

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ  
KESİN RAPORU**

**“Yeni Bazı Sübstitüe Guanido yada Aminobenzimidazol Türevlerinin Sentez,  
Antimikrobiyal Etkileri, Sitotoksik ve Genotoksik Etkilerinin İncelenmesi”**

Proje No.: 2006 0803054  
Proje Başlama Tarihi: 18.01.2007  
Proje Bitiş Tarihi: 29.07.2009

Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Yalçın Duydu

Yardımcı Araştırmacılar: Prof. Dr. Seçkin Özden,  
Prof. Dr. Hakan Göker, Prof. Dr. Sulhiye Yıldız,  
Uzm. Ecz. Mehmet Alp, Uzm. Ecz. Aylin Üstündağ

Ankara Üniversitesi Bilimsel Projeleri  
Ankara – “2009”

# I. Projenin Türkçe Adı ve Özeti

## **Yeni Bazı Sübstitüe Guanido yada Aminobenzimidazol Türevlerinin Sentez, Antimikrobiyal Etkileri, Sitotoksik ve Genotoksik Etkilerinin İncelenmesi**

Bu proje Farmasötik Kimya, Farmasötik Toksikoloji ve Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dallarının ortak bir çalışmasıdır. Bu çalışma kapsamında F. Kimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri tarafından antibakteriyel veya antifungal etkilerinin olacağı düşünülen bileşikler tasarlanacak ve sentezlenecek daha sonra da bu bileşiklerin antifungal veya antibakteriyel etkilerinin olup olmadığı F. Mikrobiyoloji Anabilim Dalında araştırılacaktır. En son aşamada etkili bulunan tüm bileşiklerin sitotoksikite testleri yapılacaktır. Bu testler neticesinde etkili bulunan bileşiklerin aynı zamanda toksik etkileri de düşük ise bu bileşik umut veren bir bileşik olarak uluslar arası dergilerde tanıtılacaktır. Yapılacak testler neticesinde çok etkili olarak tespit edilen bir bileşiğin eğer toksik etkileri çok yüksek ise bu durumda molekül üzerinde belli değişiklikler yaparak bu bileşiğin etkinliğini azaltmadan toksisitesinin azaltılmasına çalışılacaktır. Bu çalışmalar esnasında sitotoksik etkilerin test edilmesinde "Neutral Red Uptake (NRU)" yöntemi kullanılacaktır. Bu testlerin tamamı HeLa hücrelerinde gerçekleştirilecektir. Teklif edilmiş olan bu proje ile ilk kez, antifungal veya antibakteriyel etkisi gösterilmiş olan bileşiklerin hücre kültürlerinde sitotoksik olup olmadıkları gösterilecektir. Böylece sentezlenen bileşiklerin ilaç etken maddesi olabilme potansiyelleri daha gerçekçi bir biçimde değerlendirilecektir.

## **İngilizce Adı ve Özeti**

### **Synthesis of some novel guanido or amidino benzimidazole derivatives and evaluation of their antimicrobial, genotoxic and cytotoxic effects**

This project is a collaborative study of Pharmaceutical Chemistry, Pharmaceutical Toxicology and Pharmaceutical Microbiology. Within the scope of this study some antibacterial and antifungal molecules were synthesized by the Pharmaceutical Chemistry department. Afterwards the activities of the synthesized molecules were determined in Pharmaceutical Microbiology department. At the final stage of our study the molecules defined as active by the Pharmaceutical Microbiology department were subjected to cytotoxicity tests in Pharmaceutical Toxicology department. The cytotoxicity of the molecules were determined by using the "Neutral Red Uptake (NRU)" in HeLa cells. Both active and non-toxic molecules will be published in international journals as a drug candidate. Our studies will continue to work with those drug candidates.

## II. Amaç ve Kapsam:

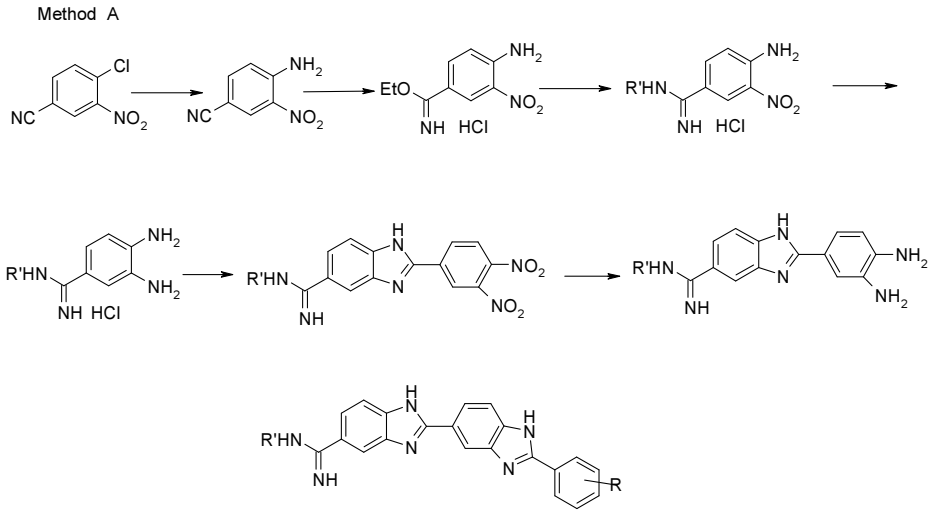
Antibakteriyel kemoterapötiklerde günümüzde tedavide kullanılabilen birçok ilaç bulunmasına rağmen, daha ideal etkili bileşik arayışı halen sürmektedir. Bunun nedeni mikroorganizmaların antimikrobiyal etkili ilaçlara karşı kısa sürede rezistans kazanması, istenmeyen yan etkiler, toksik etkiler ve AIDS gibi immun sistem hastalıklarına bağlı olarak ortaya çıkan fırsatçı enfeksiyonlarına karşı yeterli kemoterapötik bileşiklerin henüz geliştirilmemiş olmasıdır. Örneğin son zamanlarda immun sistemi bastırılmış konakçıda, sistemik mantar enfeksiyonu insidansı çok artmıştır. Organ transplantasyonu yapılan, antikanser kemoterapi tedavisi gören ve bağışıklık sisteminin savunmasının ortadan kalkmasıyla ortaya çıkan AIDS'li hastalarda; candidiyazis, kriptokokozis ve aspergillozis gibi sistemik gelişen mantar enfeksiyonları yaşamı tehdit etmektedir. Buna karşılık özellikle günümüzde sistemik mantar enfeksiyonlarına karşı oral yoldan etkili yeterince bileşik geliştirilebilmiş değildir. Benzer sıkıntı daha az olmakla birlikte bakteriyel kemoterapi için de söz konusudur. Özellikle *Pseudomonas aureginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* gibi bakterilere karşı yeterince potent ve nontoksik bileşiklerin arayışı halen sürmektedir. Bu enfeksiyonların tedavisinde yararlanmak üzere araştırmacıların dikkatini çeken heterosiklik halkalardan biri benzimidazol ve bunun biyoizoster halkalarıdır. Bu halka izosterleri üzerinde antibakteriyel ve antifungal aktivite geliştirme çalışmaları son yıllarda önemli bir artış göstermektedir. Özellikle bu halka sistemlerinin bis türevleri ile, N-substitüe amid, amidin yada guanidin grupları ile substitüsyonu, antibakteriyel ve antifungal etki bakımından ümit veren sonuçlara ulaşıldığını göstermektedir ve hatta bazı dikasyonik türevlerin DNA'nın minör kavitesi ile yaptığı etkileşimler de gösterilmiştir. Bundan evvel yine BAP destekli gerçekleştirdiğimiz projemiz kapsamında yeni sentezlediğimiz bileşiklerimizin potent antibakteriyel ve antifungal etkileri gösterilmiştir. Ancak bilindiği üzere yeni bir bileşiğin sadece *in vitro* potent etkisini göstermek, ona ilaç niteliği kazandırabilmek için yeterli değildir, acaba bu bileşik *in vivo* olarak kullanılabilecek düzeyde düşük toksisiteye sahip midir? En azından canlı hücre üzerinde sitotoksik ve genotoksik etkisi hangi düzeyde dir? Bundan önceki projelerimizde sentezlemiş olduğumuz bileşiklerin sadece potent antibakteriyel veya antifungal etkilerinin gösterilmesi hedeflenmiştir. Ancak teklif etmiş olduğumuz bu proje dahilinde daha önce yapılanlara ilave olarak sentezlenen her bileşiğin sitotoksik etkileride belirlenecektir. Yeni sentezlenen potent bileşiklerin uluslar arası dergilerde kabul görebilmesi ve daha da önemlisi ilaç etken maddesi olarak önerilebilmesi için öncelikle o bileşiğe ait toksisite verilerinin olması gereklidir. Bir bileşiğin sitotoksik etki profili, o bileşiğin *in-vitro* koşullardaki toksisitesi ile ilgili olarak bilinmesi gereken temel parametrelerdir. Bu nedenle bu proje sonrasında, sentezlenecek olan potent bileşiklerin uluslara arası bilim Dünya'sında kabul görmesi daha kolay olacaktır.

Ayrıca bu proje kapsamında yeni sentezlenecek bis benzimidazol türevlerinin yanısıra, evvelce aktif olarak tespit ettiğimiz moleküllerin de sitotoksik etkilerinin olup olmadığı araştırılacak ve imkanlar elverdiği ölçüde *in-vivo* testlere geçilebilme şansı aranacaktır.

### III. Materyal ve Yöntem

#### **Aktif moleküllerin sentezlenmesi;**

Çalışma 3 anabilim dalının co-operasyonu ile düzenlenmiştir. Çalışmanın ilk etabında Farmasötik Kimya Anabilim dalında tasarlanan bileşiklerin sentezleri yapılacak, yapıları enstrümantal analiz yöntemleri kullanılarak aydınlatılacaktır. Bunu müteakiben Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında sentezlenen bileşiklerin antibakteriyel yada antifungal etkileri saptanacak, burada aktif bulunan bileşiklerin sitotoksik yada genotoksik etkileri, Farmasötik Toksikoloji anabilim dalında gerçekleştirilecektir. Bu çalışmanın sonunda yeni, aktif ve non-toksik bileşiklerin bilim dünyasına sunulması amaçlanmaktadır. Sentezi hedeflenen bileşiklere ulaşma aşağıdaki sentez procedürü ile yapılacaktır. Aşağıda görüldüğü üzere Method A ile verilen yöntemde amidinobis-benzimidazol yapıları, Method B de ise guanidobisbenzimidazol yapıları hedeflenmektedir.



#### **Sentez Edilen Türevlerin Antimikrobiyal Etkilerinin Saptanması;**

Bu çalışmada sentezlenecek bileşikler için in-vitro antifungal ve antibakteriyel etkilerinin belirlenmesi amacı ile "Difüzyon Yöntemi" ve "Makrodilüsyon Broth Yöntemi" flukonazol, mikonazol, sefazolin, siprofloksasin, ampisilin gibi standart ticari ilaçlarla karşılaştırılarak yapılacaktır. Difüzyon Yöntemi, sentezlenecek bileşiklerin tamamının antibakteriyel ve antifungal etkilerinin incelenmesinde Bauer ve ark.larının (1996) "Difüzyon Yöntemi" modifiye edilerek ve NCCLS kriterlerine uyularak yapılacaktır.

Mikroorganizmalar : <i>Candida albicans</i>	ATTC 10231
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213
MRSA	ATCC 43300
<i>Staphylococcus aureus</i>	Hasta suşu (MRSA)
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Hasta suşu

Deney için sentezlenecek maddelerin aseptik şartlarda steril şişelere alınan 4 mg'lık tartımları 2 ml propilen glikol ile çözülecek, böylece konsantrasyon 2000 µg/ml olacak şekilde ayarlanacaktır. Bakteriler için besiyeri olarak Mueller-Hinton Agar (MHA) (Oxoid) ve maya için ise glukoz ilave edilmiş metilen mavili Mueller Hinton Agar (Oxoid) besiyerleri kullanılacak. Besiyerleri hazırlanıp sterilize edildikten sonra steril petrilere 4 mm kalınlığında dökülecek, dondurulacak ve sterilite kontrolleri yapılacaktır. Steril eküvyonla petri yüzeyine taze kültüründen hazırlanan süspansiyonlardan ekim yapılacaktır, kuruyan yüzeye 15 dakika geçmeden 2000 µg/ml konsantrasyonunda hazırlanan çözeltilerden 0.02 ml damlatılacaktır. Standart madde olarak kullanılan ilaçlarda aynen uygulanacaktır. Oda sıcaklığında 10-15 dakika bekletilen petrilere 35 °C'de 16-20 saat inkübasyona kaldırılacak, süre sonunda oluşan zon çaplarına göre mm olarak ölçülerek değerlendirilecektir.

### **Makrodilüsyon Broth Yöntemi;**

Besiyerleri: Mikroorganizmaları üretmek için Tryptic Soy Agar besiyeri kullanılacak, mikroorganizmaların belirli konsantrasyonlarda süspansiyonlarını hazırlamak ve maddelerin çift katlı dilüsyonlarını yapmak için "Mueller-Hinton Broth" hazır besiyeri (Difco) kullanılacaktır. Dehidro besiyeri 21g tartılıp 1000 ml distile suda çözülecek, ortamın pH = 7.2-7.4 olacak şekilde ayarlandıktan sonra otoklavda 121 °C de 15 dakika sterilize edilecektir.

Difüzyon yönteminde bakteri ve fungus suşlarına karşı aktivite gösterdiği tespit edilen bileşikler ve referans ilaçlar için "Makrodilüsyon Broth Yöntemi" uygulanacaktır. Bileşiklerin tartımları yapılarak steril distile suda hazırlanan % 50'lik DMSO'da çözülecek ve son konsantrasyonu ilk tüpte 100 µg/ml olacak şekilde besiyeri ve bakteri süspansiyonu ile ayarlanacaktır.

Her madde için hazırlanan seri tüpler 1'er ml Mueller-Hinton Broth besiyeri aseptik şartlarda bölünecek, serinin ilk tüpüne hazırlanan ana madde çözeltilisinden 1 ml ilave edilecek ve iki kat seri dilüsyonları yapılacaktır. Diğer tarafta TSA plaklarında 18-20 saatlik kültürü yapılan mikroorganizmaların 5 ml steril serum fizyolojik içinde McFarland 0.5'e göre hazırlanan süspansiyonlarından hareketle Mueller-Hinton sıvı besiyerinde  $1.10^6$  CFU/ml olacak şekilde dilüsyonları yapılacaktır ve hazırlanmış olan sentezlenen madde dilüsyon serisinin her tüpü içine 1'er ml mikroorganizma

süspansiyonu eklenecektir. Tüpler 35 °C'de 16-20 saat inkübe edilecek, inkübasyon süresi sonunda üremenin görülmediği son tüpteki konsantrasyon Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) olarak belirlenecektir.

### ***HeLa hücreleri için uygun kültür ortamının hazırlanması;***

Bu çalışmada sentezlenecek olan bütün antibakteriyel özellik göstermesi beklenen moleküllerin sitotoksisite testlerinin tamamı HeLa hücrelerinde gerçekleştirilecektir. Bu nedenle öncelikle HeLa hücrelerinin kültür ortamında çoğaltılması gerekmektedir.

Lamina flow altında steril koşullarda 440 ml F12 HAM 500 ml lik steril bir şişeye aktarılır ve üzerine 10 ml antibiyotik (streptomisin/penisilin) ve 50 ml fatal bovin serum ilave edilerek hafifçe çalkalanarak karıştırılır. Böylece HeLa hücreleri için uygun kültür ortamı hazırlanmış olur (Bundan sonraki ana başlıklar altında sözü edilen "hücreler" hep HeLa hücreleridir)

### ***Hücrelerin Azot tankından alınması;***

Azot içerisinde bekletilen hücreler (1-3 milyon hücre/1.5 ml) çalışmadan önce azot tankından alınır ve 37°C de çözülmesi sağlanır. Daha sonra laminar flow altında (steril koşullarda) 10 ml (37°C) F12 HAM içerisine aktarılarak (15 ml lik steril santrifüj tüpleri kullanılır) 1300 – 1500 rpm de 5 dk santrifüj edilir (oda sıcaklığında). Santrifüj sonrasında kalan supernatant pastör pipetle yine steril koşullarda atılır ve hücrelerin üzerine 10 ml F12 HAM ilave edilerek hafifçe vortexlenir. Hücrelerin F12 HAM içerisinde homojen bir şekilde karışması sağlandıktan sonra yine steril koşullarda içerisinde 10 ml F12 HAM bulunan uygun büyüklükteki kültür flask ının içerisine aktarılarak inkübatöre (37°C, %5 CO<sub>2</sub>) kaldırılır.

İki gün sonra inkübatördeki flask alınır ve steril koşullar altında medyum pastör pipet ile vakumlanarak atılır. Hemen ardından 1 ml tripsin (37°C) ile flask yıkanır ve yine pastör pipet ile tripsin vakumlanarak uzaklaştırılır. İkinci kez 1 ml tripsin ilave edilir ve 30 sn çalkalandıktan sonra tripsin tekrar vakumla uzaklaştırılır ve flask hemen inkübatöre (37°C, %5 CO<sub>2</sub>) kaldırılarak 2.5 dk bekletilir. Süre sonunda inverted mikroskop ile hücrelerin çözünüp çözünmediği incelenir. Eğer çözünmüşler ise üzerlerine laminar flow altında 10 ml F12 HAM ilave edilerek tüm hücrelerin bu medyum içerisinde çözünmesi sağlanır. Daha sonra içinde hücrelerin çözünmüş olduğu bu medyum 15 ml lik steril bir santrifüj tüpüne aktarılır ve hücre sayımı yapılır. Sayım sonucunda 10 cm lik petri içerisinde 2 x 10<sup>6</sup> hücre / 10 ml F12 HAM olacak şekilde, uygun miktarda hücre süspansiyonu 15 ml lik santrifüj tüpünden alınarak 10 cm lil petri içerisine aktarılır ve üzerine toplam hacim 10 ml olacak şekilde F12 HAM ilave edilir. Petri bu şekilde inkübatöre (37°C, %5 CO<sub>2</sub>) kaldırılır. Böylece hücreler 1 kez pasajlanmış olur.

Hücreler bu şekilde en az 2 kere pasajlandıktan sonra sitotoksisite testlerinde kullanılabilir.

### ***Sitotoksisite Testleri***

Sentezlenmiş olan antibakteriyel etkili moleküller için 2 farklı sitotoksisite test yöntemi uygulanacaktır. Bunlardan birincisi “Neutral Red Uptake Cytotoxicity Test” adıyla bilinen ve yaşayan hücrelerin neutral red i bağlama kapasitesini ölçmeye dayanan bir test yöntemidir. İkincisi ise direkt olarak ortamdaki canlı hücrelerin sayılmasına yönelik bir testdir.

#### ***Sitotoksisite Testi I (Neutral Red Uptake, “NRU”)***

1. Gün: 2.5.2. de anlatıldığı şekilde hazırlanmış olan hücreler kullanılarak F12 HAM içerisinde  $1 \times 10^5$  hücre/ml olacak şekilde hücre süspansiyonu oluşturulur. Daha sonra steril koşullarda 96-well plakanın sadece kenardaki kuyucuklarına 100  $\mu$ l F12 HAM ilave edilir (blank). Kalan diğer kuyucuklara  $1 \times 10^5$  hücre/ml lik hücre süspansiyonundan 100 er  $\mu$ l aktarılır ( $1 \times 10^4$  hücre/kuyucuk). Test edilecek her antibakteriyel molekül için bu şekilde 1 adet 96-well plaka hazırlanır. Bu şekilde hazırlanan plakalar 24 saat inkübe edilir ( $37^\circ\text{C}$ , %5  $\text{CO}_2$ ).

2. Gün: 24 saat sonra 96-well plaka alınır ve steril koşullarda F12 HAM steril pastör pipet yardımı ile vakumlanarak atılır. Daha sonra kuyucuklara, artan konsantrasyonlarda test edilen antibakteriyel molekülü içeren, F12 HAM den 100 er  $\mu$ l koyulur (bu aşamada sodyum lauril sülfat çözeltisi pozitif kontrol olarak kullanılabilir). Bu şekilde hazırlanan 96-well plaka tekrar 24 saat inkübasyona ( $37^\circ\text{C}$ , %5  $\text{CO}_2$ ) bırakılır.

3. Gün: 24 saat sonra hücreler 150  $\mu$ l PBS ( $37^\circ\text{C}$ ) ile tüm hücreler yıkanır ve PBS vakum ile uzaklaştırılır. Daha sonra her bir kuyucuğa 100 er  $\mu$ l Neutral Red (NR) ilave edilir ve ( $37^\circ\text{C}$ , %5  $\text{CO}_2$ ) 3 saat inkübasyona bırakılır. Inkübasyon sonrasında NR vakumlanarak atılır ve hücreler 150  $\mu$ l PBS ( $37^\circ\text{C}$ ) ile yıkanır. Bu işlem sonrasında PBS vakumlanarak atılır ve herbir kuyucuğa 150  $\mu$ l Etanol/Asetik Asit çözeltisi ilave edilir. Bu aşamada 96-well plaka 10 dakika mikropilaya çalkalayıcısında çalkalanır. Çalkalama sonrasında oluşan renkli çözeltinin absorpsiyonu 540 nm de uygun bir mikropilaya okuyucu spektrofotometrede okunur.

Bu işlemler sonrasında test edilen antibakteriyel molekül için bir doz-cevap eğrisi hazırlanmış olur. Bu doz cevap eğrisi kullanılarak test edilen molekül için  $\text{IC}_{50}$  (NR nin açığa çıkmasında %50 oranında azalmaya sebep olan konsantrasyon) değeri hesaplanır. Bu değere bağlı olarak test edilen kimyasal maddenin sitotoksik etki



gösterdiği konsantrasyonlarda gösterilmiş olur. Ayrıca test edilen molekül için elde edilen IC<sub>50</sub> değeri, benzer yapıdaki diğer moleküllerin IC<sub>50</sub> değerleri ile karşılaştırılarak hangisinin daha toksik olduğu hakkında da bilgi edinilebilir.

Aşağıda NRU sitotoksitesite testinin her bir sentezlenen molekül için 96-well plaka da nasıl dizayn edileceği gösterilmiştir.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
B	b	NC	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	PC	b
C	b	NC	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	PC	b
D	b	NC	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	PC	b
E	b	NC	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	PC	b
F	b	NC	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	PC	b
G	b	NC	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	PC	b
H	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b

b = Blank

NC = Negatif kontrol (Hücrelerin bu kuyucuktaki canlılık oranı %100 kabul edilecektir)

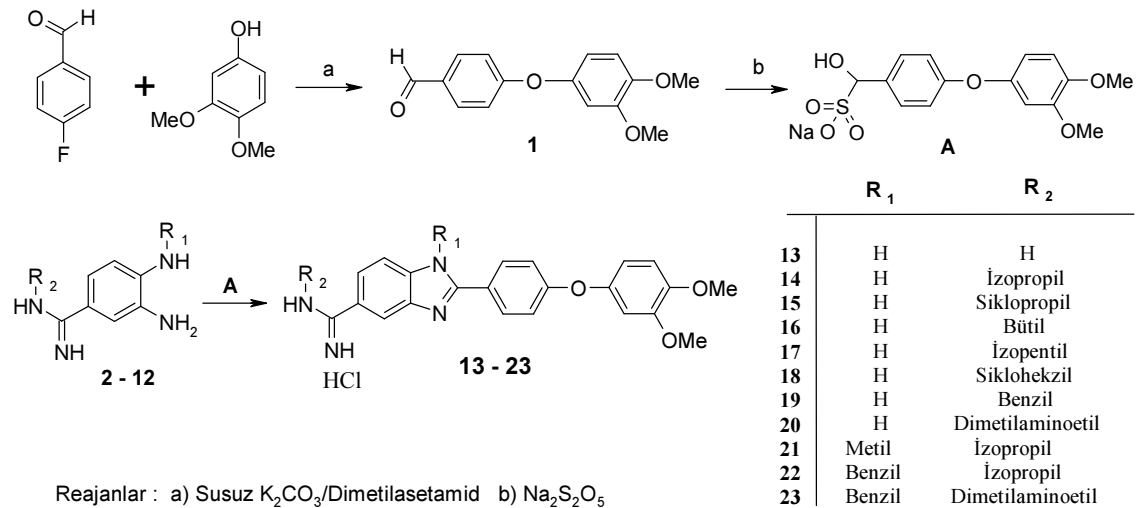
PC = Sodyum Lauril Sülfat pozitif kontrol olarak kullanılacaktır.

C1 - C8 = Test edilen molekülün düşükten yükseğe doğru 8 farklı konsantrasyonu.

## IV. Analiz ve Bulgular

Çalışmamızın evvelki bölümünde vermiş olduğumuz maddelerin sentez, yapı aydınlatmaları, antimikrobiyal ve antiparaziter etkileri ile sitotoksiteleri, European Journal of Medicinal Chemistry mecmuasında yayınlanmış ve çalışmanın bir kopyası ekte sunulmuştur. Projemizin ilerleyen bu bölümünde, evvelce bahsetmiş olduğumuz amidino benzimidazol yapısı taşıyan ancak halojen de içermemesi nedeniyle daha az sitotoksik olabileceğini düşündüğümüz, C-2 konumunda 4-(3,4-dimetoksifenoksi)fenil bulunan bir seri N-süstitüe yeni 1*H*-Benzimidazol karboksiamidin türevlerini ilaveten hazırlamayı ve bunların antimikrobiyal etkileri ile birlikte sitotoksitelerini projemiz kapsamında incelemeyi planladık.

Hedeflenen bileşiklerin sentezinde Şema-1 de görüldüğü üzere, önce p-fluorobenzaldehit'in 3,4-dimeksifenol ile reaksiyonuyla bileşik **1** elde edilmiştir. Daha sonra bu bileşiğin sodyum metabisülfid katım ürünü (**A**) hazırlanarak, bu katım ürünü (**A**)'nün çeşitli N-(süstitüe)-1,2-fenilendiamin-karboksamidin türevi bileşikler (**2-13**) ile siklizasyon reaksiyonu sonucunda hedeflenen bileşiklere (**3-13**) ulaşılmıştır. Sonuç ürünlere ait fiziksel ve spektral veriler Tablo 1'de görülmektedir.



**Şema 1- 1,N-di-süstitüe-1*H*-benzimidazolkarboksamidin türevi bileşiklerin (**13-23**) sentezi**

**Tablo 1 .** Sonuç ürünlere (Bileşik **13 -23**) ait fiziksel ve spektral veriler

<b>No</b>	<b>Verim (%)</b>	<b>E.n. (°C)</b>	<b>1H-NMR (<math>\delta</math> ppm)</b> 400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub>	<b>13C-NMR (<math>\delta</math> ppm)</b> 100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub>	<b>Mass (M+1)</b> (ESI+)
<b>13</b>	36	180 (bubling)	3.72(s,3H), 3.74(s,3H), 6.58(dd,J <sub>o</sub> =8.5,J <sub>m</sub> =2.7,1H), 6.78(d,J=2.7,1H), 6.98(m,3H), 7.41(dd, J <sub>o</sub> =8.4, J <sub>m</sub> =2,1H), 7.5(d,J=8.4,1H), 7.98(d,J=1.6,1H), 8.21(d,2H)	56.3, 56.6, 105.6, 111.5, 113.3, 115.5, 116.1, 117.5, 119.6, 120.3, 129.1, 144 .6, 146.2, 148.5, 150, 150.5, 159.2, 159.9, 166.52	389 (100%)
<b>14</b>	32	295-298	1.28(d,6H), 3.73(s,3H), 3.75(s,3H), 4.12(m,1H), 6.68 (dd,J <sub>o</sub> =8.5,J <sub>m</sub> =2.7,1H), 6.83(d,J=2.7,1H), 7.0 (d,J=8.4,1H), 7.16(d,J=8.8,2H), 7.74(d,J <sub>o</sub> =8.4,1H), 7.89(d, J=8.5,1H), 8.1(s,1H), 8.52(d,J=8.6,2H), 9.25(s,1H), 9.62(s, 1H), 9.77 & 9.8 (1H).	21.9, 45.9, 56.4, 56.6, 106.2, 112.3, 113.3, 114.8, 115.6, 117.9, 118.8, 125.5, 126, 131.3, 133.9, 137.1, 146.9, 148.6, 150.7, 152.1, 162.3, 162.8.	431 (100%)
<b>15</b>	41	294-296	0.872(m,2H), 0.99(m,2H), 2.82(m,1H), 3.76(s,3H), 3.78(s,3H), 6.70(dd,J <sub>o</sub> =8.5, J <sub>m</sub> =2.7,1H), 6.85(d,J=2.7,1H), 7.03(d,J=8.2,1H), 7.18(dd, J=8.8,2H), 7.74(dd,J=8.4, J=2.1,1H), 7.89(d, J=8.6,1H), 8.14(d,J=1.8,1H), 8.44(d,J=8.4,2H), 9.23(s, 1H), 9.81(s,1H), 10.13(s)		429 (100%)
<b>16</b>	32	270 (bubling)	0.95(t,3H), 1.42(m,2H), 1.66(m,2H), 3.44(m,2H), 3.75(s,3H), 3.78(s,3H), 6.68(dd, J <sub>o</sub> =8.5,J <sub>m</sub> =2.7,1H), 6.84(d,J=2.7,1H), 7.01(d,J=8.4,1H), 7.12(d, J=8.8,2H), 7.6 (dd,J <sub>o</sub> =8.4,J=1.8,1H), 7.79(d, J=8.5,1H), 8.05(s,1H), 8.32(d,J=8.6,2H), 9.07(s,1H), 9.49(s,1H), 9.79(1H).	20.2, 26.2, 30.1, 43.2, 56.4, 56.6, 106.0, 112.1, 113.3, 117.9, 122.9, 123.3, 123.6, 129.8, 146.6, 149.3, 150.7, 154.3, 161.1, 164.1	445 (100%)
<b>17</b>	26	303-305	0.95(d,6H), 1.59(m,2H), 1.71(m,1H), 3.44(m,2H), 3.75(s,3H), 3.78(s,3H), 6.68 (dd,1H,J <sub>o</sub> =8.5, J <sub>m</sub> =2.7,1H), 6.85(d,J=2.7,1H), 7.03(d,J=8.4,1H), 7.17(d,J=8.8,2H), 7.69(dd,J <sub>o</sub> =8.4,J=1.3,1H), 7.79(d, J=8.5,1H), 8.09(d,J=1.3,1H), 8.37(d,J=8.6,2H), 9.09(s,1H), 9.56(s,1H), 9.83(1H).		459 (100%)
<b>18</b>	42	298-299	1.1-2(m,10H), 3.65(m,1H), 3.75(s,3H), 3.78(s,3H), 6.68(dd,J <sub>o</sub> =8.5,J <sub>m</sub> =2.7,1H), 6.83(d,J=2.7,1H), 7.01(d, J=8.4,1H), 7.16(d,J=8.8,2H), 7.69(dd,J <sub>o</sub> =8.4, J=1.3,1H), 7.86(d,J=8.5,1H), 8.07(d,J=1.3,1H), 8.45(d,J=8.6,2H), 9.25(s,1H), 9.56(s,1H), 9.68 & 9.71(1H).	25, 25.5, 26.3, 31.8, 52.8, 56.5, 56.7, 106.15, 112.3, 113.3, 114.9, 115.8, 117.9, 119.7, 125.1, 125.6, 131, 146.9, 148.7, 150.7, 152.5, 162.5, 162.6.	471 (100%)

<b>19</b>	37	297-298	3.73(s,3H), 3.75(s,3H), 4.74(d,2H), 6.68(dd,J <sub>o</sub> =8.5, J <sub>m</sub> =2.7, 1H), 6.83(d,J=2.7,1H), 7.01(d,J=8.4,1H), 7.16(d,J=8.8,2H), 7.32(m,1H), 7.38(m,2H), 7.48(d,2H), 7.79(dd,J <sub>o</sub> =8.4,J=1.1,1H), 7.92(d,J=8.5, 1H), 8.19(d,1H), 8.47(d,J=8.8,2H), 9.44(s, 1H), 9.8(s,1H), 10.5(1H).	46.4, 56.4, 56.6, 106.2, 112.3, 113.3, 115, 115.8, 117.9, 119.4, 125.2, 125.3, 128.5, 129.3, 131.1, 134.7, 136.3, 137.9, 146.9, 148.7, 150.7, 152.5, 162.6, 163.6.	479 (100%)
<b>20</b>	31	260-265 (bubling)	2.88(s,3H), 2.9(s,3H), 3.49(q,2H), 3.76(s,3H), 3.79(s,3H), 3.99(q,2H), 6.70(dd, J=8.4, J=2.8, 1H), 6.87(d, J=2.8, 1H), 7.03(d, J=8.8, 1H), 7.20(d, J=9.2, 2H), 7.94(m, 2H), 8.3(s, 1H), 8.53(d, J=8.8, 2H), 9.78(s, 1H), 10.0(s, 1H), 10.3(t, 1H), 11.0(1H).	38.8, 42.9, 54.6, 56.5, 56.6, 106.2, 112.4, 113.3, 114.8, 115.9, 117.9, 118.9, 125.6, 125.7, 131.3, 134.1, 137.4, 146.9, 148.6, 150.7, 152.2, 162.8, 163.9	460 (100%)
<b>21</b>	33	295	1.31(d,6H), 3.76(s,3H), 3.78(s,3H), 3.97(s,3H), 4.12(m,1H), 6.68(dd,J <sub>o</sub> =8.5, J <sub>m</sub> =2.7, 1H), 6.86 (d,J=2.7, 1H), 7.01(d,J=8.4, 1H), 7.13(d, J=8.8, 2H), 7.69(d,J <sub>o</sub> =8.4, 1H), 7.91(m,3H), 8.14(s, 1H), 9.09(s, 1H), 9.46(s, 1H), 9.57 & 9.59(1H).		445 (100%)
<b>22</b>	39	105 (bubling)	1.27(d,6H), 3.71(s,3H), 3.74(s,3H), 4.15(m,1H), 5.76(s,2H), 6.65(dd,J <sub>o</sub> =8.5, J <sub>m</sub> =2.7, 1H), 6.81(d,J=2.7, 1H), 7.0(d,J=8.4, 1H), 7.11(m,4H), 7.27(m,3H), 7.74 (d,J=8.8, 1H), 7.84(d,J <sub>o</sub> =8.4, 3H), 8.23(s, 1H), 9.34(s, 1H), 9.6(s, 1H), 9.75 & 9.77(1H).		521 (100%)
<b>23</b>	34	100 (bubling)	2.86(s,3H), 2.87(s,3H), 3.47(q,2H), 3.72(s,3H), 3.75(s,3H), 3.98(q,2H), 5.77(s, 2H), 6.46(dd, J=8.4, J=1.8, 1H), 6.82(d, J=2.4, 1H), 6.99(d, J=8.8, 1H), 7.11(m, 4H), 7.29(m, 3H), 7.86(m, 3H), 7.93(d, J=8.8, 1H), 8.4(s, 1H), 9.81(s, 1H), 9.94(s, 1H), 10.3(1H), 11.1(s, 1H)	38.8, 43, 49.1, 54.6, 56.5, 56.6, 106.2, 112.3, 113.3, 117.8, 118.7, 120.1, 125.3, 125.4, 127.1, 128.7, 129.6, 132.5, 136.1, 136.9, 137.9, 146.9, 148.8, 150.7, 154.6, 161.8, 163.9	550 (100%)

**Tablo 2.** Bileşik 13 – 23'e ait Formüller, İzolasyon yöntemleri, Elementel analiz ve Antimikrobiyal etki sonuçları.

No	Formüller	Elementel Analiz Hesaplanan Bulunan	İzolasyon Kolon Kromatografisi	Büyüme İnhibisyon	
				Zonları <i>S. aureus</i> MRSA (ATTC25923) (ATTC43300)	
13	$C_{22}H_{20}N_4O_3 \cdot 1.5HOH$	C: 63.60 H: 5.58 N: 13.48 C: 63.67 H: 5.21 N: 13.16	$CHCl_3 : MeOH : NH_3$ (110 : 40 : 5)	13	12
14	$C_{25}H_{26}N_4O_3 \cdot 3HCl$	C: 55.6 H: 5.41 N: 10.38 C: 55.2 H: 5.08 N: 10.37	$CH_2Cl_2 : İzopropanol : NH_3$ (60 : 30 : 2)	16	14
15	$C_{25}H_{24}N_4O_3 \cdot 2.1HCl$	C: 59.45 H: 5.20 N: 11.09 C: 59.36 H: 4.70 N: 11.19	$CH_2Cl_2 : İzopropanol : NH_3$ (60 : 30 : 2)	15	13
16	$C_{26}H_{28}N_4O_3 \cdot 1.5HCl \cdot 0.25C_3H_8O$	C: 62.47 H: 6.17 N: 10.89 C: 62.62 H: 5.79 N: 10.82	$CH_2Cl_2 : İzopropanol : NH_3$ (60 : 30 : 2)	14	13
17	$C_{27}H_{30}N_4O_3 \cdot 2HCl$	C: 61.02 H: 6.07 N: 10.54 C: 61.05 H: 5.51 N: 10.63	$CH_2Cl_2 : İzopropanol : NH_3$ (60 : 30 : 2)	13	12
18	$C_{28}H_{30}N_4O_3 \cdot 2HCl \cdot 0.1HOH$	C: 61.67 H: 5.95 N: 10.28 C: 61.42 H: 5.43 N: 10.31	$CH_2Cl_2 : İzopropanol : NH_3$ (60 : 30 : 2)	13.5	12
19	$C_{29}H_{26}N_4O_3 \cdot 2.2HCl$	C: 62.33 H: 5.08 N: 10.03 C: 62.06 H: 4.67 N: 10.09	$CH_2Cl_2 : İzopropanol : NH_3$ (60 : 30 : 1)	12	11.5
20	$C_{26}H_{29}N_5O_3 \cdot 4HCl \cdot 0.5HOH$	C: 50.82 H: 5.57 N: 11.40 C: 50.73 H: 5.07 N: 11.53	$CHCl_3 : MeOH : NH_3$ (110 : 40 : 5)	12.5	10
21	$C_{26}H_{28}N_4O_3 \cdot$	C: 62.55 H: 5.95 N: 11.22	$CH_2Cl_2 : İzopropanol :$	10	10

	1.5HCl	C: 62.83 H: 5.73 N: 11.25	NH <sub>3</sub> (60 : 30 : 1)		
22	C <sub>32</sub> H <sub>32</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> . 2.75HCl . 0.5C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O	C: 61.81 H: 6.00 N: 8.60 C: 61.60 H: 6.20 N: 8.54	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : İzopropanol : NH <sub>3</sub> (100 : 50 : 2)	10	12
23	C <sub>33</sub> H <sub>35</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub> . 4.25HCl . 0.5C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O	C: 56.40 H: 5.94 N: 9.53 C: 56.12 H: 6.12 N: 9.66	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : İzopropanol : NH <sub>3</sub> (100 : 50 : 2)	11	11
<b>Ampisilin</b>				14	9
<b>Sultamisilin</b>				16	10

## DENEYSEL KISIM

### *Farmasötik Kimya;*

Erime noktası tayini, Büchi B-540 kapiller erime noktası cihazı ile yapılmış ve sonuçlar düzeltilmeden verilmiştir. NMR spektrumları, Varian Mercury-400 FT-NMR spektrometresinde gerçekleştirilmiştir, kimyasal kayma ( $\delta$ ) değerleri TMS'ye göre ppm olarak belirtilmiştir. Kütle (Mass) analizleri, Waters ZQ mikromass LC-MS spektrometresinde, Elektrospray İyonizasyon (ESI+), yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Elementel analizler, Leco CHNS 932 Elementel analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Yukarıda bahsedilen bütün enstrümental analizler Fakültemiz Merkez Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

*4-(3,4-(Dimetoksi)fenoksibenzaldehit* <sup>[5]</sup> (**1**)'in sentezi :

4-Fluorobenzaldehit (2.48 g, 20 mmol), 3,4-dimetoksifenol (3.08 g, 20 mmol) ve susuz K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4.14g, 30 mmol), 10 mL Dimetilasetamid içerisinde 90 °C'de 5 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon ortamının soğutulması ile çöken ürün süzüldü ve kurutuldu. Kolon kromatografisi (EtOAc/n-Hekzan 10:50) ile bileşik **1** (2.1g ; 40.1 %) elde edildi. En, 115°C. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$  ppm CDCl<sub>3</sub> : 3.84(s,3H), 3.89(s,3H), 6.65(m,2H), 6.85(d, J=8.4,1H), 7.01(d,J=8.2,2H), 7.8(d,J=8.4,2H), 9.9(s,1H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$  ppm : 56.3, 56.5, 105.4, 112.1, 112.3, 117.1, 131.2, 146.7, 148.7, 150.4, 164.2, 190.9. Mas ESI(+) m/z : 259(M+1, 100) .

*Bileşik 13–23 için genel sentez yöntemi :*

Bileşik 1 (1.935g, 7.5 mmol), EtOH (25 mL) içerisinde çözüldü. Üzerine sodyum metabisülfid'in (0.8 g) 5 ml sudaki çözeltisi porsiyonlar halinde eklendikten sonra reaksiyon ortamının şiddetli bir şekilde karışması sağlandı. Üzerine bir miktar daha EtOH eklendikten sonra birkaç saat buzdolabında bekletildi. Çöken katım ürünü süzüldü ve kurutuldu. Elde edilen aldehit katım ürünü **A** (0.181g, 0.5 mmol) ile bileşik **2 – 12**'nin DMF (2 mL) içerisinde 120 °C'de 4 saat karışmadı sağlandı. Daha sonra reaksiyon ortamı soğutuldu ve buzlu su üzerine döküldü. Çöken ürün süzüldü, kurutulduktan sonra çeşitli saflaştırma metodları (Tablo 2) kullanılarak sonuç ürünlere ulaşıldı.

### ***Mikrobiyoloji;***

*Antistafilokokal* aktivite tayinleri disk difüzyon yöntemi ile fakültemiz Mikrobiyoloji anabilim dalında Prof. Dr. Sulhiye Yıldız tarafından ilk denemeler olarak yapılmış ve disk difüzyonda en etkili olan iki türevin MİK değerleri saptanmıştır.

### ***Farmasötik Toksikoloji;***

Antimikrobiyal etki göstremesi amacıyla Farmasötik Kimya tarafından sentezlenmiş ve 13 – 23 arasındaki numaralar ile numaralanmış kimyasal maddelerin sitotoksisite test edilmiş ve her birinin IC<sub>50</sub> değerleri tespit edilmiştir. Kimyasal maddelerin IC<sub>50</sub> değerleri HeLa hücreleri kullanılarak "Neutral Red Uptake, NRA" testi kullanılarak tespit edilmiştir. Detaylı protokol aşağıda verilmiştir.

## **1. GÜN**

1. Flaskda hücre sayılmış ve 1 ml/100.000 hücre olacak şekilde 96 well için gerekli hücre miktarı hesaplanmıştır.
2. Gerekli hacimde medyum hazırlandı.
3. Hazırlanmış olan medyum 1. ve 12. sütunlar hariç her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde koyulmuştur (Böylece her kuyucuğa 10.000 hücre koyulmuştur).
4. 1. ve 12. sütunlara içerisinde % 10 protein içeren medyumdan 100 µl koyulmuştur (şematik gösterimi aşağıdadır).

1a	2a	3a	4a	5a	6a	7a	8a	9a	10a	11a	12a
1b	2b	3b	4b	5b	6b	7b	8b	9b	10b	11b	12b
1c	2c	3c	4c	5c	6c	7c	8c	9c	10c	11c	12c
1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d
1e	2e	3e	4e	5e	6e	7e	8e	9e	10e	11e	12e
1f	2f	3f	4f	5f	6f	7f	8f	9f	10f	11f	12f
1g	2g	3g	4g	5g	6g	7g	8g	9g	10g	11g	12g
1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	9h	10h	11h	12h

**Hesaplama :**

1 well için gerekli medyum miktarı

$$12 \times 8 = 96$$

$$96 \times 100 \mu\text{l} = 9600 \mu\text{l}$$

$$2 \text{ well için gerekli medyum miktarı} \rightarrow 9600\mu\text{l} \times 2 = 19200 \mu\text{l} = 19,2 \text{ ml}$$

Kayıpları da göze alarak 2 well için ml sinde 100.000 hücre içeren 25 ml medyum hazırlanmıştır.

Örnek : 10 ml de 8.000.000 hücre varsa

$$2.500.000 \text{ hücre } 3.125 \text{ ml}$$

3.125 ml hücreli medyundan alınmış ve % 10 luk medyumla 25 ml ye tamamlanmıştır.

25 ml bu çözümden 1. ve 12. sütunlar dışında diğer sütunlara 100  $\mu\text{l}$  şer koyulmuştur.

- 5 mg kimyasalı (13- 23) 1 ml DMSO da çözdüm ve karanlık bir ortamda saklanmıştır.
- 1 mg SDS yi (pozitif kontrol) 5 ml % 5 lik medyumda çözülmüştür. ( 200  $\mu\text{g}$  / ml )



## 2. GÜN

1. Hazırlanmış olan SDS süzüp konsantrasyonları ayarlanmıştır.
2. Well içerisine koymulmuş olan % 10 luk medyum aspire edilmiştir.
3. 1., 2., 11. ve 12. sütunlara % 5 lik medyumdan 100 µl şer ilave edilmiştir.
4. Hazırlanmış olan 8 farklı konsantrasyondaki SDS küçük konsantrasyondan büyük konsantrasyonlara doğru sütunlar halinde koyulmuştur (Her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde).

1. sütun : blank
2. sütun : control
3. sütun : 200 µg/ml
4. sütun : 100 µg/ml
5. sütun : 68,1 µg/ml
6. sütun : 46,4 µg/ml
7. sütun : 31,6 µg/ml
8. sütun : 21,5 µg/ml
9. sütun : 14,7 µg/ml
10. sütun : 10 µg/ml
11. sütun : control
12. sütun : blank

5. 5 mg kimyasal madde (13 – 23) 1 ml DMSO da çözerek hazırlanmıştır. Daha sonra filtreden süzerek (0.2 µm) sterilize edilmiştir.
6. Bu steril çözeltilerden 200 ml alınmış ve 5 ml ye % 5 lik medyumla tamamlanmıştır.
7. Well içerisine koymuş olduğum % 10 luk medyum aspire edilmiştir.
8. 1., 2., 11. ve 12. sütunlara % 5 lik medyumdan 100 er µl ilave edilmiştir.
9. Hazırlanmış olduğum 8 farklı konsantrasyondaki kimyasal madde küçük konsantrasyondan büyük konsantrasyonlara doğru sütunlar halinde koyulmuştur (Her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde).
10. % 2 DMSO hazırlanmıştır (çözücü kontrolü). ( 0.2 ml steril DMSO + 9.8 ml %5 lik medyum )

1. sütun : blank
2. sütun : control
3. sütun : 100 µg/ml
4. sütun : 56,23 µg/ml
5. sütun : 31,62 µg/ml
6. sütun : 17,78 µg/ml
7. sütun : 10 µg/ml
8. sütun : 5,62 µg/ml
9. sütun : 3,16 µg/ml
10. sütun : 1,78 µg/ml
11. sütun : % 2 DMSO
12. sütun : blank

11. 300 ml PBS hazırlanmıştır. ( 3 PBS tableti+ 0.03 g CaCl<sub>2</sub> + 0.03 MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O → 300 ml ye distile su ile tamamlanmıştır. )

12. 80 ml Neutral Red Medyum hazırlanmıştır (1 ml NR stock solution + 9.48 ml distile su + 69.52 ml protein ve penisilin / streptomisin içermeyen medyum). Bun 37 °C de muhafaza edilmiştir.

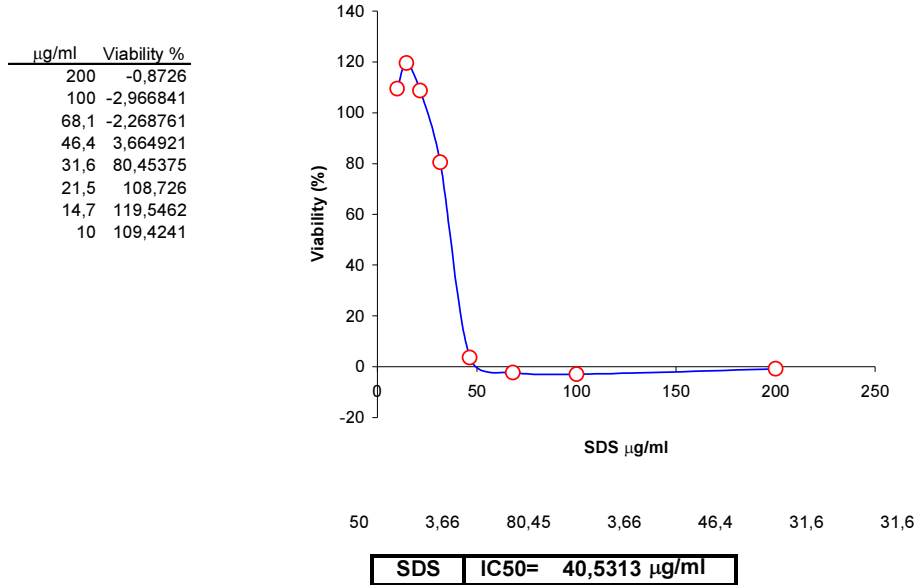
### 3. GÜN

1. Well içindeki % 5 lik medyumunu aspire edilmiştir.
2. 150 µl PBS ile yıkanmıştır.
3. PBS aspire edilmiştir.
4. 100 µl NR medyum ilave edilmiştir.
5. 37 °C, %5 CO<sub>2</sub> de 3 saat inkübe edilmiştir.
6. 3 saatin bitimine 15 dakika kala 150 ml ETOH / Acetic asid solution ( NR desorbing ) (1.5 ml glasiyal asetik asit solution + 75 ml ethanol + 73.5 ml distile su ) hazırlanmıştır.
7. 3 saat sonra NR medyumunu aspire edilmiştir.
8. 150 µl PBS ile yıkanmıştır.
9. PBS aspire edilmiştir.
10. 96 well plakalar tersbir şekilde santrifüje yerleştirilerek 2500 g de 5 dakika santrifüj ederek kalan PBS in kuruması sağlanmıştır.
11. 150 µl NR desorb ilave edilmiştir.
12. 10 dk çalkalanmıştır.
13. 96 well plakalar 540 nm de UV spektrofotometresinde okunmuştur.

Yukarıdaki protokol tüm sentezlenen kimyasal maddelere uygulanmıştır. Buna göre kimyasal maddeler için elde edilen IC<sub>50</sub> değerleri aşağıda gösterilmiştir.

Çalışmamızda “Pozitif Kontrol” olarak SDS kullanılmıştır. SDS için elde etmiş olduğumuz sonuçlar kurmuş olduğumuz sistemin doğru çalıştığını göstermektedir.

SDS		Plate:	Plate#1	1,3 PlateForm: Endpoint	Absorbanc Raw	FALSE	1				
		Temperature(°C)	25,5	540							
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	200	100	68,1	46,4	31,6	21,5	14,7	10	VC	B
0,042	0,119	0,043	0,044	0,041	0,042	0,114	0,122	0,126	0,119	0,136	0,039
0,04	0,1	0,069	0,039	0,039	0,044	0,1	0,122	0,128	0,133	0,16	0,041
0,042	0,104	0,041	0,04	0,041	0,044	0,109	0,111	0,131	0,118	0,151	0,042
0,042	0,117	0,043	0,04	0,041	0,046	0,1	0,117	0,147	0,119	0,146	0,045
0,041	0,122	0,042	0,042	0,041	0,046	0,099	0,118	0,116	0,118	0,182	0,045
0,04	0,114	0,042	0,04	0,041	0,045	0,093	0,136	0,119	0,129	0,134	0,044
0,043	0,077	0,042	0,044	0,052	0,056	0,094	0,105	0,148	0,122	0,087	0,045
0,04	0,093	0,041	0,042	0,041	0,045	0,102	0,1	0,12	0,107	0,141	0,043
0,04125	0,11425	0,042	0,0405	0,041	0,04525	0,10025	0,1205	0,12825	0,121	0,15325	0,044
VC ort:	0,13375										
Blank ort:	0,042625										

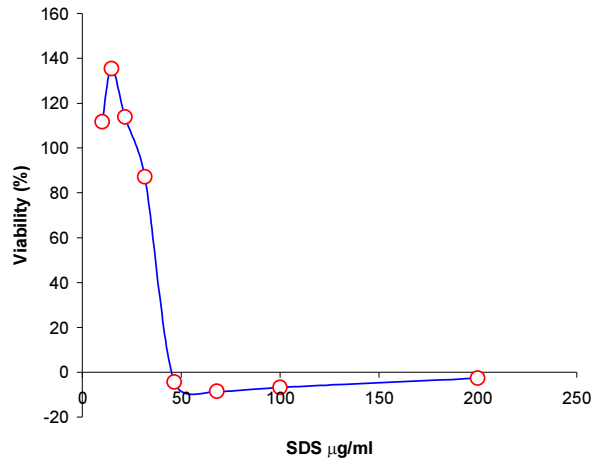


# SDS

Plate: Plate#1 1,3 PlateForm: Endpoint Absorbanc Raw FALSE 1  
 Temperature(°C) 25,5 540

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	200	100	68,1	46,4	31,6	21,5	14,7	10	VC	B
0,045	0,079	0,04	0,042	0,066	0,043	0,105	0,121	0,85	0,136	0,13	0,043
0,042	0,112	0,042	0,038	0,037	0,04	0,104	0,119	0,133	0,128	0,119	0,047
0,047	0,117	0,041	0,039	0,039	0,043	0,11	0,13	0,128	0,14	0,129	0,045
0,047	0,119	0,043	0,044	0,042	0,046	0,106	0,115	0,141	0,122	0,129	0,047
0,045	0,116	0,052	0,045	0,041	0,043	0,113	0,141	0,162	0,133	0,133	0,051
0,044	0,125	0,045	0,041	0,042	0,044	0,111	0,131	0,148	0,116	0,134	0,051
0,048	0,13	0,047	0,045	0,041	0,045	0,113	0,115	0,121	0,134	0,12	0,049
0,043	0,121	0,048	0,042	0,041	0,045	0,105	0,126	0,112	0,113	0,127	0,048
0,04575	0,11925	0,04525	0,04225	0,041	0,044	0,11	0,12925	0,14475	0,12775	0,13125	0,0485
VC ort:	0,12525										
Blank ort:	0,047125										

µg/ml	Viability %
200	-2,599653
100	-6,759099
68,1	-8,492201
46,4	-4,332756
31,6	87,17504
21,5	113,8648
14,7	135,3553
10	111,7851



50 0 87,175 0 46,4 31,6 31,6

**SDS IC50= 40,0887 µg/ml**

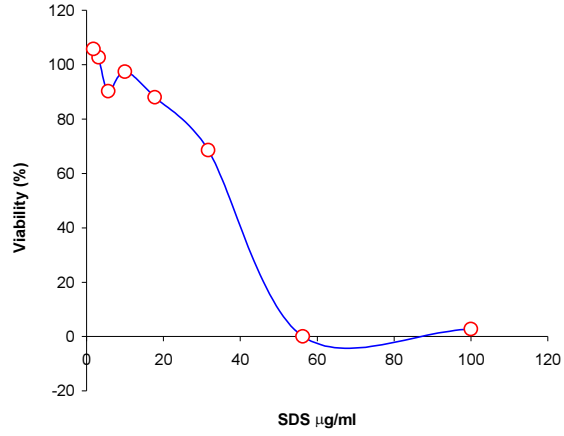
Test edilen kimyasal maddeler (13 – 23) için elde edilmiş olan sonuçlar.

**13**

Plate: Plate#1 1,3 PlateForm: Endpoint Absorbanc Raw FALSE 1  
Temperature(°C) 25,5 540

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	100	56,23	31,62	17,78	10	5,62	3,16	1,78	DMSO	B
0,041	0,201	0,053	0,043	0,146	0,167	0,17	0,173	0,174	0,185	0,145	0,049
0,038	0,212	0,045	0,04	0,145	0,184	0,19	0,194	0,202	0,198	0,185	0,044
0,039	0,204	0,044	0,041	0,147	0,162	0,191	0,196	0,218	0,196	0,167	0,043
0,041	0,182	0,053	0,043	0,148	0,163	0,183	0,178	0,193	0,192	0,165	0,043
0,044	0,171	0,046	0,043	0,12	0,149	0,18	0,157	0,163	0,194	0,154	0,043
0,046	0,202	0,044	0,044	0,159	0,215	0,19	0,171	0,201	0,211	0,146	0,042
0,039	0,194	0,048	0,044	0,125	0,179	0,17	0,177	0,176	0,21	0,159	0,043
0,042	0,199	0,047	0,042	0,146	0,19	0,196	0,194	0,179	0,209	0,15	0,041
0,0425	0,18975	0,04675	0,04275	0,1435	0,17225	0,186	0,1755	0,19375	0,19825	0,158	0,04275
VC ort:	0,173875										
Blank ort:	0,042625										

<u>µg/ml</u>	<u>Viability %</u>
100	2,803738
56,23	0,084962
31,62	68,56415
17,78	88,10535
10	97,45115
5,62	90,31436
3,16	102,7188
1,78	105,7774



50 0,085 68,56 0,085 56,23 31,62 31,62

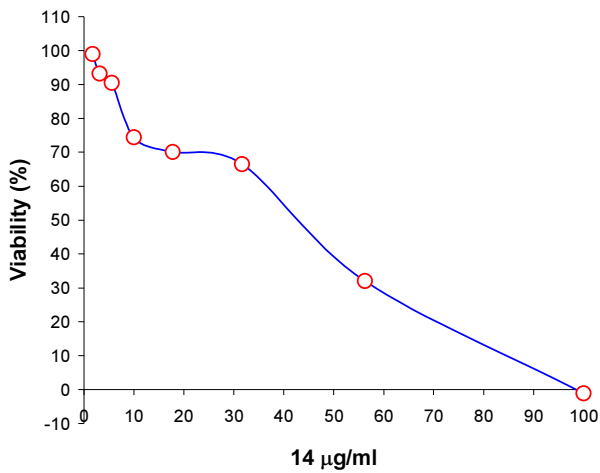
**KIM13-1 IC50= 49,5595 µg/ml**

**14**

Plate: Plate#1 1,3 PlateForm: Endpoint Absorbanc Raw FALSE 1  
Temperature(°C) 25,5 540

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	1,78	3,16	5,62	10	17,78	31,62	56,23	100	VC	B
0,0454	0,0522	0,0509	0,1382	0,0688	0,0648	0,0627	0,051	0,0507	0,048	0,0456	0,0519
0,0455	0,2014	0,2095	0,2366	0,2113	0,1862	0,1544	0,1218	0,1387	0,0568	0,2102	0,0505
0,0463	0,2218	0,2328	0,2446	0,1855	0,199	0,1822	0,1694	0,1013	0,0477	0,2241	0,0467
0,0492	0,2316	0,22	0,2142	0,2161	0,1801	0,1597	0,1666	0,1002	0,0492	0,2246	0,059
0,0464	0,2195	0,2195	0,191	0,2121	0,1694	0,1798	0,1704	0,1159	0,047	0,2206	0,0505
0,0477	0,2246	0,2176	0,2	0,2173	0,1699	0,1667	0,1573	0,1056	0,0476	0,2216	0,0522
0,0448	0,2011	0,2011	0,2036	0,2018	0,1675	0,1649	0,1357	0,1061	0,0491	0,2098	0,0477
0,0437	0,0442	0,0445	0,0447	0,0445	0,0462	0,0469	0,0479	0,0488	0,0477	0,0441	0,0491
0,0474	0,224375	0,222475	0,21245	0,20775	0,1796	0,1721	0,165925	0,10575	0,047875	0,222725	0,0521
VC ort:	0,22355										
Blank ort:	0,04975										

µg/ml	Viability %
1,78	98,91195
3,16	93,17108
5,62	90,4796
10	74,35934
17,78	70,06442
31,62	66,52827
56,23	32,06872
100	-1,073729



50 32,07 66,52 32,07 56,23 31,62 31,62

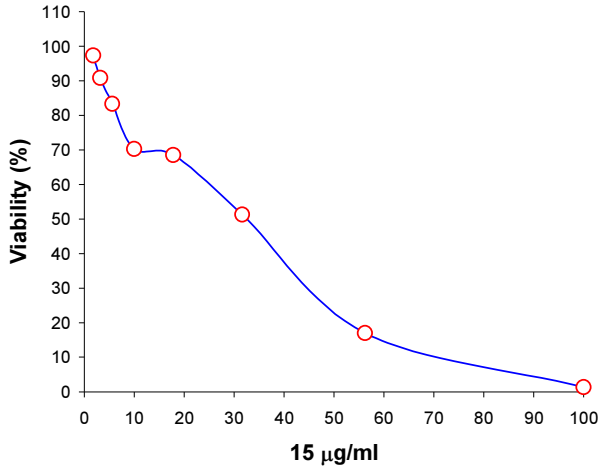
**14 IC50= 44,4286 µg/ml**

**15**

Plate: Plate#1 1,3 PlateForm: Endpoint Absorbanc Raw FALSE 1  
Temperature(°C) 25,5 540

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	1,78	3,16	5,62	10	17,78	31,62	56,23	100	VC	B
0,0485	0,0532	0,0714	0,0477	0,0752	0,0574	0,0553	0,0502	0,0547	0,0499	0,0447	0,0457
0,0496	0,2014	0,1781	0,1989	0,1813	0,1554	0,1773	0,1423	0,0606	0,0448	0,2102	0,0458
0,0439	0,2218	0,2172	0,1969	0,1765	0,1661	0,1666	0,1469	0,0741	0,0491	0,2241	0,0448
0,0466	0,2316	0,2169	0,2023	0,1942	0,1802	0,1546	0,1243	0,095	0,0533	0,2246	0,0474
0,0497	0,2195	0,2187	0,2253	0,2167	0,1803	0,1817	0,1558	0,0587	0,0464	0,2206	0,0476
0,0497	0,2246	0,226	0,208	0,1918	0,1604	0,1718	0,1257	0,0819	0,0502	0,2216	0,0492
0,0477	0,2011	0,1976	0,1946	0,1778	0,127	0,1449	0,1506	0,081	0,0471	0,2098	0,0483
0,0501	0,0438	0,0444	0,0441	0,0469	0,0478	0,0464	0,0475	0,0508	0,0491	0,0445	0,0452
0,047475	0,224375	0,2197	0,208125	0,1948	0,17175	0,168675	0,138175	0,077425	0,04975	0,222725	0,04725
VC ort:	0,22355										
Blank ort:	0,047363										

µg/ml	Viability %
1,78	97,35894
3,16	90,81986
5,62	83,29214
10	70,27046
17,78	68,5333
31,62	51,30287
56,23	16,98326
100	1,348775



50 16,98 51,3 16,98 56,23 31,62 31,62

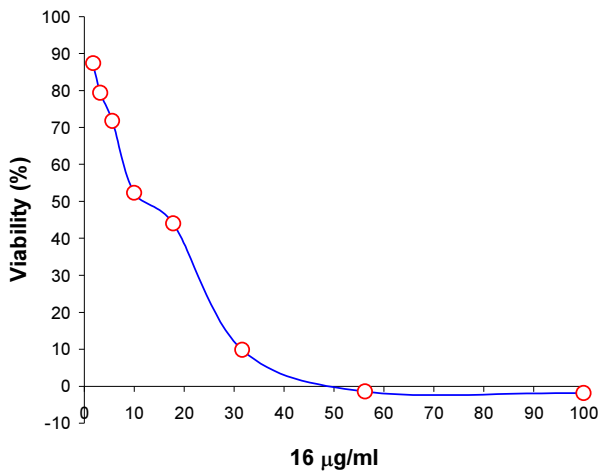
**15 IC50= 55,2978 µg/ml**

**16**

Plate: Plate#1 1,3 PlateForm: Endpoint Absorbanc Raw FALSE 1  
Temperature(°C) 25,5 540

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	1,78	3,16	5,62	10	17,78	31,62	56,23	100	VC	B
0,0447	0,0422	0,0472	0,0641	0,0716	0,0605	0,0524	0,0454	0,0445	0,0455	0,0435	0,0492
0,0568	0,0441	0,1789	0,2	0,185	0,1301	0,1402	0,0717	0,0465	0,0467	0,0444	0,0486
0,0508	0,1788	0,1792	0,171	0,1533	0,1303	0,1112	0,0633	0,0453	0,0451	0,1712	0,0526
0,0475	0,2353	0,1809	0,1733	0,168	0,1304	0,1206	0,0659	0,0498	0,0506	0,23	0,0516
0,0462	0,1967	0,1664	0,1589	0,1476	0,1214	0,1111	0,0642	0,0489	0,0465	0,1903	0,0518
0,0492	0,1749	0,1854	0,1621	0,1518	0,1247	0,1154	0,0652	0,0486	0,048	0,1765	0,0523
0,0455	0,0435	0,1561	0,1431	0,1445	0,1299	0,1034	0,0663	0,047	0,0481	0,0437	0,0486
0,0453	0,044	0,0443	0,0446	0,0451	0,0456	0,0457	0,0474	0,0464	0,0471	0,0443	0,048
0,048425	0,196425	0,177975	0,166325	0,155175	0,1267	0,114575	0,06465	0,04815	0,04755	0,192	0,052075
VC ort:	0,194213										
Blank ort:	0,05025										

µg/ml	Viability %
1,78	87,37814
3,16	79,40824
5,62	71,7804
10	52,30032
17,78	44,00547
31,62	9,851206
56,23	-1,436634
100	-1,847101



50 44 52,3 44 17,78 10 10

**16 IC50= 15,6241 µg/ml**

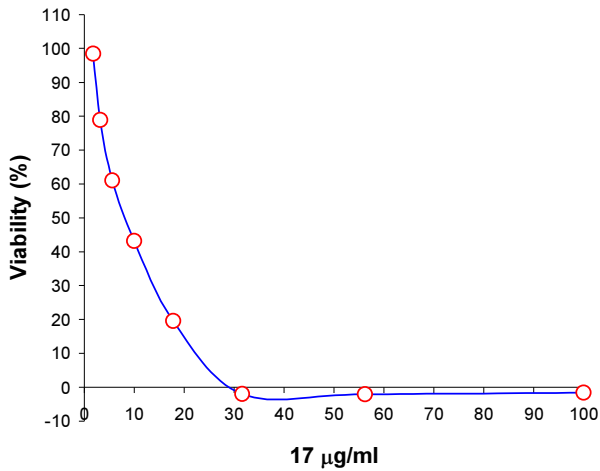


**17**

Plate: Plate#1 1,3 PlateForm: Endpoint Absorbanc Raw FALSE 1  
Temperature(°C) 25,5 540

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	1,78	3,16	5,62	10	17,78	31,62	56,23	100	VC	B
0,0469	0,0483	0,0479	0,0567	0,071	0,0484	0,0439	0,0453	0,0447	0,0441	0,0479	0,0469
0,0457	0,2112	0,2133	0,1661	0,1658	0,1205	0,0924	0,046	0,047	0,0444	0,2144	0,0508
0,0455	0,2068	0,2178	0,1861	0,1564	0,1191	0,0815	0,0438	0,043	0,0432	0,2172	0,0496
0,0466	0,2281	0,2088	0,1446	0,1482	0,1106	0,0792	0,0446	0,0446	0,0453	0,2053	0,0507
0,0443	0,2183	0,2197	0,1906	0,1601	0,1161	0,0829	0,0449	0,0442	0,0463	0,2163	0,0489
0,0478	0,2168	0,2134	0,2056	0,1411	0,1388	0,0806	0,0448	0,0458	0,0457	0,2172	0,0493
0,0483	0,2265	0,2221	0,1904	0,1655	0,1297	0,0742	0,0474	0,045	0,0457	0,2198	0,0516
0,0461	0,0437	0,0432	0,0437	0,0441	0,045	0,045	0,0438	0,0451	0,0463	0,0435	0,0497
0,04605	0,2175	0,214925	0,181725	0,15145	0,12115	0,08105	0,044525	0,0444	0,045125	0,214	0,049625
VC ort:	0,21575										
Blank ort:	0,047838										

µg/ml	Viability %
1,78	98,48228
3,16	78,91402
5,62	61,06977
10	43,21079
17,78	19,57563
31,62	-1,952406
56,23	-2,026081
100	-1,598762



50 43,21 61,06 43,21 10 5,62 5,62

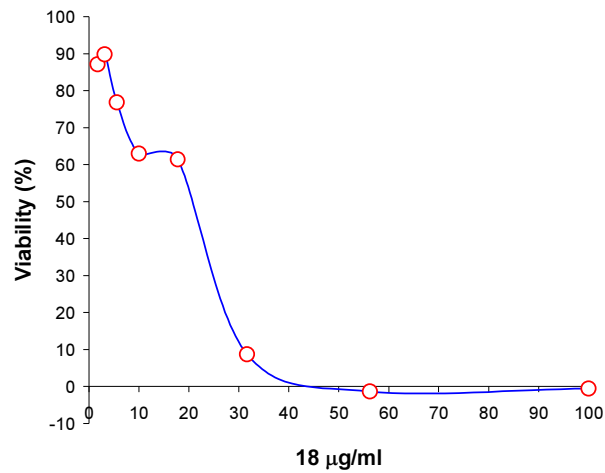
**17 IC50= 7,28612 µg/ml**

**18**

Plate: Plate#1 1,3 PlateForm: Endpoint Absorbanc Raw FALSE 1  
 Temperature(°C) 25,5 540

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	1,78	3,16	5,62	10	17,78	31,62	56,23	100	VC	B
0,0475	0,0483	0,0436	0,0506	0,05	0,0455	0,0473	0,0462	0,0441	0,0464	0,0479	0,0545
0,0462	0,2112	0,1798	0,1698	0,176	0,1612	0,1741	0,0592	0,0456	0,0464	0,2144	0,0495
0,0454	0,2068	0,1933	0,202	0,1838	0,1555	0,164	0,0587	0,0445	0,0449	0,2172	0,0506
0,047	0,2281	0,1902	0,2087	0,1768	0,168	0,1646	0,0541	0,0465	0,0465	0,2053	0,0496
0,0468	0,2183	0,2064	0,1926	0,1756	0,158	0,1359	0,0847	0,0451	0,0466	0,2163	0,0486
0,0462	0,2168	0,1927	0,1976	0,1768	0,1374	0,1433	0,0531	0,0459	0,0497	0,2172	0,0484
0,0449	0,2265	0,1971	0,1846	0,1599	0,1518	0,1321	0,0538	0,0463	0,0482	0,2198	0,0481
0,0671	0,0437	0,0443	0,0445	0,0448	0,0475	0,045	0,0448	0,0483	0,0458	0,0435	0,0471
0,04635	0,2175	0,19565	0,200225	0,17825	0,154725	0,15195	0,06265	0,0455	0,046925	0,214	0,0493
VC ort:	0,21575										
Blank ort:	0,047825										

µg/ml	Viability %
1,78	87,12244
3,16	89,81877
5,62	76,86754
10	63,0028
17,78	61,36732
31,62	8,737292
56,23	-1,370267
100	-0,530426



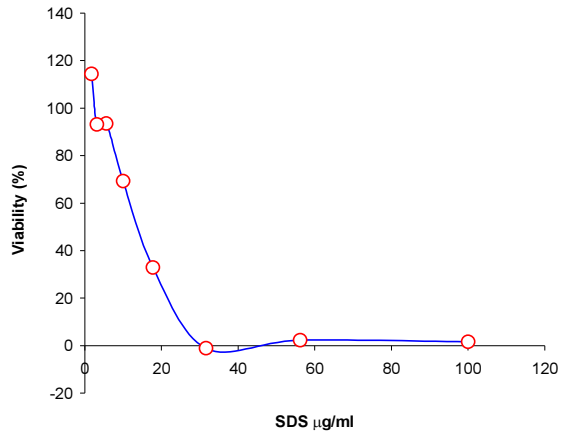
50 8,74 61,36 8,74 31,62 17,78 17,78

**18 IC50= 28,6321 µg/ml**

Plate: Plate#1 1,3 PlateForm: Endpoint Absorbanc Raw FALSE 1  
 Temperature(°C) 25,5 540

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	100	56,23	31,62	17,78	10	5,62	3,16	1,78	DMSO	B
0,042	0,188	0,046	0,041	0,043	0,075	0,118	0,156	0,149	0,2	0,109	0,042
0,041	0,209	0,045	0,042	0,04	0,088	0,13	0,202	0,189	0,221	0,13	0,041
0,042	0,21	0,045	0,064	0,043	0,081	0,149	0,188	0,19	0,225	0,127	0,042
0,042	0,134	0,046	0,041	0,041	0,089	0,137	0,17	0,174	0,205	0,134	0,046
0,044	0,206	0,046	0,041	0,04	0,085	0,165	0,197	0,203	0,219	0,136	0,04
0,042	0,218	0,044	0,039	0,041	0,113	0,134	0,174	0,16	0,205	0,15	0,045
0,043	0,193	0,046	0,042	0,041	0,086	0,126	0,146	0,16	0,203	0,118	0,041
0,043	0,168	0,049	0,043	0,057	0,098	0,12	0,155	0,136	0,2	0,151	0,042
0,0425	0,192	0,04525	0,04625	0,04125	0,092	0,14625	0,18225	0,18175	0,2135	0,13675	0,04325
VC ort:	0,164375										
Blank ort:	0,042875										

$\mu\text{g}/\mu\text{l}$	Viability %
100	1,592624
56,23	2,263202
31,62	-1,08969
17,78	32,94216
10	69,32104
5,62	93,46186
3,16	93,12657
1,78	114,4174



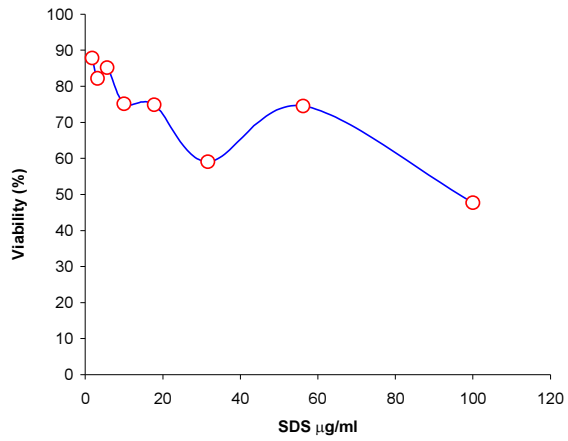
50 32,94 69,32 32,94 17,78 10 10

**KIM19-2 IC50= 13,6483  $\mu\text{g}/\text{ml}$**

Plate: Plate#1 1,3 PlateForm: Endpoint Absorbanc Raw FALSE 1  
 Temperature(°C) 25,5 540

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	100	56,23	31,62	17,78	10	5,62	3,16	1,78	DMSO	B
0,042	0,196	0,119	0,14	0,154	0,129	0,172	0,159	0,177	0,158	0,134	0,041
0,039	0,221	0,129	0,159	0,144	0,151	0,165	0,188	0,162	0,179	0,139	0,038
0,043	0,189	0,129	0,145	0,143	0,145	0,151	0,18	0,165	0,216	0,134	0,083
0,042	0,253	0,121	0,177	0,145	0,163	0,159	0,175	0,181	0,185	0,116	0,042
0,042	0,179	0,118	0,125	0,139	0,169	0,187	0,189	0,157	0,192	0,129	0,042
0,041	0,208	0,126	0,219	0,14	0,191	0,173	0,19	0,212	0,158	0,162	0,043
0,099	0,243	0,118	0,157	0,155	0,152	0,159	0,201	0,198	0,198	0,126	0,041
0,04	0,22	0,112	0,169	0,131	0,147	0,141	0,192	0,173	0,163	0,14	0,042
0,042	0,20725	0,1235	0,1665	0,14175	0,167	0,1675	0,1835	0,17875	0,18775	0,13525	0,0525
VC ort:	0,17125										
Blank ort:	0,04725										

$\mu\text{g}/\mu\text{l}$	Viability %
100	47,65625
56,23	74,53125
31,62	59,0625
17,78	74,84375
10	75,15625
5,62	85,15625
3,16	82,1875
1,78	87,8125



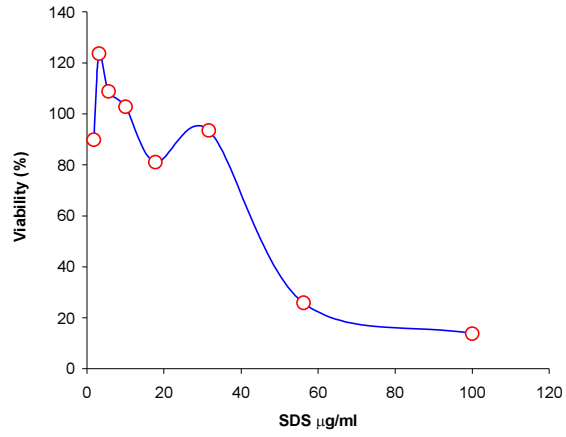
50 47 74,53 47 100 56,23 56,23

**KIM20-1 IC50= 60,9997  $\mu\text{g}/\text{ml}$**

Plate: Plate#1 1,3 PlateForm: Endpoint Absorbanc Raw FALSE 1  
 Temperature(°C) 25,5 540

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	100	56,23	31,62	17,78	10	5,62	3,16	1,78	DMSO	B
0,046	0,155	0,055	0,123	0,147	0,15	0,14	0,148	0,156	0,154	0,123	0,051
0,04	0,182	0,053	0,1	0,145	0,16	0,133	0,157	0,155	0,154	0,108	0,043
0,056	0,154	0,068	0,069	0,158	0,145	0,161	0,173	0,185	0,147	0,114	0,043
0,049	0,154	0,06	0,079	0,163	0,152	0,151	0,165	0,199	0,156	0,127	0,049
0,042	0,169	0,053	0,091	0,14	0,138	0,169	0,173	0,194	0,146	0,126	0,045
0,113	0,176	0,1	0,094	0,164	0,136	0,184	0,18	0,177	0,16	0,139	0,046
0,044	0,167	0,073	0,108	0,153	0,15	0,148	0,178	0,18	0,147	0,13	0,046
0,042	0,168	0,058	0,124	0,126	0,151	0,143	0,172	0,141	0,155	0,126	0,044
0,065	0,16325	0,07025	0,08325	0,15625	0,14275	0,16625	0,17275	0,18875	0,15225	0,1265	0,04575
VC ort:	0,144875										
Blank ort:	0,055375										

µg/ml	Viability %
100	13,78911
56,23	25,84009
31,62	93,51101
17,78	80,99652
10	102,781
5,62	108,8065
3,16	123,6385
1,78	89,80301



50 25,84 93,51 25,84 56,23 31,62 31,62

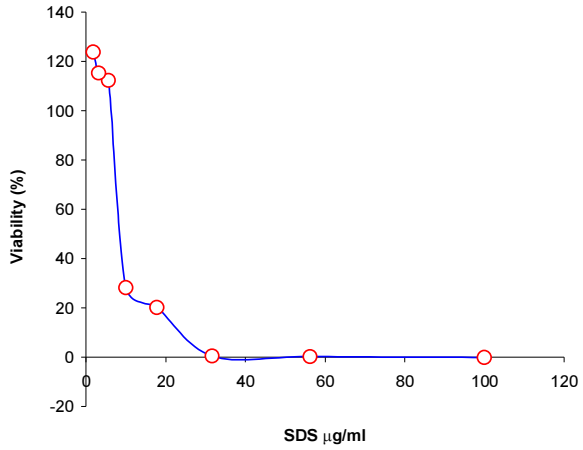
**KIM21-2 IC50= 40,4064 µg/ml**

**22**

Plate: Plate#1 1,3 PlateForm:Endpoint Absorbanc:Raw FALSE 1  
Temperature(°C) 25,5 540

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	100	56,23	31,62	17,78	10	5,62	3,16	1,78	DMSO	B
0,069	0,095	0,05	0,041	0,044	0,042	0,052	0,13	0,127	0,14	0,074	0,042
0,042	0,095	0,038	0,037	0,038	0,055	0,051	0,092	0,138	0,146	0,124	0,039
0,04	0,153	0,043	0,04	0,04	0,085	0,067	0,132	0,14	0,131	0,127	0,043
0,041	0,088	0,041	0,041	0,042	0,041	0,057	0,136	0,132	0,137	0,199	0,04
0,041	0,157	0,04	0,044	0,043	0,043	0,077	0,124	0,142	0,16	0,119	0,042
0,041	0,107	0,041	0,041	0,042	0,065	0,06	0,155	0,143	0,158	0,134	0,043
0,06	0,132	0,041	0,046	0,042	0,056	0,067	0,157	0,128	0,143	0,117	0,041
0,041	0,128	0,041	0,04	0,071	0,042	0,058	0,156	0,125	0,137	0,138	0,04
0,04075	0,12625	0,04125	0,0415	0,04175	0,0585	0,06525	0,13675	0,13925	0,1465	0,14475	0,042
VC ort:	0,1355										
Blank ort:	0,041375										

µg/ml	Viability %
100	-0,147275
56,23	0,147275
31,62	0,441826
17,78	20,17673
10	28,1296
5,62	112,3711
3,16	115,3166
1,78	123,8586



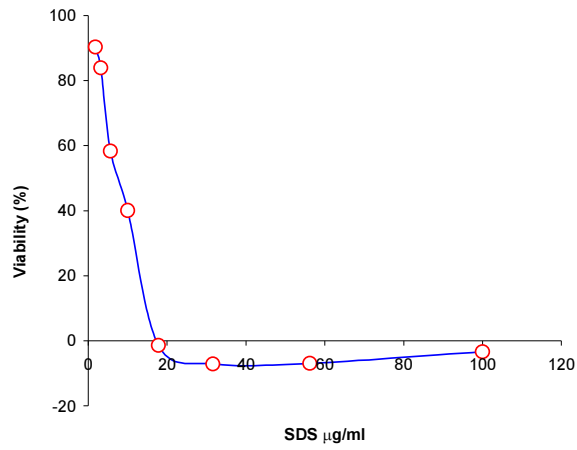
50 28,13 112 28,13 10 5,62 5,62

**KIM22-1 IC50= 6,76213 µg/ml**

Plate: Plate#1 1,3 PlateForm: Endpoint Absorbanc Raw FALSE 1  
 Temperature(°C) 25,5 540

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	VC	100	56,23	31,62	17,78	10	5,62	3,16	1,78	DMSO	B
0,042	0,164	0,041	0,042	0,042	0,044	0,088	0,113	0,128	0,117	0,123	0,041
0,04	0,158	0,039	0,037	0,039	0,046	0,082	0,117	0,114	0,126	0,116	0,045
0,042	0,164	0,044	0,04	0,038	0,044	0,093	0,112	0,135	0,17	0,11	0,043
0,042	0,156	0,041	0,041	0,041	0,046	0,104	0,116	0,156	0,14	0,129	0,09
0,04	0,148	0,047	0,041	0,039	0,047	0,101	0,103	0,142	0,141	0,138	0,044
0,043	0,179	0,046	0,04	0,043	0,05	0,077	0,127	0,141	0,152	0,125	0,043
0,044	0,191	0,041	0,04	0,039	0,054	0,098	0,112	0,126	0,164	0,144	0,043
0,04	0,158	0,044	0,042	0,047	0,051	0,094	0,121	0,143	0,136	0,153	0,042
0,04175	0,16175	0,0445	0,0405	0,04025	0,04675	0,09375	0,1145	0,1435	0,15075	0,1255	0,055
VC ort:	0,143625										
Blank ort:	0,048375										

$\mu\text{g}/\mu\text{l}$	Viability %
100	-3,417861
56,23	-6,945976
31,62	-7,166483
17,78	-1,433297
10	40,02205
5,62	58,32415
3,16	83,90298
1,78	90,29768



50 40,02 58,32 40,02 10 5,62 5,62

**KIM23-1 IC50= 8,00866  $\mu\text{g}/\text{ml}$**

Kimyasal maddeler için elde edilmiş olan IC<sub>50</sub> değerlerin aşağıda toplu olarak gösterilmiştir.

Kimyasal madde No.:	IC <sub>50</sub> değeri (µg/ml)
13	49,56
14	44,43
15	55,29
16	15,62
17	7,29
18	28,63
19	13,64
20	60,99
21	40,41
22	6,76
23	8,01

## SONUÇ VE TARTIŞMA

Benzimidazol türevi bileşiklerin (13–23) Gram (+) *Staphylococcus aureus*'a ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* karşı gösterdikleri in vitro antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ve tüp dilüsyon yöntemi [6] kullanılarak saptandı. İnhibisyon zon çapları Tablo 2'de verilmiştir. En etkili bileşikler 14-15 karboksamidin üzerinde sırasıyla izopropil, ve siklopropil grupları taşımaktadır. Karboksamidin'in N-atomuna yapılan benzil, sikloheksil ve izopentil gibi lipofilik süstitüsyonlar inhibitör aktiviteyi düşürmektedir. Sadece en etkili türevler olan bileşik 14 ve 15 için saptanan MİK değerleri sırasıyla 1.56 ve 3.12 µg / mL olarak bulundu ve referans bileşik olan Ampisiline (0.78 µg/mL) yakın aktiviteye sahip oldukları belirlendi. Sonuç olarak sentezlenen bileşiklerin dikkate değer düzeyde antistafilokok inhibitör etkilerinin olduğu gözlemlendi. Aynı bileşiklerin sitotoksik etkileri incelendiğinde 14 numaralı bileşik için IC<sub>50</sub> değerinin 44,43 µg/ml, 15 numaralı bileşik için ise IC<sub>50</sub> değerinin 55,29 µg/ml olduğu görülmektedir. 14 ve 15 numaralı bileşikler için elde edilen IC<sub>50</sub> değerlerinin bu bileşikler için elde edilen MİK değerlerinin çok üzerinde olması son derece önemli bir bulgudur ve bu bileşiklerin ilaç olabilme potansiyellerinin varlığını



göstermektedir. İleride yapılacak olan çalışmalarımız bu iki bileşiğin daha detaylı olarak araştırılmasını hedefleyecektir.

## V. Sonuç ve Öneriler

Projemizin sonucunda ilaç olabilme potansiyeline sahip 2 adet anti bakteriyel bileşik (14 ve 15 numaralı bileşikler) tespit edilmiştir. Bu bileşiklerle ilgili çalışmalarımız devam edecektir. Ayrıca bu proje kapsamında laboratuvarımızda hücre kültürü ve sitotoksosite testlerinin kurulması mümkün olmuştur. Bu çalışmalarımızın devamı için son derece önemli bir aşamadır. Çünkü bu proje kapsamında laboratuvarımıza kurmuş olduğumuz teknikler ile her türlü kimyasal maddenin sitotoksitesi test edilebilecektir. Bu proje, çalışmalarımızın ileriye yönelik olarak devamı için gerekli altyapının kurulmasında önemli bir aşama oluşturmuş ve bu açıdan da proje başarıya ulaşmıştır.

## VI. Kaynaklar

- 1) Tidwell, R. R., Jones, S. K., Naiman, N. A., Berger, L. C., Brake, W. B., Dykstra, C. C., Hall, J. E. Activity of cationically substituted bis-benzimidazoles against experimental *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*, vol.37, No.8, 1713-1716 (1993)
- 2) Bell, C. A., Dykstra, C. C., Naiman, N. A., Cory, M., Fairley, T. A., Tidwell, R. R. 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.*, vol.37, No.12, 2668-2673 (1993).
- 3) Dykstra, C. C., McClernon, D. R., Elwell, L. P., Tidwell, R. R. Selective inhibition of topoisomerases from *Pneumocystis carinii* compared with that of topoisomerases from mammalian cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*, 38, No.9, 1890-1898 (1994)
- 4) Sun, Q., Gatto, B., Yu, A., Liu, A., Liu, L. F., LaVoite, E. J., Synthesis and evaluation of terbenzimidazoles as topoisomerase I inhibitors. , *J. of Medicinal Chemistry*, 38, 3638-3644 (1995)
- 5) Sun, Q., Gatto, B., Yu, A., Liu, A., Liu, L. F., LaVoite, E. J., Substituted 2,5'-bi-1H-benzimidazoles: topoisomerase I inhibition and cytotoxicity., *J. of Medicinal Chemistry*, 39, 992-998 (1996)

- 6) Lombardy, R. L., Tanious, F. A., Ramachandran, K., Tidwell, R. R., Wilson, W. D. Synthesis and DNA interactions of benzimidazole dications which have activity against opportunistic infections., *J. of Medicinal Chemistry*, 39, 1452-1462 (1996)
- 7) Poeta, M. D., Schell W.A., Dykstra, C.C., et. Al. Structure in-vitro activity relationships of pentamidin analogues and dication-substituted bis-benzimidazoles as new antifungal agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*, vol.42, No.10, 2495-2502 (1998)
- 8) Poeta, M. D., Schell W.A., Dykstra, C.C., et. Al. In Vitro Antifungal Activities of a series of dication-substituted carbazoles, furans and benzimidazoles, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*, vol.42, No.10, 2503-2510 (1998)
- 9) Wood, D. H., Hall, J. E., Rose, B. G., Tidwell, R. R. 1,5-bis(4-aminophenoxy)pentane (pentamidine) is a potent inhibitor of [<sup>3</sup>H]imidazoxan binding to imidazoline I<sub>2</sub> binding sites. *Eur. J. of Pharmacology*. Vol. 353 , 97-103 (1998)
- 10) Ohemeng. K. A., Nguyen.V. N. US Patent 5,942,532 (1999).
- 11) Verner, E., Katz, B.A., Spencer J. R., et. al., Development of serine protease inhibitors displaying a multicentered short hydrogen bond binding mode: inhibitors of urokinase-type plasminogen activator and factor Xa, *J. of Medicinal Chemistry*, 44, 2753-2771 (2001).
- 12) Mann, J., Baron, A., Opoku-Boahen, Y., Johansson, E., Parkinson, G., Kelland, L. R., Neidle, S. A new class of symmetric bisbenzimidazole-based DNA minor groove-binding agents showing antitumor activity. *J. of Medicinal Chemistry*, 44, 138-144 (2001).
- 13) Hranjec, M., Grdisa, M., Pavelic, K., Boykin, D. W., Karniski- Zamola, G. Synthesis and antitumor evaluation of some new substituted amidino-benzimidazolyl-furyl-phenyl-acrylates and naphtho[2,1-b]furan-carboxylates. *Il Farmaco*, 58, 1319-1324 (2003).

## VII. Ekler

### *a) Mali Bilanço ve Açıklamaları*

Başlangıçta teklif edilen projenin toplam bedeli (KDV dahil) **80555,15** YTL olarak belirlenmişti. Bu tutarın **42988,67** YTL lik (KDV dahil) bölümü projenin uygulanması için gerekli olan kimyasal madde ve sarf malzemelerinden (cam ve plastik malzeme vb.) oluşmaktadır. Ancak projenin onaylanması esnasında proje dahilinde istenmiş olan Dijital otomatik otoklav (8000 YTL+ KDV) ve Kar tipi buz makinası (6400 YTL + KDV) proje kapsamında çıkartılarak onaylanmıştır. Bu nedenle proje bütçesinin makine teçhizat kalemi aynı oranda azalmıştır. Bütçede yer alan sarf malzemeleri ve makine teçhizatlar alınmış ve proje dahilinde kullanılmıştır.

### *b) Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar*

Sitotoksinite testlerinin yapılması ile ilgili olarak gerekli alet ve teçhizatların çok büyük bir bölümü Ana Bilim Dalımızın laboratuvarında bulunmaktadır. Bunların dışında proje ile alınmış olan makine ve teçhizatlar aşağıda listelenmiştir. Bu alet ve teçhizatlar, proje esnasında kullanılmıştır ve halen A. Ü. Eczacılık Fakültesi F. Toksikoloji Araştırma Laboratuvarında bulunmakta ve benzer çalışmalar için kullanılmaktadır.

1. Multi channel pipet, 30-300 µl
2. Otomatik pipet, (5 ml ayarlanabilir)
3. Otomatik pipet, 05 – 10 µl
4. Otomatik pipet, 10 - 100 µl
5. Otomatik pipet, 100 – 1000 µl
6. Cam tüp, 5 ml, O.D.xL (mm), 12x75
7. 96 well mikropilaka çalkalayıcısı, 2 ve 4 mikropilaka çalkalama platformu ile birlikte
8. Dijital kronometre
9. Büyük boy analog kronometre (time stop)
10. Kaldırma platformu
11. Mini-Centrifuge / Vortex Combispin

12. Vortex
13. Azot Tankı, en az 5, en çok 8 lt, Geniş Ağızlı, Aksesuar olarak Alüminyum çubukları ile birlikte.
14. İverted Mikroskop, dijital fotoğraf makinası ile birlikte
15. Sirkülatörlü su banyosu
16. El tipi koloni sayacı
17. Şişe üzerine takılabilir dispanser, Variable valume bottle-top dispenser, 1 – 10 ml, ayarlanabilir
18. Cam pipetler için elektrikli pipetleme yardımcısı (Electronic pipetting aid), 220 volt, kablosuz ve şarjlı
19. Ayak pedallı manyetik bunzen beki (Anabilim dalımızdaki laminar flow a çalışır vaziyette kurulumu ile birlikte)
20. Portatif pH metre, sıcaklık sensörlü kombine elektrodu ile birlikte
21. Vakum pompa sistemi (Laminar flow için)

*c) Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar)*

Projemizi sonuçları henüz bildiri halinde sunulmamıştır. Ancak en kısa sürede sonuçlar toplanarak bildiri halinde sunulacaktır.

*d) Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler*

Projemizin bir Farmasötik Kimya ağırlıklı bölümü "European Journal of Medicinal Chemistry" dergisinde yayınlanmıştır. Bu yayın ekte yer almaktadır.

Yayın:

Mehmet Alp, Hakan Göker, Reto Brun, Sulhiye Yıldız, Synthesis and antiparasitic and antifungal evaluation of 2'-arylsbstituted-1H, 1'H-[2,5']bisbenzimidazolyl-5-carboxamidines, European Journal of Medicinal Chemistry, 44, 2002-2008 (2009).