



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



BAZI YENİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN SENTEZİ YAPI AYDINLATMALARI, ANTİKANSER ETKİ VE BİLGİSAYAR DESTEKLİ TASARIM ÇALIŞMALARI

Özüm ÖZTÜRK

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Esin AKI-YALÇIN**

**ANKARA
2019**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI YENİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN SENTEZİ,
YAPI AYDINLATMALARI, ANTİKANSER ETKİ VE
BİLGİSAYAR DESTEKLİ TASARIM ÇALIŞMALARI**

Özüm ÖZTÜRK

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Esin AKI-YALÇIN**

**ANKARA
2019**

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum ‘Bazı Yeni Heterosiklik Bileşiklerin Sentezi, Yapı Aydınlatmaları, Antikanser Etki ve Bilgisayar Destekli Tasarım Çalışmaları” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Özüm ÖZTÜRK

Tarih: 14/03/2019

İmza:



İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. DNA Topoizomeraz Enzimleri	6
1.2. Topoizomeraz II Enzimleri	9
1.3. Topoizomeraz II İnhibitörleri	13
1.3.1. Topoizomeraz II Zehirleri	13
1.3.2. Katalitik İnhibitörler	19
1.4. Antitümör Etkili Benzimidazol Türevleri	23
1.5. Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri	39
1.6. Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	44
1.6.1. Açillenmiş o-nitroarilaminlerden hareketle	44
1.6.2. o-Fenilendiaminler ile karboksilik asitler, asit anhidritleri , esterler ya da amidlerden hareketle	45
1.6.3. o-Fenilendiamin ile nitrillerden hareketle	46
1.6.4. o-Fenilendiamin ile iminoeterlerden hareketle	46
1.6.5. o-Fenilendiamin ile aldehit ya da ketonlardan hareketle	47
1.7. Moleküler Modelleme Yöntemleri	54
1.7.1. Doking Yöntemi (Reseptör Tabanlı Tasarım)	55
1.7.1.1. Gold Doking Metodu	56
1.7.2. Farmakofor Analizleri (Ligand Tabanlı Tasarım)	57
1.7.2.1. Kimyasal Özellik Tabanlı Farmakofor Model	58
2. GEREÇ VE YÖNTEM	60
2.1.Elde Edilen Bileşiklerin Sentez, Saflaştırma İşlemleri ve Yapı Analizlerinde Kullanılan Gereçler	60
2.1.1. Sentez, Saflaştırma ve Analiz İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler	60
2.2. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez ve Saflaştırma Yöntemleri	61
2.2.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi	62
2.2.2. Elde Edilen 2-(4-Sübstütüefenil)-N-(3/4-sübstütüefenil)-1H-benzo[d]imidazol -5-karboksamid Türevi Bileşiklerinin Sentezi, Reaksiyon Denklemleri ve Saflaştırma Yöntemleri	62
2.2.3. Elde Edilen 2-(4-Sübstütüefenil)-N-(3/4-sübstütüefenil)-1H-benzo[d]imidazol -5-karbohidrazid Türevi Bileşiklerinin Sentezi, Reaksiyon Denklemleri ve Saflaştırma Yöntemleri	63
2.3. Elde Edilen Bileşiklerin Yapı Analiz Yöntemleri	64
2.3.1. Sentezlenen Bileşiklerin 1H-NMR Spektral Analizleri	64
2.3.2. Sentezlenen Bileşiklerin Kütle Spektral Analizleri	65
2.3.3. Sentezlenen Bileşiklerin Elemental Analizleri	65
2.3.4. Erime Noktası Analizleri	65
2.4. Elde Edilen Bileşiklerin Sitotoksik Etki Tayini Yöntemleri	65
2.4.1. MTT Testi Protokolü ve MTT çözeltisinin hazırlanışı	66

2.4.2. 96 Kuyucuklu Mikroplakalarda Hücre Kültürlerinin Hazırlanması	67
2.4.3. MTT Deneyinin Yapılışı	68
2.5. Elde Edilen Bileşiklerin Topoizomerez II Enzimi Üzerinden Gerçekleştirilen Moleküler Modelleme Çalışmaları	68
2.5.1. Topoizomerez II α ve β Enzimleri ile Yapılan Moleküler Doking Çalışmaları	68
2.5.2. Farmakofor Modelleme Çalışmaları	74
3. BULGULAR	76
3.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez ve Analiz Bulguları	76
3.1.1. 2-fenil-N-(4-klorofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1a)	76
3.1.2. 2-fenil-N-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1b)	79
3.1.3. N-(4-klorofenil)-2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1c)	82
3.1.4. N-(4-metoksifenil)-2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1d)	85
3.1.5. N-(4-(triflorometil)fenil)-2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1e)	88
3.1.6. N,2-bis(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1f)	91
3.1.7. N-(4-klorofenil)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1g)	94
3.1.8. N-(4-hidroksifenil)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1h)	97
3.1.9. N-(4-bromofenil)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1i)	100
3.1.10. N-(3-metoksifenil)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1j)	103
3.1.11. N-(4-klorofenil)-2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1k)	106
3.1.12. N-(4-hidroksifenil)-2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1l)	109
3.1.13. N-(4-metoksifenil)-2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1m)	113
3.1.14. N-(3-metoksifenil)-2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1n)	116
3.1.15. N-(4-metoksifenil)-2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1o)	120
3.1.16. N-(3-nitrofenil)-2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1p)	123
3.1.17. N-(4-klorofenil)-2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1r)	126
3.1.18. N-(4-nitrofenil)-2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2a)	128
3.1.19. 2-(4-Metoksifenil)-N'-(4-nitrofenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2b)	131
3.1.20. N-(4-bromofenil)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2c)	134
3.1.21. N-(4-klorofenil)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2d)	137
3.1.22. N-(4-klorofenil)-2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2e)	140
3.1.23. N-(4-bromofenil)-2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2f)	143
3.1.24. N,2-bis(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2g)	146
3.2. Elde Edilen Bileşiklerin Gözlenen Sitotoksik Etkileri	149
3.3. Elde Edilen Bileşiklerin Topoizomerez II Enzimi Üzerine Moleküler Etkileşme Dinamiklerinin İncelenmesi	150
3.3.1. Moleküler Doking Çalışmaları	150
3.3.2. Farmakofor çalışmaları (Ligand Tabanlı Farmakofor Oluşturma Yöntemi)	160
3.3.3. Bileşiklere ait Fizikokimyasal Özelliklerin İncelenmesi	162
3.3.3.1. Lipinski Kuralları	171
3.3.3.2. Veber Kuralları	172
4. TARTIŞMA	174
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	180
ÖZET	183
SUMMARY	184
KAYNAKLAR	185
ÖZGEÇMİŞ	201

ÖNSÖZ

Son on yılda kanser araştırmalarında büyük bir artış yaşanmıştır. Dünyanın her yerinde araştırmacılar tümör büyümesini engelleyecek yeni moleküler hedefler belirlemeye çalışmaktadırlar. Antikanser araştırma için birçok hedef bulunmaktadır ve bunlardan biri de topoziomeraz enzimleridir. Bu amaç doğrultusunda, bu tez çalışmasında, yeni 5. konumunda karboksamid ve karbohidrazid yapıları taşıyan benzimidazol türevi bileşiklerin tasarlanması, sentezlenmesi, yapılarının aydınlatılması ve gelişen dirence karşı etkilerini incelenmesi doğrultusunda araştırmalar planlanmıştır.

Tezimin hazırlanmasında ve çalışmalarım sırasında destek ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimleriyle bana her zaman yol gösteren, sadece bilimsel yaşantımda değil her konuda desteğini yakından hissettiğim, tez danışmanım sevgili hocam Sayın Prof. Dr. Esin AKI-YALÇIN'a sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında bana rahat bir çalışma ortamı sağlayan Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Dekanı Sayın Prof. Dr. Gülbin ÖZÇELİKAY'a; Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Önceki Dönem Başkanı Sayın Prof. Dr. Hakan GÖKER'e; Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gülgün AYHAN-KILCIGİL'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında bana her zaman destek olan, yol gösteren, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan hocam Sayın Prof. Dr. İsmail YALÇIN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Aletsel Analiz çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Hakan GÖKER'e ve elementel analiz çalışmaları sırasında yardımlarını aldığım Dr. Ecz. Mehmet ALP'e teşekkürlerimi sunarım.

Antikanser aktivite çalışmaların yapılmasında yardımcı olan Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalından Doç. Dr. Özlem Özakpınar-BİNGÖL'e teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman ilgi ve desteklerini gördüğüm A.Ü.E.F. Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi hocalarıma, Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans ve doktora öğrencisi olan arkadaşlarıma ve tüm Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Hem doktora eğitimim boyunca sağladığı burs ile, hem de moleküler modelleme çalışmalarının UNSW School of Medicine (Sidney-Avustralya)'da yapılması için sağladığı bursla bana destek olan TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı'na teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde en büyük emeğin sahibi olan, desteklerini her zaman arkamda hissettiğim anne ve babama sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER ve KISALTMALAR

5-FU	5-Floro urasil
A	Adenin
ABCG2	ATP-Bağlayıcı Kaset Süperailesi G üye 2
ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
C	Sitozin
CTD	C Terminal uç
DMF	Dimetilformamid
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)
G	Guanin
GHL	Giraz, HSP90, histidin kinaz,mutL süperailesi
NTD	N Terminal uç
PARP	poli ADP riboz polimeraz
PBS	Steril fosfat tamponu
PPA	Polifosforik asit
SDS	Sodyum dodesil sülfat
T	Timin
TOPRIM	TOpoizomeraz/PRIMaz
WHD	Kanatlı Heliks Alanı (Winged Helix Domain)

ŞEKİLLER

Şekil 1.1 Benzimidazol	2
Şekil 1.2 Adenin	2
Şekil 1.3 Guanin	2
Şekil 1.4. Benzimidazol ana yapısı içeren ilaçlar	4
Şekil 1.5. Hoechst 33258 ve 33342	4
Şekil 1.6. 5-metilkarboksilat-2-feniltiyometilbenzimidazol	5
Şekil 1.7. Topoizomerazlar tarafından katalizlenen reaksiyonlar	8
Şekil 1.8. Topoizomeraz II enziminin aktif tirozin kalıtısı ile, DNA fosfodiester omurgasına 5' ucundan atağı.	9
Şekil 1.9. Topoizomeraz II enziminin katalitik döngüsü	10
Şekil 1.10. (a) Topo IIα'nın birincil yapısı. (b) İki çentikli 30 baz çiftlik DNA substratının şematik gösterimi.	11
Şekil 1.11. İnsan topo IIα DNA bağlanma ve kırılma geçidinin DNA'ya bağlanmış halde yapısı	12
Şekil 1.12. İki doksorubisin molekülünün DNA bazları arasına interkale olması	14
Şekil 1.13. Bilinen bazı topoizomeraz II inhibitörlerinin kimyasal yapısı	16
Şekil 1.14. Etopozid (solda) ve taflupozidin (sağda) kimyasal yapısı	17
Şekil 1.15. Topoizomeraz II enzim-DNA kompleksinde etopozid (sarı) bağlanma bölgesi	18
Şekil 1.16. QAP1 kimyasal yapısı	20
Şekil 1.17. ICRF-187'nin kimyasal yapısı	21
Şekil 1.18. NK314 bileşiğinin yapısı	22
Şekil 1.19. Flubendazol	24
Şekil 1.20. Nokodazol	24
Şekil 1.21. 2-[(R)-2-metilpirrolidin-2-il]-1H-benzimidazol-4-karboksamit	25
Şekil 1.22. 2-(fenoksimetil)-1H-benzimidazol (bileşik 17)	26
Şekil 1.23. Metil 2-(4-floro-3-nitrofenil)-1H benzimidazol-5-karboksilat (bileşik 5a)	27
Şekil 1.24. 4h bileşiği	28
Şekil 1.25. 1-(2-klorofenil)-1,2,3,4-tetrahidrobenzo[4,5]imidazo[1,2-d][1,2,4]triazin bileşiği	29
Şekil 1.26. STK295900'ın kimyasal yapısı	30
Şekil 1.27. Bileşik 1'in kimyasal yapısı	31
Şekil 1.28. 5j-l bileşiklerinin kimyasal yapısı	32
Şekil 1.29. CMP, CHP ve CBM bileşiklerinin kimyasal yapıları	32
Şekil 1.30. N-süstitüe amidino-1-hidroksi benzimidazol türevleri	33
Şekil 1.31. MH1'in kimyasal yapısı	34
Şekil 1.32. 2-Kloro-N-(2-p-tolil-1H-benzimidazol-5-il)asetamid (5a) bileşiği	34
Şekil 1.33. Bileşik 3R, 9R ve 17b(E)'nin kimyasal yapısı	35
Şekil 1.34. (R)-21c'nin kimyasal yapısı	36
Şekil 1.35. Bileşik 4b'nin kimyasal yapısı	36
Şekil 1.36. 7a ve 7n bileşiklerinin kimyasal yapısı	37
Şekil 1.37. 17n-q bileşiklerinin kimyasal yapısı	37

Şekil 1.38. 8g ve 8j bileşiklerinin kimyasal yapısı	38
Şekil 1.39. Benzimidazol	40
Şekil 1.40. Benzimidazolün imino hidrojeni ile piridin azotunun hidrojen bağı.	41
Şekil 1.41. 3-Nitro-4-asetamido-benzoik asit ve 4-nitro-3-asetamido benzoik asitin redüksiyonu ile benzimidazol eldesi.	42
Şekil 1.42. 2,5-Dimetilbenzimidazolün metiliyodür ile reaksiyonu	42
Şekil 1.43. Simetri düzlemine sahip benzimidazol yapılarından 4,7-dimetilbenzimidazol	43
Şekil 1.44. 2-Kloro-1-(2-etoksietil)- 4-metoksi-1 <i>H</i> -benzimidazol ve 2-kloro-1-(2-etoksietil)-7-metoksi-1 <i>H</i> -benzimidazol sentezi	43
Şekil 1.45. Açillenmiş o-nitroarilaminlerden hareketle benzimidazol sentezi	44
Şekil 1.46. Açillenmiş o-nitroarilaminlerden hareketle benzimidazol sentezi	45
Şekil 1.47. 2,5(2,6)-dimetil benzimidazol sentezi	45
Şekil 1.48. o-Fenilendiamin ile karboksilik asitlerden hareketle benzimidazol sentezi	46
Şekil 1.49. o-Fenilendiamin ile karboksilik asitlerden hareketle benzimidazol sentezi	46
Şekil 1.50. o-Fenilendiamin ile karboksilik asitlerden hareketle benzimidazol sentezi	47
Şekil 1.51. o-Fenilendiamin ile karboksilik asitlerden hareketle benzimidazol sentezi	47
Şekil 1.52. o-Fenilendiamin ile nitrillerden hareketle benzimidazol sentezi	48
Şekil 1.53. o-Fenilendiaminler ile iminoeterlerden hareketle benzimidazol sentezi	49
Şekil 1.54. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi	49
Şekil 1.55. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi	49
Şekil 1.56. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi	50
Şekil 1.57. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi	50
Şekil 1.58. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi	51
Şekil 1.59. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi	51
Şekil 1.60. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi	52
Şekil 1.61. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile 1,2-disübstitüe benzimidazol sentezi	52
Şekil 1.62. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi	53
Şekil 1.63. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi	53
Şekil 1.64. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi	53
Şekil 1.65. Rasyonel ilaç etken madde tasarım yöntemleri	55
Şekil 1.1. 2-(4-sübstitüe fenil)-benzimidazol-5-karboksilik türevlerinin sentezi şeması	62
Şekil 1.2. 2-(4-Sübstitüefenil)-N-(3/4-sübstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-5-karboksamid türevlerinin sentez şeması	63
Şekil 1.3. N'-(4-sübstitüefenil)-2-(4-sübstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzimidazole-5-karbohidrazid türevlerinin sentez şeması.	64
Şekil 2.4. Topo IIa ve topo IIβ'nin bağlanma yöresi kalıntılarının sekans analizi	69
Şekil 2.5. Topo IIa'ya karşı selektif moleküller tarafından hedeflenebilecek muhtemel kalıntılar	70
Şekil 2.6. Topo IIa ve topo IIβ'nin konformasyonlarının üst üst çakıştırılarak gösterimi (solda). Tenipozidin tiyenil grubu ile Ser800 kalıntısına yaklaşması (sağda).	71
Şekil 1.7. 5GWK ve 3QX3 enzimlerinde belirlenen küre şeklindeki alanların koordinatları ve çapı	72
Şekil 2.8. Referans ligandlar (mor) ve doking sonucu elde edilen konformasyonların üst üste çakıştırılmış görüntüsü	73
Şekil 1.9. Farmakofor model 1 için kullanılan çalışma serisi	74

Şekil 2.10. HipHop çalışması sonucu uygun bulunan farmakofor model 1 (solda) ve farmakofor modelde yer alan özelliklerin birbirinden uzaklıkları (sağda)	75
Şekil 2.11. Çalışma setindeki bileşiklerin farmakofor model 1 ile iki boyutlu (solda) ve 3 boyutlu olarak (sağda) haritalanması.	75
Şekil 3.1. 1a Bileşiğinin Kütle Spektrumu	77
Şekil 3.2. 1a Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	78
Şekil 3.3. 1a Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	78
Şekil 3.4. 1b Bileşiğinin Kütle Spektrumu	80
Şekil 3.5. 1b Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	80
Şekil 3.6. 1b Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	81
Şekil 3.7. 1c Bileşiğinin Kütle Spektrumu	83
Şekil 3.8. 1c Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	83
Şekil 3.9. 1c Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	84
Şekil 3.10. 1d Bileşiğinin Kütle Spektrumu	86
Şekil 3.11. 1d Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	86
Şekil 3.12. 1d Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	87
Şekil 3.13. 1e Bileşiğinin Kütle Spektrumu	89
Şekil 3.14. 1e Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	89
Şekil 3.15. 1e Bileşiğinin ¹ H-NMR/COSY Spektrumu	90
Şekil 3.16. 1f Bileşiğinin Kütle Spektrumu	92
Şekil 3.17. 1f Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	92
Şekil 3.18. 1f Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	93
Şekil 3.19. 1g Bileşiğinin Kütle Spektrumu	95
Şekil 3.20. 1g Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	95
Şekil 3.21. 1g Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	96
Şekil 3.22. 1h Bileşiğinin Kütle Spektrumu	98
Şekil 3.23. 1h Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	98
Şekil 3.24. 1h Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	99
Şekil 3.25. 1i Bileşiğinin Kütle Spektrumu	101
Şekil 3.26. 1i Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	101
Şekil 3.27. 1i Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	102
Şekil 3.28. 1i Bileşiğinin Kütle Spektrumu	104
Şekil 3.29. 1i Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	104
Şekil 3.30. 1i Bileşiğinin ¹ H-NMR/COSY Spektrumu	105
Şekil 3.31. 1i Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	105
Şekil 3.32. 1k Bileşiğinin Kütle Spektrumu	107
Şekil 3.33. 1k Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	107
Şekil 3.34. 1k Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	108
Şekil 3.35. 1l Bileşiğinin Kütle Spektrumu	110
Şekil 3.36. 1l Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	110
Şekil 3.37. 1l Bileşiğinin ¹ H-NMR/COSY Spektrumu	111
Şekil 3.38. 1l Bileşiğinin ¹ H-NMR/NOESY Spektrumu	111
Şekil 3.39. 1l Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	112

Şekil 3.40. 1m Bileşiğinin Kütle Spektrumu	114
Şekil 3.41. 1m Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	114
Şekil 3.42. 1m Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	115
Şekil 3.43. 1n Bileşiğinin Kütle Spektrumu	117
Şekil 3.44. 1n Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	118
Şekil 3.45. 1n Bileşiğinin ¹ H-NMR/COSY Spektrumu	118
Şekil 3.46. 1n Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	119
Şekil 3.47. 1o Bileşiğinin Kütle Spektrumu	121
Şekil 3.48. 1o Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	121
Şekil 3.49. 1o Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	122
Şekil 3.50. 1p Bileşiğinin Kütle Spektrumu	124
Şekil 3.51. 1p Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	124
Şekil 3.52. 1p Bileşiğinin ¹ H-NMR/COSY Spektrumu	125
Şekil 3.53. 1p Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	125
Şekil 3.54. 1r Bileşiğinin Kütle Spektrumu	127
Şekil 3.55. 1r Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	127
Şekil 3.56. 2a Bileşiğinin Kütle Spektrumu	129
Şekil 3.57. 2a Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	129
Şekil 3.58. 2a Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	130
Şekil 3.59. 2b Bileşiğinin Kütle Spektrumu	132
Şekil 3.60. 2b Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	132
Şekil 3.61. 2b Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	133
Şekil 3.62. 2c Bileşiğinin Kütle Spektrumu	135
Şekil 3.63. 2c Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	135
Şekil 3.64. 2c Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	136
Şekil 3.65. 2d Bileşiğinin Kütle Spektrumu	138
Şekil 3.66. 2d Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	138
Şekil 3.67. 2d Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	139
Şekil 3.68. 2e Bileşiğinin Kütle Spektrumu	140
Şekil 3.69. 2e Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	140
Şekil 3.70. 2e Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	141
Şekil 3.71. 2f Bileşiğinin Kütle Spektrumu	143
Şekil 3.72. 2f Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	143
Şekil 3.73. 2f Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	144
Şekil 3.74. 2g Bileşiğinin Kütle Spektrumu	146
Şekil 3.75. 2g Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	146
Şekil 3.76. 2g Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	147
Şekil 3.77. a. 1c Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 1c Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	153
Şekil 3.78. a. 1d Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 1d Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	153
Şekil 3.79. a. 1f Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 1f Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	154

Şekil 3.80. a. 1g Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 1g Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	154
Şekil 3.81. 1g nolu bileşiğin topo II α enzim-DNA kırığı içindeki görüntüsü	155
Şekil 3.82. 1g nolu bileşiğin topo II α -DNA kırığı içindeki görüntüsü	155
Şekil 3.83. a. 1h Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 1h Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	156
Şekil 3.84. a. 1i Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 1i Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.	156
Şekil 3.85. a. 1k Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 1k Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	157
Şekil 3.86. 1k nolu bileşiğin topo II α enzim-DNA kırığı içindeki görüntüsü	157
Şekil 3.87. 1k nolu bileşiğin topo II α -DNA kırığı içindeki görüntüsü	158
Şekil 3.88. a. 1l Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 1l Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	158
Şekil 3.89. a. 1m Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	159
b. 1m Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	
Şekil 3.90. a. 1n Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	159
b. 1n Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	
Şekil 3.91. a. 1p Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 1p Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	160
Şekil 3.92. 1p nolu bileşiğin topo II α enzim-DNA kırığı içindeki görüntüsü	160
Şekil 3.93. 1p nolu bileşiğin topo II α -DNA kırığı içindeki görüntüsü	161
Şekil 3.94. a. 1r Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 1p Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	161
Şekil 3.95. 1r nolu bileşiğin topo II α enzim-DNA kırığı içindeki görüntüsü	162
Şekil 3.96. 1r nolu bileşiğin topo II α -DNA kırığı içindeki görüntüsü	162
Şekil 3.97. a. 2a Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 2a Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	163
Şekil 3.98. a. 2b Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 2b Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	163
Şekil 3.99. a. 2d Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 2d Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	164
Şekil 3.100. a. 2e Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 2e Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	164
Şekil 3.101. 2e nolu bileşiğin topo II α enzim-DNA kırığı içindeki görüntüsü	165
Şekil 3.102. 2e nolu bileşiğin topo II α -DNA kırığı içindeki görüntüsü	165
Şekil 3.103. a. 2f Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 2f Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	166
Şekil 3.104. a. 2g Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi	
b. 2g Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri	166
Şekil 3.105. 2g nolu bileşiğin topo II α enzim-DNA kırığı içindeki görüntüsü	167
Şekil 3.106. 2g nolu bileşiğin topo II α -DNA kırığı içindeki görüntüsü	167
Şekil 3.107. Farmakofofor 1	169



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşikler	5
Çizelge 1.2. 2,5-disübstittüe benzimidazol türevleri ve topoizomerez II'ye karşı gösterdikleri aktiviteleri	25
Çizelge 1.3. 2-aril-sübsittittüe 2-bis-1H-benzimidazollerin ve sitotoksik aktiviteleri	27
Çizelge 1.4. 2-(fenilthiometil)-1H-benzimidazol türevleri ve sitotoksik aktiviteleri	28
Çizelge 1.5. 2-(fenil)-3H-benzimidazol-5-karboksilik asit/metil ester türevleri ve sitotoksik aktiviteleri	30
Çizelge 2.1. Doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşikler	61
Çizelge 2.2. Farmakofor model 1 çalışmasında kullanılan ve elde edilen değerler	75
Çizelge 3.1. Sentezlenen bileşiklerin ve kullanılan standartın gözlenen <i>in vitro</i> sitotoksite değerleri	149
Çizelge 3.2. Topoizomerez IIa üzerinde yapılan doking çalışması sonucu bileşiklerin bulunan doking skorları, H bağları ve pi etkileşimleri	151
Çizelge 3.3. Topoizomerez IIβ üzerinde yapılan doking çalışması sonucu bileşiklerin bulunan doking skorları, H bağları ve pi etkileşimleri	152
Çizelge 3.4. Sentezlenen bileşiklerin Farmakofor model 1'e uyum değerleri	168
Çizelge 3.5. Sentezlenen bileşiklerin Lipinski kuralına uyumluluklarının değerlendirilmesi	172
Çizelge 3.5. Sentezlenen bileşiklerin Veber kuralına uyumluluklarının değerlendirilmesi	173

1. GİRİŞ

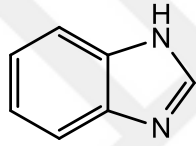
Kanser, dünya nüfusunun geniş bir çoğunluğunu etkileyen önemli sağlık tehditlerinden biridir. Yapılan çalışmalara ve kaydedilen gelişmelere rağmen kanser dünyada kardiyovasküler hastalıklardan sonra ölümlerin en büyük sebebidir. Bu yüzden antikanser terapisi alanındaki araştırmalar son yıllarda gittikçe artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre kanser, 2018 yılı içindeki tahmini 9.6 milyon ölümden sorumludur ve küresel olarak, yaklaşık 6 ölümden 1'i kanserden kaynaklanmaktadır. 2030 yılından önce kanser yüzünden meydana gelen ölümlerin 13.1 milyona yükselmesi beklenmektedir.

Ana kanser türleri arasında akciğer, mide, karaciğer, kolorektal, meme ve rahim ağzı kanseri bulunur. Bununla birlikte, en sık görülen kanser türleri kadın ve erkekler arasında farklılık gösterir. Kanserler, vücudun hemen hemen her kısmını etkileyebilir ve anormal genetik materyale sahip hücrelerin kontrolsüz çoğalmasından kaynaklanabilir, normal sınırların dışında büyümeye, sağlıklı dokunun yayılmasına ve hastaların %90'ında ölümlere neden olan diğer organlara (metastaz) yayılmasına neden olur. Kanser sağkalım oranları kanser türüne bağlıdır ve %2 ile 95 arasındadır. Sağkalım şansı yüksek olan kanser türleri arasında testis kanseri (% 95 sağkalım), melanom (%78 - 90 sağkalım) ve meme kanseri (%79 hayatta kalma) varken, yemek borusu, akciğer veya pankreatik kanser gibi diğer tipler ise hayatta kalma şansının çok az olduğunu görülmektedir (%10'un altında). Bu nedenle yeni kanser tedavilerinin gelişimi önemli bir araştırma konusudur.

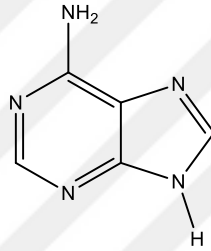
Antikanser aktivitenin etki mekanizmalarından biri DNA topoizomeraaz enziminin inhibisyonudur. Topoizomeraaz enzimleri ve inhibitörleri son yıllarda kanser

tedavisi için önemli hedefler haline gelmişlerdir. Topoizomerazlar DNA sarmalındaki iplikçikler üzerinde kırıklar meydana getirir. Bu kırıkların tekrar birleştirilmesi topoizomeraz enzim inhibitörleri tarafından engellendiğinde hücre ölümü ve apoptozis meydana gelir (Nitiss, 2009).

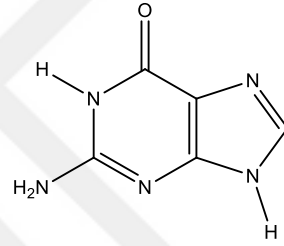
Benzimidazol yapısı taşıyan türevlerin kemoterapötik aktivitelerinin kayda değer nitelikte olması nedeniyle bu amaçla yürütülen çalışmalarda oldukça önemli rol oynamaktadır. Benzimidazol (Şekil 1.1) halka sistemleri, nükleik asitlerin yapısında yer alan pürin bazlarından adenin (Şekil 1.2) ve guaninin (Şekil 1.3) halka eşdeğerleri olarak organizmadaki biyopolimerlerle kolay etkileşebilmesi bakımından önemli halka sistemleri olarak değerlendirilmektedir (Vinson, Cermakova ve ark., 2006).



Şekil 1.1 Benzimidazol



Şekil 1.2 Adenin

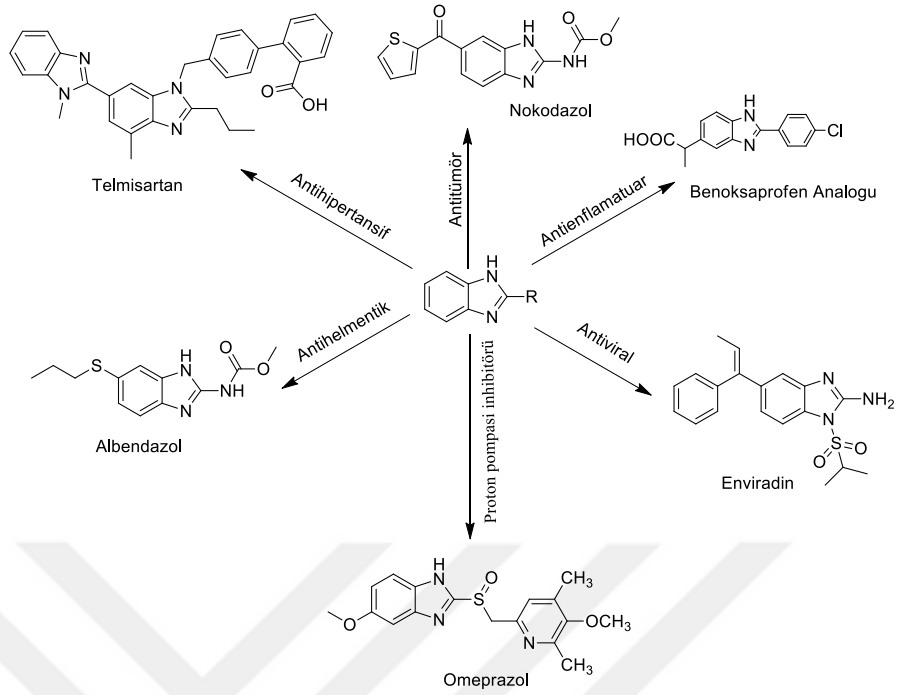


Şekil 1.3 Guanin

Benzimidazol çekirdeği etrafında çeşitli süstitüsyonlar geniş bir biyolojik aktivite spektrumu sağlar. Benzimidazol halka yapısı taşıyan bileşiklerin, antiparaziter (McKellar ve Scott, 1990), proton pompa inhibitörü (Iwahi, Satoh ve ark., 1991), antimikrobiyal (Yalçın, Ören ve ark., 1992; Göker, Özden ve ark., 2005; Holloway, Baell ve ark., 2007), antifungal (Kerimov, Ayhan-Kilcigil ve ark., 2007; Göker, Alp ve ark., 2009), antitumoral (Pinar, Yurdakul ve ark., 2004; Mariana and Mercedes 2005; Gowda, Kavitha ve ark., 2009; Moriarty, Carr ve ark., 2010), antiviral (Akbay, Ören ve ark., 2003; Fonseca, Gigante ve ark., 2004) ve antienflamatuvar (Sabat, VanRens ve ark., 2006; Gaba, Gaba ve ark., 2015) etki açısından kayda değer sonuçlar veren bileşikler olduğu saptanmıştır.

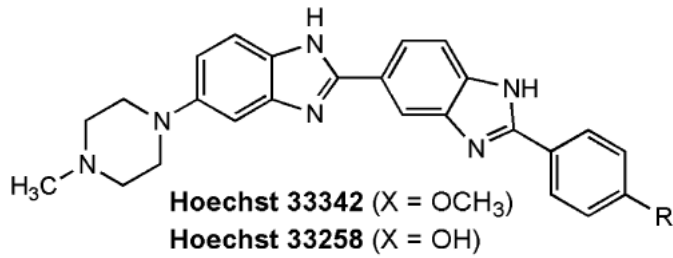
Günümüze kadar yapılan araştırmalar, bu halka sistemlerinin en fazla 2. konumundan sübstitüe edildiğini ortaya koymaktadır. Bu konumdaki gruplar etkiyi yönlendirirken; diğer konumlardaki grupların ise, etki şiddetinde rol oynadığı düşünülmektedir (Yalçın, Ören ve ark., 1992; Ören, Temiz ve ark., 1999; Pedini, Alunni Bistocchi ve ark., 1999; Yadav ve Ganguly, 2015).

Günümüzde klinikte kullanılan albendazol, flubendazol, omeprazol, lansoprazol, telmisartan, nokodazol benzimidazol ana yapısı taşıyan bileşiklerdir (Şekil 1.4). Albendazol, flubendazol ve mebendazol benzimidazol ana yapısı taşıyan ve paraziter hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlardır (McKellar ve Scott, 1990). Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalar flubendazol ve mebedazolun antikanser etkileri olduğu bulunmuştur. Omeprazol, lansoprazol, pantoprazol gibi pek çok proton pompası inhibitörü yapısında benzimidazol halkası taşır (Yadav ve Ganguly, 2015). Enviroksim ve enviradin 2-aminobenzimidazol yapısında klinikte antiviral etki için kullanılan ajanlardır (Heinz ve Vance, 1995; Gaba ve Mohan, 2016). Anjiyotensin II reseptör blokörü olan ve klinikte antihipertansif olarak kullanılan telmisartan ve kandesartan sileksetil benzimidazol türevi ilaçlardır (Wienen, Entzeroth ve ark., 2006; Bao, Zhu ve ark., 2017). Bir benzimidazol türevi olan bendamustin, klinikte kanser tedavisinde alkileyici ajan olarak diğer kematerapötik ilaçlar ile kombine halde kullanılır (Dilip, Tai-Lin ve ark., 2017; Liu, Qin ve ark., 2018). Pimobendan, benzimidazol ve piridazin halkası taşıyan kardiyotonik bir ajandır (Verdouw, Hartog ve ark., 1986). Bir nonsteroidal antienflamatuar ilaç olan benzoksazolasetik asit yapısındaki benoksaprofenin benzimidazol halkası taşıyan analogları da klinikte aynı amaçla kullanılmaktadır (Bansal ve Silakari, 2012).



Şekil 1.4. Benzimidazol ana yapısı içeren ilaçlar.

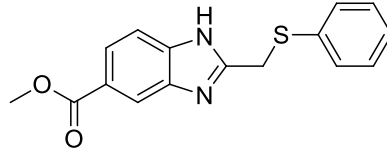
Benzimidazol halkası taşıyan antitümör etkili Hoechst 33258 ve 33342 (Şekil 1.5) kodlu bileşiklerin yapılan çalışmalarla aynı zamanda DNA topoizomeraz I inhibitörü oldukları gösterilmiştir (Chen, Yu ve ark., 1993). Bu bilgiler ışığında, benzimidazol türevleri DNA topoizomeraz inhibitörü yeni antikanser ajanların keşfi için önemli bir sınıf olarak öne çıkmıştır.



Şekil 1.5. Hoechst 33258 ve 33342.

2004 yılında yapılan bir çalışmada 2,5-süstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin topoizomeraz II enzimi inhibitörü olarak güçlü antitümoral etki göstermesi benzotiyazol halka sisteminin önemini arttırmaktadır. Bu bileşiklerden 5-

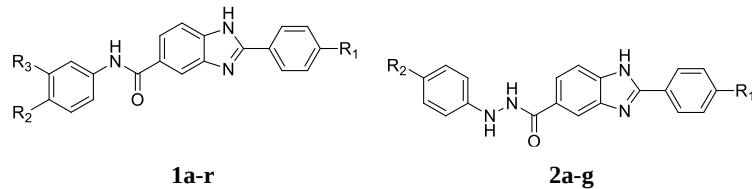
metilkarboksilat-2-feniltiyometilbenzimidazol (Şekil 1.6) referans ilaç olarak kullanılan etopositten bile daha etkili olduğu görülmüştür (Pinar, Yurdakul ve ark., 2004).



Şekil 1.6. 5-metilkarboksilat-2-feniltiyometilbenzimidazol.

Yapılan tüm bu çalışmaların ışığında, benzimidazol halka sistemini içeren bileşiklerin topoizomerez enzimini inhibe ederek kuvvetli antikanser aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. Yüksek lisans çalışmaları sırasında moleküler modelleme yöntemleri kullanılarak topoizomerez enzimi inhibitörü bileşikler tasarlanma çalışmaları yapılmış ve en etkili türevlerin 5. konumunda karboksamid ve karbohidrazid taşıyan 2,5-disüstitüe benzimidazol türevleri olduğu görülmüştür. Bu çalışmadan yola çıkılarak doktora tezi kapsamında tümü benzimidazol halka yapısı taşıyan 17 tanesi 5-karboksamid türevi (**1a-r**) ve 7 tanesi (**2a-g**) 5-karbohidrazid türevi toplam 24 sonuç ürün (Çizelge 1.1) sentezlenmiş, sentezlenen bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, Kütle ve Elementel Analiz yöntemleri kullanılarak aydınlatılmış, sitotoksik etkileri gözlenmiş ve gerçekleştirilen moleküler modelleme çalışmaları sonucunda sentezlenen bileşiklerin topoizomerez IIα enzimi üzerindeki etkileşme dinamikleri moleküler doking ve farmakofor modeli çalışmaları yürütülerek incelenmiştir.

Çizelge 1.1. Doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşikler.



	R ₁	R ₂	R ₃		R ₂	R ₁
1a	-H	-Cl	-H	2a	-NO ₂	-OH
1b	-H	-OCH ₃	-H	2b	-NO ₂	-OCH ₃
1c	-OH	-Cl	-H	2c	-Br	-OCH ₃

1d	-OH	-OCH ₃	-H	2d	-Cl	-OCH ₃
1e	-OH	-H	-CF ₃	2e	-Cl	-CH ₃
1f	-OCH ₃	-OCH ₃	-H	2f	-Br	-CH ₃
1g	-OCH ₃	-Cl	-H	2g	-Br	-Br
1h	-OCH ₃	-OH	-H			
1i	-OCH ₃	-Br	-H			
1j	-OCH ₃	-H	-OCH ₃			
1k	-CH ₃	-Cl	-H			
1l	-CH ₃	-OH	-H			
1m	-CH ₃	-OCH ₃	-H			
1n	-CH ₃	-H	-OCH ₃			
1o	-Br	-OCH ₃	-H			
1p	-Br	-H	-NO ₂			
1r	-Br	-Cl	-H			

1.1. DNA Topoizomeraz Enzimleri

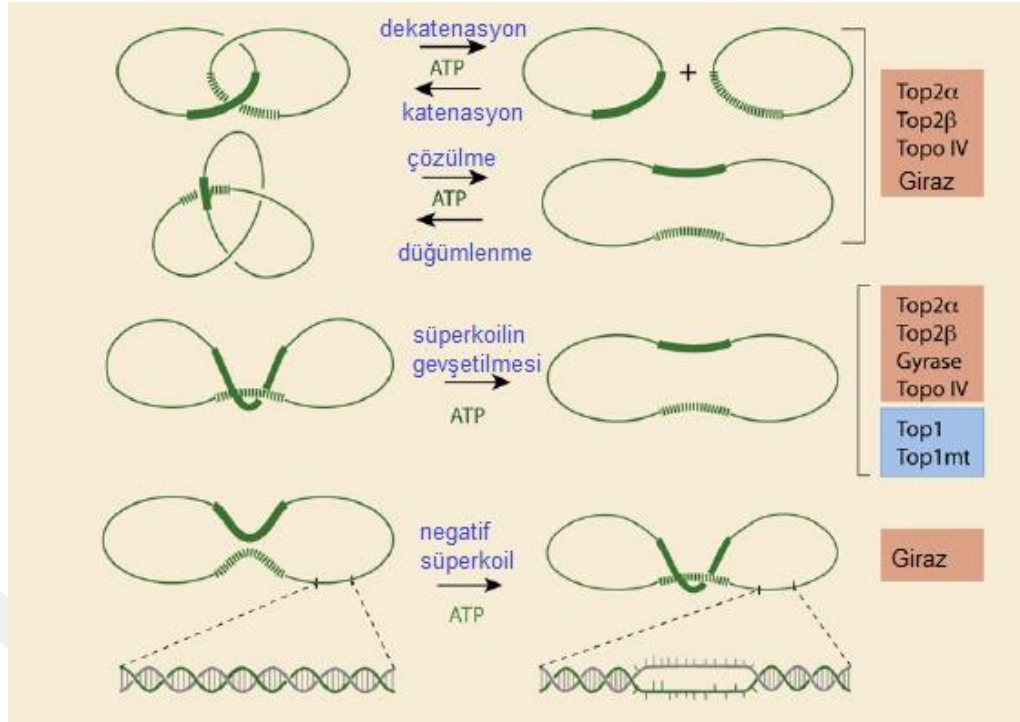
DNA topoizomerazları, replikasyon ve transkripsiyon sırasında iplikçiklerin ayrılmasından kaynaklanan DNA topolojik problemlerini çözen hayati enzimlerdir (Wang, 2002). Topoizomerazlar, hem çekirdeksel hem de mitokondriyal genomlardaki çok çeşitli temel metabolik süreçlerde önemli faktörler olarak ortaya çıkmaktadır. Topoizomerazlar, kanser, immün bozukluklar ve nörolojik hastalıklar ile terapötik olarak yakından ilgilidir ve yüksek etkili antibakteriyel ve antikanser ajanlar sırasıyla bakteriyel ve ökaryotik topoizomerazları seçici olarak hedefler (Pommier, Sun ve ark., 2016).

DNA'nın tüm fizyolojik fonksiyonları tersiyer konfigürasyonuna bağlıdır ve topoizomerazlara duyulan temel ihtiyaç DNA'nın çift sarmal yapısından ileri gelmektedir. Bu çifte sarmal yapısı nedeniyle DNA bükümsel bir gerginlik altındadır ve replikasyon, gen ekspresyonu, transkripsiyon gibi hayati hücresel fonksiyonlar için

DNA gevşeme ve dolaşık DNA ipliklerinin çözülmesi işlemlerini topoizomerez enzimleri gerçekleştirmektedir (Kellner, Sehested ve ark., 2002).

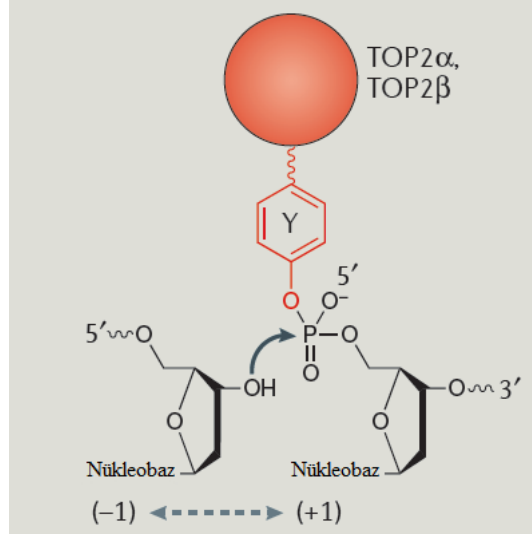
DNA topoizomerez keşfi 1971'de James Wang tarafından *E.coli*'de gerçekleştirildi. Çalışma prensiplerine dayanarak topoizomerezlar iki ana sınıfa ayrılırlar: tip I ve tip II DNA topoizomerezlar. Tip I DNA topoizomerezlar katalitik döngülerinde bir seferde tek iplikçikli DNA zincirini kırarlar. Tip II topoizomerezlar ise, bir çift iplikçikli DNA zincirini kırmakta ve DNA düğümlerini ve karışıklıklarını çözmek için kırık şeridi yeniden işlemeden önce bir başka dubleks DNA segmentinin bu geçici kırıktan geçmesine izin vermektedirler (Champoux, 2001). Bu iki ana sınıfın her biri kendi içinde iki alt sınıfa ayrılmaktadır: IA, IB, IIA ve IIB. İnsan genomu topoizomerez IA, IB ve IIA'yı kodlamaktadır. Topoizomerez IIA'nın insanlarda topoizomerez II α ve topoizomerez II β olmak üzere önemli iki formu vardır.

E. Coli tip IA topoizomerez keşfedilen ilk topoizomerezdir. Ökaryotik topoizomerez I tip IB olarak sınıflandırılır. Ökaryotik topoizomerez I'ler fonksiyonlarını yerine getirmek için ATP enerjisine gerek duymayan monomerik enzimlerdir (Deweese ve Osheroff, 2009). Tip IA ve tip IB topoizomerez arasındaki iki önemli fark vardır. Bunlardan birincisi Tip IB hem negatif hem pozitif süpersarımları gevşetebilirken, *E.coli* topoizomerez (tip IA) ancak negatif süpersarımları gevşetebilme yeteneğine sahiptir. İkinci ise tip IB topoizomerezdaki aktif yöre tirozinleri DNA kırığının 3' ucuna nükleofilik atak gerçekleştirerek bağlanırken, tip IA 5' ucuna bağlanır. Zincir geçişini katalizleme yeteneğinden ötürü topoizomerez II, topoizomerez I'e göre daha çeşitli reaksiyonlar gerçekleştirebilir. DNA relaksasyonu topoizomerez I'de yaygınken, katenasyon-dekatenasyon ve düğümlenme-düğümün açılması topoizomerez II'ye özgüdür (Şekil 1.7) (Pommier, Leo ve ark., 2010).



Şekil 1.7. Topoizomerazlar tarafından katalizlenen reaksiyonlar.

Tüm topoizomerazlar DNA fosfodiester omurgasını, DNA kırığının fosfat ucuna bağlı katalitik bir tirozin kalıntısından nükleofilik atak ile parçalamaktadır. Bu enzimlerdeki aktif yöre tirozini DNA omurgasındaki fosfat grubuna kovalan atağı gerçekleştirecek ilk transesterifikasyonu başlatmak için bir nükleofil olarak görev yapar. Böylece DNA zincirinde tüm topolojik dönüşümlerin meydana gelebileceği geçici bir kırılma meydana getirir. İkinci transesterifikasyon, ilkinin tersine, DNA kırığını birleştirir ve serbest tirozin yeniden ortaya çıkarır (Chen, Chan ve ark., 2013). Bu bağlanma tip II topoizomerazlarda, tip IA'da olduğu gibi 5' ucundan meydana gelir (Şekil 1.8).

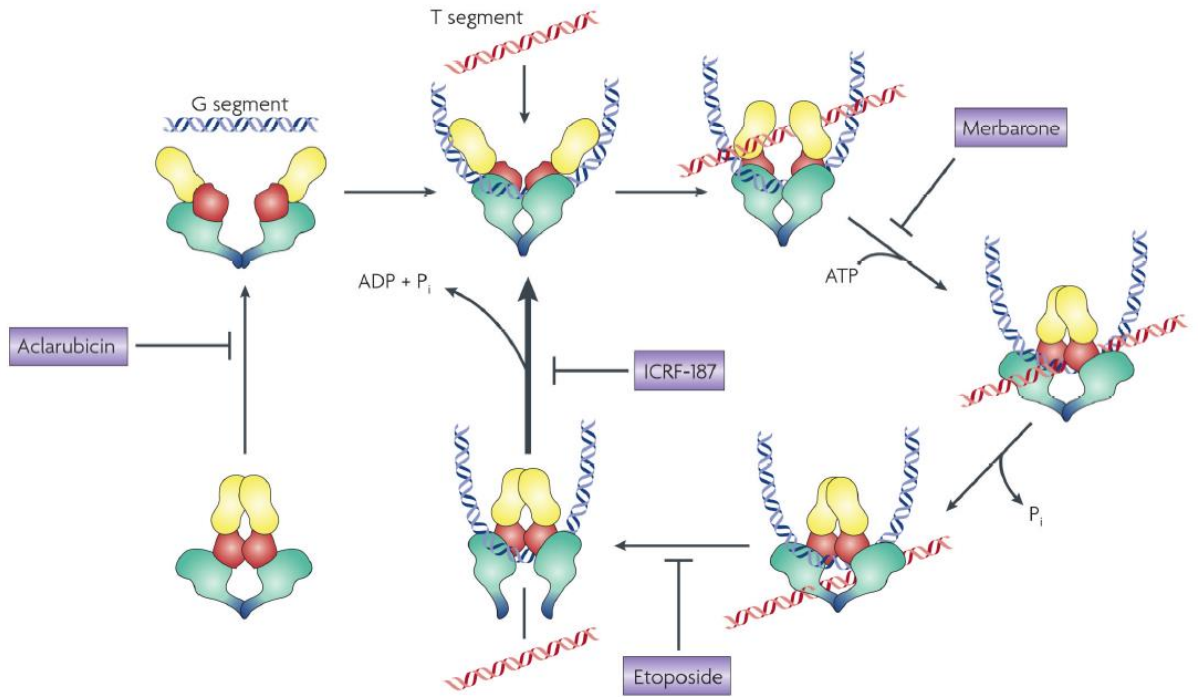


Şekil 1.8. Topoizomeraz II enziminin aktif tirozin kalıtısı ile, DNA fosfodiester omurgasına 5' ucundan atağı.

1.2. Topoizomeraz II Enzimleri

Tip II topoizomeraz, bir çift DNA heliksinin diğerinin içinden geçişini katalizler. Topoizomeraz II enziminin bu aktivitesi, katlanmış, süper sarılmış veya düğümlü DNA'nın çözülmesini sağlar. Ayrıca bu grup enzimler, replikasyon, transkripsiyon ve birbirine bağlı kardeş kromozomların hücre bölünmesi sırasında birbirinden ayrılması sırasında süperkoillerden kurtulmada önemli rol oynar (Wang, 2002). Tip II topoizomerazlar, tip I topoizomerazlardan farklı olarak homodimer yapıda enzimlerdir ve fonksiyonlarını yerine getirmek için Mg^{2+} ve ATP hidrolizine ihtiyaç duyarlar. İnsan genomu iki tip topoizomeraz II enzimine sahiptir: topoizomeraz II α ve topoizomeraz II β (Topo II α ve II β). Bu enzimler iki farklı gen tarafından kodlanır ve farklı hücresel işlevleri yerine getirirler. Bu durumun aksine, düşük ökaryotlar, örneğin tek hücreli maya ve omurgalılar sadece bir tip topoizomeraz II enzimine sahiptirler. Topo II α hızla çoğalan kanser hücrelerinde aşırı ifade olur. Çift iplikçikli DNA kırıklarını uyararak veya ATP hidrolizini engellemek yoluyla Topo II α 'nın fonksiyonunu inhibe etmek kanser tedavisinde yaygın bir yaklaşımdır (Hu, Huang ve ark., 2018).

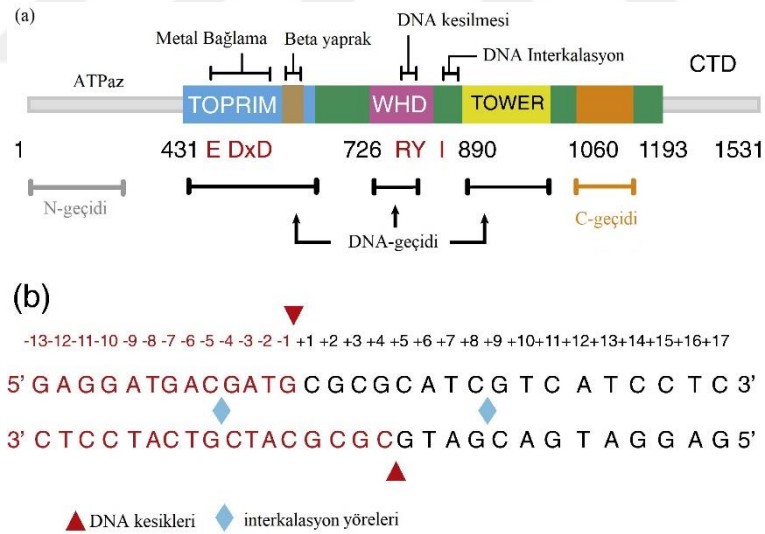
Topo II'nin bir katalitik döngüsü kabaca yedi adımdan oluşur (Şekil 1.9): (i) topo II, geçici bir DNA-enzim kompleksi oluşturmak üzere ilk çift iplikçikli DNA zincirine (G segmenti) bağlanır; (ii) ikinci çift iplikçikli DNA zincirini (T segmenti) yakalar ve iki ATP molekülüne bağlanır ve ATPase alanının dimerizasyonuna ve N kapısının kapanmasına neden olur; (iii) Mg^{2+} toplar ve G-segmentini kırarak bir geçici DNA-enzim kovalent kompleksi oluşturur, (iv) Bu G-segmentte oluşan geçici kırıktan T-segmentini bir ATP molekülünün hidrolizinden salınan enerjiyi kullanarak geçirir; (v) G-segmentteki kırığı diğer ATP molekülünün hidrolizi ile kolaylaştırarak birleştirir; (vi) iki ADP molekülünü tahliye eder ve T segmentini serbest bırakmak için C-kapısının açılmasını indükler ve (vii) G-segmentten ayrılır ve başka bir reaksiyon döngüsü için N kapısını açar (Larsen, Escargueil ve ark., 2003).



Şekil 1.9. Topoizomeraz II enziminin katalitik döngüsü (Nitiss 2009).

Benzer bir birincil dizi ve üçüncül yapıyı paylaştıklarına rağmen, insan topo II α ve β farklı dokularda, hücrelerde ve hücre altı lokasyonlarında dağılırlar. Ayrıca farklı hücresel fonksiyonlarında yer alırlar. Topo II α genel olarak çekirdek plazmasında bulunur ve tercihen çoğalan hücrelerde overeksprese olur. Üstelik, hücre proliferasyonunda spesifik ve hassas bir biyomarker olarak, topo II α tümör hücre

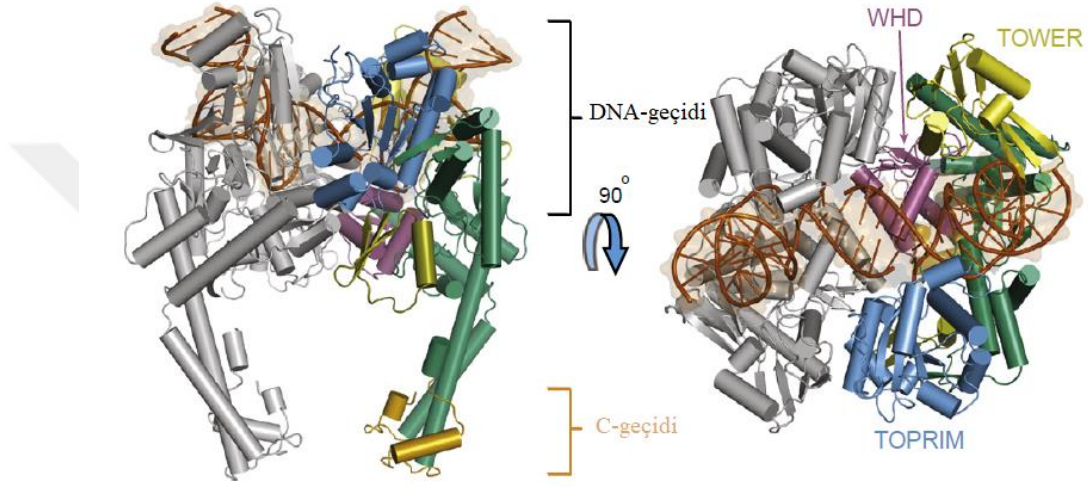
büyümesi ve bölünmesinde gereklidir ve hızla büyüyen dayanıklı tümörlerde bolca işlev görür. Topo II α mitoz sırasındaki birbirine bağlı kardeş kromozomların da birbirinden ayrılması için de zorunludur. Geç G2 ve M fazları sırasında iki kardeş kromozomun açılmasını sağlar ve bu işlev topo II β tarafından yerine getirilemez. Ek olarak, topo II α G0/G1 fazları sırasında ifade düzeyleri en az inen hücre döngüsü bağımlı bir enzimdir. Topo II α 'nın ifadesi S fazında artmaya başlar, ve pik düzeye G2/M fazında ulaşır ve mitoz sonunda keskin bir şekilde düşer (Farr, Antoniou-Kourounioti ve ark., 2014). Aksine, Topo II β tüm hücre döngüsü aşamaları sırasında nispeten düşük ve sabit seviyelerde ifade edilir. Topo II β hücre hayatta kalımı ve proliferasyonu için gerekli değilse de, hücre gelişimi, transkripsiyonel regülasyon ve farklılaşmada belirgin roller oynar ve nöronal farklılaşma ve uzun ömürlülüğüne katkı sağlar (Tiwari, Burger ve ark., 2012). Üstelik, topo II α pozitif süperkoil plazmidleri negatif süperkoil plazmidlerden daha hızlı çözerken topo II β için böyle bir durum gözlenmez. Tüm bu nedenlerle, Topo II α potent antineoplastik ilaç elde edilmesi için daha çekici bir biyohedefdir.



Şekil 1.10. (a) Topo II α 'nın birincil yapısı. (b) İki çentikli 30 baz çiftlik DNA substratının şematik gösterimi.

İnsan topo II α homodimer bir enzimdir. Bir monomeri 1513 aminoasitten ve 4 bölümden oluşur (Şekil 1.10): N kapısı, ana-geçit (DNA-geçidi), C-kapısı ve CTD. N-terminal kısmı, GHKL (Giraz, HSP90, histidin kinaz, mutL) süperalesine ait ATPaz bölümüne sahiptir. ATP bağlanması üzerine, her bir monomerin iki ATPaz bölümü, dimerizasyon yoluyla N-kapısını kapatmak üzere hareket eder. Ana çekirdek DNA

geçidi, diğer adıyla DNA bağlanma/kırılma geçidi (Şekil 1.11), Mg^{+2} bağlayıcı TOPRIM (Topoisomerez/Primaz) katı, tirozin aktif bölgesini içeren bir kanatlı heliks alanı (WHD) ve dimerin başka bir monomeri ile etkileşime giren bir "TOWER" alanı içerir. C-kapısı, T segmentini tutar ve geçişini kontrol eder. CTD çekirdeksel lokalizasyon için gereklidir ve translasyon sonrası değişikliklere tabi olan kısımlara sahiptir (Wendorff, Schmidt ve ark., 2012).



Şekil 1.11. İnsan topo IIα DNA bağlanma ve kırılma geçidinin DNA'ya bağlanmış halde yapısı.

ATPaz bölümü topo II'nin N terminusunda yerleşmiştir, topo IIα ve topo IIβ arasında yüksek oranda korunmuştur. Topo II inhibitörleri için birincil hedef DNA-geçidi olsa da, iki topo II izoformu arasında yüksek oranda korunduğu için topo IIα'ya yüksek seçiciliği olan inhibitörler tasarlamak oldukça zordur. Bu iki izoform arasındaki farklılıklar esas olarak C-terminal kısmındadır. Topo IIβ'nın C-terminali 443 amino asit kalıntısı içerir ve 360 amino asitten oluşan topo IIα C-terminalinden hafifçe uzundur (Champoux, 2001). Topo II'nin ayrıntılı yapısal çalışmaları, farklı katalitik adımları inhibe etmek için topo II inhibitörlerini keşfetmek için değerli bir kılavuz sağlar.

1.3. Topoizomeraz II İnhibitörleri

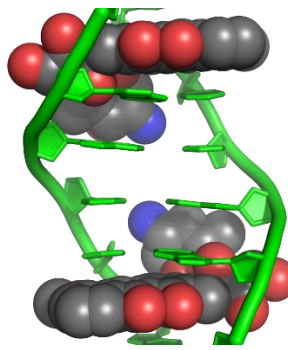
Yapılan pek çok çalışmada, topoizomeraz II'yi hedef alan klinik olarak aktif ilaçların çoğunun enzim aracılı DNA hasarı oluşturduğu gösterilmiştir. Topoizomeraz II enzimini inhibe eden bileşikler iki sınıfa ayrılır. Birinci sınıfta etoposid, doksorubisin, mitoksantron gibi pek çok klinikte kullanılan ilaçla birlikte topo II-DNA kovalent kompleks düzeylerini artıran ajanlar bulunur. Bu ajanlar fonksiyonel enzimleri ölümcül lezyonlar haline getirdikleri için topo zehirleri olarak adlandırılmışlardır. İkinci sınıf bileşikler topoizomeraz enziminin katalitik aktivitesini inhibe ederler, ancak topo II kovalent kompleks düzeylerinde bir artışa yol açmazlar. Bu ikinci ajan grubunun, topo II'nin temel enzim aktivitesini ortadan kaldırarak hücreleri öldürdüğü düşünülmektedir ve bu nedenle de katalitik inhibitörler olarak adlandırılırlar (Nitiss 2009).

1.3.1. Topoizomeraz II Zehirleri

Genel olarak topoizomeraz zehirleri, DNA-topoizomeraz kovalent kompleksini kararlı hale getiren ve DNA'da meydana getirilen geçici kırığın tekrar birleştirilmesini önleyen ajanlardır. Normalde, topoizomeraz-DNA kırılma kompleksleri kısa ömürlüdürler ve kolaylıkla eski haline dönebilirler. Fakat ortamda topo zehiri varlığında topoizomeraz-DNA kırılma komplekslerinin fizyolojik konsantrasyonu önemli derece artar ve kromozomal insersiyonlar, delesyonlar ve translokasyonlar gibi mutajenik olaylar tetiklenir. Hücrelerde hasarlı DNA birikimine bağlı olarak da programlı hücre ölümü (apoptosis) meydana gelir (Baguley ve Ferguson, 1998).

Topoizomeraz II zehirleri kırılmış kompleksinin konsantrasyonunu iki yolla artırır. İlk gruptaki bileşikler, örneğin etopozid, enzimin kesilmiş DNA

moleküllerini birleştirme yeteneğini inhibe ederek etki eder. Diğer zehirler özellikle antrasiklin grubu inhibitörler, daha çok DNA kırık kompleksini stabilize etmeye çalışarak etki gösterirler. DNA'ya bağlanma şekillerindeki bu farklılık temel alınarak topo II zehirleri iki tipe ayrılabilir: interkalatör ve non-interkalatör ajanlar. DNA non-interkalatör ajanları göreceli olarak DNA ile zayıf etkileşimlere sahiptirler ve “topo II-DNA komplekslerini” yakalayarak etkilerini gösterirler. Bunun aksine, DNA interkalatörleri genellikle DNA'nın baz çiftlerinin arasına tersinir şekilde girebilecek düzlemsel aromatik ana halkaları içeren ve DNA transkripsiyonuna ve replikasyonuna dahil olan enzimlerin fonksiyonunu bozan ajanlardır. Interkalatörler kimyasal yapı olarak çok çeşitlidir ve doksorubisin (Şekil 1.12), mitoksantron ve amsakrin gibi antrasiklinler bu grupta yer alır (Pommier, Leo ve ark., 2010). DNA içine interkale olabilme yeteneklerinden başka bu bileşiklerin Topo II'yi yakalayacak başka bir kimyasal benzerlikleri bulunamamıştır. Önemli olarak, o-AMSA ve etidyum bromür gibi bazı bileşiklerin topo II'yi zehirlmek için çok az yeteneği vardır, bu da küçük bir molekülün interkalasyonunun topo II'yi DNA üzerinde kovalent bir kompleks olarak yakalaması için yetersiz olduğunu gösterir. Topo II'yi hedefleyen ilaçlardan bazıları özellikle antrasiklinler, hücre üzerinde pek çoğu topo II'ye olan etkilerinden bağımsız olmak üzere değişik birçok etki meydana getirirler. Örneğin, doksorubisinin membran hasarına ve protein-DNA çapraz bağlanmalarına sebep olan serbest radikaller ürettiği bilinmektedir.

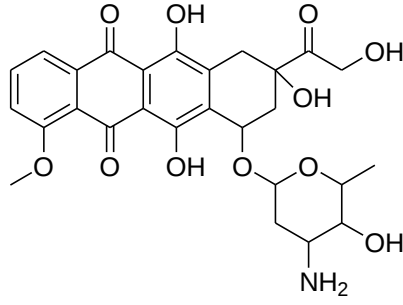


Şekil 1.12. İki doksorubisin molekülünün DNA bazları arasına interkale olması (PDB kodu: 1D12).

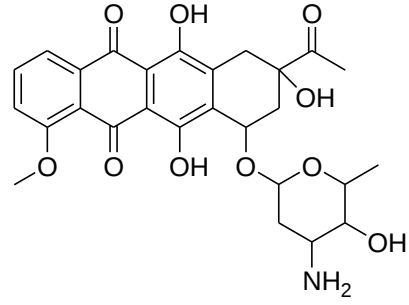
Antrasiklin grubu topoizomerez zehirleri göğüs kanseri, lösemiler, lenfomalar ve sarkomalara karşı yaygın olarak kullanılan antineoplastik ajanlardır. Antrasiklinler DNA iplikçiklerinin kesildiği ve kovalent olarak topoizomerez II aktif tirozin kalıntılarına bağlandığı ve sonunda DNA'nın yeniden birleştirilmesini engellendiği

reaksiyonu stabilize ederek etki gösterirler. Antrasiklinler, bölünme sahasındaki topo II-DNA kompleksini interkalasyon yoluyla kovalent olarak stabilize eden ve böylece DNA'nın yeniden birleştirilmesini önleyen güçlü antikanser ilaçları ve doğal olarak oluşan bileşiklerdir (Pommier, Leo ve ark., 2010). İlk antrasiklinler, daunorubisin ve doksorubisin (Şekil 1.13), *Streptomyces peucetius*'tan izole edildi. Antrasiklinler diğer topo II zehirlerine kıyasla yüksek bir DNA sekansı seçiciliği ve nispeten yavaş geri dönebilen indüklenmiş bölünebilir kompleksleri göstermektedir (Capranico, Butelli ve ark., 1995). DNA-antrasiklin komplekslerinin yapıları kristalografik olarak ve nükleer manyetik rezonans (NMR) ile çözülmüştür (Gao, Liaw ve ark., 1991; Cirilli, Bachechi ve ark., 1993). Antrasiklin türevlerinin, özellikle interkalasyon olmayan kısımlarının (A-halkası ve şeker parçası) topo II parçalanabilir komplekslerin stabilizasyonunda çok önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Ben, Palumbo ve ark., 2007). Hem doksorubisin hem de daunorubisin, güçlü antikanser aktiviteye sahiptir ve klinik olarak kullanılır, ancak ciddi kardiyotoksisite problemleri de gösterirler (Zucchi ve Danesi 2003; Mordente, Meucci ve ark., 2008).

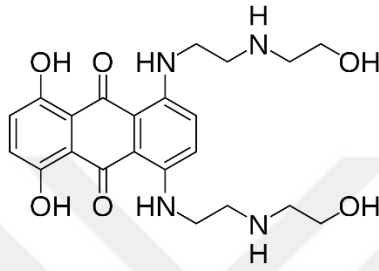
Mitoksantron (Şekil 1.11) ve diğer antrakınon türevleri Top2 zehirlerinin başka bir grubudur, DNA interkalasyon ve sitotoksik ajanlardır (Smith, Morgan ve ark., 1990). Bileşikler başlangıçta antrasiklinleri daha az yan etki üretme niyetiyle taklit edecek şekilde tasarlanmışlardır. Mitoksantron, meme kanserinin tedavisi için klinik olarak kullanılmasına rağmen, en büyük sakıncası ABCG2 taşıyıcısının aracılık ettiği çoklu ilaç direncidir. Ayrıca, antrasiklinlere benzer şekilde, mitoksantron, kardiyak yan etkileri bulunmaktadır (Ghalie, Edan ve ark., 2002).



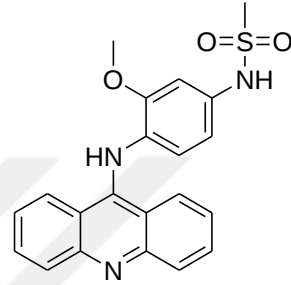
Doksorubisin



Daunorubisin



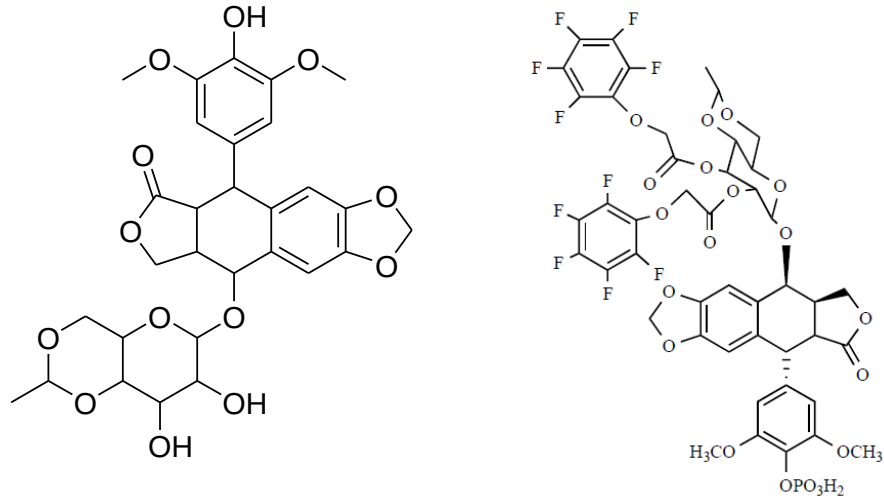
Mitoksantron



Amsakrin

Şekil 1.13. Bilinen bazı topoizomeraz II inhibitörlerinin kimyasal yapısı.

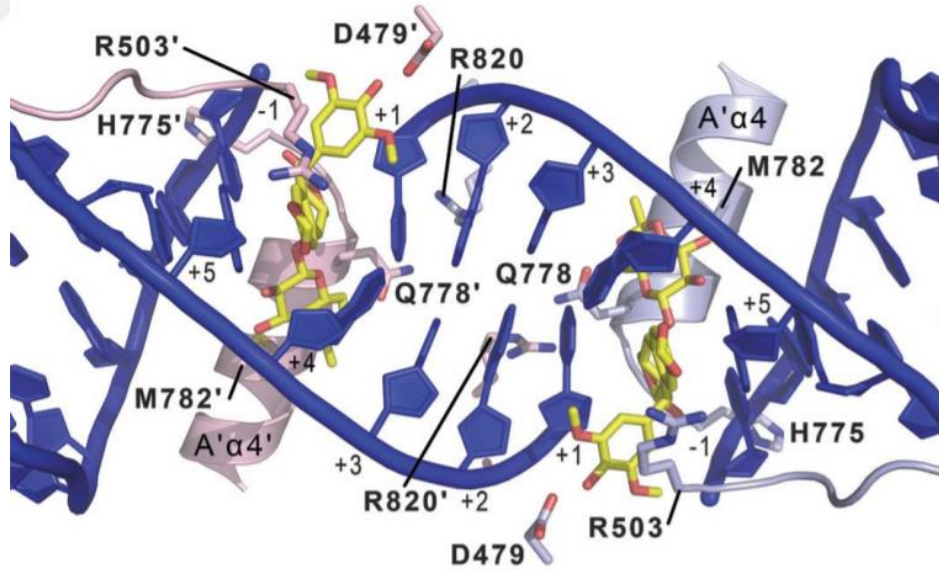
Akridinler, DNA interkalasyon ajanlarıdır, ancak topo II enziminin yokluğunda zayıf DNA bağlayıcılığı gösterirler. En bilinen akridin olan amsakrin (m-AMSA, Şekil 1.13), rasyonel olarak tasarlanmış ve türevleri 1970 ve 1980'lerde incelenmiştir (Johnson, Wodinsky ve ark., 1979; Baguley, Denny ve ark., 1984) ve şimdilerde klinik olarak hematolojik malignitelerin tedavisinde kullanılmaktadır. m-AMSA güçlü bir topo II zehiridir ve nispeten düşük konsantrasyonlarda DNA-enzim komplekslerini uyarır. Amsakrin'nin önemli bir özelliği stereokimyasıdır. Örneğin orto-metoksi türevi (m-AMSA'daki meta-metoksi yerine) topo II zehiri olarak neredeyse aktif değildir (Nitiss, 2009). Akridinlerin kullanımını sınırlandıran nedenlerden biri çoklu ilaç direncidir, ancak akridinler bu durumdan epipodofillotoksinler, antrasiklinler ve antrakınonlardan daha az etkilenir. m-AMSA'nın sitotoksik etkisi hücre döngüsü G2 fazında inhibe eder (Nicholas ve Brian, 2017).



Şekil 1.14. Etopozid (solda) ve taflupozidin (sağda) kimyasal yapısı.

Non-interkalatör topo II zehirleri arasında epipodofilotoksinler grubundan etopozid, tenipozid ve prokaryotik tip II topoizomeraza etkili florokinolonlar vardır. Podofilotoksiniden elde edilen etopozid (Şekil 1.14.) keşfedilen ilk topoizomeraza II hedefli ajanlardan biridir. Antineoplastik olarak klinikte kullanımı yüksek toksisitesi yüzünden bırakılmış yerine sentetik analogları olan yüksek antineoplastik etki ve düşük toksisiteye sahip etoposid ve teniposid kullanılmaya başlanmıştır. 1980lerin ortalarında kanserde klinik kullanım için FDA'dan onay almıştır ve birkaç yıldır klinikte en yaygın olarak kullanılmaktadır (Deweese ve Osheroff, 2009). Günümüzde küçük hücreli akciğer kanseri, testis kanseri ve lenfomaların tedavisi için klinik olarak kullanılan etoposide, *Podophyllum peltatum* Linnaeus ve *Podophyllum emodi* bitkilerinin köklerinden ve rizomlarından ekstrakte edilen doğal ürün podofilotoksininin yarı sentetik bir türevidir (Philippe, Elsa ve ark., 2004). Podofilotoksin, tübüline bağlanarak ve mitotik iğ oluşumunu engelleyerek mitozda metafaz sırasında hücre replikasyonunu bloke eder. Her iki bileşik de yapısal olarak benzer olsa da, etopozid topoizomeraza mekanizması yoluyla etki eder. Üçlü topo IIβ-DNA-etopozid kompleksinin yakın zamanda çözülmüş kristal yapısı, etoposidin DNA bölünme bölgesinde interkalasyon yaptığı ve aynı zamanda protein ile etkileşimler oluşturduğunu (Şekil 1.15) göstermektedir (Wu, Li ve ark., 2011). Etopozid ve onun türevi olan tenipozidin klinikte kullanılmasına rağmen, bu ilaçların suda çözünürlüğü düşük olması, doz sınırlayıcı miyelosupresyon ve sekonder malignite riski gibi çeşitli

sınırlamaları beraberinde getirmektedir. Dahası, örneğin değiştirilmiş topo II ifadesi veya enzimin nokta mutasyonlarından kaynaklanan ilaç direnci, etoposid analoglarının klinik kullanımını sınırlamaktadır (Asano, Nakamura ve ark., 2005; Jiang, 2005). Topo II α izoformu için 3-5 kat seçiciliği olmasına rağmen, etopozid her iki topo II izoformunu etkili bir şekilde inhibe eder. Bir başka podofilotoksin türevidir olan Taflupozid'in (F11782), solid tümörlere karşı faz II klinik çalışmaları yapılmaktadır (Delord, Bennouna ve ark., 2007). Taflupozid (Şekil 1.14), etopozid ve tenipozid'den farklı olarak çift topoizomeraz (I ve II) inhibitörüdür (Salerno, Settimo ve ark., 2010). Taflupozid DNA'ya interkalatif olarak bağlanmadan DNA onarım inhibitör özellikleri sergiler. Çift topoizomeraz inhibitörü Taflupozidin ayrıca insan topo II α üzerinde bir çift etki mekanizması sergileyerek inhibisyon yaptığı bulunmuştur. Taflupozid enzimin DNA'ya olan afinitesini azaltırken, aynı zamanda da enzim-DNA kararlı komplekslerini stabilize eder. Yapılan çalışmalarda, Taflupozid'in topo II α 'nın in vivo bir inhibitörü olduğu ve F 11782'nin yeni bir topoizomeraz II zehiri olduğunu göstermektedir (Jensen, Renodon-Cornière ve ark., 2003).



Şekil 1.15. Topoizomeraz II enzim-DNA kompleksinde etopozid (sarı) bağlanma bölgesi.

Non-interkalatör topo II zehirlerinin DNA'ya güçlü bir şekilde bağlanmadığı için protein-ilâç etkileşimlerinin topo II kovalan komplekslerini yakalamada anahtar rol oynadığı bilinmektedir (Bender, Jablonksy ve ark., 2008). Non-interkalatör zehirler

protein ile hidrojen bağları aracılığıyla iletişime geçer. Tüm bu üçlü kompleks, hem ilaç enzim arasında oluşan bağlar hem de ilaç ve DNA bazları arasındaki pi etkileşimleri ile stabilize edilir. Dolayısıyla, topo II'yi hedefleyen bi molekülün aktivite gösterebilmesi için hem protein ile hem de DNA ile bağ yapması gerekmektedir.

1.3.2. Katalitik İnhibitörler

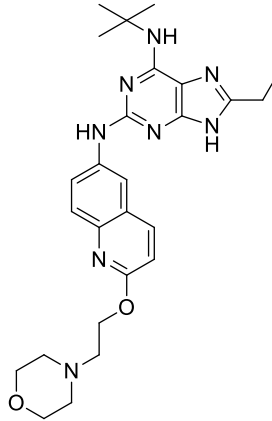
Topo II zehirlerinin aksine, diğer topo II inhibitör sınıfı olan topo II katalitik inhibitörlerinin tümör hücrelerini topo II'nin temel enzimatik aktivitesini inhibe ederek öldürdüğü düşünülmektedir. Bu bileşikler, topo II katalitik döngüsü içindeki birkaç adımı bloke ederek topo II'nin katalitik aktivitesini inhibe eder. Bu inhibitörler, topo II kovalent komplekslerinin seviyelerini yükseltmeden, ATP-bağlanma bölgesini bloke ederek, DNA'nın bölünmesini önleyerek veya ATP'nin hidrolizini inhibe ederek, topo II'nin DNA ile birleşmesini engelleyerek çalışmaktadırlar (Larsen, Escargueil ve ark., 2003). Bu inhibisyon, hücrenin katlanma ve süpersarımla başa çıkma yeteneğini bozarak G2 fazı hücre döngüsü kontrol noktası aktivasyonuna yol açar. Bu genellikle, birleştirme denetim noktası olarak bilinir ve G2 faz hücrelerinde, progresyonun mitozaya dönüşmesini geciktirir. Topo II katalitik inhibitörleri, kovalent enzim DNA bölünme kompleksini stabilize etmeyen ve bu nedenle doğrudan çift iplikli kırılmalar oluşturmeyen heterojen bir grup bileşiktir. (Nicholas ve Brian, 2017). Bununla birlikte, bu ajanlar ile tedavi edilen hücrelerde dekatensasyon kontrol noktasında çift iplikli kırılmalar gözlenmiştir. Bu durumun, normal kızkardeş kromatitlerin anafazda ayrılmasının bloke olması nedeniyle sitokinezde kırılabilen kromatin köprülerinin oluşmasıyla ortaya çıktığı ve sonuçta çift iplikli kırıkların oluştuğu düşünülmektedir. Topo II katalitik inhibitörleri Topo II döngüsünde inhibe ettikleri yere göre dört alt kategoriye ayrılabilir: ATP bağlanma bölgesine (pürine analogları) bağlananlar, hidrolizi bloke eden ve enzimi kapalı bir kelepçe pozisyonunda (bisdioxopiperazines)

yakalayanlar, enzimin DNA'ya (aklarubisin) bağlanmasını ve DNA bölünme adımını (merbaron) bloke edenler (Pogorelcnik, Perdih ve ark., 2013).

Suramin ve aklarubisin gibi antrasiklin yapısında bileşikler, topo II'nin DNA'nın G segmentine bağlanmasının ilk adımını inhibe eder. Aklarubisin bunu DNA'ya bağlayarak ve topo II'nin DNA'ya erişimini bloke ederek gerçekleştirir. Aklarubisinin AML tedavisinde klinik olarak kanıtlanmış anti-tümör özellikleri vardır.

Pürin analogları ve novobiosin ATP bağlanma bölgesine bağlanarak topo II enzimi inhibe eder. Topo II'nin mekanizması ATP'ye bağımlıdır. ATP, Topo II döngüsünün ikinci adımında ATPaz alanına bağlanır. Bu bileşikler ATPaz etki alanındaki aktif bölge için yarışır, ATP'nin bağlanmasına izin vermez. Bu sayede, ATPaz alanının dimerizasyonunu ve N kapısının kapanmasını önlerler (Chène, Rudloff ve ark., 2009).

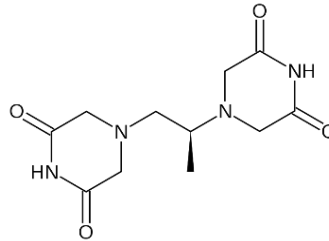
QAP1, topo II ATPaz aktivitesini hedeflemesi için rasyonel bir biçimde tasarlanmış yeni bulunan bir pürin analogudur (Şekil 1.16). Bu bileşik, submikromolar konsantrasyonlarda topo II ATPaz aktivitesini ve dekatensasyonu inhibe etmektedir. QAP1'in yapılan hücresiz sistem deneylerinde hem topo II α 'yı hem topo II β 'yı hedeflediğini göstermiştir. (Chène, Rudloff ve ark., 2009).



Şekil 1.16. QAP1 kimyasal yapısı.

Bir diğ er katalitik inhibitör sınıfı, TOPRIM bölgesinin DNA kapısından ile DNA bölünmesini inhibe eder. Bu durum sonucunda enzimde dekatensasyon veya torsiyonel stresin ortadan kaldırılması yeteneği kaybolur. Merbaron bu sınıfa dahil bir ilaçtır (M Fortune ve Oshero , 1998).

Bisdioksopiperazinler ise bir diğ er sınıf topoizomerez II katalitik inhibitörleridir. Bu ajanlar enzim katalitik döngüsünün sonunda etki ederler ve bölünmüş çift zincirli DNA parçasının ge  etilmesini takiben ATP'nin hidrolizini durdururlar. Bu ajanlar N-geçidinin açılmasına izin vermez, dolayısıyla topo II'yi DNA molekülüne bağlı halde bırakırlar (Wessel, Jensen ve ark., 1999). Bu sınıftaki bazı ilaçların proteozomal de regasyon yoluyla topo II  seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir. Bisdioksopiperazinler içinde ICRF-154, ICRF-159, ICRF-193, ICRF-187 ( ekil 1.17) ve MST-17 yer almaktadır (Andoh, 1998). ICRF ilaçlarının ayrıca α izoformu için değişken derecelerde seçicilik gösterdikleri de gösterilmiştir. ICRF-193 ve ICRF-159, topo II 'ya topo II 'dan 18 kat daha yüksek afinitesini gösterirken, ICRF-187 (deksrazoks n) sadece topo II  için iki kat seçicilik gösterir (Nicholas ve Brian, 2017). Bisdioksopiperazinler, topo II zehirlerinin fonksiyonel antagonisti olarak etki ederler ve Dexrazoxane (ICRF-187), antrasiklin terapisinde kardiyoprotektif bir ajan olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Dexrazoxane bunu DNA'yı topo II 'nın içine hapsederek ve TopoII  enziminin proteosomal de radasyonunu tetikleyerek gerçekleştirir (Lyu, Kerrigan ve ark., 2007).



Şekil 1.17. ICRF-187'nin kimyasal yapısı.

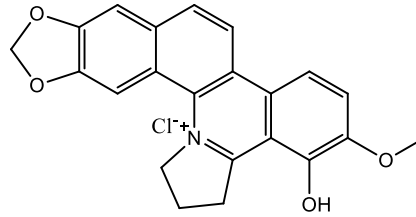
Topo II katalitik inhibitörlerinin bisdioksopiperazin sınıfına ait bir diğ er bileşik olan ICRF-193, in vitro olarak akciğer, kolorektal ve melanoma hücre hatlarında anti-tümör etkisini göstermiştir (Nakagawa, Hayashita ve ark., 2004, Jain, Roychoudhury

ve ark., 2015). ICRF-193, diğer bisdioksopiperazinler ile karşılaştırıldığında topo II izoformlarına karşı en büyük etkiyi göstermektedir. ICRF-193'ün etkisini esas olarak α izoformu üzerinden ortaya çıkardığı düşünülmektedir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, ICRF-193'ün, kolorektal kanser hücre hatlarında üstün etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Dahası, kontrol hücre hattında (normal kolorektal dokularında) normal hücre toksisitesinde azalmayı işaret edecek şekilde gelişmiş hücre canlılığı gözlenmiştir (Jain, Roychoudhury ve ark., 2015)

İki topo II izoformu arasında topo II β 'nin inhibe edilmesinden topo II α 'nın inhibe edilmesi, yeni antineoplastik ajanlar geliştirmek için daha iyi bir yaklaşım olarak kabul edilmiştir (Hu, Huang ve ark., 2018). Bunun nedeni yapılan çalışmaların, topo II β hedeflemesinin birçok istenmeyen sonuca ve çok az faydaya yol açtığını göstermesidir. Topo II β 'yi hedefleyen inhibitörlerin sıklıkla ilaç direnci, kardiyotoksisite veya sekonder maligniteler gibi istenmeyen yan etkilerle ilişkili olduğu görülmüştür (Azarova, Lyu ve ark., 2007). Öte yandan, Topo II β 'yi hedeflemenin, özellikle de çoğalmayan hücreleri öldürme yeteneği gibi potansiyel faydaları da olduğu bulunmuştur. Topo II β 'yi hedeflemek toksisiteye katkıda bulunurken, kanser kök hücreleri olarak işlev gören kanser hücrelerini ortadan kaldırmak için önemli bir yaklaşım olabilir. İki enzim aynı katalitik mekanizmayı ve katalitik bölgelerinde büyük miktarda amino asit homolojisi paylaşırken izotip spesifik topo II zehirlerinin tespit edilememesinin mümkün olup olmadığı büyük bir soru işaretidir. Daha önce, interkalator ajanlar mAMSA ve mitoksantronun en çok topo II β 'yi hedef alması nedeniyle sitotoksisite gösterdiği ileri sürülmüştür (Nitiss, 2009).

Son zamanlarda, topo II α 'ya yüksek oranda spesifik olduğu gösterilen ve NK314 adıyla bilinen (Şekil 1.18) yeni bir interkalator ajan keşfedilmiştir (Toyoda, Kagaya ve ark., 2008). Yine aynı çalışmada Toyoda ve ark., etoposide ve doksorubisinin topo II α 'yı hedefleyerek bu kadar yüksek oranda sitotoksisite sağladığını öne sürmüşlerdir. Tüm bu sonuçlar birlikte ele alındığında topo II α 'ya özgü ajanların tasarlanmasının mümkün olabileceği ve bu sayede daha fazla anti-tümör

aktivitesine sahip olmanın hem de toksisitenin azaltılmasının mümkün olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 1.18. NK314 bileşiğinin yapısı.

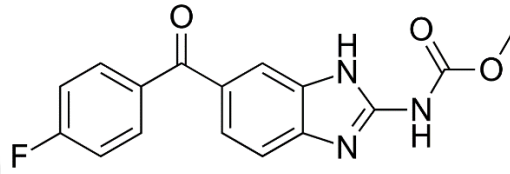
Son yıllarda bilinen ilaçların haricinde, topo II aracılı süreçlere müdahale etmeyi amaçlayan çalışmalar ile çok sayıda yeni topo II inhibitörü geliştirmiştir. Bunlardan C-1311, birkaç yıl önce faz II çalışmalarına geçmiştir (Isambert, Campone ve ark., 2010; Laskowski, Borzyszkowska ve ark., 2017). Kinolon türevi vosaroksin (SNS-595), sınıfında birinci sınıf bir antineoplastik ilaç olarak kabul edilen, relaps ve refrakter akut miyeloid lösemi (AML) tedavisi için faz III çalışmalarına girmiş bir moleküldür (Ravandi, Ritchie ve ark., 2015). Kuinoksalin türevi XK469, selektif bir topo II β inhibitörüdür ve faz I çalışmalarının değerlendirilmesine başlanmıştır (Hotinski, Lewis ve ark., 2015). Üçüncü jenerasyon sentetik topo II inhibitörü 9-aminoantrasiklin türevi (SM-5887) yetişkin yumuşak doku sarkomasında (STS) belirgin kardiyak toksisite olmaksızın doksorubisinle karşılaştırılacak etkiler gösterdiği rapor edilip faz II çalışmalarına alınmıştır (Gupta, Gouw ve ark., 2016). DNA interkalatörü olarak etki eden, iki naftalalimid analogu amonafid (AS1413) ve mitonafid (NSC300288) sırasıyla faz III ve faz II klinik araştırmalarında denlenmektedirler (Kokosza, Andrei ve ark., 2015).

1.4. Antitümör Etkili Benzimidazol Türevleri

Benzimidazol çekirdeğinin değişik konumlardan süstitüe olmuş türevlerinin antitümoral, antiproliferatif, antikanser, antimikrobiyal, anti-HIV, antioksidan aktivite gibi dikkat çekici biyolojik aktiviteler gösterdiği literatürlerce rapor edilmiştir (Yadav

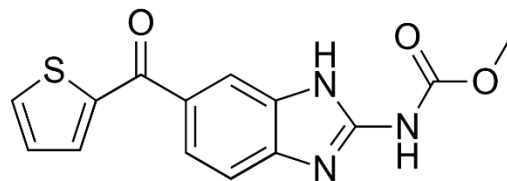
ve Ganguly, 2015). 2-sübstitüe benzimidazoller üzerindeki son gelişmeler, 2.konuma değişik heterosiklik yapılar getirilmesiyle değişik karsinoma hücre hatlarına karşı güçlü anti-kanser ajanlar elde edildiğini ortaya çıkarmıştır.

Klinikte uzun süredir pek çok paraziter hastalığın tedavisinde antihelmentik olarak kullanılan benzimidazol yapısındaki flubendazole (şekil 1.19) ve mebendazol'un son yıllarda yapılan çalışmalarla antikanser aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir.



Şekil 1.19. Flubendazol.

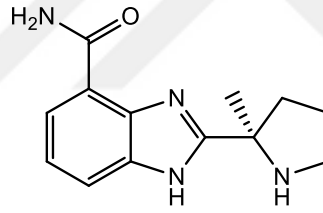
Mikrotübül bozucu maddeler olarak etki gösterdiklerinden, kanser tedavisindeki potansiyelleri diğer anti-kanser ilaçlarına dirençli hücreler de dahil olmak üzere çeşitli klinik öncesi kanser modellerinde çalışılmış ve rapor edilmiştir (Spagnuolo, Hu ve ark., 2010; Dobrosotskaya, Hammer ve ark., 2011). En son 2018 yılında yapılan bir çalışmada flubendazolun antiproliferatif etkileri geniş bir hücre dizisi taramasıyla incelenmiştir. Baş ve boyun kanser hücre hattı gibi hassas hücre hatlarının 5 tanesinden en az üçünde Flubendazol'un 1 μ M'ın altında IC₉₀ değeri ile aktivite göstermiştir. Bu çalışmada, oral kanser hücreleri PE / CA-PJ15 ve H376 ve displastik hücre hatlarında belirlenen flubendazol ve mebendazolün IC₅₀ değerleri 0.19 μ M–0.26 μ M aralığındaydı. Çalışmada PE/CA-PJ15 hücrelerinin migrasyonun da flubendazol ve mebendazol'den önemli ölçüde etkilendiği bulunmuştur (Kralova, Hanušová ve ark., 2018).



Şekil 1.20. Nokodazol.

Nokodazol (Metil [5-(2-tiyenilkarbonil)-1H-benzimidazol-2-il]karbamat), vinkristine ve demekolşisin gibi mikrotübül polimerizasyonunu inhibe ederek tümör hücrelerinde etkilerini gösteren bir kemoterapötik ilaçtır. Nokodazol'un insan meme kanseri hücresindeki prototipik mikrotübül inhibitör etkisi yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Choi, Fukui ve ark., 2011; Choi ve Zhu, 2012).

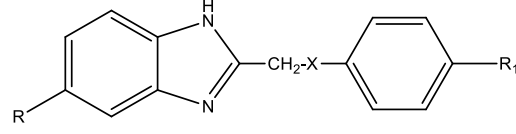
Veliparib (Şekil 1.21), kanser tedavisinde kullanılan bir diğer benzimidazol yapısı taşıyan ilaçtır. Veliparip (ABT-888), poli ADP riboz polimeraz (PARP) enzimini inhibe ederek ve böylece kanser hücrelerinde DNA veya genetik hasarın onarılmasını önleyerek antikanser etkilerini gösterir (Wagner, 2015). Veliparib'in meme kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri ve over kanserinde tedavisi faz III klinik araştırmalarında denenmektedir (Livraghi ve Garber, 2015).



Şekil 1.21. 2-[(R)-2-metilpirrolidin-2-il]-1H-benzimidazol-4-karboksamit (Veliparib kimyasal yapısı).

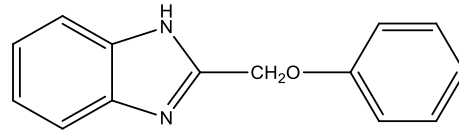
Pınar ve ark., 2004 yılında yaptıkları çalışmada bir seri benzazol ve oksazola(4,5)piridin ana yapısı taşıyan bileşiğin (Çizelge 1.2) antikanser aktivitelerini topoizomerez II enzimi üzerinden değerlendirmişlerdir. Serideki bileşiklerden benzimidazol yapısı taşıyan 4 bileşik 17.0 µm-46.8 µm arası IC₅₀ değeri ile topoizomerez enzimini inhibe etmiştir. Bu bileşiklerden 5-metilkarboksilat-2-feniltiyometilbenzimidazol referans ilaç olarak kullanılan etopositten daha etkili bulunmuştur (Pınar, Yurdakul ve ark., 2004).

Çizelge 1.2. 2,5-disüstitüe benzimidazol türevleri ve topoizomeraz II'ye karşı gösterdikleri aktiviteleri.



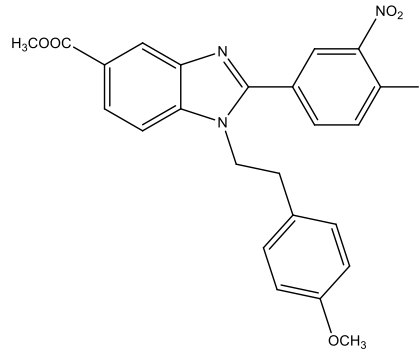
Bileşik	R	R1	X	IC ₅₀ (µm)
2e	-CH ₃	-NH ₂	-	46.8
3b	-CH ₃	-H	-S-	27.4
3c	-COOCH ₃	-H	-S-	17.0
3e	-NO ₂	-H	-O-	28.4
Etoposit				21.8

Öksüzoğlu ve ark., 2008 yılında bir seri 2,5-disüstitüe benzimidazol ve benzoksazol türevlerinin ökaryotik topoizomeraz I ve II inhibitör aktivitelerini test etmişlerdir. Benzimidazol yapısı taşıyan bileşikler 17 ve 18 DNA topoizomeraz I inhibitörü olarak değerlendirilmişlerdir. Özellikle bileşik 17 (2-(fenoksimetil)-1H-benzoimidazol) DNA topoizomeraz I inhibitörü olarak referans ilaç olarak kullanılan kamptotesinden daha aktif bulunmuştur (Şekil 1.22) (Oksuzoglu, Tekiner-Gulbas ve ark., 2008).



Şekil 1.22. 2-(fenoksimetil)-1H-benzimidazol (bileşik 17).

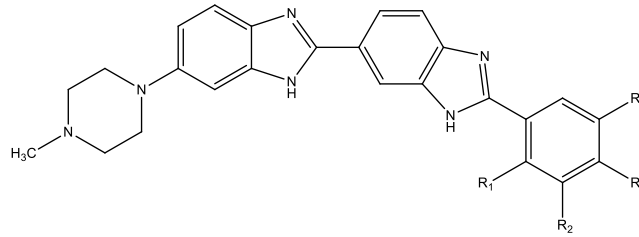
Gowda ve ark., 2009 yılında yaptıkları çalışmada yeni 1-(4-metoksifenetil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit türevleri hazırlamışlardır ve bu bileşiklerin antilökemik etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Sentezlenen bileşikler arasında **bileşik 5a** (metil 2-(4-floro-3-nitrofenil)-1H benzimidazol-5-karboksilat), lökemik hücrelerde hücre ölümünü 3 µM IC₅₀ değeri ile maksimum indüklemiştir (Şekil 1.23). Yapıya üçüncü bütıl gruplarının ve flor gruplarının getirilmesi sitotoksisiteyi geliştirirken, flor gruplarının klor veya brom ile değiştirilmesi aktivite kaybına neden olmaktadır (Gowda, Kavitha ve ark., 2009).



Şekil 1.23. Metil 2-(4-floro-3-nitrofenil)-1H benzimidazol-5-karboksilat (bileşik 5a).

Singh ve Tandon, 2011 yılında 2-aril-sübsititüe 2-bis-1H-benzimidazollerin sentezini rapor etmiştir ve topoisomerase I inhibitörü olduklarını değerlendirmiştir. Serilerdeki 4'er bileşik de μM seviyesinde IC_{50} değerleri ile tüm hücre hatlarında güçlü inhibitör aktivite göstermişlerdir. Dihalojene fenil taşıyan türevler 6a ve 6b di ve trimetoksifenil taşıyan bileşikler 6c ve 6d'ye göre daha iyi enzim inhibitör aktivitesi göstermiştir (Çizelge 1.3). Floro ve kloro grupları metoksi gruplarıyla karşılaştırıldığında insan hücre hatlarında çok daha dikkat çekici sitotoksik aktivite göstermiştir (Singh ve Tandon, 2011).

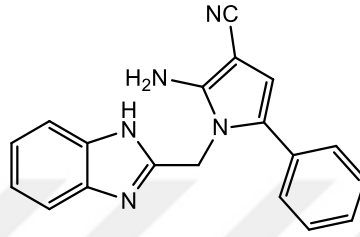
Çizelge 1.3. 2-aril-sübsititüe 2-bis-1H-benzimidazollerin ve sitotoksik aktiviteleri.



	R_1	R_2	R_3	R_4	IC_{50} (μM)		
					U87	MCF7	HeLa
6a	F	H	F	H	5.5	5.5	1.5
6b	Cl	H	Cl	H	1.5	1.3	0.6
6c	H	OCH_3	OCH_3	H	>100	5.3	3.4
6d	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	>101	16.8	29.2

Omar ve ark., 2012 yılında yeni antitümör etkili allil ve etilasetat grubu içeren benzimidazol türevlerinin sentez ve doking çalışmalarını yayınlamışlardır. Bileşiklerin

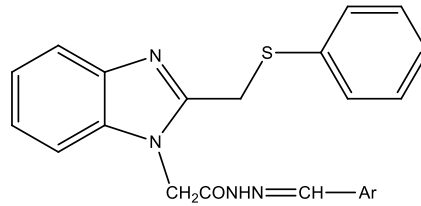
sitotoksik aktiviteleri akciğer (A549) ve meme (MCF-7) kanser hücre hattı karşı incelenmiştir. Bileşiklerin çoğu meme kanser hattına karşı tamoksifenden daha aktifken, **bileşik 4h** (Şekil 1.24) doksorubisinden bile daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Yapılan doking çalışmaları ile bu bileşiğin aktivitesini plazminojen aktivatör reseptörünü inhibe ederek gösteriyor olabileceği bildirilmiştir (Omar, Shaker ve ark., 2012).



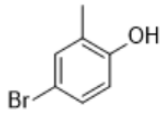
Şekil 1.24. 4h bileşiği.

Liu ve arkadaşları, 2012 yılında 2-(fenilthiometil)-1H-benzimidazol yapısına bir hidrazon grubu katarak bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerini beş farklı kanser hücresine karşı MTT testleri ile incelemiştir. 5-FU ve SU11248 ile karşılaştırıldığında **bileşik 5a** ve **5d** mükemmel kanser inhibitör aktivitesi göstermiştir (Liu, Sun ve ark., 2012).

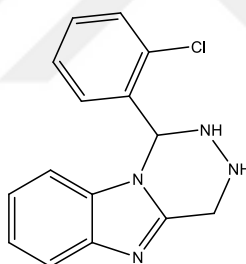
Çizelge 1.4. 2-(fenilthiometil)-1H-benzimidazol türevleri ve sitotoksik aktiviteleri.



	Ar	IC ₅₀ (μM)				
		A549	HCT116	HepG2	PC-9	A375
5a		12.36	4.86	>20	14.63	5.75

5d		10.75	8.33	17.03	12.2	4.09
----	---	-------	------	-------	------	------

Hala Bakr El-Nassan, 2012 yılında yaptığı çalışmada bir seri yeni 1. konumunda değişik aril ve heteroaril grupları taşıyan 1,2,3,4-tetrahidro[1,2,4]triazino[4,5- α]benzimidazoller sentezleyip antitümör aktivitelerini meme adenokarsinoma (MCF-7) hücre hattına karşı taramıştır. Seri içerisinde **bileşik 3c** 0.039 μ m IC₅₀ değeri ile en etkili bileşik olarak bulunmuştur (Şekil 1.25). Benzimidazol grubunun 1.konumundaki aromatik çekirdeğin orto konumuna CF₃ ve NO₂ veya halojenler gibi elektron çekici gruplar ile süstitüsyon antikanser aktiviteyi yükseltir. Meta konumuna süstitüsyon anti-proliferatif aktiviteyi düşürür. Heteroaril gruplar süstitüe fenil halkası ile benzer antikanser aktivite gösterirler (El-Nassan, 2012).

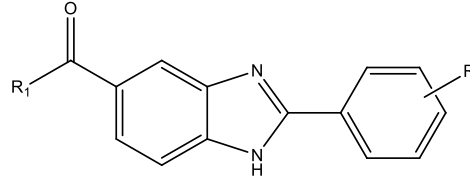


Şekil.1.25. 1-(2-klorofenil)-1,2,3,4-tetrahidrobenzo[4,5]imidazo[1,2-d][1,2,4]triazin bileşiği.

Karthikeyan ve ark., 2013 yılında yaptıkları çalışmada bazı 2-(fenil)-3H-benzimidazol-5-karboksilik asit ve bunların metil ester türevlerinin meme kanserine karşı etkili olduklarını bildirmişlerdir. Metil ester türevleri içinde aril halkasının 2.konumunda hidroksil 5.konumunda flor süstitüsyonu bulunan **bileşik 2e** en etkin bulunurken, karboksilik asit türevleri içinde aril halkasında 3,4-dihidroksi süstitüsyonu bulunan **bileşik 1h**'ün en aktif olduğu gösterilmiştir. Bileşiklerin çoğunluğunda karboksil grubunun esterifikasyonu sitotoksitede dramatik bir yükselişe neden olurken birkaç bileşikte de potens düşüşüne yol açmıştır. 2-(fenil)-3H-benzimidazol-5-karboksilik asit metil esterlerinde anti-meme kanseri etkisi

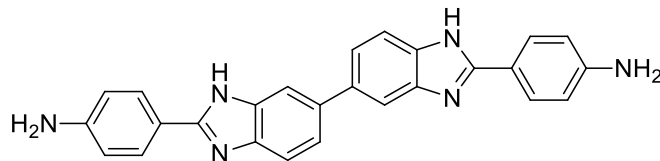
karboksilik asit türevlerine göre çok daha yüksek olmasının sebebi serbest karboksilik asit grubunun sulu ortam koşullarında iyonizasyon ile yüklü karboksilat anyonuna dönmesi ve sonuç olarak bileşiklerin hücresel geçirgenliğe müdahale etmesine bağlıdır (Karthikeyan, Solomon ve ark., 2017).

Çizelge 1.5. 2-(fenil)-3H-benzimidazol-5-karboksilik asit/metil ester türevleri ve sitotoksik aktiviteleri.



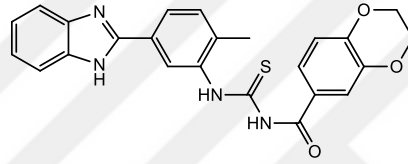
	R	R ₁	GI ₅₀ (μM)		
			MDA-MB231	MDA-MB231	MCF7
Bileşik 1h	OH	3,4-di OH	12.85	11.85	9.23
Bileşik 2e	CH ₃	2-OH, 5-F	6.23	4.09	0.18

Simetrik bibenzimidazol sınıfına ait bir küçük molekül olan STK295900'ın (Şekil 1.26), değişik insan hücre hatlarına karşı anti-proliferatif etkisi olduğu görülmüştür. HeLa hücrelerinde STK295900'ün etkileri incelenmiş ve bu bileşiğin DNA hasarı oluşturmadan G2 fazı durdurulmasını uyardığını belirtilmiştir. İleri çalışmalar STK295900'ın *in vitro* topoizomerez I ve II enzimi aracılı DNA gevşetilmesi inhibe ettiğini göstermiştir. Üstelik STK295900, kamptotesin tarafından uyarılan (indüklenen) DNA hasarına karşı koruyucu etki de göstermektedir. Ancak etoposid aracılı DNA hasarını etkilememektedir. Dahası STK295900, kanser hücre hatları üzerinde sitotoksik etki gösterirken, kamptotesin, etoposid ve Hoechst 33342, hem kanser hem de normal hücreleri etkilemektedir. Yapılan tüm bu çalışmalarla, STK295900'ın bir antikanser kemoterapötik ajan olarak geliştirilme potansiyeline sahip olduğu kanıtlanmıştır (Kim, Sakchaisri ve ark., 2013).



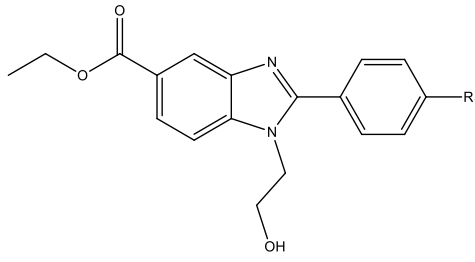
Şekil 1.26. STK295900'ın kimyasal yapısı.

Boriello ve ark, 2014 yılında nörofilin-1/-2, VEGF-A₁₆₅ ko-reseptörlerinin, kanser ilerlemesi sırasında aşırı ifade olmasından yola çıkarak bir dizi in siliko ve in vitro tarama çalışmaları yapmışlardır. Bu çalışmada, benzimidazol türevi bir molekül olan bileşik 1 (Şekil 1.27), pro-anjiyojenik kinazlar üzerinde etki göstermeden ve peptidik olmayan ilk VEGF-A₁₆₅/NRP protein-protein etkileşim antagonisti (IC₅₀=34 µM) olarak tanımlanmıştır. Bu bileşik ayrıca meme kanseri hücre hatlarında anti-proliferatif aktivite (IC₅₀=0.60 µM). göstermiştir. Bileşik 1, in vivo olarak da tümör büyümesi inhibisyonunu önemli ölçüde etkilemiştir. Birlikte ele alındığında, bileşik-1, NRP'leri hedefleyen tamamen organik ilk inhibitördür (Borriello, Montès ve ark., 2014).



Şekil 1.27. Bileşik 1'in kimyasal yapısı.

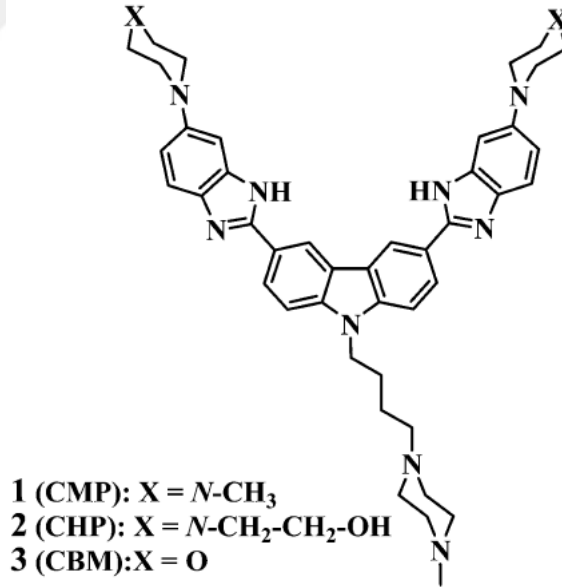
Yoon ve ark., 2014 yılında yaptıkları çalışmada antitümör aktivitesine sahip sirtuin inhibitörü (SIRT1 VE SIRT2) bazı yeni benzimidazol türevlerinin sentezi ve taramasını gerçekleştirmişlerdir. Serideki tüm bileşikler SIRT1'e karşı SIRT2'den daha iyi inhibisyon göstermişlerdir. Bu bileşiklerin arasından, **bileşik 5j, 5k ve 5l** (Şekil 1.28) hem SIRT1 hem de SIRT2 üstünde yüksek inhibitör aktivite göstermiş ve güçlü SIRT1/SIRT2 inhibitörü olarak bildirilmişlerdir. Ester grubu yerinde karboksilik asit bulunması durumunda hem SIRT1'e hem SIRT2'ye karşı daha zayıf aktivite görülmüştür. R₁ konumuna güçlü elektron verici gruplar getirilmesi en iyi sirtuin inhibitör aktivitesini sağlamaktadır. Elektron verici grupların sayısının artması aktiviteyi yükseltmektedir (Yoon, Ali ve ark., 2014). Daha sonra yapılan ileri çalışmalarda bu bileşiklerden bileşik 5k (BZD9L1) üstünde etki mekanizmasını çözmek için araştırmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda BZD9L1'in, apoptoz yoluyla hem HCT 116 hem de HT-29 metastatik kolorektal kanser hücre hatlarının canlılığını, hücre göçünü ve koloni oluşturma yeteneğini azalttığı görülmüş ve kolorektal kanser tedavisinde umut verici bir sitotoksik ilaç olduğu rapor edilmiştir (Tan, Lee ve ark., 2018).



5j: R₁= Dimetilamino 5k: R₁= Piperidin 5l: R₁=1,3-dioksol

Şekil 1.28. 5j-l bileşiklerinin kimyasal yapısı.

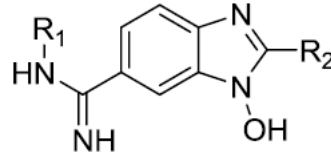
2014 yılında yapılan bir çalışmada karbazol bazlı benzimidazol türevi 4 bileşik sentezlenmiş ve Hum21 G4 DNA ile etkileşimleri incelenmiştir. Tüm bileşikler Hum21 G4 DNA yapısının stabilizasyonunda oldukça etkili bulunmuştur. Çalışmada ayrıca CMP ve CHP kodlu ligandların oldukça kuvvetli telomeraz inhibisyonu gösterdiği ve 1 µM'nin altındaki IC₅₀ değerleri ile, şimdiye kadar bildirilen benzimidazol türevlerinin en iyileri arasında oldukları ve antikanser ilaç olarak kullanımlarının yararlı olacağı rapor edilmiştir (Maji, Kumar ve ark., 2014).



Şekil 1.29. CMP, CHP ve CBM bileşiklerinin kimyasal yapıları.

Alp ve ark., 2014 yılında bir seri *N*-süstitüe amidino-1-hidroksi benzimidazol türevi bileşik (Şekil 1.30) sentezlemiş ve *in vitro* sitotoksik aktivitelerini insan lösemi hücre hatları, HL-60, K-562 üzerinden incelenmişlerdir. Yapılan ilk çalışmalar sonucunda HL-60 hücre hattı üzerinde bileşik 16, 20, 21 ve 23'ün orta derecede

antitümör etkinlik gösterdiğini bulmuşlardır. Bu gözlemlenen antitümör aktivitenin mekanizmasını aydınlatabilmek amacıyla, bileşiklerin apoptotik ve otofajik genlerin ifadenmesi üzerindeki etkilerini incelenmişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda, bileşik 21'in otofajik ve apoptotik genlerin ifadenmesini artırdığı ve HL-60 hücrelerinin apoptozisine neden olduğu bildirilmiştir (Alp, Göker ve ark., 2014).

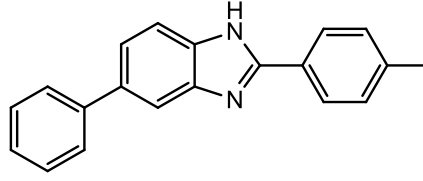


	R₁	R₂
15	isopropil	n-propil
16	H	fenil
17	isopropil	fenil
18	n-butil	fenil
19	2-(dimetilamino)etil	fenil
20	benzil	fenil
21	benzil	2,4-diklorofenil
22	isopropil	1-naftil
23	isopentil	1-naftil

Şekil 1.30. N-süstitüe amidino-1-hidroksi benzimidazol türevleri.

Bir seri 2-(4-fenoksifenil)-1*H*-benzimidazol türevi sentezlenmiş ve in vitro antikanser aktiviteleri MTT deneyi kullanılarak lösemi hücre hattı K562'de incelenmiştir. 5-amidino taşıyan bileşik 10, 5-bromo taşıyan bileşik 13 ve 5,6-dimetil taşıyan bileşik 14 K562 hücre hattına karşı dikkat çekici sitotoksik aktivite göstermişlerdir (Gurkan-Alp, Göker ve ark., 2015).

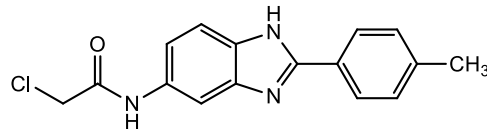
Hegde ve ark., 2015 yılında yaptıkları çalışmada yeni bir seri benzimidazol sentezini gerçekleştirmiş ve kanser hücre hatlarına karşı sitotoksitelerini test etmişlerdi. Bileşikler arasından MH1 (Şekil 1.31) test edilen tüm kanser hücre hatlarında dikkate değer IC₅₀ değerleri olan en umut verici moleküldür. Çalışmada MH1'in, DNA minör kavitesine bağlanarak lösemik hücrelerde apoptosisi indüklediğini hem DNA boyama çalışmaları hem de doking çalışmaları ile kanıtlanmıştır (Hegde, Sharath Kumar ve ark., 2015).



Şekil 1.31. MH1'in kimyasal yapısı.

Bir dizi 1,3-difenilpirazolo-1H-benzimidazol türevleri sentezlenmiş ve antikanser potansiyelleri dört farklı kanser hücre hattında Reddy ve ark., tarafından incelenmiştir. Tüm bileşiklerin içinden bileşik 9,17 ve 28 tüm kanser hücre hatlarına karşı çok güçlü sitotoksik aktivite göstermişlerdir (Reddy, Kulhari ve ark., 2015).

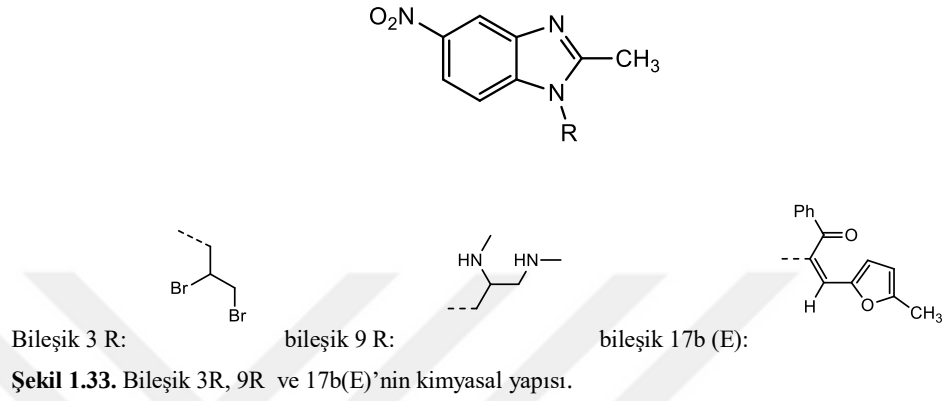
2015 yılında yapılan bir çalışmada yeni bir 2-aril benzimidazol türevi (Şekil 1.30) bileşiğin meme kanserine karşı hem *in vitro* hem de *in vivo* etkileri olduğu bulunmuştur. 5a kodlu bu bileşiğin hem EGFR hem HER2 aktivitesini EGFR ve HER2'nin tirozin fosforilasyonunu azaltarak inhibe ettiği bildirilmiştir. Aynı zamanda, 5a'nın FOXO'nun fosforilasyonunu inhibe ettiğini ve sitoplazmadan çekirdeğe FOXO translokasyonunu teşvik ettiğini ve bunun da G1-fazı hücre döngüsü durması ve apoptoz ile sonuçlandığını göstermişlerdir. Ayrıca, 5a, meme kanseri hücrelerinde c-Jun N-terminal kinaz (JNK) aracılı ölüm reseptörü 5 upregülasyonu yoluyla güçlü bir şekilde apoptosise neden olmuştur. 5a'nın antitümör aktivitesi, *in vivo* olarak çıplak farelerde yapılan incelemelerle tümör hacmini önemli ölçüde azalttığını gösteren sonuçlarla kanıtlanmıştır (Chu, Liu ve ark., 2015).



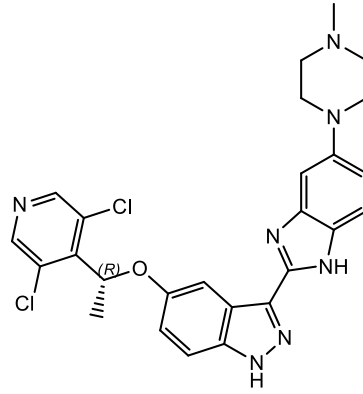
Şekil 1.32. 2-Kloro-N-(2-p-tolil-1H-benzimidazol-5-il)asetamid (5a) bileşiği.

Shaker ve ark., 2015 yılında yaptıkları çalışmada 1.konumunda heterosiklik halka sistemleri taşıyan bir seri benzimidazol sentezlemiş ve A-549, HCT-116, Hep-G2 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitelerini *in vitro* ve *in vivo* olarak incelemişlerdir. Tüm serinin içinde bileşik 3 (Şekil 1.33), A-549, HCT-116 ve MCF-

7 karşı doksorubisinden daha aktif bulunmuştur. Bileşik 9 ve 17b (*E* izomeri) (Şekil 1.33) dört hücre hattında da doksorubisine yakın aktivite göstermişlerdir. Bileşik 9'un akut toksisitesi karaciğer kanseri uyarılmış ratlarda *in vivo* olarak belirlenmiştir (Shaker, Omar ve ark., 2015).

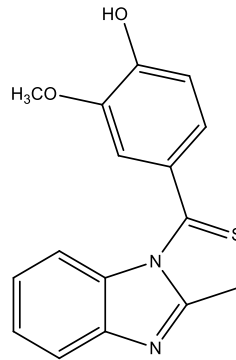


Yan ve ark., 2016 yaptıkları çalışmada potent FGFR inhibitörü olarak antitumor aktivite gösterecek bir seri 3-(5'sübstitüe)benzimidazol-5-(1-(3,5-dikloropiridin-4-il)-1H-indazol sentezlemişlerdir. Bileşiklerden (R)-21c (Şekil 1.34) diğer selektif FGFR inhibitörleri ile karşılaştırıldığında FGFR-4'ü güçlü bir şekilde inhibe ettiği görülmüş ve FGFR4 kaynaklı kanser tiplerinin tedavisi için potansiyel olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. Ayrıca bileşiğin *in vivo* antitumor çalışmaları da yapılmış ve günlük 10 mg/ kg'lık bir dozda bir oral (R)-21c oral uygulamasından sonra, ilk uygulamadan 21 gün sonra NCI-H1581 insan akciğer kanseri ksenogrefti taşıyan çıplak farelerde neredeyse tam tümör durulması gözlenmiştir, bu da (R)-21c'nin ileri ilaç geliştirme çalışmaları için potansiyel bir FGFR inhibitörü olduğunu göstermiştir (Yan, Wang ve ark., 2016).



Bileşik 1.34. (R)-21c'nin kimyasal yapısı.

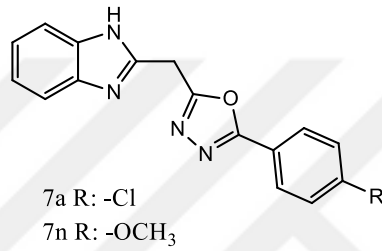
2017 yılına yapılan bir çalışmada bir seri yeni 3-ariltiyazolo[3,2- α]benzimidazol türevi tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin anti-proliferatif etkileri kolon kanser hücre hattı (HT-29) ve meme kanseri hücre hattında (MDA-MB-468) incelenmiştir. Bileşik 4b (Şekil 1.35) test edilen iki hücreye karşı da sırasıyla 9 ve 12 μ M IC₅₀ değeri ile mükemmel antineoplastik potansiyel göstermiştir. Ayrıca CD133'ün hücre yüzeyi ekspresyonunu %50 oranında inhibe etme kabiliyetinin yanı sıra, tümör kütesini ortadan kaldırarak ve kanser kök hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederek, tümörün etkili bir şekilde kontrol edilebileceği ümit verici bir potansiyel ortaya koymaktadır (Al-Ansary, Eldehna ve ark., 2017).



Şekil 1.35. Bileşik 4b'nin kimyasal yapısı.

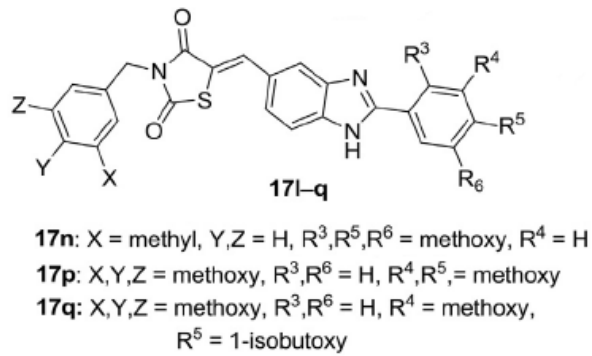
Akhtar ve ark., 2017 yılında yaptıkları çalışmada EGFR ve erbB2 inhibitörü olarak oksadiazol ile süstitüe edilmiş benzimidazol türevleri tasarlanmış, sentezlenmiş ve antikanser ve aniapoptotik etkilerini incelemişlerdir. Bileşiklerden 7a EGFR ve erbB2 reseptörlerini 0.081 ve 0.61 μ M IC₅₀ değeri ile inhibe etmiştir. Ayrıca,

bileşiklerden 7a ve 7n (Şekil 1.36), mükemmel geniş spektrumlu *in vitro* antikanser aktivitesi sergilemiştir. Sonuçlar, bileşik 7a ve 7n'nin MCF-7 (2.55-5.00 μ M) ve MDA-MB231 (0.131-14.5 μ M) kanser hücre hatlarına karşı en aktif olarak bulunduğunu göstermiştir. Apoptoz analizi ve hücre döngüsü analizi sonuçları, bileşik 7a'nın, apoptozu indükleyerek ve G₂/M fazında hücre döngüsünü durdurarak MCF-7 kanser hücrelerini inhibe ettiğini göstermiştir. Ayrıca, moleküler doking çalışmaları bileşik 7a ve 7n'nin protein kinazın aktif yöresindeki bağlanma biçiminin EGFR inhibitörü bir ilaç olan erlotinib ile benzer olduğunu ortaya çıkarmaktadır (Akhtar, Siddiqui ve ark., 2017).



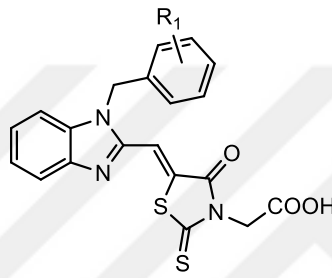
Şekil 1.36. 7a ve 7n bileşiklerinin kimyasal yapısı.

Sharma ve ark., 2017 yılında yaptıkları çalışmada bir seri tiyazolidindion taşıyan benzimidazol türevi tasarlanmış, sentezlenmiş ve *in vitro* sitotoksik etkilerini meme (MDA-MB-231), prostat (PC-3), serikal (HeLa), akciğer (A549) ve kemik (HT1080) kanseri hücre hatları ile birlikte normal böbrek hücrelerinde incelemişlerdir. Bileşiklerden 17n, 17p, 17q'nun (Şekil 1.37), PC-3, HeLa, A549 ve HT1080 kanser hücreleri üzerinde 0.096-0.63 μ M aralığında IC₅₀ değerleri ile güçlü sitotoksik etkileri olduğu bulunmuştur. Bileşiklerin çoğu, kanser hücrelerine kıyasla normal HeK-293T böbrek hücreleri üzerinde güvenli bulundu (Sharma, Reddy ve ark., 2017).



Şekil 1.37. 17n-q bileşiklerinin kimyasal yapısı.

Bir seri benzimidazol-rodanin konjugatı Li ve ark. tarafından tasarlanmış, sentezlenmiş ve topoizomera II ve sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir. Bileşiklerin bazıları 10 µM'da topo II inhibisyonu göstermişlerdir. Ayrıca bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri HeLa, A549, Raji, PC-3, MDA-MB-201, HL-60 kanser hücre hatlarında araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar, 8g ve 8j kodlu bileşiklerin (Şekil 1.38) öncü bileşikler olarak topo II katalitik inhibitörü oldukları gösterilmiştir. Ayrıca doküman çalışmalarıyla enzimin ATP-bağlanma bölgesini inhibe ediyor oldukları gösterilerek sonuçlar desteklenmiştir (Li, Zhang ve ark., 2018).

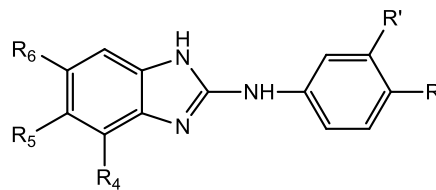


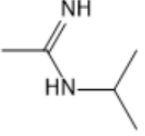
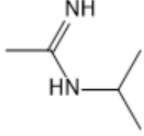
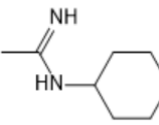
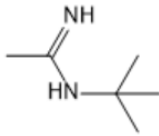
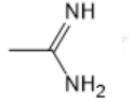
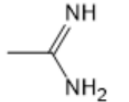
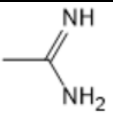
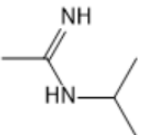
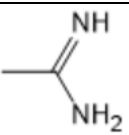
8g: R₁= 4-CH₃ 8j: R₁=2-F

Şekil 1.38. 8g ve 8j bileşiklerinin kimyasal yapısı.

Karaaslan ve ark., 2018 yılında yaptıkları çalışmada bazı yeni mono/dikasyonik amidino benzimidazol türevleri sentezleyip MCF-7 göğüs kanseri hücre hattına karşı etkilerini incelemişlerdir. Bu sentezlenmiş bileşiklerin bazıları, klinik olarak kullanılan referans bileşiklere kıyasla doza bağımlı bir şekilde MCF-7 hücre canlılığını güçlü bir şekilde inhibe etmiştir. Bileşik 30, 36, 23,15 referans ilaçlar imatinib ve dosetakse'den daha iyi antiproliferatif aktiviteler sergilemişlerdir. Bunlar arasında, bileşik 30 IC₅₀ = 4.6 nM değeri ile en aktif bileşik olmuştur (Çizelge 1.6). Bileşik 33, 34, 39 ve 40 dosetaksel'den daha yüksek aktiviteye ve imatinib'den daha düşük aktiviteye sahiptir (Karaaslan, Bakar ve ark., 2018).

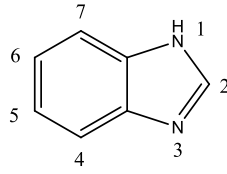
Çizelge 1.6. Mono/dikasyonik amidino benzimidazol türevleri.



Bileşik	R	R'	R ₄	R ₅	R ₆	IC ₅₀ (nM)
15	-H		-H	-H		8.8
23	-H	-H	-H	-H		7.3
30	-H	-Cl	-H	-H		4.6
33	-NO ₂	-H	-H	-H		10.1
34	-H	-COOC ₂ H ₅	-H	-H		11.1
36	-H		-H	-H	-H	5.8
39	-H		-H	-H	-Cl	12.7
40	-H		-H	-Cl	-Cl	11.4
İmatinib						9.6
Dosetaksel						13.1

1.5. Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri

Benzimidazol halka sistemi (Şekil 1.39) imidazol halkasının, benzen halkasına 4. ve 5. konumlarından kaynaşması ile meydana gelmiştir.

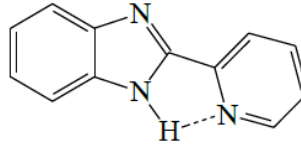


Şekil 1.39. Benzimidazol.

Yukarıdaki şekilde de görüldüğü üzere, benzimidazol halka sistemi iki farklı yapıda azot atomuna sahiptir. Bunlardan biri, üzerinde hidrojen taşımaktadır ve “pirol azotu” veya “ imino azotu “ olarak tanımlanmaktadır. Hidrojen taşımayan ve tersiyer yapıda bulunan diğer azot ise “piridin azotu” veya “tersiyer azot” olarak adlandırılmaktadır. İmidazol halkası için kullanılan bu adlandırmanın bazı literatürlerde benzimidazol halkası için de kullanıldığı görülmektedir. Benzimidazol halkasının numaralandırılmasına, hidrojen taşıyan azottan başlanmakta ve 3 numara diğer azota verilecek şekilde devam edilmektedir. Serbest imino hidrojenine sahip benzimidazoller tautomerik karakter gösterirler. Bu serbest hidrojenin süstitüsüyonu tautomerizim ihtimalini ortadan kaldırarak kesin yapıyı tanımlama imkanı sağlar. Bu durumda numaralandırma süstitüe azot üzerinden başlayarak yapılır (Hoffmann, 1953).

Benzimidazoller oldukça yüksek erime ve kaynama noktasına sahip katı bileşiklerdir. Örneğin: Benzimidazolün erime derecesi 170°C’dir. Bu bileşikler polar çözücülerde çok, polar olmayan çözücülerde ise az çözünürler. Kaynama ve erime noktalarını, imino hidrojeninin süstitüsüyonu önemli ölçüde düşürür (Hoffmann, 1953).

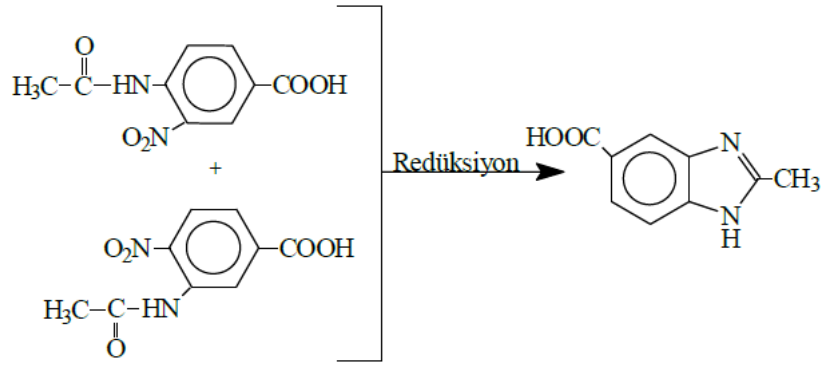
Benzimidazol halka sisteminin 2. konumuna hidrojen, metil, 2-piridil, 4-piridil , 2-kinolil ve 4-kinolil gibi süstitüentleri getirdikten sonra pKa değerleri ölçüldüğünde, 2-piridil türevinin en yüksek pKa değerine sahip olduğu görülmüştür. Bunun nedeninin piridin azotu ile benzimidazolün imino hidrojeninin, hidrojen bağı yapması olduğu ileri sürülmüştür (Şekil 1.40) (Hisano ve Ichikawa, 1974).



Şekil 1.40. Benzimidazolün imino hidrojeni ile piridin azotunun hidrojen bağı.

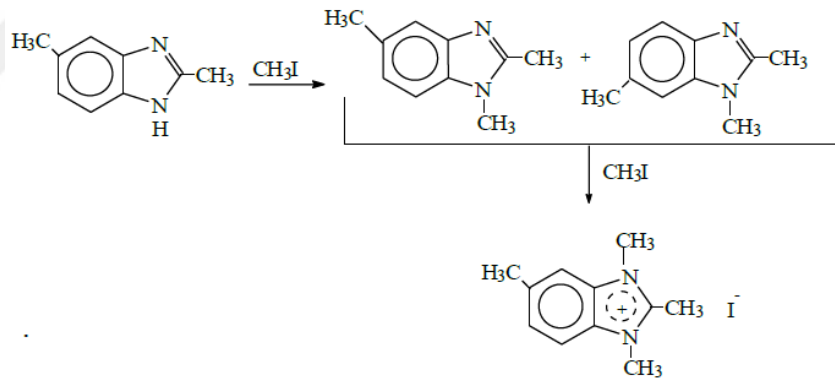
Benzimidazoller, amfoterik özellik gösteren bileşiklerdir ve bu nedenle metallerle tuz oluşturabilirler. Kaynar sudaki benzimidazol çözeltisine AgNO_3 ilavesi ile suda az çözünen gümüş tuzu oluşur. Oluşan tuz seyreltik mineral asitlerde ve asetik asitte çözünür. Benzimidazollerin Grignard bileşikleriyle reaksiyona girerek N-Magnezyum halojenürleri vermesi asidik karakterlerinin bir diğer kanıtıdır. Benzimidazollerin imino hidrojeninin süstitüsüyonu pseudo-asidik karakteri ortadan kaldırır. Elektronegatif gruplar benzimidazollerin asidik karakterlerini artırır. Örneğin: Nitrobenzimidazoller, sodyum karbonat veya sulu amonyak çözeltileri ile tuz oluşturacak kadar asidik karakter göstermektedirler.

Benzimidazol halkasının asitlerle protonlandığını, floresans dalga boylarının farklı olması ile gösterilmiştir (Rogers ve Clayton, 1972). Protonlanan benzimidazoller 365 nm de floresans verirken, protonlanmamış türevleri 305 nm de floresans vermesi benzimidazollerin asitlerle tuz oluşturma özelliğine sahip bazik bileşikler olduğunu ispatlamıştır. Bazik karakterleri piridin azotunun proton yakalayıcı özelliğinden kaynaklanmaktadır. Benzimidazol (pK_a 5.5), imidazolden (pK_a 7.0) daha zayıf bir bazdır. Bu farklılık imidazol ve benzen halkaları arasındaki konjugasyondan kaynaklanmaktadır. Konjugasyon kaynaklı rezonans nedeniyle halka dayanıklılığı artar ve böylece piridin azotunun proton yakalayıcı özelliği azalır. Serbest imino hidrojeni içeren benzimidazoller, tautomerik sistemlerdir. Benzimidazollerin tautomerik karakteri nedeniyle 3-nitro-4-asetamido-benzoik asit ve 4-nitro-3-asetamidobenzoik asitin redüksiyonu ile aynı benzimidazole ulaşılmıştır (Şekil 1.41) (Green ve Day, 1942).



Şekil 1.41. 3-Nitro-4-asetamido-benzoik asit ve 4-nitro-3-asetamido benzoik asitin redüksiyonu ile benzimidazol eldesi.

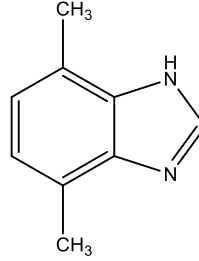
Nötral şartlarda da benzimidazol tautomerizm göstermektedir. 2,5-dimetilbenzimidazol, metiliyodür ile reaksiyona sokulduğunda 1,2,5,-trimetil benzimidazol ve 1,2,6-trimetilbenzimidazol, ayrı ayrı elde edilmekte ve her iki izomer tekrar metil iyodür ile kuaternize edildiğinde aynı türeve ulaşılmaktadır (Şekil 1.42) (Green ve Day, 1942).



Şekil 1.42. 2,5-Dimetilbenzimidazolün metiliyodür ile reaksiyonu.

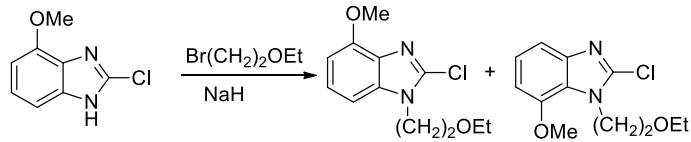
Benzimidazol ve simetri düzlemi içeren türevlerin tautomerik formları birbirinin aynısıdır ve bu durumda kesin bir yapı belirlemek mümkündür. Örneğin: 2-metil, 5,6-dimetil ve 4,7-dimetil benzimidazol simetri düzlemine sahiptir (Şekil 1.43). Benzimidazolün, benzen halkası üzerinde simetri düzlemini bozacak şekild süstitüent taşınması halinde imino hidrojeni süstitüe edilecek olursa, iki farklı izomer karışımı elde edilmektedir. Benzen üzerindeki süstitüentin karakteri azot üzerinden süstitüsüyonu etkilemekte ve genellikle farklı verimlerde izomerlerin elde edilmesine neden olmaktadır. 4. Konum süstitüentleri, önemli ölçüde elektrostatik,

termodinamik ve sterik etkilere sahipken, 5. konumdaki süstitüentlerde bu etkilerin yeterince baskın olmaması nedeniyle izomer oluşum oranının bu etkilere bağı olarak değıştiğı de bildirilmiştir (Howell ve Rasmussen, 1993).



Şekil 1.43. Simetri düzlemine sahip benzimidazol yapılarından 4,7-dimetilbenzimidazol.

Benzimidazolün 5(6). konumda süstitüent bulunduğu durumlarda, bu süstitüentlerin tautomerik denge üzerinde az bir etkisi olması nedeni ile, hemen hemen eşdeğer miktarda regioizomerler oluşmaktadır (Arnau, Arredondo ve ark., 1995). Lee ve Joung, 2-Furil ya da tiyenilsüstitüe benzimidazol türevleri ile, DMSO içinde tautomerizm gözlenirken, 2-fenilbenzimidazolde gözlenememesinin, molekülde, heteroaril gruplar varlığında NH asiditesinin artmasına bağı olabileceğini bildirmişlerdir (Lee, Jeoung ve ark., 1996). 1989 yılında yapılan bir çalışmada ise 2-kloro-4-metoksibenzimidazolün, imino hidrojeninin süstitüsüonu ile 2-kloro-1-(2-etoksietil)- 4-metoksi-1*H*-benzimidazol ve 2-kloro-1-(2-etoksietil)-7-metoksi-1*H*-benzimidazol yapılarını elde etmişler ve bu izomerleri kolon kromatografisi ile ayırmayı başarmışlardır (Şekil 1.42) (Iemura, Hori ve ark., 1989).



Şekil 1.44. 2-Kloro-1-(2-etoksietil)- 4-metoksi-1*H*-benzimidazol ve 2-kloro-1-(2-etoksietil)-7-metoksi-1*H*-benzimidazol sentezi.

Katritzky ve Rachwal (1994), rutin alkilasyon şartlarında karşılaşılan izomer sorununu çözümlmek üzere, 5-nitrobenzimidazol üzerinden selektif alkilasyon ile 1-metil-5-nitrobenzimidazol ve 1-metil-6-nitrobenzimidazol regioizomerlerinin ayrı

ayrı elde edilebileceğini bildirmişlerdir. Arnau ve arkadaşları ise sentez sonucu elde ettikleri izomer karışımını ancak preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayırabildiklerini rapor etmişlerdir (Katritzky, Rachwal ve ark., 1994).

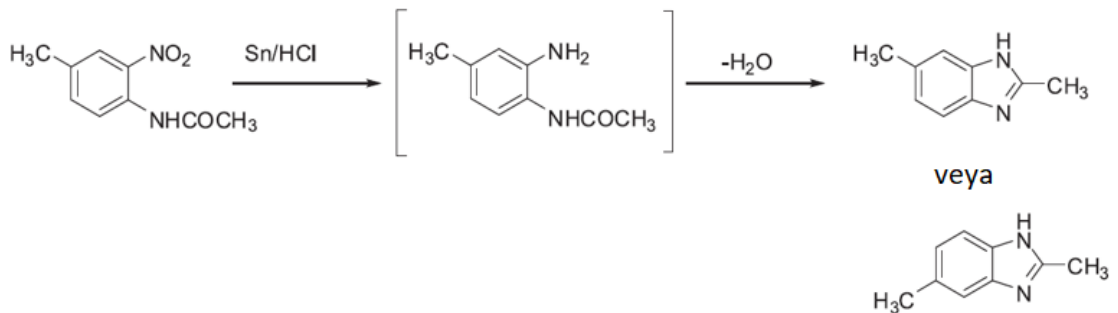
Göker ve arkadaşları ise 1995 yılında yaptıkları çalışmada, 1-(p-florobenzil)-2-(4-metilpiperidin-1-il)metil-5 ve 6-kloro-1*H*-benzimidazol izomer karışımını kolon kromatografisi ile ayırabilmişlerdir (Göker ve Canan, 1995).

1.6. Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri

Benzimidazol türevi bileşiklerin sentez yöntemlerinde başlangıç maddesi olarak genellikle o-fenilendiamin ya da sübstitüe o-fenilendiamin türevleri kullanılmaktadır.

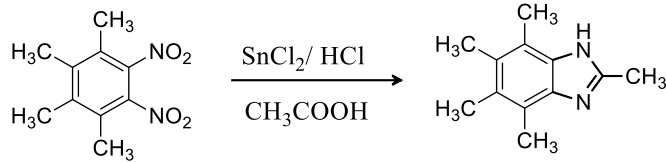
1.6.1. Açılınmış o-nitroarilaminlerden hareketle

İlk benzimidazol (2,5 veya 2,6-dimetilbenzimidazol) 1872 yılında Hoebrecker tarafından 4-metil-2-nitroasetanilidin redüksiyonu ile sentezlenmiştir (Şekil 1.45) (Wright, 1951).



Şekil 1.45. Açılınmış o-nitroarilaminlerden hareketle benzimidazol sentezi.

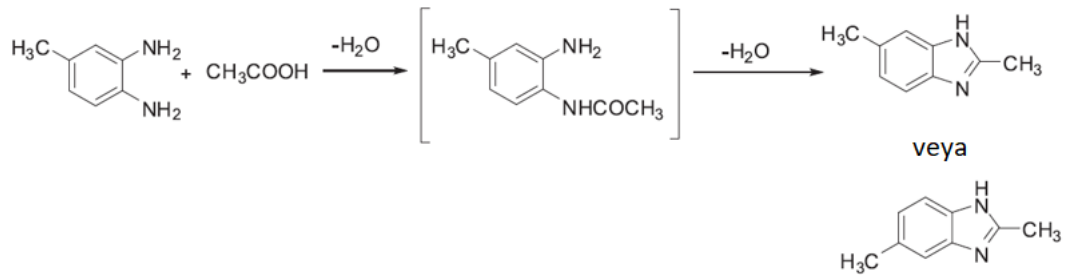
o-Dinitrobenzen türevlerinin kalay klorür ile hidroklorik asit ve asetik asit varlığında, izole edilmeksizin redüksiyonu benzimidazol yapısının oluşmasını sağlamaktadır. 1,2-dinitro-3,4,5,6- tetrametilbenzenin aynı redüksiyon koşullarında asetik asit ile reaksiyonu sonucu 2,4,5,6,7-pentametil benzimidazol oluşmaktadır (Şekil 1.46) (Smith ve Harris 1935; Smith ve Moyle, 1936).



Şekil 1.46. Açılınmış o-nitroarilaminlerden hareketle benzimidazol sentezi.

1.6.2 o-Fenilendiaminler ile karboksilik asitler, asit anhidritleri , esterler ya da amidlerden hareketle

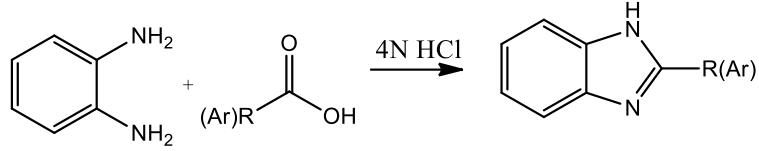
İlk benzimidazol sentezinden birkaç yıl sonra 1875 yılında Ladenburg tarafından 3,4-diaminotolueni asetik asidin reaksiyonu sonucu 2,5(2,6)-dimetil benzimidazol elde edilmiştir (Şekil 1.47).



Şekil 1.47. 2,5(2,6)-dimetil benzimidazol sentezi.

Benzimidazol sentezlemek için en çok kullanılan yöntem, o-fenilendiaminlerin seyreltik HCl'deki (genellikle 4N) çözeltisi ile karboksilik asit ya da asit anhidritini

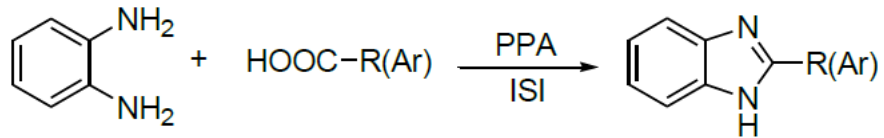
reaksiyona sokmaktır (Şekil 1.48). Bu yöntem literatürde Phillips'in benzimidazol sentezi olarak adlandırılmaktadır (Phillips, 1928a; Phillips, 1928b).



Şekil 1.48. o-Fenilendiamin ile karboksilik asitlerden hareketle benzimidazol sentezi.

1951 yılında Wright tarafından, formik asit ile o-fenilendiaminin reaksiyondan süstitüen taşımayan benzimidazol sentezlenmiştir (Wright, 1951). O-fenilendiamin ile karboksilli asitlerin reaksiyonu sonucu ise, 2-alkil benzimidazoller elde edilmiştir (Pool, Harwood ve ark., 1937).

Hein ve arkadaşları 1957 yılında yaptıkları çalışmada o-fenilendiamin türevleri ile, polifosforik asit varlığında alkil ya da aril karboksilik asitlerle reaksiyonu sonucunda yüksek verimle 2-alkil/aril benzimidazol türevlerinin elde etmişlerdir (Şekil 1.49) (Hein, Alheim ve ark., 1957).



Şekil 1.49. o-Fenilendiamin ile karboksilik asitlerden hareketle benzimidazol sentezi.

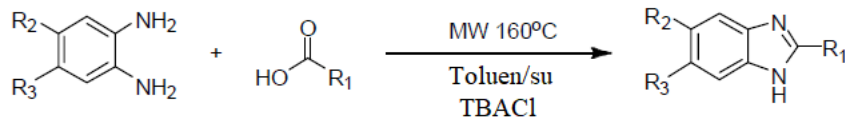
1996 yılından beri o-fenilendiaminlerle karboksilik asit türevlerinin reaksiyonu farklı solvan farklı katalizörler varlığında ya da katalizör kullanmadan mikrodalga yöntemi ile yapılabilmekte ve çok daha kısa sürede daha yüksek verimle sonuç elde edilebilmektedir (Kim, Gatto ve ark., 1996).

2007 yılında yapılan bir çalışmayla Dubey ve arkadaşları, mikrodalga yöntemiyle 2-alkil ya da 2-aril süstitüe benzimidazol türevlerinin polifosforik asit

varlığında sentezinin diğer sentez yöntemlerine göre verimi arttırdığı ve reaksiyon süresini düşürdüğünü belirtmişlerdir (Dubey ve Hari Narayana Moorthy, 2007).

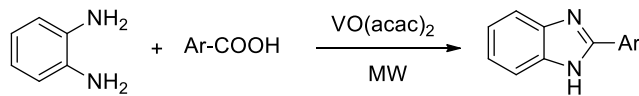
Hasaninejad ve ark., o-fenilendiamin ve mono/di karboksilik asitlerden Silfoks $[\text{POCl}_{3-n}(\text{SiO}_2)_n]$, silika fosfinoksit] ve birkaç damla DMF varlığında birkaç benzimidazol türevlerinin hazırlanması için verimli, hızlı ve basit bir yöntem bildirmişlerdir (Hasaninejad, Niknam ve ark., 2008).

Siji ve ark., o-fenilendiaminlerle karboksilik asit türevlerinin reaksiyonu ile süstitüe benzimidazollerin sentezi için daha kolay bir yaklaşım bumak amacıyla mikrodalga yöntemiyle çeşitli solvan/katalizör sistemleri denemişler ve katalitik miktarda TBACl (tetrabütilamonyumklorür) kullanılarak nispeten daha kolay, verimi yüksek ve izolasyonu daha kolay şekilde çeşitli benzimidazoller sentezlediklerini bildirmişlerdir (Şekil 1.50) (K, Siji ve ark., 2010) .



Şekil 1.50. o-Fenilendiamin ile karboksilik asitlerden hareketle benzimidazol sentezi.

Dey ve ark., 2011 yılında yaptıkları çalışmada mikrodalga ışıması altında ve solvansız koşullarda katalitik miktarda vanadil asetilasetonat ($\text{VO}(\text{acac})_2$) kullanarak o-fenilendiamin ve karboksilik asitlerin reaksiyonundan benzimidazollerin hızlı bir şekilde sentezlenmesi için alternatif bir yöntem bulduklarını bildirmişlerdir (Şekil 1.51) (Dey, Deb ve ark., 2011).

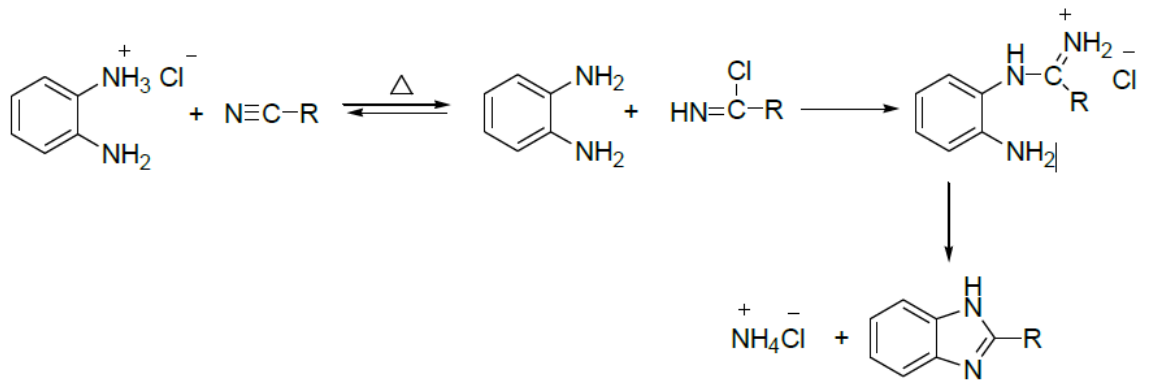


Şekil 1.51 o-Fenilendiamin ile karboksilik asitlerden hareketle benzimidazol sentezi.

Wang ve ark., o-fenilendiamin ve aromatik karboksilik asitlerden yüksek verimle 2-arilbenzimidazolleri sentezlemek için hızlı ve uygun bir yöntem geliştirdiklerini bildirmişlerdir. Bu yöntemde reaksiyonlar katalitik miktarda hidroklorik asit varlığında, çözücü kullanılmadan mikrodalga sentez yöntemiyle yürütülmüştür (Wang, Lu ve ark., 2007).

1.6.3. o-Fenilendiamin ile nitrillerden hareketle

o-Fenilendiamin'in HCl tuzu ile bir alifatik ya da aromatik nitrilin 200°C de reaksiyonu 2-alkil/arilsüstitübenzimidazol yapısı elde edilmektedir (Şekil 1.52) (Wagner, 1940).

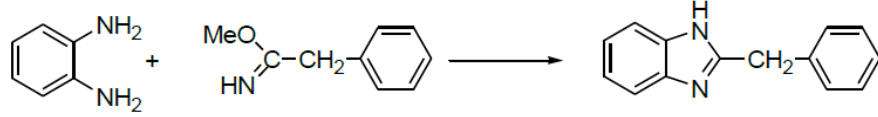


Şekil 1.52. o-Fenilendiamin ile nitrillerden hareketle benzimidazol sentezi.

1.6.4. o-Fenilendiaminler ile iminoeterlerden hareketle

o-Fenilendiamin ile iminoeter türevi bileşiklerin, metanoldeki çözeltisinin ısıtılması sonucu 2-benzilbenzimidazol türevi bileşikler elde edilmektedir (Şekil 1.53) (King ve Acheson, 1949).

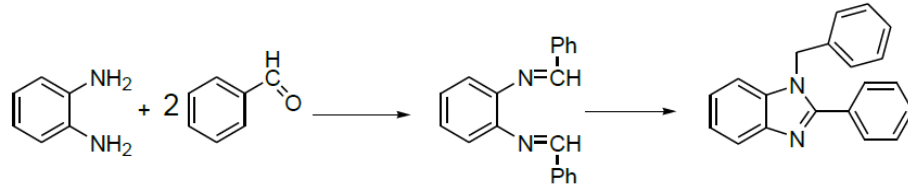
3,4-Diaminobenzamidin bileşiminin yine aynı yöntemle çeşitli imidat esterleri ile reaksiyonu sonucunda, 2-5'-bis-benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiştir (Czarny, Boykin ve ark., 1995).



Şekil 1.53. o-Fenilendiaminler ile iminoesterlerden hareketle benzimidazol sentezi.

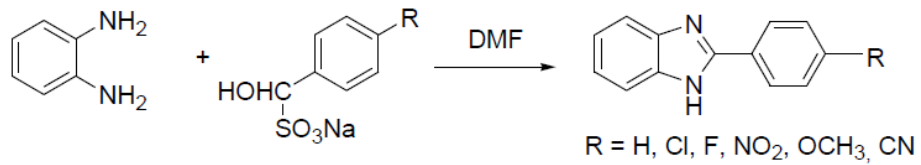
1.6.5. o-Fenilendiamin ile aldehit ya da ketonlardan hareketle

Bir mol o-fenilendiamin ile iki mol aldehitin reaksiyonu sonucunda oluşan Schiff bazı üzerinden benzimidazol yapısının oluşumuna ait reaksiyon ile 1-benzil-2-fenilbenzimidazol yapısı sentezlenmiştir (Şekil 1.54) (Hinsberg, 1886).



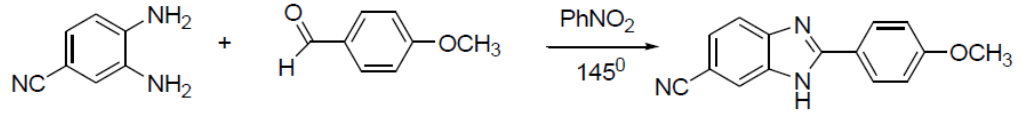
Şekil 1.54. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.

Ridley yaptığı çalışmada, o-Fenilendiamin ile aldehitlerin sodyum bisülfid tuzlarının DMF içerisindeki reaksiyonu ile 2-arilbenzimidazol türevi bileşikler elde etmiştir (Şekil 1.55) (Ridley, Spickett ve ark., 1965).



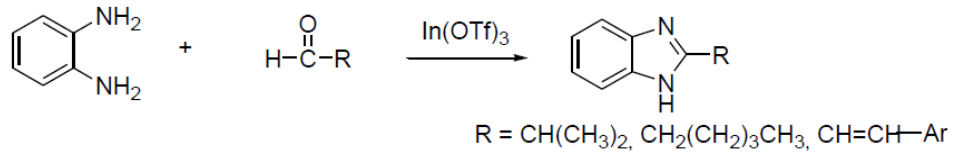
Şekil 1.55. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.

o-Fenilendiamin ve aldehit türevlerinin nitrobenzen varlığında 1:1 mol ile 145-150°C'de reaksiyona girmesi sonucunda benzimidazol türevleri elde edilmektedir (Şekil 1.56). Özellikle bis-benzimidazol ve terbenzimidazol türevi bileşiklerin sentezi bu yöntemle yapılmaktadır (Sun, Gatto ve ark., 1995).



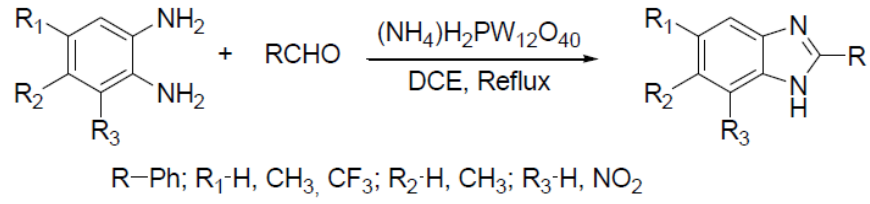
Şekil 1.56. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.

Trivedi ve arkadaşları, 2006 yılında yaptıkları çalışmada o-fenilendiamin ve türevleri ile çeşitli alifatik ya da aromatik aldehitlerin solvensiz ortamda indiyum III triflorometansülfonat $[In-(CF_3SO_3)_3]$ katalizörlüğünde, oda sıcaklığında reaksiyona girmesiyle, 2- sübstitübenzimidazol türevi bileşiklerin daha yüksek verimle elde edildiğini göstermişlerdir (Şekil 1.57). Bu yöntemin kolay uygulanabilir olması, reaksiyon süresinin kısa oluşu, daha yüksek verimin elde edilebilmesi, katalizörün reaksiyon sonunda geri kazanılarak tekrar kullanılabilir olması gibi özellikleri mevcut sentez yöntemlerine üstünlük göstermektedir (Trivedi, De ve ark., 2006).



Şekil 1.57. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.

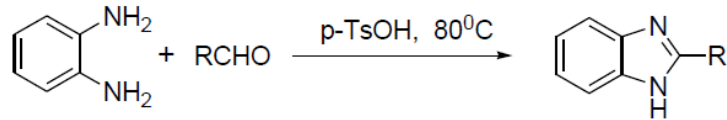
Giri ve ark., o-fenilendiaminlerle aromatik aldehitlerin, 12-tungstofosforik asit monoamonyum tuzu $[(NH_4)H_2PW_{12}O_{40}]$ varlığında, benzimidazol oluşum reaksiyonlarını oldukça yüksek verimle gerçekleştirdiği ve aynı zamanda kullanılan bu katalizörün suda çözünmeme gibi bir avantajı olduğunu rapor etmişlerdir (Şekil 1.58) (Giri, Prabavathi Devi ve ark., 2007).



Şekil 1.58. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.

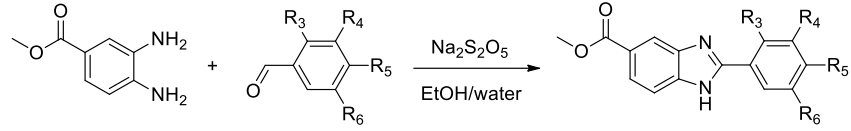
2007 yılında yapılan bir çalışmada 5. ve 6. konumlarında çeşitli süstitüentler taşıyan 2-(süstitüefenil)-1H-benzimidazol türevleri oksidan olarak sodyumpirosülfiti kullanılarak mikrodalga yöntemi ile sentezlenmiştir. Bu yöntem ile benzimidazol türevlerinin sentezini basit, hızlı ve etkin olarak solvensiz ortamda gerçekleştirebildiği rapor edilmiştir ((Navarrete-Vázquez, Rojano-Vilchis ve ark., 2006).

Xiangming ve arkadaşları (2007) o-fenilendiaminler ve aldehitlerden hareketle p-TsOH katalizörlüğünde 2-arilsüstitüebenzimidazol türevlerini elde etmişlerdir (Şekil 1.59). Bu yöntemle, diğer yöntemlere kıyasla benzimidazol türevlerini daha basit ve etkin bir yolla ve daha kısa sürede elde ettiklerini belirtmişlerdir (Xiangming, Huiqiang ve ark., 2007).



Şekil 1.59. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.

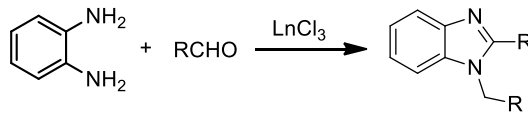
2017 yılında Sharma ve ark., hem konvansiyonel ve hem de mikrodalga destekli yöntemler kullanılarak o-fenilendiaminlerden sodyum metabisülfite varlığında farklı gruplarla süstitüe edilmiş benzaldehitleri reaksiyona sokarak bir dizi yeni benzimidazol türevini sentezlemişlerdir (Şekil 1.98). Mikrodalga destekli sentezin reaksiyon sürelerinde önemli bir azalmaya ve tüm türevlerin veriminde iyileşmeye neden olduğunu bildirmişlerdir (Sharma, Reddy ve ark., 2017).



Şekil 1.60. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonuyla benzimidazol sentezi.

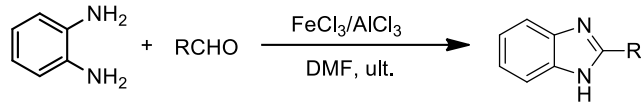
2-sübstitübenzimidazol türevlerinin selektif olarak yapılan sentezleri ise o-fenilendiamin türevlerinin aromatik aldehitlerle, organik bir tuz, amonyum asetat ve mutlak etanol içerisinde oldukça iyi bir verimle gerçekleşmektedir. Aynı zamanda oluşan benzimidazol türevleri basit bir kristalizasyon yöntemi ile ayrılacaklarından yüksek verimle elde edilebilmektedir (Sharghi, Asemani ve ark., 2008).

Zhang ve ark., solvensiz koşullarda ve ultrasonik ışını altında, katalizör olarak nadir toprak metal klorürleri kullanılarak 1,2-disübstitlenmiş benzimidazolleri etkili bir biçimde sentezlediklerini bildirmişlerdir. Ekonomik ve kolayca temin edilebilen Lewis asit katalizörlerinden (nadir toprak metal klorürleri) lantan klorür (LnCl_3), gerçekleştirilen reaksiyonlarda oldukça katalitik aktiviteler göstermiştir (Şekil) (Zhang, Xia ve ark., 2012).



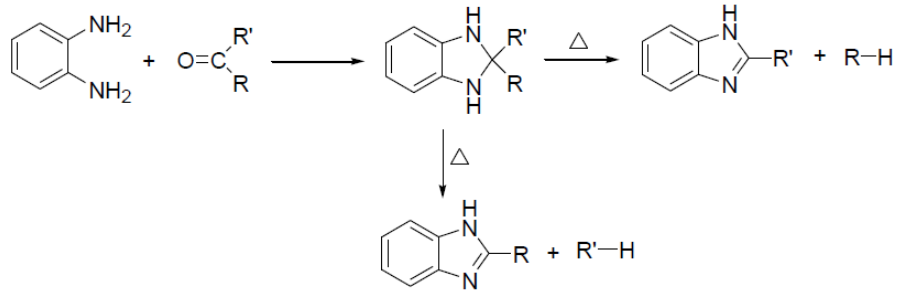
Şekil 1.61. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonuyla 1,2-disübstitü benzimidazol sentezi.

Chen ve ark., 2012 yılında yaptıkları çalışmada ultrasonik ısınlama altında o-fenilendiamin ve aldehitlerden benzimidazol sentezlemek için $\text{FeCl}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ katalizörünü kullandıklarını bildirmişlerdir (Şekil). Ilımlı koşullarda yürüyen bu reaksiyonun avantajları arasında yüksek verim, kısa reaksiyon süresi ve toksik ve pahalı olmayan katalizör kullanımı olduğunu belirtmişlerdir (Chen, Dong ve ark., 2012).



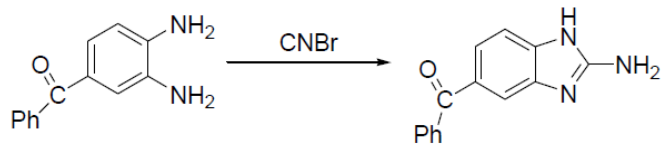
Şekil 1.62. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi.

o-Fenilendiamin, ketonlarla reaksiyona girdiğinde 2,2-disübstitüe benzimidazolinleri vermekte ve oluşan ürün ısıtıldığında zaman 2-sübstitüe benzimidazol ve hidrokarbon yapılarını vermek üzere parçalanmaktadır (Şekil 1.63) (Elderfield ve Kreysa 1948; Elderfield ve McCarthy 1951).



Şekil 1.63. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi.

Ohemeng ve Roth, 3,4-Diaminobenzofenon ile siyanobromür sulu ortamda reaksiyona sokarak 2-amino-5(6)-benzoil-1H-benzimidazol sentezlemişlerdir (Şekil 1.64) (Ohemeng ve Roth, 1991).

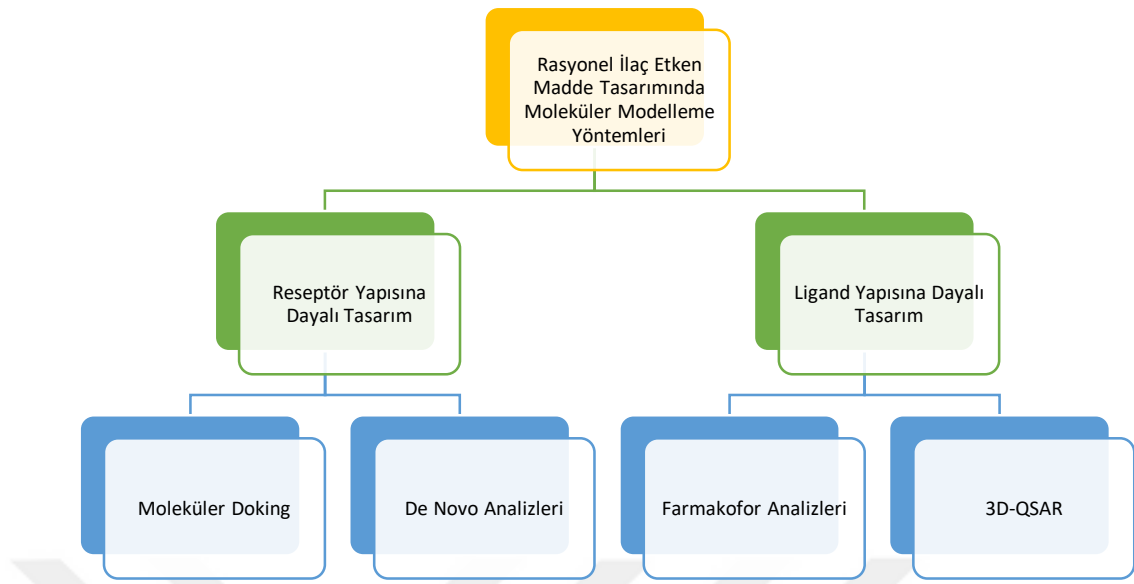


Şekil 1.64. o-Fenilendiamin ile aldehit reaksiyonu ile benzimidazol sentezi.

1.7. Moleküler Modelleme Yöntemleri

İlaç keşif disiplinler arası, karmaşık, zaman alıcı ve pahalı bir süreçtir. İlaç endüstrisinin şu anda 20 yıl öncesine göre araştırma ve geliştirmeye çok daha fazla harcandığı ancak daha az yeni molekül ürettiğini bilim otoritelerince kabul etmektedir (Zoete, Grosdidier ve ark., 2009). Bu nedenle farmasötik ve medisinal kimyacıların en önemli hedeflerinden biri ilaç etken maddesi olabilecek spesifik etkili yeni kimyasal bileşiklerin rasyonel tasarımını sağlayabilmek olmalıdır. Bu amaçla bilgisayar destekli ilaç etken madde tasarım ve geliştirme çalışmalarına verilen önem giderek artmaktadır. Moleküler modellemenin amacı, bir molekülün kimyasal ve fiziksel özellikleri ile biyolojik fonksiyonu arasındaki temel ilişkiyi, kimyasal yapısını ve üç boyutlu (3D) yapısını anlamaktır. Bu anlayış, bu özelliklerin moleküllerin kimyasal, katalitik veya biyolojik fonksiyonlarıyla ilişkilendirilmesi ve en önemlisi değişen fonksiyona ait moleküllerin rasyonel olarak tasarlanmasına olanak sağlamaktadır. Kimyasal yapı ve biyolojik etki arasındaki bu bağlantı, moleküler biyoloji, protein bilimi, ilaç tasarımı ve polimer bilimi gibi birçok bilim dalı için hayati önem taşımaktadır (Gund 1996).

Yeni ilaç etken madde geliştirme çalışmalarında moleküler modelleme oldukça önemli bir yere sahiptir. İlaç etken maddesi adayı moleküllerin rasyonel tasarımı ve moleküler modelleme çalışmaları, araştırmacının bakış açısını yansıtmaları bakımından da önemlidir. Son yıllardaki bilgisayar donanım ve yazılımındaki teknolojik gelişmeler moleküler modelleme çalışmalarının uygulanmasını daha kolay bir hale getirmiştir. Etken madde tasarımındaki rasyonel yaklaşımlar, ligand yapısına dayalı tasarım ve hedef yapısına dayalı tasarım olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Şekil 1.65). Ligand yapısına dayalı tasarımda belli bir hedef üzerine etkili moleküllerin yapısından faydalanılarak reseptör yapısının yorumlanması amaçlanmaktadır. Ligand yapısına dayalı tasarım QSAR (Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri) çalışmaları ve Farmakofor Çalışmaları adı altında iki bölümde incelenebilmektedir. Hedef yapısına dayalı tasarımda, bilinen reseptör, protein, enzim yapısından hareketle etki gösterebilecek moleküllerin tasarlanması amaçlanmaktadır (Young, 2009).



Şekil 1.65. Rasyonel ilaç etken madde tasarım yöntemleri.

1.7.1. Doking Yöntemi (Reseptör Tabanlı Tasarım)

Moleküler doking 1980lerin başlarında beri önemli bir araştırma alanıdır ve günümüzde *in siliko* ilaç tasarımında en yararlı araçlardan biridir ve pek çok ilaç tasarım programının temel parçasıdır (Zoete, Grosdidier ve ark., 2009) . İlaç tasarımında, küçük moleküller ile reseptörler arasında yapılan doking çalışmaları gittikçe artan bir önem kazanmaktadır (Schneider ve Böhm 2002; Toledo-Sherman ve Chen 2002). Moleküler doking yöntemi ile bir makromolekülün örneğin bir enzimin atomik çözünürlüğü ele alınarak, bu enzime bağlanarak aktivitesini modüle eden yeni moleküller keşfetmek mümkün olmaktadır. Bu yöntem tüm reseptör (hedef) tabanlı tasarım ve keşif çabalarının ardındaki öncüdür. Doking çalışmalarında hedefin yapısı bu hedefe etkili yeni ilaç adaylarının keşfi için bir şablon oluşturmaktadır (Shoichet, McGovern ve ark., 2002).

Doking küçük moleküllü ilaç adaylarının protein hedeflerine karşı ilgisini, bu proteinlere bağlanma enerjilerini ve dolayısıyla biyolojik aktivitesini önceden tahmin edebilmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu nedenle, ilaçların rasyonel tasarımında önemli bir yeri vardır (Kitchen, Decornez ve ark., 2004). Protein yapılarına küçük, çoğunlukla organik bileşiklerin dok edilmesi, biyolojik süreçleri anlamak ve ilaç adayı moleküller tasarlamak için çok önemlidir. Doking yöntemi ile ligand veri tabanlarını taramak ve moleküler etkileşimleri doğru bir şekilde analiz etmek için bir dizi farklı yöntem geliştirilmiştir. (Lengauer ve Rarey, 1996).

Doking işlemi, hedeflenen bir bağlanma bölgesi içinde ligand konformasyonunun ve oryantasyonunun (veya pozunun) öngörülmesini içerir. Burada poz ile belirtilen molekülün reseptörün bağlanma yoresi ile uyum gösteren konformasyonudur. Doking işlemi için kullanılan bilgisayar programları protein veya ligand esnekliğini ele almalarına, örnekleme algoritmalarına ve sonuçları yorumlama (skorlama) fonksiyonlarına göre farklılanırlar.

1.7.1.1. Gold Doking Metodu

Gold (Ligand Doking için Genetik Optimizasyon), proteinin kısmi esnekliği ile tam bir ligand konformasyonel esnekliğini keşfetmek için genetik algoritma kullanan otomatik ligand doking programıdır (Jones, Willett ve ark., 1997). Yöntemin spesifik özellikleri şunlardır:

- (1) Protein-ligand dokingi için paralel genetik algoritma (GA), (Bu algoritma ligandın tercih edilen yönelimi ve konformasyonu için olasılıksal bir araştırma yapar.)
- (2) Tam ligand ve kısmi protein esnekliği;
- (3) Konformasyon analizlerinden elde edilen özel enerji fonksiyonları. Doğrudan gerçek değer değişkenleri üzerinde çalışan doking algoritmalarının çoğunluğunun aksine GOLD, ligand ve reseptör arasındaki olası hidrojen bağlama

etkileşimlerini kullanır. Genetik algoritma (GA), iyi (ancak zorunlu olarak optimal olmayan) çözümlerin tanımlanmasını sağlayan bir arama yaklaşımı sağlar. En yüksek afinite bağlanma modlarını tanımlamak için birkaç doking çalışması gereklidir. Bu evrimsel örnekleme tekniğinin önemli bir avantajı, esnek-ligand ve protein yüzey atomları gibi oldukça karmaşık bir arama alanında çözüm bulma yeteneğidir (Lengauer ve Rarey, 1996).

Genetik algoritma (GA), kromozom adı verilen veri yapılarının bir koleksiyonu manipüle evrim sürecini taklit eden bir bilgisayar programıdır. Bu yapıların her biri, doking problemine olası bir çözümü (yani protein bağlanma bölgesi içinde olası bir ligand oryantasyonunu) kodlar ve bu çözümün göreceli değerine dayalı bir uyum skoru tayin edilebilir (Jones, Willett ve ark., 1997).

1.7.2. Farmakofor Analizleri (Ligand Tabanlı Tasarım)

Farmakofor ilk defa 1909 yılında Paul Erlich tarafından “bir ilacın biyolojik aktivitesinden sorumlu temel özellikleri taşıyan moleküler çerçeve” olarak tanımlanmıştır. IUPAC (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği) ise farmakoforu “bir farmakofor, spesifik bir biyolojik hedef ile onu tetiklemek üzere optimal supramoleküler etkileşimin gerçekleşmesi için gerekli olan sterik ve elektronik yapıların toplamıdır” olarak tanımlamaktadır. Farmakofor analizleri vücuttaki reseptör, enzim ya da proteinlerin üç boyutlu yapısı bilinmediğinde bu yapılara etkili olduğu bilinen ligandların ortak özelliklerinin bulunması ile reseptör yapısının yorumlanmasında ve bu hedefe etkili olabilecek farklı moleküllerin tasarımında kullanılmaktadır.

Modern kimyada farmakofor, aynı biyolojik etkiye sahip bir veya daha fazla molekülün temel özelliklerini belirlemede kullanılır. Oluşturulan bu farmakofor ya da “kimyasal çerçeveler” binlerce kimyasal bileşiği içeren veritabanlarında birbirinden benzer uzaklıkta konumlanmış aynı özellikleri paylaşan molekülleri aramak için kullanılabilir. Aynı protein hedefi için aynı farmakoforu paylaşan farklı bileşikler bu protein için benzer bağlanma modeline sahip olabilirler. Tipik bir farmakofor modeli hidrofobik, aromatik halka, hidrojen bağ akseptörü (HBA), hidrojen bağ donörü (HBD) gibi temel özellikleri içerir (Qingzhi, Lulu ve ark., 2010).

Oluşturulan farmakofor model bileşiklerin bağlanma veya inhibisyonu hakkında bilgi verebilir, daha çok sayıda aktif bileşiğin oluşturulması için bir temel oluşturabilir ve aynı farmakoforu içeren moleküllerin bulunmasına yardımcı olabilir. Bir farmakofor, yapısal olarak farklı ligandların ortak bir reseptöre bağlanmasına açıklama getirmektedir (Gund, 1996).

Farmakofor modelleri geliştirmek için iki yaklaşım vardır; bunlardan birincisi bilinen reseptör yapısının ya da bir reseptör-ligand kompleksinin analizi ile yapılmaktadır, ikincisi ise hedef içinde aynı alana bağlanması gereken bir dizi ligandan yola çıkarak yapılmaktadır (Wolber ve Langer, 2005).

1.7.2.1.Kimyasal Özellik Tabanlı Farmakofor Model

Ligand bazlı ilaç tasarımı, bir dizi biyo-aktif molekülden kimyasal özellik tabanlı farmakofor oluşturulması, sıklıkla tercih edilen bir yaklaşımdır. Bu yaklaşımda, spesifik bir terapötik alanda aktif olarak bilinen bir seri bileşikten biyolojik aktiviteleri göz önünde bulundurmaksızın, ortak özellik farmakofor modelleri oluşturulmaktadır.

İki veya daha fazla biyoaktif molekülü hizalamak ve üst üste çakıştırmak, hesaplamalı ilaç keşfi ve biyo-aktivite tahminindeki temel araçlardan biridir. Ligand tabanlı (kimyasal özellik tabanlı) farmakoforlar, tek bir spesifik reseptöre bağlanan belirli bir ligand setinin farklı konformasyonlarının üstüste çakıştırılmasıyla otomatik olarak oluşturulmaktadır (Wolber ve Langer, 2005). Bağlanmadan sorumlu ortak kimyasal özellikleri bir araya getiren farmakofor, benzer iki biyo-aktif molekülün makromoleküle benzer bir şekilde bağlanmasına ve benzer biyolojik tepkiler vermesine izin verir. 3 boyutlu farmakofor modeller, farmasötik kimyacının bir molekülü çok sezgisel bir şekilde yansıttığından, küçük moleküllerin hedeflerine bağlanmasının çok kapsamlı ve dolayısıyla güçlü bir temsildir ve farmasötik kimyacının bir molekül hakkındaki görüşünü sezgisel bir şekilde yansıttıkları için oldukça önemlidir. Biyo-izosterizm kavramını, sadece atomları veya topolojik benzerlikleri değil, aynı kimyasal işlevselliğe sahip benzer konumlardaki yapısal grupları da karşılaştırarak yakalarlar. Topolojik molekül karakteristikleri genellikle biyokimyasal etkileşim özelliklerine göre yanıtıcı olduğundan, kimyasal özelliklere konsantre olmak gereklidir (Wolber, Dornhofer ve ark., 2006).

Yapılan tüm bu çalışmalardan yola çıkılarak doktora tezi kapsamında tümü benzimidazol halka yapısı taşıyan 17 tanesi 5-karboksamid türevi (**1a-r**) ve 7 tanesi (**2a-g**) 5-karbohidrazid türevi toplam 24 sonuç ürün (Çizelge 1.1) sentezlenmiş, sentezlenen bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, Kütle ve Elementel Analiz yöntemleri kullanılarak aydınlatılmış, sitotoksik etkileri gözlenmiş ve gerçekleştirilen moleküler modelleme çalışmaları sonucunda sentezlenen bileşiklerin topoizomeraz IIα enzimi üzerindeki etkileşme dinamikleri moleküler doking ve farmakofor modeli çalışmaları yürütülerek incelenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez, Saflaştırma İşlemleri ve Yapı Analizlerinde Kullanılan Gereçler

Sentezlenen bileşiklerin NMR analizleri, ^1H -NMR spektrumları şeklinde, Varian Mercury 400 High Performance Digital FT-NMR Spektrometre cihazı ile 400 MHz.'de yapılmıştır. İç standart madde olarak tetrametilsilan (TMS), çözücü olarak dimetilsülfoksit- d_6 (DMSO- d_6) ve CDCl_3 kullanılmıştır. Mass (Kütle) analizleri, Waters 2695 Alliance Mikromass ZQ marka LC/MS spektrometre cihazında, Elektrosprey İyonizasyonu (ESI) yöntemi uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin erime noktası tayini, Büchi B540 cihazı kullanılarak, kapiller yöntem ile belirlenmiştir. Değerler düzeltilmeden verilmiştir. Elementel analizler, CHNS-932 (LECO) Elementel Analiz cihazı kullanılarak yapılmıştır. Sentez çalışmaları sırasında, reaksiyonlardaki gelişmeyi izlemek, elde edilen maddelerin saflık derecelerini saptamak amacıyla, ince tabaka kromatografisinden (İTK) yararlanılmıştır. Bu amaçla SilicaGel 60 GF₂₅₄ alüminyum plaklar (Merck) kullanılmıştır. Sentez edilen maddelerin uygun çözücü sisteminde sürüklenme işlemi tamamlandıktan sonra plaklar açık havada kurutulmuştur. Lekelerin belirlenmesi için 254 ve 366 nm dalga boyundaki UV ışığı veren Camag UV Lambasından faydalanılmıştır.

2.1.1. Sentez, Saflaştırma ve Analiz İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler

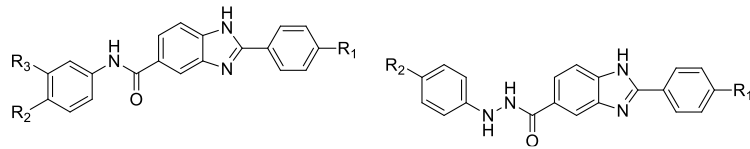
Bu amaçla kullanılan kimyasal bileşikler şu şekildedir; 3,4-diamino benzoik asit (Aldrich), tiyonil klorür (Aldrich), 4-hidroksi benzaldehit (Aldrich), 4-metoksi benzaldehit (Aldrich), benzaldehit (Sigma-Aldrich), 4-bromo benzaldehit (Acros), 4-tolualdehit (Acros), 4-aminofenol (Sigma-Aldrich), p-anisidin (Himedia), m-anisidin

(Merck), 4-kloroanilin (Himedia), 4-bromoanilin (Himedia), 3-nitroanilin (Acros), 4-klorofenilhidrazin hidroklorür (Aldrich), 4-bromofenilhidrazin hidroklorür (Aldrich), 4-nitrofenilhidrazin hidroklorür (Acros), sodyum bikarbonat (Fluka), benzen (Riedel-de Haën), etanol (Riedel-de Haën), metanol (Riedel-de Haën), diklorometan (Carlo Erba), kloroform (Riedel-de Haën), etil asetat (Riedel-de Haën), *n*-hekzan (Merck), dietileter (Carlo Erba), dimetilsülfoksit-*d*₆ (DMSO-*d*₆) (Merck).

2.2. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez ve Saflaştırma Yöntemleri

Doktora tezi kapsamında 2-(4-süstitüefenil)-N-(3/4-süstitüefenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamid (**1a-l**) ve N'-(4-süstitüefenil)-2-(4-süstitüefenil)-1*H*-benzimidazole-5-karbohidrazid (**2a-h**) türevlerinin sentezleri değişik sentez yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve bu bileşikler Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşikler.

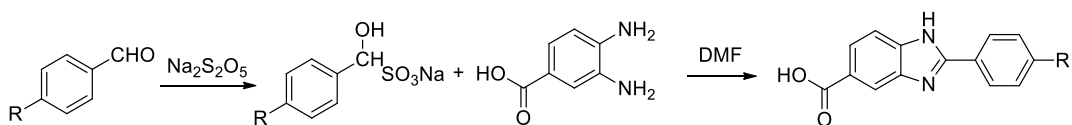


	R ₁	R ₂	R ₃		R ₃	R ₂
1a	-H	-Cl	-H	2a	-NO ₂	-OH
1b	-H	-OCH ₃	-H	2b	-NO ₂	-OCH ₃
1c	-OH	-Cl	-H	2c	-Br	-OCH ₃
1d	-OH	-OCH ₃	-H	2d	-Cl	-OCH ₃
1e	-OH	-H	-CF ₃	2e	-Cl	-CH ₃
1f	-OCH ₃	-OCH ₃	-H	2f	-Br	-CH ₃
1g	-OCH ₃	-Cl	-H	2g	-Br	-Br
1h	-OCH ₃	-OH	-H			
1i	-OCH ₃	-Br	-H			
1j	-OCH ₃	-H	-OCH ₃			
1k	-CH ₃	-Cl	-H			
1l	-CH ₃	-OH	-H			
1m	-CH ₃	-OCH ₃	-H			
1n	-CH ₃	-H	-OCH ₃			

1o	-Br	-OCH ₃	-H			
1p	-Br	-H	-NO ₂			
1r	-Br	-Cl	-H			

2.2.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi

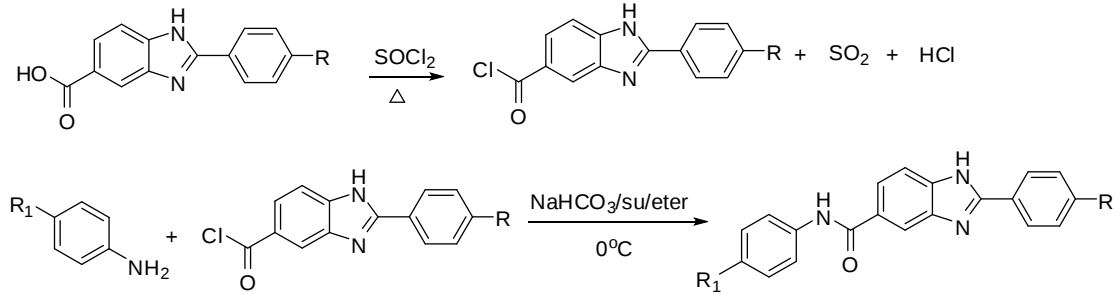
2-(4-süstitüe fenil)-benzimidazol-5-karboksilik asit türevi başlangıç maddelerinin sentezi için uygun benzaldehit türevlerinin 30 mmol'ü 100 ml etanolde çözülmüştür. Başka bir beherde 3,2 gram (30 mmol) sodyum metabisülfite 10 ml distile su içinde çözülmüş ve etanol içerisindeki benzaldehide yavaş yavaş eklenmiştir. Reaksiyon karışım 20-30 dk kuvvetlice karıştırıldıktan sonra çökmesi için birkaç saat buzdolabında bekletilmiştir. Daha sonra oluşan çökelek süzölmüş ve kurutulmuştur (%90'dan fazla verim). Elde edilen bu sodyum metabisülfite tuzlarının 2 mmolü ile 2 mmol 3,4-diamino benzoik asit 5 ml DMF içerisinde 130 °C'de 4 saat geri çeviren dik soğutucu altında karıştırıldı. Süre bitiminde reaksiyon karışımı soğutulmuş, suya dökölerek çöktürölmüş ve oluşan çökelek süzölerek 2-(4-süstitüe fenil)-benzimidazol-5-karboksilik asit türevlerine ulaşölmüştür.



Şekil 2.1. 2-(4-süstitüe fenil)-benzimidazol-5-karboksilik türevlerinin sentezi şeması.

2.2.2. Elde Edilen 2-(4-Süstitüefenil)-N-(3/4-süstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-5-karboksamid Türevi Bileşiklerinin Sentezi, Reaksiyon Denklemleri ve Saflaştırma Yöntemleri

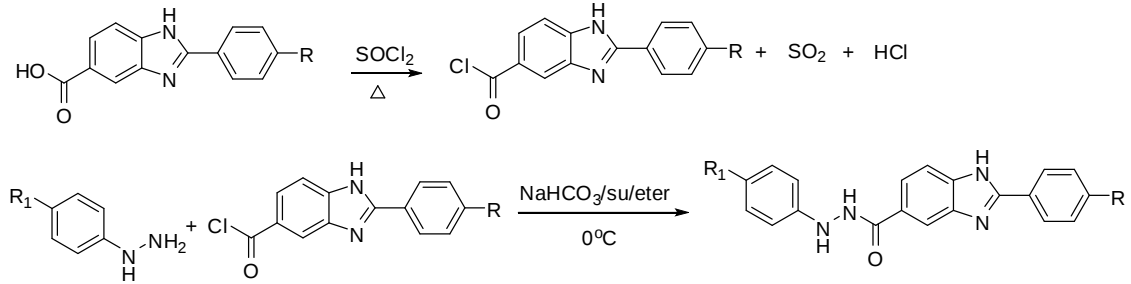
Sonuç ürünlerin sentezi için elde edilen 2-(4-süstitüefenil)-benzimidazol-5-karboksilik asit türevlerinin 1 mmol'ü 8 ml tıyonil klorür içerisinde geri çeviren soğutucu altında 80 °C'de 6 saat süre ile manyetik karıştırıcıda ısıtılmıştır. Süre bitiminde reaksiyon ortamından tıyonilklorür benzen ilavesi ile indirgenmiş basınç altında rotarievaporatörde uçurularak 2-(4-süstitüefenil)-benzimidazol-5-karboksilik asitlerinin açıl klorür türevlerine geçilmiştir. Bu türevlerin 10 ml anhidr dietileter içinde çözülerek elde edilen çözeltisi buz banyosunda soğutulan 4-süstitüefenil anilin (1 mmol), sodyum bikarbonat (2 mmol), eter (10 ml) ve su (10 ml) dan oluşan karışım üzerine damla damla ilave edilmiştir. Karışım bir gece buz banyosunda karıştırıldıktan sonra süzülerek sırasıyla su, 2N HCl, su ve eter ile yıkanmıştır. Elde edilen çökelek daha sonra etanol içerisinde çözülerek, daha sonra aktif kömür ile muamele edilmiştir. Bileşik etanolden kristallendirildikten sonra vakum etüvünde kurutulmuştur.



Şekil 2.2. 2-(4-Süstitüefenil)-N-(3/4-süstitüefenil)-1H-benzo[d]imidazol-5-karboksamid türevlerinin sentez şeması.

2.2.3. Elde Edilen N'-(4-sübstitüefenil)-2-(4-sübstitüefenil)-1H-benzimidazole-5-karbohidrazid Türevi Bileşiklerinin Sentezi, Reaksiyon Denklemleri ve Saflaştırma Yöntemleri

N'-(4-sübstitüefenil)-2-(4-sübstitüefenil)-1H-benzimidazole-5-karbohidrazid türevi bileşiklerin sentezi için öncelikle 2-(4-sübstitüefenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit türevlerinin ve açıl klorürlerinin sentezi aynı şekilde gerçekleştirilmiştir. N'-(4-sübstitüefenil)-2-(4-sübstitüefenil)-1H-benzimidazole-5-karbohidrazid türevlerine geçmek için elde edilen 2-(4-sübstitüefenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit açıl klorürlerin 10 ml anhidr dietileter içinde çözülerek elde edilen çözeltisi buz banyosunda soğutulan 4-sübstitüefenil hidrazin (1 mmol), sodyum bikarbonat (2 mmol), eter (10 ml) ve su (10 ml) dan oluşan karışım üzerine damla damla ilave edilmiştir. Karışım bir gece buz banyosunda karıştırıldıktan sonra süzülerek sırasıyla su, 2N HCl, su ve eter ile yıkanmıştır. Elde edilen çökelek daha sonra etanol içerisinde çözülerek, daha sonra aktif kömür ile muamele edilmiştir. Bileşik etanolden kristallendirildikten sonra vakum etüvünde kurutulmuştur.



Şekil 2.3. N'-(4-sübstitüefenil)-2-(4-sübstitüefenil)-1H-benzimidazole-5-karbohidrazid türevlerinin sentez şeması.

Sentez çalışmaları sırasında, reaksiyonu izlemek ve ürünün saflığını kontrol etmek amacıyla İTK uygulamasında yararlanılan solvan sistemleri aşağıda verilmiştir:

İTK uygulamasında

S₁= Kloroform : Metanol (10:1)

S₂= Kloroform : Metanol (20:1)

S₃= Kloroform : Metanol (30:1)

2.3. Elde Edilen Bileşiklerin Yapı Analiz Yöntemleri

2.3.1. Sentezlenen Bileşiklerin ^1H -NMR Spektral Analizleri*

Sentezlenen bileşikler 1 çözünürlüklerine göre dimetilsülfoksit- d_6 (DMSO- d_6) veya CDCl_3 kullanılarak çözülüp ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları alınmıştır. Bazı bileşikler için COSY ve NOESY spektrumları da alınmıştır. Bu çözücüler % 100 döterolanmış olmayıp, % 98-99,8 oranından döteryum içerdiğinden spektrumlarda çözücülerin döterolanmamış formlarının da pikleri mevcuttur. Spektrumlardaki 2,25-2,35 ppm'de gözlenen pik çözücü içindeki döterolanmamış DMSO'den, 3,35-3,60 ppm'de gözlenen pik DMSO- d_6 içindeki sudan kaynaklanmaktadır.

NMR spektrumları, Varian Mercury-400 FT-NMR spektrometresinde gerçekleştirilmiştir.

2.3.2. Sentezlenen Bileşiklerin Kütle Spektral Analizleri*

Sentezlenen bileşiklere Elektrosprey İyonizasyonu (ESI) yöntemi uygulanarak Kütle spektral analizleri alınmıştır. Bu yöntem ile tüm bileşikler iyonize olmuştur. Bazı bileşiklerde moleküler iyon (M^+) piki gözlenirken, çoğu bileşikte de M^++H piki gözlenmiştir. Klor taşıyan bileşiklerde, izotoplarının bağlı bollukları 3:1 oranında $\text{M}^++\text{H}+2$ pikleri şeklinde gözlenmiştir. Brom taşıyan bileşiklerde, izotoplarının bağlı bollukları 1:1 oranında $\text{M}^++\text{H}+2$ pikleri şeklinde gözlenmiştir.

* Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

2.3.3. Sentezlenen Bileşiklerin Elementel Analizleri*

Sentezlenen bileşiklerin elementel analizleri yapılmış ve bileşiklerin içerdiği C, H, N ve S elementlerinin yüzde miktarları bulunmuş, bu bulgular teorik hesaplamalarla karşılaştırılarak bileşiklerin saflığı ve içerdikleri su miktarları belirlenmiştir. İncelenen bileşiklerdeki C, H, N ve S elementlerinin miktarı $\% \pm 4$ sınırları içinde bulunmuştur.

2.3.4. Erime Noktası Tayinleri

Erime noktası tayini, Büchi B-540 kapiller erime noktası cihazı ile yapılmış ve sonuçlar düzeltilmeden verilmiştir.

2.4. Elde Edilen Bileşiklerin Sitotoksik Etki Tayini Yöntemleri**

Doktora tezi kapsamında sentezlenen moleküllerin, A549 (akciğer), MCF-7 (meme), PC-3 (prostat), HCT-116 (kolon), HT-29 (kolon), HeLa (serviks), K562 (kronik miyeloid lösemi), Raji (akut lenfoblastik lösemi) kanser hücre hatları üzerindeki antikanserojenik etkileri MTT yöntemi kullanılarak test edildi. MTT (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromid), hücre proliferasyonunu, hücre canlılığını ve sitotoksiteyi ölçmede kullanılan kantitatif bir yöntemdir. Bu yöntem, mitokondriyal enzim sistemleri tarafından kataliz edilen tetrazolium tuzlarının indirgenmesine dayanmaktadır. Tetrazolyum tuzları (MTT, XTT, WST-1), genelde substrat olarak renksiz, canlı hücrelerin mitokondriyal aktivitesi sonucu renkli ürünler veren maddelerdir. MTT bu amaçla kullanılan bir tetrazolyum tuzudur, ve substrat olarak sarı renkte olmasına rağmen canlı hücrelerin mitokondrilerinde süksinat-dehidrogenaz (SDH) enzimine spesifik olarak bağlandığında suda çözünmeyen mavi-mor formazan tuzları oluşturur. Canlı ve mitokondriyal

* Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. **Marmara Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir.

fonksiyonları bozulmamış hücreler bu ürünü oluştururken, ölü ve mitokondriyal fonksiyonu bozulmuş hücreler mavi-mor renkli formazan ürününü oluşturmaz. Formazan tuzları, DMSO, izopropanol gibi organik solventlerde kolayca çözünürler. Solventte çözünen materyalin optik dansitesi spektrofotometrik olarak ölçülür. Böylece, hücre canlılığındaki değişim formazan miktarında da değişime neden olur ve spektrofotometrik olarak elde edilen değer, %100 canlılığı gösteren değer ile kıyaslanarak test maddesinin sitoksisitesi belirlenir.

Yukarıda sayılan kanser hücre hatlarında Beekman ve arkadaşlarının kullandığı metod modifiye edilerek sentezlenen moleküllerin anti-kanserojenik etkisi araştırılmıştır (Beekman, Barentsen ve ark., 1997).

2.4.1. MTT Testi Protokolü ve MTT çözeltisinin hazırlanışı

Çalışmada kullanılacak yöntem için ticari olarak satın alınan kit kullanıldı. Paket içerisinde bulunan 5 mg MTT boyası, 1 mL steril fosfat tamponu (PBS) içinde çözüldükten sonra iyice vortekslendi ve çözünmeyen kısımlar santrifüjlenerek üstteki sıvı steril bir ependorfa alındı.

2.4.2. 96 Kuyucuklu Mikrolakalarda Hücre Kültürlerinin Hazırlanması

Yukarıda belirttiğimiz insan kanser hücre serileri öncelikle sayımı yapılarak kuyucuk başına 10.000 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu plakalara ekildi. Kuyucuklara ekilen hücreler inkübatöre kaldırılarak 24 saat süresince inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyon sonunda hücrelere, 10 µM konsantrasyonda hazırlanan sentez bileşikler eklendi ve tekrar inkübatöre kaldırıldı.

2.4.3.MTT Deneyinin Yapılışı

48 saat sonunda inkübatörden çıkarılan kuyucuklardaki hücre besiyeri pipetle çekilip atıldı. Kuyucuklara 200 µl PBS eklenerek kuyucukların iyice temizlenmesi sağlandı. PBS çekilerek taze hazırlanan hücre besiyerinden 100 µl bütün kuyucuklara dağıtıldı. Daha sonra her bir kuyucuğa 10µL MTT solüsyonu eklenerek 4 saat süre boyunca inkübatörde inkübe edildi. 4 saatlik sürenin sonunda kuyucuklara 100 µl sodyum dodesil sülfat (SDS) eklenerek MTT ile oluşan formazon kristallerini çözmek için 12 saat boyunca 37°C’de CO₂ inkübatöründe inkübe edildi. Kültür plağı mikropłaka okuyucusuna konularak absorbans değerleri 570 nm dalga boyunda okutuldu. Hiçbir madde eklenmeyen kontrol kültürlerinden elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması alınarak bu değer % 100 kabul edildi. Sentez molekül içeren kültürlerden elde edilen absorbans değerleri kontrol absorbans değerine oranlandı ve hücrelerin canlılık oranları % olarak ifade edildi. Bu deneyler en az 3 tekrarlı olarak yapıldı.

2.5. Elde Edilen Bileşiklerin Topoizomeraz II Enzimi Üzerinden Gerçekleştirilen Moleküler Modelleme Çalışmaları

2.5.1. Topoizomeraz IIα ve β Enzimleri ile Yapılan Moleküler Doking Çalışmaları

Doktora tezi kapsamında sentezlenmiş olan bileşiklerin etkilerinin topoizomeraz II enzimi üzerinden olabilirliğini değerlendirmek üzere yapılan moleküler doking çalışmalarında referans ligand olarak etoposid taşıyan human topoizomeraz IIα (pdb:5GWK) (Wang, Chen ve ark., 2017) ve β (pdb:3QX3) (Wu, Li ve ark., 2011) Protein Data Bank (PDB) alınarak kullanılmıştır. Enzimin iki izoformu arasında insan topo IIα için seçici olan bileşiklerin geliştirilmesi topo IIβ enziminin

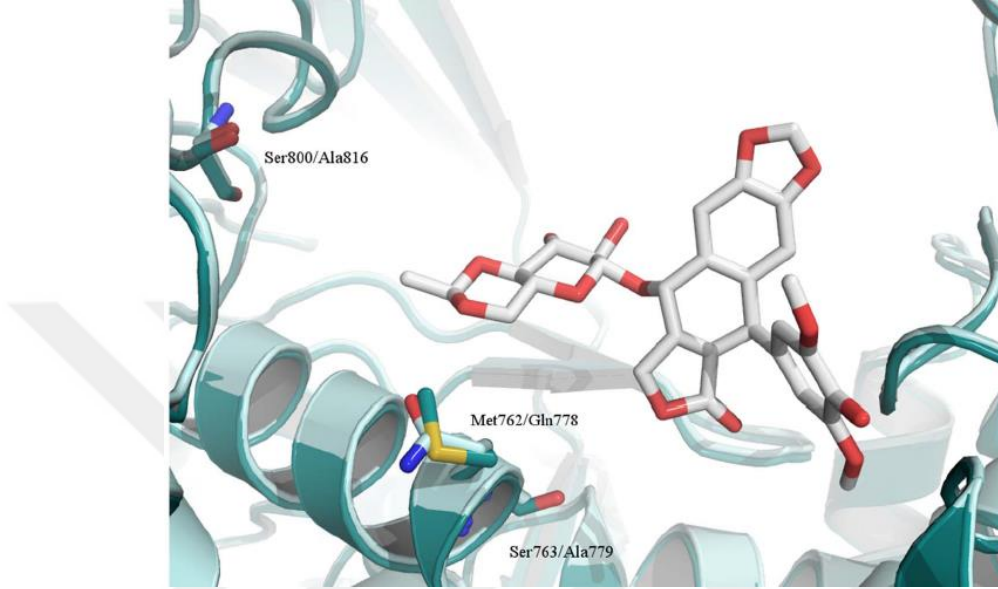
inhibisyonundan kaynaklanan yan etkilere bağılı olarak tercih edilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla, seçici topo II α inhibitörleri geliştirmeye çalışılmaktadır. Bu nedenle, doktora tezi kapsamında doking çalışmaları her iki izoform üzerinden gerçekleştirilip topo II α 'ya seçici olarak etkinlik gösterecek türevler tespit edilmeye çalışılmıştır. Özellikle bağlanma ceplerinde, iki izoform arasındaki yüksek aminoasit dizi benzerliği nedeniyle genellikle seçici bileşikler DNA bölünme yöresinden başka yere bağlanacak şekilde tasarlanmaya çalışılmıştır. Bununla birlikte, yakın zamanda çözülmüş topo II α -DNA kompleks yapısı (Wang, Chen ve ark., 2017), topo II α seçici inhibitörlerinin topo II α kalıntıları Met762 ve Ser800'ü hedefleyerek tasarlanabileceğini ortaya koymuştur. Öncelikle, seçici topo II α bağlanmasının potansiyel olarak elde edilip edilemeyeceğini araştırmak için, bağlanma bölgelerindeki α - ve β -izoform aminoasit dizilerinin karşılaştırılması incelenmiştir (Şekil 2.4) (Drwal, Marinello ve ark., 2014).

Top2B	476	500	520	555	760
	TEGDSAKS ...	FPLRGKIL ...	NAEINN ...	MTDQDQDGSHI ...	VA ...
	TEGDSAKT ...	FPLRGKIL ...	NAEINN ...	MTDQDQDGSHI ...	VA ...
Top2A	460	484	504	539	744
TOP2B	775	806	813		
	HGEQALMMTIVN ...	F ...	GKDAASPRYI		
	HGEMSLMMTIIN ...	F ...	GKDSASPRYI		
TOP2A	759	790	797		

Şekil 2.4. Topo II α ve topo II β 'nin bağlanma yöresi kalıntılarının sekans analizi. Etopozide yakın olan kalıntılar seçilip korunmayan kalıntılar gri renkle vurgulanmıştır.

Analiz, topo II α ve topo II β 'nın bağlanma bölgesi kalıntılarının, %91.4'lük bir sekans benzerliği ile yüksek homolojiyi paylaştığını ortaya çıkarmıştır. Bağlanma cep kalıntılarının sadece beşi iki izoform arasında korunmamaktadır: Thr468/ Ser483, Met762 / Gln778, Ser763 / Ala779, Ile769 / Val785 ve Ser800 / Ala816 (α / β izoformu). Treonin ve serin benzer aminoasitlerdir, izolösin ve valin de aynı benzerliktedir. Bu nedenle, bu kalıntıların seçici inhibitörlerin geliştirilmesi için önemli olmayabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte, metiyonin ve glutamin çok farklı kimyasal özelliklere sahiptir - biri hidrofobik, diğeri ise polar bir amino asittir. Buna ek olarak, serin ve alanin serinin de potansiyel bir hidrojen bağ donörü olması sebebiyle farklılanırlar. Daha önce yapılmış doking çalışmalarından elde edilen topo II α modelindeki etopozid docking pozu, Ser763 ve Met762'nin etopozide çok yakın

bir yerde bulunduğunu ve dolayısıyla yeni inhibitörler tarafından hedef alınabileceğini, ancak Ser800 kalıntısının bir topo II α zehiri tarafından hedeflenmek için DNA bölünme bölgesinden çok uzak olduğu göstermiştir (Şekil 2.5) (Drwal, Marinello ve ark., 2014).

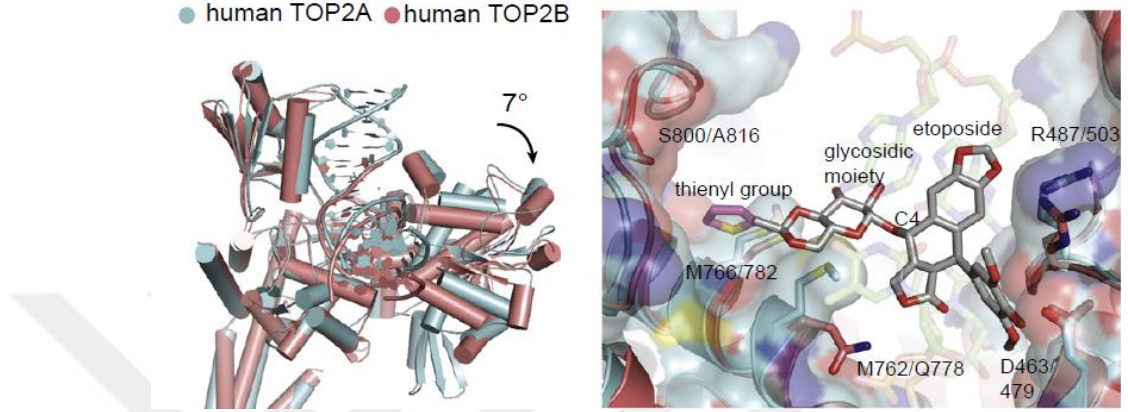


Şekil 2.5. Topo II α 'ya karşı selektif moleküller tarafından hedeflenebilecek muhtemel kalıntılar. Top2a homoloji model (koyu turkuaz) ve Top2b kristal yapısının (açık mavi) süperimpozisyonu (üst üste çakıştırılması). Etopozidin topo II β içinde pozı beyaz çubuk şeklinde gösterilmiştir.

Wendorff ve ark., 2012 yılında yaptıkları çalışmada iki izoformun karşılaştırması, topo II α ve topo II β arasında daha iyi ayırım yapmak için etopozidin modifiye edilebileceği birkaç olası yol önermişlerdir. Molekülün lakton kısmına farklı sübstitüsyonların eklenmesiyle, elde edilen etopozid analogunun (tenipozid) in vitro olarak topo II β ile karşılaştırıldığında topo II α 'ya karşı dört kat daha büyük bir inhibitör etki gösterdiği bilinmektedir. Çalışmada, böyle bir yaklaşımın moleküler modelleme için kullanılabileceğini bildirilip, tenipozidin, etopozid glikozidik C-halkası üzerinde bulunan metil grubu yerine taşıdığı tiyenil kükürdünün Ser800 ile van der Waals bağı ile etkileşebileceğini öne sürmüşlerdir (Wendorff, Schmidt ve ark., 2012).

Wu ve ark. ise, topo II β ile gerçekleştirdikleri kristallografi çalışmasında her ne kadar ilaçla temas eden kalıntılar izoformlar arasında yüksek oranda korunsa da, bu

kalıntılardan biri olan Gln778'in α izoformda metiyonin (M762) ile değiştirildiğini belirtmişler ve kalıntı polaritesinde böyle bir değişikliğin yeni seçici antikanser ilaçlarının geliştirilmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Şekil 2.6) (Wu, Li ve ark., 2011).

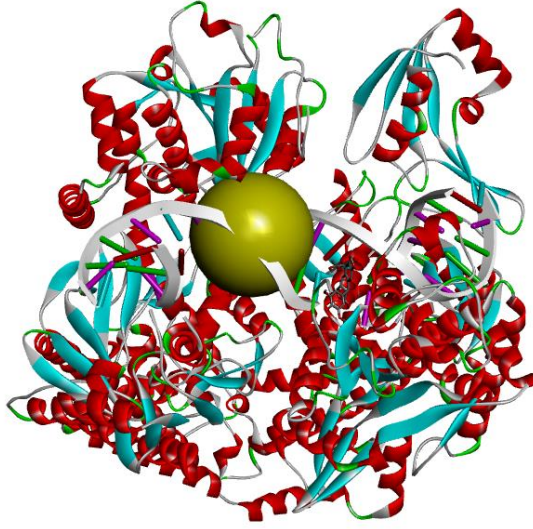


Şekil 2.6. Topo II α ve topo II β 'nin konformasyonlarının üst üste karşılaştırılarak gösterimi (solda). Tenipozidin tiyeni grubu ile Ser800 kalıntısına yaklaşması (sağda).

Tüm bu bilgiler ışığında, tez kapsamında gerçekleştirilen doking çalışması ile topo II α -seçici moleküller belirlenmeye çalışılmıştır. Doking işleminden önce, enzimlerin ve doking yapılacak tüm moleküllerin minimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

2.5.1.1. Proteinlerin hazırlanması:

Protein Veri Bankası (PDB)'ndan alınan **5GWK** ve **3QX3** kodlu kristal yapılar CHARMM minimizasyon algoritmalarından Adopted Basis Newton Raphson (ABNR) yöntemi kullanılarak minimize edilmiştir. Ligandların konumlandığı aktif bölgeler tespit edilerek doking işleminin gerçekleştiği küre şeklindeki alanın koordinatları ve çapı (Şekil 2.7) belirlenmiştir.



Kürenin koordinatları: 24,37 -38,55 -59,88
Kürenin çapı: 10,50



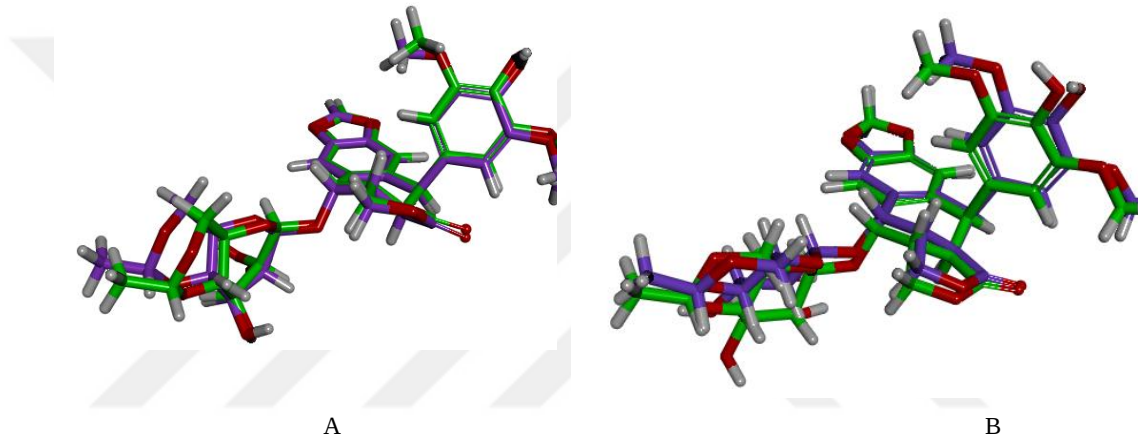
33,84 95,86 50,72
10,60

Şekil 2.7. 5GWK ve 3QX3 enzimlerinde belirlenen küre şeklindeki alanların koordinatları ve çapı.

2.5.1.2. Doking işleminin validasyonu:

Doking işleminin valide edilebilmesi için öncelikle kristal yapıların içinde bulunan ligandlar ile bir kontrol doking çalışması gerçekleştirilmiştir. Doking işlemleri Discovery Studio arayüzünden ulaşılarak GOLD (Genetic Optimisation for Ligand Docking) doking metodu ile gerçekleştirilmiştir. Etopozid-topo II α -DNA ve Etopozid-topo II β -DNA komplekslerinin kristal yapısı Protein Data Bank'tan (PDB) alınmıştır (PDB kodu: 5GWK ve 3QX3). Protein yapısına hidrojen atomları eklenip, su molekülleri ve ligandlar silindikten sonra protein ABNR algoritması kullanılarak minimize edilmiştir. Bağlanma yöreni PDB bulunan kayıtlar referans alınarak seçilmiştir. Bağlanma yöreni kalıntıları doking süreci boyunca hareketli tutulmuştur. GOLD, proteinin kısmi esnekliği ile tüm ligand konformasyonel esnekliğini araştırmak için bir genetik algoritma kullanan otomatikleştirilmiş bir ligand yerleştirme programıdır (Jones, Willett ve ark., 1997). Standart sanal doking

çalışmaları reseptörü rijid olarak ele alır, fakat gerçekte birçok reseptör bağlanma yöresini ligandın şekline ve bağlanma stiline uymak üzere değiştirmektedir. Bu durum genellikle indüklenmiş uyum olarak adlandırılır (Sherman, Day ve ark., 2006). Doking çalışmasında bu ortamı yaratabilmek için bu metot tercih edilmiş ve aktif yöre kalıntıları hareketli tutulmuştur. Elde edilen pozlar proteinlerin X-ray kristalografisi içinde bulunan ligandlarla üst üste çakıştırılarak RMSD (root-mean-square deviation) değerleri hesaplanmıştır. Ligandların en uygun konformasyonu ile X ışınları kristalografisi arasındaki farklılığı ifade eden RMSD 2 Å'nin altında bulunarak literatüre uyumlu sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Referans ligandlar (mor) ve doking sonucu elde edilen konformasyonların üst üste çakıştırılmış görüntüsü. A. Topo IIα için (5GWK) RMSD=0.58 Å (ağır atomlar hesaplanarak) B. Topo IIβ için (3QX3) RMSD=0.68 Å (ağır atomlar hesaplanarak)

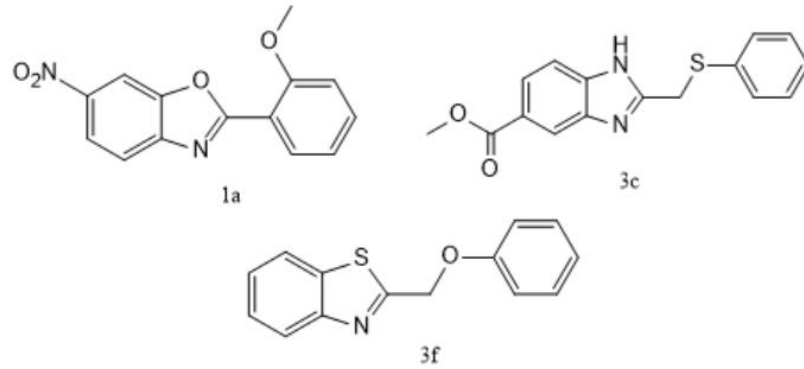
Yöntem doğrulandıktan sonra, enzim-DNA kompleksinin aktif yöresi ile bağlanma etkileşimlerini incelemek için aynı doking prosedürü tüm sentezlenmiş ligandlara uygulanmıştır. Her bir bileşik için en büyük kümelenmenin en iyi pozu seçilmiştir. En yüksek uyum skoruna sahip olan ilk poz, genellikle en büyük kümede yer almıştır ancak ilk doking pozunun en büyük kümede yer almadığı durumlarda, en büyük kümelenmede en yüksek puan alan pozlama da incelenmiştir. Doking işlemi sonrasında, sonuçları düzenlemek için bileşiklerin seçilen pozları 3 adımda minimize edilmiştir;

- 1) Protein ve ligand üzerindeki diğer tüm atomlara hareket kısıtlılığı getirilerek hidrojen atomlarının minimizasyonu;

- 2) Protein omurgası sabit tutulurken protein yan zincirlerinin ve ligand atomlarının minimizasyonu
- 3) Ligand ve 5 Å etrafındaki tüm kalıntıların minimizasyonu (proteinin geri kalan tüm kısımları sabit tutularak)

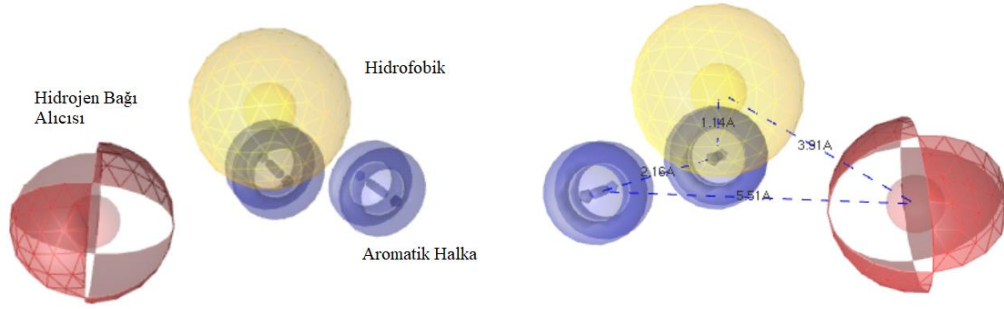
2.5.2. Farmakofor Modelleme Çalışmaları

Doktora tezi kapsamında sentezlenmiş olan bileşiklerin etkilerinin topoizomera II enzimi üzerinden olabilirliğini değerlendirmek üzere farmakofor modelleme çalışmaları da yürütülmüştür. Bu amaçla, farmakofor model oluşturmak üzere topoizomera II enzimi üzerine etkin olduğu bilinen benzazol yapısına sahip bileşikler (bileşik 1a, 3c ve 3f) kullanılmıştır (Pinar, Yurdakul ve ark., 2004).



Şekil 2.9. Farmakofor model 1 için kullanılan çalışma serisi.

Farmakofor hipotezinin oluşturulması için çalışmalar LigandScout 4.2 programında (Wolber ve Langer, 2005) yürütülmüş ve ligand tabanlı farmakofor oluşturma yöntemi seçilmiştir. Çalışma setindeki bileşiklerin hepsi aktif olarak işaretlendikten sonra hidrojen bağı alıcısı (HBA), hidrojen bağı vericisi (HBD), hidrofobiklik, aromatik halka, pozitif ve negatif iyonize olabilme olma özellikleri seçilmiş ve sonuçta elde edilen 10 hipotezden 1 numaralı hipotez farmakofor modeli 1 olarak uygun bulunmuştur (Şekil 2.10).

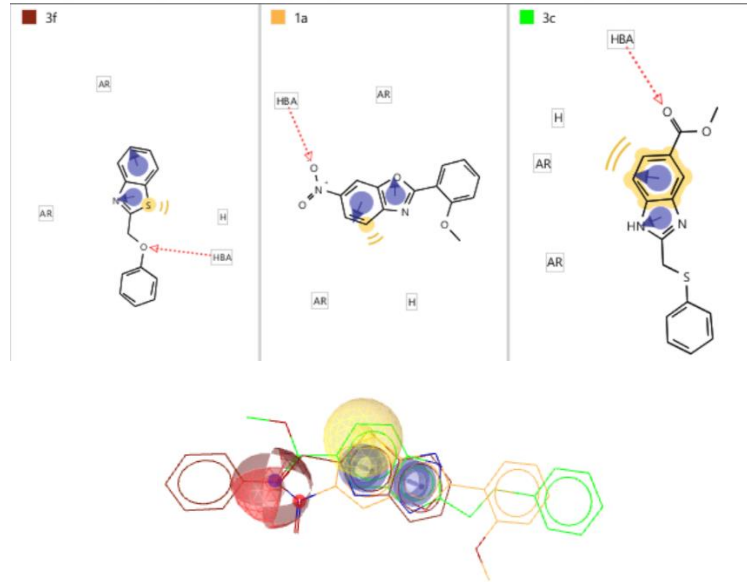


Şekil 2.10. HipHop çalışması sonucu uygun bulunan farmakofor model 1 (solda) ve farmakofor modelde yer alan özelliklerin birbirinden uzaklıkları (sağda). Aromatik halka özelliği lacivert, hidrofobik özellik sarı ve hidrojen bağ alıcısı özelliği kırmızı ile gösterilmiştir.

Çalışma setindeki bileşiklerin elde edilen farmakofor modele uyum değerleri ve haritalandırılmaları çizelge 2.2 ve şekil 2.10’da gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Farmakofor model 1 çalışmasında kullanılan ve elde edilen değerler

Bileşikler	Uyum Değeri	Aromatik Halka 1	Aromatik Halka 2	Hidrofobik	HBA
1a	48.40	1	1	1	1
3c	48.07	1	1	1	1
3f	48.54	1	1	1	1

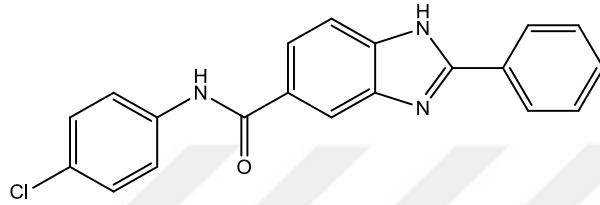


Şekil 2.11. Çalışma setindeki bileşiklerin farmakofor model 1 ile iki boyutlu (solda) ve 3 boyutlu olarak (sağda) haritalanması. 1a bileşiği sarı renk ile, 3c bileşiği yeşil ve 3f bileşiği kırmızı renkle gösterilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez ve Analiz Bulguları

3.1.1. 2-fenil-N-(4-klorofenil)- 1H-benzimidazol-5-karboksamid (1a)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,27 gram hidroksi(fenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,36 gram 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %57,1 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,238 gram 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,127 g p-kloroanilin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 19,0 verimle 0,066 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 255-256°C

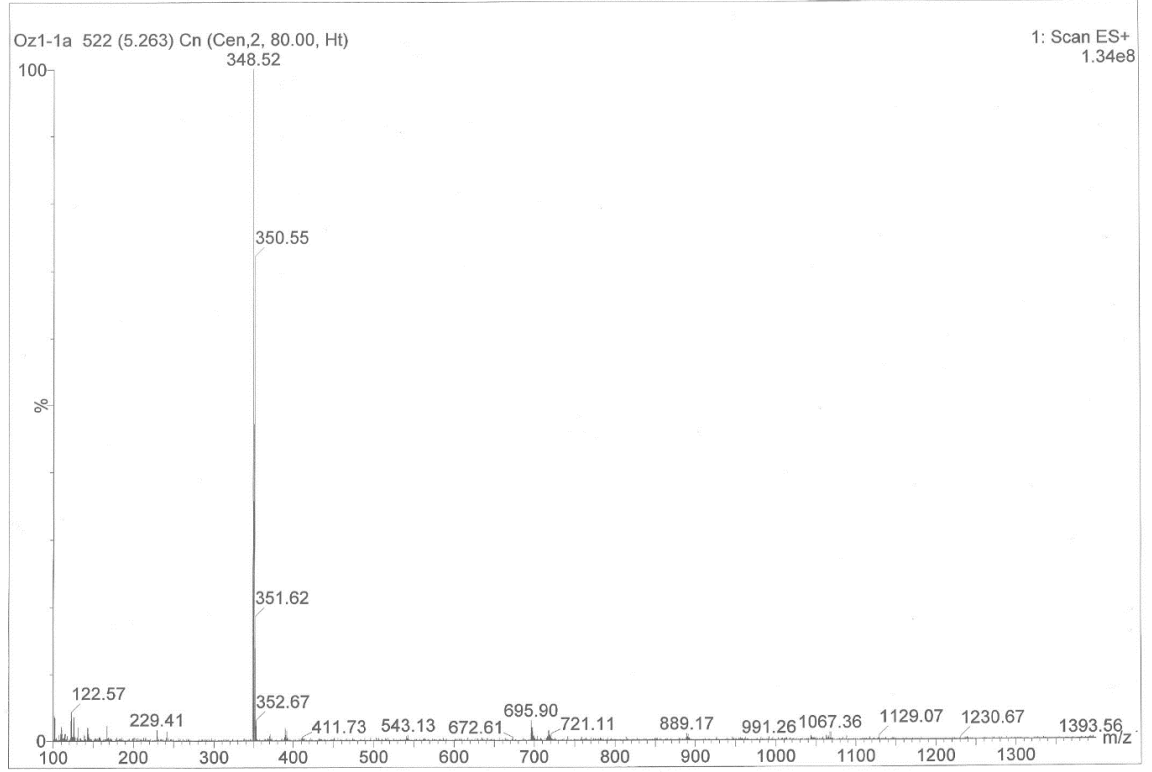
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆); δ ppm: 7.39 (d, 2H, J_o=7.2 Hz, H-3'', 5''), 7.54-7.60 (m, 3H, H-3', 4', 5'), 7.71 (d, 1H, J_o=8 Hz, H-7), 7.83-7.89 (m, 3H, H-2'', 6'', 6), 8.22 (d, 2H, J_o=8 Hz, 2', 6'), 8.27 (s, 1H, H-4), 10.41 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 114.32, 115.26, 121.85, 122.69, 126.92, 127.07, 128.48, 128.84, 129.06, 129.13, 130.78, 138.41, 153.03, 165.86.

Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 348.5 (M⁺+H) (%100), 350.5 (M⁺+H+2) (%75)

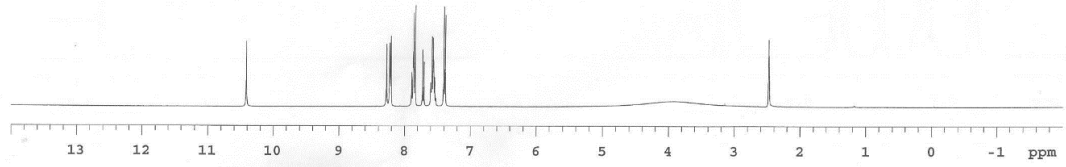
Elemental Analiz= $C_{20}H_{14}ClN_3O \cdot 1,25 H_2O \cdot 0,25 HCl$

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	63.30	4.44	11.07
Bulunan :	63.33	4.55	11.04



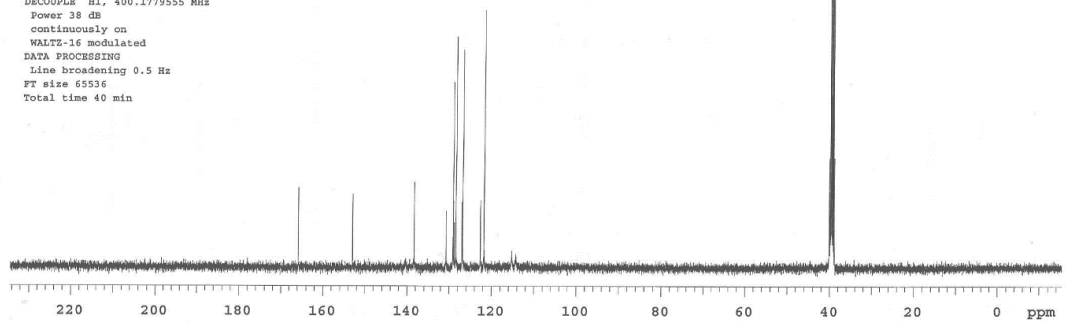
Şekil 3.1. 1a Bileşiğinin Kütle Spektrumu.

Oz1-1a
Sample Name:
Oz1-1a
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
Oz1-1a_20181013_01
FidFile: PROTON_02
Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Oct 13 2018
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.559 sec
Width 6402.0 Hz
8 repetitions
OBSERVE H1, 400.1759761 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min 31 sec



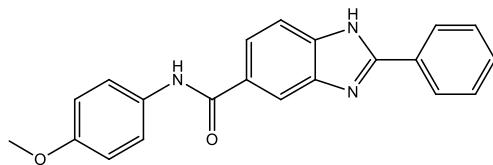
Şekil 3.2. 1a Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

Oz1-1a
Sample Name:
Oz1-1a
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
Oz1-1a_20181013_01
FidFile: current
Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Oct 13 2018
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
256 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243735 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 40 min



Şekil 3.3. 1a Bileşiğinin ¹³C-NMR Spektrumu.

3.1.2. 2-fenil-N-(4-metoksifenil)- 1H-benzimidazol-5-karboksamid (1b)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,27 gram hidroksi(fenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,36 gram 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %57,1 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,238 gram 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,127 g p-kloro anilin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 12,2 verimle 0,042 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 282-284°C

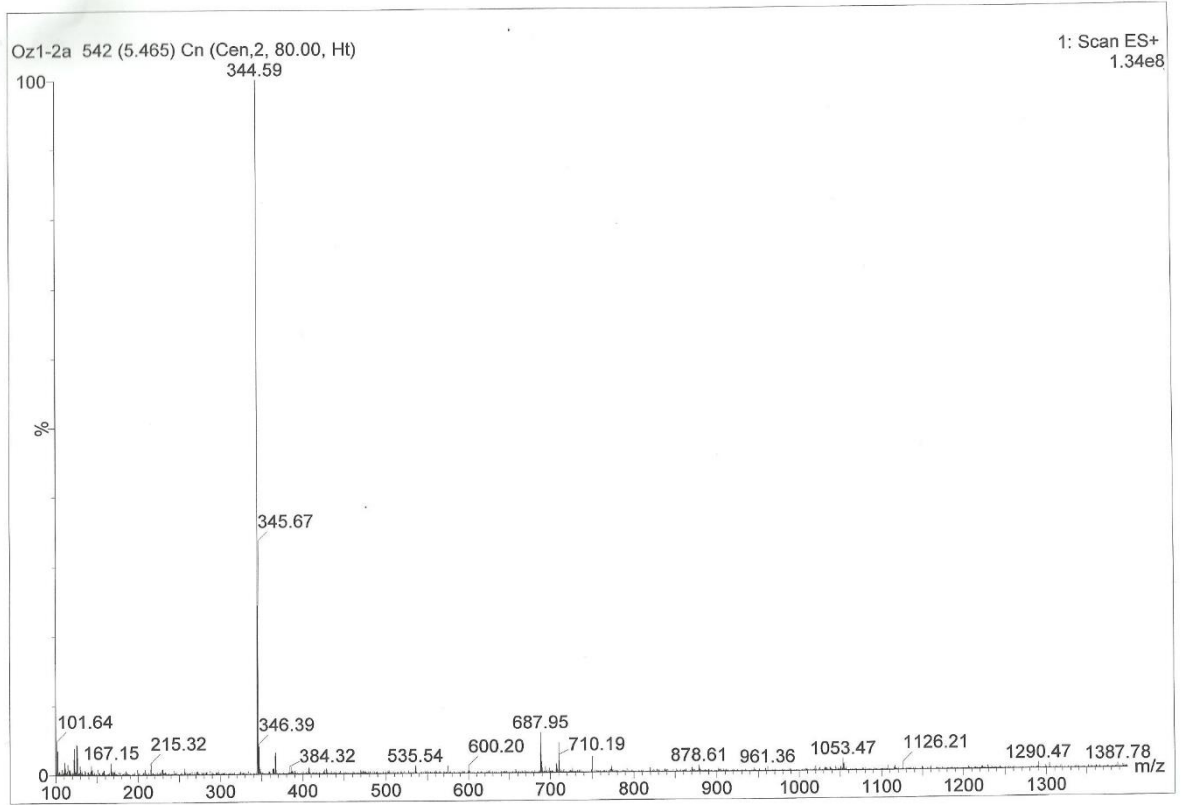
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆); δ ppm: 3.73 (s, 3H, -CH₃), 6.92 (d, 2H, J_o=7.2 Hz, H-3'', 5''), 7.69-7.72 (m, 5H, H-2'', 6'', 3', 4', 5), 7.89 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-7), 8.10 (dd, 1H, J_o=8.4, J_m=1.6, H-6), 8.37-8.43 (m, 3H, H-4, 2', 6'), 10.43 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 55.16, 133.72, 113.78, 113.92, 122.14, 123.94, 125.02, 128.16, 129.53, 132.13, 132.70, 133.15, 134.74, 150.75, 155.62, 164.34.

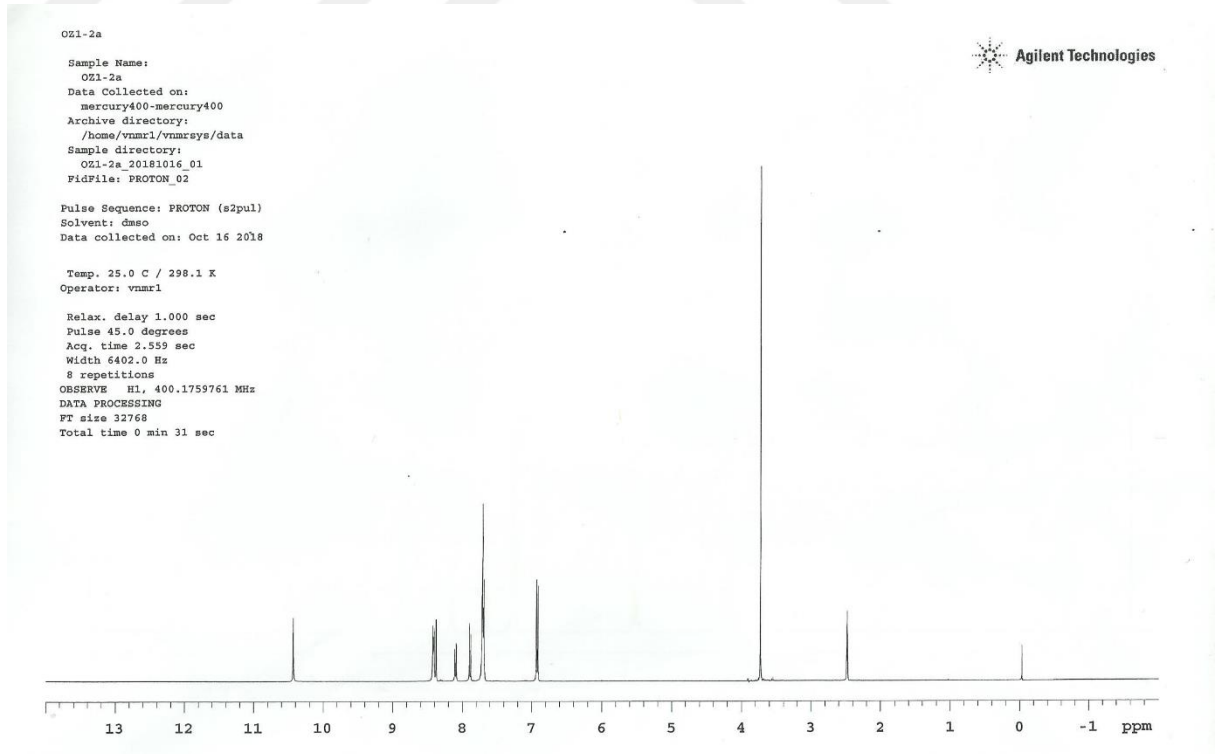
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 344.5 (M⁺+H) (%100)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₇N₃O₂. 1H₂O. 0,5HCl. 0,25 C₂H₆O

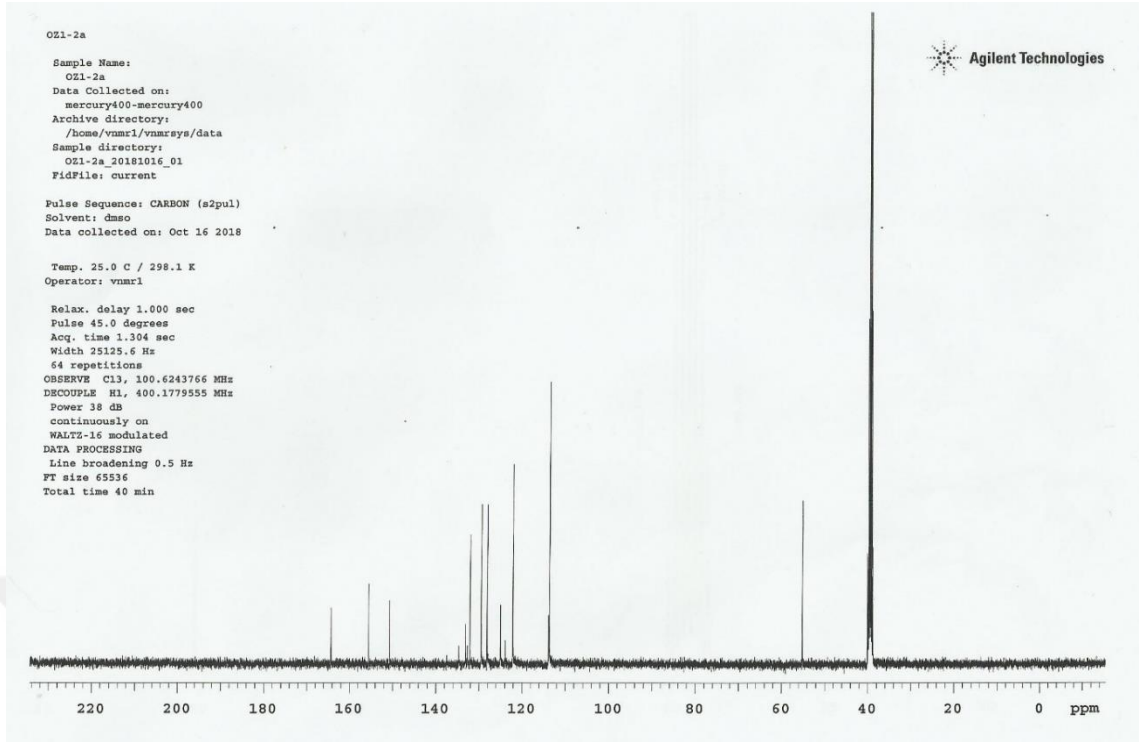
	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	65.46	4.82	11.17
Bulunan :	65.72	5.03	10.97



Şekil 3.4. 1b Bileşiğinin Kütle Spektrumu.

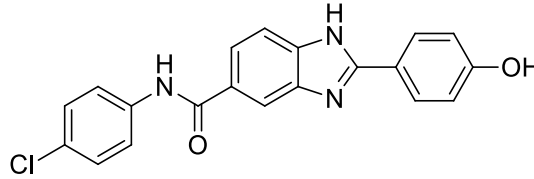


Şekil 3.5. 1b Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.



Şekil 3.6. 1b Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.3. N-(4-klorofenil)-2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1c)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,27 gram hidroksi(4-hidroksifenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,68 gram 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %66,1 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,254 gram 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,127 g p-kloro anilin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 34,5 verimle 0,125 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 274-277°C

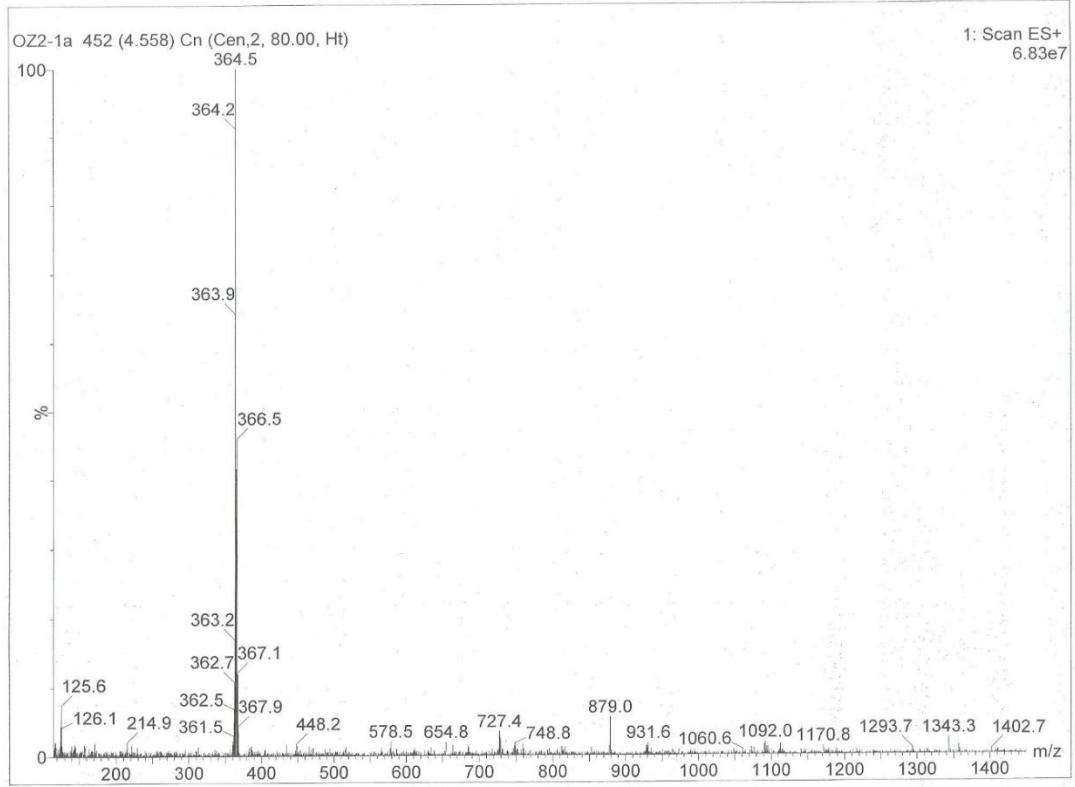
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-*d*₆); δ ppm: 7.07 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-3', 5'), 7.41 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-3'', 5''), 7.84 (d, 3H, H-7, 2'', 6''), 8.06 (d, 1H, J_o=8.8 Hz, H-6), 8.21 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-2', 6'), 8.31 (s, 1H, H-4), 10.63 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-*d*₄): 113.28, 113.45, 116.45, 121.98, 125.01, 127.34, 128.46, 130.47, 131.55, 131.86, 134.17, 138.03, 151.03, 162.52, 164.79.

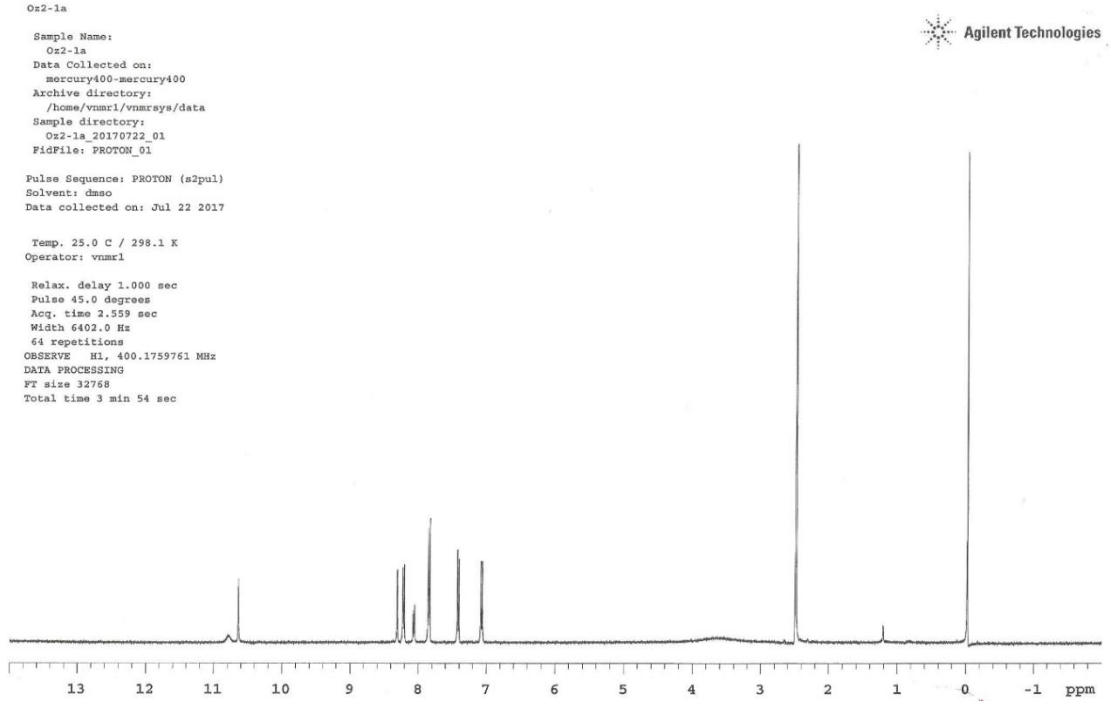
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 364.5 (M⁺+H) (%100), 366.5 (M⁺+H+2) (%50)

Elemental Analiz= C₂₀H₁₄ClN₃O₂. 1,5H₂O. 0,5HCl. 0,25 C₂H₆O

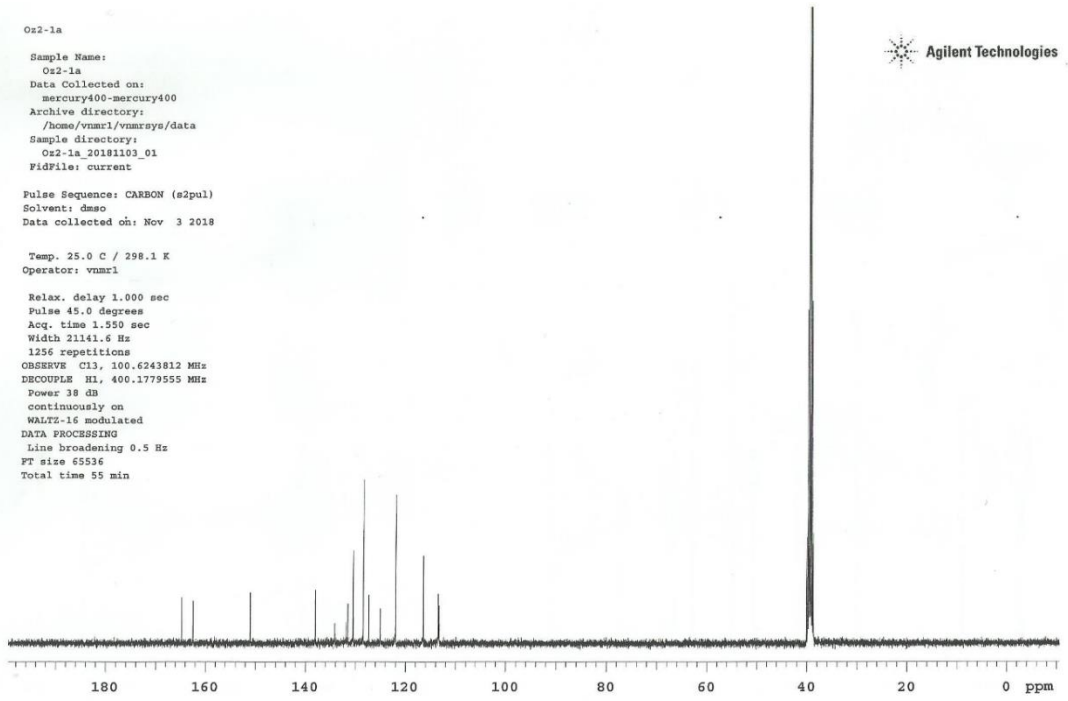
	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan:	58,5	4,55	9,99
Bulunan:	58,3	4,81	9,66



Şekil 3.7. 1c Bileşiminin Kütle Spektrumu.

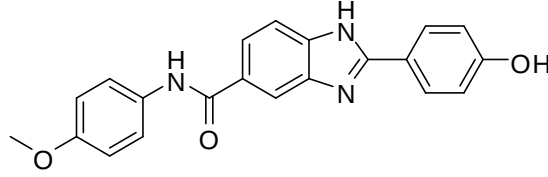


Şekil 3.8. 1c Bileşiminin ¹H-NMR Spektrumu.



Şekil 3.9. 1c Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.4. N-(4-metoksifenil)-2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1d)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,27 gram hidroksi(4-hidroksifenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,68 gram 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %66,1 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,254 gram 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,123 g p-anisidin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 35,6 verimle 0,131 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 300-302°C

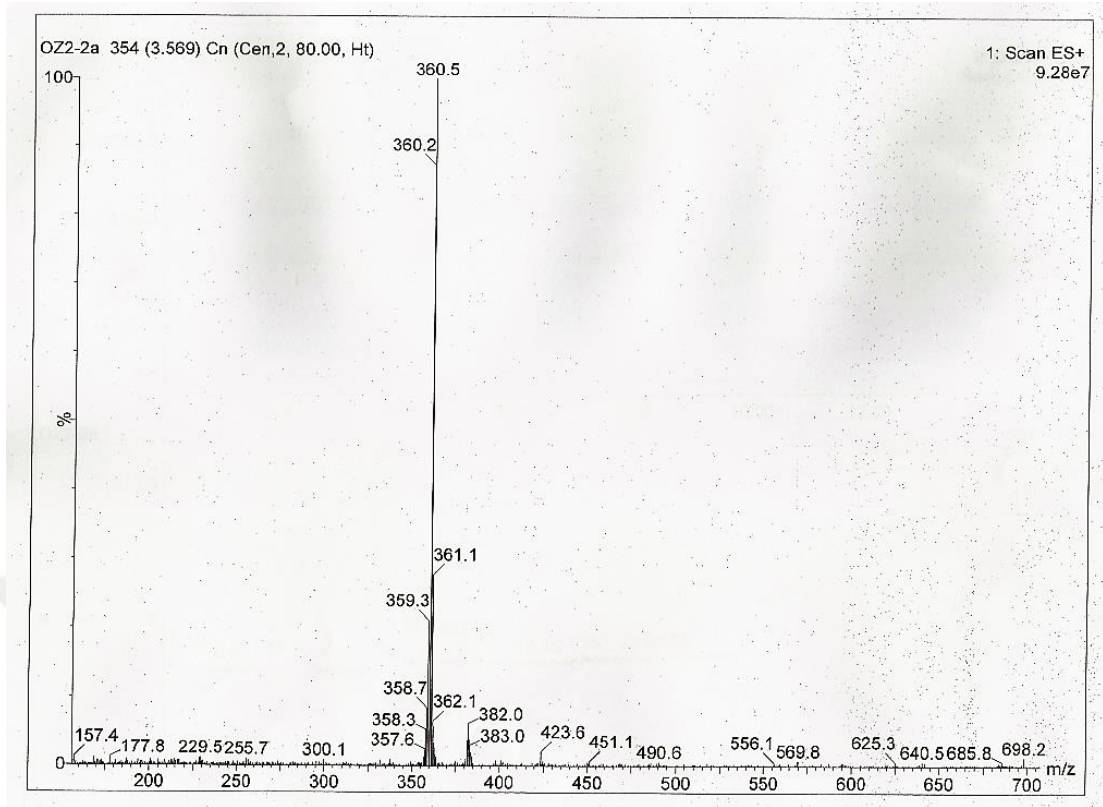
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆); δ ppm: 3.74 (s, 3H, -CH₃), 6.94 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-3', 5'), 7.09 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-3'', 5''), 7.70 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-2'', 6''), 7.85 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-7), 8.09 (dd, 1H, J_o=8.4 Hz, J_m=1.6, H-6), 8.29 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-2', 6'), 8.32 (s, 1H, H-4), 10.43 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 55.19, 113.25, 113.30, 113.41, 113.74, 116.52, 122.18, 124.99, 130.53, 131.81, 132.09, 132.11, 133.92, 150.91, 155.65, 162.59, 164.30.

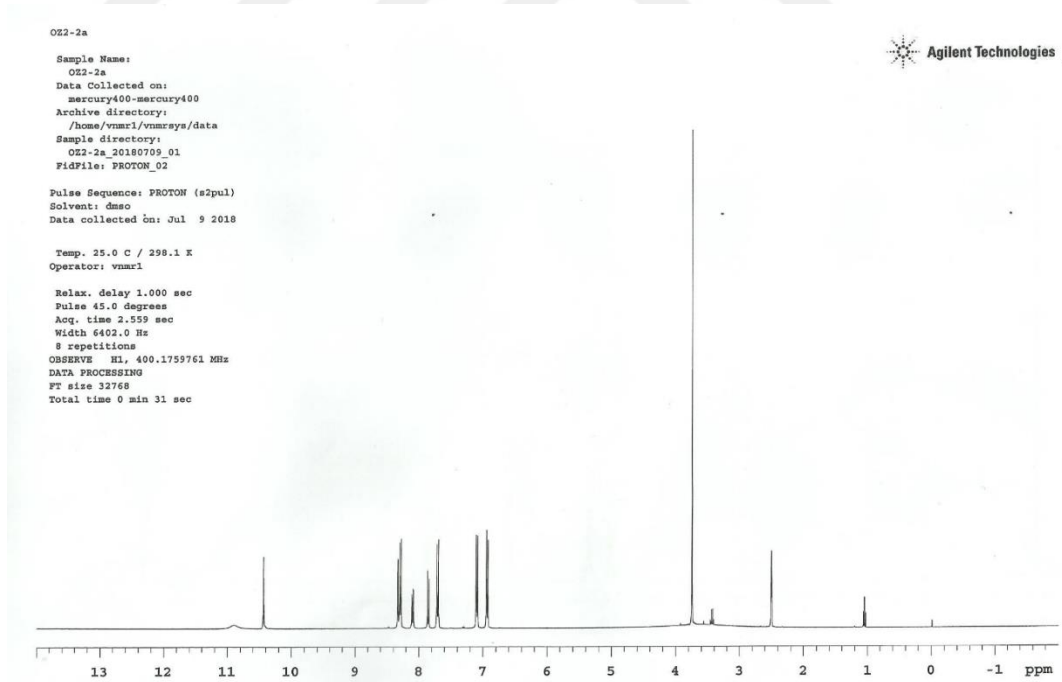
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 360.5 (M⁺+H) (%100)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₇N₃O₃. 1,5H₂O. 0,5HCl. 0,25 C₂H₆O

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	56.00	5.41	9.11
Bulunan :	56.28	5.61	9.43



Şekil 3.10. 1d Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.11. 1d Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

OZ2-2a

Sample Name:

OZ2-2a

Data Collected on:

mercury400-mercury400

Archive directory:

/home/vnmr1/vnmrsys/data

Sample directory:

OZ2-2a_20180709_01

FidFile: current

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)

Solvent: dmsc

Data collected on: Jul 9 2018

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.550 sec

Width 21141.6 Hz

192 repetitions

OBSERVE C13, 100.6243762 MHz

DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz

Power 38 dB

continuously on

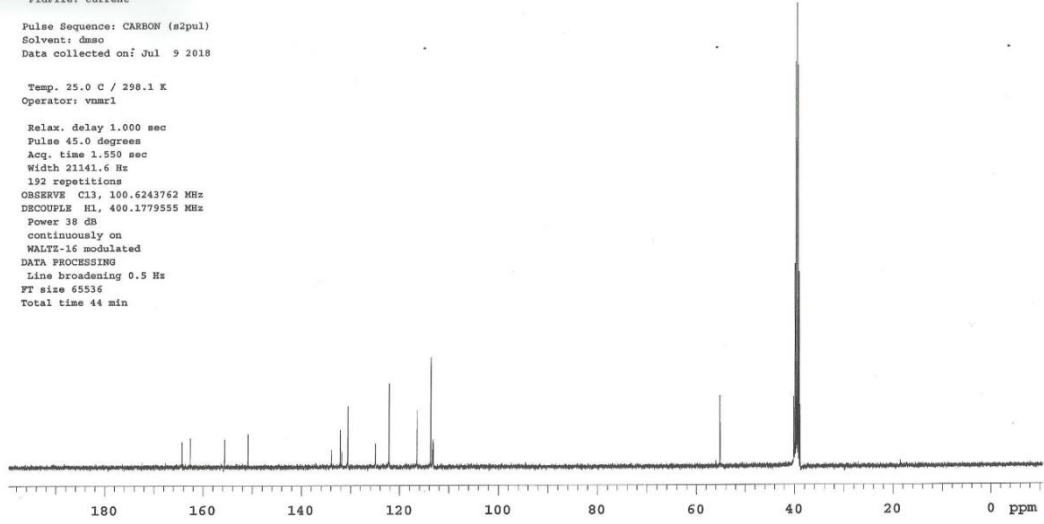
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

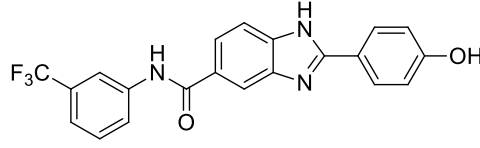
FT size 65536

Total time 44 min



Şekil 3.12. 1d Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.5. N-(4-(triflorometil)fenil)-2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1e)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,27 gram hidroksi(4-hidroksifenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,68 gram 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %66,1 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,254 gram 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,161 g 3-triflorometil anilin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 34 verimle 0,129 g saf bileşik elde edildi.

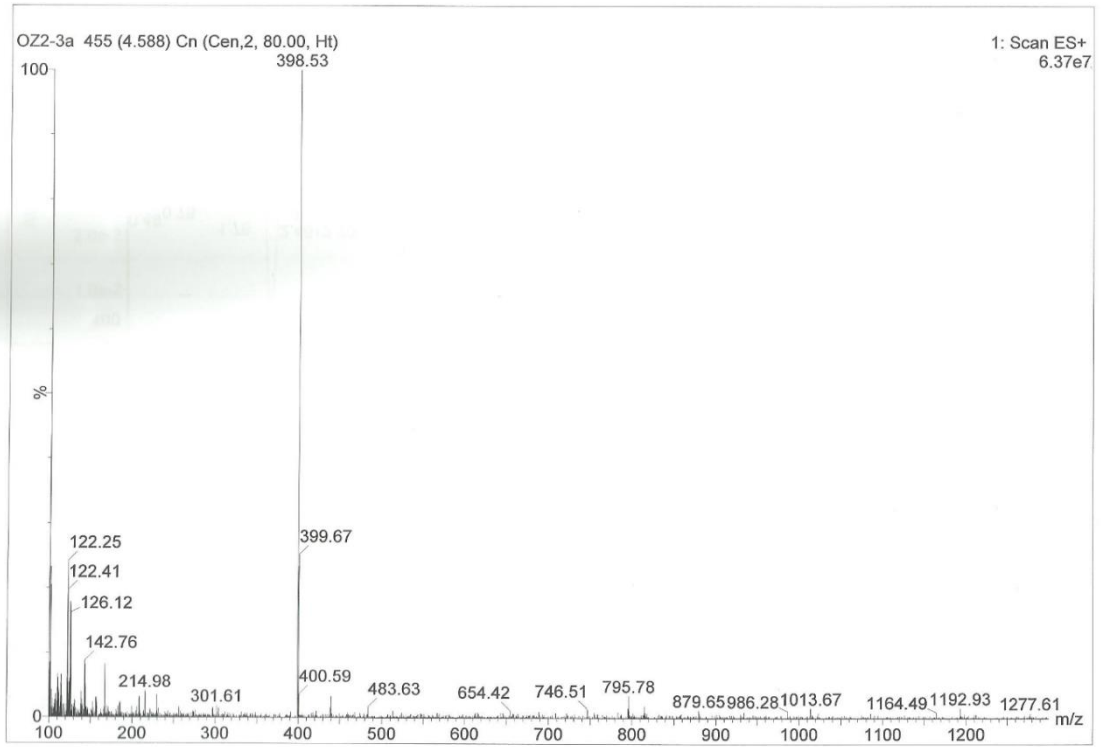
Erime Noktası: 320-321°C

¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆); δ ppm: 7.05 (d, 2H, Jo=8.8, H-3', 5'), 7.46 (d, 1H, Jo=8 Hz, H-4''), 7.61 (t, 1H, H-5''), 7.82 (d, 1H, Jo=8.4 Hz, H-7), 8.04 (dd, 1H, Jo=8.8 Hz, Jm=1.2 Hz, H-6), 8.08 (d, 1H, Jo=8.4 Hz, H-6''), 8.15 (d, 2H, Jo=8.4 Hz, H-2', 6'), 8.30 (s, 1H, H-2''), 8.32 (s, 1H, H-4), 10.75-4 (s, 1H, N-H protonu) **COSY [δH/δH]:** 7.46/7.61 [H-4''/H-5''], 7.05/8.15 [H-2',6'/H-3',5'], 7.61/8.08 [H-5''/H-6''], 7.82/8.04 [H-7/H-6]

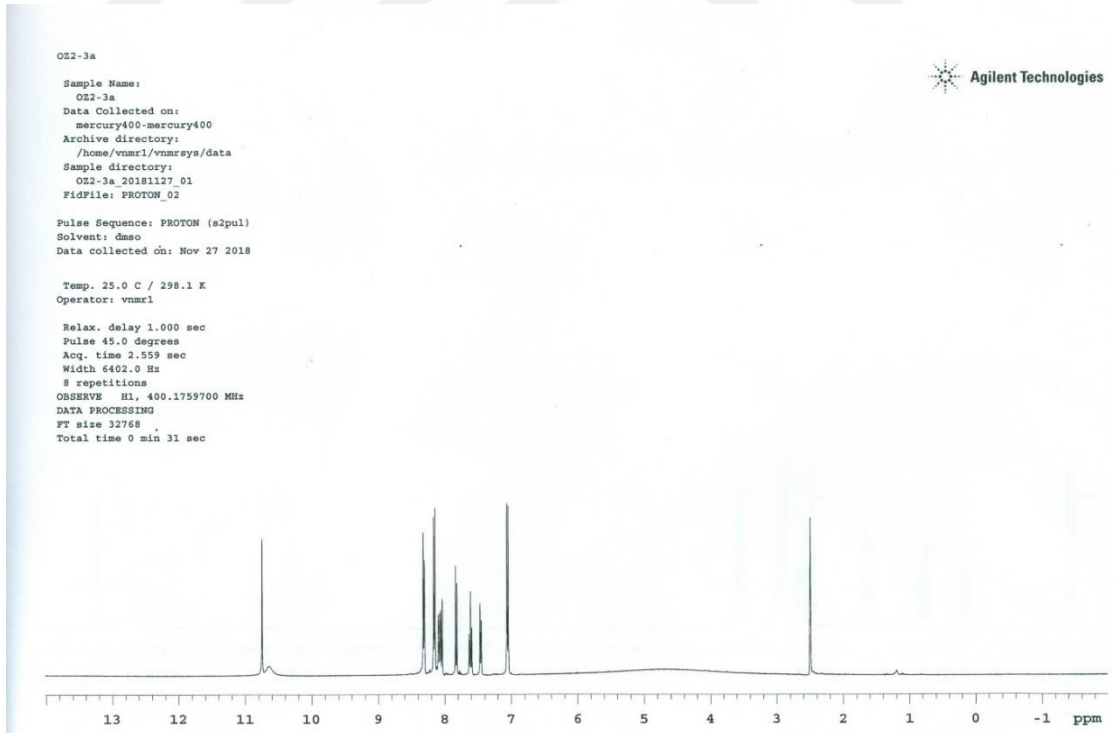
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 398.5 (M⁺+H) (%100)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₇N₃O₃. 1H₂O. 1,5HCl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	52.51	3.82	9.19
Bulunan :	52.41	4.10	8.95



Şekil 3.13. 1e Bileşiğinin Kütle Spektromu.



Şekil 3.14. 1e Bileşiğinin ¹H-NMR Spektromu.

OZ2-3a

Sample Name:
OZ2-3a

Data Collected on:
mercury400-mercury400

Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data

Sample directory:
OZ2-3a_20181127_01

FidFile: gCOSY_01

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: dmsc

Data collected on: Növ 27 2018

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 4868.5 Hz

2D Width 4868.5 Hz

4 repetitions

128 increments

OBSERVE H1, 400.1759761 MHz

DATA PROCESSING

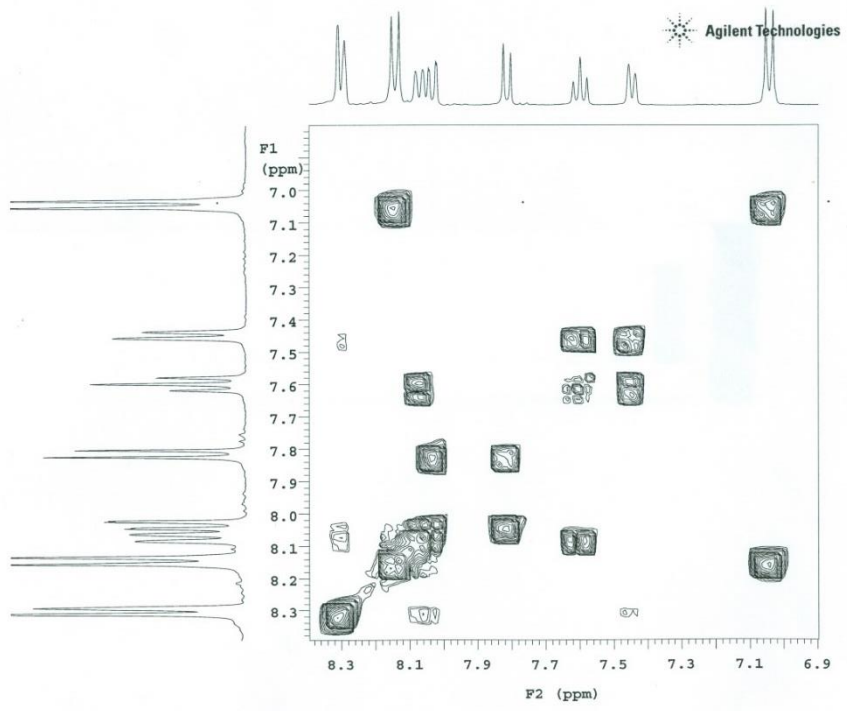
Sq. sine bell 0.075 sec

F1 DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.026 sec

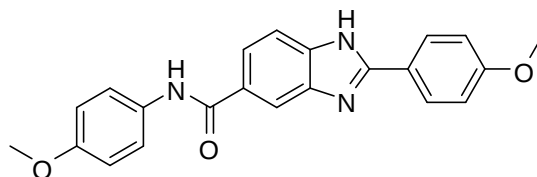
FT size 2048 x 2048

Total time 11 min



Şekil 3.15. 1e Bileşiğinin ¹H-NMR/COSY Spektrumu.

3.1.6. N,2-bis(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1f)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,41 gram hidroksi(4-metoksifenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,93 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %72 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,268 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,123 g p-anisidin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 31,70 verimle 0,117 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 276-280°C

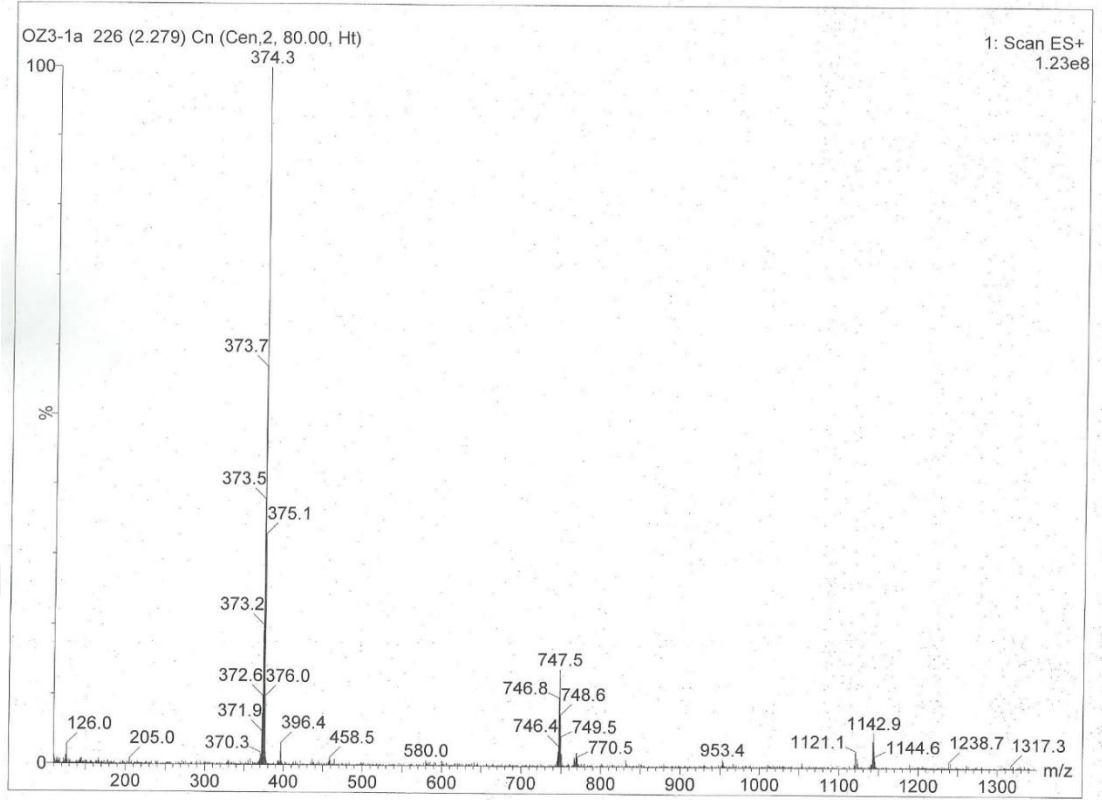
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆); δ ppm: 3.73 (s, 3H, -CH₃), 3.88 (s, 3H, -CH₃), 6.92 (d, 2H, J_o=7.2 Hz, H-3'', 5''), 7.25 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-3', 5'), 7.69 (d, 2H, J_o=7.2 Hz, H-2'', 6''), 7.84 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-7), 8.08 (dd, H, J_o=8.4 Hz, J_m=1.2 Hz, H-6), 8.32 (d, 1H, J_m=1.2 Hz, H-4), 8.39 (d, 2H, J_o=9.2 Hz, H-2', 6'), 10.42 (s, 1H, N-H protonu)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 55.18, 55.82, 113.36, 113.46, 113.73, 115.15, 115.32, 122.17, 125.00, 130.33, 131.99, 132.10, 132.12, 134.09, 150.54, 155.64, 163.32, 164.27.

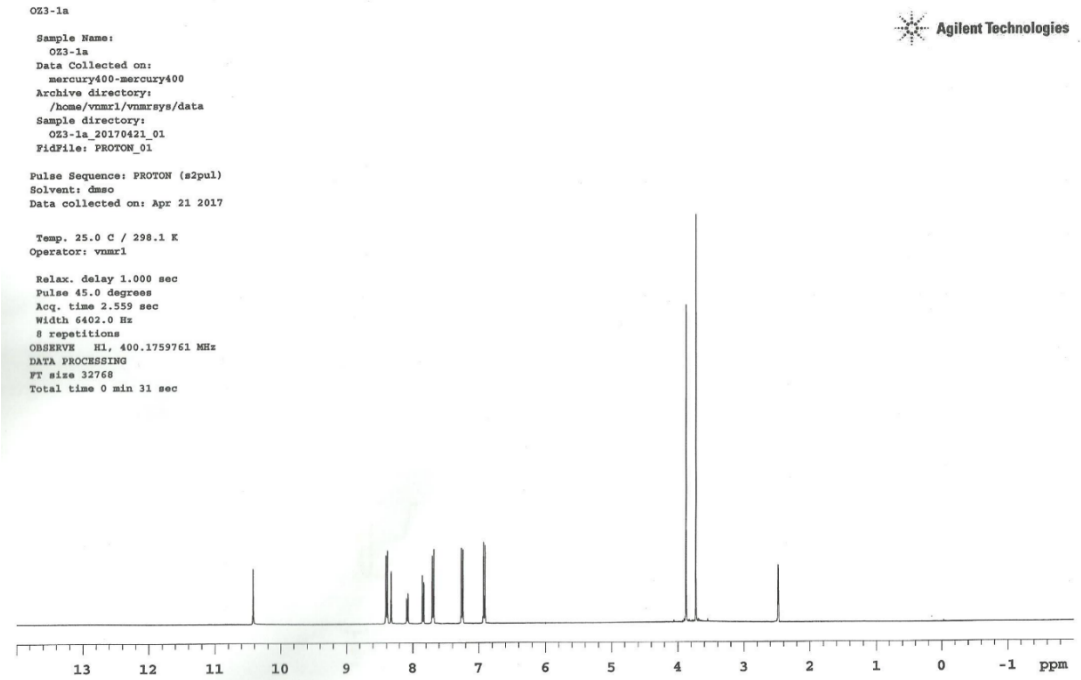
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 374.3 (M⁺+H) (%100)

Elemental Analiz= C₂₂H₁₉N₃O₃. 2H₂O. 0,5HCl. 0,5 C₂H₆O

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	61,30	5,93	9,33
Bulunan :	60,87	6,01	9,42



Şekil 3.16. 1f Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.17. 1f Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

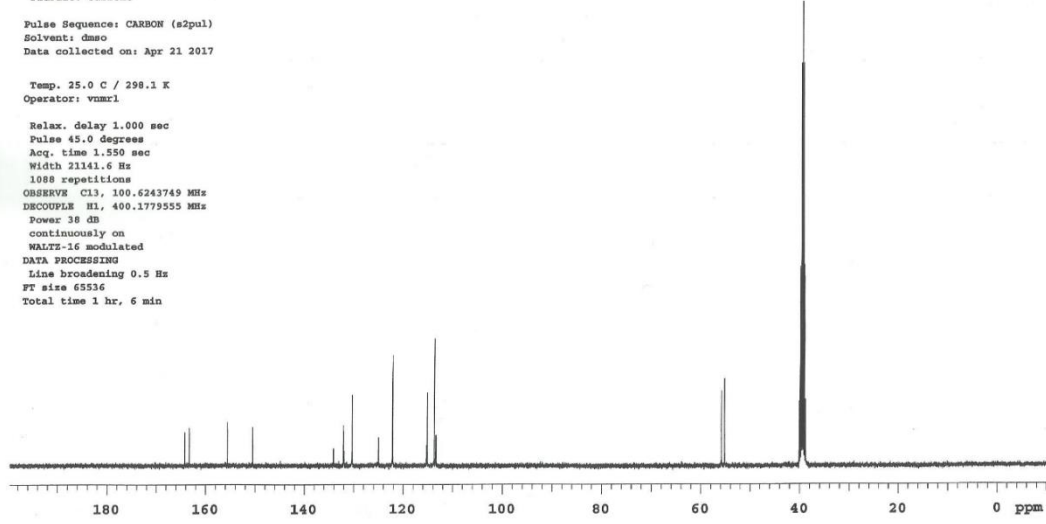
OZ3-1a

Sample Name:
OZ3-1a
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrdata
Sample directory:
OZ3-1a_20170421_01
FidFile: current

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Apr 21 2017

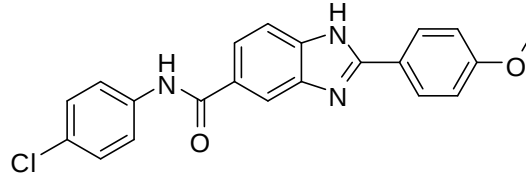
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.550 sec
Width 21141.6 Hz
1088 repetitions
OBSERVE CH: 100.6243749 MHz
DECOUPLE H1: 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 1 hr, 6 min



Şekil 3.18. 1f Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.7. N-(4-klorofenil)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1g)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,41 gram hidroksi(4-metoksifenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,93 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %72 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,268 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,127 g p-kloro anilin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 29,77 verimle 0,108 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 301-305°C

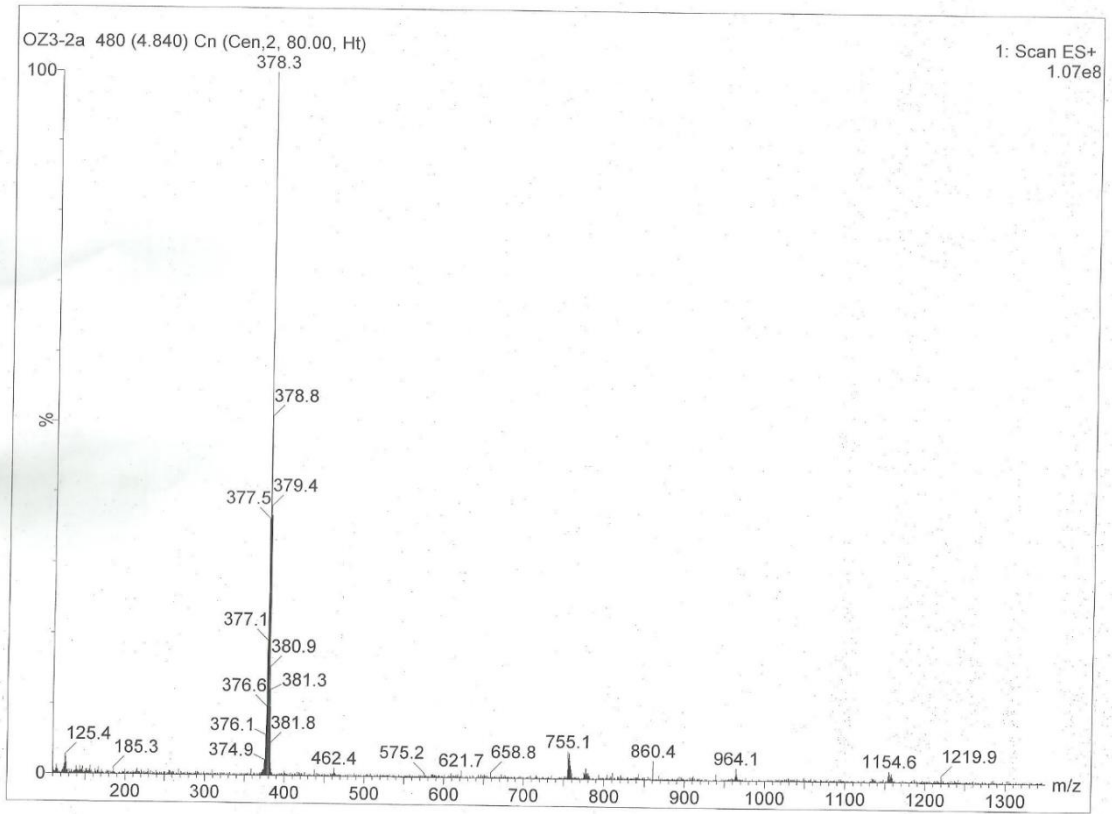
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆); δ ppm: 3.90 (s, 3H, -CH₃), 7.26 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-3', 5'), 7.43 (d, 2H J_o=8 Hz, H-3'', 5''), 7.84-7.89 (m, 3H, H-7, 2'', 6''), 8.08 (dd, 1H, J_o=8.8 Hz, J_m=1.6 Hz, H-6), 8.35 (s, 1H, H-4), 8.39 (d, 2H, H-2', 6'), 10.67 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 55.65, 113.40, 113.76, 114.94, 116.19, 121.95, 124.55, 127.25, 128.34, 129.98, 131.13, 132.97, 135.22, 138.04, 150.99, 162.94, 164.86.

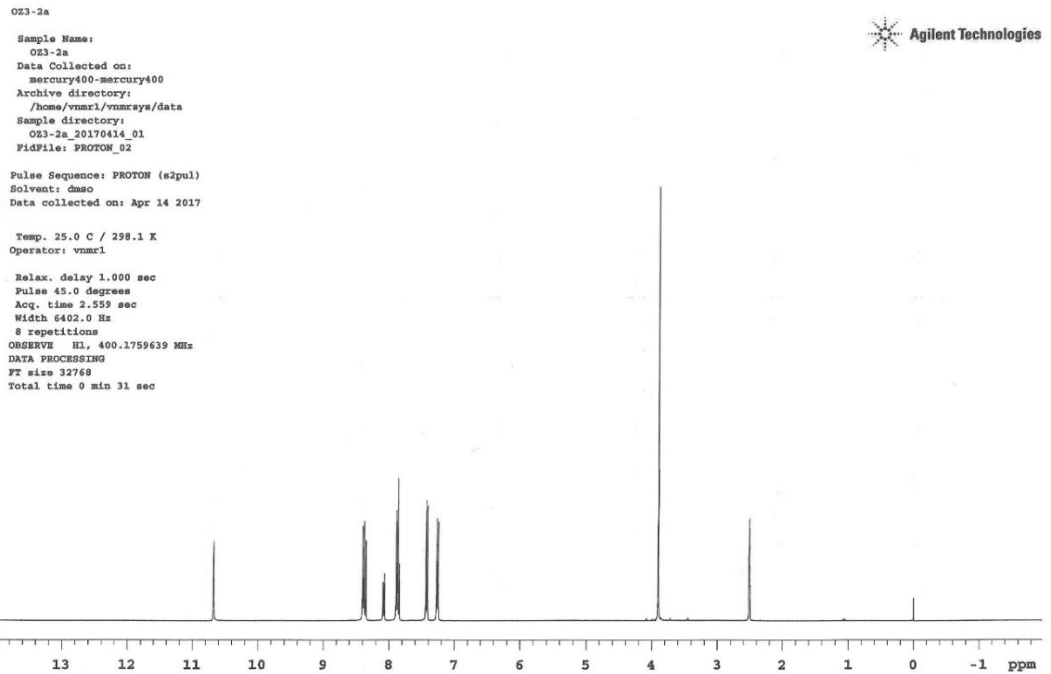
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 378.3 (M⁺+H) (%100), 379.4 (M⁺+H+1) (%40)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₆ClN₃O₂. 1,5H₂O. 0,5HCl. 0,25C₂H₆O

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	59,50	4,88	9,68
Bulunan :	59,14	4,76	10,06



Şekil 3.19. 1g Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.20. 1g Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

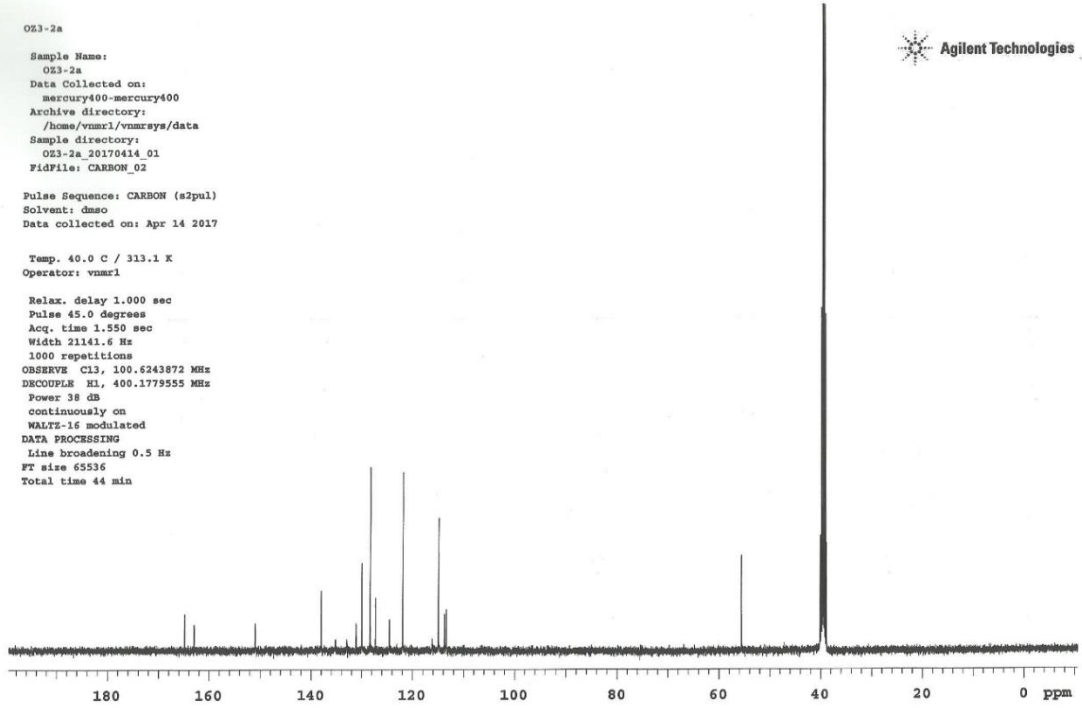
OZ3-2a

Sample Name:
OZ3-2a
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmr400/data
Sample directory:
OZ3-2a_20170414_01
FidFile: CARBON_02

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Apr 14 2017

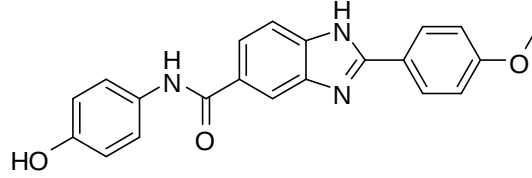
Temp. 40.0 C / 313.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.550 sec
Width 21141.6 Hz
1000 repetitions
OBSERVE CH3, 100.6243872 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 44 min



Şekil 3.21. 1g Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.8. N-(4-hidroksifenil)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1h)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,41 gram hidroksi(4-metoksifenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,93 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %72 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,268 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,109 g p-amino fenol kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 49,0 verimle 0,175 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 288-292°C

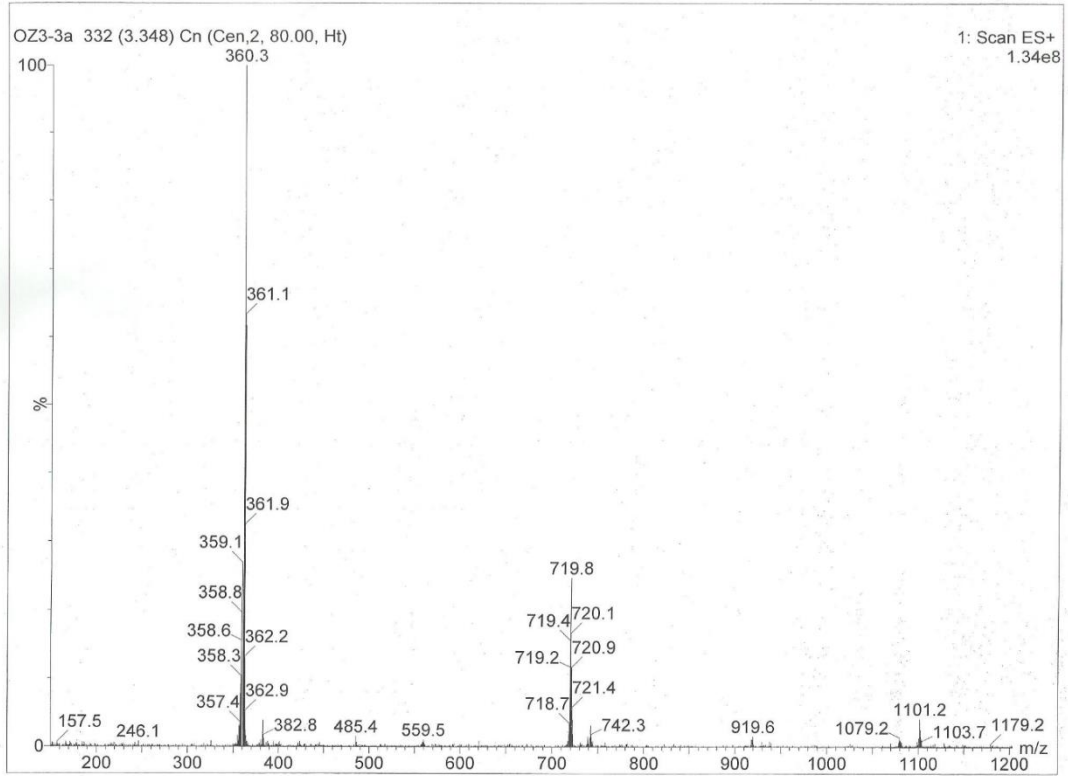
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-*d*₆); δ ppm: 3.84 (s, 3H, -CH₃), 6.75 (d, 2H, J_o=9.2 Hz, H-3'', 5''), 7.26 (d, 2H, J_o=8.4 Hz H-3', 5'), 7.54 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-2'', 6''), 7.84 (d, 1H, J_o=8 Hz, H-7), 8.07 (d, 1H, J_o=8.8 Hz, H-6), 8.31 (s, 1H, H-4), 8.37 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-2' ve 6'), 10.31 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-*d*₄): 55.91, 113.36, 114.98, 115.16, 115.45, 122.43, 124.93, 130.27, 130.54, 132.22, 134.14, 150.59, 153.86, 163.28, 164.14.

Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 360.3 (M⁺+H) (%100)

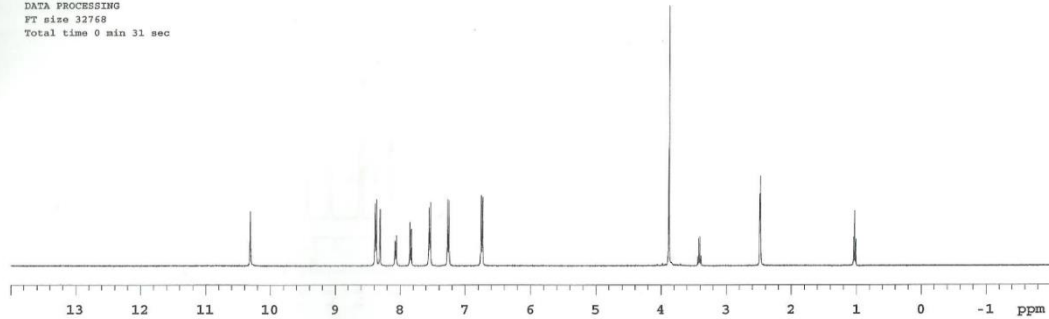
Elemental Analiz= C₂₁H₁₇N₃O₃. 2,25H₂O. 0,5HCl. 0,25 C₂H₆O

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	60.11	5.51	9.78
Bulunan :	60.08	5.70	9.73

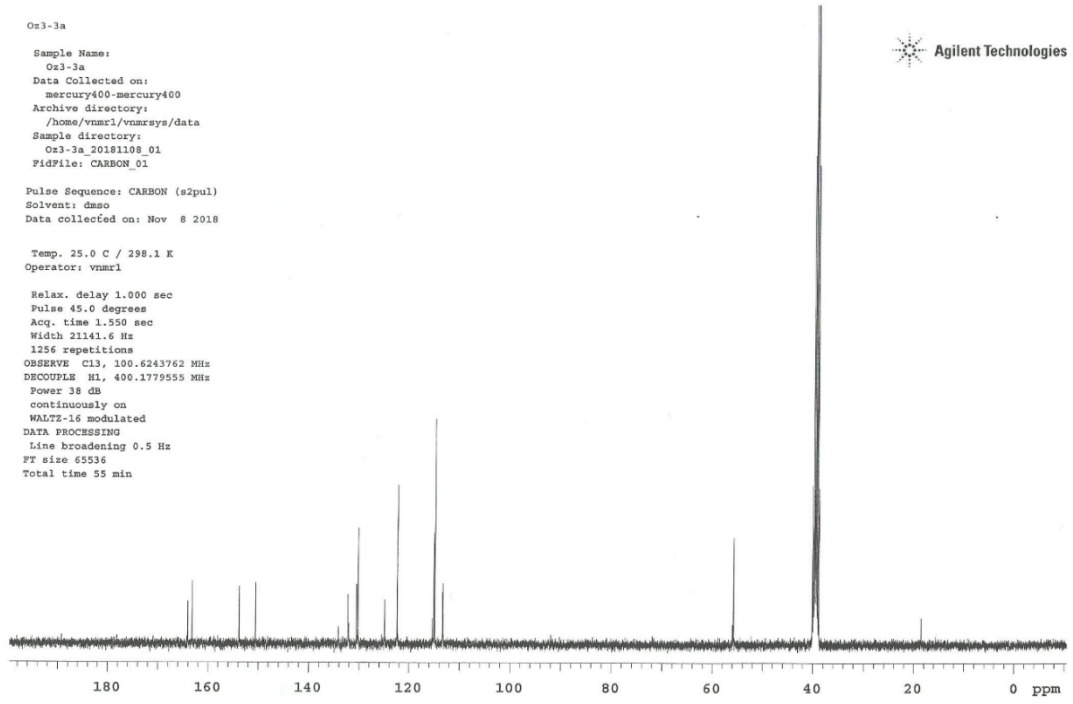


Şekil 3.22. 1h Bileşiğinin Kütle Spektrumu.

OZ3-3a
Sample Name:
OZ3-3a
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vmm1/vmmr/s/data
Sample directory:
OZ3-3a_20170713_01
FidFile: PROTON_01.11
Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Jul 13 2017
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vmm1
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.559 sec
Width 6402.0 Hz
8 repetitions
OBSERVE H1, 400.1759761 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min 31 sec

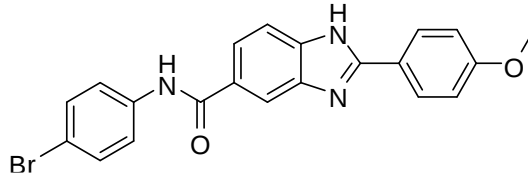


Şekil 3.23. 1h Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.



Şekil 3.24. 1h Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.9. N-(4-bromofenil)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1i)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,41 gram hidroksi(4-metoksifenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,93 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %72 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,268 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,172 g p-bromoanilin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 36,30 verimle 0,149 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 310-313°C

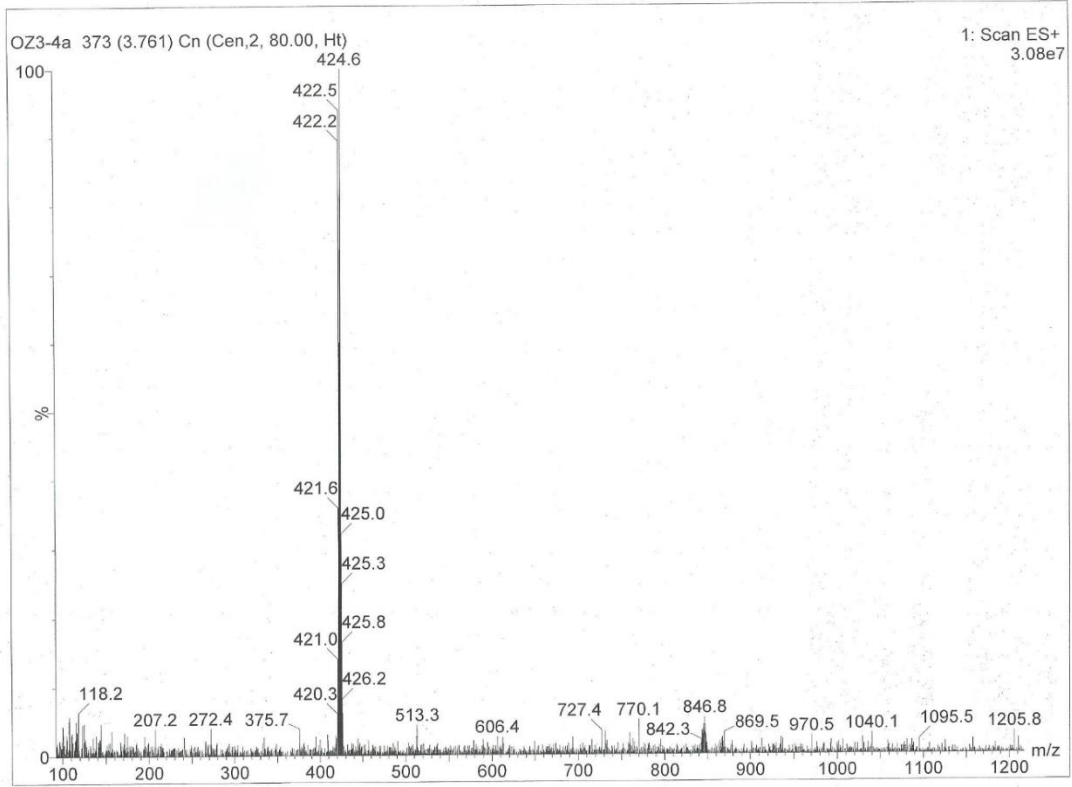
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆); δ ppm: 3,83 (s, 3H, -CH₃), 7,29 (d, 2H, J_o=9.2 Hz, H-3', 5'), 7,56 (d, 2H, J_o=8 Hz, H-3'', 5''), 7,82 (d, 2H, J_o=6.8 Hz, H-2'', 6''), 7,87 (d, 1H, J_o=8.8 Hz, H-7), 8,08 (dd, 1H, J_o=8.8, Hz, J_m=1.6 Hz, H-6), 8,34-8,37 (m, 3H, H-4, 2', 6'), 10,65 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 55.71, 113.25, 113.61, 115.04, 115.37, 122.31, 124.94, 130.21, 131.30, 131.47, 132.12, 134.43, 138.42, 163.19, 164.74, 150.68.

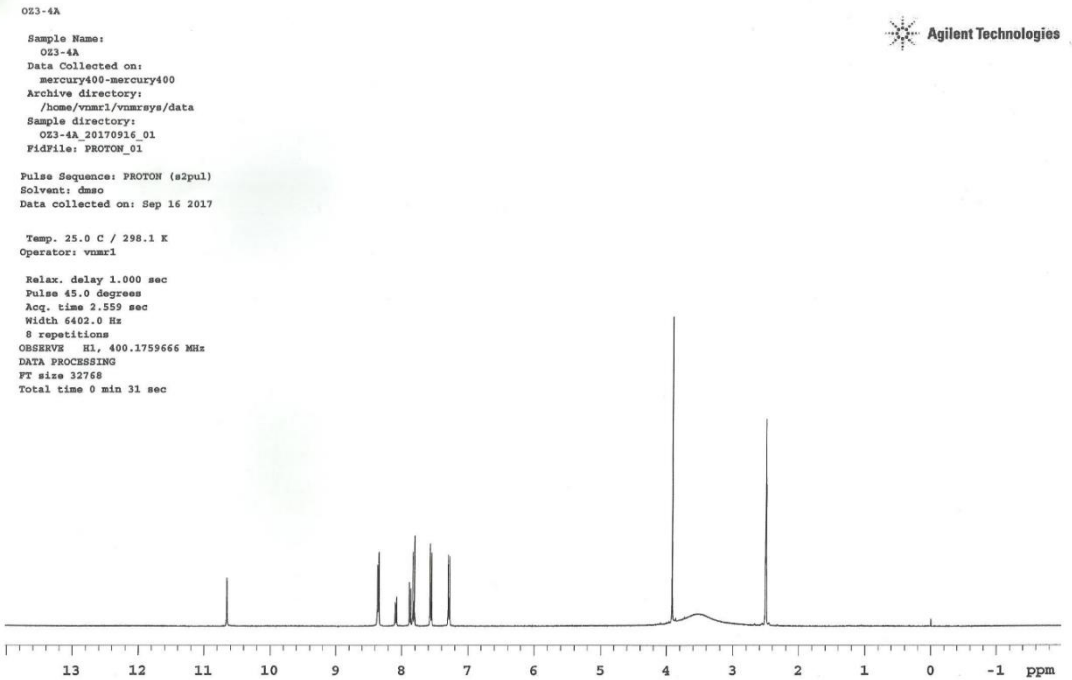
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 422.5 (M⁺+H⁺) (%95), 424.6 (M⁺+H⁺+2) (%100)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₆BrN₃O₂. 1H₂O. 0,5 HCl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	55.13	4.07	9.19
Bulunan :	54.79	3.92	9.39



Şekil 3.25. 1i Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.26. 1i Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

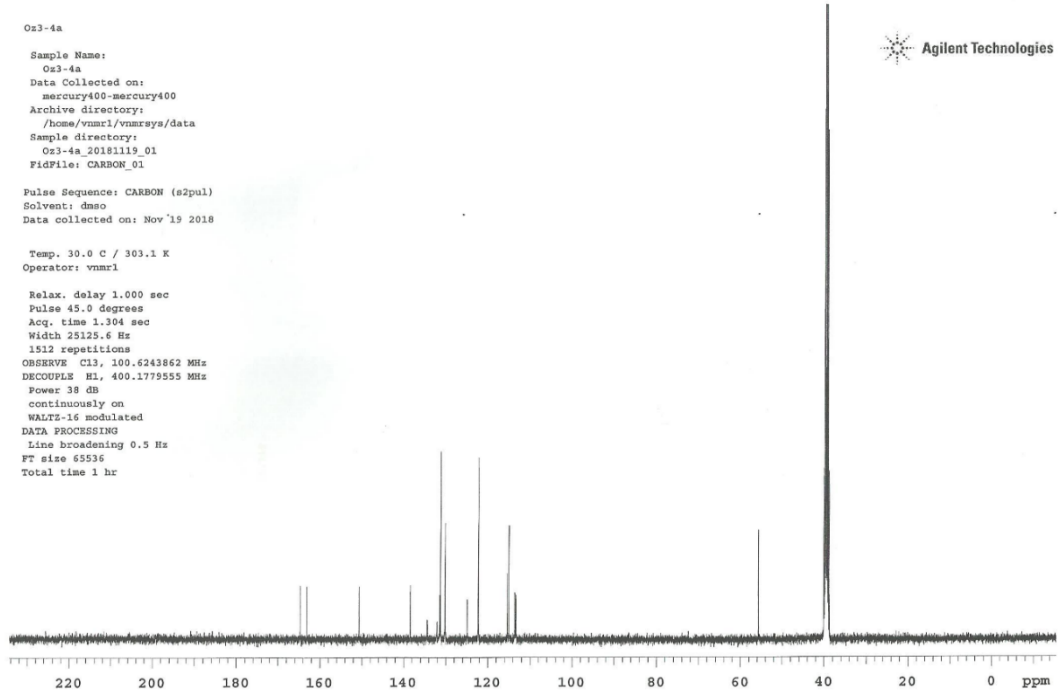
Oz3-4a

Sample Name:
Oz3-4a
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
Oz3-4a_20181119_01
FidFile: CARBON_01

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsd
Data collected on: Nov '19 2018

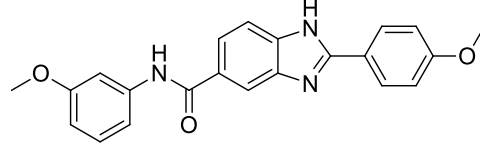
Temp. 30.0 C / 303.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
1512 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243862 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 1 hr



Şekil 3.27. 1i Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.10. N-(3-metoksifenil)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1j)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,41 gram hidroksi(4-metoksifenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,93 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %72 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,268 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,172 g p-bromoanilin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 39,14 verimle 0,146 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 201-205°C

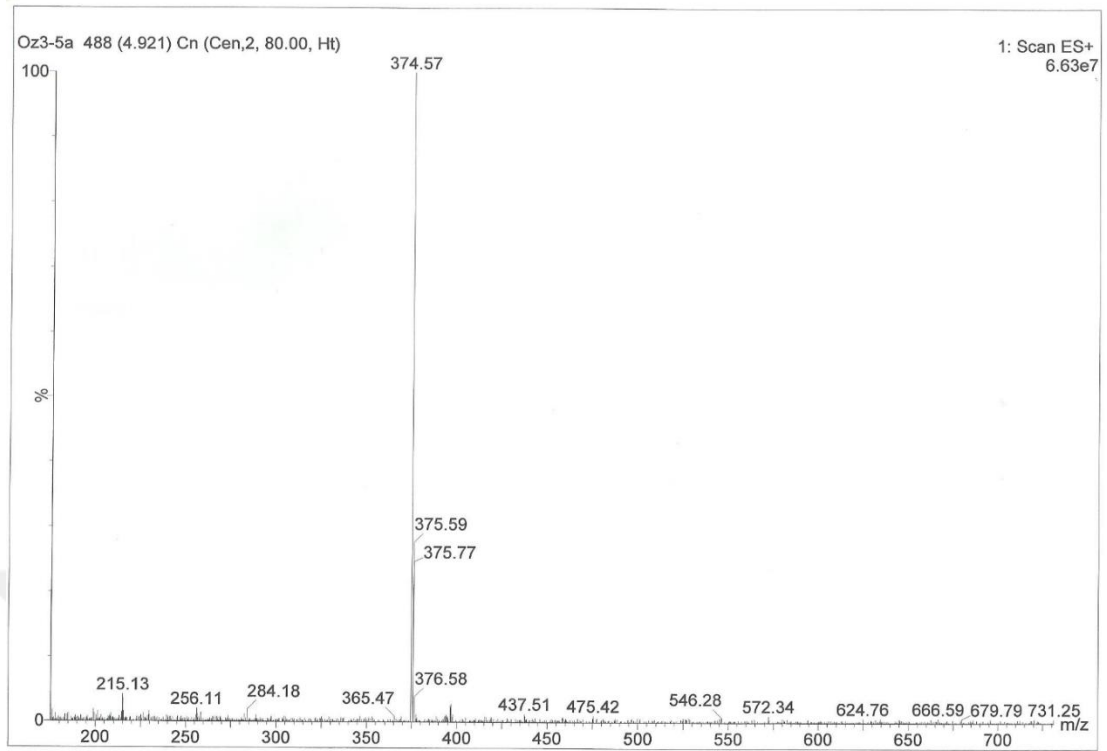
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-*d*₆); δ ppm: 3.15 (s, 3H, -CH₃), 3.46 (s, 3H, -CH₃), 6.65 (dd, 1H, J_o=8.4 Hz, J_m=2.4 Hz, H-4''), 7.13 (d, 2H, J_o=9.2 Hz H-3', 5'), 7.23 (t, 1H, H-5''), 7.39 (dd, 1H, J_o=8.4 Hz, J_m=0.8 Hz, H-6''), 7.51 (m, 1H, H-2''), 7.65 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-7), 7.83 (dd, 1H, J_o=8.0 Hz, J_m=1.6 Hz, H-6), 8.15 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-2', 6'), 8.21 (s, 1H, H-4), 10.21 (s, 1H, amid N-H) **COSY [δH/δH]:** 6.65/7.23 [H-4''/H-5''], 7.13/8.15 [H-2', 6'/H-3', 5'], 7.23/7.39 [H-5''/H-6''], 7.65/7.83 [H-7/H-6]

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-*d*₄): 54.99, 55.41, 106.00, 108.92, 112.54, 114.53, 121.58, 122.20, 128.49, 128.86, 129.32, 140.68, 153.19, 159.43, 161.18, 165.89

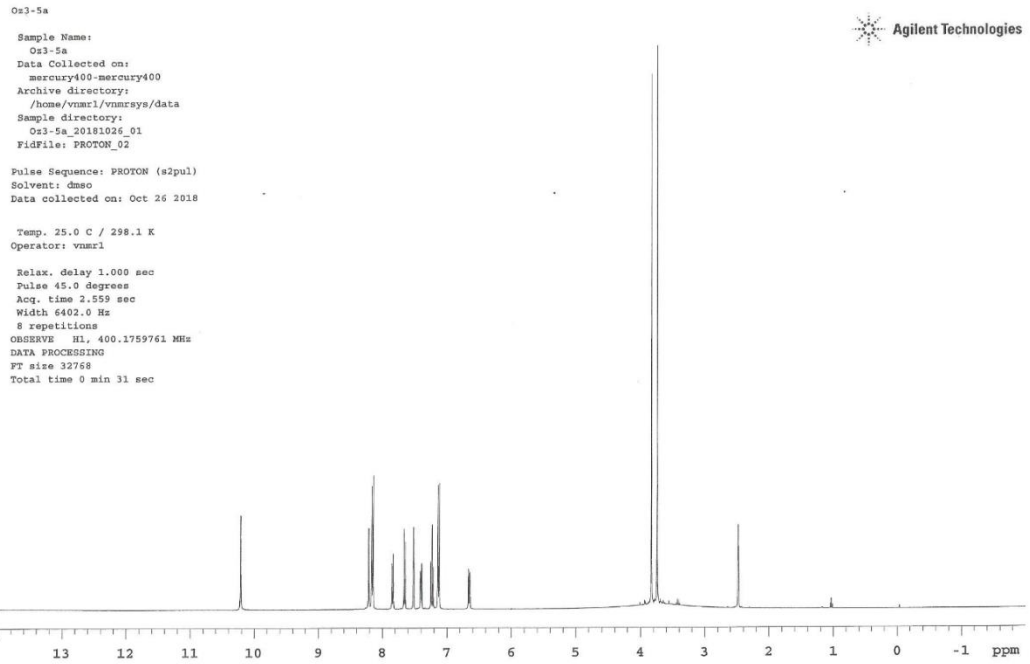
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 374.5 (M⁺+H) (%100)

Elemental Analiz= C₂₂H₁₉N₃O₃. 2H₂O. 0,5 HCl

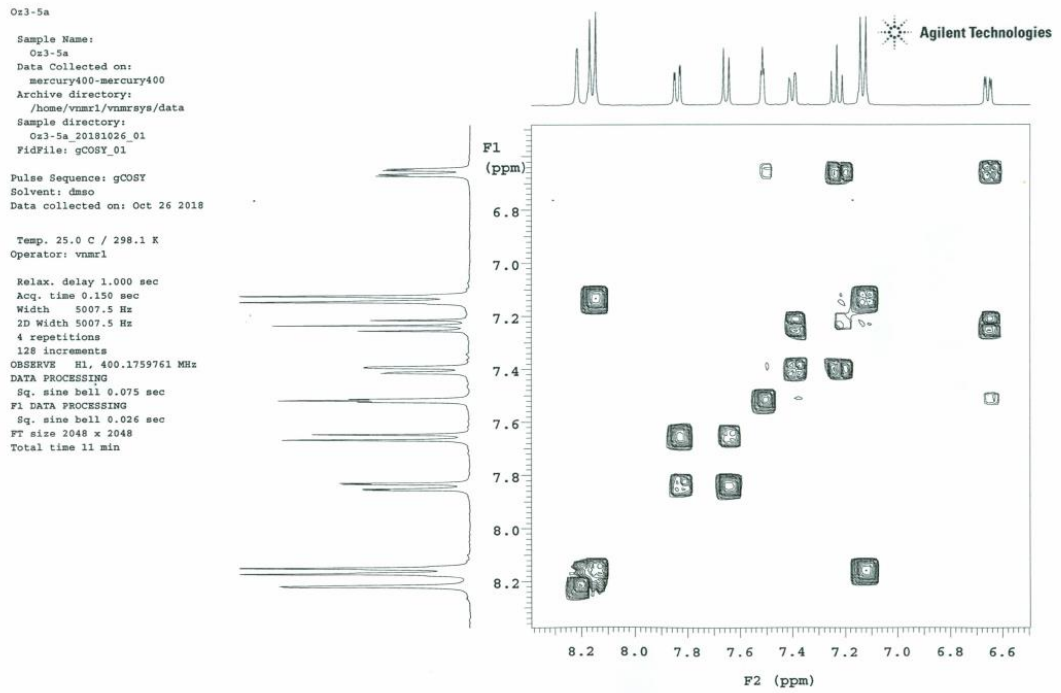
	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	61.82	5.50	9.83
Bulunan :	61.67	5.83	9.90



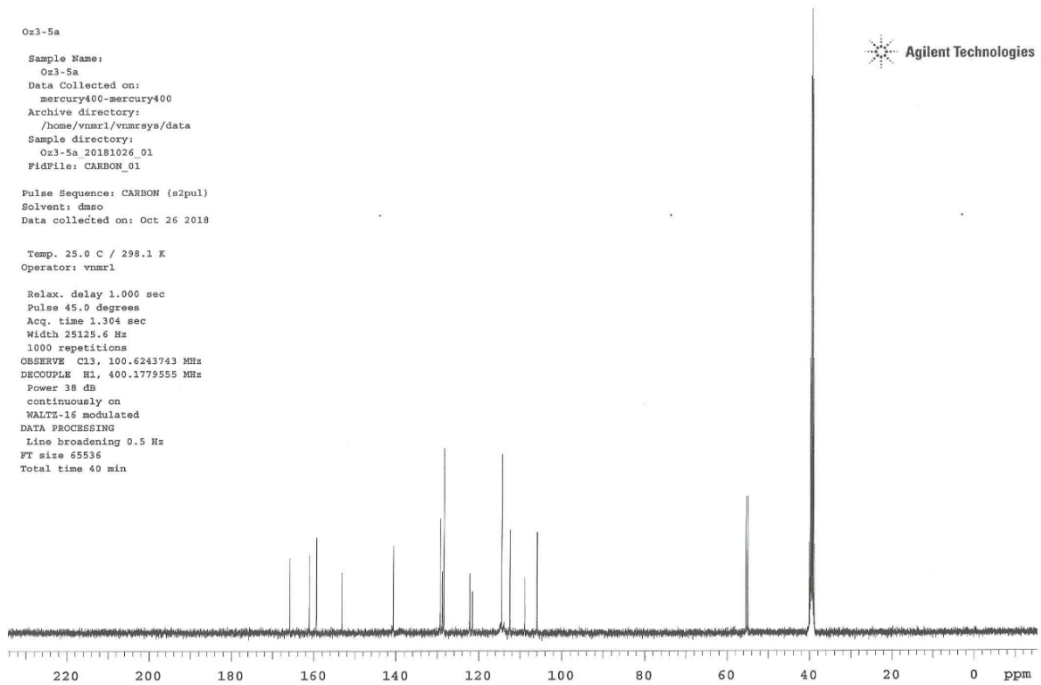
Şekil 3.28. 1j Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.29. 1j Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

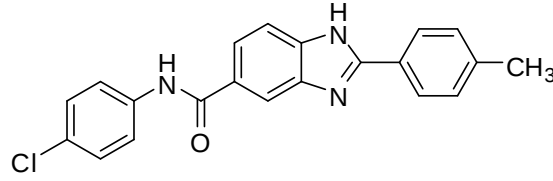


Şekil 3.30. 1j Bileşiğinin ^1H -NMR/COSY Spektrumu.



Şekil 3.31. 1j Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.11. N-(4-klorofenil)-2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1k)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,25 gram hidroksi(4-metilfenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,89 gram 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %75 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,252 gram 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,127 g p-kloroanilin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 45,15 verimle 0,163 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 325-326°C

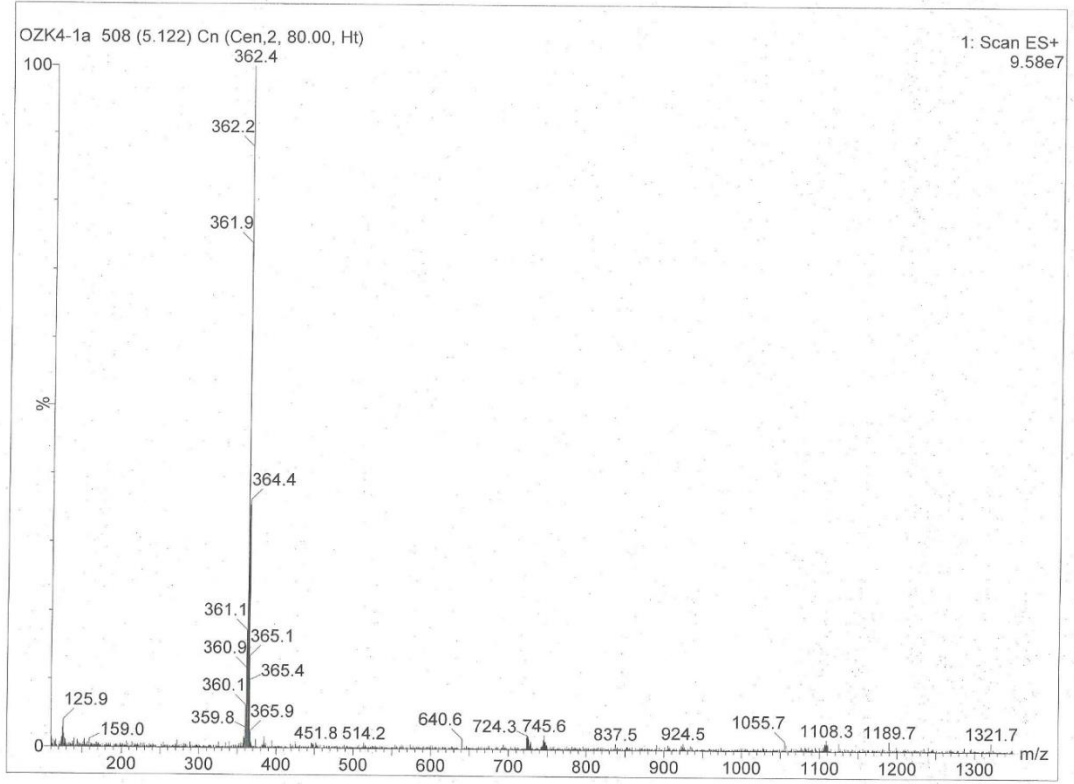
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-*d*₆); δ ppm: 2.41 (s, 3H, -CH₃), 7.39 (d, 2H, J_o=7.2 Hz, H-3', 5'), 7.48 (d, 2H, J_o=8. Hz, H-3'', 5''), 7.83-7.86 (m, 3H, H-7, 2'', 6''), 8.05 (dd, 1H, J_o=8.4 Hz, J_m=1.6 Hz, H-6), 8.26 (d, 2H, J_o=8 Hz, H-2' ,6'), 8.34 (d, 1H, J_m=1.2 Hz, H-4), 10.62 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-*d*₄): 21.13, 113.71, 114.11, 121.74, 121.96, 124.59, 127.27, 127.88, 128.41, 129.96, 131.13, 133.44, 135.66, 138.10, 143.30, 151.27, 164.95.

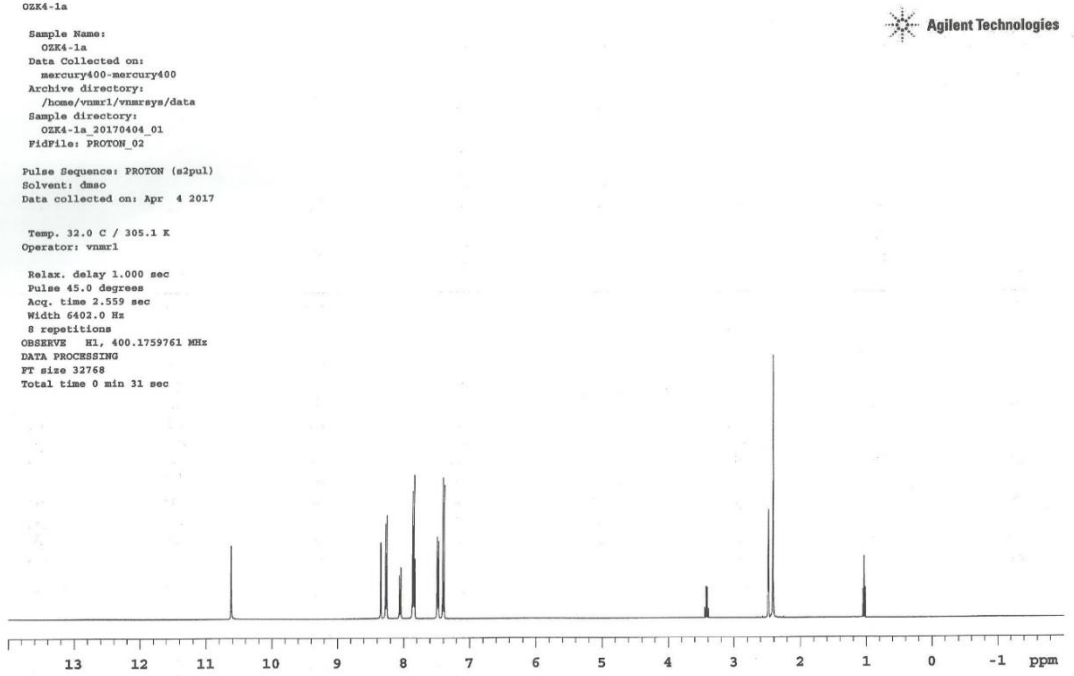
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 362.4 (M⁺+H) (%100), 364.4 (M⁺+H+2) (%33)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₆ClN₃O. 2H₂O. 0,5HCl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	60.70	4.97	10.12
Bulunan :	61.10	5.05	10.41



Şekil 3.32. 1k Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.33. 1k Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

OZK4-1a

Sample Name:

OZK4-1a

Data Collected on:

mercury400-mercury400

Archive directory:

/home/vnmr1/vnmr/sys/data

Sample directory:

OZK4-1a_20170404_01

FidFile: current

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)

Solvent: dmsc

Data collected on: Apr 4 2017

Temp. 32.0 C / 305.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.550 sec

Width 21141.6 Hz

1728 repetitions

OBSERVE C13, 100.6243820 MHz

DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz

Power 38 dB

continuously on

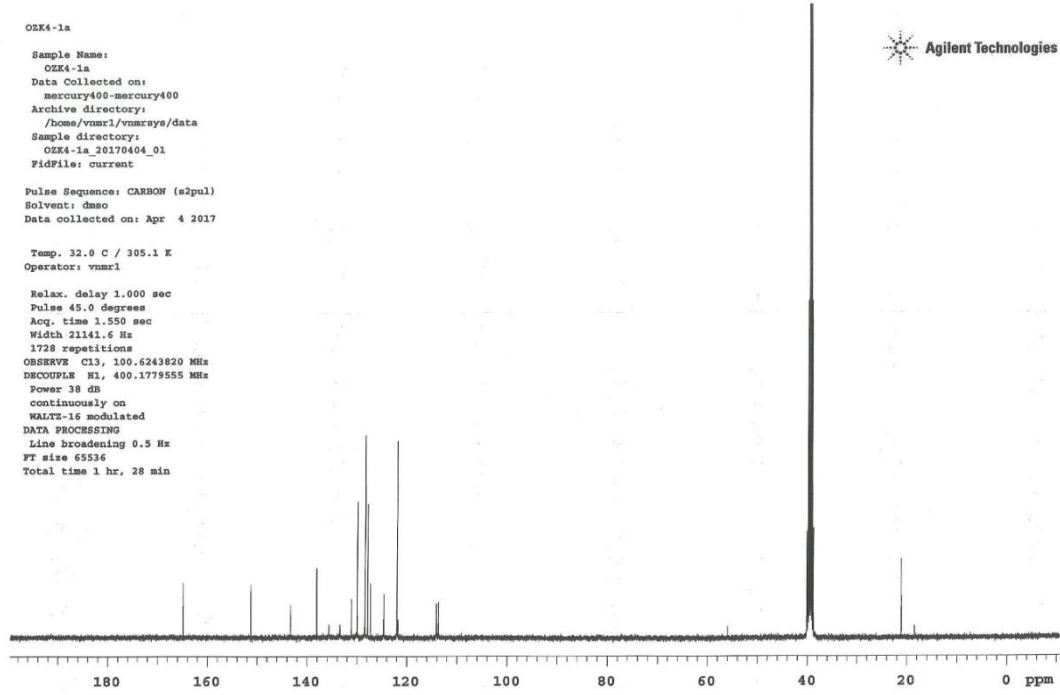
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

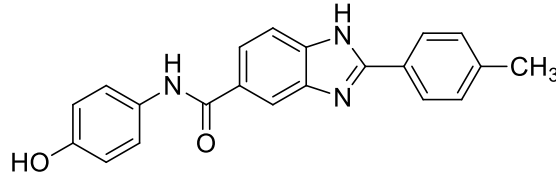
FT size 65536

Total time 1 hr, 28 min



Şekil 3.34. 1k Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.12. N-(4-hidroksifenil)-2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (11)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,25 gram hidroksi(4-metilfenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,89 gram 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %75 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,252 gram 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,109 g p-hidroksianilin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 49,75 verimle 0,170 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 341-342°C

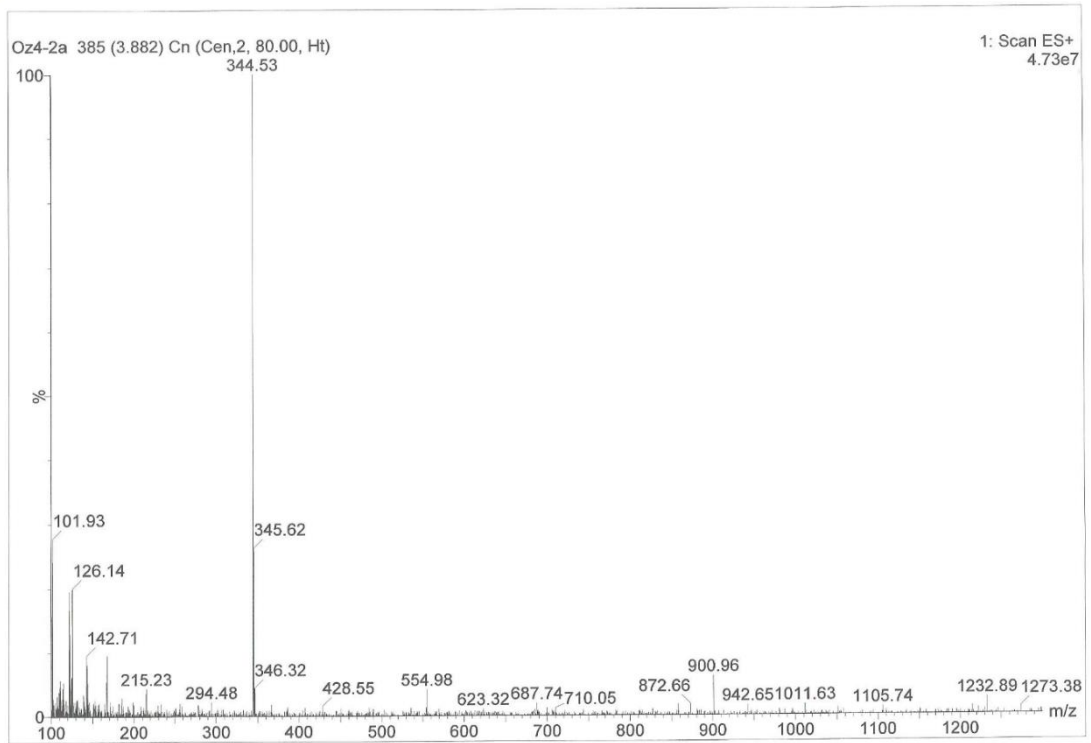
¹H-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO) δ ppm: 2.43 (s, 3H, -CH₃), 6.75 (d, 2H, J_o=7.2 Hz, 3'', 5''), 7.50 (d, 2H, J_o=8 Hz, H-3', 5'), 7.55 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-2'', 6''), 7.86 (d, 1H, J_o=8.8 Hz, H-7), 8.08 (dd, 1H, J_o=8.4 Hz, J_m=1.6 Hz, H-6), 8.29 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-2', 6'), 8.33 (d, 1H, H-4), 10.32 (s, 1H, amid N-H) **COSY [δH/δH]:** 6.75/7.55 [H-3'',5''/H-2'',6''], 7.50/8.29 [H-3',5'/H-2',6'], 7.86/8.08 [H-7/H-6] **NOESY:** 7.55/10.32 [H-2'',6''/H-NH]

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 21.25, 113.59, 113.63, 115.00, 120.65, 122.46, 125.12, 128.19, 130.16, 130.55, 132.16, 132.40, 134.17, 144.07, 150.66, 153.66, 153.90, 164.12.

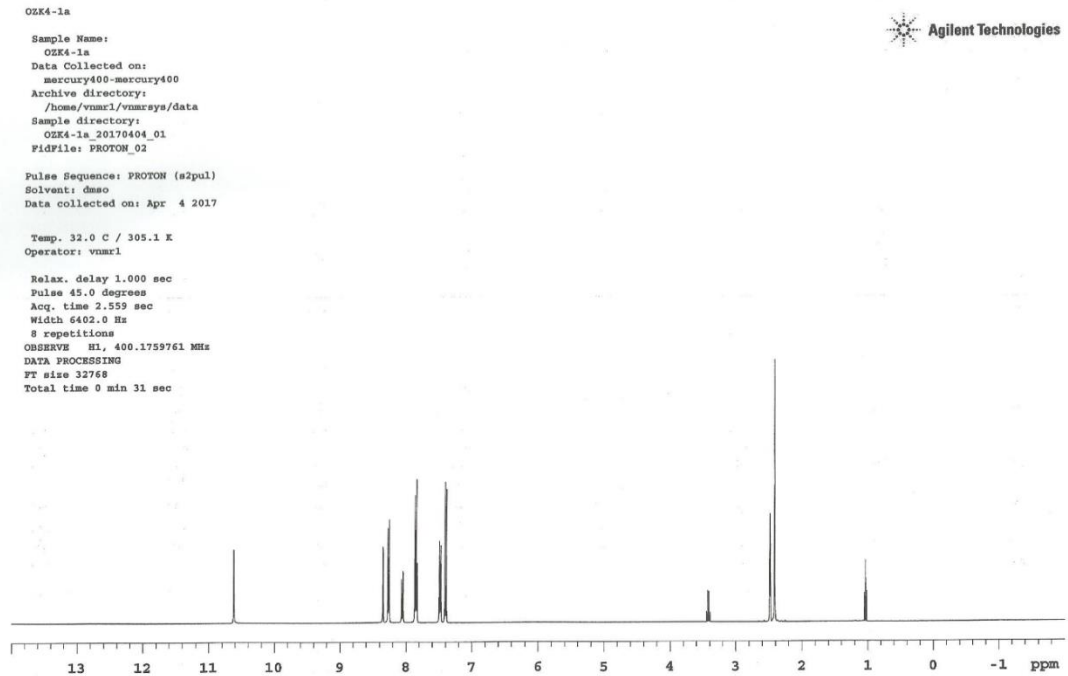
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 344.5 (M⁺+H) (%100)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₇N₃O₂. 1,25 H₂O. 1,5 HCl

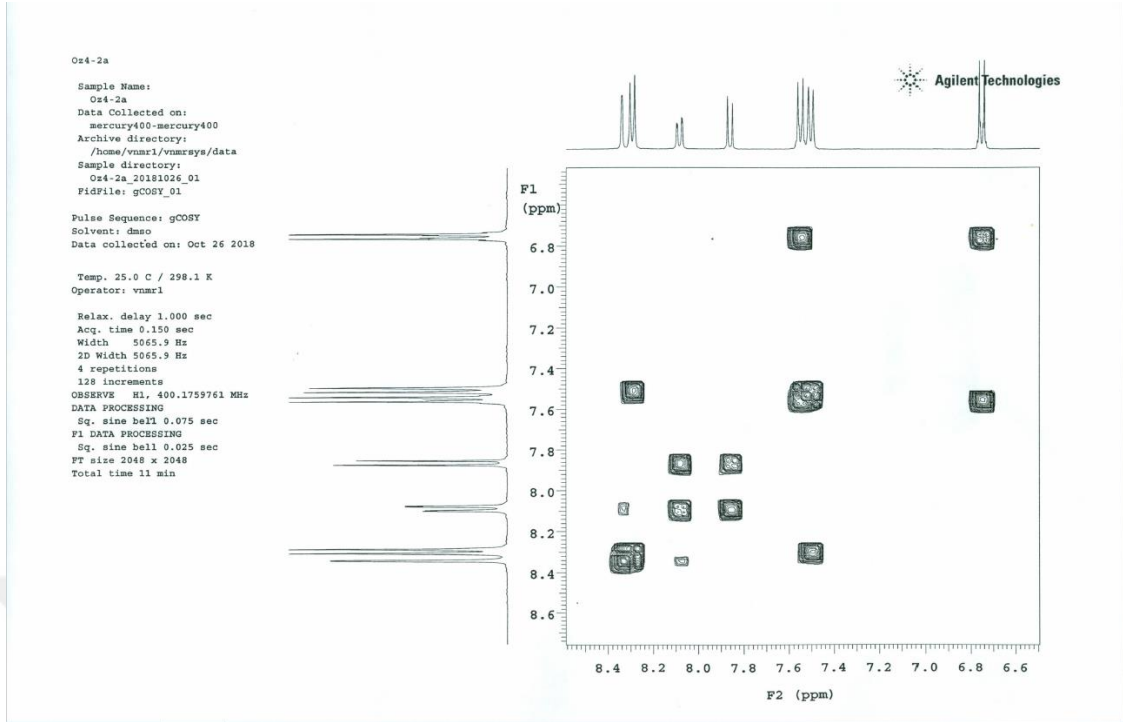
	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	60,07	5,00	10,01
Bulunan :	60.30	5.35	10.31



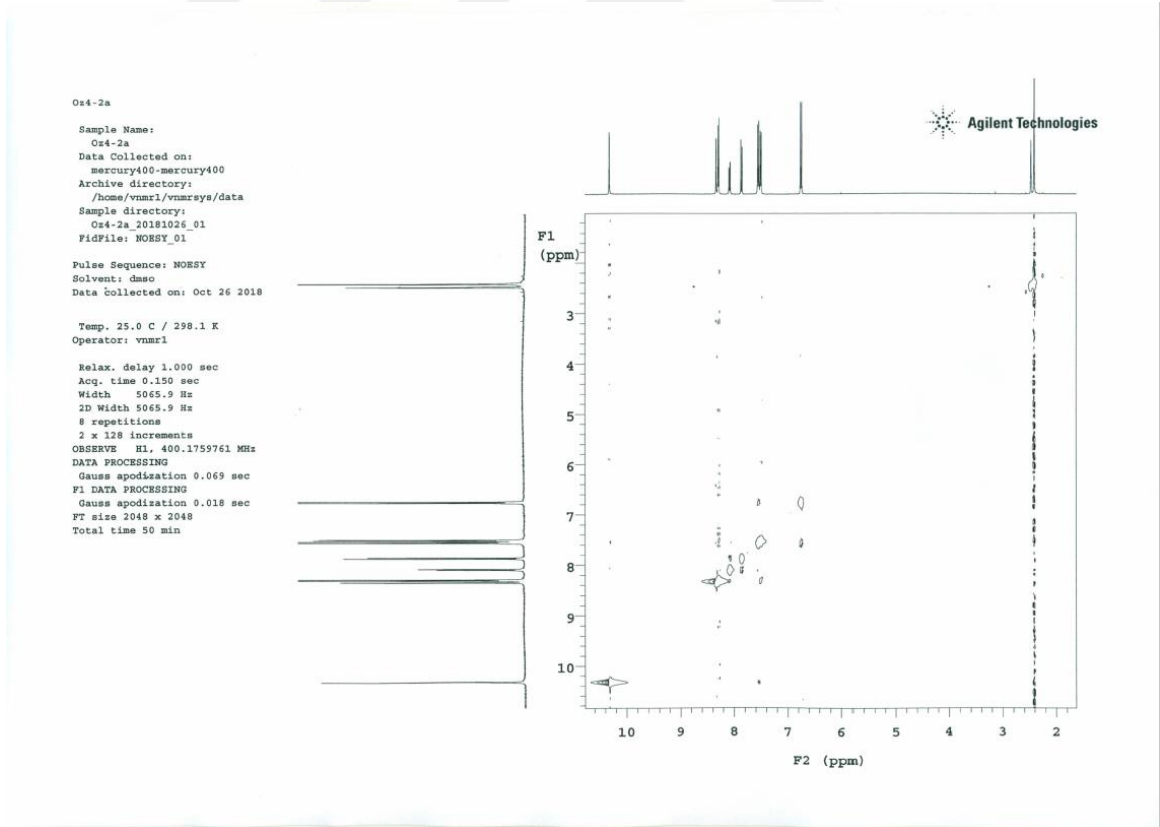
Şekil 3.35. 11 Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



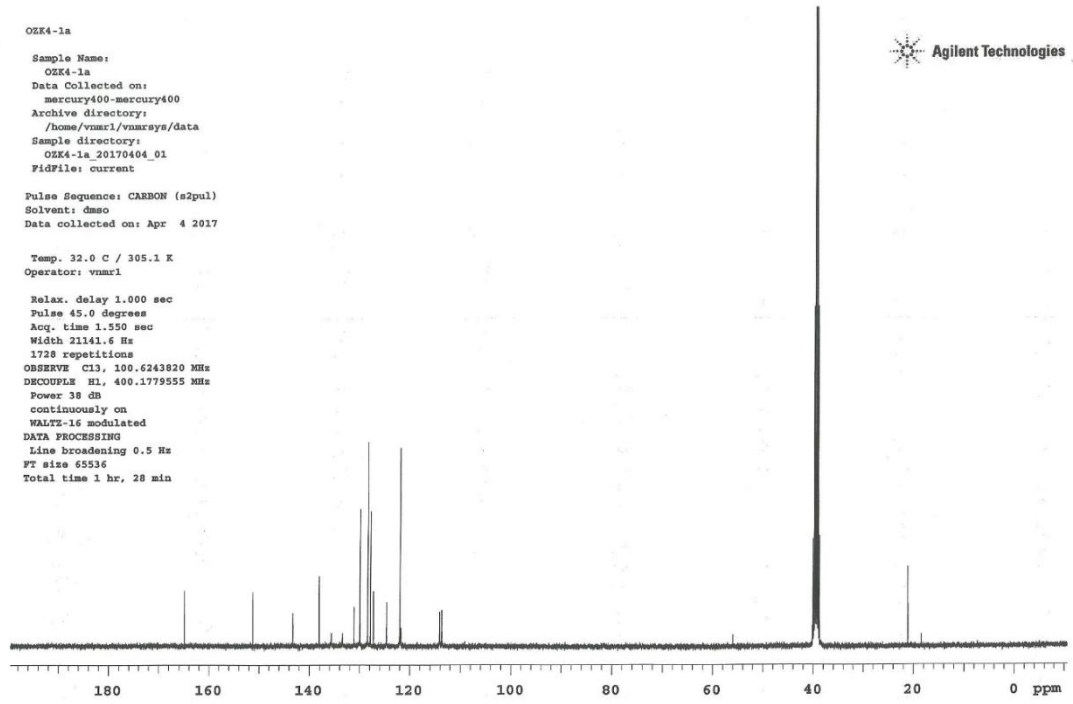
Şekil 3.36. 11 Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.



Şekil 3.37. 1l Bileşiğinin ^1H -NMR/COSY Spektrumu.

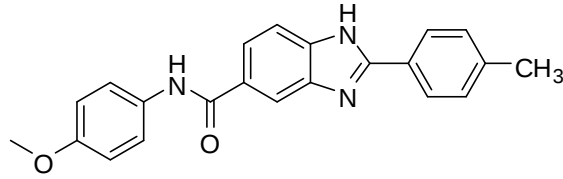


Şekil 3.38. 1l Bileşiğinin ^1H -NMR/NOESY Spektrumu.



Şekil 3.39. 1l Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.13. N-(4-metoksifenil)-2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1m)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,25 gram hidroksi(4-metilfenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,89 gram 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %75 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,252 gram 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,123 g p-anisidin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 20 verimle 0,075 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 285-286°C

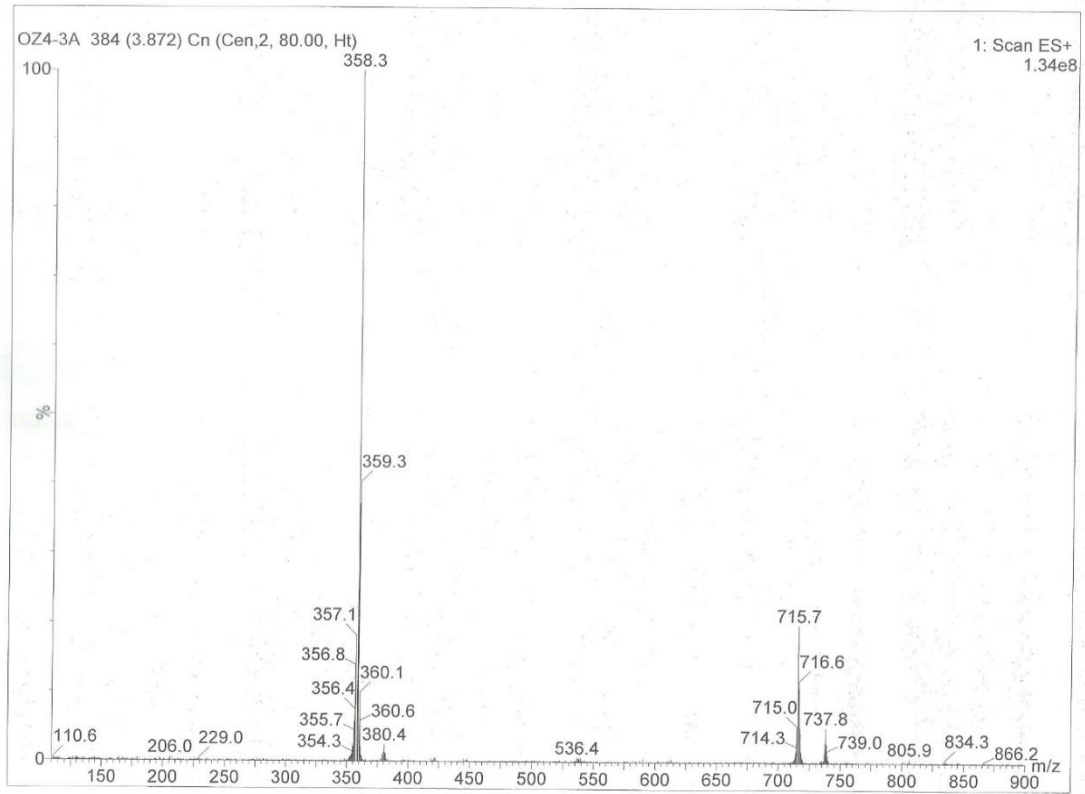
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-*d*₆); δ ppm: 2.40 (s, 3H, 4' -CH₃), 3.72 (s, 3H, 4'' -CH₃), 6.91 (d, 2H, J_o=9.2 Hz, H-3'', 5''), 7.49 (d, 2H, J_o=8 Hz, H-3', 5'), 7.69 (d, 2H, J_o=9.2 Hz, H-2'', 6''), 7.86 (d, 1H, J_o=8.8 Hz, H-7), 8.08 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-6), 8.29 (d, 2H, J_o=8 Hz, H-2', 6'), 8.34 (s, 1H, H-4), 10.42 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-*d*₄): 21.16, 55.10, 113.53, 113.64, 120.68, 122.09, 124.99, 128.09, 130.04, 132.05, 132.09, 132.21, 134.27.

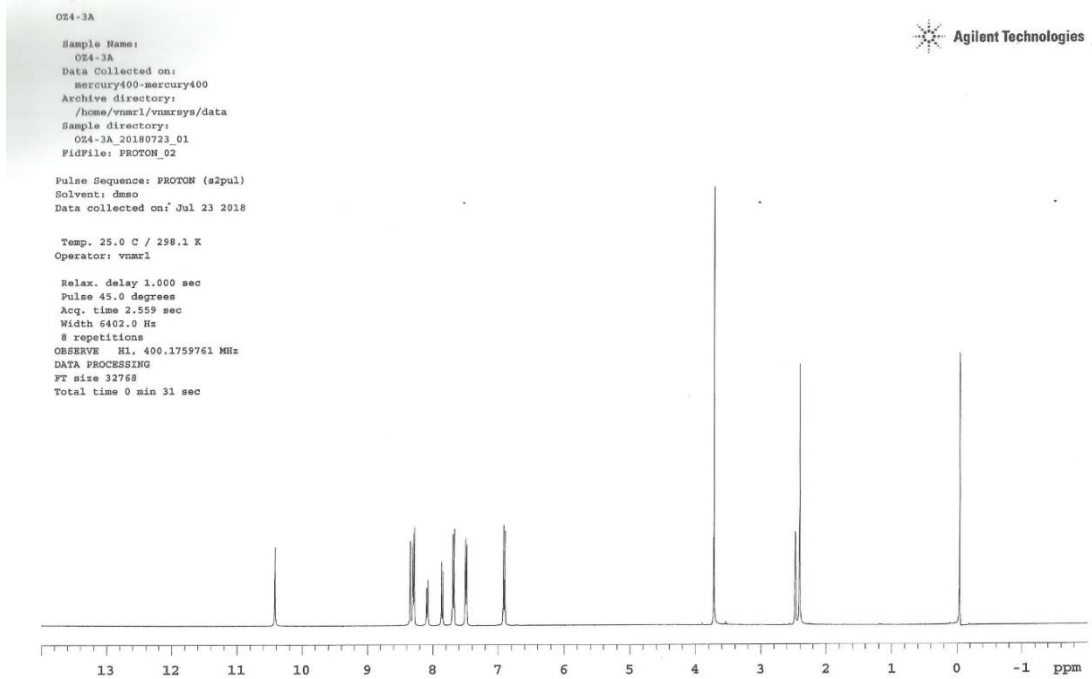
Kütle Spektrumu (ES⁺) m/z (%X); 358.3 (M⁺+H) (%100)

Elemental Analiz= C₂₂H₁₉N₃O₂. 1,5H₂O. 0,5HCl

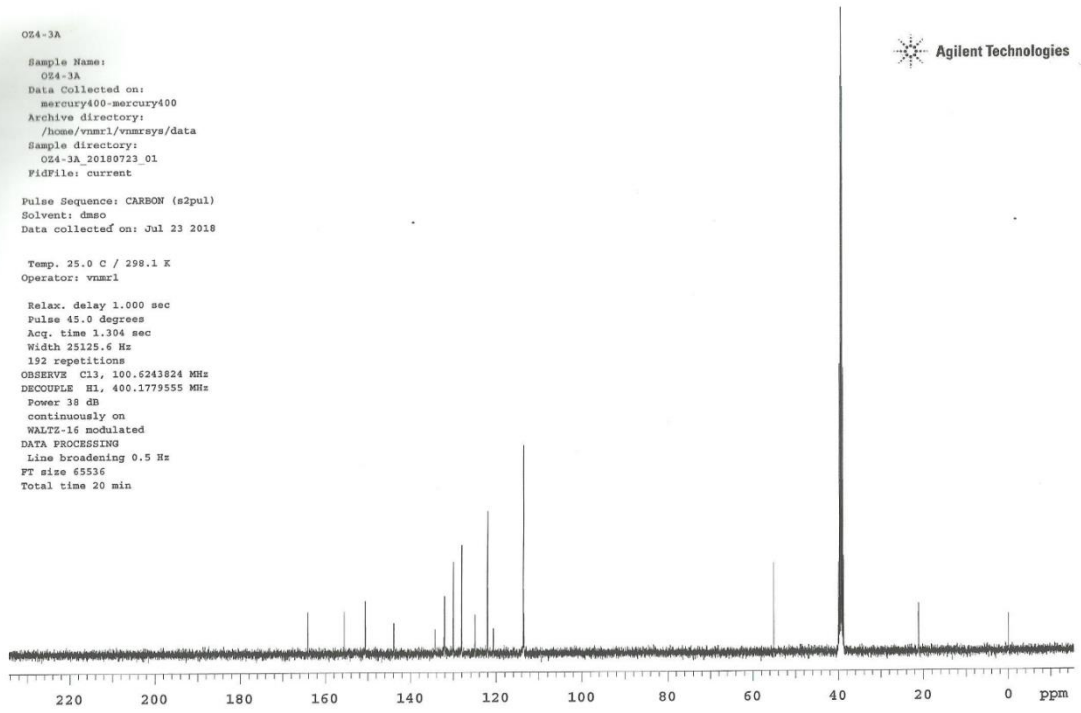
	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	65.64	5.63	10.44
Bulunan :	65.33	5.89	10.42



Şekil 3.40. 1m Bileşiğinin Kütle Spektrumu.

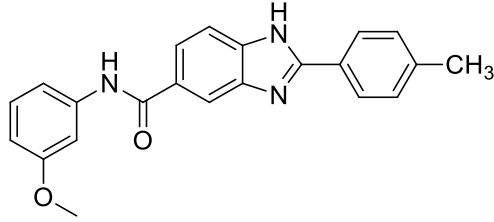


Şekil 3.41. 1m Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.



Şekil 3.42. 1m Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.14. N-(3-metoksifenil)-2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1n)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,25 gram hidroksi(4-metilfenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,89 gram 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %75 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,252 gram 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,123 g m-anisidin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 23,9 verimle 0,85 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 285-286°C

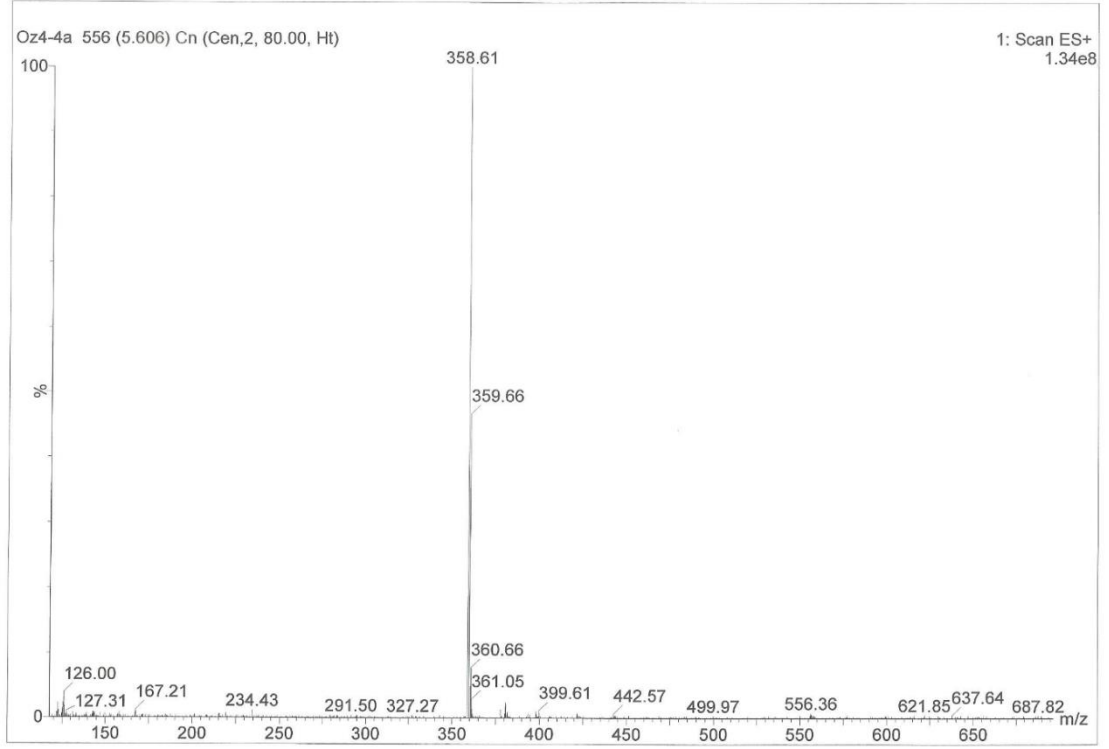
¹H-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO) δ ppm: 2.40 (s, 3H, 4'-CH₃), 3.74 (s, 3H, 4''-CH₃), 6.68 (dd, 1H, J_o=8 Hz, J_m=2 Hz, H-4''), 7.24 (t, 1H, H-5''), 7.40 (d, 1H, J_o=8 Hz, J_m=1.6 Hz, H-6''), 7.50 (d, 2H, J_o=6.8 Hz, H-3', 5'), 7.87 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-7), 8.09 (dd, 1H, J_o=8.4 Hz, J_m=1.6 Hz, H-6), 8.31(d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-2', 6'), 8.36 (s, 1H, H-4), 10.52 (s, 1H, amid N-H) **COSY [δH/δH]:** 2.41/7.50 [CH₃(4')/H-3',5'], 6.68/7.24 [H-4''/H-5''], 7.24/7.40 [H-5''/H-6''], 7.50/8.31 [H-3',5'/H-2',6'], 7.87/8.09 [H-7/H-6].

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 21.23, 55.02, 106.24, 109.27, 112.73, 113.63, 113.88, 120.74, 125.15, 128.18, 129.36, 130.12, 132.04, 132.29, 134.46, 140.29, 144.01, 150.80, 159.40, 164.76.

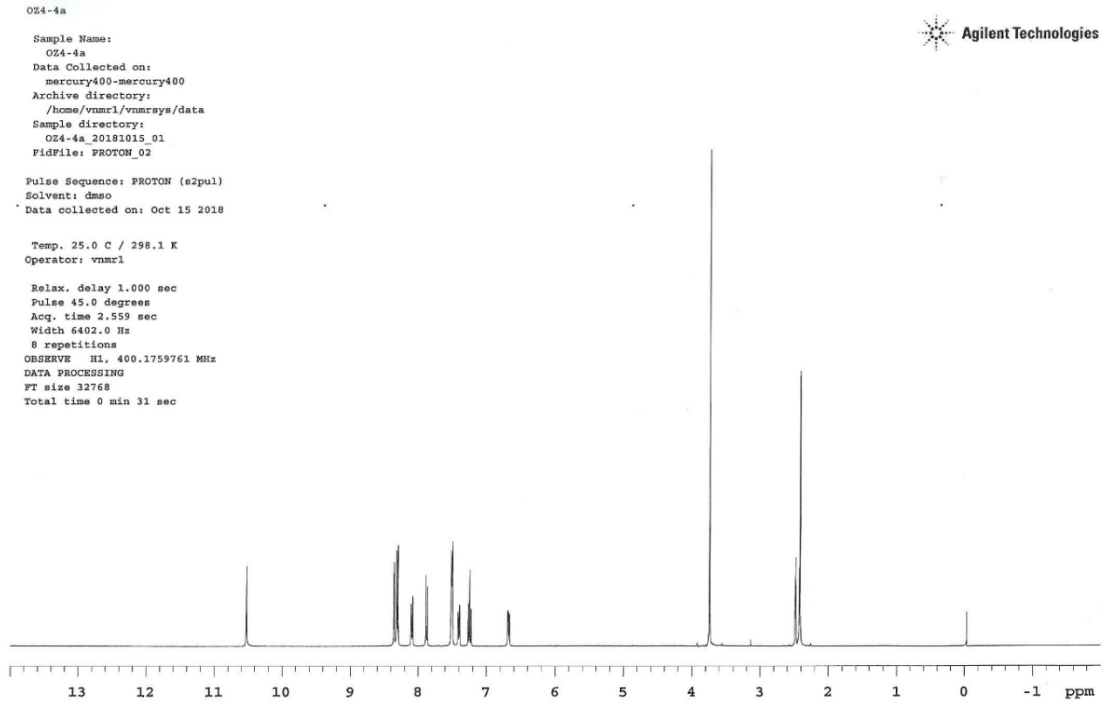
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X): 358.61 (M⁺+H) (%100)

Elemental Analiz= $C_{22}H_{19}N_3O_2 \cdot 1,5H_2O \cdot 0,75HCl$

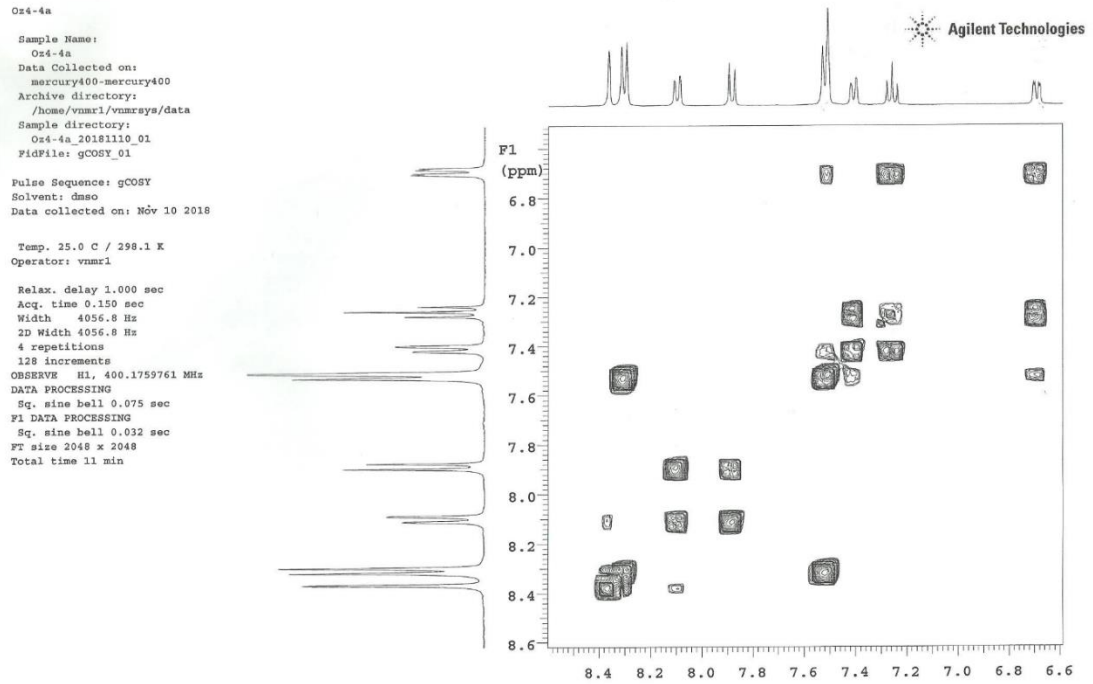
	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	64.21	5.57	10.21
Bulunan :	64.07	5.91	10.34



Şekil 3.43. 1n Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.44. 1n Bileşiğinin ^1H -NMR Spektrumu.



Şekil 3.45. 1n Bileşiğinin ^1H -NMR/COSY Spektrumu.

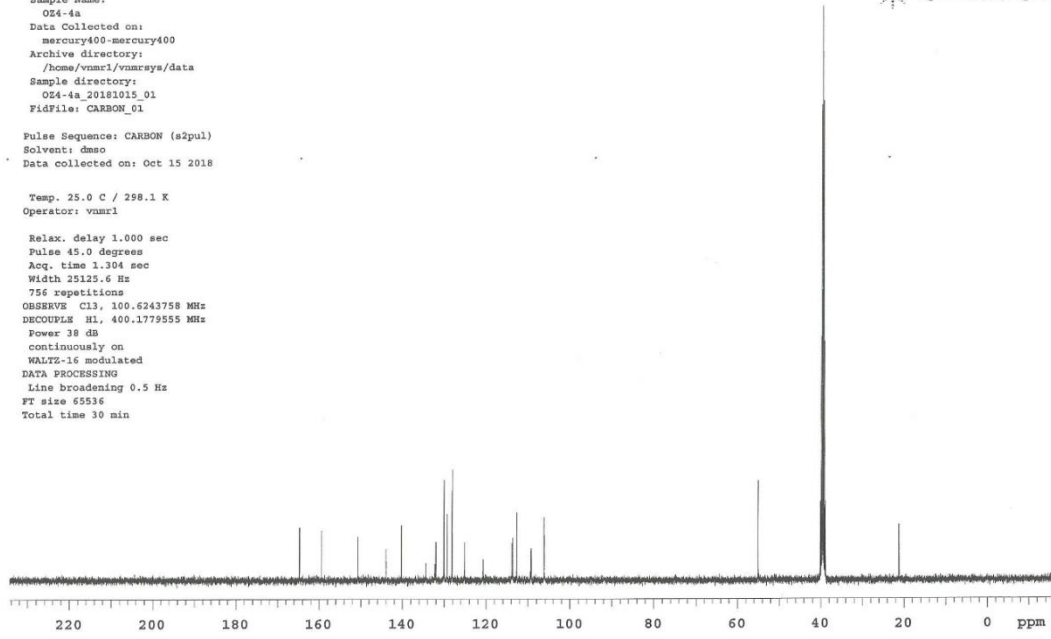
OZ4-4a

Sample Name:
OZ4-4a
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrns/data
Sample directory:
OZ4-4a_20181015_01
FidFile: CARBON_01

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Oct 15 2018

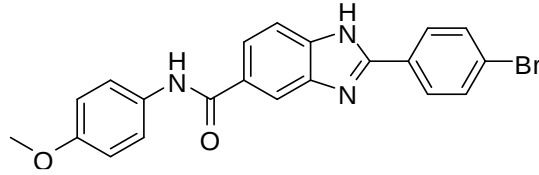
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
756 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243758 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 39 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 30 min



Şekil 3.46. 1n Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

**3.1.15. N-(4-metoksifenil)-2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid
(10)**



Reaksiyonların ilk basamağında 2,90 gram hidroksi(4-bromofenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 2,14 gram 2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %68 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,317gram 2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,123 g p-anisidin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 30,85 verimle 0,126 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 288-292°C

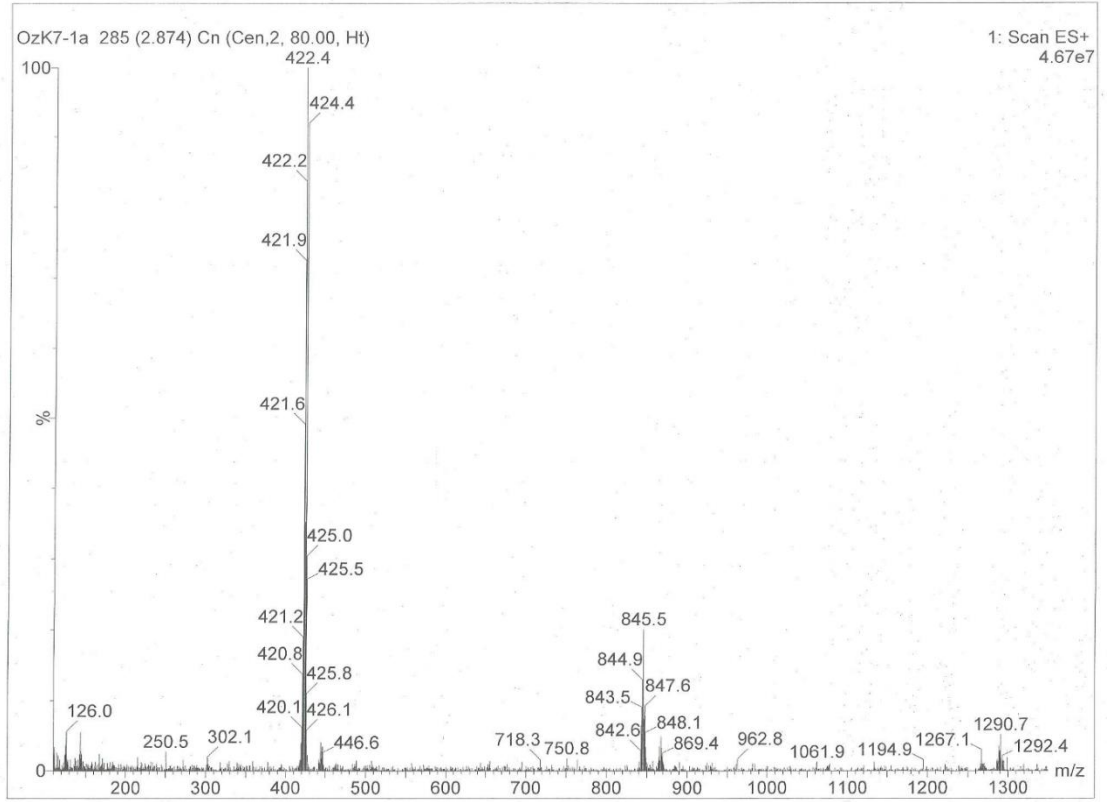
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆); δ ppm: 3.73 (s, 3H, -CH₃), 6.91 (d, 2H, J_o=9.2 Hz, H-3'', 5''), 7.69 (d, 2H, J_o=9.2 Hz, H-3', 5'), 7.85 (d, 1H, J_o=8.8 Hz, H-7) 7.91 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-2'', 6''), 8.07 (dd, 1H, J_o=8.8 Hz, J_m=1.2 Hz, H-6), 8.32 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-2', 6'), 8.36 (s, 1H, H-4), 10.39 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 55.16, 113.69, 113.88, 114.18, 122.12, 124.38, 124.52, 126.31, 129.68, 131.64, 132.16, 132.42, 134.04, 136.00, 150.31, 155.59, 164.46.

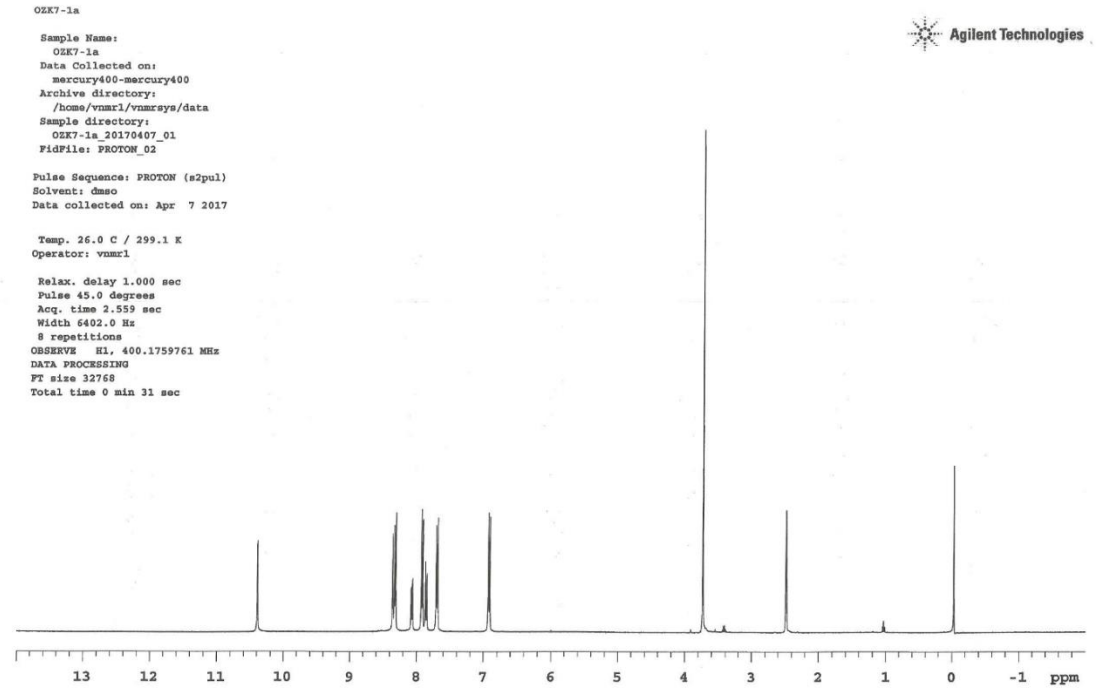
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 422.4 (M⁺+H⁺) (%100), 424.4 (M⁺+H⁺+2) (%95)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₆BrN₃O₂ .2,5H₂O. 0,25HCl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	53.04	4.50	8.84
Bulunan :	53.16	4.75	9.13



Şekil 3.47. 1a Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.48. 1a Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

OZK7-1a

Sample Name:

OZK7-1a

Data Collected on:

mercury400-mercury400

Archive directory:

/home/vnmr1/vnmrsys/data

Sample directory:

OZK7-1a_20170407_01

FidFile: CARBON_03

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)

Solvent: DMSO

Data collected on: Apr 8 2017

Temp: 41.0 C / 314.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.550 sec

Width 21141.6 Hz

1000 repetitions

OBSERVE C13, 100.6243829 MHz

DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz

Power 38 dB

continuously on

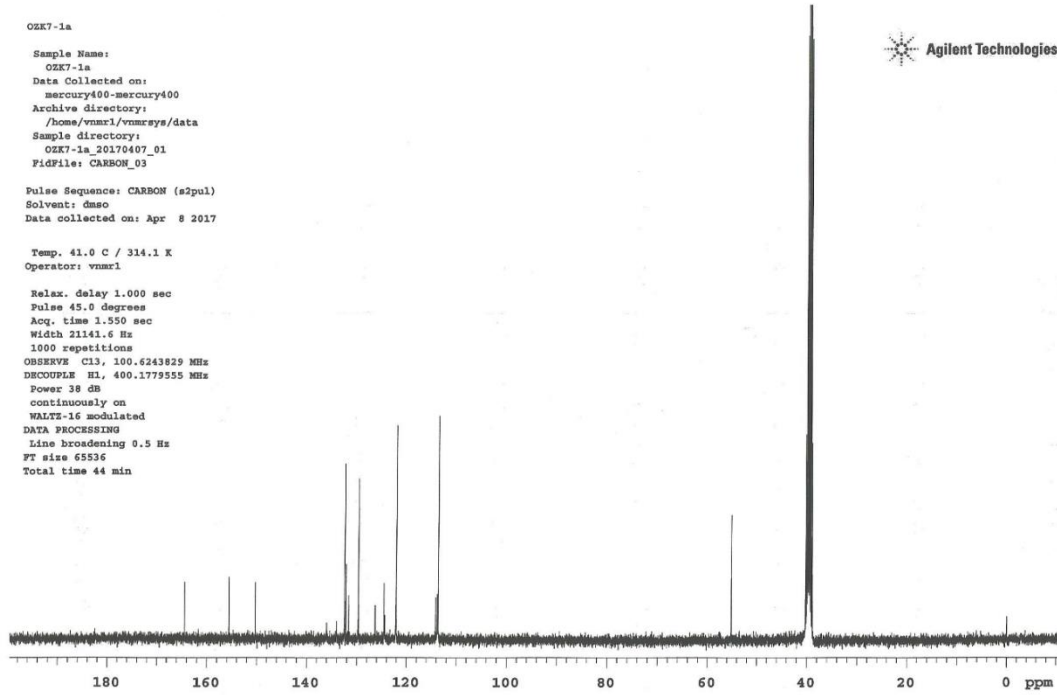
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

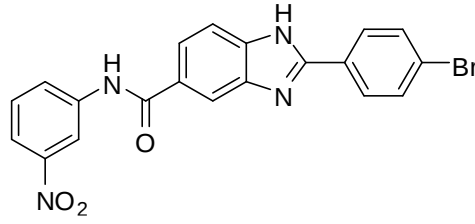
FT size 65536

Total time 44 min



Şekil 3.49. 1a Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.16. N-(3-nitrofenil)-2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1p)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,90 gram hidroksi(4-bromofenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 2,14 gram 2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %68 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,317gram 2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,138 g 3-nitro anilin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 32,11 verimle 0,140 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 303-307°C

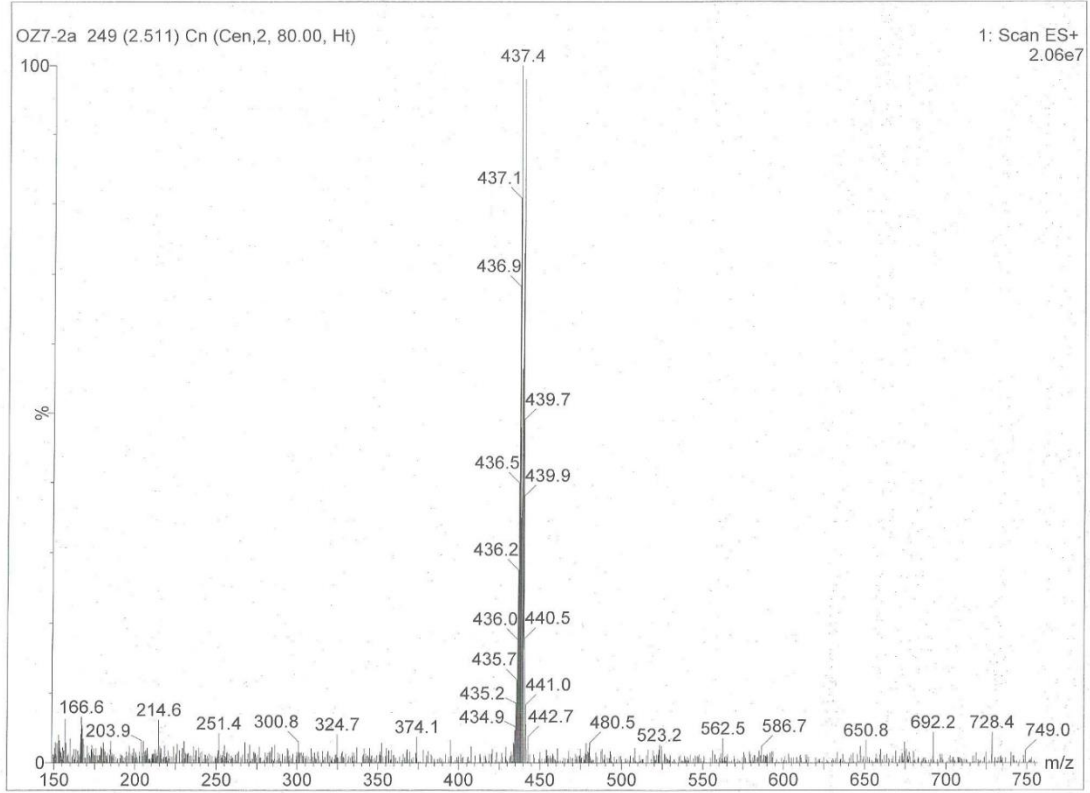
¹H-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO) δ ppm: 7.64 (t, 1H, H-5''), 7.76 (d, 1H, J_o=8 Hz, H-7), 7.82 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-3', 5'), 7.92-7.97 (m, 2H, H-4'', 6), 8.17 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-2', 6'), 8.22 (dd, 1H, J_o=8.4 Hz, J_m=1.6 Hz, H-6''), 8.33 (s, 1H, H-4), 8.84 (m, 1H, H-2''), 10.78 (s, 1H, amid N-H) **COSY [δH/δH]:** 7.64/7.92 [H-5''/H-4''], 7.64/8.22 [H-5''/H-6''], 7.82/8.17 [H-3',5'/H-2',6'], 7.76/7.97 [H-7/H-6].

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 114.28, 115.36, 117.89, 123.18, 124.67, 126.13, 127.32, 128.92, 129.92, 132.16, 139.68, 140.52, 147.83, 151.85, 154.58, 165.95.

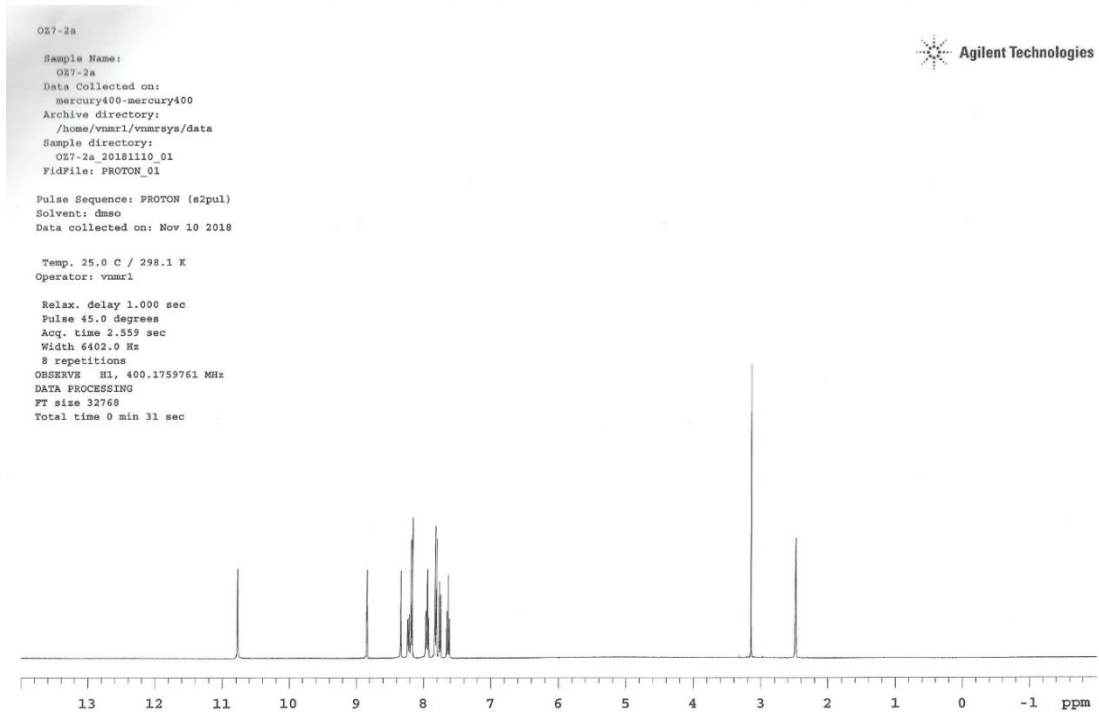
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 437.4 (M⁺+H⁺) (%100), 439.7 (M⁺+H⁺+2) (%50)

Elemental Analiz= C₂₀H₁₃BrN₄O₃ .1,25H₂O. 0,25HCl

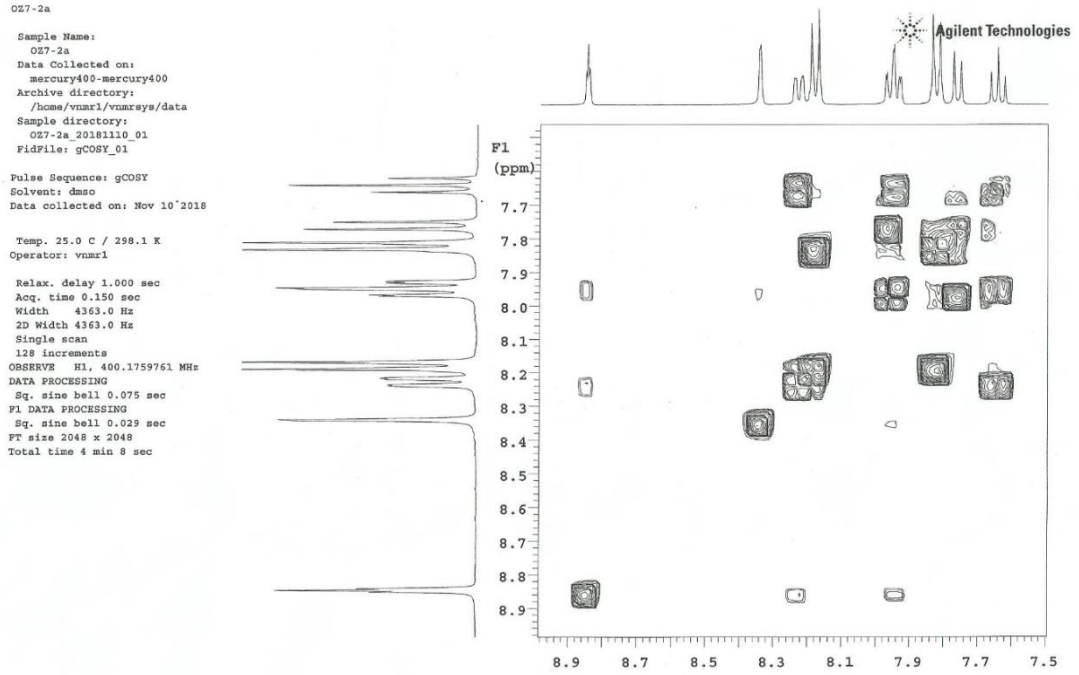
	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	51.33	3.36	11.97
Bulunan :	51.26	3.39	12.10



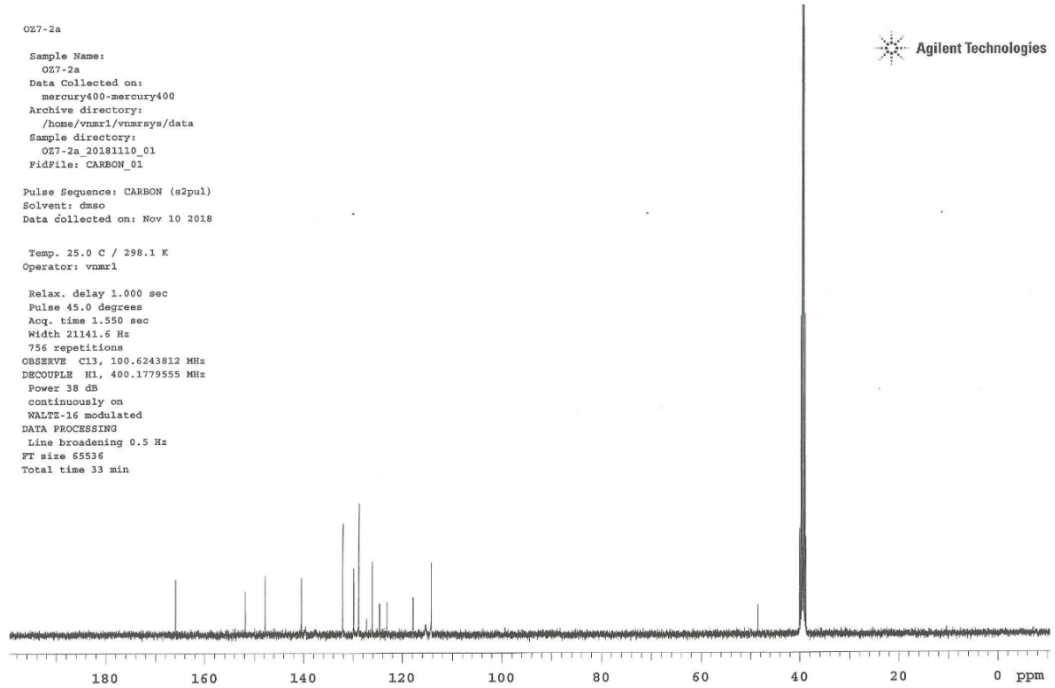
Şekil 3.50. 1p Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.51. 1p Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

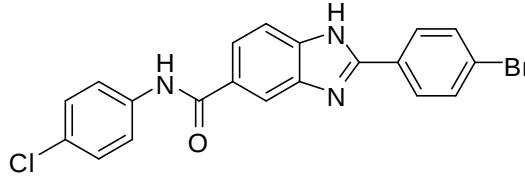


Şekil 3.52. 1p Bileşiğinin ^1H -NMR/COSY Spektrumu.



Şekil 3.53. 1p Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.17. N-(4-klorofenil)-2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksamid (1r)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,90 gram hidroksi(4-bromofenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 2,14 gram 2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %68 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,317 gram 2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,1237 g p-kloroanilin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 28,70 verimle 0,122 g saf bileşik elde edildi.

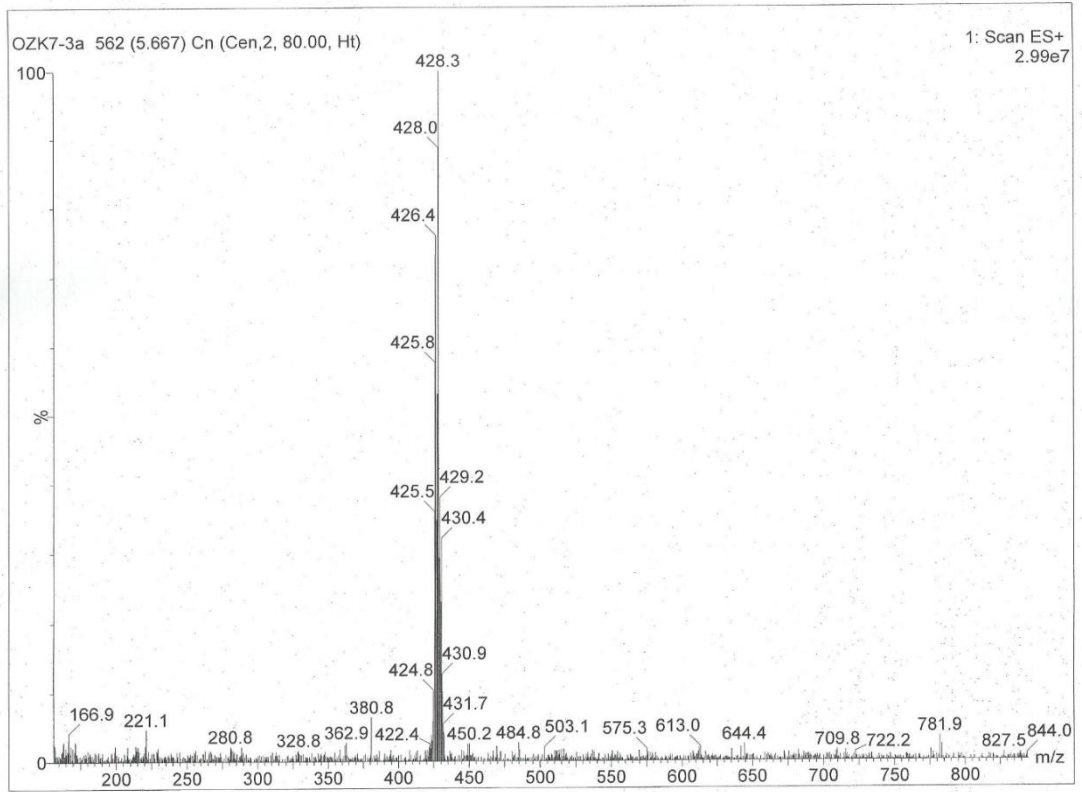
Erime Noktası: 269-270°C

¹H-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO) δ ppm: 7.39 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, aromatik protonlar), 7.69 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-7), 7.78 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, aromatik protonlar), 7.84-7.86 (m, 3H, H-6 ve aromatik protonlar), 8.14 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, aromatik protonlar), 8.26 (s, 1H, H-4), 10.37 (s, 1H, amid N-H).

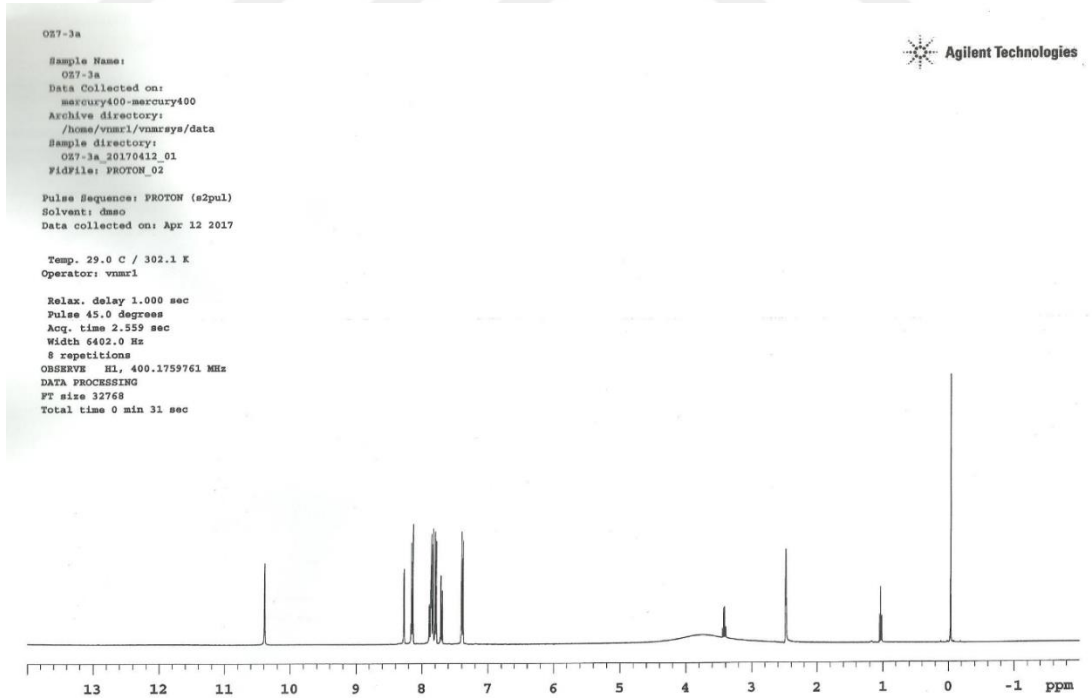
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X): 426.4 (M⁺+H⁺) (%80), 428.3 (M⁺+H⁺+2) (%100)

Elemental Analiz= C₂₀H₁₃BrClN₃O .1,25H₂O. 0,1C₂H₆O

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	53.61	3.56	9.28
Bulunan :	53.64	3.67	9.62

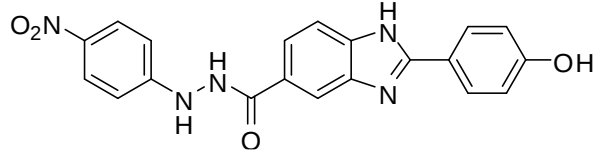


Şekil 3.54. 1r Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.55. 1r Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

3.1.18. N-(4-nitrofenil)-2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2a)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,27 gram hidroksi(4-hidroksifenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,68 gram 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %66,1 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,254 gram 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,153 g p-nitrofenilhidrazin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 31,87 verimle 0,124 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 236-239°C

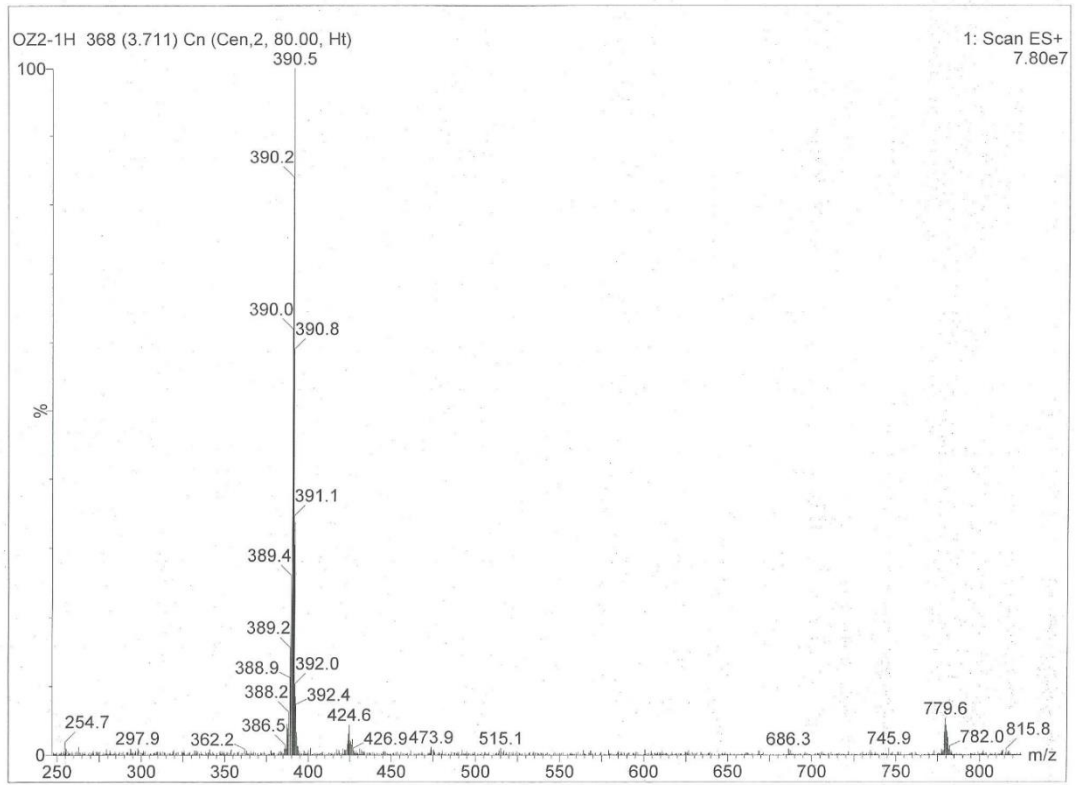
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆); δ ppm: 6.85 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-3', 5'), 7.07 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-2'', 6''), 7.85 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-7), 8.03 (dd, 1H, J_o=8.8 Hz, J_m=1.2 Hz, H-6), 8.08 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-3'', 5'') 8.21 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-2', 6'), 8.28 (s, 1H, H-4), 9.29 (s, 1H, N'-H), 10.9 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 110.77, 113.24, 113.57, 113.64, 116.52, 124.68, 125.96, 129.15, 130.53, 132.13, 134.61, 138.14, 151.21, 154.97, 162.57, 165.59.

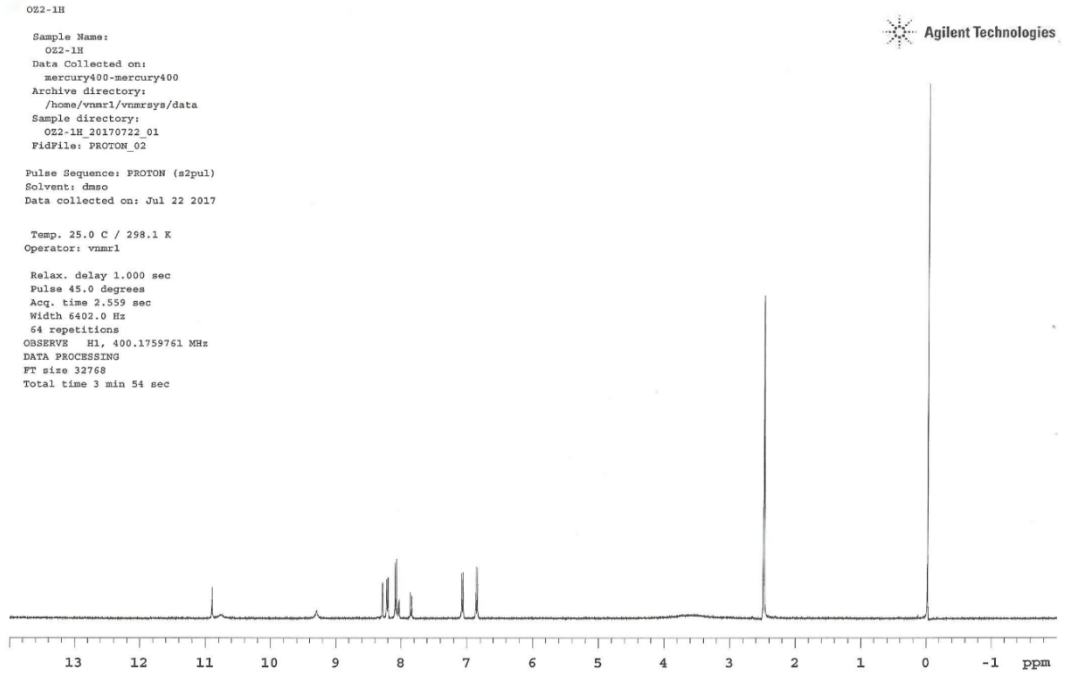
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X): 390.5 (M⁺+H) (%100)

Elemental Analiz= C₂₀H₁₅N₅O₄. 2H₂O. HCl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	52.04	4.37	15.18
Bulunan :	52.21	4.54	15.22

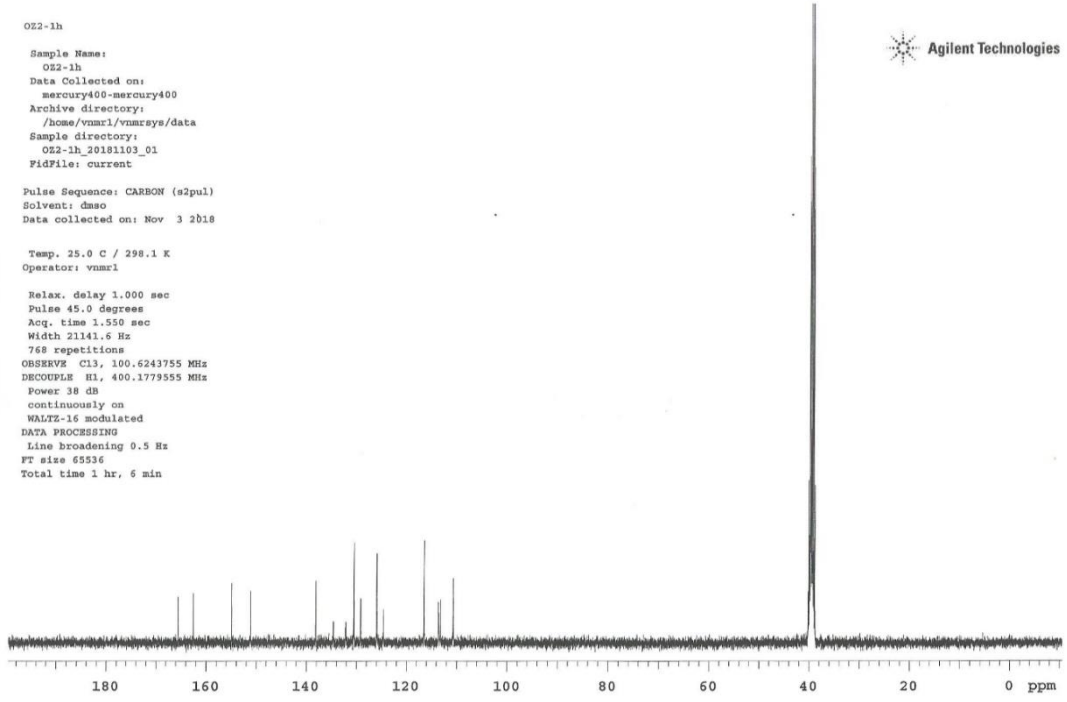


Şekil 3.56. 2a Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



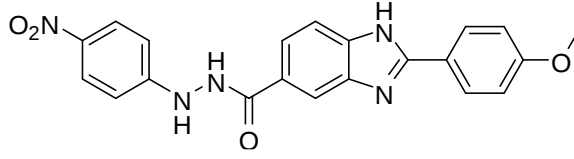
Şekil 3.57. 2a Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

OZ2-1h
Sample Name:
OZ2-1h
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
OZ2-1h_20181103_01
FidFile: current
Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Nov 3 2018
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.550 sec
Width 21141.6 Hz
768 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243755 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 1 hr, 6 min



Şekil 3.58. 2a Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.19. N'-(4-nitrofenil)-2-(4-Metoksifenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2b)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,41 gram hidroksi(4-metoksifenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,93 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %72 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,268 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,153 g p-nitrofenilhidrazin kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. %27,55 verimle 0,107 g saf bileşik elde edildi.

Erimе Noktası: 273-276°C

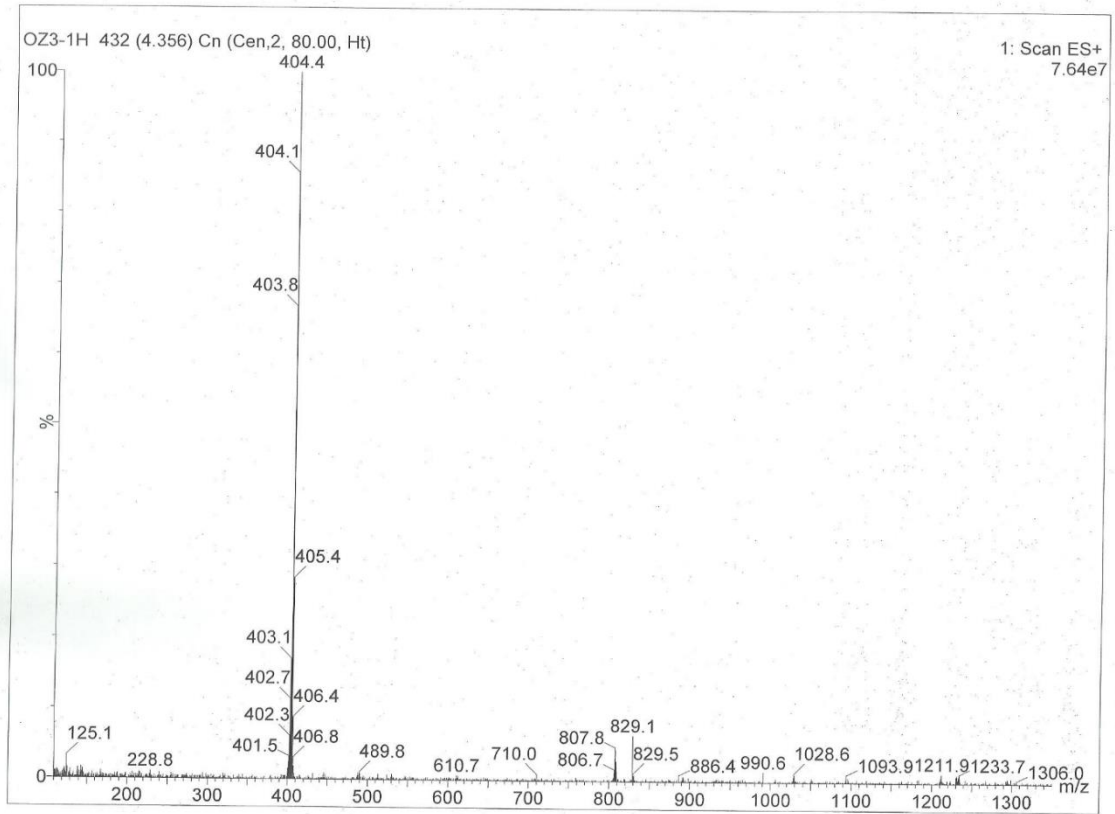
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆); δ ppm: 3.87 (s, 3H, -CH₃), 6.85 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-3' ve 5'), 7.23 (d, 2H, J_o=9.2 Hz, H-2'', 6''), 7.80 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-7), 7.97 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-6), 8.08 (d, 2H, J_o=9.6 Hz, H-2', 6'), 8.26-8.28 (m, 3H, 4, H-3'', 5''), 9.28 (s, H, N'-H), 10.83 (s, 1H, N-H protonu)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 55.72, 110.76, 113.76, 113.97, 114.99, 117.39, 123.84, 125.97, 128.26, 129.76, 134.35, 136.78, 138.12, 151.68, 155.07, 162.67, 165.94.

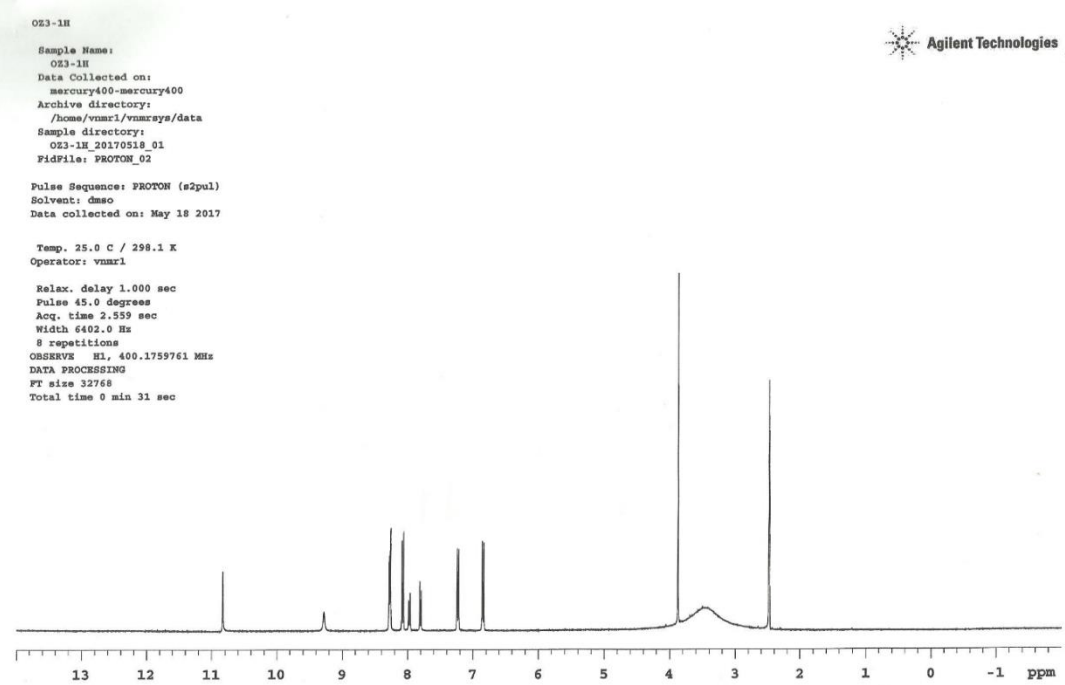
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 404.4 (M⁺+H) (%100)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₇N₅O₄. 1,5H₂O. 0,5HCl

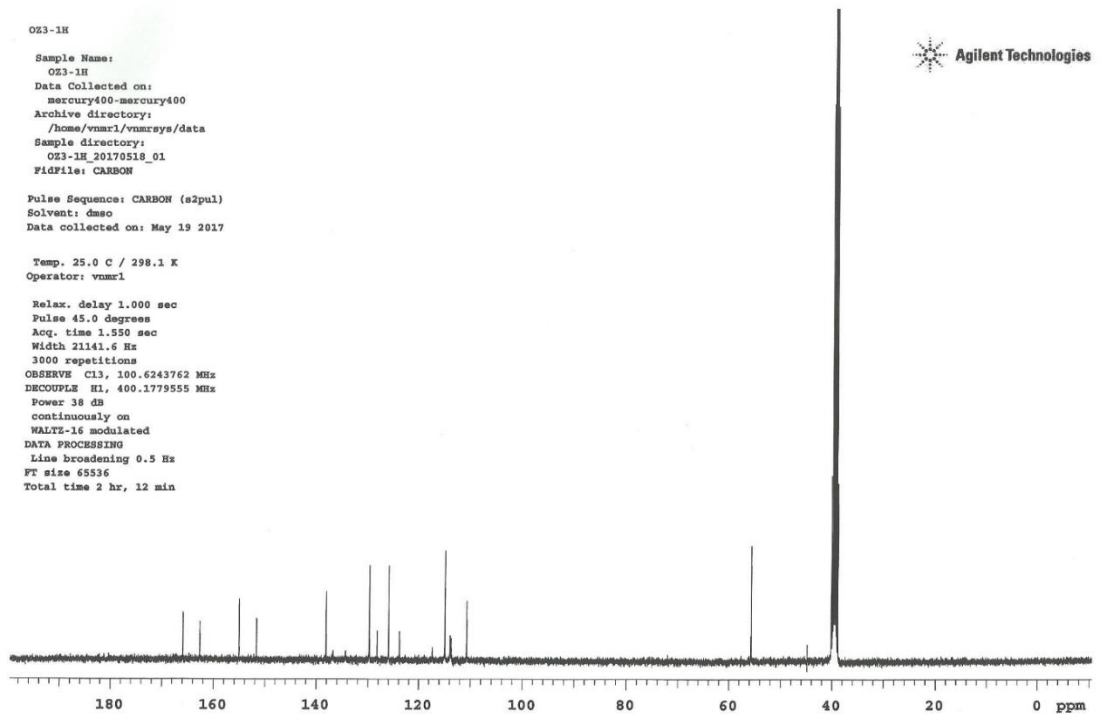
	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	56.23	4.61	15.62
Bulunan :	56.17	4.87	15.62



Şekil 3.59. 2b Bileşiğinin Kütle Spektrumu.

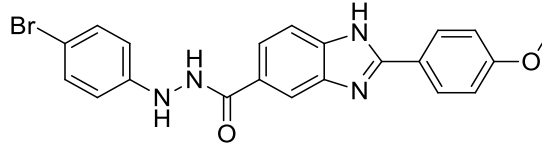


Şekil 3.60. 2b Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.



Şekil 3.61. 2b Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.20. N-(4-bromofenil)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2c)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,41 gram hidroksi(4-metoksifenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,93 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %72 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,268 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,179 g p-klorofenilhidrazin hidroklorid kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. %19,67 verimle 0,086 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 288-292°C

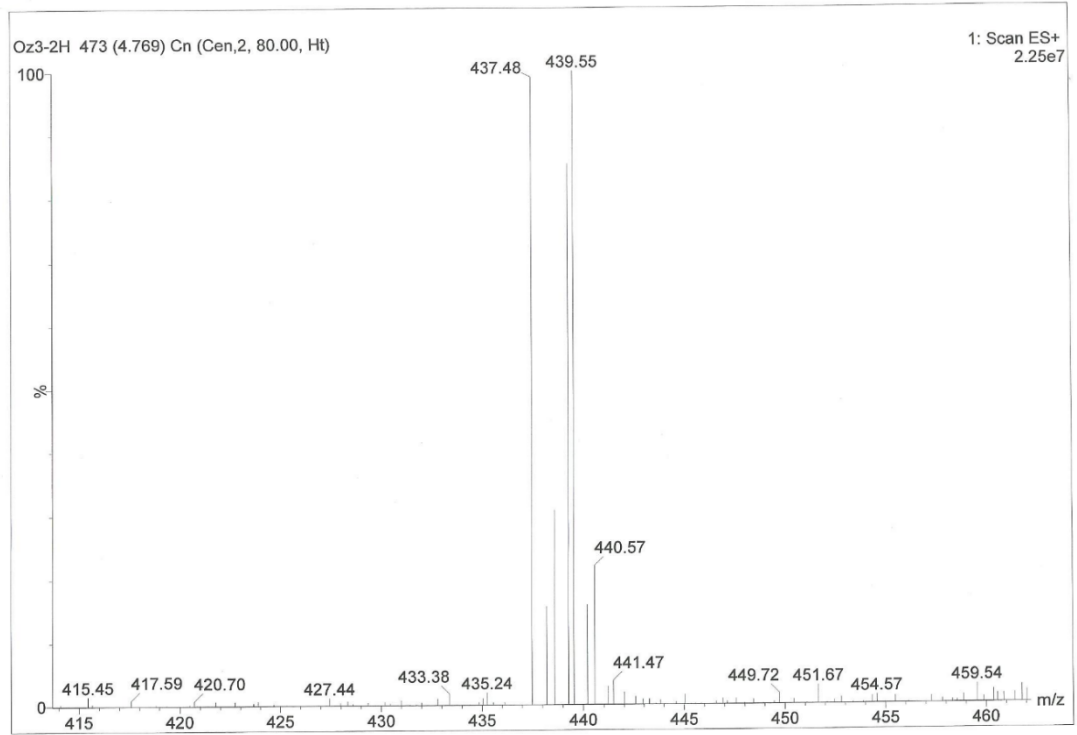
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆); δ ppm: 3.87 (s, 3H, -CH₃), 6.85 (d, 2H, J_o=8 Hz, H-3', 5'), 7.24-7.30 (m, 4H, H-2'', 3'', 5'' ve 6''), 7.85 (d, 1H, J_o=8.8 Hz, H-7), 8.04 (dd, 1H, J_m=1.2 Hz, J_o=8.4 Hz, H-6), 8.30 (s, 1H, H-4), 8.41 (d, 2H, J_o=9.2 Hz, H-2', 6'), 10.66 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 55.75, 109.39, 113.18, 113.59, 114.28, 115.07, 115.46, 124.50, 129.70, 130.26, 131.29, 132.25, 134.54, 148.73, 150.65, 163.23, 165.59.

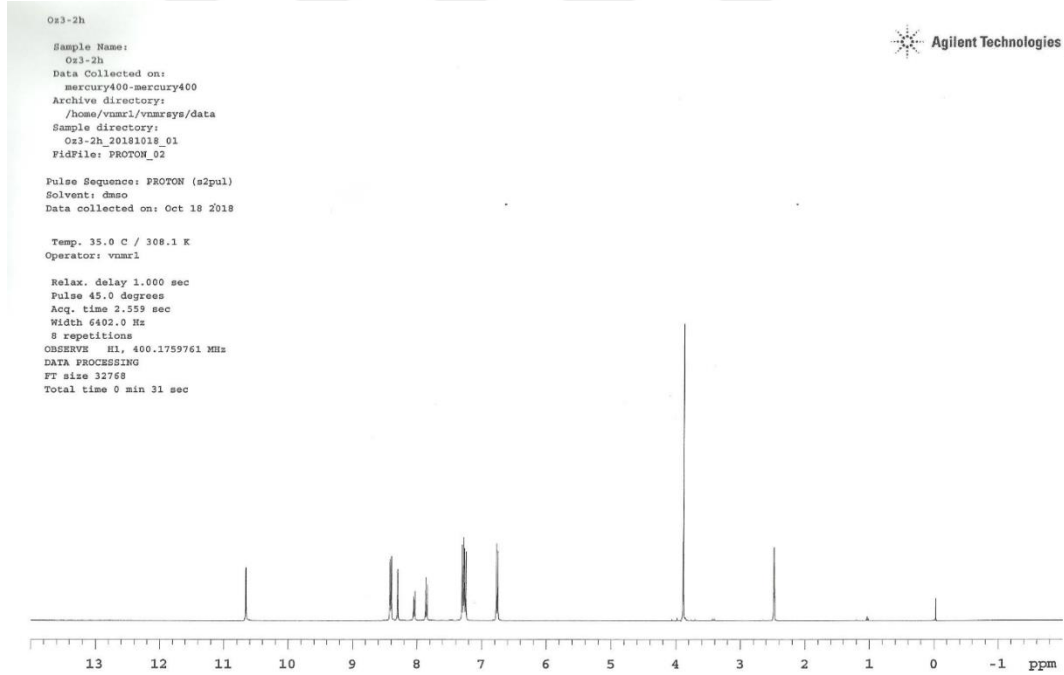
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 437.48 (M⁺+H) (%100) 439.55 (M⁺+H+2) (%100)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₇BrN₄O₂. 1H₂O. 0,5HCl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	53.38	4.16	11.86
Bulunan :	53.32	4.15	11.94



Şekil 3.62. 2c Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.63. 2c Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

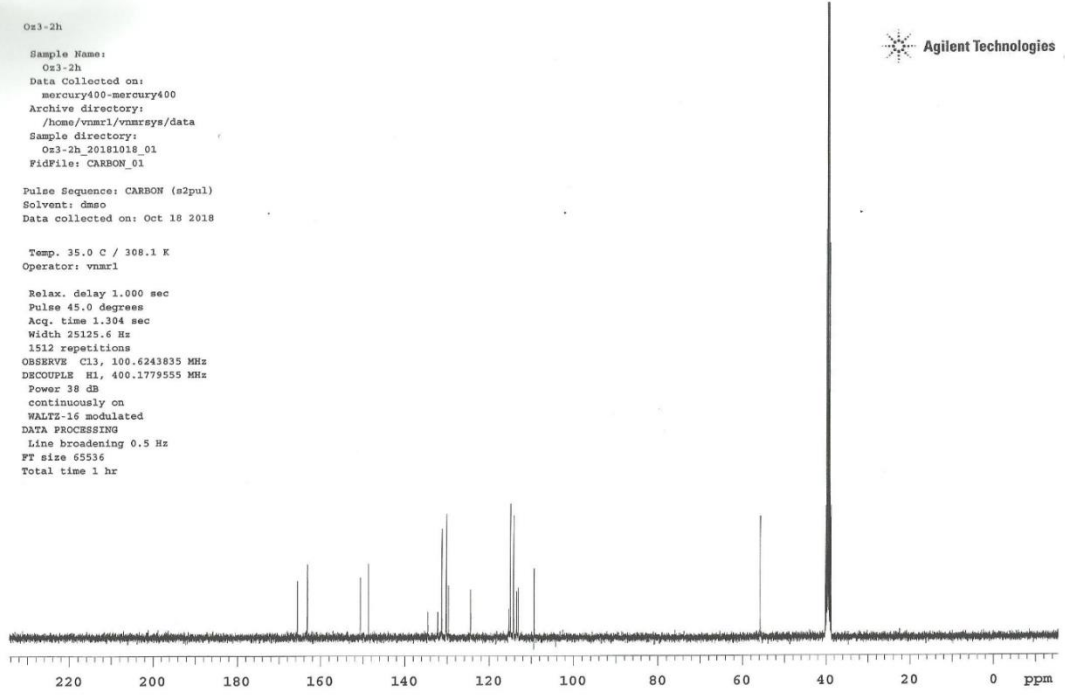
Oz3-2h

Sample Name:
Oz3-2h
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
Oz3-2h_20181018_01
FidFile: CARBON_01

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsd
Data collected on: Oct 18 2018

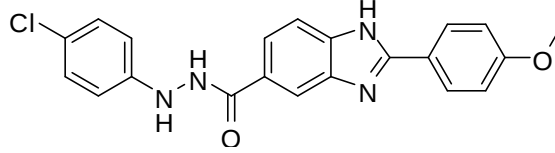
Temp. 35.0 C / 308.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
1512 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243835 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 1 hr



Şekil 3.64. 2c Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.21. N-(4-klorofenil)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2d)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,41 gram hidroksi(4-metoksifenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,93 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %72 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,268 gram 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,179 g p-klorofenilhidrazin hidroklorid kullanıldı ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. %28,82 verimle 0,113 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 269-271°C

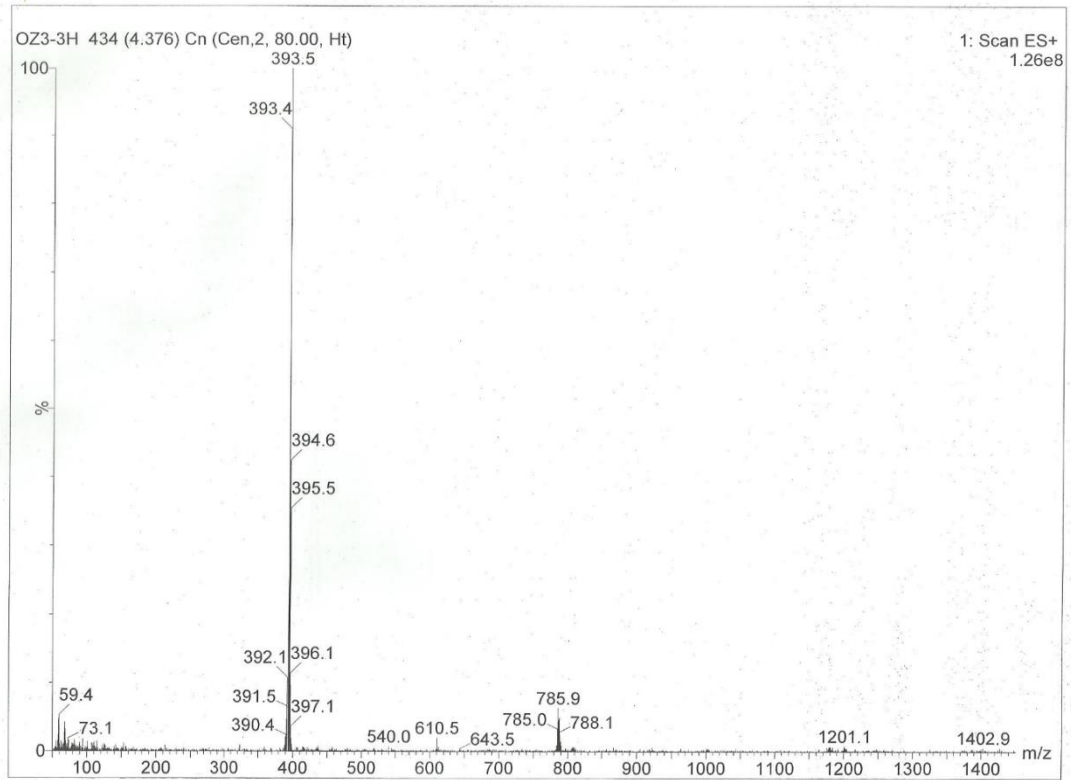
¹H-NMR Spektrumu (DMSO-*d*₆); δ ppm: 3.88 (s, 3H, -CH₃), 6.81 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-3', 5'), 7.17 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-2'', 6''), 7.25 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-3'', 5''), 7.85 (d, 1H, J_o=8.8 Hz, H-7), 8.05 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-6), 8.31 (s, 1H, H-4), 8.42 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-2', 6'), 10.67 (s, H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-*d*₄): 55.75, 113.17, 113.57, 113.78, 115.07, 115.32, 121.91, 124.56, 128.45, 129.79, 130.30, 132.11, 134.39, 148.32, 150.57, 163.27, 165.60.

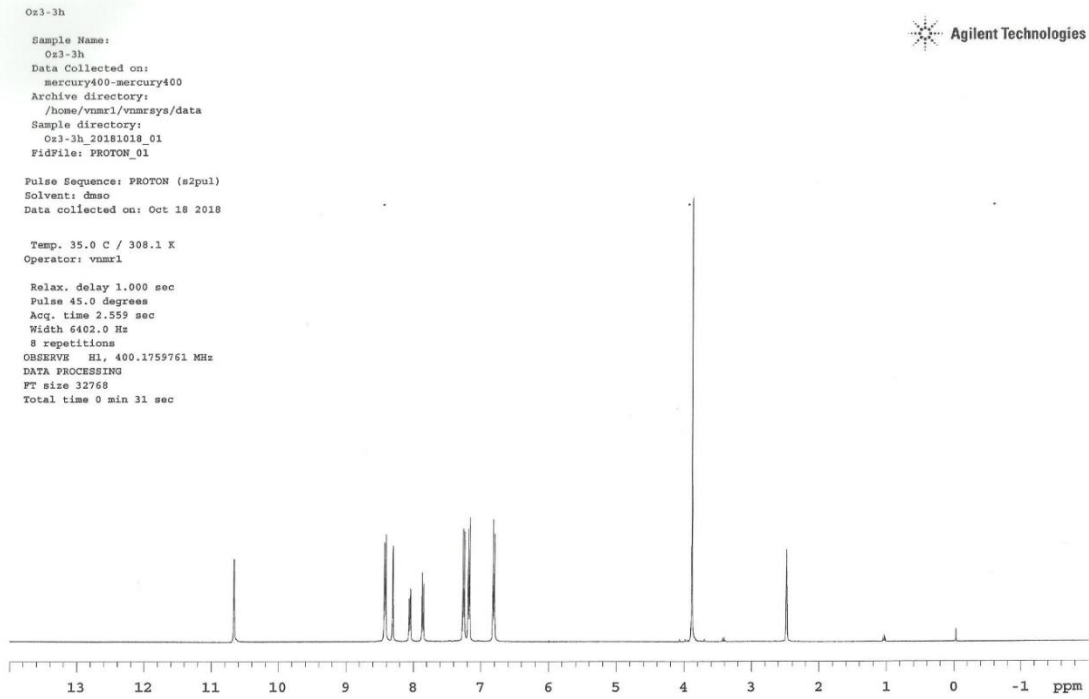
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 393.5 (M⁺+H) (%100), 395.5 (M⁺+H+2) (%33)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₇ClN₄O₂. 1,5H₂O. 1,25HCl

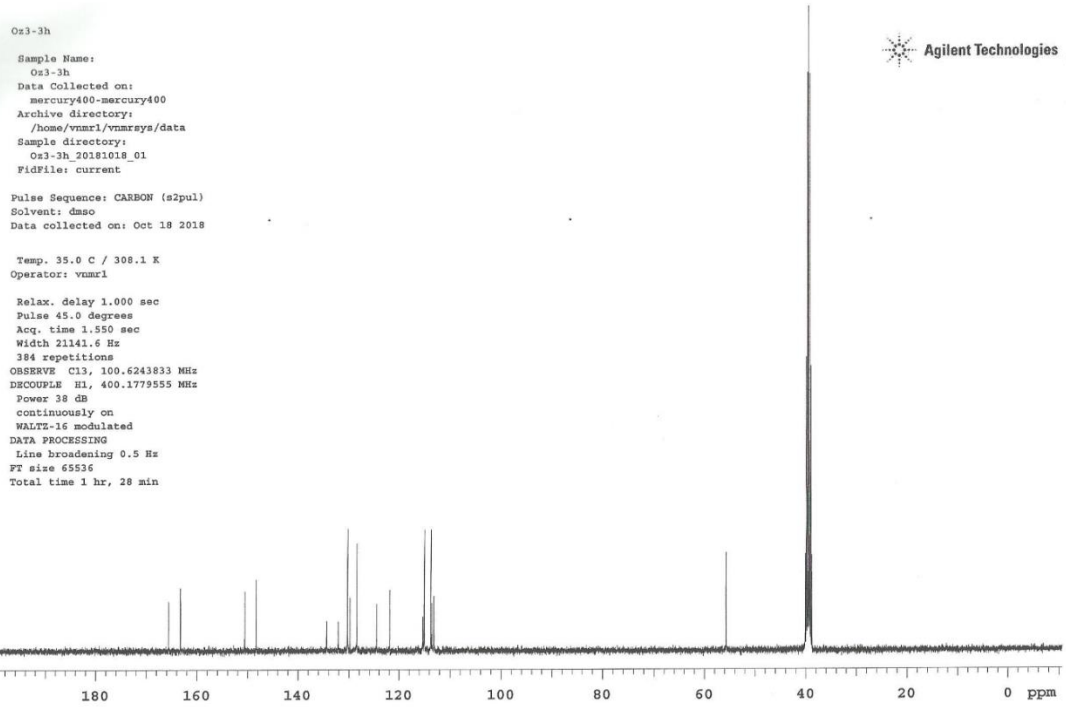
	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	58.72	4.99	13.05
Bulunan :	58.50	4.61	13.14



Şekil 3.65. 2d Bileşiğinin Kütle Spektrumu.

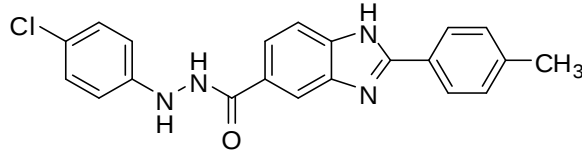


Şekil 3.66. 2d Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.



Şekil 3.67. 2d Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.22. N-(4-klorofenil)-2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2e)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,25 gram hidroksi(4-metilfenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,89 gram 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %75 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,252 gram 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,179 g p-klorofenilhidrazin hidroklorid ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 36,96 verimle 0,139 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 284-285°C

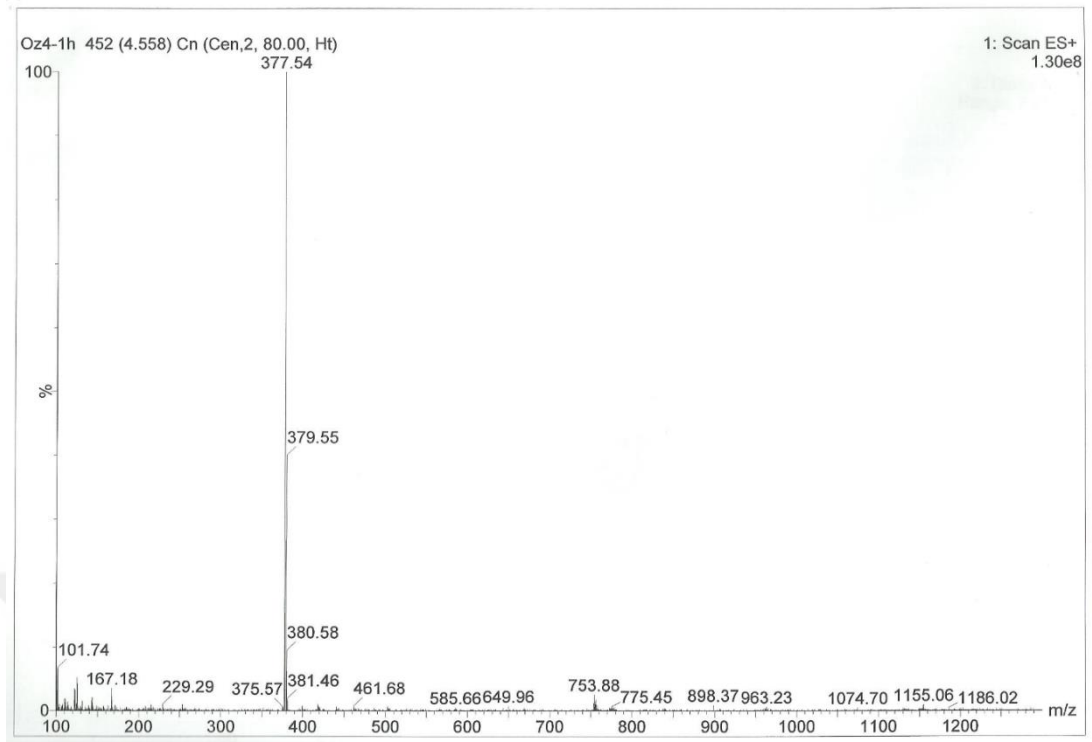
¹H-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO) δ ppm: 2.44 (s, 3H, -CH₃), 6.82 (d, 2H, J_o=6.8 Hz, H-3', 5'), 7.20 (d, 2H, J_o=6.8 Hz, H-2'', 6''), 7.53 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-3'', 5''), 7.90 (d, 1H, J_o=8.8 Hz, H-7), 8.08 (dd, 1H, J_o=8.4 Hz, J_m=1.2 Hz, H-6), 8.33-8.35 (m, 3H, H-4, 2' ve 6'), 10.73 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-*d*4): 21.24, 113.48, 113.82, 113.90, 120.73, 121.95, 124.73, 128.20, 128.54, 129.91, 130.13, 132.37, 134.63.

Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X); 377.5 (M⁺+H) (%100), 379.5 (M⁺+H+2) (%40)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₇ClN₄O.0,25H₂O. 0,5HCl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	60.50	4.80	13.44
Bulunan :	60.59	4.77	13.69



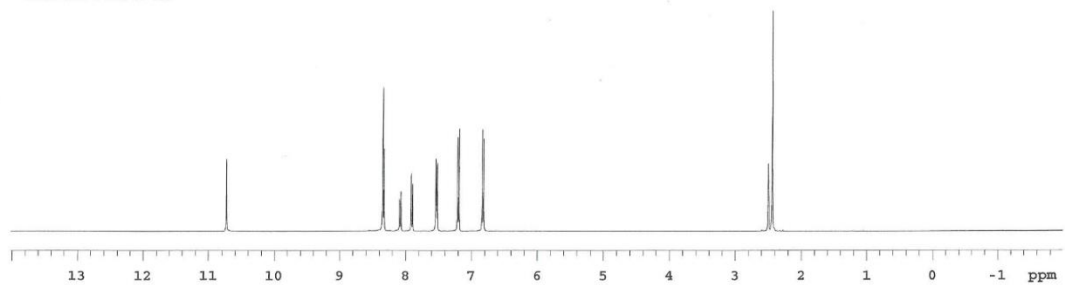
Şekil 3.68. 2e Bileşiğinin Kütle Spektrumu.

Oz4-1h
 Sample Name:
 Oz4-1h
 Data Collected on:
 mercury400-mercury400
 Archive directory:
 /home/vnmr1/vnmrsys/data
 Sample directory:
 Oz4-1h_20181108_01
 FidFile: PROTON_02

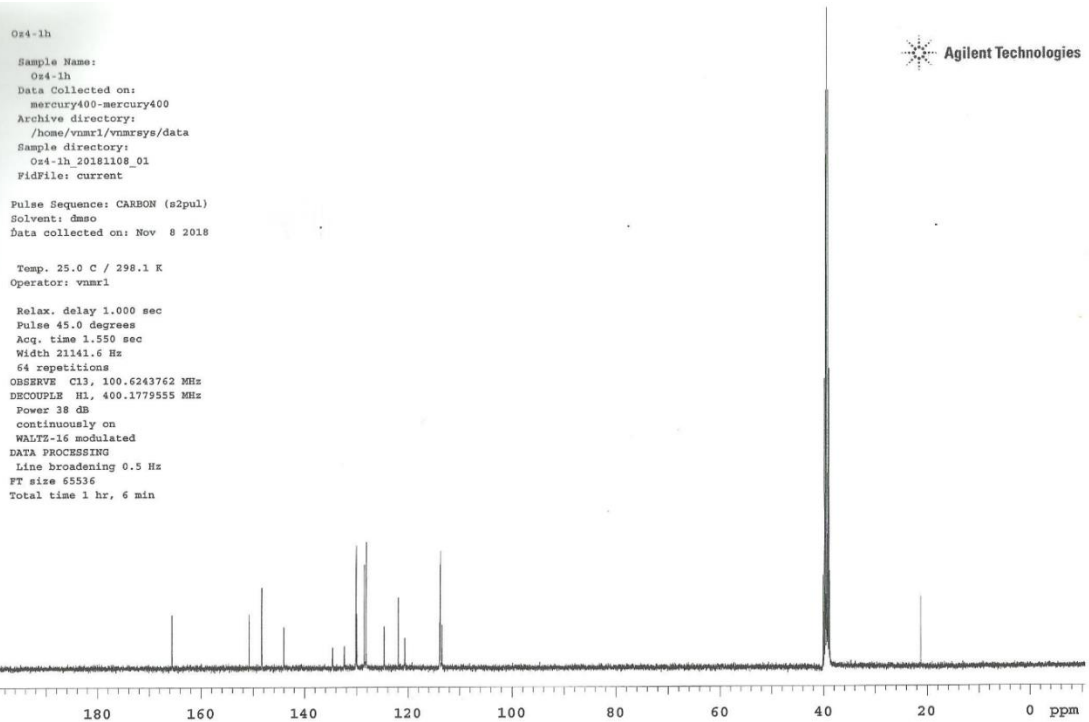


Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
 Solvent: dmsd
 Data collected on: Nov 8 2018

Temp. 25.0 C / 298.1 K
 Operator: vnmr1
 Relax. delay 1.009 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 2.559 sec
 Width 6402.0 Hz
 8 repetitions
 OBSERVE H1, 400.1759659 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 0 min 31 sec

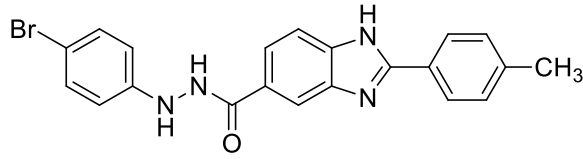


Şekil 3.69. 2e Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.



Şekil 3.70. 2e Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.23. N-(4-bromofenil)-2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2f)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,25 gram hidroksi(4-metilfenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 1,89 gram 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %75 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,252 gram 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,223 g p-bromofenilhidrazin hidroklorid ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 21,19 verimle 0,089 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 282-283°C

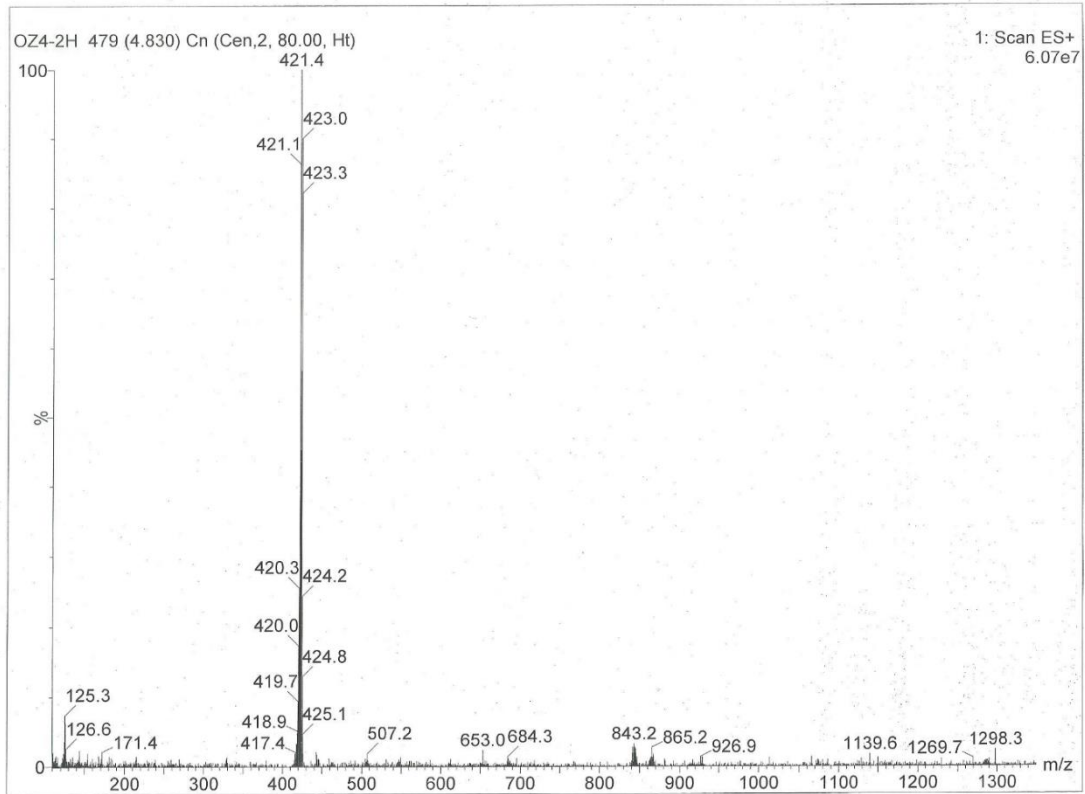
¹H-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO) δ ppm: 2.44 (s, 3H, -CH₃), 6.78 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-3', 5'), 7.31 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-2'', 6''), 7.53 (d, 2H, J_o=8 Hz, H-3'', 5''), 7.89 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-7), 8.07 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-6), 8.32 (d, 2H, J_o=8 Hz, H-2', 6'), 8.34 (s, 1H, H-4) 10.73 (s, 1H, amid N-H)

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 21.24, 109.46, 113.53, 113.95, 114.34, 121.01, 124.61, 128.13, 129.76, 130.13, 131.39, 132.67, 134.94, 143.89, 148.82, 150.95, 169.69.

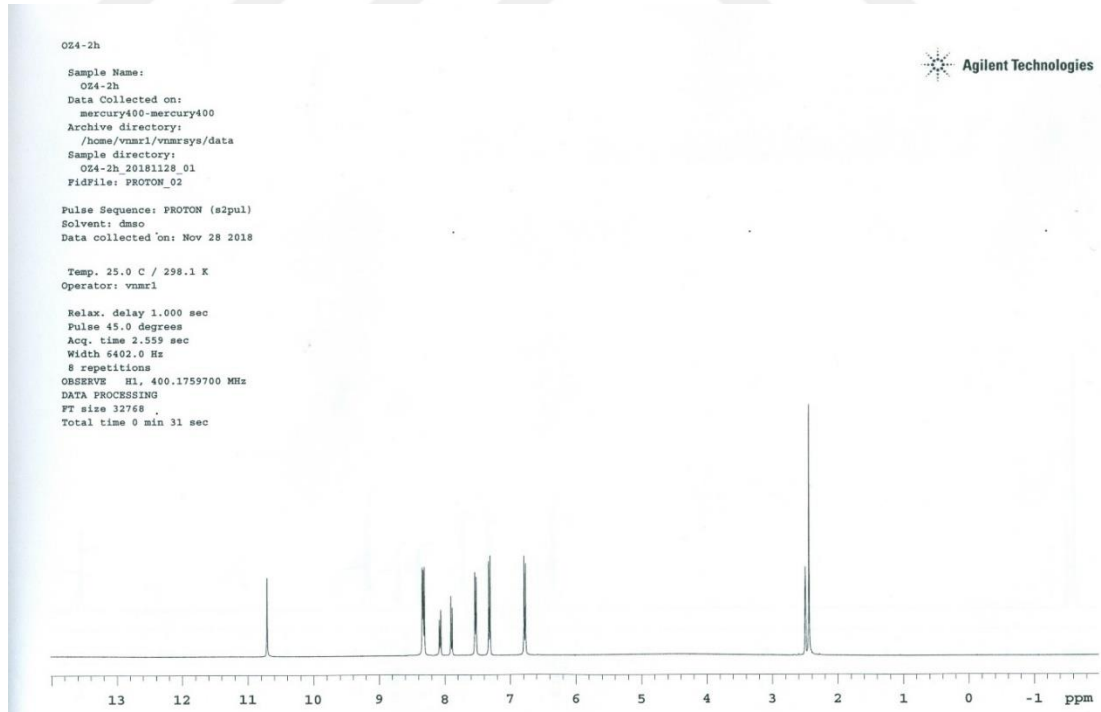
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X): 421.4 (M⁺+H) (%100), 423.3 (M⁺+H+2) (%85)

Elemental Analiz= C₂₁H₁₇BrN₄O. 1,5H₂O. 0,5HCl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	54.19	4.40	12.04
Bulunan :	54.21	4.01	12.31



Şekil 3.71. 2f Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.72. 2f Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

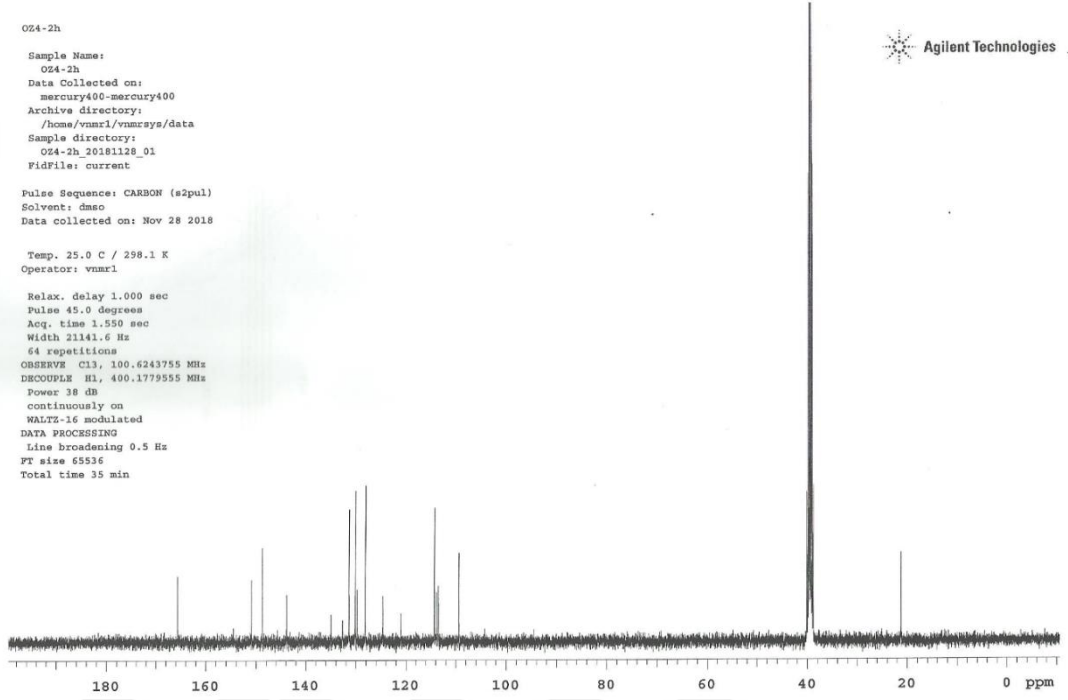
024-2h

Sample Name:
024-2h
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmr400/data
Sample directory:
024-2h_20181128_01
FidFile: current

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Nov 28 2018

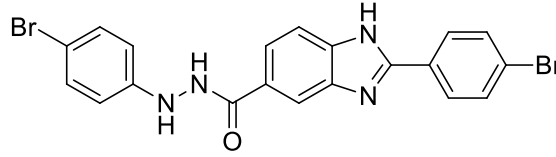
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.550 sec
Width 21141.6 Hz
64 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243755 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 35 min



Şekil 3.73. 2f Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.24. N,2-bis(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5- karbohidrazid (2g)



Reaksiyonların ilk basamağında 2,90 gram hidroksi(4-bromofenil)metansulfonik asit sodyum tuzu ile 1,52 gram 3,4-diaminobenzoik asit kullanıldı. Bu reaksiyon sonucunda 2,14 gram 2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit %68 verimle elde edildi. Sentez işleminin ikinci basamağında 0,317 gram 2-(4-bromofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asitin 8 ml SOCl₂ ile reaksiyonundan elde edilen 2-(4-metilfenil)-1H-benzimidazol-5-karbonil klorür ve 0,223 g p-bromofenilhidrazin hidroklorid ve elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. % 26,54 verimle 0,128 g saf bileşik elde edildi.

Erime Noktası: 303-307°C

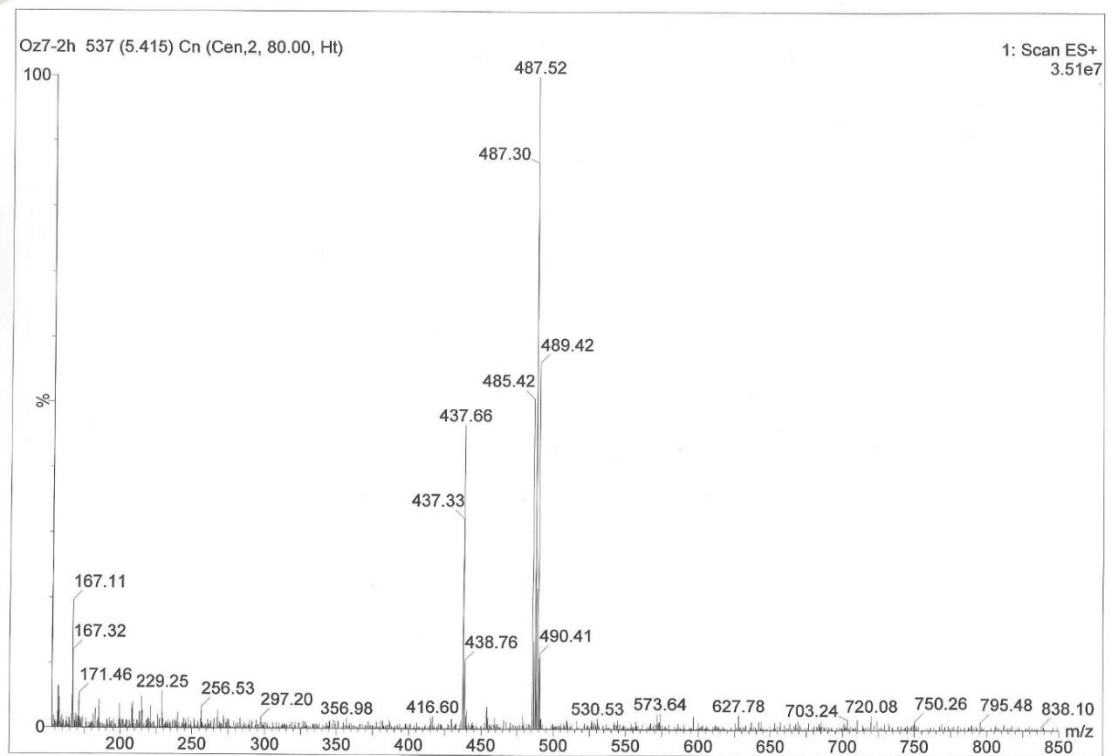
¹H-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO) δ ppm: 6.78 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-2'', 6''), 7.32 (d, 2H, J_o=8.4 Hz, H-3'', 5''), 7.89 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-7), 7.95 (d, 2H, J_o=8.8 Hz, H-3', 5'), 8.05 (d, 1H, J_o=8.4 Hz, H-6), 8.33-8.35 (m, 3H, H-4, 2', 6'), 10,68 (s, 1H, amid N-H).

¹³C-NMR ppm (CD₃OD-d₄): 109.27, 109.52, 114.29, 121.98, 123.78, 126.93, 128.58, 128.89, 131.33, 132.07, 133.96, 149.10, 152.18, 166.66.

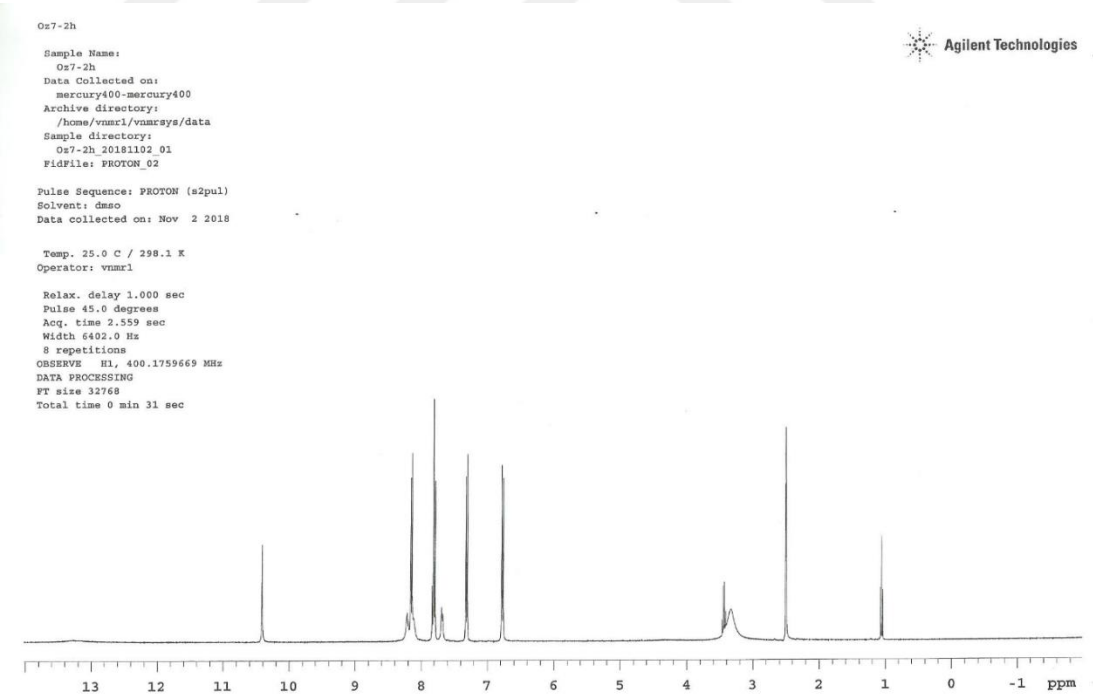
Kütle Spektrumu (ES+) m/z (%X): 485.4 (M⁺+H) (%50), 487.5 (M⁺+H+2) (%100), 489.4 (M⁺+H+4) (%55)

Elemental Analiz= C₂₀H₁₄Br₂N₄O .1,5H₂O. 0,5HCl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan :	45.36	3.30	10.58
Bulunan :	45.55	3.12	10.87



Şekil 3.74. 2g Bileşiğinin Kütle Spektrumu.



Şekil 3.75. 2g Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu.

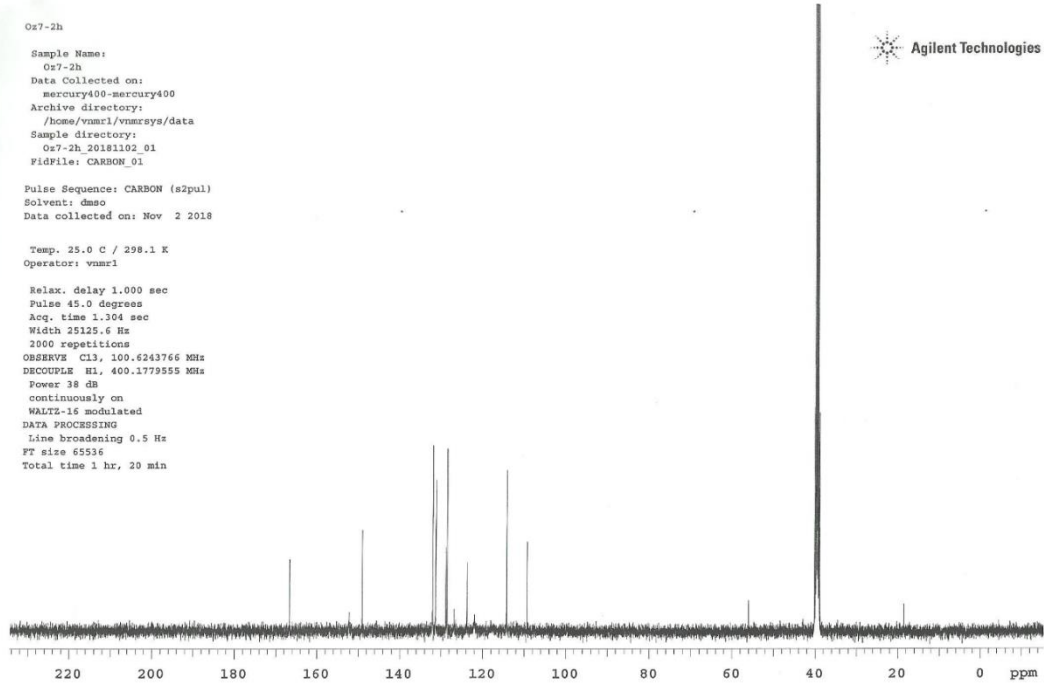
Os7-2h

Sample Name:
Os7-2h
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
Os7-2h_20181102_01
FidFile: CARBON_01

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsd
Data collected on: Nov 2 2018

Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
2000 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243766 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 1 hr, 20 min

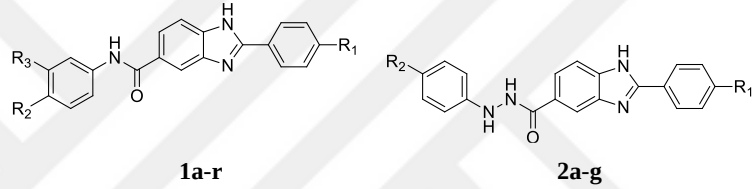


Şekil 3.76. 2g Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.2.Elde Edilen Bileşiklerin Gözlenen Sitotoksik Etkileri

Doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşiklerin ve standart olarak kullanılan etopozidin, A549 (akciğer), MCF-7 (meme), PC-3 (prostat), HCT-116 (kolon), HT-29 (kolon), HeLa (serviks), K562 (kronik miyeloid lösemi), Raji (akut lenfoblastik lösemi) kanser hücre hatları üzerindeki MTT yöntemi kullanılarak test edilen antikanserojenik etkileri % hücre sağkalım değerleri şeklinde Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Sentezlenen bileşiklerin ve kullanılan standartın gözlenen *in vitro* sitotoksik değerleri (%büyüme inhibisyonu).



	Bileşikler			Hücre Hatları								
	R ₁	R ₂	R ₃	A549	MCF-7	PC-3	HT-29	HCT-116	HeLa	K562	Raji	NIH-3T3
1a	-H	-Cl	-H	65,61	101,20	*	75,33	64,47	73,29	87,22	111,63	*
1b	-H	- OCH ₃	-H	61,56	90,17	*	36,27	57,91	73,37	85,19	108,98	*
1c	-OH	-Cl	-H	169,10	96,40	104,60	76,18	*	114,33	79,86	92,63	84,37
1d	-OH	- OCH ₃	-H	109,67	92,73	141,30	77,76	*	119,14	100,51	102,18	136,26
1e	-OH	-H	-CF ₃	78,73	89,48	*	93,83	93,72	139,97	101,22	106,68	*
1f	- OCH ₃	- OCH ₃	-H	98,74	95,39	115,50	72,27	*	131,82	94,72	99,83	105,47
1g	- OCH ₃	-Cl	-H	69,10	63,21	55,86	57,90	*	77,46	73,19	74,69	93,03
1h	- OCH ₃	-OH	-H	119,65	90,50	139,21	84,8	*	119,54	80,97	107,81	109,63
1i	- OCH ₃	-Br	-H	81,21	75,16	85,02	64,20	*	82,56	75,74	77,90	92,12
1j	- OCH ₃	-H	- OCH ₃	62,26	59,96	*	70,02	57,81	66,64	63,17	72,89	*
1k	-CH ₃	-Cl	-H	50,19	90,58	*	62,86	50,67	83,57	76,02	97,28	*
1l	-CH ₃	-OH	-H	67,21	80,64	*	66,77	61,58	108,58	87,87	110,87	*

1m	-CH ₃	- OCH ₃	-H	91,43	94,17	111,8 1	66,94	*	97,23	82,96	81,38	101,6 2
1n	-CH ₃	-H	- OCH ₃	83,91	95,34	*	76,12	64,28	81,30	99,49	128,78	*
1o	-Br	- OCH ₃	-H	82,39	71,56	55,48	71,71	80,52	80,52	76,06	84,04	84,96
1p	-Br	-H	-NO ₂	44,42	73,58	59,17	42,31	81,71	81,71	53,75	70,77	75,58
1r	-Br	-Cl	-H	79,80	75,02	57,61	69,43	71,80	71,80	72,78	69,07	78,05
2a	-OH	-NO ₂	-H	135,22	108,71	146,6 1	83,60	132,2 8	132,2 8	89,91	108,02	89,51
2b	- OCH ₃	-NO ₂	-H	137,97	120,45	135,8 5	96,34	145,9 2	145,9 2	73,66	79,33	90,40
2c	- OCH ₃	-Br	-H	79,12	123,77	*	77,32	73,84	72,25	85,77	134,00	*
2d	- OCH ₃	-Cl	-H	91,90	102,45	122,1 9	79,43	96,72	96,72	69,31	69,65	99,34
2e	-CH ₃	-Cl	-H	83,25	107,99	114,3 7	77,76	82,96	82,96	70,79	52,76	98,89
2f	-CH ₃	-Br	-H	64,83	112,06	*	68,63	67,08	77,72	98,91	131,21	*
2g	-Br	-Br	-H	72,85	70,64	*	50,59	60,81	85,68	68,01	123,27	*
Etopozid				95,01	100,40	*	93,97	96,36	99,73	97,97	104,73	*

*Test edilmemiştir.

3.3. Elde Edilen Bileşiklerin Topoizomeraz II Enzimi Üzerine Moleküler Etkileşme Dinamiklerinin İncelenmesi

3.3.1. Moleküler Doking Çalışmaları

Sentezlenen bileşiklerin (1a-r, 2a-g) Topoizomeraz II α (pdb:5GWK) ve Topoizomeraz II β (pdb:3QX3) ile Discovery Studio 2017R2 programı kullanılarak yapılan doking çalışması sonuçları Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3’da verilmiştir.

Çizelge 3.2. Topoizomeraz IIa üzerinde yapılan doking çalışması sonucu bileşiklerin bulunan doking skorları, H bağları ve pi etkileşimleri.

Bileşik	Gold Skoru	H bağları (Enzim)	H bağları (DNA)	Pi-etkileşimleri
Etopozid	98.2	Arg487, Gly488	DC8, DG13	Met766 ^b , Arg487 ^e , Met762 ^e , DC8 ^e , DT9 ^e , DG13 ^{e,g} ,
1c	85.4	Arg487, Ser763	DC8	Arg487 ^c , Met762 ^{d,g} , Ala505 ^d , DC8 ^a , DT9 ^a , DA12 ^a , DG13 ^a
1d	83.8	Arg487	DC8, DA12	Arg487 ^d , Met762 ^{b,d} , DC8 ^a , DT9 ^a , DG13 ^a
1f	86.5	Arg487	-	Met762 ^b , DC8 ^a , DT9 ^f , DG13 ^a
1g	87.0	Arg487, Met762	DC8	Lys614 ^c , Met762 ^c , DC8 ^a , DG13 ^a
1h	86.2	Asp463, Arg487, Ser763	DT9	Arg487 ^d , Met762 ^c , DG7 ^a , DA12 ^a , DG13 ⁱ
1i	83.5	Met762	-	Arg487 ^e , Met762 ^e , DC8 ^a , DT9 ^a , DA12 ^a , DG13 ^a
1k	82.8	Arg487	DT9	Arg487 ^{c,d} , Ala505 ^c , Met762 ^c , DC8 ^a , DT9 ^a , DA12 ^a , DG13 ^a
1l	85.3	Arg487, Met762	DT9	Ala505 ^e , DC8 ^a , DT9 ^a , DA12 ^a , DG13 ^{a,i}
1m	86.1	Glu506	-	Arg487 ^d , Ala505 ^e , Met762 ^e , DG13 ^{a,i}
1o	83.8	-	-	Arg487 ^d , Ala505 ^e , DC8 ^a , DG13 ^{a,i}
1p	86.9	Arg487, Met762, Ser763	DC8, DT9	Arg487 ^d , Ala505 ^c , DC8 ^a , DT9 ^a , DA12 ^a , DG13 ^a
1r	82.8	Arg487	DT9	Arg487 ^c , Ala505 ^c , Met762 ^c , DC8 ^a , DT9 ^a , DA12 ^a , DG13 ^a
2a	91.5	Gly760, Met762, Ser763	DG13	Arg487 ^c , Met762 ^b , DC8 ^{a,h} , DA12 ^a , DG13 ^a
2b	96.6	Met762	DT9	Arg487 ^d , Met762 ^b , Asp541 ^h , Asp543 ^h , Glu461 ^h , DC8 ^a , DA12 ^a , DG13 ^a , DC8 ⁱ
2d	90.2	Arg487, Ser763	-	Met762 ^c , DG10 ^c
2e	87.0	-	DT9	Arg487 ^d , Lys614 ^e , Met762 ^b , DC8 ^a , DA12 ^a , DG13 ^a
2f	84.0	Arg487, Met762	DG13	Arg487 ^d , Met762 ^g , DC8 ^a , DA12 ^a , DG13 ⁱ
2g	86.7	Arg487, Met762	DG13	Arg487 ^d , Met762 ^g , DC8 ^a , DG13 ^{a,i}

Pi etkileşimleri; a: Pi-Pi, b: Pi-Sülfür, c: Pi-kasyon, d: Pi-anyon, e: Pi-Alkil, f: Pi-elektron çifti, g: Pi-n, h: Pi-amid, i: Pi-sigma

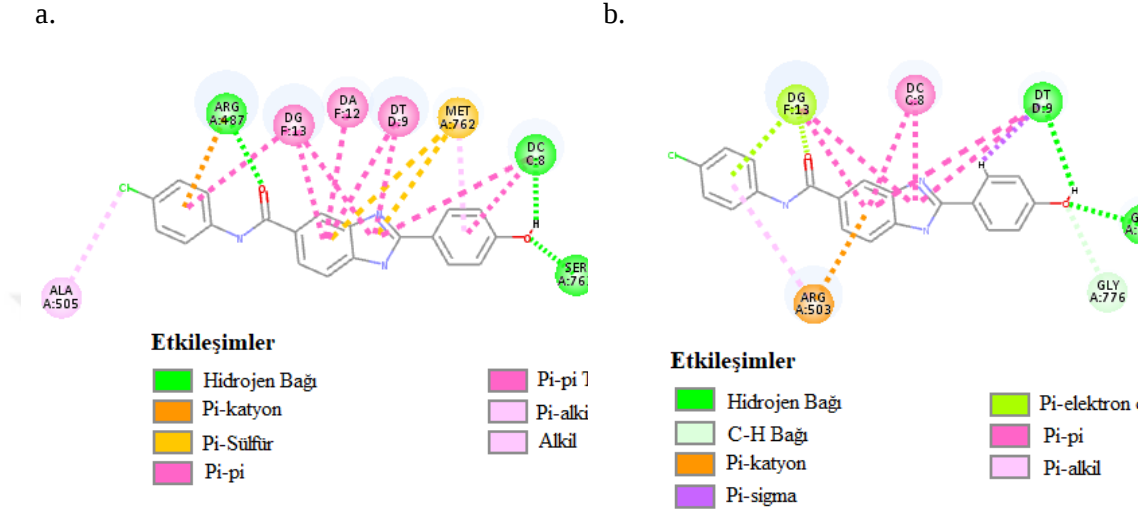
Çizelge 3.3. Topoizomeraz IIβ üzerinde yapılan doking çalışması sonucu bileşiklerin bulunan doking skorları, H bağları ve pi etkileşimleri.

Bileşik	Gold Skoru	H bağları (Enzim)	H bağları (DNA)	Pi-etkileşimleri
Etopozid	97.4	Asp479, Gln778	DC8, DT9, DG13	Arg503 ^e , DG13a
1c	80.4	Gln778	DT9	Arg503 ^{d,e} , DC8 ^{a,i} , DT9 ^a , DG13 ^a
1d	83.9	-	DC8	Arg503 ^d , Ala521 ^e , DC8 ^a , DG13 ^{a,i}
1f	80.7	Arg503	-	DC8 ^a , DT9 ^a , DA12 ^{a,i} , DG13 ^a
1g	80.9	Arg503	DC8	Arg503 ^{c,d} , Ala481 ^c , DC8 ^a , DG13 ^a
1h	83.2	Arg503, Gln778	DC8	Arg503 ^c , DC8 ^a , DT9 ^a , DG13 ^{a,i}
1i	81.4	Arg503	DT9	DT9 ^a , DG13 ^a
1k	81.3	Arg503	DC8, DT9	DC8 ^a , DT9 ^a , DA12 ^a , DG13 ^{a,i}
1l	82.3	Gln778	DT9	Arg503 ^{d,e} , Ala521 ^e , DT9 ^a , DG13 ^a
1m	84.6	-	DC8, DG13	Arg503 ^{d,e} , Ala521 ^e , DC8 ^a , DG13 ^{a,i}
1o	83.3	-		Arg503 ^d , His775 ^f , DC8 ^a , DA12 ^a , DG13 ^a
1p	82.5	-	DC8, DG13	Arg503 ^d , Glu477h, DG13 ^a
1r	81.9	-	DT9	Arg503 ^d , DC8 ^a , DA12 ^a , DG13 ^a
2a	83.7	Gln778	DC8	Arg503 ^{c,g} , Glu477h, DC8 ^a , DG13 ^{a,i}
2b	86.7	Arg503, Gln778	DC8	Arg503 ^c , Glu477h, DC8 ^a , DT9 ^a , DA12 ^a , DG13 ^a
2d	83.6	Arg503	DT9	Arg503 ^c , His775 ^c , DC8 ^{a,c} , DG13 ^a
2e	88.5	Gln778	DC8, DT9	Arg503 ^d , DC8 ^a , DT9 ^a , DG13 ^a
2f	90.1	Gln778	DC8, DT9	Arg503 ^d Ala521 ^e DC8 ^a , DT9 ^a , DA12 ^a , DG13 ^{a,i}
2g	86.2	Arg503	DC8, DA12	DC8 ^a , DT9 ^g , DG13 ^a

Pi etkileşimleri; a: Pi-Pi, b: Pi-S, c: Pi-katyon, d: Pi-anyon, e: Pi-Alkil, f: Pi-H bağı donörü, g: Pi-n, h: Pi-amid, i: Pi-sigma

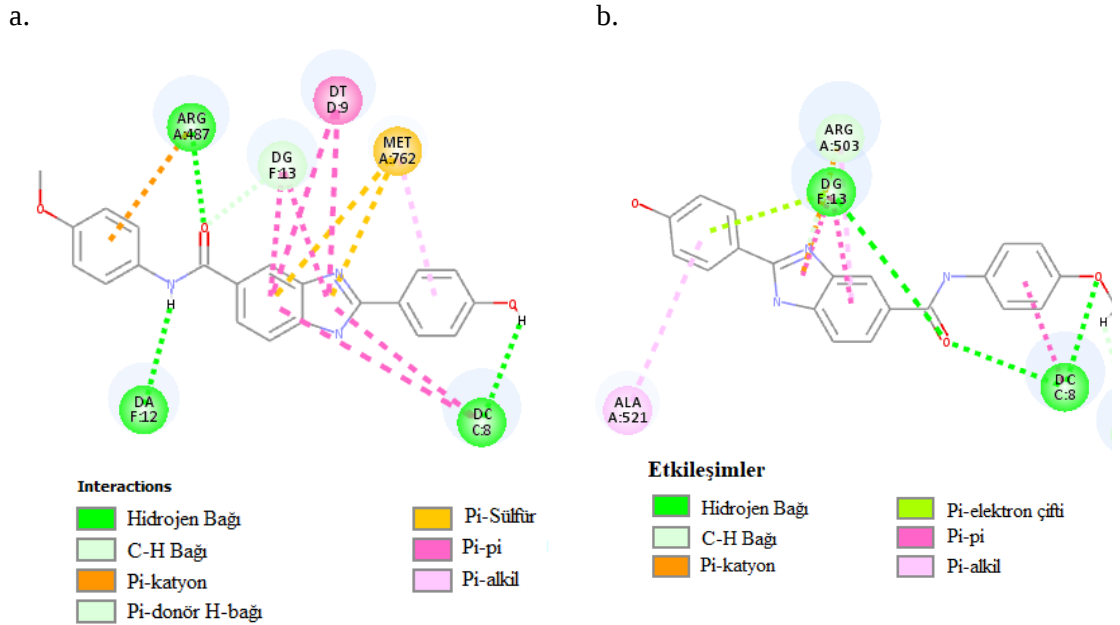
3.3.1.1. Sentezlenen bileşiklerin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri

1c bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri



Şekil 3.77. a. 1c Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 1c Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

1d bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri

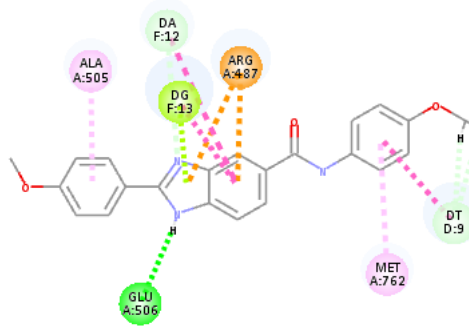


Şekil 3.78. a. 1d Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 1d Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

1f bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri

a.

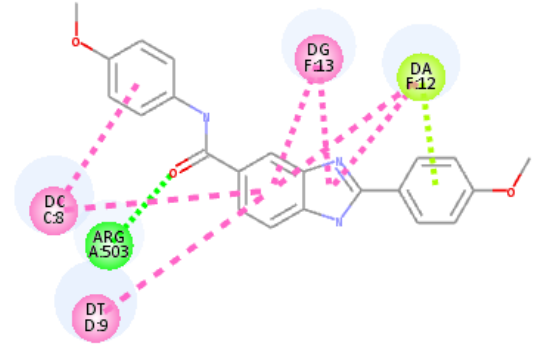
b.



Etkileşimler

- Hidrojen Bağı
- C-H Bağı
- Pi-kasyon
- Pi-elektron çifti

- Pi-pi T şekilli
- Pi-pi
- Pi-alkil



Etkileşimler

- Hidrojen Bağı

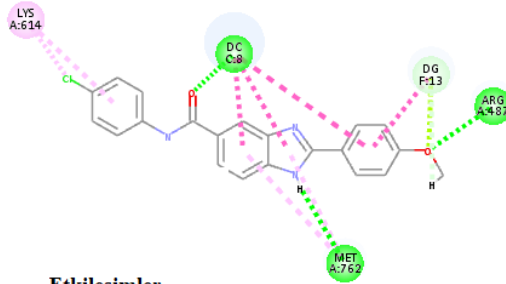
- Pi-elektron çifti
- Pi-pi

Şekil 3.79. a. 1f Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 1f Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

1g bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri

a.

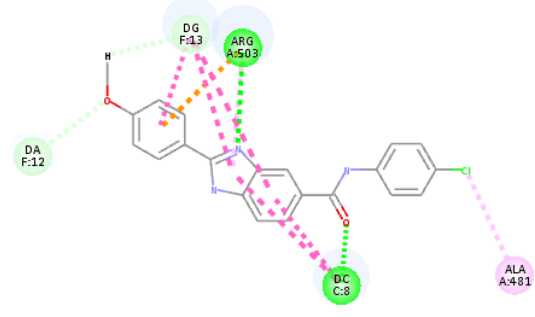
b.



Etkileşimler

- Hidrojen Bağı
- C-H Bağı
- Pi-elektron çifti

- Pi-pi
- Pi-alkil
- Alkil

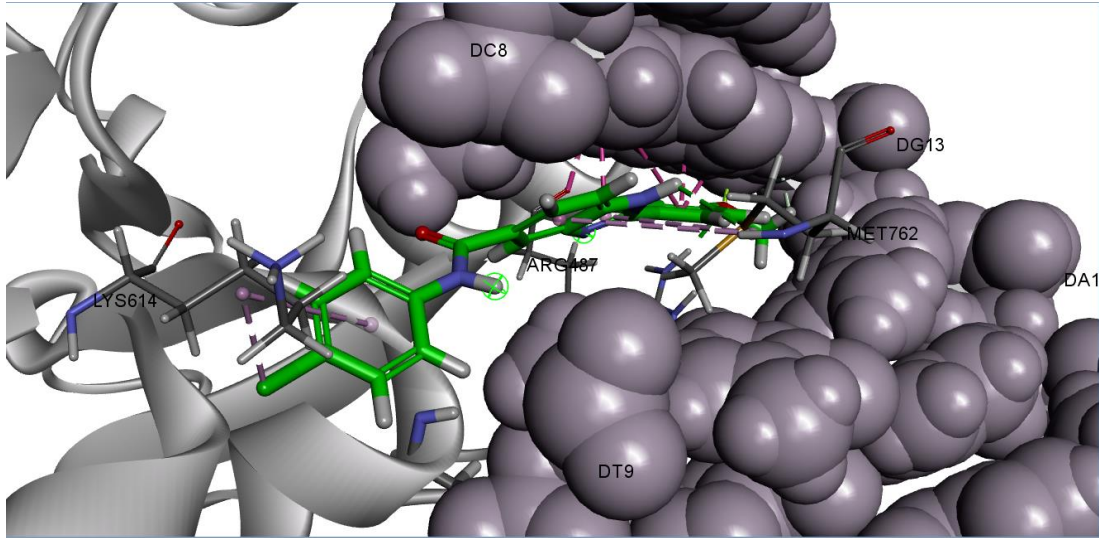


Etkileşimler

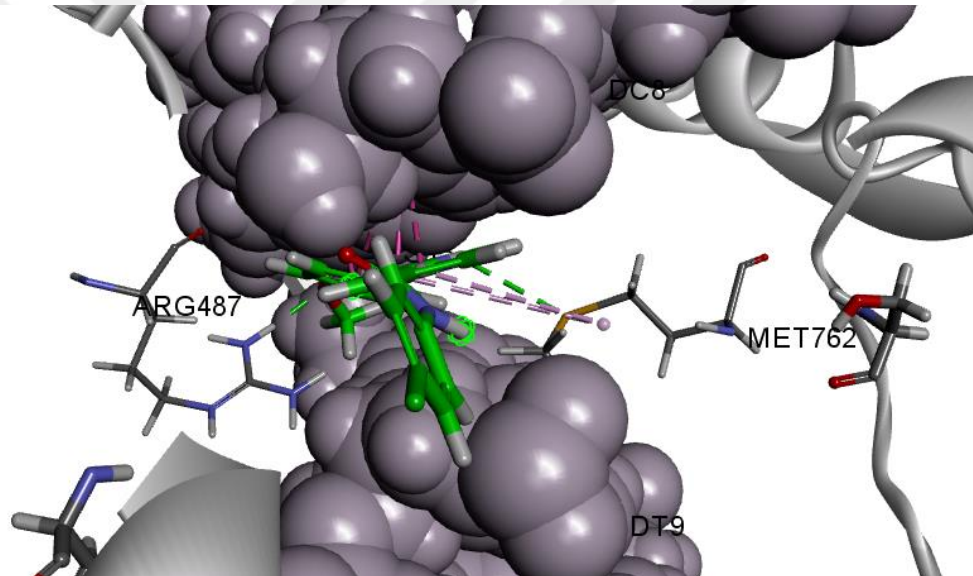
- Hidrojen Bağı
- C-H Bağı
- Pi-kasyon

- Pi-pi
- Pi-alkil
- Alkil

Şekil 3.80. a. 1g Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 1g Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.



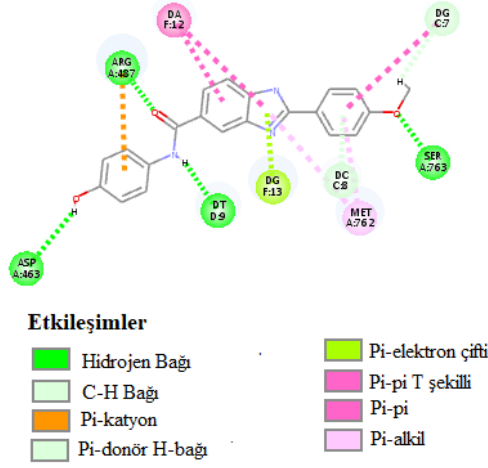
Şekil 3.81. 1g nolu bileşiğin topo II α enzim-DNA kırığı içindeki görüntüsü (Nükleotitler ile pi etkileşimleri pembe renk ile gösterilmiştir.).



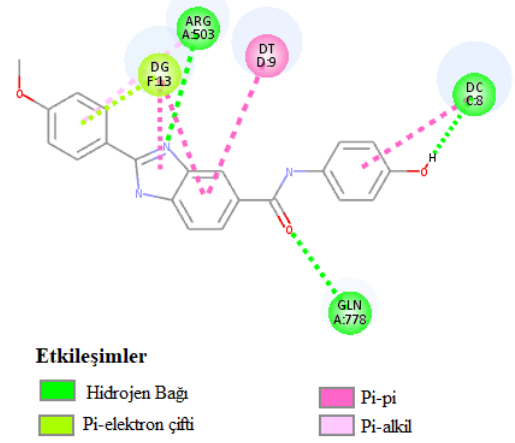
Şekil 3.82. 1g nolu bileşiğin topo IIα-DNA kırığı içindeki görüntüsü (Arg487 ve Met762 ile hidrojen bağları yeşil renk ile gösterilmiştir.).

1h bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri

a.



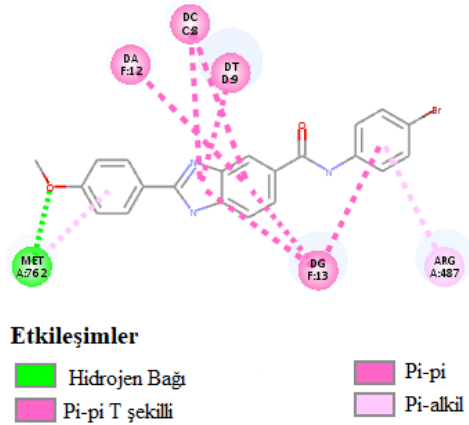
b.



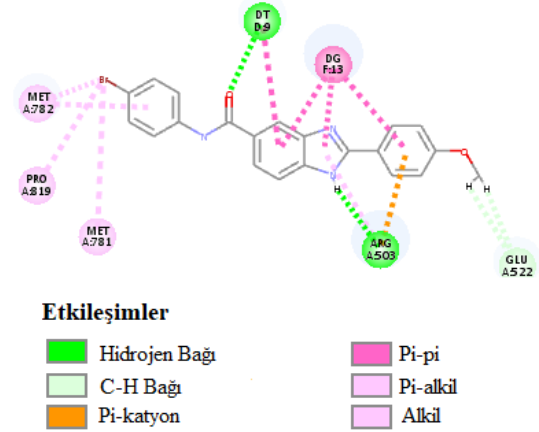
Şekil 3.83. a. 1h Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 1h Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

1i bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri

a.



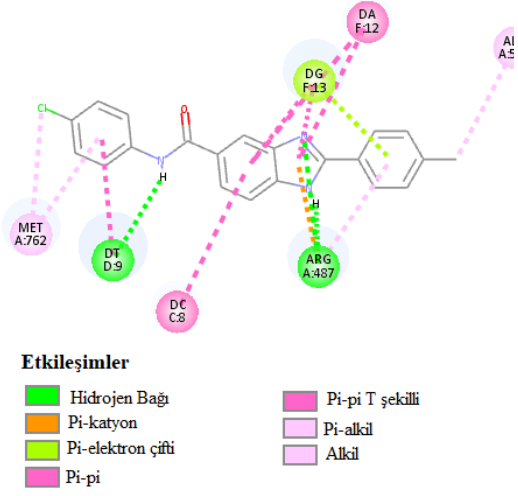
b.



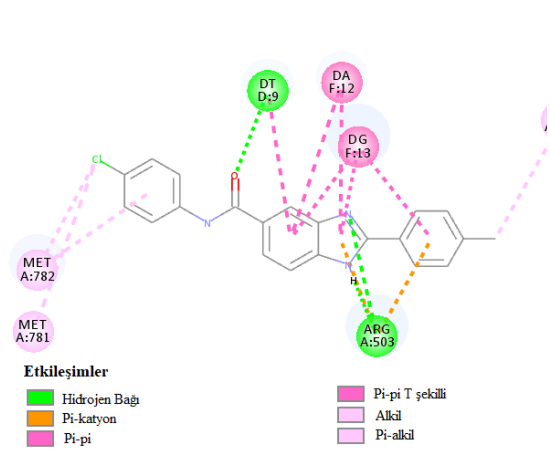
Şekil 3.84. a. 1i Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 1i Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

1k bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri

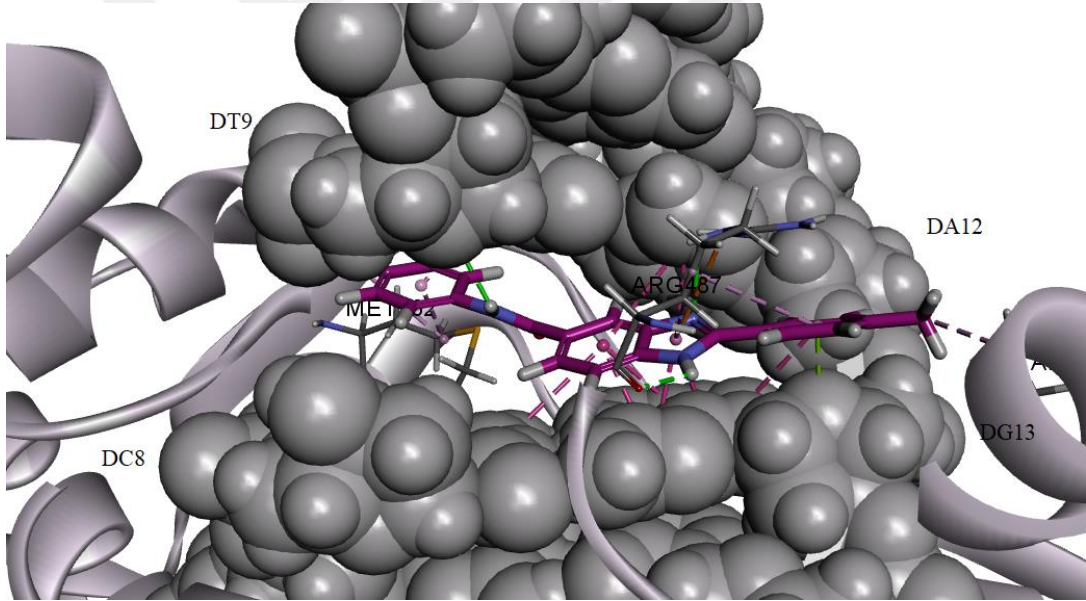
a.



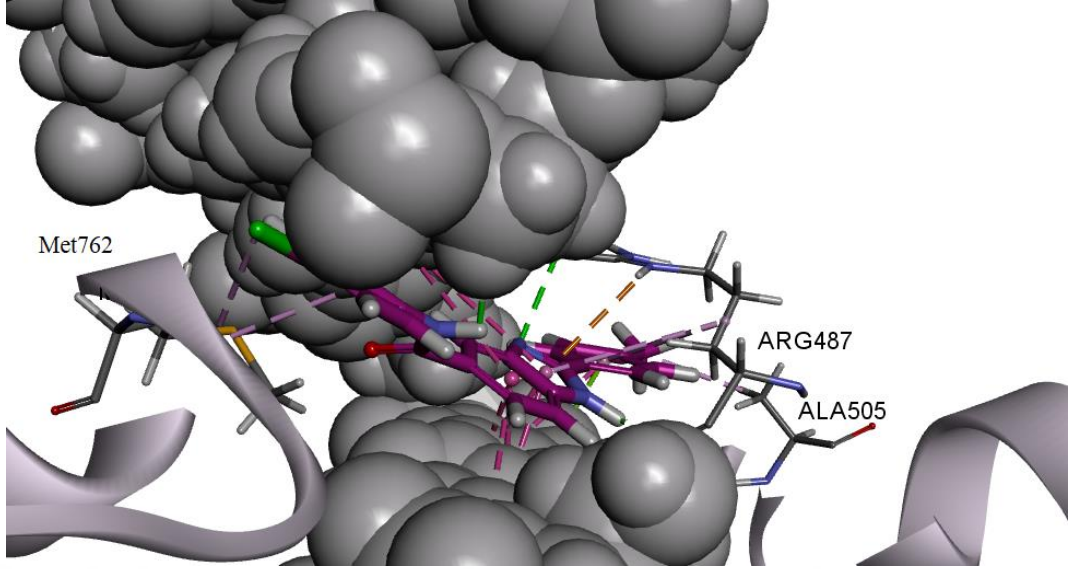
b.



Şekil 3.85. a. 1k Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 1k Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

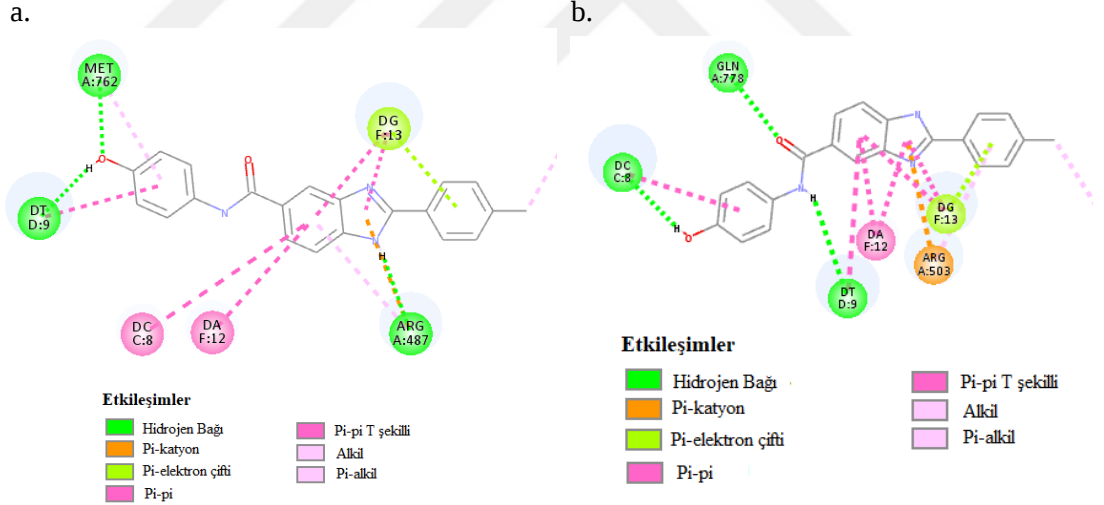


Şekil 3.86. 1k nolu bileşiğin topo IIα-DNA kırığı içindeki görüntüsü (Nükleotitler ile pi etkileşimleri pembe renk ile gösterilmiştir.).



Şekil 3.87. 1r nolu bileşiğin topo II α -DNA kırığı içindeki görüntüsü (Arg487 ile hidrojen bağı yeşil renk ile, pi-kasyon bağı turuncu renk ile gösterilmiştir.).

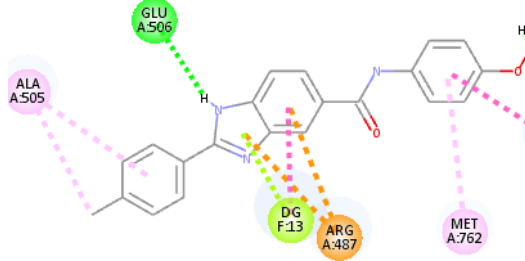
1l bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri



Şekil 3.88 a. 1l Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 1l Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

1m bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri

a.

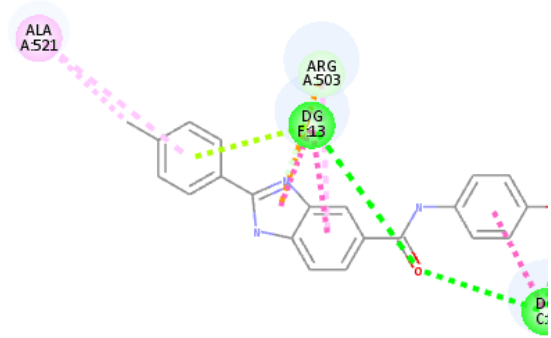


Etkileşimler

- Hidrojen Bağı
- C-H Bağı
- Pi-kasyon
- Pi-elektron çifti

- Pi-pi
- Pi-alkil
- Alkil

b.



Etkileşimler

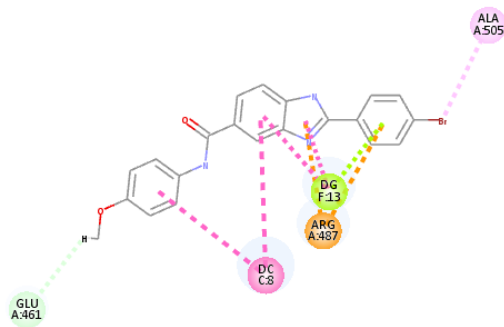
- Hidrojen Bağı
- C-H Bağı
- Pi-kasyon
- Pi-elektron çifti

- Pi-pi
- Pi-alkil
- Alkil

Şekil 3.89. a. 1m Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 1m Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

1o bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri

a.

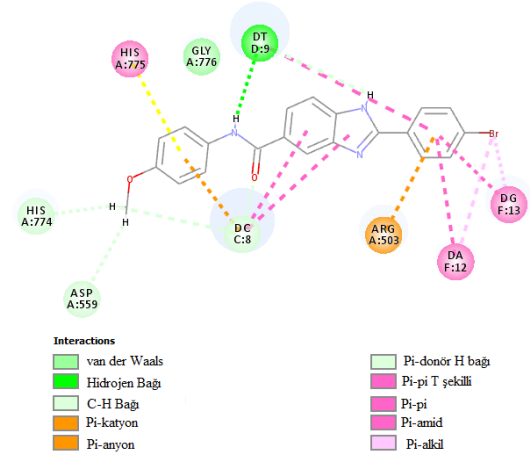


Etkileşimler

- C-H Bağı
- Pi-kasyon
- Pi-elektron çifti

- Pi-pi
- Pi-alkil
- Alkil

b.



Interactions

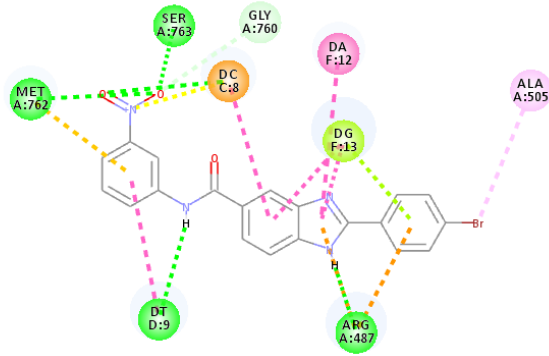
- van der Waals
- Hidrojen Bağı
- C-H Bağı
- Pi-kasyon
- Pi-anyon

- Pi-donor H bağı
- Pi-pi T şekilli
- Pi-pi
- Pi-amid
- Pi-alkil

Şekil 3.90. a. 1o Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 1o Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

1p bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri

a.

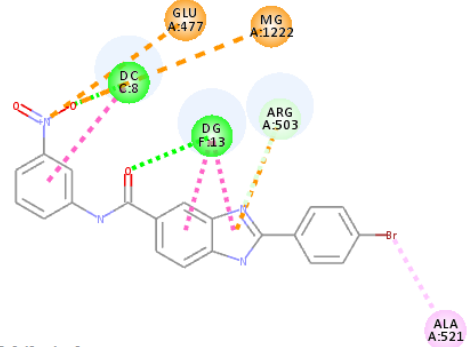


Etkileşimler

- Çekici yük
- Hidrojen Bağı
- C-H Bağı
- Pi-kasyon
- Pi-Sülfür

- Pi-elektron çifti
- Pi-pi T şekilli
- Pi-pi
- Alkil
- Pi-alkil

b.

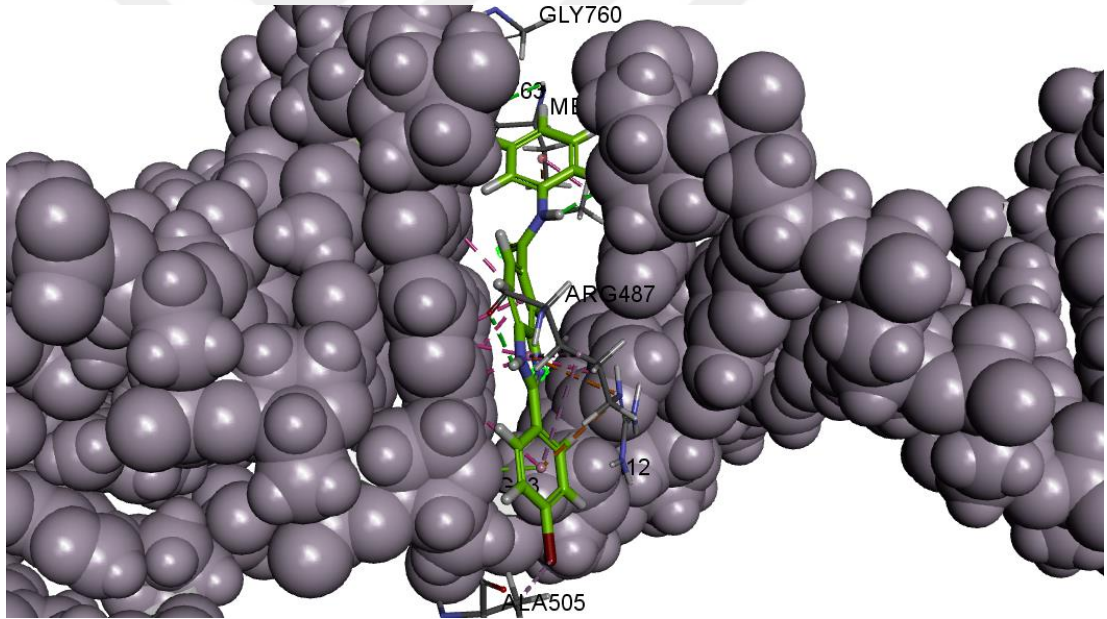


Etkileşimler

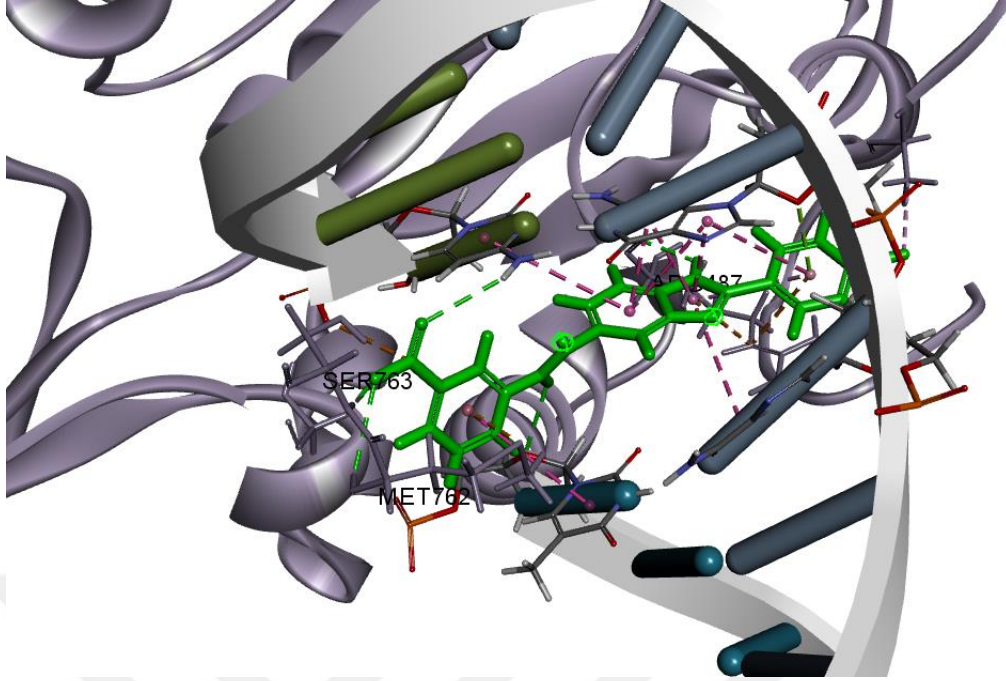
- Çekici yük
- Hidrojen Bağı
- C-H Bağı
- Pi-kasyon

- Pi-pi
- Pi-alkil
- Alkil

Şekil 3.91. a. 1p Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 1p Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

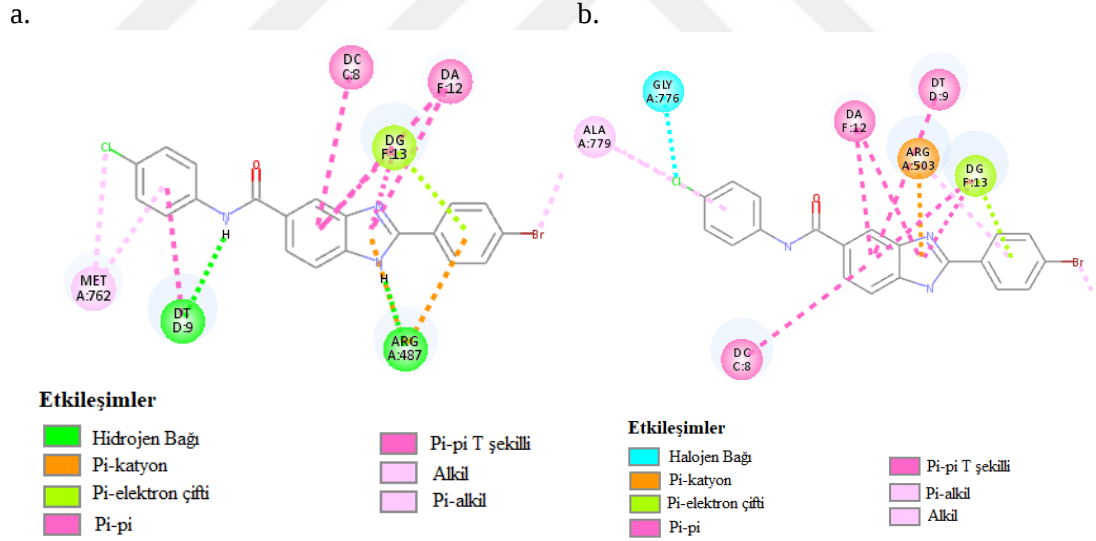


Şekil 3.92. 1p nolu bileşiğin topo IIα-DNA kırığı içindeki görüntüsü (Nükleotitler ile pi etkileşimleri pembe renk ile gösterilmiştir.).

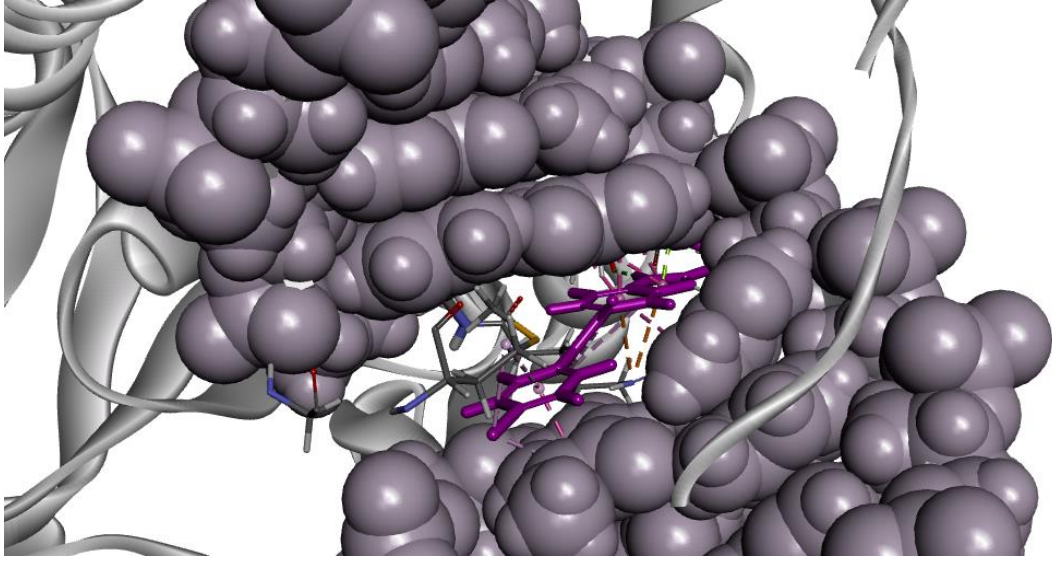


Şekil 3.93. 1p nolu bileşiğin topo IIα-DNA kırığı içindeki görüntüsü (Arg487, Met762 ve Ser763 ile hidrojen bağları yeşil renk ile gösterilmiştir.).

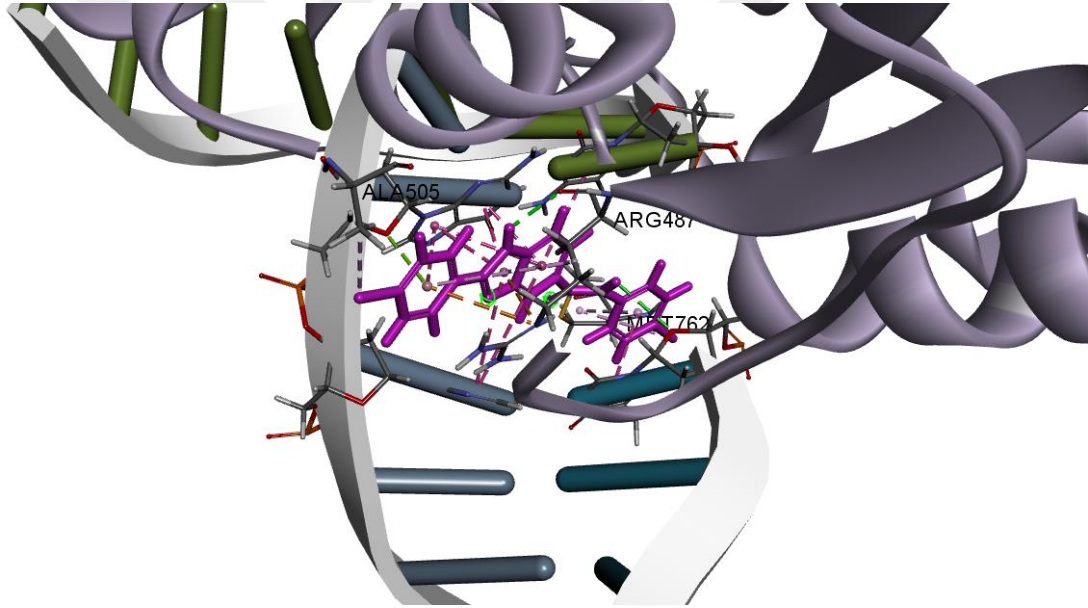
1r bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimleri



Şekil 3.94. a. 1r Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 1r Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.



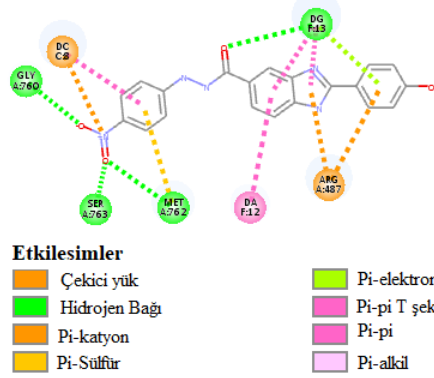
Şekil 3.95. 1r nolu bileşiğin topo II α -DNA kırığı içindeki görüntüsü (Nükleotitler ile pi etkileşimleri pembe renk ile gösterilmiştir.).



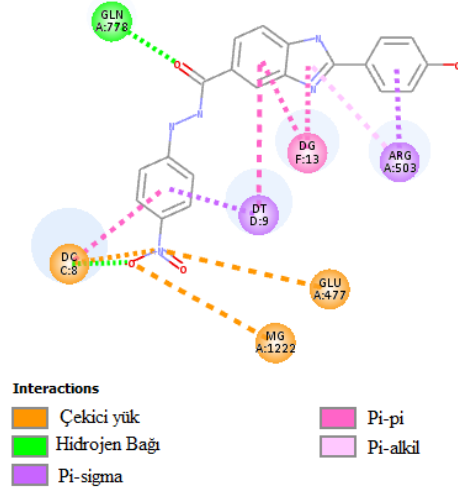
Şekil 3.96. 1r nolu bileşiğin topo II α -DNA kırığı içindeki görüntüsü (Arg487 ile hidrojen bağı yeşil renk ile gösterilmiştir.).

2a bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimler

a.



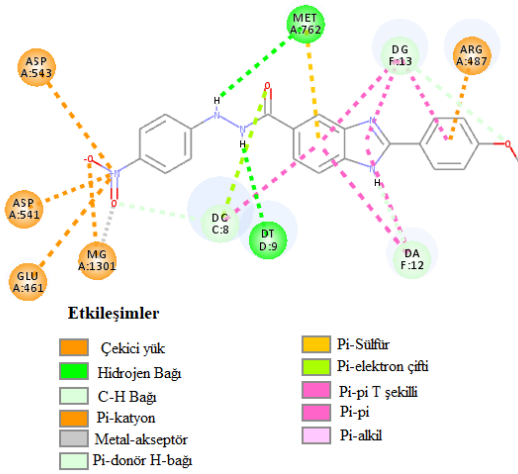
b.



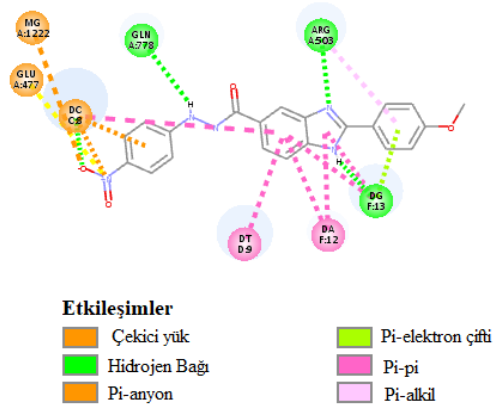
Şekil 3.97. a. 2a Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 2a Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

2b bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimler

a.



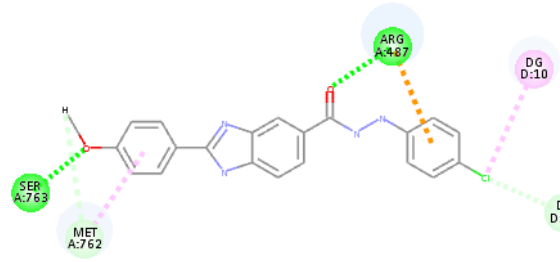
b.



Şekil 3.98. a. 2b Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 2b Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

2d bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimler

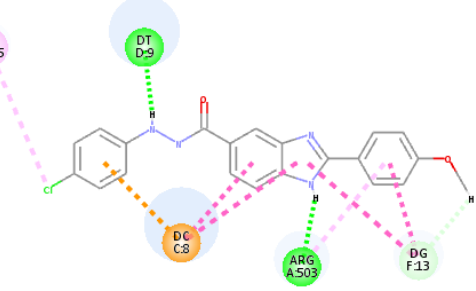
a.



Etkileşimler

- Hidrojen Bağı
- Pi-kasyon
- C-H Bağı
- Pi-alkil

b.



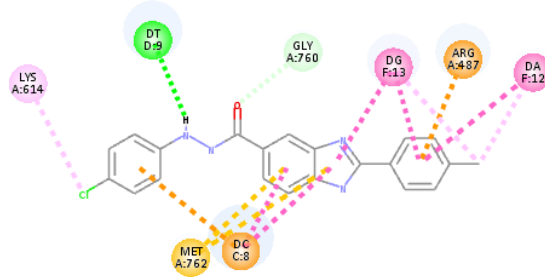
Etkileşimler

- Hidrojen Bağı
- C-H Bağı
- Pi-pi
- Pi-alkil
- Pi-kasyon

Şekil 3.99. a. 2d Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 2d Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri.

2e bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimler

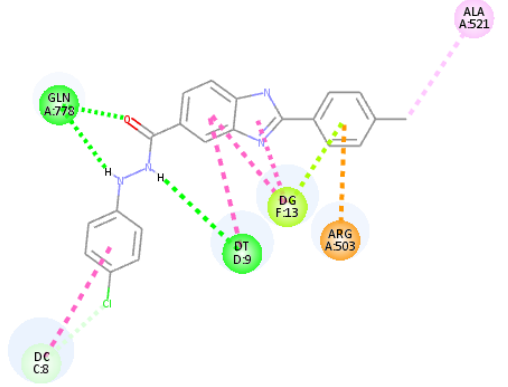
a.



Etkileşimler

- Hidrojen Bağı
- C-H Bağı
- Pi-pi T şekilli
- Pi-kasyon
- Pi-alkil
- Pi-anyon
- Alkil
- Pi-Sülfür

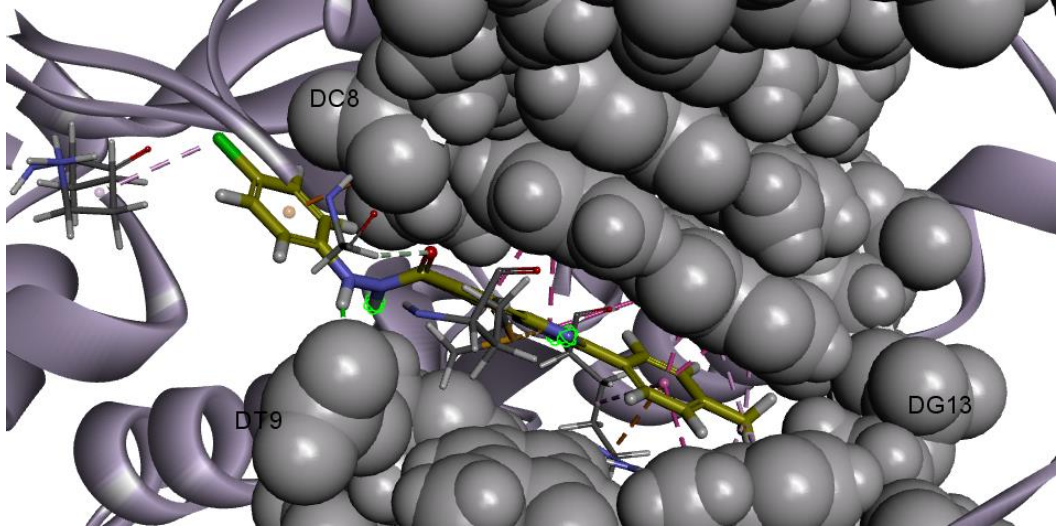
b.



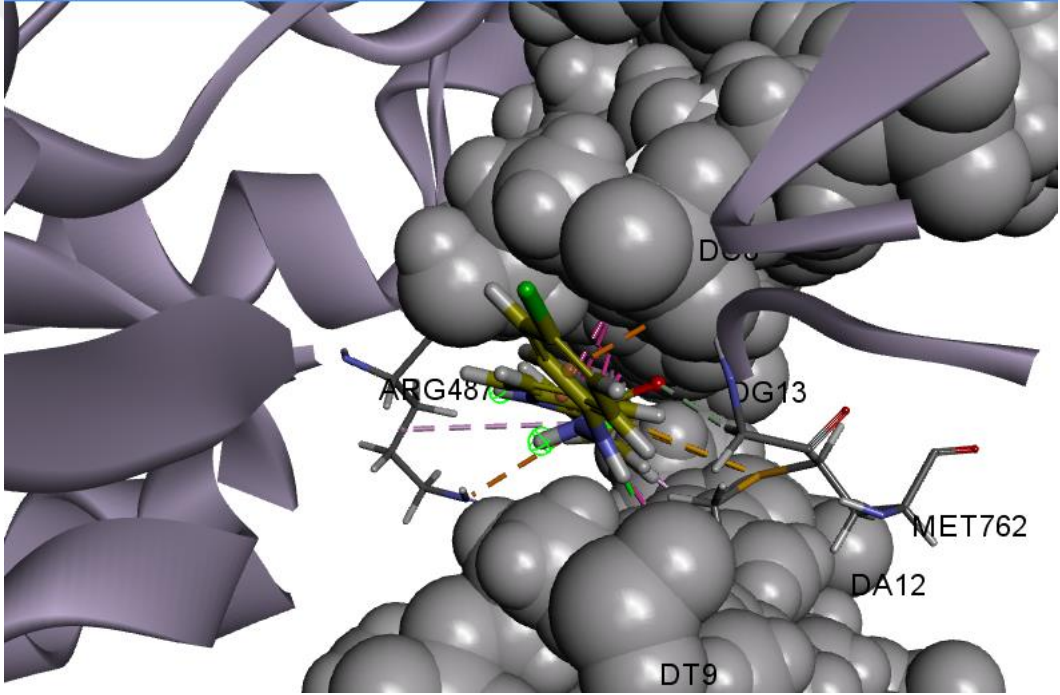
Etkileşimler

- Hidrojen Bağı
- C-H Bağı
- Pi-pi
- Halojen Bağı
- Pi-kasyon
- Pi-elektron çifti
- Pi-alkil
- Alkil

Şekil 3.100. a. 2e Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 2e Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri



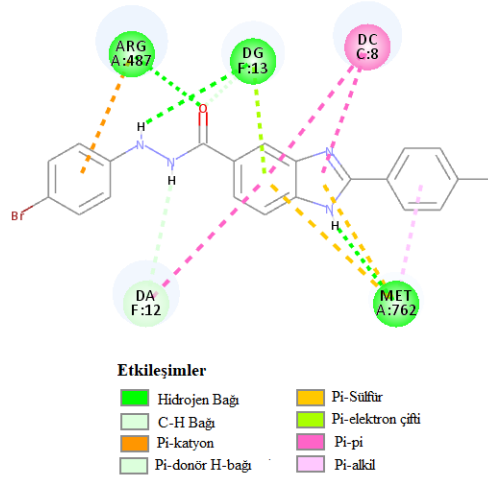
Şekil 3.101. 2e nolu bileşiğin topo II α -DNA kırığı içindeki görüntüsü (Nükleotitler ile pi etkileşimleri pembe renk ile gösterilmiştir.).



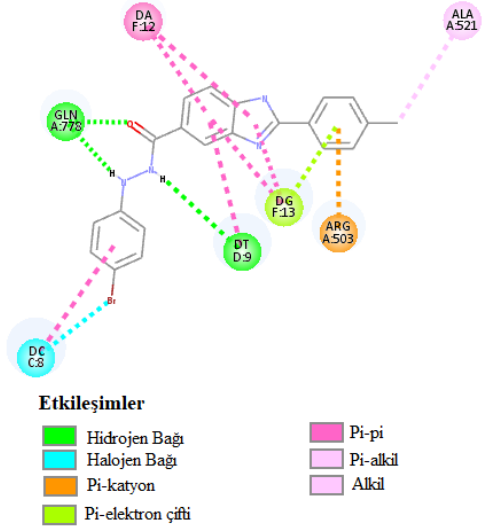
Şekil 3.102. 2e nolu bileşiğin topo II β -DNA kırığı içindeki görüntüsü (Arg487 ile pi-kasyon bağı turuncu Met762 ile pi-sülfür bağı sarı renk ile gösterilmiştir.).

2f bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimler

a.



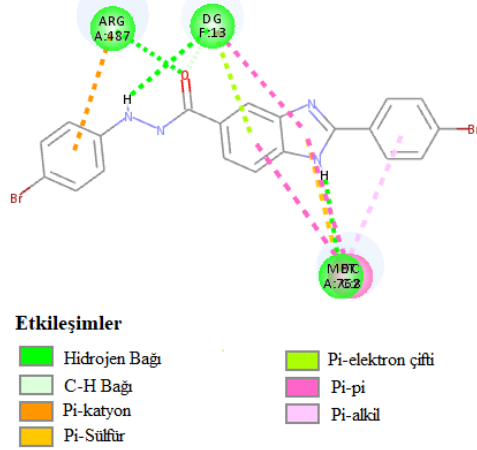
b.



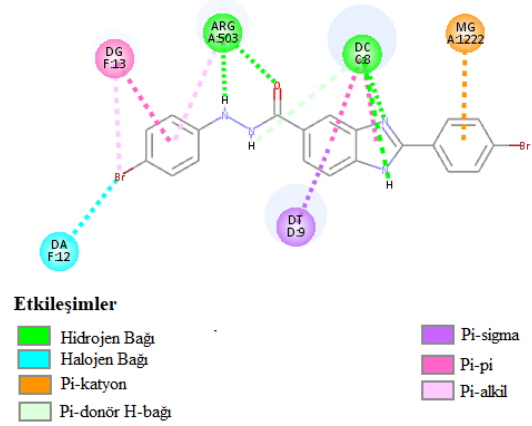
Şekil 3.103. a. 2e Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 2e Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri

2g bileşiğinin Topoizomeraz II Enzimleri ile Etkileşimler

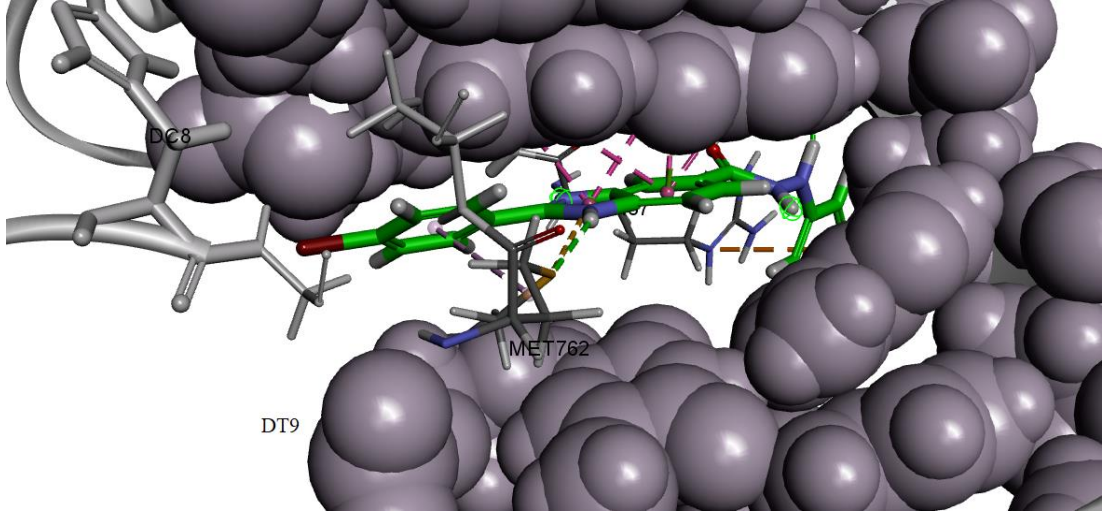
a.



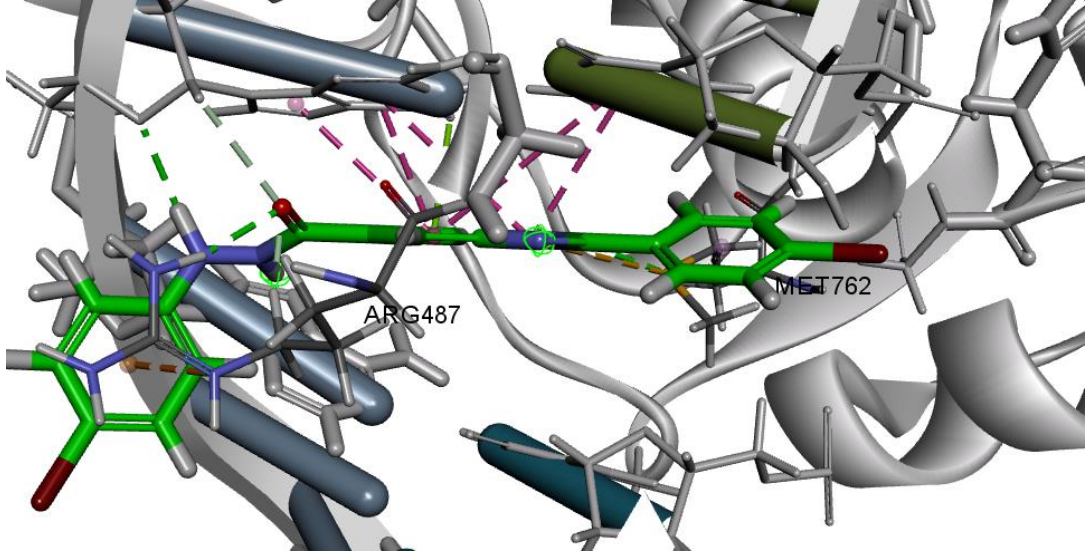
b.



Şekil 3.104. a. 2g Nolu Bileşiğin 5GWK enzimi ile etkileşimlerinin 2D diyagram ile gösterimi b. 2g Nolu Bileşiğin 3QX3 enzimi ile etkileşimleri



Şekil 3.105. 2g nolu bileşiğin topo II α -DNA kırığı içindeki görüntüsü (Nükleotitler ile pi etkileşimleri pembe renk ile gösterilmiştir.).



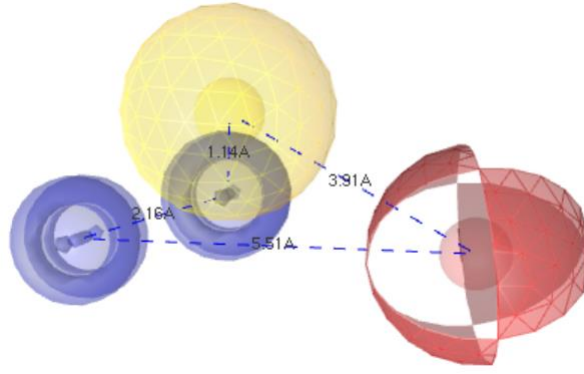
Şekil 3.106. 2g nolu bileşiğin topo II α -DNA kırığı içindeki görüntüsü (Arg487 ile pi-kasyon bağı turuncu Met762 ile pi-sülfür bağı sarı renk ile gösterilmiştir.).

3.3.2. Farmakofor çalışmaları (Ligand Tabanlı Farmakofor Oluşturma Yöntemi)

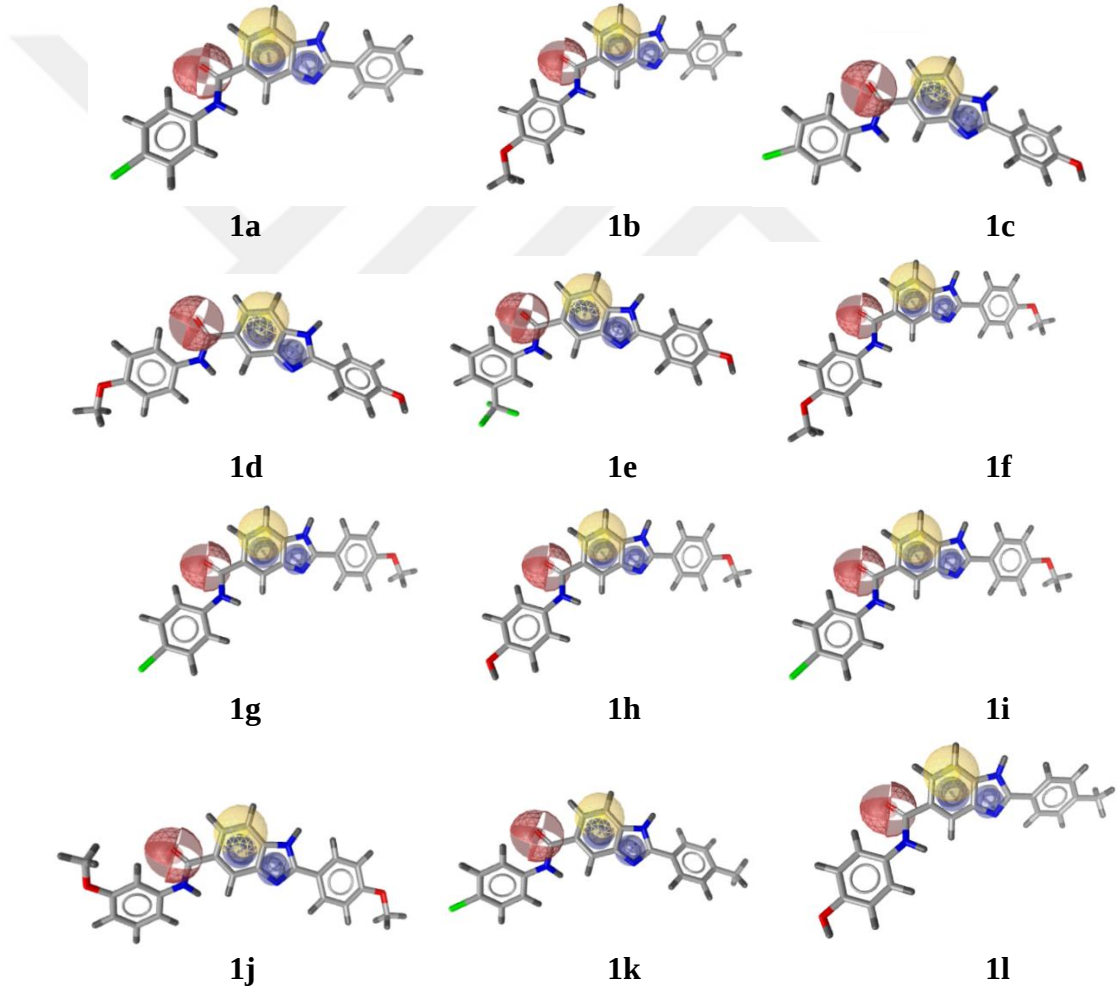
Sentezlenen bileşikler, benzazol türevi topoizomeras II enzim inhibitörleri (bileşik 1a, 3c, 3f) üzerinden ligant tabanlı farmakofor oluşturma çalışması (HipHop metodu) sonucu oluşturulan farmakofor model 1 ile haritalandırılmış ve elde edilen uyum değerleri (FitValues) Çizelge 3.4’de verilmiştir. Bileşiklerin farmakofor modellerle birlikte üst üste çakıştırılmış görüntüsü Şekil 3.101’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Sentezlenen bileşiklerin Farmakofor model 1’e uyum değerleri

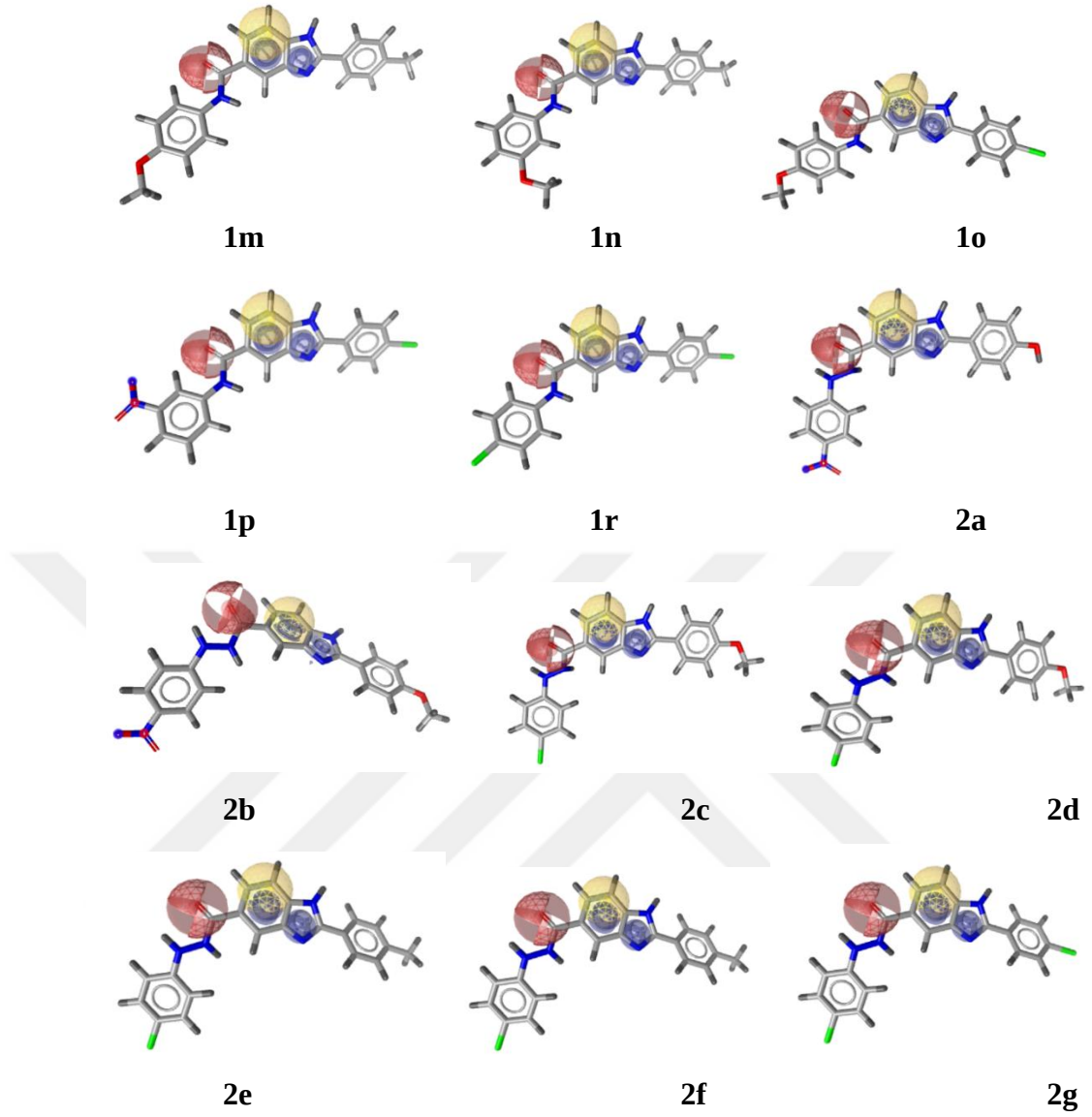
Bileşikler	Uyum Değeri	Aromatik Halka 1	Aromatik Halka 2	Hidrofobik	HBA
1a	47.58	1	1	1	1
1b	47.52	1	1	1	1
1c	47.52	1	1	1	1
1d	47.56	1	1	1	1
1e	47.52	1	1	1	1
1f	47.52	1	1	1	1
1g	47.52	1	1	1	1
1h	47.52	1	1	1	1
1i	47.52	1	1	1	1
1j	47.56	1	1	1	1
1k	47.56	1	1	1	1
1l	47.52	1	1	1	1
1m	47.52	1	1	1	1
1n	47.52	1	1	1	1
1o	47.56	1	1	1	1
1p	47.52	1	1	1	1
1r	47.52	1	1	1	1
2a	47.50	1	1	1	1
2b	47.56	1	1	1	1
2c	47.49	1	1	1	1
2d	47.56	1	1	1	1
2e	47.56	1	1	1	1
2f	47.56	1	1	1	1
2g	47.56	1	1	1	1



Şekil 3.107. Farmakofo 1. Aromatik halka özelliği lacivert, hidrofobik özellik sarı ve hidrojen bağ alıcı özelliği kırmızı ile gösterilmiştir.



Şekil 3.108. Sentezlenen bileşiklerin farmakofo model 1 ile tek tek haritalandırılmaları.



Şekil 3.108 (devamı) Sentezlenen bileşiklerin farmakofoor model 1 ile tek tek haritalandırılmaları.

3.3.3. Bileşiklere ait Fizikokimyasal Özelliklerin İncelenmesi

Bileşiklerin fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesi, ilaç keşfine giden yolda yol gösterici bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir. Bileşiğe ait molekül ağırlığı, lipofiliklik, dönebilen bağ sayısı, aromatik halka sayısı gibi basit tanımlayıcıların

değerlendirilmesiyle rasyonel kararların verilmesi mümkün olmaktadır (Oprea, Davis ve ark., 2001).

3.3.3.1. Lipinski Kuralları

Lipinski Kuralları, bir bileşiğin ilaç benzerliğini değerlendirmek veya biyolojik olarak aktif bir kimyasal bileşiğin oral olarak kullanılabilirliğini belirlemek için kullanılan temel kurallardır (Lipinski, Lombardo ve ark., 1997; Lipinski, 2004). Bu kurallar Lipinski ve ark., 1997 yılında 2245 ilaç etken maddesinin fizikokimyasal özelliklerini analiz ettiği çalışmalar sonunda oluşturulmuştur. Bu analiz sonucunda bileşiklerin ilaç benzeri özelliklere sahip olması ve oral olarak kullanılabilmesi için molekülün:

1. Molekül ağırlığının 500 Da altında,
2. Oktanol/su partiyon katsayısının (logP) 5'in altında,
3. Toplam hidrojen bağı verici grup sayısının 5'in altında,

Toplam hidrojen bağı alıcı grup sayısının 10'un altında olması gerektiğini ve kurallardan en fazla bir tanesinin ihlal edilebileceğini belirtmişlerdir.

Yeni ilaç geliştirilmesi sırasında, molekülde aktivite ve selektivitenin arttırılabilmesi için optimizasyon yapılırken, bileşiğin fizikokimyasal özelliklerinin Lipinski'nin bu kuralına uyacak biçimde korunması gerektiği bildirilmiştir (Oprea, Davis ve ark., 2001). Tüm bu parametrelerin 5'in katı olması nedeniyle bu kriterlere Lipinski'nin 5 Kuralı denilmektedir. Bu kurala uyan küçük moleküller de genel olarak ilaç-benzeri bileşik olarak sınıflandırılmaktadırlar.

3.3.3.2. Veber Kuralları

Danel Veber, 1100'den fazla ilaç adayı üzerinde yaptığı çalışmalar sonucunda serbest dönebilen bağların sayısı, polar yüzey alanı (PYA) ve hidrojen bağı verici (HBV) ve alıcı (HBA) sayılarının ilacın oral absorpsiyonunu etkilediğini göstermiştir (Veber, Johnson ve ark., 2002).

Veber kurallarına göre aşağıda verilen kriterlerden ikisine uyulduğu takdirde ilacın yüksek olasılıkla iyi biyoyararlanım göstermesi beklenir.

1. Serbest Dönebilen Bağ Sayısı ≤ 10
2. (Polar Yüzey Alanı ≤ 140) veya
3. (HBV + HBA ≤ 12)

Doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşiklerin ilaç olabilirliğinin değerlendirilmesi amacıyla fizikokimyasal özellikleri Discovery Studio 3.5 programında hesaplanıp, yukarıda belirtilen kurallara uyumları incelenmiştir (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. Sentezlenen bileşiklerin Lipinski kuralına uyumluluklarının değerlendirilmesi.

Bileşik No	MA	LogP	H Donör	H Akseptör
1a	347.79	4.71	2	4
1b	343.37	4.03	2	5
1c	363.79	4.47	3	5
1d	359.37	3.79	3	6
1e	397.35	4.75	3	5
1f	373.40	4.02	2	6
1g	377.82	4.70	2	5
1h	359.37	3.79	3	6
1i	422.27	4.78	2	5
1j	373.40	4.02	2	6
1k	361.82	5.20	2	4
1l	343.37	4.29	3	5
1m	357.40	4.52	2	5
1n	357.40	4.52	2	5
1o	422.27	4.78	2	5
1p	437.24	4.69	2	7
1r	426.69	5.46	2	4

2a	389.36	3.73	4	9
2b	403.39	3.95	3	9
2c	437.28	4.80	3	6
2d	392.83	4.72	3	6
2e	376.83	5.22	3	5
2f	421.29	5.31	3	5
2g	486.15	5.57	3	5

Çizelge 3.6. Sentezlenen bileşiklerin Veber kuralına uyumluluklarının değerlendirilmesi.

Bileşik No	Serbest Dönebilen Bağ Sayısı	Polar Yüzey Alanı	HBD+HBA
1a	3	57.78	4
1b	4	67.01	5
1c	3	78	6
1d	4	87.24	7
1e	4	78.01	6
1f	5	76.23	6
1g	4	67	5
1h	4	87.24	7
1i	4	67	5
1j	5	76.23	6
1k	3	57.78	4
1l	3	78.01	6
1m	4	67.01	5
1n	4	67.01	5
1o	4	67.01	5
1p	4	103.6	6
1r	3	57.78	5
2a	5	135.85	6
2b	6	124.85	9
2c	5	79.03	7
2d	5	79.03	7
2e	4	69.81	6
2f	4	69.81	6
2g	4	69.81	6

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada benzimidazol halka sistemini içeren bileşiklerin sentezlenmesi, yapılarının aydınlatılması, kanserli ve normal hücre hatlarında sitotoksik aktiviteleri, moleküler doking ve farmakofor modelleme çalışmalarıyla moleküler etkileşme dinamiklerinin incelenmesi gerçekleştirilmiştir.

Tasarlanan türevlerin sentezi için öncelikle uygun benzaldehit yapılarının sodyum metabisülfid tuzları hazırlanmış ve 3,4-diaminobenzoik asit ile reaksiyona sokularak 2-(4-süstitüe fenil)-benzimidazol-5-karboksilik asit yapıları elde edilmiştir. Bu ürünlerin tiyonil klorür ile reaksiyona sokulması sonucu açıl klorür türevleri sentezlenmiştir. Elde edilen bu ürünlerin uygun amin veya hidrazin yapıları ile verdiği Schotten-Baumann reaksiyonu sonucunda N'-(4-süstitüe fenil)-2-(4-süstitüe fenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamid/karbohidrazid sonuç ürünleri elde edilmiştir.

Elde edilen bileşiklerin saflık ve yapı analizleri; erime noktası, ince tabaka kromatografisi (İTK) ve ¹H-NMR, kütle ve elementel analizleri gibi aletsel analizlerle kanıtlandı.

Sentezlenen bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'ndan temin edilen kanserli hücre hatları üzerinden incelenmiş ve %36,27 ile %169,10 arasında değişen hücre sağkalım değerleri elde edilmiştir. Bileşiklerin neredeyse tamamı kullanılan çeşitli hücre hatları üzerinde standart bileşik olarak kullanılan etopozid'den daha iyi sitotoksik etkiler göstermişlerdir. Bileşiklerden **1g** ve **2g**'nin HT-29 kolon kanserli hücre hattı üzerinde sırasıyla %57,90 ve %50,59 hücre sağkalım

değerleri ile, **1g** ve **1r**'nin PC-3 prostat kanser hücre hattı üzerinde sırasıyla %55,86 ve %57,61 hücre sağkalım değerleri ile, **1k**'nin hem HCT-116 kolon kanserli hem de A549 akciğer kanserli hücre hattı üzerinde sırasıyla %50,19 ve %50,67 hücre sağkalım değerleri ile, **2e**'nin ise Raji lenfoblastik lösemi hücre hattı üzerinde %52,76 hücre sağkalım değeri ile iyi sitotoksik etkileri olduğu gözlenmiştir. Bileşiklerden **1p**'nin ise A-549, HT-29 ve K-562 kanserli hücre hatları üzerinde sırasıyla %44,42, %42,31 ve %53,75 hücre sağkalım değerleri ile oldukça iyi sitotoksik etkiler gösterdiği gözlenmiştir. **1b** kodlu bileşiğin ise HT-29 kolon kanserli hücre hattı üzerinde %36,27 hücre sağkalım değeri ile en iyi sitotoksik aktiviteyi gösterdiği bulunmuştur. Aynı hücre hattı üzerinde referans ilaç olarak kullanılan etopozidin sitotoksik etkinliği %93,97 olarak ölçülmüştür. Ayrıca bileşiklerden bazılarının sitotoksik etkinliği NIH-3T3 non-tumoral fibroblast hücre hattı üzerinde de test edilmiştir. Non-tumoral hücre hattında sitotoksitesi ölçülen bileşiklerin tamamının, özellikle **1g**, **1p**, **1r** ve **2e** gibi kanserli hücre hatlarında oldukça etkili bulunmuş türevlerin kanserli olmayan hücre hattı üzerinde sitotoksik etkilerinin düşük olması kanserli hücrelere seçiciliği olan antikanser bileşikler keşfedilebilmesi bakımından oldukça önemli olduğu düşünülmektedir.

Topoizomeraaz enzimleri vücutta oldukça yaygın dağılım gösteren ve replikasyon, transkripsiyon, rekombinasyon gibi hayati hücresel süreçlerde önemli rol oynayan enzimlerdir. DNA'nın topolojisini, bir veya iki DNA zincirini geçici olarak kırarak, tek veya çift sarmallı DNA'yı bu kırktan geçirerek ve kırık uçları tekrar birleştirerek değiştirirler. Topoizomeraaz enzim inhibitörleri organizmada DNA iplikçik kırıklarının yeniden birleştirilmesini engelleyerek hücre ölümüne yol açarlar ve antiproliferatif bir etki meydana getirirler (Wang, 2002). Bu etkileri sebebiyle DNA topoizomeraazlar, antikanser ilaç geliştirme alanında umut verici bir hedef olarak dikkat çekmektedirler.

Topoizomeraz enzim inhibitörleri iki sınıfa ayrılırlar: Birinci sınıfta yer alan bileşikler topo II-DNA kovalent kompleks düzeylerini artırır ve fonksiyonel enzimleri ölümcül lezyonlar haline getirdikleri için bu ajanlara topoizomeraz zehirleri denmektedir. İkinci sınıf bileşikler topoizomeraz enziminin katalitik aktivitesini inhibe ederler, ancak topo II kovalent kompleks düzeylerinde bir artışa yol açmadıkları için katalitik inhibitörler olarak adlandırılırlar (Nitiss, 2009).

Topoizomeraz IIA'nın insanlarda topoizomeraz II α ve topoizomeraz II β olmak üzere önemli iki formu vardır. İnsan topo II α ve II β , yapılarında benzerlikler taşısa da, iki izoform biyolojik olarak farklıdır. Öncelikle farklı kromozomlarda iki ayrı gen tarafından kodlanmaktadır ve topo II α , ağırlıklı olarak timus, bağırsak, testis, dalak kemik iliği gibi çoğalan dokularda ifade edilirken, topo II β tüm insan dokularında bulunur. Ayrıca topo II β 'nin inhibisyonunun kardiyotoksisiteyi indüklenmesi ve sekonder malignitelere neden olması sebebiyle topo II α 'yı seçici olarak inhibe etmek kanser tedavisinde daha çok tercih edilen bir yaklaşımdır (Hu, Huang ve ark., 2018). Enzimin iki izoformu arasında insan topo II α için seçici olan bileşiklerin geliştirilmesi topo II β enziminin inhibisyonundan kaynaklanan yan etkilere bağlı olarak tercih edilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla, seçici topo II α inhibitörleri geliştirmeye çalışılmaktadır.

Bu çalışma kapsamında sentezlenen bileşikler yüksek lisans çalışmaları sırasında gerçekleştirilen moleküler modelleme çalışmalarıyla topo II enzim inhibitörü olarak tasarlanmışlardır. Doktora çalışmaları sırasında ise sentezlenen bileşikler arasında seçici inhibitörlerin olup olmadığını araştırılmıştır ve bu amaçla topo II α 'ya karşı seçici inhibitörleri belirleyebilmek için topo II α 5GWK (rezolüsyon: 2,16 Å) ve topo II β 3QX3 (rezolüsyon: 3,15 Å) enzimi kullanılarak doking çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Topo II-inhibitör-DNA kompleksi, ilaç ve enzim

arasındaki güçlü etkileşimler ve ayrıca ilaç ve DNA bazları arasındaki pi etkileşimleri ile stabilize edilir. Bu nedenle, topo II'yi hedef alan bir molekül, etkinlik göstermek için hem proteine hem de DNA'ya bağlanmalıdır. Doking çalışmaları sonucunda çalışma kapsamındaki tüm bileşiklerin her iki izoformda 60'ın üzerinde gold docking skoruna ve etkinlik için gerekli olan enzim ve DNA etkileşimlerine sahip oldukları görülmektedir. Literatürde yer alan çalışmalarla topo II α 'ya seçicilik gösterecek bileşikler tasarlanmasında hedeflenecek aminoasit kalıntıları tespit edilmiştir. (Wu, Li ve ark., 2011; Wendorff, Schmidt ve ark., 2012; Drwal, Marinello ve ark., 2014). Yapılan bu çalışmalara göre, topo II α ve topo II β 'nın bağlanma bölgesi kalıntılarının, %91.4'lük bir sekans benzerliği ile yüksek homolojiyi paylaştığını ancak bağlanma cep kalıntılarının sadece beşinin iki izoform arasında korunduğu görülmektedir: Thr468/ Ser483, Met762 / Gln778, Ser763 / Ala779, Ile769 / Val785 ve Ser800 / Ala816 (α / β izoformu). Treonin ile serin ve izolösin ve valinin benzer özellikte aminoasitler olmaları sebebiyle bu kalıntıların seçici inhibitörlerin geliştirilmesi için önemli olmayabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte, metiyonin ve glutamin biri hidrofobik, diğeri ise polar bir amino asit olmak üzere çok farklı kimyasal özelliklere sahiptir. Bunun yanı sıra, serin ve alanin aminoasitleri serinin potansiyel bir hidrojen bağ donörü olması sebebiyle farklılanırlar. Daha önce yapılmış docking çalışmalarından elde edilen topo II α modelindeki etopozid docking pozu, Ser763 ve Met762'nin etopozide çok yakın bir yerde bulunduğunu ve dolayısıyla yeni inhibitörler tarafından hedef alınabileceğini, ancak Ser800 kalıntısının bir topo II α zehiri tarafından hedeflenmek için DNA bölünme bölgesinden çok uzak olduğu göstermiştir. Tüm bu bilgilerin ışığında, topo II α 'ya seçici inhibitörler tasarlamak için hedef alınması gereken en önemli amino asit kalıntılarının Ser763 ve Met762 olduğu görülmektedir. Bileşiklerden **1f**, **1g**, **1i**, **1k**, ve **2g**'nin Met762 kalıntısı ile güçlü bağlar oluşturduğu **2d** türevinin Ser763 ile hidrojen bağı oluşturduğu, sitotoksik aktivitesi en iyi olduğu tespit edilen **1p** bileşiğinin ise hem Met762 hem Ser763 ile hidrojen bağı oluşturduğu ancak bu aminoasitlerin topo II β izoformunda karşılıkları olan Gln778 ve Ala779 ile herhangi bir bağ oluşturmadıkları tespit edilmiştir. Bileşiklerden **1c**, **1h**, **1l**, **2a**,

2b, 2e ve 2f'in de Met762 ve/veya Ser763 ile hidrojen bağlarının bulunduğu ancak bu türevlerin aynı zamanda topo II β izoformunda Gln778 aminoasit kalıntısına hidrojen bağı ile tutundukları görülmüştür. Bu nedenlerle bileşiklerden **1f, 1g, 1i, 1k, 1p ve 2g**'nin topo II α enziminin seçici inhibitörü olabilecekleri düşünülmektedir. Seçici inhibitör oldukları düşünülen **1g, 1k, 1p ve 2g**'nin aynı zamanda sitotoksikite sonuçları en iyi bileşiklerden olmaları ileri çalışmalar için umut vaat eden sonuçlar elde edildiğini göstermektedir.

Ayrıca çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin Lipinski ve Veber kurallarına uygunluğu incelenmiş ve tüm türevlerin kurallara uyum sağladığı gözlenmiştir. Böylece bileşiklerin ilaç olabilirliğini de ortaya konmuştur.

Bileşiklerin sitotoksik aktivitelerinin tayini için kanserli hücre hatları seçilirken özellikle topo II enziminin yüksek oranda ifade edildiği hücre hatları tercih edilmiştir. Bu amaçla A549 (akciğer), MCF-7 (meme), PC-3 (prostat), HCT-116 (kolon), HT-29 (kolon), HeLa (serviks), K562 (kronik miyeloid lösemi), Raji (akut lenfoblastik lösemi) kanserli hücre hatları kullanılarak bileşiklerin antikanserojenik etkileri test edilmiştir. Topo II α seçici inhibitörlerinin tasarlanması bölümünde de belirtildiği gibi, Topo II α ağırlıklı olarak timus, bağırsak, testis, dalak ve kemik iliği gibi çoğalan dokularda eksprese edilirken, topo II β tüm insan dokularında bulunur. Bu nedenle bileşiklerin özellikle PC-3 (prostat), HCT-116 (kolon), HT-29 (kolon), Raji (akut lenfoblastik lösemi) kanser hücre hatları üzerinde iyi sitotoksik aktiviteler göstermesi topo II α seçici inhibitörü oldukları düşüncesini desteklemektedir.

Bu çalışma kapsamında sentezlenen türevler, benzazol türevi topoizomeraz II inhibitörü oldukları bilinen bileşiklerle elde edilen farmakofor model ile haritalandırılarak bileşiklerin topoizomeraz II inhibitörleri ile ortak

konformasyonel özellikleri tespit edilmiştir. Farmakofor model 1 ile haritalandırılma sonucunda bileşiklerin hepsinin 47,50-47,58 arasında değişen uyum değerleri ile referans bileşiklere çok yakın bir şekilde (48.07-48.54) modele uygunlukları tespit edilmiştir. Böylece bileşiklerin etki mekanizmaları da doktora çalışması kapsamında yapılan bu moleküler modelleme çalışmalarıyla açıklanmıştır.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yürütülen bu çalışma kapsamında 17 adet orjinal 5-karboksamid benzimidazol türevi (1a-r) ve 7 adet orjinal 5-karbohidrazid benzimidazol türevi sonuç ürün (2a-g) sentezlenmiş; yapıları ¹H-NMR, MASS, elementel analiz yöntemleri kullanılarak aydınlatılmış ve *in vitro* ortamda kanser hücre hatları A549 (akciğer), MCF-7 (meme), PC-3 (prostat), HCT-116 (kolon), HT-29 (kolon), HeLa (serviks), K562 (kronik miyeloid lösemi), Raji (akut lenfoblastik lösemi) kanserli hücre hatları üzerinden sitotoksik aktiviteleri referans ilaç olarak etopozid ile karşılaştırılarak incelenmiştir. Ayrıca *in vitro* ortamda non-tumoral fibroblast hücre hatları (NIH-3T3) üzerindeki sitotoksik etkileri bileşiklerin normal hücrelere sitotoksitesini tespit edebilmek amacıyla incelenmiştir. Topoizomeraz II enziminin iki izoformu olan II α (pdb:5GWK) ve II β (pdb:3QX3) üzerinden yapılan moleküler doking çalışmalarıyla enzimle bileşiklerin etkileşim dinamikleri incelenmiş ve benzazol türevi topoizomeraz II inhibitörleri kullanılarak oluşturulan farmakofor model üzerinden etkiden sorumlu atom ve atom grupları tanımlanmaya çalışılmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin MTT testi ile ölçülen sitotoksik etkileri % hücre sağkalım değerleri olarak incelendiğinde %36,27 ile %169,10 arasında % hücre sağkalım değerleri elde edilmiş ve bileşiklerin çoğunluğunun standart ilaç olarak kullanılan etopozid'den daha iyi etkinlik gösterdiği gözlenmiştir. Doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşiklerin özellikle kolon kanserli hücre hatları (HT-29 ve HCT-116) üzerinde oldukça iyi sitotoksik etkileri olduğu tespit edilmiştir. Bunun dışında akciğer, akut miyeloid lösemi, prostat, lenfoblastik lenfoma kanserli hücre hatları üzerinde de etkili türevler bulunduğu gözlenmiştir. Bileşiklerden özellikle **1b**, **1g**, **1k**, **1p**, **1r**, **2e** ve **2g** ile umut vaadedici sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca etkili bileşiklerden testi

yapılan **1g**, **1p**, **1r** ve **2e**'nin NIH-3T3 non-tumoral fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik etki göstermemesi etkinliğin seçiciliği açısından ümit verici olmuştur.

Topo II α (pdb:5GWK) ve topo II β (pdb:3QX3) enziminin DNA ve etoposid ile kompleks kristal formu kullanılarak doking çalışmaları sonucunda tüm bileşiklerin etkili doking skorlara ve enzim-DNA kompleksi ile güçlü bağlantılara sahip olduğu görülmüştür. Yapılan doking çalışmalarında topoizomeraaz enziminde bulunan Arg487/Arg503, Asp463/Asp479, Met762/Gln778, Ser763/Ala779 ve aminoasit kalıntılarının ve DNA kırığı etrafındaki DNA parçaları DC8, DT9, DA12, DG13 nükleotitlerinin aktiviteden sorumlu kalıntılar olarak öne çıktığı görülmektedir. Yapılan doking çalışmalarında etkili bulunan tüm bileşiklerin bu kalıntılar ile güçlü bağlantılar oluşturduğu görülmektedir. Ayrıca literatürlerde yer alan çalışmalar topo II α 'ya seçicilik gösterecek bileşikler tasarlanmasında hedeflenecek aminoasit kalıntılarının Met762/ Gln778, Ser763/Ala779 ve Ser800/Ala816 (α/β izoformu) olduğu tespit edilmiştir. Bileşiklerden **1f**, **1g**, **1i**, **1k**, ve **2g**'nin Met762 kalıntısı ile güçlü bağlar oluşturduğu **2d** türevinin Ser763 ile hidrojen bağı oluşturduğu, sitotoksik aktivitesi çok güçlü olduğu tespit edilen **1p** bileşiğinin ise hem Met762 hem Ser763 ile hidrojen bağı oluşturduğu ancak bu aminoasitlerin topo II β izoformunda karşılıkları olan Gln778 ve Ala779 ile herhangi bir bağ oluşturmadıkları tespit edilmiştir. Bileşiklerden **1c**, **1h**, **1l**, **2a**, **2b**, **2e** ve **2f**'in de Met762 ve/veya Ser763 ile hidrojen bağlarının bulunduğu ancak bu türevlerin aynı zamanda topo II β izoformunda Gln778 aminoasit kalıntısına hidrojen bağı ile tutundukları görülmüştür.

Bileşiklerin ortak konformasyonel özelliklerinin belirlenmesi için yapılan farmakofor analiz çalışmaları sonucunda elde edilen farmakofor model 1 ile haritalandırılma sonucunda bileşiklerin hepsinin 47,50-47,58 arasında değişen uyum değerleri ile referans bileşiklere çok yakın bir şekilde (48.07-

48.54) modele uygunlukları tespit edilmiştir. Bileşiklerinin çoğunun amid/hidrazid grubundaki karbonil grubundaki oksijen atomu üzerinden önemli aminoasit kalıntılarıyla hidrojen bağı oluşturmalarının yanı sıra tüm bileşiklerin farmakofor modeldeki hidrojen bağı alıcısı özelliğine bu atom üzerinden oturması doking ve farmakofor analiz çalışmalarının birbiri ile uyduğu ve birbirini desteklediğini göstermektedir. Ayrıca bileşiklerinin genelinin benzimidazol ana halkası üzerinden DNA parçaları ile pi etkileşimleri göstermesi ve farmakofordaki aromatik halka özelliğinin bu halka üzerinde aynı şekilde moleküler modelleme sonuçlarının tutarlılığını ve birbirini desteklediğini göstermektedir.

Yapılan doking çalışmaları sonucunda elde edilen veriler ışığında bileşiklerin etkilerini topoizomera II enzimi üzerinden gerçekleştirebilecekleri ortaya konmuştur. Ayrıca bileşiklerden **1f**, **1g**, **1i**, **1k** ve **2g**'nin topo II α enziminin seçici inhibitörü olabilecekleri düşünülmektedir. Bu çalışma ayrıca topo II α seçici inhibitörü olarak etki gösterecek yeni ve daha güçlü antitümör ajanları tasarlamak için bir model oluşturmaktadır.

Bu doktora çalışması kapsamında sentezlenmiş olan bileşiklerin göstermiş olduğu potent etkinin, topoizomera II inhibisyonu ile ilgili olduğu moleküler modelleme çalışmalarıyla gösterilmiş olup, topoizomera II α enziminin seçici inhibitörü olduğu düşünülen türevlerin etkinliğini ortaya koymak üzere topoizomera II α ve II β enzim kiti ile enzimatik inhibisyon düzeyinin de araştırılması ve etki çalışmalarına in vivo hayvan testleri ile devam edilmesi bundan sonraki çalışmalar için planlanmıştır.

ÖZET

Bazı Yeni Heterosiklik Bileşiklerin Sentezi, Yapı Aydınlatmaları, Antikanser Etki, Bilgisayar Destekli İlaç Tasarım Çalışmaları

Bu çalışmada, 17 adet orjinal 5-karboksamid benzimidazol türevi ve 7 adet orjinal 5-karbohidrazid toplam 24 adet benzimidazol türevi sonuç ürün sentezlenmiş ve *in vitro* sitotoksik aktiviteleri tayin edilmiştir. Sonuç ürünlerin sentezi için, uygun benzaldehit yapılarının sodyum metabisülfid tuzları hazırlanmış ve 3,4-diamino benzoik asit ile reaksiyona sokularak 2-(4-süstitüe fenil)-benzimidazol-5-karboksilik asit yapıları elde edilmiştir. Bu ürünlerin tiyonil klorür ile reaksiyona sokulması sonucu açıl klorür türevleri sentezlenmiştir. Elde edilen bu ürünlerin uygun amin veya hidrazin yapıları ile verdiği reaksiyon sonucunda hedeflenen bileşikler elde edilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin saflıkları İTK ile kontrol edildikten sonra erime noktaları saptanmış ve yapıları, ¹H-NMR, MASS ve elementel analiz sonuçları ile aydınlatılmıştır.

Bileşiklerin hücre sağkalımı üzerindeki *in vitro* sitotoksik etkileri, insan küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, A549, insan meme kanseri, MCF-7, insan prostat kanseri hücresi, PC-3, insan kolon karsinomu, HT-29 ve HCT-116, insan servikal karsinomu, HeLa, insan kronik miyeloid lösemi, K562 ve insan akut lenfoblastik lösemi, Raji hücreleri kullanılarak 10 µM konsantrasyonda belirlenmiştir. Bu çalışmada antiproliferatif analiz olarak MTT testi kullanılmıştır. Birincil taramada iyi inhibisyon sergileyen bileşikler daha sonra, ikinci aşamada, fare embriyonik fibroblast hücre hattı NIH-3T3 kullanılarak hücre canlılığı açısından değerlendirilmiştir. Bileşiklerden **1g** ve **2g**, HT-29 hücre hattı üzerinde referans bileşik etopositten daha iyi sitotoksik aktivite sergilemiştir. Bileşik **1k**, HCT-116 ve A549 hücre hatlarında etopositten daha iyi sitotoksik aktivite göstermiştir. Bileşik **2e**'nin, Raji hücre hattında ve bileşik **1g** ve **1r**'nin ise PC-3 hücre hattında iyi sitotoksik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bileşik **1p** A549, HT-29 ve K-562 hücre hatlarında kayda değer sitotoksik aktiviteler sergilediği belirlenmiştir. Tüm bileşikler arasında, **1b**, HT-29 hücre hattında gösterdiği %36,27 hücre canlılığı değeri ile en aktif olan türevidir. Diğer bazı bileşikler de bu hücre hatları üzerinde referans bileşik kadar iyi sitotoksik aktivitelere sahiptir.

Sentezlenen bileşiklerin moleküler etkileşme dinamiklerinin incelenmesi için Topoisomerez IIα (pdb:5GWK) ve topoizomerez IIβ (pdb:3QX3) enzimleri kullanılarak moleküler modelleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Enzimin iki farklı izoformu ile yürütülen moleküler doking çalışmalarıyla, bileşiklerin bağlanma özelliklerini tanımlanmaya çalışılmış ve Topoisomerez IIα'ya seçici inhibisyon gösteren bileşikler tespit edilmeye çalışılmıştır. Daha sonra Topoizomerez II'ye etkili olduğu bilinen benzazol yapısında bileşikler kullanılarak farmakofor model geliştirilmiştir. Sonrasında sentezlenen bileşikler oluşturulan bu farmakofor modellerle haritalandırılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Benzimidazol, Topoisomerez II, Antikanser, Moleküler Doking, Farmakofor Analiz

SUMMARY

Synthesis, Structure Elucidation, Chemotherapeutic Activity, Computer Aided Drug Desing Studies of Some New Heterocyclic Compounds

In this study, 17 original 5-carboxamide and 7 original 5-carbohydrazide in total 24 benzimidazole derived products were synthesized and their *in vitro* cytotoxic activities were determined. For the synthesis of the final products, sodium metabisulphite salts of the appropriate benzaldehyde structures were prepared and reacted with 3,4-diamino benzoic acid to yield 2- (4-substituted phenyl) benzimidazole-5-carboxylic acid derivatives. The reaction of these products with thionyl chloride resulted in the formation of acyl chloride derivatives. As a result of the reaction of these products with suitable amine or hydrazine structures, targeted benzimidazole derivatives were prepared.

The purity of the synthesized compounds has been controlled by TLC and their melting points were determined. Their structures were elucidated by using ^1H -NMR, Mass and Elemental Analysis methods.

The *in vitro* cytotoxic effects of the compounds on cell survival were determined using human non-small cell lung cancer, A549, human breast cancer, MCF-7, human prostate cancer cell, PC-3, human colon carcinoma, HT-29 and HCT-116, human cervical carcinoma, HeLa, human chronic myelogenous leukemia, K562 and human acute lymphoblastic leukemia, Raji at 10 μM concentration. MTT assay was the antiproliferative assay employed in this study. The compounds which exhibited good inhibition in the primary screen were then evaluated for cell viability in the second stage by using the mouse embryonic fibroblast cell line NIH-3T3. Compounds **1g** and **2g** exhibit better cytotoxic activities than the reference compound etoposide on HT-29 cell line, compound **1k** exhibit better cytotoxic activities than etoposide on both HCT-116 and A549 cell lines, compound **2e** exhibit good cytotoxic activity on Raji cell line and compound **1g** and **1r** exhibit good cytotoxic activities on PC-3 cell line. Compound **1p** exhibit remarkable cytotoxic activities on A549, HT-29 ve K-562 cell lines. Among them, compound **1b** is the most active with the %36,27 cell viability value on HT-29 cell line. Some other compounds have also good cytotoxic activity as well as reference compound etoposide.

Molecular modeling studies were performed using topoisomerase II α (pdb: **5GWK**) and topoisomerase II β (pdb: **3QX3**) enzymes to investigate the molecular interaction dynamics of the synthesized compounds. The molecular docking studies carried out with two different isoforms of the enzyme in order to identify the binding modes of the compounds and to determine selective inhibitors of topoisomerase II α . Pharmacophore models generated using several active benzazole derivative inhibitors. Afterwards the synthesized compounds were mapped onto to these generated pharmacophore model.

Key Words: Benzimidazole, Topoisomerase II, Anticancer, Molecular Docking, Pharmacophore Analysis

KAYNAKLAR

- AKBAY A, ÖREN İ, TEMİZ-ARPACI Ö, AKI-SENER E, YALÇIN İ (2003). Synthesis and HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor Activity of Some 2,5,6-Substituted Benzoxazole, Benzimidazole, Benzothiazole And Oxazolo(4,5-B)Pyridine Derivatives. *Arzneimittelforschung* **53(04)**: 266-271.
- AKHTAR MJ, SIDDIQUI AA, KHAN AA, ALI A, DEWANGAN RP, PASHA S, YAR MS (2017). Design, Synthesis, Docking and Qsar Study of Substituted Benzimidazole Linked Oxadiazole as Cytotoxic Agents, EGFR and ERBB2 Receptor Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* **126**: 853-869.
- AL-ANSARY GH, ELDEHNA WM, GHABBOUR HA, AL-RASHOOD STA, AL-RASHOOD KA, ELADWY RA, AL-DHFYAN A, KABIL MM, ABDEL-AZIZ HA (2017). Cancer Stem Cells CD133 Inhibition and Cytotoxicity of Certain 3-Phenylthiazolo[3,2-A] Benzimidazoles: Design, Direct Synthesis, Crystal Study And In Vitro Biological Evaluation. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **32(1)**: 986-991.
- ALP M, GÖKER H, OZKAN T, SUNGUROGLU A (2014). Synthesis And Cytotoxic Evaluation of Novel N-Substituted Amidino-1-Hydroxybenzimidazole Derivatives. *Archives Of Pharmacal Research* **37(5)**: 580-587.
- ANDOH T (1998). Bis(2,6-Dioxopiperazines), Catalytic Inhibitors of DNA Topoisomerase II, as Molecular Probes, Cardioprotectors And Antitumor Drugs. *Biochimie* **80(3)**: 235-246.
- ARNAU N, ARREDONDO Y, MORENO-MAÑAS M, PLEIXATS R, VILLARROYA M (1995). Palladium(0)-Catalyzed Allylation of 4(5)-Substituted Imidazoles, 5(6)-Substituted Benzimidazoles, Benzotriazole And 5(6)-Methylbenzotriazole. *Journal Of Heterocyclic Chemistry* **32(4)**: 1325-1334.
- ASANO T, NAKAMURA K, FUJII H, HORICHI N, OHMORI T, HASEGAWA K, ISOE T, ADACHI M, OTAKE N, FUKUNAGA Y (2005). Altered Expression of Topoisomerase IIalpha Contributes To Cross-Resistant to Etoposide K562/Mx2 Cell Line By Aberrant Methylation. *British Journal of Cancer* **92(8)**: 1486-1492.
- AZAROVA AM, LYU YL, LIN C-P, TSAI Y-C., LAU JY-N, WANG JC, LIU LF (2007). Roles of DNA Topoisomerase II Isozymes In Chemotherapy and Secondary Malignancies. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America* **104(26)**: 11014-11019.

- BAGULEY BC., DENNY WA, ATWELL GJ, FINLAY GJ, REWCASTLE GW, TWIGDEN SJ, WILSON WR (1984). Synthesis, Antitumor Activity and DNA Binding Properties of a New Derivative Of Amsacrine, N-5-Dimethyl-9-[(2-Methoxy-4-Methylsulfonylamino)Phenylamino]-4-Acridinecarboxamide. *Cancer Research* **44(8)**: 3245-3251.
- BAGULEY BC, FERGUSON LR (1998). Mutagenic Properties of Topoisomerase-Targeted Drugs. *Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Gene Structure And Expression* **1400(1)**: 213-222.
- BANSAL Y, SILAKARI O (2012). The Therapeutic Journey Of Benzimidazoles: A Review. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **20(21)**: 6208-6236.
- BAO, X.-L., W.-B. ZHU, T.-L. SHAN, Z. WU, R.-J. ZHANG, P.-Y. LIAO, M.-Z. ZHENG, H.-S. TANG, Y.-J. YAN AND Z.-L. CHEN (2017). Design, Synthesis And Evaluation of Novel Angiotensin II Receptor 1 Antagonists with Antihypertensive Activities. *Rsc Advances* **7(42)**: 26401-26410.
- BEEKMAN AC, BARENTSEN ARW, WOERDENBAG HJ, VAN UDEN W, PRAS N, KONINGS AWT, EL-FERALY FS, GALAL AM, WIKSTRÖM HV (1997). Stereochemistry-Dependent Cytotoxicity of Some Artemisinin Derivatives. *Journal Of Natural Products* **60(4)**: 325-330.
- BEN DD, PALUMBO M, ZAGOTTO G, CAPRANICO G, MORO S (2007). DNA Topoisomerase II Structures And Anthracycline Activity: Insights Into Ternary Complex Formation. *Current Pharmaceutical Design* **13(27)**: 2766-2780.
- BENDER RP, JABLONSKY MJ, SHADID M, ROMAINE I, DUNLAP N, ANKLIN C, GRAVES DE, OSHEROFF N (2008). Substituents on Etoposide That Interact With Human Topoisomerase IIalpha In The Binary Enzyme-Drug Complex: Contributions To Etoposide Binding And Activity. *Biochemistry* **47(15)**: 4501-4509.
- BORRIELLO L, MONTÈS M, LEPELLETIER Y, LEFORBAN B, LIU W-Q, DEMANGE L, DELHOMME B, PAVONI S, JARRAY R, BOUCHER JL, DUFOUR S, HERMINE O, GARBAY C, HADJ-SLIMANE R, RAYNAUD F (2014). Structure-Based Discovery of a Small Non-Peptidic Neuropilins Antagonist Exerting In Vitro and In Vivo Anti-Tumor Activity on Breast Cancer Model. *Cancer Letters* **349(2)**: 120-127.
- CAPRANICO G, BUTELLI E, ZUNINO F (1995). Change of The Sequence Specificity of Daunorubicin-Stimulated Topoisomerase II DNA Cleavage by Epimerization of the Amino Group of The Sugar Moiety. *Cancer Research* **55(2)**: 312-317.
- CHAMPOUX JJ (2001). DNA Topoisomerases: Structure, Function, and Mechanism. *Annual Review of Biochemistry* **70(1)**: 369-413.
- CHEN AY, YU C, GATTO B, LIU LF (1993). DNA Minor Groove-Binding Ligands: A Different Class of Mammalian DNA Topoisomerase I Inhibitors. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America* **90(17)**: 8131-8135.

- CHEN GF, DONG XY, MENG FZ, CHEN BH, LI J-T, WANG SX, BAI GY (2012). Synthesis of 2-Substituted Benzimidazoles Catalyzed By $\text{FeCl}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ Under Ultrasonic Irradiation. *Letters In Organic Chemistry* **8(7)**: 464-469.
- CHEN SH, CHAN N-L, HSIEH T-S (2013). New Mechanistic And Functional Insights Into DNA Topoisomerases. *Annual Review Of Biochemistry* **82(1)**: 139-170.
- CHÈNE P, RUDLOFF J, SCHOEPFER J, FURET P, MEIER P, QIAN Z, SCHLAEPPI, J-M, SCHMITZ R, RADIMERSKI T (2009). Catalytic Inhibition of Topoisomerase II By A Novel Rationally Designed ATP-Competitive Purine Analogue. *BMC Chemical Biology* **9**: 1-1.
- CHOI HJ, FUKUI M, ZHU BT (2011). Role Of Cyclin B1/CDC2 Up-Regulation In The Development Of Mitotic Prometaphase Arrest In Human Breast Cancer Cells Treated With Nocodazole. *Plos One* **6(8)**: E24312.
- CHOI HJ, ZHU BT (2012). Role Of Cyclin B1/CDC2 In Mediating Bcl-XL Phosphorylation And Apoptotic Cell Death Following Nocodazole-Induced Mitotic Arrest. *Molecular Carcinogenesis* **53(2)**: 125-137.
- CHU B, LIU F, LI L, DING C, CHEN K, SUN Q, SHEN Z, TAN Y, TAN C, JIANG Y (2015). A Benzimidazole Derivative Exhibiting Antitumor Activity Blocks EGFR And HER2 Activity and Upregulates DR5 In Breast Cancer Cells. *Cell Death & Disease* **6(3)**: E1686-E1686.
- CIRILLI M, BACHECHI F, UGHETTO G, COLONNA FP, CAPOBIANCO ML (1993). Interactions Between Morpholinyl Anthracyclines and DNA: The Crystal Structure of a Morpholino Doxorubicin Bound to d(CGTACG). *Journal of Molecular Biology* **230(3)**: 878-889.
- CZARNY A, BOYKIN DW, WOOD AA, NUNN CM, NEIDLE S, ZHAO M, WILSON WD (1995). Analysis of van der Waals and Electrostatic Contributions in the Interactions of Minor Groove Binding Benzimidazoles With DNA. *Journal of The American Chemical Society* **117(16)**: 4716-4717.
- DELORD JP, BENNOUNA J, DIERAS V, CAMPONE M, LEFRESNE F, ASLANIS V, DOUILLARD J-Y (2007). First-In-Man Study of Tafluposide, A Novel Inhibitor of Topoisomerase I And II. *Molecular Cancer Therapeutics* **6 (11 Supplement)**: A138.
- DEWEESE JE, OSHEROFF N (2009). The DNA Cleavage Reaction of Topoisomerase II: Wolf In Sheep's Clothing. *Nucleic Acids Research* **37(3)**: 738-748.
- DEY M, DEB K, DHAR SS (2011). $\text{VO}(\text{Acac})_2$ Catalyzed Condensation of O-Phenylenediamine With Aromatic Carboxylic Acids/Aldehydes Under Microwave Radiation Affording Benzimidazoles. *Chinese Chemical Letters* **22(3)**: 296-299.

- DILIP D, TAI-LIN C, YI-WEN L, TSAI-YI Y, MING-HSI W, TUNG-HU T, KRUNAL M, RAJESH K, TE-CHANG L, ANAMIK S, TSANN-LONG S (2017). Novel N-Mustard-Benzimidazoles /Benzothiazoles Hybrids, Synthesis And Anticancer Evaluation. *Anti-Cancer Agents In Medicinal Chemistry* **17(13)**: 1741-1755.
- DOBROSOTSKAYA I, HAMMER G, SCHTEINGART D, MATUREN K, WORDEN F (2011). Mebendazole Monotherapy And Long-Term Disease Control In Metastatic Adrenocortical Carcinoma. *Endocrine Practice* **17(3)**: 59-62.
- DRWAL MN, MARINELLO J, MANZO SG, WAKELIN LPG, CAPRANICO G, GRIFFITH R (2014). Novel DNA Topoisomerase II α Inhibitors From Combined Ligand-And Structure-Based Virtual Screening. *Plos One* **9(12)**: E114904.
- DUBEY R, HARI NARAYANA MOORTHY NS (2007). Comparative Studies On Conventional And Microwave Assisted Synthesis Of Benzimidazole And Their 2-Substituted Derivative With The Effect Of Salt Form Of Reactant. *Chemical And Pharmaceutical Bulletin* **55(1)**: 115-117.
- EL-NASSAN HB (2012). Synthesis, Antitumor Activity and SAR Study Of Novel [1,2,4]Triazino[4,5-A]Benzimidazole Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* **53**: 22-27.
- ELDERFIELD RC, KREYSA FJ (1948). The Reaction of O-Phenylenediamine and of 8-Amino-1,2,3,4-Tetrahydroquinoline Derivatives with Carbonyl Compounds. *Journal of The American Chemical Society* **70(1)**: 44-48.
- ELDERFIELD RC, MCCARTHY JR (1951). The Reaction of O-Phenylenediamines with Carbonyl Compounds. II. Aliphatic Ketones¹. *Journal of The American Chemical Society* **73(3)**: 975-984.
- FARR CJ, ANTONIOU-KOUROUNIOTI M, MIMMACK ML, VOLKOV A, PORTER ACG (2014). The α Isoform of Topoisomerase II Is Required For Hypercompaction Of Mitotic Chromosomes In Human Cells. *Nucleic Acids Research* **42(7)**: 4414-4426.
- FONSECA T, GIGANTE B, MARQUES MM, GILCHRIST TL, DE CLERCQ E (2004). Synthesis and Antiviral Evaluation of Benzimidazoles, Quinoxalines and Indoles From Dehydroabiatic Acid. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **12(1)**: 103-112.
- FORTUNE JM, OSHEROFF N (1998). Merbarone Inhibits The Catalytic Activity of Human Topoisomerase II By Blocking DNA Cleavage. *J Biol Chem.* **273(28)**:17643-17650.
- GABA M, GABA P, UPPAL D, DHINGRA N, BAHIA MS, SILAKARI O, MOHAN C (2015). Benzimidazole Derivatives: Search For GI-Friendly Anti-Inflammatory Analgesic Agents. *Acta Pharmaceutica Sinica.* **B 5(4)**: 337-342.

- GABA M, MOHAN C (2016). Development of Drugs Based On Imidazole And Benzimidazole Bioactive Heterocycles: Recent Advances And Future Directions. *Medicinal Chemistry Research* **25(2)**: 173-210.
- GAO YG, LIAW YC, LI YK, VAN DER MAREL GA, VAN BOOM JH, WANG AH (1991). Facile Formation of A Crosslinked Adduct Between DNA and the Daunorubicin Derivative MAR70 Mediated by Formaldehyde: Molecular Structure of The MAR70-D(CGTnACG) Covalent Adduct. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America* **88(11)**: 4845-4849.
- GHALIE RG, EDAN G, LAURENT M, MAUCH E, EISENMAN S, HARTUNG HP, GONSETTE RE, BUTINE MD, GOODKIN DE (2002). Cardiac Adverse Effects Associated with Mitoxantrone (Novantrone) Therapy In Patients with MS. *Neurology* **59(6)**: 909-913.
- GIRI BY, PRABAVATHI DEVI BLA, GANGADHAR KN, LAKSHMI KV, PRASAD RBN, LINGAIAH N, SAI PRASAD PS (2007). Simple And Efficient Method For The Synthesis of Benzimidazole Derivatives Using Monoammonium Salt of 12-Tungstophosphoric Acid. *Synthetic Communications* **37(14)**: 2331-2336.
- GOWDA NRT, KAVITHA CV, CHIRUVELLA KK, JOY O, RANGAPPA KS, RAGHAVAN SC (2009). Synthesis And Biological Evaluation Of Novel 1-(4-Methoxyphenethyl)-1H-Benzimidazole-5-Carboxylic Acid Derivatives and Their Precursors As Antileukemic Agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **19(16)**: 4594-4600.
- GÖKER H, ALP M, ATEŞ-ALAGÖZ Z, YILDIZ S (2009). Synthesis And Potent Antifungal Activity Against Candida Species of Some Novel 1H-Benzimidazoles. *Journal Of Heterocyclic Chemistry* **46(5)**: 936-948.
- GÖKER H, KUS C (1995). Synthesis Of 1,2,5(6)-Trisubstituted Benzimidazoles and Evaluation of Their Antimicrobial Activities. *Archiv Der Pharmazie* **328**: 425-430.
- GÖKER H, ÖZDEN S, YILDIZ S, BOYKIN DW (2005). Synthesis and Potent Antibacterial Activity Against MRSA of Some Novel 1,2-Disubstituted-1H-Benzimidazole-N-Alkylated-5-Carboxamidines. *European Journal Of Medicinal Chemistry* **40(10)**: 1062-1069.
- GREEN H, DAY AR (1942). The Tautomeric Character Of The Imidazole Ring. *Journal of The American Chemical Society* **64(5)**: 1167-1173.
- GUND T, COHEN NC (1996). 3-Molecular Modeling of Small Molecules. *Guidebook On Molecular Modeling In Drug Design*. San Diego, Academic Press: 55-92.
- GUPTA S, GOUW L, WRIGHT J, CHAWLA S, PITT D, WADE M, BOUCHER K, SHARMA S (2016). "Phase II Study of Amrubicin (SM-5887), A Synthetic 9-Aminoanthracycline, As First Line Treatment In Patients with Metastatic or

Unresectable Soft Tissue Sarcoma: Durable Response In Myxoid Liposarcoma with TLS-CHOP. *Translocation Investigational New Drugs* **34(2)**: 243-252.

GURKAN-ALP AS, GÖKER H, ALP M, OZKAN T, SUNGUROGLU A(2015). Synthesis and Anticancer Effects of Some Novel 2-(4-Phenoxyphenyl)-1*H*-Benzimidazole Derivatives on K562 Cell Line. *Archives Of Pharmacal Research* **38(5)**: 650-658.

HASANINEJAD A, NIKNAM K, ZARE A, FARSIMADAN E, SHEKOUHY M (2008). Silphox [POCl₃-n(SiO₂)n] as a New, Efficient, And Heterogeneous Reagent For The Synthesis of Benzimidazole Derivatives Under Microwave Irradiation. *Phosphorus, Sulfur, And Silicon And The Related Elements* **184(1)**: 147-155.

HEGDE M, SHARATH KUMAR KS, THOMAS E, ANANDA H, RAGHAVAN SC, ANGAPPA KS (2015). A Novel Benzimidazole Derivative Binds to the DNA Minor Groove and Induces Apoptosis In Leukemic Cells. *RSC Advances* **5(113)**: 93194-93208.

HEIN DW, ALHEIM RJ, LEAVITT JJ (1957). The Use of Polyphosphoric Acid in the Synthesis of 2-Aryl- And 2-Alkyl-Substituted Benzimidazoles, Benzoxazoles And Benzothiazoles¹. *Journal of The American Chemical Society* **79(2)**: 427-429.

HEINZ BA, VANCE LM (1995). The Antiviral Compound Enviroxime Targets The 3a Coding Region Of Rhinovirus And Poliovirus. *Journal Of Virology* **69(7)**: 4189-4197.

HINSBERG O (1886). Zur Constitution Der Aldehydine. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft* **19(2)**: 2025-2027.

HISANO T, ICHIKAWA M (1974). Acidic Properties of Benzimidazoles and Substituents Effects. I. Correlation Between Acid Dissociations and Hydrogen Bondings of Some Benzimidazoles. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **22(8)**: 1923-1927.

HOFFMANN K (1953). Imidazole And Its Derivatives. *Interscience Publishers, INC, NEW YORK*.

HOLLOWAY GA, BAELL JB, FAIRLAMB AH, NOVELLO PM, PARISOT JP, RICHARDSON J, WATSON KG, STREET IP (2007). Discovery of 2-Iminobenzimidazoles as a New Class of Trypanothione Reductase Inhibitor by High-Throughput Screening. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **17(5)**: 1422-1427.

HOTINSKI AK, LEWIS ID, ROSS DM (2015). Vosaroxin Is A Novel Topoisomerase-II Inhibitor with Efficacy In Relapsed And Refractory Acute Myeloid Leukaemia. *Expert Opinion On Pharmacotherapy* **16(9)**: 1395-1402.

HOWELL JR, RASMUSSEN M (1993). Heterocyclic Ambident Nucleophiles. V. Alkylation of Benzimidazoles. *Aust. J. Chem.* **46**: 1177-1191.

- HU W, HUANG XS, WU JF, YANG L, ZHENG YT, SHEN YM, LI ZY, LI X (2018). Discovery Of Novel Topoisomerase II Inhibitors By Medicinal Chemistry Approaches. *Journal of Medicinal Chemistry* **61(20)**: 8947-8980.
- IEMURA R, HORI M, OHTAKA H (1989). 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. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **37(4)**: 962-966.
- ISAMBERT N, CAMPONE M, BOURBOULOUX E, DROUIN M, MAJOR A, YIN W, LOADMAN P, CAPIZZI R, GRIESHABER C, FUMOLEAU P (2010). Evaluation of the Safety of C-1311 (Symadex) Administered In A Phase 1 Dose Escalation Trial As A Weekly Infusion For 3 Consecutive Weeks In Patients With Advanced Solid Tumours. *European Journal Of Cancer* **46(4)**: 729-734.
- IWAHI T, SATOH H, NAKAO M, IWASAKI T, YAMAZAKI T, KUBO K, TAMURA T, IMADA A (1991). Lansoprazole, A Novel Benzimidazole Proton Pump Inhibitor, And Its Related Compounds Have Selective Activity Against Helicobacter Pylori. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy* **35(3)**: 490-496.
- JAIN CK, ROYCHOUDHURY S, MAJUMDER HK (2015). Selective Killing of G2 Decatenation Checkpoint Defective Colon Cancer Cells By Catalytic Topoisomerase II Inhibitor. *Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Molecular Cell Research* **1853(5)**: 1195-1204.
- JENSEN LH, RENODON-CORNIÈRE A, NITISS KC, HILL BT, NITISS JL, JENSEN PB, SEHESTED M (2003). A Dual Mechanism of Action of the Anticancer Agent F 11782 on Human Topoisomerase II alpha. *Biochemical Pharmacology* **66(4)**: 623-631.
- JIANG X (2005). Random Mutagenesis Of The B'A' Core Domain Of Yeast DNA Topoisomerase II and Large-Scale Screens Of Mutants Resistant To The Anticancer Drug Etoposide. *Biochemical And Biophysical Research Communications* **327(2)**: 597-603.
- JOHNSON RK, WODINSKY I, SWINIARSKI J, MEANEY KF, CLEMENT JJ (1979). Interaction of Gamma Irradiation with Two New Antineoplastic Agents, Aziridinylbenzoquinone (AZQ) and 4'-(Acridinylamino)Methanesulfon-M-Anisidine (AMSA), in Murine Tumors In Vivo. *International Journal Of Radiation Oncology Biology Physics* **5(9)**: 1605-1609.
- JONES G, WILLETT P, GLEN RC, LEACH AR, TAYLOR R (1997). Development And Validation of A Genetic Algorithm For Flexible Docking. *Journal Of Molecular Biology* **267(3)**: 727-748.
- KARAASLAN C, BAKAR F, GOKER H (2018). Antiproliferative Activity of Synthesized Some New Benzimidazole Carboxamidines Against MCF-7 Breast Carcinoma Cells. *Zeitschrift Für Naturforschung C*. **73(3-4)**: 137-145.

- KARTHIKEYAN C, SOLOMON VR, LEE H, TRIVEDI P (2017). Synthesis And Biological Evaluation of 2-(Phenyl)-3H-Benzo[D]Imidazole-5-Carboxylic Acids And Its Methyl Esters as Potent Anti-Breast Cancer Agents. *Arabian Journal Of Chemistry* **10**: S1788-S1794.
- KATRITZKY AR, RACHWAL S, OLLMANN R (1994). New Routes To Selectively Methylated Benzimidazoles. *Journal Of Heterocyclic Chemistry* **31(4)**: 775-779.
- KELLNER U, SEHESTED M, JENSEN PB, GIESELER F, RUDOLPH P (2002). Culprit And Victim -- DNA Topoisomerase II. *The Lancet Oncology* **3(4)**: 235-243.
- KERIMOV I, AYHAN-KILCIGIL G, CAN-EKE B, ALTANLAR N, İSCAN M(2007). Synthesis, Antifungal and Antioxidant Screening of Some Novel Benzimidazole Derivatives. *Journal of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry* **22(6)**: 696-701.
- KIM JS, GATTO B, YU C, LIU A, LIU LF, LAVOIE EJ(1996). Substituted 2,5'-Bi-1H-Benzimidazoles: Topoisomerase I Inhibition And Cytotoxicity. *Journal Of Medicinal Chemistry* **39(4)**: 992-998.
- KIM SO, SAKCHAISRI K, THIMMEGOWDA N. R, SOUNG NK, JANG JH, KIM YS, LEE KS, KWON YT, ASAMI Y, AHN JS, ERIKSON RL, KIM BY (2013). STK295900, A Dual Inhibitor Of Topoisomerase 1 And 2, Induces G2 Arrest in the Absence of DNA Damage. *Plos One* **8(1)**: E53908.
- KING FE, ACHESON RM (1949). 297. The Synthesis Of Benzimidazoles From Ortho-Phenylenediamines And Imino-Ethers. *Journal Of The Chemical Society (Resumed)* 1396-1400.
- KITCHEN DB, DECORNEZ H, FURR JR, BAJORATH J (2004). Docking and Scoring In Virtual Screening For Drug Discovery: Methods And Applications. *Nature Reviews Drug Discovery* **3(11)**: 935-949.
- KOKOSZA K, ANDREI G, SCHOLS D, SNOECK R, PIOTROWSKA DG (2015). Design, Antiviral And Cytostatic Properties Of Isoxazolidine-Containing Amonafide Analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **23(13)**: 3135-3146.
- KRALOVA V, HANUŠOVÁ V, CALTOVÁ K, ŠPAČEK P, HOCHMALOVÁ M, SKÁLOVÁ L, RUDOLF E (2018). Flubendazole and Mebendazole Impair Migration and Epithelial to Mesenchymal Transition In Oral Cell Lines. *Chemico-Biological Interactions* **293**: 124-132.
- LARSEN AK, ESCARGUEIL AE, SKLADANOWSKI A (2003). Catalytic Topoisomerase II Inhibitors In Cancer Therapy. *Pharmacology & Therapeutics* **99(2)**: 167-181.
- LASKOWSKI T, BORZYSZKOWSKA J, GRYNDA J, MAZERSKI J (2017). C-1311 (Symadex), A Potential Anti-Cancer Drug, Intercalates Into DNA Between A And G

- Moieties. NMR-Derived And MD-Refined Stereostructure of The D(GAGGCCTC)2:C-1311 Complex. *Journal Of Molecular Structure* **1141**: 357-367.
- LEE ISH, JEOUNG EH, LEE CK (1996). Synthesis And Tautomerism of 2-Aryl- And 2-Heteroaryl Derivatives Of Benzimidazole. *Journal Of Heterocyclic Chemistry* **33(6)**: 1711-1716.
- LENGAUER T, RAREY M (1996). Computational Methods For Biomolecular Docking. *Current Opinion In Structural Biology* **6(3)**: 402-406.
- LI P, ZHANG W, JIANG H, LI Y, DONG C, CHEN H, ZHANG K, DU Z (2018). Design, Synthesis and Biological Evaluation Of Benzimidazole–Rhodanine Conjugates as Potent Topoisomerase II Inhibitors. *Med. Chem. Comm* **9(7)**: 1194-1205.
- LIPINSKI CA (2004). Lead- and Drug-Like Compounds: The Rule-Of-Five Revolution. *Drug Discovery Today: Technologies* **1(4)**: 337-341.
- LIPINSKI CA, LOMBARDO F, DOMINY BW, FEENEY PJ (1997). Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* **23(1)**: 3-25.
- LIU B, QIN H, ZHANG Y (2018). An Efficient and Facile Synthesis of Deuterium-Labeled Anticancer Agent Bendamustine Hydrochloride. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **61(11)**: 869-874.
- LIU T, SUN C, XING X, JING L, TAN R, LUO Y, HUANG W, SONG H, Z. LI Z, ZHAO Y (2012). Synthesis and Evaluation of 2-[2-(Phenylthiomethyl)-1H-Benzo[D]Imidazol-1-yl]Acetohydrazide Derivatives as Antitumor Agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **22(9)**: 3122-3125.
- LIVRAGHI L, GARBER JE (2015). PARP Inhibitors in the Management of Breast Cancer: Current Data And Future Prospects. *BMC Medicine* **13(1)**: 188.
- LYU YL, KERRIGAN JE, LIN CP, AZAROVA AM, TSAI YC, BAN Y, LIU LF (2007). Topoisomerase II β –Mediated DNA Double-Strand Breaks: Implications In Doxorubicin Cardiotoxicity and Prevention By Dexrazoxane. *Cancer Research* **67(18)**: 8839-8846.
- MAJI B, KUMAR K, KAULAGE M, MUNIYAPPA K, BHATTACHARYA S (2014). Design and Synthesis of New Benzimidazole–Carbazole Conjugates For The Stabilization of Human Telomeric DNA, Telomerase Inhibition, and Their Selective Action on Cancer Cells. *Journal of Medicinal Chemistry* **57(16)**: 6973-6988.
- MARIANA B, MERCEDES G (2005). Imidazole And Benzimidazole Derivatives as Chemotherapeutic Agents. *Mini-Reviews In Medicinal Chemistry* **5(4)**: 409-424.

- MCKELLAR QA, SCOTT EW (1990). The Benzimidazole Antihelmintic Agents-A Review. *Journal Of Veterinary Pharmacology And Therapeutics* **13(3)**: 223-247.
- MORDENTE A, MEUCCI E, MARTORANA EG, GIARDINAB, MINOTTI G (2008). Human Heart Cytosolic Reductases and Anthracycline Cardiotoxicity. *IUBMB Life* **52(1)**: 83-88.
- MORIARTY E, CARR M, BONHAM S, CARTY MP, ALDABBAGH F (2010). Synthesis and Toxicity Towards Normal And Cancer Cell Lines Of Benzimidazolequinones Containing Fused Aromatic Rings and 2-Aromatic Ring Substituents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **45(9)**: 3762-3769.
- NAKAGAWA T, HAYASHITA Y, MAENO K, MASUDA A, SUGITO N, OSADA H, YANAGISAWA K, EBI H, SHIMOKATA K, TAKAHASHI T (2004). Identification of Decatenation G2 Checkpoint Impairment Independently of DNA Damage G2 Checkpoint in Human Lung Cancer Cell Lines. *Cancer Research* **64(14)**: 4826-4832.
- NAVARRETE-VÁZQUEZ G, ROJANO-VILCHIS MDM, YÉPEZ-MULIA L, MELÉNDEZ V, GERENA L, HERNÁNDEZ-CAMPOS A, CASTILLO R, HERNÁNDEZ-LUIS F (2006). Synthesis and Antiprotozoal Activity of some 2-(Trifluoromethyl)-1H-Benzimidazole Bioisosteres. *European Journal Of Medicinal Chemistry* **41(1)**: 135-141.
- NICHOLAS DA, BRIAN G (2017). Topoisomerase II Inhibitors and Poisons, and the Influence of Cell Cycle Checkpoints. *Current Medicinal Chemistry* **24(15)**: 1504-1519.
- NITISS JL (2009). Targeting DNA Topoisomerase II in Cancer Chemotherapy. *Nature Reviews Cancer* **9(5)**: 338-350.
- OHEMENG KA, ROTH B (1991). Receptor-Based Design of Novel Dihydrofolate Reductase Inhibitors: Benzimidazole and Indole Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry* **34(4)**: 1383-1394.
- OKSUZOGLU E, TEKINER-GULBAS B, ALPER S, TEMİZ-ARPACI O, ERTAN T, YILDIZ I, DIRIL N, SENER-AKI E, YALCIN I (2008). Some Benzoxazoles And Benzimidazoles as DNA Topoisomerase I and II Inhibitors. *Journal Of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **23(1)**: 37-42.
- OMAR MA, SHAKER YM, GALAL SA, ALI MM, KERWIN SM, LI J, TOKUDA H, RAMADAN RA, EL DIWANI HI (2012). Synthesis and Docking Studies of Novel Antitumor Benzimidazoles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **20(24)**: 6989-7001.
- OPREA TI, DAVIS AM, TEAGUE SJ, LEESON PD(2001). Is There A Difference Between Leads And Drugs? A Historical Perspective. *Journal Of Chemical Information and Computer Sciences* **41(5)**: 1308-1315.

- OREN İ, TEMİZ O, YALÇIN I, ŞENER E, ALTANLAR N(1999). Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Novel 2,5-and/or 6-Substituted Benzoxazole And Benzimidazole Derivatives. *European Journal Of Pharmaceutical Sciences* **7(2)**: 153-160.
- PEDINI M, ALUNNI BISTOCCHI G, DE MEO G, LEPRI E, BASTIANINI L(1999). New Heterocyclic Derivatives Of Benzimidazole with Germicidal Activity: Part XIII. In Vitro Aromatase Inhibitory Activity; Preliminary Observations. *Il Farmaco* **54(5)**: 327-330.
- PHILIPPE M, ELSA D, CLAUDE M, EMMANUEL B (2004). Etoposide: Discovery and Medicinal Chemistry. *Current Medicinal Chemistry* **11(18)**: 2443-2466.
- PHILLIPS MA (1928A). XXV.—The Formation of 2-Methylbenziminazoles. *Journal Of The Chemical Society (Resumed)* 172-177.
- PHILLIPS MA (1928B). CCCXVII.—The Formation Of 2-Substituted Benziminazoles. *Journal of The Chemical Society (Resumed)* 2393-2399.
- PINAR A, YURDAKUL P, YILDIZ I, TEMİZ-ARPACI O, ACAN NL, AKI-SENER E, YALCIN I (2004). Some Fused Heterocyclic Compounds as Eukaryotic Topoisomerase II Inhibitors. *Biochemical And Biophysical Research Communications* **317(2)**: 670-674.
- POMMIER Y, LEO E, ZHANG H, MARCHAND C (2010). DNA Topoisomerases and Their Poisoning by Anticancer and Antibacterial Drugs. *Chemistry & Biology* **17(5)**: 421-433.
- POGORELCNIK B, PERDIH A, SOLMAJER T (2013). Recent Advances in the Development of Catalytic Inhibitors of Human DNA Topoisomerase II α As Novel Anticancer Agents. *Current Medicinal Chemistry* **20(5)**: 694-709.
- POMMIER Y, SUN Y, HUANG SYN, NITISS JL (2016). Roles of Eukaryotic Topoisomerases in Transcription, Replication and Genomic Stability. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **17(11)**: 703-721.
- POOL WO, HARWOOD HJ, RALSTON AW (1937). 2-Alkylbenzimidazoles as Derivatives for the Identification Of Aliphatic Acids. *Journal Of The American Chemical Society* **59(1)**: 178-179.
- QINGZHI G, LULU Y, YONGQIANG Z (2010). Pharmacophore Based Drug Design Approach as a Practical Process In Drug Discovery. *Current Computer-Aided Drug Design* **6(1)**: 37-49.
- RANJITH KP, SIJI M, DIVIA N, HARIDAS K (2010). Tetra Butyl Ammonium Chloride Catalyzed Synthesis of Substituted Benzimidazoles Under Microwave Conditions. *Journal of The Korean Chemical Society* **54(5)**: 589-593.

- RAVANDI F, RITCHIE EK, SAYAR H, LANCET JE, CRAIG MD, VEY N, STRICKLAND SA, SCHILLER GJ, JABBOUR E, ERBA HP, PIGNEUX A, HORST HA, RECHER C, KLIMEK VM, CORTES J, ROBOZ GJ, ODENIKE O, THOMAS X, HAVELANGE V, MAERTENS J, DERIGS HG, HEUSER M, DAMON L, POWELL BL, GAIDANO G, CARELLA AM, WEI A, HOGGE D, CRAIG AR, FOX JA, WARD R, SMITH JA, ACTON G, MEHTA C, TUART RK, KANTARJIAN HM (2015). Vosaroxin Plus Cytarabine Versus Placebo Plus Cytarabine In Patients with First Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukaemia (Valor): A Randomised, Controlled, Double-Blind, Multinational, Phase 3 Study. *The Lancet Oncology* **16(9)**: 1025-1036.
- REDDY TS, KULHARI H, REDDY VG, BANSAL V, KAMAL A, SHUKLA R(2015). Design, Synthesis and Biological Evaluation of 1,3-Diphenyl-1H-Pyrazole Derivatives Containing Benzimidazole Skeleton as Potential Anticancer And Apoptosis Inducing Agents. *European Journal Of Medicinal Chemistry* **101**: 790-805.
- RIDLEY HF, SPICKETT RGW, TIMMIS GM (1965). A New Synthesis Of Benzimidazoles and Aza-Analogs. *Journal Of Heterocyclic Chemistry* **2(4)**: 453-456.
- ROGERS KS, CLAYTON CC (1972). Effects of pH on Benzimidazole Fluorescence. *Analytical Biochemistry* **48(1)**: 199-201.
- SABAT M, VANRENS JC, LAUFERSWEILER MJ, BRUGEL TA, MAIER J, GOLEBIEWSKI A, DE B, EASWARAN V, HSIEH LC, WALTER RL, MEKEL MJ, EVDOKIMOV A, JANUSZ MJ (2006). The Development Of 2-Benzimidazole Substituted Pyrimidine Based Inhibitors of Lymphocyte Specific Kinase (LCK). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **16(23)**: 5973-5977.
- SALERNO S, SETTIMO FD, TALIANI S, SIMORINI F, MOTTA CL, FORNACIARI G, MARINI AM (2010). Recent Advances in The Development Of Dual Topoisomerase I and II Inhibitors as Anticancer Drugs. *Current Medicinal Chemistry* **17(35)**: 4270-4290.
- SCHNEIDER G, BÖHM HJ (2002). Virtual Screening and Fast Automated Docking Methods. *Drug Discovery Today* **7(1)**: 64-70.
- SHAKER YM, OMAR MA, MAHMOUD K, ELHALLOUTY SM, EL-SENOUSY WM, ALI MM, MAHMOUD AE, ABDEL-HALIM AH, SOLIMAN SM, EL DIWANI HI (2015). Synthesis, In Vitro And In Vivo Antitumor And Antiviral Activity of Novel 1-Substituted Benzimidazole Derivatives. *Journal Of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **30(5)**: 826-845.
- SHARGHI H, ASEMANI O, KHALIFEH R(2008). New One-Pot Procedure For The Synthesis of 2-Substituted Benzimidazoles. *Synthetic Communications* **38(7)**: 1128-1136.

- SHARMA P, REDDY TS, KUMAR NP, SENWAR KR, BHARGAVA SK, SHANKARAIAN N (2017). Conventional and Microwave-Assisted Synthesis of New 1H-Benzimidazole-Thiazolidinedione Derivatives: A Potential Anticancer Scaffold. *European Journal of Medicinal Chemistry* **138**: 234-245.
- SHERMAN W, DAY T, JACOBSON MP, FRIESNER RA, FARID R (2006). Novel Procedure For Modeling Ligand/Receptor Induced Fit Effects. *Journal of Medicinal Chemistry* **49(2)**: 534-553.
- SHOICHET BK, MCGOVERN SL, WEI B, IRWIN JJ (2002). Lead Discovery Using Molecular Docking. *Current Opinion In Chemical Biology* **6(4)**: 439-446.
- SINGH M, TANDON V (2011). Synthesis And Biological Activity of Novel Inhibitors of Topoisomerase I: 2-Aryl-Substituted 2-Bis-1H-Benzimidazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry* **46(2)**: 659-669.
- SMITH LI, HARRIS SA (1935). Studies on the Polymethylbenzenes. The Nitration of Pentamethylbenzene and of Hexamethyl- and Hexaethylbenzene. *J.Am.Chem.Soc.* **57**: 1289-1292.
- SMITH LI, MOYLE CL (1936). The Jacobsen Reaction. *J.Am.Chem.Soc.* **58**: 1-10.
- SMITH PJ, MORGAN SA, FOX ME, WATSON JV (1990). Mitoxantrone-DNA Binding and the Induction of Topoisomerase II Associated DNA Damage in Multi-Drug Resistant Small Cell Lung Cancer Cells. *Biochemical Pharmacology* **40(9)**: 2069-2078.
- SPAGNUOLO PA, HU J, HURREN R, WANG X, GRONDA M, SUKHAI MA, DI MEO A, BOSS J, ASHALI I, BEHESHTI ZAVAREH R, FINE N, SIMPSON CD, SHARMEEN S, ROTTAPPEL R, SCHIMMER AD (2010). The Antihelmintic Flubendazole Inhibits Microtubule Function Through a Mechanism Distinct from Vinca Alkaloids and Displays Preclinical Activity in Leukemia And Myeloma. *Blood* **115(23)**: 4824-4833.
- SUN Q, GATTO B, YU C, LIU A, LIU LF, LAVOIE EJ (1995). Synthesis And Evaluation of Terbenzimidazoles as Topoisomerase I Inhibitors. *J. Med. Chem* **38**: 3638-3644.
- TAN YJ, LEE YT, YEONG KY, PETERSEN SH, KONO K, TAN SC, OON CE (2018). Anticancer Activities of a Benzimidazole Compound Through Sirtuin Inhibition in Colorectal Cancer. *Future Medicinal Chemistry* **10(17)**: 2039-2057.
- TIWARI VK, BURGER L, NIKOLETOPOULOU V, DEOGRACIAS R, THAKURELA S, WIRBELAUER C, KAUT J, TERRANOVA R, HOERNER L, MIELKE C, BOEGE F, MURR R, PETERS AHFM, BARDE YA, SCHÜBELER D (2012). Target Genes Of Topoisomerase II β Regulate Neuronal Survival and are Defined By Their Chromatin State. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **109(16)**: E934-E943.

- TOLEDO-SHERMAN L, CHEN D (2002). High-Throughput Virtual Screening for Drug Discovery In Parallel. *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **5**: 414-421.
- TOYODA E, KAGAYA S, COWELL IG, KUROSAWA A, KAMOSHITA K, NISHIKAWA K, IIZUMI S, KOYAMA H, AUSTIN CA, ADACHI N (2008). NK314, A Topoisomerase II Inhibitor That Specifically Targets The Alpha Isoform. *The Journal of Biological Chemistry* **283**(35): 23711-23720.
- TRIVEDI R, DE SK, GIBBS RA (2006). A Convenient One-Pot Synthesis of 2-Substituted Benzimidazoles. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* **245**(1): 8-11.
- VEBER DF, JOHNSON SR, CHENG HY, SMITH BR, WARD WK, KOPPLE D (2002). Molecular Properties That Influence The Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry* **45**(12): 2615-2623.
- VERDOUW PD, HARTOG JM, DUNCKER DJ, ROTH W, SAXENA PR (1986). Cardiovascular Profile Of Pimobendan, A Benzimidazole-Pyridazinone Derivative with Vasodilating and Inotropic Properties. *European Journal of Pharmacology* **126**(1): 21-30.
- VINSOVA J, CERMAKOVA K, TOMECKOVA A, CECKOVA M, JAMPILEK J, CERMAK P, KUNES J, DOLEZAL M, STAUD F (2006). Synthesis and Antimicrobial Evaluation of New 2-Substituted 5,7-Di-Tert-Butylbenzoxazoles. *Bioorganic&Medicinal Chemistry* **14**(17): 5850-5865.
- WAGNER EC (1940). Some Reactions Of Amidines as Ammono-Carboxylic Acids or Esters. *The Journal of Organic Chemistry* **5**(2): 133-141.
- WAGNER LM (2015). Profile Of Veliparib and Its Potential in the Treatment of Solid Tumors. *Oncotargets and Therapy* **8**: 1931-1939.
- WANG JC (2002). Cellular Roles Of DNA Topoisomerases: A Molecular Perspective. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **3**: 430-440.
- WANG R, LU XX, YU XQ, SHI L, SUN Y (2007). Acid-Catalyzed Solvent-Free Synthesis of 2-Arylbenzimidazoles Under Microwave Irradiation. *Journal Of Molecular Catalysis A: Chemical* **266**(1): 198-201.
- WANG YR, CHEN SF, WU CC, LIAO YW, LIN TS, LIU KT, CHEN YS, LI TK, CHIEN TC, CHAN NL (2017). Producing Irreversible Topoisomerase II-Mediated DNA Breaks By Site-Specific Pt(II)-Methionine Coordination Chemistry. *Nucleic Acids Research* **45**(18): 10861-10871.
- WENDORFF TJ, SCHMIDT BH, HESLOP P, AUSTIN CA, BERGER JM (2012). The Structure of DNA-Bound Human Topoisomerase II Alpha: Conformational Mechanisms For Coordinating Inter-Subunit Interactions with DNA Cleavage. *Journal Of Molecular Biology* **424**(3): 109-124.

- WESSEL I, JENSEN LH, JENSEN PB, FALCK J, ROSE A, ROERTH M, NITISS JL, SEHESTED M (1999). Human Small Cell Lung Cancer NYH Cells Selected For Resistance to The Bisdioxopiperazine Topoisomerase II Catalytic Inhibitor ICRF-187 Demonstrate a Functional R162Q Mutation In The Walker A Consensus ATP Binding Domain of the α Isoform. *Cancer Research* **59(14)**: 3442.
- WIENEN W, ENTZEROTH M, MEEL JCA, STANGIER J, BUSCH U, EBNER T, SCHMID J, LEHMANN H, MATZEK K, KEMPTHORNE-RAWSON J, GLADIGAU V, HAUDEL NH (2006). A Review On Telmisartan: A Novel, Long-Acting Angiotensin II-Receptor Antagonist. *Cardiovascular Drug Reviews* **18(2)**: 127-154.
- WOLBER G, DORNHOFFER AA, LANGER T (2006). Efficient Overlay of Small Organic Molecules Using 3D Pharmacophores. *Journal of Computer Aided Molecular Design* **20(12)**: 773-778.
- WOLBER G, LANGER T (2005). LIGANDSCOUT: 3-D Pharmacophores Derived From Protein-Bound Ligands And Their Use as Virtual Screening Filters. *Journal Of Chemical Information And Modeling* **45(1)**: 160-169.
- WRIGHT JB (1951). The Chemistry of The Benzimidazoles. *Chemical Reviews* **48(3)**: 397-541.
- WU CC, LI TK, FARH L, LIN LY, LIN TS, YU YJ, YEN TJ, CHIANG CW, CHAN NL (2011). Structural Basis of Type II Topoisomerase Inhibition by the Anticancer Drug Etoposide. *Science* **333 (6041)**: 459-462.
- XIANGMING H, HUIQIANG M, YULU W. (2007). P-TsOH Catalyzed Synthesis of 2-Arylsubstituted Benzimidazoles. *Arkivoc* **13**: 150-154.
- YADAV G, GANGULY S (2015). Structure Activity Relationship (SAR) Study of Benzimidazole Scaffold For Different Biological Activities: A Mini-Review. *European Journal Of Medicinal Chemistry* **97**: 419-443.
- YALÇIN İ, ÖREN İ, ŞENER E, AKIN A, UÇARTÜRK N (1992). The Synthesis and the Structure-Activity Relationships of Some Substituted Benzoxazoles, Oxazolo(4,5-B)Pyridines, Benzothiazoles and Benzimidazoles as Antimicrobial Agents. *European Journal Of Medicinal Chemistry* **27(4)**: 401-406.
- YAN W, WANG X, DAI Y, ZHAO B, YANG X, FAN J, GAO Y, MENG F, WANG Y, LUO C, AI J, GENG M, DUAN W (2016). Discovery Of 3-(5'-Substituted)-Benzimidazole-5-(1-(3,5-Dichloropyridin-4-yl)Ethoxy)-1H-Indazoles as Potent Fibroblast Growth Factor Receptor Inhibitors: Design, Synthesis, and Biological Evaluation. *Journal Of Medicinal Chemistry* **59(14)**: 6690-6708.
- YOON YK, ALI MA, WEI AC, CHOON TS, OSMAN H, PARANG K, SHIRAZI AN (2014). Synthesis And Evaluation Of Novel Benzimidazole Derivatives As Sirtuin Inhibitors With Antitumor Activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **22(2)**: 703-710.

YOUNG D (2009). Computational Drug Design: A Guide For Computational and Medicinal Chemists. John Wiley & Sons, INC., Hoboken, New Jersey.

ZHANG LJ, XIA J, ZHOU YQ, WANG H, WANG SW (2012). Rare-Earth Metal Chlorides As Efficient Catalysts For The Simple And Green Synthesis of 1,2-Disubstituted Benzimidazoles And 2-Substituted Benzothiazoles Under Ultrasound Irradiation. *Synthetic Communications* **42(3)**: 328-336.

ZOETE V, GROSDIDIER A, MICHIELIN O (2009). Docking, Virtual High Throughput Screening And In Silico Fragment-Based Drug Design. *Journal Of Cellular And Molecular Medicine* **13(2)**: 238-248.

ZUCCHI R, DANESI R (2003). Cardiac Toxicity of Antineoplastic Anthracyclines. *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents* **3(2)**:151-171.



ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Özüm

Soyadı: Öztürk

Doğum Yeri ve Tarihi: Çanakkale, 27/01/1987

Uyruğu: T.C.

İletişim Adresi: Kuru Mahallesi Köknar sokak 7/9
Çayyolu / ANKARA

Cep: 0 530 087 2701

E-posta: ozozturk@ankara.edu.tr

II- Eğitimi

- 2013 – Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı (Doktora)
- 2010 – 2013 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı (Yüksek Lisans) (3,67/4)
- 2005 – 2010 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (Lisans) (3,24/4)
- 2001 – 2005 Çanakkale Milli Piyango Anadolu Lisesi
- 1997 – 2001 Çanakkale Merkez İlköğretim Okulu
- 1993 – 1997 Çanakkale Gazi İlköğretim Okulu

III- Ünvanları

- Eczacı
- Bilim Uzmanı

IV- Mesleki Deneyimi

- 2019 – Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (Eczacı)
- 2011 – 2019 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı (Araştırma Görevlisi)

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

- Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı ve Geliştirme Derneği
- Türk Farmasötik Ve Medisinal Kimya Derneği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınlar

- Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Tugba Taskin-Tok, Ozum Ozturk, Sanaz Ataei, Cigdem Ozen, İlkay Yıldız, Ismail Yalcin, "Evaluation of Inhibitory Effects of Benzothiazole and 3-Amino-benzothiazolium Derivatives on DNA Topoisomerase II by Molecular Modeling Studies", SAR and QSAR in Environmental Research, 25(8), 637-649, (2014) .
- Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin*, Tugba Ertan-Bolelli, Kayhan Bolelli, Andry Nur Hidayat, Ozlem Bingol-Ozakupinar, Filiz Ozdemir, Ismail Yalcin, "Possible Mechanism of Action of Neurokinin-1 Receptors (NK1R) Antagonists", Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5(11), 787-797 (2017).
- Esin Aki-Yalcin, Ozum Ozturk, Kayhan Bolelli, Ismail Yalcin, "Docking studies of neurokinin-1 receptor antagonists as an anticancer target", Macedonian pharmaceutical bulletin, 62 (suppl): 553-554, (2016). **(Kısa Makale)**

Sözlü Bildiriler

- Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin, Renate Griffith. Mechanism of Action of Benzazoles as Topoisomerase II Enzyme Inhibitors. 5th International Conference on Computation for Science and Technology (ICCST 2018), 23-26 September 2018, Antalya, Turkey.
- Ozum Ozturk, Tugba Ertan-Bolelli, Kayhan Bolelli, Serap Yilmaz, Ismail Yalcin, Esin Aki-Yalcin. Molecular Docking Analysis of Benzothiazole Benzothiazolium Derivatives as Human DNA Topoisomerase II Inhibitors. BIOVIA Turkish Regional User Meeting with A-Ztech Ltd, 10.04.2015, Istanbul, Turkey.
- Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, Kayhan Bolelli, Ismail Yalcin. Nörokinin-1 Reseptör Antagonistlerinin Moleküler Modelleme Çalışmaları. 2. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı Kursu, 16-17 Mayıs 2016, Istanbul, Türkiye.

Yazılı Bildiriler

- Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin, Renate Griffith. Molecular Modelling Studies of Some Benzazoles as Topoisomerase II Inhibitors. 22nd European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships (22nd EuroQSAR), Thessaloniki, Greece, P71: p267, 16-20 September 2018.
- Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin*, Kayhan Bolelli, Ismail Yalcin. Molecular Docking Studies Of Neurokinin-1 Receptor Antagonists, 11th AFMC

International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS2017), Melbourne, Australia, p128, 23-26 July 2017.

- Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin*, Ismail Yalcin. Molecular Modeling Studies of Human Topoisomerase II Inhibitors, 17th Hellenic Symposium on Medicinal Chemistry (HSMC-2017), Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece, P70: p112, 1-3 June 2017.
- Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Kayhan Bolelli, Serap Yilmaz, Ismail Yalcin. Molecular Modeling Studies of Neurokinin-1 Receptor Antagonists, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem-2015), Honolulu, Hawaii, USA, 10-HLTH-450: p294, 15-20 December 2015.
- Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Kayhan Bolelli, Serap Yilmaz, Ismail Yalcin. Pharmacophore generation of neurokinin-1 receptor antagonists as antitumor agents, EACR-Sponsored 3rd Anticancer Agent Development Congress, Dokuz Eylül University, Izmir, Turkey, PP-094: p151, 18-19 May 2015.
- Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Kayhan Bolelli, Serap Yilmaz, Ismail Yalcin. Common Pharmacophore Generation of Some Antitumor Agents, 8th International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2015), Chios, Greece, PO-1-02: p55, 21-25 June 2015.
- Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Kayhan Bolelli, Serap Yilmaz, Ilkay Yildiz, Ismail Yalcin. Common Feature Pharmacophore Generation of Neurokinin-1 Receptor Antagonists, 3rd ICCST September 23-25, 2014 Bali, Indonesia.
- Ozum Ozturk, Esin AKI-YALCIN, Tugba Ertan-Bolelli, Kayhan Bolelli, Serap Yilmaz, Sanaz Ataei, Ilkay Yildiz, Ismail Yalcin. Common Pharmacophore Feature Generation of DANN Topoisomerase II Enzyme Inhibitors, RICT Drug Selection and Discovery, July 3-5, 2013 Nice, France HT094:p268
- Ozum Ozturk, Esin AKI-YALCIN, Tugba Ertan-Bolelli, Kayhan Bolelli, Serap Yilmaz, Ilkay Yildiz, Ismail Yalcin. Docking Studies of Human Topoisomerase II Enzyme Inhibitors, BAU International Drug Design Symposium March 21-23, 2013 Istanbul, Turkey, P12:p64.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Burslar

10.2013-halen	TUBITAK	2211-A Genel Yurt İçi Doktora Bursiyeri
10.2017-03.2018	TUBITAK	2214-A Yurt Disi Doktora Sirasi Arastirma Bursiyeri (Sidney-Avustralya)

