

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**N-SÜBSTİTÜE AMİDİN GRUBU TAŞIYAN
BENZİMİDAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZ, YAPI
AYDINLATMALARI VE ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

Mehmet ALP

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hakan GÖKER

2007 - ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Kimya Doktora Programı

çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma, aşğıdaki jüri tarafından,
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 14 / 06 / 2007



Prof. Dr. Seçkin ÖZDEN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Fethi ŞAHİN
Gazi Üniversitesi



Prof. Dr. Erdem BÜYÜKBİNGÖL
Ankara Üniversitesi



Prof. Dr. Hakan GÖKER
Ankara Üniversitesi



Prof. Dr. Gülgün AYHAN KILCIGİL
Ankara Üniversitesi
Raportör

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller Dizini	ix
Şemalar Dizini	x
Tablolar Dizini	xi
Denklemler Dizini	xiii
Spektrumlar Dizini	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Önemli Parazitik Hastalıklar ve Günümüzde Tedavide Kullanılan Bileşikler	5
1.1.1. Sıtma ve Tedavisinde Kullanılan Bileşikler	5
1.1.2. Uyku Hastalığı ve Tedavisinde Kullanılan Bileşikler	9
1.1.3. Chagas Hastalığı ve Tedavisinde Kullanılan Bileşikler	11
1.1.4. Leishmaniasis ve Tedavisinde Kullanılan Bileşikler	11
1.2. Pentamidin Türevi Bileşikler ve Antiparazitik, Antimikrobiyal, Antifungal Etkileri	14
1.3. Benzimidazol ve Bis-benzimidazol Türevi Bileşiklerin Antiparazit ve Antimikrobiyal Etkileri	25
1.4. Amidin Grubu İçeren Benzimidazol ve Bis-benzimidazol Türevi Bileşiklerin Antiparazit ve Antimikrobiyal Etkileri	47
1.5. Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri	64
1.6. Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri	69
1.6.1. Açillenmiş o-nitroarilaminlerden hareketle	69
1.6.2. o-Fenilendiaminler ile karboksilik asitler, asit anhidritleri, esterler ya da amidlerden hareketle	70
1.6.3. o-Fenilendiamin ile nitrillerden hareketle	72
1.6.4. o-Fenilendiaminler ile iminoeterlerden hareketle	72
1.6.5. o-Fenilendiamin ile aldehit ya da ketonlardan hareketle	73
1.6.6. Diğer yöntemler	75

2. GEREÇ VE YÖNTEM	76
2.1. Tasarlanan Türevlerin Sentezi	76
2.1.1. Ticari Olmayan Başlangıç Maddelerinin Sentezi	76
2.1.2. Eter Yapısı Taşıyan Aldehit Türevi Bileşiklerin Sentezi	77
2.1.3. Aldehitlerin Na ₂ S ₂ O ₅ Katım Ürünlerinin Hazırlanması	77
2.1.4. Amidin Grubu İçeren Bis-benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi	78
2.2. Materyal ve Yöntem	79
2.2.1. Sentez Edilen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Uygulanan Yöntemler	79
2.2.1.1. Kromatografik Analizler	79
2.2.1.2. Erime Noktası Tayinleri	79
2.2.1.3. Elementel Analiz	79
2.2.1.4. Spektral Analizler	80
2.2.2. Sentez İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler	80
3. BULGULAR	81
3.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi	81
3.1.1. 4-Amino-3-nitrobenzamidin HCl (1)	81
3.1.2. 3,4-Diaminobenzamidin HCl (2)	81
3.1.3. 2-(3,4-Dinitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5-karboksamidin (3)	82
3.1.4. 2-(3,4-Diaminofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5-karboksamidin (4)	87
3.2. Eter Yapısı Taşıyan Aldehit Türevi Bileşiklerin Sentezi	89
3.2.1. 2-(4-Klorofenoksi) benzaldehit (5)	89
3.2.2. 5-Fluoro-2-(4-klorofenoksi) benzaldehit (6)	90
3.2.3. 4-(4-Klorofenoksi) benzaldehit (7)	91
3.2.4. 4-(3,4-Dimetoksifenoksi) benzaldehit (8)	92
3.3. Aldehitlerin Na ₂ S ₂ O ₅ Katım Ürünlerinin Hazırlanması	93
3.4. Amidin Grubu İçeren Bis-benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi	95
3.4.1. 2'-(2-Fluorofenil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (9)	95
3.4.2. 2'-(4-Fluorofenil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (10)	98
3.4.3. 2'-(3,4-Difluorofenil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (11)	100

3.4.4. 2'-(4- <i>tert</i> -Butilfenil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (12)	102
3.4.5. 2'-(3- <i>tert</i> -Butil-2-hidroksifenil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (13)	105
3.4.6. 2'-(2-Kloro-5-trifluorofenil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (14)	108
3.4.7. 2'-(3,5-(Bistrifluorometil)fenil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (15)	110
3.4.8. 2'-(3,5-Dimetoksifenil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (16)	112
3.4.9. 2'-(3,4-Dimetoksifenil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (17)	114
3.4.10. 2'-(4-(Benziloksi)fenil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (18)	116
3.4.11. 2'-[4-(Benziloksi)-3-metoksifenil]-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (19)	118
3.4.12. 2'-(3,4-Bis(benziloksi)fenil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (20)	121
3.4.13. 2'-[2-(4-Klorofenoksi)fenil]-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (21)	123
3.4.14. 2'-[2-(4-klorofenoksi)-5-fluorofenil]-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin (22)	126
3.4.15. 2'-[4-(4-Klorofenoksi)fenil]-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (23)	129
3.4.16. 2'-[4-(3,4-Dimetoksifenoksi)fenil]-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (24)	132
3.4.17. 2'-(1-Naftil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (25)	134
3.4.18. 2'-(2-Naftil)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (26)	137
3.5. Sentez Edilen Türevlerin Antiprotozoal Etkilerinin Saptanması	139
3.5.1. Antiprotozoal ve Sitotoksik Aktivite Çalışmaları	139
3.5.1.1. <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> 'ye Karşı <i>in vitro</i> Antitripanosidal Aktivite ve L6 Hücrelerine Olan <i>in vitro</i> Sitotoksikite Tayini	140

3.5.1.2. <i>Trypanosoma cruzi</i> 'ye Karşı <i>in vitro</i> Antitripanosidal Aktivite Tayini.....	140
3.5.1.3. <i>Leishmania donovani</i> 'ye Karşı <i>in vitro</i> Antileishmanial Aktivite Tayini...	141
3.5.1.4. <i>Plasmodium falciparum</i> 'a Karşı <i>in vitro</i> Antiplasmodial Aktivite Tayini..	141
3.5.2. Sentez Edilen Türevlerin <i>Candida albicans</i> ve <i>Candida krusei</i> 'ye Olan Antifungal Etkilerinin Saptanması	144
3.6. Sentezlenen Türevlerin Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkileri	146
4. TARTIŞMA	154
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	156
ÖZET.....	159
SUMMARY.....	161
KAYNAKLAR.....	163
ÖZGEÇMİŞ.....	179

ÖNSÖZ

Doktora tezimin hazırlanması ve çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan, sorunlarımla yakından ilgilenen, her zaman, her konuda destek ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hakan GÖKER'e tüm içtenliğimle teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Doktora tez çalışmalarım sırasında her zaman, her konuda destek ve yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Seçkin ÖZDEN'e ve Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Doğu NEBİOĞLU'na teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm Doç. Dr. Canan KUŞ'a,

Her zaman bilgi ve deneyimleriyle yardımcı olan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve çalışmalarım sırasında yanımda olan araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Mikrobiyolojik etki çalışmalarını yapan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Sulhiye YILDIZ'a,

Antiprotozoal etki çalışmalarının yapılmasına olanak sağlayan İsviçre Tropikal Enstitüsü'nden Sayın Prof. Dr. Reto BRUN'a,

Çalışmalarım sırasında her zaman yanımda olan, olumsuzlukların ve zorlukların üstesinden gelebilmemde bana güç veren ve hayata gülen bir yüzle bakmamı sağlayan Uzm. Ecz. Selen GÜRKAN'a

Büyük fedakarlıklar göstererek bugünlere gelmemi sağlayan, sevgi ve desteğini hiç bir zaman eksik etmeyen aileme,

İçtenlikle teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

FONO₂ = 5-fluoro-2-(5'-nitro-2'-furyl) benzimidazol

MİK = Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

MRCNS = Metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokok

MRSA = Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

PCP = *Pneumocystis carinii*'nin neden olduğu pnömoni

QSAR = Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkileri

RP-HPLC = Ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 : Pibenzimol bileşiğinin d(CTTTTGCAAAAG) ₂ ile 2:1 oranında yaptığı kompleksin diyagramik gösterimi ve baz çiftleri ile arasındaki hidrojen bağlarının şematik gösterimi	61
---	----

ŞEMALAR DİZİNİ

Şema 1 : Pafuramidinin metabolizması	24
Şema 2 : Ariliden-2-aminobenzimidazol türevlerinin merkaptasetik asit, kloroasetil klorür ve ftaloil glisil klorür ile siklocondensasyonu	28
Şema 3 : DIBIZ ve Pibenzimol bileşikleri ile d(CGCGAATTCGCG) ₂ arasında oluşan hidrojen bağlarının şematik gösterimi	62
Şema 4: Başlangıç Maddelerinin Sentezi	76
Şema 5 : Eter Yapısı Taşıyan Aldehit Türevi Bileşiklerin Sentezi	77
Şema 6 : Aldehitlerin Na ₂ S ₂ O ₅ Katım Ürünlerinin Hazırlanması	77
Şema 7 : Amidin Grubu İçeren Bis-benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi	78

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1 : Sentezlenmesi planlanan bileşiklerin genel kimyasal formülleri.....	4
Tablo 2 : Pentamidin türevi bileşiklerin <i>in vivo</i> PCP'ye ve <i>in vitro</i> <i>C. albicans</i> ve <i>C. neoformans</i> 'a olan antifungal etkileri	16
Tablo 3 : Furamidin bileşiğinin bis-amidoksim ve bis-O-alkilamidoksim türevlerinin <i>in vitro</i> ve <i>in vivo</i> <i>T. b. rhodesiense</i> 'ye olan antiparazitik etkileri	23
Tablo 4 : Amidin grubu taşıyan bis-benzimidazol türevi bazı bileşiklerin çeşitli mikroorganizmalara olan etkileri	48
Tablo 5 : 5-Amidino-2-benzimidazolil grubunun, furan, pirol, N-metilpirol ve tiyofen'in 2. ve 5. konumlarına bağlandığı türevlerin <i>Candida albicans</i> A39 ve <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> H99'a olan etkileri	50
Tablo 6 : Furan halkasının 2. konumunda 5-(N-sübstitüeamidino) benzimidazol-2-il, 5. konumunda ise 4-(N-sübstitüeamidino) fenil içeren türevlerin <i>C. albicans</i> A39 ve <i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> H99'a olan etkileri	51
Tablo 7 : Dikasyonik bifenil benzimidazol türevi bazı bileşiklerin <i>Plasmodium falciparum</i> K1'e olan <i>in vitro</i> , <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> STIB900'e olan <i>in vitro</i> ve <i>in vivo</i> etkileri	54
Tablo 8 : Dikasyonik doğrusala yakın bifenil benzimidazol türevi bazı bileşiklerin, <i>P. falciparum</i> K1'e olan <i>in vitro</i> , <i>T. b. rhodesiense</i> STIB900'e olan <i>in vitro</i> ve <i>in vivo</i> etkileri	55
Tablo 9 : Monokasyonik ve dikasyonik benzimidazol türevi bazı bileşiklerin <i>C. albicans</i> A39 ve <i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> H99'a olan <i>in vitro</i> antifungal aktiviteleri	59
Tablo 10 : Kullanılan aldehit, Na ₂ S ₂ O ₅ ve çözüldükleri solvan miktarları	93
Tablo 11 : Kullanılan benzaldehit türevi bileşiklerin ve Na ₂ S ₂ O ₅ katım ürünlerinin miktarı ve % verimleri	94
Tablo 12 : Kullanılan naftaldehit türevi bileşiklerin ve Na ₂ S ₂ O ₅ katım ürünlerinin miktarı ve % verimleri	95
Tablo 13 : Sentezlenen bileşiklerin 4.85 µM ve 0.81 µM konsantrasyondaki % inhibisyon olarak antiprotozoal etkileri	142

Tablo 14 : Aktivite kriterini sağlayan bileşiklerin IC_{50} ($\mu g/ml$) değerleri ve tüm bileşiklerin L6 hücrelerine olan sitotoksik etki IC_{50} ($\mu g/ml$) değerleri	143
Tablo 15 : Sentezi yapılan bileşiklerin <i>C. albicans</i> ve <i>C. krusei</i> 'ye olan antifungal aktivite sonuçları (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları).....	145
Tablo 16 : Sentezlenen bileşiklerin farklı metanol : su fraksiyonlarındaki isokratik log k' değerleri	148
Tablo 17 : Sentezlenen bileşiklerin log k' değerleri ile metanol : su volüm fraksiyonu arasındaki ilişkinin regresyon analizi sonuçları	149
Tablo 18 : Sentezlenen bileşiklerin Log 1/C olarak hesaplanan antiprotozoal ve antifungal aktivite değerleri	149

DENKLEMLER DİZİNİ

Denklem 1 : 3-Nitro-4-asetamido benzoik asit ve 4-nitro-3-asetamido benzoik asitin redüksiyonu ile tek ve aynı benzimidazolün elde edilmesi	66
Denklem 2 : Benzimidazolün tautomerizmi	66
Denklem 3 : 5-Metilbenzimidazol ve tautomerik formu 6-metilbenzimidazol	67
Denklem 4 : 2-Kloro-4-metoksibenzimidazolün imino hidrojeninin süstitüsüyonu .	68
Denklem 5 : 2,4,6-Trifenilpiridinyum benzimidazolat ile metiliyodürden hareketle elde edilen 6-metoksi ve 5-metoksi izomer karışımı	68
Denklem 6 : 2-Nitro-4-metil asetanilidin redüksiyonu sonucunda gerçekleştirilen ilk benzimidazol sentezi	69
Denklem 7: 1,2-Dinitro-3,4,5,6-tetrametilbenzenin 2,4,5,6,7-pentametil benzi- midazole redüksiyonu	70
Denklem 8 : <i>o</i> -Fenilendiamin türevlerinden Phillips yöntemi ile benzimidazol elde edilişi	70
Denklem 9 : İki mol <i>o</i> -fenilendiamineden hareketle bis-benzimidazol elde edilişi	71
Denklem 10 : <i>o</i> -Fenilendiamin türevleri ve karboksilik asitlerden PPA varlığında benzimidazol türevi bileşiklerin elde edilişi	71
Denklem 11 : <i>o</i> -Fenilendiamin türevleri ve karboksilik asitlerden PPA varlığında bis- benzimidazol türevi bileşiklerin elde edilişi	71
Denklem 12 : <i>o</i> -Fenilendiamin ile nitrillerden hareketle, alkil/arilsüstitüe benzimidazol yapısının elde edilmesi	72
Denklem 13 : <i>o</i> -Fenilendiamin ile iminoeter türevlerinden hareketle, 2-benzil benzimidazollerin elde edilişi	72
Denklem 14 : 3,4-diamino benzamidin ile çeşitli imidat esterlerinden hareketle, 2-5'- bis-benzimidazol türevi bileşiklerin elde edilişi	72
Denklem 15 : Bir mol <i>o</i> -fenilendiamin ile iki mol aldehit türevinden hareketle, 1-benzil–2-fenilbenzimidazol elde edilişi	73
Denklem 16 : <i>o</i> -Fenilendiamin ve aldehit türevlerinden hareketle, nitrobenzen varlığında benzimidazol türevi bileşiklerin elde edilmesi	73

Denklem 17 : Nitrobenzen varlığında bis-benzimidazol ve terbenzimidazol türevi bileşiklerin sentezi	73
Denklem 18 : <i>o</i> -Fenilendiamin ile aldehitlerin sodyumbisülfid katım ürünlerinin reaksiyonu ile 2-arilbenzimidazol türevi bileşiklerin elde edilişi	74
Denklem 19 : 3,4-Diaminobenzoik asit ile 2-(4-metoksifenil) benzimidazol-5-karboksaldehitten hareketle, sodyum piro sülfid varlığında bir bis-benzimidazol türevinin elde edilişi	74
Denklem 20 : <i>o</i> -fenilendiamin türevleri ve çeşitli aldehitlerin In-(OTf) ₃ katalizörlüğünde reaksiyonu ile 2-süstitübenzimidazol türevi bileşiklerin elde edilişi	74
Denklem 21 : <i>o</i> -Fenilendiaminin ketonlarla reaksiyonu ile ısı varlığında 2-süstitübenzimidazol türevlerinin elde edilişi	75
Denklem 22 : <i>o</i> -Fenilendiaminler ile 2-metiltiyopsödoüre sülfat ve metilkloroformattan hareketle, bazık ortamda 1 <i>H</i> -benzimidazol-2-karbamat türevlerinin elde edilmesi	75
Denklem 23 : 3,4-Diaminobenzofenon ile siyanojenbromürden hareketle, sulu ortamda 2-amino-5(6)-benzoil-1 <i>H</i> -benzimidazol elde edilişi	75
Denklem 24 : Kapasite faktörü (<i>k'</i>)	147
Denklem 25 : Çözünürlük parametre değerlerine göre stasyoner faz ile mobil fazın volumetrik oranları arasındaki ilişki	147
Denklem 26 : <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> STIB 900 için hesaplanan log <i>k_w</i> değerleri ile biyolojik etki arasındaki ilişki	150
Denklem 27 : <i>Plasmodium falciparum</i> K1 için hesaplanan log <i>k_w</i> değerleri ile biyolojik etki arasındaki ilişki	150
Denklem 28 : <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 için hesaplanan log <i>k_w</i> değerleri ile biyolojik etki arasındaki ilişki	150
Denklem 29 : <i>Candida krusei</i> ATCC 6258 için hesaplanan log <i>k_w</i> değerleri ile biyolojik etki arasındaki ilişki	151
Denklem 30 : <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> STIB 900 için hesaplanan Log <i>P</i> değerleri ile biyolojik etki arasındaki ilişki	151

Denklem 31 : <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> STIB 900 için hesaplanan Log <i>P</i> değerleri ile biyolojik etki arasındaki 16 ve 24 numaralı bileşikler çıkarıldığında elde edilen ilişki	152
Denklem 32 : <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> STIB 900 için hesaplanan Log <i>P</i> değerleri ile biyolojik etki arasındaki 11,16 ve 24 numaralı bileşikler çıkarıldığında elde edilen ilişki	152
Denklem 33 : <i>Plasmodium falciparum</i> K1 için hesaplanan Log <i>P</i> değerleri ile biyolojik etki arasındaki ilişki	152
Denklem 34 : <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 için hesaplanan Log <i>P</i> değerleri ile biyolojik etki arasındaki ilişki	153
Denklem 35 : <i>Candida krusei</i> ATTC 6258 için hesaplanan Log <i>P</i> değerleri ile biyolojik etki arasındaki ilişki	153

SPEKTRUMLAR DİZİNİ

Spektrum 1 : Bileşik 3'ün kütle spektrumu	82
Spektrum 2 : Bileşik 3'ün ¹ H-NMR spektrumu	83
Spektrum 3 : Bileşik 3'ün gCOSY spektrumu	84
Spektrum 4. Bileşik 3'ün gHSQC spektrumu	85
Spektrum 5. Bileşik 3'ün IR spektrumu	86
Spektrum 6 : Bileşik 4'ün kütle spektrumu	87
Spektrum 7 : Bileşik 4'ün ¹ H-NMR spektrumu	88
Spektrum 8 : Bileşik 4'ün IR spektrumu	88
Spektrum 9 : Bileşik 5'in ¹ H-NMR spektrumu	89
Spektrum 10 : Bileşik 6'nın ¹ H-NMR spektrumu	90
Spektrum 11 : Bileşik 7'nin ¹ H-NMR spektrumu	91
Spektrum 12 : Bileşik 8'in kütle spektrumu	92
Spektrum 13 : Bileşik 8'in ¹ H-NMR spektrumu	93
Spektrum 14 : Bileşik 9'un kütle spektrumu	96
Spektrum 15 : Bileşik 9'un ¹ H-NMR spektrumu	97
Spektrum 16 : Bileşik 9'un IR spektrumu	97
Spektrum 17 : Bileşik 10'un kütle spektrumu	98
Spektrum 18 : Bileşik 10'un ¹ H-NMR spektrumu	99
Spektrum 19 : Bileşik 10'un IR spektrumu	99
Spektrum 20 : Bileşik 11'in kütle spektrumu	100
Spektrum 21 : Bileşik 11'in ¹ H-NMR spektrumu	101
Spektrum 22 : Bileşik 11'in IR spektrumu	101
Spektrum 23 : Bileşik 12'nin kütle spektrumu	102
Spektrum 24 : Bileşik 12'nin ¹ H-NMR spektrumu	103
Spektrum 25 : Bileşik 12'nin IR spektrumu	104
Spektrum 26 : Bileşik 13'ün kütle spektrumu	105
Spektrum 27 : Bileşik 13'ün ¹ H-NMR spektrumu	106
Spektrum 28 : Bileşik 13'ün IR spektrumu	107
Spektrum 29 : Bileşik 14'ün kütle spektrumu	108

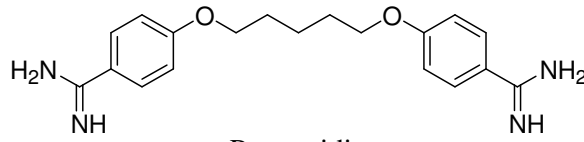
Spektrum 30 : Bileşik 14'ün ^1H -NMR spektrumu	109
Spektrum 31 : Bileşik 14'ün IR spektrumu	109
Spektrum 32 : Bileşik 15'in kütle spektrumu	110
Spektrum 33 : Bileşik 15'in ^1H -NMR spektrumu	111
Spektrum 34 : Bileşik 15'in IR spektrumu	111
Spektrum 35 : Bileşik 16'nın kütle spektrumu	112
Spektrum 36 : Bileşik 16'nın ^1H -NMR spektrumu	113
Spektrum 37 : Bileşik 16'nın IR spektrumu	113
Spektrum 38 : Bileşik 17'nin kütle spektrumu	114
Spektrum 39 : Bileşik 17'nin ^1H -NMR spektrumu	115
Spektrum 40 : Bileşik 17'nin IR spektrumu	115
Spektrum 41 : Bileşik 18'in kütle spektrumu	116
Spektrum 42 : Bileşik 18'in ^1H -NMR spektrumu	117
Spektrum 43 : Bileşik 18'in IR spektrumu	117
Spektrum 44 : Bileşik 19'un kütle spektrumu	118
Spektrum 45 : Bileşik 19'un ^1H -NMR spektrumu	119
Spektrum 46 : Bileşik 19'un IR spektrumu	120
Spektrum 47 : Bileşik 20'nin kütle spektrumu	121
Spektrum 48 : Bileşik 20'nin ^1H -NMR spektrumu	122
Spektrum 49 : Bileşik 20'nin IR spektrumu	122
Spektrum 50 : Bileşik 21'in kütle spektrumu	123
Spektrum 51 : Bileşik 21'in ^1H -NMR spektrumu	124
Spektrum 52 : Bileşik 21'in IR spektrumu.....	125
Spektrum 53 : Bileşik 22'nin kütle spektrumu	126
Spektrum 54 : Bileşik 22'nin ^1H -NMR spektrumu	127
Spektrum 55 : Bileşik 22'nin IR spektrumu	128
Spektrum 56 : Bileşik 23'ün kütle spektrumu	129
Spektrum 57 : Bileşik 23'ün ^1H -NMR spektrumu	130
Spektrum 58 : Bileşik 23'ün IR spektrumu	131
Spektrum 59 : Bileşik 24'ün kütle spektrumu	132
Spektrum 60 : Bileşik 24'ün ^1H -NMR spektrumu	133
Spektrum 61 : Bileşik 24'ün IR spektrumu	133

Spektrum 62 : Bileşik 25'in kütle spektrumu	134
Spektrum 63 : Bileşik 25'in ^1H -NMR spektrumu	135
Spektrum 64 : Bileşik 25'in IR spektrumu	136
Spektrum 65 : Bileşik 26'nın kütle spektrumu	137
Spektrum 66 : Bileşik 26'nın ^1H -NMR spektrumu	138
Spektrum 67 : Bileşik 26'nın IR spektrumu	138

1. GİRİŞ

Protozoal parazitik hastalıklar, insanlık tarihinde yüzyıllar boyunca felaketlere neden olmuştur. Günümüzde de özellikle tropikal ve subtropikal bölgeler başta olmak üzere geri kalmış ülkelerde protozal hastalıklar önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (Stephens ve ark., 2003). Bu hastalıklar içerisinde sıtma (malarya), uyku hastalığı (Afrika tripanosomiazisi, HAT), Chagas hastalığı (Amerika tripanosomiazisi) ve Kala azar (Visseral leishmaniasis) önemli bir yer tutmaktadır.

Aromatik diamidin türevi olan Pentamidin (Formül 1) klinikte uyku hastalığı (Apted, 1980), antimon dirençli leishmaniasis (Breyceson ve ark., 1985) ve AIDS sonrası ortaya çıkan fırsatçı enfeksiyonların en yaygını olan *Pneumocystis carinii*'nin neden olduğu pnömoni (PCP) tedavisinde (Ivady ve Paldy, 1958) kullanılmaktadır. Pentamidin'in tedavide kullanılışı nefrotoksisite, karaciğer fonksiyonlarında bozulma, hipotansiyon (Waltzer ve ark., 1974), hipoglisemi (Murdoch ve Keystone, 1983) gibi toksik ve yan etkiler nedeniyle kısıtlanmaktadır. Pentamidin ve türevlerinin etki mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte, bulgular antimikrobiyal aktivite ile DNA minör kaviteye bağlanma özellikleri arasında bir ilişki olabileceğine işaret etmektedir (Tidwell ve ark.,1993).

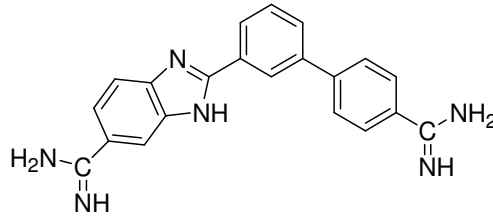


Pentamidin

Formül 1

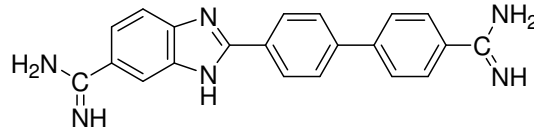
Pentamidin ve türevleri üzerinde yapılan bir araştırmada, bu bileşiklerin *Plasmodium falciparum* W2 ve *Plasmodium falciparum* D6'ya olan *in vitro* antiprotozoal aktiviteleri araştırılmıştır ve çeşitli düzeylerde antimalaryal etkinlik gösterdikleri bildirilmiştir (Bell ve ark., 1990).

Dikatyonik bifenil benzimidazol türevi bileşikler üzerinde yapılan bir çalışmada, DB911 (Formül 2)'in *in vitro* antimalaryal aktivitesinin yüksek olduğu (*Plasmodium falciparum* K1 için $IC_{50} = 27.5nM$) ayrıca uyku hastalığının etkenlerinden biri olan *Trypanosoma brucei rhodesiense* STIB900'a karşı hem *in vitro* ($IC_{50} = 4.4nM$) hem de *in vivo* olarak güçlü aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bileşiklerin DNA'ya [poly(dA.dT)₂] bağlanma afiniteleri ile antiparazitik etki arasında doğrudan bir korelasyon olmamasına rağmen, DNA'ya bağlanma afinitesi yüksek olan bileşikler iyi antiprotozoal aktivite göstermektedir (İsmail ve ark., 2004).



Formül 2

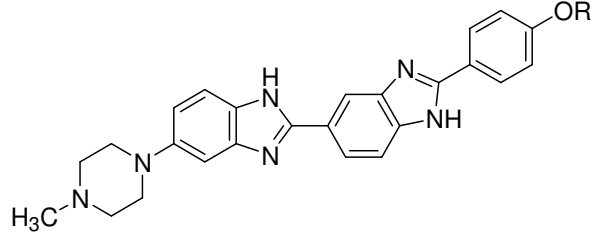
Dikatyonik doğrusala yakın bifenil benzimidazol türevleri üzerinde yapılan bir çalışmada, DB921 (Formül 3) bileşiğinin çok güçlü *in vitro* antimalaryal etki gösterdiği (*P. falciparum* K1 için $IC_{50} = 0.5nM$), antitripanosomal aktivitesinin *in vitro* olarak iyi (*T. b. rhodesiense* STIB900 için $IC_{50} = 10.6nM$) olmasına karşın, *in vivo* fare modelinde düşük aktivite gösterdiği bildirilmektedir (İsmail ve ark., 2005).



Formül 3

Bis-benzimidazol türevi olan Hoechst 33258 (Pibenzimol, NSC-322921) ve Hoechst 33342 (Formül 4) DNA minör kavitedeki AT baz çiftine spesifik olarak bağlanmakta ve Topoizomeraz I inhibisyonu yapan bileşikler olarak bilinmektedir (Kim ve ark., 1996). Pibenzimol bileşiğinin antitümör aktivitesi tekrarlanan dozlarda *in vivo* olarak L1210 lösemisine karşı orta düzeyde iken, P388 lösemisine karşı *in vivo* tek-doz protokolüne göre etkili değildir (Gravatt ve ark., 1994). Hoechst 33258'deki -OH grubu yerine -OCH₂CH₃ (Hoechst 33342) veya -OPh (Hoechst

33377) bulunan türevlerde, sitotoksik etkiye artış görülmektedir (Baraldi ve ark., 2004). Hoechst 33258 bileşiğindeki N-metil piperazin halkası yerine amidin, imidazolin ya da tetrahidropiridin getirildiğinde DNA'daki AT baz çiftine olan bağlanma afinitesi artmaktadır (Czarny ve ark., 1995).



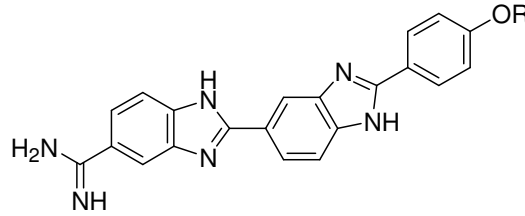
R = H, Hoechst 33258 (Pibenzimol)

R = CH₂CH₃, Hoechst 33342

R = Ph, Hoechst 33377

Formül 4

Yine; Hoechst 33258 ve Hoechst 33342 bileşiklerindeki N-metil piperazin yerine amidin grubu içeren türevlerin (Formül 5) *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans* karşı güçlü antifungal aktivite gösterdikleri bildirilmektedir (Del Poeta ve ark., 1998).



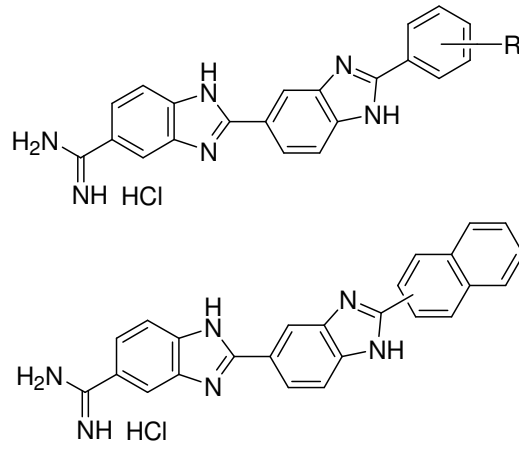
R = H

R = CH₂CH₃

Formül 5

Bu doktora tezi çalışmasında, benzer kimyasal yapıdaki Hoechst 33258 ve türevlerinin DNA bağlanma afinitelerinin yüksek olması ve dikatyonik benzimidazol türevi bileşiklerin güçlü antiplasmodial ve antitripanosomal aktivite göstermesi, monokatyonik bis-benzimidazol türevi bileşiklerin (Formül 5) *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı güçlü antifungal aktivite göstermesi göz önünde bulundurularak, amidin grubu içeren bir seri yeni monokatyonik bis-benzimidazol

türevi bileşiğin (Tablo 1) sentezlenmesi, yapılarının aydınlatılması, *Plasmodium falciparum* K1, *Trypanosoma brucei rhodesiense* STIB900, *Trypanosoma cruzi* ve *Leishmania donovani*'ye olan *in vitro* antiparazitik etkileri, *Candida albicans* ve *Candida krusei*'ye olan *in vitro* antifungal etkileri ve memeli (sıçan miyoblast, L6) hücrelerine olan sitotoksisitesinin saptanması amaçlanmıştır. Bu çalışma ile elde edilen en aktif ve sitotoksitesi düşük olan türevlerin, daha sonra *in vivo* aktivite çalışmalarının yapılması planlanmıştır.



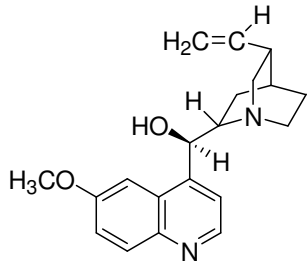
Tablo 1. Sentezlenmesi planlanan bileşiklerin genel kimyasal formülleri.

1.1. Önemli Parazitik Hastalıklar ve Günümüzde Tedavide Kullanılan Bileşikler

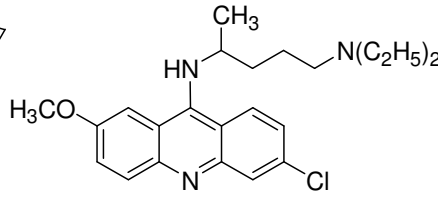
1.1.1. Sıtma ve Tedavisinde Kullanılan Bileşikler

Sıtma (malarya), dünyadaki en önemli tropikal parazitik hastalıktır. Yılda yaklaşık 300-500 milyon kişide bu hastalık ortaya çıkmaktadır ve 1-2 milyon kişi hayatını kaybetmektedir (Berger ve ark., 2006). İnsanlarda hastalık oluşumuna neden olan dört farklı *Plasmodium* türü parazit bulunmaktadır. Bu parazitler *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malaria* ve *Plasmodium ovale*'dir. *Plasmodium falciparum* sub-Sahra Afrika ve Doğu Asya ülkelerinde, *Plasmodium vivax* ise Hindistan'da daha yaygın olarak görülmekte olup, bu iki parazit dünyadaki sıtma vakalarının %95'inden daha fazlasından sorumludur. Sıtma hastalığı tropik bölgelerde ideal çoğalma ve yaşam koşullarına sahip olan *Anofel* türü sivrisinekler aracılığıyla yayılmaktadır. (Vangapandu ve ark., 2007).

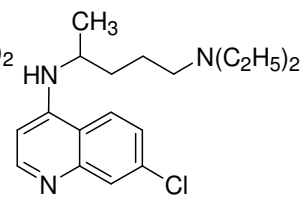
Kınakına bitkisinin kabuklarından elde edilen ekstraler 17. yüzyıldan itibaren sıtma tedavisinde kullanılmaktadır. Bu bitki ekstresinde bulunan Kinin (Formül 6), 1820'li yılların ortalarına doğru izole edilmiş ve günümüze kadar milyonlarca sıtma vakasında kullanılmıştır. Kinin, son yıllarda Klorokin (Formül 8)'e dirençli *Plasmodium falciparum*'un neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde tercih edilmektedir.



Kinin
Formül 6



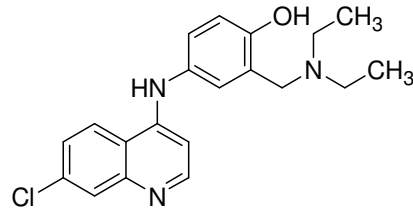
Kinakrin (Mepakrin)
Formül 7



Klorokin
Formül 8

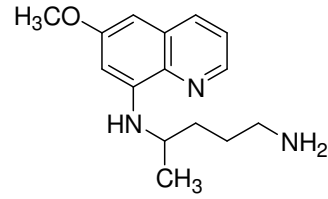
9-Aminoakridin türevi olan Kinakrin (Formül 7), 1934 yılında sentezlenmiş ve düşük antimalaryal etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir. II. Dünya savaşının başlamasıyla Doğu Hindistan'dan kınakına kabuğu temininde güçlüklerin yaşanması,

Kinine alternatif olabilecek Kinakrinden daha etkili sentetik bileşiklerin bulunması ihtiyacını artırmış ve yüzlerce bileşik sentezlenerek aktiviteleri değerlendirilmiştir (Lemke, 2002). 4-Aminokinolin türevi bir bileşik olan Klorokin, 1943 yılında Almanya'da geliştirilerek, tüm dünyada sıtmaya karşı tedavi ve profilaksi sağlamak amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (Baird, 2005). Amodiyakin (Formül 9), Klorokin'den daha aktif bir bileşik olmasına rağmen, malarya tedavisinde geniş bir kullanım alanına sahip değildir. (Castell, 2003).



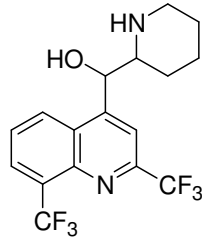
Amodiyakin

Formül 9



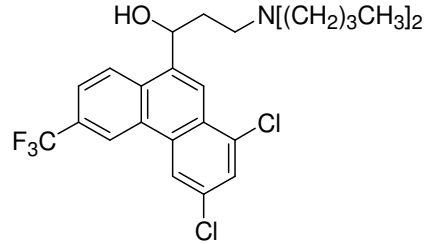
Primakin

Formül 10



Meflokin

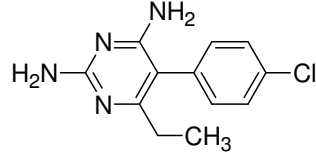
Formül 11



Halofantrin

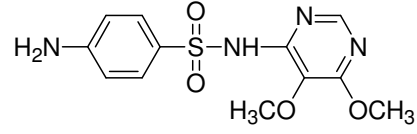
Formül 12

II. Dünya Savaşı sırasında geliştirilen ve günümüzde de sıtma tedavisinde doku fazı şizontosit evresinde kullanılan tek bileşik olan Primakin (Formül 10) (Baird, 2005), Kinin ve Kinakrinde bulunan metoksikinolin çekirdeğini içermektedir. 1960'lı yıllarda geliştirilen (Block, 2004) ve 1980'li yıllarda tedavide kullanılmaya başlanılan (Baird, 2005) Meflokin (Formül 11)'in kimyasal yapısı Kinin bileşiğinin 4-kinolinometanol kısmına benzemektedir. Halofantrin (Formül 12) 1988 yılında tedaviye giren 9-fenantrenometanol sınıfı bir bileşiktir (Castell, 2003).



Pirimetamin

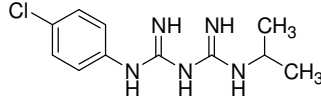
Formül 13



Sülfadoksin

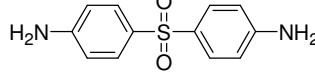
Formül 14

1950'li yıllarda geliştirilen Pirimetamin (Formül 13) güçlü bir dihidrofolat redüktaz inhibitörüdür. Pirimetamin-Sülfadoksin (Formül 14) kombinasyonu, Klorokine dirençli *P. falciparum* enfeksiyonlarının tedavi ve profilaksisinde kullanılmaktadır (Block, 2004).



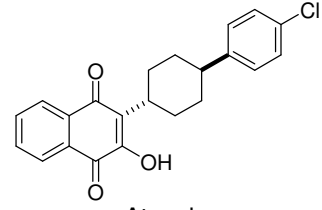
Proguanil

Formül 15



Dapson

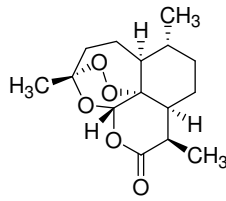
Formül 16



Atovakuon

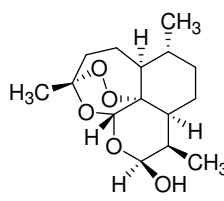
Formül 17

Proguanil (Formül 15) - Dapson (Formül 16) kombinasyonu, Klorokine dirençli *P. falciparum* enfeksiyonlarının neden olduğu sıtmanın profilaksisinde yirmi yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Proguanil-Atovakuon (Formül 17) kombinasyonu da tedavide kullanılmaktadır ve Meflokin, Amodiyakin, Klorokin ve Peimetamin-Sülfadoksin'e göre daha etkin olduğu belirtilmektedir. Ancak maliyeti yüksektir (Castell, 2003; Baird, 2005).



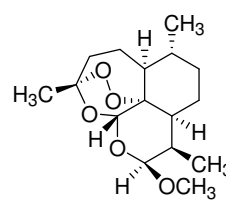
Artemisinin

Formül 18



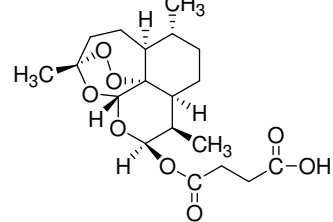
Dihidroartemisinin

Formül 19



Artemeter

Formül 20

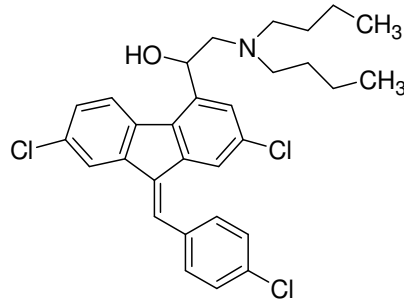


Artesunat

Formül 21

Artemisininler, sıtma tedavisinde kullanılan en yeni bileşik sınıfıdır. Artemisinin (Formül 18), *Artemisia annua* bitkisinden izole edilen doğal bir

bileşiktir. Bu bitki, Çinli herbalistler tarafından M.Ö. 168 yılından beri kullanılmaktadır (Lemke, 2002). Artemisinin tedavide tek başına kullanıldığı gibi, Meflokin ile kombine edildiğindeki etkinliği araştırılmaktadır. Artemisinin türevleri, organizmada Dihidroartemisininine (Formül 19) metabolize edilir. Dihidroartemisinin, *in vitro* ve *in vivo* olarak Artemisinin ve Artesunatdan, *in vitro* olarak da Meflokin ve Halofantrinden daha aktif bir bileşiktir. Ancak tedavide kullanımı, düşük çözünürlüğü ve kararsız oluşu sebebiyle sınırlanmaktadır (Castell, 2003). Artemisinin türevi bileşiklerden olan Artesunat (Formül 21), Meflokin ile kombine halde, Artemeter (Formül 20) ise Lumefantrin (Formül 22) ile kombine halde sıtma tedavisinde kullanılmaktadır (Baird, 2005).



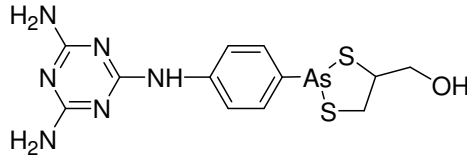
Lumefantrin

Formül 22

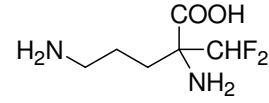
Sıtma tedavisinde en yaygın olarak kullanılan ilaçlar, Klorokin ve Sülfadoksin-Pirimetamin'dir. Günümüzde Orta Amerika ve Güneydoğu Asya'nın bazı bölgeleri dışında, *P. falciparum*'un Klorokine karşı direnç kazındığı ve tedavideki başarısızlık oranının yükseldiği bildirilmektedir. Sülfadoksin-Pirimetamin kombinasyonu, Klorokine dirençli *P. falciparum*'un neden olduğu sıtma vakalarının tedavisinde kullanılmaktadır. Güneybatı Asya ve Kuzeydoğu Afrika'da bu ilaç kombinasyonu iyi etkinlikte iken, Güneydoğu Asya ve sub-Sahra Afrikada etkinliği düşüktür. Kinin ve Meflokin, Tayland kıyılarındaki bazı bölgeler dışında tedavi edici etkinliklerini korumaktadır (Baird, 2005).

Dünyanın çeşitli bölgelerinde farklılık göstermekle beraber, Artemisinin türevi bileşikler dışındaki bütün antimalaryal ilaçlara karşı direnç gelişimi görülmektedir. Artemisininler, çoklu direnç gelişimi olan hastaların tedavisinde

Hastalığın ilk evresinin tedavisinde kullanılan ilaçlar, 1920'li yıllarda tedaviye giren Suramin (Formül 23) ve 1940'lı yıllarda kullanılmaya başlanan Pentamidin (Formül 1)'dir. Suramin suda iyi çözünmekte olup, i.v. yolla uygulanmaktadır. Bulantı, kusma, şok, böbrek hasarı, agranülositoz, hemolitik anemi, sarılık, ciddi diyare gibi ölümle sonuçlanabilen yan etkiler ortaya çıkabilmektedir. Pentamidin ise erken safhadaki *T. b. gambiense* enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilmektedir. *T. b. rhodesiense* enfeksiyonlarının tedavisinde, yalnızca Suramin'in kontraendike olduğu durumlarda kullanılmaktadır. Pentamidin'in etkinliği, kan-beyin bariyerini geçemediği için erken safha ile sınırlıdır. i.v. uygulamayı takiben ciddi hipotansiyon oluşumu görülebileceğinden, i.v. yerine i.m. yolla uygulama tercih edilmektedir. Pentamidin'in karaciğer, böbrek ve pankreasta hasar oluşumu gibi önemli yan etkileri ortaya çıkabilmektedir. Pankreasın hasara uğraması ile diyabet hastalığı meydana gelebilmektedir.



Melarsoprol
Formül 24

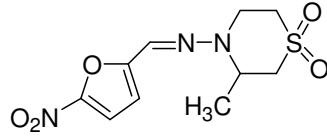


Eflornitin
Formül 25

Melarsoprol (Formül 24), 1949'da *T. b. rhodesiense* veya *T. b. gambiense*'nin neden olduğu uyku hastalığının ikinci evresinde kullanılmaya başlanmıştır. Sudaki çözünürlüğü düşük olduğu için, propilen glikol ile çözülerek i.v. yolla uygulanmaktadır. Propilen glikol dokular üzerinde yüksek iritan etki yapmaktadır. Melarsoprol uygulanan kişilerin %5-10'unda ciddi ensefalopati ortaya çıkmakta ve bu hastaların yaklaşık olarak yarısı hayatını kaybetmektedir. Diğer önemli yan etkiler ise kusma, abdominal kolit, periferik nöropati ve tromboflebit sayılabilir. Eflornitin (Formül 25), 1977 yılında sentezlenmiştir ve *T. b. gambiense*'nin neden olduğu uyku hastalığının ikinci evresinde kullanılması tercih edilmektedir. *T. b. rhodesiense* enfeksiyonlarında etkisiz olan bu ilaç, yüksek maliyeti ve uygulama zorluğu nedeniyle ideallikten uzaktır (Fairlamb, 2003).

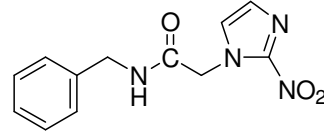
1.1.3. Chagas Hastalığı ve Tedavisinde Kullanılan Bileşikler

Chagas (Amerika tripanosomiazisi) hastalığı, Orta ve Güney Amerika’da yaygın olarak görülmektedir ve *Triatoma* türü böcekler aracılığıyla yayılmaktadır (Schofield ve ark., 2006). Tahminen 90 milyon insan risk altındadır. Yaklaşık olarak 16-18 milyon kişide bu hastalık mevcut iken, yılda 500.000 yeni vakanın görüldüğü ve 50.000 kişinin hayatını kaybettiği bildirilmektedir (Stephens ve ark., 2003).



Nifurtimoks

Formül 26



Benznidazol

Formül 27

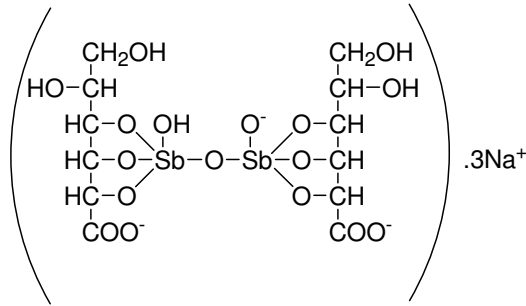
Chagas hastalığının etkeni olan *Trypanosoma cruzi*’ye karşı kullanılan ilaçlar, sırasıyla 1970 ve 1974 yıllarında tedaviye giren Nifurtimoks (Formül 26) ve Benznidazol (Formül 27)’dur (Pink ve ark., 2005). Bu bileşikler, Chagas hastalığının akut fazında etkili -etkinlikleri %80’in üzerinde- iken, sadece Benznidazol kronik fazın erken dönemlerinde çok sınırlı düzeyde etkilidir. Her iki bileşikte de ciddi yan etkiler görülebilmektedir (Croft ve ark., 2005).

1.1.4. Leishmaniasis ve Tedavisinde Kullanılan Bileşikler

Leishmaniasis’e *Leishmania* türü protozoal parazitler neden olmaktadır. 88 Ülkede yaklaşık 350 milyon insan risk altındadır ve yılda 2 milyon yeni vakanın görüldüğü tahmin edilmektedir (Brendle ve ark., 2002). *Leishmania* enfeksiyonları kemirgenler ve diğer memelilerde de ortaya çıkmaktadır. Hastalık etkeni, *Phlebotomus* cinsi sinekler aracılığıyla insana geçmektedir. Leishmaniasisin üç ana klinik varyantı vardır. Bunlar visseral leishmaniasis, kütanöz leishmaniasis ve mukokütanöz leishmaniasistir.

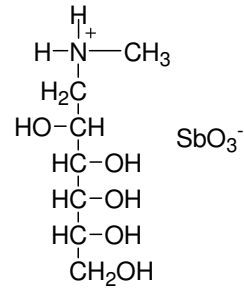
Visseral leishmaniasis, Kala azar hastalığı olarak da bilinir ve hastalık etkeni *Leishmania donovani*'dir. Hastalığın bu formu sistemiktir ve hastalarda ateş, diyare, öksürük, karaciğer ve dalakta büyüme görülmektedir. Tedavi uygulanmazsa 20 ay içinde hastalar diyare, süperenfeksiyon veya gastrointestinal kanama nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Bu hastalık Afrika ve Akdeniz kıyısındaki ülkelerde yaygın olmakla beraber Çin, Latin Amerika ve Rusya'da da görülebilmektedir.

Kutanöz ve mukakutanöz leishmaniasis bir ya da birçok bölgede lokalize lezyonlar ile karakterize olmuştur. Bu lezyonlar yavaş iyileşen ve ağrı oluşabilen ülserasyonlardır ve ikincil bakteriyel enfeksiyonlar oluşabilmektedir. *Leishmania topica*'nın neden olduğu kutanöz leishmaniasis Akdeniz kıyıları, Orta Doğu, Güney Rusya ve Hindistan'da yaygın olarak çocuklarda ve gençlerde görülmektedir. *Leishmania major* Afrika çölleri, Orta Doğu ve doğu Rusya'da endemiktir. *Leishmania aethiopica* Kenya'nın yüksek bölgeleri ve Etiyopya'da bulunmuştur. *L. peruviana*, *L. braziliensis*, *L. panamensis* Güney ve Orta Amerika'da bulunurken, *L. mexicana* Teksas'ın güneyi ve orta kesimlerine endemiktir (Lemke, 2002).



Sodyum Stiboglukonat

Formül 28

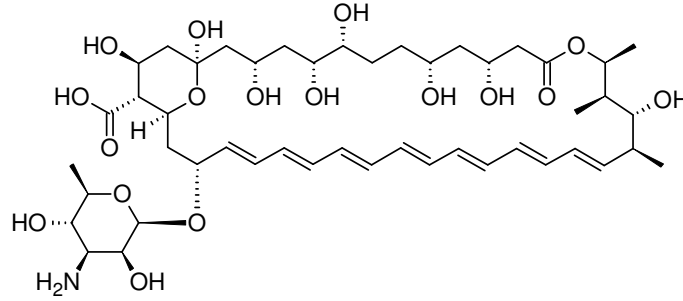


Meglümin Antimonat

Formül 29

Beş değerlikli antimon Sb(V) içeren Sodyum Stiboglukonat (Formül 28) ve Meglumin Antimonat (Formül 29), 1940'lı yıllardan itibaren leishmaniasis tedavide ilk tercih edilen bileşiklerdir. Etkinlik ve toksisite açısından aralarında önemli bir fark yoktur. i.v. veya i.m. enjeksiyon yoluyla uygulanmaktadır. Yaygın olarak görülen yan etkiler bulantı, hepatotoksisite ve kardiyotoksisitedir (Brendle ve ark., 2002). Direnç gelişimi nedeniyle Hindistan'da bu bileşiklerin tedavide kullanımından

vazgeçilmekle beraber, dünyanın geri kalan kesiminde halen kullanılmaya devam edilmektedir (Croft ve ark., 2005).

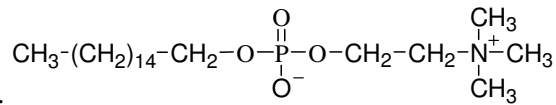


Amfoterisin B

Formül 30

Amfoterisin B (Formül 30), visseral leishmaniasis tedavisinde i.v. olarak kullanılan bir bileşiktir. Toksik yan etkiler kullanımını sınırlandırmaktadır. Lipid kompleksi hazırlanarak elde edilen yeni klinik formülasyonunda toksik etkilerde azalma sağlanmıştır. Ancak yüksek maliyeti, gelişmekte olan ülkelerde visseral leishmaniasis tedavisinde kullanımı açısından büyük bir sorun yaratmaktadır. Ayrıca hem Amfoterisin B, hem de Amfoterisin B'nin lipid kompleksi visseral olmayan leishmaniasis tedavisi için uygun görülmemektedir (Brendle ve ark., 2002).

Pentamidin (Formül 1), leishmaniasis tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak enjeksiyon yoluyla uygulanması, toksisitesinin yüksek oluşu ve önemli yan etkilerin ortaya çıkması gibi dezavantajları bulunmaktadır (Brendle ve ark., 2002).



Miltefosin

Formül 31

Miltefosin (Formül 31), oral yolla visseral leishmaniasis tedavisinde kullanımı Hindistan'da onaylanmış ve faz IV çalışmaları devam etmekte olan bir bileşiktir. Kütanoz leishmaniasise olan etkinliği, yapılan faz III deneyleri ile araştırılmaktadır (Croft ve ark., 2005).

1.2. Pentamidin Türevi Bileşikler ve Antiparazitik, Antimikrobiyal, Antifungal Etkileri

Aromatik diamidin türevi olan Pentamidin (Formül 1), ilk defa 1930'lu yılların sonlarına doğru sentezlenmiş ve antiprotozoal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (King ve ark., 1938). Bu bileşik klinikte African trypanosomiasis (Apted, 1980), antimon-dirençli leishmaniasis (Breyceson ve ark., 1985) ve AIDS sonrası ortaya çıkan fırsatçı enfeksiyonların en yaygını olan *Pneumocystis carinii*'nin neden olduğu pnömoni (PCP) (Ivady ve Paldy, 1958) tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca *Cryptosporium parvum* (Blagburn ve ark., 1991), *Giardia lamblia* (Bell ve ark., 1991), *Toxoplasma gondii*'nin (Lindsay ve ark., 1991) de yer aldığı pekçok mikroorganizmaya karşı da etkilidir. Geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahip olmasına karşın, Pentamidin bileşiğinin tedavide kullanılışı nefrotoksisite, karaciğer fonksiyonlarında bozulma, hipotansiyon (Waltzer ve ark., 1974), hipoglisemi (Murdoch ve Keystone, 1983) gibi toksik ve yan etkileri nedeniyle kısıtlanmaktadır. Pentamidin'e alternatif olabilecek toksik özellik içermeyen, yan etkileri tolere edilebilir bir bileşiğe ulaşma çabaları halen devam etmektedir.

Pentamidin ve türevlerinin etki mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte, bulgular antimikrobiyal aktivite ile DNA minör kaviteye bağlanma özellikleri arasında bir ilişki olabileceğine işaret etmektedir (Tidwell ve ark., 1993). Pentamidin türevi bileşiklerin, mikroorganizma DNA'sı ile bir kompleks oluşturarak DNA'ya bağımlı bazı mikrobiyal enzimlerini inhibe ederek etki gösterdiğine inanılmaktadır (Boykin ve ark., 1998).

Diamidino-bis-benzimidazol türevi bileşikler üzerinde yapılan bir araştırmada, *in vitro* anti giardial aktivite ile DNA bağlanma affinitesi ve giardial topoisomera II enzim inhibisyonu arasında güçlü bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Bell ve ark., 1991, Bell ve ark., 1993). Diğer bir çalışmada, diamidino-bis-benzimidazol türevi bileşiklerin *P. carinii*'den izole edilen topoisomera II enzim inhibisyonu ile anti PCP arasında güçlü bir korelasyon olmadığı görülmüştür (Dykstra ve ark., 1994). Pentamidin türevi bileşiklerin DNA'ya bağlanma özellikleri

ile anti PCP etki arasındaki ilişki de çok açık değildir (Cory ve ark., 1992). Amidin türevi bileşiklerin *in vitro* aktivite sonuçları ile *P. carinii*'e olan *in vivo* aktivite sonuçları arasında bir ilişki bulunması, *in vivo* aktivite sonuçlarının doz, metabolitik özellikler ve bileşiklerin farmakokinetik özelliklerinden etkilenmesi sebebiyle sınırlanmaktadır (Tidwell ve ark., 1990, Tidwell ve Bell, 1994).

Pentamidin türevi bileşiklerin PCP'ye olan etkileri immün sistemi baskılanan sıçanlar üzerinde araştırılmış, günlük 10 mg/kg dozda i.v. yolla bileşiklerin hidroklorit tuzları uygulanmış (6 nolu bileşikte günlük doz 5 mg/kg olup, bileşik 1 düşük çözünürlükte olduğu için test edilmemiştir) ve Ortalama Histolojik Değer olarak etkileri saptanmıştır (Tablo 2) (Tidwell ve ark., 1990). Bu değerlendirmede sıçanların akciğerlerindeki kist sayıları ve yayılma yüzdeleri karşılaştırılmaktadır.

0.5 = akciğerin tamamında 10 kistten az,

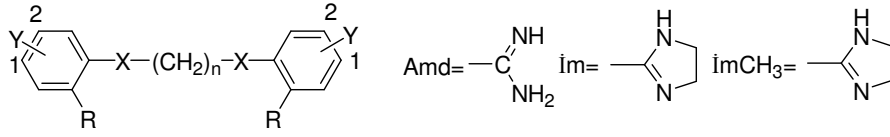
1 = akciğer dokusunun %10'undan daha az bir bölgede kistler dağılmış,

2 = akciğer dokusunun %10-25 arasındaki bir bölgede kistler dağılmış,

3 = akciğer dokusunun %26-50 arasındaki bir bölgede kistler dağılmış,

4 = kistler akciğere tamamen yayılmış ve akciğer dokusunun %50'sinden daha fazla orandaki kısmını kaplamaktadır.

Pentamidindeki amidin fonksiyonel grubu, eter köprüsünün *para* konumundan *meta* konumuna getirildiğinde (bileşik 4, 9, 13) PCP'ye olan etki azalmıştır. Amidin yerine imidazolin-2-il getirildiğinde (bileşik 15) aktivite artmış ve toksisite azalmış, eter yapısındaki oksijenlerin yerine –NH– olan bileşik 14'te ise etki düşmüş ve toksisite artmıştır. Bileşik 6, günlük 5 mg/kg dozda uygulanmasına karşın aktivitesi Pentamidinden daha yüksektir.



						<i>Candida albicans</i>		<i>Cryptococcus neoformans</i>	
Bileşik	n	Y Konum	X	R	Anti PCP*	MİK ₈₀ (µg/ml)	MFK (µg/ml)	MİK ₈₀ (µg/ml)	MFK (µg/ml)
Amfoterisin B						1.0	TE	1.0	TE
Flukonazol						0.25	AD	2.0	AD
1	2	Amd 1	O	H	TE	3.12	100	>100	TE
2	2	Amd 1	O	NH ₂	0.7	25	TE	>100	TE
3	3	Amd 1	O	H	0.9	3.12	3.12	6.25	6.25
4	3	Amd 2	O	H	1.6	>100	>100	TE	TE
5	3	Amd 1	NH	H	0.9	0.19	0.39	1.56	6.25
6	3	Amd 1	O	OCH ₃	0.6*	12.5	50	12.5	12.5
7	3	İm 1	O	OCH ₃					
8	4	Amd 1	O	H	0.6	25	50	3.12	6.25
9	4	Amd 2	O	H	1.9	12.5	25	25	25
10	4	Amd 1	O	OCH ₃	0.9	>100	>100	50	>100
11	4	İm 1	O	H		0.78	1.56	6.25	12.5
12	4	İmCH ₃ 1	O	H		>100	>100	>100	>100
Pentamidin	5	Amd 1	O	H	1.2	0.78	1.56	3.12	6.25
13	5	Amd 2	O	H	1.7				
14	5	Amd 1	NH	H	1.6	≤0.09	0.39	0.78	1.56
15	5	İm 1	O	H	0.7				
16	6	Amd 1	O	H	1.1				
17	6	Amd 2	O	H	1.6	1.56	12.5	6.25	12.5

* *Pneumocystis carinii* pnömoni'e olan etkiler Ortalama Histolojik Değer olarak verilmiş, Bileşik 6: 5 mg/kg/gün, diğer bileşikler 10 mg/kg/gün dozlarda iv olarak uygulanmıştır.
TE: Test Edilmemiş, AD: Aktif Değil

Tablo 2. Pentamidin türevi bileşiklerin *in vivo* PCP'ye ve *in vitro* *C. albicans* ve *C. neoformans*'a olan antifungal etkileri.

1,3-di(4-imidazolino-2-metoksifenoksi) propan (DMP, bileşik 7)'nin dihidroklorit tuzunun 2.5 mg/kg dozda i.v. uygulamasında çok iyi aktivite göstermesine karşın çözünürlüğünün düşük olması, gelecekteki klinik uygulamalarını kısıtlayacağı bildirilmiştir. Bu bileşiğin dilaktat tuzu, doza bağımlı olarak i.v. uygulamada Pentamidinden ortalama 10 kat daha aktiftir. Oral uygulamada Pentamidin aktivite göstermezken, DMP dilaktat bileşiğinin günlük 80 mg/kg'lık dozda oral uygulaması, günlük 1 mg/kg i.v. uygulanmasıyla aynı düzeyde PCP'ye etki göstermektedir. Günlük 2.5 mg/kg i.v. dozda toksik etki görülmezken, 5 mg/kg

i.v. dozdaki toksik etkisinin Pentamidinin 10 mg/kg i.v. dozdaki toksik etkisiyle benzer olduğu gözlenmiştir (Tidwell ve Bell, 1994).

Pentamidin türevi bileşiklerin antitripsin aktiviteleri ve timidilat sentetaz inhibisyon değerleriyle, *in vivo* sıçan modeli ile tespit edilen PCP'ye olan etkileri arasındaki ilişki araştırılmış ve herhangi bir korelasyon bulunamamıştır. Etki mekanizmasının açıklanmasında proteazların ya da timidilat sentetaz inhibisyonunun gözardı edilebileceği bildirilmiştir (Tidwell ve ark., 1990).

Pentamidin analogu olan bileşiklerin *in vitro* antifungal aktiviteleri, *Candida albicans* A39 ve *Cryptococcus neoformans* var. neoformans H99'a karşı incelenmiş ve %80 inhibisyon yapan Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK₈₀) ve Minimum Fungusidal Konsantrasyon (MFK) değerleri Tablo 2'de belirtilmiştir. Alkil zincirinde üç karbon (bileşik 3) ve dört karbon (bileşik 8) bulunan türevlerde, amidin grubunun *meta* konumuna metoksi sübstitüentinin getirilmesi ile her iki organizmaya karşı olan aktivite düşmektedir. Bileşik 3'deki amidin fonksiyonel grubu eter köprüsünün *para* konumundan *meta* konumuna getirildiğinde, *C. albicans*'a karşı aktivitenin düştüğü (bileşik 3, için MİK₈₀ = 3.12 µg/ml, bileşik 4 için MİK₈₀ = >100 µg/ml); buna karşılık dört karbon zinciri taşıyan bileşik 8'de aynı değişiklik yapılarak elde edilen bileşik 9'da, *C. albicans*'a olan aktivitenin artıp *C. neoformans*'a karşı olan aktivitenin düştüğü saptanmıştır.

Alkil zincirinde dört karbon taşıyan türevde (bileşik 8, *C. albicans* MİK₈₀ = 25 µg/ml, MFK = 50µg/ml), amidin grubu yerine imidazolin-2-il getirildiğinde (bileşik 11, *C. albicans* MİK₈₀ = 0.78 µg/ml, MFK = 1.56 µg/ml), *C. albicans*'a karşı antifungal aktivite önemli derecede artmakta; imidazolin azotundaki hidrojen yerine metil getirildiğinde ise her iki mikroorganizmaya karşı olan aktivite düşmekte ve hem MİK₈₀ hem de MFK değerleri 100 µg/ml'nin üzerine çıkmaktadır.

Yapı-aktivite açısından en göze çarpan değişiklik ise, üç ve beş karbonlu alkil zincirleri taşıyan türevlerdeki eter oksijenlerinin yerine –NH– grubunun getirilmesi

ile meydana gelmiş 5 numaralı bileşikte antifungal aktivite *C. albicans* $MIK_{80} = 0.19$ $\mu\text{g/ml}$, MFK = 0.39 $\mu\text{g/ml}$, *C. neoformans* $MIK_{80} = 1.56$ $\mu\text{g/ml}$, MFK = 6.25 $\mu\text{g/ml}$ olarak gözlenirken, en aktif türev olan 14 numaralı bileşikte ise *C. albicans* $MIK_{80} = \leq 0.09$ $\mu\text{g/ml}$, MFK = 0.39 $\mu\text{g/ml}$, *C. neoformans* $MIK_{80} = 0.78$ $\mu\text{g/ml}$, MFK = 1.56 $\mu\text{g/ml}$ olarak gözlenmiştir (Del Poeta ve ark., 1998).

Pentamidin analogu 36 bileşiğin *Leishmania mexicana amazonensis* 669 C4S, *Plasmodium falciparum* W2 ve *Plasmodium falciparum* D6'ya olan *in vitro* antiprotozoal aktiviteleri araştırılmıştır. Antileishmanial aktivitelere bakıldığında, alkil zincirinde beş karbon taşıyan Pentamidin için $IC_{50} = 0.820 \pm 0.019$ μM olarak saptanmıştır. Alkil zinciri altı karbon olan bileşik 16 (Tablo 2), Pentamidine göre yaklaşık iki kat daha aktiftir ($IC_{50} = 0.396 \pm 0.070$ μM). Üç karbonlu alkil zinciri taşıyan bileşik 3 Pentamidinle yaklaşık aynı aktiviteye sahipken, iki (bileşik 1) ve dört karbonlu (bileşik 8) türevlerde Pentamidine göre aktivite daha düşüktür. Amidin grubuplarının yerine imidazolin-2-il getirilmesi ve imidazoline göre *meta* konumuna metoksi sübstitüentinin getirilmesi aktiviteyi biraz düşürmüştür.

Amidin grubunun *para* konumundan *meta* konumuna getirilmesiyle antileishmanial aktivite düşmektedir. *meta*-Amidinofenoksi türevi bileşiklerde (4, 9, 13, 17 nolu bileşikler) alkil zincirinin uzaması ile aktivitede artış meydana gelmekte, altı karbonlu alkil zinciri taşıyan bileşik 17, 1.034 ± 0.077 μM IC_{50} değeri ile amidin grubunu *meta* konumunda taşıyan bileşikler içerisinde en etkili türev olmaktadır.

Amidin grubu *para* konumunda olan türevlerde, eter köprüsüne göre orto konumuna $-\text{NO}_2$, $-\text{NH}_2$ veya $-\text{OCH}_3$ grubu getirildiğinde, antileishmanial aktivite sübstitüent taşımayan türevlere göre azalmakta; $-\text{Cl}$ veya $-\text{Br}$ sübstitüenti taşıyan türevlerde aktivitede biraz artış olmakla beraber, IC_{50} değerlerinde önemli bir fark bulunmamaktadır. Eter oksijenlerinin yerine azot getirilmesi ile elde edilen türevlerde aktivitede artış meydana gelmiştir. Alkil zincirindeki karbon sayısının artmasıyla aktivite değeri artmaktadır. 6 Karbonlu alkil zinciri taşıyan türev, 0.289 ± 0.055 μM IC_{50} değeri ile bu çalışmadaki *L. m. amazonensis*'e karşı en etkili türevdir. 4-Amidinoanilino türevi bileşiklerde, alkilamino köprüsüne göre orta konumuna

-NO₂ ya da -NH₂ grubu getirildiğinde, süstitüent taşımayan türevlere göre aktivitenin düştüğü görülmektedir.

Antiplasmodial aktivite açısından değerlendirilme yapıldığında, süstitüent taşımayan ve alkil zinciri 2-6 karbondan oluşan 4-amidinofenoksi türevi bileşikler, *P. falciparum* D6'ya karşı , W2'ye göre iki kat daha etkili olduğu; alkil zincirinde üç karbon taşıyan bileşik 3'ün W2 klonu için IC₅₀ = 0.064 ± 0.006 µM ve D6 klonu için IC₅₀ = 0.038 ± 0.009 µM aktivite değerleri ile en etkili türev olduğu tespit edilmiştir. Pentamidin için W2 ve D6 klonlarına olan aktivite değerleri sırasıyla IC₅₀ = 0.129 ± 0.029 µM ve IC₅₀ = 0.051 ± 0.015 µM'dır.

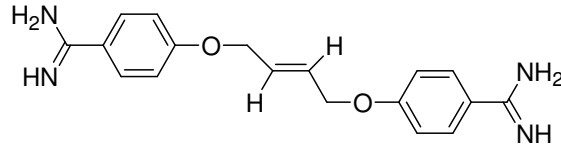
Aromatik halkanın eter köprüsüne göre orto konumuna -NO₂, -NH₂, -OCH₃, -Cl ya da -Br getirildiğinde, antimalaryal aktivitede önemli bir değişiklik olmamakta ya da aktivite düşmektedir.

Amidin gruplarının yerine imidazolin bulunan türevlerde *P. falciparum*'a karşı aktivite düşmektedir. Buna karşın bu gruptaki bileşiklerin eter köprüsüne göre orto konumunda -OCH₃ grubu getirildiğinde, *P. falciparum* W2'ye olan etkilerinin -OCH₃ grubu taşımayan türevlere göre arttığı gözlenmiştir. Alkil zincirinde üç karbon içeren bileşik 7 (DMP), *P. falciparum* W2 ye karşı IC₅₀ = 0.039 ± 0.012 µM değeri ile bu çalışmadaki en etkili bileşik olurken, D6 klonuna karşı ise IC₅₀ değeri 0.177 ± 0.049 µM'dır.

Oksijenlerin yerine azot atomları getirilerek elde edilen 4-amidinofenoksi türevlerinde, bazı bileşiklerde aktivite değişmezken, bazılarında ise artış meydana gelmiştir. Alkil zincirinde 5 karbon taşıyan bileşik 14, W2'ye IC₅₀ = 0.045 ± 0.010 µM, D6'ya ise IC₅₀ = 0.030 ± 0.004 µM değerleriyle, 4-amidinofenoksi türevi bileşikler arasında en etkili olan bileşiktir (Bell ve ark., 1990).

Pentamidin'deki 5 karbonlu alkil zinciri yerine, 4 karbonlu alkil zinciri taşıyan 8 bileşiğin Pentamidin'e duyarlı *Trypanosoma brucei brucei* (EATRO lab 110), Pentamidine dirençli *Trypanosoma brucei rhodesiense* K243, K269 ve

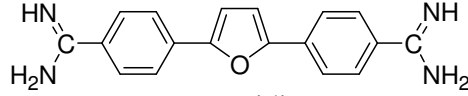
K243As-10-3'e karşı gösterdikleri antitrypanosidal etkileri araştırılmıştır. Aşağıdaki bileşik *trans*-Bütenamidin (Formül 32), bu seri içerisinde en etkili türev olarak bulunmuştur. Bu bileşiğin IC₅₀ değerleri nM olarak EATRO lab 110 için 2.3, K243 için 2.2, K269 için 2.5, K243As-10-3 için 2.4 dür. Pentamidin'de ise bu değerler sırası ile 0.8, 3.1, 3.2 ve 5.0 olarak tespit edilmiştir. Pentamidin, *T. b. brucei* (EATRO lab 110)'e karşı *trans*-Bütenamidin'e göre üç kat daha etkili olmasına rağmen, *trans*-Büteneamidin *T. b. rhodesiense* K243, K269 ve K243As-10-3'e karşı daha etkilidir. *trans*-Büteneamidin, *cis*- izomerine göre yaklaşık üç kat daha aktiftir. Amidin yerine imidazolin-2-il getirilmesiyle aktivite önemli düzeyde azalmaktadır. *trans*-Bütenamidin bileşiğinin, K243'e karşı imidazolin türevine göre 400 kat daha aktif olması dikkat çekici bir sonuçtur (Donkor ve ark., 2001).



Formül 32

Pentamidin analogu olan 39 bileşik üzerinde yapılan bir çalışmada, bu bileşiklerin sıgır timüs DNA'sındaki termal denatürasyon sıcaklıklarını değiştirdiği (ΔT_m) ve DNA'ya bağlanma afinitesine sahip oldukları gözlenmiştir. Ayrıca baz spesifik DNA bağlanma özellikleri poly(dA).poly(dT) ve poly(dG-dC).poly(dG-dC) homopolimerlerindeki ΔT_m değerleri göz önünde tutularak değerlendirilmiştir. Ethidium bromür ile normalizasyon yapılmış ve bileşiklerin çoğunun AT baz çiftine orta düzeyde spesifik afinite gösterdiği (AT/GC bağlanma oranı <3) görülmüştür. Eter köprüsünün orto konumunda -OCH₃ grubu içeren bileşiklerde (alkil zincirinde üç karbon taşıyan bileşik 6'da AT/GC bağlanma oranı 6, dört karbonlu alkil zinciri taşıyan bileşik 10'da 11.1, 5 karbonlu türevde 5.4), AT baz çiftine olan spesifik affinitenin Pentamidinden (AT/GC bağlanma oranı 3.8) yüksek olduğu belirtilmiştir. Halka süstitüsüyonu ile baz spesifitesi arasında nasıl bir ilişki olduğu tam olarak açıklanamamıştır. Benzamidin halkasındaki bu konuma -OCH₃, -NO₂, -NH₂, -Cl gibi grupların getirilmesi ya da amidino grubunun imidazolino-2-il ile değiştirilmesi ile DNA'ya bağlanma afinitesi etkilenmemiş; imidazolindeki azot atomundaki hidrojenin yerine metil taşıyan türevlerde ise DNA bağlanma afinitesinde önemli

oranda düşüş meydana gelmiştir. Amidino grubunu eter köprüsüne göre *meta* konumunda içeren bütün bileşiklerde düşük polinükleotid afinite gözlenmiş ve DNA'ya bağlanmada moleküler açılarının önemli olduğu bildirilmiştir (Cory ve ark., 1992).



Furamidin

Formül 33

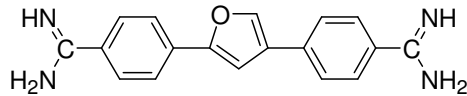
Dikatyonik amidin türevi olan ve alkiloksi köprüsü yerine furan halkası içeren 18 bileşiğin antitripanosomal ve antimalaryal etkileri *in vivo* olarak fareler üzerinde araştırılmıştır. Bunlar içersinde Furamidin (2,5-bis(4-amidinofenil)furan) (Formül 33) bileşiğinin, *Trypanosoma rhodesiense*'e karşı Pentamidinden daha güçlü aktivite göstermektedir. Halkalı amidin grubu içeren türevlerde antitripanosomal etkinin düştüğü ve toksisitenin arttığı, furan halkasına bir metil grubu getirildiğinde aktivitede çok az artış olduğu, iki metil grubu getirilmesiyle biyolojik cevapta Furamidine göre önemli bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir. Benzer bir şekilde furan halkasına bir adet -Cl süstitüenti getirildiğinde aktivitede biraz artış olduğu, buna karşın furan halkasında 3. ve 4. konumlarda -Cl taşıyan türevde aktivitenin Furamidine göre azaldığı, furan halkasında bir -Cl ve bir -CH₃ bulunan türevde ise biyolojik cevapta bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir.

Plasmodium berghei'e karşı olan antimalaryal etkileri açısından değerlendirildiğinde, Furamidindeki amidin grupları yerine imidazol-2-il ve tetrahidropirimidil-2-il içeren iki bileşiğin orta düzeyde etkili olduğu, diğer bileşiklerin ise çok düşük ya da hiç antimalaryal aktivite göstermediği bildirilmiştir (Das ve Boykin, 1977).

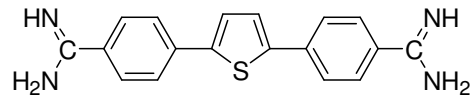
Sıçanlar üzerinde yapılan *in vivo* deneyler sonucunda, Furamidin bileşiğinin PCP'e karşı Pentamidinden çok daha aktif ve toksisitesinin düşük olduğu, oral olarak da toksik etki olmaksızın etki gösterdiği bildirilmiştir (Boykin ve ark., 1995).

Başka bir çalışmada Furamidin türevi bileşiklerin PCP'e olan etkileri araştırılmış, amidin gruplarındaki -NH₂'ler yerine -NH-siklopropil getirilmesi ile aktivitenin Furamidinden daha iyi, Pentamidinden ise ortalama 100 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Boykin ve ark., 1998).

Dikatyonik 2,5-difenil furan türevi 16 bileşik içerisinde *Leishmania donovani*'ye karşı en etkili türev olan Furamidin'in *in vitro* aktivite değeri (IC₅₀ = 2.76 ± 0.60 µM), Pentamidine (IC₅₀ = 2.59 ± 0.54 µM) yakındır. Amidin grupları yerine imidazolin-2-il getirildiğinde IC₅₀ = >100 µM olurken, isopropilamidin taşıyan türevde IC₅₀ = 60.57 ± 17.01 µM, siklopentil amidin türevi bileşikte ise IC₅₀ = 15.75 ± 5.05 µM olarak bulunmuştur. 2,4-Difenil furan yapısındaki aşağıdaki bileşik (Formül 34) IC₅₀ = 1.30 ± 0.21 µM değeri ile Pentamidin'den ve 2,5-difenilfuran türevi olan Furamidin'den yaklaşık iki kat daha etkilidir. 2,4-Difenilfuran yapısındaki türevlerde, amidin grupları yerine isopropilamidin (IC₅₀ = 12.07 ± 0.74 µM) veya siklopentil amidin (IC₅₀ = 4.62 ± 1.18 µM) bulunan bileşikler, 2,5-difenilfuran yapısındaki bileşiklere göre sırasıyla 5 ve 3.4 kat daha etkili olmalarına rağmen, Pentamidin'e göre düşük antileishmanial aktivite göstermektedir. Furamidin'deki furan halkası yerine tiyofen getirilmesiyle elde edilen bileşik (Formül 35), IC₅₀ = 0.42 ± 0.08 µM değeri ile klinikte kullanılan Pentamidin'den 6.2 kat, Furamidin'den 6.5 kat daha aktiftir (Brendle ve ark., 2002).

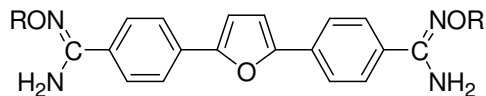


Formül 34



Formül 35

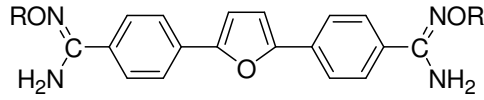
Furamidin bileşiğinde oral uygulamada PCP'ye olan etki i.v. uygulamaya göre önemli düzeyde düşmektedir. Bu sorunu çözmek için Furamidin bileşiğinin bis-amidoksim ve bis-O-alkilamidoksim türevleri (Formül 36) hazırlanmıştır.



- 1) R = H (DB290)
- 2) R = CH₃ (DB289, Pafuramidin)

Formül 36

Her iki bileşiğin (DB290 ve DB289) oral uygulamada Furamidin'den, DB289 da DB290'dan daha yüksek anti-pnemositik etki göstermektedir. i.v. uygulamada her iki bileşikte de genel olarak diamidin türevi bileşiklerde görülen hipotansiyon, solunum güçlüğü gibi akut toksik etkiler ortaya çıkmamaktadır. DB290, i.v. yolla düşük dozda (5.5 µmol/kg/gün) uygulandığında, enjeksiyon yerinde nekroz ve enflamasyon ortaya çıkarken, DB289 iyi tolere edilmekte ve günlük 22.0 µmol/kg doz uygulamasında bile enjeksiyon yerinde enflamasyon ve nekroz oluşmamaktadır. Yapılan bu çalışma ile O-alkilamidoksimlerin amidin türevi bileşikler için prodrug olarak işlev görebilecekleri bildirilmiştir (Boykin ve ark., 1996).



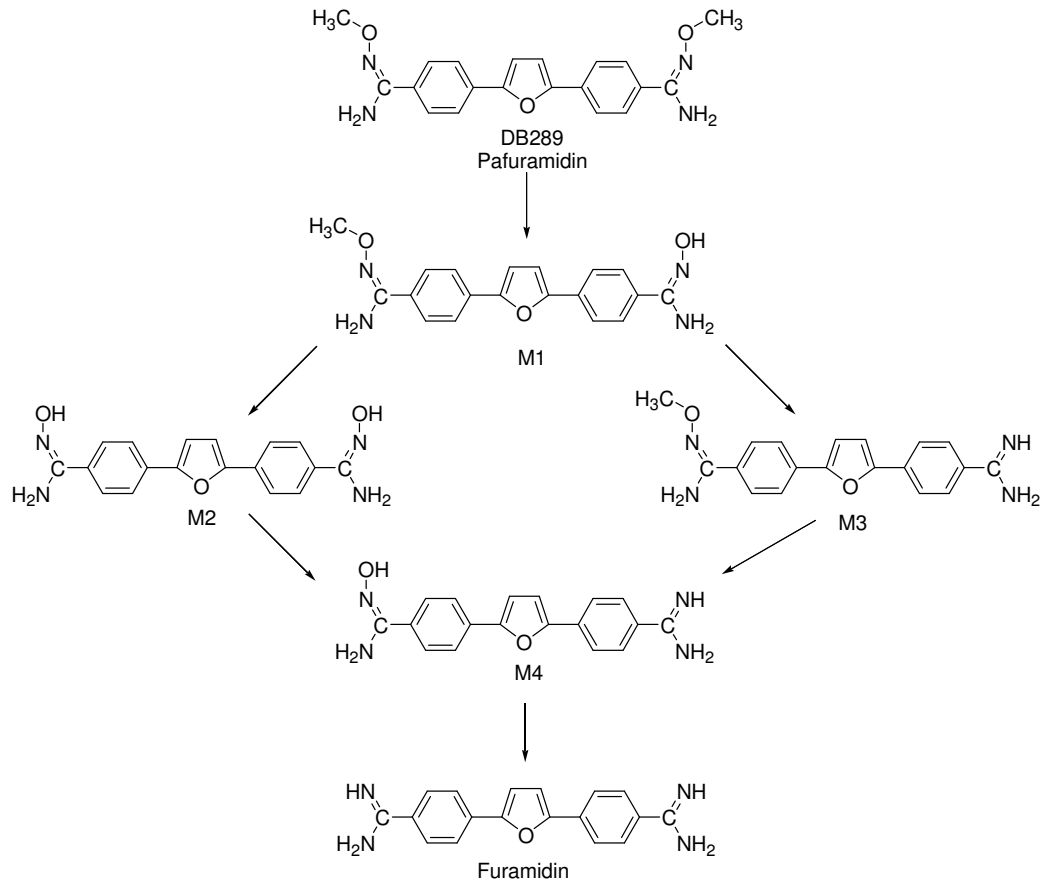
<i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>					
Bileşik	R	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i> (STIB 900 fare modeli)		
		IC ₅₀ (nM)	Doz ¹ (mg/kg)	Tedavi ²	Ortalama Yaşam Süresi ³ (gün)
Furamidin		4.5	4x10	0/8	>46
1 (DB290)	H	66.4 x10 ³	4x100	0/4	50
2 (DB289, Pafuramidin)	CH ₃	14.6 x10³	4x100 4x50 4x25	4/4 2/4 1/4	>60 >60 >60
3 (DB377)	CH ₂ CH ₃	645	4x100 4x25	4/4 0/4	>60 32
4	<i>n</i> -propil	472	4x100	1/4	>47.5
5	<i>i</i> -propil	12.6 x10 ³	4x100	2/4	48
6	<i>n</i> -butil	1.9 x10 ³	4x100	0/4	9
7	<i>n</i> -hekzil	5.7 x10 ³	4x100	0/4	6

- 1) Furamidin intraperitoneal, diğer bileşikler oral dozda uygulanmıştır.
- 2) 60 günden fazla parasitsiz olarak hayatta kalan fare sayısı / uygulama yapılan fare sayısı
- 3) Kontrol grubundaki fareler için ortalama yaşam süresi 7-8 gün arasındadır.

Tablo 3. Furamidin bileşiğinin bis-amidoksim ve bis-O-alkilamidoksim türevlerinin *in vitro* ve *in vivo* *T. b. rhodesiense*'ye olan antiparazitik etkileri.

Furamidin, bis-amidoksim (DB290) ve bis-O-alkilamidoksim türevi bileşiklerin *Trypanosoma brucei rhodesiense*'ye *in vitro* ve *in vivo* etkileri araştırılmış ve sonuçları Tablo 3'de verilmiştir. Bis-amidoksim türevi olan DB290 ve bis-O-alkiloksim türevi bileşikler *in vitro* olarak önemli sayılabilecek bir aktiviteye

sahip değillerdir. *In vivo* etki sonuçlarına göre O-metil analogu olan DB289 (Pafuramidin) bileşiği en etkin türevidir ve oral 4x100 mg/kg/gün dozda tedavi oranı 4/4, ortalama yaşam süresi 60 günün üzerindedir. Günlük 4x25 mg/kg dozda tedavi oranı 1/4'dür. Fakat ortalama yaşam süresinin 60 günün üzerinde olması, düşük dozda da etkili olduğunun göstergesidir. Alkil grubundaki karbon sayısı 3 ve daha az sayıda olduğunda etki yüksek iken, *n*-butil ve *n*-hekzil analoglarında kontrol grubuna göre önemli bir fark bulunmamaktadır. -OC₂H₅ analogu olan DB377, yüksek dozda (4x100 mg/kg) -OCH₃ analoguna (DB289) yakın etkili iken, düşük dozda tedavi oranı ve ortalama yaşam süresi açısından -OCH₃ analoguna göre daha düşük etkilidir. O-*n*-propil (bileşik 4) ve O-*i*-propil (bileşik 5) türevi bileşikler orta düzeyde *in vivo* aktiviteye sahiptirler. Bu bileşikler yüksek dozda (4x100 mg/kg/gün) uygulanmalarına rağmen, tedavi oranları düşüktür ve sırasıyla 1/4 ve 2/4'dür.



Şema 1. Pafuramidinin metabolizması.

O-Metoksiamidin türevi prodrug olan DB289 (Pafuramidin), insan karaciğer mikrozomları (sitokrom P450, sitokrom b₅) ile hızlı bir şekilde metabolize olmakta, O-demetilasyon ve N-dehidroksilasyon reaksiyonları ile 4 ara metabolit üzerinden (M1, M2, M3, M4) Furamidin molekülüne dönüşmektedir (Şema 1). Yarılanma ömrü 4.16 dakikadır ve 40 dakika sonunda tamamen metabolize edilir. Metoksiamidin/amidoksim metaboliti (M1), tüm metabolitler içersinde en yüksek konsantrasyon seviyesine ulaşmakta ve metabolizmanın devamı olarak diamidoksim (M2) ve metoksiamidin/amidine (M3) dönüşmektedir. M2 konsantrasyonu, 60 dakika sonunda en yüksek seviyesine ulaşmaktadır. Amidin metabolitleri tanımlanmış olmalarına rağmen konsantrasyonları düşüktür (Ansede ve ark., 2004).

DB289 (Pafuramidin) bileşiğinin sıtmaya karşı faz II, uyku hastalığı (HAT) ve PCP'ye karşı faz III klinik çalışmaları devam etmektedir (Chackal-Catoen ve ark., 2006). Oral dozda uyku hastalığının erken evresinde çok iyi aktivite göstermesine karşın yapılan fare deneyleri hastalığın ikinci evresinde sınırlı etkinlikte olduğunu göstermektedir (Sturk ve ark., 2004).

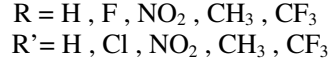
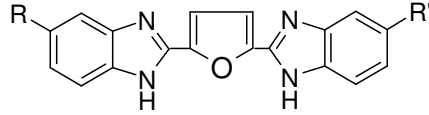
1.3. Benzimidazol ve Bis-benzimidazol Türevi Bileşiklerin Antiparazit ve Antimikrobiyal Etkileri

Benzimidazol halka sistemi üzerinde bu güne kadar yapılan çalışmalarda, antibakteriyel etki açısından ümit verici sonuçlara ulaşılmasında 1., 2. ve 5(6). konum sübtitüsyonlarının önemi dikkat çekmektedir.

1. ve 6. konumda alkil ve 5. konumda nitro taşıyan benzimidazol türevlerinin mikroorganizmalara karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Abou-Shadi ve ark., 1979).

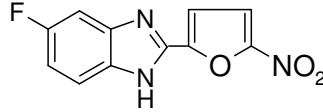
2., 5(6). ve 7. konumlarda çeşitli sübtitüentler içeren benzimidazol türevleri antibakteriyel aktivite yönünden incelendiğinde, 2. konumda 2-piridil grubunun, 5. konumda bulunan metoksi, etoksi, triflorometil, nitro ve klor gruplarının etki açısından önemli sübtitüentler olduğu belirtilmektedir. Test edilen bileşikler,

mikroorganizmalara karşı 50-100 µg/ml MİK değerleri ile sınırlı bir aktivite gösterirken, 5-nitro-2-(2-piridil) benzimidazolün *E. coli*'ye karşı 10 µg/ml MİK değeri ile en iyi aktiviteyi gösterdiği bildirilmiştir (Hisano ve ark., 1982).



Formül 37

2,5-Di-2-benzimidazolilfuran (Formül 37) türevlerinin test edilen farklı kültürlerde germisidal veya fungusidal olarak aktivite göstermediği belirtilmektedir (Pedini ve ark., 1988).



Formül 38

5. Konumda farklı süstitüentler içeren 100'den fazla 2-(2'-fural) ve 2-(2'-tiyenil) benzimidazol ve benzoksazol türevi bileşik sentezlenmiş ve bunların antimikrobiyal etkileri incelenmiştir (Pedini ve ark., 1990). Bu türevlerden bazılarının kayda değer aktiviteye sahip olduğu bildirilirken, 5-floro-2-(5'-nitro-2'-fural) benzimidazol (FONO₂) (Formül 38) bileşiğinin en aktif bileşik olduğu belirtilmiştir (Bistocchi ve ark., 1984 ; De Meo ve ark., 1989). Bu türevin *Mycetes*, *Cryptococci*, *Aspergilli* ve *B. subtilis*'e karşı *in vitro* ortamdaki antimikrobiyal aktivitesi ve etki mekanizması, *C. albicans* ile yapılan çalışmalar sonucunda açıklanmıştır (Bistocchi ve ark., 1984).

HPLC tekniği kullanılarak FONO₂'nin biyolojik örneklerdeki konsantrasyonu zamana bağlı olarak incelenmiş ve sonuç olarak FONO₂'nin hiçbir organda selektif olarak birikmeden, üriner sistem aracılığı ile hızla elimine olduğu bildirilmiştir (Pedini ve ark., 1991).

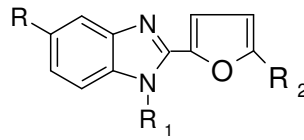
FONO₂'nin toksisitesini test etmek için yapılan *in vivo* araştırmalarda, karaciğer fonksiyonları için, glutamatpiruvat transaminaz (SGPT) aktivitesi, böbrek için ise kan üre azot miktarı ölçülerek, fareler üzerinde 7 günlük i.p. uygulama ile incelenmiştir. Aynı zamanda, renal proksimal tubuller lizozomlarda yüksek konsantrasyonda oluşan bir enzim olan N-asetil-β-D-glukozaminidaz'ın (βNAG) üriner aktivitesinin de incelendiği bu araştırmada, FONO₂ bileşiğinin karaciğer ya da böbrekler üzerinde toksik etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Pedini ve ark., 1994a).

FONO₂'nin antimikrobiyal ve antifungal aktiviteler yönünden benzoksazol analogundan daha üstün olması nedeniyle, imidazol halkasındaki –NH– grubunun bu sınıf bileşikler için biyolojik aktivitede önemli rol oynadığı bildirilmiştir (De Meo ve ark., 1989).

Aynı araştırmacı grubu, yaklaşık 100'den fazla sentezlemiş oldukları tiyenil ve furil taşıyan benzimidazol ve benzoksazol türevi bileşikler üzerinde yaptıkları Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri (QSAR) çalışması sonucunda; monosiklik heteroaromatik halkanın 5' konumundaki elektron çekici –NO₂ grubunun varlığının ve tiyofen ile karşılaştırıldığında furan halkasının, benzoksazol ile karşılaştırıldığında benzimidazol halkasının aktivite için önemli olduğunu bildirmişlerdir (De Meo ve ark., 1990; Pedini ve ark., 1994b). Bu çalışmaya dayalı olarak, sentezlenen 5. konumda –OH veya –NH₂ grupları taşıyan 2-(5'-nitro-2'-furil) benzimidazol türevlerinin, FONO₂'ye eşdeğer veya bazı mikroorganizmalara karşı daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdikleri bildirilmiştir. Fakat bu türevler *C. albicans*' a karşı inaktif bulunmuştur (Pedini ve ark., 1994b).

N-glikozitler, biyolojik aktif aglikon taşıyıcısı olarak bünyelerinde oz taşıdıklarından, biyolojik aktif bileşiklerin N-glikozitlerinin kimi zaman esas bileşiğin etkisini koruması ve bazen de artırması nedeniyle, sudaki çözünürlüğü artırmak üzere 2-(2'-furil) benzimidazol yapısındaki türevlerin N₁-heterozitleri sentezlenmiştir (Pedini ve ark., 1994c).

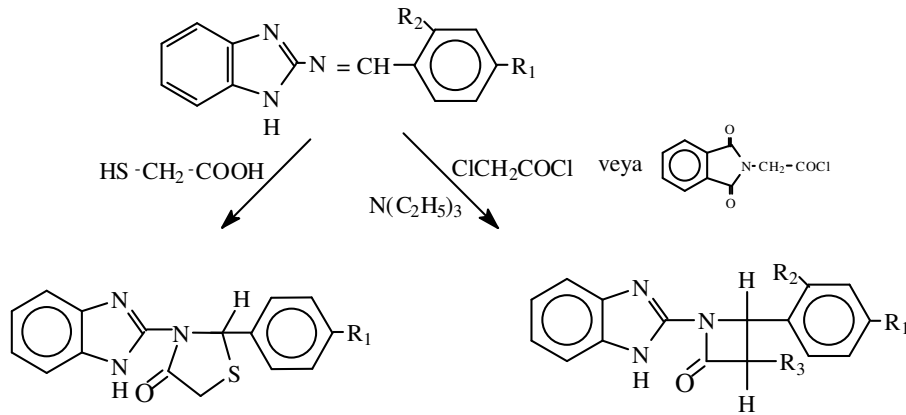
Benzer yapıdaki moleküllerin antilösemik aktivite (Beres ve ark., 1985; Cottam ve ark., 1985) göstermesi nedeniyle, bu türevler de antilösemik bileşikler olarak tasarlanmıştır (Formül 39). Ancak, yapılan incelemeler sonunda, N₁-glikozil türevlerinin, sübstitüe olmamış türevler ile karşılaştırıldığında daha az aktif oldukları ya da hiç antibakteriyel ve antimikotik aktivite göstermedikleri bildirilmiştir. Benzimidazol halkasına oz molekülü katıldığında, sudaki çözünürlüğünün 3-20 kez artmasına rağmen, antilösemik testlerdeki IC₅₀ değeri için, bu çözünürlük değeri ile hala yeterli konsantrasyonu sağlayamadığı belirtilmiştir (Pedini ve ark., 1994c).



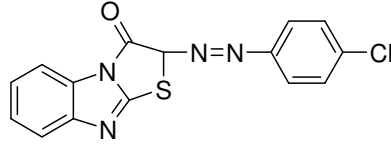
R = H, Cl, F
R₁ = D-ribofuranoz, D-glukoz, D-galaktoz
R₂ = H, NO₂

Formül 39

2-Aminobenzimidazol'ün aromatik aldehitlerle kondensasyonu sonucu elde edilen ariliden-2-aminobenzimidazol türevleri, merkaptasetik asit, kloroasetil klorür ve ftaloil glisil klorür ile siklokondensasyona tabi tutularak, sırası ile 4-tiyazolidinonlar ve azetidinonlar (β-laktam) sentezlenmiştir (Şema 2). Antimikrobiyal aktivite incelemeleri sonucunda, her iki grupta da iyi aktivite gösteren bileşiklerin olduğu bildirilmiştir (Abdel-Rahman ve ark., 1983).



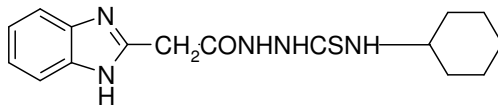
Şema 2. Ariliden-2-aminobenzimidazol türevlerinin merkaptasetik asit, kloroasetil klorür ve ftaloil glisil klorür ile siklokondensasyonu.



Formül 40

Tiyazolo[3,2-a]benzimidazol-2-asetik asit türevlerinin antitüberküloz (Wei ve Bell, 1973; Bell ve Wei, 1976), antidepresan (Bell ve Wei, 1976) ve antimetastatik (Bell ve Wei, 1976; Fenichel ve ark., 1976; Gregory ve ark., 1981) gibi çeşitli aktiviteler gösterdikleri bilinmektedir. Tiyazolo[3,2-a]benzimidazol-3(2H)-on türevleri, aynı zamanda antikonvülzan ve antifungal (Singh ve ark., 1978) etki de göstermektedir. Bu türevler içerisinde yukarıda formülü verilen bileşiğin (Formül 40) 10 mm'lik inhibisyon zon çapı ile *S. aureus*'a karşı orta derecede bir aktivite gösterdiği, ancak daha sonra yapılan ileri birtakım testlerle 500 µg/ml lik dozda bile antibakteriyel aktivite göstermediği bildirilmiştir (Rida ve ark.,1986a).

Birçok tiyazolidinon türevlerinin antimikrobiyal etkileri bilinmektedir ve tiyazolidinonların 5. pozisyonda ariliden süstitüenti taşıması anti- mikrobiyal potansi artırmaktadır (Akerblom, 1974). Benzimidazolün 2. konumunda farklı heterosiklik halka taşıyan türevlerin, aktif antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Abou-Shadi ve ark., 1979).

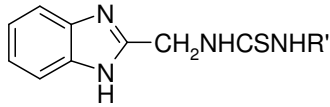


Formül 41

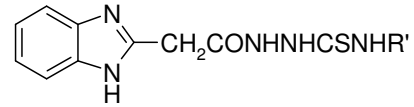
Bir seri N-benzimidazol-2-il-asetil-N'[alkil ve tiyokarbamoil] hidrazinler ve N-benzimidazol-2-il-metil-N'-alkil ve ariltiyo bileşikleri sentezlenmiştir (Samia ve ark., 1986). Antimikrobiyal aktivite çalışmaları sonucunda, bileşiklerin, özellikle *S. aureus*'a karşı daha aktif oldukları ve Formül 41'da görülen türevin 62 µg/ml'lik MİK değeri ile *S. aureus*'a karşı oldukça iyi aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Tiyazolidinonların antimikrobiyal aktivite göstermesinden hareketle, tiyazolidinon ve benzimidazol halka sistemleri aynı molekül üzerinde kondanse

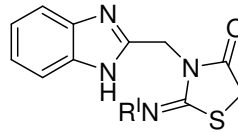
edilerek sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal etki tayinleri sonucunda, bileşikler *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı inaktif bulunmuş, bazı bileşiklerin ise *S. aureus*'a karşı orta derecede etkili olduğu (62-125 µg/ml MİK değeri ile) bildirilmiştir. Ancak, aşağıda formülleri görülen benzimidazollerin tiyosemikarbazid (Formül 42) ve tiyoüre (Formül 43) türevlerinin kendilerine karşılık gelen halkalı ürünleri olan, tiyazolidinon (Formül 44) taşıyan türevlerden daha aktif olduğu bildirilmiştir (Rida ve ark., 1985 ; Rida ve ark., 1986b).



Formül 42

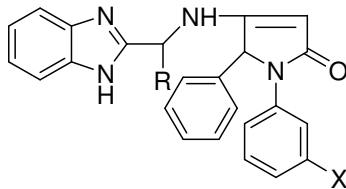


Formül 43



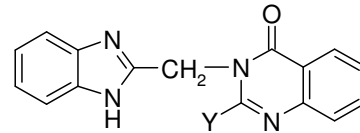
Formül 44

Tiyofen (Merck ve ark., 1966), furan (Fujimoto, 1967), morfolin, piperidin ya da pirazin (Foks ve Mieczyslaw, 1978) gibi heterosiklik halkaları süstitüent olarak taşıyan benzimidazollerin antimikrobiyal ve antifungal aktivite göstermelerinden hareketle sentezlenen ve yan zincir olarak 1,5-dihidro-2*H*-pirol-2-on (Formül 45) ve 4-kinazolinon (Formül 46) taşıyan türevler incelenmiştir. Bu türevlerin *in vitro* ortamda *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı büyüme inhibisyon zon değerlerinin antibakteriyel etki açısından kabul edilebilir olduğu, fakat bu bileşiklerin *S. aureus*'a karşı etkisiz olduğu bildirilmiştir (Rida ve ark., 1986c).



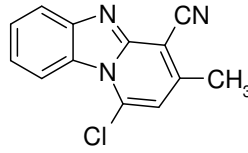
X = CH₃, H
R = H, C₆H₅, (CH₃)₂CH-CH₂

Formül 45



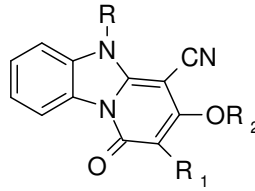
Y = CH₃, C₆H₅

Formül 46



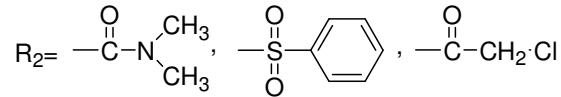
Formül 47

Süstitüe 3-hidroksi-1-okso-1H,5H-pirido[1,2-a] benzimidazol-4-karbonitril türevlerinin *S. aureus*'a karşı etkilerinin tanımlanmasından sonra (Soliman ve ark., 1984; Rida ve ark.,1988a), 1., 2., 3. konumlarda farklı süstitüentleri taşıyan pirido[1,2-a] benzimidazol-4-karbonitril türevleri sentezlenmiştir ve bunların antibakteriyal, antifungal aktiveteleri incelenmiştir. Bileşikler arasında, sadece 1-kloro-3-metilpirido[1,2-a] benzimidazol-4-karbonitril (Formül 47), 16 µg/ml MİK değeri ile *S. aureus*'a karşı belirgin bir *in vitro* aktivite göstermiştir. Ancak bu bileşik *E. coli*' ye karşı inaktif bulunmuştur (Rida ve ark., 1988b).



R=H, CH₃, C₂H₅

R₁=CH₃, C₂H₅, C₆H₅, CH₂-Ø, CH(CH₃)₂, n- C₄H₉



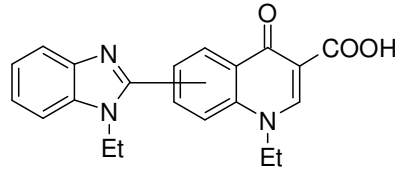
Formül 48

Pirido[1,2-a] benzimidazol halka sisteminin 3-OH ve N-5 konumunda farklı süstitüentleri taşıyan türevler (Formül 48) sentezlenmiştir. Antimikrobiyal etki incelemeleri sonucunda, N-5 alkilasyonu ve 3-OH tosilasyonunun antimikrobiyal aktivite kaybına neden olduğu ve sonuçta serbest 3-OH ve 5-NH süstitüentlerinin geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite için gerekli olduğu bildirilmiştir. 3-OH türevlerinin, *S. aureus* ve *C. albicans*'a karşı 3-5 µg/ml MİK değerleri ile referans antibiyotiklerle kıyaslandığında çok iyi sonuçlar verdiği belirtilmiştir (Badawey, 1992).

Oksikonazol ile yapısal olarak benzeyen bazı nitro-benzimidazol türevi benziloksiimino bileşiklerinin *C. tropicalis* ve *C. albicans*'a karşı antimikotik aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu bileşikler ile ilgili yapı-etki ilişkilerine (SAR) yönelik çalışmalar, benzimidazol çekirdeğinin nitro gibi elektron çekici bir grup ile süstitüsyonunun biyolojik aktivite açısından önemli olduğunu göstermiştir (Garuti ve ark., 1987).

5-N-Açil-2-(2-hidroksifenil) benzimidazol türevlerinin, periodontal rahatsızlıklardan sorumlu *Actinomyces viscosus* ve *Bacteriodes gingivalis*'e karşı yüksek düzeyde antibakteriyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Coburn ve ark., 1987).

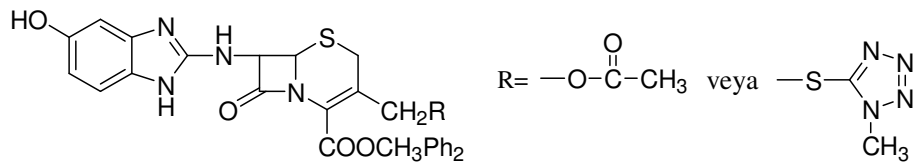
Benzimidazol halkasının 1. konumunda triazol-5-tiyon, tiyadiazol ve tiyazolin halka sistemlerini taşıyan türevleri antimikrobiyal açıdan test edildiğinde, bu bileşiklerin *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı 14-22 mm'lik inhibisyon zon çapı gösterdiği, fakat hiçbirisinin referans bileşik Streptomisin ile kıyaslandığında *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı daha üstün bir aktivite sağlayamadığı bildirilmiştir (Habib ve ark., 1989).



Formül 49

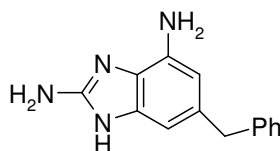
Kinolon grubu kemoterapötiklerde, 6. ve 7. konumların süstitüsyonunun antibakteriyel aktiviteyi artırdığı bilinmektedir (Fujita, 1984). Ancak, kinolon halkasının 6. ya da 7. konumunda benzimidazol halka sistemini taşıyan izomerlerden (Formül 49) sadece 7 analogununun *Shigella dysenteriae*'ye karşı 333 µg/ml MİK değeri ile zayıf bir aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Brana ve ark., 1990).

7. Konumda aminobenzimidazol halkası taşıyan sefalosporin türevlerinde (Formül 50), gram-pozitif ve bazı gram-negatif mikroorganizmalara karşı Sefotaksim ile karşılaştırılabilir bir aktivite elde edilmiştir (Jung ve ark., 1991).



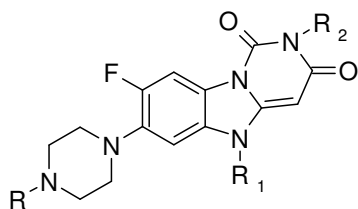
Formül 50

Yeni dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzim inhibitörleri geliştirmek üzere yapılan bir çalışmada, Trimetoprim ve Metotreksat gibi DHFR'nin güçlü inhibitörlerinde yer alan 2,4-diaminopirimidin yapısına analog olarak, 2,4-diamino-6-benzilbenzimidazol (Formül 51) ve bunun indol analogları veya bunların daha kompleks tri ya da tetrasiklik türevleri sentezlenmiş, ancak yapılan incelemeler sonucunda bu bileşiklerin istenilen etki düzeyini sağlayamadıkları bildirilmiştir (Ohemeng ve Roth, 1991).



Formül 51

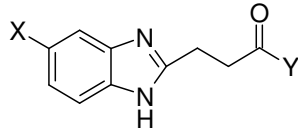
Benzimidazol halkasının 2. konumunda, tiyenil (Merck ve ark., 1966), furil (Fujimoto, 1967), pirazinil (Foks ve Mieczyslaw, 1978), piridil (Hisano ve ark., 1982), kinazolinil (Rida ve ark., 1986c), dihidropirolil (Rida ve ark., 1986c) ve tiyazolidinil (Rida ve ark., 1986b) gibi halka sistemlerini taşıyan bileşiklerin antifungal ve antimikrobiyal aktiviteler gösterdiği bildirilmektedir. 2. konumda triazin ya da barbitürat halkalarını taşıyan benzimidazollerin ise *in vitro* *E. coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *C. albicans*'a karşı inaktif oldukları belirtilmiştir (Badawey ve ark., 1991).



R = H, Me, BOC (Butoksikarbonil)
R₁ = Etil veya siklopropil
R₂ = H, OH, NH₂, NHBOC, NMeBOC, N(Me)₂

Formül 52

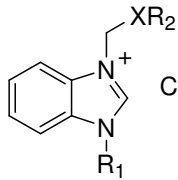
Nalidiksik asit ve fluorokinonlara alternatif olarak pirimido[1,6-a]benzimidazol yapısında yeni bir sınıf potent DNA-giraz inhibitörü bileşik sentezlenmiştir (Formül 52). Bu bileşiklerin Norfloksazin ya da Fleroksazin gibi güçlü DNA-giraz inhibitörlerinden daha az potent olduğu bildirilmekle birlikte araştırmacılar, bu yeni sınıf DNA-giraz inhibitörlerinin etki mekanizmasının aydınlatılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu ve böylece daha da potent türevlerin bulunabileceğini bildirmişlerdir (Hubschwerlen ve ark., 1992).



X = H, Cl
Y = OH, OCH₃, NH₂, NHOH, OC₂H₅

Formül 53

1*H*-benzimidazol-2-propanoik asit türevi bir seri bileşik (Formül 53) sentezlenip, antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri incelenmiştir. Benzimidazol halkasının 2.ve 5. konumlarından farklı sübstitüsyonları takiben yapılan etki incelemeleri sonucunda, 2. konumda ester olduğunda etil yerine metil sübstitüentinin etkiyi artırdığı, 5. konumdaki klor mevcudiyetinde ise etkinin azaldığı bildirilmiştir. Bileşikler arasında N-hidroksi-3-(1*H*-benzimidazol-2-il)-propionamid'in, *C. albicans* ve *C. tropicalis*'e karşı önemli bir aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ancak bileşiklerin hiçbirinin Ketokonazolden üstün olmadığı belirtilmektedir (Güneş ve Coşar, 1992).



R₁ = C₆H₁₃, C₈H₁₇
R₂ = C₂H₅, C₄H₉, C₆H₁₃, C₈H₁₇, C₁₀H₂₁, C₁₂H₂₅, C₁₄H₂₉, C₁₆H₃₃
X = S, O

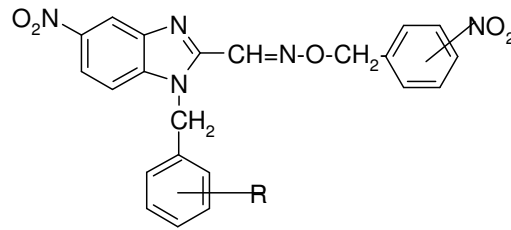
Formül 54

3-alkoksimetil-1-etil-, 3-alkiltiyometil-1-etil-, 3-alkoksimetil-1-butil- ve 3-alkiltiyometil-1-butilbenzimidazolium klorür yapısında bir seri bileşik sentezlenip, antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş ve 3-dodesiltiyometil-1-etilbenzimidazolium klorür'ün en yüksek antibakteriyel aktiviteyi gösterdiği bildirilmiştir (Pernak ve ark., 1993). Aynı araştırmacı grubu (Pernak ve ark., 1994), yukarıda genel formülleri verilen (Formül 54) 1-hekzil ve 1-oktil benzimidazol türevlerini sentezleyerek,

bakteri ve funguslara karşı aktivitelerini test etmişler ve oktiltiyometil ve desiloksimetil gruplarını taşıyan klorür analoglarında en iyi antibakteriyel aktiviteyi gözlemişlerdir.

Diğer bir çalışmada, kuaterner amonyum bileşiklerinin antimikrobiyal özelliklerinden hareketle sentezlenen yeni 1-benzilbenzimidazolium klorür bileşiklerinin antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir. Yapılan QSAR çalışması sonucunda, MİK değerlerinin kuaterner azot atomundaki sübstitüentlerin çeşidine ve büyüklüğüne bağlı olduğu, en uygun alkilin ise 9-12 arasında karbon atomu içerdiği ve bileşiklerin hidrofobikliği ile antimikrobiyal aktivitenin arttığı bildirilmiştir (Pernak ve ark., 1997).

Bir başka çalışmada, sentezlenen bileşikler arasında N,N'-bis[3-(1-alkoksi metil)piridinyum klorür] metilendiamin, 1-undesikloksimetil-3-(1-benzimidazol metilamino)piridinyum, 1-undesikloksimetil- ve 1-dodesikloksimetil-3-[1(benzotriazol-1-il)metilamino] piridinyum klorür'ün, benzalkonyum klorür'ün aktivitesine benzer geniş bir antibakteriyel spektruma ve güçlü bir aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir. Molekülde iki kuaterner amonyum parçasına sahip bileşiklerin bakteri ve mantarlara karşı güçlü aktiviteye sahip oldukları, molekülünde 4 veya 5 azot atomu taşıyan ve molekül ağırlığı 445'den daha yüksek olan piridinyum tuzlarının ise potent biosidler olduğu belirtilmektedir (Pernak ve ark., 2001).

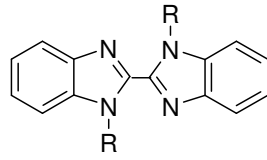


R = H, 4-Cl, 2,4-Cl, 4-F

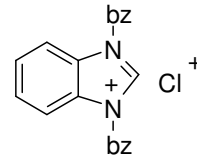
Formül 55

Antimikotik aktiviteye sahip 5-nitro-benzimidazol (Formül 55) ve indol türevi bileşikler sentezlenip, *Salmonella typhimurium*'un iki farklı türü üzerinde genotoksisiteleri araştırılmıştır. Kimyasal yapı ile mutajenik aktivite arasındaki ilişki

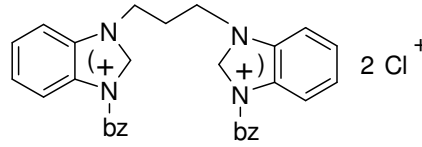
incelediğinde, yüksek mutajenik aktivite için oksim grubuna bağlı fenil halkasında nitro grubunun gerektiği, buna karşılık halojenlerin ise olmaması gerektiği bildirilmiştir. Ayrıca bakteriyal enzim sistemleri tarafından yapılan metabolizmanın, genotoksisitesinin belirmesinde önemli olduğu ve bu türevlerin mutajenik aktivitesinin, klasik bakteriyal nitroredüktaz enzimi ile aktivasyona bağlı olduğu da bildirilmiştir. N-1 konumunda yer alan benzil grubunda süstitüent taşımayan türev, oldukça etkili olarak bildirilmekle birlikte, türevlerin yeterince selektif ve güvenli olmadıkları da belirtilmektedir (Hrelia ve ark.,1993).



Formül 56a

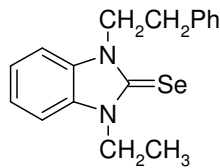


Formül 56b

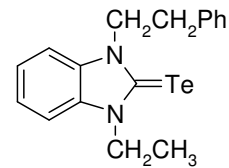


Formül 56c

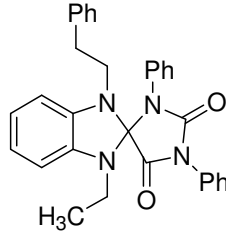
Benzimidazol, benzotiyazol ve imidazol yapısında bileşikler sentezlenip antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Benzotiyazol türevlerinin gram-pozitif bakterilere karşı çok etkili olduğu bildirilmekle birlikte, yukarıda formülleri verilen (Formül 56a-c) bazı benzimidazol türevleri gram-pozitif bakterilerden *S. aureus* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı önemli antibakteriyel aktivite gösterirken, bileşiklerin hiçbirisinde gram-negatif bakterilere karşı önemli bir etki bulunamamıştır. Araştırmacılar, bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesinin bakteri hücre duvarı yapısı ile ilgili olabileceğini de vurgulamışlardır (Küçükbay ve ark., 1995).



Formül 57

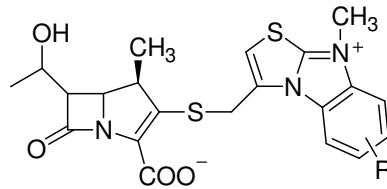


Formül 58



Formül 59

Benzimidazol türevi bazı yeni bileşikler sentezlenip, antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Selenyum taşıyan bileşik (Formül 57), 50 µg/ml MİK değeri ile gram-pozitif bakterilerden *S. aureus* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı en etkili; yapısında tellurium taşıyan bileşik (Formül 58) 50 µg/ml MİK değeri ile gram-negatif bakterilerden *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı tek etkili bileşik; spiro yapısı taşıyan bileşik (Formül 59) ise 50 µg/ml MİK değeri ile *C. albicans* ve *C. tropicalis*'e karşı en etkili bileşik olarak bulunmuştur (Küçükbay ve ark., 2003).



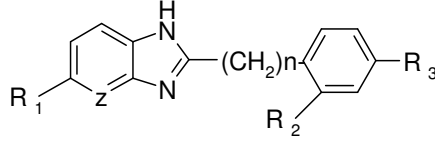
R = H, CH₃, NO₂

Formül 60

Kuaterner amonyum bileşiklerinin potent antimikrobiyal ve antifungal aktivitelere sahip olduğu pek çok literatürde yer almaktadır (Okazaki ve ark., 1997). Oh ve arkadaşları (1995) da, tiyazolo [3,2-a] benzimidazol yapısı taşıyan 1β-metil karbapenem analoglarından özellikle kuaterner amonyum grubu taşıyan türevlerde (Formül 60) *E. coli* ve *Enterobacter cloacae*'ye karşı aktivitenin arttığını bildirmişlerdir. Nitro grubu taşıyan türevlerde ise antibakteriyel aktivitenin hem gram-pozitif, hem de gram-negatif bakterilere karşı azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca, sübstitüentin bazisitesinin aktiviteyi önemli ölçüde etkilediği de belirtilmiştir (Kim ve ark., 1989).

Başka bir çalışmada, 2-(4-metilpiperidin-1-il)metil-5(6)-kloro-1H-benzimidazolün orta şiddette antimikrobiyal ve antifungal aktivite gösterdiği ve bu

molekül üzerinden hazırlanan N'-süstitüe türevlerde ise aktivitenin bir miktar daha arttığı bildirilmiştir (Göker ve Kuş, 1995).



R₁ = H, Cl, CH₃, NO₂

R₂ = H, OCH₃, CH₃

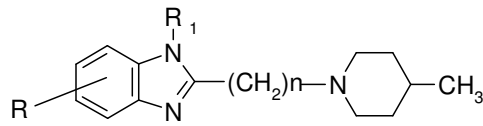
R₃ = H, Cl, Br, F, CH₃, OCH₃, OC₂H₅, C₂H₅, NO₂, C(CH₃)₃

Z = CH, N

n = 0, 1

Formül 61

Daha önce antibakteriyel aktiviteleri test edilmiş bir seri benzimidazol (Formül 61) ve imidazopiridin türevleri üzerinde yapılan yapı-etki çalışmaları sonucunda, *S. aureus* ve *B. subtilis*'e karşı olan aktivitenin, R₃ konumunda lipofilik süstitüentler ile arttığı ve ideal lipofilik karakterin (log *P*) 4.9 civarında olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, elektron çekici süstitüentlerin etkiyi azalttığı; R₃ konumunda hacimli gruplar olduğunda *E. coli*'ye karşı olan aktivitenin arttığı; bileşikler metilen grubuna sahip olduğunda *B. subtilis*'e karşı olan aktivitenin azaldığı; R₂ konumunda daha az lipofilik karakterde süstitüentler yer aldığında ise *P. aeruginosa*'ya karşı biyolojik aktivitenin daha da arttığı bildirilmiştir (Özden ve ark., 1995; Ertepinar ve ark., 1995).



n = 0, 1

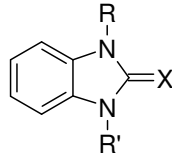
R = 5(6)H, 5(6)Cl, 5-Cl, 5(6)CH₃, 5(6)COOMe, (5H- 6Cl) veya (5-Cl; 6-H), (5-H; 6-Me), veya (5-Me; 6-H)

R₁ = H, CH₂-Ø, CH₂-Ø_(p)F, CH₂-Ø_(m)-Cl, CH₂-Ø_(p)-Cl

Formül 62

Benzimidazol halkasının 2. konumda piperidin halkası taşıyan bir seri bileşik sentezlenip, bunların antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri incelenmiştir. Bu türevler (Formül 62) içerisinde n=0, R=H ve R₁ = CH₂Ø veya R₁ = CH₂Ø - (p)-F olan türevlerin, Ketokonazol kadar aktif olmamakla birlikte, 12.5 µg/ml MİK

değerleri ile *C. albicans*'a karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre, N' atomunun, benzil veya *p*-fluorobenzil grupları ile süstitüsyonunun antifungal aktiviteyi artırdığı, iki heterosiklik halka arasındaki metilen zincirinin ise antifungal aktivitenin azalmasına neden olduğu ve aynı zamanda benzimidazolün 5(6). konumundaki klor atomunun bu seri bileşiklerde *in vitro* antifungal aktiviteyi artırmadığı da bildirilmiştir (Kuş ve ark., 1996).

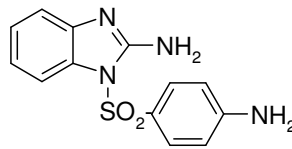


R, R' =Me, X=Se
R, R' =Et, X=S
R, R' =Et, X=Se
R=Me, R'=Et, X=S
R=Me, R'=Et, X=S

Formül 63

16. grup elementleri (O, S, Se, Te) ve olefinlerden hareketle sentezlenen benzimidazol ve imidazolidin içeren siklik ürelerin antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir. Yukarıda formülleri yer alan (Formül 63) benzimidazol türevleri gram-pozitif bakterilerden *Enterococcus faecalis* ve *S. aureus*'a karşı 25-400 µg/ml arasında MİK değerleri göstermişlerdir. Bileşiklerin hiçbirisi gram-negatif bakterilerden *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir (Çetinkaya ve ark., 1996).

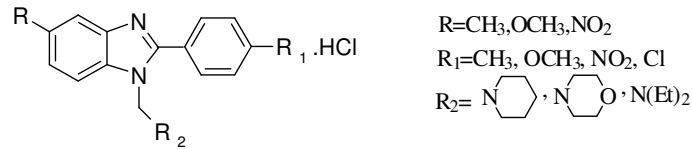
Diğer bir çalışmada, 2-aril-4-hidroksipirido[1,2-a]benzimidazol ve 1-süstitüe 3-arilpirazino[1,2-a]benzimidazol türevlerinde önemli bir antifungal ve antibakteriyel aktiviteye rastlanmadığı bildirilmiştir (Demirayak ve Güven, 1995; Demirayak ve Mohsen, 1996).



Formül 64

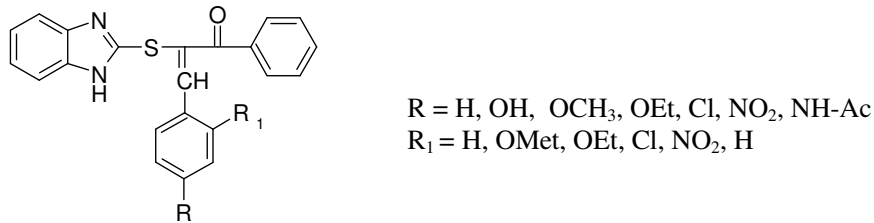
Bir çalışmada, 1*H*-benzimidazol-2-il-amin ve 1-metil-1*H*-benzimidazol-2-il-amin'in benzensülfonil türevleri sentezlenip, antimikrobiyal, antifungal ve genotoksik aktiviteleri test edilmiştir. 2-aminobenzimidazoller N' atomundan 4-nitro

ya da 4-aminobenzensülfonil ile süstitüe edildiğinde orta derecede bir antibakteriyel aktivite gözleendiği bildirilmiştir. Yapıca sülfonamidleri andıran ve yukarıda formülü verilmiş olan bileşiğin (Formül 64), 25 µg/ml MİK değeri ile *B. subtilis* ve 200 µg/ml MİK değeri ile de *S. aureus*'a karşı Sülfametoksazol (sırası ile MİK değerleri 12 µg/ml ve 25 µg/ml) ile kıyaslanabilir olduğu ve Sülfanilamidden ise (sırası ile MİK değerleri 200 µg/ml ve >200 µg/ml) daha etkili olduğu bildirilmiştir. Hiçbir bileşik, 200 µg/ml'lik maksimum konsantrasyonda fungus ve gram-negatif bakterilere karşı aktivite göstermemiştir. Bu bileşikler ile ilgili olarak yapılan QSAR çalışması sonucunda ise, 2-aminobenzimidazol türevlerinin metilasyonunun genotoksisiteyi artırdığı ve buna paralel olarak da 1-metil-2-aminobenzimidazol türevinin ise en yüksek mutajenik potense sahip olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda, 2. konumdan amino grubunun süstitüsyonu ile mutajenitede önemli bir azalma olduğu, bununla beraber antibakteriyel aktivitenin de sınırlandığı bildirilmiştir (Benvenuti ve ark., 1997).



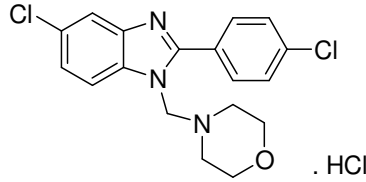
Formül 65

1-(Dialkilaminometil)-2-(p-süstitüe fenil)-5-süstitüe benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiş ve bu türevlerin antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Yukarıda genel formülleri verilen (Formül 65) türevler içerisinde, 1-(dietilaminometil)-2-(4-kloro-fenil)-5-nitro-benzimidazol hidroklorürün en iyi aktiviteye sahip olmakla birlikte, sentezlenen bazı analogların da Streptomisin ile kıyaslandığında gram-pozitif ve gram-negatif mikroorganizmalara karşı eşdeğer ya da daha fazla antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Ersan ve ark., 1997a).



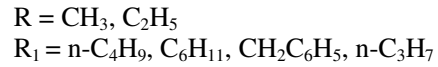
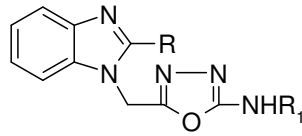
Formül 66

Aynı araştırmacı grubu, 2-merkaptobenzimidazol türevlerinin oldukça iyi antimikrobiyal aktiviteye sahip olmasından (Rida ve ark., 1986b) hareketle, β -[(2-benzimidazolil)tiyo]- β -benzoil stiren türevi bileşikleri (Formül 66) sentezlemişler ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir (Ersan ve ark., 1997b). Sentezlenen bütün bileşiklerin, 12.5-50 $\mu\text{g/ml}$ MİK değerleri ile, Ampisilin sodyum ve Klotrimazol'den daha az olmakla birlikte gram-pozitif, gram-negatif bakterilere ve funguslara karşı etkili olduklarını bildirmişlerdir.



Formül 67

1,2,5-Trisübsitüe benzimidazol türevlerinin antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri incelendiğinde, Formül 67 ile verilen bileşiğin, *C. parapsilosis*'e karşı referans bileşik Klotrimazolden daha yüksek, *C. albicans*'a karşı ise eşdeğer etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu bileşiğin gram-pozitif bakterilere karşı Gentamisin ve Streptomisin'den daha etkili olduğu belirtilmiştir (Uzunoğlu ve ark., 1997).



Formül 68

Bir çalışmada, benzimidazol türevlerinin geniş bir biyolojik aktivite spektrumu göstermesinden hareketle (İfe ve ark., 1989), bir seri oksadiazol-1-il-benzimidazol türevi bileşik sentezlenmiş ve yapılan antimikrobiyal incelemeler sonucunda, 1. konumda oksadiazol halkası taşıyan bileşiklerin (Formül 68), *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı orta derecede antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Habib ve ark., 1997a). Aynı araştırmacı grubu, 1. konumda triazolo çekirdeği taşıyan türevlerde yapmış oldukları incelemeler sonucunda, antimikrobiyal aktiviteye rastlanmakla birlikte, bu aktivitenin standart olarak kullanılan antibiyotiklerden daha üstün olmadığını bildirmişlerdir (Habib ve ark., 1997b).

Bir başka çalışmada ise, sentezlenmiş tiyazolil benzimidazol ve benzimidazolil-tiyazolo[4,5-d]pirimidin türevlerinin *in vitro* antibakteriyel, antifungal aktiviteleri incelenmiştir. Test edilen bileşiklerin *Aspergillus niger* (MİK<50) ve *Penicillium* türlerine (MİK<50-<25 µg/ml) karşı oldukça etkili oldukları bildirilmiştir (Habib ve ark., 1997c).

İmidazol süstitüe dipeptid amid yapısındaki bileşiklerde, imidazol halka sistemi benzimidazol gibi daha az bazik heterosiklik halkalar ile yer değiştirildiğinde, antifungal aktivitede azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Devadas ve ark., 1997).

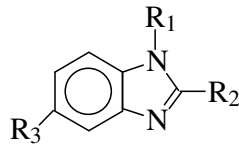
Önemli benzimidazoller arasındaki Tiyabendazol, Fuberidazol, Karbendazim, Benomil, Mekarbenzid, Sipendazol'un düşük konsantrasyonda hücre bölümünü inhibe ederek fungustatik, yüksek dozlarda ise fungusid etkili oldukları bildirilmiştir (Berg ve ark., 1986).

Cryptococcus neoformans, AIDS'li hastalarda sistemik mikozise neden olmaktadır. Bu hastalığın tedavisinde i.v. yolla kullanılan ve bilinen en toksik antibiyotiklerden olan Amfoterisin B dışında fazla bir alternatif olmaması nedeni ile oral kullanıma uygun ve toksik olmayan yeni anticriptococcal bileşiklere ihtiyaç vardır. Antihelmentik aktivitesi iyi bilinen ve halen piyasada da bulunabilen benzimidazol türevlerinin (Berg ve ark., 1986) fırsatçı mantar *C. neoformans*'a karşı etkisi, *in vitro* ortamda ve Amfoterisin B ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. *C. neoformans*, C-2 de karbamat yerine tiyazol halkası taşıyan Tiyabendazole karşı dirençli iken, ilk karbamat benzimidazol olan Parbendazole duyarlı olarak bildirilmiştir. Fenbendazol (Formül 69), test edilen bileşikler içerisinde en potent ve etkisi Amfoterisin B'den iki kat daha fazla olarak bildirilmiştir (Cruz ve ark., 1994).

Tiyabendazol ve Karbendazim'in kimyasal yapıları farklı olmasına rağmen mitoz bölünmenin potent inhibitörleri olmaları nedeniyle, aktivite için benzimidazol halka sisteminin gerekli olduğu bildirilmiştir (Davidse ve Flach, 1978).

G. lamblia, diyare salgınlarının başlıca nedenidir. Metronidazol, Kinakrin ve Furazolidon bu enfeksiyonun tedavisinde kullanılan başlıca ilaçlardır. Ancak mevcut

yan etkileri, normal bağırsak florasını etkilemeleri, fazla absorbsiyonları, intestinal enfeksiyonlara karşı etkilerinin sınırlı olması ve potent karsinogenezis etkileri nedeni ile antihelmentik olarak etkinliği kanıtlanmış olan Mebendazol, Tiyabendazol ve Albendazol'un (Formül 69), *G. lamblia*'ya karşı etkinliği incelenmiştir (Edlind ve ark.,1990). Mebendazol, bağırsaktan absorbe olmaması nedeniyle intestinal enfeksiyon tedavisi için son derece uygundur. Aynı zamanda Mebendazol oldukça az yan etkiye sahiptir ve normal bağırsak florasına karşı etkisizdir. Albendazol kısmi olarak absorbe olur ve nonintestinal helment formlarına da etkilidir. Metronidazol ve Kinakrin için IC₅₀ değerleri sırası ile 1.5 µg/ml ve 0.2 µg/ml iken, araştırmacıların incelemeleri sonucunda Albendazol IC₅₀ = 0.031 µg/ml ve Mebendazol IC₅₀ = 0.045 µg/ml değerleri ile son derece yüksek aktiviteye sahip olarak bulunmuşlardır. Albendazol ve Mebendazol, Metronidazolden 30-50 kez, Kinakrinden 30-40 kez daha aktif bulunmuştur. Tiyabendazol (IC₅₀ = 3.9 µg/ml), bir nonkarbamat benzimidazol olarak daha az aktif bulunmuştur.



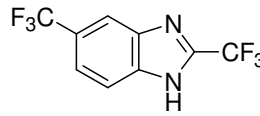
	R₁	R₂	R₃
	-----	-----	-----
Benzimidazol	-H	-H	-H
Benomyl	-CONH(CH ₂) ₃ CH ₃	-NHCO ₂ CH ₃	-H
Tiyabendazol	-H	-4-tiyazolil	-H
Karbendazim	-H	-NHCO ₂ CH ₃	-H
Albendazol	- H	-NHCO ₂ CH ₃	-S(CH ₂) ₂ CH ₃
Fenbendazol	- H	-NHCO ₂ CH ₃	- S-φ
Oksifendazol	- H	-NHCO ₂ CH ₃	-SO- φ
Oksibendazol	- H	-NHCO ₂ CH ₃	-O(CH ₂) ₂ CH ₃
Mebendazol	- H	-NHCO ₂ CH ₃	-CO- φ
Parbendazol	- H	-NHCO ₂ CH ₃	-(CH ₂) ₃ CH ₃

Formül 69

P. carinii, AIDS gibi immun sistemin yetersizliği sonucu ortaya çıkan hastalıklarda sıklıkla enfeksiyonlara neden olmaktadır. Tedavide mevcut kullanılan ilaçların (Pentamidin ve Trimetoprim-Sülfametoksazol gibi) yan etkileri nedeniyle, özellikle AIDS hastalarında, *P. carinii* pnömonisinin hem profilaksisi hem de tedavisi için yeni ilaçlara gereksinim vardır. Benzimidazol türevlerinin, diğer

mikroorganizma mikrotubullerine karşı etki gösterdiğinin bilinmesi (Edlind ve ark., 1990) ve bu türevlerin (Formül 69) helmentlere karşı yüksek inhibitör aktivite gösterirken, memeli hücrelerine karşı düşük toksisiteli olmaları nedeni ile, bu bileşikler *P. carinii*'ye karşı test edilmiştir. Test edilen ilaçlar içerisinde Parbendazol'ün 0.1 µg/ml konsantrasyon ile en etkili türev olduğu ve Tiyabendazol'ün ise ancak 10 µg/ml konsantrasyonda etki gösterdiği bildirilmiştir. Albendazol 0.5 µg/ml, diğer bileşikler ise 1 µg/ml konsantrasyonda etkili bulunmuşlardır. 2. konumda karbamat taşımayan iki türevin (Benzimidazol ve Tiyabendazol) diğer türevlere göre 10 kat daha az etkili olduğu ve bileşikler arasındaki etki şiddeti farklılığının ise 5. konumdaki süstitüente bağlı olduğu bildirilmiştir (Bartlett ve ark., 1992).

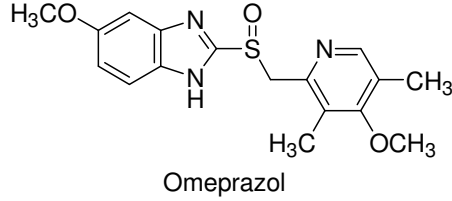
Antihelmentik olarak yaygın kullanıma sahip Albendazol'ün *P. carinii*'ye karşı etkisi incelenmiştir. 300-600 µg/ml/gün doz ile tedavi edilmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, %90'dan fazla oranda *P. carinii* enfeksiyonunu tedavi ettiğini ve *P. carinii* pnömonisinin hem profilaksisi, hem de tedavisi için önemli olduğu bildirilmiştir (Bartlett ve ark., 1994).



Formül 70

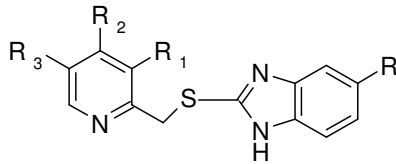
5. ve 6. Konumlarında biyoizosterik süstitüentler (-Cl, -F, -CF₃, -CN) taşıyan 2-trifluorometil-1H-benzimidazol türevi 7 bileşik sentezlenmiş ve *G. intestinalis*, *T. vaginalis*, *P. falciparum* D6, *P. falciparum* W2'ye olan *in vitro* antiprotozoal etkileri araştırılmıştır. Bu türevler içerisinde Formül 70 ile verilen bileşiğin *T. vaginalis*'e karşı olan etkinliği (IC₅₀ = 0.232 µM), Albendazol (IC₅₀=3.390 µM)'den 14 kat daha fazla iken, Metronidazol (IC₅₀=0.236 µM) ile hemen hemen aynıdır. Bu bileşiğin *G. intestinalis*'e olan IC₅₀ = 0.672 µM iken, Albendazol için IC₅₀=0.038 µM ve Metronidazol için IC₅₀ = 1.226 µM) olarak bulunmuştur. Antimalaryal aktiviteleri karşılaştırıldığında, Formül 70'de verilen bileşik ve bu bileşiğin 5(6) -Cl içeren türevi dışındaki bileşiklerde aktivite görülmemiştir (IC₅₀ >20). Bu çalışmada, Formül 70 ile verilen bileşik, *P. falciparum*

D6 için $IC_{50} = 5.98 \mu M$ ve *P. falciparum* W2 için $IC_{50} = 6.12 \mu M$ değeri ile en etkili türev olarak belirtilmiştir. Standart olarak kullanılan Meflokin için bu değerler, sırasıyla $0.048 \mu M$ ve $0.028 \mu M$ 'dir (Navarrete-Vazquez ve ark., 2006).



Formül 71

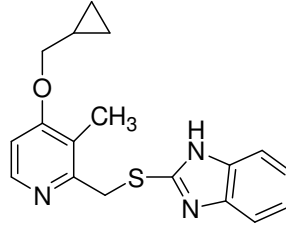
Benzimidazol türevi bileşiklerden olan Albendazol, Tiyabendazol, Mebendazol (Formül 69) ve Albendazol'un sülfon ve sülfoksit metabolitleri yanı sıra, H^+-K^+ ATPaz inhibitörü olan Omeprazol (Formül 71)'ün *P. falciparum* 3D7'ye olan *in vitro* antimalaryal etkisi araştırılmıştır. Tiyabendazol, Mebendazol, Albendazol sülfon ve Albendazol sülfoksit bileşiklerinin 1×10^{-4} M konsantrasyonda büyüme inhibasyon değerleri %13-36 arasında değişmektedir. Bu bileşiklerin pH = 6.8, 7.4 ve 8.0 olan kültürlerde inhibasyon konsantrasyonları (EC_{50} ve EC_{90}) incelendiğinde, Albendazolün etkinliği pH'ya bağımlı olarak değişmektedir (EC_{50} = etkisiz- 2.10^{-6} M; EC_{90} = etkisiz). Bu çalışmadaki en etkili türev olan Omeprazol için $EC_{50} = 2.10^{-5}$ - 4.10^{-5} M ve $EC_{90} = 5.10^{-5}$ - 8.10^{-5} M olarak bulunmuştur. Diğer bileşiklerde aktivite görülmemektedir. Standart olarak kullanılan Kinin için $EC_{50} = 8.10^{-9}$ - 6.10^{-8} M ve $EC_{90} = 3.10^{-8}$ - 9.10^{-8} M, Klorokin için $EC_{50} = 5.10^{-9}$ - 7.10^{-9} M ve $EC_{90} = 9.10^{-9}$ - 4.10^{-8} M olarak belirtilmiştir (Skinner-Adams ve ark., 1997).



R = H, OCH₃, OCHF₂
R₁ = CH₃, OCH₃
R₂ = O(CH₂)₃OCH₃, OCH₃, OCH₂CF₃
R₃ = H, CH₃

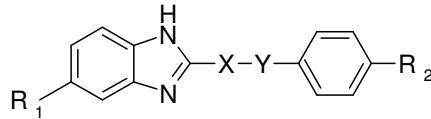
Formül 72

Benzimidazollerin sülfid analoglarının (Formül 72), proton pompası inhibitörü olarak *in vitro Helicobacter spp.*'e karşı selektif antibakteriyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Sjöström ve ark., 1997).



Formül 73

Başka bir çalışmada, 2-[[2-(piridil)metil]tiyo]-1*H*-benzimidazol türevlerinin *in vitro* anti *Helicobacter pylori* bileşikler olarak yapı-aktivite ilişkileri (SAR) ve *in vivo* yararlılıkları değerlendirilmiştir. Piridinil halkasının 4. pozisyonunda daha lipofilik ve hacimli yapıda sübstitüentlere sahip olan bileşiklerin genellikle daha düşük MBK (Minimum Bakterisidal Konsantrasyon) değerlerine sahip oldukları bildirilmiştir. Yapı-aktivite çalışmaları sonucunda potent olarak bulunan bileşiklerden biri (Formül 73) *in vivo Helicobacter felis* ile enfekte farelerde test edilmiş, ancak bu modelde net bir antibakteriyel aktivite gözlenmemiştir. Bunun yerine potent bir asit sekresyon inhibisyonu gözlenmiştir. Bu bulgudan hareketle, metil tiyo bileşiğinin *in vivo* proton pompa inhibitörü olan metil sülfenil türevine okside olduğu ve bu yüzden yeni anti *Helicobacter pylori* terapötikleri geliştirmek için metabolik aktivasyonu önleyecek yapısal değişiklik olması gerektiği bildirilmektedir (Kühler ve ark., 1998).



$R_1 = \text{H, Cl, CH}_3, \text{NO}_2, \text{OCH}_3$

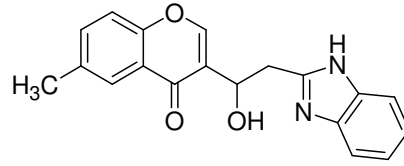
$R_2 = \text{H, Cl, Br, CH}_3, \text{NO}_2, \text{NH}_2, \text{OCH}_3, \text{OC}_3\text{H}_7$

$X = \text{—, CH}_2$

$Y = \text{—, O}$

Formül 74

Tüberkülostatik aktiviteleri önceden test edilmiş (Gümüş ve ark., 1989) olan 2,5-disübstitüe benzimidazol türevleri (Formül 74) üzerinde yapılan yapı-etki çalışmaları sonucunda, R_2 konumunda hacimli sübstitüentler olduğunda inhibitör aktivitenin arttığı, bununla birlikte R_1 konumunda elektron çekici sübstitüentler yer aldığında ise, bu özelliğin inhibitör etki şiddetinin artmasına katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Geban ve Ark., 1996).



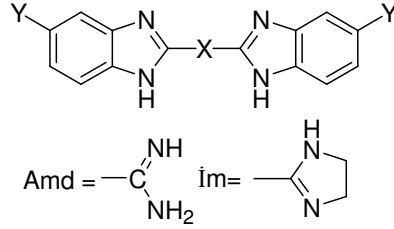
Formül 75

3-formil kromonlar ile aktif metil grubu taşıyan 2-metilbenzimidazol, 2-metilbenzotiyazol ve 3-(R²-CH₂-)-2-metilbenzotiyazolium halojenür türevlerinin kondensasyonu sonucu elde edilen bileşiklerin antimikobakteriyel aktiviteleri *Mycobacterium tuberculosis* ve *Mycobacterium fortuitum*'a karşı test edilmiştir. Formül 75 ile gösterilen benzimidazol türevinin referans, bileşik İzoniazid'ten daha iyi olmamakla birlikte 0.6x10⁻⁴ M'lık MİK değeri ile etkili olduğu bildirilmiştir (Gasparova ve Lacova, 1997).

1.4. Amidin Grubu İçeren Benzimidazol ve Bis-benzimidazol Türevi Bileşiklerin Antiparazit ve Antimikrobiyal Etkileri

Amidin grubu taşıyan bis-benzimidazol türevi bir seri bileşik sentezlenmiş ve çeşitli mikroorganizmalara olan etkileri araştırılmıştır (Tablo 4). Dikasyonik bis-benzimidazol türevi olan 9 bileşiğin *Giardia lamblia* WB (ATCC 30957)'ye olan *in vitro* IC₅₀ µM ve *Giardia lamblia* topoizomerez II enzim inhibisyon değerleri IC₅₀ µM Tablo 4'de verilmektedir. Benzimidazoller arasındaki alkil zincirindeki karbon sayısı 2 olduğunda aktivite yüksek iken, 3 ve 4 karbon zinciri taşıyan türevlerde aktivite düşmekteyse de, bu türevler metil köprüsü bulunan bileşik 1 ve bileşik 2'den daha aktiftir. Bileşik 5 [*trans*-1,2-bis(5-amidino-2-benzimidazol)eten], IC₅₀ = 0.04 µM değeri ile en aktif türev olurken; bileşik 3, 4 ve 5 tedavide kullanılan Metronidazol ve Kinakrin ile karşılaştırılabilir ölçüde etkili bulunmuştur. Bu bileşiklerin *in vitro* anti-giardial aktiviteleri ile giardial topoizomerez II enzim inhibisyon değerleri arasında güçlü bir korelasyon bulunmaktadır ($r^2 = 0.91$). Bu bileşiklerin sıgır timus DNA'sı, poly(dA)-Poly(dT) ve poly(dA-dT)-poly(dA-dT)'ye olan bağlanma afiniteleri ile topoizomerez inhibisyon değerleri arasında (sırası ile $r^2 = 0.88$, $r^2 = 0.84$, $r^2 = 0.90$) güçlü korelasyonlar olduğu, poly(dG-dC)-poly(dG-dC)'ye bağlanma afinitesi arasında ise bir korelasyon bulunmadığı ($r^2 = 0.14$)

belirtilmiştir. Dikasyonik süstitüe bis-benzimidazol türevi bileşiklerin *in vitro* antiardial aktiviteilerinin muhtemel etki mekanizmasının açıklanmasında topoizomeraz II enzim inhibisyonu yapmaları ve/veya DNA'ya bağlanma afiniteleri önemli bir yer tutmaktadır (Bell ve ark., 1993).



	X	Y
1	CH ₂	Amd
2	CH ₂	im
3	(CH ₂) ₂	Amd
4	(CH ₂) ₂	im
5	CH=CH	Amd
6	(CH ₂) ₃	Amd
7	(CH ₂) ₃	im
8	(CH ₂) ₄	Amd
9	(CH ₂) ₄	im
10	(CH ₂) ₈	Amd

	<i>Giardia lamblia</i> IC ₅₀ µM		<i>Pneumocystis carinii</i>		<i>Candida albicans</i>		<i>Cryptococcus neoformans</i>	
Bileşik	<i>in vitro</i> aktivite	Topoizomeraz II	Doz mg/kg	OHD*	MİK ₈₀ (µg/ml)	MFK (µg/ml)	MİK ₈₀ (µg/ml)	MFK (µg/ml)
Amfoterisin B					1.0	TE	1.0	TE
Flukonazol					0.25	AD	2.0	AD
Pentamidin			10 5	1.2 1.7	0.78	1.56	3.12	6.25
Metronidazol	1.1							
Kinakrin HCl	0.05							
1	307	520	10	0.6	>100	TE	>100	TE
2	105	630	10	0.8	>100	>100	100	>100
3	0.33	4	10	0.7	12.5	50	6.25	25
4	0.21	0.7	5	0.6	100	>100	25	50
5	0.04	0.1	5	1.5	6.25	12.5	1.56	3.12
6	32.5	60	10	3	>100	>100	50	TE
7	49.5	10	10	1.4				
8	8.15	2	10	0.6				
9	14.5	6	10	0.5	>100	>100	>100	>100
10			5	2.1				

OHD: Ortalama Histolojik Değer

Tablo 4. Amidin grubu taşıyan bis-benzimidazol türevi bazı bileşiklerin çeşitli mikroorganizmalara olan etkileri.

Dikasyonik bis-benzimidazol türevi 10 bileşik i.v. yolla sıçanlara verilerek, PCP'e olan etkileri *in vivo* olarak araştırılmış ve etki sonuçları Ortalama Histolojik Değer (OHD) olarak Tablo 4'de verilmiştir. Bileşik 9, 1,4-bis[5-(2-imidazolinil)-2-benzimidazolil]bütan, en etkili türev olmasının yanı sıra toksik özellik göstermemesi sebebiyle dikkat çekici bulunmuştur. 5 mg/kg/gün i.v. uygulamada OHD değeri 0.7,

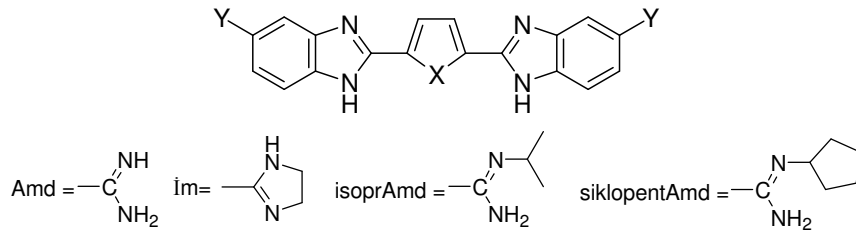
2.5 mg/kg/gün, i.v. uygulamadaki OHD değeri ise 1.5 bulunurken, oral olarak da etkili olduğu (25 mg/kg/gün oral dozda OHD=2), buna karşın Pentamidin bileşiğinin 40mg/kg/gün oral dozda bile aktivite göstermediği bildirilmiştir. Bu bileşiklerin *in vitro* DNA'ya bağlanma afiniteleri ile *in vivo* antipneumosistik etkileri arasında kantitatif bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir (Tidwell ve ark., 1993).

Tablo 4'deki 9 bileşik ve 10 numaralı bileşik yerine bileşik 5'in isopropilamidin türevini içeren seri üzerinde yapılan çalışmada, bu bileşiklerin *P. carinii*'den elde edilen Topoizomeraz I ve Topoizomeraz II enzim inhibisyon değerleri ile *P. carinii*'e olan antiparazitik etkileri arasında beklenildiği gibi bir korelasyon bulunamamıştır. Yine de biyolojik olarak yüksek aktivite gösteren bis-benzimidazol türevi bileşiklerin bu enzimleri sıgır timus DNA topoizomeraz I ve II enzimlerine oranla yüksek seçicilikle inhibe ettikleri tespit edilmiştir. Bu veriler göz önünde tutularak, biyolojik aktif bis-benzimidazoller için topoizomerazların birincil hedef olmayıp DNA'ya bağımlı enzimlerin hedef olabileceği, ilaç metabolizmasının ve dokulardaki dağılımının *in vitro* enzim inhibisyon değerleri ile *in vivo* etki sonuçları arasında korelasyon kurulmasını zorlaştırdığı ya da imkansız hale getirdiği gibi olası açıklamalar yapılabileceği sonucuna varılmıştır (Dykstra ve ark., 1994).

Dikasyonik bis-benzimidazol türevi 7 bileşiğin *Candida albicans* A39 ve *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* H99'a olan etkilerine bakıldığında (Tablo 4), alkil zinciri taşıyan türevlerin düşük antifungal aktivite gösterdikleri, eten zinciri taşıyan türevin diğerlerine göre daha yüksek antifungal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Del Poeta ve ark., 1998).

5-Amidino-2-benzimidazolil grubunun, furan, pirol, N-metilpirol ve tiyofenin 2. ve 5. konumlarına bağlandığı türevlerin *Candida albicans* A39 ve *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* H99'a olan etkileri araştırılmış ve sonuçlar Tablo 5'de verilmiştir. Bileşik 1'deki amidin grupları yerine imidazolin-2-il, isopropilamidino, siklotentilamidino getirildiğinde, antifungal aktivite çeşitli düzeylerde düşmektedir. Bileşik 1 ve furan halkası yerine pirol taşıyan bileşik 5, her iki mikroorganizmaya da benzer antifungal aktivite göstermektedir. Bileşik 5'teki amidin grubu yerine imidazolin-2-il getirildiğinde (bileşik 6), aktivitede herhangi bir değişiklik olmazken,

isopropilamidino ve siklopentilamidino taşıyan türevlerde aktivite düşmüştür. Pirol azotundaki hidrojenin yerine metil getirilmesi, bileşik 9’da *C. albicans*’a olan fungusidal etkiyi azaltırken, diğer etki değerleri aynı kalmıştır. Siklopentilamidino türevi olan N-metilpirol köprüsü taşıyan bileşik 11’de *C. albicans*’a karşı antifungal aktivite düşerken, *C. neoformans*’a karşı 0.19 µg/ml olan MİK₈₀ değeri ile bu bileşik en etkili türevlerden biri olmuştur. Tiyofen analogu olan ve isopropilamidino grubu içeren bileşik 12, *C. albicans*’a karşı 0.78 µg/ml olan MİK₈₀ ve MFK değeri ile furan (bileşik 3, MİK₈₀ = >100) ve pirol (bileşik 7, MİK₈₀ = 50) izosterlerine göre çok yüksek antifungal aktivite göstermekte ve *C. neoformans*’a karşı 0.19 MİK₈₀ ve MFK değeri ile en etkili türev olmaktadır (Del Poeta ve ark., 1998).

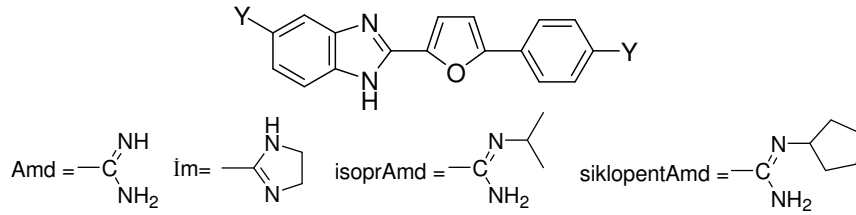


			<i>Candida albicans</i>		<i>Cryptococcus neoformans</i>		<i>Leishmania donovani</i>
Bileşik	X	Y	MİK ₈₀ (µg/ml)	MFK (µg/m)	MİK ₈₀ (µg/ml)	MFK (µg/ml)	IC ₅₀ µM
Amfoterisin B			1.0	TE	1.0	TE	
Flukonazol			0.25	AD	2.0	AD	
Pentamidin			0.78	1.56	3.12	6.25	2.59±0.54
1	O	Amd	0.78	0.78	0.78	3.12	>100
2	O	Im	1.56	1.56	1.56	3.12	>100
3	O	isoprAmd	>100	TE	6.25	50	>100
4	O	siklopentAmd	12.5	>100	1.56	>12.5	18.24±0.31
5	NH	Amd	0.78	0.78	0.78	0.78	
6	NH	Im	0.78	0.78	0.78	0.78	
7	NH	isoprAmd	50	TE	6.25	25	
8	NH	siklopentAmd	6.25	50	1.56	6.25	
9	NCH ₃	Amd	0.78	6.25	0.78	0.78	
10	NCH ₃	Im	1.56	3.12	0.78	1.56	
11	NCH ₃	siklopentAmd	3.12	>25	0.19	>1.56	
12	S	isoprAmd	0.78	0.78	0.19	0.19	

Tablo 5. 5-Amidino-2-benzimidazolil grubunun, furan, pirol, N-metilpirol ve tiyofen’in 2. ve 5. konumlarına bağlandığı türevlerin *Candida albicans* A39 ve *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* H99’a olan etkileri.

Leishmania donovani'ye karşı *in vitro* etkileri değerlendirildiğinde, bileşik 1, 2 ve 3 için $IC_{50} = >100 \mu M$ iken, bileşik 4 orta düzeyde antileishmanial aktivite ($IC_{50} = 18.24 \pm 0.31 \mu M$) göstermektedir. Pentamidin ($IC_{50} = 2.59 \pm 0.54 \mu M$) ve Furamidine ($IC_{50} = 2.76 \pm 0.60 \mu M$) göre antileishmanial aktivite oldukça düşüktür (Brendle ve ark., 2002).

Furan köprüsü içeren bileşik 1, izopropilamidino türevi olan bileşik 3 ve siklopentilamidino türevi olan bileşik 4'ün *P. carinii*'e olan ve *in vivo* sıçan modeli ile elde edilen akciğer dokusundaki gram başına düşen kist sayısı yüzdelерinin değerlendirilmesiyle elde edilen aktivite sonuçları karşılaştırıldığında, bileşik 3'ün Pentamidin ve diğer iki türeve göre daha etkili olduğu bildirilmiştir (Hopkins ve ark., 1998).



Bileşik	Y	<i>Candida albicans</i>		<i>Cryptococcus neoformans</i>		<i>Pneumocystis carinii</i>	
		MİK ₈₀ (μg/ml)	MFK (μg/m)	MİK ₈₀ (μg/ml)	MFK (μg/ml)	Doz (μmol/kg/gün)	Akciğerde Kist/g % kontrol
Amfoterisin B		1.0	TE	1.0	TE		
Flukonazol		0.25	AD	2.0	AD		
Pentamidin		0.78	1.56	3.12	6.25	22	1.82±0.38
1	Amd	3.12	3.12	3.12	3.12	5	50.98±11.95
2	Im	3.12	50	1.56	6.25		
3	isoprAmd	>100	TE	12.5	100	10	0.13±0.04
4	siklopentAmd	>100	TE	12.5	25	2.5	0.82±0.42

Tablo 6. Furan halkasının 2. konumunda 5-(N-süstitüeamidino) benzimidazol-2-il, 5. konumunda ise 4-(N-süstitüeamidino) fenil içeren türevlerin *C. albicans* A39 ve *C. neoformans* var. *neoformans* H99'a olan etkileri.

Furan halkasının 2. konumunda 5-(N-süstitüeamidino) benzimidazol-2-il, 5. konumunda ise 4-(N-süstitüeamidino) fenil içeren türevler üzerinde yapılan *in vitro* çalışmada, bu türevlerden bileşik 1 ve bileşik 2'nin *C. albicans* A39 ve *C. neoformans* var. *neoformans* H99'a karşı en yüksek aktivite gösteren türevler

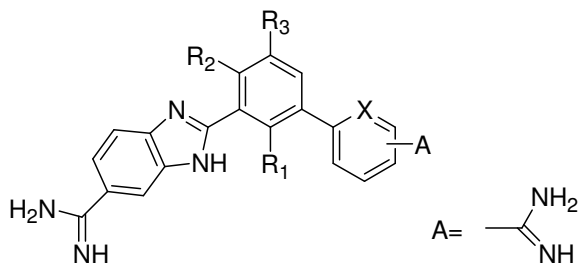
olduğu tespit edilmiştir. Bileşik 1'deki amidin grubu yerine isopropilamidin (bileşik 3) veya siklopentilamidin (bileşik 4) grupları getirildiğinde, her iki mikroorganizmaya karşı olan aktivitenin düştüğü, imidazol halkası getirildiğinde (bileşik 2) ise, *C. albicans*'a olan aktivite değerlerinden $MİK_{80}$ 'ın değişmediği, MFK değerinin ise 3.12'den 50 $\mu\text{g/ml}$ 'ye çıktığı, *C. neoformans*'a olan $MİK_{80}$ değerinin 3.12'den 1.56 $\mu\text{g/ml}$ 'ye azaldığı, MFK değerinin ise 3.12'den 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 'a yükseldiği Tablo 6'da görülmektedir. Bileşik 2, *C. neoformans*'a karşı Flukonazol ve Pentamidinden daha etkili, Amfoterisin B'den daha az etkilidir (Del Poeta ve ark., 1998). Bileşik 1, 3 ve 4'ün *P. carinii*'ye olan etkileri, immün sistemi baskılanmış sıçanlar üzerinde *in vivo* olarak araştırılmış ve akciğer dokusundaki kist yüzdesine göre (kist/g) değerlendirilmiştir. Bileşik 3 ve 4, Pentamidine göre daha düşük dozda uygulanmalarına rağmen, daha yüksek aktiviteye sahiptir. Bileşik 3, Bileşik 4'den daha az toksik özellik göstermektedir (Hopkins ve ark., 1998).

Dikasyonik bifenil benzimidazol türevi 9 bileşik sentezlenmiş, *Trypanosoma brucei rhodesiense* STIB900 ve *Plasmodium falciparum* K1'karşı *in vitro* etkileri araştırılmıştır. Ayrıca bu bileşiklerden sekizinin *T. b. rhodesiense* STIB900'e olan etkileri, akut Afrika Tripanosomiazisi için yapılan STIB900 fare modeli ile i.p. yol ile *in vivo* olarak yapılarak yaşam süreleri açısından değerlendirilmiştir. 8 Bileşiğe ait *in vitro* ve/veya *in vivo* etki sonuçları ve bu bileşiklerin DNA'ya bağlanma afiniteleri, poly(dA.dT)₂ için tespit edilen ΔTm değerleri Tablo 7'de verilmiştir. *In vitro* antitripanosomal aktivite açısından bileşik 6 (DB911) ($IC_{50} = 4.4 \text{ nM}$) en etkili türevdir ve Furamidin ile hemen hemen aynı IC_{50} değerine sahiptir. Pentamidine göre ise daha düşük aktivite göstermektedir. Bileşik 6 için ΔTm değeri 25.6 olarak tespit edilmiştir. Bu bileşikteki 1,3-fenilen ünitesi yerine 2,5-furan ünitesi taşıyan türevde bu değer 24.6'dır ve DNA'ya bağlanma afinitesi açısından önemli bir fark olmamasına rağmen, antiparazitik aktivite değeri önemli ölçüde değişmektedir. Bileşik 1'deki amidin grubu *para* konumu yerine *meta* konumuna getirilmesiyle elde edilen bileşik 2'de, antitripanosomal aktivitede önemli oranda azalma meydana gelmektedir ve buna paralel olarak, amidin grubu *para* konumunda iken DNA'ya bağlanma afinitesi *meta* konumundaki bileşiğe göre daha yüksektir. R₂ konumunda -OCH₃ bulunan bileşik 5 ve 7'de ΔTm değeri önemli ölçüde düşmektedir. Afinitedeki

bu azalmanın, triaril sistemdeki torsiyon açısındaki değişme sonucunda, aril halka sistemi ile minör kavite arasındaki Van der Waals etkileşiminin zayıflamasından kaynaklandığı ihtimali üzerinde durulmaktadır. Buna karşın, -OH grubunu R₁ konumunda içeren bileşik 4 ve R₂ konumunda içeren bileşik 1'de, DNA afinitesinde önemli sayılabilecek bir düşüş meydana gelmemiş; bunun sebebi olarak -OH grubunun küçük boyutlu olması ve/veya -OH grubu ile benzimidazol azotu arasında hidrojen bağı oluşumundan kaynaklanabileceği üzerinde durulmuştur. R₂ konumunda -OH, R₃ konumunda -OCH₃ bulunan bileşik 3'te ΔTm değerinde biraz düşme meydana gelmiş, bu azalmada -OCH₃ grubunun torsiyon açısındaki dönmeyi desteklemesinin etkili olabileceği bildirilmiştir. Bileşik 5 ve bileşik 6'daki terminal fenil grubunun piridil ile değiştirilmesiyle elde edilen bileşik 7 ve bileşik 8'de, DNA bağlanma afinitesinde önemli bir değişiklik meydana gelmemiştir. DNA'ya bağlanma afinitesi ile antiparazitik etki arasında doğrudan bir korelasyon olmamasına rağmen, DNA'ya bağlanma afinitesi yüksek bileşiklerin iyi antiprotozoal aktivite göstermesi, antiprotozoal aktivite için DNA bağlanma afinitesinin eşik bir özellik olduğu hipotezini desteklemektedir.

In vivo antitripanosomal aktivite açısından değerlendirme yapıldığında, 8 diamidin türevi bileşiklerden 5'inin (bileşik 3, 4, 6, 7, 8) çok iyi tedavi edici aktivite gösterdiği, 20mg/kg ve/veya daha düşük dozda i.p. uygulama yapılan dört fareden üç ve daha fazlasında iyileşme görüldüğü gözlenmiştir. Özellikle bileşik 6 (DB911), 7 ve 8 düşük dozda (5 ya da 10 mg/kg) *in vivo* olarak prototip olan dikatyonik bileşiklere göre (Furamidin ve Tablo 6'da bileşik 1) yüksek etkinlik göstermektedir. Bu bileşiklerin diğer hayvan modelleriyle antitripanosomal etkilerinin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

P. falciparum'a olan *in vitro* antimalaryal etki açısından değerlendirme yapıldığında, bileşik 6 (DB911)'nın 27.5nM IC₅₀ değeri ile iyi aktivite gösterdiği, bileşik 1'in 2.1 nM IC₅₀ değeri ile bu çalışmadaki en etkili türev olduğu bildirilmiştir (İsmail ve ark., 2004).



							<i>P. f.</i>	<i>T. b. rhodesiense</i>			
							<i>in vitro</i> IC ₅₀ nM	<i>in vivo</i> STIB900 fare modeli			
Bileşik	X	R ₁	R ₂	R ₃	A	ΔT_m			doz mg/kg	tedavi ¹	yaşam süresi ²
Pentamidin						12.6	64.2	2.8	20	0/4	42.75
Furamidin						25	15.5	4.5	20	0/4	52.5
Tablo 6'da bileşik 1						24.6	96	122	20	1/4	>27.75
1	CH	H	OH	H	<i>p</i> -	25.3	2.1	27	20	0/4	35.25
2	CH	H	OH	H	<i>m</i> -	18.9	34.3	214	Test Edilmemiştir.		
3	CH	H	OH	OMe	<i>p</i> -	20.4	131	31	20	3/4	>58
4	CH	OH	H	H	<i>p</i> -	25.3	131	17	20	4/4	>60
									5	2/4	46.5
5	CH	H	OMe	H	<i>p</i> -	13.7	40	54	20	2/4	>56.5
6 (DB911)	CH	H	H	H	<i>p</i> -	25.6	27.5	4.4	20	4/4	>60
									5	3/4	>49
7	N	H	OMe	H	<i>p</i> -	13.1	364	14	10	3/4	>53
									5	3/4	>60
8	N	H	H	H	<i>p</i> -	24.4	96.4	15	20	4/4	>60
									10	4/4	>60

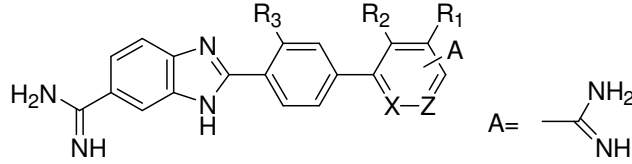
1) 60 günden fazla parasitsiz olarak hayatta kalan fare sayısı / uygulama yapılan fare sayısı

2) Ortalama yaşam süresi (gün), tedavi uygulanmayan kontrol grubundaki fareler 7 ila 8 gün arasında postinfeksiyondan dolayı ölmektedir.

Tablo 7. Dikasyonik bifenil benzimidazol türevi bazı bileşiklerin *Plasmodium falciparum* K1'e olan *in vitro*, *Trypanosoma brucei rhodesiense* STIB900'e olan *in vitro* ve *in vivo* etkileri.

Dikasyonik doğrusala yakın bifenil benzimidazol türevi 8 bileşik sentezlenmiş, *T. b. rhodesiense* STIB900 ve *P. falciparum* K1'e karşı *in vitro* etkileri ile *T. b. rhodesiense* STIB900'e olan *in vivo* etkileri (STIB900 fare modeli), 20 mg/kg dozda 4 günlük i.p. uygulama yapılarak yaşam süreleri açısından değerlendirilmiştir. 8 Bileşiğe ait *in vitro* ve/veya *in vivo* etki sonuçları ile bu bileşiklerin DNA'ya bağlanma afiniteleri, poly(dA.dT)₂ için tespit edilen ΔT_m değerleri olarak Tablo 8'de verilmiştir. ΔT_m değerleri bileşik 4 dışında yüksektir. Bileşik 1'in DNA'ya bağlanma afinitesi, eğimli türevi olan DB911'e göre daha

yüksektir ve doğrusala yakın bileşiklerin DNA'nın AT baz çifti açısından zengin olan bölgesine eğimli izomerlerinden daha yüksek afinite göstermesi şaşırtıcı bir sonuç olarak belirtilmektedir. Bileşik 1 (DB921) molekülündeki fenil amidini ile AT baz çifti arasında su aracılığı ile indirekt bir ilişkinin de olabileceği, bu sayede molekülde açısıl bir şekil oluşarak, DNA'ya yüksek afinite göstermesinin açıklanabileceği bildirilmiştir (Ismail ve ark., 2005).



								<i>P. f.</i>		<i>T. b. rhodesiense</i>	
								<i>in vitro</i> IC ₅₀ nM		<i>in vivo</i> (20 mg/kg) STIB900 fare modeli	
Bileşik	X	Z	R ₁	R ₂	R ₃	A	ΔT_m			tedavi ¹	yaşam süresi ²
Furamidin							25	15.5	4.5	0/4	39.5
DB911							25.6	27.5	4.4	4/4	>60
1 (DB921)	CH	CH	H	H	H	<i>p</i> -	>28	0.5	10.6	0/4	36.5
2	CH	CH	H	H	H	<i>m</i> -	>28	23	9.1	3/4	>51.5
3	CH	CH	F	H	H	<i>p</i> -	>27	1	37	1/4	>33.5
4	CH	CH	H	Me	H	<i>p</i> -	25.5	12.5	6	1/4	>42
5	CH	CH	H	OH	H	<i>p</i> -	~27-28	19.1	27	3/4	>51.5
6	N	CH	H	H	H	<i>p</i> -	~27-28	7.2	32	0/4	>27
7	CH	N	H	H	H	<i>p</i> -	>28	7	3	0/4	11
8	CH	CH	H	H	F	<i>p</i> -	~27-28	1	8	0/4	27.5

1) 60 günden fazla parasitsiz olarak hayatta kalan fare sayısı / uygulama yapılan fare sayısı

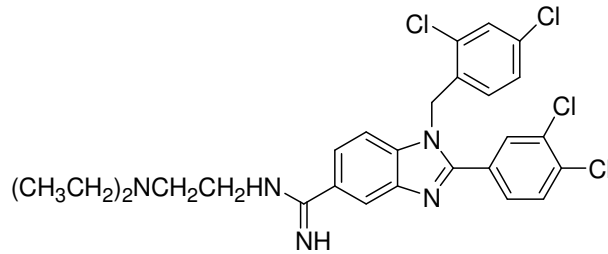
2) Ortalama yaşam süresi (gün), tedavi uygulanmayan kontrol grubu için 7-8 gün.

Tablo 8. Dikasyonik doğrusala yakın bifenil benzimidazol türevi bazı bileşiklerin, *P. falciparum* K1'e olan *in vitro*, *T. b. rhodesiense* STIB900'e olan *in vitro* ve *in vivo* etkileri.

In vitro antitripanosomal etki değerleri (IC₅₀) 3 nM ile 37 nM arasında değişmektedir ve genel olarak doğrusala yakın bifenil benzimidazol türevi bileşiklerin *in vitro* etkileri, DB911 tipi eğimli izomerlerden (Tablo 7) daha yüksektir.

In vitro antiplasmodial aktivite değerleri (IC₅₀), 0.5 nM ile 23 nM arasında değişmektedir. Bileşik 1 (DB921), *in vitro* olarak *Plasmodium falciparum*'a karşı bu çalışma grubu tarafından bildirilen en etkili türevidir.

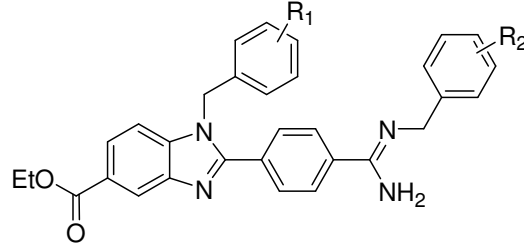
Akut African Tripanosomiasis'e olan *in vivo* etkileri karşılaştırıldığında, sadece bileşik 2 ve 5'de 3/4 oranında tedavinin sağlandığı, bileşik 3 ve 4'de ise bu oranın 1/4'e düştüğü, bileşik 1, 6, 7 ve 8'de ise dört deney hayvanından hiçbirinin yaşam süresinin 60 günü geçmediği gözlenmiştir. Doğrusala yakın bifenil benzimidazol türevi bu moleküllerin *in vivo* etkinlikleri, DB911 tipi eğimli türevlere uymamaktadır. Absorbsiyon ve dağılım gibi faktörlerin bu farkı yarattığı düşünülmektedir (Ismail ve ark., 2005).



Formül 76

N-alkil-2-fenil-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin yapısında bir seri bileşiğin sentezi yapılarak, *in vitro* antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri değerlendirilmiştir. 2. Konumda 3,4-diklorofenil grubu taşıyan türev (Formül 76), *S. aureus*, metisilin-rezistans *S. aureus* (MRSA) ve *C. albicans*'a karşı 3.12 µg/ml MİK değeri ile en etkili türev olarak bulunmuştur.

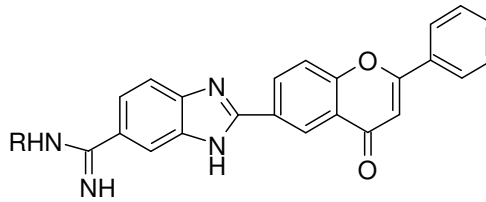
Amidinobenzimidazol'ün 2-fenil grubunun 3,4-dikloro süstitüsyonunun antibakteriyel aktivitede önemli rol oynadığı ve 2. konumda 3,4-dikloro süstitüsyonunun yerine -F, -CN, -OCH₃, -COOH veya -COOCH₃ getirildiğinde, inhibitör aktivitede azalma olduğu belirtilmiştir. Sadece metil ester taşıyan bileşik MRSA'ya karşı 3.12 µg/ml MİK değeri ile ılımlı bir aktivite göstermiştir. Benzimidazolün N- atomuna fenil, benzil ve 2,4-diklorobenzil gibi daha lipofilik süstitüentler geldiğinde aktivitenin arttığı, buna rağmen metil, butil ve izopropil süstitüsyonunda ise önemli bir aktivite görülmediği bildirilmiştir. Katyonik amidine N,N-dietilaminoetil süstitüsyonu ise *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı aktivitenin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Yukarıda formülü verilen bileşiğin haricinde *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı önemli bir inhibitör aktivite elde edilmediği bildirilmiştir (Göker ve ark., 2005a).



Bileşik 1 = R₁:H, R₂: 4-Cl
 Bileşik 2 = R₁:2,4-diCl, R₂: 4-Cl
 Bileşik 3 = R₁: 2,4-diCl R₂: 3,4-diCl

Formül 77

Amid ya da amidin grubu taşıyan bir seri yeni metil veya etil-1*H*-benzimidazol-5-karboksilat türevi bileşik, antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. En etkili türevler Formül 77'de görülmektedir. Bu bileşiklerin MİK değerleri bileşik 1'de *S. aureus* ve MRSA için 0.78 µg/ml, metisilin-rezistans *S. epidermidis* (MRSE) için 1.56 µg/ml, *C. albicans* için 12.5 µg/ml; bileşik 2'de *S. aureus* için 1.56 µg/ml, MRSA ve MRSE için 0.78 µg/ml, *C. albicans* için 12.5µg/ml; bileşik 3'de ise *S. aureus* ve MRSE için 1.56 µg/ml, MRSA için 0.39 µg/ml, *C. albicans* için 6.25µg/ml'dir. Benzimidazol halkasına amidin grubunun girişinin, iyi bir gram pozitif antibakteriyel aktivite profili ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Özden ve ark., 2005).

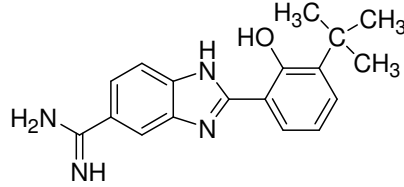


R = *n*-butil, sikloheksil

Formül 78

2-Fenil veya metil-4*H*-1-benzopiran-4-on taşıyan mono/diamidino benzimidazol türevleri antibakteriyel ve antifungal açıdan incelenmiştir. C-6 konumunda azota bağlı hacimli alkil süstitüe, 2-fenil-4*H*-1-benzopiran-4-on amidinobenzimidazol türevleri (Formül 78), *S. aureus*, MRSA ve MRSE'ye karşı 1.56 µg/ml MİK değeri, *C. albicans*'a karşı ise 3.12 µg/ml MİK değeri ile en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Benzimidazol flavon serilerindeki monoamidinlerin gram-pozitif bakterilere karşı iyi bir aktivite profili gösterdiği, benzopiran halkasındaki 2-

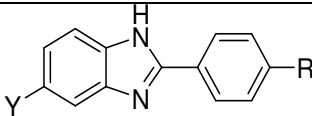
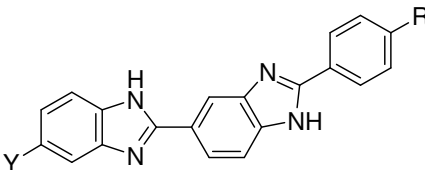
fenil grubunun yerine 2-metil geldiğinde ise aktivitenin azaldığı bildirilmiştir. Sentezlenen bütün dikatyonik amidinler ise inaktif bulunmuştur (Göker ve ark., 2005b).

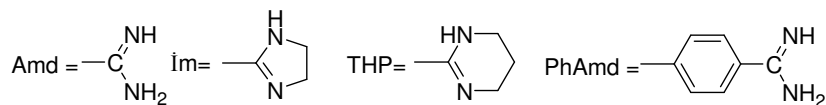


Formül 79

Monokatyonik benzimidazol yapısı taşıyan bir seri bileşik üzerinde yapılan bir araştırmada (Weidner-Wells ve ark., 2001), bu bileşiklerin, Histidin Protein Kinaz (HPK) ve response regülatör (RR)'den oluşan ve bakterinin çevresel değişiklikleri algılayarak bunlara uyum sağlamasında görev alan bakteriyel iki-komponentli sistemi inhibe ettikleri bildirilmiştir. Bu inhibisyon, sinyal yollarını bloke ederek hem bakteri hücresinin gelişimini yavaşlatmakta, hem de bakterinin ölümüne neden olmaktadır. Yukarıda formülü verilen bileşik (Formül 79), güçlü bir HPK KinA inhibitörüdür ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, metisilin rezistans *Staphylococcus aureus* OC 2089, *Enterococcus faecalis* OC 3041 ve *Enterococcus faecium* OC 3312 gibi Vankomisin ve Oksasiline duyarlı ya da dirençli gram pozitif bakterilere karşı güçlü *in vitro* aktiviteye sahiptir. Bu bileşiklerde HPK inhibisyon yapma gücü ile antibakteriyel aktivite arasında açık bir korelasyon olmasına rağmen, son zamanlarda yapılan çalışmalarda daha farklı etki mekanizmalarının da bakterinin ölümüne neden olabileceği bildirilmiştir (Hilliard ve ark., 1999).

Bir seri monokatyonik ve dikatyonik benzimidazol türevi bileşik üzerinde yapılan araştırmada, bileşiklerin *in vitro* antifungal aktiviteleri *C. albicans* A39 ve *C. neoformans* var. *neoformans* H99'a karşı incelenmiş ve MİK₈₀ ve MFK konsantrasyon değerleri Tablo 9'da verilmiştir (Del Poeta ve ark., 1998).

						
			<i>Candida albicans</i>		<i>Cryptococcus neoformans</i>	
Bileşik	Y	R	MİK ₈₀ (µg/ml)	MFK (µg/m)	MİK ₈₀ (µg/ml)	MFK (µg/ml)
Amfoterisin B			1.0	TE	1.0	TE
Flukonazol			0.25	AD	2.0	AD
Pentamidin			0.78	1.56	3.12	6.25
1	Amd	Amd	100	>100	25	50
2	İm	İm	50	>100	50	TE
3	THP	THP	50	100	25	50
4	Amd	OH	>100	TE	>100	>100
5	İm	OCH ₃	25	TE	50	100
6	Amd	O(CH ₂) ₃ OPhAmd	0.39	0.78	0.19	0.78
7	Amd	O(CH ₂) ₄ OPhAmd	0.39	3.12	≤0.09	1.56
8	Amd	O(CH ₂) ₅ OPhAmd	0.78	1.56	0.39	6.25
9	Amd	OPhAmd	0.78	0.78	0.78	6.25
						
10(DIBIZ)	Amd	Amd	0.39	1.56	≤0.09	0.78
11	Amd	OH	0.78	6.25	3.12	6.25
12	Amd	OCH ₃	>100	TE	3.12	>25
13	Amd	OC ₂ H ₅	0.78	1.56	1.56	1.56
14	İm	İm	0.78	1.56	0.39	0.39
15	İm	OH	3.12	TE	3.12	TE
16	İm	OCH ₃	0.78	TE	3.12	3.12
17	İm	OC ₂ H ₅	0.78	12.5	1.56	1.56
18	THP	THP	0.78	1.56	0.19	0.39
19	THP	OH	3.12	25	1.56	6.25



Tablo 9. Monokatyonik ve dikatyonik benzimidazol türevi bazı bileşiklerin *C. albicans* A39 ve *C. neoformans* var. *neoformans* H99'a olan *in vitro* antifungal aktiviteleri.

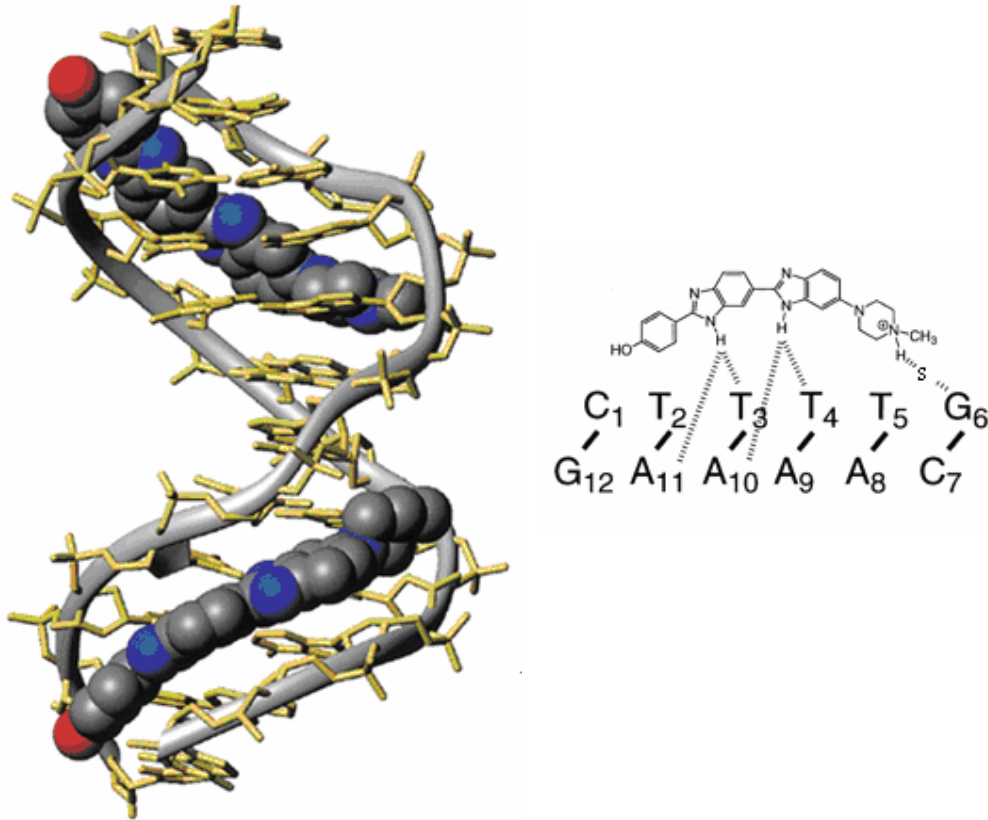
Bileşik 1, 2 ve 3 dikatyonik yapıda olmalarına rağmen, antifungal aktiviteleri standartlara göre çok düşüktür. Bileşik 4'de bulunan -OH grubu yerine, 4-amidinofenoksi getirilmesiyle elde edilen bileşik 9, *C. albicans* karşı Amfoterisin B ve Pentamidin'den, *C. neoformans*'a karşı ise Amfoterisin B, Flukonazol ve

Pentamidin'den daha etkilidir. Benzimidazol halkasının 2. konumundaki fenil halkasının *para* konumunda 4-amidinofenoksialkiloksi taşıyan bileşik 6 ve 7, *C. albicans*'a karşı 0.39 olan MIC_{80} değeri ile etkili türevler olurken, bileşik 6, 7 ve 8 *C. neoformans*'a karşı sırasıyla 0.19, ≤ 0.09 ve 0.39 MIC_{80} değerleriyle yüksek aktiviteye sahip olmuşlardır. Bileşik 7, Amfoterisin B'den yaklaşık olarak 10 kat daha etkilidir. Bileşik 1, 2, 3, 4 ve 5 düşük antifungal aktivite gösterirken, bu bileşiklerin bis-benzimidazol türevi olan bileşik 10, 14, 18, 11, ve 16'nın etkili olduğu görülmektedir. Dikasyonik bis-benzimidazol türevi bileşiklerin (bileşik 10, 14, 18) yanı sıra, monokasyonik bis-benzimidazol türevi bileşiklerin (bileşik 11, 13, 15, 16, 17, 19) de yüksek antifungal aktivite göstermesi dikkat çekicidir (Del Poeta ve ark., 1998).

Tablo 9'daki 15 bileşiği (Bileşik 1-5, 10-19) de kapsayan 22 katyonik benzimidazol / bis-benzimidazol türevi bileşiğin RNA ve DNA'ya bağlanma afiniteleri araştırılmıştır. Bu bileşikler RNA polimerine (polyA-polyU) önemli bir bağlanma afinitesi göstermezken, DNA'daki A-T baz çiftinin zengin olduğu bölgeye güçlü bağlanma afinitelerinin olduğu, $d(CGCGAATTCGCG)_2$ oligomeri ile yapılan deneyler sonucunda tespit edilmiştir. Monokasyonik benzimidazol türevi bileşikler (bileşik 4, bileşik 4'deki -OH yerine -OCH₃ ve -OC₂H₅ bulunan türevler, bileşik 5, bileşik 5'deki -OCH₃ yerine -OH, -OC₂H₅ bulunan türevler) için $\Delta T_m = 6.7 \pm 0.6$ °C'dir. Katyonik grubun amidin ya da imidazolin-2-il olması, oksijenin taşıdığı sübstitüentlerin DNA bağlanma afinitesini önemli bir düzeyde etkilememektedir. Dikasyonik yapıdaki bileşik 1, 2 ve 3'de ΔT_m değeri monokasyonik türevlere göre ~10°C artarak 16.1 ± 1.0 °C olarak ölçülmüştür. Monokasyonik benzimidazol türevi bileşiklere ikinci bir benzimidazol halkasının getirilmesi ΔT_m değerini ~17°C artırmış ve monokasyonik bis-benzimidazol türevi bileşiklerde (bileşik 11-13, 15-17, 19) $\Delta T_m = 24.2 \pm 0.9$ °C olarak bulunmuştur. Katyonik gruptaki ve fenil sübstitüentlerindeki çeşitlendirmeler ΔT_m değerlerini önemli sayılabilecek düzeyde etkilememektedir. Dikasyonik bis-benzimidazol türevi bileşiklerde ΔT_m değeri, monokasyonik bis-benzimidazol türevi bileşiklere göre 8-10 °C yükselerek, bileşik 10'da $\Delta T_m = 32.8$, bileşik 14'de $\Delta T_m = 30.1$ ve bileşik 18'de $\Delta T_m = 30.7$ olmuştur. Monokasyonik benzimidazollere ikinci bir benzimidazol ünitesi eklenmesiyle

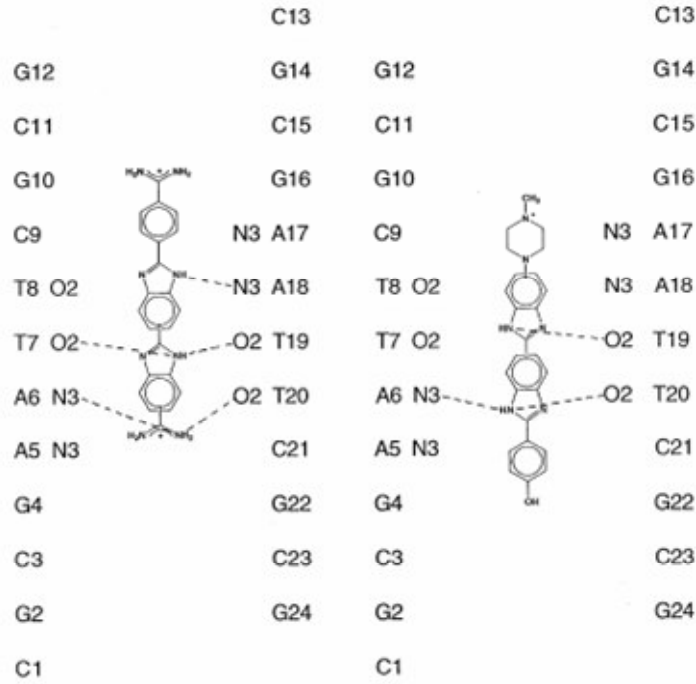
DNA'ya bağlanma afinitelerindeki artış, ikinci katyonik grup getirilmesinden daha fazladır (Czarny ve ark., 1995).

2,5'-Bis-benzimidazol türevi olan ve topoizomera inhibitörü olarak bilinen Pibenzimol (Formül 4, Hoechst 33258) bileşiğinin DNA minör kavitedeki AT baz çiftine bağlandığı, oligonükleotitlerle yaptığı çeşitli kompleksleri üzerinde yapılan X-ışınları kristalografisi ve NMR çalışmalarıyla ortaya konulmuştur. Bu bileşiğin 2:1 d(CTTTTGCAAAAG)₂ kompleksinin diyagramik gösterimi ve minör kavite ile arasındaki doğrudan (adenin N₃ ve timin O₂) ya da H₂O (S) aracılığı ile yaptığı hidrojen bağları Şekil 1'de görülmektedir. Bileşiğin adenin ile yaptığı hidrojen bağlarının, timin bazı ile yaptığı hidrojen bağlarından daha uzun olduğu bildirilmektedir (Gavatiotis ve ark., 2000).



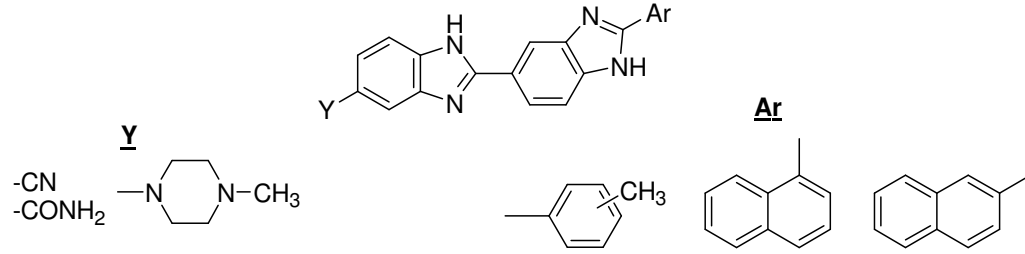
Şekil 1. Pibenzimol bileşiğinin d(CTTTTGCAAAAG)₂ ile 2:1 oranında yaptığı kompleksin diyagramik ve baz çiftleri ile arasındaki hidrojen bağlarının şematik gösterimi.

Pibenzimol ve bu bileşiğin bisamidinyum türevi olan DIBIZ (Tablo 9, bileşik 10) bileşiğinin d(CGCGAATTCGCG)₂ dodekanükleotidi ile oluşturdukları komplekslerdeki hidrojen bağlarının şematik gösterimi Şema 3’de görülmektedir. DIBIZ kompleksinde bileşik ile minör kavite arasında beş adet doğrudan hidrojen bağının yanı sıra, H₂O aracılı hidrojen bağlarının da olduğu bildirilmiştir (Clark ve ark., 1997).



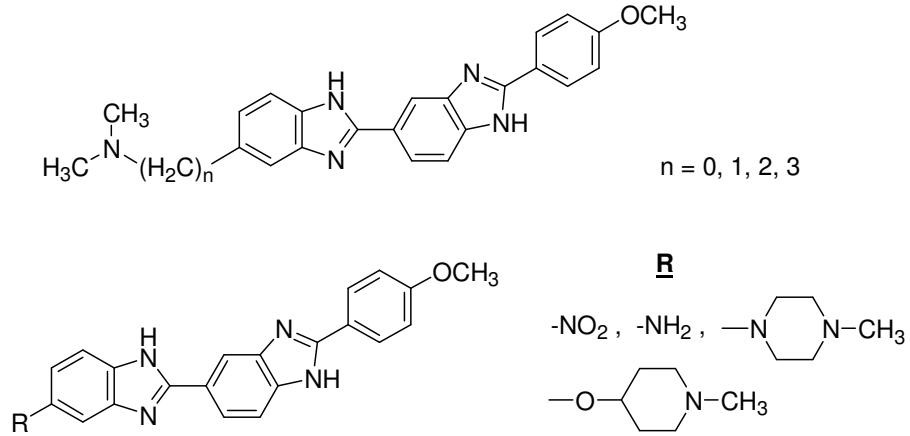
Şema 3. DIBIZ ve Pibenzimol bileşikleriyle d(CGCGAATTCGCG)₂ arasında oluşan hidrojen bağlarının şematik gösterimi.

2,5'-Bis-benzimidazol türevi çeşitli bileşikler (Formül 80) sentezlenerek, topoizomerez I inhibitör etkileri ve insan lenfoblast RPMI 8402 hücreleri üzerine gösterdikleri sitotoksiteleri araştırılmıştır. Bis-benzimidazol halkasının 2' konumunda 2-naftil, 5. konumunda siyano veya 4-metil piperazinil taşıyan bileşikler sitotoksitesi en yüksek (IC₅₀ = 0.13 µM ve 0.11 µM) olan türevlerdir (Kim ve ark., 1996).



Formül 80

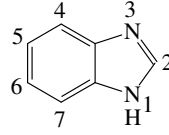
Hoechst 33342 (Formül 4) ve türevlerinin (Formül 81) topoizomera I inhibisyonu yaptıkları ve melanom (SK-Mel), prostatik karsinom (PC3), lenfoblastom (RPMI 8402) ve CPT-K5 tümör hücrelerine karşı çeşitli düzeylerde sitotoksik etki gösterdikleri bildirilmiştir (Sun ve ark., 1994).



Formül 81

1.5. Benzimidazollerin Kimyasal Özellikleri

Benzimidazol halka sistemi (Formül 82), imidazol halkasının, benzene 4. ve 5. konumlarından kaynaşması ile meydana gelmiştir.

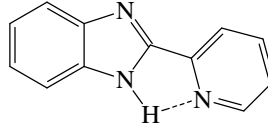


Formül 82

Benzimidazol halka sistemi, iki farklı yapıda azot atomuna sahiptir. Bunlardan biri, üzerinde hidrojen taşımaktadır ve “pirol azotu” olarak tanımlanmaktadır. Hidrojen taşımayan ve tersiyer yapıda bulunan diğer azot ise “piridin azotu” veya “tersiyer azot” olarak adlandırılmaktadır. Bu adlandırma, imidazol halkası için daha yaygın kullanıma sahip olmakla birlikte, benzimidazol halkası için de bazı literatürlerde raslanmaktadır. Benzimidazol halkasının numaralandırılmasına, hidrojen taşıyan azottan başlanmakta ve 3 numara diğer azota verilecek şekilde devam edilmektedir. Serbest imino hidrojenine sahip benzimidazoller tautomerik karakter gösterirler. Bu serbest hidrojenin süstitüsüonu, tautomerizim olasılığını ortadan kaldırır ve kesin yapıyı tanımlamak mümkün olur. Böyle bir durumda numaralandırma süstitüe azot üzerinden başlayarak yapılır (Hoffmann, 1953).

Benzimidazoller, oldukça yüksek erime ve kaynama noktasına sahip katı bileşiklerdir. Benzimidazolün kendisi 170°C’de erir. Bu bileşikler polar çözücülerde çok, polar olmayan çözücülerde az çözümler ve polar çözücülerde serbest imino hidrojeni asosiye halde bulunur. İmino hidrojeninin süstitüsüonu, kaynama ve erime noktalarını önemli ölçüde düşürür (Hoffmann, 1953).

Benzimidazol halka sisteminin 2. konumuna H, metil, 2-piridil, 4-piridil, 2-kinolil ve 4-kinolil gibi süstitüentler getirilip pKa değerleri incelendiğinde, 2-piridil türevinin en yüksek pKa değerine sahip olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeninin, piridin azotu ile benzimidazolün imino hidrojeninin, hidrojen bağı yapması olduğu ileri sürülmüştür (Formül 83) (Hisano ve Ichikawa, 1974).

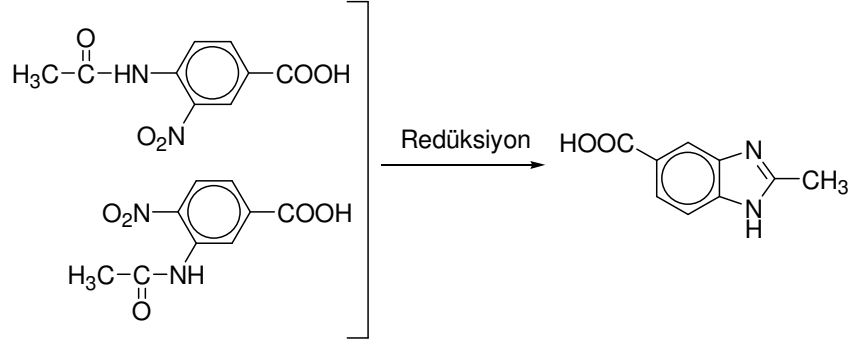


Formül 83

Benzimidazoller, amfoterik bileşikler oldukları için metallerle tuz oluştururlar. Kaynar sudaki benzimidazol çözeltisine AgNO_3 ilavesi ile suda az çözünen gümüş tuzu oluşur. Bu tuz, seyreltik mineral asitlerde ve asetik asitte çözünür. Benzimidazollerin asidik karakterinin diğer bir göstergesi ise, grignard bileşikleriyle reaksiyona girerek N-Magnezyum halojenürleri vermesidir. Benzimidazollerin imino hidrojeninin süstitüsüyonu pseudo-asidik karakteri ortadan kaldırır. Elektronegatif gruplar benzimidazollerin asidik karakterlerini artırır. Örneğin, nitrobenzimidazoller, Na_2CO_3 veya sulu amonyak çözeltileri ile tuz oluşturacak kadar asidiktir.

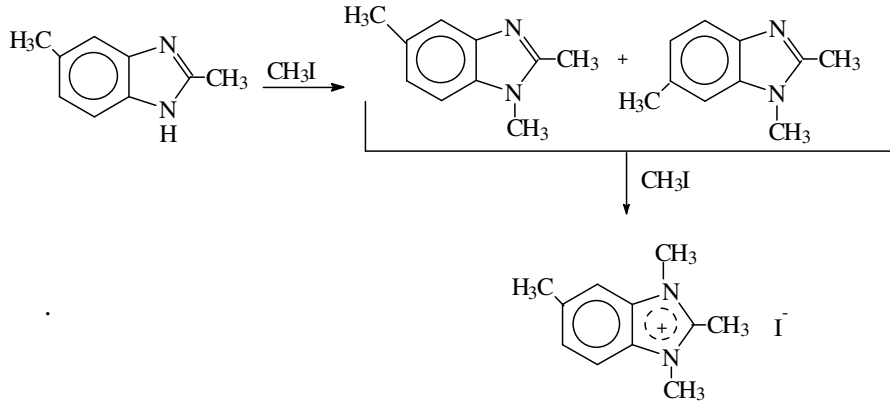
Benzimidazoller, asitlerle tuz oluşturma kabiliyetinde olan bazik bileşiklerdir. Benzimidazol halkasının asitlerle protonlandığı, floresans dalga boylarının farklı olması ile kanıtlanmıştır. Protonlanan benzimidazoller 365 nm’de floresans verirken, protonlanmamış türevleri 305 nm’de floresans vermektedir. Bazik karakterleri, piridin azotunun proton yakalama kabiliyetinden kaynaklanmaktadır. Benzimidazol ($\text{pK}_a=5.5$), imidazolden ($\text{pK}_a=7.0$) daha zayıf bir bazdır. Bu farklılık, imidazol ve benzen halkaları arasındaki konjugasyondan kaynaklanmaktadır. Konjugasyondan dolayı rezonans nedeniyle halka dayanıklılığı artmakta ve böylece piridin azotunun proton yakalama kabiliyeti azalmaktadır. Benzimidazoller, asitler ve bazlara karşı oldukça dayanıklıdır ve oksitleyici bileşiklerden kolay etkilenmezler. Metilbenzimidazollerin permanganat ile oksidasyonu, benzimidazolkarboksilik asitleri verir. Ancak permanganat ile yapılan kuvvetli oksidasyon, benzimidazolün 4,5-imidazoldikarboksilik aside dönmesine neden olur (Rogers ve Clayton, 1972).

Serbest imino hidrojeni içeren benzimidazoller, tautomerik sistemlerdir. Benzimidazollerin tautomerik karakteri nedeniyle aşağıda da gösterildiği gibi 3-nitro-4-asetamido-benzoik asit ve 4-nitro-3-asetamidobenzoik asitin redüksiyonu ile tek ve aynı benzimidazol elde edilmiştir (Denklemler 1) (Green ve Day, 1942).



Denklem 1

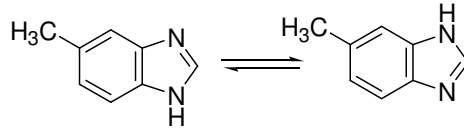
Benzimidazolün tautomerizmi, nötral şartlarda da oluşmaktadır. 2,5-Dimetilbenzimidazol, metiliyodür ile reaksiyona sokulduğunda, 1,2,5-trimetil benzimidazol ve 1,2,6-trimetilbenzimidazol, ayrı ayrı elde edilmekte ve her iki izomer tekrar metil iyodür ile kuaternize edildiğinde tek bir türeve ulaşmaktadır (Denklem 2) (Green ve Day, 1942).



Denklem 2

Ayrıca, ¹H-NMR spektroskopisi ile 2. konumda, heteroatom üzerindeki hidrojen ile intramoleküler hidrojen bağı yapabilen bir sübstitüentin bulunması halinde, proton değişme hızının yavaşladığı kanıtlanmıştır. Aynı zamanda, ortama konsantre H₂SO₄ ilavesi ile benzimidazolium iyonu oluşturarak da bu süreç büyük ölçüde yavaşlatılabilmiştir. Zira bu esnada H-2 protonu azot atomları üzerindeki her bir hidrojen ile etkileşerek triplet vermektedir ($J_{1,2} = J_{2,3} = 2.5$ Hz) (Elquero ve ark., 1975).

5(6)-Metilbenzimidazol gibi simetri düzlemi içermeyen türevlerin iki farklı izomer formuna sahip olması, imino azotunun varlığından kaynaklanmaktadır. Bu tip bileşiklerde kesin yapıyı tanımlamak mümkün olmayabilir. Denklem 3’de görüldüğü gibi 5-metilbenzimidazol, 6-metilbenzimidazolün tautomerik formudur. Aynı durum, 4(7)-süstitüe benzimidazoller ile de örneklenebilir (Rabinowitz ve Wagner, 1951) .



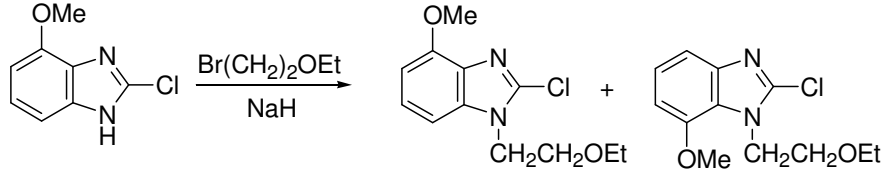
Denklem 3

Benzimidazol ve simetri düzlemi içeren türevlerin tautomerik formları ise birbirinin aynıdır ve kesin bir yapı belirlemek mümkündür. Örneğin; 2-metil, 5,6-dimetil ve 4,7-dimetil benzimidazol simetri düzlemine sahiptir. Benzimidazolün, benzen halkası üzerinde simetri düzlemini bozacak şekilde süstitüent taşıması halinde, imino hidrojeni süstitüe edilecek olursa, iki farklı izomer karışımı elde edilmektedir (Hoffmann, 1953).

Benzen üzerindeki süstitüentin karakteri azot üzerinden süstitüsüyonu etkilemekte ve genellikle farklı verimlerde izomerlerin elde edilmesine neden olmaktadır. 4. Konum süstitüentleri, önemli ölçüde elektrostatik, termodinamik ve sterik etkilere sahipken, 5. konumdaki süstitüentlerde bu etkilerin yeterince baskın olmaması nedeniyle, izomer oluşum oranının bu etkilere bağlı olarak değiştiği de bildirilmiştir (Howell ve Rasmussen, 1993). Benzimidazolün 5(6). konum süstitüentlerinin tautomerik denge üzerinde az bir etkisi olması nedeni ile bu tip süstitüentler varlığında, hemen hemen eşdeğer miktarda regioizomerlerin oluştuğu bildirilmiştir (Arnau ve ark., 1995).

2-Furil ya da tiyenil süstitüe benzimidazol türevleri ile DMSO içinde tautomerizm gözlenirken, 2-fenil benzimidazolde gözlenememesinin, molekülde heteroaril gruplar varlığında -NH asiditesinin artmasına bağlı olabileceği bildirilmiştir (Lee ve Jeoung, 1996).

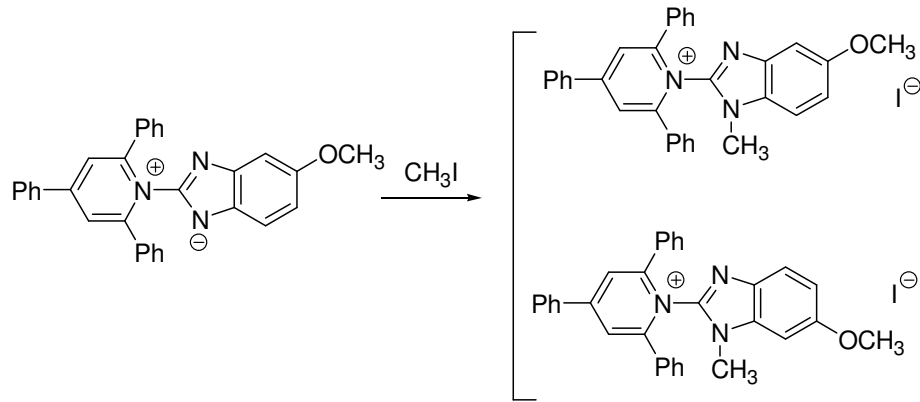
2-Kloro-4-metoksibenzimidazolün imino hidrojeninin sübstütüsü ile 2-kloro-1-(2-etoksietil)-4-metoksi-1*H*-benzimidazol ve 2-kloro-1-(2-etoksietil)-7-metoksi-1*H*-benzimidazol yapıları elde edilmiş ve bu izomerler kolon kromatografisi ile ayrılmıştır (Denklem 4) (Iemura ve ark., 1989).



Denklem 4

5-Nitrobenzimidazol, 3-metoksi-4-bromometil metilbenzoat ile 1. konumdan alkillendiğinde elde edilen izomer karışımının kolon kromatografisi ile ayrılabilirdiği bildirilmiştir (Matassa ve ark., 1990).

Diğer bir çalışmada ise, 1-(*p*-fluorobenzil)-2-(4-metilpiperidin-1-il)metil-5 ve 6-kloro-1*H*-benzimidazol izomer karışımının kolon kromatografisi ile ayrılabilirdiği bildirilmiştir (Göker ve Kuş, 1995).



Denklem 5

2,4,6-Trifenilpiridinyum benzimidazolat (iç tuz) ile metil iyodürden hareketle elde edilen izomer karışımı kristalizasyon ile ayrılmaya çalışıldığında, 6-metoksi izomeri saf olarak elde edilebilmiş, ancak 5-metoksi izomeri için bunun mümkün olmadığı bildirilmiştir (Denklem 5) (Alcalde ve ark., 1991). Aynı araştırmacı grubu, bu çalışmaya benzer şekilde elde ettikleri izomer karışımını kristalizasyon tekniği ile

ayrı ayrı saf olarak elde ettiklerini bildirmişlerdir (Alcalde ve ark.,1992). Başka bir çalışmada ise, sentez sonucu elde edilen izomer karışımının, ancak preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayrılabilirdiği bildirilmiştir (Arnau ve ark., 1995).

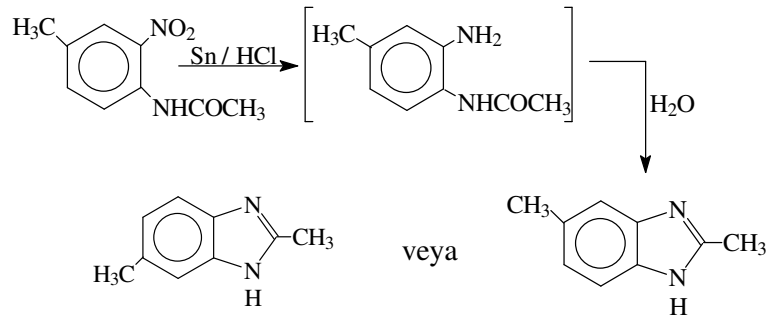
Alışlagelmiş alkilasyon şartlarında karşılaşılan izomer sorununu çözümlmek üzere, 5-nitrobenzimidazol üzerinden selektif alkilasyon ile 1-metil-5-nitrobenzimidazol ve 1-metil-6-nitrobenzimidazol regioizomerlerinin ayrı ayrı elde edilebileceği bildirilmiştir (Katritzky ve Rachwal, 1994).

1.6. Benzimidazollerin Genel Sentez Yöntemleri

Benzimidazol / Bis-benzimidazol sentez yöntemlerinde, başlangıç maddesi olarak çoğunlukla *o*-fenilendiamin ya da bunu verecek süstitüe türevlerinin kullanıldığı görülmektedir.

1.6.1. Açılennmiş *o*-nitroarilaminlerden hareketle:

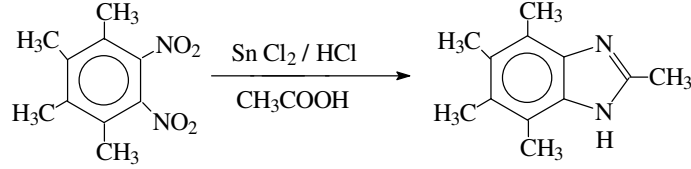
İlk benzimidazol sentezi, 1872 yılında 2-nitro-4-metil asetanilidin redüksiyonu ile gerçekleştirilerek 2,5 (veya 2,6) dimetil benzimidazol türevine ulaşılmıştır (Denklem 6) (Wright, 1951).



Denklem 6

o-Dinitrobenzen türevlerinin kalay klorür ile hidroklorik asit ve asetik asit varlığında, izole edilmeksizin redüksiyonu ile benzimidazol yapısı oluşmaktadır. 1,2-Dinitro-3,4,5,6-tetrametilbenzenin aynı redüksiyon koşullarında asetik asit ile

muamelesi sonucunda 2,4,5,6,7-pentametil benzimidazol oluşmaktadır (Denklem 7) (Smith ve Harris, 1935; Smith ve Moyle, 1936).



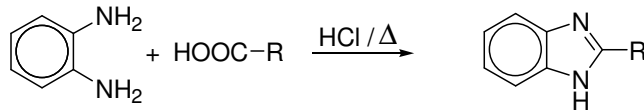
Denklem 7

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

o-Fenilendiamin ve karboksilik asidin reaksiyonu ile ilk benzimidazol sentezi, Ladenburg (1875) tarafından gerçekleştirilmiştir. 3,4-Diaminotoluen, glasiyal asetik asit içinde ısıtılarak 2,5-(ya da 2,6) dimetil benzimidazol elde edilmiştir.

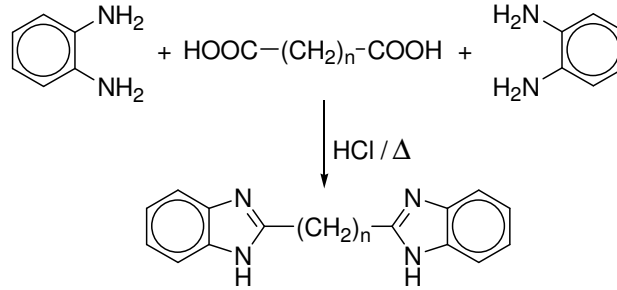
o-Fenilendiamin ile formik asit muamele edilerek, hiç bir süstitüent taşımayan benzimidazol ana halkası sentezlenmiştir (Wright, 1951). 2-Alkil benzimidazoller de, yine *o*-fenilendiamin ile karboksilli asidlerin reaksiyonu sonucunda elde edilmiştir (Pool ve ark., 1937).

Benzimidazol sentezinde en çok kullanılan metod, *o*-fenilendiaminlerin dilüe HCl'deki (genellikle 4N HCl) çözeltisi ile karboksilik asit ya da asit anhidritinin reaksiyonudur (Denklem 8). Bu yöntem, Phillips'in benzimidazol sentezi olarak bilinmektedir (Phillips, 1928a; Phillips, 1928b).



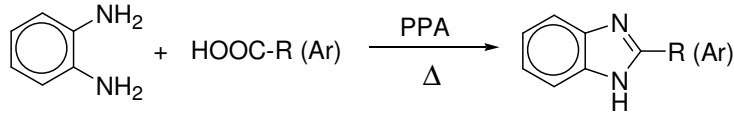
Denklem 8

Bis-benzimidazoller ise iki mol *o*-fenilendiamin ile bir mol dikarboksilli asidin, seyreltik HCl’li ortamda ısıtılması sonucu major ürün olarak elde edilmektedir (Denklem 9) (Phillips, 1942).



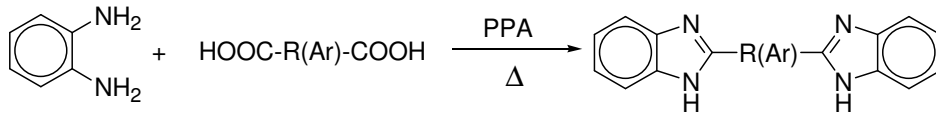
Denklem 9

2-Alkil-süstitüe türevi bileşiklerin elde edilmesinde Philips metodu iyi sonuç vermesine karşın, 2-aril-süstitüe benzimidazollerin sentezinde sıklıkla başarısızlıkla sonuçlanmakta ya da reaksiyon verimi oldukça düşük olmaktadır. *o*-Fenilendiamin türevi bileşiklerin, polifosforik asit (PPA) varlığında alkil ya da aril karboksilik asitlerle reaksiyonu ile yüksek verimle 2-alkil/aril benzimidazol türevi bileşikler elde edilmektedir (Denklem 10) (Hein ve ark., 1957).



Denklem 10

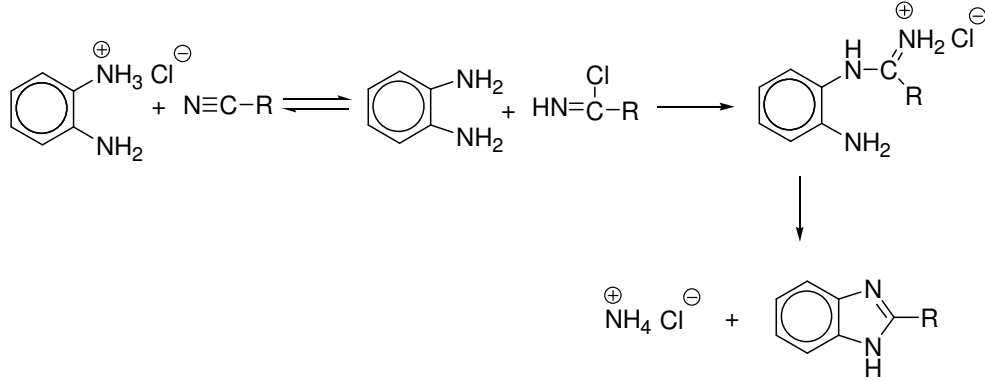
Bis-benzimidazol türevi bileşikler de bu yöntemle değişen verimlerle elde edilebilmektedir (Denklem 11) (Wang ve Joullie, 1957).



Denklem 11

1.6.3. *o*-Fenilendiamin ile nitrillerden hareketle:

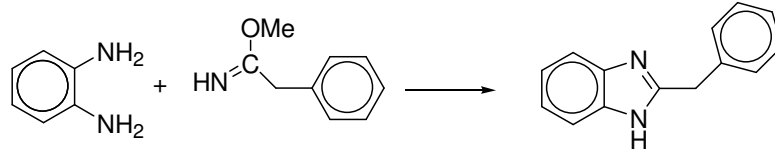
o-Fenilendiaminin mono HCl tuzu ile bir alifatik ya da aromatik nitrilin 200°C’de reaksiyonu, 2-alkil/arilsüstitübenzimidazol yapısı elde edilmektedir (Denklem 12) (Wagner, 1940; Hölljes ve Wagner, 1944).



Denklem 12

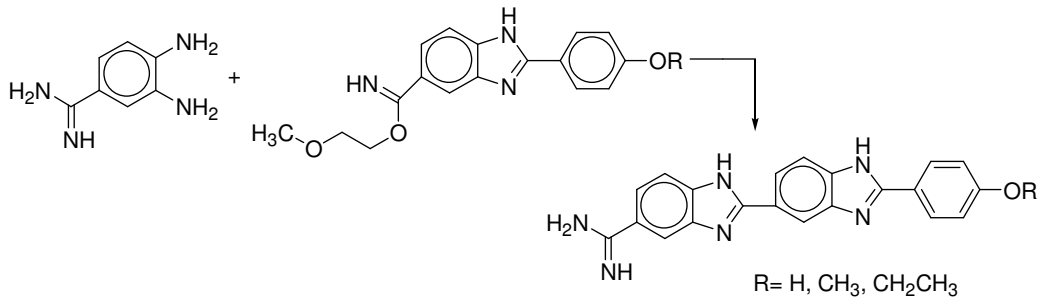
1.6.4. *o*-Fenilendiaminler ile iminoeterlerden hareketle:

o-Fenilendiamin ile imino eter (imidat) türevi bileşiklerin metanol içinde reaksiyonu sonucu 2-benzilbenzimidazoller (Denklem 13) elde edilmektedir (King ve Acheson, 1949).



Denklem 13

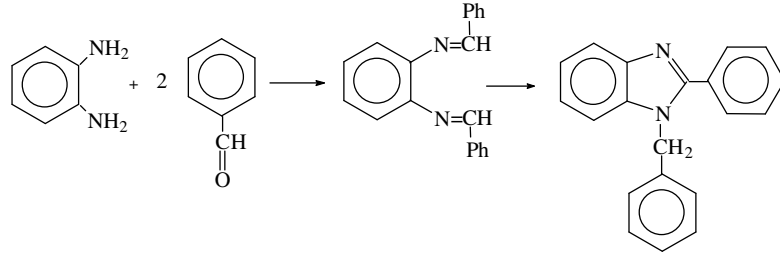
Aynı yöntemle, 3,4-diamino benzamidin bileşiğinin, çeşitli imidat esterleri ile reaksiyonu sonucunda, 2-5'-bis-benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiştir (Denklem 14) (Czarny ve ark., 1996).



Denklem 14

1.6.5. *o*-Fenilendiamin ile aldehit ya da ketonlardan hareketle:

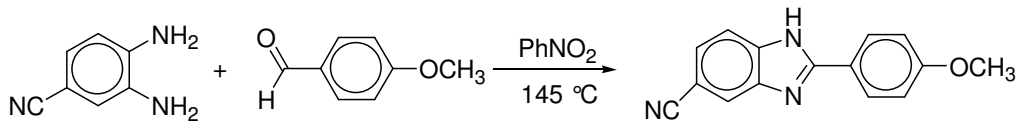
Bir mol *o*-fenilendiamin ile iki mol aldehitin reaksiyonu sonucunda oluşan schiff bazı üzerinden benzimidazol yapısının oluşumu ile 1-benzil-2-fenilbenzimidazol yapısı sentezlenmiştir (Denklem 15) (Hinsberg, 1886; Hinsberg, 1887).



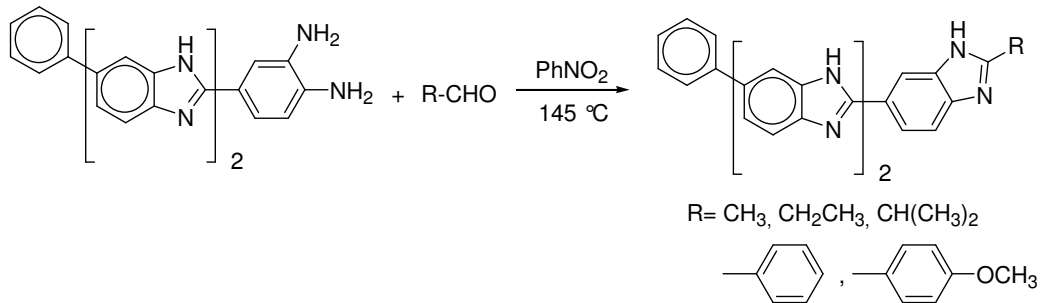
Denklem 15

Weidenhagen (1936), aldehitlerle gerçekleştirilen reaksiyonlardaki verimin düşüklüğünü, katalizör olarak bakır asetat kullanımı ile gideren bir yöntem önermiştir.

Birbirine eşit moldeki *o*-fenilendiamin ve aldehit türevlerinin nitrobenzen varlığında 145-150 °C'de reaksiyona girmesiyle, benzimidazol türevi bileşikler elde edilmektedir (Denklem 16). Bu yöntem, özellikle bis-benzimidazol ve terbenzimidazol türevi bileşiklerin sentezinde (Denklem 17) kullanılmaktadır (Sun ve ark., 1995; Kim ve ark., 1997).

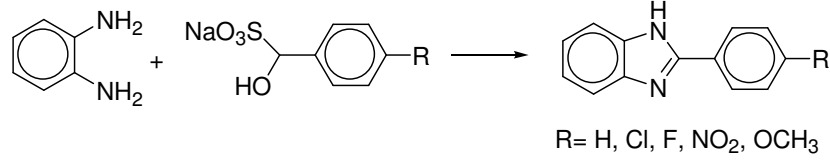


Denklem 16



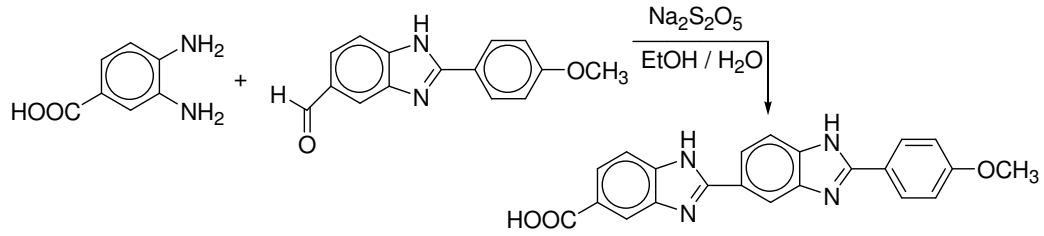
Denklem 17

o-Fenilendiamin ile aldehytlerin sodyumbisülfite (sodyum piro sülfite) katım ürünlerinin reaksiyonu ile 2-arilbenzimidazol türevi bileşikler elde edilmektedir (Denklem 18) (Ridley, 1965).



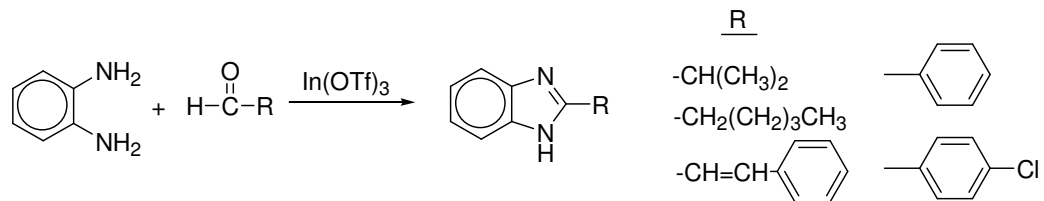
Denklem 18

3,4-Diaminobenzoik asit, sodyum piro sülfite varlığında 2-(4-metoksifenil) benzimidazol-5-karboksaldehit ile reaksiyona girerek, bis-benzimidazol türevi bir bileşiğin sentezi (Denklem 19) gerçekleştirilmiştir (Ji ve ark., 2001).



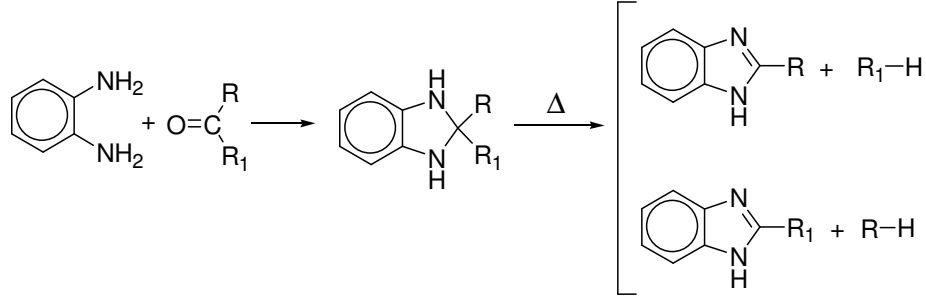
Denklem 19

2006 yılında yayınlanan bir makalede, *o*-fenilendiamin ve türevleri ile çeşitli alifatik ya da aromatik aldehytlerin solvansız ortamda indiyum III trifluorometansülfonat [$In-(CF_3SO_3)_3$, indiyum triflat, $In-(OTf)_3$] katalizörlüğünde oda sıcaklığında reaksiyona girmesiyle, yüksek verimlerde 2-süstitübenzimidazol türevi bileşiklerin (Denklem 20) elde edildiği bildirilmiştir. Mevcut sentez yöntemleri ile karşılaştırıldığında; bu yeni yöntemin kolay uygulanabilir olması, reaksiyon süresinin kısılması, verimin yüksek oluşu ve katalistin reaksiyon sonunda geri kazanılarak tekrar kullanılabilmesi gibi avantajlara sahip olduğu görülmektedir (Trivedi ve ark., 2006).



Denklem 20

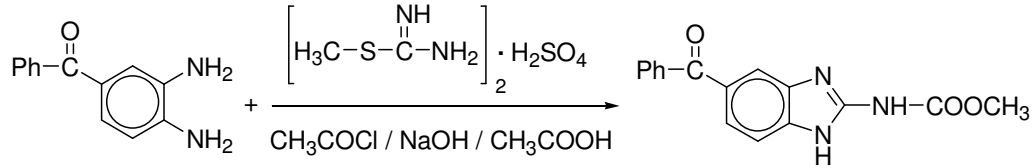
Fenilendiamin, ketonlarla muamele edildiğinde 2,2-disüstitüe benzimidazolinleri vermekte ve bu oluşan ürün ısıtıldığı zaman 2-süstitüe benzimidazol ve hidrokarbon yapılarını vermek üzere parçalanmaktadır (Denklem 21) (Elderfield ve Kreysa, 1948; Elderfield ve Mc Carthy, 1951).



Denklem 21

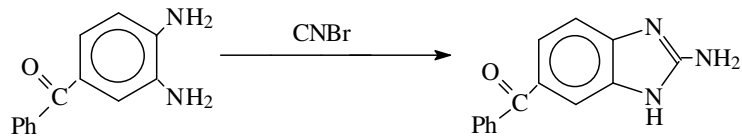
1.6.6. Diğer yöntemler

A. *o*-Fenilendiaminler ile 2-metiltiyopsödoüre sülfat ve metilkloroformat karışımı arasından, bazık ortamda 1*H*-benzimidazol-2-karbamatlar elde edilmektedir (Denklem 22). Antihelmentik etkili Mebendazol bu yolla sentezlenmiştir. (Raeymaekers ve ark., 1978).



Denklem 22

B. 3,4-Diaminobenzofenon ile siyanojenbromür sulu ortamda muamele edildiğinde, 2-amino-5(6)-benzoil-1*H*-benzimidazol elde edilir (Denklem 23) (Ohemeng ve Roth, 1991).



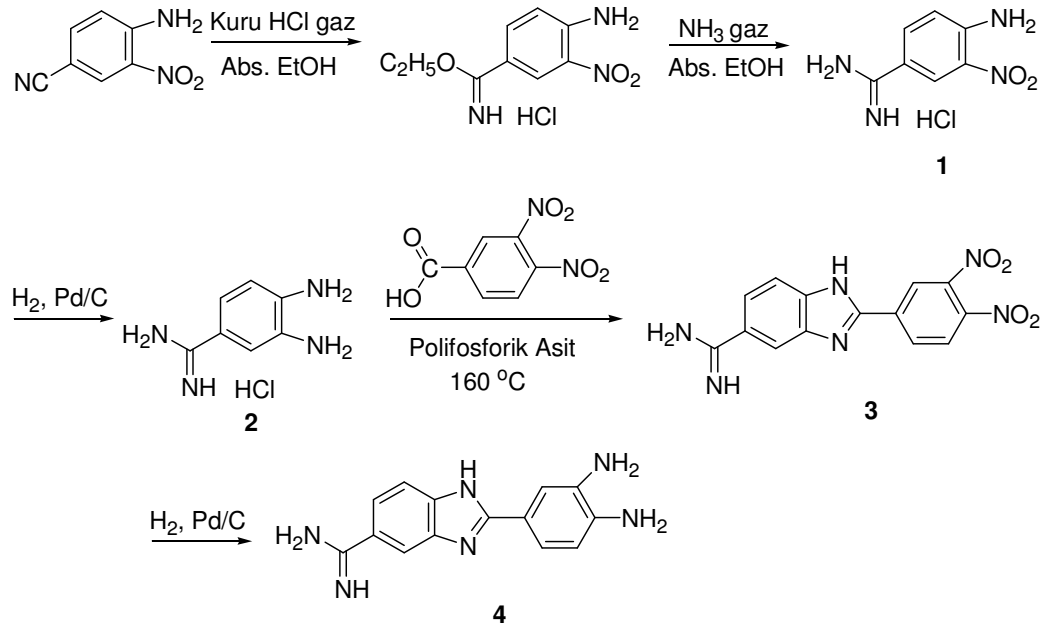
Denklem 23

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Tasarlanan Türevlerin Sentezi

2.1.1. Ticari Olmayan Başlangıç Maddelerinin Sentezi

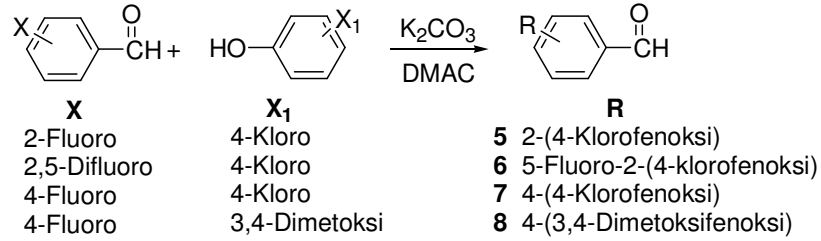
4-Amino-3-nitrobenzonitril'deki nitril grubu, Pinner reaksiyonu ile, kuru HCl gaz ile doyurulmuş mutlak etanol içinde imidat esterine dönüştürüldü. Fazla stabil olmayan olmayan imidat ester, amonyak gazı ile doyurulmuş mutlak etanol kullanılarak, 4-amino-3-nitrobenzamidin HCl (**1**) bileşiği hazırlandı (Tidwell ve ark., 1978). Bu bileşikteki nitro grubu Parr apareyinde Pd/C katalizörlüğünde hidrojen gazı ile redüklenerek, 3,4-diaminobenzamidin HCl (**2**) elde edildi (Fairley ve ark., 1993). 3,4-diamino-benzamidin HCl (**2**)'ün polifosforik asit varlığında (Hein ve ark., 1957) 3,4-dinitrobenzoik asit ile imidazol siklizasyonu ile, 2-(3,4-dinitrofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**3**) sentezlendi. Daha sonra, katalitik hidrojenasyon ile her iki nitro grubu redüklenerek, 2-(3,4-diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**) bileşiğine ulaşıldı (Şema 4).



Şema 4. Başlangıç Maddelerinin Sentezi

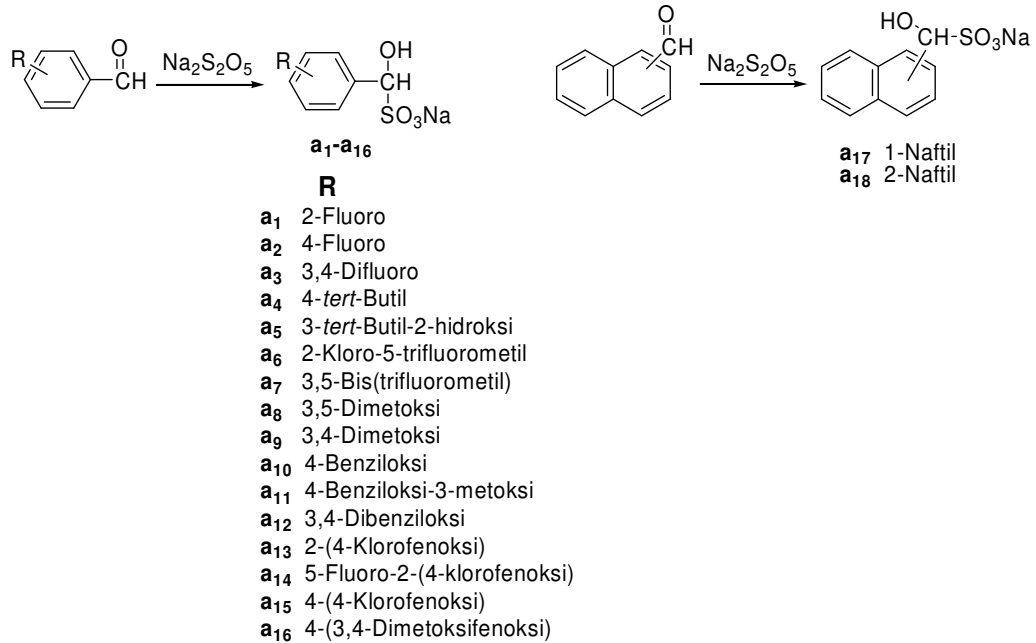
2.1.2. Eter Yapısı Taşıyan Aldehit Türevi Bileşiklerin Sentezi

2-Fluoro, 4-fluoro, 2,5-difluoro benzaldehitin *p*-klorofenol ile ve 4-fluoro benzaldehitin 3,4-dimetoksifenol ile K₂CO₃'lî ortamda dimetilasetamid (DMAC) içindeki reaksiyonuyla eter yapısı taşıyan aldehit türevi bileşikler (**5-8**) sentezlendi (Şema 5) (Yeager ve Schissel, 1991; Yeager ve Schissel, 1995).



Şema 5. Eter Yapısı Taşıyan Aldehit Türevi Bileşiklerin Sentezi

2.1.3. Aldehitlerin Na₂S₂O₅ Katım Ürünlerinin Hazırlanması

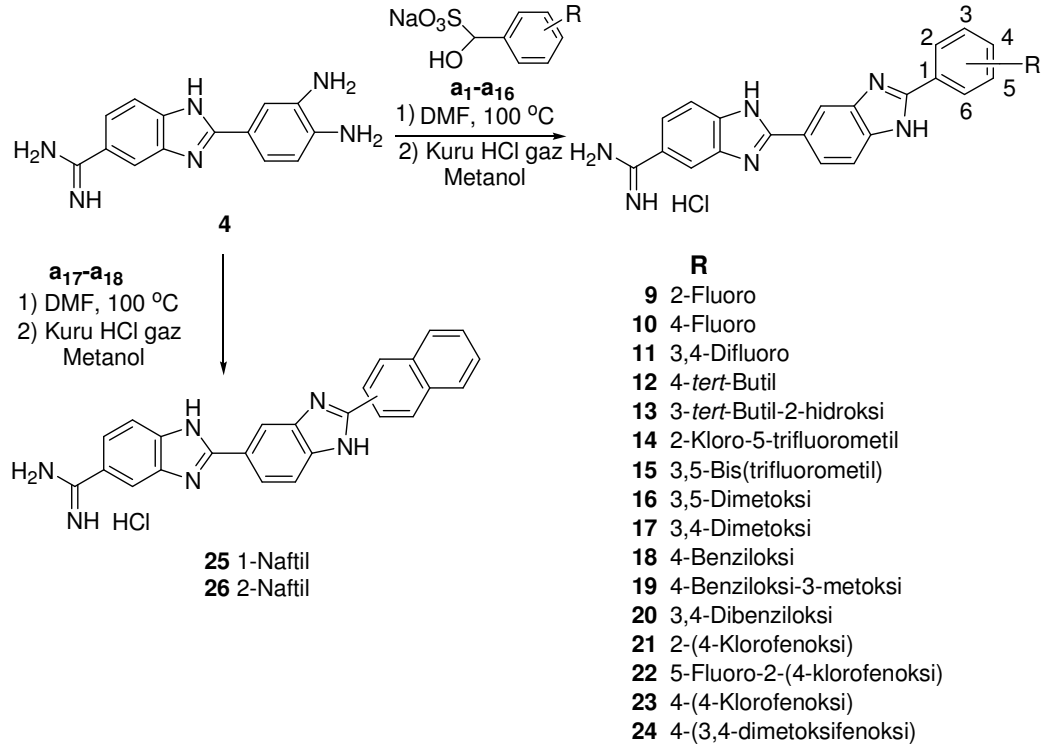


Şema 6. Aldehitlerin Na₂S₂O₅ Katım Ürünlerinin Hazırlanması

Ticari olarak satın alınan ve sentezlenen aldehit türevi bileşikler etanolde çözüldü. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 'in sudaki çözeltisi aldehit çözeltisinin üzerine damlatılarak karıştırıldı ve böylece katım ürünleri (**a₁-a₁₈**) elde edildi (Şema 6) (Ridley ve ark., 1965).

2.1.4. Amidin Grubu İçeren Bis-benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi

Hedeflenen sonuç ürünler, 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**) bileşiğinin, aldehitlerin $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ katım ürünleri (**a₁-a₁₈**) ile dimetilformamid içerisindeki reaksiyonuyla elde edildi. (Ridley ve ark., 1965). Ham ürünler, kolon kromatografisi ile, klorofom : metanol : amonyum hidroksit solvan karışımı (Czarny ve ark., 1996) kullanılarak saflaştırıldı. Bileşiklerin HCl tuzları (**9-26**), HCl gazı geçirilmiş alkol- eter karışımı içinde elde edildi (Şema 7).



Şema 7. Amidin Grubu İçeren Bis-benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi

2.2. Materyal ve Yöntem

2.2.1. Sentez Edilen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Uygulanan Yöntemler

2.2.1.1. Kromatografik Analizler

Sentez çalışmaları esnasında reaksiyonların yürüyüşünü izlemek, elde edilen ürünlerin saflık derecelerini saptamak amacı ile ince tabaka kromatografisinden (İTK) yararlanılmıştır. Bu amaçla Kieselgel-60 GF₂₅₄ (Merck) kaplı alüminyum plaklar kullanılmıştır. Lekelerin belirlenmesinde 254 nm dalga boyundaki UV ışığından yararlanılmıştır. Kolon kromatografisi için ara basamaklarda silicagel 60, 0.040-0.060 mm (230-400 mesh); sonuç ürünlerde ise silicagel 60, 0.063-0.200 mm (70-230 mesh) kullanılmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin, ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) yöntemi ile retansiyon zamanları (t_R) saptanmıştır. Bu amaçla, 4.6 mm çapında, 250 mm boyunda C-18 X terra kolon (Waters) kullanılmıştır. Mobil faz akış hızı 0.8 ml/dak. olarak uygulanmıştır. Mobil faz ve sonuçlar sayfa 148’de kapasite faktör hesaplanması bölümünde verilmiştir.

2.2.1.2. Erime Noktası Tayinleri

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

2.2.1.3. Elementel Analiz *

Elementel analizler, Leco CHNS 932 Elementel analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

2.2.1.4. Spektral Analizler

NMR Spektrumları * (^1H , ^{13}C , ^{19}F , 2D-COESY, 2D-HSQC)

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

Kütle (MASS) Spektrumları *

Kütle (Mass) analizleri, Waters ZQ mikromass LC-MS spektrometresinde, Elektrospray iyonizasyon (ESI) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

İnfrared (IR) Spektrumları *

İnfrared (IR) analizleri Jasco FT/IR-420 spektrofotometresinde KBr (Merck) diski hazırlanarak yapılmıştır.

2.2.2. Sentez İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler

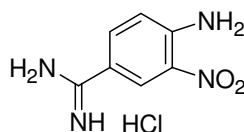
4-Amino-3-nitrobenzonitril (Aldrich), 3,4-dinitrobenzoik asit (Lancaster), 2-fluorobenzaldehit (Aldrich), 4-fluorobenzaldehit (Fluka), 2,5-difluorobenzaldehit (Aldrich), 3,4-difluorobenzaldehit (Aldrich), 4-*tert*-bütılbenzaldehit (Aldrich), 3-*tert*-bütıl-2-hidroksibenzaldehit (Aldrich), 2-kloro-5-(trifluorometil)benzaldehit (Aldrich), 3,5-Bis (trifluorometil) benzaldehit (Aldrich), 3,5-dimetoksibenzaldehit (Aldrich), 3,4-dimetoksibenzaldehit (Aldrich), 4-benziloksibenzaldehit (Aldrich), 4-benziloksi-3-metoksibenzaldehit (Aldrich), 3,4-dibenziloksibenzaldehit (Aldrich), 1-naftaldehit (Aldrich), 2-naftaldehit (Aldrich), 4-klorofenol (Fluka), 3,4-dimetoksifenol (Aldrich), polifosforik asit (Acros Organics), palladyum-karbon (Fluka), selit (Fluka), sodyum metabisüfit (Fluka), N,N-dimetilformamid (Merck), N,N-dimetilasetamid (Riedel-deHaen), hidroklorik asit (Riedel-deHaen), sülfürik asit (Riedel-deHaen), sodyum hidroksit (Riedel deHaen), potasyum karbonat (Merck), mutlak alkol (Riedel-deHaen), metanol (Riedel-deHaen), diklorometan (Merck), kloroform (Merck), *n*-hekzan (Riedel-deHaen), etilasetat (Meck), amonyak (Merck), dietileter (Fluka).

* Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3. BULGULAR

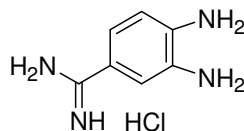
3.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi

3.1.1. 4-Amino-3-nitrobenzamidin HCl (Bileşik 1)



2.445 g 4-Amino-3-nitrobenzonitril, kuru HCl gazı ile doyurulmuş 20 ml absolu etanol içinde ağzı sıkıca kapatılmış balon içerisinde 3 gün oda sıcaklığında karıştırıldı. Başlangıç maddesi tamamen tükendikten sonra üzerine kuru eter ilave edilerek imidat esteri çöktürüldü ve süratle vakumda süzülüp kuru eterle yıkandıktan sonra vakum etüvünde kurutuldu. Elde edilen imidat esteri, amonyak gazı ile doyurulmuş 15 ml absolu etanol içerisinde oda sıcaklığında 2 gün karıştırıldı. Etanol düşük basınç altında uçuruldu ve kalan madde eterle yıkandı ve kurutuldu. 2.750 g ürün elde edildi. E.n: >300 °C (E.n: >300 °C, Fairley ve ark.,1993).

3.1.2. 3,4-Diaminobenzamidin HCl (Bileşik 2)

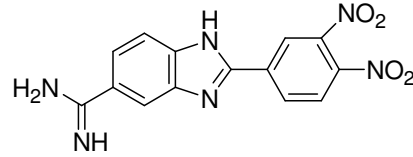


1.012 g 4-Amino-3-nitrobenzamidin HCl (**1**), 50 ml etanolde çözüldü, 0.100 g %10 Pd-C katalizörlüğünde oda sıcaklığında 35 psi basınç altında hidrojen gazı tüketimi bitinceye kadar redüksiyona devam edildi. Katalist selit üzerinden süzülerek ayrıldı ve etanol uçuruldu. 0.700 g ürün elde edildi. E.n: 238-239 °C (E.n: 237-239 °C, Fairley ve ark.,1993).

Elementel Analiz = C₇H₁₀N₄ · 1.15 HCl

	% C	% H	% N
Hesaplanan	43.76	5.85	29.16
Bulunan	43.31	6.05	29.43

3.1.3. 2-(3,4-Dinitrofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (Bileşik 3)



0.575 g (30 mmol) 3,4-Diaminobenzamidin HCl (**2**) ve 0.635 g (30 mmol) 3,4-dinitrobenzoik asit 20 ml polifosforik asit içerisinde 160 °C da 5 saat karıştırıldı. Reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü ve % 40'lık NaOH çözeltisi ile bazikleştirildi. Çökelek süzüldü ve su ile yıkandı. % 46 verimle 0.450 g kırmızı-turuncu renkli ürün elde edildi. E.n.: >300 °C

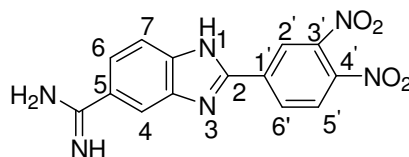
Elementel Analiz = C₁₄H₁₀N₆O₄ · 3H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	44.21	4.24	22.09
Bulunan	44.35	3.76	21.83

Kütle m/z (ESI+) : 327(M+1, 100).

Spektrum 1. Bileşik 3'ün kütle spektrumu

Spektrum 2. Bileşik 3'ün ^1H -NMR spektrumu



^1H -NMR δ ppm (DMSO- d_6 +D $_2$ O): 7.36(dd, 1H, H-6', $J_o=8.4$ Hz, $J_m=1.6$ Hz), 7.59(d, 1H, H-5', $J_o=8.4$ Hz), 8.05(d, 1H, H-2', $J_m=1.2$), 8.21(d, 1H, H-7, $J_o=8.4$ Hz), 8.62(dd, 1H, H-6, $J_o=8.4$ Hz, $J_m=2$ Hz), 8.76(d, 1H, H-4, $J_m=2$ Hz).

^{13}C -NMR δ ppm (DMSO- d_6 +D $_2$ O): 117.05(C-5'), 117.83(C-2'), 118.85(C-6'), 118.96, 122.82(C-4) , 127.01(C-7), 130.69(C-6), 140.22, 143.98, 144.25, 148.40, 153.34, 160.96(C-2), 167.33(C-amidin)

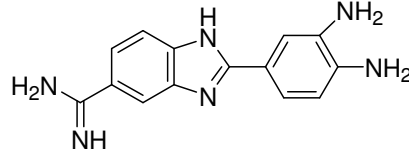
Spektrum 3. Bileşik 3'ün gCOSY spektrumu

Spektrum 4. Bileşik 3'ün gHSQC spektrumu

IR (KBr) cm^{-1} : 1654 (C=NH gerilim bandı).

Spektrum 5. Bileşik 3'ün IR spektrumu

3.1.4. 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (Bileşik 4)



0.400 g (15 mmol) 2-(3,4-dinitrofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**3**), 30 ml etanolde çözüldü. 0.100 g %10 Pd-C katalizörlüğünde oda sıcaklığında 35 psi basınç altında hidrojen gazı tüketimi bitinceye kadar redüksiyona devam edildi. Katalist selit üzerinden süzülerek ayrıldı ve etanol uçuruldu. 0.240 g sarımsı beyaz ürün % 73 verimle elde edildi. E.n.: 98-105 °C (bubling) (Lombardy ve ark., 1996).

Elementel Analiz = C₁₄H₁₄N₆ · 1.66 H₂O · C₂H₆O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	56.14	6.86	24.55
Bulunan	56.14	6.35	24.22

Kütle m/z (ESI+) : 267(M+1, 100).

Spektrum 6. Bileşik 4'ün kütle spektrumu

¹H-NMR δ ppm (DMSO-d₆): 4.67(s, 2H, NH₂), 4.99(s, 2H, NH₂), 6.59(d, 1H, J_o=8 Hz), 7.25(dd, 1H, J_o=8.4 Hz, J_m=2 Hz), 7.41(d, 1H, J_m=2 Hz), 7.47(d, 1H, J_o=8.4 Hz), 7.54(dd, 1H, J_o=8.4 Hz, J_m=1.6 Hz), 7.90(s, 1H).

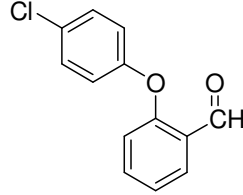
Spektrum 7. Bileşik 4'ün ¹H-NMR spektrumu

IR (KBr) cm⁻¹: 1660 (C=NH gerilim bandı).

Spektrum 8. Bileşik 4'ün IR spektrumu

3.2. Eter Yapısı Taşıyan Aldehit Türevi Bileşiklerin Sentezi

3.2.1. 2-(4-Klorofenoksi) benzaldehit (Bileşik 5)

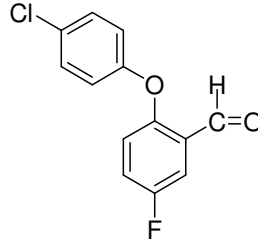


1.24 g (10 mmol) 2-Fluorobenzaldehit, 1.28 g (10mmol) 4-klorofenol, 2 g K_2CO_3 5 ml dimetilasetamid içerisinde 140 °C’de 4 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon ortamına distile su eklendi. Çöken madde kurutulduktan sonra, *n*-hekzan’dan kristallendirildi. % 63 verimle 1.46 g ürün saf ürün elde edildi. E.n.: 55 °C (E.n: 56.5-57 °C, Yeager ve Schissel, 1995).

1H -NMR δ ppm ($CDCl_3$) : 6.88(d, 1H, $J_o=8$ Hz), 7.00(d, 2H, $J_o=8.4$ Hz), 7.20(t, 1H, $J_o=7.6$ Hz), 7.32(d, 2H, $J_o=8.4$ Hz), 7.52(m, 1H), 7.93(dd, 1H, $J_o=7.6$ Hz, $J_m=1.6$ Hz), 10.47(s, 1H).

Spektrum 9. Bileşik 5’in 1H -NMR spektrumu

3.2.2. 5-Fluoro-2-(4-klorofenoksi) benzaldehit (Bileşik 6)



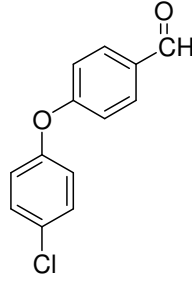
1.42 g (10 mmol) 2,5-Difluorobenzaldehyt, 1.28 g (10 mmol) 4-klorofenol, 2 g K_2CO_3 5 ml dimetilasetamid içerisinde 140 °C'de 4 saat karıştırıldı. Reaksiyon ortamına 10 ml distile su eklendi, asetik asit ile nötralize edildi. Etilasetat ile ekstraksiyon yapıldıktan sonra çözücü uçuruldu. Yağımsı ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (1:1) ile kolon kromatografisi ile saflaştırılarak, % 44 verimle 1.100 g ürün elde edildi. E.n.: 87 °C.

1H -NMR δ ppm ($CDCl_3$) : 6.91(dd, 1H, $J=9.2$ Hz, $J=4$ Hz), 6.97(d, 2H, $J_o=8.8$ Hz) 7.22-7.27(m, 1H), 7.31(d, 2H, $J_o=9.2$ Hz), 7.58(dd, 1H, $J=8.4$ Hz, $J=3.6$ Hz), 10.37(d, 1H, $J=2.8$ Hz).

Spektrum 10. Bileşik 6'nın 1H -NMR spektrumu

^{13}C -NMR δ ppm ($CDCl_3$): 114.36, 114.60, 120.24, 121.03, 121.11, 122.95, 123.18, 128.39, 128.46, 129.70, 130.41, 155.50, 155.70, 157.73, 160.18, 188.07.

3.2.3. 4-(4-Klorofenoksi) benzaldehyt (Bileşik 7)

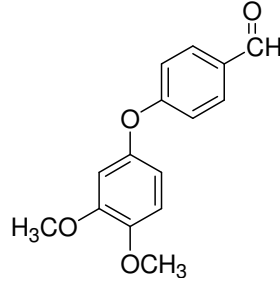


1.24 g (10 mmol) 4-Fluorobenzaldehyt, 1.28 g (10mmol) 4-klorofenol, 2 g K_2CO_3 5 ml dimetilasetamid içerisinde 140 °C’de 4 saat karıştırıldı. Reaksiyon ortamına 10 ml distile su eklendi, asetik asit ile nötralize edildi. Diklorometan ile ekstraksiyon yapıldıktan sonra çözücü uçuruldu. Yağımsı ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (4:1) ile kolon kromatografisi ile saflaştırılarak, % 53 verimle 1.220 g ürün elde edildi. E.n.: 47 °C (E.n: 47-48.5 °C, Yeager ve Schissel, 1991)

1H -NMR δ ppm ($CDCl_3$): 7.00-7.05(m, 4H), 7.34(d, 2H, $J_o=8.4$ Hz), 7.83(d, 2H, $J_o=8.4$ Hz), 9.90(s, 1H).

Spektrum 11. Bileşik 7’nin 1H -NMR spektrumu

3.2.4. 4-(3,4-Dimetoksifenoksi) benzaldehit (Bileşik 8)



1.24 g (10 mmol) 4-Fluorobenzaldehyt, 1.54 g (10mmol) 3,4-dimetoksifenol, 2 g K_2CO_3 5 ml dimetilasetamid içerisinde 140 °C’de 4 saat karıştırıldı. Reaksiyon ortamına 10 ml distile su eklendi, asetik asit ile nötralize edildi. Etilasetat ile ekstraksiyon yapıldıktan sonra çözücü uçuruldu. Yağımsı ham madde *n*-hekzan : etilasetat (2:1) ile kolon kromatografisi ile saflaştırılarak, % 41 verimle 1.05 g ürün elde edildi. E.n.:115 °C

Kütle m/z (ESI+) : 259 (M+1, 100).

Spektrum 12. Bileşik 8’in kütle spektrumu

^{13}C -NMR δ ppm ($CDCl_3$): 56.27, 56.49, 105.38, 112.06, 112.29, 117.07, 131.22, 132.16, 146.75, 148.65, 150.40, 164.17, 190.91.

¹H-NMR δ ppm (CDCl₃) : 3.84(s,3H, O-CH₃), 3.89(s,3H, O-CH₃), 6.65(m, 2H), 6.85(d, 1H, J_o=8.8 Hz), 7.01(d, 2H, J_o=8.4 Hz), 7.80(d, 2H, J_o=8.4 Hz), 9.90(s,1H).

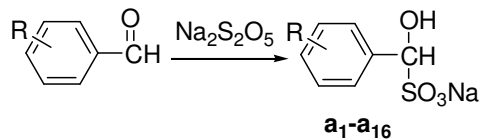
Spektrum 13. Bileşik 8'in ¹H-NMR spektrumu

3.3. Aldehitlerin Na₂S₂O₅ Katım Ürünlerinin Hazırlanması

Başlangıç maddesi olarak kullanılan aldehit etanolde çözüldü (Tablo 10). Na₂S₂O₅'in sudaki çözeltisi aldehit çözeltisinin üzerine damla damla eklendi . Oda sıcaklığında 20 dakika karışması sağlandı. 2 Saat buzlukta bekletildikten sonra oluşan çökelek süzüldü.

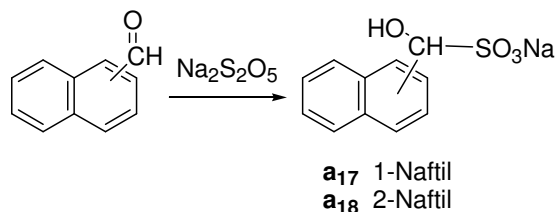
Aldehitin Miktarı	Aldehitin Çözüldüğü Etanol Miktarı	Na ₂ S ₂ O ₅ Miktarı	Na ₂ S ₂ O ₅ ' in Çözüldüğü Distile Su Miktarı
30 mmol	100 ml	3.2 g	10 ml
15 mmol	60 ml	1.6 g	6 ml
7.5 mmol	30 ml	0.8 g	3 ml
3.25 mmol	20 ml	0.4 g	2 ml

Tablo 10. Kullanılan aldehit, Na₂S₂O₅ ve çözüldükleri solvan miktarları.



Bileşik No	R	Başlangıçta kullanılan aldehitin miktarı	Elde edilen katım ürününün miktarı	Verim
a₁	2-Fluoro	3.720 g (30 mmol)	5.470 g (24mmol)	% 80
a₂	4-Fluoro	3.720 g (30 mmol)	6.27 g (27.5 mmol)	% 92
a₃	3,4-Difluoro	4.26 g (30 mmol)	5.16 g (21mmol)	% 70
a₄	4- <i>tert</i> -Butil	2.43 g (15 mmol)	3.75 g (14 mmol)	% 93
a₅	4- <i>tert</i> -Butil-2-hidroksi	2.67 g (15 mmol)	2.28 g (8.1 mmol)	% 54
a₆	2-Kloro-5-trifluorometil	0.675 g (3.25 mmol)	0.480g (1.54 mmol)	% 47
a₇	3,5-Bis(trifluorometil)	0.785 g (3.25 mmol)	0.510 g (1.47mmol)	% 45
a₈	3,5-Dimetoksi	2.50 g (15 mmol)	2.15 g (8 mmol)	% 53
a₉	3,4-Dimetoksi	2.50 g (15 mmol)	2.95g (11mmol)	% 73
a₁₀	4-Benziloksi	1.59g (7.5 mmol)	2.00g (6.3 mmol)	% 84
a₁₁	4-Benziloksi-3-metoksi	1.815 g (7.5 mmol)	2.075 (6.0 mmol)	% 80
a₁₂	3,4-Dibenziloksi	2.385 g (7.5 mmol)	2.910 g (6.90 mmol)	% 92
a₁₃	2-(4-klorofenoksi)	0.755 g (3.25 mmol)	0.570 g (1.7 mmol)	% 52
a₁₄	5-Fluoro-2-(4-klorofenoksi)	0.810 (3.25 mmol)	0.800 (2.25mmol)	% 70
a₁₅	4-(4-klorofenoksi)	0.755 g (3.25 mmol)	0.630 (1.87 mmol)	% 58
a₁₆	4-(3,4-dimetoksi fenoksi)	0.840 g (3.25 mmol)	0.760 g (2.1mmol)	% 65

Tablo 11. Kullanılan benzaldehit türevi bileşiklerin ve Na₂S₂O₅ katım ürünlerinin miktarı ve % verimleri.

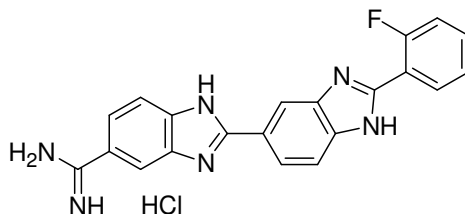


Bileşik No	Başlangıçta kullanılan aldehitin miktarı	Elde edilen katım ürününün miktarı	Verim
a₁₇	1.17 g (7.5 mmol)	1.330 (5.1 mmol)	% 68
a₁₈	1.17 g (7.5 mmol)	1.450 (5.57 mmol)	%74

Tablo 12. Kullanılan naftaldehit türevi bileşiklerin ve Na₂S₂O₅ katım ürünlerinin miktarı ve % verimleri.

3.4. Amidin Grubu İçeren Bis-benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi

3.4.1. 2'-(2-Fluorofenil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 9)



0.135 g (0.5 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.115 g (0.5 mmol) 2-fluorobenzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₁**) ile 2 ml dimetilformamid içerisinde 6 saat 100 °C da ısıtıldı. Reaksiyon ortamına distile su eklenerek elde edilen ham ürün kurutuldu ve kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (NH₃ gazı ile doyurulmuş 11:4:1 kloroform : metanol : amonyum hidroksit). HCl gazı geçirilmiş metanol-dietileter karışımı içinde HCl tuzu hazırlandı. % 24 Verimle 0.045 g ürün elde edildi. E.n: >300 °C.

Elementel Analiz = $C_{21}H_{15}FN_6 \cdot 3 HCl \cdot 2.66 H_2O$

	% C	% H	% N
Hesaplanan	47.79	4.45	15.92
Bulunan	48.06	4.82	15.40

Kütle m/z (ESI+) : 371 (M+1, 100).

Spektrum 14. Bileşik 9'un kütle spektrumu

^{13}C -NMR δ ppm (DMSO- d_6), baz : 115.01, 115.28, 116.4, 116.55, 117.14, 117.35, 118.59, 118.70, 121.61, 121.90, 122.44, 125.10, 125.78, 131.09, 132.80, 132.88, 140.26, 141.20, 141.44, 144.32, 149.05, 156.99, 158.98, 161.47, 166.80.

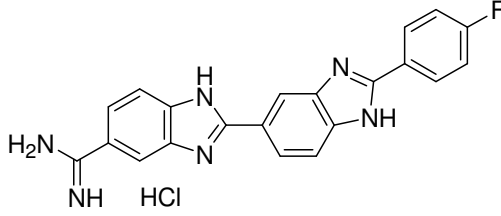
¹H-NMR δ ppm (DMSO- d_6), baz: 7.37-7.47(m, 2H), 7.54-7.62(m, 2H), 7.70(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 7.76(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 8.11(s, 1H), 8.17(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 8.25(t, 1H, $J=8$ Hz), 8.52(s, 1H).

Spektrum 15. Bileşik 9'un ¹H-NMR spektrumu

IR (KBr) cm^{-1} : 1677 (C=NH gerilim bandı).

Spektrum 16. Bileşik 9'un IR spektrumu

3.4.2. 2'-(4-Fluorofenil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl
(Bileşik 10)



0.100 g (0.375 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.085 g (0.375 mmol) 4-fluorobenzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₂**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 23 Verimle 0.033 g ürün elde edildi. E.n: >300 °C.

Elementel Analiz = C₂₁H₁₅FN₆ · 3 HCl · 3 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	47.24	4.53	15.74
Bulunan	47.57	4.73	15.11

Kütle m/z (ESI+) : 371 (M+1, 100).

Spektrum 17. Bileşik 10'un kütle spektrumu

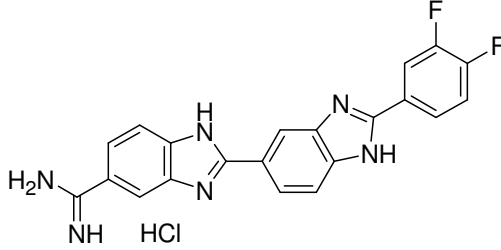
^1H -NMR δ ppm (DMSO- d_6), baz: 7.39(t, 2H, $J=8.4$ Hz), 7.52(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 7.60(d, 1H, $J_o=8$ Hz), 7.66(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 8.04(s,1H), 8.12(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 8.26(t, 2H, $J=8$ Hz), 8.42(s,1H).

Spektrum 18. Bileşik 10'un ^1H -NMR spektrumu

IR (KBr) cm^{-1} : 1680 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 19. Bileşik 10'un IR spektrumu

3.4.3. 2'-(3,4-Difluorofenil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 11)



0.100 g (0.375 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.085 g (0.375 mmol) 3,4-difluorobenzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₃**) kullanılarak 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 27 Verimle 0.040 g ürün elde edildi. E.n: >300 °C.

Elementel Analiz = C₂₁H₁₄F₂N₆ · 3 HCl · 3.33 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	45.22	4.27	15.06
Bulunan	45.12	4.43	14.81

Kütle m/z (ESI+) : 389 (M+1, 100).

Spektrum 20. Bileşik 11'in kütle spektrumu

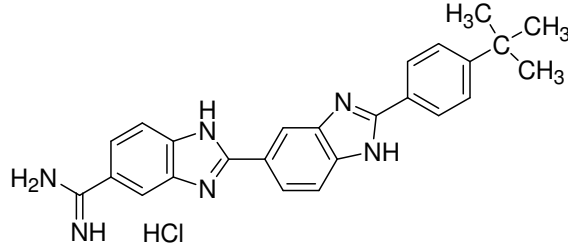
$^1\text{H-NMR}$ δ ppm (CD_3OD): 7.66(q, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.96(dd, 1H, $J_o=8.8$ Hz, $J_m=1.6$ Hz), 8.02-8.09(m, 3H), 8.16-8.21(m, 1H), 8.30-8.33(m, 2H), 8.67(d, 1H, $J_m=0.8$ Hz).

Spektrum 21. Bileşik 11'in $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

IR (KBr) cm^{-1} : 1678 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 22. Bileşik 11'in IR spektrumu

3.4.4. 2'-(4-*tert*-Butilfenil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl
(Bileşik 12)



0.160 g (0.6 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.160 g (0.6 mmol) 4-*tert*-butilbenzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₄**) kullanılarak 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 41 Verim ile 0.100 g ürün elde edildi. E.n: >300 °C.

Elementel Analiz = C₂₅H₂₄N₆ · 3.3 HCl · 3 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	51.51	5.75	14.41
Bulunan	51.52	5.67	14.34

Kütle m/z (ESI+) : 409 (M+1, 100)

Spektrum 23. Bileşik 12'nin kütle spektrumu

^1H -NMR δ ppm (DMSO- d_6), baz: 1.390(s, 9H, C(CH₃)₃), 7.52-7.60(m, 4H), 7.66(d, 1H, $J_o=8.8$ Hz), 8.07(s, 1H), 8.17(d, 3H, $J=8.8$ Hz), 8.48(s, 1H).

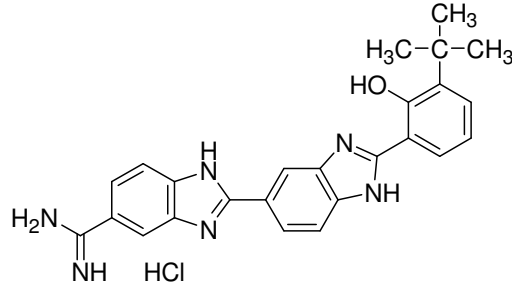
Spektrum 24. Bileşik 12'nin ^1H -NMR spektrumu

^{13}C -NMR δ ppm (DMSO- d_6), baz: 31.67, 35.25, 113.82, 115.17, 115.81, 115.98, 120.39, 122.00, 122.12, 126.35, 126.89, 127.10, 128.46, 140.55, 142.21, 143.25, 146.51, 153.22, 153.90, 159.43, 166.28.

IR (KBr) cm^{-1} : 1679 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 25. Bileşik 12'nin IR spektrumu

3.4.5. 2'-(3-*tert*-Butil-2-hidroksifenil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 13)



0.135 g (0.5 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.140 g (0.6 mmol) 3-*tert*-butil-2-hidroksibenzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₅**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 50 Verim ile 0.050 g ürün elde edildi. E.n: >300 °C.

Elementel Analiz = C₂₅H₂₄N₆O · 2.25 HCl · 2 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	55.34	5.62	15.49
Bulunan	55.50	5.75	15.38

Kütle m/z (ESI+) : 425 (M+1, 100)

Spektrum 26. Bileşik 13'ün kütle spektrumu

^1H -NMR δ ppm (CD_3OD): 1.40(s, 9H $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 6.84(t, 1H, $J_o=8$ Hz), 7.32(dd, 1H, $J_o=7.6$ Hz, $J_m=1.2$ Hz), 7.65(dd, 1H, $J_o=7.6$ Hz, $J_m=1.2$ Hz), 7.80-7.84(m, 2H), 7.89(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 7.98(dd, 1H, $J_o=8$, $J_m=2$ Hz), 8.20(d, 1H, $J_m=0.8$ Hz), 8.38(d, 1H, $J_m=1.2$ Hz).

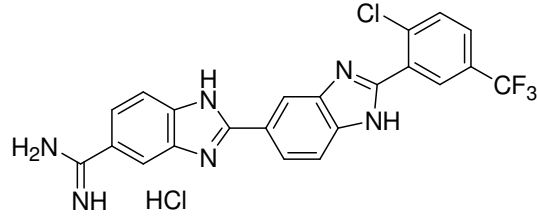
Spektrum 27. Bileşik 13'ün ^1H -NMR spektrumu

^{13}C -NMR δ ppm (CD_3OD): 28.75, 34.83, 111.83, 114.44, 114.65, 115.32, 115.89, 116.42, 118.10, 123.04, 124.54, 125.61, 126.06, 130.09, 132.11, 135.58, 138.37, 153.25, 156.13, 158.05, 166.51.

IR (KBr) cm^{-1} : 1682 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 28. Bileşik 13'ün IR spektrumu

3.4.6. 2'-(2-Kloro-5-trifluorofenil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 14)



0.100 g (0.375 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.117 g (0.375 mmol) 2-kloro-5-trifluorometilbenzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₆**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 21 Verim ile 0.036 g ürün elde edildi. E.n: >300 °C.

Elementel Analiz = C₂₂H₁₄ClF₃N₆ · 2.5 HCl · 3.3 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	43.64	3.84	13.88
Bulunan	43.69	4.20	13.60

Kütle m/z (ESI+) : 455 (M+1, 100), 457(M+1+2, 32)

Spektrum 29. Bileşik 14'ün kütle spektrumu

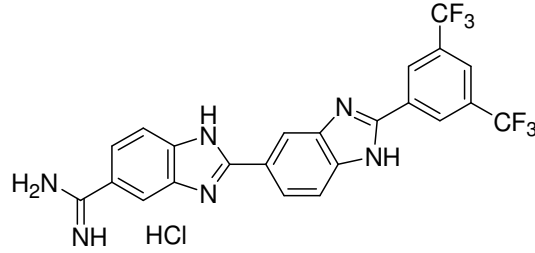
^1H -NMR δ ppm (DMSO- d_6), baz: 7.56(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 7.65(d, 1H, $J_o=8.8$ Hz), 7.70(d, 1H, $J_o=8.8$ Hz), 7.79-7.85(m, 2H), 8.06-8.08 (2H), 8.52(d, 1H, $J_m=1.2$ Hz), 8.48(s, 1H).

Spektrum 30. Bileşik 14'ün ^1H -NMR spektrumu

IR (KBr) cm^{-1} : 1678 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 31. Bileşik 14'ün IR spektrumu

3.4.7. 2'-(3,5-Bis(trifluorometil)fenil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 15)



0.110 g (0.41 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.142 g (0.41 mmol) 3,5-(bistrifluorometil) benzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a7**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 17 Verim ile 0.034 g ürün elde edildi. E.n: >300 °C.

Elementel Analiz = C₂₃H₁₄F₆N₆ · 3 HCl · 1.66 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	44.01	3.26	13.38
Bulunan	44.10	3.62	12.98

Kütle m/z (ESI+) : 489 (M+1, 100).

Spektrum 32. Bileşik 15'in kütle spektrumu

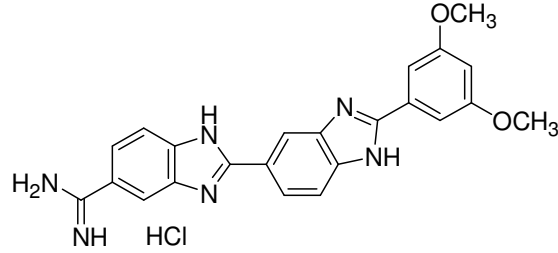
^1H -NMR δ ppm (DMSO- d_6), baz: 7.61(dd, 1H, $J_o=8.2$ Hz, $J_m=1.8$ Hz), 7.66(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 7.71(d, 1H, $J_o=8.8$ Hz), 7.96(d, 1H, $J_o=8.8$ Hz), 8.07-8.08 (2H), 8.41(s, 1H), 8.83(s, 2H).

Spektrum 33. Bileşik 15'in ^1H -NMR spektrumu

IR (KBr) cm^{-1} : 1678 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 34. Bileşik 15'in IR spektrumu

3.4.8. 2'-(3,5-Dimetoksifenil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 16)



0.135 g (0.5 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.137 g (0.5 mmol) 3,5-dimetoksibenzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a8**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 22 Verimle 0.045 g ürün elde edildi. E.n: 286-290 °C.

Elementel Analiz = C₂₃H₂₀N₆O₂ · 3.25 HCl · 2 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	48.72	4.84	14.82
Bulunan	48.92	4.94	14.58

Kütle m/z (ESI⁺) : 413 (M+1, 100).

Spektrum 35. Bileşik 16'nın kütle spektrumu

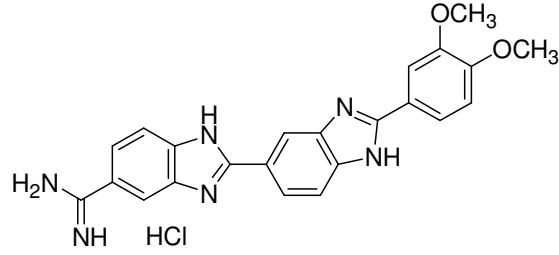
$^1\text{H-NMR}$ δ ppm (DMSO- d_6):3.91(s, 6H, O-CH₃, O-CH₃), 6.82(s, 1H), 7.72(s, 2H), 7.80(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 7.92(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 8.02(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 8.25(s, 1H), 8.47(d, 1H, $J_o=8.8$ Hz), 8.81(s, 1H), 9.17(s, 2H), 9.51(s, 2H).

Spektrum 36. Bileşik 16'nın $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

IR (KBr) cm^{-1} : 1684 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 37. Bileşik 16'nın IR spektrumu

3.4.9. 2'-(3,4-Dimetoksifenil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 17)



0.135 g (0.5 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.137 g (0.5 mmol) 3,4-dimetoksibenzaldehytin $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ katım ürünü (**a₉**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 24 Verimle 0.050 g ürün elde edildi. E.n: 295-300 °C.

Elementel Analiz = $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_2 \cdot 3 \text{HCl} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$

	% C	% H	% N
Hesaplanan	49.51	4.87	15.06
Bulunan	49.56	4.98	15.05

Kütle m/z (ESI⁺) : 413 (M+1, 100).

Spektrum 38. Bileşik 17'nin kütle spektrumu

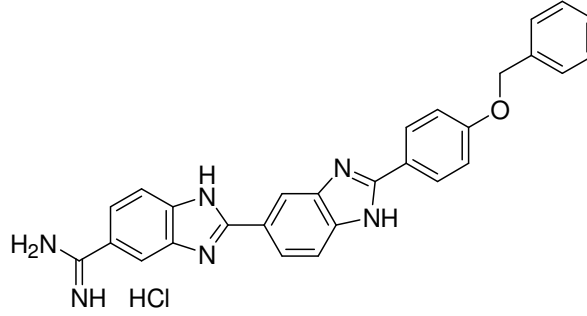
$^1\text{H-NMR}$ δ ppm (DMSO- d_6): 3.76(s, 3H, O-CH₃), 3.81(s, 3H, O-CH₃), 7.16(d, 1H, $J_o=8.8$ Hz), 7.64(dd, 1H, $J_o=8.6$ Hz, $J_m=1.2$ Hz), 7.75(d, 1H, $J_o=8.8$ Hz), 7.86(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 7.99(dd, 1H, $J_o=8.8$ Hz, $J_m=2$ Hz), 8.08 (d, 1H, $J_m=1.6$), 8.10(s, 1H), 8.33(dd, 1H, $J_o=8.6$ Hz, $J_m=1.2$ Hz), 8.61(s, 1H), 9.03(s, 2H), 9.35(s, 2H)

Spektrum 39. Bileşik 17'nin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

IR (KBr) cm^{-1} : 1682 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 40. Bileşik 17'nin IR spektrumu

3.4.10. 2'-(4-(Benziloksi)fenil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 18)



0.100 g (0.375 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.118 g (0.375 mmol) 4-benziloksibenzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₁₀**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 20 Verim ile 0.036 g ürün elde edildi. E.n: 270-275 °C (bubbling)

Elementel Analiz = C₂₈H₂₂N₆O · 3.6 HCl · 3 H₂O · 0.5 C₂H₆O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	52.23	5.22	12.60
Bulunan	52.56	5.37	12.54

Kütle m/z (ESI⁺) : 459 (M+1, 100).

Spektrum 41. Bileşik 18'in kütle spektrumu

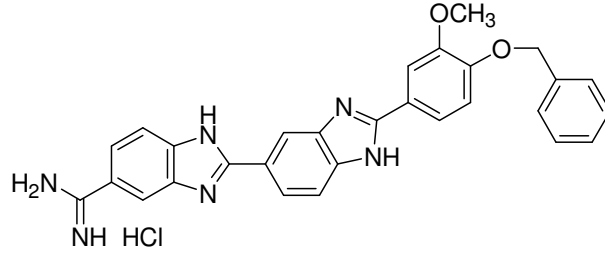
^1H -NMR δ ppm (DMSO- d_6): 5.27(s, 2H, O-CH₂-), 7.35-7.50(m, 7H), 7.77(dd, 1H, $J_o=8.4$ Hz, $J_m=1.6$ Hz), 7.89(d, 1H, $J_o=8.4$), 7.99(d, 1H, $J_o=8.8$ Hz), 8.23(s, 1H), 8.45-8.49(m, 3H), 8.77(s, 1H), 9.18(s, 2H), 9.50(s, 2H).

Spektrum 42. Bileşik 18'in ^1H -NMR spektrumu

IR (KBr) cm^{-1} : 1677 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 43. Bileşik 18'in IR spektrumu

3.4.11. 2'-[4-(Benziloksi)-3-metoksifenil]-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 19)



0.135 g (0.5 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.175 g (0.5 mmol) 4-(benziloksi)-3-metoksi benzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₁₁**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 31 Verimle 0.075 g ürün elde edildi. E.n: 265-270 °C (bubbling)

Elementel Analiz = C₂₉H₂₄N₆O₂ · 2.66 HCl · 2 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	56.03	4.97	13.52
Bulunan	56.09	5.22	13.27

Kütle m/z (ESI+) : 489 (M+1, 100).

Spektrum 44. Bileşik 19'un kütle spektrumu

¹H-NMR δ ppm (DMSO-d₆): 3.82(s, 3H, O-CH₃), 5.09(s, 2H, O-CH₂-), 7.20-7.34(m, 6H), 7.62(d, 1H, J_o=8.8 Hz), 7.71(d, 1H, J_o=8.8 Hz), 7.82(d, 1H, J_o=8.4 Hz), 7.96(d, 1H, J_o=8.8 Hz), 8.08-8.09 (2H), 8.31(d, 1H, J_o=8.8 Hz), 8.57(s, 1H), 9.07(s, 2H), 9.37(s, 2H).

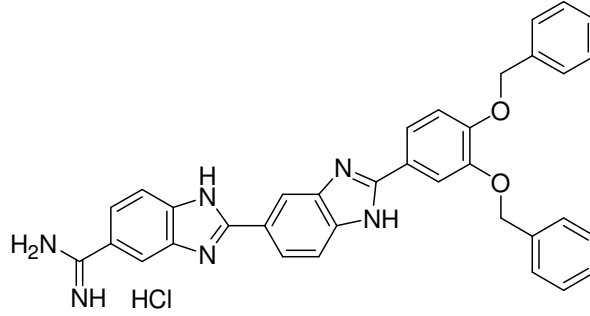
Spektrum 45. Bileşik 19'un ¹H-NMR spektrumu

¹³C-NMR δ ppm (DMSO-d₆): 57.09, 70.79, 112.32, 113.68, 114.18, 115.19, 115.42, 116.18, 116.54, 122.95, 123.40, 124.02, 124.49, 125.46, 128.68, 128.81, 129.21, 133.55, 135.30, 136.98, 137.55, 140.66, 150.11, 151.66, 152.78, 153.45, 166.53,

IR (KBr) cm^{-1} : 1675 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 46. Bileşik 19'un IR spektrumu

3.4.12. 2'-(3,4-Dibenziloksifenil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 20)



0.135 g (0.5 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.210 g (0.5 mmol) 3,4-bis(benziloksi) benzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₁₂**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 33 Verim ile 0.092 g ürün elde edildi. E.n: >300 °C.

Elementel Analiz = C₃₅H₂₈N₆O₂ · 4 HCl · 3.3 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	54.60	5.05	10.92
Bulunan	54.69	5.31	11.19

Kütle m/z (ESI+) : 565 (M+1, 100).

Spektrum 47. Bileşik 20'nin kütle spektrumu

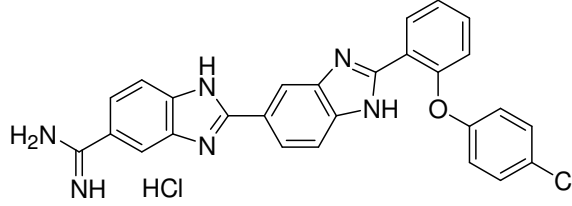
$^1\text{H-NMR}$ δ ppm (DMSO- d_6), baz : 5.21(s, 2H, O-CH₂-), 5.23(s, 2H, O-CH₂-), 7.25(d, 1H, $J_o=8.8$ Hz), 7.33-7.35(m, 2H), 7.38-7.42(m, 4H), 7.47-7.54(m, 5H), 7.60(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 7.65(d, 1H, $J_o=8$ Hz), 7.80(dd, 1H, $J_o=8.4$ Hz, $J_m=1.6$ Hz), 7.97(d, 1H, $J_m=1.2$ Hz), 8.06(s, 1H),. 8.14(dd, 1H, $J_o=7.8$ Hz, $J_m=1.4$ Hz), 8.43(s, 1H).

Spektrum 48. Bileşik 20'nin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

IR (KBr) cm^{-1} : 1677 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 49. Bileşik 20'nin IR spektrumu

3.4.13. 2'-[2-(4-Klorofenoksi)fenil]-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 21)



0.150 g (0.56 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.190 g (0.56 mmol) 2-(4-klorofenoksi)benzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₁₃**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 28 Verimle 0.076 g ürün elde edildi. E.n: 290-295 °C. (bubbling)

Elementel Analiz = C₂₇H₁₉ClN₆O · 3 HCl · 2.75 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	50.84	4.34	13.17
Bulunan	50.78	4.59	13.11

Kütle m/z (ESI+) : 479 (M+1, 100), 481(M+1+2, 35)

Spektrum 50. Bileşik 21'in kütle spektrumu

¹H-NMR δ ppm (DMSO-d₆), baz: 7.01(d, 1H, J_o=8 Hz), 7.18-7.20(m, 2H), 7.35(td, 1H, J_o=7.6 Hz, J_m=1.2 Hz), 7.47-7.56(m, 4H), 7.62(d, 1H, J_o=8.8 Hz), 7.71(d, 1H, J_o=8.8 Hz), 8.06(d, 1H, J_m=1.2 Hz), 8.15(dd, 1H, J_o=8 Hz, J_m=1.6 Hz), 8.36(dd, 1H, J_o=7.6Hz, J_m=2 Hz), 8.51(d, 1H, J_m=1.2 Hz)

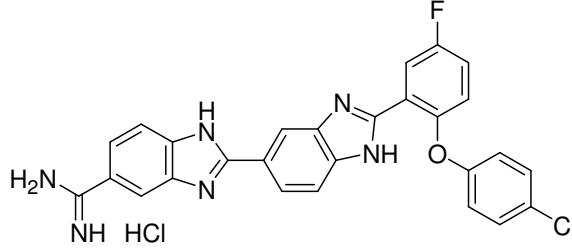
Spektrum 51. Bileşik 21'in ¹H-NMR spektrumu

¹³C-NMR δ ppm (DMSO-d₆), baz: 115.24, 116.12, 119.34, 120.10, 121.74, 121.92, 122.09, 122.25, 124.77, 126.28, 128.69, 130.57, 131.56, 132.32, 142.43, 144.25, 145.53, 145.60, 150.29, 155.00, 155.52, 158.31, 166.42.

IR (KBr) cm^{-1} : 1675 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 52. Bileşik 21'in IR spektrumu

3.4.14. 2'-[5-Fluoro-2-(4-klorofenoksi)- fenil]-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin (Bileşik 22)



0.135 g (0.5 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.175 g (0.5 mmol) 5-fluoro-2-(4-klorofenoksi) benzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₁₄**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 42 Verimle 0.105 g ürün elde edildi. E.n: 288-296 °C. (bubbling)

Elementel Analiz = C₂₇H₁₈ClFN₆O · 2 HCl · 3.3 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	51.53	4.26	13.35
Bulunan	51.56	4.18	13.20

Kütle m/z (ESI+) : 497 (M+1, 100), 499(M+1+2, 33)

Spektrum 53. Bileşik 22'nin kütle spektrumu

¹H-NMR δ ppm (DMSO-d₆), baz: 7.10(dd, 1H, J_o=8.8, J=4.8), 7.15-7.18 (m, 2H), 7.33-7.38(m, 1H), 7.44-7.46(m, 2H), 7.56(dd, 1H, J_o=8, J_m=1.6 Hz), 7.63(d, 1H, J_o=8 Hz), 7.71(d, 1H, J_o=8.8 Hz), 8.08-8.11(m, 2H), 8.15(dd, 1H, J_o=8.6 Hz, J_m=1.6 Hz), 8.51(s, 1H).

Spektrum 54. Bileşik 22'nin ¹H-NMR spektrumu

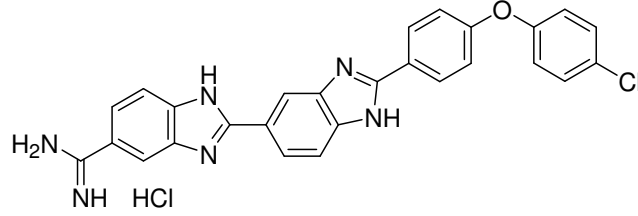
¹³C-NMR δ ppm (DMSO-d₆), baz: 114.87, 115.26, 116.12, 116.33, 117.00, 117.25, 118.71, 118.93, 120.87, 121.53, 121.77, 122.03, 122.10, 122.36, 123.91, 124.00, 126.48, 128.48, 130.51, 140.26, 141.29, 142.57, 145.71, 149.45, 150.93, 156.01, 157.60, 158.46, 159.99, 166.60.

¹⁹F-NMR δ ppm baz (DMSO-d₆): -85

IR (KBr) cm^{-1} : 1676 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 55. Bileşik 22'nin IR spektrumu

3.4.15. 2'-[4-(4-Klorofenoksi)fenil]-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 23)



0.135 g (0.5 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.170 g (0.5 mmol) 4-(4-klorofenoksi)benzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₁₅**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 38 Verimle 0.090 g ürün elde edildi. E.n: >300 °C.

Elementel Analiz = C₂₇H₁₉N₆ClO · 3 HCl · 2 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	51.94	4.19	13.46
Bulunan	51.73	4.50	13.14

Kütle m/z (ESI⁺) : 479 (M+1, 100), 481(M+1+2, 35)

Spektrum 56. Bileşik 23'ün kütle spektrumu

^1H -NMR δ ppm baz (DMSO- d_6): 7.09-7.14(m, 4H), 7.44(d, 2H, $J_o=8$ Hz), 7.52(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 7.59(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 7.64(d, 1H, $J_o=8$ Hz), 8.06(s, 1H), 8.12(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 8.23(d, 2H, $J_o=8.8$ Hz), 8.44(s, 1H).

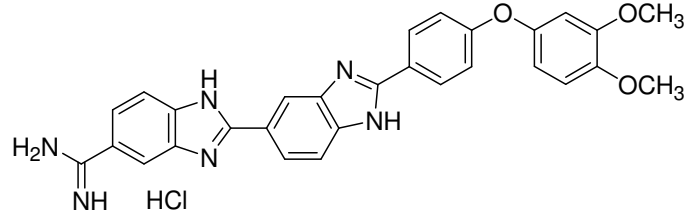
Spektrum 57. Bileşik 23'ün ^1H -NMR spektrumu

^{13}C -NMR δ ppm (DMSO- d_6), baz: 114.03, 115.17, 116.02, 119.27, 120.81, 121.66, 121.84, 121.95, 126.12, 126.73, 128.56, 129.32, 130.73, 140.84, 142.49, 142.71, 145.90, 153.71, 155.60, 158.55, 158.83, 160.88, 166.52.

IR (KBr) cm^{-1} : 1677 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 58. Bileşik 23'ün IR spektrumu

3.4.16. 2'-[4-(3,4-Dimetoksifenoksi)fenil]-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl (Bileşik 24)



0.135 g (0.5 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.175 g (0.5 mmol) 4-(3,4-dimetoksifenoksi)benzaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₁₆**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 28 Verimle 0.070 g ürün elde edildi. E.n: 295-300 °C. (bubbling)

Elementel Analiz = C₂₉H₂₄N₆O₃ · 3 HCl · 2 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	53.59	4.80	12.93
Bulunan	53.47	4.99	12.68

Kütle m/z (ESI⁺) : 505 (M+1, 100).

Spektrum 59. Bileşik 24'ün kütle spektrumu

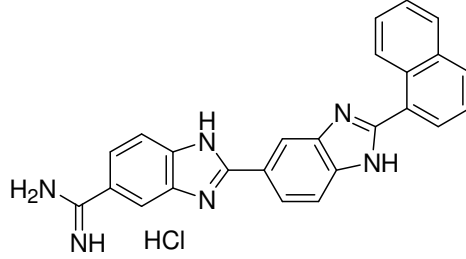
¹H-NMR δ ppm (DMSO-d₆): 3.78 (s, 3H, O-CH₃), 3.80(s, 3H, O-CH₃), 6.74(dd, 1H, J_o=8.4 Hz, J_m=2.8 Hz), 6.88(d, 1H, J_m=2.8 Hz), 7.05(d, 1H, J_o=8.8 Hz), 7.23(d, 2H, J_o=8.4 Hz), 7.80(dd, 1H, J_o=8.8 Hz, J_m=1.6 Hz), 7.91(d, 1H, J_o=8.8 Hz), 8.06(d, 1H, J_o=8.8 Hz), 8.25(d, 1H, J_m=0.8), 8.45-8.49(m, 3H), 8.79(d, 1H, J_m=0.8), 9.19(s, 2H), 9.50(s, 2H).

Spektrum 60. Bileşik 24'ün ¹H-NMR spektrumu

IR (KBr) cm⁻¹: 1677 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 61. Bileşik 24'ün IR spektrumu

3.4.17. 2'-(1-Naftil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl
(Bileşik 25)



0.135 g (0.5 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.130 g (0.5 mmol) 1-naftaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₁₇**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 22 Verimle 0.045 g ürün elde edildi. E.n: >300 °C.

Elementel Analiz = C₂₅H₁₈N₆ · 3.25 HCl · 3 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	52.21	4.78	14.62
Bulunan	52.38	4.99	14.55

Kütle m/z (ESI+) : 403 (M+1, 100).

Spektrum 62. Bileşik 25'in kütle spektrumu

¹H-NMR δ ppm (CD₃OD): 7.65-7.76(m, 3H), 7.95(dd, 1H, J_o=8.4 Hz, J_m=1.2 Hz), 8.03-8.10(m, 3H), 8.19(d, 2H, J_o=8.4 Hz), 8.27(d, 1H, J_o=8.4 Hz), 8.33(d, 1H, J_m=0.8 Hz), 8.43(dd, 1H, J_o= 8.4 Hz, J_m=1.2 Hz), 8.81(s, 1H), 9.01(s), 9.50 (s).

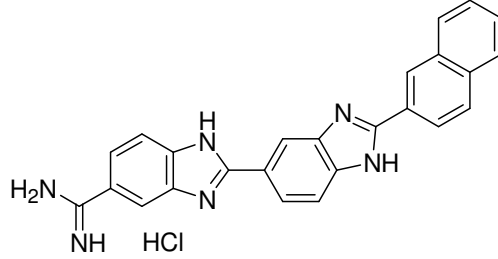
Spektrum 63. Bileşik 25'in ¹H-NMR spektrumu

¹³C-NMR δ ppm (CD₃OD): 115.14, 115.21, 115.37, 116.04, 120.37, 121.26, 123.77, 125.29, 125.75, 126.16, 126.31, 127.60, 129.03, 129.20, 130.32, 130.89, 132.98, 133.04, 134.13, 134.34, 135.70, 136.34, 152.18, 152.95, 166.72.

IR (KBr) cm^{-1} : 1683 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 64. Bileşik 25'in IR spektrumu

3.4.18. 2'-(2-Naftil)-1*H*,1'*H*-2,5'-bis-benzimidazol-5-karboksamidin HCl
(Bileşik 26)



0.125 g (0.47 mmol) 2-(3,4-Diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**), 0.130 g (0.47 mmol) 2-naftaldehitin Na₂S₂O₅ katım ürünü (**a₁₈**) kullanılarak, 3.4.1.'de belirtildiği şekilde sentezlendi. % 31 Verimle 0.060 g ürün elde edildi. E.n: >300 °C.

Elementel Analiz = C₂₅H₁₈N₆ · 3 HCl · 2.5 H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	53.92	4.71	15.09
Bulunan	53.96	4.86	14.74

Kütle m/z (ESI+) : 403 (M+1, 100).

Spektrum 65. Bileşik 26'nın kütle spektrumu

^1H -NMR δ ppm (DMSO- d_6), baz: 7.51-7.61(m, 4H), 7.70(d, 1H, $J_o=8.4$ Hz), 7.95-8.06(m, 4H), 8.16(dd, 1H, $J_o=8.8$ Hz, $J_m=1.2$ Hz), 8.36(dd, 1H, $J_o=8.8$ Hz, $J_m=1.6$ Hz), 8.48(s, 1H), 8.77(s, 1H)

Spektrum 66. Bileşik 26'nın ^1H -NMR spektrumu

IR (KBr) cm^{-1} : 1676 (C=NH gerilim bandı)

Spektrum 67. Bileşik 26'nın IR spektrumu

3.5. Sentez Edilen Türevlerin Mikrobiyolojik ve Sitotoksik Etkilerinin Saptanması

3.5.1. Antiprotozoal ve Sitotoksik Aktivite Çalışmaları

Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin dört farklı protozoal parazite (*Trypanosoma brucei rhodesiense*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani* ve *Plasmodium falciparum*) olan *in vitro* etkileri tarandı. Bu metotda bileşiklerin iki farklı konsantrasyon değerinde (Konsantrasyon 1 = 4.85 µM ve Konsantrasyon 2 = 0.81 µM) iken yaptıkları % inhibisyon değerleri saptandı (Tablo 13). Aktivite kriterini (*T. b. rhodesiense*, *L. donovani* ve *P. falciparum* için düşük konsantrasyonda (konsantrasyon 2) > %50, *T. cruzi* için yüksek konsantrasyonda (konsantrasyon 1) > %70 inhibisyon) sağlayan bileşiklerin IC₅₀ değerleri belirlendi (Tablo 14). Bileşiklerin sıçan iskelet kası myoblast (L6) hücrelerine olan sitotoksik etkileri IC₅₀ olarak saptandı.

Mikroorganizmalar:

Trypanosoma brucei rhodesiense STIB 900, faz tripomastigotes

Trypanosoma cruzi Taluen C4, faz amastigotes

Leishmania donovani MHOM-ET-67 / L82, faz amastigotes

Plasmodium falciparum K1, faz IEF

* Antiprotozoal ve sitotoksik aktivite çalışmaları, Prof. Dr. Reto Brun koordinatörlüğünde İsviçre Tropical Enstitüsü'nde yapılmıştır.

3.5.1.1. *Trypanosoma brucei rhodesiense*'ye Karşı *in vitro* Antitripanosidal Aktivite ve L6 Hücrelerine Olan *in vitro* Sitotoksosite Tayini

Esas deney ortamı (50 µl), Baltz ve ark. tarafından (1985) belirtildiği şekilde sağlanır. 2-Merkaptoetanol ve ısı ile inaktive edilmiş %15 at serumu, 96-kuyucuklu mikrolakanın her bir kuyucuğuna ilave edilir. Ardından, sıralı ilaç dilüsyonları üzerine eklenir. Daha sonra, her kuyucuğa 50 µl tripanosoma süspansiyonu (*Trypanosoma brucei rhodesiense* STIB 900) ilave edilir ve plaka 37°C'de %5 CO₂ atmosferinde 72 saat inkubasyona bırakılır. Bu süre sonunda, metabolik hücre fonksiyonu için kullanılan bir indikatör olan ve 12.5 mg Rezasurin'in 1 litre distile suda çözülmesiyle elde edilen Alamar Blue (10 µl) her kuyucuğa eklenir ve inkubasyona devam edilir. 2-4 Saat sonra, bir mikrolaka fluorometre sisteminde (Spectramax Gemini XS) dalga boyu 536 nm olan bir uyarı ve dalga boyu 588 nm olan bir emisyon kullanılarak plaka okunur (Raz ve ark., 1997). Floresans gelişimi IC₅₀ değerleri olarak ifade edilir. Sitotoksosite, sıçan iskelet kası myoblast (L6) hücreleri kullanılarak, aynı yöntemle değerlendirilir.

3.5.1.2. *Trypanosoma cruzi*'ye Karşı *in vitro* Antitripanosidal Aktivite Tayini

96-Kuyucuklu mikrolakanın her bir kuyucuğuna 2000 adet sıçan iskelet kası myoblast (L6) hücreleri, 100 µl RPMI 1640 ortamında %10 fetal sıgır serumu (FBS) ve 2mM L-glutamin ile birlikte ekilir. 24 Saat sonunda, ortam uzaklaştırılır ve her bir kuyucuk için, β-galaktosidaz (Lac Z) geni içeren, 100 µl 5000 adet *T. cruzi* Tulahuen C2C4'ün tripomastigot formu ile değiştirilir. 48 Saat sonra, ortam kuyucuklardan uzaklaştırılır ve 100 µl ile taze hazırlanmış sıralı ilaç dilüsyonu içeren ya da içermeyen ortam ile değiştirilir. 96 Saat süren inkubasyondan sonra, plakalar, kontrol grubunun gelişimini ve sterilite şartlarını garanti etmek için, ters çevrilmiş bir mikroskop altında kontrol edilir. Daha sonra, substrat olarak her kuyucuğa 50 µl klorofenol kırmızı-β-D-galaktopiranozid (CPRG/Nonidet) eklenir. 2-6 Saat içerisinde bir renk reaksiyonu gelişir ve 540 nm'de fotometrik olarak okunur. Veriler, bir grafik programına transfer (Mikrosoft Excel) edilerek, sigmoidal inhibisyon eğrileri çizilir ve IC₅₀ değerleri hesaplanır (Jones ve ark., 2005).

3.5.1.3. *Leishmania donovani*'ye Karşı *in vitro* Antileishmanial Aktivite Tayini

L. donovani türünün amastigotları MHOM / ET / 67 / L82, aksenik kültürde, pH 5.4'de, ısı ile inaktive edilmiş %10 FBS ilave edilmiş SM ortamında %5 CO₂ atmosferinde 37°C'de üretilir. 10⁵ Amastigot içeren 100 µl'lik kültür ortamı, sıralı ilaç dilüsyonu ile birlikte ya da dilüsyon ortamı olmadan, 96-kuyucuklu mikropalakalara ekilir. İnkubasyondan 72 saat sonra, plakalar, kontrol grubunun gelişimini ve sterilité koşullarını garanti etmek için, ters çevrilmiş bir mikroskop altında kontrol edilir. Daha sonra, 12.5 mg Rezaurin'in 100 ml distile suda çözülmesiyle elde edilen Alamar Blue (10 µl) her kuyucuğa eklenir ve inkubasyona devam edilir. 2 Saat sonra, bir Spectramax Gemini XS mikropalaka fluorometre ile, dalga boyu 536 nm olan bir uyarı ve dalga boyu 588 nm olan bir emisyon kullanılarak, plakalar okunur. Veriler, Softmax Pro yazılımı kullanılarak analiz edilir. Fluoresanstaki (inhibisyondaki) azalma, kontrol kültürleri fluoresansının yüzdesi olarak ifade edilir ve ilaç konsantrasyonlarına karşı grafiği çizilir. Sigmoidal inhibisyon eğrilerinden IC₅₀ değerleri hesaplanır (Jones ve ark., 2005).

3.5.1.4. *Plasmodium falciparum*'a Karşı *in vitro* Antiplasmodial Aktivite Tayini

Antiplasmodiyal aktivite, Klorokin ve Primetamine dirençli *P. falciparum* K1 türü kullanılarak, modifiye edilmiş [³H]-hipoksantin inkorporasyon deneyi ile belirlenir (Matile ve Pink., 1990). İnsan kırmızı kan hücreleri, %5 Albumax içeren RPMI 1640 ortamda, mikrokuyucuklu plakalarda sıralı ilaç dilüsyonuna maruz bırakılır. İnkubasyondan 48 saat sonra, 37°C'de, indirgenmiş oksijen atmosferinde, her bir kuyucuğa 0.5µCi [³H]-hipoksantin ilave edilir. Kültürler, 24 saat inkubasyona bırakılır. Daha sonra, cam pamuğu filtre üzerinde toplanarak, distile su ile yıkanır. Radyoaktivite, BetaplateTM sayaç kullanılarak hesaplanır. Sonuçlar, her bir ilaç konsantrasyonunda her bir kuyucukta dakika başına sayı (CPM, counts per minute) olarak kaydedilir ve kontrol yüzdesi olarak ifade edilir. Sigmoidal inhibisyon eğrilerinden IC₅₀ değerleri hesaplanır (Jones ve ark., 2005).

Bileşik No *	<i>T. b. rhodesiense</i>		<i>T. cruzi</i>		<i>L. donovani</i>		<i>P. falciparum</i>	
	Konsantrasyon 1 (4.85µM)	Konsantrasyon 2 (0.81µM)	Konsantrasyon 1 (4.85µM)	Konsantrasyon 2 (0.81µM)	Konsantrasyon 1 (4.85µM)	Konsantrasyon 2 (0.81µM)	Konsantrasyon 1 (4.85µM)	Konsantrasyon 2 (0.81µM)
	% İnhibisyon	% İnhibisyon	% İnhibisyon	% İnhibisyon	% İnhibisyon	% İnhibisyon	% İnhibisyon	% İnhibisyon
9	99.0	98.6	0.0	0.0	16.4	0.0	100.0	100.0
10	*		0.0	0.0	15.5	0.0	*	
11	99.5	97.7	21.6	0.0	30.1	2.7	100.0	100.0
12	98.5	53.1	9.0	0.0	65.7	9.3	100.0	100.0
13	91.8	0.0	0.0	0.0	52.0	7.4	100.0	100.0
14	88.7	14.7	6.2	0.0	73.3	12.2	100.0	100.0
15	97.4	19.4	0.0	0.0	2.5	0.0	100.0	98.5
16	99.2	85.3	0.0	0.0	52.5	5.6	100.0	100.0
17	99.4	99.4	0.0	0.0	51.7	0.6	100.0	100.0
18	99.4	77.0	0.0	0.0	30.7	0.0	100.0	100.0
19	99.4	97.7	0.0	0.0	26.1	0.0	100.0	100.0
20	99.3	63.1	0.0	0.0	23.8	0.0	100.0	99.5
21	3.9	10.1	0.0	6.2	29.5	5.9	100.0	97.1
22	86.0	5.9	0.0	5.9	29.0	7.8	100.0	97.5
23	99.1	90.5	0.0	0.0	36.0	3.8	100.0	100.0
24	99.6	99.3	0.0	0.0	68.5	3.5	100.0	100.0
25	99.1	61.0	0.0	0.0	2.3	0.0	100.0	100.0
26	*		0.0	0.0	25.2	0.0	*	

* % İnhibisyon değerleri yapılmaksızın IC₅₀'leri tayin edilmiş ve Tablo 14'de verilmiştir.

Standartlar

Melarsoprol : T.b.rhodesiense için 0.015 µg/ml konsantrasyonda % 99.7, 0.003µg/ml konsantrasyonda % 74.5

Benznidazol : T.cruzi için 1.2 µg/ml konsantrasyonda % 96, 0.2µg/ml konsantrasyonda % 64.8 , IC₅₀= 0.30 µg/ml

Miltefosin : L. donovani için 1.32 µg/ml konsantrasyonda % 95, 0.22 µg/ml konsantrasyonda % 57.6, IC₅₀= 0.205 µg/ml

Artemisinin : P. falciparum için 0.012 µg/ml konsantrasyonda % 100, 0.002 µg/ml konsantrasyonda % 70.2

Tablo 13. Sentezlenen bileşiklerin 4.85 µM ve 0.81 µM konsantrasyondaki % inhibisyon olarak antiprotozoal etkileri.

Bileşik	<i>T. b. rhodesiense</i>		<i>P. falciparum</i> K1		Sitotoksosite L6	
	IC ₅₀	Melarsoprol IC ₅₀	IC ₅₀	Klorokin IC ₅₀	IC ₅₀	Podofil toksin IC ₅₀
9	0.08	0.003	0.007	0.086	26.8	0.006
10	0.041	0.003	0.010	0.053	2.48	0.006
11	0.33	0.003	0.015	0.086	29.8	0.006
12	1.06	0.003	0.031	0.086	13	0.006
13 *	Tespit Edilmedi		0.211	0.087	13.4	0.007
14 *	Tespit Edilmedi		0.064	0.088	31.8	0.007
15 *	Tespit Edilmedi		0.630	0.087	76.8	0.007
16	0.594	0.003	0.017	0.086	25.5	0.007
17	0.06	0.004	0.008	0.086	>90	0.007
18	0.81	0.003	0.017	0.086	17.4	0.006
19	0.57	0.003	0.023	0.086	19.8	0.007
20	1.061	0.003	0.061	0.086	>90	0.006
21 *	Tespit Edilmedi		0.193	0.088	>90	0.007
22 *	Tespit Edilmedi		0.634	0.087	>90	0.007
23	0.708	0.003	0.028	0.086	46	0.006
24	0.036	0.004	0.015	0.086	29.4	0.007
25	0.48	0.003	0.016	0.086	8.72	0.006
26	0.389	0.004	0.016	0.055	34.7	0.006

* Bileşik 13, 14, 15, 21 ve 22 için, etki taramasında aktivite kriterini sağlamadıklarından dolayı IC₅₀ değerleri tespit edilmemiştir.

Tablo 14. Aktivite kriterini sağlayan bileşiklerin IC₅₀ (µg/ml) değerleri ve tüm bileşiklerin L6 hücrelerine olan sitotoksik etki IC₅₀ (µg/ml) değerleri.

3.5.2. Sentez Edilen Türevlerin *Candida albicans* ve *Candida krusei*'ye Olan Antifungal Etkilerinin Saptanması *

Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin *in vitro* antifungal etkilerinin belirlenmesi amacıyla “Makrodilüsyon Broth Yöntemi” kullanılmıştır. Flukonazol standart madde olarak seçilmiştir.

Mikroorganizmalar :

Candida albicans ATCC 10231

Candida krusei ATCC 6258

Besiyerleri :

Mikroorganizmaların 24-48 saatlik kültürleri Sabouraud Dektroz Agar (SDA) (Oxoid)'da yapıldı. Bu taze kültürler deneyde mikroorganizmaların belirli konsantrasyonlardaki süspansiyonlarının hazırlanmasında kullanıldı.

3.5.3. Tüp Dilüsyon Yöntemi

Makrodilüsyon Broth yönteminde (Shadomy ve Pfaller, 1991) antifungal aktivitenin belirlenmesinde asparjin (% 0.15) ve glukozla (% 1) zenginleştirilmiş Yeast-Nitrogen Base (YNB) (Difco) besiyeri kullanıldı. Filtrasyonla sterilize edilen ve 1/10 kullanım konsantrasyonuna steril distile su ile dilüe edilen besiyeri her suş ve her madde için 8'er tüplük seriler halinde 1'er ml steril tüplere bölündü. Bileşiklerin tartımları yapılarak steril distile suda hazırlanan % 50'lik dimetilsülfoksit (DMSO)'de çözüldü. Her serinin birinci tüpüne 1 ml çözelti aktarılıp iki kat seri dilüsyonları yapıldı. Son tüpten alınan 1 ml dilüsyon dışarı atıldı. Mikroorganizmaların Sabouraud Dektroz Agar'da 24-48 saatlik kültüründen 5 ml steril serum fizyolojik içinde hazırlanan 0.5 McFarland bulanıklığındaki süspansiyonları, yine serum fizyolojik içinde 10 kat sulandırıldıktan sonra zenginleştirilmiş Yeast-Nitrogen Base besiyerinde 100 kat sulandırıldı (1.10^5 CFU/ml). Bu karışımdan kendi serilerinin tüplerine 1'er ml aktarıldı. İlk deney tüpünde madde konsantrasyonu 50 µg/ml ve DMSO konsantrasyonu % 12.5 oldu.

Her seride ilk tüp yüksek DMSO konsantrasyonu nedeniyle deneylerde hesaba katılmadı, böylece solvan etkisi (DMSO) tamamen bertaraf edilmiş oldu. Kontrol maddesi olarak kullanılan Flukonazol'un da aynı şekilde dilüsyonları hazırlandı. 35 °C de 24-48 saatlik inkübasyondan sonra her seride ve kontrol serisinde üremenin görülmediği son tüpteki madde miktarı Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) (Tablo 15) olarak belirlendi.

	<i>C. albicans</i>	<i>C. krusei</i>
Bileşik	MİK µg/ml	MİK µg/ml
9	12.5	12.5
10	25	12.5
11	25	25
12	1.56	12.5
13	3.12	6.25
14	Test Edilmedi	Test Edilmedi
15	50	25
16	50	50
17	25	25
18	12.5	25
19	25	50
20	25	50
21	50	50
22	50	50
23	25	25
24	3.12	6.25
25	0.78	12.5
26	6.25	25
Flukonazol	0.78	25

Tablo 15. Sentezi yapılan bileşiklerin *C. albicans* ve *C. krusei*'ye olan antifungal aktivite sonuçları (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları)

* Antifungal etki çalışmaları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Sulhiye YILDIZ tarafından yapılmıştır.

3.6. Sentezlenen Türevlerin Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkileri

Hansch ve arkadaşları tarafından ortaya konulan QSAR çalışmalarının amacı, biyolojik aktivite ile kimyasal yapı arasındaki ilişkiyi aynı tür bir seri bileşik grubu için kantitatif olarak niteleyebilmektir. Yapılan birçok çalışmada, ilaçların inhibitör etkilerine karşılık, parametre fonksiyonu olarak, ağırlıklı biçimde ilaçların hidrofobik karakterlerinin ele alındığı görülmektedir. Bu amaçla, n-oktanol : su dağılım sistemlerinden elde edilen partiyon katsayısının (P) kullanılması, biyolojik membranları modellemek üzere standart bir yöntem haline gelmiştir ve hidrofobisitenin nicel olarak ifade edilmesi $\log P = \log C_{\text{okt}} - \log C_{\text{su}}$ olarak gösterilmiştir. $\log P$, deneysel olarak ya da teorik olarak sanal biçimde hesaplanmaktadır. Alışlagelmiş erlen ile fazları çalkalama metodu, uygulanabilirliğinin zor olması, uzun zaman alması ve sulu fazın dayanıklılık sorunları nedeniyle uygulanması kolay olmayan bir yöntemdir. Ayrıca, bu işlem $\log P = 4^6$ aralığına kadar bir limit göstermektedir. Diğer yandan, $\log P$ 'nin teorik olarak hesaplanması, Hansch'ın lipofilitiyi ifade eden π süstitüent sabitesinin kullanılmasıyla, moleküler çerçevesi belli, benzer fizikokimyasal özelliklere sahip olan seri moleküllerde başarılı olmaktadır. Bu nedenle, çok sayıda bileşiğin $\log P$ değerlerine ihtiyaç olacaktır. Günümüzde bu işlem, bilgisayar ortamında çeşitli kimya programları kullanılarak yapılabilmektedir.

İlaçların hidrofobik karakterlerinin ölçüsü olarak, çeşitli kromatografik metodlar gerçek deneysel değerleri yansıtmak üzere somut olarak kullanılabilir. Bu amaçla en çok kullanılan yöntemlerden biri, ters faz yüksek basınçlı sıvı (RP-HPLC, reversed-phase high-performance liquid chromatography) kromatografisidir. Bu teknik ile yapılan çalışmalarda, bileşiğin non-polar stasyonier faz ile polar eluent (mobil faz) arasındaki dağılım dengesinin retansiyon zamanına yansımalarının etkin sonuçları görülmektedir. Kapasite faktörü olarak belirlenen bu değer k' ile verilmekte olup, Denklem 24 ile ifade edilmektedir (Braumann ve ark., 1983).

$$k' = (t_R - t_o) / t_o$$

t_R : retansiyon zamanı

t_o : kolon dead time zamanı

Denklem 24

Bu değerin logaritması olan $\log k'$ 'nün $\log P$ 'ye yakın ekivalan olduğu bildirilmiş ve bu iki parametre arasındaki orta derecedeki korelasyon çok sayıda bileşik için gösterilmiştir. Ancak, stasyoner faz ve mobil faz olarak kullanılan su-organik faz arası, polar ya da non-polar grup seçiciliğinin, kullanılan mobil ve stasyoner fazın her ikisine de bağımlı olarak etkileşme faktörleri söz konusudur. Bu etkiyi elimine etmek üzere, hidrofobik bir parametre ölçüt değeri olan $\log k_w$ değerlerinin ölçülmesi (mobil faz olarak % 100 su kullanılması) ileri sürülmüş ve $\log P$ ile bu değerlerin eşit olduğu bildirilmiştir. Hidrofobik parametre cinsinden $\log P$ 'nin alternatifi olarak $\log k_w$ 'nin pek çok QSAR çalışmasında $\log P$ yerine aynen kullanıldığı görülmektedir.

Ancak isokratik olarak yapılan ölçümler ile mobil faz olarak sadece suyun kullanılması ile çok az sayıda bileşik reverse fazda yürütülebilir ve bu nedenle $\log k_w$ 'nin deneysel hesaplaması çok güç ya da mümkün değildir. Bu problem, mobil faz organik solvent : su % hacminin değişik oranlarının kullanılmasıyla yapılan ölçümlerden sonra, lineer regresyon analizleri kullanılarak extrapolation (bilinen datalarla bilinmeyeni bulma) teknikleri ile çözümlenir.

Çözünürlük parametre değerlerine göre stasyoner faz ile mobil fazın volumetrik oranları arasındaki ilişki şu denklemle açıklanmaktadır:

$$\log k' = \log k_w + S \phi$$

ϕ = su-organik solvent karışımının volüm fraksiyonu

k_w = kapasite faktörü (mobil fazın % 100 su olması halinde)

S = lineer regresyon eğrisinin eğiminin rakamsal değeri (organik solventin gücü ile ilişkilendirilir)

Denklem 25

RP-HPLC olarak Waters 2695 Alliance cihazı, dedektör olarak Waters 2487 Dual λ Absorbance diod array cihazı $\lambda = 255$ nm'de kullanıldı. Stasyonier faz olarak C-18 X terra marka kolon, mobil faz olarak Tablo 16'da verilen (ϕ_M) metanol : su karışımı 0.8 ml/dak akış hızında kullanılmıştır. Her bir bileşik için en az 3 farklı t_R ölçümü yapılmıştır. t_R zamanı, sentezlenen bileşikler için min 3.32 ile max 59.49 dakika arasında değişen değerler göstermiş ve bu değerler kullanılarak k' hesaplanmıştır. Kolon dead time zamanı (t_o), 1 μ l aseton kullanılarak her fraksiyon için en az 3 kez tayin edilmiştir. Log k_w değerlerini saptamak ve lineer regresyon denklemleri oluşturmak üzere Instat GraphPad bilgisayar programı kullanılmış; biyolojik etki ile parametre arasındaki ilişkiyi ortaya koymak üzere yapılan regresyon analizleri, H. Kubinyi tarafından geliştirilen BILIN (version 1994) programı ile gerçekleştirilmiştir.

QSAR ilişkisini ortaya koymak üzere sentezlenen bileşiklerin (**Bileşik 9 - 26**) farklı metanol : su fraksiyonlarındaki isokratik log k' değerleri ise Tablo 16'da verilmiştir. Tablo 17'de ise, aynı bileşiklerin log k' değerleri ile metanol : su volüm fraksiyonu arasındaki ilişkisinin regresyon analiz sonuçları görülmektedir.

	Volüm Fraksiyonu, ϕ_M						
Bileşik	0.75	0.70	0.65	0.60	0.55	0.50	0.45
9					-0.748	-0.162	0.334
10				-1.243	-0.315	0.150	
11				-0.489	-0.037	0.387	
12		-0.502	-0.021	0.461	0.788		
13	0.014	0.336	0.751	1.160			
14			-1.676	-0.159	0.175		
15		-0.120	0.288	0.675			
16				-0.404	0.085	0.431	
17					-0.589	-0.054	0.461
18		-0.562	-0.019	0.458	0.916		
19			-0.138	0.253	0.666		
20	-0.160	0.465	0.762	1.182			
21		-0.488	0.046	0.475	0.824		
22		-0.366	0.146	0.532	0.912		
23	-0.698	0.066	0.335	0.748			
24			-0.507	0.036	0.488		
25				-0.489	0.077	0.501	
26			-0.316	0.126	0.479		

Tablo 16. Sentezlenen bileşiklerin farklı metanol : su fraksiyonlarındaki isokratik log k' değerleri.

Bileşik	Log k_w	-S	r^2	Log P
9	5.218	10.820	0.9977	3.32
10	7.192	13.930	0.9645	3.33
11	4.772	8.760	0.9997	3.44
12	5.622	8.704	0.9925	5.16
13	5.767	7.706	0.9968	4.78
14	4.886	8.510	0.9848	4.27
15	5.449	7.950	0.9998	4.19
16	4.630	8.350	0.9903	3.26
17	5.189	10.500	0.9999	3.26
18	6.337	9.822	0.9984	4.56
19	5.084	8.040	0.9998	4.44
20	6.398	8.646	0.9784	5.73
21	5.671	8.730	0.9911	5.17
22	5.581	8.440	0.9943	5.11
23	6.332	9.214	0.9540	5.18
24	5.976	9.950	0.9972	4.66
25	5.475	9.900	0.9932	4.51
26	4.866	7.950	0.9958	4.53

Tablo 17. Sentezlenen bileşiklerin log k' değerleri ile metanol : su volüm fraksiyonu arasındaki ilişkinin regresyon analizi sonuçları ve bilgisayar programı ile hesaplanan Log P değerleri

Bileşik	<i>T. b. rhodesiense</i>		<i>P. falciparum</i> K1		<i>C. albicans</i>		<i>C. krusei</i>	
	IC ₅₀ µg/ml	Y Log 1/C	IC ₅₀ µg/ml	Y Log 1/C	MİK µg/ml	Y Log 1/C	MİK µg/ml	Y Log 1/C
9	0.08	6.67	0.007	7.72	12.5	4.47	12.5	4.47
10	0.041	6.96	0.010	7.57	25	4.17	12.5	4.47
11	0.33	6.07	0.015	7.41	25	4.19	25	4.19
12	1.06	5.59	0.031	7.12	1.56	5.42	12.5	4.51
13	TE*	-	0.211	6.30	3.12	5.13	6.25	4.83
14	TE*	-	0.064	6.85	TE*	-	TE*	-
15	TE*	-	0.630	5.89	50	3.99	25	4.29
16	0.594	5.84	0.017	7.38	50	3.92	50	3.92
17	0.06	6.84	0.008	7.71	25	4.22	25	4.22
18	0.81	5.75	0.017	7.43	12.5	4.56	25	4.26
19	0.57	5.93	0.023	7.33	25	4.29	50	3.99
20	1.061	5.73	0.061	6.97	25	4.35	50	4.05
21	TE*	-	0.193	6.39	50	3.98	50	3.98
22	TE*	-	0.634	5.89	50	4.00	50	4.00
23	0.708	5.83	0.028	7.23	25	4.28	25	4.28
24	0.036	7.15	0.015	7.53	3.12	5.21	6.25	4.91
25	0.48	5.92	0.016	7.40	0.78	5.71	12.5	4.51
26	0.389	6.01	0.016	7.40	6.25	4.81	25	4.21

* TE: test edilmemiştir

Tablo 18. Sentezlenen bileşiklerin Log 1/C olarak hesaplanan antiprotozoal ve antifungal aktivite değerleri

Hesaplanan $\log k_w$ değerleri ile biyolojik etki arasındaki ilişki (Denklem 26-29) verilmektedir. Biyolojik etki olarak molar konsantrasyon değerlerinin ters logaritması ($\log 1/C$) kullanılmıştır. Bu değerler Tablo 18’de toplu olarak verilmiştir.

Trypanosoma brucei rhodesiense STIB 900 için;

$$\log 1/C = +0.127 <\pm 0.45> \log k_w + 5.459 <\pm 2.54>$$

(n = 13; r = 0.186; s = 0.544; F = 0.393)

İkinci dereceden parabolik denklem:

$$\log 1/C = +0.169 <\pm 0.63> [\log k_w]^2 - 1.844 <\pm 7.34> \log k_w + 11.09 <\pm 21.1>$$
$$\log k_w \text{ optimum} = 5.44 <-99.0/99.0>$$

(n = 13; r = 0.261; s = 0.560; F = 0.364)

Denklem 26

Plasmodium falciparum K1 için;

$$\log 1/C = -0.00681 <\pm 0.46> \log k_w + 7.122 <\pm 2.59>$$

(n = 18; r = 0.008; s = 0.604; F = 0.001)

İkinci dereceden parabolik denklem:

$$\log 1/C = +0.459 <\pm 0.54> [\log k_w]^2 - 5.333 <\pm 6.30> \log k_w + 22.34 <\pm 18.1>$$
$$\log k_w \text{ optimum} = 5.80 <-99.0/99.0>$$

(n = 18; r = 0.423; s = 0.566; F = 1.634)

Denklem 27

Candida albicans ATCC 10231 için;

$$\log 1/C = +0.0488 <\pm 0.45> \log k_w + 4.238 <\pm 2.54>$$

(n = 17; r = 0.060; s = 0.566; F = 0.053)

İkinci dereceden parabolik denklem:

$$\log 1/C = -0.308 <\pm 0.53> [\log k_w]^2 + 4.472 <\pm 6.18> \log k_w - 8.449 <\pm 17.8>$$
$$\log k_w \text{ optimum} = 5.88 <-99.0/99.0>$$

(n = 17; r = 0.384; s = 0.542; F = 1.213)

Denklem 28

Candida krusei ATTC 6258 için;

$$\text{Log } 1/C = +0.134 <\pm 0.22> \log k_w + 3.459 <\pm 1.27>$$

$$(n = 17; r = 0.311; s = 0.282; F = 1.612)$$

İkinci dereceden parabolik denklem:

$$\text{Log } 1/C = -0.129 <\pm 0.28> [\log k_w]^2 + 1.634 <\pm 3.22> \log k_w - 0.754 <\pm 9.29>$$

$$\text{Log } k_w \text{ optimum} = 6.33 <-99.0/99.0>$$

$$(n = 17; r = 0.397; s = 0.282; F = 1.309)$$

Denklem 29

Sentezlenen bileşiklere ait Log *P* değerlerinin (Tablo 17) hesaplanmasında ALOGPS 2.1. (Virtual Computational Chemistry Laboratory, On-Line Software) bilgisayar programı kullanılmıştır.

Hesaplanan Log *P* değerleri ile biyolojik etki (Log 1/*C*) arasındaki ilişki (Denklem 30-35) verilmektedir.

Log *P*'ye karşı *Trypanosoma brucei rhodesiense* STIB 900 için biyolojik aktivite sonuçları olarak Log 1/*C* değerleri alındığında elde edilen QSAR denklemi;

$$\text{Log } 1/C = -0.327 <\pm 0.35> \log P + 7.568 <\pm 1.53>$$

$$(n = 13; r = 0.523; s = 0.472; F = 4.153)$$

İkinci dereceden parabolik denklem:

$$\text{Log } 1/C = -0.0174 <\pm 0.53> [\log P]^2 - 0.177 <\pm 4.60> \log P + 7.258 <\pm 9.64>$$

$$\text{Log } P \text{ optimum} = 5.09 <-99.0/99.0>$$

$$(n = 13; r = 0.524; s = 0.494; F = 1.891)$$

Denklem 30

16 ve 24 Numaralı bileşikler çıkarıldığında elde edilen QSAR denklemi;

$$\text{Log } 1/C = -0.471 <\pm 0.22> \log P + 8.152 <\pm 0.95>$$

$$(n = 11; r = 0.855; s = 0.261; F = 24.358)$$

İkinci dereceden parabolik denklem:

$$\text{Log } 1/C = +0.235 <\pm 0.27> [\log P]^2 - 2.560 <\pm 2.33> \log P + 12.41 <\pm 4.94>$$

$$\text{Log } P \text{ optimum} = 5.34 <-99.0/99.0>$$

$$(n = 11; r = 0.906; s = 0.225; F = 18.364)$$

Denklem 31

11, 16 ve 24 Numaralı bileşikler çıkarıldığında elde edilen QSAR denklemi;

$$\text{Log } 1/C = -0.538 <\pm 0.19> \log P + 8.493 <\pm 0.84>$$

$$(n = 10; r = 0.920; s = 0.209; F = 43.863)$$

İkinci dereceden parabolik denklem:

$$\text{Log } 1/C = +0.255 <\pm 0.15> [\log P]^2 - 2.757 <\pm 1.32> \log P + 13.14 <\pm 2.80>$$

$$\text{Log } P \text{ optimum} = 5.40 <4.97/6.97>$$

$$(n = 10; r = 0.976; s = 0.124; F = 70.822)$$

Denklem 32

Log *P*'ye karşı *Plasmodium falciparum* K1 için biyolojik aktivite sonuçları olarak Log 1/C değerleri alındığında elde edilen QSAR denklemi;

$$\text{Log } 1/C = +0.365 <\pm 0.35> \log P + 8.683 <\pm 1.56>$$

$$(n = 18; r = 0.482; s = 0.529; F = 4.844)$$

İkinci dereceden parabolik denklem:

$$\text{Log } 1/C = +0.161 <\pm 0.50> [\log P]^2 - 1.747 <\pm 4.36> \log P + 11.56 <\pm 9.19>$$

$$\text{Log } P \text{ optimum} = 5.44 <-99.0/99.0>$$

$$(n = 18; r = 0.505; s = 0.539; F = 2.571)$$

Denklem 33

Log P 'ye karşı *Candida albicans* ATCC 10231 için biyolojik aktivite sonuçları olarak Log 1/C değerleri alındığında elde edilen QSAR denklemi;

$$\text{Log } 1/C = +0.191 <\pm 0.36> \log P + 3.675 <\pm 1.62>$$

$$(n = 17; r = 0.277; s = 0.545; F = 1.248)$$

İkinci dereceden parabolik denklem:

$$\text{Log } 1/C = -0.379 <\pm 0.51> [\log P]^2 + 3.451 <\pm 4.36> \log P + 3.101 <\pm 9.17>$$

$$\text{Log } P \text{ optimum} = 4.55 <-99.0/99.0>$$

$$(n = 17; r = 0.470; s = 0.518; F = 1.982)$$

Denklem 34

Log P 'ye karşı *Candida krusei* ATTC 6258 için biyolojik aktivite sonuçları olarak Log 1/C değerleri alındığında elde edilen QSAR denklemi;

$$\text{Log } 1/C = +0.00283 <\pm 0.20> \log P + 4.312 <\pm 0.88>$$

$$(n = 17; r = 0.008; s = 0.297; F = 0.001)$$

İkinci dereceden parabolik denklem:

$$\text{Log } 1/C = -0.179 <\pm 0.28> [\log P]^2 + 1.535 <\pm 2.43> \log P + 1.116 <\pm 5.11>$$

$$\text{Log } P \text{ optimum} = 4.29 <-99.0/99.0>$$

$$(n = 17; r = 0.342; s = 0.289; F = 0.926)$$

Denklem 35

4. TARTIŞMA

Tek benzimidazol halkası içeren dikatyonik türevlerin çeşitli protozoal parazitlere karşı iyi aktiviteye sahip oldukları bildirilmektedir (Ismail ve ark., 2004, Ismail ve ark., 2005). Buna karşın amidin grubu içeren mono ya da di katyonik 2-5'-bis-benzimidazol türevi bileşikler üzerinde yapılan çalışmaların sayısı son derece azdır (Czarny ve ark., 1995, Del Poeta ve ark., 1998). Özellikle bu türevdeki bileşiklerin nasıl bir antiprotozoal etkinlik gösterdikleri hakkında herhangi bir veriye ulaşılamamıştır. Bu çalışma ile 5. konumunda amidin grubu taşıyan yeni bir seri 2' süstitüe, 2-5'-bis-benzimidazol türevi bileşiğin sentezlenmesi, *T. b. rhodesiense*, *T. cruzi*, *L. donovani*, *P. falciparum*'a karşı *in vitro* antiprotozoal, *C. albicans* ve *C. krusei*'ye karşı *in vitro* antifungal aktivitelerinin ve sıçan iskelet kası myoblast (L6) hücrelerine olan *in vitro* sitotoksik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Tasarlanan türevleri elde etmek üzere 4-amino-3-nitrobenzonitril bileşiğindeki siyano grubu Pinner reaksiyonu ile amidin'e dönüştürülerek 4-amino-3-nitrobenzamidin HCl (**1**) hazırlandı. Daha sonra nitro grubunun Pd/C katalizörlüğünde hidrojen gazı ile redüksiyonu ile 3,4-diaminobenzamidin HCl (**2**) elde edildi. Bu bileşiğin polifosforik asit varlığında 3,4-dinitrobenzoik asitle reaksiyonu ile 2-(3,4-dinitrofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**3**) bileşiğine geçildi. Daha sonra, katalitik hidrojenasyon ile her iki nitro grubu redüklenerek, 2-(3,4-diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**) bileşiğine ulaşıldı. Ticari olarak satın alınan aldehit türevi bileşiklerin yanı sıra fenoksibenzaldehit türevi 4 bileşiğin (**5-8**) sentezi yapıldı. Aldehitlerin Na₂S₂O₅ katım ürünleri (**a₁-a₁₈**) hazırlandı ve 2-(3,4-diaminofenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksamidin (**4**)'in dimetilformamid içersindeki reaksiyonu ile sonuç ürünlere ulaşıldı. Kolon kromatografisi ile saflaştırma işlemi yapıldıktan sonra HCl tuzları (**9-26**), HCl gazı geçirilmiş alkol-eter karışımı içinde elde edildi.

Sentezi yapılan bileşiklerin saflık kontrolleri, ergime noktası, İTK ve RP-HPLC incelemeleri ile yapıldıktan sonra, yapılarını kanıtlamak üzere spektral analizleri gerçekleştirilmiş ve elementel analiz, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ¹⁹F-NMR,

2D-COSY, 2D-HSQC, Mass spektral analizleri ile elde edilen bulgular beklenen yapıları kanıtlar nitelikte bulunmuştur.

Elektrospray iyonizasyon (ESI) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen Mass spektral analizlerinde, bütün sonuç bileşikler pozitif iyonizasyon tekniği ile $(M+1)^+$ iyonları halinde % 100 bağıl intensiteleri ile kolayca izlenmişlerdir. Bu teknik genellikle proteinler, polipeptidler ve oligonükleotidler gibi biyomoleküllerin (özellikle protein ve peptid yapıları) analizi için geliştirilmiş bir yöntem olup, HPLC veya kapiler elektroforez kolonlarına adapte edilebilme avantajı sağlamaktadır. Klor atomu taşıyan bileşikler beklendiği izotop oranları ile izlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sentezlenen bileşiklerin antiprotozoal etkilerinin belirlenmesi için önce iki konsantrasyon değerindeki (Konsantrasyon 1 = 4.85 μ M ve Konsantrasyon 2 = 0.81 μ M) % inhibisyon değerleri tespit edildi. Aktivite kriterini (*T. b. rhodesiense*, *L. donovani* ve *P. falciparum* için konsantrasyon 2’de > %50, *T. cruzi* için konsantrasyon 1’de > %70 inhibisyon) *T. b. rhodesiense*’ya karşı 13 bileşiğin (bileşik 9-12, 16-20, 23-26), *P. falciparum*’a karşı ise tüm bileşiklerin sağladığı, bileşiklerin hiçbirinin *L. donovani* ve *T. cruzi*’ye karşı önemli bir % inhibisyon değerine sahip olmadığı belirlendi. Daha sonra aktivite kriterini sağlayan bileşiklerin ilgili parazitlere karşı gösterdikleri IC₅₀ değerleri tespit edildi.

T.b. rhodesiense’ye olan aktivite değerlerine bakıldığında, bis-benzimidazol halkasının 2’ konumunda 4-(3,4-dimetoksifenoksi)-fenil bulunan bileşik **24** (IC₅₀ = 0.036 μ g/ml) ve 4-fluorofenil bulunan bileşik **10** (IC₅₀ = 0.041 μ g/ml) en etkili türevlerdir. Aynı konumda 3,4-dimetoksifenil taşıyan bileşik **17** (IC₅₀ = 0.06 μ g/ml) iyi aktivite göstermektedir. Ancak, 3,5-dimetoksifenil türevi olan bileşik **16**’da aktivite oldukça düşmektedir (IC₅₀ = 0.594 μ g/ml). Bis-benzimidazol halkasının 2’ konumunda 2-(4-klorofenoksi)-fenil bulunan bileşik **21**’in 4.85 μ M konsantrasyondaki % inhibisyon değeri 3.9 iken, 2’ konumunda 5-fluoro-2-(4-klorofenoksi)-fenil türevi olan bileşik **22**’ de % inhibisyon değeri 86.0 olmaktadır. % İnhibisyon değerindeki bu artışta fluor atomunun yüksek elektronegativitesi ve hidrojen bağı yapabilme özelliğinin rol oynadığı düşünülmektedir.

P. falciparum’a olan aktivite değerlerine bakıldığında bis-benzimidazol halkasının 2’ konumunda 2-fluorofenil bulunan bileşik **9**, 4-fluorofenil bulunan bileşik **10** ve 3,4-dimetoksifenil türevi olan bileşik **17** en etkili türevlerdir. IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.007, 0.010 ve 0.008 μ g/ml’dir. Bileşik **11**, **16**, **18**, **24**, **25** ve **26**’da IC₅₀ değerleri 0.015 ila 0.017 arasındadır. 4-*tert*-butilfenil türevi bileşik **12** için IC₅₀ = 0.031 μ g/ml’dir. 3-*tert*-butil-2-hidroksifenil türevi olan bileşik **13**’te aktivite düşmekte ve IC₅₀ = 0.211 μ g/ml olmaktadır. 4-(4-klorofenoksi) fenil türevi olan

bileşik **23**'te IC_{50} değeri 0.028 $\mu\text{g/ml}$ iken 4-klorofenoksi grubu fenil halkasının 2. konumunda bulunan bileşik **21**'de ($IC_{50} = 0.193 \mu\text{g/ml}$) ve 2. konumdaki 4-klorofenil'e ek olarak 5. konumda fluoro bulunan bileşik **22**'de ($IC_{50} = 0.634 \mu\text{g/ml}$) aktivite önemli oranda düşmektedir.

Bileşiklerin *C. albicans* ve *C. krusei*'ye olan antifungal etkilerine bakıldığında bis-benzimidazol halkasının 2' konumunda 1-naftil bulunan bileşik **25**, *C. albicans*'a karşı 0.78 $\mu\text{g/ml}$ MİK değeri ile en etkili türevidir ve Flukonazol ile aynı MİK değerine sahiptir. Bis-benzimidazol halkasının 2' konumunda 4-*tert*-butilfenil bulunan bileşik **12** (MİK=1.56 $\mu\text{g/ml}$), 2-hidroksi-3-*tert*-butilfenil bulunan bileşik **13** (MİK=3.12 $\mu\text{g/ml}$) ve 4-(3,4-dimetoksifenoksifenil) bulunan bileşik **24** (MİK=3.12 $\mu\text{g/ml}$) *C. albicans*'a karşı en etkili türevlerdir. *C. krusei*'ye olan etkilere bakıldığında bileşik **13** ve bileşik **24** (MİK=6.25 $\mu\text{g/ml}$) en etkili türevlerdir. Bileşik **9**, **10**, **12** ve **25** için MİK değeri 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Bileşik **11**, **15**, **17**, **23** ve **26** Flukonazol ile aynı MİK değerine (25 $\mu\text{g/ml}$) sahiptir.

Biyolojik etki ile yapı arasındaki kantitatif ilişkiyi ortaya koymak üzere sonuç ürünlerin (bileşik **9 – 26**) su mobil faz alındığındaki kapasite faktör değerleri olan k_w , ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile deneysel olarak saptandı. Ayrıca bileşiklere ait Log *P* değerleri bilgisayar programları kullanılarak hesaplanmıştır. Antiprotozoal ve antifungal aktivite ile log k_w ve Log *P* arasındaki ilişki Hansch denklemleri ile incelenmiştir. IC_{50} ve MİK Değerleri hesaplanan tüm bileşikler kullanılarak yapılan QSAR çalışması ile elde edilen denklemlerde *r* değerlerinin 0.08-0.524 arasında değiştiği, biyolojik aktivite ile hesaplanan parametreler arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı görülmektedir. Ancak Log *P*'ye karşı *T. b. rhodesiense*'ya olan etki arasındaki düşük *r* değerlerinin (Denklem 30, doğrusal denklemde $r = 0.523$, ikinci dereceden parabolik denklemde $r = 0.524$) bileşik **16** ve **24** çıkarılarak elde edilen denklemde (denklem 31, $r = 0.855$ ve $r = 0.906$) arttığı görülmektedir. Bileşik **11**, **16** ve **24** çıkarılarak elde edilen denklemde (denklem 32, $r = 0.920$ ve $r = 0.976$) *r* değerlerinin daha da arttığı belirlenmiştir. Bu veriler göz önüne alındığında en azından *T. b. rhodesiense*'ya olan *in vitro* antiparasitik etki ile Log *P* değerleri arasında anlamlı bir ilişkinin olabileceği düşünülmektedir.

Sentezi yapılan bileşiklerin *in vitro* antiparasitik ve antifungal etkilerinin yanı sıra memeli (sıçan iskelet kası myoblast, L6) hücrelerine olan *in vitro* sitotoksik etkileri IC₅₀ olarak belirlenmiştir. *T.b. rhodesiense*'ye karşı en etkili türevler olan bileşik **9**, **10**, **17** ve **24**'ün sitotoksikite değerleri (IC₅₀) sırası ile 26.8, 2.48, >90, 29.4'µg/ml'dir ve bu bileşiklerin *in vivo* antitripanosidal etkilerinin araştırılması planlanmaktadır. Özellikle bileşik **9**, **17** ve **24** yüksek selektivite oranları (sitotoksikite/antitripanosidal aktivite) ile sitotoksikite göstermeksizin etkili olması beklenen bileşikler olarak umut vericidir. *P. falciparum*'a olan aktivite değerlerine bakıldığında sentezi yapılan bileşiklerden 14 tanesi (bileşik **9-12**, **14**, **16-20**, **23-26**) Klorokinden daha etkilidir. Bu bileşiklerin sitotoksikite değerleri (IC₅₀) 2.48 ila >90 µg/ml arasındadır ve *in vivo* antiplasmodial aktivitelerinin araştırılması planlanmaktadır. Sıtma tedavisinde kullanılan Artemisinin türevi bileşikler dışındaki tüm ilaçlarda dünyanın çeşitli bölgelerinde farklılık göstermekle birlikte direnç oluşumunun önemli bir sorun olduğu göz önüne alındığında tedavide kullanılacak farklı kimyasal yapıdaki ilaç etken maddelerinin geliştirilmesinin önemi daha da artmaktadır.

ÖZET

N-Süstitüe Amidin Grubu Taşıyan Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentez, Yapı Aydınlatmaları ve Antimikrobiyal Etkileri Üzerinde Çalışmalar.

Bu çalışmada, ilk olarak 4-amino-3-nitrobenzonitril, kuru HCl gazı ile doyurulmuş mutlak etanol ile imidat esteri hazırlandı. Daha sonra fazla stabil olmayan bu imidat esteri NH₃ gazı geçirilmiş etanol ile 4-amino-3-nitrobenzamidin (**1**)'e dönüştürüldü. Pd/C Katalizörlüğünde redüksiyon yapılarak 3,4-diaminobenzamidin (**2**) elde edildi. Daha sonra Bileşik 2'nin, polifosforik asit varlığında 3,4-dinitrobenzoik asit ile benzimidazol siklizasyon reaksiyonu yapılarak 2-(3,4-dinitrofenil)-benzimidazol-5-karboksamidin (**3**) sentezlendi. Her iki nitro grubunun redüksiyonu yapılarak 2-(3,4-diaminofenil)-benzimidazol-5-karboksamidin (**3**) bileşiğine ulaşıldı. 4-Klorofenol'ün 2-fluorobenzaldehit, 4-fluorobenzaldehit, 2,5-difluorobenzaldehit ile; ve 3,4-dimetoksifenol'ün 4-fluorobenzaldehit ile kondensasyon reaksiyonları sonucunda ilgili süstitüe-feniloksibenzaldehit (**5-8**) türevleri sentezlendi. 2-(3,4-diaminofenil)-benzimidazol-5-karboksamidin (**3**) bileşiğinin sentezi yapılan (**5-8**) ve ticari olarak satın alınan çeşitli aldehit türevlerinin sodyum metabisülfid katım ürünleri ile reaksiyonuyla sonuç ürünlerin (**9-26**) sentezi tamamlandı.

Bu çalışmada 18 orijinal sonuç ürünün sentezi (2'si orijinal olmak üzere 8 ara ürün üzerinden) gerçekleştirildi. Elde edilen türevlerin saflık kontrolleri, ergime noktası, İTK ve RP-HPLC incelemeleri ile yapıldıktan sonra yapıları elementel analiz, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ¹⁹F-NMR, 2D-COSY, 2D-HSQC spektrumları ve Mass (ESI+) spektral verileriyle kanıtlandı.

Sentezlenen bileşiklerin (**9-26**) *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani* ve *Plasmodium falciparum* olmak üzere dört farklı parazitik protozoaya karşı gösterdikleri *in vitro* etkileri tarandı. Bu tarama yönteminde, bis-benzimidazol türevi bileşikler iki farklı konsantrasyonda, 0.81 ve 4.85 µM, test edildi. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, düşük konsantrasyonda (0.81µM) tüm bileşiklerin *P. falciparum*'a karşı önemli düzeyde inhibitör etki gösterdikleri, bileşiklerden onüçünün *T. b. rhodesiense*'ye karşı dikkat çekici inhibitör aktiviteye sahip olduğu belirlendi ve daha ileri etki deneyleri yapılarak IC₅₀ değerleri saptandı. Buna karşın, bileşiklerden hiçbirinin *T. cruzi* ve *L. donovani*'ye karşı önemli sayılabilecek düzeyde inhibitör etkiye sahip olmadığı görüldü ve IC₅₀ değerleri saptanmadı. Sentezlenen bileşiklerin *Candida albicans* ve *Candida krusei*'ye karşı olan *in vitro* antifungal etkileri Makrodilüsyon Broth Yöntemi kullanılarak test edildi. Bileşiklerin memeli (sıçan iskelet kası miyoblast, L6) hücrelerine olan sitotoksik etkileri podofilotoksin ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

Bileşik 10, 17 ve 24, sırası ile 0.041, 0.06 and 0.036 µg/ml IC₅₀ değerleri ile *T. b. rhodesiense* karşı en etkili türevlerdir. Antipmalaryal etki açısından en etkili türevler 9, 10 ve 17'dir ve IC₅₀ değerleri 0.007, 0.010 ve 0.008 µg/ml'dir. Bileşik **25** (IC₅₀ = 0.78 µg/ml) ve **12** (IC₅₀ = 1.56 µg/ml), *C. albicans*'a karşı en etkili türevlerdir. *C. krusei*'ye karşı en etkili türevler, 6.25 µg/ml'lik IC₅₀ değerleri ile bileşik **13** ve **24**'dür. Genel olarak, sentezlenen bileşikler (**9-26**) parazitik organizmalara karşı hücrel sitotoksosite açısından iyi selektivite göstermektedir.

Biyolojik etki ile yapı arasındaki kantitatif ilişkiyi açıklamak üzere bileşiklerin protozoa ve mantarlara karşı gösterdiği inhibitör aktivite ile çeşitli parametreler araştırılmış ve en iyi korelasyonun, bileşiklerin Log *P* değerleri ile *T. b. rhodesiense*'ye olan etkileri arasında olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler : Antiprotozoal aktivite, amidinobenzimidazol, bis-benzimidazol türevleri, $\log k_w$, sentez ve yapı aydınlatılması.

SUMMARY

Studies on the Synthesis, Structure Elucidation of Some N-Substituted Amidino Benzimidazole Derivatives and Evaluation of Their Antimicrobial Activity.

In this study, at the first step, 4-amino-3-nitrobenzonitrile was converted to imidate ester by using anhydrous ethanol with saturated dry HCl gas, followed by the unstable ester was immediately converted to 4-amino-3-nitrobenzamidino (**1**) with passing through NH₃ gas in ethanol. The Pd/C catalyzed reduction of **1** gave 3,4-diaminobenzamidino (**2**). Benzimidazole cyclization was performed by heating **2** with the 3,4-dinitrobenzoic acid in polyphosphoric acid, and 2-(3,4-dinitrophenyl)-benzimidazole 5-carboxamidino was obtained (**3**). Reduction of both nitro group yielded 2-(3,4-diaminophenyl) benzimidazole-5-carboxamidino (**4**). Condensation of 4-chlorophenol with 2-fluorobenzaldehyde, 4-fluorobenzaldehyde, 2,5-difluoro-benzaldehyde; and 3,4-dimethoxyphenol with 4-fluorobenzaldehyde yielded the corresponding substitue-phenyloxybenzaldehydes (**5-8**). The final compounds (**9-26**) were obtained by condensation of 2-(3,4-diaminophenyl)-benzimidazole-5(6)-carboxamidino (**4**) with Na₂S₂O₅ adduct of **5-8** and commercial arylaldehydes in DMF.

A series of novel 18 final compounds (with 2 novel and 6 known intermediates) was prepared in this study. The purity of these compounds was checked with their melting points, TLC and t_R retention times in reverse phase HPLC. The chemical structures of the compounds were elucidated with their ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ¹⁹F-NMR, 2D-COSY, 2D-HSQC spectrum, Mass (ESI+) spectral data and their elemental analysis.

The synthesized compounds (**9-26**) were screened for their *in vitro* activity against four parasitic protozoa, *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani* and *Plasmodium falciparum*. The medium-throughput screening method was used to test the compounds at two concentrations, 0.81 µM and 4.85 µM, respectively. According to medium-throughput screening results, all compounds have significant inhibitory activity against *P. falciparum* and thirteen of them have remarkable inhibitory activity against *T. b. rhodesiense* at low concentration, its IC₅₀ values were determined. On the other hand, none of these compounds displayed appreciable inhibitory activity against *T. cruzi* and *L. donovani*, therefore not further investigated to determine their IC₅₀ values. The *in vitro* antifungal activity of the synthesized compounds against *Candida albicans* and *Candida krusei* is evaluated with Macrodilution Techniques. The cytotoxic potentials of these compounds on mammalian (rat skeletal muscle myoblast, L6) cells were also assessed and compared to that of podophyllotoxin.

Compound **10**, **17** and **24**, with IC₅₀ values of 0.041, 0.06 and 0.036 µg/ml respectively, are the most active monocation against *T. b. rhodesiense*. The most potent antiplasmodial compounds, **9**, **10**, **17**, showed IC₅₀ values as 0.007, 0.010 and 0.008 µg/ml respectively. Compound **25** (IC₅₀ = 0.78 µg/ml) and **12** (IC₅₀ = 1.56 µg/ml) were highly effective against *C. albicans*. Compounds **13** and **24** exhibited the best antifungal activity against *C. krusei* with IC₅₀ value of 6.25 µg/ml. In general, there was good selectivity for the parasitic organisms by synthesized compounds (**9-26**) as judged from their cellular cytotoxicity.

In order to explain the quantitative structure activity relationship between the synthesized compounds and their inhibitory activities against the selected protozoa and fungi, several parameters have been used. The best correlation was found with Log P values of the synthesized compounds against *T. b. rhodesiense*.

Key Words : Antiprotozoal activity, amidinobenzimidazoles, bis-benzimidazole derivatives, $\log k_w$, synthesis and structure elucidation.

KAYNAKLAR

- ABDEL-RAHMAN, A.E., MAHMOUD, A.M., EL-NAGGAR, G.M., EL-SHERIEF, H.A. (1983). Synthesis and Biological Activity of Some New Benzimidazolyl-azetidin-2-ones and-thiazolidin-4-ones. *Pharmazie*, **38** (9): 589-590.
- ABOU-SHADI, H., EL-TALIAWI, G., NABIH, I., KAMEL, M.M., ZAYED, A., FADDAH, L.M., (1979). Synthesis and Antibacterial Activity of Some Nitrobenzimidazoles and 2(3H) Benzimidazolones. *Pharmazie*, **34** : 576.
- AKERBLOM, E.B. (1974). Synthesis and Structure-Activity Relationships of a Series of Antibacterially Active 5-(5-Nitro-2-furfurylidene)thiazolones, 5-(5-Nitro-2-furly propenylidene) thiazolones and 6-(5-Nitro-2-furly)-4H-1,3-thiazinones. *J. Med. Chem.*, **17**(6): 609-615.
- ALCALDE, E., DINARES, I., FRIGOLA, J. (1991). NMR Studies of N-(benzimidazol-2-yl) Pyridinium Derivatives: QSAR with the Anti-leishmanial Activity and their Carbon-13 NMR Chemical Shifts. *Eur. J. Med. Chem.*, **26**: 633-642.
- ALCALDE, E., PEREZ-GARCÍA, L., DINARES, I., COOMBS, G.H., FRIGOLA, J. (1992). Synthesis and Antitrichomonal Activity of Azinium (azolium) 4-Nitrobenzimidazolate Betaines and their Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, **27**: 171-176.
- ANSEDE, J.H., ANBAZHAGAN, M., BRUN, R., EASTERBROOK, J.D., HALL, J.E., BOYKIN, D.W. (2004). O-Alkoxyamidine Prodrugs of Furamidine In Vitro Transport and Microsomal Metabolism as Indicators of In Vivo Efficacy in Mause Model of Trypanosoma brucei rhodesiense Infection. *J. Med. Chem.*, **47**: 4335-4338.
- APTED, F. (1980). Present Status of Chemotherapy and Chemophylaxis of Human Trypanosomiasis in The Eastern Hemisphere. *Pharmacol Ther.*, **11**: 391-413
- ARNAU, N., ARREDONDO, Y., MORENO-MANAS, M., PLEIXATS, R., VILLARROYA, M. (1995). Palladium(0)-Catalyzed Allylation of 4(5)-Substituted Imidazoles, 5(6)-Substituted Benzimidazoles, Benzotriazoles and 5(6)-Methylbenzotriazole. *J. Heterocyclic Chem.*, **32**: 1325-1334.
- BADAWAY, El-S.A.M. (1992). Benzimidazole Condensed Ring Systems 8(1). Synthesis of Some Substituted 1-oxo-1H,5H-Pyrido[1,2-a]benzimidazole-4-Carbonitriles with Anticipated Antimicrobial Activity. *Il Farmaco* , **47**(4): 489-496.
- BADAWAY, El-S.A.M., HASSAN, A.M.M., KAPPE, T. (1991). Synthesis of New Benzimidazole Derivatives as Potential Antimicrobial Agents. *Arch. Pharm.*, **324**: 355-357.

- BAIRD, J.K. (2005) Effectiveness of Antimalarial Drugs. *N.Eng. J.Med.*, **352**: 1565-1577
- BALTZ, T., BALTZ, D., GIROUD, C., CROCKETT, J. (1985). Cultivation in a Semi-defined Medium of Animal Infective Forms of *Trypanosoma brucei*, *T. equiperdum*, *T.evansi*, *T. rhodesiense* and *T. gambiense*. *EMBO J.* **4**: 1273-1277.
- BARALDI, P.G., BOVERO, A., FRUTTAROLO, F., PRETI, D., TABRIZI, M.A., PAVANI, M.G., ROMAGNOLI, R. (2004). DNA Minor Groove Binders as Potential Antitumor and Antimicrobial Agents. *Med.Res. Rev.*, **24**: 475,528
- BARTLETT, M.S., EDLIND, T.D., DURKIN, M.M., SHAW, M.M., QUEENER, S.F., SMITH, J.W. (1992). Antimicrotubule Benzimidazoles Inhibit In Vitro Growth of *Pneumocystis carinii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **36**(4): 779-782.
- BARTLETT, M.S., EDLIND, T.D., LEE, C.H., DEAN, R., QUEENER, S.F., SHAW, M.M., SMITH, J.W. (1994). Albendazole Inhibits *Pneumocystis carinii* Proliferation in Inoculated Immunosuppressed Mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **38**(8): 1834-1837.
- BELL, S.C., WEI, P.H.L. (1976). Syntheses of Heterocyclic Fused Thiazole Acetic Acids. 2. *J. Med.Chem* , **19**(4): 524-530.
- BELL, C.A., HALL, J.E., KYLE, D.E., GROGL, M., OHMENG, K.A., ALLEN, M.A., TIDWELL, R.R. (1990). Structure-Activity Relationships of Analogs of Pentamidine against *Plasmodium falciparum* and *Leishmania mexicana amazonensis*. *Antimic. Agents Chem.*, **34**: 1381-1386
- BELL, C.A., CORY, M., FAIRLEY, T.A., HALL, J.E., TIDWELL, R.R. (1991). Structure-Activity Relationships of Pentamidine Analogs Against *Giardia lamblia* and Correlation of Anti-giardial Activity with DNA-Binding Affinity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **35**: 1099-1107.
- BELL, C.A., DYKSTRA, C.C., NAIMAN, N.A., CORY, M., FAIRLEY, T.A., TIDWELL, R.R. (1993). Structure Activity Studies of Dicationically Substituted Bis-Benzimidazoles Against *Giardia lamblia*: Correlation of Anti-giardial Activity with DNA Binding Affinity and Giardial Topoisomerase II inhibition. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **37**(12): 2668-2673.
- BENVENUTI, S., SEVERI, F., SACCHETTI, A., MELEGARI, M., VAMPA, G. (1997). Synthesis, Antimicrobial and Genotoxic Properties of some Benzimidazole Derivatives. *Il Farmaco*, **52**(4): 231-235.
- BERES, J., BENTRUDE, W.G., KRUPPA, G., McKERNAN, P.A., ROBINS, R.K. (1985). Synthesis and Antitumor and Antiviral Activities of a Series of 1- β -D-Ribofuranosyl-5-halocytosine (5-halocytidine) Cyclic 3',5'-Monophosphates. *J. Med. Chem.*, **28**: 418-422.

- BERG, D., BUCHEL, K.H., PLEMPPEL, M., ZYWIETZ, A. (1986). Action Mechanisms of Cell – Division – Arresting Benzimidazoles and of Sterol Biosynthesis-Inhibiting Imidazoles, 1,2,4-Triazoles, and Pyrimidines. *Mykosen*, **29**(5): 221-229.
- BERGER, H., SEEBACHER, W., SAF, R., KAISER, M., BRUN, R., WEIS, R. (2006). Antiprotozoal Activity of New Bis-chlorophenyl Derivatives of Bicyclic Octanes and Aza-nonanes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**: 5457-5461.
- BISTOCCHI, G.A., DE MEO, G., PEDINI, M., RICCI, A. (1984). Nouveaux Derives Heterocycliques Du Benzimidazole a Activite Germicide. *Il Farmaco*, **39**: 660-673.
- BLAGBURN, B.L., SUNDERMAN, C.A., LINDSAY, D.S., HALL, J.E., TIDWELL, R.R. (1991). Inhibition of *Cryptosporidium parvum* in Neonatal Hsd:(ICR)BR Swiss mice by Polyether Ionophores and Aromatic Amidines. *Antimic. Agents Chem.*, **35**: 1520-1523.
- BLOCK, J.H. (2004). Antimalarials. In: *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, 11. Edition, Ed.: J.H. Block and J.M. Beale, United States of America: Lippincott Williams and Wilkins, Chapter 9.
- BLUM, J., SCHMID, C., BURRI, C. (2006). Clinical Aspects of 2547 Patients with Second Stage Human African Trypanosomiasis. *Acta Tropica*, **97**: 55-64
- BOYKIN, D.W., KUMAR, A., SPYCHALA, J., ZHOU, M., LOMBARDY, R.J., WILSON, W.D., DYKSTRA, C.C., JONES, S.K., HALL, J.E., TIDWELL, R.R., LAUGHTON, C., NUNN, C.M., NEIDLE, S. (1995). Dicationic Diarylfurans as Anti-Pneumocystis carinii Agents. *J. Med. Chem.*, **38** : 912-916.
- BOYKIN, D.W., KUMAR, A., HALL, J.H., BENDER, B.C., TIDWELL, R.R. (1996). Anti-Pneumocystis Activity of Bis-Amidoximes and Bis-O-Alkylamidoximes Prodrugs. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **6**: 3017-3020
- BOYKIN, D.W., KUMAR, A., XIAO, G., WILSON, W.C., BENDER, B.C., MCCURDY, D.R., HALL, J.E., TIDWELL, R.R. (1998). 2,5-Bis[4-(N-alkylamidino)phenyl]furans as Anti-Pneumocystis carinii Agents. *J. Med. Chem.*, **41**: 124-129.
- BRANA, M.F., CASTELLANO, J.M., YUNTA, M.J.R. (1990). Synthesis of Benzimidazo-substituted 3-Quinolinecarboxylic Acids as Antibacterial Agents. *J. Heterocyclic Chem.*, **27**: 1177-1180.
- BRAUMANN, T., WEBER, G., GRIMME, H. (1983). Quantitative Structure-Activity Relationships for Herbicides. *Journal of Chromatography*, **261**: 329-343.
- BRENDLE, J.J., OUTLAW, A., KUMAR, A., BOYKIN, D.W., PATRICK, D.A., TIDWELL, R.R., WERBOVETZ, K.A. (2002). Antileishmanial Activity of Several Classes of Aromatic Dications. *Antimic. Agents Chem.*, **46**: 797-807.

- BREYCESON, A.D.M., CHULAY, J.D., MUGAMBI, M., WERE, J.B., GACHIHI, G., CHUNGE, C.N., MUIGAI, R., BHATT, S.M., HO, M., SPENCER, H.C., MEME, J., ANABWANI, G. (1985). Visceral Leishmaniasis Unresponsive to Antimonial Drugs. II. Response to High Dosage Sodium Stibogluconate or Prolonged Treatment with Pentamidine. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **79**: 705-714
- CASTELL, D.A. (2003). Antimalarial Agents. In: *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, Vol. 5: Chemotherapeutic Agents, Ed.: D.J. Abraham, New Jersey: John Wiley and Sons Inc., Chapter: 8.
- CHACKAL-CATOEN, S., MIAO, Y., WILSON, W.D., WENZLER, T., BRUN, R., BOYKIN, D.W. (2006). Dicationic DNA-Targeted Antiprotozoal Agents: Naphthalene Replacement of Benzimidazole. *Bioorg. Med. Chem.* **14**: 7434-7445.
- CLARK, G.R., BOYKIN, D.W., CZARNY, A., NEIDLE S. (1997). Structure of a bis-amidinium derivative of Hoechst 33258 complexed to dodecanucleotide d(CGCGAATTCGCG)2: The role of hydrogen bonding in minor groove drug-DNA recognition. *Nucleic Acids Research*, **25**(8): 1510-1515.
- COBURN, R. A., CLARK, M. T., EVANS, R.T., GENCO, R.J. (1987). Substituted 2-(2-Hydroxyphenyl)benzimidazoles as potential Agents for the Control of Periodontal Diseases. *J. Med. Chem.*, **30**: 205 – 208.
- CORY, M., TIDWELL, R.R., FAIRLEY, T.A. (1992). Structure and DNA Binding Activity of Analogues of 1,5-(bis(4-amidinophenoxy)pentane (Pentamidine). *J. Med. Chem.*, **35**: 431-438.
- COTTAM, H.B., KAZIMIERCZUK, Z., GEARY, S., McKERNAN, P.A., REVANKAR, G.R., ROBINS, R.K.0 (1985). Synthesis and Biological Activity of Certain 6-Substituted and 2,6-Disubstituted-2'-Deoxytubercidins Prepared via the Stereospecific Sodium Salt Glycosylation Procedure. *J. Med.Chem.*, **28**: 1461-1467.
- CROFT, S.L., BARRETT, M.P., URBINA, J.A. (2005). Chemotherapy of Trypanosomiasis and Leishmaniasis. *Trends Parasitol.*, **21**: 508-512.
- CRUZ, M.C., BARTLETT, M.S., EDLIND, T.D. (1994). *In Vitro* Susceptibility of the Opportunistic Fungus *Cryptococcus neoformans* to Anthelmintic Benzimidazoles. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **38**(2): 378-380.
- CZARNY, A., BOYKIN, D.W., WOOD, A.A., NUNN, C.M., NEIDLE, S., ZHAO, M., WILSON, W.D. (1995). Analysis of van der Waals and Electrostatic Contributions in the Interactions of Minor Groove Binding Benzimidazoles with DNA. *J.Am. Chem. Soc.*, **117**: 4716-4717.
- CZARNY, A., WILSON, W.D., BOYKIN, D.W. (1996). Synthesis of Mono-Cationic and Dicationic Analogs of Hoechst 33258. *J.Heterocyclic Chem.*, **33**: 1393-1397

- ÇETİNKAYA, B., ÇETİNKAYA, E., KÜÇÜKBAY, H., DURMAZ, R. (1996). Synthesis and Antimicrobial Activity of Electron Rich Olefin Derived Cyclic Ureas. *Arzneim.-Forsch. / Drug Res.*, **46**(II): 1154-1158.
- DAS, B.P., BOYKIN, D.W.(1977). Synthesis and Antiprotozoal Activity of 2,5-Bis(4-guanyphenyl)furans. *J. Med. Chem.*, **20**: 531-536.
- DAVIDSE, L.C., FLACH, W. (1978). Interaction of Thiabendazole with Fungal Tubulin. *Biochim. Biophys. Acta.*, **543**: 82-90.
- DEMİRAYAK, Ş., GÜVEN, K. (1995). Synthesis of Some Pyrido- and Pyrazino-benzimidazole Derivatives and Their Antifungal Activity. *Pharmazie*, **50**: 527-529.
- DEMİRAYAK, Ş., MOHSEN, U.A. (1996). Synthesis of Some 1-(2-Arylviny)-3-Arylpyrazino[1,2-a]-Benzimidazole Derivatives and Their Antimicrobial Activities. *Il Farmaco*, **51**(12): 825-827.
- DEL POETA, M., SCHELL, W.A., DYKSTRA, C.C., JONES, S., TIDWELL, R.R., CZARNY, A., BAJIC, M., KUMAR, A., BOYKIN, D., PERFECT, J.R. (1998). Structure In Vitro Activity Relationships of Pentamidine Analogues and Dication-Substituted Bis-Benzimidazoles as New Antifungal Agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **42**: 2495-2502.
- DE MEO, G., PEDINI, M., RICCI, A. (1989). Nuovi Derivati Eterociclici ad Attività Germicida . VI. Sintesi ed Attività di Nuovi 2-Benzossazolil-2'- furani E-Tiofeni, Variamente Sostituiti in 5 E 5'. *Il Farmaco*, **44**(5): 475-482.
- DE MEO, G., PEDINI, M., RICCI, A. (1990). Chemometric Approach in a QSAR Study : The Antibacterial and Antimycotic Activities of Benzofused Heteroaromatic Derivatives. *Il Farmaco*, **45**(3): 313-330.
- DEVADAS, B., FREEMAN, S.K., ZUPEC, M.E., LU, H.-F., NAGARAJAN, S.R., KISHORE, N.S., LODGE, J.K., KUNEMAN, D.W., McWHERTER, C.A., VINJAMOORI, D.V., GETMAN, D.P., GORDON, J.I., SIKORSKI, J.A. (1997). Design and Synthesis of Novel Imidazole – Substituted Dipeptide Amides as Potent and Selective Inhibitors of *Candida albicans* Myristoyl CoA: Protein N-Myristoyltransferase and Identification of Related Tripeptide Inhibitors with Mechanism- Based Antifungal Activity. *J. Med. Chem.*, **40**: 2609-2625.
- DONKOR, I.O., ASSEFA, H., RATTENDI, D., LANE, S., VARGAS, M., GOLDVERG, B., BACCHI, C. (2001). Trypanocidal Activity of Dicationic Compounds Related to Pentamidine. *Eur. J. Med.Chem.*, **36**: 531-538.
- DYKSTRA, C.C., McCLERNON, D.R., ELWELL, L.P., TIDWELL, R.R. (1994). Selective Inhibition of Topoisomerases from *Pneumocystis carinii* Compared with That of Topoisomerases from Mammalian Cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **38**: 1890-1898.

- EDLIND, T.D., HANG, T.L., CHAKRABORTY, P.R. (1990). Activity of the Anthelmintic Benzimidazoles againsts *Giardia lamblia* In Vitro. *The Journal of Infectious Diseases*, **162**: 1408-1411.
- ELDERFIELD, R.C., KREYSA, F.J. (1948). The Reaction of o-Phenylenediamine and of 8-Amino-1,2,3,4-tetrahydroquinoline Derivatives with Carbonyl Compounds. *J.Am.Chem. Soc.*, **70**: 44-48.
- ELDERFIELD, R.C., Mc CARTHY, J.R. (1951). The Reaction of o-Phenylenediamines with Carbonyl Compounds. Aliphatic Ketones. *J. Am. Chem. Soc.*, **73**: 975-984.
- ELQUERO, J., LIOUQUET, G., MARZIN, C. (1975). Annular Tautomerism of Benzimidazoles, Effect of a Hydrogen Bond on the Prototropic Rate. *Tetrahedron Letters*, **46**: 4085-4086.
- ERSAN, S., NACAK, S., ACAR, N., NOYANALPAN, N. (1997a). Synthesis and Antimicrobial Activity of 1-Dialkylaminomethyl-2-(p-substituted Phenyl)-5-Substituted Benzimidazole Derivatives. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, **47**(4): 410-412.
- ERSAN, S., NACAK, S., ACAR, N., ÖZDEN, T. (1997b). Synthesis and Antimicrobial Activity of β -[(2-Benzimidazolyl)thio]- β -benzoyl Styrene Derivatives. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, **47**(6): 773-775.
- ERTEPINAR, H., GÖK, Y., GEBAN, Ö., ÖZDEN, S. (1995). A QSAR Study of the biological activities of some benzimidazoles and imidazopyridines against *Bacillus subtilis*. *Eur. J. Med. Chem.*, **30**: 171-175.
- FAIRLAMB, A.H. (2003). Chemotherapy of Human African Trypanosomiasis: Current and Future Prospect. *Trend in Parasitol.*, **19**: 488-494.
- FAIRLEY, T.A., TIDVELL, R.R., DONKOR, I., NAIMAN, N.A., OHMEMENG, K.A., LOMBARDY, R.J., BENTLEY, J.A., CORY, M. (1993). Structure, DNA Minor Groove Binding, and Base Pair Specificity of Alkyl- and Aryl-Linked Bis(Amidinobenzimidazoles) and Bis(amidinoindoles). *J.Med. Chem.*, **36**: 1746-1753.
- FENICHEL, R. L., GREGORY, F.J., ALBURN, H.E. (1976). Anti-tumor and Anti-metastatic Activity of 3-(p-Chlorophenyl)-2,3-dihydro-3-hydroxythiazolo[3,2-a]-benzimidazole-2- acetic acid. *Brit. Cancer*, **33**(3): 329-35). Ref. C.A.: 85, 298h, 1976.
- FOKS, H., MIECZYSLAW, J. (1978). Pyrazine Derivatives. IX. Synthesis and Tuberculostatic Activity of 2-Pyrazinylbenzimidazoles. *Acta Pol. Pharm.*, **35**(3): 281-288.
- FUJIMOTO, K. (1967). Studies on the Relation Between Chemical Structure and Antimicrobial Action of Nitrofurans Derivatives. I. Antibacterial Activity In Vitro. *Nippon Kagaku Ryohogakukai Zasshi* **15**(3): 228-245, Ref. CA.: **67**, 97907v, 1967.

- GARUTI, L., GIOVANNINETTI, G., FERRANTI, A., CHIARINI, A., BERTOCCHI, G., SABATINO, P., BRIGIDI, P. (1987). Synthesis and Antimycotic Activity of Some Benzyloxyimino Compounds. *Pharmazie*, **42**: 378 – 381.
- GASPAROVA, R., LACOVA, M. (1997). Synthesis and Antimycobacterial Activity of Some New 3-Heterocyclic Substituted Chromones. *Il Farmaco*, **52**(4): 251-253.
- GAVATIOTIS, E., SHARMAN, G.J., SEARLE, M.S. (2000). Sequence-dependent Variation in DNA Minor Groove Width Dictates Orientational Preference of Hoechst 33258 in A-tract Recognition: Solution NMR Structure of The 2:1 Complex With d(CTTTTGCAAAG)₂. *Nucleic Acids Research*, **28**(3): 728-735.
- GEBAN, Ö., ERTEPINAR, H., ÖZDEN, S. (1996). QSAR analysis of a set of benzimidazole derivatives based on their tuberculostatic activities. *Pharmazie*, **51**: 34-36.
- GÖKER, H., KUŞ, C. (1995). Synthesis of 1,2,5(6)-Trisubstituted Benzimidazoles and Evaluation of Their Antimicrobial Activities. *Arch.Pharm.*, **328**: 425-430.
- GÖKER, H., ALP, M., YILDIZ, S. (2005a). Synthesis and Potent Antimicrobial Activity of some Novel N-(Alkyl)-2-Phenyl-1*H*-Benzimidazole-5-Carboxamidines. *Molecules*, **10**: 1377-1386.
- GÖKER, H., BOYKIN, D.W., YILDIZ, S. (2005b). Synthesis and Potent Antimicrobial Activity of some Novel 2-phenyl or methyl-4*H*-1-benzopyran-4-ones Carrying Amidinobenzimidazoles. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **13**: 1707-1714.
- GRAVATT, G.L., BAGULEY, B.C., WILSON, W.R., DENNY, W.A. (1994). DNA-Directed Alkylating Agents. 6. Synthesis and Antitumor Activity of DNA Minor Groove-Targeted Aniline Mustard Analogues of Pibenzimol (Hoechst 33258). *J. Med. Chem.*, **37**: 4338-4345.
- GREEN, H., DAY, A.R. (1942). The Tautomeric Character of the Imidazole Ring. *J. Am. Chem. Soc.*, **64**: 1167-1173.
- GREGORY, F.J., ALBURN, H.E., WEI, P.H.L. (1981). Effect of Thiazolobenzimidazole and Thiazolobenzothiazole Compounds on metastatic and autoimmune disease models. *Prog. Cancer Res. Ther.*, **16**: 539-51. Ref. CA: 95, 411w, 1981.
- GÜMÜŞ, F., ALTUNTAS, T.G., SAYGUN, N., ÖZDEN, T., ÖZDEN, S. (1989). *In vitro* tuberculostatic activities of some 2-benzylbenzimidazole and 2-phenoxyethylbenzimidazole derivatives. *J. Pharm. Belg.*, **44**(5): 398-402.
- GÜNEŞ, H.S., COŞAR, G. (1992). Synthesis of Some Hydroxamic Acid Derivatives of Benzimidazole and their Antibacterial and Antifungal Activities. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, **42**(8): 1045-1048.

- HABIB, N.S., ABDEL-HAMID, S., EL-HAWASH, M. (1989). Synthesis of Benzimidazole Derivatives as Potential Antimicrobial Agents. *Il Farmaco*, **44**(12): 1225-1232.
- HABIB, N.S., SOLIMAN, R., ASHOUR, F.A., EL-TAIEBI, M. (1997a). Synthesis and Antimicrobial Testing of Novel Oxadiazolylbenzimidazole Derivatives. *Pharmazie*, **52**: 746-749.
- HABIB, N.S., SOLIMAN, R., ASHOUR, F.A., EL-TAIEBI, M. (1997b). Synthesis and Antimicrobial Testing of 4H-1,2,4-triazole, 1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazole and 1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine Derivatives of 1H-Benzimidazole. *Pharmazie*, **52**: 844-847.
- HABIB, N.S., RIDA, S.M., BADAWEY, E.A.M., FAHMY, H.T.Y., GHOZLAN, H.A. (1997c). Synthesis and biological investigations of some novel thiazolylbenzimidazoles, and benzimidazolyl-thiazolo [4,5-d] pyrimidines. *Pharmazie*, **52**: 346-350.
- HEIN, D.W., ALHEIM, R.J., LEAVITT, J.J. (1957). The Use of Polyphosphoric Acid in the Synthesis of 2-Aryl- and 2-Alkyl-substituted Benzimidazoles, Benzoxazoles and Benzothiazoles. *J.Am.Chem.Soc.*, **79**: 427-429.
- HILLIARD, J.J., GOLDSCHMIDT, R., LICATA, L., BAUM, E.Z., BUSH, K. (1999). Multiple Mechanisms of Action for Inhibitors of Histidine Protein Kinases from Bacterial Two-Component Systems. *Antimic. Agents Chem.*, **43**: 1693-1699.
- HINSBERG, O. (1886). Zur Constitution der Aldehydine. *Ber.*, **19**: 2025-2027.
- HINSBERG, O. (1887). Ueber die Einwirkung einwerthiger Aldehyde der Fettreihe auf m-p-Toluyldiamin. *Ber.*, **20**: 1585-1591.
- HISANO, T., ICHIKAWA, M. (1974). Acidic Properties of Benzimidazoles and Substituents Effects. Correlation between Acid Dissociations and Hydrogen Bondings of Some Benzimidazoles. *Chem. Pharm. Bull.*, **22**(8): 1923-1927.
- HISANO, T., ICHIKAWA, M., TSUMOTO, K., TASAKI, M. (1982). Synthesis of Benzoxazoles, Benzothiazoles and Benzimidazoles and Evaluation of Their Antifungal, Insecticidal and Herbicidal Activities. *Chem. Pharm. Bull.*, **30**(8): 2996-3004.
- HOFFMANN, K. (1953). Imidazole and Its Derivatives. Interscience Publishers, INC, New York.
- HOPKINS, K.T., WILSON, W.D., BENDER, B.C., McCURDY, D.R., HALL, J.E., TIDWELL, R.R., KUMAR, A., BAJIC, M., BOYKIN, D.W. (1998). Extended Aromatic Furan Amidino Derivatives as Anti-*Pneumocystis carinii* Agents. *J. Med. Chem.*, **41**: 3872-3878.

- HOWELL, J.R., RASMUSSEN, M. (1993). Heterocyclic Ambident Nucleophiles. V. Alkylation of Benzimidazoles. *Aust.J.Chem.*, **46**: 1177-1191.
- HÖLLJES, E.L., WAGNER, E.C. (1944). Some Reactions of Nitriles as Acid Anammonides. *J. Org. Chem.*, **9**: 31-49.
- HRELIA, P., MOROTTI, M., VIGAGNI, F., BURNELLI, S., GARUTIL, L., SABATINO, P., CANTELLI-FORTI, G. (1993). Synthesis of a Series of 5-nitro-(benzimidazoles and indoles) as Novel Antimycotics and Evaluation as Genotoxins in the Ames Test. *Mutagenesis*, **8**(3): 183-188.
- HUBSCHWERLEN, C., PFLIEGER, P., SPECKLIN, J. L., GUBERNATOR, K., GMÜNDER, H., ANGEHRN, P., KOMPIS, I. (1992). Pyrimido [1,6-a] benzimidazoles: A New Class of DNA Gyrase Inhibitors. *J. Med. Chem.*, **35**: 1385-1392.
- IEMURA, R., HORI, M., OHTAKA, H. (1989). Syntheses of the Metabolites of 1-(2-Ethoxyethyl)-2-(hexahydro-4-methyl-1H-1,4-diazepin-1-yl)-1H-benzimidazole Difumarate (KG-2413) and Related Compounds. *Chem. Pharm. Bull.*, **37**(4): 962-966.
- IFE, R.J., DYKE, C.A., KEELING, D.J., MEENAN, E., MEESON, M.L., PARSONS, M.E., PRICE, C.A., THEOBALD, C.J., UNDERWOOD, A.H. (1989). 2-[[[4-Amino-2-Pyridyl)methyl]sulfinyl] benzimidazole H^+/K^+ -ATPase Inhibitors. The Relationship between Pyridine Basicity, Stability, and Activity. *J. Med. Chem.*, **32**: 1970-1977.
- ISMAIL, M.A., BRUN, R., WENZLER, T., TANIOUS, F.A., WILSON, W.D., BOYKIN, D.W. (2004). Dicationic Biphenyl Benzimidazole Derivatives as Antiprotozoal Agents. *Bioorg. Med. Chem.*, **12**: 5405-5413.
- ISMAIL, M.A., BATISTA-PARRA, A., MIAO, Y., WILSON, W.D., WENZLER, T., BRUN, R., BOYKIN, D.W. (2005). Dicationic Near-linear Biphenyl Benzimidazole Derivatives as DNA-Targeted Antiprotozoal Agents. *Bioorg. Med. Chem.*, **13**: 6718-6726.
- IVADY, V., PALDY, L., (1958) Ein Neuseus Behandlungsverfahren der Interstitiellen Plasmazelligen Pneumonie Frühgeborener mit Fünfwertigem Stibium und Aromatischen Diamidinen. *Monatsschr. Kinderheilkd.*, **106**: 10-14.
- JI, Y.H., BUR, D., HASLER, W., SCHMITT, V.R., DORN, A., BAILLY, C., WARING, M. HOCHSTRASSER, R., LEUPIN, W. (2001). Tris-benzimidazole Derivatives: Design, Synthesis and DNA Sequence Recognition. *Bioorg. Med. Chem.*, **9**: 2905-2919.
- JONES, S.M., URCH, J.E., KAISER, M., BRUN, R., HARWOOD, J.L., BERRY, C., GILBERT, I.H. (2005). Analogues of Thiolctomycin as Potential Antimalarial Agents. *J. Med. Chem.*, **48**: 5932-5941.

- JUNG, F., DEIVARE, C., BOUCHEROT, D., HAMON, A. (1991). Synthesis and Structure– Activity Relationship of New Cephalosporins with Amino Heterocycles at C-7 . Dependence of the Antibacterial Spectrum and β – Lactamase stability on the Pka of the C-7 Heterocycle. *J. Med. Chem.*, **34**: 1110-1116.
- KATRITZKY, A.R., RACHWAL, S. (1994). New Routes to Selectively Methylated Benzimidazoles. *J.Heterocyclic Chem.*, **31**: 775-779.
- KIM, C.U., LUH, B.Y., MISCO, P.F., HITCHCOCK, M.J.M. (1989). Synthesis and in Vitro Activity of 1 β -Methyl C-2 Quaternary Heterocyclic Alkylthio Carbapenems. *J. Med. Chem.*, **32**: 601-604.
- KIM, J.S., GATTO, B., YU, C., LIU, A., LIU, L.F., LAVOIE, E.J. (1996). Substituted 2,5'-Bi-1H-benzimidazoles: Topoisomerase I Inhibition and Cytotoxicity. *J. Med. Chem.*, **39**: 992-998.
- KIM, J.S., YU, C., LIU, A., LIU, L.F., LaVOIE, E.J. (1997). Terbenzimidazoles: Influence of 2'', 4-, and 5-Substituents on Cytotoxicity and Relative Potency as Topoisomerase I Poisons. *J. Med. Chem.*, **40**: 2818-2824.
- KING, F.E., ACHESON, R.M. (1949). The Synthesis of Benziminazoles from ortho-Phenylenediamines and Imino–ethers. *J. Chem. Soc.*, 1396-1400.
- KING, H., LOURIE, E., YORKE, W. (1938). Studies in Chemotherapy: XIX. Further Report on New Trypanocidal Substances. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **32**: 177-192.
- KUHLER, T.C., SWANSON, M., SHCHERBUCHIN, V., LARSSON, H., MELLGARD, B., SJOSTROM, J.-E. (1998). Structure-Activity Relationship of 2-[(2-Pyridyl)methyl]thio]-1H-benzimidazoles as Anti *Helicobacter pylori* Agents in Vitro and Evaluation of their in Vivo Efficacy. *J. Med. Chem.*, **41**: 1777-1788.
- KUŞ, C., GÖKER, H., AYHAN, G., ERTAN, R. (1996). Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New Piperidinyl Benzimidazoles. *Il Farmaco*, **51**(6): 413-417.
- KÜÇÜKBAY, H., ÇETİNKAYA, E., DURMAZ, R. (1995). Synthesis and Antimicrobial Activity of Substituted Benzimidazole, Benzothiazole and Imidazole Derivatives. *Arzneim.-Forsch./ Drug Res.*, **45**(12): 1331-1334.
- KÜÇÜKBAY, H., DURMAZ, R., ORHAN, E., GÜNAL, S. (2003). Synthesis, Antibacterial and Antifungal Activities of Electron-rich Olefins Derived Benzimidazole Compounds. *Il Farmaco*, **58**: 431-437.
- LEE, In-S.H., JEOUNG, E.H. (1996). Synthesis and Tautomerism of 2-Aryl- and 2-Heteroaryl Derivatives of Benzimidazole. *J. Heterocyclic Chem.*, **33**: 1711-1716.

- LEMKE, T.L. (2002). Antiparasitic Agents. In: *Foye's Principal of Medicinal Chemistry*, 5nd Ed., Ed.: D. Troy, United States of America: Lippincott Williams and Wilkins, Chapter :35.
- LINDSAY, D.S., BLAGBURN, B.L., HALL, J.E., TIDWELL.R.R. (1991). Activity of Pentamidine and Pentamidine Analogs Against *Toxoplasma gondii* in Cell Cultures. *Antimicrob. Agents Chem.*, **35**: 1914-1916.
- LOMBARDY, R.L., TANIOUS, F.A., RAMACHANDRAN, K., TIDWELL, R.R., WILSON, W.D. (1996). Synthesis and DNA Interactions of Benzimidazole Dications Which Have Activity against Opportunistic Infections. *J. Med. Chem*, **39**: 1452-1462.
- MATASSA, V.G., BROWN, F.J., BERNSTEIN, P.R., SHAPIRO, H.S., MADUSKUIE, T.P., CRONK, L.A., VACEK, E.P., YEE, Y.K ., SNYDER, D. W., KRELL R. D., LERMAN, C.L., MALONEY, J.J. (1990). Synthesis and *In Vitro* LTD₄ Antagonist Activity of Bicyclic and Monocyclic Cyclopentylurethane and Cyclo-Pentylacetamide N-Arylsulfonyl Amides. *J. Med. Chem.*, **33**: 2621 – 2629.
- MATILE, H., PINK, J.R.L. (1990). *Plasmodium falciparum* Malaria Parasite Cultures and Their Use in Immunology. In: *Immunological Methods*, Ed.: I. Lefkovits, B. Pernis, Sand Diego: Academic Press, p.: 221-234.
- MERCK and Co., Inc. (1966). Fungicides, U.S. 6, 510, 290, Feb 8, Ref. CA: **65**: 5466a, 1966.
- MURDOCH, J., KEYSTONE, J. (1983). Pentamidine and Hypoglycemia. *Ann. Intern Med.*, **99**: 879.
- NAVARRETE-VAZQUEZ, G., ROJANO-VILCHIS, M.M., YEPEZ-MULIA, L., MELENDEZ, V., GERENA, L., HERNANDEZ-CAMPOS, A., CASTILLO, R., HERNANDEZ-LUIS, F. (2006). Synthesis and antiprotozoal activity of some 2-(trifluoromethyl)-1*H*-benzimidazole bioisosteres. *Eur. J. Med. Chem*, **41**: 135-141.
- OH, C.-H., HAM, Y.-W., HONG, S.-Y., CHO, J.-H. (1995). Synthesis and Antibacterial Activity of New 1 β - Methyl Carbapenem Having a Thiazolo [3,2-a] benzimidazole Moiety. *Arch. Pharm.*, **328**: 289-291.
- OHMENG, K.A., ROTH, B. (1991). Receptor-Based Design of Novel Dihydrofolate Reductase Inhibitors: Benzimidazole and Indole Derivatives. *J. Med.Chem.*, **34**: 1383-1394.
- OKAZAKI, K., MAEDA, T., NAGAMUNE, H., MANABE, Y., KOURAI, H. (1997). Synthesis and Antimicrobial Characteristics of 4,4'-(α,ω -Polymethylenedithio)bis(1-alkylpyridinium iodide)s. *Chem. Pharm. Bull.*, **45**(12): 1970-1974.

- ÖZDEN, S., ERTEPINAR, H., GEBAN, Ö. (1995). QSAR Study on Antibacterial Effects of Benzimidazole and Imidazopyridine Derivatives. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **60**: 2178-2187.
- ÖZDEN, S., ATABEY, D., YILDIZ, S., GÖKER, H. (2005). Synthesis and Potent Antimicrobial Activity of Some Novel Methyl or Ethyl 1*H*-benzimidazole-5-carboxylates Derivatives Carrying Amide or Amidine Groups. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **13**: 1587-1597.
- PEDINI, M., BISTOCCHI, G.A., DE MEO, G., RICCI, A. (1988). Nouveaux Derives Heterocycliques du Benzimidazole a Activite Germicide . *Il Farmaco*, **43**: 935-942.
- PEDINI, M., DE MEO, G., RICCI, A. (1990). New Heterocyclic Derivatives of Benzimidazole with Germicidal Activity–VII-2-(5'-Nitro-2'-furyl or 2'-Thienyl) Benzimidazoles with Different Substituents in the 5-position. *Il Farmaco*, **45**(3): 303-312.
- PEDINI, M., BISTOCCHI, G.A., DE MEO, G., RICCI, A. (1991). New Heterocyclic Derivatives of Benzimidazole with Germicidal Activity–IX-HPLC Detection of 5-fluoro-2-(5'-nitro-2'-furyl)benzimidazole (F-O-NO₂) in Biological Samples. *Il Farmaco*, **46**(3): 509-520.
- PEDINI, M., DE MEO, G., RICCI, A. (1994a). New Heterocyclic Derivatives of Benzimidazole with Germicidal Activity – X- *In vivo* Toxicity of 5-Fluoro-2-(5'-nitro-2'-furyl)-Benzimidazole (F-O-NO₂) ; Preliminary Observations. *Il Farmaco*, **49**(4): 303-304.
- PEDINI, M., DE MEO, G., RICCI, A. (1994b). New Heterocyclic Derivatives of Benzimidazole with Germicidal Activity -XI- Experimental Validation of QSAR Prediction on Antibacterial and Antimycotic Activity of Benzimidazole Derivatives. *Il Farmaco*, **49**(10): 671-674.
- PEDINI, M., BISTOCCHI, G.A., RICCI, A. (1994c). New Heterocyclic Derivatives of Benzimidazole with Germicidal Activity -XII- Synthesis of N₁-Glycosyl-2-furyl Benzimidazoles. *Il Farmaco*, **49**(12): 823-827.
- PERNAK, J., SKRZYPCZAK, A., MICHALAK, L., JEDRASZCZYK, J., KRYŚIŃSKI, J., KAZMIERCZAK, M., MROWCZYŃSKI, B. (1993). 3-Alkoxymethyl-1-ethyl-, 3-Alkylthiomethyl-1-ethyl-, 3-Alkoxymethyl-1-butyl und 3-Alkylthiomethyl-1-butyl benzimidazolium-chloride. *Arch.Pharm.*, **326**: 237-240.
- PERNAK, J., SKRZYPCZAK, A., KRYŚIŃSKI, J., KAZMIERCZAK, M., JEDRASZCZYK, J., MICHALAK, L. (1994). 3-Alkoxymethyl-1-hexyl-, 3-Alkylthiomethyl-1-hexyl-, 3-Alkoxymethyl-1-oktyl- und 3-Alkylthiomethyl-1-oktylbenzimidazolium chloride. *Arch.Pharm.*, **327**: 115-117.

- PERNAK, J., ARNDT, A., BRYCKI, B. (1997). Synthesis and Antimicrobial Activity of New 1-Benzylbenzimidazolium Chlorides. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, **330**: 253-258.
- PERNAK, J., ROGOZA, J., MIRSKA, I. (2001). Synthesis and Antimicrobial Activities of new Pyridinium and Benzimidazolium Chlorides. *Eur. J. Med. Chem.*, **36**: 313-320.
- PHILLIPS, M.A. (1928a). The Formation of 2-Methylbenziminazoles. *J.Chem.Soc.*, 172-177.
- PHILLIPS, M.A. (1928b). The Formation of 2-Substituted Benziminazoles. *J.Chem.Soc.*, 2393-2399.
- PHILLIPS, M.A. (1942). Bis-Benzimidazoles. *J.Am.Chem. Soc.*, **64**: 187.
- PINK, R., HUDSON, A., MOURIES, M.A., BENDING, M. (2005). Opportunities and Challenges in Antiparasitic Drug Discovery. *Nature Rev. Drug Discov.*, **4**: 727-740.
- POOL, W.O., HARWOOD, H.J., RALSTON, A.W. (1937). 2-Alkylbenzimidazoles as Derivatives for the Identification of Aliphatic Acids. *J.Am.Chem.Soc.*, **59**: 178-179.
- RABINOWITZ, J.L., WAGNER, E.C. (1951). Restriction of Tautomerism in the Amidine System by Hydrogen Bonding. The case of 4 (7)-Nitrobenzimidazole. *J. Am .Chem. Soc.*, **73**: 3030-3037.
- RAEYMAEKERS, A.H.M., VAN GELDER, J.L.H., ROEVENS, L.F.C., JANSSEN, P.A.J. (1978). Synthesis and Anthelmintic Activity of Alkyl-(5-acyl-1H-benzimidazol-2-yl) Carbamates. *Arzneim.-Forsch / Drug Res.*, **28**(1): 586-594.
- RAZ, B., ITEN, M., GREYER-BUHLER, Y., KAMANSKY, R., BRUN, R. (1997). The Alamar Blue[®] Assay to Determine Drug Sensitivity of African trypanosomes (*T.b. rhodesiense* and *T.B. gambiense*) *in vitro*. *Acta Tropica* **68**: 139-147
- RIDA, S.M., SALAMA, H.M., LABOUTA, I.M., GHANY, Y.S.A. (1985). Synthesis of Some 3-(Benzimidazol-2-ylmethyl)thiazolidinone Derivatives as Potential Antimicrobial Agents. *Pharmazie*, **40**(10): 727-728.
- RIDA, S.M., SALAMA, H.M., LABOUTA, I.M., GHANY, Y.S.A. (1986a). Syntheses and *In vitro* Antimicrobial Activities of Thiazolo[3,2-a]benzimidazol-3(2H)-ones. *Pharmazie*, **41**: 324-326.
- RIDA, S. M., LABOUTA, I.M., SALAMA, H.M., GHANY, Y.S., EL-GHAZZAUI, E., KADER, O. (1986b). Syntheses and *In vitro* Antimicrobial Evaluation of some Benzimidazol-2-yl methylthioureas, Benzimidazol-2-yl-acetylthiosemicarbazides and Products of Their Condensation with Monochloroacetic acid. *Pharmazie* , **41**(7): 475-478.

- RIDA, S.M., SOLIMAN, F.S.G., BADAWEY, El-S.A.M. (1986c). Novel Benzimidazoles with Potential Antimicrobial and Antineoplastic Activities. *Pharmazie*, **41**(8): 563-565.
- RIDA, S.M., SOLIMAN, F.S.G., BADAWEY, El-S.A.M. (1988a). Benzimidazole Condensed Ring Systems. I. Syntheses and Biological Investigations of Some Substituted Pyrido[1,2-a] benzimidazoles. *J. Heterocyclic Chem.*, **25**: 1087-1093.
- RIDA, S.M., SOLIMAN, F.S.G., BADAWEY, El-S.A.M. (1988b). Benzimidazole Condensed Ring Systems. 2[1]. New Syntheses of Substituted 1-Oxo-1H,5H Pyrido[1,2-a]benzimidazoles-4-carbonitriles and Related Derivates. *J. Heterocyclic Chem.*, **25**: 1725-1728.
- RIDLEY, H.F., SPICKETT, R.G.W., TIMMIS, G.M. (1965). A New Synthesis of Benzimidazoles and Aza-analogs. *J. Heterocyclic Chem.*, **2**: 453-456.
- ROGERS, K.S., CLAYTON, C.C. (1972). Effects of pH on Benzimidazole Fluorescence. *Analytical Biochemistry*, **48**: 199-201.
- SAMIA, R.M., IBRAHIM, M.L., HASSAN, M.S. (1986). Synthesis and *in vitro* Antimicrobial Evaluation of some Benzimidazol-2-yl-methyl-thioureas, Benzimidazol-2-ylacetylthiosemicarbazides and Products of their Condensation with Monochloroacetic Acid. *Pharmazie*, **41**: 267-271.
- SCHOFIELD, C.J., JANNIN, J., SALVATELLA, R. (2006). The Future of Chagas Disease Control. *Trends in Parasit.*, **22**: 583-588
- SHADOMY, S., PFALLER, M.A. (1991). Laboratory Studies with Antifungal Agents: Susceptibility Tests and Quantitation in Body Fluids. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 5th Ed., Eds.: A. Balows, W.J. Hausler, K.L. Herman, H.D. Isenberg, H.J. Shadomy, Washington DC: American Society of Microbiology, Chapter: 117, p.: 1173.
- SINGH, A., HANDA R. N., PUJARI, H.K. (1978). Heterocyclic Systems Containing Bridgehead Nitrogen Atoms: Part xxxii. Reaction of 2-Mercapto-5-Bromobenzimidazole with Chloroacetic acid, α -haloketones and 1,3-dibromopropane. *Indian J. Chem., Sect. B*, **6**: 478-80, Ref. CA.: 90, 72108x, 1979.
- SJOSTROM, J.-E., KUHLE, T., LARSSON, H. (1997). Basis for the Selective Antibacterial Activity *In Vitro* of Proton Pump Inhibitors Against *Helicobacter* Spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **41**(8): 1797-1801.
- SKINNER-ADAMS, T.S., DAVIS, T.M.E., MANNING, L.S., JOHNSTON, W.A. (1997). The efficacy of benzimidazole drugs against *Plasmodium falciparum* *in vitro*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **91**: 580-584.

- SMITH, L.I., HARRIS, S.A. (1935). Studies on the Polymethylbenzenes. The Nitration of Pentamethylbenzene and of Hexamethyl- and Hexaethylbenzene. *J.Am.Chem.Soc.*, **57**: 1289-1292.
- SMITH, L.I., MOYLE, C.L. (1936). The Jacobsen Reaction, *J.Am.Chem. Soc.*, **58**: 1-10.
- SOLIMAN, F.S.G., RIDA, S.M., BADAWEY, EI-S.A.M., KAPPE, T. (1984). Synthesis of Substituted 3-Hydroxy-1H,5H pyrido[1,2-a]-benzimidazol-1-ones as Possible Antimicrobial and Antineoplastic Agents. *Arch. Pharm.*, **317**: 951- 958.
- STEPHENS, C.E., BRUN, R., SALEM, M.M., WERBOVETZ, K.A., TANIOUS, F., WILSON, W.D., BOYKIN, D.W. (2003). The Activity of Diguanidino and 'Reversed' Diamidino 2,5-Diarylfurans versus *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania donovani*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**: 2065-2069.
- STURK, L.M., BROCK, J.L., BAGNEL, C.R., HALL, J.E., TIDWELL, R.R. (2004). Distribution and Quantitation of the Anti-trypanosomal Diamidine 2,5-Bis(4-amidinophenyl)furan (DB75) and Its N-metoxo Prodrug DB289 in Murine Brain Tissue. *Acta Tropica*, **91**: 131-143
- SUN, Q., GATTO, B., YU, C., LIU, A., LIU, L.F., LaVOIE, E.J. (1994). Structure Activity of Topoisomerase I Poisons Related to Hoechst 33342. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **24**(4): 2871-2876.
- SUN, Q., GATTO, B., YU, C., LIU, A., LIU, L.F., LaVOIE, E.J. (1995). Synthesis and Evaluations of Terbenzimidazoles as Topoisomerase I Inhibitors. *J. Med. Chem.*, **38**: 3638-3644.
- TIDWELL, R.R., GERATZ, J.D., DANN, O., VOLZ, G., ZEH, D., LOEWE, H. (1978). Diarylamidine Derivatives with one or both of the Aryl Moieties Consisting of an Indole or Indole-like Ring. Inhibitors of Arginine-specific Esteroproteases. *J.Med.Chem.* **21**: 613-623.
- TIDWELL, R.R., JONES, S.K., GERATZ, J.D., OHMENG, K.A., CORY, M., HALL, J.E., (1990). Analogs of 1,5-(bis(4-amidinophenoxy)pentane (Pentamidine) in The Treatment of Experimental *Pneumocystis carinii* Pneumonia. *J. Med. Chem.*, **33**: 1252-1257.
- TIDWELL, R.R., JONES, S.K., NAIMAN, N.A., BERGER, L.C., BRAKE, W.B., DYKSTRA, C.C., HALL, J.E. (1993). Activity of Cationically Substituted Bis-Benzimidazoles Against Experimental *Pneumocystis Carinii* Pneumonia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **37**(8): 1713-1716.
- TIDWELL, R.R., BELL, C.A. (1994). Pentamidin and Related Compounds in the Treatment of *Pneumocystis carinii* Infection, *Pneumocystis carinii* Pneumonia, Ed.: P.D. Walzer, 2nd Ed., Lung Biology in Health and Disease, Volume 69, Executive Ed: C. Lenfant, Marcel Dekkel Publishers, New York, 561-569

- TRIVEDI, R., DE, S.K., GIBBS, A. (2006). A Convenient One-pot Synthesis of 2-Substituted Benzimidazoles. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **245**: 8-11.
- UZUNOĞLU, Ş., TOSUN, A.U., ÖZDEN, T. (1997). Synthesis and Activities of 5-substituted-2-(p-Substituted Phenyl)-1-Dialkylaminomethyl Benzimidazole Derivatives. *Il Farmaco*, **52**(10): 619-623.
- VANGAPANDU, S., JAIN, M., KAUR, K., PATIL, P., PATEL, S.R., JAIN, M. (2007). Recent Advances in Antimalarial Drug Developmet. *Med. Res. Rev.*, **27**: 65-107
- Virtual Computational Chemistry Laboratory., On-Line Software
Erişim: <http://www.vcclab.org/lab/alogps>
- WAGNER, E.C. (1940). Some Reactions of Amidines as Ammono – Carboxylic Acids or Esters, *J. Org. Chem.*, **5**: 133-141.
- WALTZER, P.D., PERL, D.P., KROGSTAD, D.J. (1974). Pneumocystis carinii Pneumonia in the United States: Epidemiologic, Diagnostic and Clinical Features. *Ann. Intern Med.*, **80**: 83-93
- WANG, L.L., JOULLIE, M.M. (1957). Synthesis of Bis-benzimidazoles. *J. Am. Chem. Soc.*, **79**: 5706-5708.
- WEI, P.H.L., BELL, S.C. (1973). (Benzimidazol-2-ylthio) benzoylalkyl-carboxylic acids and their Alkyl Esters. US. 3, 775, 426 Nov 27, Ref .: C A: **80**: 70807u, 1974.
- WEIDENHAGEN, R. (1936). Eine Neue Synthese von Benzimidazol Derivaten. *Ber.*, **69**: 2263-2266.
- WEIDNER-WELLS, M.A., OHMENG, K.A., NGUYEN, V.N., FRAGA-SPANO, S., MACIELAG, M.J., WERBLOOD, H.M., FOLENA, B.D., WEBB, G.C., BARRETT, J.F., HLASTA, D.J. (2001). Amidino Benzimidazole Inhibitors of Bacterial Two-Component Systems. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **11**: 1545-1548.
- WHITE, N.J. (2004) Antimalarial Drug Resistance. *J.Clin.Invest.*, **113**: 1084-1092.
- WRIGHT, J.B. (1951). The Chemistry of Benzimidazoles. *Chem. Rev.*, **48**: 397.
- YEAGER, G.W., SCHISSEL, D.N. (1991). A Convenient Method for the Preparation of 4-Aryloxyphenols. *Synthesis*, 63-68.
- YEAGER, G.W., SCHISSEL, D.N. (1995). An Unpoled Synthron Approach to the Synthesis of 2-Aryloxyphenols. *Synthesis*, 28-30

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı : Mehmet
Soyadı : ALP
Doğum yeri ve tarihi : Yalvaç – 24.08.1978
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
Askerlik durumu : –
İletişim adresi : Ankara Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Tandoğan / Ankara
Telefon : 2126805 / 2262
E-posta : malp@pharmacy.ankara.edu.tr

II. Eğitimi

2001-2007 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı (Doktora)
1998-2001 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı (Yüksek Lisans)
1994-1998 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (Lisans)
1991-1994 Yalvaç-Atatürk Lisesi

Yabancı dili : İngilizce (Aralık 2005 ÜDS Notu: 82.5)

III. Ünvanları

1998 – Eczacı
2001 – Uzman Eczacı

IV. Mesleki Deneyimi

2006 – Uzman (Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi)
1999-2006 – Araştırma Görevlisi (Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi)

V. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Farmasötik ve Medisinal Kimya Derneği

VI. Bilimsel İlgi Alanları

Yayımları :

1. ATES-ALAGOZ, Z., **ALP, M.**, KUS, C., YILDIZ, S., BUYUKBİNGOL, E., GOKER, H. (2006) Synthesis and Potent Antimicrobial Activities of Some Novel Retinoidal Monocationic Benzimidazoles. *Arch. der. Pharm. (Chemistry in Life Science)*, **339**: 74-80.
2. GOKER, H., **ALP, M.** (2005) Synthesis and Potent Antimicrobial Activity of Some Novel N-(Alkyl)-2-Phenyl-1H-Benzimidazole-5-Carboxamidines. *Molecules*, **10**: 1377-1386.
3. KUS, C., **ALP, M.** (2002) Sistemik Mantar Enfeksiyonlarının Tedavisinde Yeni Hedefler ve Bileşikler. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, **31**(2): 91-131.

Bildiriler:

1. GOKER, H., **ALP, M.**, YILDIZ, S. (2004) Synthesis & Potent Antimicrobial Activity of Some Novel N-(Alkyl)-2-Phenyl-1H-Benzimidazole-5-Carboxamidines. *World Conference on Magic Bullets (Dosing of Antiinfectives)*, Nürnberg, Almanya.
2. GOKER, H., **ALP, M.**, YILDIZ, S. (2005) Synthesis & Potent Antibacterial Activity Of Some Novel 2-[4-(3,4-Dimethoxy-Phenoxy)-Phenyl]-1,N-Disubstituted-1H-Benzimidazole-5-Carboxamidines. *XXII. European Colloquium on Heterocyclic Chemistry*, Bari, İtalya.

VII. Bilimsel Etkinlikleri

Aldığı Burslar:

2003-2005 – TUBİTAK - B.A.Y.G. Yurtiçi Doktora Bursu

Ödüller:

Novartis Farmasötik ve Medisinal Kimya İlaç Tasarım ve Geliştirme Araştırma Ödülleri 2005-2006, Birincilik Ödülü.

Verdiği Seminerler:

2003 – Cytomegalovirus Enfeksiyonlarına Karşı Kullanılan İnhibitörler
2002 – DNA Minör Kaviteye Bağlanan Bileşikler
2001 – AIDS Sonrası Ortaya Çıkan Fırsatçı Enfeksiyonlardan *Pneumocystis carinii*'nin Neden Olduğu Pnömoni Tedavisinde Kullanılan Bileşikler.

VIII. Diğer Bilgiler

Katılınan Sempozyumlar:

1. 8th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, 13-16 Haziran 2006, Ankara, Türkiye.
2. World Conference on Magic Bullets (Dosing of Antiinfectives), 9-11 Eylül 2004, Nürnberg, Almanya.