

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

**ANJİYOJENEZ ÜZERİNE ETKİLİ OLABİLECEK  
HETEROSİKLİK BİLEŞİKLER ÜZERİNDE  
ÇALIŞMALAR**

**Ecz. Akın YILMAZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Öztekin ALGÜL**

**MERSİN-2008**

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütölmüş olan "Anjiyojenez Üzerine Etkili Olabilecek Heterosiklik Bileşikler Üzerinde Çalışmalar" başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 17/06/2008

Yrd. Doç. Dr. Öztekin ALGÜL  
Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakölteesi  
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı  
Jüri Başkanı

Yrd. Doç. Dr. Semra UTKU  
Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakölteesi  
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı  
Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Necmiye CANACANKATAN  
Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakölteesi  
Biyokimya Anabilim Dalı  
Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 27/06/2008 tarih ve 200 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜRLER

Tez konumu belirleyen, çalışmalarım süresince her türlü konuda bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, yardımını, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, anlayışlı ve sabırlı tavırlarıyla her zaman yanımda olan örnek insan Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. Öztekin ALGÜL'e tüm içtenliğimle teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Yüksek lisans tez çalışmam sırasında her zaman, her konuda destek ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Semra UTKU'a teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Her zaman bilgi ve deneyimleriyle yardımcı olan Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyelerine ve çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen araştırma görevlisi ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma,

Aktivite çalışmalarını yapılmasında yardımcı olan Heinrich-Heine Üniversitesi Farmasötik ve Medisinal Kimya Enstitüsünden (Düsseldorf/Almanya) Prof. Dr. Joachim Jose ve Doktora Öğrencisi Andre Kaessler'e,

Mesleği seçmemde en büyük paya sahip olan ve hayatımın her döneminde MADDİ ve manevi destekleriyle yanımda olan biricik Ablam'a ,

Yüksek lisans programım boyunca eczanemden ilgisini esirgemeyen Teyzem Sevim ŞAHİN'e ,

Tecrübesiyle yardımlarını esirgemeyen sevgisi ve güveni ile güç veren Uzm. Ecz. Burcu ERDAŞ'a ,

Büyük fedakârlıklar göstererek bugünlere gelmemi sağlayan, sevgi ve desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen annem'e ve aileme,

İçtenlikle teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

<b>Kabul ve Onay</b>	ii
<b>Teşekkürler</b>	iii
<b>İÇİNDEKİLER</b>	iv
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	vi
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	x
<b>ÖZET</b>	xi
<b>ABSTRACT</b>	xii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri	3
2.2. Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	8
2.2.1. 2-Süstitüebenzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	8
2.2.1.1 Açillenmiş o-nitroarilaminlerden hareketle	8
2.2.1.2. o-Fenilendiaminler ile karboksilik asitler, asit anhidritleri, esterler ya da amidlerden hareketle	9
2.2.1.3 o-Fenilendiaminler ile nitrillerden hareketle	15
2.2.1.4. o-Fenilendiaminler ile iminoeterleden hareketle	18
2.2.1.5. o-Fenilendiaminler ile aldehit ya da ketonlardan hareketle	19
2.2.1.6. Diğer yöntemler	27
2.3. Bisbenzimidazoller genel sentez yöntemleri	31
2.4. Anjiyojenez Üzerinde Etkili Bileşikler Üzerinde Yapılan Çalışmalar	35
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	47
3.1 Kimyasal Çalışmalar	47
3.1.1. Materyal	47
3.1.2. Yöntem	47
3.1.2.1 2-Fenilbenzimidazollerin Sentez Yöntemi	48
3.1.2.1.3 Bisbenzimidazollerin Genel Sentez Yöntemi	48
3.2. Analitik Çalışmalar	48
3.2.1 Erime Noktası Tayini	48
3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi ve Kolon Kromatografisi	

ile Yapılan Kontroller	48
3.2.2.1. Materyal	48
3.2.3. Spektroskopik Kontroller	49
3.2.3.1. IR Spektrumları	49
3.2.3.2. <sup>1</sup> H NMR Spektrumları	49
3.2.4. Elemental Analizleri	49
3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	49
3.3.1. Metod	49
3.3.2.1. Morgan-Elson Testi	49
3.3.2.2. Stain-all Testi	50
<b>4. BULGULAR</b>	<b>52</b>
4.1. Kimyasal Bulgular	52
4.2. Biyolojik Bulgular	59
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>60</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER</b>	<b>63</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>65</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>82</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

- Reaksiyon Denklemi 1-5:** Benzimidazollerin kimyasal özellikleri
- Reaksiyon Denklemi 6-7:** Açılmiş o-nitroarilaminlerden hareketle benzimidazol sentez yöntemleri
- Reaksiyon Denklemi 8-15:** o-Fenilendiaminler ile karboksilik asitler, asit anhidritleri, esterler ya da amidlerden hareketle benzimidazol sentez yöntemleri
- Reaksiyon Denklemi 16-19:** o-Fenilendiaminler ile nitrillerden hareketle benzimidazollerin sentez yöntemleri
- Reaksiyon Denklemi 20-22:** o-Fenilendiaminler ile iminoeterlerden hareketle benzimidazollerin sentez yöntemleri
- Reaksiyon Denklemi 23-35:** o-Fenilendiaminler ile aldehit ya da ketonlardan hareketle benzimidazollerin sentez yöntemleri
- Reaksiyon Denklemi 36-44:** Benzimidazollerin diğer sentez yöntemleri
- Reaksiyon Denklemi 45-51:** Bisbenzimidazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri
- Şekil 1:** Anjiyojenik aktivitesi belirlenen bazı doğal ve sentetik bileşikler
- Tablo 1:** Sentezlenen Bileşiklerin Hiyaluronidaz İnhibitör Etkileri
- Tablo 2:** Sentezlenen Bileşiklerin Formülleri
- Şema 1:** Bileşiklerin Sentez Şeması

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
HA	Hiyaluronik asit
HAase	Hiyaluronidaz
BSA	Bovin serum albumin
TSP-I	Trombospondin-1
TAF	Tümör Anjiyojenik Faktör
EGCG	Epigallokateşin gallat
PAS	Peryodik Asit Shift
CAI	Karboksiamido-triazol
IL	İnterlökin
CHR	cis-Hinokiresinol
TGF- $\beta$	Transforme Büyüme Faktörü Beta
ECM	Ekstraselüler matriks
BAEC	Bovin Aortik Endotelial Hücre

## ÖZET

### Anjiyojenez Üzerine Etkili Olabilecek Heterosiklik Bileşikler Üzerinde Çalışmalar

Tümör hücrelerinin büyüüp gelişmesi, tümörü besleyecek olan yeni damarların oluşmasına ve böylece diğer doku ve organlara tümörün yayılabilmesini sağlamaktadır ki bu olaylar zinciri “anjiyojenez” olarak tanımlanmaktadır.

Özellikle tümör hücrelerinde ekstraselüler matriks çok hızlı değişmekte iken sağlıklı hücrelerde ekstraselüler matriks son derece yavaş yapısal değişikliğe uğradığı olduğu bilinmektedir.

Ekstraselüler matriksin yapısının uzun zincirli polimerlerden, mukopolisakkaritlerden, glikozaminoglikanlardan ve proteoglikanlardan oluştuğu üç boyutlu çalışmalarda belirlenmiştir. Hücrelerde yer alan en yaygın glikozaminoglikanlardan birisi hiyaluronik asittir. Hiyaluronik asitin endotel hücrelerinin yapısında yer almakla birlikte bu hücrelerin taşınmalarında anahtar rol oynadığı çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur.

Hiyaluronik asitin vücutta sentezini kontrol eden hiyalüronidaz enzimleridir. Dolayısıyla hiyalüronidaz enzimi inhibisyonunun hiyaluronik asitin kontrolünü sağlayabileceğini düşüncesini desteklemektedir.

Anjiyojenez olayında araştırmacıların dikkatini çeken heterosiklik halkalardan biri de benzimidazol halkasıdır. Benzimidazol halkasının yaşam için gerekli olan bazı biyolojik moleküllerin yapısında yer almakla birlikte canlı sistemlerde benzimidazol halkasının biyopolimerlerle kolayca etkileşim gösterebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada benzimidazol halkasının 2 numaralı konumunda fenil, sübstitüe benzil grupları taşıyan yapılar ile bisbenzimidazol türevlerinden oluşan 7 adet benzimidazol türevi bileşik hiyaluronidaz enzim inhibitör etkileri belirlenmek amacıyla sentezlenmiştir. Sentezlenen benzimidazol türevi bileşikler ve standart madde olarak kullanılan askorbik asit palmitat tuzu pH 3.5 ve 7’de “Morgan-Elson” ve “Stains-all” testleri kullanılarak antihiyaluronidaz etkileri tespit edilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin 100 mM konsantrasyonda % inhibisyon değerleri incelendiğinde, Bileşik 5-7’nin pH 7’de % 60-67 ve pH 3.5’de 59-63 inhibisyon yaptığı görülmektedir.

Bu çalışmada sentezlenen di(1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)metan (Bileşik No: 6) bileşiğinin en yüksek antihiyaluronidaz etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bileşik 1-4’de oldukça düşük aktivite gözlenirken ve 5 ve 7 numaralı bileşikler bileşik 6’ya göre düşük olmasına rağmen oldukça önemli aktiviteye sahiptirler. Ancak antihiyaluronidaz aktiviteye sahip bu bileşiklerin anjiyojenez aktivitelerinin varlığı daha ileri çalışmalar ile desteklenmesi ve kanıtlanması gerekmektedir.



## ABSTRACT

### Investigations on The Heterocyclic Compounds Effective on Angiogenesis

Tumor angiogenesis is described as growth and development of a tumor cell, formation of new tumor-feeding vessels and hence, proliferation of the tumor to adjacent tissues and organs. In particular, the association of the tumor angiogenesis with the extracellular matrix has been investigated due to the slow structural change in the extracellular matrix of healthy cells unlike the rapid alterations in those of tumor cells.

Three dimensional studies revealed that the structure of extracellular matrix is composed of the long chain polymers, mucopolysaccharides, glycosaminoglycans and proteoglycans. Hyaluronic acid is one of the most common glycosaminoglycans present in cells. It was revealed that hyaluronic acid exists in the structure of endothelial cells and also plays a key role in migration of these cells.

Hyaluronidase enzymes are those in charge of controlling the synthesis of hyaluronic acid in the body. Thus, it supports the assumption that inhibition of these enzymes may provide a control over hyaluronic acid.

In angiogenesis, one of the heterocyclic rings drawing the attention of the scientists is benzimidazole ring. It is assumed that benzimidazole ring exists in the structure of some biological molecules essential for survival of an organism and also interacts easily with biopolymers in living systems.

In this study, the moieties having substituted benzyl group at the position of 2 in a benzimidazole ring as well as seven benzimidazole derived compounds of bisbenzimidazol derivatives were synthesized in order to determine the hyaluronidase enzyme inhibiting activity. Anti-hyaluronidase effect of the benzimidazole derived compounds and ascorbyl palmitate, the reference substance, was investigated at pH 3.5-7 using "Morgan-Elson" and "Stains-all" tests.

Upon determination of percent inhibition values of synthesized compounds at the concentration of 100 mM, it is evident that the compounds 5-7 exhibit inhibitory activity of 60-67 % at pH 7 and 59-63 % at pH 3.5, respectively.

In this study, it was determined that the synthesized compound 6, di(1*H*-benzo[d]imidazol-2-yl)methane, possesses the highest anti-hyaluronidase activity. The compounds 1-4 have lower activity whereas the compounds 5 and 7 exhibit significantly higher activity. However, the activity of the compounds 5 and 7 is lower than the compound 6. Nevertheless, the presence of angiogenic activity of these compounds with anti-hyaluronidase activity should be supported and proved by further investigations.

# 1. GİRİŞ

Tümör hücresinin büyüüp gelişmesi, tümörü besleyecek olan yeni damarların oluşmasına ve böylece diğer doku ve organlara tümörün yayılabilmesini sağlamaktadır ki bu olaylar zinciri “anjyojenez” olarak adlandırılmaktadır. Onarım alanında bulunan damarların tomurcuklanması ile yeni damarların oluşumu şeklinde de tarif edilen anjyojenez, “noevaskularizasyon” olarak da isimlendirilmektedir (1,2).

Tümör büyümesini ilgilendiren çok sayıda faktör üç başlık altında toplanabilir:

1. Tümör hücrelerinin büyümesi kinetiği
2. Tümör anjyojenezi
3. Tümör ilerlemesi ve heterojenliği

Tümör anjyojenezi malignite için gerekli bir olaydır. Çünkü, kan desteği olmayan kanser kolonilerinde, 1-2 mm çapı geçemez, yeni damarlanma oluşmaz ve metastaz yapamaz. Tümörün büyümesi besin ve oksijen sağlayan yeni damar gelişimi ile sağlanmaktadır. Yeterli kan desteği olmayan kanser kolonileri hızla proliferasyon olurlar. Ancak buna karşı gelişen mekanizma ile apoptoz (programlanmış hücre ölümü) artar. Anjyojenez ile kan akımı sağlandıktan sonra ise hücre ölüm hızının azalmasına karşın tümör gelişimi artar. Tümör anjyojenezi için anjiyojenik faktörlerin sağlanması gereklidir. Tümörle ilgili anjiyojenik faktörler tümör hücrelerinin kendilerinden ve tümörü infiltre eden makrofaj gibi iltihabi hücrelerde yapılır. Endotel hücreleri için özgül etkilere sahip olan *vasküler endotelial büyüme faktörü* (VEGF), tümör anjyojenezinde ve tümör endotelial hücrelerinin yaşamasında rol alan önemli bir moleküldür (3).

*Fibroblast büyüme faktörü* (FGF) ve VEGF anjyojenezi uyaran faktörler arasında olup, her ikisi bazal membrandaki proteoglikanlara bağlanır ve bu yapılar hasarlaştınca serbestleşir. Direkt veya indirekt olarak endotel hücrelerini uyarır, bu ise bazal membranı parçalayan proteinazları salgılar, endotel hücre göçü ve proliferasyonu uyarır ve direkt olarak endotel hücre popülasyonunun ilerlemesiyle damarlar oluşturur (4,5).

Ekstraselüler matriks uzun zincirli polimerlerden mukopolisakaritler, glikosakaritler ve proteoglikanlardan oluşmaktadır. Dokularda bulunan glikozamino-

glikanlardan en önemlileri; hiyalüronik asit (HA), kondroitin ve kondroitin sülfattır. Bunlardan özellikle HA türevlerinin endotel hücrelerinin yapısında ve taşınmalarında ve sonuç olarak da anjiyojenez olayında anahtar rol oynadığı çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. HA'nın vücutta sentezini kontrol eden hiyalüronidaz enzimleridir. Dolayısıyla hiyalüronidaz enzimi inhibisyonunun HA'nın kontrolünü sağlayabileceğini düşüncesini desteklemektedir (6-8).

Bu aktiviteye sahip olabilecek bileşiklerin anjiyojenez üzerinde de etkili olabileceği ve bu bileşiklerin kanser metastazında uygun bir tedavi yönteminin ortaya çıkmasını sağlayabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, matriks metalloproteinazları üzerinde çok sayıda çalışmalar yapılmış olmasına karşın, proteoglikanların yapısını bozacak enzimler üzerinde oldukça az çalışma yapıldığı literatür çalışmalarında görülmektedir (6,7). Dolayısıyla, yeni özgül hiyalüronidaz enzim inhibitörlerinin geliştirilmesinin anjiyojenezde yeni bir grup bileşiğin tedaviye girmesini sağlayabileceği düşünülmektedir.

Tümör anjiyojenez tedavisinde yararlanmak üzere araştırmacıların dikkatini çeken heterosiklik halkalardan biri de benzimidazol halkasıdır. Benzimidazol halkasının yaşam için gerekli olan bazı biyolojik moleküllerin yapısında yer almaktadır. Bu halka sistemi purin çekirdeğini taşıyan adenin ve guanin izosteri olup, purin antimetaboliti olabilir. Bu nedenle, canlı sistemlerde benzimidazol halkasının biyopolimerlerle kolayca etkileşim gösterebileceği düşünülmektedir.

Vitamin B<sub>12</sub> (siyanokobalamin)'in yapısında doğal olarak da yer alan benzimidazol çekirdeği, günümüzde bazı farklı ilaç gruplarının etken maddesi olarak karşımıza çıkmaktadır.

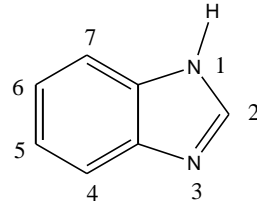
Henüz günümüzde anjiyojenez üzerinde etkili yeni bir benzimidazol türevi bileşik tedaviye girmemişse de son yıllarda benzimidazollerin antitümör aktiviteleri üzerine birçok araştırma yapılmaktadır.

Bu çalışmada, hiyalüronidaz enzim inhibisyon aktivitesi olduğu literatürde kayıtlı olan, apigenin, bityoantratiyofen, 1,8-dihidroantrakınon, SU5416, *cis*-hinokiresol gibi moleküllerinin kimyasal yapılarından esinlenilerek bir seri benzimidazol türevlerinin sentezlenmesi ve hiyalüronidaz enzim inhibisyonu etkilerinin test edilmesi ve anjiyojenez ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır (9,10).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri

Benzimidazol halkası, benzen ve imidazol halkalarının kaynaşmasından oluşmuş bir halka sistemidir.

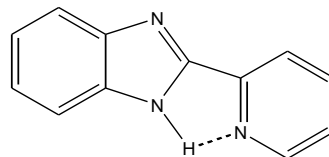


**Formül 1**

Benzimidazol halka sistemi iki farklı yapıda azot atomuna sahiptir (Formül 1). 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 (11).

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, polar olmayan çözücülerde ise az çözünürler ve polar çözücülerde serbest imino hidrojeni asosiyel halde bulunur. İmino hidrojeninin sübstitüsyonu kaynama ve erime noktalarını önemli ölçüde düşürür (11).

Benzimidazol halka sisteminin 2. konumuna bazı sübstitüentler (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 olduğu ileri sürülmüştür (Formül 2) (12).



**Formül 2**

Elquero ve ark. (13) 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  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ilavesi ile benzimidazolium iyonu oluşturarak da bu sürecin büyük ölçüde yavaşlatılabildiği gösterilmiştir. H-2 protonu azot atomları üzerindeki her bir hidrojen ile etkileşerek triplet vermeside bu görüşün kanıtı olarak sunulmuştur.

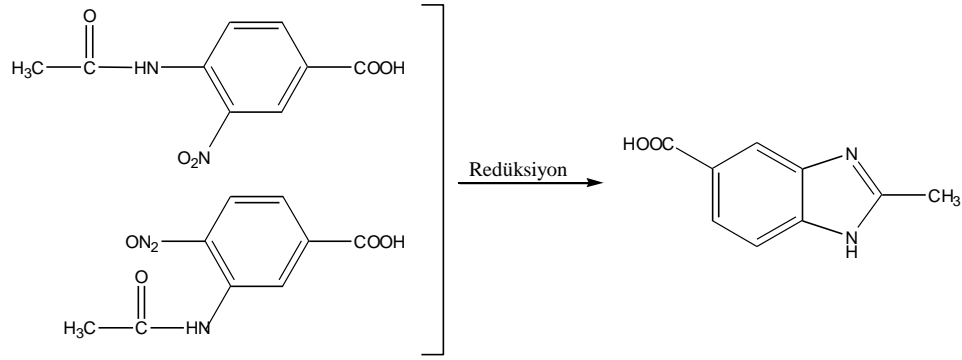
Benzimidazoller, bazik özelliği asit özelliğinden daha baskın amfoterik karaktere sahip bileşikler olup, metallerle tuz oluştururlar. Bazik özelliklerini, üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftini, reaksiyona girdikleri atom veya gruba verebilme özelliğinde olan tersiyer azot atomundan kaynaklanmaktadır (14). 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 (15).

Benzimidazol ( $\text{pK}_a$  5.5), imidazol'den ( $\text{pK}_a$  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 (15).

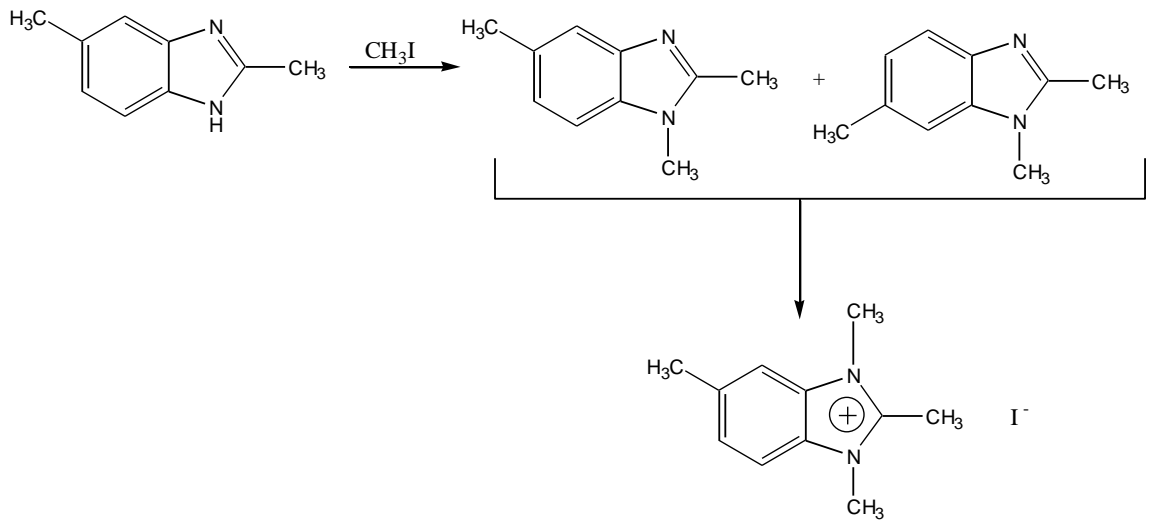
Benzimidazoller asit özelliklerini ise, taşıdıkları imino hidrojeni ortama proton halinde vererek gösterir ve elektron çekici gruplar ile sübstitüe edilirlerse asit özellikleri artar (14). Kaynar sudaki benzimidazol çözeltisine  $\text{AgNO}_3$  ilavesi ile suda az çözünen gümüş tuzu oluşur. Bu tuz seyreltik mineral asitlerde ve asetik asitte çözünür. Benzimidazollerin asidik karakterlerinin bir diğer göstergesi ise grignard bileşikleri ile reaksiyona girerek N-magnezyum halojenürleri vermesidir. Benzimidazollerin imino hidrojeninin sübstitüsüyonu pseudo-asidik karakterini ortadan kaldırır. Örneğin, nitrobenzimidazoller,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  veya sulu amonyak çözeltileri ile tuz oluşturacak kadar asidiktir.

Serbest imino hidrojeni içeren benzimidazoller, tautomerik sistemlerdir. Benzimidazollerin tautomerik karekteri göstermek amacıyla, Green ve Day 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) (16) .



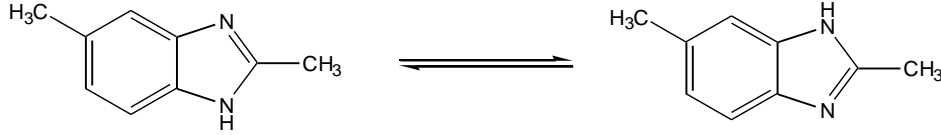
**Reaksiyon Denklem 1**

Benzimidazollerin tautomerizmi, nötral şartlarda da oluşmaktadır. Yine Green ve Day'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 (16).



**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 (17).



**Reaksiyon Denklemi 3**

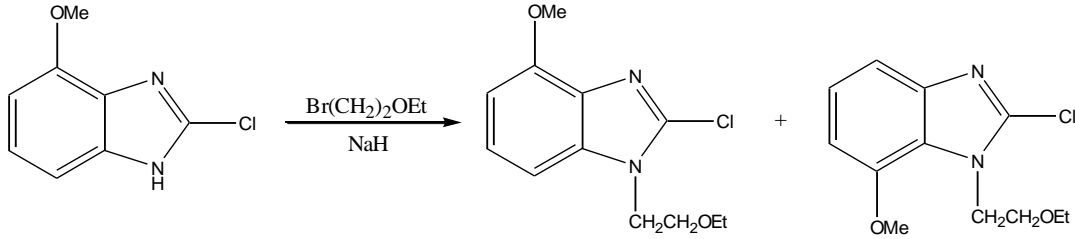
Benzimidazol ve simetri düzlemi içeren türevlerin tautomerik formları ise birbirinin aynıdır ve kesin bir yapı belirlemek mümkündür. Örneğin; 2-metil, 5,6-dimetil ve 4,7-dimetil benzimidazol simetri düzlemine sahiptir. Benzimidazolün, benzen halkası üzerinde simetri düzlemini bozacak şekilde süstitüent taşıması halinde, imino hidrojeni süstitüe edilecek olursa, iki farklı izomer karışımı elde edilmektedir (11).

Benzen üzerindeki süstitüentin 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 değiştiği bildirilmiştir (18). Arnau ve ark. 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 (19).

2-Furil ya da tiyenil süstitüent benzimidazol türevlerinin DMSO içinde tautomerizm gözlenirken, 2-fenil benzimidazolde gözlenememesinin, molekülde heteroaril grupların varlığında –NH asiditesinin artmasına bağlı olabileceği bildirilmiştir (20).

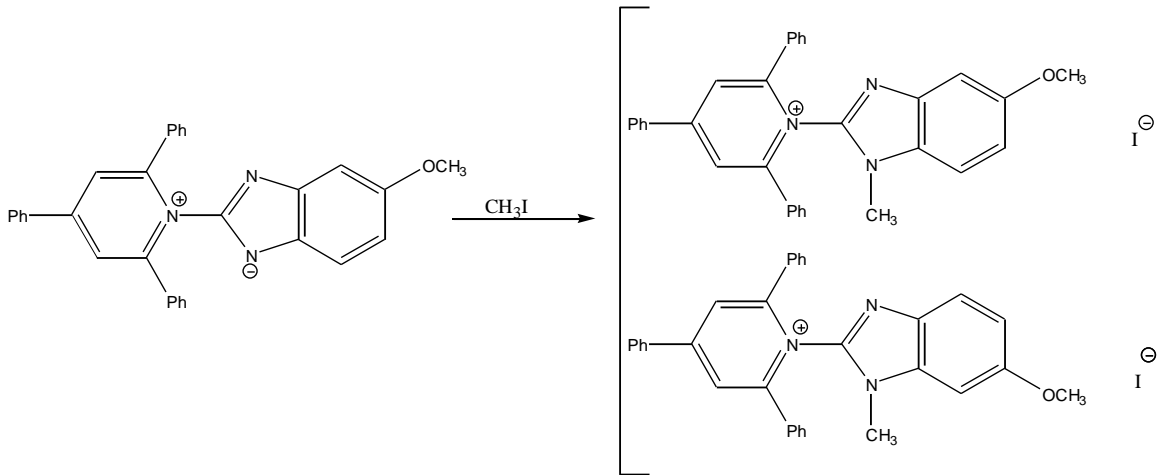
Iemura ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, 2-kloro-4-metoksi-benzimidazolün imino hidrojeninin süstitüsyonu ile 2-kloro-1-(2-etoksietil)-4-metoksi-1*H*-benzimidazol ve 2-kloro-1-(2-etoksietil)-7-metoksi-1*H*-benzimidazol yapıları elde

edilmiş ve bu izomerler kolon kromatografisi ile ayrılmıştır (Reaksiyon Denklemi 4) (21).



**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. tarafından yapılan çalışmada bildirilmiştir (Reaksiyon Denklemi 5) (22). Aynı araştırmacı grubu, bu çalışmaya benzer şekilde elde ettikleri izomer karışımını kristalizasyon tekniği ile ayrı ayrı saf olarak elde ettiklerini bildirmişlerdir (23). Başka bir çalışmada ise, sentez sonucunda elde edilen izomer karışımının, ancak preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayrılabilirdiği bildirilmiştir (19).



**Reaksiyon Denklemi 5**

Katritzky ve Rachwal (24), alışılmadık alkilasyon şartlarında karşılaşılan izomer sorununu çözmek için, 5-nitrobenzimidazol üzerinden selektif alkilasyon ile 1-metil-5-nitrobenzimidazol ve 1-metil-6-nitrobenzimidazol regioizomerlerinin ayrı ayrı elde edilebileceğini bildirmişlerdir.



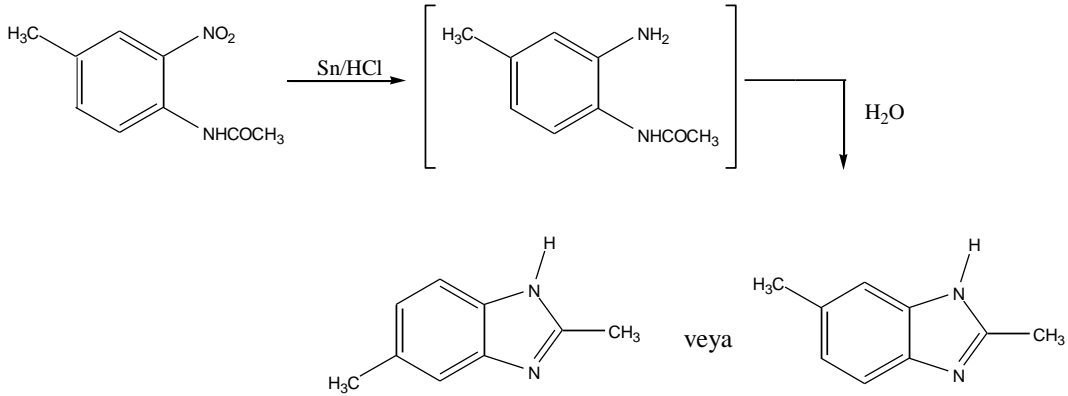
## 2.2 Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri

Benzimidazol sentez yöntemlerinde başlangıç maddesi olarak çoğunlukla *o*-fenilendiamin ya da bunu verecek süstitüe türevlerin kullanıldığı görülmektedir.

### 2.2.1. 2-Süstitüebenzimidazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri

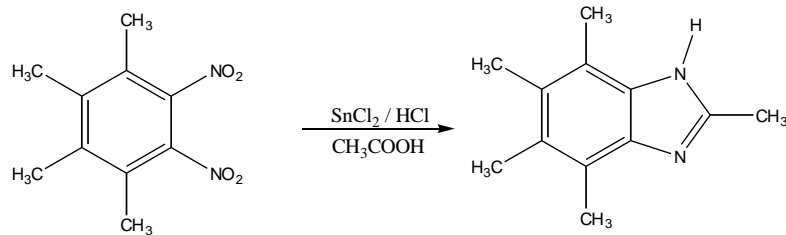
#### 2.2.1.1 Açılmiş *o*-nitroarilaminlerden hareketle

İlk benzimidazol türevi bileşik, 1872 yılında Hoebrecker tarafından sentezlenen, 2,5(6)-dimetilbenzimidazoldür. Bu bileşik 2-nitro-4-metilasetanilidin kalay klorür ile hidroklorik asit varlığında indirgenme reaksiyonu ile elde edilmiştir (Reaksiyon Denklemi 6) (14).



**Reaksiyon Denklemi 6**

*o*-Dinitrobenzen türevlerinin kalay klorür ile hidroklorik asit ve asetik asit varlığında, izole edilmeksizin redüksiyonu ile benzimidazol yapısı oluşturmaktadır. 1,2-Dinitro-3,4,5,6-tetrametilbenzen'in aynı redüksiyon koşullarında asetik asit ile muamelesi sonucunda 2,4,5,6,7-pentametilbenzimidazol oluşmaktadır (Reaksiyon Denklemi 7) (25,26).



**Reaksiyon Denklemi 7**

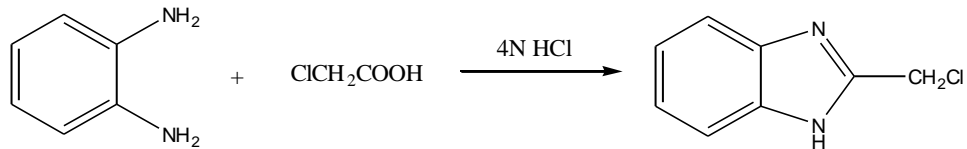
### 2.2.1.2 *o*-Fenilendiaminler ile karboksilik asitler, asit anhidritleri, esterler ya da amidlerden hareketle

Ladenburg 1875 yılında 2,5- (ya da 2,6) dimetil benzimidazolü 3,4-dimainotoluenin glasiyal asetik asit içinde ısıtılması ile sentezlenmiştir (14).

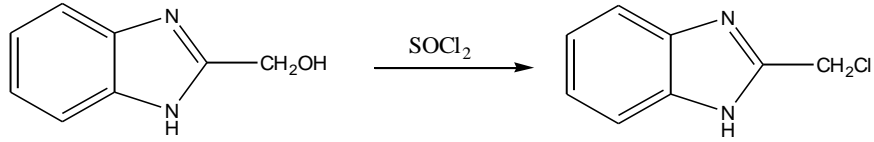
1928 yılında yayınlanan bir çalışmada Phillips, bazı 2-sübstitübenzimidazollerin sentezlendiğini bildirmiştir. Kendi adını verdiği sentez yöntemini kullanarak, 2 numaralı konumda metil, etil, hidroksimetil, hidroksietil,  $\alpha$ -hidroksibenzil ve fenil gruplarını taşıyan benzimidazol türevlerini; *o*-fenilendiamin ve uygun karboksilik asitin (sırası ile asetik asit, propiyonik asit, glikolik asit, laktik asit, mandelik asit ve benzoik asit) 4N hidroklorik asit çözeltisi içerisinde 30-40 dakika geri çeviren soğutucu altında ısıtılması ile elde etmiştir (27). Daha sonraki yıllarda bu yöntem aynı şekilde ya da modifiye edilerek bir çok araştırmacı tarafından uygulanmış (14,16,28-30) ve alifatik karboksilik asitler kullanılarak yürütülen reaksiyonlarda yüksek verimde 2-alkilsübstitübenzimidazol türevlerinin elde edilmesine karşılık aromatik karboksilik asitler sonucu elde edilen ürünlerin eser miktarda olduğu bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (14, 31).

*o*-Fenilendiamin ile formik asit muamele edilerek, hiçbir sübstituent taşımayan benzimidazol ana halkası sentezlenmiştir (14). Yine *o*-fenilendiamin ile karboksilli asitlerin reaksiyonu sonucu Pool ve ark. tarafından 2-alkilbenzimidazoller elde edilmiştir (28).

1938 yılında Hughes ve Lions, Phillips yöntemi kullanılarak 2-klorometilbenzimidazol sentezlendiğinde verimin çok düşük, izolasyonun da çok zor olduğunu bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 8). Bunun üzerine çalışmacılar, 2-klorometilbenzimidazolü, Phillips yöntemi ile sentezledikleri 2-hidroksimetilbenzimidazol'ün tanyonil klorür ile olan reaksiyonu sonucu elde etmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 9) (32).



**Reaksiyon Denklemi 8**



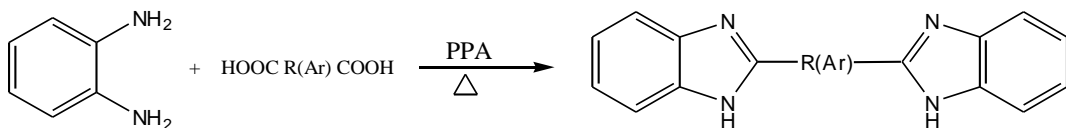
**Reaksiyon Denklemi 9**

1939 yılında yayınlanan bir çalışmada, Bloom ve Day 2-klorometilbenzimidazol sentezi için Phillips yöntemini kullandıklarını, sonuç ürünü, bu konuda daha önce çalışma yapmış olan Hughes ve Lions'a göre daha yüksek verimle elde ettiklerini bildirmişlerdir (33). Verimin artması, 1,2-fenilendiamin ile kloroasetik asitin 4N hidroklorik asit içindeki çözeltisinin 45 dakika geri çeviren soğutucu altında ısıtılma süresinden sonra 1 gece bekletilip, su ile seyreltikten sonra, 6N amonyak çözeltisi ile nötralize edilmesine bağlanmıştır. Aynı yöntem 1943 yılında Skolnik ve arkadaşları tarafından da kullanılmıştır (34).

1940'lı yıllarda *o*-fenilendiaminin organik asitlerle vermiş olduğu reaksiyonun mekanizması üzerinde bazı çalışmalar yapılmıştır (16,29,30). Phillips, bu reaksiyon sırasında önce monoaçil yapısı taşıyan bir ara ürünün oluştuğunu ve daha sonra halkanın kapanarak benzimidazol yapısının elde edildiğini bildirmektedir (35).

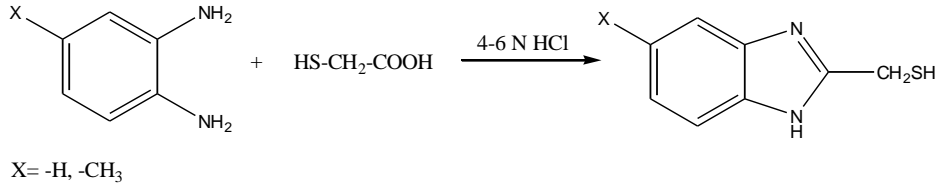
Yapılan bir çalışmada *o*-fenilendiaminin monoaçil türevinin susuz ortamda halka kapanma reaksiyonu vermediği, benzimidazol yapısının oluşması için ortamda suyun bulunması gerekli olduğu bildirilmiştir (30).

Hein ve arkadaşları 1957 yılında yayınladıkları bir çalışmalarında, benzimidazol halkası oluşturmak için Phillips yöntemini kullanmanın, 2-alkil sübtitüe türevleri için uygun olduğunu fakat 2-arilbenzimidazollerin sentezi için uygun olmadığını, çok düşük verim elde edildiğini bildirmişlerdir (31). Aynı makalede Phillips yöntemi ile 2-fenilbenzimidazol sentezi çalışmalarında sadece eser miktarda ürün elde edilebileceği, ancak reaksiyon derişik hidroklorik asitli ortamda 180°C'de kapalı bir tüp içinde (basınç altında) yapıldığında 2-fenil benzimidazolün daha yüksek verimle edilebileceğini bildirmişlerdir. Bis-benzimidazol türevi bileşikler de bu yöntemle değişen verimlerle elde edilebilmektedir (Reaksiyon Denklemi 10).



**Reaksiyon Denklemi 10**

Çeşitli araştırmacılar 2-merkaptometilbenzimidazol ve 5-sübstitüe türevlerini ilk defa Phillips tarafından uygulanan yöntemle sentezlediklerini bildirmişlerdir (36). Bu yöntem uygun *o*-fenilendiamin ve tiyoglikolik asitin 4-6 N hidroklorik asit içerisinde geri çeviren soğutucu altında bir kaç saat ısıtılması esasına dayanır (Reaksiyon Denklemi 11) (37-42).



### Reaksiyon Denklemi 11

1964 yılında yayınlanan bir çalışmada Milner ve arkadaşları Phillips yöntemini uygulayarak elde ettikleri 2-merkaptometilbenzimidazolün hidroklorik asit tuzu halinde daha dayanaklı olduğunu bildirmişlerdir (40).

1964 yılında Porai-Koshits ve arkadaşlarının yayınladıkları bir çalışmada, bazı 2-hidroksimetilbenzimidazol türevlerinin asetik asit ve asetik asit anhidriti ile olan reaksiyonları sonucunda, bu türevlerin asetik asit esterlerinin elde edildiğini bildirmişlerdir (43).

Noyanalpan ve Işıkdag tarafından 1984 yılında yayınlanan bir çalışmalarında, *o*-fenilendiamin ile bazı karboksilik asit türevlerini değişik kondensasyon ajanlarının (mineral asitler, polifosforik asit, polifosfat esteri) katalizörlüğünde reaksiyona soktuklarını ve 2 numaralı konumlarında bazı alkil ve aril sübstitüentleri taşıyan benzimidazol türevlerini, bu ajanların tümü ile, değişik süre ve verimlerde elde ettiklerini bildirmişlerdir. Uzun zincirli alkil grupları ile, aromatik, siklik ve heterosiklik grupları içeren türevlerin sentezlerinde ise, PPA ve PPE yöntemleri ile daha yüksek verimde ürünler elde edildiğini bildirmişlerdir. Bu türevlerin 4N hidroklorik asit çözeltisi ile kondenzasyonları, çözünme güçlükleri, halka açılması veya karbonizasyon gibi nedenlerden dolayı sentezlerin gerçekleştirilemediğini veya çok düşük bir verimde ürünler elde edildiğini bildirmişlerdir (44).

Diğerlerine göre daha yumuşak bir kondensasyon ajanı olan PPE, alifatik, aromatik ve heterosiklik karboksilik asitlerin, *o*-fenilendiamin ile kondensasyonunda ve ayrıca, benzoksazol, benzotiyazol bileşiklerinin sentezlerinde kullanılmıştır (45-49).

Halkalı trimetafosfat yapısında olan PPE, ilk defa 1910 yılında Langheld tarafından fosforpentaoksit ve dietiler karışımının ısıtılması ile elde edilmiştir (46). Aside duyarlı olan heterosiklik türevler bu yöntem ile yüksek bir verimle elde edilebilirler (50).

Ancak reaksiyon koşulları yeterince kuvvetli değil ise, halka kapanması reaksiyonu olmaz, ürün olarak mono veya diaçilamin türevleri elde edilir. Reaksiyon ısı 160 °C nin üzerine çıktığında ise, PPE'nin yapısında bozunma meydana gelmesi nedeni ile reaksiyonların yürümediği bildirilmektedir (31).

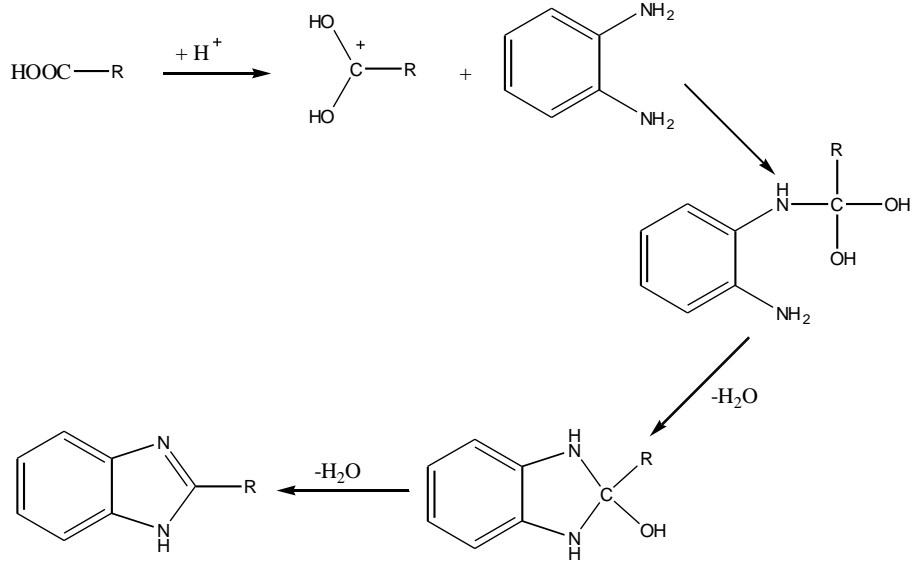
Işıklıdağ tarafından 1982 yılında tamamlanan Doktora tez çalışmasında, 2-benzilbenzimidazolün sentezi için kullanılan bir diğer yöntemin de o-fenilendiaminin, PPE varlığında fenil asetik asit ile oluşturduğu kondensasyonu sonucu gerçekleştirildiği bildirilmiştir (50).

*o*-Fenilendiamin ve benzoik asitten hareketle 2-fenilbenzimidazol'ün sentezinde kondensasyon ajanı olarak PPA kullanımı, 1986 yılında Kumar tarafından da uygulanmıştır (51).

1964 yılında Kanaoka ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 2-süstitübenzimidazollerini *o*-fenilendiamin ile çeşitli karboksilik asitlerin kondensasyon reaksiyonu ile elde etmişlerdir. İlk defa bu çalışmada halka kapama ajanı olarak PPE kullanılmıştır (52).

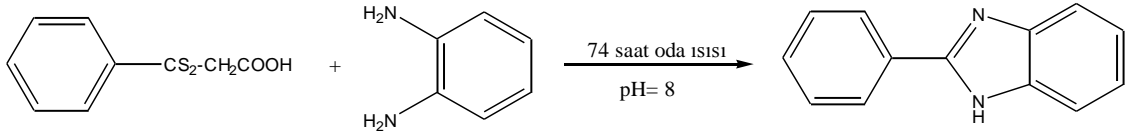
Araştırmacılar *o*-fenilendiamin ve alifatik asitten hareketle Phillips metodu ile sentezlenen 2-alkilbenzimidazollerin veriminin yüksek olduğunu, ancak aromatik asit kullanıldığında oldukça düşük verimde ürün elde edildiğini bildirmişlerdir. Phillips yöntemi ile yüksek verimde 2-arilbenzimidazol eldesi için bu reaksiyonun kapalı bir tüp içerisinde ve 180°C'de yürütülmesi gerektirdiğini, ancak mineral asitler yerine, PPE'nin kullanımı sonucu daha iyi sonuçlar alındığını bildirmişlerdir.

PPE kullanımı ile benzoik asitten hareketle 2-fenilbenzimidazol sentezi 120 °C'de 20-40 dakika ısıtılmakla oldukça iyi verimde yapılabilmektedir (Reaksiyon Denklemi 12) (46).



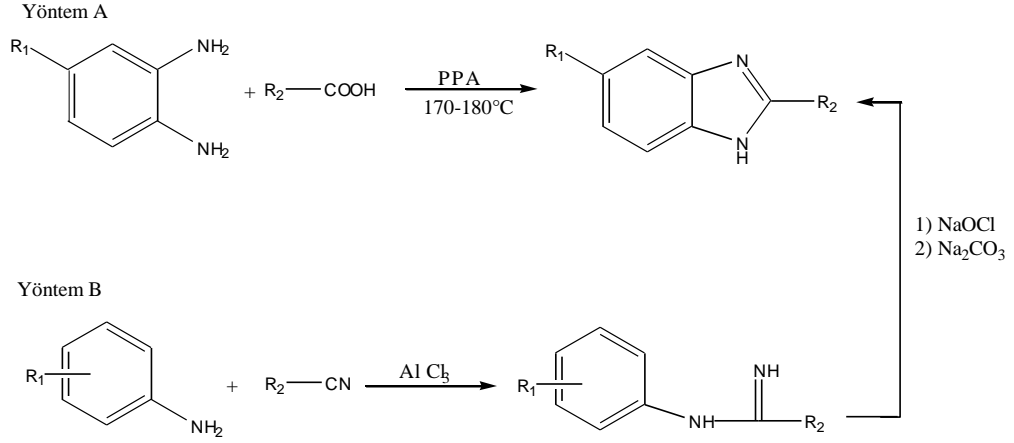
**Reaksiyon Denklemi 12**

Suzuki ve arkadaşları 1976 yılında yayınladıkları bir çalışmada bir seri 2-sübstitüe benzimidazol, benzotiyazol ve benzoksazollerini sentezlemiştir. Oda ısısında hafif alkali ortamda, uygun *o*-sübstitüe anilinler ile etil ditiyoasetat veya (tiyobenzoiltiyo)-asetik asit ile muamelesi ile 2-fenilbenzimidazolü % 89 verimle elde etmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 13) (53).



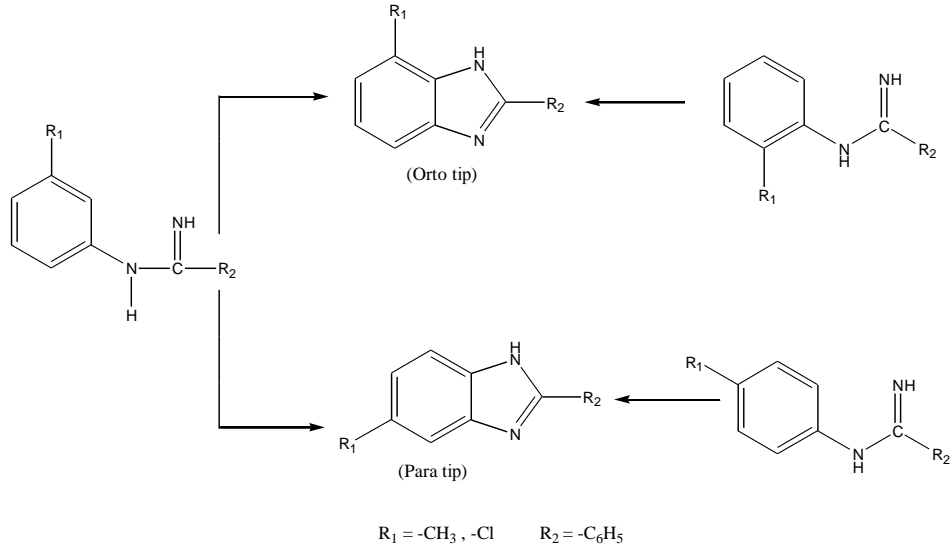
**Reaksiyon Denklemi 13**

Ichikawa ve arkadaşları 1979 yılında yayınladıkları bir çalışmada, bazı 2-arilbenzimidazol ve onların 5-sübstitüe türevlerini aşağıdaki şemada görülen iki farklı yöntemle sentezlemiştir (Reaksiyon Denklemi 14) (54).



### Reaksiyon Denklemi 14

Araştırmacılar N<sup>7</sup>-(m-sübstitüefenil)arilamidlerin halka kapama reaksiyonu ile elde ettikleri benzimidazollerin aşağıdaki denklemlerde görüldüğü gibi, orto ve para tipi izomerlerin bir karışımı olduğunu ve bu izomerlerin fraksiyonlu rekristalizasyon ile ayrıldıklarını bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 15).



### Reaksiyon Denklemi 15

Ancak 2 numaralı konumda fenil halkası taşıyan ve 5(7)-metil-sübstitüe-benzimidazollerin fraksiyonlu rekristalizasyon yöntemi ile ayrılmasının güç olduğu, bu nedenle bu izomerlerin kolon kromatografisi ile ayrıldığı bildirilmiştir.

PPA kullanımının reaksiyon ve reaksiyon sonucu elde edilen ürünlerin temizlenmesi için gerekli olan süreyi azalttığı ve verimi % 20 civarında arttırdığı kaydedilmiştir.

1984 yılında Noyanalpan ve Işıklıdağ, 2-sübsitütie benzimidazol türevlerinin sentezlerinde değişik reaksiyon ajanları kullanarak birbirleri ile karşılaştırmışlardır. 2-Fenilbenzimidazol'un sentezinde *o*-fenilendiamin ve benzoik asitin PPA, PPE, 4N hidroklorik asit içerisinde reaksiyonları ayrı ayrı denenmiş, PPA içerisinde 170-180°C'de 3 saat içinde % 90 verimle madde elde edilirken, PPE içerisinde 120°C'de 40 dakikada % 58 verimle madde elde edilmiştir. 4N Hidroklorik asit çözeltisi ile kondensasyonlarının, çözünme güçlükleri, halka açılması veya karbonizasyon gibi nedenlerden dolayı mümkün olmadığı bildirilmiştir (44).

1986 yılında Gümüş ve arkadaşları bazı 2',4',5-trisübsitütie-2-fenilbenzimidazol türevlerinin 4-sübsitütie *o*-fenilendiamin ve sentez edilmek istenen bileşiğe göre sübsitütie-benzoik asitin PPA varlığında kondenzasyonu ile elde etmişlerdir (55).

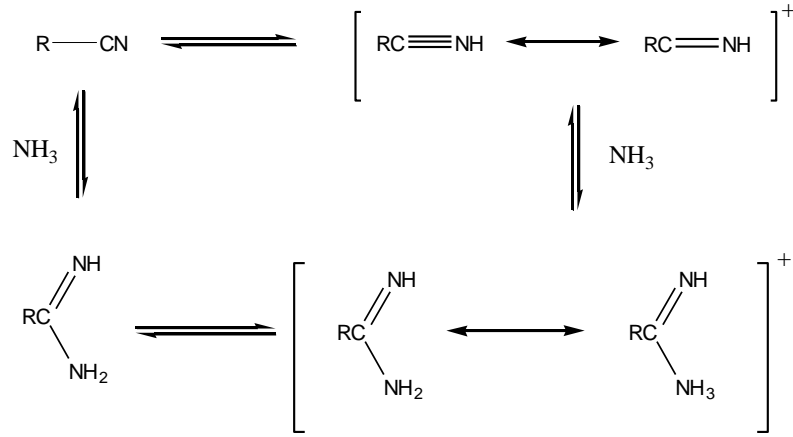
Pamuk'a ait 1997 yılında tamamlanan Yüksek Lisans Tez çalışmasında, 2-fenil ve 5(6)-metil-2-fenilbenzimidazol türevlerinin, *o*-fenilendiamin ile benzoik asitin polifosforik asit içinde, yağ banyosu üzerinde, geri çeviren soğutucu altında ısıtılması ile %83 ve %72 verimle elde edildiği bildirilmiştir (56).

### **2.2.1.3. *o*-Fenilendiaminler ile nitrillerden hareketle**

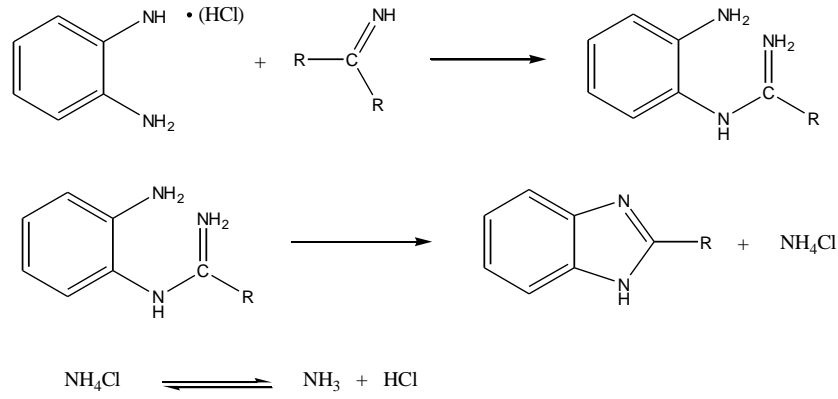
1941 ve 1944 yılında yayınlanan çalışmalarında Hölljes ve Wagner *o*-fenilendiamin ile aromatik ve alifatik nitrillerden hareketle 2-sübsitütiebenzimidazol, benzoksazol türevi bileşikleri elde etmişlerdir (57,58). Bu yöntemle çalışmacılar reaksiyonun asit ortamda ve susuz şartlarda yürütülmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Ayrıca çalışmacılar *o*-fenilendiaminin hidroklorik asit tuzu kullanıldığında 2-fenilbenzimidazolün yüksek bir verimle elde edildiğini bildirmişlerdir. Yüksek verimle 2-fenilbenzimidazol eldesi için ortamda, en azından kullanılan nitrile eşdeğer miktarda asitin bulunması gerektiğini, daha az asitin kullanılması durumunda da reaksiyonun yürüdüğünü ancak hızının daha az olduğunu bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 16).

Çalışmacılar reaksiyon mekanizmasının aşağıdaki şekilde olduğunu ifade etmişlerdir.





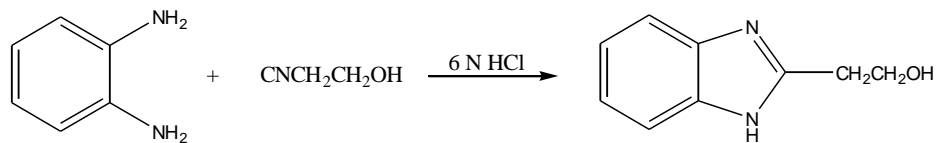
Reaksiyon denkleminde görülen  $\text{RC}^{\oplus}=\text{NH}$  iyonu reaktif bir ara üründür ve bu iyon, proton varlığında hem amidin, hem de nitril varlığında oluşabilir.



(R= -fenil, -metil, -etil, -n-propil, -n-butil, -n-amil, -p-tolil)

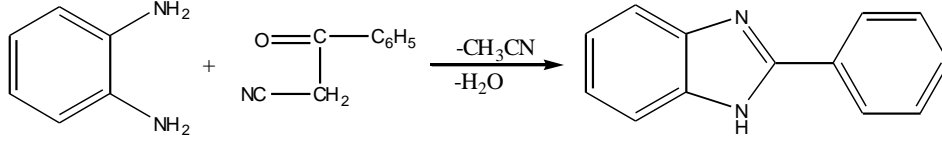
### Reaksiyon Denklemi 16

1949 yılında Bachman ve Heisey, 2-(2'-hidroksietil)benzimidazolü Phillips yöntemi kullanarak sentezlediklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, 1,2-fenilendiamin ve karboksilik asit türevi olarak kullanılan 3-hidroksipropiyonitril, 6N hidroklorik asit çözeltisi içinde 5 saat süreyle geri çeviren soğutucu altında ısıtılmış, daha sonra reaksiyon karışımı amonyum hidroksit çözeltisi ile nötralize edilerek 2-(2'-hidroksietil)benzimidazol elde edilmiştir (Reaksiyon Denklemi 17) (59).



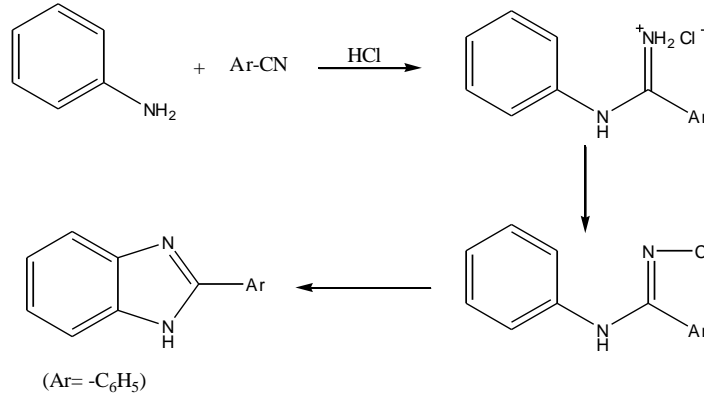
### Reaksiyon Denklemi 17

Kröhnke ve Leister 1958 yılında yaptıkları bir çalışmada 2-fenilbenzimidazol'ü benzoilasetonitril ve *o*-fenilendiaminden hareketle formik asit içerisinde yarım saat ısıtılarak elde ettiklerini bildirmişleridir (Reaksiyon Denklemi 18) (60).



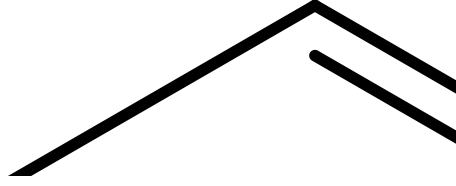
**Reaksiyon Denklemi 18**

Grenda ve arkadaşları 1965 yılında yayımlanan bir çalışmalarında anilin ve benzonitril'den hidroklorik asitli ortamda elde ettikleri N-arilamidin'i bazik ortamda sodyum hipoklorit ile reaksiyona sokarak 2-arilbenzimidazollerini sentezlemişlerdir. N-fenil benzamidin %34 verimle 2-fenilbenzimidazol'e dönüştüğünü bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 19) (61).



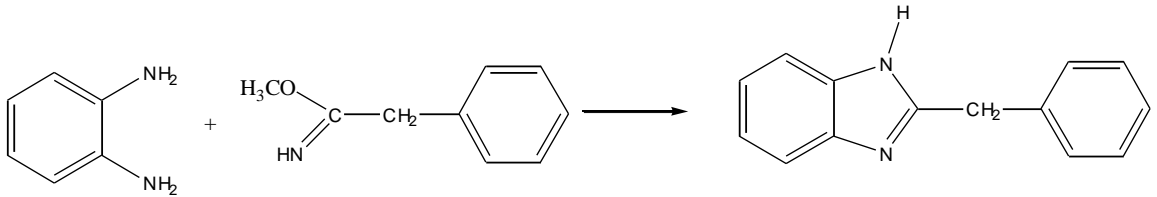
**Reaksiyon Denklemi 19**

Mekanizması;



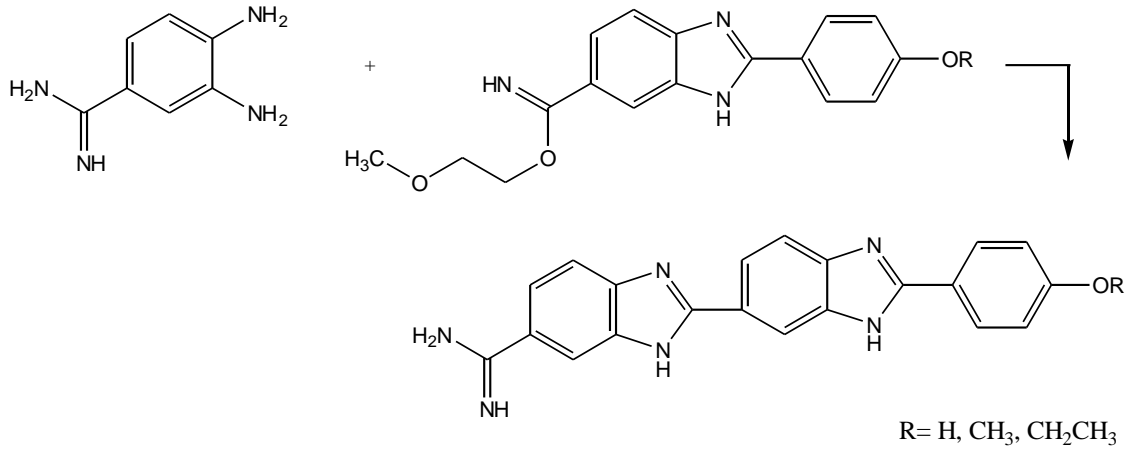
#### 2.2.1.4 *o*-Fenilendiaminler ile iminoeterleden hareketle

King ve Achenson tarafından 1949 yılında yayınlanan bir çalışmada, *o*-fenilendiamin ve fenasetiminometil esterin, metanoldeki çözeltisinin ısıtılması sonucu 2-benzilbenzimidazolün sentezlendiği bildirilmiştir (Reaksiyon Denklemi 20) (62).



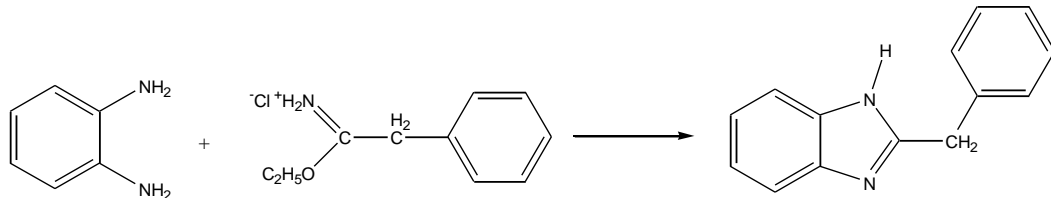
#### Reaksiyon Denklemi 20

3,4-Diamino benzamidin bileşiğinin, çeşitli imidat esterleri ile reaksiyonu sonucunda, 2,5'-bis-benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiştir (Reaksiyon Denklemi 21) (63).



### Reaksiyon Denklemi 21

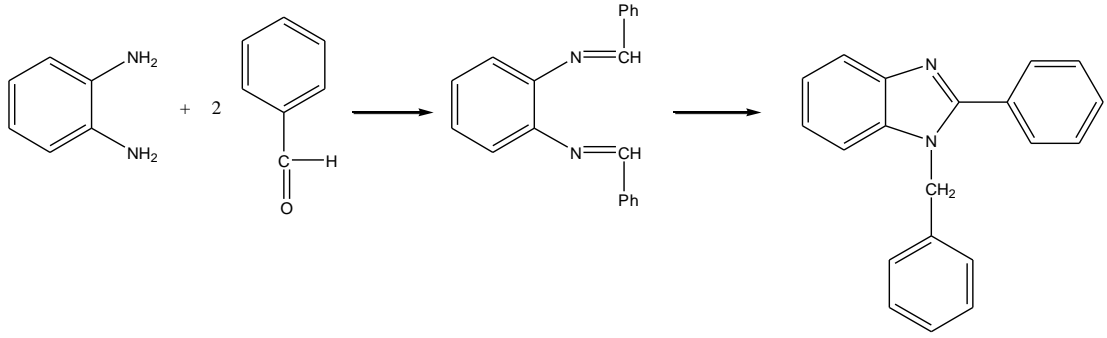
Hunger ve arkadaşları 2-benzilbenzimidazolü, benzil siyanürden oluşturulan iminoeter hidroklorür yapısından hareketle sentezlemişlerdir. Benzil siyanürün kloroform ve mutlak alkol içerisindeki çözeltisinden Hidroklorik asit gazı geçirerek oluşan iminoeter hidroklorür yapısını *o*-fenilendiamin ile reaksiyona sokarak 2-benzilbenzimidazol bileşiğini elde etmişlerdir (64,65) (Reaksiyon Denklemi 22).



### Reaksiyon Denklemi 22

#### 2.2.1.5. *o*-Fenilendiaminler ile aldehit ya da ketonlardan hareketle

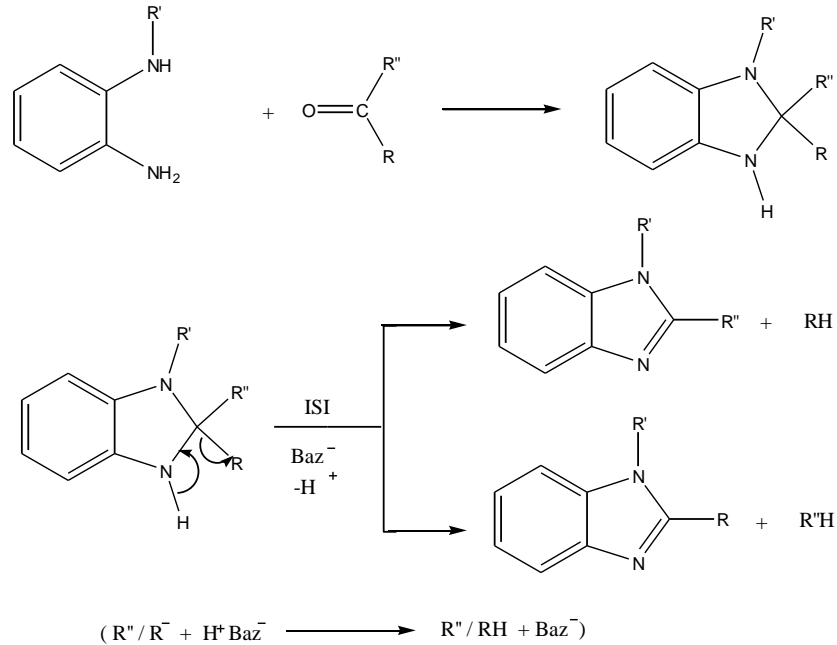
Bir mol *o*-fenilendiamin ile iki mol aldehitin reaksiyonu sonucunda oluşan schiff bazı üzerinden benzimidazol yapısının oluşumu ile 1-benzil-2-fenilbenzimidazol yapısı sentezlenmiştir (Reaksiyon Denklemi 23) ( 66,67).



### Reaksiyon Denklemi 23

Weidenhagen aldehitler ile yürütülen reaksiyonlardaki verimin düşüklüğünü, katalizör olarak bakır(II)asetat kullanılması halinde verimin daha yüksek olduğunu bildirmiştir (68).

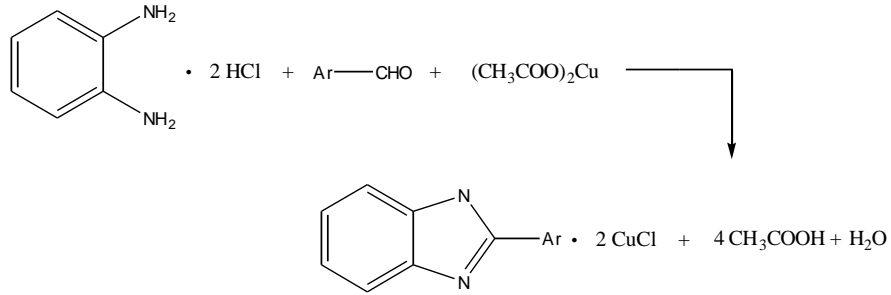
Elderfield ve arkadaşları tarafından 1948 ve 1951 yılında yayınlanan iki ayrı çalışmada, ketonlar ve onların monosübstitüe türevlerinin o-fenilendiaminler ile reaksiyonu sonucu 2,2-dialkilsübstitüe benzimidazolinleri verdiği ve bu oluşan ürün ısıtıldığı zaman 2-sübstitüebenzimidazol ve hidrokarbon yapılarını verdiği bildirilmiştir (Reaksiyon Denklemi 24) (69,70).



### Reaksiyon Denklemi 24

Rudolf Weidenhagen 1936 yılında, ilk kez kendisi tarafından uygulanan ve adını taşıyan bu yöntemle, bazı 2-sübstitüebenzimidazol türevi bileşikleri sentezlemiştir.

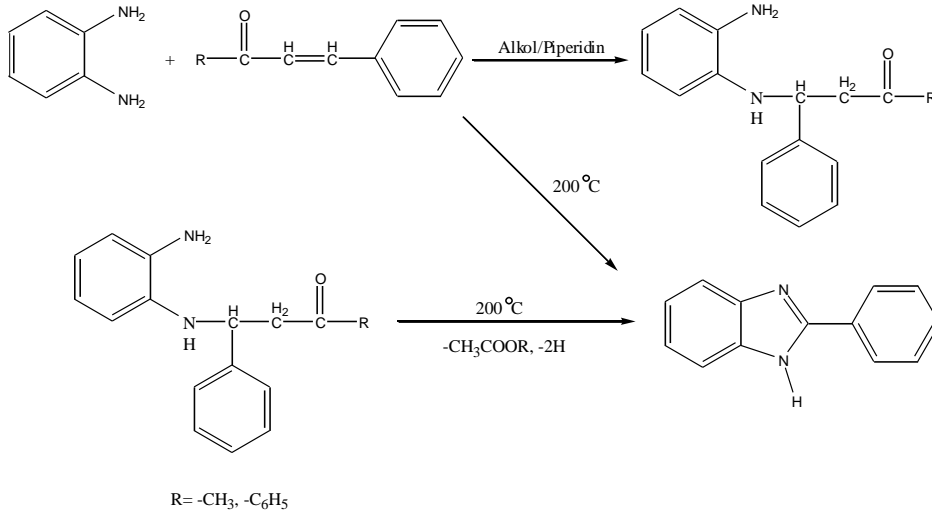
Weidenhagen, uygun bir aldehitin *o*-fenilendiaminin bir amino grubu ile reaksiyonu sonucu elde ettiği Schiff bazını, bakır(II) asetat veya kurşun tetra asetat gibi bir oksidanla reaksiyona sokarak 2-sübstitübenzimidazoller elde etmiştir. Aşağıda genel reaksiyon denklemi (Reaksiyon Denklemi 25) verilen bu yöntem ile 2-fenil, 2-(*o*-/*m*-/*p*-nitrofenil), 2-(4-oksi-3-metoksifenil), 2-(3,4-metoksifenil)benzimidazoller sentezlenmiştir. Ancak bu yöntem sonucu elde edilen ürünün saflaştırılmasının güç olduğu literatürde kayıtlıdır (68,71-73).



**Reaksiyon Denklemi 25**

1954 yılında Jerchel ve arkadaşları 2-fenilbenzimidazol'ü, *o*-fenilendiamin ile benzaldehiti benzen içerisinde %10'luk Pd-silikajel katalizörlüğünde 4 saat geri çeviren soğutucu altında ısıttıktan sonra, reaksiyon içeriğini vakum altında yoğunlaştırarak elde etmişlerdir (74).

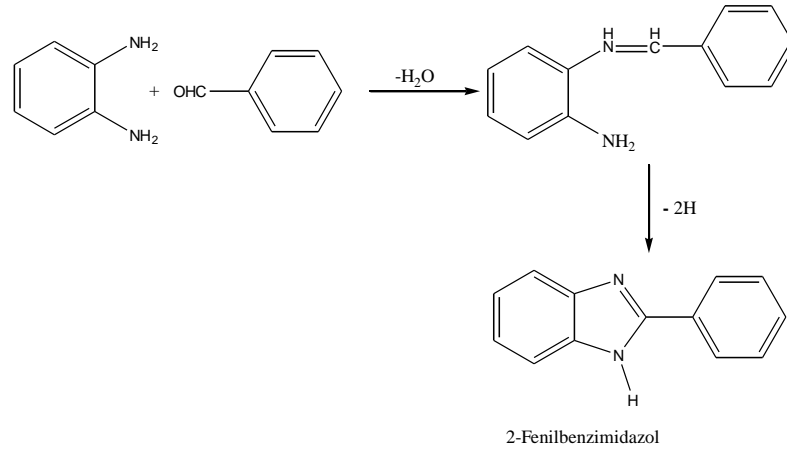
1957 yılında Ried ve Stahlhofen *o*-fenilendiamin ve  $\alpha,\beta$  doymamış karbonil bileşiklerinin kondenzasyonu ile 2-sübstitüefenilbenzimidazol türevlerini sentezlediklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 26) (75).



**Reaksiyon Denklemi 26**

1951 yılında Charlton ve arkadaşları 2-fenilbenzimidazollerin N-süstitüe türevlerinin sentezlemişlerdir. Bileşikleri bakır(II)asetat varlığında arilaldehit ve uygun *o*-fenilendiamin karışımının oksidasyonu ile hazırlamışlardır (76).

1952 yılında yayınlanan bir çalışmada Jerchel ve arkadaşları, 2-fenilbenzimidazol'ü iki farklı yöntemle sentezlemişlerdir (77). Birinci yöntemde *o*-fenilendiamin ile benzaldehitin bisülfid katım ürününü alkol içerisinde 3 dakika geri çeviren soğutucu altında ısıttıktan sonra nitrobenzen ilave edip, soğutarak bileşiği %72 verimle elde etmişlerdir. İkinci yöntemde ise *o*-fenilendiamini alkol içerisine alıp 0°C'ye kadar soğuttuktan sonra benzaldehit ilave edip diaminin mono benzal bileşiğini oluşturmuşlardır. Sonra üzerine nitrobenzen ilave ederek kaynama noktasına gelinceye kadar ısıtmışlardır. Soğutuluncada 2-fenilbenzimidazol'ü elde etmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 27).



### Reaksiyon Denklemi 27

Verimi arttırmak için reaksiyon çözeltisinden hidroklorik asit gazı geçirerek bileşiğin tuzunu oluşturmuşlardır. Oluşan tuzun eter ile çöktürüp, elde ettikleri çökeleğe Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ilave ederek 2-fenilbenzimidazolü % 85 verimle elde etmişlerdir.

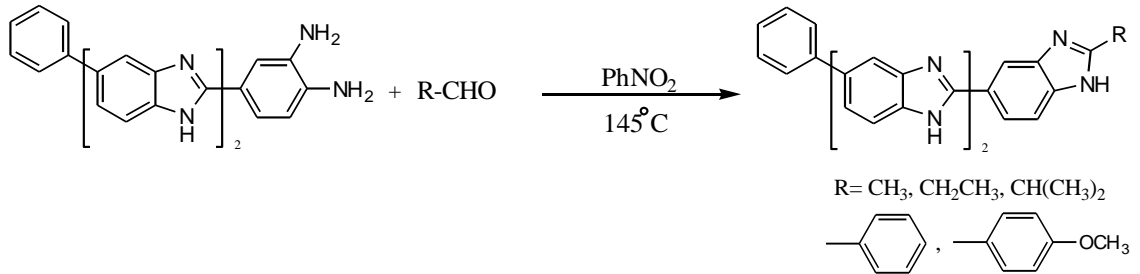
Araştırmacılar 2. yöntemde nitrobenzen ilave ettikten sonra 4 saat 90°C'de ısıttıklarında 2-fenilbenzimidazol'ü izole edemediklerini, nitrobenzen yerine m-dinitrobenzen kullandıklarında 150°C'de kısa bir süre ısıttıktan sonra %70 verimle 2-fenilbenzimidazolü elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Noyanalpan ve Işıkdag Aynı çalışmacıların 1985 yılında yayınladıkları bir diğer çalışmada, 2 numaralı konumlarında çeşitli alkil grupları (metil, monoklorometil, hidroksimetil, merkaptometil, difloromonoklorometil, triflorometil, benzil) bulunan, 17

adet benzimidazol türevlerini sentezlemiştirler (44). Bileşiklerin sentezlerinde, çoğunlukla kondensasyon reaksiyonları denenmiş, bu tip reaksiyonlarda, serbest bir amin (*o*-fenilendiamin) ve bununla kondensasyona giren bir aldehit, karboksilik asit veya nitril türevlerinden birini kullandıklarını ve gerek laboratuvar koşullarına uygunluğu ve gerekse daha yüksek verim elde edilmesi nedeni ile, karboksilik asit türevleri üzerinden yaptıklarını bildirmişlerdir. Sentezlerde reaksiyon ajanı ve çözücü olarak, 4N hidroklorik asit çözeltisi Phillips Yöntemi, PPA ve PPE kullanmışlardır.

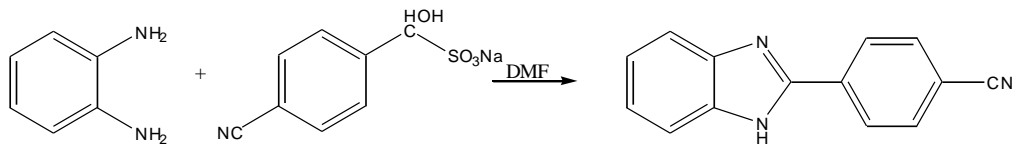
Birbirine eşit moldeki *o*-fenilendiamin ve aldehit türevlerinin nitrobenzen varlığında 140-150 °C'de reaksiyona girmesiyle, benzimidazol türevi bileşikler elde edilmektedir (Reaksiyon Denklemi 28). Bu yöntem, özellikle bis-benzimidazol ve terbenzimidazol türevi bileşiklerin sentezinde (Reaksiyon Denklemi 29) kullanılmaktadır (78,79).

### Reaksiyon Denklemi 28



### Reaksiyon Denklemi 29

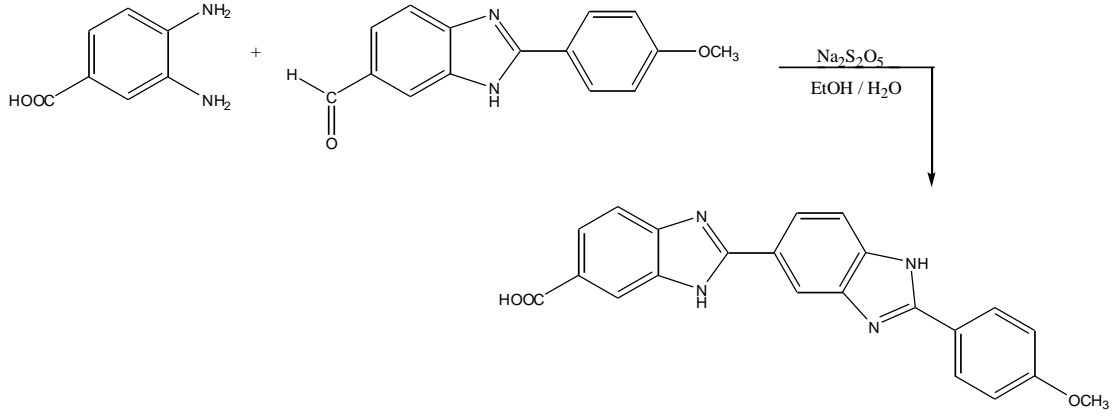
Ridley ve ark. (80) 1965 yılında, *o*-fenilendiamin ile 4-siyanobenzaldehitin sodyumbisülfid tuzu DMF içerisinde reaksiyona sokularak 4-(1H-benzimidazol-2-il)benzonitril elde etmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 30).



### Reaksiyon Denklemi 30

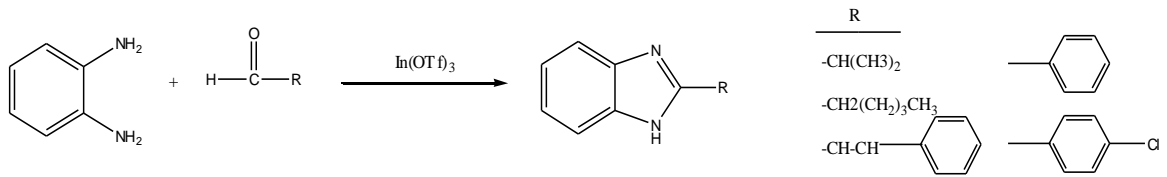


3,4-Diaminobenzoik asit, sodyum piro sülfür varlığında 2-(4-metoksifenil)benzimidazol-5-karboksaldehit ile reaksiyona girerek, bis-benzimidazol türevi bir bileşimin sentezi gerçekleştirilmiştir (Reaksiyon Denklemi 31) (81).



**Reaksiyon Denklemi 31**

2006 Yılında yayınlanan bir makalede, *o*-fenilendiamin ve türevleri ile çeşitli alifatik ya da aromatik aldehitlerin çözücüsüz ortamda indiyum III trifluorometansülfonat [ $\text{In}(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ , indiyum triflat,  $\text{In}(\text{OTf})_3$ ] katalizöründe oda sıcaklığında reaksiyona girmesiyle, yüksek verimlerde 2-süstitübenzimidazol türevi bileşiklerin (Reaksiyon Denklemi 32) elde edildiği bildirilmiştir. Mevcut sentez yöntemleri ile karşılaştırıldığında; bu yeni yöntemin kolay uygulanabilir olması, reaksiyon süresinin kısalığı, verimin yüksek oluşu ve katalistin reaksiyon sonunda geri kazanılarak tekrar kullanılabilmesi gibi avantajlara sahip olduğu görülmektedir (82).

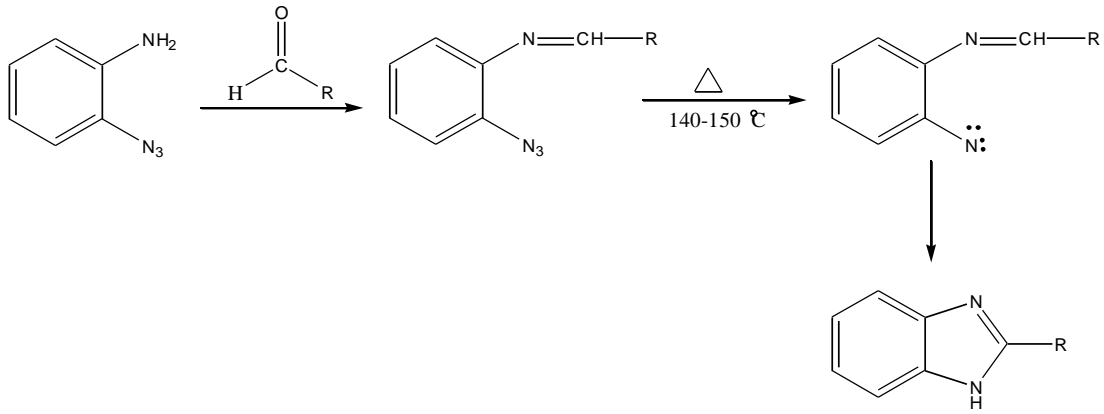


**Reaksiyon Denklemi 32**

2-Süstitü benzimidazol türevlerinin sentezinde, *o*-fenilendiamin ve uygun aldehit türevleri ile yapılan kondensasyon çalışmalarında kullanılan ajanlar (nitrobenzen, bakır(II)asetat, kurşun asetat ve sodyum bisülfür) ve solvanlar, kuvvetli

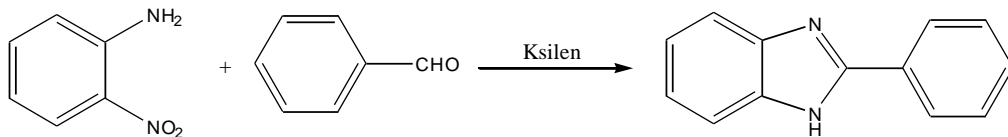
asidik ortamda dayanıksız yapılar için, uygun birer reaksiyon ortamı yaratırlar (68,71,72,74,83,84). Ancak bunun yanında, oluşan ürünün izolasyonunda çıkan güçlüklerle bağlı olarak, verimin düşük olması nedeni ile 2-alkilsüstitübenzimidazol türevlerinin sentezinin daha çok karboksilik asitlerden hareketle yapıldığı görülmektedir (50).

1964 yılında Krbecek ve Takimoto yaptıkları bir çalışmada, 2-azidoanilinlerin uygun aldehitlerle kondensasyonu sonucu oluşan benziliden-2-azido anilinlerin 1,2-diklorobenzen içerisinde 140°C'deki termal dekompozisyonu sonucu 2-süstitüfenilbenzimidazoller yüksek verimle sentezlenmiştir (Reaksiyon Denklemi 33) (85).



**Reaksiyon Denklemi 33**

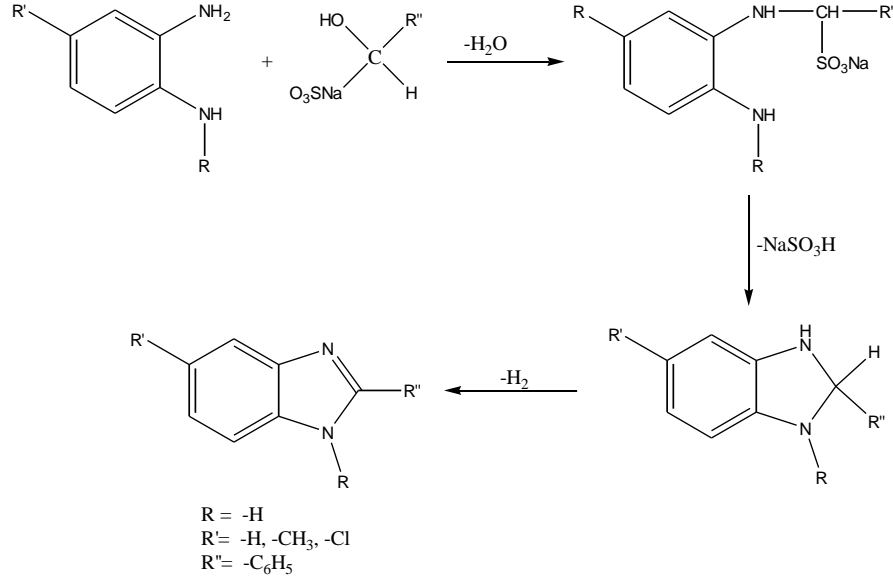
Stacy ve arkadaşları 1964 yılında yayınlanan bir çalışmalarında, 2-fenilbenzimidazol'ü *o*-nitroanilin ve benzaldehitin ksilen içerisinde 7 gün ısıtılması ile elde ettiklerini bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 34) (86).



**Reaksiyon Denklemi 34**

Bu termal dekompozisyonun, azidin'in N<sub>2</sub> kaybetmesi ve azometin bağının karbon atomuna atak ederek molekül içi halka kapanmasına uğraması sonucu oluştuğu bildirilmiştir.

1965 yılında Ridley ve arkadaşları yaptıkları bir çalışma ile 2-aril benzimidazollerin aldehytlere sodyum bisülfid katım ürününün o-fenilendiamin ile sıcak etanol içinde reaksiyonuyla hazırladıklarını bildirmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 35) (80).



**Reaksiyon Denklemi 35**

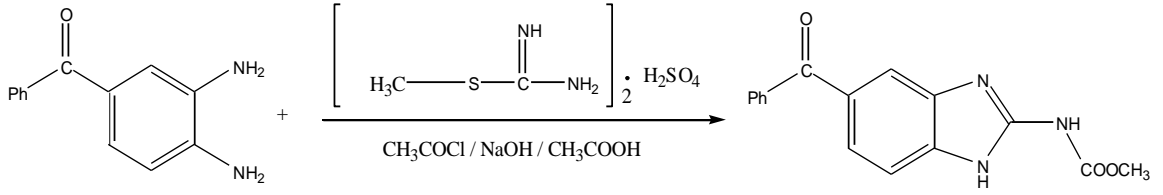
Bu yöntemin hem alifatik hem aromatik aldehytlere her ikisine de uygulanabileceği bildirilmiştir.

Büyükbingöl ve arkadaşları 1986 (87) ve 1989 (88) yıllarında yaptıkları iki ayrı çalışmada 2-fenilbenzimidazol türevlerini aril aldehytlere bisülfid katım ürünü ile uygun o-fenilendiaminin DMF içinde reaksiyonu ile elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Aynı yöntem 1988 yılında Paglietti ve arkadaşları tarafından 2-fenil- ve 5-klor-2-fenilbenzimidazollerin sentezi için uygulanmıştır (89).

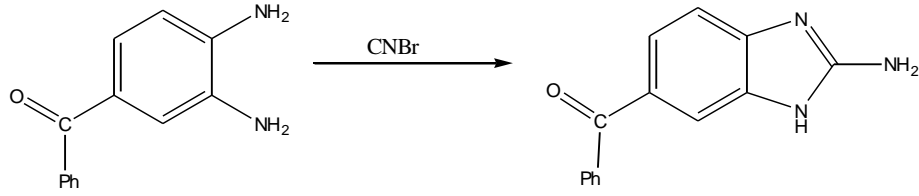
### 2.2.1.6. Diğer yöntemler

A. o-Fenilendiaminler ile 2-metiltiyopsödoüre sülfat ve metilkloroformat karışımı arasından, bazik ortamda 1H-benzimidazol-2-karbamatlar elde edilmektedir (Reaksiyon Denklemi 36) (90).



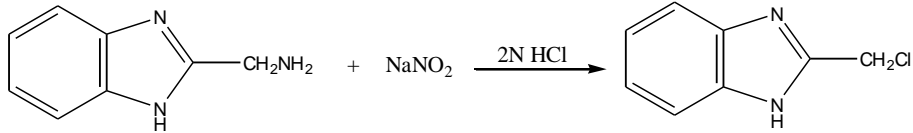
### Reaksiyon Denklemi 36

- B. 3,4-Diaminobenzofenon ile siyanojenbromür sulu ortamda muamele edildiğinde, 2-amino-5(6)-benzoil-1*H*-benzimidazol elde edilir (Reaksiyon Denklemi 37) (91).



### Reaksiyon Denklemi 37

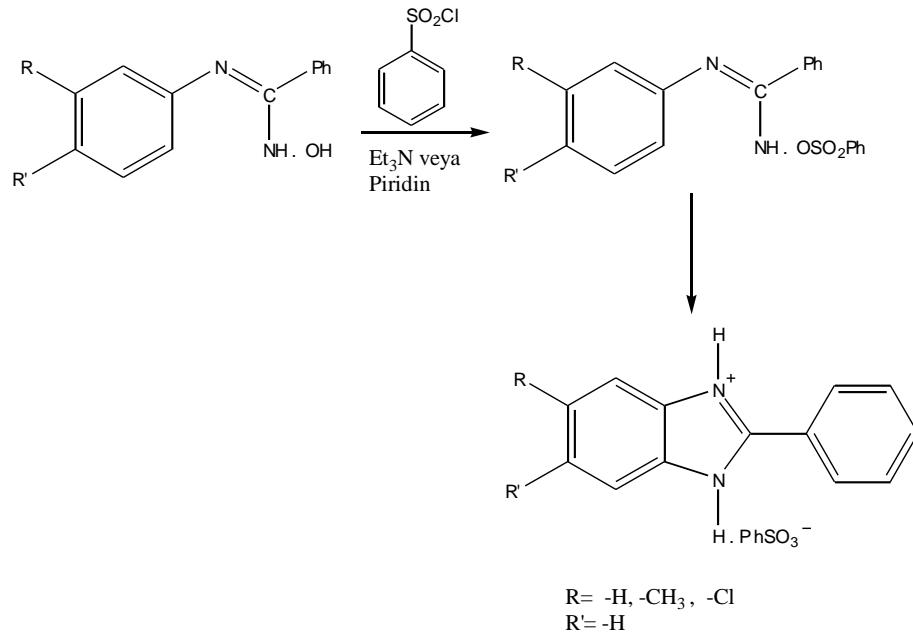
- C. 1970 yılında Chub ve arkadaşları, yayınladıkları bir çalışmada 2-klorometilbenzimidazol sentezi için farklı bir yöntem bildirmişlerdir. Bu yönteme göre, 2-aminometilbenzimidazol dihidroklorür ile sodyum nitritin sulu çözeltisinin 2 N hidroklorik asit varlığında -10 °C' de reaksiyonu sonucu 2-klorometilbenzimidazolün elde edildiği bildirilmiştir (Reaksiyon Denklemi 38) (92).



### Reaksiyon Denklemi 38

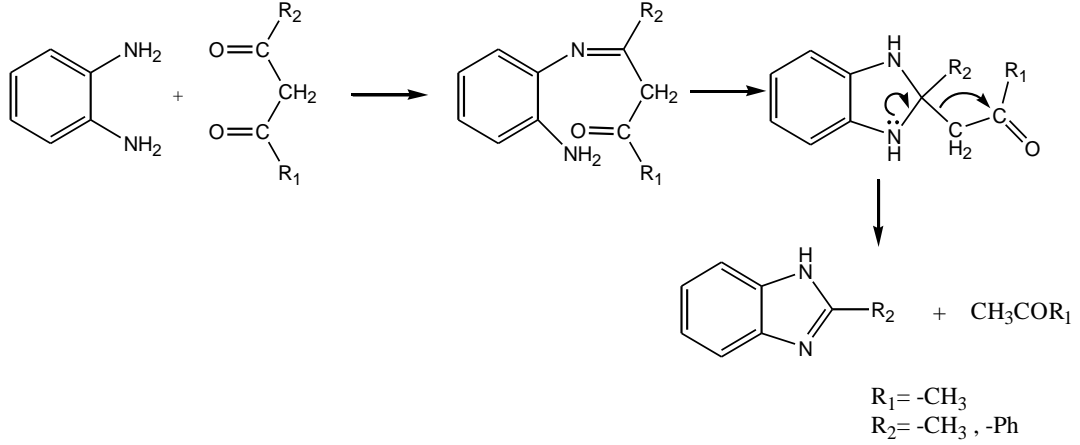
Yukarıda verilen sentez yöntemlerinin dışında, günümüze kadar çalışmaların çoğunda 2-klorometilbenzimidazol, Phillips yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir.

- D. Lane, 1953 yılında yayınlanan bir çalışmada, amonyum benzoat ve *o*-fenilendiaminin gliserol içerisinde reaksiyona girmesiyle, 2-fenilbenzimidazol'ü sentezlediğini bildirmiştir (93).
- E. Yine aynı yılda Thomas ve Tyler tarafından yapılan bir çalışmada 2-arilbenzimidazollerin, aromatik diaminler ile imidat hidroklorürlerin metanol içinde ısıtılması ile elde edildiği bildirilmiştir (94). Ayrıca bu yöntemin 2-alkilbenzimidazoller için, özellikle *o*-fenilendiaminin 4 nolu konumunda elektrofilik süstitüent taşıması durumunda kullanışlı bir yöntem olmadığını açıklamışlardır. Yine, bu yöntemle Weidenhagen'nin metoduna göre daha temiz ve yüksek verimde ürünler elde ettiklerini bildirmişlerdir.
- F. 1958 yılında Partridge ve Turner 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 39) (95). Bileşiklerin benzensülfonat tuzları da elde edilmiştir.



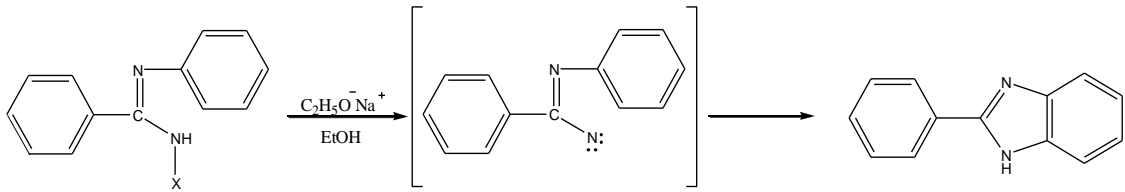
**Reaksiyon Denklemi 39**

G. 1959 yılında Barltrok ve arkadaşları 1,5-benzodiazepinler ve 3,6-diaza-4,5-benzotropon türevleri üzerinde çalışırken yan ürün olarak 2-fenilbenzimidazol'ü sentezlediklerini bildirmişlerdir (96). 2-Fenilbenzimidazol'ü benzilidenasetilasetat ile benzen içindeki o-fenilendiaminin piperidin ile 4 saat ısıtılması ile elde etmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 40).



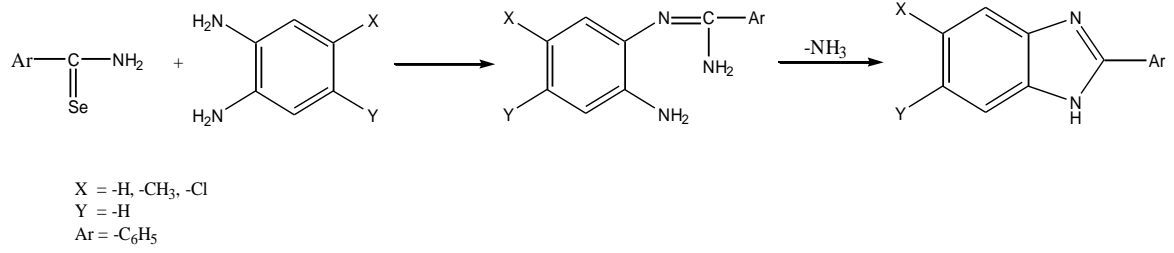
**Reaksiyon Denklemi 40**

1968 Yılında Haruki ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada N-arilhaloamidinleri etanollü ortamda sodyum etoksit ile reaksiyona sokarak 2-fenilbenzimidazol'ü elde etmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 41) (97).



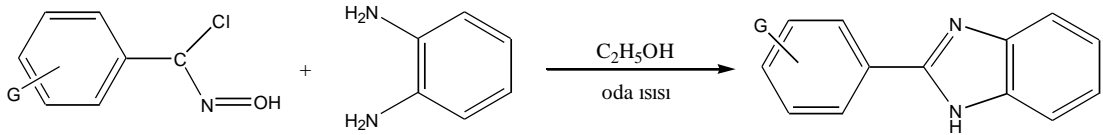
**Reaksiyon Denklemi 41**

Cohen (98) 1979 yılında yayınlanan bir çalışmasında, aromatik selenoamidler ile süstitüe o-fenilendiaminleri, toluen veya piridin içerisinde kaynatarak 2-arilbenzimidazollerini elde ettiğini bildirmiştir (Reaksiyon Denklemi 42).



### Reaksiyon Denklemi 42

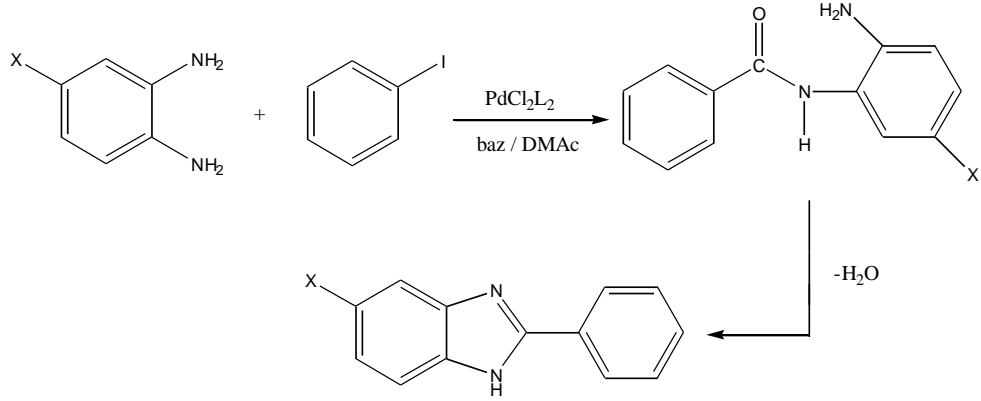
1988 yılında Abdelhamid ve arkadaşları tarafından yayınlanan bir çalışmada sübstitüe hidroksimoil klorürler ile bazı o-sübstitüe aromatik aminlerden hareketle 2 numaralı konumdan aril grupları ile sübstitüe edilmiş benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol yapısındaki bileşiklerin sentez edildiği bildirilmiştir (Reaksiyon Denklemi 43) (99).



### Reaksiyon Denklemi 43

Bu metodun uygulanması ile o-sübstitüe aromatik aminlerin asit klorürleriyle kondenzasyonu ile yürütülen reaksiyonlardan daha yumuşak şartlarda ve daha yüksek verimle ürün elde edildiği bildirilmiştir.

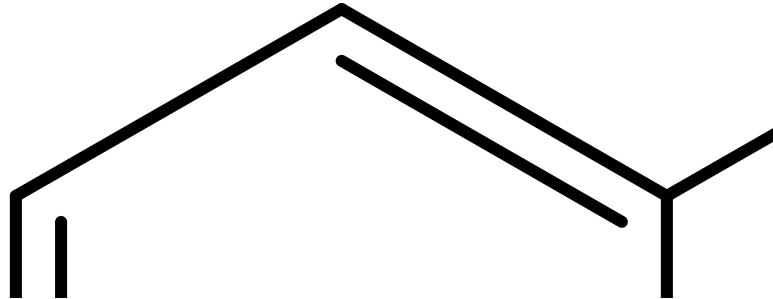
1993 yılında Perry ve Wilson, 2-fenilbenzimidazol türevlerini 4-sübstitüe-o-fenilendiamin ile iyoda benzeni PdCl<sub>2</sub>L<sub>2</sub> (L=trifenilfosfin) katalizörlüğünde kuvvetli bir baz ve DMAC (N,N-dimetilasetamit) içerisinde elde etmişlerdir (Reaksiyon Denklemi 44) (100).



**Reaksiyon Denklemi 44**

### 2.3. Bisbenzimidazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri

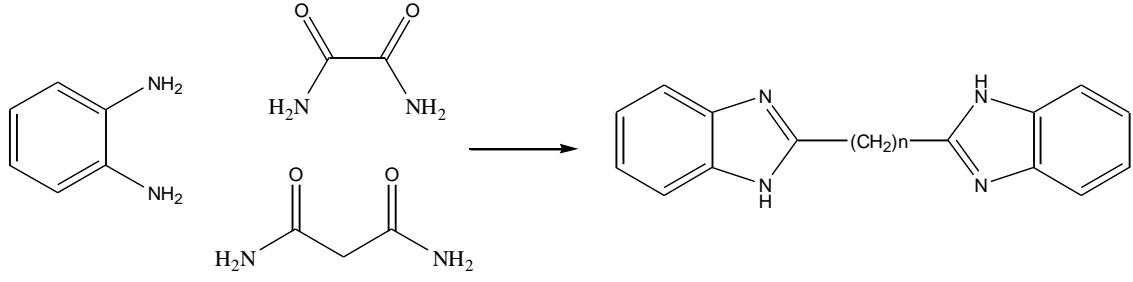
Bisbenzimidazoller iki mol *o*-fenilendiamin ile bir mol dikarboksilli asidin, seyreltik hidroklorik asitli ortamda ısıtılması sonucu major ürün olarak elde edilmektedir (Reaksiyon Denklemi 45) (101).



**Reaksiyon Denklemi 45**

Lane, 1953 yılında yayınlanan bir çalışmasında, *o*-fenilendiamin ve alifatik diamitlerin reaksiyonuyla bisbenzimidazolleri sentezlerken, amonyum benzoat ve *o*-fenilendiaminin gliserol içerisinde reaksiyona girmesiyle, 2-fenilbenzimidazolü sentezlediğini bildirmiştir (93). Yine aynı çalışmacı, 1955 yılında yayınladığı bir diğer çalışmada, *o*-fenilendiamin ile oksamit ve malonamitlerin reaksiyonuyla sırasıyla 2,2'-dibenzimidazolilleri ve metilen-bis-benzimidazolleri sentez ettiğini bildirmiştir (Reaksiyon Denklemi 46) (102).

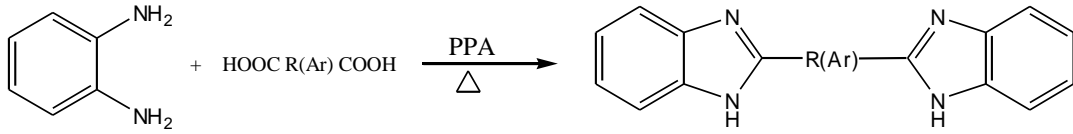




### Reaksiyon Denklemi 46

1955 Yılında Lane tarafından yapılan bir diğer çalışmada da, 2-trifluorometilbenzimidazoller ile *o*-fenilendiaminin reaksiyonu sonucu 2,2'-dibenzimidazoller elde ettiğini bildirmiştir (103).

*o*-Fenilendiamin türevi bileşiklerin, PPA varlığında alkil ya da aril karboksilik asitlerle reaksiyonu ile yüksek verimle 2-alkil/aril benzimidazol türevi bileşikler elde edilmektedir (31). Bis-benzimidazol türevi bileşikler de bu yöntemle değişen verimlerle elde edilebilmektedir (Reaksiyon Denklemi 47) (104).



### Reaksiyon Denklemi 47

1957 Yılında Thomas ve Tyler, bakır(II) asetatlı ortamda *o*-fenilendiamin ve aromatik aldehytlerin kondensasyon reaksiyonu sonucu bis-benzimidazoller elde ettiklerini bildirmişlerdir (73).

Kanaoka ve ark. 1964 yılına yayınladıkları bir çalışmada, PPE kullanarak 2-sübsititüe benzimidazoller ile bis-benzimidazoller sentezledikleri bildirmişlerdir (52).

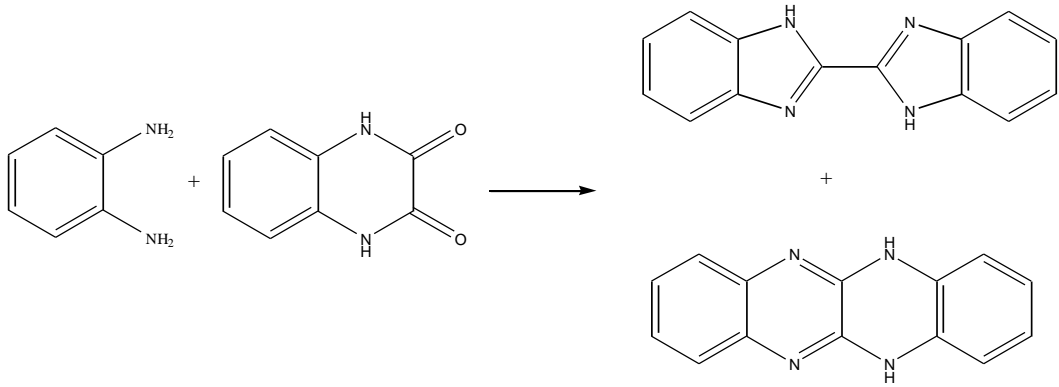
Noyanalpan ve Işıkdag 4N hidroklorik asitli ortamda *o*-fenilendiamin ve trikloroasetikasit varlığında %28 verimle 2,2'-bisbenzimidazolil bileşiğini sentez ettiklerini bildirmişlerdir (37).

Çakır ve ark. (105) tarafından yayınlanan bir çalışmada, *o*-fenilendiamin ve dikarboksilik asitlerle 4N hidroklorik asitli şartlarda bis-benzimidazol türevi bileşiklerin sentezinde başarısız olduklarını ancak serbest dikarboksilik asit yerine diamitleri

kullandıklarında ve etilen glükollü ortamda çalıştıklarında %29-79 verimle bis-benzimidazollerini elde ettiklerini bildirmişlerdir.

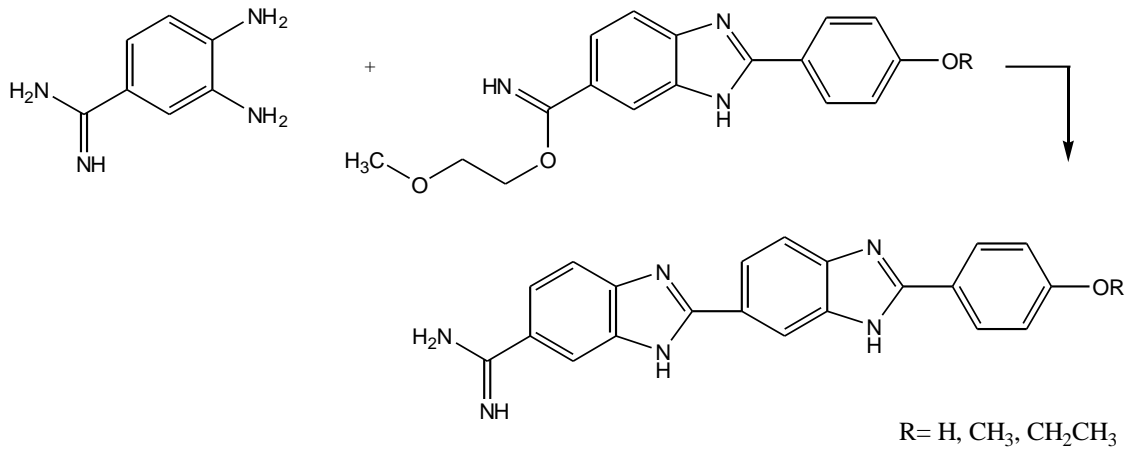
1997 yılında Rezende ve ark. yayınladıkları bir çalışmada heksakloroaseton ve *o*-fenilendiamini 1:10 oranında oda ısısında 1 saat karıştırarak %82 oranında 2,2'-bis-benzimidazol bileşiğini elde ettikleri bildirmişlerdir (106).

1,4-Dihidrokinoksalin-2,3-dion ve *o*-fenilendiamin 1:1 oranda vakum altında 240° C'de ısıtılarak 2,2'-bis-benzimidazol ve 5,12-dihidrokinoksalino[2,3-*b*]kinoksalin elde edilmiştir (Reaksiyon Denklemi 48) (102).



**Reaksiyon Denklemi 48**

3,4-Diamino benzamidin bileşiğinin, çeşitli imidat esterleri ile reaksiyonu sonucunda, 2,5'-bis-benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiştir (Reaksiyon Denklemi 49) (63).



**Reaksiyon Denklemi 49**

Birbirine eşit moldeki o-fenilendiamin ve aldehit türevlerinin nitrobenzen varlığında 140-150°C'de reaksiyona girmesiyle, benzimidazol türevi bileşikler elde edilmektedir (Reaksiyon Denklemi 28). Bu yöntem, özellikle bis-benzimidazol ve terbenzimidazol türevi bileşiklerin sentezinde (Reaksiyon Denklemi 29) kullanılmaktadır (78,79).

## 2.5. Anjiyojenez Üzerine Etkili Bileşikler Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Anjiyojenez ekstrasellüler matriks, çözünme faktörü ve hücreler arasındaki etkileşim sonucu; endoteliyal hücrelerin farklılaşması, göçü ve çoğalması ile seyreden kompleks bir işlemdir (1,2). Normal dokuların gelişimi ve büyümesi, embriyonik gelişim, yara iyileşmesi, menstrüel siklus gibi hayatsal olaylar oksijen ve besin maddelerini sağlayan ve aynı zamanda metabolik son ürünleri alıp götüren yeni kan damarlarının oluşmasına ihtiyaç duyar. 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 artırabilmektedir. VEGF ve FGF gibi faktörlerin verilmesiyle anjiyojenez enfarktüs ve periferel arteryel hastalıkların iskemik bölgelerinde teşvik edilirken endostatin, anjiyostatin ve trombospondin-1 (TSP-1)'in verilmesiyle tümör, romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklarda anjiyojenezin önlenmesi yoluna gidilmektedir. Ayrıca endometriumdaki döngüsel anjiyojenezde hamileliğin oluşması ve devamı için kaçınılmaz olduğu görülmektedir.

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

Çoğu insan tümörü başlangıçta aylarca, hatta yıllarca vaskülarizasyonsuzdur. Fakat sonra vaskülarize olur ve hücre alt grupları anjiyojenetik fenotipi başlatır. Prevasküler dönemde tümör iyi perfüze olur, nadiren 2-3 mm<sup>3</sup>'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 (3).

Anjiyojenezde pozitif ve negatif regülatörlerle düzenlenmektedir. Tümör hücreleri bir veya daha çok pozitif regülatörle uyarıldığında anjiyojenik protein

ekstravasküler makrikse geçer ve anjiyojenez başlatır. Kanserli hastaların biyopsi örneklerinde anjiyojenezin saptanması metastaz tahminini sağlar (3).

### **Damar oluşum (vaskülarizasyon) çalışmalarının tarihçesi**

Yeni damar oluşumu, yaygın kullanılan adıyla anjiyojenezis 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 (107,108). Meyer (1852) ve Travers (1844) yara iyileşmesinde yeni kan damarlarının oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Cıvıv embriyosunda ve farklı tümörlerde kapillerin çoğaldığı Billroth (1856) tarafından gözlenmiştir. Hudlicka ise 1871 ve 1872 yıllarında inflamasyon ve rejenerasyon dönemlerinde kapillerlerin oluştuğunu bildirmiştir (107,108).

Yeni kan damarlarının oluşması ile ilgili ciddi ve seri çalışmalar tümörde Goldman tarafından 19. yüzyılın başlarında yapılmaya başlanmıştır. Normal olarak gelişen dokunun kan damarları anormal şekilde gelişmekte olan ve aşırı kan damarı içeren tümör tarafından bozulmakta ve özellikle tümöre komşu olan bölgelerdeki kan damarları genişlemiş ve düzensiz bir şekilde arttığını yine Goldman bildirmiştir (109). Clark ve ark (110) tavşanların kulaklarında geliştirdikleri transparan çemerleri kullanarak implante 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 “anjiyojenezis (angiogenesis)” terimiyle ilk olarak tanımlanması 1935 yılında Hertig’in hamile maymunların plesentası üzerinde yaptığı bir çalışmada rastlanmıştır (111).

Sonraki yıllarda yeni kan damarlarının oluşumu endometriyumda, 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 çalışılmıştır (107,108). Yeni kan damarı oluşumunun indeksi olarak endotel

hücrelerinin çoğalması, kapillerin  $\text{mm}^2$ 'deki yoğunlukları ya da kapillerlerin hücrelere oranı ve dokunun belli bir hacmi için kapiller uzunluk ( $\text{mm}/\text{mm}^3$ ) kullanılmıştır. Bununla birlikte anjiyojenezis oluşumunun en güvenilir indeksi olarak kapillerlerin hücrelere oranı kabul edilmektedir. Örneğin, kapillerin hücrelere oranı belli bir alandaki kapiller sayısının o alandaki kalp kası (ya da iskelet kası için) hücrelerine oranıdır. Bu oran anjiyojenezisin oluşumunun indeksi olma açısından  $\text{mm}^2$ 'deki kapiller sayısından daha doğru bir yaklaşımdır. Bunun nedeni olarak da “belli bir alandaki ya da tüm organdaki hücreler atrofiye olmuşlar ise suni olarak o alanda kapiller sayısı  $\text{mm}^2$ 'de fazla görülebilir” denilmiştir. Ancak bu, hücre başına kapiller sayısı olarak bakıldığında daha doğru ve kesin sonuç vermektedir (112).

Kan damarlarının bazı organlarda fazla bazılarında az olduğunu gözlemlenmiştir. Bu gözlemlerden yola çıkarak, Sobin ve Tremer (113) 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 bu iki koşula göre olabileceğini bildirmişlerdir. 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 (108). Kapiller sayısını araştıran ilk çalışmalardan birinde incelenen dokularda  $\text{mm}^2$ 'deki kapiller sayısının böbreklerde en fazla, yağ dokusunda en az olduğu gözlenmiştir (114).

Tümör ve yara iyileşmesi gibi konularda oluşan fizyolojik ve patolojik anjiyojenez hakkında ciddi çalışmalar ve tartışmalar 1970'li yıllarda, özellikle Folkman ve arkadaşlarının çalışmalarıyla hız kazanmıştır (115). Yine aynı dönemde aynı grup tarafından ilk anjiyojenik faktör “tümör anjiyojenik faktör (TAF)” adı altında sıçan meme tümör ekstresinden izole edilmiştir (116). Sonraki yıllarda da tümör tarafından salınan ve etrafa difüze olabilen vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve fibroblast büyüme faktörleri (FGF) gibi birçok faktörün olduğu belirlenmiştir (4,5).

Anjiyojenez oluşumunda önemli rolleri olan büyüme faktörlerinden aFGF, bFGF ve VEGF 1980'li yıllarda izole edilmiştir (117,118). Bu faktörler ve diğer

faktörlerin elde edilmesi ile sonraki yıllarda miyokard infarktüsü ve alt bacak ekstremitelerinde görülen iskemik hastalıkların tedavisinde anjiyojenezisi stimüle eden değişik büyüme faktörlerinin kullanılması için çalışılmıştır (112,119). Anjiyojenezden sorumlu anjiyojenik faktörlerin keşfinden sonra antianjiyojenik etkili faktörlerin de belirlenmesiyle kanser, diyabetik retinopati ve romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların tedavisi yoluna gidilmeye başlanmıştır (119). 1990'lı yılların başına kadar plastik cerrahide dikkate alınmayan anjiyojenez bu yıllarda dikkate alınır olmuştur (120). Plastik cerrahide travma ya da cerrahi operasyondan sonra anjiyojenik faktörlerin lokal ya da topikal olarak uygulanmasıyla yaraların iyileştirilmesi yoluna gidilmektedir. Bununla birlikte anjiyojenezisi stimüle eden ajanlar kullanılırken de çok dikkatli olunması gerektiği ayrıca vurgulanmaktadır. Plastik cerrahide yara iyileşmesini sağlamak için veya infarktüs ve iskemik hastalıkların iyileşmesi amacıyla verilen anjiyojenik faktörlerin etkisiyle anjiyojenez oluşumu ile arasında ilişki olduğu bildirilen psöriasis, romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklar daha da şiddetlendirilebilir endişesi bulunmaktadır (120).

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 (121,122). TSP-I sadece tümörlerde antianjiyojenik etkili değildir. Aynı zamanda menstrüel siklusun sekretuar fazında da progesteronun etkisiyle üretimi teşvik edilerek endometriyumda antianjiyojenik etki gösterir (123). 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 (124,125). 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 anjiyojenezisi önlediği

gösterilmiştir (126). Tümörlerde antianjiyojenik tedavinin ilaç tedavisine veya radyoterapiye göre bazı üstünlükleri bulunmaktadır. Bunlar yan etkilerinin olmayışı, saçın dökülmemesi ve direnç gelişmemesidir (127). 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 (128). Bu tip vasküler kanallarda (ki bunlar vasküler mimikri - damarların taklit edilmesi olarak adlandırılabilir) endotel hücreleri ve fibroblastlar bulunmamaktadır. Bununla birlikte bazal membranları vardır ve bu PAS boyama yöntemi ile gösterilmiştir. Dolayısıyla antianjiyojenik uygulamalar bu vasküler kanallar ile beslenen tümörlerin büyümesinin engellenmesinde yetersiz kalabilmektedir (128). Tümör tedavisinde antianjiyojenik tedavi uygulandığı gibi romatoid artrit'te de antianjiyojenik tedavi uygulamasına gidilmiştir. Anti-TNF- $\alpha$  antikoru verilen romatoid artrit'li hastaların serum VEGF seviyeleri anlamlı oranlarda düşmüştür (129). 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 infliximab ve methotrexate (MTX)'in birlikte infüzyonu serum VEGF seviyesini infliximab'ın tek başına yaptığı etkiden daha fazla düşürmüştür (129). Son yapılan çalışmalardan birinde (130) romatoid artrit'li hastaya anti-TNF- $\alpha$  (10 mg/kg) verilip 2 hafta sonra sinovyal damarlanmaya bakıldığında anti-TNF- $\alpha$  alanların sinovyal damarlanmasının anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca son yıllarda Cyclosporin A'nın endotel hücrelerinin migrasyonunu ve VEGF bağlı anjiyojenezi önlediği bildirilmektedir (131). Genel olarak romatoid artrit'de kullanılan antianjiyojenikler arasında Taxol, TNP-470, talidomit yer almaktadır (132). 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 etkisi anjiyojenik sitokinlerin sekresyonunu azaltarak değil de muhtemelen bu sitokinler için hücre yüzeyi reseptörleri üzerine veya intraselüler sinyal yolları üzerine etki ederek gerçekleşmiş

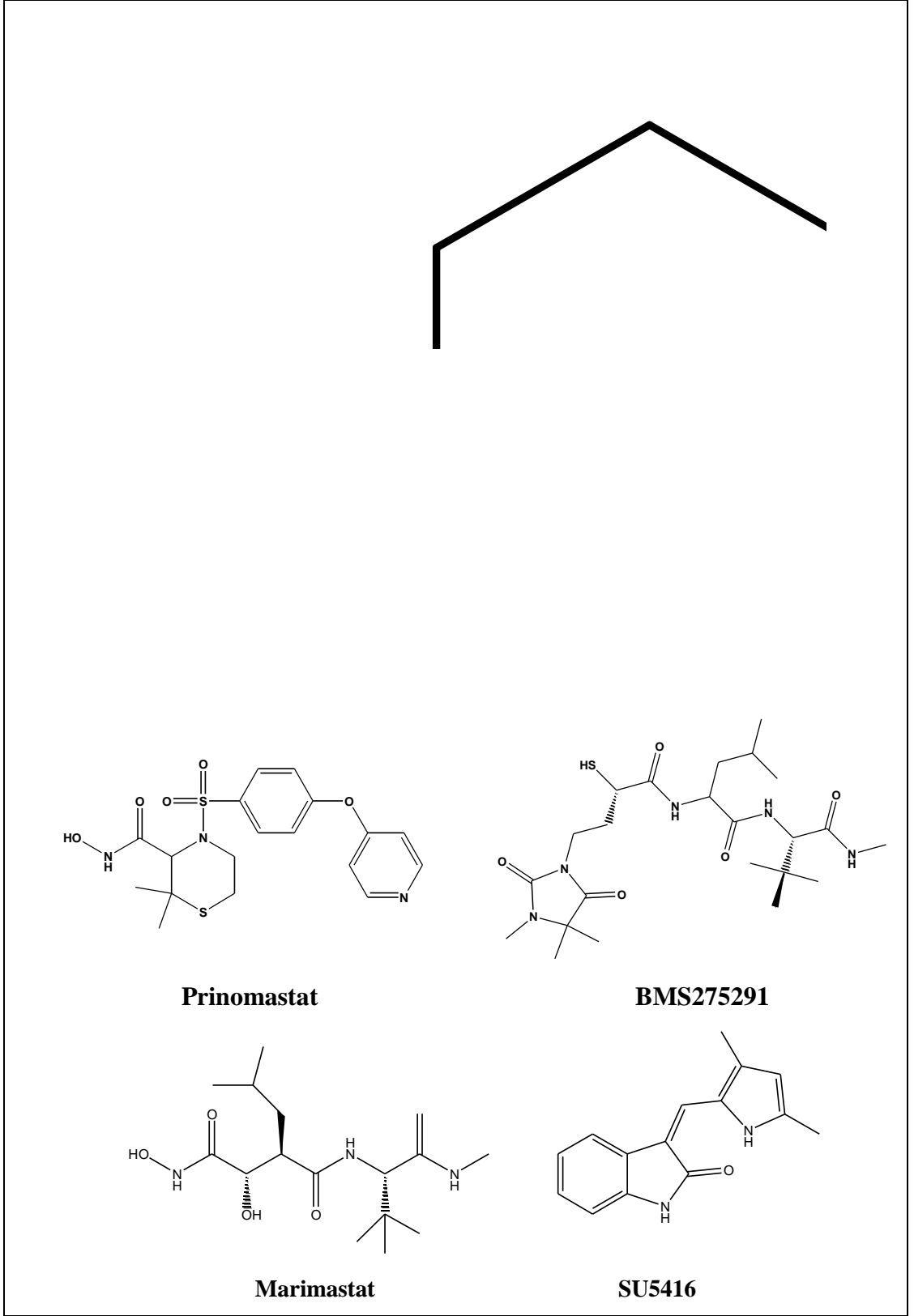


olabilir (133). Ayrıca yapılan çalışmalarda kortikosteroidlerin yara iyileşmesini baskıladığı gösterilmiştir. Bununla birlikte kortikosteroidlerin yara iyileşmesini inhibe edebilme özelliğinin bir anjiyojenik faktör olan TGF $\beta$ -1 uygulamasıyla nötralize edilebildiği tespit edilmiştir (134). TGF $\beta$ 1 yara iyileşmesini anjiyogenezi stimüle ederek sağladığı bildirilmektedir. Dolayısıyla kortikosteroidlerin antianjiyojenik etkisi TGF $\beta$ -1'in anjiyojenik etkisiyle yok edilebilmekte ve yaraların iyileşmesi normal sürecinde devam etmektedir. Sonuç olarak anjiyogeneze hakkında devamlı olarak yeni çalışmalar yapılmaktadır. Örneğin talidomitin antianjiyojenik etkili olduğu ve bu yüzden de intrauterin dönemde önemli defektler oluşturduğu gözlenmiştir (135). Anjiyogeneze ile ilgili son çalışmalardan birinde nikotinin anjiyojenik etkili olduğu ve özellikle diyabetik kişilerde yara iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir (136); Diyabetes mellituslu hastalarda kollateral damarların oluşumunda bir bozukluğun olduğu da bildirildiği için bu bilgi üzerinde daha ileri çalışmaların yapılması çok daha faydalı sonuçlar doğurabilir (137). Nikotinin tümörlerde de anjiyogenezi stimüle ettiği bildirilmiştir (138). Tümörlerde yeni damarların oluşması ile metastaz daha da hızlı gelişebilir ve dolayısıyla nikotin kanseri teşvik ettiğinden daha erken ölüme neden olabilir. Kısaca anjiyojenik stimülatörlerin ve inhibitörlerin canlı bünyesinde dengeli bir şekilde doğal olarak bulunduğu, ancak insanoğlunun bu dengeyi kendi lehine çevirmeye çalışırken çok daha dikkatli olup daha fazla çalışma yapması gerektiği anlaşılmaktadır. Örneğin, belli bir dozdaki laktik asit anjiyojenik faktörleri serbestleştirirken aşırı verildiğinde bu etki ortadan kalkmakta ve hatta belli bir doza kadar artan oranlarda bir taraftan anjiyojenik etkili VEGF salınmasına neden olurken diğer taraftan da doz artışına paralel ama zıt yönde diğer anjiyojenik etkili faktör olan anjiyogeninin salınmasını inhibe etmektedir (139). Aynı şekilde FGF ve/veya VEGF belli bir dozun üzerine çıkıldığı zaman anjiyojenik etkisini gösterememiştir ve hatta faydalı olmak yerine zararlı olmaya başlamıştır (140,141).

Anjiyogenezi hedefleyen çok sayıda molekül geliştirilmiştir. Bu molekülleri farklı şekillerde gruplandırmak mümkündür. Bu konuda yapılan çalışmalar Tablo 1'deki gibi sınıflandırılmıştır.

<b>Matriks yapısını bozulmasını inhibe eden bileşikler</b>	<b>Endotelial hücrelerin sinyalizasyonunu bloke eden bileşikler</b>
Marimastat (BB2516) Prinomastat (AG3340) BMS 275291 BAY 12-9566 Neovasat (AE-941)	rhuMAb VEGF (avastin) SU5416 SU6668 ZD6474 CP-547,632 CAI CO-358,774, PTK787/ZK225846 ZD4190
<b>Anjiyojenezin endojen inhibitörleri</b>	<b>Yeni endotelial hücre inhibitör ajanları</b>
Endostatin İnterferonlar	Talidomit Squalamin Selekoksisib ZD6126 İntegrin antagonistler (EMD121974 ve SCH221153) TNP-470

**Tablo 1: Anjiyojenezi hedefleyen moleküllerin sınıflandırılması**



Şekil 1: Antianjiyoenez aktivitesi belirlenen bazı doğal ve sentetik bileşikler

Çok sayıdaki doğal ve sentetik bileşiklerden klinik denemelere ulaşanlardan biride karboksiamido-triazol (CAI)'dür. CAI sentetik bileşiklerden olup, in vitro migrasyon inhibiyonu ve sinyal transdüksiyon yollarını inhibiyonu yapmaktadır. Kalsiyum mobilizasyon inhibitörü etkisi sonucu proliferasyonu inhibe etmektedir ve birçok insan tümör hücrelerinin proliferasyonu ve invaziv durumunu durdurmaktadır (142).

D'Amato ve ark. (135) talidomitin bFGF bağımlı anjiyogenezin oral uygulamadan sonra inhibe ettiğini sıçan kornea modelleri üzerinde yaptıkları çalışmada göstermişlerdir.

Yarı-sentetik Fumagillin analogu olan TNP-470 (AGM-1470) endotelial hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (143,144).

Interlökin (IL)-12, fare tümörlerinin metastazında etkili olduğu çalışmalarla kanıtlanmıştır (145,146).

Benzimidazol yapısı taşıyan Formül 10'da görülen yapının in vitro ve in vivo anjiyogenezin inhibe ettiği, VEGF ve b-FGF inhibitörü olduğu Hori ve ark. (147) tarafından 2002 yılında yapılan çalışma ile gösterilmiştir.

### **Formül 10**

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. yaptıkları çalışmada bildirilmiştir (148).

Bunlara ilave olarak, angiojenezde HA türevlerinin endotel hücrelerinin yapısında ve taşınmalarında anahtar rol oynadığı çeşitli çalışmalarla kanıtlanmış olması ve anjiyogenez inhibitörlerinin tümör metastazı konusuna olan bilginin yakın gelecek de çok yoğunlaşacağını göstermektedir. Ekstraselüler matriksin yapısı uzun zincirli polimerlerden, mukopolisakkaritlerden, glikozaminoglikanlardan ve proteoglikanlardan oluştuğu üç boyutlu çalışmalarda belirlenmiştir. Hücrelerde yer alan en yaygın glikozaminoglikanlar, HA, kondroitin ve kondroitin sülfatıdır. Sağlıklı

hücrelerde ekstraselüler matriks son derece yavaş yapısal değişikliğe uğrarken, tümör hücrelerinde ekstraselüler matriks çok hızlı değişmektedir. Tümör hücrelerinde ekstraselüler matriks proteinlerini parçalayan bazı enzimlerin bulunduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Özellikle matriks metalloproteinlerinin üzerinde çok yoğun çalışmalar yapılmakla birlikte, matriksi parçalayan enzimler ve proteoglikanlar üzerinde ise çok az çalışmaya rastlanmaktadır (6,7).

Hiyaluronan ve HA ekstraselüler matrikste yer alan N-asetil-D-glukozamin ve D-glükronik asit disakkaritlerinden oluşan uzun zincirli polimer yapısındadır (149). HA'nın yeni kan damarlarını oluşmasını modüle ettiği kesin olarak kanıtlanmıştır. Örneğin, hayvan deneylerde yapılan çalışmalarda, hücrelerde yer alan HA ve türevlerinin inhibisyonu sonucu yara iyileşmelerinin azaldığı gösterilmiştir (150). Ayrıca, HA'nın endotel hücre çoğalması ve göçünde yani anjiogeneziste önemli rol oynadığı bildirilmektedir (150,151). Bu nedenle HA'nın normal hücrelerin yapısının korunmasında çok önemli rolü olduğu görülmektedir.

Hiyaluronidaz enzimleri  $\beta$ -1-4-endoglukozamidaz enzim ailesinden olan ekstraselüler matriks degradasyon enzimidir. Hiyaluronidaz enzimi HA küçük molekülü ağırlıklı sakkaritlere özel reaksiyon mekanizmaları ile parçalamaktadır (8).

Hiyaluronidaz enzimi, ilk kez 1928 yılında insan ve hayvan testicular ekstraktlarında viral ajanların yayılmasını arttırıcı ajan olarak tespit edilmiştir (152). 1947 yılında Fishman ve ark. (153) testislerde bulunan bu enzim ile tümör hücrelerinde aynı enzimin bulunduğunu göstermişlerdir. Daha sonra nekrotik tümörlerde hiyaluronidaz aktivitesinin normal hücelere göre çok daha yüksek oldukları bulunmuştur (154,155). Ek olarak, metastatik meme ve prostat kanseri hücrelerinde hiyaluronidaz enzimi ve transforming büyüme faktörü beta (TGF- $\beta$ ) proteini miktarlarının yüksek olduğu görülmüştür (156-160). TGF- $\beta$  proteinleri, embriyogenezis, ekstraselüler matriks (ECM) protein sentezi, hücre çoğalması ve ölümü, immün hücrelerinin fonksiyonlarının yenilenmesi gibi çok sayıdaki biyolojik olaylarla ilişkilidir (161-163). Hiyaluronidaz enzimi akciğer epitel Mv1Lu hücrelerinde TGF- $\beta$ 1 aracılıklı büyüme fonksiyonunu bloke ettiği belirlenmiştir (164). Sonuç olarak, hiyaluronidaz enzimi TGF- $\beta$ 1 fizyolojik olarak inhibitörü olduğu söylenebilir.

Normal fibroblastlarda ve kanser hücrelerinin çoğunda HA, hiyalüronidaz enzimi gibi salınmaktadır (165-170). Hiyaluronidaz enzimi, HA'nın hücre yüzeyine bağlanması için gerekli olan ve kanserli hücrelerinin metastazında da yer alan CD44 proteinini modüle etmektedir (171,172). Hiyalüronidaz enzimi, endometriyum, ovaryum, meme kanserlerinin metastazını artırırken, prostat kanserinin ilerlemesini sağlar ve tümör hücrelerinde in vivo anjiogenezisi desteklediği bildirilmektedir (157, 173-177).

Liu ve ark. (177) yaptıkları çalışmada, hiyalüronidaz<sup>+</sup> tumor hücrelerinde anjiogenezisin meydana gelirken, hiyalüronidaz<sup>-</sup> olan hücrelerde ise anjiogenezisin gerçekleşmediğini bildirmektedirler. Hiyalüronidaz<sup>+</sup> tümör hücrelerinde anjiogenezis hiyalüronidaz inhibitörleri ile engellenmektedir.

Tüm bu bilgiler ışığında, kanser tedavisinde ve teşhisinde hiyalüronidaz enziminin varlığının göz önünde tutulması gerektiğini fikri ileri sürülebilir.

Sonuç olarak, anjiogenezis ile hiyalüronidaz inhibitörleri kanser tedavisi için yeni terapötik ajanlar olarak kullanılması mümkün görünmektedir.

TNP-470, Marimastat, SU5416 gibi doğal ve sentetik bileşikler antihiyalüronidaz veya anjiogenez aktiviteye sahip oldukları çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (178-180).

Apigenin, hiyalüronidaz inhibitörü doğal kaynaklı ve anjiogenezis inhibitörü olduğu literatürde bildirilmektedir (181-182). Bununla birlikte, polisakkaritler; aljinik asit (183), pektin (184), glukozaminoglikanlar (185), flavonoidler (186), glikirhizin (187), saponinler (188) hiyaluronidaz enzimini inhibe ettiği bildirilmektedir.

Ayrıca, antialerjik bileşik olan tranilast (189), traxonox (187), baikalein fosfat (187) ve sodyum kromoglikat, kortizon ve dezoksikortikosteron asetat (190), kortikotropin (191), kikorik asit (192), dekstran sülfat (193) gibi bileşiklerin de antianjiyojenik aktivite sahip olduğu literatürde kayıtlıdır.

S.-J. Jeong ve ark. (9) bryoantratiyofen, 5,7-dihidroksi-1-metoksikarbonil-6-okso-6H-antra[1,9-bc]tiyofen ve 1,8-dihidroksiantrakinon doğal bileşiklerin anjiogenezis inhibitörü aktiviteye sahip olduklarını ve bu bileşiklerden bryoantratiyofen BAEC (Bovin aortik Endotelial Hücre) kanser hücrelerinde en önemli antianjiyojenik aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir. Aynı araştırmacı

grubunun yaptığı diğer bir çalışmada CHR(cis-Hinokiresinol)'ün hiyaluronidaz inhibitörü aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (10).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Kimyasal Çalışmalar

##### 3.1.1. Materyal

Çalışmada kullanılan tüm çözücüler (Merck) teknik ya da analitik niteliktedir. Sentez başlangıcı maddeleri olarak 1,2-fenilendiamin (Merck), hidroklorik asit(Merck), benzoik asit (Merck), fenil asetik asit (Merck), 3-metoksifenilasetik asit (Merck), 4-metoksifenilasetik asit (Merck), oksamit (Merck), malonik asit diamiti (Merck), süksinik asit (Merck), polifosforik asit (Merck) kullanıldı.

##### 3.1.2. Yöntem

###### 3.1.2.1 2-Alkilsüstitüe Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemi

Her bileşik, 0.1 mol 1,2-fenilendiamin ile 0.15 mol uygun karboksilik asitin 100 mL 5 N 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 ince tabaka kromatografisi (İTK) ile izlendi. Hazır plaklar kullanılarak yapılan İTK çalışmalarında, lekelerin belirlenmesinde ultraviyole ışığı metalik iyot ve Dragendorff belirtecinden yararlanıldı. Reaksiyonun karışımı bir gece oda ısısında bekletildi. Bu sürenin sonunda reaksiyon karışımları buz banyosu içine alınarak potasyum bikarbonat ilavesi ile çöktürülerek 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 solvandan kristallendirildi. Oluşan kristal halindeki bileşik süzülerek alındı ve kalsiyum klorür üzerinde vakum desikatöründe kurutuldu.

###### 3.1.2.2 2-Fenilbenzimidazol'un Sentez Yöntemi

2-Fenilbenzimidazol, 50 mmol 1,2-fenilendiamin ile 75 mmol benzoik asit polifosforik asit içinde, yağ banyosu üzerinde, geri çeviren soğutucu altında 180 °C, 5 saat ısıtılması ile elde edildi. Reaksiyonun tamamlanışı İnce Tabaka Kromatografisi



(İTK) ile izlendi. Hazır plaklar kullanılarak yapılan İTK çalışmalarında, lekelerin belirlenmesinde ultraviyole ışığı ve Dragendorff belirtecinde yararlanıldı. Reaksiyon karışımı buz banyosu içine alınarak, turnusol kağıdına karşı alkali reaksiyon verinceye kadar katı potasyum bikarbonat ilave edildi. Oluşan çökelek süzüldü. Turnusol kağıdına karşı nötr reaksiyon verinceye kadar buzlu su ile yıkandı ve açık havada kurutuldu. Elde edilen bu çökelek etanol içinde çözüldü ve aktif kömür ile rengi giderildi. Vakumda kuruluğa kadar uçurulduktan sonra, benzenden kristallendirildi. Oluşan kristal halindeki bileşik süzülerek alındı ve kalsiyum klorür altında vakum desikatöründe kurutuldu.

#### 3.1.2.1.3 Bisbenzimidazollerin Genel Sentez Yöntemi

Oksamit, malonik asit diamit veya süksinik asit ile 1,2-fenilendiamin 1:2 oranında PPA içinde karıştırıldı. Dana sonra ekstra PPA ilave edilerek ısı yavaş yavaş 150 °C'ye kadar yükseltildi. 5-8 saat süre ile bu sıcaklığa karıştırılmaya devam edildi. Süre sonunda ısının 80°C'ye kadar düşmesi beklendikten sonra, karışım buzlu suyun içine boşaltıldı ve bir süre karıştırıldı. Nötral pH ya kadar NaHCO<sub>3</sub> ilave edildi. Oluşan katı süzülerek ayrıldı, soğuk su ile yıkandı, kristallendirildi ve vakum desikatörü 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

##### 3.2.2.1. Materyal

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: Heksan-etilasetat (70:30)

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

### 3.2.3. Spektroskopik Kontroller

#### 3.2.4.1. IR Spektrumları

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

#### 3.2.4.2. $^1\text{H}$ NMR Spektrumları

Bileşiklerin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumları, dimetilsülfoksit-d6 (Merck) içindeki çözeltileri ile Varian Mercury 400 FT-NMR spektrofotometresinde alınıp kimyasal kayma değerleri  $\delta$  skalasında değerlendirildi. Eşleşme sabitleri Hz olarak verildi.

### 3.2.4. Elemental Analizleri

Bileşiklerin elementel analizleri (C, H, N) TÜBİTAK (Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurulu) Enstrümental Analiz Laboratuvarında Hewlett Packard 185 Analiz Tayin Aygıtı kullanılarak yapıldı.

## 3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

### 3.3.1. Metod

#### 3.3.1.1. Morgan-Elson Testi

0.1 M sodyum format içeren bir tampon çözelti ve 0.1 M NaCl inkübasyon tamponu hazırlanarak ve pH sı formik asit ile 3.5 e ayarlandı. Bovine serum albumin (BSA) , 0.2 mg/ml lik konsantrasyonda kullanıldı. Borik asit çözeltisi hazırlamak için 4.94 g borik asit ve 1.98 g KOH 100 ml su içinde karıştırıldı. 6.25 ml 10 N Hidroklorik asit içindeki 5 g DMAB 50 ml'ye glasiyel asetik asit ile seyreltildi.

Stok çözelti olarak kullanılan çözelti karanlıkta saklanıp soğukta tutuldu. Hiyaluronidaz enziminin saf tozu (3110 U/mg), 800 U/ml hiyaluronidaz çözeltisi hazırlamak için inkübasyon tamponunda çözüldü ve inhibitör maddeler, son konsantrasyon 100 mmol/ml olacak şekilde DMSO içinde çözülüp seyreltilerek hazırlandı.

HA'nın 5mg/ml'lik stok çözeltisi, HA'nın su içinde çözülmesiyle hazırlandı. İnhibitör/enzim çözeltisi, inhibitör çözeltilerin enzim çözeltisine eklenmesiyle 25 uM,

75uM ve 100 uM'lık konsantrasyonlarda hazırlandı. Bu çözeltilerin 37°C de 1 saatlik inkübasyonlarından sonra santrifüjleme yapıldı.

Sonraki aşamada, 100 µL BSA çözeltisi, 100 µL inkübasyon tamponu, 150 µL su, 50 µL inhibitör / enzim çözeltisi bir reaksiyon tüpünde karıştırılıp analiz, 50 µL HA çözeltisi ilavesiyle başlamış oldu.

Sıfırıncı dakikada ilk veriyi almak için, bu karışımdan 45 µL mikrofüj tüpüne pipetle aktarıldı ve 10 µL borik asit çözeltisi eklendi. Daha sonra mikrofüj tüpü 100°C'de 4.5 dakika ısıtıldı. Bu ısıtılan çözeltinin tamamı, buz üzerine yerleşmiş buLunan microplate içine transfer edildi.

300 µL stain çözelti, stain yöntemine başlamak için her hücreye ilave edilerek ve 37°C de 20 dakika microplate inkübasyona bırakıldı.

Absorpsiyon 590 nm de microplate reader (Mithras LB940, Berthold, Germany) ile izlendi.

İnhibitör bileşik içeren ve kontrol çözeltileri, inkübasyon öncesi ve sonrası absorpsiyon farkları kaydedilip standardizasyon eğrisi yoluyla enzim aktiviteleri değerlendirildi. Ayrıca inhibitör çözeltisi yerine saf DMSO ile yapılan aktivite kontrolleri % 100 olarak kabul edildi.

#### 3.3.1.2. Stain-all Testi

0.2 M ve 50 M'lık iki fosfat tampon çözeltisi hazırlanıp pH'ları hidroklorik asit ile 7.0'a ayarlandı. 3310 U/mg hiyaluronidaz enzimi tozu 50 nM fosfat tamponu içinde çözülüp 50 U/ml hiyaluronidaz konsantrasyonuna tamamlandı. İnhibitör bileşikler, DMSO içinde 10 mmol/ml çözünürlüğünde hazırlanıp HA'nın 2mg/ml'lik stok çözeltisi suda çözünerek hazırlandı. Enzim/inhibitör çözeltisi; 50 µM, 75 µM ve 100 µM konsantrasyonlardaki inhibitör çözeltilerinden, enzim çözeltisine katılarak hazırlandı 37°C de 1 saat inkübe edildi. Daha sonra saydam bir çözelti elde etmek için santrifüj edildi.

22.4 mg stains-all karışımı, 35.2 mg askorbik asit, 23 µL glasiyel asetik asit ve 1.3 mg bütillenmiş hidroksi toluen (BHT); 100 ml dioksan ve 100 ml su karışımı içinde çözülerek hazırlanan stok çözeltisi karanlıkta saklandı.

Ana çözelti 0.2 M'lık 390 µL fosfat tamponu, 110 µL HA çözeltisi ve 500 µL su karışımından hazırlandı, sonra bu çözelti 37°C de 10 dakika ısıtıldı. İnhibitör/enzim

çözeltisinden 12.5 µL, bir microplate içinde 12.5 µL ana çözelti ile karıştırıldı ve reaksiyon 112.5 µL staining çözeltisi ve 62.5 µL su ilavesiyle başlamış oldu.

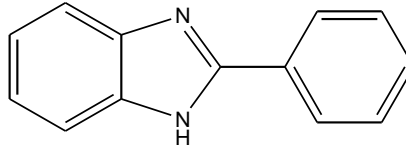
Absorpsiyon 650 nm de microplate reader (Mithras LB940, Berthold, Germany) ile izlendi.

İnhibitör bileşik içeren ve kontrol çözeltileri, inkübasyon öncesi ve sonrası absorpsiyon farkları kaydedilip standardizasyon eğrisi yoluyla enzim aktiviteleri değerlendirildi. Ayrıca inhibitör çözeltisi yerine saf DMSO ile yapılan aktivite kontrolleri % 100 olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Kimyasal Bulgular

#### 4.1.1. 2-Fenilbenzimidazol (Bileşik No: 1)



6.54 g (0.06 mol) 1,2-fenilendiamin ve 7.81 g (0.064 mol) benzoik asitin 40 g PPA içinde genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyonu ile elde edildi. Elde edilen ham ürün, benzen kristallendirilerek, 9.10 g saf bileşik elde edildi.

Verim : % 78

Erime Noktası: 293°C (Lit: 278-301°C<sup>10</sup>)

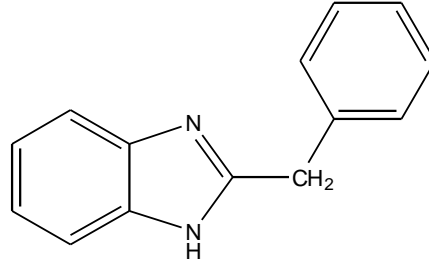
IR spektrumunda( $\text{cm}^{-1}$ ), 3600-2300 (N-H, aromatik =C-H gerilim), 1614 (C=N gerilim), 1600-1400 (aromatik C=C gerilimleri, N-H eğilim, alifatik -C-H eğilim) bantları görüldü.

<sup>1</sup>H NMR spektrumunda (DMSO- d<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm, 7.19-7.22 (2H, d), 7.49-7.60 (5H, m), 8.10-8.20 (2H, d), 12.89 (1H, yayvan s, -NH) pikleri görüldü.

Elementel Analiz: C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub> (208.10)

	%C	%H	%N
Hesaplanan	: 80.7	5.8	13.5
Bölünan	: 80.1	5.6	13.9

#### 4.1.2. 2-Benzil-1H-benzimidazol (Bileşik No: 2)



10.80 g (0.1 mol) 1,2-fenilendiamin ve 20.40 g (0.15 mol) fenilasetik asit 80 mL 5N hidroklorik asit çözeltisi içinde, 7 saat ısıtılarak, genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyonu ile 17.68 g saf bileşik elde edildi.

Verim : % 85

Erime Noktası: 182°C (Lit: 179-180°C<sup>10,194</sup>)

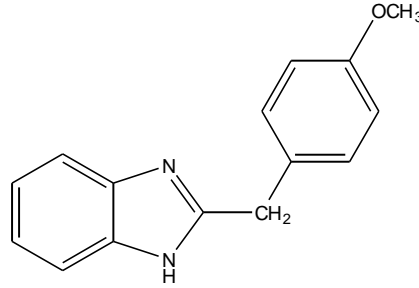
IR spektrumunda (cm<sup>-1</sup>), 3600-2200 (N-H, aromatik gerilimler), 3050 (aromatik =C-H gerilim), 2910 (alifatik -C-H gerilim), 1597 (C=N gerilim), 1600-1500 (aromatik C=C gerilimleri, N-H eğilim, alifatik -C-H eğilim), 760-750 cm<sup>-1</sup> (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görülür.

<sup>1</sup>H NMR spektrumunda (DMSO- d<sub>6</sub>) δ ppm, 4.60 (2H, s), 7.58-7.20 (m, 9H, ArH), 12.34 (s, 1H) pikleri görüldü.

Elementel Analiz: C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub> (208.10)

	%C	%H	%N
Hesaplanan	: 80.7	5.8	13.5
Bölünan	: 80.5	5.6	13.5

#### 4.1.3. 2-(4-Metoksibenzil)-1H-benzimidazol (Bileşik No: 3)



10.80 g (0.1 mol) 1,2-fenilendiamin ve 24.9 g (0.15 mol) 4-metoksifenilasetik asit 80 mL 5N hidroklorik asit çözeltisi içinde, 8 saat ısıtılarak, genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyonu ile 19.04 g saf bileşik elde edildi.

Verim : % 80

Erime Noktası: 165°C (Lit: 165°C<sup>10,194</sup>)

IR spektrumunda (cm<sup>-1</sup>), 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<sup>-1</sup> (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

<sup>1</sup>H NMR spektrumunda (DMSO- d<sub>6</sub>) δ ppm, 3.80 (s, 3H), 4.60 (2H, s), 6.85-6.90 (m, 2H), 7.10-7.15 (m, 2H), 7.35 (d, 2H), 7.36-7.52 (m, 2H), 12.27 (s, 1H) pikleri görüldü.

Elementel Analiz: C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O (238.11)

	%C	%H	%N
Hesaplanan	: 75.6	5.9	11.8
Bölünan	: 75.4	5.7	11.8

#### 4.1.4. 2-(3-Metoksibenzil)-1H-benzimidazol (Bileşik No: 4)

10.80 g (0.1 mol) 1,2-fenilendiamin ve 24.9 g (0.15 mol) 3-metoksifenilasetik asit 80 mL 5N hidroklorik asit çözeltisi içinde, 8 saat ısıtılarak, genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyonu ile 17.85 g saf bileşik elde edildi.

Verim : % 75

Erime Noktası: 152-155°C (Lit:152-155°C<sup>10</sup>)

IR spektrumunda (cm<sup>-1</sup>), 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<sup>-1</sup> (benzen =C-H plan-dışı eğilim) bantları görüldü.

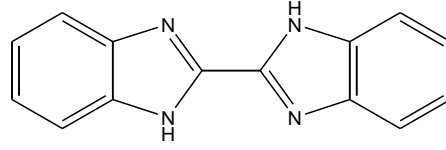
<sup>1</sup>H NMR spektrumunda (DMSO- d<sub>6</sub>) δ ppm, 3.36 (s, 3H), 7.10-7.14 (m, 5H), 7.19-7.29 (m, 5H), 12.29 (yayvan, s, 1H) pikleri görüldü.

Elementel Analiz: C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O (238.11)

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



#### 4.1.5. 2,2'-Bi(1*H*-benz[d]imidazol) (Bileşik No: 5)



0.432 g (4 mmol) 1,2-fenilendiamin ve 0.176 g (2 mmol) oksamit 40 g PPA içinde genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyonu ile 0.112 g saf bileşik elde edildi.

Verim : % 24

Erime Noktası: 396°C (Lit: 396°C<sup>195</sup>)

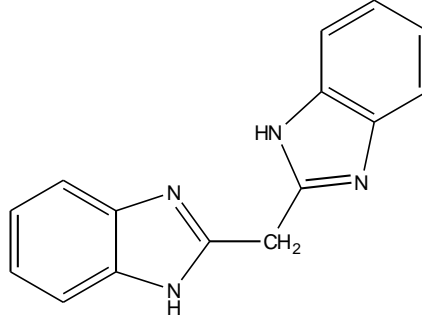
IR spektrumunda( $\text{cm}^{-1}$ ), 3280-2500 (N-H, aromatik =C-H gerilim), 1624 (C=N gerilim), 1620-1585 (aromatik C=C gerilimleri, N-H eğilim, alifatik -C-H eğilim) bantları görüldü.

<sup>1</sup>H NMR spektrumunda (DMSO- d<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm, 7.10 (4H, d, J= 6 Hz), 7.50 (4H, d, J= 6 Hz), 13.70 (2H, yayvan s, -NH) pikleri görüldü.

Elementel Analiz: C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub> (234.09)

	%C	%H	%N
Hesaplanan	: 71.78	4.30	23.92
Bölünan	:71.60	4.33	23.97

#### 4.1.6. Di(1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)metan (Bileşik No: 6)



0.540 g (5 mmol) 1,2-fenilendiamin ve 0.220 g (2.5 mmol) malonik asit diamit 40 g PPA içinde genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 0.186 g saf bileşik elde edildi.

Verim : % 30

Erime Noktası: 390°C (Lit: 390°C<sup>195</sup>)

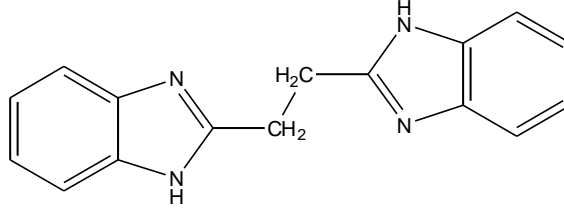
IR spektrumunda( $\text{cm}^{-1}$ ), 3300-2500 (N-H, aromatik =C-H gerilim), 1621 (C=N gerilim), 1620-1590 (aromatik C=C gerilimleri, N-H eğilim, alifatik -C-H eğilim) bantları görüldü.

<sup>1</sup>H NMR spektrumu (DMSO-  $\text{d}_6$ )  $\delta$  ppm, 4.50 (s, 2H), 7.20 (4H, m), 7.50 (4H, d) pikleri görüldü. –NH protonlarına ait pik gözlenmedi.

Elementel Analiz: C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub> (248.11)

	%C	%H	%N
Hesaplanan	: 72.56	4.87	22.57
Bölünan	: 72.60	4.90	22.70

#### 4.1.7. 1,2-Di(1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)etan (Bileşik No: 7)



0.540 g (5 mmol) 1,2-fenilendiamin ve 0.295 g (2.5 mmol) süksinik asit 40 g PPA içinde genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile 0.360 g saf bileşik elde edildi.

Verim : % 55

Erime Noktası: 327°C (Lit: 327°C<sup>195</sup>)

IR spektrumunda( $\text{cm}^{-1}$ ), 3440 (NH gerilim) 3180-2500 (aromatik =C-H gerilim), 1625 (C=N gerilim), 1620-1570 (aromatik C=C gerilimleri, N-H eğilim, alifatik -C-H eğilim) bantları görülür.

<sup>1</sup>H NMR spektrumu (CD<sub>3</sub>COOD)  $\delta$  ppm, 4.05 (yayvan s, 4H), 7.40-7.80 (4H, m), 8.20 (d, 4H), pikleri görüldü. -NH protonlarına ait pik gözlenmedi.

Elementel Analiz: C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub> (262.12)

	%C	%H	%N
Hesaplanan	: 73.26	5.38	21.36.
B $\mu$ Lunan	: 73.00	5.01	21.30

## 4.2. BİYOLOJİK BULGULAR

Bu çalışmada benzimidazol halkasının 2 numaralı konumunda fenil/ benzil/ 3-metoksibenzil/ 4-metoksibenzil ile 3 adet bisbenzimidazol yapısında olmak üzere toplam 7 adet benzimidazol türevi bileşik hiyaluronidaz enzim inhibitör etkileri belirlenmek amacıyla sentezlenmiştir. Sentezlenen benzimidazol türevi bileşikler ve standart madde olarak kullanılan askorbik asit palmitat tuzu pH 3.5 ve 7’de uygulanan modifiye edilmiş “Morgan-Elson” ve “Stains-all” testleri kullanılarak elde edilen *in vitro* hiyaluronidaz inhibitör etki sonuçları Tablo 2’de verilmektedir. IC<sub>50</sub> değerleri 75, 100, 150 µM konsantrasyonlardaki % inhibisyon değerleri kullanılarak hesaplanmıştır.

**Table 2: Sentezlenen Bileşiklerin Hiyaluronidaz İnhibitör Etkileri**

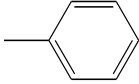
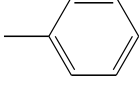
Bileşik No	% inhibisyon (100 µM)		IC <sub>50</sub> [µM]	
	Stains-all Testi pH7	Morgan-Elson Testi pH 3.5	Stains-all Testi pH7	Morgan-Elson Testi pH3.5
1	6	0	n.d	n.d
2	13	5	n.d	n.d
3	15	5	n.d	n.d
4	16	11	n.d	n.d
5	63	59	85	79
6	67	63	78	72
7	60	53	93	98
<b>Askorbik asit Palmitat</b>	99%	99%	18	8

n.d: test edilmedi.

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada 2 numaralı konumlarında aromatik halka bağlı veya metilen köprüsü üzeinden bağlı aromatik halka taşıyan benzimidazol türevi bileşikler olmak üzere 7 adet bileşik sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin formülleri Tablo 3’de verilmiştir.

**Tablo 3: Sentezlenen Bileşiklerin Formülleri**

Bileşik No	n	R
1	0	
2	1	
3	1	
4	1	
5	0	
6	1	
7	2	

Sentezi yapılan bileşikler daha önce grubumuzun yaptığı çalışmalarda ve bazı araştırmacılar tarafından sentezlenmiş, literatürde kayıtlı bileşiklerdir. Bileşik 2-4’ün sentezleri, 2-alkilsüstitüe benzimidazol türevlerinin eldesi için kolaylığı, sentez

veriminin yüksek oluşu gibi nedenler ile çok kullanılan bir yöntem olan Phillips Yöntemi uygulanarak yapılmıştır<sup>27,36,196-198</sup>. Bileşik 1'in eldesi için ise 2-arilsübenzimidazol türevlerinin sentezi için uygun olduğu literatürde bildirilen yönteme göre 1,2-fenilendiamin ve benzoik asitin türevlerinin PPA içinde ısıtılması ile elde edilmiştir. Bileşik 5-7'de yine PPA yöntemi ile sentezlenmiştir ve Şema (1)'de bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin sentez şeması verilmektedir.



### Şema 1: Bileşiklerin Sentez Şeması

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

Bileşiklerin IR spektrumları FT-IR spektrofotometresi ile ATR yardımıyla toz veya kristal örnek üzerinde alınmıştır. Bileşiklere ait spektrumların 3500-2300  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde kuvvetli, yayvan mülteplet absorpsiyon bandları görülmektedir. Bu bölgede bileşiklerin 2 numaralı konumlarındaki süstitüente bağı olarak aromatik =C-H gerilim ve alifatik C-H gerilim bandları yer almaktadır. Bu bandların yerlerini her zaman tam olarak belirlemek zordur<sup>199</sup>.

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 -CH<sub>2</sub> grubu taşıyan bileşikler için, C-H eğilim bandları görülmektedir.

Elde edilen bileşiklerin <sup>1</sup>H-NMR spektrumları biri hariç DMSO-d<sub>6</sub> içinde alınmıştır. İmidazol halkasına ait N-H protonu spektrumları  $\delta$  12.27 ila 13.70 ppm arasında yayvan bir single halinde görülmektedir. Benzimidazolün imidazol halkası üzerindeki proton N<sup>1</sup>-C-N<sup>3</sup> 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<sup>200</sup>.

Benzimidazol halkasının aromatik protonlarına ait pikler imidazol hidrojeninin iki azot atomu arasında hızlı değişimi nedeni ile mültepletler halinde 6.85-8.20 ppm aralığında görülmektedir<sup>201</sup>.

Çözücü olarak kullanılan DMSO-d<sub>6</sub> içinde H<sub>2</sub>O'ya ait  $\delta$  3.34 ppm civarında ve kullanılan DMSO-d<sub>6</sub>'nın en iyi şartlarda % 99.9 oranında döteryum içermesi nedeni ile CD<sub>3</sub>SOD<sub>2</sub>H'a ait  $\delta$  2.50 ppm'de gözlenen pikler tüm spektrumlarda vardır.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada sentezlenen 7 adet benzimidazol türevi bileşiklerin *in vitro* antihyaluronidaz aktivite çalışmalarında başlıca üç konunun araştırılması amaçlanmıştır.

1. Sentezlenen bileşiklerin *in vitro* antihyaluronidaz etkiye sahip olup olmadıklarının belirlenmesi
2. Benzimidazol halkasının 2 numaralı konumunda aromatik grup veya alkil zinciri aracılığıyla bağlı olan aromatik halkalarının aktivite üzerindeki rolünün araştırılması
3. Benzimidazol halkasının 2 numaralı konumundaki benzil grubu üzerindeki süstitüentlerin aktivite üzerindeki rolünün araştırılması.

Bu amaçla sentezlenen 7 adet benzimidazol türevi bileşiklerin “Morgan-Elson” ve “Stains-all” testleri kulanılarak pH 3.5 ve 7’de *in vitro* hyaluronidaz inhibitör etki çalışması sonuçları Tablo 2’de verilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin 100 mM konsantrasyonda % inhibisyon değerleri incelendiğinde, Bileşik 1-7 pH 7’de %6-67 arasında olduğu görülmektedir.

Benzimidazol halkasının 2 numaralı konumundaki büyük süstitüentelerin aktivitenin artmasına neden olmaktadır. Bisbenzimidazol türevlerinin (5-7) diğer türevlerden (1-4) çok daha fazla daha aktif olduğu görülmektedir.

Benzimidazol halkasının 2 numaralı konumlarında alifatik zincirin uzamasının aktivitede azalmaya neden olduğu ancak direkt bağlı aromatik halkalı türevlerle karşılaştırıldığında hala yüksek aktiviteye sahip olduğu söylenebilir.

Benzimidazol halkasının 2 numaralı konumunda aromatik süstitüsyonun aktivite sonuçlarında değişkenlik göstermediği görülmektedir. Fenil halkasının nonsüstitüe durumuyla para veya meta süstitüe türevler karşılaştırıldığında süstitüsyonun azda olsa aktiviteyi arttırdığı görülmektedir. Dolayısıyla aromatik halkada süstitüsyonun aktiviteye bir katkısının olduğu şeklinde yorumlanabilir. Ancak farklı süstitüsyonlarında sentezlenerek aktivitelerinin belirlenmesi bu konunun aktiviteye katkısının olup olmadığının net olarak belirlenmesini sağlayacaktır.

Bu çalışmada sentezlenen Di(1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)metan (Bileşik No: 6) bileşiğinin en yüksek antihyaluronidaz etkiye sahip bileşik olduğu belirlenmiştir.



Bileşik 1-4 düşük aktivite göstermemektedirler. Ancak antihyaluronidaz aktiviteye sahip bileşiklerin in vitro antihyaluronidaz etkilerinin varlığı daha ileri çalışmalar ile desteklenmesi ve kanıtlanması gerekmektedir.

Benzimidazol ana yapısı taşıyan antihyaluronidaz aktivite çalışmalarının ilk adımını oluşturan bu çalışma bundan sonraki çalışmalara yol göstereceğine inanmaktayız. Ayrıca Almanya'da bir araştırma grubuyla olan ortak çalışma girişimimiz bundan sonraki çalışmaların daha etkin bileşiklerin bulunmasının yanı sıra anjiyojenez etki mekanizmaların açıklaması ve hyaluronidaz inhibisyonu ile anjiyojenez arasındaki ilişkinin ortaya konulmasında katkıda bulunacağı kanısındayız.

## 7. KAYNAKLAR

- 1) **Olgar Ş, Yetgin S.** Anjiogenezis. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. **2003**; 46: 139-147.
- 2) **Nie D, Tang K, Diglio C, Kennth VH.** Eicosanoid reguLarion of anjiogenesis: role of endothelial arachidonate 12-lipoxygenase. *Blood*; **2000**; 95: 2304-2311.
- 3) **Mangi MH, Newland AC.** Angiogenesis and angiogenic mediators in hematological malignancies. *Br J Haematon*; **2000**; 111: 43-51.
- 4) **Kerbe RS.** Tumor angiogenesis past, present and the near future. *Carsinogenesis*. **2000**; 21: 505-515.
- 5) **Ribatti D, Vacea A, Presta M.** The discovery of angiogenic factors. *A historical review: Gen Pharmacol*. **2002**; 35: 227-231.
- 6) **Matrisian LM.** The matrix-degrading metalloproteinases. *BioEssays*, **1992**; 14: 455-462.
- 7) **Stetler-Stevenson WG, Aznavoorian S, Liotta LA.** *Annu. Rev. Cell Biol.*, **1993**; 541-573.
- 8) **Kreil G.** Hyaluronidases -a group of neglected enzymes. *Proein Sci.*, **1995**; 4: 1666-1669.
- 9) **Jeong SJ, Higuchi R, Miyamoto T, Ono M, Kuwano M, Mawatari SF.** Bryoanthrathiophene, a new antiangiogenic constituent from the bryozoan Watersipora subtorquata (d'Orbigny, 1852). *J. Nat.Prod.*, **2002**; 65: 1344-1345.
- 10) **Algul 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.
- 11) **Hoffmann, K.** Imidazole and its derivatives. Interscience Publishers, , INC, New York, **1953**.
- 12) **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.
- 13) **Elquero J, Liouquet G, Marzin C.** AnnuLar tautomerism of benzimidazoles, effect of a hydrogen bond on the prototropic rate. *Tetrahedron Letters*, **1975**; 46: 4085-4086.

- 14) **Wright JB.** The chemistry of the benzimidazoles. *Chem. Rev.*, **1951**; 48: 397-541.
- 15) **Rogers KS, Clayton CC.** Effects of pH on benzimidazole fluorescence. *Analytical Biochemistry*, **1972**; 48: 199-201.
- 16) **Green H, Day AR.** The tautomeric Character of the imidazol ring. *J. Am. Chem. Soc.*, **1942**; 64: 1167-1173.
- 17) **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.
- 18) **Howell JR, Rasmussen M.** Heterocyclic ambident nucleophiles. V. Alkylation of benzimidazoles. *Aus. J. Chem*, **1993**; 46: 1177-1191.
- 19) **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.
- 20) **Lee In-S H, Jeoung EH,** Synthesis and tautomerism of 2-aryl- nad 2-heteroaryl derivatives of benzimidazole. *J. Heterocyclic. Chem.*, **1996**; 33: 1711-1716.
- 21) **Iemura R, Hori M, Othaka H.** Syntheses of the metabolites of 1-(2-ethoxyethyl)-2-(hexahydro-4-methyl-1H-1,4-diazepin-1-yl)-1H-benzimidazole difumarate(KG-2413) and related compounds. *Chem. Pharm. BuLL.*, **1989**; 37(4): 962-966.
- 22) **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.
- 23) **Alcalde E, Perez-Garcia L, Dinares I, Coombs GH, Frigola J.** Synthesis and antitrichomonal activity of azinium (azolium) 4-nitrobenzimidazololate betains and their derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, **1992**; 27: 171-177.
- 24) **Katritzky AR, Rachwall S.** New routes to selectively methylated benzimidazoles. *J. Heterocyclic Chem.*, **1994**; 31: 775-779.
- 25) **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.

- 26) **Smith L, Haris S.** The jacobson reaction. *J. Am. Chem. Soc.*, **1936**; 58: 1-10.
- 27) **Phillips MA.** The formation of 2-methylbenzimidazoles. *J. Chem Soc.*, **1928**; 172-177.
- 28) **Pool WO, Harwood HJ, Ralston AW.** 2-alkylbenzimidazoles as derivatives for the identification of aliphatic acids. *J. Am. Chem. Soc.*, **1937**; 59: 178-179.
- 29) **McCoy G, Day AR.** Ortho condensation which lead to oxazole or imidazole formation. *J. Am. Chem. Soc.*, **1943**; 65: 2159.
- 30) **Roeder CH, Day AR.** Benzimidazoles studies I. The mechanism of benzimidazole formation from o-fenilendiamine. *J. Org. Chem.*, **1941**; 6: 25-35.
- 31) **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.
- 32) **Hughes GK, Lions F.** The synthesis of 2-aminomethylbenzimidazole and related substances. *J. Proc. Roy. Soc. New South Wales*, **1938**; 71: 209-222.
- 33) **Bloom A, Day AR.** The preparation of 2-alkylaminobenzimidazoles. *J. Org. Chem.*, **1939**; 4: 14-19.
- 34) **Skolnik H, Miller JG, Day AR.** The allylic character of 2-( $\alpha$ -chloroalkyl)-benzimidazoles. *J. Am. Chem. Soc.*, **1943**; 65: 1854-1858.
- 35) **Phillips MA.** The hydrolysis of diacetyl-o-diamines. *J. Chem. Soc.*, **1930**; 1409-1419.
- 36) **Phillips MA.** The formation of 2-substituted benzimidazoles. *J. Chem Soc.*, **1928**; 2393-2399.
- 37) **Noyanlalpan N, Işıkdag İ.** 2-süstitüe-benzimidazol türevlerinin sentezleri, yapı aydınlatmaları ve yapı etki ilişkileri üzerinde çalışmalar. *Doğa Bilim Dergisi, C*, **1985**; 9(2): 183-193.
- 38) **Öğretir C, Demirayak Ş.** Benzimidazol çalışmaları I. Bazı 2- veya 5-süstitüe benzimidazol türevlerinin proton alma davranışlarının incelenmesi ve hammett ilişkileri. *Doğa Tr. Kim. D.*, **1986**; 10(2): 112-117.

- 39) **Bera BC, Chakrabartty MM.** Spectrophotometric determination of palladium with 2-merkaptometilbenzimidazol. *Microchim. Acta.*, **1966**; 6: 1094-1100.
- 40) **Milner ES, Synder S, JoıLli'e MM.** Synthesis of benzimidazol-2-yl-alkanethiols and some derivatives. *J. Chem. Soc.*, **1964**; 4151-4153.
- 41) **Schoenleber J, Lochon MP, Champetier MG.** Synthése caractérisation de plusieurs mercaptoalcoly-2-benzimidazoles. *C. R. Acad. Sc. Paris*, **1974**; 278(20):1235-1238.
- 42) **Lochon P, Schoenleber J.** Comparasion 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.
- 43) **Porai-Koshits BA, Kvitko IY, Shutkova EA.** Synthesis of aminoesters of benzimidazole derivatives. *Zh. Prikl. Khim.*, **1964**;37(6): 1386-1388.
- 44) **Noyanalpan N, Işıkdag İ.** 2-sübstitüe-benzimidazol türevlerinin sentezlerinde değişik reaksiyon ajanlarının denenmesi ve buLguların karşılaştırılması. *J. Fac. Pharm. Gazi*, **1984**; 1(2): 61-68.
- 45) **Noyanalpan N, Işıkdag İ.** Synthesis of some 2-(heterocyclic-substituted) benzimidazole derivatives. *Chim Acta. Turcica*, **1983**; 11: 357-361.
- 46) **Langheld K.** Über metaphosphorsäure-äthylester und deren anwendung in der organischen chemie. *Chem. Ber.*, **1910**; 43: 1987-1860.
- 47) **Langheld K.** Über ester und ämide der Phosphorsäuren II. *Chem Ber.*, **1911**; 44: 2076.
- 48) **Cramer F, Hettler H.** Ester der trimetaphosphorsäure. *Chem Ber.*, **1958**; 91: 1181.
- 49) **Kanaoka Y, Hamada T, Yonemitsu O.** Syntheses of 2-substituted-benzoxazoles and benzthiazoles with PPE. *Chem. Pharm. BuLl.*, **1970**; 18: 587.
- 50) **Işıkdag İ.** 2-nolu konumda heterosiklik halkalarla sübstitüe 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.**
- 51) **Kumar PR.** Polyethyleneglycol catalysed N-sulphonylation & N-benzoylation of substituted benzimidazoles. *Indian J. Chem.*, **1986**; 25B: 1273-1274.

- 52) **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.
- 53) **Suzuki N, Vamabayashi T, Izaway Y.** A single-step synthesis of 2-substituted benzo-azoles. *Bull. Chem. Japan.*, 1976; 49(1): 353-354.
- 54) **Ichikawa M, Nabeya S, Muraoka K, Hisano T.** Acidic properties of benzimidazoles and substituent effects. IV. Relationship between the acidities of N<sup>2</sup>-( substituted phenyl) arylamidines and ring closures to imidazole. *Chem. Pharm. Bull.*, **1979**; 27(5): 1255-1264.
- 55) **Gümüş F, Özden S, Abbasoğlu U, Özden T.** 2',4',5'-trisubstitüe-2-fenilbenzimidazol türevlerinin sentez ve in vitro antitüberküloz etkileri üzerinde çalışmalar-I, *A.Ü., Ecz. Fak. Der.*, **1986**; 16(1): 1-13.
- 56) **Pamuk İ.** Bazı 5(6),2 disubstitüe benzimidazol türevlerinin platin (II) kompleksleri üzerinde çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Ankara. **1997**
- 57) **Hölljes EL, Wagner E.** Some reactions of nitriles as acid anammonides. *J. Org. Chem.*, **1944**; 9: 31-49.
- 58) **Wagner EC.** Some reactions of amidines as ammonio carboxylic acids or esters. *J. Org. Chem.*, **1940**; 5: 133-141
- 59) **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.
- 60) **Kröhnke F, Leister H.** Heterocyclen aus aroylcyanid-anilen. *Chem. Ber.*, **1958**; 91: 1479-1488.
- 61) **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.
- 62) **King FE, Achenson RM.** The synthesis of benzimidazoles from ortho-phenyldiamines and imino-ethers. *J. Chem. Soc.*, **1949**; 1396-1400.
- 63) **Czarny A, Wilson WD, Boykin DW.** Synthesis of mono-cationic and dicationic analogs of Hoechst 33258. *J. Heterocyclic Chem.*, **1996**; 33: 1393-1397.

- 64) **Hunger A, Kebrle J, Rossi A, Hoffman K.** Synthese basisch substituierter, analgetisch wirksamer benzimidazole derivative. *Experien*, **1957**; 16: 400.
- 65) **Hunger A, Kebrle J, Rossi A, Hoffman K.** Benzimidazole-derivative und verwandte heterocylen synthese von 1-aminoalkyl, 2-benzylbenzimidazolen. *Helv. Chim. Acta*, **1960**; 43: 800.
- 66) **Hinsberg O.** Zur constitution der aldehydine. *Ber.*, **1886**; 19: 2025-2027.
- 67) **Hinsberg O.** Ueber die einwirkung einwerthiger aldehyde fertreihe auf m-p-toluylendiamin. *Ber.*, **1887**; 20: 1585-1591.
- 68) **Weidenhagen R.** Eine Neue synthese von benzimidazol-derivaten. *Ber.*, **1936**; 69B: 2263-2272.
- 69) **Elderfield R.C, Kreysa FJ.** The reaction of o-phenylenediamine and of 8-amino-1,2,3,4-tetrahydroquinoline derivatives with carbonyl compunds. *J. Am. Chem. Soc.*, **1948**; 70: 44-48.
- 70) **Elderfield RC, Mc Carthy JR.** . The reaction of o-phenylenediamine with carbonyl compunds, aliphatic ketones. *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**; 73: 975-984.
- 71) **Stephens FF, Bower JD.** The preperation of benzimidazoles and benzoxazoles from Schiff bases. *Part I, J. Chem Soc.* **1949**; 27: 2971-2972.
- 72) **Weidenhagen R, Train G.** Über eine neue darstellung von N-alkyllierten imidazolo verbindungen. IX. Mitteil. Über Imidazole. *Chem. Ber.* **1942**; 75: 1936-1948.
- 73) **Thomas PR, Tyler GJ.** Some new benzimidazole derivatives. *J. Chem. Soc.*, **1957**; 2197-2202.
- 74) **Jerchel VD, Kracht M, Krucker K.** Untersuchungen über benzimidazole. *Ann.*, **1954**; 590: 232-241.
- 75) **Ried W, Stahlhofen P.** Umsetzung von o-phenylendiamin mit  $\alpha,\beta$ -ungesättigten carbonylverbindungen. *Chem. Ber.*, **1957**; 90: 815-824.
- 76) **Charlton PT, Maliphant GK, Oxley P, Peak DA.** AntitubercuLous compunds. Part VII. Some further N-substituted amidines and analogues. *J. Chem. Soc.*, **1951**; 484-492.
- 77) **Jerchel VD, Fischer M, Krucker K.** Zur darstellung der benzimidazole. *Ann. Chem.*, **1952**; 575: 162-173.

- 78) **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.
- 79) **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.
- 80) **Ridley HF, Spickett RGW, Timmis GM.** A new synthesis of benzimidazoles and aza-analogs. *J. Het. Chem.*, **1965**; 2(4): 453-456.
- 81) **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. *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**; 9: 2905-2919.
- 82) **Trivedi V, De SK, Gibbs A.** A convenient one-pot synthesis of 2-substituted benzimidazoles. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2006**; 245:8-11.
- 83) **Deselms RC.** Benzimidazoles I. (2-heterocyclic substituted)benzimidazoles. *J. Org. Chem.*, **1962**; 27: 2163.
- 84) **Stephens FF, Bower JD.** The preparation of benzimidazoles and benzoxazoles from Schiff bases. *Part II, J. Chem Soc.*, **1950**; 1722.
- 85) **Krbecek L, Takimoto H.** The thermal decomposition of benzyllidine-2-azidoanilines. *J. Org. Chem.*, **1964**; 29(2): 3630-3632.
- 86) **Stacy GW, Ettlign BV, Papa AJ.** Reaction of benzaldehyde with o-nitroaniline. *J.Org. Chem.*, **1964**; 26(6): 1537-1540.
- 87) **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.
- 88) **İscan MY, Büyükbingöl E, İscan M, Şahin M F, Şafak C.** Effects of 2-arylbenzimidazoles on rat hepatic microzomal monooxtgenase system. *Comp Biochem. Physiol.*, **1989**; 92C(1): 109-115.



- 89) **Paglietti G, Pirisi MA, Loriga M, Grella GE.** Preparation 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.
- 90) **Raeymaekers AHM, Van Gelder JLH, Roevens LFC, Janssen PAJ.** Synthesis and anthelmintic activity of alkyl-(5-acyl-1H-benzimidazol-2-yl)carbamates. *Arzneim.-Forsch / Drug Res.*, **1978**;28(1): 586-594.
- 91) **Ohemeng KA, Roth B.** Receptor-based design of novel dihydrofolate reductase inhibitors: benzimidazole and indole derivatives. *J. Med. Chem.*, **1991**; 34: 1383-1394.
- 92) **Chup NK, Tsupak EB, Simonov AM.** Benzimidazole derivatives. Reaction 2-aminomethylbenzimidazole and its 1-methyl derivative with nitrous acid. *Khim. Geterosikl. Soedin.*, **1970**; 10: 1393-1396.
- 93) **Lane ES.** A modified benzimidazole synthesis. *J. Chem. Soc.*, **1953**: 2238-2240.
- 94) **Thomas PR, Tyler GJ.** Some new benzimidazole derivatives. *J. Chem. Soc.*, **1957**; 52, 2197-2202.
- 95) **Partridge MW, Turner HA.** Cyclic amidines Part VII. Preparation of benzimidazoles from N'-aryl-N-hydroxyamidines. *J. Chem. Soc.*, **1958**; 2086-2092.
- 96) **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.
- 97) **Haruki E, Inaike T, Imoto E.** Some reaction of N-Haloamidines. *Bull. Chem. Japan.* **1968**; 41: 1361-1367.
- 98) **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.
- 99) **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.
- 100) **Perry RJ, Wilson B.** A novel palladium-catalyzed synthesis of 2-arylbenzimidazoles. *J. Org. Chem.*, **1993**; 58(25): 7016-7021.

- 101) **Phillips MA.** Bis-benzimidazoles. *J. Am. Chem. Soc.*, **1942**; 64:187.
- 102) **Lane ES.** A modified benzimidazole synthesis. Part II. A route to unsymmetrically substituted 2:2'-dibenzimidazoles and methylenbis-2-benzimidazoles. *J. Chem. Soc.*, **1955**; 1079-1081.
- 103) **Lane ES.** The Reactivity of the Perfluoroalkyl Groups in 2-(Perfluoroalkyl)-benzimidazoles. *J. Chem. Soc.*, **1955**; 534-539.
- 104) **Wang LL, JoϡLlie MM.** Synthesis of bis-benzimidazoles. *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**; 79: 5706-5708.
- 105) **Çakır B, Büyükbingöl E, Uçucu Ü, Abbasoğlu U, Noyanalpan N.** Benzimidazole Derivatives: bis-Benzimidazoles and Their Antifungal Activities. *Gazi Ecz. Fak. Der.*, **1986**; 5(1): 71-77.
- 106) **Rezende MC, Marques CA, Dall'Oglio EL, Zucco C.** The Reaction of Hexachloroacetone with Diamines. *Liebigs Ann./ Recueil*, **1997**; 925-929.
- 107) **Hudlicka O.** Growth of vessels-Historical Review. *Prog Appl Microcirc.* **1984**; 4: 1-8.
- 108) **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.
- 109) **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.
- 110) **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.
- 111) **Hertig AT.** Angiogenesis in the early human chorion and in the primary placenta of the macaque monkey. *Contrib Embryol.* **1935**; 25: 39-81.
- 112) **Hudlicka O., Brown M., Egginton S.** Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. *Physiol Rev.* **1992**; 72: 369-417.
- 113) **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.

- 114) **Kety SS.** The theory and applications of the exchange of inert gas as the lungs and tissues. *Pharmacol Review.* **1951**; 3: 1-41.
- 115) **Folkman J.** Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N End J Med.* **1971**; 285: 1182-1186.
- 116) **Folkman J, Merler E, Abernathy C, Williams G.** Isolation of tumor fraction responsible for angiogenesis. *J Exp Med.* **1971**; 285: 1182-1186.
- 117) **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.
- 118) **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.
- 119) **Distier O, Neidhart M, Gay RE, Gay S.** The molecular of angiogenesis. *Intern Rev Immunol.* **2002**; 21: 33-49.
- 120) **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. *Br J Plast Surg.* **2001**;54: 1-7.
- 121) **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.
- 122) **Sim BKL.** Angiostatin and endostatin: Endothelial cell-specific endogenous inhibitors of angiogenesis and tumor growth. *Angiogenesis;* **1998**; 2: 37-48.
- 123) **Losordo DW, Isner JM.** Estrogen and angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol;* **2001**; 21: 6-12.
- 124) **Cao Y, Cao R.** Angiogenesis inhibited by drinking tea. *Nature;* **1999**; 381-398.
- 125) **Jung YD, Ellis LM.** Inhibition of tumour invasion and angiogenesis by epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea. *Int J Exp Path;* **2001**; 82: 309-316.

- 126) **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.
- 127) **Folkman J.** Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med*; **1995**; 1: 27-31.
- 128) **Folberg R, Hendrix MJC, Maniotis AJ.** Vascularogenic mimicry and tumor angiogenesis. *Am J Pathol* ; **2000**; 156: 361-381.
- 129) **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. *Arthritis Rheum*; **1998**; 41: 1258-1265.
- 130) **Taylor P, Patel S, Paleolog E, McCloskey RV, Feldmann M, Maini RN.** Reduced synovial vascularity following TNF alpha blockade in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*; **1998**; 41(9): 295.
- 131) **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.
- 132) **Paleolog EM.** Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*; **2002**; 4(3): 81-90.
- 133) **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. *Br J Haematol* ; **2001**; 115: 605-608.
- 134) **Beck LS, Deguzman L, Lee WP, Xu Y, McFatrige LA, Amento EP.** TGF beta1 accelerates wound healing: reversal of steroid-impaired healing in rats and rabbits. *Growth Factors*; **1991**; 5: 295-304.
- 135) **D'amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, Folkman J.** Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci*; **1994**; 91:4082-4085.
- 136) **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.

- 137) **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.
- 138) **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.
- 139) **Rendl M, Mayer C, Weninger W, Tschachler E.** Topically applied lactic acid increases spontaneous secretion of vascular endothelial growth factor by human reconstructed epidermis. *Br J Dermatol*; **2001**; 145:3-9.
- 140) **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.
- 141) **Baffour R, Garb JL, Kaufman J, Berman J, Rhee SW, Norris Ma.** Angiogenic therapy chronically ischemic lower limb in a rabbit model. *J Surg Res*; **2000**; 93: 219-229.
- 142) **Kohn EC, Liotta La.** Molecular insights into cancer invasion: strategies for prevention and intervention. *Cancer Res.* **1995**; 55: 1856-1862.
- 143) **Ingber D, Fujita T, Kishimoto S, Sudo K.** Synthetic analogues of fumagillin that inhibit angiogenesis and suppress tumour growth. *Nature.* **1990**; 348: 555.
- 144) **Kusaka M, Sudo K, Matsutani E.** Cytostatic inhibition of endothelial cell growth by the angiogenesis inhibitor TNP-470 (AGM-1470). *Br J Cancer.* **1994**; 69: 212-216.
- 145) **Bruna MJ, Luistro L, Warriar RR.** Antitumor and antimetastatic activity of interleukin 12 against murine tumors. *J Exp Med.* **1993**; 178: 1223-1230.
- 146) **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.
- 147) **Horia A, Imadab Y, Kubob K, Kusakab M.** Novel benzimidazole derivatives selectively inhibit endothelial cell growth and suppress angiogenesis in vitro and in vivo. *Cancer Letters*, **2002**; 183(1); 53-60.
- 148) **O'Bryne 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. *European Journal of Cancer.* **1998**; 34(9): 1463-1466.

- 149) **Toole BP.** Hyaluronan and its binding proteins, the hyaladherins. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1990**; 2: 839-844.
- 150) **West DC, Hampson IN, Arnold F, Kumar S.** Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic-acid. *Science*, **1985**; 228: 1324-1326.
- 151) **West DC, Kumar S.** The effect of hyaluronate and its oligosaccharides on endothelial-cell proliferation and monolayer integrity. *Exp. Cell. Res.*, **1989**; 183: 179-196.
- 152) **Duran-Reynolds F.** Exaltation de l'activite du virus vaccinal par les extraits de certains organes. *C. R. Soc. Biol.*, **1928**; 99: 6-7.
- 153) **Fishman WH, Anlyan AJ, Gordon E.**  $\beta$ -Glucuronidase Activity in Human Tissues. Some Correlations With Processes of Malignant Growth and With the Physiology of Reproduction. *Cancer Res.*, **1947**; 7: 808-817 .
- 154) **Balazs EA, EμLer JV.** *Cancer Res.*, **1951**; 4: 326-329.
- 155) **Cobbin LB, Dicker SE.** Some characteristics of plasma and urine `hyaluronidase'. *J. Physiol. (London)*, **1962**; 163: 168-174.
- 156) **Lokeshwar VB, Rubinowicz D, Schroeder G L, Forgacs E, Minna J D, Block N L, Nadji, Lokeshwar BL.** Hyaluronidase-2 overexpression accelerates intracerebral but not subcutaneous tumor formation of murine astrocytoma cells *J. Biol. Chem.*, **2001**; 276: 11922-11932.
- 157) **Novak U, Stylli S S, Kaye A H, Lepperdinger G.** *Cancer Res.*, 1999; 59: 6246-6250.
- 158) **Patel S, Turner PR, Stubberfield C, Barry E, Rohlf CR, Stamps A, McKenzie E, Young K, Tyson K, Terrett J, Box G, Eccles S, Page MJ.** Hyaluronidase gene profiling and role of HYAL-1 overexpression in an orthotopic model of prostate cancer. *Int. J. Cancer* : 2002 ; 97, 416-424.
- 159) **Donovan J, Slingerland J.** Transforming growth factor-beta and breast cancer.: Cell cycle arrest by transforming growth factor-beta and its disruption in cancer. *Breast Cancer Res.*, **2000**; 2, 116-124.
- 160) **Wikstrom P, Bergh A, Damber JE.** Transforming growth factor-beta I and prostate cancer. *Scand. U. Urol. Nephrol.* **2000**; 34: 85-94.

- 161) **Dijke T, Miyazono P K, Heldin CH.** Signaling inputs converge on nuclear effectors in TGF-beta signaling. *Trends Biochem. Sci.*, **2000**; 25: 64-70.
- 162) **Letterio JJ, Roberts AB.** Regulation of immune responses by TGF-beta. *Annu. Rev. Immunol.*, **1998**; 16: 137-161.
- 163) **Roberts AB, Mccune BK, Sporn MB.** TGF-beta-regulation of extracellular-matrix. *Kidney Int.*, **1992**; 41: 557-559.
- 164) **Chang NS.** Hyaluronidase enhancement of TNF-mediated cell death is reversed by TGF-beta 1 *Am. J., Physiol.*, **1997**; 273: C1987- C1994.
- 165) **Nathanson MA.** Basic science and pathology-hyaluronates in developing skeletal tissues. *Clin. Orthop.*, **1990**; 25: 275-289.
- 166) **Sampson PM, Rocheste CL, Freundlich B, Elias JA.** Cytokine regulation of human lung fibroblast hyaluronan (hyaluronic-acid) production - evidence for cytokine-regulated hyaluronan (hyaluronic-acid) degradation and human lung fibroblast-derived hyaluronidase *J. Clin. Invest.*, **1992**; 90: 1492-1503.
- 167) **Stair-Nawy S, Csoka AB, Stern R.** Hyaluronidase expression in human skin fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1999**; 266: 268-273.
- 168) **Lokeshwar VB, Young MJ, Goudaarzi G, Lida N, Yudin AJ, Cherr GN, Selze MG.** Mediation of hyaluronic acid functions and signaling in endothelial cells by an HA receptor RHAMM. *Cancer Res.*, **1999**; 59: 4464-4470.
- 169) **Coppes MJ.** Serum biological markers and paraneoplastic syndromes in wilms-tumor. *Med. Pediatr. Oncol.*, **1993**; 21: 213-221.
- 170) **Stern M, Longaker MT, Adzicki NS, Harrison MR, Stern RJ.** Hyaluronidase levels in urine from Wilms' Tumor patients. *Natl. Cancer. Int.*, **1991**; 83: 1569-1574.
- 171) **Herrlich P, Zoller M, Pals ST, Ponta H.** CD44 splice variants-metastases meet lymphocytes. *Immunology Today*, **1993**; 14: 395-399.
- 172) **Tanabe KK, Nishi T, Saya H.** Novel variants of cd44 arising from alternative splicing-changes in the cd44 alternative splicing pattern of mcf-7 breast-carcinoma cells treated with hyaluronidase. *Mol. Carcinog*, **1993**; 7: 212-220.

- 173) **Madan AK, Pang Y, Wilkiemeyer MB, Yu D, Beech DJ.** Increased hyaluronidase expression in more aggressive prostate adenocarcinoma. *Oncol. Rep.*, **1999**; 6: 1431-1433 .
- 174) **Bertrand P, Girard N, Duval CC, D'Anjou J, Cahuzi C, Menard JF, Delpech B.** Increased hyaluronidase levels in breast tumor metastases. *Int. J. Cancer*, **1997**; 73,327-331.
- 175) **Lokeshwar VB, Lokeshwar BL, Pharm HT, Block NL.** Association of elevated levels of hyaluronidase, a matrix-degrading enzyme, with prostate cancer progression. *Cancer Res.*, **1996**; 56: 651-657.
- 176) **Tamakoshi K, Kikkawa F, Maeda O, Suganuma N, Yamagata S, Yamagata T, Tomoda Y.** Hyaluronidase activity in gynaecological cancer tissues with different metastatic forms. *Br. J. Cancer*, **1997**; 75: 1807-1811.
- 177) **Liu D, Pearlman E, Diaconu E, Guo K, Mori H, Haqqi T, Markowitz TS, Wilson S, Sy M-S.** Expression of hyaluronidase by tumor cells induces angiogenesis in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci.U.S.A.*, **1996**; 93: 7832-7837.
- 178) **Inberg D, Fujita T, Kishimoto S, Suda K, Kanamura T, Brem H, Folkman J.** *J. Nature(London)*, **1990**; 348: 555-557.
- 179) **Gore M, A'Hern R, Stankiewicz M, Slevin M.** Tumour marker levels during marimastat therapy. *Lancet*, **1996**; 348: 263-264.
- 180) **Fong TAT, Shawver LK, Sun L, Tang C, App H, Powell TJ, Kim YH, Schreck R, Wang, Risau W, µLlrich A, Hirth KP, McMahan G.** SU5416 is a potent and selective inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor (Flk-1/KDR) that inhibits tyrosine kinase catalysis, tumor vascularization, and growth of multiple tumor types. *Cancer Res.*, **1999**; 59: 99-106.
- 181) **Jeong SJ, Ahn NH, Kim YC, Inagaki M, Miyamoto T, Higuchi R.** Norlignans with hyaluronidase inhibitory activity from *Anemarrhena asphodeloides* *Planta Med.*, 1999; 65: 367-368.
- 182) **Trochon V, Blot E, Cymbalista F, Engelmann C, Tang RP, Thomaidis A, Vasse M, Soria J, Lu H, Soria C.** Apigenin inhibits endothelial-cell proliferation in G(2)/M phase whereas it stimulates smooth-muscle cells by inhibiting p21 and p27 expression. *Int. J. Cancer*, **2000**; 85: 691-696.



- 183) **Asada M, Sugie M, Inoue M, Nakagomi K, Hongo S, Murata K, Irie S, Takeuchi T, Tomizuka N, Oka S.** Inhibitory effect of alginic acids on hyaluronidase and on histamine release from mast cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **1997**; 61: 1030-1032.
- 184) **Sawabe Y, Nakagomi K, Iwagami S, Suzuki S, Nakazawa H.** Inhibitory effects of pectic substances on activated hyaluronidase and histamine-release from mast-cells. *Biochim. Biophys. Acta*, **1992**; 1137: 274-278.
- 185) **Toido T, Ogita Y, Suzuki A, Toyoda H, Imanari T.** Inhibition of hyaluronidase by fully O-sulfonated glycosaminoglycans *Arch. Biochem. Biophys.*, **1999**; 370: 176-182.
- 186) **Kuppusamy UR, Khoo HE, Das NP.** Structure-activity studies of flavonoids as inhibitors of hyaluronidase. *Biochem. Pharmacol.*, **1990**; 40: 397-401.
- 187) **Furuya T, Yamagata S, Shimoyama Y, Fujihara M, Morishima N, Ohtsuki K.** Biochemical characterization of glycyrrhizin as an effective inhibitor for hyaluronidases from bovine testis *Biol. Pharm. Bull.*, **1997**; 20: 973-977.
- 188) **Facino RM, Carini M, Stefani R, Aldini G, Saibene L.** Anti-elastase and anti-hyaluronidase activities of saponins and sapogenins from *hedera-helix*, *aescūLus-hippocastanum*, and *ruscus-acūLeatus*-factors contributing to their efficacy in the treatment of venous insufficiency. *Arch. Pharm.*, **1995**; 328: 720-724.
- 189) **Koda A, Nagai H, Watanabe S, Yanagihara Y, Sakamoto K.** Inhibition of hypersensitivity reactions by a new drug, N(3',4'-dimethoxycinnamoyl) anthranilic acid (N-5'). *J. Allergy Clin. Immunol.*, **1976**; 57: 396-407.
- 190) **Dirscherl W, Bergmeyer HU, Kruskemper HL.** Effects of steroid hormones on catalase preparation of different degrees of purity. *Biochemische Zeitschrift*, **1952**; 322:269-279.
- 191) **Asboe-Hansen G.** Hormonal influence on mesenchyme. *Acta Medica Scandinavica*, **1956**; 154(312): 372-375.
- 192) **Huntimer E, Halaweish F.** 38<sup>th</sup> Midwest Regional Meeting of the Am. Chem. Soc. Columbia, MO, US, November, **2003**; 5-7.
- 193) **Zimmermann K, Preinl G, Ludwig H, GreϖLich KO.** Inhibition of hyaluronidase by dextranϖLfate and its possible application in anti-cancer treatment. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **1983**; 105 (2): 189-190.

- 194) **Gümüş F, Altuntaş TG, Saygun N, Özden T, Özden S.** In vitro tuberculo-static activities of some 2-benzylbenzimidazole and 2-phenoxyethylbenzimidazole derivatives. *J. Pharm. Belg.*, **1989**; 44: 398-402.
- 195) **Algül O, Duran N.** Activity of bisbenzimidazoles derivatives to staphylococcus epidermidis. *Asian J Chem.*, **2007**; 19(4):3145-3151.
- 196) **Algül O.** Bazı 5-sübstitüe -2-hidroksimetilbenzimidazol türevlerinin platin(II) kompleksleri üzerinde çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Ankara. **1994**.
- 197) **Wagner AF, Wittreich PE, Lusi A, Folkers K.** Benzimidazoles and novel use of 2-formylbenzimidazoles in syntheses. *J Org Chem.* **1962**; 27: 3236-3239.
- 198) **Holan G, Samuel EL, Enis BC, Hinde RV.** 2-Trihalogenomethylbenzazoles. Part I formation. *J Chem Soc.* **1967**; 20-25.
- 199) **Rabiger DJ, JoϑLlie MM.** The ionization constants,  $\mu$ Ltraviolet and infrared spectra of some substituted benzimidazoles. *J Chem Soc.*, **1964**; 29:476-482.
- 200) **Thompson LK, Ramaswamy BS, Seymour EA.** Colbat(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.
- 201) **Glegg W, Lockhart JC, Musa FH.** Preparation and complexation of polydentate and macrocyclic ligands incorporation 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. *J Chem Soc Dalton Trans.*, **1986**; 47-53.

## **ÖZGEÇMİŞ**

03 Temmuz 1980 tarihinde Adana'da doğmuştur. İlkokul öğrenimini Denizli İlkokulunda (Adana), orta öğrenimini İstiklal Orta Okulunda (Adana) ve Liseyi Adana Erkek Lisesinde tamamlamıştır. 1999-2001 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Makina Mühendisliği Bölümünde okudu. 2001 yılında bu fakülteden ayrılarak Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesini kayıt yaptırdı. Aynı fakülteden 2005 yılında mezun oldu. 2005 yılından buyana Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimini sürdürmektedir. Aynı zamanda Adana'da Utku Eczanesinin sahibi ve mesul müdürüdür.