13}C -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GTM-10 UST_611.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	0	Ru	2	0	0	H
C	4	4	32	F	1	1	1	Cl	1	1	1	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 30.0

Apply N Rule: no

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

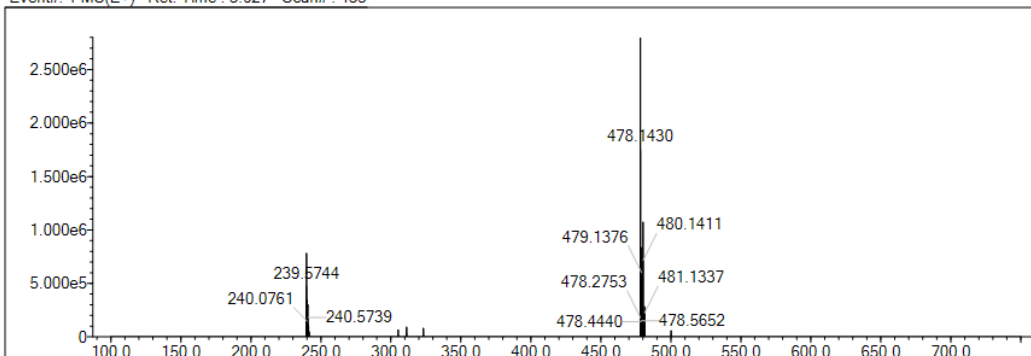
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

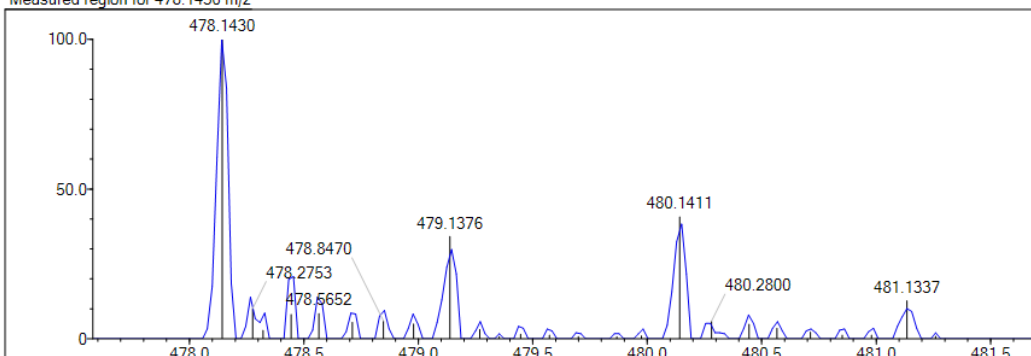
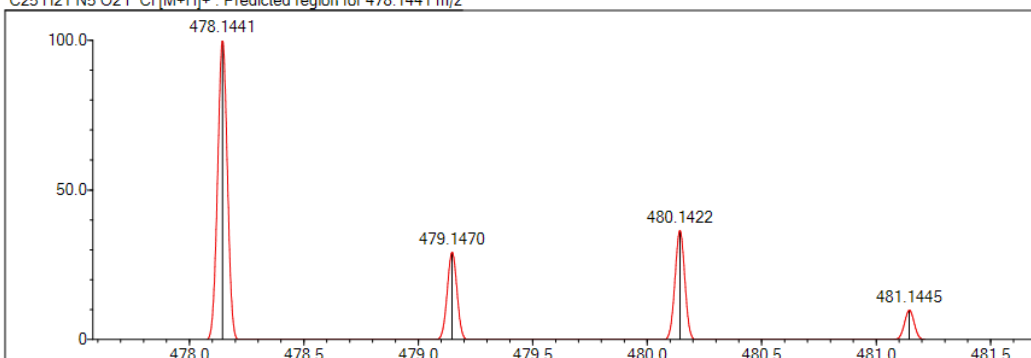
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.027 Scan#: 455



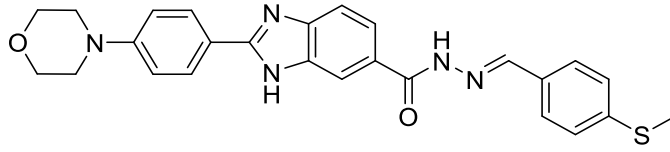
Measured region for 478.1430 m/z

C25 H21 N5 O2 F Cl [M+H]⁺ : Predicted region for 478.1441 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	77.11	C25 H21 N5 O2 F Cl	[M+H] ⁺	478.1430	478.1441	-1.1	-2.30	79.70	17.0

Şekil 5.52. Bileşik 4i'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.14. N'-(4-(Metiltiyo)benziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4j)



Şekil 5.53. N'-(4-(Metiltiyo)benziliden)-2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (4j)

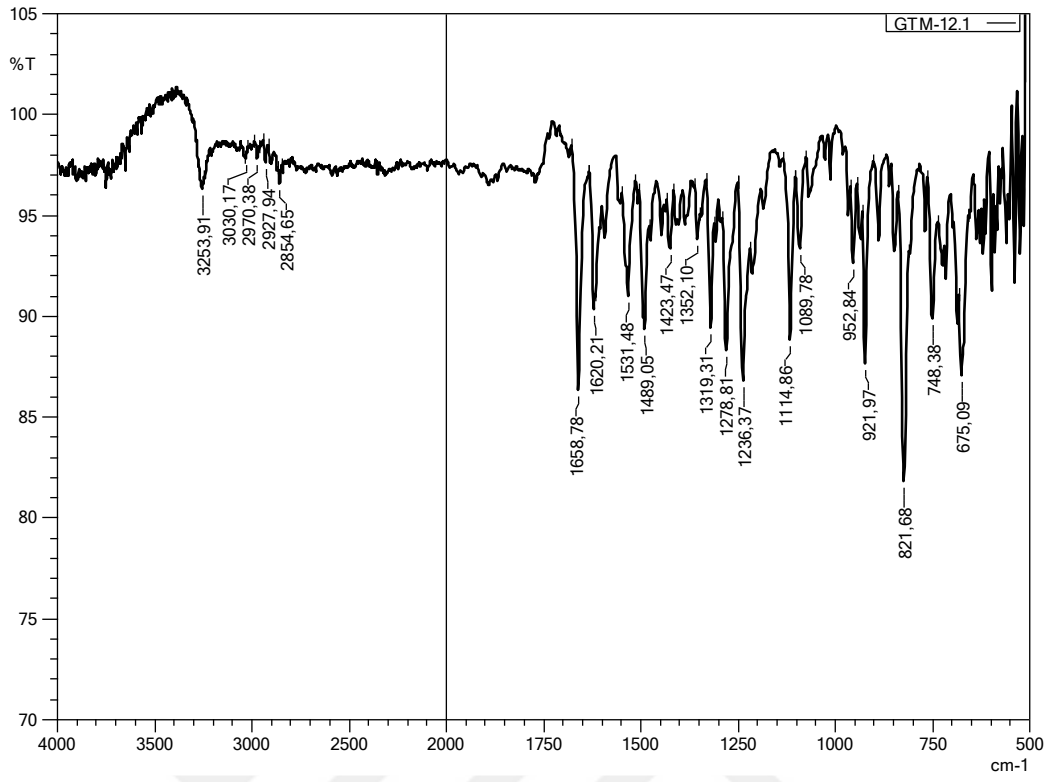
Bu bileşik, Yöntem E kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 300 °C. Verim: %80.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3178.69 (N-H bağına ait band), 2960.73 (C-H bağına ait band), 1656.85 (C=O bağına ait band).

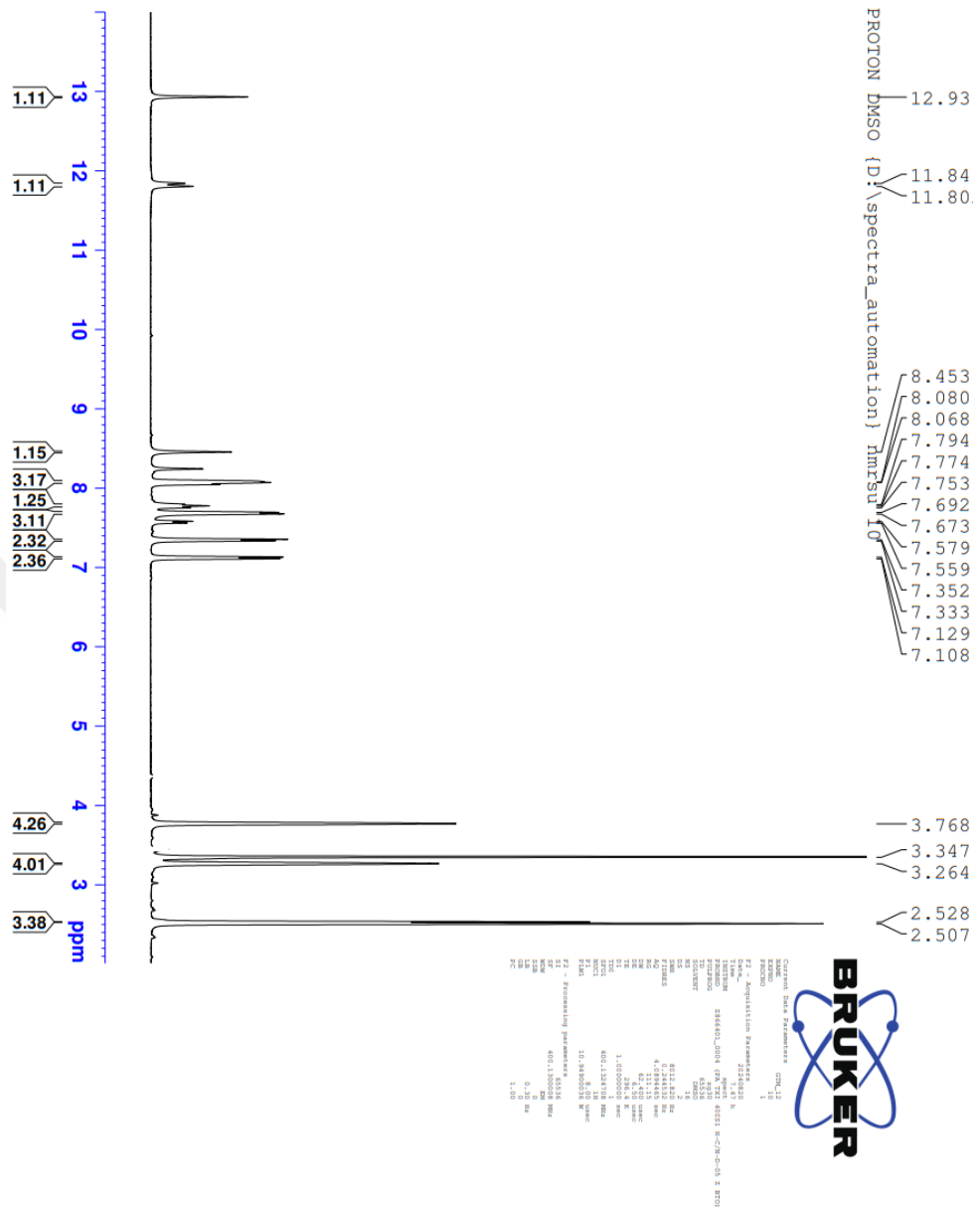
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ : 2.52 (3H, s, -S-CH₃), 3.26 (4H, s, Morfolin), 3.76 (4H, s, Morfolin), 7.11 (2H, d, $J=8.39$ Hz, Benzen-H), 7.34 (2H, d, $J=7.60$ Hz, Benzen-H), 7.67-7.69 (3H, m, Benzen-H), 7.79 (1H, t, $J=8.66$ Hz, Benzen-H), 8.06-8.07 (3H, m, Benzimadazol-H), 8.45 (1H, s, -CH=N), 11.80-11.84 (1H, m, -NH), 12.92 (1H, s, Benzimadazol-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ : 14.75, 47.88, 66.42, 114.87, 118.10, 120.14, 126.16, 127.88, 131.44, 134.50, 135.17, 140.14, 141.84, 144.12, 147.26, 152.77, 154.02, 157.77, 161.16, 163.88.

HRMS (ESI) analizinde $[\text{M}+\text{H}]^+$ iyonu için $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ bileşiğinde hesaplanan kütle: 472.1802, ve bulunan kütle: 472.1796 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.54. Bileşik 4j'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.55. Bileşik 4j'nin proton nükleer manyetik rezonans (^1H -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GTM-12_612.lcd

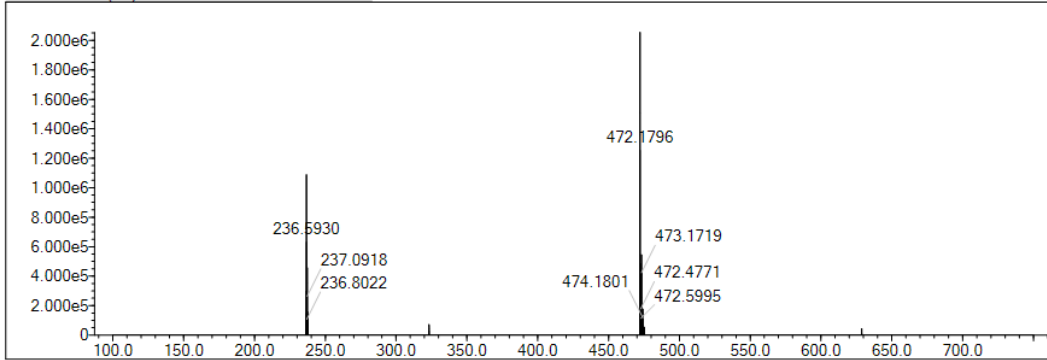
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	1	1	Ru	2	0	0	H
C	4	4	32	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

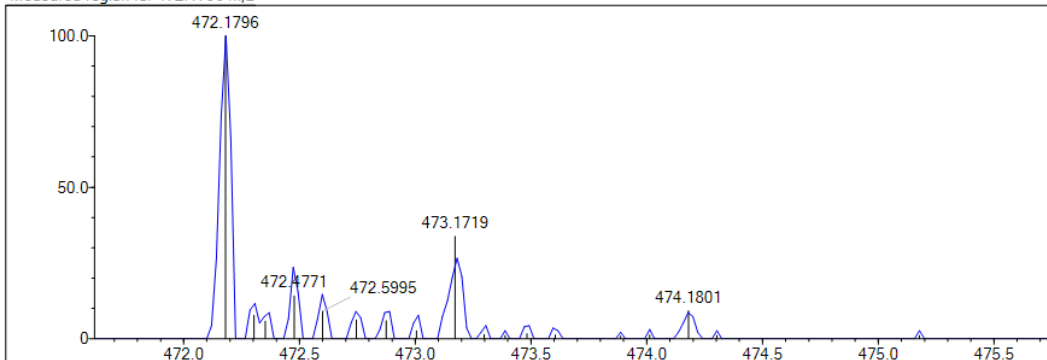
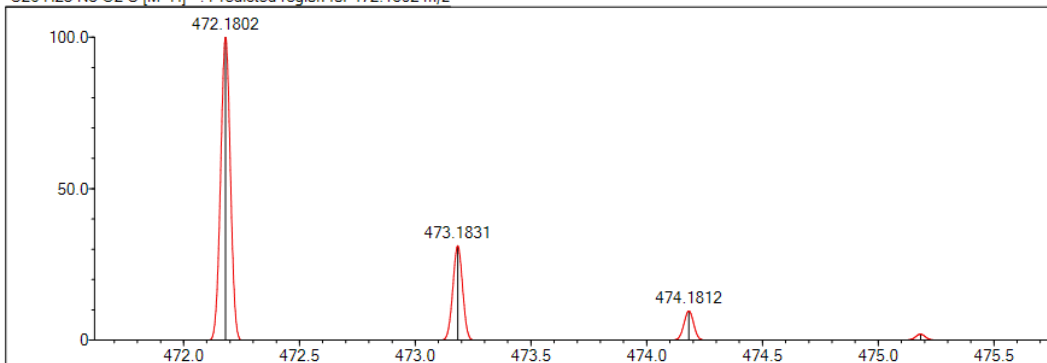
DBE Range: 0.0 - 30.0
 Apply N Rule: no
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.973 Scan#: 447



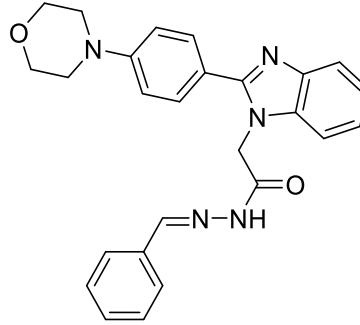
Measured region for 472.1796 m/z

C26 H25 N5 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 472.1802 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	75.40	C26 H25 N5 O2 S	[M+H] ⁺	472.1796	472.1802	-0.6	-1.27	75.91	17.0

Şekil 5.57. Bileşik 4j'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.15. *N'*-Benziliden-2-(2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5a)



Şekil 5.58. *N'*-Benziliden-2-(2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5a)

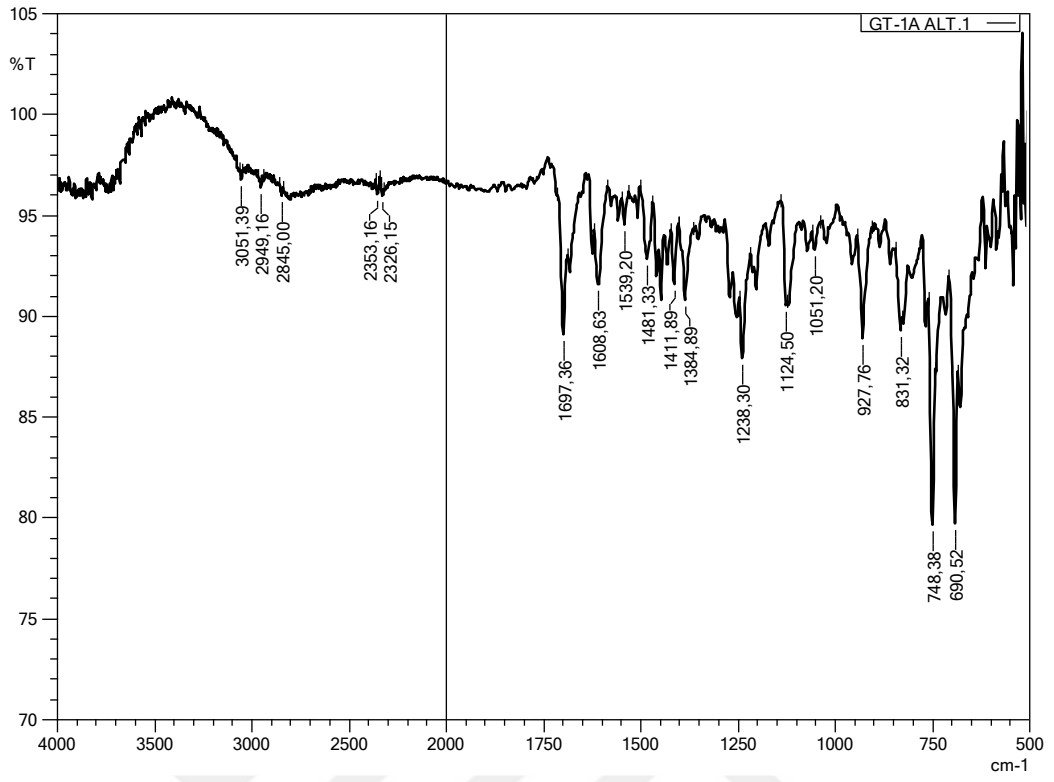
Bu bileşik, Yöntem F kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 212 °C. Verim: %70.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3051.39 (N-H bağına ait band), 2949.16 (C-H bağına ait band), 1697.36 (C=O bağına ait band).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.19 (4H, s, Morfolin), 3.72 (4H, s, Morfolin), 5.48 (2H, s, -CH₂), 7.06 (2H, d, *J*=8.26 Hz, Benzen-H), 7.23 (2H, s-y. Benzen-H), 7.43-7.52 (4H, m, Benzimidazol-H), 7.59 (1H, d, *J*=8.07 Hz, Benzen-H), 7.66 (1H, s-y., Benzen-H), 7.72 (1H, s-y., Benzen-H), 7.88 (1H, s-y., Benzen-H), 8.07 (1H, s, Benzen-H), 8.72 (1H, s, -CH=N), 11.83 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): 46.29, 47.87, 66.43, 110.99, 114.74, 119.10, 120.38, 122.25, 127.54, 128.83, 129.40, 130.22, 131.85, 134.26, 137.26, 143.08, 144.92, 152.13, 154.33, 161.95, 169.01.

HRMS (ESI) analizinde [M+H]⁺ iyonu için C₂₆H₂₅N₅O₂ bileşiğinde hesaplanan kütle: 440.2081, ve bulunan kütle: 440.2075 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.59. *Bileşik 5a'nın kızılötesi (IR) spektrumu*

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GT-1A ALT_620.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	4	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 50.0

Apply N Rule: no

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

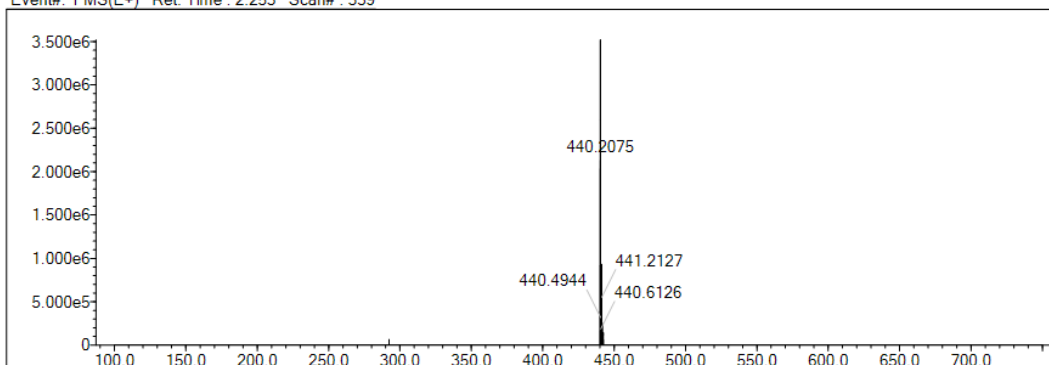
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

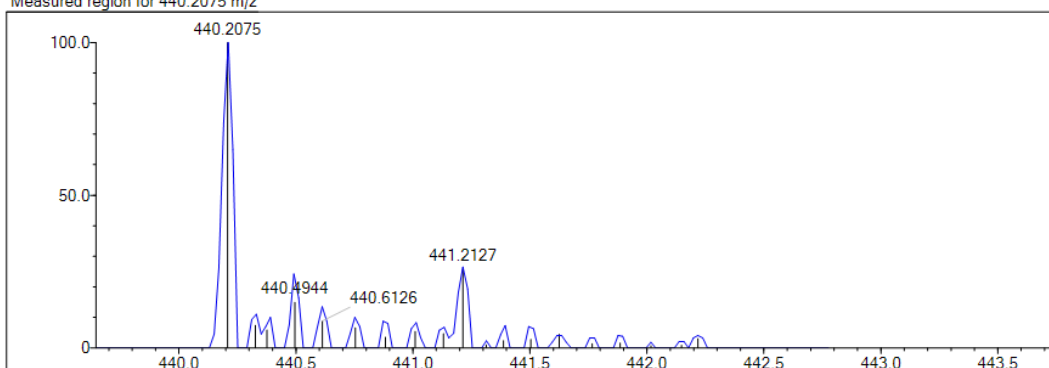
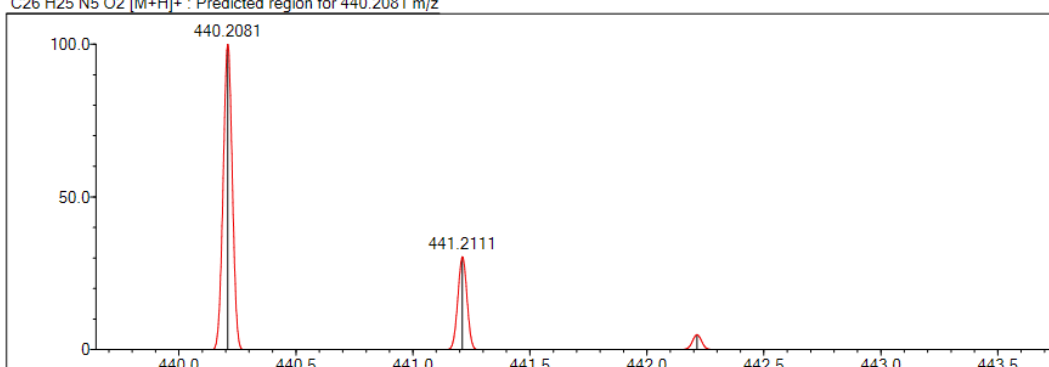
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.253 Scan# : 339



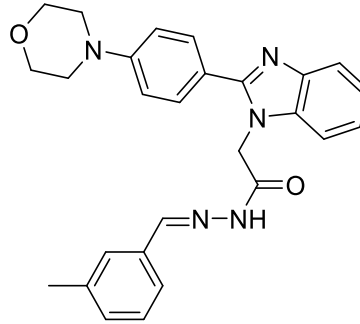
Measured region for 440.2075 m/z

C26 H25 N5 O2 [M+H]⁺ : Predicted region for 440.2081 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	81.99	C26 H25 N5 O2	[M+H] ⁺	440.2075	440.2081	-0.6	-1.36	82.74	17.0

Şekil 5.62. Bileşik 5a'nın yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.16. *N'*-(3-Metilbenziliden) -2-(2-(4-morfolinofenil) -1*H*-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5b)



Şekil 5.63. *N'*-(3-Metilbenziliden) -2-(2-(4-morfolinofenil) -1*H*-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5b)

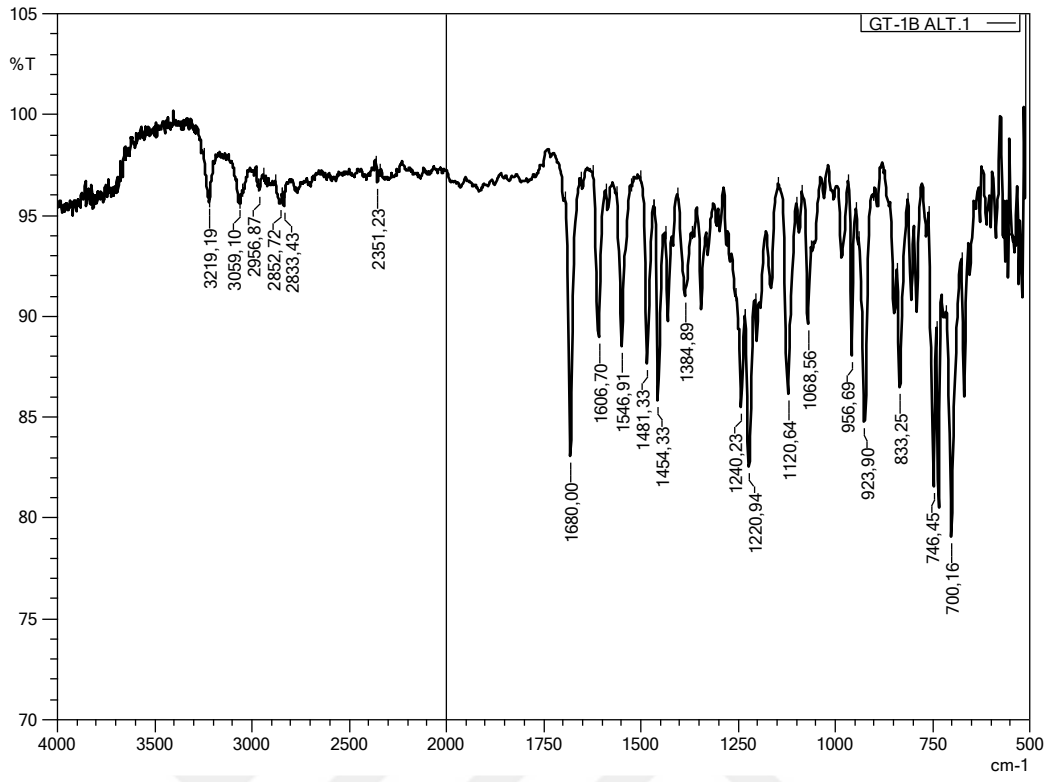
Bu bileşik, Yöntem F kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 220 °C. Verim : %76.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹) : 3219.19 (N-H bağına ait band), 3059.10 (C-H bağına ait band), 1680.00 (C=O bağına ait band).

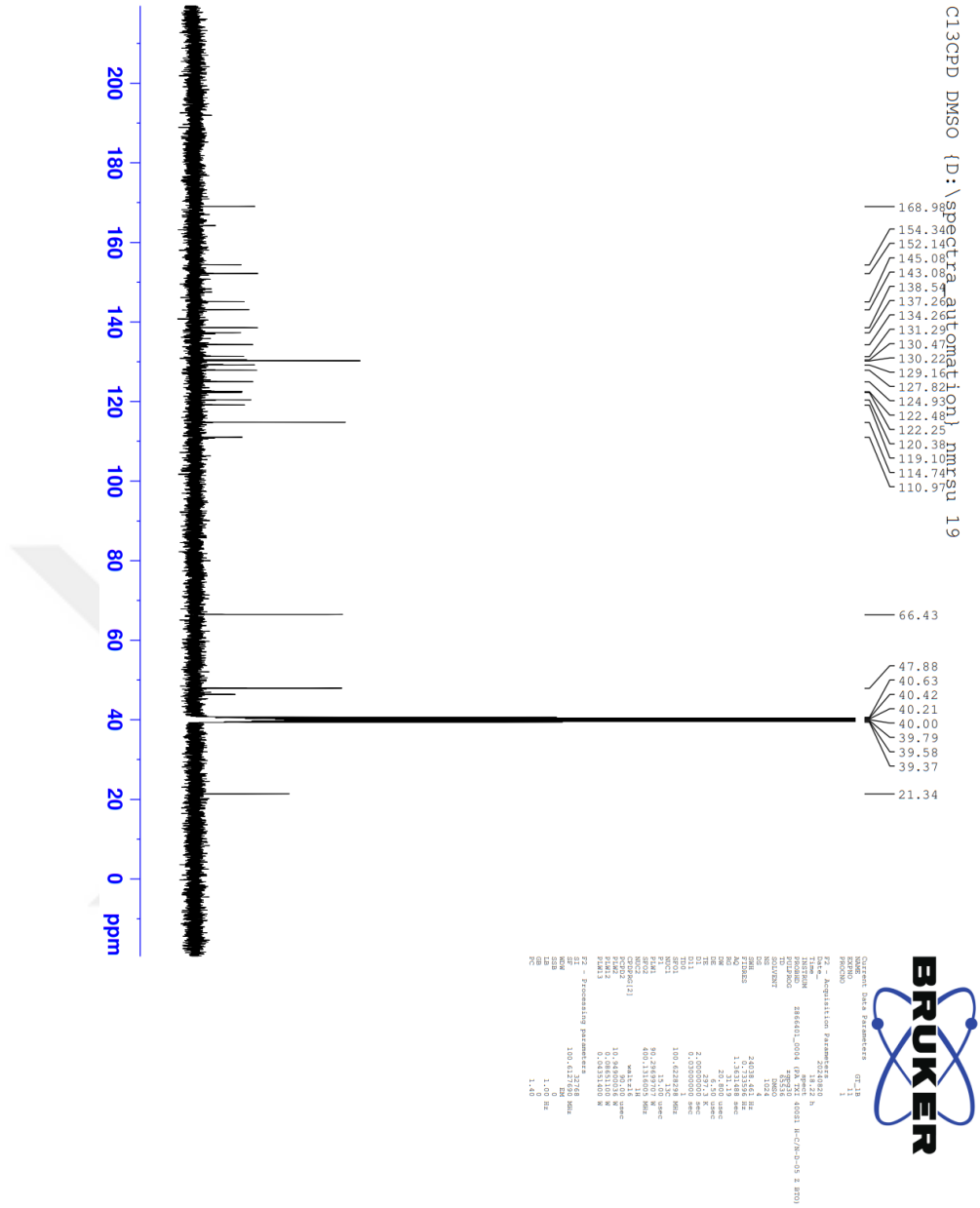
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) : δ : 2.32 (3H, s, -CH₃), 3.20 (4H, s, Morfolin), 3.72 (4H, s, Morfolin), 5.47 (2H, s, -CH₂), 7.05-7.07 (2H, m, Benzen-H), 7.23 (3H, s-y., Benzimidazol-H), 7.30-7.34 (1H, m, Benzen-H), 7.49 (2H, m, Benzen-H), 7.55 (1H, s, Benzen-H), 7.58-7.60 (1H, m, Benzimidazol-H), 7.66 (2H, s-y., Benzen-H), 8.03 (1H, s, -CH=N), 11.80 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): 21.34, 40.63, 47.88, 66.43, 110.97, 114.74, 119.10, 120.38, 122.25, 122.48, 124.93, 127.82, 129.16, 130.22, 130.47, 131.29, 134.26, 137.26, 138.54, 143.08, 145.08, 152.14, 168.98.

HRMS (ESI) analizinde [M+H]⁺ iyonu için C₂₇H₂₇N₅O₂ bileşiğinde hesaplanan kütle: 454.2238, ve bulunan kütle: 454.2219 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.64. Bileşik 5b'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.66. Bileşik 5b'nin karbon-13 nükleer manyetik rezonans (¹³C-NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GT-1B_629.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	4	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 20.0

Apply N Rule: no

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

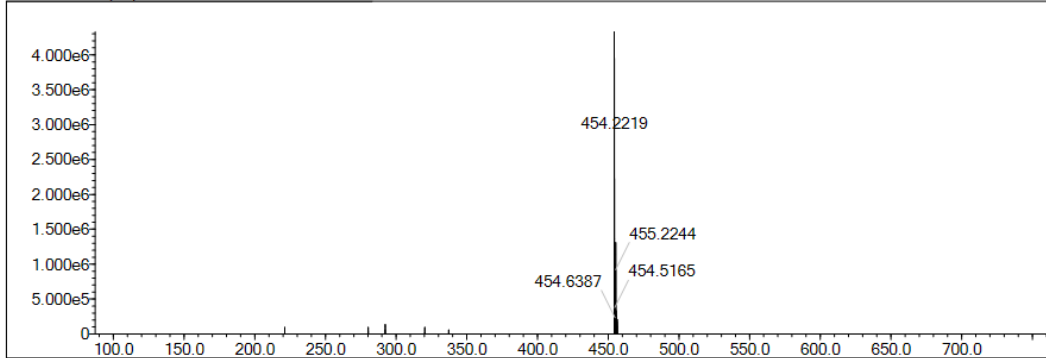
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

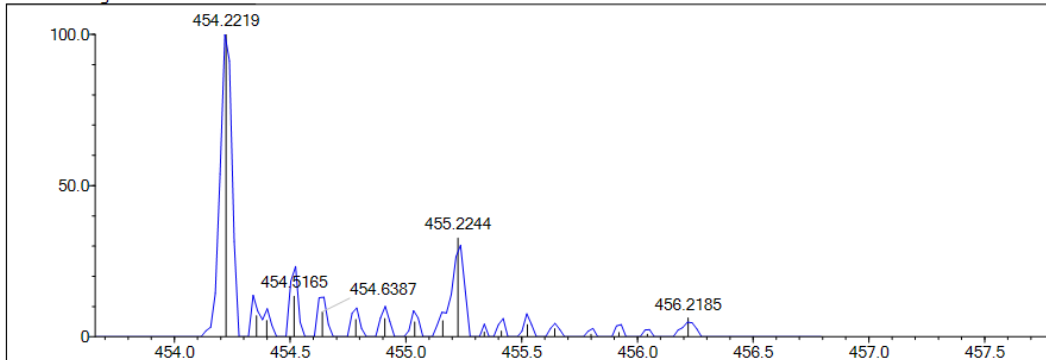
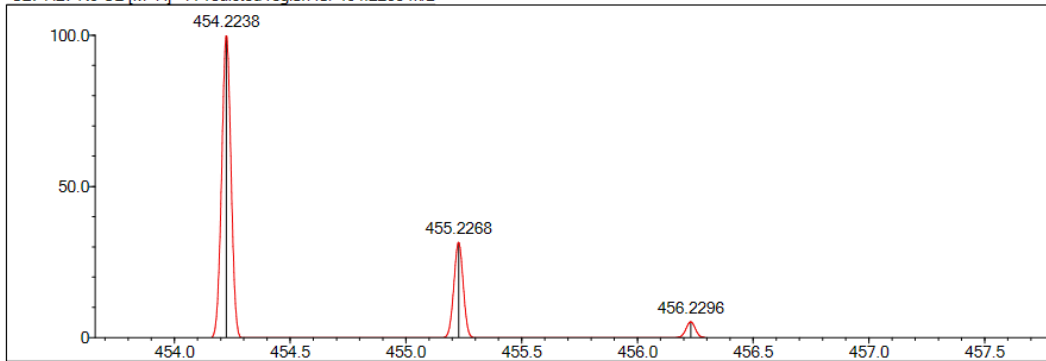
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 2.280 Scan#: 343



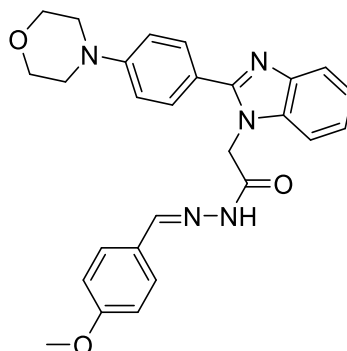
Measured region for 454.2219 m/z

C27 H27 N5 O2 [M+H]⁺ : Predicted region for 454.2238 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	74.97	C27 H27 N5 O2	[M+H] ⁺	454.2219	454.2238	-1.9	-4.18	81.44	17.0

Şekil 5.67. Bileşik 5b'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.17. *N'*-(4-Metoksibenziliden) -2-(2-(4-morfolinofenil) -1*H*-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5c)



Şekil 5.68. *N'*-(4-Metoksibenziliden) -2-(2-(4-morfolinofenil) -1*H*-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5c)

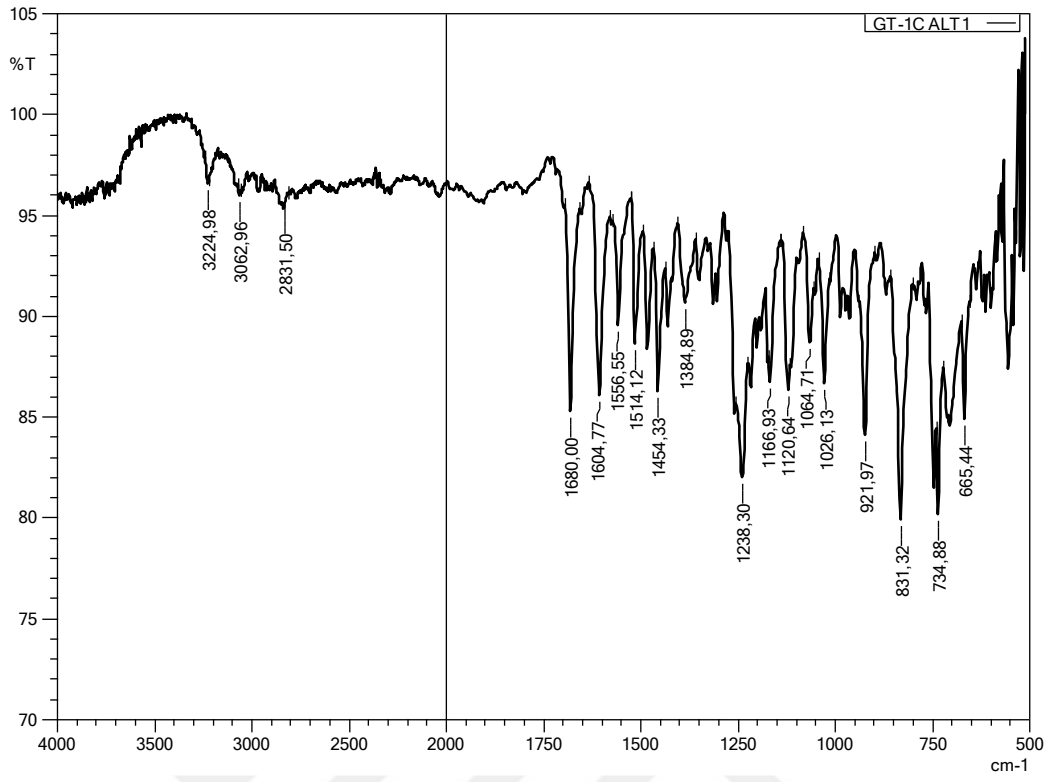
Bu bileşik, Yöntem F kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 205 °C. Verim: %72.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3224.98 (N-H bağına ait band), 3062.96 (C-H bağına ait band), 1680.00 (C=O bağına ait band).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.19 (4H, s-y., Morfolin), 3.72 (4H, s-y., Morfolin), 3.79 (3H, s, -O-CH₃), 5.47 (2H, s, -CH₂), 6.97-7.06 (4H, m, Benzen-H), 7.24 (2H, s-y., Benzen-H), 7.50-7.52 (1H, m, Benzimidazol-H), 7.60-7.68 (3H, m, Benzimidazol-H), 7.81 (1H, d, *J*=8.6 Hz, Benzen-H), 8.03 (1H, s, Benzen-H), 8.64 (1H, s, -CH=N), 11.75 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): 46.07, 47.62, 55.53, 66.20, 110.76, 114.50, 118.88, 120.15, 122.26, 126.68, 128.92, 130.01, 130.23, 137.04, 142.85, 144.59, 147.82, 151.90, 154.11, 160.79, 161.06, 161.90, 163.75, 168.52.

HRMS (ESI) analizinde [M+H]⁺ iyonu için C₂₇H₂₇N₅O₃ bileşiğinde hesaplanan kütle: 470.2187, ve bulunan kütle: 470.2182 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.69. Bileşik 5c'nin kızılötesi (IR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GT-1C ALT-A_628.lcd

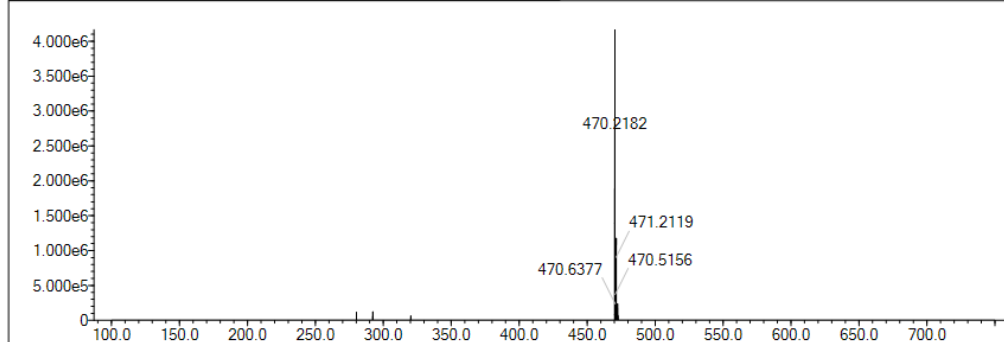
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	4	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

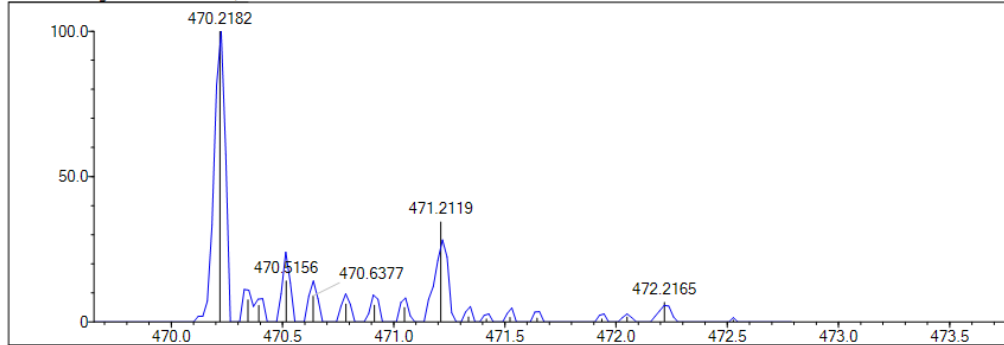
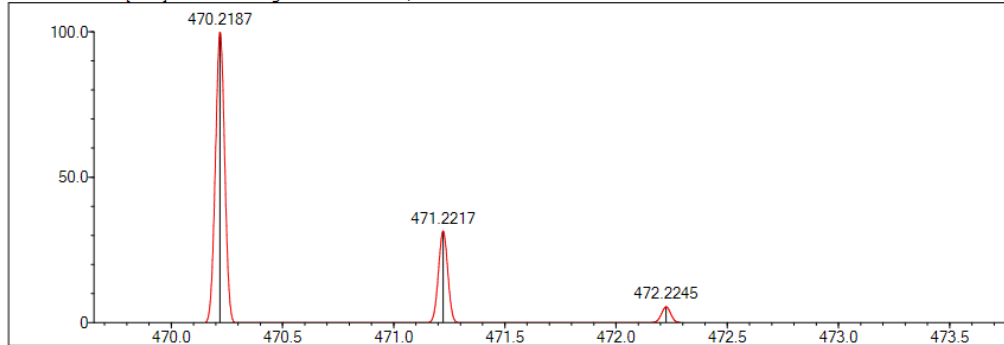
DBE Range: 0.0 - 50.0
 Apply N Rule: no
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.187 - 4.173 -> 5.673 Scan#: 329 - 627 -> 853



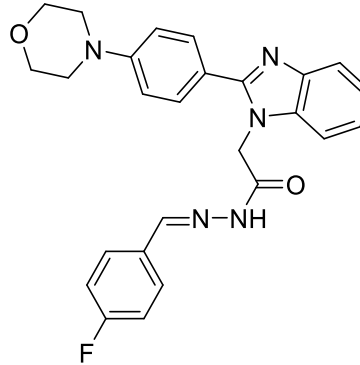
Measured region for 470.2182 m/z

C27 H27 N5 O3 [M+H]⁺ : Predicted region for 470.2187 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	72.00	C27 H27 N5 O3	[M+H] ⁺	470.2182	470.2187	-0.5	-1.06	72.11	17.0

Şekil 5.72. Bileşik 5c'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.18. N'-(4-Florobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5d)



Şekil 5.73. N'-(4-Florobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5d)

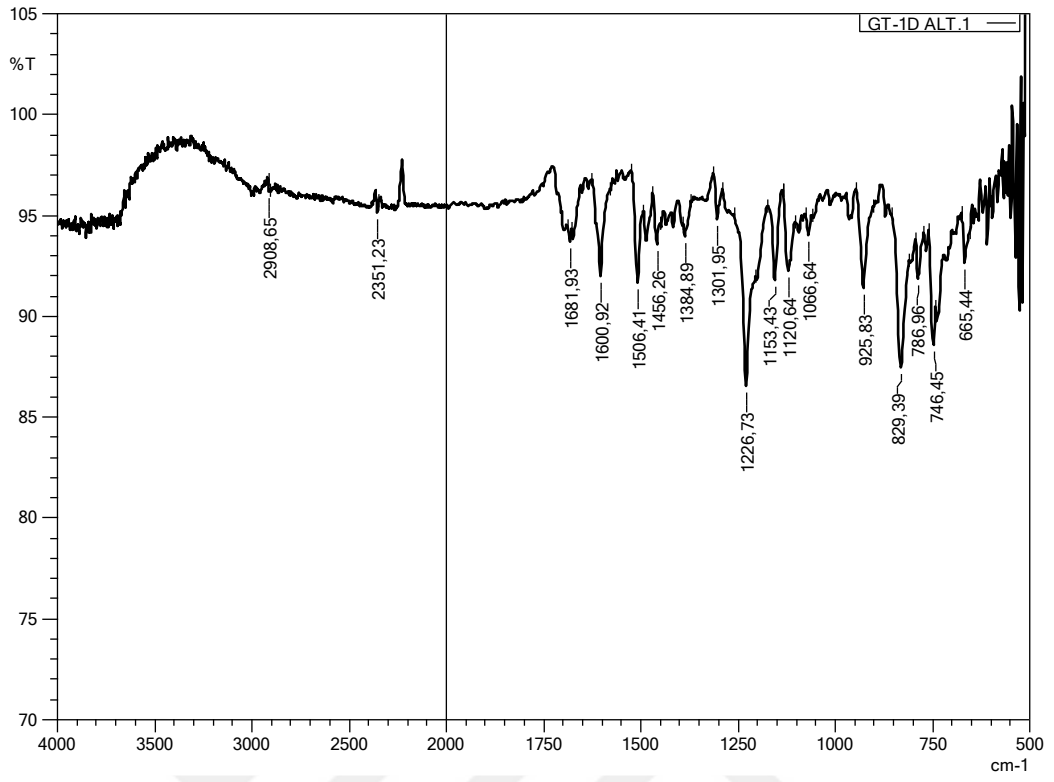
Bu bileşik, Yöntem F kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 93 °C. Verim: %82

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 2908.65 (C-H bağına ait band), 1681.93 (C=O bağına ait band).

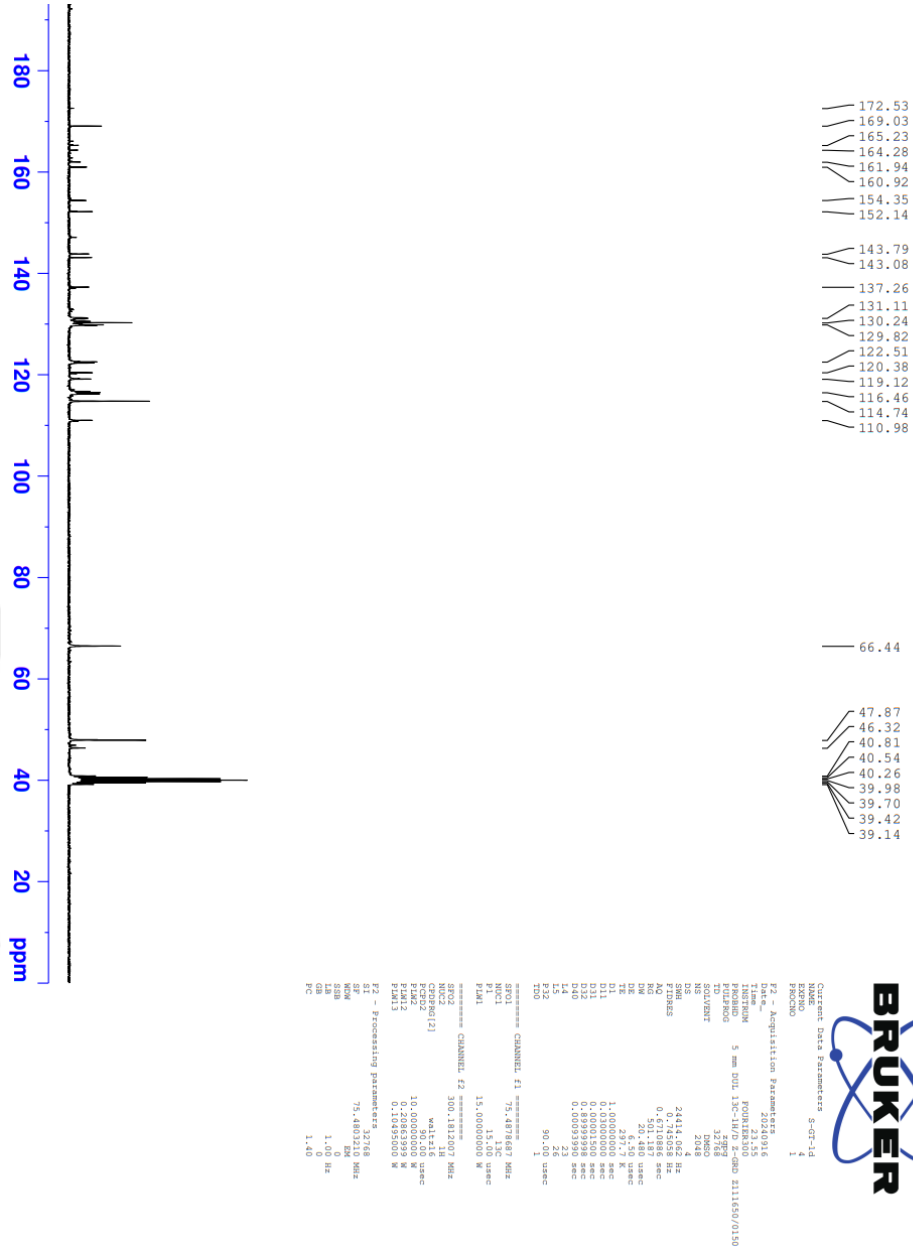
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.19 (4H, s, Morfolin), 3.72 (4H, s, Morfolin), 5.48 (2H, s, -CH₂), 7.05-7.07 (2H, m, Benzen-H), 7.23-7.29 (4H, m, Benzimidazol-H), 7.50 (1H, s-y., Benzen-H), 7.59 (1H, d, *J*=7.90 Hz, Benzen-H), 7.66 (1H, s-y., Benzen-H), 7.79 (2H, s-y., Benzen-H), 7.95-8.01 (1H, m, Benzen-H), 8.06 (1H, s, -CH=N), 11.84 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): 46.32, 47.87, 66.44, 110.82, 110.98, 114.74, 116.46, 119.12, 120.38, 122.28, 122.51, 129.82, 130.24, 131.11, 137.26, 143.08, 143.79, 152.14, 154.35, 160.92, 161.94, 164.28, 165.23, 169.03, 172.53.

HRMS (ESI) analizinde [M+H]⁺ iyonu için C₂₆H₂₄N₅O₂F bileşiğinde hesaplanan kütle: 458.1987, ve bulunan kütle: 458.1982 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.74. Bileşik 5d'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.76. Bileşik 5d'nin karbon-13 nükleer manyetik rezonans (^{13}C -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GT-1D ALT_624.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	4	30	F	1	0	1	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 20.0

Apply N Rule: no

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

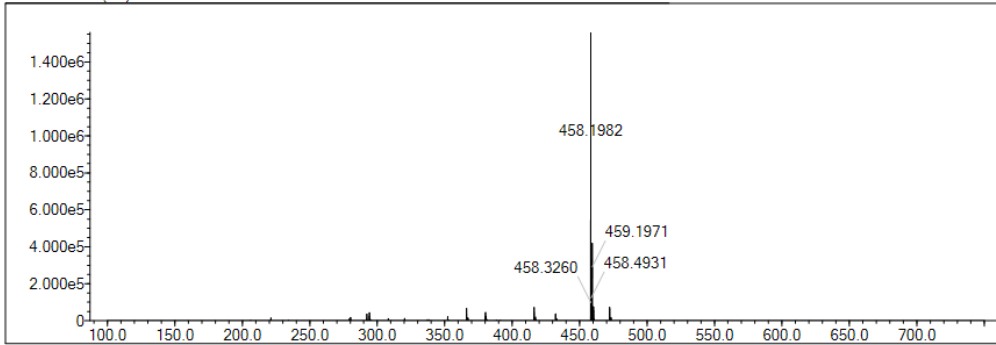
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

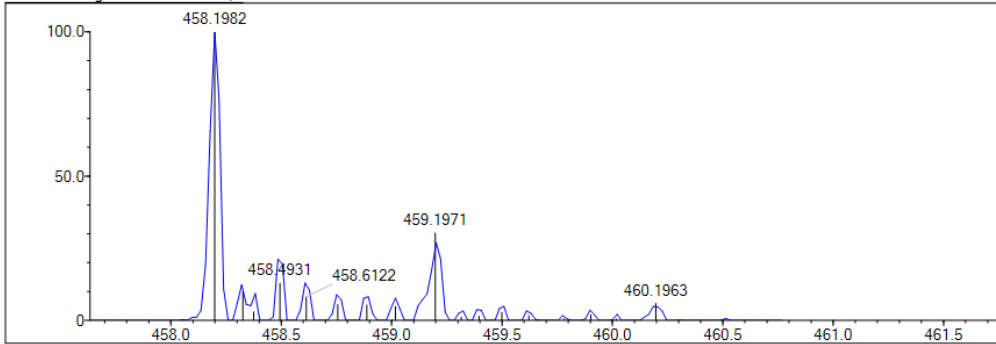
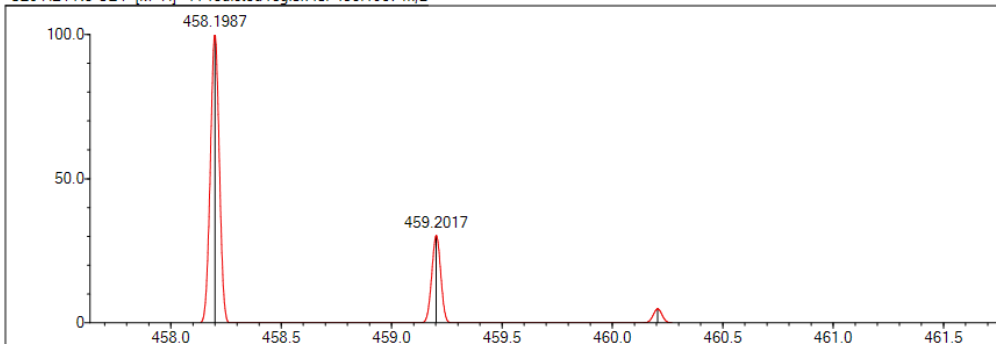
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.867 -> 2.813 - 5.707 -> 7.182 Scan#: 281 -> 423 - 857 -> 1079



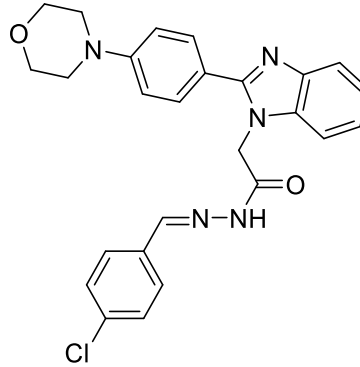
Measured region for 458.1982 m/z

C26 H24 N5 O2 F [M+H]⁺ : Predicted region for 458.1987 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	74.78	C26 H24 N5 O2 F	[M+H] ⁺	458.1982	458.1987	-0.5	-1.09	74.95	17.0

Şekil 5.77. Bileşik 5d'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.19. N'-(4-Klorobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5e)



Şekil 5.78. N'-(4-Klorobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5e)

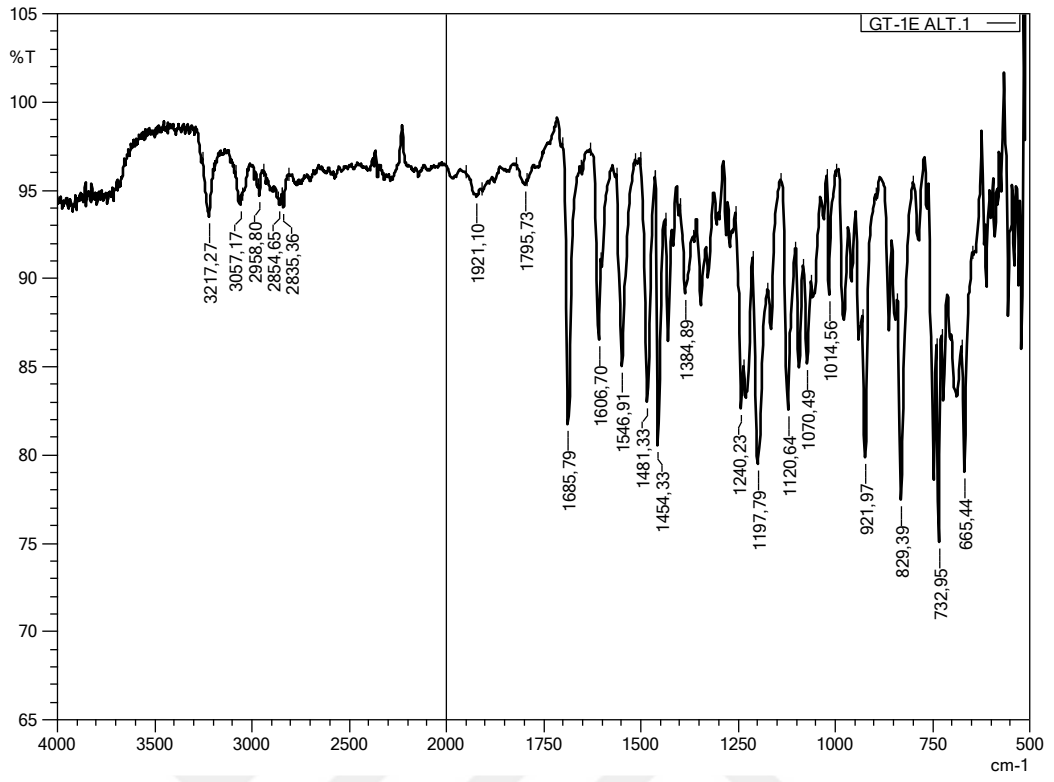
Bu bileşik, Yöntem F kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 215 °C. Verim: %87.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3217.27 (N-H bağına ait band), 2908.65 (C-H bağına ait band), 1685.79 (C=O bağına ait band).

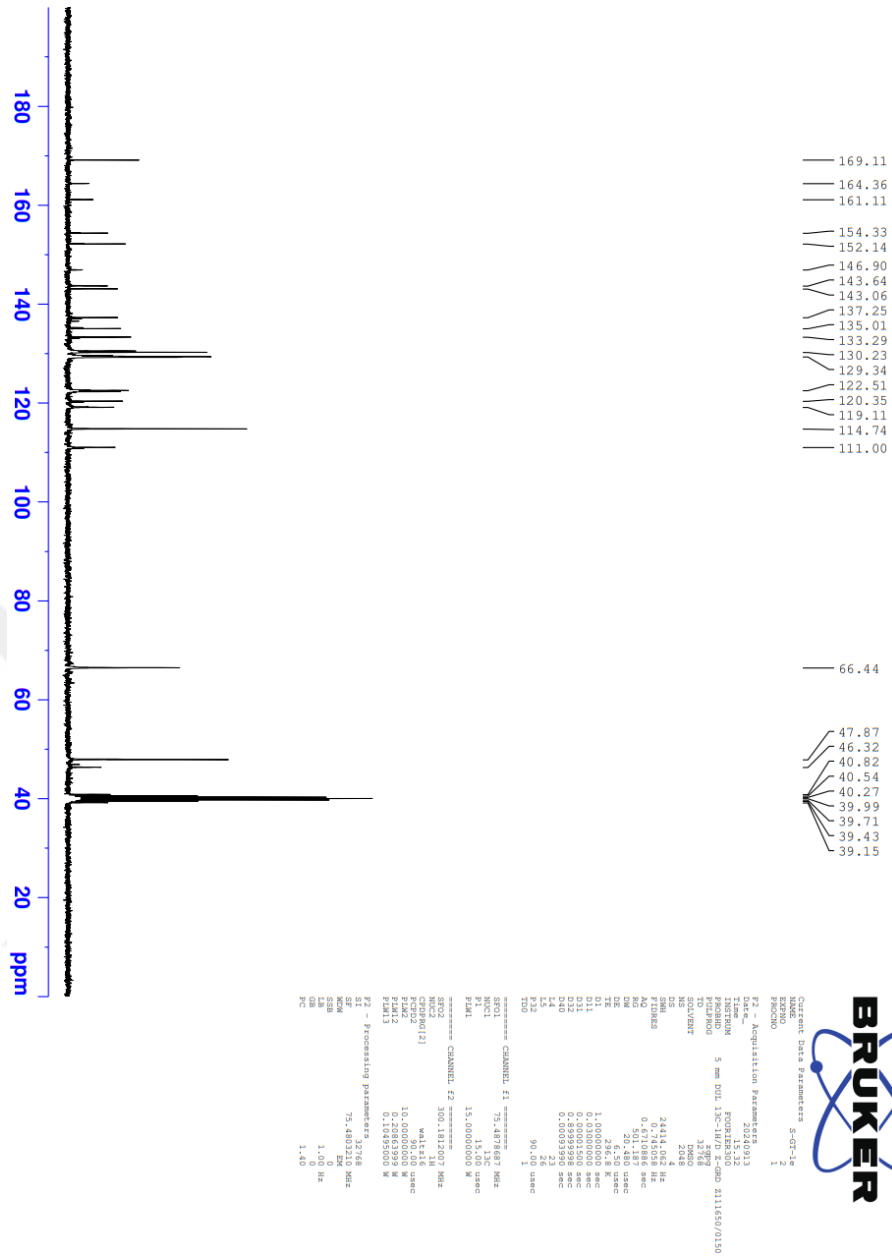
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 3.19 (4H, s, Morfolin), 3.72 (4H, s, Morfolin), 5.48 (2H, s, -CH₂), 7.05-7.07 (2H, m, Benzen-H), 7.23 (2H, s-y., Benzen-H), 7.48-7.50 (3H, m, Benzimidazol-H), 7.58 (2H, d, J = 8.16 Hz, Benzen-H), 7.66 (1H, s-y., Benzimidazol-H), 7.75 (2H, d, J =7.76 Hz, Benzen-H), 8.05 (1H, s, -CH=N), 11.88 (1H, s, -NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): 46.32, 47.87, 66.44, 111.00, 114.74, 119.11, 120.35, 122.51, 129.34, 130.23, 133.29, 135.01, 137.25, 143.06, 143.64, 146.90, 152.14, 154.33, 161.11, 164.36, 169.11.

HRMS (ESI) analizinde $[\text{M}+\text{H}]^+$ iyonu için $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_2\text{Cl}$ bileşiğinde hesaplanan kütle: 474.1691, ve bulunan kütle: 474.1691 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.79. Bileşik 5e'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.81. Bileşik 5e'nin karbon-13 nükleer manyetik rezonans (^{13}C -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GT-1E ALT_621.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	4	30	F	1	0	0	Cl	1	1	1	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 20.0

Apply N Rule: no

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

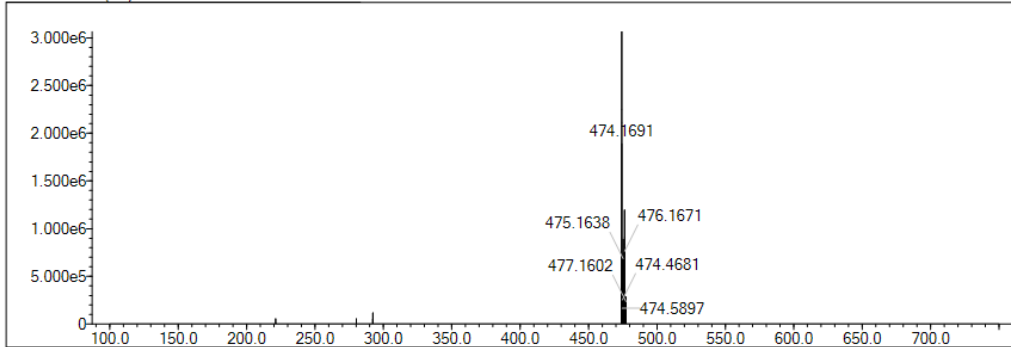
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

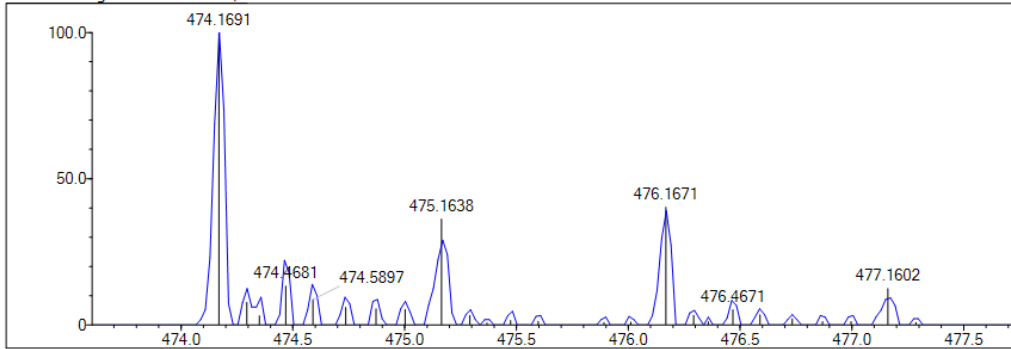
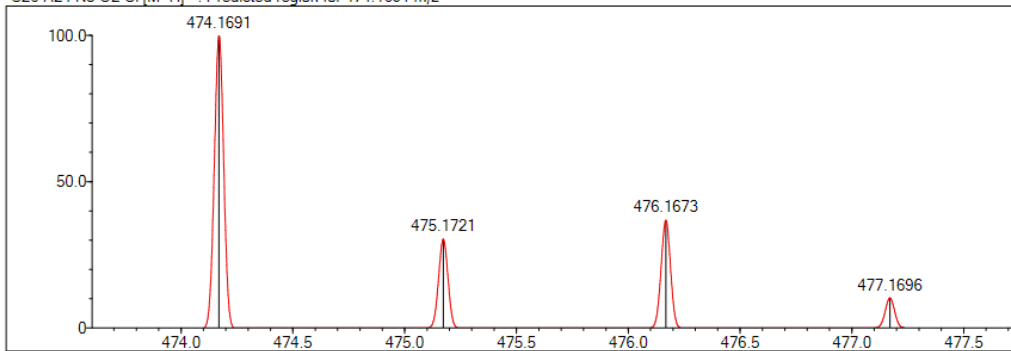
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 2.253 Scan#: 339



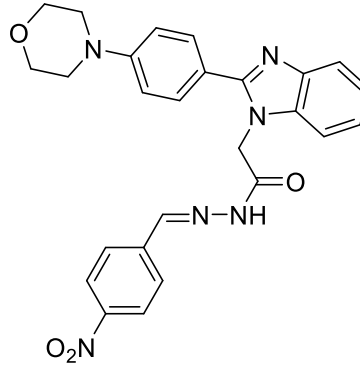
Measured region for 474.1691 m/z

C26 H24 N5 O2 Cl [M+H]⁺: Predicted region for 474.1691 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	80.31	C26 H24 N5 O2 Cl	[M+H] ⁺	474.1691	474.1691	-0.0	0.00	80.31	17.0

Şekil 5.82. Bileşik 5e'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.20. 2-(2-(4-Morfolinofenil) -1H-benzo[d]imidazol-1-il) -N'-(4-nitrobenziliden) asetohidrazid (5f)



Şekil 5.83. 2-(2-(4-Morfolinofenil) -1H-benzo[d]imidazol-1-il) -N'-(4-nitrobenziliden) asetohidrazid (5f)

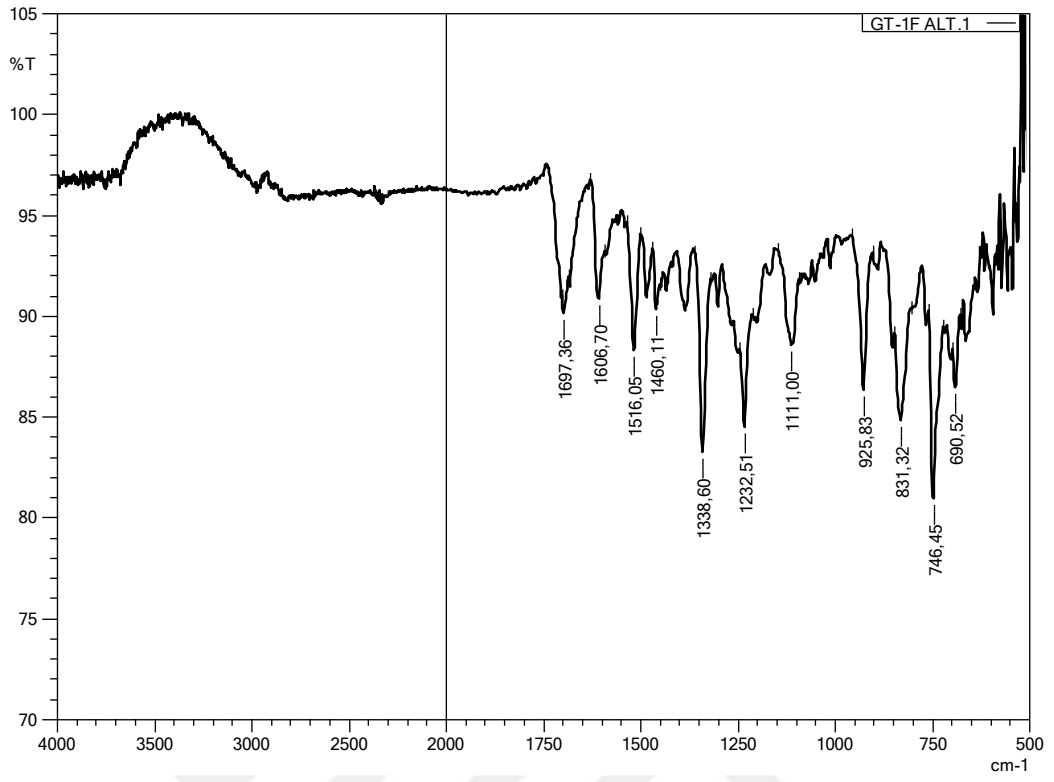
Bu bileşik, Yöntem F kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 135 °C. Verim: %73.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 1697.36 (C=O bağına ait band).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ : 3.19 (4H, s, Morfolin), 3.71 (4H, s, Morfolin), 5.54 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.05-7.11 (2H, m, Benzen-H), 7.23 (2H, s-y., Benzimidazol-H), 7.52 (1H, s-y., Benzimidazol-H), 7.58 (2H, d, $J= 7.85$ Hz, Benzen-H), 7.66 (1H, s-y., Benzimidazol-H), 7.99 (2H, d, $J=8.09$ Hz, Benzen-H), 8.16 (1H, s, $-\text{CH}=\text{N}$), 8.25-8.31 (2H, m, Benzen-H), 12.11 (1H, s, $-\text{NH}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 46.37, 47.84, 66.42, 111.00, 114.74, 119.13, 120.30, 122.55, 124.42, 128.51, 130.22, 137.22, 140.59, 142.62, 143.05, 145.79, 148.29, 152.14, 154.33, 164.79, 169.47, 172.57.

HRMS (ESI) analizinde $[\text{M}+\text{H}]^+$ iyonu için $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_4$ bileşiğinde hesaplanan kütle: 485.1932, ve bulunan kütle: 485.1940 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.84. *Bileşik 5f'nin kızılötesi (IR) spektrumu*

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GT-1F ALT_618.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	4	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 20.0

Apply N Rule: no

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

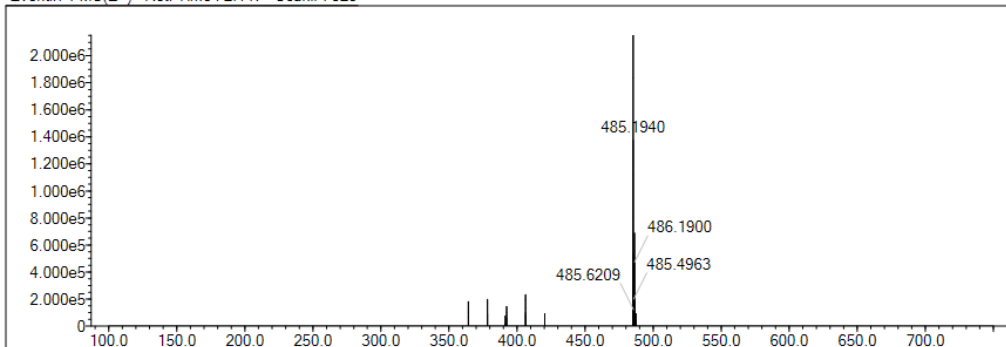
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

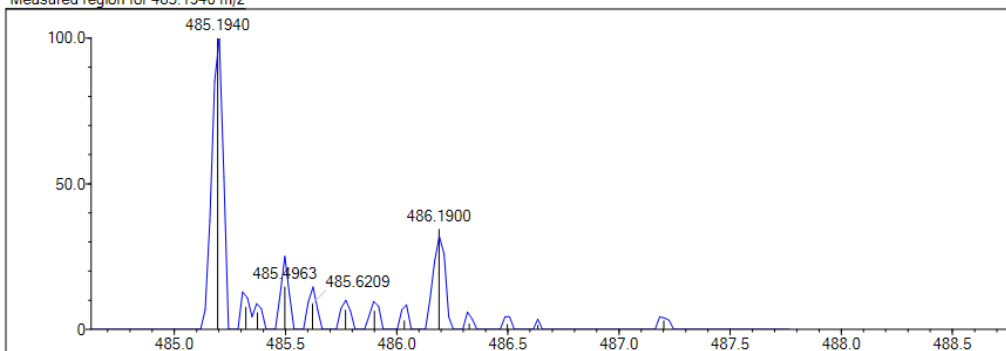
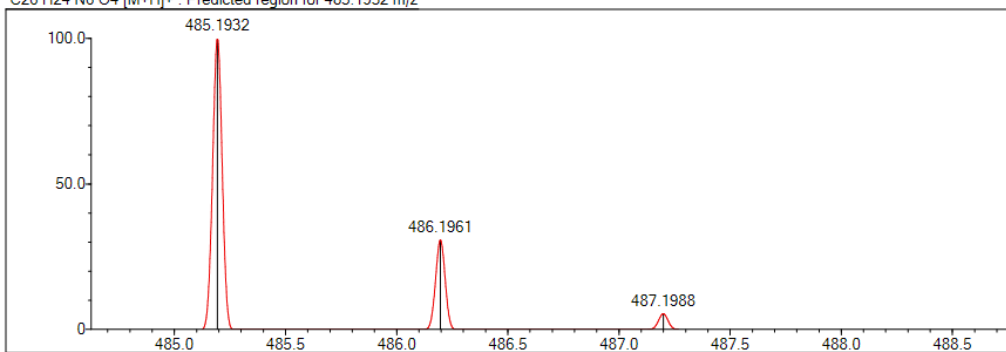
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.147 Scan#: 323



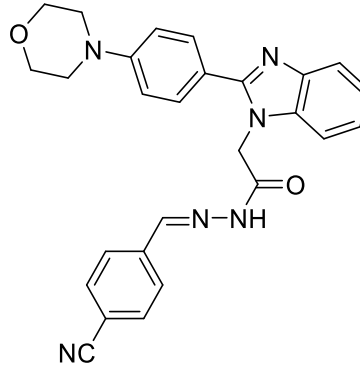
Measured region for 485.1940 m/z

C26 H24 N6 O4 [M+H]⁺ : Predicted region for 485.1932 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	76.05	C26 H24 N6 O4	[M+H] ⁺	485.1940	485.1932	0.8	1.65	77.31	18.0

Şekil 5.87. Bileşik 5f'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.21. *N'*-(4-Siyanobenziliden) -2-(2-(4-morfolinofenil) - 1*H*-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5g)



Şekil 5.88. *N'*-(4-Siyanobenziliden) -2-(2-(4-morfolinofenil) -1*H*-benzo[d]imidazol-1-il) asetohidrazid (5g)

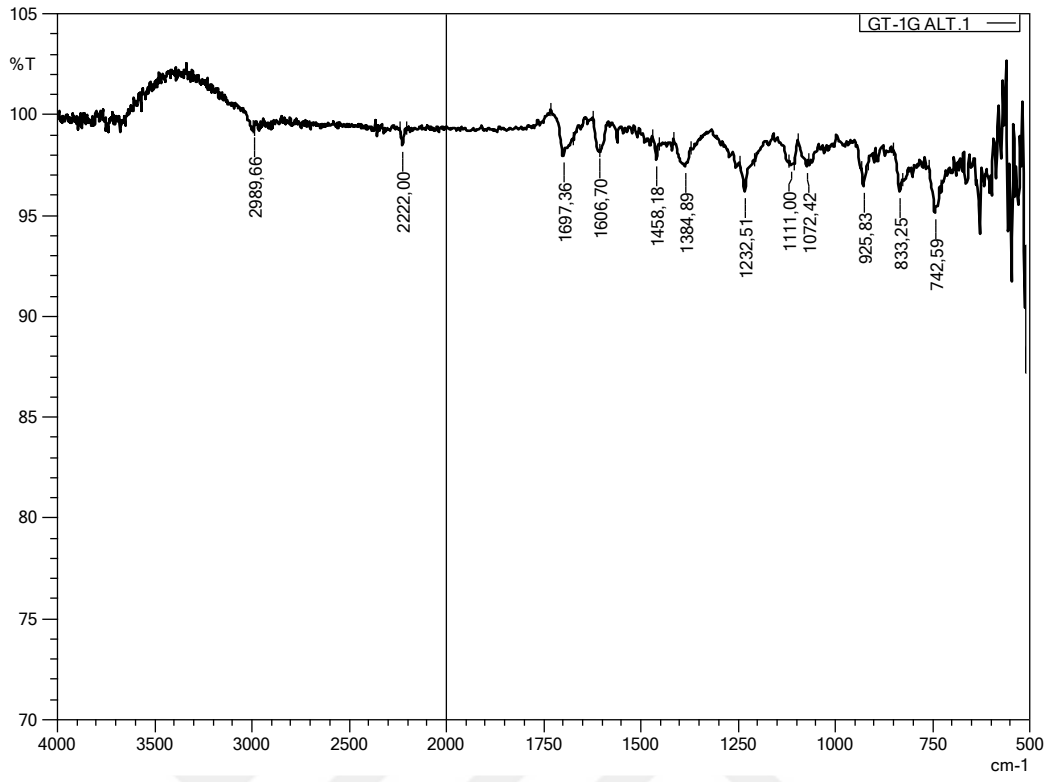
Bu bileşik, Yöntem F kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 90 °C. Verim: %80.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 2989.66 (C-H bağına ait band), 1697.36 (C=O bağına ait band).

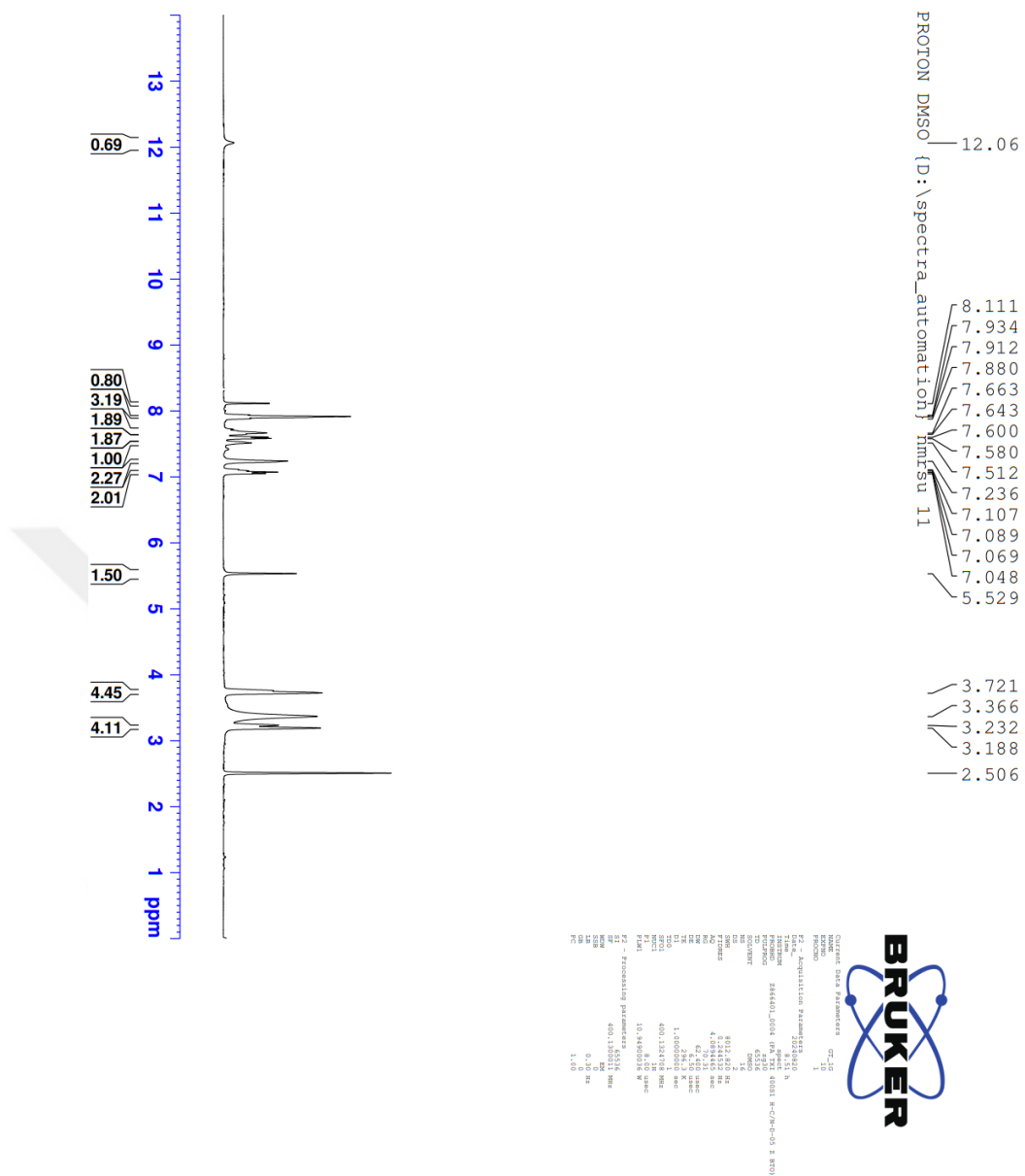
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.18-3.23 (4H, m, Morfolin), 3.72 (4H, s, Morfolin), 5.52 (2H, s, -CH₂), 7.04-7.10 (2H, m, Benzen-H), 7.23 (2H, s-y., Benzimidazol-H), 7.51 (1H, s-y., Benzen-H), 7.58 (2H, d, *J*=7.90 Hz, Benzen-H), 7.64-7.66 (2H, m, Benzimidazol-H), 7.87-7.93 (3H, m, Benzen-H), 8.11 (1H, s, -CH=N), 12.06 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): 46.33, 47.87, 66.42, 110.97, 112.37, 114.73, 119.12, 120.34, 122.29, 122.51, 128.15, 130.21, 130.45, 133.14, 137.23, 138.78, 143.06, 152.13, 154.34, 169.40, 172.50.

HRMS (ESI) analizinde [M+H]⁺ iyonu için C₂₇H₂₄N₆O₂ bileşiğinde hesaplanan kütle: 465.2034, ve bulunan kütle: 465.2025 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.89. *Bileşik 5g'nin kızılötesi (IR) spektrumu*



Şekil 5.90. Bileşik 5g'nin proton nükleer manyetik rezonans (^1H -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GT-1G ALT_623.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	4	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 20.0

Apply N Rule: no

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

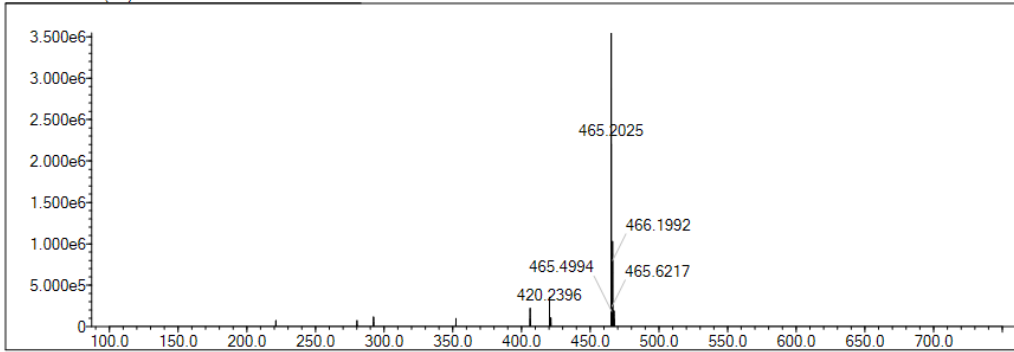
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

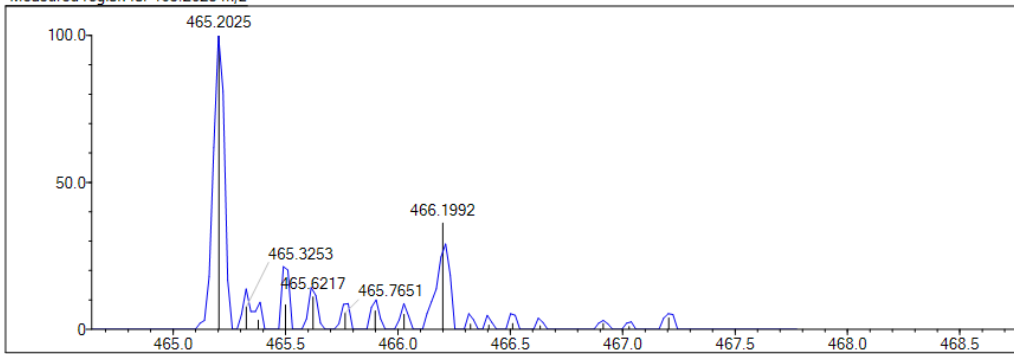
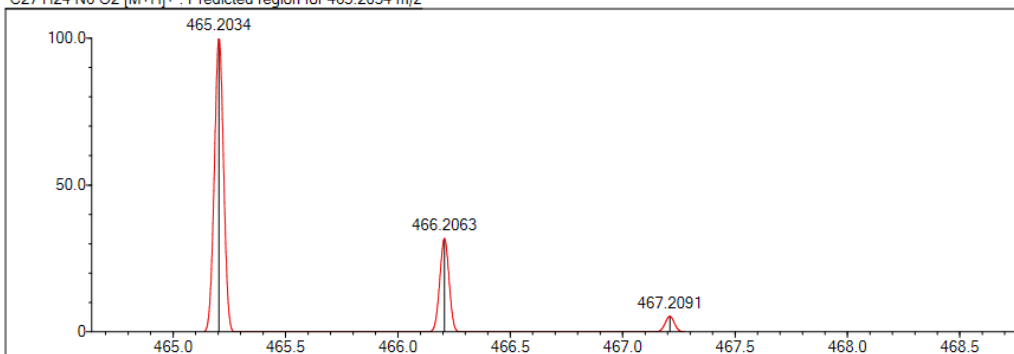
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.293 Scan#: 345



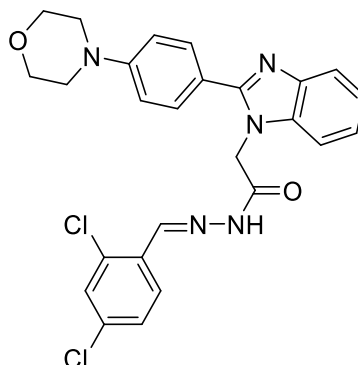
Measured region for 465.2025 m/z

C27 H24 N6 O2 [M+H]⁺ : Predicted region for 465.2034 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	76.34	C27 H24 N6 O2	[M+H] ⁺	465.2025	465.2034	-0.9	-1.93	78.15	19.0

Şekil 5.92. Bileşik 5g'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.22. N'-(2,4-Diklorobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5h)



Şekil 5.93. N'-(2,4-Diklorobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5h)

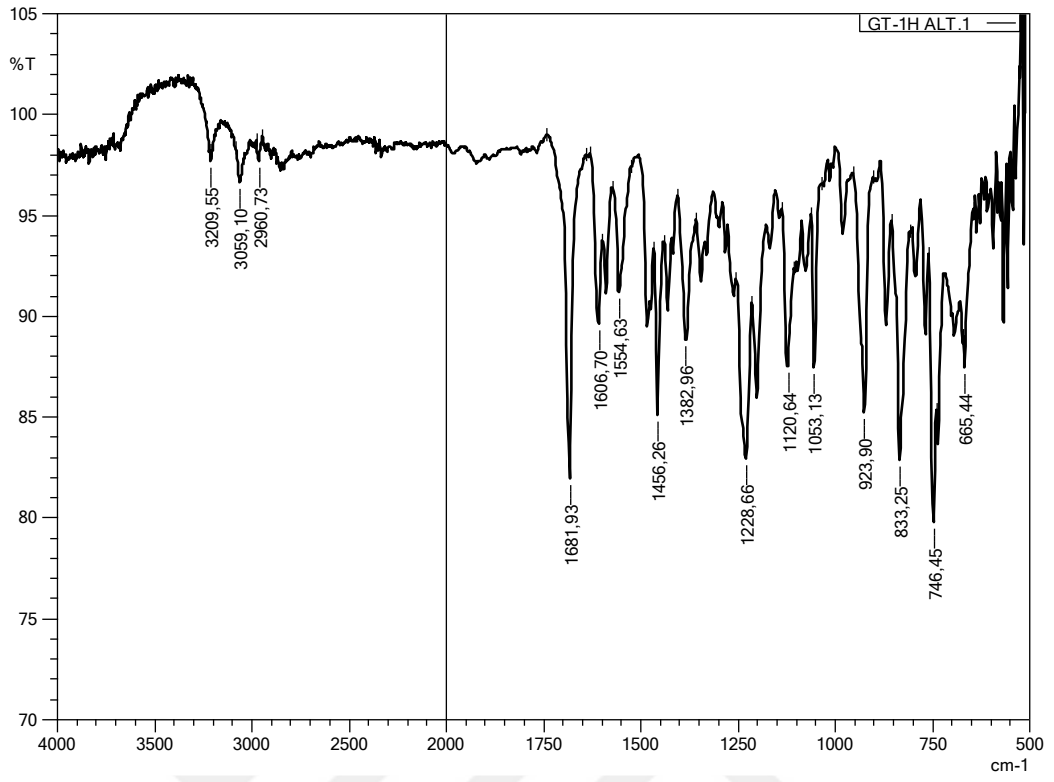
Bu bileşik, Yöntem F kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 190 °C. Verim: %75.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3209.55 (N-H bağına ait band), 2960.73 (C-H bağına ait band), 1681.93 (C=O bağına ait band).

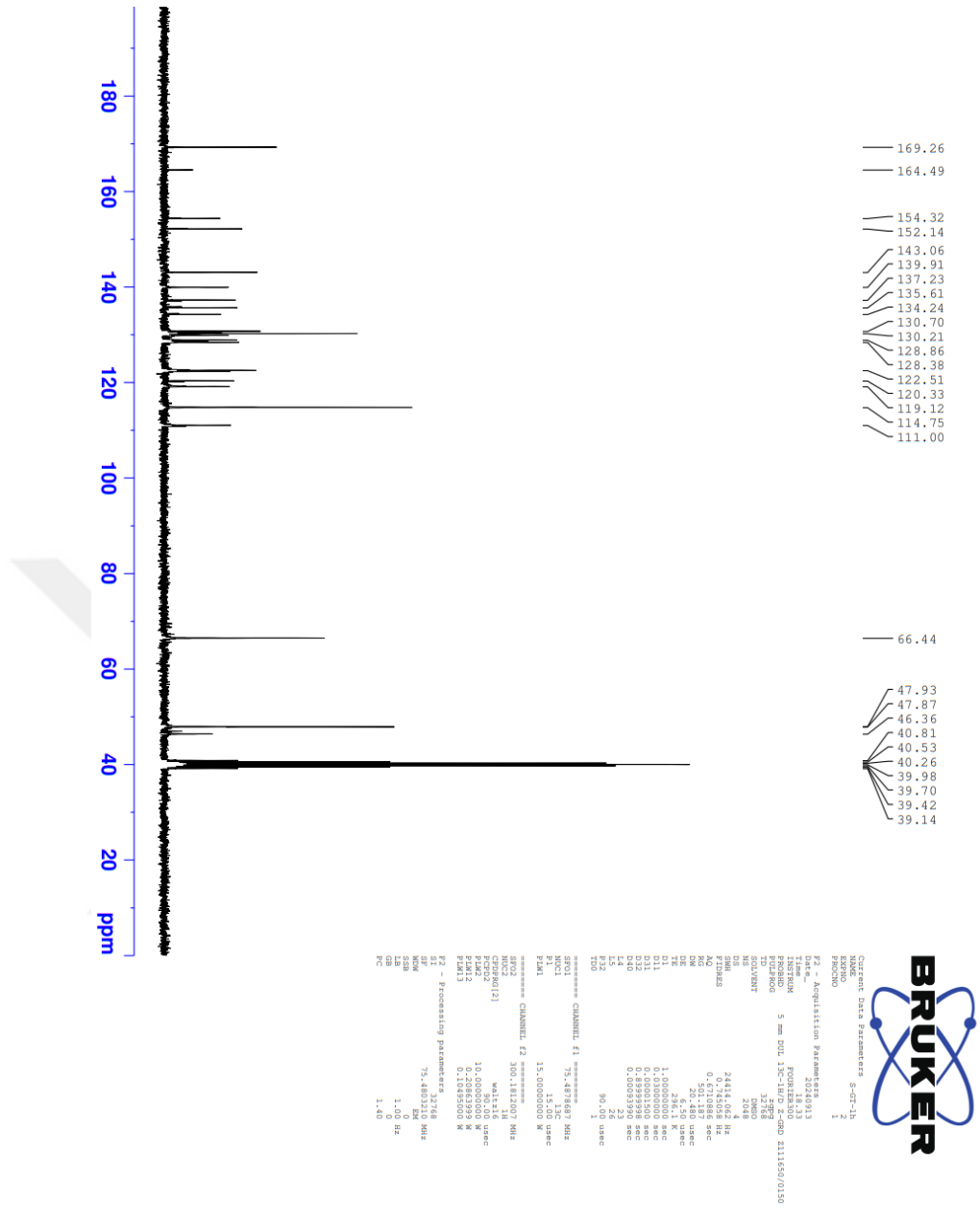
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ : 3.19 (4H, s, Morfolin), 3.72 (4H, s, Morfolin), 5.51 (2H, s, -CH₂), 7.05-7.11 (2H, m, Benzen-H), 7.23 (2H, s-y., Benzimidazol-H), 7.46-7.52 (2H, m, Benzen-H), 7.57 (2H, d, $J=8.02$ Hz, Benzen-H), 7.65 (2H, s-y., Benzimidazol-H), 7.73 (1H, s, Benzen-H), 8.03 (1H, d, $J=8.58$ Hz, Benzen-H), 8.39 (1H, s, -CH=N), 12.03 (1H, s, -NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): 46.36, 47.87, 66.44, 111.00, 114.75, 119.12, 120.33, 122.51, 128.38, 128.86, 130.21, 130.70, 134.24, 135.61, 137.23, 139.91, 143.06, 152.14, 154.32, 164.49, 169.26.

HRMS (ESI) analizinde $[\text{M}+\text{H}]^+$ iyonu için $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2\text{Cl}_2$ bileşiğinde hesaplanan kütle: 508.1302, ve bulunan kütle: 508.1297 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.94. Bileşik 5h'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.96. Bileşik 5h'nin karbon-13 nükleer manyetik rezonans (^{13}C -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\deriya\GT-1H ALT_619.lcd

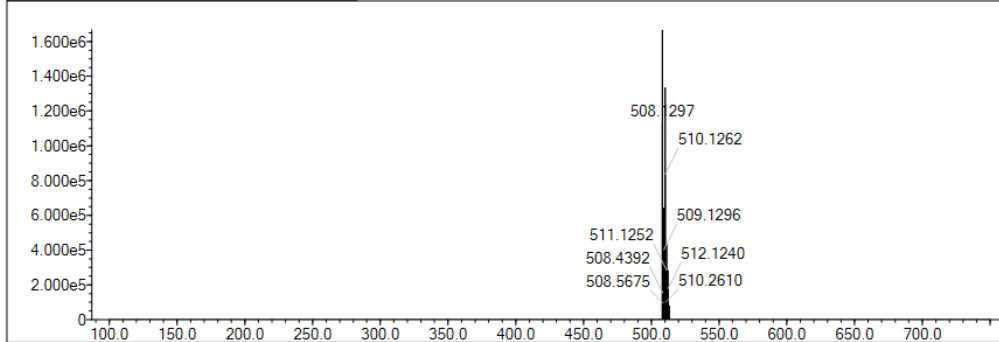
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	4	30	F	1	0	0	Cl	1	2	2	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

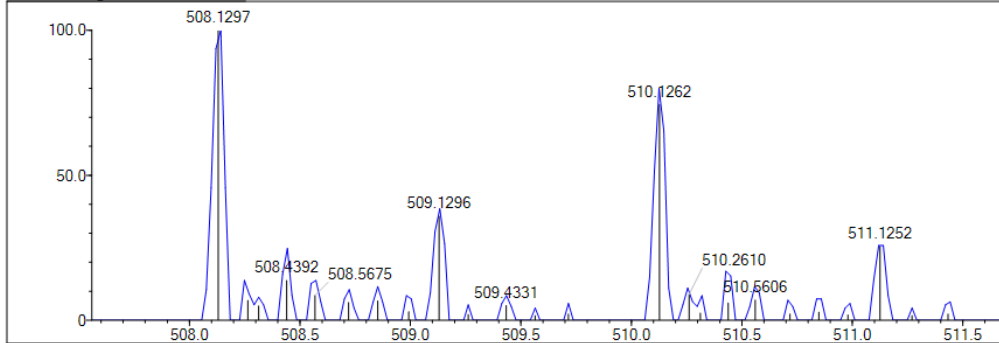
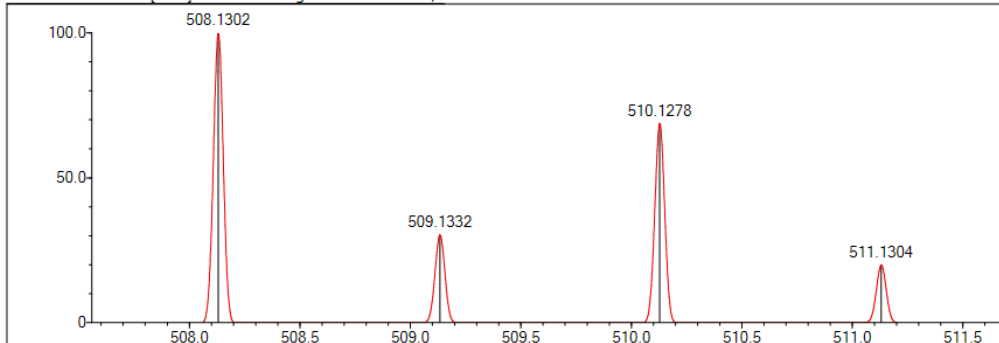
DBE Range: 0.0 - 20.0
 Apply N Rule: no
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.360 Scan# : 355



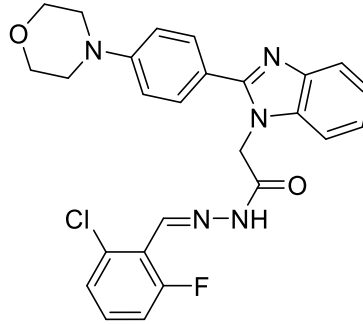
Measured region for 508.1297 m/z

C26 H23 N5 O2 Cl2 [M+H]⁺ : Predicted region for 508.1302 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
3	62.68	C26 H23 N5 O2 Cl2	[M+H] ⁺	508.1297	508.1302	-0.5	-0.98	62.68	17.0

Şekil 5.97. Bileşik 5h'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.23. *N'*-(2-Kloro-6-florobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5i)



Şekil 5.98. *N'*-(2-Kloro-6-florobenziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazid (5i)

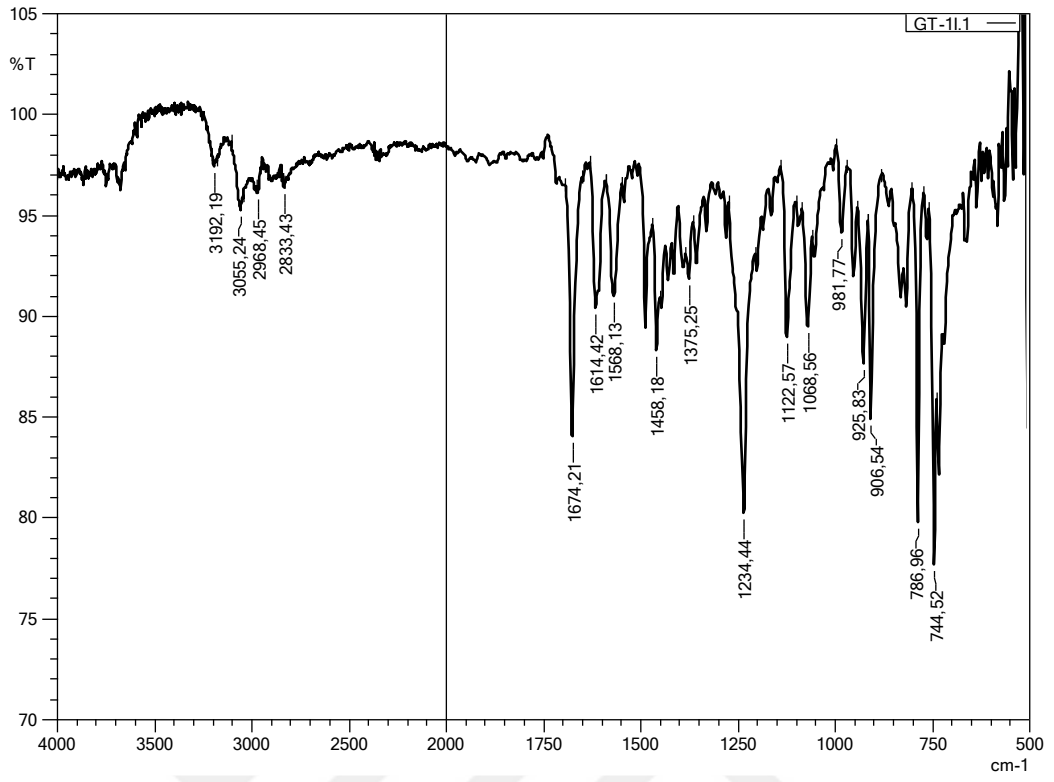
Bu bileşik, Yöntem F kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 190 °C. Verim: %79.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3192.19 (N-H bağına ait band), 3055.24 (C-H bağına ait band), 1674.21 (C=O bağına ait band).

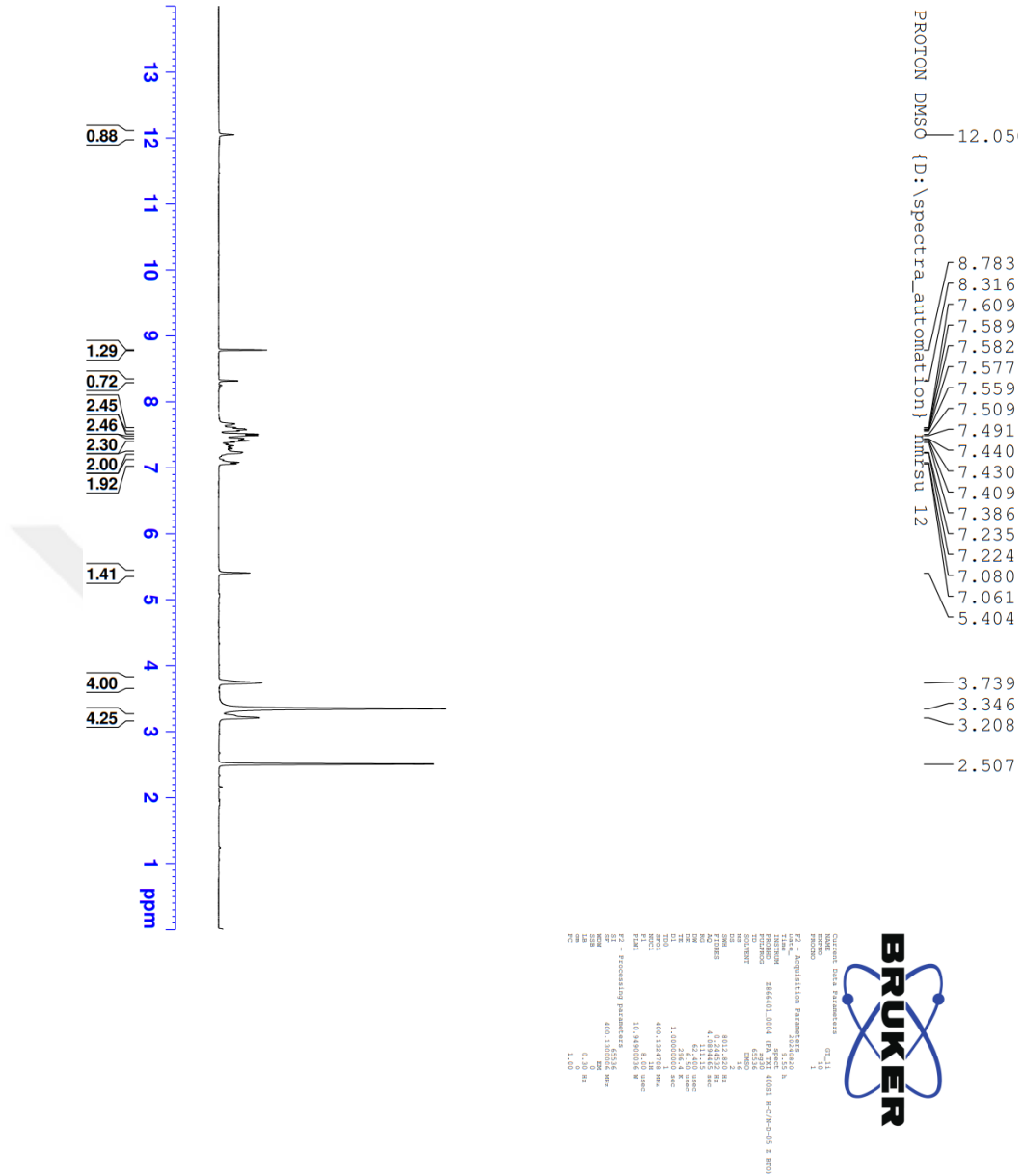
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ : 3.20 (4H, s, Morfolin), 3.73 (4H, s, Morfolin), 5.40 (2H, s, -CH₂), 7.07 (2H, d, $J=8.07$ Hz, Benzen-H), 7.22 (2H, s-y., Benzimidazol-H), 7.38-7.44 (2H, m, Benzen-H), 7.49 (2H, d, $J=7.52$ Hz, Benzen-H), 7.55-7.60 (2H, m, Benzimidazol-H), 8.31 (1H, s, Benzen-H), 8.78 (1H, s, -CH=N), 12.04 (1H, s, -NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 46.02, 47.88, 66.43, 110.93, 114.75, 116.10, 119.12, 120.22, 122.32, 126.86, 130.20, 133.83, 135.30, 137.20, 137.83, 143.02, 152.16, 154.24, 155.86, 159.46, 162.88, 169.20.

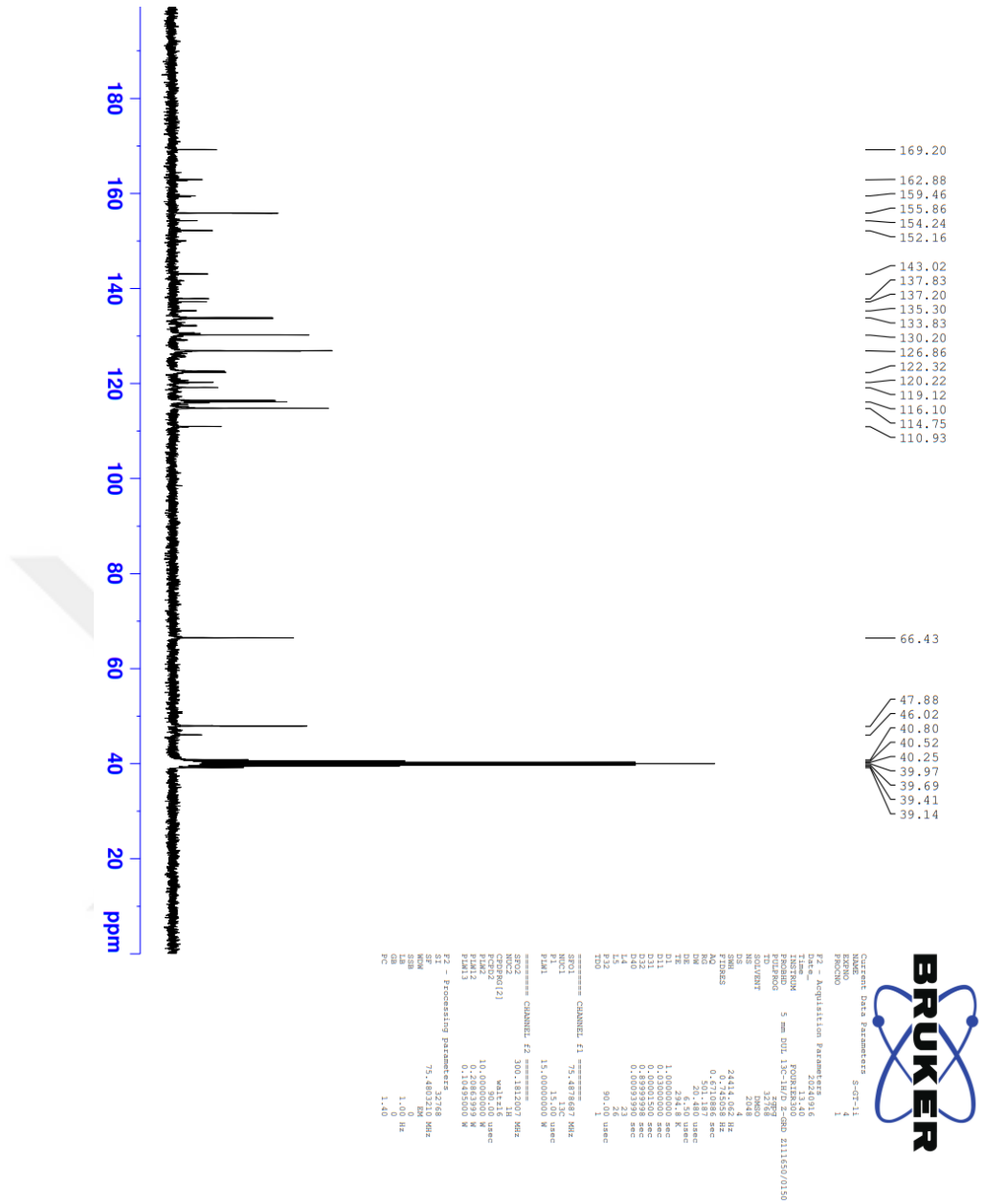
HRMS (ESI) analizinde $[\text{M}+\text{H}]^+$ iyonu için $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2\text{FCl}$ bileşiğinde hesaplanan kütle: 492.1597, ve bulunan kütle: 492.1600 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.99. *Bileşik 5i'nin kızılötesi (IR) spektrumu*



Şekil 5.100. Bileşik 5i'nin proton nükleer manyetik rezonans (^1H -NMR) spektrumu



Şekil 5.101. Bileşik 5i'nin karbon-13 nükleer manyetik rezonans (^{13}C -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GT-11 ALT_622.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	4	30	F	1	1	1	Cl	1	0	1	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 20.0

Apply N Rule: no

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

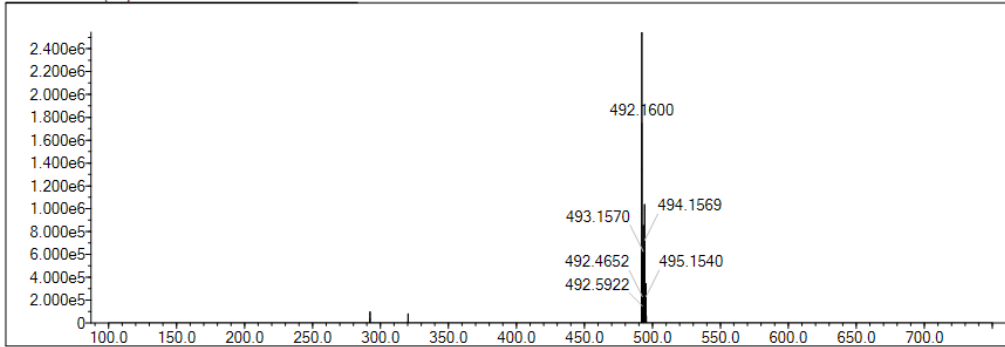
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

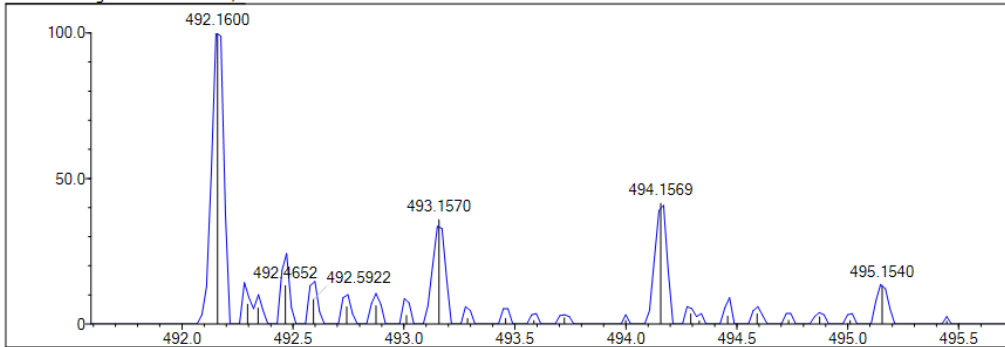
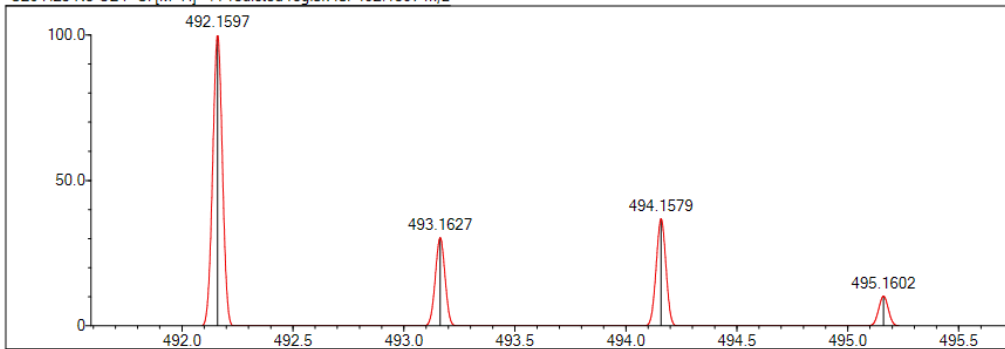
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.227 Scan# : 335



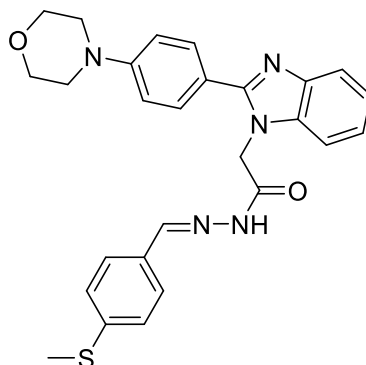
Measured region for 492.1600 m/z

C26 H23 N5 O2 F Cl [M+H]⁺ : Predicted region for 492.1597 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
2	81.59	C26 H23 N5 O2 F Cl	[M+H] ⁺	492.1600	492.1597	0.3	0.61	81.59	17.0

Şekil 5.102. Bileşik 5i'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.1.24. *N'*-(4-(Metiltiyo)benziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetohidrazid (5j)



Şekil 5.103. *N'*-(4-(Metiltiyo)benziliden)-2-(2-(4-morfolinofenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetohidrazid (5j)

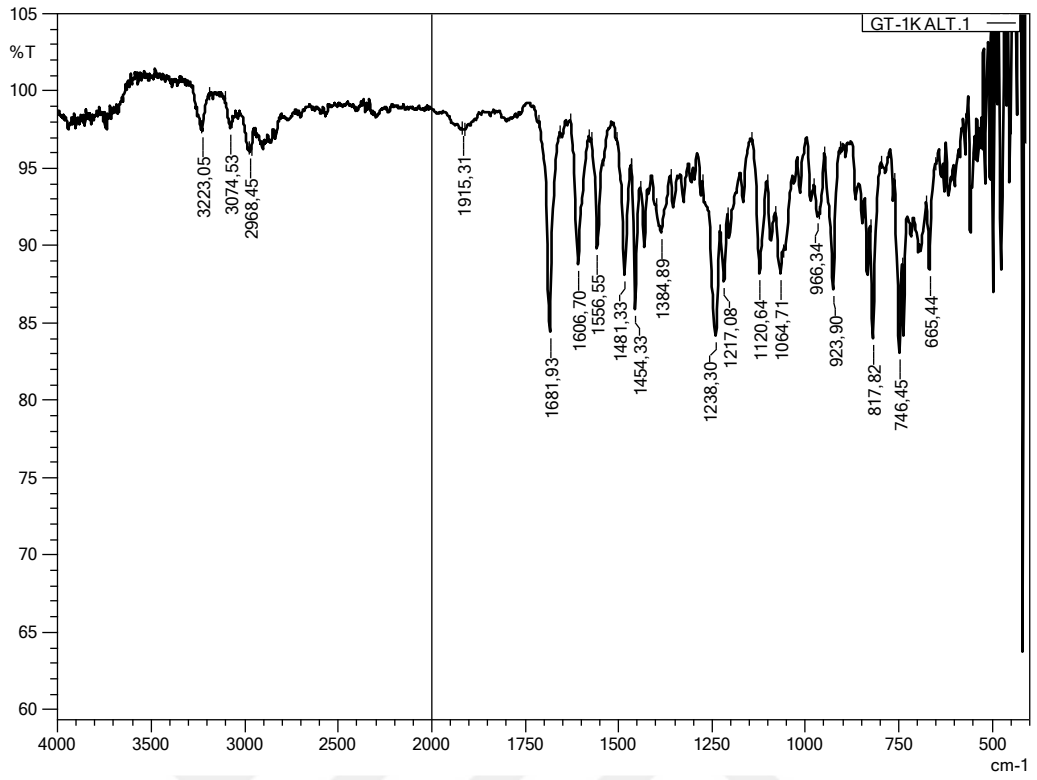
Bu bileşik, Yöntem F kullanılarak sentezlendi. **Tayin edilen erime noktası:** 227 °C. Verim: %82.

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3223.05 (N-H bağına ait band), 3074.53 (C-H bağına ait band), 1681.93 (C=O bağına ait band).

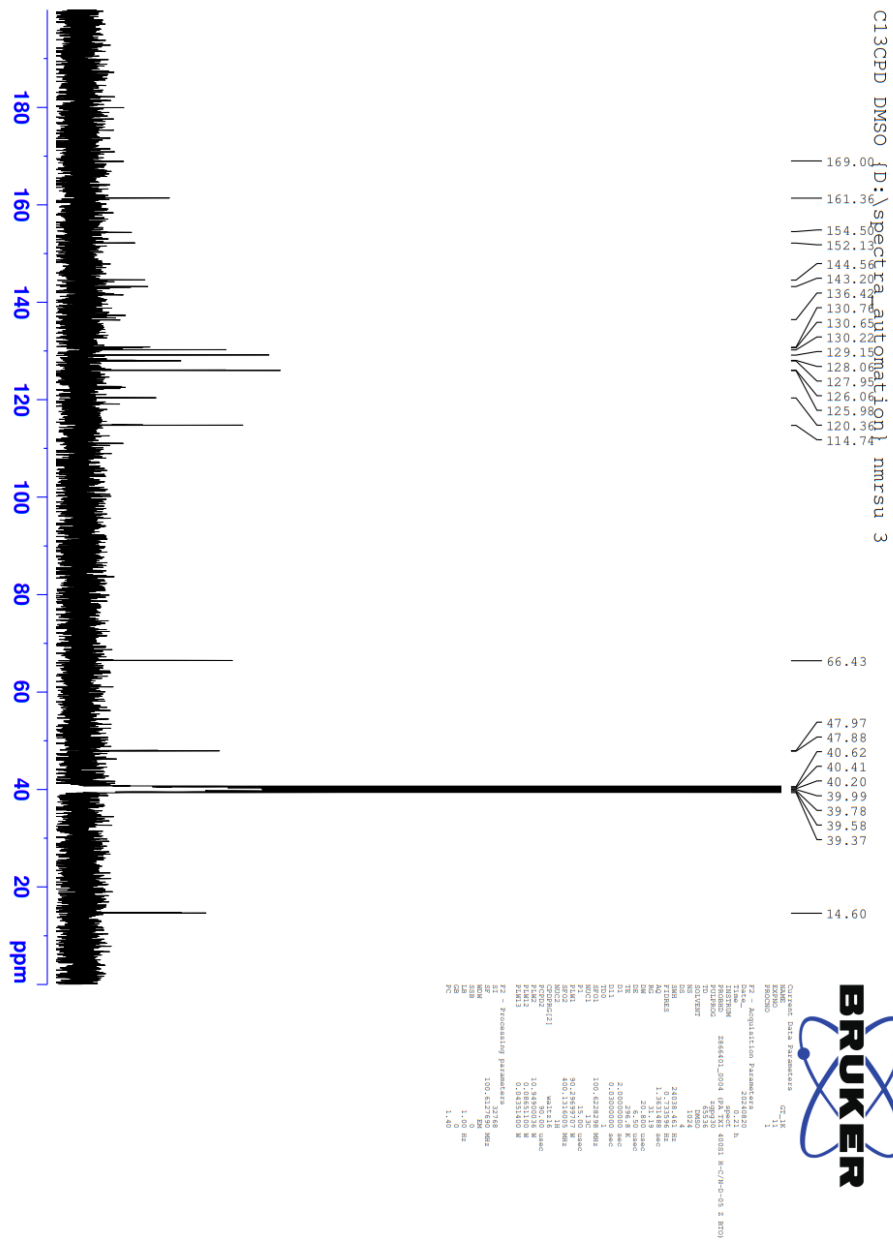
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 2.50 (3H, s, -S-CH₃), 3.19 (4H, s, Morfolin), 3.72 (4H, s, Morfolin), 5.46 (2H, s, -CH₂), 7.06 (2H, d, *J*=8.06 Hz, Benzen-H), 7.23 (2H, s-y., Benzimidazol-H), 7.29 (2H, d, *J*=8.60 Hz, Benzen-H), 7.36 (1H, d, *J*=7.82 Hz, Benzen-H), 7.58 (1H, d, *J*=7.98 Hz, Benzen-H), 7.64 (2H, s-y., Benzimidazol-H), 7.79 (1H, d, *J*=7.75 Hz, Benzen-H), 8.01 (1H, s, Benzen-H), 8.66 (1H, s, -CH=N), 11.78 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): 14.60, 40.62, 47.80, 66.43, 114.74, 120.36, 125.98, 126.06, 127.95, 128.06, 129.15, 130.22, 130.65, 130.76, 136.42, 143.20, 144.56, 152.13, 154.50, 161.36, 169.00.

HRMS (ESI) analizinde [M+H]⁺ iyonu için C₂₇H₂₇N₅O₂S bileşiğinde hesaplanan kütle: 486.1958, ve bulunan kütle: 486.1960 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 5.104. Bileşik 5j'nin kızılötesi (IR) spektrumu



Şekil 5.106. Bileşik 5j'nin karbon-13 nükleer manyetik rezonans (^{13}C -NMR) spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\GT-1K ALT_627.lcd

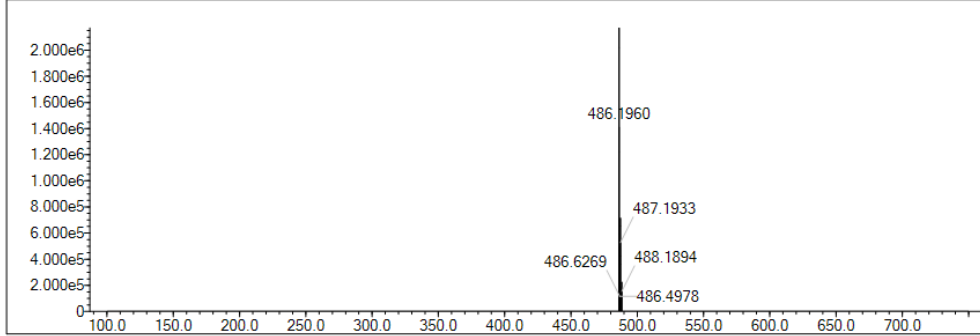
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	8	33	O	2	0	4	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	4	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

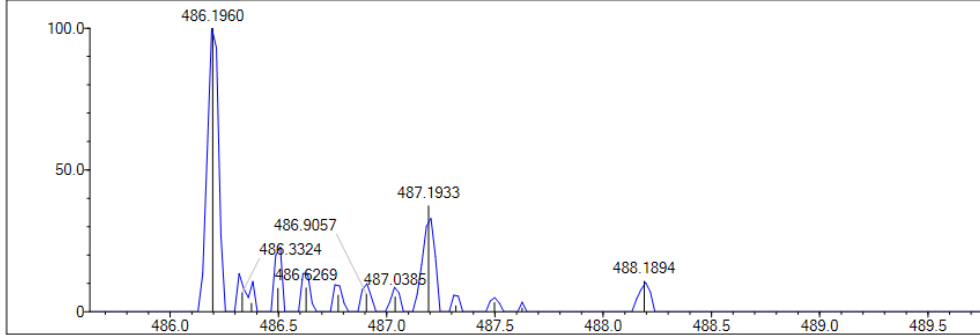
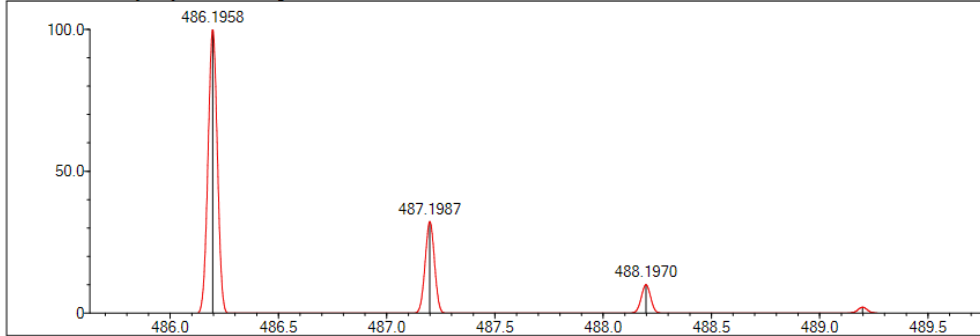
DBE Range: 0.0 - 20.0
 Apply N Rule: no
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.293 Scan#: 345



Measured region for 486.1960 m/z

C27 H27 N5 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 486.1958 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	82.06	C27 H27 N5 O2 S	[M+H] ⁺	486.1960	486.1958	0.2	0.41	82.06	17.0

Şekil 5.107. Bileşik 5j'nin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) spektrumu

5.2. Spektral Sonuçların Değerlendirilmesi

Bu tezde, sentezlenen **4a–4j** ve **5a–5j** serilerine ait bileşiklerin kimyasal yapıları, kapsamlı karakterizasyon yöntemleri kullanılarak ayrıntılı olarak belirlenmiştir. Bu bağlamda, her bir bileşik için elde edilen IR spektrumları fonksiyonel grupların varlığını doğruladı, ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları proton ve karbon ortamlarının yapısal konumlarını ortaya çıkardı ve kütle spektroskopisi verileri moleküler ağırlıkları ile bileşiklerin bütünlüğünü doğruladı. Böylece, sentezlenen her bir bileşiğin yapısal doğruluğu güvenilir bir şekilde sağlandı.

5.2.1. IR spektrum bulgularının incelenmesi

Moleküler yapıların analizinin sonucu olarak, bileşiklerin çoğunun $3016\text{--}3674\text{ cm}^{-1}$ aralığında amin fonksiyonel grubu ($-\text{NH}$) paylaştığı görülmektedir. Bileşiklerin IR spektrumlarında, bu gruptaki karbonil için özgül voltaj bandı $1622\text{--}1697\text{ cm}^{-1}$ değerler arasında saptanmıştır. Spektrumdan tespit edilen her iki bandın ölçüm sonuçları literatürdeki verilerle örtüşmektedir (Turan-Zitouni vd., 2004).

5.2.2. NMR spektrumu bulgularının incelenmesi

5.2.2.1. ^1H -NMR spektrumu bulgularının incelenmesi

Sentezlenen bileşikler **4a–4j**'nin ^1H -NMR spektrumlarında, morfolin halkasının karakteristik sinyalleri açıkça gözlenmiştir. Morfolin halkasına ait protonlar $3.26\text{--}3.27\text{ ppm}$ 'de rezonansa girerek geniş singlet veya multipletler olarak görüldü, kalan dört morfolin protonu ise $3.74\text{--}3.78\text{ ppm}$ 'de yine geniş singlet veya multipletler olarak tespit edilmiştir. Morfolin halkasına doğrudan bağlı 1,4-disüstitüe benzen halkasının aromatik protonları iyi çözünmüş desenler gösterdi: özellikle, halkanın azot ikameli tarafına bitişik 2. ve 6. konumlarında bulunan protonlar, tüm türevlerde $J = 8,15\text{--}8,87\text{ Hz}$ aralığında kuplaj sabitleri ile $7.10\text{--}7.13\text{ ppm}$ 'de dubletler olarak tutarlı bir şekilde gözlemlenmiştir. Buna karşılık, bu benzen halkasının 3 ve 5 konumlarında bulunan protonlar, $7.29\text{--}8.09\text{ ppm}$ bölgesinde görülen geniş singlet, dublet, triplet veya multipleler dahil olmak üzere değişken bölünme desenleri sergiledi. Hidrazid bağlayıcı ile bağlanan ikinci disüstitüe benzen halkasının aromatik sinyalleri de tüm bileşiklerde görülmüştür. Bu protonlar, $7.03\text{--}8.09\text{ ppm}$ aralığında geniş singlet, dublet, triplet veya multipletler olarak rezonansa girmiş ve bağlayıcı grubun ikame modeli ve elektronik etkisini doğrulamıştır. İmin ($-\text{CH}=\text{N}$) protonuna karşılık gelen belirgin bir sinyal, tüm türevlerde $8.44\text{--}8.86\text{ ppm}$

aralığında tekli olarak tutarlı bir şekilde tespit edilmiş ve hidrazid işlevselliğinin başarılı bir şekilde oluştuğunu doğrulamıştır. Benzimidazol halkasının aromatik bölgesi de karakteristik desenler sergilemiştir. Bileşik **4a**'da bu protonlar dublet olarak, diğer tüm bileşiklerde ise 7.51–8.33 ppm bölgesine dağılmış multipletler olarak ortaya çıkmıştır. Hidrazid -NH protonunun varlığı tüm spektrumlarda görülmüş ve 11.70–12.16 ppm arasında geniş bir singlet veya multiplet olarak tutarlı bir şekilde gözlemlenmiştir. Benzimidazol halkasının -NH protonu ise 12.91–12.98 ppm aralığında bir singlet veya geniş bir singlet olarak tanımlanmıştır. Bu aşağı alan kimyasal kaymalar, hidrojen bağı ve benzimidazol çekirdeğinin konjuge ortamından kaynaklanan kalkan etkisiyle uyumludur. Gözlemlenen kimyasal kayma değerleri ve bölünme modelleri, bileşikler **4a–4j** için önerilen yapıları güçlü bir şekilde desteklemekte ve morfolin, benzimidazol ve hidrazid gruplarının tasarlanan iskelete başarılı bir şekilde dahil edildiğini doğrulamaktadır.

5a–5j bileşiklerinin ¹H-NMR spektrumlarında, morfolin halkasının karakteristik rezonansları tutarlı bir şekilde gözlemlenmiştir. Morfolin iskeletinin protonları 3.19–3.72 ppm aralığında rezonans göstermiş ve geniş singletler veya multipletler olarak görünürken, kalan morfolin protonları 3.71–3.73 ppm'de, yine geniş singletler veya multipletler olarak tanımlanmıştır.

Ek olarak, bu serideki benzimidazol -NH grubunun substitüsyonu, -CH₂ köprüsüne karşılık gelen iyi tanımlanmış bir sinyalin ortaya çıkmasına neden oldu. Bu sinyal, tüm türevlerde 5.40-5.54 ppm arasında bir singlet olarak tutarlı bir şekilde gözlemlendi ve benzimidazol çekirdeğinin başarılı bir şekilde N-substitüsyonunu doğrulamıştır. 1,4-disubstitüe benzen halkalarının aromatik protonları, beklenen substitüsyon modeli ve konjuge elektronik ortamı yansıtan 6.92-8.31 ppm aralığında singlet, dublet veya multipletler olarak gözlemlendi. İmin (-CH=N) protonu, tüm bileşiklerde 8.07–8.78 ppm aralığında tekli olarak belirgin bir şekilde mevcuttu ve bu, hidrazid bağına daha da doğrulamıştır.

Benzimidazol halkası protonları, 7.22–7.68 ppm arasında geniş singlet veya multipletler halinde sinyaller sergilemiştir. Bu sinyaller, **4a–4j** bileşiklerine kıyasla hafifçe yukarı doğru kaymıştır, bu da N- substitüsyonunun neden olduğu elektronik değişikliklerle tutarlıdır. Hidrazid grubunun -NH protonu, tüm spektrumlarda 11.75–12.11 ppm arasında rezonans gösteren geniş bir singlet veya multipler olarak mevcuttu, bu da onun korumasız

ve hidrojen bağına sahip ortamıyla uyumludur. Birlikte ele alındığında, bu NMR özellikleri, **5a–5j** bileşiklerinin yapısal bütünlüğü için güçlü spektroskopik kanıtlar sağlar ve özellikle benzimidazol nitrojenindeki ikameyi vurgular. Bu, 5.40–5.54 ppm bölgesinde görülen tanısal -CH₂ rezonansının ortaya çıkmasıyla desteklenir.

5a–5j'nin spektral özellikleri **4a–4j**'nin spektral özellikleriyle karşılaştırıldığında, benzimidazol -NH pozisyonunda önemli bir fark gözlenmektedir. **4a–4j** bileşiklerinde, benzimidazol halkasının -NH protonu, 12.91–12.98 ppm bölgesinde açıkça singlet veya geniş singlet olarak tanımlanır. Buna karşın, bu bölgedeki substitüsyon nedeniyle **5a–5j** bileşiklerinde bu rezonans yoktur. Bunun yerine, **5a–5j** bileşiklerinin spektrumları, 5.40–5.54 ppm'de belirgin bir -CH₂ singlet gösterir ve bu, başarılı N- substitüsyonu için bir tanı sinyali görevi görür. Bu spektral dönüşüm, yapısal modifikasyonu doğrulamakla kalmaz, aynı zamanda substitüsyonun neden olduğu elektronik karışıklığı da vurgular ve bu, iki seri arasındaki aromatik ve benzimidazol protonlarının hafif kimyasal kayma varyasyonlarında da yansıtılır.

5.2.2.2. ¹³C-NMR spektral sonuçların değerlendirilmesi

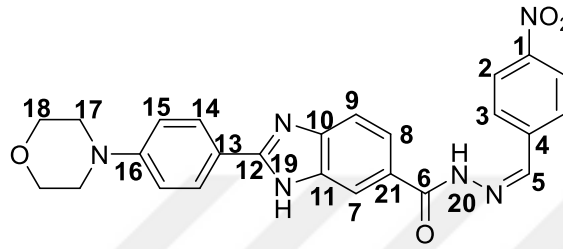
Bileşikler **4a–4j**'nin ¹³C NMR spektrumlarında, morfolin halkası karbonları sırasıyla azot ve oksijen atomlarına bitişik alifatik karbonlara karşılık gelen 47.85–47.90 ppm ve 66.42–66.43 ppm aralıklarında tutarlı bir şekilde gözlemlenmektedir. Hidrazid bağlayıcısının karbonil karbonu, 161.19–165.13 ppm aralığında açıkça tanımlanmaktadır ve bu, konjuge C=O işlevselliğinin varlığını doğrulamaktadır. Hem benzimidazol hem de fenil sübstitüentlerinin aromatik karbonları, elektronik ortamları ve sübstitüsyon modellerine uygun olarak 111.12–161.16 ppm aralığında geniş bir rezonans göstermiştir.

Buna karşılık, benzimidazol -NH pozisyonundaki sübstitüsyon ile yapısal olarak farklılık gösteren **5a–5j** bileşiklerinin ¹³C NMR spektrumları, birkaç önemli değişiklik ortaya koymaktadır. 40.62–46.37 ppm aralığında karakteristik bir -CH₂ sinyali görülür ve bu, N-sübstitüsyonunun başarılı olduğunu gösteren güçlü bir kanıt sağlar. Morfolin halkası karbonları, **4a–4j** serisinin verileriyle uyumlu olarak, 47.62–47.88 ppm ve 66.20–66.44 ppm'de rezonans göstererek benzer bir bölgede kalmıştır. Bununla birlikte, hidrazid karbonil karbonu daha da aşağıya kayarak 168.52–172.57 ppm aralığında görünür ve bu, benzimidazol çekirdeği etrafındaki değiştirilmiş elektronik ortam nedeniyle artan koruma kaybını göstermektedir. Bu serideki aromatik karbonlar, 110.76–165.23 ppm aralığında

dağılmıştır ve bu, **4a–4j** serisine kıyasla biraz daha geniştir, bu da N-ikamesi yapısının etkisini yansıtmaktadır.

Toplamda, ^{13}C NMR verileri her iki serinin yapısal atamalarını desteklemekle kalmaz, aynı zamanda iki grubu ayırt etmede $-\text{NH}/-\text{CH}_2$ ikamesinin tanısal rolünü de gösterir.

5.2.2.3. 2D-NMR spektrumu bulgularının incelenmesi



Şekil 5.108. (Z)-2-(4-Morfolinofenil)-N'-(4-nitrobenziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (**4f**)

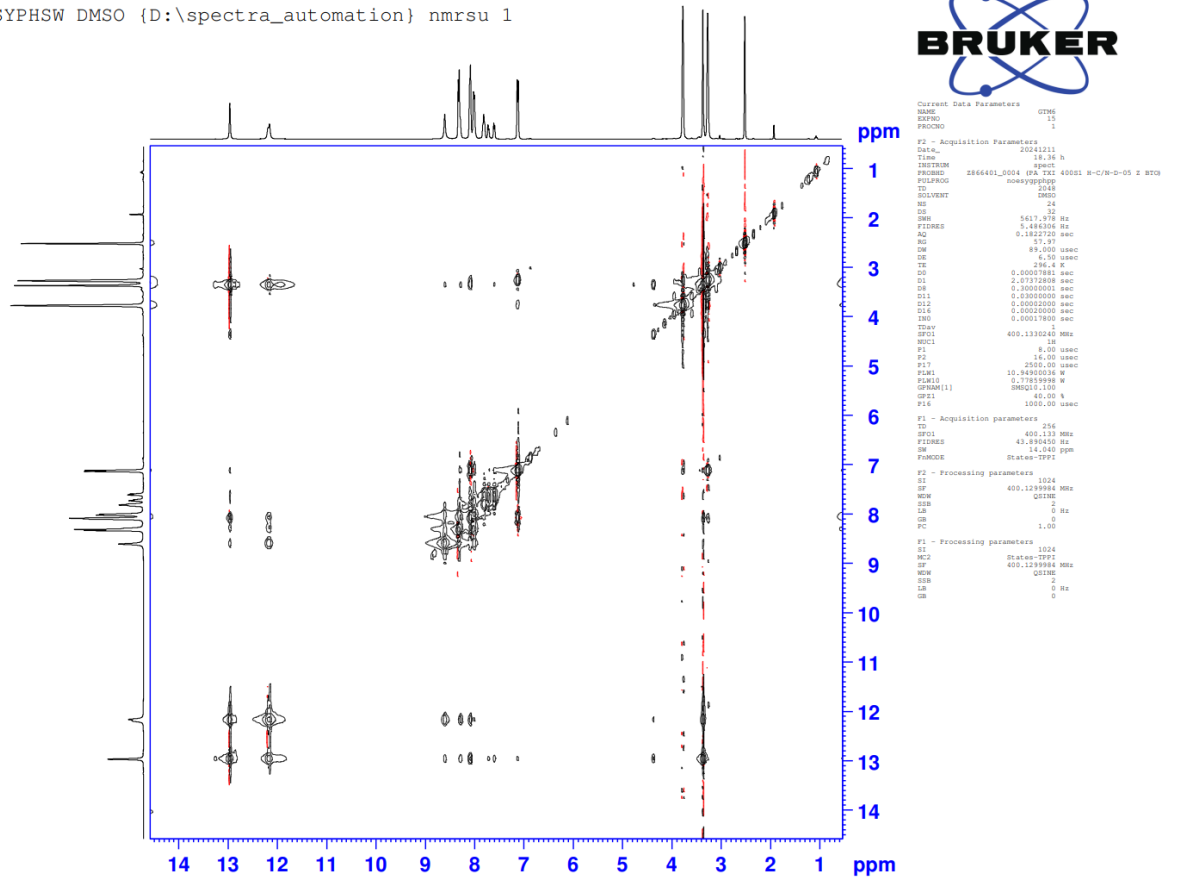
Sentezlenen serilerinin **4f** bileşiği için HSQC, HMBC, COSY ve NOESY deneylerini içeren 2 boyutlu NMR analizi gerçekleştirilmiştir. Yapılan 2D NMR analizlerinde, HSQC spektrumu aracılığıyla proton-karbon korelasyonları değerlendirilmiş ve bu doğrultuda 2, 3, 5, 7, 8, 9, 14, 15, 17, 18, 19 ve 20 numaralı proton ve karbon atomlarının doğrudan bağlanma ilişkileri güvenilir biçimde tayin edilmiştir. HMBC spektrumu ise uzun menzilli C–H korelasyonlarını ortaya koymuş ve özellikle 1, 4, 6, 10, 11, 12, 13 ve 16 numaralı karbonların bağlanma pozisyonlarının aydınlatılmasında kritik rol oynamıştır. Bu sayede HSQC verilerinden elde edilen sonuçlar doğrulanmış ve molekülün iskelet yapısı netleştirilmiştir.

Ayrıca, NOESY spektrumu üzerinden elde edilen uzaysal korelasyonlar, molekülün geometrik izomerisi üzerine kesin kanıt sağlamış; özellikle *E/Z* konfigürasyonunun tayininde belirleyici olmuştur. NOESY etkileşimlerinin analizi sonucunda ilgili çift bağın *cis* (*Z*) konfigürasyonunda bulunduğu tespit edilmiştir. Elde edilen pik değerlere dayalı konum belirleme sonuçları **Tablo 5.1**'de özetlenmiştir.

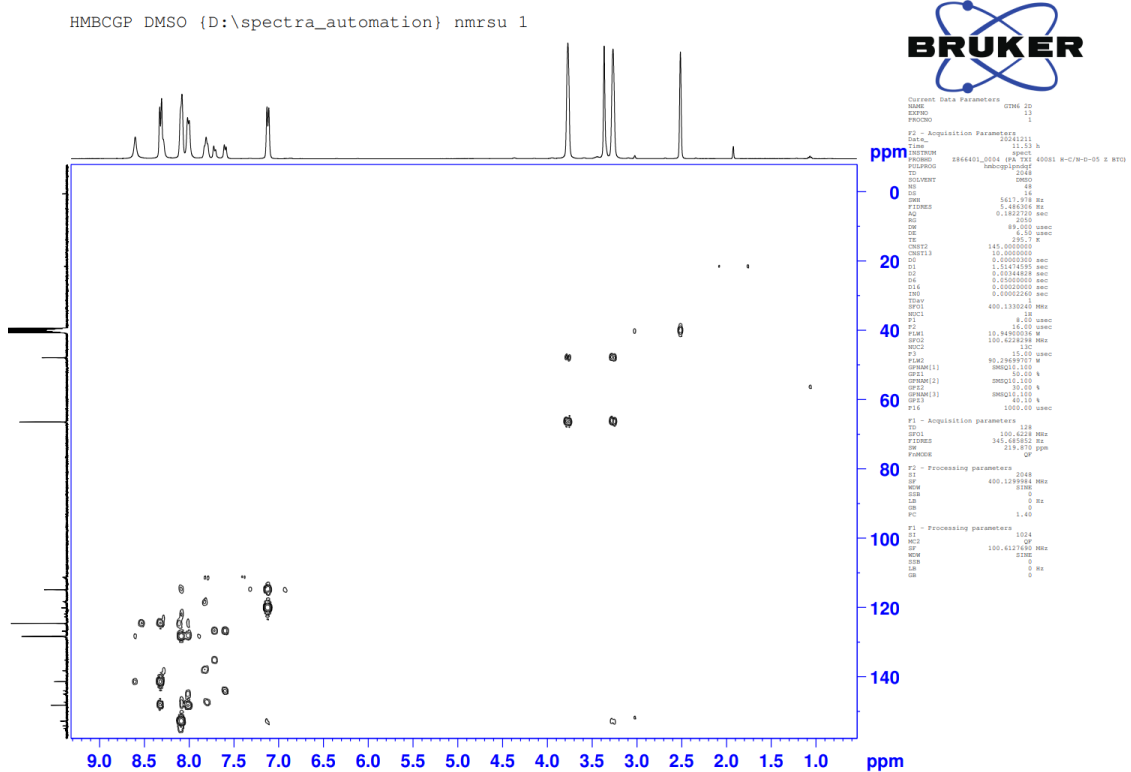
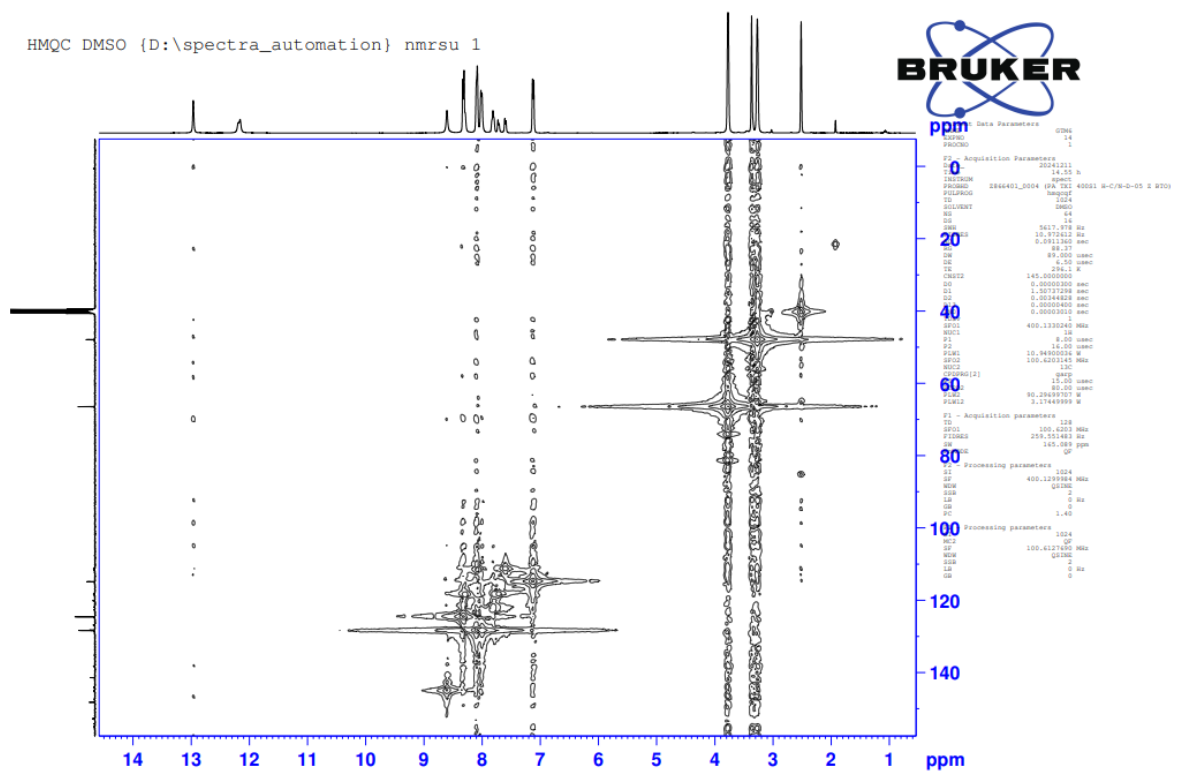
Tablo 5.1. (Z)-2-(4-Morfolinofenil)-N'-(4-nitrobenziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazid (**4f**)

Konum	¹ H	¹³ C
1	-	154.1
2	8.32	124.7
3	8.09	128.4
4	-	141.1
5	8.61	145.0
6	-	164.3
7	7.80	122.7
8	7.60	111.2
9	7.72	118.3
10	-	147.1
11	-	138.4
12	-	148.3
13	-	120.0
14	8.00	128.3
15	7.13	114.8
16	-	152.8
17	3.27	47.9
18	3.77	66.4
19	12.96	-
20	12.16	-
21	-	126.9

NOESYPSHW DMSO {D:\spectra_automation} nmrsu 1



Şekil 5.111. Bileşik 4f'nin NOESY analiz spektrumu



5.2.3. Kütle spektrumu bulgularının incelenmesi

Sentezlenen bileşiklerin kütle analizleri, elektrosprey iyonizasyonu (ESI) ve pozitif mod kullanılarak gerçekleştirildi. Spektrumlar, moleküler ağırlık yerine m/e değerleri dikkate alınarak, kütle spektrometrisinde katyonların ve radikal katyonların nispi bolluklarına göre hazırlanmıştır. Hem moleküler iyon hem de parçaları +1 yük taşıdığından, gözlenen m/e değerleri molekül ağırlığı değerlerine karşılık gelmiştir. Buna göre, moleküler iyon piklerinin (M+1) hesaplanan moleküler ağırlıklardan bir birim daha yüksek olması beklenir. Spektrum analizi, bileşiklerin molekül ağırlıklarının, beklendiği gibi, elde edilen M+1 pikleri ile tutarlı olduğunu doğrulamaktadır.

5.3. Antikanser etki verilerinin incelenmesi

5.3.1. MTT yöntemi kullanılarak sentezlenen bileşiklerin hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin sitotoksik etkileri A549 hücre hattı üzerinde değerlendirildiğinde, **5i**, **5h**, **5d** ve **5e** bileşikleri en güçlü etkileri göstererek en düşük IC₅₀ değerlerini sergilemiştir. Bunlar arasında, bileşik **5i** IC₅₀=3,110±0,093µM ile en güçlü aktiviteyi gösterirken, ardından **5h** (10,034±0,123µM), **5d** (12,33±10,936 µM) ve **5e** (15,754±0,863 µM) bileşikleri gelmiştir. Özellikle, A549 hücrelerine karşı güçlü aktivite gösteren bileşiklerin çoğu, NIH3T3 hücre hattına karşı nispeten yüksek IC₅₀ değerleri sergilemiştir, bu da seçici bir sitotoksik etki ve potansiyel güvenlik sınırı olduğunu göstermektedir.

Buna karşın, bileşiklerin MCF-7 meme kanseri hücre dizisine karşı aktivitesi belirgin şekilde daha düşüktü ve tüm bileşikler yüksek IC₅₀ değerleri göstermiştir. Yalnızca **5h** (23,794±0,198) ve **5e** (29,94±0,236) bileşikleri ölçülebilir sitotoksikite göstermiştir.

Genel olarak, iki seri içinde (**4'a-4'j** ve **5a-5j**), bileşik **5i**, A549 hücrelerine karşı en düşük IC₅₀ değerini gösterirken NIH3T3 hücrelerine karşı düşük toksisiteyi koruyarak en aktif türev olarak ortaya çıktı.

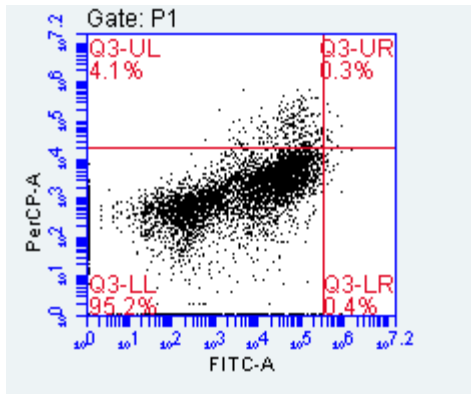
Tablo 5.2. A549, MCF-7 ve NIHT3T3 hücrelerdeki bileşiklerin IC_{50} (μM) değerlerinin belirlenmesi

Bileşik	A549	MCF7	NIH3T3
5a	228.667 $\pm$ 1.002	106.623 $\pm$ 0.869	101.598 $\pm$ 1.222
5b	354.100 $\pm$ 2.356	101.341 $\pm$ 1.023	95.971 $\pm$ 1.020
5c	231.006 $\pm$ 1.203	116.789 $\pm$ 1.639	>1000
5d	12.331$\pm$0.936	65.079 $\pm$ 0.653	10.856 $\pm$ 0.362
5e	15.754$\pm$0.863	29.941 $\pm$ 0.236	83.781 $\pm$ 0.965
5f	125.568 $\pm$ 1.036	106.561 $\pm$ 0.965	791.089 $\pm$ 1.562
5g	166.684 $\pm$ 2.563	39.783 $\pm$ 0.236	309.434 $\pm$ 2.361
5h	10.034$\pm$0.123	23.794 $\pm$ 0.198	27.443 $\pm$ 0.663
5i	3.110$\pm$0.093	>1000	167.908 $\pm$ 1.586
5k	260.052 $\pm$ 1.236	77.043 $\pm$ 1.236	681.878 $\pm$ 0.362
4'a	141.241 $\pm$ 2.317	59.686 $\pm$ 0.769	71.773 $\pm$ 1.023
4'b	343.148 $\pm$ 1.539	141.954 $\pm$ 1.002	309.123 $\pm$ 3.693
4'c	34.274 $\pm$ 0.856	30.564 $\pm$ 0.639	39.413 $\pm$ 0.236
4'd	175.159 $\pm$ 0.963	256.881 $\pm$ 1.026	58.112 $\pm$ 0.996
4'e	42.160 $\pm$ 0.426	44.942 $\pm$ 0.236	164.570 $\pm$ 3.605
4'f	96.215 $\pm$ 1.391	133.631 $\pm$ 0.195	>1000
4'g	374.933 $\pm$ 3.638	162.344 $\pm$ 0.236	243.424 $\pm$ 2.549
4'h	16.010 $\pm$ 0.796	79.435 $\pm$ 0.355	13.556 $\pm$ 0.127
4'i	202.322 $\pm$ 2.363	227.125 $\pm$ 1.036	171.656 $\pm$ 1.259
4'j	26.803 $\pm$ 0.563	78.959 $\pm$ 0.305	17.958 $\pm$ 0.986

5.3.2. Annexin V/EI yöntemi kullanılarak bileşiklerin apoptotik etkileri

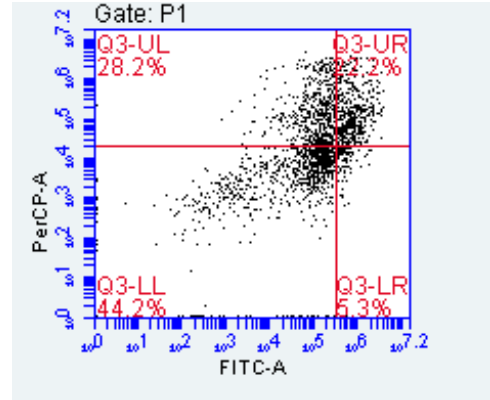
Antikanser etkinliğinin değerlendirilmesinde apoptozis çalışmaları büyük önem taşımaktadır. Çünkü bir bileşiğin antikanser etkisi kadar, bu etkinin güvenli mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşmesi de önemlidir. Şekil 5.114. 'te sunulan apoptozis diyagramlarında; Q3-LL kadranı canlı hücreleri, Q3-LR kadranı erken apoptotik hücreleri, Q3-UR kadranı geç apoptotik hücreleri ve Q3-UL kadranı nekrotik hücreleri temsil etmektedir. Deney sırasında kullanılan santrifüjleme ve tripsin gibi iç ve dış etkenler nekrozu tetikleyebileceğinden kontrol grubu da değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda toplam %0,7 apoptotik ve %4,1 nekrotik hücre tespit edilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan sisplatin IC_{50} değerinde %27,8 apoptozu ve %28,2 nekrozu indüklemiştir. Tüm bileşikler IC_{50} konsantrasyonlarında uygulanmış ve apoptotik ve nekrotik hücre dağılımları belirlenmiştir. Buna göre; **5d** %24,3 apoptoz ve %22,0 nekroz, **5e** %18,5 apoptoz ve %9,0 nekroz, **5h** %32,0 apoptoz ve %18,3 nekroz ve **5i** %41,5 apoptoz ve %14,0 nekroz indüklemiştir. Sonuçlar, hiçbir bileşiğin baskın olarak nekrotik etki göstermediğini, özellikle **5i**'nin yüksek oranda apoptoz indüklediğini göstermektedir.

KONTROL

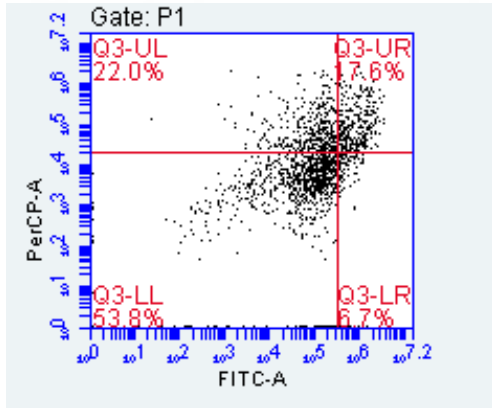


5d

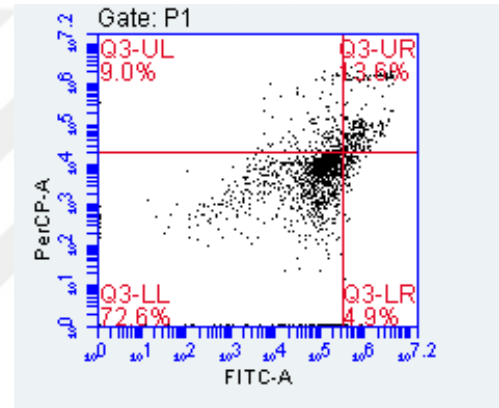
CISPLATIN



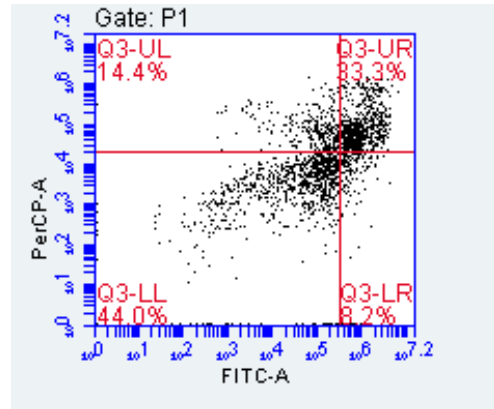
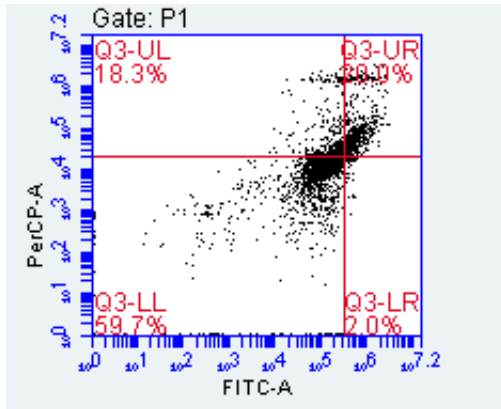
5e



5h



5i

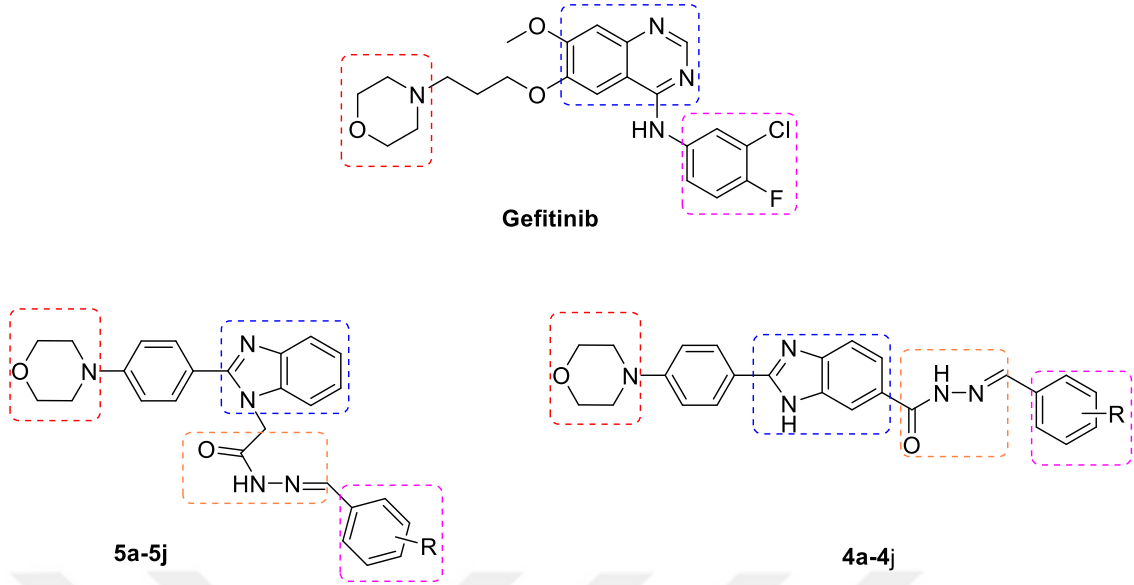


Şekil 5.114. A549 hücre hattında 5e, 5d, 5h ve 5i bileşiklerinin akış sitometrisi analiz diyagramları

5.4. Yapı-etki ilişkilerinin değerlendirilmesi

Tasarlanan bileşiklerdeki benzimidazol halkası, birçok EGFR inhibitöründe yaygın olarak bulunan kinazolin halkasının yapısal bir taklidi görevi görür. Docking çalışmalarında, bu benzimidazol halkasının (NH ve fenil halkası) enzimin aktif bölgesi içinde etkili bir şekilde etkileşime girdiği gözlemlenmiştir. Ek olarak, hidrazid grubunun oksijeninin EGFR enziminin aktif bölgesindeki anahtar amino asitlerle etkileşime girdiği ve bağlanma afinitesine daha da katkıda bulunduğu bulunmuştur. Fenil halkasındaki ikame edicilerle ilgili olarak, en aktif bileşiklerin tümü halojen atomları içerir. Yapısal özellikleri açısından Gefitinib'e en yakın olan, bir klor ve bir flor atomu içeren bileşik **5i**, diğerlerine kıyasla üstün aktivite sergilemiştir. Bileşik **5h**, 2 ve 4 pozisyonlarında iki klor atomu, bileşik **5d** bir flor atomu ve bileşik **5e** bir klor atomu içerir. En aktif bileşiklerde fenil halkasının klor ve flor ikamelerinin elektron çekici özelliği, muhtemelen EGFR inhibe edici potansiyelini artırmaktadır. Hedef bileşikler için tasarım yaklaşımı ve EGFR inhibitörlerinin yapı-aktivite ilişkisi (SAR) **Şekil 5.115**'te sunulmuştur.

Benzimidazol halkasının NH grubuna doğrudan bağlı hidrazid türevleri, halkasının 6. pozisyonunda ikame edilenlere kıyasla üstün biyolojik aktivite göstermiştir. Bu artan aktivite, benzimidazol NH'deki ikamenin hidrazid grubunun hedef enzimin aktif bölgesine daha serbestçe uzanmasına izin vererek daha güçlü hidrojen bağı ve uygun konformasyonel esneklik sağlamasına bağlanabilir. Buna karşılık, 6. karbon pozisyonundaki ikame, aromatik sistemden sterik kısıtlamalar ve elektronik etkiler getirir ve bu da hidrazid grubunun önemli etkileşimler için optimal yönelimini engelleyebilir. Sonuç olarak, NH bağlı hidrazid türevleri daha etkili bir etkileşim profili sergiler ve 6-ikameli muadillerine göre daha iyi aktivite sağlar.



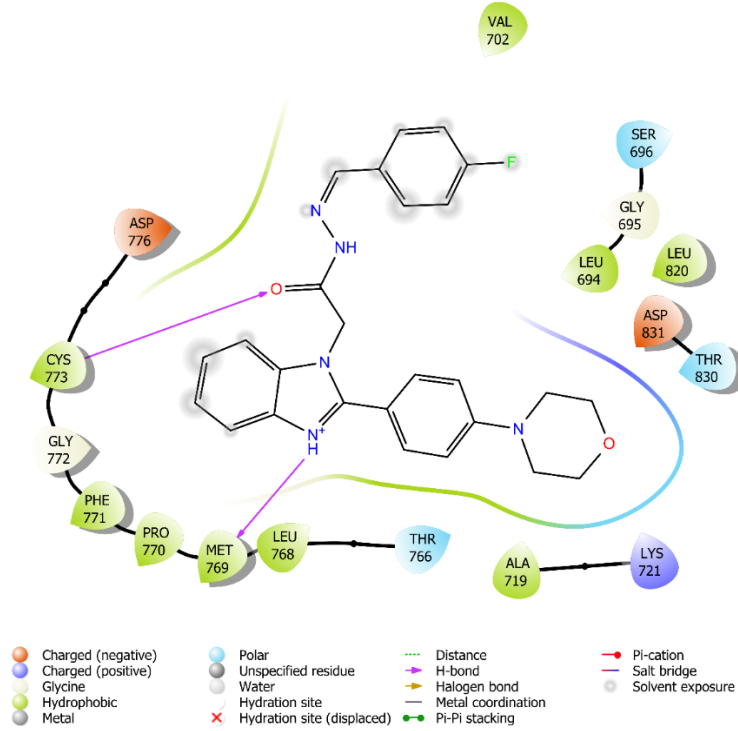
Şekil 5.115. Etkili EGFR inhibitörleri olarak sentezlenmiş benzimidazol türevlerinin yapı-aktivite ilişkisi.

5.5. Moleküler docking sonuçların değerlendirilmesi

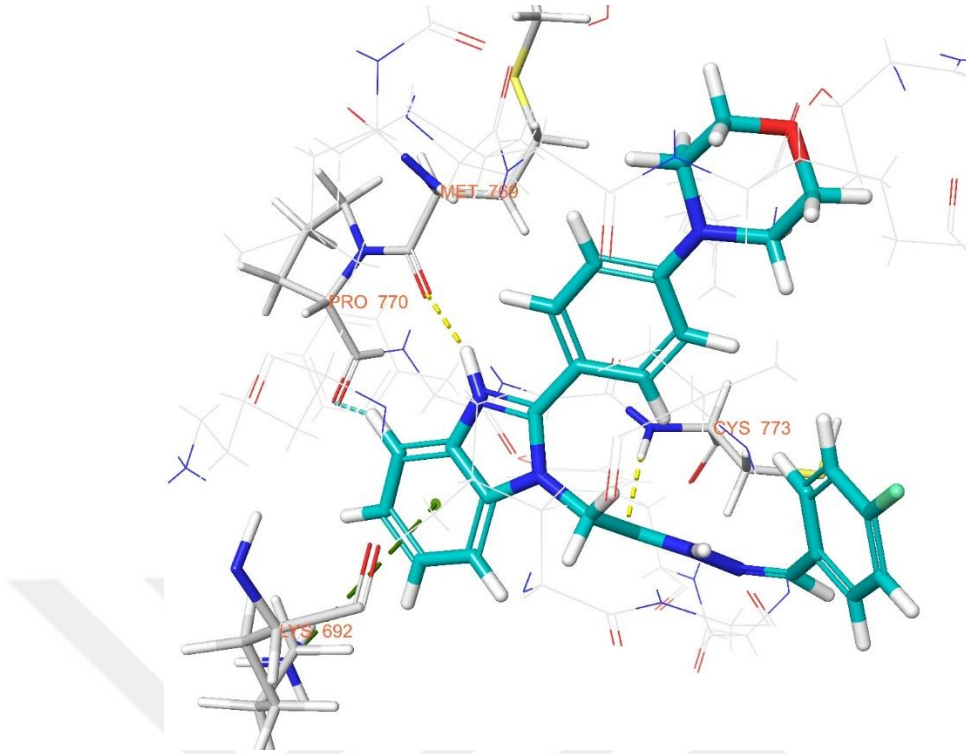
5.5.1. EGFR tirozin kinaz enzimi üzerine yapılan moleküler modelleme çalışmalarının kapsamlı incelemesi

En aktif bileşikler (**5d**, **5e**, **5h**, **5i**) için, PDB ID: 4HJO kristal yapısını kullanarak, EGFR enziminin aktif bölgesinde nasıl bağlandıklarını aydınlatmak için bir *in-silico* yaklaşımı kullanılarak moleküler docking araştırmaları yapılmıştır. EGFR enziminin kristal yapısı, Protein Veri Bankası sunucusundan alınmıştır. Bu hesaplama yöntemi, moleküler etkileşimlerin ve potansiyel bağlanma modlarının ayrıntılı bir şekilde incelenmesini sağlar ve EGFR inhibisyonunun altında yatan moleküler mekanizmalara ilişkin değerli bilgiler sağlar. Enzim yapısı, Schrödinger Maestro arayüzü kullanılarak oluşturulmuş ve ardından Schrödinger Suite 2018 içindeki Protein Hazırlama Sihirbazı protokolü ile işlenmiştir. Ligand, protonlanma durumlarını ve atom türlerini belirlemek için LigPrep modülü kullanılarak hazırlanmıştır. Bağlanma sıraları atanmış ve hidrojen atomları yapıya dahil edilmiştir. Glide modülü kullanılarak gridler oluşturulmuş ve standart hassasiyet (SP) docking modu kullanılarak docking çalışmaları gerçekleştirilmiştir. EGFR'de kinaz alanı içindeki ATP bağlanma bölgesi kritik hedeftir. Gefitinib, erlotinib ve yeni nesil inhibitörler, ATP'yi bloke etmek için önemli hidrojen bağlarını ve hidrofobik etkileşimleri kullanır. Met793, N-terminal ve C-terminal lobları arasındaki menteşe bölgesinde bulunur. Bu hidrojen bağı, ATP'nin adenin kısmını taklit ettiği için neredeyse

tüm ATP-rekabetçi EGFR inhibitörleri için çok önemlidir. Tez kapsamında sentezlenen ve EGFR tirozin kinaz enzimi üzerinde etkili olduğu belirlenen **5d**, **5e**, **5h** ve **5i** bileşiklerinin moleküler docking pozları **Şekil 5.116–5.123**'te gösterilmektedir. Bileşik **5d**'nin iki boyutlu docking pozlarında, benzimidazol halkasının NH atomu, Met769 ile inhibisyon için önemli bir hidrojen bağı oluşturmuştur. Karbonil grubundan gelen oksijen de Cys773 ile bir hidrojen bağı oluşturmuştur. Üç boyutlu pozisyonlarda, benzimidazolün fenil halkası ile amino asit Lys692 arasında bir π - π etkileşimi tespit edilmiş ve Pro770 ile bir hidrojen bağı da bulunmaktadır. Bu bileşiğin docking pozları **Şekil 5.116-5.117**'de gösterilmiştir.

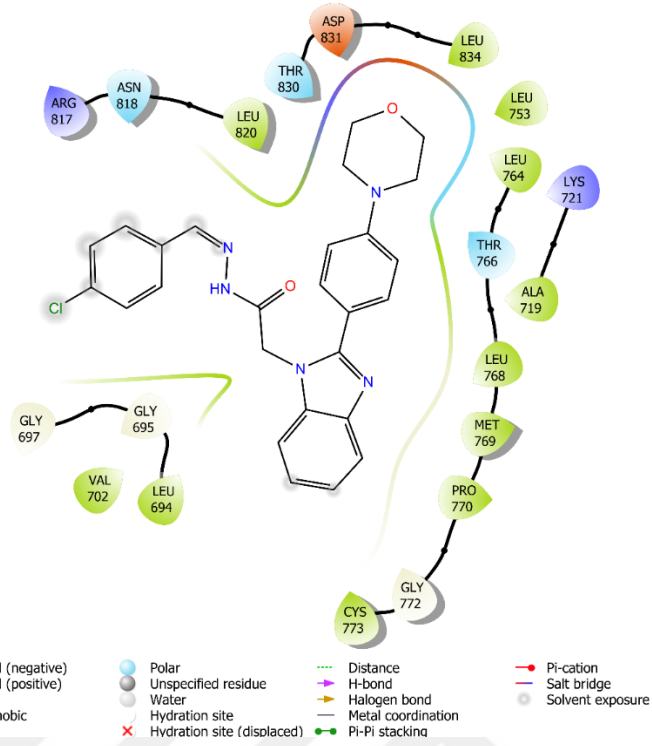


Şekil 5.116. 5d bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin iki boyutlu diyagramı.

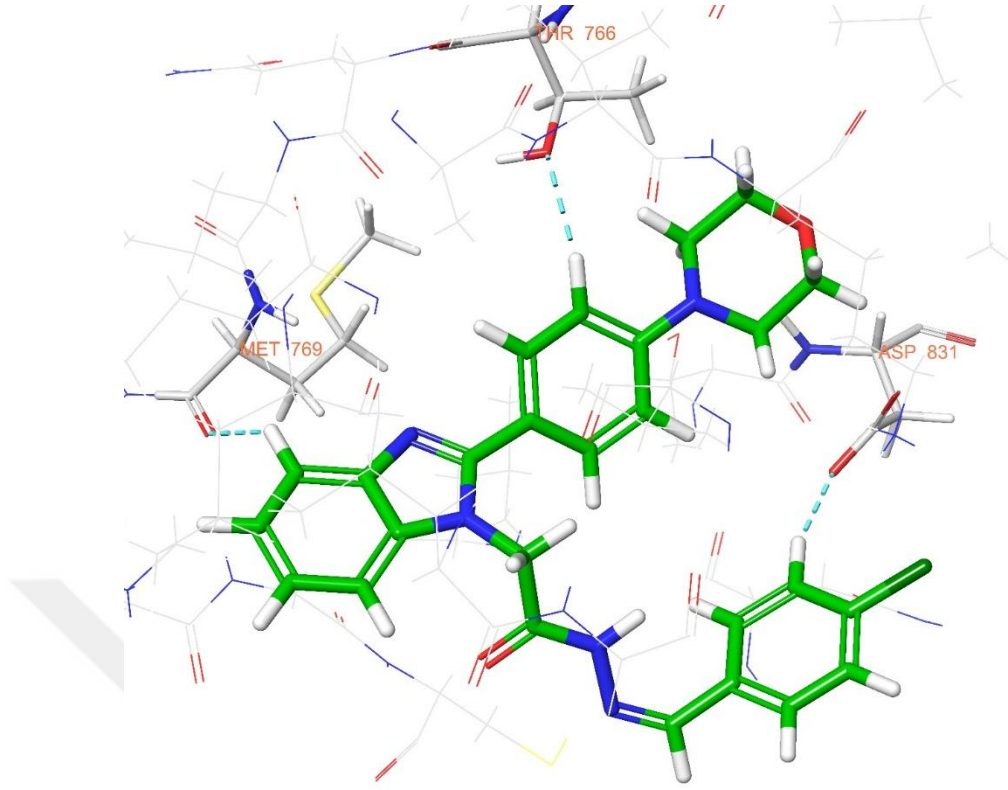


Şekil 5.117. 5d bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin üç boyutlu diyagramı.

Bileşik 5e'nin iki boyutlu docking pozlarında herhangi bir bağ bulunmamaktaydı, ancak üç boyutlu pozlarda benzimidazolün fenil halkası Met769 ile inhibisyon için önemli bir hidrojen bağı oluşturmuştur. Benzimidazol ve morfolin halkaları arasındaki diğer fenil halkası Thr766, hidrojen bağı yoluyla etkileşime girdi. 4-Cl süstitüe fenil halkası da Asp831 ile bir hidrojen bağı oluşturmuştur. Bu bileşiğin docking pozları **Şekil 5.118-5.119**'de gösterilmiştir.

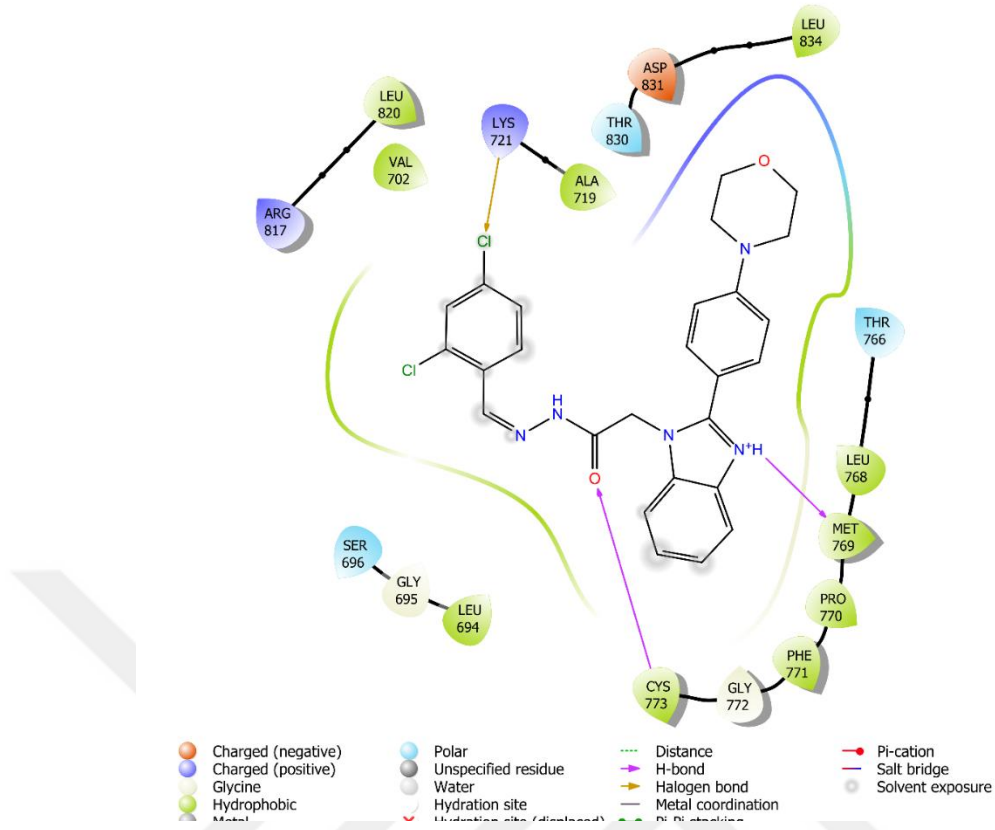


Şekil 5.118. 5e bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin iki boyutlu diyagramı.

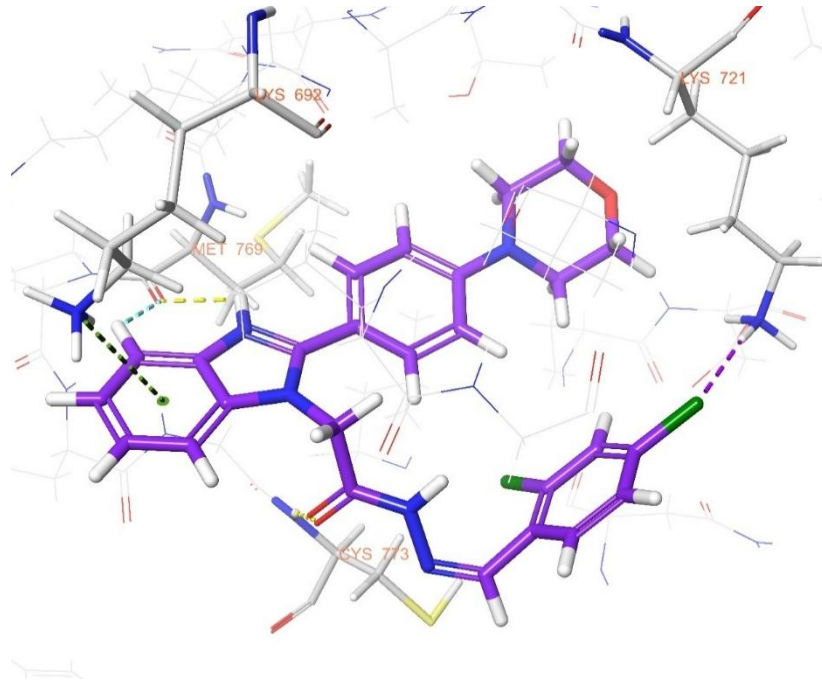


Şekil 5.119. 5e bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin üç boyutlu diyagramı.

Bileşik 5h'nin iki boyutlu docking pozlarında, benzimidazolün fenil halkası ile Met769 arasında inhibisyon için çok önemli bir hidrojen bağı oluşmuştur. Ayrıca fenil halkasının Cl ile Lys721 arasında bir halojen bağı oluşmuştur. Karbonil grubundan gelen oksijen de Cys773 ile bir hidrojen bağı oluşturmıştır. Üç boyutlu docking pozisyonlarında, benzimidazolün fenil halkası ile Lys692 kalıntısı arasında aromatik-aromatik (istifleme) etkileşimler gözlemlenmiştir. Moleküler modelleme sonuçları, bu etkileşimin ligand-reseptör stabilitesine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Bu bileşiğin docking pozları Şekil 5.120-5.121'de gösterilmiştir.

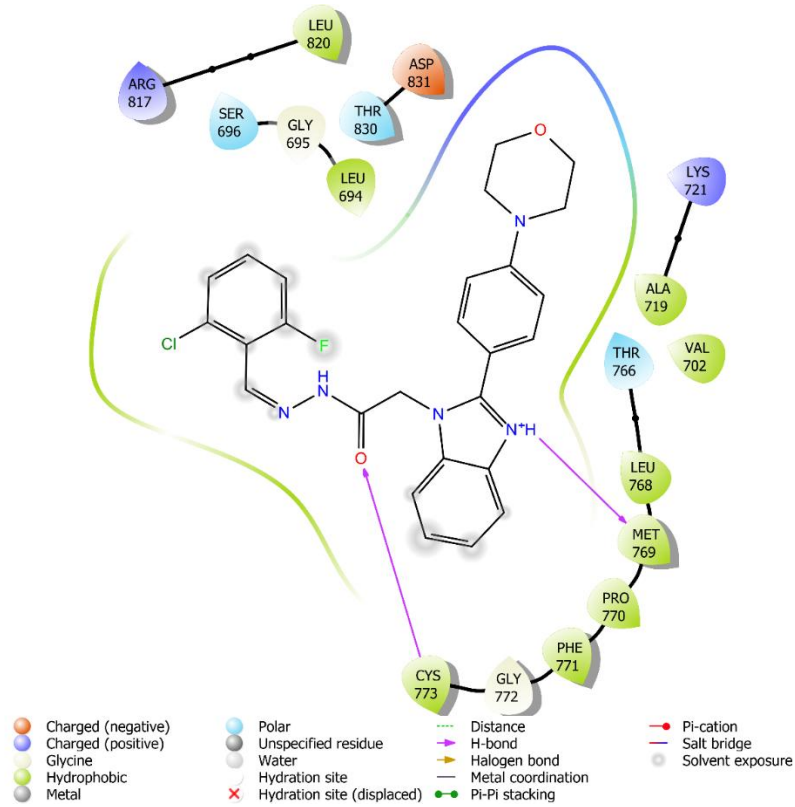


Şekil 5.120. 5h bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin iki boyutlu diyagramı.

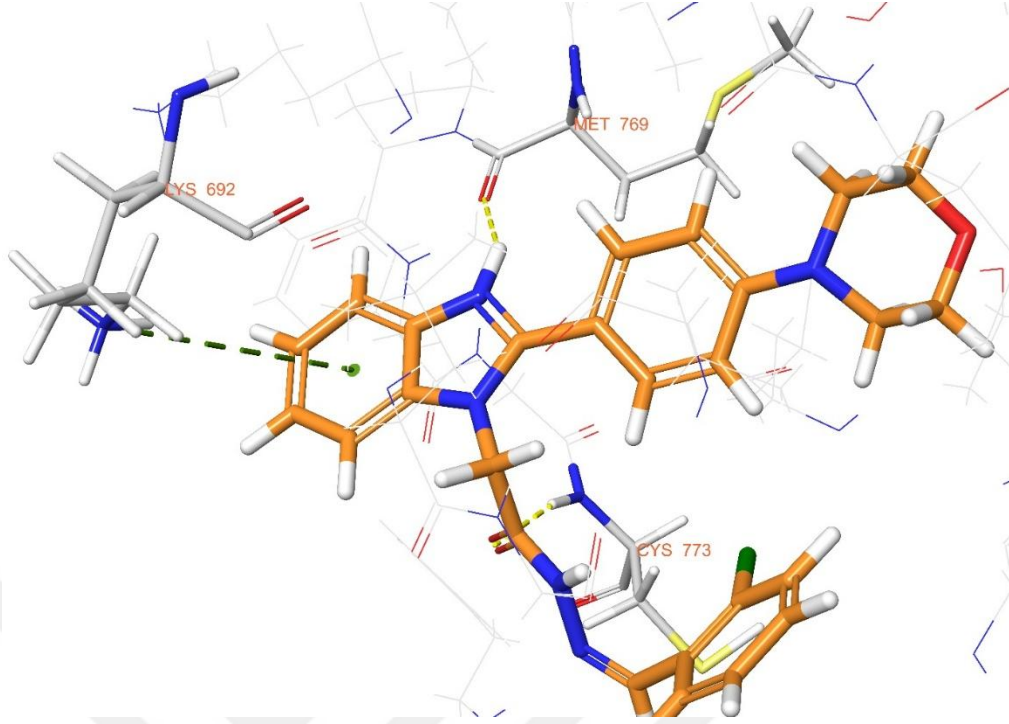


Şekil 5.121. 5h bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin üç boyutlu diyagramı.

Bileşik 5i'nin iki boyutlu docking pozlarında, benzimidazolün fenil halkası ile Met769 arasında inhibisyon için önemli bir hidrojen bağı da oluşturulmuştur. Karbonil grubundan gelen oksijen de Cys773 ile bir hidrojen bağı oluşturmuştur. Üç boyutlu docking pozisyonlarında, benzimidazolün fenil halkası ile Lys692 kalıntısı arasında aromatik-aromatik (istifleme) etkileşimler gözlemlenmiştir. Bu bileşiğin docking pozları Şekil 5.122-5.123'de gösterilmiştir.



Şekil 5.122. 5i bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin iki boyutlu diyagramı.



Şekil 5.123. 5i bileşiğinin EGFR enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin üç boyutlu diyagramı.

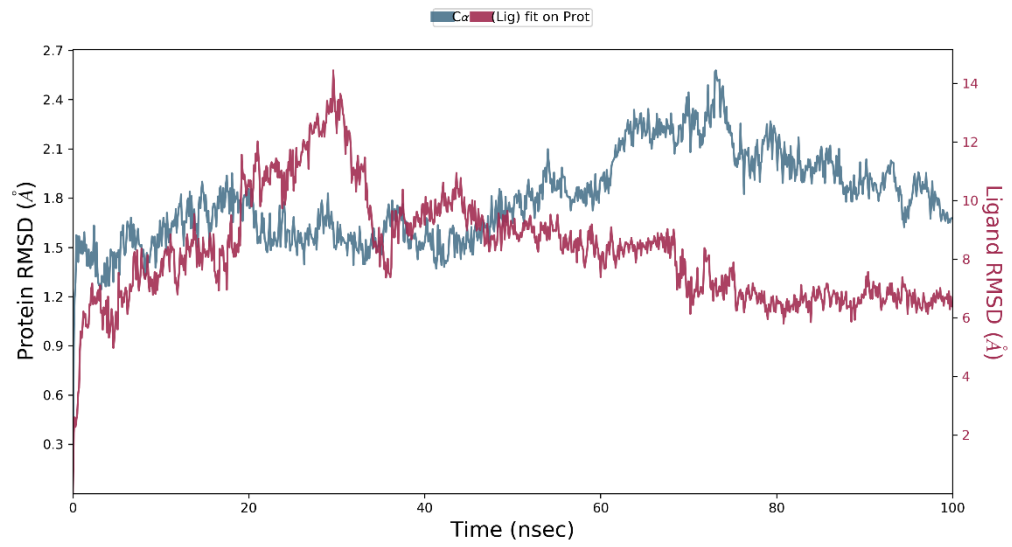
5.6. Moleküler dinamik sonuçların değerlendirilmesi

Moleküler docking çalışmaları, bir enzimin aktif bölgesinde ligandların bağlanma pozisyonları ve etkileşimleri hakkında önemli bilgiler sağlar. Bu çalışmalar, ligand-enzim tanıma sürecini anlamak için önemli olan potansiyel etkileşim noktalarını ortaya çıkaran statik anlık görüntüler üretir. Ancak, bu docking sonuçları yararlı olmakla birlikte, yalnızca ilk etkileşimi temsil ederler ve zaman içindeki sistemin dinamiklerini hesaba katmazlar. Bu önemlidir, çünkü bir ligandın gerçek aktivitesi, yalnızca belirli bir zamanda aktif bölgeye ne kadar iyi uyum sağladığıyla değil, aynı zamanda inhibisyon süreci boyunca stabil bağlanma ve etkileşimleri sürdürme kabiliyetiyle de belirlenir. Bu sorunu çözmek için, daha uzun bir süre boyunca ligand-enzim kompleksinin gerçek davranışını yansıttıkları için dinamik simülasyonlar çok önemlidir. Bu simülasyonlar, ligandın aktif bölgede nasıl davrandığını, stabilitesini, bağlanma süresini ve anahtar amino asitlerle etkileşimlerini ortaya çıkarır. Bu nedenle, dinamik çalışmalar bir ligandın biyolojik ortamda nasıl performans göstereceğini daha doğru bir şekilde temsil eder ve sürdürülebilir inhibisyon potansiyelini vurgular.

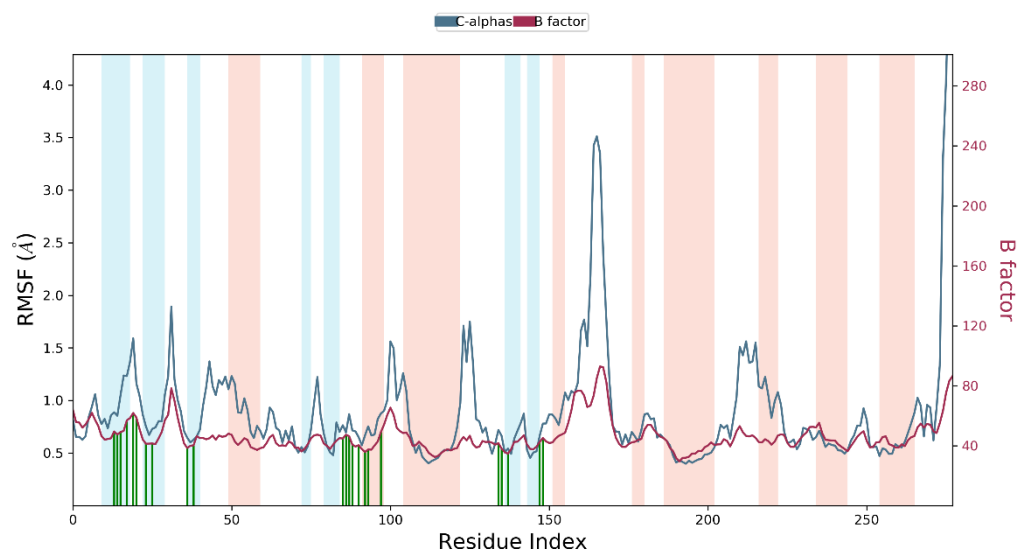
RMSF, simülasyon sırasında tek tek atomların veya kalıntıların dalgalanmalarını ölçer ve ligandın ve enzimin esnekliği hakkında bilgi sağlar. Bir ligandın aktif bölgede stabil kabul edilebilmesi için, etkileşime giren kalıntıların RMSF değerleri düşük, genellikle 1 Å'nin altında olmalıdır. Daha yüksek RMSF değerleri, ligandın sıkı bir şekilde bağlanmadığını veya enzimin aktif bölgesinde önemli bir harekete neden olduğunu ve bunun da inhibe edici potansiyelini tehlikeye atabileceğini gösterebilir.

The diagram shows a ligand molecule bound to a protein's active site. The ligand consists of a piperidine ring connected to a benzene ring, which is further connected to an imidazole ring system. A side chain containing a carbonyl group and an amine group is also present. The protein residues ARG 817, GLU 780, LEU 694, and VAL 693 are shown as spheres. Dashed lines indicate interactions between the ligand and these residues, as well as between water molecules (H₂O) and the ligand/protein. A green oval highlights a specific part of the ligand, likely the fluorophore.

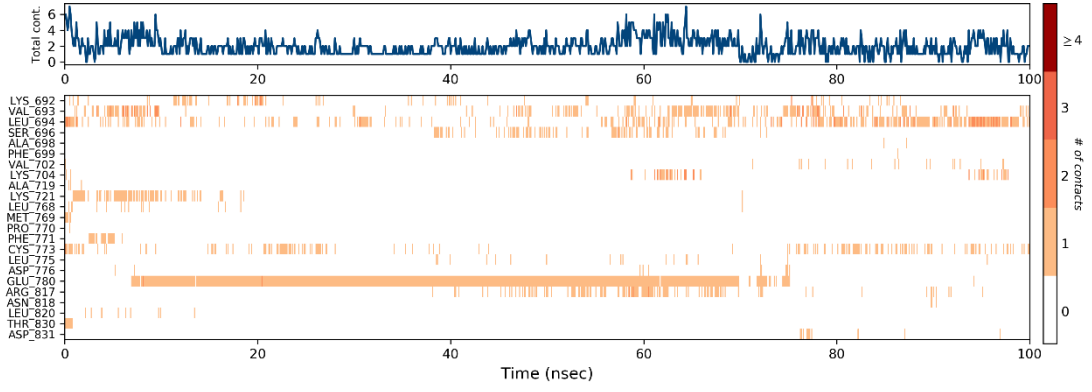
(B)



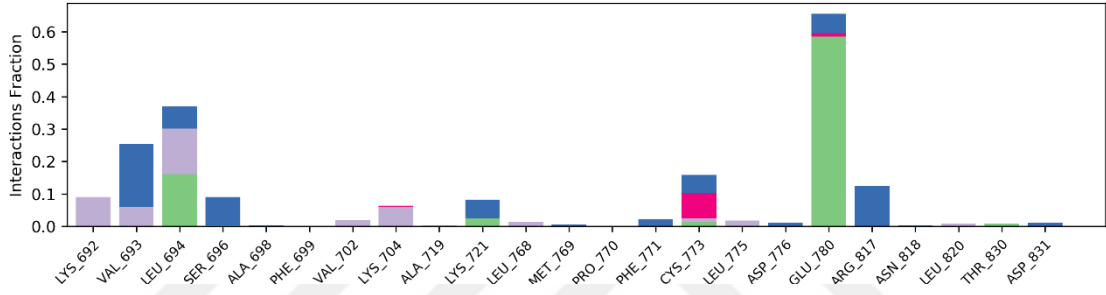
(C)



(D)

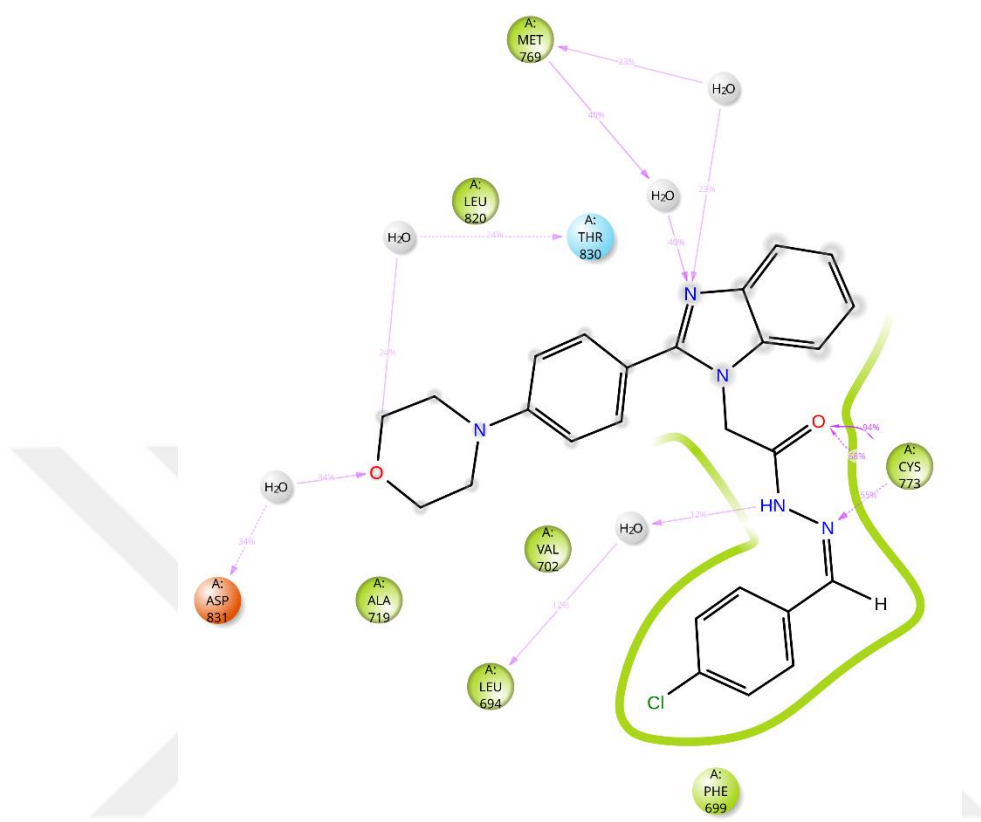


(E)

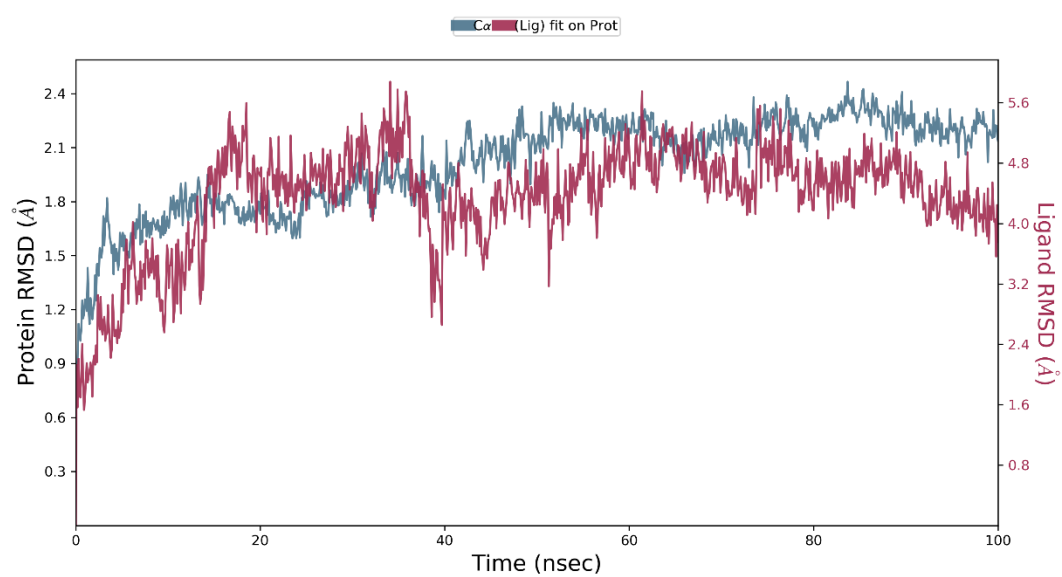


Şekil 5.124. Enzim aktif bölgesine bağlanan 5d bileşiğinin moleküler dinamik simülasyon sonuçları.

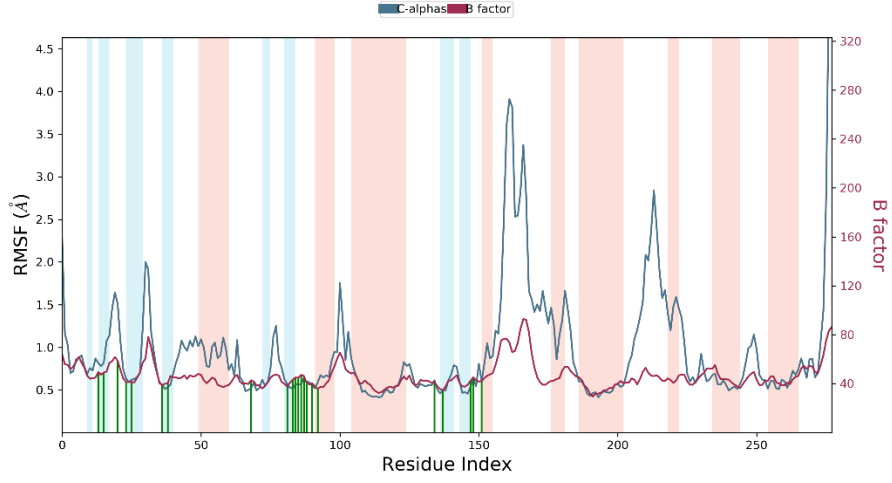
(A)



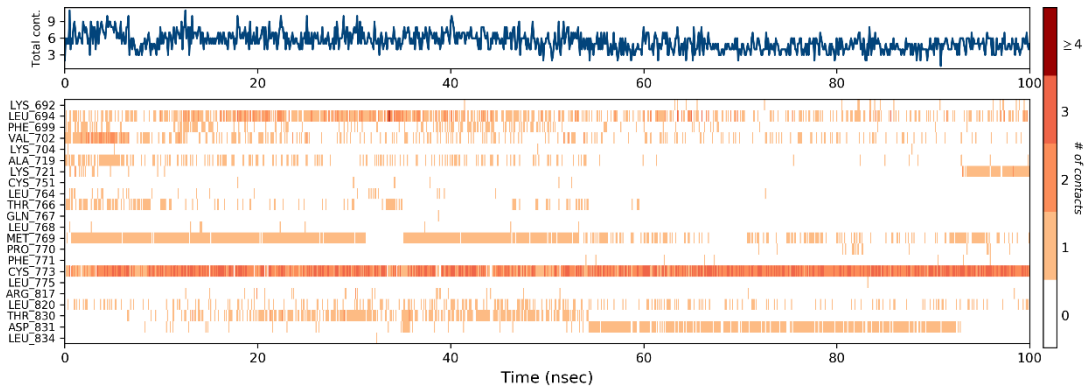
(B)



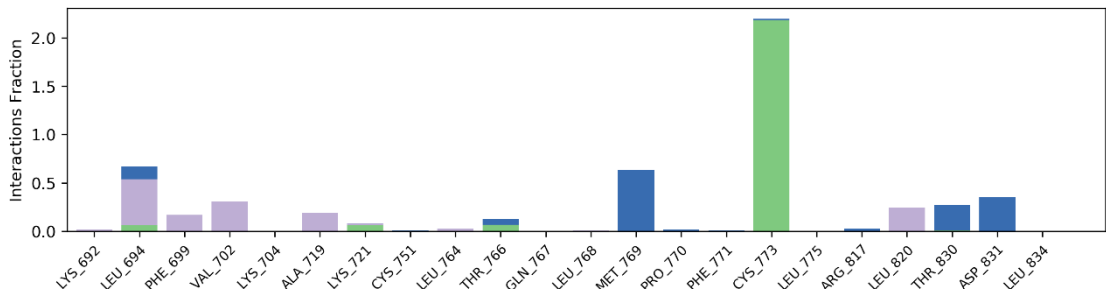
(C)



(D)

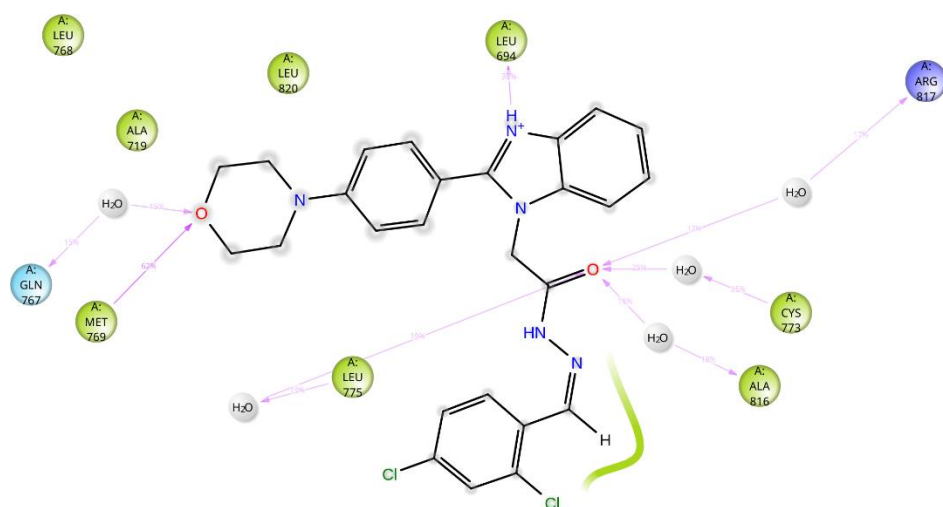


(E)

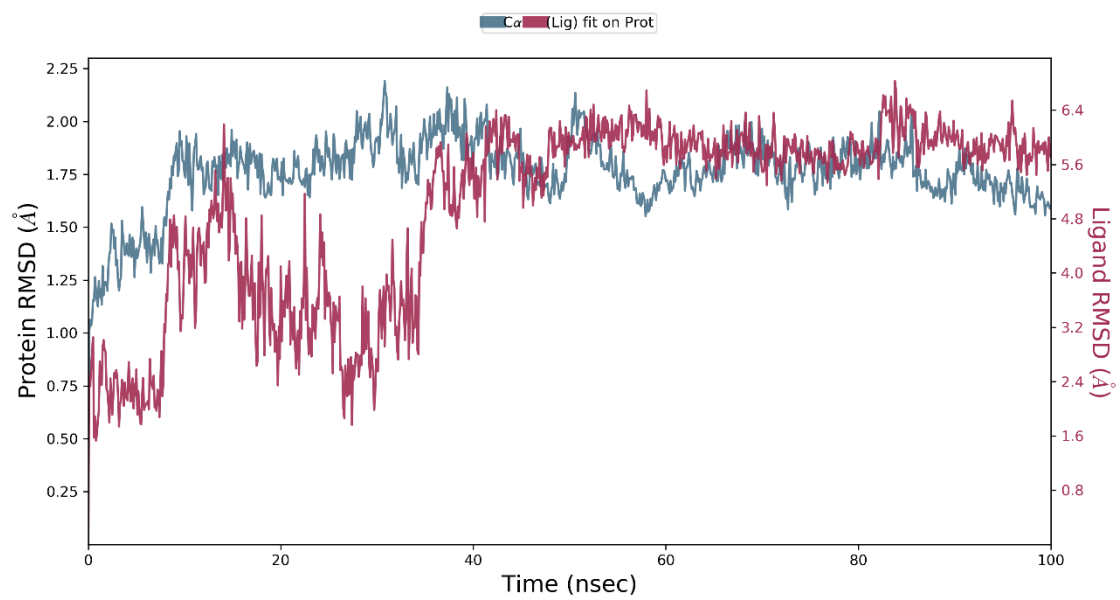


Şekil 5.125. Enzim aktif bölgesine bağlanan 5e bileşiğinin moleküler dinamik simülasyon sonuçları.

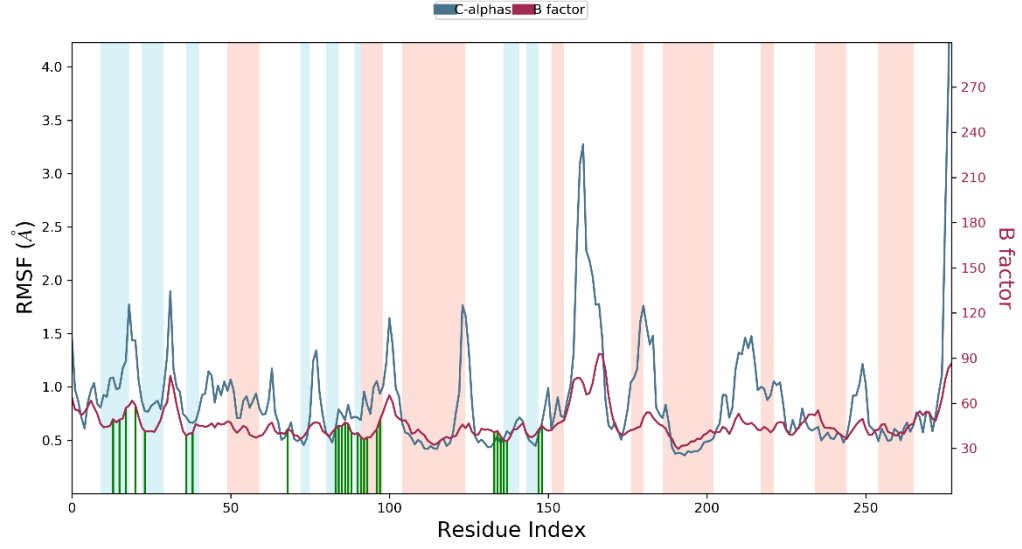
(A)



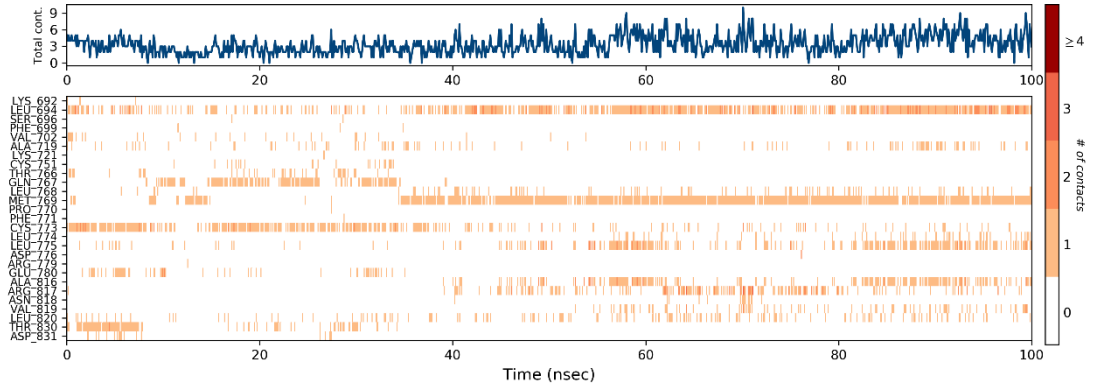
(B)



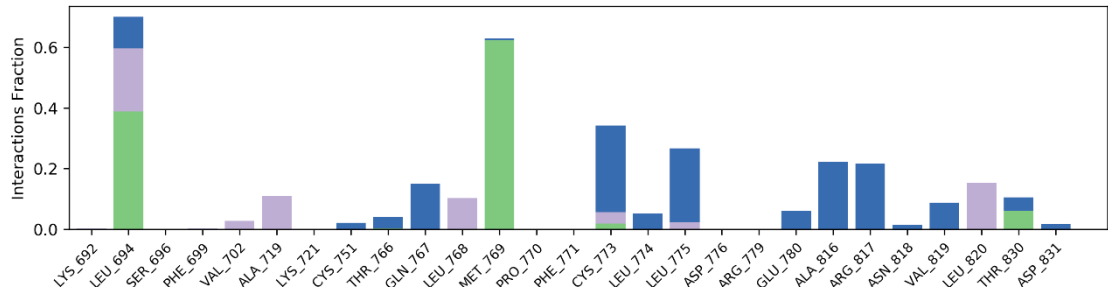
(C)



(D)

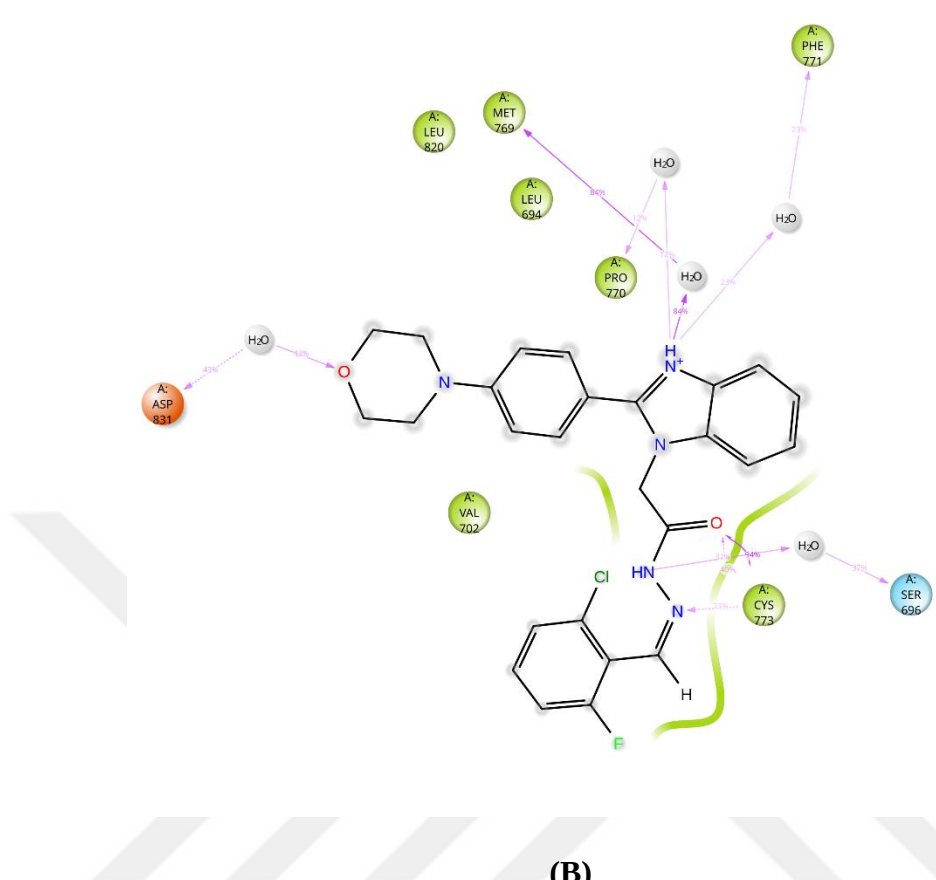


(E)

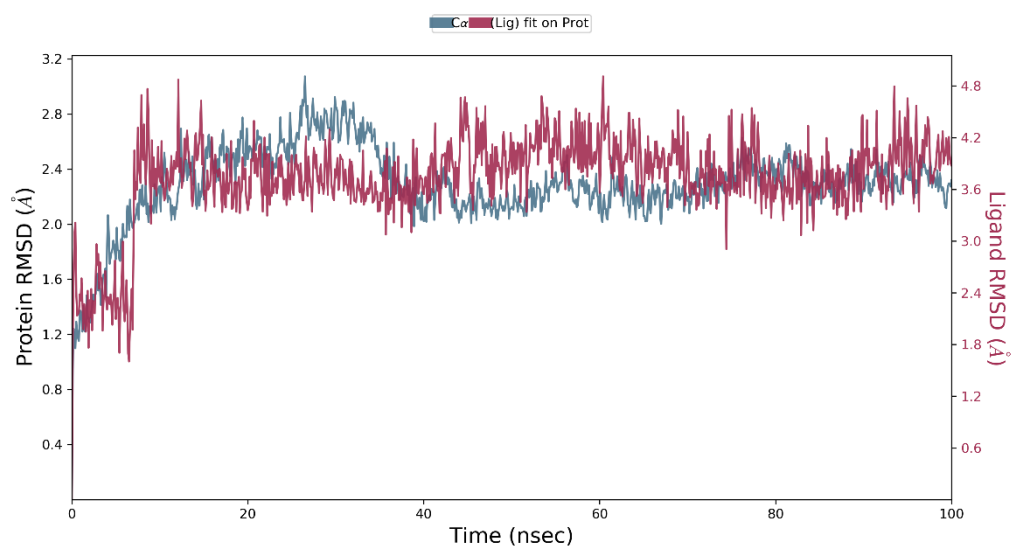


Şekil 5.126. Enzim aktif bölgesine bağlanan 5h bileşiğinin moleküler dinamik simülasyon sonuçları.

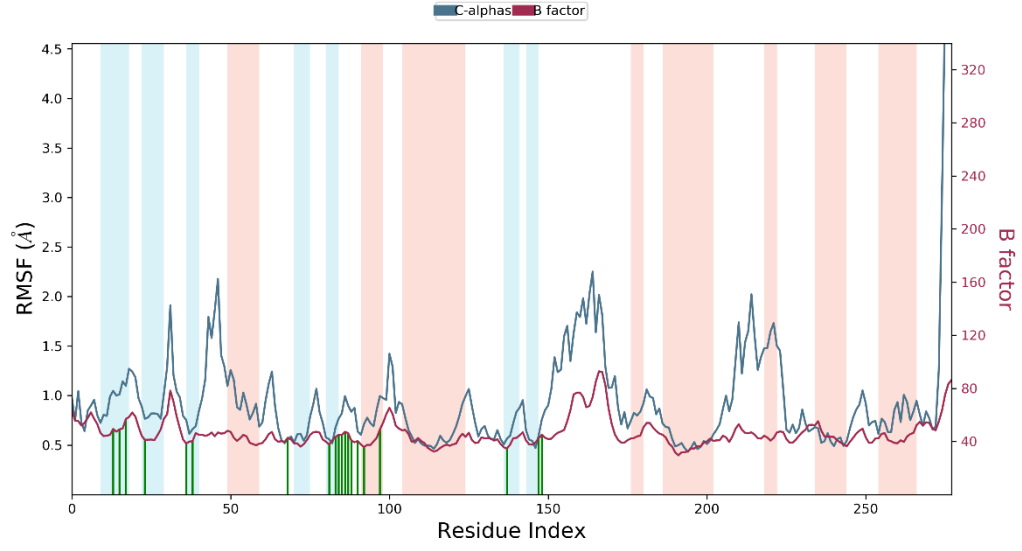
(A)



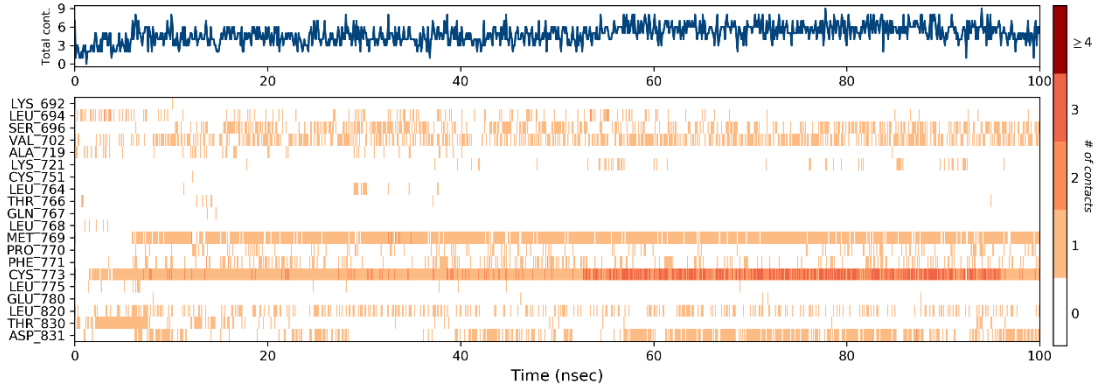
(B)



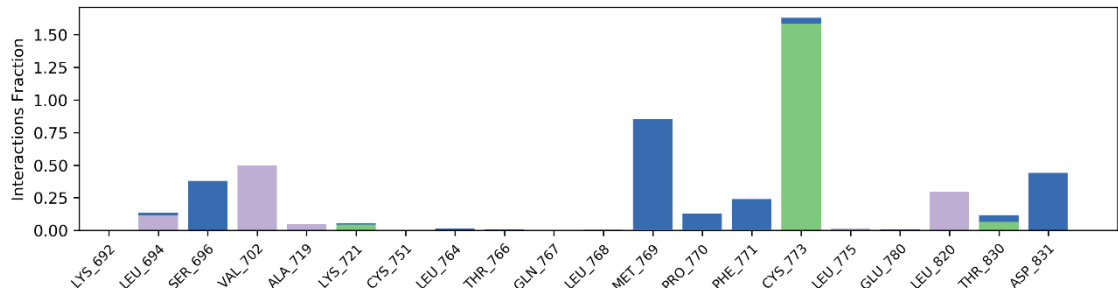
(C)



(D)



(E)



Şekil 5.127. Enzim aktif bölgesine bağlanan 5i bileşiğinin moleküler dinamik simülasyon sonuçları.

Şekil A'da, enzim aktif bölgesinde %15'ten fazla etkileşim gösteren amino asitler gösterilmektedir. Bu bileşiklerin RMSD değerlerinin kabul edilebilir bir aralıkta olduğu

tespit edildi, bu da simülasyon boyunca enzimin aktif bölgesinde stabil bir şekilde bağlı kaldıklarını göstermektedir. Özellikle, hiçbir bileşik 3 Å eşliğinin üzerinde RMSD değerleri göstermedi, bu da bağlanma pozisyonlarının önemli dalgalanmalara maruz kalmadığını göstermektedir. RMSD değerleri **Şekil 5.124-5.27'de B şekilleri** olarak sunulmuştur.

RMSF ile ilgili olarak, tüm bileşikler için temel amino asit etkileşim bölgelerinin çoğunun değerleri 1 Å'nin altındaydı. Bu, bileşiklerin enzimin aktif bölgesinde düşük düzeyde dalgalanmalar gösterdiğini ve bağlanmalarının kararlı ve tutarlı olduğu fikrini daha da güçlendirdiğini göstermektedir. RMSF değerleri **Şekil 5.124-5.27'de C şekilleri** olarak sunulmuştur.

Şekil D'de zaman bağımlı etkileşim grafiği bu etkileşimlerin sağlamlığını ve süresini göstermektedir.

Simülasyon süresi boyunca bileşikler-EGFR kompleksinin amino asit etkileşim profili histogramı **Şekil E'**de sunulmuştur. Histogram, bağlanmada rol oynayan anahtar kalıntıları vurgulamakta ve EGFR aktif bölgesi içindeki bileşik kompleksinin stabilitesini ortaya koymaktadır.

Bu dinamik simülasyon sonuçları, **5d, 5e, 5h** ve **5i** bileşiklerinin başlangıçta enzimin aktif bölgesine iyi bağlanmakla kalmayıp, simülasyon süresi boyunca stabilite ve minimum dalgalanma sergilediğine dair güçlü kanıtlar sunmaktadır. **5d, 5e, 5h, 5i** bileşiklerinin RMSF değerleri **Tablo 3'**te sunulmuştur.

Tablo 5.3. Bileşiklerin **5d, 5e, 5h, 5i** RMSF değerleri

Bileşik	RMSF
5d	Lys692 (0.89 Å), Val693 (0.85 Å), Leu694 (1.05 Å), Ser696 (1.23 Å), Ala698 (1.59 Å), Phe699 (1.16 Å), Val702 (0.75 Å), Lys704 (0.73 Å), Ala719 (0.65 Å), Lys721 (0.62 Å), Leu768 (0.76 Å), Met769 (0.70 Å), Pro770 (0.87 Å), Phe771 (0.71 Å), Cys773 (0.65 Å), Leu775 (0.67 Å), Asp776 (0.75 Å), Glu780 (0.88 Å), Arg817 (0.72 Å), Asn818 (0.66 Å), Leu820 (0.54 Å), Thr830 (0.66 Å), Asp831 (0.78 Å).

Tablo 5.3. (Devam) Bileşiklerin 5d, 5e, 5h, 5i RMSF değerleri

5e	Lys692 (0.81 Å), Leu694 (0.82 Å), Phe699 (1.51 Å), Val702 (0.63 Å), Lys704 (0.62 Å), Ala719 (0.56 Å), Lys721 (0.53 Å), Cys751 (0.52 Å), Leu764 (0.57 Å), Thr766 (0.52 Å), Gln767 (0.56 Å), Leu768 (0.57 Å), Met769 (0.56 Å), Pro770 (0.64 Å), Phe771 (0.60 Å), Cys773 (0.55 Å), Leu775 (0.59 Å), Arg817 (0.61 Å), Val819 (0.46 Å), Thr830 (0.54 Å), Asp831 (0.64 Å), Gly833 (0.81 Å)
5h	Lys692 (1.09 Å), Leu694 (0.99 Å), Ser696 (1.24 Å), Phe699 (1.43 Å), Val702 (0.77 Å), Ala719 (0.72 Å), Lys721 (0.66 Å), Cys751 (0.59 Å), Thr766 (0.60 Å), Gln767 (0.79 Å), Leu768 (0.75 Å), Met769 (0.69 Å), Pro770 (0.83 Å), Phe771 (0.70 Å), Cys773 (0.71 Å), Leu774 (0.69 Å), Leu775 (0.96 Å), Asp776 (0.83 Å), Arg779 (1.05 Å), Glu780 (0.94 Å), Ala816 (0.48 Å), Ala818 (0.47 Å), Val819 (0.51 Å), Leu820 (0.58 Å), Thr830 (0.56 Å), Asp831 (0.66 Å).
5i	Lys692 (1.05 Å), Leu694 (1.01 Å), Ser696 (1.00 Å), Val702 (0.77 Å), Ala719 (0.75 Å), Lys721 (0.66 Å), Cys751 (0.56 Å), Leu764 (0.56 Å), Thr766 (0.68 Å), Gln767 (0.77 Å), Leu768 (0.82 Å), Met769 (0.99 Å), Pro770 (0.90 Å), Phe771 (0.84 Å), Cys773 (0.64 Å), Leu775 (0.71 Å), Glu780 (0.99 Å),), Leu820 (0.56 Å), Thr830 (0.60 Å), Asp831 (0.76 Å).

5.7. Bileşiklerin Fizikokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Çözünürlük değerlendirmesi, Log S değerleri 0'ın altında kaldığı ve 6 eşliğini aşmadığı için hiçbir bileşiğin önemli çözünürlük sorunları sergilemesi beklenmediğini göstermiştir. Sentezlenen tüm bileşikler, sekiz veya daha az sayıda dönebilen bağ ile karakterize edilen yüksek moleküler esneklik sergilemektedir. Ayrıca, analiz, **4'a-4'j** serisindeki hiçbir bileşiğin kan-beyin bariyerini (KBB) geçme olasılığının düşük olduğunu göstermektedir. Ancak **5a-5j** serisindeki bazı bileşikler bu bariyeri geçmektedir. Her iki seride de gastrointestinal (GI) emilimin yüksek olacağı tahmin edilmektedir. İlaç benzeri özellikler açısından, moleküler ağırlığı 500'den yüksek olan **5h** hariç, tüm bileşikler genel olarak Lipinski'nin Beş Kuralına uymaktadır. Sentetik erişilebilirlik tüm bileşiklerde 4'ün altındadır.

Tablo 5.4. Hedef bileşiğin fizikokimyasal özellikleri, farmakokinetik profili, ilaç benzeri özellikleri ve sentetik erişilebilirliği (**4'a-4'j**; **5a-5j**).

	Fizikokimyasal Özellikler							Farmakokinetik		İlaç Benzerliği	Med.Kim.
	MA	DBS	HBA	HBD	TPSA	CLogP	Log S	GİE	KBBg	LKİ (V)	SE
4'a	425.48	6	4	2	82.61	3.48	-4.97	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.24
4'b	439.51	6	4	2	82.61	3.85	-5.27	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.38
4'c	455.51	7	5	2	91.84	3.46	-5.04	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.35
4'd	443.47	6	5	2	82.61	3.73	-5.13	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.26
4'e	459.93	6	4	2	82.61	3.96	-5.56	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.25
4'f	470.48	7	6	2	128.43	2.67	-5.03	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.41
4'g	450.49	6	5	2	106.40	3.26	-4.92	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.34
4'h	494.37	6	4	2	82.61	4.47	-6.15	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.35
4'i	477.92	6	5	2	82.61	4.22	-5.72	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.42
4'j	471.57	7	4	2	107.91	3.97	-5.48	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.42
5a	439.51	7	4	1	71.75	3.42	-5.05	Yüksek	Evet	Evet (0)	3.55
5b	453.54	7	4	1	71.75	3.76	-5.35	Yüksek	Evet	Evet (0)	3.68
5c	469.53	8	5	1	80.98	3.43	-5.12	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.65
5d	457.50	7	5	1	71.75	3.72	-5.21	Yüksek	Evet	Evet (0)	3.57
5e	473.95	7	4	1	71.75	3.94	-5.65	Yüksek	Evet	Evet (0)	3.55
5f	484.51	8	6	1	117.57	2.69	-5.12	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.70
5g	464.52	7	5	1	95.94	3.20	-5.00	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.64
5h	508.40	7	4	1	71.75	4.45	-6.24	Yüksek	Evet	Evet (1) MW>500	3.63
5i	491.94	7	5	1	71.75	4.20	-5.81	Yüksek	Evet	Evet (0)	3.69
5j	485.60	8	4	1	97.05	3.97	-5.56	Yüksek	Hayır	Evet (0)	3.71

MA=Moleküler ağırlığı; **DBS**=Dönebilir bağ sayısı; **HBA**=Hidrojen bağ alıcı sayısı; **HBD**=Hidrojen donörü sayısı; **TPSA**=Topolojik Polar Yüzey Alanı; **cLog Po/w**=n-oktanol/su bölüşüm katsayısı; **Log S**=Su çözünürlüğü; **GİE**=Gastrointestinal emilim; **KBBg**=Kan-beyin bariyeri geçirgenliği; **LKİ (V)**=Lipinski nin beş kuralı (değer); **SE**=Sentetik erişilebilirlik.

6 SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Bu doktora tezinde, literatürde iyi bilinen bir antikanser ajanı olan gefitinib'den esinlenerek 20 yeni bileşik tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bu sentezlenen bileşiklerin yapısal doğruluğu, kapsamlı karakterizasyon yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D NMR ve HRMS analizleri, yapısal doğruluğu teyit etmiş ve tasarlanan türevlerin güvenilirliğini sağlamıştır. Bu, sentezlenen bileşiklerin kimyasal bütünlüğünü ve literatürde yayınlanmaya uygunluğunu teyit etmiştir. Bileşiklerin sitotoksik potansiyeli, A549 ve MCF-7 kanser hücre hatlarına kıyasla seçicilik açısından normal NIH3T3 hücre hattında analiz edildi. Bunlar arasında, **5i**, **5h**, **5d** ve **5e** bileşikler, sırasıyla $3,11 \pm 0,09 \mu\text{M}$, $10,03 \pm 0,12 \mu\text{M}$, $12,33 \pm 0,94 \mu\text{M}$ ve $15,75 \pm 0,86 \mu\text{M}$ IC₅₀ değerleri ile A549 hücrelerine karşı en güçlü aktiviteyi göstermiştir. Özellikle, bu bileşikler MCF-7 hücrelerine karşı çok daha zayıf aktivite göstermiş, sadece **5h** ($23,79 \pm 0,20 \mu\text{M}$) ve **5e** ($29,94 \pm 0,24 \mu\text{M}$) ölçülebilir etkiler göstermiştir. Önemli olarak, aktif bileşikler NIH3T3 normal hücrelerinde yüksek IC₅₀ değerleri göstermiş, bu da seçici sitotoksikite ve uygun bir güvenlik profili olduğunu göstermiştir.

Mekanizma çalışmaları bu bulguları daha da desteklemektedir. Akış sitometrisi analizleri, aktif bileşiklerin apoptoz aracılı hücre ölümünü indüklediğini ortaya koymaktadır. Docking çalışmaları, bilinen EGFR inhibitörlerinin kinazolin kısmının yapısal bir taklidi olarak tasarlanan benzimidazol halkasının, enzimin aktif bölgesi ile etkili bir şekilde etkileşime girdiğini doğruladı.

Benzimidazolün NH grubu ve fenil halkası ile karbonil oksijeninin temel kalıntılarla hidrojen bağına katıldığı, fenil halkasındaki halojen ikame bileşiklerinin ise bağlanma afinitesini artırdığı bulunmuştur. Bununla tutarlı olarak, en aktif bileşiklerin tümü (**5d**, **5e**, **5h** ve **5i**) halojen atomları içermektedir. Özellikle, bir klor ve bir flor atomu içeren bileşik **5i**, yapısal olarak gefitinibe benziyor ve sentezlenen tüm türevler arasında en güçlü inhibe edici aktiviteyi sergilemiştir.

Biyolojik ve docking çalışmalarının yanı sıra, ADME değerlendirmeleri de gerçekleştirilmiştir. Tüm bileşikler iyi çözünürlük profilleri (Log S < 0, 6 eşliğini aşmayan) ve yüksek moleküler esneklik (≤ 8 döndürülebilir bağ) sergilemiştir. Çoğu türevinin yüksek gastrointestinal emilime sahip olduğu tahmin edilirken, sadece **5a–5j** serisinden bazı bileşiklerin kan-beyin bariyerini geçebileceği tahmin edilmiştir. İlaç benzeri değerlendirme sonuçları, moleküler ağırlığı (>500) nedeniyle bileşik **5h** hariç,

Lipinski'nin Beş Kuralına geniş ölçüde uyum olduğunu göstermiştir. Sentetik erişilebilirlik puanları 4'ün altındaydı, bu da sentezin uygulanabilirliğini yansıtmaktadır.

Bu bulgular bir araya getirildiğinde, bileşik **5i**'nin güçlü antikanser aktivitesi, EGFR hedefli etkileşimleri, uygun seçiciliği ve ilaç benzeri özellikleri bir araya getiren en umut verici aday olduğu ortaya çıkmaktadır. Gelecekteki çalışmalar, daha etkili ve seçici EGFR inhibitörleri geliştirmek amacıyla, yapı-aktivite ilişkilerine dayalı olarak sübstitüentlerin optimizasyonuna odaklanacaktır.



KAYNAKÇA

- Abbas, Z., & Rehman, S. (2018). An Overview of Cancer Treatment Modalities. In *Neoplasms*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76558>
- Abd El-Aleam, R. H., Sayed, A. M., Taha, M. N., George, R. F., Georgey, H. H., & Abdel-Rahman, H. M. (2022). Design and synthesis of novel benzimidazole derivatives as potential *Pseudomonas aeruginosa* anti-biofilm agents inhibiting LasR: Evidence from comprehensive molecular dynamics simulation and in vitro investigation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 241, 114629. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114629>
- Abdullah, M. N., Abd Hamid, S., Muhamad Salhimi, S., Jalil, N. A. S., Al-Amin, M., & Jumali, N. S. (2023). Design and synthesis of 1-sec/tert-butyl-2-chloro/nitrophenylbenzimidazole derivatives: Molecular docking and in vitro evaluation against MDA-MB-231 and MCF-7 cell lines. *Journal of Molecular Structure*, 1277, 134828. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134828>
- Abdullahi, S. H., Moin, A. T., Uzairu, A., Umar, A. B., Ibrahim, M. T., Usman, M. T., Nawal, N., Bayil, I., & Zubair, T. (2023). Molecular docking studies of some benzoxazole and benzothiazole derivatives as VEGFR-2 target inhibitors: In silico design, MD simulation, pharmacokinetics and DFT studies. *Intelligent Pharmacy*. <https://doi.org/10.1016/j.ipha.2023.11.010>
- Acar Çevik, U., Kaya Çavuşoğlu, B., Sağlık, B. N., Osmaniye, D., Levent, S., Ilgın, S., Özkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A. (2020). Synthesis, Docking Studies and Biological Activity of New Benzimidazole- Triazolothiadiazine Derivatives as Aromatase Inhibitor. *Molecules*, 25(7), 1642. <https://doi.org/10.3390/molecules25071642>
- Akhtar, Md. J., Khan, A. A., Ali, Z., Dewangan, R. P., Rafi, Md., Hassan, Md. Q., Akhtar, Md. S., Siddiqui, A. A., Partap, S., Pasha, S., & Yar, M. S. (2018). Synthesis of stable benzimidazole derivatives bearing pyrazole as anticancer and EGFR receptor inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 78, 158–169. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.03.002>
- Aljewari Hazim Saadoon, Nader Mohammed Ibraheem, Alfaisal Abdul Hussain M., & Weerapreeyakul Natthida. (2010). High Efficiency, Selectivity against Cancer Cell Line of Purified L-Asparaginase from Pathogenic *Escherichia coli*. *International*

- Altıntop, M. D., Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Ilgın, S., Atlı, Ö., Demirel, R., & Kaplancıklı, Z. A. (2015). A novel series of thiazolyl-pyrazoline derivatives: Synthesis and evaluation of antifungal activity, cytotoxicity and genotoxicity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 92, 342–352. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.12.055>
- Altıntop, M., Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Ilgın, S., Atlı, Ö., Demirci, F., & Kaplancıklı, Z. (2014). Synthesis and in Vitro Evaluation of New Nitro-Substituted Thiazolyl Hydrazone Derivatives as Anticandidal and Anticancer Agents. *Molecules*, 19(9), 14809–14820. <https://doi.org/10.3390/molecules190914809>
- Al-Warhi, T., Said, M., El Hassab, M., Aljaeed, N., Ghabour, H., Almahli, H., Eldehna, W., & Abdel-Aziz, H. (2020). Unexpected Synthesis, Single-Crystal X-ray Structure, Anticancer Activity, and Molecular Docking Studies of Certain 2–((Imidazole/Benzimidazol-2-yl)thio)–1-arylethanones. *Crystals*, 10(6), 446. <https://doi.org/10.3390/cryst10060446>
- Alzahrani, H. A., Alam, M. M., Elhenawy, A. A., Malebari, A. M., & Nazreen, S. (2022). Synthesis, antiproliferative, docking and DFT studies of benzimidazole derivatives as EGFR inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, 1253, 132265. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132265>
- American Cancer Society. (n.d.). *What Are Neoplasms and Tumors?* [Http://Cancer.Org/Cancer/Understanding-Cancer/What-Is-Cancer/Neoplasms-and-Tumors.Html](http://Cancer.Org/Cancer/Understanding-Cancer/What-Is-Cancer/Neoplasms-and-Tumors.Html).
- Annenkov, A. (2014). Receptor Tyrosine Kinase (RTK) Signalling in the Control of Neural Stem and Progenitor Cell (NSPC) Development. *Molecular Neurobiology*, 49(1), 440–471. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8532-5>
- Asami, K. (2014). Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors for non-small cell lung cancer. *World Journal of Clinical Oncology*, 5(4), 646. <https://doi.org/10.5306/wjco.v5.i4.646>
- Ayati, A., Moghimi, S., Salarinejad, S., Safavi, M., Pouramiri, B., & Foroumadi, A. (2020). A review on progression of epidermal growth factor receptor (EGFR)

- inhibitors as an efficient approach in cancer targeted therapy. *Bioorganic Chemistry*, 99, 103811. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103811>
- Bade, B. C., & Dela Cruz, C. S. (2020). Lung Cancer 2020. *Clinics in Chest Medicine*, 41(1), 1–24. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2019.10.001>
- Bansal, Y., & Silakari, O. (2012). The therapeutic journey of benzimidazoles: A review. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20(21), 6208–6236. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.09.013>
- Battaglin, F., Puccini, A., Ahcene Djaballah, S., & Lenz, H.-J. (2019). <p>The impact of panitumumab treatment on survival and quality of life in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer</p>. *Cancer Management and Research, Volume 11*, 5911–5924. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S186042>
- Belal, A., Abdel Gawad, N. M., Mehany, A. B. M., Abourehab, M. A. S., Elkady, H., Al-Karmalawy, A. A., & Ismael, A. S. (2022). Design, synthesis and molecular docking of new fused 1H-pyrroles, pyrrolo[3,2-d]pyrimidines and pyrrolo[3,2-e][1,4]diazepine derivatives as potent EGFR/CDK2 inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 37(1), 1884–1902. <https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2096019>
- Bilfinger, T. V., Albano, D., Perwaiz, M., Keresztes, R., & Nemesure, B. (2018). Survival Outcomes Among Lung Cancer Patients Treated Using a Multidisciplinary Team Approach. *Clinical Lung Cancer*, 19(4), 346–351. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2018.01.006>
- Bostancı, H. E., Maryam, Z., Kapavarapu, R., Bal, H., Bağcı, E. R., Celik, F. K., Basaran, S., Yıldırım, Ş., Ahmet Kılıç, H., Kocyigit, U. M., Işık, A., Özensoy Güler, Ö., Cevik, U. A., & Kaplancıklı, Z. A. (2025). Synthesis and in silico study of novel benzimidazole derivatives bearing oxadiazole moiety as potential carbonic anhydrase inhibitors, anticancer and antioxidant agents. *Journal of Molecular Structure*, 1342, 142750. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2025.142750>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>

- Brishty, S. R., Hossain, Md. J., Khandaker, M. U., Faruque, M. R. I., Osman, H., & Rahman, S. M. A. (2021). A Comprehensive Account on Recent Progress in Pharmacological Activities of Benzimidazole Derivatives. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.762807>
- Bruce E. Johnson, Thomas Fischer, Berthold Fischer, David Dunlop, Danny Rischin, Sandra Silberman, Mildred Ortu Kowalski, & Deanne Sayles. (2003). Phase II Study of Imatinib in Patients with Small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research*, 9, 5880–5887.
- Carl Peters. (n.d.). *Kinase assays*. <https://www.bmg-labtech.com/en/blog/kinase-assays/>.
- Celik, İ., Ayhan-Kılıçgil, G., Guven, B., Kara, Z., Gurkan-Alp, A. S., Karayel, A., & Onay-Besikci, A. (2019). Design, synthesis and docking studies of benzimidazole derivatives as potential EGFR inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 173, 240–249. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.04.012>
- Çevik, U. A., Celik, I., Işık, A., Pillai, R. R., Tallei, T. E., Yadav, R., Özkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A. (2022). Synthesis, molecular modeling, quantum mechanical calculations and ADME estimation studies of benzimidazole-oxadiazole derivatives as potent antifungal agents. *Journal of Molecular Structure*, 1252, 132095. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132095>
- Çevik, U. A., Kaya, B., Celik, I., Rudrapal, M., Rakshit, G., Karayel, A., Levent, S., Osmaniye, D., Sağlık Özkan, B. N., Baysal, M., Atlı Eklioğlu, Ö., Özkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A. (2024). New Benzimidazole-Triazole Derivatives as Topoisomerase I Inhibitors: Design, Synthesis, Anticancer Screening, and Molecular Modeling Studies. *ACS Omega*. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c10345>
- Çevik, U. A., Osmaniye, D., Çavuşoğlu, B. K., Sağlık, B. N., Levent, S., Ilgin, S., Can, N. Ö., Özkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A. (2019). Synthesis of novel benzimidazole–oxadiazole derivatives as potent anticancer activity. *Medicinal Chemistry Research*, 28(12), 2252–2261. <https://doi.org/10.1007/s00044-019-02451-0>
- Chen, J., Xu, L., Wang, B., Zhang, D., Zhao, L., Bei, Z., & Song, Y. (2023). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Benzimidazole Derivatives as Potential

- Lassa Virus Inhibitors. *Molecules*, 28(4), 1579.
<https://doi.org/10.3390/molecules28041579>
- Chen, X.-M., Zhou, J.-Y., Liu, S.-Q., Song, L.-H., Wang, H.-L., Wang, Q., Liang, S.-M., Lu, L., Wei, J.-H., Huang, R., & Zhang, Y. (2023). Design, synthesis, and antitumor evaluation of morpholine substituted bisnaphthalimides as DNA targeting agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 85, 129218.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2023.129218>
- Clark, L. K., & Cullati, S. N. (2025). Activation is only the beginning: mechanisms that tune kinase substrate specificity. *Biochemical Society Transactions*, 53(01), 145–159. <https://doi.org/10.1042/BST20241420>
- Cohen, M. H., Johnson, J. R., Chen, Y.-F., Sridhara, R., & Pazdur, R. (2005). FDA Drug Approval Summary: Erlotinib (Tarceva®) Tablets. *The Oncologist*, 10(7), 461–466.
<https://doi.org/10.1634/theoncologist.10-7-461>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- Dastari, S., Pradhan, S., Thakur, V., Reddyrajula, R., Chilvery, S., Godugu, C., & Shankaraiah, N. (2025). Design, synthesis and biological evaluation of spirocyclopropyl oxindole-piperazine/morpholine-based carboxamides as potential anticancer agents. *Bioorganic Chemistry*, 163, 108784.
<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2025.108784>
- Debela, D. T., Muzazu, S. G., Heraro, K. D., Ndalama, M. T., Mesele, B. W., Haile, D. C., Kitui, S. K., & Manyazewal, T. (2021). New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. *SAGE Open Medicine*, 9.
<https://doi.org/10.1177/20503121211034366>
- Del Re, M., Cucchiara, F., Petrini, I., Fogli, S., Passaro, A., Crucitta, S., Attili, I., De Marinis, F., Chella, A., & Danesi, R. (2020). erbB in NSCLC as a molecular target: current evidences and future directions. *ESMO Open*, 5(4), e000724.
<https://doi.org/10.1136/esmoopen-2020-000724>
- Demir Özkay, Ü., Can, Ö. D., Sağlık, B. N., Acar Çevik, U., Levent, S., Özkay, Y., Ilgın, S., & Atlı, Ö. (2016). Design, synthesis, and AChE inhibitory activity of new

- benzothiazole–piperazines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26(22), 5387–5394. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.10.041>
- Dhahagani, K., Kesavan, M. P., Gujuluva Gangatharan Vinoth, K., Ravi, L., Rajagopal, G., & Rajesh, J. (2018). Crystal structure, optical properties, DFT analysis of new morpholine based Schiff base ligands and their copper(II) complexes: DNA, protein docking analyses, antibacterial study and anticancer evaluation. *Materials Science and Engineering: C*, 90, 119–130. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.04.032>
- Diao, Z., Han, Y., Zhang, R., & Li, J. (2020). Circulating tumour DNA: A new biomarker to monitor resistance in NSCLC patients treated with EGFR-TKIs. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1873(2), 188363. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188363>
- Dickerson, H., Diab, A., & Al Musaimi, O. (2024). Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors in Cancer: Current Use and Future Prospects. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(18), 10008. <https://doi.org/10.3390/ijms251810008>
- Du, Z., Sun, J., Zhang, Y., Hesilaiti, N., Xia, Q., Cui, H., Fan, N., & Xu, X. (2023). Structure-Guided Strategies of Targeted Therapies for Patients with EGFR-Mutant Non–Small Cell Lung Cancer. *Biomolecules*, 13(2), 210. <https://doi.org/10.3390/biom13020210>
- Duma, N., Santana-Davila, R., & Molina, J. R. (2019). Non–Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clinic Proceedings*, 94(8), 1623–1640. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.01.013>
- Ebenezer, O., Oyetunde-Joshua, F., Omotoso, O. D., & Shapi, M. (2023). Benzimidazole and its derivatives: Recent Advances (2020–2022). *Results in Chemistry*, 5, 100925. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.100925>
- Engelman, J. A., & Jänne, P. A. (2005). Factors Predicting Response to EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 26(03), 314–322. <https://doi.org/10.1055/s-2005-871990>
- Essmann, U., Perera, L., Berkowitz, M. L., Darden, T., Lee, H., & Pedersen, L. G. (1995). A smooth particle mesh Ewald method. *The Journal of Chemical Physics*, 103(19), 8577–8593. <https://doi.org/10.1063/1.470117>

- Fu, K., Xie, F., Wang, F., & Fu, L. (2022). Therapeutic strategies for EGFR-mutated non-small cell lung cancer patients with osimertinib resistance. *Journal of Hematology & Oncology*, 15(1), 173. <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01391-4>
- Ganie, A. M., Dar, A. M., Khan, F. A., & Dar, B. A. (2019). Benzimidazole Derivatives as Potential Antimicrobial and Antiulcer Agents: A Mini Review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 19(16), 1292–1297. <https://doi.org/10.2174/1381612824666181017102930>
- Gibbons, D. L., & Byers, L. A. (2014). A HER 1-2 Punch: Dual EGFR Targeting Deals Resistance a Deadly Blow. *Cancer Discovery*, 4(9), 991–994. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-14-0791>
- Haider, K., & Shahar Yar, M. (2022). *Advances of Benzimidazole Derivatives as Anticancer Agents: Bench to Bedside*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101702>
- Han, Y., Dong, W., Guo, Q., Li, X., & Huang, L. (2020). The importance of indole and azaindole scaffold in the development of antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 203, 112506. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112506>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hoover, W. G. (1985). Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. *Physical Review A*, 31(3), 1695–1697. <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.31.1695>
- Humphreys, D. D., Friesner, R. A., & Berne, B. J. (1994). A Multiple-Time-Step Molecular Dynamics Algorithm for Macromolecules. In *J. Phys. Chem* (Vol. 98). <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Jain, P., Sharma, P. K., Rajak, H., Pawar, R. S., Patil, U. K., & Singour, P. K. (2010). Design, synthesis and biological evaluation of some novel benzimidazole derivatives for their potential anticonvulsant activity. *Archives of Pharmacal Research*, 33(7), 971–980. <https://doi.org/10.1007/s12272-010-0701-8>
- Jiao, Q., Bi, L., Ren, Y., Song, S., Wang, Q., & Wang, Y. (2018). Advances in studies of tyrosine kinase inhibitors and their acquired resistance. *Molecular Cancer*, 17(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0801-5>

- Jiménez, G., Shvartsman, S. Y., & Paroush, Z. (2012). The Capicua repressor – a general sensor of RTK signaling in development and disease. *Journal of Cell Science*, 125(6), 1383–1391. <https://doi.org/10.1242/jcs.092965>
- Kannekanti, P. kumar, Nukala, S. K., Bandari, S., Jyothi, M., Manchal, R., & Thirukovela, N. S. (2024). Design and synthesis of some new imidazole-morpholine-1,2,4-oxadiazole hybrids as EGFR targeting in vitro anti-breast cancer agents. *Journal of Molecular Structure*, 1310, 138209. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.138209>
- Kazandjian, D., Blumenthal, G. M., Yuan, W., He, K., Keegan, P., & Pazdur, R. (2016). FDA Approval of Gefitinib for the Treatment of Patients with Metastatic *EGFR* Mutation–Positive Non–Small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research*, 22(6), 1307–1312. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-2266>
- Knight, S. R. (2021). Global variation in postoperative mortality and complications after cancer surgery: a multicentre, prospective cohort study in 82 countries. *The Lancet*, 397(10272), 387–397.
- Koné, A., Souleymane, C., Kalo, M., Tchambaga Etienne, C., Collet, S., & Sissouma, D. (2025). Synthesis of novel benzimidazole-based retrochalcones and their anticancer activity against breast and colon cancer. *Synthetic Communications*, 55(2), 175–182. <https://doi.org/10.1080/00397911.2024.2440026>
- Krause, D. S., & Van Etten, R. A. (2005). Tyrosine Kinases as Targets for Cancer Therapy. *New England Journal of Medicine*, 353(2), 172–187. <https://doi.org/10.1056/NEJMr044389>
- Lee, Y. T., Tan, Y. J., & Oon, C. E. (2023). Benzimidazole and its derivatives as cancer therapeutics: The potential role from traditional to precision medicine. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 13(2), 478–497. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.09.010>
- Lelais, G., Epplé, R., Marsilje, T. H., Long, Y. O., McNeill, M., Chen, B., Lu, W., Anumolu, J., Badiger, S., Bursulaya, B., DiDonato, M., Fong, R., Juarez, J., Li, J., Manuia, M., Mason, D. E., Gordon, P., Groessl, T., Johnson, K., ... Michellys, P.-Y. (2016). Discovery of (R, E)-N-(7-Chloro-1-(1-[4-(dimethylamino)but-2-enoyl]azepan-3-yl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-2-methylisonicotinamide

- (EGF816), a Novel, Potent, and WT Sparing Covalent Inhibitor of Oncogenic (L858R, ex19del) and Resistant (T790M) EGFR Mutants for the Treatment of EGFR Mutant Non-Small-Cell Lung Cancers. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(14), 6671–6689. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01985>
- Li, Y., Tan, C., Gao, C., Zhang, C., Luan, X., Chen, X., Liu, H., Chen, Y., & Jiang, Y. (2011). Discovery of benzimidazole derivatives as novel multi-target EGFR, VEGFR-2 and PDGFR kinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19(15), 4529–4535. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.06.022>
- Liao, B.-C., Lin, C.-C., Lee, J.-H., & Yang, J. C.-H. (2016). Update on recent preclinical and clinical studies of T790M mutant-specific irreversible epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Journal of Biomedical Science*, 23(1), 86. <https://doi.org/10.1186/s12929-016-0305-9>
- Liu, J., Gao, J., Jing, R., Lin, S., Zhou, Y., Zhang, Z., Han, E., Jin, F., Hou, Y., Li, C., Chen, Y., Shen, J., & Ding, S. (2025). Design, synthesis and biological evaluation of novel 4-(thieno[3,2-d]pyrimidin-4-yl)morpholine derivatives as potent antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 293, 117671. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2025.117671>
- Liu, X., Shi, D., Zhou, S., Liu, H., Liu, H., & Yao, X. (2018). Molecular dynamics simulations and novel drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 13(1), 23–37. <https://doi.org/10.1080/17460441.2018.1403419>
- Maestro* (10.6). (2020). Schrödinger.
- Martyna, G. J., Tobias, D. J., & Klein, M. L. (1994). Constant pressure molecular dynamics algorithms. *The Journal of Chemical Physics*, 101(5), 4177–4189. <https://doi.org/10.1063/1.467468>
- Matthews, H. K., Bertoli, C., & de Bruin, R. A. M. (2022). Cell cycle control in cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(1), 74–88. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00404-3>
- M.D.I. Tools, Schrödinger Release 2018-3: Prime, 2018, Schrödinger LLC: New York, NY, USA* (2020). (n.d.).

- Meisel, A., & Hochmair, M. (2020). Critical Review of EGFR-Mutated NSCLC: What We Do and Do Not Know. *Healthbook TIMES Oncology Hematology*, 3, 20–35. <https://doi.org/10.36000/hbT.OH.2020.03.012>
- Michael Andreeff, David W. Goodrich, & Arthur B. Pardee. (2003). Proliferation. In Donald W Kufe, Raphael E Pollock, Ralph R Weichselbaum, Robert C Bast, Ted S Gansler, James F Holland, & Emil Frei (Eds.), *Cancer Medicine-6* (6th edition).
- Milunovic, M. N. M., Ohui, K., Besleaga, I., Petrasheuskaya, T. V., Dömötör, O., Enyedy, É. A., Darvasiova, D., Rapta, P., Barbieriková, Z., Vegh, D., Tóth, S., Tóth, J., Kucsma, N., Szakács, G., Popović-Bijelić, A., Zafar, A., Reynisson, J., Shutalev, A. D., Bai, R., ... Arion, V. B. (2024). Copper(II) Complexes with Isomeric Morpholine-Substituted 2-Formylpyridine Thiosemicarbazone Hybrids as Potential Anticancer Drugs Inhibiting Both Ribonucleotide Reductase and Tubulin Polymerization: The Morpholine Position Matters. *Journal of Medicinal Chemistry*, 67(11), 9069–9090. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.4c00259>
- Mirgany, T. O., Rahman, A. F. M. M., & Alanazi, M. M. (2024). Design, synthesis, and mechanistic evaluation of novel benzimidazole-hydrazone compounds as dual inhibitors of EGFR and HER2: Promising candidates for anticancer therapy. *Journal of Molecular Structure*, 1309, 138177. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.138177>
- Mokhtari, R. B., Homayouni, T. S., Baluch, N., Morgatskaya, E., Kumar, S., Das, B., & Yeger, H. (2017). Combination therapy in combating cancer. *Oncotarget*, 8(23), 38022–38043. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16723>
- Morcross, M. M., Abdelhafez, E. S. M. N., Ibrahim, R. A., Abdel-Rahman, H. M., Abdel-Aziz, M., & Abou El-Ella, D. A. (2020). Design, synthesis, mechanistic studies and in silico ADME predictions of benzimidazole derivatives as novel antifungal agents. *Bioorganic Chemistry*, 101, 103956. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103956>
- Mulugeta, E., & Samuel, Y. (2022). Synthesis of Benzimidazole-Sulfonyl Derivatives and Their Biological Activities. *Biochemistry Research International*, 2022, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2022/7255299>
- Murtuza, A., Bulbul, A., Shen, J. P., Keshavarzian, P., Woodward, B. D., Lopez-Diaz, F. J., Lippman, S. M., & Husain, H. (2019). Novel Third-Generation EGFR Tyrosine

- Kinase Inhibitors and Strategies to Overcome Therapeutic Resistance in Lung Cancer. *Cancer Research*, 79(4), 689–698. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-1281>
- MUSA MUSILIYU A., BADISA VEERA L.D., LATINWO LEKAN M., WARYOBA CAROLINE, & UGOCHUKWU NGOZI. (2010). In Vitro Cytotoxicity of Benzopyranone Derivatives with Basic Side Chain Against Human Lung Cell Lines. *ANTICANCER RESEARCH*, 30(11), 4613–4618.
- Narasimhan, B., Sharma, D., & Kumar, P. (2012). Benzimidazole: a medicinally important heterocyclic moiety. *Medicinal Chemistry Research*, 21(3), 269–283. <https://doi.org/10.1007/s00044-010-9533-9>
- Noor, A., Qazi, N. G., Nadeem, H., Khan, A., Paracha, R. Z., Ali, F., & Saeed, A. (2017). Synthesis, characterization, anti-ulcer action and molecular docking evaluation of novel benzimidazole-pyrazole hybrids. *Chemistry Central Journal*, 11(1), 85. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0314-0>
- Okombo, J., Brunschwig, C., Singh, K., Dziwornu, G. A., Barnard, L., Njoroge, M., Wittlin, S., & Chibale, K. (2019). Antimalarial Pyrido[1,2- *a*]benzimidazole Derivatives with Mannich Base Side Chains: Synthesis, Pharmacological Evaluation, and Reactive Metabolite Trapping Studies. *ACS Infectious Diseases*, 5(3), 372–384. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.8b00279>
- Omotuyi, O., Olatunji, O. M., Nash, O., Oyinloye, B., Soremekun, O., Ijagbuji, A., & Fatumo, S. (2023). Benzimidazole compound abrogates SARS-COV-2 receptor-binding domain (RBD)/ACE2 interaction In vitro. *Microbial Pathogenesis*, 176, 105994. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.105994>
- Osmaniye, D., Ahmad, I., Sağlık, B. N., Levent, S., Patel, H. M., Ozkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A. (2023). Design, synthesis and molecular docking and ADME studies of novel hydrazone derivatives for AChE inhibitory, BBB permeability and antioxidant effects. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 41(18), 9022–9038. <https://doi.org/10.1080/07391102.2022.2139762>
- Osmaniye, D., Görgülü, Ş., Sağlık, B. N., Levent, S., Özkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A. (2022). Synthesis and biological evaluation of novel 1,3,4-oxadiazole

- derivatives as anticancer agents and potential <scp>EGFR</scp> inhibitors. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 59(3), 518–532. <https://doi.org/10.1002/jhet.4398>
- Park, J. H., & Lemmon, M. A. (2012). Crystal structure of the inactive EGFR tyrosine kinase domain with erlotinib. In *Worldwide Protein Data Bank*. <https://doi.org/10.2210/pdb4hjo/pdb>
- Patel, H., Pawara, R., Ansari, A., & Surana, S. (2017). Recent updates on third generation EGFR inhibitors and emergence of fourth generation EGFR inhibitors to combat C797S resistance. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 142, 32–47. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.027>
- Radhamanan, R., Alagumuthu, M., & Nagaraju, N. (2018). Synthesis and Drug Efficacy Validations of Racemic-Substituted Benzimidazoles as Antiulcer/Antigastric Secretion Agents. *Future Medicinal Chemistry*, 10(15), 1805–1820. <https://doi.org/10.4155/fmc-2017-0214>
- Rep, V., Štulić, R., Koštrun, S., Kuridža, B., Crnolatac, I., Radić Stojković, M., Paljetak, H. Č., Perić, M., Matijašić, M., & Raić-Malić, S. (2022). Novel tetrahydropyrimidinyl-substituted benzimidazoles and benzothiazoles: synthesis, antibacterial activity, DNA interactions and ADME profiling. *RSC Medicinal Chemistry*, 13(12), 1504–1525. <https://doi.org/10.1039/D2MD00143H>
- Robinson, D. R., Wu, Y.-M., & Lin, S.-F. (2000). The protein tyrosine kinase family of the human genome. *Oncogene*, 19(49), 5548–5557. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1203957>
- Roskoski, R. (2025). Properties of FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors: A 2025 update. *Pharmacological Research*, 216, 107723. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2025.107723>
- Roy, P., & Saikia, B. (2016). Cancer and cure: A critical analysis. *Indian Journal of Cancer*, 53(3), 441. <https://doi.org/10.4103/0019-509X.200658>
- Ryan, Q., Ibrahim, A., Cohen, M. H., Johnson, J., Ko, C., Sridhara, R., Justice, R., & Pazdur, R. (2008). FDA Drug Approval Summary: Lapatinib in Combination with Capecitabine for Previously Treated Metastatic Breast Cancer That Overexpresses HER-2. *The Oncologist*, 13(10), 1114–1119. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2008-0816>

- Sagam, R. R., Nukala, S. K., Nagavath, R., Sirassu, N., Mohammad, M., Manchal, R., & Thirukovela, N. S. (2022). Synthesis of new morpholine-benzimidazole-pyrazole hybrids as tubulin polymerization inhibiting anticancer agents. *Journal of Molecular Structure*, 1268, 133692. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133692>
- Sağlık, B. N., Ilgin, S., & Özkay, Y. (2016). Synthesis of new donepezil analogues and investigation of their effects on cholinesterase enzymes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 124, 1026–1040. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.10.042>
- Sankarganesh, M., Rajesh, J., Vinoth Kumar, G. G., Vadivel, M., Mitu, L., Senthil Kumar, R., & Dhavethu Raja, J. (2018). Synthesis, spectral characterization, theoretical, antimicrobial, DNA interaction and in vitro anticancer studies of Cu(II) and Zn(II) complexes with pyrimidine-morpholine based Schiff base ligand. *Journal of Saudi Chemical Society*, 22(4), 416–426. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2017.08.007>
- Schrödinger, Glide* (version 7.1). (2020). Schrödinger.
- Schrödinger, LigPrep* (Version 3.8). (2020). Schrödinger.
- Sebastian, M., Schmitt, A., & Reck, M. (2014). First-line treatment of EGFR-mutated nonsmall cell lung cancer: critical review on study methodology. *European Respiratory Review*, 23(131), 92–105. <https://doi.org/10.1183/09059180.00008413>
- Shao, K.-P., Zhang, X.-Y., Chen, P.-J., Xue, D.-Q., He, P., Ma, L.-Y., Zheng, J.-X., Zhang, Q.-R., & Liu, H.-M. (2014). Synthesis and biological evaluation of novel pyrimidine-benzimidazol hybrids as potential anticancer agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24(16), 3877–3881. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.06.050>
- Sharma, B., Singh, V. J., & Chawla, P. A. (2021). Epidermal growth factor receptor inhibitors as potential anticancer agents: An update of recent progress. *Bioorganic Chemistry*, 116, 105393. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105393>
- Sheikh, A. S., Altaf, R., Nadeem, H., Khan, M. T., & Murtaza, B. (2023). Formation of morpholine-acetamide derivatives as potent anti-tumor drug candidates: Pharmacological evaluation and molecular docking studies. *Heliyon*, 9(11), e22183. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22183>

- Shiels Meredith S., H. A. T. , B. de G. A. F. N. D. (2022). Leading Causes of Death in the US During the COVID-19 Pandemic, March 2020 to October 2021. *JAMA Internal Medicine*, 182(8), 883–886. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9257676/>
- Siegel, R. L., Giaquinto, A. N., & Jemal, A. (2024). Cancer statistics, 2024. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(1), 12–49. <https://doi.org/10.3322/caac.21820>
- Sigismund, S., Avanzato, D., & Lanzetti, L. (2018). Emerging functions of the <scp>EGFR</scp> in cancer. *Molecular Oncology*, 12(1), 3–20. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12155>
- Song, D., & Ma, S. (2016). Recent Development of Benzimidazole-Containing Antibacterial Agents. *ChemMedChem*, 11(7), 646–659. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201600041>
- Song, Z., Huang, S., Yu, H., Jiang, Y., Wang, C., Meng, Q., Shu, X., Sun, H., Liu, K., Li, Y., & Ma, X. (2017). Synthesis and biological evaluation of morpholine-substituted diphenylpyrimidine derivatives (Mor-DPPYs) as potent EGFR T790M inhibitors with improved activity toward the gefitinib-resistant non-small cell lung cancers (NSCLC). *European Journal of Medicinal Chemistry*, 133, 329–339. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.083>
- Souza, A. O. de, Silva, C. L., Durán, N., & Andrade-Santana, M. H. (2010). Antimycobacterial and cytotoxicity activities of free and liposome-encapsulated 3-(4'-bromo[1,1'-biphenyl-4-yl])-3-(4-bromo-phenyl)-N,N-dimethyl-2-propen-1-amine. *Química Nova*, 33(4), 871–874. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000400020>
- Srouf, A. M., Ahmed, N. S., Abd El-Karim, S. S., Anwar, M. M., & El-Hallouty, S. M. (2020). Design, synthesis, biological evaluation, QSAR analysis and molecular modelling of new thiazol-benzimidazoles as EGFR inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 28(18), 115657. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115657>
- Stamos, J., Sliwkowski, M. X., & Eigenbrot, C. (2002). Structure of the Epidermal Growth Factor Receptor Kinase Domain Alone and in Complex with a 4-Anilinoquinazoline Inhibitor. *Journal of Biological Chemistry*, 277(48), 46265–46272. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207135200>

Sureshkumar, B., Mary, Y. S., Resmi, K. S., Suma, S., Armaković, S., Armaković, S. J., Van Alsenoy, C., Narayana, B., & Sobhana, D. (2018). Spectroscopic characterization of hydroxyquinoline derivatives with bromine and iodine atoms and theoretical investigation by DFT calculations, MD simulations and molecular docking studies. *Journal of Molecular Structure*, 1167, 95–106. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.04.077>

The Difference Between Normal and Cancer Cells. (n.d.).

The University of Leicester. (n.d.). *The cell cycle, mitosis and meiosis for higher education.* <https://Le.Ac.Uk/Vgec/Topics/Cell-Cycle/the-Cell-Cycle-Higher-Education>.

Theodore, C. E., Sivaiah, G., Prasad, S. B. B., Kumar, K. Y., Raghu, M. S., Alharethy, F., Prashanth, M. K., & Jeon, B.-H. (2023). Design, synthesis, anticancer activity and molecular docking of novel 1H-benzo[d]imidazole derivatives as potential EGFR inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, 1294, 136341. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136341>

Tintori, C., Brai, A., Dasso Lang, M. C., Deodato, D., Greco, A. M., Bizzarri, B. M., Cascone, L., Casian, A., Zamperini, C., Dreassi, E., Crespan, E., Maga, G., Vanham, G., Ceresola, E., Canducci, F., Ariën, K. K., & Botta, M. (2016). Development and in Vitro Evaluation of a Microbicide Gel Formulation for a Novel Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor Belonging to the *N* - Dihydroalkyloxybenzyloxypyrimidines (N-DABOs) Family. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(6), 2747–2759. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01979>

Turan-Zitouni, G., Demirayak, Ş., Özdemir, A., Kaplancıklı, Z. A., & Yıldız, M. T. (2004). Synthesis of some 2-[(benzazole-2-yl)thioacetyl amino]thiazole derivatives and their antimicrobial activity and toxicity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 39(3), 267–272. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2003.11.001>

Ueno, Y., Sakurai, H., Matsuo, M., Choo, M. K., Koizumi, K., & Saiki, I. (2005). Selective inhibition of TNF- α -induced activation of mitogen-activated protein kinases and metastatic activities by gefitinib. *British Journal of Cancer*, 92(9), 1690–1695. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602548>

- Valter, K., Chen, L., Kruspig, B., Maximchik, P., Cui, H., Zhivotovsky, B., & Gogvadze, V. (2017). Contrasting effects of glutamine deprivation on apoptosis induced by conventionally used anticancer drugs. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1864(3), 498–506. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.12.016>
- Veerasamy, R., Roy, A., Karunakaran, R., & Rajak, H. (2021). Structure–Activity Relationship Analysis of Benzimidazoles as Emerging Anti-Inflammatory Agents: An Overview. *Pharmaceuticals*, 14(7), 663. <https://doi.org/10.3390/ph14070663>
- Venu, kudapa, Saritha, B., & Sailaja, B. B. V. (2022). New molecular hybrids containing benzimidazole, thiazolidine-2,4-dione and 1,2,4-oxadiazole as EGFR directing cytotoxic agents. *Tetrahedron*, 124, 132991. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2022.132991>
- Wagih, N., Abdel-Rahman, I. M., El-Koussi, N. A., & El-Din A. Abuo-Rahma, G. (2025). Anticancer benzimidazole derivatives as inhibitors of epigenetic targets: a review article. *RSC Advances*, 15(2), 966–1010. <https://doi.org/10.1039/D4RA05014B>
- Weinberg, R. A. (2013). *The Biology of Cancer*. W.W. Norton & Company. <https://doi.org/10.1201/9780429258794>
- Wu, Z., Xia, M.-B., Bertsetseg, D., Wang, Y.-H., Bao, X.-L., Zhu, W.-B., Tao-Xu, Chen, P.-R., Tang, H.-S., Yan, Y.-J., & Chen, Z.-L. (2020). Design, synthesis and biological evaluation of novel fluoro-substituted benzimidazole derivatives with anti-hypertension activities. *Bioorganic Chemistry*, 101, 104042. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104042>
- Yadav, G., & Ganguly, S. (2015). Structure activity relationship (SAR) study of benzimidazole scaffold for different biological activities: A mini-review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 419–443. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.11.053>
- Yamaoka, T., Ohba, M., & Ohmori, T. (2017). Molecular-Targeted Therapies for Epidermal Growth Factor Receptor and Its Resistance Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11), 2420. <https://doi.org/10.3390/ijms18112420>

- You, W., & Henneberg, M. (2018). Cancer incidence increasing globally: The role of relaxed natural selection. *Evolutionary Applications*, 11(2), 140–152. <https://doi.org/10.1111/eva.12523>
- Youssif, B. G. M., Morcoss, M. M., Bräse, S., Abdel-Aziz, M., Abdel-Rahman, H. M., Abou El-Ella, D. A., & Abdelhafez, E. S. M. N. (2024). Benzimidazole-Based Derivatives as Apoptotic Antiproliferative Agents: Design, Synthesis, Docking, and Mechanistic Studies. *Molecules*, 29(2), 446. <https://doi.org/10.3390/molecules29020446>
- Yun, C.-H., Mengwasser, K. E., Toms, A. V., Woo, M. S., Greulich, H., Wong, K.-K., Meyerson, M., & Eck, M. J. (2008). The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(6), 2070–2075. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709662105>
- Yurttas, L., Demirayak, Ş., Ilgın, S., & Atlı, Ö. (2014). In vitro antitumor activity evaluation of some 1,2,4-triazine derivatives bearing piperazine amide moiety against breast cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22(22), 6313–6323. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.10.002>
- Zhang, X., & Chang, A. (2006). Somatic mutations of the epidermal growth factor receptor and non-small-cell lung cancer. *Journal of Medical Genetics*, 44(3), 166–172. <https://doi.org/10.1136/jmg.2006.046102>
- Zhang, X., Zhang, C., Tang, L., Lu, K., Zhao, H., Wu, W., & Jiang, Y. (2020). Synthesis and biological evaluation of piperidyl benzimidazole carboxamide derivatives as potent PARP-1 inhibitors and antitumor agents. *Chinese Chemical Letters*, 31(1), 136–140. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2019.04.045>
- Zouaghi, M. O., Bensalah, D., Hassen, S., Arfaoui, Y., Mansour, L., Özdemir, N., Bülbül, H., Gurbuz, N., Özdemir, I., & Hamdi, N. (2024). Benzimidazole derivatives as a new scaffold of anticancer agents: Synthesis, optical properties, crystal structure and DFT calculations. *Heliyon*, 10(12), e32905. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32905>
- Zubair, A. M., Malik, M. N. H., Younis, W., Malik, M. A. H., Jahan, S., Ahmed, I., Yuchi, A., Mushtaq, M. N., Tahir, R., Sarwar, M. B., Roman, M., Khan, A. A., Tahir, M. N., Khan, M. T., Kharl, H. A. A., Kamran, G., Albegali, A. A., & Imran, A. (2022).

Novel acetamide derivatives of 2-aminobenzimidazole prevent inflammatory arthritis in rats via suppression of pro-inflammatory mediators. *Inflammopharmacology*, 30(3), 1005–1019. <https://doi.org/10.1007/s10787-022-00969-1>



ÖZ GEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Gresa HALIMI

Yabancı Dil : İngilizce, Türkçe, Almanca, Arnavutça

Doğum Yeri ve Yılı :

e-Posta :

Eğitim Durumu:

Mesleki Deneyim:

Kurum :

Birim :

Unvan :

Yayınlar:

Uluslararası Dergilerde Yayımlanan Makaleler :

Halimi Sylva, G., Osmaniye, D., Korkut Çelikeş, B., Özkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A. (2025). Targeting Cancer with New Morpholine-Benzimidazole-Oxadiazole Derivatives: Synthesis, Biological Evaluation, and Computational Insights. *ACS Omega*.

Halimi Sylva, G., Osmaniye, D., Sağlık, B. N., Levent, S., Ozkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A. (2025). Exploring SAR and Antifungal Activity of Pyrazole-Thiazole-Hydrazone Compounds Through Synthesis and Docking Studies. *Chemistry & Biodiversity*, e01313

Halimi, G., Osmaniye, D., Özkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A. (2024). Development and assessment of novel pyrazole-thiadiazol hybrid derivatives as VEGFR-2 inhibitors: design, synthesis, anticancer activity evaluation, molecular docking, and molecular dynamics simulation. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 79(9-10), 291-304.

Acar Çevik, U., Işık, A., Kaya, B., Kapavarapu, R., Rudrapal, M., Halimi, G., ... & Kaplancıklı, Z. A. (2024). Benzimidazole-containing compounds as anticancer agents. *ChemistrySelect*, 9(32), e202401566.