

**2-ALKİL/ALKİLOKSİ KÖPRÜLÜ SÜBSTİTÜEBENZİMİDAZOL
TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ,
YAPILARININ TAYİNİ VE ANTİPROLİFERATİF ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ ÇALIŞMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BÜŞRA GÜL ERTÜRK

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

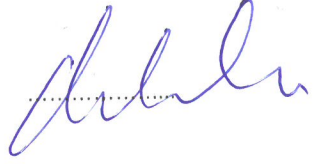

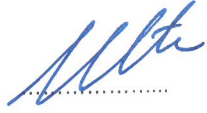
**FARMASÖTİK KİMYA
ANABİLİM DALI**

**Danışman
Prof. Dr. Öztekin ALGÜL**

**MERSİN
HAZİRAN - 2017**

ONAY

Büşra Gül ERTÜRK tarafından Prof. Dr. Öztekin ALGÜL danışmanlığında hazırlanan "2-Alkil/alkiloksi Köprülü Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi, Yapılarının Tayini ve Antiproliferatif Etkilerinin Belirlenmesi Çalışması" başlıklı tez çalışması aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından 20 Haziran 2017 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavı sonucunda oy birliği ile Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Ünvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Prof. Dr. Öztekin ALGÜL	
Üye	Prof. Dr. Mehtap UYSAL	
Üye	Doç. Dr. Semra UTKU	

Yukarıdaki Jüri kararı Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 06.07.2017 tarih ve 2017/252 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Banu COŞKUN YILMAZ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, tablo ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
 - Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
 - Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi
- beyan ederim.

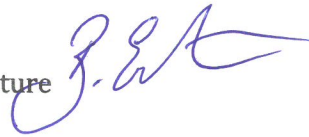
ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

20 Haziran 2017 /20 June 2017

İmza / Signature



Öğrenci Adı ve Soyadı / Student Name and Surname

Büşra Gül ERTÜRK

ÖZET

2-ALKİL/ALKİLOKSİ KÖPRÜLÜ SÜBSTİTÜEBENZİMİDAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ, YAPILARININ TAYİNİ VE ANTİPROLİFERATİF ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ ÇALIŞMASI

Kanser, sağlıklı hücrelerin doğal yaşam döngüsünün bozulması ve hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması sonucu vücut fonksiyonlarının işlevini yitirmesiyle ortaya çıkan bir olgudur. Bu hücreler sürekli olarak proliferasyona uğrar ve yayılırlar. Dünyada ve ülkemizde kanserli hasta sayısının hızla artması kanser ile ilgili yoğun araştırmalar yapılmasına neden olmaktadır. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların yan etkileri ve tedaviye karşı oluşan dirençten dolayı farklı etki mekanizmalarına sahip yeni ilaçların geliştirilmesi ihtiyacı bulunmaktadır. Son yıllarda özellikle kanser hücrelerinin proliferasyonunu durdurucu yeni ilaç molekülü geliştirilmesi önem kazanmıştır. Literatür çalışmaları incelendiğinde antiproliferatif etkiye sahip moleküller arasında benzimidazol halka sistemi taşıyan moleküllerin de olduğu görülmektedir. Bu moleküller arasından 1., 2. ve 5. konumlarda süstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin dikkat çekici aktiviteye sahip oldukları ve özellikle 2. konumdan süstitüe türevlerin yüksek aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Bu çalışmada, 2-alkil/alkiloksi köprülü süstitüebenzimidazol türevi bileşiklerden; 2-(4-Klorobenzil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 5**), 2-(4-Hidroksibenzil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 6**), 2-(4-Metilbenzil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 7**), 2-(4-Klorofeniletıl)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 11**), 2-((4-Hidroksifenil)etil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 12**), 2-(4-Metilfeniletıl)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 13**), 2-((4-Klorofenoksi)metil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 17**), 2-((4-Hidroksifenoksi)metil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 18**), 2-(*p*-Toliloksimetil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 19**), 2-Benzil-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 22**), 2-((4-Hidroksifenil)metil)-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 23**), 2-Fenetil-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 25**), 2-((4-Hidroksifenil)etil)-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 26**), 2-Fenoksimetil-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 28**) ve 2-((4-Hidroksi)fenoksimetil)-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 29**) bileşikleri Phillips yöntemine göre sentezlenmiş ve yapıları FT-IR, ¹H-NMR ve LC-MS/MS ile aydınlatılmıştır. Benzimidazol türevi bu bileşiklerin sağlıklı HEK 293 hücre hattı ile akciğer (A549), böbrek (A498), serviks (HeLa), insan cildi malign melanom (A375) ve insan karaciğer (HepG2) kanser hücre hatlarına karşı antiproliferatif etkileri MTT (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür) yöntemiyle araştırılmıştır. Sentezlenen bileşiklerden, Bileşik No **11**, **12** ve **18**; A549, Bileşik No **12** ve **18**; A498, Bileşik No **12**, **18** ve **25**; HeLa, Bileşik No **12** ve **25**; A375 ve Bileşik No **12** ve **18**; HepG2 kanser hücre hatlarına karşı güçlü antiproliferatif aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kanser, benzimidazol, antikanser aktivite, antiproliferatif aktivite, yapı-aktivite ilişkileri.

Danışman: Prof. Dr. Öztekin ALGÜL, Mersin Üniversitesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

SYNTHESIS, STRUCTURE CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF 2-ALKYL/ALKYLOXY LINKED SUBSTITUTED BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES

Cancer is a phenomenon that occurs as a result of deterioration of healthy cell's natural life cycle and the loss of body functions by uncontrolled cell growth. These cells constantly undergo proliferation and widely spread. The rapid increase in the number of cancer patients in the world and in our country leads to intensive researches about cancer. Due to the side effects of the drugs used in cancer treatment and resistance to the treatments, there is still need to develop novel drugs with different mechanisms of action. In recent years, it has become so important, especially to develop new drug molecules that inhibit the proliferation of cancer cells. When the literature is examined, it is seen that among the molecules having antiproliferative effect, the molecules bearing the benzimidazole ring system are also present. Among these molecules, substitute benzimidazole derivative compounds in the 1, 2 and 5 positions have remarkable activity, and in particular, the 2 position substituent benzimidazole derivatives show high activity. In this study, we synthesized some compounds, which are 2-alkyl/alkoxy substituted benzimidazole derivatives, namely; 2-(4-Chlorobenzyl)-1*H*-benzimidazole (**Compound 5**), 2-(4-Hydroxybenzyl)-1*H*-benzimidazole (**Compound 6**), 2-(4-Methylbenzyl)-1*H*-benzimidazole (**Compound 7**), 2-(4-Chlorophenethyl)-1*H*-benzimidazole (**Compound 11**), 2-((4-Hydroxyphenyl)ethyl)-1*H*-benzimidazole (**Compound 12**), 2-(4-Methylphenethyl)-1*H*-benzimidazole (**Compound 13**), 2-((4-Chlorophenoxy)methyl)-1*H*-benzimidazole (**Compound 17**), 2-((4-Hydroxyphenoxy)methyl)-1*H*-benzimidazole (**Compound 18**), 2-(*p*-Tolyloxymethyl)-1*H*-benzimidazole (**Compound 19**), 2-Benzyl-5(6)-chloro-1*H*-benzimidazole (**Compound 22**), 2-((4-Hydroxyphenyl)methyl)-5(6)-chloro-1*H*-benzimidazole (**Compound 23**), 5(6)-Chloro-2-phenethyl-1*H*-benzimidazole (**Compound 25**), 2-((4-Hydroxyphenyl)ethyl)-5(6)-chloro-1*H*-benzimidazole (**Compound 26**), 2-(Phenoxyethyl)-5(6)-chloro-1*H*-benzimidazole (**Compound 28**) and 2-((4-Hydroxy)phenoxyethyl)-5(6)-chloro-1*H*-benzimidazole (**Compound 29**) by using Phillips method and the structures were elucidated by FT-IR, ¹H-NMR and LC-MS/MS. Antiproliferative effects of benzimidazole derived compounds against healthy human embryonic kidney (HEK 293) cell line and lung cancer cell lines (A549), kidney (A498), cervical (HeLa), human skin malignant melanoma (A375) and human liver hepatocellular (HepG2) were investigated by MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) method. Some of the synthesized compounds showed the strongest antiproliferative activity; Compound No **11**, **12** and **18** against A549 Compound No **12** and **18** against A498, Compound No **12**, **18** and **25** against HeLa, Compound No **12** and **25** against A375 and Compound No **12** and **18** against HepG2 cancer cell lines.

Key words: Cancer, benzimidazole, anticancer activity, antiproliferative activity, structure-activity relationship.

Advisor: Prof. Dr. Öztekin ALGÜL, Department of Pharmaceutical Chemistry, Mersin University, Mersin.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda desteğini esirgemeyen, deneyimlerini ve fikirlerini paylaşarak bana yol gösteren, adım adım ilerleyerek başarıya ulaşılabileceğini gösteren ve bu tezin oluşmasında büyük katkı sağlayan Ana Bilim Dalı Başkanımız ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Öztekin ALGÜL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana yardımcı ve destek olan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Semra UTKU'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Antiproliferatif aktivite çalışmalarını tamamlayan Sayın Prof. Dr. Nizami DURAN ve Yrd. Doç. Dr. Gülay GÜLBOL DURAN ile ekibine teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca bana destek olan Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı Doktora programı öğrencisi arkadaşım Uzm. Ecz. Ronak Haj ERSAN'a teşekkür ederim.

Kromatografi çalışmalarında bana her zaman bilgi ve tecrübesiyle destek olan değerli Analitik Kimya Ana Bilim Dalı Arş. Gör. Dr. Samet BELVEREN'e minnettarım.

Hayatıma anlam katan ve varlığı benim için bir armağan olan değerli arkadaşım, Ali Nail SELÇİK'e bana en zor zamanlarımda destek olduğu, iyi zamanlarımda sevincime ortak olduğu, her adımda elimi tuttuğu ve beni her zaman ileriye doğru gitmem için yönlendirdiğinden dolayı ve sadece hayatıma ortak olduğu için ona sonsuz teşekkür ederim.

Bugünlere gelebilmemde en büyük emeği gösteren ve her daim yanımda olan bana her konuda yardımcı olan değerli amcam ve eşi Kadir ERTÜRK ve Ümit ERTÜRK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmamda ve tüm hayatım boyunca bana destek ve arkadaş olan sevgili kardeşim Yusuf ERTÜRK'e çok teşekkür ederim. Bana her zaman moral vermiştir ve pratik zekâsıyla akıllıca çözümler üreterek bana yardımcı olmuştur.

Varlığı benim için mutluluk sebebi olan biricik küçük arkadaşım, Berfin GENÇ namıdiğer Berfiş'e de çok teşekkür ederim. Doğduğu yıldan bu yana sevimliliği ile hep neşelendirdi. Küçük saf aklıyla hep yanımdaydı. Ayrıca annesi ve benim manevi annem olan Hatice GENÇ'e her zaman fikirleriyle destek olduğu için teşekkür ederim.

Adlarını anmadan geçemeyeceğim kadar değerli olan üzerimde maddi ve manevi emekleri olan kuzenim, eşi ve kızları Selim, İlknur, Pelin ve Beyza ERTÜRK'e teşekkür ederim. En zor zamanlarımda hep destekçim oldular ve benim için her zaman moral kaynağıydılar.

Tüm yaşamım boyunca desteklerini ve güvenlerini benden esirgemeyen değerli melek yüzlü annem Hatice ERTÜRK ve babam Muzaffer ERTÜRK'e gösterdikleri emekten dolayı teşekkür ederim.

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından *BAP-SBE 2017-1-TP2-1993* numaralı proje ile desteklenmiştir.

Büşra Gül ERTÜRK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR ve SİMGELER	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	6
2.2. Benzimidazollerin Genel Özellikleri	6
2.2. Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	10
2.2.1. 2-Sübstitübenzimidazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri	10
2.3. Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Antikanser Aktivite Çalışmaları	17
2.4. Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Antiproliferatif Aktivite Çalışmaları	26
3. MATERYAL ve YÖNTEM	35
3.1. Kimyasal Çalışmalar	35
3.1.1. Materyal	35
3.1.2. Yöntem	35
3.1.2.1. Phillips Yöntemi Uygulanarak Elde Edilen Bileşikler için Genel Sentez Yöntemi	35
3.2. Analitik Çalışmalar	36
3.2.1. Erime Noktası Tayini	36
3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi	36
3.2.3. Spektroskopik Kontroller	36
3.2.3.1. FT-IR Spektrumları	36
3.2.3.2. ¹ H-NMR Spektrumları	36
3.2.3.3. LC-MS/MS Spektrumları	37
3.3. Antiproliferatif Aktivite Çalışmaları	37
3.3.1. Materyal	37
3.3.2. Kanser Hücre Hatlarının Hazırlanması ve Hücre Hatları Üzerinde Antiproliferatif Aktivite Çalışmaları	38
3.3.2.1. Hücre Kültürü Çalışmaları	38
3.3.2.2. DMSO'nun Etkisi	39
3.3.2.2.1. Tripan Mavisi ile DMSO'nun Hücre Canlılığına Etkisini Belirleme Çalışması	40
3.3.2.2.2. DMSO'nun Hücrelere Etkisinin Thoma Lamında Hücre Sayımı ile Belirlenmesi	41
3.3.2.3. MTT (3-[4,5-Dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür) Yöntemi	43
3.3.2.6. MTT Yöntemi ile Yapılan Proliferasyon Deneyleri	44
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	45
4.1. Kimyasal Bulgular	45
4.1.1. 2-(4-Klorobenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 5)	45
4.1.2. 2-(4-Hidroksibenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 6)	47
4.1.3. 2-(4-Metilbenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 7)	49
4.1.4. 2-(4-Klorofeniletıl)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 11)	51
4.1.5. 2-((4-Hidroksifenil)etil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 12)	53
4.1.6. 2-(4-Metilfeniletıl)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 13)	55
4.1.7. 2-((4-Klorofenoksi)metil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 17)	57
4.1.8. 2-((4-Hidroksifenoksi)metil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 18)	59

	Sayfa
4.1.9. 2-(<i>p</i> -Toliloksimetil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 19)	62
4.1.10. 2-Benzil-5(6)-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 22)	64
4.1.11. 2-((4-Hidroksifenil)metil)-5(6)-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 23)	66
4.1.12. 2-Fenil-5(6)-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 25)	68
4.1.13. 2-((4-Hidroksifenil)etil)-5(6)-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 26)	70
4.1.14. 2-Fenoksimetil-5(6)-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 28)	73
4.1.15. 2-((4-Hidroksi)fenoksimetil)-5(6)-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik No 29)	75
4.2. Biyolojik Bulgular	78
4.2.1. Antiproliferatif Aktivite Bulguları	78
5. TARTIŞMA	80
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	89
KAYNAKLAR	91
ÖZGEÇMİŞ	98



TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 4.1. Bileşiklerin Sağlıklı ve Kansere Hücre Hatları Üzerine Antiproliferatif Aktivite Bulguları, Spesifiklik ve $c\text{Log } P$ Değerleri.	79
Tablo 5.1. Sentezlenen 2-Alkil/Alkiloksi Sübstitüe Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Yapısı	83



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Hoechst 33258'in yapısı	1
Şekil 1.2. Farmakofor grup olarak benzimidazol yapısı taşıyan moleküller	2
Şekil 1.3. Antiproliferatif etkili ABA13 ve ABA833 bileşiklerinin yapısı	3
Şekil 1.4. Fenil-tiyofen benzimidazol ve fenil-furan fenil bileşiklerinin yapısı	3
Şekil 1.5. Bileşik RHE50'nin yapısı	4
Şekil 2.1. Benzimidazol'un yapısı	6
Şekil 2.2. Benzimidazol molekülünün numaralandırma sistemi	7
Şekil 2.3. Benzimidazol molekülünün tautomerik formu	7
Şekil 2.4. 5(6)-Metilbenzimidazol bileşiğinin tautomerik formu	7
Şekil 2.5. 2,5(6)-Dimetilbenzimidazol bileşiğinin tautomerik formu	8
Şekil 2.6. 3-Nitro-4-asetamido benzoik asit ve 4-nitro-3-asetamido benzoik asitin redüksiyonu ile 5-karboksilik asit-2-metil-1 <i>H</i> -benzimidazol sentezi	8
Şekil 2.7. 2-Kloro-4-metoksi benzimidazol'un imino hidrojeninin süstitüsüyonu	9
Şekil 2.8. 1,2-Fenilendiamin türevi ile 2-metiltiyopsödoüre sülfat ve metilkloroformat karışımının alkali ortamdaki reaksiyonu ile 1 <i>H</i> -benzimidazol-2-karbamat türevi sentezi	10
Şekil 2.9. 2-Amino-5(6)-benzoil-1 <i>H</i> -benzimidazol bileşiğinin sentezi	10
Şekil 2.10. 2-Klorometil benzimidazol bileşiğinin sentezi	11
Şekil 2.11. 5-Süstitüe-2-fenilbenzimidazol bileşiğinin sentezi	11
Şekil 2.12. 2-Fenilbenzimidazol bileşiğinin sentezi	12
Şekil 2.13. 2-Aril benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi	12
Şekil 2.14. 2-Süstitüe benzimidazol bileşiği sentezi	13
Şekil 2.15. Karboksilik asitlerden hareketle 2-Süstitüebenzimidazol türevi bileşiklerin sentezi	13
Şekil 2.16. 2-Arilsüstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi	13
Şekil 2.17. Mikrodalga yöntemi ile benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi	14
Şekil 2.18. 5(6)-Nitro-2-arilsüstitüefenoksimetil-1 <i>H</i> -benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi	14
Şekil 2.19. Wells-Dawson H ₆ P ₂ W ₁₈ O ₆₂ .24H ₂ O katalizörlü reaksiyon ile benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi	15
Şekil 2.20. Aldehit türevlerinden hareketle 2-süstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi	15
Şekil 2.21. 2-Süstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi	15
Şekil 2.22. . CeCl ₃ .7H ₂ O, bakır iyodür, iyot ve asetonitrilli ortamda oda sıcaklığında aldehitlerden hareketle 1,2-fenilendiamin ile benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi	16
Şekil 2.23. 5,6-Dikloro-2-pentafloroetil benzimidazol bileşiğinin yapısı	17
Şekil 2.24. 2-(2'-Furil) benzimidazol N ¹ -heterozitlerinin yapısı	17
Şekil 2.25. Yeni 2-süstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin yapısı	18
Şekil 2.26. Antikanser etkili Flubendazol yapısı	18
Şekil 2.27. 5-Nitro-2-fenoksimetil benzimidazol bileşiğinin yapısı	19
Şekil 2.28. Moleküler Docking Programı yardımıyla 5-Nitro-2-fenoksimetil benzimidazol yapısının kristal yapısı ile dock konformasyonu gösterimi	19
Şekil 2.29. AutoDock programının MSMS modülü tarafından hazırlanan moleküler yüzeyli 5-Nitro-2-fenoksimetil benzimidazol bileşiği	19
Şekil 2.30. AutoDock programı ile belirlenen reseptör-ligand etkileşimleri	20
Şekil 2.31. Antikanser ve apoptotik aktiviteye sahip benzimidazol türevi bileşiklerin yapısı	20
Şekil 2.32. Antikanser aktivite gösteren benzimidazol türevi bileşiğin yapısı	21
Şekil 2.33. Aril-aldehitlerden hareketle sentezlenen antikanser etkili benzimidazol türevi bileşiklerin yapısı	22

	Sayfa
Şekil 2.34. 5-Floro-benzimidazol-4-karboksamit türevi bileşiğin yapısı	22
Şekil 2.35. Antikanser etkili benzimidazol türevi bileşiğin yapısı	22
Şekil 2.36. Antikanser etkili <i>N</i> -(2-fenil-1 <i>H</i> -benzimidazol-5-il)kinolin-4-amin türevi bileşiğin yapısı	23
Şekil 2.37. Antikanser etkili benzimidazol türevi bileşiğin yapısı	23
Şekil 2.38. Antikanser etkili benzimidazol türevi bileşiklerin yapısı	24
Şekil 2.39. Antikanser aktiviteye sahip benzimidazol türevi bileşiğin yapısı	24
Şekil 2.40. Antianjiyenik ve antitümör aktiviteli benzimidazol türevlerinin yapısı	25
Şekil 2.41. 2-Aminobenzimidazol türevi bileşiklerin <i>in vitro</i> olarak HeLa ve MCF-7 hücre hatlarındaki antiproliferatif aktivitesi	26
Şekil 2.42. 2-Aminobenzimidazol türevi bileşiklerin <i>in vitro</i> olarak HeLa ve MCF-7 hücre hatlarındaki antiproliferatif aktivitesi en güçlü moleküller	26
Şekil 2.43. 1-(4-Florobenzil)-2-(2,4-diklorofenil)- <i>N</i> -(4-siyano-3-triflorometil) fenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5-karboksamit bileşiğinin yapısı	27
Şekil 2.44. <i>N</i> -(4-Nitrobenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-2-amin bileşiğinin yapısı	27
Şekil 2.45. 1,3,5-trisübstitüe-2,3-dihidro-2-imino benzimidazollerin yapısı	28
Şekil 2.46. Albendazol yapısı	29
Şekil 2.47. Metil-2-(2-hidroksi-5-florofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5-karboksilat yapısı	29
Şekil 2.48. Metil-2-(2-hidroksi-5-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5-karboksilat yapısı	29
Şekil 2.49. 2-Anilino-4-(benzimidazol-2-il)pirimidin türevi bileşiklerin yapısı	30
Şekil 2.50. Mono amidin yapısındaki benzimidazol türevi bileşiğin yapısı	31
Şekil 2.51. Sübstitüe amidino-benzimidazolil-furil-fenil-akrilik asit esteri ve sübstitüe amidinobenzimidazolilnafto[2,1- <i>b</i>]furan karboksilik asit esteri bileşiklerinin yapısı	31
Şekil 2.52. Antikanser etkili benzimidazol hibritleri içeren farklı pirazol türevi bileşiklerin yapısı	32
Şekil 2.53. Koloni oluşumu inhibisyonu tahlili	32
Şekil 2.54. 1,3,5-Trisübstitüe benzimidazol türevi bileşiğin yapısı	33
Şekil 2.55. 2-Sübstitüe fenil veya piridin propil keten türevi benzimidazol bileşiklerinin yapısı	34
Şekil 2.56. Antiproliferatif aktivite gösteren benzimidazol türevi bileşiklerin yapısı	34
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan DMSO çözeltilerinin HEK 293 hücre kültüründe hücre canlılığına olan etkisi	39
Şekil 3.2. HEK 293 hücreleri 96 saat inkübasyondan sonra içerisinde DMSO bulunmayan hücre kültürünün mikroskopik görüntüsü	40
Şekil 3.3. HEK 293 hücreleri 96 saat inkübasyondan sonra içerisinde ≤ %2 DMSO bulunan hücre kültürünün mikroskopik görüntüsü	40
Şekil 3.4. Tripan mavisi ile hücre canlılığının belirlenmesi	41
Şekil 3.5. Thoma lamı	41
Şekil 3.6. Thoma lamı sayım çizgileri	42
Şekil 3.7. Hücre sayımı yapılacak karışımın Thoma lamına aktarılması	42
Şekil 3.8. MTT'nin hücrelere aktif olarak absorbe olan ve mitokondriyal redüktaz enzimi (süksinat dehidrojenaz) ile reaksiyona girerek mor renkli, suda çözünmeyen formazana indirgenmesi reaksiyonu	43
Şekil 4.1. 2-(4-Klorobenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 5) bileşiğinin yapısı	45
Şekil 4.2. Bileşik 5 'in ¹ H-NMR Spektrumu	46
Şekil 4.3. Bileşik 5 'in FT-IR Spektrumu	46
Şekil 4.4. 2-(4-Hidroksibenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 6) bileşiğinin yapısı	47
Şekil 4.5. Bileşik 6 'nın ¹ H-NMR Spektrumu	48
Şekil 4.6. Bileşik 6 'nın FT-IR Spektrumu	48
Şekil 4.7. 2-(4-Metilbenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 7) bileşiğinin yapısı	49
Şekil 4.8. Bileşik 7 'nin ¹ H-NMR Spektrumu	50
Şekil 4.9. Bileşik 7 'nin FT-IR Spektrumu	50

	Sayfa
Şekil 4.10. 2-(4-Klorofeniletıl)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 11) bileşiğinin yapısı	51
Şekil 4.11. Bileşik 11 'in ¹ H-NMR Spektrumu	52
Şekil 4.12. Bileşik 11 'in FT-IR Spektrumu	52
Şekil 4.13. 2-((4-Hidroksifenil)etil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 12) bileşiğinin yapısı	53
Şekil 4.14. Bileşik 12 'nin ¹ H-NMR Spektrumu	54
Şekil 4.15. Bileşik 12 'nin FT-IR Spektrumu	54
Şekil 4.16. 2-(4-Metilfeniletıl)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 13) bileşiğinin yapısı	55
Şekil 4.17. Bileşik 13 'ün ¹ H-NMR Spektrumu	56
Şekil 4.18. Bileşik 13 'ün FT-IR Spektrumu	56
Şekil 4.19. 2-((4-Klorofenoksi)metil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 17) bileşiğinin yapısı	57
Şekil 4.20. Bileşik 17 'nin ¹ H-NMR Spektrumu	58
Şekil 4.21. Bileşik 17'nin FT-IR Spektrumu	58
Şekil 4.22. 2-((4-Hidroksifenoksi)metil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 18) bileşiğinin yapısı	59
Şekil 4.23. Bileşik 18 'in ¹ H-NMR Spektrumu	60
Şekil 4.24. Bileşik 18 'in FT-IR Spektrumu	60
Şekil 4.25. Bileşik 18 'in LC-MS/MS Spekturumu	61
Şekil 4.26. 2-(<i>p</i> -Toliloksimetil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 19) bileşiğinin yapısı	62
Şekil 4.27. Bileşik 19 'un ¹ H-NMR Spektrumu	63
Şekil 4.28. Bileşik 19 'un FT-IR Spektrumu	63
Şekil 4.29. 2-Benzil-5(6)-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 22) bileşiğinin yapısı	64
Şekil 4.30. Bileşik 22 'nin ¹ H-NMR Spektrumu	65
Şekil 4.31. Bileşik 22 'nin FT-IR Spektrumu	65
Şekil 4.32. 2-((4-hidroksifenil)metil)-5(6)-Kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 23) bileşiğinin yapısı	66
Şekil 4.33. Bileşik 23 'ün ¹ H-NMR Spektrumu	67
Şekil 4.34. Bileşik 23 'ün FT-IR Spektrumu	67
Şekil 4.35. 2-Fenil-5(6)-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 25) bileşiğinin yapısı	68
Şekil 4.36. Bileşik 25 'in ¹ H-NMR Spektrumu	69
Şekil 4.37. Bileşik 25 'in FT-IR Spektrumu	69
Şekil 4.38. 2-((4-Hidroksifenil)etil)-5(6)-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 26) bileşiğinin yapısı	70
Şekil 4.39. Bileşik 26 'nın ¹ H-NMR Spektrumu	71
Şekil 4.40. Bileşik 26 'nın FT-IR Spektrumu	71
Şekil 4.41. Bileşik 26 'nın LC-MS/MS Spekturumu	72
Şekil 4.42. 2-Fenoksimetil-5(6)-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 28) bileşiğinin yapısı	73
Şekil 4.43. Bileşik 28 'in ¹ H-NMR Spektrumu	74
Şekil 4.44. Bileşik 28 'in FT-IR Spektrumu	74
Şekil 4.45. 2-((4-Hidroksi)fenoksimetil)-5(6)-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol (Bileşik 29) bileşiğinin yapısı	75
Şekil 4.46. Bileşik 29 'un ¹ H-NMR Spektrumu	76
Şekil 4.47. Bileşik 29 'un FT-IR Spektrumu	76
Şekil 4.48. Bileşik 29 'un LC-MS/MS Spekturumu	77
Şekil 5.1. Genel sentez reaksiyonu olan Phillips yöntemi ile sentezlenen 2-alkil/alkiloksi süstitüe benzimidazol türevi bileşikler	80
Şekil 5.2. Bileşiklerin Phillips genel sentez yöntemine göre sentezi	81

KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simge	Tanım
DMSO	Dimetilsülfoksit
DMF	Dimetilformamit
IC ₅₀	% 50 Oranında İnhibisyon Sağlayan Konsantrasyon Değeri
GI ₅₀	Hücre proliferasyonunu % 50 Oranında İnhibe Eden Konsantrasyon Değeri
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
HEK 293	İnsan Embriyonik Böbrek Hücre Hattı
A549	Akciğer Kanseri Hücre Hattı
A498	Böbrek Kanseri Hücre Hattı
HeLa	Serviks Kanseri Hücre Hattı
A375	İnsan Malign Melanom Kanseri Hücre Hattı
HepG2	Karaciğer Kanseri Hücre Hattı
MCF-7	Meme Kanseri Hücre Hattı
HCT116	İnsan Kolon Kanseri Hücre Hattı
MDA-MB-231	İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı
MDA-MB-468	İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı
HUVEC	İnsan Umbilikal Damar Endotel Hücreleri
VEGF-A 165	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü Form 165
PC-9	İnsan Akciğer Kanseri Hücre Hattı
SW620	İnsan Kolon Kanseri Hücre Hattı
OVCAR-3	İnsan Yumurtalık Kanseri Hücre Hattı
CAKI-1	İnsan Böbrek Kanseri Hücre Hattı
CT-DNA	Tümör DNA Sirkülasyon
Glu 288	Glutamik Asit 288
SAR	Yapı Aktivite İlişkisi
HaCaT	Ölümsüzleştirilmiş İnsan Keratinosit Hücre Hattı
EGFR	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
Topo II	Tip II Topoizomeraz
¹ H-NMR	Hydrojen-1 Nükleer Manyetik Rezonans
FT-IR	Fourier Transformlı Kızılötesi (Fourier Transform Infrared)
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle/Kütle
Ph	Fenil
CD ₃ OD	Dötoro Metanol
CDCl ₃	Dötoro Kloroform
(CD ₃) ₂ SO	Dötoro Dimetilsülfoksit
UV	Ultraviyole
TEA	Trietil Amin
Ar	Aril
PBS	Fosfat Tamponlu Salin (Phosphate Buffered Saline)
pH	Asitlik-Bazlık Derecesi
pK _a	Asit İyonlaşma Sabiti
°C	Santigrat Derece
μ	Mikro
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
CC-1065	Antitümör Ajan
L1210	Lenfositik Lösemi Hücre Hattı
MTT	3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum Bromür
MW	Mikro Dalga
<i>G. intestinalis</i>	<i>Giardia intestinalis</i>
<i>E. histolytica</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>
<i>T. vaginalis</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
rpm	Devir Birimi

Kısaltma/Simge	Tanım
m	Multiplet
q	Quartet
t	Triplet
d	Dublet
s	Singlet
ESI	Elektron Sprey İyonizasyon
IU	Uluslararası Birim
<i>hTERT</i>	<i>İnsan Telomeraz Ters Transkriptaz</i>
<i>Bcl-2</i>	<i>B-Hücre Lenfoması 2</i>
<i>Bcl-XL</i>	<i>B-Hücreli Lenfoma-Ekstra Büyük</i>
<i>NF-κB</i>	<i>Nükleer Faktör kappa B</i>
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
RT-PCR	Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu

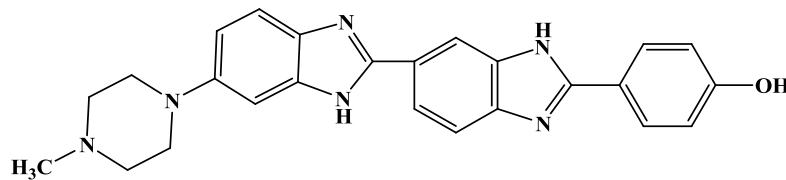


1. GİRİŞ

Günümüzde kanserli hastalardaki mortalite oranı, kanser tedavisinde önemli gelişmeler sağlanmış olmasına rağmen, kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Avrupa genelinde sağlık harcamaları içerisinde kanser harcamalarının oranı, yüzde 6,3'tür. Kanser tedavisi gören kişilerin ortalama tedavi masrafının ise 148 € olduğu tahmin edilmektedir. Türkiye'de ise sağlık harcamalarının yalnızca yüzde 3'ü kanser tedavilerine ayrılmaktadır. Ayrıca, kanser tedavi masraflarının Türkiye'ye doğrudan maliyetinin 1,8 milyar € (yaklaşık 4,5 milyar TL) olduğu ve bu maliyetin hızla arttığı ön görülmektedir. Bu rakamlarla Türkiye, Almanya, İngiltere, Fransa, İtalya ve İspanya'dan sonra Avrupa'da 6. sırada yer almaktadır. Türkiye'de kanserli hasta sayısının giderek arttığı ve 2030'da yarım milyon kanserli hastanın olacağı tahmin edilmektedir [1].

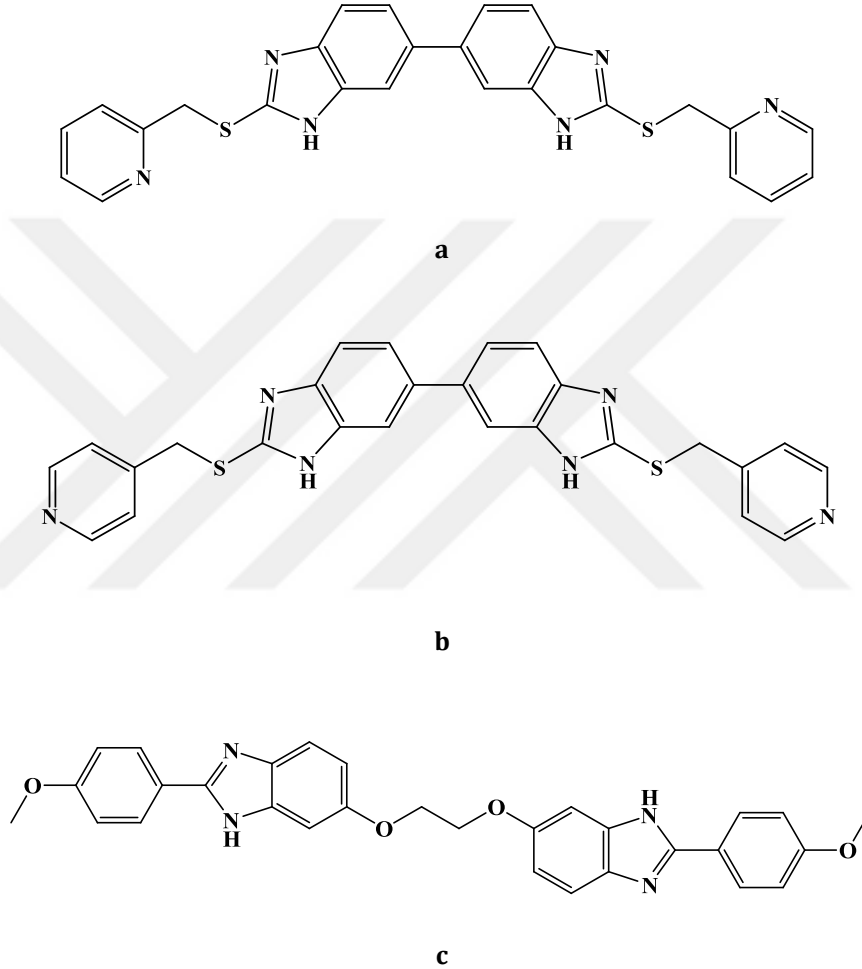
Tüm dünyada kanserli hasta sayısı ile birlikte farklı yapıdaki bileşikler üzerinde yapılan yeni antikanserojen ilaç geliştirme araştırmaların sayısı da hızla artmaktadır. Kanser tedavisi için yeni ilaç araştırma geliştirme çalışmalarında dikkat çekici yapılar arasında benzimidazol halka sistemi bulunmaktadır. Bu araştırmalarda, farklı farmakolojik etkileri nedeniyle ilaç etken maddesi olarak kullanılan benzimidazol türevleriyle yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar elde edildiği görülmektedir.

Son yıllarda geliştirilen distamisin, netropsin, CC-1065, antramisin ve Hoechst 33258 (pibenzimol) (Şekil 1.1.) gibi ilaçlar DNA heliksinin A/T bazlarınca zengin minör oyuğuna (*DNA minor groove binders*) elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağları ve *van der Waals* etkileşimleri ile bağlanarak antikanserojen aktivite gösterdikleri belirlenmiştir [2]. Benzimidazol yapısındaki Hoechst 33258 ilk olarak lösemide (L1210), daha sonra Faz I aşamasında pankreas kanserine karşı aktif bulunsada Faz II aşamasını geçememiş bir ilaç adayı olmuştur [3]. Ancak özellikle DNA'nın A/T içeren oligonükleotid bölgesi ile düzlemsel yapıdaki Hoechst 33258'in benzimidazol halkasının DNA minör oyuğuna tam oturması çok sayıda araştırma grubunun farmakofor grup olarak benzimidazol yapısı taşıyan bileşikler geliştirmesini sağlamıştır (Şekil 1.2a ve 1.2b) [4-9].



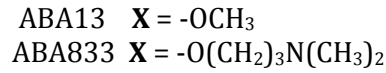
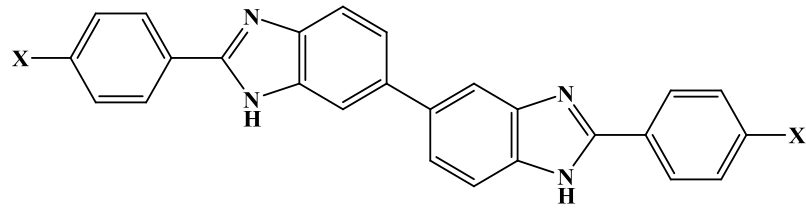
Şekil 1.1. Hoechst 33258'in yapısı.

Hoechst 33258 ve 5-fluorourasil (5-FU) bileşiği ile yapılan *in vitro* karşılaştırmalı çalışmada, fenil halkaları birbirine heteroatom taşıyan ara zincir ile bağlanan benzimidazol yapısında bileşiklerin (Şekil 1.2c) bazı kanser türlerine karşı etkili oldukları belirlenmiştir [10]. Moleküler modelleme, fluoresans ve viskosimetri çalışmaları ile bileşiklerin DNA heliksinin küçük oyuna bağlandığı ve insan periferel kan mononükleer hücrelerinde yapılan toksisite çalışmaları ile Şekil 1.4'ün Paklitaksel ve 5-FU'den daha az toksik olduğu da ortaya konulmuştur.



Şekil 1.2. Farmakofor grup olarak benzimidazol yapısı taşıyan moleküller.

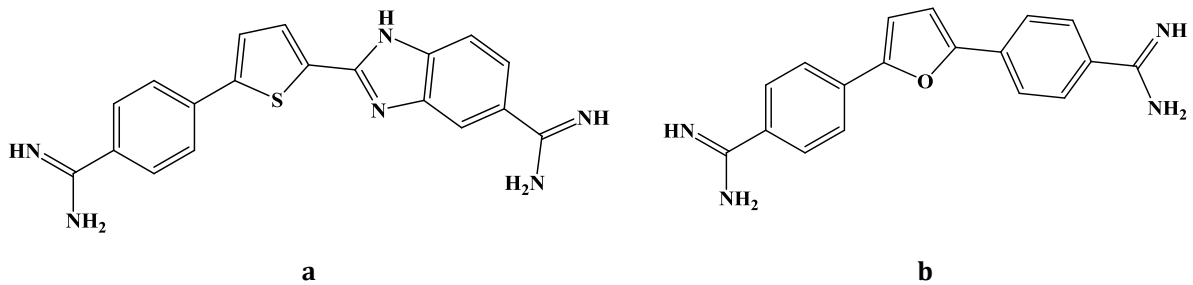
Benzimidazol yapısında bileşiklerle yapılan bir diğer çalışmada ABA13 ve ABA833 kodlu bileşiklerin *in vitro* olarak kanser türlerine karşı (meme, kolon, ovaryum, akciğer ve prostat) antiproliferatif etkileri Hoechst 33258 ile karşılaştırılarak belirlenmiştir [11]. Flow sitometrik analizler sonucu ABA13 ve ABA833'ün (Şekil 1.3.) hücre proliferasyonunu, hücre siklusunun S fazında bloke ettiği ve MCF-7 ve MDA 468 meme kanser hücrelerinde pre-G₁ fazında hücre proliferasyonunun arttığı gösterilmiştir.



Şekil 1.3. Antiproliferatif etkili ABA13 ve ABA833 bileşiklerinin yapısı.

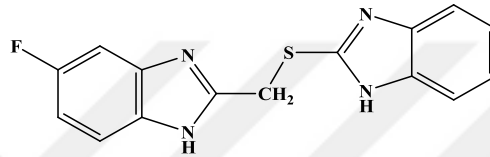
Benzimidazol türevleri ile elde edilen başarılı sonuçların araştırmacıların ilgisini çektiği ve farklı yapıda benzimidazol türevlerinin de çeşitli kanser hücre hatlarına karşı etkili olduğu literatür verilerinden anlaşılmaktadır. Farklı etki mekanizmalarıyla farklı kanser türlerinin tedavisinde kullanılabilecek yeni ilaç adayı moleküllerinin geliştirilmesi amacıyla benzimidazol yapısı taşıyan bileşikler (Hoechst 33258 türevleri gibi) üzerinde farklı klinik çalışmalar yürütülmektedir [12-16].

Mallena ve arkadaşları, biyolojik aktif minör kavite ajanları elde etmek için bir seri diamidin türevleri geliştirerek DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. Fenil-tiyofenbenzimidazol (Şekil 1.4a) yapısının, bir fenil furan fenil yapısına sahip olan Furamidin (Şekil 1.4b) yapısıyla karşılaştırıldığında, DNA'nın minör kavitesindeki A/T dizisine 10 kat daha kuvvetli bağlandığı görülmüştür. Ancak furan halkasının tiyofene dönüştürülmesi ya da fenil halkasının benzimidazole dönüştürülmesi bağlanma şiddetinde bir değişiklik meydana getirmezken, terminal amidin grubunun benzimidazolün üzerinde olduğu zaman DNA'ya bağlanma afinitesinde önemli bir fark elde edildiği bildirilmiştir. Çalışma sonucunda benzimidazol halka sisteminin aktiviteden sorumlu unsur olduğu görülmüştür [17].



Şekil 1.4. Fenil-tiyofen benzimidazol ve fenil-furan fenil bileşiklerinin yapısı.

Grubumuz tarafından yürütülen çalışmalarda benzimidazol türevi bileşiklerin ara zincir yapısı ve uzunluğu ile 5(6). konumunda süstitüent taşıyan bileşiklerin akciğer (A549), serviks (HeLa) insan cildi malign melanom (A375) ve karaciğer (HepG2) kanser hücre hatlarına karşı belirlenen sitotoksik etkileri literatürde bulunan bileşiklerle karşılaştırıldığında oldukça potent bulunmuştur. Özellikle ara zincirde heteroatom taşıyan benzimidazol türevi bileşiklerin potent sitotoksik etki gösterdikleri belirlenmiştir. Bu yapıdaki bileşiklerden RHE50'nin karaciğer hücre hatlarına karşı sitotoksik etkisi oldukça dikkat çekicidir (Şekil 1.5.). Bununla beraber akciğer, karaciğer, insan cildi malign melanom ve serviks kanser hücre hatlarına sitotoksik etkilerinin de geliştirilebilir potansiyelde olduğu görülmektedir. Bu çalışmalar, RHE50 bileşiğinin yeni benzimidazol yapılarının geliştirilmesinde öncü bileşik olarak belirlenmesinde rol oynamıştır.



Şekil 1.5. Bileşik RHE50'nin yapısı.

Bu tez çalışma kapsamında, bileşik RHE50 ana yapısından hareketle tasarlanan bir grup bileşiğin farklı kanser hücre hatlarına karşı etkinliğini arttırmak ve yapı optimizasyonu sağlayarak, aktif bileşiklerin moleküler etki mekanizmasını açıklamak için biyolojik aktivite çalışmaları yürütülmüştür.

Benzimidazol ana yapısı taşıyan bileşiklerin geniş etki spektrumuna sahip oldukları literatürlerde kayıtlı bilgilerdir. Benzimidazol ana yapılarına direkt veya alifatik köprü ile bağlı aromatik halka taşıyan türevlerin antikanserojen aktiviteleri araştırılmış olmasına rağmen, benzimidazol ve aromatik halka sistemlerini birbirlerine alifatik ve alkiloksi ara zincirle bağlanan türevlerin karşılaştırılmalı antikanserojen etkileri üzerinde yapılmış çalışmaya literatürde az rastlanmaktadır.

Ayrıca benzimidazol ana yapısının oldukça geniş biyolojik aktiviteye sahip olmasından hareketle, yeni süstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin geliştirilmesinin bu yapıların aktivitesi üzerindeki potansiyalizasyonunun değerlendirilmesinin yeni ve etkin bir yaklaşım olabileceği düşünülmektedir.

Yapılan literatür çalışmaları sonucunda benzimidazol türevi bileşiklerin çeşitli biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi, bu grup bileşiklerin iyi antiproliferatif aktivite de göstereceğini ortaya çıkarmıştır. Tez çalışmamızda, 2-alkil/alkiloksi köprülü süstitüebenzimidazol türevi bileşiklerin sentezi, yapının karakterizasyonu ve antiproliferatif aktiviteleri araştırılarak yapı aktivite ilişkileri aydınlatılmıştır.

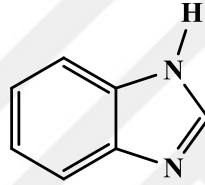
Bu çalışmada, 2-alkil/alkiloksi köprülü sübstitübenzimidazol türevi bileşiklerden; 2-(4-Klorobenzil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 5**), 2-(4-Hidroksibenzil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 6**), 2-(4-Metilbenzil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 7**), 2-(4-Klorofeniletıl)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 11**), 2-((4-Hidroksifenil)etil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 12**), 2-(4-Metilfeniletıl)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 13**), 2-((4-Klorofenoksi)metil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 17**), 2-((4-Hidroksifenoksi)metil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 18**), 2-(*p*-Toliloksimetil)-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 19**), 2-Benzil-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 22**), 2-((4-Hidroksifenil)metil)-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 23**), 2-Fenil-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 25**), 2-((4-Hidroksifenil)etil)-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 26**), 2-Fenoksimetil-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 28**) ve 2-((4-Hidroksi)fenoksimetil)-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol (**Bileşik No 29**) bileşikleri Phillips yöntemiyle tek basamakta sentezlenmiştir. Bu bileşiklerden, Bileşik 18, 26 ve 29 ilk defa bu çalışmada sentezlenmiştir. Bileşik 12, 23 ve 25 üzerine kayıtlı literatür çalışması bulunmamaktadır; fakat ticari olarak satılan moleküllerdir. Sentezlenen bileşiklerin kristallendirildikten sonra saflığı İTK, erime noktası ile belirlenmiş olup, yapıları FT-IR, ¹H-NMR ile aydınlatılmıştır. Orijinal olan bileşiklerin yapıları LC-MS/MS ile desteklenmiştir.

Sentezlenen 2-alkil/alkiloksi köprülü sübstitübenzimidazol türevi bileşiklerin sağlıklı hücre hattı olan HEK 293 ve kanser hücre hatları olan A549, A498, HeLa, A375 ve HepG2'e karşı antiproliferatif aktiviteleri MTT (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür) yöntemi ile belirlenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Benzimidazollerin Genel Özellikleri

Benzimidazol halka sistemi, benzen ve imidazol halkalarının, imidazol halkasının 4. ve 5. konumlarından birbirlerine bağlanmaları ile oluşmuştur. Benzimidazol halka sistemi iki farklı yapıda azot atomuna sahiptir (Şekil 2.1.). Hidrojen atomu bağlı azot atomu “imino azotu” veya “pirol azotu”, tersiyer formdaki diğer azot atomu ise “piridin azotu” veya “tersiyer azot” olarak isimlendirilmektedir. İmino azot atomunun taşıdığı hidrojen atomuna da, “imino hidrojeni” adı verilir. İmino azotu sp^3 hibritleşmesi yapar ve kendisine bağlı hidrojenle beraber proton verici merkez olarak davranırken, tersiyer azot atomu sp^2 hibritleşmesi gösterir ve proton alıcısı olarak davranır [18- 20].



Şekil 2.1. Benzimidazol'ün yapısı.

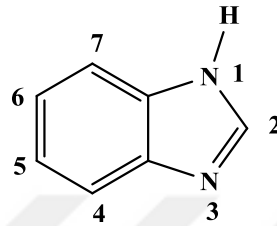
Genellikle benzimidazol türevi bileşiklerin erime ve kaynama noktaları yüksek olup, katı forma sahiptirler. Örneğin, benzimidazol molekülünün erime noktası $170^{\circ}C$ 'dir. Bu bileşikler polar çözücülerde iyi çözünürken, nonpolar çözücülerde ise az çözünürler. Polar çözücülerde serbest imino hidrojeni asosiyede halinde bulunur ve süstitüsyona uğratılırsa kaynama ve erime noktaları oldukça düşer [18].

Benzimidazoller asitlerle tuz oluşturabilme yeteneğine sahip olan bazik yapıli bileşiklerdir. Benzimidazollerin bazik özelliği asidik özelliğinden daha baskın olan amfoterik bileşikler oldukları için metallerle tuz oluştururlar. Benzimidazollerin bazik karakterlerinin kaynağı, üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftini reaksiyona girdikleri atom veya gruba verebilen tersiyer azot atomunun varlığıdır [21].

Benzimidazol yapılarının asidik özelliği imino hidrojeninden kaynaklanmaktadır. Benzimidazollerin, grignard bileşikleri ile reaksiyonu sonucu N-Magnezyum halojenür ürünü açığa çıkarması asidik özelliğinin bir sonucudur. Ayrıca benzimidazollere bağlı elektronegatif grupların sayısı arttıkça asidik özellikleri artmaktadır [21].

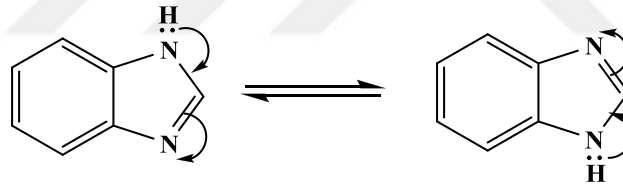
Benzimidazoller (pK_a 5,5), imidazollere göre (pK_a 7,0) zayıf bir bazdır. Buna imidazol ile benzen halkaları arasındaki konjugasyon sebep olmaktadır. Bu konjugasyondan dolayı oluşan tautomerleşme, halka dayanıklılığının artmasına sebep olur ve imidazol azotunun bazik karakterini azaltır. Benzimidazoller, asitler ve bazlara karşı dayanıklı bileşiklerdir. Ayrıca benzimidazoller oksitleyici bileşiklerden kolay etkilenmezler [22].

Benzimidazol halka sisteminin numaralandırılmasına imino azotundan başlanır ve tersiyer azot atomuna 3 numara verilerek devam edilmektedir (Şekil 2.2.) [18].



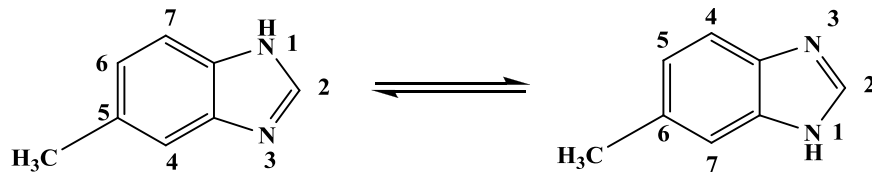
Şekil 2.2. Benzimidazol molekülünün numaralandırma sistemi.

1 numaralı konumdaki azot atomuna bağlı hidrojen atomu tautomerizim gösterir (Şekil 2.3.) [20, 23].



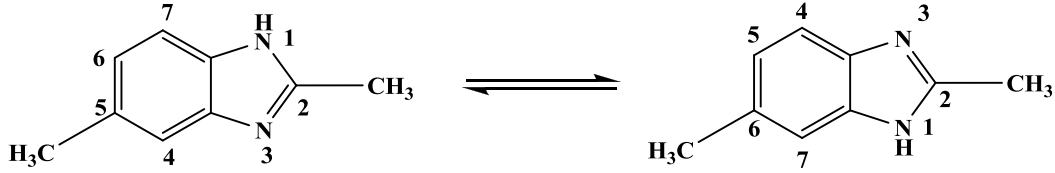
Şekil 2.3. Benzimidazol molekülünün tautomerik formu.

Tautomerleşme ile birlikte iki farklı yapı yazılabilmesine rağmen her iki form da aynı bileşiğe aittir. Birbirinin izomeri gibi görünsede aslında birbirinin tautomeridir. Bu durum simetri düzlemine sahip olmayan 5(6)-metilbenzimidazol ile örneklenebilir (Şekil 2.4.). 5-metilbenzimidazol, 6-metilbenzimidazolün tautomeri olduğundan bu iki form da aynı bileşiktir [20-21].



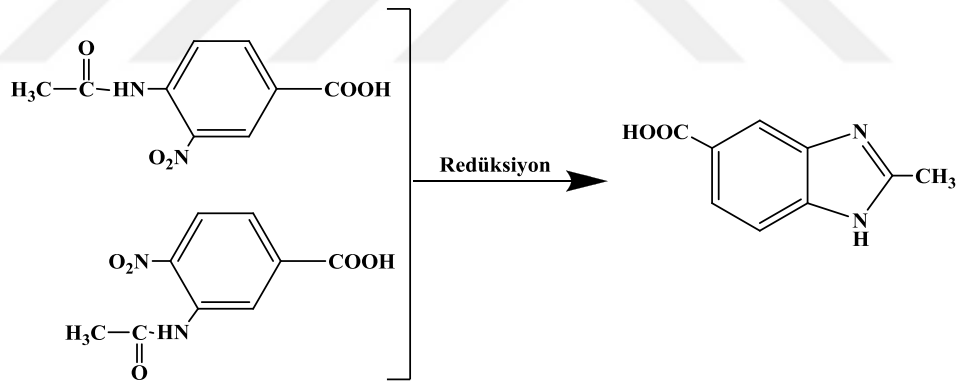
Şekil 2.4. 5(6)-Metilbenzimidazol bileşiğinin tautomerik formu.

2,5(6)-dimetilbenzimidazol gibi türevlerin sahip olduğu imino azotu, iki farklı izomer formunun oluşmasına sebep olmaktadır. Bu tip bileşiklerde kesin yapı ortaya koyulamayabilir. Şekil 2.5.'de görüldüğü gibi 2,5-dimetilbenzimidazol, 2,6-dimetilbenzimidazolün tautomeridir. Aynı durum, 4(7)-sübstitüe benzimidazol türevleri için de geçerlidir [18, 20].



Şekil 2.5. 2,5(6)-Dimetilbenzimidazol bileşiğinin tautomerik formu.

Serbest imino hidrojeni içeren benzimidazoller, birbirinin tautomeridir. Bu Benzimidazollerin tautomerini belirlemek için, Green ve Day'in 1942 yılında yaptıkları bir çalışmada, 3-nitro-4-asetamido-benzoik asit ve 4-nitro-3-asetamidobenzoik asitin redüksiyonu ile aynı benzimidazol molekülünü elde etmişlerdir (Şekil 2.6.) [24].



Şekil 2.6. 3-Nitro-4-asetamido benzoik asit ve 4-nitro-3-asetamido benzoik asitin redüksiyonu ile 5-karboksilik asit-2-metil-1H-benzimidazol sentezi.

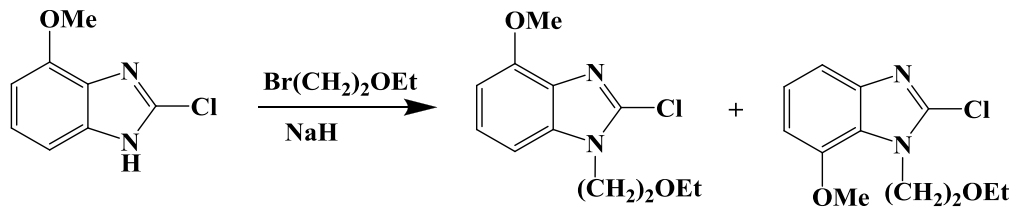
Simetri düzlemine sahip benzimidazol türevlerinin tautomerik formları ise birbirinin aynıdır ve yapıyı tam olarak belirlemek mümkündür. Örneğin; 2-metil, 5,6-dimetil ve 4,7-dimetil benzimidazol bileşikleri simetri düzlemi içerirler. Benzimidazollerin, benzen halkasında simetri düzlemini engelleyecek şekilde sübstitüente sahip olması halinde, imino hidrojeni sübstitüe edilirse, iki farklı izomer formu karışımı elde edilmektedir [18].

1 numaralı konuma hidrojen atomundan daha büyük atom veya moleküller bağlandığında tautomerizim gözlenmez. Bu tür bileşiklerde izomer yapı oluşumu gözlenir. Bundan dolayıda farklı bileşikler oluşur. Örneğin, 1,5-dimetilbenzimidazol ile 1,6-dimetil benzimidazol aynı bileşikler değildir. Bu tür bileşiklerde numaralandırma sübtitüe azot atomundan başlanarak yapılır [21].

Benzen halkasından türevlendirilmiş bileşiklerdeki sübtitüentin karakteri azot üzerinden yapılacak sübtitüsyonu etkilemektedir. Bunun sonucunda farklı verimlerle elde edilmiş izomerler ortaya çıkar. Benzimidazol halka sisteminin 4. konumundan yapılacak sübtitüsyonları, önemli ölçüde elektrotatik, termodinamik ve sterik etkilere sahipken 5. konumdaki sübtitüsyonları da bu etkilerin yeterince baskın olmaması nedeniyle, izomerin meydana gelme oranını değiştirdiği gösterilmiştir [25].

Bazı benzimidazol türevlerinin dimetil sülfoksit (DMSO) içindeki tautomerizm formları incelendiğinde, 2-furil ya da tiyenil türevlerinin tautomerizm formları varken, 2-fenil türevlerinde tautomerizm formlarının olmadığı tespit edilmiştir. Bu durumun heteroaril gruplarına sahip moleküllerin, -NH azotunun asitliğinin artmasına bağlı olabileceği bildirilmiştir [26].

Iemura ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, 2-kloro-4-metoksi-benzimidazolün imino hidrojeninin sübtitüsyonu ile 2-kloro-1-(2-etoksietil)-4-metoksi-1*H*-benzimidazol ve 2-kloro-1-(2-etoksietil)-7-metoksi-1*H*-benzimidazol bileşikleri elde edilmiştir (Şekil 2.7.). Bu izomerler birbirinden kolon kromatografisi yöntemi ile ayrılmıştır [27].



Şekil 2.7. 2-Kloro-4-metoksi-benzimidazol'ün imino hidrojeninin sübtitüsyonu.

Göker ve ark. yapmış oldukları çalışmada 1-(*p*-florobenzil)-2-(4-metilpiperidin-1-il)metil-5(6)-kloro-1*H*-benzimidazol izomerlerinin kolon kromatografisi yöntemiyle birbirinden ayrıldığını belirtmişlerdir [28].

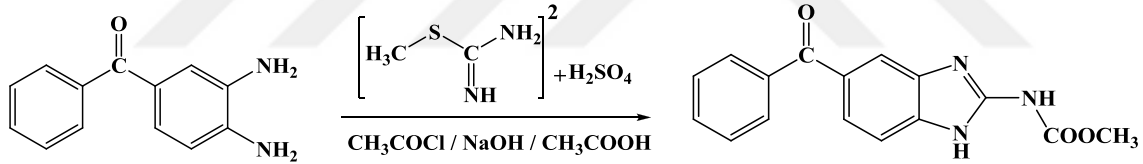
2.2. Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri

Benzimidazol türevi bileşiklerin sentez yöntemlerinde çoğunlukla 1,2-fenilendiamin ya da 1,2-fenilendiamini verecek sübtitüe türevlerin uygun aldehit ya da karboksilik asit türevleri ile reaksiyonu ile sentezlendiği çeşitli kaynaklarda bildirilmiştir.

2.2.1. 2-Sübtitüebenzimidazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri

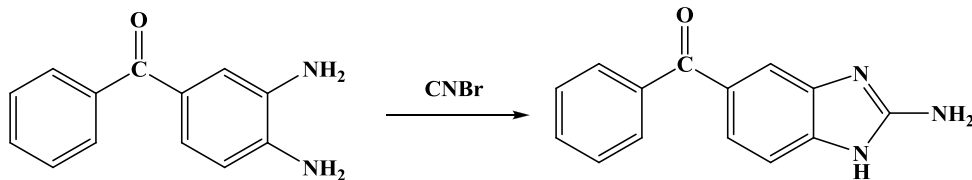
Günümüze kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde 2-Sübtitüebenzimidazol türevlerinin genel sentez yöntemleri 1,2-fenilendiaminler ile açillenmiş *o*-nitroarilaminlerden [21, 29, 30], karboksilik asitler, esterler, asit anhidritleri, ya da amidlerden [21, 24, 31-33], nitrillerden [34-38], iminoeterlerden [39-41], aldehit ya da ketonlardan [33, 42-52] hareketle yapılan reaksiyonların literatürde sık rastlanan yöntemler olduğu görülmektedir. Bu yöntemler ise şunlardır:

1,2-Fenilendiamin türevi ile 2-metiltiyopsödoüre sülfat ve metilkloroformat karışımının alkali ortamdaki reaksiyonu sonucu 1*H*-benzimidazol-2-karbamat türevi sentez edilmiştir (Şekil 2.8.) [53].



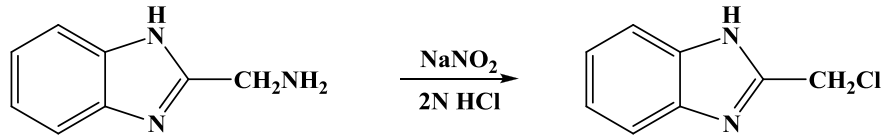
Şekil 2.8. 1,2-Fenilendiamin türevi ile 2-metiltiyopsödoüre sülfat ve metilkloroformat karışımının alkali ortamdaki reaksiyonu ile 1*H*-benzimidazol-2-karbamat türevi sentezi.

Sulu ortamda 3,4-diaminobenzofenon ve siyanojenbromür reaksiyonu sonucunda, 2-amino-5(6)-benzoil-1*H*-benzimidazol bileşiğinin sentezlendiği bildirilmiştir (Şekil 2.9.) [54].



Şekil 2.9. 2-Amino-5(6)-benzoil-1*H*-benzimidazol bileşiğinin sentezi.

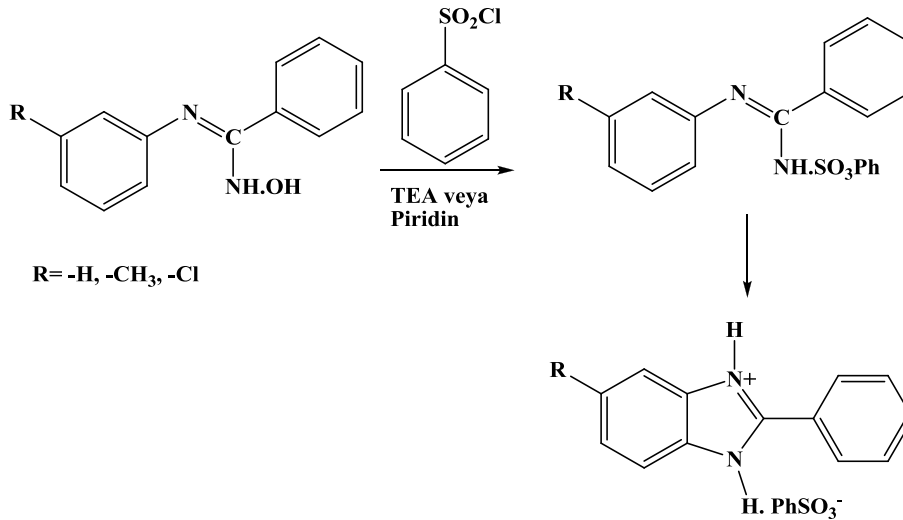
Chub ve ark. 2-klorometilbenzimidazol sentezi için alışılmışın dışında bir yöntem ortaya koymuşlardır. Ortaya koydukları bu yönteme göre, sulu ortamdaki 2-aminometilbenzimidazol dihidroklorür ile sodyum nitrit çözeltisinin 2 N HCl varlığında -10°C 'de reaksiyonu sonucu 2-klorometilbenzimidazol'ün sentezlendiği bildirilmiştir (Şekil 2.10.) [55].



Şekil 2.10. 2-Klorometil benzimidazol bileşiğinin sentezi.

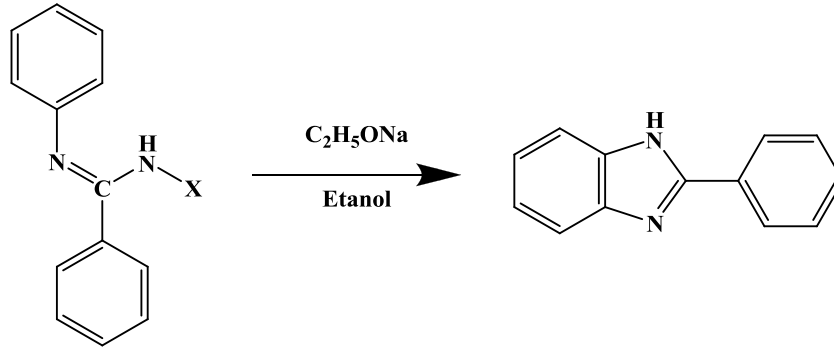
Lane, 1953 yılında yaptığı bir çalışmada, gliserol içerisinde 1,2-fenilendiaminin ve amonyum benzoatın reaksiyona sokulması ile 2-fenilbenzimidazolü elde ettiğini bildirmiştir [56].

Partridge ve Turner ark. tarafından 1958 yılında yapılan bir çalışmada, susuz ortamda ve tersiyer bir baz varlığında (piridin ya da trietilamin) 5-süstitüe-2-fenilbenzimidazollerin, *N'*-aril-*N*-hidroksiamidin ile benzensülfonil klorürün gerçekleşen reaksiyonu ile sentez edildiği bildirilmiştir (Şekil 2.11.). Ayrıca bileşiklerin benzensülfonat tuzlarından da sentez edildiği literatürde kayıtlıdır [57].



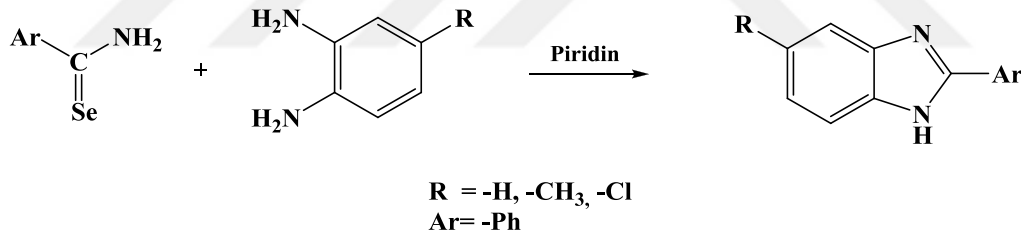
Şekil 2.11. 5-Süstitüe-2-fenilbenzimidazol bileşiğinin sentezi.

Haruki ve ark. tarafından 1968 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada etanollü ortamda *N*-arilhaloamidinlerin, sodyum etoksit ile reaksiyonları sonucunda 2-fenilbenzimidazolü sentezlediklerini bildirmişlerdir (Şekil 2.12.) [58].



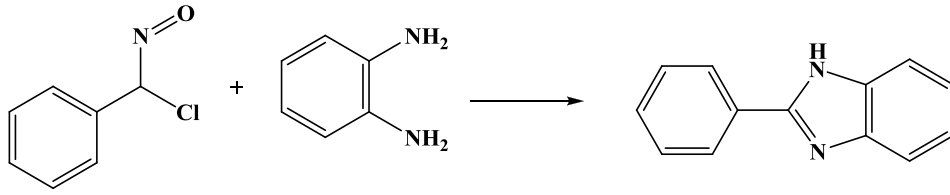
Şekil 2.12. 2-Fenilbenzimidazol bileşiğinin sentezi.

Cohen tarafından yayınlanan bir çalışmada, toluen ya da piridin içerisinde aromatik selenoamidler ile süstitüe 1,2-fenilendiamin türevleri ısıtılarak 2-aril-benzimidazol türevlerinin sentez edildiği bildirilmiştir (Şekil 2.13.) [59].



Şekil 2.13. 2-Aril benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi.

Abdelhamid ve ark. tarafından yapılan bir çalışmaya göre süstitüe hidroksimoil klorürler ile bazı 1,2-süstitüe aromatik amin türevleri kullanılarak 2. konumdan aril grupları ile süstitüe edilmiş benzimidazol yapısındaki bileşiklerin eldesinin gerçekleştirildiği ortaya konulmuştur (Şekil 2.14.). Bu yöntem ile 1,2-disüstitüe aromatik aminlerin asit klorürleriyle kondenzasyonu sonucu gerçekleşen reaksiyondan daha ılımlı şartlarda ve daha yüksek verimle bileşik sentez edildiği ortaya konulmuştur [60].



Şekil 2.14. 2-Süstitüe benzimidazol bileşiğinin sentezi.

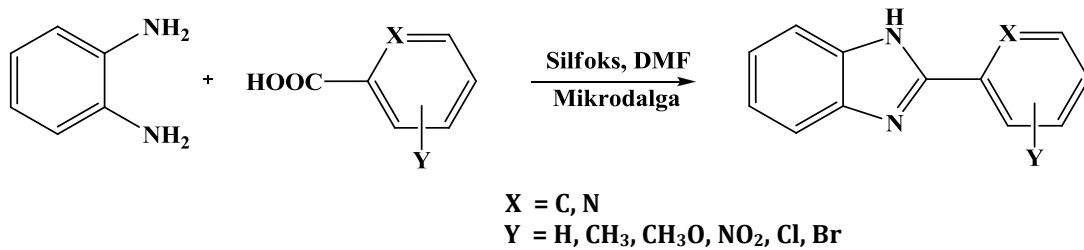
Nikham ve Fatehi-Raviz ark. 1,2-fenilendiamin ile uygun karboksilik asit türevlerinin alüminyum ve metansülfonik asit varlığında mikrodalga yöntemiyle gerçekleştirilen reaksiyonlar sonucunda 2-süstitüebenzimidazol türevi bileşikler % 77-96 verimle elde etmişlerdir (Şekil 2.15.) [61].



R = metil, propil, izobütil, fenil, 2-hidroksifenil, 2-klorofenil, 2-metoksifenil, 4-aminofenil, 4-bromofenil, 3-klorofenil, 3-nitrofenil, pirdin-2-il

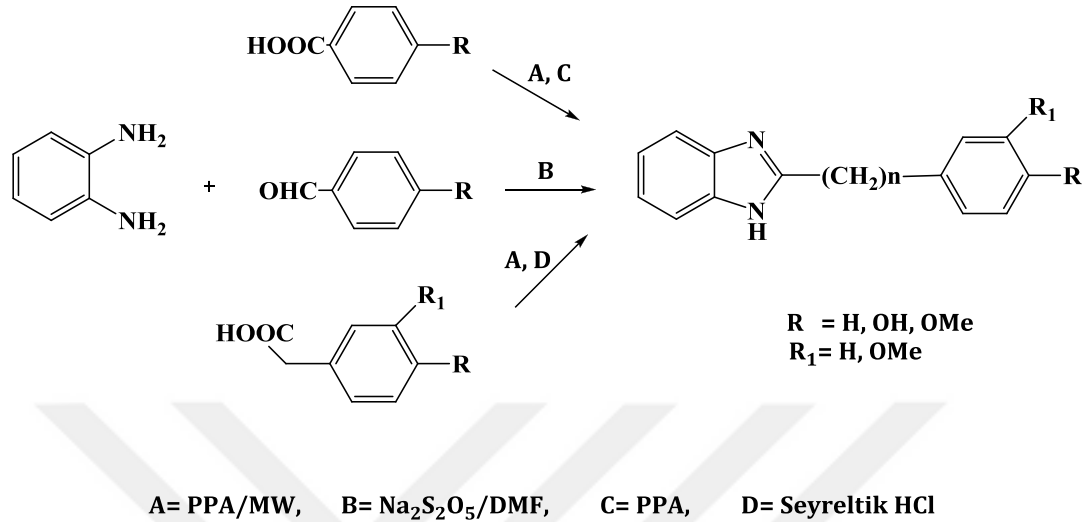
Şekil 2.15. Karboksilik asitlerden hareketle 2-Süstitüebenzimidazol türevi bileşiklerin sentezi.

Hasaninejad ve ark. 2009 yılında yayınladıkları bir çalışmada 2-süstitüebenzimidazol türevi bileşiklerini 1,2-fenilendiamin ve arilkarboksilik asit türevlerinden hareketle silfoks [POCl₃-n(SiO₂)_n] ve birkaç damla DMF varlığında 400 W'lık mikrodalga ışıması altında 7-8 dakikada sentezlediklerini bildirmişlerdir (Şekil 2.16.) [62].



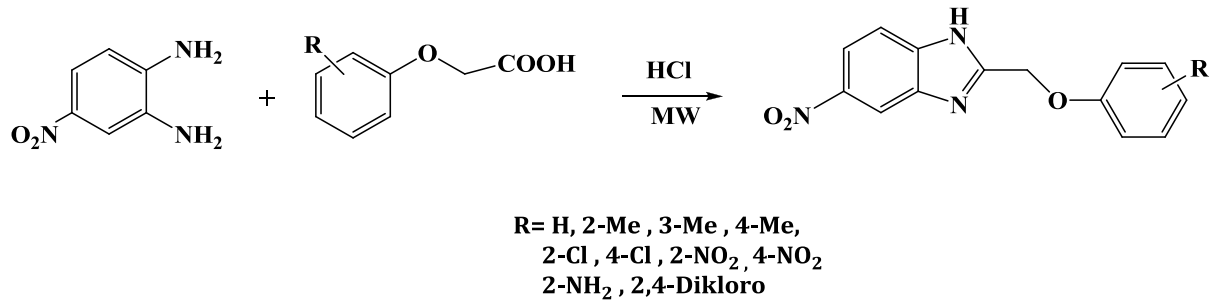
Şekil 2.16. 2-Arilsüstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi.

Algül ve ark. tarafından 2-sübstitüe benzimidazol, benzotiyazol ve indol türevleri hem mikrodalga yöntemi ile hem de konvansiyonel ısıtma yöntemi ile sentezlenmiştir (Şekil 2.17.) [63].



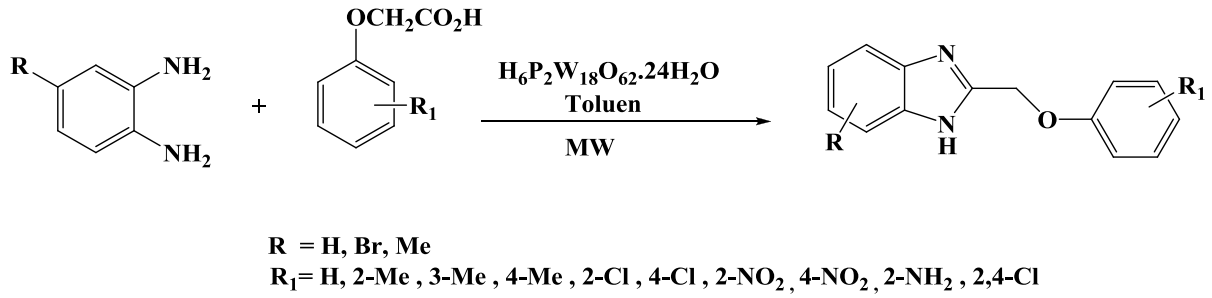
Şekil 2.17. Mikrodalga yöntemi ile benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi.

Hosamani ve ark. mikrodalga ışınlama altında katalizör olarak hidroklorik asit kullanarak 5-nitro-2-arilsübstitüe taşıyan fenoksimetil-1*H*-benzimidazol türevleri sentezlemişlerdir (Şekil 2.18.) [64].



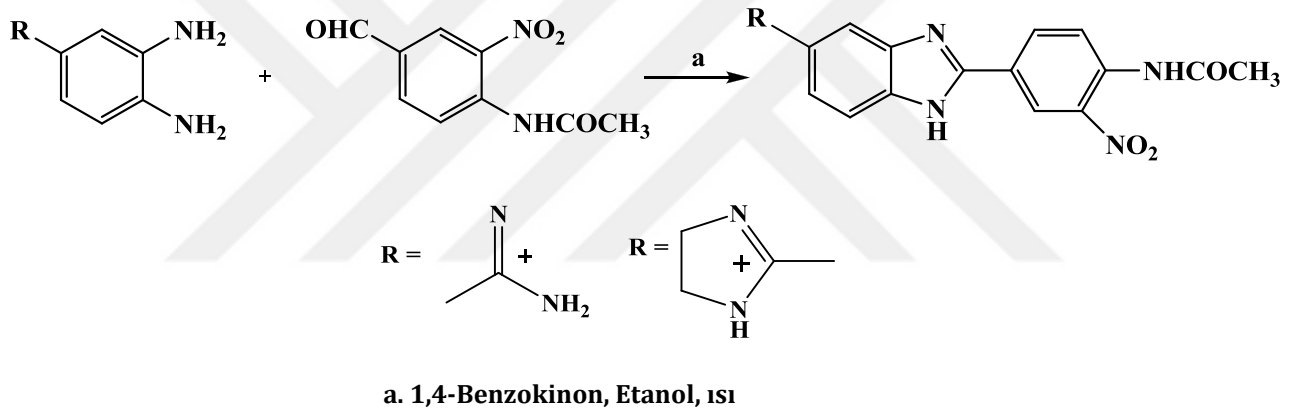
Şekil 2.18. 5(6)-Nitro-2-arilsübstitüe fenoksimetil-1*H*-benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi.

Keri ve ark. bir Wells-Dawson H₆P₂W₁₈O₆₂.24H₂O katalizörü kullanarak farklı fenoksi asitli *o*-fenilendiaminlerden hareketle benzimidazol türevlerinin sentezi için yeni, hızlı ve etkili bir yöntem bildirmişlerdir (Şekil 2.19.) [65].



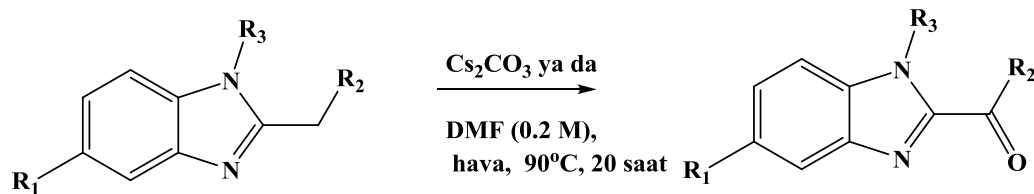
Şekil 2.19. Wells-Dawson $H_6P_2W_{18}O_{62}.24H_2O$ katalizörlü reaksiyon ile benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi.

Uygun 1,2-fenilendiamin türevinin 1,4-Benzokinin ve etanolü ortamda hızla karıştırılarak aldehit türevi ilavesi sonucu geri çeviren soğutucu altında 4,5 saat ısıtılması ile 2-sübstitüe benzimidazoller sentezlenmektedir (Şekil 2.20.) [66].



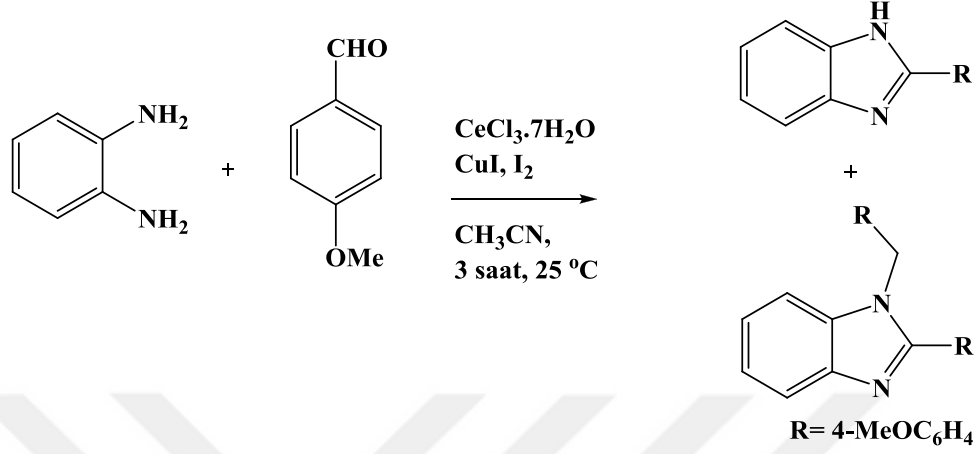
Şekil 2.20. Aldehit türevlerinden hareketle 2-sübstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi.

Santos ve ark. farklı 2-sübstitüe benzimidazol sentezi için benzimidazol türevini açık hava ortamında 20 saat süreyle DMF içerisinde Sezyum karbonat ile karıştırarak 90 °C sıcaklıkta elde etmişlerdir (Şekil 2.21.) [67].



Şekil 2.21. 2-Sübstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi.

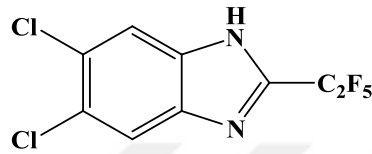
Cimarelli ve ark. 1,2-fenilendiamin ile aldehytlerin reaksiyonu ile benzimidazoller sentezlemişlerdir. Ortamda $CeCl_3 \cdot 7H_2O$, bakır iyodür, iyot ve asetonitril çözücüsü kullanmışlardır. Reaksiyonu oda sıcaklığında 3 saatte gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.22.) [68].



Şekil 2.22. $CeCl_3 \cdot 7H_2O$, Bakır iyodür, iyot ve asetonitrilli ortamda oda sıcaklığında aldehytlerden hareketle 1,2-fenilendiamin ile benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi.

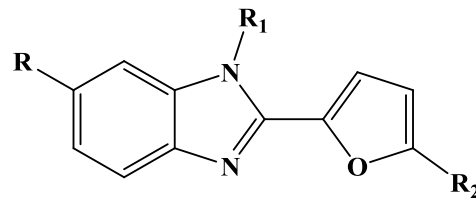
2.3. Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Antikanser Aktivite Çalışmaları

Andrzejewska ve ark. 2. konumda triflorometil, pentafloroetil ve 2-tiyoetilaminodimetil gruplarını taşıyan benzimidazol türevlerinin, antiprotozal ve antikanser aktivitelerini yaptıkları bir çalışmada değerlendirmişlerdir. Sentezlenen tüm bileşiklerin *G. intestinalis*, *E. histolytica* ve *T. vaginalis*'e karşı iyi antiprotozal aktivite gösterdiği ve tüm seri içerisinde en iyi antikanser aktivite gösteren bileşiğin ise 5,6-dikloro-2-pentafluoroetilbenzimidazol olduğu saptanmıştır (Şekil 2.23.) [69].



Şekil 2.23. 5,6-Dikloro-2-pentafluoroetil benzimidazol bileşiğinin yapısı.

Pedini ve ark., *N*-glikozit yapıları taşıyan bileşiklerin bazı biyolojik aktivitelerinin olduğunu belirlemişlerdir. Özellikle bu yapıların antilösemik aktivitelerinin tespiti [70-71], *N*-glikozit yapısı taşıyan benzer yapıda bir seri bileşik tasarlanmasını sağlamıştır (Şekil 2.24.). Bu amaçla 2-(2'-furyl) benzimidazol yapısındaki *N*¹-heterozit türevlerin sentezlenmiş ve antilösemik aktiviteler araştırılmıştır [72].

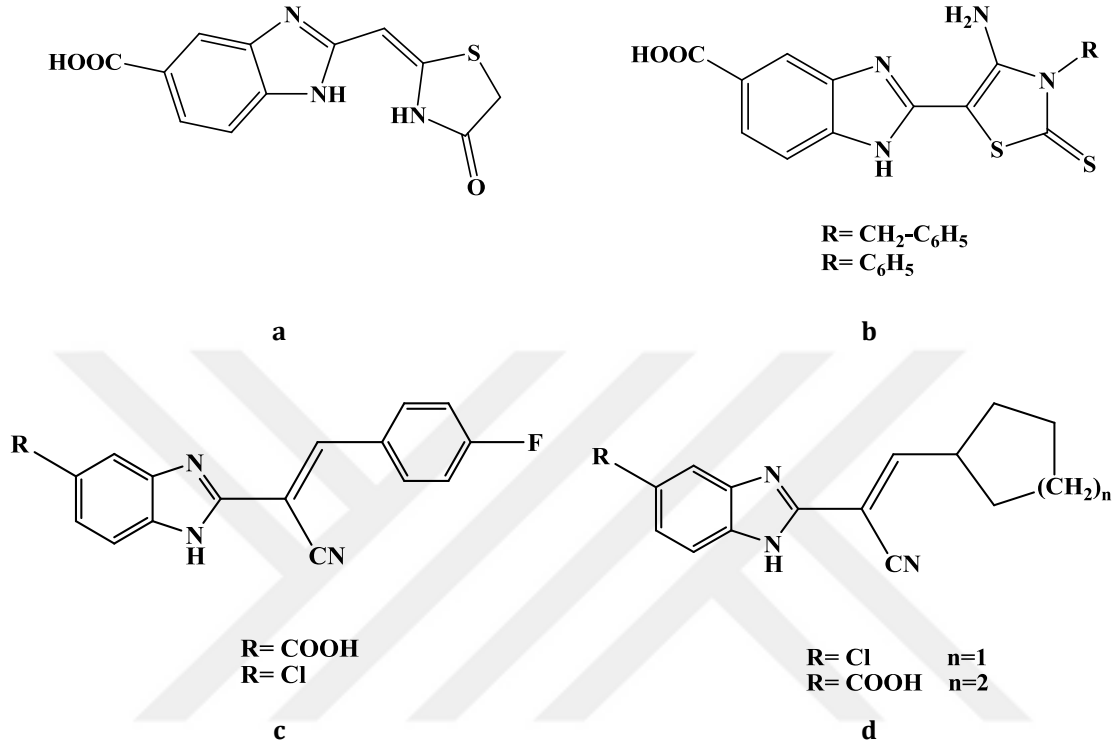


R= H, Cl, F
R₁= D-riboforanoz, D-glukoz, D-galaktoz
R₂= H, NO₂

Şekil 2.24. 2-(2'-Furyl) benzimidazol türevlerinin *N*¹-heterozitlerinin yapısı.

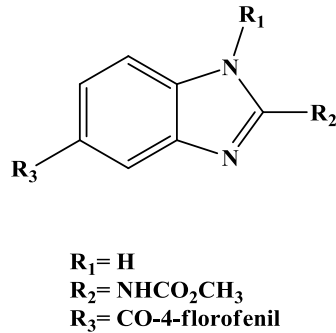
Refaat tarafından yapılan bir çalışmada, yeni 2-sübstütüe benzimidazol türevi bileşiklerden 2-[(4-oksotiyazolidin-2-ilidin)metil] (Şekil 2.25a) ve (4-amino-2-tiyoksatiyazol-5-il)benzimidazoller (Şekil 2.25b) ile 2-[(4-fluorobenziliden-siyanometil] benzimidazollerin (Şekil 2.25c) ve 2-[(4-sikloalkiliden)-siyanometil] benzimidazollerin (Şekil 2.25d) sentezlendiği

bildirilmiştir. Bileşiklerin, üç yaygın insan kanser hücre hattı olan karaciğer kanseri (HepG2), göğüs kanseri (MCF-7) ve kolon kanseri (HCT 116) aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda sentezlenen bazı bileşiklerin *in vitro* IC₅₀ değerlerinin 10 µg/mL altında olduğu tespit edilmiştir [73].



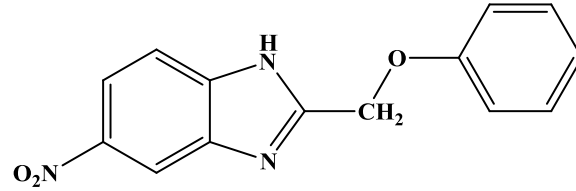
Şekil 2.25. Yeni 2-süstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin yapısı.

Spagnuolo ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada flubendazolün (Şekil 2.26.) de lösemi ve miyeloma hücreleri üzerinde, vinblastinden farklı bir bölgede tübülün polimerizasyonuna etki ederek, nanomolar konsantrasyonda hücre ölümüne yol açtığı bildirilmiştir [74].

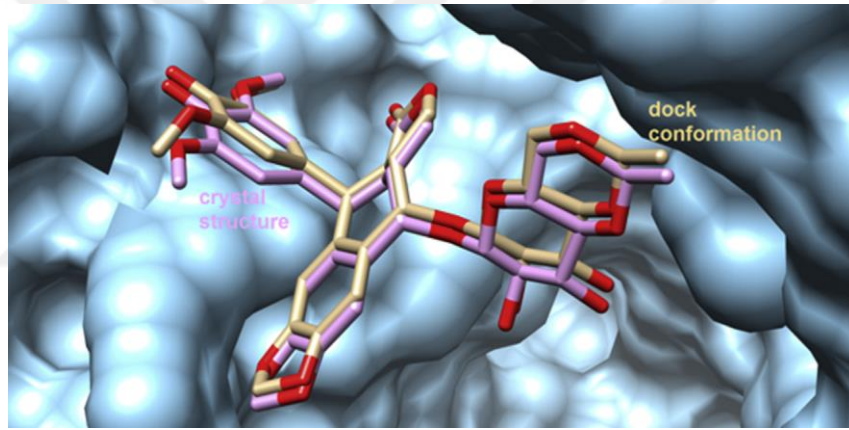


Şekil 2.26. Antikanser etkili Flubendazol yapısı.

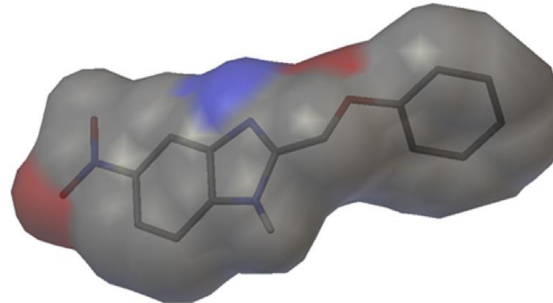
Menon ve ark. 5-nitro-2-fenoksimetil benzimidazol (Şekil 2.27.) bileşiğini sentezleyerek FT-IR, FT-Raman ve NMR analiz sonuçlarını deneysel ve teorik olarak incelemişlerdir. Ayrıca bu bileşiğinin Topo II enzimi ile substrat bağlama yeri etkileşimleri, moleküler docking (Moleküler Yerleştirme) metodu kullanarak belirlemişlerdir (Şekil 2.28., Şekil 2.29. ve Şekil 2.30.). Biyolojik aktivite çalışmaları sonucunda bu bileşiğin yeni antikanser bileşik geliştirmesinde öncü bileşik olabileceği sonucuna ulaşmışlardır [75].



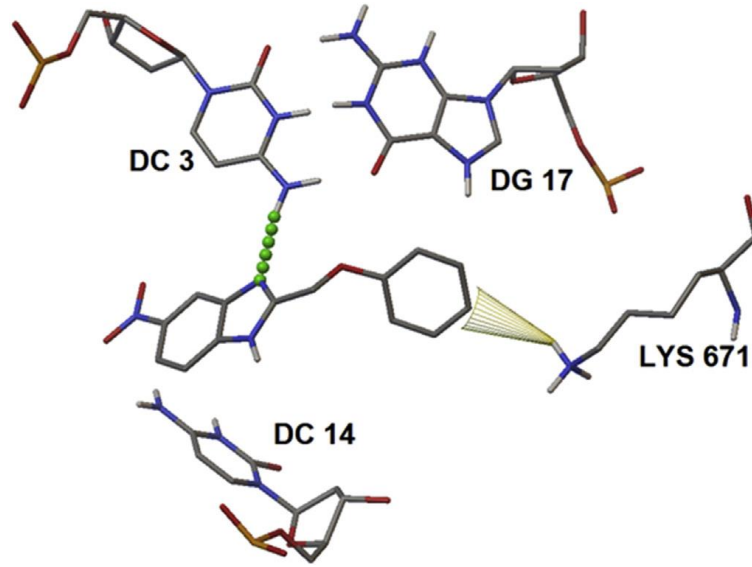
Şekil 2.27. 5-Nitro-2-fenoksimetil benzimidazol bileşiğinin yapısı.



Şekil 2.28. Moleküler Docking programı yardımıyla 5-Nitro-2-fenoksimetil benzimidazol yapısının kristal yapısı ile dock konformasyonu gösterimi [75].

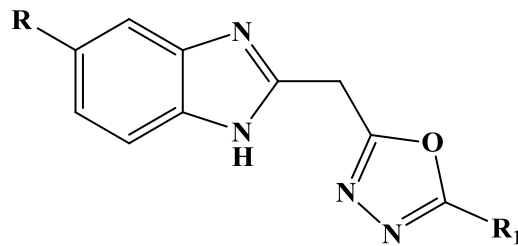


Şekil 2.29. AutoDock programının MSMS modülü tarafından hazırlanan moleküler yüzeyli 5-Nitro-2-fenoksimetil benzimidazol bileşiği [75].



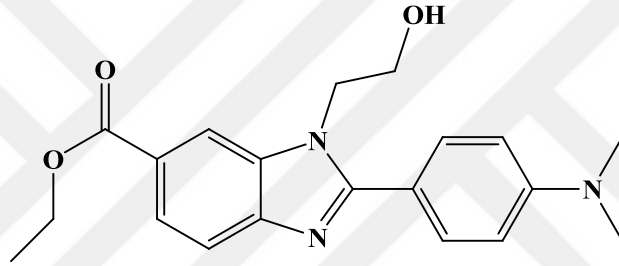
Şekil 2.30. AutoDock programı ile belirlenen reseptör-ligand etkileşimleri [75].

Akhtar ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada potansiyel EGFR ve erbB2 reseptör inhibitörleri olarak antikanser ve apoptotik aktivite için tasarlanan oksadiazol bağlı benzimidazol türevleri sentezlenmiştir. Bileşiklerin bazılarının, beş insan kanser hücresi MCF-7, HaCaT, MDA-MB231, HepG2 ve A549 hatlarına karşı test edildiğinde kuvvetli, geniş spektrumlu antiproliferatif aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Bileşiklerden, Şekil 2.31a ve Şekil 2.31b sırasıyla 5.0 ve 2.55 μM IC_{50} değerleri ile MCF-7 kanser hücresine karşı 5-fluorourasil'den daha fazla sitotoksik iken, sadece Şekil 2.31a'nın, apoptozda bir artış eşliğinde G2/M fazında hücre döngüsünün durmasını sağladığını tespit etmişlerdir [76].



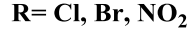
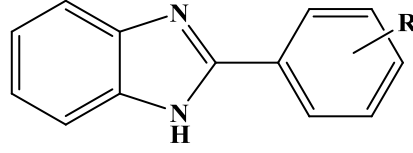
Şekil 2.31. Antikanser ve apoptotik aktiviteye sahip benzimidazol türevi bileşiklerin yapısı.

Yoon ve ark. tarafından yapılan bir çalışmaya göre 15 yeni benzimidazol türevi tasarlanarak sentezlenmiş ve antikanser aktiviteleri incelenmiştir. Şekil 2.32.'deki bileşiğin hücre sitotoksitesi çalışmaları, iki farklı göğüs kanseri (MCF-7 ve MDA-MB-468) hücre hatlarına karşı güçlü bir antikanser aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. 50 µM'daki konsantrasyonda meydana gelen inhibisyon yüzdeleri, MCF-7 ve MDA-MB-468 kanser hücre hatları için sırasıyla %49.63 ve %46.33'dır. Sentezlenen tüm benzimidazol türevlerinin yapı-aktivite ilişkileri (SAR) ortaya konulmuştur. Aktif bileşiğin öncelikle hidrojen bağı sonra da hidrofobik ve hafif polar etkileşimler nedeniyle reseptör ile etkileşime girdiği belirlenmiştir. Bileşiğin hidroksil grubu, güçlü bir şekilde hidrojen bağı ile Glu288'e bağlanırken dimetilamino grubu bir hidrojen bağı oluşturmamıştır. Bu nedenle, artan aktiviteden sorumlu olan grubun hidroksil grubu olabileceğini bildirmişlerdir [77].



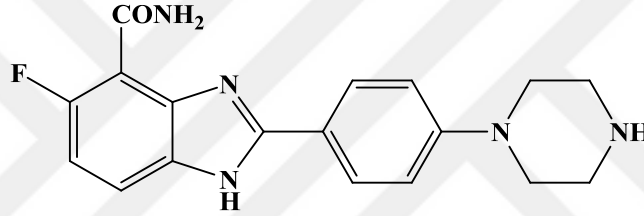
Şekil 2.32. Antikanser aktivite gösteren benzimidazol türevi bileşiğin yapısı.

Azam ve ark. benzen-1,2-diamin ve aril-aldehitlerden hareketle oda sıcaklığında bir seri benzimidazol türevi bileşik sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin yapılarını çeşitli spektroskopik çalışmalar ile aydınlatmışlardır. Bu bileşiklerin CT-DNA ile etkileşimi fluoresan deneyleriyle incelemişlerdir. Deneyler sonucunda önemli bağlama kabiliyeti gösteren moleküller keşfetmişlerdir. Tüm sentezlenen bileşiklerin, insan meme adenokarsinom hücre hattı (MCF-7), insan lösemi hücre hattı (THP-1), insan prostat kanseri hücre hatları (PC-3), adenokarsinom insan alveoler bazal epitelyal hücre hatları (A-549) gibi çeşitli insan kanseri hücre hattına karşı antitümör aktiviteleri incelenmiştir. Tüm bileşiklerin önemli antikanser aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Şekil 2.33.) [78].



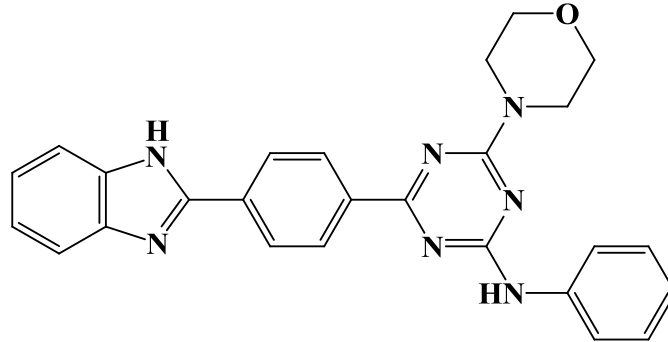
Şekil 2.33. Aril-aldehitlerden hareketle sentezlenen antikanser etkili benzimidazol türevi bileşiklerin yapısı.

Wang ve ark. yaptıkları bir çalışmada yeni 5-floro-benzimidazol-4-karboksamit türevleri geliştirilmişlerdir. Tüm seri içerisinde Şekil 2.34.'deki bileşiğin HCT116 hücrelerine karşı 7,4 μM değerindeki IC₅₀ değeri ile en güçlü antikanser özelliğe sahip molekül olduğu bildirilmiştir [79].



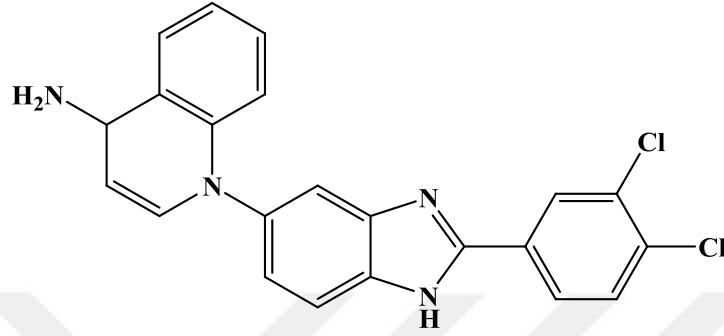
Şekil 2.34. 5-Floro-benzimidazol-4-karboksamit türevi bileşiğin yapısı.

Varshney ve ark. tarafından geliştirilen benzimidazol türevlerinin, normal insan kan hücrelerine (PBMC'ler), insan hepatoselüler karsinoma (Hep3B), insan göğüs adenokarsinomasına (MCF-7) ve insan servikal karsinoma (HeLa) hücre hatlarına karşı *in vitro* antikanser aktivitesi taranmıştır. Şekil 2.35'deki bileşiğin, 23 ± 2.3 , 40.50 ± 1.6 , 24.20 ± 3.2 ve 5.34 ± 12.47 μM IC₅₀ değerleri ile serisinin en aktif türevi olduğu bildirilmiştir [80].



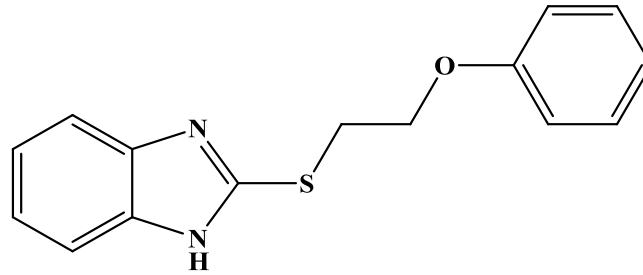
Şekil 2.35. Antikanser etkili benzimidazol türevi bileşiğin yapısı.

Shi ve ark. *N*-(2-fenil-1*H*-benzimidazol-5-il)kinolin-4-amin türevleri hazırlamışlardır ve antikanser etkinliğini değerlendirmişlerdir. Tüm serideki en aktif bileşiğin, MCF-7 hücre hattına karşı 1.2 μ M ve HepG2 hücre hattına karşı 13.3 μ M IC₅₀ değerleriyle antikanser aktivite gösteren Şekil 2.36.'daki bileşik olduğunu bildirmişlerdir [81].



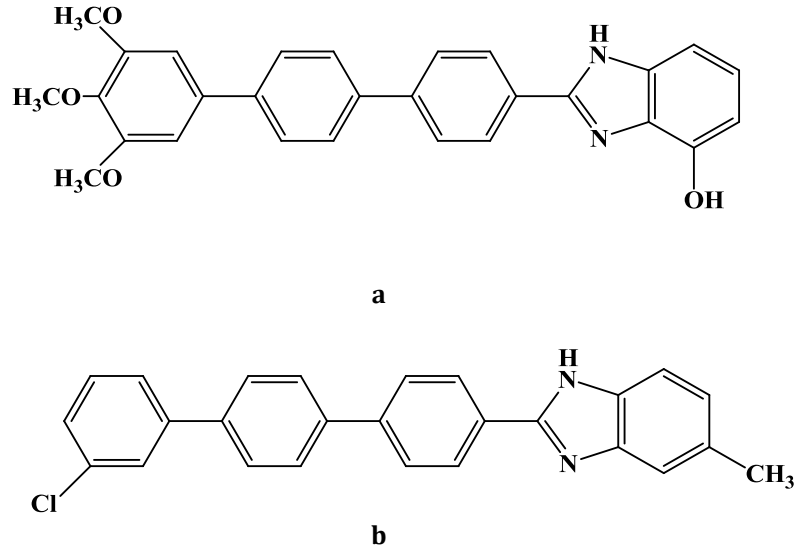
Şekil 2.36. Antikanser etkili *N*-(2-fenil-1*H*-benzimidazol-5-il)kinolin-4-amin türevi bileşiğin yapısı.

Munuganti ve ark. bir seri benzimidazol türevi sentezleyerek prostat kanserine karşı antikanser aktiviteleri değerlendirmişlerdir. IC₅₀ değeri 4.2 μ M olan Şekil 2.37.'deki bileşiğin umut verici bir antikanser bileşik olabileceği bildirilmiştir [82].



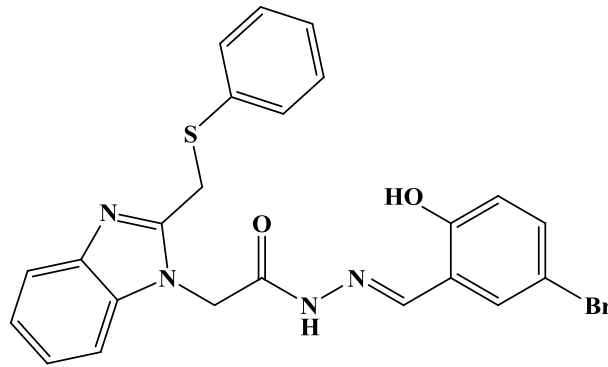
Şekil 2.37. Antikanser etkili benzimidazol türevi bileşiğin yapısı.

Kamal ve ark. benzimidazol türevi bileşikler geliştirerek antikanser aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Seri içerisinde en umut verici bileşikler Şekil 2.38a ve 2.38b'dir. Benzimidazol türevlerinin terfenil kısmında, 3,4-dimetoksi ve 3,4,5-trimetoksi grupları taşıyan bileşiklerin, kanser hücre hatlarının çoğuna karşı güçlü antikanser aktivite gösterdiği bildirilmiştir [83].



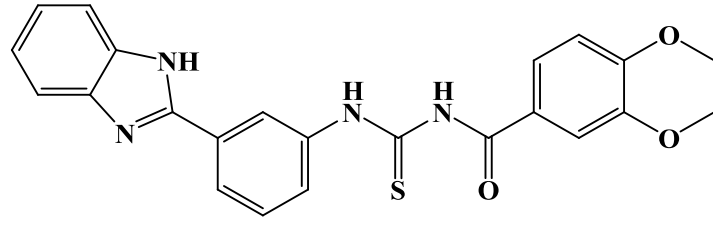
Şekil 2.38. Antikanser etkili benzimidazol türevi bileşiklerin yapısı.

Liu ve ark. çeşitli benzimidazol türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin, MTT yöntemiyle A549, HCT116, HepG2, PC-9 ve A375 kanser hücre hatlarına karşı antitümör aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Şekil 2.39'daki bileşiğin, test edilen kanser hücrelerine karşı 4 ile 17 μ M arasında değişen IC₅₀ değeri ile güçlü antikanser aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir [84].

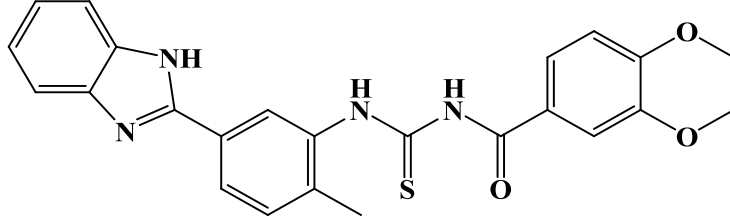


Şekil 2.39. Antikanser aktiviteye sahip benzimidazol türevi bileşiğin yapısı.

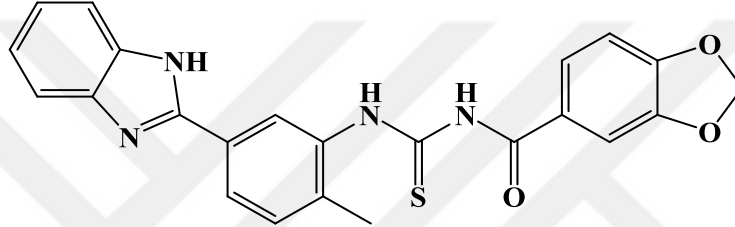
Liu ve ark. benzimidazol türevi bileşik geliştirmişler ve *in vivo* antianjiyojenik ve antitümör aktivitelerini incelemişlerdir. Serideki bileşiklerden Şekil 2.40a, 2.40b ve 2.40c'nin, HUVEC ve MDA-MB-231 hücrelerinde ve antagonize edilmiş VEGF-A 165/NRP-1 bağlanmasında en umut verici sitotoksik aktiviteye sahip bileşikler oldukları belirlenmiştir [85].



a



b

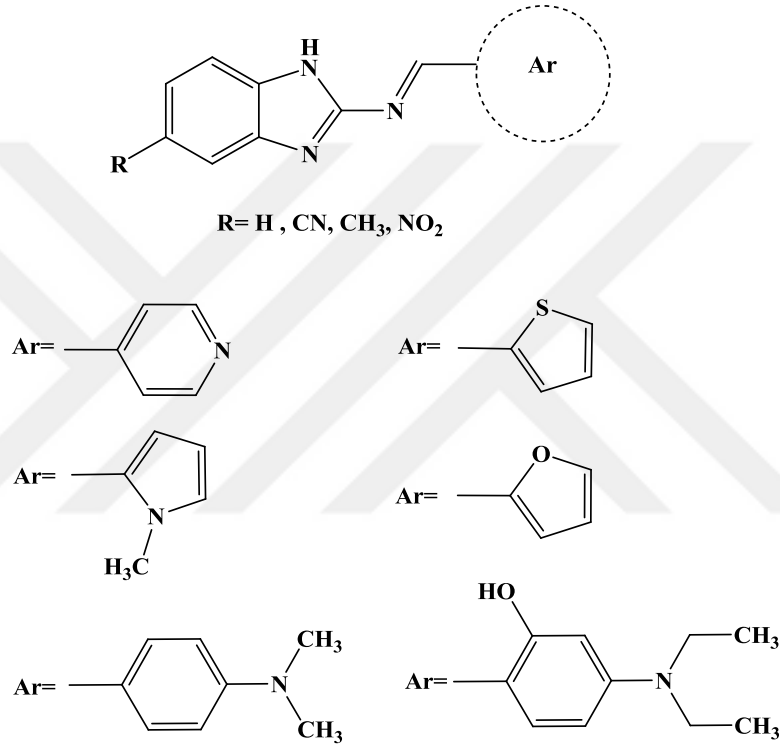


c

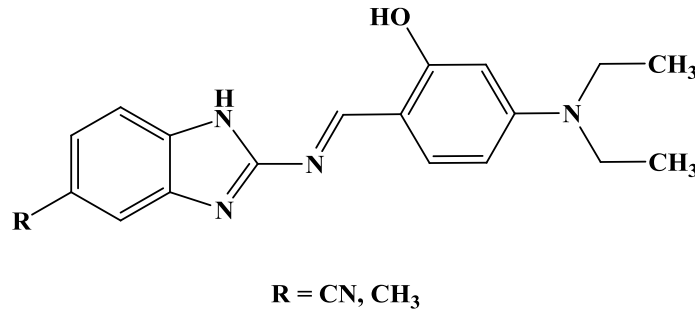
Şekil 2.40. Antianjiyojenik ve antitümör aktiviteli benzimidazol türevlerinin yapısı.

2.4. Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Antiproliferatif Aktivite Çalışmaları

Hranjec ve ark. benzimidazolün süstitüe Schiff bazlarının aromatik aldehytlerle olan reaksiyonu ile yeni bir serisi 2-aminobenzimidazol bileşiklerini sentezlemişlerdir (Şekil 2.41.). Sentezlenen bileşiklerin, *in vitro* olarak antiproliferatif aktivitesi mikromolar düzeyde belirlenmiştir. Ayrıca spesifik olmayan antiproliferatif etkisi HeLa ve MCF-7 hücre hatlarında test etmişlerdir. En güçlü antiproliferatif aktivite gösteren moleküller 3.24- 15.27 μM aralığında IC_{50} değerlerine sahip olan Şekil 2.42.'de gösterilen bileşiklerdir [86].

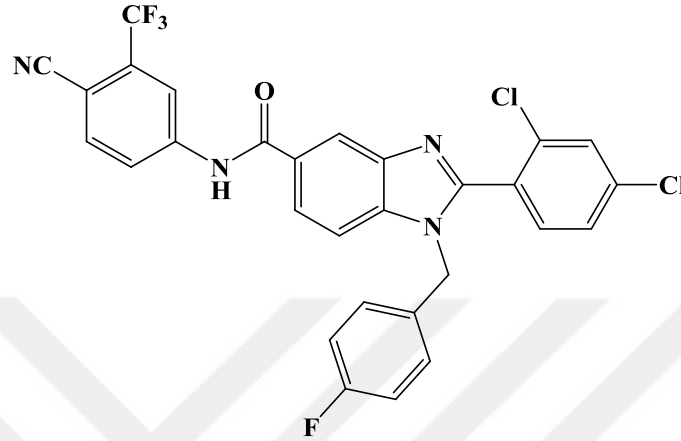


Şekil 2.41. 2-Aminobenzimidazol türevi bileşiklerin *in vitro* olarak HeLa ve MCF-7 hücre hatlarındaki antiproliferatif aktivitesi.



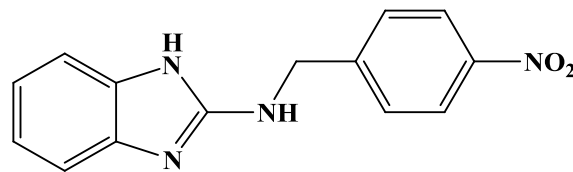
Şekil 2.42. 2-Aminobenzimidazol türevi bileşiklerin *in vitro* olarak HeLa ve MCF-7 hücre hatlarındaki antiproliferatif aktivitesi en güçlü moleküller.

Thimmegowda ve ark. tamamladıkları bir çalışmada, trisüstitüe benzimidazol ve benzer yapıdaki öncü bileşikler sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin, MDA-MB-231 göğüs kanseri hücre hatındaki proliferasyonunu durdurucu etkileri değerlendirilmiştir. 1-(4-Florobenzil)-2-(2,4-diklorofenil)-*N*-(4-siyano-3-triflorometil)fenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamit (Şekil 2.43.) bileşiğinin güçlü antiproliferatif aktiviteye sahip bileşik olduğunu bulmuşlardır [87].



Şekil 2.43. 1-(4-Florobenzil)-2-(2,4-diklorofenil)-*N*-(4-siyano-3-triflorometil)fenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamit bileşiğinin yapısı.

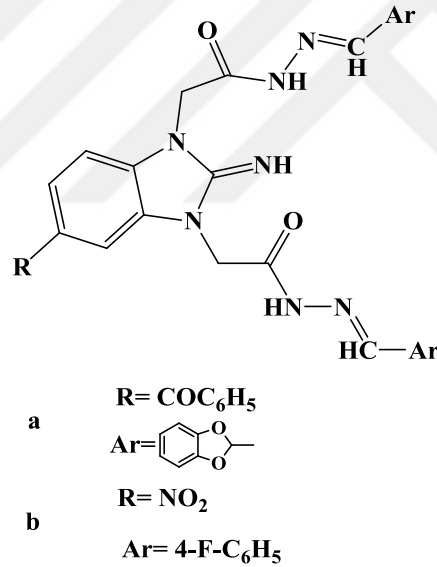
Nawrocka ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada bir seri 2-benzilaminobenzimidazol türevi bileşiğin, *in vitro* antiproliferatif aktiviteleri ve SW707 (rektal), HCV29T (mesane), A549 (akciğer), T47D (meme) kanser hücrelerine karşı sitotoksik etkileri incelenmiştir. Genel olarak elde edilen türevlerin aktif oldukları bildirilmiştir. Bu bileşiklerin *p*-konumlarında taşıdıkları süstitüentlere göre incelendiğinde para konumunda metoksi süstitüenti taşıyan türevin benzilamino taşıyan türeve göre daha aktif, *p*-konumunda klor taşıyan türevlerin diğer pozisyonlara göre daha aktif ve en aktif bileşiğin ise *p*-konumunda nitro grubu içeren türev olduğu bulunmuştur (Şekil 2.44.). Sentezlenen tüm bileşiklerin, üzerinde çalışılan kanser hücrelerine karşı *in vitro* antiproliferatif aktivitelerinin oldukça yüksek olduğu sonucuna ulaşıldığı bildirilmiştir [88].



Şekil 2.44. *N*-(4-Nitrobenzil)-1*H*-benzimidazol-2-amin bileşiğinin yapısı.

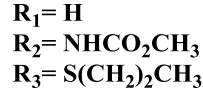
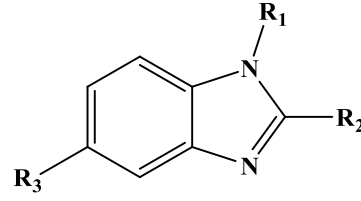
Gümüş ve ark., 2-H/metil/aminometilbenzimidazol ve 1,2-dimetilbenzimidazol yapısındaki platin kompleksi bileşiklerin MCF-7 meme kanseri hücre hattı üzerinde antiproliferatif özellikleri incelenmiştir. Platin komplekslerinin MCF-7 hücrelerine karşı sisplatinde düşük aktivite gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Ayrıca, 2-aminometilbenzimidazol platin kompleksinin bazı suşlara karşı yüksek mutajenik etkinliği tespit edilmiştir [89].

Mavrova ve ark., bir seri 1,3,5-trisüstitüe-2,3-dihidro-2-iminobenzimidazol türevi bileşiklerin antiproliferatif etkinliklerini ve sitotoksitesitelerini araştırmışlardır. Türevlerin sitotoksitesitesi beş farklı kanser hücre hattına karşı belirlenmiştir; insan kolorektal kanser hücresi (HT-29), meme kanseri hücresi (MDA-MB-231), HeLa, HepG2 ve insan diploid hücre hattı (Lep-3). MDA-MB-231 meme kanseri hücresine karşı en iyi aktivite gösteren Bileşik Şekil 2.45a 6.2 nM IC₅₀ değerine sahiptir. HeLa kanser hücresine karşı en iyi aktivite gösteren bileşiğin Şekil 2.45b olduğu bildirilmiştir. Bileşik Şekil 2.45a, HT-29'a karşı 0.85 nM IC₅₀ değerleri ile güçlü antiproliferatif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca serideki tüm bileşiklerin Lep-3'e karşı antiproliferatif aktivite gösterdikleri bildirilmiştir [90].



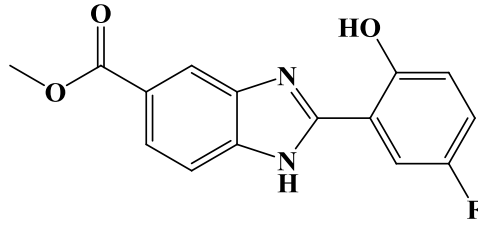
Şekil 2.45. 1,3,5-trisüstitüe-2,3-dihidro-2-imino benzimidazollerin yapısı.

Pourgholami ve ark., 2-aminobenzimidazol türevi antihelmintik aktivite gösteren bileşiklerin hücrelerdeki mikrotübül fonksiyonunu inhibe ettiğinden dolayı antikanser aktivite gösterebilecekleri bildirilmiştir. Klinikte kullanılan ve benzimidazol karbamat yapısında olan güçlü antihelmintik ilaç olarak kullanılan albendazol (Metil-5-propiltiyö-1H-benzimidazol-2-il karbamat) (Şekil 2.46.) bileşiği ile yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar sonucunda karaciğer kanseri hücreleri üzerinde proliferasyonu durdurucu özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir [91].

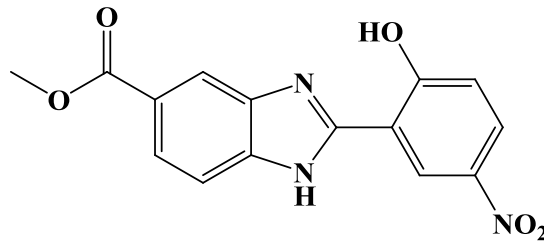


Şekil 2.46. Albendazol yapısı.

Karthikeyan ve ark., 2-(fenil)-3*H*-benzimidazol-5-karboksilik asit ve metil esterleri türevleri sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin *in vitro* antiproliferatif etkiler üç farklı meme kanseri (MDA-MB231, MDA-MB468 ve MCF-7) hücre hattı üzerinde incelemişlerdir. Serideki bileşiklerin çoğu referans bileşik sisplatine göre daha güçlü antiproliferatif aktivite göstermiştir. Bu bileşikler içerisinde en aktif bileşiğin 5-floro-2-hidroksifenil sübstitüenti taşıyan türevi olduğu belirlenmiştir (Şekil 2.47.). MDA-MB468, MDA-MB231 ve MCF-7 kanser hücre hatlarına karşı sırasıyla 6.23, 4.09 and 0.18 μM GI₅₀ değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir. Yine aktivite gösteren diğer bileşik ise 5-nitro-2-hidroksifenil sübstitüenti taşıyan metil esteridir (Şekil 2.48.). GI₅₀ değerleri tüm hücre hatlarında 3.57-7.79 μM aralığında olduğu belirlenmiştir [92].

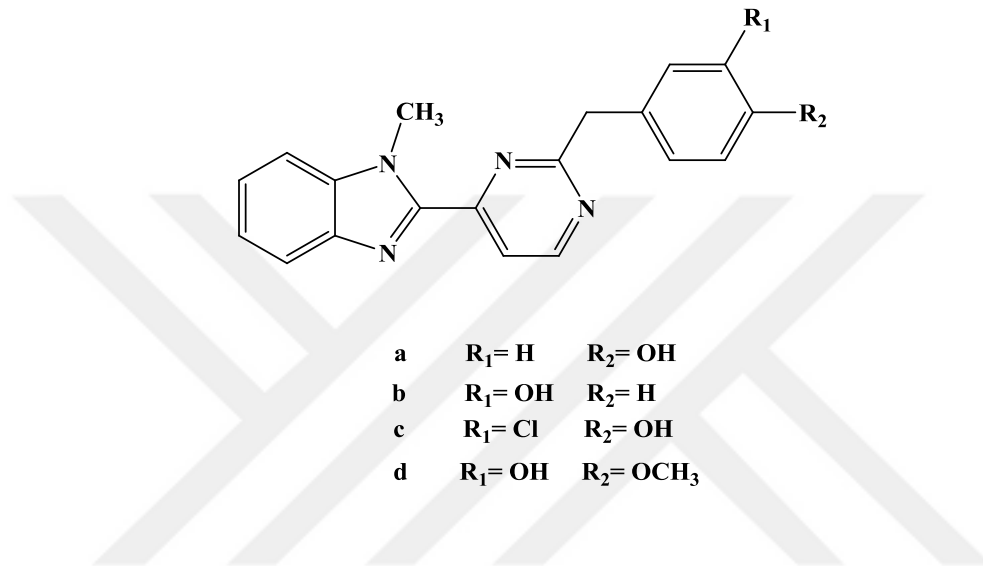


Şekil 2.47. Metil-2-(2-hidroksi-5-florofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksilat yapısı.



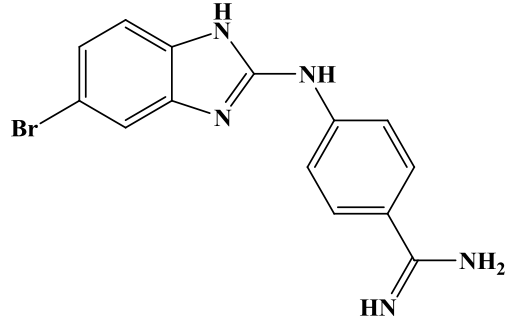
Şekil 2.48. Metil-2-(2-hidroksi-5-nitrofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksilat yapısı.

Determann ve ark. tarafından 2-anilino-4-(benzimidazol-2-il)pirimidin türevi bileşiklerin dört farklı protein kinaz türü üzerindeki aktiviteleri incelenmiştir. Şekil 2.49.'da yapısı verilen bileşikler üzerinde çalışılan protein kinaz türlerinin inhibisyonunda en etkili bileşikler olarak belirlenmiştir. Sentezlenen türevlerden Şekil 2.49d'nin pek çok kanser hücresine (SW-620, MDA-MB-435, OVCAR-3, CAKI-1 ve MCF-7) karşı submikromolar konsantrasyonda antiproliferatif aktivite gösterdiği saptanmıştır [93].



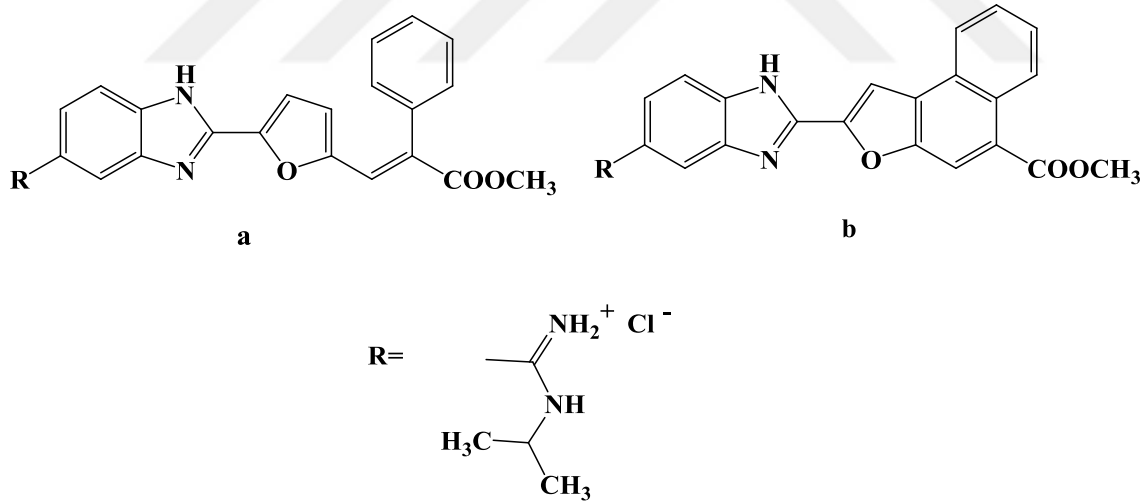
Şekil 2.49. 2-Anilino-4-(benzimidazol-2-il)pirimidin türevi bileşiklerin yapısı.

Karaaslan'ın çalışmasına göre sentezlenen mono ve dikasyonik bileşiklerin, MCF-7 meme kanser hücre hattına karşı inhibisyon değerleri, MTT yöntemiyle belirlenmiştir. Bulunan IC₅₀ sonuçlarının klinikte referans olarak kullanılan bileşiklerden (imatinib mesilat, IC₅₀ =0.0096 µg/mL ve dosetaksel, IC₅₀ =0.0131 µg/mL) daha etkin olduğunu tespit etmişlerdir. Tüm seri içerisinde en güçlü aktiviteye sahip mono amidin yapısındaki bileşiğin (Şekil 2.50.) IC₅₀ değeri 0.0046 µg/mL olarak bulunmuştur. Seri içerisinde standart bileşiklerden daha aktif çıkan bileşiklerin olduğu bildirilmiştir. Diğer türevlerin ise imatinib ve dosetaksele oldukça yakın aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir [94].



Şekil 2.50. Mono amidin yapısındaki benzimidazol türevi bileşiğin yapısı.

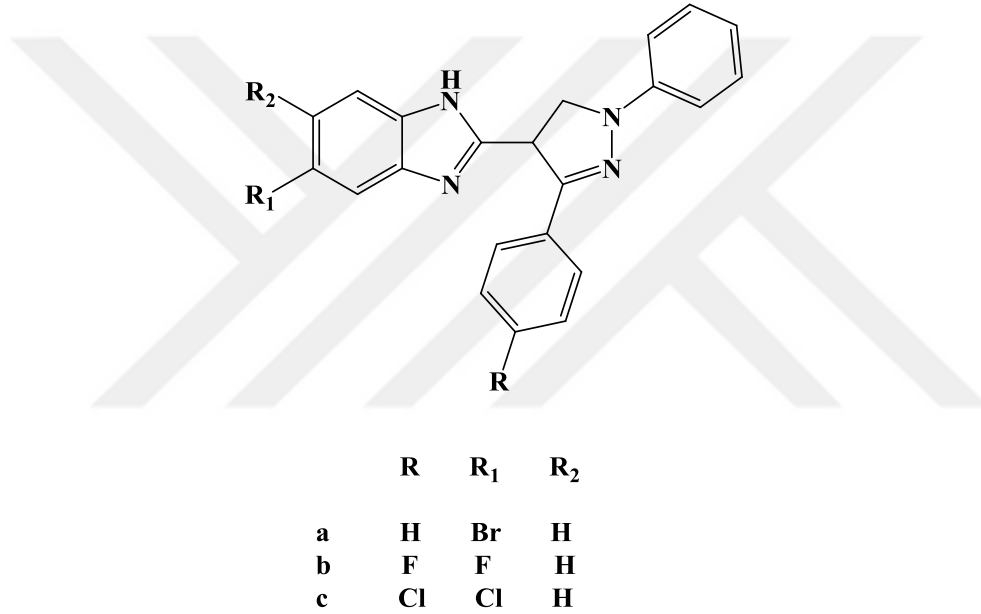
Hranjec ve ark. bir çalışmada süstitüe amidino-benzimidazolil-furil-fenil-akrilik asit esteri ve süstitüeamidinobenzimidazolilnafto[2,1-b]furan karboksilik asit esteri bileşiklerin *in vitro* sitotoksik aktiviteleri, pankreas kanseri (MiaPaCa2), meme kanseri (MCF-7), rahim kanseri (HeLa), kolon kanseri (HT29), hepatoblastoma (HBL) ve insan normal fibroblast hücre hattı (WI38) üzerine incelenmiştir. Serideki bileşikler tümör hücrelerinin proliferasyonunu durdurucu etki gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 2.51.) [95].



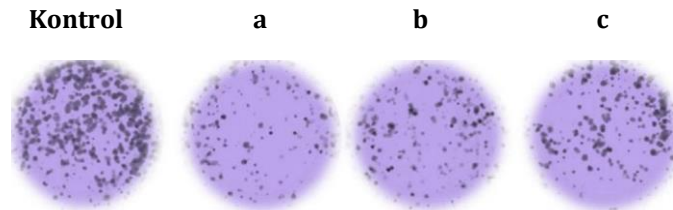
Şekil 2.51. Süstitüe amidino-benzimidazolil-furil-fenil-akrilik asit esteri ve süstitüeamidinobenzimidazolilnafto[2,1-b]furan karboksilik asit esteri bileşiklerinin yapısı

Reddy ve ark. benzimidazol hibridleri içeren 40 farklı pirazol türevi bileşikleri, üç insan kanser hücre hattı olan akciğer (A549), göğüs (MCF-7) ve servikal (HeLa) hücre hatları için potansiyel antiproliferatif aktivitesi için tasarlanarak sentezlenmiştir. Bileşiklerin bazıları, özellikle Şekil 2.52a, 2.52b ve 2.52c test edilen tüm hücre hatlarına karşı güçlü büyüme

inhibisyonu gösterdikleri ve IC_{50} değerlerinin 0.83-1.81 μ M aralığında olduğu belirlenmiştir. Meme kanseri hücreleri, hücre büyümesinin inhibisyon mekanizmalarını ve bileşiklerin apoptosis indükleyici etkisini belirlemek amacıyla daha ayrıntılı çalışmalar için kullanılmıştır. Bileşiklerin MCF-7 kanser hücrelerinin morfolojisi, hücre göçü ve uzun süreli klonojenik sağkalımı üzerinde ciddi şekilde etkisinin olduğu etki mekanizma çalışmaları ile belirlenmiştir. Akış sitometrisi, siklin D2 ve CDK2'nin aşağı düzenlenmesi yoluyla bileşiklerin hücre döngüsünün G1 evresinde MCF-7 hücrelerini tuttuğunu ortaya konulmuştur. Floresan boyama ve DNA parçalanması çalışmaları, hücre proliferasyonunun apoptozu indükleyerek engellendiğini göstermiştir [96].



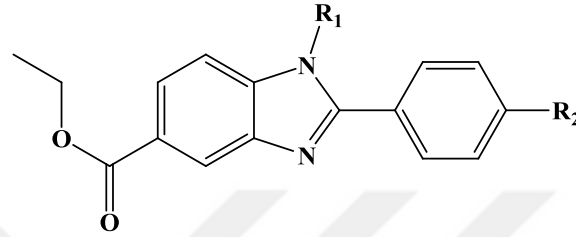
Şekil 2.52. Antikanser etkili benzimidazol hibridleri içeren farklı pirazol türevi bileşiklerin yapısı.



MCF-7 hücreleri, DMSO'ya (kontrol), **a**, **b** ve **c** numaralı bileşiklere 24 saat maruz bırakılarak, ortamdan çıkarılan hücreler taze ortamda 14 gün inkübe edilmiştir. Yaşayan hücreler, kristal moruyla boyanmış koloniler oluşturmuşlardır.

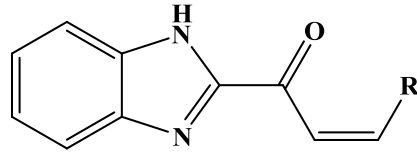
Şekil 2.53 Koloni oluşumu inhibisyonu tahlili [96].

Yoon ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada bir seri yeni benzimidazol bileşiği sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden bazılarının antiproliferatif aktivitesini üç farklı kanser hücre hattı olan kolon (HCT-116), meme (MDA-MB-468) ve kan-lösemi (CCRF-CEM) hücrelerine karşı incelemiştir. Bu bileşikler arasında güçlü antiproliferatif aktivite gösteren bileşiğin, 50 µM daki inhibisyon oranının % 40.0 (HCT-116), % 53.2 (MDA-MB-468) ve % 27.2 (CCRF-CEM) olduğunu bildirmişlerdir (Şekil 2.54) [97].



Şekil 2.54. 1,2,5-Trisüstitüe benzimidazol türevi bileşiğin yapısı.

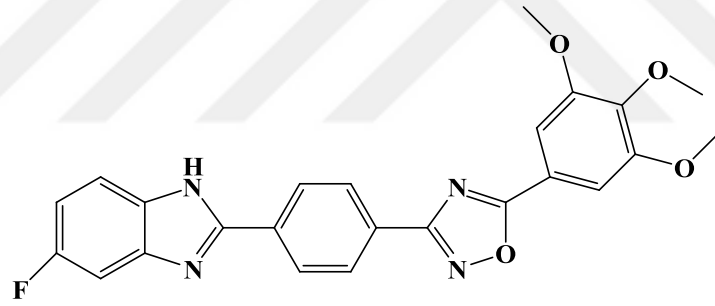
Wu ve ark. tarafından yapılan çalışmada yeni 2-süstitüe fenil veya piridin propil keten türevi benzimidazol bileşikleri tasarlayarak sentezlemiştir. Bileşiklerin, *in vitro* olarak HCT116, MCF-7 ve HepG2 hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktivitesini incelemiştir. Seri içinde güçlü aktivite gösteren Şekil 2.55a ve 2.55b nolu bileşiklerin kanser hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite IC_{50} değerleri sırasıyla 0.06-3.64 µM ve 0.04-9.80 µM arasında değişmektedir. Bu bileşiklerin antiproliferatif aktivite değerlerini, 5-Fluorourasil'den (IC_{50} : 56.96-174.50 µM) çok daha iyi ve Paklitaksel'e (IC_{50} : 0.026-1.53 µM) yakın bulmuşlardır. Bileşiklerden 2.55a, 2.55b ve 2.55c kolon kanseri (HCT116) hücrelerine karşı BALB/c farelerinde tümör büyümesini etkili bir şekilde inhibe ettiği sonucuna ulaşmışlardır. 200 mg/kg düzeyinde Bileşik 2.55b uygulanan grup, yüksek dozlarda, 12.5 mg/kg irinotekan pozitif kontrol (% 70.2) ile elde edilen inhibisyona benzer bir toksisite belirtisi olmaksızın, % 74.6 oranında tümör büyümesini önlediğini bildirmişlerdir. Dolayısıyla, 2-süstitüe fenil veya piridin propil keten türevi benzimidazol sınıfı bileşiklerin, yeni antitümör bileşik olarak p53-MDM2 inhibitörlerinin gelişimi için umut verici öncü yapısı olduğunu öne sürmüşlerdir [98].



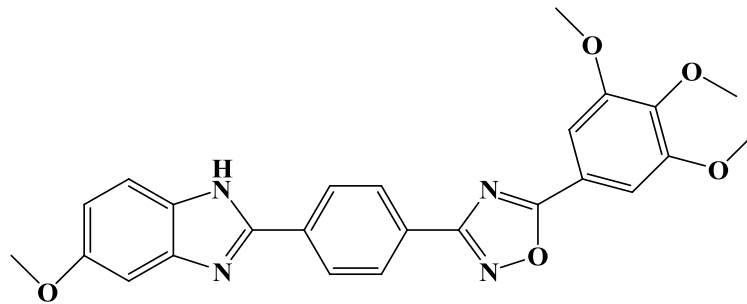
- a R= 2-Piridin
- b R= 3-Cl-Ph
- c R= 3-OMe-Ph

Şekil 2.55. 2-Süstitüe fenil veya piridin propil keten türevi benzimidazol bileşiklerinin yapısı.

Kamal ve ark. tarafından geliştirilen çeşitli benzimidazol türevleri arasında, GI_{50} değeri 0.79-28.2 μ M aralığında değişen bileşikler Şekil 2.56a ve 2.56b'nin kanser hücre hatlarının çoğuna karşı belirgin sitotoksik aktivite sergilemiştir. Metoksi gruplarına sahip bileşiklerin daha iyi antiproliferatif etkinliğe sahip olduğunu belirlemişlerdir. Aktivite ayrıca, florin gibi zayıf halkalı deaktif grupların varlığı ve benzimidazol halkasında metoksi ikamesine benzeyen elektron serbest bırakma gruplarının varlığından etkilenmiştir [99].



a



b

Şekil 2.56 Antiproliferatif aktivite gösteren benzimidazol türevi bileşiklerin yapısı.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Materyal

Çalışmada kullanılan tüm çözücüler analitik niteliktedir (Merck veya Aldrich). Sentez başlangıç maddeleri olarak; 1,2-fenilendiamin (Merck), 4-kloro-*o*-fenilendiamin (Aldrich), 2-(4-klorofenil)asetik asit (ABCR), 2-(4-hidroksifenil)asetik asit (ABCR), 2-*p*-tolilasetik asit (ABCR), 3-(4-klorofenil)propanoik asit (ABCR), 3-(4-hidroksifenil)propanoik asit (Aldrich), 2-(4-klorofenoksi)asetik asit (ABCR), 2-(4-hidroksifenoksi)asetik asit (Merck), 3-fenilpropanoik asit (ABCR), 2-fenoksiasetik asit (ABCR), 3-*p*-tolilpropanoik asit (ABCR), 2-(*p*-toliloksi)asetik asit (Fluka), 2-fenilasetik asit (Merck), hidroklorik asit (Merck), etanol (Merck) ve metanol (Merck), kloroform(Merck) kullanıldı.

3.1.2. Yöntem

3.1.2.1. Philips Yöntemi Uygulanarak Elde Edilen Bileşikler için Genel Sentez Yöntemi

[31]

3 veya 5 mmol uygun 1,2-fenilendiamin türevi ve 3,3 veya 5,5 mmol uygun karboksilik asit türevi 20 mL 5 N hidroklorik asit içerisinde çözüldükten sonra su banyosu içinde 41-120 saat arasında değişen sürelerde manyetik karıştırıcılı ısıtıcı ile geri çeviren soğutucu altında reflaks edilerek ısıtıldı. Reaksiyonun takibi ince tabaka kromatografisi (İTK) ile yapıldı. Hazır plaklar kullanılarak yapılan İTK (Kieselgel 60 F₂₅₄ ile 0,2 mm kalınlığında kaplanmış hazır alüminyum plak) çalışmalarında, lekelerin tespit edilmesinde UV (ultraviyole) ışığından yararlanıldı. Reaksiyon karışımı soğuduktan sonra buzlu su üzerine döküldü ve NaHCO₃ ile karıştırılarak nötrale edildi. pH kontrolü yapmak için pH metre kullanıldı. Oluşan çökelek süzülerek ayrıldı ve soğuk su ile yıkandı. Uygun bir solvan ile kristallendirildi. Oluşan kristal halindeki bileşik süzülerek alındı ve vakumlu etüvde kurutuldu.

3.2. Analitik Çalışmalar

3.2.1. Erime Noktası Tayini

Sentezleri yapılan bileşiklerin erime dereceleri, Mettler Toledo MP90 erime derecesi tayin cihazı ile saptandı.

3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller

İnce Tabaka Kromatografisi çalışmalarında Kieselgel 60 F₂₅₄ ile 2 mm kalınlığında kaplanmış hazır alüminyum plaklar (Merck) kullanıldı.

Sentezleri yapılan bileşiklerin kromatografik kontrollerinde aşağıdaki çözücü sistemleri kullanıldı.

i) Kloroform-metanol (95: 5)

ii) Kloroform (100)

Kromotogramlarda sentez ürünleri ve başlangıç maddelerine ait lekeleri belirlemek için UV ışığı kullanıldı.

3.2.3. Spektroskopik Kontroller

3.2.3.1. FT-IR Spektrumları

Bileşiklerin FT-IR spektrumları, Perkin Elmer FTIR/FIR Spectrometer Frontier spektrofotometresinde alındı ve dalga sayısı (cm⁻¹) cinsinden değerlendirildi.

3.2.3.2. ¹H-NMR Spektrumları

Bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları, CDCl₃ (Merck), CD₃OD (Merck), veya (CD₃)₂SO (Merck) içindeki çözeltileri ile Bruker 400 NMR spektrofotometrisinde alınıp kimyasal kayma değerleri δ skalasında değerlendirildi. ¹H-NMR Spektrumları, MestReC programı kullanılarak verildi.

3.2.3.3. LC-MS/MS Spektrumları

Bileşiklerin LC-MS/MS Spektrumları, benzimidazol türevi bileşiklerin, metanol (Merck) içerisindeki çözeltileri ile Agilent Technologies 6460 Triple Quad LC-MS/MS spektrometrisinde pozitif iyonlaşma ile alınıp m/z değerleri değerlendirildi. Tez çalışmasında, literatürde yer almayan ve ilk defa bu çalışmada sentezlenen bileşikler, Bileşik **18**, **26** ve **29**'un analizi yapılmıştır.

3.3. Antiproliferatif Aktivite Çalışmaları

3.3.1. Materyal

Proliferasyon deneylerinde sağlıklı hücre hattı olarak HEK 293 ve kanserli hücre hattı olarak A549 hücre hattı, A498 hücre hattı, A375 hücre hattı, HeLa hücre hattı ve HepG2 hücre hattı kullanılmıştır.

Proliferasyon deneylerinde kullanılan kimyasal ve malzemeler; bileşiklerin çözücüsü olarak DMSO (Sigma Aldrich), hücrelerin besi maddesi olarak Fetal Sığır Serum (Foetal Bovine Serum) (Biological Industries/Israel) kullanılmıştır. MTT (Amresco, Ohio-ABD) kullanılmıştır. Proliferasyon deneylerinde kullanılan düz yataklı kuyucuklu malzeme Greiner bio-one cellstar (Cat. No: 677-180). Hücrelerin besiyeri RPMI 1640 (Biological Industries/Israel). Referans bileşik Metotreksat (Rheumatrex) kullanılmıştır.

DMSO'nun sitotoksik etkisini belirleme çalışmalarında kullanılan kimyasal ve malzemeler; Tripan mavisi boyası (Biological Industries/Israel), Thoma lamı (Isolab, Laborgerate GmbH).

PBS (Fosfat tamponlu salin tampon çözeltisini hazırlamak için gerekli kimyasallar ve miktarları: 8 g/L NaCl (Merck), 0.2 g/L KCl (Merck), Na₂HPO₄.12H₂O 2.37 g/L (Sigma Aldrich), KH₂PO₄ 0.2 g/L (Sigma Aldrich) ve 1 g/L dekstroz (Sigma Aldrich)'dur.

İnkübasyon işlemleri, Heal Force CO₂ (Incubator, model:HF90) cihazı ile yapılmıştır. Santrifüj işlemleri Bench-Top Centrifuge NF 800R (Brusseis,Belgium) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Hücrelerin morfolojilerinin belirlenmesinde Soif Inverted Mikroskop kullanılmıştır. Spektrofotometre cihazı olarak Thermo Scientific (Multiskan GO) kullanılmıştır.

3.3.2. Kanser Hücre Hatlarının Hazırlanması ve Hücre Hatları Üzerinde Antiproliferatif Aktivite Çalışmaları

3.3.2.1. Hücre Kültürü Çalışmaları

Çalışmalar, sitotoksosite testlerinde kullanılan ve sağlıklı hücre hattı olan HEK 293 ile beş kanser hücre hattı olan A549, A498, HeLa, A375 ve HepG2 olmak üzere toplam altı hücre hattı üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Hücre kültürleri içerisinde % 10 oranında fetal dana serumu, 10 µM HEPES, 4 µM glutaminli 100 IU/mL penisilin/streptomisin ihtiva eden RPMI-1640 sıvı besiyerinde 6 saat, 37°C, % 5 CO₂ ve % 95 hava bulunduran inkübatörde inkübe edilerek kültive edildi. Hücrelerin kültivasyonu her bir mL'de x10⁵ hücre olacak şekilde ayarlanmış 100, 200 ve 500 mL'lik kültür kaplarında, kültür kabının % 10'u nispetinde besiyeri bulunan kaplarda inkübe edildi. Hücre kültürlerinin inkübasyonu kültür kabı yüzeyinde monolayer tarzda üremeler gerçekleşinceye kadar beklendi (3-7 gün). Bu süre içinde besiyeri pH'ında değişme gözlemlenirse besiyeri değişimi yapıldı. Hücreler kültür kabından, hazırlanan %1'lik tripsinizasyon solüsyonu ile kaldırılarak 50 mL'lik santrifüj tüplerine alınıp 1250 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek hücre pelleti toplandı. Hücre canlılığı ve sayısı % 0.9'luk NaCl içinde hazırlanmış %1'lik tripan mavisi ile hemositometrede (Thoma lamı) (Şekil 3.5.) mikroskop altında belirlendi.

Deneylerde öncelikle sentezlenen 2-alkil/alkiloksi sübstitüe benzimidazol bileşiklerinin, HEK 293 hücre kültürüne karşı non-toksik konsantrasyonları belirlendi. Bu amaç doğrultusunda sentezlenen bileşiklerin 0.1; 0.2; 0.6; 0.8 ve 1.0 µg/mL düzeyindeki konsantrasyonları DMSO ile çözülerek hazırlandı. Benzimidazol türevi bileşiklerin hücre üremesi üzerine etkileri gerek invert mikroskopla morfolojik olarak ve gerekse de hücre canlılığı açısından değerlendirmeler yapılarak gerçekleştirildi.

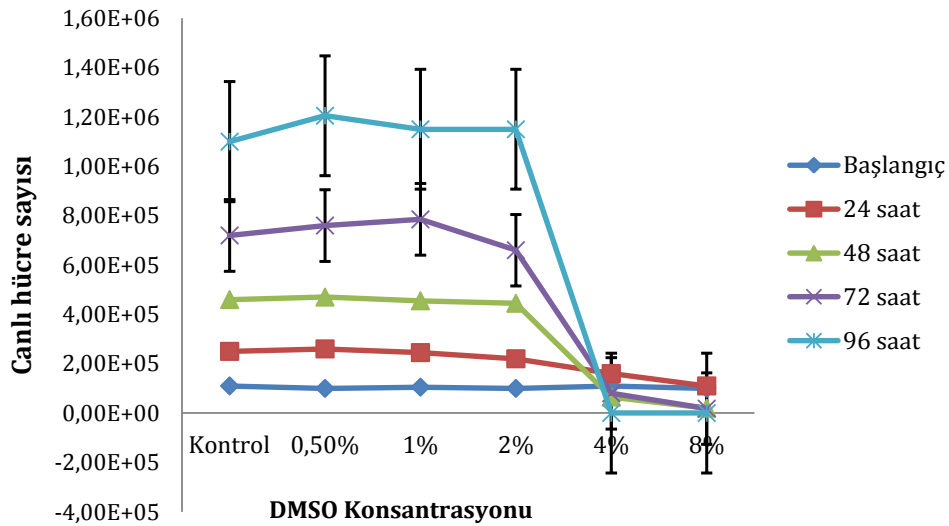
Hücrelerin kültür kabı yüzeyine adezyonu için 6 saatlik inkübasyondan sonra sentezlenen bileşiklerin farklı konsantrasyonlarını (2.56; 1.28; 0.64; 0.32; 0.16; 0.08; 0.04 ve 0.02 µg/mL) içeren miktarları hazırlanarak kültür plaklarının her kuyucuğuna eklendi. Sentezlenen bileşiklerin her bir dilüsyonundan en az 4 farklı kuyucuğa inokülasyonu yapılarak aktivite testleri gerçekleştirildi.

İnkübasyondan sonra kültür kabı yüzeyine yapışarak çoğalmasına devam eden hücreler %1'lik tripsinizasyon solüsyonu ile muamele edilerek santrifüj tüplerine alındı. Hücreler soğutmalı santrifüjde (+4 °C'de) 1250 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek toplandı ve hücre canlılığı tayini yapıldı.

3.3.2.2. DMSO' nun Etkisi

Çalışmada, sentezlenen 2-alkil/alkiloksi sübtitüe benzimidazol türevi bileşikleri çözmek amacıyla DMSO (Sigma, MI, USA) kullanılmıştır. DMSO'nun hücreler üzerindeki non-toksik konsantrasyonunu belirlemek amacıyla 1×10^5 hücre/mL olacak şekilde mikroplaklara HEK 293 hücresi inoküle edildi. Mikroplakların kuyucuklarına DMSO'nun değişik konsantrasyonları (8%, 4%, 2%, 1%, 0.5%) eklendi. İnkübasyondan 96 saat boyunca kontrol grubu (içerisinde DMSO bulunmayan) hücreler ile farklı konsantrasyonlarda DMSO içeren hücreler, tripan mavisi boyasıyla boyanarak hücre sayımları yapıldı ve DMSO' nun hücre canlılığı üzerindeki etkileri değerlendirildi. Kontrol grubuyla (içerisinde DMSO bulunmayan, sadece besiyeri ve fetal dana serumu ihtiva eden kültürler) içerisinde farklı solvent konsantrasyonlarda DMSO bulunan kültürlerde hücre canlılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı olmayan sonuçlar elde edildi (Şekil 3.1.).

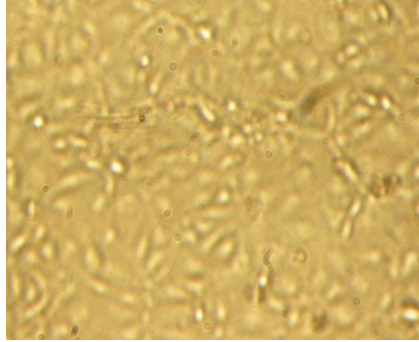
Çalışmada, $\leq 2\%$ (kütle/hacim) oranında kullanılan DMSO'nun hücre proliferasyonu üzerinde etkinliğinin olmadığı tespit edildi. Deneylerde sentezlenen bileşiklerin çözülmesi amacıyla kullanılan DMSO'nun $\leq 2\%$ konsantrasyonları uygun derişim olarak belirlendi (Şekil 3.2. ve 3.3.).



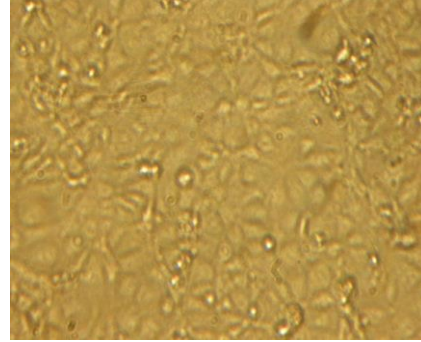
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan DMSO çözeltilerinin HEK 293 hücre kültüründe hücre canlılığına etkisi.

Ayrıca, yapılan morfolojik incelemelerde DMSO grubunda yer alan hücrelerde hücre yuvarlaklaşması, nükleer yapının büyümesi, granülasyon herhangi bir sitopatolojik değişim

gözlenmemiştir. Morfolojik açıdan kontrol grubuyla DMSO grubu arasında anlamlı bir sonuç tespit edilmemiştir.



Şekil 3.2. HEK 293 hücreleri 96 saat inkübasyondan sonra içerisinde DMSO bulunmayan hücre kültürünün mikroskopik görüntüsü.



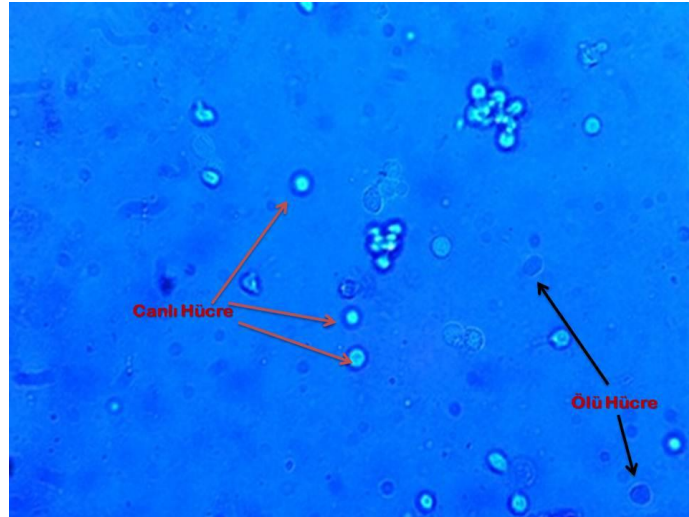
Şekil 3.3. HEK 293 hücreleri 96 saat inkübasyondan sonra içerisinde $\leq 2\%$ DMSO bulunan hücre kültürünün mikroskopik görüntüsü.

Şekil 3.2. ve Şekil 3.3.'de görüldüğü gibi kontrol ve DMSO içeren grup arasında inverted (ters) mikroskop ile yapılan incelemede her iki grupta da hücre üremesi ve adezyonun tam olduğu, hücrelerin tipik formda ve monolayer tarzda ürediği tespit edilirken, hücrelerde granülasyon, nükleer büyüme, stoplazma daralması, füzyon gibi herhangi bir sitopatolojik değişim saptanmamıştır. Ayrıca her iki grup arasında tripsinizasyon işleminden sonra kaldırılan hücrelerde yapılan sayımda hücre canlılığı ve sayısı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 3.1.).

3.3.2.2.1. Tripan Mavisi ile DMSO'nun Hücre Canlılığına Etkisini Belirleme Çalışması [100]

Bu yöntemde temel prensip, Tripan mavisi boyasının ölü hücrelerin membran bütünlüklerinin bozulması sonucu boyanın ölü hücrelerin içine girmeleri ile boyanmaları sayesinde tespit edilmelerine dayanır. Buna göre, mikroskopik incelemede mavi boyanan hücreler ölü, boyanmamış olan hücreler ise canlı olarak belirlendi. Boya çözeltisi PBS (Phosphate buffered saline-Fosfat tamponlu salin) içinde hazırlanan %1'lik tripan mavisi boyası olacak şekilde hazırlandı. Tripsinizasyon ile kültür kaplarından kaldırılan hücreler 1:1 oranında tripan mavisi ve boya hücre süspansiyonu şeklinde hazırlandı. Karışım oda ısısında 15 dakika inkübe edildikten sonra mikroskopta incelenerek canlılık tespiti yapılmıştır (Şekil 3.4.).

Hücre kültürü çalışmalarında tripan mavisi ile boyama ve hemositometre (Thoma lamı) ile hücre sayımı gerçekleştirildi (Şekil 3.5.).

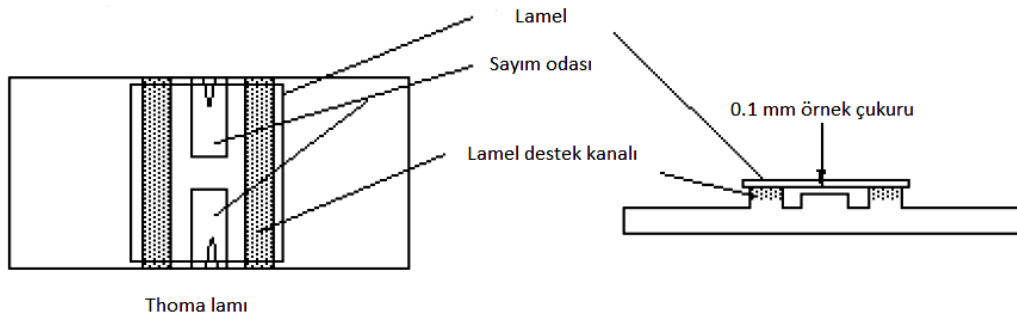


Şekil 3.4. Tripan mavisi ile hücre canlılığının belirlenmesi.

3.3.2.2.2. DMSO'nun Hücelere Etkisinin Thoma Lamında Hücre Sayımı ile Belirlenmesi

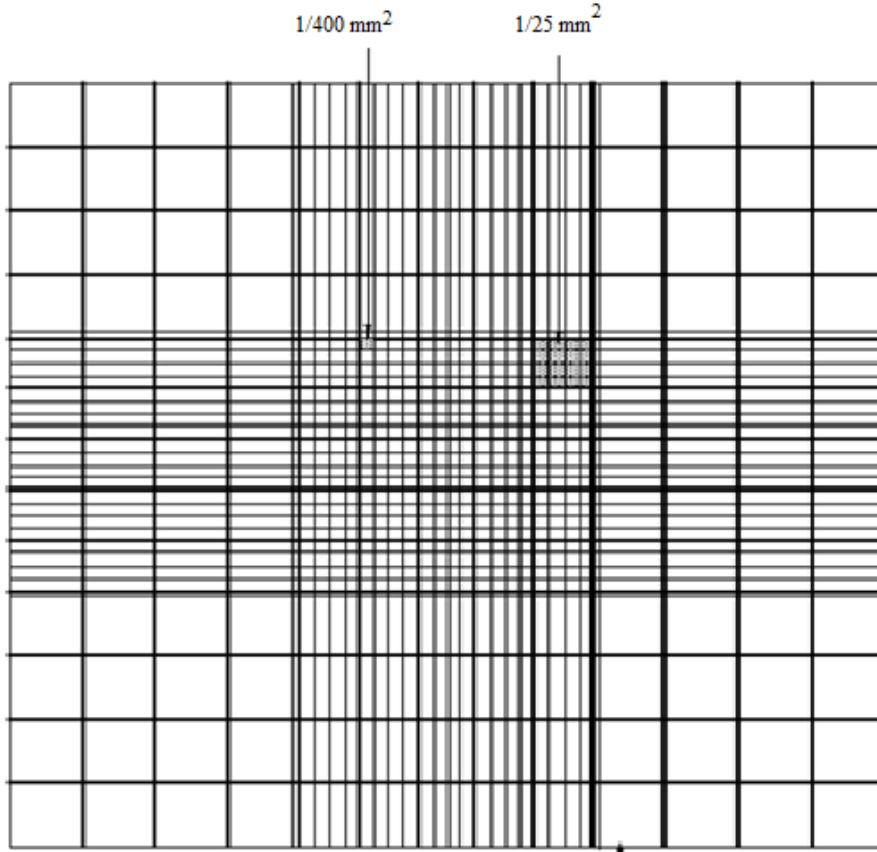
[100]

Hücre kültürü çalışmalarında tripan mavisi ile boyama ve hemositometre (Thoma lamı) ile hücre sayımı altın standart olarak kabul edilmektedir (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. Thoma lamı.

Hücre sayımı yapmadan önce lam/lamel destek kanallarına yapıştırıldı. Thoma lamında lam/lamel arasındaki örnek çukuruna hücre süspansiyonu kanal boşluğundan verilerek (yaklaşık 10 μ L) hücre canlılık sayımı yapıldı (Şekil 3.6. ve 3.7.).



Şekil 3.6. Thoma lamı sayım çizgileri.



Şekil 3.7. Hücre sayımı yapılacak karışımın Thoma lamına aktarılması.

Thoma lamında alan 9 büyük kareden oluşmaktadır. Her büyük karenin 1 mm^2 lik alanı ve $0,1 \text{ mm}$ yüksekliği bulunmaktadır.

Meydana gelen dikdörtgenler prizmasının hacmi: $1 \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm} = 0,1 \text{ mm}^3 = 0,0001 \text{ cm}^3 = 10^{-4} \text{ mL}$ 'dir.

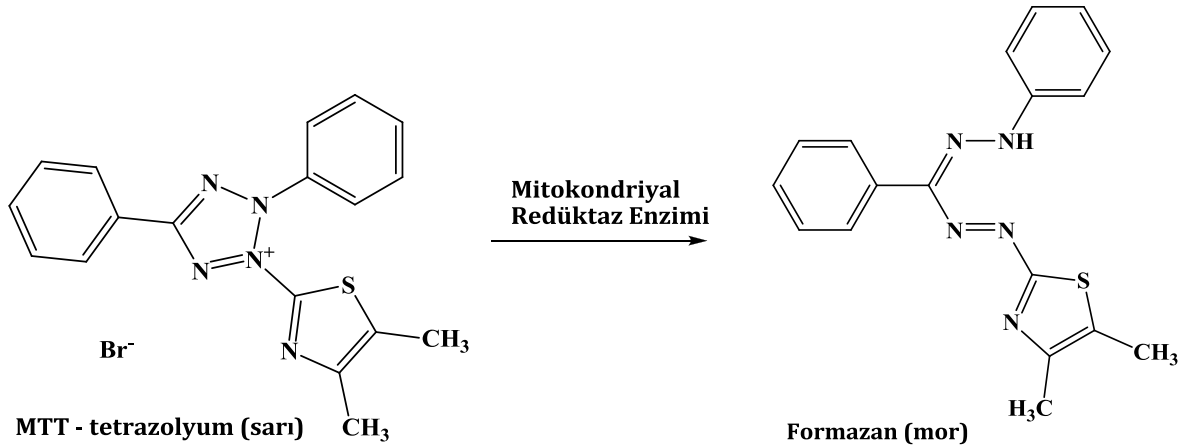
Hücre sayısı : Bir büyük karede sayılan hücre x dilüsyon faktörü x 10⁴
Canlı hücre sayısı : Bir büyük karede sayılan canlı hücre x dilüsyon faktörü x 10⁴
Ölü hücre sayısı : Bir büyük karede sayılan ölü hücre x dilüsyon faktörü x 10⁴

Çalışmada hücre sayımı aşağıdaki formüle göre yapıldı.

% Canlılık= (Canlı hücre sayısı / Ölü Hücre sayısı) x 100

3.3.2.3. MTT (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium bromür) Yöntemi [101]

MTT yöntemi ile kültive edilen canlı hücreler kolorimetrik ve kantitatif olarak belirlenebilmektedir. Bu yöntem sağlam mitokondrianın MTT boyasının tetrazolium halkasını parçalayabilmesi ilkesine dayanmaktadır [101]. İlk olarak Mosmann tarafından tanımlanan ve daha sonra Alley ve ark. tarafından geliştirilen MTT (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür) yöntemi hücre canlılığının belirlenmesi için sıkça kullanılan pratik bir yöntemdir. MTT, hücrelere aktif olarak absorbe olan ve mitokondriyal redüktaz enzimi (süksinat dehidrojenaz) ile reaksiyona girerek mor renkli, suda çözünmeyen formazana indirgenen bir maddedir [102]. Hücrelerin MTT indirgeme özelliği hücre canlılığının ölçütü olarak alınır ve MTT analizi sonucunda elde edilen boya yoğunluğu canlı hücre sayısı ile korelasyon gösterir.



Şekil 3.8. MTT'nin hücrelere aktif olarak absorbe olan ve mitokondriyal redüktaz enzimi (süksinat dehidrojenaz) ile reaksiyona girerek mor renkli, suda çözünmeyen formazana indirgenmesi reaksiyonu.

3.3.2.3.1. MTT Yöntemi ile Yapılan Proliferasyon Deneyleri

Hücre kültüründe proliferasyon deneyleri 12, 24 ve 48 kuyucuklu düztabanlı mikro plaklarda yapıldı. Deneyler kuyucuklara içerisinde % 10 oranında fetal dana serumu bulunan RPMI-1640 besiyeri ile 1 mL'si içerisinde 1×10^5 hücre olacak şekilde hücre inoküle edilerek gerçekleştirildi.

Üzerinde çalışılan beş farklı kanser hücresi ve bir sağlıklı hücre kültürlerine bileşikler eklendikten sonra 96 saat % 5 CO₂ bulunan inkübatörde 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Ardından her kuyucuğa 10 µL MTT eklendi ve pleytler 4 saat için aynı şartlar altında inkübe edilerek absorbans ölçümleri spektrofotometre 570 nm de yapıldı. Proliferasyon sentezlenen benzimidazol türevi bileşiklerle muamele edilen kuyucuklardaki hücrelerin kontrol grubu hücrelerine oranı olarak ifade edildi. IC₅₀ (hücre çoğalmasının %50'sini inhibe eden konsantrasyon) değerleri SPSS programı (SPSS.Inc, Chicago) kullanılarak hesaplandı.

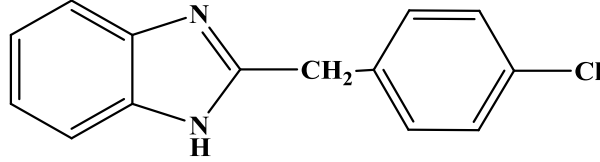
Çalışmada değişik konsantrasyonlarda (2.56; 1.28; 0.64; 0.32; 0.16; 0.08; 0.04; 0.02 µg/mL) benzimidazol türevi muamele edilen hücre kültürlerinde (A549, A498, HeLa, A375, HepG2 ve HEK 293 hücreleri) meydana gelen hücre proliferasyonu MTT yöntemiyle araştırılmıştır. Ayrıca negatif ve pozitif kontroller yapılmıştır ve MTT yöntemi ile birlikte çalışılarak sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Bu çalışmada, sentezlenen on beş farklı 2-alkil/alkiloksi köprülü süstitübenzimidazol türevi bileşiklerin (5, 6, 7, 11, 12, 13, 17, 18, 19, 22, 23, 25, 26, 28 ve 29) MTT yöntemi ile antiproliferatif aktiviteleri araştırılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Kimyasal Bulgular

4.1.1. 2-(4-Klorobenzil)-1H-benzimidazol (Bileşik No 5) [103-105]



Şekil 4.1. 2-(4-Klorobenzil)-1H-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

3 mmol (0,320 g) 1,2-Fenilendiamin, 3,3 mmol (0,562 g) 2-(4-klorofenil)asetik asit bir balona alındı. Üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 120 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 451 mg saf bileşik (Şekil 4.1.) elde edildi.

FT-IR spektrumunda (cm^{-1}), 3096-3000 (aromatik =C-H gerilim), 3000-2682 (alifatik -C-H gerilim), 1270 (C=N gerilim), 1489 (aromatik C=C gerilimleri), 742 (C-Cl eğilim), 799 cm^{-1} (para benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, δ ppm, 4.25-4.28 (2H, s, -CH₂), 7.19-7.23 (2H, q, aromatik H), 7.41-7.46 (4H, d, aromatik H), 7.53-7.58 (2H, q, aromatik H) pikleri görüldü.

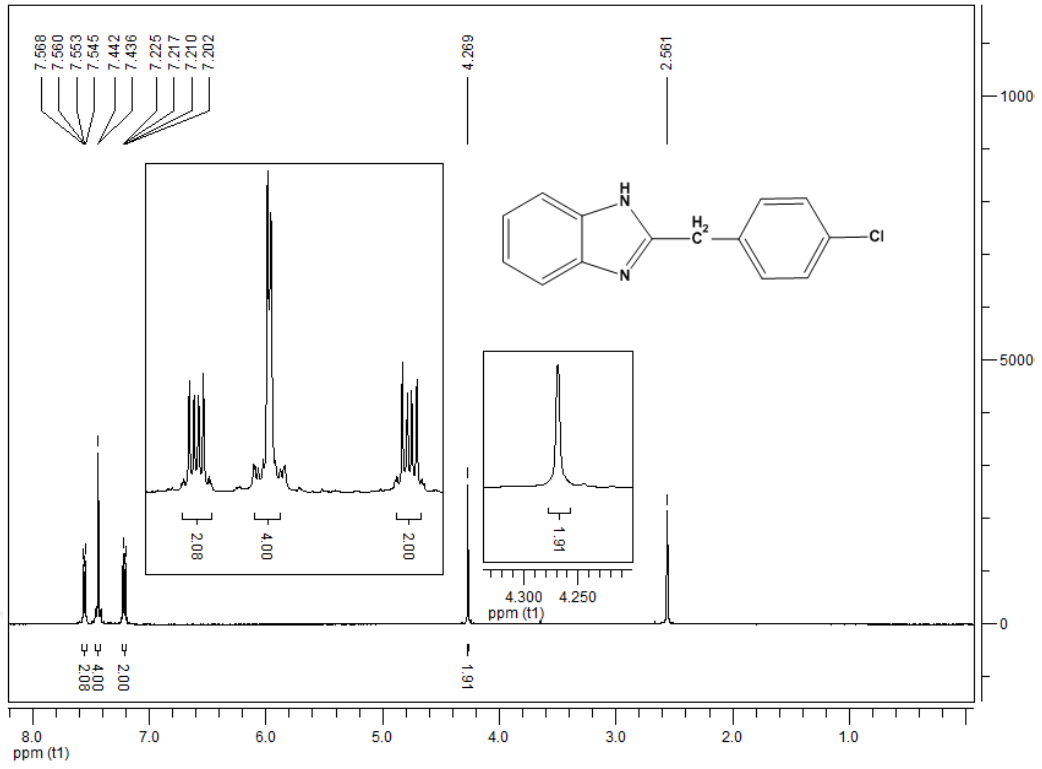
Verim : % 62

Çözücü : Metanol, Aseton, DMSO.

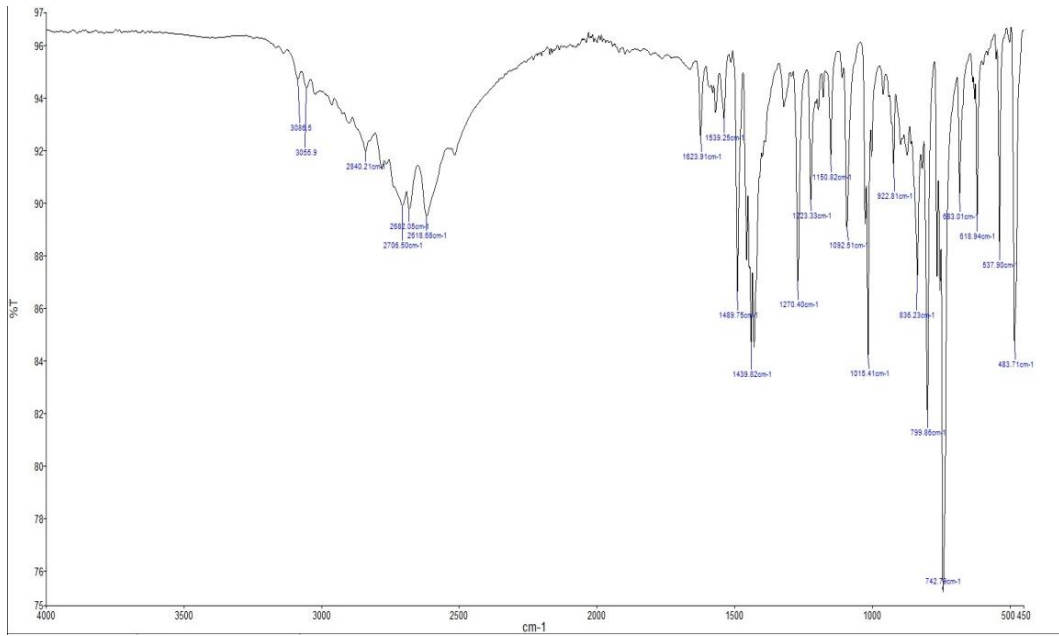
İTK : Kloroform: metanol (95: 5)

Rf : 0.83

Erime Noktası : 181.8 °C

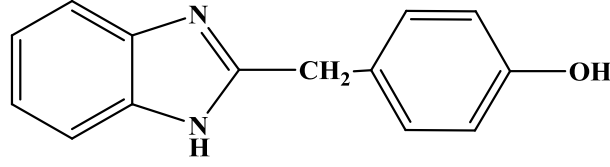


Şekil 4.2. Bileşik 5'in ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 4.3. Bileşik 5'in FT-IR Spektrumu

4.1.2. 2-(4-Hidroksibenzil)-1H-benzimidazol (Bileşik No 6) [106-109]



Şekil 4.4. 2-(4-Hidroksibenzil)-1H-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

5 mmol (0,540 g) 1,2-Fenilendiamin, 6 mmol (0,912 g) 2-(4-hidroksifenil)asetik asit bir balona alındı, üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 90 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 740 mg saf bileşik (Şekil 4.4.) elde edildi.

FT-IR spektrumunda (cm^{-1}), 3700-3600 (aromatik O-H gerilme), 3450-3100 (aromatik N-H gerilim), 3255 (aromatik =C-H gerilim), 2981 (alifatik -C-H gerilim), 1251-1232 (C=N gerilim), 1440-1428 (aromatik C=C gerilimleri), 1251 (C-O gerilim), 737 cm^{-1} (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, δ ppm, 4.10-4.17 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.36-7.65 (2H, d, aromatik H), 7.08-7.23 (4H, d, aromatik H), 6.69-6.82 (2H, d, aromatik H), 9.27-9.42 (1H, s, aromatik -OH), 12.13-12.31 (1H, s, aromatik -NH) pikleri görüldü.

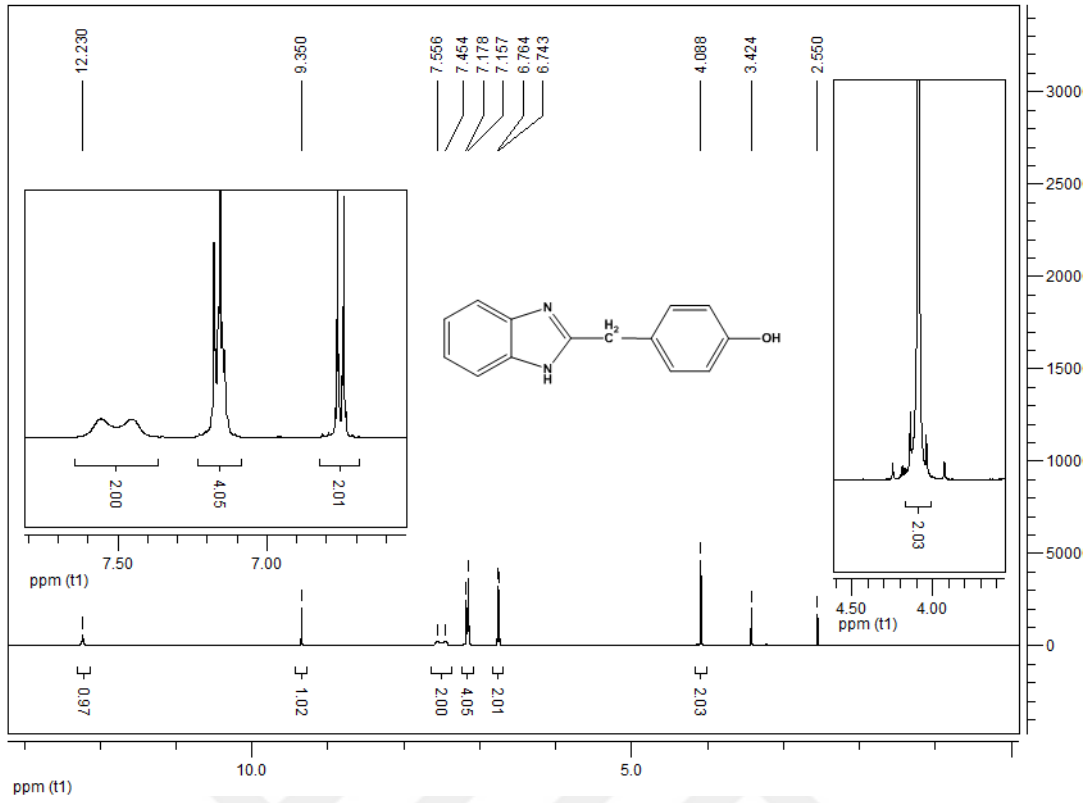
Verim : % 66

Çözücü : Metanol, etanol, aseton, DMSO.

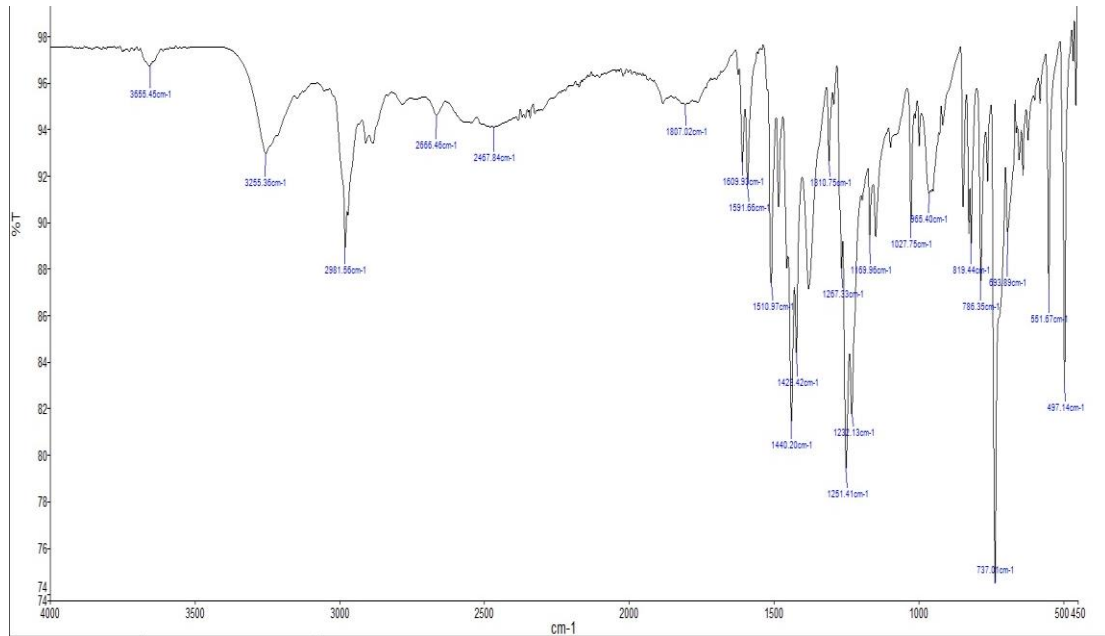
İTK : Kloroform: metanol (95: 5)

Rf : 0.36

Erime Noktası : 260 °C

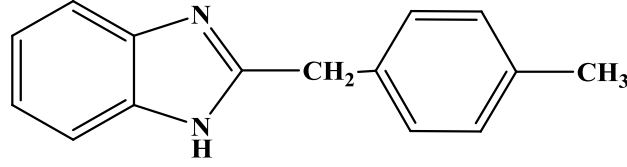


Şekil 4.5. Bileşik 6'nın ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 4.6. Bileşik 6'nın FT-IR Spektrumu

4.1.3. 2-(4-Metilbenzil)-1H-benzimidazol (Bileşik No 7) [103-105, 107]



Şekil 4.7. 2-(4-Metilbenzil)-1H-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

3 mmol (0,320 g) 1,2-Fenilendiamin, 3,3 mmol (0,495 g) 2-*p*-tolil asetik asit bir balona alındı, üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 71 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 326 mg saf bileşik (Şekil 4.7.) elde edildi.

FT-IR spektrumunda (cm^{-1}), 3047 (aromatik =C-H gerilim), 3000-2600 (alifatik -C-H gerilim), 1272 (C=N gerilim), 1434-1415 (aromatik C=C gerilimleri), 736 cm^{-1} (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, CD_3OD , δ ppm, 2.30-2.32 (3H, s, - CH_3), 4.18-4.20 (2H, s, - CH_2), 7.12-7.16 (2H, d, aromatik H), 7.18-7.23 (4H, q, aromatik H), 7.48-7.53 (2H, d, aromatik H) pikleri görüldü.

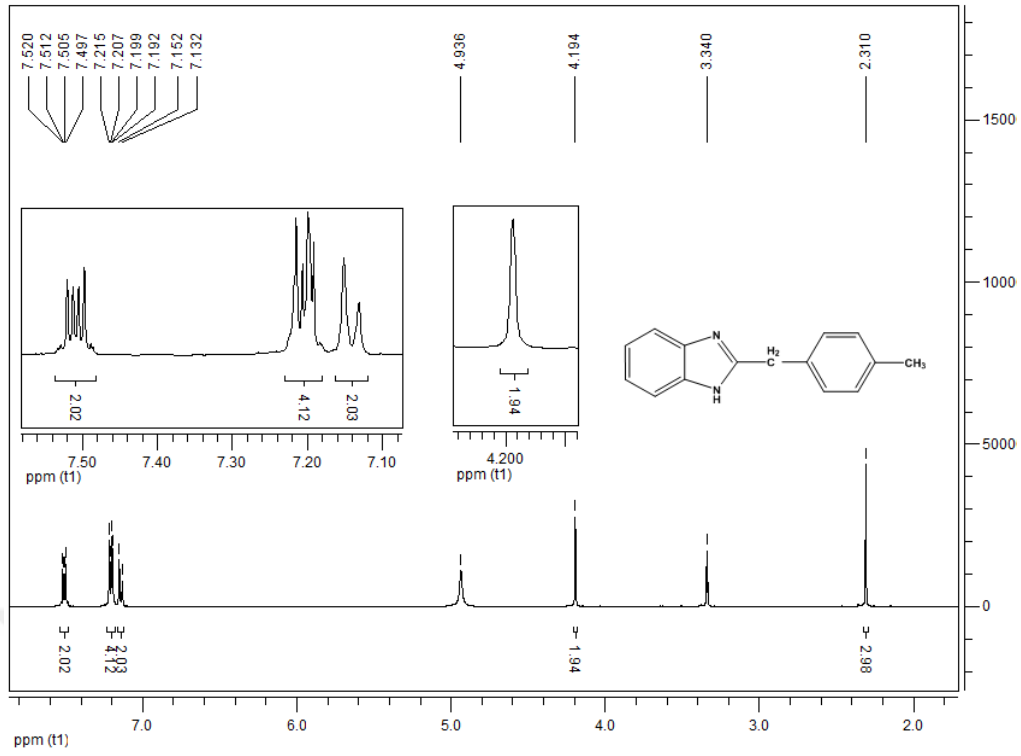
Verim : % 49

Çözücü : Metanol, etanol, aseton.

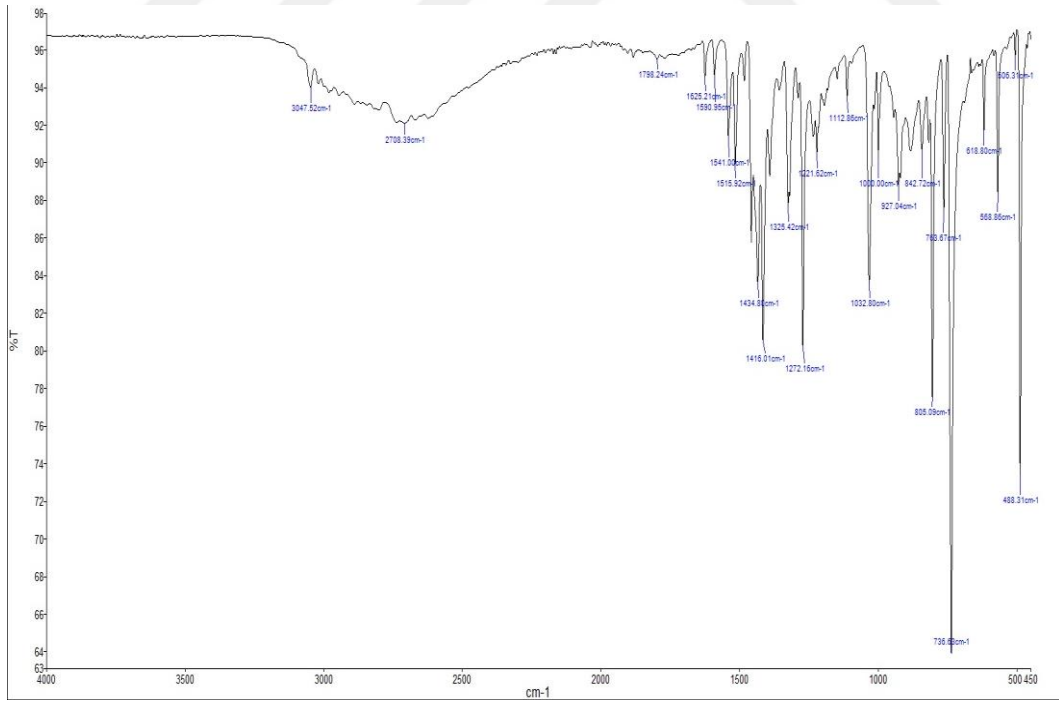
İTK : Kloroform: metanol (95: 5)

Rf : 0.84

Erime Noktası : 198 °C

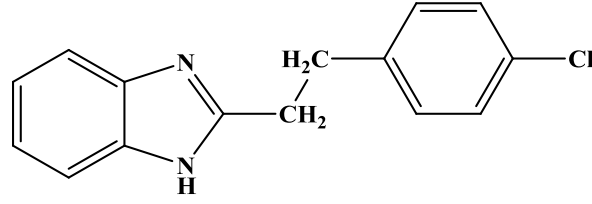


Şekil 4.8. Bileşik 7'nin ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 4.9. Bileşik 7'nin FT-IR Spektrumu

4.1.4. 2-(4-Klorofeniletıl)-1*H*-benzimidazol (Bileşik No 11) [111, 112]



Şekil 4.10. 2-(4-Klorofeniletıl)-1*H*-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

3 mmol (0,320 g) 1,2-Fenilendiamin, 3,3 mmol (0,609 g) 3-(4-klorofenil)propanoik asit bir balona alındı ve üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 41 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 338 mg saf bileşik (Şekil 4.10.) elde edildi.

FT-IR spektrumunda (cm^{-1}), 3053 (aromatik =C-H gerilim), 3000-2560 (alifatik -C-H gerilim), 1270 (C=N gerilim), 1455-1418 (aromatik C=C gerilimleri), 807 (benzen =C-H plan-dışı eğilim), 738 cm^{-1} (-C-Cl eğilim) bantları görüldü.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, CDCl_3 , δ ppm, 3.07-3.15 (4H, m, -CH₂-CH₂), 6.99-7.03 (2H, d, aromatik H), 7.12-7.18 (4H, m, aromatik H), 7.44-7.50 (2H, q, aromatik H) pikleri görüldü.

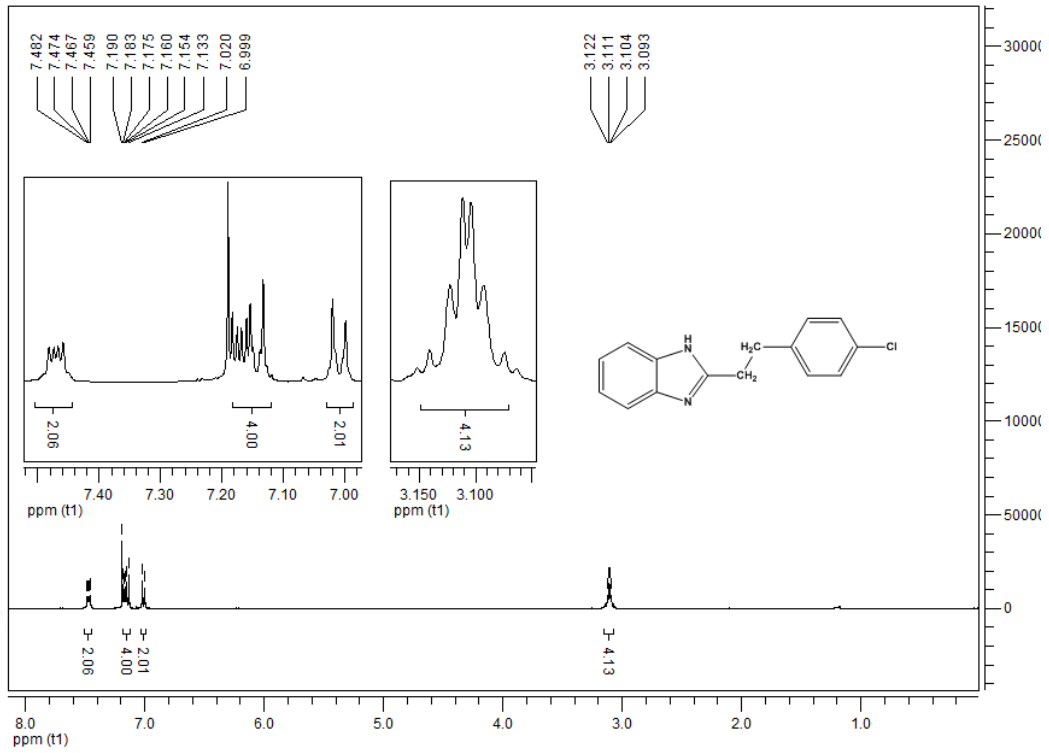
Verim : % 44

Çözücü : Metanol, etanol, aseton, kloroform.

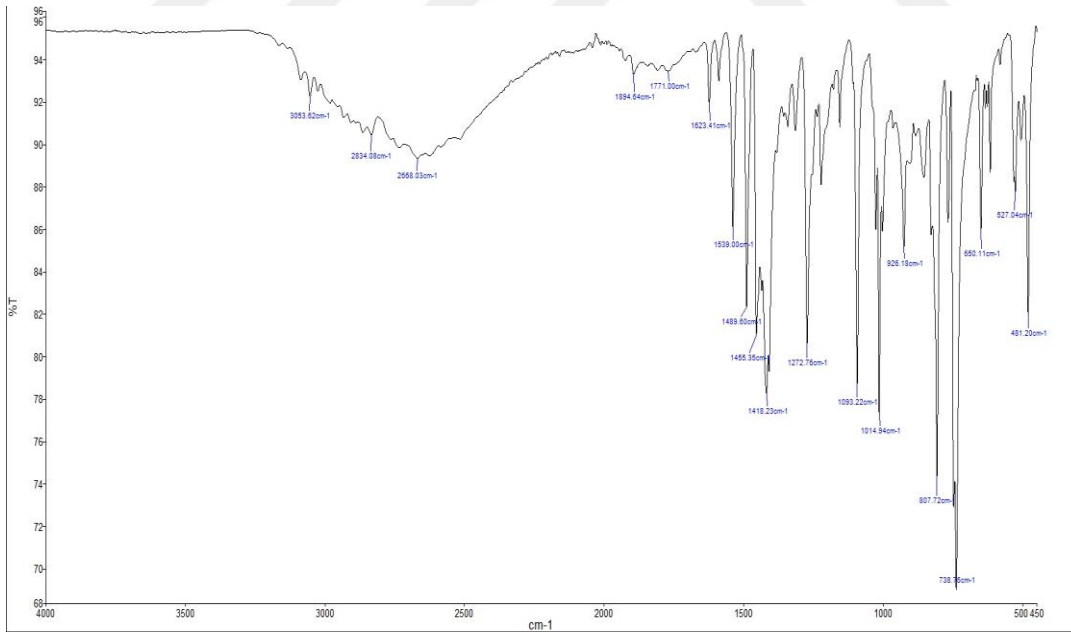
İTK : Kloroform

R_f : 0.65

Erime Noktası : 235 °C

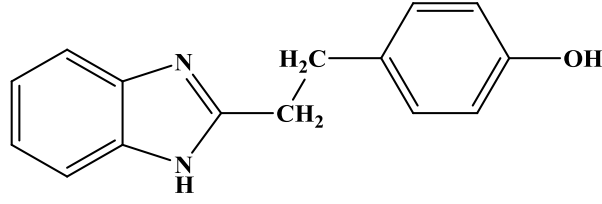


Şekil 4.11. Bileşik 11'in $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



Şekil 4.12. Bileşik 11'in FT-IR Spektrumu

4.1.5. 2-((4-Hidroksifenil)etil)-1*H*-benzimidazol (Bileşik No 12)



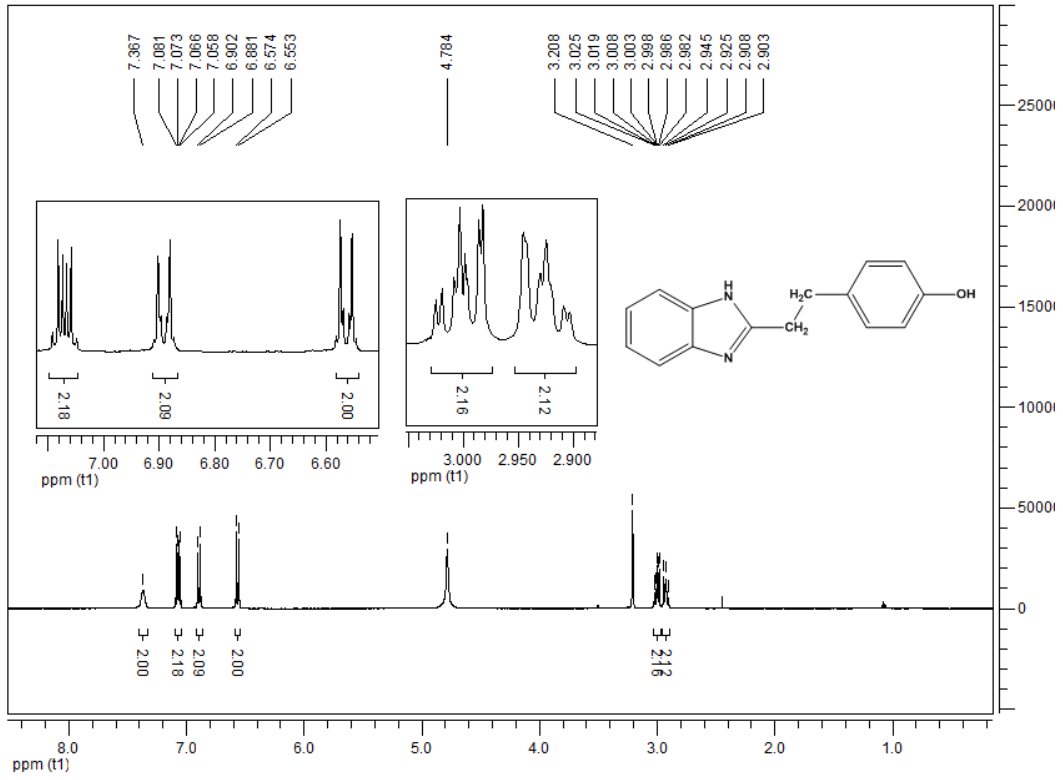
Şekil 4.13. 2-((4-Hidroksifenil)etil)-1*H*-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

3 mmol (0,320 g) 1,2-Fenilendiamin, 3,3 mmol (0,548 g) 3-(4-hidroksifenil) propanoik asit bir balona alındı, üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 41 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 407 mg saf bileşik (Şekil 4.13) elde edildi.

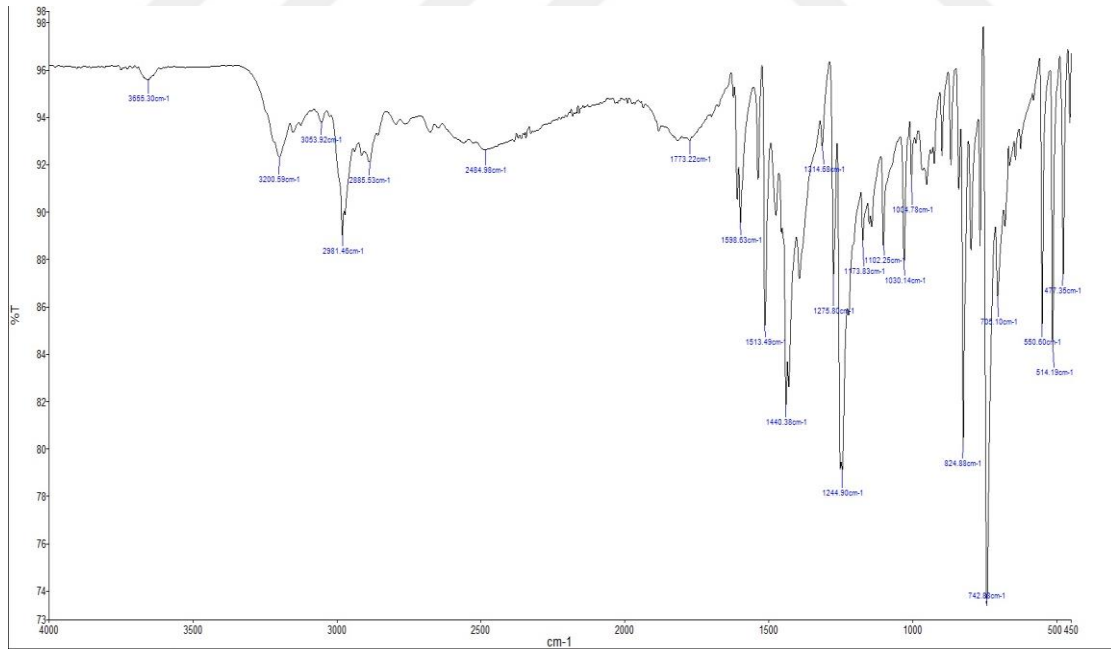
FT-IR spektrumunda (cm^{-1}), 3699-3600 (aromatik O-H gerilim), 3300-3150 (aromatik N-H gerilim), 3053 (aromatik =C-H gerilim), 2981-2885 (alifatik -C-H gerilim), 1244 (C-O gerilim), 1440 (aromatik C=C gerilimleri), 824-742 cm^{-1} (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, CD_3OD , δ ppm, 2.90-2.95 (2H, t, - CH_2), 2.97-3.03 (2H, t, - CH_2), 6.54-6.58 (2H, d, aromatik H), 6.86-6.91 (2H, d, aromatik H), 7.04-7.10 (2H, q, aromatik H), 7.33-7.40 (2H, yayvan, s, aromatik H) pikleri görüldü.

Verim	: % 57
Çözücü	: Etanol, metanol, aseton.
İTK	: Kloroform : metanol (95: 5)
Rf	:0.51
E.N.	: 234 °C

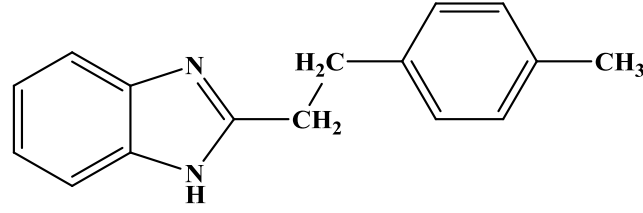


Şekil 4.14. Bileşik 12'nin ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 4.15. Bileşik 12'nin FT-IR Spektrumu

4.1.6 2-((4-Metilfenil)etil)-1*H*-benzimidazol (Bileşik No 13) [113]



Şekil 4.16. 2-((4-Metilfenil)etil)-1*H*-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

3 mmol (0,320 g) 1,2-Fenilendiamin, 3,3 mmol (0,541 g) 3-(4-metilfenil) propanoik asit bir balona alındı, üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 41 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 375 mg saf bileşik (Şekil 4.16.) elde edildi.

FT-IR spektrumunda (cm^{-1}), 3053 (aromatik =C-H gerilim), 2981-2908 (alifatik -C-H gerilim), 1271 (C=N gerilim), 1539-1515 (aromatik C=C gerilimleri, 805-736 cm^{-1} (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, CDCl_3 , δ ppm, 2.21-2.30 (3H, s, - CH_3), 3.01-3.08 (2H, t, - CH_2), 3.10-3.17 (2H, t, - CH_2), 6.94-7.01 (4H, d, aromatik H), 7.13-7.17 (2H, q, aromatik H), 7.41-7.48 (2H, q, aromatik H) pikleri görüldü.

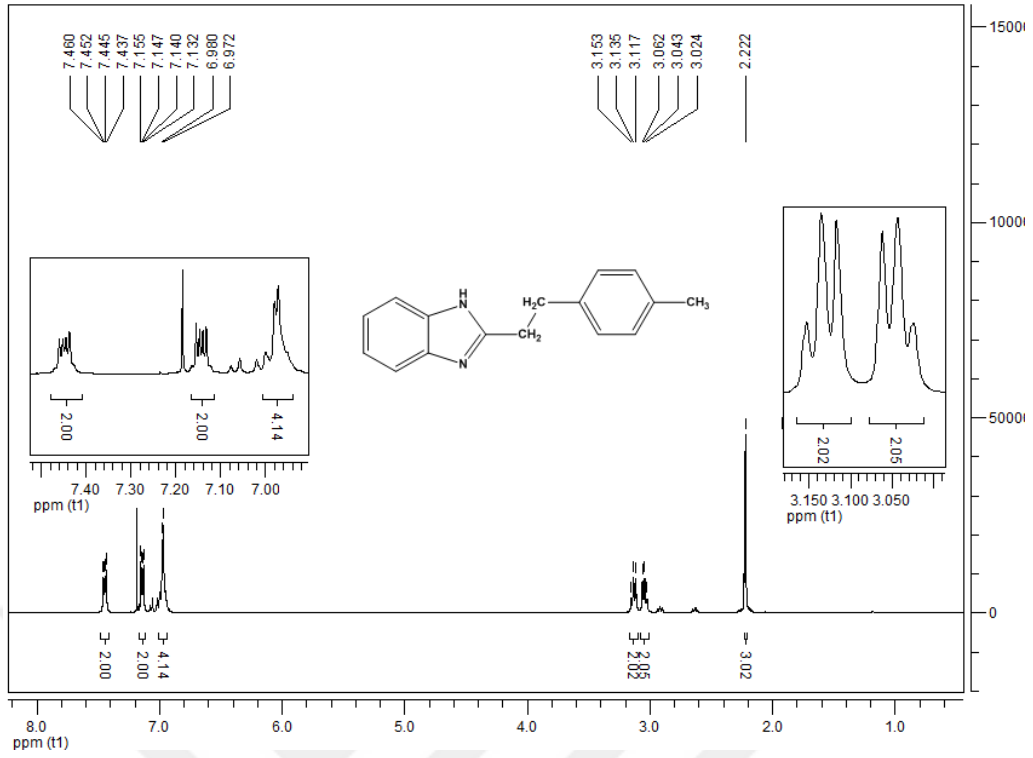
Verim : % 53

Çözücü : Aseton, metanol, kloroform.

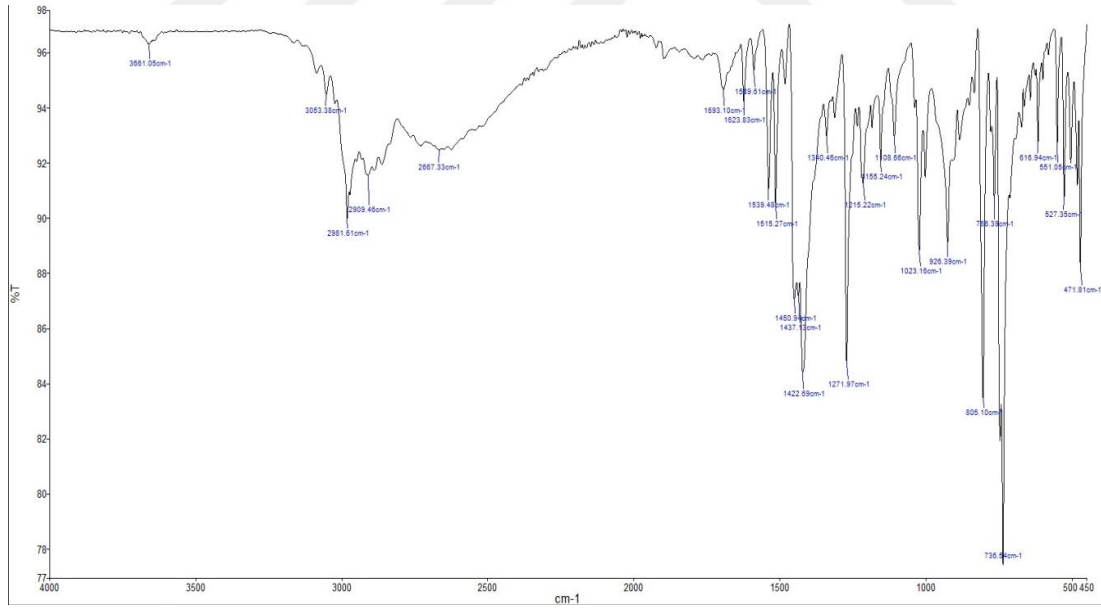
İTK : Kloroform : metanol (95: 5)

Rf : 0.77

Erime Noktası : 230 °C

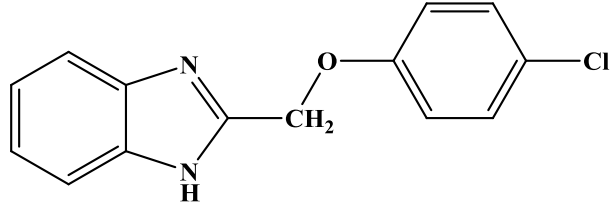


Şekil 4.17. Bileşik 13'ün ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 4.18. Bileşik 13'ün FT-IR Spektrumu

4.1.7 2-((4-Klorofenoksi)metil)-1*H*-benzimidazol (Bileşik No 17) [65, 114]



Şekil 4.19. 2-((4-Klorofenoksi)metil)-1*H*-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

5 mmol (0,540 g) 1,2-Fenilendiamin, 5,5 mmol (1,020 g) 2-(4-klorofenoksi)asetik asit bir balona alındı, üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 18 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 711 mg saf bileşik (Şekil 4.19) elde edildi.

FT-IR spektrumunda (cm^{-1}), 3048 (aromatik =C-H gerilim), 2983-2675 (alifatik -C-H gerilim), 1269 (C=N gerilim), 1449-1434 (aromatik C=C gerilimleri), 1218 (C-O gerilim), 821 (benzen =C-H plan-dışı eğilim), 730 cm^{-1} (-C-Cl gerilim) bantları görüldü.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, δ ppm, 2.52-2.56 (2H, s, CH_2), 7.11-7.16 (4H, q, aromatik H), 7.46-7.52 (4H, q, aromatik H) pikleri görüldü.

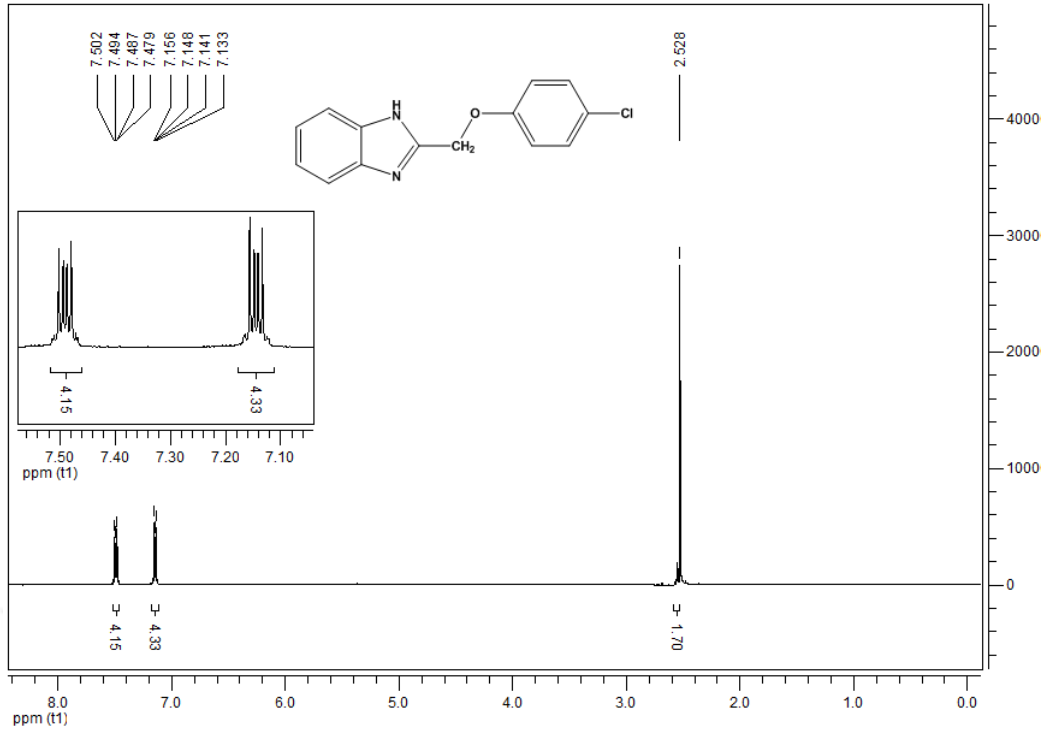
Verim : % 55

Çözücü : Aseton, metanol, DMSO.

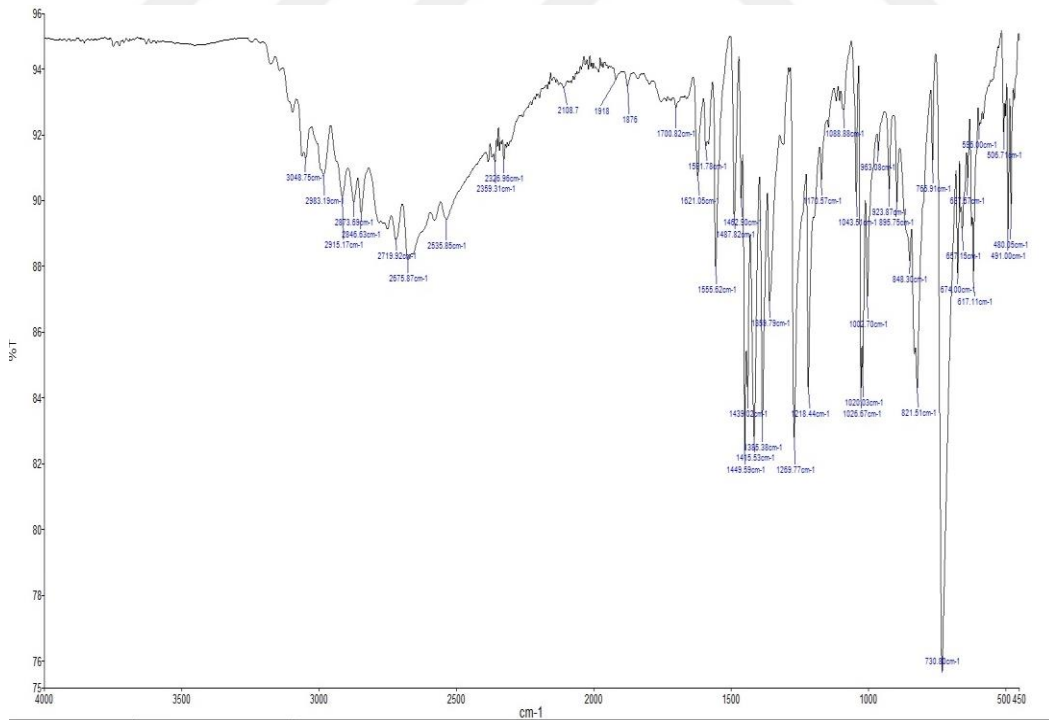
İTK : Kloroform

Rf : 0.51

Erime Noktası : 197 °C

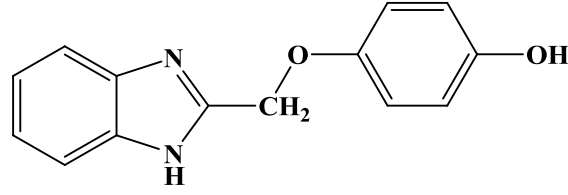


Şekil 4.20. Bileşik 17'nin ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 4.21. Bileşik 17'nin FT-IR Spektrumu

4.1.8. 2-((4-Hidroksifenoksi)metil)-1*H*-benzimidazol (Bileşik No 18)



Şekil 4.22. 2-((4-Hidroksifenoksi)metil)-1*H*-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

3 mmol (0,320 g) 1,2-Fenilendiamin, 3,3 mmol (0,550 g) 2-(4-hidroksifenoksi)asetik asit bir balona alındı, üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 41 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 389 mg saf bileşik (Şekil 4.22.) elde edildi. Bileşik 18'in molekül ağırlığı 240.257 g/mol'dür.

FT-IR spektrumunda (cm^{-1}), 3700-3600 (aromatik O-H gerilim), 3174 (aromatik N-H gerilim), 3054 (aromatik =C-H gerilim), 2981-2785 (alifatik -C-H gerilim), 1251 (C=N gerilim), 1197 (C-O gerilim), 1505-1438 (aromatik C=C gerilimleri), 743 cm^{-1} (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, CD_3OD , δ ppm, 5.12-5.14 (2H, s, - CH_2), 6.59-6.64 (2H, d, aromatik H), 6.77-6.82 (2H, d, aromatik H), 7.12-7.16 (2H, q, aromatik H), 7.42-7.50 (2H, s, aromatik H) pikleri görüldü.

LC-MS/MS spekturumuna göre, MS (ESI): $m/z = 241.1$ ($[\text{M}+1]^+$).

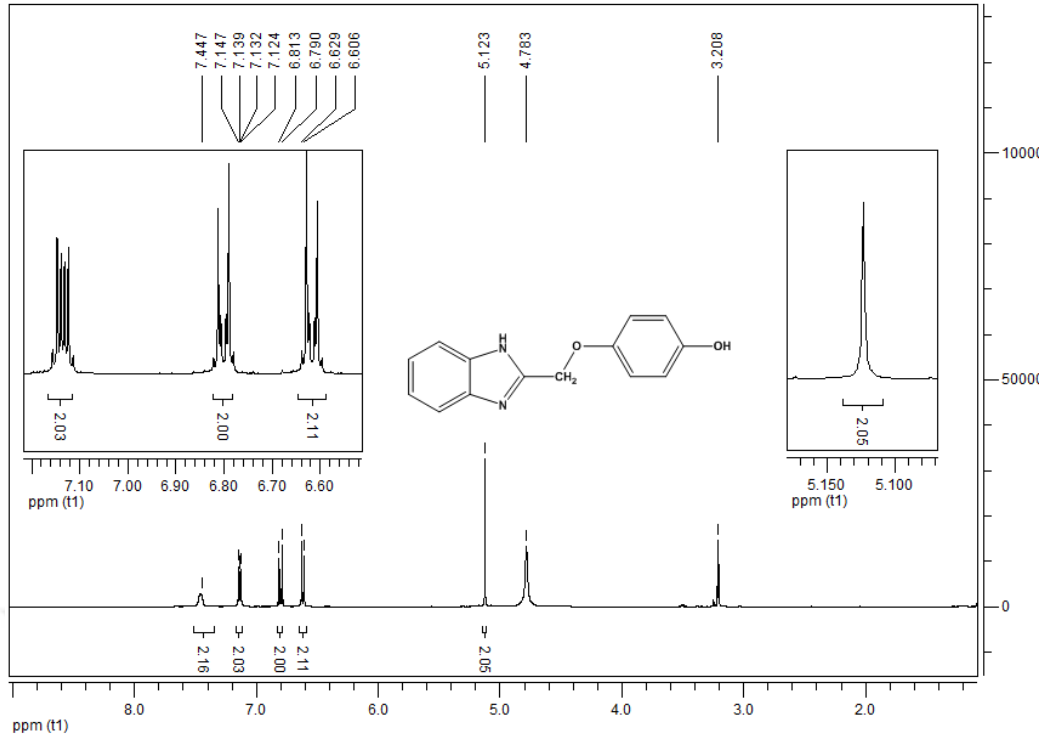
Verim : % 54

Çözücü : Aseton, metanol.

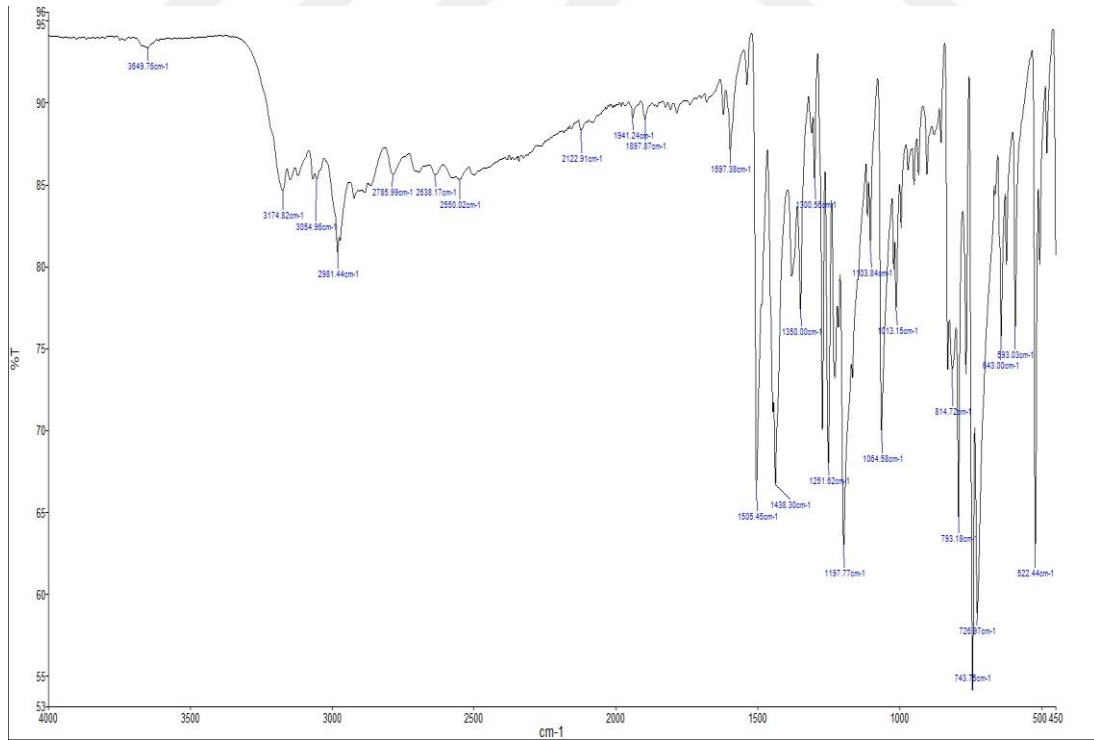
İTK : Kloroform

Rf : 0.54

Erime Noktası : 222 °C

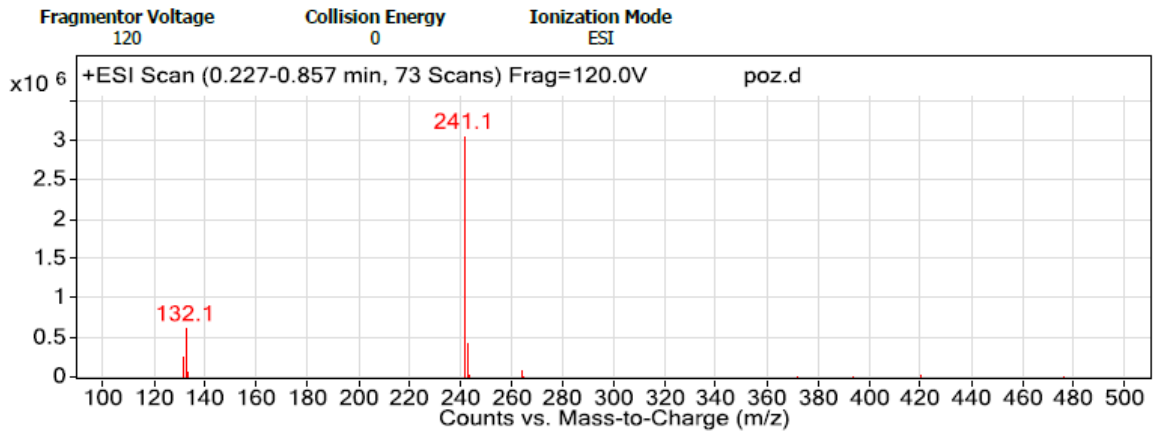


Şekil 4.23. Bileşik 18'in ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 2.24. Bileşik 18'in FT-IR Spektrumu

User Spectra

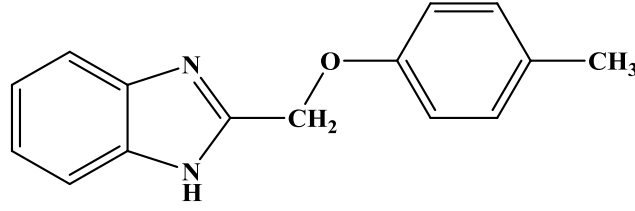


Peak List

m/z	z	Abund
131.1		265691.9
132.1		616114.1
241.1	1	3060865
242.2	1	438843

Şekil 2.25. Bileşik 18'in LC-MS/MS Spektrumu

4.1.9. 2-(*p*-Toliloksimetil)-1*H*-benzimidazol (Bileşik No 19) [65, 115]



Şekil 4.26. 2-(*p*-Toliloksimetil)-1*H*-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

3 mmol (0,320 g) 1,2-Fenilendiamin, 3,3 mmol (0,548 g) 2-(4-metilfenoksi)asetik asit bir balona alındı, üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 41 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 221 mg saf bileşik (Şekil 4.25) elde edildi.

FT-IR spektrumunda (cm^{-1}), 3320 (aromatik =C-H gerilim), 2942-2661 (alifatik -C-H gerilim), 1358 (C=N gerilim), 1508-1426 (aromatik C=C gerilimleri), 1229 (alifatik C-O gerilim), 740 cm^{-1} (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, CDCl_3 , δ ppm, 2.27-2.30 (3H, s, - CH_3), 5.34-5.37 (2H, s, - CH_2), 6.86-6.91 (2H, d, aromatik H), 7.06-7.12 (2H, d, aromatik H), 7.26-7.29 (2H, d, aromatik H), 7.41-7.48 (1H, s, aromatik H), 7.73-7.80 (1H, s, aromatik H), 9.70-9.80 (1H, s, -NH) pikleri görüldü.

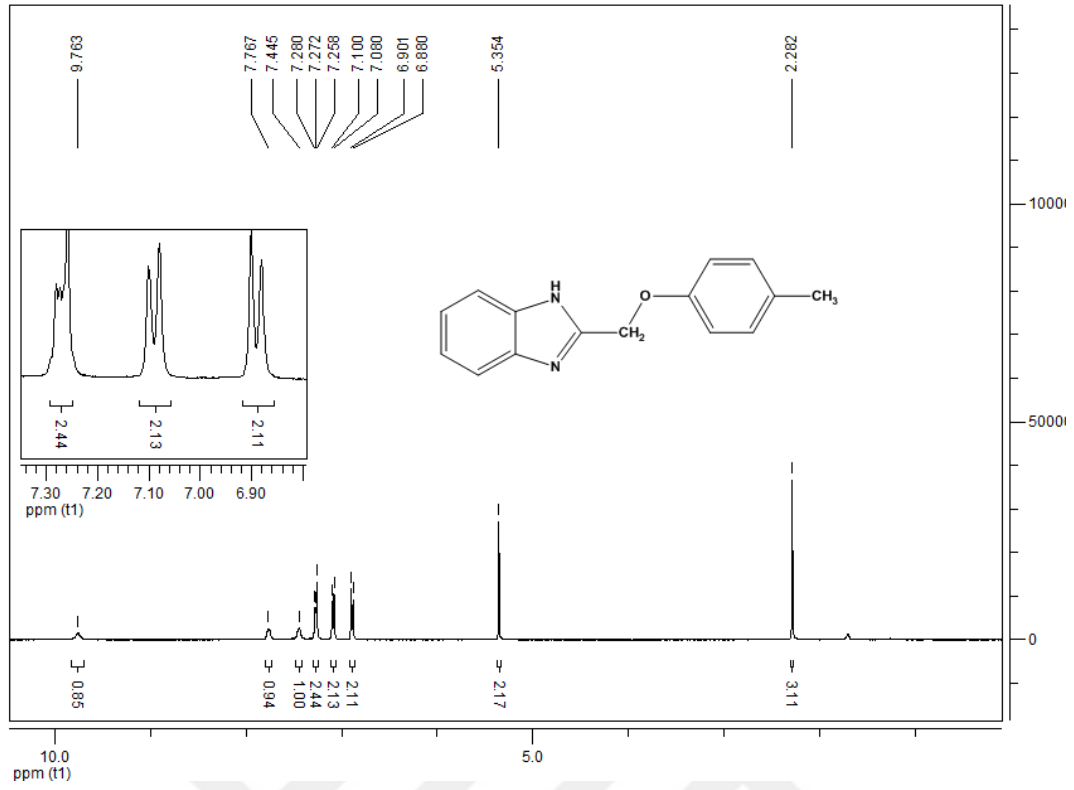
Verim : % 31

Çözücü : Aseton, metanol, kloroform.

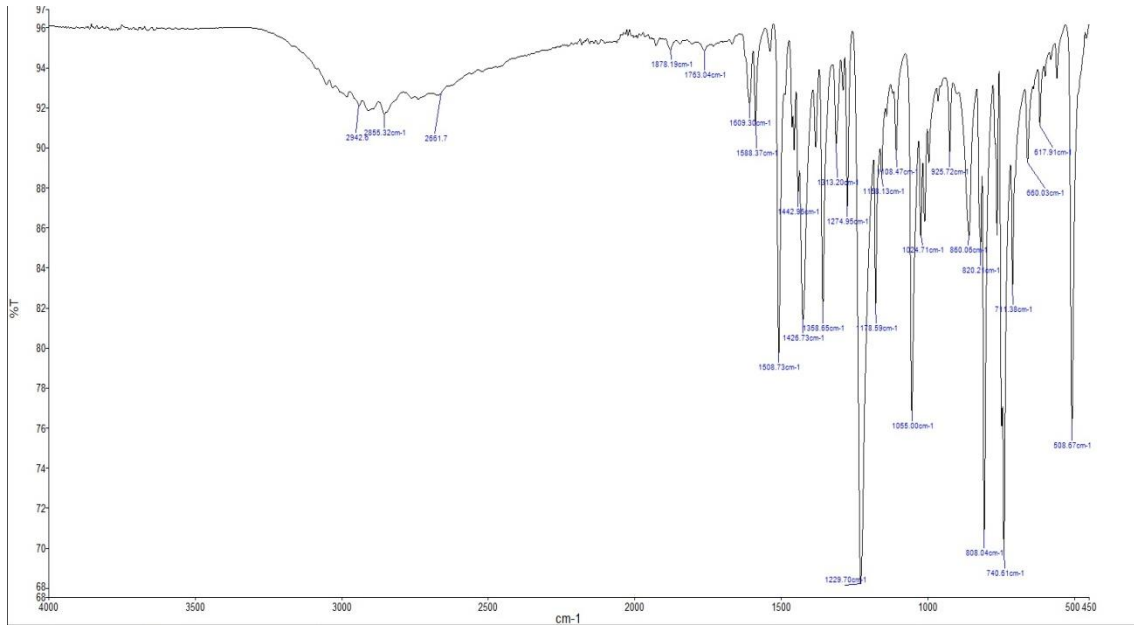
İTK : Kloroform: metanol (95: 5)

Rf : 0.79

Erime Noktası : 175 °C

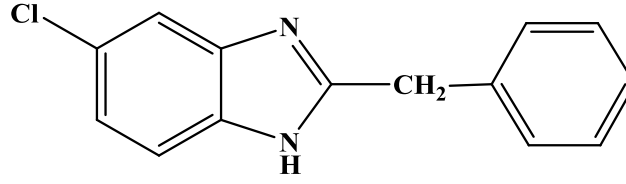


Şekil 4.27. Bileşik 19'un ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 4.28. Bileşik 19'un FT-IR Spektrumu

4.1.10. 2-Benzil-5(6)-kloro-1H-benzimidazol (Bileşik No 22) [105, 116-118]



Şekil 4.29. 2-Benzil-5(6)-kloro-1H-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

5 mmol (0,712 g) 4-Kloro-*o*-fenilendiamin, 5,5 mmol (0,748 g) 2-fenilasetik asit bir balona alındı ve üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 120 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 451 mg saf bileşik (Şekil 4.28.) elde edildi.

FT-IR spektrumunda (cm⁻¹), 3032-3000 (aromatik =C-H gerilim), 2911-2578 (alifatik -C-H gerilim), 1275 (C=N gerilim), 1431-1415 (aromatik C=C gerilimleri), 809 (-C-Cl eğilim), 765-705 cm⁻¹ (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

¹H-NMR spektrumunda, CD₃OD, δ ppm, 4.09-4.14 (2H, s, -CH₂), 7.06-7.09 (1H, dd, aromatik H), 7.11-7.16 (1H, m, aromatik H), 7.18-7.24 (4H, m, aromatik H), 7.33-7.36 (1H, d, aromatik H), 7.37-7.39 (1H, d, aromatik H) pikleri görüldü.

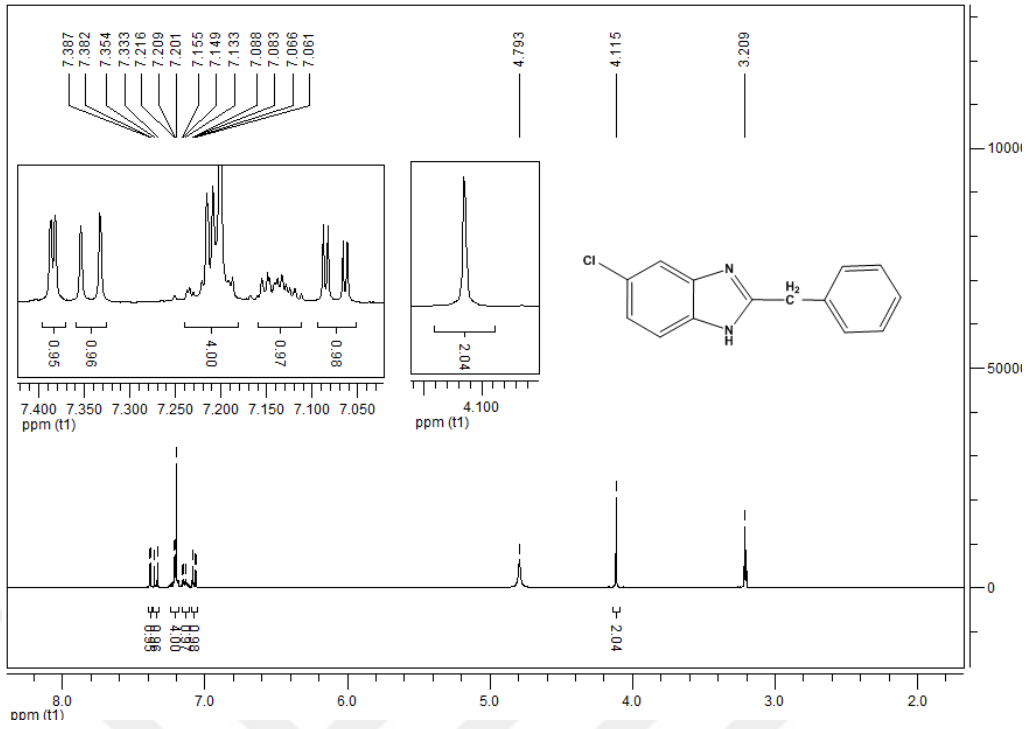
Verim : % 62

Çözücü : Aseton, metanol, etanol.

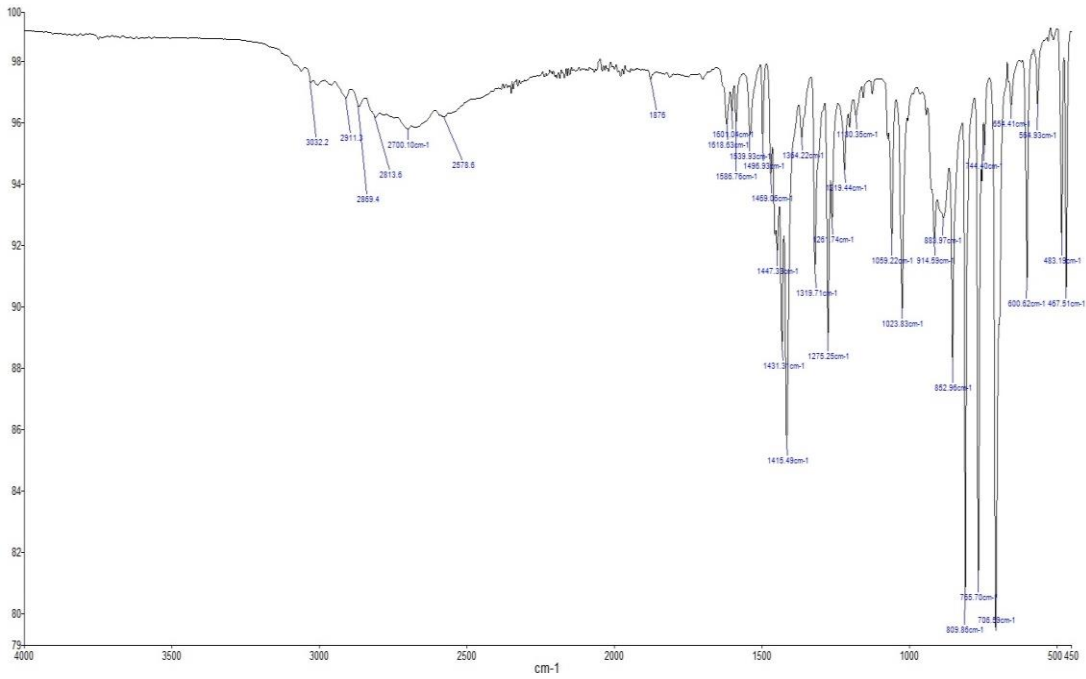
İTK : Kloroform: metanol (95: 5)

Rf : 0.66

Erime Noktası : 170 °C

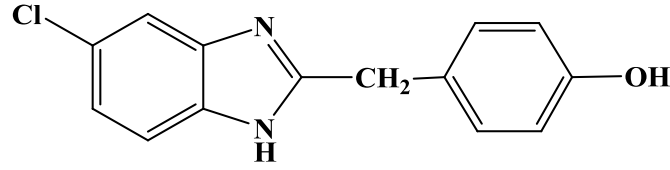


Şekil 4.30. Bileşik 22'nin $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



Şekil 4.31. Bileşik 22'nin FT-IR Spektrumu

4.1.11. 2-((4-Hidroksifenil)metil)-5(6)-kloro-1H-benzimidazol (Bileşik No 23)



Şekil 4.32. 2-((4-Hidroksifenil)metil)-5(6)-kloro-1H-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

5 mmol (0,712 g) 4-Kloro-*o*-fenilendiamin, 6 mmol (0,912 g) 4-hidroksifenil asetik asit bir balona alındı, üzerine 25 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 50 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 801 mg saf bileşik (Şekil 4.31.) elde edildi.

FT-IR spektrumunda (cm^{-1}), 3700-3600 (aromatik -O-H gerilim), 3300-3090 (-N-H gerilim), 3100 (aromatik =C-H gerilim), 2981-2885 (alifatik -C-H gerilim), 1245 (C=N gerilim), 1445-1420 (aromatik C=C gerilimleri), 1205 (C-O gerilim), 801 cm^{-1} (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, CD_3OD , δ ppm, 4.13-4.15 (2H, s, -CH₂), 6.75-6.80 (2H, dd, aromatik H), 7.12-7.17 (2H, d, aromatik H), 7.17-7.22 (1H, d, aromatik H), 7.43-7.48 (1H, d, aromatik H), 7.49-7.52 (1H, d, aromatik H) pikleri görüldü.

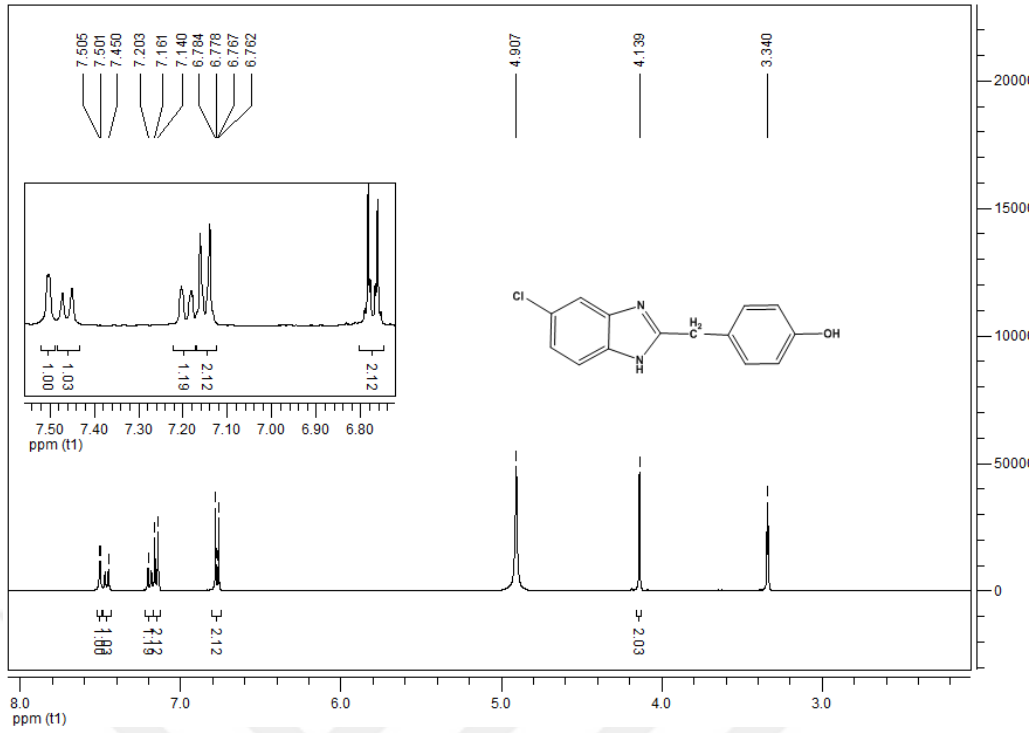
Verim : % 62

Çözücü : Aseton, metanol, etanol.

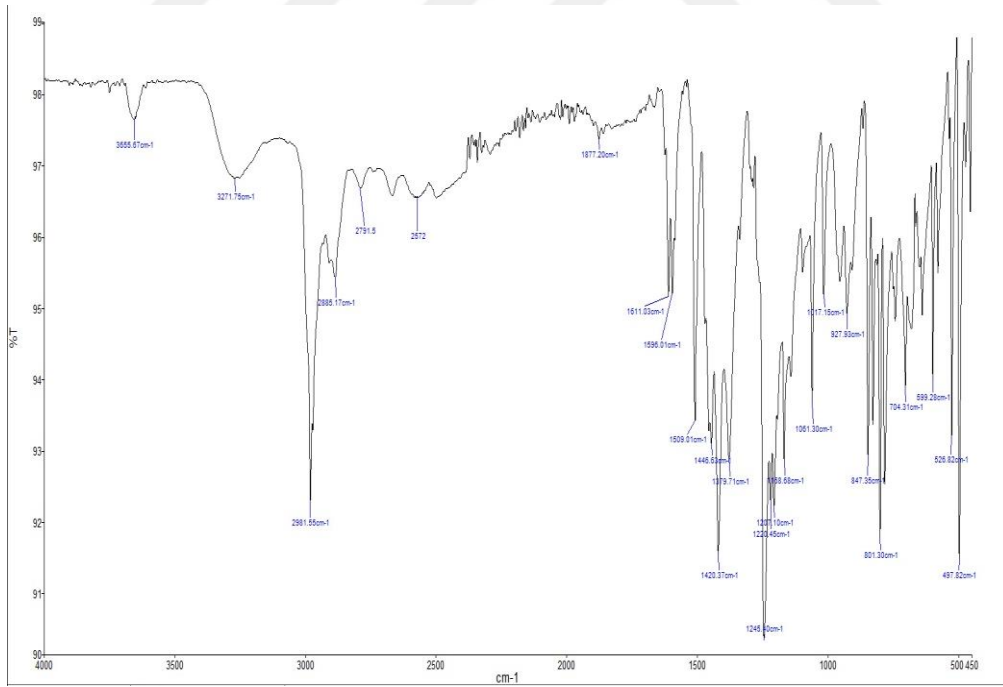
İTK : Kloroform

Rf : 0.44

Erime Noktası : 190°C

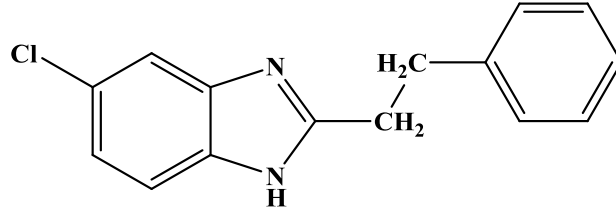


Şekil 4.33. Bileşik 23'ün ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 4.34. Bileşik 23'ün FT-IR Spektrumu

4.1.12. 2-Fenetil-5(6)-kloro-1H-benzimidazol (Bileşik No 25)



Şekil 4.35. 2-Fenetil-5(6)-kloro-1H-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

3 mmol (0,427 g) 4-Kloro-*o*-fenilendiamin, 3,3 mmol (0,495 g) 3-fenilpropanonik asit bir balona alındı, üzerine 15 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 96 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 531 mg saf bileşik (Şekil 4.34.) elde edildi.

FT-IR spektrumunda (cm^{-1}), 3058 (aromatik =C-H gerilim), 2981-2700 (alifatik -C-H gerilim), 1205 (C=N gerilim), 1473-1450 (aromatik C=C gerilimleri), 800-699 cm^{-1} (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, δ ppm, 3.22-3.30 (2H, t, -CH₂), 3.42-3.48 (2H, t, -CH₂), 7.20-7.25 (1H, td, aromatik H), 7.27-7.34 (4H, m, aromatik H), 7.53-7.57 (1H, dd, aromatik H), 7.77-7.82 (1H, d, aromatik H), 7.88-7.91 (1H, d, aromatik H) pikleri görüldü.

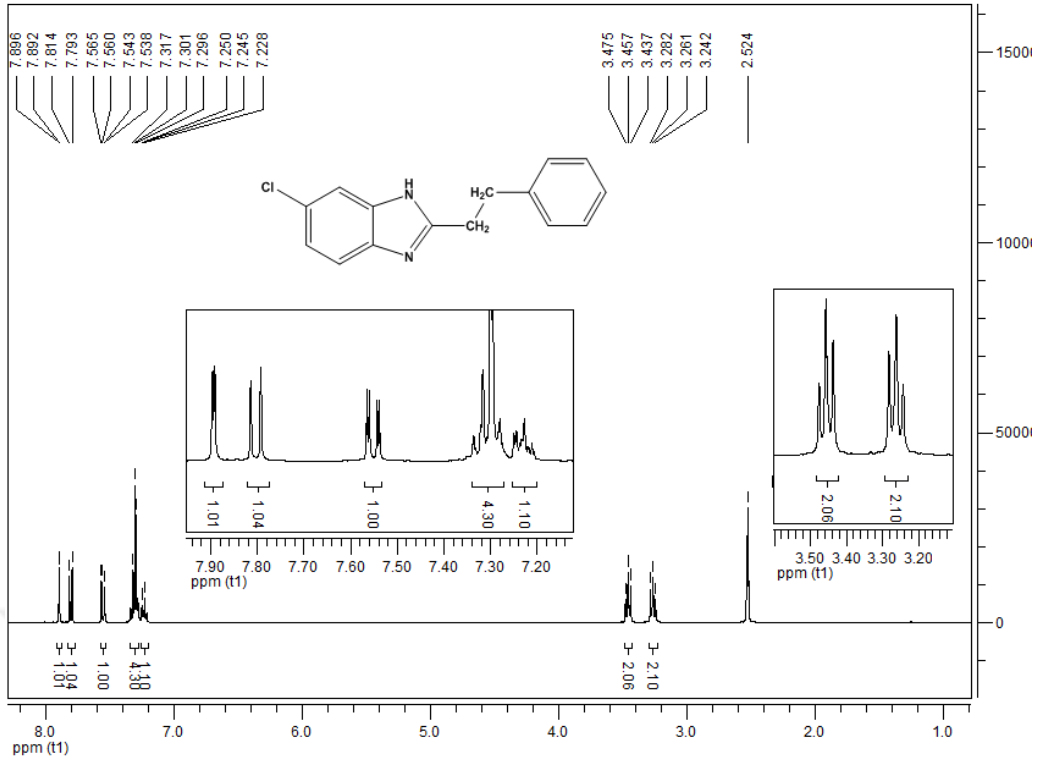
Verim : % 69

Çözücü : Aseton, metanol, DMSO.

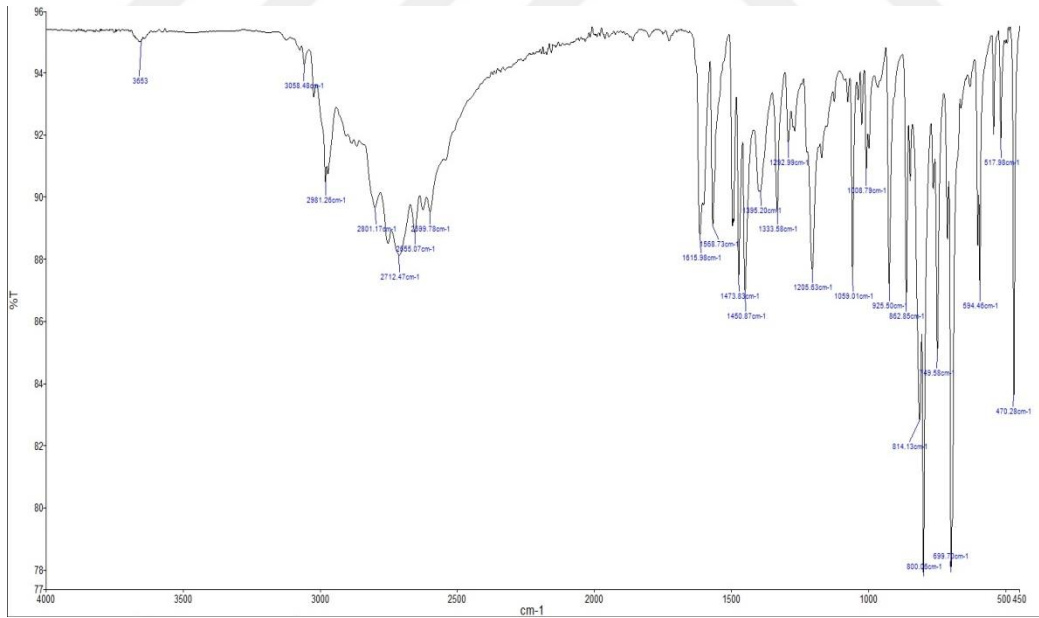
İTK : Kloroform: metanol (95: 5)

Rf : 0.60

Erime Noktası : 284 °C

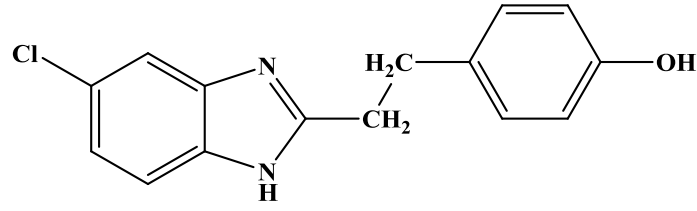


Şekil 4.36. Bileşik 25'in ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 4.37. Bileşik 25'in FT-IR Spektrumu

4.1.13. 2-((4-Hidroksifenil)etil)-5(6)-kloro-1H-benzimidazol (Bileşik No 26)



Şekil 4.38. 2-((4-Hidroksifenil)etil)-5(6)-kloro-1H-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

5 mmol (0,712 g) 4-Kloro-*o*-fenilendiamin, 5,5 mmol (0,913 g) 3-(4-metilfenil) propanonik asit balona alındı, üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C' de 84 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 818 mg saf bileşik (Şekil 4.37.) elde edildi. Bileşik 26'nın molekül ağırlığı 272,072 g/mol'dür.

FT-IR spektrumunda (cm⁻¹), 3400-3200 (aromatik O-H gerilim), 3016 (aromatik =C-H gerilim), 2980-2667 (alifatik -C-H gerilim), 1210 (C=N gerilim), 1514 (aromatik C=C gerilimleri), 1210 (C-O gerilim), 817 cm⁻¹ (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

¹H-NMR spektrumunda, CD₃OD, δ ppm, 3.01-3.06 (2H, t, -CH₂), 3.29-3.34 (2H, t, -CH₂), 6.57-6.60 (2H, dd, aromatik H), 6.87-6.91 (2H, d, aromatik H), 7.44-7.52 (1H, dd, aromatik H), 7.59-7.62 (1H, d, aromatik H), 7.66-7.68 (1H, d, aromatik H) pikleri görüldü.

LC-MS/MS spekturumuna göre, MS (ESI): m/z= 273.1 ([M+1]⁺).

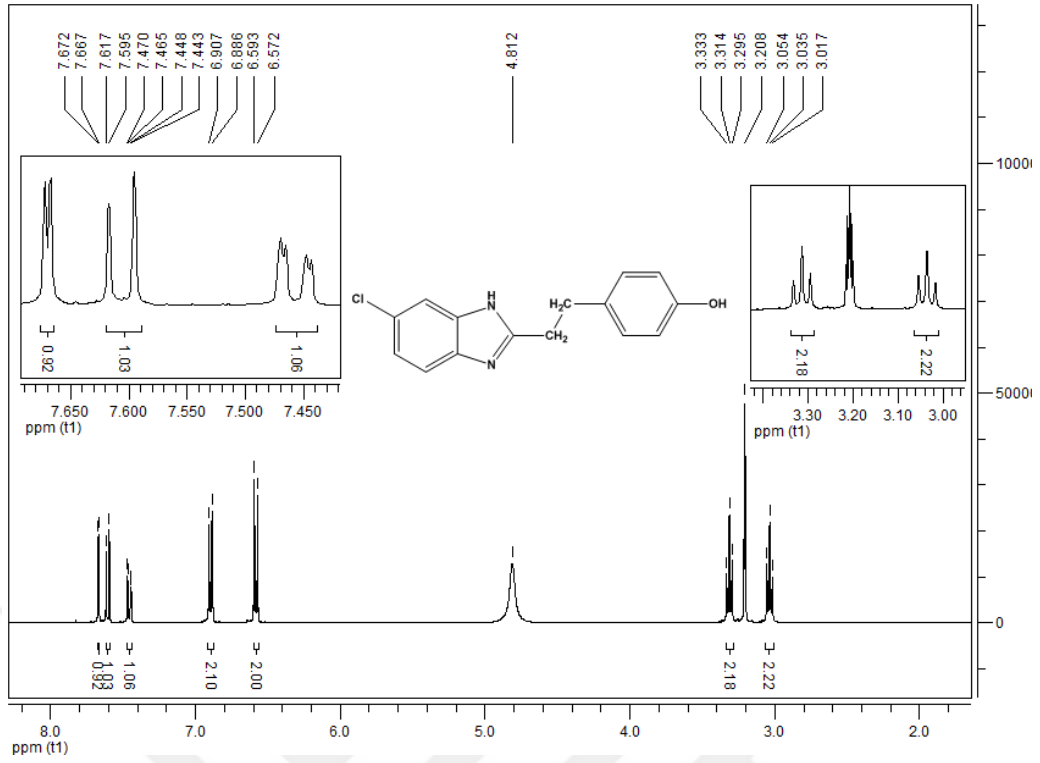
Verim : % 60

Çözücü : Aseton, metanol, etanol.

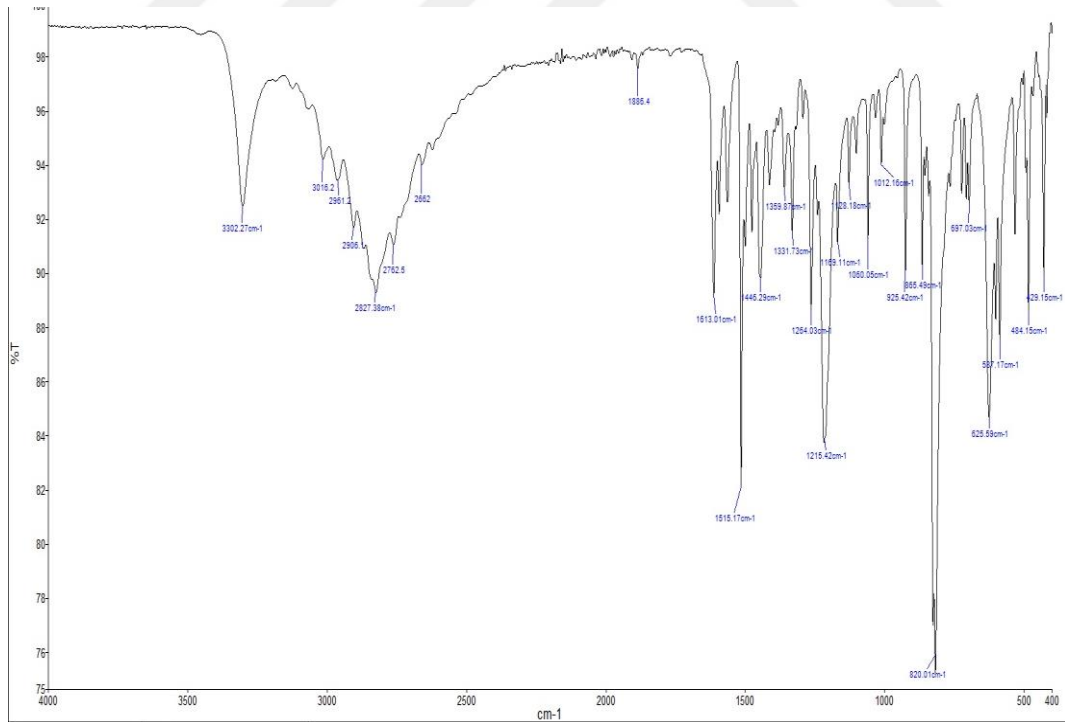
İTK : Kloroform

Rf : 0.28

Erime Noktası : 208 °C

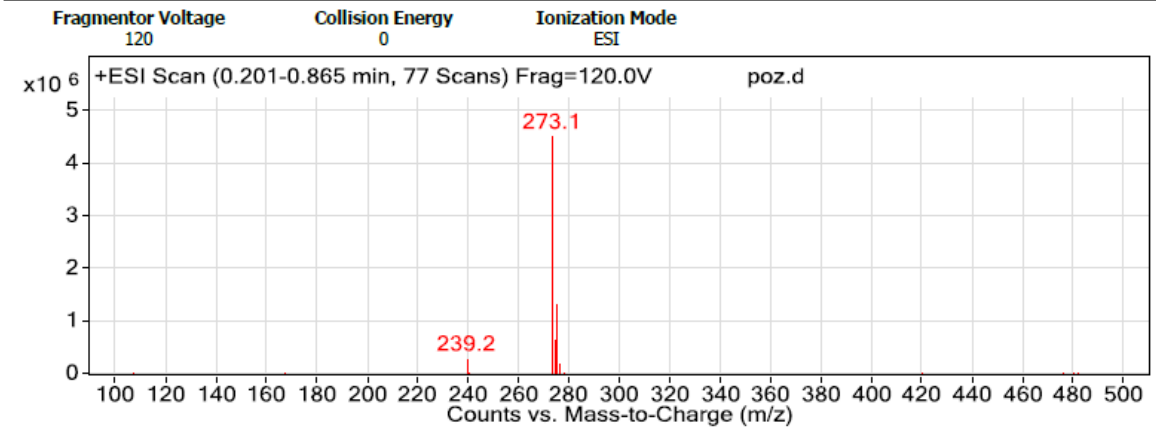


Şekil 4.39. Bileşik 26'nın $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



Şekil 4.40. Bileşik 26'nın FT-IR Spektrumu

User Spectra

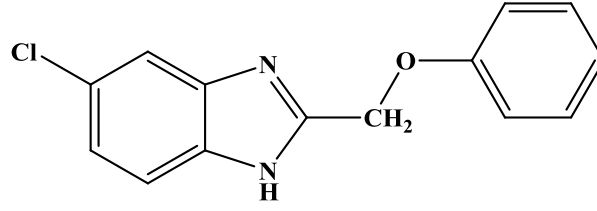


Peak List

m/z	z	Abund
239.2		294552.8
273.1	1	4507433.5
274.1	1	659130.3
275.1	1	1333308.9

Şekil 4.41. Bileşik 26'nın LC-MS/MS Spektrumu

4.1.14. 2-Fenoksimetil-5(6)-kloro-1H-benzimidazol (Bileşik No 28) [114, 119]



Şekil 4.42. 2-Fenoksimetil-5(6)-kloro-1H-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

3 mmol (0,427 g) 4-Kloro-*o*-fenilendiamin, 3,3 mmol (0,502 g) 2-fenoksi asetik asit bir balona alındı, üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 68 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 271 mg saf bileşik (Şekil 4.40.) elde edildi.

FT-IR spektrumunda (cm^{-1}), 3035 (aromatik =C-H gerilim), 2903-2600 (alifatik -C-H gerilim), 1252 (C=N gerilim), 1495-1460 (aromatik C=C gerilimleri), 1252 (C-O gerilim), 803-685 (benzen =C-H plan-dışı eğilim), 742 cm^{-1} (C-Cl eğilim) bantları görüldü.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, δ ppm, 5.44-5.49 (2H, s, -CH₂), 6.99-7.04 (1H, t, aromatik H), 7.10-7.14 (2H, d, aromatik H), 7.31-7.35 (3H, m, aromatik H), 7.66-7.71 (1H, d, aromatik H), 7.72-7.77 (1H, d, aromatik H) pikleri görüldü.

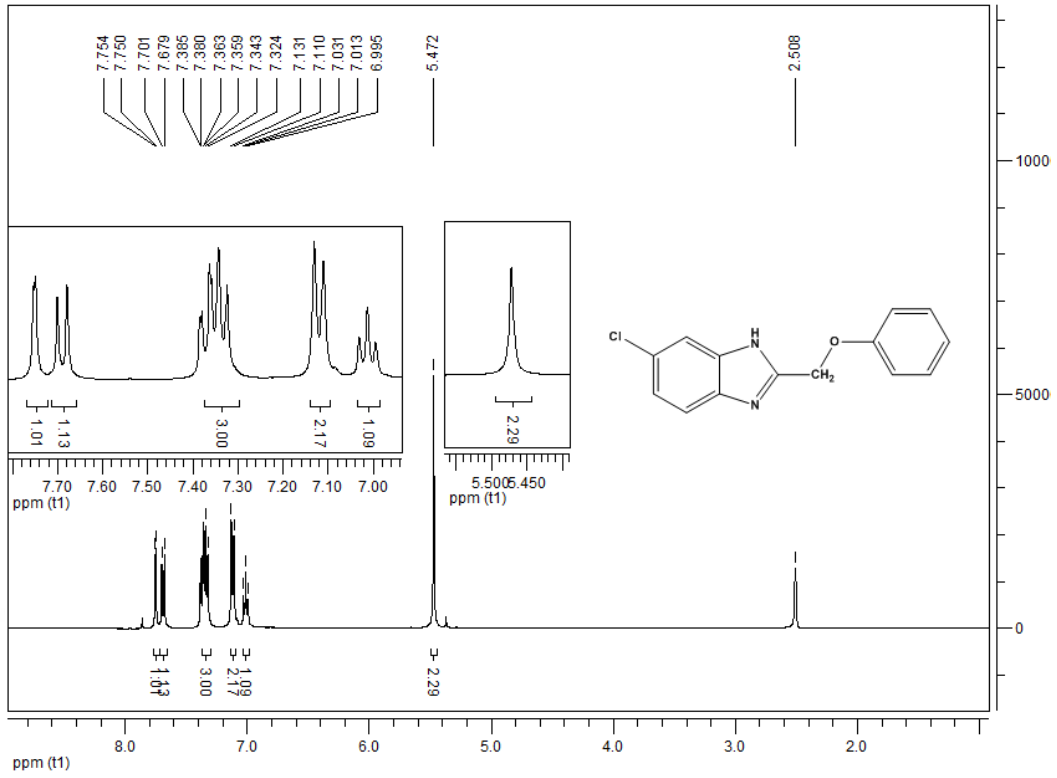
Verim : % 35

Çözücü : Metanol, etanol, DMSO.

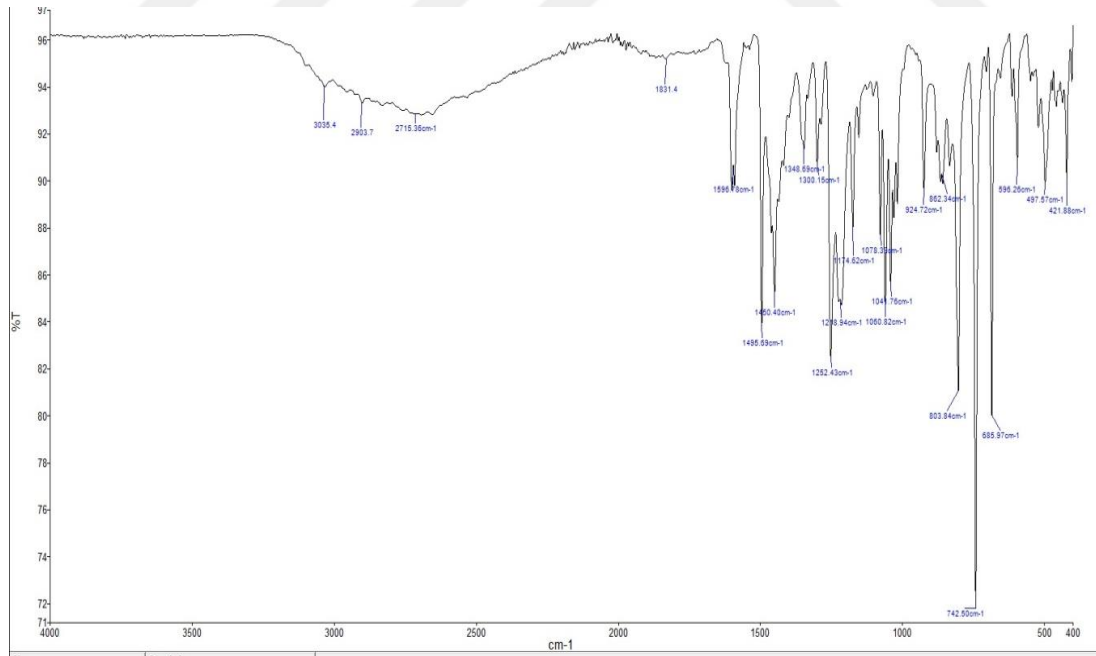
İTK : Kloroform

Rf : 0.29

Erime Noktası : 196°C

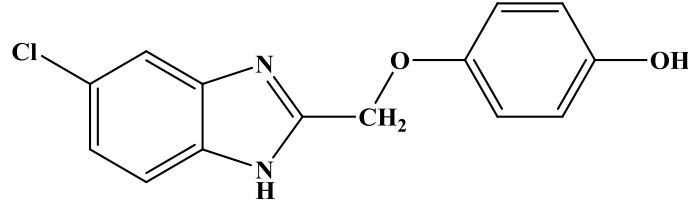


Şekil 4.43. Bileşik 28'in ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 4.44. Bileşik 28'in FT-IR Spektrumu

4.1.15. 2-((4-Hidroksi)fenoksimetil)-5(6)-kloro-1H-benzimidazol (Bileşik No 29)



Şekil 4.45. 2-((4-Hidroksi)fenoksimetil)-5(6)-kloro-1H-benzimidazol bileşiğinin yapısı.

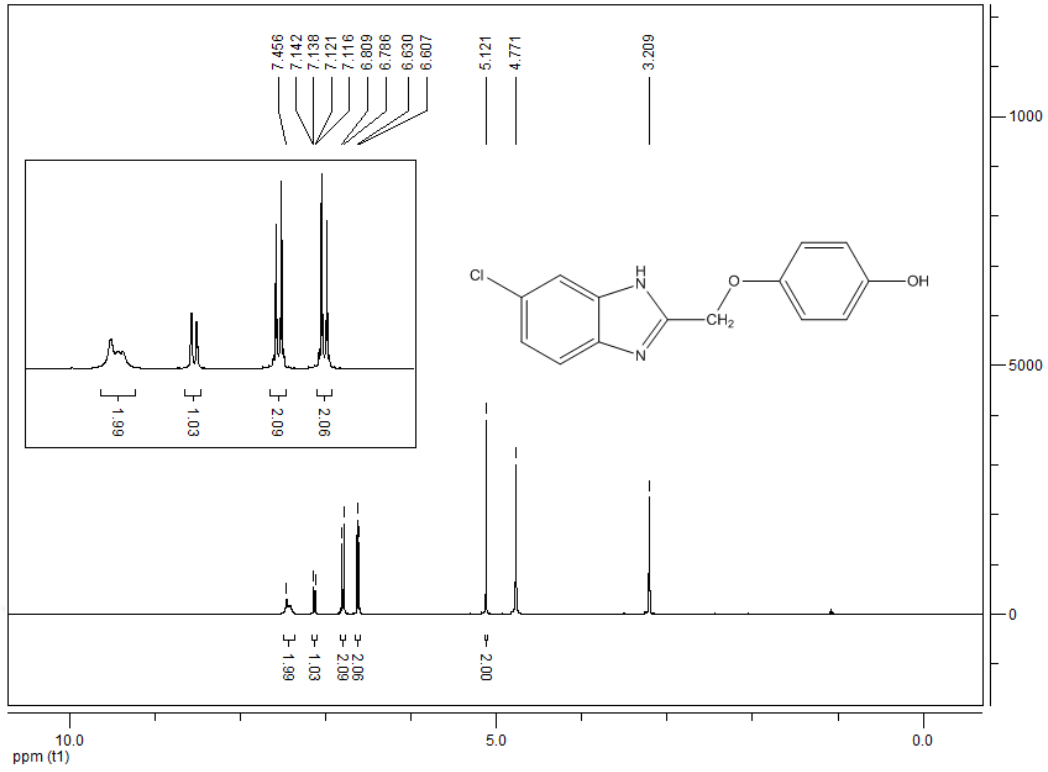
3 mmol (0,427 g) 4-Kloro-*o*-fenilendiamin, 3,3 mmol (0,554 g) 4-hidroksifenoksi asetik asit balona alındı, üzerine 20 mL 5 N HCl asit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 150 °C'de 54 saat geri çeviren soğutucu altında Phillips yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 337 mg saf bileşik (Şekil 4.45.) elde edildi. Bileşik 29'un molekül ağırlığı 274.051 g/mol'dür.

FT-IR spektrumunda (cm⁻¹), 3300-3000 (aromatik =C-H gerilim, aromatik O-H gerilim), 2905-2636 (alifatik -C-H gerilim), 1204 (C=N gerilim), 1430 (aromatik C=C gerilimleri), 1200 (C-O gerilim), 814 (C-Cl eğilme), 794 cm⁻¹ (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

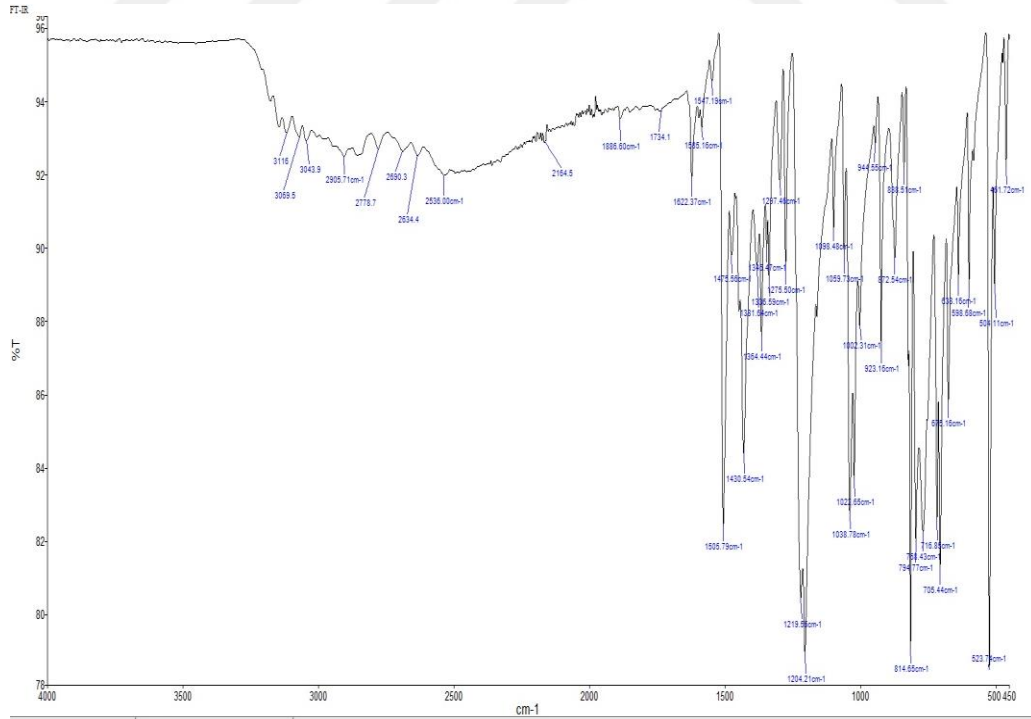
¹H-NMR spektrumunda, CD₃OD, δ ppm, 5.10-5.13 (2H, s, -CH₂), 6.59-6.64 (2H, dd, aromatik H), 6.77-6.83 (2H, dd, aromatik H), 7.10-7.16 (1H, dd, aromatik H), 7.35-7.49 (2H, d, aromatik H) pikleri görüldü.

LC-MS/MS spekturumuna göre, MS (ESI): m/z= 275.1 ([M+1]⁺).

Verim : % 41
Çözücü : Aseton, metanol
İTK : Kloroform
Rf : 0.14
Erime Noktası : 196 °C

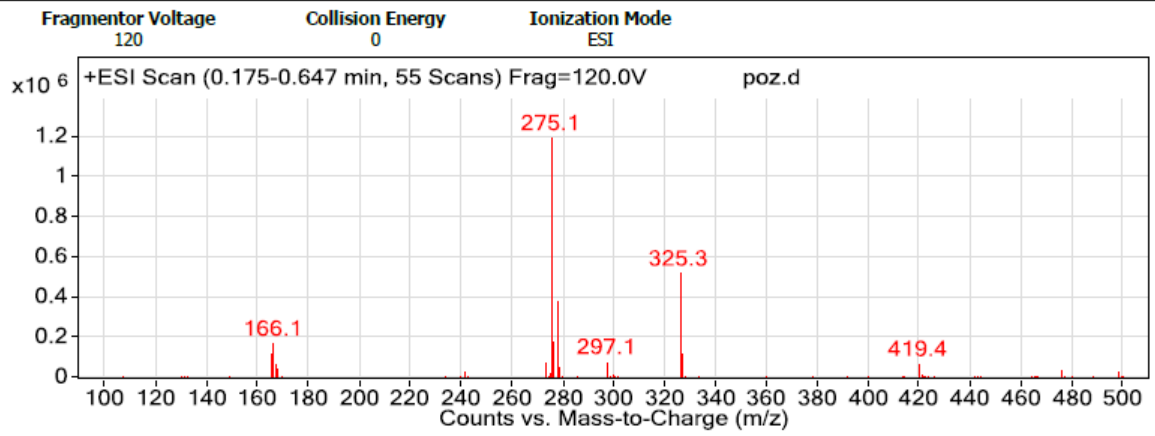


Şekil 4.46. Bileşik 29'un ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 4.47. Bileşik 29'un FT-IR Spektrumu

User Spectra



Peak List

m/z	z	Abund
165.1		120536.6
166.1		169363.1
167.1		70233.3
273.2		79943.3
275.1	1	1190583.8
276.1	1	187857.8
277.1	1	383537.3
297.1		78581.7
325.3	1	517339.1
326.3	1	118157.4

Şekil 4.48. Bileşik 29'un LC-MS/MS Spektrumu

4.2. Biyolojik Bulgular

4.2.1. Antiproliferatif Aktivite Bulguları

Bu çalışmada 15 adet antiproliferatif aktivitelerinin araştırılması amacıyla 2-alkil/alkiloksi sübstitübenzimidazol türevi bileşikler tasarlanmış ve sentezleri gerçekleştirilmiştir. Literatür çalışmalarında Menon ve ark. 5-nitro-2-fenoksimetil benzimidazol bileşiğinin Topo II enzim inhibitör etkilerinin öncü bileşik olarak kabul edilebilecek düzeyde yüksek bulmaları ve Nawrocka ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada da bir seri 2-benzilaminobenzimidazol türevi bileşiğin, *in vitro* antiproliferatif aktivitelerinin oldukça yüksek olduğu sonucuna ulaşılması yine Karaaslan tarafından yapılan bir tez çalışmasında 2,5-disübstitüe benzimidazol türevi bir bileşiğin, MCF-7 meme kanser hücre hattına karşı, IC₅₀ sonuçlarının klinikte referans olarak kullanılan bileşiklerden (imatinib mesilat, IC₅₀ =0.0096 µg/mL ve dosetaksel, IC₅₀ =0.0131 µg/mL) daha etkin olduğunu tespit edilmesi benzer yapıdaki bileşiklerin tasarlanması ve antiproliferatif etkilerinin incelenmesi fikrinin geliştirilmesine neden olmuştur.

2-Alkil/alkiloksi sübstitübenzimidazol türevi bileşiklerin antiproliferatif aktivite çalışmalarında bir sağlıklı hücre hattı ve beş farklı kanser hücre hattı kullanılmıştır. Sağlıklı hücre olarak; HEK 293 böbrek hücre hattı, Kanserli hücre olarak; Akciğer (A549), böbrek (A498), serviks (HeLa), insan cildi malign melanom (A375) ve karaciğer (HepG2) hücre hatları kullanılmıştır.

Sentezlenen 2-alkil/alkiloksi sübstitübenzimidazol türevi bileşiklerin antiproliferatif aktiviteleri, MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür) yöntemi kullanılarak kolorimetrik tayin ile tespit edilmiştir. Elde edilen antiproliferatif aktivite sonuçları, referans bileşik olarak kullanılan metotreksat bileşiğinin antiproliferatif aktivite sonuçları ile karşılaştırılmıştır. 2-Alkil/alkiloksi sübstitübenzimidazol türevi bileşiklerin spesifiklik değerleri, Metotreksat bileşiğinin spesifiklik değeri ile karşılaştırılmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin antiproliferatif aktiviteleri IC₅₀ (µM) değerlerine göre incelenmiştir (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Bileşiklerin Sağlıklı ve Kanser Hücre Hatları Üzerine Antiproliferatif Aktivite Bulguları, Spesifiklik ve cLog P değerleri.

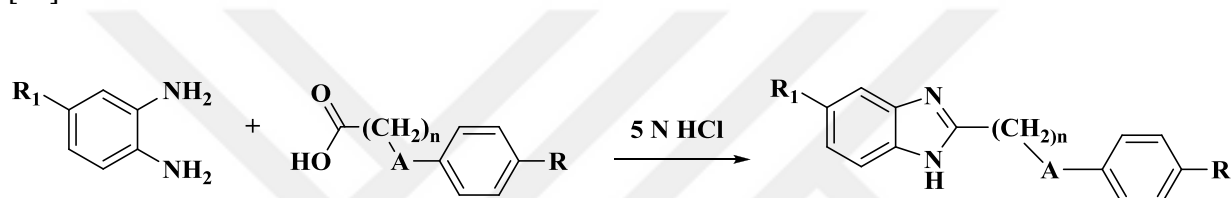
Bileşik No	HEK293	A549	A498	HeLa	A375	HepG2	Spesifiklik*					cLog P**
	IC ₅₀ (µM)						A549	A498	HeLa	A375	HepG2	
5	10.3	10.3	5.15	10.3	10.3	2.575	1.0	2.0	1.0	1.0	4.0	4.345
6	11.2	5.6	1.39	5.6	22,3	2.79	2.0	8.06	2.0	0.5	4.0	2.965
7	18.0	18.0	9	18.0	18.0	2	1.0	2.0	1.0	1.0	9.0	4.131
11	3.9	0.31	10	1.56	1.56	1.56	12.6	0.4	2.5	2.5	2.5	4.494
12	0.42	0.34	0.084	0.084	0.084	0.17	1.2	5.0	5.0	5.0	2.5	3.114
13	5.3	2.65	2.65	21.2	10.6	10.6	2.0	2.0	0.25	0.5	0.5	4.280
17	9.70	4.83	2.42	19.3	19.3	2.42	2.0	4.0	0.5	0.5	4.0	4.105
18	0.42	0.33	0.17	0.17	0.33	0.33	1.3	2.5	2.5	1.3	1.3	2.765
19	10.5	5.25	2.6	21	42	5.25	2.0	4.0	0.5	0.25	2.0	3.751
22	5.15	2.58	1.29	5.15	10.3	5.15	2.0	4.0	1.0	0.5	1.0	4.193
23	3.87	0.62	0.62	0.62	1.24	0.62	6.24	6.24	6.24	3.12	6.24	3.756
25	3.90	0.56	0.56	0.16	0.16	0.56	7.0	7.0	24.38	24.38	7.0	4.572
26	0.37	1.47	1.47	0.30	1.47	1.47	0.25	0.25	1.23	0.25	0.25	3.905
28	9.70	4.83	2.42	2.42	0.6	0.6	2.0	4.0	4.0	16.17	16.17	4.043
29	9.1	9.1	4.55	2.28	0.57	0.57	1.0	2.0	4.0	16.0	16.0	3.556
Metotreksat (MTX)	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.940

*: Bileşiklerin Spesifikliği: Her bileşik için; normal hücre IC₅₀ değerinin (HEK 293), kanser hücresi IC₅₀ değerine oranı.

** : ChemBioDraw Ultra 11.0.1 yazılım indikasyonlarına göre n-oktanol ve su arasındaki partiyon katsayısının logaritması.

5. TARTIŞMA

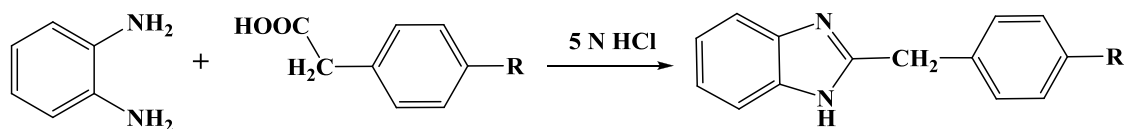
Bu çalışmada, 2 ve 5(6) konumlarında mono veya disüstitüe benzimidazol türevi bileşikler tasarlanmıştır. Sentezlenen bileşiklerin, benzimidazol yapısının 2 numaralı konumunda, bir veya iki karbon zincirli alkil veya tek karbonlu alkiloksi köprülü süstitüe fenil halkasına bağlı bileşikler elde edilmiştir. Bu benzimidazol türevi bileşiklerin fenil halkasının 4 numaralı konumunda klor, hidroksil veya metil süstitüenti bulunmaktadır. Benzimidazol halkasının 5(6) numaralı konumunda ise nonsüstitüe veya klor süstitüenti taşıyan türevler sentezlenmiştir. Yapılan antiproliferatif aktivite çalışmaları ile de benzimidazol ana yapısında gerçekleştirilen bu süstitüsyonların, yapı aktivitedeki rolü belirlenmiştir. Bileşiklerin sentezleri aşağıda verilen Phillips genel sentez yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.1.) [31].



Bileşik No	R ₁	n	A	R
5	H	1	-	Cl
6	H	1	-	OH
7	H	1	-	CH ₃
11	H	2	-	Cl
12	H	2	-	OH
13	H	2	-	CH ₃
17	H	1	O	Cl
18	H	1	O	OH
19	H	1	O	CH ₃
22	Cl	1	-	H
23	Cl	1	-	OH
25	Cl	2	-	H
26	Cl	2	-	OH
28	Cl	1	O	H
29	Cl	1	O	OH

- : Nonsüstitüe

Şekil 5.1. Phillips genel sentez yöntemi ile sentezlenen 2-alkil/alkiloksi süstitüe benzimidazol türevi bileşikler.



1

2 2-(4-Klorofenil)asetik asit

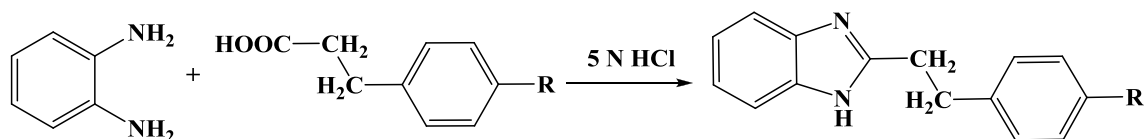
5 R: Cl

3 2-(4-Hidroksifenil)asetik asit

6 R:OH

4 2-*p*-Tolilasetik asit

7 R: CH₃



1

8 3-(4-Klorofenil)propanoik asit

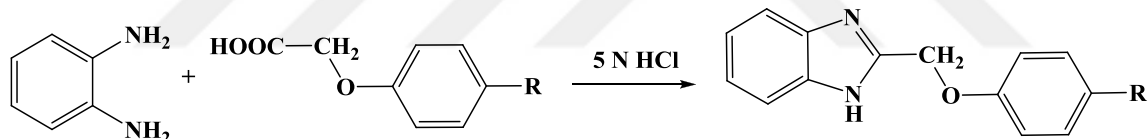
11 R: Cl

9 3-(4-Hidroksifenil)propanoik asit

12 R:OH

10 3-*p*-Tolilpropanoik asit

13 R: CH₃



1

14 2-(4-Klorofenoksi)asetik asit

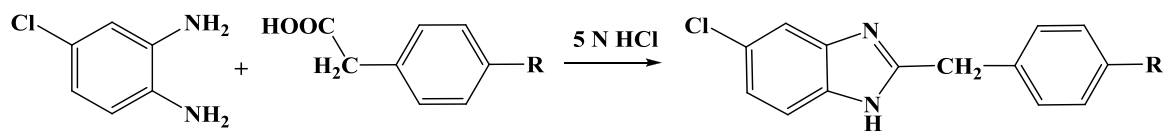
17 R: Cl

15 2-(4-Hidroksifenoksi)asetik asit

18 R:OH

16 2-(*p*-Toliloksi)asetik asit

19 R: CH₃



20

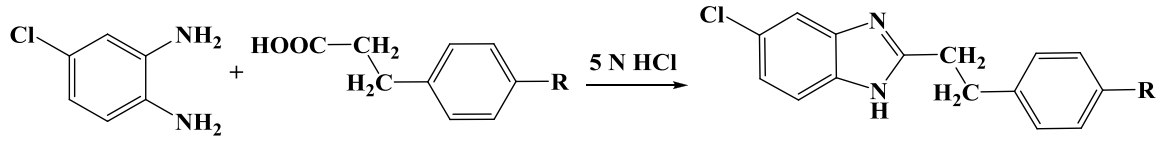
21 2-Fenilasetik asit

22 R: H

2 2-(4-Hidroksifenil)asetik asit

23 R: OH

Şekil 5.2. Bileşiklerin Phillips genel sentez yöntemine göre sentezi.



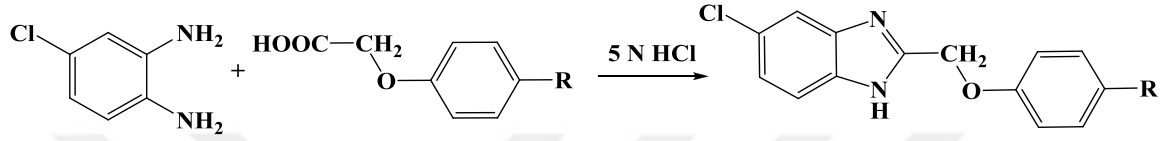
20

24 3-Fenilpropanoik asit

25 R: H

9 3-(4-Hidroksifenil)propanoik asit

26 R: OH



20

27 2-Fenoksiasetik asit

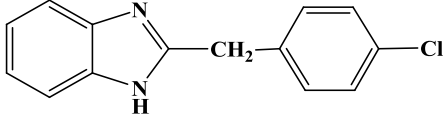
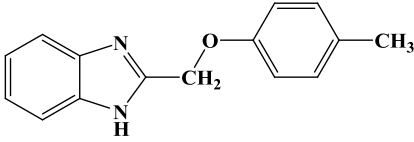
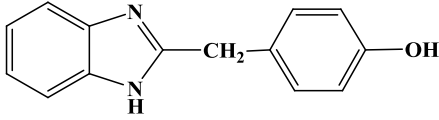
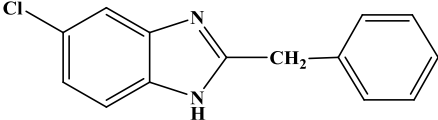
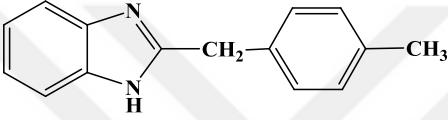
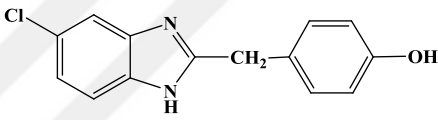
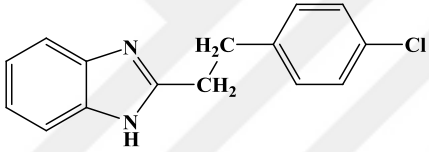
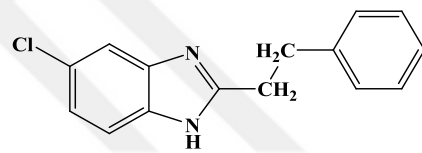
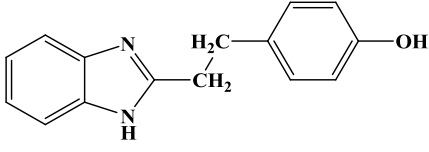
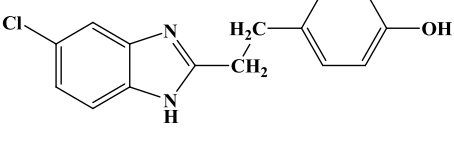
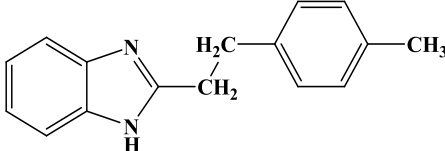
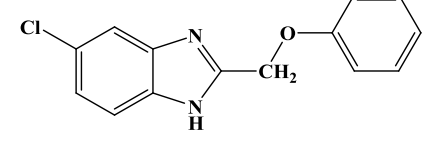
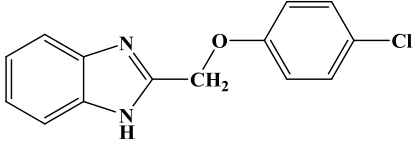
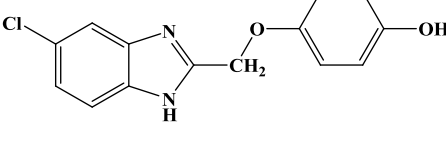
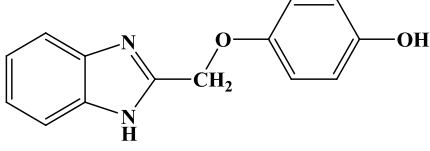
28 R: H

15 2-(4-Hidroksifenoksi)asetik asit

29 R: OH

Şekil 5.2. Bileşiklerin Phillips genel sentez yöntemine göre sentezi (Devamı).

Tablo 5.1. Sentezlenen 2-alkil/alkiloksi sübtitüe benzimidazol türevi bileşiklerin yapısı

Bileşik No	Bileşik Formülü	Bileşik No	Bileşik Formülü
5		19	
6		22	
7		23	
11		25	
12		26	
13		28	
17		29	
18			

Bileşikler ticari olarak satın alınan 1,2-fenilendiamin (**1**) ve 4-Kloro-*o*-fenilendiamin (**20**) ile uygun fenil karboksilik asit türevlerinden (**2, 3, 4, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 21, 24** ve **27**) hareketle elde edilmiştir (Şekil 5.2.). Bu bileşiklerin sentez çalışmaları Phillips yöntemi olarak bilinen genel sentez yöntemi ile gerçekleştirilmiştir [31]. Yapılan çalışmalarda sentezlenen bileşiklerle ilgili veriler literatür verileri ile karşılaştırılarak bileşiklerin yapıları belirlenmiştir.

Sentezlenen bileşikler % 31 ile 69 arasında değişen verimlerle elde edilmiştir. Genel olarak ise bileşikler % 50'nin üzerinde verimle sentezlenmiştir.

Bileşiklerin erime noktalarının 170 ile 260 °C aralığında değiştiği belirlenmiştir. Genel olarak bileşiklerin erime noktalarının yüksek olduğu tespit edilmiştir.

18, 26 ve **29** numaralı bileşikler ilk kez bu çalışma kapsamında sentezlenmiş olup yapılarının aydınlatılmasında FT-IR, ¹H-NMR spektrumları ve erime dereceleri verileri yanı sıra LC-MS/MS verilerinden yararlanılmıştır.

Bileşiklerin IR spektrumları FT-IR spektrofotometresi yardımıyla toz veya kristal örneklerden alınmıştır. Bileşiklere ait spektrumlarda 3500-2300 cm⁻¹ bölgesinde kuvvetli, yayvan multipllet absorpsiyon bantları görülmektedir. Bu bölgede bileşiklerin ara zincirde yer alan gruplar ile aromatik =C-H gerilim bantları ve alifatik C-H gerilim bantları yer almaktadır. Bu bantların yerlerini her zaman tam olarak belirlemek zordur [120]. Ancak aromatik halkalara ait =C-H gerilim bantları 3162-3000 cm⁻¹ bölgesinde değişen aralıklarda gözlenirken, aromatik halkalar üzerinde veya ara zincirde metil veya metilen grupları taşıyan bileşiklerdeki alifatik C-H gerilim bantları 2992-2705 cm⁻¹ bölgesinde görülmektedir. Bileşiklerin IR spektrumlarında incelenen ikinci bölge; 1700-1300 bölgesidir. Bu bölgede özellikle bileşiklerin C=N gerilim bandı (1472-1401 cm⁻¹), C=C gerilim bandı (1463-1405 cm⁻¹) ve C-O gerilim bandı (1210-1170 cm⁻¹) görülmektedir.

Elde edilen bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları CD₃OD, CDCl₃ veya (CD₃)₂SO içinde alınmıştır. Benzimidazol halkasındaki benzen halkalarına ait aromatik C-H protonu spektrumları ve fenil halkasının aromatik C-H protonu spektrumları δ 6.54 ile 7.91 ppm arasında genellikle dublet veya quartet halinde görülmektedir. Yine benzimidazol halkasının 2 numaralı konumunda metilen köprülerine ait alifatik C-H protonu spektrumu δ 4.09 ile 4.28 ppm değerleri arasında singlet halinde gözlenirken, etilen köprüsüne ait alifatik C-H protonu spektrumu δ 2.21 ile 3.48 ppm değerleri arasında triplet halinde gözlenmektedir. Yine bir ara zincir olan metiloksi köprüsüne ait alifatik C-H protonu spektrumu δ 2.52 ile 5.49 ppm değerleri arasında singlet halinde tespit edilmiştir. 2 numaralı konumuna bir ara zincirle bağlı fenil halkası üzerinde bulunan metil gruplarına ait C-H protonu spektrumları ise δ 2.21 ile 2.30 ppm aralığında singlet halinde görülmektedir. Benzimidazol halkasındaki N-H protonu spektrumu ise nadir gözlenmekle beraber δ 9.70 ile 12.31 ppm değerleri arasında gözlenmiştir.

Elde edilen bileşiklerin bazılarının $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda CD_3OD içerisindeki suya ait proton piki δ 4.36- 4.90 ppm değerleri arasında tespit edilmiştir. Ayrıca tüm çözücülere ait pikler literatür verileriyle uyumluluk göstermektedir [121].

LC-MS/MS verileri, Elektron Sprey İyonlaştırma (ESI) yöntemi ile pozitif iyonlaştırma uygulanarak elde edilmiştir. Az sayıda fragman oluşumu meydana gelmiştir. İyonizasyona uğrayan bileşiklerin $[\text{M}+1]^+$ iyonunun, kütle/yük oranı (m/z) değeri verilmiştir. Tüm sonuçların, teorik değerlerle uyumluluk gösterdiği belirlenmiştir.

Bileşiklerin yapıları aydınlatıldıktan sonra antiproliferatif etkileri MTT yöntemi ile araştırılmıştır [101, 102]. Sentezlenen bileşiklerin antiproliferatif etkileri değerlendirildiğinde özellikle tüm kanser hücre hatları üzerinde 0.084 ile 0.34 μM arasında değişen IC_{50} değeri ile **12** numaralı bileşiğin en güçlü antiproliferatif aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu bileşiğin sağlıklı hücre hattı üzerine IC_{50} değeri ise 0.42 μM 'dır. Bu bileşikten daha düşük olmakla birlikte tüm kanser hücre hatlarına karşı güçlü antiproliferatif aktiviteye sahip diğer bileşikler ise 0.16 ile 0.62 μM arasında değişen IC_{50} değerlerine sahip olan **18**, **23** ve **25** numaralı bileşikleridir. Bu bileşiklerin sağlıklı hücre hattı üzerine olan IC_{50} değerleri ise 0.42 ile 3.90 μM arasında değişmektedir (Tablo 4.1.).

Aktivite çalışmalarının yürütüldüğü beş farklı kanser hücresinden biri olan A549 hücre hattına karşı etkili olan en aktif bileşikler, **11**, **12** ve **18** nolu bileşiklerdir. Bu bileşiklerin IC_{50} değerleri sırasıyla 0.31, 0.34 ve 0.33 μM 'dır. Bu bileşiklerin yapı aktivite ilişkileri incelendiğinde iki karbonlu alkil zincirli yapıların veya iki karbon zincir uzunluğuna yakın mesafeye sahip metoksi köprüsü taşıyan bileşiklerin antiproliferatif aktivitede önemli rol oynadığı saptanmıştır. Ayrıca klor ve hidroksil fonksiyonel gruplarının aktiviteyi artırdığı gözlenmiş olup özellikle hidroksil grubunun aktivitenin artışında önemli rol oynadığı belirlenmiştir.

A498 kanser hücre hattına karşı antiproliferatif aktivite gösteren bileşiklerin **12** ve **18** numaralı bileşikler olduğu belirlenmiştir. IC_{50} değerleri sırasıyla 0.084 ve 0.17 μM 'dır. Bu bileşiklerin benzimidazol ana yapısı ile süstitüe fenil gruplarının, iki karbonlu alkil ara zinciriyle veya metoksi ara zinciri ile birbirlerine bağlı olduğu ve ana yapıların birbirine benzer uzaklıkta oldukları tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin diğer bir ortak özelliği ise fenil halkasının 4. konumunda hidroksil süstitüenti taşımalarıdır. Bu veri ile hidroksil fonksiyonel grubunun aktivitede önemli olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Aktivite çalışmaları sonucunda **12**, **18** ve **25** numaralı bileşiklerin, HeLa kanser hücre hattına karşı en etkili bileşikler oldukları belirlenmiştir. Bu bileşiklerin IC_{50} değerleri sırasıyla 0.084, 0.17 ve 0.16 μM 'dır. Bu bileşiklerin yapıları incelendiğinde; 4-hidroksifenil süstitüenti taşıyan ve iki karbon uzunluğunda alkil veya alkiloksi ara zinciri taşıdıkları belirlenmiştir.

A375 kanser hücre hattına karşı etkili olan bileşikler incelendiğinde, IC_{50} değerleri sırasıyla 0.084 ve 0.16 μM olan **12** ve **25** nolu bileşiklerin aktiviteleri dikkat çekicidir. Oldukça

aktif olan bu bileşiklerin yapı aktivite ilişkileri incelendiğinde iki karbon ara zincirli köprüye sahip olan bileşiklerin serideki diğer bileşiklere göre daha aktif olduğu belirlenmiştir.

Bileşik **12** ve **18**'in HepG2 kanser hücre hattına karşı en etkili bileşikler oldukları ve IC₅₀ değerinin sırasıyla 0.17 ve 0.33 µM olduğu belirlenmiştir. Bileşiklerin HepG2 kanser hücre hattına karşı yapı aktivite ilişkisi incelendiğinde, her iki bileşimde fenil halkasının 4. konumunda hidroksil fonksiyonel grubunun yer aldığı iki karbonlu alkil ara zinciri veya metoksi ara zinciri taşıdığı görülmüştür.

Genel olarak elde edilen tüm aktivite sonuçları, antiproliferatif aktivitede 2-alkil/alkiloksi sübstitüe benzimidazol türevi bileşiklerden, tek karbon zincirli yapıların aktivitede rolünün olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Tek karbon ara zincirli bileşikler arasında sadece **23** numaralı 4-hidroksifenil grubu taşıyan bileşiğin 0.62 µM IC₅₀ değeri ile A549, A498, HeLa ve HepG2 kanser hücre hatlarına karşı iyi antiproliferatif aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar da, hidroksil grubunun aktivitede gerekli olduğu sonucuna ulaşılmasını sağlamıştır.

İki karbon ara zincirli yapılar incelendiğinde ise sentezlenen toplam beş bileşikten (**11**, **12**, **13**, **25** ve **26**) dördünün güçlü antiproliferatif aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar iki karbon ara zincir yapısının aktivitede oldukça potent olduğunu göstermiştir. Yine bu iki karbon ara zincirli bileşikler kendi aralarında değerlendirildiğinde 4-hidroksifenil grubu taşıyan bileşiklerin bu seri içerisindeki en aktif bileşikler olduğu belirlenmiştir.

Tek karbonlu alkiloksi ara zincirli yapıların aktiviteleri incelendiğinde ise, 4-hidroksi fenil grubu taşıyan bileşiklerin bu serideki diğer bileşiklere göre daha aktif oldukları belirlenmiştir.

Sonuç olarak sentezlenen bileşiklerin yapı aktivite ilişkileri incelendiğinde, iki karbonlu alkil ara zinciri ve 4-hidroksifenil grubu taşıyan türevlerin, serideki tüm bileşiklerden daha aktif olduğu tespit edilmiştir.

Bileşiklerin spesifiklik özelliklerini belirlemek amacıyla bileşiklerin toksik olmayan konsantrasyonları, normal (sağlıklı) hücreye (HEK 293) karşı test edilmiştir. Bileşiklerin spesifiklik değerleri, normal hücrelerin IC₅₀ değerlerinin, kanserli hücreye ait IC₅₀ değerlerine olan oranı ile bulunmuştur. Bileşiklerin sahip olduğu bu spesifiklik değerleri, normal hücreler için toksik olup olmadıklarını yani sağlıklı hücrelere zarar verip vermediklerini değerlendirmede son derece önemlidir [122].

A549 kanser hücre hattında en spesifik bileşikler, 12.6, 6.24 ve 7.0 spesifiklik değerleriyle sırasıyla Bileşik **11**, **23** ve **25**'dir. A498 kanser hücre hattında en spesifik bileşikler, 8.06, 6.24 ve 7.0 spesifiklik değerleriyle sırasıyla Bileşik **6**, **23** ve **25**'dir. HeLa kanser hücre hattında en spesifik bileşikler, 5.0, 6.24 ve 24.38 spesifiklik değerleriyle sırasıyla Bileşik **12**, **23** ve **25**'dir. A375 kanser hücre hattında en spesifik bileşikler, 24.38, 16.17 ve 16.0 spesifiklik

değerleriyle sırasıyla Bileşik **25**, **28** ve **29**'dur. HepG2 kanser hücre hattında en spesifik bileşikler, 9.0, 7.0, 16.17 ve 16.0 spesifiklik değerleriyle sırasıyla Bileşik **6**, **25**, **28** ve **29**'dur (Tablo 4.1.).

Bileşiklerin spesifiklik değerleri karşılaştırıldığında, tüm bileşiklerin özellikle A498, HeLa ve HepG2 kanser hücre hatlarına karşı daha spesifik olduğu tespit edilmiştir. Bileşikler içerisinde spesifikliği en yüksek olanlar; **Bileşik 23**, **25** ve **28**'dir (Tablo 4.1.).

Sentezlenen bileşikler içerisinde Bileşik **12**, **18**, **23**, **25** ve **26** nolu bileşiklerin en güçlü antiproliferatif aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Bunlar arasında en spesifik bileşiğin **Bileşik 25** olduğu görülmüştür. Bu bileşiğin beş farklı kanser hücresine karşı spesifiklik değerleri 7.0 ile 24.38 arasında değişmektedir.

En spesifik bileşik olan **Bileşik 25**'in benzimidazol halkasının 5(6)-konumunda klor sübstitüenti, fenil halkasının ise non-sübstitüe olduğu görülmektedir. Antiproliferatif etkiye önemli katkısı olan fenil halkasının para konumunda hidroksil fonksiyonel grubunu içermemesi oldukça dikkat çekicidir.

Bileşiklerin spesifiklik değerleri incelendiğinde, benzimidazol halkasının 5(6)-konumunda klor sübstitüenti taşıyan bileşiklerin iyi spesifiklik değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Benzimidazol ve fenil halkalarını birbirine bağlayan 3 farklı ara zincirde spesifiklik değerlerinden önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Fenil halkasının para konumunda hidroksil fonksiyonel grubu taşıyan veya fenil halkasının nonsübstitüe olan türevlerinde spesifikliğin yüksek olduğu görülmektedir.

Çalışmada referans bileşik olarak Metotreksat kullanılmıştır. Referans bileşiğin tüm hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktivitesinin 0.022 μM olduğu tespit edilmiştir. Spesiklik değeri ise 1.0 olup spesifikliği son derece düşüktür. Sentezlenen bileşikler bu referans bileşik ile karşılaştırıldığında, referans bileşiğin aktivite değerine en yakın bileşiğin 0.084 μM IC_{50} değeri ile **Bileşik 12** olduğu belirlenmiştir. Ayrıca **Bileşik 12**'nin Metotreksat'a göre daha spesifik olduğu görülmüştür.

İlaç etken maddelerinin etki yöreleri ile etkileşmelerinde partiyon katsayısı önemli bir faktördür. Sentezlenen 2-alkil/alkiloksi sübstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin hesaplanan partiyon katsayıları (P) değerlerinin logaritması ($\text{cLog } P$) belirlenmiştir. Bu değerler genellikle antikanser aktivitede rol oynadığı literatürlerde kayıtlı bilgilerdendir [122]. Metotreksat referans bileşiğinin $\text{cLog } P$ (*ChemBioDraw Ultra* 11.0.1 yazılım indikasyonlarına göre n-oktanol ve su arasındaki partiyon katsayısının logaritması) değeri 0.94 olarak hesaplanmıştır. Sentezlenen 2-alkil/alkiloksi sübstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin $\text{cLog } P$ değerleri ise 2.765 ile 4.572 değerleri arasında değişmektedir. Serideki güçlü aktivite gösteren yapıların (**12**, **18**, **23**, **25**, **28** ve **29**) $\text{cLog } P$ değerleri sırasıyla 3.114, 2.765, 3.756, 4.572, 4.043 ve 3.556 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler arasında bir istatistiksel bir anlamlılığın olmadığı görülmektedir.

Lipinski kurallarına göre; bir bileşiğin, oral olarak sistemik dolaşıma alınabilmesi için gereken fizikokimyasal parametreleri (absorpsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon) kantitatif olarak sağlaması gerekmektedir. Bu şartlar, çok sayıda ilaç etken maddesi kullanılarak formüle edilmiştir [123]. Yapılan çalışmalar Lipinski kurallarına uyan küçük yapıli molekülerin daha iyi ilaç adayı olabilme potansiyellerinin olduğunu göstermiştir. Bu fizikokimyasal parametreler genel olarak oral yolla kullanılabilir bir molekülde; beş ve beşten fazla sayıda hidrojen bağı yapan donör atom (oksijen, kükürt ve azot atomlarına bağıli hidrojen atomu içeren atom) ve on taneden fazla hidrojen bağı kabul eden akseptör atomu (oksijen, kükürt ve azot içeren atom) olmaması, molekül ağırlığı 500 g/mol'ün altında ve lipofilite katsayısı ($cLog P$)'nın da 5'in altında olması gerektiğı tespit edilmiştir. Ayrıca bu kurallardan, bir taneden fazla ihlal yapılmaması gerektiğı bildirilmiştir. Yeni ilaç geliştirilmesinde, molekülde aktivite ve selektivitenin artırılabilmesi için yapılan değişikliklerin, bu kurallar çerçevesinde düzenlenmesi gerektiğı de bildirilmiştir [124].

Bu kurallar çerçevesinde sentezlenen 2-alkil/alkiloksi köprülü süstitübenzimidazol türevi bileşikler incelendiğinde, Lipinski kurallarının çoğı ile uyumluluk gösterdiği belirlenmiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Phillips sentez yöntemi ile sentezlenen 15 adet 2-alkil/alkiloksi sübstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin MTT yöntemi ile antiproliferatif aktiviteleri araştırılmıştır. Bu çalışma, aşağıdaki aşamalarla gerçekleştirilmiştir:

1. Phillips sentez yöntemi kullanılarak farklı sübstituent taşıyan benzimidazol türevi bileşiklerin sentez çalışmalarının yapılması,
2. Sentezlenen benzimidazol türevi bileşiklerin antiproliferatif etkiye sahip olup olmadıklarının belirlenmesi,
3. Benzimidazol ve fenil halkalarının ara zincir yapıları ve uzunlukları ile fenil halkası üzerindeki sübstitüentlerin ve benzimidazol halkasındaki sübstitüentlerin aktivite üzerindeki rolünün araştırılması,
4. Antiproliferatif aktivite ile sentezlenen benzimidazol türevi bileşiklerin yapıları arasındaki yapı-aktivite ilişkilerinin belirlenmesi,
5. Benzimidazol türevi bileşiklerin spesifikliklerinin belirlenmesi,
6. Benzimidazol türevi bileşiklerin antiproliferatif aktivite sonuçlarının referans bileşik olarak kullanılan Metotreksat bileşiğinin antiproliferatif aktivite sonuçları ile karşılaştırılması,
7. Benzimidazol türevi bileşiklerin spesifiklik değerlerinin referans bileşik olarak kullanılan Metotreksat bileşiğinin spesifiklik değeri ile karşılaştırılması.

Çalışma kapsamında, benzimidazol türevi bileşikler konvansiyonel ısıtma sentez yöntemi ile sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin reaksiyon şartları ve elde edilen verimleri Bulgular bölümünde verilmiştir.

Antiproliferatif aktivite çalışmaları incelendiğinde, tüm seri içerisindeki bileşiklerden **12** numaralı bileşiğin 0.084 ile 0.34 μM arasında değişen IC_{50} değerleri ile en güçlü aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Seri içerisindeki en spesifik benzimidazol türevi bileşiğin, Bileşik **25** olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiğin beş farklı kanser hücresine karşı spesifiklik değerleri 7.0 ile 24.38 arasında değişmektedir.

Serideki tüm benzimidazol türevi bileşiklerin, referans bileşik olarak kullanılan Metotreksat bileşiğinden daha spesifik olduğu belirlenmiştir.

Tez çalışması kapsamında güçlü antiproliferatif aktiviteye sahip oldukları belirlenen 4. konumdaki hidroksil sübstitüenti taşıyan ve iki karbon ara zincirine sahip benzimidazol türevi Bileşik **12**'nin ve 4. konumdaki hidroksil sübstitüentli bir alkiloksi türevi olan metoksi ara zincirine sahip benzimidazol türevi Bileşik **18**'in ileri çalışmalarla aktivitelerinin incelenmesinin

gerekli olduğu düşünülmektedir. Çalışmalarımız aktif oldukları belirlenen bileşiklerin xCELLigence yöntemi, ardından Flow sitometrik analiz ile bileşiklerin hücre siklusunun hangi evresinde etkili olduğunun araştırması, kaspaz-3 ve *hTERT* geni ekspresyonu yoluyla telomeraz aktivitesi *Bcl-2*, *Bcl-XL*, *NF-κB* ve *p-53 mRNA* ekspresyon seviyelerinin RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi ve akridin oranj boyama ile bileşiklerin apoptotik etkilerini araştırma çalışmaları sürdürülmektedir.

Elde edilen sonuçlara bağlı olarak bileşiklerin *in vivo* ortamda daha ileri çalışmalarla aktivitelerinin incelenmesi planlanmaktadır.



KAYNAKLAR

- [1]. Türkiye Büyük Millet Meclisi Tutanak Dergisi, <https://www.tbmm.gov.tr/tutanaklar/TUTANAK/TBMM/d23/c092/tbmm23092061.pdf> (8 Nisan 2017).
- [2]. Reddy BSP., Sondhi SM., Lown JW., Synthetic DNA minor Groove-binding drugs., *Pharmacol. Ther.*, **1999**, *84*: 1-111.
- [3]. Neidle S., DNA minor-groove recognition by small molecules., *Nat. Prod. Rep.*, **2001**, *18*: 291-309.
- [4]. Kim JS., Gatto B., Yu C., Liu A., LaVoie EJ., Substituted 2,5'-Bi-1H-benzimidazoles: Topoisomerase I Inhibition and Cytotoxicity. *J. Med. Chem.*, **1996**, *39*: 992-998.
- [5]. Clark GR., Boykin DW., Czarny A., Neidle S., Structure of a Bis-Amidinium Derivative of Hoechst 33258 Complexed to Dodecanucleotide D(CGCGAATTCGCG) : The Role of Hydrogen Bonding in Minor Groove Drug-DNA Recognition. *Nucleic Acids Res.*, **1997**, *25*: 1510-1515.
- [6]. Jin S., Kim JS., Sim SP., Liu A., Pilch DS., Liu LF., LaVoie EJ., Heterocyclic bibenzimidazole derivatives as topoisomerase I inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2000**, *10*: 719-723.
- [7]. Alper S., Temiz O., Sener E., Yalcin I., Some new bi-and ter-benzimidazole derivatives as topoisomerase I inhibitors. *Farmaco*, **2003**, *58*: 497-507.
- [8]. Yang, Y.H., Wang, Q.H., Nie H., Cheng, M.S., Chen, H., Desing synthesis and anti-tumor evaluation of novel symmetrical bis-benzimidazoles, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2009**, *44*: , 1808-1812.
- [9]. Yang, Y.H., Wang, Q.H., Nie H., Chen, H., Cheng, M.S., Synthesis, Biological Evaluation and Modelling of Dimeric PPI Analogues as Novel DNA Minor Groove Binders, *Molecules*, **2008**, *13*:5, 1179-1188.
- [10]. Wang XJ., Wang QH., Liu C., Wang J., Yang N., Cheng MS., A New Series of Bis benzimidazole Derivatives: Synthesis, Antitumor Activity and Low Toxicity on PBMC. *Heterocycles*, **2012**, *85*(9), 2231-2240.
- [11]. Seaton A, Higgins C, Mann J, Baron A, Bailly C, Neidle S, Van den Berg H, Mechanistic and anti-proliferative studies of two novel, biologically active bisbenzimidazoles. *Eur. J. Cancer*, **2003**, *39*: 2548-2555.
- [12]. Duran N, Algül Ö, Duran GG, Eryılmaz N, *Yeni benzimidazol türevi bileşiklerin insan HepG2 ve A498 hücreleri üzerinde apoptotik ve antiproliferatif etkisi*. I.Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, 12-16 Kasım 2011, Türkiye.
- [13]. Canacankatan N, Algül Ö, Rencüzoğulları E, Görür A, Karabulut A., *The Effects of Some 2-Substituted Benzimidazole Compounds on Apoptosis in Leukemic Cells*. 20th National Biochemistry Congress, Cappadocia- Nevşehir, 29th October-1 November 2008, Turkey, P-070.
- [14]. Algül Ö, Canacankatan N, Sucu N, Görür A, Karabulut A, Vezir Ö, *Kronik Induction of Apoptosis in Chronic Hindlimb Ischemia by 2-Substituted Benzimidazole Compounds*. 21th National Biochemistry Congress, Istanbul, , 28-31 October 2009, Turkey, TB-80.
- [15]. Algul O., Karabulut A., Canacankatan N., Gorur A., Sucu N., Vezir O., Apoptotic and AntiAngiogenic Effects of Benzimidazole Compounds: Relationship with Oxidative Stres Mediated Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Hind Limb. *Anti-Infl & Anti-Allergy Agents Med. Chem.*, **2012**, *11*, 267-275.
- [16]. Görür A, Canacankatan N, Gül E. O, Algül Ö, Erdoğan S, Doran F, Mechanisms of Apoptosis In Hepatocellular Carcinoma and The Effects of some Benzimidazole Derivatives on Hepatocellular Carcinoma. 22th National Biochemistry Congress, P-014, 27-30 October, Eskişehir, Turkey, (2010).
- [17]. Mallena, S., Lee, M.P.H., Bailly, C., Neidle, S., Kumar, A., Boykin, D.W., Wilson, W.D., Thiophene-Based Diamidine Forms a "Super" AT Binding Minor Groove Agent, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*: 13659-13669.
- [18]. Hoffmann K., Imidazole and its derivatives. Interscience Publishers, INC, New York, **1953**.

- [19]. Demirayak, Ş. Biyolojik Aktifliği Olan Bazı Benzimidazol Türevlerinin Sentezi, Fiziksel Sabitlerinin Saptanması ve Değerlendirilmesi (Doktora Tezi). Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eskişehir, **1985**.
- [20]. Konak H. Y., 2,4-Dihidroksipirido[1,2-A]Benzimidazolün Sentezlenmesi ve Yapısının Aydınlatılması (Yüksek Lisans Tezi). Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur, **2013**.
- [21]. Wright JB., The chemistry of the benzimidazoles. *Chem. Rev.*, **1951**, *48*: 397-541.
- [22]. Rogers KS, Clayton CC., Effects of pH on benzimidazole fluorescence. *Anal. Biochem*, **1972**, *48*: 199-201.
- [23]. Day, A. R., *Electronic Mechanisms of Organic Reactions*. American Book Company, New York. **1950**, 242-243.
- [24]. Green H, Day A. R., The tautomeric Character of the imidazol ring. *J. Am. Chem. Soc.*, **1942**, *64*: 1167-1173.
- [25]. Howell J. R, Rasmussen M., Heterocyclic ambident nucleophiles; Alkylation of benzimidazoles. *Aust. J. Chem.*, **1993**, *46*: 1177-1191.
- [26]. Lee In-S H, Jeoung EH., Synthesis and tautomerism of 2-aryl-and 2-heteroaryl derivatives of benzimidazole. *J. Heterocyclic Chem.*, **1996**, *33*: 1711-1716.
- [27]. Iemura R, Hori M., Othaka H., Synthesis of the metabolites of 1-(2-ethoxyethyl)-2-(hexahydro-4-methyl-1H-1,4-diazepin-yl)-1H-benzimidazole difumarate (KG-2413) and related compounds. *Chem. Pharm. Bull.*, **1989**, *37* (4): 962-966.
- [28]. Goker H, Kus C., Abbasoglu U., Synthesis of 1,2,5(6)-trisubstituted benzimidazoles and evaluation of their antimicrobial activities. *Arciv Der Pharmazie*, **1995**, *328* (5): 425-430.
- [29]. Smith L, Haris S., Studies on the polymethylbenzenes. *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**, *57*: 1289-1292.
- [30]. Smith L, Haris S., The Jacobsen reaction. *J. Am. Chem. Soc.*, **1936**, *58*: 1-10.
- [31]. Phillips MA., The formation of 2-methylbenzimidazoles. *J. Chem. Soc.*, **1928**, *64*: 172-177.
- [32]. Noyanlalpan N, Işıkdag İ., 2-süstitüe-benzimidazol türevlerinin sentezleri, yapı aydınlatmaları ve yapı etki ilişkileri üzerinde çalışmalar. *Doğa Bilim Dergisi, C*, **1985**, *9*(2): 183-193.
- [33]. Noyanlalpan N, Işıkdag İ., 2-süstitüe-benzimidazol türevlerinin sentezlerinde değişik reaksiyon ajanlarının denemesi ve bulguların karşılaştırılması, *J. Fac. Pharm. Gazi, C*, **1984**, *1* (2): 61-68.
- [34]. Hölljes EL., Wagner E., Some reactions of nitriles as acid anammonides. *J. Org. Chem.*, **1944**, *9*: 31-49.
- [35]. Wagner EC., Some reactions of amidines as ammono carboxylic acids or esters. *J. Org. Chem.*, **1944**, *5*: 133-141.
- [36]. Bachman GB., Heisey L., Monomers and polymers: The preparation of vinyl derivatives of five-atom heterocyclic rings. *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, *71*: 1985-1988.
- [37]. Kröhnke F., Leister H., Heterocyclen aus aroylcyanid-anilen. *Chem. Ber.*, **1958**, *91*: 1479-1488.
- [38]. Grenda VJ., Jones R., Gal G., Sletzinger M., Novel preparation of benzimidazoles from N-arylamidines. *J. Org. Chem.*, **1965**, *30* (1): 259-261.
- [39]. King FE., Achenson RM., The synthesis of benzimidazoles from ortho-phenyldiamines and ethers. *J. Chem. Soc.*, **1949**, 1396-1400.
- [40]. Czarny A., Wilson WD., Boykin DW., Synthesis of mono-cationic and dicationic analogs of Hoechst 33258. *J. Heterocyclic Chem.*, **1996**, *33*: 1393-1397.
- [41]. Hunger A., Kebrle J., Rossi A., Hoffman K., Benzimidazole-derivatives und verwandte heterocyclen synthese von 1-aminoalkyl, 2-benzylbenzimidazolen. *Helv. Chim. Acta*, **1960**, *43*: 800.
- [42]. Elderfield RC., Kreysa FJ., The reaction of o-phenylenediamine and of 8-amino-1,2,3,4-tetrahydroquinoline derivatives with carbonyl compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, **1948**, *70*: 44-48.
- [43]. Elderfield RC., Mc Carthy JR., The reaction of o-phenylenediamine with carbonyl compounds, aliphatic ketones. *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, *73*: 975-984.
- [44]. Stephens FF., Bower JD., The preparation of benzimidazoles and benzoxazoles from Schiff bases. *J. Chem. Soc.*, **1949**, *27*: 2971-2972.

- [45]. Thomas PR., Tyler GJ., Some new benzimidazole derivatives. *J. Chem. Soc.*, **1957**, 27: 2197-2202.
- [46]. Sun Q., Gato B., Yu C., Liu LF., Lavoie EJ., Synthesis and evaluation of terbenzimidazoles as topoisomerase I inhibitors. *J. Med. Chem.*, **1995**, 38: 3638-3644.
- [47]. Kim JS., Yu C., Liu LF., Lavoie EJ., Terbenzimidazoles: influence of 2',4- and 5-substituent on cytotoxicity and relative potency as topoisomerase I poisons. *J. Med. Chem.*, **1965**, 40: 2818-2824.
- [48]. Ridley HF., Spickett RGW., Timmis GM., A new synthesis of benzimidazoles and aza-analogs. *J. Heterocyclic Chem.*, **1996**, 2 (4): 453-456.
- [49]. Ji Y. H., Bur D., Hasler W., Schmitt VR., Dorn A., Bailly C., Waring M., Hochstrasser R., Leupin W., Tris-benzimidazole derivatives: Design, synthesis and DNA sequence recognition. *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, 9: 2905-2919.
- [50]. Trivedi V., De SK., Gibbs A., A convenient one-pot synthesis of 2-substituted benzimidazoles. *J. Mol. Catal. A-Chem.*, **2006**, 245: 8-11.
- [51]. Deselms RC., 2-Heterocyclic substituted benzimidazoles. *J. Org. Chem.*, **1962**, 27: 2163.
- [52]. Stacy GW., Ettling BV., Papa AJ., Reaction of benzaldehyde with *o*-nitroaniline. *J. Org. Chem.*, **1964**, 26 (6): 1537-1540.
- [53]. Raeymaekers AHM., Van Gelder JLH., Roevens LFC., Janssen PAJ., Synthesis and anthelmintic activity of alkyl-(5-acyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)carbamates. *Arzneimittel-Forsch*, **1978**, 28 (1): 586-594.
- [54]. Ohemeng KA., Roth B., Receptor-based design of novel dihydrofolate reductase inhibitors: benzimidazole and indole derivatives. *J. Med. Chem.*, **1991**, 34: 1383-1394.
- [55]. Chup NK., Tsupak EB., Simonov AM., Benzimidazole derivatives. *Khim Geteroksikl*, **1970**, 10: 1393-1396.
- [56]. Lane ES. A modified benzimidazole synthesis. *J. Chem. Soc.*, **1953**, 2238-2240.
- [57]. Partridge MW., Turner HA., Cyclic amidines Part VII. Preparation of benzimidazoles from *N'*-aryl-*N*-hydroxyamidines. *J. Chem. Soc.*, **1958**, 2086-2092.
- [58]. Haruki E., Inaike T., Imoto E., Some reaction of *n*-haloamidines. *B. Chem. Soc. Japon*, **1968**, 41: 1361-1367.
- [59]. Cohen VI., A new method of synthesis of some 2-aryl and 2-heterocyclic benzimidazole, benzoxazole and benzothiazole derivatives. *J. Heterocyclic Chem.*, **1979**, 16 (1): 13-16.
- [60]. Abdelhamid AO., Parkanyi C., Rashid SMK., Lloyd WD., Synthesis of fused ring heterocycles from aromatic amines with hydroxymolybdenum chlorides. *J. Heterocyclic Chem.*, **1979**, 25 (2): 403-405.
- [61]. Nikham K., Raviz AF., Synthesis of 2-substituted benzimidazoles and bis-benzimidazoles by microwave in the presence of alumina-methanesulfonic acid. *J. Iran Chem. Soc.*, **2007**, 4(4): 438-443.
- [62]. Hasaninejad A., Niknam K., Zare A., Farsimadan E., Shekouhy M., Silphox [POCl_{3-n}(SiO₂)_n] as a New, Efficient, and Heterogeneous Reagent for the Synthesis of Benzimidazole Derivatives Under Microwave Irradiation. *Phosphorus Sulfur*, **2009**, 184(1); 147-155.
- [63]. Algul O., Kaessler A., Apcin Y., Yilmaz A., Jose J. Comparative studies on conventional and microwave synthesis of some benzimidazole, benzothiazole and indole derivatives and testing on inhibition of hyaluronidase. *Molecules*. **2008**, 13: 736-748.
- [64]. Hosamani KM, Seetharamareddy HR, Keri RS, Hanamanthagouda MS, Moloney MG. Microwave assisted, one-pot synthesis of 5-nitro-2-aryl substituted-1*H*-benzimidazole libraries: Screening *in vitro* for antimicrobial activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. **2009**, 24: 1095-1100.
- [65]. Keri RS, Hosamani KM, Seetharama HR, Reddy RS, Shingalapur RV. Wells-Dawson heteropolyacid: An efficient recyclable catalyst for the synthesis of benzimidazoles under microwave condition. *Catalyst Letter*. **2009**, 131: 552-559.
- [66]. Lombardy RL., Tanius FA., Synthesis and DNA interactions of benzimidazole dications which have activity against opportunistic infection. *J. Med. Chem.*, **1996**, 39: 1452.
- [67]. Santos, R., Pérez-Villanueva, J., Hernández-Campos, A., Giulianotti, M. A., Castillo, R., Medina-Franco, J. L., Structure-activity relationships of benzimidazole derivatives as antiparasitic agents: dual activity-difference (DAD) maps. *Med. Chem. Comm.*, **2011**, 2(1), 44-49.

- [68]. Cimarelli, C., Di Nicola, M., Diomedi, S., Giovannini, R., Hamprecht, D., Properzi, R., Marcantoni, E., An efficient one-pot two catalyst system in the construction of 2-substituted benzimidazoles: synthesis of benzimidazo [1, 2-c] quinazolines. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2015**, 13(48), 11687-11695.
- [69]. Andrzejewska, M., Yépez-Mulia, L., Cedillo-Rivera, R., Tapia, A., Vilpo, L., Vilpo, J., Kazimierczuk, Z., Synthesis, antiprotozoal and anticancer activity of substituted 2-trifluoromethyl-and 2-pentafluoroethylbenzimidazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2002**, 37(12), 973-978.
- [70]. Cottam, H.B., Kazimierczuk, Z., Geary, S., Mckernan, P.A., Revankar, G.R., Robins, R.K., Synthesis and Biological Activity of Certain 6-Substituted and 2,6-Disubstituted-2'-Deoxytubercidins Prepared via the Stereospecific Sodium Salt Glycosylation Procedure. *J. Med.Chem.*, **1985**, 28: 1461-1467.
- [71]. Beres, J., Bentrude, W.G., Kruppa, G., Mckernan, P.A, Robins, R.K. Synthesis and Antitumor and Antiviral Activities of a Series of 1-D-Ribofuranosyl-5- halocytosine (5-halocytidine) Cyclic 3',5'-Monophosphates. *J. Med. Chem.*, **1985**, 28: 418-422.
- [72]. Pedini, M., Alunni, B. G., Ricci, A., Bastianini, L., Lepri, E. New heterocyclic derivatives of benzimidazole with germicidal activity--XII--Synthesis of N1-glycosyl-2-furyl benzimidazoles. *Farmaco (Societa chimica italiana: 1989)*, **1994**, 49(12), 823-827.
- [73]. Refaat, H. M., Synthesis and anticancer activity of some novel 2-substituted benzimidazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2010**, 45(7): 2949-2956.
- [74]. Spagnuolo, P.A., Hu, J., Hurren, R., Wang, X., Gronda, M., Sukhai, M.A., Ashley, D.M., Boss, J., Ashali, I., Zavareh, R.B., Fine, N., Simpson, C.D., Sharmeen, S., Rottapel, R., Schimmer, A.D., The Antihelminthic Flubendazole Inhibits Microtubule Function Through A Mechanism Distinct From Vinca Alkaloids And Displays Preclinical Activity In Leukemia And Myeloma. *Blood*, **2010**, 115: 4824-4833.
- [75]. Vidya V. Menon, Egemen Foto, Y. Sheena Mary, Esin Karatas, C. Yohannan Panicker , Gozde Yalcin , Stevan Armakovi, Sanja J. Armakovi, C. Van Alsenoy, Ilkay Yildiz, *Journal of Molecular Structure*, **2017**, 1129, 86-97.
- [76]. Akhtar, M. J., Siddiqui, A. A., Khan, A. A., Ali, Z., Dewangan, R. P., Pasha, S., Yar, M. S., Design, synthesis, docking and QSAR study of substituted benzimidazole linked oxadiazole as cytotoxic agents, EGFR and erbB2 receptor inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2017**, 126, 853-869.
- [77]. Yoon, Y. K., Ali, M. A., Wei, A. C., Shirazi, A. N., Parang, K., Choon, T. S., Benzimidazoles as new scaffold of sirtuin inhibitors: Green synthesis, in vitro studies, molecular docking analysis and evaluation of their anti-cancer properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2014**, 83, 448-454.
- [78]. Azam, M., Khan, A. A., Al-Resayes, S. I., Islam, M. S., Saxena, A. K., Dwivedi, S., Kruszynski, R., Synthesis and characterization of 2-substituted benzimidazoles and their evaluation as anticancer agent. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **2015**, 142, 286-291.
- [79]. Wang, J., Wang, X., Li, H., Ji, D., Li, Y., Xu, Y., Zhu, Q., Design, synthesis and biological evaluation of novel 5-fluoro-1H-benzimidazole-4-carboxamide derivatives as potent PARP-1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2016**, 26(16), 4127-4132.
- [80]. Varshney, H., Ahmad, A., Rauf, A., Sherwani, A., Owais, M., Multistep synthesis of 1-[(5-alkenyl/hydroxyalkenylsubstituted)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]-methyl-2-methyl-1H-benzimidazole series and in vitro anticancer screening, SAR studies. *Medicinal Chemistry Research*, **2015**, 24(3), 944-953.
- [81]. Shi, L., Wu, T. T., Wang, Z., Xue, J. Y., Xu, Y. G., Discovery of N-(2-phenyl-1H-benzimidazol-5-yl) quinolin-4-amine derivatives as novel VEGFR-2 kinase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2014**, 84, 698-707.
- [82]. Munuganti, R. S. N., Leblanc, E., Axerio-Cilies, P., Labriere, C., Frewin, K., Singh, K., Tomlinson Guns, E., Targeting the binding function 3 (BF3) site of the androgen receptor through virtual screening. 2. Development of 2-((2-phenoxyethyl)thio)-1H-benzimidazole derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2013**, 56(3), 1136-1148.

- [83]. Kamal, A., Reddy, M. K., Shaik, T. B., Srikanth, Reddy, V. S., Kumar, G. B., Kalivendi, S. V., Synthesis of terphenyl benzimidazoles as tubulin polymerization inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2012**, *50*, 9-17.
- [84]. Liu, T., Sun, C., Xing, X., Jing, L., Tan, R., Luo, Y., Zhao, Y., Synthesis and evaluation of 2-[2-(phenylthiomethyl)-1H-benzimidazol-1-yl]acetohydrazide derivatives as antitumor agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2012**, *22*(9), 3122-3125.
- [85]. Liu, W. Q., Megale, V., Borriello, L., Leforban, B., Montes, M., Goldwasser, E., Garbay, C., Synthesis and structure-activity relationship of non-peptidic antagonists of neuropilin-1 receptor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2014**, *24*(17), 4254-4259.
- [86]. Hranjec, M., Starčević, K., Pavelić, S. K., Lučin, P., Pavelić, K., Zamola, G. K., Synthesis, spectroscopic characterization and antiproliferative evaluation *in vitro* of novel Schiff bases related to benzimidazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2011**, *46*(6): 2274-2279.
- [87]. Thimmegowda, N. R., Swamy, S. N., Kumar, C. A., Kumar, Y. S., Chandrappa, S., Yip, G. W., Rangappa, K. S., Synthesis, characterization and evaluation of benzimidazole derivative and its precursors as inhibitors of MDA-MB-231 human breast cancer cell proliferation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2008**, *18*(1): 432-435.
- [88]. Nawrocka, W. P., Sztuba, B., Drys, A., Wietrzyk, J., Kosendiak, J., Opolski, A., Synthesis and antiproliferative activity *in vitro* of new 2-aminobenzimidazole derivatives. Part 3[1]. Reactions of 2-arylideneaminobenzimidazole with selected 1, 3-diketones. *Polish Journal of Chemistry*, **2006**, *80*(2), 279-287.
- [89]. Gümüş, F., Algül, Ö., Eren, G., Eroğlu, H., Diril, N., Gür, S., Özkul, A., Synthesis, Cytotoxic Activity on MCF-7 Cell Line and Mutagenic Activity of Platinum(II) Complexes with 2-substituted Benzimidazole Ligands. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*: 473-480.
- [90]. Mavrova, A. T., Wesselinova, D., Vassilev, N., Tsenov, J. A., Design, synthesis and antiproliferative properties of some new 5-substituted-2-iminobenzimidazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2013**, *63*, 696-701.
- [91]. Pourgholami, M. H., Woon, L., Almajd, R., Akhter, J., Bowery, P., Morris, D. L., *In vitro* and *in vivo* suppression of growth of hepatocellular carcinoma cells by albendazole. *Cancer Letters*, **2001**, *165*(1), 43-49.
- [92]. Karthikeyan, C., Solomon, V. R., Lee, H., Trivedi, P. Synthesis and biological evaluation of 2-(phenyl)-3H-benzo [d] imidazole-5-carboxylic acids and its methyl esters as potent anti-breast cancer agents. *Arabian Journal of Chemistry*. **2013**.
- [93]. Determann, R., Dreher, J., Baumann, K., Preu, L., Jones, P. G., Totzke, F., Kunick, C., 2-Anilino-4-(benzimidazol-2-yl) pyrimidines-A multikinase inhibitor scaffold with antiproliferative activity toward cancer cell lines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2012**, *53*, 254-263.
- [94]. Karaaslan Ç., Bazı Yeni Mono Ve Dikasyonik Benzimidazol Karboksamidin Türevlerinin Sentezi Yapılarının Aydınlatılması ve Antimikrobiyal, Antikanser Etkilerinin İncelenmesi (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi, Ankara, **2014**.
- [95]. Hranjec, M., Starčević, K., Pavelić, S. K., Lučin, P., Pavelić, K., Zamola, G. K., Synthesis, spectroscopic characterization and antiproliferative evaluation *in vitro* of novel Schiff bases related to benzimidazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2011**, *46*(6), 2274-2279.
- [96]. Reddy, B. P., Sondhi, S. M., Lown, J. W., Synthetic DNA minor groove-binding drugs. *Pharmacology & Therapeutics*, **1999**, *84*(1), 1-111.
- [97]. Yoon, Y. K., Ali, M. A., Wei, A. C., Choon, T. S., Osman, H., Parang, K., Shirazi, A. N., Synthesis and evaluation of novel benzimidazole derivatives as sirtuin inhibitors with antitumor activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2014**, *22*(2), 703-710.
- [98]. Wu, L. T., Jiang, Z., Shen, J. J., Yi, H., Zhan, Y. C., Sha, M. Q., Li, Z. R., Design, synthesis and biological evaluation of novel benzimidazole-2-substituted phenyl or pyridine propyl ketene derivatives as antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2016**, *114*, 328-336.
- [99]. Kamal, A., Reddy, T. S., Vishnuvardhan, M. V. P. S., Nimbarte, V. D., Rao, A. S., Srinivasulu, V., Shankaraiah, N., Synthesis of 2-aryl-1,2,4-oxadiazolo-benzimidazoles: Tubulin polymerization inhibitors and apoptosis inducing agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2015**, *23*(15), 4608-4623.

- [100]. Karadeniz A., Bazı Bitki Büyüme Düzenleyicileri Ve Pestisitlerin Mutajenik Rekombinojenik Ve Promoter (Kanser İlerletici) Etkilerinin Araştırılması, (Doktora Tezi), Akdeniz Üniversitesi, Antalya, **2006**.
- [101]. McGahon A.J., Martin S.J., Bissonnette R.P., Mahboubi A., Shi Y., Mogil R.J., Nishioka W.K., Green D.R. The end of the (cell) line: Methods for the study of apoptosis in vitro *Methods in Cell Biology: Cell Death*, New York: *Academic Press*, **1995**, 46, 153–187.
- [102]. Mosmann, T., Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol Methods*, **1983**, 65, 55-63.
- [103]. He, H., Wang, W., Zhou, Y., Xia, Q., Ren, Y., Feng, J., Feng, L., Rational design, synthesis and biological evaluation of 1, 3, 4-oxadiazole pyrimidine derivatives as novel pyruvate dehydrogenase complex E1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2016**, 24(8), 1879-1888.
- [104]. Mentşe, E., Doğan, I. S., Kahveci, B., Green protocol: solvent-and catalyst-free synthesis of benzimidazole derivatives via microwave technique. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, **2013**, 49(8), 1136-1140.
- [105]. Viale, M., Fenoglio, C., De Toterò, D., Prigione, I., Cassano, A., Vincenti, A., Mariggiò, M. A. (2016). Potentiation of cisplatin-induced antiproliferative and apoptotic activities by the antiarrhythmic drug procainamide hydrochloride. *Pharmacological Reports*, **2016**, 68(3), 654-661.
- [106]. Ahmad, P., Woo, H., Jun, K. Y., Kadi, A. A., Abdel-Aziz, H. A., Kwon, Y., Rahman, A. M. Design, synthesis, topoisomerase I & II inhibitory activity, antiproliferative activity, and structure–activity relationship study of pyrazoline derivatives: An ATP-competitive human topoisomerase II α catalytic inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2016**, 24(8), 1898-1908.
- [107]. Boggu, P., Venkateswararao, E., Manickam, M., Kwak, D., Kim, Y., Jung, S. H., Exploration of 2-benzylbenzimidazole scaffold as novel inhibitor of NF- κ B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2016**, 24(8), 1872-1878.
- [108]. She, J., Jiang, Z., Wang, Y., One-pot synthesis of functionalized benzimidazoles and 1H-pyrimidines via cascade reactions of *o*-aminoanilines or naphthalene-1, 8-diamine with alkynes and *p*-tolylsulfonyl azide. *Synlett*, **2009**, (12), 2023-2027.
- [109]. Allen, J. R., Kaustav, B., Chavez, F., Chen, N., De Morin, F. F., Falsey, J. R., Kaller, M. R., **2012**, *U.S. Patent No. 8,318,718*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- [110]. Dos Santos, A., El Kaïm, L., Grimaud, L. (2013). Metal-free aerobic oxidation of benzazole derivatives. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 11(20), 3282-3287.
- [111]. Ait-Baziz, N., Rachedi, Y., Silva, A. M., Reactivity of some structural analogs of dehydroacetic acid with off-phenylenediamine. *Arkivoc.*, **2010**, 10, 86-97.
- [112]. Wen, X., El Bakali, J., Deprez-Poulain, R., Deprez, B. (2012). Efficient propylphosphonic anhydride (@ T3P) mediated synthesis of benzothiazoles, benzoxazoles and benzimidazoles. *Tetrahedron Letters*, **2012**, 53(19), 2440-2443.
- [113]. Fokken, B., Woosmann, D., Bräuniger, H., Peseke, K., Kristen, H., Preparation of compounds with amidino- or amidoxime structures. *Die Pharmazie*, **1977**, 32(10), 566.
- [114]. Yildiz-Oren, I., Yalcin, I., Aki-Sener, E., Ucarturk, N., Synthesis and structure–activity relationships of new antimicrobial active multisubstituted benzazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2004**, 39(3), 291-298.
- [115]. G. Manjunath, G Bheemaraju, M Mahesh, and P Venkata Ramana, Synthesis and Antimicrobial Activity of Novel Pyrazolone and Pyrazole Analogues Containing Benzimidazole Moiety, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, **2015**, 6(4), 704-716.
- [116]. Wang, H. B., Huang, J. M., Decarboxylative Coupling of α -Keto Acids with ortho-Phenylenediamines Promoted by an Electrochemical Method in Aqueous Media. *Advanced Synthesis & Catalysis*, **2016**, 358(12), 1975-1981.
- [117]. Murray, M., Ryan, A. J., Little, P. J., Inhibition of rat hepatic microsomal aminopyrine N-demethylase activity by benzimidazole derivatives. Quantitative structure-activity relationships. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1982**, 25(8), 887-892.

- [118]. Chaudhury, S., Debroy, A., Mahajan, M. P., Syntheses of condensed imidazoles by lead tetraacetate oxidation of amidines. *Canadian Journal of Chemistry*, **1982**, 60(9), 1122-1126.
- [119]. Gümüş, F., Altuntas, T. G., Saygun, N., Ozden, T., Ozden, S. (1988). In vitro tuberculostatic activities of some 2-benzylbenzimidazole and 2-phenoxyethylbenzimidazole derivatives. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 44(6), 398-402.
- [120]. Rabiger DJ, Joullie MM. The ionization constants, ultraviolet and infrared spectra of some substituted benzimidazoles. *J. Chem. Soc.*, **1964**; 29: 476-482.
- [121]. Gottlieb, H. E., Kotlyar, V., Nudelman, A., NMR chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities. *The Journal of Organic Chemistry*, **1997**, 62(21), 7512-7515.
- [122]. Burmaoglu, S., Algul, O., Anil, D. A., Gobek, A., Duran, G. G., Ersan, R. H., Duran, N., Synthesis and anti-proliferative activity of fluoro-substituted chalcones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2016**, 26(13), 3172-3176.
- [123]. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J., Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **1997**, 23(1-3), 3-25.
- [124]. Bayomi, S. M., El-Kashef, H. A., El-Ashmawy, M. B., Nasr, M. N., El-Sherbeny, M. A., Badria, F. A., Abdel-Aziz, N. I., Synthesis and biological evaluation of new curcumin derivatives as antioxidant and antitumor agents. *Medicinal Chemistry Research*, **2013**, 22(3), 1147-1162.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Büşra Gül ERTÜRK

Doğum Tarihi : 27.08.1990

E-mail : YL-FKI-201503@mersin.edu.tr ve busragulerturk@gmail.com

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	KİMYA	MERSİN ÜNİVERSİTESİ	2009-2014
Yüksek Lisans	FARMASÖTİK KİMYA	MERSİN ÜNİVERSİTESİ	2015-Devam
Doktora	-	-	-

ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

1. BURMAOĞLU S., ALGUL, O., GOBEK A., AKTAS ANIL D., ULGER M., ERTURK B. G., KAPLAN, E., DOĞEN A., ASLAN G. (2017). Design of potent fluoro-substituted chalcones as antimicrobial agents. *Journal Of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 490-495.
2. ERTURK B. G., ULGER M., ULGER S. T., ALGUL O., *Investigation Of Antituberculosis Activity Of Some 2-Substitued Benzimidazol Derivatives with Agar Proportion Method*, 28th National Chemistry Congress, Mersin, 15-21 August 2016, Turkey, P-098.
3. ERTÜRK B. G., ERSAN R. H, DURAN GÜLBOL G., DURAN N., ALGÜL Ö., *2-Alkil/Alkiloksi Köprülü Sübstitübenzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi, Yapılarının Tayini ve Antiproliferatif Etkilerinin Belirlenmesi Çalışması*, BAP2017-1-TP2-1993, 5. İlaç Kimyası Kongresi, Antalya, 30 Mart- 02 Nisan 2017, Türkiye, Poster Kısa Sözlü Sunum PKS139.
4. TEKAYAK E., KAPLAN E., DÖĞEN A., ERTÜRK B. G., ALGÜL Ö., *Antimikrobiyal Etkili Olabilecek Benzazol Türevi Bileşiklerin Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması*, 5. İlaç Kimyası Kongresi, Antalya, 30 Mart- 02 Nisan 2017, Türkiye, P139.