



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİGUANİDİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ,
KAREKTERİZASYONU, ASETİL/BUTİRİL KOLİN
ESTERAZ İNHİBİTÖR ve ANTİBAKTERİYEL
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

JÜLİDE NACAROĞLU BALLI

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2023

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİGUANİDİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ,
KAREKTERİZASYONU, ASETİL/ BUTİRİL KOLİN
ESTERAZ İNHİBİTÖR ve ANTİBAKTERİYEL
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

JÜLİDE NACAROĞLU BALLI

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm

Jülide NACAROĞLU BALLI



Bu çalışma KSÜ Bilimsel Araştırma Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir (BAP Proje No: 2021/1-22D).

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

BİGUANİDİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU, ASETİL/BUTİRİL KOLİN ESTERAZ İNHİBİTÖR ve ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

(DOKTORA TEZİ)

Jülide NACAROĞLU BALLI

ÖZET

Alzheimer hastalığı (AH), genellikle yaşlı popülasyonda ortaya çıkan yaygın bir nörodejeneratif hastalıktır. AH tedavisi için önerilen hipotezlerden biri olan “kolinerjik hipotez” hastalık semptomlarının asetilkolin miktarında meydana gelen azalmayla birlikte oluşan bilişsel bozulmaya dayanmaktadır. Dünya sağlık örgütü tarafından onaylı ilaçlar asetil kolin esterazı inhibe ederek asetil kolin etkinliğini artırmaya yöneliktir. Bu ilaçların neden olduğu laktik asidoz, hipotermi ve toksisite gibi bazı yan etkileri görülmüştür.

Bu tez çalışmasında amin bileşiklerinin katılma reaksiyonları sonucunda biguanidin (A01-A09) bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen biguanidin tuzları, diketon bileşikler ile tepkimesinden diazin-biguanid (A10-A16) bileşikler sentezlenmiştir. Ayrıca biguanidin Cu(II) metal kompleksleri (A17-A25) sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları FTIR ve $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ NMR spektroskopileri ve elementel analiz metotları ile karakterize edilmiştir. X-ışını kırınımı yöntemiyle tek kristali elde edilen bileşiklerin (A06, A07, A11) moleküler yapıları belirlenmiştir. Bileşiklerin *in vitro* ortamda EeAChE ve EeBuChE enzimlerini inhibe etme potansiyelleri ve antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. Sentezlenen bileşikler referans Donepezil ($\text{IC}_{50} = 18,54 \mu\text{g/mL}$) ve galantaminle ($\text{IC}_{50} = 1,9 \mu\text{g/mL}$) kıyaslanmıştır. En iyi inhibitör özellik sergileyen bileşik A10 bileşiği ($\text{IC}_{50} = 4,83 \mu\text{g/mL}$) olmuştur. Biguanidinler çok çeşitli gram pozitif ve gram negatif bakteri, mantar, maya, virüs vb. karşı antimikrobiyal aktiviteleri göstermektedir. A08 bileşiğinin kullanılan mikroorganizmalara karşı en yüksek inhibisyon zonu (28 mm) gösterdiği bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Biguanid, 1,3-diazin, Alzheimer, İnhibitör, Antibakteriyel

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Ana Bilim Dalı, Ocak/ 2023

Danışman: Prof. Dr. Muhammet KÖSE

Sayfa sayısı: 159

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, INVESTIGATION of ACETYL/ BUTYRYLCHOLINESTERASE INHIBITOR and ANTIBACTERIAL PROPERTIES of BIGUANIDINE

(Ph.D THESIS)

Jülide NACAROĞLU BALLI

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a common neurodegenerative disease that usually occurs in the elderly population. The “*cholinergic hypothesis*” is based on the cognitive deterioration that occurs with the decrease in the amount of acetylcholine. Drugs approved by the World Health Organization are aimed at increasing the efficiency of acetylcholine by inhibiting acetyl choline esterase. Some side effects such as lactic acidosis, hypothermia and toxicity caused by these drugs have been observed.

In this thesis study, biguanidine (A01-A09) compounds were synthesized as a result of addition reactions of amine compounds. Diazine-biguanide (A10-A16) compounds were synthesized from the reaction of biguanidine salts with diketone compounds. In addition, biguanidine Cu(II) complexes (A17-A25) were synthesized. The structures of the compounds were characterized by FTIR and $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ NMR and elemental analysis methods. The crystal structures of compounds (A06, A07, A11) were determined. The potential of the compounds to inhibit EeAChE and EeBuChE enzymes and their antibacterial properties were investigated. The compounds were compared with reference Donepezil ($\text{IC}_{50}=18.54 \mu\text{g/mL}$) and galantamine ($\text{IC}_{50}=1.9 \mu\text{g/mL}$). Compound A10 exhibited the best inhibitory properties ($\text{IC}_{50}=4.83 \mu\text{g/mL}$). Biguanidines show antimicrobial activities towards gram-positive and gram-negative bacteria, fungi, yeast, viruses, *etc.* Compound A08 exhibited the highest inhibition zone (28 mm) against the microorganisms used.

Keywords: Biguanide, 1,3-diazine, Alzheimer's, Inhibitor, Antibacterial

Kahramanmaraş Sütçü İmam University
Institute for Graduate Studies in Science and Technology
Department of Chemistry, Jan / 2023

Supervisor: Prof. Dr. Muhammet KÖSE

Page number: 159

TEŞEKKÜR

Gerek yüksek lisans gerek doktora çalışmalarında bana her konuda yardımcı olan engin bilgi birikimi ve deneyimlerini aktaran iyikilerimden biri olan sayın Prof. Dr. Muhammet KÖSE hocama emekleri için teşekkür ederim.

Yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca engin bilgi ve birikimini aktaran her konuda desteğini hissettiğim Prof. Dr. Esin İSPİR'e, Prof. Dr. Mehmet TÜMER'e, Prof. Dr. Ferhan TÜMER ve Doç. Dr. Muharrem KARABÖRK'e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca öğrenim sürecinde bana yardımcı olan K.S.Ü. Kimya bölümü arkadaşlarım Dr.Öğr.Üyesi Seyit Ali GÜNGÖR'e, Dr. Özge GÜNGÖR'e, Dr.Hilal KIRPIK'a, Dr.Ayşegül Köse'ye ve Dr. Seda Nur KERTMEN KURTAR'a teşekkür ederim. Tez çalışmalarım süresince ÜSKİM de FTIR çalışmalarında bana yardımcı olan Öğr.Gör.Mahmut CAYLAR'a ve Öğr.Gör.Muhammet ÇELİK'e teşekkürlerimi sunarım. Antibakteriyel aktivite çalışmasıyla tezime destek veren Ferudun KOÇER'e teşekkür ederim. ÜSKİM de cihaz kullanımında yardımcı olan Halil İbrahim PALABIÇAK'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarında kullanılan sarf malzemeler ve analizler için finansal destek sağlayan Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Başkanlığı'na (BAP) (Proje No: 2021/1-22D) teşekkür ederim.

Attığım her adımda yanımda, sağımda, solumda, önümde ve arkamda olan iyikilerim sevgili EŞİM VE OĞLUM'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
EK ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi
EK ÇİZELLER DİZİNİ.....	xviii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Alzheimer Hastalığı.....	1
1.2. Kolinesterazlar	7
1.2.1. Kolinerjik Sinaptik İletimin Temel Prensipleri.....	7
1.2.2. Alzheimer Hastalığının Kolierjik Hipotezi.....	8
1.3. Biguanidinler	10
1.3.1. Biguanidin bileşiklerinin farmasötik tarihi	14
1.4. Biguanidin bileşiklerinin terapötik uygulamaları.....	16
1.4.1. Antidiyabetik	16
1.4.2. Antimalarial	17
1.4.3. Antikanser	18
1.4.4. Antimikrobiyal.....	20
1.4.5. Antitüberküloz	22
1.4.6. Antiviral	22
1.4.7. Antifilarial.....	23
1.4.8. Anti-tripanozomal	23
1.4.9. Yaşlanma karşıtı	24
1.5. Biguanidinin metal kompleksleri ve terapötik uygulamaları	24
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	25
3. MATERYAL VE METOT.....	52
3.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	52
3.2. Kullanılan cihazlar	53

3.3.	Metot	53
3.3.1.	A01-A09 bileşiklerinin sentezi	53
3.3.2.	A10-A13 bileşiklerinin sentezi	56
3.3.3.	A14-A16 bileşiklerinin sentezi	58
3.3.4.	A17-A25 Biguanidin Cu(II) komplekslerinin sentezi.....	60
3.3.5.	X-ışını Kırınımı Yöntemi ile Yapıların Aydınlatılması.....	62
3.3.6.	AChE ve BChE inhibisyon çalışmaları	62
3.3.7.	Antimikrobiyal aktivite.....	63
3.3.7.1.	Suşların Hazırlanması ve Ekimi	63
3.3.7.2.	Disklerin Hazırlanması ve Uygulanması.....	63
3.3.7.3.	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC).....	64
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	64
4.1.	Bileşiklerinin FTIR spektrumlarının değerlendirilmesi	66
4.2.	Bileşiklerinin ¹ H ve ¹³ C NMR Spektrumlarının Değerlendirilmesi.....	70
4.2.1.	A01-A09 ¹ H ve ¹³ C NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	70
4.2.2.	A10-A16 ¹ H ve ¹³ C NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	72
4.3.	A17-A25 bileşiklerinin kütle spektrumlarının değerlendirilmesi	75
4.4.	Bileşiklerin kristal yapıları	75
4.4.1.	A07 Bileşiğinin kristal yapısı	76
4.4.2.	A06 bileşiğinin kristal yapısı	77
4.4.3.	A11 bileşiğinin kristal yapısı	78
4.5.	Bileşiklerin enzim inhibisyon aktivitesi	80
4.6.	Antimikrobiyal aktivite bulguları Bulguları.....	92
4.7.	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) Bulguları	96
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	99
	KAYNAKLAR	100
	EKLER	122
	ÖZGEÇMİŞ	156

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C:	Derece santigrat
v:	Frekans
g:	Gram
δ :	Kimyasal kayma
mL:	Mililitre
mmol:	Milimol
cm:	Santimetre
µg:	Mikrogram
µL:	Mikrolitre
% :	Yüzde
MeOH	Metil alkol
EtOH:	Etil alkol
DMF:	Dimetilformamid
DMSO:	Dimetilsülfoksit
DKM:	Diklorometan
HCl	Hidroklorik asit
E.N. :	Erime noktası
M.A. :	Molekül ağırlığı
d₆-DMSO:	Dötero dimetilsülfoksit
¹H-NMR:	Proton Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi
¹³C-NMR:	Karbon Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi
FT-IR:	Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi
UV-Vis.:	Ultraviyole Görünür Alan Spektroskopisi
MS:	Kütle Spektrometresi
IC₅₀:	%50 inhibisyon için gerekli olan ilaç konsantrasyonu
Aβ	Amiloid-β
APP	Amiloid öncü proteini
ApoE4	Poliprotein E
NMDA	N-metil-D-aspartat
ROS	Reaktif oksijen
TBI	Travmatik beyin hasarı

CNS	Merkezi sinir sistemi
NAA	N-asetilaspartat
HLA	İnsan lökosit antijeni
PHF	Çift sarmal filament
MT	Mikrotübül
ACh	Asetilkolin
ChE	Kolinesteraz enzimi
ChEI	Kolinesteraz inhibitörü
Tc	Yılan balığı (Tarpedo californica)
BuChE	Butirilkolin esteraz
EeAChE	Asetilkolinesteraz
EqBuChE	Butirilkolinesteraz
ALT	Alanin aminotransferaz
ESI	Enzim supsurat inhibitörleri
XRD	X-ışını
HIV	AIDS'e yol açan virüs
DHFR	Dihidrofolat redüktaz
HSV-1	Herpes Simpleks virüsü1
TAAR-1	Reseptör protein 1
TAAR-5	Reseptör protein 5
A549	Akciger kanseri hücre hattı
UMUC3T24	Mesane kanseri hücre hattı
A2780	Yumurtalık kanseri hücre hattı
HCT116	Kolektal karsinom kanseri hücre hattı
MCF-7	Meme kanseri hücre hattı
BACE-1	Beta-sekretaz 1 proteini
PAS	Periferik anyonik bölge
OH	Oksiyonik bölge
AS	Anyonik alt bölge
ESI	Enzim-substrat inhibitörü
ES	Enzim -substrat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1-1 Auguste Deter (Alzheimer tanısı konulan ilk hasta).....	1
Şekil 1-2 Senil plak ve Nörofibriler yumak (Palmgren gümüş tekniği).....	1
Şekil 1-3 Alzheimer Hastalığının evreleri (prince, 2022)	2
Şekil 1-4 AH'nın beş ana patojenik hipotezi	4
Şekil 1-5 AH amiloid plak oluşumu	5
Şekil 1-6 Senil plak	5
Şekil 1-7 Nörofibriler yumak oluşumu.....	6
Şekil 1-8 Sağlıklı beyin ve Alzheimer hastası beyin.....	7
Şekil 1-9 Kolinerjik sinaptik iletimin temel prensipleri	8
Şekil 1-10 Kolinesteraz inhibitörleri Takrin, Rivastignin, Donepezil, Galantamin yapısı..	10
Şekil 1-11 Biguanidin ve farmasötik olarak kullanılan biguanidin türevleri	11
Şekil 1-12 Biguanidinin bilinen ilk sentez şeması.....	11
Şekil 1-13 Nötr ve protonlanmış biguanidin ayırt edici özellikleri	12
Şekil 1-14 Paludrin (1-p-klorofenil-5-izopropilbiguanidin) yapısı	14
Şekil 1-15 Bazı biguanidin bileşikleri ve kullanım alanları	15
Şekil 1-16 Pikloksidin ve PHMB Yapısı.....	16
Şekil 1-17 Amilbiguanidin ve isoamilbiguanidin yapısı	17
Şekil 1-18 Bami ve ark. tarafından sentezlenen biguanidin türevleri.....	18
Şekil 1-19 Paludrin (proguanil) ve p-klorofenil-N ⁵ -metil-N ⁵ -izopropilbiguanid yapısı	20
Şekil 1-20 BBD bis-guanidin dihidroklorür yapısı	22
Şekil 1-21 Anti-tripanozomal aktiviteye sahip biguanidin ve stilbamid yapısı	24
Şekil 2-1 Tetrahidroizokinolin biguanidin yapısı	27
Şekil 2-2 N ¹ -(2-(p-hidroksifenil)etil) hidroklorür ve alifatik halka içeren biguanidin yapısı	28
Şekil 2-3 Bileşik 14 ve 15 in Yapısı	29
Şekil 2-4 N'-arilamid biguanidin türevleri.....	29
Şekil 2-5 N'-3,4-diklorofenil-N ⁵ -izopropil biguanidin yapısı	30
Şekil 2-6 WR99210 ve PS-15 yapısı	31
Şekil 2-7 PS-26 ve PS-33 yapısı.....	32
Şekil 2-8 NT1014 yapısı.....	34
Şekil 2-9 Pirazol içeren biguanidinlerin yapıları.....	36

Şekil 2-10 Poliipeptit biguanidin Lysmet yapısı	37
Şekil 2-11 Feniletılbenzil biguanidin yapısı.....	38
Şekil 2-12 Tsubouchi ve ark. tarafından incelenen antibakteriyel potansiyel bileşiğin yapısı.....	40
Şekil 2-13 BVS-10A yapısı	42
Şekil 2-14 Benzensülfonil biguanidin türevleri	44
Şekil 2-15 Polietilenheksametilen biguanidin (PHMB) yapısı	44
Şekil 2-16 İkincil butil biguanidin ile kobalt (III) kompleksinin yapısı.....	45
Şekil 2-17 Trimetoprim, Pirimetamin ve B02-04/B02-07 bileşiklerinin yapısı.....	47
Şekil 2-18 Poliaminobiguanidin sınıfına ait bileşik 24'ün yapısı	47
Şekil 2-19 Metformin ve analoglarının Cu(II) kompleks yapıları.....	50
Şekil 2-20 Metformin tipi biguanidin ligandı.....	51
Şekil 3-1 A01-A09 Bileşiklerin sentez mekanizması.....	53
Şekil 3-2 N-(4,6-dimetilprimidin-2-yl)siyanamid bileşiğinin sentez reaksiyonu.....	56
Şekil 3-3 A10-A13 Bileşiklerinin Sentez Şeması.....	56
Şekil 3-4 A15-A17 bileşiklerinin sentez şeması.....	58
Şekil 3-5 Biguanidin metal kompleksleri sentezi	60
Şekil 4-1 Biguanidin bileşiklerinin (A01-A09) sentezi	64
Şekil 4-2 A10-A13 bileşikleri sentez şeması.....	65
Şekil 4-3 A14-A16 bileşikleri sentez şeması.....	65
Şekil 4-4 A17-A25 bileşiklerin sentez şeması.....	65
Şekil 4-5 A06 bileşiğine ait FT-IR spektrumu	68
Şekil 4-6 A13 bileşiğine ait FT-IR spektrumu	68
Şekil 4-7 A15 bileşiğine ait FT-IR spektrumu	69
Şekil 4-8 A20 bileşiğine ait FT-IR spektrumu	69
Şekil 4-9 A06 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları.	71
Şekil 4-10 A13 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	73
Şekil 4-11 A16 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	74
Şekil 4-12 a) A07·HCl kristal yapısı (termal elipsoid %50 olasılıkla çizilmiştir). b) Hidrojen bağ dimeri.....	76
Şekil 4-13 A07 kristal yapısına ait paketlenme diyagramı. Hidrojen bağları kesikli çizgilerle gösterilmiştir.	77

Şekil 4-14 a) A06 kristal yapısı (termal elipsoid %50 olasılıkla çizilmiştir). b) Hidrojen bağ dimeri.....	78
Şekil 4-15 A06 kristal yapısına ait paketlenme diyagramı. Hidrojen bağları kesikli çizgilerle gösterilmiştir.	78
Şekil 4-16 A11 kristal yapısı (termal elipsoid %50 olasılıkla çizilmiştir).	79
Şekil 4-17 A11 kristal paketlenme diyagramı (üstte) ve kristal yapıda gözlenen π - π etkileşimi (altta).....	80
Şekil 4-18 A01-A09 bileşiklerine ait AChE IC ₅₀ değerleri	83
Şekil 4-19 A01-A09 bileşiklerine ait BChE IC ₅₀ değerleri	83
Şekil 4-20 A01-A09 bileşiklerine ait seçicilik değerleri	84
Şekil 4-21 A10-A16 bileşiklerine ait AChE IC ₅₀ değerleri	86
Şekil 4-22 A10-A16 bileşiklerine ait BChE IC ₅₀ değerleri	87
Şekil 4-23 A10-A16 bileşiklerine ait seçicilik değerleri	87
Şekil 4-24 A17-A25 bileşiklerine ait AChE inhibisyon değerleri.....	90
Şekil 4-25 A17-A25 bileşiklerine ait BChE inhibisyon değerleri	90
Şekil 4-26 A17-A25 bileşiklerine ait seçicilik değerleri	91
Şekil 4-27 A01-A09 komplekslerinin biyolojik aktiviteleri (mm).....	92
Şekil 4-28 A10-A13 komplekslerinin biyolojik aktiviteleri (mm).....	93
Şekil 4-29 A14-A16 bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri (mm).....	94
Şekil 4-30 A17-A25 bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri (mm).....	95

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Kullanılan kimyasal maddeler.....	52
Çizelge 3.2 Kullanılan cihazlar	53
Çizelge 4.1 A01-A09 bileşiklerine ait asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon parametreleri.....	82
Çizelge 4.2 A10-A13 bileşiklerinin asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon parametreleri.....	85
Çizelge 4.3 A14-A16 bileşiklerinin asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon parametreleri.....	86
Çizelge 4.4 A17-A25 bileşiklerinin asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon parametreleri.....	89

EK ŞEKİLLER DİZİNİ

Ek Şekil 1 A01 bileşiğinin FT-IR spektrumu	123
Ek Şekil 2 A02 bileşiğinin FT-IR spektrumu	123
Ek Şekil 3 A03 bileşiğinin FT-IR spektrumu	124
Ek Şekil 4 A04 bileşiğinin FT-IR spektrumu	124
Ek Şekil 5 A05 bileşiği FT-IR spektrumu	125
Ek Şekil 6 A06 bileşiğinin FT-IR spektrumu	125
Ek Şekil 7 A07 bileşiğinin FT-IR spektrumu	126
Ek Şekil 8 A08 bileşiğinin FT-IR spektrumu	126
Ek Şekil 9 A09 bileşiğinin FT-IR spektrumu	127
Ek Şekil 10 N-(4,6-dimetilpirimidin-2-yl)siyanamid bileşiğinin FT-IR spektrumu	127
Ek Şekil 11 A10 bileşiğinin FT-IR spektrumu	128
Ek Şekil 12 A11 bileşiğinin FT-IR spektrumu	128
Ek Şekil 13 A12 bileşiğinin FT-IR spektrumu	129
Ek Şekil 14 A14 bileşiğinin FT-IR spektrumu	129
Ek Şekil 15 A16 bileşiğinin FT-IR spektrumu	130
Ek Şekil 16 A17 bileşiğinin FT-IR spektrumu	130
Ek Şekil 17 A18 bileşiğinin FT-IR spektrumu	131
Ek Şekil 18 A19 bileşiğinin FT-IR spektrumu	131
Ek Şekil 19 A21 bileşiğinin FT-IR spektrumu	132
Ek Şekil 20 A22 bileşiğinin FT-IR spektrumu	132
Ek Şekil 21 A23 bileşiğinin FT-IR spektrumu	133
Ek Şekil 22 A24 bileşiğinin FT-IR spektrumu	133
Ek Şekil 23 A25 bileşiğinin FT-IR spektrumu	134
Ek Şekil 24 A01 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	135
Ek Şekil 25 A02 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	136
Ek Şekil 26 A03 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	137
Ek Şekil 27 A04 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	138
Ek Şekil 28 A05 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	139
Ek Şekil 29 A07 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	140
Ek Şekil 30 A08 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	141
Ek Şekil 31 A09 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	142

Ek Şekil 32 A10 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	143
Ek Şekil 33 A11 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	144
Ek Şekil 34 A12 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	145
Ek Şekil 35 A14 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	146
Ek Şekil 36 A15 bileşiğinin $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ NMR spektrumları	147
Ek Şekil 37 A17 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu	148
Ek Şekil 38 A18 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu	148
Ek Şekil 39 A19 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu	149
Ek Şekil 40 A20 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu	149
Ek Şekil 41 A21 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu	150
Ek Şekil 42 A22 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu	150
Ek Şekil 43 A23 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu	151
Ek Şekil 44 A24 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu	151
Ek Şekil 45 A25 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu	152

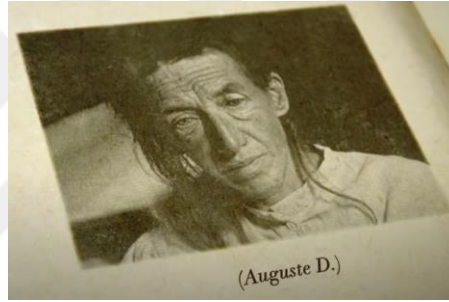
EK ÇİZELLER DİZİNİ

Ek Çizelge 1 A06 bileşiğine ait bağ uzunlukları Å.....	152
Ek Çizelge 2 A06 bileşiğine ait bağ açıları (°).....	153
Ek Çizelge 3 A06 bileşiğine ait hidrojen bağ verileri.....	153
Ek Çizelge 4 A11 bileşiğine ait bağ uzunlukları Å.....	154
Ek Çizelge 5 A11 bileşiğine ait bağ açıları (°).....	154
Ek Çizelge 6 A11 bileşiğine ait hidrojen bağ verileri.....	154
Ek Çizelge 7 A07 bileşiğine ait bağ uzunlukları Å.....	155
Ek Çizelge 8 A07 bileşiğine ait bağ açıları (°)	155
Ek Çizelge 9 A07 bileşiğine ait hidrojen bağ verileri	155

1. GİRİŞ

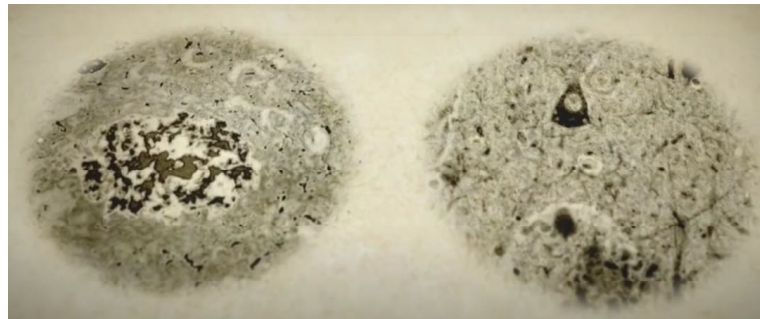
1.1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı ilk kez 1907'de Alman psikiyatrist Alois Alzheimer tarafından bildirilmiştir. 51 yaşındaki kadın hastası Auguste Deter'in (**Şekil 1-1**) kocasına karşı kıskançlık duyguları, artan hafıza bozukluğu, oryantasyon bozukluğu, halüsinasyonlar, genellikle yüksek sesli ve agresif davranış şikayetiyle başlamıştır. Dört buçuk yıl boyunca hızla kötüleşen Auguste Deter akıl hastalığından sonra hayatını kaybetmiştir. Alois Alzheimer, Auguste Deter'in ölümünden sonra yaptığı otopside beynin histopatolojik incelemesini yaparken hastasının beyinde senil plak ve nörofibriler yumak (**Şekil 1-2**) olarak adlandırılan iki tip lezyonun varlığını ortaya çıkarmış, serabral kortekste hastalığın belirgin sonuçlarına varmıştır.



Şekil 1-1 Auguste Deter (Alzheimer tanısı konulan ilk hasta)

Bielschowsky gümüş tekniğini kullanarak beyninin postmortem histolojik analizi ile serebral kortek sinir hücrelerinde (nörofibriler yumaklar veya NFT'ler) yoğun fibril demetleri ve çok sayıda fokal lezyon ortaya çıkarmıştır (**Şekil 1-2**). Bu lezyon Simchowicz tarafından "yaşlılık plakları" olarak adlandırılmıştır (Simchowicz, 1911).



Şekil 1-2 Senil plak ve Nörofibriler yumak (Palmgren gümüş tekniği).

Alzheimer hastalığı, hafıza ve bilişsel davranışlarda eksiklikler günlük yaşam aktivitelerini (ADL) gerçekleştirme yeteneğindeki bozulmalar, nörodejeneratif bir durum olarak tarif edilmektedir (R. J. Perry ve Hodges, 2000; G. W. Small ve diğerleri, 1997). Alzheimer hastalığını tanımlamak adına birçok evreleme sistemi ortaya konmuştur. En yaygın olanı beyin patolojisi evrelemesi ve klinik evreleme sistemi olmuştur. Beyin patolojisi evrelemesi, bunama ile ilgili beyin anormalliklerinin büyüklüğü hakkında bilgi verirken, klinik evreleme, yıllar içinde beklenen fonksiyonlardaki düşüş hakkında bilgi vermektedir.

Klinik ihtiyaçlar, demansın hafif, orta ve şiddetli evreleri arasında önemli ölçüde değişmektedir. Alzheimer hastalığı, demansın başlamasından yıllar önce beyinde başlamaktadır. Son dönemlerde Demans ile yaşayan birçok insan için "Erken evre", "Orta evre" ve "Geç evre" şeklinde pratik bir demans evreleme sistemi kullanılmaktadır. 1982 yılında Barry Reisberg ve ark. "Küresel Bozulma Ölçeği" adı verilen yedi aşamalı bir çerçeve önererek, klinisyenler ve bakıcılar için uzun yıllar kullanılmasını sağlamışlardır (Reisberg, Ferris, De Leon ve Crook, 1982). Bu sayısal evrelemenin bir varyasyonu, 2021 yılında Ulusal Yaşlanma Enstitüsü - Alzheimer Derneği (NIA-AA) çalışma grubu tarafından altı aşama kullanılarak önerilmiştir (**Şekil 1-3**) (Gonnella, Goran, Williamson ve Cotsonas, 1970; Kurt A, 2019).



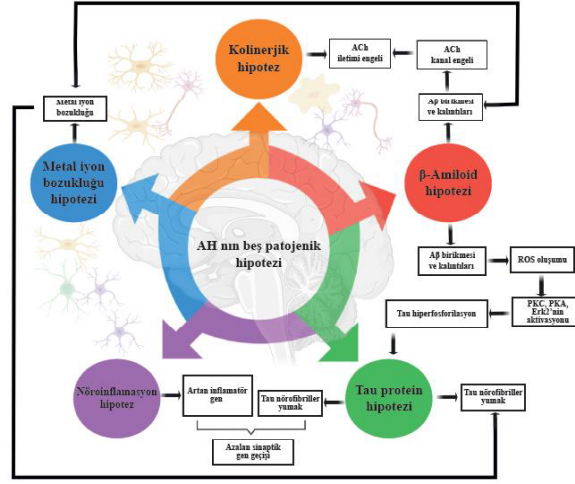
Şekil 1-3 Alzheimer Hastalığının evreleri (prince, 2022)

NAI-AA sayısal klinik evreleme sistemi; Alzheimer hastalığı devam eden bireylere uygulanmaktadır, (1) Demans öncesi evre, semptomsuz olarak hastalığın sessiz bir evresine

sahiptir, (2) ikinci aşama hafıza azalması hissi ile karakterize edilmektedir, (3) üçüncü demans öncesi aşama, normal seviyelerin altındaki hafıza ile karakterize edilir, ancak unutkanlık, kişinin günlük yaşam aktiviteleri üzerinde hafif bir etki yaratmaktadır. Bu aşamaya hafif bilişsel bozukluk denmektedir. (4) Hafif demans evresi, anormal hafıza, dikkat veya dil becerileri, kişinin olağan işlerinde (finans, alışveriş vb.) bağımsız olarak hareket yeteneğini engellemektedir. (5) Orta derecede demans evresi, temel aktivitelerde bozulma ile birlikte günlük yaşam üzerindeki yaygın fonksiyonel etki ile karakterize edilmektedir. Kişi günlük yaşam aktivitelerinde sık sık yardıma ihtiyaç duymaktadır. (6) Şiddetli demans, günlük yaşamda ciddi fonksiyonel etkiye bağlı olarak öz bakım da dahil olmak üzere temel aktivitelerde bozulma olmakta ve hasta tam bağımlı hale gelmektedir.

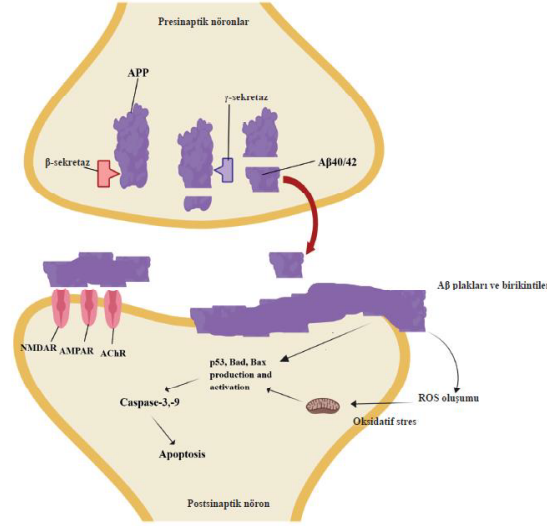
Başka bir bakış açısı biyolojiktir: Dünya çapında yüzlerce gönüllüyü içeren araştırmalar, demansa yol açan durumların klinik öncesi aşamalara sahip olduğunu ve muhtemel semptomları geciktirmek için önleme stratejilerine veya semptomlar belirginleştğinde klinik ilerlemeyi yavaşlatacak hastalığın seyrini değiştirebilecek tedaviler bulunabileceğini göstermektedir.

Bilim ve teknolojinin sürekli gelişmesi ve araştırmaların kademeli olarak derinleşmesiyle birlikte birçok klinik araştırma AH'nın bağımsız bir hastalık olmadığını çeşitli metabolik bozuklukların birden fazla patojenik faktörün indüklenmesi ile ortaya çıktığını göstermiştir. Şu ana kadar yapılan çalışmalar kolinerjik, β -amiloid, Tau protein, metal iyon bozukluğu ve nöroinflamasyon hipotezi olmak üzere beş farklı patogeneze hipotez öne sürülmüştür. Mevcut AH modelinde, bu beş hipotez arasında çeşitli sinerjik ve karşılıklı olarak güçlendirici ilişkiler olduğunu göstermektedir (**Şekil 1-4**).



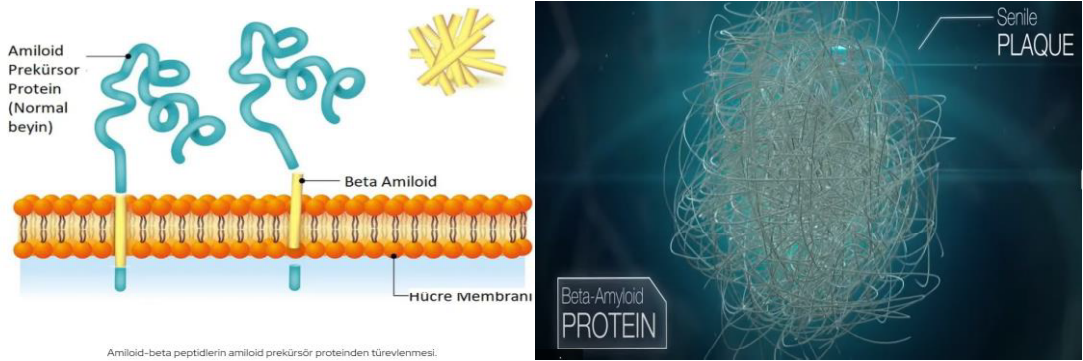
Şekil 1-4 AH'nın beş ana patojenik hipotezi

β -amiloid hipotezi; beynin nöronlardan oluştuğu ve sinapsların geniş ağ şeklinde bağlantılardan oluştuğu bilinmektedir. Bu hipotezin ana fikri, normal ve patolojik durumlarda membran içi amiloid öncü proteininin (APP) farklı gelişimidir. Normal koşullar altında, APP ilk önce sAPP ve C83 karboksi-terminal parçası üretmek için α -sekretaz tarafından bölünür. sAPP sinaptik sinyalleşme ile ilgili olup öğrenme, hafıza, duygusal davranış, sinirsel iletim ve hayatta kalmayla ilgili bağlantı kurar. Hastalık durumlarında, APP sırasıyla β -sekretaz ve γ -sekretaz tarafından bölünür ve $A\beta_{40/42}$ adı verilen hücre dışı bir fragmanı serbest bırakır. Bu nörotoksik fragmanlar birikerek plaklar oluşturur (Şekil 1-5). $A\beta_{40/42}$ agregasyonu, iyon kanallarının tıkanmasına, kalsiyum homeostazının dengesizliğine, mitokondriyal oksidatif strese, metabolizmada enerji bozulmasına, glikozun düzensizliğine ve sonuçta nöronal hücre ölümüne yol açmaktadır (LaFerla et al., 2007; Sisodia & St George-Hyslop, 2002).



Şekil 1-5 AH amiloid plak oluşumu

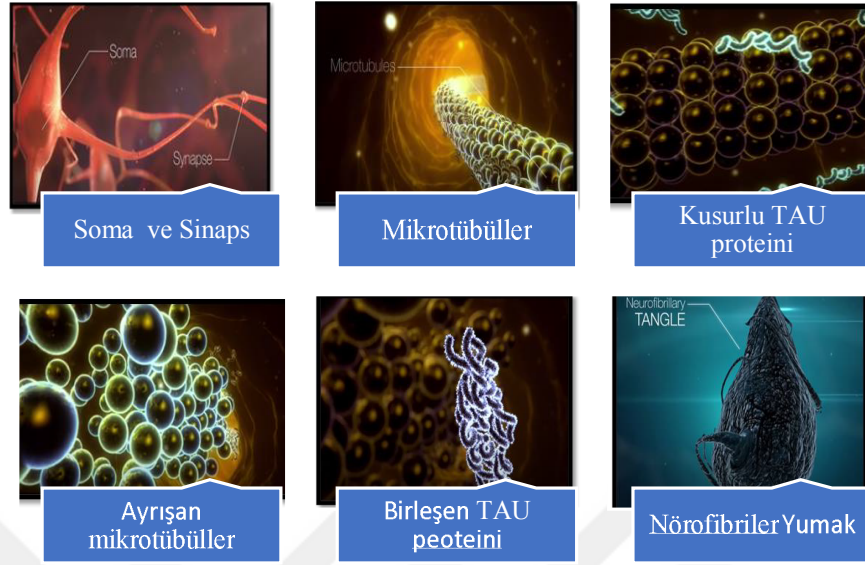
Tau protein hipotezi, nöronun yüzeyinde büyük bir protein APP (Amyloid Öncü Protein) vardır. APP normalde yüzeydeki enzimler tarafından parçalanır ve amiloid beta adı verilen protein oluşur (Şekil 1-6). Beta amiloid proteini normal şartlarda vücutta temizlenir. Alzheimer hastalığı durumunda amiloid beta proteini temizlenmez ve bir araya gelerek fibrinler oluşturmak için toplanarak senil plakları oluşturur (Şekil 1-6).



Şekil 1-6 Senil plak

Nörofibriler yumaklar (Şekil 1-7) nasıl oluşur? Bir nöron diğeriyle iletişim kurduğunda, somadan sinapsa bilgi aktarmak için bir sinyal gönderir. Sinyal, oluşan nöron iskeleti olan mikrotübüllerden geçer. Bu mikrotübüller stabilize normal TAU proteinleri tarafından kusurlu hale gelmektedir. Kusurlu TAU proteini mikrotübüllerden diğer parçalara yayılır böylece nöronun iskeleti korunmadığı için mikrotübülde ayrışma başlar ve arızalı TAU proteinleri nörondaki filamentleri oluşturmak için birleşir. İskelet olmadığından

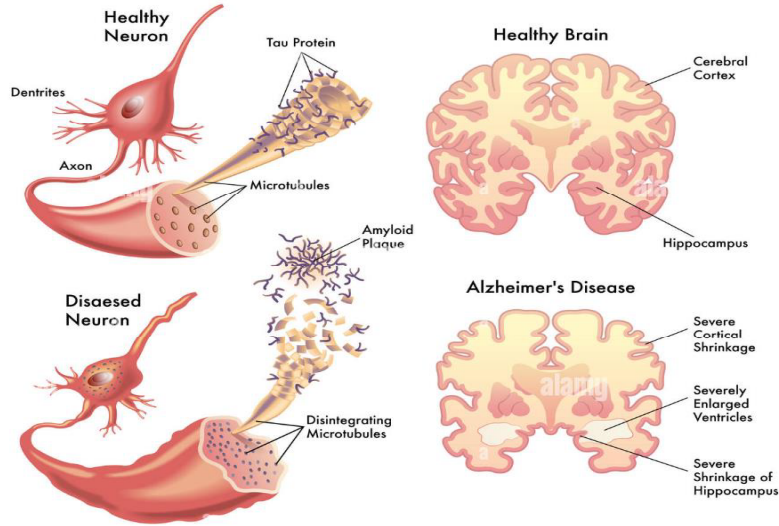
nöronlar dejenere olur, nöronlar arasındaki bağlantılar kaybolur. TAU filamentlerinin nöronda anormal birikimi sonunda nörofibriler yumaklara neden olur.



Şekil 1-7 Nörofibriler yumak oluşumu

Son yıllarda, A β ve tau proteini sarma ve düğümlleme arasında sinerjik bir etki olduğunu göstermiştir. A β çökmesinin bir dizi reaksiyonu tetikleyerek, tau proteininin yanlış katlanarak birleşmesine yol açtığını, bu lezyonların tüm nöral devre ve kortekse yayıldığı sonunda sinir sistemi tükenmesine ve bilişsel gerilemeye yol açtığını göstermektedir (Busche ve diğerleri, 2019). Araştırmacılar fonksiyonel manyetik rezonans ve tau-A β pozitron emisyon bilgisayarlı tomografisini (PET) birleştirerek bilişsel olarak normal bireylerin serebral korteksindeki A β 'nin hastalıklı tau proteininin sinir hücrelerinin dışına yayılma olasılığını artırdığını bildirmişlerdir (Pascoal ve diğerleri, 2017)

Hipokampus hafıza ve öğrenme için beynin etkili bölümü olup nörofibriler yumaklar ve senil plaklar beyinde hipokampus denilen bölge de gelişir. Süreçte atrofiye yani küçülmeye (**Şekil 1-8**) neden olur ve bu da beyinde işlev bozukluğu yaratır. Lezyonlar ilerledikçe hafıza sorunları, ardından dil sorunları, tanıma ve jest yapamama gibi bilişsel yetersizlikler oluşur. **Şekil 1-8**'de sağlıklı beyin normal büyüklükte, Alzheimer hastası beyin atrofiye şekilde görülmektedir.



Şekil 1-8 Sağlıklı beyin ve Alzheimer hastası beyin

1.2. Kolinesterazlar

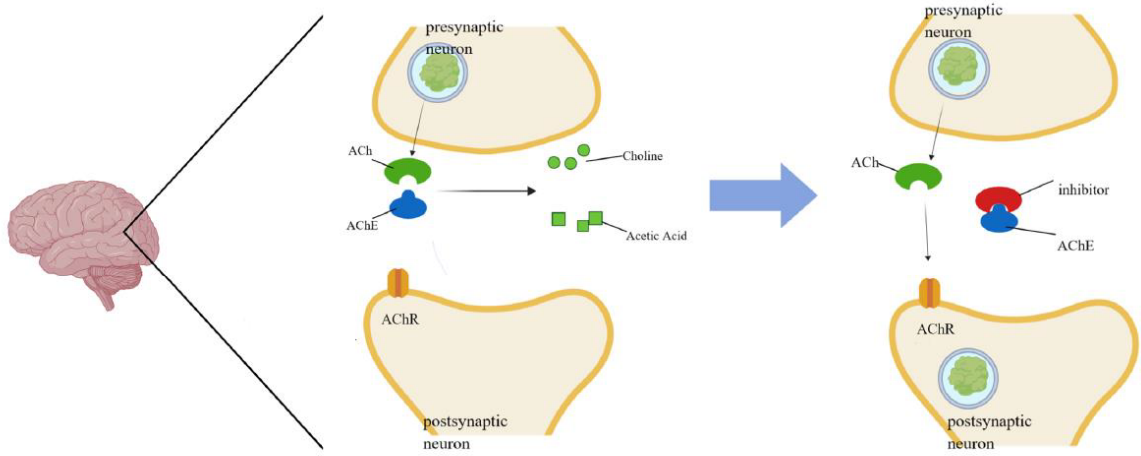
Kolinesterazlar, Asetilkolin (ACh)'nin kolinerjik nöronun yenilenmesine izin veren önemli bir süreç olan kolinesterazların kolin ve asetik aside hidrolizini katalize eden bir enzim ailesi olarak tarif edilmektedir. Kolinesterazlar Asetilkolinesteraz (AChE) ve Butirilkolinesteraz (BuChE) olarak ikiye ayrılmaktadır. Bugüne kadar Alzheimer hastalığının tedavisine yönelik en başarılı yaklaşım, asetilkolinesterazın inhibisyonu yoluyla kolinerjik iletimin artırılması olmuştur.

1.2.1. Kolinerjik Sinaptik İletimin Temel Prensipleri

Kolinesteraz inhibitörlerinin farmakolojik özelliklerini anlamak için öncelikle üzerinde etki ettikleri nörotransmitter sistemi anlamak önemlidir. Kolinerjik sinaptik iletimin temel özellikleri **Şekil 1-9**'da gösterilmektedir.

Asetilkolin, kolinerjik nöronlarda asetil koenzim A'dan (Asetil CoA) ve kolinden kolin asetiltransferaz enziminin etkisiyle üretilmektedir. Asetil CoA bir glikoliz ürünüdür ve kolinerjik terminallerde bulunan yüksek afiniteli kolin alım taşıyıcısı tarafından nöronlara geri döndürülmektedir. Asetilkolin, veziküler asetilkolin taşıyıcısının etkisiyle veziküllerde konsantre edilmekte ve presinaptik hücreden salınmaktadır. (Albuquerque, 1995; Lechleiter, Peralta ve Clapham, 1989). Presinaptik nöronlarda ACh, kesecikler yoluyla presinaptik zara aktarılır ve çıkıntı boşluğuna salındıktan sonra ACh, Asetilkolinesteraz (AChE)'in etkisi

altında kolin ve asetik aside ayrıştırılır. İnhibitör kullanıldıktan sonra AChE, inhibitöre bağlanır, böylece ACh parçalanmaz ve sorunsuz bir şekilde postsinaptik nörona girer.



Şekil 1-9 Kolinerjik sinaptik iletimin temel prensipleri

Asetilkolinesterazın ana işlevi, kolinerjik sinir iletiminin sonlandırmaktır, ancak butirikolinesterazın sağlıklı insandaki işlevi henüz net bir şekilde açıklanamamıştır (Primo-Parmo ve diğerleri, 1996). İnsanlarda zayıf butirikolinesteraz fenotipine sahip, görünüşte sağlıklı bireylerin varlığı ve toplam asetilkolinesteraz eksikliği raporlarının bulunmaması, butirikolinesterazın memelilerde körelmiş bir enzim olabileceğini düşündürmüştür (Cooper, 1994; Li ve diğerleri, 2000). Asetilkolin esterazı yıkılmış fareler test edilmiş, bu fareler gelişimsel gecikmeler göstermiş ve özel bakım olmadan yetişkinliğe kadar hayatta kalamamışlardır (Mesulam ve diğerleri, 2002; Warburton, 1992). Butirikolinesterazın, asetilkolinesteraz aktivitesinin önemli ölçüde azaldığı veya inhibe edildiği koşullar altında asetilkolini metabolize eden bir yedekleme sistemi olarak işlev görebileceği düşünülmüştür (Giacobini, 2001; D. H. Small, 1995).

1.2.2. Alzheimer Hastalığının Kolinerjik Hipotezi

“Kolinerjik hipotez” Alzheimer hastalığı olan hastalarda, ölüm sonrası kolin asetiltransferaz ve asetilkolinesteraz gibi kolinerjik belirteçlerin kaybı olarak tanımlanmıştır (E. K. Perry, Perry, Blessed ve Tomlinson, 1977; Rønneberg, Nordgarden, Skaare ve Willumsen, 2019; Wilcock, Esiri, Bowen ve Smith, 1982). Geç evre Alzheimer hastalığında zihinsel test verileri ve demans şiddetinin kolinerjik anormalliklerle korelasyonu, kolinerjik hipotezi destekler nitelikte sonuçlanmıştır (Bartus RT, 3rd, B ve AS., 1982; E. Perry ve diğerleri, 1996).

Hafif şiddetli Alzheimer hastalığından şiddetli Alzheimer hastalığına doğru asetilkolin sentezinin düştüğünü gösteren bazı klinik patolojik kanıt olmasına rağmen (Francis ve diğerleri, 1985), Alzheimer hastalığının erken evrelerinde, kolin asetiltransferaz ve veziküler asetilkolin taşıyıcı seviyelerinin nispeten korunduğu görülmüştür. Hafif Alzheimer hastası ve aynı yaştaki kontrol grubu hastalarda, midfrontal kortekste kolin asetiltransferaz seviyelerinin benzer olduğu tespit edilmiştir (Davis ve diğerleri, 1999).

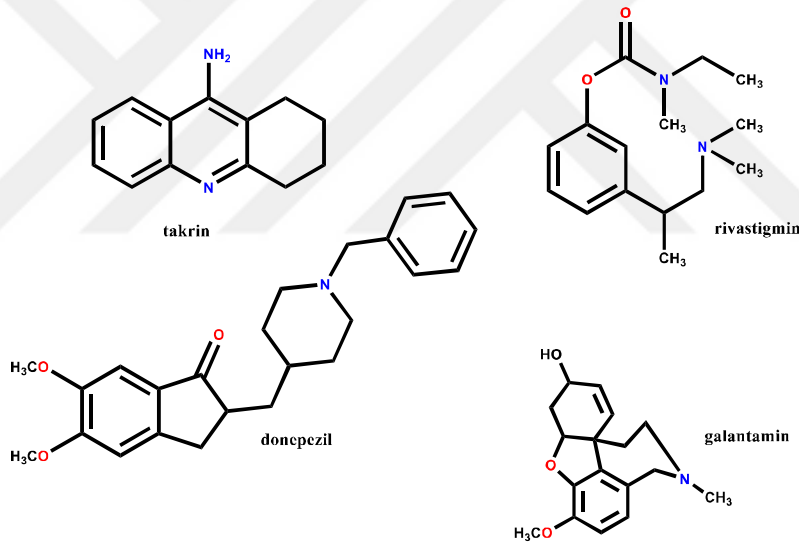
Alzheimer hastalığı olan bir hastanın günlük yaşam aktiviteleri gerçekleştirme yeteneğinin biliş seviyeleri ile ilişkili olduğu Mini-Zihinsel Durum Sınavı (MMSE) tarafından tespit edilmiştir (D. Galasko, 1998; Douglas Galasko ve diğerleri, 1997; K. S. Kim, Lee ve Suh, 2005). Alzheimer hastalığının kolinerjik açığını tedavi etmek için benimsenen ilk strateji kolinerjik öncülerin kullanılması olmuştur. Asetil kolinin öncüleri olan lesitin ve fosfatidilkolin test edilmiş, ancak Alzheimer hastalığının tedavisinde tutarlı etkiler gösterememiştir (Heyman ve diğerleri, 1987; Levy, Little, Chuaqui ve Reith, 1983).

Kolinesteraz inhibitörü fizostigmin, 19 sağlıklı gönüllüde plaseboya karşı bilginin uzun süreli belleğe depolanmasını önemli ölçüde arttırmıştır (Davis ve diğerleri, 1978)(Thompson, Stough, Ames, Ritchie ve Nathan, 2000). Tek dozluk donepezil (5 mg) incelemesi, mecamilaminin neden olduğu yavaşlama süresini kısmen tersine çevirdiği bildirilmiştir (Thompson ve diğerleri, 2000). Sıçanlarda yapılan klinik öncesi deneyler, Kolinesteraz inhibitörlerinin hipotermi ve titremeyi (Kirkby, Jones, Barnes ve Higgins, 1996) indükleyebildiğini ve kortikal asetilkolin seviyelerini artırabileceğini göstermiştir (Cuadra, Summers ve Giacobini, 1994; Kosasa, Kuriya, Matsui ve Yamanishi, 1999; Scali ve diğerleri, 2002; Snape ve diğerleri, 1999).

Takrin ve donepezil uygulaması, bilişsel testlerde performansı artırmış ve bilişsel görevlerde skopolamin kaynaklı bozukluğu kısmen tersine çevirmiştir (Kirkby ve diğerleri, 1996). Kolinesteraz inhibitörü galantamin, beyin asetilkolinesterazı önemli ölçüde inhibe etmiş, fakat hipotermiye neden olmuştur (Mutlib, Rush ve Selk, 1996). Takrin ve donepezil, çok sayıda kolinerjik nöronun kaynağı olan çekirdek *bazalis magnoselularis* lezyonları olan sıçanlarda kortikal asetilkolin konsantrasyonlarını arttırmıştır (Rogers, Yamanishi ve Yamatsu, 1991). Galantamin, çekirdek *bazalis magnoselularis* lezyonlu farelerdeki performans açığını zamana bağlı bir şekilde azaltmıştır (J. E. Sweeney, Puttfarcken ve Coyle, 1989). Kontrol farelerinde, galantamin, zamana bağlı bir şekilde kortikal asetilkolinesteraz aktivitesini önemli ölçüde azaltmış ve kortikal asetilkolin seviyelerini

önemli ölçüde artırmıştır (J. E. Sweeney ve diğerleri, 1989). Bu veriler, kolinesteraz inhibitörlerinin, insanlarda bilişte yer alan hem nikotinik hem de muskarinik kolinerjik yolları etkilediğini göstermiştir.

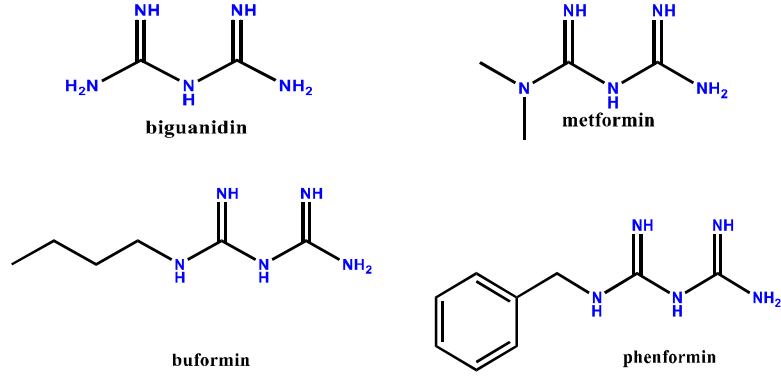
Pozitron emisyon tomografisi (PET) kullanılarak yürütülen Alzheimer hastalığı olan tedavi edilmemiş veya plasebo ile tedavi edilen hastalarda bölgesel beyin glikoz metabolizmasında (RBGM) azalma bildirilmiştir (Ibáñez ve diğerleri, 1998; Meltzer ve diğerleri, 1996). Takrin (Nordberg ve diğerleri, 1992), rivastigmin (Potkin ve diğerleri, 2001) ve donepezil (Tune ve diğerleri, 2003) gibi kolinesteraz inhibitörleri alanlar beyin glikoz metabolizmasında ya stabilizasyon yada gelişme göstermiştir (Harkins, Taylor, Mattay ve Regelson, 1997; Staff, Gemmell, Shanks, Murray ve Venneri, 2000; Venneri ve diğerleri, 2002). Sadece rivastigmin, donepezil, galantamin gibi kolinesteraz inhibitörleri grubundan ve memantin gibi N-metil-D-aspartat (NMDA) antagonist grubundan ilaçlar onaylanmıştır (**Şekil 1-10**) (Giacobini, 2004; Melnikova, 2007).



Şekil 1-10 Kolinesteraz inhibitörleri Takrin, Rivastigmin, Donepezil, Galantamin yapısı

1.3. Biguanidinler

Organik bir bileşik olan biguanidin $\text{HN}(\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2)_2$ formülüne sahip, suda çözündüğünde bazik renksiz bir katıdır. Çözeltileri amonyak ve üreye hidrolize olmaktadır. Farmasötik olarak halen kullanılan bazı biguanidin türevleri metformin, buformin, phenformin vb. **Şekil 1-11**'de verilmiştir.

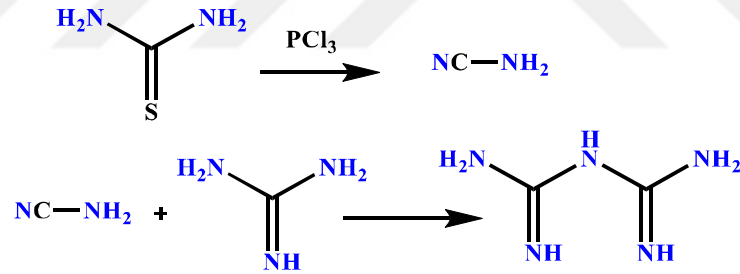


Şekil 1-11 Biguanidin ve farmasötik olarak kullanılan biguanidin türevleri

Biguanidinler elektronca zengin π -konjuge sistemle fonksiyonel $N-C(N)=N-C(N)=N$ kısımla elektron taşımaktadır. Elektron zenginlikleri nedeniyle oldukça baziktirler, bu nedenle tıbbi kimyada çoğunlukla monoprotonlu halde kullanılırlar.

Biguanidinin bilinen ilk sentezi;

Rathke 1878-1879 yılları arasında tioüre, fosfor triklorür ve guanidin reaksiyonu yoluyla çok düşük bir verimle yeni bir bileşik elde etmiş ve bu bileşiğe “biguanid” adını vermiştir (**Şekil 1-12**) (Prugnard ve Noel, 1996a).

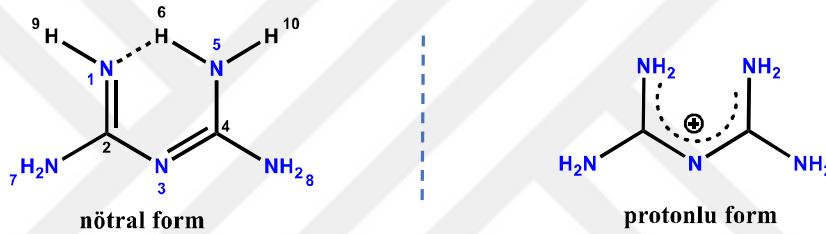


Şekil 1-12 Biguanidinin bilinen ilk sentez şeması

Rathke ortaya çıkan yeni ürünün bir bakır sülfat çözeltisi ile reaksiyona girerek bakırsülfata dönüştüğünü ve biguanidin kompleksinin pembe kristaller verdiğini fark etmiştir. Smolka ve Friedreich 1888 yılında siyanoguanidin'in etanol içinde amonyum klorür ile muamele edilmesiyle (Smolka ve Friedreich, 1888), Bamberger ve Dieckmann ise 1892'de amonyum klorürün siyanoguanidin ile 195°C'de birkaç dakika doğrudan füzyonuyla biguanidin sentezlemişlerdir (Bamberger ve Dieckmann, 1892).

2005 yılında Bharatam ve ark. tarafından biguanidin türevleri yapısı ve elektronik yapı ayrıntıları araştırılmıştır (Bharatam, Patel ve Iqbal, 2005). Elektronik yapı çalışmaları,

protonlanmış biguadinlerin potansiyel olarak konjuge sistemlerden ziyade koordinasyon bağları olan azot gibi davrandığını göstermiştir (Kathuria, Arfeen, Bankar ve Bharatam, 2016; Kurzer ve Pitchfork, 2006). **Şekil 1-13**'te nötr ve protonlanmış biguanidin ayırt edici özellikleri verilmiştir. İki değerli N1 özelliği, metformin (D. S. Patel ve Bharatam, 2009), proguanil (D. S. Patel ve Bharatam, 2011), moroksidin (Kathuria ve diğerleri, 2016), klorheksidin (Kathuria ve diğerleri, 2016) , aleksidin (Kathuria, Arfeen, Bankar ve Bharatam, 2016) gibi tüm biguanidin içeren ilaçlarda değerlendirilmiştir. Tuz formunda olan biguanidinler iki değerli N1 karakteri benimsemiştir. Nitreonlar doğada temel halde bulunmazlar ve proton afiniteleri de oldukça düşüktür (<150 kcal / mol) (D. S. Patel ve Bharatam, 2009; Sánchez ve Ercoli, 1965), bir azot merkezinde iki çift elektron taşımaları nedeniyle , protonlanmış türlerin biyolojik çalışmalar için uygunluğu tespit edilmiştir (Bharatam ve diğerleri, 2016; Kathuria ve diğerleri, 2016).



Şekil 1-13 Nötr ve protonlanmış biguanidin ayırt edici özellikleri

- | | |
|----------------------------|------------------------------|
| • Konjuge sistem | • Konjugasyon kaybı |
| • Molekül içi H-bağ | • Molekül içi H-bağ kaybı |
| • 1,5 H-bağ kayması | • Rezonans stabilitesi kaybı |
| • Yüksek moleküler sertlik | • Moleküler sertlik azalması |

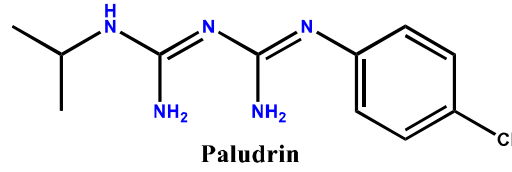
Biguadinlerin yüksek yoğunluklu, yüksek azot içeriği, düşük karbon içeriği, yüksek oluşum ısıları ve termoabilite (ısıtıldığında değişme) gibi özelliklere sahip olması enerjik moleküller olarak kullanılmalarına yol açmıştır (Tao, Guo, Joo, Twamley ve Shreeve, 2008)(Martin, Pinkerton ve Schiemann, 1996). Mono-, -diprotonlu (biguanidinium katyonu) ve delokalize μ -elektronlardaki sert iskeleti ile birlikte güçlü hidrojen bağlama yeteneği, doğrusal olmayan optik (NLO) malzemelerin hazırlanmasında biguadinlerin kullanılmasını sağlamıştır (Martin ve diğerleri, 1996).

Bilinen tıbbi kullanımlarının yanı sıra, biguanidinlerin çeşitli kimyasal uygulama alanları ;

- i) metal kompleksleri (Veisi, Kordestani ve Faraji, 2014)(A. Alizadeh, Khodaei, Kordestania ve Beygzadeh, 2013),
- ii) heterosiklik bileşiklerin sentezi için substrat (Milks, Kennerly ve Polevy, 1962a)(Overberger ve Shapiro, 1954)
- iii) organokataliz (Gelbard ve Vielfaure-Joly, 1998)(Fortun, Beauclair ve Schmitzer, 2020),
- iv) kristal mühendisliği (Şerb, Kalf ve Englert, 2014)(Portalone ve Colapietro, 2004),
- v) enerjik malzemeler (Tao ve diğerleri, 2008)(Martin ve diğerleri, 1996)(Martin ve Pinkerton, 1996)(Martin, Pinkerton, Gilardi ve Bottaro, 1997),
- vi) doğrusal olmayan optikler (NLO)(Tadjouteu Assatse, Ejeh, Tchoffo ve Ndjaka, 2019), vb. şeklinde sıralanabilir.

Biguanidinler N,N'-bidentat ligandlardır ve bu nedenle kararlı metal kompleksleri oluşturma yeteneğine sahiptirler. Biguanidinlerin metal kompleksleşme özellikleri ve çeşitli metal kompleksleri 1960 yılında Ray tarafından incelenmiştir (Ray, 1961). Bu kompleksler, Suzuki-Miyara (A. Alizadeh ve diğerleri, 2013)(Yang, Ma ve Bian, 2016), Heck (Yang ve diğerleri, 2016) ve Ullmann eşleşme (Ghorbani-Vaghei, Hemmati ve Veisi, 2013)(Veisi ve Morakabati, 2015), Henry reaksiyonu (Veisi, Kordestani, Hemmati, Faraji ve Veisi, 2014), alkollerin aerobik oksidasyonu (Veisi, Kordestani, Hemmati, ve diğerleri, 2014) ve hidrojenasyon gibi çeşitli organik dönüşümlerde katalizör olarak kullanılmıştır. Triazinler (Overberger ve Shapiro, 1954)(H. Chen, Dao, Laporte ve Garbay, 2010), kinazolinler (Rosowsky, Protopapa, Burke ve Modest, 1964)(Rosowsky, Chen, Nadel, Papathanasopoulos ve Modest, 1972), pirimidinler (Urbański, Serafin ve Żylowski, 1967), bor heterosiklikler (Milks, Kennerly ve Polevy, 1962b) gibi çeşitli biyolojik aktif heterosiklikler, substrat olarak biguanidin kullanılarak sentezlenmiştir. Biguanidinlerin organo katalizörler olarak rolünün süperbazik doğalarından kaynaklandığı bildirilmiştir ($pK_{a1} \cong 11.5$). Son zamanlarda, moleküler camların oluşumu için biguanidinler araştırılmıştır (Ogunbiyi, FX Smith - US Patent 4, 783 ve 1988, y.y.)(Carvalho, Wang, Wang, Ball ve Lebel, 2010).

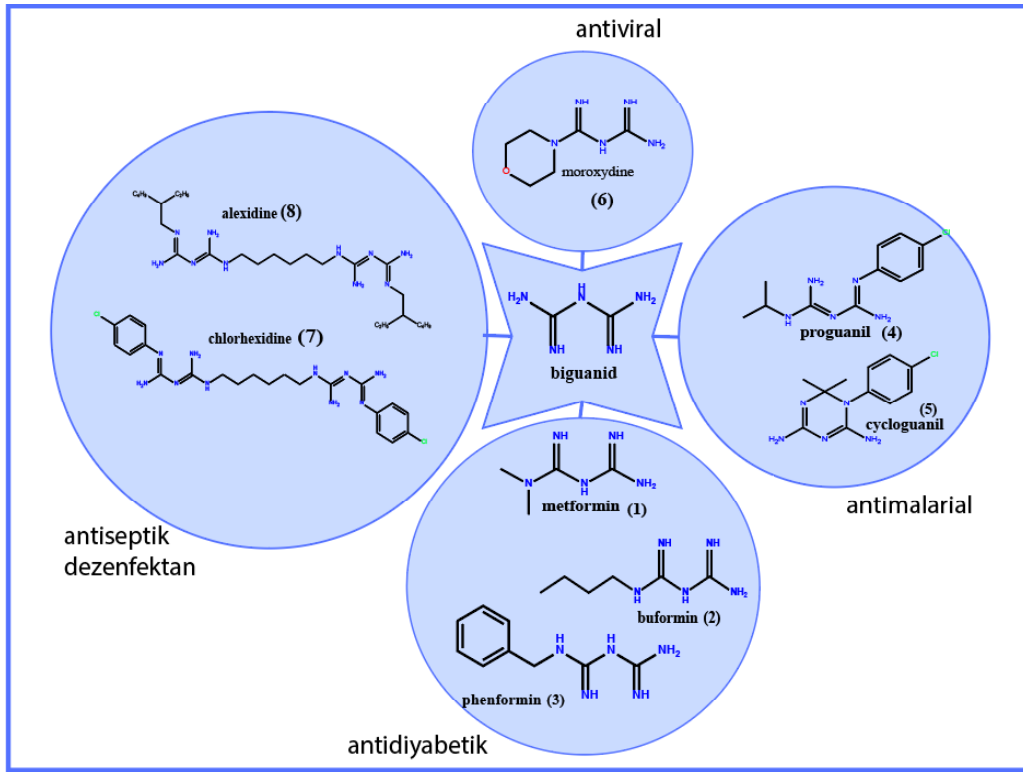
1.3.1. Biguanidin bileşiklerinin farmasötik tarihi



Şekil 1-14 Paludrin (1-p-klorofenil-5-izopropilbiguanidin) yapısı

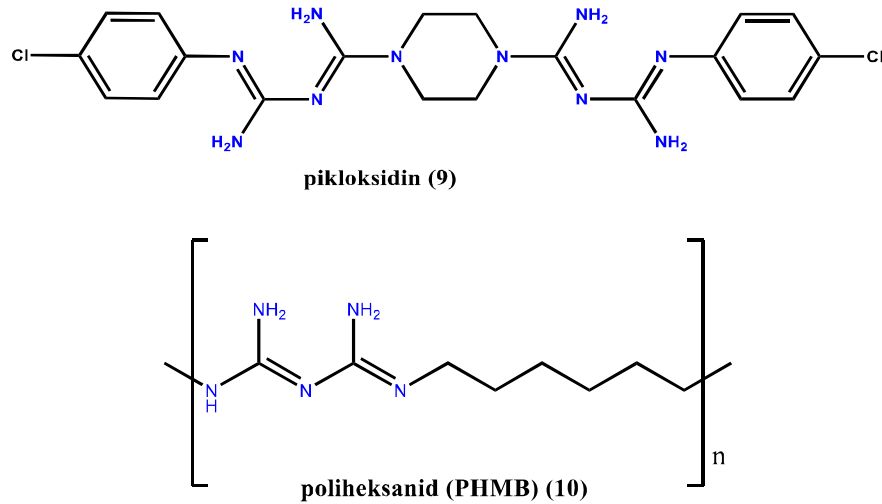
1-p-klorofenil-5-izopropilbiguanidinin (Paludrin) (**Şekil 1-14**) sıtma önleyici ilaç olduğunun anlaşılmasıyla biguanidin kimyası yeni bir ivme kazanmıştır. 1946 ve 1950 yılları arasında, Curd, Rose ve ark. biguanidin kimyasını yeniden araştırmıştır (Rose, 1951). Priyadarajan Ray 1960 yılında yaptığı çalışmada biguanidin metal kompleksleri, koordinasyon bileşikleri üzerine kapsamlı bir inceleme yapmıştır (Ray, 1961). 1929'da Slotta ve Tschesche, hayvanlarda bir biguanidin türevi metforminin hipoglisemik aktivitesini göstermiştir (Slotta ve Tschesche, 1929a). 1950'de Garcia, salgın influenza tedavisinde metforminin kullanıldığını ilk kez bildirmiştir. Metforminin ilk klinik kullanımı 1957'de Sterne tarafından rapor edilmiştir. Bunu, antihiperglisemik ajanlar olarak metformin türevleri fenformin ve buformin eklenmesi takip etmiştir (Hesse, E; Taubmann, 1929). Aynı dönemde proguanil, Curd ve ark tarafından antimalarial ilaç olarak keşfedilmiş, Proguanil'in daha sonra bir metabolit-sikloguanil olarak terapötik potansiyel sergilediği gösterilmiştir (Curd, Davey ve Rose, 2017). İnfluenza A ve B viral enfeksiyonlarının tedavisi için farelerde N¹, N¹-anhidrobis(β-hidroksietil)biguanid-HCl'nin (ABOB) (**6**) profilaktik ve baskılayıcı etkisinden yola çıkan Melander, 1959'da insanlarda anti-grip etkisini kanıtlamıştır, daha sonra ABOB halk arasında moroksidin (**6**) adını almıştır (B.Melander, 1960) (**Şekil 1-15**).

1900'lerde, aktif guanidin içeren biguanidin ve ikame edilmiş biguanidinlerin hiperglisemi (Beckmann, Lintz ve Schmidt-Böthelt, 1971), sıtma (Bygbjerg, 1985), fileria (Angelo, Ortwine, Worth, Werbel ve McCall, 1983) ve influenza (Kashiwagi, 1974) tedavisinde yararlı olduğu kanıtlanmıştır. 1950'lerde tanıtılan metformin, fenformin ve buformin gibi biguanidinler, antihiperglisemik ilaçlar olarak insüline bağımlı olmayan diyabetin tedavisinde yaygın olarak kullanılmıştır.



Şekil 1-15 Bazı biguanidin bileşikleri ve kullanım alanları

1954 yılında Davis ve ark. arilbisbiguanidin, yani klorheksidin (7) gram-negatif bakteri suşlarına karşı antibakteriyel ajan olarak bildirmiştir (G. E. Davies, Francis, Martin, Rose ve Swain, 1954). Bir başka bisbiguanidin olan Alexidin (8), Carter ve ark. tarafından antibakteriyel etkisi incelenmiş, oral antiseptik ve anti-plak ajan olarak kullanılmıştır (Carter, Barnes ve Bhaskar, 1973). Klorheksidin'e yapısal olarak benzer bir ilaç olan pikloksidin (9) (Şekil 1-16), Vitabact olarak pazarlanan göz damlalarında antiseptik olarak kullanılmıştır (Chumbley, Viswalingam, Thomson ve Zeidan, 1988).



Şekil 1-16 Pikloksidin ve PHMB Yapısı

Polihekzanit olarak da bilinen poliheksametilen biguanid (PHMB) (10) (Şekil 1-16), enfeksiyon çeşitlerinde antiseptik ajan olarak yaygın olarak kullanılan geniş spektrumlu hızlı etkili bir biyosittir. PHMB' nin diğer kullanımları arasında yüzme havuzu suyunun (dezenfektan) arıtılması, kozmetikler için koruyucu, yumuşatıcılar, kontak lens çözeltileri, el yıkamaları vb. kullanımlarda yer almıştır (Chumbley ve diğerleri, 1988)(Chasin, 1995).

1.4. Biguanidin bileşiklerinin terapötik uygulamaları

Biguanidin içeren ilaçların antidiyabetik uygulamaları yanı sıra antimalarial, antiviral, antikanser, antitripanozomal, antileishmanial, antifilarial, antibakteriyel, antifungal, anti-HIV, anti-Alzheimer, polikistik over sendromu gibi farklı uygulama alanları bildirilmiştir (Module ve 2003, 2003; Morales ve Morris, 2015).

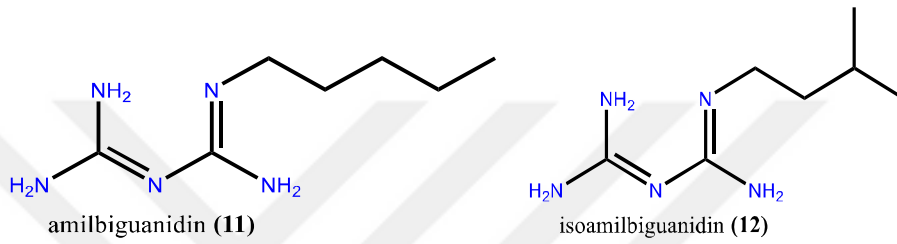
1.4.1. Antidiyabetik

Diyabet (diabetes mellitus), kan şekeri seviyesinde artış olarak ifade edilebilen metabolik bir hastalıktır. Tip 1 Diyabet pankreas tarafından insülinin çok az salgılandığı veya hiç salgılanmadığı kronik bir hastalıktır. Tip 2 Diyabet (T2DM) en sık görülen genetik temelli diyabettir. Dünya çapında 422 milyondan fazla insan diyabet olmakta yılda yaklaşık 1,6 milyon diyabet hastası, hastalık sebebiyle ölmektedir (Slota ve Tschesche, 1929a)(Prince ve diğerleri, 2015).

1950'lerde metforminin (1) başarısından esinlenen Sterne, anti-diyabetik ajan olarak biguanidinlerin gücünü ortaya koyan birkaç biguanidin üzerinde *in vivo* çalışmalar yürütmüştür (Cheng ve diğerleri, 2011)(Watanabe, 1918a). Mehnert, Buformin'in (2) (bütülbiganid) (Şekil 1-15) antihiperglisemik aktivitesini rapor etmiştir (C. J. Bailey, 2017). Ayrıca, doza bağımlı gastrointestinal yan etkilerinin üstesinden gelmek için buformin için sürekli bir salım formülasyonu bildirmişlerdir (Mehnert, Mahrhofer ve Stern, 1965). Buformin ile ilişkili gastrik intolerans sınırlı bir süre için kullanılırken, feniletal biguanidinlerin yani fenforminin potansiyel antihiperglisemik etkinliği diyabet tedavisinde kabul edilmiştir (C. J. Bailey, 1992).

Ungar ve ark. 200 civarında alkil ve arilaklilbiguanidin türevlerini hipoglisemik potansiyelleri açısından araştırılmışlardır. Fenformin'in (3) potansiyel hipoglisemik özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Ungar, Freedman ve Shapiro, 1957). Pomeranze ve ark.

diyabetik hastada fenforminin klinik çalışmasını yapmış fenforminin oral yolla uygulanmasının, hafif, orta ve şiddetli diabetik hastalarda glikoz seviyesini potansiyel olarak azalttığını bildirmişlerdir (Pomeranze, Fujiy ve Mouratoff, 1957). Williams ve ark. fenformin (3), amilbiguanidin (11) ve izoamilbiguanidin (12) türevlerinin antihiperglisemik aktivitesini test etmişlerdir (Şekil 1-17). Gine domuzları üzerinde fenforminin *in vitro* çalışmalarını yürütmüşler ve glukoneogenezi önemli ölçüde inhibe ettiğini ve karaciğer glikojen seviyesini normalin altında tuttuğunu öne sürmüşlerdir. Fenformin, isoamilbiguanidin ile karşılaştırıldığında iyi hipoglisemik aktivite göstermiştir (Williams, Tanner ve Odell, 1958).



Şekil 1-17 Amilbiguanidin ve isoamilbiguanidin yapısı

1.4.2. Antimalarial

Sıtma (Malaria), Plasmodium cinsine ait protozoan (Protozoalar, tek hücreli canlılar olup bir veya daha fazla sayıda çekirdek ve sitoplazmadan oluşan canlılardır.) parazitlerin neden olduğu en yıkıcı hastalıklardan biridir. Plasmodium cinsi protozoalar anofel cinsi sivrisinekler vasıtasıyla insana bulaşır. DSÖ tarafından 2018 yılında yayınladığı raporda, küresel olarak sıtma nedeniyle yaklaşık 405.000 ölüm meydana geldiğini bildirmiş en çok etkilenen grubun 5 yaşın altındaki çocuklar ve hamile kadınların olduğu tespit edilmiştir (World malaria report 2019, 2019). Sıtmaya neden olan başlıca türler *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* ve *P. knowlesi*'dir (M. Rudrapal, 2011; White, 2008).

Kimyasal yapılarına göre antimalaryal ilaç olarak kullanılan bileşikler:

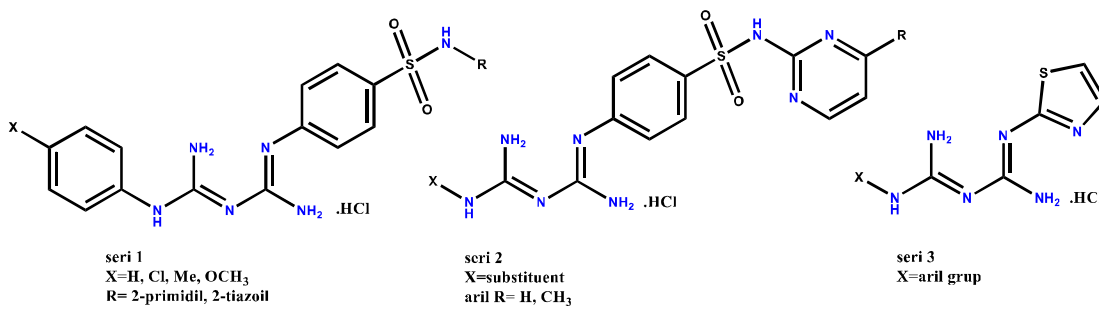
- Kına kına alkaloidleri ve analogları (Kinolinometanol türevleri),
- 4-Aminokinolin türevleri,
- 8-Aminokinolin türevleri,
- 9-Aminoakridin türevleri,
- Biguanidin türevleri (Proguanil, Klorproguanil, Bromoguanil, Sikloguanil pamoat),
- Diaminopirimidin türevleri,

- Seskiterpen laktonlar,
- Sülfonamidler ve sülfonlar,
- Tetrasiklinler ve klindamisin

ve diğer bileşiklerdir.

Proguanil'in keşfiyle, biguanidinin potansiyel sıtma karşıtı ajanlar olarak geliştirilmesinin önü açılmıştır. 1947'de May ve ark. proguanilin aktivitesini ve etkinliğini arttırmaya çalışmış, Klorofenil parçalarıyla 3- ve 9-fenantril, 3-kloro-6-fenantril ve 6-metoksi-8-kinolil ile değiştirilerek çok sayıda türev sentezlenmiş, ancak değerlendirilen bileşikler civcivlerde *P. gallinaceum*'un neden olduğu enfeksiyonu inhibe edememiştir (May, 1947; May ve Mosettig, 1947).

Aynı dönemde, Bami ve ark. sülfat biguanidin serilerini (**Şekil 1-18**) sentezlemiş ve *P. gallinaceum*'a karşı sıtma önleyici aktivitelerini test etmiştir. Seri 1'den, ikame edilmemiş sülfonamid grubuna sahip bileşiklerin inaktif olduğu bulunurken, heterosiklik ikame maddeleri aktivite göstermiştir (Bami, Iyer ve Guha, 1947). İkinci seride aril biguanidin türevleri sülfatmetazin ve sülfamerazin ile birleştirilmiş heterosiklik halkanın (2-pirimidil-sülfanamido fenil) varlığı cesaret verici etkiler göstermiştir (Bami, Iyer ve P.C., 1945). Üçüncü bileşik serisi, heterosiklik halkanın (tiazolil halka) biguanidin N⁵ pozisyonuna doğrudan bağlanarak (**Şekil 1-18**) sentezlenmiş ve *P. gallinaceum*'a karşı aktivitesi test edilmiştir. Değerlendirilen bileşikler arasında, türevlerden birinin aktif olduğu ancak toksisite sergilediği bulunmuştur (H. L. Bami; P. C. Guha, 1949).



Şekil 1-18 Bami ve ark. tarafından sentezlenen biguanidin türevleri

1.4.3. Antikanser

Kanser, vücudun herhangi bir organındaki anormal hücrelerin kontrolsüz çoğalmasından kaynaklanan hastalıktır. Bu dönüştürülmüş hücreler vücudun diğer organlarına göç etmekte ve hastalığın daha da yayılmasına sebep olmaktadır. Kanser

hastalarında bu hücre göçü sürecine metastaz denilmektedir ve önemli bir ölüm nedenidir. Dünya çapında 2018 yılında yaklaşık 9,6 milyon insanın ölümüne sebep olduğu tespit edilmiştir (World Health Organization ve WHO, 2020)

Şimdiye kadar kanser tedavisinde meme kanseri, yumurtalık kanseri (J. R. Brown ve diğerleri, 2020; Fu, Zhang, Wang ve He, 2017), rahim ağzı kanseri (M. Y. Kim ve diğerleri, 2019; Xia ve diğerleri, 2017), akciğer kanseri (J. Dong ve diğerleri, 2020; Yousef ve Tsiani, 2017), karaciğer kanseri (H. Dong ve diğerleri, 2017; Shankaraiah ve diğerleri, 2019), kolorektal kanser (H. Dong ve diğerleri, 2017; Shankaraiah ve diğerleri, 2019), prostat kanseri (He, Li ve Sun, 2019; Zaidi, Gandhi, Joshi, Smith ve Khan, 2019) ve pankreas kanseri (K. Chen ve diğerleri, 2017; Wynn, Vacheron, Zuber ve Solomon, 2019) gibi metforminin değerlendirildiği çok sayıda rapor yayınlanmıştır. Biguanidlerin antikanser aktivitesi ile ilgili ilk rapor 1974 yılında Dilman ve ark. tarafından yayınlanmıştır (Dilman, Berstein, Zabezhinski ve Alexandrov, 1974). Yaşlanma ve yaşa bağlı hastalıkları incelerken, sıçanlarda fenforminin tümör inhibitör etkisi olduğunu tespit etmiştir (Dil'man ve Anisimov, 1979)(V N Anisimov, 1982). 1982'den sonra, laktik asidoza bağlı toksisite ve ölümler nedeniyle biguanidlerin piyasadan kaldırılması nedeniyle 20 yıllık uzun bir boşluk oluşmuştur (Vladimir N Anisimov, 2015).

Schneider ve ark. 2001 yılında, pankreas kanserinde pankreas adacığı ve insülin direncinin rolünü incelerken, hamstırlarda kanser indüksiyonunun bir inhibitörü olarak metformin tespit edilmiştir (Schneider ve diğerleri, 2001).

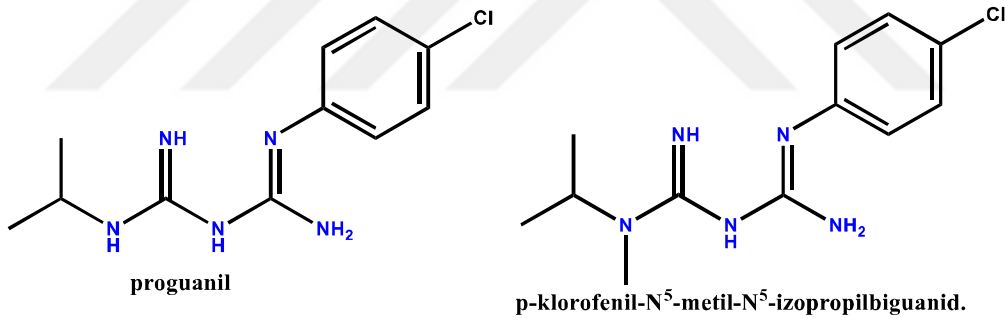
Anisimov ve ark., 2003 yılında biguanidlerin yaşlanma karşıtı ve antikanserojen etkileri üzerine çalışmışlar, dişi C3H/Sn farelerde ve dişi LIO sıçanlarında biguanidlerin fenformin ve buforminin antitümör aktivitesini bildirmişlerdir. C3H / Sn fareleri ile karşılaştırıldığında kontrol grubu sıçanlarda spontan tümör oluşumunu durdurduğunu, tümör insidansının buformin etkisi altında %49.5 oranında azalttığını bildirmişlerdir. Bu çalışma, biguanidlerin kanserin önlenmesinde umut verici olmuştur. Fenformin ile tedavinin kadınlarda meme adenokarsinomunu önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Vladimir N. Anisimov, Semenchenko ve Yashin, 2003).

Evans ve ark., tarafından antihiperglisemik ajan olarak metformin tüketen tip 2 diyabetik hastaların kanser riskinin daha düşük olduğu hipotezi ortaya atılmıştır. Bu hipotez İskoçya'da geliştirilen nüfus veri tabanı diyabet klinik bilgi sistemi (DARTS) ve dağıtılan reçetelerin bir veri tabanı (MEMO) kullanılarak test edilmiştir. Bu istatistiksel rapor, bir

antikanser ajanı olarak metforminin araştırmasında önemli rol oynamıştır (Evans, Donnelly, Emslie-Smith, Alessi ve Morris, 2005).

1.4.4. Antimikrobiyal

Biguanidinler çok uzun zamandan beri çok çeşitli gram pozitif ve gram negatif bakteri, mantar, maya, virüs vb. karşı antimikrobiyal aktiviteleri ile bilinmektedir. Kings ve ark. tarafından bildirilen guanidin içeren bileşiklerin kemoterapötik aktivitesinden esinlenen Fuller, 1942'de aminler, amidinler, guanidinler, kuaterner amonyum bileşikleri gibi farklı kimyasal bileşiklerin antibakteriyel aktivitesini araştırmıştır. Biguanidin serisinin, özellikle gram negatif bakterilerde bakteri suşlarına karşı test edilen disubstitute bileşikler arasında en iyisi olduğunu bildirmiştir (Fuller, 1942). Daha kısa zincir uzunluğuna sahip biguanidinler hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir (Fuller, 1942). Ayrıca, 1947'de Fuller, yapısı sıtma önleyici bir ilaç olan paludrine benzeyen (Şekil 1-19) fenilbiguanidin sentezlemiş (p-klorofenil-N⁵-metil-N⁵-izopropilbiguanidin) ve orta derecede bakteriyostatik (bakteri büyümesini engelleyen) ve bakterisidal (bakteri öldürücü) aktivitesini bildirmiştir (Fuller, 1947).



Şekil 1-19 Paludrin (proguanil) ve p-klorofenil-N⁵-metil-N⁵-izopropilbiguanid yapısı

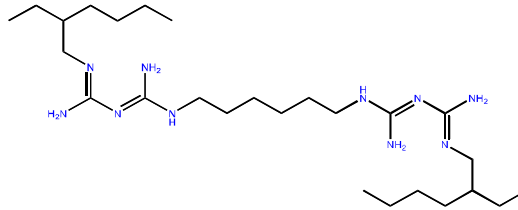
1954'te Francis ve ark., klorheksidini (7) *S. haemolyticus*, *S. aureus*, *B. coli*, *C. welchii* ve *P. pyocyanea*'ya karşı *in vitro* test etmişler dikkate değer antibakteriyel aktivitesini bildirmişlerdir (Leslie Rose ve Swain, 1951; Rose ve Swain, 1956). Bir kaç bisbiguanidin türevi çeşitli gram negatif ve gram pozitif bakterilerde çalışılmış bakterisidal ve bakteriyostatik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Leslie Rose ve Swain, 1951; Rose ve Swain, 1956). Bir antimikrobiyal ajan olarak bisbiguanidinlerin bu çarpıcı sonuçları, biguanidinlere bağlı grupları değiştirerek biguanidinlerin antimikrobiyal aktivitesinin çalışılmasına yol açmıştır.

1961'de Weinberg, yaklaşık 250 substitue biguanidin molekülü sentezlemiş ve antibakteriyel aktivitesi test edilmiştir. Hem N¹ hem de N⁵ pozisyonunda halojen ikame aril veya arilalkil grubu taşıyan biguanidinlerin ve bisbiguanidinlerin belirgin antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir (E D Weinberg, 1961; Eugene D Weinberg, 1968). 1964 yılında, Izawa ve ark. 94 biguanidin içeren molekül sentezlemiş ve test etmiştir. Bunlar arasında N¹-n-dodesil biguanidin, 20 µg/ml'lik MIC ile gram-pozitif bakterilere karşı aktivite göstermiştir (N.Ishida, 1964; Eugene D Weinberg, 1968). 1967'de James ve ark., heterosiklik bir sistem içinde kaynaşmış N¹ azot atomuna sahip bir dizi mono ve bisbiguanidin bileşiğin çeşitli mikroorganizmalara karşı potansiyel inhibitör aktivite sergilediğini, bakterilerin inhibisyonu için bifonksiyonelliğin gerekli olduğunu bildirilmiştir (James, Baker ve Wiggins, 1968). Seriler arasında, pikloksidin (**9**) hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı maksimum antibakteriyel aktivite göstermiştir. Aynı dönemde, Davies ve ark. antibakteriyel aktivite gösteren PHMB'yi (**10**) tanıtmıştır. *E. coli* suşuna karşı klorheksidin ve setrimitten daha etkili olduğu tespit edilmiştir. PHMB, hücre zarının geçirgenliğini artırarak ve sitoplazmanın çökmesine neden olan bakterilerin büyümesini inhibe etmiştir (A. Davies, Bentley ve Field, 1968). 1972 yılında Carter ve ark. Aleksidini (**8**) hayvanlar üzerinde test etmiş antimikrobiyal aktivitesinin plak oluşumunu önemli ölçüde inhibe ettiğini bildirmiştir. Ayrıca, karşılaştırmalı çalışmalarda aleksidinin (**8**) klorheksidin'den (**7**) daha aktif olduğu tespit edilmiştir (Carter ve diğerleri, 1973). 1976 yılında, bisbiguanidin işlevselliğinin antibakteriyel aktivite için gerekli olmadığı hipotezine dayanarak, Warner ve ark. biguanidin molekülü sentezlemiş ve klorheksidin asetat üzerinde karşılaştırmalı deney yapmışlardır. Moleküller, *S. mutant* saf suşuna karşı antiplak aktiviteleri açısından taranmış, molekülün lipid çözünürlüğünü (Log P değeri) artıran ve dolayısıyla antibakteriyel aktivite sağlayan bisbiguanidin işlevselliğinin değil, uzun alkil zincir kaynaklı olduğu sonucuna varmışlardır (Warner, Lynch ve Ajemian, 1976). 1977'de Tanzer ve ark., klorheksidin ve aleksidinin 16 analogunu sentezlemiş ve standart olarak klorheksidin glukonat kullanarak *S. mutans*, *S. sanguis*, *A. viskozus* ve *A. naeslundii*'ye karşı *in vitro* test etmişlerdir (Tanzer, Slee ve Kamay, 1977). 1978'de Coburn ve ark. bir dizi aleksidin analogu sentezlemiş ve bunları *in vitro* antiplak aktiviteleri açısından değerlendirmiştir. Test edilen bileşikler arasında, sadece bir bileşik, 1,6-hekzanedil bis[N¹-(n-oktil) imidodikarbonimidik diamid], *S. mutans*, *A. naeslundii*'ye karşı aleksidin ve klorheksidin'den daha etkili ve *A. viskozus*'a karşı klorheksidinle aynı güçte etkili bulunmuştur (Coburn, Baker, Evans, Genco ve Fischman, 1978).

1.4.5. Antitüberküloz

Tüberküloz (TB), esas olarak akciğerleri etkileyen, basil *Mycobacterium tuberculosis*'ın neden olduğu bir enfeksiyon hastalığıdır. Tüberkülozun neden olduğu hastalık oranı ve ölüm oranının ilaç direncine bağlı olup HIV'li hastalarda bu hastalık mortalitesinde (ölüm oranı) son zamanlarda bir artış bildirilmiştir. Her yıl 10 milyondan fazla insan tüberküloz nedeniyle hastalanmakta ve dünyada ilk 10 ölüm nedeni arasında yer almaktadır.

2016 yılında, Shen ve ark., çeşitli terapötik faaliyetler için FDA onaylı patentsiz ilaçların kullanımını yeniden tasarlamışlar, bilinen ilaçların taranması ve karakterizasyonu için yüksek verimli tarama (HTS) testini konakçı hücrede kullanmışlardır (Shen ve diğerleri, 2016), HTS tekniğinden yararlanarak, bir antikanser ajanı bisbiguanidin dihidroklorür (BBD, **Şekil 1-20**), klinik olarak izole edilmiş suşlardan mikobakteri tüberkülozu (MTB) ve çoklu ilaca dirençli tüberkülozun (MDR-TB) replikasyonunu potansiyel olarak inhibe ettiğini ayrıca yavaş büyüyen *M. bovis* BCG bakterilerini ve *M. smegmatis*'i inhibe ettiğini bildirmişlerdir. HTS tekniğinden elde edilen gözlemleri desteklemek için, MTB ile enfekte farelerin akciğerleri ve dalakları üzerinde deneyler yapmışlar BBD'nin koloni oluşturan birimleri önemli ölçüde inhibe ettiğini rifampisinden daha belirgin terapötik etki gösterdiğini ve tedavi edilen farelerde hiçbir yan etki gözlenmediğini bildirilmişlerdir. Bu deneysel kanıtlara dayanarak, bis-biguanidin dihidroklorürün (BBD) potansiyel olarak bir anti-TB ilaç adayı olarak hareket edebileceği öne sürülmüştür (Shen ve diğerleri, 2016).



Şekil 1-20 BBD bis-guanidin dihidroklorür yapısı

1.4.6. Antiviral

1960 yılında Melander, bir dizi biguanidin içeren bileşik sentezlemiş ve bunları *İnfluenza A* ve *İnfluenza B* tipi virüs ile aşılanmış farelerde antiviral aktivitesi test edilmiştir (B.Melander, 1960). Test edilen çeşitli bileşikler arasında, moroksidinin (6), mükemmel hastalık önleyici, koruyucu ve baskılayıcı etki gösterdiği tespit edilmiştir. Moroksidin baskılayıcı etkisi, methatropin nitrat ve metaskopalamın nitrat (Flumadin) ile kombinasyonu

incelenmiş ve bu kombinasyonun hastalık süresini azaltmaya yardımcı olduğu gözlenmiştir (B.Melander, 1960). Hayvan modellerinde elde edilen umut verici sonuçlar göz önüne alındığında, moroksidinin iyi biyoyararlanım, atılım profili ve düşük toksisite profiline sahip olduğu öne sürülerek klinik çalışmalar yapılmıştır (B.Melander, 1960).

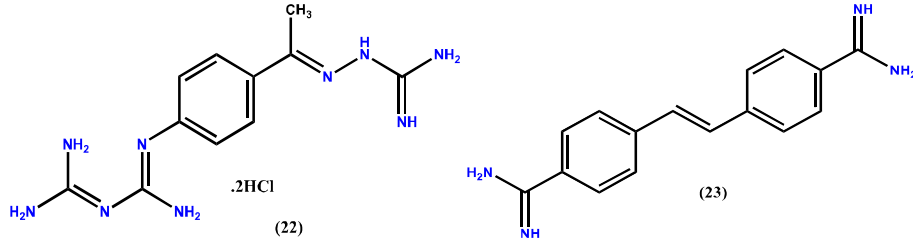
1.4.7. Antifilarial

Filariasis, süper filarioidea ailesine ait yuvarlak solucanların (filaryal solucan veya filara) enfeksiyonundan kaynaklanan paraziter bir hastalıktır. *W. bancrofti*, *B. timori* ve *B. malayi*, insanlarda lenfatik filariyazise neden olan ve kronik vakalarda Fil hastalığına (Elephantiasis) yol açan türlerdir. DHFR (Dihidrofolat Redüktaz)'nin protozoan ve bakteriyel enfeksiyonun tedavisi için ilaçların birincil hedef bölgesi olduğunu kanıtlayan kapsamlı raporlar bildirilmiştir (Gangjee, Kurup ve Namjoshi, 2007).

1.4.8. Anti-tripanozomal

Tripnozomiyazis uyku hastalığı olarak da bilinir, kamçılı parazitik protozoanlar olarak bilinen tripanozomların, neden olduğu hastalıktır. Tsetse sineği ısırığıyla oluşan vektör aracılı bir hastalıktır. Parazit çeçe sineklerinde gelişme göstermektedir. Bu hastalık Afrika'da daha yaygındır.

Şimdiye kadar anti-tripanozomal aktiviteye sahip çok az sayıda biguanidin bildirilmiştir. İlk kez 1962'de Hawking ve ark., p-biguanidinoasetofenon amidinohidrazonun (22, **Şekil 1-21**) çeşitli tripanozom suşları *T. rhodesiense*, *T. gambiense*, *T. cognolense*, *T. cruzi* üzerinde aktivite sergilediği bildirilmiştir. Bileşik 22'nin *T. rhodesiense*, *T. gambiense*'e karşı aktif olduğu *T. cognolense*'e karşı daha az aktif olduğu tespit edilmiş, ancak bileşik 22'nin *T. cruzi* suşunda tamamen inaktif olduğu tespit edilmiştir (Hawking, 1962). 1965'te Sánchez ve ark., bileşik 22'nin *T. equiperdum* ve akriflavin dirençli suşlara karşı potansiyelini değerlendirmiş ve olası çapraz direnci kontrol etmiştir. Bileşik 22, *T. equiperdum*'da Hawking ve ark. tarafından bildirilen daha önceki çalışmalara benzer inhibitör etki göstermiştir (Sánchez ve Ercoli, 1965). Direnç çalışmaları kapsamında, akriflavine dirençli suşun duyarlılığının değişmediğini, ancak stilbamidine dirençli suşun 22'ye toleranslı olduğunu gözlemlemişler, bu çapraz direncin, stilbamidine (23) (**Şekil 1-21**) bulunan amidin parçasına benzeyen diamidin ve biguanidin süstitüentinin varlığından kaynaklandığını bildirmişlerdir (Sánchez ve Ercoli, 1965)



Şekil 1-21 Anti-tripanozomal aktiviteye sahip biguanidin ve stilbamid yapısı

1.4.9. Yaşlanma karşıtı

1974 yılında, Dilman ve ark., farklı moleküllerin yaşlanma karşıtı aktivitesini incelerken, biguanidinlerin sıçanlarda tümör büyümesini azaltarak yaşlanma karşıtı aktivite sergilediğini gözlemlemişlerdir (Dilman ve diğerleri, 1974). Biguanidinlerin yaşlanma karşıtı ve antikanserojen etkileri üzerine çalışmalarını sürdüren Anisimov ve ark. 2003 yılında hiperglisemi ve hiperinsülineminin hem yaşlanmada hem de kanser üzerinde önemli faktörler olduğunu ayrıca antidiyabetik biguanidinlerin hiperglisemi ve hiperinsülinemiye yönelik uzun süreli aktivite sağlanmasında önemli rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Vladimir N Anisimov, 2003). Fenformin ile tedavi edilen farelerin, ortalama yaşam süresinde kontrole kıyasla % 21.1 ay ($P < 0.05$) artış gösterdiğini tespit etmişlerdir (Vladimir N Anisimov, 2003). Anisimov ve ark, uzun ömür düzenlenmesindeki aktivitesini anlamak için yaşlılığa karşı koruma olarak metformin kullanarak farklı hayvan modellerinde çeşitli deneyler yapmıştır (Vladimir N Anisimov, 2013; Vladimir N Anisimov ve diğerleri, 2005).

1.5. Biguanidinlerin metal kompleksleri ve terapötik uygulamaları

Biguanidinler, cis-pozisyonlarında iki imin grubunun varlığı ve terminal azot atomları üzerindeki yük yoğunluğunun lokalizasyonu nedeniyle mükemmel N-verici iki dişli ligandlardır, bu da yeni oluşturulan şelatların stabilitesini artırır. Cu veya Pt gibi geçiş metalleri ile biguanidinlerin etkileşimleri hakkındaki ilk raporlardan biri, bir asırdan daha eskiye dayanmaktadır (Rathke, 1879). Son yıllarda, biyoaktif metal komplekslerine artan ilgi, metformin ve analogları ile geçiş metali komplekslerinin sentezini ve biyolojik aktivitesini tanımlayan çok sayıda çalışmaya yol açmıştır. Özellikle, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu ve Zn geçiş metalleri ailesinden ve lantanitler içeren metformin kompleksleri antibakteriyel, antidiyabetik, mantar öldürücü ve antikanser özellikleri göstermiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

II. Dünya Savaşı'nı takip eden yıllarda biguanidin altın çağını yaşamış ve çok sayıda çalışma yapılmıştır, etkili bir antimalaryal ilaç olan paludrin (1947), antidiyabetik biguanidinler (1958-1959) ve topikal bir antibakteriyel ve dezenfektan olan klorheksidin (1956) keşfedilmiştir. Ayrıca bazı biguanidinlerin antikanserojen, antitüberküler ve antiviral aktivite gösterdiği ortaya çıkmıştır. Öte yandan, biguanidinlerin, tıbbi değeri olan çeşitli triazinler ve heterosiklik bileşikler için başlangıç malzemesi olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir (Taylor, 1947)

Biguanidinler ve türevleri hakkında sentetik yönleri, fizikokimyasal özellikleri ve tıbbi uygulamalara odaklanan çeşitli incelemeler bildirilmiştir. 1960 yılında Ray, biguanidinlerin metal komplekslerini araştırmıştır (Ray, 1961). 1968'de Pitchfork, biguanidinlerin kimyasal, fiziksel, sentetik ve tıbbi özelliklerini ele alan bir inceleme bildirmiştir (Kurzer ve Pitchfork, 2006). 1996 yılında kimya, farmakoloji, toksikoloji ve fizikokimyasal özellikleri gibi biguanidinlerin çeşitli yönlerini ele alan "Oral Antidiyabetikler" başlıklı bir kitap yayınlanmıştır (Brendel ve Wingender, 1996). Elpern, 1968'de biguanidinlerin kimyası üzerine kısa bir not yayınlamıştır (Elpern, 1968). 2000 yılında, Güthner ve ark. tarafından biguanidin sentezi için çeşitli sentetik stratejiler geliştirilmiştir (Thner ve Schulz, 2012). Yakın geçmişte, Katritzky ve ark. biguanidinlerin yapısını, hazırlama yöntemlerini ve birkaç biyolojik özelliğini kısaca gözden geçirmiş, biguanidinlerin biyolojik uygulamasını kategorize etmiş, ancak inceleme sadece kısa açıklamalarla sınırlı kalmıştır (Katritzky, Tala ve Singh, 2010). Bazı biguanidin türevlerinin faz transfer katalitik özellikleri sergilediği tespit edilmiştir (N. Patel, Sood ve Bharatam, 2018).

Metforminin diyabetteki etkisinin keşfiyle biguanidin kimyası yeniden önem kazanmıştır. Biguanidinin antidiyabetik ilaç olarak kullanılmasında dönüm noktası olan yayınlar **Çizelge-1** de verilmiştir.

Çizelge 1 Antidiyabetik ajan olarak biguanidin tarihinde dönüm noktası olan birkaç yayın.

Yıl	Yayın	ref.
1918	Watanabe, guanidinlerin kan şekeri seviyesini düşürdüğünü bildirmiştir.	(Watanabe, 1918b)
1922	Warner ve Bell, dimetilbiguanidin (Metformin) sentezini bildirmiştir.	(Werner ve Bell, 1921)

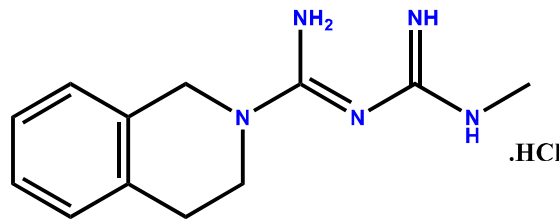
1920-30	Sentalin A ve sentalin B gibi polimetilen diguanidler sentezlenmiş ve hipoglisemik ajanlar olarak kullanılmıştır.	(Prugnard ve Noel, 1996b)
1927	Tanret, galeginin farmakolojisinin klinik öncesi çalışma yayınlamış tavşanlarda ve köpeklerde hipoglisemik etki göstermemiştir.	(Simonnet ve Tanret, 1927)
1929	Slotta ve Tschesche, dimetilbiguanidin (Metformin) hipoglisemik aktivitesini bildirmiştir.	(Slotta ve Tschesche, 1929a)
1929	Hesse ve Taubman, dimetilbiguanidin (Metformin) farmakolojik ve toksikolojik özelliklerini bildirmiştir.	(Hesse, E;Taubmann, 1929)
1930s	İnsülinin mevcudiyeti ile sülfamidlerin klinik kullanımı, biguanidlere olan ilginin azalmasına neden olmuştur.	(C. J. Bailey, 2017; Prugnard ve Noel, 1996b)]
1950	Garcia "Flumamin" (sentetik biguanidin molekülü N,N-dimethylbiguanidin) in influenza ve endemik malaryayı tedavi ettiğini Flumamin'in kan şekeri seviyesini düşürdüğünü varsaymış ancak herhangi bir deneysel kanıt sunmamıştır.	(Cheng ve diğerleri, 2011)
1957	J. Sterne, potansiyel kan şekeri düşürücü etkilerini gösteren birkaç biguanidin üzerinde hayvan çalışmaları yürütmüş metformini diabetes mellitus tedavisi için "Glucophage" adıyla yayınlanmıştır.	(Cheng ve diğerleri, 2011)
1957	Ungar ve ark. yeni bir biguanidin fenformin sentezlemişler ve güçlü antihyperglisemik aktivitesini bildirmişlerdir.	(Ungar ve diğerleri, 1957)
1958	Mehnert ve ark. buforminin potansiyel antihyperglisemik aktivitesini bildirmişlerdir.	(Mehnert ve Seitz, 1958)
1959	Biguanidin içeren metformin, fenformin ve buformin İngiliz Ulusal Formüllerinde kayıt altına alınmıştır.	(Prugnard ve Noel, 1996b)
1962	Fenforminin neden olduğu laktik asidoz hakkında rapor yayınlanmıştır.	(Gottlieb, Duberstein ve Geller, 1962)
1970ler	Fenformin ve buformin ülkelerin çoğunda piyasadan kaldırılmıştır.	(Angelo ve diğerleri, 1983; Hunt ve diğerleri, 1977; Williams, 1975)
1994	Metformin, T2DM'de güçlü antihyperglisemik aktivitesi ve laktik asidozun önemli ölçüde düşük yan etkisi nedeniyle piyasaya yeniden girmiştir.	(C. J. Bailey, 2017)]
2002	Metformin, DSÖ temel ilaç listesine eklenmiştir	(Medicines, 2002)
2005	Evans ve ark., antihyperglisemik ajan olarak metformin tüketen diyabetik hastaların kanserden daha az etkilendiğini bildirmiştir.	(Evans ve diğerleri, 2005)
2017	Abbas ve ark., güçlü antihyperglisemik ajanlar olarak N ¹ -arilamid biguanidin türevlerinin yeni sınıfını bildirmişlerdir.	(Abbas, Basyouni, El-Bayouki ve Abdel-Rahman, 2016; Basyouni ve

diğerleri, 2017a;
Evans ve diğerleri,
2005)

2020	Scheen, metformin tedavisi gören T2DM hastalarının COVID-19'da daha iyi iyileşme şansı gösterdiğini gözlemlemiştir.	(Scheen, 2020a)
------	---	-----------------

Wick ve ark. fenforminin etki alanını anlamak için *in vitro* çalışmalar yürütmüştür. Fenforminin glukoz, asetat, sitrat, süksinat ve fumaratın oksidasyonu üzerindeki inhibitör etkisini araştırmışlar fenforminin suksinik oksidaz'ı inhibe ederek süksinatın fumarata dönüşümünü inhibe ettiğini böylece sitrik asit döngüsündeki oksidasyonu bloke ettiğini bildirmişlerdir (Lambert ve Jolla, 1959; Wick, Larson ve Serif, 1958).

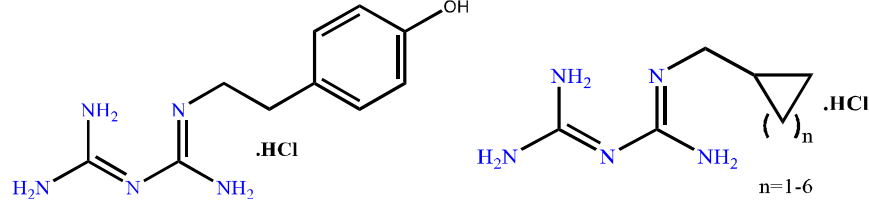
Erich ve ark. yeni tetrahidroizokinolin biguanidin (**Şekil 2-1**) sınıfının patentini almışlar ve bu moleküllerin hayvanlarda çok düşük dozda antidiyabetik aktivite sergilediği tespit edilmiştir (H. Erich, 1960). Fenforminin neden olduğu kanda asit miktarındaki artışı gösteren ilk rapor 1962 yılında yayınlanmış ve anti hiperglisemik ilaç olarak fenformin tüketen diyabetik hastada ciddi metabolik asidoz (kanda asit miktarındaki artış) vakası gözlenmiştir. Fenforminin laktik asidoza neden olduğu bildirilmiştir (Gottlieb ve diğerleri, 1962)(Gottlieb ve diğerleri, 1962). Robert ve ark. fenformin tedavisi alan bazı hastalarda kalp yetmezliği, böbrek fonksiyon bozukluğu komplikasyonları olduğu ve serumda fenformin konsantrasyonunun yükseldiği bildirilmiştir. Bu nedenle, böbrek yetmezliği olan hastalarda fenformin ile tedavinin uygun olmadığı öne sürülmüştür (Tranquada, Bernstein ve Martin, 1963). Diyabetik hastalarda fenformin ve buforminin neden olduğu ciddi laktik asidoz ve ölümcül sonuçları hakkında çeşitli vakalar bildirilmiştir (Poison ve Centre, 1981; Tranquada ve diğerleri, 1963). 1970'lerde fenformin ve buformin çeşitli ülkelerde yasaklanmıştır (Hunt ve diğerleri, 1977; Williams, 1975).



tetrahidroizokinolin biguanid

Şe kil 2-1 Tetrahidroizokinolin biguanidin yapısı

1969'da Wick ve ark., N¹-(2-(p-hidroksifenil) etil) biguanidin hidroklorürün (**Şekil 2-2**) hipoglisemik bir ajan ve kilo verdirici olarak işlev gördüğünü bildirmiştir (Heilig, 1969). 1977'de Bosis ve ark., alifatik halka içeren biguanidin türevleri bildirmişler(**Şekil 2-2**) ve gine domuzlarında kan şekeri seviyesinde, metformine kıyasla çok düşük dozda bir düşüş gösterdiği tespit edilmiştir (E. Bosis, K. Stach, F.H. Schmidt, R. Heerd, 1977).



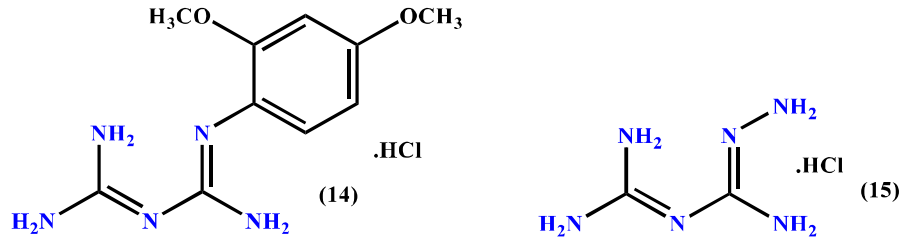
Şekil 2-2 N¹-(2-(p-hidroksifenil)etil) hidroklorür ve alifatik halka içeren biguanidin yapısı

Fenformin ve buforminin neden olduğu laktik asidoz nedeniyle diyabetlerde biguanidinlerin kullanımı azaltılmış ancak laktik asidoza neden olan metformin raporları nadir görülmüştür (K Enneth, 1998). Bu nedenle, 1994 yılında FDA, metforminin dünya pazarlarında metforminin yeniden kullanılmasını sağlayan tip 2 diyabette kullanılmak üzere metformini onaylamıştır (C. J. Bailey ve Turner, 1996). Metformin ve biguanidinler de dahil olmak üzere oral antidiyabetik ajanlar hakkında çeşitli derlemeler bildirilmiştir (C. J. Bailey ve Turner, 1996; Koski, 2004; Module ve 2003, 2003).

Stang ve ark., Kanada'nın Saskatchewan kentinde, antihiperglisemik bir ajan olarak metformin tüketen diyabetik hastalarda gözlenen laktik asidoz üzerine popülasyon çalışmasını yürütmüştür. Hastaların çok az bir kısmının, yani 100.000'de 9'unun metforminin laktik asidozdan etkilendiğini, etkilenen deneklerin zaten böbrek yetmezliği, kalp hastalıkları gibi risk faktörlerine sahip olduğu tespit edilmiş metforminin bu gibi durumlarda güvenlik açısından ilaç kullanımından kaçınılması gerektiğini ileri sürmüşlerdir (Stang, Wysowsky ve Butler-Jones, 1999). 1998 yılında İngiltere'de UKPDS (UK Prospective Diabetes Study) tarafından obez hastalarda metformin kullanımının kardiyovasküler hastalık ve ölüm riskini azalttığını, kilo kaybına neden olduğunu bildirmiştir (Reaven ve diğerleri, 2019; Turner, 1998).

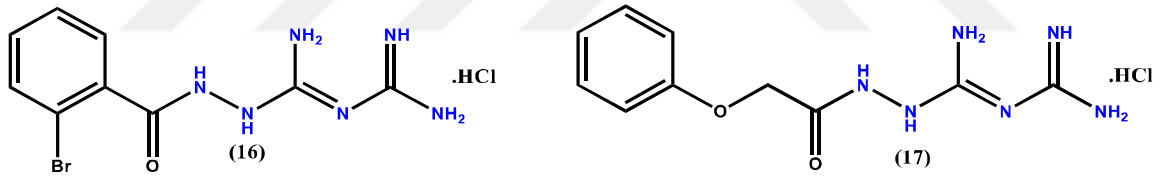
2016 yılında, Abbas ve ark. yeni biguanidin türevlerini (**14**) ve (**15**) (**Şekil 2-3**), sentezlemiş ve diyabetik sıçanlarda antihiperglisemik aktivite açısından değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin diyabetik sıçanlara oral yoldan uygulanmasıyla kan şekeri

düzeylerinde anlamlı azalma ve metformine benzer iyileşme gözlenmiş karaciğer enzimlerinin seviyesinde düzelme olduğu bildirilmiştir (Abbas ve diğerleri, 2016).



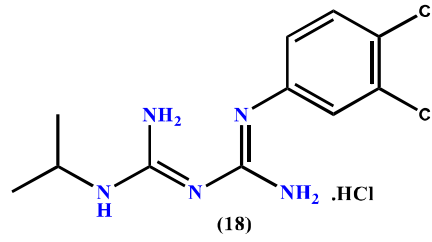
Şekil 2-3 Bileşik 14 ve 15 in Yapısı

Sonuçlardan etkilenen aynı grup, 2017 yılında yeni N¹-arilamid substitue biguanidinler sentezlemiş biguanidin türevlerinin antidiyabetik aktivitesini metformin ile karşılaştırmışlardır. Diyabetik sıçanlarda sentezlemiş olduğu bileşikler oral yolla test etmiş, hipoglisemik aktivitesini değerlendirmiştir (Basyouni ve diğerleri, 2017b). N¹-arilamid biguanidin türevleri olan bileşik (16) ve (17) **Şekil 2-4**’ te gösterilmiştir. Metformine kıyasla belirgin anti hiperglisemik aktivite sergilediği, bu bileşiklerin oksidasyon stres belirteçlerinde, yani lipid peroksit (MDA) ve nitrik oksitte (NO) azalma gösterdiği bildirilmiştir (Basyouni ve diğerleri, 2017b).



Şekil 2-4 N¹-arilamid biguanidin türevleri

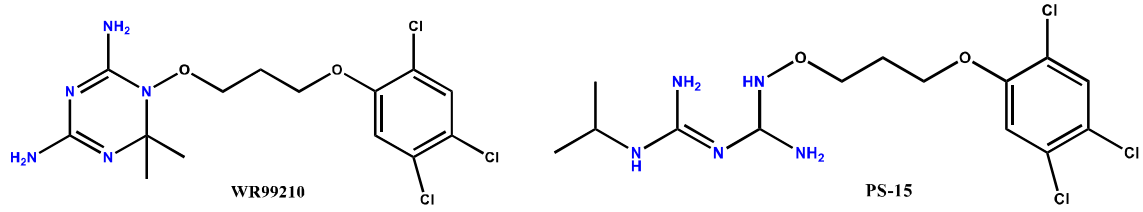
1950 yılında, Curd ve ark. bir dizi proguanil benzeri bileşik sentezlemiş N¹-3,4-diklorofenil-N⁵-izopropil biguanidin (18) (**Şekil 2-5**), *P. gallinaceum* ve *P. relictum*'da proguanilden daha aktif olduğu tespit edilmiştir. Yapısal olarak, proguanilden benzen halkasındaki C³- pozisyonunda ekstra bir klor ile farklılık gösteren bu bileşik civcivler, köpekler ve maymunlarda yapılan çalışmalarda proguanil ile karşılaştırıldığında daha toksik olduğu bildirilmiştir (H. L. Bami; P. C. Guha, 1949).



Şekil 2-5 N'-3,4-diklorofenil-N⁵-izopropil biguanidin yapısı

Hawkins ve arkadaşları tarafından yayınlanan bir raporda *in vitro* koşullarda proguanilin *P. gallinaceum*'u inhibe etmediğine dair kanıt verirken, proguanil ile dozlanan hayvandan toplanan serumlar test edildiğinde önemli inhibisyon özellik tespit edilmiş proguanilin aktif bir metabolit vermek için biyotransformasyona uğradığı konusunda net bir fikir vermiştir (Carrington, Crowther, Davey, Levi ve Rose, 1951; Hawking, 1947). Aktif metaboliti izole etmek için çeşitli girişimlerde bulunulmuş ve biguanidinin triazinin siklik formuna sahip olabileceği varsayımları yapılmıştır (Carrington ve diğerleri, 1951; Crounse, 1951). Sikloguanilin keşfi, triazen ile yapısal benzerlik göstermesiyle triazenlerin antimalaryal ajanlar olarak incelenmesini tetiklemiştir (M. Bailey, 1954; C. J. Brown, 1967).

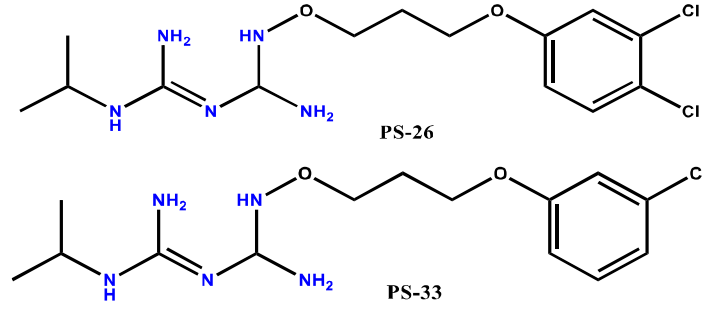
1963'te, ABD Ordusu Sıtma Karşıtı İlaç Geliştirme Programı kapsamında, 200.000'den fazla kimyasal bileşiği sıtma karşıtı aktivite açısından taramıştır (C. J. Canfield ve Rozman, 1974). 1973 yılında aynı program kapsamında, Rieckmann ve ark., *P. falciparum*'un yüksek klorokin ve pirimetamine dirençli *Vietnam (Marks)* suşuna karşı güçlü *in vitro* antimalaryal aktivite sergileyen bir triazen bileşiği WR99210 (**Şekil 2-6**) sentezlemişler bu bileşiği *P. berghei* enfekte olmuş fareler üzerinde test edildiğinde klorokin, pirimetamin ve sikloguanilin herhangi bir çapraz direnç göstermediği bildirilmiştir (C. J. Canfield ve Rozman, 1974; T. R. Sweeney ve diğerleri, 1993a). Klinik çalışmalarda, bu aktif triazen bileşiği WR99210'un oral uygulamasının sınırlı biyoyararlanım gösterdiği, gastrointestinal intoleransı sergilediği tespit edilmiş bunun zayıf ilaç emilimine bağlı olabileceği düşünülmüştür (C. J. Canfield ve Rozman, 1974). WR99210 (**Şekil 2-6**)'un sınırlamasını inceleyen Canfield ve ark., 1993 yılında, oksiguanilleri veya hidroksilamin türevi biguanidinerler olarak adlandırılan bileşikler içeren yeni biguanidin sınıfını sentezlemişlerdir. PS-15 ve WR99210 bileşikler **Şekil 2-6**'da gösterilmiştir. Bileşikler antimalaryal aktivite açısından *in vivo* çalışmalar bildirilmiştir (T. R. Sweeney ve diğerleri, 1993b).



Şekil 2-6 WR99210 ve PS-15 yapısı

PS-15 ve WR99210 proguanile kıyasla *P. falciparum*'a karşı güçlü *in vitro* antimalaryal aktivite gösterdiği ayrıca *P. berghei* ile enfekte olmuş farelere uygulandığında daha az toksisite gösterdiği bildirilmiştir. Çoklu ilaç direnci ile enfekte olmuş Aotus maymununda PS-15'in *in vivo* çalışmaları *P. Falciparum*'a karşı proguanil ve WR99210'dan daha güçlü olduğu bulunmuştur (T. R. Sweeney ve diğerleri, 1993b). 1994 yılında, Canfield ve ark. bu yeni biguanidin molekül sınıfının patentini almış ve PS-15'in ilaca dirençli Vietnam Smith *P. falciparum* suşuna karşı 150 mg / kg konsantrasyonda oldukça aktif olduğunu, oysa proguanil ve sikloguanil'in hiçbir aktivite göstermediğini bildirmiştir. Bu molekülü WR99210 ve proguanil ile karşılaştırıldığında iyi biyoyararlanım ve etkinlik sergilediği tespit edilmiştir (I. C. Canfield ve David, 1994).

1997 yılında Edstein ve ark., PS-15'i ve WR99210' u, Tayland ın *P. Falciparum*'un (sikloguanil, pirimetamin ve dapsona dirençli) yedi suşa karşı *in vitro* aktivitesini incelemişler bunlar arasında, WR99210'un sikloguanilden 363 kat daha güçlü olduğunu tespit etmişlerdir (Edstein, Bahr, Kotecka, Shanks ve Rieckmann, 1997). PS-15'in umut verici sonuçlarından motive olan grup çeşitli biguanidin analogları sentezlemiştir. İlginç bir şekilde, PS-33 ve PS-26'nın (Şekil 2-7) PS-15'e kıyasla daha iyi *in vivo* aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (N. P. Jensen ve diğerleri, 2001). Daha sonra, 2004 yılında, Jacobs ve ark. bu bileşiklerin patentini almış PS-33 ve PS-26 bileşiklerinin *Plasmodium sp.*, *Mycobacterium sp.* ve *Pneumocystis carinii*'ye karşı mükemmel anti sıtma aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir. Bildirilen bileşikler herhangi bir testis toksisitesi göstermemiştir (Norman P Jensen, Examiner ve Shippen, 2004).



Şekil 2-7 PS-26 ve PS-33 yapısı

2006 yılında, Zakikhani ve ark. tarafından metformin (AMP)- ile aktive edilmiş protein kinaza (AMPK) bağımlı meme kanseri hücrelerinde test etmişler ve büyüme inhibisyonu olduğunu bildirilmişlerdir. MCF-7 insan meme kanseri hücreleri üzerinde yapılan *in vitro* çalışmada, metforminin kanser hücrelerinin büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, mRNA translasyonunda genel bir düşüş ve epitel hücrelerinde protein sentezinde azalma gözlenmişler metformin konsantrasyonu değiştirilerek meme kanseri hücreleri üzerinde inhibisyon ile tedavi edilebileceğini göstermişlerdir (Zakikhani, Dowling, Fantus, Sonenberg ve Pollak, 2006).

Gotlieb ve ark. metformini OVCAR-3 ve OVCAR-4 (yumurtalık kanseri hücre hatları) hücre hatlarında test etmiş metforminin sitotoksik konsantrasyonlarda AMPK fosforilasyonunu indükleyerek hücre çoğalmasını engelleyen bir etkiye sahip olduğunu öne sürmüşlerdir. *In vitro* koşullar altında, metforminin ayrıca cisplatinin etkisini artırdığını tespit etmişlerdir (Gotlieb ve diğerleri, 2008). 2009 yılında Saito ve ark., biguanidin içeren buformin, fenformin ve metformin gibi antidiyabetik ilaçların UPR transkripsiyon programını bozduğunu ve bu nedenle seçici antikanser aktiviteye sahip olabileceğini öne sürmüşlerdir (Saito ve diğerleri, 2009).

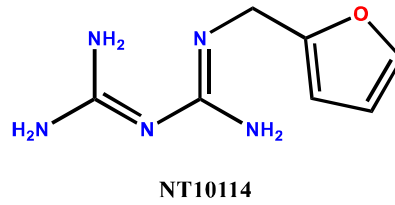
2011 yılında Segal ve ark., OVCAR-3 ve SKOV-3'te (yumurtalık kanseri hücre hatları) metformin alımı ile OCT1 taşıyıcılarının siRNA yıkımını bildirmiştir. Fenformin ile antiproliferatif aktivitesi (hücre çoğalmasını engelleyen) korunmuş, ciddi yumurtalık kanserinde antineoplastik aktivite için gerekli olan optimal metformin ve fenformin konsantrasyonunu tespit etmişlerdir (Segal ve diğerleri, 2011). 2012 yılında Shank ve ark., metforminin kanser kök hücreleri (CSC) üzerindeki *in vitro* ve *in vivo* inhibitör etkisini bildirmişlerdir. Metforminin, aldehit dehidrojenazlar (ALDH) seviyelerini (CSC'ler için bir belirteç) baskılayarak A2780'deki yumurtalık kanseri kök hücrelerinin büyümesini, cisplatine dirençli SKOV3 yumurtalık kanseri hücre hatlarını potansiyel olarak kısıtladığını

ayrıca, metforminin cisplatin ile sinerjistik etkisinin tümör hücrelerini baskıladığını tespit etmişlerdir. SKOV3 tümör hattında ksenogreftiyle indüklenen farede yapılan *in vivo* çalışmada, tek başına metformin ile karşılaştırıldığında, metformin ve cisplatin ile tedavi edilen hücrede tam tümör inhibisyonunu gözlenmiştir. Bu çalışma, metforminin anti-CSC etkisini desteklemiştir (Shank ve diğerleri, 2012).

Choudhary ve ark., skuamöz hücreli karsinomda metforminin inhibitör etkisini bildirmiştir. Metforminin, nu/nu murin modelinde insan epidermoid A431 ksenograft tümör büyümesini ve BAX:Bcl2 regüle hücre apoptozunu inhibe ettiğini göstermiştir. Metformin uygulamasının nükleer faktör kappa B'yi (NFkB) inhibe ettiğini ve inhibitör protein Ikb fosforilasyonunda azalmaya neden olduğunu, transkripsiyon proteini iNOS / COX-2 ve mTOR sinyal yollarını inhibe ettiğini bildirmişlerdir (Chaudhary, Kurundkar, Elmets, Kopelovich ve Athar, 2012). 2012 yılında Woster ve ark., çekirdekte bulunan LSD-1 (Lizin spesifik demetilaz-1) enzimini inhibe eden bazı polibiguanitlerin patentini almışlar ve LSD-1'in, çekirdekte bulunan H3 histonlarının demetler halinde hareket ettiğini ve transkripsiyonu arttırarak gen regülasyonunda önemli bir enzim olduğunu bu nedenle, polibiguanidinler tarafından LSD-1 inhibisyonunun kanser gibi hiperproliferatif hastalıkları tedavide etkili olacağını öne sürmüşlerdir (Boncher ve Us, 2012). 2013 yılında, Zhu ve ark. ErbB2 meme kanseri hücrelerinde metforminin potansiyel antikanser aktivitesini bildirmişlerdir. MMTV-ErbB2 transgenik farelerde metforminin *in vivo* çalışması, ErbB2 meme tümör hücrelerinin inhibisyonunu göstermişler bu sonuçlarla metforminin ErbB2e ile ilişkili karsinogenezi hedef alan önleyici stratejilerde kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir (Zhu ve diğerleri, 2014).

2014 yılında, Orecchioni ve ark. metformin ve fenformini insan beyaz yağ dokusu (WAT) endotel hücrelerinde ve HER21 meme kanseri modellerinde *in vitro* ve *in vivo* olarak test etmişler, ilaçların meme kanseri hücrelerinin anjiyogenezi üzerinde etki gösterdiğini öne sürmüşlerdir (Orecchioni ve diğerleri, 2015). Ayrıca, atenolol ve aspirinin HER2pBC modellerinde metformin ile sinerjik etki gösterdiği, bu kombinasyonun metforminin meme kanseri hücrelerine karşı antikanser aktivitesini arttırdığı, bu sinerjinin mikro çevre hücrelerini önemli ölçüde etkilediğini bildirmişlerdir (Talarico ve diğerleri, 2016). 2015 yılında Wysham ve ark., yumurtalık kanseri hücre hatları SKOV-3 ve IGROV1 üzerinde antitümör aktivite için metformin ve yeni biguanidin NT1014'ün (**Şekil 2-8**) karşılaştırmalı bir çalışmasını bildirmiştir. MTT testi, her iki OC hücre hattında metformin ve NT1014'ün anti-proliferatif aktivitesinin G1 fazında hücre döngüsü durmasına ve ardından apoptoza

neden olduğunu göstermiştir. İlginç bir şekilde, metforminle (SKOV3 ¼ 1000 mM; IGROV1 ¼ 850 mM) karşılaştırıldığında NT1014 çok düşük konsantrasyonda (SKOV3 ¼ 380 mM; IGROV1 ¼ 150 mM) tümör büyümesini inhibe ettiği gözlemlenmiştir. *In vivo* çalışmada, NT1014 tümör ağırlığını %61 oranında azaltırken, metformin sadece %32 oranında azalmıştır. *In vitro* çalışmalar neticesinde NT1014'ün metforminden daha fazla aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır (Wysham ve diğerleri, 2015). Bundan motive olan Zhang ve ark., NT1014 üzerinde ayrıntılı bir çalışma yürütmüşler ve NT1014'ün terapötik uygulamasında daha fazla gelişmenin, yumurtalık kanseri ilaçları için güçlü bir aday olarak yol açabileceğini öne sürmüşlerdir (L. Zhang ve diğerleri, 2016).



Şekil 2-8 NT1014 yapısı

Metforminin kanser hücresi çoğalımını nasıl önlediği ve mekanizmasını tahmin etmek için, Griss ve ark. ayrıntılı mekanik çalışma yürütmüş, metforminin hücre büyümesi için gerekli olan mitokondriyal bağımlı metabolik ara ürünlerin üretimini azalttığını bulmuşlardır. Ancak mitokondriyal bağımlı biyosentezi atlayan metabolik süreçlerdeki adaptasyonlar, tümör hücresinin biguanidinlere karşı direnç geliştirebileceğini düşündürmüştür (Griss ve diğerleri, 2015). Goodwin ve ark., NCIC Klinik Araştırmalar Grubu (NCIC CTG) metforminin MA.32'de plaseboya kıyasla çeşitli metabolik faktörleri önemli ölçüde iyileştirdiğini bildirmişler, metforminin diyabetik olmayan meme kanseri hastalarının metabolik profilini geliştirdiğine dair net kanıtlar sunmuşlardır (Goodwin ve diğerleri, 2015).

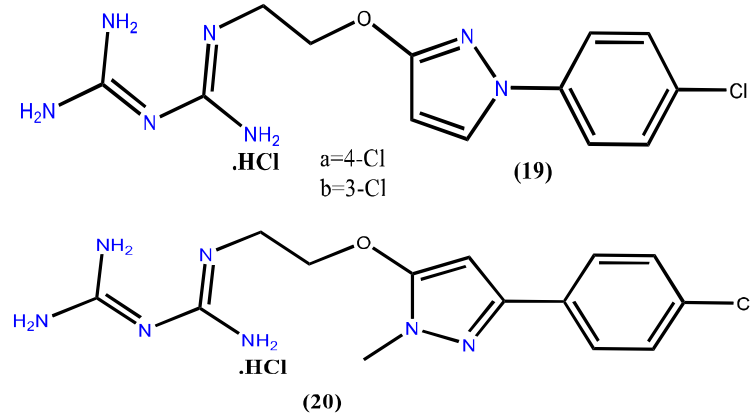
Pulito ve ark. metforminin farmakolojik konsantrasyonda mikroRNA'yı potansiyel olarak inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Metformin ile tedavi edilen farede meme kanseri hücresi ksenograftının onkogenik miR-21-5p ekspresyonunu azaltarak düzenlediğini tespit etmiş, klinik çalışmalarda antidiyabetik ilaç olarak metformin tüketen hastaların serumda düşük düzeyde miR-21-5p konsantrasyonu gösterdiği gözlenmiştir. MiR-21-5p'nin inhibisyonunun, kalsiyum bağlayıcı protein 39 (CAB39L) benzeri ve Sestrin-1 (SESN1) gibi AMPK aktivatörlerinin ekspresyonunu ve metformin kombinasyonlarının terapide kullanılabileceği öne sürmüştür (Pulito ve diğerleri, 2017).

Lea ve ark., biguanidinlerin kanser hücresi büyümesi ve glikoliz üzerindeki etkisini anlamak için buformini ve fenformin (iyi mitokondriyal alımı olan bileşikler) ile birlikte proguanil ve fenil biguanidin (zayıf alım oranına sahip) olarak kabul ederek, mesane ve kolon kanseri hücre hatlarına 50 µM konsantrasyonda seçilmiş biguanidinler inkübe etmişler Proguanilin fenformin ile takip edilen kanser hücrelerinin büyümesini potansiyel olarak inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Buformin ve fenil biguanidinlerin ise bu konsantrasyonda in aktif olduğu gözlenmiştir. Buna karşılık ortamın glikoz alımı ve asitlenmesinin sadece buformin ve fenformin ile ilişkili olduğu proguanil ve fenil biguanidin ile tedavi edilen hücre hatlarında herhangi bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. İyi mitokondriyal alıma sahip seçilmiş biguanidin bileşiklerinin glikoz metabolizmasından sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, biguanidinlerin büyüme inhibitör aktivitesinin mitokondriyal alım ile ilişkili olmadığı ve biguanidinler için çoklu etki alanlarının mevcudiyeti ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (Lea, Haneulsol ve DesBordes, 2018). Das ve ark., metforminin doğrudan sistein bakımından zengin Cyr61 üzerinde etkili olduğu pankreas kanseri hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü inhibe ettiğini bildirmişlerdir (Das ve diğerleri, 2015). Zhang ve ark., Cys61'i hedef alan yumurtalık kanseri hücrelerinde metforminin antikanser aktivitesini incelemişler Cys61 / CCN1'in yumurtalık kanseri hücrelerinde aşırı eksprese olduğu metforminin OVCAR-3 hücre hatlarında Cyr61'i doza bağımlı olarak önemli ölçüde inhibe ettiği bildirilmiştir (K.-B. Lee ve diğerleri, 2012)(F. Zhang, Chen, Du, Wang ve Yang, 2018, 2021).

İnsan rahim ağzı kanseri hücrelerinin (HeLa ve SiHa) tedavisinde buforminin eşsiz bir rol oynadığı Chen ve ark., tarafından bildirilmiştir. Buformin (10 mM) ile iyonlaştırıcı radyasyon (IR) kombinasyonunun tek tedavi yöntemine kıyasla tümör hücrelerinin radyo duyarlılığını ve sitotoksisiteyi arttırdığını akış sitometrisi raporuna dayanarak, hücre döngüsünün G2 / M fazındaki kanser hücreleri baskılamasının radyoterapiye daha yatkın hale getirdiği varsayılmıştır. Kombine tedavi ile buforminin AMPK aktivasyonunu artırdığı gözlenmiştir (L. Chen ve diğerleri, 2018).

Iyer ve ark. metformin ve buformini bağımsız olarak *in vitro* koşullar altında H460 insan akciğer kanseri hücrelerinde 2-deoksi-D-glukoz (glikoliz inhibitörü) ve WZB-117 (bir GLUT-1 inhibitörü) ile kombinasyon halinde test etmişler hem metformin hem de buformin 2-deoksi-D-glukoz ile kombinasyon halinde kullanıldığında güçlü sinerjik etki gözlenirken sadece WZB-117 kullanıldığında zayıf bir sinerjik etki gösterdiği bildirilmiştir (Yakisich, Azad, Kaushik ve Iyer, 2019).

Liang ve ark., metforminin trombosit oluşumunda ilk tanınabilir öncü olan megakaryoblastik hücreler (Dami ve MEG-01) üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Metforminin bu hücreler üzerinde proliferasyonunu ölçmek için CCK8 testini kullanmışlardır. Hücrelerin artması ya da bölünerek çoğalmasını önemli ölçüde inhibe ettiği gözlenmiştir. Metforminin doz ve zamana bağlı olarak apoptozu uyardığını öne süren akım sitometrisi yapılmışlardır(Liang ve diğerleri, 2017). Tyszka-Czochara ve ark., insan rahim ağzı kanseri SiHa/HTB-35 hücrelerine karşı metformin ve kafeik asit kombinasyonunu değerlendirmişler, bu kombinasyonun metabolik yeniden programlamayı düzenleyerek metastatik insan serviks kanseri SiHa/HTB-35 hücrelerini seçici olarak azalttığını, dahası bu kombinasyon hücre döngüsünü düzenleyerek sessiz tümör hücrelerine karşı antikanser aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir(Tyszka-Czochara, Bukowska-Strakova ve Majka, 2017). Pirazol parçasının biguanidin antitümör aktivitesini artırabileceği görüşüyle, Zhou ve ark. bir dizi yeni pirazol içeren biguanidin sentezlemiştir (**Şekil 2-9**). Sentezlenen bileşiklerin antikanser aktivitesi yumurtalık (A2780) ve iki mesane kanseri hücre hattına (UMUC3 ve T24) karşı test etmişler, 19a, 19b ve 20 her üç hücre hattında da metforminin fenforminden daha güçlü olduğu bunun yanı sıra bileşik 19a yumurtalık kanseri hücre hattına (A2780) karşı IC₅₀ değeri 6.9 mM aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca, bu bileşiklerin AMPK'yi aktive ederek ve mTOR sinyal yolunu inhibe ederek hareket ettiğini öne sürmüşlerdir (Zhou ve diğerleri, 2019).

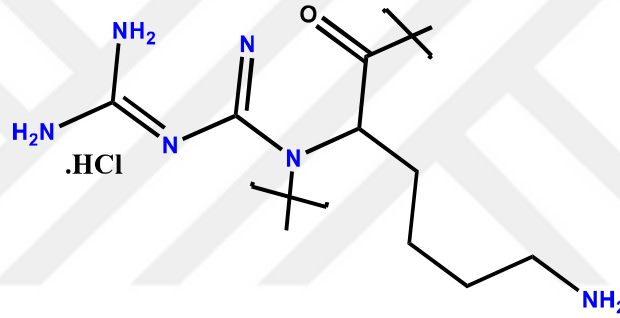


Şekil 2-9 Pirazol içeren biguanidinlerin yapıları.

Wang ve ark., ilaca dirençli yumurtalık kanseri hücreleri (A2780PAR ve A2780CR) tedavisi için yeni bir strateji bildirmişlerdir. Biguanidinlerin ve olaparibin (PAPRi inhibitörü) kombinasyonunun sinerjik etkisinin EOC'ye karşı potansiyel aktivite sergilediği hücre çoğalmasını ve göçünü önemli ölçüde azalttığını tespit etmişler metformin, fenformin

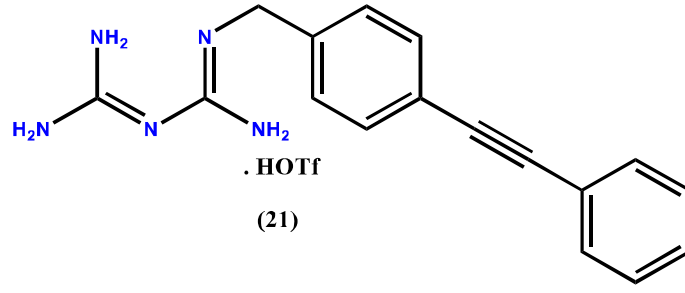
veya olaparib ile bireysel tedavinin doza bağımlı olduğunu göstermişlerdir (Wang ve diğerleri, 2020).

Ramasamy ve ark. kanser hücreleri inhibisyonu için yeni bir tedavi yaklaşımı bildirmiş, poli-L-lisin ve metforminden oluşan bir metformin polipeptit türevini (LysMET, **Şekil 2-10**) sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiği hem gen taşıma kapasitesi hem de antitümör aktivitesi değerlendirilmiştir. LysMET bir tümör baskılayıcı gen olan miRNA-320a lipit çift katmanlı (mLysMET) tarafından kapsüllenmişler ve HT-29 kolon kanseri hücre hatlarına karşı test etmişlerdir. MUC1 aptamer içeren nanopartiküllerin daha fazla hücre alıma sahip olduğunu gözlenmiştir. miRNA-320a ve metformin sinerjik etkisi kolon kanseri hücrelerine karşı test edilmiş tümör hücrelerini AMPK fosforilasyonu ile mTOR yoluna ve miRNA-320a'ya etki ederek β -katenini inhibe ettiği bildirilmiştir (Ramasamy ve diğerleri, 2019).



Şekil 2-10 Polipeptit biguanidin Lysmet yapısı

Hebert ve ark. biguanidium tuzlarından bir dizi feniletılbenzil türevini sentezlemiş ve pankreatik duktal adenokarsinom hücrelerine (PDAC) karşı antitümör aktivite açısından test etmişlerdir. Değerlendirilen tüm bileşikler, farede (NB508) pankreas kanseri hücreleri büyümesini 5 μ M'lik çok düşük konsantrasyonda etkili bir şekilde inhibe ederken, metformin ve fenformin bu konsantrasyonda inaktif bulunmuştur. Ayrıca, araştırmalar bileşik (21)'in (**Şekil 2-11**) kanser hücrelerine karşı daha yüksek seçicilik sergilediğini göstermiştir. İlginç bir şekilde, bileşik (21), sırasıyla 6.1 μ M ve 15 μ M'lik IC₅₀'deki KP4 ve PANC1 hücrelerine karşı çoğalım önleyici etki göstermiştir. *In vivo* çalışmalarda, bileşik 21'in fenforminden daha güçlü ve etkili olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğin NAD⁺/NADH oranını değiştirerek ve mitokondriyal solunumu inhibe ederek önemli antitümör aktivite gösterdiği öne sürülmüştür (Hébert ve diğerleri, 2021).



Şekil 2-11 Feniletilbenzil biguanidin yapısı.

Hart ve ark., yumurtalık kanseri hücreleri tedavisinde metforminin Sfengozin kinaz 1'in (SHPK1) aktif metabolit sfengosin-1-fosfat (S1P) oluşumunda önemli bir enzim olduğunu bildirmişlerdir. Yumurtalık kanseri hücrelerinde SHPK1'in aşırı ekspresyonunun veya eksojen S1P'nin eklenmesinin tümör büyümesi ve göçünü arttırdığını göstermişlerdir. Ayrıca, metforminin, düşük SHPK1 seviyelerine sahip yumurtalık kanseri hücrelerine kıyasla, aşırı eksprese edilen SHPK1 ile yumurtalık kanseri hücrelerini potansiyel olarak inhibe ettiği bildirilmiştir. Anti-diyabetik ilaç olarak metformin alan yumurtalık kanseri hastalarında daha ileri araştırmalarda düşük serum S1P düzeyleri saptanmışlar yumurtalık kanser hücreleri *in vitro* metformin ile tedavi edildiğinde de benzer sonuçlar elde etmişlerdir (Hart ve diğerleri, 2019).

Jafari-Gharabaghlu ve ark. metformin ve fenforminin meme kanseri hücrelerinde sinerjik etkisini bildirmişlerdir. MDA-MB231 ve T47D meme kanseri hücrelerine karşı sırasıyla kombinasyon halinde metformin-fenformin test edilmiş, IC₅₀ değeri sırasıyla 4.01 mM ve 9.40 mM anlamlı derecede düşük bulunmuş, kombinasyonun MDA-MDB 231 hücrelerinde T47D hücrelerine güçlü antiproliferatif etki gösterdiği, ayrıca bu bileşiklerin hTERT ekspresyonunu inhibe ederek hareket ettiğini öne sürmüşlerdir (Jafari-Gharabaghlu ve diğerleri, 2018)

Chung ve ark. metformin ve sorafenibinin karaciğer kanseri hücrelerinde sinerjik etkisi *in vitro* aktivitesi bildirmişlerdir. HepG2.2.15 ve hasta kaynaklı ksenograft kanser hücrelerinde metformin-sorafenibin konsantrasyona bağlı sitotoksik aktivitesi incelenmiş bu kombinasyonun kanser hücrelerinin apoptozunu artıran IL-1b, IL-6, p53 ve TNF-a faktörlerini yukarı regüle ettiği bildirilmiştir. Malesef, klinik çalışmalarda, sorafenib ile tedavi edilen ve antidiyabetik ajan olarak metformin tüketen hastalar, tümör agresifliği ve Sorafenib'e direnç göstermiştir (Chung ve diğerleri, 2018).

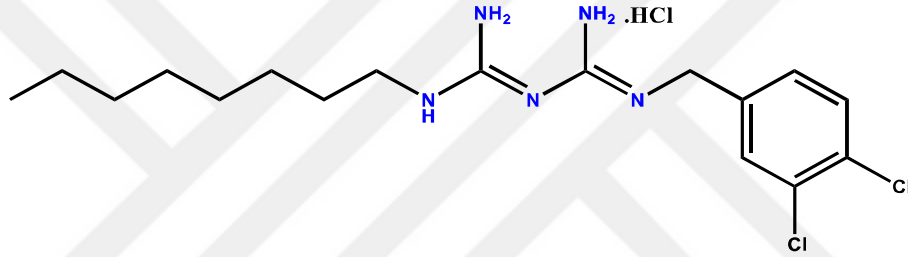
Bardaweel ve ark. biguanidinin *in vitro* antikanser aktivitesinin terapötik dozdan daha yüksek konsantrasyonda gözlemlendiği yorumunu yapmışlardır. Kanser hücresi büyümesi için kullanılan kültür ortamı hiperglisemik şartları 10-25 mM glikoz konsantrasyonundan oluşmaktadır. Bu nedenle, fizyolojik durumu taklit etmek için, meme kanseri hücre hatlarına (MCF-7, T47D, MDAMB- 231) karşı fizyolojik glikoz konsantrasyonunu taklit ederek metformin ve fenformini 1 mM konsantrasyonda değerlendirmiştir. Farmakolojik konsantrasyonda metformin ve fenforminin glukozca zengin hücre kültüründe inaktif olduğunu gözlemlemişler normoglisemik (5.5 mM) durumdayken, her ikisi de güçlü antiproliferatif aktivite sergilemiş hücre canlılığını azalttığı bildirilmiştir. Fenforminin AMPK'yi aktive ederek ve mTOR yolunu aşağı regüle ederek antitümör aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Chung ve diğerleri, 2018).

1983 yılında Broxton ve ark. PHMB'nin bakterisidal aktivitesini araştırmışlar ve E. coli'nin hücre süspansiyonunu biyositlerle tedavi etmişlerdir. Biyositin bakterisidal etkisinin, polimer uzunluğundaki artışla arttığı gözlenmiş, yüksek molekül ağırlıklı (HMW) polimer PHMB ($n \geq 10$) vantosile (PHMB, $n=5.5$) kıyasla çok düşük konsantrasyonda bakterilerin büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiği gözlenmiştir. Dimer içeren amin uçlu biguanidin bileşikler (AED) ($n=2$) E. Coli kültürü üzerinde en az etki gösterdiği ayrıca biyositlerin hücre geçirgenliğini artırarak hücre zarında kalıcı hasara neden olduğunu bildirmişlerdir (Broxton, Woodcock ve Gilbert, 1983).

1990 yılında John, bis-(pirolidonil alkilen) den oluşan yeni biguanidin türevlerinin güçlü antimikrobiyal aktivite düşük toksisite sergilediğini ve suda çözünürlüğü sağladığını iddia etmiştir (J.J. Merianos, 1990). 1992 yılında Larkin ve ark., oftalmik enfeksiyondan sorumlu protozoan parazit A. keratite karşı PHMB kullanımını bildirmişlerdir (Larkin, Kilvington ve Dart, 1992). 1996 yılında Seal ve ark. klorheksidin ve propamidin kombinasyonunun A. keratitinin tedavisinde herhangi bir toksik etki ve direnç olmaksızın oldukça etkili olduğunu bildirmişlerdir (Seal ve diğerleri, 1996). Daha sonra, Acanthamoeba'nın 3 patojenik suşuna karşı aleksidinin amebisidal aktivitesi değerlendirilmiştir. Aleksidinin trofozoitleri 10 µg/ml konsantrasyonda öldürürken kistleri öldürmek için 100 µg/ml'nin gerekli olduğu bildirilmiştir. 100 µg/ml aleksidin ve klorheksidinin *in vitro* koşullarda kornea epitel hücreleri üzerinde etkisi değerlendirilmiş aleksidinin Çin hamsterlarının korneasına yüzeysel olarak uygulandığında aleksidinin daha

az toksik olduğunu ve aleksidinin *A. keratite* karşı yeni bir ilaç olabileceğini öne sürmüşlerdir (H. Alizadeh, Neelam ve Cavanagh, 2009).

1997 yılında Tsubouchi ve ark. Tasarlanan bir dizi 1,5-disubstitute biguanidin moleküllerin yapı aktivite ilişkisini incelemişler hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilerde antibakteriyel aktivite açısından değerlendirilmişlerdir. Potansiyel aktivite gösteren bileşik **Şekil 2-12**'de verilmiştir. 3,4- diklorobenzil ikame bileşiklerinin iyi aktivite gösterdiği ayrıca aril grubunu sabit tutarak alkil zincir uzunluğunu N⁵ pozisyonunda değiştirdikleri gözlenmiştir. Bileşiğin klorheksidin ile karşılaştırıldığında geniş mikroorganizma spektrumunda daha iyi antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Tsubouchi, Ohguro, Yasumura, Ishikawa ve Kikuchi, 1997).



Şekil 2-12 Tsubouchi ve ark. tarafından incelenen antibakteriyel potansiyel bileşiğin yapısı.

Polimerik klorheksidin antimikrobiyal aktivitesi, *E. faecalis*'in *in vitro* salma cihazı modeli kullanılarak dentin tübül enfeksiyonunda değerlendirilmiştir. Bu yeni polimerik klorheksidin kontrollü salım cihazı kullanılarak yapılan testte *E. faecalis*'e karşı etkili ilaç olabileceğini öne sürmüştür (Y. Lee ve diğerleri, 2008).

2012 yılında Kim ve ark., *E. faecalis* tarafından enfekte edilen dentin blokları üzerinde aleksidin (%1) ve klorheksidinin (%2) antimikrobiyal etkinliğini karşılaştırmıştır. Diş dolgularının %10 alexidin veya %2 klorheksidin içinde 10 dakika bekletilmesinin *E. faecalis* enfeksiyonuna karşı etkili olabileceği bildirilmiştir (Y. Lee ve diğerleri, 2008). Klorheksidin ve NaOCl sıklıkla kök kanal irrigasyonu olarak kullanılmaktadır ancak klorheksidin ile NaOCl (diş preparasyonunda yaygın bir irrigasyon maddesi) reaksiyona girme ve toksik olan parakloroanilin çökeltileri oluşturma eğilimindedir. Buna karşılık, Alexidin'nin NaOCl ile çökelti oluşturmadığı kanıtlanmışlardır (Y. Lee ve diğerleri, 2008). Surender ve ark, aynı konsantrasyonlarda *E. faecalis*'e karşı aleksidin ve klorheksidin

karşılaştırmalı bir çalışma gerçekleştirmişler Alexidin *E. faecalis*'e karşı daha iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bu nedenle güvenlik ve etkinlik açısından üstün bir kök kanal irrigasyonu olabileceğini öne sürmüşlerdir (Y. Lee ve diğerleri, 2008).

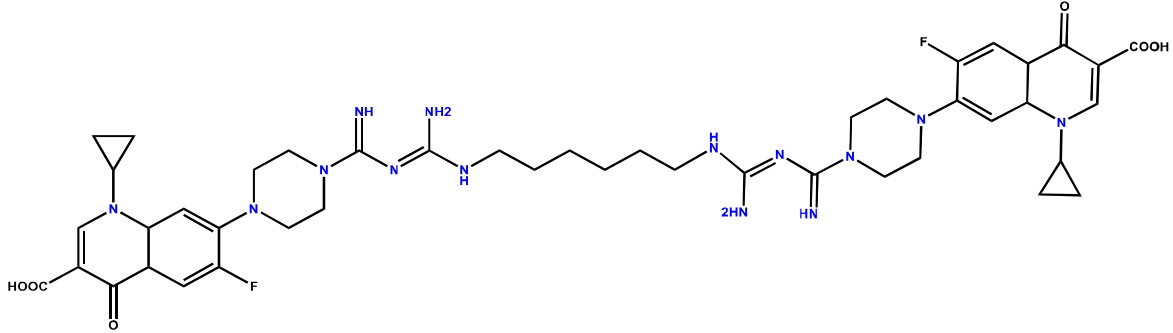
2011 yılında Siqueria ve ark. kök kanal irrigasyonu (basınçlı yıkama) olarak bağ dokusu iltihabı olan dişlerin tedavisi için %0.12 klorheksidin glukonat ve %2.5 sodyum hipokloritin *in vivo* antimikrobiyal etkinliğini karşılaştırmışlar sodyum hipoklorit ve klorheksidin kullanılarak yapılan irregasyon tedavi protokollerinin bakteriyel yüklemeye ile enfekte olmuş kök kanallarında aktiviteyi önemli ölçüde azalttığını tespit etmişlerdir (Mohammadi ve Abbott, 2009; Rôças ve Siqueira, 2011). Gomes ve ark. endodontik patojenlere karşı kanal içi ilaç olarak kalsiyum hidroksit ve %2 klorheksidin glukonat jeli kombinasyonunu değerlendirmişler, %2 klorheksidin jeli+Ca(OH)₂ kombinasyonunun, steril su ile Ca(OH)₂'ye kıyasla daha iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiğini öne sürmüşlerdir (Figueiredo de Almeida Gomes ve diğerleri, 2006). Kanal içi ilaç tedavisi için klorheksidin'in oktenidiye karşı antimikrobiyal aktivitesi *E. faecalis*'e karşı değerlendirilmiş ve her ikisinin de etkili olduğu tespit edilmiştir (de Lucena ve diğerleri, 2013).

1999 yılında ilk kez Zhang ve ark. poliguanidin, poliheksametilen biguanidin klorür ve stearat tuzlarını çöktürme yöntemiyle sentezlemiş yapılarını, çözünürlüklerini ve antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. NMR, FTIR, XPS ve elemental analizlerden elde edilen veriler, polimerlerin yapısının teorik yapıya benzediğini ortaya koymuştur. Termogravimetrik analiz (TGA), polimerlerin 250°C'ye kadar yüksek sıcaklıklarda stabil olduğunu göstermişler sentezlenen polimerler metanol, etanol içinde çözünmüş ancak diğer organik çözücülerde çözünmemiştir. PHMB türevlerinin 200 µg/ml'nin altındaki konsantrasyonlarda mantar ve maya dahil çok sayıda gram-pozitif ve gram-negatif bakteriye karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergilediği tespit edilmiştir (Y. Zhang, Jiang ve Chen, 1999).

Michael ve ark., PHMB'nin nükleik asitlerle etkili bir şekilde bağlandığını antimikrobiyal aktivite sergilediğini göstermişler, daha düşük konsantrasyonda PHMB'nin neden olduğu DNA hasarının tolere edilebilir ve onarılabılır olduğu dolayısıyla bakteriyostatik etki gösterdiği bildirilmiştir (Allen, White ve Morby, 2006).

2004 yılında Shetty ve ark., BVS-10A (**Şekil 2-13**) ve bisbiguanidin kısmı içeren türevlerinin AIDS hastalarında fırsatçı enfeksiyonlara neden olan bakterilere karşı

antimikrobiyal aktivite sergilediği bu molekülün anti-bakteriyel ve antiviral aktivite gösterdiği bildirilmiştir (B.V. Shetty, 2004).



Şekil 2-13 BVS-10A yapısı

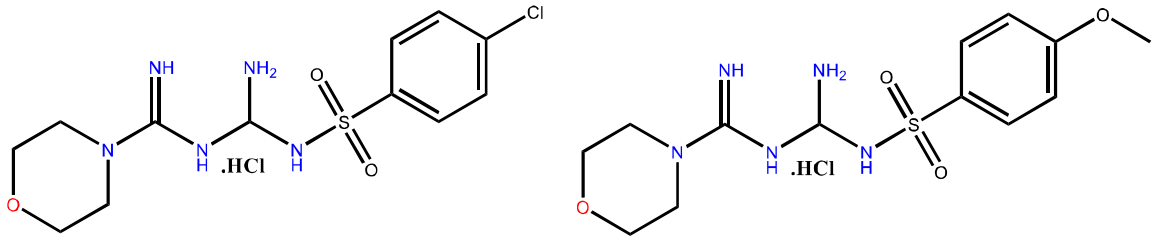
Geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite ve düşük risk profiline dayanarak, Hubner 2010 yılında yara enfeksiyonları tedavisinde PHMB kullanımını önermiş %0.02' nin (200 µg/ml) altındaki konsantrasyonda PHMB'nin *S. aureus*, *S. faecalis*, *S. lactis*, *E. coli*, **E. faecium**, *P. aeruginosa* ve *C. albicans*'a karşı mikrobisidal etki gösterdiğini bildirmiştir (Hübner ve Kramer, 2010).

2010 yılında Calinescu ve ark. üç yeni bakır (II) kompleksi biguanidin bildirmiş, Klorheksidin diasetat bakır (II) klorür ve bromür asetat tuz kompleksleri kullanmıştır. Klorür içeren kompleks gram pozitif bakteri ve mantar kültürü üzerinde metal içermeyen formuna göre daha iyi aktivite sergilemiştir. Ancak gram negatif bakteriler üzerinde standart antibiyotiklerden daha az aktif bulunmuştur (Calinescu, Negreanu-Pirjol, Calinescu ve Georgescu, 2012; Călinescu, Negreanu-Pirjol, Georgescu ve Călinescu, 2010). Olar ve ark. anti-enfektif ajanlar olarak metal kompleksi biguanidin kullanımını bildirmişlerdir. Mn(II), Ni(II), Zn(II), Cu(II), perklorat tuzu ile N,N-dimetilbiguanidin (DMBG) kompleksini sentezlemişler elementel analiz ve farklı spektroskopik teknikler kullanarak karakterize etmişlerdir. [Ni(DMBG)₂](ClO₄)₂.DMF ve [Cu(DMBG)₂](ClO₄)₂ komplekslerinin tek kristal X-ışını kırınımı ile iki DMBG şelat molekülünün bir kare oluşturan merkezi metal atomuna bağlı düzlemsel yapı olduğunu ve metil grupların trans formda düzenlendiğini göstermişlerdir (Olar, Badea, Marinescu, Chifiriuc, Bleotu, Grecu, Iorgulescu ve Lazar, 2010). Bu metal komplekslerinin aynı zamanda inert yüzeylerde antiseptik, dezenfektan ve anti bakteriyel ajanların kolonizasyonunu da engellediği tespit edilmiştir. Bu grup 2013

yılında, benzer kullanım için üç yeni Fe(III) kompleksli N,N-dimetilbiguanidin bileşiği bildirmiştir (Badea ve diğerleri, 2013).

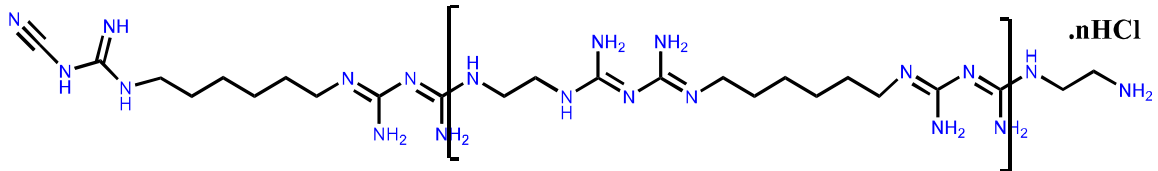
Poliheksametilen biguanidin köpük pansumanların kullanımı, bakteriyel yükün ve ağrının azaltılması için kronik yaralarda denenmiştir. PHMB pansumanların kullanımı, 4. haftada bakteri yükünü ve 2. haftada ağrıyı önemli ölçüde azaltmıştır (Sibbald, Coutts ve Woo, 2011). Mikic ve ark., kök kanal modellerinde *E. faecalis*, *C. albicans* ve *S. epidermidis*'e karşı %0,2 poliheksametilen biguanidin (PHMB) antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmiş %2,5 sodyum hipoklorit ve %0,2 klorheksidin ile karşılaştırmıştır. Çalışmaları hem poliheksametilen biguanidin hem de sodyum hipokloritin kök kanal modellerinde *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu fakat klorheksidin ile tedavide ise etkili olmadığı tespit edilmiştir (Mikić ve diğerleri, 2018). İzotonik ajanların PHMB'nin antimikrobiyal aktivitesi üzerine etkisi Yanai ve ark. tarafından değerlendirilmiştir. PHMB'nin bu antimikrobiyal aktivitesi NaCl (iyonik ajan) tarafından inhibe edilmiş ancak propilen glikolden (iyonik olmayan) etkilenmediği bildirilmiştir (Yanai, Ueda, Nishida, Toyohara ve Mori, 2011).

Melander'in çalışmalarından hareketle Ishida, 1965'te poliovirüs, newcastle hastalığı (NCD) virüsü ve *sendai* virüsü üzerinde biguanidin ve amid türevleri serisinin inhibitör etkisini araştırmaya karar vermiştir (Ishida, 2006). Alkil biguanidinlerin HeLa hücrelerinde *sendai* virüsünün gelişimini inhibe ettiği gözlemlenmiş ve alkil zincir uzunluğundaki bir artışla sitotoksitenin arttığını fark etmiştir. Çok az sayıda bileşik, *sendai* virüsü ve NCD virüsüne karşı *in vitro* durumda inhibitör aktivite göstermiş, ancak hiçbir poliovirüs plak oluşumunu inhibe etmede başarılı olamamıştır (Ishida, 2006). Bir dizi fenil ve benzil biguanidin türevinin de poliovirüs plağına karşı inaktif olduğu tespit edilmiş ve p-toluensülfonil grubunun N³ pozisyonunda alkil biguanidin eklenmesiyle poliovirüs plağına inhibitör aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Daha ileri araştırmalarda benzensülfonil biguanidin türevlerine morfolin grubunun eklenmesiyle daha güçlü bileşikler elde edilmiş, N¹,N¹-anhidrobis-(β -hidroksietil)klorobenzen-sülfonil biguanidin ve N¹,N¹-anhidrobis-(β -hidroksietil) metoksibenzen-sülfonil biguanidin (**Şekil 2-14**) bileşikler, poliovirüs ile enfekte olmuş farelerde profilaktik inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir (Ishida, 2006).



Şekil 2-14 Benzensülfonil biguanidin türevleri

Kreb ve ark. 2005 yılında polibiguanidin türevlerinin anti HIV-1 aktivitesi gösterebileceğini öne sürmüşler ve hidrokarbonları farklı zincir uzunluklarında bağlayarak polibiguanidinlerin çeşitli türevlerini sentezlemişlerdir. Yapılan in vitro çalışmalarda, PHMB'nin (polihexametilenbiguanidin) hücresiz ve hücre bağlantılı HIV-1'e karşı orta düzeyde aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Krebs ve diğerleri, 2005). Ayrıca, PHMB'nin virüs bağlanma ve hücre girişine müdahale ettiğini öne sürmüşlerdir. Daha aktif ve daha az toksik PHMB türevlerini tanımlamak için, hidrokarbon zincir uzunluğu değiştirilerek PHMB'nin çeşitli yapısal varyantları sentezlenmiştir. Bunlar arasında polietilenehexamethilen biguanidin (PHMB, **Şekil 2-15**) HIV-1'e karşı en aktif ve düşük toksisiteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Krebs ve diğerleri, 2005).

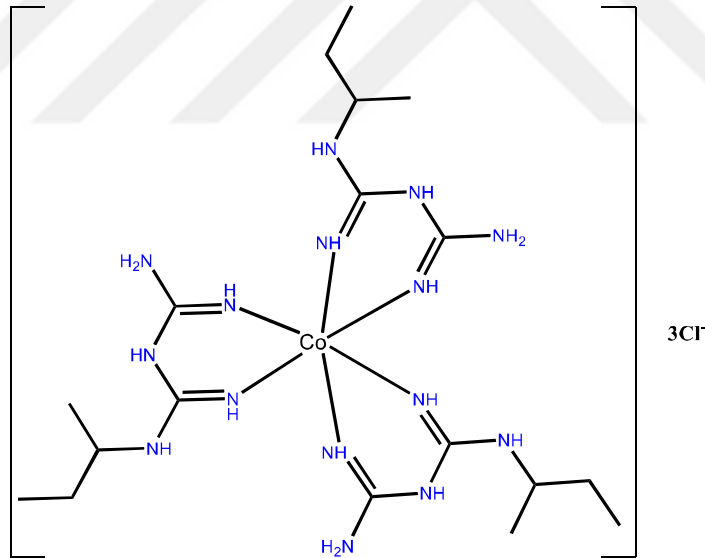


Şekil 2-15 Polietilenheksametilen biguanidin (PHMB) yapısı

Sharma ve ark., Metforminin pleiotropik doğası nedeniyle Covid-19 tedavisinde metformin kullanımını araştırmışlardır. AMP-aktif protein kinaz (AMPK) ACE2 (Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2)'nin stabilitesinin korunmasında rol oynadığını öne sürmüşlerdir. Moleküler düzeyde metformin AMPK fosforilasyonunu aktive etmiş, ACE2 reseptörü üzerine fosfor grubunun eklenmesi ile reseptörde fonksiyonel ve konformasyon değişikliklerine yol açmıştır, böylece SARS-CoV-2'nin reseptör bağlanma alanını engellemiştir (Sharma, Ray ve Sadasivam, 2020). Konakçı ve virüsün protein-protein etkileşimi hakkında mevcut raporları inceleyerek, önemli viral proteinlerin, N ve Orf8'in, mTORC1 yolu tarafından düzenlenen insan proteinleri LARP1 ve FKBP7 ile etkileşime

girdiğini bildirmişlerdir (Sharma ve diğerleri, 2020). Lehrer, PI3K / AKT / mTOR yolunun MERS-CoV enfeksiyonunda kilit rol oynadığını ve bu nedenle bu yolun hedeflenmesinin korona virüslerinin tedavisi için fırsat yaratabileceğini, biguanidinlerin inhalasyon yolu ile uygulanmasının influenza ve koronavirüsü inhibe edebileceğini öne sürmüşlerdir (Lehrer ve Rheinstein, 2020; Sharma ve diğerleri, 2020).

2016 yılında Kirin ve ark., Metal komplekslerinin çeşitli fizyolojik süreçlerin düzenlenmesine katılımından esinlenerek, kobalt nitrati farklı biguanidin türevleri ile işleyerek kobalt (III) biguanidin kompleksini sentezlemişler, kobalt kompleksini *in vitro* antiviral aktivite için A / California / 07/09 (H1N1pdm09) influenza virüsüne karşı test etmişlerdir (Kirin, Demkin, Smolentsev, Il ve Maksakov, 2016). Antiviral aktivitenin değerlendirilmesi, nötral kırmızı alım testi ve virüs kaynaklı sitopatik etkinin (CPE) inhibisyonu ile gerçekleştirmişlerdir. Test edilen bileşikler arasında, sekonder bütülbüguanidin içeren kobalt (III) kompleksi (Şekil 2-16), en yüksek antiviral aktivite, düşük toksisite ve iyi terapötik etkinlik ile umut verici sonuçlar gösterdiği bildirilmiştir (Kirin ve diğerleri, 2016).

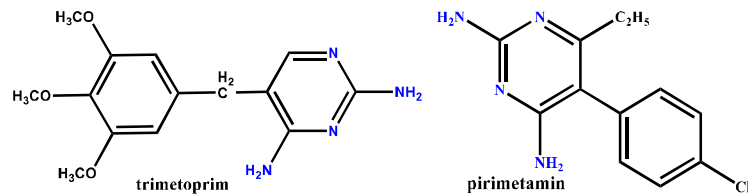


Şekil 2-16 İkincil bütülbüguanidin ile kobalt (III) kompleksinin yapısı

Bu bileşiğin yapısı X-ışını kristalografik yöntemi ile belirlenmiş ve kobalt atomunun üç şelatlı ikincil bütülbüguanidin ligandının altı azot atomu ile koordine edildiği gözlenmiştir (Kirin ve diğerleri, 2016). Biguanidin türevlerinin kobalt kompleksi hakkında mevcut olan umut verici sonuç ve veriler, araştırmacıları biguanidinlerin antiviral aktivitesi alanında daha fazlasını keşfetmeye teşvik etmiştir.

Scheen, COVID-19'dan etkilenen tip 2 diyabetik hastalar üzerinde mevcut retrospektif gözlemsel çalışmalardan elde edilen ön verileri analiz etmiştir. Hâlihazırda metformin dozları alan hastaların, metformin tüketmeyen diyabetik hastalara kıyasla düşük ölüm oranı gösterdiği analiz edilmiş ayrıca COVID-19 hastalarında metformin etkisi sonuçlandırmadan önce sistematik kontrollü ve rastgele çalışmaların yapılması gerektiğini öne sürmüştür (Scheen, 2020b). Yang ve ark., ilaç tasarımı için protein hedefi olarak yeni korona virüsünün (PDB: 6LU7) 3CLpro proteaz enzimini alarak yapı tabanlı tarama testini gerçekleştirmiş, metformin ve biguanidin hidroklorürün sırasıyla -6.72 ve -2.11 kcal / mol bağlanma enerjisi olduğunu göstermiştir. Guanidin kısmının COVID-19'a karşı 3CLpro enzimi ile uygun bağlanmaya yardımcı olduğunu öne sürmüşlerdir (Outbreak ve Wang, 2020).

2005 yılında Gupta ve ark., filariasis tedavisinde kullanılan önemli bir ilaç olan dietilkarbamazinin, folat metabolizmasında yer alan çeşitli enzim inhibisyonunu araştırmıştır (Pattillo, Gupta ve Carey, 2005). Bag ve ark.'nın *B. malayi microfilariae* türleri üzerinde yaygın olarak pazarlanan iki antifolat ilaç pirimetamin (antimalarial-DHFR inhibitörü) ve trimetoprim (antibakteriyel-DHFR inhibitörü) üzerinde araştırma yapmışlardır (Bag ve diğerleri, 2010). Trimetoprim ve pirimetaminin IC₅₀ değerleri, *B. malayi*'ye karşı test edildiğinde sırasıyla 12.92 ve 20.10 µM'dir. Bu ilaçlar, hareketlilik kaybını kontrol etmek için yetişkin solucanlara karşı değerlendirilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen umut verici sonuçlar biguanidin ve triazen kısımları içeren bir dizi molekülün (A-B serisi) değerlendirilmesine yol açmıştır. Seri B'nin A serisine kıyasla daha güçlü olduğu tespit edilirken değerlendirilen bileşikler arasında B1-03, B1-04, B1-07, B2-04, B2-07 bileşiklerin tamamı inhibisyon sergilemiş, IC₅₀ değerleri sırasıyla 16.72, 6.31, <5.83, 5.73, 39.52 µM olarak tespit edilmiştir. İlginç bir şekilde, B2-04 ve B2-07'nin (Şekil 2-17) pazarlanan antifolat ilaçlardan, yani trimetoprim ve pirimetamin'den daha aktif olduğu tespit edilmiştir (Bag ve diğerleri, 2010; Thakkar ve diğerleri, 2010).



bildirilmiştir (Noori ve diğerleri, 2013; Storelli, 2013). Bannister ve ark. metformin, sülfonilüraz monoterapisi ve diyabetik olmayan kontrollerle tedavi edilen tip 2 diyabetik hastalarda kardiyovasküler olaylar ve ölümle ilişkili bir popülasyon çalışması yürütmüştür. Metformin monoterapisi olan T2DM hastalarının, diyabetik olmayan kontrollere göre daha uzun yaşam sonuçları sergilediği belirtilmiştir (Bannister, Holden, Morgan, Halcox ve Schernthaner, 2014). 2017 yılında Brazilia ve ark., geriatric hastalarda kardiyovasküler olaylar, kanser, demans ve mortalite gibi yaşa bağlı hastalıklarda metforminin rolünü anlamak için TAME (Targeting Aging with metformin) klinik çalışma projesini başlatmıştır. Bu proje, yaşa bağlı hastalıklarda yeni tedavi yaklaşımları bulmayı ve yeni nesil yaşlanma karşıtı ilaçların geliştirilmesinin önünü açmayı amaçlamıştır (Barzilai, 2017). 2020 yılında, metforminin yaşlanma ile ilgili önemli faktörler üzerinde inhibitör etki taşıdığı bildirilmiştir (Kulkarni, Gubbi ve Barzilai, 2020).

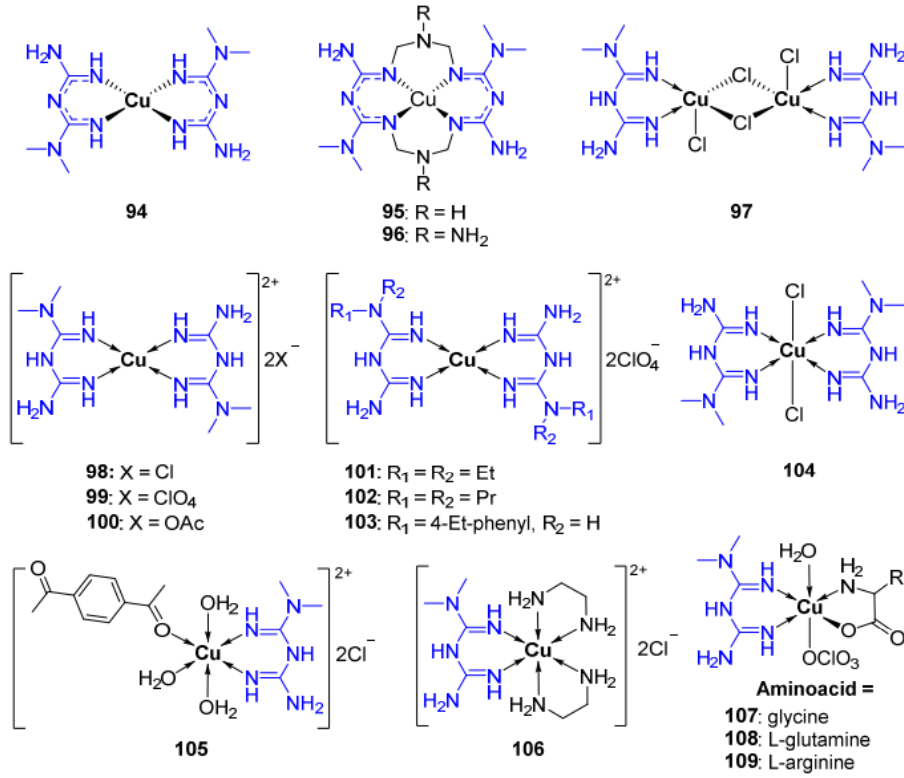
Geçiş metallerine sahip çok çeşitli biguanidinler rapor edilmiş ve bunların moleküler yapıları kristalografik kanıtlarla desteklenmiştir (Compounds, y.y.; Slotta ve Tschesche, 1929b) Bununla birlikte, metal-biguanidin kompleks oluşumunun biyolojik rolü yakın zamana kadar araştırılmamıştır. Hücre içi Cu yokluğunda, H4IIE karaciğer hücrelerinde metformin aracılı AMPK aktivasyonunun en az %50 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Logie ve diğerleri, 2012). Metforminin mitokondriyal solunum zinciri etki mekanizmasında merkezi bir rol oynayan AMP-aktive protein kinazı (AMPK) aktive ederek hepatik enerji durumunu azalttığı bildirilmiştir (Viollet ve diğerleri, 2012). Logie ve ark. Metformin, biguanidin, propandiimidamit (PDI) ve malonohidroksamamid (MHA) karşılaştırmasını yapmış yalnızca yüksek afiniteli psödo-aromatik Cu kompleksleri oluşturabilen bileşiklerin AMPK sinyali aktivasyonunu indüklediğini ortaya koymuşlardır. Sadece biguanidinler, PDI hariç, mitokondriyal solunumu ve H4IIE karaciğer hücrelerinde glukoneojenik genlerin ekspresyonunu inhibe etmiş ve primer hepatositlerde hepatik glukoz üretimini baskılamış, bu da metforminin antihiperglisemik özelliklerinin Cu'ya bağımlı olabileceğini düşündürmüştür (Logie ve diğerleri, 2012).

D. Sweeney ve ark. tarafından biguanidinler ve diğer antidiyabetik ilaçların genellikle antimalaryal özellikleri ile karakterize olduklarından her iki hastalığın terapötik mekanizmaları arasında bazı benzerlikler olabileceği düşünülmüştür. Sistein proteazları her iki hastalıkta da rol oynadığı ve endojen metaller tarafından inhibe edilmelerinden yola çıkan grup biguanidinlerin trans pozisyonunda metalin mekik gibi davranabileceği endojen metalleri bir sistein proteazın aktif bölgesinin yakınına getirebileceği daha sonra ayrışma ile metallerin

serbest kalabileceği varsayılmıştır(D. Sweeney, Raymer ve Lockwood, 2003). Hem metformin hem de fenforminin metallerin yokluğunda biguanidinlerin falcepain-2 ve kathepsin B aktivitesini önemli ölçüde inhibe etmediği Zn (II) veya Fe (III) varlığında inhibitör etkilerini en az %25-55 oranında belirgin bir şekilde arttırdığı gösterilmiştir. En belirgin etkiler aktif olmayan bir Cu(II) konsantrasyonu (0.5 µM) varlığında fenformin (0.02 µM) tarafından gözlenmiştir ve bunun da % 75'lik bir proteolitik inhibisyona neden olduğu bildirilmiştir (D. Sweeney ve diğerleri, 2003).

Antidiyabetik ve antisıtma özellikleri yanı sıra metforminin antikanser özelliklerinin de Cu'ya bağımlı olabileceği bildirilmiştir. 400 µM CuSO₄ ile çeşitli kanser hücre hatlarının artan metformin konsantrasyonları ile eşzamanlı tedavisi, metformin sitotoksitesinde önemli bir artış olduğunu ortaya koymuştur (Abdelrahman ve diğerleri, 2021). Bununla birlikte, gözlenen etkilerin tek başına Cu(II) veya Cu(II) ve metformin kombinasyonundan mı kaynaklandığı açık değildir. Hücre içi Cu seviyelerinin fazlalığının hücrel Cu homeostazının bozulmasına, oksidatif strese ve DNA hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Babak ve Ahn, 2021; Ohui ve diğerleri, 2019) .

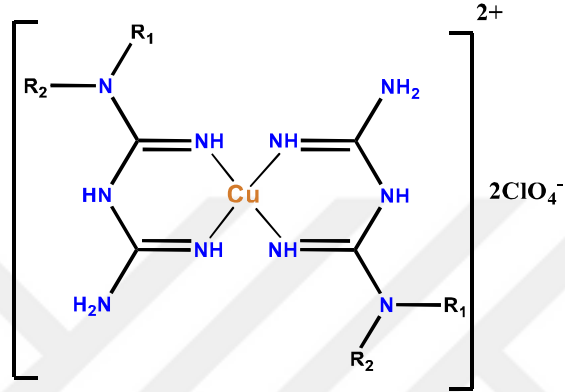
Cu'nun antibakteriyel özellikleri eski uygarlıklardan beri bilinmektedir (Salah, Parkin ve Allan, 2021). Cu yüzeylerinin ve malzemelerinin, metisiline dirençli *S. aureus* da dahil olmak üzere bakteriyel biyofilmleri etkili bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu da hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemli bir azalmaya neden olmuştur (Salgado ve diğerleri, 2013; X. Zhang ve diğerleri, 2021). Cu(II)-metformin komplekslerinin antimikrobiyal ajanlar olarak terapötik bir potansiyele sahip olup olmadığını anlamak amacıyla, çeşitli bakteri ve mantar suşlarına karşı geniş bir Cu kompleksleri paneli test edilmiş ve diğer metal merkezlerle yapısal olarak benzer komplekslerle karşılaştırılmıştır (Gao, 2007).



Şekil 2-19 Metformin ve analoglarının Cu(II) kompleks yapıları

Olar ve ark. daha önce açıklanan sentetik prosedürlere göre mono- ve dinükleer tetrakoordinat Cu(II) kompleksleri 94-99 (Şekil 2-19) sentezlemiştir (Badea ve diğerleri, 2021; Olar, Badea, Marinescu, Chifiriuc, Bleotu, Grecu, Iorgulescu ve Lazar, 2010; Olar, Badea, Marinescu, Chifiriuc, Bleotu, Grecu, Iorgulescu, Bucur, ve diğerleri, 2010). 96, *E. faecalis* suşuna karşı Ni analogundan daha güçlü inhibitör aktivite göstermiştir. 93-95, test edilen kanser hücre hatlarında makul sitotoksisiteyi indüklemese de, Cu(II) kompleksleri 94-96, HCT8 hücre hatlarında, kanser hücresi döngüsüne müdahale etme ve G2 / M faz durmasına neden olma yetenekleriyle ilişkili olan önemli apoptoz ve nekrozu indüklediği bildirilmiştir (Badea ve diğerleri, 2021). 94 ve 95 ilaç benzeri özellikler göstermiş, ancak sadece 95 bağırsak emilimi, uygun kan-beyin bariyeri geçirgenliği gösterdiği bildirilmiştir (Badea ve diğerleri, 2021). Ek olarak, makrosiklik ligandlarla test edilen tüm kompleksler proteaz aktivitesini güçlü bir şekilde inhibe etmiş, daha sonra 97 ve 98 numaralı bileşikler daha önce yayınlanan sentetik prosedürlere göre hazırlanmış ve hastane ortamında farklı yüzeylerden izole edilen 82 gram-negatif *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *E. cloacae* suşlarına karşı teste tabi tutmuşlardır (Lemoine, Chiadmi, Bissery, Tomas ve Viossat, 1996; Olar ve diğerleri, 2008). Dinükleer kompleks 97, iki aktif metal merkezinin varlığından dolayı,

98'den önemli ölçüde daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir. (Olar ve diğerleri, 2008). Başka bir çalışmada, 98'in sitotoksitesi, fare kası C2C12 hücrelerine ve insan karaciğer karsinomu HepG2 hücrelerine karşı test edilmiş, 98'in toksisiteden yoksun olduğu, bunun da antibakteriyel bir ajan olarak veya başka amaçlar için güvenle kullanılabileceği gösterilmiştir. Sonuçlar, 99'un hastane ile ilgili yüzeylerde ve protez cihazlarında bakteriyel biyofilm oluşumunu önleme potansiyelini ortaya koymuştur (Villamizar-Delgado ve diğerleri, 2020).



Şekil 2-20 Metformin tipi biguanidin ligandı

Gungor ve ark. tarafından yapısal olarak benzer Cu(II) kompleksleri, disiyandiamide aminlerin nükleofilik ilavesiyle Cu(II) perklorat heksahidrat biguanidin ligandları sentezlenmiştir (**Şekil 2-20**) (Gungor, Kocer ve Kose, 2020). X-ışını kırınımı ile perklorat anyonların Cu(II) merkezine koordine edilmediğini, komplekslerin dış koordinasyon küresinde bulunduğunu doğrulamışlardır. Ek olarak, standart antibiyotikler amikasin ve gentamisin' den daha az etkili olmalarına rağmen, 1,25 mg / mL konsantrasyonlarında *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus* ve *B. cereus*'a karşı önemli antibakteriyel aktivite gösterdiğini tespit etmişler. Sentezledikleri komplekslerin DNA bağlanma özelliklerini UV spektroskopisi kullanılarak test etmişlerdir. Komplekslerin DNA ile etkileşimini elektrostatik veya hidrojen bağlanma yoluyla incelemişlerdir (Gungor ve diğerleri, 2020)].

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Çizelge 3.1 Kullanılan kimyasal maddeler

2-siyanoguanidin	$C_2H_4N_4$	Sigma
4-Floroanilin	C_6H_6NF	Sigma
4-Kloroanilin	C_6H_6NCl	Sigma
4-Etilanilin	$C_8H_{11}N$	Sigma
4-Metoksianilin	C_7H_9NO	Sigma
2-Kloroanilin	C_6H_6NCl	Sigma
2-Etilanilin	$C_8H_{11}N$	Sigma
o-Metoksianilin	C_7H_9NO	Sigma
3,4-Metoksi anilin	$C_8H_{11}NO_2$	Sigma
3-Etilanilin	$C_8H_{11}N$	Sigma
Kloroform	$CHCl_3$	Merck
Asetonitril	C_2H_3N	Merck
Diklorometan	CH_2Cl_2	Merck
Sodyum sülfat anhidrat	Na_2SO_4	Sigma
Silika	SiO_2	Merck
Etil asetat	$C_4H_8O_2$	Merck
Hekzan	C_6H_{14}	Merck
Hidroklorik asit	HCl	Merck
Metanol	CH_4O	Merck
Etanol	C_2H_6O	Merck
N,N-Dimetilformamid (DMF)	$(CH_3)_2NCOH$	Merck
Dimetil sülfoksit (DMSO)	$(CH_3)_2SO$	Merck
Aseton	C_3H_6O	Merck

3.2. Kullanılan cihazlar

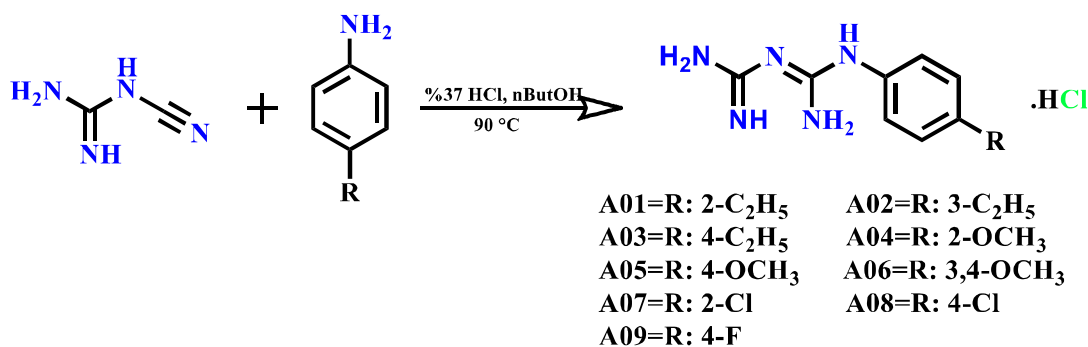
Çizelge 3.2 Kullanılan cihazlar

FT-IR Spektroskopisi	Perkin Elmer Spectrum 400, KSÜ, Kimya.
UV-Vis Spektrofotometresi	Hitachi U3900H Spectrophotometer, KSÜ, Kimya
Nükleer Magnetik Rezonans (^1H (^{13}C) NMR) Spektroskopisi	Bruker AVANCE III 400 Mhz, Giresun Üniversitesi, GRÜMLAB
X-Işını Kırınım Spektroskopisi	Agilent Supernova Difraktometre, Giresun Üniversitesi, GRÜMLAB
Erime Noktası Tayin Cihazı	Elektrothermal LTD 9200, KSÜ, Kimya.
LC/TOF-MS Kütle Analiz	Gebze Üniversitesi
Costech ECS 4010 Elementel Analiz Cihazı	Giresun Üniversitesi

3.3. Metot

3.3.1. A01-A09 bileşiklerinin sentezi

100 mL'lik cam balona 2-siyanoguanidin (1,1 mmol) ve amin (1 mmol) türevi bileşikleri tartılarak ilave edildi, içerisine 0.5 mL %37'lik HCl ve 10 mL nButOH ilave edilerek karışım 90-100 °C da yaklaşık 18 saat reflüks edildi. Çöken ürün vakumla süzüldü. Süzülen ürün soğuk su ve 2-propanol ile yıkandı. Sentez şeması **Şekil 3.1**'de verilmiştir.



Şekil 3-1 A01-A09 Bileşiklerin sentez mekanizması

A01: C₁₀H₁₅N₅·HCl: MA: 241,77 g/mol Verim: %76,7 Renk: Beyaz Elemental analiz Hesaplanan (C₁₀H₁₅N₅·HCl): % C 49.69; %H 6.67; %N 28.97. Bulunan: % C 49.55; %H 6.53;

%N 28.74. FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3296, 3178, 2972, 1634, 1555, 1525, 1481, 1380, 1256, 1185, 1050, 869, 736, 613 cm^{-1} . ^1H (d_6 -DMSO, ppm): δ 9.20 (1H, s, NH), 7.29 (1H, s, Ar-H), 7.21 (3H, d, Ar-H), 7.16 (1H, d, NH), 7.13 (4H, d, NH_2), 2.62 (2H, dd, CH_2), 1.13 (3H, t, CH_3). ^{13}C (d_6 -DMSO, ppm): δ 161,16 (N-C-N), 157,63 (N-C-N), 138,62 (N-Ar-C), 135,92 (Ar-C), 129,02 (Ar-C), 127,05 (Ar-C), 126,45 (Ar-C), 126,20 (Ar-C), 24,33 ($-\text{CH}_2-$), 14,95 ($-\text{CH}_3$).

A02: $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_5\cdot\text{HCl}$: MA: 241,77 g/mol Verim: %44,3 Renk: Beyaz Elemental analiz Hesaplanan ($\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_5\cdot\text{HCl}$): % C 49.69; %H 6.67; %N 28.97 Bulunan: % C 49.61; %H 6.49; %N 28.63 FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3456, 3373, 3302, 3195, 2966, 1648, 1633, 1602, 1525, 1445, 1374, 1325, 1264, 1190, 1164, 1102, 1048, 879, 790, 733, 633, 498 cm^{-1} . ^1H (d_6 -DMSO, ppm): δ 9.85 (1H, s, NH), 7.40 (4H, s, NH_2), 7.28 (3H, dd, Ar-H), 7.20 (2H, s, NH_2), 6.99 (1H, d, Ar-H), 2.65 (2H, dd, $-\text{CH}_2-$), 1.25 (3H, t, $-\text{CH}_3$), ^{13}C (d_6 -DMSO, ppm) δ 161,48 (N-C-N), 155,85 (N-C-N), 144,68 (N-Ar-C), 139,05 (Ar-C), 128,99 (Ar-C), 123,32 (Ar-C), 120,65 (Ar-C), 118,85 (Ar-C), 28,64 ($-\text{CH}_2-$), 16,04 ($-\text{CH}_3$).

A03: $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_5\cdot\text{HCl}$: MA: 241,77 g/mol Verim: %68 Renk: Beyaz Elemental analiz Hesaplanan ($\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_5\cdot\text{HCl}$): % C 49.69; %H 6.67; %N 28.97 Bulunan: % C 49.58; %H 6.56; %N 28.84 FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3301, 3183, 2973, 1626, 1599, 1557, 1528, 1505, 1487, 1378, 1258, 1193, 1055, 862, 824, 737, 613, 538, 488 cm^{-1} . ^1H (d_6 -DMSO, ppm): δ 9.70 (1H, s, NH), 7.26 (4H, d, NH_2), 7.23 (1H, s, NH), 7.12 (2H, d, Ar-H), 7.07 (2H, s, Ar-H), 2.58 – 2.52 (2H, m, $-\text{CH}_2-$), 1.14 (3H, t, $-\text{CH}_3$), ^{13}C (d_6 -DMSO, ppm) δ 161.03 (N-C-N), 155.57 (N-C-N), 138.98 (Ar-C), 136.18 (Ar-C), 127.90 (Ar-C), 121.31 (Ar-C), 27.60 ($-\text{CH}_2-$), 15.80 ($-\text{CH}_3$).

A04: $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}\cdot\text{HCl}$: MA: 243,74 g/mol Verim: %59 Renk: Beyaz Elemental Analiz Hesaplanan ($\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}\cdot\text{HCl}$): %C 44.36; %H 5.79; %N 28.74; %O 6.57 Bulunan: %C 44.18; %H 5.62; %N 28.49 FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3340, 3299, 3184, 2961, 1634, 1562, 1481, 1382, 1269, 1226, 1114, 1051, 1022, 932, 871, 751, 734, 604, 501 cm^{-1} . ^1H (d_6 -DMSO, ppm): δ 8.60 (1H, s, NH), 7.68 (1H, d, NH), 7.30 (4H, s, NH_2), 7.14 (2H, s, Ar-H), 7.05 (2H, d, Ar-H), 6.89 (1H, s, NH), 3.83 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), ^{13}C (d_6 -DMSO, ppm) δ 161.65 (N-C-N), 155,93 (N-C-N), 150,72 (Ar-C-O-), 127,36 (Ar-C), 124,99 (Ar-C), 123,58 (Ar-C), 120,57 (Ar-C), 111,64 (Ar-C), 56,17 ($\text{O}-\text{CH}_3$).

A05: C₉H₁₃N₅O•HCl: MA:243,74 g/mol Verim: %60,8 Renk: Beyaz Elemental Analiz Hesaplanan (C₉H₁₃N₅O•HCl): %C 44.36; %H 5.79; %N 28.74; %O 6.57 Bulunan: %C 44.23; %H 5.63; %N 28.68 FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3302, 3133, 2972, 1607, 1530, 1487, 1418, 1377, 1295, 1247, 1193, 1168, 1053, 1033, 826, 610 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm): δ 9.55 (1H, s, NH), 7.23 (3H, d, NH₂ ve NH), 7.19 (3H, s, NH₂ ve NH), 7.02 (2H, s, Ar-H), 6.88 (2H, s, Ar-H), 3.71 (3H, s, -OCH₃), ¹³C (d₆-DMSO, ppm) δ 161.33 (N-C-N), 156.43 (N-C-N), 156.27 (Ar-C-O-), 131.72 (Ar-C), 123.77 (Ar-C), 114.33 (Ar-C), 55.93 (O-CH₃)

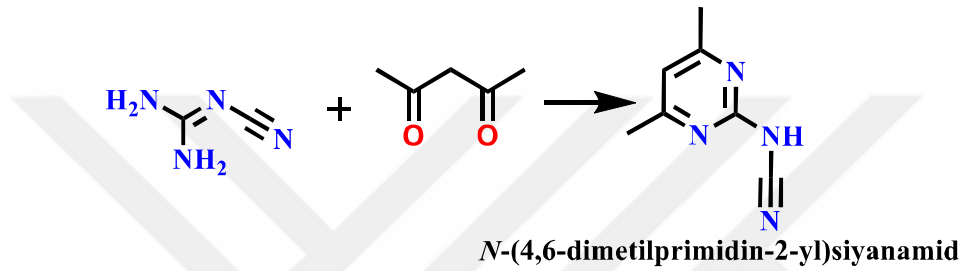
A06: C₁₀H₁₅N₅O₂•HCl: MA: 273,76 g/mol Verim: %69,1 Renk: Pembe Elemental Analiz Hesaplanan (C₁₀H₁₅N₅O₂•HCl): %C 43.88; %H 5.89; %N 25.59; %O 11.69 Bulunan: %C 43.72; %H 5.69; %N 25.37 FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3298, 3193, 2958, 1627, 1531, 1483, 1377, 1242, 1201, 1155, 1021, 857, 830, 754, 726, 499 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm): δ 9.64 (1H, s, NH), 7.22 (4H, s, NH₂), 7.08 (2H, s, Ar-H), 7.03 (d, 1H, Ar-H), 6.89 (1H, d, NH), 6.81 (1H, dd, NH), 3.72 (6H, d, -OCH₃), ¹³C (d₆-DMSO, ppm): δ 161.11 (N-C-N), 156.46 (N-C-N), 148.97 (Ar-C-O-), 145.91 (Ar-C-O-), 132.04 (Ar-C), 114.27 (Ar-C), 112.34 (Ar-C), 107.40 (Ar-C), 56.18 (O-CH₃), 55.91(O-CH₃).

A07: C₈H₁₀N₅Cl•HCl: MA: 248,15 g/mol Verim: %44,6 Renk: Beyaz Elemental Analiz Hesaplanan (C₈H₁₀N₅Cl•HCl): %C 38.73; %H 4.47; %N 28.23 Bulunan: %C 38.65; %H 4.24; %N 28.15 FT-IR (ATR, cm⁻¹):3340, 3307, 3191, 3127, 2967, 1632, 1598, 1562, 1525, 1477, 1387, 1286, 1248, 1191, 1067, 874, 741, 724, 624, 513 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm): δ 9.01 (1H, s, NH), 7.64 (1H, d, NH), 7.46 (1H, d, Ar-H), 7.36 (2H, s, NH₂), 7.29 (3H, Ar-H), 7.15 (1H, t, NH) ¹³C (d₆-DMSO, ppm) δ161.57 (N-C-N), 155.60 (N-C-N), 135.06 (N-Ar-C-C), 129.38 (Ar-C), 127.29 (Ar-C), 126.76 (Ar-C), 126,62 (Ar-C), 125.97 (Ar-C).

A08: C₈H₁₀N₅Cl•HCl: MA: 248,15 g/mol Verim: %66,3. Renk: Beyaz Elemental Analiz Hesaplanan (C₈H₁₀N₅Cl•HCl): %C 38.73; %H 4.47; %N 28.23 Bulunan: %C 38.59; %H 4.32; %N 28.17 FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3302, 3130, 2975, 1655, 1636, 1606, 1562, 1525, 1486, 1408, 1377, 1274, 1258, 1194, 1089, 1057, 1013, 859, 819, 727, 619, 531, 464 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm): δ 9.96 (1H, s, NH), 7.40 (6H, NH₂ ve Ar-H), 7.34 (2H, d, NH₂), 7.11 (2H, s, NH₂), ¹³C (d₆-DMSO, ppm) δ161.85 (N-C-N), 155.30 (N-C-N), 138,28 (N-Ar-C), 128,94 (Ar-C), 127.29 (Ar-C), 122,57 (Ar-C).

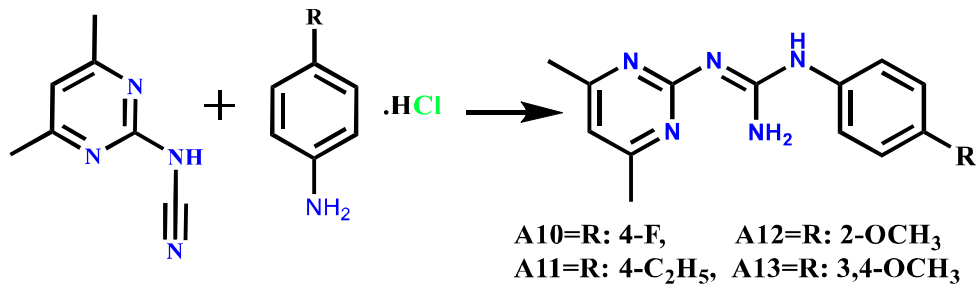
A09: C₈H₁₀FN₅•HCl; MA: 294,7 g/mol Verim: %65 Renk: Açık pembe Elemental Analiz Hesaplanan (C₈H₁₀FN₅•HCl): %C 41.48; %H 4.79; %N 30.23 Bulunan: %C 41.17; %H 4.61; %N 30.08 FT-IR (ATR, cm⁻¹):3696, 3296, 3161, 1640, 1562, 1525, 1506, 1481, 1417, 1376, 1218, 1157, 1100, 1012, 923, 865, 830, 772, 746, 709, 606, 577, 527, 484 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm): δ 9.79 (1H, s, NH), 7.39 – 7.30 (5H, m, NH₂), 7.14 (2H, t, Ar-H), 7.08 (2H, s, Ar-H), 6.69 (1H, s, NH), ¹³C (d₆-DMSO, ppm) δ 163.39 (N-C-N), 161.74 (N-C-N), 159.96 (Ar-C), 157.57 (Ar-C), 155.81 (Ar-C), 135.45 (Ar-C), 135.43 (Ar-C), 123.40 (Ar-C), 123.32.

3.3.2. A10-A13 bileşiklerinin sentezi



Şekil 3-2 N-(4,6-dimetilprimidin-2-yl)siyanamid bileşiğinin sentez reaksiyonu

Asetilaseton (0,15 mol,15,38 mL), siyanoguanidin (0,1 mol, 8,4 g.) ve 4,2 mL sodyum hidroksit (2M) karışımı, 35 mL saf su içerisinde 8 saat reflüks yapıldı. Karışım gece boyunca soğumaya bırakıldı ve çökelti süzülerek toplandı, saf su ile yıkandı, kurutuldu N-(4,6-dimetilprimidin-2-yl)siyanamid beyaz katı olarak elde edildi. Sentez şeması **Şekil 3.2** de verilmiştir.



Şekil 3-3 A10-A13 Bileşiklerinin Sentez Şeması

N-(4,6-dimetilpirimidin-2-yl)siyanamid bileşiği susuz etanol (20 mL) içinde 10 dk karıştırıldı ve (1:1) oranında amin hidroklorür ilave edilerek 24 saat reflüks yapıldı. Reflüks sonunda soğumaya bırakıldı, soğuyan maddeye 10 mL su ilave edilerek, 0,5 N NaOH ile pH 8-

9'a ayarlandı. Karışım, CH₂Cl₂ ile 3 kez yıkandı ve organik fazlar birleştirildi susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu ve buharlaştırılarak katı ürün (A11-A14) elde edildi.

***N*-(4,6-dimetilprimidin-2-yl)siyanamid:** C₇H₈N₄; MA: 148,17 g/mol Verim: %57 Renk: Beyaz Elemental Analiz Hesaplanan (C₇H₈N₄): %C 56.74; %H 5.44; %N 37.81 Bulunan: %C 56.52; %H 5.39; %N 37.65 FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3382, 3318, 3178, 2733, 2156, 1633, 1600, 1567, 1506, 1417, 1361, 1310, 1185, 1081, 1024, 987, 911, 852, 768, 747, 580, 494 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm): δ 6,64 (1H, s, CH_{azin}), 6,59 (2H, s, NH), 2,31 (6H, s, -CH₃), ¹³C (d₆-DMSO, ppm) δ 163.26 (N-C-N), 160.74 (N-C-N), 118.90 (C_{azin}), 116.48 (C_{azin}), 110.05 (C_{azin}), 22.31(-CH₃)

A10: C₁₃H₁₄FN₅ ; MA: 259,29 g/mol Verim: %54 Renk: Açık kahve Elemental Analiz Hesaplanan (C₁₃H₁₄FN₅): %C 60.22; %H 5.44; %N 27.01 Bulunan: %C 60.11; %H 5.39; %N 26,95 FT-IR (ATR, cm⁻¹):3230, 3098, 2988, 1640, 1582, 1493, 1404, 1372, 1335, 1248, 1208, 1151, 992, 855, 828, 804, 722, 620, 581, 556, 508, 481 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm):δ 7.46 (2H, s, Ar-H), 7.11 (2H, t, Ar-H), 6.66 (1H, s, -CH_{azin}), 2.30 (6H, s, -CH₃), ¹³C (d₆-DMSO, ppm) δ 166.92(N-C-N), 163.99(N-C-N), 159.15 (-C_{azin}), 156.78 (-C_{azin}),153.65 (Ar-C), 138.88 (Ar-C), 122.94 (Ar-C), 122.86 (Ar-C), 115.75 (Ar-C), 115.53 (Ar-C), C_{azin} 112.32 (), 23.95(-CH₃).

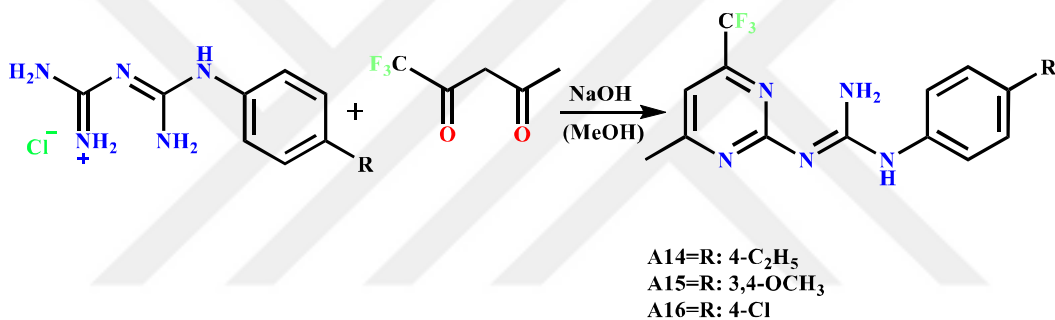
A11: C₁₅H₁₉N₅ ; MA: 269,35 g/mol Verim: %68 Renk: Açık kahve Elemental Analiz Hesaplanan (C₁₅H₁₉N₅): %C 66.89; %H 7.11; %N 26.00 Bulunan: %C 66.83; %H 7.02; %N 25,83 FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3302, 3183, 2972, 1626, 1599, 1528, 1508, 1484, 1377, 1336, 1259, 1190, 1056, 924, 861, 824, 737, 615, 487 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm): δ7.37 (2H, d, Ar-H), 7.12 (2H, d, Ar-H), 6.64 (1H, s, -CH_{azin}), 2.58 – 2.52 (2H, m, -CH₂), 2.29 (6H, s, -CH₃), 1.17 (3H, t, -CH₃)_{alifatik}. ¹³C (d₆-DMSO, ppm) δ 166.79 (N-C-N), 164.41 (N-C-N), 154.06 (-C_{azin}), 139.29(-C_{azin}), 137.87 (Ar-C), 128.42 (Ar-C), 121.44 (Ar-C), 112.09 (C_{azin}), 28.05 (-CH₂), 23.99 (-CH₃), 16.29 (CH₃).

A12: C₁₄H₁₇N₅O: MA:271,32 g/mol Verim: %60,8 Renk: Açık pembe Elemental Analiz Hesaplanan (C₁₄H₁₇N₅O): %C 61.98; %H 6.32; %N 25.81 Bulunan: %C 61.92; %H 6.17; %N 25.73 FT-IR (ATR, cm⁻¹): 2981, 1643, 1615, 1596, 1539, 1495, 1434, 1343, 1255, 1233, 1179, 1126, 1023, 935, 856, 787, 755, 640, 556 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm): δ 7.52 (2H, d, Ar-H), 7.37 – 7.33 (1H, d, Ar-H), 7.24 (1H, s, Ar-H), 7.19 (1H, d, CH_{azin}), 3.98 (3H, s, -OCH₃), 2.56 (6H, s, -CH₃), ¹³C (d₆-DMSO, ppm) δ 168.63 (N-C-N), 156.98 (N-C-N), 154.06 (-C_{azin}), 154.03 (-

C_{azin}), 129.74 (Ar-C), 127.22 (Ar-C), 122.30 (Ar-C), 121.43 (Ar-C), 116.45 (Ar-C), 113.09 (C_{azin}), 56.35 (-OCH₃), 23.77 (-CH₃).

A13: C₁₅H₁₉N₅O₂; MA: 301,35 g/mol Verim: %69,1 Renk: mor Elemental Analiz Hesaplanan (C₁₅H₁₉N₅O₂): %C 53.33; %H 5.97; %N 20.73 Bulunan: %C 53.24; %H 5.92; %N 20.66 FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3407, 2950, 2923, 2829, 1659, 1618, 1574, 1510, 1423, 1332, 1229, 1130, 1070, 1027, 965, 807, 784, 760 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm): δ 7.11 (1H, s, Ar-H), 7.01 (2H, s, Ar-H), 6.75 (1H, s, CH_{azin}), 3.85 (6H, d, -OCH₃), 2.41 (6H, s, -CH₃). ¹³C (d₆-DMSO, ppm): δ 166.77(-C_{azin}), 149.26 (N-C-N), 144.83(N-C-N), 113.76 (Ar-C), 112.88 (Ar-C), 111.88 (Ar-C), 107.17 (C_{azin}), 56.27(-OCH₃), 55.81 (-OCH₃), 24.02 (-CH₃), 24.00 (-CH₃).

3.3.3. A14-A16 bileşiklerinin sentezi



Şekil 3-4 A15-A17 bileşiklerinin sentez şeması

Fenil biguanidin tuzu 2 mmol tartıldı 1:1 oranında granül NaOH ilave edilerek susuz metanolde (15 mL) 15 dk karıştırıldı ve 1,2 ekivalent 1,1,1-trifloropentane-2,4-dion susuz metanolde (10 mL) çözülerek damla damla ilave edilerek 24 saat reflüks yapıldı. Soğuduktan sonra 10 mL saf su eklendi karışım, CH₂Cl₂ ile 3 kez yıkandı ve organik fazlar birleştirildi, susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu ve buharlaştırılarak katı ürün diazin guanidin elde edildi.

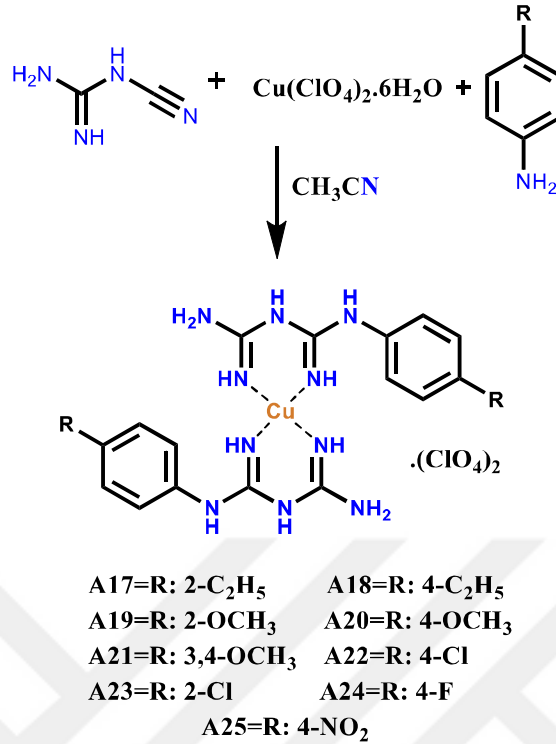
A14: C₁₅H₁₆F₃N₅; MA: 323,32 g/mol Verim: %54 Renk: Beyaz Elemental Analiz Hesaplanan (C₁₅H₁₆F₃N₅): %C 55.72; %H 4.99; %N 21.66 Bulunan: %C 55.64; %H 4.84; %N 21.61 FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3302, 2967, 1627, 1575, 1503, 1423, 1360, 1292, 1237, 1180, 1137, 982, 883, 829, 804, 706, 555 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm): δ 7.42 (1H, s, Ar-H), 7.40 (1H, s, Ar-H), 7.18 (2H, s, Ar-H), 7.16 (1H, s, CH_{azin}), 2.57 (2H, q, -CH₂), 2.47 (3H, s, (-CH₃)_{azin}), 1.17 (3H, t, -CH₃)_{alifatik}, ¹³C (d₆-DMSO, ppm) δ 170.84 (N-C-N), 165.34 (N-C-N), 155.94 (-C_{azin}), 154.84,

154.69, 154.50 (-CF_{azin}), 139.19 (Ar-C), 136.87 (Ar-C), 128.52 (Ar-C), 122.65 (Ar-C), 122.11 (Ar-C), 119.91(Ar-C), 107.50 (C_{azin}), 28.06(-CH₂)_{alifatik}, 24.51(-CH₃)_{azin}, 16.19 (-CH₃)_{alifatik}.

A15: C₁₅H₁₆F₃N₅O₂; MA: 355,32 g/mol Verim: %51 Renk: Beyaz Elemental Analiz Hesaplanan (C₁₅H₁₆F₃N₅O₂): %C 50.70; %H 4.54; %N 19.71 Bulunan: %C 50.63; %H 4.48; %N 19.64 FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3302, 2967, 1627, 1575, 1503, 1423, 1360, 1292, 1237, 1180, 1137, 982, 883, 829, 804, 706, 555 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm): δ 9.03 (1H, s, NH), 7.72 (2H, s, Ar-H), 7.12 – 7.07 (1H, s, Ar-H), 7.00 (1H, dd, Ar-H), 6.92 (1H, s, CH_{azin}), 3.75 (3H, s, -OCH₃), 3.74 (3H, s, -OCH₃), 2.45 (3H, s, -CH₃). ¹³C (d₆-DMSO, ppm) δ 170.45 (N-C-N), 166.03 (N-C-N), 156.55, 154.48, 149.18 (-C_{azin}), 132.61 (-C_{azin}), 122.70 (Ar-C), 119.96 (Ar-C), 114.68 (Ar-C), 112.60 (Ar-C), 107.75 (C_{azin}), 56.14(-OCH₃), 55.80(-OCH₃), 24.52 (-CH₃)_{azin}.

A16: C₁₃H₁₁ClF₃N₅; MA: 329,71 g/mol Verim: %43 Renk: Beyaz Elemental Analiz Hesaplanan (C₁₃H₁₁ClF₃N₅): %C 47.36; %H 3.36; %N 21.24 Bulunan: %C 47.13; %H 3.09; %N 21.15 FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3357, 3269, 3093, 2983, 1624, 1593, 1509, 1487, 1423, 1382, 1287, 1237, 1180, 1139, 1010, 981, 900, 885, 819, 803, 710, 699, 542, 504 cm⁻¹. ¹H (d₆-DMSO, ppm): δ 7,63 (2H, d, Ar-H), 7.45-7.28 (2H, m, Ar-H), 7.19 (1H, s, CH)_{azin}, 2.48 (3H, s, -CH₃)_{azin}, ¹³C (d₆-DMSO, ppm) δ 170.87 (N-C-N), 165.82 (N-C-N), 155.44 , 154.84 , 154.50 (-C_{azin}), 139.31 (-C_{azin}), 128.96 (Ar-C), 122.67 (Ar-C), 122.44 (Ar-C), 119.93(Ar-C), 107.64(-C_{azin}), 24.54(-CH₃)_{azin},

3.3.4. A17-A25 Biguanidin Cu(II) komplekslerinin sentezi



Şekil 3-5 Biguanidin metal kompleksleri sentezi

Disiyanamid (0,5 g, 6 mmol) ve Cu(ClO₄)₂·6H₂O (1,1 g, 3 mmol) asetonitril (15 mL) içinde çözüldü. Yeşil renkli solüsyon 30 dakika karıştırıldı ve (6 mmol) amin asetonitril (10 mL) içinde çözülerek damla damla ilave edildi. Amin bileşiğinin eklenmesiyle çözeltinin rengi değişti. Reaksiyon 24 saat reflüks sonrası oda sıcaklığına soğutuldu, su ile yıkandı ve kurumaya bırakıldı.

A17:[Cu(L¹)₂] ·(ClO₄)₂; MA:668,93 g/mol Verim: %44 Renk: Mor Elemental Analiz Hesaplanan ([Cu(L¹)₂] ·(ClO₄)₂): %C 35.80; %H 4.21%N, 20.88 Bulunan: %C 35.64; %H 4.07%N, 20.63 FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3439, 3345, 3230, 2967, 2928, 2873, 1659, 1487, 1248, 1190, 1056, 927, 755, 619 cm⁻¹. MALDI-TOF (m/z) Hesaplanan: 471,18, Bulunan: 474.855 {[Cu(L¹)₂]}⁺.

A18:[Cu(L²)₂]·(ClO₄)₂ ; MA: 668,93 g/mol Verim: %68 Renk: Mor Elemental Analiz Hesaplanan ([Cu(L¹)₂] ·(ClO₄)₂): %C 35.80; %H 4.21%N, 20.88 Bulunan: %C 35.57; %H 4.13 %N, 20.53 FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3461, 3362, 3339, 3247, 2969, 2934, 2873, 1645, 1583, 1531,

1503, 1454, 1415, 1366, 1252, 1223, 1090, 1048, 984, 932, 840, 751, 723, 662, 623, 568, 503 cm^{-1} . MALDI-TOF (m/z) Hesaplanan: 470.04, Bulunan: 472.114 $[\text{Cu}(\text{L}^2)_2 + 2 \text{H}]^+$.

A19: $[\text{Cu}(\text{L}^3)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2$; MA: 672,88 g/mol Verim: %60,8 Renk: Mor Elemental Analiz Hesaplanan $([\text{Cu}(\text{L}^3)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2)$: %C 46.47; %H 5.54; %N 28.53 Bulunan: %C 46.19; %H 5.35; %N 28.42 FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3456, 3335, 1667, 1596, 1496, 1462, 1243, 1163, 1085, 1042, 1015, 930, 748, 621, 471 cm^{-1} . MALDI-TOF (m/z) Hesaplanan: 769.10, Bulunan: 769.405 $\{[\text{Cu}(\text{L}^3)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2 \cdot 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}\}^+$.

A20: $[\text{Cu}(\text{L}^4)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2$; MA: 672,88 g/mol Verim: %56 Renk: Mor Elemental Analiz Hesaplanan $([\text{Cu}(\text{L}^4)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2)$: %C 46.47; %H 5.54; %N 28.53 Bulunan: %C 46.32; %H 5.38; %N 28.42 FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3460, 3362, 3336, 2961, 2923, 2901, 2835, 1646, 1588, 1552, 1539, 1506, 1462, 1366, 1300, 1242, 1166, 1083, 1056, 1026, 982, 930, 861, 831, 757, 730, 653, 524 cm^{-1} . MALDI-TOF (m/z) Hesaplanan: 477.15, Bulunan: 476.357 $\{[\text{Cu}(\text{L}^4)_2] - \text{H}\}^+$.

A21: $[\text{Cu}(\text{L}^5)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2$; MA: 732,93 g/mol Verim: %48 Renk: Mor Elemental Analiz Hesaplanan $([\text{Cu}(\text{L}^5)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2)$: %C 44.81; %H 5.27; %N, 26.13 Bulunan: %C 44.75; %H 5.14; %N, 26.02 FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3334, 3208, 2934, 2835, 1591, 1495, 1231, 1076, 1015, 617 cm^{-1} . MALDI-TOF (m/z) Hesaplanan: 553.16, Bulunan: 557.319 $\{[\text{Cu}(\text{L}^5)_2] + \text{H}_2\text{O}\}^+$.

A22: $[\text{Cu}(\text{L}^6)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2$; MA: 681,71 g/mol Verim: %66,3 Renk: Mor Elemental Analiz Hesaplanan $([\text{Cu}(\text{L}^6)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2)$: %C 39.64; %H 3.74; %N, 28.89 Bulunan: %C 39.52; %H 3.52; %N, 28.53 FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3364, 3362, 3335, 2989, 2906, 1646, 1589, 1550, 1538, 1487, 1403, 1366, 1273, 1252, 1220, 1088, 1042, 1012, 982, 930, 861, 824, 764, 721, 623, 501 cm^{-1} . MALDI-TOF (m/z) Hesaplanan: 727.97, Bulunan: 727.596 $\{\text{Cu}(\text{L}^6)_2 \cdot (\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}\}^+$; Hesaplanan: 485.04, Bulunan: 485.886 $\{[\text{Cu}(\text{L}^6)_2]\}^+$; Hesaplanan: 211.06, Bulunan: 211.806 $\{[\text{L}^6 + \text{H}]\}^+$.

A23: $[\text{Cu}(\text{L}^7)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2$; MA: 681,71 g/mol Verim: %45 Renk: Mor Elemental Analiz Hesaplanan $([\text{Cu}(\text{L}^7)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2)$: %C 39.64; %H 3.74; %N, 28.89 Bulunan: %C 39.52; %H 3.65; %N, 28.73 FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3302, 3186, 3124, 2967, 1629, 1597, 1561, 1525, 1477, 1388, 1286, 1245, 1190, 1066, 874, 741, 723, 617, 515 cm^{-1} . MALDI-TOF (m/z) Hesaplanan: 528.07, Bulunan: 528.37 $\{[\text{Cu}(\text{L}^6)_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}]\}^+$; Hesaplanan: 567.04, Bulunan: 567,248 $\{[\text{Cu}(\text{L}^7)_2] + (\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) + \text{K}\}^+$.

A24: $[\text{Cu}(\text{L}^8)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2$; MA: 648,81 g/mol Verim: %54 Renk: Mor Elemental Analiz Hesaplanan $[\text{Cu}(\text{L}^8)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2$: %C 29.53; %H 2.79; N, 21.52 Bulunan: %C 29.45; %H 2.47; N, 21.41 FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3462, 3364, 3329, 3115, 1659, 1645, 1555, 1530, 1505, 1412, 1366, 1286, 1210, 1149, 1090, 1050, 1012, 984, 930, 869, 836, 801, 779, 721, 624, 502, 474 cm^{-1} . MALDI-TOF (m/z) Hesaplanan: 611.06, Bulunan: $\{[\text{Cu}(\text{L}^8)_2] \cdot (\text{ClO}_4)(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})(\text{H}_2\text{O}) + \text{H}\}^+$.

A25: $[\text{Cu}(\text{L}^9)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2$; MA: 702,87g/mol Verim: %52,4 Renk: Kahverengi Elemental Analiz Hesaplanan $[\text{Cu}(\text{L}^9)_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2$: %C, 37.98; %H, 3.59; N, 33.22 Bulunan: %C, 37.84; %H, 3.47; N, 33.19 FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3468, 3360, 3296, 3247, 3082, 2978, 2901, 1672, 1613, 1548, 1495, 1417, 1377, 1336, 1305, 1248, 1207, 1182, 1127, 1089, 1075, 1051, 921, 858, 820, 744, 699, 685, 618 cm^{-1} . MALDI-TOF (m/z) Hesaplanan : 593.07, Bulunan: 589.184 $\{[\text{Cu}(\text{L}^9)_2] \cdot 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + 4\text{H}\}^+$.

3.3.5. X-ışını Kırınımı Yöntemi ile Yapıların Aydınlatılması

A06, A07 ve A11 bileşiklerin katı halde moleküler yapıları tek kristal X-ışını kırınım yolu ile belirlenmiştir. X-ışını kristalografik yansıma verileri Agilent Supernova difraktometre (Mo-K α ışınması $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) kullanılarak ortam sıcaklığında (293 K) toplanmıştır. Veriler Olex2 (Dolomanov, Bourhis, Gildea, Howard ve Puschmann, 2009) programı kullanılarak düzenlenmiştir. Yapı çözümlemesinde SHELXT(Sheldrick ve IUCr, 2015a), yapı arıtımında ise SHELXL (Sheldrick ve IUCr, 2015b) programı kullanılmıştır. Yapılar direkt metot kullanılarak ve arıtım F^2 işlemi üzerinden tüm yansımalar toplanarak yapılmıştır. Karbon atomlarına bağlı hidrojen atomları binme modeli kullanılarak hesaplanan pozisyonlara yerleştirilmiş ve sıcaklık faktörü ile arıtılmıştır.

3.3.6. AChE ve BChE inhibisyon çalışmaları

Biguanidin türevleri olan A1-A26 maddeleri, Ellman Yöntemi kullanılarak kolinerjik enzimler (AChE ve BuChE) üzerindeki inhibisyon aktiviteleri belirlendi (Ellman, Courtney, Andres ve Featherstone, 1961). Enzim solüsyonu 0.22 units/mL, donepezil, galantamin ve A01-A26 bileşikleri 1×10^{-4} - 1×10^{-7} M konsantrasyonlarda çalışıldı. Standart inhibitör olarak donepezil ve galantamin, A1-A26 bileşikleri (2:8) DMSO:Su karışımında çözeltileri hazırlanmıştır. Her bir kuyucuğa (96 well-plate) 140 μL posfat tamponu (pH: 7,4), üzerine farklı konsantrasyonlarda A1-A26 (20 μL) ve AChE ya da BChE (20 μL /well) ilave edilip 25°C de 10 dk inkübe edildi. Kromatografik reaktif olan DTNB [5,5-ditiyo-bis(2-nitrobenzoik asit)]

(3mM, 20 µL/well) ve substratlar asetiltiyokolin iyot (ATCI) (3mM, 20 µL/well) ya da butiriltiyokolin iyot (BTICI) (3mM, 20 µL/well) enzim-inhibitör karışımına eklenerek sarı anyon oluşumu sonrasında 412 nm'de ölçüm alındı. Kontrol olarak bileşikler olmadan enzimin özdeş bir çözeltisi hazırlanarak belirlendi. Kontrol ve inhibitör okumaları boş okuma ile düzeltildi. Tüm işlemler üç kez tekrar edildi. Substratın (asetilkolin ya da butirilkolin) parçalanmasını %50 (IC_{50}) inhibe eden numunelerin konsantrasyonları, inhibisyon yüzdesi ile numune konsantrasyonu arasında doğrusal regresyon analizi Excel programı kullanılarak tespit edilmiştir.

3.3.7. Antimikrobiyal aktivite

3.3.7.1. Suşların Hazırlanması ve Ekimi

Bu çalışmada mikroorganizma olarak; gram pozitif: *Staphylococcus aureus* Rosenbach ATCC-6538, *Bacillus subtilis* Ehrenberg ATCC-14028, *Bacillus cereus* ATCC 7064, gram negatif: *Escherichia coli* ATCC-8739, *Salmonella typhimurium* suşları, Muller Hilton Broth (MHB)'a ve *Candida albicans* ATCC-90028 maya suşu Malt Ekstrakt Broth (MEB) aşılansak 37±1 °C'de 18 saat inkübe edilerek aktivasyonu sağlandı. Antimikrobiyal aktivite için besiyeri olarak bakteriler için Müller Hilton Agar (MHA), maya suşu için Malt Ekstrakt Ağar (MEA) kullanıldı. Steril olarak hazırlanan petri kutularına suşlar, 0.5 McFarland standardı ile standardize edilerek aşılandı ve suşlar 37±1 °C'de 1 saat inkübe edildi (Institute, 2012)(Balouiri, Sadiki ve Ibnsouda, 2016). Kontrol için DMSO içeren disk ve Amikasin (AK: 30 µg) ve Gentamisin (CN: 10 µg) kullanıldı.

3.3.7.2. Disklerin Hazırlanması ve Uygulanması

Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi kullanılarak tespit edildi (Bauer, 1966; Murray, Baron, Jorgensen, Landry ve Pfaller, 2007). Sentezlenen bileşiklerden 12,50 mg/mL olacak şekilde %10'luk DMSO ile çözülerek 6 mm çapındaki boş steril whatman kağıtlarından (Schleicher & Schül No: 2668, Germany) yapılmış disklerle 25 µL konsantrasyonunda emdirildi. MHA'a bakteri ve MEA'a maya suşlarının ekimi yapılmış kültürleri üzerine hazırlanan diskler yerleştirildi. İnhibisyon zonlarının belirlenmesi için 18-24±2 saat süre ile 37±1 °C de inkübe edildi (Institute, 2012)(Welsh, 2019)(Balouiri ve diğerleri, 2016). Çalışma üç tekrarlı olarak yapılarak ortalama değerleri verilmiştir.

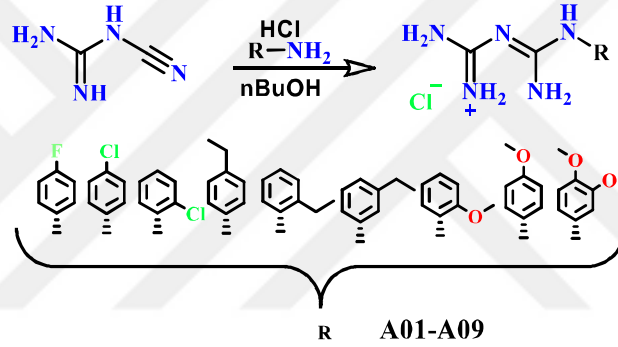
3.3.7.3. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC)

Sentezlenen bileşiklerin MIC değerlerinin belirlenmesi için 12,5 mg/mL, 1,25 mg/mL ve 0,125 mg/mL olacak şekilde %10 DMSO ile çözülerek gram pozitif ve gram negatif bakteri suşlarına gösterdiği minimum etki değerleri (MIC) belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

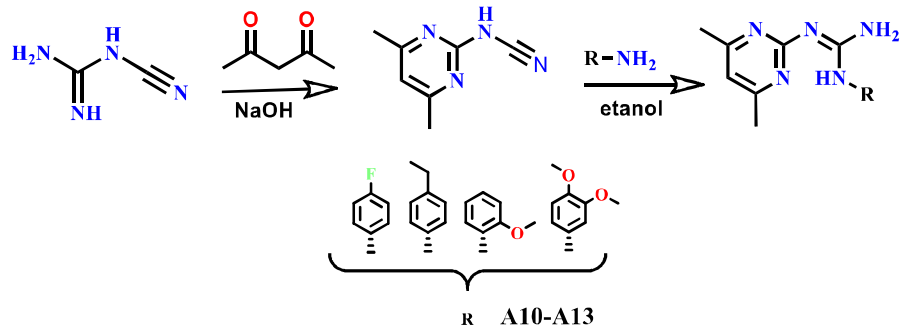
Tez çalışması kapsamında üç farklı tür biguanidin bileşikleri sentezlenmiştir. Sentezlenen üç farklı tür biguanidin türevleri sırasıyla biguanid hidroklorür tuzları, diazin-biguanid bileşikleri ve biguanid Cu(II) kompleksleridir.

Sentezlenen tüm bileşiklerin yapıları spektroskopik ve analitik yöntemlerle karakterize edilmiştir.



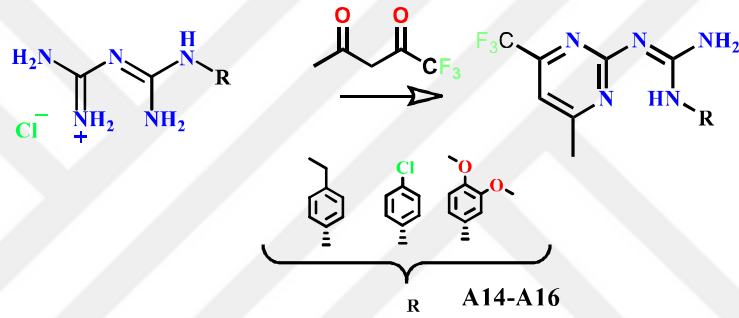
Şekil 4-1 Biguanidin bileşiklerinin (A01-A09) sentezi

Fenil biguanidin tuzları asidik ortamda siyanoguanidin ve amin bileşiklerinin n-butOH'lü ortamda reflüks yöntemi ile elde edilmiştir (**Şekil 4-1**). Diazin-biguanidin bileşikleri için iki basamaklı yöntem kullanılmıştır. İlk basamakta; asetil aseton ile siyanoguanidin bazik ortamda reaksiyona sokularak pirimidin taşıyan siyanamid N-(4,6-dimetilprimidin-2-yl)siyanamid elde edilmiş, ikinci basamakta birinci basamakta elde edilen pirimidin taşıyan siyanamid ile amin tuzlarının susuz etanol içinde reflüks sonucunda diazin bileşiği sentezlenmiştir (**Şekil 4-2**).



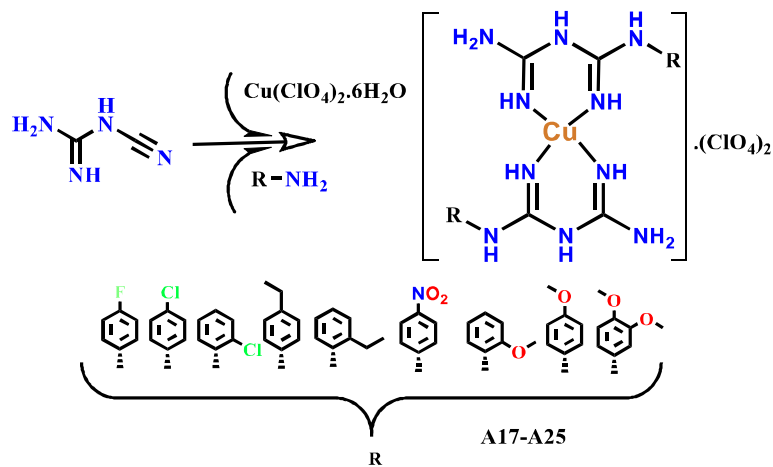
Şekil 4-2 A10-A13 bileşikleri sentez şeması

1,1,1-trifloropentane-2,4-dion reaksiyonu yine iki basamaklı olup ilk basamakta fenil biguanidin tuzu (ligand) elde edilmiş ve NaOH ile nötr ortam sağlanarak metanol içerisinde reflüks yapılmıştır (Şekil 4-3).



Şekil 4-3 A14-A16 bileşikleri sentez şeması

Biguanidin Cu(II) kompleksleri süstitüe anilin ve siyanoguanidin bileşiğin bakır(II)perklorat hekzahidrat varlığında asetonitril ortamında reaksiyonu ile elde edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin sentez şeması Şekil 4-4' te verilmiştir.



Şekil 4-4 A17-A25 bileşiklerin sentez şeması

Biguanidin iki guanidin'in ortak bir azot atomu ile birbirine bağlandığı guanidin'den türetilen, tıbbi kimyada değerli bir farmakofordur. Bir asır önce biguanidin türevi metforminin antihiperglisemik özelliklerinin keşfinden bu yana, biguanidin ilaçları, bazı dönemlerde artan bazı dönemlerde azalan öneme sahip olmuştur. II. dünya savaşı yıllarında biguanidinlerin antidiyabetik ilaç olarak keşfi biguanidin temelli ilaçlar için anahtar rol oynamıştır. Sıtma önleyiciler, dezenfektanlar, anti-viraller ve en ünlü biguanidin ilaçların ortaya çıkışı bu dönemde olmuştur. Yeni anti kanser ilaçlarının keşfinde çıkan zorluklar sebebiyle bilim adamları ve klinisyenler halihazırda DSÖ (dünya sağlık örgütü) tarafından onaylanmış ilaçları yeniden incelemeye yönelmiş, hem antikanser özelliklerini hem de biguanidin temelli ilaçların farklı kullanım alanları için yoğun çalışmalar yapılmaktadır.

ABD'de ticari olarak yedi ve diğer ulusal pazarlarda üç tane biguanidin ilacı mevcuttur. Bunlar arasında metformin, klorheksidin ve proguanil, DSÖ Temel İlaçlar Listesi'nde yer almaktadır. Bu tez çalışması çeşitli terapötik alanlarda biguanidin ilaçların inkar edilemez geçmiş başarılarını göz önüne alarak çok özel biguanidin işlevine ışık tutmayı amaçlamaktadır. Bu çalışma ile potansiyel bir farmakofor olarak biguanidin türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşikler FT-IR, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ NMR, elemental analiz ve X-ışını Kırınım (A06-A07-A11) metotları ile karakterize edilmiş, enzim inhibitör aktiviteleri ve anti bakteriyel özellikleri incelenmiştir.

4.1. Bileşiklerinin FTIR spektrumlarının değerlendirilmesi

Tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin FT-IR spektrumları ATR ile alınmış karakteristik germe bantlarını araştırmak için $4000\text{-}450\text{ cm}^{-1}$ aralığında taranmıştır. Bileşiklere ait FT-IR verileri materyal ve metot bölümünde verilmiştir.

Sentezlenen (A01-A10) bileşiklerden A06 bileşiğine ait FT-IR spektrumu **Şekil 4-5**'te serinin diğer bileşikleri için FT-IR spektrumları **Ek Şekil 1-8**'de verilmiştir. Sentezlenen bileşiklere ait FT-IR spektrumlarındaki karakteristik gerilmeler incelenmiş ve **Çizelge-2** de listelenmiştir. FT-IR spektrumunda $3100\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$ görülen gerilme pikleri $\nu(\text{N-H})$ göstermektedir. Başlangıç maddesi olan disiyandiamid bileşiğinde yaklaşık 2160 cm^{-1} de gözlenen nitril grubuna ait $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$ titreşim bandı, amin grubunun nitril grubuna nükleofilik katılması sonucu sentezlenen bileşiklerde gözlemlenmemiştir. FT-IR spektrumunda 2920 ve 2870 cm^{-1} 'deki titreşim bantları $\nu(\text{C-H})_{\text{alf}}$ grup, karakteristik $\nu(\text{-NH})$ gerilme bandı ise $2900\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$ de , $\nu(\text{C=N})$ titreşim bandı $1630\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$ arasında gözlemlenmiştir. A01-A09

bileşiklerinin spektrumlarında çıkış bileşiğinde yer alan nitril grubuna ait titreşimlerin görülmemesi bunun yerine C=N gerilme titreşimlerinin gözlenmesi söz konusu bileşiklerin sentezlendiğini göstermektedir.

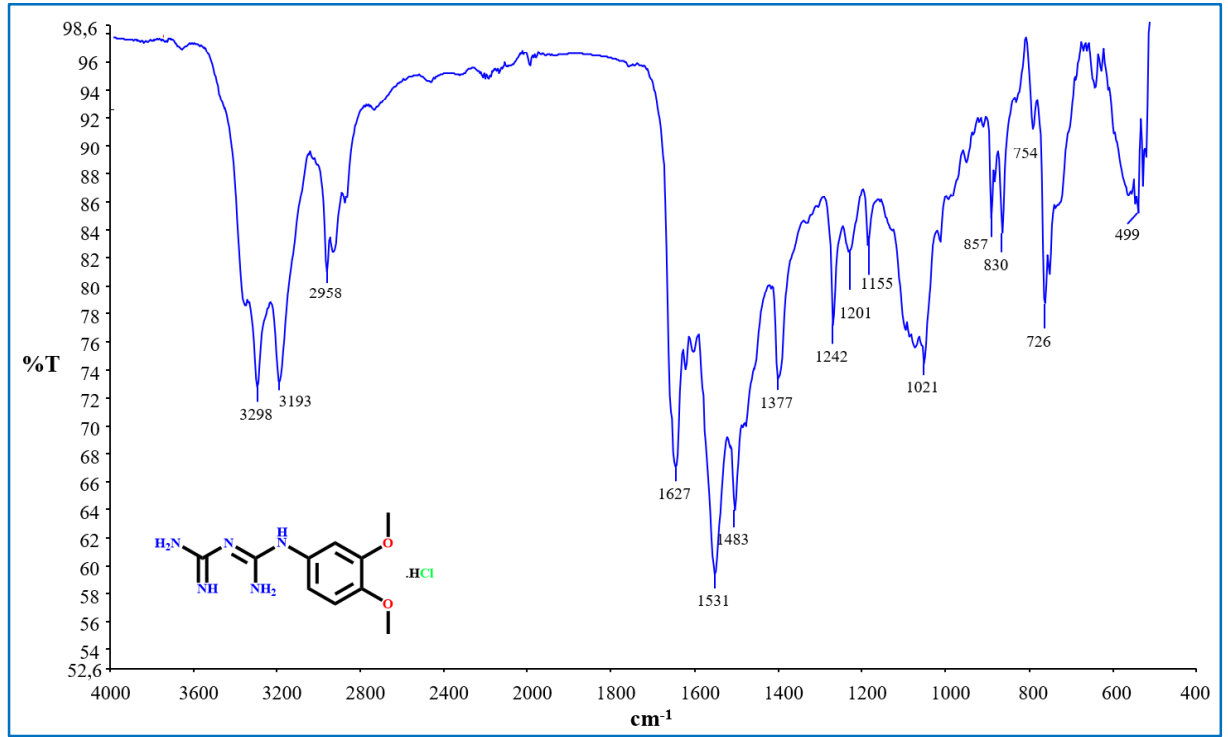
Çizelge 2 A01-09 bileşiklerine ait FT-IR spektrum verileri

	$\nu(\text{C}\equiv\text{N})$	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{CH})_{\text{ar}}$	$\nu(\text{CH})_{\text{alf}}$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{C}=\text{C})$
Disiyandiamid	2197	3155	-	-	1663	-
A01	-	3296	3178	2972	1634	1481
A02	-	3302	3195	2966	1648	1445
A03	-	3301	3183	2973	1626	1487
A04	-	3340	3184	2961	1634	1481
A05	-	3302	3133	2972	1607	1487
A06	-	3298	3193	2958	1627	1483
A07	-	3307-340	3191-3127	-	1632	1477
A08	-	3302	3130	-	1655	1486
A09	-	3296	3161	-	1640	1481

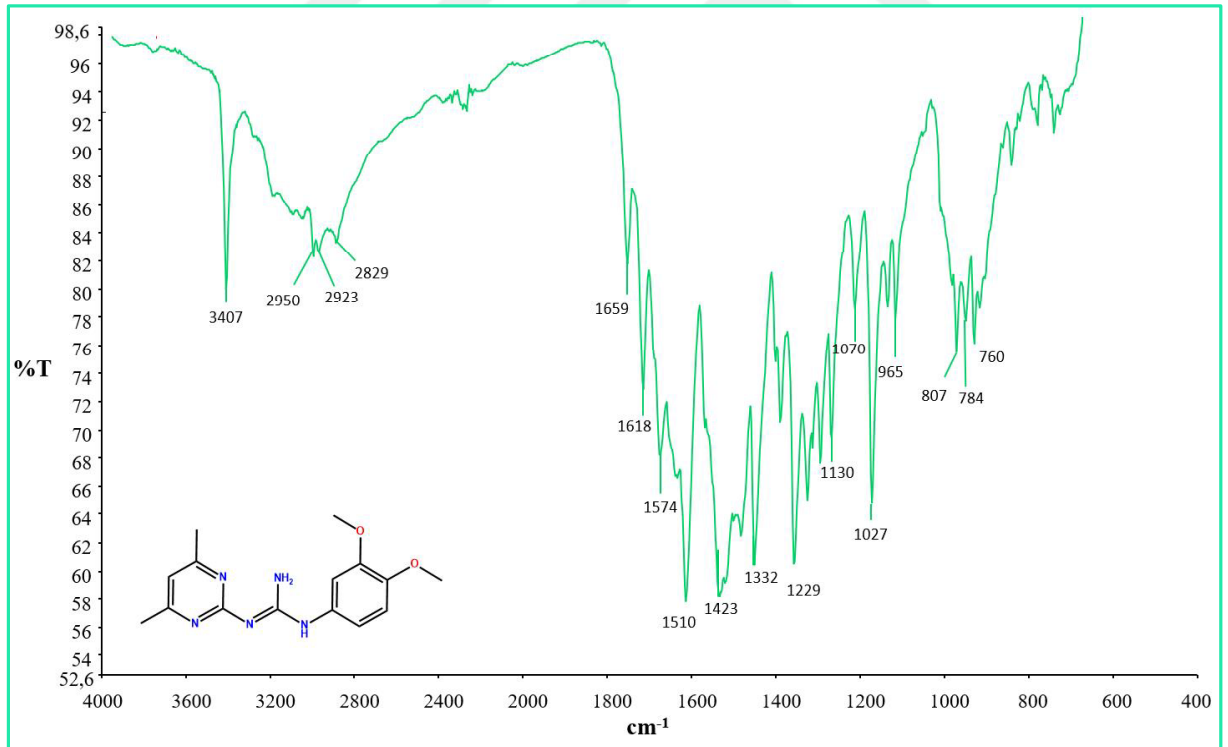
Sentezlenen bileşiklerden A13 ve A15 bileşiğine ait FT-IR spektrumları **Şekil 4.3-4.4**'te verilmiştir. FT-IR spektrumunda 2920 ve 2870 cm^{-1} 'deki orta şiddetteki titreşim bantları alifatik $\nu(\text{C-H})$ gruplarından kaynaklanmaktadır. Bileşiklerin FT-IR spektrumunda 3460-3110 cm^{-1} 'deki $\nu(\text{N-H})$ grubuna titreşim bantlarıdır. Birinci basamakta elde edilen başlangıç maddesinde görülen 2156 cm^{-1} 'deki nitril grubuna ait $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$ titreşim bandı sentezlenen azin bileşiklerinde gözlenmemiştir. A15 bileşiğine ait FT-IR spektrumunda gözlenen 1129-751 cm^{-1} de gözlenen pikler $\nu(\text{C-F})$ grubuna atfedilmiştir (R.E.Redmann, 1978).

Metal kompleksleri bileşiklerinden A20 bileşiğine ait FT-IR spektrumu **Şekil 4.5**'te verilmiştir. 2900-3400 cm^{-1} aralığındaki gerilme bantları asimetrik ve simetrik $\nu(\text{N-H})$ titreşimlerine yorumlanmıştır. Ligantların spektrumlarında $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1660-1610 cm^{-1} aralığında görülen bandlar, komplekslerin spektrumunda daha aşağı alana kaymış olması $\nu(1646 \text{ cm}^{-1})$ azometin grubundaki azot atomunun metale koordine olduğunu göstermektedir. $\nu(\text{C}=\text{N})$ gerilmelerinin iki farklı bölgede ortaya çıkması, ligandların asimetrik doğasını doğrulamaktadır. Komplekslerin spektrumlarında, karakteristik perklorat gerilmeleri $\nu(\text{ClO}_4^-)$ yaklaşık 624 ve 1056 cm^{-1} 'de görülmektedir.

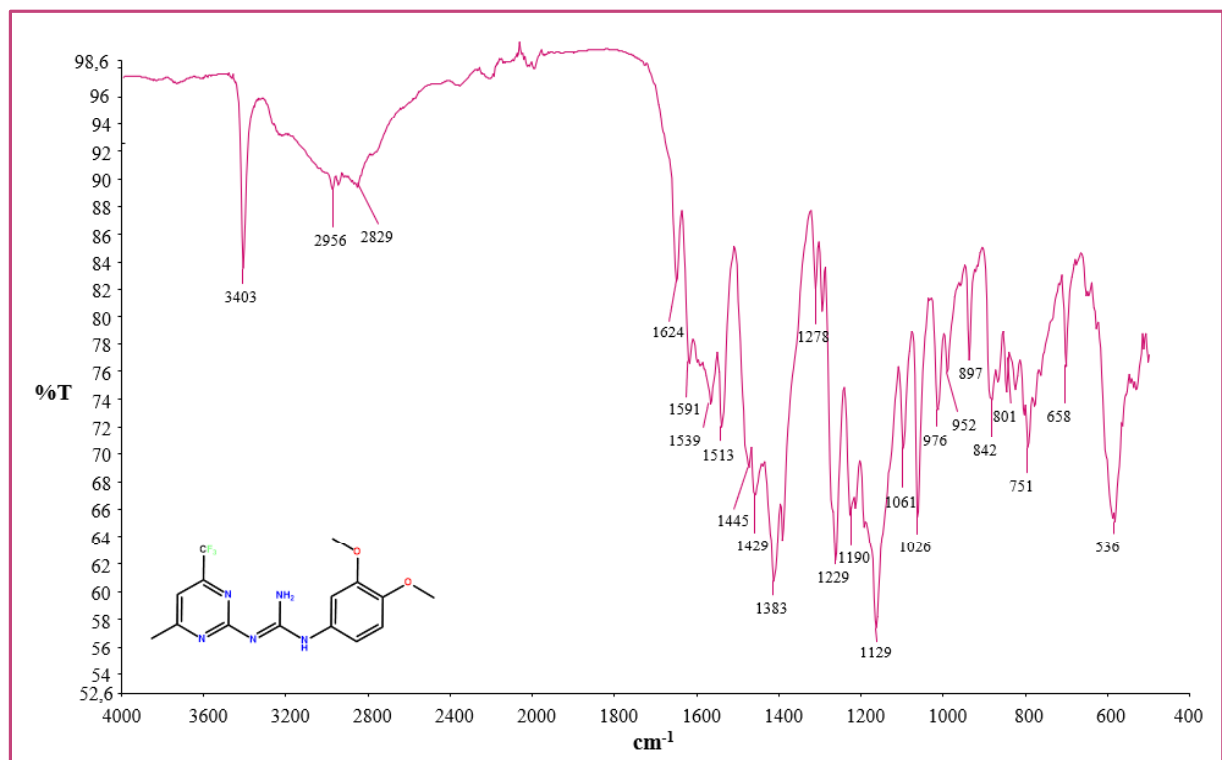
Bileşiklere ait FT-IR spektral verileri incelendiğinde önerilen yapılara ait bandların gözlenmesi yapıların karakterizasyonlarını destekler niteliktedir.



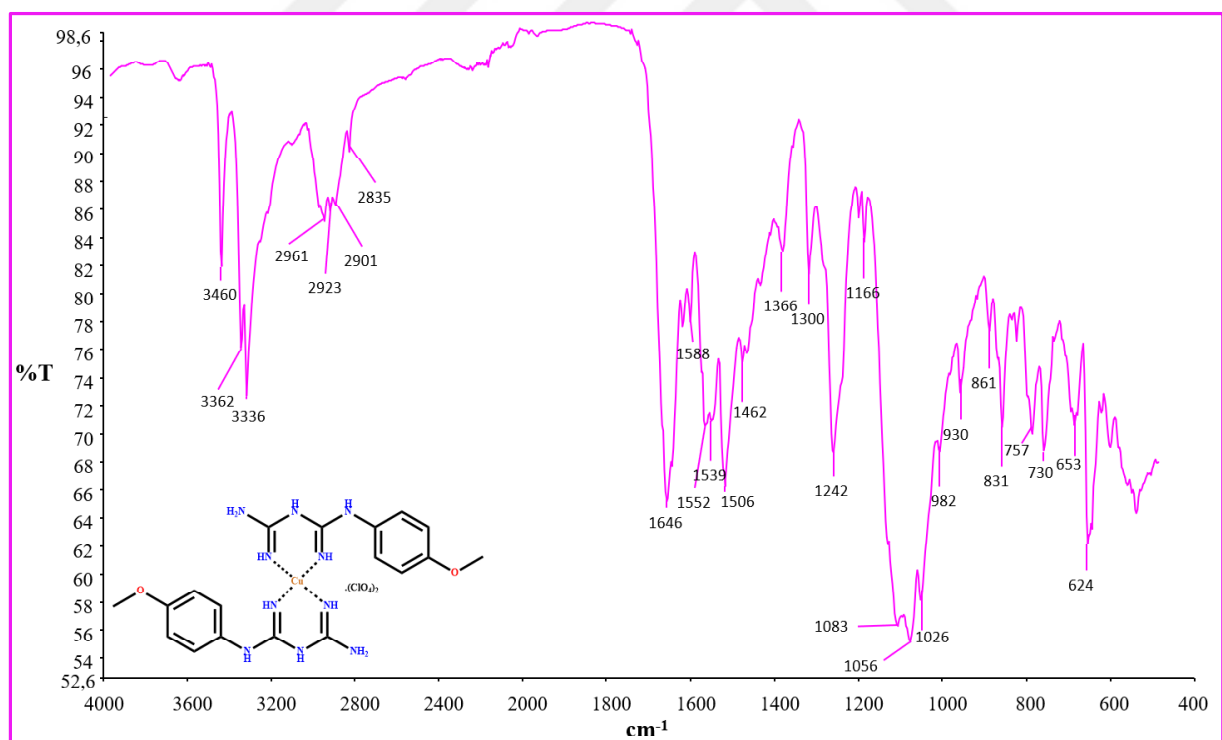
Şekil 4-5 A06 bileşiğine ait FT-IR spektrumu



Şekil 4-6 A13 bileşiğine ait FT-IR spektrumu



Şekil 4-7 A15 bileşiğine ait FT-IR spektrumu



Şekil 4-8 A20 bileşiğine ait FT-IR spektrumu

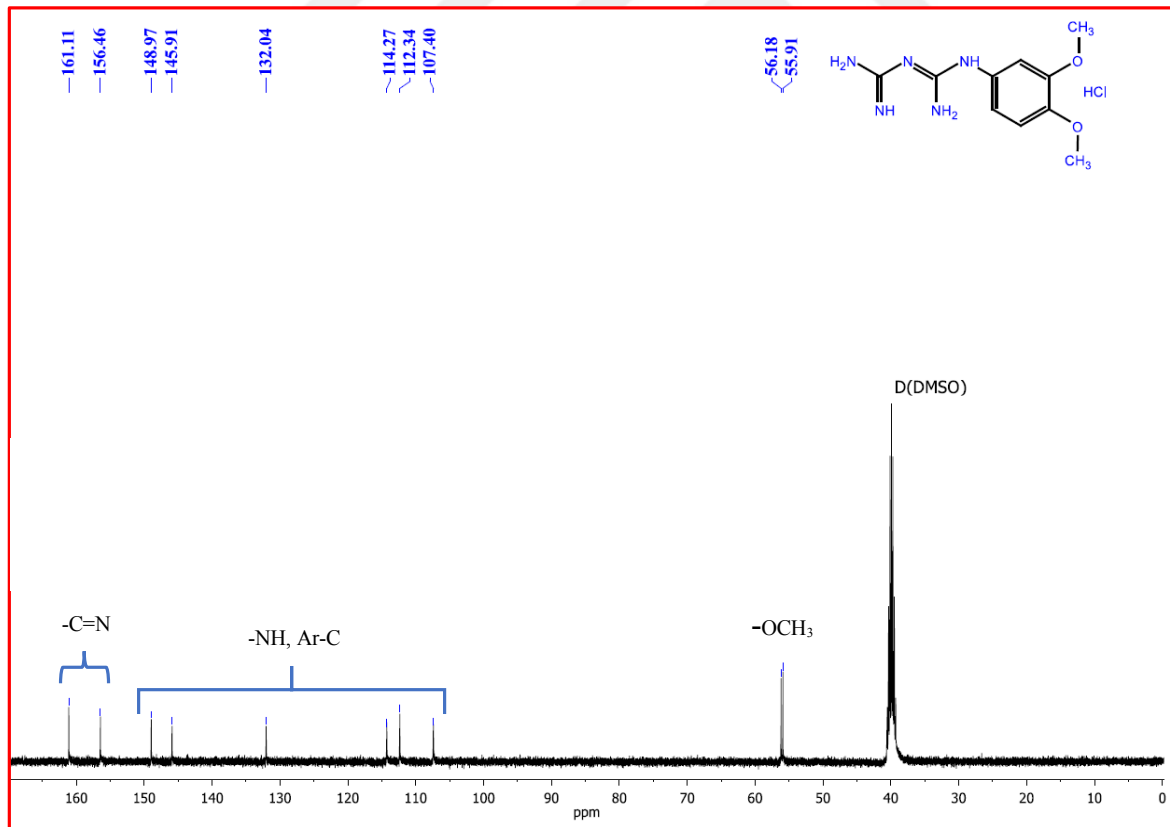
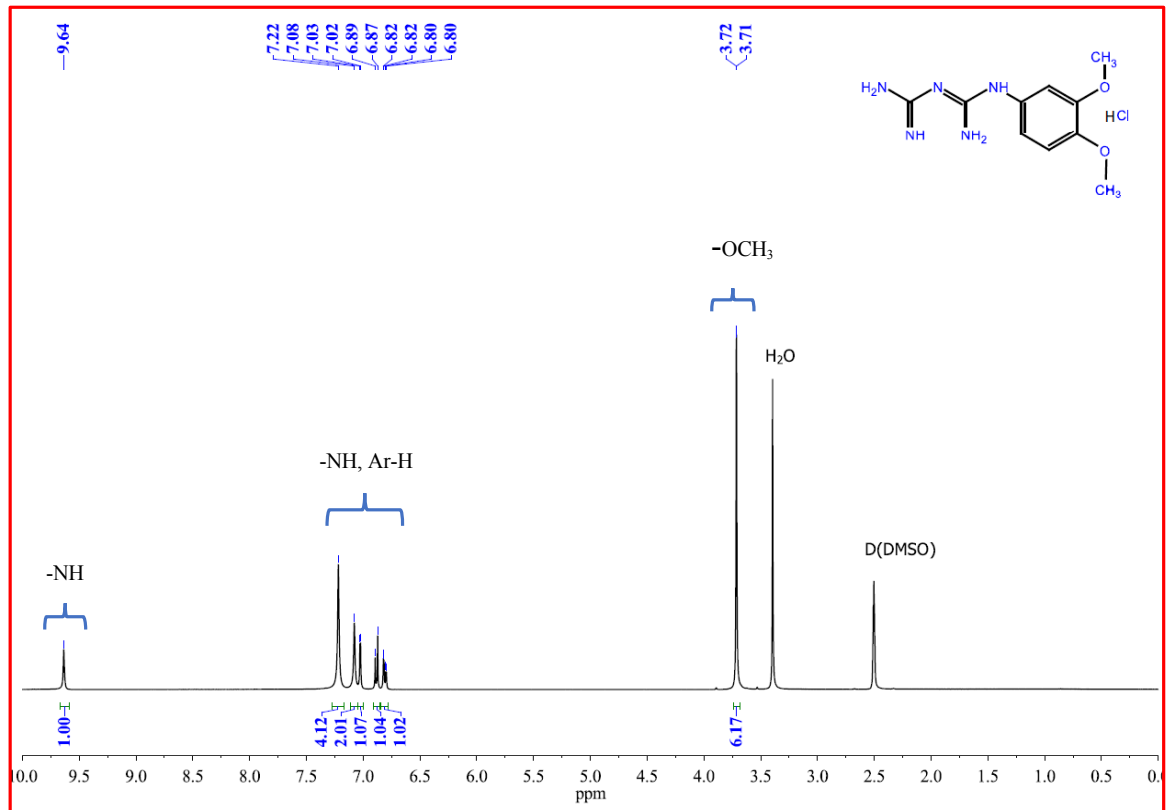
4.2. Bileşiklerinin ^1H ve ^{13}C NMR Spektrumlarının Değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları d_6 -DMSO çözücüsünde alınmıştır. Bileşiklere ait ^1H ve ^{13}C NMR verileri ise materyal ve metot bölümünde verilmiştir.

4.2.1. A01-A09 ^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

A06 (R:3,4-OCH₃) bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları **Şekil 4.9** 'da verilmiştir. ^1H NMR spektrumu incelendiğinde 3.72 ppm'de görülen dublet ikili -OCH₃ grubu protonlarından kaynaklanmakta olup 6.89 ve 6.81 ppm'de gözlenen pikler -NH protonlarına aittir. 7.08-7.03 ppm'de görülen sinyaller aromatik grup protonlarına atfedilirken, singlet olarak 7.22 ppm'de gözlenen sinyal -NH₂ grubundan ve 9.64 ppm'deki tekli sinyal -NH-Ph protonundan kaynaklanmaktadır. A06 bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde aromatik grup karbon atom sinyalleri 107.40-148.97 ppm aralığında gözlenirken, biguanidin grubu karbon sinyalleri ise 156.46-161.11 ppm'de, metoksi (-OCH₃) grubuna ait sinyaller 56.18-55.91'de gözlenmiştir.

A01-A09 bileşiklerinin ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla **Ek Şekil 10-17**'de verilmiştir. Sentezlenen bileşiklerinin ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları incelendiğinde A06 bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarına benzer değerlere sahip oldukları belirlenmiştir. A01-A03 bileşiklerinde yer alan etil (-CH₂-CH₃) grubuna ait ^1H spektrumunu incelediğimizde -CH₃'e ait protonlar sırasıyla 3.09, 3.00, 3.09, ppm'de triplet -CH₂'ye ait protonlar sırasıyla 2.24, 2.02, 2.05 ppm'de quartet olarak gözlenmiştir. A01-A03 bileşiklerinde yer alan etil (-CH₂-CH₃) grubuna ait ^{13}C NMR spektrumunu incelediğimizde -CH₃'e ait C sinyalleri sırasıyla 14.95-16.04-15,08 de -CH₂'ye ait C sinyalleri sırasıyla 24.33-28,64-27,6 ppm'de rezonansa girmiştir. A04 ve A05 bileşiklerinde yer alan metoksi (-OCH₃) grubuna ait sinyal A06 bileşiğine benzer şekilde *o*-OCH₃'ye ait proton sinyali 3.84 ppm de, *p*-OCH₃'ye ait proton sinyali 3.71 ppm'de C sinyalleri ise sırasıyla 56,17-55.93 ppm de gözlenmiştir. A07 ve A08 bileşikleri ^1H NMR spektrumlarında -NH'a ait protonun sırasıyla 9.01, 9.96 ppm ve Ar-H ise 7.13, 7.65-7.11, 7.41 ppm aralığında gözlenmiştir. ^{13}C NMR spektrumu ise 161.57, 155.60 ppm'de biguanidin grup karbonları Ar-C ise 138.28-122.57 ppm aralığında görülmektedir. A09 bileşiklerine ait ^1H ve ^{13}C spektrumunu incelediğimizde -F bağlı olan bileşiğin hem ^1H hem de ^{13}C spektrumlarında yarılmalar gözlenmektedir.



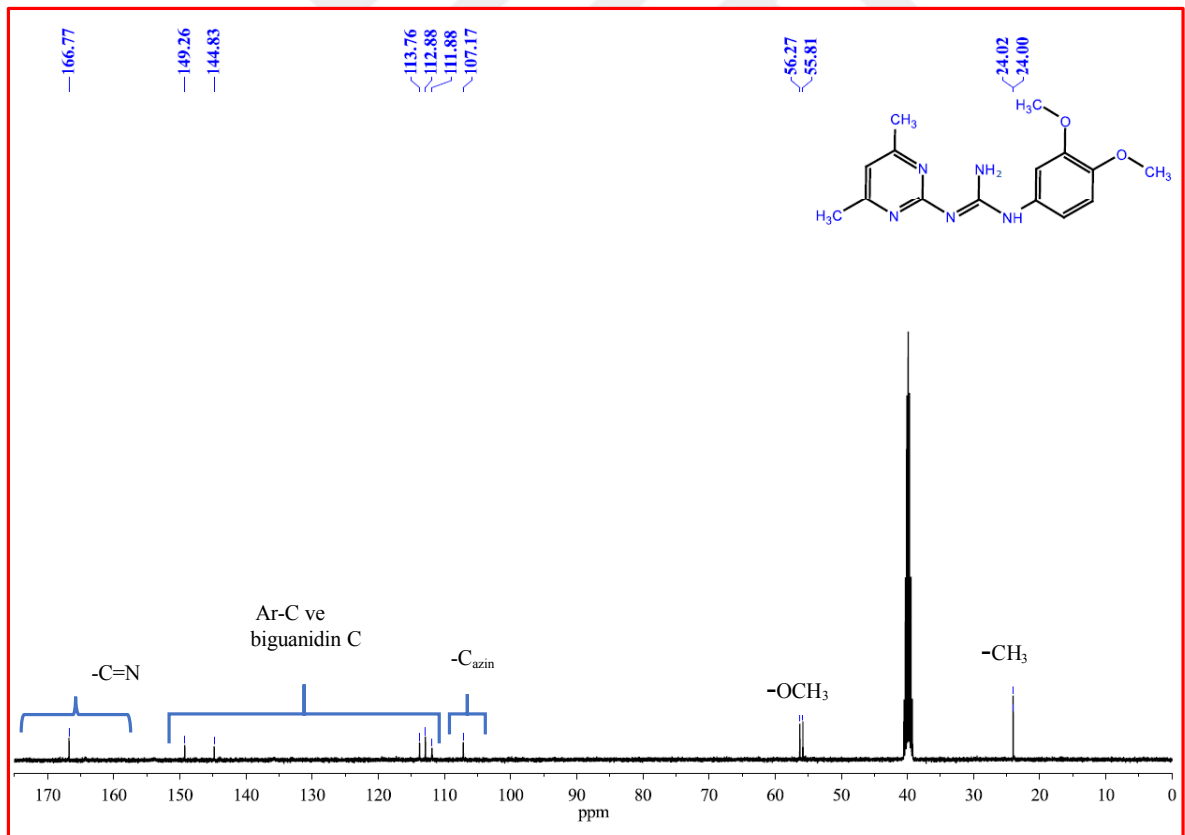
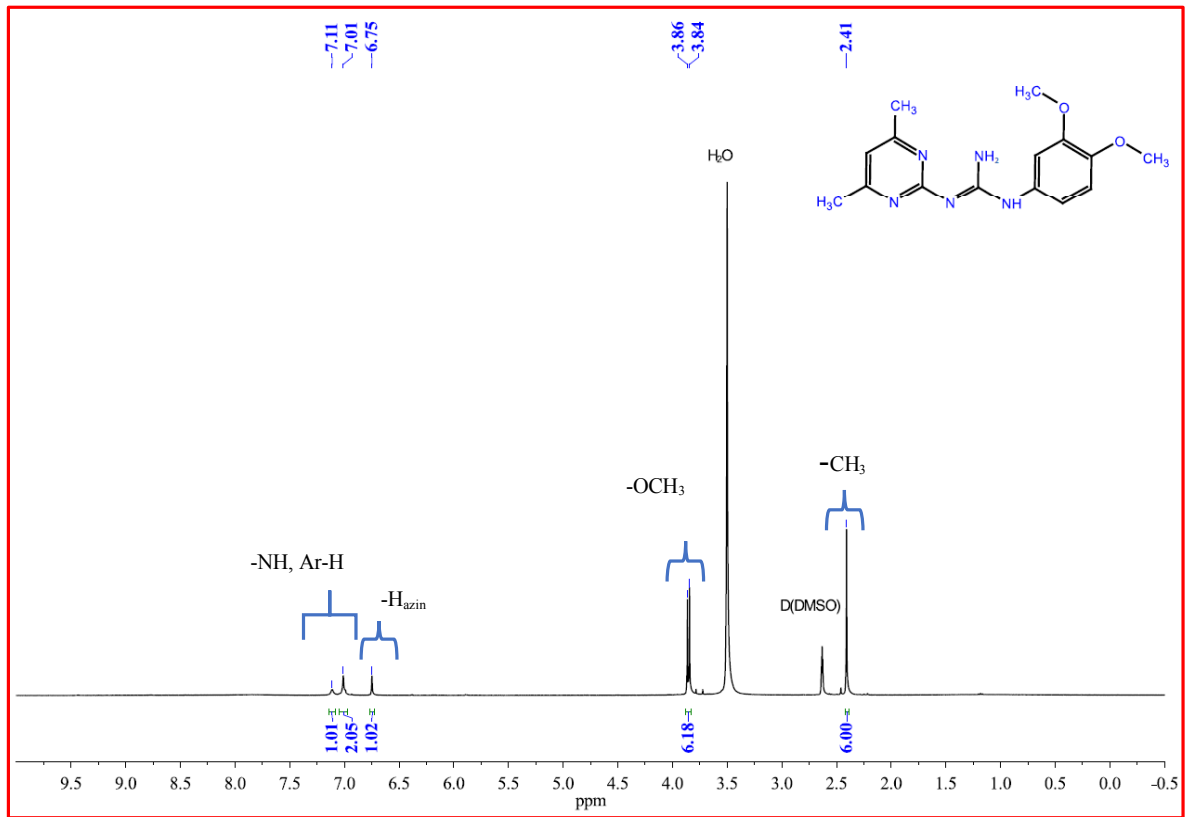
Şekil 4-9 A06 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları.

4.2.2. A10-A16 ^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

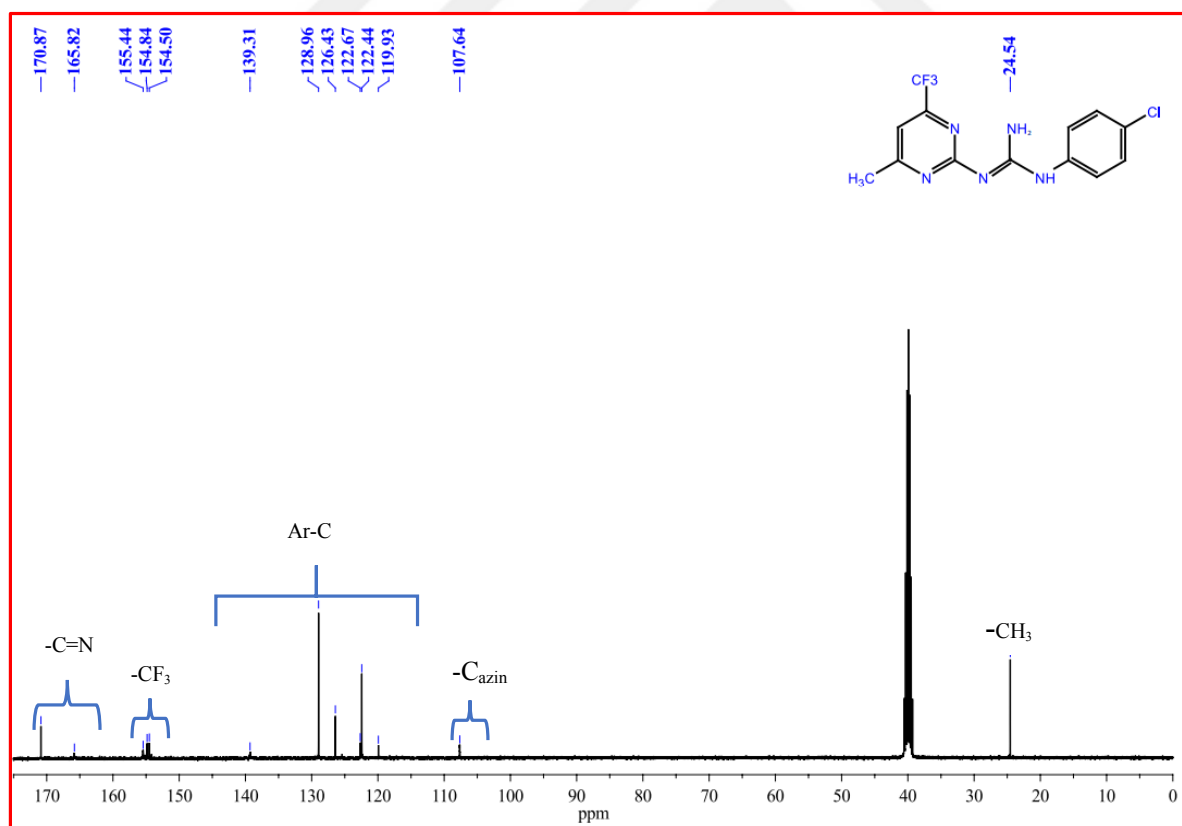
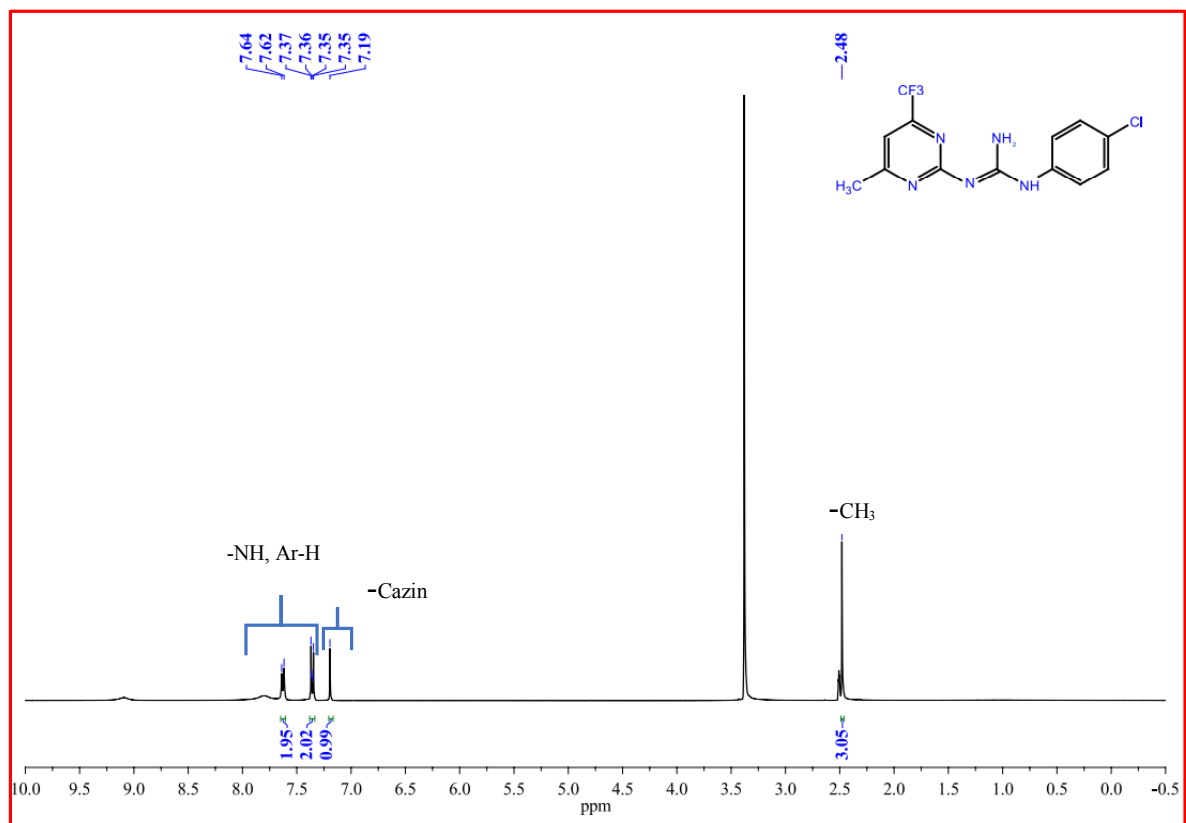
Biguanidin temelli diazin bileşikleri siyanoguanidin ile asetil aseton veya 1,1,1-trifloropentan-2,4-dion kullanarak sentezlenmiştir. Asetil aseton ile elde edilen A13 bileşiğinin ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları **Şekil 4-10** 'da 1,1,1-trifloropentan-2,4-dion kullanılarak elde edilen A16 bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları **Şekil 4-11** 'de, A10, A11-A15 bileşiklerine ait ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla **Ek Şekil 32-36**'da verilmiştir.

A13 bileşiğine ait ^1H spektrumu incelendiğinde 7.11- 7.01 ppm' de gözlenen sinyaller aromatik grup hidrojenlerine aittir. 6.75 ppm'de diazin halkasında yer alan protona atfedilmiştir. Spesifik piklerden olan metoksi ($-\text{OCH}_3$) piki 3.84-3.86 ppm de, yine diazin halkasında yer alan metil ($-\text{CH}_3$) protonlar ise 2.41 ppm'de gözlenmiştir. ^{13}C spektrumunda diazin halkasına ait metil ($-\text{CH}_3$) grubu "C" sinyalleri 24.00-24.02 ppm'de görülmüştür. Aromatik grubun karbon sinyalleri ise 111-113.76 ppm aralığında gözlenirken ve 144-149 ppm de ($-\text{C}=\text{N}$) biguanidin grubu karbon sinyalleri, 55-56 ppm'de metoksi ($-\text{OCH}_3$) grubu sinyalleri gözlenmektedir. A10-A12, bileşiklerinin ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları incelendiğinde A13 bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarına benzer değerlere sahip oldukları belirlenmiştir. A11 bileşiğinde ^1H ve ^{13}C spektral verilerin incelendiğinde etil grubuna ait sinyallerden ($-\text{CH}_2-$) protonları kuartet 2.52-2.58 ppm'de, ($-\text{CH}_3$) protonları ise triplet 1.15-1.19 ppm'de görülmektedir. ^{13}C NMR incelendiğinde alifatik grubun 16.29-28.05 ppm aralığında 3 sinyal olarak görülmektedir.

1,1,1-trifloropentan-2,4-dion kullanılarak elde edilen A16 bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları incelendiğinde 7.64-7.35 ppm aralığında aromatik gruba ait proton sinyalleri gözlenmiştir. 7.19 ppm'de singlet pik diazin halkasında yer alan protona ve 2.48 ppm'de singlet olarak görülen pik diazin halkasındaki metil grup protonlarına atfedilmiştir. ^{13}C NMR spektrumunda 155.44, 154.84, 154.50 ppm'de triplete yarılmış diazin halkasında yer alan ($-\text{CF}_3$) trifloro karbona atfedilmiştir. 107.64 ppm'de görülmekte olan pikler diazin halkasında yer alan karbon atomlarından kaynaklanmaktadır. Biguanidin grubuna ait karbon sinyalleri 170.87 ve 165.82 ppm'de görülmektedir. Aromatik grup karbon atomları 139.31-119.93 ppm aralığında gözlenirken diazin halkasına ait metil grubu karbonu ($-\text{CH}_3$) 24.54 ppm'de rezonansa girmiştir.



Şekil 4-10 A13 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



Şekil 4-11 A16 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları

4.3. A17-A25 bileşiklerinin kütle spektrumlarının değerlendirilmesi

Cu(II) komplekslerin (A17-A25) kütle spektrumları LC/TOF-MS Kütle Analiz (MALDI TOF) kullanılarak alınmış ve kütle grafikleri **Ek Şekil 37-45**'de verilmiştir. Hesaplanan ve bulunan değerler materyal ve metot bölümünde değerlendirilmiştir. Bileşiklerin kütle spektrumlarında molekül iyon pikleri gözlenmiştir.

4.4. Bileşiklerin kristal yapıları

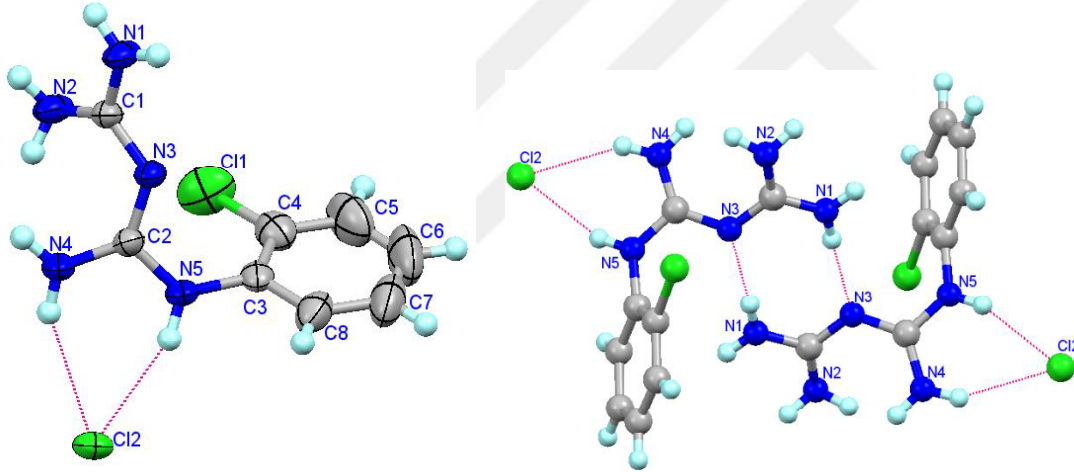
Tez çalışması kapsamında sentezlenen A06, A07, A11 kodlu bileşiklerin tek kristalleri elde edilmiştir. Tek kristalleri elde edilen bileşiklerin kristal yapıları X-ışını kırınım çalışmaları ile belirlenmiştir. A06, A07, A11 bileşiklerine ait kristalografik veriler **Çizelge 1**'de sunulmuştur. Ayrıca bileşiklere ait bağ uzunlukları, açıları ve hidrojen bağ verileri ek çizelgelerde verilmiştir.

Çizelge 3 A06-A07-A11 bileşiklerine ait kristalografik veriler

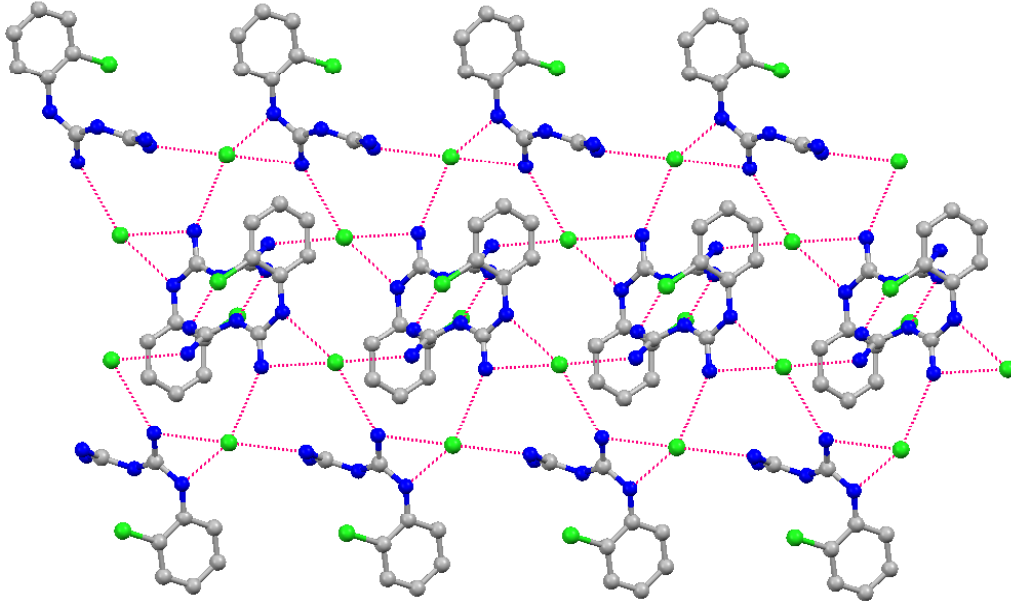
Bileşiğin Kodu	A06	A07	A11
Molekül Formülü	C ₁₀ H ₁₆ N ₅ O ₂ Cl	C ₁₃ H ₁₄ ClN ₅	C ₁₅ H ₁₉ N ₅
Molekül ağırlığı(g/mol)	273.73	275.74	269.35
Sıcaklık/K	293(2)	293(2)	293(2)
Kristal sistem	Monoklinik	Monoklinik	Monoklinik
Uzay grubu	P2 ₁ /n	P2 ₁ /c	P2 ₁ /c
a/Å	11.2374(7)	12.3226(3)	13.2698(16)
b/Å	9.2219(5)	12.0022(4)	12.5504(12)
c/Å	13.5443(8)	9.3493(3)	9.1064(12)
α /°	90	90	90
β /°	96.057(5)	91.080(3)	95.607(12)
γ /°	90	90	90
Hacim/Å ³	1395.76(14)	1382.50(7)	1509.3(3)
Z	4	4	4
Kristal boyutları/mm ³	0.15 × 0.12 × 0.08	0.13 × 0.08 × 0.06	0.17 × 0.15 × 0.13
Toplanan yansıma	6099	4783	6535
Bağımsız yansımalar	3179 [R _{int} = 0.0212]	2733 [R _{int} = 0.0172]	3433 [R _{int} = 0.0287]
Final R indeksleri [I ≥ 2σ (I)]	R ₁ = 0.0472, wR ₂ = 0.1054	R ₁ = 0.0458, wR ₂ = 0.1115	R ₁ = 0.0729, wR ₂ = 0.1636
Final R indeksleri [Tüm veri]	R ₁ = 0.0673, wR ₂ = 0.1172	R ₁ = 0.0594, wR ₂ = 0.1234	R ₁ = 0.1230, wR ₂ = 0.1969

4.4.1. A07 Bileşiğinin kristal yapısı

A07 bileşiğinin kristal yapısı monoklinik birim hücre C2/c uzay grubunda çözülmüştür. Bileşiğin kristal yapısı termal elipsoid olarak **Şekil 4-12**'de verilmiştir. Birim hücrede toplam 8 adet molekül bulunmakta olup asimetrik birim +1 yüklü biguanidinyum kation ve bir adet klor iyonu içermektedir. Kristal yapıda biguanidin biriminde C-N bağları 1.316(3) ve 1.344(3) Å aralığında olup π -elektron delokalizasyonu göstermiştir. İki biguanidin birimi aynı düzlemde değildir. Kristal yapıda iki katyonik guanidinyum kationu karşılıklı iki N1-H $\cdots$ N3 hidrojen bağları ile dimerik yapı oluşturmuştur. Biguanidinyum kationlarında yer alan -NH₂ ve -NH grupları klor iyonları ile hidrojen bağı yapmıştır. Kristal yapıda gözlenen bu hidrojen bağları supramoleküler hidrojen bağ örgüsü oluşturmuştur. Bileşiğin kristal paketlenme diyagramı **Şekil 4-13**'te gösterilmiştir.



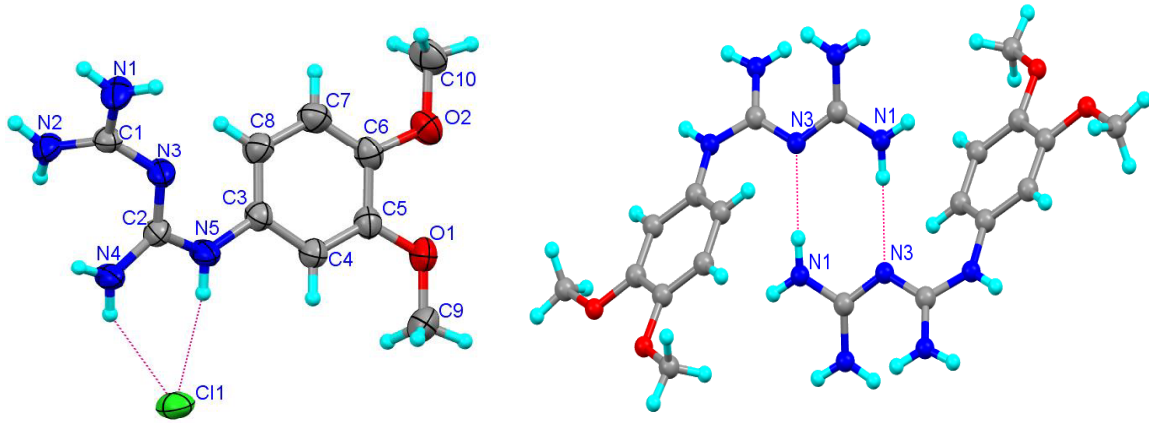
Şekil 4-12 a) A07·HCl kristal yapısı (termal elipsoid %50 olasılıkla çizilmiştir). b) Hidrojen bağ dimeri



Şekil 4-13 A07 kristal yapısına ait paketlenme diyagramı. Hidrojen bağları kesikli çizgilerle gösterilmiştir.

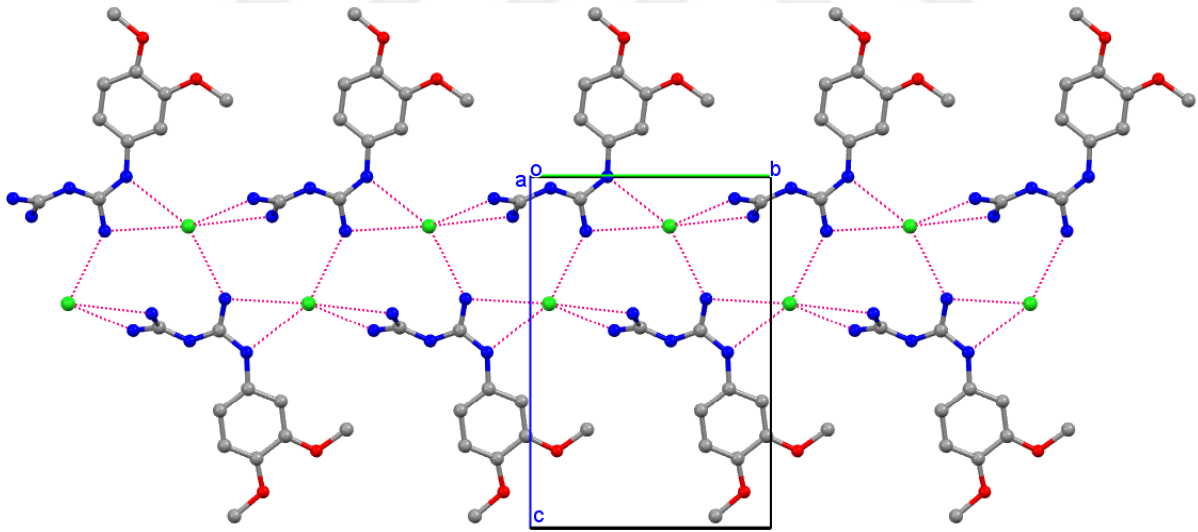
4.4.2. A06 bileşiğinin kristal yapısı

A06 bileşiğinin kristal yapısı monoklinik birim hücre $P2_1/n$ uzay grubunda çözülmüştür. Bileşiğin kristal yapısı **Şekil 4-12**'de verilmiştir. Asimetrik birimde bir adet monokprotonlanmış biguanidinyum katyonu ve bu katyonun yükünü dengeleyen bir adet klor iyonu bulunmaktadır. Biguanidinyum katyon yapısında iki guanid birimi bir azot köprüsüyle (N3) bağlanmıştır. Yapıda guanid gruplarından birinde azot atomu üzerinden bağlanmış dimetoksibenzen grubu bulunmaktadır. Bileşikte yer alan biguanidin üzerinde yer alan C-N bağ mesafeleri 1.321(2)-1.340(2) Å aralığındadır. Biguanidin grubundaki C-N bağ mesafeleri tekli bağa (C-N) göre kısa ancak çift bağ mesafesine göre de daha uzun olduğu görülmüştür. Bu durum bi biguanidin birimi boyunca π -elektron delokalizasyonu olduğu göstermektedir. Ayrıca biguanidin grubunda yer alan uç azot atomlarının birinin protonlanması ile iki guanid birimi düzlemsellikten uzaklaşmıştır. Kristal yapıda iki katyonik guanidinyum katyonu karşılıklı iki N1-H $\cdots$ N3 hidrojen bağları ile dimerik yapı oluşturmuştur.



Şekil 4-14 a) A06 kristal yapısı (termal elipsoid %50 olasılıkla çizilmiştir). b) Hidrojen bağ dimeri

Kristal yapıda yer alan biguanidinyum katyonlarında yer alan $-NH_2$ ve $-NH$ grupları klor iyonları ile hidrojen bağ etkileşimi yapmışlardır. Yapıda yer alan her bir klor iyonu beş adet hidrojen bağ akseptörü olarak davrandığı görülmüştür. Kristal yapıda gözlenen bu hidrojen bağları tek boyutta hidrojen bağ zinciri oluşturmuştur. Bileşiğin kristal istiflenme diyagramı **Şekil 4-13**'de gösterilmiştir.

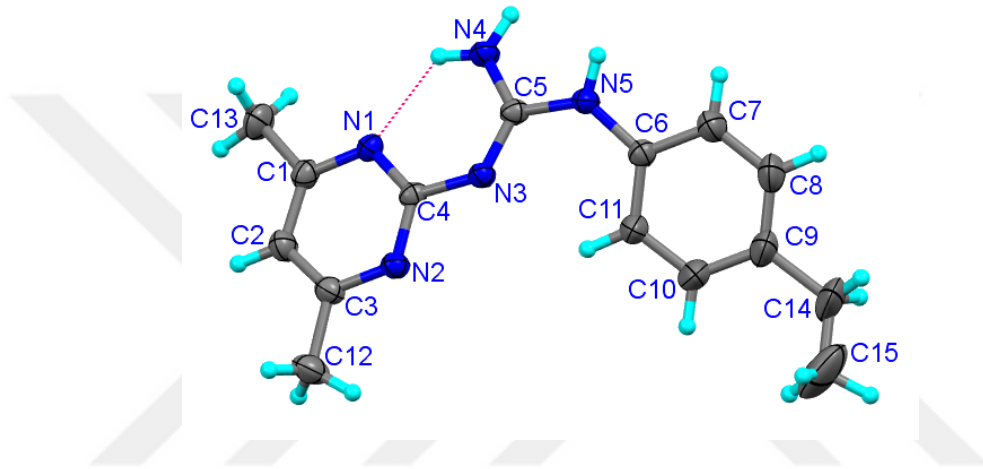


Şekil 4-15 A06 kristal yapısına ait paketlenme diyagramı. Hidrojen bağları kesikli çizgilerle gösterilmiştir.

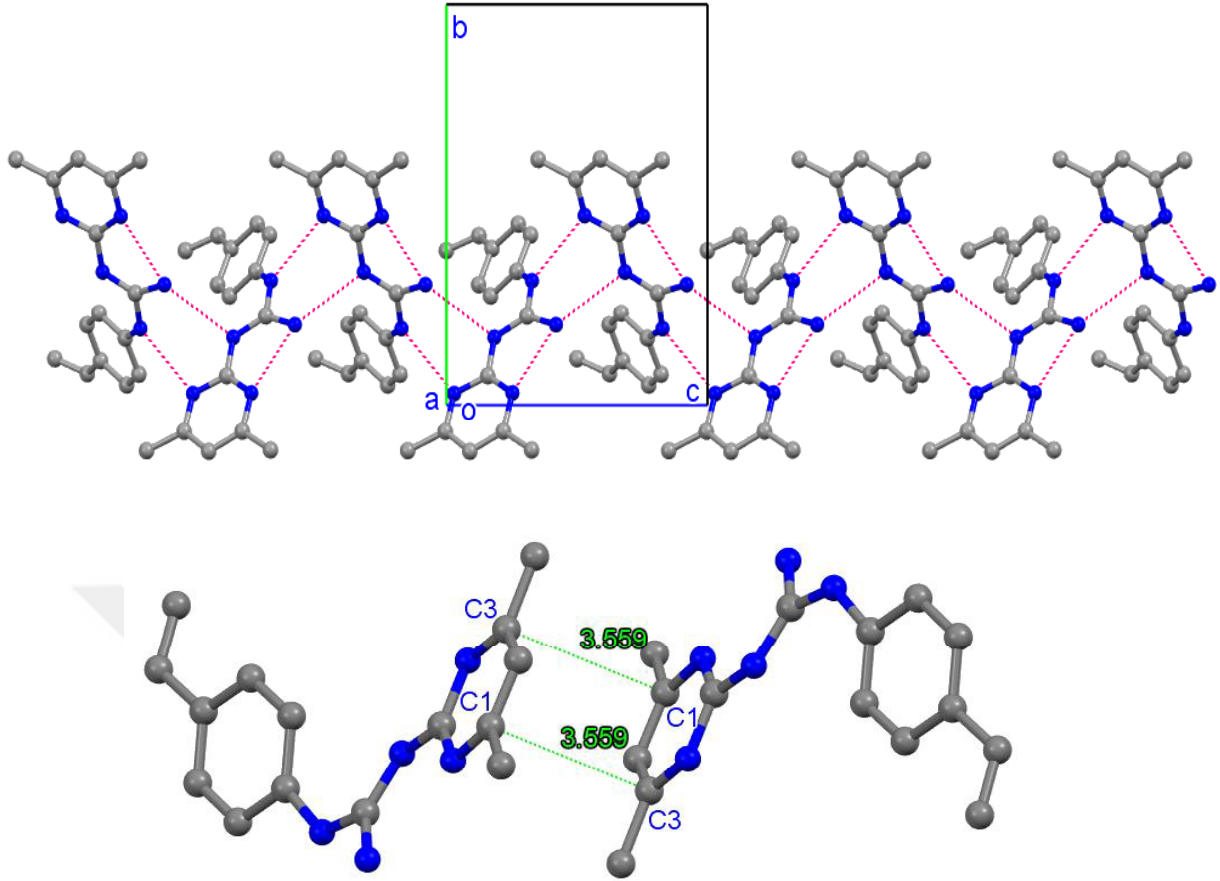
4.4.3. A11 bileşiğinin kristal yapısı

A11 bileşiğinin kristal yapısı monoklinik birim hücre ve $P2_1/c$ uzay grubunda çözülmüştür. Bileşiğin kristal yapısı **Şekil 4-14**'de verilmiştir. Bileşikte diazin halkası (N1-

C1-C2-C3-N2-C4) ve guanid birimi azot köprüsü ile bağlanmıştır. Diazin halkasındaki bağ uzunlukları halka boyunca π -elektron delokalizasyonunu göstermektedir. Diazin halkası ile guanid birimi hemen hemen aynı düzlemde olup bu iki grubun düzlemi arasındaki açı 7.60° dir. Bileşikte bulunan terminal -NH₂ grubundaki hidrojen atomlarından biri diazin azot atomu ile molekül içi hidrojen bağı yapmıştır. Ayrıca bileşikte yer alan -NH₂ ve -NH grupları komşu molekülde yer alan N2 ve N3 azot atomları ile moleküller arası hidrojen bağı yapmıştır. Bu hidrojen bağları tek boyutta tek boyutta tekrarlanarak **Şekil 4-15**'te gösterildiği gibi hidrojen bağ zinciri oluşturmuştur. Molekülde yer alan diazin halkası koşu molekülde yer alan aynı grup ile π - π etkileşimine girerek kristal yapı kararlılığını artırmıştır.



Şekil 4-16 A11 kristal yapısı (termal elipsoid %50 olasılıkla çizilmiştir).



Şekil 4-17 A11 kristal paketlenme diyagramı (üstte) ve kristal yapıda gözlenen π - π etkileşimi (altta)

4.5. Bileşiklerin enzim inhibisyon aktivitesi

Asetilkolin (ACh) seviyesindeki artışı varsayan kolinerjik hipoteze dayanarak, karbamat benzeri ilaçlar, kolinesterazları (ChE'ler) inhibe ederek Alzheimer hastalığı (AH) için çağdaş farmakoterapinin temel dayanaklarından biri olarak kabul edilmektedir. AH'nin etiyolojisi henüz kapsamlı bir şekilde ortaya çıkarılmamış olsa da, beyinde amiloid- β peptit birikintilerinin toplanması, oksidatif stres olmak üzere birkaç faktörün bu hastalığın patogenezinde rol oynadığı varsayılmaktadır. Temel olarak, insan sinir sisteminde serin hidrolazlar grubuna ait olan iki tip ChE enzimi bulunur: asetilkolinesteraz (AChE) ve butirikolinesteraz (BChE). Aslında, her iki enzim de kolinerjik sinapslarda ACh hidrolizini katalize edebilir. Ancak BChE diğer esterleri de hidrolize edebilir; bu nedenle, beyindeki konsantrasyonu Alzheimer hastaları için önemli görünmektedir. AChE'nin yüksek bir hidrolitik kapasiteye sahip olduğu ancak hastalığın seyri sırasında, semptomlar daha belirgin

hale geldikçe AChE seviyesinin düştüğü, BChE seviyelerinin ise çok az değiştiği veya değişmediği tespit edilmiştir (Skrzypek, Matysiak, Niewiadomy, Bajda ve Szymański, 2013). Her iki enzimin inhibe edilmesi, AH tedavisinde semptomatik bir etkinlik gösteren kolinerjik sinapslarda ACh konsantrasyonunda bir artış üretir; bu nedenle, kolinesteraz inhibitörleri galantamin, rivastigmin, takrin ve donepezil gibi ilaçlar AH'nın nöromasküler semptomlarını hafifletmek için klinik olarak uygulanmaktadır (Kumar ve diğerleri, 2016).

Biguanidin temelli farklı fonksiyonel gruplara sahip A01-A25 bileşikler sentezlenmiş ve Ellman Kolorimetrik testi kullanılarak AChE ve BuChE'nin inhibisyon aktiviteleri değerlendirilmiştir. Alınan sonuçlara göre sentezlenen tüm bileşikler AChE ve BuChE enzimine karşı inhibitör aktivite göstermiştir.

A01-A09 bileşiklerine ait enzim inhibisyon parametreleri **Çizelge 4-1**'de, AChE IC₅₀ değerleri **Şekil 4-16**'da ve BuChE IC₅₀ değerleri **Şekil 4-17**'de, seçicilik değerleri **Şekil 4-18**'de verilmiştir. A01-A09 bileşiklerinde AChE enzimine karşı en yüksek inhibisyon aktivitesi IC₅₀ 94,18 (±3,36) değeriyle A03 bileşiğine aittir. Diğer bileşikler hemen hemen eşdeğer inhibisyon aktivitesi sergilemiş IC₅₀ 223,93-356,22 arası değerler gözlenmiştir. A01-A09 bileşiklerinde BChE enzimine karşı en yüksek inhibisyon aktivitesi IC₅₀ 87,80±0,18 değeriyle A04 bileşiğine aittir. BChE enzimine karşı en düşük inhibisyon aktivitesi 1819,18±1,52 değerine sahip A01 bileşiğidir. Donepezil ve galantamin ile karşılaştırıldığında donepezil (AChE IC₅₀ 18,54±1,03 BuChE IC₅₀ 15,29±0,85) ve galantamin (AChE IC₅₀ 1,90±0,75 BuChE IC₅₀ 6,42±0,94) kadar aktif inhibisyon aktivitesi gözlenmemiştir.

Bileşiklerde bulunan süstitue grupları kendi içinde değerlendirildiğinde;

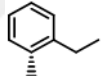
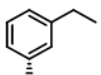
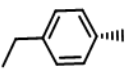
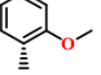
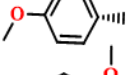
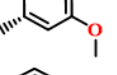
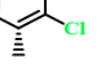
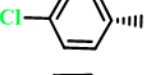
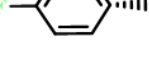
Yapısında etil grubu bağlı olan A01-A03 bileşikleri karşılaştırıldığında para pozisyonunda etil grubu olan A03 bileşiği hem etil gruplar içerisinde hem de biguanidin tuzları içerisinde en yüksek enzim aktivitesi sergilemiştir. A01 ve A03 bileşiği AChE enzimine karşı farklı inhibisyon sergilemesine rağmen seçicilikleri (sırasıyla 0,165- 0,168) hemen hemen aynı görülmektedir bu değer sentezlenen bileşikler arasında en düşük seçicilik değeridir.

Yapısında metoksi (-OCH₃) grubu bağlı olan A04-A06 bileşikleri karşılaştırıldığında o- pozisyonunda metoksi grubu olan A04 bileşiği AChE enzimine karşı en yüksek inhibisyon aktivitesi (IC₅₀ 236,25±0,80) sergilemiştir. AChE enzimine karşı p- ve 3,4-metoksi içeren bileşiklerde hemen hemen eşdeğer sonuçlar gözlenmiştir (sırasıyla 356,22±5,05,

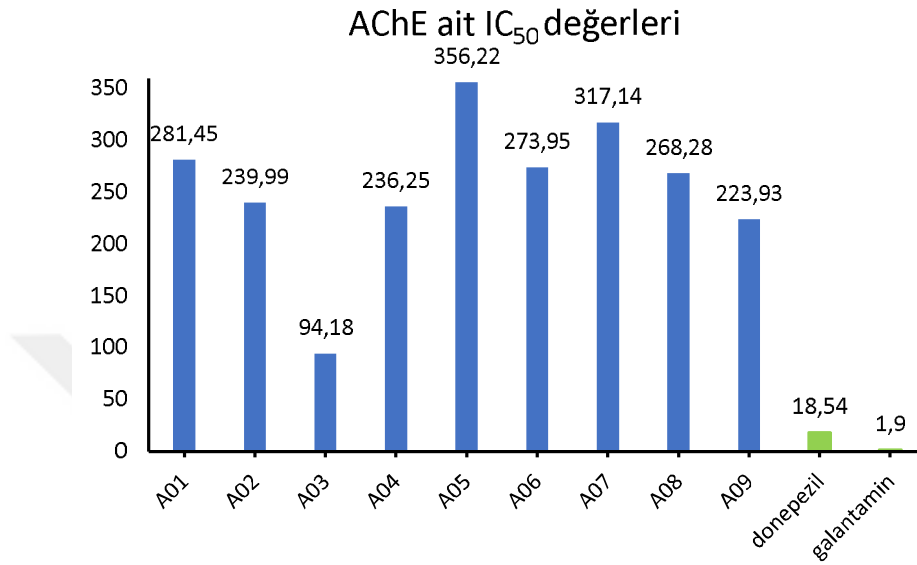
273,95±3,09). BChE enzimine karşı da en yüksek inhibisyon aktivitesi (IC₅₀ 87,80±0,18) A04 bileşiğine ait olup sentezlenen biguanidin tuzları içerisinde BChE enzimine karşı seçiciliği de A04 (2,691) bileşiği sergilemiştir.

Yapısında halojen grup içeren A07-A09 bileşikleri karşılaştırıldığında AChE enzimine karşı benzer inhibisyon aktivitesi sergilerken (sırasıyla 317,14±1,41, 268,28±3,19, 223,93±3,15), en yüksek seçicilik 0,191 değeriyle A07 bileşiğine aittir. BuChE enzimine karşı en yüksek inhibisyon aktivitesi IC₅₀ 494,32±2,80 değeriyle A08 bileşiğine aittir.

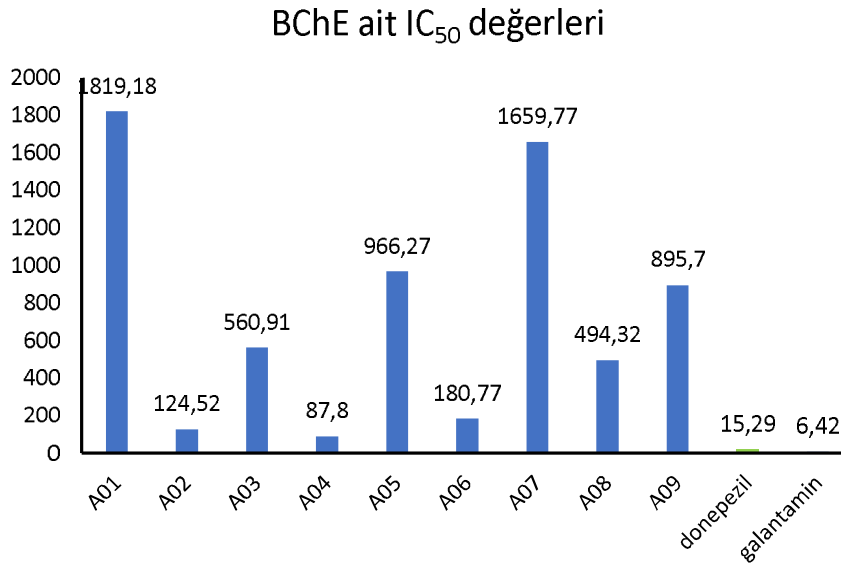
Çizelge 4.1 A01-A09 bileşiklerine ait asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon parametreleri

		IC ₅₀ (μM)		Seçicilik
Bileşikler	R grubu	EeAChE (μM)	eqBuChE (μM)	EeAChE/EqBuChE
A01		281,45 ±3,24	1819,18±1,52	0,165
A02		239,99±2.74	124,52±1,53	1,927
A03		94,18 ±3,36	560,91±0,63	0,168
A04		236,25±0,80	87,80±0,18	2,691
A05		356,22±5,05	966,27±6,76	0,369
A06		273,95±3,09	180,77±1,14	1,516
A07		317,14±1,41	1659,77±2,8	0,191
A08		268,28±3,19	494,32±2,80	0,543
A09		223,93±3,15	895,70±7,28	0,25

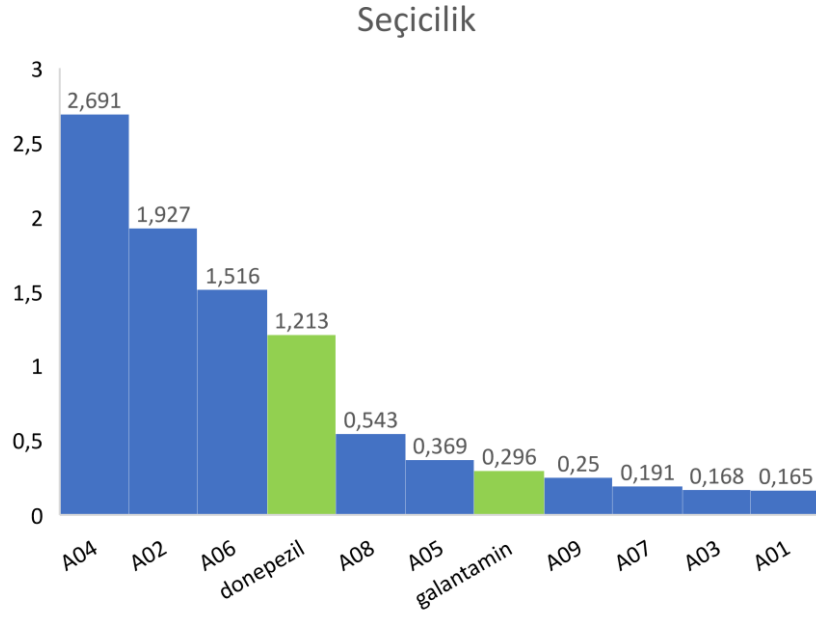
Donepezil	18,54±1,03	15,29±0,85	1,212
Galantamin	1,90±0,75	6,42±0,94	0,295



Şekil 4-18 A01-A09 bileşiklerine ait AChE IC₅₀ değerleri



Şekil 4-19 A01-A09 bileşiklerine ait BChE IC₅₀ değerleri



Şekil 4-20 A01-A09 bileşiklerine ait seçicilik değeri

Biguanidin-diazin bileşikleri A10-A16 bileşikleridir. A10-A13 bileşiklerine ait enzim inhibisyon parametreleri **Çizelge 4-2**'de, A14-A16 bileşiklerine ait enzim inhibisyon parametreleri **Çizelge 4-3**'te verilmiştir. A10-A16 bileşiklerine ait AChE IC₅₀ değeri **Şekil 4-19**'da BuChE IC₅₀ değeri **Şekil 4-20**'de ve seçicilik değeri **Şekil 4-21**'de verilmiştir. A10-A16 bileşiklerinde AChE enzime karşı en yüksek inhibisyon aktivitesi IC₅₀ 4.83±2,24 değeriyle p- pozisyonda flor bağlı olan A10 bileşiğidir. A10 bileşiği sentezlenen tüm bileşikler arasında AChE enzime karşı en yüksek inhibisyon değeri sahip olup donepezilden (IC₅₀ 18,54±1,03) daha aktif bulunurken galantamine yakın (IC₅₀ 1,90±0,75) niteliktedir. A10-A16 bileşiklerinde AChE enzime karşı en düşük inhibisyon aktivitesiyle (IC₅₀ 304,52±1,41) A13 bileşiğidir. BuChE enzime karşı en yüksek inhibisyon aktivitesini (IC₅₀ 102,51±2,15) A14 bileşiği gösterirken en düşük inhibisyon aktivitesini (IC₅₀ 1386,47±4,53) A13 bileşiği sergilemiştir. Sentezlenen A10 bileşiği AChE enzime karşı donepezil ve galantamından daha seçici özellik göstermiştir. Bu grupta yer alan bileşiklerin seçicilik değeri donepezil ve galantaminden daha düşük olduğu (A14 hariç), A14 bileşiğinin donepezilden düşük galantaminden yüksek olduğu görülmektedir.

A10-A13 bileşiklerini kendi içerisinde değerlendirdiğimizde AChE enzime karşı en yüksek inhibisyon aktivitesi (IC₅₀ 4.83±2,24) p- pozisyonda flor bağlı olan A10 bileşiği iken en düşük inhibisyon aktivitesi (IC₅₀ 304,52±1,41) A13 bileşiğidir. BuAChE enzime

karşı en yüksek inhibisyon aktivitesi (IC_{50} 199,48±0,55) A12 bileşiği iken en düşük aktiviteyi (IC_{50} 1386,47±4,53) A13 bileşiği sergilemiştir.

A14-A16 bileşiklerini kendi içinde değerlendirdiğimizde AChE enzimine karşı en yüksek inhibisyon aktivitesi (IC_{50} 26,84±2,10) 3-4 pozisyonunda metoksi bağlı olan A16 bileşiği iken en düşük inhibisyon aktivitesi (IC_{50} 137±1,54) A15 bileşiğine aittir. BuAChE enzimine karşı en yüksek inhibisyon aktivitesi (IC_{50} 102,51±2,15) A14 bileşiğine ait iken en düşük aktiviteyi (IC_{50} 1039,91±0,25) A15 bileşiği sergilemiştir.

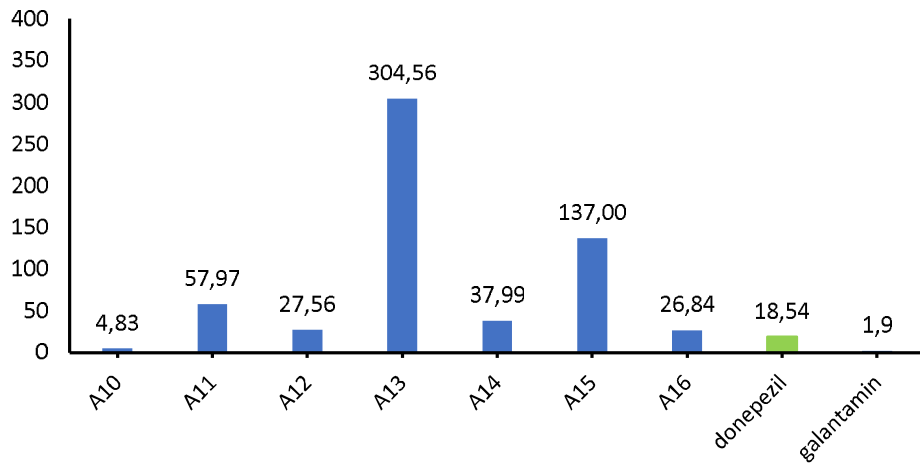
Çizelge 4.2 A10-A13 bileşiklerinin asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon parametreleri

		IC_{50} (μ M)		Seçicilik
Bileşikler	R grubu	EeAChE (μ M)	eqBuChE (μ M)	EeAChE/EqBuChE
A10		4.83±2,24	1032,33±6,07	0,005
A11		57,97±1,52	267,73±1,35	0,217
A12		27.56±0,62	199,48±0,55	0,138
A13		304,52±1,41	1386,47±4,53	0,216
Donepezil		18,54±1,03	15,29±0,85	1,212
Galantamin		1,90±0,75	6,42±0,94	0,295

Çizelge 4.3 A14-A16 bileşiklerinin asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon parametreleri

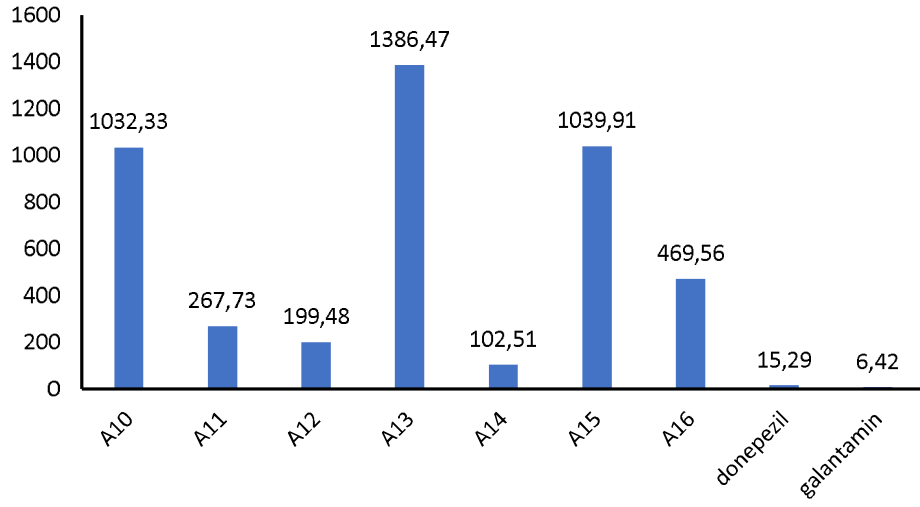
Bileşikler	R grubu	IC ₅₀ (μM)		Seçicilik
		EeAChE (μM)	eqBuChE (μM)	
A14		37,99±1,02	102,51±2,15	0,370
A15		137±1,54	1039,91±0,25	0,131
A16		26,84±2,10	469,557±1,14	0,057
Donepezil		18,54±1,03	15,29±0,85	1,212
Galantamin		1,90±0,75	6,42±0,94	0,295

AChE ait IC₅₀ değerleri



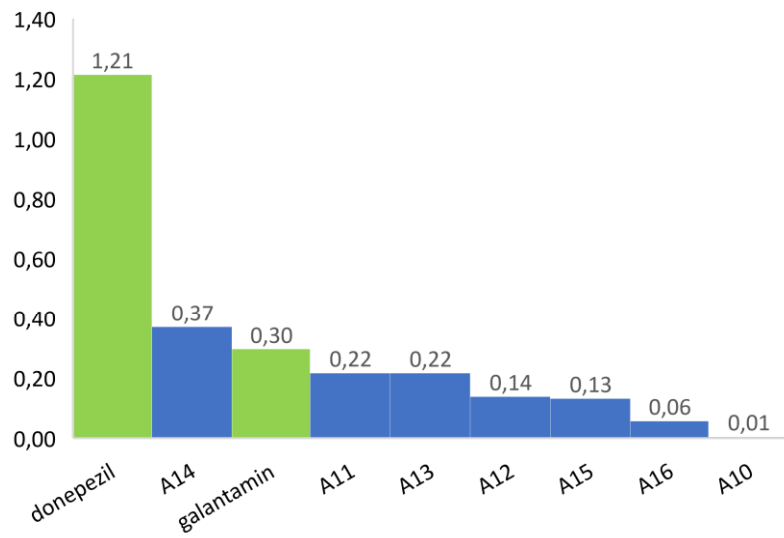
Şekil 4-21 A10-A16 bileşiklerine ait AChE IC₅₀ değerleri

BChE ait IC₅₀ değerleri



Şekil 4-22 A10-A16 bileşiklerine ait BChE IC₅₀ değerleri

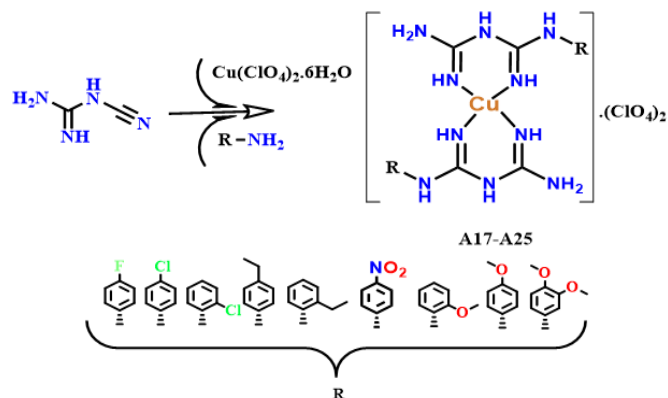
Seçicilik



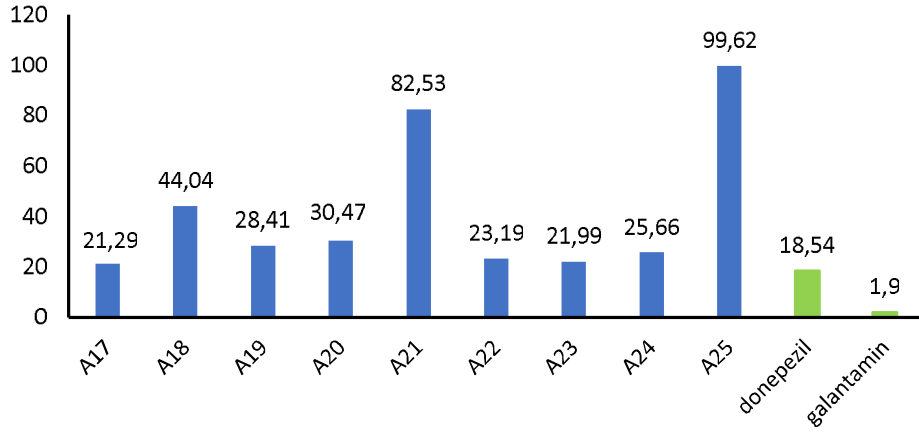
Şekil 4-23 A10-A16 bileşiklerine ait seçicilik değerleri

Biguanidin Cu(II) kompleksleri A17-A25 bileşikleridir. A17-A25 bileşiklerine ait enzim inhibisyon parametreleri **Çizelge 4-4**'te, AChE IC₅₀ değerleri **Şekil 4-22**'de ve BuChE IC₅₀ değerleri **Şekil 4-23**'te ve seçicilik değerleri **Şekil 4-24**'te verilmiştir. A17-A25 bileşiklerinde AChE enzimine karşı en yüksek inhibisyon aktivitesi A17 (IC₅₀ 21,29±0,95), A22 (IC₅₀ 23,19± 0,37), A23 (IC₅₀ 21,99± 2,63) ve A24 bileşiği (IC₅₀ 25.66±0,12) göstermekte ve donepezile (IC₅₀ 18,54±1,03) yakın değerler sergilemektedir. AChE enzimine karşı en düşük inhibisyon aktivitesi A25 (IC₅₀ 99,62±0,39) bileşiğine aittir. Cu(II) kompleksleri içerisinde en düşük inhibisyona sahip olmasına rağmen AChE enzimine karşı kayda değer şekilde inhibisyon sergilemiştir. BuChE enzimine karşı en yüksek inhibisyon aktivitesi A19 (IC₅₀ 32,61±1,14) bileşiğine ait iken en düşük inhibisyon aktivitesi A21 (IC₅₀ 269,29±0,77) bileşiğine aittir.

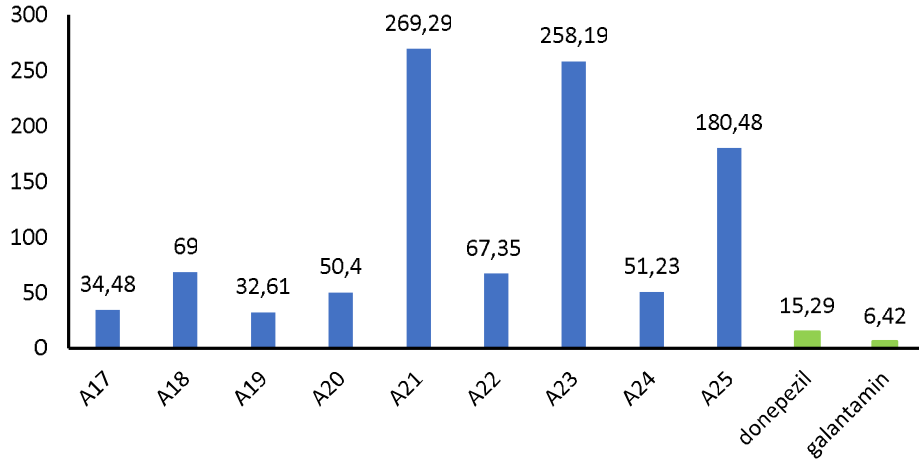
Çizelge 4.4 A17-A25 bileşiklerinin asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon parametreleri



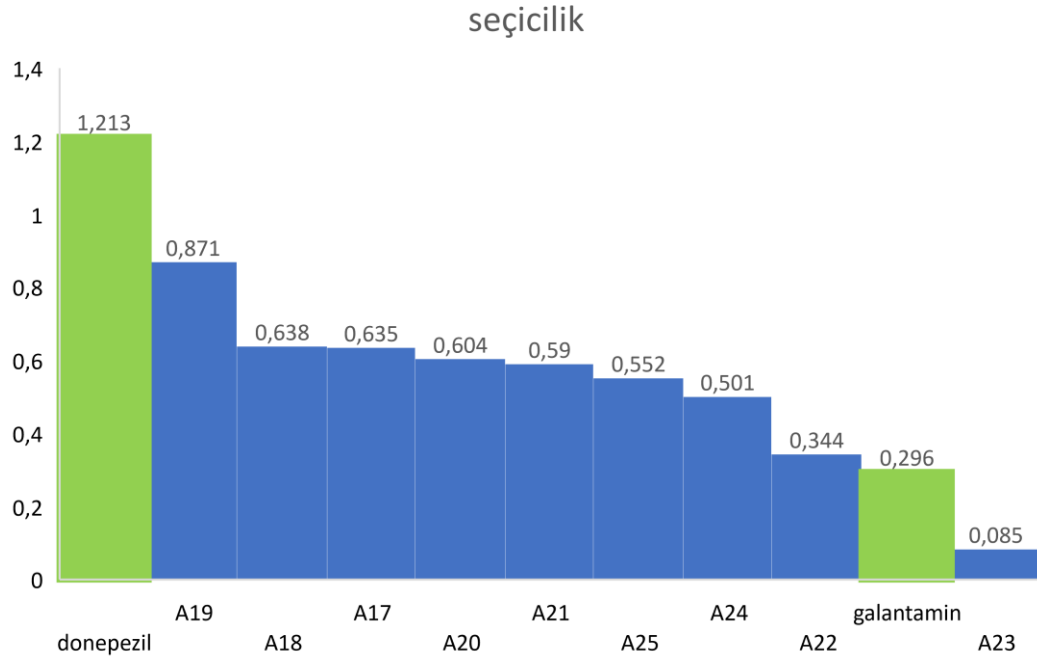
Bileşikler	R grubu	IC ₅₀ (μM)		Seçicilik
		EeAChE (μM)	eqBuChE (μM)	EeAChE/EqBuChE
A17		21,29±0,95	34,48±1,00	0,635
A18		44,04± 0,10	69,00±0,29	0,638
A19		28,41±0,85	32,61±1,14	0,871
A20		30,47±2,01	50,40±1,15	0,604
A21		82,53±0,20	269,29±0,77	0,590
A22		23,19± 0,37	67,35±5,35	0,344
A23		21,99± 2,63	258,19± 0,56	0,085
A24		25.66±0,12	51,23±0,05	0,501
A25		99,62±0,39	180,48 ±2,69	0,552
Donepezil		18,54±1,03	15,29±0,85	1,212

AChE ait IC₅₀ değerleri

Şekil 4-24 A17-A25 bileşiklerine ait AChE inhibisyon değerleri

BChE ait IC₅₀ değerleri

Şekil 4-25 A17-A25 bileşiklerine ait BChE inhibisyon değerleri

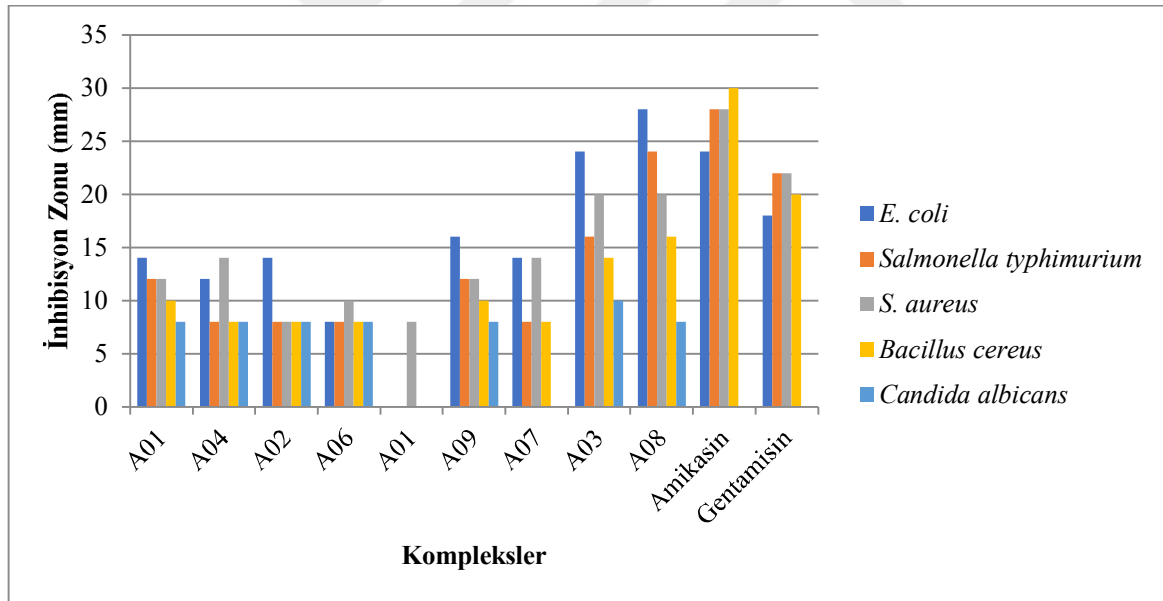


Şekil 4-26 A17-A25 bileşiklerine ait seçicilik değeri

Sentezlenen bileşikler genel olarak enzim inhibisyon aktivitesi göstermiş olup yapısında *p*- pozisyonunda Flor olan A10 bileşiğı donepezil ve galantamine eşdeğeri inhibisyon (IC_{50} 4,83 μ M) sergilemiştir.

4.6. Antimikrobiyal aktivite bulguları Bulguları

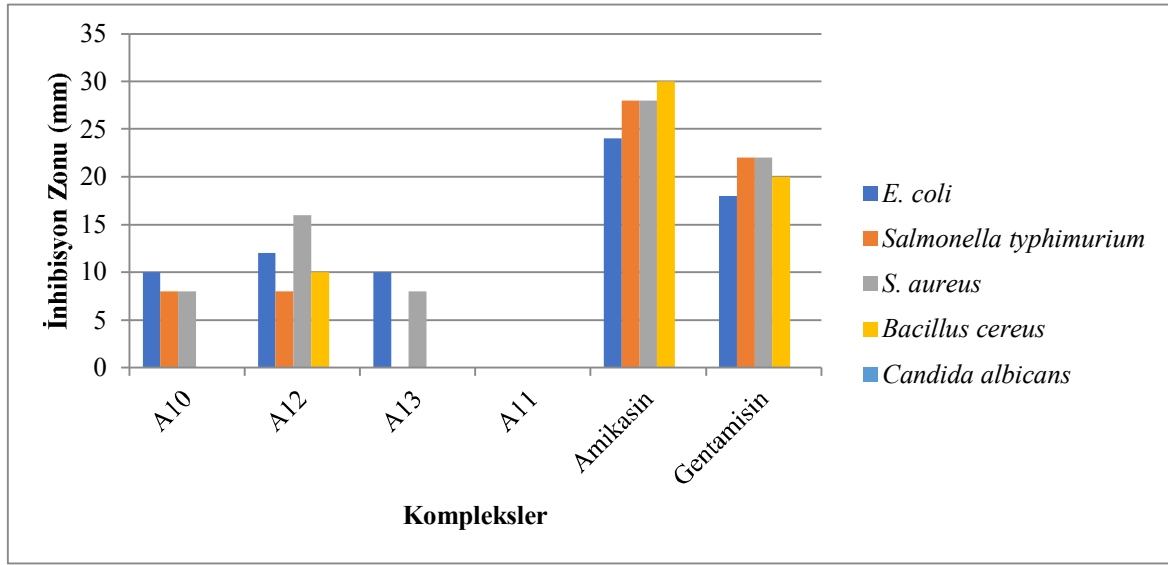
Çalışmada kullanılan A01-A09, bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri **Şekil 4-27**'de gösterilmiştir. Çalışmada bileşiklerinin (12,50 mg/mL) gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalarına karşı 8-28 mm çapında inhibisyon zonları gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan DMSO çözeltisinin suşlara karşı bir etkisi olmamıştır. A08 bileşiğinin kullanılan mikroorganizmalara karşı en yüksek inhibisyon zonu (28 mm) gösterdiği bulunmuştur. Gram negatif suşlar için en iyi inhibisyon etkisini *E coli* suşuna karşı A08 bileşiği 28 mm inhibisyon zonu ile en iyi etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada *C. albicans* suşuna karşı bir etki gözlenmemiştir. Bu farklı bulguların her suşun kendine özgü hücre duvar yapısının bulunması (Hashim, Agool ve Kadhim, 2018) ve mikroorganizmaların direnç özelliğinin farklı olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Onur, Köse, Koçer ve Tümer, 2020; Tümer, Güngör, Köse, Koçer ve Tümer, 2020). Ayrıca kullanılan antibiyotiklere kıyasla bileşiklerin daha zayıf etkisi bulunmuştur (**Şekil 4-28**).



Şekil 4-27 A01-A09 komplekslerinin biyolojik aktiviteleri (mm)

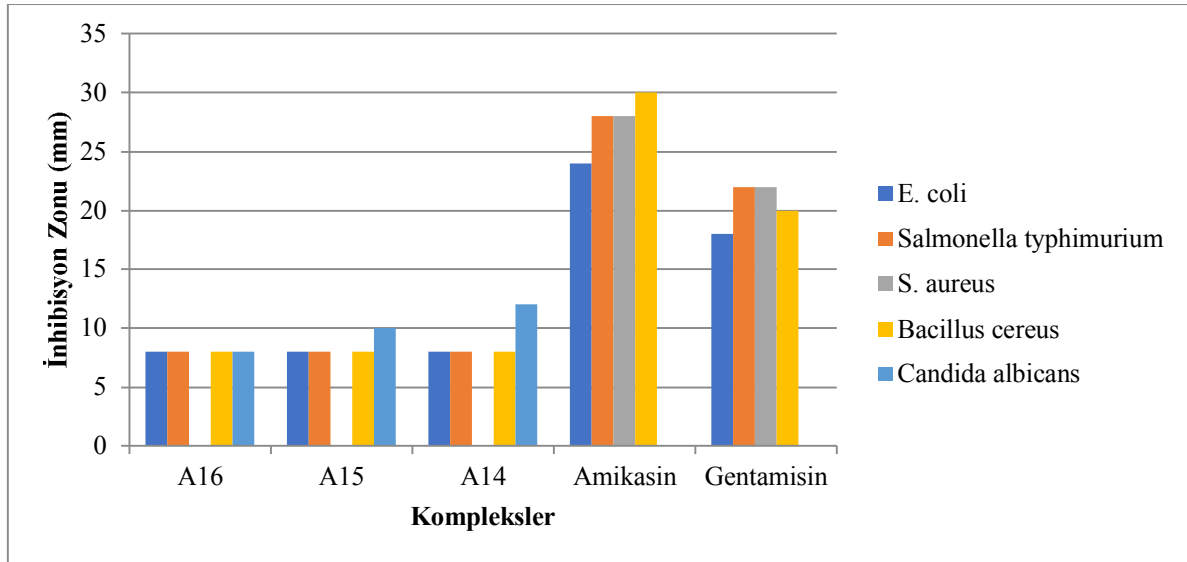
Çalışmada kullanılan A10-A13 bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri **Şekil 4-28**'te gösterilmiştir. Çalışmada bileşiklerin (12,50 mg/mL) gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalarına karşı 8-16 mm çapında inhibisyon zonları gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan DMSO çözeltisinin suşlara karşı bir etkisi olmamıştır. A12

örneğinin kullanılan mikroorganizmalara karşı en yüksek inhibisyon zonu gösterdiği bulunmuştur. Gram negatif suşlar için en iyi inhibisyon etkisini *E.coli* suşuna karşı A12 bileşiği 12 mm inhibisyon zonu ile en iyi etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada *C. albicans* suşuna karşı bir etki gözlenmemiştir. Bu farklı bulguların her suşun kendine özgü hücre duvar yapısının bulunması (Hashim ve diğerleri, 2018) ve mikroorganizmaların direnç özelliğinin farklı olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Onur ve diğerleri, 2020; Tümer ve diğerleri, 2020). Ayrıca kullanılan antibiyotiklere kıyasla bileşiklerin daha zayıf etkisi bulunmuştur (**Şekil 4-28**).



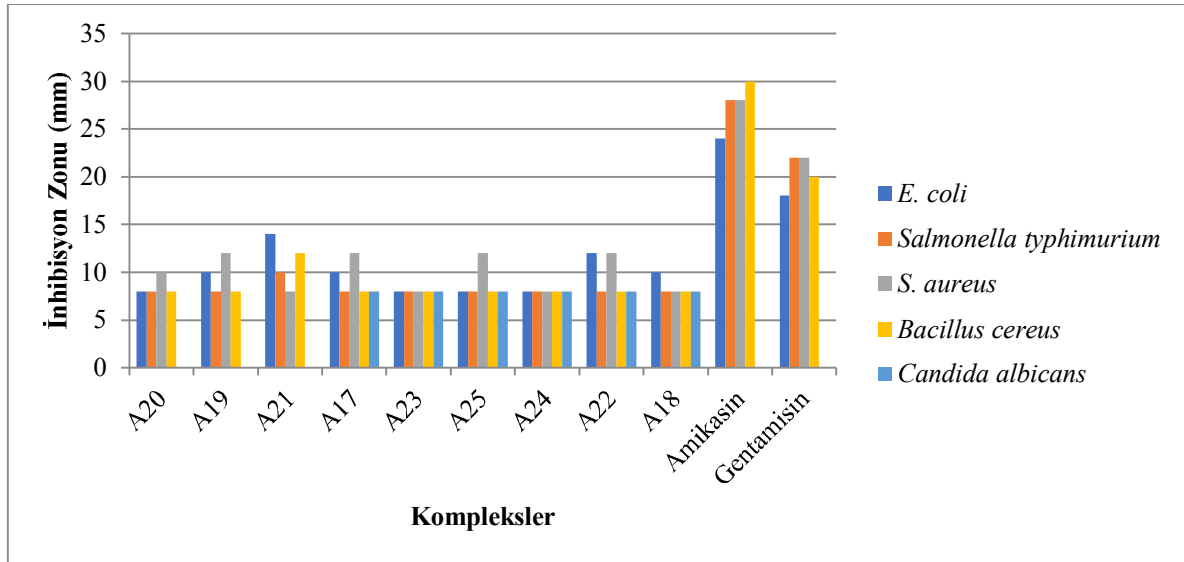
Şekil 4-28 A10-A13 komplekslerinin biyolojik aktiviteleri (mm)

Çalışmada kullanılan A14-A16 bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri **Şekil 4-29**'da gösterilmiştir. Çalışmada bileşiklerin (12,50 mg/mL) gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalarına karşı 8-12 mm çapında inhibisyon zonları gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan DMSO çözeltisinin suşlara karşı bir etkisi olmamıştır. A14 örneğinin kullanılan mikroorganizmalara karşı en yüksek inhibisyon zonu gösterdiği bulunmuştur. Kullanılan mikroorganizmalar içerisinde en iyi inhibisyon etkisini *C. albicans* suşuna karşı A14 bileşiği 12 mm inhibisyon zonu ile en iyi etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada *C. albicans* suşuna karşı bir etki gözlenmemiştir. Bu farklı bulguların her suşun kendine özgü hücre duvar yapısının bulunması (Hashim ve diğerleri, 2018) ve mikroorganizmaların direnç özelliğinin farklı olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Onur ve diğerleri, 2020; Tümer ve diğerleri, 2020). Ayrıca kullanılan antibiyotiklere kıyasla komplekslerin daha zayıf etkisi bulunmuştur (**Şekil 4-29**).



Şekil 4-29 A14-A16 bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri (mm)

Çalışmada kullanılan A17-A25 komplekslerinin biyolojik aktiviteleri **Şekil 4-30**'da gösterilmiştir. Çalışmada komplekslerin (12,50 mg/mL) gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalarına karşı 8-14 mm çapında inhibisyon zonları gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan DMSO çözeltisinin suşlara karşı bir etkisi olmamıştır. A21 kompleksinin kullanılan mikroorganizmalara karşı en yüksek inhibisyon zonu (14mm) gösterdiği bulunmuştur. Gram negatif suşlar için en iyi inhibisyon etkisini *E.coli* suşuna karşı A21 kompleksi 14 mm inhibisyon zonu ile en iyi etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada *C. albicans* suşuna karşı bir etki gözlenmemiştir. Bu farklı bulguların her suşun kendine özgü hücre duvar yapısının bulunması (Hashim ve diğerleri, 2018) ve mikroorganizmaların direnç özelliğinin farklı olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Onur ve diğerleri, 2020; Tümer ve diğerleri, 2020). Ayrıca kullanılan antibiyotiklere kıyasla bileşiklerin daha zayıf etkisi bulunmuştur (**Şekil 4-30**).



Şekil 4-30 A17-A25 bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri (mm)

4.7. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIC) Bulguları

A01-A09 bileşiklerinin mikroorganizma suşları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC) **Çizelge 2'**de verilmiştir. Bileşiklerin mikroorganizma suşları üzerinde ağırlıklı olarak 12,5-0,125 mg/mL antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Belirlenen MIC konsantrasyonu antibiyotiklerin etki mekanizması dikkate alınarak belirlenmiştir. Mikroorganizmalara karşı en iyi sonucu A03 bileşiği 0,125 mg/mL olacak şekilde MIC değerinde olduğu belirlenmiştir. Yine aynı şekilde *C. albicans* suşuna karşı sadece A03, A07 ve A01 bileşikleri hariç tüm komplekslerin 12,5 mg/mL düzeyinde etkisi bulunduğu belirlenmiştir. Bileşiklerden A03 ve A08 0,125 mg/mL olarak etkisinin en iyi sonuçların elde edildiği belirlenmiştir.

Çizelge 4 A01-A09 bileşiklerinin gram negatif suşlarda MIC değerleri

MIK (mg/mL)					
Örnek	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Candida albicans</i>
A01	1,25	12,5	12,5	12,5	12,5
A04	1,25	12,5	1,25	12,5	12,5
A02	1,25	12,5	12,5	12,5	12,5
A06	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5
A01	0	0	12,5	0	0
A09	0,125	1,25	1,25	1,25	12,5
A07	1,25	12,5	1,25	12,5	0
A03	0,125	1,25	0,125	1,25	1,25
A08	0,125	1,25	0,125	1,25	12,5

A10-A13 bileşiklerinin mikroorganizma suşları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC) **Çizelge 3'**te verilmiştir. Bileşiklerin mikroorganizma suşları üzerinde ağırlıklı olarak 12,5 ve 0,125 mg/mL arasında antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Belirlenen MIC konsantrasyonu antibiyotiklerin etki mekanizması dikkate alınarak belirlenmiştir. *Salmonella typhimurium* suşuna karşı A10 bileşiği 12,5 mg/mL olacak şekilde MIC değerinde olduğu belirlenmiştir. Yine aynı şekilde *E. coli* ve *S. aureus* suşuna karşı sadece A12 bileşiği 1,25 mg/mL düzeyinde etkisi bulunduğu belirlenmiştir. *S. aureus* suşu için ise bu bileşiklerden A12 bileşiğinin en iyi 1,25 mg/mL olarak etkisinin bulunduğu belirlenmiştir.

Çizelge 5 A10-A13 bileşiklerinin gram negatif suşlarda MIC değerleri

Örnek	MIK (mg/mL)				
	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Candida albicans</i>
A10	12,5	12,5	12,5	12,5	0
A12	1,25	12,5	1,25	12,5	0
A13	12,5	0	12,5	0	0
A11	0	0	0	0	0

A14-A16 bileşiklerinin mikroorganizma suşları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC) **Çizelge 4**'te verilmiştir. Bileşiklerin mikroorganizma suşları üzerinde ağırlıklı olarak 12,5-1,25 mg/mL antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Belirlenen MIC konsantrasyonu antibiyotiklerin etki mekanizması dikkate alınarak belirlenmiştir. *Candida albicans* suşuna karşı A15 ve A14 kompleksleri 1,25 mg/mL olacak şekilde MIC değerinde olduğu belirlenmiştir. *S. aureus* suşu için ise bu bileşiklere etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 6 A14-A16 bileşiklerinin gram negatif suşlarda MIC değerleri

Örnek	MIK (mg/mL)				
	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Candida albicans</i>
A16	12,5	12,5	0	12,5	12,5
A15	12,5	12,5	0	12,5	1,25
A14	12,5	12,5	0	12,5	1,25

A17-A25 bileşiklerinin mikroorganizma suşları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC) **Çizelge 5**'te verilmiştir. Bileşiklerin mikroorganizma suşları üzerinde ağırlıklı olarak 12,5-0,125 mg/mL antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Belirlenen MIC konsantrasyonu antibiyotiklerin etki mekanizması dikkate alınarak belirlenmiştir. *E. coli* suşuna karşı A21 bileşiği 0,125 mg/mL olacak şekilde MIC değerinde olduğu belirlenmiştir. Yine aynı şekilde *S. aureus* suşuna karşı en iyi sonucu A17 bileşiği 1,25 mg/mL düzeyinde etkisi bulunduğu belirlenmiştir. *C. albicans* suşu için ise bu komplekslerden birçoğunun 12,5 mg/mL olarak etkisinin bulunduğu belirlenmiştir. Bu komplekslerin birçoğunun düşük düzeylerde MIC değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen veriler ışığında yeni komplekslerin antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 7 A17-A25 bileşiklerinin gram negatif suşlarda MIC değerleri

Örnek	MIK (mg/mL)				
	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Candida albicans</i>
A20	12,5	12,5	12,5	12,5	0
A19	12,5	12,5	1,25	12,5	0
A21	0,125	1,25	12,5	1,25	0
A17	12,5	12,5	1,25	12,5	12,5
A23	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5
A25	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5
A24	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5
A22	1,25	12,5	12,5	12,5	12,5
A18	1,25	12,5	12,5	12,5	12,5

Çalışmada kullanılan Gentamisin ve Amikasin antibiyotikleri ile kıyaslandığında bazı komplekslerin bu antibiyotiklerin gösterdiği inhibisyon zonlarından daha yüksek etki gösterdiği, sonuç alınamayan komplekslerin ise daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılarak sonuçlar alınabilmesi mümkündür. Bulgulara göre gram negatif ve pozitif suşlara karşı, yoğun olarak kullanılan antibiyotik tedavilerinde bu kompleks yapılarının antibiyotiklerin yerini alması muhtemeldir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Doktora tez çalışması kapsamında biguanidin türevi bileşikler sentezlenip FTIR, ^1H / ^{13}C ve X-ışını kırınım yöntemleri kullanılarak karakterize edildikten sonra bu bileşiklerin Ellman Kolorimetrik testi kullanılarak AChE ve BuChE'nin inhibisyon aktiviteleri ve sentezlenen komplekslerin antimikrobiyal aktivitesi Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi kullanılarak tespit edilerek değerlendirilmiştir. Biguanidin türevlerinin eldesi için 2-siyanoguanidin farklı gruplar içeren amin bileşikleri ile asidik ortamda katılma reaksiyonu yapılmış ve A01-A09 bileşikler sentezlenmiştir. Biguanidin temelli diazin bileşikler siyanoguanidin ile asetil aseton veya 1,1,1-trifloropentan-2,4-dion kullanarak sentezlenmiştir. Doktora tez çalışması kapsamında toplam 25 adet bileşik sentezlenmiştir.

Kristal yapısı aydınlatılan yapıda guanid gruplarından birinde azot atomu üzerinden bağlanmış dimetoksibenzen grubu bulunmaktadır. Bileşikte yer alan biguanid üzerinde yer alan C-N bağ mesafeleri 1.321(2)-1.340(2) Å aralığındadır. Biguanid grubundaki C-N bağ mesafeleri tekli bağa (C-N) göre kısa ancak çift bağ mesafesine göre de daha uzun olduğu görülmüştür. Bu durum bi biguanid birimi boyunca π -elektron delokalizasyonu olduğu göstermektedir. Ayrıca biguanid grubunda yer alan uç azot atomlarının birinin protonlanması ile iki guanid birimi düzlemsellikten uzaklaşmıştır. Diazin halkasındaki bağ uzunlukları halka boyunca π -elektron delokalizasyonunu göstermektedir.

Çalışmada bileşiklerinin (12,50 mg/mL) gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalarına karşı 8-28 mm çapında inhibisyon zonları gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan DMSO çözeltisinin suşlara karşı bir etkisi olmamıştır. A08 bileşiğinin kullanılan mikroorganizmalara karşı en yüksek inhibisyon zonu (28 mm) gösterdiği bulunmuştur. Gram negatif suşlar için en iyi inhibisyon etkisini *E coli* suşuna karşı A08 bileşiği 28 mm inhibisyon zonu ile en iyi etkiyi gösterdiği belirlenmiştir.

Sonuç olarak sentezlenen 25 adet bileşiğin kolinesterazlara karşı inhibisyon aktiviteleri incelenmiştir. Sentezlenen bileşikler genel olarak enzim inhibisyon aktivitesi göstermiş olup yapısında *p*- pozisyonda Flor olan A10 bileşiği (IC_{50} 4.83 $\pm$ 2,24) donepezil ve galantamine eşdeğer inhibisyon sergilemiştir.

KAYNAKLAR

- Abbas, S. Y., Basyouni, W. M., El-Bayouki, K. A. M. ve Abdel-Rahman, R. F. (2016). Synthesis and Evaluation of 1-Substituted-Biguanide Derivatives as Anti-Diabetic Agents for Type II Diabetes Insulin Resistant. *Drug Research*, 66(7), 377–383.
- Abdelrahman, S., Alghrably, M., Campagna, M., Hauser, C. A. E., Jaremko, M. ve Lachowicz, J. I. (2021). Metal complex formation and anticancer activity of cu(I) and cu(ii) complexes with metformin. *Molecules*, 26(16), 1–19.
- Albuquerque, E. X. et. al. (1995). Nicotinic Receptor Function in the Mammalian Central Nervous System. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 757(1), 48–72.
- Alizadeh, A., Khodaei, M. M., Kordestania, D. ve Beygzadeh, M. (2013). A biguanide/Pd-decorated SBA-15 hybrid nanocomposite: Synthesis, characterization and catalytic application. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 372, 167–174.
- Alizadeh, H., Neelam, S. ve Cavanagh, H. D. (2009). Amoebicidal activities of Alexidine against 3 pathogenic strains of Acanthamoeba. *Eye and Contact Lens*, 35(1), 1–5.
- Allen, M. J., White, G. F. ve Morby, A. P. (2006). The response of Escherichia coli to exposure to the biocide polyhexamethylene biguanide. *Microbiology*, 152(4), 989–1000.
- Angelo, M., Ortwine, D., Worth, D., Werbel, L. M. ve McCall1, J. W. (1983). Synthesis and Antifilarial Activity of iV-[4-[[4-Alkoxy-3 [(dialkylamino)methyl]phenyl]amino]-2-pyrimidinyl-N/-phenyl-guanidines. *Journal of Medicinal Chemistry*, 26(9), 1258–1267.
- Anisimov, V N. (1982). Effect of phenformin on life span, estrus function and spontaneous tumor incidence in rats. *Farmakol Toksikol*, 45(4), 127.
- Anisimov, Vladimir N., Semchenko, A. V. ve Yashin, A. I. (2003). Insulin and longevity: Antidiabetic biguanides as geroprotectors. *Biogerontology*, 4(5), 297–307.
- Anisimov, Vladimir N. (2003). Insulin / IGF-1 signaling pathway driving aging and cancer as a target for pharmacological intervention. *Experimental Gerontology*, 38, 1041–1049.
- Anisimov, Vladimir N. (2013). Metformin : Do we finally have an anti-aging drug ?, 4101.
- Anisimov, Vladimir N. (2015). Metformin for cancer and aging prevention : is it a time to make the long story short ?, 6(37).
- Anisimov, Vladimir N, Berstein, L. M., Egormin, P. A., Piskunova, T. S., Popovich, I. G., Zabezhinski, M. A., ... Franceschi, C. (2005). Effect of metformin on life span and on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2 / neu transgenic mice. *Experimental Gerontology*, 40, 685–693.
- B.Melander. (1960). Pharmacology of the Influenza Suppressant N', N' -Anhydrobis (P-hydroxyethyl) biguanide-HCl. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2(4), 474–489.
- B.V. Shetty. (2004). Antiviral and antimicrobial guanidine or biguanidine derivatives.

- Babak, M. V. ve Ahn, D. (2021). Modulation of intracellular copper levels as the mechanism of action of anticancer copper complexes: Clinical relevance. *Biomedicines*, 9(8).
- Badea, M., Crasanda, A.-M., Chifiriuc, M. C., Marutescu, L., Lazar, V., Marinescu, D. ve Olar, R. (2013). Synthesis, spectral and thermal study on new Fe(III) complexes with N,N-dimethylbiguanide as antibacterial agents. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 111(3), 1743–1751.
- Badea, M., Grecu, M. N., Chifiriuc, M. C., Bleotu, C., Popa, M., Iorgulescu, E. E., ... Olar, R. (2021). Insight on Ni(II) and Cu(II) complexes of biguanide derivatives developed as effective antimicrobial and antitumour agents. *Applied Organometallic Chemistry*, 35(4), 1–17.
- Bag, S., Tawari, N. R., Sharma, R., Goswami, K., Reddy, M. V. R. ve Degani, M. S. (2010). In vitro biological evaluation of biguanides and dihydrotriazines against *Brugia malayi* and folate reversal studies. *Acta Tropica*, 113, 48–51.
- Bailey, C. J. (1992). Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care*, 15(6), 755–772.
- Bailey, C. J. (2017). Metformin: historical overview. *Diabetologia*, 60(9), 1566–1576.
- Bailey, C. J. ve Turner, R. C. (1996). Metformin. *New England Journal of Medicine*, 334(9), 574–579.
- Bailey, M. (1954). The crystal structure of the hydrochloride and hydrobromide of the dihydrotriazine metabolite of proguanil. *Acta Crystallographica*, 7(4), 366–369.
- Balouiri, M., Sadiki, M. ve Ibensouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
- Bamberger, E. ve Dieckmann, W. (1892). Zur Kenntniss des Biguanids. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 25(1), 543–546.
- Bami, H. L., Iyer, B. H. ve Guha, P. C. (1947). Studies In Antimalarials Part V. Some, Sulphabiguanide-Derivatives. *Journal of the Indian Institute of Science*, 0001(330), 21–29.
- Bami, H. L., Iyer, B. H. ve P.C., G. (1945). Studies in antimalarials Part VI. Sulphabiguanide derivatives. *journal.iisc.ernet.in*, 40, 90.
- Bannister, C. A., Holden, S. E., Morgan, C. L., Halcox, J. P. ve Schernthaner, G. (2014). Can people with type 2 diabetes live longer than those without ? sulphonylurea monotherapy and matched , non-diabetic controls. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 1–9.
- Bartus RT, 3rd, D. R., B, B. ve AS., L. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 217(4558), 408–417.
- Barzilai, N. R. (2017). Targeting Aging with Metformin (TAME). *innovation in Aging*, 1(51), 743.
- Basyouni, W. M., Abbas, S. Y., El Shehry, M. F., El-Bayouki, K. A. M., Aly, H. F., Arafa, A. ve Soliman, M. S. (2017a). New Biguanides as Anti-Diabetic Agents, Part II: Synthesis and Anti-Diabetic Properties Evaluation of 1-Arylamidebiguanide Derivatives as Agents of Insulin Resistant Type II Diabetes. *Archiv der Pharmazie*,

350(11), 1–9.

- Basyouni, W. M., Abbas, S. Y., El Shehry, M. F., El-Bayouki, K. A. M., Aly, H. F., Arafa, A. ve Soliman, M. S. (2017b). New Biguanides as Anti-Diabetic Agents, Part II: Synthesis and Anti-Diabetic Properties Evaluation of 1-Arylamidebiguanide Derivatives as Agents of Insulin Resistant Type II Diabetes. *Archiv der Pharmazie*, 350(11), 1–7.
- Bauer, A. W. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J clin pathol*, 45, 149–158.
- Beckmann, R., Lintz, W. ve Schmidt-Böthelt, E. (1971). Evaluation of a sustained release form of the oral antidiabetic butylbiguanide (Silubin® retard). *European Journal of Clinical Pharmacology*, 3(4), 221–228.
- Bharatam, P. V., Arfeen, M., Patel, N., Jain, P., Bhatia, S., Chakraborti, A. K., ... Mandal, S. K. (2016). Design, Synthesis, and Structural Analysis of Divalent NI Compounds and Identification of a New Electron-Donating Ligand. *Chemistry - A European Journal*, 22(3), 1088–1096.
- Bharatam, P. V., Patel, D. S. ve Iqbal, P. (2005). Pharmacophoric features of biguanide derivatives: An electronic and structural analysis. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(24), 7615–7622.
- Bi, X., Lopez, C., Bacchi, C. J. ve Woster, P. M. (2006). Novel alkylpolyaminoguanidines and alkylpolyaminobiguanides with potent antitrypanosomal activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16, 3229–3232.
- Boncher, T. ve Us, M. I. (2012). (12) United States Patent, 2(12), 3635–3645.
- Brendel, E. ve Wingender, W. (1996). Clinical Pharmacology of Glucosidase Inhibitors, 611–632.
- Brown, C. J. (1967). The Crystal Structure of I -(p-Chlorophenyl)-5-isopropylbiguanide. *J. Chem. SOC. (A)*, (60), 60–65.
- Brown, J. R., Chan, D. K., Shank, J. J., Griffith, K. A., Fan, H., Szulawski, R., ... Buckanovich, R. J. (2020). Phase II clinical trial of metformin as a cancer stem cell–targeting agent in ovarian cancer. *JCI Insight*, 5(11), 1–12.
- Broxton, P., Woodcock, P. M. ve Gilbert, P. (1983). A study of the antibacterial activity of some polyhexamethylene biguanides towards *Escherichia coli* ATCC 8739. *Journal of Applied Bacteriology*, 54(3), 345–353.
- Busche, M. A., Wegmann, S., Dujardin, S., Commins, C., Schiantarelli, J., Klickstein, N., ... Hyman, B. T. (2019). Tau impairs neural circuits, dominating amyloid- β effects, in Alzheimer models in vivo. *Nature Neuroscience*, 22(1), 57–64.
- Bygbjerg, I. C. (1985). Effect of proguanil and cycloguanil on human lymphocytes in vitro. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 28(3), 287–290.
- Calinescu, M., Negreanu-Pirjol, T., Calinescu, O. ve Georgescu, R. (2012). Spectral and biological characterization of some copper(II) complex compounds with chlorhexidine. *Revista de Chimie*, 63(7), 682–687.
- Călinescu, M., Negreanu-Pîrjol, T., Georgescu, R. ve Călinescu, O. (2010). Synthesis and

- characterization of new copper(II) complex compounds with chlorhexidine. Part I. *Central European Journal of Chemistry*, 8(3), 543–549.
- Canfield, C. J. ve Rozman, R. S. (1974). Clinical testing of new antimalarial compounds. *Bulletin of the World Health Organization*, 50(3–4), 203–212.
- Canfield, I. C. ve David, P. (1994). United States Patent (19), (19).
- Carrington, H. C., Crowther, A. F., Davey, D. G., Levi, A. A. ve Rose, F. L. (1951). A Metabolite of ‘Paludrine’ with High Antimalarial Activity. *Nature*, 168(4286), 1080–1080.
- Carter, H. G., Barnes, G. P. ve Bhaskar, S. N. (1973). Dental plaque reduction with an antibacterial mouthrinse: IV. *Journal of Dental Research*, 52(Spec.Nr), 663.
- Carvalho, S. P., Wang, R., Wang, H., Ball, B. ve Lebel, O. (2010). The brønsted-lowry reaction revisited: Glass-forming properties of salts of 1,5-dimethylbiguanide. *Crystal Growth and Design*, 10(6), 2734–2745.
- Chasin, M. J. U. S. K. L. G. (1995). Biocidal compositions comprising Polyhexamethylene biguanide and Edta, and methods for treating Commercial and recreational Water.
- Chaudhary, S. C., Kurundkar, D., Elmets, C. A., Kopelovich, L. ve Athar, M. (2012). Metformin, an antidiabetic agent reduces growth of cutaneous squamous cell carcinoma by targeting mTOR signaling pathway. *Photochemistry and Photobiology*, 88(5), 1149–1156.
- Chen, H., Dao, P., Laporte, A. ve Garbay, C. (2010). High yielding microwave-assisted synthesis of 2-(arylmethyl)amino-4-arylamino-6-alkyl-1,3,5-triazines. *Tetrahedron Letters*, 51(24), 3174–3176.
- Chen, K., Qian, W., Jiang, Z., Cheng, L., Li, J., Sun, L., ... Ma, Q. (2017). Metformin suppresses cancer initiation and progression in genetic mouse models of pancreatic cancer. *Molecular Cancer*, 16(1), 1–11.
- Chen, L., Zhang, T., Liu, Q., Tang, M., Yang, Y., Wang, Y., ... Yu, J. (2018). Buformin increases radiosensitivity in cervical cancer cells via cell-cycle arrest and delayed DNA-damage repair. *Experimental Biology and Medicine*, 243(14), 1133–1140.
- Cheng, Y., Meyers, J. D., Broome, A. M., Kenney, M. E., Basilion, J. P. ve Burda, C. (2011). Deep penetration of a PDT drug into tumors by noncovalent drug-gold nanoparticle conjugates. *Journal of the American Chemical Society*, 133(8), 2583–2591.
- Chumbley, L. C., Viswalingam, N. D., Thomson, I. M. ve Zeidan, M. A. (1988). Treatment of trachoma in the west bank. *Eye (Basingstoke)*, 2(5), 471–475.
- Chung, Y.-G., Tak, E., Hwang, S., Lee, J.-Y., Kim, J.-Y., Kim, Y.-Y., ... Kim, N. (2018). Synergistic effect of metformin on sorafenib in in vitro study using hepatocellular carcinoma cell lines. *Annals of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery*, 22(3), 179–184.
- Coburn, R. A., Baker, P. J., Evans, R. T., Genco, R. J. ve Fischman, S. L. (1978). In Vitro Antiplatelet Properties of a Series of Alkyl Bis(biguanides). *Journal of Medicinal Chemistry*, 21(8), 828–829.
- Compounds, C. (y.y.). Complex Compounds of Biguanides and Cuanylureas With.

- Cooper, J. R. (1994). Unsolved Problems in the Cholinergic Nervous System. *Journal of Neurochemistry*, 63(2), 395–399.
- Crounse, N. N. (1951). Isolation and identification of a metabolite of chlorguanide. *Journal of Organic Chemistry*, 16(4), 492–500.
- Cuadra, G., Summers, K. ve Giacobini, E. (1994). Cholinesterase inhibitor effects on neurotransmitters in rat cortex in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 270(1), 277–284.
- Curd, F. H. S., Davey, D. G. ve Rose, F. L. (2017). Annals of Tropical Medicine & Parasitology Studies on Synthetic Antimalarial Drugs Studies on Synthetic Antimalarial Drugs, 4983(August).
- Das, A., De, A., Haque, I., Maity, G., Banerjee, S. ve Banerjee, S. (2015). Abstract 3572: Metformin inhibits the oncogenic potential and invasiveness of pancreatic cancer cells targeting CCN1-CXCR4 axis : A new perspective for an old antidiabetic drug. *Cancer Research*, 75(15_Supplement), 3572–3572.
- Davies, A., Bentley, M. ve Field, B. S. (1968). Comparison of the Action of Vantocil, Cetrimide and Chlorhexidine on Escherichia coli and its Spheroplasts and the Protoplasts of Gram Positive Bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, 31(4), 448–461.
- Davies, G. E., Francis, J., Martin, A. R., Rose, F. L. ve Swain, G. (1954). 2. 1:6-di-4'-chlorophenyldiguanidohexane ("hibitane"). Laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency*. *British journal of pharmacology and chemotherapy*, 9(2), 192–196.
- Davis, K. L., Mohs, R. C., Marin, D., Purohit, D. P., Perl, D. P., Lantz, M., ... Haroutunian, V. (1999). Cholinergic markers in elderly patients with early signs of Alzheimer disease. *Jama*, 281(15), 1401–1406.
- Davis, K. L., Mohs, R. C., Tinklenberg, J. R., Pfefferbaum, A., Hollister, L. E. ve Kopell, B. S. (1978). Physostigmine: Improvement of long-term memory processes in normal humans. *Science*, 201(4352), 272–274.
- de Lucena, J. M. V. M., Decker, E. M., Walter, C., Boeira, L. S., Löst, C. ve Weiger, R. (2013). Antimicrobial effectiveness of intracanal medicaments on Enterococcus faecalis : chlorhexidine versus octenidine. *International Endodontic Journal*, 46(1), 53–61.
- Dil'man, V. M. ve Anisimov, V. N. (1979). Increase in longevity and a decrease in the frequency of tumors in C3H/Sn mice under the influence of fenformin and diphenin. *Doklady Akademii nauk SSSR*, 245(3), 753–7.
- Dilman, V. M., Berstein, L. M., Zabezhinski, M. A. ve Alexandrov, V. A. (1974). On effect of phenformin on induction of mammary gland tumors in rats. *Vopr. Oknol*, 20, 94–97.
- Dolomanov, O. V., Bourhis, L. J., Gildea, R. J., Howard, J. A. K. ve Puschmann, H. (2009). OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. *urn:issn:0021-8898*, 42(2), 339–341.
- Dong, H., Huang, J., Zheng, K., Tan, D., Chang, Q., Gong, G., ... Zhang, S. (2017).

- Metformin enhances the chemosensitivity of hepatocarcinoma cells to cisplatin through AMPK pathway. *Oncology Letters*, 14(6), 7807–7812.
- Dong, J., Peng, H., Yang, X., Wu, W., Zhao, Y., Chen, D., ... Liu, J. (2020). Metformin mediated microRNA-7 upregulation inhibits growth, migration, and invasion of non-small cell lung cancer A549 cells. *Anti-Cancer Drugs*, 345–352.
- E. Bosies, K. Stach, F.H. Schmidt, R. Heerdt, H. W. (1977). Biguanide compounds and anti-diabetic compositions. Germany.
- Edstein, M. D., Bahr, S., Kotecka, B., Shanks, G. D. ve Rieckmann, K. H. (1997). In vitro activities of the biguanide PS-15 and its metabolite, WR99210, against cycloguanil-resistant *Plasmodium falciparum* isolates from Thailand. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(10), 2300–2301.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. ve Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88–95.
- Elpern, B. (1968). Chemistry of Biguanides. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 148(3), 577–586.
- Evans, J. M. M., Donnelly, L. A., Emslie-Smith, A. M., Alessi, D. R. ve Morris, A. D. (2005). Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ*, 330(7503), 1304–1305.
- Figueiredo de Almeida Gomes, B. P., Vianna, M. E., Sena, N. T., Zaia, A. A., Ferraz, C. C. R. ve de Souza Filho, F. J. (2006). In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 102(4), 544–550.
- Fortun, S., Beauclair, P. ve Schmitzer, A. R. (2020). Structural features influencing the activity of bis-biguanide ligands in the suzuki–miyaura cross-coupling reaction in neat water. *Canadian Journal of Chemistry*, 98(9), 547–553.
- Francis, P. T., Palmer, A. M., Sims, N. R., Bowen, D. M., Davison, A. N., Esiri, M. M., ... Wilcock, G. K. (1985). Neurochemical Studies of Early-Onset Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, 313(1), 7–11.
- Fu, Y. L., Zhang, Q. H., Wang, X. W. ve He, H. (2017). Antidiabetic drug metformin mitigates ovarian cancer SKOV3 cell growth by triggering G2/M cell cycle arrest and inhibition of m-TOR/PI3K/Akt signaling pathway. *European review for medical and pharmacological sciences*, 21(5), 1169–1175.
- Fuller, A. T. (1942). Antibacterial action and chemical constitution in long-chain aliphatic bases. *Biochemical Journal*, 36(7–9), 548–558.
- Fuller, A. T. (1947). Antibacterial action of some aromatic amines, amidines, amidoximes, guanidines and diguanides. *The Biochemical journal*, 41(3), 403–408.
- Galasko, D. (1998). An integrated approach to the management of Alzheimer's disease: Assessing cognition, function and behaviour. *European Journal of Neurology*, 5(SUPPL. 4), 9–17.

- Galasko, Douglas, Bennett, D., Sano, M., Ernesto, C., Thomas, R., Grundman, M. ve Ferris, S. (1997). An Inventory to Assess Activities of Daily Living for Clinical Trials in Alzheimer's Disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 11, 33–39.
- Gangjee, A., Kurup, S. ve Namjoshi, O. (2007). Dihydrofolate Reductase as a Target for Chemotherapy in Parasites, 609–639.
- Gao, J. (2007). A weak hydrolytical copper(II) complex derived from condensation of N,N-dimethylbiguanide with 2-pyridinecarbaldehyde synthesis, crystal structure and biological activity. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry*, 37(8), 621–625.
- Gelbard, G. ve Vielfaure-Joly, F. (1998). Polynitrogen strong bases: 1-new syntheses of biguanides and their catalytic properties in transesterification reactions. *Tetrahedron Letters*, 39(18), 2743–2746.
- Ghorbani-Vaghei, R., Hemmati, S. ve Veisi, H. (2013). An in situ generated CuI/metformin complex as a novel and efficient catalyst for C–N and C–O cross-coupling reactions. *Tetrahedron Letters*, 54(52), 7095–7099.
- Giacobini, E. (2001). Selective inhibitors of butyrylcholinesterase: A valid alternative for therapy of Alzheimer's disease? *Drugs and Aging*, 18(12), 891–898.
- Giacobini, E. (2004). Cholinesterase inhibitors: New roles and therapeutic alternatives. *Pharmacological Research*, 50(4), 433–440.
- Gonnella, J. S., Goran, M. J., Williamson, J. W. ve Cotsonas, N. J. (1970). Evaluation of Patient Care: An Approach. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 214(11), 2040–2043.
- Goodwin, P. J., Parulekar, W. R., Gelmon, K. A., Shepherd, L. E., Ligibel, J. A., Hershman, D. L., ... Stambolic, V. (2015). Effect of Metformin vs Placebo on weight and metabolic factors in NCIC CTG MA.32. *Journal of the National Cancer Institute*, 107(3), 1–8.
- Gotlieb, W. H., Saumet, J., Beauchamp, M. C., Gu, J., Lau, S., Pollak, M. N. ve Bruchim, I. (2008). In vitro metformin anti-neoplastic activity in epithelial ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 110(2), 246–250.
- Gottlieb, A., Duberstein, J. ve Geller, A. (1962). Phenformin Acidosis. *New England Journal of Medicine*, 267(16), 806–809.
- Griss, T., Vincent, E. E., Egnatchik, R., Chen, J., Ma, E. H., Faubert, B., ... Jones, R. G. (2015). Metformin Antagonizes Cancer Cell Proliferation by Suppressing Mitochondrial-Dependent Biosynthesis. *PLoS Biology*, 13(12), 1–23.
- Gungor, O., Kocer, F. ve Kose, M. (2020). Cu(II) complexes of biguanidine ligands: Structural characterisation, DNA binding and antimicrobial properties. *Journal of Molecular Structure*, 1204, 127533.
- H. Erich, H. A. (1960). Tetrahydroquinoline biguanides.
- H. L. Bami; P. C. Guha. (1949). Studies in antimalarials Part X. N' Aryl-N 5-heterocyclic-biguanides. *of the Indian Institute of Science*, 9(31).
- Harkins, S. W., Taylor, J. R., Mattay, V. ve Regelson, W. (1997). Tacrine treatment in

- Alzheimer's disease enhances cerebral blood flow and mental status and decreases caregiver suffering. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 826, 472–474.
- Hart, P. C., Chiyoda, T., Liu, X., Weigert, M., Curtis, M., Chiang, C. Y., ... Romero, I. L. (2019). SPHK1 is a novel target of metformin in ovarian cancer. *Molecular Cancer Research*, 17(4), 870–881.
- Hashim, A., Agool, I. R. ve Kadhim, K. J. (2018). Novel of (polymer blend-Fe₃O₄) magnetic nanocomposites: preparation and characterization for thermal energy storage and release, gamma ray shielding, antibacterial activity and humidity sensors applications. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29(12), 10369–10394. doi:10.1007/s10854-018-9095-z
- Hawking, F. (1947). Activation of Paludrine in vitro. *Nature*, 159(4038), 409–409.
- Hawking, F. (1962). Trypanocidal Action of p-Biguanidoacetophenone Amidinohydrazone. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, 19(2), 324–325.
- He, K., Li, Q. ve Sun, X. (2019). A tighter relation between sensitivity complexity and certificate complexity. *Theoretical Computer Science*, 762(2016), 1–12.
- Hébert, A., Parisotto, M., Rowell, M. C., Doré, A., Fernandez Ruiz, A., Lefrançois, G., ... Schmitzer, A. R. (2021). Phenylethynylbenzyl-modified biguanides inhibit pancreatic cancer tumor growth. *Scientific Reports*, 11(1), 1–11.
- Heilig, M. L. (1969, Mayıs). United States Patent Office.
- Hesse, E;Taubmann, G. (1929). XXII. Aus dem Pharmakologischen Institut der Universitiit Breslau. Die Wirkung des Big~anids und seiner I)erivate auf den Zuckerstoffwechsel. *Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol.*
- Heyman, A., Schmechel, D., Wilkinson, W., Rogers, H., Krishnan, R., Holloway, D., ... Utley, C. (1987). Failure of long term high-dose lecithin to retard progression of early-onset Alzheimer's disease. *Journal of neural transmission. Supplementum*, 24, 279–86.
- Hübner, N. O. ve Kramer, A. (2010). Review on the efficacy, safety and clinical applications of polihexanide, a modern wound antiseptic. *Skin Pharmacology and Physiology*, 23(SUPPL. 1), 17–27.
- Hunt, J. A., Catellier, C. C., Dupre, J., Gardiner, R. I., Mckendry, J. B. R., Toews, C. J. ve Yip, C. C. (1977). The use of phenformin and metformin. *ncbi.nlm.nih.gov*, 117.
- Ibáñez, V., Pietrini, P., Alexander, G. E., Furey, M. L., Teichberg, D., Rajapakse, J. C., ... Horwitz, B. (1998). Regional glucose metabolic abnormalities are not the result of atrophy in Alzheimer's disease. *Neurology*, 50(6), 1585–1593.
- Institute, C. and L. S. (2012). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard. *CLSI document M02-A11*. Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, PA.
- Ishida, N. (2006). Virus Inhibitory Activity oF Biguanides and Related Compounds. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 130(1), 460–468.
- J.J. Merianos. (1990). Bis-(pyrrolidonyl alkylene) biguanides.

- Jafari-Gharabaghlo, D., Pilehvar-Soltanahmadi, Y., Dadashpour, M., Mota, A., Vafajouy-Jamshidi, S., Faramarzi, L., ... Zarghami, N. (2018). Combination of metformin and phenformin synergistically inhibits proliferation and hTERT expression in human breast cancer cells. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 21(11), 1167–1173.
- James, J. W., Baker, J. A. ve Wiggins, L. F. (1968). The synthesis of some heterocyclic derivatives of biguanide with antibacterial activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 11(5), 942–945.
- Jensen, N. P., Ager, A. L., Bliss, R. A., Canfield, C. J., Kotecka, B. M., Rieckmann, K. H., ... Jacobus, D. P. (2001). Phenoxypoxoxybiguanides, prodrugs of DHFR-inhibiting diaminotriazine antimalarials. *Journal of Medicinal Chemistry*, 44(23), 3925–3931.
- Jensen, Norman P., Examiner, P. ve Shippen, M. L. (2004). (12) United States Patent, 2(12).
- K Enneth, J. S. I. (1998). Correspondence 1. *The New England of Medicine*, 22, 261–268.
- Kashiwagi, S. (1974). [Studies on the anti-influenzal agents by methods of mouse rale recording and lung lesion score (author's transl)]. *Fukuoka igaku zasshi = Hukuoka acta medica*, 65(3), 157–71.
- Kathuria, D., Arfeen, M., Bankar, A. A. ve Bharatam, P. V. (2016). Carbene→N + Coordination Bonds in Drugs: A Quantum Chemical Study. *Indian Academy of Sciences. Special Issue on CHEMICAL BONDING*, 128(10), 1607–1614.
- Kathuria, D., Arfeen, M., Bankar, A. A. ve Bharatam, P. V. (2016). Carbene →N+ Coordination Bonds in Drugs: A Quantum Chemical Study. *Journal of Chemical Sciences*, 128(10), 1607–1614.
- Katritzky, A. R., Tala, S. R. ve Singh, A. (2010). Biguanidines, guanylureas and guanylthioureas. *Arkivoc*, 2010(8), 76–96.
- Kim, K. S., Lee, S. J. ve Suh, J. C. (2005). Numerical simulation of the vortical flow around an oscillating circular cylinder. *Proceedings of the International Offshore and Polar Engineering Conference, 2005*, 162–167.
- Kim, M. Y., Kim, Y. S., Kim, M., Choi, M. Y., Roh, G. S., Lee, D. H., ... Choi, W. S. (2019). Metformin inhibits cervical cancer cell proliferation via decreased AMPK O-GlcNAcylation. *Animal Cells and Systems*, 23(4), 302–309.
- Kirin, V. P., Demkin, A. G., Smolentsev, A. I., Il, T. N. ve Maksakov, V. A. (2016). Cobalt (III) Complexes with Biguanide Derivatives : Synthesis , Structures , and Antiviral Activity, 42(4), 260–266.
- Kirkby, D. L., Jones, D. N. C., Barnes, J. C. ve Higgins, G. A. (1996). Effects of anticholinesterase drugs tacrine and E2020, the 5-HT(3) antagonist ondansetron, and the H(3) antagonist thioperamide, in models of cognition and cholinergic function. *Behavioural pharmacology*, 7(6), 513–525.
- Kosasa, T., Kuriya, Y., Matsui, K. ve Yamanishi, Y. (1999). Effect of donepezil hydrochloride (E2020) on basal concentration of extracellular acetylcholine in the hippocampus of rats. *European Journal of Pharmacology*, 380(2–3), 101–107.
- Koski, R. R. (2004). Oral Antidiabetic Agents: A Comparative Review. *Journal of*

Pharmacy Practice, 17(1), 39–48.

- Krebs, F. C., Miller, S. R., Ferguson, M. L., Labib, M., Rando, R. F. ve Wigdahl, B. (2005). Polybiguanides, particularly polyethylene hexamethylene biguanide, have activity against human immunodeficiency virus type 1. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 59(8), 438–445.
- Kulkarni, A. S., Gubbi, S. ve Barzilai, N. (2020). Benefits of Metformin in Attenuating the Hallmarks of Aging. *Cell Metabolism*, 32(1), 15–30.
- Kumar, J., Meena, P., Singh, A., Jameel, E., Maqbool, M., Mobashir, M., ... Jayaram, B. (2016). Synthesis and screening of triazolopyrimidine scaffold as multi-functional agents for Alzheimer's disease therapies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 119, 260–277.
- Kurt A, J. (2019). Towards a Biological Definition of Alzheimer Disease. *International Journal of Neurology and Neurotherapy*, 7(1), 535–562.
- Kurzer, F. ve Pitchfork, E. D. (2006). The chemistry of biguanides. *Biguanides*, 375–472.
- LaFerla, F. M., Green, K. N. ve Oddo, S. (2007). Intracellular amyloid- β in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(7), 499–509.
- Lambert, T. H. ve Jolla, L. (1959). Phenethylbiguanide Diabetic Patients, 90(4), 257–260.
- Larkin, D. F. P., Kilvington, S. ve Dart, J. K. G. (1992). Treatment of Acanthamoeba Keratitis with Polyhexamethylene Biguanide. *Ophthalmology*, 99(2), 185–191.
- Lea, M. A., Haneulsol, K. I. M. ve DesBordes, C. (2018). Effects of biguanides on growth and glycolysis of bladder and colon cancer cells. *Anticancer Research*, 38(9), 5003–5011.
- Lechleiter, J., Peralta, E. ve Clapham, D. (1989). Diverse functions of muscarinic acetylcholine receptor subtypes. *Trends in pharmacological sciences, Suppl*, 34–8.
- Lee, K.-B., Byun, H.-J., Park, S. H., Park, C.-Y., Lee, S.-H. ve Rho, S. B. (2012). CYR61 controls p53 and NF- κ B expression through PI3K/Akt/mTOR pathways in carboplatin-induced ovarian cancer cells. *Cancer Letters*, 315(1), 86–95.
- Lee, Y., Han, S. H., Hong, S. H., Lee, J. K., Ji, H. ve Kum, K. Y. (2008). Antimicrobial Efficacy of a Polymeric Chlorhexidine Release Device Using In Vitro Model of Enterococcus faecalis Dentinal Tubule Infection. *Journal of Endodontics*, 34(7), 855–858.
- Lehrer, S. ve Rheinstein, P. H. (2020). Alignment of Alzheimer ' s disease amyloid β - peptide and klotho. *world Academy of Sciences Journal*, 2, 27.
- Lemoine, P., Chiadmi, M., Bissery, V., Tomas, A. ve Viossat, B. (1996). Les composés de la metformine avec les ions CoII, CuII et NiII. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, 52(6), 1430–1436.
- Leslie Rose, F. ve Swain, G. (1951). Patent Office 2,684,924 N. Cegeropeenyldguanono Coisounds Claims priority, application Great Britain.
- Levy, R., Little, A., Chuaqui, P. ve Reith, M. (1983). Early Results From Double Blind, Placebo Controlled Trial of High Dose Phosphatidylcholine in Alzheimer'S Disease.

- The Lancet*, 321(8331), 987–988.
- Li, B., Stribley, J. A., Ticu, A., Xie, W., Schopfer, L. M., Hammond, P., ... Lockridge, O. (2000). Abundant Tissue Butyrylcholinesterase and Its Possible Function in the Acetylcholinesterase Knockout Mouse.
- Liang, X., Kong, P., Wang, J., Xu, Y., Gao, C. ve Guo, G. (2017). Effects of metformin on proliferation and apoptosis of human megakaryoblastic Dami and MEG-01 cells. *Journal of Pharmacological Sciences*, 135(1), 14–21.
- Logie, L., Harthill, J., Patel, K., Bacon, S., Hamilton, D. L., Macrae, K., ... Rena, G. (2012). Cellular responses to the metal-binding properties of metformin. *Diabetes*, 61(6), 1423–1433.
- M. Rudrapal. (2011). A Brief Review on Malaria and Current Antimalarial Drugs. *Journal of Current Pharma Research*, 1(3), 286–292.
- Martin, A. ve Pinkerton, A. A. (1996). Two energetic ionic materials: The biguanidium perchlorates. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, 52(4), 1048–1052.
- Martin, A., Pinkerton, A. A., Gilardi, R. D. ve Bottaro, J. C. (1997). Energetic Materials: The Preparation and Structural Characterization of Three Biguanidinium Dinitramides. *Acta Crystallographica Section B: Structural Science*, 53(3), 504–512.
- Martin, A., Pinkerton, A. A. ve Schiemann, A. (1996). Energetic materials: The biguanidium nitrates. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, 52(4), 966–970.
- May, E. L. (1947). Attempts To Find New Antimalarials. XXII. Biguanide Derivatives Of Phenanthrene 1. *The Journal of Organic Chemistry*, 12(3), 443–445.
- May, E. L. ve Mosettig, E. (1947). Biguanide and thiourea derivatives of quinoline. *Journal of Organic Chemistry*, 12(6), 869–871.
- Medicines, E. (2002). Essential Medicines WHO Model List (revised April 2002) Complementary List. *Drugs*, (April).
- Mehnert, H., Mahrhofer, E. ve Stern, G. (1965). Zur Anwendung einer Retard-Form des Butylguanid in der oralen Diabetestherapie. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 90(30), 1316–1319.
- Mehnert, H. ve Seitz, W. (1958). [Further results of diabetes therapy with blood sugar lowering biguanides]. *Munchener medizinische Wochenschrift (1950)*, 100(47), 1849–51.
- Meiering, S., Inhoff, O., Mies, J., Vincek, A., Garcia, G., Kramer, B., ... Krauth-siegel, R. L. (2005). Inhibitors of Trypanosoma cruzi Trypanothione Reductase Revealed by Virtual Screening and Parallel Synthesis. *J. Med. Chem*, 4793–4802.
- Melnikova, I. (2007). Therapies for Alzheimer's disease. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(5), 341–342.
- Meltzer, C. C., Zubietta, J. K., Brandt, J., Tune, L. E., Mayberg, H. S. ve Frost, J. J. (1996). Regional hypometabolism in Alzheimer's disease as measured by positron emission tomography after correction for effects of partial volume averaging. *Neurology*, 47(2),

- Mesulam, M. M., Guillozet, A., Shaw, P., Levey, A., Duysen, E. G. ve Lockridge, O. (2002). Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neuroscience*, 110(4), 627–639.
- Mikić, I. M., Cigić, L., Kero, D., Govorko, D. K., Mehičić, G. P., Andrašević, A. T. ve Simeon, P. (2018). Antimicrobial effectiveness of polyhexamethylene biguanide on enterococcus faecalis, staphylococcus epidermidis and Candida albicans. *Medicinski Glasnik*, 15(2), 132–138.
- Milks, J. E., Kennerly, G. W. ve Polevy, J. H. (1962a). Synthesis of Boron Heterocycles from Biguanide. *Journal of the American Chemical Society*, 84(13), 2529–2534.
- Milks, J. E., Kennerly, G. W. ve Polevy, J. H. (1962b). Synthesis of Boron Heterocycles from Biguanide. *Journal of the American Chemical Society*, 84(13), 2529–2534.
- Module, J. D.-E. P. ve 2003, U. (2003). Overview of the antidiabetic agents. *auburn.edu*.
- Mohammadi, Z. ve Abbott, P. V. (2009). Antimicrobial substantivity of root canal irrigants and medicaments: A review. *Australian Endodontic Journal*, 35(3), 131–139.
- Morales, D. R. ve Morris, A. D. (2015). Metformin in cancer treatment and prevention. *Annual Review of Medicine*, 66(August 2014), 17–29.
- Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. ve Pfaller, M. A. (2007). Manual of Clinical Microbiology. Ed. 9th. Washington DC: ASM Press American Society for Microbiology.
- Mutlib, E., Rush, K. ve Selk, E. (1996). Pharmacological Evaluation of Novel Alzheimer ' s Disease Therapeutics : Acetylcholinesterase Inhibitors Related to Galanthamine, 728–738.
- N.Ishida, A. I. M. S. M. R. (1964). Antibacterial Activity of Certain Biguanide Derivatives, (July), 170–171.
- Noori, T., Cabreiro, F., Au, C., Leung, K., Vergara-irigaray, N., Cocheme, H. M., ... Gems, D. (2013). Metformin Retards Aging in C. elegans by Altering Microbial Folate and Methionine Metabolism. *Cell*.
- Nordberg, A., Lilja, A., Lundqvist, H., Hartvig, P., Amberla, K., Viitanen, M., ... Winblad, B. (1992). Tacrine restores cholinergic nicotinic receptors and glucose metabolism in alzheimer patients as visualized by positron emission tomography. *Neurobiology of Aging*, 13(6), 747–758.
- Ogunbiyi, L., FX Smith - US Patent 4, 783, 488 ve 1988, U. (y.y.). Contact lens wetting solution. *Google Patents*.
- Ohui, K., Afanasenko, E., Bacher, F., Ting, R. L. X., Zafar, A., Blanco-Cabra, N., ... Arion, V. B. (2019). New Water-Soluble Copper(II) Complexes with Morpholine-Thiosemicarbazone Hybrids: Insights into the Anticancer and Antibacterial Mode of Action. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(2), 512–530.
- Olar, R., Badea, M., Grecu, M. N., Marinescu, D., Lazar, V. ve Balotescu, C. (2008). Copper(II) complexes with N,N-dimethylbiguanide : Thermal, spectroscopic and

- biological characterization. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 92(1), 239–243.
- Olar, R., Badea, M., Marinescu, D., Chifiriuc, C. M., Bleotu, C., Grecu, M. N., ... Finaru, A. (2010). Prospects for new antimicrobials based on N,N-dimethylbiguanide complexes as effective agents on both planktonic and adhered microbial strains. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(7), 2868–2875.
- Olar, R., Badea, M., Marinescu, D., Chifiriuc, M. C., Bleotu, C., Grecu, M. N., ... Lazar, V. (2010). N, N-dimethylbiguanide complexes displaying low cytotoxicity as potential large spectrum antimicrobial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(7), 3027–3034.
- Onur, S., Köse, M., Koçer, F. ve Tümer, F. (2020). Synthesis, characterization and antibacterial effect of diarylmethylamine-based imines. *Journal of Molecular Structure*, 1214, 128150.
- Orecchioni, S., Reggiani, F., Talarico, G., Mancuso, P., Calleri, A., Gregato, G., ... Bertolini, F. (2015). The biguanides metformin and phenformin inhibit angiogenesis, local and metastatic growth of breast cancer by targeting both neoplastic and microenvironment cells. *International journal of cancer*, 136(6), E534-44.
- Outbreak, C. D. C.- ve Wang, H. (2020). *Rapid Structure-Based Screening Informs Potential Agents for Coronavirus Disease (COVID-19) Outbreak*. *Chinese Physics Letters* (C. 37).
- Overberger, C. G. ve Shapiro, S. L. (1954). Monomer Synthesis.1 Synthesis of a Vinyltriazine and a Study of the Reaction of Phenylbiguanide with Acrylate Esters. *Journal of the American Chemical Society*, 76(4), 1061–1065.
- Pascoal, T. A., Mathotaarachchi, S., Mohades, S., Benedet, A. L., Chung, C. O., Shin, M., ... Rosa-Neto, P. (2017). Amyloid- β and hyperphosphorylated tau synergy drives metabolic decline in preclinical Alzheimer's disease. *Molecular Psychiatry*, 22(2), 306–311.
- Patel, D. S. ve Bharatam, P. V. (2009). Novel $\oplus N(\leftarrow L)_2$ species with two lone pairs on nitrogen: systems isoelectronic to carbodicarbenes. *Chemical Communications*, (9), 1064.
- Patel, D. S. ve Bharatam, P. V. (2011). Divalent N(I) compounds with two lone pairs on nitrogen. *Journal of Physical Chemistry A*, 115(26), 7645–7655.
- Patel, N., Sood, R. ve Bharatam, P. V. (2018). NL₂⁺ Systems as New-Generation Phase-Transfer Catalysts. *Chemical Reviews*, 118(18), 8770–8785. review-article.
- Pattillo, C., Gupta, S. ve Carey, K. (2005). Sustaining Growth Accelerations and Pro-Poor Growth in Africa. *Acta Parasitol.*, 50, 1–18.
- Perry, E. K., Perry, R. H., Blessed, G. ve Tomlinson, B. E. (1977). Necropsy Evidence of Central Cholinergic Deficits in Senile Dementia. *The Lancet*, 309(8004), 189.
- Perry, E., Tomlinson, B., Blessed, G., Bergmann, K., Gibson, P. ve Perry, R. (1996). Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 11(9), 765–771.

- Perry, R. J. ve Hodges, J. R. (2000). Relationship between functional and neuropsychological performance in early Alzheimer disease. *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 14(1), 1–10.
- Poison, N. ve Centre, C. (1981). *Diabetologia*, 46, 45–46.
- Pomeranze, J., Fujiy, H. ve Mouratoff, G. T. (1957). Clinical Report of a New Hypoglycemic Agent. *Experimental Biology and Medicine*, 95(1), 193–194.
- Portalone, G. ve Colapietro, M. (2004). Redetermination of phenylbiguanide hydrochloride. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 60(7), 1165–1166.
- Potkin, S. G., Anand, R., Fleming, K., Alva, G., Keator, D., Carreon, D., ... Fallon, J. H. (2001). Brain metabolic and clinical effects of rivastigmine in Alzheimer's disease. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 4(3), 223–230.
- Primo-Parmo, S. L., Bartels, C. F., Wiersema, B., Van Der Spek, A. F. L., Innis, J. W. ve La Du, B. N. (1996). Characterization of 12 silent alleles of the human butyrylcholinesterase (BCHE) gene. *American Journal of Human Genetics*, 58(1), 52–64.
- prince, martin. (2022). World Alzheimer Report. *Alzheimer's Disease International*.
- Prince, M., Wimo, A., Guerchet, M., Gemma-Claire, A., Wu, Y.-T. ve Prina, M. (2015). World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia - An analysis of prevalence, incidence, cost and trends. *Alzheimer's Disease International*, (September), 84.
- Prugnard, E. ve Noel, M. (1996a). Chemistry and Structure-Activity Relationships of Biguanides (ss. 263–285). doi:10.1007/978-3-662-09127-2_10
- Prugnard, E. ve Noel, M. (1996b). Chemistry and Structure-Activity Relationships of Biguanides (ss. 263–285).
- Pulito, C., Mori, F., Sacconi, A., Goeman, F., Ferraiuolo, M., Pasanisi, P., ... Blandino, G. (2017). Metformin-induced ablation of microRNA 21-5p releases Sestrin-1 and CAB39L antitumoral activities. *Cell Discovery*, 3.
- R.E.Redmann. (1978). Chemistry of The Trifluoromethyl Group. *Canadian Journal of Soil Science*, 58(May), 119–124.
- Ramasamy, T., Ruttala, H. B., Kaliraj, K., Poudel, K., Jin, S. G., Choi, H. G., ... Kim, J. O. (2019). Polypeptide Derivative of Metformin with the Combined Advantage of a Gene Carrier and Anticancer Activity. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 5(10), 5159–5168. research-article.
- Rathke, B. (1879). Ueber Biguanid. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 12(1), 776–784.
- Ray, P. (1961). Complex Compounds of Biguanides and Guanylureas with Metallic Elements. *Chemical Reviews*, 61(4), 313–359.
- Reaven, P. D., Emanuele, N. V., Wiitala, W. L., Bahn, G. D., Reda, D. J., McCarren, M., ... Hayward, R. A. (2019). Intensive Glucose Control in Patients with Type 2 Diabetes — 15-Year Follow-up. *New England Journal of Medicine*, 380(23), 2215–

- Reisberg, B., Ferris, S., De Leon, M. ve Crook, T. (1982). The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *American Journal of Psychiatry*, 139(9), 1136–1139.
- Rôças, I. N. ve Siqueira, J. F. (2011). Comparison of the In Vivo Antimicrobial Effectiveness of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Used as Root Canal Irrigants: A Molecular Microbiology Study. *Journal of Endodontics*, 37(2), 143–150.
- Rogers, S. L., Yamanishi, Y. ve Yamatsu, K. (1991). E2020 — The Pharmacology of a Piperidine Cholinesterase Inhibitor. *Cholinergic Basis for Alzheimer Therapy* içinde (ss. 314–320). Boston, MA: Birkhäuser Boston.
- Rønneberg, A., Nordgarden, H., Skaare, A. B. ve Willumsen, T. (2019). The Editor recommends this issue's article to the reader. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 29(6), 683.
- Rose, F. L. (1951). A chemotherapeutic search in retrospect. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, (2770), 2770.
- Rose, F. L. ve Swain, G. (1956). Bisdiguanides having antibacterial activity. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, (4422), 4414–4417.
- Rosowsky, A., Chen, K. K. N., Nadel, M. E., Papathanasopoulos, N. ve Modest, E. J. (1972). Quinazolines. VIII. Synthesis of 1,3-diaminobenzo[f]quinazolines. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 9(2), 275–283.
- Rosowsky, A., Protopapa, H. K., Burke, P. J. ve Modest, E. J. (1964). Quinazolines. I. Formation of a Guanidinoquinazoline during the Three-Component Synthesis of a 4,6-Diamino-1-aryl-1,2-dihydro-s-triazine. *Journal of Organic Chemistry*, 29(10), 2881–2887.
- Saito, S., Furuno, A., Sakurai, J., Sakamoto, A., Park, H. R., Shin-Ya, K., ... Tomida, A. (2009). Chemical genomics identifies the unfolded protein response as a target for selective cancer cell killing during glucose deprivation. *Cancer Research*, 69(10), 4225–4234.
- Salah, I., Parkin, I. P. ve Allan, E. (2021). Copper as an antimicrobial agent: Recent advances. *RSC Advances*, 11(30), 18179–18186.
- Salgado, C. D., Sepkowitz, K. A., John, J. F., Cantey, J. R., Attaway, H. H., Freeman, K. D., ... Schmidt, M. G. (2013). Copper Surfaces Reduce the Rate of Healthcare-Acquired Infections in the Intensive Care Unit. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 34(5), 479–486.
- Sánchez, A. ve Ercoli, A. (1965). Activity of p-Biguanido-acetophenone-guanylhydrazone in trypanosoma equiperdum infection. *Chemotherapy*, 10(1), 31–35.
- Scali, C., Casamenti, F., Bellucci, A., Costagli, C., Schmidt, B. ve Pepeu, G. (2002). Effect of subchronic administration of metrifonate, rivastigmine and donepezil on brain acetylcholine in aged F344 rats. *Journal of Neural Transmission*, 109(7–8), 1067–1080.
- Scheen, A. J. (2020a). Metformin and COVID-19: From cellular mechanisms to reduced

- mortality. *Diabetes and Metabolism*, 46(6), 423–426.
doi:10.1016/j.diabet.2020.07.006
- Scheen, A. J. (2020b, 1 Kasım). Metformin and COVID-19: From cellular mechanisms to reduced mortality. *Diabetes and Metabolism*. Elsevier Masson.
doi:10.1016/j.diabet.2020.07.006
- Schneider, M. B., Matsuzaki, H., Haorah, J., Ulrich, A., Standop, J., Ding, X. Z., ... Pour, P. M. (2001). Prevention of pancreatic cancer induction in hamsters by metformin. *Gastroenterology*, 120(5), 1263–1270.
- Seal, D., Hay, J., Kirkness, C., Morrell, A., Booth, A., Tullo, A., ... Armstrong, M. (1996). Successful medical therapy of Acanthamoeba keratitis with topical chlorhexidine and propamidine. *Eye*, 10(4), 413–421.
- Segal, E. D., Yasmeen, A., Beauchamp, M. C., Rosenblatt, J., Pollak, M. ve Gotlieb, W. H. (2011). Relevance of the OCT1 transporter to the antineoplastic effect of biguanides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 414(4), 694–699.
- Şerb, M. D., Kalf, I. ve Englert, U. (2014). Biguanide and squaric acid as pH-dependent building blocks in crystal engineering. *CrystEngComm*, 16(46), 10631–10639.
- Shank, J. J., Yang, K., Ghannam, J., Cabrera, L., Johnston, C. J., Reynolds, R. K. ve Buckanovich, R. J. (2012). Metformin targets ovarian cancer stem cells in vitro and in vivo. *Gynecologic Oncology*, 127(2), 390–397.
- Shankaraiah, R. C., Callegari, E., Guerriero, P., Rimessi, A., Pinton, P., Gramantieri, L., ... Negrini, M. (2019). Metformin prevents liver tumourigenesis by attenuating fibrosis in a transgenic mouse model of hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 38(45), 7035–7045.
- Sharma, S., Ray, A. ve Sadasivam, B. (2020). Metformin in COVID-19 : A possible role beyond diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 164, 108183.
- Sheldrick, G. M. ve IUCr. (2015a). SHELXT – Integrated space-group and crystal-structure determination. *urn:issn:2053-2733*, 71(1), 3–8.
- Sheldrick, G. M. ve IUCr. (2015b). Crystal structure refinement with SHELXL. *urn:issn:2053-2296*, 71(1), 3–8.
- Shen, H., Wang, F., Zeng, G., Shen, L., Cheng, H. ve Huang, D. (2016). Bis-biguanide dihydrochloride inhibits intracellular replication of M . tuberculosis and controls. *Nature Publishing Group*, (May), 1–10.
- Sibbald, R. G., Coutts, P. ve Woo, K. Y. (2011). Reduction of bacterial burden and pain in chronic wounds using a new polyhexamethylene biguanide antimicrobial foam dressing-clinical trial results. *Advances in skin & wound care*, 24(2), 78–84.
- Simchowicz, T. (1911). Histologische Studien uber die senile Demenz. Histologische und Histopathologisch Arbeiten uber die Grosshirnrinde: Mit besonderer Berucksichtigung der pathologischen. *Anatomie der Geisteskrankheiten*, 4, 267–444.
- Simonnet, H. ve Tanret, G. (1927). Sur les proprietes hypoglycemiantes du sulfate de galegine. *Bull Soc Chim Biol Paris*, 8.
- Sisodia, S. S. ve St George-Hyslop, P. H. (2002). γ -Secretase, notch, A β and alzheimer's

- disease: Where do the presenilins fit in? *Nature Reviews Neuroscience*, 3(4), 281–290.
- Skrzypek, A., Matysiak, J., Niewiadomy, A., Bajda, M. ve Szymański, P. (2013). Synthesis and biological evaluation of 1,3,4-thiadiazole analogues as novel AChE and BuChE inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 62, 311–319.
- Slotta, K. H. ve Tschesche, R. (1929a). Über Biguanide, II.: Die blutzucker-senkende Wirkung der Biguanide. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*.
- Slotta, K. H. ve Tschesche, R. (1929b). Über Biguanide, I.: Zur Konstitution der Schwermetall-Komplexverbindungen des Biguanids. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, 62(6), 1390–1398.
- Small, D. H. (1995). A Function for Butyrylcholinesterase? *Journal of Neurochemistry*, 64(1), 466–466.
- Small, G. W., Rabins, P. V., Barry, P. P., Buckholtz, N. S., DeKosky, S. T., Ferris, S. H., ... Tune, L. E. (1997). Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders: Consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society. *Jama*, 278(16), 1363–1371.
- Smolka, A. ve Friedreich, A. (1888). Über eine neue Darstellungsweise der Biguanide und über einige Derivate des Phenylbiguanids. *Monatshefte für Chemie und verwandte Teile anderer Wissenschaften* 1888 9:1, 9(1), 227–241.
- Snape, M. F., Misra, A., Murray, T. K., De Souza, R. J., Williams, J. L., Cross, A. J. ve Green, A. R. (1999). A comparative study in rats of the in vitro and in vivo pharmacology of the acetylcholinesterase inhibitors tacrine, donepezil and NXX-066. *Neuropharmacology*, 38(1), 181–193.
- Staff, R. T., Gemmell, H. G., Shanks, M. F., Murray, A. D. ve Venneri, A. (2000). Changes in the rcbf images of patients with alzheimer's disease receiving donepezil therapy. *Nuclear Medicine Communications*, 21(1), 37–41.
- Stang, M., Wysowsky, D. K. ve Butler-Jones, D. (1999). Incidence of Lactic Acidosis in Metformin Users. *Health (San Francisco)*, 22(6), 1998–2000.
- Storelli, G. (2013). Metformin , Microbes , and Aging, 809–811.
- Sweeney, D., Raymer, M. L. ve Lockwood, T. D. (2003). Antidiabetic and antimalarial biguanide drugs are metal-interactive antiproteolytic agents. *Biochemical Pharmacology*, 66(4), 663–677.
- Sweeney, J. E., Puttfarcken, P. S. ve Coyle, J. T. (1989). Galanthamine, an acetylcholinesterase inhibitor: A time course of the effects on performance and neurochemical parameters in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 34(1), 129–137.
- Sweeney, T. R., Jacobus, D. P., Canfield, C. J., Rossan, R. N., Milhous, W. K., Ager, A. L. ve Lewis, N. J. (1993a). PS-15: a Potent, Orally Active Antimalarial from a New Class of Folic Acid Antagonists. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 49(1), 121–126.

- Sweeney, T. R., Jacobus, D. P., Canfield, C. J., Rossan, R. N., Milhous, W. K., Ager, A. L. ve Lewis, N. J. (1993b). PS-15: a Potent, Orally Active Antimalarial from a New Class of Folic Acid Antagonists. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 49(1), 121–126.
- Tadjouteu Assatse, Y., Ejuh, G. W., Tchoffo, F. ve Ndjaka, J. M. B. (2019). DFT studies of nanomaterials designed by the functionalization of modified carboxylated carbon nanotubes with biguanide derivatives for nanomedical, nonlinear and electronic applications. *Chinese Journal of Physics*, 58, 253–262.
- Talarico, G., Orecchioni, S., Dallaglio, K., Reggiani, F., Mancuso, P., Calleri, A., ... Bertolini, F. (2016). Aspirin and atenolol enhance metformin activity against breast cancer by targeting both neoplastic and microenvironment cells. *Scientific Reports*, 6(June 2015), 1–10.
- Tanzer, J. M., Slee, A. M. ve Kamay, B. A. (1977). Structural requirements of guanide, biguanide, and bisbiguanide agents for antiplaque activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 12(6), 721–729.
- Tao, G.-H., Guo, Y., Joo, Y.-H., Twamley, B. ve Shreeve, J. M. (2008). Energetic nitrogen-rich salts and ionic liquids: 5-aminotetrazole (AT) as a weak acid. *Journal of Materials Chemistry*, 18(45), 5524.
- Taylor, F. S. (1947). The Chemical Society. *Nature*, 160(4053), 6–7.
- Thakkar, N., Pirrone, V., Passic, S., Keogan, S., Zhu, W., Kholodovych, V., ... Krebs, F. C. (2010). Persistent Interactions between Biguanide-Based Compound NB325 and CXCR4 Result in Prolonged Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection □. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(5), 1965–1972.
- Thner, T. G. ve Schulz, B. (2012). Guanidine and Derivatives. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* içinde (C. 17, ss. 175–188).
- Thompson, J. C., Stough, C., Ames, D., Ritchie, C. ve Nathan, P. J. (2000). Effects of the nicotinic antagonist mecamylamine on inspection time. *Psychopharmacology*, 150(1), 117–119.
- Tranquada, R. E., Bernstein, S. ve Martin, H. E. (1963). Irreversible Lactic Acidosis Associated With Phenformin Therapy: Report of Three Cases. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 184(1), 37–42.
- Tsubouchi, H., Ohguro, K., Yasumura, K., Ishikawa, H. ve Kikuchi, M. (1997). Synthesis and Structure-Activity Relationships of Novel Antiseptics R1NH2 " HCl R1NHCNHCN NH NH R2NH2oHCl II II, 7(13), 1721–1724.
- Tümer, F., Güngör, S. A., Köse, M., Koçer, F. ve Tümer, M. (2020). Bidentate ligands and their Cu (II) complexes: Structural characterization, electrochemical properties and biological evaluation. *Journal of Molecular Structure*, 1199, 127059.
- Tune, L., Tiseo, P. J., Ieni, J., Perdomo, C., Pratt, R. D., Votaw, J. R., ... Hoffman, J. M. (2003). Donepezil HCl (E2020) maintains functional brain activity in patients with Alzheimer disease: Results of a 24-week, double-blind, placebo-controlled study. *American Journal of Geriatric Psychiatry*, 11(2), 169–177.
- Turner, R. (1998). Effect of intensive blood-glucose control with metformin on

- complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet*, 352(9131), 854–865.
- Tyszka-Czochara, M., Bukowska-Strakova, K. ve Majka, M. (2017). Metformin and caffeic acid regulate metabolic reprogramming in human cervical carcinoma SiHa/HTB-35 cells and augment anticancer activity of Cisplatin via cell cycle regulation. *Food and Chemical Toxicology*, 106, 260–272.
- Ungar, G., Freedman, L. ve Shapiro, S. L. (1957). Pharmacological Studies of a New Oral Hypoglycemic Drug. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 95(1), 190–192.
- Urbański, T., Serafin, B. ve Żylowski, J. (1967). Potential Antimalarial Compounds.1 IX.2 Pyrimidine Derivatives of Urea and Guanidine. *Journal of Medicinal Chemistry*, 10(4), 521–525.
- Veisi, H., Kordestani, D. ve Faraji, A. R. (2014). Catalytic application of an organosuperbase dendron grafted on mesoporous SBA-15 and related palladium complex in the aerobic oxidation of alcohols. *Quarterly Journal of Iranian Chemical Communication*, 2(Issue 1, ss. 1–81, Serial No. 2), 27–33.
- Veisi, H., Kordestani, D., Hemmati, S., Faraji, A. R. ve Veisi, H. (2014). Catalytic applications of an organosuperbase dendron grafted on mesoporous SBA-15 and a related palladium complex in Henry and Suzuki-Miyaura coupling reactions. *Tetrahedron Letters*, 55(38), 5311–5314.
- Veisi, H. ve Morakabati, N. (2015). Palladium nanoparticles supported on modified single-walled carbon nanotubes: A heterogeneous and reusable catalyst in the Ullmann-type N-arylation of imidazoles and indoles. *New Journal of Chemistry*, 39(4), 2901–2907.
- Venneri, A., Shanks, M. F., Staff, R. T., Pestell, S. J., Forbes, K. E., Gemmell, H. G. ve Murray, A. D. (2002). Cerebral blood flow and cognitive responses to rivastigmine treatment in Alzheimer's disease. *NeuroReport*, 13(1), 83–87.
- Villamizar-Delgado, S., Villamizar-Delgado, S., Porras-Osorio, L. M., Piñeros, O., Ellena, J., Balcazar, N., ... D'Vries, R. F. (2020). Biguanide-transition metals complexes as potential drug for hyperglycemia treatment. *RSC Advances*, 10(38), 22856–22863.
- Viollet, B., Guigas, B., Garcia, N. S., Leclerc, J., Foretz, M. ve Andreelli, F. (2012). Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clinical Science*, 122(6), 253–270.
- Wang, Q., López-Ozuna, V. M., Baloch, T., Bithras, J., Amin, O., Kessous, R., ... Yasmeen, A. (2020). Biguanides in combination with olaparib limits tumorigenesis of drug-resistant ovarian cancer cells through inhibition of Snail. *Cancer Medicine*, 9(4), 1307–1320.
- Warburton, D. M. (1992). Nicotine as a cognitive enhancer. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 16(2), 181–192.
- Warner, V. D., Lynch, D. M. ve Ajemian, R. S. (1976). Synthesis, physicochemical parameters, and in vitro evaluation of N1-p-chlorophenyl-N5-alkylbiguanides. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65(7), 1070–1072.
- Watanabe, C. . (1918a). Studies in The Metabolic Changes By Administration Studies In

- Metabolism. *Journal of Biological Chemistry*, 33(7), 253–265.
- Watanabe, C. K. (1918b). Studies in the metabolism changes induced by administration of guanidine bases: 1. Influence of injected guanidine hydrochloride upon blood sugar content. *Journal of Biological Chemistry*, 33(2), 253–265.
- Weinberg, E. D. (1961). The antimicrobial activity of N1, N5-substituted biguanides. *Antibiotics & chemotherapy (Northfield, Ill.)*, 11, 572–82.
- Weinberg, Eugene D. (1968). Antimicrobial Activities Of Biguanides. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 148(3), 587–600.
- Welsh, C. T. (2019). *Microbiology: a laboratory manual*. Pearson.
- Werner, E. A. ve Bell, J. (1921). CCXIV.—The preparation of methylguanidine, and of $\beta\beta$ -dimethylguanidine by the interaction of dicyanodiamide, and methylammonium and dimethylammonium chlorides respectively. *J. Chem. Soc., Trans.*, 121(1790), 1790–1794.
- White, N. J. (2008). Plasmodium knowlesi: The fifth human malaria parasite. *Clinical Infectious Diseases*, 46(2), 172–173.
- Wick, A. N., Larson, E. R. ve Serif, G. S. (1958). A Site of Action of Phenethylbiguanide, a Hypoglycemic Compound. *Journal of Biological Chemistry*, 233(2), 296–298.
- Wilcock, G. K., Esiri, M. M., Bowen, D. M. ve Smith, C. C. T. (1982). Alzheimer's disease. Correlation of cortical choline acetyltransferase activity with the severity of dementia and histological abnormalities. *Journal of the Neurological Sciences*, 57(2–3), 407–417.
- Wilkinson, D. G., Francis, P. T., Schwam, E. ve Payne-Parrish, J. (2004). Cholinesterase inhibitors used in the treatment of Alzheimer's disease: The relationship between pharmacological effects and clinical efficacy. *Drugs and Aging*, 21(7), 453–478.
- Williams, R. H., Tanner, D. C. ve Odell, W. D. (1958). Hypoglycemic Actions of Phenethyl-, Amyl-, and Isoamyl-Diguanide. *Diabetes*, 7(2), 87–92.
<https://diabetesjournals.org/diabetes/article/7/2/87/15979/Hypoglycemic-Actions-of-Phenethyl-Amyl-and-Isoamyl-adresinden-erişildi>.
- Williams, R. H. (1975). Farewell to Phenformin for Treating Diabetes Mellitus. *Annals of Internal Medicine*, 83(4), 567.
- World Health Organization ve WHO. (2020). WHO report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all. *Die Gynäkologie*.
- World malaria report 2019. (2019). *World malaria report 2019. WHO Regional Office for Africa*.
- Wynn, A., Vacheron, A., Zuber, J. ve Solomon, S. S. (2019). Metformin Associated With Increased Survival in Type 2 Diabetes Patients With Pancreatic Cancer and Lymphoma. *American Journal of the Medical Sciences*, 358(3), 200–203.
- Wysham, W. Z., Kilgore, J. E., Jackson, A. L., Qiu, H., Zhou, C., Batchelor, K. W. ve Bae-Jump, V. L. (2015). The effects of NT1014, a novel AMPK activator, compared to metformin, on ovarian cancer cell proliferation, apoptosis, and tumor growth. *Gynecologic Oncology*, 137, 19.

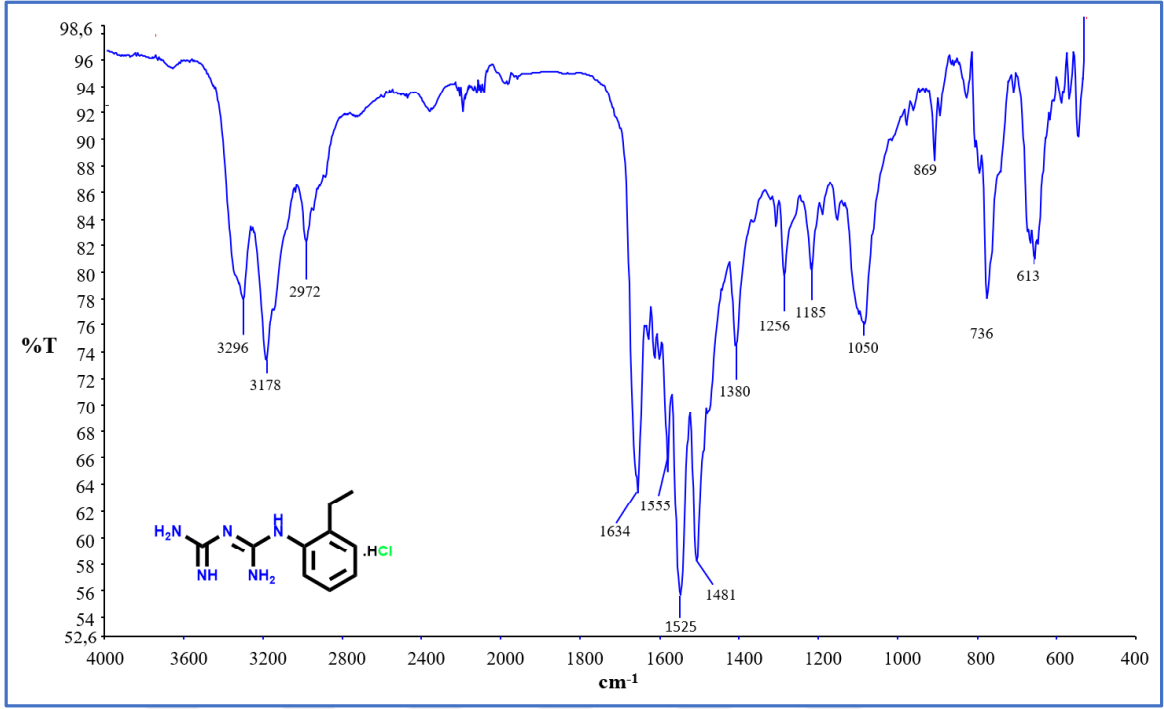
- Xia, C., Chen, R., Chen, J., Qi, Q., Pan, Y., Du, L., ... Jiang, S. (2017). Combining metformin and nelfinavir exhibits synergistic effects against the growth of human cervical cancer cells and xenograft in nude mice. *Scientific Reports*, 7(March), 1–13.
- Yakisich, J. S., Azad, N., Kaushik, V. ve Iyer, A. K. V. (2019). The Biguanides Metformin and Buformin in Combination with 2-Deoxy-glucose or WZB-117 Inhibit the Viability of Highly Resistant Human Lung Cancer Cells. *Stem Cells International*, 2019.
- Yanai, R., Ueda, K., Nishida, T., Toyohara, M. ve Mori, O. (2011). Effects of ionic and surfactant agents on the antimicrobial activity of polyhexamethylene biguanide. *Eye and Contact Lens*, 37(2), 85–89.
- Yang, P., Ma, R. ve Bian, F. (2016). Palladium Supported on Metformin-Functionalized Magnetic Polymer Nanocomposites: A Highly Efficient and Reusable Catalyst for the Suzuki–Miyaura Coupling Reaction. *ChemCatChem*, 8(24), 3746–3754.
- Yousef, M. ve Tsiani, E. (2017). Metformin in lung cancer: Review of in vitro and in vivo animal studies. *Cancers*, 9(5), 1–16.
- Zaidi, S., Gandhi, J., Joshi, G., Smith, N. L. ve Khan, S. A. (2019). The anticancer potential of metformin on prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 22(3), 351–361. doi:10.1038/s41391-018-0085-2
- Zakikhani, M., Dowling, R., Fantus, I. G., Sonenberg, N. ve Pollak, M. (2006). Metformin is an AMP kinase-dependent growth inhibitor for breast cancer cells. *Cancer Research*, 66(21), 10269–10273.
- Zhang, F., Chen, H., Du, J., Wang, B. ve Yang, L. (2018). Anticancer activity of metformin, an antidiabetic drug, against ovarian cancer cells involves inhibition of cysteine-rich 61 (Cyr61)/ Akt/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. *Medical Science Monitor*, 24, 6093–6101.
- Zhang, F., Chen, H., Du, J., Wang, B. ve Yang, L. (2021). Retraction: Anticancer activity of metformin, an antidiabetic drug, against ovarian cancer cells involves inhibition of cysteine-rich 61 (cyr61)/ akt/mammalian target of rapamycin (mtor) signaling pathway (Medical Science Monitor (2018) 24 (6093-6101) DOI. *Medical Science Monitor*, 27, 932331.
- Zhang, L., Han, J., Jackson, A. L., Clark, L. N., Kilgore, J., Guo, H., ... Bae-Jump, V. L. (2016). NT1014, a novel biguanide, inhibits ovarian cancer growth in vitro and in vivo. *Journal of Hematology & Oncology*, 9(1), 91.
- Zhang, X., Zhang, Z., Shu, Q., Xu, C., Zheng, Q., Guo, Z., ... Lu, C. (2021). Copper Clusters: An Effective Antibacterial for Eradicating Multidrug-Resistant Bacterial Infection In Vitro and In Vivo. *Advanced Functional Materials*, 31(14), 1–15.
- Zhang, Y., Jiang, J. ve Chen, Y. (1999). Synthesis and antimicrobial activity of polymeric guanidine and biguanidine salts. *Polymer*, 40(22), 6189–6198.
- Zhou, S., Xu, L., Cao, M., Wang, Z., Xiao, D., Xu, S., ... Yang, X. (2019). Anticancer properties of novel pyrazole-containing biguanide derivatives with activating the adenosine monophosphate-activated protein kinase signaling pathway. *Archiv der Pharmazie*, 352(9), 1–11.

Zhu, P., Davis, M., Blackwelder, A. J., Bachman, N., Liu, B., Edgerton, S., ... Yang, X. (2014). Metformin selectively targets tumor-initiating cells in ErbB2-overexpressing breast cancer models. *Cancer Prevention Research*, 7(2), 199–210.

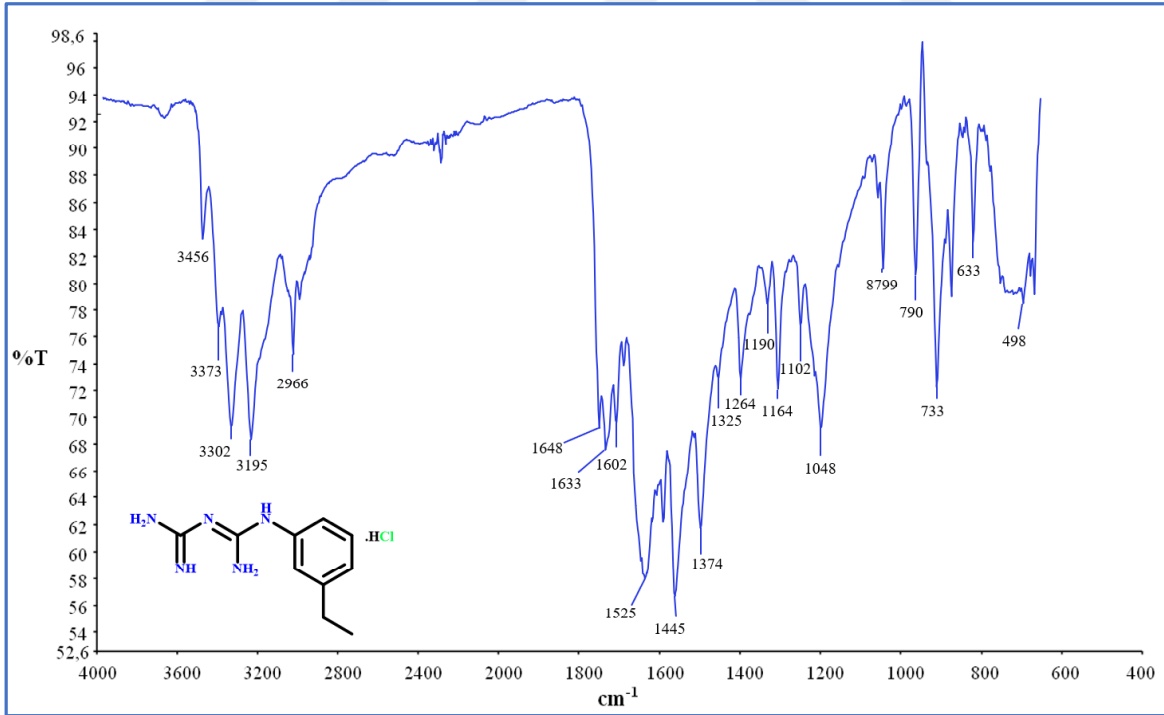




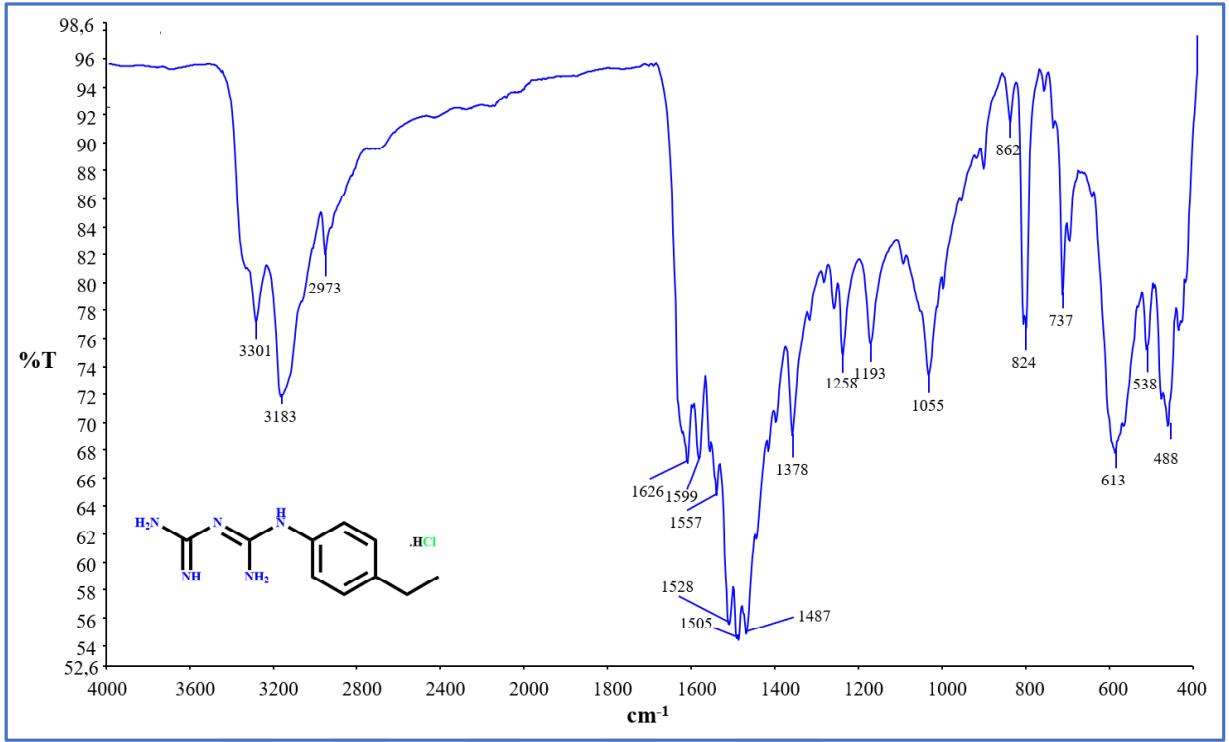
EKLER



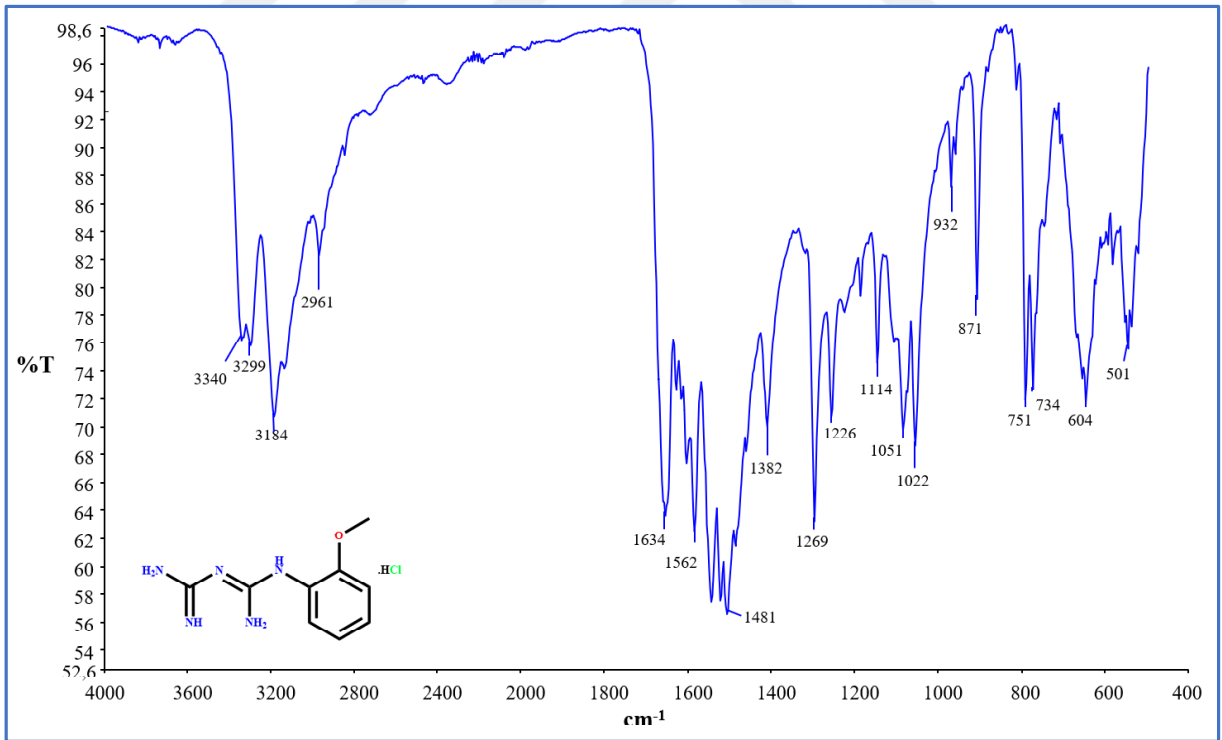
Ek Şekil 1 A01 bileşiğinin FT-IR spektrumu



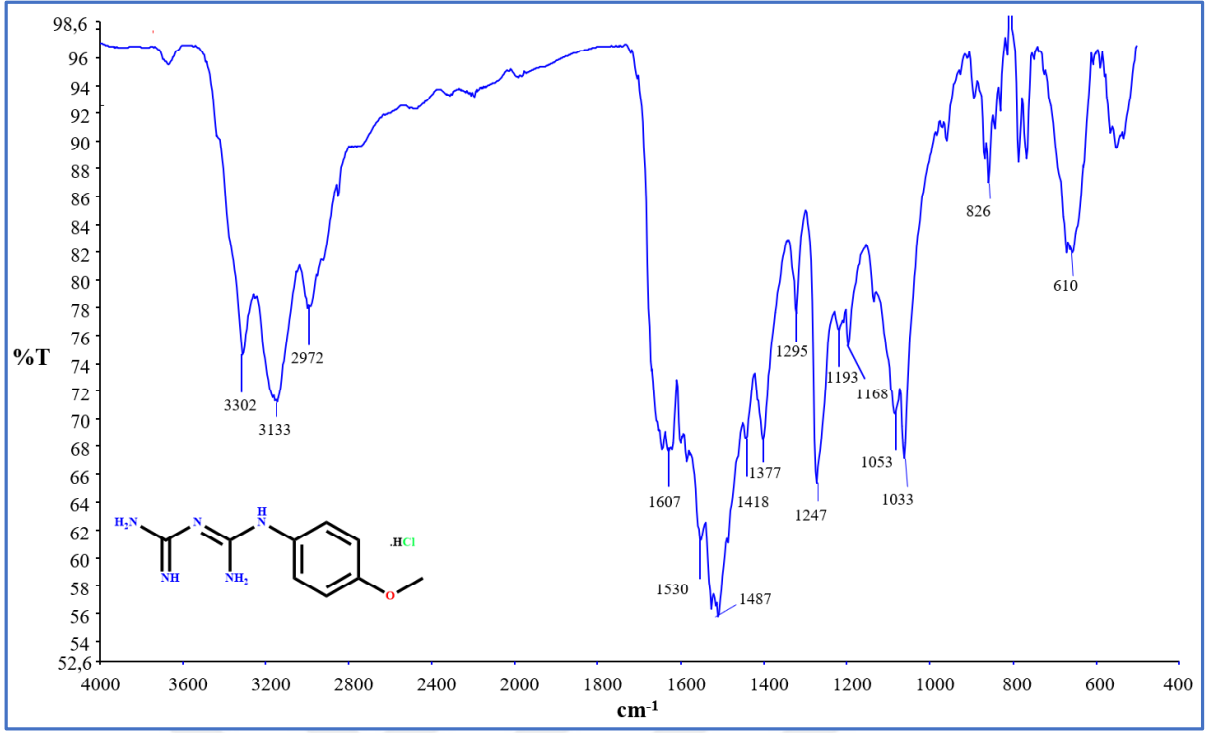
Ek Şekil 2 A02 bileşiğinin FT-IR spektrumu



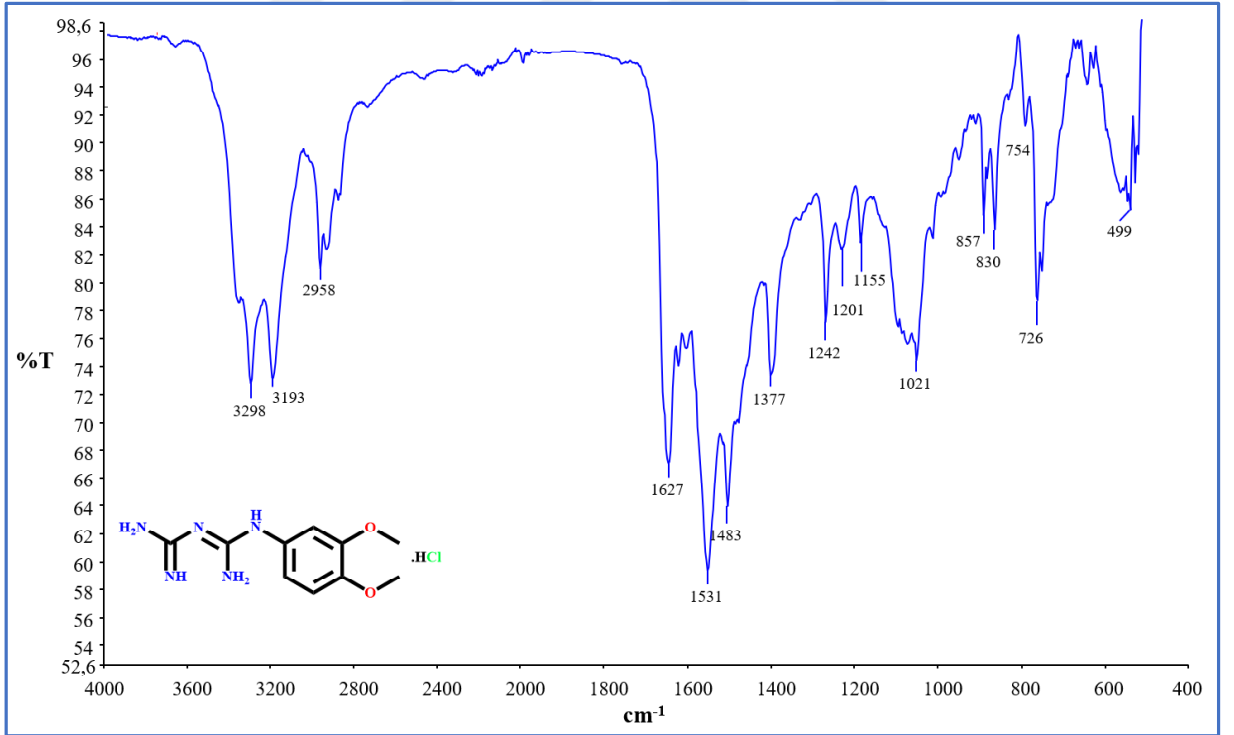
Ek Şekil 3 A03 bileşiğinin FT-IR spektrumu



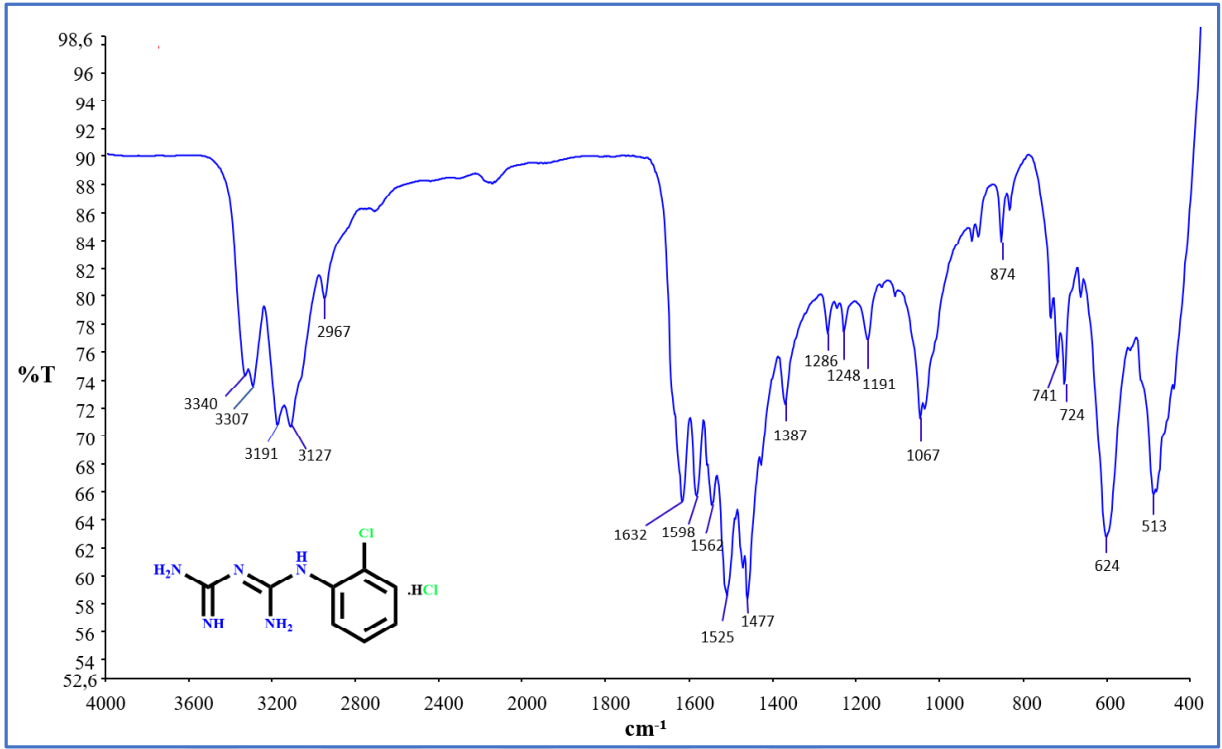
Ek Şekil 4 A04 bileşiğinin FT-IR spektrumu



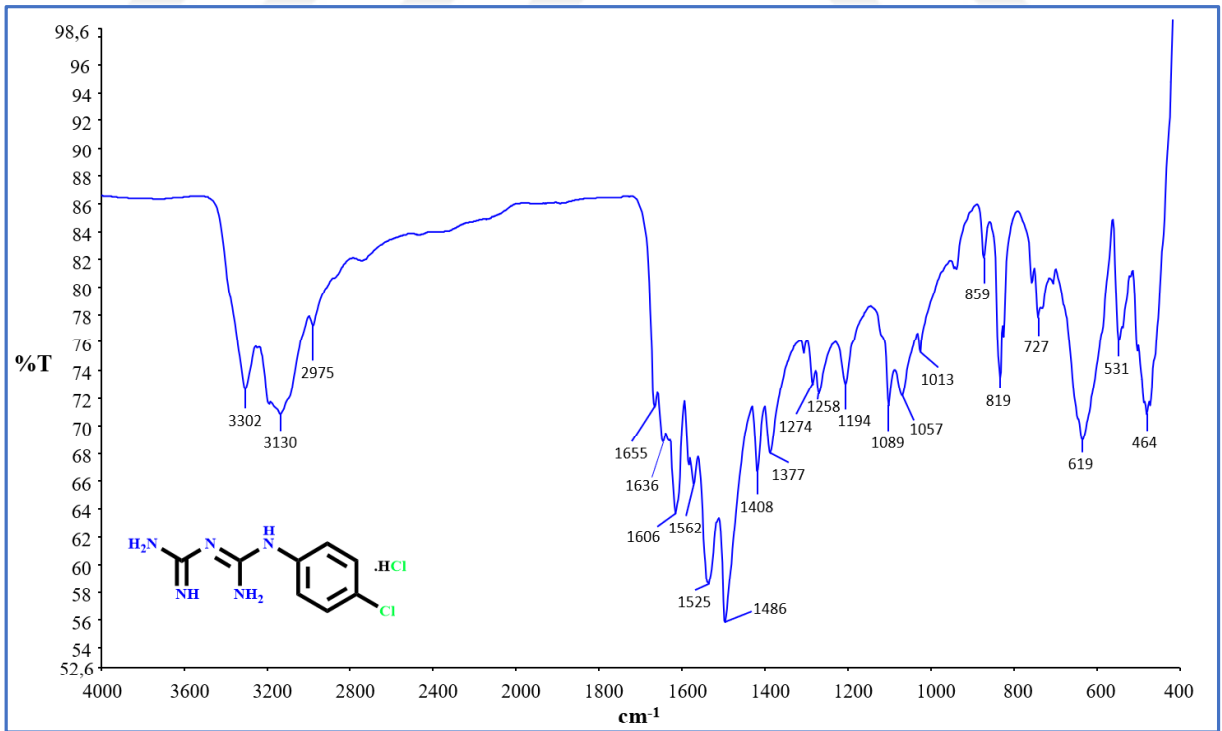
Ek Şekil 5 A05 bileşiği FT-IR spektrumu



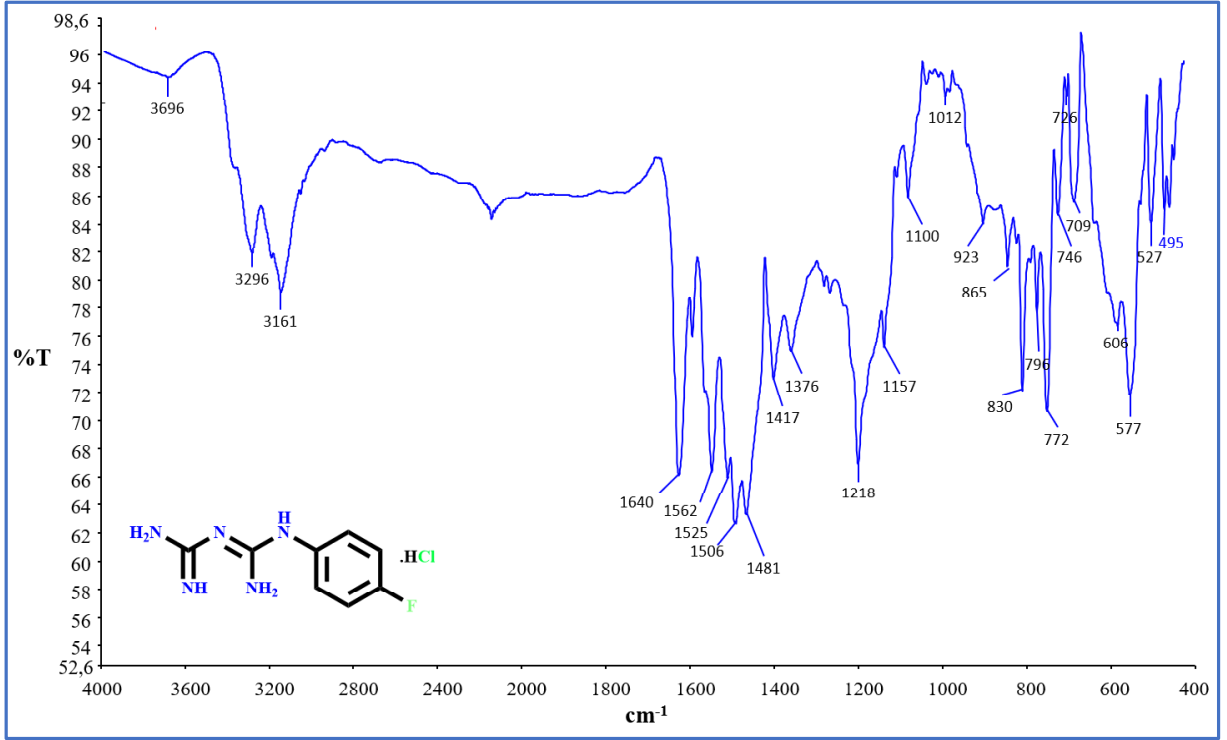
Ek Şekil 6 A06 bileşiğinin FT-IR spektrumu



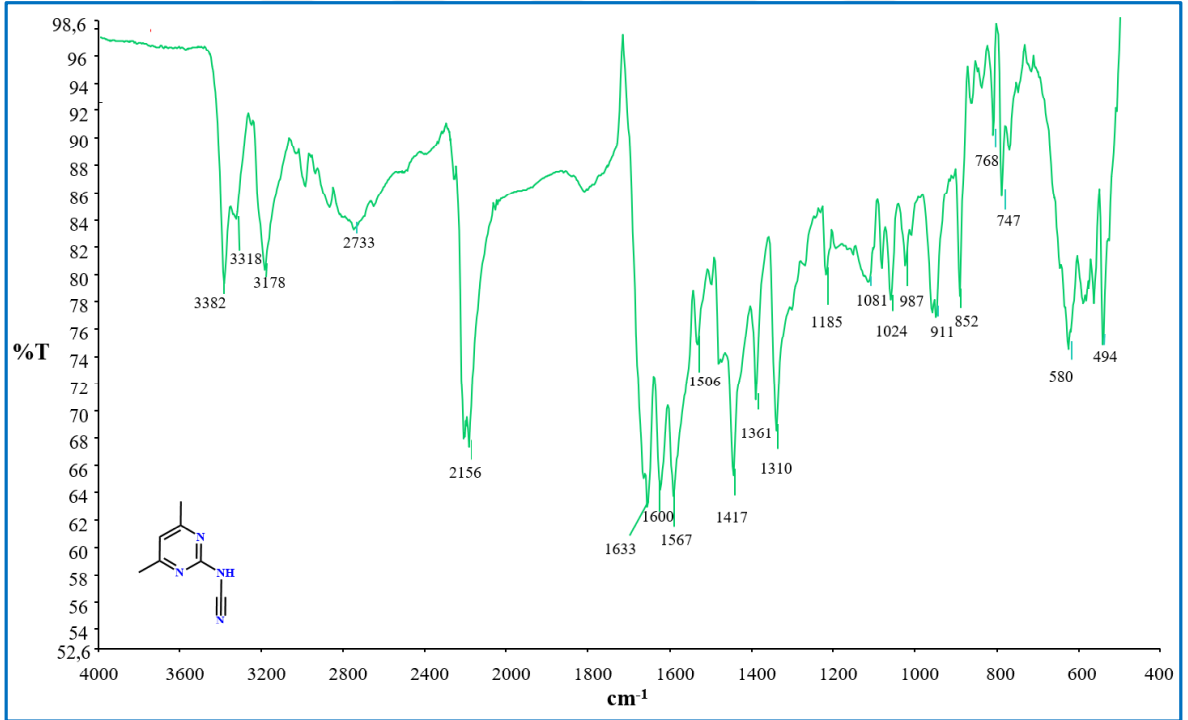
Ek Şekil 7 A07 bileşiğinin FT-IR spektrumu



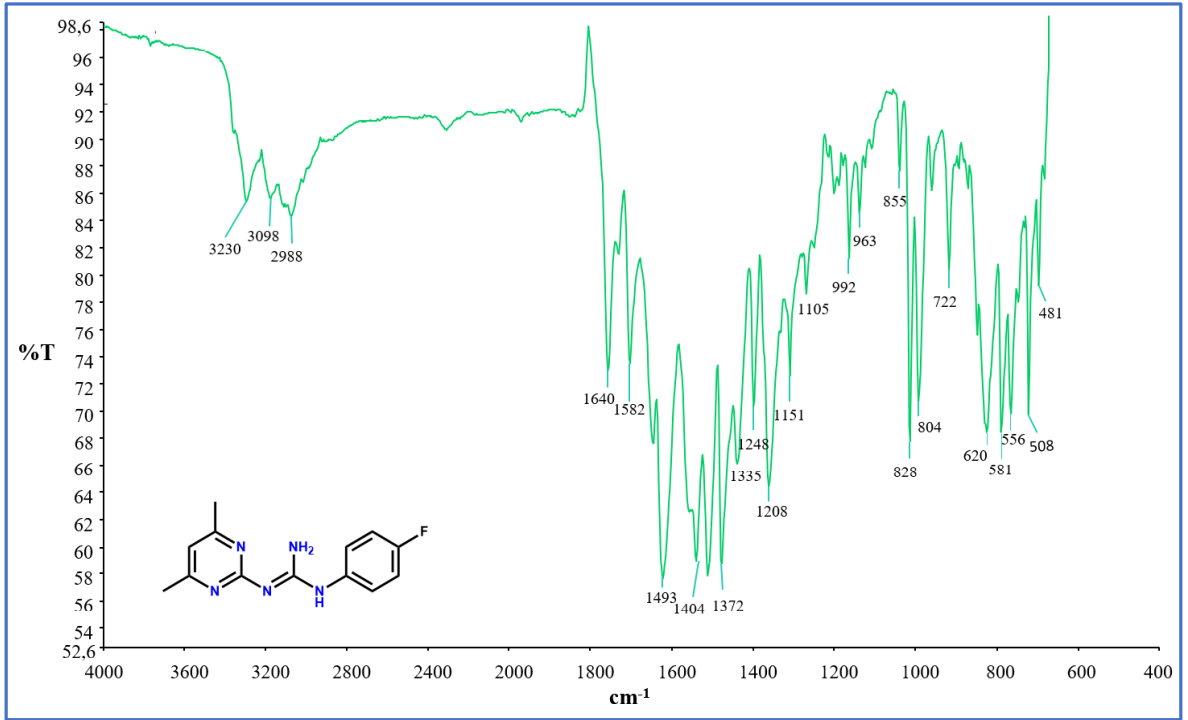
Ek Şekil 8 A08 bileşiğinin FT-IR spektrumu



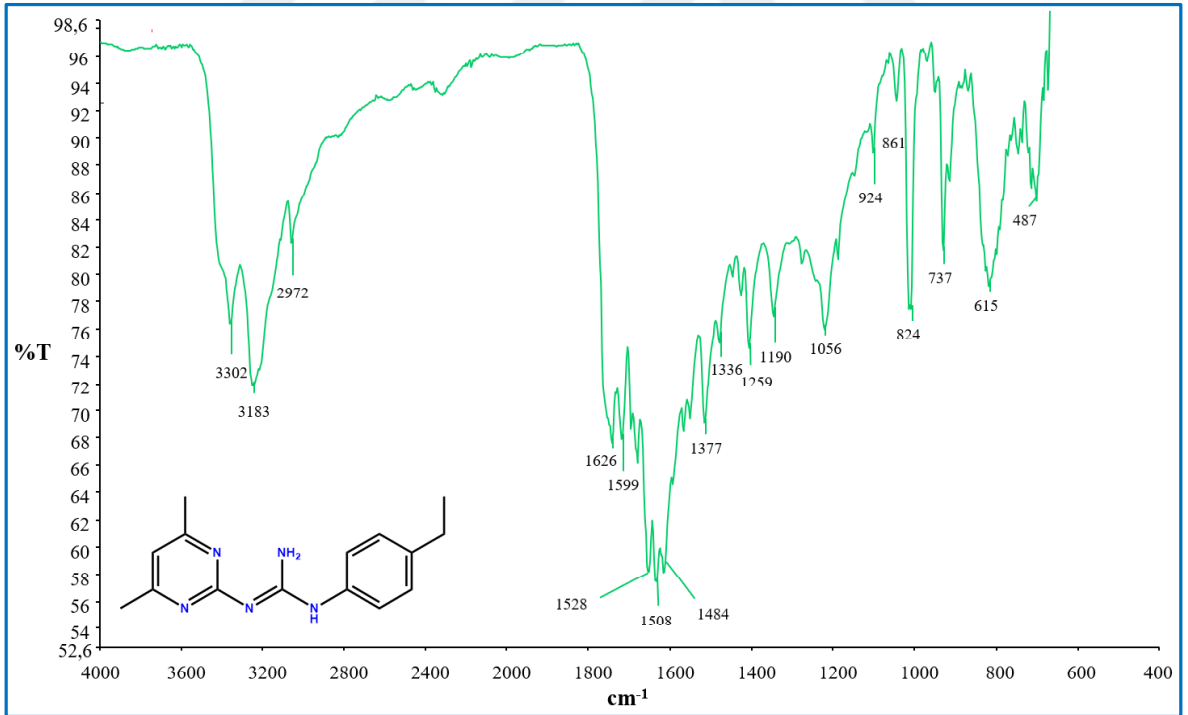
Ek Şekil 9 A09 bileşiğinin FT-IR spektrumu



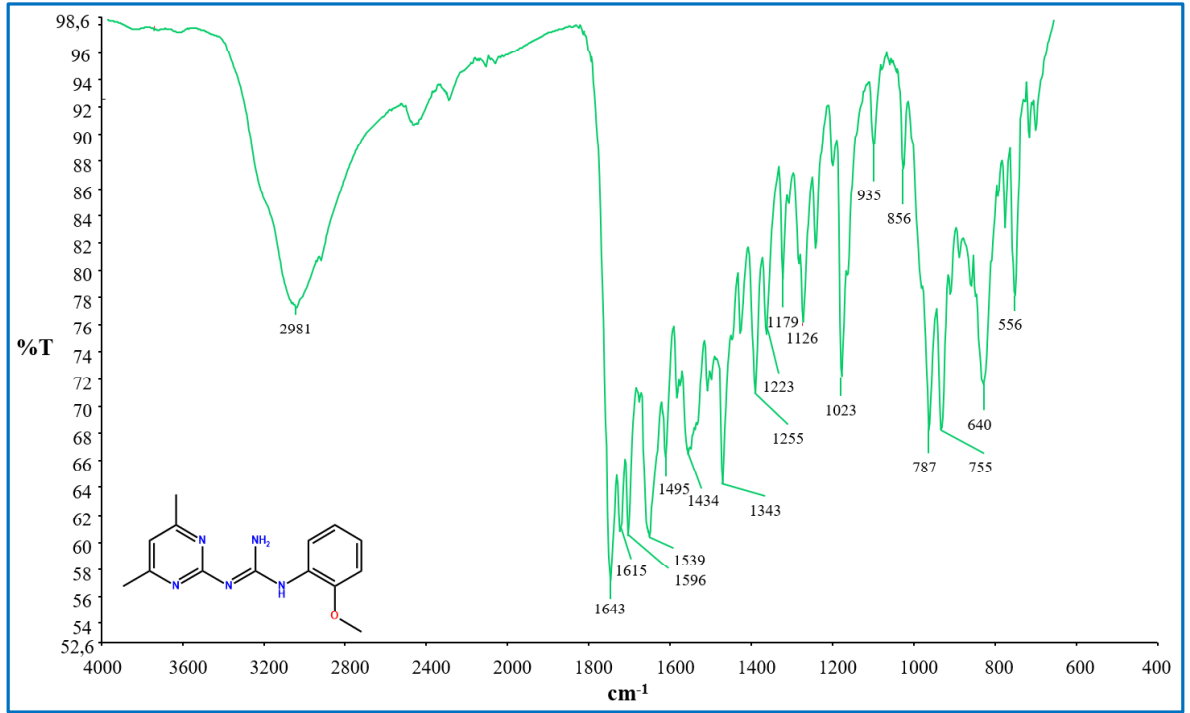
Ek Şekil 10 N-(4,6-dimetilpirimidin-2-yl)siyanamid bileşiğinin FT-IR spektrumu



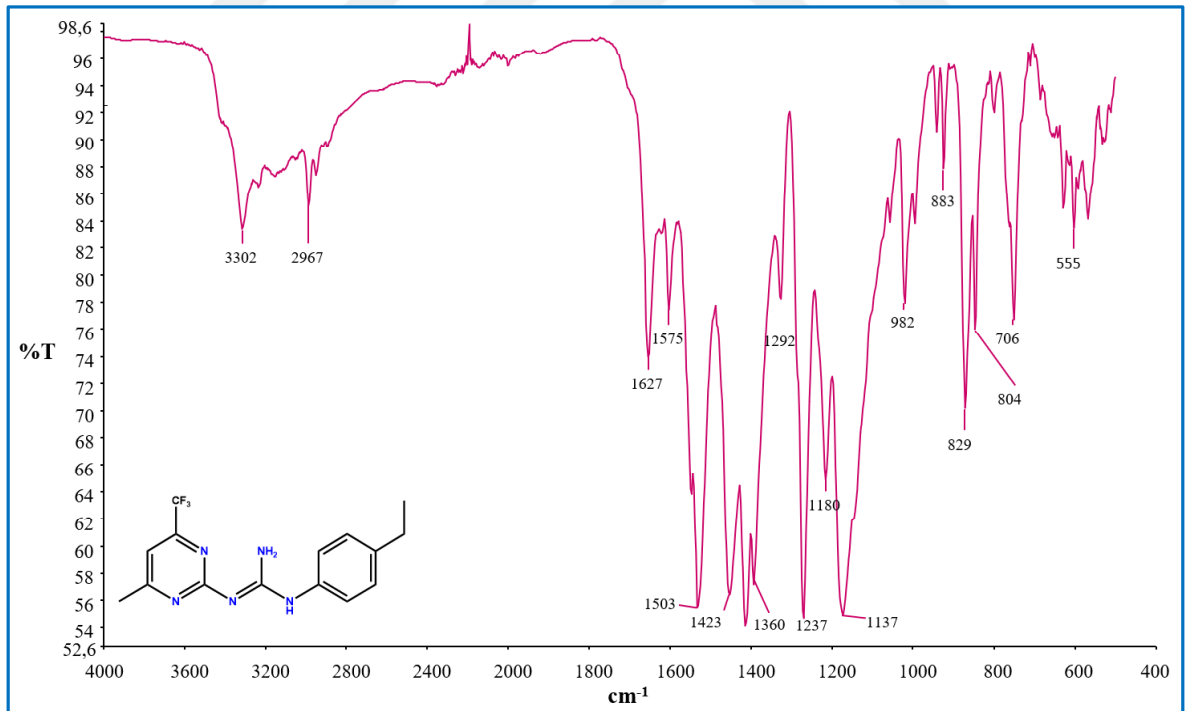
Ek Şekil 11 A10 bileşiğinin FT-IR spektrumu



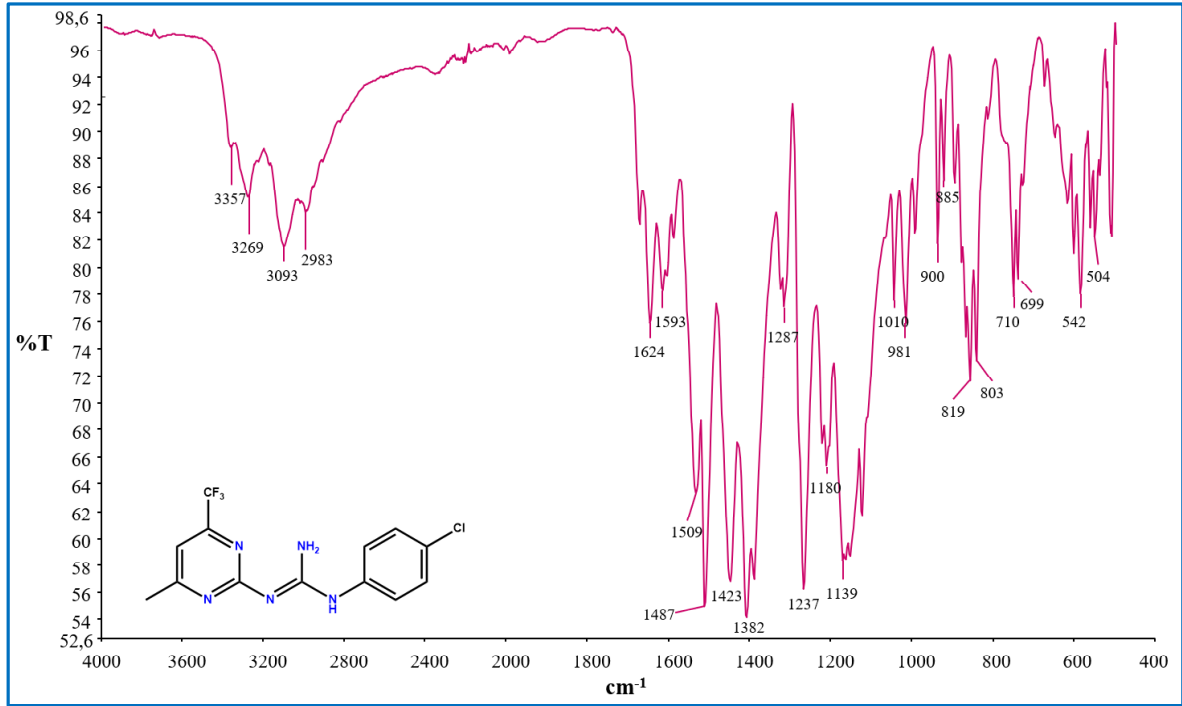
Ek Şekil 12 A11 bileşiğinin FT-IR spektrumu



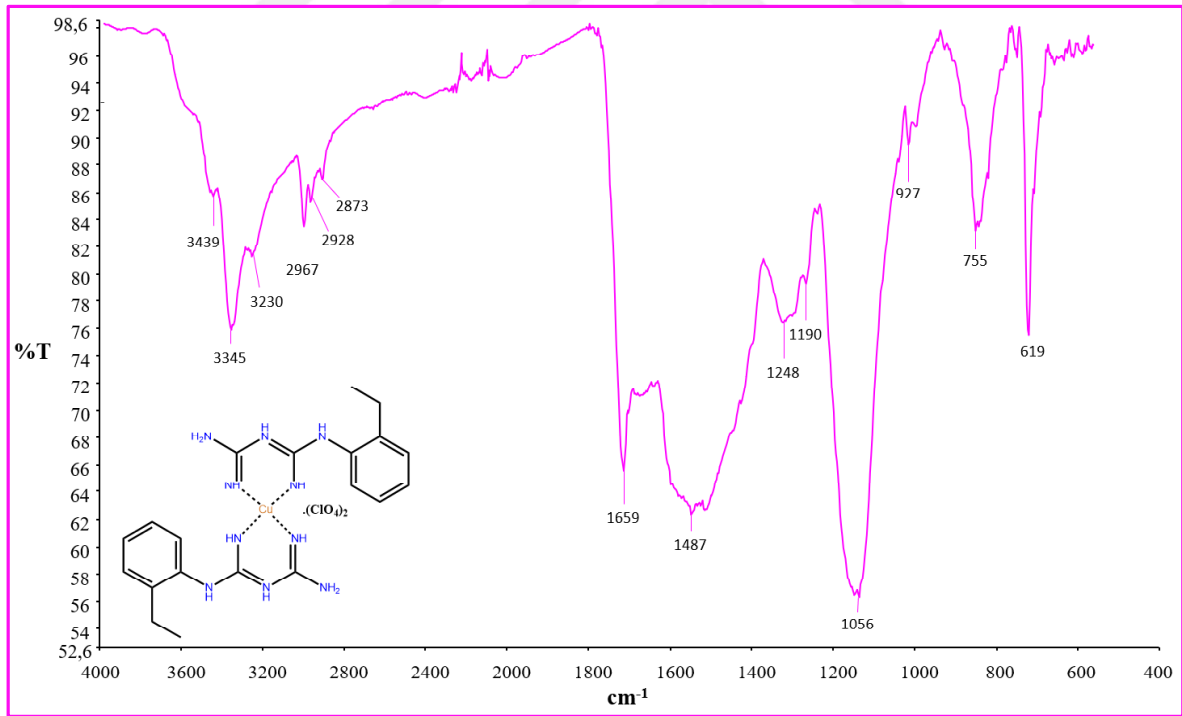
Ek Şekil 13 A12 bileşiğinin FT-IR spektrumu



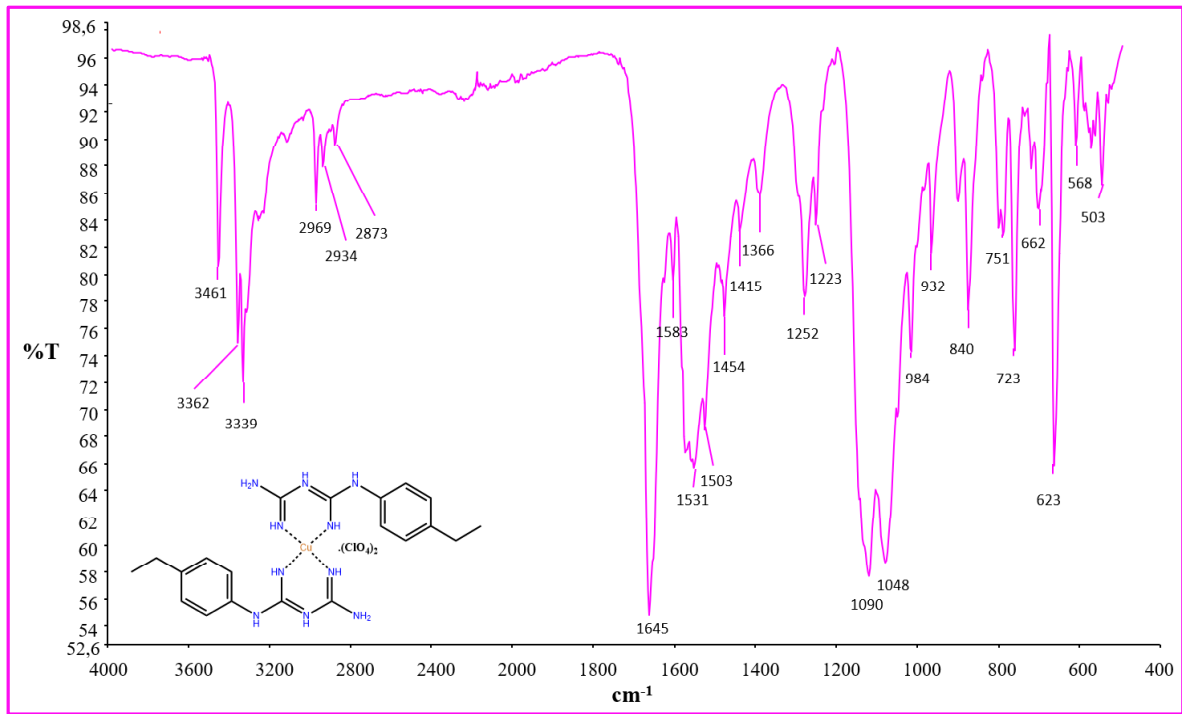
Ek Şekil 14 A14 bileşiğinin FT-IR spektrumu



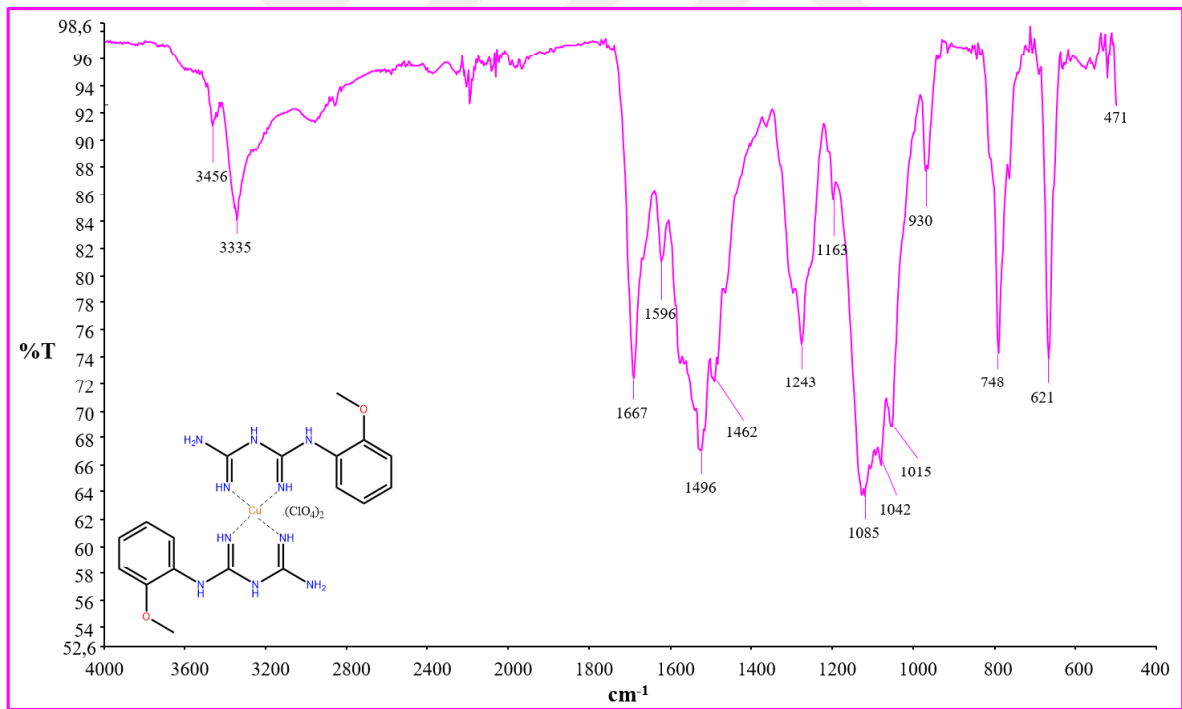
Ek Şekil 15 A16 bileşiğinin FT-IR spektrumu



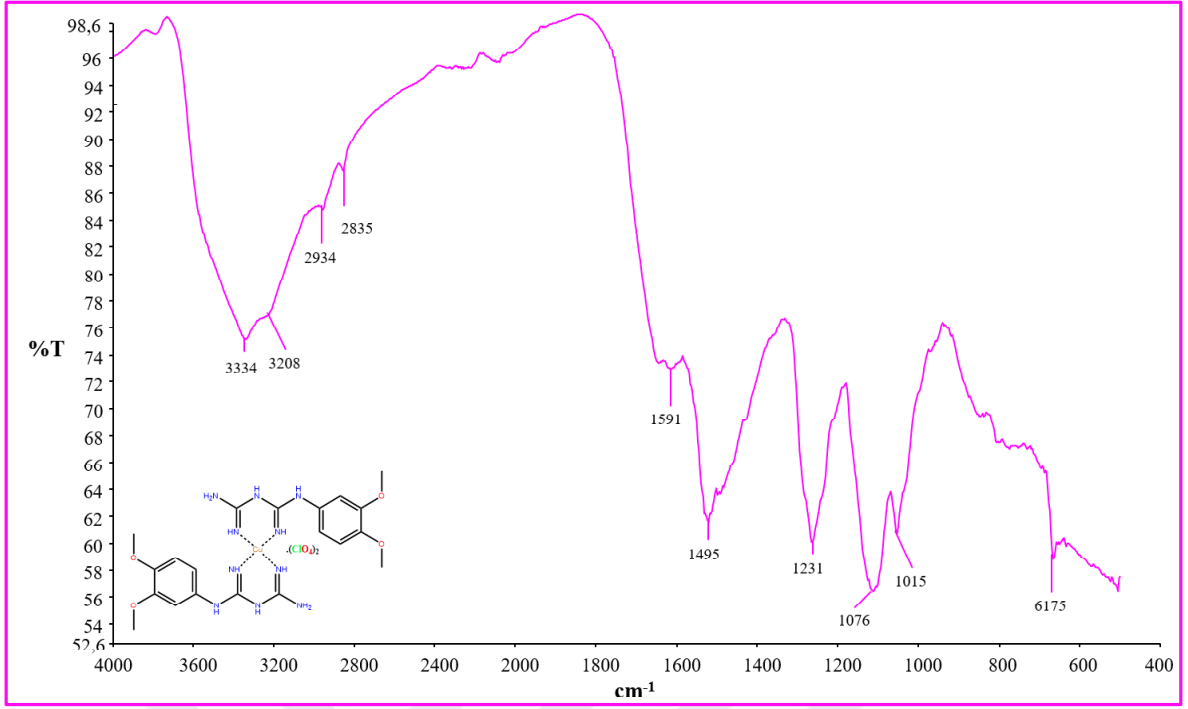
Ek Şekil 16 A17 bileşiğinin FT-IR spektrumu



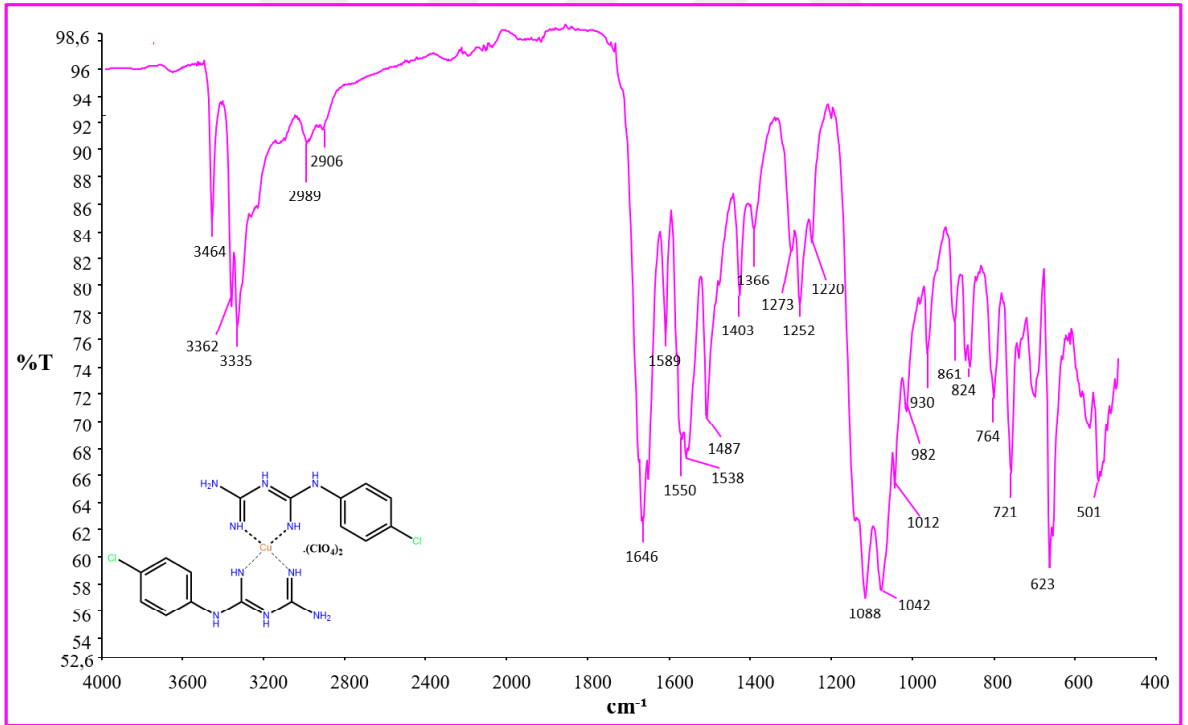
Ek Şekil 17 A18 bileşiğinin FT-IR spektrumu



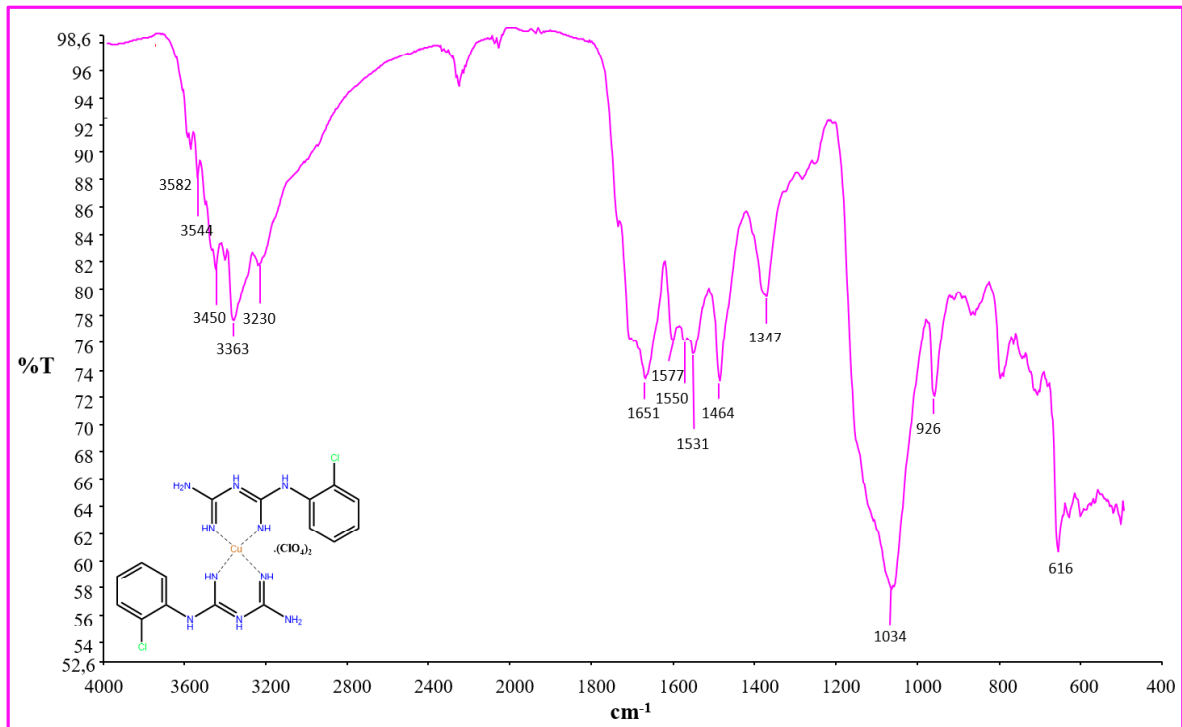
Ek Şekil 18 A19 bileşiğinin FT-IR spektrumu



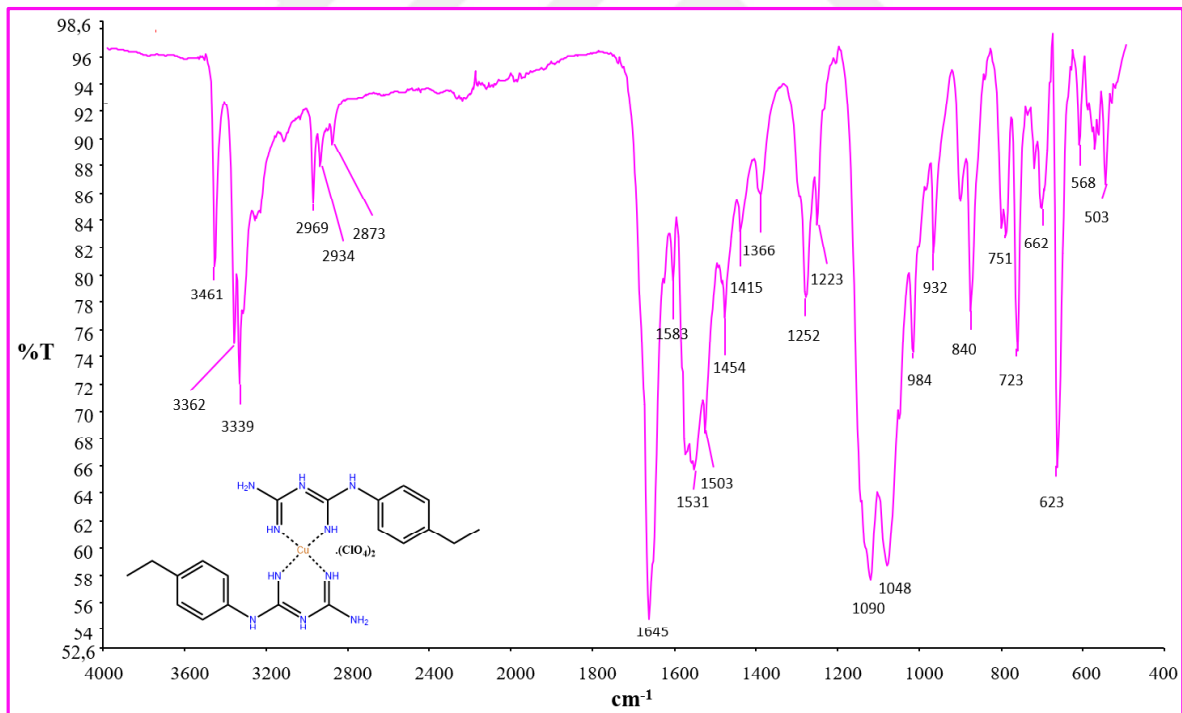
Ek Şekil 19 A21 bileşiğinin FT-IR spektrumu



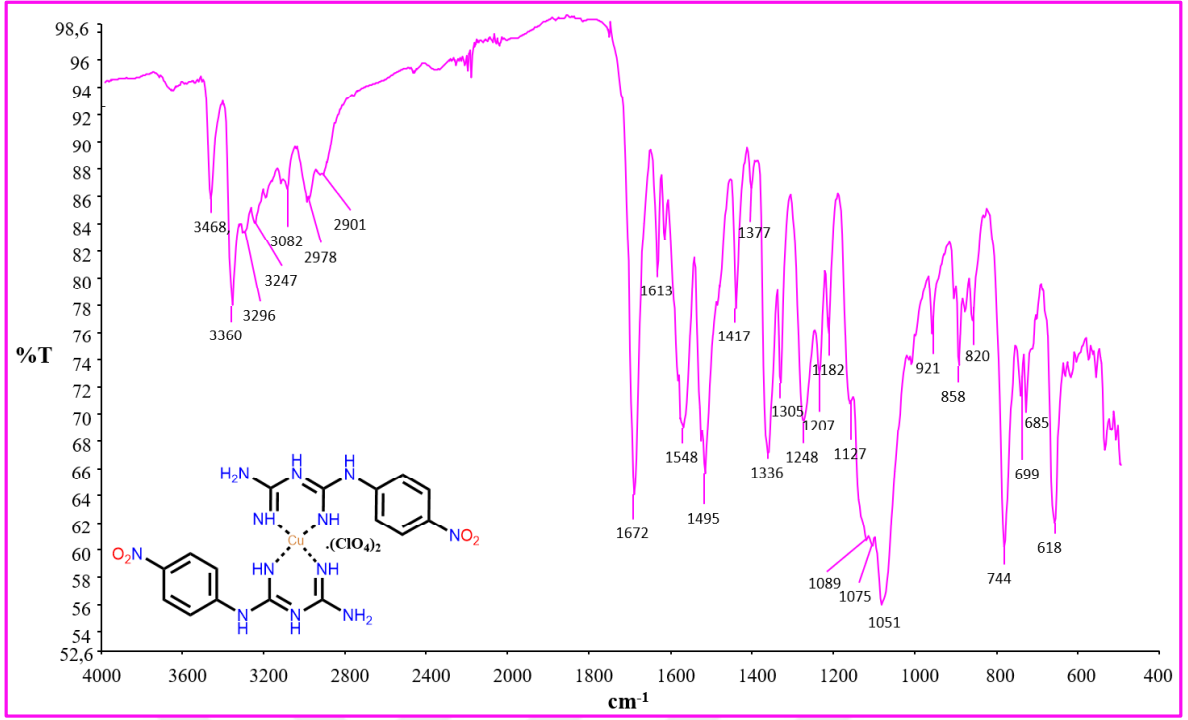
Ek Şekil 20 A22 bileşiğinin FT-IR spektrumu



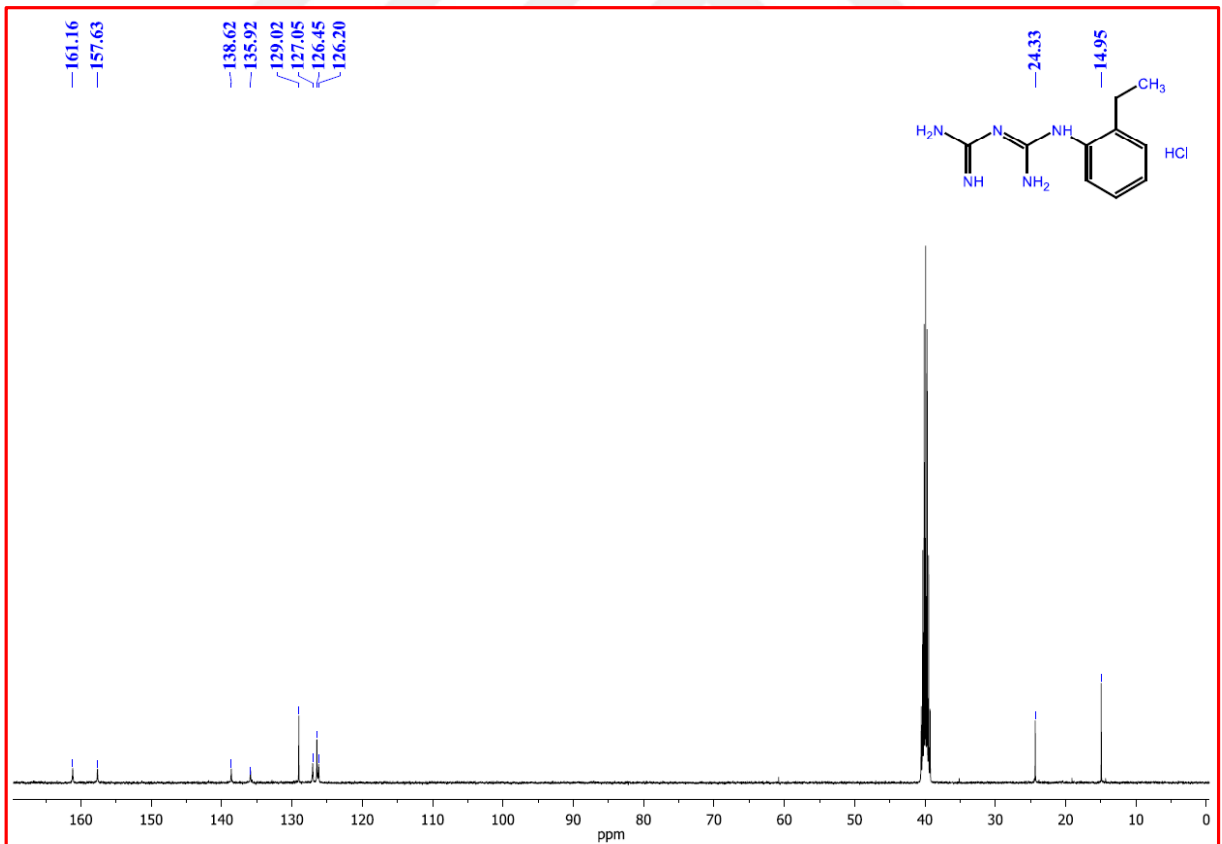
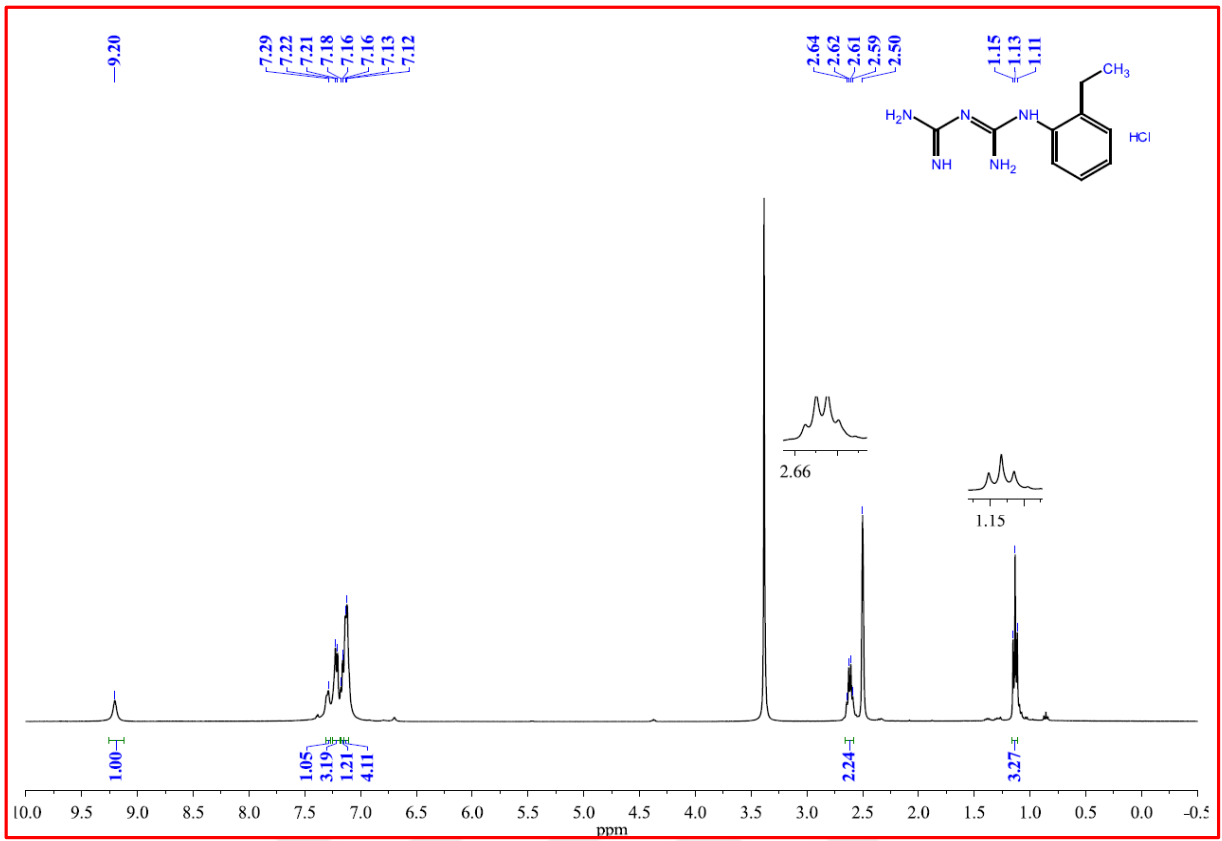
Ek Şekil 21 A23 bileşiğinin FT-IR spektrumu



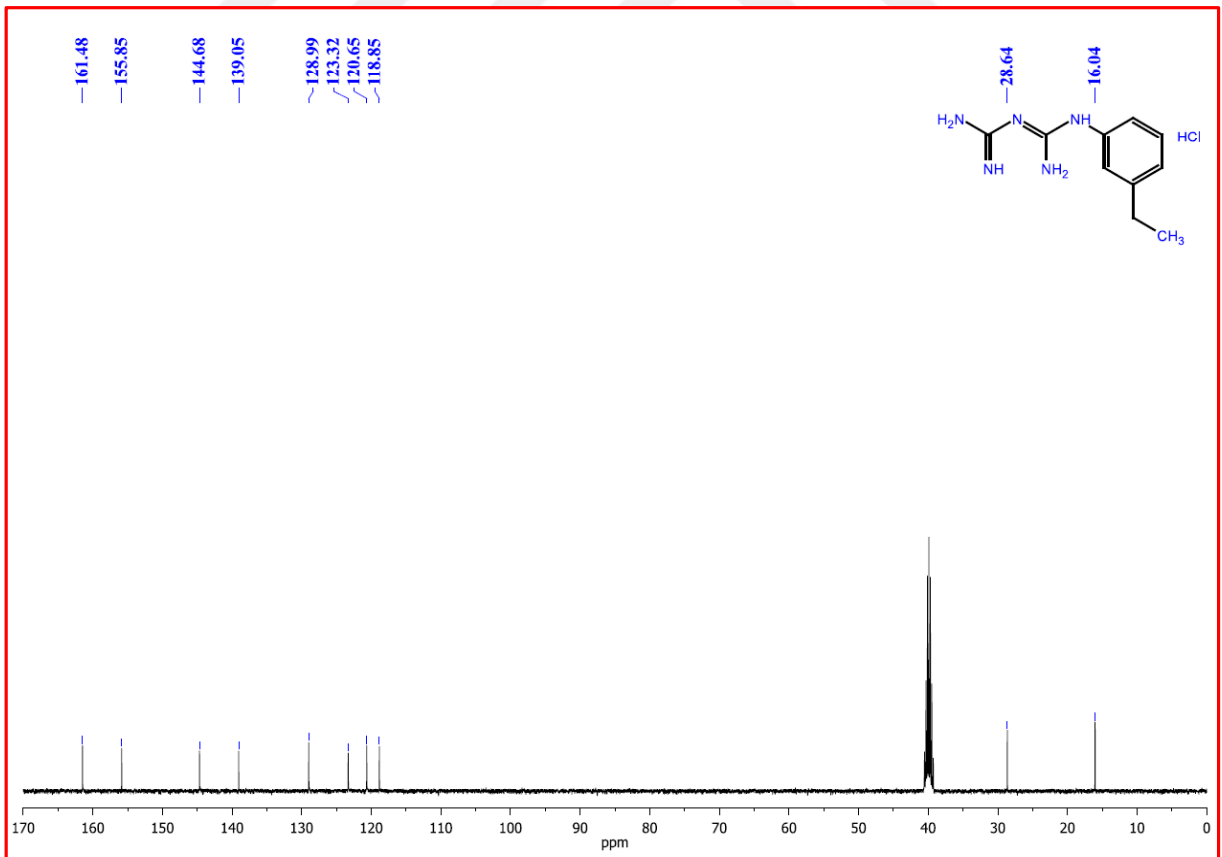
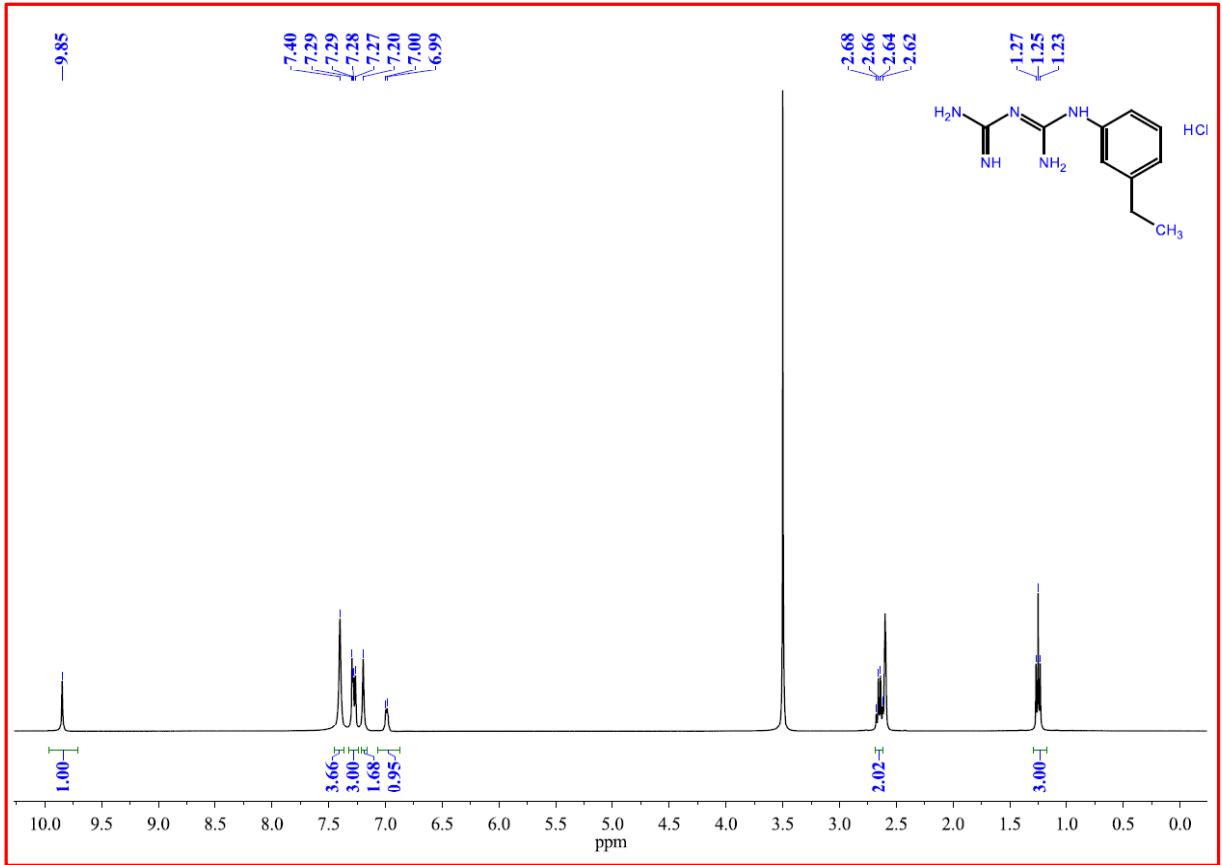
Ek Şekil 22 A24 bileşiğinin FT-IR spektrumu



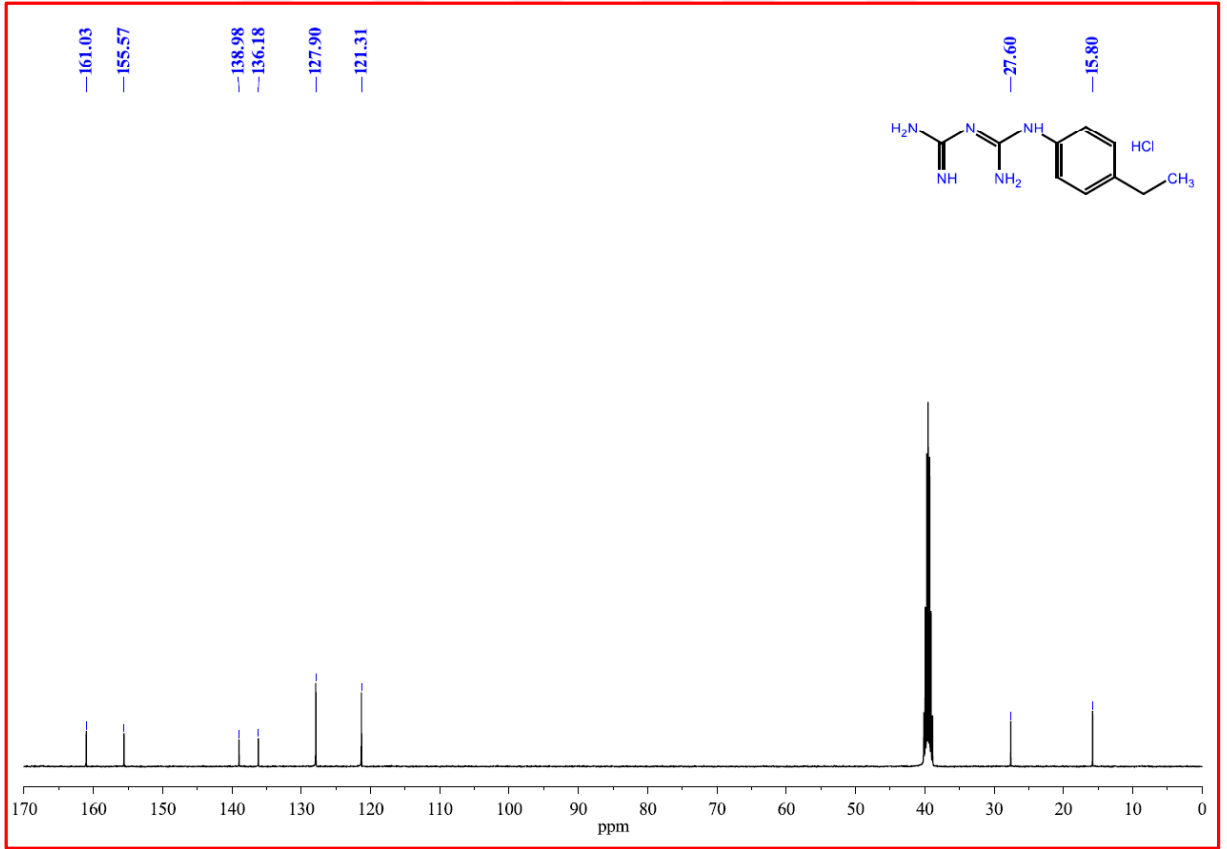
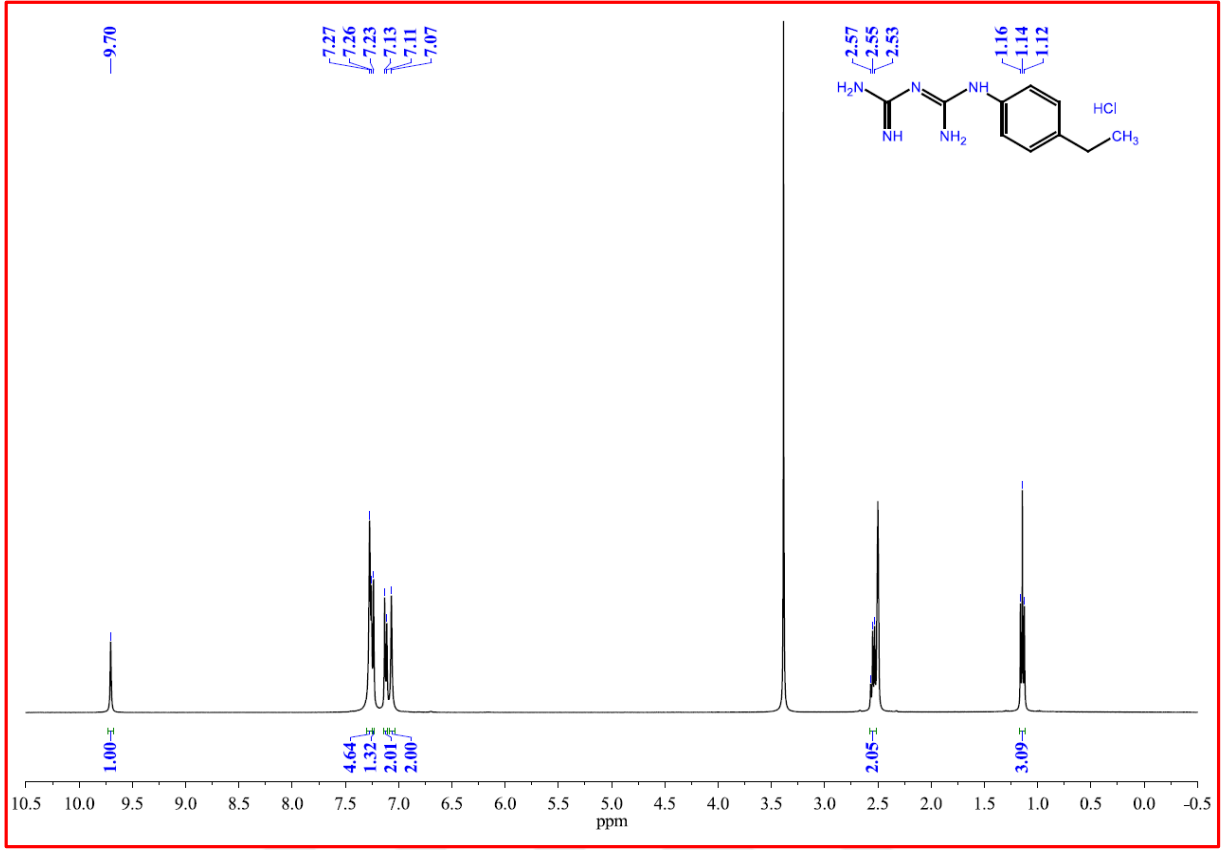
Ek Şekil 23 A25 bileşiğinin FT-IR spektrumu



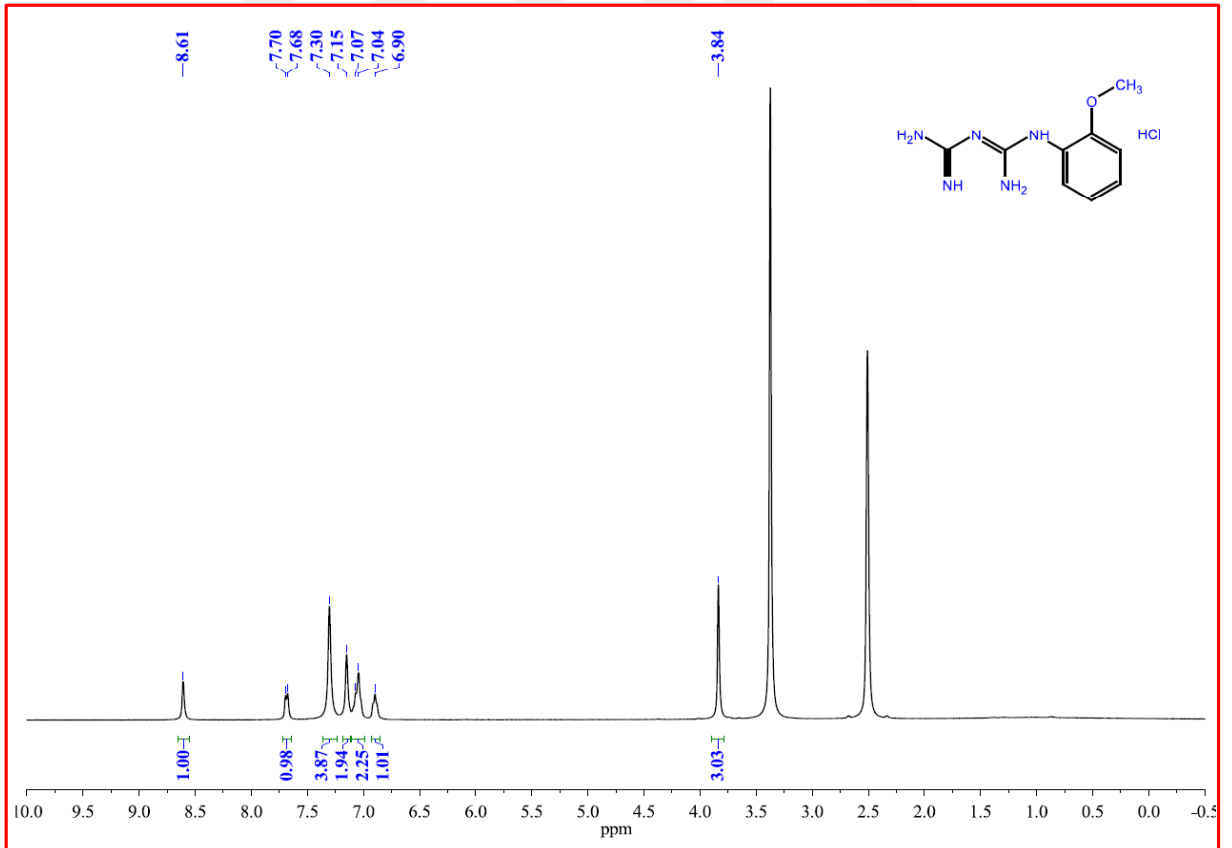
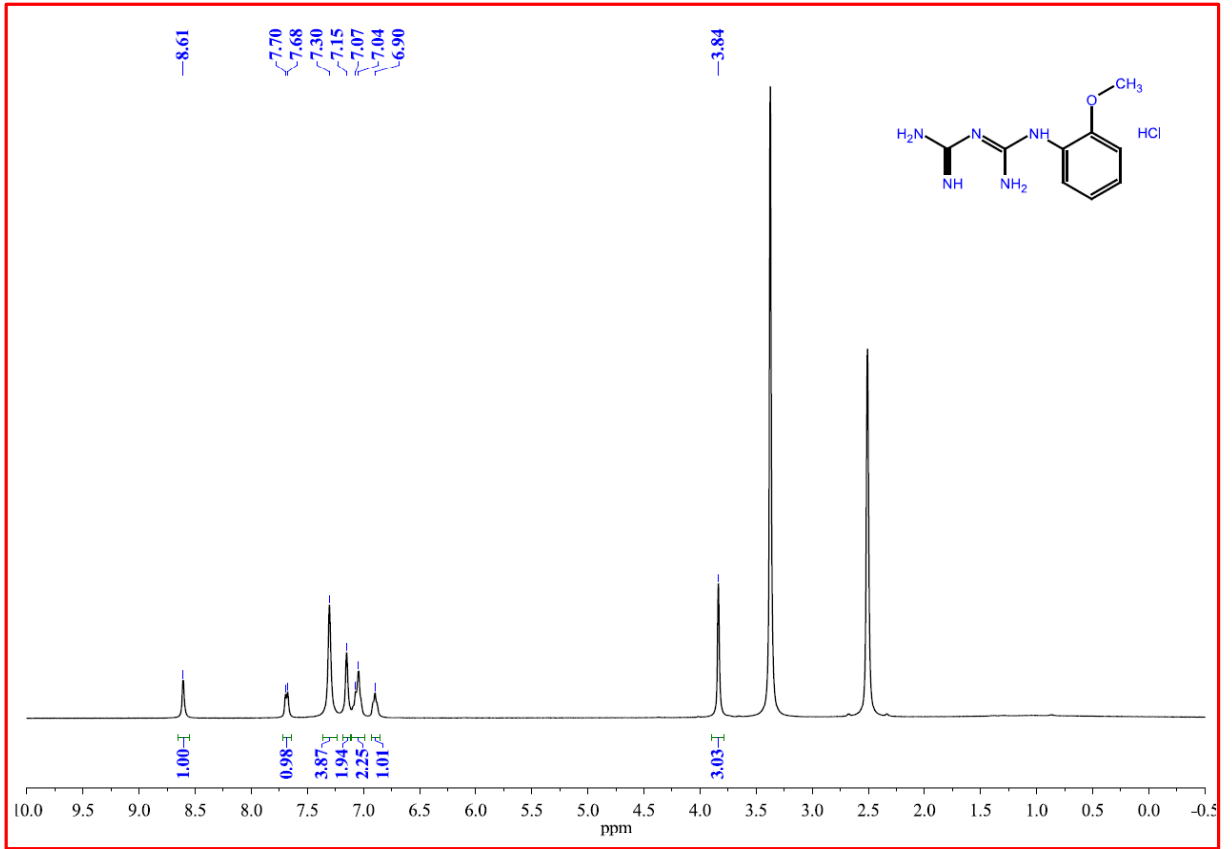
Ek Şekil 24 A01 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları.



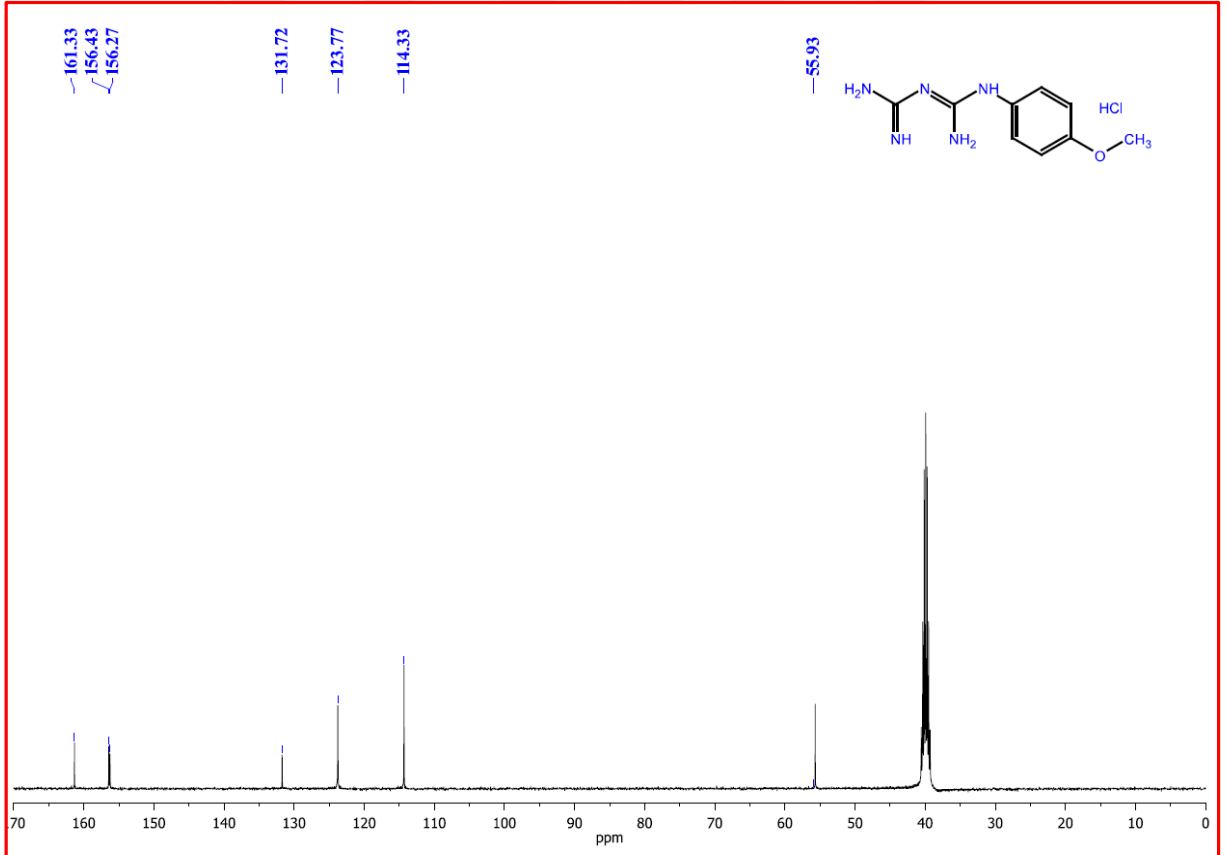
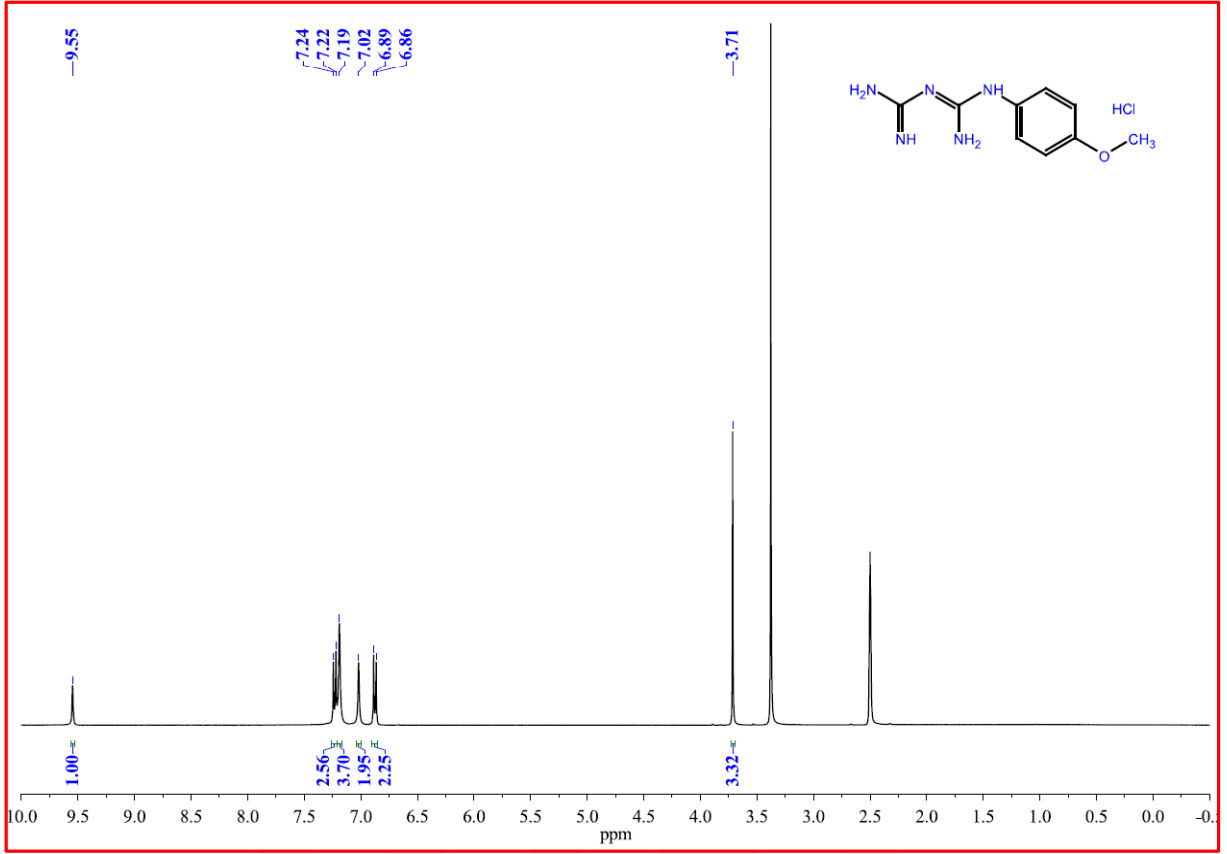
Ek Şekil 25 A02 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



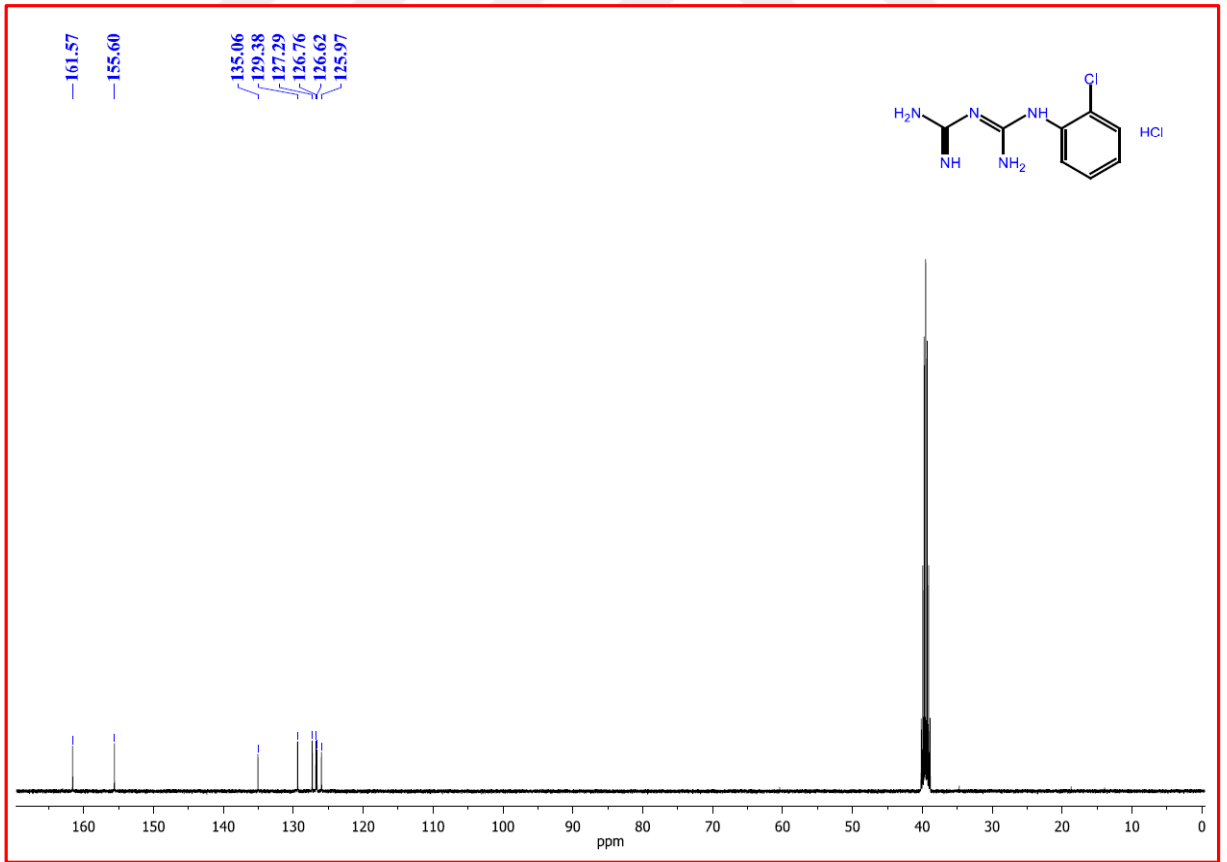
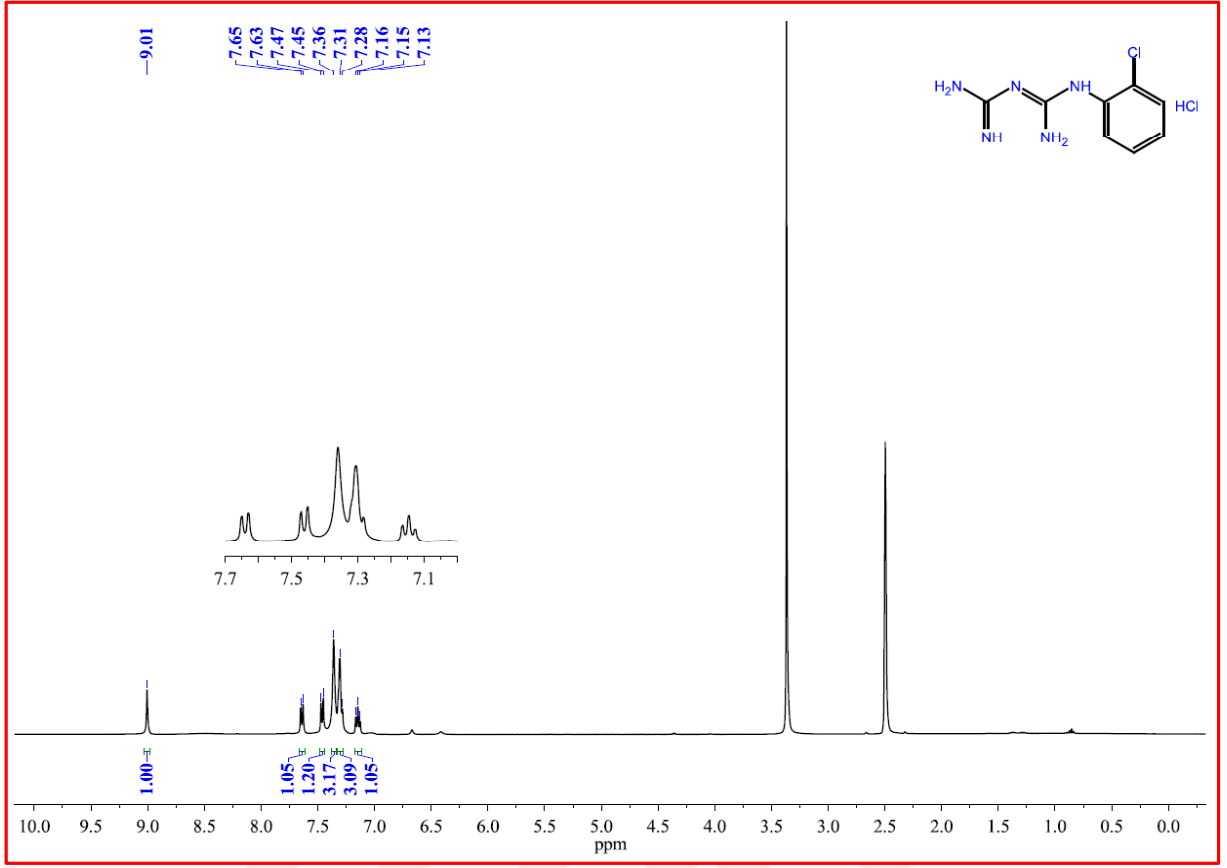
Ek Şekil 26 A03 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



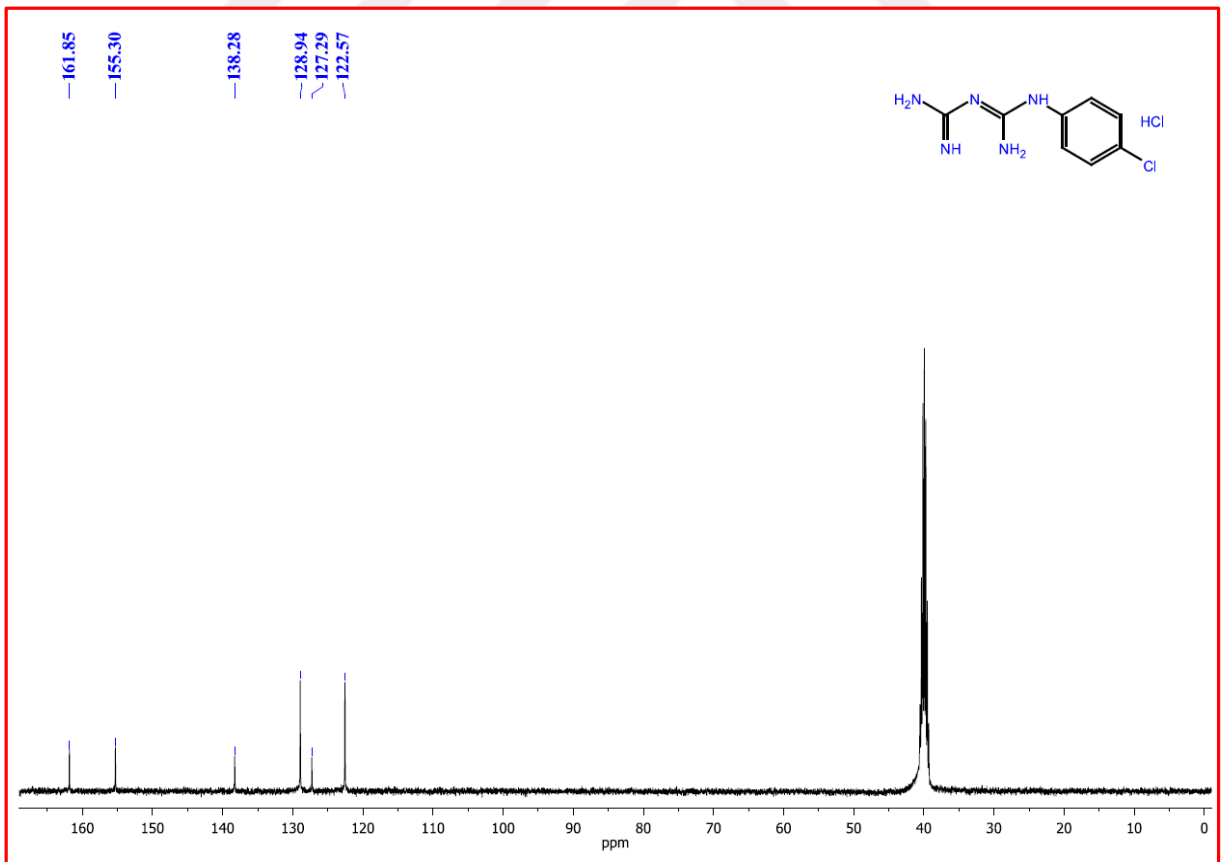
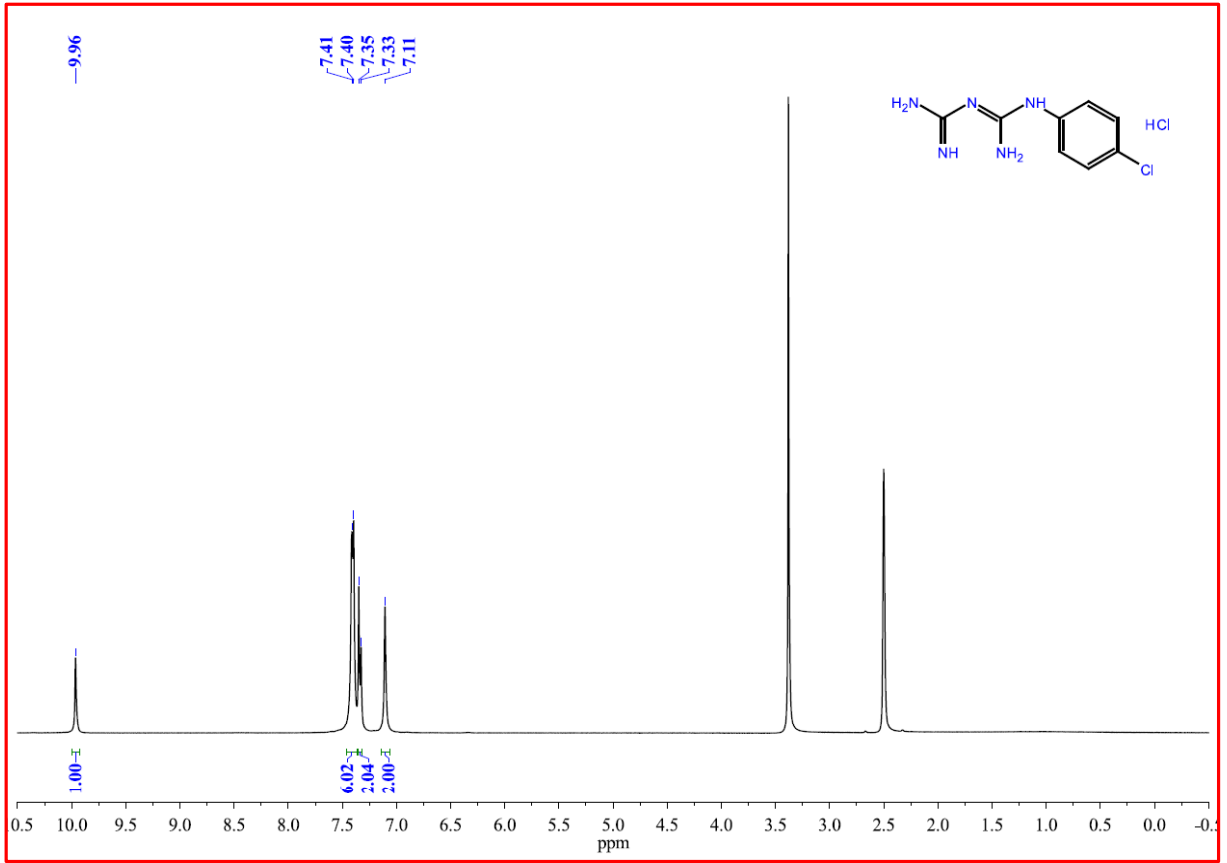
Ek Şekil 27 A04 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



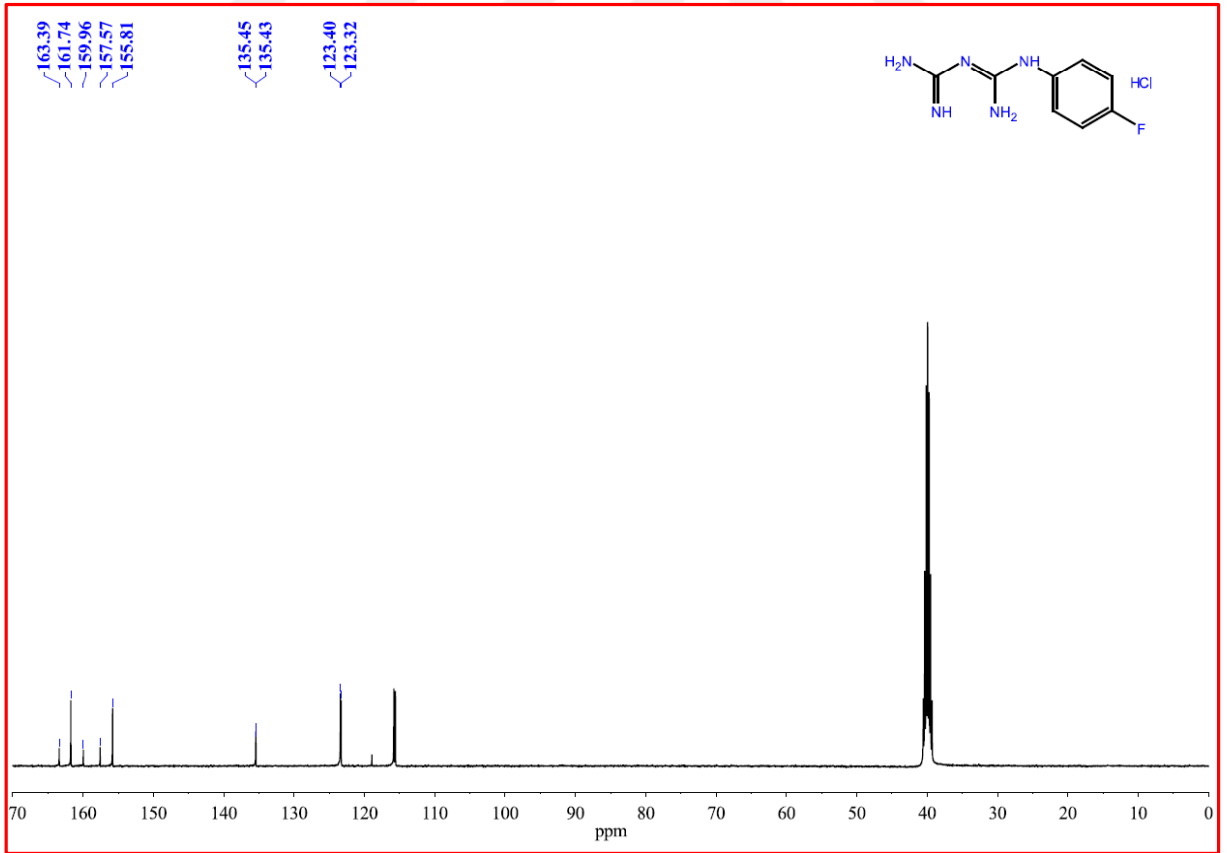
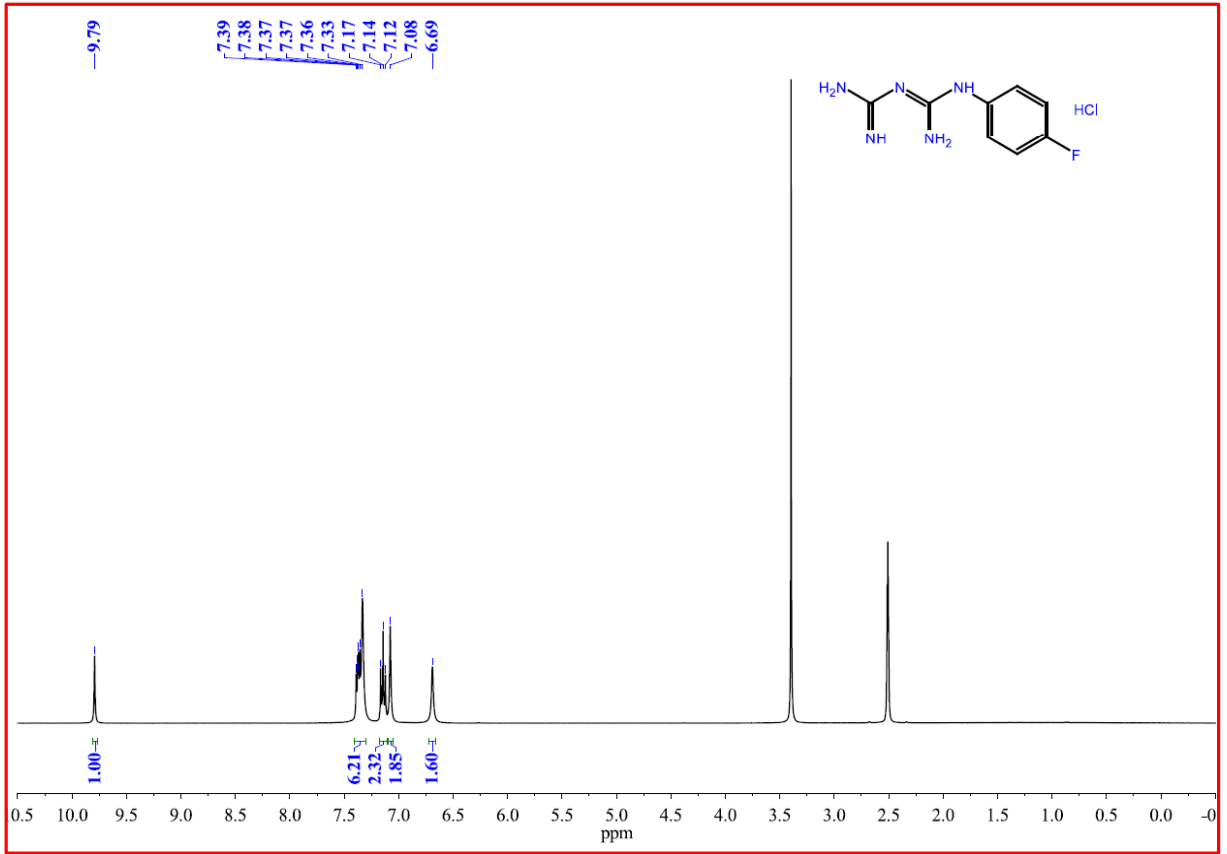
Ek Şekil 28 A05 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



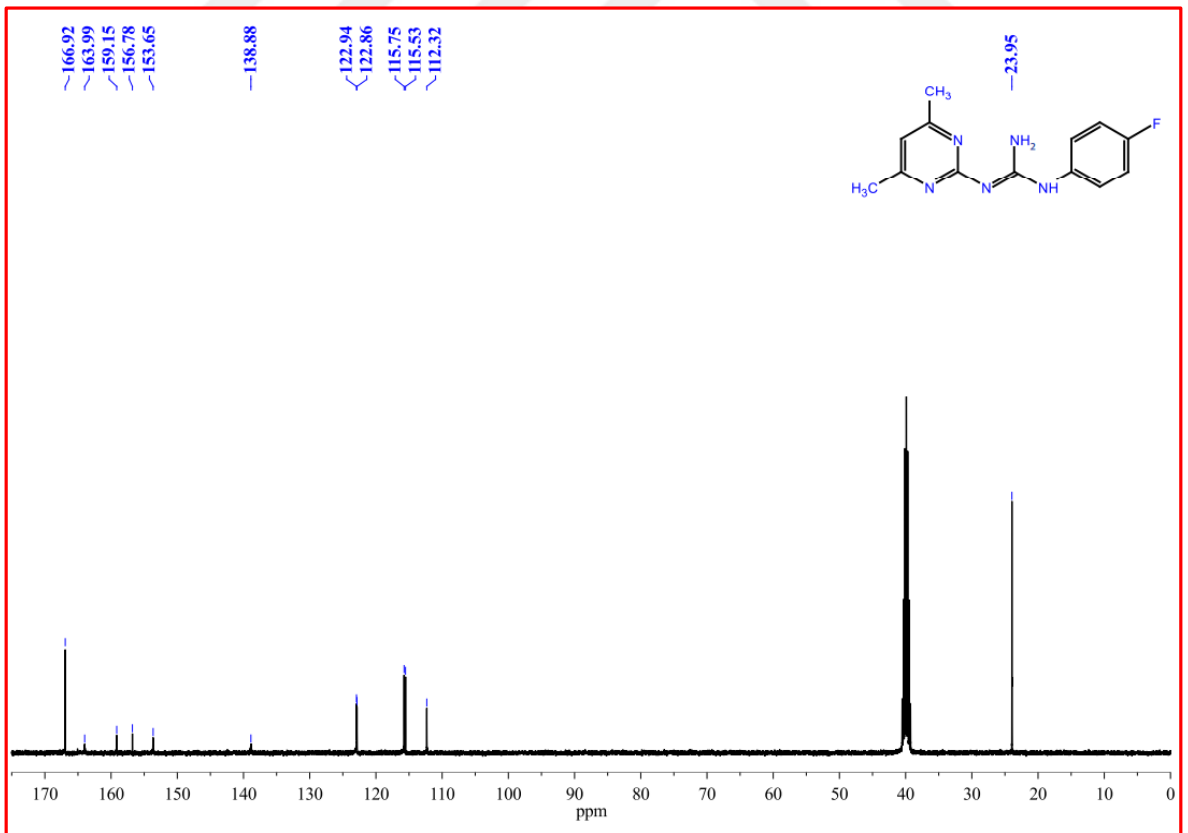
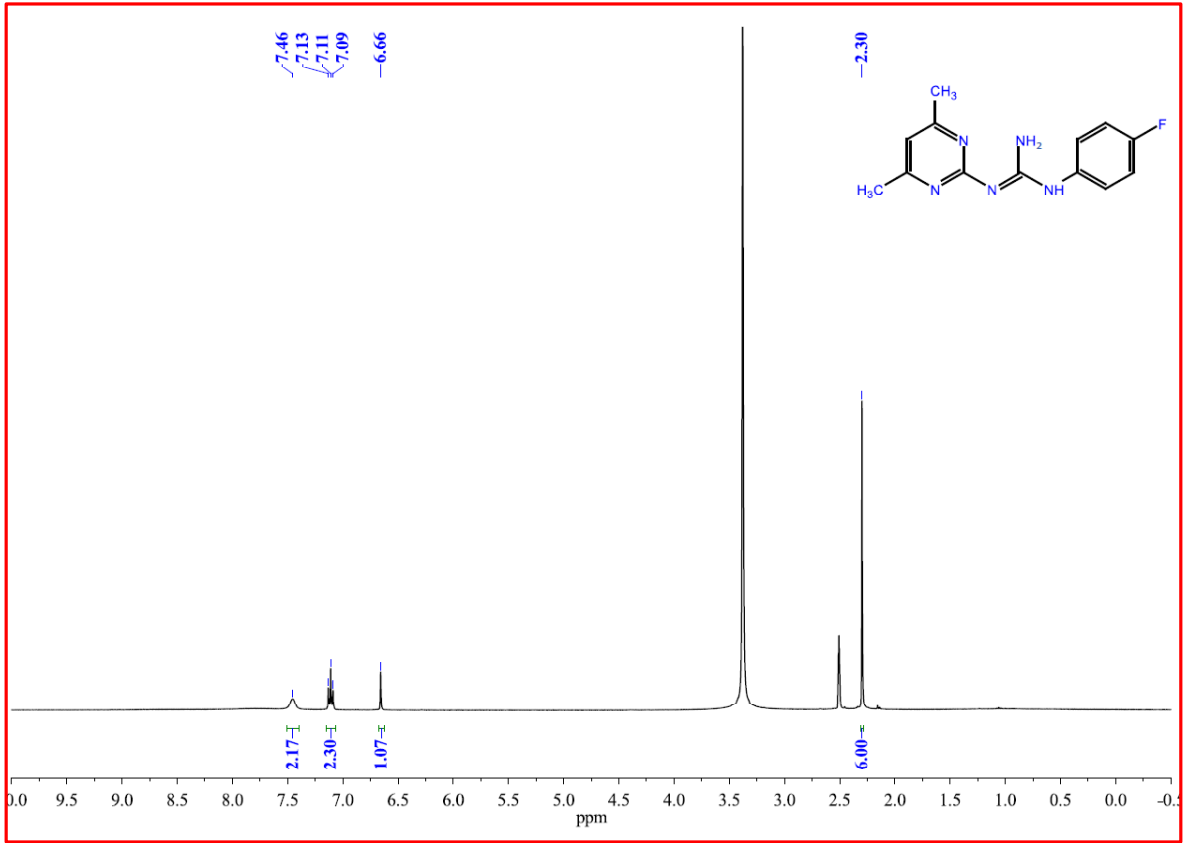
Ek Şekil 29 A07 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



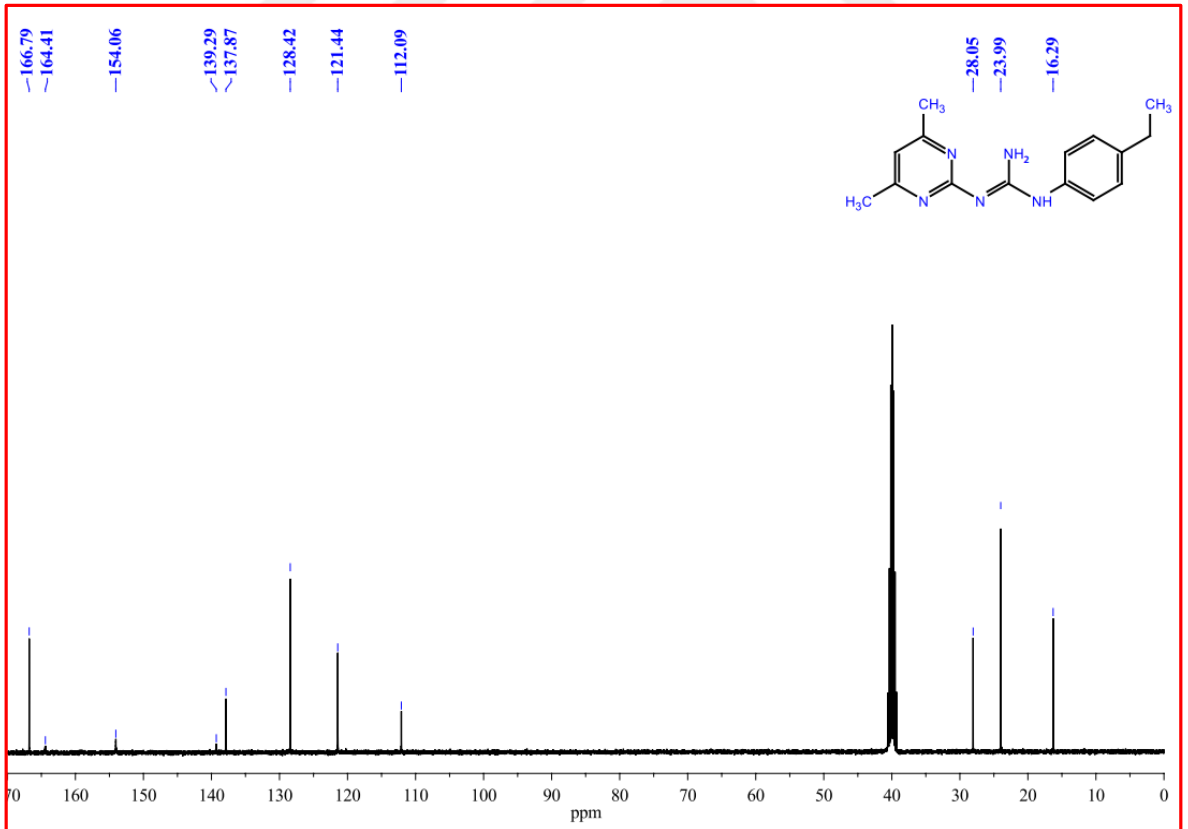
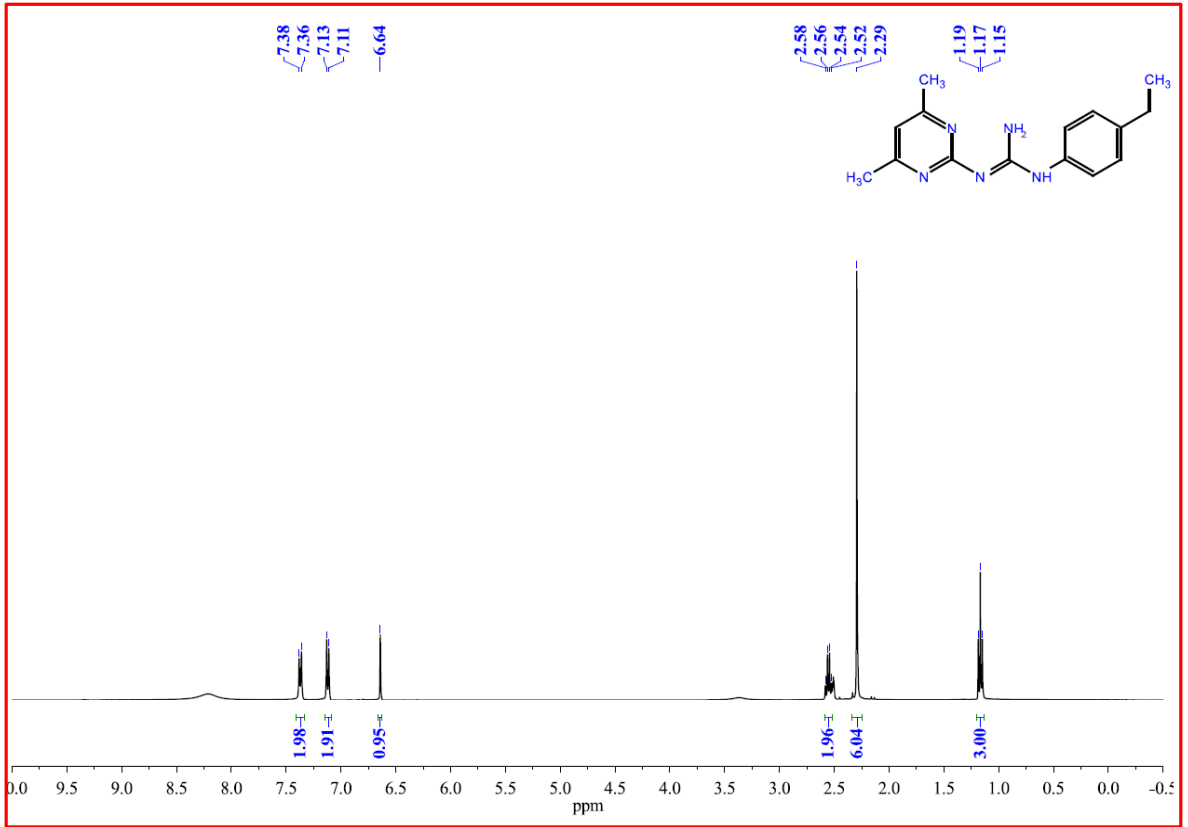
Ek Şekil 30 A08 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



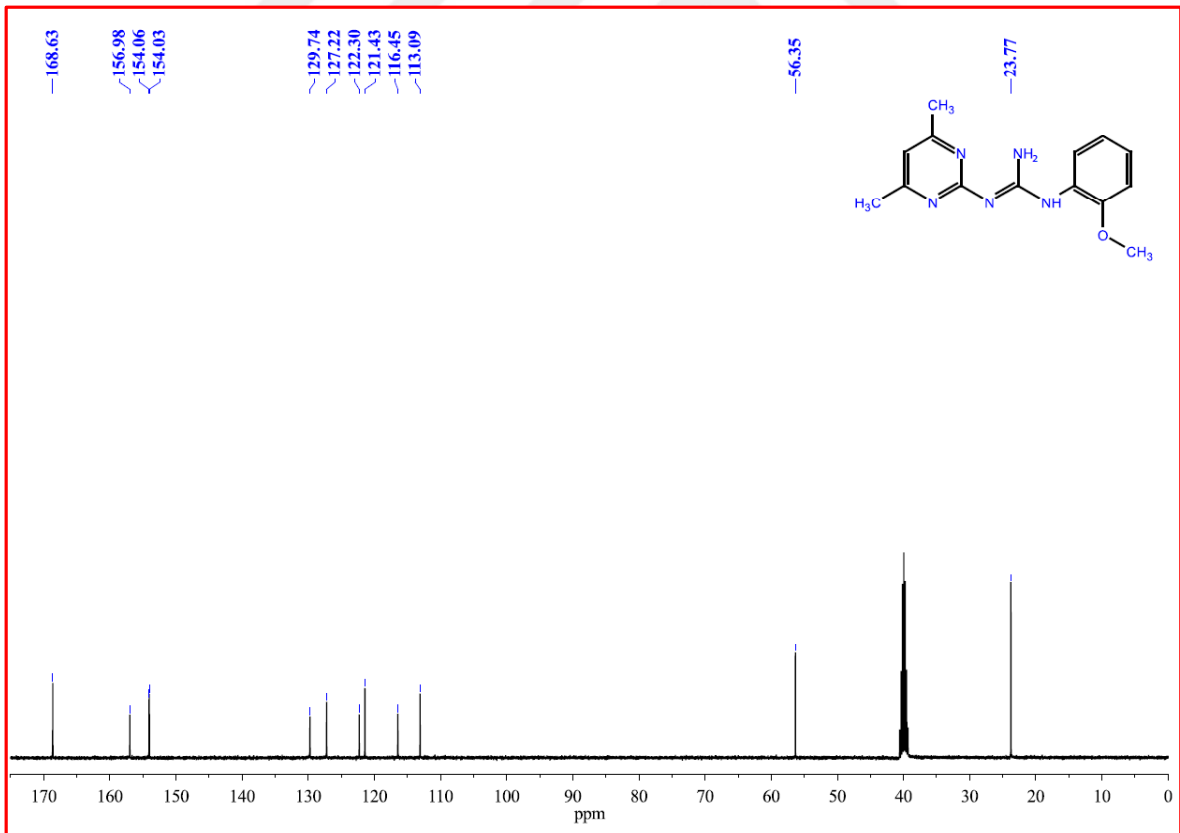
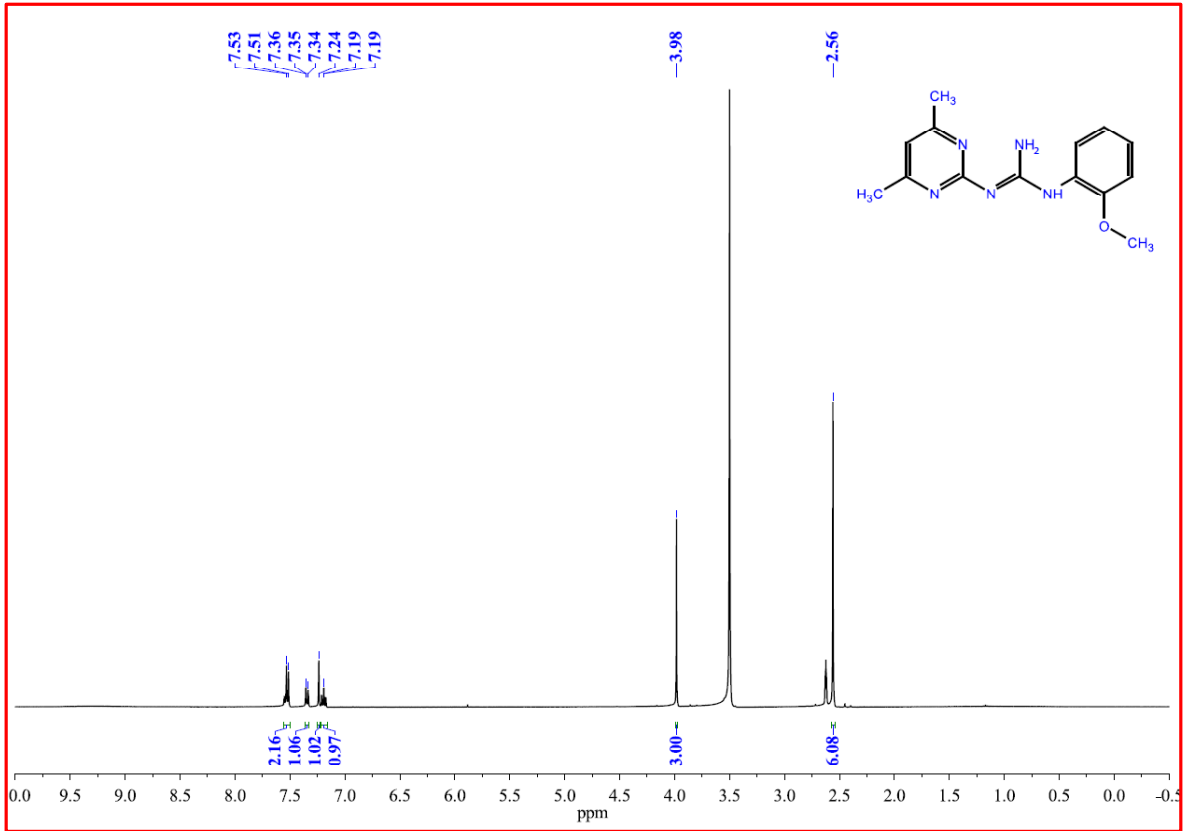
Ek Şekil 31 A9 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



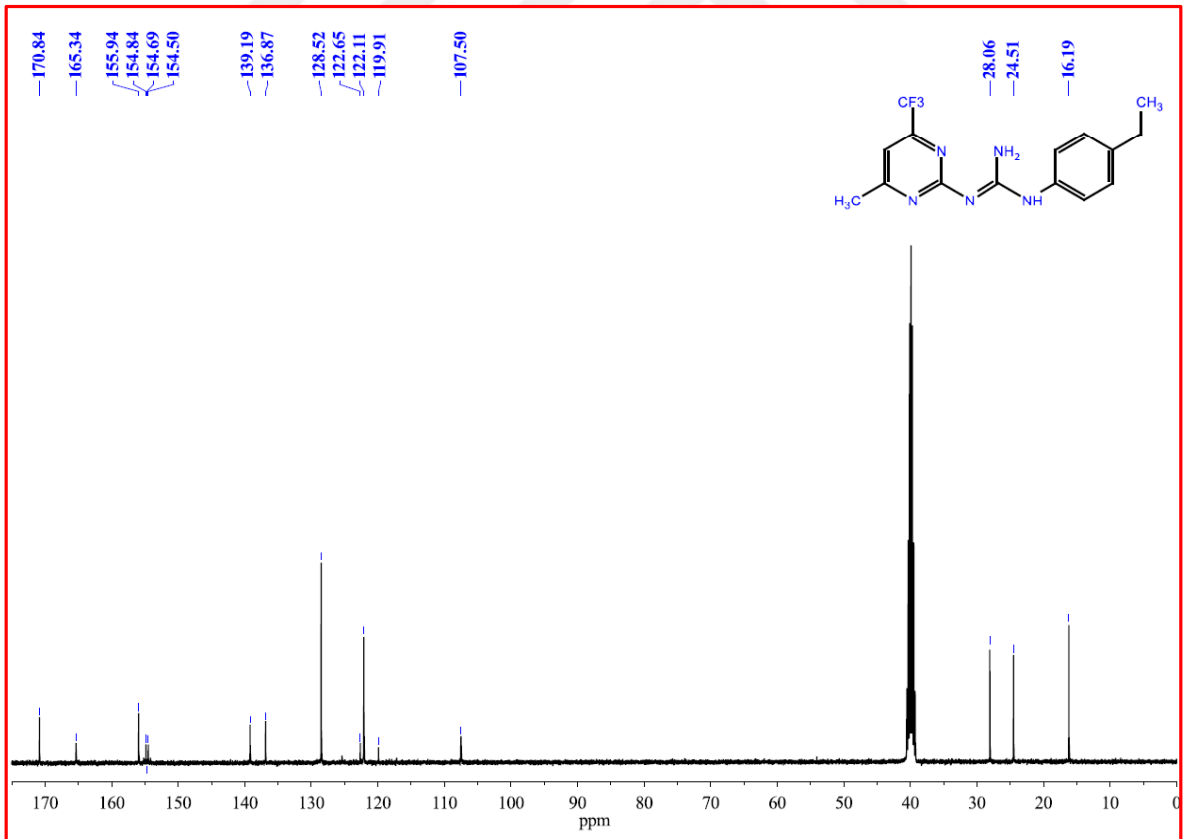
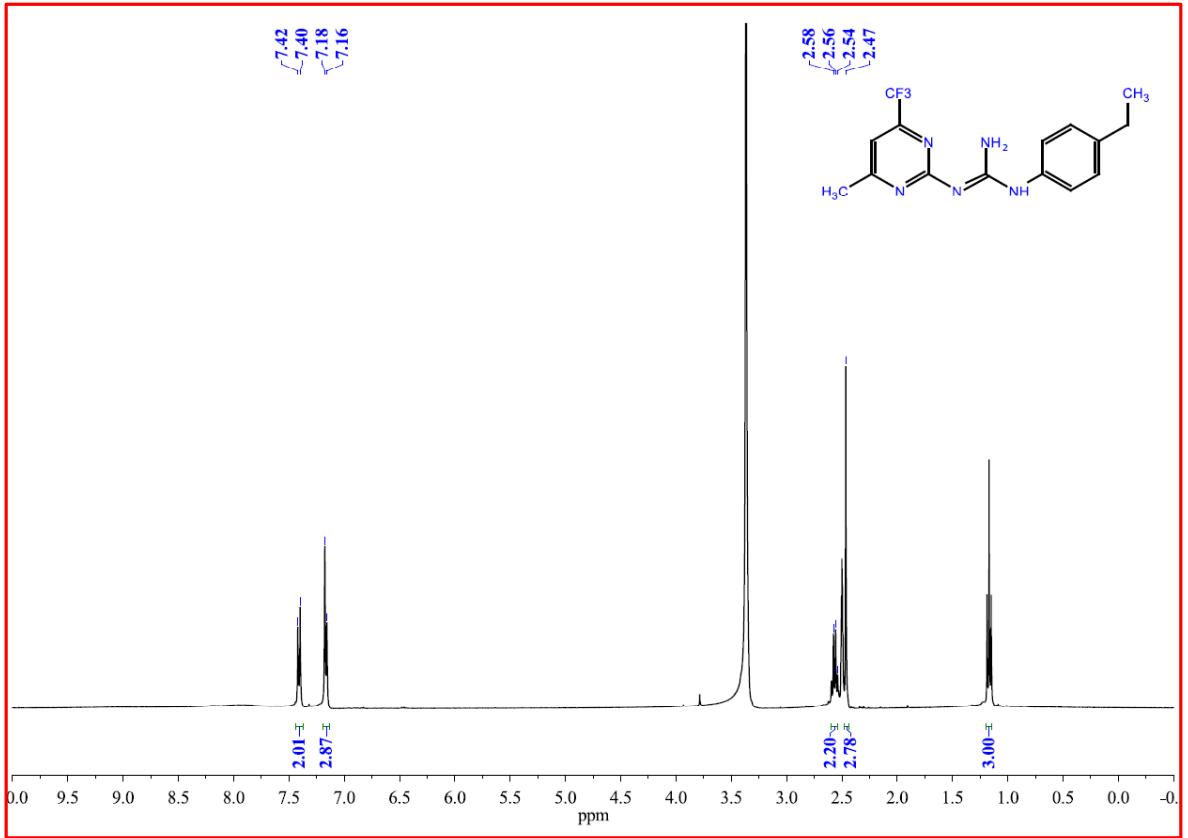
Ek Şekil 32 A10 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



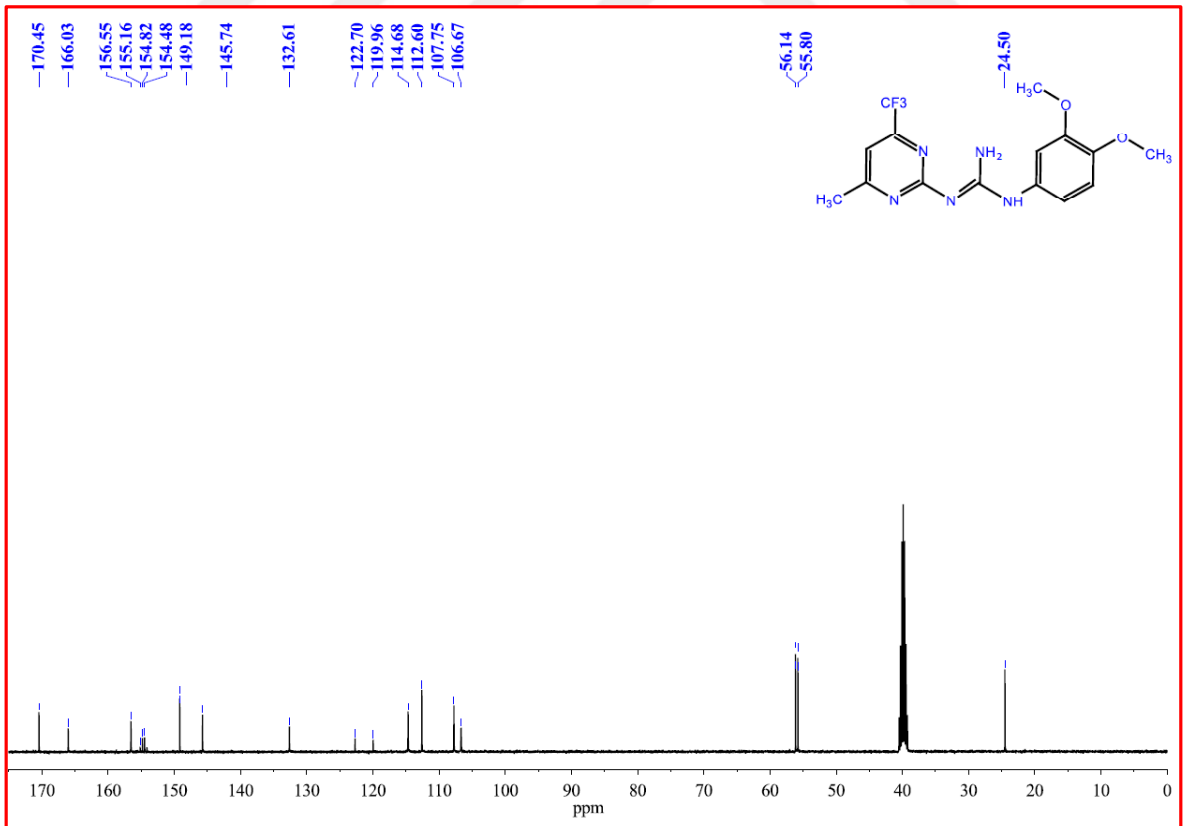
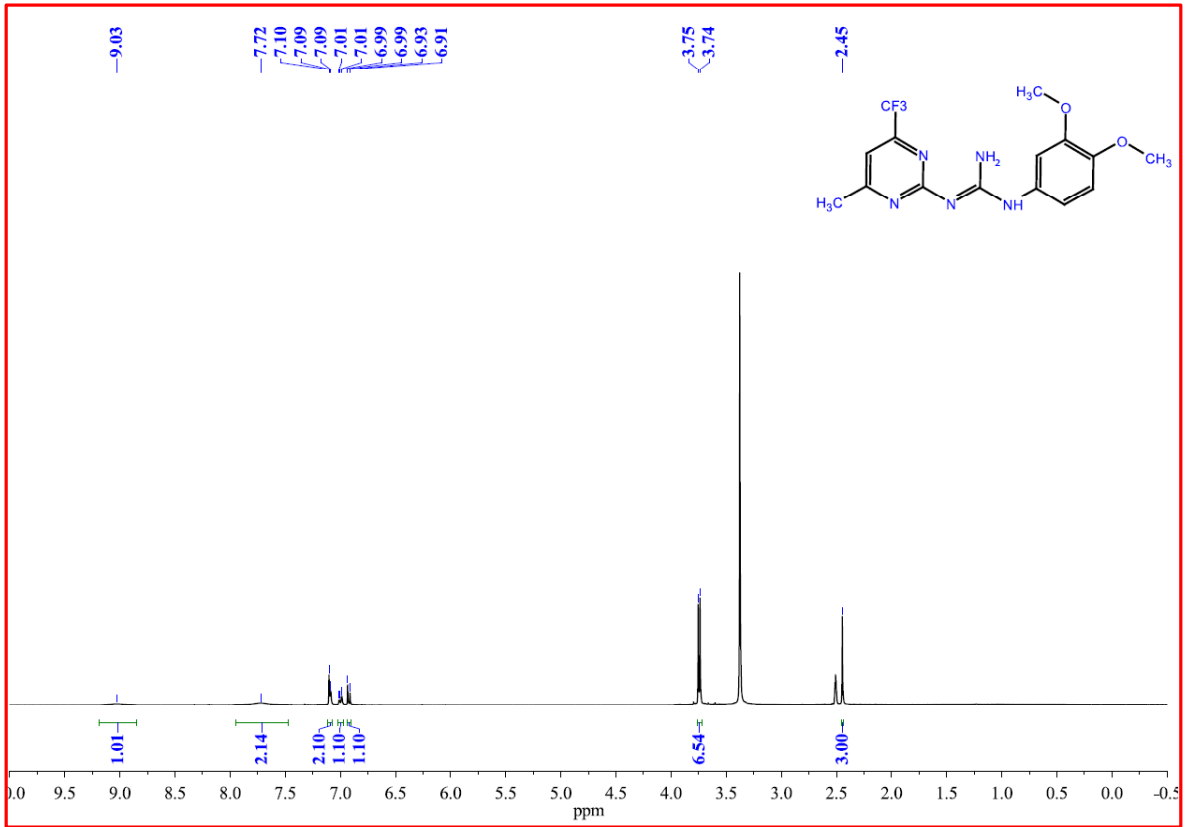
Ek Şekil 33 A11 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



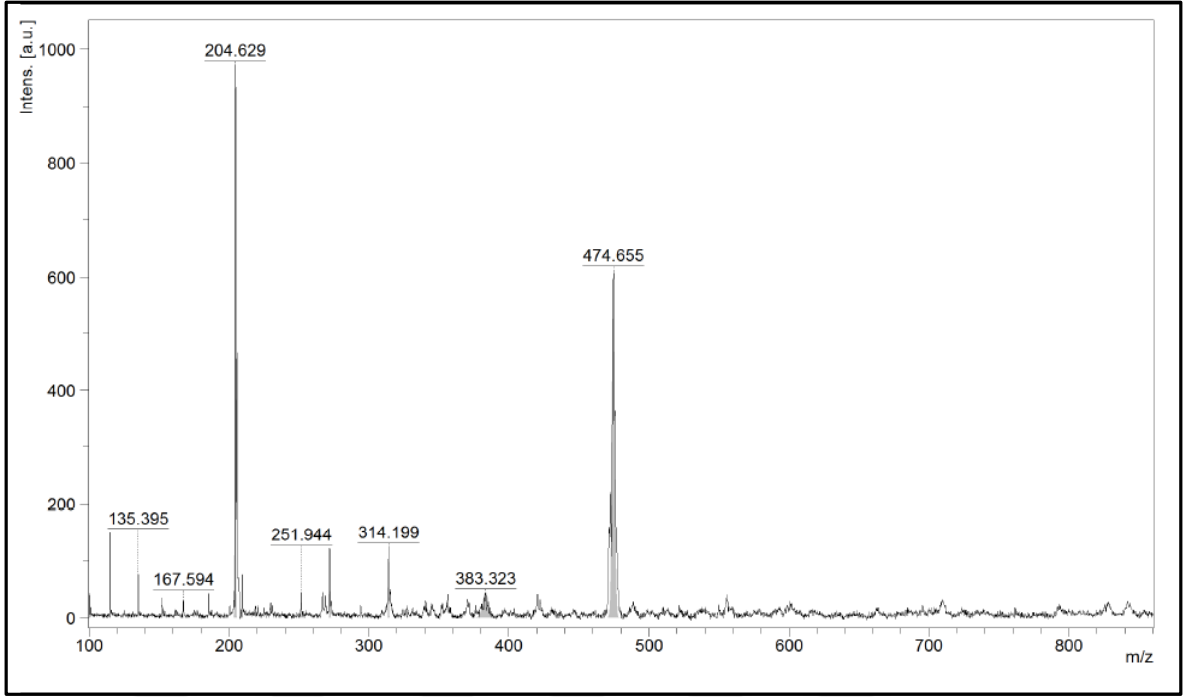
Ek Şekil 34 A12 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



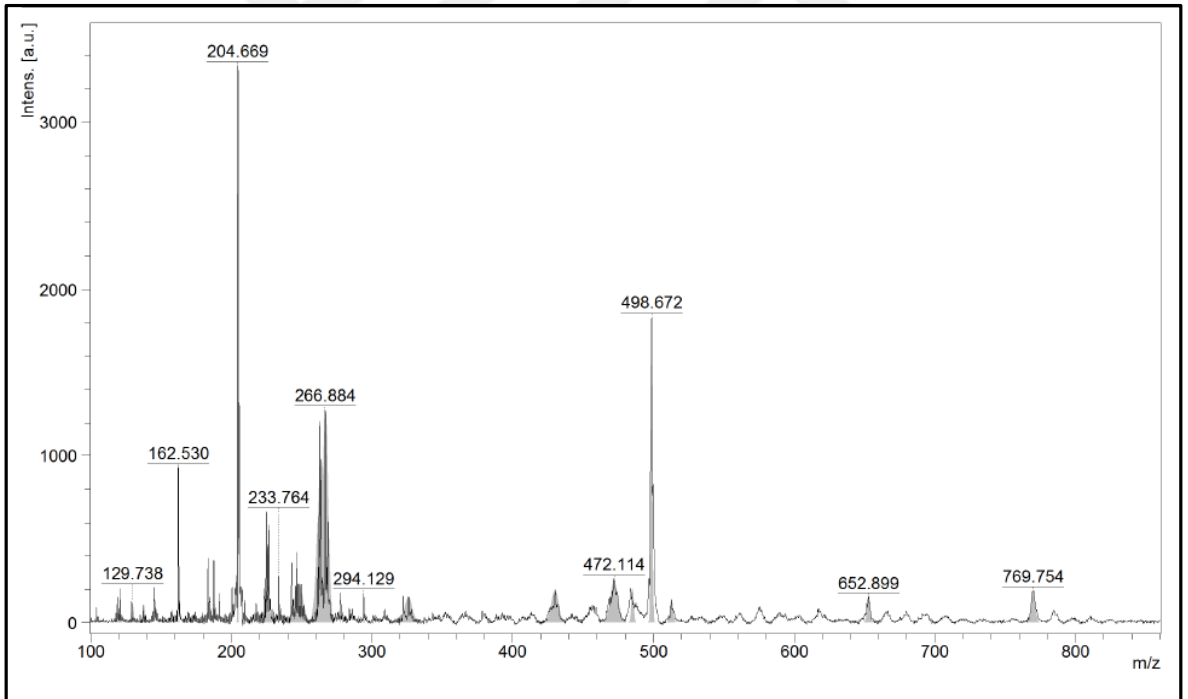
Ek Şekil 35 A14 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



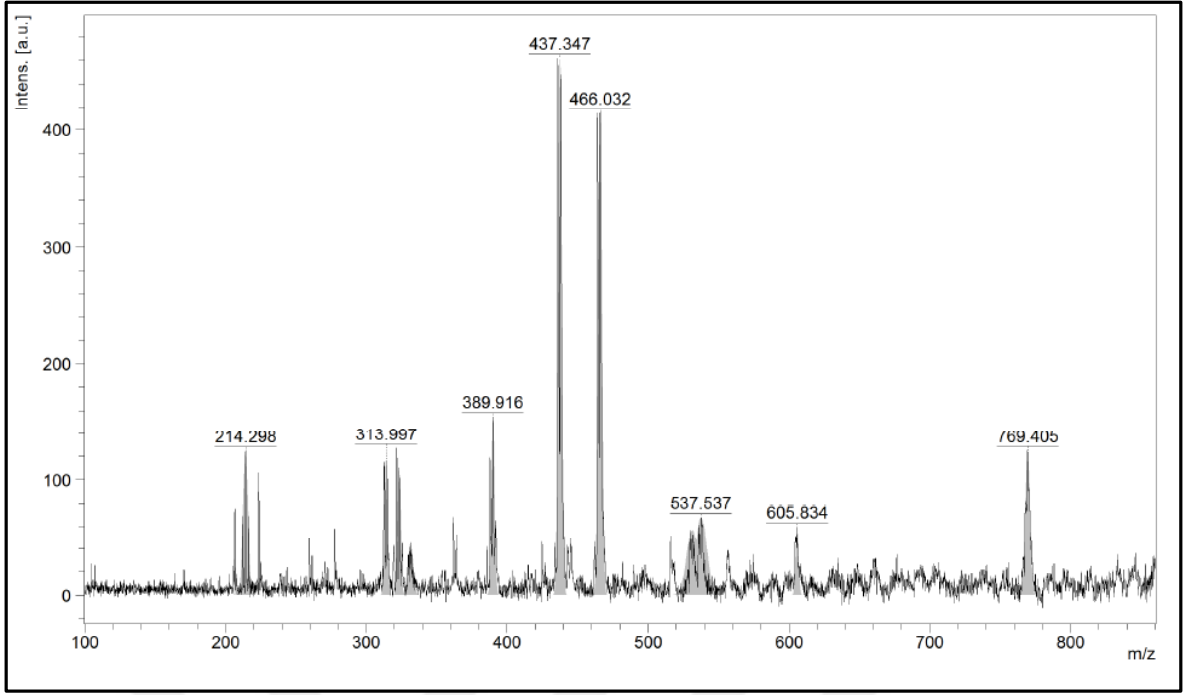
Ek Şekil 36 A15 bileşiğinin ¹H(¹³C) NMR spektrumları



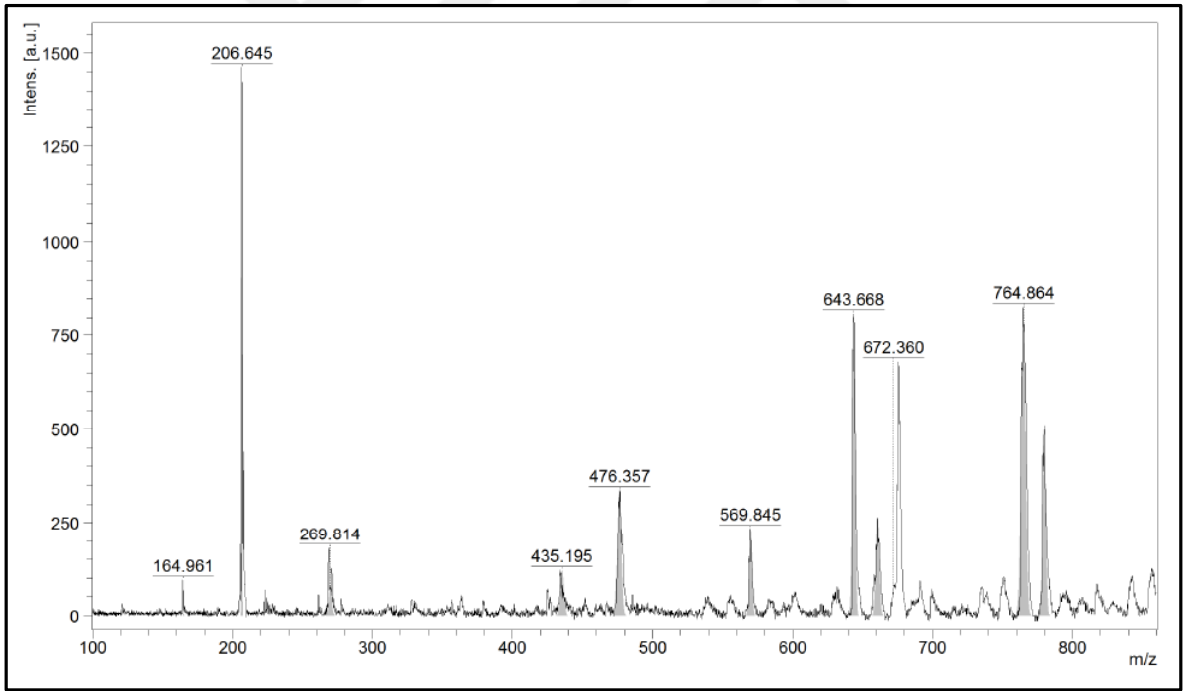
Ek Şekil 37 A17 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu



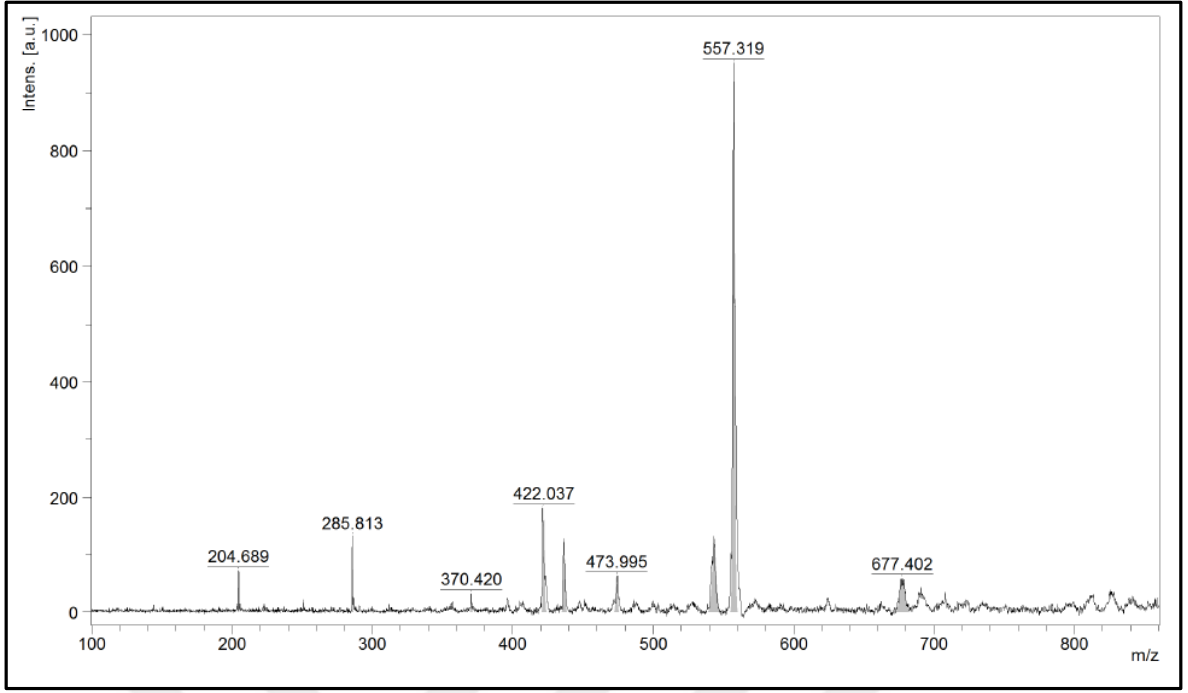
Ek Şekil 38 A18 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu



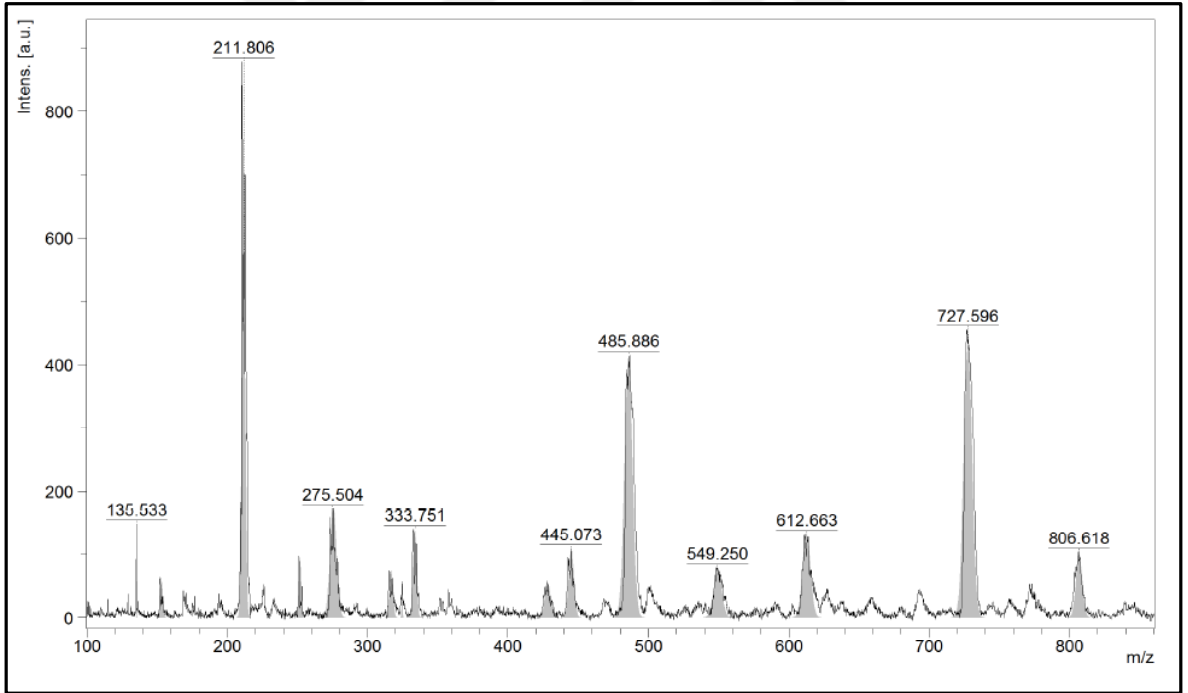
Ek Şekil 39 A19 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu



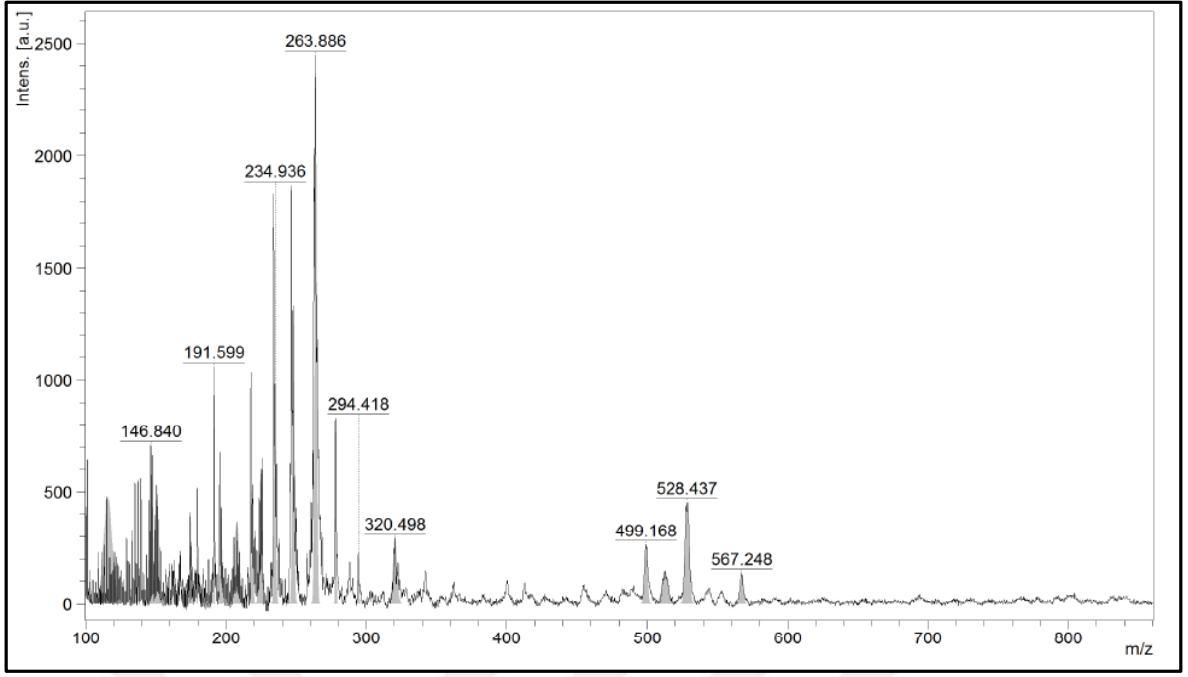
Ek Şekil 40 A20 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu



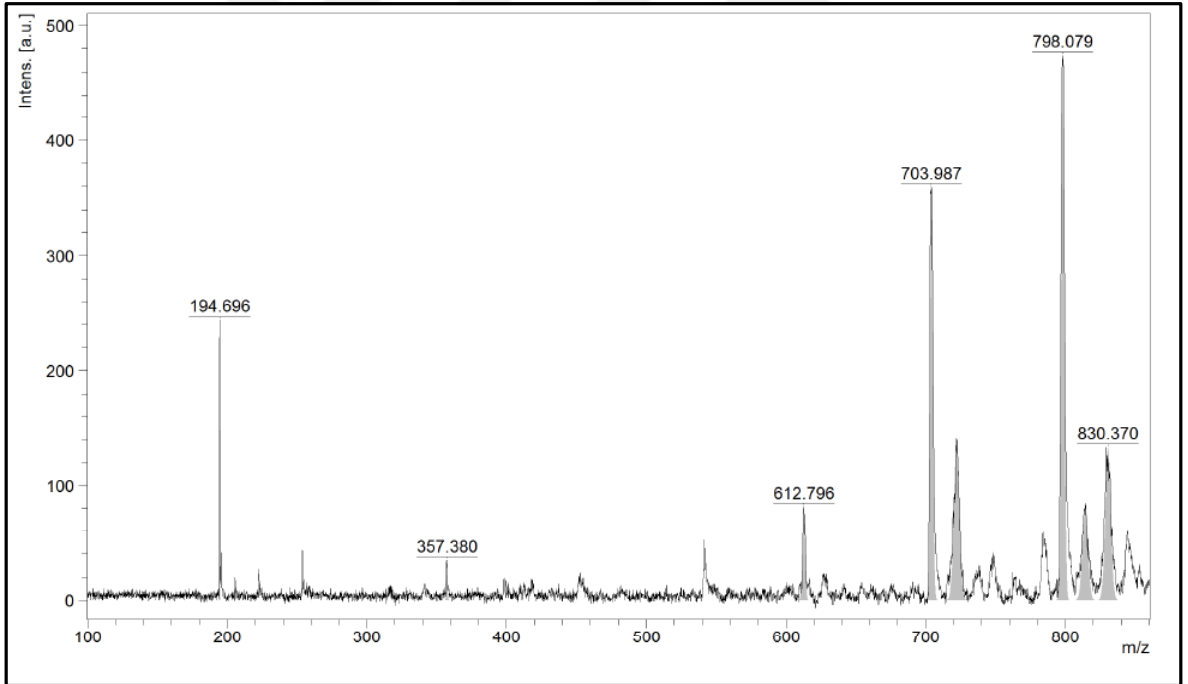
Ek Şekil 41 A21 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu



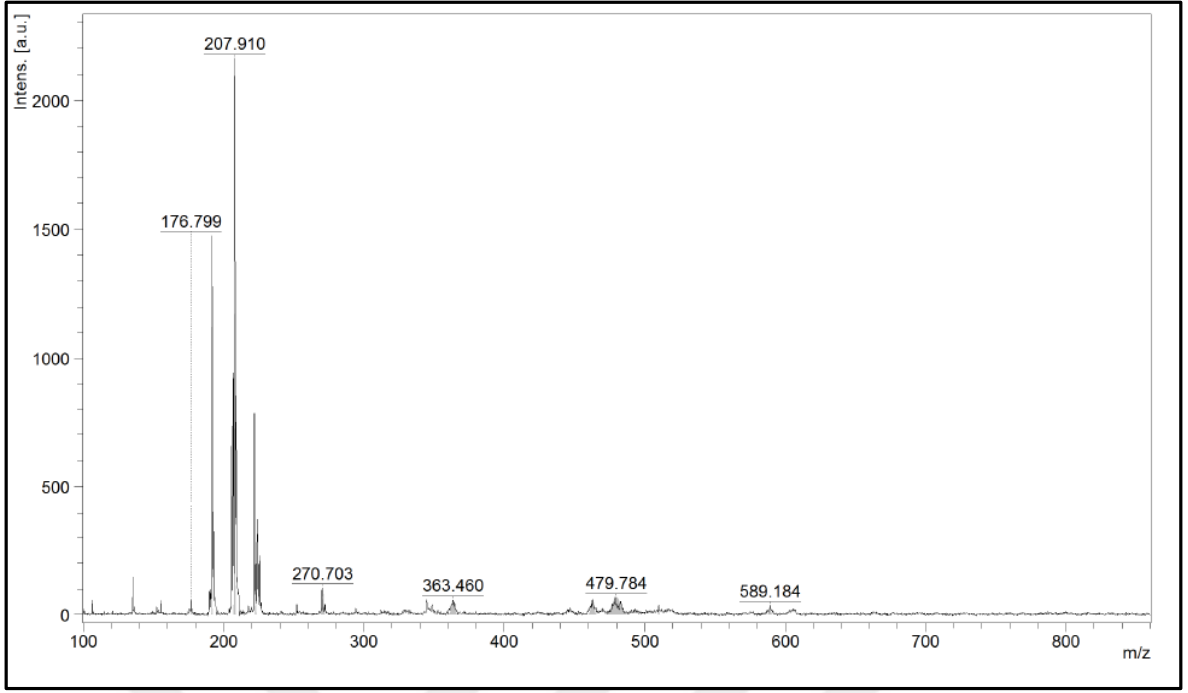
Ek Şekil 42 A22 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu



Ek Şekil 43 A23 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu



Ek Şekil 44 A24 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu



Ek Şekil 45 A25 bileşiğinin MALDI TOF spektrumu

Ek Çizelge 1 A06 bileşiğine ait bağ uzunlukları Å

O(1)	C(5)	1.365 (2)	N(5)	C(2)	1.340 (2)
O(1)	C(9)	1.414 (3)	N(5)	C(3)	1.421 (2)
O(2)	C(6)	1.376 (2)	C(3)	C(4)	1.391 (3)
O(2)	C(10)	1.427 (3)	C(3)	C(8)	1.374 (3)
N(1)	C(1)	1.321 (2)	C(4)	C(5)	1.379 (2)
N(2)	C(1)	1.323 (2)	C(5)	C(6)	1.397 (3)
N(3)	C(1)	1.335 (2)	C(6)	C(7)	1.372 (3)
N(3)	C(2)	1.324 (2)	C(7)	C(8)	1.395 (3)
N(4)	C(2)	1.334 (2)			

Ek Çizelge 2 A06 bileşiğine ait bağ açıları (°)

C(5) O(1) C(9)	117.80 (16)	C(8) C(3) N(5)	124.32 (17)
C(6) O(2) C(10)	116.95 (17)	C(8) C(3) C(4)	119.98 (17)
C(2) N(3) C(1)	122.36 (15)	C(5) C(4) C(3)	120.61 (19)
C(2) N(5) C(3)	129.16 (16)	O(1) C(5) C(4)	124.69 (18)
N(1) C(1) N(2)	118.23 (17)	O(1) C(5) C(6)	115.81 (17)
N(1) C(1) N(3)	117.21 (16)	C(4) C(5) C(6)	119.50 (19)
N(2) C(1) N(3)	124.45 (17)	O(2) C(6) C(5)	115.63 (18)
N(3) C(2) N(4)	124.71 (17)	C(7) C(6) O(2)	124.90 (19)
N(3) C(2) N(5)	119.59 (16)	C(7) C(6) C(5)	119.48 (17)
N(4) C(2) N(5)	115.60 (17)	C(6) C(7) C(8)	121.13 (19)
C(4) C(3) N(5)	115.68 (17)	C(3) C(8) C(7)	119.21 (19)

Ek Çizelge 3 A06 bileşiğine ait hidrojen bağ verileri

D	H	A	d(D-H)/Å	d(H-A)/Å	d(D-A)/Å	D-H-A/°
N(1) H(1A) Cl(1) ¹			0.86	2.59	3.3563 (18)	149.5
N(1) H(1B) N(3) ²			0.86	2.23	3.086 (2)	178.0
N(2) H(2A) Cl(1) ¹			0.86	2.43	3.2332 (17)	156.3
N(2) H(2B) O(2) ³			0.86	2.28	3.101 (2)	158.6
N(4) H(4A) Cl(1) ⁴			0.86	2.47	3.2431 (17)	149.7
N(4) H(4B) Cl(1)			0.86	2.47	3.2355 (17)	148.1
N(5) H(5) Cl(1)			0.86	2.32	3.1470 (16)	162.7

¹+X,-1+Y,+Z; ²-X,-1-Y,1-Z; ³-1/2+X,-1/2-Y,-1/2+Z; ⁴3/2-X,-1/2+Y,1/2-Z

Ek Çizelge 4 A11 bileşiğine ait bağ uzunlukları Å

N(1)	C(1)	1.344(3)	C(2)	C(3)	1.381(3)
N(1)	C(4)	1.342(3)	C(3)	C(12)	1.500(3)
N(2)	C(3)	1.337(3)	C(6)	C(7)	1.377(3)
N(2)	C(4)	1.346(3)	C(6)	C(11)	1.373(4)
N(3)	C(4)	1.371(3)	C(7)	C(8)	1.376(4)
N(3)	C(5)	1.314(3)	C(8)	C(9)	1.363(5)
N(4)	C(5)	1.331(3)	C(9)	C(10)	1.373(5)
N(5)	C(5)	1.361(3)	C(9)	C(14)	1.523(5)
N(5)	C(6)	1.403(3)	C(10)	C(11)	1.374(4)
C(1)	C(2)	1.367(3)	C(14)	C(15)	1.330(6)
C(1)	C(13)	1.491(3)			

Ek Çizelge 5 A11 bileşiğine ait bağ açıları (°)

C(4)	N(1)	C(1)	117.1(2)	N(3)	C(5)	N(4)	126.7(2)
C(3)	N(2)	C(4)	117.2(2)	N(3)	C(5)	N(5)	118.9(2)
C(5)	N(3)	C(4)	123.35(19)	N(4)	C(5)	N(5)	114.4(2)
C(5)	N(5)	C(6)	128.9(2)	C(7)	C(6)	N(5)	117.0(2)
N(1)	C(1)	C(2)	121.4(2)	C(11)	C(6)	N(5)	125.2(2)
N(1)	C(1)	C(13)	116.2(2)	C(11)	C(6)	C(7)	117.8(2)
C(2)	C(1)	C(13)	122.4(2)	C(8)	C(7)	C(6)	120.9(3)
C(1)	C(2)	C(3)	118.4(2)	C(9)	C(8)	C(7)	121.8(3)
N(2)	C(3)	C(2)	121.1(2)	C(8)	C(9)	C(10)	116.9(3)
N(2)	C(3)	C(12)	116.4(2)	C(8)	C(9)	C(14)	120.6(3)
C(2)	C(3)	C(12)	122.4(2)	C(10)	C(9)	C(14)	122.5(4)
N(1)	C(4)	N(2)	124.8(2)	C(9)	C(10)	C(11)	122.2(3)
N(1)	C(4)	N(3)	122.9(2)	C(6)	C(11)	C(10)	120.4(3)
N(2)	C(4)	N(3)	112.37(19)	C(15)	C(14)	C(9)	121.7(4)

Ek Çizelge 6 A11 bileşiğine ait hidrojen bağ verileri

D	H	A	d(D-H)/Å	d(H-A)/Å	d(D-A)/Å	D-H-A/°
N(4)	H(4A)	N(1)	0.86	2.07	2.675(3)	127.3
N(4)	H(4B)	N(3) ¹	0.86	2.10	2.945(3)	167.7
N(5)	H(5)	N(2) ¹	0.86	2.20	3.053(3)	174.6

¹+X, 1/2-Y, 1/2+Z

Ek Çizelge 7 A07 bileşiğine ait bağ uzunlukları Å

Cl1	C4	1.727 (4)	N5	C3	1.415 (3)
N1	C1	1.316 (3)	C3	C4	1.371 (4)
N2	C1	1.338 (3)	C3	C8	1.395 (4)
N3	C1	1.336 (3)	C4	C5	1.388 (5)
N3	C2	1.326 (3)	C5	C6	1.364 (7)
N4	C2	1.330 (3)	C6	C7	1.342 (7)
N5	C2	1.344 (3)	C7	C8	1.376 (5)

Ek Çizelge 8 A07 bileşiğine ait bağ açıları (°)

C2	N3	C1	122.5 (2)	C4	C3	C8	118.8 (3)
C2	N5	C3	125.4 (2)	C8	C3	N5	118.3 (3)
N1	C1	N2	117.7 (2)	C3	C4	Cl1	120.1 (2)
N1	C1	N3	117.6 (2)	C3	C4	C5	119.9 (4)
N3	C1	N2	124.5 (2)	C5	C4	Cl1	120.0 (3)
N3	C2	N4	125.8 (2)	C6	C5	C4	120.3 (4)
N3	C2	N5	118.1 (2)	C7	C6	C5	120.2 (4)
N4	C2	N5	116.0 (2)	C6	C7	C8	120.9 (4)
C4	C3	N5	122.8 (3)	C7	C8	C3	119.9 (4)

Ek Çizelge 9 A07 bileşiğine ait hidrojen bağ verileri

N1	H1A	N3 ¹	0.86	2.13	2.987 (3)	173.3
N2	H2A	N4	0.86	2.28	2.928 (3)	131.8
N2	H2A	Cl2 ²	0.86	2.77	3.263 (2)	118.0
N2	H2B	Cl2 ³	0.86	2.62	3.260 (2)	131.7
N4	H4A	Cl2 ⁴	0.86	2.49	3.270 (2)	151.7
N4	H4B	Cl2	0.86	2.53	3.295 (2)	148.0
N5	H5	Cl2	0.86	2.36	3.176 (2)	159.0

¹1/2-x,3/2-y,1-z; ²1-x,y,1/2-z; ³x,y,1+z; ⁴x,2-y,1/2+z