

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**BAZI 2-SÜBSTİTÜE BENZİMİDAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN
SENTEZİ VE ANJİYOJENEZ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Ecz. Alper KARABULUT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Öztekin ALGÜL

MERSİN-2009

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**BAZI 2-SÜBSTİTÜE BENZİMİDAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN
SENTEZİ VE ANJİYOJENEZ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Ecz. Alper KARABULUT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Öztekin ALGÜL

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP-SBE FK(AK) 2008-3 YL numaralı proje ile desteklenmektedir.

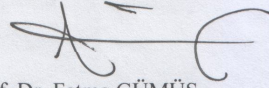
Tez No: 153

MERSİN-2009

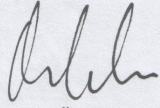
Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan “Bazı 2-Süstitübenzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi ve Anjiyojenez Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması” başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

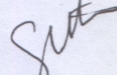
Tez Savunma Tarihi.16/ 11/2009



Prof. Dr. Fatma GÜMÜŞ
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı

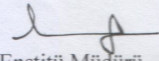


Doç. Dr. Öztekin ALGÜL
Mersin Üniversitesi
Jüri Üyesi



Yrd. Doç. Dr. Semra UTKU
Mersin Üniversitesi
Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 19.11.2009 tarih ve 2009-373 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Enstitü Müdürü
Doç. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU

TEŞEKKÜR

Kendisiyle tanıştığım ilk günden itibaren tecrübesi ve ileri görüşlülüğüyle yaşamıma ışık tutan ve sonsuz deneyimlerini benden esirgemeyen, tez çalışmalarım sırasında da desteğini hiçbir zaman eksiltmeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Öztekin ALGÜL'e teşekkürlerimi bir borç bilip şükranlarımı sunarım.

Lisans ve yüksek lisans dönemimin her aşamasında bana yardımcı olan değerli hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Semra UTKU'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Biyolojik aktivite çalışmalarımızı büyük emek harcayarak tamamlayan ve tecrübelerini benimle paylaşan Sayın Yrd. Doç. Dr. Necmiye CANACANKATAN'a

Hayatı eleştirel bir gözlüğün arkasından değerlendirmem gerektiğini bana yeniden hatırlatan ve bu konuda beni engin bilgi birikimiyle besleyen Sayın Yrd. Doç. Dr. C. Kemal BUHARALIOĞLU'na şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca her zaman desteğini ve yardımlarını gördüğüm Sayın Doç. Dr. Nefise Özlen ŞAHİN'e bana gösterdikleri yakınlıktan dolayı çok teşekkür ederim.

Gerek lisans gerekse yüksek lisans döneminde benden dostluklarını ve sevgilerini esirgemeyen, Sayın Ecz. Mustafa TOPAL'a, Sayın Ecz. Emrah KÜÇÜK'e ve Sayın Ecz. Özden TARI'ya beni desteklediği ve yüreklendirdikleri için çok teşekkür ederim.

Acı ve tatlı günlerini benimle paylaşan, sabır ve metanetle her yerde, her zaman ve her konuda yanımda olan, sevgisi ve güveni ile bana güç veren Sayın Ecz. Hülya GELİŞİGÜZEL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim-Öğretim hayatımın temelini oluşturmamda bana yardımcı olan ilkokul hocalarım Sayın Hatice KOÇAK'a ve Sayın Raife VURAL'a sevgi ve hürmetlerimi sunarım.

Lise öğrenimim boyunca bana her konuda destek olan ve dostluklarını benden esirgemeyen Sayın Ahmet AVCI'ya, Sayın Şahin AKAGÜNDÜZ'e ve Sayın Altuğ POYRAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Ankara Fen Lisesi'ndeki eğitimim süresince matematiğin aydınlık dünyasını keşfetmemde bana yardımcı olan Sayın Osman Salih BİLGİN'e ve tarih ilminin

karanlık yönlerinin aydınlatılması gerekliliğini bana öğreten Sayın Çetin SUNGUR'a saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans dönemimde eczanemle yakından ilgilenen ve bana yardımcı olan Sayın Mustafa Kemal KARABULUT'a, Sayın Durdu KARAKUŞ'a ve Sayın İsrail BERKTAŞ'a şükranlarımı sunarım.

Büyük fedakârlıklar göstererek bugünlere gelmemi sağlayan, bana olan sevgi ve güvenlerini hiçbir zaman eksiltmeyip daima arttıran anneme, babama ve ağabeyime saygı ve sevgilerimi sunmayı bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
ÖZET	xviii
ABSTRACT	xix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	9
2.1. Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri	9
2.2. Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	14
2.2.1. 2-Süstitübenzimidazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri	14
2.3. Mikrodalga ve Organik Bileşiklerin Sentezinde Mikrodalga Kullanımı	19
2.4. 2-Süstitü Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Genel Sentez Yöntemleri	24
2.4.1. Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle	24
2.4.1.1. 1,2-Fenilendiamin Türevleri, Uygun Karboksilik Asit Türevleri ve PPA'lı Ortamda Sentezleri	24
2.4.1.2. 1,2-Fenilendiamin Türevleri, Uygun Karboksilik Asit Türevleri ve P(OPh) ₃ 'lü Ortamda Sentezleri	29
2.4.1.3. 1,2-Fenilendiamin Türevleri, Uygun Karboksilik Asit Türevleri, Alüminyum ve Metan-sülfonikasilikli Ortamda Sentezleri	29
2.4.1.4. 4-Metil-1,2-Fenilendiamin, Uygun Aromatik Karboksilik Asit Türevleri, Etanol ve Zeolitli Ortamda Sentezleri	30

2.4.1.5. 1,2-Fenilendiamin, Uygun Karboksilik Asit Türevleri, Silfoks ve DMF'li Ortamda Sentezleri	31
2.4.1.6. 2-Nitroanilin Türevleri, Uygun Karboksilik Asit Türevleri ve Kalay Klorürlü Ortamda Sentezleri	32
2.4.1.7. Çözücüsüz Ortamda 1,2-Fenilendiamin Türevleri ve Uygun Karboksilik Asitli Ortamda Sentezleri	33
2.4.2. Uygun Aldehit Türevlerinden Hareketle	34
2.4.2.1. 1,2-Fenilendiamin Türevi Bileşikler ve Uygun Aldehit Türevlerinden Hareketle	34
2.4.2.2. 2-Metilbenzimidazol Türevi Bileşikler ve Uygun Aromatik Aldehitlerden Hareketle	36
2.4.3. Uygun Esterlerden Hareketle	37
2.4.4. Glikozdan Hareketle	40
2.4.5. Kalkon Türevlerinden Hareketle	40
2.4.6. Farklı Gruplardan Hareketle	42
2.5. Anjiyojenez Üzerine Etkili Bileşikler Üzerinde Yapılan Çalışmalar	45
2.6. Tedavide Kullanılan Anjiyojenez Üzerine Etkili Müstahzarlar	56
2.6.1. Sinyal Transdüksiyon İnhibitörleri	56
2.6.2. Monoklonal Antikorlar	60
2.6.3. İmmünoşüpresanlar	61
2.7. Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Türevi Bileşikler	62
3. GEREÇ VE YÖNTEM	66
3.1. Kimyasal Çalışmalar	66
3.1.1. Materyal	66
3.1.2. Yöntem	66
3.1.2.1. 2-Süstitüebenzimidazollerin Konvansiyonel Yöntemle Yapılan Genel Sentez Yöntemi (Genel Sentez Yöntemi I)	66
3.1.2.2. 2-Süsbstütebenzimidazollerin Mikrodalga Yardımla Yapılan Genel Sentez Yöntemi (Genel Sentez Yöntemi II)	67

3.2. Analitik Çalışmalar	67
3.2.1. Erime Noktası Tayini	67
3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi ve Kolon Kromatografisi ile Yapılan Kontroller	67
3.2.3. Spektroskopik Kontroller	68
3.2.3.1. IR Spektrumları	68
3.2.3.2. ¹ H NMR Spektrumları	68
3.2.4. Elemental Analizler	68
3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	68
3.3.1. Metod	69
3.3.1.1. İn Vitro Metodlar	69
3.3.1.1.1. Kaspaz-3 ve -8 Enzim Aktivite Ölçüm Yöntemi	69
3.3.1.2. İn Vivo Metodlar	70
3.3.1.2.1. Kaspaz-3, Kaspaz-8 ve Kaspaz 9 Ölçüm Yöntemleri	71
3.3.1.2.2. VEGF Ölçüm Yöntemi	71
3.3.1.2.3. Katalaz Ölçüm Yöntemi	71
3.3.1.2.4. GSH Ölçüm Yöntemi	73
3.3.1.2.5. Lowry Yöntemi ile Protein Tayini	74
3.3.1.2.6. Kan Dokusundaki Kapiler damar Sayımı	76
3.3.1.3. İstatistiksel Metotlar	77
4. BULGULAR	78
4.1. Kimyasal Bulgular	78
4.1.1. 2-Benzil-1 <i>H</i> -benzimidazol (BB1)	78
4.1.2. 2-(2-Metoksibenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (BB2)	80
4.1.3. 2-(3-Metoksibenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (BB3)	82
4.1.4. 2-(4-Metoksibenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (BB4)	84
4.2. Biyolojik Bulgular	86
4.2.1. İn Vitro Deneylerden Elde Edilen Biyolojik Bulgular	87
4.2.2. İn Vivo Deneylerden Elde Edilen Biyolojik Bulgular	88
5. TARTIŞMA	89

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	94
7. KAYNAKLAR	96
ÖZGEÇMİŞ	116

ŞEKİLLER DİZİNİ

Reaksiyon Denklemi 1:	Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri	11
Reaksiyon Denklemi 2:	Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri	12
Reaksiyon Denklemi 3:	Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri	12
Reaksiyon Denklemi 4:	Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri	13
Reaksiyon Denklemi 5:	Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri	14
Reaksiyon Denklemi 6 :	Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	15
Reaksiyon Denklemi 7 :	Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	15
Reaksiyon Denklemi 8:	Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	16
Reaksiyon Denklemi 9:	Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	16
Reaksiyon Denklemi 10:	Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	17
Reaksiyon Denklemi 11:	Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	17
Reaksiyon Denklemi 12 :	Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	18
Reaksiyon Denklemi 13 :	Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	18
Reaksiyon Denklemi 14 :	Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	19
Reaksiyon Denklemi 15:	Mikrodalga Yöntemiyle Yapılan İlk Kimyasal Reaksiyonlar	22
Reaksiyon Denklemi 16:	Mikrodalga Yöntemiyle Yapılan İlk Kimyasal Reaksiyonlar	22
Reaksiyon Denklemi 17:	2-Sübstitübenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	24
Reaksiyon Denklemi 18:	2-Sübstitübenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	25
Reaksiyon Denklemi 19:	2-Sübstitübenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	25
Reaksiyon Denklemi 20:	2-Sübstitübenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik	

	Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	26
Reaksiyon Denklemi 21:	2-Süstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	27
Reaksiyon Denklemi 22:	2-Süstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	27
Reaksiyon Denklemi 23:	2-Süstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	28
Reaksiyon Denklemi 24:	2-Süstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	29
Reaksiyon Denklemi 25:	2-Süstitüe Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	30
Reaksiyon Denklemi 26:	2-Süstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	30
Reaksiyon Denklemi 27:	2-Süstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	30
Reaksiyon Denklemi 28:	2-Süstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	31
Reaksiyon Denklemi 29:	2-Süstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	31
Reaksiyon Denklemi 30:	2-Süstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	32

Reaksiyon Denklemi 31:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	33
Reaksiyon Denklemi 32:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle Sentezi	33
Reaksiyon Denklemi 33:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Aldehit Türevlerinden Hareketle Sentezi	34
Reaksiyon Denklemi 34:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Aldehit Türevlerinden Hareketle Sentezi	35
Reaksiyon Denklemi 35:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Aldehit Türevlerinden Hareketle Sentezi	35
Reaksiyon Denklemi 36:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Aldehit Türevlerinden Hareketle Sentezi	36
Reaksiyon Denklemi 37:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Aldehit Türevlerinden Hareketle Sentezi	36
Reaksiyon Denklemi 38:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Esterlerden Hareketle Sentezi	37
Reaksiyon Denklemi 39:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Esterlerden Hareketle Sentezi	38
Reaksiyon Denklemi 40:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Esterlerden Hareketle Sentezi	39

Reaksiyon Denklemi 41:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Uygun Esterlerden Hareketle Sentezi	39
Reaksiyon Denklemi 42:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Glikozdan Hareketle Sentezi	40
Reaksiyon Denklemi 43:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Kalkon Türevlerinden Hareketle Sentezi	41
Reaksiyon Denklemi 44:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Kalkon Türevlerinden Hareketle Sentezi	42
Reaksiyon Denklemi 45:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Farklı Gruplardan Hareketle Sentezi	42
Reaksiyon Denklemi 46:	2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Farklı Gruplardan Hareketle Sentezi	43
Reaksiyon Denklemi 47:	2- Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Farklı Gruplardan Hareketle Sentezi	43
Reaksiyon Denklemi 48:	2- Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Farklı Gruplardan Hareketle Sentezi	44
Reaksiyon Denklemi 49:	2- Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Farklı Gruplardan Hareketle Sentezi	44
Reaksiyon Denklemi 50:	Çalışmada Sentezlenen Bileşiklerin Reaksiyon Denklemi	90

Formül 1:	Apoptozis ve Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Yapısı Taşıyan Bileşikler Üzerine Çalışmalar	2
Formül 2:	Apoptozis ve Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Yapısı Taşıyan Bileşikler Üzerine Çalışmalar	2
Formül 3:	Apoptozis ve Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Yapısı Taşıyan Bileşikler Üzerine Çalışmalar	3
Formül 4:	Apoptozis ve Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Yapısı Taşıyan Bileşikler Üzerine Çalışmalar	4
Formül 5:	Apoptozis ve Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Yapısı Taşıyan Bileşikler Üzerine Çalışmalar	5
Formül 6:	Apoptozis ve Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Yapısı Taşıyan Bileşikler Üzerine Çalışmalar	5
Formül 7:	Apoptozis ve Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Yapısı Taşıyan Bileşikler Üzerine Çalışmalar	5
Formül 8:	Apoptozis ve Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Yapısı Taşıyan Bileşikler Üzerine Çalışmalar	6
Formül 9:	Apoptozis ve Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Yapısı Taşıyan Bileşikler Üzerine Çalışmalar	6
Formül 10:	Apoptozis ve Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Yapısı Taşıyan Bileşikler Üzerine Çalışmalar	6
Formül 11:	Apoptozis ve Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Yapısı Taşıyan Bileşikler Üzerine Çalışmalar	7
Formül 12:	Apoptozis ve Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Yapısı Taşıyan Bileşikler Üzerine Çalışmalar	7
Formül 13:	Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri	9
Formül 14:	Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri	10
Formül 15:	2-Süstitüe Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Genel Sentez Yöntemleri	40
Formül 16:	Tedavide Kullanılan Anjiyojenez Üzerine Etkili Müstahzarlar	57
Formül 17:	Tedavide Kullanılan Anjiyojenez Üzerine Etkili Müstahzarlar	57
Formül 18:	Tedavide Kullanılan Anjiyojenez Üzerine Etkili Müstahzarlar	58
Formül 19:	Tedavide Kullanılan Anjiyojenez Üzerine Etkili Müstahzarlar	58

Formül 20:	Tedavide Kullanılan Anjiyojenez Üzerine Etkili Müstahzarlar	59
Formül 21:	Tedavide Kullanılan Anjiyojenez Üzerine Etkili Müstahzarlar	59
Formül 22:	Tedavide Kullanılan Anjiyojenez Üzerine Etkili Müstahzarlar	60
Formül 23:	Tedavide Kullanılan Anjiyojenez Üzerine Etkili Müstahzarlar	64
Formül 24:	Tedavide Kullanılan Anjiyojenez Üzerine Etkili Müstahzarlar	64
Formül 25:	Tedavide Kullanılan Anjiyojenez Üzerine Etkili Müstahzarlar	64
Formül 26:	Tedavide Kullanılan Anjiyojenez Üzerine Etkili Müstahzarlar	65
Formül 27:	Çalışmada Sentezlenen Bileşiklerin Kimyasal Formülleri	78
Formül 28:	Çalışmada Sentezlenen Bileşiklerin Kimyasal Formülleri	80
Formül 29:	Çalışmada Sentezlenen Bileşiklerin Kimyasal Formülleri	82
Formül 30:	Çalışmada Sentezlenen Bileşiklerin Kimyasal Formülleri	84
Formül 31:	Çalışmada Sentezlenen Bileşiklerin Kimyasal Formülleri	89
Şekil 3.1.	Protein Standart Eğrisi	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Elektromanyetik Spektrumda Yer Alan Işıma Çeşitleri, Özellikleri ve Kimyasal Bağlar ve Enerjileri	20
Çizelge 2.2.	Matriks Yapısının Bozulmasını İnhibe Eden Bileşiklerin Kimyasal Formülleri	51
Çizelge 2.3.	Endotelial Hücrelerin Sinyalizasyonunu Bloke Eden Bileşiklerin Kimyasal Formülleri	52
Çizelge 2.4.	Yeni Endotelial Hücre İnhibitörü Ajanların Kimyasal Formülleri	53
Çizelge 3.1.	Protein Standart Eğri Çiziminde Numunelerdeki Madde Miktarları	75
Çizelge 4.1.	İn Vitro Çalışmalardaki Apoptozis ile İlgili Parametreler	87
Çizelge 4.2.	İn Vivo Çalışmalardaki Apoptozis ile İlgili Parametreler	88
Çizelge 4.3.	İn Vivo Çalışmalardaki Antioksidan Sistem ile İlgili Parametreler	88
Çizelge 4.4.	BB3 ve BB4'ün Doku VEGF ve Serum VEGF Değerlerine Etkisi	88
Çizelge 4.5.	BB3 ve BB4'ün Kas Dokusundaki Kapiler Damar Sayısına Etkisi	88

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

PC-PLC	Fosfotidilkolin Spesifik Fosfolipaz C
aSMase	Asidik Sifingomiyelinaz
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
bFGF	Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü
HIF-1 α	Hipoksi indükleyici faktör 1 α
HIF-2 α	Hipoksi indükleyici faktör 2 α
AML	Akut Myeloid Lösemi
GSH	Glutasyon
DMAC	N,N-Dimetilasetamid
MAOS	Mikrodalga Yardımlı Organik Sentez (<i>Microwave Assisted Organic Synthesis</i>)
TSP-I	Trombospondin-I
TAF	Tümör Anjiyojenik Faktör
EGCG	Epigallokateşin Gallat
PAS	Periyodik Asit Schiff
TGF β -1	Taşıyıcı Büyüme Faktörü β -1
CAI	Karboksiamido-triazol
RTK	Reseptör Tirozin Kinaz
ATP	Adenozin Trifosfat
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
PDGF	Trombositten Türeyen Büyüme Faktörü
SCF	Kök Hücre Faktörü
NGF	Sinir Büyüme Faktörü
Jaks	Janus Kinazları
STI	Sinyal Transdüksiyon İnhibitörleri
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (<i>U.S. Food and Drug Administration</i>)
EMA	Avrupa İlaç Ajansı (<i>European Medicines Agency</i>)
Ph+KML	Philadelphia Kromozom Pozitif Kronik Miyelojen Lösemi
PDGFR α	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü α

PDGFR β	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü β
KIT	Kök Hücre Faktörü Reseptörü
FLT-3	Fms-Benzeri Tirozin Kinaz-3
CSR-1R	Kolon Stimüle Edici Faktör Reseptörü Tip 1
RET	Nörotrofik Faktör Reseptörü
EGFR-TKI	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör-Tirozin Kinaz İnhibitörü
MAPK	Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinaz
HER2	İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör 2
EGFR	İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
mTOR	Memelilerde Rapamisinin Hedefi (<i>Mamalian Target Of Rapamycine</i>)
RCC	Renal Hücre Kanseri
HRE	Hipoksi Yanıt Elementi (<i>Hypoxia Response Element</i>)
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
CAT	Katalaz
pNA	p-Nitroanilitin
ELISA	Enzim Bağlı İmmunsorbent Yöntemi
BSA	Bovın Serum Albumin
ANOVA	Varyans Analizi

ÖZET

Bazı 2-Sübstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi ve Anjiyenez Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması

Tümör hücrelerinin en önemli özelliklerinden birisi normal hücrelere göre artan yaşam kabiliyetleridir. Programlı hücre ölümü olarak bilinen apoptozis; fizyolojik büyüme kontrolü ve doku homeostazının regülasyonunda merkezi bir rol oynamaktadır. Ayrıca tümörü besleyecek olan yeni damarların oluşması olarak tanımlanan anjiyenez de, tümör hücrelerinin büyüyüp gelişmesi ve hayatsal fonksiyonlarının devamlılığında oldukça önemli göreve sahiptir.

Son yıllarda apoptotik ve antianjiyojenik etkili bileşikler üzerine yapılan çalışmaların sayısının hızla arttığı görülmektedir. Üzerinde çalışılan halka sistemlerinden birisi de benzimidazoldür. Benzimidazol halka sisteminin son yıllarda ortaya çıkan bu etkileri grubumuzu apoptotik ve antianjiyojenik etkili 2-sübstitüebenzimidazol türevi bileşikler üzerinde çalışmaya yönlendirmiştir.

Bu çalışmada 2-sübstitüebenzimidazol türevi bileşiklerden; 2-benzilbenzimidazol (BB1), 2-(2-metoksibenzil)benzimidazol (BB2), 2-(3-metoksibenzil)benzimidazol (BB3) ve 2-(4-metoksibenzil)benzimidazol'un (BB4) konvansiyonel ve mikrodalga sentez yöntemi ile sentezlenmesi ve bu iki sentez yönteminin karşılaştırılması yapılmıştır. Daha sonra, sentezlenen bileşiklerin önce hücre kültürü çalışmaları ile *in vitro* etkileri, daha sonra da sıçan arka bacak iskemisi modeli üzerinde yapılan çalışmalar ile de *in vivo* apoptotik ve antianjiyojenik etkileri ortaya konulmuştur. *In vitro* çalışmalarda, AML hücrelerinde bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının (150, 300 ve 600 µg/ml) 24 saat ve 48 saat inkübasyonu sonrasında kaspaz -3 ve -8 enzimlerinin aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmada BB3 ve BB4 bileşiklerinin apoptotik etkilerinin diğer iki bileşiğe göre daha yüksek olduğu ve özellikle BB4 bileşiğinin kaspaz -3 ve -8 seviyelerini önemli oranda arttırdığı tespit edilmiştir. Etkin olan iki bileşiğin *in vivo* apoptotik etkilerini araştırmak amacıyla kas dokusunda kaspaz -3, -8 ve -9 enzimlerinin ölçümü, anjiyenez olan etkilerinin değerlendirilmesi için ise kas dokusunda ve serumda VEGF düzeyleri araştırılmıştır. BB3 ve BB4 bileşiklerinin *in vivo* aktiviteleri karşılaştırıldığında BB4 bileşiğinin kaspaz aktivitelerinin daha yüksek olduğu, kas VEGF düzeylerine olan etkileri incelendiğinde ise BB3'ün etkisi gözlenmezken, BB4'ün çok az miktarda da olsa VEGF seviyesini düşürdüğü gözlenmiştir. *In vivo* serum VEGF düzeyleri ile yapılan çalışmada ise bileşiklerin VEGF düzeyine etkilerinin olmadıkları belirlenmiştir.

Ayrıca bu bileşiklerin oksidatif hasar oluşumunu araştırmak amacı ile kas dokusunda antioksidan enzimlerden katalaz enzim aktivitesi ve serbest radikal temizleyici GSH düzeyleri araştırılmıştır. Bileşiklerin katalaz enzimi üzerine olan etkileri incelendiğinde BB3 bileşiğinin BB4 bileşiğinden daha iyi bir antioksidan ajan olabileceği GSH düzeylerine olan etkileri incelendiğinde ise bileşiklerin önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Son olarak da kas dokusundan alınan kesitlerde kapiller damar sayımı yapılarak bileşiklerin antianjiyojenik etkileri değerlendirilmiştir. BB3 ve BB4 bileşiklerinin kapiller damar sayısında anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı gözlemlenmiştir.

BB3 ve BB4 bileşikleri AML hücrelerinde apoptotik etkiye sahip olmasına rağmen *in vivo* anjiyenez modeli olan arka bacak iskemisi modelinde antianjiyojenik etki göstermemiştir. Bu durum bu bileşiklerin antianjiyojenik aktiviteden daha çok antitümör aktiviteye sahip olabileceğini düşündürmektedir.

ABSTRACT

Synthesis of Some 2-Substitutedbenzimidazole Derivatives and Investigation of Their Effects on Angiogenesis

One of the most prominent properties of tumor cells is their increased ability to survive when compared to normal cells. Apoptosis, which is known as programmed cell death, plays a central role controlling both physiological growth and regulation of tissue homeostasis. More importantly, angiogenesis, which is known as generation of new vessels from preexisting ones, affects deeply survival of tumor cells by supplying more nutrients and oxygen to them.

In recent years, studies on apoptotic and anti-angiogenic compounds are increasing very rapidly. One of the ring system that studies are concentrated on is derivatives of 2- substitutedbenzimidazole. Therefore, we also focused on 2-substitutedbenzimidazole derivatives, which have apoptotic and anti-angiogenic properties.

In this study, we synthesized some compounds, which are 2-substitutedbenzimidazole derivatives, namely 2-benzylbenzimidazole (BB1), 2-(2-methoxybenzyl)benzimidazole (BB2), 2-(3-methoxybenzyl)benzimidazole (BB3) and 2-(4-methoxybenzyl) benzimidazole (BB4) by using conventional and microwave synthesis methods and we compared both of them. We studied apoptotic and anti-angiogenic effects of these synthesized compounds first in cell culture (*in vitro*), and then rat hind-limb ischemia (*in vivo*) models. We investigated effects of different concentrations (150, 300 and 600 $\mu\text{g/ml}$) of synthesized compounds on caspase-3 and -8 enzyme activities in AML cells *in vitro*. BB3 and BB4 had more apoptotic effect when compared to other two compounds and especially BB4 increased caspase-3 and -8 levels significantly. We also studied effects of these compounds on apoptotic activity by measuring caspase-3, -8, and -9 enzyme levels in muscle tissue and angiogenic activity by measuring VEGF both in muscle tissue and serum. BB4 increased caspase activity more than BB3 *in vivo*. BB3 had no effect on VEGF levels in muscle tissue, however BB4 slightly decreased VEGF levels in muscle tissue. These compounds had no significant effect on VEGF levels both tissue and serum.

Additionally, to investigate effects of these substances on oxidative stress, we studied catalase (an antioxidant enzyme) enzyme activity and glutation (free radical scavenger) levels in muscle tissue. BB3 caused more oxidative stress when compared to BB4 in terms of catalase enzyme activity. These compounds had no significant effect on glutation levels.

Finally, we studied antiangiogenic effects of these compounds by counting number of capillaries (an index of angiogenesis) in ischemic muscle tissue from rats, which had hind-limb ischemia. BB3 and BB4 had no significant effect on number of capillaries.

Although BB3 and BB4 had apoptotic effect on AML cells they have no antiangiogenic activity in rat hind-limb ischemia model. Therefore, we can conclude that these compounds may have antitumor activity more than antiangiogenic activity.

1. GİRİŞ

Tümör, bir hücre ya da hücre grubunun; büyüme faktörü protoonkogenlerin yapı veya ekspresyonlarındaki değişiklikler aracılığıyla onkogenlere dönüşmesi sonucu, kontrol dışı çoğalmayla diğer dokulara yayılması ve diğer dokuların aleyhine büyümeye devam edip yaşamı tehdit etme olgusudur. Tümör patolojisinin daha iyi anlaşılması, tümör tedavisinde önemli gelişmeler sağlanmış olsa da gelişmiş ülkelerde kansere bağlı ölümler toplam ölümlerin % 25'ini oluşturmaktadır (1). Kansere bağlı ölümlerin % 90'ından ise metastaz sorumludur (2). Metastaz, kanser hücrelerinin köken aldıkları bölgeden vücudun farklı doku ve organlarına yayılmasıdır. Bu, anjiyojenez, invazyon, migrasyon-motilite, ekstrasvazyon, proliferasyon ve apoptosiz gibi birbirleriyle ilişkili bir dizi karmaşık ve çok basamaklı olaylar zinciri ile gerçekleşir (3).

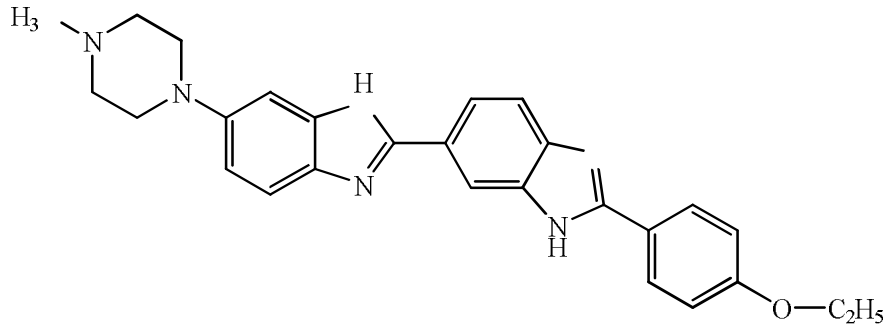
Tümör hücrelerinin en önemli özelliklerinden birisi normal hücrelere göre artan yaşam kabiliyetleridir. Programlı hücre ölümü olarak bilinen apoptozis; fizyolojik büyüme kontrolü ve doku homeostazının regülasyonunda merkezi bir rol oynamaktadır. Hücre ölümü ve hücre çoğalması arasındaki dengenin bozulduğu patolojik olaylardan birisi de kanser oluşumudur. Apoptozis mekanizması için, memeli hücrelerinde tanımlanmış olan iki yolak bilinmektedir. Bunlardan birincisi hücre zarında bulunan reseptör aracılı sinyal yolağı, diğeri ise mitokondriden salınan sitokrom c'nin tetiklediği kaspaz aktivasyon yolağıdır. Bu yollardan ikincisinde, kaspazlar birbirlerini aktifleştirerek proteolitik bir kaskada neden olurlar. Başlatıcı kaspazlar olan prokaspaz -8,-9 ve -10'un aktivasyonu, kaspaz -3, -6 ve -7 gibi efektör kaspazların proteolitik aktivasyonlarına neden olurlar. Bu durum, kaspazların apoptotik süreçteki önemini vurgulamaktadır (4-6).

Anjiyojenez; var olan damarlardan yeni damarların oluşum sürecidir (7). Anjiyojenez; embriyonik damar gelişimi, yara iyileşmesi ve organ rejenerasyonu gibi önemli fizyolojik olaylarda rol oynadığı gibi diyabetik retinopati, romatoit artrit, tümör gelişimi ve yayılması gibi patolojik süreçlere de neden olduğu literatürde kayıtlıdır (8,9). Tümör gelişimi ve ilerlemesinde anjiyojenez sürecinin rolü büyüktür. Çünkü sürekli gelişen tümör hücreleri, ihtiyacı olan oksijen ve besin maddelerini karşılamak için yeni kan

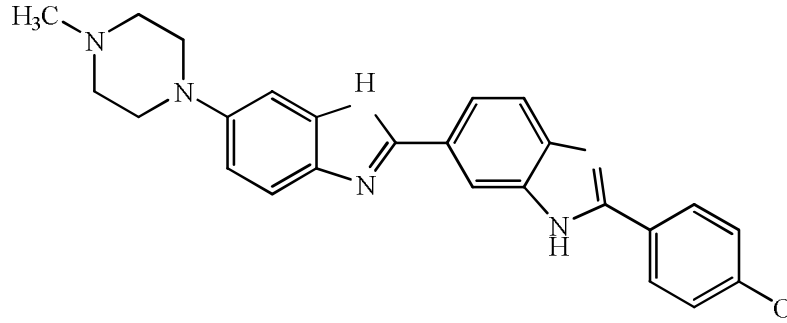
damarlarının oluşumuna muhtaçtır (10). Bu yüzden, anjiyoenez sürecine yönelmiş tedavilerin kanser tedavisinde ümit vaat eden yaklaşımlar olduğu düşünülmektedir (11).

Son yıllarda apoptotik ve antianjiyojenik etkili bileşikler üzerine yapılan çalışmaların sayısının hızla arttığı görülmektedir. Üzerinde çalışmalar yapılan halka sistemlerinden birisi de benzimidazol türevi bileşiklerdir.

2001 Yılında yapılan bir çalışmada, Hoechst 33342 bileşiğinin (Formül 1), Hoechst 33258 bileşiğinden (Formül 2) farklı olarak, apoptozisi indüklediği ve in vivo koşullarda topoisomerez I'in aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir (12).



Formül 1



Formül 2

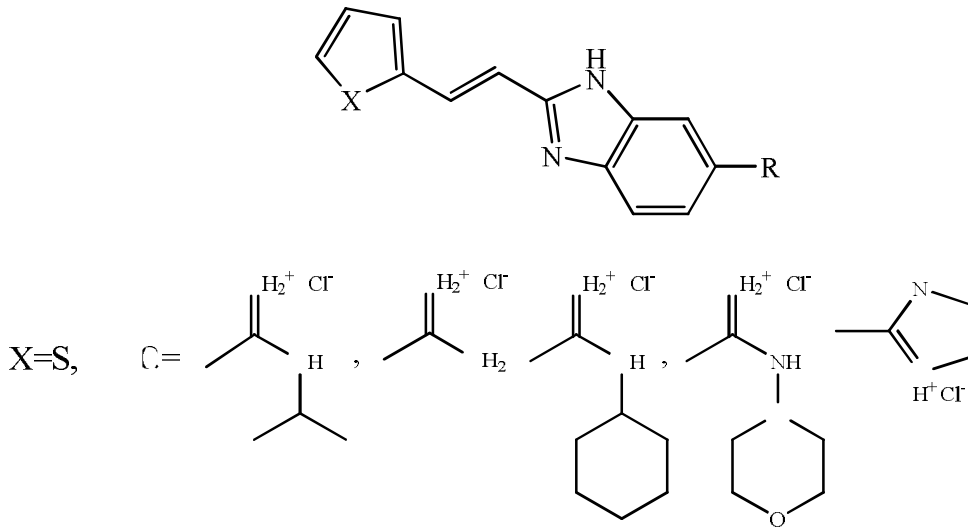
Hao ve ark. (13) tarafından yapılan bir çalışmada, metil-2-benzimidazolkarbamat (karbendazim) bileşiğinin antikanserojen etkili bir ajan olduğu ve kanser hücrelerinde apoptozisi indüklediğini bildirmektedir.

2003 Yılında İtalya'da yapılan bir çalışmada apoptozisin; fosfolipaz C (PC-PLC) aktivasyonu, asidik sifingomiyelinaz (aSMase) aktivasyonu ve

seramit oluşumu, kaspaz-8 ve kaspaz-3 aktivasyonunu da içeren karmaşık bir seri biyokimyasal olaylar ile oluştuğu bildirilmiştir. Apoptozis üzerine etkili çok sayıda bileşik üzerinde çalışıldığını ve özellikle benzimidazol yapısı taşıyan bazı bileşiklerin etkili olduğunu ortaya koymuşlardır (14).

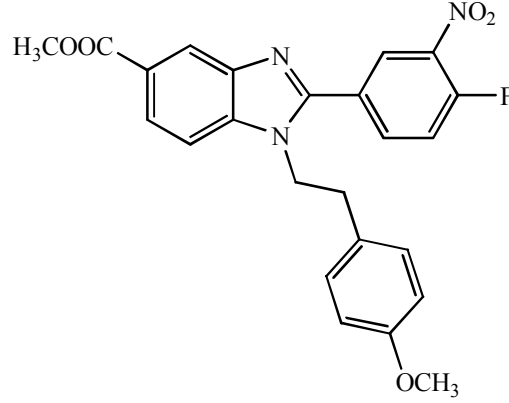
Protein kinaz CK2, birçok hücrede bulunan serin/treonin kinaz türevidir. Hücre siklusunun düzenlenmesinde malin hücrelerde oluşan dönüşüm, hücrelerin hayatta kalması (survival), anjiyojenez ve apoptozis gibi birçok hücresel işlemlerde önemli rol oynadığı Bretner ve ark. (15) tarafından bildirilmiştir. Araştırmacılar çalışmalarında, 4,5,6,7-tetrabromobenzotriazol, 4,5,6,7-tetrabromobenzimidazol, 2-dimetilamino-4,5,6,7-tetrabromobenzimidazol bileşiklerinin çeşitli hücre dizilerine uygulanması sonucu bu hücrelerde hücre yaşamsallığını etkilediğini ve eş zamanlı olarak apoptozisi de başlattığını belirtmişlerdir.

2008 Yılında yapılan bir çalışmada amidino-sübstitüe tiyenil ve furilvinilbenzimidazol türevlerinin (Formül 3) güçlü hücre bölünmesi inhibitörü etkilerinin varlığı tespit edilmiştir. Bileşiklerin, hücre siklusunu S fazında durdurarak, apoptozise yol açtığı ve topoisomeraz I inhibisyonuna neden olduğu ortaya konulmuştur (16).



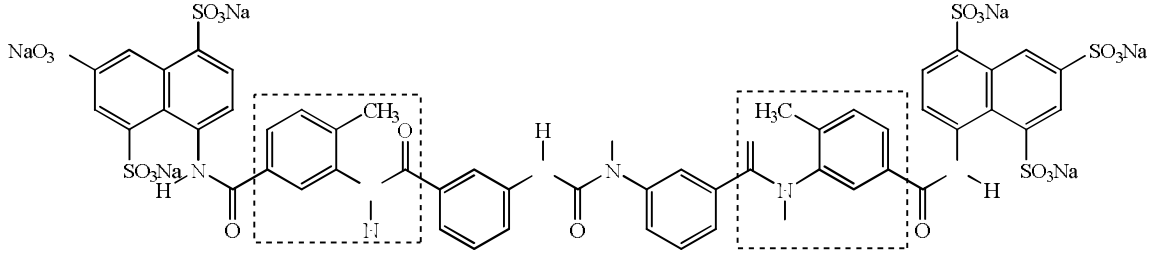
Formül 3

Gowda ve ark. (17) tarafından 2009 yılında yapılan bir çalışmada Formül 4'teki 1,2,5-trisübstitüebenzimidazol bileşiğinin hücre siklusundaki S/G2 fazını durdurarak apoptozisi hızlandırdığı belirlenmiştir.

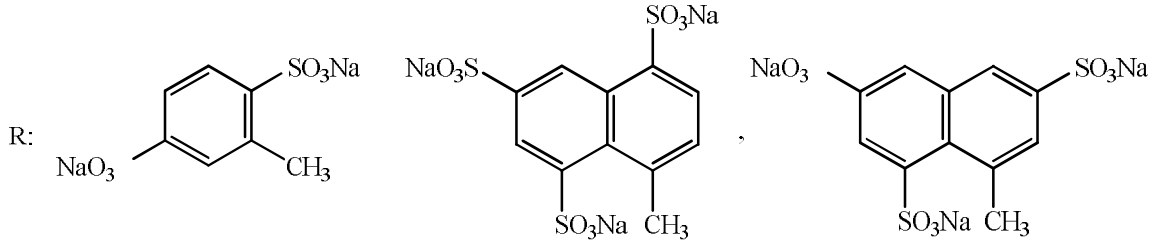
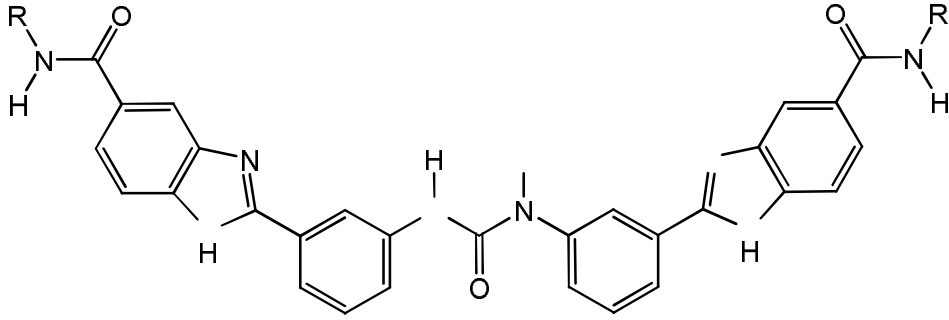


Formül 4

Literatürde anjiyojenez üzerine etkili olan bileşikler incelendiğinde benzimidazol yapısı taşıyan bileşiklere de rastlanmaktadır. Benzimidazol halkasının anjiyojenezde etkili olduğunu gösteren ilk çalışma, 1998 yılında Kreimeyer ve ark. (18) tarafından yapılmıştır. Çalışmada, retro virüslerdeki revers transkriptaz enziminin güçlü inhibitörü ve antikanserojen etkileri olan suramin isimli bileşiğin (Formül 5), tümör büyüme faktörlerini inhibe ettiği belirlenmiştir. Çalışmacılar, Formül 5'deki suramin bileşiğinin yapısındaki işaretli bölgelerin benzimidazol halkası ile yer değiştirerek sentezledikleri yeni bileşiklerin (Formül 6) anti-HIV, sitostatik etkileri ile antianjiyojenez aktivitelerinin olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

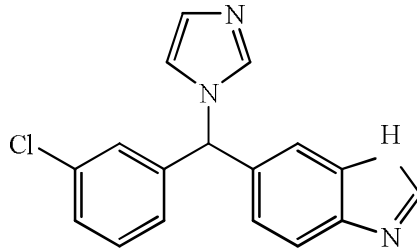


Formül 5



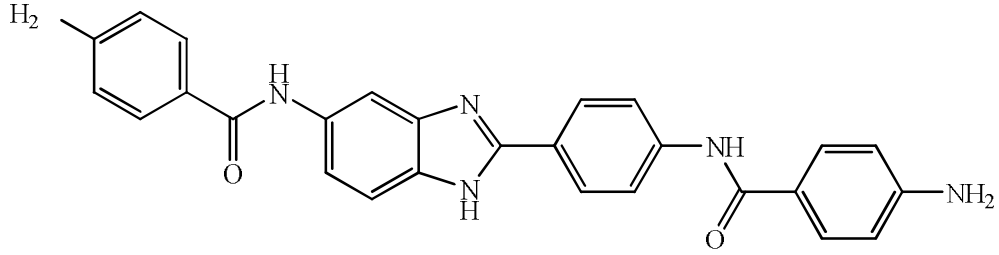
Formül 6

Aynı yıl yapılan bir başka çalışmada, benzimidazol türevi bir bileşik olan liarazol (6-[(3-klorofenil)(*1H*-imidazol-1-il)metil-*1H*-benzimidazol])'ün (Formül 7) güçlü bir anti-anjiyojenik bileşik olduğu ve hastalar tarafından iyi tolere edildiği belirlenmiştir (19).

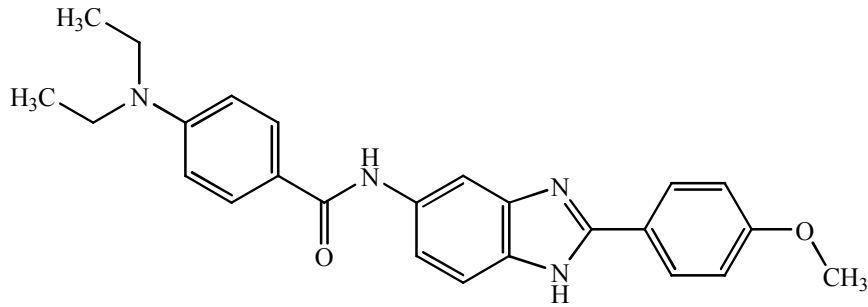


Formül 7

Japonya’da 2002 yılında Hori ve ark. (20) tarafından yapılan bir çalışmada ise benzimidazol türevi iki bileşiğin (Formül 8 ve 9) Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) ve Bazik Fibroblast Büyüme Faktörünü (bFGF) inhibe ederek anti-anjiyojenik etkili oldukları belirlenmiştir.

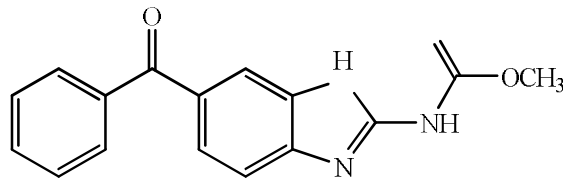


Formül 8



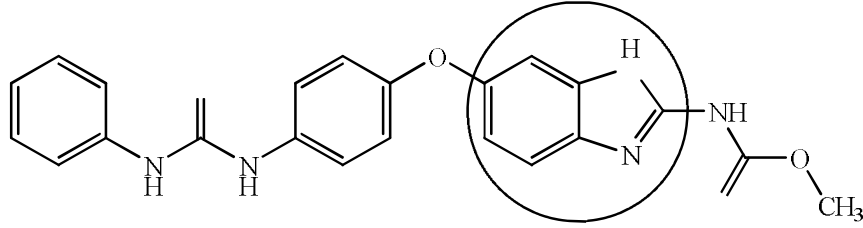
Formül 9

Mukhopadhyay ve ark. (21) tarafından 2002 yılında, benzimidazol türevi antihelmintik etkili bileşiklerden mebendazol’ün (Formül 10) katı tümörlerdeki büyümeyi özellikle G2-M fazında durdurduğu ve anti-anjiyojenik etkiye sahip olduğu in vivo ve in vitro çalışmalarla ilk kez ortaya konulmuştur.



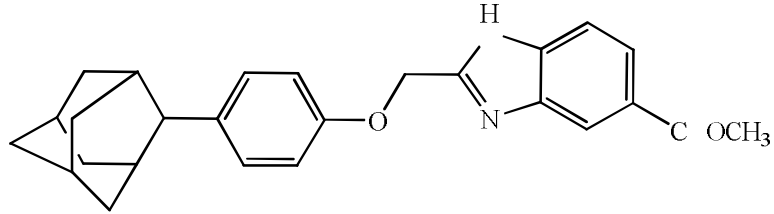
Formül 10

2007 yılında Hasegawa ve ark. (22) anjiyojenezde önemli olan VEGF-2 ve TIE-2 kinaz reseptörlerinin inhibitörü olabilecek yeni bileşikler geliştirmek üzere sürdürdükleri çalışmalarda benzimidazol-üre türevi bileşiklerin aktivitelerini belirlemişlerdir (Formül 11).



Formül 11

2009 yılında Won ve ark. (23) küçük yapıdaki moleküllerin katı tümörlerde terapötik hedef olan Hipoksi indükleyici faktör 1 α (HIF-1 α) proteinini hipoksi durumunda inhibe eden bileşikleri geliştirmek amacıyla benzimidazol türevi bileşiklerinin etkilerini belirlemek için HTC-116, MDA-MB435, SK-HEP1 ve Caki-1 kanser hücreleri üzerinde çalıştıklarını bildirmişlerdir. Formül 12'deki benzimidazol türevi AC1-004 bileşiğinin sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada %58,6 oranında tümör büyümesini HIF-1 α aktivitesini stabilize ederek inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır.



Formül 12

Antiülseratif, antihipertansif, antiviral, antifungal, antihistaminik ve antihelmintik etkileri nedeniyle günümüzde ilaç etken maddesi olarak kullanılan benzimidazol türevi bileşiklerin, antianjiyojenik ve antitümör etkileri de tespit edilmiştir (17). Son yıllarda, özellikle 2-süstitübenzimidazol türevi bileşiklerin antianjiyojenik ve antitümör etkilerinin belirlenmesi, grubumuzu bu bileşikler üzerine yoğun çalışmalar yapmaya yöneltmiştir.

Bu çalışmada 2-sübstitüebenzimidazol türevi bileşiklerden; 2-benzilbenzimidazol (**BB1**), 2-(2-metoksibenzil)benzimidazol (**BB2**), 2-(3-metoksibenzil) benzimidazol (**BB3**) ve 2-(4-metoksibenzil) benzimidazol'ün (**BB4**) konvansiyonel ve mikrodalga sentez yöntemi ile sentezlenmesi hedeflenmiştir. İki sentez yönteminin karşılaştırılması da çalışmanın amaçları arasındadır.

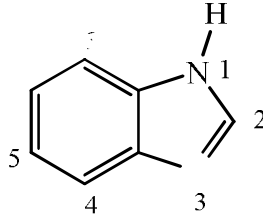
Sentezlenmesi planlanan bu bileşiklerin önce hücre kültürü çalışmaları ile etkilerinin tespit edilmesi ve ardından in vivo çalışmaların yapılması planlanmaktadır.

Bu amaçla, ilk olarak Akut Myeloid Lösemi (AML) hücrelerinde yapılacak olan hücre kültürü çalışması ile kaspaz -3 ve -8 enzimlerinin ölçümü yapılarak bileşiklerin apoptotik etkileri tespit edilecektir. Aktif olanların apoptozis ve anjiyojenez için etkili bir uyaran olan kronik bacak iskemisi modeli üzerine etkileri araştırılacaktır. Bileşiklerin apoptozise olan etkilerinin değerlendirilmesi için kas dokusunda kaspaz -3, -8 ve -9 enzimlerinin ölçümü, anjiyojeneze olan etkilerinin değerlendirilmesi için ise kas dokusunda ve serumda VEGF düzeylerinin saptanması planlanmıştır. Ayrıca bu bileşiklerin oksidatif hasar oluşumunu araştırmak amacı ile kas dokusunda antioksidan enzimlerden katalaz (CAT) enzim aktivitesi ve serbest radikal temizleyici Glutatyon (GSH) düzeylerinin tayin edilmesi amaçlanmıştır. Son aşamada kas dokusunda alınan kesitlerde kapiler damar sayımı yapılarak bileşiklerin antianjiyojenik etkileri değerlendirilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri

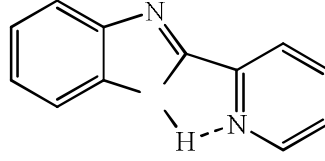
Benzimidazol halkası, benzen ve imidazol halkalarının kaynaşmasından oluşmuş bir halka sistemidir. Benzimidazol halka sistemi iki farklı yapıda azot atomuna sahiptir (Formül 13). Bu halka sisteminde numaralandırmaya üzerinde hidrojen atomu taşıyan ve “imino azotu” veya “pirol azotu” olarak adlandırılan azot atomuna bir numara verilerek başlanır. İmino azotunun taşıdığı hidrojen atomu ise, “imino hidrojeni” olarak adlandırılır. Numaralandırmaya tersiyer yapıdaki “piridin azotu” ya da “tersiyer azot” olarak tanımlanan azot atomuna 3 numara verilerek devam edilmektedir (24).



Formül 13

Benzimidazol türevi bileşikler genellikle yüksek erime ve kaynama noktasına sahip katı bileşiklerdir. Örneğin, benzimidazol molekülü 170°C’de erir. Bu bileşikler polar çözücülerde oldukça iyi, nonpolar çözücülerde ise az çözünürler ve polar çözücülerde serbest imino hidrojeni asosiyel halde bulunur. İmino hidrojeninin süstitüsüyonu ise kaynama ve erime noktalarını önemli ölçüde düşürür (24).

Benzimidazol halka sisteminin 2. konumuna bazı süstitüentler (hidrojen, metil, 2-piridil, 4-piridil, 2-kinolin ve 4-kinolin vb.) getirilip pKa değerleri incelendiğinde, 2-piridil türevinin en yüksek pKa değerine sahip olduğu ve bunun nedeninin piridin azotu ile benzimidazolün imino hidrojeninin, hidrojen bağı yapması (Formül 14) olduğu ileri sürülmüştür (25).



Formül 14

Elquero ve ark. (26) tarafından $^1\text{H-NMR}$ spektroskopisi ile yapılan bir çalışmada, 2. konumunda, heteroatom üzerindeki hidrojen ile intramoleküler hidrojen bağı yapabilen bir sübstitüentin bulunması halinde, proton değişme hızının yavaşladığı kanıtlanmıştır. Aynı çalışmada, ortama konsantre H_2SO_4 ilavesi ile benzimidazolium iyonu oluşturularak da bu sürecin büyük ölçüde yavaşlatılabildiği gösterilmiştir. H-2 protonu azot atomları üzerindeki her bir hidrojen ile etkileşerek triplet vermesi de bu görüşün kanıtı olarak sunulmuştur.

Benzimidazoller, bazik özelliği asidik özelliğinden daha baskın amfoterik karaktere sahip bileşikler olup, metallerle tuz oluştururlar. Bazik özellikleri, üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftini, reaksiyona girdikleri atom veya gruba verebilme özelliğinde olan tersiyer azot atomundan kaynaklanmaktadır (27). Benzimidazoller, asitlerle tuz oluşturma kabiliyetine sahip bazik bileşiklerdir.

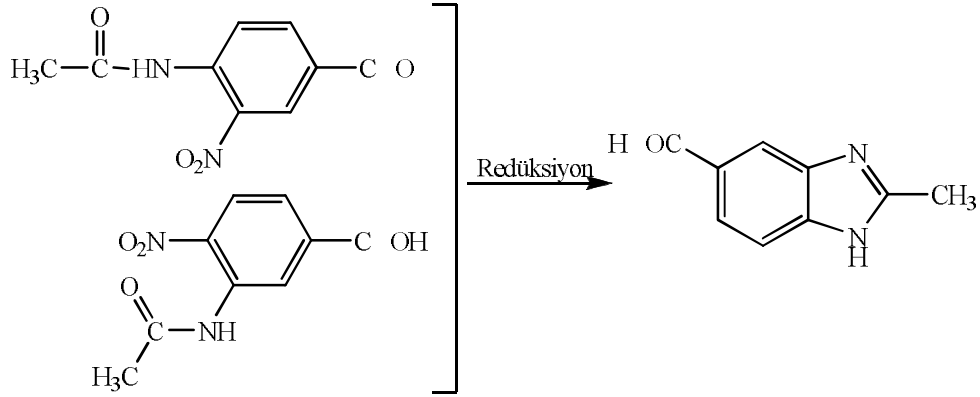
Rogers ve Clayton 1972 yılında yaptıkları bir çalışmada, benzimidazol halkasının asitlerle protonlandığında, floresans dalga boylarında kaymaların olduğunu göstermişlerdir (28).

Benzimidazol (pKa 5,5) imidazol'den (pKa 7,0) daha zayıf bir bazdır. Bu farklılık imidazol ve benzen halkaları arasındaki konjugasyondan kaynaklanmaktadır. Konjugasyondan dolayı rezonans nedeniyle halka dayanıklılığı artmakta ve böylece piridin azotunun bazik karakteri azalmaktadır. Benzimidazoller, asitler ve bazlara karşı oldukça dayanıklıdır ve oksitleyici bileşiklerden kolay etkilenmezler. Metilbenzimidazollerin permanganat ile oksidasyonu, benzimidazolkarboksilik asitleri verir. Ancak permanganat ile yapılan kuvvetli oksidasyon, benzimidazolün 4,5-imidazoldikarboksilik aside dönmesine neden olur (28).

Benzimidazoller asit özelliklerini ise, taşıdıkları imino hidrojeni ortama proton halinde vererek gösterir ve elektron çekici gruplar ile sübstitüe edilirse asit özellikleri artar (27). Kaynar sudaki benzimidazol çözeltisine AgNO_3 ilavesi ile suda az çözünen

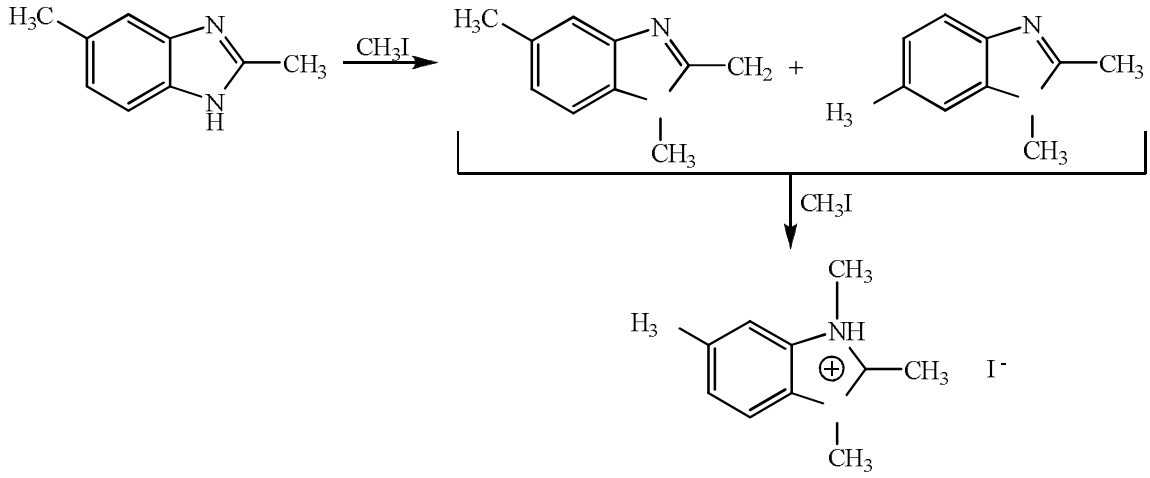
gümüş tuzu oluşur. Bu tuz seyreltik mineral asitlerde ve asetik asitte çözünür. Benzimidazollerin asidik karakterlerinin bir diğer göstergesi ise grignard bileşikleriyle reaksiyona girerek N-magnezyum halojenürleri vermesidir. Benzimidazollerin imino hidrojeninin süstitüsüyonu pseudo-asidik karakterini ortadan kaldırır. Örneğin, nitrobenzimidazoller, Na_2CO_3 veya sulu amonyak çözeltileri ile tuz oluşturacak kadar asidiktir.

Serbest imino hidrojeni içeren benzimidazoller, tautomerik sistemlerdir. Benzimidazollerin tautomerik karakteri göstermek amacıyla, Green ve Day (29) tarafından 1942 yılında yapılan çalışmada, 3-nitro-4-asetamido-benzoik asit ve 4-nitro-3-asetamidobenzoik asitin redüksiyonu ile tek ve aynı benzimidazol elde etmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 1).



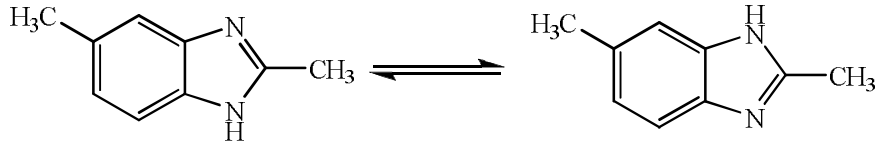
Reaksiyon Denklem 1

Benzimidazollerin tautomerizmi, nötral şartlarda da oluşmaktadır. Yine Green ve Day (29)'ın yaptıkları bir diğer çalışmada, 2,5-dimetilbenzimidazol, metiliyodür ile reaksiyona sokulduğunda 1,2,5-trimetilbenzimidazol ve 1,2,6-trimetilbenzimidazolü, ayrı ayrı elde ettiklerini ve her iki izomer tekrar metil iyodür ile kuaternize edildiğinde tek bir türeve ulaştıklarını bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 2).



Reaksiyon Denklemi 2

5(6)-Metilbenzimidazol gibi simetri düzlemi içermeyen türevlerin iki farklı izomer formuna sahip olması imino azotundan kaynaklanmaktadır. Bu tip bileşiklerde kesin yapıyı tanımlamak mümkün olmayabilir. Reaksiyon Denklemi 3’de görüldüğü gibi 5-metilbenzimidazol, 6-metilbenzimidazolün tautomerik formudur. Aynı durum, 4(7)-süstitüe benzimidazoller ile de örneklenebilir (30).



Reaksiyon Denklemi 3

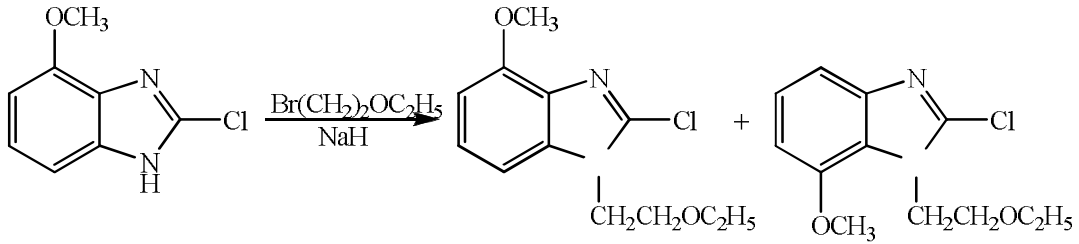
Benzimidazol ve simetri düzlemi içeren türevlerin tautomerik formları ise birbirinin aynıdır ve kesin bir yapı belirlemek mümkündür. Örneğin; 2-metil, 5,6-dimetil ve 4,7-dimetil benzimidazol simetri düzlemine sahiptir. Benzimidazolün, benzen halkası üzerinde simetri düzlemini bozacak şekilde süstitüent taşıması halinde, imino hidrojeni süstitüe edilecek olursa, iki farklı izomer karışımı elde edilmektedir (24).

Benzen üzerindeki süstitüent karakteri azot üzerindeki süstitüsyonu etkilemekte ve genellikle farklı verimlerde izomerler elde edilmesine neden olmaktadır. Benzimidazol halkasının 4. konum süstitüentleri, önemli ölçüde elektrostatik, termodinamik ve sterik

etkilere sahip fakat 5. konumdaki süstitüentlerde bu etkilerin yeterince baskın olmaması nedeniyle, izomer oluşum oranının değıştiği bildirilmiştir (31). Arnau ve ark. (32) tarafından benzimidazolün 5(6). konum süstitüentlerinin tautomerik denge üzerinde az bir etkisi olması nedeni ile bu tip süstitüentler varlığında, hemen hemen eşdeğer miktarda regioizomerlerin oluştuğu bildirilmiştir.

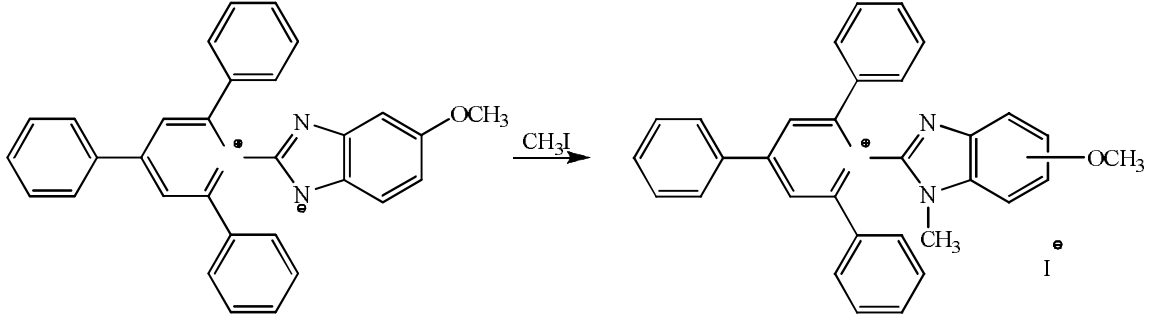
2-Furil ya da tiyenil süstitüe benzimidazol türevlerinin DMSO içinde tautomerizm gözlenirken, 2-fenil benzimidazolde gözlenememesinin, molekülde heteroaril grupların varlığında –NH asiditesinin artmasına bağlı olabileceği bildirilmiştir (33).

Iemura ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, 2-kloro-4-metoksi-benzimidazolün imino hidrojeninin süstitüsyonu ile 2-kloro-1-(2-etoksietil)-4-metoksi-1*H*-benzimidazol ve 2-kloro-1-(2-etoksietil)-7-metoksi-1*H*-benzimidazol yapıları elde edilmiş (Reaksiyon Denklemi 4) ve bu izomerler kolon kromatografisi ile ayrılmıştır (34).



Reaksiyon Denklemi 4

2,4,6-Trifenilpiridinyum benzimidazolat (iç tuz) ile metil iyodürden hareketle elde edilen izomer karışımı kristalizasyonla ayrılmaya çalışıldığında, 6-metoksi izomer saf olarak elde edilebilmiş, ancak 5-metoksi izomeri için bunun mümkün olmadığını Alcalde ve ark. (35) tarafından yapılan çalışmada bildirilmiştir (Reaksiyon Denklemi 5). Aynı araştırmacı grubu, bu çalışmaya benzer şekilde elde ettikleri izomer karışımını kristalizasyon tekniği ile ayrı ayrı saf olarak elde ettiklerini bildirmişlerdir (36). Başka bir çalışmada ise, sentez sonucunda elde edilen izomer karışımının, ancak preparatif ince tabaka kromatografisi (İTK) ile ayrılabildeği bildirilmiştir (32).



Reaksiyon Denklemi 5

Katritzky ve Rachwal (37) alışıl gelmiş alkilasyon şartlarında karşılaşılan izomer sorununu çözümlmek için, 5-nitrobenzimidazol üzerinden selektif alkilasyon ile 1-metil-5-nitrobenzimidazol ve 1-metil-6-nitrobenzimidazol regioizomerlerinin ayrı ayrı elde edilebileceğini bildirmişlerdir.

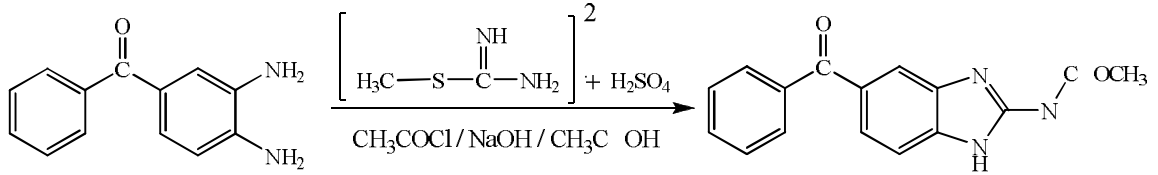
2.2. Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri

Benzimidazol türevi bileşikler sentez yöntemlerinde çoğunlukla *o*-fenilendiamin ya da *o*-fenilendiamini verecek süstitüe türevlerin uygun karboksilik asit veya aldehit türevleri ile reaksiyonu sonucu gerçekleştirildiği literatürde yer almaktadır.

2.2.1. 2-Süstitübenzimidazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri

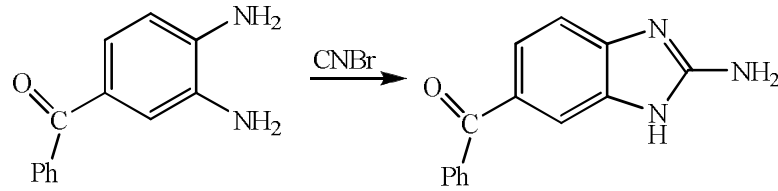
2-Süstitübenzimidazol türevlerinin genel sentez yöntemleri incelendiğinde *o*-fenilendiaminler ile açılmış *o*-nitroarilaminlerden (27,38,39), karboksilik asitler, asit anhidritleri, esterler ya da amidlerden (27, 29, 40-64), nitrillerden (65-69), iminoeterlerden (70-73), aldehit ya da ketonlardan (54, 58, 74-97) hareketle yapılan reaksiyonların literatürde en çok rastlanan yöntemler olduğu görülmektedir. Bu genel sentez yöntemlerin dışında literatürde rastlanan diğer yöntemler ise şunlardır:

a) *o*-Fenilendiaminler ile 2-metiltiyopsödoüre sülfat ve metilkloroformat karışımının bazik ortamdaki reaksiyonu sonucu 1*H*-benzimidazol-2-karbamatlar elde edilmiştir (Reaksiyon Denklemi 6) (98).



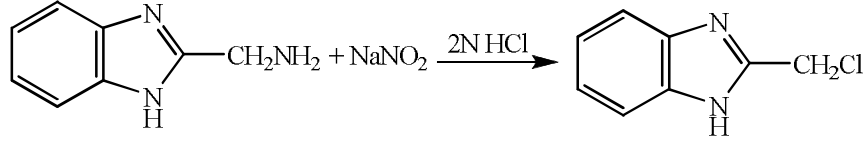
Reaksiyon Denklemi 6

b) 3,4-Diaminobenzofenon ile siyanojenbromür sulu ortamda muamele edildiğinde, 2-amino-5(6)-benzoil-1*H*-benzimidazol bileşiğinin sentezlendiği bildirilmiştir (Reaksiyon Denklemi 7) (99).



Reaksiyon Denklemi 7

c) 1970 yılında Chub ve ark. (100), yayınladıkları bir çalışmada 2-klorometilbenzimidazol sentezi için farklı bir yöntem bildirmişlerdir. Bu yöntemle göre, 2-aminometilbenzimidazol dihidroklorür ile sodyum nitritin sulu çözeltisinin 2 N hidroklorik asit varlığında -10 °C' de reaksiyonu sonucu 2-klorometilbenzimidazolün elde edildiği bildirilmiştir (Reaksiyon Denklemi 8).

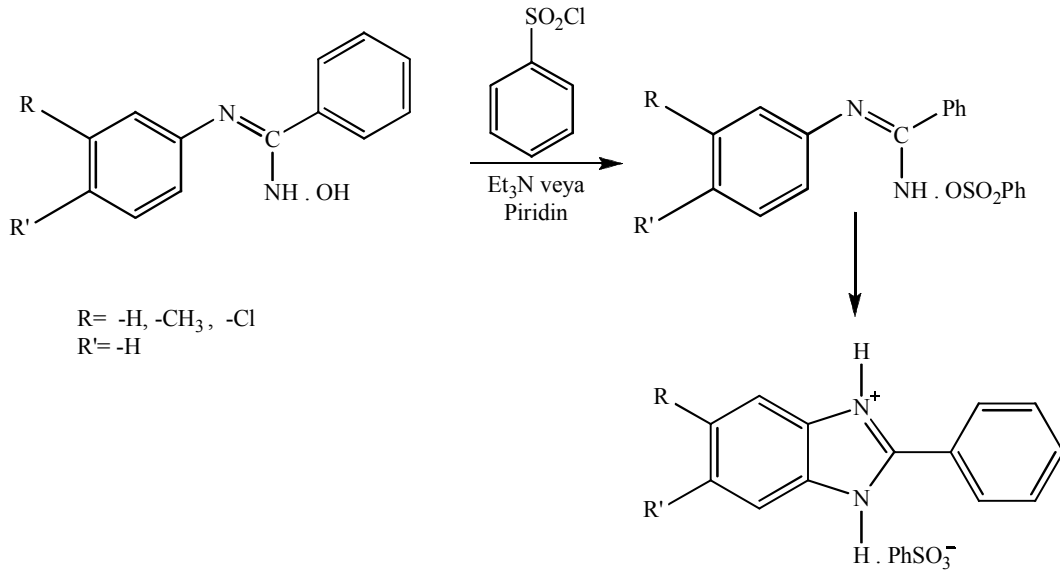


Reaksiyon Denklemi 8

d) Lane (101), 1953 yılında yayınlanan bir çalışmada, amonyum benzoat ve *o*-fenilendiaminin gliserol içerisinde reaksiyona girmesiyle, 2-fenilbenzimidazol'ü sentezlediğini bildirmiştir.

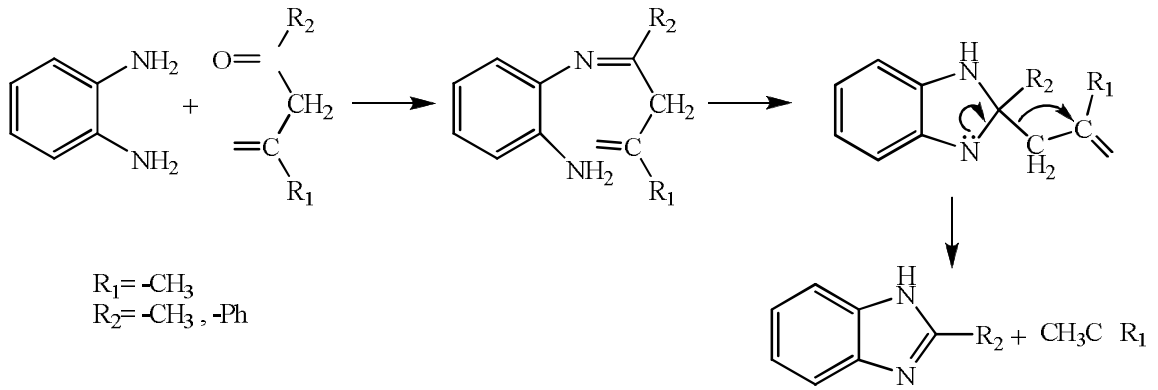
e) Thomas ve Tyler (102) tarafından yapılan bir çalışmada 2-arilbenzimidazollerin, aromatik diaminler ile imidat hidroklorürlerin metanol içinde ısıtılması ile elde edildiği bildirilmiştir. Ayrıca bu yöntemin 2-alkilbenzimidazoller için, özellikle *o*-fenilendiaminin 4 nolu konumunda elektrofilik süstitüent taşıması durumunda kullanışlı bir yöntem olmadığını açıklamışlardır.

f) 1958 yılında Partridge ve Turner (103) tarafından yapılan bir çalışmada, 5-süstitüe-2-fenilbenzimidazollerin, N'-aril-N-hidroksiamidin ile benzensülfonil klorürün tersiyer bir baz varlığında (piridin veya trietilamin) susuz ortamda, reaksiyonu ile elde edildiği bildirilmiştir (Reaksiyon Denklemi 9). Bileşiklerin benzensülfonat tuzlarının da elde edildiği literatürde kayıtlıdır.



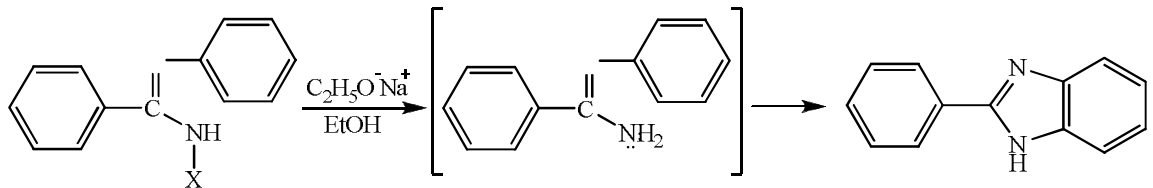
Reaksiyon Denklemi 9

g) 1959 yılında Barltrok ve ark. (104) 1,5-benzodiazepinler ve 3,6-diaza-4,5-benzotropon türevleri üzerinde çalışırken yan ürün olarak 2-fenilbenzimidazol'ü sentezlediklerini bildirmişlerdir. Çalışmacılar, 2-fenilbenzimidazol'ü benzilidenasetil-asetat ile benzen içindeki o-fenilendiaminin piperidin ile 4 saat ısıtılması ile elde ettiklerini belirtmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 10).



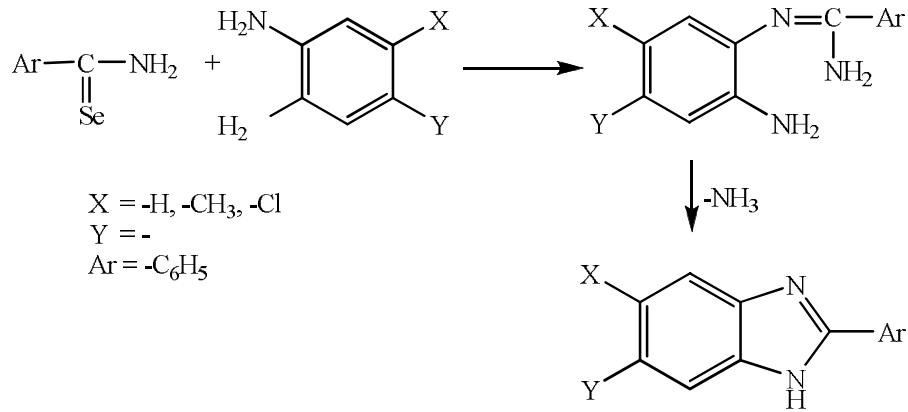
Reaksiyon Denklemi 10

h) 1968 Yılında Haruki ve ark. (105) yayınladıkları bir çalışmada N-arilhaloamidinleri etanollü ortamda sodyum etoksit ile reaksiyona sokarak 2-fenilbenzimidazol'ü elde ettiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 11).



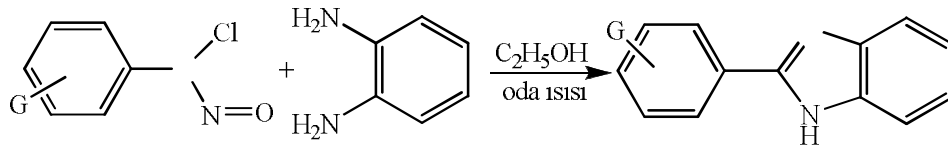
Reaksiyon Denklemi 11

i) Cohen (106) 1979 yılında yayınlanan bir çalışmasında, aromatik selenoamidler ile substitüe o-fenilendiaminleri, toluen veya piridin içerisinde kaynatarak 2-arilbenzimidazollerini elde ettiğini bildirmiştir (Reaksiyon Denklemi 12).



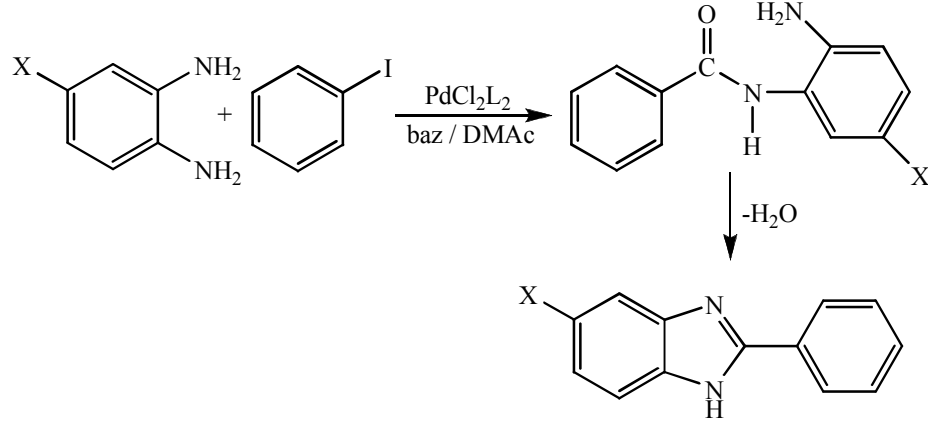
Reaksiyon Denklemi 12

j) 1988 yılında Abdelhamid ve ark.(107) tarafından yayınlanan bir çalışmada sübtitüe hidrosimoil klorürler ile bazı o-sübtitüe aromatik aminlerden hareketle 2 numaralı konumdan aril grupları ile sübtitüe edilmiş benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol yapısındaki bileşiklerin sentez edildiği bildirilmiştir (Reaksiyon Denklemi 13). Bu metodun uygulanması ile o-sübtitüe aromatik aminlerin asit klorürleriyle kondenzasyonu ile yürütülen reaksiyonlardan daha yumuşak şartlarda ve daha yüksek verimle ürün elde edildiği bildirilmiştir.



Reaksiyon Denklemi 13

k) 1993 yılında Perry ve Wilson (108), 2-fenilbenzimidazol türevlerini 4-sübtitüe-o-fenilendiamin ile iyoda benzeni PdCl_2L_2 (L=trifenilfosfin) katalizörlüğünde kuvvetli bir baz ve N,N-dimetilasetamit (DMAC) içerisinde elde ettiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 14).



Reaksiyon Denklemi 14

2.3. Mikrodalga ve Organik Bileşiklerin Sentezinde Mikrodalga Kullanımı

Mikrodalga; elektromanyetik spektrumda 300 ila 300.000 MHz aralığında yer alan, elektromanyetik dalgalar şeklinde yayılan, ışık hızında hareket eden, nükleer ve iyonize olmayan ışımalardır (Çizelge 1). Bir mikrodalga fotonunun enerjisi 0,037 kcal/mol'dür ve bu enerji en zayıf kimyasal bağ çeşidi olan hidrojen bağı koparmak için gereken enerjiden (10,12-0,92 kcal/mol) daha düşük bir seviyededir (109-111). Bu sebepten ötürü mikrodalga ışınları moleküllerin kimyasal yapılarını bozmayıp ancak moleküllere çeşitli hareketler kazandırır (109-111).

Mikrodalga enerjisini absorbe eden moleküllerde dipol rotasyon ve iyonik kondüksiyon hareketlerinde değişimler meydana gelir. Bu değişim mekanizmalarından dipol rotasyonda meydana gelen değişimleri, polar moleküllerin mikrodalga ışımasının etkisiyle iki yönlü ve hızlı bir şekilde hareket ettikleri ileri sürülmektedir (112-113). Bu hareket sonucunda moleküller birbirlerine sürtünerek ısınır ve elektrik alanında rotasyon hareketleri yardımıyla dipol moleküllerde enerjinin dengeli olarak dağıldığı bir sıralama meydana getirirler.

Çizelge 2.1. Elektromanyetik Spektrumda yer alan ışıma çeşitleri, özellikleri ve kimyasal bağlar ve enerjileri

İşıma Çeşidi	Frekans (MHz)	Quantum Enerjisi (kcal/mol)	Kimyasal bağ çeşidi	Kimyasal bağ enerjisi (kcal/mol)
Gama ışınları	3.0×10^{14}	$2,85 \times 10^7$	C-C tekli bağ	83,03
X ışınları	3.0×10^{15}	$2,85 \times 10^8$	C-C çifte bağ	146,05
UV ışınları	1.0×10^9	90,43	C-O tekli bağ	86,02
Görünür Bölge	6.0×10^8	57,50	C-O çiftli bağ	177,33
Kızılötesi	3.0×10^6	0,063	C-H bağ	98,44
Mikrodalga	2450	0,037	O-H bağ	110,40
Radyo dalgaları	1	$2,11 \times 10^{-8}$	Hidrojen bağ	10,12-0,92

İyonik kondüksiyon olarak tanımlanan ikinci mekanizmada ise iyonlar, içerisinde buldukları çözücüde meydana gelen elektrik alanının etkisiyle hareketlerini arttırlar. İyonların bulunduğu ortamda çarpışma oranları arttığından dolayı kinetik enerjileri ısıya dönüşüp yer değiştirme hareketleri artar.

Mikrodalga yöntemi ile aynı reaksiyon şartlarında distile su ve tuzlu su ile yapılan iki ayrı çalışmada, tuzlu su ile gerçekleştirilen reaksiyonda daha yüksek sıcaklıklara çıkılabildiği ve daha hızlı bir ısınma sağlandığı görülmüştür. Bu da iyonik kondüksiyonun kimyasal reaksiyon hızını arttırdığının net bir göstergesidir (114).

Konvansiyonel yöntemle ısıtma yapılan sentezlerde bir kap içerisindeki madde önce ısı kaynağı üzerine yerleştirilir. Isı başlangıçta kabın yüzeyini etkiler ve ısınma süresinde kabın dış yüzeyi ısının belli bir kısmını emer. Kabın yüzeyi ısındıktan sonra kabın yüzeyine yakın moleküller, ardından kabın iç tarafındaki moleküller ısıdan etkilenmeye başlarlar. Bu iletim mekanizmasında reaksiyona girecek maddelerin istenilen sıcaklığa gelmesi uzun bir süre alır. Ayrıca reaksiyon ortamında ısının homojen bir dağılım göstermesi oldukça zordur ve bu homojen dağılımın gerçekleşmesi için oldukça uzun bir süreye ihtiyaç olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Tüm bunlara ilave olarak bu şartlarda gerçekleştirilen reaksiyonların veriminin de düşük olduğu literatürlerde kayıtlıdır (115).

Mikrodalga ışıması ile ısıtma yapılan çalışmalarda ise ışınlar direkt olarak moleküllere etki ederek ısınmayı sağlarlar. Bu ısınmayı moleküler hareketlenmeyi arttırarak

gerçekleştirirler (dipol rotasyon ve iyonik kondüksiyona etki ederek). Bu şekilde lokalize ve etkin bir ısınma gerçekleştirilir. Mikrodalga yönteminde kabın yüzeyi ısıtılmadığı için ısı kaybı minimum düzeydedir ve reaksiyon maddeleri istenilen sıcaklığa hızlı bir şekilde ulaşır. Bu hızlı, etkin ve homojen ısınma sonucunda yapılan kimyasal reaksiyonlarda reaksiyon hızı ve verimi konvansiyonel yöntemle ısıtmaya nazaran yüksek olur (116).

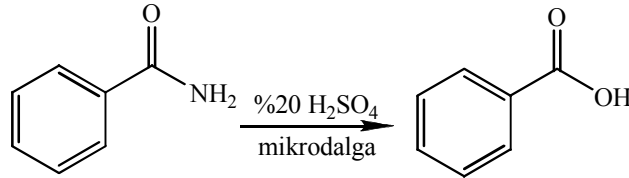
Kimyasal bir reaksiyonun gerçekleşmesi için reaksiyona giren maddelerin geçiş durumu enerji seviyesine çıkması gerekir. Bunun için gerekli enerji miktarı aktivasyon enerjisi olarak tanımlanır. Mikrodalga yardımı ile yapılan kimyasal çalışmalarda, reaksiyonu hızlandıran temel faktör bu enerji seviyesine geçme süresinin kısalması ile aktivasyon enerjisine erişim hızının artması şeklinde özetlenebilir.

Mikrodalga ile yapılan sentezlerde konvansiyonel yöntemle yapılan sentezlerden daha saf ürünler elde edilmektedir. Ayrıca bir reaksiyonu gerçekleştirmek için gerekli reaksiyon şartları daha kısa sürede optimize edilebildiği gösterilmiştir (117). Çünkü bu yöntemle çok kısa sürede çok hızlı ve etkin bir şekilde farklı metotlar denenebilir ve reaksiyon şartları hızla optimize edilebilir. Konvansiyonel yöntemle sentezi gerçekleştirildiğinde verimi düşük olan ya da bu yöntemle yürümeyen bazı reaksiyonlarda mikrodalga yardımıyla gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca mikrodalga yöntemiyle yapılan reaksiyonlarda çözücü ve katalizörlere olan gereksinim azalır ya da tamamen ortadan kalkabilmektedir. Sonuç olarak, mikrodalga ile yapılan sentezler konvansiyonel yöntemlere göre süre ve harcanan kimyasal madde miktarı bakımından daha ekonomik sentezler olduğu literatür çalışmalarına dayanarak söylenebilir.

Percy Spencer ilk olarak 1946 yılında mikrodalga enerjisini gıdaların ısıtılmasında kullanılabileceğini göstermiştir. Bu çalışmanın ardından 1950'li yıllarda çeşitli endüstri dallarında da mikrodalga enerjisinin kullanılabilecek teknik parçaların keşfedilmeye başlanıldığı görülmektedir (109, 118).

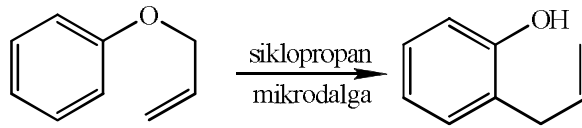
1950-1980 yılları arasında; analitik kimya (ayırıştırma, yakma, ekstraksiyon) biyokimya (protein hidrolizi ve sterilizasyonu), patoloji (doku fiksasyonu) ve medikal tedavilerde (doku diatermisi) mikrodalga ışınları kullanılmıştır. 1980'li yıllarda ise mikrodalga organik kimya sentezlerinde de kullanılmaya başlanıldığı görülmektedir (119).

Mikrodalga ile yapılan organik sentezlere ilk örnekler; 1986 yılında Gedye ve ark. ile Giguere ve ark.'ın çalışmalarıdır. Gedye ve ark. (120) %20'lik sülfirik asitli ortamda benzamitten hareketle benzoik asit elde etmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 15).



Reaksiyon Denklemi 15

Diğer çalışmada ise, Giguere ve ark. (121) siklopropanlı ortamda alliloksibenzenden hareketle 2-allilfenol bileşimini sentezlemişlerdir (Reaksiyon denklemi 16).



Reaksiyon Denklemi 16

Bu çalışmalardan sonra mikrodalga ile yapılan yayınların sayısının hızla arttığı literatürde görülmektedir. Bu çalışmalar günümüzde Mikrodalga Yardımlı Organik Sentez (*Microwave Assisted Organic Synthesis-MAOS*) adıyla organik kimyada bir çalışma dalının oluşmasına neden olmuştur.

Günümüzde mikrodalga yardımı ile kimyasal reaksiyonlar gerçekleştirilirken, ısıtma haricinde soğutma işlemi de uygulanabilir hale gelmiştir. Ayrıca bilgisayar yardımıyla reaksiyon şartları programlanabilmesi ve reaksiyonun sürecinin ayrıntılarıyla takip edilebilmesi de bu yöntemin diğer avantajları arasındadır.

MAOS çalışmaları başlangıçta, atmosfer basıncı altında ve ağzı açık kaplarda mikrodalga ile yapılan çalışmalar ile başlamıştır. Bu çalışmalarda reaksiyon ısısının kullanılan solvanın kaynama noktası ile sınırlandırıldığı görülmüştür. Bu nedenle yüksek ısı gerektiren reaksiyonlarda mikrodalga enerjisini absorbe eden yüksek kaynama noktalı

çözücüler tercih edildiği bildirilmiştir. Ancak bu duruma bağlı olarak yapılan sentez çalışmalarında başarı sağlanamamıştır. 1990 yılında Christopher R. Strauss (122) kimyasal reaksiyonların kapalı sistemde gerçekleştirip, ısı ve basıncın kontrol altına alınabildiği mikrodalga cihazlarının keşfini sağlayan çalışmalar yapmıştır. Bu keşiften sonra MAOS çalışmalarındaki sayının çok hızlı bir şekilde arttığı görülmüştür.

Benzimidazol halkası genel olarak *o*-fenilendiamin ile uygun karboksilik asitlerin HCl, PPA, borik asit, *p*-toluensülfonik asit gibi katalizörler aracılığı ile sentezlenmektedir. Ayrıca benzimidazol halkası *o*-nitroanilin türevlerinin indirgenme reaksiyonlarıyla da elde edilmektedir. Ancak tüm bu reaksiyonlar yüksek basınç altında ve uzun reaksiyon sürelerine ihtiyaç duymaktadır (123). Bu nedenle daha kolay ve pratik yollar keşfetmek için araştırmacılar yoğun çabalar harcanmıştır. Literatür incelendiğinde benzimidazol için yeni sentez yöntemlerinin geliştirildiği görülmektedir. Buna, 2-aminobenzamit ya da *o*-fenilendiaminle organik asitin FeCl₃/O₂ katalizliğinde Fe³⁺/Fe²⁺ redoks siklik eşleşme yaklaşımı örnek verilebilir (123).

Son yıllarda mikrodalga ile ısıtma ile çeşitli heterosiklik bileşiklerin sentezleri çözücülü ortamda olduğu kadar çözücsüz ortamda da gerçekleştirilebilmektedir. Genellikle 2-arilbenzimidazol türevi bileşikler, *o*-fenilendiaminle uygun karboksilik asitlerin güçlü dehidratasyon reaksiyonu ile sentezlenmektedir. *o*-fenilendiaminle aldehitlerin kullanımında ise genellikle oksidasyon ajanlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla, NO₂, benzokinon, Na₂S₂O₅ ve hava kullanılmaktadır (124). Aldehitlerin ticari olarak karboksilik asitlere göre daha kolay bulunabilmesi bu yönetime yönelimin artmasını sağlamıştır. Ancak bu reaksiyonlar genellikle 4-48 saat sürede ve %30-75 oranında verimle yürümektedir. Aynı reaksiyonların mikrodalga yardımıyla gerçekleştirilmesiyle basit ve ucuz, çevreci, kısa sürede sonuçlanan ve verimi yüksek sonuçlar elde edilmiştir (124).

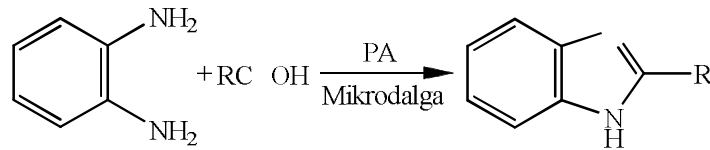
2.4. 2-Sübstitüe Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Mikrodalga Yardımıyla Genel Sentez Yöntemleri

Literatür çalışmaları incelendiğinde çok sayıda ve değişik yapılara sahip bileşiklerin mikrodalga yardımıyla sentezlendikleri görülmektedir. Grubumuzun çalışma konusunu teşkil eden 2-sübstitüe benzimidazoller üzerinde yine çok sayıda mikrodalga yöntemiyle yapılan sentez çalışmalarına literatürde rastlanmaktadır.

2.4.1 Uygun Karboksilik Asit Türevlerinden Hareketle

2.4.1.1. 1,2-Fenilendiamin Türevleri, Uygun Karboksilik Asit Türevleri ve PPA'lı Ortamda Sentezleri

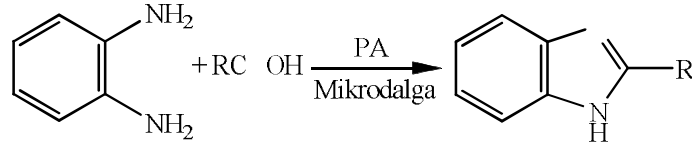
2002 yılında Lu ve ark. (123) tarafından yayınlanan bir çalışmada, 2 numaralı konumlarında metil, klorometil, etil, propil, bütül, pentil, fenil, 4-klorofenil, 4-metilfenil, 4-metoksifenil ve 2-hidroksifenil gruplarını taşıyan benzimidazol türevlerini *o*-fenilendiamin ve uygun karboksilik asitin PPA'lı ortamda mikrodalga yardımıyla % 39-88 verimle 6-8 dakika içerisinde elde ettiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 17). Bu kondenzasyon reaksiyonlarından en yüksek verimle 2-klorometilbenzimidazol'ü, en düşük verimle de 2-(2-hidroksifenil)benzimidazol'ü sentezlediklerini çalışmalarında ortaya koymuşlardır.



R= hidrojen, metil, klorometil, etil, propil, bütül, pentil, fenil, 4-klorofenil, 4-metilfenil, 4-metoksifenil ve 2-hidroksifenil

Reaksiyon Denklemi 17

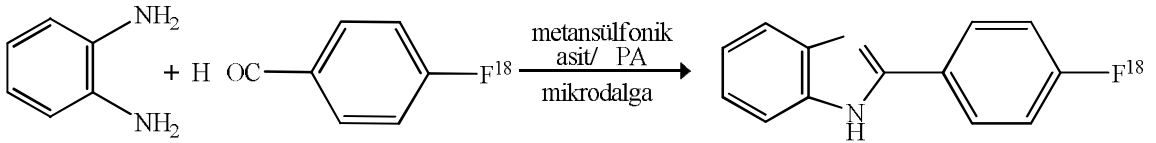
Yu ve ark. (125) 2003 yılında bazı 2-aril veya 2-heteroaril yapısı taşıyan benzimidazol türevi bileşiklerini iki ayrı yöntem ile sentezlediklerini bildirdikleri bir çalışma yayınlamışlardır. Konvansiyonel yöntem olarak bildirilen I. yöntem ile, *o*-fenilendiamin ve uygun karboksilik asitin PPA'lı ortamda 170-200°C'de ve 4-16 saat arasında değişen sürelerde ısıtılması ile reaksiyonları gerçekleştirmişlerdir. II. yöntemle ise mikrodalga yardımıyla aynı başlangıç maddeleri ve aynı ortamı kullanarak 200-270°C arasında değişen ısılarda ve 2-6,5 dakika arasında değişen sürelerde I. yönteme kıyasla çok daha yüksek verimlerle ürünler elde ettiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 18).



R= piridin-4-il, piridin-3-il, 2-fenilkinolin-4-il, pirazin-2-il, piridin-3-ilmetil, piridin-3-ilvinil, 4-oktilfenil, 4'-metilbifenil-4-il, 5'-metil-2,2'-bipiridin-5-il

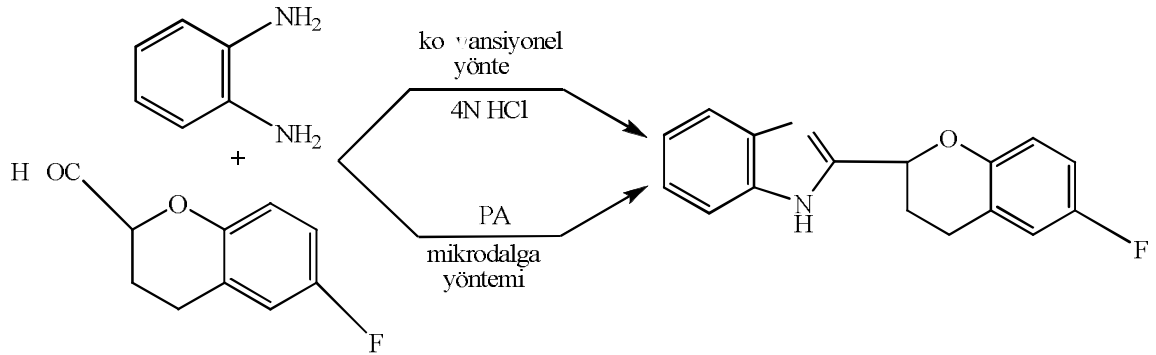
Reaksiyon Denklemi 18

o-Fenilendiamin ve [4-F¹⁸]florobenzoik asitten hareketle, PPA veya metansülfonik asit varlığında mikrodalga ışıması altında 2-[4-F¹⁸]florofenilbenzimidazol sentezi, Getvoldsen ve ark. (126) tarafından 2004 yılında gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar, PPA ile çalışmanın metansülfonik asitle yapılan çalışmaya göre daha zor olmasına rağmen, PPA ile daha yüksek verimde ürün elde ettiklerini yayınladıkları çalışmada ortaya koymuşlardır (Reaksiyon Denklemi 19).



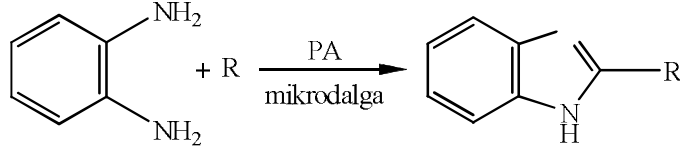
Reaksiyon Denklemi 19

Kumar ve ark. (127) 2006 yılında, antibakteriyel aktivitelerini belirlemek üzere bazı 2-(6-florokroman-2-il)-1-alkil/açıl/aryl-1*H*-benzimidazol türevlerine üzerinde yaptıkları bir çalışmada, *o*-fenilendiamin ve 6-floro-3,4-dihidro-2*H*-kroman-2-karboksilik asit bileşiklerinden hareketle 2-(6-florokroman-2-il)-1*H*-benzimidazol bileşimini konvansiyonel ve mikrodalga yöntemleriyle sentezleyerek bu iki yöntemi karşılaştırmışlardır. Konvansiyonel yöntemle başlangıç maddelerini 4N HCl içerisinde, 6 saatte geri çeviren soğutucu altında ısıtarak, mikrodalga yönteminde ise PPA'lı ortamda 3 dakikada aynı verimle (%85) ürünü elde ettiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 20).



Reaksiyon Denklemi 20

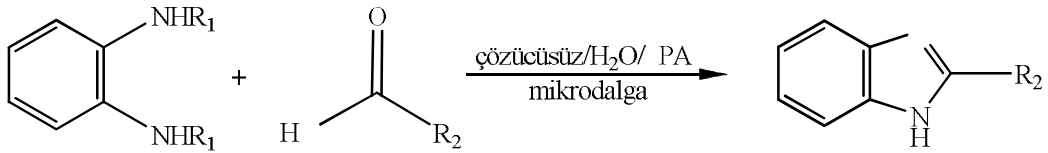
Rishipathak ve ark. (128) PPA varlığında 2-alkilbenzimidazol ve 2-arylbenzimidazol türevi bileşikleri *o*-fenilendiamin ve uygun karboksilik asit ya da amit varlığında mikrodalga ve konvansiyonel yöntemlerle sentezlediklerini 2007 yılında yayınladıkları bir çalışmada bildirmişlerdir. Konvansiyonel yöntemle bileşikler % 40-99 verimle elde edilirken mikrodalga yöntemiyle % 69-99 verime ulaştıklarını ve mikrodalga kullanımı ile yapılan reaksiyonlarda sürelerin büyük oranda azaldığını tespit edildiğini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 21).



R= formik asit, asetik asit, asetamit, fenilasetik asit, kloroasetik asit, hekzanoik asit, benzoik asit, benzamit, o-klorobenzoik asit, m-toluik asit, 2-(o-amino)fenil

Reaksiyon Denklemi 21

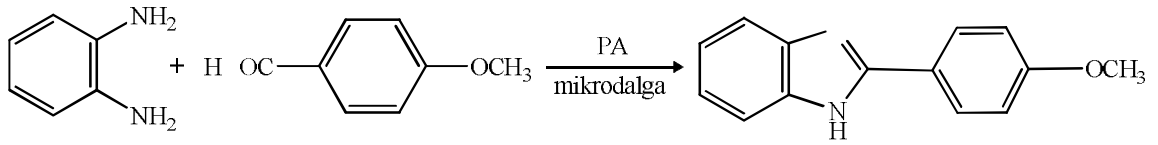
Dubey ve Moorthy (129), 2-metil, 2-fenil ve 4-aminofenilbenzimidazol türevlerini konvansiyonel ve mikrodalga yöntemleri kullanarak gerçekleştirdikleri sentez çalışmalarını, 2007 yılında yayınlamışlardır. Araştırmacılar bu iki sentez yöntemini karşılaştırdıklarında mikrodalga ile yapılan sentezlerde verimin % 10-50 arttığını, sürenin ise % 96-98 azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar sentezde *o*-fenilendiaminin tuz formu (*o*-fenilendiamin 2HCl) kullanıldığında veriminin azaldığı, sürenin de uzadığının tespit edildiğini çalışmalarında ortaya koymuşlardır (Reaksiyon Denklemi 22).



Reaksiyon Denklemi 22

R1	R2	Çözücü	Konvensiyonel Yöntem		Mikrodalga Yöntemi	
			Süre (saat)	Verim (%)	Süre (saniye)	Verim (%)
H	H	-	2	80,22	80	91,75
H·HCl	Metil	Su	0,75	47,90	80	89,01
H	Fenil	PPA	4	33,58	270	84,83
H·HCl	Fenil	PPA	4	33,58	480	82,44
H	4-Aminofenil	PPA	4	56,55	300	94,80
H·HCl	4-Aminofenil	PPA	4	56,55	520	94,23
H	4-Aminofenil	PPA	4	43,37	270	88,63
H·HCl	4-Aminofenil	PPA	4	43,37	390	87,84

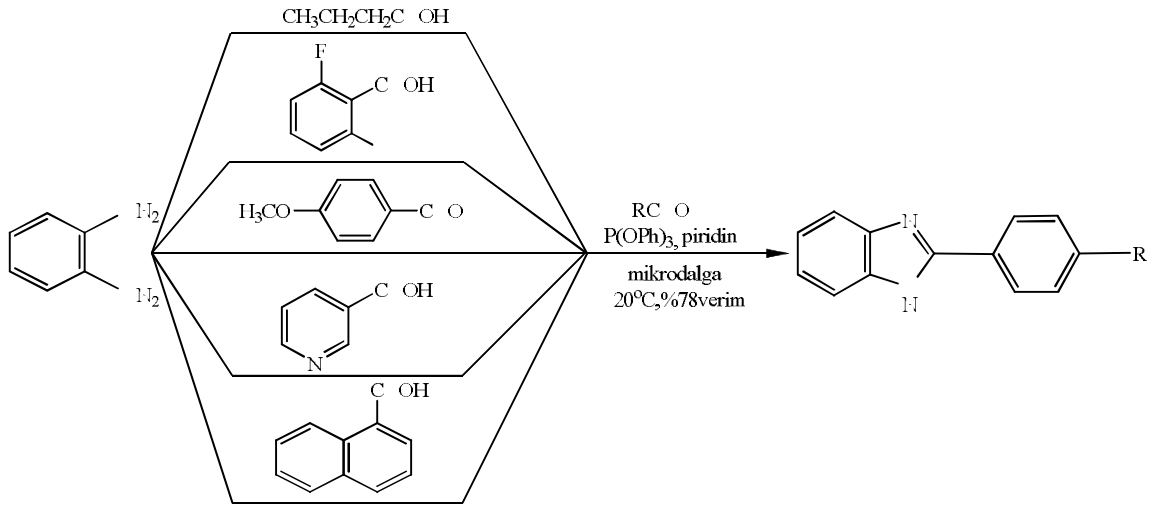
Arslan ve Algül (130), 2008 yılında yayınladıkları çalışmada 2-(4-metoksifenil)benzimidazol bileşimini, *o*-fenilendiamin ve 4-metoksibenzoik asitten hareketle PPA'lı ortamda mikrodalga yardımıyla 100 W'lık güç uygulayarak 8 dakikada sentezlemişlerdir (Reaksiyon Denklemi 23).



Reaksiyon Denklemi 23

2.4.1.2. 1,2-Fenilendiamin Türevleri, Uygun Karboksilik Asit Türevleri ve P(OPh)₃'lü Ortamda Sentezleri

Lin ve ark. (131), 2006'da yayınladıkları çalışmada *o*-fenilendiamin ve karboksilik asit türevleriyle P(OPh)₃'lü ortamda mikrodalga ışınması altında 2-süstitüe benzimidazol türevlerini oldukça yüksek verimlerde (%78-100) sentezlediklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 24).

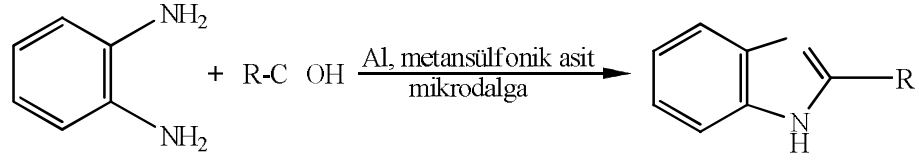


R= propil, 2,6-diflorofenil, 4-metoksifenil, naftalen-1-il, piridin-3-il

Reaksiyon Denklemi 24

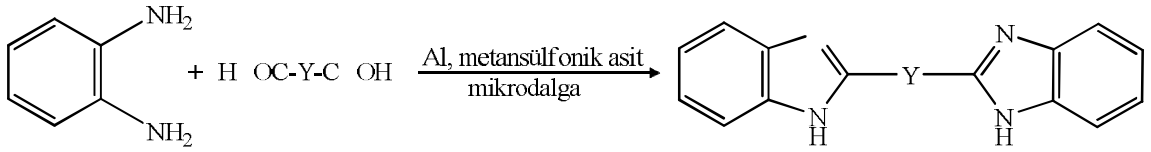
2.4.1.3. 1,2-Fenilendiamin Türevleri, Uygun Karboksilik Asit Türevleri, Alüminyum ve Metansülfonik asitli Ortamda Sentezleri

Nikham ve Fatehi-Raviz (132) 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada *o*-fenilendiamin ile uygun karboksilik asit türevlerinin alüminyum ve metansülfonik asit varlığında mikrodalga yardımıyla yaptıkları reaksiyonlar sonucu 2-süstitübenzimidazol türevi bileşikleri % 77-96 verimle elde etmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 25). Ayrıca aynı yöntem ile bisbenzimidazol türevlerini de % 74-85 verimle elde ettiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 26).



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

Reaksiyon Denklemi 25

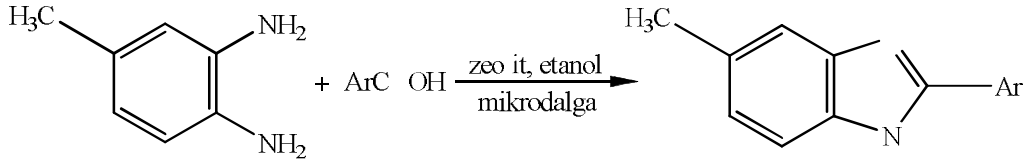


Y= CH₂CH₂, CH₂SCH₂, CH₂OCH₂, C₅H₃N, CH₂OC₆H₄OCH₂

Reaksiyon Denklemi 26

2.4.1.4. 4-Metil-1,2-Fenilendiamin, Uygun Aromatik Karboksilik Asit Türevleri, Etanol ve Zeolitli Ortamda Sentezleri

Mobinikhaledi ve ark. (133) 2007 yılında 2-aril benzimidazol türevi bileşiklerin sentezini 4-metil-1,2-fenilendiamin ve uygun karboksilik asitten hareketle zeolit katalizörlüğünde ve etanollü ortamda mikrodalga yardımıyla gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 27).

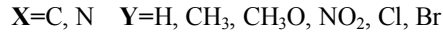
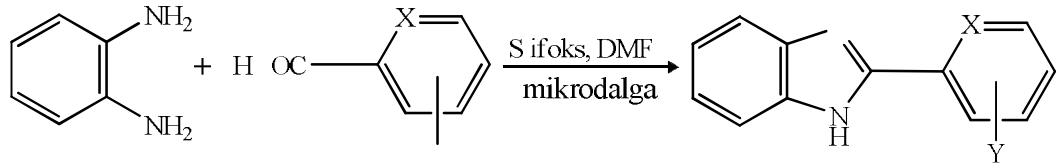


R= 3-nitrofenil, 4-nitrofenil, 4-klorofenil, 3-klorofenil, 4-metilfenil, 3-metilfenil, 4-metoksifenil, 4-bromofenil, 2-piridil

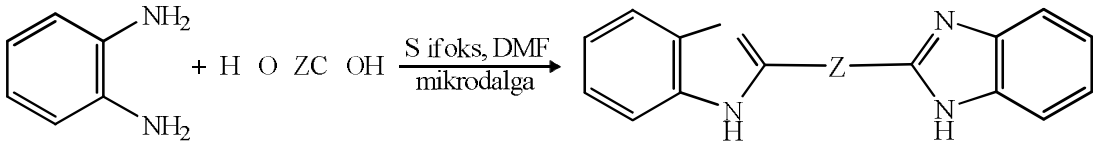
Reaksiyon Denklemi 27

2.4.1.5. 1,2-Fenilendiamin, Uygun Karboksilik Asit Türevleri, Silfoks ve DMF'li Ortamda Sentezleri

Hasaninejad ve ark. (134) 2009 yılında yayınladıkları bir çalışmada 2-sübstitüe benzimidazol türevi bileşiklerini *o*-fenilendiamin ve arilkarboksilik asit türevlerinden hareketle silfoks $[\text{POCl}_3\text{-n}(\text{SiO}_2)_n]$ ve birkaç damla DMF varlığında 400 W'lık mikrodalga ışınması altında 7-8 dakikada sentezlediklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 28). Aynı çalışmada silfoksun yanında zeolit, piridin/ SOCl_2 , $\text{In}(\text{OTf})_3$, Al-metansülfonikası, O_2 'li tüpte yapılan karşılaştırmalı çalışmada en uygun süre ve verimin silfokslu ortamda olduğu sonucuna varmışlardır. Araştırmacılar aynı çalışmada çeşitli bisbenzimidazol türevlerinin de sentezlerini başarı ile gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 29).



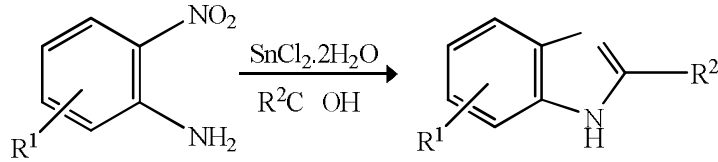
Reaksiyon Denklemi 28



Reaksiyon Denklemi 29

2.4.1.6. 2-Nitroanilin Türevleri, Uygun Karboksilik Asit Türevleri ve Kalay Klorür'lü Ortamda Sentezleri

VanVliet ve ark. (135) 2-nitroanilin ve uygun karboksilik asit türevlerinden hareketle SnCl₂'lü ortamda mikrodalga ile yapılan çalışmada 2., 4. veya 5. konumlarında mono/di/tri süstitüe benzimidazol türevlerini oldukça yüksek verimlerde sentezlediklerini, 2005 yılında yaptıkları çalışmada bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 30).

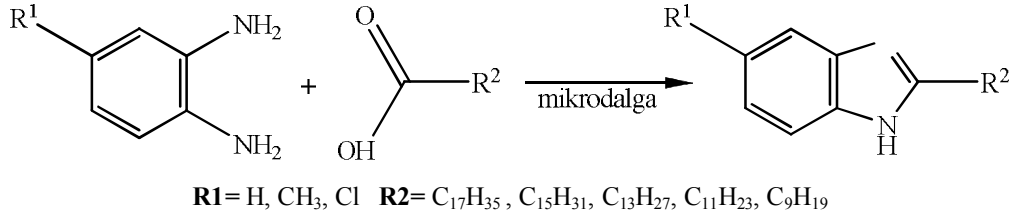


Reaksiyon Denklemi 30

R ₁	R ₂	Verim (%)	R ₁	R ₂	Verim (%)	R ₁	R ₂	Verim (%)
H	H	99	H	CH ₃	100	H	CF ₃	100
4,5-dimetil	H	87	4,5-dimetil	CH ₃	100	4,5-dimetil	CF ₃	100
5-OH	H	95	5-OH	CH ₃	86	5-OH	CF ₃	89
5-OCH ₃	H	99	5-OCH ₃	CH ₃	98	5-OCH ₃	CF ₃	72
5-COOH	H	60	5-COOH	CH ₃	86	5-COOH	CF ₃	45
5-CN	H	86	5-CN	CH ₃	100	5-CN	CF ₃	100
5-CF ₃	H	98	5-CF ₃	CH ₃	96	5-CF ₃	CF ₃	45
4,6-dikloro	H	99	4,6-dikloro	CH ₃	99	4,6-dikloro	CF ₃	96

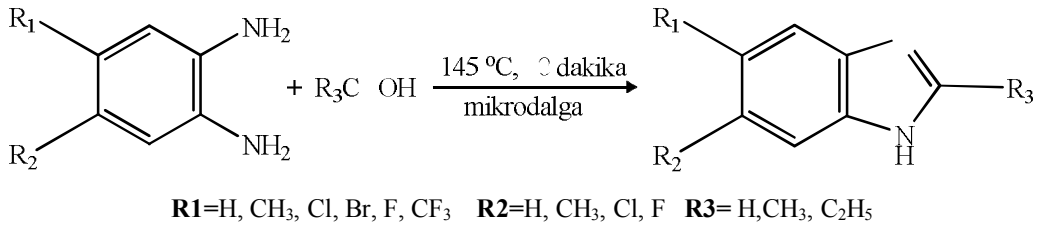
2.4.1.7. Çözücüsüz Ortamda 1,2-Fenilendiamin Türevleri ve Uygun Karboksilik Asitli Ortamda Sentezleri

Martínez-Palou ve ark. (136) 2005 yılında 2. konumunda uzun düz zincirli alkil gruplarını taşıyan benzimidazol türevlerini, *o*-fenilendiamin, 4-metil-*o*-fenilendiamin veya 4-kloro-*o*-fenilendiamini uygun yağ asitleriyle çözücüsüz ortamda mikrodalga ışıması altında yüksek verimle sentez ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında *o*-fenilendiamin türevleriyle uygun yağ asitlerinin bentonit, Al₂O₃ ve silikajelli ortamda yaptıkları çalışmalarda özellikle silikajelin kullanıldığı mikrodalga ışıması altındaki sentezlerin daha yüksek verimle (%76-92) gerçekleştiğini tespit etmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 31)



Reaksiyon Denklemi 31

Treu ve ark. (137) süstitüe-1,2-fenilendiamin ile formik asit, asetik asit ve propiyonik asitin direkt mikrodalga altında 145°C'de ortalama 20 dakikada % 55-95 verimle süstitüe benzimidazol türevlerini sentez ettiklerini 2008'de yayınladıkları bir çalışmada bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 32).



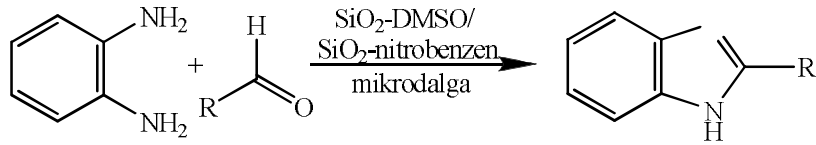
Reaksiyon Denklemi 32

2.4.2. Uygun Aldehit Türevlerinden Hareketle

2-Süstitüe benzimidazol türevlerinin sentezinde, *o*-fenilendiamin ve uygun aldehit türevleri ile yapılan kondensasyon çalışmalarında kullanılan ajanlar (nitrobenzen, bakır(II)asetat, kurşun asetat ve sodyum bisülfid) ve çözücüler, kuvvetli asidik ortamda dayanıksız yapılar için, uygun birer reaksiyon ortamı oluşturdukları literatürde kayıtlıdır (76,79, 80, 82, 92).

2.4.2.1. 1,2-Fenilendiamin Türevi Bileşikler ve Uygun Aldehit Türevlerinden Hareketle

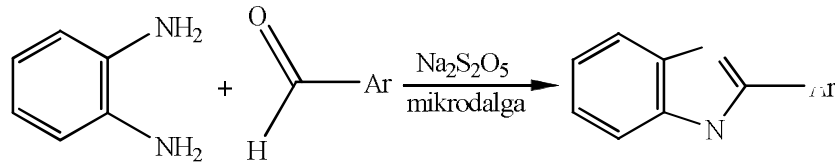
Ben-Alloum ve ark. (138) 1998 yılında yaptıkları bir araştırmada, 2-süstitüe benzimidazol türevlerini *o*-fenilendiamin ile uygun aromatik aldehitin SiO₂-DMSO ve SiO₂-nitrobenzen içerisinde mikrodalga enerjisi uygulanarak iki farklı metotla sentezlediklerini bildirmişlerdir. I. yöntemde SiO₂-nitrobenzenli ortamda 325 W'da 10 dk'da % 69-90 verimle bileşikler sentezlenirken, farklı olarak nitrobenzen yerine DMSO'nun kullanıldığı II. yöntemde yine 325 W'da fakat 4 dakika gibi daha kısa bir sürede tüm bileşikleri daha yüksek verimle (% 72-97) elde ettiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 33)



R= Fenil, 4-metilfenil, 4-metoksifenil, 4-klorofenil, 4-nitrofenil, 2-klorofenil, 2-hidroksifenil, 2-piperonil, 2-furanil, n-propil, etil

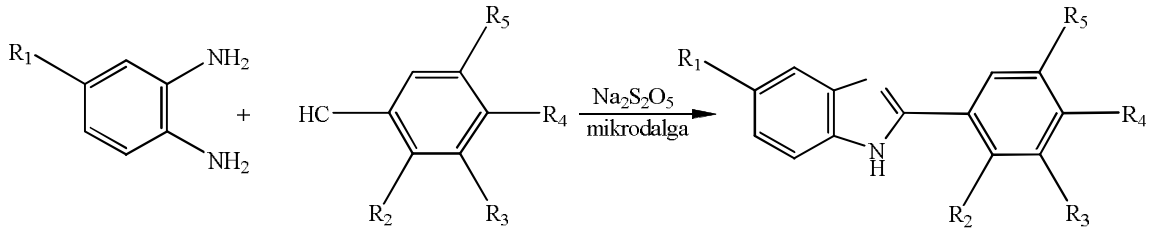
Reaksiyon Denklemi 33

Navarrete-Vázquez ve ark. (124,139) 2006 ve 2007 yılında yayınladıkları iki ayrı çalışmada 53 adet 5. ve 6. konumlarında -H, -CH₃, -CF₃ taşıyan 2-sübstitüefenil-1H-benzimidazol türevlerini uygun arilaldehitlerin bisülfid katım ürünlerinin o-fenilendiaminle reaksiyonu sonucu elde ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar konvansiyonel ve mikrodalga yöntemlerini kullanarak yaptıkları bu çalışmada 3-4 saatte konvansiyonel yöntemle elde edilen bileşiklerin, mikrodalga yöntemiyle 24-60 saniyede ve daha yüksek verimlerle sentezlediklerini bildirmişlerdir. Çalışmacılar sentezleri, 1 mmol o-fenilendiaminin ile 1,01 mmol aldehit ve sodyummetabisülfid kullanarak mikrodalga altında gerçekleştirdiklerini, konvansiyonel yöntemde ise farklı olarak mikrodalga kullanılmadan DMF’i reaksiyon ortamına dahil ettiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 34 ve 35).



Ar=2-(benziloksi)fenil, 2-(4-klorobenziloksi)fenil, 2-(4-metilbenziloksi)fenil, 4-piridil

Reaksiyon Denklemi 34



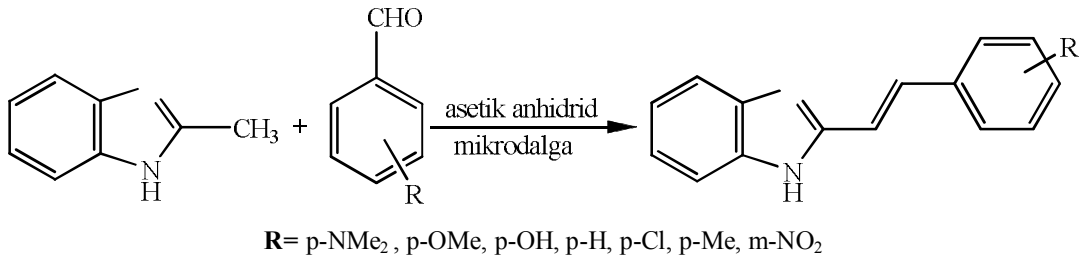
R₁=H, CH₃, CF₃ R₂=H, OH, OCH₃, OC₂H₅, OC₃H₇, NO₂ R₃=H, OCH₃

R₄=H, OH, OCH₃, N(CH₃)₂, R₅=H, OCH₃

Reaksiyon Denklemi 35

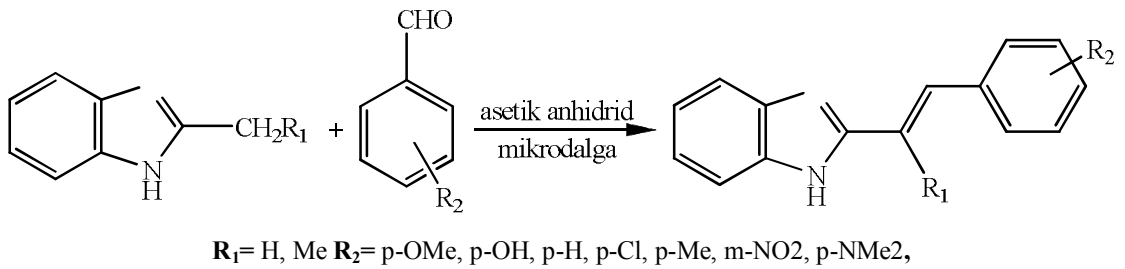
2.4.2.2. 2-Metilbenzimidazol Türevi Bileşikler ve Uygun Aromatik Aldehitlerden Hareketle

2-Stirilbenzimidazol türevi bileşiklerini, 2-metilbenzimidazol ve benzaldehit türevi bileşiklerin asetik anhidritli ortamda mikrodalga ışıması altında yüksek verimle elde ettiklerini Wang ve ark.'nın (140) 2003 yılında yayınlamışlardır (Reaksiyon Denklemi 36)



Reaksiyon Denklemi 36

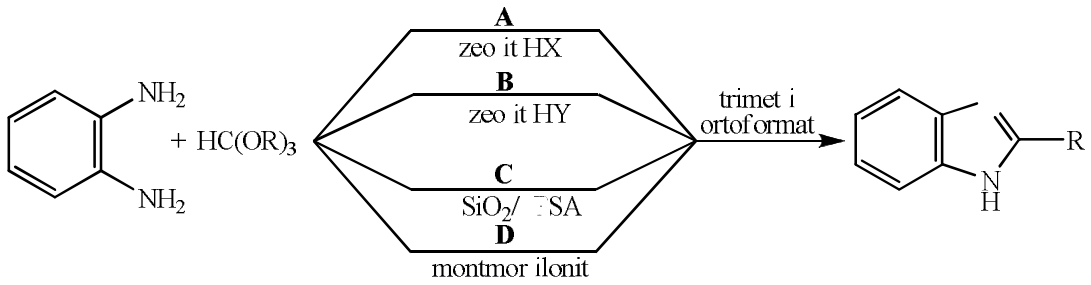
Aynı çalışma grubunun 2004 yılında yaptıkları benzeri bir çalışmada 2-metil ve 2-etil benzimidazol türevleri, para ve meta disüstitüe benzaldehit türevleriyle asetik anhidritli ortamda ve 162-700 W güç kullanılarak uygulanan mikrodalga yardımıyla %90'ların üzerinde verimle bileşikleri sentezlediklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 37) (141).



Reaksiyon Denklemi 37

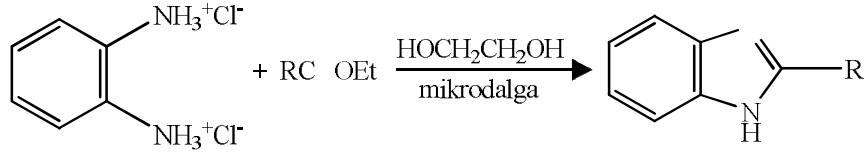
2.4.3. Uygun Esterlerden Hareketle

Hashtroudi ve ark. (142) 2-metil/etil/trifluorometilbenzimidazol türevlerini *o*-fenilendiamin ile trimetilortoformatın zeolit HX, zeolit HY, SiO₂/PTSA veya montmorillonit K-10 katalizörlüğünde mikrodalga yardımıyla aşağıda belirtilen verimlerde elde ettiklerini 2000 yılında yayınladıkları bir çalışmada bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 38).



R	Verim (%)			
	A	B	C	D
Metil	57	55	83	62
Etil	45	83	75	57

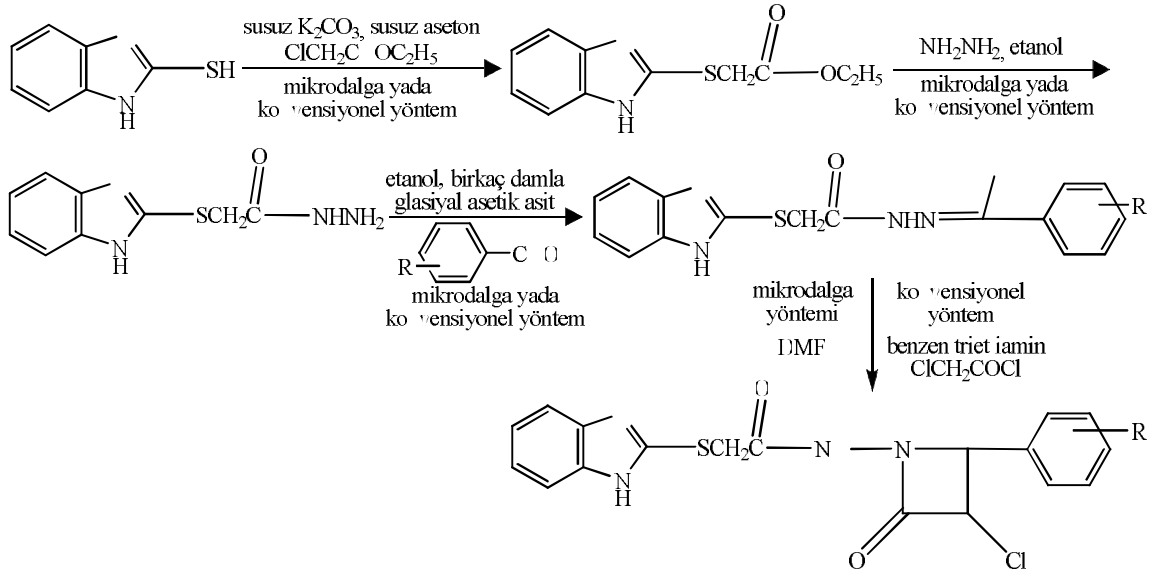
o-Fenilendiamin dihidroklorür ve uygun ester türevlerinin etilendiollü ortamda mikrodalga yardımıyla yapılan reaksiyonları sonucu %92-99 verimle 2-süstitübenzimidazol türevi bileşiklerin sentezlendiği 2006 yılında Jing ve ark. (143) tarafından bildirilmiştir (Reaksiyon Denklemi 39).



Reaksiyon Denklemi 39

R	Süre (saniye)	Verim (%)
ClCH ₂	90	95
CH ₃	90	>99
HOCH ₂	90	97
Et	90	>99
H	90	94
n-C ₃ H ₁₀	90	94
CH ₂ CO ₂ Et	90	92

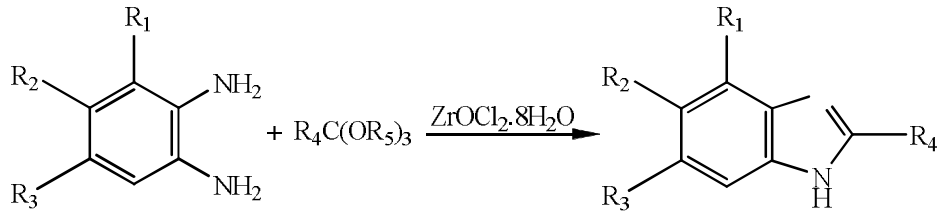
Desai ve Desai (144), 2006 yılında yayınladıkları bir çalışmada 2-(1*H*-benzimidazol-2-ylidene)-*N'*-2-(süstitüefenil)hidrazit türevi bileşikleri, benzimidazol-2-iyolden hareketle dört basamaktan oluşan reaksiyonlarla elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bileşikleri konvansiyonel ve mikrodalga yöntemleri kullanılarak sentezlediklerini ve konvansiyonel ve mikrodalga yardımcı bu yöntemlerden mikrodalga yardımıyla yapılan sentez basamaklarında reaksiyon verimlerinin yüksek, reaksiyon sürelerinin kısa olması nedeniyle çalışmalarını bu yöntem üzerinde yoğunlaştırdıklarını bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 40)



R= 4-NO₂, 3,4,5-(OCH₃)₃, 2-OH, 3-OH, 4-OH, 2-OCH₃, 4-OCH₃, 2-Cl, 3-Cl, 4-Cl

Reaksiyon Denklemi 40

Reddy ve Nagaraj (145) 2008 yılında yayınladıkları bir çalışmada, 1 mmol 1,2-fenilendiamin türevi bileşiklerle 7,2 mmol çeşitli ortoester türevlerinin 0,1 mmol ZrOCl₂.8H₂O varlığında mikrodalga yöntemiyle ve aynı oranlardaki başlangıç maddelerinin etanollü ortamda konvensiyonel yöntemle ısıtılması sonucu 2-sübstitüe benzimidazol türevi bileşikleri sentezlediklerini bildirmişlerdir. Bu yöntemlerden konvensiyonel yöntemde 1,5-6 saat arasında değişen sürelerde %62-80 verimle bileşikler elde edilirken mikrodalga yönteminde 5-10 dakikada %81-93 verimle elde edildiği yayında yer almaktadır (Reaksiyon denklemi 41).

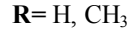
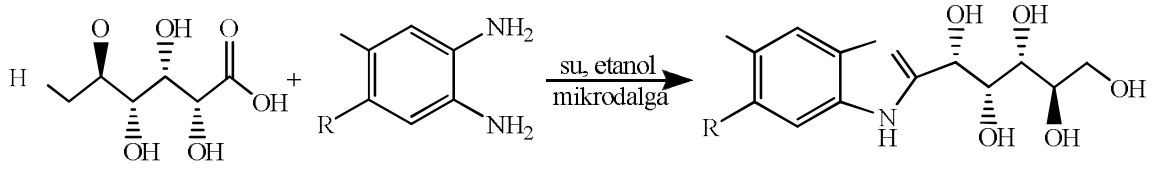


R₁= H, CH₃ R₂= H, CH₃, Cl, NO₂, R₃= H, CH₃ R₄= H, CH₃, C₄H₉ R₅= CH₃, C₂H₅

Reaksiyon Denklemi 41

2.4.4. Glikozdan Hareketle

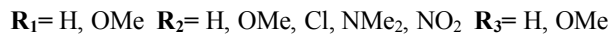
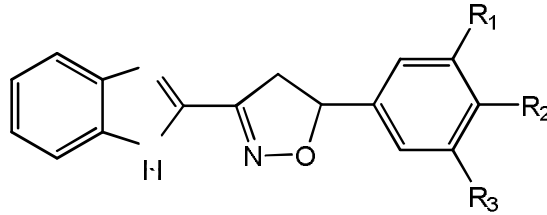
2007 yılında El Ashry ve ark. (146) tarafından yayınlanan bir çalışmada, D-glukonik asit ve 1,2-fenilendiamin veya 4,5-dimetil-1,2-fenilendiaminin etanol-sulu ortamda mikrodalga ışması altında 2-sübstitüe benzimidazol türevi iki bileşiğinin 1,5-2 dakikada %90 verimle elde ettiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 42).



Reaksiyon Denklemi 42

2.4.5. Kalkon Türevlerinden Hareketle

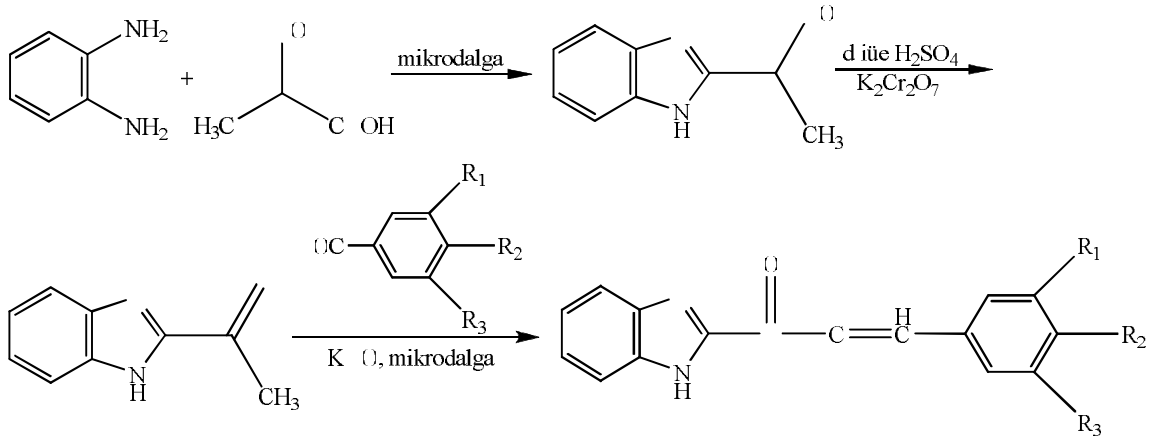
2006 yılında yayınlanan bir çalışmada Nyati ve ark. (147) 3-benzimidazolil-5-aril-2-izoksazolin türevi 7 bileşiği (Formül 15) uygun benzimidazolil kalkonun hidroksilamin HCl ile piridin içerisinde mikrodalga yardımıyla 2-5 dk'da yüksek verimlerle sentezlediklerini bildirmişlerdir.



Formül 15

Aynı çalışma grubunun 2006 yılında yaptıkları bir diğer çalışmada, 6 çeşit benzimidazolil kalkon türevi bileşiği 3 basamaklı reaksiyonla sentezlediklerini bildirmişlerdir (148). 1. basamakta *o*-fenilendiamin ve laktik asit, 3 dakikada 300 W

mikrodalga yardımıyla 2-(hidroksietil)benzimidazole dönüştüğü, daha sonra bu bileşiğin $K_2Cr_2O_7$ /sulu sülfürik asitle muamele ederek 2-asetilbenzimidazolü elde ettiklerini ve son basamakta da oluşan yapının aromatik aldehit türevleriyle %30'luk KOH'lı ortamda yine mikrodalga yardımıyla 5 dakikada benzimidazolil kalkon türevlerini sentezlediklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 43).

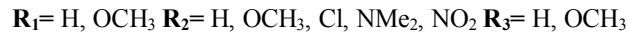
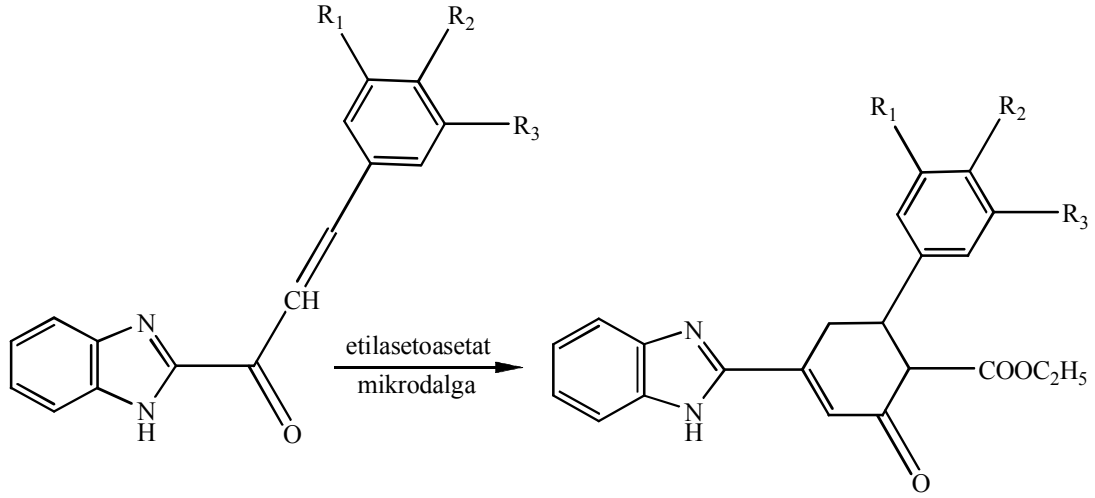


a($R_1=R_2=R_3=H$), **b**($R_1=R_3=H, R_2=OCH_3$), **c**($R_1=R_2=OCH_3, R_3=H$)

d($R_1=R_2=R_3=OCH_3$), **e**($R_1=R_3=H, R_2=Cl$), **f**($R_1=R_3=H, R_2=NMe_2$)

Reaksiyon Denklemi 43

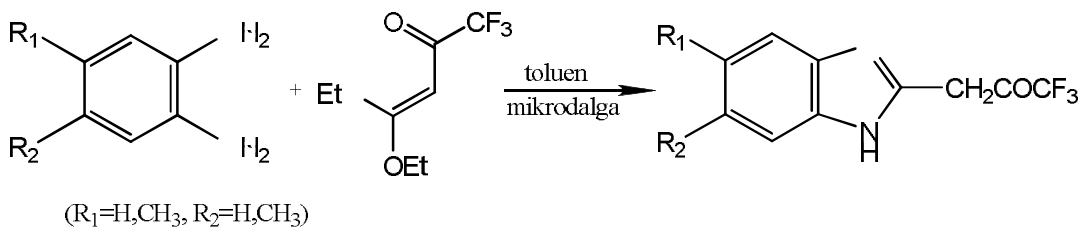
Aynı çalışma grubunun devam niteliği taşıyan diğer bir çalışmasında bir önceki çalışmada elde edilen benzimidazolil kalkon türevi sonuç ürününün etilasetoasetatlı ortamda mikrodalga ışınması altında 3-benzimidazolil-5-aril-sikloheks-3-en-2-on türevi 7 bileşiğin sentezini gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 44) (149).



Reaksiyon Denklemi 44

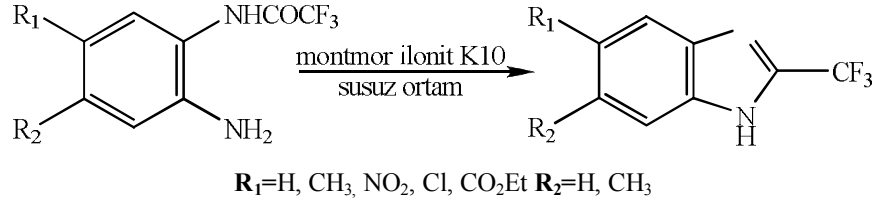
2.4.6. Farklı Gruplardan Hareketle

1997 yılında Reddy ve ark. (150) yaptıkları bir çalışmada 5-mono veya 5,6-disübstitüe-2-trifluoroasetonilbenzimidazollerini *o*-fenilendiamin ile trifluoroasetil keten dietil asetalin toluenli ortamda mikrodalga ile reaksiyona sokularak elde edildiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 45) (151).



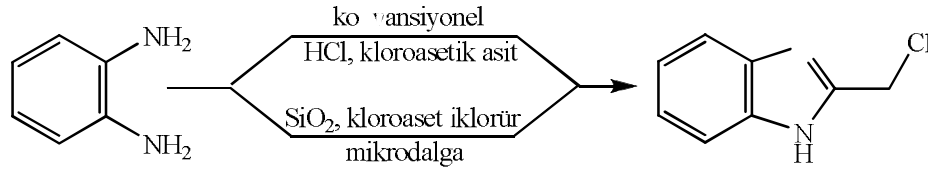
Reaksiyon Denklemi 45

Bougrin ve ark. (152) 2001 yılında yayınladıkları bir çalışmada 2-triflorometilbenzimidazol türevi bileşikler konvansiyonel ve mikrodalga yardımıyla sentezlediklerini ve konvansiyonel yöntemle reaksiyonlar gerçekleşmezken mikrodalga yöntemiyle montmorillonit K-10 katalizörlüğünde çözücüsüz ortamda 2 dakika sürede % 84-93 verimlerde bileşiklerini sentezlediklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 46).



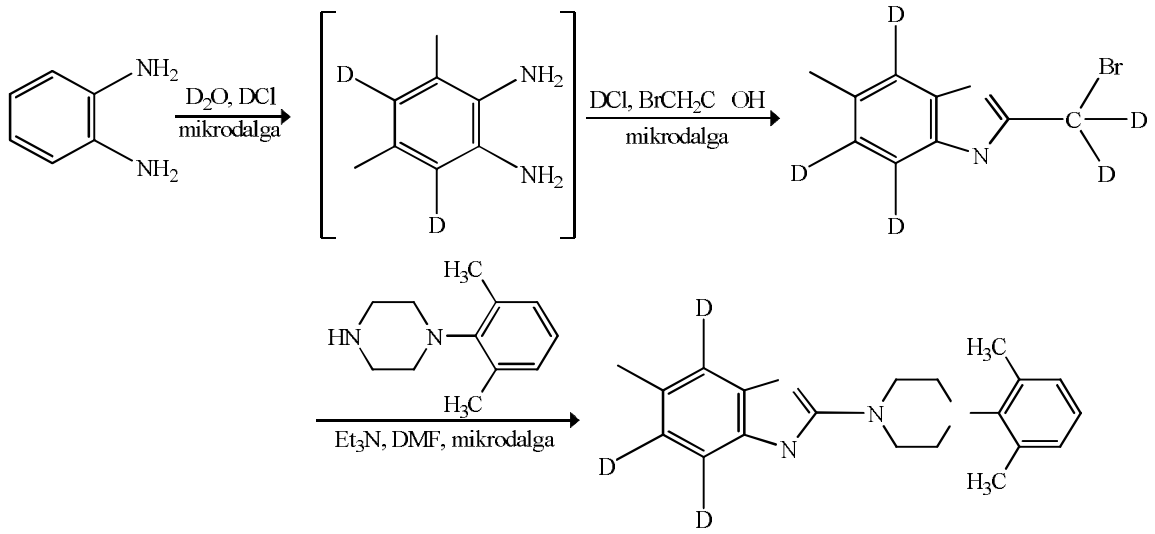
Reaksiyon Denklemi 46

Njoya ve ark. (153) 2002 yılında yayınladıkları bir çalışmada, 2-klorometilbenzimidazol'ü iki farklı yöntemle sentezlemişlerdir. Birinci yöntemde *o*-fenilendiamin ile kloroasetik asitin 5N HCl içerisinde 8 saatte konvansiyonel yöntem ile %92 verimle, ikinci yöntemde ise *o*-fenilendiamin ve kloroasetiklorürün SiO₂ içerisinde mikrodalga ışınması altında 4 dakikada %90 verimle elde ettiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 47).



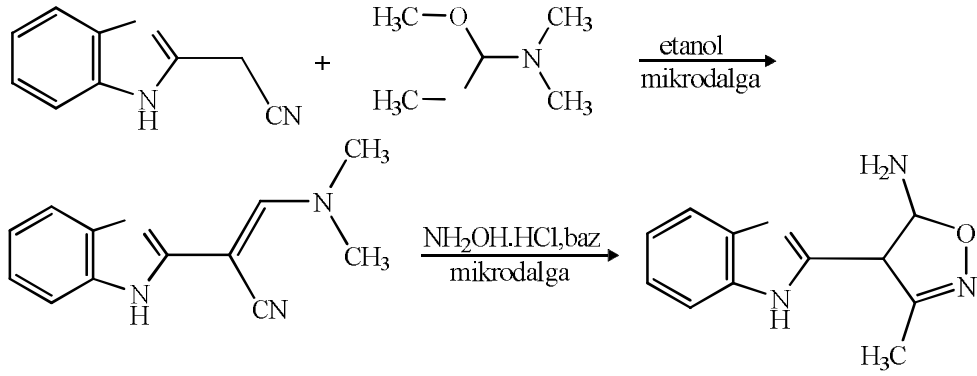
Reaksiyon Denklemi 47

Vaidyanathan ve Surber (154) 2005 yılında yayınladıkları çalışmada, *o*-fenilendiamini döteryum klorür ve döteryum oksitli ortamda mikrodalga yardımıyla dötero *o*-fenilendiamine dönüştürdükten sonra, dötero *o*-fenilendiamini de döteryum klorür ve 2-bromoasetik asitli ortamda mikrodalga altında 2-(bromometil)-1*H*-benzimidazolün dötere formunu elde etmişlerdir. Bu bileşik ve 1-(2,6-dimetilfenil)piperazinden hareketle de trietilamin ve dimetilformamit varlığında mikrodalga ışınması altında 2-(4-(2,6-dimetilfenil)piperazin-1-il)-1*H*-benzimidazolün dötero formu sentezlediklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 48).



Reaksiyon Denklemi 48

Pattabimaran ve ark. (155) 2009 yılında yayınladıkları bir çalışmada 4-(1*H*-benzimidazol-2-il) 3-metiloksazol-5-amin bileşiğini konvensiyonel yöntemle 24 saatte %91 verimle, mikrodalga yöntemiyle de 3 dakikada %72 verimle sentezlenmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 49).



Reaksiyon Denklemi 49

2.5. Anjiyojenez Üzerine Etkili Bileşikler Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Anjiyojenez ekstrasellüler matriks, çözünme faktörü ve hücreler arasındaki etkileşim sonucu; endotelial hücrelerin farklılaşması, göçü ve çoğalması ile seyreden kompleks bir süreçtir (156,157). Normal dokuların gelişimi ve büyümesi, embriyonik gelişim (olgunlaşma), yara iyileşmesi, menstrüel siklus gibi hayatsal olaylar yeni kan damarlarının oluşmasına ihtiyaç duyar. Oluşan kan damarları bu dokulara ihtiyaç duydukları oksijen ve besin maddelerini taşıırken aynı zamanda metabolik son ürünlerinde dokulardan uzaklaşmasını sağlarlar. Anjiyojenez birçok fizyolojik ve patolojik olaylar dizisinin temelini oluşturmaktadır. Anjiyojenez bazı durumlarda ya da hastalıklarda faydalı iken (koroner arter hastalıkları veya enfarktüs ile bacaklardaki iskemik hastalıklar) diğer bazı durumlarda da (kanser, artrit, retinopati) zararlı olabilmekte veya hastalığın şiddetini arttırabilmektedir. VEGF ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi faktörlerin verilmesiyle anjiyojenez enfarktüs ve periferel arteryel hastalıkların iskemik bölgelerinde teşvik edilirken endostatin, anjiyostatin ve trombospondin-I (TSP-I)'in verilmesiyle tümör, romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklarda anjiyojenezin önlenmesi yoluna gidilmektedir. Ayrıca endometriyumdaki döngüsel anjiyojenezde hamileliğin oluşması ve devamı için kaçınılmaz olduğu görülmektedir.

Anjiyojenez birçok neoplastik ve non-neoplastik hastalığın ilerlemesinden ve etiyopatojenezinden; özellikle katı tümörlerin büyüme ve metastaz yapmasından sorumlu tutulmaktadır. Tümörde hipervaskülarizasyonun başlangıçtaki bir inflamatuvar olaya cevap veya tümörün nekrotik ürünlerine bağlı olabileceği ileri sürülmektedir.

Çoğu insanda tümör, başlangıçta aylarca hatta yıllarca vaskülarizasyonsuzdur. Fakat sonradan vaskülarize olur ve hücre alt grupları anjiyojenetik fenotipi başlatır. Prevasküler dönemde tümör iyi perfüze olur, nadiren 2-3 mm³'ten büyük ve milyon veya daha fazla hücre içerir. Prevasküler dönemde veya mikrometastaz döneminde hücreler hızla çoğalır, genişler, vaskülarize olur; yeni damar oluşumu yeterli olmazsa hücreler nekroze uğrar (158).

Anjiyojenez pozitif ve negatif regülatörler ile düzenlenmektedir. Tümör hücreleri bir veya daha çok pozitif regülatörler ile uyarıldığında anjiyojenik protein ekstrasvasküler

makrikse geçer ve anjiyojenezi başlatır. Kanserli hastaların biyopsi örneklerinde anjiyojenezin saptanması metastaz tahminini kolaylaştırır (158).

Damar oluşum (vaskülarizasyon) çalışmalarının tarihçesi: Yeni damar oluşumu, yaygın kullanılan adıyla anjiyojenez ya da vaskülarizasyon, hakkındaki çalışmaların genellikle 18. yüzyılda başladığı görülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmaların daha öncesinin var olduğu da kabul edilebilir. Örneğin, 1747 yılında Boerhaave, yaralarda bulunan cerahatın (pus) farklı damarların birbirlerine bağlantı yapmasına yardım ettiğini düşünmüştür. Kapiller damar büyümesi hakkında ilk çalışmalardan biri kurbağa larvaları (tadpole) üzerinde Platner (1844) tarafından yapılmıştır (159,160). Meyer (1852) ve Travers (1844) yara iyileşmesinde yeni kan damarlarının oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Cıvciv embriyosunda ve farklı tümörlerde kapillerin çoğaldığı Billroth (1856) tarafından gözlenmiştir. Hudlicka ise 1871 ve 1872 yıllarında inflamasyon ve rejenarasyon dönemlerinde kapillerlerin oluştuğunu bildirmiştir (159,160).

Tümör oluşumunda yeni kan damarlarının önemi ile ilgili ciddi ve seri çalışmalar Goldman tarafından 19. yüzyılın başlarında yapılmıştır. Normal olarak gelişen dokunun kan damarları anormal şekilde gelişmekte olan ve aşırı kan damarı içeren tümör tarafından bozulmakta olduğu ve özellikle tümöre komşu olan bölgelerdeki kan damarlarının genişlediği ve düzensiz bir şekilde arttığı yine Goldman tarafından bildirilmiştir (161). Clark ve ark. (162) tavşanların kulaklarında geliştirdikleri transparan odacıkları (chamber) kullanarak implant ettikleri tümörlerde damar büyümesini gözlemleyerek radyografik bulgular elde etmişlerdir.

Vaskülarizasyonun oluşmasında endotel hücrelerinin rolünün son derece önemli olduğu, bu oluşumda perisitlerin de rol oynadığı son yıllarda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Yeni kan damarlarının oluşmasının “angiogenesis” terimiyle ilk olarak tanımlanması 1935 yılında Hertig’in hamile maymunların plasentası üzerinde yaptığı bir çalışmada rastlanmıştır (163).

Sonraki yıllarda anjiyojenez endometriumda, kıl folikülleri çevresinde, dişlerde, iskelet ve kalp kasında, beyinde vb. dokularda çalışılmaya başlanmıştır. Anjiyojenez konusunda özellikle iskelet ve kalp kasında yapılan araştırmalarda egzersiz, hipoksik ve

kalbin bradikardik olarak işlediği şartlarda çalışmalar yapıldığı görülmektedir (159,160). Bazı organlarda kan damarlarının sayısının fazla bazılarında ise az olduğu gözleminde yola çıkarak, Sobin ve Tremer (164) organlardaki kan damarlarının, basitçe besin gereksinimleri için olan damar ağları (iskelet, kalp ve düz kaslar, merkezi sinir sistemi ve mesane v.b.) ve belli bir görev için olan damar ağları (deri, akciğer, karaciğer, böbrek, endokrin bezler v.b.) şeklinde oluşabileceğini bildirmiştir. Bununla birlikte kabaca metabolizması yüksek ya da yaptığı iş büyük olan organlarda kan damarları fazla, metabolizması düşük ya da yaptığı iş az olanlarda az bulunur diye bildirilmiştir (160). Kapiller sayısını araştıran ilk çalışmalardan birinde incelenen dokularda mm²'deki kapiller sayısının böbreklerde en fazla, yağ dokusunda en az olduğu gözlenmiştir (165).

Tümör ve yara iyileşmesi gibi konularda oluşan fizyolojik ve patolojik anjiyojenez hakkında ciddi çalışmalar ve tartışmalar 1970'li yıllarda, özellikle Folkman ve çalışma grubunun yaptığı çalışmalarla hız kazanmıştır (166). Yine aynı dönemde aynı grup tarafından ilk anjiyojenik faktör tümör anjiyojenik faktör (TAF) adıyla sıçan meme tümörü ekstrelerinden izole edilmiştir (166). Sonraki yıllarda da tümör tarafından salınan ve etrafa difüze olabilen VEGF ve FGF gibi birçok faktörün olduğu belirlenmiştir (167,168)

Anjiyojenez oluşumunda önemli rolleri olan büyüme faktörlerinden aFGF, bFGF ve VEGF 1980'li yıllarda izole edilmiştir (169,170). Bu faktörler ve diğer faktörlerin elde edilmesi ile sonraki yıllarda miyokard infarktüsü ve alt bacak ekstremitealarında görülen iskemik hastalıkların tedavisinde anjiyojenezi stimüle eden değişik büyüme faktörlerinin kullanılması için çalışmalar yapılmıştır (171,172). Anjiyojenezden sorumlu anjiyojenik faktörlerin keşfinden sonra antianjiyojenik etkili faktörlerin de belirlenmesiyle kanser, diyabetik retinopati ve romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların tedavisi yolunda ilerlemeler başlamıştır (172). 1990'lı yılların başına kadar plastik cerrahide dikkate alınmayan anjiyojenez bu yıllarda dikkate alınmaya başlanmıştır (173). Plastik cerrahide travma ya da cerrahi operasyondan sonra anjiyojenik faktörlerin lokal ya da topikal yolla uygulanmasıyla yaraların iyileştirilmesi yoluna gidilmiştir. Bununla birlikte anjiyojenezi stimüle eden ajanlar kullanılırken de çok dikkatli olunması gerektiği ayrıca vurgulanmıştır. Plastik cerrahide yara iyileşmesini sağlamak veya infarktüs ve iskemik hastalıkların iyileştirilmesi amacıyla verilen anjiyojenik faktörlerin etkisiyle anjiyojenez oluşumu

arasında önemli ilişki belirlenmiştir. Fakat, anjiyojenik faktörlerin psöriasis, romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkları daha da şiddetlendirebileceği de bildirilmiştir. (173).

Antianjiyojenik uygulamalar en fazla tümörlerle mücadelede kullanılmaya başlanmıştır. Bu konuda Profesör Judah Folkman ve ekibi, 1968 yılından beri çalışmalar yapmaktadırlar. Bu çalışmaların ışığında anjiyostatin ve endostatin olarak adlandırılan iki antianjiyojenik faktörün yanısıra TSP-I olarak adlandırılan bir başka protein de bulunmuştur (174,175). TSP-I sadece tümörlerde antianjiyojenik etkili değildir. Aynı zamanda menstrüel siklusun sekretuar fazında da progesteronun etkisiyle üretimi teşvik edilerek endometriümda antianjiyojenik etki gösterir (176). Anjiyostatin, endostatin ve TSP-I; endotel hücrelerinin proliferasyon, migrasyon ya da bazal membranın degradasyonu gibi süreçlerden birini veya birkaçını engelleyerek antianjiyojenik etkilerini göstermektedirler. Ayrıca yeşil çayın da içinde bulunan epigallokateşin gallat (EGCG) adlı bir maddeden dolayı antianjiyojenik etki ile tümör oluşumunu engellediği gösterilmiştir (177,178). Son yıllarda kıkırdak dokusunun antianjiyojenik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Kıkırdak dokusu canlı vücudunda kan damarı olmayan bir dokudur. Bundan dolayı neden bu dokuda anjiyojenez oluşmadığı merak konusu olmuş ve üzerinde çalışmalar yapılmaya başlanılmıştır. Sonunda kıkırdak dokuda bol miktarda bulunan troponin-I'nın gerek in vitro gerekse in vivo ortamda anjiyojenezi önlediği gösterilmiştir (179). Tümörlerde antianjiyojenik tedavinin ilaç tedavisine veya radyoterapiye göre bazı üstünlükleri bulunmaktadır. Bunlar yan etkilerinin olmayışı, saçın dökülmesine neden olmaması ve direnç gelişmemesidir (180). Bununla birlikte bazı tümörler endotel hücrelerinin çoğalmasına dolayısıyla anjiyojeneze ihtiyaç duymadan da kan dolaşımına sahip olabilmektedirler. Bu tür tümörler kanal yapısında olan ve tümör içerisinde kan akımını sağlayacak özel bir damarlanmaya sahiptirler (181). Bu tip vasküler kanallarda (bunlar vasküler mimikri - damarların taklit edilmesi olarak adlandırılabilir) endotel hücreleri ve fibroblastlar bulunmamaktadır. Bununla birlikte bazal membranlarının olduğu ve bu durum Periyodik Asit Schiff (PAS) boyama yöntemi ile gösterilmiştir. Dolayısıyla antianjiyojenik uygulamalar bu vasküler kanallar ile beslenen tümörlerin büyümesinin engellenmesinde yetersiz kalabilmektedir (181). Tümör tedavisinde antianjiyojenik tedavi uygulandığı gibi romatoid artrit'te de antianjiyojenik tedavi uygulamasına gidilmiştir.

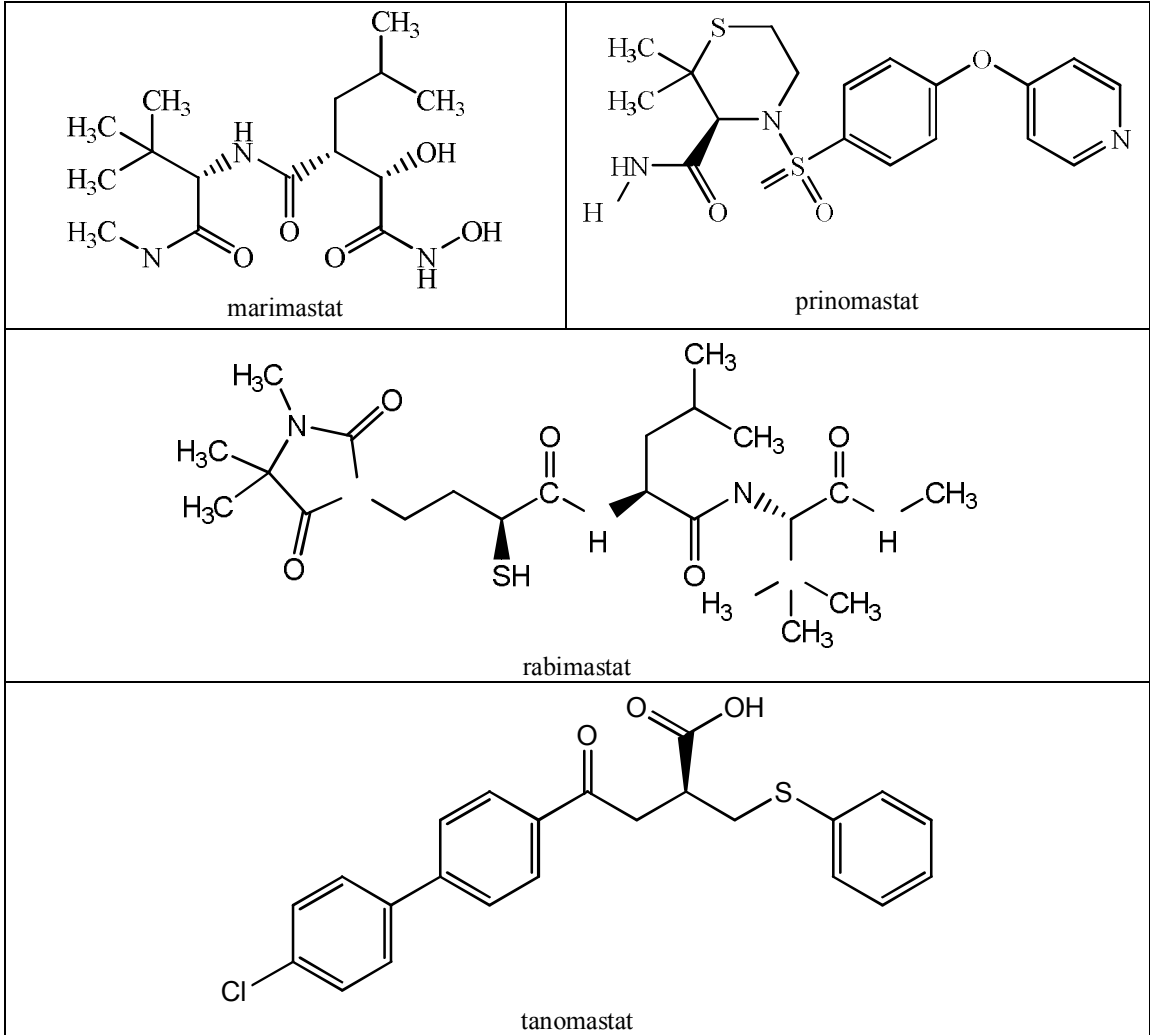
Anti-TNF- α antikoruna verilen romatoid artrit'li hastaların serum VEGF seviyeleri anlamlı oranlarda düşmüştür (182). Bununla beraber romatoid artrit'li hastaların serum VEGF seviyeleri hala normalden yüksek bulunmuştur. Bazı romatoid artrit'li hastalar bu antianjiyojenik tedaviye cevap vermemişlerdir. Romatoid artrit'in tedavisinde birkaç ilacın birlikte kullanımı tek başına kullanımından daha etkili olmuştur. Örneğin, romatoid artrit'li kişiye infliksimab ve metotreksat'ın birlikte infüzyonu serum VEGF seviyesini infliximab'ın tek başına yaptığı etkiden daha fazla düşürdüğü bildirilmiştir (182). Son yapılan çalışmalardan birinde (183) romatoid artrit'li hastaya anti-TNF- α (10 mg/kg) verilip 2 hafta sonra sinovyal damarlanmaya bakıldığında anti-TNF- α alanların sinovyal damarlanmasının anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca son yıllarda Siklosporin A'nın endotel hücrelerinin migrasyonunu ve VEGF bağlı anjiyojenezi önlediği bildirilmektedir (184). Genel olarak romatoid artrit'de kullanılan antianjiyojenikler arasında Taxol, TNP-470, talidomit yer almaktadır (185). Romatoid artrit'li hastalarda uygulanan antianjiyojenik tedavi hastalığı tamamen iyileştirmemiş olsa da hastalığın şiddetini ve kötüye gidişini önlemektedir. Talidomit aynı zamanda antianjiyojenik etki ile multipl miyelom oluşumunu da engellemektedir. Talidomit'in bu engelleyici etkisinin anjiyojenik sitokinlerin sekresyonunu azaltarak değil de muhtemelen bu sitokinler için hücre yüzeyi reseptörleri üzerine veya intraselüler sinyal yolları üzerine etki ederek gerçekleşmiş olabileceği ileri sürülmektedir (186). Ayrıca yapılan çalışmalarda kortikosteroidlerin yara iyileşmesini baskıladığı gösterilmiştir. Bununla birlikte kortikosteroidlerin yara iyileşmesini inhibe edebilme özelliğinin bir anjiyojenik faktör olan Taşıyıcı Büyüme Faktörü β -1 (TGF β -1) uygulamasıyla nötralize edilebildiği tespit edilmiştir (187). TGF β -1 yara iyileşmesini anjiyojenezi stimüle ederek sağladığı bildirilmektedir. Dolayısıyla kortikosteroidlerin antianjiyojenik etkisi TGF β -1'in anjiyojenik etkisiyle yok edilebilme ve yaraların iyileşmesi normal sürecinde devam etmektedir. Sonuç olarak anjiyojenez hakkında devamlı olarak yeni çalışmalar yapılmaktadır. Örneğin talidomitin antianjiyojenik etkili olduğu ve bu yüzden de intrauterin dönemde önemli sorunlar oluşturduğu gözlenmiştir (188). Anjiyojenez ile ilgili son çalışmalardan birinde nikotinin anjiyojenik etkili olduğu ve özellikle diyabetik kişilerde yara iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir (189). Diyabetes mellituslu hastalarda kollateral damarların oluşumunda bir bozukluğun

olduğu bu nedenle bu konuda daha ileri çalışmaların yapılmasının çok daha faydalı sonuçlar doğurabileceği literatürde kayıtlıdır (190). Nikotinin tümörlerde de anjiyogenezi stimüle ettiği bildirilmiştir (191). Tümörlerde yeni damarların oluşması ile metastaz daha da hızlı gelişebildiği ve dolayısıyla nikotinin kanseri teşvik ettiğinden daha erken ölüme neden olabileceği belirtilmiştir. Kısaca literatür çalışmaları incelendiğinde anjiyogenik stimülatörlerin ve inhibitörlerin canlı bünyesinde dengeli bir şekilde doğal olarak bulunduğu, ancak insanoğunun bu dengeyi kendi lehine çevirmeye çalışırken çok daha dikkatli olup daha fazla çalışma yapılması gerektiği anlaşılmaktadır. Örneğin, belli bir dozdaki laktik asit anjiyogenik faktörleri serbestleştirirken aşırı dozda verildiğinde bu etki ortadan kalkmakta ve hatta belli bir doza kadar artan oranlarda bir taraftan anjiyogenik etkili VEGF salınmasına neden olurken, diğer taraftan da doz artışına paralel ama zıt yönde diğer anjiyogenik etkili faktör olan anjiyogeninin salınmasını inhibe etmektedir (192). Aynı şekilde FGF ve/veya VEGF'nin belli bir dozun üzerine çıkıldığı zaman anjiyogenik etkisini gösteremediği ve hatta faydalı olmak yerine zararlı olmaya başladığı çalışmalarla belirlenmiştir (193,194).

Anjiyogenez inhibitörü çok sayıda moleköl geliştirilmiştir. Bu molekülleri farklı şekillerde gruplandırmak mümkündür. Bu konuda yapılan çalışmalar aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.

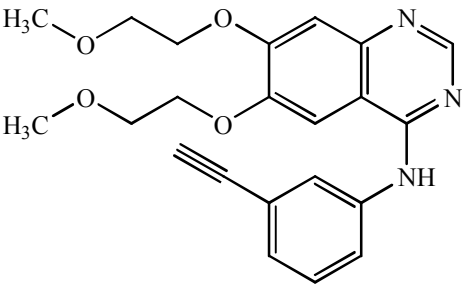
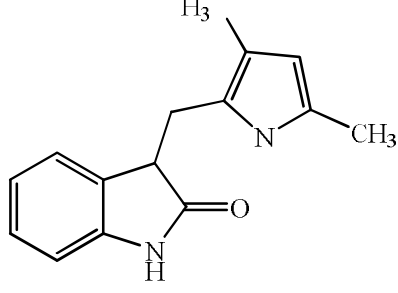
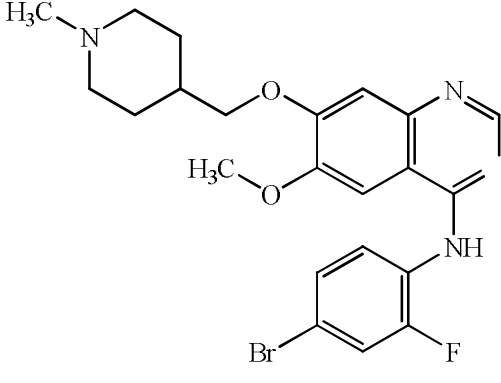
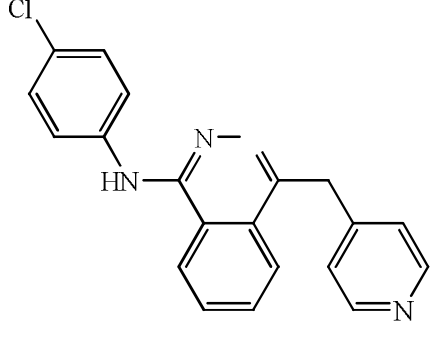
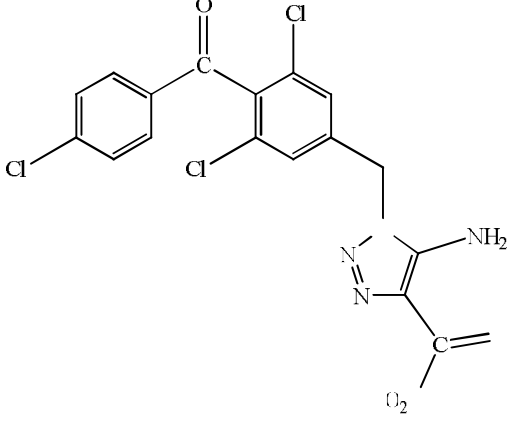
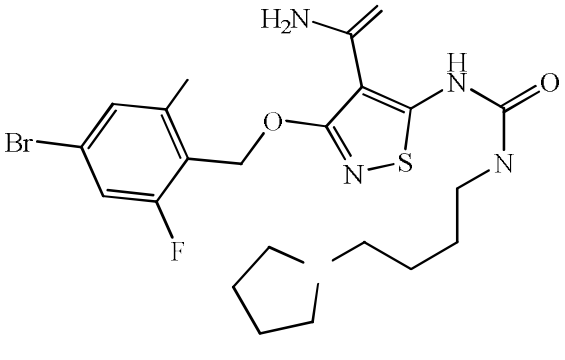
a) Matriks yapısının bozulmasını inhibe eden bileşikler: Marimastat (BB2516), Prinomastat (AG3340), Rabimastat (BMS 275291), Tanomastat (BAY 12-9566), Neovastat (AE-941)

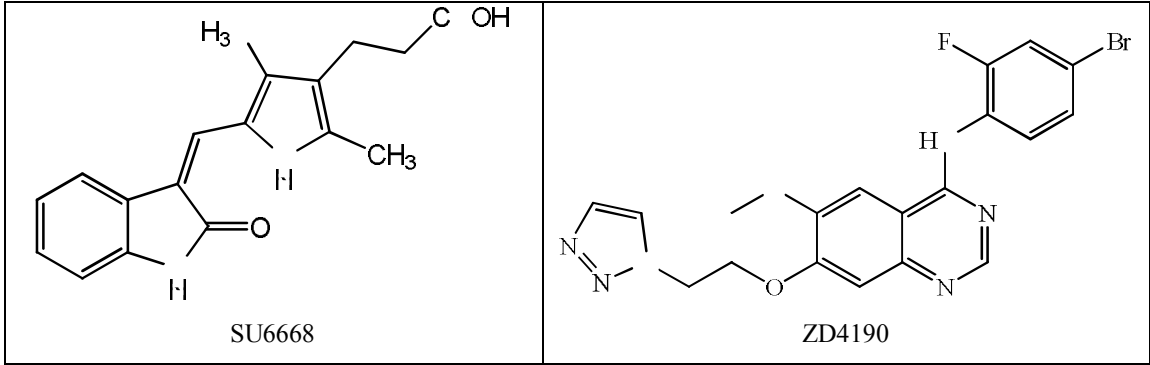
Çizelge 2.2. Matriks yapısının bozulmasını inhibe eden bileşiklerin kimyasal formülleri



b) Endotelial hücrelerin sinyalizasyonunu bloke eden bileşikler: Bevasizumab (rhuMAb VEGF), Erlotinib (CO-358,774), Semaksanib (SU5416), Vandetanib (ZD6474), Vatalanib (PTK787/ZK225846), karboksamido triazol (CAI), CP-547,632, SU6668, ZD4190.

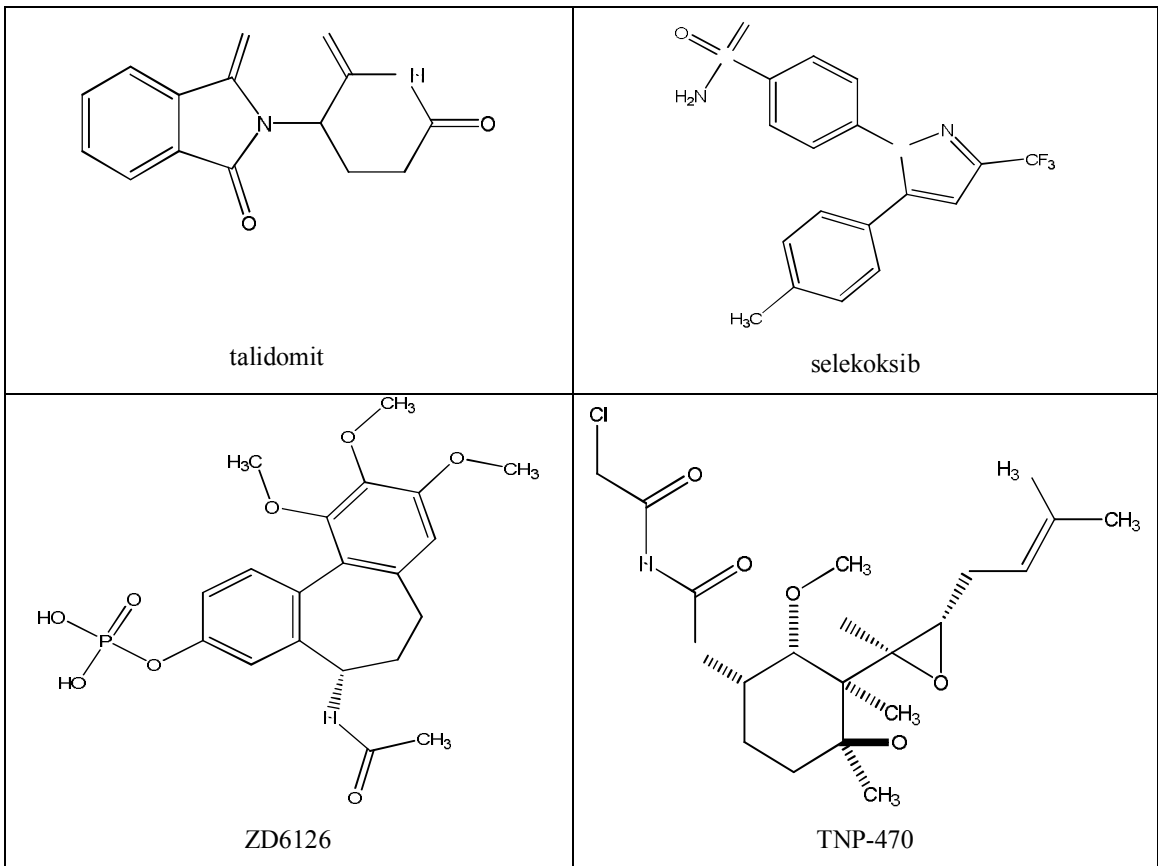
Çizelge 2.3. Endotelial hücrelerin sinyalizasyonunu bloke eden bileşiklerin kimyasal formülleri

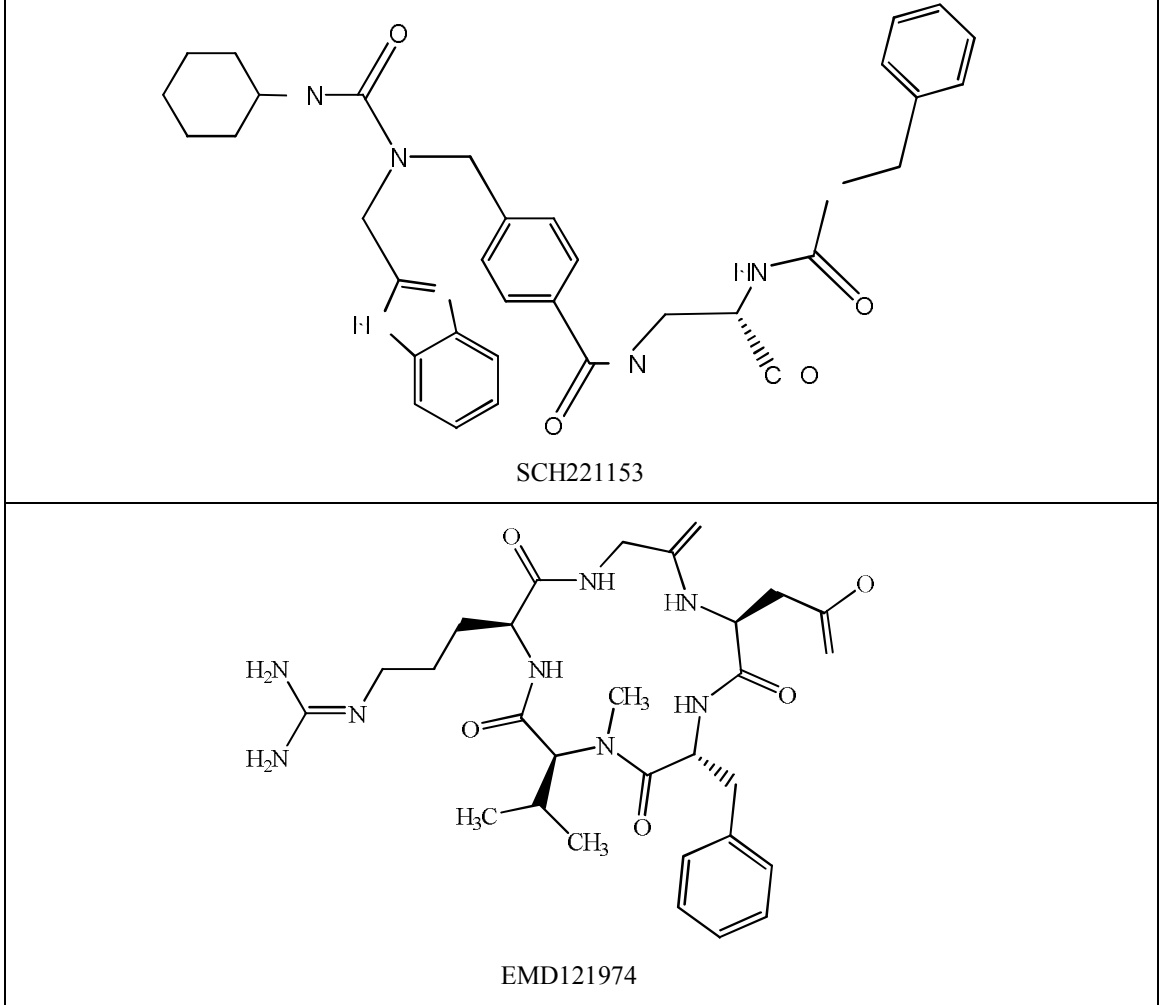
 <p style="text-align: center;">erlotinib</p>	 <p style="text-align: center;">semaksanib</p>
 <p style="text-align: center;">vandetanib</p>	 <p style="text-align: center;">vatalanib</p>
 <p style="text-align: center;">CAI</p>	 <p style="text-align: center;">CP-547,632</p>



c) Yeni endotelial hücre inhibitör ajanları: İntegrin antagonistler (Cilengitide (EMD121974) ve SCH221153), Seleksib, Squalamin, Talidomit, TNP-470, ZD6126.

Çizelge 2.4. Yeni Endotelial hücre inhibitörü ajanların kimyasal formülleri





d) Anjiyozenezin endojen inhibitörleri: Endostatin, İnterferonlar, Anjiostatin

Çok sayıdaki doğal ve sentetik bileşiklerden klinik denemelere ulaşanlardan biri CAI'dır. CAI sentetik bileşiklerden olup, *in vitro* migrasyon inhibiyonu ve sinyal transdüksiyon yolakları inhibiyonu yapmaktadır. Kalsiyum mobilizasyon inhibitörü etkisi sonucu proliferasyonu inhibe etmektedir ve birçok insan tümör hücrelerinin proliferasyonu ve invaziv durumunu durdurmaktadır (195).

D'Amato ve ark. (188) talidomitin bFGF bağımlı anjiyogenezini oral uygulamadan sonra inhibe ettiğini sıçan kornea modelleri üzerinde yaptıkları çalışmada göstermişlerdir.

Yarı-sentetik Fumagillin analogu olan TNP-470'nin (AGM-1470) endotelial hücre proliferasyonu ve migrasyonunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir (196,197).

Interlökin (IL)-12'nin, fare tümörlerinin metastazında etkili olduğu çalışmalarla kanıtlanmıştır (198,199)

Benzimidazol yapısı taşıyan Formül 8'de verilen bileşiğin in vitro ve in vivo anjiyogenezini inhibe ettiği, VEGF ve b-FGF inhibitörü olduğu Hori ve ark. (20) tarafından 2002 yılında yapılan çalışma ile gösterilmiştir.

Benzimidazol türevi bir diğer bileşik olan liarozol'ün MCF-7, DU145, KNCaP ve fare F9 teratokarsinoma hücrelerinde in vitro büyüme inhibisyonu yaptığı ve Faz II çalışmaların sürdürüldüğü O'Byrne ve ark. tarafından yapılan çalışmada bildirilmiştir (19).

2.6. Tedavide Kullanılan Anjiyogenez Üzerine Etkili Müstahzarlar

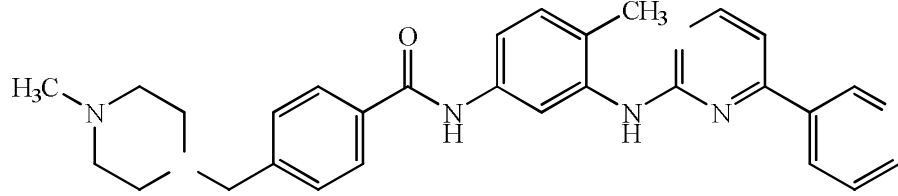
Anjiyogenezle ilgili yapılan çalışmalarda antianjiyogenik tedavi yaklaşımlarının neticesinde üç farklı farmakolojik etki gösteren molekül grubunun müstahzarları üretilmiş ve tedaviye kazandırılmıştır.

2.6.1 Sinyal Transdüksiyon İnhibitörleri

Reseptör Tirozin Kinaz 'lar (RTK) hücre büyümesi, farklılaşması ve ölümünde mediyatör rolü oynadıklarından dolayı etkinlikleri çok sıkı kontrol altındadır. Protein tirozin kinazlar adenozin trifosfat (ATP)'den protein substratındaki bir tirozin kalıntısının hidroksil grubuna fosfat transferini katalize eden enzimlerdir. Çok sayıda protein kinaz genleri retrovirüslerin veya insan tümörlerinin transformasyonu ile ilişkili onkojenler olarak tanımlanmıştır. RTK'ların ekstraselüler ve sitoplazmik bölümleri vardır. RTK'lar arasında VEGF, FGF, epidermal büyüme faktörü (EGF), trombositten türeyen büyüme faktörü (PDGF), kök hücre faktörü (SCF) ve sinir büyüme faktörü (NGF) olarak sayılabilir. Bundan başka non-RTK diğer proteinlerle, lipidlerle ve DNA ile etkileşirler. Reseptör olmayan tirozin kinazlar SCr, Janus kinazları (Jaks) ve Abl'dir (200). Protein tirozin kinaz enzimlerinin inhibisyonu, antianjiyogenik yaklaşımların temel çözüm önerilerinden biri olarak görülmektedir ve ilaç piyasasında bu etki mekanizmasına sahip aşağıdaki müstahzarlar bulunmaktadır.

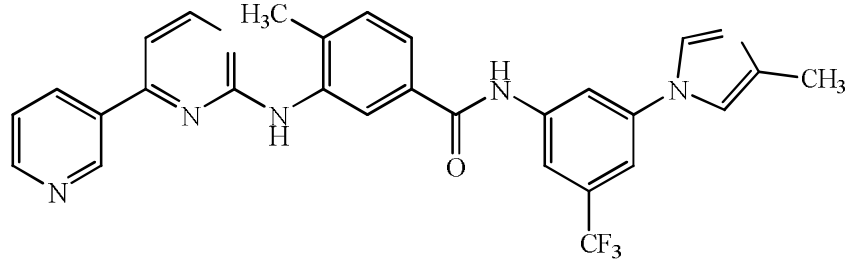
İmatinib: Sinyal Transdüksiyon İnhibitörleri (STI) olarak adlandırılan antikanser ilaç grubuna giren RTK türevi bir ilaçtır. İmatinib (Formül 16), Abl, PDGF, SCF ve c-Kit tirozin kinazlar üzerindeki ATP bağlanma yerlerine kompetitif olarak bağlanırlar ve PDGF ve SCF'nin aracılık ettiği hücreyel olayları inhibe ederler. Bu sayede kronik miyelojen lösemide hücrelerinin proliferasyonunda rol alan Bcr-Abl tirozin protein kinaz enzimini inhibe eder (200,201). Bu ilaç, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (*U.S. Food and Drug Administration-FDA*) ve Avrupa İlaç Ajansı (*European Medicines Agency-EMA*)

tarafından 2001 yılında α -interferon tedavisinden fayda sağlayamamış kronik miyelojen lösemili hastaların tedavisinde onaylanmıştır (200).



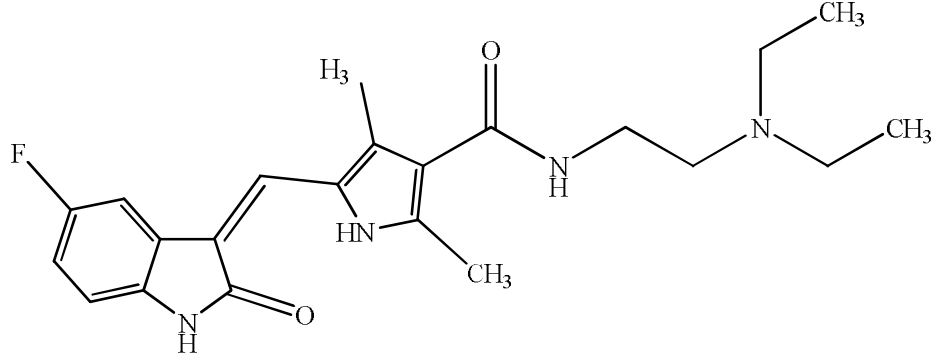
Formül 16

Nilotinib: Philadelphia kromozom pozitif kronik miyelojen lösemi (Ph+KML)'nin tedavisi için onaylanan bir diğer tirozin kinaz inhibitörü bileşiktir (Formül 17). Bu bileşik Bcr-Abl hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederek ve apoptozisi indüklemektedir (200,202,203).



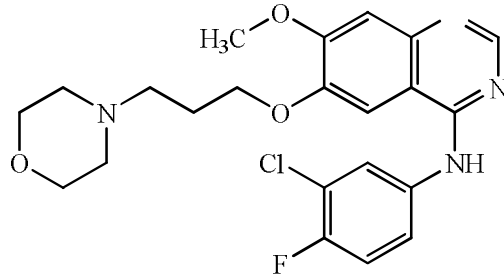
Formül 17

Sunitinib: Sunitinib (SU11248) oral yoldan anti-anjiyojenik ve anti-tümör etkili, çok hedefli bir tirozin kinaz inhibitörüdür. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörleri α ve β (PDGFR α , PDGFR β), VEGF reseptörleri (VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3), kök hücre faktörü reseptörü (KIT), Fms-benzeri tirozin kinaz-3 (FLT-3), kolon stimüle edici faktör reseptörü tip 1 (CSR-1R) ve glial hücre hattından türeyen nörotrofik faktör reseptörü (RET) dahil 80'den fazla RTK'yı inhibe eder (200,204). FDA, Sunitinibi (Formül 18) 2006 yılında hastalığı ilerleme gösteren veya imatinib'e intoleran gastrointestinal stromal tümörlü hastalarda ve ilerlemiş RCC'nin tedavisi için onaylamıştır (200).



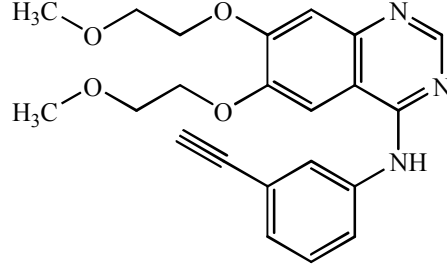
Formül 18

Gefitinib: Gefitinib (Formül 19), oral yoldan kullanılan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör-Tirozin Kinaz İnhibitörü (EGFR-TKI) grubunun ilk üyesidir. Kanser hücrelerindeki EGFR up-regülasyonu veya aşırı ekspresyonu hücre proliferasyonunda artma (hücre döngüsü düzenlenmesini değiştirir), hücre sağkalımı (apoptozisi bloke eder), motilitede ve invaziv kapasitede artma (metastazlarla ilişkili) ve anjiyojenezde artışla ilişkilidir (200,205,206). FDA 2005 yada yılında platin ve doksataksel tedavisine yanıt vermeyen lokal ilerlemiş yada metastatik küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastaların tedavisi için onaylamıştır (200).



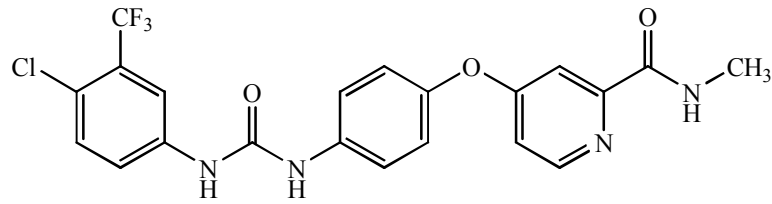
Formül 19

Erlotinib: Erlotinib (Formül 20) oral yoldan kullanılan bir diğer EGFR-TKI'dır (200,207-209). FDA, erlotinib-gemcitabin kombinasyonunu Kasım 2005'te lokal ilerlemiş veya metastatik pankreas kanserinin birinci sıra tedavisi için onaylamıştır (200).



Formül 20

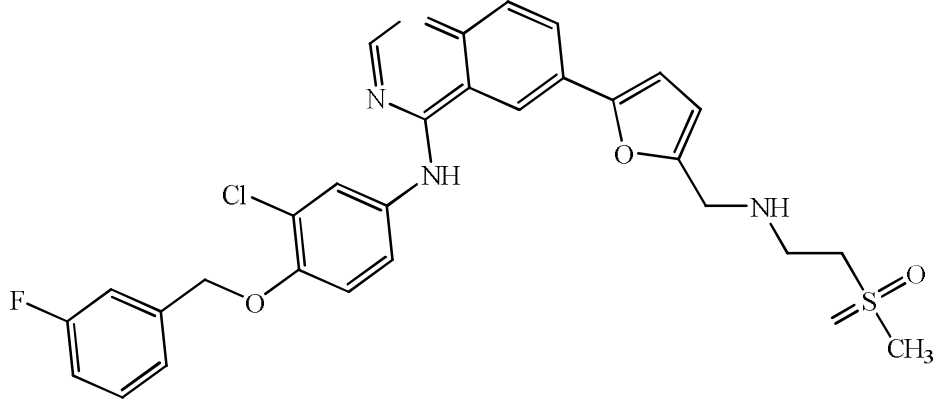
Sorafenib: Sorafenib (Formül 21) etkisini tümör hücreleri ve tümörü besleyen damarlarda hem hücre proliferasyonunu hem de anjiyojenezi inhibe ederek gösteren bir antineoplastik ilaçtır. Hücre proliferasyonunun inhibisyonu için mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) sinyal yolağını Raf kinaz bileşenini inhibe ederek bozarken anjiyojenezi inhibe etmek içinse VEGFR-2/PDGFR-beta sinyal kaskadını hedefler. Sorafenib hem tümör hücreleri hem de damar yatağında serin/treonin ve RTK'ları hedefleyen bir multi-kinaz inhibitörü olarak işlev görür (200). Sorafenib FDA tarafından, 2005 yılında ilerlemiş RCC ve 2007 yılında da rezeke edilemeyen hepatoseller karsinom tedavisi için onaylanmıştır. EMEA tarafından 19 Temmuz 2006'da hepatoselüler karsinom ve interferon-alfa veya interlökin-2 tedavisinin başarısız kaldığı veya uygun bulunmadığı ilerlemiş renal hücreli karsinomların tedavisi için onaylanmıştır (200).



Formül 21

Lapatinib: Lapatinib (Formül 22) meme kanserine karşı epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör 2 (HER2) reseptörlerinin kinaz bileşenlerini inhibe ederek etki gösteren FDA tarafından onaylanmış ilk ilaçtır. EGFR

ve HER2 reseptörlerinin stimülasyonu hücre proliferasyonu ve tümör gelişimi, invazyonu ve metastazlarıyla ilişkili multipl süreçlerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (200).



Formül 22

2.6.2 Monoklonal Antikorlar

Bevasizumab: Bir monoklonal antikor olan bevasizumab anjiyojenezi önleyerek etkisini gösteren ve hastaların yaşamını uzatan ilk ilaçtır. Bevasizumab etkisini VEGF'yi inhibe ederek gösterir. Bevasizumab tarafından hedeflenerek bağlanan VEGF, kan damarlarının büyümesini stimüle edemez; böylece tümör büyümek için gereksinim duyduğu kan oksijen ve diğer besinlerden yoksun kalır (200,210). Bevasizumab, bu mekanizmayla etki gösterdiği kanıtlanan ve hastaların yaşamını uzatan ilk ilaçtır. FDA, bevasizumab'ı intravenöz 5-florourasil ile kombine olarak metastatik kolon veya rektum kanserli hastalarda birinci sıra tedavi için onaylamıştır (200).

Trastuzumab: HER2 proteininin ekstraselüler bölgesini seçici olarak hedefleyen rekombinant DNA kökenli insan yapısı kazandırılmış bir monoklonal antikordur (200,211). HER2'yi yüksek düzeyde eksprese eden metastatik meme kanserli hastalardan, metastatik hastalığı için kemoterapi görmemiş olanların birinci sıra tedavisinde paklitaksel ile kombine olarak veya bir ya da daha çok kez kemoterapi görmüş hastaların ikinci veya üçüncü sıra tedavisinde tek ajan olarak kullanılır (201).

Setuksimab: İnsan EGFR'nin ekstraselüler bölgesine bağlanan bir rekombinant insan/fare kimerik monoklonal antikorudur. Setuksimabın EGRF'ye bağlanması reseptörün internalizasyonuna yol açarak daha ileri aktivasyonunu önler, fosforilasyonunu önler, fosforilasyonu ve reseptör ilişkili kinazların aktivasyonunu bloke ederek hücre büyümesi, apoptozis indüksiyonu, matriks metaloproteinaz ve VEGF yapımının azalmasına yol açar (200,212). FDA, 12 Şubat 2004'te, *irinotekan* ile kombine olarak, irinotekan esaslı kemoterapiye refrakter EGRF eksprese eden metastatik kolorektal kanserin tedavisi ve irinotekan esaslı kemoterapiyi tolere edemeyen hastalarda EGRF-eksprese eden metastatik kolorektal kanserin tedavisi için tek ilaç olarak onaylamıştır (200).

2.6.3 İmmünosupresanlar

Sirolimus (rapamisin) bir immünosupresandır ve *streptomyces hydroscopicus* adlı bir mantardan üretilen makrolit yapısı taşıyan bir bileşiktir. Sirolimus antitümör, antifungal ve immünosupresan etki gösterir. Temsirolimus, proliferasyon sinyal inhibitörü olup oral yoldan kullanılan sirolimusun ester analogudur ve parenteral yoldan kullanılır. Temsirolimus tümör hücrelerinin büyüme ve bölünmesini engelleyen seçici bir memelilerde rapamisin hedefinin (*mamalian target of rapamycine*-mTOR) inhibitörüdür (200). Sirolimus, FDA tarafından renal hücre kanseri (RCC) tedavisinde kullanılmak üzere onaylanan ilk mTOR antagonistidir. Temsirolimus ve sirolimus'un her ikisi de FKBP-12 olarak adlandırılan intraselüler bir proteine bağlanırlar ve oluşturdukları bu ilaç protein kompleksi mTOR'un etkinliğini bloke eder. Temsirolimus in vitro RCC hücre hatlarında, mTOR'un etkinliğini inhibe etmiş ve VEGF ve hipoksi ile indüklenen Hipoksi indükleyici faktör 2 α (HIF-2 α) ve HIF-2 α faktör konsantrasyonlarının azalmasını sağlamıştır (200,213). FDA tarafından RCC tedavisinde kullanılmak üzere onaylanan ilk mTOR antagonisti Temsirolimustur. Sirolimus ise FDA, 1999'da böbrek transplantasyonu sonrası böbrek reddinin önlenmesinde kullanılmak üzere onaylamıştır (200). Everolimus ise sirolimus analogu bir bileşiktir. Bu bileşik Türkiye'de Sağlık Bakanlığı tarafından 2005 yılında kalp ve böbrek transplant reddinin önlenmesi için onaylanmıştır (200).

2.7 Anjiyojenez Üzerine Etkili Olan Benzimidazol Türevi Bileşikler

Anjiyojenezi önlemeyi hedefleyen çalışmalar incelendiğinde, benzimidazol halkası taşıyan yapılarla ilgili birçok araştırma literatürde kayıtlıdır.

Alman ilaç firması Bayer, 1920 yılında Afrika uyku hastalığına karşı Suramin isimli ilacı geliştirmiştir. Daha sonraki yıllarda ise Suramin bileşiğinin farklı aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalarda, suraminin retro virüslerdeki revers transkriptaz enziminin güçlü inhibitörü olduğu (214) ve anti-HIV (215), antikanserojen etkilerinin varlığı ve tümör büyüme faktörlerini inhibe ettiği gösterilmiştir (216). Elde edilen bu sonuçlar suramin ve benzeri moleküllerin yeni sitostatik ajanlar geliştirilmesi için öncü bileşik olabileceği fikrini doğurmuştur. Kreimeyer ve ark. (18) 1998 yılında yaptıkları bir çalışmada, Formül 5’de gösterilen suramin bileşiğinin yapısında yer alan işaretli parçayı benzimidazol halkası ile yer değiştirerek sentezledikleri bileşiklerin anti-HIV, sitostatik etkileri ile antianjiyojenez aktivitelerinin olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu bileşiklerden üç türevin (Formül 6) suramin ile kıyaslanabilir antianjiyojenik aktivitede olduğu da yapılan çalışmada ortaya konulmuştur.

Benzimidazol türevi bir bileşik olan liarazol (R 75.251; 5-[(3-klorofenil) (*IH*-imidazole-1-il)metil-*IH*-benzimidazol] üzerinde 1998 yılında yapılan faz II çalışmalarında, bileşiğin güçlü anti-anjiyojenik aktiviteye sahip olduğu ve hastalar tarafından iyi tolere edilebildiği belirlenmiştir. Liarazol’un sitotoksik ajanlarla (fumagillan türevleri, TNP-470, gelatinaz inhibitörleri, CT1746 gibi) kombine kullanıldığında sadece ilerlemiş küçük olmayan hücre akciğer kanserlerinde değil prostat kanseri gibi sert tümörlerde de etkili olduğu bu çalışmada ortaya konulmuştur(19).

Japonyada 2002 yılında Hori ve ark. (20) tarafından yapılan bir çalışmada 8 adet yeni benzimidazol türevi bileşiklerini sentezlediklerini ve bu bileşiklerden özellikle 2 tanesini (Formül 8 ve 9) VEGF ve bFGF’ye karşı anjiyojenez inhibitörü etkilerinin “Sponge implantation assay” yöntemiyle belirlediklerini bildirmişlerdir. Özellikle bileşik Formül 9’un TNF-470 ile yapılan karşılaştırmalı çalışmada, endotel hücre büyümesi inhibisyonunda etkinliği ve selektivitesinde önemli artış sağlandığı ayrıca TNF-470 ve

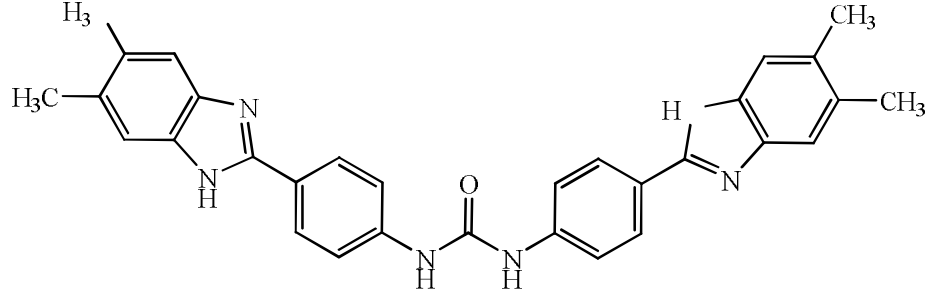
diğer antianjiyojenik ajanlardan daha yüksek farmakokinetik özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir.

Mukhopadhyay ve ark. (21) tarafından 2002 yılında yapılan bir çalışmada benzimidazol türevi olan mebendazol (Formül 10) bileşiğinin “Dorsal air sac” yöntemi ile in vivo olarak anjiyojenik etkisi belirlenmiştir. Mebendazol uygulanan farelerle kontrol grubu arasında damar dansitesi karşılaştırılması yapılan çalışmada bileşiğin kanser ve anjiyojenez bağımlı hastalıklarda önemli etkinliğinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

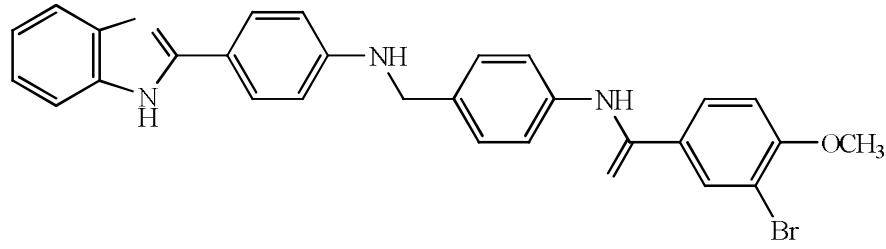
Mebendazolün katı tümörlerin büyümesi ve anjiyojenezde etkili olduğu, 2002 yılında yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. Araştırmacılar, diğer kanser ajanlarından farklı bir yapıya sahip olan mebendazolün antihelmentik etkilerinden dolayı kullanımına dayanılarak yüksek dozlarda kullanılabilir kadar güvenli olduğunu bildirmiştir. Yapılan çalışmada mebendazolün özellikler G₂-M fazında ilk defa in vivo ve in vitro olarak aktivitesini ve anti-anjiyojenik etkisini bu çalışmayla belirlemişlerdir(21).

Viger ve Dervan, 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada VEGF ve reseptörlerinin anjiyojenez ve kanser tedavisinde ana hedef olduğunu ve DNA’ya poliamitlerin yapısına benzeyen oligomerlerin VEGF geninin aktif bölgesindeki HIF-1 α ’ya bağlanan oligomerler tasarladıklarını bildirmişlerdir. Bu oligomerlerin belirlenmesinde yapılan çalışmada özellikle beş-altı üyeli halkaların (hidroksibenzimidazol-imidazol, benzimidazol-pirol, benzimidazol-klorotiyofen ve imidazopiridin-pirol) Hipoksi Yanıt Elementi (*hypoxia response element*-HRE) 5’-TACGT-3’e oldukça yüksek affinite ve selektivite göstererek bağlandıklarını belirlenmiştir (217).

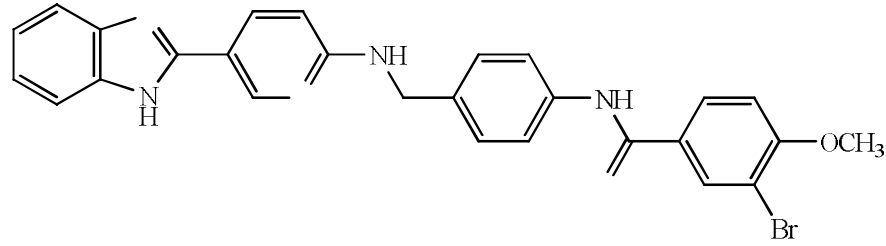
Heparanaz, ekstrasellüler matriksteki heparan sülfat glukozaminoglikanı degrades ederek anjiyojenez ile birlikte diğer fizyolojik ve patolojik olaylarda rol oynadığı literatürde kayıtlıdır. 2006 yılında yapılan iki ayrı çalışmada 1-[4-(1*H*-benzimidazol-2-il)fenil]-3-[4-(1*H*-benzimidazol-2-il)fenil]üre türevi bileşikler (Formül 23) ile N-(4-{[4-(1*H*-benzimidazol-2-il)-arilamino]-metil}-fenil)benzamid yapısı taşıyan bileşiklerin (Formül 24 ve 25) heparanaz inhibitörü etkileri tespit edilmiştir (218,219).



Formül 23



Formül 24



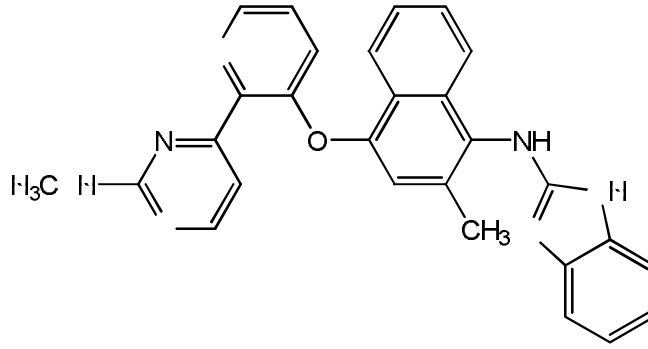
Formül 25

2007 yılında Hasegawa ve ark. (22) anjiyojenezde önemli rolü olan VEGF-2 ve TIE-2 kinaz reseptörlerini inhibitörü benzimidazol-üre türevi bir seri bileşik (Formül 11) üzerinde çalıştıklarını bildirmişlerdir. Çalışmalarında benzimidazol NH ve üre NH'larının aktivitede etkin rolü olduğu yapı-aktivite çalışmalarlarıyla belirlemişlerdir.

Bir seri yeni 1,2,5-trisiklik benzimidazol türevlerinin, MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre proliferasyonuna karşı etkili olduğu 2008 yılında Gowda ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada bildirilmiştir. Yapılan çalışmada benzimidazolün 1., 2. ve 5. pozisyonlarındaki süstitüent taşıyan türevler ile sentezde elde edilen ara ürünlerin

antikanser aktivitede artışa sebep oldukları ve dolayısıyla ara ürünler ile trisübstitüe benzimidazol türevleri üzerine araştırmalarını yoğunlaştıracaklarını bildirmişlerdir (220).

RTK'lar endotel hücreleri eksprese ederek patojenik anjiyojenezin ortaya çıkmasında önemli mediyatörlerden olduğu bilinmektedir. Kinaz inhibitörü bileşikler üzerinde yapılan çalışmalarda piridil-pirimidin üre türevlerinin Tie-2 kinaz üzerindeki aktiviteleri gösterilmiştir. Bu bileşikteki üre parçası yerine benzimidazol yerleştirilerek elde edilen bileşiklerden Formül 26'de görülen bileşiğinin ($IC_{50}= 2 \text{ nM}$) en etkili bileşik olduğu ortaya konulmuştur (221).



Formül 26

2009 yılında Won ve ark. (23) küçük yapıdaki moleküllerin katı tümörlerde terapötik hedef olan HIF-1 α inhibitörü bileşikleri geliştirmek amacıyla benzimidazol analogu bileşiklerin etkilerini belirlemek için HTC-116, MDA-MB435, SK-HEP1 ve Caki-1 kanser hücrelerinde çalıştıklarını bildirmişlerdir. Formül 15'deki AC1-004 bileşiğinin % 58,6 oranında sıçan modellerinde tümörünün büyümesini inhibe ettiklerini ve bunu HIF-1 α aktivitesini stabilize ederek gerçekleştiğini yaptıkları çalışmalarla ortaya koymuşlardır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Materyal

Çalışmada kullanılan tüm çözücüler Merck niteliktedir. Sentez başlangıcı maddeleri olarak 1,2-fenilendiamin (Merck), fenil asetik asit (Merck), 2-metoksifenil asetik asit (Merck), 3-metoksifenil asetik asit (Merck), 4-metoksifenil asetik asit (Merck), hidroklorik asit (Merck), polifosforik asit (Merck) kullanıldı.

3.1.2. Yöntem

3.1.2.1 2-Süstitüebenzimidazollerin Konvansiyonel Yöntemle Yapılan Genel Sentez Yöntemi (Genel Sentez Yöntemi I)

Her bileşik, 10 mmol 1,2-fenilendiamin ile 15 mmol uygun fenilasetik asitin 10 ml 5N hidroklorik asit içinde su banyosu üzerinde, geri çeviren soğutucu altında 7-8 saat arasında değişen sürelerde magnetik karıştırıcılı ısıtıcı ile ısıtılmasıyla elde edildi. Reaksiyonun tamamlanması İTK ile izlendi. Hazır plaklar kullanılarak yapılan İTK çalışmalarında, lekelerin belirlenmesinde ultraviyole ışığı metalik iyot ve Dragendorff belirtecinden yararlandı. Reaksiyonun karışımı bir gece oda ısısında bekletildi. Bu sürenin sonunda reaksiyon karışımları buz banyosu içine alınarak potasyum bikarbonat ilavesi ile çöktürelerek bazı halinde elde edildi. Oluşan çökelek süzüldü. Turnusol kağıdı nötr reaksiyon verinceye kadar her defasında az miktarda kullanılan buzlu su ile yıkandı ve açık havada kurutuldu. Daha sonra elde edilmek istenen bileşiğe göre seçilen uygun bir çözücüde kristallendirildi. Oluşan kristal halindeki bileşik süzülerek alındı ve vakumlu etüvde kurutuldu.

3.1.2.2 2-Sübsütiütebenzimidazollerin Mikrodalga Yardımıyla Yapılan Genel Sentez Yöntemi (Genel Sentez Yöntemi II)

1,2-fenilendiamin (10 mmol) ile uygun sübsütiüte fenilasetik asit (15 mmol), PPA (5 g) içinde karıştırıldı. Daha sonra 3 g PPA ilave edilerek mikrodalga yardımı ile 150 °C'de 2+3 veya 2+5 dakika geri çeviren soğutucu altında karıştırılarak ısıtıldı. Süre sonunda ısının 80 °C'ye kadar düşmesi beklendikten sonra, karışım buzlu suyun (20 ml) içine boşaltıldı ve hızla karıştırılmaya devam edildi. Nötral pH'ya kadar NaHCO₃ ilave edildi. Oluşan katı süzülerek ayrıldı, turnusol kağıdı nötr reaksiyon verinceye kadar soğuk su ile yıkandı ve kurutuldu. Daha sonra uygun çözücüden kristallendirildi. Kristaller süzülerek alındı ve vakumlu etüv altında kurutuldu.

3.2. Analitik Çalışmalar

3.2.1 Erime Noktası Tayini

Sentezleri yapılan bileşiklerin erime dereceleri, Electrothermal 9200 erime derecesi tayin cihazı ile saptandı.

3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi ve Kolon Kromatografisi ile Yapılan Kontroller

Plaklar: İnce tabaka Kromatografisi çalışmalarında Kieselgel 60 F₂₅₄ ile 0.2 mm kalınlığında kaplanmış hazır alüminyum plaklar (Merck) kullanıldı.

Çözücü sistemleri: Sentezlerini yaptığımız bileşiklerin kromatografik kontrollerinde aşağıdaki çözücü sistemleri kullanıldı.

C-1: Kloroform-metanol (90:10)

C-2: Kloroform-metanol (80:20)

C-3: Heksan-etilasetat (90:10)

C-4: Heksan-etilasetat (80:20)

Kromotogramlarda sentez ürünleri ve başlangıç maddelerine ait lekelerin belirlenmesinde UV ışığı, Dragendorff belirteci, iyot buharından yararlanıldı.

3.2.3. Spektroskopik Kontroller

3.2.3.1. IR Spektrumları

Spektrumlar, sentezlenen bileşiklerinin Varian 1000 FTIR spektrofotometresinde alındı ve dalga sayısı (cm^{-1}) cinsinden değerlendirildi.

3.2.3.2. ^1H NMR Spektrumları

Bileşiklerin ^1H NMR Spektrumları, dimetilsülfoksit-d6 (Merck) içindeki çözeltileri ile Varian Mercury 400 FT-NMR spektrofotometrisinde alınıp kimyasal kayma değerleri δ skalasında değerlendirildi. Eşleşme sabitleri Hz olarak verildi.

3.2.4. Elemental Analizler

Bileşiklerin elemental analizleri (C, H, N) Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez II Laboratuvarında CHNS- 932 (LECO) Elemental Analiz Cihazı kullanılarak yapıldı.

3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Bu çalışmada, dört farklı 2-süstitübenzimidazol türevi bileşiğin; 2-benzilbenzimidazol (**BB1**), 2-(2-metoksibenzil)benzimidazol (**BB2**), 2-(3-metoksibenzil)benzimidazol (**BB3**) ve 2-(4-metoksibenzil)benzimidazol'un (**BB4**) ilk aşamada lösemik hücre apoptozisi üzerine etkisi araştırıldı. Bu amaçla 2-süstitübenzimidazol bileşikleri ile etkileşen lösemik hücrelerde kaspaz-3 ve kaspaz-8 enzimleri değerleri ölçüldü. Bileşiklerden **BB3** ve **BB4** in vitro çalışmalarda aktif oldukları tespit edildi. Daha sonra yapılan in vivo çalışmalarda arka bacak iskemisindeki apoptozis değerlendirilmesinde kaspaz -3, -8 ve -9 enzimlerinin ölçümü ile kas dokularındaki damar sayısı ve VEGF

değerleri ölçülerek bileşiklerin antianjiyojenik etkilerinin değerlendirilmesi yapıldı. Son olarakta, bileşiklerin antioksidan etkilerini gözlemek amacı ile, kas dokularında antioksidan enzimlerden katalaz enzim aktivitesi ve serbest radikal temizleyicisi olan redükte GSH miktarı saptandı.

3.3.1. Metod

3.3.1.1. İn Vitro Metodlar

2-Süstitübenzimidazol türevi bileşiklerin lösemik apoptozisi üzerine etkilerinin araştırılması amacıyla Hori ve ark. (20) ve Curtis ve ark. (222) tarafından kullanılan yöntemleri modifiye edilerek hücre kültürü yapıldı. AML'li hastadan alınan 1/10 oranında heparinize edilmiş 0.2 ml kan örnekleri Phytohemagglutinin M içermeyen Chromosome Medium A'ya (Biochrom, cat. no. F5013) steril şartlarda ekildi (223). Chromosome Medium A'nın her litresinde non esansiyel amino asitler 850 mL, fetal sığır serum 150 mL, heparin 25.000 E, penisilin G, sodyum tuzu 75.000 E, streptomisin sülfat 50 mg içermektedir. Steril kültür tüpleri temin edildi ve bu medyum her tüpe 2.5 ml olacak şekilde ilave edildi. Tüpler iyice karıştırıldı ve hücre kültürü inkübatörde $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat inkübe edildi.

Hücre kültür süresinin bitimine 24 ve 48 saat kala kültür tüplerine 2-süstitü benzimidazol bileşiklerinin 150, 300 ve 600 $\mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonları ilave edildi.

3.3.1.1.1. Kaspaz-3 ve -8 Enzim Aktivite Ölçüm Yöntemi

Hücre kültür süresinin bitiminde, heparinli kan örneklerinden polimorfo nükleer hücreler Ficoll-Hypaque gradient santrifüj yöntemini ile ayrıştırıldı. Kaspaz-3 ve -8 enzim aktivitelerinin ölçümünde *Colorimetric Protease Assay Kitleri* [*caspase 3; FLICE/Caspase-3 Colorimetric Protease Assay Kit and caspase 8; FLICE/Caspase-8 Colorimetric Protease Assay Kit (Oxford Biomedical Research, Oxford, MI)*] kullanıldı.

Kaspaz-3 ve -8 enzim aktivitelerinin ölçümü, çalışma kitlerinde tanımlandığı şekilde gerçekleştirildi.

3.3.1.2. İn Vivo Metodlar

Wistar albino sıçanlar ketamin (100 mg/kg) ve asepromazin (0.5 mg/kg) karışımı ile anesteziye edildi. Femoral arterleri açığa çıkarılarak inguinal ligamentin hemen distal ucundan izole edildi. İnguinal ligamentin 3 mm distal konumdan femoral arter bir ligatür (3-0 ipek) ile sıkıca bağlandı. 30-45 dakika içinde hayvanlar % 100 başarı ile anesteziyen geri döndü. Bu işlem femoral arterlerde tek tip bir oklüzyon oluşturdu. Bu şekilde normal kan akımı kapasitesinin % 10-20 korunur ve bu miktar dinlenme durumu kan akımı ihtiyacını karşılamaya yeterlidir (224,225). 4 hafta boyunca sıçanlara 1 mg/kg olarak i.p. olarak uygulandı. 4 hafta sonunda sıçanlar aynı şekilde anesteziye edildi ve tüm hayvanlarda midsternotomi gerçekleştirildi. Aortun inen kısmından alınan 5 ml kan örneklerinde ve anterior femoral bölgeden alınan kas örneklerinde Kaspaz-3, -8 ve -9, VEGF, GSH ve CAT ölçümleri yapıldı. Kas dokularında anjiyojenez değerlendirilmesi ayrıca histolojik olarak yapıldı.

Doku Homojenatinin Hazırlanışı: Homojenizasyon, hücre parçalayıcı tamponunda 1 dakika süreyle ve 2200 devirde homojenizatör kullanılarak yapıldı. Elde edilen homojenat, +4 °C'da 10.000x g'de 30 dakika süreyle santrifuj edilerek supernatan ayrıldı ve ayrılan supernatanda CAT enzim aktivitesi ile GSH düzeyleri ölçüldü. Antioksidan etkiyi gözlemek amacı ile kas dokularında antioksidan enzimlerden CAT aktivitesi ve bir serbest radikal temizleyicisi olan redükte GSH miktarı saptandı. Kas dokularında CAT (226) ve GSH (226) Beutler yöntemleri ile ölçüldü. Protein düzeyleri ise Lowry Yöntemi ile tayin edildi (227).

3.3.1.2.1 Kaspaz-3, Kaspaz-8 ve Kaspaz-9 Ölçüm Yöntemleri

Kas dokularında apoptozisin göstergesi olarak ise kaspaz-3, -8 ve -9 enzim aktiviteleri tayin edildi. Kaspaz-3, -8 ve -9 enzim aktiviteleri çalışma kitlerinde açıklandığı şekilde yapıldı. Kaspaz-3,-8 ve -9 sırası ile *FLICE/Caspase-3 Colorimetric Protease Assay Kit*, *FLICE/Caspase-8 Colorimetric Protease Assay Kit*, ve *FLICE/Caspase-9 Colorimetric Protease Assay Kit* (Oxford Biomedical Research, Oxford, MI) kullanıldı. Yöntemlerin prensibi kromofor *p*-nitroanilitin (*p*NA), işaretlenmiş substratından kırılması ile spektrofotometrik olarak ölçüm esasına dayanmaktadır. Kaspaz-3, -8 ve -9 için *p*NA substratları sırası ile DEVD-*p*NA, IETD-*p*NA ve Ac-LEHD-*p*NA'dır. *p*-NA miktarı spektrofotometrede 405 nm'deki absorpsiyon değeri ölçülerek tayin edilir.

3.3.1.2.2 VEGF Ölçüm Yöntemi:

Önemli bir anjiyojenik faktör olan VEGF'in serum ve kas dokularında seviyelerinin ölçümü sandviç prensibi ile çalışan enzim bağlı immunsorbent (*ELISA*) yöntemi kullanılarak *Quantikine Kit*'i (R&D Systems, United States of America) ile saptandı. VEGF ölçümü üretici firmanın protokolüne uyularak gerçekleştirilmiştir.

3.3.1.2.3 Katalaz Ölçüm Yöntemi

Bileşiklerin oksidatif hasar oluşumunu araştırmak için antioksidan bir enzim olan katalaz seviyeleri ölçülmüştür. Katalaz H₂O₂'nin su ve moleküler oksijene yıkımını katalizler. H₂O₂'nin ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak 230 nm'de enzimin yıkım hızı spektrofotometrik olarak ölçülür (226).



Ayırıcılar:

1 M Tris Tamponu (pH: 8,0): 8,8 g Tris asit, 5,4 g Tris baz, 0,14g EDTA, Saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.

1 M Fosfat tamponu (pH: 7.0): 5,4 g Disodyum Fosfat ve 9,5 g Sodyum Fosfat'ın üzerine bir miktar su koyuldu. NaOH ile pH ayarlandı ve 100 ml'ye su ile tamamlandı.

10 mM H₂O₂ % 30'luk H₂O₂'den hareketle hazırlandı.

1 M fosfat tamponu 1/10 oranında sulandırıldı, bunun 0,9 ml'sinin saf su olan köre karşı optik dansitesi 230 nm'de okundu. (OD₁)

0,9 ml 1/10 oranında sulandırılmış 1 M fosfat tamponu üzerine 1/100 oranında sulandırılmış %30'luk H₂O₂'den 0,1 ml eklenerek bu çözeltinin de optik dansitesi okundu.(OD₂)

1/100 sulandırılmış H₂O₂'nin derişimi $c = 141 \times (OD_2 - OD_1)$ mM olarak belirlendi. 10 mM H₂O₂ hazırlamak için 1/100 seyreltilmiş H₂O₂'nin 1 ml'si derişimin 1/10'u ölçüsünde saf su ile tamamlandı.

1 ml'lik tüplerden birincisine (kör) 1 M Tris Tamponundan 50 µL ve 930 µL su ilave edildi. İkincisine ise (örnek) 1 M Tris Tamponundan 50 µL, 10 mM hidrojen peroksitten 900 µL ve 30 µL su eklendi. 37 °C'de 10 dakika inkubasyon yapıldı ve üzerlerine 20 µl hemozilat ilave edildi.

Hesaplama:

$$\text{Katalaz Aktivitesi (Ü/ml):} \frac{\Delta OD / \text{dak}}{0,071} \times \frac{V_{\text{Toplam}}}{V_{\text{Örnek}}}$$

ΔOD = Optik Dansite Değişimi

0,071 = 1 µmol H₂O₂'nin 1 cm'lik ışık yolunda verdiği optik dansite değeri .

V_{Toplam} = Toplam hacim

$V_{\text{Örnek}}$ = Homojenat hacmi

$$\text{Katalaz Spesifik Aktivitesi} = \frac{\text{Katalaz Aktivitesi}}{\text{mg protein/ml}}$$

3.3.1.2.4 GSH Ölçüm Yöntemi

İyi bir serbest radikal temizleyici olan GSH düzeylerinin belirlenmesi bileşiklerin antioksidan etkilerinin ortaya konulmasında önemli bir faktördür.

GSH halinde bulunan tüm nonprotein sülfidril gruplarının, bir disülfid bileşiği olan 5,5'-ditiyo-bis [2-nitrobenzoik asit] (DTNB)'yi redükleyerek, 412 nm dalga boyunda absorban veren sarı renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanır. Ölçülen absorban değeri GSH miktarını yansıtır (226).

Ayrıçlar:

Çöktürücü Çözelti: 1,67 g glasiyel metafosforik asit, 2,0 g Disodyum EDTA ve 300 g NaCl, saf su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

42,59 g Na₂HPO₄, saf su ile 1000 ml'ye tamamlanıp 0,3 M Na₂HPO₄ elde edildi.

40 mg DTNB % 1'lik Sodyum Sitrata ile 100 ml'ye tamamlanıp %0,40'luk DTNB çözeltisi elde edildi.

Yöntem:

Köre ait deney tüpüne 2 ml saf su ve 3 ml çöktürücü, örneğe ait deney tüpüne ise 2 ml doku homojenatı ve 3 ml çöktürücü eklendi.

Karışımlar 5 dakika bekletildi, örnek filtre kağıdından süzüldü. Süzüntülerden 2'şer ml alınıp iki ayrı tüpe alınır ve üzerlerine 8 ml 0,3 M Na₂HPO₄ ilave edildi.

Örneğin absorban değeri 412 nm'de köre karşı okundu (OD1). Daha sonra tüplere %0,04 DTNB'den 1'er ml ilave edildi. Örnek tüpte oluşan renk 412 nm'de köre karşı okundu.(OD2).

Hesaplama:

Glutatyon derişimi $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein olarak hesaplandı:

$$\frac{C (\mu\text{mol}/\text{ml})}{1000} = \frac{(\text{OD2}-\text{OD1})}{13,600} \times \frac{5}{2}$$

13,600: GSH ile DTNB etkileşimi sırasında oluşan sarı rengin molar ekstinksiyon katsayısı

C: $\mu\text{mol/ml}$ Glutatyon

OD1: DTNB ilave edilmeden önce 412 dalga boyunda ölçülen optik dansite

OD2: DTNB ilave edildikten sonra 412 dalga boyunda ölçülen optik dansite

1000 : μmol 'e dönüşüm katsayısı

5/2 : seyreltme katsayısı

$$\mu\text{mol/mg protein} = \frac{C (\mu\text{mol/ml})}{\text{mg protein / ml}}$$

3.3.1.2.5 Lowry Yöntemi ile Protein Tayini

Alkali ortamda proteinlerin bakır sülfat ve fosfotungstik asit ile reaksiyona girerek oluşturduğu mavi renkli kompleksin 550 nm dalga boyunda absorbans değerinin ölçülmesi prensibine dayanır (227).

Ayıraçlar:

2 g Na_2CO_3 , 100ml 0,1 NaOH ile seyreltilip % 2'lik Na_2CO_3 elde edildi. 1 g $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, saf su ile 100 ml'ye tamamlanıp % 1'lik $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi elde edildi. 2 g Na-K tartarat, saf su ile 100 ml'ye tamamlanıp % 2'lik Na-K tartarat çözeltisi elde edildi.

Hazırlanan çözeltilerden 50 ml %2'lik Na_2CO_3 , 0,5 ml %1'lik $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve 0,5ml %2'lik Na-K tartarat karıştırılıp Ayıraç C hazırlandı.

Folin-Ciocalteu Ayıracı: 1:1,5 saf su ile dilue edildi.

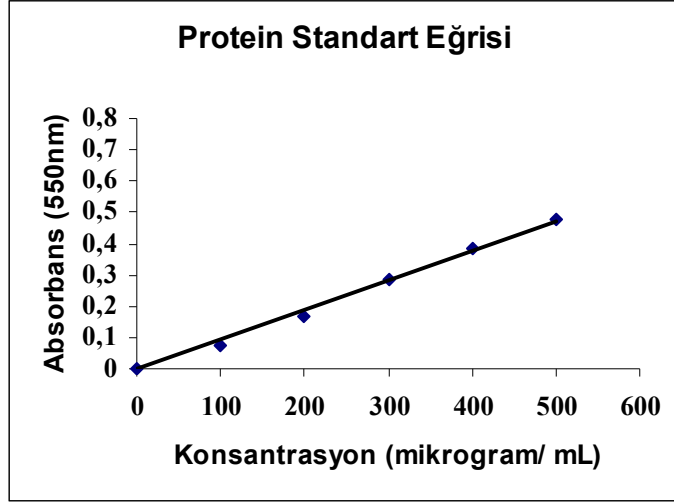
Protein standart eğri çizimi:

Aşağıdaki çizelgede verilen derişimlerde hazırlanan bovin serum albumin (BSA) standartları kullanılarak standart eğri çizimi yapıldı.

Çizelge 3.1. Protein Standart Eğri Çiziminde numunelerdeki madde miktarları

Tüp No	Kör	1	2	3	4	5
Kullanılan BSA Standart	-	100	200	300	400	500
Derişim ($\mu\text{g/ml}$)	-	100	200	300	400	500
İlgili BSA Standart	-	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Çözeltisi (ml)	-	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Serum fizyolojik (ml)	0,3	-	-	-	-	-
Ayıraç C (ml)	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0

Bu karışımlar hazırlanıp oda ısısında 10 dk bekletildi. Ardından her birine 0,3 ml Folin-ciocalteu ayıracı (Folin fenol ayıracı veya Folin-Denis Ayıracı) ilave edildi ve oda ısısında 30 dakika bekletildi. 550 nm'de köre karşı okundu ve standart konsantrasyonlarına karşı absorbens değerleri çizildi.



Şekil 1. Protein Standart Eğrisine ait bir örnek

Yöntem:

Köre ait deney tüpüne 0,3 ml serum fizyolojik ve 3 ml taze hazırlanan çözelti, örneğe ait deney tüpüne ise 0,3 ml doku homojenatı ve 3 ml günlük çözelti eklendi. İlave edildikten sonra karıştırıldı. Oda ısısında 10 dakika bekletildi. Ardından her birine 0,3 ml

Folin-ciocalteu ayracı ilave edildi ve oda ısısında 30 dakika bekletildi. Absorbans değeri 550 nm’de okundu. Protein konsantrasyonu standart eğriden değerlendirildi.

3.3.1.2.6 Kan Dokusundaki Kapiller Damar Sayımı

Tüm gruplardaki her bir sıçanın arka bacaklarından anestezi altında alınan gastroknemius kas dokusu iki parçaya ayrıldıktan sonra % 10’luk formalin çözeltisinde 48 saat fikse edildi. Rutin takip yöntemi sonrasında dokular parafine gömülerek bloklandı. Tüm parafin bloklardan mikrotom ile 7 µm’lik kesitler alındı. Dokulardaki kapiller damar sayılarını belirleyebilmek için kesitlere bazal laminaları pozitif boyayan PAS boyası yapıldı. Bu histokimyasal boya ile bazal laminaları parlak kırmızı-leylak rengi boyanan kapiller damarlar kolayca sayılabildi. PAS boyası aşağıdaki yöntemle uygulandı:

Kesitler deparafinize edildikten sonra rehidrate edildi. Periyodik asit çözeltisi 10 dakika bekletilen kesitler distile suda yıkandı. Schiff reaktanında 5 dakika bekletildi ve akan çeşme suyunda yıkandı. Çekirdek boyanması için Meyer’s hematoksileninde 15 saniye boyandıktan sonra akan çeşme suyunda yıkandı. Derecesi artan alkol serilerinde dehidrate edildikten sonra kesitler kurutuldu ve entellan ile kapatıldı.

Sayım için tüm gruplardaki her bir deneğin ikişer bloğundan elde edilen kesitler kullanıldı. Boyanan kesitlerin rastlantısal olarak seçilen farklı ikişer alanından 20’lik objektifle fotoğrafları çekildi. Bu işlem için Olympus BX50™ ışık mikroskobuna takılı bir Nikon Coolpix 5000™ dijital kamera kullanıldı. Elde edilen mikrofotoğraflardaki damarların sayımı iTEM 5.0[®] (*Soft Imaging System GmbH-Germany*) yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Sayım sonucunda her grup için elde edilen toplam damar sayıları gruptaki denek sayılarına bölünerek damar sayısı ortalamaları hesaplandı.

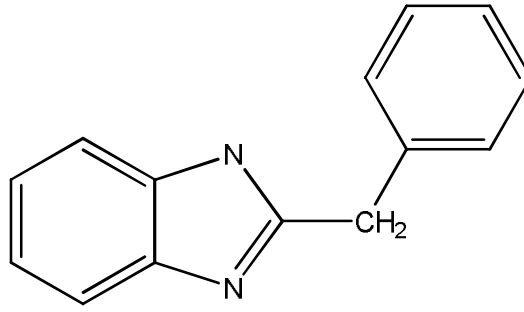
3.3.1.3. İstatistiksel Metotlar

Bütün verilerin normallik testleri Shapiro-Wilk testi ile test edilmiş ve normal dağılım gösterdiği gözlenmiştir. Deney gruplarımız ikiden fazla olduğu için gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar tek yönlü varyans analizi (*One way ANOVA*) veya Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Analizler SPSS 11.5 ve MedCalc 10.4.0 istatistik paket programları kullanılarak yapılmıştır. Grafikler STATISTICA 6.0 paket programı ile çizilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Bulgular

4.1.1. 2-Benzil-1*H*-benzimidazol (BB1)



Formül 27

1.080 g (10 mmol) 1,2-fenilendiamin ve 2.040 g (15 mmol) fenilasetik asit 7 ml 5N hidroklorik asit çözeltisi içinde, 7 saat ısıtılarak, genel sentez yöntemi I'e göre yürütülen reaksiyonu ile 1.060 g saf bileşik (Formül 27) elde edildi.

1.080 g (10 mmol) 1,2-fenilendiamin ve 2.040 g (15 mmol) fenilasetik asit 3 g PPA çözeltisi içinde, 5 dakika ısıtılarak, genel sentez yöntemi II'e göre yürütülen reaksiyonu ile 1.770 g saf bileşik elde edildi.

Bileşik No	Konvansiyonel Yöntem			Mikrodalga Yöntemi			Erime Noktası (°C) (Lit: 179-180°C ^{128, 228-231})
	Süre (saat)	Sıcaklık (°C)	Verim (%)	Süre (dk)	Güç (watt)	Verim (%)	
BB1	7	Reflaks	50	5	150	85	182°C (Lit: 179-180°C ^{128, 228-231})

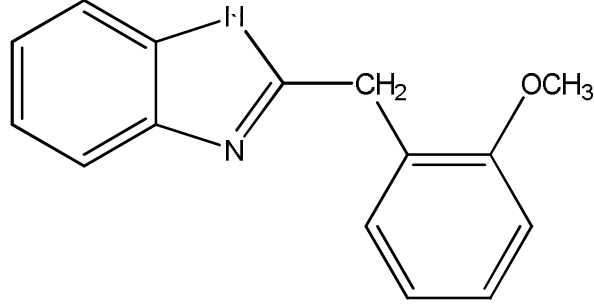
IR spektrumunda (cm^{-1}), 3600-2200 (N-H, aromatik gerilimler), 3050 (aromatik =C-H gerilim), 2915 (alifatik -C-H gerilim), 1597 (C=N gerilim), 1600-1500 (aromatik C=C gerilimleri, N-H eğilim, alifatik -C-H eğilim), 760-750 cm^{-1} (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görülür.

^1H NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ ppm, 4.17 (2H, s, CH_2), 7.12 (2H, dd, $J= 9.4$ ve 3.1 aromatik H), 7.21-7.25 (1H, m, aromatik H), 7.29-7.37 (4H, m, aromatik H), 7.45-7.50 (2H, m, aromatik H), 12.50 (1H, yayvan s, -NH) pikleri görüldü.

Elementel Analiz: $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2$ (208.10)

	%C	%H	%N
Hesaplanan	: 80.7	5.8	13.5
Bulunan	: 80.5	5.6	13.2

4.1.2. 2-(2-Metoksibenzil)-1*H*-benzimidazol (BB2)



Formül 28

1.080 g (0.01 mol) 1,2-fenilendiamin ve 2.490 g (0.015 mol) 2-metoksifenilasetik asit 80 ml 5N hidroklorik asit çözeltisi içinde, 7 saat ısıtılarak, genel sentez yöntemi I'e göre yürütülen reaksiyonu ile 0.955 g saf bileşik (Formül 28) elde edildi.

1.080 g (0.01 mol) 1,2-fenilendiamin ve 2.490 g (0.015 mol) 2-metoksifenilasetik asit 2 g PPA çözeltisi içinde, 7 dakika ısıtılarak, genel sentez yöntemi II'e göre yürütülen reaksiyonu ile 1,765 g saf bileşik elde edildi.

Bileşik No	Konvansiyonel Yöntem			Mikrodalga Yöntemi			Erime Noktası (°C)
	Süre (saat)	Sıcaklık (°C)	Verim (%)	Süre (dk)	Güç (watt)	Verim (%)	
BB2	7	Reflaks	40	7	150	74	188-189°C (Lit:186-187°C 228, 229, 232-234)

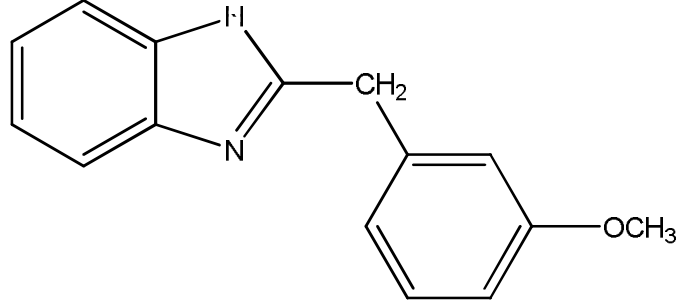
IR spektrumunda (cm^{-1}), 3500-2300 (N-H, aromatik =C-H gerilim), 1620 (C=N gerilim), 1600-1450 (aromatik C=C gerilimleri, N-H eğilim, alifatik -C-H eğilim), 740-730 (benzene =C-H plan dışı eğilim) bandları görüldü.

^1H NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ ppm, 3.42 (s, 3H), 4.27 (s, 2H), 7.14 -7.38 (5H, m, aromatik H), 7.41-7. 50 (3H, m, aromatik H), 12.88 (yayvan s, 1H).

Elementel Analiz: $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ (238.11)

	%C	%H	%N
Hesaplanan	: 75.6	5.9	11.8
Buluunan	: 75.9	5.5	11.3

4.1.3. 2-(3-Metoksibenzil)-1*H*-benzimidazol (BB3)



Formül 29

1.080 g (0.01 mol) 1,2-fenilendiamin ve 2.490 g (0.015 mol) 3-metoksifenilasetik asit 80 ml 5N hidroklorik asit çözeltisi içinde, 8 saat ısıtılarak, genel sentez yöntemi I'e göre yürütülen reaksiyonu ile 0.850 g saf bileşik (Formül 29) elde edildi.

1.080 g (0.01 mol) 1,2-fenilendiamin ve 2.490 g (0.015 mol) 3-metoksifenilasetik asit 3 g PPA çözeltisi içinde, 7 dakika ısıtılarak, genel sentez yöntemi II'e göre yürütülen reaksiyonu ile 1,790 g saf bileşik elde edildi.

Bileşik No	Konvansiyonel Yöntem			Mikrodalga Yöntemi			Erime Noktası (°C)
	Süre (saat)	Sıcaklık (°C)	Verim (%)	Süre (dk)	Güç (watt)	Verim (%)	
BB3	8	Reflaks	35	7	150	75	152-153 °C (Lit: 152-155 °C ^{228,229})

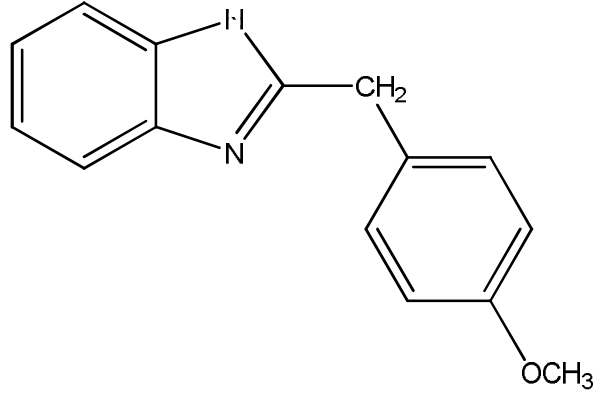
IR spektrumunda (cm^{-1}), 3600-2200 (N-H), 3050 (aromatik =C-H gerilim), 2910 (alifatik -C-H gerilim), 1613 (C=N gerilim), 1586-1535 (aromatik C=C gerilimleri, N-H eğilim, alifatik -C-H eğilim), 760-750 cm^{-1} (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

^1H NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ ppm, 3.36 (s, 3H), 4.36 (s, 2H), 7.10-7.44 (m, 4H), 7.59-7.89 (m, 4H), 12.29 (yayvan, s, 1H) pikleri görüldü.

Elementel Analiz: $C_{15}H_{14}N_2O$ (238.11)

	%C	%H	%N
Hesaplanan	: 75.6	5.9	11.8
Bulunan	: 75.5	5.6	11.7

4.1.4. 2-(4-Metoksibenzil)-1*H*-benzimidazol (BB4)



Formül 30

1.080 g (0.01 mol) 1,2-fenilendiamin ve 2.490 g (0.15 mol) 4-metoksifenilasetik asit 80 ml 5N hidroklorik asit çözeltisi içinde, 8 saat ısıtılarak, genel sentez yöntemi I'e göre yürütülen reaksiyonu ile 0.960 g saf bileşik (Formül 30) elde edildi.

1.080 g (0.01 mol) 1,2-fenilendiamin ve 2.490 g (0.015 mol) 4-metoksifenilasetik asit 3 g PPA çözeltisi içinde, 5 dakika ısıtılarak, genel sentez yöntemi II'e göre yürütülen reaksiyonu ile 1,910 g saf bileşik elde edildi.

Bileşik No	Konvansiyonel Yöntem			Mikrodalga Yöntemi			Erime Noktası (°C)
	Süre (saat)	Sıcaklık (°C)	Verim (%)	Süre (dk)	Güç (watt)	Verim (%)	
BB4	8	Reflaks	40	5	150	80	165 °C (Lit: 165 °C ^{228,229})

IR spektrumunda (cm^{-1}), 3600-2200 (N-H, aromatik gerilimleri), 3050 (aromatik =C-H gerilim), 2910 (alifatik -C-H gerilim), 1610 (C=N gerilim), 1600-1535 (aromatik C=C gerilimleri, N-H eğilim, alifatik -C-H eğilim), 760-750 cm^{-1} (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

¹H NMR spektrumunda (DMSO- d₆) δ ppm, 3.80 (s, 3H), 4.60 (2H, s), 6.85-6.90 (2H, m, aromatik H), 7.10-7.15 (2H, m, aromatik H), 7.35 (2H, d, aromatik H), 7.36-7.52 (2H, m, aromatik H), 12.27 (s, 1H) pikleri görüldü.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₄N₂O (238.11)

	%C	%H	%N
Hesaplanan	: 75.6	5.9	11.8
Bulunan	: 75.4	5.7	11.9

4.2. Biyolojik Bulgular

Bu çalışmada 4 adet benzimidazol türevi bileşik apoptozis ve anjiyojenez üzerindeki rolünün araştırılması amacıyla sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin önce in vitro hücre kültürü çalışması ve ardından in vivo çalışmasıyla etkileri tespit edilmiştir. İlk olarak AML hücrelerinde yapılan hücre kültürü çalışması ile kaspaz-3 ve -8 enzimlerinin ölçümü yapılarak bileşiklerin apoptotik etkileri tespit edilmiştir. Ardından in vivo çalışmalar ile bileşiklerin apoptozise olan etkilerinin değerlendirilmesi için arka bacak iskemisi yapılmış sıçanların kas dokusunda kaspaz-3, -8 ve -9 enzimlerinin ölçümü, anjiyojeneze olan etkilerinin değerlendirilmesi için ise kas dokusunda ve serumda VEGF düzeyleri belirlenmiştir. Bu çalışmaların yanı sıra bileşiklerin oksidatif hasar oluşumunu belirlemek için kas dokusunda katalaz enzim aktivitesi ve serbest radikal temizleyici GSH düzeyleri tayin edilmiştir. Son olarak da kas dokusundan alınan kesitlerde kapiller damar sayımı yapılarak bileşiklerin antianjiyojenik etkileri değerlendirilmiştir.

4.2.1 İn Vitro Deneylerden Elde Edilen Biyolojik Bulgular

Çizelge 4.1. İn Vitro Çalışmalardaki Apoptozis ile ilgili parametreler

Maddeler	Enzim	Gruplar	24. saat		48. saat	
			Ortalama± SD	p	Ortalama± SD	p
BB1	Kaspaz 3	Kontrol	0.0815±0.0021	0.006	0.0865±0.0021	0.001
		150 µg/ml	0.0700±0.0014*		0.0710±0.00001* [#]	
		300 µg/ml	0.0730±0.0001*		0.0720±0.0014* [#]	
		600 µg/ml	0.0076±0.0010		0.0820±0.0014	
	Kaspaz 8	Kontrol	0.0875±0.0035	0.051	0.0805±0.0021	0.003
		150 µg/ml	0.0835±0.0007		0.0835±0.0007 [#]	
		300 µg/ml	0.0915±0.0007		0.0860±0.0014 [#]	
		600 µg/ml	0.0915±0.0210		0.0940±0.0140*	
BB2	Kaspaz 3	Kontrol	0.0815±0.0021	0.049	0.0865±0.0021	0.001
		150 µg/ml	0.0750±0.0014*		0.0800±0.0014 [#]	
		300 µg/ml	0.0780±0.000001		0.0955±0.0007* ^{,\$}	
		600 µg/ml	0.0780±0.0014		0.1015±0.0021*	
	Kaspaz 8	Kontrol	0.0875±0.0035	0.045	0.0805±0.0021	0.018
		150 µg/ml	0.0930±0.000001		0.0880±0.000001	
		300 µg/ml	0.0930±0.0014		0.0940±0.000001*	
		600 µg/ml	0.0975±0.0021 [#]		0.0910±0.0420*	
BB3	Kaspaz 3	Kontrol	0.0815±0.0021	0.0001	0.0865±0.0021	0.006
		150 µg/ml	0.0965±0.0007* [#]		0.1010±0.0028*	
		300 µg/ml	0.0995±0.0007* [#]		0.0925±0.0021	
		600 µg/ml	0.1070±0.0014*		0.1010±0.0014*	
	Kaspaz 8	Kontrol	0.0875±0.0035	0.002	0.0805±0.0021	0.020
		150 µg/ml	0.0705±0.0007*		0.0855±0.0021	
		300 µg/ml	0.0745±0.0007*		0.0875±0.0007*	
		600 µg/ml	0.0695±0.0007*		0.0900±0.0014*	
BB4	Kaspaz 3	Kontrol	0.0815±0.0021	0.051	0.0865±0.0021	0.041
		150 µg/ml	0.1040±0.0080		0.0975±0.0007	
		300 µg/ml	0.1000±0.0014		0.1020±0.0035	
		600 µg/ml	0.0975±0.0064		0.1030±0.0060*	
	Kaspaz 8	Kontrol	0.0875±0.0035	0.020	0.0805±0.0021	0.008
		150 µg/ml	0.1010±0.0007*		0.0745±0.0007 ^{#,\$}	
		300 µg/ml	0.0965±0.0021		0.0885±0.0007	
		600 µg/ml	0.0975±0.0021*		0.0875±0.0036	

*; Kontrol grubu ile farklılığın anlamlı olduğunu ifade etmektedir (P<0.05)

\$; 300 µg/ml grubu ile farklılığın anlamlı olduğunu ifade etmektedir (P<0.05)

#; 600 µg/ml grubu ile farklılığın anlamlı olduğunu ifade etmektedir (P<0.05)

4.2.2 İn Vivo Deneylemlerden Elde Edilen Biyolojik Bulgular

Çizelge 4.2. Apoptozis ile ilgili parametreler

Parametreler	Kontrol (n= 6)	Kronik İskemi (n=5)	Kronik İskemi +DMSO (n=6)	Kronik İskemi + BB3 (n=9)	Kronik İskemi + BB4 (n= 8)	P
Kaspaz 3	0.597 ± 0.170	0.479 ± 0.135	0.418 ± 0.063	0.630 ± 0.146 [#]	0.695 ± 0.186 ^{#,†}	0.022
Kaspaz 8	0.534 ± 0.141	0.412 ± 0.111	0.427 ± 0.074	0.690 ± 0.177 ^{#,†}	0.745 ± 0.227 ^{*,#,†}	0.005
Kaspaz 9	0.632 ± 0.177	0.451 ± 0.112	0.402 ± 0.060 [*]	0.590 ± 0.173 [#]	0.700 ± 0.241 ^{#,†}	0.011

*; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

#; Kronik iskemi + DMSO grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

†; Kronik iskemi grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

Çizelge 4.3. Antioksidan Sistem ile ilgili parametreler

Parametreler	Kontrol (n= 6)	Kronik İskemi (n=5)	Kronik İskemi +DMSO (n=6)	Kronik İskemi + BB3 (n=9)	Kronik İskemi + BB4 (n= 8)	P
GSH	0.015 ± 0.004	0.007 ± 0.003 [*]	0.010 ± 0.005 [*]	0.005 ± 0.004 ^{*,#}	0.007 ± 0.002 [*]	< 0.0001
CAT	0.815 ± 0.513	0.887 ± 0.421	0.860 ± 0.346	1.621 ± 0.763 ^{*,#,†}	1.379 ± 0.500	0.039

*; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

#; Kronik iskemi + DMSO grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

†; Kronik iskemi grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

Çizelge 4.4. BB3 ve BB4'ün Doku VEGF ve Serum VEGF değerlerine etkisi

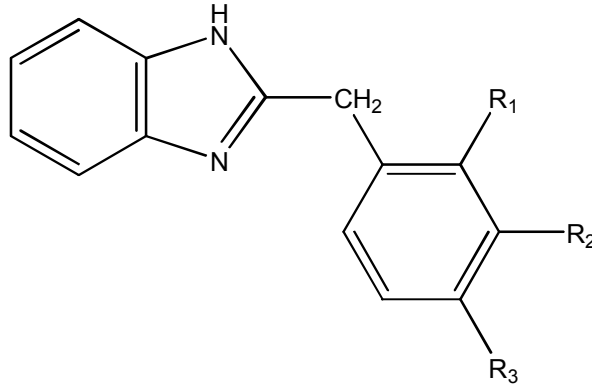
Parametreler	Kontrol (n= 5)	Kronik İskemi (n=5)	Kronik İskemi + DMSO (n=5)	Kronik İskemi + BB3 (n=5)	Kronik İskemi + BB4 (n= 5)	P
Doku VEGF	-2.51 ± 4.01	18.44 ± 22.45	5.84 ± 12.05	10.71 ± 7.10	4.83 ± 2.50	0.088
Serum VEGF	16.62 ± 4.32	18.04 ± 8.77	14.14 ± 5.35	15.38 ± 4.41	18.04 ± 2.54	0.683

Çizelge 4.5. BB3 ve BB4'ün kas dokusundaki kapiller damar sayısına etkisi

Parametreler	Kontrol (n= 4)	Kronik İskemi (n=5)	Kronik İskemi +DMSO (n=5)	Kronik İskemi +BB3 (n=4)	Kronik İskemi +BB4 (n=7)	P
Kapiller damar sayısı	21.25 ± 10.38	34.80 ± 16.43	35.50 ± 19.91	34.00 ± 7.49	40.07 ± 16.26	0.444

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada 2 numaralı konumlarından benzil, 2-metoksibenzil, 3-metoksibenzil, ve 4-metoksibenzil grubu taşıyan 4 adet benzimidazol türevi bileşik (Formül 31) konvansiyonel ve mikrodalga sentez yöntemleri ile sentezlenmiştir.

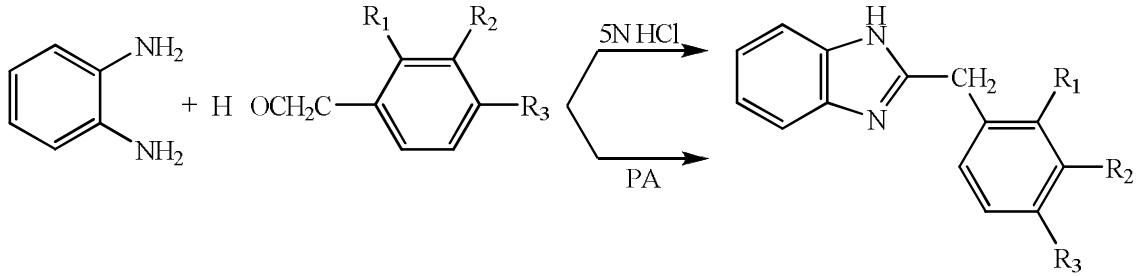


Formül 31

Bileşik No	R ₁	R ₂	R ₃
1	-H	-H	-H
2	-OCH ₃	-H	-H
3	-H	-OCH ₃	-H
4	-H	-H	-OCH ₃

Sentezi yapılan bileşikler daha önce grubumuzun yaptığı çalışmalarda ve bazı araştırmacılar tarafından sentezlenmiş, literatürde kayıtlı bileşikler olup mikrodalga sentezleri ise grubumuz tarafından yapılmıştır (128, 228-234). Bileşiklerin sentezleri, konvansiyonel yöntem olarak; 2-alkilsübstitüe benzimidazol türevlerinin eldesi için kolay ve çok kullanılan bir yöntem olan Phillips Yöntemi ve son yıllarda özellikle organik sentezlerde süre kısalığı, verim yüksekliği gibi yararlarından dolayı yoğun olarak kullanılmakta olan mikrodalga yöntemleri uygulanarak yapılmıştır (40, 49, 235-237).

Reaksiyon Denklemi 50'de bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin sentez şeması verilmektedir.



Reaksiyon Denklemi 50

Mikrodalga yöntemi ile yapılan sentez çalışmaları incelendiğinde tüm bileşiklerin daha kısa sürede ve daha yüksek verimle elde edildiği görülmektedir. Konvansiyonel yöntemle 7-8 saatte gerçekleştirilen sentezlerin mikrodalga yöntemi ile 5-7 dakika gibi oldukça kısa sürede yapılabilmektedir. Yine mikrodalga ile gerçekleştirilen reaksiyonlarda konvansiyonel yöntemle göre verimlerin % 70-114 arasında değişen oranlarda yükseldiği görülmektedir.

Sentezlenen bileşiklerin yapılarının belirlenmesi için, erime dereceleri, IR ve ¹H-NMR spektrumlarından ve elementel analiz verilerinden yararlanılmıştır. Bileşiklerin üzerinde yapılan çalışmalar literatür verileri ile uygunluk göstermektedir.

Bileşiklerin IR spektrumları FT-IR spektrofotometresi ile ATR (*Attenuated Total Reflectance*) yardımıyla toz veya kristal örnek üzerinde alınmıştır. Bileşiklere ait spektrumların 3500-2300 cm⁻¹ bölgesinde kuvvetli, yayvan multipl absorpsiyon bandları görülmektedir. Bu bölgede bileşiklerin 2 numaralı konumlarındaki süstitüente bağlı olarak aromatik =C-H gerilim ve alifatik C-H gerilim bandları yer almaktadır. Bu bandların yerlerini her zaman tam olarak belirlemek zordur (238).

Bileşiklerin IR spektrumlarında incelenen ikinci bölge 1700-1300 bölgesidir. Bu bölgede bileşiklerin C=N gerilim, C=C gerilim, N-H eğilim ve 2 numaralı konumlarında yer alan -CH₂ grubuna ait C-H eğilim bandları görülmektedir.

Elde edilen bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları DMSO-d₆ içinde alınmıştır. İmidazol halkasına ait N-H protonu spektrumları δ 12.27 ila 12.88 ppm arasında yayvan bir single

halinde görülmektedir. Benzimidazolün imidazol halkası üzerindeki proton N^1-C-N^3 boyunca eşit olarak delokalize olmaktadır. Bu protonun “piridin azotu” ile “pirol azotu” arasındaki değişimi çok hızlı olduğu için NMR spektrumunda N-H protonuna ait sinyal oda ısısında yayvan singlet halinde görülmektedir (239).

Benzimidazol halkasının aromatik protonlarına ait pikler imidazol hidrojeninin iki azot atomu arasında hızlı değişimi nedeni ile multipler halinde 6.85-7.89 ppm aralığında görülmektedir (240).

Çözücü olarak kullanılan DMSO- d_6 içinde H_2O 'ya ait δ 3.34 ppm civarında ve kullanılan DMSO- d_6 'nın en iyi şartlarda % 99.9 oranında döteryum içermesi nedeni ile CD_3SOD_2H 'a ait δ 2.50 ppm'de gözlenen pikler tüm spektrumlarda vardır.

Aktivite çalışmaları incelendiğinde, ilk aşamada sentezlenen 4 bileşiğin lösemik hücre (AML) apoptozisi üzerine etkisi araştırılmıştır. Lösemik hücreler **BB1**, **BB2**, **BB3** ve **BB4**'ün farklı konsantrasyonlarının (150, 300 ve 600 $\mu g/ml$) 24 saat ve 48 saat inkübasyonu sonrasında, **BB1** bileşiğinin kaspaz-3 seviyesini azaltırken, kaspaz-8 seviyesini arttırdığı görülmektedir. **BB2** bileşiğin kaspaz-3 seviyesinde farklılık bulunmazken, kaspaz-8 seviyesinde artış olduğu görülmektedir. **BB3** bileşiği kaspaz-3 seviyelerini hem 24 hem de 48 saatlik inkübasyonlar neticesinde arttırırken, kaspaz-8 seviyelerini ilk 24 saat sonunda azaltıp, ikinci 24 saatte net olarak arttırmıştır. **BB4** bileşiği ise hem kaspaz-3 seviyesini hemde kaspaz-8 seviyesini 24 ve 48 saatlik inkübasyonlar sonucunda arttırmıştır.

Özellikle **BB3** ve **BB4** bileşiklerinin apoptotik etkilerinin diğer iki bileşiğe göre daha etkin olduğunu verilere dayanarak söylemek mümkündür.

Gen kontrollü bir süreç olan apoptozis, farklı stimülasyonlara cevap olarak normal doku turnoveri, doku ve organların şekillenmesi, immün sistem, embriyolojik gelişim, kanser ve farklılaşmış hücrelerin yaşam sürelerinin sona ermesi gibi farklı biyolojik süreçlerde görev almaktadır (4-6). AML oluşumunda hücre proliferasyonu ve apoptozis arasındaki denge çok önemlidir. Çalışmanın bu aşamasında, apoptozisin bir göstergesi olan kaspaz-3 ve kaspaz-8 enzim aktivitelerindeki artış çalışma konusunu teşkil eden bileşiklerinin lösemik hücrelerin artışı baskıladığını düşündürmektedir. İleriki

araştırmalarda bu bileşiklerin artan konsantrasyonlarıyla çalışmaların sürdürülmesi düşünülmektedir.

Aktivite çalışmalarının ikinci bölümünde yapılan in vivo çalışmada arka bacak iskemisi oluşturulan sıçanlardan alınan dokularda kaspaz-3, -8 ve -9 aktiviteleri incelenmiştir.

Yapılan in vitro çalışmada daha aktif bulunan **BB3** ve **BB4** bileşikleri ile in vivo aktivite çalışmalarına devam edilmiştir. Çalışmada her iki bileşiğin kaspaz seviyelerini arttırdığı tespit edilmiştir. DMSO uygulanan kronik iskemili sıçanlarda kaspaz-3, -8 ve -9 seviyeleri sırasıyla 0.418 ± 0.063 , 0.427 ± 0.074 , 0.402 ± 0.060 iken **BB3** bileşiği uygulanan sıçanlarda bu değerler 0.630 ± 0.146 , 0.690 ± 0.177 , 0.590 ± 0.173 değerlerine ulaşmıştır. Aynı kaspaz seviyeleri **BB4** bileşiği ile yapılan çalışmada 0.695 ± 0.186 , 0.745 ± 0.227 , 0.700 ± 0.241 değerlerinde olduğu tespit edilmiştir. **BB3** ve **BB4** bileşiklerinin aktiviteleri karşılaştırıldığında **BB4** bileşiğininin kaspaz aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Arka bacak iskemi çalışmaları incelendiğinde, bilateral femoral ligasyon uygulanan sıçanlarda arteriojenez (kollateral dolaşımda artış) olduğunu, erken dönemde VEGF düzeyinin arttığını ve 30 gün içinde normale döndüğünü görülmektedir (224). Yapılan bu çalışmada da, kaslarda VEGF'nin 30 gün sonunda normal değerde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca VEGF'nin kaslarda artması için ileri derecede iskemi gerekmektedir. Ancak bu çalışmada sadece kollateral dolaşımının artışı sağlanmıştır. Bu nedenle VEGF'nin aşırı artmasını beklemek doğru bir yaklaşım olamamaktadır. Ayrıca insanlarda yapılan bir çalışmada ise kritik derecede bacak iskemisi olan ve bu yüzden amputasyona giden hastalarda serum VEGF düzeyi ileri derecede artmışken, hafif iskemisi olan hastalarda da normalde anlamlı bir artış saptanmıştır (225). Bu nedenle sıçanlarda yaptığımız bu çalışmada aşırı VEGF yükselmesini beklememek anlamlı görülmektedir. Ancak hafif iskemisi olan hastaların serum VEGF düzeyi medikal tedavi ile 30 gün sonunda normal düzeye gelmiştir.

Doku VEGF düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalardan iskeminin oluşturulmasının ardından VEGF düzeylerinde artış olduğu görülmektedir. Ancak zc olarak kullanılan DMSO'nun bu düzeylerde önemli bir düşüşe neden olduğu tespit

edilmiştir. **BB3** ve **BB4** bileşiklerinin aktiviteleri incelendiğinde **BB3**'ün etkisi gözlenmezken **BB4**'ün çok az miktarda da olsa VEGF seviyesini düşürdüğü gözlenmiştir. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir. Serum VEGF düzeyleri ile yapılan çalışmada ise bileşiklerin VEGF düzeyine etkilerinin kronik iskemili duruma göre anlamlı olmadıkları gözlenmiştir.

Kaspaz düzeyleri ise iskemide programlı hücre ölümünü göstermesinden dolayı sıçanlarda hafif iske mi oluşturmakla kaspaz düzeyinde artış bekleyemeyiz. Ancak bu aşamada kaspaz düzeyindeki azalma kullanılan bileşiklerin etkilerine bağlanabilir. Diğer taraftan in vivo çalışmalardaki etkilerin in vitro çalışmaya göre daha karmaşık olacağı da unutulmamalıdır.

Histolojik incelemeler sonucunda **BB3** ve **BB4** bileşiklerinin iskemili duruma göre kapiller damar sayısında anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı gözlenmektedir. Bu verilerle bileşiklerin anjiyojene z üzerine etkilerinin bulunmadığı şeklinde bir sonuca ulaşılabilir.

Bu çalışmada bileşiklerin oksidatif hasar oluşumu üzerine olan etkilerini belirlemek için kas dokusunda katalaz enzim aktivitesi ve serbest radikal temizleyici GSH düzeylerine de araştırılmıştır.

Bileşiklerin katalaz enzimi üzerine olan etkileri incelendiğinde kontrol grubuna göre kronik iskemili grubun ve DMSO+kronik iskemili grubunun önemli bir değişiklik göstermediği görülmektedir. Hem **BB3** hem de **BB4**'ün katalaz enzim miktarında artış sağlamakla birlikte, **BB3**'ün etkinliğinin daha fazla olduğu görülmektedir. Bu sonuç özellikle **BB3** bileşiğinin **BB4** bileşiğinden daha iyi bir antioksidan olabileceği sonucuna ulaşılmaktadır. **BB3** ve **BB4** uygulana sıçanlarda GSH düzeyinin azalması da bu bileşiklerin antioksidan özelliğinin olduğunu göstermektedir sonucuna ulaşılmaktadır.

Son olarak da kas dokusundan alınan kesitlerde kapiller damar sayımı yapılarak bileşiklerin antianjiyojenik etkileri değerlendirilmiştir. **BB3** ve **BB4** bileşiklerinin kapiller damar sayısında anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı gözlemlenmiştir.

BB3 ve **BB4** bileşikleri gerek in vitro ortamda, AML hücrelerinde ve gerekse in vivo olarak kronik arka bacak iskemisi modelinde apoptotik etkiye sahip olmasına rağmen antianjiyojenik etki göstermemiştir. Bu durum bu bileşiklerin antianjiyojenik aktiviteden daha çok antitümör aktivitede olabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada sentezlenen 4 adet benzimidazol türevi bileşiğin *in vitro* ve *in vivo* apoptotik ve antianjiyojenik aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışma şu aşamalardan oluşmuştur.

1. Farklı sentez yöntemleri kullanılarak yapılan sentez çalışmalarının karşılaştırılması
2. Sentezlenen bileşiklerin *in vitro* apoptotik etkiye sahip olup olmadıklarının belirlenmesi
3. Aktif olan bileşiklerin *in vivo* çalışmalarda etkilerinin araştırılması
4. Benzimidazol halkasının 2 numaralı konumundaki benzil grubu üzerindeki süstitüentlerin aktivite üzerindeki rolünün araştırılması.
5. Bileşiklerin oksidan özelliklerinin belirlenebilmesi için GSH ve CAT aktivitelerinin ortaya konulması

Çalışma konusunu teşkil eden dört adet benzimidazol türevi bileşik mikrodalga sentez yöntemi ile yapılan çalışmalarının verim ve süre olarak konvansiyonel yöntemle göre oldukça başarılı bir yöntem olduğu belirlenmiştir. Özellikle **BB3** bileşiğinde verimin % 114 **BB4** bileşiğinde ise verimin % 100 oranında arttığı görülmektedir. Bununla birlikte 7-8 saatte konvansiyonel yöntemle gerçekleştirilen sentezler 5-7 dakika arasında değişen sürelerde gerçekleştirilmiştir. Böylece mikrodalga ile gerçekleştirilen sentezlerin hem verim hem de süre olarak avantajı net olarak görülmüştür.

Bileşiklerin aktivitelerinin belirlenmesi aşamasında, apoptozisin bir göstergesi olan Kaspaz -3, -8 ve -9 enzim aktivitelerindeki artış çalışma konusunu teşkil eden bileşiklerinin lösemik hücrelerin artışı baskıladığını düşündürmektedir. Ancak, bu bileşiklerin artan konsantrasyonlarında yeni çalışmaların oluşturulması çalışmada elde edilen sonuçların değerlendirilmesini daha anlamlı noktaya taşıyacağı kanısındayız.

BB3 ve **BB4** bileşikleri gerek *in vitro* ortamda, AML hücrelerinde ve gerekse *in vivo* olarak kronik arka bacak iskemisi modelinde apoptotik etkiye sahip olmasına rağmen antianjiyojenik etki göstermemiştir. Bu durum bu bileşiklerin antianjiyojenik aktiviteden

daha çok antitümör aktivitede olabileceğini düşündürmektedir. Bu bileşiklerin antianjiyojenik etkinliklerinin araştırılması için anjiyojenezden başlıca sorumlu endotel hücrelerinde in vitro deneylerin yapılması daha açıklayıcı olabilir.

2-Süstitübenzimidazol ana yapısı taşıyan küçük yapıli bileşiklerin, apoptozisi indükleyici ve antianjiyojenez aktivitesi araştırmalarının ilk adımını oluşturan bu çalışmanın bundan sonraki çalışmalara öncü olacağı kanısındaız.

7. KAYNAKLAR

- 1) **Brooks SA, Schumacher U.** Metastasis Research Protocols Volumes 1 & 2. Totowa NJ: Humana Press, **2001**.
- 2) **Hanahan D, Weinberg RA.** The hallmarks of cancer. *Cell*, **2000**; 100: 57-70.
- 3) **Poste G, Fidler IJ.** The pathogenesis of cancer metastasis. *Nature*, **1980**; 283: 139-146.
- 4) **Kaufmann SH, Gores GJ.** Apoptosis in cancer: cause and cure. *BioEssays*, **2000**; 22: 1007-1017.
- 5) **Reed JC.** Mechanisms of apoptosis. *Am J Pathol*, **2000**; 157: 1415–1430.
- 6) **Kaufmann SH, Lee SH, Meng XW, Loegering DA, Kottke TJ, Henzing AJ, Ruchaud S, Samejima K, Earnshaw WC.** Apoptosis-associated caspase activation assays. **2008**; 44: 262–272.
- 7) **Nie D, Tang K, Diglio C, Honn KV.** [Eicosanoid regulation of angiogenesis: role of endothelial arachidonate 12-lipoxygenase](#). *Blood*, **2000**; 95(7): 2304-2311.
- 8) **Risau W.** Mechanisms of angiogenesis. *Nature*, **1997**; 386: 671–674.
- 9) **Ferrara N, Davis-Smyth T.** The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*, **1997**; 18: 4-25.
- 10) **Yancopoulos G, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J.** Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature*, **2000**; 407: 242–248.
- 11) **Folkman J.** Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Clinical applications of research on angiogenesis. *New Engl J Med*, **1995**; 333: 1757–1763.
- 12) **Zhang XB, Kiechle F.** Hoechst 33342- induced apoptosis is associated with decreased immunoreactive topoisomerase I and topoisomerase I-DNA complex formation. *Ann Clin Lab Sci*, **2001**; 31(2): 187-198.
- 13) **Hao D, Rizzo JD, Stringer S, Moore RV, Marty J, Dexter DL, Mangold GL, Camden JB, Von Hoff DD, Weitman SD.** Preclinical antitumor activity and pharmacokinetics of methyl-2-benzimidazolecarbamate. *Invest New Drug*, **2002**; 20: 261-270.

- 14) **Fringuelli R, Schiaffella F, Navarro MPU, Milanese L, Santini C, Rapucci M, Marchetti C, Riccardi C.** 1,4-Benzothiazine Analogues and Apoptosis: Structure-Activity Relationship. *Bioorgan Med Chem*, **2003**; 11: 3245-3254.
- 15) **Bretner M, Nejd-Bernatowicz A, Lebska M, Muszynska G, Kilanowicz A, Sapota A.** New inhibitors of protein kinase CK2, analogues of benzimidazole and benzotriazole. *Mol Cell Biochem*, **2008**; 316: 87-89.
- 16) **Hranjec M, Piantianida I, Kralj M, Suman L, Pavelic K, Karminski-Zamola G.** Novel amidino-substituted thienyl- and furylvinylbenzimidazole: Derivatives and their photochemical conversion into corresponding diazacyclopenta[*c*]fluorones. Synthesis, interactions with DNA and RNA and antitumor evaluation. *J Med Chem*, **2008**; 51: 4899-4910.
- 17) **Gowda NRT, Kavitha CV, Chiruvella KK, Joy O, Rangappa KS, Raghavan SC.** Synthesis and biological evaluation of novel 1-(4-methoxyphenethyl)-1*H*-benzimidazole-5-carboxylic acid derivatives and their precursors as antileukemic agents. *Bioorgan Med Chem Lett*, **2009**; 19: 4594-4600.
- 18) **Kreimeyer A, Müller G, Kassack M, Nickel P, Gagliardi ART.** Sulfanilic acid-, benzenedisulfonic acid and naphthalenetrisulfonic acid analogues. *Arch Pharm Pharm Med Chem*, **1998**; 331: 97-103.
- 19) **O'Byrne KJ, Han C, Mitchell K, Lane D, Carmichael J, Haris AL, Talbot DC.** Phase II study of liarozole in advanced non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer*, **1998**; 34(9): 1463-1466.
- 20) **Hori A, Imaeda Y, Kubo K, Kusaka M.** Novel benzimidazole derivatives selectively inhibit endothelial cell growth and suppress angiogenesis in vitro and in vivo. *Cancer Lett*, **2002**; 183: 53-60.
- 21) **Mukhopadhyay T, Sasaki J, Ramesh R, Roth JA.** Mebendazole elicits a potent antitumor effect on human cancer cell lines both in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res*, **2002**; 8: 2963-2969.
- 22) **Hasewaga M, Nishigaki N, Washio y, Kano K, Haris PA, Sato H, Mori I, West RI, Shibahara M, Toyoda H, Wang L, Nolte RT, Veal JM, Cheung M.** Discovery of novel benzimidazoles as potent inhibitors of TIE-2 and VEGFR-2 tyrosine kinase receptors. *J Med Chem*, **2007**; 50: 4453-4470
- 23) **Won MS, Im N, Park S, Boovanahalli SK, Jin Y, Jin X, Chung KS, Kang M, Lee K, Park SK, Kim HM, Kwon BM, Lee JJ, Lee K.** A novel benzimidazole analogue inhibits the hypoxia-inducible factor (HIF)-1 pathway. *Biochem Bioph Res Co*, **2009**; 385: 16-21.
- 24) **Hoffmann, K.** Imidazole and its derivatives. Interscience Publishers, INC, New York, **1953**.

- 25) **Hisano T, Ichikawa M.** Properties of benzimidazoles and substituents effects. Correlation between acid dissociations and hydrogen bondings of some benzimidazoles. *Chem Pharm Bull*, **1974**; 22(8): 1923-1927.
- 26) **Elquero J, Liouquet G, Marzin C.** Annular tautomerism of benzimidazoles, effect of a hydrogen bond on the prototropic rate. *Tetrahedron Lett*, **1975**; 46: 4085-4086.
- 27) **Wright JB.** The chemistry of the benzimidazoles. *Chem Rev*, **1951**; 48: 397-541.
- 28) **Rogers KS, Clayton CC.** Effects of pH on benzimidazole fluorescence. *Anal Biochem*, **1972**; 48: 199-201.
- 29) **Green H, Day AR.** The tautomeric Character of the imidazol ring. *J Am Chem Soc*, **1942**; 64: 1167-1173.
- 30) **Rabinowitz JL, Wagner EC.** Restriction of tautomerism in the amidine system by hydrogen bonding. The case of 4(7)-nitrobenzimidazole. *J Am Chem Soc*, **1951**; 73: 3030-3037.
- 31) **Howell JR, Rasmussen M.** Heterocyclic ambident nucleophiles. V. Alkylation of benzimidazoles. *Aust J Chem*, **1993**; 46: 1177-1191.
- 32) **Arnau N, Arredondoy Y, Moreno-Manas M, Pleixats R, Villaryoya M.** Palladium(0)-catalyzed allylation of 4(5)-substituted imidazoles, 5(6)-substituted benzimidazoles, benzimidazoles, benzotriazoles and 5(6)-methylbenzotriazole. *J Heterocyclic Chem*, **1995**; 32: 1325-1334.
- 33) **Lee In-S H, Jeung EH,** Synthesis and tautomerism of 2-aryl- nad 2-heteroaryl derivatives of benzimidazole. *J Heterocyclic Chem*, **1996**; 33: 1711-1716.
- 34) **Iemura R, Hori M, Othaka H.** Syntheses of the metabolites of 1-(2-ethoxyethyl)-2-(hexahydro-4-methyl-1H-1,4-diazepin1-yl)-1H-benzimidazole difumarate(KG-2413) and related compounds. *Chem Pharm Bull*, **1989**; 37(4): 962-966.
- 35) **Alcalde E, Dinares I, Frigola J.** NMR studies of N-(benzimidazol-2-yl) pyridinium derivatives: QSAR with the anti-leishmanial activity and their carbon-13 NMR chemical shifts. *Eur J Med Chem*, **1991**; 26: 633-642.
- 36) **Alcalde E, Perez-Garcia L, Dinares I, Coombs GH, Frigola J.** Synthesis and antitrichomonal activity of azinium (azolium) 4-nitrobenzimidazolate betains and their derivatives. *Eur J Med Chem*, **1992**; 27: 171-177.
- 37) **Katritzky AR, Rachwall S.** New routes to selectively methylated benzimidazoles. *J Heterocyclic Chem*, **1994**; 31: 775-779.

- 38) **Smith LI, Haris SA.** Studies on the polymethylbenzenes. The nitration of pentamethylbenzene and of hexamethyl and hexaethylbenzene. *J Am Chem Soc*, **1935**; 57: 1289-1292.
- 39) **Smith L, Haris S.** The Jacobsen reaction. *J Am Chem Soc*, **1936**; 58: 1-10.
- 40) **Phillips MA.** The formation of 2-methylbenzimidazoles. *J Chem Soc*, **1928**; 172-177.
- 41) **Pool WO, Harwood HJ, Ralston AW.** 2-alkylbenzimidazoles as derivatives for the identification of aliphatic acids. *J Am Chem Soc*, **1937**; 59: 178-179.
- 42) **McCoy G, Day AR.** Ortho condensation which lead to oxazole or imidazole formation. *J Am Chem Soc*, **1943**; 65: 2159.
- 43) **Roeder CH, Day AR.** Benzimidazoles studies I. The mechanism of benzimidazole formation from o-fenilendiamine. *J Org Chem*, **1941**; 6: 25-35.
- 44) **Hein DW, Alheim RJ, Leavitt JJ.** The use of polyphosphoric acid in the synthesis of 2-aryl and 2-alkyl substituted benzimidazoles, benzoxazoles and benzothiazoles. *J Am Chem Soc*, **1957**; 79: 427-429.
- 45) **Hughes GK, Lions F.** The synthesis of 2-aminomethylbenzimidazole and related substances. *J Proc Roy Soc New South Wales*, **1938**; 71: 209-222.
- 46) **Bloom A, Day AR.** The preparation of 2-alkylaminobenzimidazoles. *J Org Chem*, **1939**; 4: 14-19.
- 47) **Skolnik H, Miller JG, Day AR.** The allylic character of 2-(4-chloroalkyl)-benzimidazoles. *J Am Chem Soc*, **1943**; 65: 1854-1858.
- 48) **Phillips MA.** The hydrolysis of diacetyl-o-diamines. *J Chem Soc*, **1930**; 1409-1419.
- 49) **Phillips MA.** The formation of 2-substituted benzimidazoles. *J Chem Soc*, **1928**; 2393-2399.
- 50) **Noyanalpan N, Işıkdağ İ.** 2-süstitüe-benzimidazol türevlerinin sentezleri, yapı aydınlatmaları ve yapı etki ilişkileri üzerinde çalışmalar. *Doğa Bilim Dergisi, C*, **1985**; 9(2): 183-193.
- 51) **Milner ES, Synder S, Joulli'e MM.** Synthesis of benzimidazol-2-yl-alkanethiols and some derivatives. *J Chem Soc*, **1964**; 4151-4153.
- 52) **Lochon P, Schoenleber J.** Comparason de l'action catalytique de thiols monofonctionnels et de certains thiols bifonctionnels (les mercaptoalcoly-2 benzimidazoles) aur l'hydrolyse de l'acetate de p-nitrophenyle. *Tetrahedron*, **1976**; 32: 2023-2030.

- 53) **Porai-Koshits BA, Kvitko IY, Shutkova EA.** Synthesis of aminoesters of benzimidazole derivatives. *Zh Prikl Khim*, **1964**;37(6): 1386-1388.
- 54) **Noyanalpan N, Işıkdag İ.** 2-Substitue-benzimidazol türevlerinin sentezlerinde değişik reaksiyon ajanlarının denenmesi ve bulguların karşılaştırılması. *J Fac Pharm Gazi*, **1984**; 1(2): 61-68.
- 55) **Noyanalpan N, Işıkdag İ.** Synthesis of some 2-(heterocyclic-substituted) benzimidazole derivatives. *Chim Acta Turcica*, **1983**; 11: 357-361.
- 56) **Langheld K.** Über metaphosphorsäure-äthylester und dessen anwendung in der organischen chemie. *Chem Ber*, **1910**; 43: 1987-1860.
- 57) **Kanaoka Y, Hamada T, Yonemitsu O.** Syntheses of 2-substituted-benzoxales and benzthiazoles with PPE. *Chem Pharm Bull*, **1970**; 18: 587.
- 58) **Işıkdag İ.** 2 Nolu konumda heterosiklik halkalarla süstitüe edilmiş benzimidazol türevlerinin sentezi, yapı aydınlatması ve yapı-etki ilişkileri üzerindeki çalışmalar. *Doktora Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Ankara. 1982.*
- 59) **Kumar PR.** Polyethyleneglycol catalysed N-sulphonylation & N-benzolation of substituted benzimidazoles. *Indian J Chem B*, **1986**; 25B: 1273-1274.
- 60) **Kanaoka Y, Yonemitsu O, Tanizawa K, Ban Y.** Polyphosphate ester as a synthetic reagent I. synthesis of 2-substituted benzimidazoles. *Chem Pharm Bull*, **1964**; 12: 773-778.
- 61) **Suzuki N, Yamabayashi T, Izaway Y.** A single-step synthesis of 2-substituted benzo-azoles. *B Chem Soc J*, **1976**; 49(1): 353-354.
- 62) **Ichikawa M, Nabeya S, Muraoka K, Hisano T.** Acidic properties of benzimidazoles and substituent effects. IV. Relationship between the acidities of N²-(substituted phenyl) arylamidines and ring closures to imidazole. *Chem Pharm Bull*, **1979**; 27(5): 1255-1264.
- 63) **Gümüş F, Özden S, Abbasoğlu U, Özden T.** 2',4',5'-Trisüstitüe-2-fenilbenzimidazol türevlerinin sentez ve in vitro antitüberküloz etkileri üzerinde çalışmalar-I, *A Ü Ecz Fak Der*, **1986**; 16(1): 1-13.
- 64) **Pamuk İ.** Bazı 5(6),2-disüstitübenzimidazol türevlerinin platin (II) kompleksleri üzerinde çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Ankara. **1997.**

- 65) **Hölljes EL, Wagner E.** Some reactions of nitriles as acid anammonides. *J Org Chem*, **1944**; 9: 31-49.
- 66) **Wagner EC.** Some reactions of amidines as ammonio carboxylic acids or esters. *J Org Chem*, **1940**; 5: 133-141.
- 67) **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.
- 68) **Kröhnke F, Leister H.** Heterocyclen aus aroylcyanid-anilen. *Chem Ber*, **1958**; 91: 1479-1488.
- 69) **Grenda VJ, Jones R., Gal G, Sletzinger M.** Novel preparation of benzimidazoles from N-arylamidines. New synthesis of Thiabendazole. *J Org Chem*, **1965**; 30(1): 259-261.
- 70) **King FE, Achenson RM.** The synthesis of benzimidazoles from ortho-phenylenediamines and iminoethers. *J Chem Soc*, **1949**; 1396-1400.
- 71) **Czarny A, Wilson WD, Boykin DW.** Synthesis of mono-cationic and dicationic analogs of Hoechst 33258. *J Heterocyclic Chem*, **1996**; 33: 1393-1397.
- 72) **Hunger A, Kehrle J, Rossi A, Hoffman K.** Synthese basisch substituierter, analgetisch wirksamer benzimidazole derivative. *Experien*, **1957**; 16: 400.
- 73) **Hunger A, Kehrle J, Rossi A, Hoffman K.** Benzimidazole-derivative und verwandte heterocyclen synthese von 1-aminoalkyl, 2-benzylbenzimidazolen. *Helv Chim Acta*, **1960**; 43: 800.
- 74) **Hinsberg O.** Zur constitution der aldehydine. *Ber*, **1886**; 19: 2025-2027.
- 75) **Hinsberg O.** Ueber die einwirkung einwerthiger aldehyde fertreihe auf m-p-toluyldiamin. *Ber*, **1887**; 20: 1585-1591.
- 76) **Weidenhagen R.** Eine neue synthese von benzimidazol-derivaten. *Ber*, **1936**; 69B: 2263-2272.
- 77) **Elderfield R.C, 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.
- 78) **Elderfield RC, Mc Carthy JR.** . The reaction of o-phenylenediamine with carbonyl compounds, aliphatic ketones. *J Am Chem Soc*, **1951**; 73: 975-984.
- 79) **Stephens FF, Bower JD.** The preparation of benzimidazoles and benzoxazoles from Schiff bases. *J Chem Soc*, **1949**; 27: 2971-2972.

- 80) **Weidenhagen R, Train G.** Über eine neue darstellung von N-alkylierten imidazolo verbindungen. IX. Mitteil. Über Imidazole. *Chem Ber*, **1942**; 75: 1936-1948.
- 81) **Thomas PR, Tyler GJ.** Some new benzimidazole derivatives. *J Chem Soc*, **1957**; 2197-2202.
- 82) **Jerchel VD, Kracht M, Krucker K.** Untersuchungen über benzimidazole. *Ann*, **1954**; 590: 232-241.
- 83) **Ried W, Stahlhofen P.** Umsetzung von o-phenylendiamin mit α,β -ungesättigten carbonylverbindungen. *Chem Ber*, **1957**; 90: 815-824.
- 84) **Charlton PT, Maliphant GK, Oxley P, Peak DA.** Antituberculous compounds. Part VII. Some further N-substituted amidines and analogues. *J Chem Soc*, **1951**; 484-492.
- 85) **Jerchel VD, Fischer M, Krucker K.** Zur darstellung der benzimidazole. *Ann Chem*, **1952**; 575: 162-173.
- 86) **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.
- 87) **Kim JS, Yu C, Liu LF, Lavoie EJ.** Terbenzimidazoles: influence of 2'',-4- and 5-substituents on cytotoxicity and relative potency as topoisomerase I poisons. *J Med Chem*, **1997**; 40: 2818-2824.
- 88) **Ridley HF, Spickett RGW, Timmis GM.** A new synthesis of benzimidazoles and aza-analogs. *J Heterocyclic Chem*, **1965**; 2(4): 453-456.
- 89) **Ji YH, 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. *Bioorgan Med Chem*, **2001**; 9: 2905-2919.
- 90) **Trivedi V, De SK, Gibbs A.** A convenient one-pot synthesis of 2-substituted benzimidazoles. *J Mol Catal A-Chem*, **2006**; 245: 8-11.
- 91) **Deselms RC.** Benzimidazoles I. (2-heterocyclic substituted)benzimidazoles. *J Org Chem*, **1962**; 27: 2163.
- 92) **Stephens FF, Bower JD.** The preperation of benzimidazoles and benzoxazoles from Schiff bases. *J Chem Soc*, **1950**; 1722.
- 93) **Krbechek L, Takimoto H.** The thermal decomposition of benzyllidine-2-azidoanilines. *J Org Chem*, **1964**; 29(2): 3630-3632.

- 94) **Stacy GW, Etting BV, Papa AJ.** Reaction of benzaldehyde with o-nitroaniline. *J Org Chem*, **1964**; 26(6): 1537-1540.
- 95) **Büyükbingöl E, Şafak C, Öztürk Y, Şahin MF.** Quantitative structure activity relationship (QSAR) of smooth muscle relaxation and 2-substituted. Benzimidazole derivatives. *Gazi Ecz Fak Der*, **1986**; 3(2): 119-131.
- 96) **İscan MY, Büyükbingöl E, İscan M, Şahin M F, Şafak C.** Effects of 2-arylbenzimidazoles on rat hepatic microzomal monooxygenase system. *Comp Biochem Phys C*, **1989**; 92C(1): 109-115.
- 97) **Paglietti G, Pirisi MA, Loriga M, Grella GE.** Preparazione e attivita' farmacologica di 2-(4'R')fenil-5R-benzimidazoli e 2-(4'-piridinil)-5R-benzimidazoli. *IL Farmaco-Ed Sc*, **1988**; 43(3): 215-226.
- 98) **Raeymaekers AHM, Van Gelder JLH, Roevens LFC, Janssen PAJ.** Synthesis and anthelmintic activity of alkyl-(5-acyl-1H-benzimidazol-2-yl)carbamates. *Arzneimittel-Forsch*, **1978**; 28(1): 586-594.
- 99) **Ohemeng KA, Roth B.** Receptor-based design of novel dihydrofolate reductase inhibitors: benzimidazole and indole derivatives. *J Med Chem*, **1991**; 34: 1383-1394.
- 100) **Chup NK, Tsupak EB, Simonov AM.** Benzimidazole derivatives. Reaction 2-aminomethylbenzimidazole and its 1-methyl derivative with nitrous acid. *Khim Geterosikl+*, **1970**; 10: 1393-1396.
- 101) **Lane ES.** A modified benzimidazole synthesis. *J Chem Soc*, **1953**: 2238-2240.
- 102) **Thomas PR, Tyler GJ.** Some new benzimidazole derivatives. *J Chem Soc*, **1957**; 52, 2197-2202.
- 103) **Partridge MW, Turner HA.** Cyclic amidines Part VII. Preparation of benzimidazoles from N'-aryl-N-hydroxyamidines. *J Chem Soc*, **1958**; 2086-2092.
- 104) **Bartrop JA, Richards CG, Russell DM, Ryback G.** Seven-membered heterocyclic compounds. Part I. 1:5-Benzodiazepines and derivatives of 3:6-diaza-4:5-benzotropone. *J Chem Soc*, **1959**: 1132-1142.
- 105) **Haruki E, Inaike T, Imoto E.** Some reaction of N-haloamidines. *B Chem Soc Japan* **1968**; 41: 1361-1367.

- 106) **Cohen VI.** A new method of synthesis of some 2-aryl and 2-heterocyclic benzimidazole, benzoxazole and benzothiazole derivatives. *J Het Chem*, **1979**; 16(1): 13-16.
- 107) **Abdelhamid AO, Parkanyi C, Rashid SMK, Lloyd WD.** Synthesis of fused ring heterocycles from aromatic amines with Hydroximoyl chlorides. *J Het Chem*, **1988**; 25(2): 403-405.
- 108) **Perry RJ, Wilson B.** A novel palladium-catalyzed synthesis of 2-arylbenzimidazoles. *J Org Chem*, **1993**; 58(25): 7016-7021.
- 109) **Neas ED, Collins MJ.** Introduction to Microwave Sample Preparation Theory and Practice. Kingston HM, Jassie LB Eds. *J Am Chem Soc*, **1988**, 7-32.
- 110) **Hayes BL.** Microwave Synthesis Chemistry at the Speed of Light. 1st. Ed., Matthews: CEM Publishing, **2002**: 15-16.
- 111) **Kappe CO, Stadler A.** Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry. 1st. Ed., Wiley-VCH, **2005**: 9-10.
- 112) **Hayes BL.** Microwave Synthesis Chemistry at the Speed of Light. 1st. Ed., Matthews: CEM Publishing, **2002**: 16-18.
- 113) **Kappe CO, Stadler A.** Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry. 1st. Ed., Wiley-VCH, **2005**: 11-27.
- 114) **Hayes BL.** Microwave Synthesis Chemistry at the Speed of Light. 1st. Ed., Matthews: CEM Publishing, **2002**: 29-76.
- 115) **Bodgal D.** Microwave-Assisted Organic Synthesis. 1st. Ed., Oxford: Elsevier, **2005**: 13-21.
- 116) **Hayes BL.** Microwave Synthesis Chemistry at the Speed of Light. 1st. Ed., Matthews: CEM Publishing, **2002**: 18-23.
- 117) **Larhed M, Olofsson K.** Microwave Methods in Organic Synthesis. 1st. Ed., Springer, **2006**: 2-13.
- 118) **Mingos DMP.** D.R. Microwave-Enhanced Chemistry Fundamentals, Sample Preparation and Applications. *J Am Chem Soc*, **1997**: 3-53.
- 119) **Hayes BL.** Microwave Synthesis Chemistry at the Speed of Light. 1st. Ed., Matthews: CEM Publishing, **2002**: 12-14.

- 120) **Gedye R, Smith F, Westaway K, Ali H, Baldisera L, Laberge L, Rousell J.** The use of microwave ovens for rapid organic synthesis. *Tetrahedron Lett*, **1986**; 27(3): 279-282.
- 121) **Giguere JR, Bray TL, Ducan SM, Majetich G.** Application of commercial microwave ovens to organic synthesis. *Tetrahedron Lett*, **1986**; 27(41): 4945-4948.
- 122) **Loupy A.** Microwaves in Organic Synthesis Volume 1. 2st. Ed., Wiley-VCH, **2002**: 35-60.
- 123) **Lu J, Yang B, Bai Y.** Microwave irradiation synthesis of 2-substituted benzimidazoles using ppa as a catalyst under solvent- free conditions. *Synthetic Commun*, **2002**; 32(24): 3703-370.
- 124) **Navarrete-Vazquez G, Moreno-Diaz H, Estrada-Soto S, Torres-Piedra M, Leon-Rivera I, Tlahuext H, Munoz-Muniz O, Torres-Gomez H.** Microwave-assisted one-pot synthesis of 2-(Substituted phenyl)-1H-benzimidazole derivatives. *Synthetic Commun*, **2007**; 37(17): 2815-2825.
- 125) **Yu H, Kawanishi H, Koshima H.** Microwave-assisted synthesis of aryl and heteroaryl derivatives of benzimidazole. *Heterocycles*, **2003**; 60(6): 1457-1460.
- 126) **Getvoldsen G, Fredriksson A, Elander N, Stone-Elander S.** Microwave-assisted cyclocondensation of 1,2-diaminobenzene with [4-¹⁸F]fluorobenzoic acid: microwave synthesis of 2-([4-¹⁸F]fluorophenyl) benzimidazole. *J Labelled Compd Rad*, **2004**; 47: 139-145.
- 127) **Kumar BVS, Vaidya SD, Kumar RV, Bhirud SB, Mane RB.** Synthesis and anti-bacterial activity of some novel 2-(6-fluorochroman-2-yl)-1-alkyl/acyl/aroyle-1H-benzimidazoles. *Eur J Med Chem*, **2006**; 41(5): 599-604.
- 128) **Rshipathak DD, Pal SC, Mandal SC, Belsare DP.** Microwave assisted synthesis of 2-alkyl and 2-aryl derivates of benzimidazole. *Asian J Chem*, **2007**; 19(4): 3242-3244.
- 129) **Dubey R, Moorthy NSHN.** Comparative studies on conventional and microwave assisted synthesis of benzimidazole and their 2-substitued derivative with the effect of salt form of reactant. *Chem Pharm Bull*, **2007**; 55(1): 115-117.
- 130) **Arslan H, Algül O.** Vibrational spectrum and assignments of 2-(4-methoxyphenyl)-1 H-benzol[d]imidazole by ab initio Hartree-Fock and density functional methods . *Spectrochimica Acta A*, **2008**; 70(1): 109-116.
- 131) **Lin SY, Isome Y, Stewart E, Liu JF, Yohannes D, Yu L.** Microwave-assisted one step high-throughput synthesis of benzimidazoles. *Tetrahedron Lett*, **2006**; 47(17): 2883-2886.
- 132) **Nikhram K, Raviz AF.** Synthesis of 2-substitued benzimidazoles and bis-benzimidazoles by microwave in the presence of alumina-methanesulfonic acid. *J Iran Chem Soc*, **2007**; 4(4): 438-443.

- 133) **Mobinikhaledi A, Zende del M, Jamshidi FH.** Zeolite-catalyzed synthesis of substituted benzimidazoles under solvent-free conditions and microwave irradiation. *Synth React Inorg M*, **2007**; 37(3): 175-177.
- 134) **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.
- 135) **VanVliet DS, Gillespie P, Scicinski JJ.** Rapid one-pot preparation of 2-substituted benzimidazoles from 2-nitroanilines using microwave conditions. *Tetrahedron Lett*, **2005**; 46: 6741-6743.
- 136) **Martínez-Palou R, Zepeda LG, Höpfl H, Montoya A, Guzman-Lucero DJ, Javier G.** Parallel and automated library synthesis of 2-long alkyl chain benzoazoles and azole[4,5-b]pyridines under microwave irradiation. *Mol Divers*, **2005**; 9(4): 361-369.
- 137) **Treu M, Karner T, Kousek R, Berger H, Mayer M, McConnell DB, Stadler A.** Microwave-assisted parallel synthesis of fused heterocycles in a novel parallel multimode reactor. *J Comb Chem*, **2008**; 10(6): 863-868.
- 138) **Ben-Alloum A, Bakkas S, Soufiaoui M.** Benzimidazoles: Oxydation Hétérocyclisante par le Nitrobenzène ou le Diméthylsulfoxyde sur Silice et sous Irradiation Micro-ondes ou Ultra-violet. *Tetrahedron Lett*, **1998**; 39: 4481-4484.
- 139) **Navarrete-Vázquez G, Moreno-Diaz H, Aguirre-Crespo F, León-Rivera I, Villalobas-Molina R, Muñoz-Muñiz O, Estrada-Soto S.** Desing, microwave-assisted synthesis, and spasmolytic activity of 2-(alkyloxyaryl)-1H-benzimidazole derivatives as constrained stilbene bioisosteres. *Bioorg Med Chem Lett*, **2006**; 16: 4169-4173.
- 140) **Wang LY, Zhang XG, Jia YO, Zhang ZX.** Solvent-free Rapid Synthesis of Styryl Dyes with Benzimidazole Nucleus Using Microwave Irradiation. *Chinese Chem Lett*, **2003**; 14(11): 1116-1118.
- 141) **Wang L, Zhang X, Li F, Zhang Z.** Microwave-Assisted Solvent-Free Synthesis of Some Styryl Dyes with Benzimidazole Nucleus. *Synthetic Commun*, **2004**; 34(12): 2245-2252.
- 142) **Hashtroudi MS, Nia SS, Asadollahi H, Balalaie S.** Microwave promoted synthesis of benzimidazole derivatives in solvent free condition. *Indian J Heterocy Ch*, **2000**; 9: 307-308.
- 143) **Jing X, Zhu Q, Xu F, Ren X, Li D, Yan C.** Rapid one-pot preparation of 2-substituted benzimidazoles from esters using microwave conditions. *Synthetic Commun*, **2006**; 36: 2597-2601.

- 144) **Desai KG, Desai KR.** Green route for the heterocyclization of 2-mercaptobenzimidazole into β -lactam segment derivatives containing -CONH- bridge with benzimidazole: Screening in vitro antimicrobial activity with various microorganisms. *Bioorgan Med Chem*, **2006**; 14 (24): 8271-8279.
- 145) **Reddy CS, Nagaraj A.** A mild, efficient and one-pot synthesis of 2-substituted benzimidazoles by $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ catalyzed ring closure reaction. *Indian J Chem B*, **2008**; 47(7): 1154-1159.
- 146) **El Ashry ESH, Awad LF, Abdel HH, Atta AI.** MAOS of d-gluconic acid, d-glucono-1,4- and 1,5-lactones, esters, hydrazides, and benzimidazoles thereof. *J Carbohyd Chem*, **2007**; 26(5&6): 329-338.
- 147) **Nyati M, Rao NS, Shrivastav YK, Verma BL.** Microwave induced synthesis and antimicrobial activity of some 3-benzimidazolyl-5-aryl-2-isoxazolines. *Indian J Heterocyclic Chem*, **2006**; 15: 295-296.
- 148) **Nyati M, Rao NS, Shrivastava YK, Verma BL.** Synthesis of some benzimidazolyl chalcones. *Asian J Chem*, **2006**; 18(1): 757-759.
- 149) **Nyati M, Rao NS, Shrivastav YK, Verma BL.** Microwave assisted synthesis of some 3-benzimidazolyl-5-aryl-cyclohex-3-ene-2-ones. *Asian J Chem*, **2006**; 18(1): 760-762.
- 150) **Reddy ACS, Rao PS, Venkataratnam RV.** Fluoro organics: facile syntheses of novel 2-or 4-trifluoromethyl-1H-arylo-1,5-diazepines, oxazepines, thiazepines, 2-(1,1,1-trifluoroacetyl) imidazoles, oxazoles and thiazoles. *Tetrahedron*, **1997**; 53(16): 5847-5854.
- 151) **Katrizky AR, Singh SK.** Microwave-assisted heterocyclic synthesis. *Arkivoc*, **2003**; 8: 68-86.
- 152) **Bougrin K, Loupy A, Petit A, Daou B, Soufiaoui M.** Nouvelle voie de synthèse des 2-trifluorométhylarylimidazoles sur montmorillonite K10 en "milieu sec" sous micro-onde. *Tetrahedron*, **2001**; 57(1): 163-168.
- 153) **Njoya Y, Boufatah N, Gellis A, Rathelot P, Crozet MP, Vanelle P.** Microwave- assisted synthesis of new benzimidazoles. *Heterocycles*, **2002**; 57(8): 1423-1432.
- 154) **Vaidyanathan S, Surber BW.** Microwave mediated hydrogen deuterium exchange: a rapid synthesis of 2H -substituted benzimidazole. *Tetrahedron Lett*, **2005**; 46(31): 5195-5197.
- 155) **Pattabiraman K, El-Khoury R, Modi K, McGee LR, Chow D.** Synthesis of novel biaryl 2-benzimidazoles and 2-benzothiazoles. *Tetrahedron Lett*, **2009**; 50: 1571-1574.
- 156) **Olgar Ş, Yetgin S.** Anjiogenezis. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, **2003**; 46: 139-147.

- 157) **Nie D, Tang K, Diglio C, Kenneth VH.** Eicosanoid regulation of angiogenesis: role of endothelial arachidonate 12-lipoxygenase. *Blood*, **2000**; 95: 2304-2311.
- 158) **Mangi MH, Newland AC.** Angiogenesis and angiogenic mediators in hematological malignancies. *Brit J Haematol*, **2000**; 111: 43-51.
- 159) **Hudlicka O.** Growth of vessels-Historical Review. *Prog Appl Microcirc*, **1984**; 4: 1-8.
- 160) **Hudlicka O.** Development of microcirculation: Capillary growth and adaptation. In: Renkin EM, editor. *Handbook of Physiology, section 2, the Cardiovascular system Vol IV, part 1, Microcirculation. Baltimore, Bethesda*, **1984**; 4(1):165-216.
- 161) **Goldman E.** The growth of malignant disease in man and the lower animals with special reference to the vascular system. *Lancet*, **1907**; 2: 1236-1240.
- 162) **Clark ER, Hitschler WJ, Kirby-Smith HT, Rex RO, Smith JH.** General observation on the ingrowth of new blood vessels into standardized chambers in the rabbit ear, and the subsequent changes in the newly grown vessels over a period of months. *Anat Rec*, **1931**; 50: 129-168,
- 163) **Hertig AT.** Angiogenesis in the early human chorion and in the primary placenta of the macaque monkey. *Contrib Embryol*, **1935**; 25: 39-81.
- 164) **Sobin SS, Tremer HM.** Three-dimensional organization of microvascular beds as related to function. In: *Kaley G and Altura BM. editor. Microcirculation. Baltimore MD: University Park*, **1977**; 1: 43-67.
- 165) **Kety SS.** The theory and applications of the exchange of inert gas as the lungs and tissues. *Pharmacol Rev*, **1951**; 3: 1-41.
- 166) **Folkman J.** Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *New Engl J Med*, **1971**; 285: 1182-1186.
- 167) **Kerbel RS.** Tumor angiogenesis past, present and the near future. *Carcinogenesis*, **2000**; 21: 505-515.
- 168) **Ribatti D, Vaceca A, Presta M.** The discovery of angiogenic factors. *A historical review: Gen Pharmacol*, **2002**; 35: 227-231.
- 169) **Macing T, Mehiman T, Friesel R, Schreiber AM.** Heparin binds endothelial cell growth factor, the principal cell mitogen in bovine brain. *Science*, **1984**; 225: 932-935.

- 170) **Ferrara N, Henzel WJ.** Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, **1989**; 161: 851-855.
- 171) **Hudlicka O.** Brown M., Egginton S. Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. *Physiol Rev*, **1992**; 72: 369-417.
- 172) **Distier O, Neidhart M, Gay RE, Gay S.** The molecular of angiogenesis. *Int Rev Immunol*, **2002**; 21: 33-49.
- 173) **O'Toole G, MacKenzie D, Buckley MF, Lindeman R, Poole M.** A review of therapeutic angiogenesis and consideration of its potential applications to plastic and reconstructive surgery. *Brit J Plast Surg*, **2001**; 54: 1-7.
- 174) **Tolsma SS, Volpert OV, Good DJ, Fraizer WA, Polverini PJ, Bouck N.** Peptides derived from two separate domains of the matrix protein trombospondin-I have anti-angiogenic activity. *J Cell Biol*, **1993**; 122: 497-511.
- 175) **Sim BKL.** Angiostatin and endostatin: Endothelial cell-specific endogenous inhibitors of angiogenesis and tumor growth. *Angiogenesis*, **1998**; 2: 37-48.
- 176) **Losordo DW, Isner JM.** Estrogen and angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vas*, **2001**; 21: 6-12.
- 177) **Cao Y, Cao R.** Angiogenesis inhibited by drinking tea. *Nature*, **1999**; 381-398.
- 178) **Jung YD, Ellis LM.** Inhibition of tumour invasion and angiogenesis by epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea. *Int J Exp Pathol*, **2001**; 82: 309-316.
- 179) **Moses MA, Widerschain D, Wo I, Fernandez CA, Ghazizadeh V, Lane WS.** Troponin I is present in human cartilage and inhibits angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1999**; 96: 2645-2650.
- 180) **Folkman J.** Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med*, **1995**; 1: 27-31.
- 181) **Folberg R, Hendrix MJC, Maniotis AJ.** Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis. *Am J Pathol*, **2000**; 156: 361-381.
- 182) **Paleolog EM, Young S, Stark AC, McCloskey RV, Feldmann M, Maini RN.** Modulation of angiogenic vascular endothelial growth factor (VEGF) by TNF alpha and IL-1 in rheumatoid arthritis. *Arth Rheum*, **1998**; 41: 1258-1265.

- 183) **Taylor P, Patel S, Paleolog E, McCloskey RV, Feldmann M, Maini RN.** Reduced synovial vascularity following TNF alfa blockade in rheumatoid arthritis. *Arth Rheum*, **1998**; 41(9): 295.
- 184) **Hernandez GL, Volpert OV, Iniguez MA, Lorenzo E, Martinez S, Grau R.** Selective inhibition of vascular endothelial growth factor mediated angiogenesis by cyclosporin A: Roles of the nuclear factor of activated T cells and cyclooxygenase. *J Exp Med*, **2001**; 193: 607-620.
- 185) **Paelolog EM.** Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, **2002**; 4(3): 81-90.
- 186) **Neben K, Moehler T, Kraemer A, Benner A, Egerer G, Ho AD.** Response to thalidomide in progressive multiple myeloma is not mediated by inhibition of angiogenic cytokine secretion. *Brit J Haematol*, **2001**; 115: 605-608.
- 187) **Beck LS, Deguzman L, Lee WP, Xu Y, McFatridge LA, Amento EP.** TGF β 1 accelerates wound healing: reversal of steroid-impaired healing in rats and rabbits. *Growth Factors*, **1991**; 5: 295-304.
- 188) **D'amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, Folkman J.** Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *P Natl Acad Sci USA*, **1994**; 91: 4082-4085.
- 189) **Jacobi J, Jang JJ, Sundram U, Dayoub H, Farjardo LF, Cooke JP.** Nicotine accelerates angiogenesis and wound healing in genetically diabetic mice. *Am J Pathol*, **2002**; 161: 97-104.
- 190) **Abacı A, Oğuzhan A, Kahraman S, Eryol NK, Ünal Ş, Arınç H.** Effect of diabetes mellitus on formation of coronary collateral vessels. *Circulations*, **1999**; 99: 2239-2242.
- 191) **Heeschen C, Jang JJ, Weis M, Pathak A, Kaji S, Hu RS.** Nicotine stimulates angiogenesis and promotes tumor growth and atherosclerosis. *Nat Med*, **2001**; 7: 833-837.
- 192) **Rendl M, Mayer C, Weninger W, Tschachler E.** Topically applied lactic acid increases spontaneous secretion of vascular endothelial growth factor by human reconstructed epidermis. *Brit J Dermatol*, **2001**; 145: 3-9.
- 193) **Masaki I, Yonemitsu Y, Yamashita A, Sata A, Tani M, Komori K.** Angiogenic gene therapy for experimental critical limb ischemia: Acceleration of limb loss by overexpression of vascular endothelial growth factor 165 but not of fibroblast growth factor-2. *Circ Res*, **2002**; 90: 966-973.
- 194) **Baffour R, Garb JL, Kaufmanb J, Berman J, Rhee SW, Norris Ma.** Angiogenic therapy chronically ischemic lower limb in a rabbit model. *J Surg Res*, **2000**; 93: 219-229.

- 195) **Kohn EC, Liotta La.** Molecular insights into cancer invasion: strategies for prevention and intervention. *Cancer Res*, **1995**; 55: 1856-1862.
- 196) **Ingber D, Fujita T, Kishimoto S, Sudo K.** Synthetic analogues of fumagillin that inhibit angiogenesis and suppress tumour growth. *Nature*, **1990**; 348: 555.
- 197) **Kusaka M, Sudo K, Matsutani E.** Cytostatic inhibition of endothelial cell growth by the angiogenesis inhibitor TNP-470 (AGM-1470). *Brit J Cancer*, **1994**; 69: 212-216.
- 198) **Bruna MJ, Luistro L, Warriar RR.** Antitumor and antimetastatic activity of interleukin 12 against murine tumors. *J Exp Med*, **1993**; 178: 1223-1230.
- 199) **Magram J, Connaughton SE, Warriar RR.** IL-12-deficient mice are defective in IFN gamma production and type 1 cytokine responses. *Immunity*, **1996**; 4: 471-481.
- 200) RXMediaPharma® 2009 İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı. Sürüm 9.5.0.0, İzmir: GEMAŞ Genel Mühendislik Mekanik Sanayi ve Tic. A.Ş., **2009**.
- 201) **Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, Lydon NB, Kantarjian H, Capdeville R, Ohno-Jones S, Sawyers CL.** Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *New Engl J Med*, **2001**; 344: 1031-1037.
- 202) **Weisberg E, Manley P, Mestan J, Cowan-Jacob S, Ray A, Griffin JD.** AMN107 (nilotinib): a novel and selective inhibitor of BCR-ABL. *Brit J Cancer*, **2006**, **94(12): 1765-1769**.
- 203) **Kantarjian HM, Giles F, Gattermann N, Bhalla K, Alimena G, Palandri F, Ossenkoppele GJ, Nicolini FE, O'Brien SG, Litzow M, Bhatia R, Cervantes F, Haque A, Shou Y, Resta DJ, Weitzman A, Le Coutre P.** Nilotinib (formerly AMN107), a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is active in patients with imatinib-resistant or -intolerant accelerated-phase chronic myelogenous leukemia. *Blood*, **2008**; 111(4): 1834-1839.
- 204) **Schöffski P, Dumez H, Clement P, Hoeben A, Prenen H, Wolter P, Joniau S, Roskams T, Van PH.** Emerging role of tyrosine kinase inhibitors in the treatment of advanced renal cell cancer: a review. *Ann Oncol*, **2006**; 17(8): 1185-1196.
- 205) **Kris M, Natale R, Herbst R.** A phase II trial of ZD1839 ("Iressa") in advanced nonsmall cell lung cancer patients who had failed platinum- and docetaxel-based regimens (abstract 1166). *Proc Am Soc Clin Oncol*, **2002**; 21: 292a.
- 206) **Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, Tamura T, Nakagawa K, Douillard JY, Nishiwaki Y, Vansteenkiste J, Kudoh S, Rischin D, Eek R, Horai T, Noda K, Takata I, Smit E, Averbuch S, Macleod A, Feyerislova A, Dong RP, Baselga J.** Multi-institutional randomized phase II trial of

- gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, **2003**; 21(12): 2237-2246.
- 207) **Herbst RS, Prager D, Hermann R, Fehrenbacher L, Johnson BE, Sandler A, Kris MG, Tran HT, Klein P, Li X, Ramies D, Johnson DH, Miller VA.** Tribute: a phase III trial of erlotinib hydrochloride (OSI-774) combined with carboplatin and paclitaxel chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, **2005**; 23(25): 5856-5858.
- 208) **Gatzemeier U, Pluzanska A, Szczesna A, Kaukel E, Roubec J, De Rosa F, Milanowski J, Karnicka-Mlodkowski H, Pesek M, Serwatowski P, Ramlau R, Janaskova T, Vansteenkiste J, Strausz J, Manikhas GM, Von Pawel J.** Phase III study of erlotinib in combination with cisplatin and gemcitabine in advanced non-small-cell lung cancer: the Tarceva lung cancer investigation trial. *J Clin Oncol*, **2007**; 25(12):1545-1552.
- 209) **Miller VA, Herbst R, Prager D, Fehrenbacher L, Hermann R, Hoffman R, Johnson B, Sandler AB, Kris MG, Ramies D.** Long survival of never smoking non-small cell lung cancer (NSCLC) patients (pts) treated with erlotinib HCl (OSI-774) and chemotherapy: Sub-group analysis of tribute. *J Clin Oncol*, **2004**; 22(14):7061.
- 210) **Ferrara N.** Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications. *Semin Oncol*, **2002**; 6(16): 10-14.
- 211) **Baselga J, Norton L, Albanell J, Kim Y, Mendelsohn J.** Recombinant humanized anti-HER2 antibody (Herceptin) enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER2/neu overexpressing human breast cancer xenografts. *Cancer Res*, **1998**; 58(13): 2825-2831.
- 212) **Vincenzi B, Santini D, Rabitti C, Coppola R, Beomonte ZB, Trodella L, Tonini G.** Cetuximab and irinotecan as third-line therapy in advanced colorectal cancer patients: a single centre phase II trial. *Brit J Cancer*, **2006**; 94(6): 792-797.
- 213) **Hudes G, Carducci M, Tomczak P, Dutcher J, Figlin R, Kapoor A, Staroslawska E, Sosman J, McDermott D, Bodrogi I, Kovacevic Z, Lesovoy V, Schmidt-Wolf IG, Barbarash O, Gokmen E, O'Toole T, Lustgarten S, Moore L, Motzer RJ.** Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *New Engl J Med*, **2007**; 356(22): 2271-2281.
- 214) **De Clercq E.** Suramin: A potent inhibitor of the reverse transcriptase of RNA tumor viruses. *Cancer Lett*, **1979**; 8: 9-22.
- 215) **Voogd TE, Vansterkenburg ELM, Wilting J, Janssen LH.** Recent research on the biological activity of suramin. *Pharmacol Rev*, **1993**; 45: 177-203.
- 216) **Stein CA, LaRocca RV, Thomas R, McAtee N, Myers CE.** Suramin: an anticancer drug with a unique mechanism of action. *J Clin Oncol*, **1989**; 7: 499-508.

- 217) **Viger A, Devran PB.** Exploring the limits of benzimidazole DNA-binding oligomers for the hypoxia inducible factor (HIF) site. *Bioorg Med Chem Lett*, **2006**; 14: 8539-8549.
- 218) **Pan W, Miao HQ, Xu YJ, Navarro EC, Tonra JR, Corcoran E, Lahiji A, Kussie P, Kiselyov AS, Wong WC, Liu H.** 1-[4-(1*H*-benzimidazol-2-yl)phenyl]-3-[4-(1*H*-benzimidazol-2-yl)phenyl]-urea derivatives as small molecule heparanase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, **2006**; 16: 409-412.
- 219) **Xu YJ, Miao HQ, Pan W, Navarro EC, Tonra JR, Mitelma S, Camara MM, Deevi DS, Kiselyov AS, Kussie P, Wong WC, Liu H.** N-(4-{[4-(1*H*-benzimidazol-2-yl)-arylamino]-methyl}-phenyl)-benzamide derivatives as small molecule heparanase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, **2006**; 16: 404-408.
- 220) **Gowda NRT, Swamy SN, Kumar CSA, Kumar YCS, Cahndrappa S, Yip GW, Rangappa KS.** Synthesis, characterization and evaluation of benzimidazole derivative and its precursors as inhibitors of MDA-MB-231 human breast cancer cell proliferation. *Bioorg Med Chem Lett*, **2008**; 18: 432-435.
- 221) **Cee VJ, Cheng AC, Romero K, Bellon S, Mohr C, Whittington DA, Bak A, Bready J, Caenepeel S, Coxon A, Deak HL, Fretland J, Gu Y, Hodous BI, Huang X, Kim JL, Lin J, Long AM, Nguyen H, Olivieri PR, Patel VF, Wang L, Zhou Y, Hughes P, Geuns-Meyer S.** Pyridyl-pyrimidine benzimidazole derivatives as potent, selective, and orally bioavailable inhibitors of Tie-2 kinase. *Bioorg Med Chem Lett*, **2009**; 19: 424-427.
- 222) **Curtis RG, Xu J, Lu J, Bhat S, Sullivan DC, Liu JO.** Inhibition of angiogenesis by the antifungal drug itraconazole. *Acs Chem Biol* **2007**; 2(4): 263-270.
- 223) **Rencüzogulları E, Topaktas M.** The relationship between quantities of bromodeoxyuridine and human peripheral blood with determination of the best differential staining of sister chromatids using chromosome Medium-B. *Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **1991**; 5(3): 19-24.
- 224) **Yang HT and Feng Y.** bFGF increases collateral blood flow in aged rats with femoral artery ligation. *Am J Physiol-Heart C*, **2000**; 78: 85-93.
- 225) **Yang HT, Feng Y, Allen LA, Protter A, and Terjung RL.** Efficacy and specificity of bFGF increased collateral flow in experimental peripheral arterial insufficiency. *Am J Physiol-Heart C*, **2000**; 278: 1966-1973.
- 226) **Beutler E.** Red Cell Metabolism. A manual of biochemical methods. 3rd Ed. Grune & Stratton. Orlando. **1984**: 72-73, 105-106.

- 227) **Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall JR.** Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, **1951**; 193: 265-275.
- 228) **Algül O, Kaessler A, Apçin Y, Yılmaz A, Jose J.** Comparative studies on conventional and microwave synthesis some benzimidazole, benzothiazole and indole derivatives and testing on inhibition of hyaluronidase. *Molecules*, **2008**; 13: 736-748.
- 229) **Gümüş F, Altuntaş TG, Saygun N, Özden T, Özden S.** In vitro tuberculostatic activities of some 2-benzylbenzimidazole and 2-phenoxyethylbenzimidazole derivatives. *J Pharm Belg*, **1989**; 44: 398-402.
- 230) **Algül O, Özçelik B, Abbasoğlu U, Gümüş F.** Synthesis, characterization and genotoxicity of platinum(II) complexes with substituted benzimidazole ligands. *Turk J Chem*, **2005**; 29: 607-615.
- 231) **Charton J, Girault-Mizzi S, Debreu-Fontaine MA, Fougelle F, Hainault I, Bizot-Espiard JG, Caignard DH, Sergheraert C.** Conversion of sterically hindered diacylated 1,2-phenyldiamines into 2-substituted benzimidazoles. *Chem Pharm Bull*, **2005**; 53: 492-497.
- 232) **Chantler T, Perrin VL, Donkor RE, Cawthorne RS, Bowen RD.** Proximity effects in the electron impact mass spectra of 2-substituted benzazoles. *Int J Mass Spectrom*, **2004**; 236(1-3): 65-80.
- 233) **Aries R.** Insecticidal compositions containing stabilized organophosphorus compounds. *Demande*, **1972**: 15.
- 234) **Mittal OP, Seshadri TR.** Chemical investigation of Indian lichens. XIX. *Lepraria*: constitution of leprapinic acid. *J Chem Soc*, **1955**; 3053-3025.
- 235) **Algül O.** Bazı 5-süstitüe -2-hidroksimetilbenzimidazol türevlerinin platin(II) kompleksleri üzerinde çalışmaları. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Ankara, **1994**.
- 236) **Wagner AF, Wittreich PE, Lusi A, Folkers K.** Benzimidazoles and novel use of 2-formylbenzimidazoles in syntheses. *J Org Chem*. **1962**; 27: 3236-3239.
- 237) **Holan G, Samuel EL, Enis BC, Hinde RV.** 2-Trihalogenomethylbenzazoles. Part I formation. *J Chem Soc*, **1967**; 20-25.
- 238) **Rabiger DJ, Joulie MM.** The ionization constants, ultraviolet and infrared spectra of some substituted benzimidazoles. *J Chem Soc*, **1964**; 29: 476-482.

- 239) **Thompson LK, Ramaswamy BS, Seymour EA.** Cobalt(II) and zinc(II) complexes of the tripod ligands tris(2-benzimidazolylmethyl) amine. Some five-coordinate derivatives and some with mixed stereochemistries. *Can J Chem*, **1977**; 55: 878-888.
- 240) **Glegg W, Lockhart JC, Musa FH.** Preparation and complexation of polydentate and macrocyclic ligands incorporating benzimidazole. X-ray crystal structure of 6,7,9,10,12,13,15,16-octahydro-23H, 25H-bis(benzimidazo-[1,2-j:2',1'-o] [1,4,7,10,13,16]-tetraoxadiazacyclooctadecine. *Dalton T*, **1986**; 47-53.

ÖZGEÇMİŞ

22 Aralık 1984 tarihinde Malatya’da doğmuştur. İlköğretimine K.Maraş Fatih İlkokulu’nda (1990-1995) başlayıp, K.Maraş Özel Kahramankent Koleji’nde (1995-1997) devam edip Adana Recep Birsin Özen İlköğretim Okulu’nda (1997-1999) bitirmiştir. Ortaöğretimini ise Ankara Fen Lisesi’nde (1999-2002), Lisans eğitimini ise Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’nde (2002-2006) tamamlamıştır. 2006 yılından bu yana da Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Eğitimi’ni sürdürmektedir. Aynı zamanda K.Maraş’ın Afşin ilçesinde bulunan Karabulut Eczanesi’nin sahibi ve mesul müdürüdür.