



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**BAZI YENİ BENZİMİDAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ,
YAPILARININ AYDINLATILMASI VE ANTİKANSER
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Rahime Elif ÖZAY

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet ALP**

**ANKARA
2025**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI YENİ BENZİMİDAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ,
YAPILARININ AYDINLATILMASI VE ANTİKANSER
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Rahime Elif ÖZAY

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet ALP**

**ANKARA
2025**

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlayıp sunduğum **“Bazı Yeni Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi, Yapılarının Aydınlatılması ve Antikanser Etkilerinin İncelenmesi”** başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Rahime Elif ÖZAY

Tarih: 15.01.2025

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Anabilim Dalında
Rahime Elif ÖZAY tarafından hazırlanan
“Bazı Yeni Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi, Yapılarının
Aydınlatılması ve Antikanser Etkilerinin İncelenmesi” adlı
tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile
kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:15.01.2024

İmza

Prof. Dr. Hakan GÖKER

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Doç. Dr. Mehmet ALP

Ankara Üniversitesi

Üye

İmza

Doç. Dr. Çiğdem KARAASLAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Prof. Dr. Fügen AKTAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Bazı Yeni Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi, Yapılarının Aydınlatılması ve Antikanser Etkilerinin İncelenmesi

Benzimidazol halkasının benzersiz yapısı ve toksisitesinin düşük olması onu antikanser ilaç geliştirme sürecinde dikkate değer bir temel yapı iskeleti haline getirmiştir. Benzimidazol türevlerinin beşinci konumunda çeşitli süstituentlerin eklenmesi, benzimidazolün antikanser aktivitesini artırmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında hidrazit-hidrazon fonksiyonel grubu içeren 13 tanesi orijinal 5(6)-süstitüe-1*H*-benzimidazol türevleri (**4-17**) sentezlenmiş ve antikanser açısından incelenmiştir. Hedeflenen türevleri elde etmek üzere 3,4-diaminobenzoik asit, hidroklorik asit (HCl) ve formik asit ile reaksiyona sokularak 1*H*-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (**1**) hazırlanmıştır. Daha sonra elde edilen benzimidazol türevi derişik sülfirik asit ve metanol ile reaksiyona sokularak metil 1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilat (**2**) sentezlenmiştir. 1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilat (**2**) hidrazin hidrat ile absölü etanol içerisinde reaksiyona girerek 1*H*-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (**3**) elde edilmiştir. 1*H*-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit bileşigi çeşitli aldehitlerle reaksiyonu sonucu hidrazit-hidrazon grubu içeren benzimidazol türevi bileşikler (**4-17**) sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve Mass (ESI+) spektral verileriyle kanıtlanmıştır. Elde edilen 14 bileşigin (**4-17**) MDA-MDB-231 meme kanseri hücre hattına karşı antikanser aktivitesi taranmıştır. Sentezlenen bileşiklerden **10**, **12**, **13**, **16** ve **17** numaralı bileşikler bu hücre hattına karşı sitotoksik etki göstermiştir. En etkili türev bileşik **16**'dır.

Anahtar Sözcükler: Antikanser aktivite, Benzimidazol, Hidrazit-hidrazon, Sentez

SUMMARY

Synthesis, Structure Elucidation and Anticancer Activities of Some Novel Benzimidazole Derivatives

The unique structure and low toxicity of the benzimidazole ring make it a remarkable core scaffold in the development of anticancer drugs. Substitution at the 5th position of benzimidazole with various substituents enhances its anticancer activity.

In this thesis study, 13 original 5(6)-substituted-1*H*-benzimidazole derivatives containing the hydrazide-hydrazone functional group (**4-17**) were synthesized and evaluated for their anticancer properties. To obtain the targeted derivatives, 1*H*-benzimidazole-5(6)-carbohydrazide (**1**) was prepared by reacting 3,4-diaminobenzoic acid with hydrochloric acid (HCl) and formic acid. Subsequently, the obtained benzimidazole derivative was reacted with concentrated sulfuric acid and methanol to synthesize methyl 1*H*-benzimidazole-5(6)-carboxylate (**2**). 1*H*-benzimidazole-5(6)-carboxylate (**2**) was reacted with hydrazine hydrate in absolute ethanol to produce 1*H*-benzimidazole-5(6)-carbohydrazide (**3**). The reaction of 1*H*-benzimidazole-5(6)-carbohydrazide with various aldehydes yielded benzimidazole derivatives containing the hydrazide-hydrazone group (**4-17**).

The structures of the synthesized compounds were confirmed by ¹H-NMR, ¹³C-NMR, and Mass (ESI+) spectral data. The anticancer activity of the 14 synthesized compounds (**4-17**) was screened against the MDA-MDB-231 breast cancer cell line. Compound **10**, **12**, **13**, **16** and **17** exhibited cytotoxic effects on this cell line, with compound **16** being the most effective derivative.

Keywords: Anticancer activity, Benzimidazole, Hydrazide-hydrazone Synthesis

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xii
Çizelgeler	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Benzimidazolün Fiziksel Özellikleri	2
1.2. Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Farmakolojik Olarak Önemi	3
1.2.1. Benzimidazol Türevi Antimikrobiyal ve Antifungal Bileşikler	4
1.2.2. Benzimidazol Türevi Antihipertansif Bileşikler	5
1.2.3. Benzimidazol Türevi Antidiyabetik Bileşikler	7
1.2.4. Benzimidazol Türevi Antiviral Bileşikler	7
1.2.5. Benzimidazol Türevi Antiülser Bileşikler	8
1.2.6. Benzimidazol Türevi Antikanser Bileşikler	9
1.2.6.1. Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Antikanser Mekanizmaları	10
1.2.6.1.1. DNA Topoizomeraaz İnhibitörü Olarak	10
1.2.6.1.2. PARP-1 İnhibitörü Olarak	13
1.2.6.1.3. Mikrotübül İnhibitörü Olarak	15
1.2.6.1.4. DNA İnterkalasyonu ve Alkilleyici Ajanlar	16
1.2.6.1.5. Protein Kinaz İnhibitörleri Olarak	17
1.2.6.1.6. Androjen Reseptör Antagonisti Olarak	18
1.2.6.1.7. Aromataz İnhibitörü Olarak	20
1.2.6.1.8. DHFR İnhibitörü Olarak Benzimidazoller	21
1.3. Benzimidazol Türevlerinin Çeşitli Etkilerine Yönelik Literatür Çalışması	21
1.4. Benzimidazol Sentezinde Kullanılan Metotlar	25
1.4.1. o-Fenilendiaminlerden Benzimidazol Sentezi	26
1.4.2. 3,4-Diaminobenzoik asitten Benzimidazol Sentezi	29
1.5. Hidrazit- Hidrazonların Özellikleri ve Reaksiyonları	31
1.5.1. Hidrazit- Hidrazon Türevlerinin Sentezi ve Reaksiyonları	33
1.6. Antikanser Ajan Olarak Benzimidazol- Hidrazon Türevi Bileşikler	35
2. GEREÇ VE YÖNTEM	39
2.1. Gereç	39
2.1.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentezleri ve Yapı Analizlerinde Kullanılan Gereçler	39
2.1.1.1. Sentez İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler	39
2.1.1.2. Kromatografik Analizler	39
2.1.1.3. Erime Noktası Tayinleri	39
2.1.1.4. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizleri (1H, 13C)	40
2.1.1.5. Kütle (Mass) Spektrumları	40
2.2. Ticari Olmayan Başlangıç Maddelerinin Sentezi	40
2.2.1. 1H-Benzimidazol-5(6)-Karboksilik Asit	40
2.2.2. Metil 1H-Benzimidazol-5(6)-Karboksilat	41
2.2.3. 1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit	41
2.3. Sonuç Bileşiklerin Sentezi	42

3. BULGULAR	43
3.1. Başlangıç Maddelerin Sentezi	43
3.1.1. 1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karboksilik asit (1)	43
3.1.2. Metil 1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karboksilat (2)	43
3.1.3. 1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3)	44
3.1.4. N'-Benziliden-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (4)	44
3.1.5. N'-(2-metoksibenziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (5)	47
3.1.6. N'-(3-siyanobenziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (6)	49
3.1.7. N'-(3-nitrobenziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (7)	51
3.1.8. N'-(4-siyanobenziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (8)	54
3.1.9. N'-(4-etoksibenziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (9)	56
3.1.10. N'-(4-(benziloksi) benziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5-karbohidrazit (10)	59
3.1.11. N'-(4-nitrobenziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5-karbohidrazit (11)	61
3.1.12. N'-(4-bromobenziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (12)	63
3.1.13. N'-(2,4-diklorobenziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (13)	66
3.1.14. N'-(2,6-diklorobenziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5-karbohidrazit (14)	68
3.1.15. N'-(3,4-dimetoksibenziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (15)	70
3.1.16. N'-(3,4-bis(benziloksi)benziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (16)	73
3.1.17. N'-(4-kloro-3-nitrobenziliden)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (17)	75
3.2. Sentezlenen Türevlerin MDA-MB-231 Hücrelerine Karşı Antikanser Etki Çalışmaları	78
3.2.1. Hücre Kültürü	78
3.2.2. Yeni Sentezlenen Bileşiklerin Hazırlanması	78
3.2.3. Hücre Canlılık Analizi	78
3.2.4. İstatistiksel Analiz	78
3.2.5. Sentezlenen Sonuç Bileşiklerin MDA-MB-231 Hücre Serisinde Hücre Canlılığı Üzerindeki Etkileri	79
4. TARTIŞMA	80
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	82
KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	94

ÖNSÖZ

Bu yüksek lisans tez çalışmasında benzimidazol halka sisteminin beşinci konumunda hidrazit-hidrazon türevi içeren bileşiklerin sentezlenmesi ve antikanser etkilerinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Benzimidazol halkası, kimyasal modifikasyon ve türevlenmeye uygun yapılar olması, çeşitli biyolojik aktiviteler görmesi ve toksisitesinin düşük olması vb. avantajları olan önemli bir heterosiklik farmakofordur. Hidrazit-hidrazon türevi bileşikler de kanser tedavisinde önemli etki göstermektedir.

Yüksek lisans tezimin hazırlanması sırasında tecrübesi, sabrı ve özverisiyle her zaman yol gösteren, her konuda yardımını esirgemeyen sevgili danışman hocam Sayın **Doç. Dr. Mehmet ALP**'e tüm içtenliğimle büyük bir teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmasında sentezlenen bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ $^{13}\text{C-NMR}$ ve Kütle spektral analizlerini büyük özveriyle gerçekleştiren Sayın **Prof. Dr. Hakan GÖKER**'e,

Antikanser etki çalışmalarını gerçekleştiren Sayın **Doç. Dr. Arzu Zeynep KARABAY** ve Sayın **Doç. Dr. Aslı KOÇ**'a,

Tez çalışmalarım sırasında tüm tecrübelerini benimle paylaşan ve yakından ilgilenen çok sevdiğim Sayın **Araş. Gör. Dr. Fatıma DOĞANÇ**, **Dr. Ecz. Hind Mohammed Osman KHALİFA** ve **Ecz. Sarah GADO** başta olmak üzere çalışmalarım sırasında yardımlarını hiç esirgemeyen Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya araştırma asistanları, yüksek lisans ve doktora öğrencilerine,

Sevgili arkadaşlarım **Araş. Gör. Beyza DÜZLEYEN** ve **Araş. Gör. Elif YARDIMCI**'ya

Ve son olarak başta ablam **Ecz. Zeliha Nur ÖZAY** hep yanımda olan desteklerini ve sevgilerini her zaman hissettiğim canım aileme sonsuz teşekkür ediyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

A375	Epitelyal Melanom
A549	İnsan Akciğer Adenokarsinom Hücre Hattı
Anti-HBV	Hepatit B Virüsüne Karşı
Anti-HCV	Hepatit C Virüsüne Karşı
Anti-HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsüne Karşı
Anti-HSV	Herpes Simpleks Virüsüne Karşı
Anti-PRS	Protein Sentezine Karşı
AT1	Anjiyotensin II Tip 1 Reseptörü
C6	Sıçan Glioma Hücre Hattı
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
DCM	Diklorometan
DLD1	İnsan Kolorektal Adenokarsinom Hücre Hattı
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EGFR	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
GI ₅₀	Yarı Maksimum Büyüme İnhibisyonu
HA22T	İnsan Hepatoselüler Karsinom Hücre Hattı
HCl	Hidroklorik Asit
HCT116	Kolorektal Karsinom
HeLa	Henrietta Lacks hücre hattı
HepG2	İnsan Hepatoselüler Karsinom Hücre Hattı
hMAO-B	İnsan Monoamin Oksidaz B
HONE1	İnsan Nazofarenks Kanseri Hücre Hattı
HT-29	İnsan Kolorektal Adenokarsinom Hücre Hattı
IC ₅₀	Yarı Maksimum İnhibisyon Konsantrasyonu
IUPAC	Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği
LCK	Lenfosit-spesifik Tirozin Kinaz
MCF-7	Meme Kanseri Hücre Hattı
MRSA	Metisiline Dirençli Staphylococcus Aureus
MTT	3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazolyumbromür
NIH3T3	Fare Embriyonik Fibroblast Hücre Hattı
NUGC	İnsan Mide Adenokarsinom Hücre Hattı
PDGFR	Trombositten Türetilen Büyüme Faktörü Reseptörü

SaSK	Staphylococcus Aureus Şikimat Kinaz
SRB	Sülforodamin B
TFA	Trifloroasetik Asit
TMS	Tetrametilsilan
VEGFR-2	Vasküler Endoteliyal Büyüme Faktörü Reseptörü-2



ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Benzimidazol halkasının numaralandırılması	1
Şekil 1.2. Benzimidazol tautomerizasyonu	2
Şekil 1.3. B ₁₂ vitamini yapısı	4
Şekil 1.4. Klinik olarak onaylanmış benzimidazol türevi antihelmentik-antimikrobiyal ilaçlar	5
Şekil 1.5. Klinik olarak onaylanmış benzimidazol türevi antihipertansif ilaçlar	6
Şekil 1.6. Benzimidazol türevi antihipertansif bileşik	6
Şekil 1.7. NNC 92-1687 bileşik yapısı	7
Şekil 1.8. Sırasıyla Maribavir ve JTK-109 bileşikleri	8
Şekil 1.9. Benzimidazol türevi klinik kullanılan antiülser ilaçlar	8
Şekil 1.10. Klinik olarak onaylanmış benzimidazol türevi antikanser ilaçlar	9
Şekil 1.11. Benzimidazol türevlerinin antikanser mekanizmaları	10
Şekil 1.12. Benzimidazol türevi Topo-I inhibitörü bileşik	11
Şekil 1.13. 1H-Benzimidazol-5-karboksilik asit türevi bileşikler	11
Şekil 1.14. Benzimidazol türevi topoizomeras inhibitörü bileşik	12
Şekil 1.15. Bis-benzimidazol türevi topoizomeras inhibitörü bileşik	12
Şekil 1.16. Benzimidazol türevi topoizomeras inhibitörü bileşikler	13
Şekil 1.17. Benzimidazol türevi topoizomeras inhibitörü bileşikler	13
Şekil 1.18. Veliparib kimyasal yapısı	14
Şekil 1.19. Benzimidazol Türevi PARP-1 inhibitörü bileşik	14
Şekil 1.20. Benzimidazol Türevi PARP-1 inhibitörü bileşikler	14
Şekil 1.21. 2-(1-(4,4-diflorosikloheksil)piperidin-4-il)-1H-benzimidazol-4-karboksamit	15
Şekil 1.22. Nokadazol kimyasal yapısı	15
Şekil 1.23. Metil 2-(5-floro-2-hidroksifenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilat (MBIC)	15
Şekil 1.24. Mikrotübül inhibitörü benzimidazol-2-üre türevi bileşik	16
Şekil 1.25. Mikrotübül inhibitörü benzimidazol türevi bileşik	16
Şekil 1.26. Bendamustin kimyasal yapısı	17
Şekil 1.27. Benzimidazol türevi protein kinaz inhibitörleri	18
Şekil 1.28. Tirozin kinaz inhibitörü benzimidazol türevi bileşik	18
Şekil 1.29. Galeteron kimyasal yapısı	19
Şekil 1.30. Benzimidazol türevi androjen reseptör antagonisti	19
Şekil 1.31. Androjen reseptör antagonistleri olarak 5,6-diklorobenzimidazol türevi bileşikler ve bileşiğin numaralandırılması	20
Şekil 1.32. Benzimidazol-triazolotiyadiazin türevi aromataz inhibitörü	20
Şekil 1.33. Triazin-benzimidazol türevi DHFR İnhibitörü	21
Şekil 1.34. Abdallah vd. sentezledikleri benzimidazol türevi bileşikler	21
Şekil 1.35. Bangade vd. sentezledikleri antikanser etkili bileşik	22
Şekil 1.36. Benzimidazol-tiyazol türevi antikanser bileşik	22

Şekil 1.37. hMAO-B inhibitörü benzimidazol türevi bileşik	23
Şekil 1.38. Antitrombotik benzimidazol türevi bileşikler	23
Şekil 1.39. Benzimidazol türevi antikanser bileşikler	24
Şekil 1.40. Antienflamatuar benzimidazol türevi	24
Şekil 1.41. Antifungal etkili benzimidazol türevi bileşik	24
Şekil 1.42. SaSK inhibitörü benzimidazol türevi bileşikler	25
Şekil 1.43. 2,5-dimetilbenzimidazol sentezi	25
Şekil 1.44. Philips yöntemiyle benzimidazol sentezi	27
Şekil 1.45. o-fenilendiamin bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi	27
Şekil 1.46. o-fenilendiamin bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi	27
Şekil 1.47. o-fenilendiamin bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi	28
Şekil 1.48. o-fenilendiamin bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi	28
Şekil 1.49. o-fenilendiamin bileşiğinden hareketle mikrodalga ışıını ile benzimidazol sentezi	28
Şekil 1.50. Nano-ZNS katalizörlü o-fenilendiamin bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi	29
Şekil 1.51. 3,4-diaminobenzoik asit bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi	29
Şekil 1.52. 3,4-diaminobenzoik asit bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi	29
Şekil 1.53. 3,4-diaminobenzoik asit bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi	30
Şekil 1.54. 3,4-diaminobenzoik asit bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi	30
Şekil 1.55. 3,4-diaminobenzoik asit bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi	30
Şekil 1.56. 3,4-diaminobenzoik asit bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi	30
Şekil 1.57. Sırasıyla hidrazit, hidrazon ve hidrazit-hidrazon türevlerinin kimyasal yapıları	31
Şekil 1.58. Sırasıyla imin, oksim ve hidrazon yapıları	31
Şekil 1.59. Hidrazon yapısının kimyasal özellikleri	32
Şekil 1.60. Aldehit veya ketondan hareketle hidrazon sentezi	33
Şekil 1.61. Wolff-Kishner redüksiyonu	34
Şekil 1.62. Hidrazon veya hidrazit-hidrazon bileşiklerinden hareketle azetidin-2-on türevlerinin	34
Şekil 1.63. Magnezyum kullanılarak hidrazonların redüksiyonu ile hidrazin sentezi	34
Şekil 1.64. 4-floro-benzohidrazitin çeşitli arilaldehitler ile kondensasyonu ile hidrazon sentezi	35
Şekil 1.65. Benzimidazol-hidrazon türevi antikanser bileşikler	35
Şekil 1.66. Morcoss ve arkadaşlarının sentezledikleri antikanser benzimidazol-hidrazon türevleri	36
Şekil 1.67. Yancheva ve arkadaşlarının sentezledikleri antikanser etkili benzimidazol-hidrazon türevi bileşik	36
Şekil 1.68. Dhahri ve arkadaşlarının sentezledikleri benzimidazol-hidrazon türevi bileşik	37
Şekil 1.69. N'-benziliden benzimidazol-karbohidrazit türevi iki bileşik (I ve II)	38
Şekil 2.1. 1H-benzimidazol-5(6)-karboksilik asit sentezi mekanizması	41
Şekil 3.1. Bileşik 4'ün 1H-NMR spektrumu	45
Şekil 3.2. Şekil 4'ün 13C-NMR spektrumu	46
Şekil 3.3. Bileşik 4'ün kütle spektrumu	46
Şekil 3.4. Bileşik 5'in 1H-NMR spektrumu	48
Şekil 3.5. Bileşik 5'in 13C-NMR spektrumu	48
Şekil 3.6. Bileşik 5'in kütle spektrumu	49

Şekil 3.7. Bileşik 6'nın ¹ H-NMR spektrumu	50
Şekil 3.8. Bileşik 6'nın ¹³ C-NMR spektrumu	50
Şekil 3.9. Bileşik 6'nın kütle spektrum	51
Şekil 3.10. Bileşik 7'nin ¹ H-NMR spektrumu	52
Şekil 3.11. Bileşik 7'nin ¹³ C-NMR spektrumu	53
Şekil 3.12. Bileşik 7'nin kütle spektrumu	53
Şekil 3.13. Bileşik 8'in ¹ H-NMR spektrumu	55
Şekil 3.14. Bileşik 8'in ¹³ C-NMR spektrumu	55
Şekil 3.15. Bileşik 8'in kütle spektrumu	56
Şekil 3.16. Bileşik 9'un ¹ H-NMR spektrumu	57
Şekil 3.17. Bileşik 9'un ¹³ C-NMR spektrumu	58
Şekil 3.18. Bileşik 9'un kütle spektrumu	58
Şekil 3.19. Bileşik 10'un ¹ H-NMR spektrumu	60
Şekil 3.20. Bileşik 10'un ¹³ C-NMR spektrumu	60
Şekil 3.21. Bileşik 10'un kütle spektrumu	61
Şekil 3.22. Bileşik 11'in ¹ H-NMR spektrumu	62
Şekil 3.23. Bileşik 11'in ¹³ C-NMR spektrumu	62
Şekil 3.24. Bileşik 11'in kütle spektrumu	63
Şekil 3.25. Bileşik 12'nin ¹ H-NMR spektrumu	64
Şekil 3.26. Bileşik 12'nin ¹³ C-NMR spektrumu	65
Şekil 3.27. Bileşik 12'nin kütle spektrumu	65
Şekil 3.28. Bileşik 13'ün ¹ H-NMR spektrumu	67
Şekil 3.29. Bileşik 13'ün ¹³ C-NMR spektrumu	67
Şekil 3.30. Bileşik 13'ün kütle spektrumu	68
Şekil 3.31. Bileşik 14'ün ¹ H-NMR spektrumu	69
Şekil 3.32. Bileşik 14'ün ¹³ C-NMR spektrumu	69
Şekil 3.33. Bileşik 14'ün kütle spektrumu	70
Şekil 3.34. Bileşik 15'in ¹ H-NMR spektrumu	71
Şekil 3.35. Bileşik 15'in ¹³ C-NMR spektrumu	72
Şekil 3.36. Bileşik 15'in kütle spektroskopisi	72
Şekil 3.37. Bileşik 16'nın ¹ H-NMR spektroskopisi	74
Şekil 3.38. Bileşik 16'nın ¹³ C-NMR spektroskopisi	74
Şekil 3.39. Bileşik 16'nın kütle spektroskopisi	75
Şekil 3.40. Bileşik 17'nin ¹ H-NMR spektroskopisi	76
Şekil 3.41. Bileşik 17'nin ¹³ C-NMR spektroskopisi	77
Şekil 3.42. Bileşik 17'nin kütle spektroskopisi	77

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Bazı yeni sentezlenen bileşiklerin çeşitli kanser hücre hatlarına karşı sitotoksitesi [IC50 (nM)]	22
Çizelge 1.2. Liu vd. tarafından sentezlenen bileşiğin çeşitli kanser hatlarında IC50 değerleri	37
Çizelge 1 3. Onnis vd. tarafından sentezlenen iki bileşiğin çeşitli kanser hatlarında IC50 değerleri	38
Çizelge 2.1. Hidrazit-hidrazon türevi sonuç bileşiklerin kimyasal formülleri	42
Çizelge 3.1. Sonuç bileşiklerin (10 µM) MDA-MDB-231 (meme kanseri) hücre serisinde hücre canlılığı üzerindeki etkileri	79



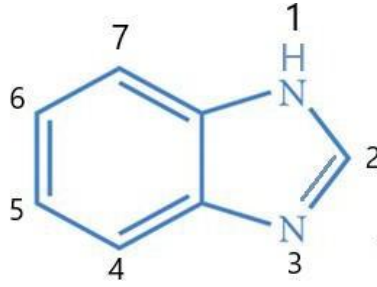
1. GİRİŞ

Benzimidazol, benzen halkasının imidazol halkasının 4 ve 5. konumuna kaynaşmasıyla oluşmuş geniş spektrumlu heterosiklik bir farmakofordur.

İmidazol halkası birbirinden farklı kimyasal eğilimi olan iki adet azot atomu içermektedir. Bu azot atomlarından hidrojen atomunun bağlı olan azot atomuna “imino azotu” veya “pirol azotu” denilmekte ve asidik özellik göstermektedir. Kendisine hidrojen bağlı olmayan azot atomuna ise “tersiyer azot” veya “piridin azot” denilmekte ve serbest elektron çiftinden dolayı bazik özellik göstermektedir. Bundan dolayı benzimidazol yapısı amfoter karakterlidir (Akgün vd., 2023; Hofmann, 1953).

Benzimidazol, 1*H*-benzimidazol veya 1,3 benzodiazol olarak da adlandırılmaktadır (Wright, 1951).

Benzimidazol halka numaralandırılması, IUPAC nomenklaturüne göre imino azotunun “1” ve tersiyer azotun “3” numarayı alması şeklinde gerçekleştirilmektedir.

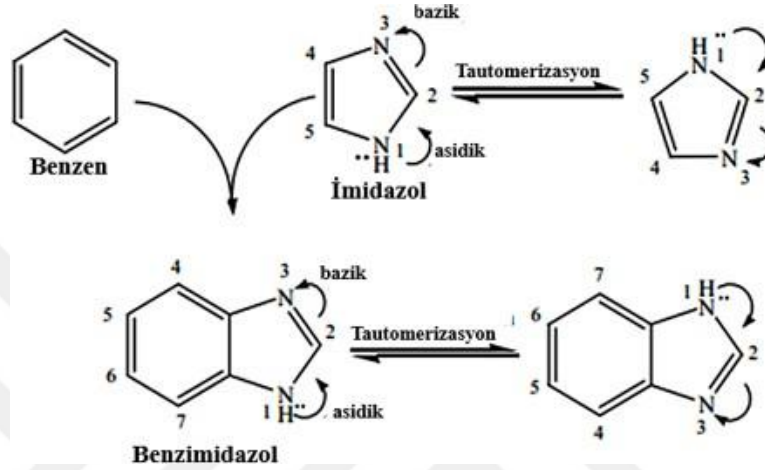


Şekil 1.1. Benzimidazol halkasının numaralandırılması

Benzimidazol, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan ilaçlarda en yaygın kullanılan azot heterosiklik halkalardan biridir (Lee vd., 2023; Vitaku vd., 2014).

Benzimidazol farmakoforu, hedef moleküllerle güçlü etkileşimler kurabilmektedir. Bu etkileşimler hidrojen bağları, amit-halka etkileşimleri, aromatik halka etkileşimleri, hidrofobik etkileşimler, van der Waals kuvvetleri, polar etkileşim ve pi bağlarıdır (Lee vd., 2023).

Bileşikteki azot atomlarının arasındaki serbest elektron çiftlerinin yer değişmesine bağlı tautomeri gözlenmektedir. Birinci konumda hidrojen yerine süstitüent eklenmesi durumunda tautomeri ihtimali ortadan kalkmakta ve nihai yapıyı belirlemek mümkün olmaktadır (Hofmann, 1953). Pozitif yük her iki azot atomuna eşit miktarda dağıtılacağından dolayı benzimidazol yapısı yüksek kararlığa sahiptir (Uyar ve Düz, 2011).



Şekil 1.2. Benzimidazol tautomerizasyonu (Gaba ve Mohan, 2015)

1.1. Benzimidazolün Fiziksel Özellikleri

Benzimidazol, 118,14 g/mol molekül ağırlığına sahip, beyaz kristaller şeklinde bulunan bir bileşiktir (Wright, 1951). Benzimidazolün erime noktası 170,5 °C'dir. Benzimidazol halkasının birinci konumuna bir süstitüenti bağlamak genellikle erime noktasını düşürücü yönde etkilidir (Ülküseven vd., 1999). Örneğin 1-(2-metoksietil-5-metil) benzimidazol bileşiğinin erime noktası 130 °C'dir (Küçükbay vd., 2009).

Benzimidazolün serbest imino hidrojeninin polar çözücülerdeki moleküllerle oluşturduğu hidrojen bağları, bu bileşiğin polar çözünürlüğünü artırmaktadır. Ancak halkada bulunan nonpolar süstitüentler, molekülün genel polaritesini azaltarak nonpolar çözücülerde çözünürlüğü artırmaktadır (Hofmann, 1953).

2017 yılında Li ve arkadaşları 2-merkaptometil benzimidazol bileşiğinin sekiz farklı solvanda (etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-bütanol, 2-bütanol, etil asetat, asetonitril ve aseton) sıcaklık ile çözünürlüğünü incelemiş ve çözünürlük değerlerinin artan sıcaklıkla doğru orantılı olduğunu gözlemlemişlerdir. 2-merkaptometil benzimidazolün 283,15 Kelvin

(K)'de, en yüksek çözünürlüğü aseton içinde ve en düşük çözünürlüğü ise asetonitrilde belirlenirken, 308,15 K'de ise en yüksek çözünürlüğü 2- bütanolde, en düşük çözünürlüğü yine asetonitrilde gözlemlenmiştir (Li vd., 2017).

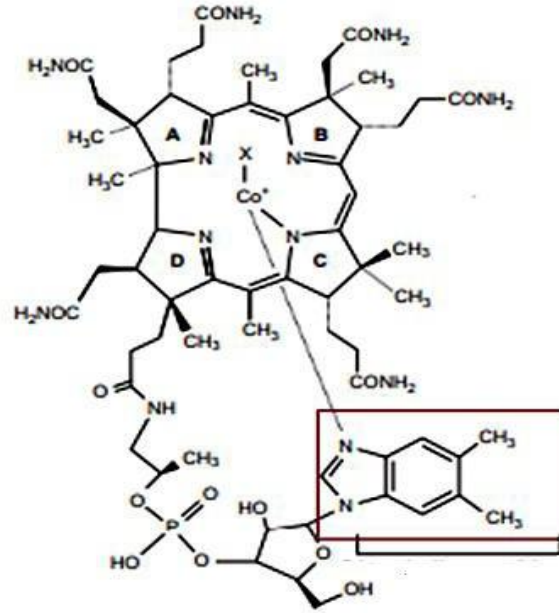
Benzimidazol halkası oldukça kararlı bir yapıya sahiptir. Bu yapı, 270 °C'ye kadar basınç altında ısıtıldığında bile bozulmaz. Ayrıca konsantre sülfürik asit, ısıtılmış hidroklorik asit veya güçlü bazlarla işlem gördüğünde dahi yapısını korur. Oksidasyon, sadece zorlu koşullar altında benzimidazolün benzen halkasını parçalamaktadır (Kaushik vd., 2023).

1.2. Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Farmakolojik Olarak Önemi

Son yüzyıldır benzimidazol halkasının, çeşitli ve önemli farmakolojik özellikleri medisinal kimyada araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Benzimidazolün yapısındaki azot atomları, hidrojen bağları ve diğer zayıf etkileşimlerin oluşmasına olanak tanımaktadır. Bu özellik, benzimidazolün çok çeşitli biyolojik hedeflerle kolayca etkileşim kurmasını sağlayarak, farmakolojik uygulamalarda önemli bir rol üstlenmesine katkıda bulunmaktadır (Keri vd., 2015; Lee vd., 2023).

1944 yılında benzimidazolün pürinlere benzer şekilde davranarak çeşitli biyolojik reaksiyonları uyarabileceğini öne sürüldüğünden beri, benzimidazol çekirdeğinin terapötik potansiyeli bilinmektedir (Woolley, 1944).

Birkaç yıl sonra Brink, 5,6-dimetilbenzimidazol molekülünün B₁₂ vitamininin bir yıkım ürünü olduğunu gözlemlemiş ve bazı türevlerinin B₁₂ vitaminine benzer bir aktiviteye sahip olduğunu keşfetmiştir (Nardi vd., 2023).



Şekil 1.3. B₁₂ vitamini yapısı (Crofts vd., 2014)

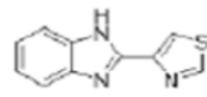
1.2.1. Benzimidazol Türevi Antimikrobiyal ve Antifungal Bileşikler

Antimikrobiyal ajanlar, bakteriler, protozoalar, helmintler, mantarlar ve virüsler gibi farklı mikroorganizmalara karşı etkili olan geniş bir kimyasal bileşik yelpazesinden oluşmaktadır (Bansal ve Silakari, 2012). Benzimidazollerin antimikrobiyal potansiyeli, özellikle 1990'ların sonları ve 2000'lerin başlarından beri araştırılmıştır (Özkay vd., 2010).

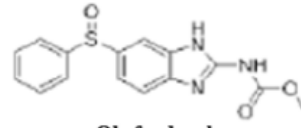
Benzimidazol fungusitleri, mantar hücre mikrotübüllerinin oluşumunu engelleyerek hücre bölünmesini durdurmaktadır. Bu durum, mantar hücrelerinin büyüme ve çoğalması için gerekli olan hif ucu uzamasını ve koloni oluşumunu önlemektedir (Ateş- Alagoz, 2016; Demirci, 2011).

Güven vd. 1-süstitüe benzimidazol bileşiklerinin 2-süstitüe benzimidazollere göre daha zayıf antimikrobiyal özellikler gösterdiğini belirtmiştir (Güven vd., 2007).

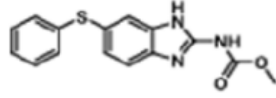
Tiabendazol, 1962 yılında insan kullanımı için geliştirilip onaylanan ilk benzimidazol türevi olarak dikkat çekmiştir. Bu keşfin ardından parbendazol, fenbendazol, oksfendazol ve mebendazol gibi diğer benzimidazol türevleri de antihelmintik ilaçlar olarak geliştirilmiş ve ticari olarak kullanıma sunulmuştur (Ateş-Alagoz, 2016; Yadav ve Ganguly, 2015).



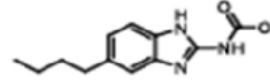
Tiabendazol



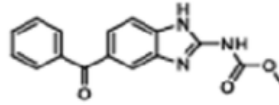
Oksfendazol



Fenbendazol



Parbendazol



Mebendazol

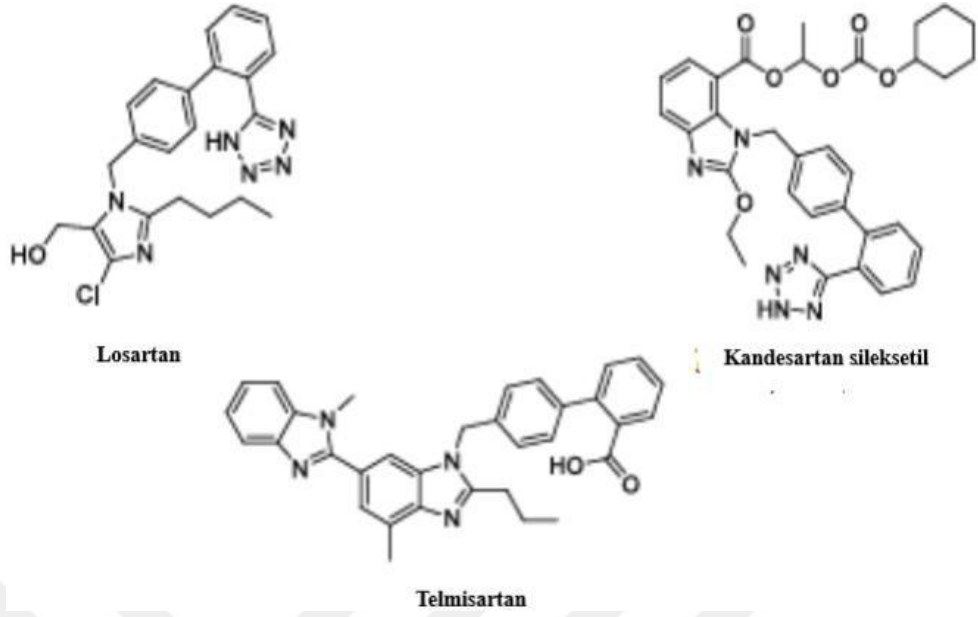
Şekil 1.4. Klinik olarak onaylanmış benzimidazol türevi antihelmentik-antimikrobiyal ilaçlar

1.2.2. Benzimidazol Türevi Antihipertansif Bileşikler

Renin anjiyotensin sistem (RAS), kan basıncı ve elektrolit dengesinin düzenlenmesinde önemli bir hormon sistemidir. RAS; renin enzimi, anjiyotensin ve aldosteron hormonlarından oluşmaktadır (Bansal ve Silakari, 2012).

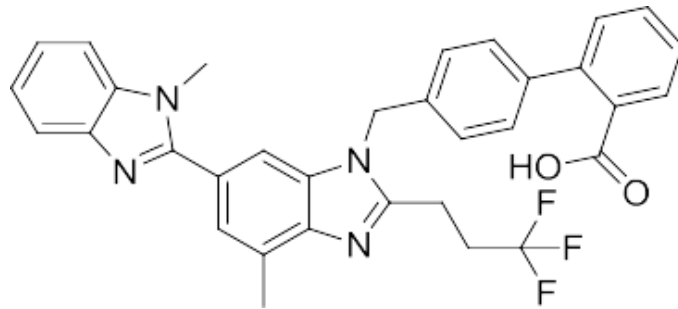
Benzimidazol çekirdeği, antihipertansif ilaçların geliştirilmesi açısından yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Benzimidazol türevi birçok bileşik, Renin-Anjiyotensin Sistemi'ne (RAS) müdahale ederek antihipertansif etki göstermektedir (Bansal ve Silakari, 2012).

Benzimidazol, minimum yan etkili, yüksek antihipertansif aktiviteye sahip ve selektif AT₁ reseptör antagonistlerinin sentezinde kullanılmıştır. Losartan, bu ilaçların ilk örneğidir ve sonrasında birçok antihipertansif benzimidazol türevi bileşik sentezlenmiştir. Kandesartan sileksetil ve telmisartan, benzimidazol halkasına sahip bilinen antihipertansif ilaçlardır (Bao vd., 2017; Brouil ve Burke, 2003).



Şekil 1.5. Klinik olarak onaylanmış benzimidazol türevi antihipertansif ilaçlar

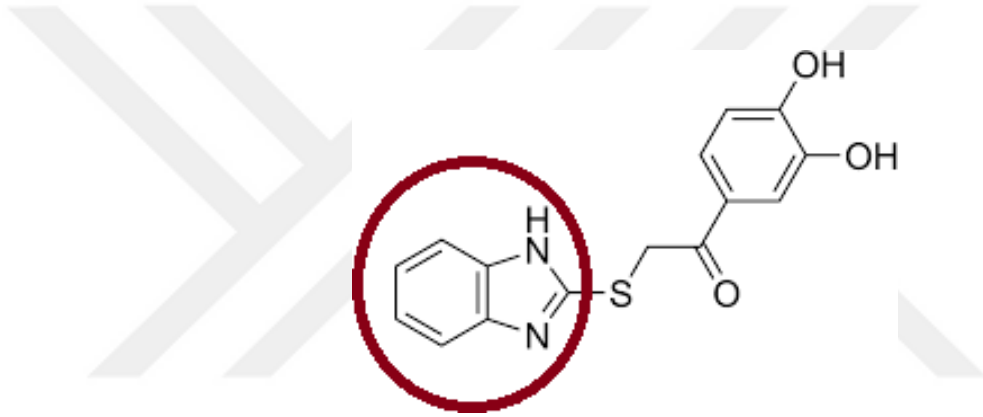
Telmisartan kullanımı uzun süreli kullanımı çeşitli yan etkilere neden olabileceğinden, daha etkili ve güvenli antihipertansif ilaçların geliştirilmesi düşüncesiyle Wu vd. flor içeren benzimidazol türevlerinden oluşan yeni bir dizi sentezlemiş ve bunları farmakolojik olarak değerlendirmiştir. Sentezledikleri çoğu bileşik, spontan hipertansif sıçanlarda kan basıncını etkili bir şekilde düşürmüştür. Kan basıncı en fazla aşağıdaki bileşikte düşmüş olup bu türevin antihipertansif etkisi 24 saatten uzun sürmüştür. Bu bileşik, standart bileşik olarak kullanılan losartan ve telmisartan yapılarından daha iyi performans göstermiştir. Bu nedenle aşağıdaki bileşik potansiyel antihipertansif ilaç adayı olarak değerlendirilmektedir (Wu vd., 2020).



Şekil 1.6. Benzimidazol türevi antihipertansif bileşik

1.2.3. Benzimidazol Türevi Antidiyabetik Bileşikler

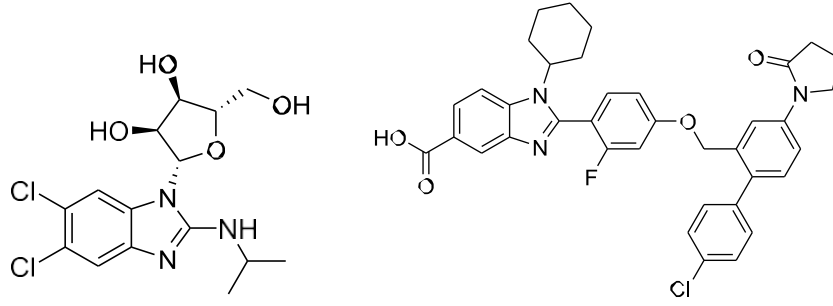
Benzimidazol türevleri; glukokinaz aktivasyonu, α -glukozidaz inhibisyonu, peroksizom proliferatör-aktive edilmiş reseptör (PPAR) modülasyonu gibi çeşitli yollarla tip II diyabet tedavisinde etkili olabilecek farmakolojik aktivite sergilemektedir. Günümüzde araştırmalarda, non-peptit glukagon reseptör antagonistlerinin geliştirilmesine odaklanılmıştır. 2-(1*H*-benzimidazol-2-il sülfanil)-1-(3,4-dihidroksifenil)etanon veya diğer adıyla NNC 92-1687, insan glukagon reseptörüne spesifik olarak bağlanan ve bu şekilde glukagon tarafından uyarılan hücrelerdeki cAMP birikmesini engelleyen ilk non-peptit rekabetçi glukagon reseptör antagonistidir (Aboul-Enein ve El Rashedy, 2015; Sinz vd., 2011).



Şekil 1.7. NNC 92-1687 bileşik yapısı

1.2.4. Benzimidazol Türevi Antiviral Bileşikler

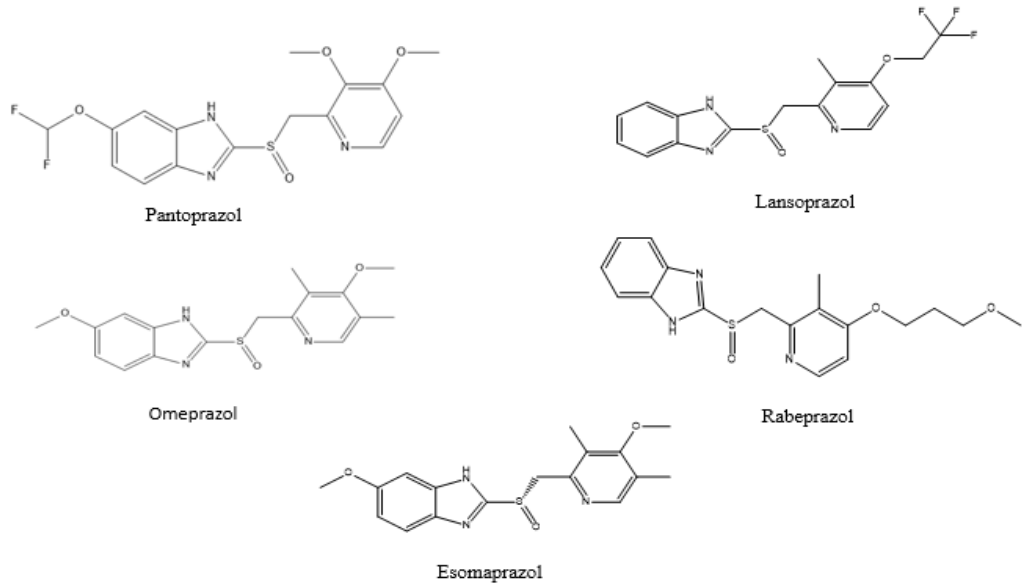
Süstitüsyon türüne ve yan zincir fonksiyonlarına bağlı olarak, benzimidazol türevleri anti-HCV, anti-HBV, anti-HIV, anti-HSV, anti-rotavirüs, anti-PRSV, anti-adenovirüs ve anti-Sunn-hemp rozet virüslerine karşı aktivite göstermektedir. Maribavir, Kasım 2021 tarihinde FDA tarafından onaylanan benzimidazol türevli antiviral ilaçtır. Benzimidazol-5 karboksilik asit türevi antiviral JTK-109 isimli bileşikte ise klinik çalışmalar devam etmektedir (Halpern ve Blumberg, 2022; Hirashima vd., 2006).



Şekil 1.8. Sırasıyla Maribavir ve JTK-109 bileşikleri

1.2.5. Benzimidazol Türevi Antiülser Bileşikler

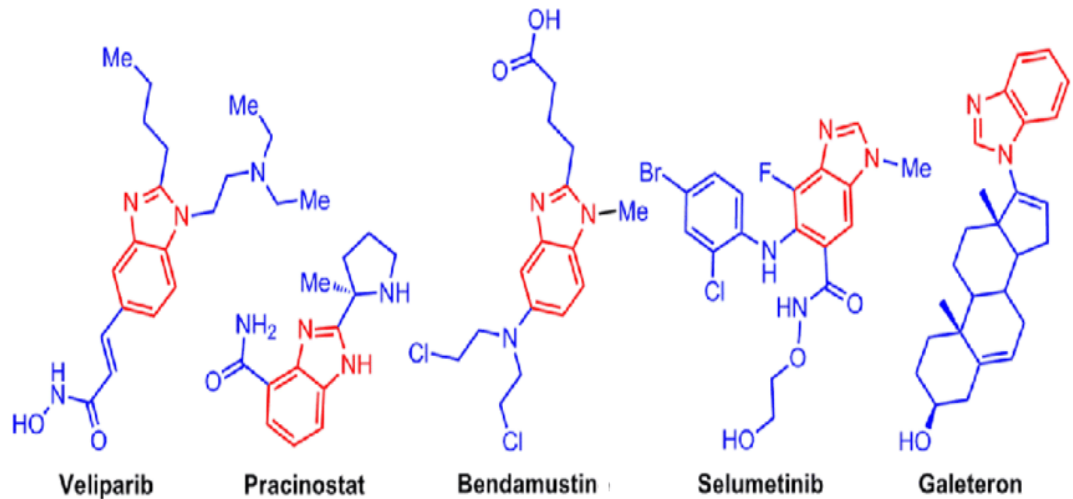
Benzimidazol türevlerinin proton pompası inhibitörü olarak keşfi, 1960'lı yıllara dayanmaktadır. Pantoprazol, omeprazol, lansoprazol ve rabeprazol klinik olarak kullanılan benzimidazol türevi ilaçlardır. Bu ilaçlar, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu tedavisinde endikedir ve mide asidi üretimini azaltmak amacıyla antibiyotiklerle kombine halde kullanılmaktadır. Bu etkiyi, H⁺/K⁺ ATPaz proton pompası inhibisyonu yoluyla sağlamaktadırlar (Kromer, 1995). Cotton ve arkadaşları, 2000 yılında omeprazol adlı ilacın prokiral sülfidinin asimetrik oksidasyonu ile esomeprazol sentezlenebileceğini ve bu bileşiğin kuvvetli antiülser etki gösterdiğini bildirmiştir (Cotton vd., 2000).



Şekil 1.9. Benzimidazol türevi klinik kullanılan antiülser ilaçlar

1.2.6. Benzimidazol Türevi Antikanser Bileşikler

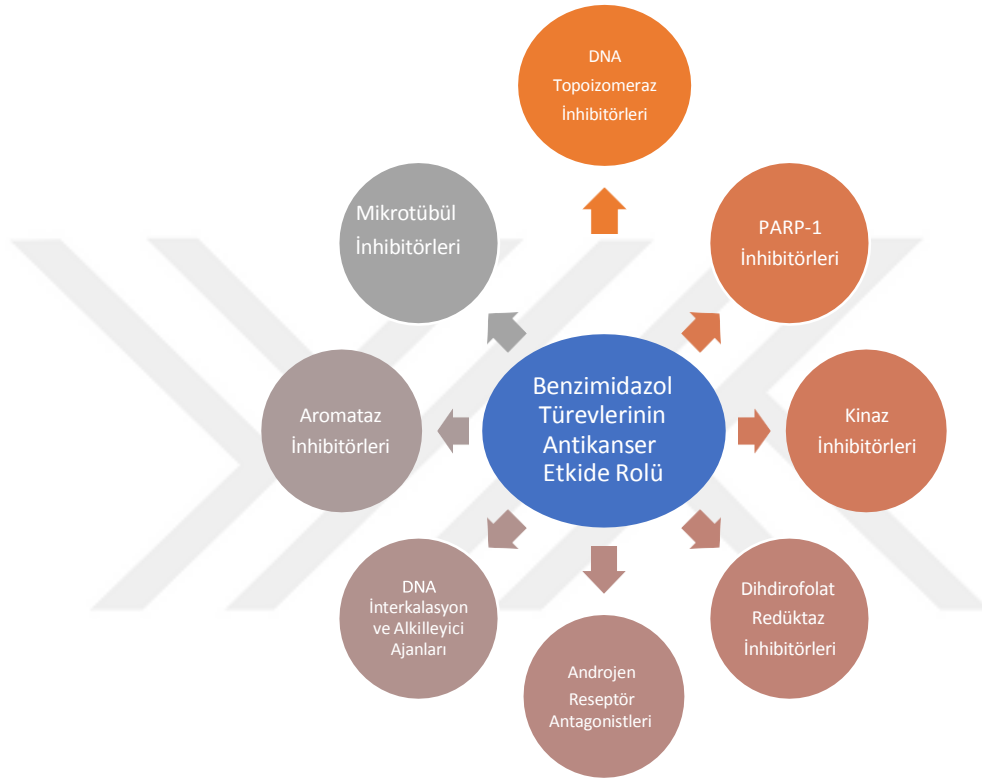
Benzimidazol, pürin bazlı nükleik asitlerin bir izosteri ve biyolojik olarak aktif birçok molekülde önemli bir yapı iskeleti olduğu için antikanser ajanlarının geliştirilmesinde geniş çapta araştırılmıştır (Bansal ve Silakari, 2012). Benzimidazol türevlerinin 5.konumuna farklı süstitüentlerin eklenmesi antikanser etkilerini artırabilmektedir (Acar Çevik, 2019). İkinci pozisyonunda çeşitli heterohalka süstitüenti taşıyan bileşiklerin, çeşitli kanser hücre hatlarında yüksek antikanser etki gösterdiği belirtilmiştir. Beşinci pozisyonunda kloro veya karboksil grubu taşıyan ve 2-süstitüe benzimidazoller çeşitli antitümör ajanlar olarak rapor edilmiştir. 1*H*-benzimidazol-5-karboksilik asit türevleri, antilösemik ajanlar olarak değerlendirilmiş ve apoptozu indüklediği tespit edilmiştir (Abdel-Mohsen, 2010; Bansal ve Silakari, 2012; Mavrova vd., 2007). Benzimidazolün N-1, C-2, C-5 ve C-6 konumlarındaki süstitüsyonlarının antikanser aktiviteye en fazla katkı sağlayan faktörler olduğu tespit edilmiştir (İbrahim ve Refaat, 2020). Son yıllarda keşfedilen antikanser ilaçlar arasında, benzimidazol türevleri çeşitli biyolojik aktiviteleri ve klinik uygulamaları nedeniyle dikkat çekmiştir. Benzimidazolün eşsiz yapısı ve düşük toksisitesi onu antikanser ilaç geliştirme sürecinde dikkate değer bir temel yapı iskeleti haline getirmiştir (Lee vd., 2023). Son on yıldır birçok benzimidazol yapısına sahip antikanser ilacı Binimetinib, Selumetinib ve Abemaciclib gibi çeşitli mutasyona uğramış kanser formlarının tedavisi için FDA'dan onay verilmiştir (Haider ve Yar, 2022).



Şekil 1.10. Klinik olarak onaylanmış benzimidazol türevi antikanser ilaçlar (Haider ve Yar, 2022)

1.2.6.1. Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Antikanser Mekanizmaları

Benzimidazol ve türevlerinin, topoizomeraz inhibitörleri, DNA interkale edici ve alkile edici ajanlar, androjen reseptör antagonisti, poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) inhibitörleri, protein kinaz inhibitörleri, dihidrofolat redüktaz inhibitörleri ve mikrotübül inhibitörleri olarak önemli roller oynadığı bildirilmiştir (Shrivastava vd., 2017).



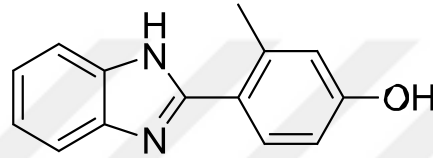
Şekil 1.11. Benzimidazol türevlerinin antikanser mekanizmaları

1.2.6.1.1. DNA Topoizomeraz İnhibitörü Olarak

DNA topoizomeraz; DNA replikasyonu, transkripsiyon, rekombinasyon gibi DNA bütünlüğü ile ilgili süreçlerde rol alan önemli bir enzimdir. DNA'nın replikasyonu ve transkripsiyonu sırasında çift sarmal yapısı açıldığında, iki iplik arasında gerginlik oluşmaktadır (Wang, 1996). Tip I topoizomeraz (Topo I), yalnızca DNA'nın bir ipliğini keserken, Tip II topoizomeraz (Topo II) çift iplikli DNA molekülünün her iki ipliğini kesmektedir. (Cuya vd., 2017). Bu durum kromozomların doğru şekilde ayrılabilmesi için gerekmektedir. Topoizomeraz inhibitörleri, bu enzimlerin işlevini engelleyerek DNA hasarına neden olmaktadır (Firat ve Yıldız, 2020).

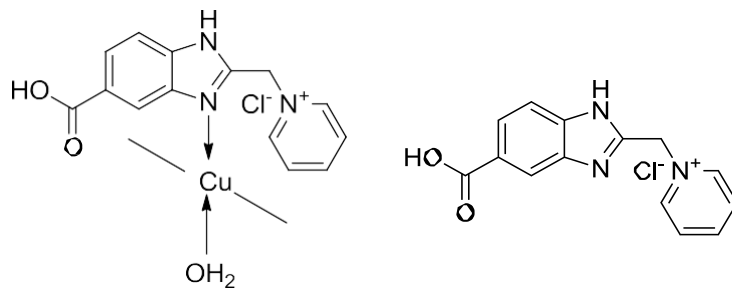
Benzimidazol türevleri, DNA topoizomeraz I ve II enzimlerini inhibe ederek DNA'nın kromatin yapının düzenlenmesini engellemekte ve böylece hücre bölünmesini durmaktadır. Hoechst 33342 ve Hoechst 33258 gibi bis-benzimidazol türevleri, DNA topoizomeraz I inhibitörleri olarak bilinmektedir (Zhang vd., 1999).

Alpan vd. 1*H*-benzimidazol türevlerini sentezlemiş ve bu yapıların memeli Tip 1 DNA topoizomeraz aktivitesi üzerindeki etkilerini *in vitro* plazmit süpercoil gevşeme testleri ile değerlendirmiştir. Şekil 1.11, kamptotesine (referans ilaç) nazaran daha kuvvetli Topo-I inhibitör aktivitesi göstermiştir (Alpan vd., 2007).



Şekil 1.12. Benzimidazol türevi Topo-I inhibitörü bileşik

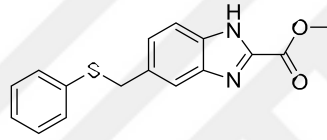
Bir dizi 1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilik asit türevlerinden oluşan dokuz adet yeni bileşik sentezlenmiş ve bu bileşiklerin 21 farklı insan katı tümör hücre hattına (yedi kolon, sekiz akciğer ve altı mide) karşı antikanser etkisi MTT testi ile araştırılmıştır. İncelenen bileşikler arasında, bakır kompleksi **I** ve onun ligandı **II** sırasıyla ortalama $GI_{50}=0,091 \mu M$ ve $GI_{50}=0,095 \mu M$ büyüme inhibisyonu göstermiştir. Test edilen bu bileşiklerin topoizomeraz II enzimini inhibe etme kapasitesi ve bu inhibisyon için gereken konsantrasyonlar belirlenmiştir. Bu bileşikler, referans olarak kullanılan etoposid bileşiğinden 10 kat daha düşük konsantrasyonda topoizomeraz II aktivitesini inhibe etmiştir (Galal vd., 2010).



Şekil 1.13. 1*H*-benzimidazol-5-karboksilik asit türevi bileşikler

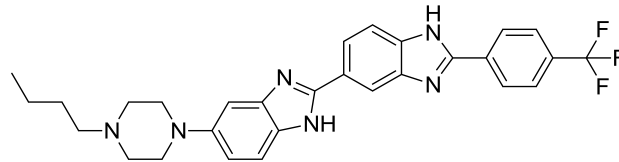
DNA Topoizomeraz inhibitörleri olan Hoechst 33258 ve Hoechst 33342 bileşiklerinden hareketle mikrodalga yöntemi ile sentezlenen 2-((5-(2-(4-Süstitüefenil)-1H-benzimidazol-6-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo)-1-(4-süstitüepiperazin-1-il)-etan-1-on türevlerinin sitotoksik aktiviteleri MTT testi ile belirlenmiş ve HeLA, MCF-7, A549, Hep G2, C6 ve NIH3T3 kanser hatları üzerinde aktivite gözlemlenmiş ve bu bileşiklerin etkilerini DNA topoizomeraz I enzimi üzerinden gösterdiği kanıtlanmıştır (Acar Çevik, 2019).

Bir dizi 2,5,6-trisüstitüe benzimidazol türevi sentezlenmiştir. Ökaryotik DNA Topo II aktivitesi, relaksasyon testi ile değerlendirilmiştir. Etoposid, topoizomeraz inhibasyon aktivitesinde karşılaştırma amaçlı referans ilaç olarak kullanılmıştır. Şekil 1.14 ($IC_{50}=17,0 \mu M$) değeri ile referans ilaç olan etoposide ($IC_{50}=21,8 \mu M$) göre daha aktif bulunmuştur (Pinar vd., 2004).



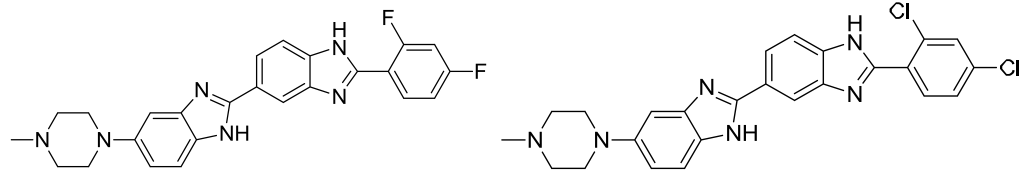
Şekil 1.14. Benzimidazol türevi topoizomeraz inhibitörü bileşik

Bis-benzimidazoller, DNA topoizomeraz inhibitörü olarak terapötik ajanların umut vadeden bir sınıfıdır. Bir dizi Hoechst 33342 ve 33258 analogu piperazin ve fenol süstitüe bis-benzimidazol türevleri sentezlenmiştir. MTT testi ile çeşitli kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivite, hücre gevşeme testi ile topoizomeraz I aktivitesi değerlendirilmiştir. Şekil 1.15, lösemi ve melanom hücrelerine karşı kamptotesin ile karşılaştırılabilir topoizomeraz I inhibisyon aktivitesi göstermiştir (Pandey vd., 2022).



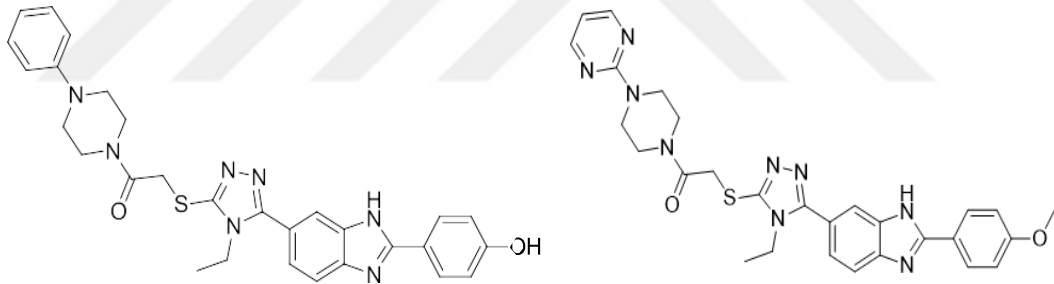
Şekil 1.15. Bis-benzimidazol türevi topoizomeraz inhibitörü bileşik

2-aril-5-süstitüe-2,5-bis-benzimidazol türevi antikanser etkili dört adet bileşik sentezlenmiştir. Topoizomeraz etkileri hücre gevşeme testi ile değerlendirilmiştir. Şekil 1.16'da verilen iki benzimidazol türevi antikanser bileşiğinin referans bileşik olan Hoechst ile karşılaştırıldığında daha güçlü topo I inhibitörleri olduğu gözlemlenmiştir (Singh ve Tandon, 2011).



Şekil 1.16. Benzimidazol türevi topoizomeras inhibitörü bileşikler

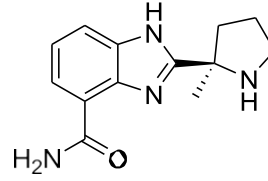
Bir dizi antikanser etkili 1,2,4-triazol benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiş ve sitotoksik etkileri akciğer (A549) melanom (C6) ve fare embriyo fibroblast hücre hatlarına (NIH3T3) karşı MTT testi yapılarak belirlenmiştir. Ayrıca, bu bileşiklerin DNA topoizomeras I enzimine karşı inhibitör etkileri değerlendirilerek yeni antikanser ajanlar geliştirilmesi hedeflenmiştir. Şekil 1.17'deki bileşikler sırasıyla $7,34 \pm 0,21$ ve $4,56 \pm 0,18$ μM IC_{50} değerleriyle A549 hücre hattına karşı doksorubisinden ($\text{IC}_{50} = 12,420 \pm 0,5$ μM) daha güçlü sitotoksik etki göstermiştir. Bu iki bileşik topoizomeras I'e karşı yüksek inhibitör aktivite göstererek antikanser tedavisinde potansiyel ilaç adayları olarak gözükmemektedir (Çevik vd., 2024).



Şekil 1.17. Benzimidazol türevi topoizomeras inhibitörü bileşikler

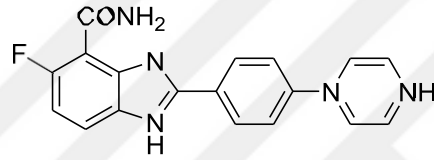
1.2.6.1.2. PARP-1 İnhibitörü Olarak

PARP-1; (Poli(ADP-riboz) polimeraz-1), aynı zamanda poli (ADP-riboz) sentetaz veya poli (ADP-riboz), DNA hasarını algılayan ve onarımını kolaylaştıran temel bir enzimdir. Bu nedenle, PARP enzimi inhibisyonu DNA onarımını engelleyeceği ve antikanser aktivitede terapötik etkisini artıracığı düşünülmektedir. Veliparib (ABT-888) bu mekanizmaya örnek gösterilen FDA onaylı benzimidazol türevi ilaç olup PARP inhibitörü bileşik olarak klinik araştırmalarda dikkate değer sonuçlar göstermiştir.



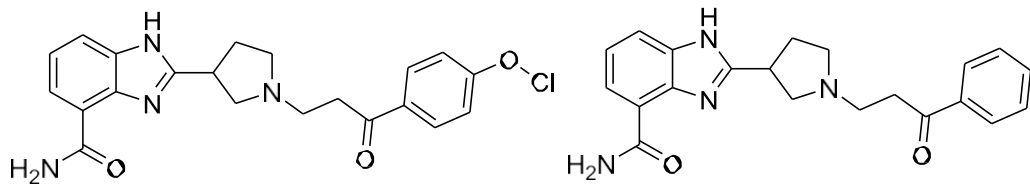
Şekil 1.18. Veliparib kimyasal yapısı

Bir dizi yeni 2,4,5-trisüstitüe benzimidazol türevleri sentezlemiş ve bunları PARP-1 inhibitör aktivitesi açısından biyolojik olarak değerlendirmiştir. Sentezlenen tüm bileşikler yüksek seviyede PARP-1 inhibisyonu göstermiştir. Aşağıdaki bileşik PARP-1 enzime karşı en güçlü aktiviteyi göstermiştir.



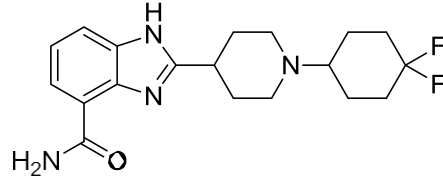
Şekil 1.19. Benzimidazol Türevi PARP-1 inhibitörü bileşik

Bir dizi benzimidazol karboksamit türevi sentezlenmiş ve bu bileşikler üzerinde PARP inhibisyon testleri ve hücre proliferasyon testleri gerçekleştirilmiştir. Aşağıdaki iki bileşik, referans ilaç olan Veliparib'e epey benzeyen PARP-1 inhibisyonu göstermiştir. Ayrıca bu bileşikler MDA-MB-436 (meme kanseri) ve CAPAN-1 (pankreas kanseri) hücre hatlarına karşı *in vitro* sitotoksosite açısından Veliparib ilacından daha iyi performans göstermiştir (Min vd., 2019).



Şekil 1.20. Benzimidazol türevi PARP-1 inhibitörü bileşikler

Tang vd. pirolidinil ve piperidinil üzerinden türevlendirilen bir dizi benzimidazol 4-karboksamit iskeleti taşıyan antikanser bileşik elde etmişlerdir. Bu bileşiklerin *in vitro* antiproliferatif aktivitesi, dört insan kanser hücre hattına (MDA-MB-436, MDA-MB-231, MCF-7 ve CAPAN-1) karşı araştırılmıştır. Şekil 1.21, etkili bir PARP inhibitörü olduğu aynı zamanda MDA-MB-436 kanser hücre hattına karşı belirgin bir seçici antiproliferatif aktivite göstermiştir (Tang vd., 2021).

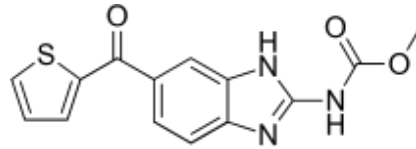


Şekil 1.21. 2-(1-(4,4-diflorosikloheksil) piperidin-4-il)-1*H*-benzimidazol-4-karboksamit

1.2.6.1.3. Mikrotübül İnhibitörü Olarak

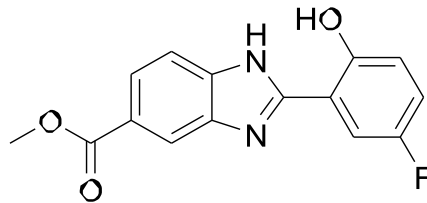
Mikrotübüller, hücre şeklinin korunması, hücre hareketliliği, hücreler arası iletişimde görev alan ve mitoz sırasında kritik görevler üstlenen aktif hücresel yapılardır. Mikrotübül inhibitörleri, bu yapıyı bozarak mitotik iğ oluşumunu engellemekte, mitozu metafaz-anafaz geçişinde durdurmakta ve apoptotik hücre ölümüne neden olmaktadır (Dogra vd., 2018; Lee vd., 2023; Shrivastava vd., 2017).

Nokodazol, mikrotübül oluşumunu bozarak hücre döngüsünü durdurmakta ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Yapısında, benzimidazol halkasının 2. pozisyonunda karbamat ve 5. pozisyonunda 2-tiyenol grubu taşımaktadır.



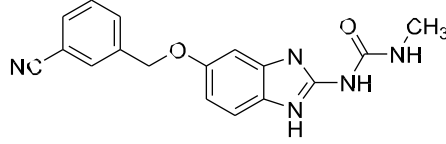
Şekil 1.22. Nokadazol kimyasal yapısı

Metil 2-(5-floro-2-hidroksifenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksilat (MBIC), meme kanseri hücrelerinde yüksek sitotoksite gösteren benzimidazol türevi mikrotübül inhibitörüdür (Hasanpourghadi vd., 2017).



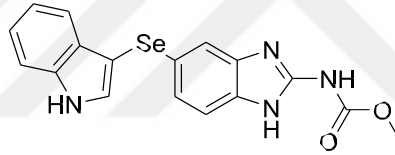
Şekil 1.23. Metil 2-(5-floro-2-hidroksifenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksilat (MBIC)

Wang vd. benzimidazol-2-üre türevlerini sentezlemişlerdir. Şekil 1.24, NCI-H460 (akciğer kanseri) hattında mikrotübül oluşumunu inhibe ederek kuvvetli β -tübülün inhibitörü olarak dikkat çekmiştir (Wang vd., 2014).



Şekil 1.24. Mikrotübül inhibitörü benzimidazol-2-üre türevi bileşik

Kükürt veya selenyum ile indol gruplarına bağlı 2,5-disüstitüe benzimidazol karbamatlar sentezlenmiş ve kanser hücre hatlarına karşı etkileri incelenmiştir. Şekil 1.25, HT- 1080 (fibrokarsom), A-549 (akciğer kanseri) ve SGC-7901 (mide kanseri) hücre hatlarına karşı 0,098-0,15 μ M arasında değişen IC_{50} değerleriyle güçlü antikanser aktivite göstermiş olup *in vitro* testler aşağıdaki bileşiğin, tübülün polimerizasyonunu engelleyip mikrotübül yapısını bozduğunu göstermiştir (Guan vd., 2014).



Şekil 1.25. Mikrotübül inhibitörü benzimidazol türevi bileşik

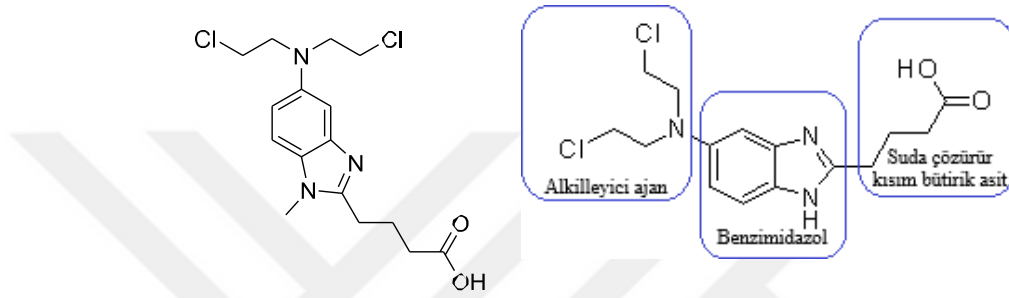
1.2.6.1.4. DNA İnterkalasyonu ve Alkileyici Ajanlar

DNA alkilatörleri ve interkalatörleri, antikanser tedavide sık kullanılan ajanlardır. DNA alkilatörleri, DNA bazlarıyla kovalent bağlar oluşturarak DNA replikasyonunu inhibe ederken ve bu yolla antitümör etki gösterir. DNA interkalatörleri ise proteinlerin DNA'nın büyük veya küçük oluklarına bağlanmasını engelleyerek DNA yapısını bozmakta ve protein-DNA etkileşimini kesmektedir (Gromiha ve Nagarajan, 2013; Shrivastava vd., 2017; Siddik, 2005; Soni vd., 2017).

Protein-DNA etkileşimleri, replikasyon, transkripsiyon ve DNA onarımı gibi biyolojik süreçleri içermektedir. DNA interkalatörleri, bu etkileşimleri bozarak DNA'nın konformasyonunu değiştirmekte ve transkripsiyon faktörleri, topoizomerez ve DNA onarım proteinlerinin fonksiyonlarını baskılamaktadır. Bu nedenle, DNA interkalatörleri kanser kemoterapisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Shrivastava, 2017).

Bendamustin hidroklorür, benzimidazol türevi 2008 yılında FDA'dan onay alan antikanser bileşiktir (Leoni vd., 2008).

Bendamustin, DNA kırılmalarına neden olan güçlü bir alkilleyici ajan olarak etki göstermektedir. Sisplatin, siklofosfamid ve karmustin gibi geleneksel alkilleyici ajanlardan daha etkilidir. Bu yüksek etkinlik, benzimidazol halkasının antikanser özellikleri artırmadaki önemli rolünü ortaya koymaktadır (Gandhi ve Burger, 2009).



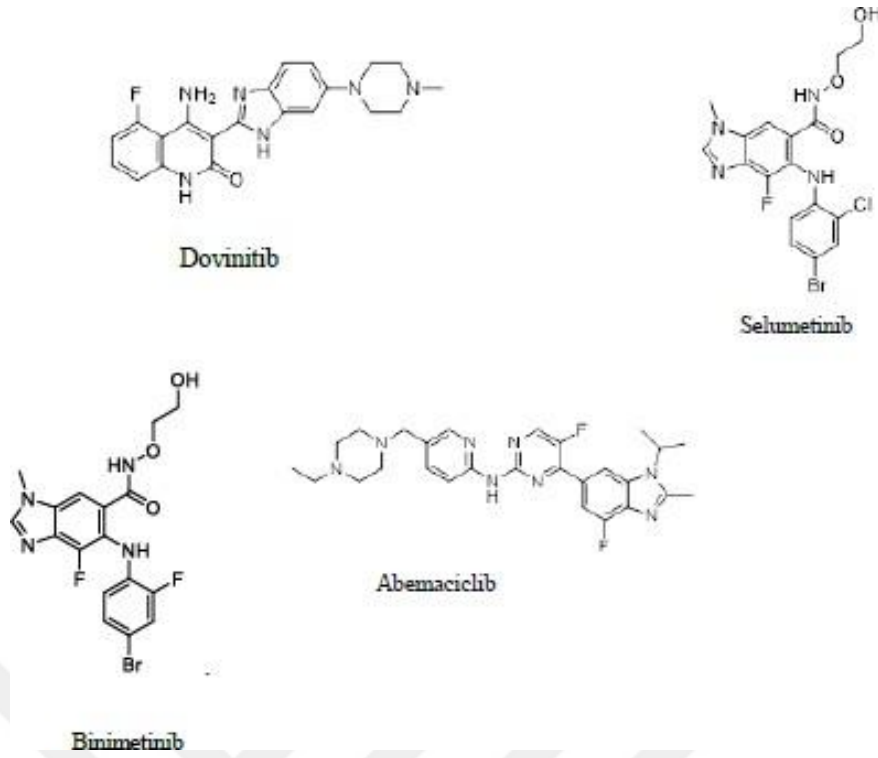
Şekil 1.26. Bendamustin kimyasal yapısı

Hranjec vd. DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yaparak DNA kırılmasına neden olabilen benzimidazo[1,2-a] kinolon bileşikler sentezlemiştir. Bu bileşikler, beş tümör hücre hattında; serviks karsinomu (HeLa), pankreas karsinomu (MiaPaCa-2), kolon karsinomu (SW 620), meme karsinomu (MCF-7) ve akciğer karsinomu (H-460) önemli antiproliferatif etki göstermiştir (Hranjec vd., 2010).

1.2.6.1.5. Protein Kinaz İnhibitörleri Olarak

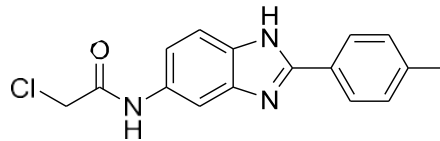
Kinazlar, hücre içi sinyal yollarını düzenleyerek büyüme, bölünme ve apoptoz gibi süreçleri kontrol eden enzimlerdir. Bu enzimler, yapılarına ve işlevlerine göre tirozin kinazlar (TK), serin/treonin kinazlar ve tirozin kinaz benzeri enzimler olarak sınıflandırılmaktadır. Tirozin kinaz inhibitörleri (TKİ'ler), çeşitli yollarla kanser tedavisinde kullanılır. Benzimidazol iskeleti, çok çeşitli kinaz inhibitörlerinin geliştirilmesinde önemli bir yapı taşıdır (Zhong vd., 2021).

Dovinitib, Selumetinib, Binimetinib ve Abemaciclib, FDA onaylı benzimidazol türevi protein kinaz inhibitörleridir (Lee, 2023).



Şekil 1.27. Benzimidazol türevi protein kinaz inhibitörleri

Bir dizi antikanser etkili 2-fenil-1*H*-benzimidazol türevi bileşik sentezlenmiş; *in vitro* hücre sitotoksosite testi için MTT, kinaz inhibisyonu aktivitesini test etmek için *in vitro* kinaz testi uygulanmıştır. Aşağıdaki bileşik EGFR, VEGFR-2 ve PDGFR'yi hedefleyen çok hedefli bir reseptör tirozin kinaz (RTK) inhibitörü olduğu ve HepG-2 hücrelerine karşı iyi sitotoksosite gösterdiği gözlemlenmiştir. 2-aril halkasında elektron çeken süstituent ve daha kısa zincir bulunmasının sitotoksositeyi daha çok artırdığı sonucuna varılmıştır (Li vd., 2011).



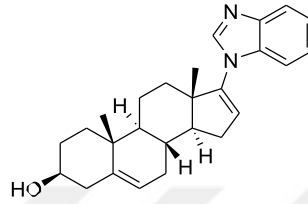
Şekil 1.28. Tirozin kinaz inhibitörü benzimidazol türevi bileşik

1.2.6.1.6. Androjen Reseptör Antagonisti Olarak

Androjen reseptörü (AR), testosteron veya dihidrotestosteronun bağlanmasıyla aktive olan bir hücre içi reseptördür. AR antagonistleri, reseptöre güçlü bir şekilde bağlanarak DNA ile etkileşimini ve genlerin aktif hale gelmesini engeller (Shrivastava vd., 2017; Roy vd., 1998). Böylece apoptozu tetikleyerek kanser hücrelerinin ölümüne neden

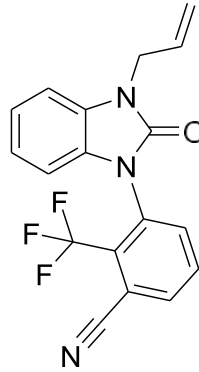
olur. Antiandrojenler, kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyen ve çeşitli hücre hatlarında apoptozu indükleyen yeni bir antikanser ajan sınıfıdır (Elancheran vd., 2016).

Galeteron (3 β -hidroksi-17-(1*H*-benzimidazol-1-il) androsta-5,16-dien), androjen reseptörüne (AR) bağlanmayı engellemektedir. VN/124-1 olarak bilinen bu ilaç, benzimidazol halkası sayesinde AR'ye karşı kuvvetli antagonist etki göstermektedir (Handratta vd., 2005).



Şekil 1.29. Galeteron kimyasal yapısı

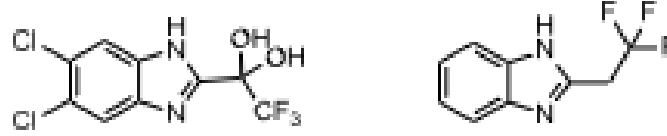
Elancheran vd. 2-okso-1,3,5-trisüstitüe-benzimidazol türevlerini sentezlemiş olup bu bileşiklerin sitotoksik etkisini incelemek için MTT testi uygulanmışlardır. Aşağıdaki bileşik prostat kanseri (PC-3, LNCaP) ve meme kanseri (MCF-7, MDA-MB-231) hücre hatlarında önemli sitotoksik etki göstermiştir. Bu çalışma, AR antagonistlerinin prostat kanserinin yanı sıra meme kanseri tedavisinde de kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Elancheran vd., 2016).



Şekil 1.30. Benzimidazol türevi androjen reseptör antagonisti

Ng vd. yeni seçici androjen reseptör antagonistleri olarak 5,6- diklorobenzimidazol türevleri sentezlemiştir. Bicalutamid yapısındaki propionanilid yerine benzimidazol yapısı içeren androjen reseptör ligandları yerleştirip daha üstün antikanser aktivite görmeyi hedeflemiştir.

Benzimidazol halkasında 1.konumdaki azot üzerine bağlı olan küçük alkil sübstitüentleri (metil, etil) aktiviteyi korurken, daha büyük gruplar aktiviteyi azaltmıştır. 2. konumdaki karbon atomunda sülfid ve sülfon zincirleri, antagonist etkinliği artırmamıştır. Şekil 1.31'deki bileşikler bikalutamidden daha etkili bulunmuştur (Ng vd., 2007).

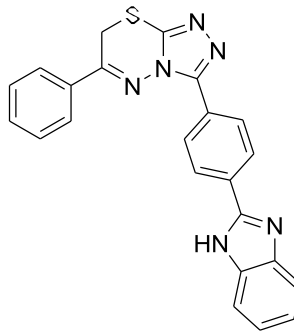


Şekil 1.31. Androjen reseptör antagonistleri olarak benzimidazol türevi bileşikler

1.2.6.1.7. Aromataz İnhibitörü Olarak

Aromataz, androstenedion veya testosterondan östrojen sentezleyen bir enzimdir. Aromataz inhibitörleri, bu enzimi engelleyerek östrojen seviyelerini düşürür ve östrojene bağımlı meme kanserlerinin tedavisinde etkili bir yöntemdir (Johnston ve Dowsett, 2003).

Çevik vd. bir dizi benzimidazol-triazolotiyadiazin türevi bileşik sentezlemiştir. MCF-7 meme kanseri hücre hattında MTT testi sonucu etkili bileşikler için aromataz inhibisyon testi uygulanmıştır. %68 verimle sentezlenen bileşik (Şekil 1.32), $IC_{50} = 0,032 \mu M$ değeri ile güçlü aromataz inhibitörü etki göstermektedir. Referans ilaç olarak kullanılan letrozol ($IC_{50} = 0,024 \mu M$) ile karşılaştırıldığında aromataz aktivitesinin daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (Acar Çevik vd., 2019).

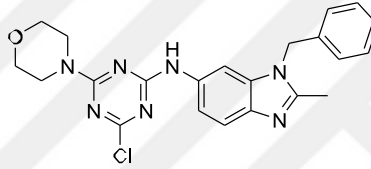


Şekil 1.32. Benzimidazol-triazolotiyadiazin türevi aromataz inhibitörü

1.2.6.1.8. DHFR İnhibitörü Olarak Benzimidazoller

Dihidrofolat (DHF), dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimi sayesinde indirgenerek DNA sentezi ve hücre proliferasyonu için gerekli olan tetrahidrofolata (THF) dönüştürülür. DHFR'nin inhibe edilmesi THF üretimini baskılamaktadır ve DNA replikasyonunu bozarak hücre ölümüne sebebiyet vermektedir (Raimondi vd., 2019; Lee vd., 2023).

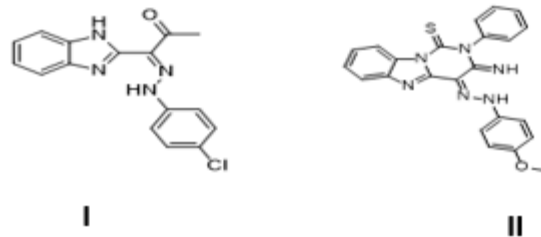
Yeni bir dizi triazin-benzimidazol türevi bileşikler sentezlenmiş ve antitümör aktiviteleri ve DHFR redüktaz inhibisyon seviyeleri değerlendirilmiştir. 1,2,6-süstitüe-benzimidazol türevi bileşik (Şekil 1.33), IC₅₀=1,05 µM değeri ile serideki en güçlü DHFR enzim inhibisyonu gösteren bileşiktir (Singla vd., 2015).



Şekil 1.33. Triazin-benzimidazol türevi DHFR İnhibitörü

1.3. Benzimidazol Türevlerinin Çeşitli Etkilerine Yönelik Literatür Çalışması

Abdallah vd. 1-(1*H*-benzimidazol-2-il)-propan-2-on ve (1*H*-benzimidazol-2-il)-asetonitril yapılarından hareketle bir dizi bileşik sentezlemiş ve bunları NUGC (mide kanseri), DLDI (kolon kanseri), HA22T (karaciğer kanseri), HEPG2 (karaciğer kanseri), HONEI (nazofarenks karsinomu), HR (mide kanseri), MCF-7 (meme kanseri), WI38 (normal fibroblast hücreleri) gibi çeşitli kanser hatları üzerinde CHS828 adlı ilacı referans olarak kullanarak *in vitro* antikanser aktivite açısından değerlendirmiştir. *In vitro* olarak tabloda verilen bazı insan kanser hücre hatlarına karşı referans CHS 828 bileşiğinden daha yüksek sitotoksik etki göstermiştir (Abdallah vd., 2015).

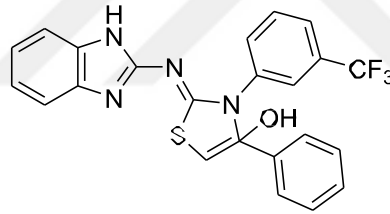


Şekil 1.34. Abdallah vd. sentezledikleri benzimidazol türevi bileşikler

Çizelge 1.1. Bazı yeni sentezlenen bileşiklerin çeşitli kanser hücre hatlarına karşı sitotoksitesi [IC_{50} (nM)]

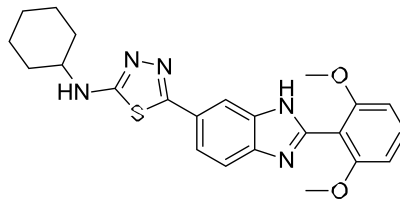
Bileşik	NUGC	DLD1	HA22T	HEPG2	HONE1	MCF
I	210	120	283	359	206	2655
II	44	70	37	370	244	120
CHS828	25	2315	2067	1245	15	18

Bangade vd. bir dizi yüksek verimli benzimidazol-difenil-2-imino-tiazolidin-4-ol türevleri sentezlenmiştir. Hedeflenen bileşikler, meme, kolon, akciğer, prostat ve akciğer kanseri hücre hatları gibi beş farklı insan kanser hücre hattı üzerinde doksorubisin referans alınarak değerlendirilmiştir. Antikanser aktivite açısından değerlendirilen bileşikler arasında Şekil 1.35'teki bileşik (IC_{50} = 3,89 μ M) değeriyle akciğer kanseri hücre hattına karşı en yüksek inhibitör aktiviteyi göstermiştir ve bu sonuç doksorubisin (IC_{50} =1,75 μ M) ile kıyaslandığında dikkat çekmektedir (Bangade vd., 2021).



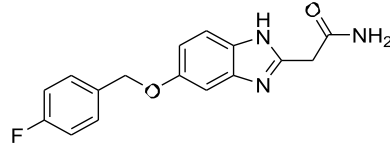
Şekil 1.35. Bangade vd. sentezledikleri antikanser etkili bileşik

Bazı yeni benzimidazol-tiyazol türevli bileşikler sentezlenmiş ve sitotoksik aktiviteleri kolon (HT-29) hücre hattı üzerinde referans bileşik olan florourasil ile karşılaştırılarak antikanser etkileri MTT testi ile değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin IC_{50} değerleri incelendiğinde, Şekil 1.36'da verilen bileşik (IC_{50} =34,13 $\pm$ 2,48 μ M) referans ilaç florourasil (IC_{50} =12,84 $\pm$ 3,66 μ M) ile karşılaştırılabilir etkisi dikkate değerdir (Bostancı ve Çevik, 2022).



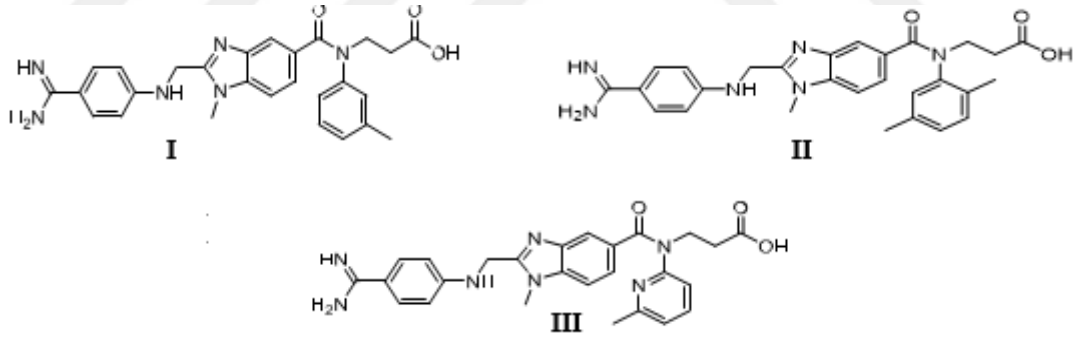
Şekil 1.36. Benzimidazol-tiyazol türevi antikanser bileşik

İnsan monoamin oksidaz B (hMAO-B) inhibitörleri için geri dönüşümlü özelliklere sahip yeni yapıların geliştirilmesi, parkinson hastalığının tedavisinin etkinliğini ve güvenliğini artırmak için önemli bir strateji olarak kabul edilmektedir. Şekil 1.37’de verilen bileşik ($IC_{50}=67,3$ nM), *in vitro* olarak safinamide ($IC_{50} = 42,6$ nM) ile karşılaştırılabilir etki ile en güçlü hMAO-B inhibitörü olarak öne çıkmıştır (Lv, 2024).



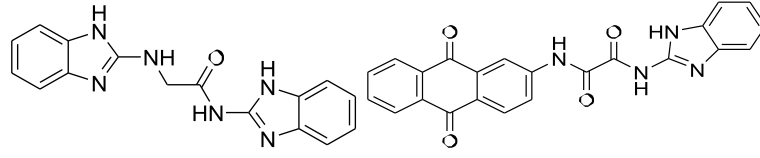
Şekil 1.37. hMAO-B inhibitörü benzimidazol türevi bileşik

Zhang vd. benzimidazol türevli oral antikoagülan olan dabigatran yapısı temel alınarak yeni benzimidazol türevleri geliştirilmiş ve bu bileşiklerin biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Trombin üzerindeki *in vitro* inhibitör aktiviteleri, ön analiz tarama sonuçlarına dayanarak değerlendirilmiştir Şekil 1.38’de verilen bileşikler için (I,II ve III) IC_{50} değerleri sırasıyla 1,92, 2,17 ve 1,54 nM olarak bulunmuş ve bunlar dabigatran ($IC_{50} = 1,20$ nM) ile hemen hemen aynı değerdedir (Zhang vd., 2020).



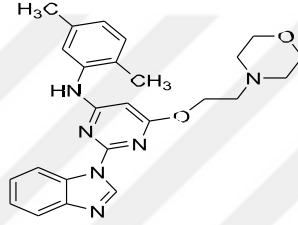
Şekil 1.38. Antitrombotik benzimidazol türevi bileşikler

Mohammed vd. yeni bir dizi benzimidazol türevi bileşik sentezlemiş ve bu bileşiklerin, SRB kolorimetrik testi kullanılarak, MCF-7 (meme adenokarsinomu), A549 (akciğer kanseri) ve HeLa hücrelerine karşı antikanser aktivitesini taramıştır. Şekil 1.39’da verilen bileşik en aktif antikanser ajan olarak bulunmuş ve sisplatin (referans ilaç) ile karşılaştırılabilir etkinlik göstermiştir (Mohamed vd., 2018).



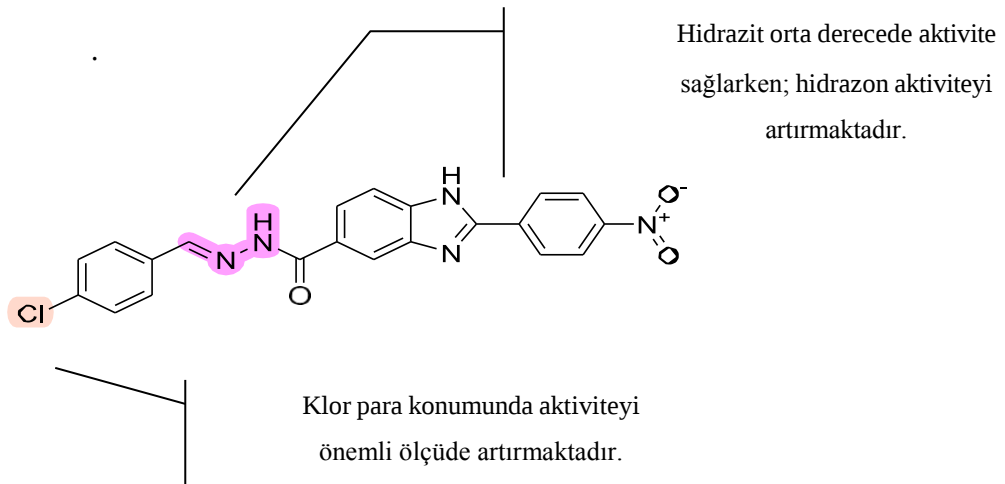
Şekil 1.39. Benzimidazol türevi antikanser bileşikler

Benzimidazol çekirdeğinin 1. pozisyonuna çeşitli heterosikliklerin bağlanması, güçlü anti- enflamatuvar bileşiklerin elde edilmesini sağlamıştır. Sabat vd. bir dizi 1- (süstitüe pirimidin-2-il) benzimidazol türevi sentezlemiş ve aşağıdaki bileşiğin, Lck aktivitesini bloke ederek güçlü anti-enflamatuvar etki gösterdiğini belirtmişlerdir (Sabat vd., 2006).



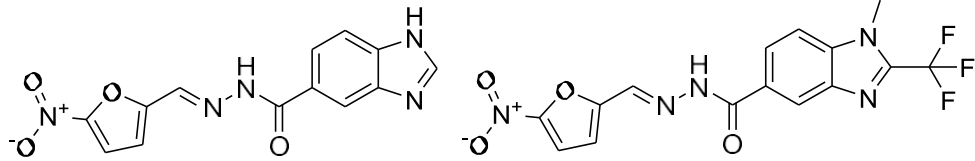
Şekil 1.40. Antienflamatuvar benzimidazol türevi

Morcross vd. bir dizi benzimidazol-hidrazon türevi bileşik sentezlemiş ve bunların antifungal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Şekil 1.41’de verilen bileşik, lanosterol 14 α -demetilaz (CYP51) enzimini inhibe etme açısından IC₅₀=0,19 μ g/mL değeri ile, flukanazol bileşiğinden (IC₅₀=0,62 μ g/mL) daha yüksek etkinlik göstermiştir (Morcoss vd., 2020).



Şekil 1.41. Antifungal etkili benzimidazol türevi bileşik

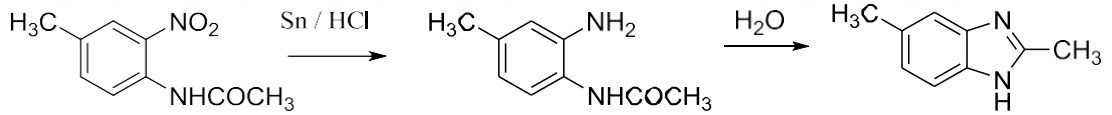
Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarının, mevcut antimikrobiyal tedavilerin çoğuna dirençli olduğu kanıtlanmıştır. MRSA'nın hayatta kalması için önemli bir metabolik yol olan ve memelilerde bulunmayan şikimat yolu (shikimate pathway) dikkat çekmektedir. Benzimidazol-hidrazon türevi sentezlenen bileşikler (Şekil 1.42), ilk SaSK inhibitörleri olarak tanımlanmış ve içlerinde en yüksek inhibisyon aktivitesini göstermişlerdir (Rios-Soto vd., 2024).



Şekil 1.42. SaSK inhibitörü benzimidazol türevi bileşikler

1.4. Benzimidazol Sentezinde Kullanılan Metotlar

Bilinen ilk benzimidazol sentezi Hoebrecker tarafından sentezlenmiş olup 1872 yılında 2-nitro-4-metil asetanilidin indirgenmesi yolu ile 2,5-dimetilbenzimidazol elde edilmiştir (Wright, 1951).



Şekil 1.43. 2,5-dimetilbenzimidazol sentezi

Benzimidazol sentezinde kullanılan çeşitli yöntemlerde, o-fenilendiamin veya türevleri, benzimidazol halka sentezinde öncü bileşik olarak kullanılmaktadır. Orto-fenilendiamin, çeşitli sentez metotlarında ortak bir başlangıç noktası olup benzimidazol halkasının aromatik karakterini sağlamaktadır. Literatürde benzimidazol sentezi için tanımlanan ilk sentetik yöntemler, o-fenilendiamin bileşiğinin karboksilik asit veya türevleriyle reaksiyona girmesiyle elde edilmiştir. Sonraki sentetik yöntemlerde ise karboksilik asitler yerine aldehitler kullanılarak 2-süstitüe ve 1,2-süstitüe benzimidazoller sentezlenmiştir. 1990'ların başlarında ise flor, propilen, tetrahidrokinolin ve halkalı moleküllerin benzimidazol yapısına eklenmesi ile çeşitli benzimidazol türevleri sentezlenmiş ve yüksek stabiliteli ve farklı biyolojik aktivitelere sahip benzimidazol türevi bileşikler elde edilmiştir. Fakat bu metotlar; reaksiyon sürelerinin fazla olması, yüksek sıcaklık, yüksek

basınç, güçlü asit veya baz gibi reaksiyon ortamını zorlu hale getiren koşullar ve toksik çözücülerin kullanımı gibi zorlukları beraberinde getirmiştir (Nardi vd., 2023; Saberi, 2015). Ayrıca, bu metotlarda fazla miktarda geri dönüştürülemeyen atık üretilmekte ve çevreye zararlı, non-selektif katalizörler kullanılmaktadır.

Toksik çözücülerin kullanımı ve büyük miktarda endüstriyel atık oluşumu, çevre ve insan sağlığı için ciddi tehditler oluşturmaktadır. Son yıllarda yeşil kimya prensipleri, çevre dostu çözücüler kullanmayı, daha seçici reaksiyon yöntemleri geliştirmeyi ve geri dönüşümlü reaktiflerle atık miktarını azaltmayı teşvik ederek ilaç endüstrisini etkilemiştir (Mikami, 2005; Nardi vd., 2023; Nelson, 2003). Bu sebeple benzimidazol sentezinde yeşil kimya prensipleri oldukça kullanılmaktadır.

Benzimidazol sentezinde metal katalizörler, geri kazanılabilir yapılarıyla dikkat çekmekte ve yüksek yüzey verimlilikleri sayesinde reaksiyonların hızlı bir şekilde gerçekleşmesini sağlamaktadır (Patel vd., 2023).

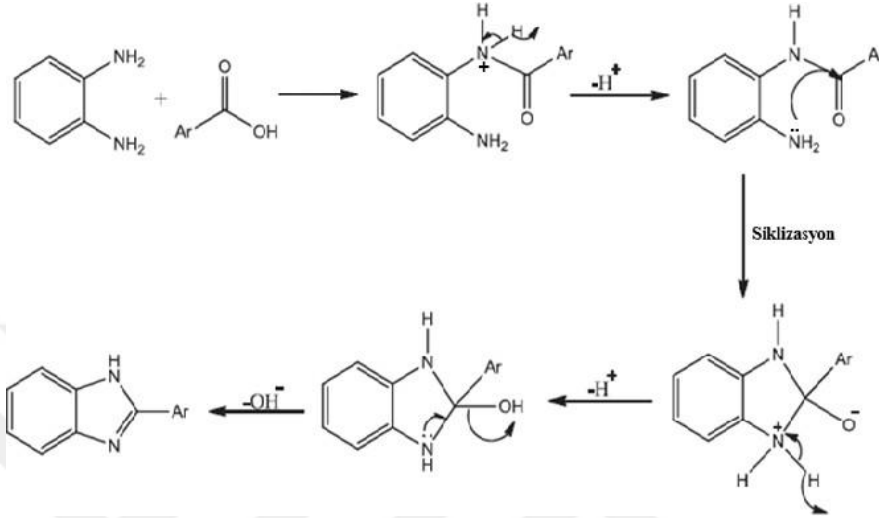
Metal katalizörü olmadan da yüksek verimli benzimidazol türevleri sentezlenebilmektedir (Kaushik vd., 2023). Çeşitli katalizörlerle benzimidazol türevlerinin sentezi de oldukça kullanılan bir yöntemdir. Orto-fenilendiaminin orto-esterlerle kondenzasyonu, lewis asidi katalizörü kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bu katalizörlere $ZrCl_4$ (Zirkonyum tetraklorür), $SnCl_4$ (Kalay tetraklorür), $TiCl_4$ (Titanyum tetraklorür), $ZrOCl_2 \cdot 9H_2O$ (Zirkonyum oksiklorür), $HFCl_4$ (Hidroflorik asit ve klorür karışımı) örnek verilebilmektedir (Alaqeel, 2017).

Bazı benzimidazol türevleri, mikrodalga titreşimlerinin yardımıyla siklocondensasyon reaksiyonu sonucunda, yüksek verimle elde edilebilmektedir (Bougrin ve Soufiaoui, 1995, Brain ve Brunton, 2002).

1.4.1. o-Fenilendiaminlerden Benzimidazol Sentezi

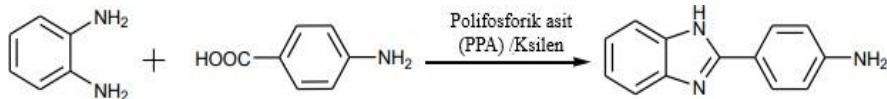
Literatür tarandığında çeşitli yöntemler bulunsa dahi benzimidazollerin hazırlanması aslında temelde iki yönetime dayanır. Bunlardan birincisi o-fenilendiaminlerle karboksilik asitler veya türevlerinin (nitriller, orto esterler vb.) kondenzasyonudur (Grimmett, 1997). Diğer yöntem ise o-fenilendiaminlerin yükseltgeyici ajan yardımıyla aldehitlerle kondenzasyonudur (Preston, 1974).

Benzimidazol sentezinde yaygın olarak kullanılan phillips yöntemi, o-fenilendiaminin genellikle 4N (mol/L) hidroklorik asit ile karboksilik asit veya asit anhidriti ile reaksiyona sokulmasıyla gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemde asit reaksiyonu hızlandıran bir katalizör görevi görmektedir (Phillips, 1928).



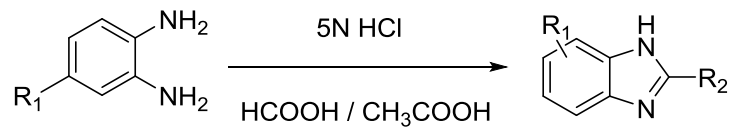
Şekil 1.44. Philips yöntemiyle benzimidazol sentezi

Alam vd. o-fenilendiamin ile 4-aminobenzoik asit ve polifosforik asit içinde altı saat boyunca geri çeviren soğutucuda reaksiyonu sonucu %51 verimle 2-(4-aminofenil)- 1H-benzimidazol bileşiğini sentezlemişlerdir (Alam vd., 2017).



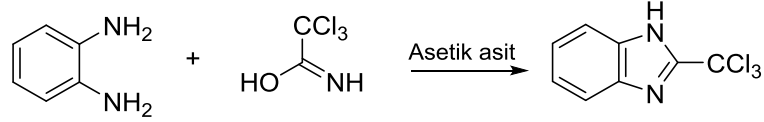
Şekil 1.45. o-fenilendiamin bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi

2,5(6)-disüstitüe benzimidazol sentezi için 4-floro/kloro/metil-o-fenilendiamin türevi ve formik veya asetik asit kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı, 5N HCl eklenerek hazırlanmış ve ardından 8-24 saat boyunca geri soğutucu altında reaksiyona bırakılmıştır. Altı adet benzimidazol türevi bileşik, Phillips yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir (Utku vd., 2023).



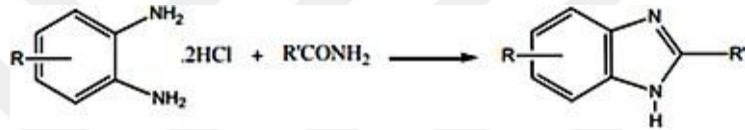
Şekil 1.46. o-fenilendiamin bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi

Hollan vd. triklorasetimidat adı verilen bir imidat esterinin, o-fenilendiamin veya onun tuzu ile oda sıcaklığında reaksiyona girerek 2-triklorometil benzimidazol oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bu bileşik, 2-karboksibenzimidazollerin sentezinde önemli bir ara madde olarak kullanılmaktadır (Hollan vd., 1967).



Şekil 1.47. o-fenilendiamin bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi

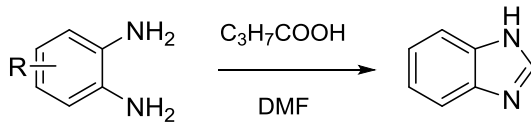
Benzimidazol sentezinde kullanılan diğer kimyasal gruplara nispeten daha az sayıda amit kullanılmıştır. Genellikle iyi verimler elde edilmiştir (Alaqeel, 2017).



Şekil 1.48. o-fenilendiamin bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi

Eşit mol miktarlarında o-fenilendiamin dihidroklorür ve benzamit 240-250 °C'de reaksiyona sokulduğunda %100 verime yakın 2-fenilbenzimidazol sentezlenebilmektedir (Alaqeel, 2017).

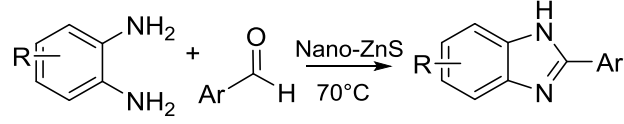
o-fenilendiaminler ile DMF'nin mikrodalga ışıma altında, bütanoik asit kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyonundan 1H-benzimidazollerin sentezi için etkili ve çevre dostu bir yöntem geliştirilmiştir. Bu reaksiyondan yüksek verimlerde bir dizi 1H-benzimidazol türevi hazırlanmıştır (Li vd., 2024).



Şekil 1.49. o-fenilendiamin bileşiğinden hareketle mikrodalga ışıma ile benzimidazol sentezi

Hakimi vd. sübstitüe aldehitler ve o-fenilendiaminlerden benzimidazol türevlerinin sentezi için etkili bir strateji incelemişlerdir. Bu sentezde katalizör olarak çinko sülfür nanoparçacıkları (nano-ZnS) kullanılmıştır. Bu strateji, yüksek verim, reaksiyon süresinin

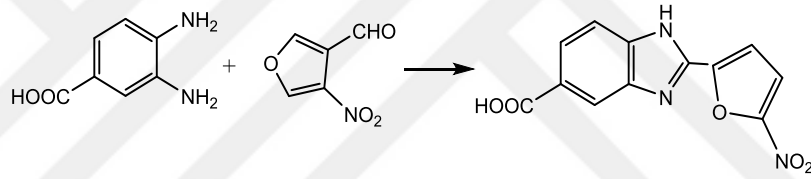
kısa olması ve katalizörün geri dönüşümlü (reversibl) olması gibi çeşitli avantajlar sunmaktadır. (Hakimi vd., 2020).



Şekil 1.50. Nano-ZNS katalizörlü o-fenilendiamin bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi

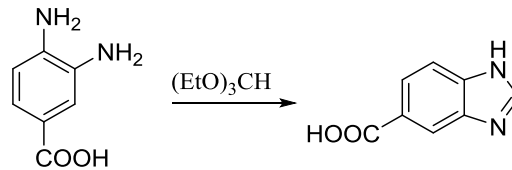
1.4.2. 3,4-Diaminobenzoik asitten Benzimidazol Sentezi

Camacho vd. 3,4-diaminobenzoik asit ile 5-nitro-2-furaldehit veya 5-nitro-2-tiyofenkarbaldehit arasındaki kondensasyon reaksiyonu ile yüksek verimli 1*H*-benzimidazol-5-karbohidrazit türevleri sentezlemiştir. Bu reaksiyonda, nitrobenzen bir oksidan olarak kullanılmıştır (Camacho vd., 2011).



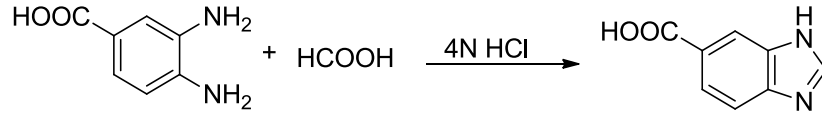
Şekil 1.51. 3,4-diaminobenzoik asit bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi

Donahue vd. ortoarilenediaminin siklodehidrasyonunu trietil ortoformat varlığında kaynar toluen içinde gerçekleştirmiştir. Bu işlem %92 verimle benzimidazol- 5-karboksilik asitin elde edilmesini sağlamıştır (Donahue vd., 2017).



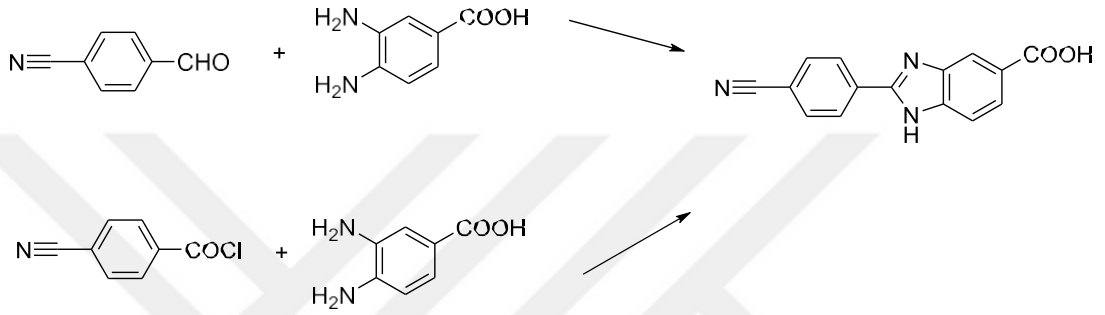
Şekil 1.52. 3,4-diaminobenzoik asit bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi

Cong vd. 3,4 diaminobenzoik asitten hidroklorik asit katalizörlüğünde ve formik asit varlığında asit katalizli siklizasyonu ile 2-alkilbenzimidazol-5-karboksilik asidi yüksek verimle sentezlemiştir (Cong vd., 2011).



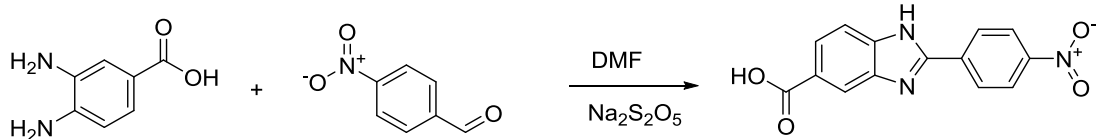
Şekil 1.53. 3,4-diaminobenzoik asit bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi

Xue vd. 3,4-diaminobenzoik asitin 4 siyanobenzaldehit veya 4-siyanobenzoil klorürün asetik asit ile reaksiyonundan 2,5-disüstitue türevi benzimidazol sentezlemiştir (Xue vd., 1996).



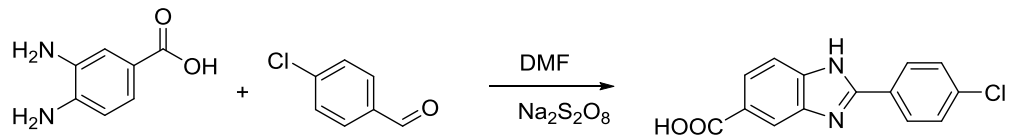
Şekil 1.54. 3,4-diaminobenzoik asit bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi

3,4-diaminobenzoik asidin, 4-nitrobenzaldehit ve $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ile DMF içerisinde kondenzasyonu yoluyla 2-(4-nitrofenil)-1H-benzimidazol-5-karboksilik asit sentezlenmiştir (Morcoss vd., 2020).



Şekil 1.55. 3,4-diaminobenzoik asit bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi

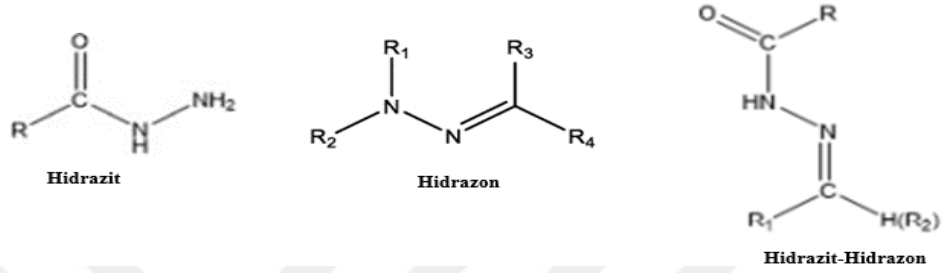
3,4-diaminobenzoik asidin, p-klorobenzaldehit ile sodyum metabisülfid ve DMF varlığında kondenzasyonu ile yüksek verimle benzimidazol-5-karboksilik asit sentezlenmiştir (Youssif, vd., 2024).



Şekil 1.56. 3,4-diaminobenzoik asit bileşiğinden hareketle benzimidazol sentezi

1.5. Hidrazit- Hidrazonların Özellikleri ve Reaksiyonları

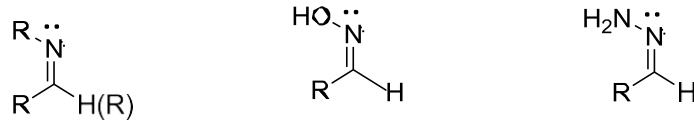
Hidrazit-hidrazonlar, yapısında hidrazit ve hidrazon yapısı içeren bileşikler olarak kanser tedavisinde önemli etki göstermektedir. Bu bileşikler, hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamlarda hidrolize uğrayarak, hidrazitlere kıyasla non-toksik aktif metabolitler oluşturmaktadır (Murugappan vd., 2024; Patil vd., 2018).



Şekil 1.57. Sırasıyla hidrazit, hidrazon ve hidrazit-hidrazon türevlerinin kimyasal yapıları

Hidrazonlar yapısında bulunan N-N ve C=N bağlarından dolayı yüksek aktiviteye sahiptir ve bu sebeple çok geniş kullanım alanı vardır. Antimikrobiyal, antikonvülzan, analjezik, antienflamatuar, antitrombosit, antitüberküloz ve antikanser aktiviteler de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktiviteler göstermektedir (Koç vd., 2013).

Hidrazonlar, azometinler olarak da bilinir ve yapılarında iki nitrojen atomunun birbirine bağlı olması sebebiyle imin ve oksim yapılarından ayrılmaktadır.

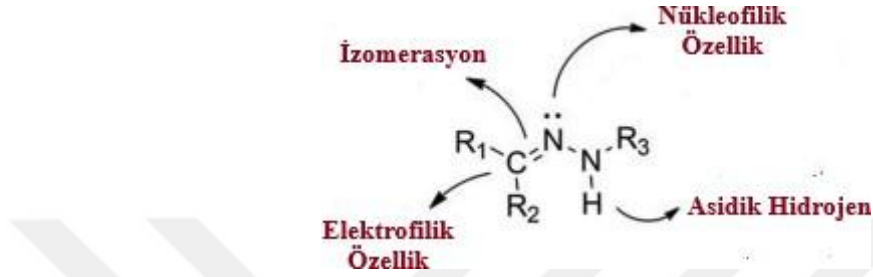


Şekil 1.58. Sırasıyla imin, oksim ve hidrazon yapıları

Hidrazonlar, her ne kadar yapısal olarak iminlere benzese de hidrolitik stabilite açısından daha güçlüdür (Shabsoug, 2023).

Hidrazonların hidrolizle aktif metabolite dönüşmesi, ön ilaç sentezinde yararlı bir yöntem olup, amin grubunun bloke edilmesiyle hidrazitlerden daha az toksik oldukları ortaya çıkmıştır. Bu blokaj nedeniyle, hidrazit-hidrazon türevlerinin hidrazitlere göre daha az toksik olabileceği anlaşılmıştır (Rollas ve Küçükgül, 2008).

Karbon-azot çift bağı, üzerinde serbest elektron çifti bulunduran bir azot atomu ile konjuge durumdadır. Hidrazon iki nükleofilik azot atomu içermektedir fakat amino tipi azot atomu diğerine göre daha güçlü nükleofil özellik göstermektedir. Hidrazon grubundaki karbon atomu ise hem elektrofil hem de nükleofil karakter taşımakta olup farklı nükleofil ve elektrofil gruplarla reaksiyonlara girebildiği için organik heterosiklik bileşiklerin sentezinde kullanılır (Stork vd., 1977).



Şekil 1.59. Hidrazon yapısının kimyasal özellikleri

Hidrazonlar, hidrojeni hem alan hem de verebilen azot atomlarına sahiptir ve enzimin oyuk bölgesindeki amino asitlerle hidrojen bağı oluşturmaktadır. Bu nedenle, bu gruplar moleküler yapılarda tercih edilmektedir (Parlar vd., 2016).

Basit hidrazon bileşikleri genellikle sıvı halde bulunmaktadır bunun sebebi alifatik karbon zincirinin kısa olduğunda hidrazonun suda çözünmesidir aynı zamanda bu bileşikler genellikle düşük erime noktalarına da sahiptir. Aromatik grup içeren fenil hidrazon bileşikler ise genelde katı halde bulunmaktadır (Smith, 1965).

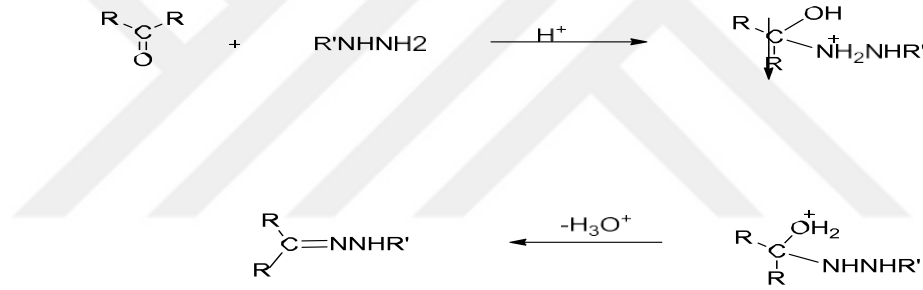
Hidrazon oluşumunda çifte bağ oluşumuna katılan azot atomunun bazikliği azalır. Bu nedenle hidrazonlar, kendilerini oluşturan hidrazin ve semikarbazitlere kıyasla daha asidik özellik gösterir (Smith, 1965).

Hidrazonlar asidik ortamlarda kolayca parçalanabilirler. Bu antikanser etki için önemlidir çünkü tümör hücreleri genellikle asidik bir ortamda bulunmaktadır. Hidrazonlar, bu ortamda kendilerine bağlı ilaç moleküllerini serbest bırakabilmektedir. Bu sayede, ilaç sadece tümör hücresine etki etmekte ve çevredeki sağlıklı hücrelere zarar verme riski azaltılarak antikanser etkide istenen bir özellik olan seçiciliği artırmaktadır (Mane, 2019).

Hidrazit-hidrazonlar, yapılarında bulunan karbonil grubu (C=O), metal iyonlarıyla etkileşim kurarak metal kompleksleri oluşturma yeteneğini artırmaktadır. Bu özellikler, hidrazit-hidrazonların biyolojik hedeflerle daha iyi bağlanmasını sağlamaktadır (Chang, 2015; Murugappan, 2024). Hidrazit-hidrazonların sahip olduğu bu özellikler, medisinal kimyada yeni antikanser etkili ilaçların geliştirilmesi için önemli rol oynamaktadır.

1.5.1. Hidrazit- Hidrazon Türevlerinin Sentezi ve Reaksiyonları

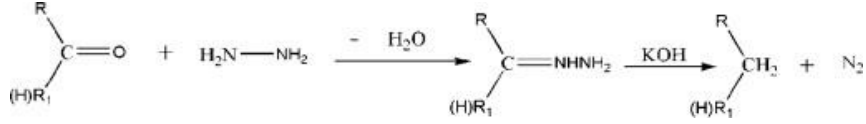
Primer amin içeren hidrazin türevlerinde, uç azot atomu üzerindeki serbest elektron çifti, keton veya aldehitin karbonil grubuna atak ederek reaksiyonu başlatır. Bu mekanizmada, hidronyum iyonunun ayrılmasını takiben aldehit ve ketonlar katı haldeki hidrazonlara dönüşür. Hidrazon oluşumu mekanizması, organik sentezde yaygın olarak kullanılmaktadır.



Şekil 1.60. Aldehit veya ketondan hareketle hidrazon sentezi

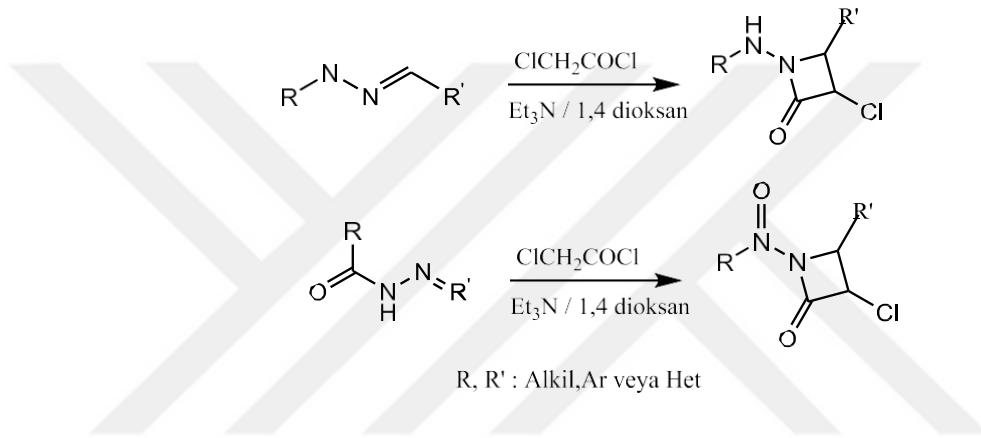
Bu amaç için oksimler de kullanılsa da molekül ağırlıklarının fazla olması ve düşük çözünürlükleri sebebiyle çok kullanılmamaktadır. Bunun yerine çözüldüden kolay izole edilip kristallendirilmeleri sebebiyle hidrazonlar daha çok tercih edilmektedir (Çakıcı, 2009; Overberger vd., 1966).

1911 yılında Ludwing Wolff ve N.M Kishner tarafından keşfedilen ve keton veya aldehitlerin alkanlara indirgenmesi reaksiyonu olarak bilinen Wolff-Kishner redüksiyonu, aldehit veya ketonların hidrazin ile reaksiyona girerek hidrazon ara ürünü oluşturmasıyla başlamaktadır (Altınar, 2015).



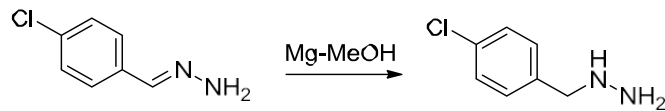
Şekil 1.61. Wolff-Kishner redüksiyonu

Azetidin-2-on türevlerinin sentezi için en sık açıklanan yöntemlerden biri, uygun hidrazon veya hidrazit - hidrazonun trietilamin (Et_3N) varlığında kloroasetil klorür ile reaksiyonudur. Bu reaksiyon, geleneksel yöntemle veya mikrodalga ışıınımlı kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir (Popiolek, 2023).



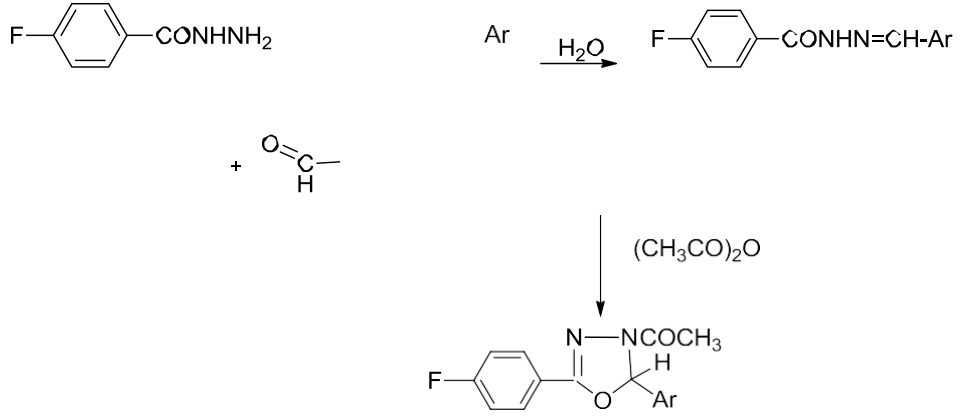
Şekil 1.62. Hidrazon veya hidrazit-hidrazon bileşiklerinden hareketle azetidin-2-on türevlerinin sentezi

Khurana vd. ve 1,2-disübstitüe hidrazinlerin sentezi için yeni ve etkili bir yöntem geliştirmişlerdir. İlgili hidrazonların magnezyum kullanılarak metanol ortamında, oda sıcaklığında indirgenmesine dayanmaktadır. Metanol içinde magnezyumu reaktif bir indirgen ajan olarak düşünüp indirgenmek istenen hidrazonlardan hidrazin sentezlemişlerdir. Reaksiyonların tamamı oda sıcaklığında yüksek verimle ve 15-180 dakika arasında gerçekleşmiştir (Khurana vd., 2015).



Şekil 1.63. Magnezyum kullanılarak hidrazonların redüksiyonu ile hidrazin sentezi

Bir dizi 4-floro-benzohidrazitin çeşitli arilaldehitler ile kondensasyonu sonucu bir dizi hidrazit hidrazon ve 4-florobenzoik asit hidrazitin 1,3,4-oksadiazolinlerini sentezlenmiştir (Rollas ve Küçükgül, 2008).

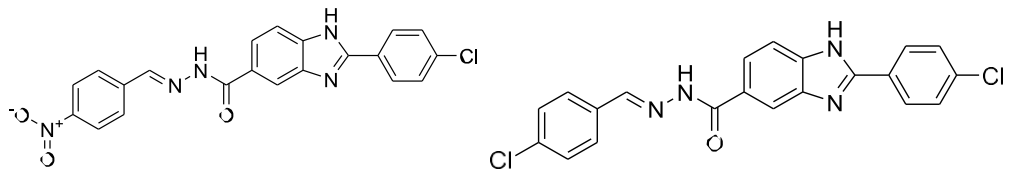


Şekil 1.64. 4-floro-benzohidrazitin çeşitli arilaldehitler ile kondensasyonu ile hidrazon sentezi

1.6. Antikanser Ajan Olarak Benzimidazol- Hidrazon Türevi Bileşikler

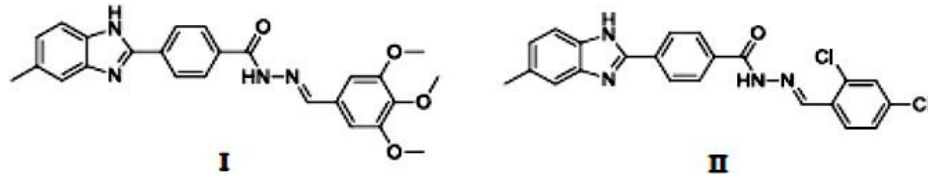
Son yıllarda, etkili ve daha az toksik yeni kemoterapötik ajanların hızla geliştirilmesi amacıyla, hidrazit-hidrazon içeren yeni bileşiklerin antikanser etkilerinin araştırılması büyük önem kazanmıştır (Hofmann vd., 2006).

Bir dizi benzimidazol-hidrazon türevi antikanser bileşikler sentezlenmiştir. Yeni sentezlenen bileşiklerin, Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından 60 çeşit kanser hattına karşı aktiviteleri incelenmiştir. Aşağıdaki bileşikler EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) ve BRAFV600E (mutasyona uğramış BRAF proteini) inhibitör aktivitesi açısından önemli sonuçlar göstermiştir (Youssif, 2024).



Şekil 1.65. Benzimidazol-hidrazon türevi antikanser bileşikler

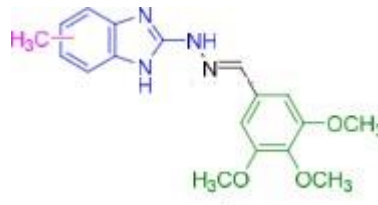
Elektron ilgisi farklı olan yan gruplarla modifiye edilmiş bir dizi yeni benzimidazol-hidrazon türevleri sentezlenmiştir. Bu yeni bileşikler, 60 farklı hücre hattında antiproliferatif aktiviteleri SRB testi ile belirlenmiştir.



Şekil 1.66. Morcross vd. sentezledikleri antikanser benzimidazol-hidrazon türevleri (I ve II)

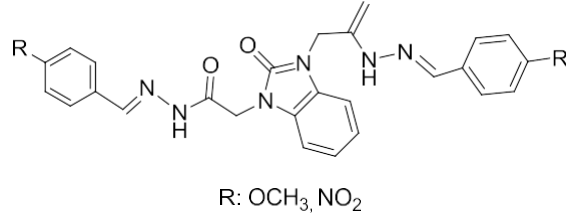
I, süstitüe tri-metoksi benzen içeren benzimidazol-hidrazon türevi, lösemi, melanom, akciğer, kolon, böbrek ve meme kanseri gibi test edilen çeşitli kanser hücre hatlarına karşı %53 ile %84,33 arasında büyüme inhibisyonu göstermiştir. Diğer yandan di-kloro grubu içeren **II** ise lösemi %47,86 ve kolon kanseri %56,60 gibi bazı kanser hücre hatlarına karşı orta derecede inhibisyon göstermiştir (Morcoss vd., 2020).

Yancheva ve arkadaşları benzimidazol halkasında metil grubu bulunan kolşisin-benzeri ve katekol-benzeri yapılar içeren dört benzimidazol türevini, yüksek derecede invaziv olan MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına karşı *in vitro* MTT testi ile antiproliferatif etkisini değerlendirdiler. Sentezlenen 1*H*-benzimidazol-2-il hidrazon türevlerinin MDA- MB-231 hücrelerine karşı orta derecede sitotoksikite gösterdiği, mikrotübül polimerizasyonunu yavaşlattığını belirtilmiştir (Yancheva vd., 2024).



Şekil 1.67. Yancheva vd. sentezledikleri antikanser etkili benzimidazol-hidrazon türevi bileşik

Bir dizi benzimidazol türevlerinden arilidenasetohidrazin bileşenleri sentezlemiş ve HCT-116 ve HeLa hücre hatlarına karşı MTT testi ile sitotoksik potansiyelleri değerlendirmiştir. 4-metoksi benziliden süstitüenti içeren bileşik için IC_{50} değerleri sırasıyla HCT-116 için 29,5 μ M, HeLa için ise 57,1 μ M ile dikkate değer bir etkinlik göstermiştir. Bu bileşik, HCT-116 hücre hattı için daha umut vaderken, nitro süstitüenti içeren bileşik ise HeLa hücre hattına karşı IC_{50} =33,8 μ M değeriyle iyi bir sitotoksik potansiyel göstermektedir (Dhahri vd., 2022).



Şekil 1.68. Dhahri vd. sentezledikleri benzimidazol-hidrazon türevi bileşik

Işık vd. 4-(6-kloro-1*H*-benzimidazol-2-il) benzohidrazit bileşiğinden hareketle bir dizi yeni benzimidazol-hidrazon türevi bileşik sentezlemiştir. Bileşikler MTT testi kullanılarak HT-29 (kolorektal kanser hücre hattı) üzerindeki *in vitro* antikanser aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Bileşiklerinden bazılarının HT-29 hücrelerine karşı zayıf antiproliferatif aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir (Işık vd., 2022).

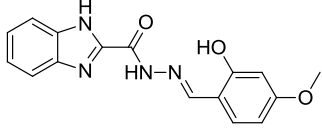
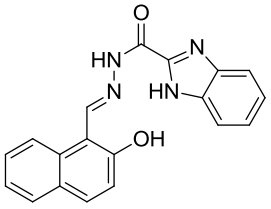
Liu vd. 2-(feniltiyometil)-1*H*-benzimidazol grupları içeren yeni bir asetilhidrazon türevleri sentezlemiş ve A549 (adenokarsinom), HCT116 (kolorektal karsinom), HepG2 (hepaselüler karsinoma), PC-9 (adenokarsinom) ve A375 (epitel malinom) hücre hatlarına karşı antitümör aktiviteleri MTT testi ile belirlenmiştir. Bu bileşikler arasında aşağıda tabloda verilmiş bileşik 5-FU ve SU11248 referans ilaçları ile kıyaslanabilir düzeyde kanser inhibisyon aktivitesi göstermiştir (Liu vd., 2012).

Çizelge 1.2. Liu vd. tarafından sentezlenen bileşiğin çeşitli kanser hatlarında IC₅₀ değerleri

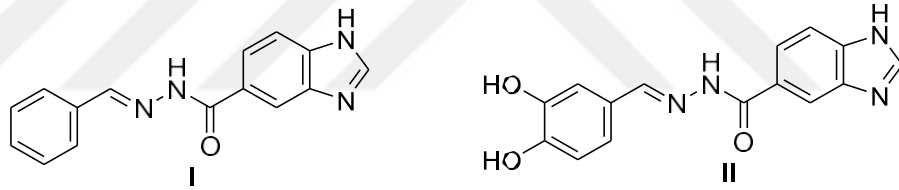
Bileşik	IC ₅₀ (µM)				
	A549	HCT116	HepG2	PC-9	A375
	12,36	4,86	>20	14,63	5,75
5-FU	35,05	31,72	46,31	23,47	46,55
SU11248	12,35	18,35	13,24	10,97	11,58

Onnis vd. yeni bir seri 2.konumunda hidrazon grubu taşıyan yeni benzimidazol türevlerini sentezlemiş ve bu yeni N'-(4-ariliden)-1*H*-benzimidazol-2-karbohidrazitlerin antikanser aktivitelerini murin lösemi (L1210), T-lenfoblastik lösemi (CEM), serviks karsinomu (HeLa) ve pankreas karsinomu (Mia Paca-2) hücre hatları üzerinde değerlendirmişlerdir. Çizelge 1.3'te verilen bileşikler test edilen tüm hücre hatlarında düşük (<10 µM) mikromolar IC₅₀ değerleri ile antiproliferatif aktivite göstermiştir (Onnis vd., 2016).

Çizelge 1.3. Onnis vd. tarafından sentezlenen iki bileşiğin çeşitli kanser hatlarında IC₅₀ değerleri

Bileşik	IC ₅₀ (µM)			
	L1210	CEM	HeLa	Mia-Paca-2
	1,6 ± 0,9	0,98 ± 0,02	4,0 ± 0,4	6,3 ± 3,2
	2,9 ± 1,3	1,0 ± 0,01	2,5 ± 1,4	7,9 ± 0,3

2023 yılında yayınlanan bir çalışmada N'-benziliden benzimidazol-karbohidrazit türevi iki bileşiğin (**I** ve **II**) antikanser aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Okado vd., 2023).



Şekil 1.69. N'-benziliden benzimidazol-karbohidrazit türevi iki bileşik (**I** ve **II**)

Bu tez çalışmasında yukarıda belirtilen veriler değerlendirildiğinde benzimidazol halka sisteminin beşinci konumunda hidrazit-hidrazon türevi içeren bileşiklerin sentezlenmesi ve antikanser etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmış olup sentezlenen türevlerin çeşitli spektroskopik teknikler (MS, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR) kullanılarak spektral karakterizasyonları ile yapılarının tanımlanması hedeflenmektedir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentezleri ve Yapı Analizlerinde Kullanılan Gereçler

2.1.1.1. Sentez İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Absolü etanol (Merck), hidrazin hidrat (%100) (Merck), sodyum karbonat (Sigma-Aldrich), metanol (Merck), 3,4-diaminobenzoik asit (Sigma-Aldrich), formik asit (Sigma-Aldrich), hidroklorik asit (Sigma-Aldrich), sülfirik asit (Sigma-Aldrich), benzaldehit (Sigma-Aldrich), 2-metoksi benzaldehit (Sigma-Aldrich), 2,4-diklorobenzaldehit (Sigma-Aldrich), 2,6-diklorobenzaldehit (Sigma-Aldrich), 3-nitrobenzaldehyt (Sigma-Aldrich), 3-siyanobenzaldehit (Sigma-Aldrich), 3,4-dibenziloksibenzaldehit (Sigma-Aldrich), 3,4-dimetoksibenzaldehit (Sigma-Aldrich), 4-benziloksibenzaldehit (Sigma-Aldrich), 4-bromobenzaldehit (Sigma-Aldrich), 4-etoksibenzaldehit (Sigma-Aldrich), 4-nitrobenzaldehyt (Sigma-Aldrich), 4-siyanobenzaldehit (Merck), 4-kloro, 3-nitro benzaldehit (Sigma-Aldrich).

2.1.1.2. Kromatografik Analizler

Sentez çalışmaları sırasında reaksiyonlardaki gelişmeyi izlemek, elde edilen ürünlerin saflık derecelerini saptamak amacı ile İnce Tabaka Kromatografisinden (İTK) yararlanılmıştır. Uygulamada Kieselgel-60 GF254 (Merck) kaplı alüminyum plaklar kullanılmıştır. Lekelerin belirlenmesinde 254 nm ve 366 nm dalga boyundaki UV (Camag UV Lambası) ışığından yararlanılmıştır. İTK’de kullanılan çözücü sistemleri 10:1 oranlarında DCM: metanol ve 9:1 kloroform: metanoldür.

2.1.1.3. Erime Noktası Tayinleri

Sentezlenen bileşiklerin erime nokta tayinleri, Buchi B-540 cihazı ile belirlenmiştir.

2.1.1.4. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizleri (^1H , ^{13}C)

NMR Spektrumları, BRUKER AVANCE NEO 500 MHz FT spektrometresinde gerçekleştirilmiştir. İç standart madde olarak tetrametilsilan (TMS), çözücü olarak DMSO- d_6 kullanılmıştır. Analizler Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

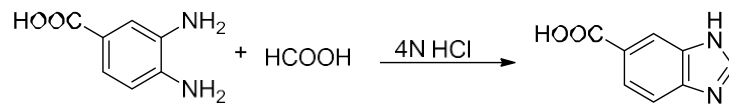
2.1.1.5. Kütle (Mass) Spektrumları

Kütle analizleri Waters 2695 Alliance Micromass ZQ marka LC-MS spektrometresinde Elektrosprey İyonizasyon (ESI) (+) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Analizler sentezlenen bileşiklerin molekül ağırlıklarını belirlemek/doğrulamak ve saflıklarını kontrol etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Analizler Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

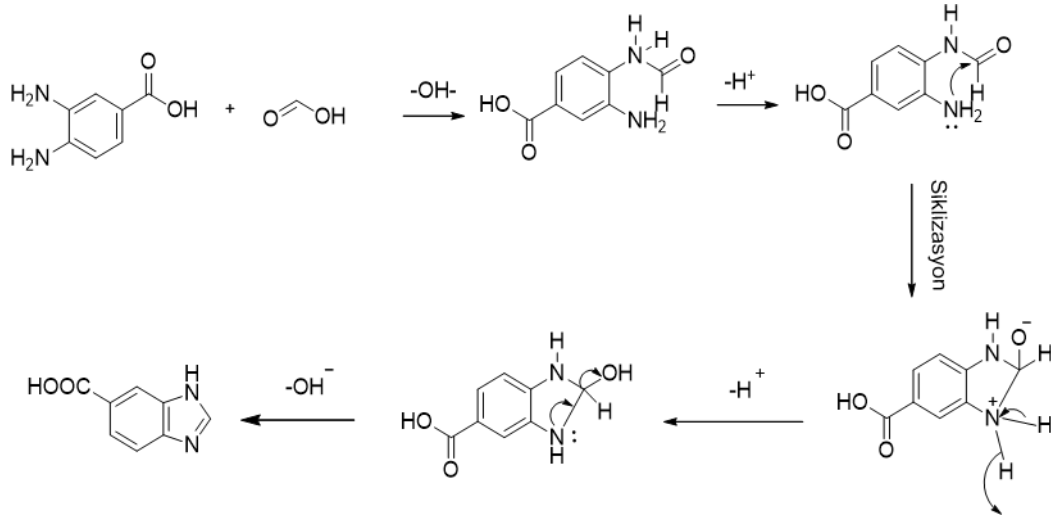
2.2. Ticari Olmayan Başlangıç Maddelerinin Sentezi

2.2.1. 1*H*-Benzimidazol-5(6)-Karboksilik Asit

3,4-diaminobenzoik asit, formik asit ve 4N HCl ile 100 °C'de 26 saat boyunca geri çeviren soğutucuda sürekli olarak karıştırıldı. Elde edilen ürün süzülüp kurutuldu. Kurutulan ürün saflaştırma amacıyla metanol içerisinde kaynatıldıktan sonra, renkli safsızlıkları gidermek için üzerine aktif kömür eklendi ve karışım bir süre daha kaynatılmaya devam edildi. İşlem tamamlandıktan sonra karışım süzüldü ve elde edilen süzüntü kurutuldu (Cong vd., 2011).



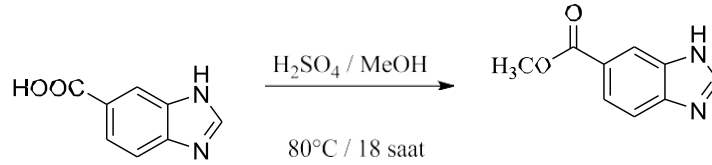
Bu sentez reaksiyonun mekanizması aşağıdaki şekilde gösterilmiştir.



Şekil 2.1. 1H-benzimidazol-5(6)-karboksilik asit sentez mekanizması

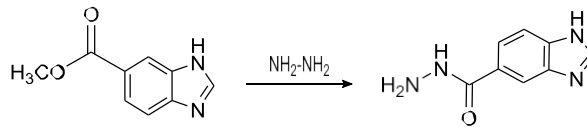
2.2.2. Metil 1H-Benzimidazol-5(6)-Karboksilat

1H-benzimidazol-5(6)-karboksilik asit, Fisher metodundan hareketle derişik H_2SO_4 ile metanol içerisinde geri çeviren soğutucuda 80°C 'de 18 saat sürekli karıştırıldı. Reaksiyon bittikten sonra metanolün uçuruldu. Oluşan beyaz katı distile su ile çözöldü. Doygun NaHCO_3 çözeltisi ile nötrleştirildi. Etil asetat ile ekstraksiyon yapılıp ürün kurumaya bırakıldı (Rios-Soto vd., 2024).



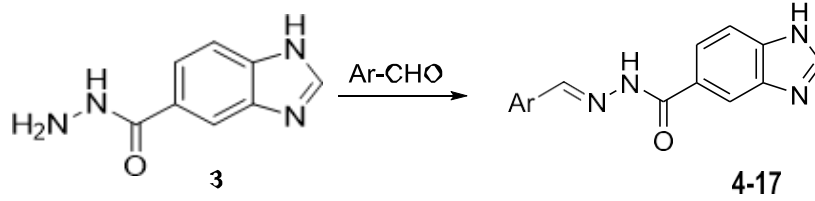
2.2.3. 1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit

Metil 1H-benzimidazol-5(6)-karboksilat bileşiiği % 100'lük hidrazin hidrat çözeltisi ile absölü etanol içerisinde geri çeviren soğutucuda 80°C ' de 16 saat sürekli karıştırıldı. Reaksiyon bittikten sonra evaporatör ile absölü etanol uçurulup ürün elde edildi (Rios-Soto vd., 2024).



2.3. Sonuç Bileşiklerin Sentezi

Sentezlenen 1*H*-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit bileşiğinin (3), absolü etanol içerisinde çeşitli benzaldehit türevi bileşikler ile reaksiyonu ile hidrazit-hidrazon türevi sonuç bileşiklerin (4-17) sentezi gerçekleştirilmiş ve bileşiklerin kimyasal formülleri Çizelge 2.1’de verilmiştir.



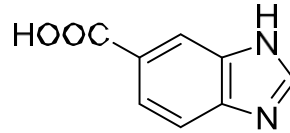
Çizelge 2.1. Hidrazit-hidrazon türevi sonuç bileşiklerin kimyasal formülleri

Bileşik	-Ar	Bileşik	-Ar
4		11	
5		12	
6		13	
7		14	
8		15	
9		16	
10		17	

3. BULGULAR

3.1. Başlangıç Maddelerin Sentezi

3.1.1. 1H-benzimidazol-5(6)-karboksilik asit (1)



3,4-diaminobenzoik asit (1,00 g, 6,57 mmol), formik asit (2 ml) ve 4N HCl (10 ml) ile 100 °C’de 26 saat boyunca geri çeviren soğutucuda sürekli olarak karıştırıldı. Elde edilen ürün süzülüp kurutuldu. Kurutulan ürün saflaştırma amacıyla metanol içerisinde kaynatıldıktan sonra, renkli safsızlıkları gidermek için üzerine aktif kömür eklendi ve karışım bir süre daha kaynatılmaya devam edildi. İşlem tamamlandıktan sonra karışım süzüldü ve elde edilen süzüntü kurutuldu (Cong vd., 2011).

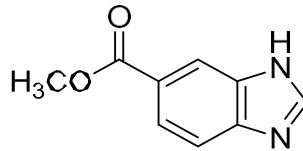
Verim: %89,6 (920 mg)

Fiziksel özellikler: Beyaz toz

Moleküler formül: C₈H₆N₂O₂

Erime noktası: >300 °C

3.1.2. Metil 1H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2)



1H-benzimidazol-5(6)-karboksilik asit (600 mg, 3,7 mmol) Fisher metodundan hareketle derişik H₂SO₄ (2 ml) ile metanol (20 ml) içerisinde geri çeviren soğutucuda 80 °C’de 18 saat karıştırıldı. Reaksiyon bittikten sonra metanol uçuruldu ve oluşan beyaz katı distile su ile çözüldü. Doygun NaHCO₃ çözeltisi ile nötrleştirildi. Etil asetat ile ekstraksiyon yapıldı ve solvan uçuruldu (Rios-Soto vd., 2024).

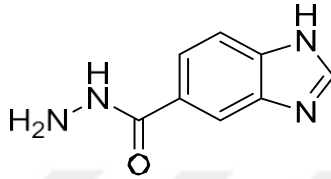
Verim: %61,5 (400 mg)

Fiziksel özellikler: Beyaz toz

Moleküler formül: C₉H₈N₂O₂

Erime noktası: 125°C

3.1.3. 1*H*-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3)



Metil 1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilat bileşiği (300 mg, 1,7 mmol) %100'lük hidrazin hidrat çözeltisi (2 ml) ile absolü etanol (7 ml) içerisinde geri çeviren soğutucuda 80 °C'de 16 saat sürekli karıştırıldı. Reaksiyon bittikten sonra evaporatör ile absolü etanol uçurulup ürün elde edildi (Cong vd., 2011).

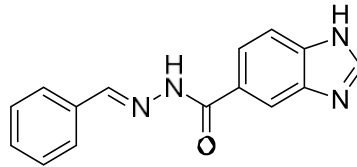
Verim: %58,6 (176 mg)

Fiziksel özellikler: Açık sarı toz

Moleküler formül: C₈H₈N₄O

Erime noktası: 246 °C

3.1.4. N'-Benziliden-1*H*-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (4)



1*H*-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (88 mg, 0,5 mmol) ve benzaldehit (53 mg, 0,5 mmol), absolü etanol (5 ml) varlığında 80 °C'de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzüldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı (Okuda vd., 2023).

Verim: %71,21 (94 mg)

Fiziksel özellikler: Açık sarı toz

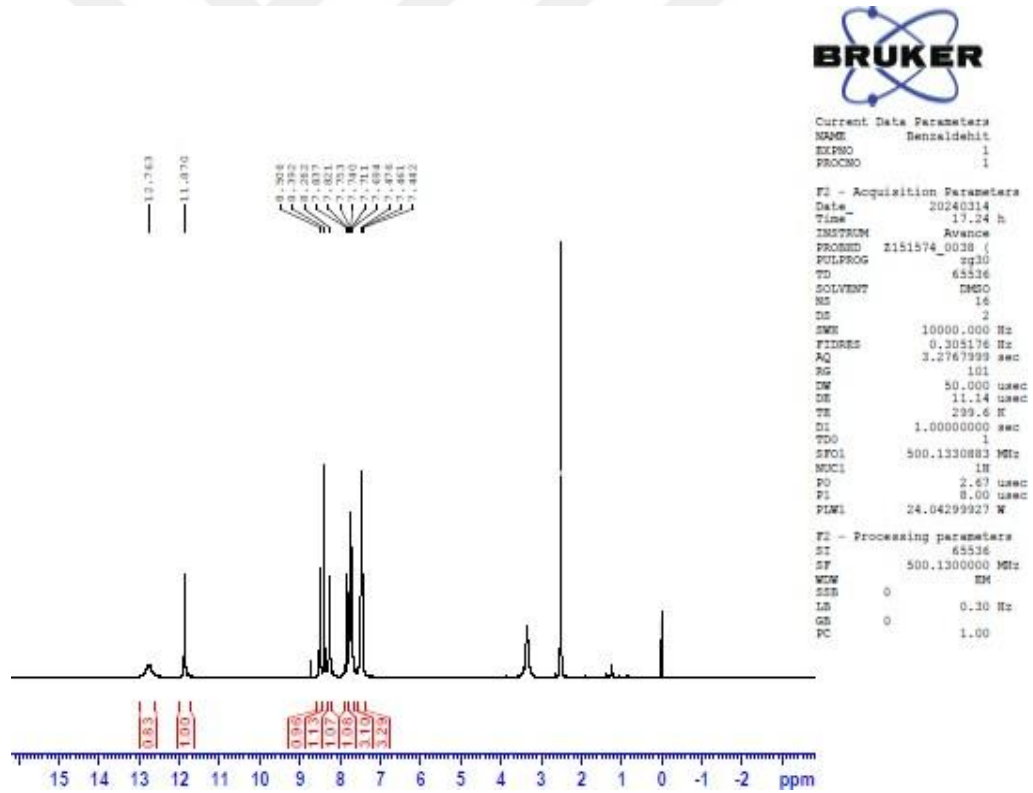
Moleküler formül: C₁₅H₁₂N₄O

Erime noktası: 298 °C

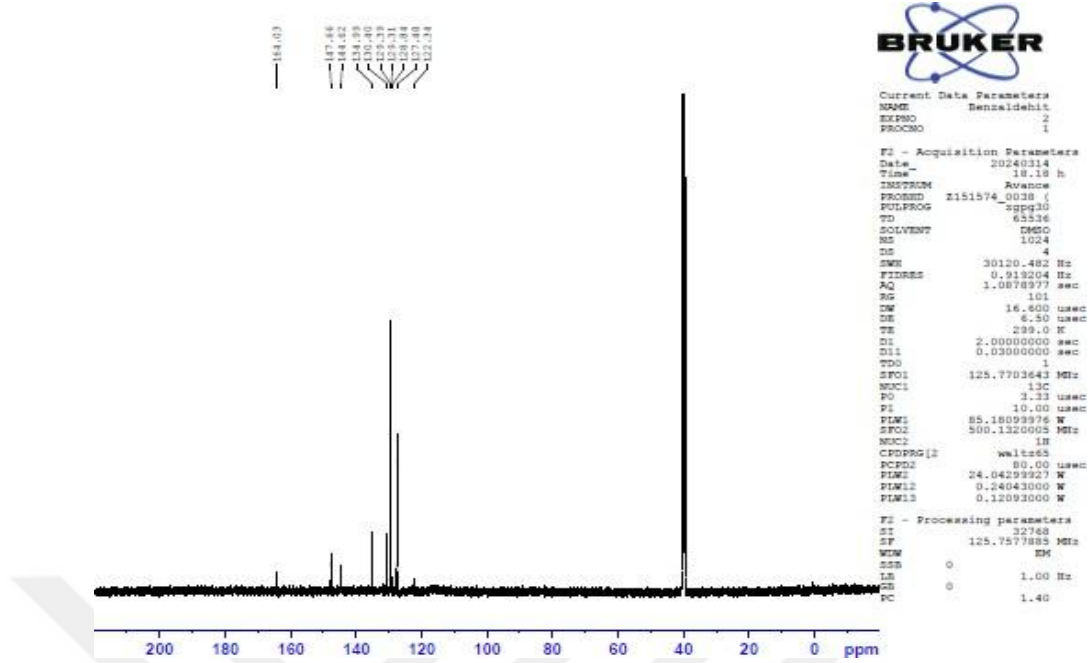
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 7,45-7,72 (m, 6H), 7,82 (d, 1H, J=8,1), 8,26 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 8,5 (s, 1H), 11,87 (s, 1H), 12,76 (s, 1H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 122,34, 127,48, 128,84, 129,31, 129,39, 130,40, 134,99, 144,62, 147,66, 164,03.

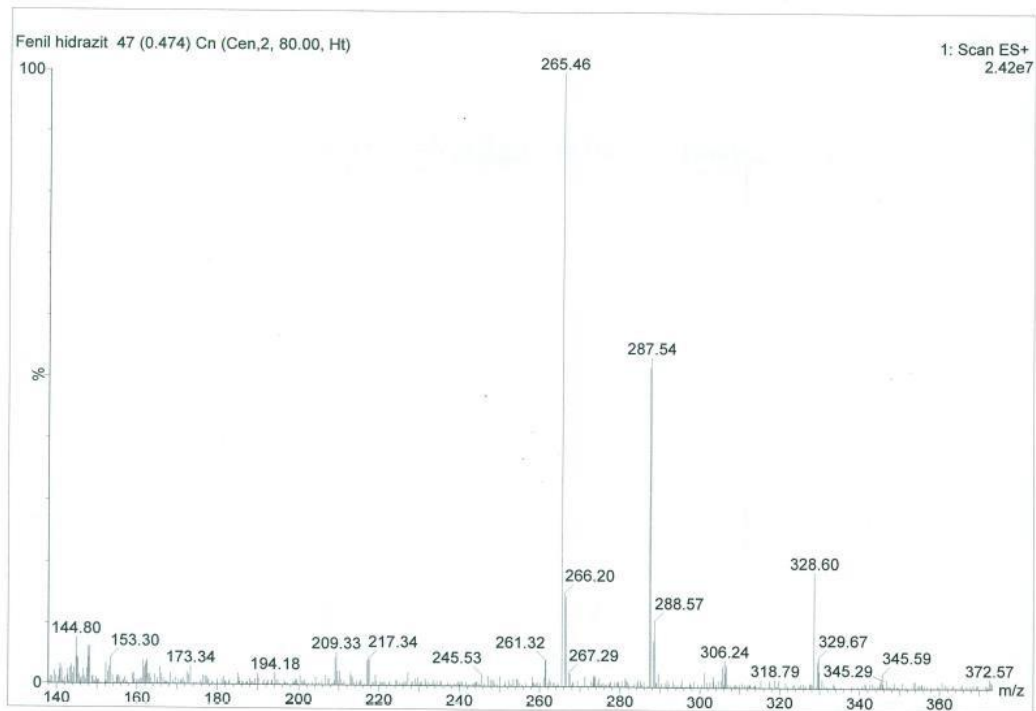
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 265 ([M+1]⁺, %100).



Şekil 3.1. Bileşik 4 'ün ¹H-NMR spektrumu

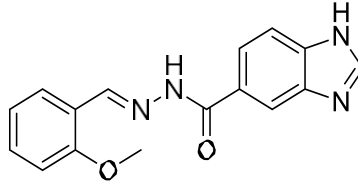


Şekil 3.2. Şekil 4'ün ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.3. Bileşik 4'ün kütle spektrumu

3.1.5. N'-(2-metoksibenziliden)-1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (5)



1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (88 mg, 0,5 mmol) ve 2-metoksibenzaldehit (73 mg, 0,5 mmol), absolü etanol (5 ml) varlığında 80°C'de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzüldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %66,21 (98 mg)

Fiziksel özellikler: Beyaz toz

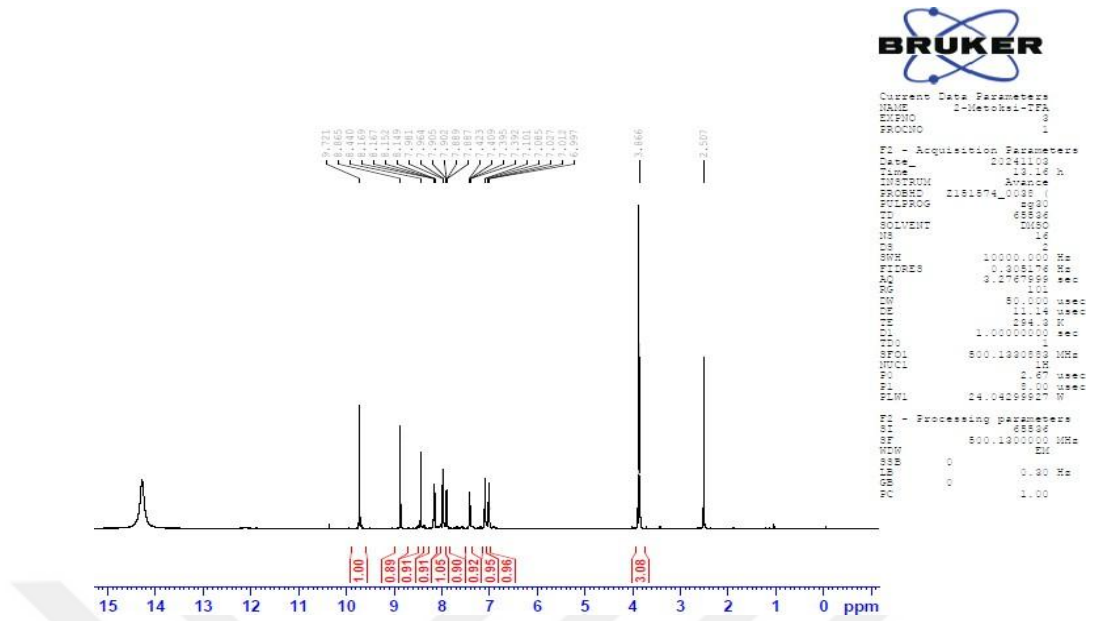
Moleküler formül: C₁₆H₁₄N₄O₂

Erime noktası: 303°C

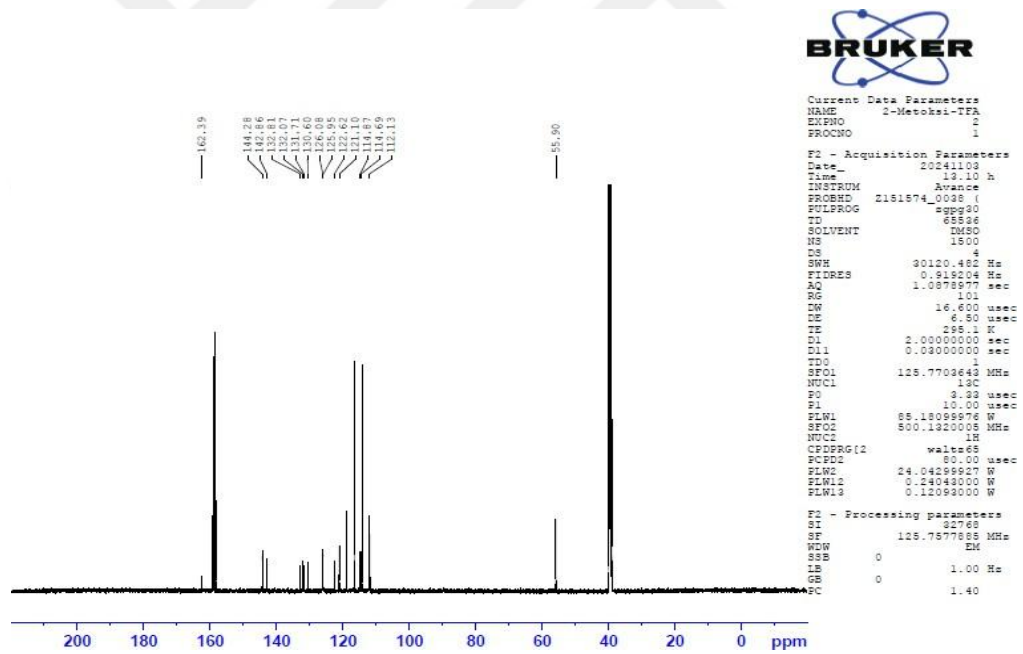
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 3,86 (s, 3H), 7,01(t, 1H, *J*=7,5), 7,09 (d, 1H, *J*=8,35), 7,41(t, 1H, *J*=7,05), 7,89 (dd, 1H, *J*_o=7,65, *J*_m=1,25), 7,97 (d, 1H, *J*=8,65), 8,16 (dd, 1H, *J*_o=7,35, *J*_m=1,5), 8,44 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 9,72 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 55,90, 112,13, 114,69,114,87, 121,10, 122,62, 125,95, 126,08, 130,60, 131,71,132,07, 132,81, 142,86, 144,28, 162,39.

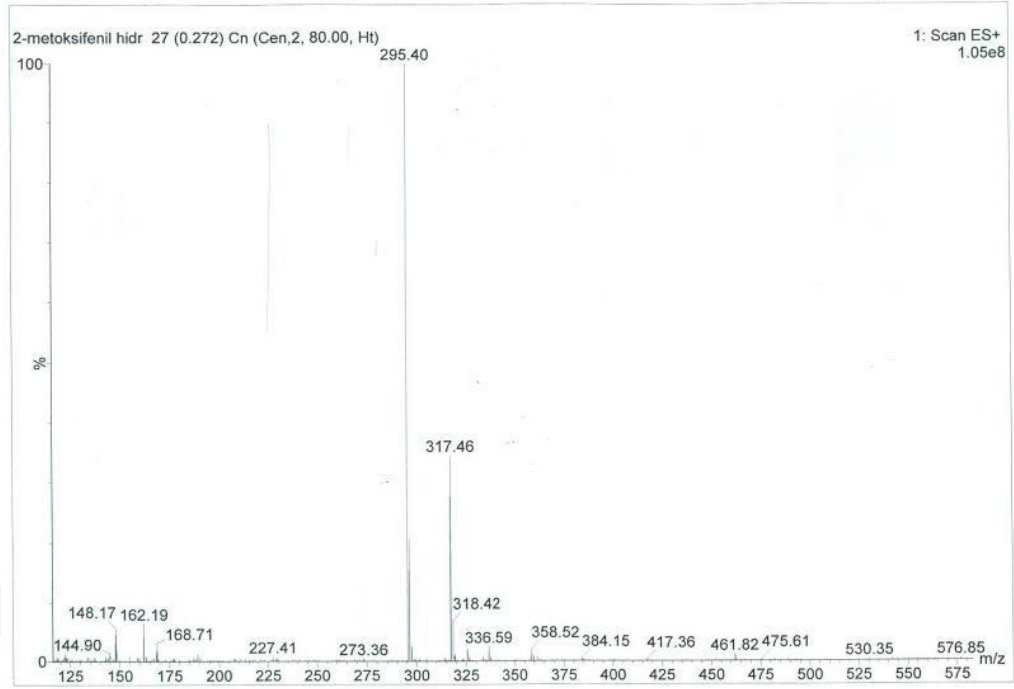
Kütle spektrumu: ESI-MS *m/z*: 295 ([M+1]⁺, %100)



Şekil 3.4. Bileşik 5' in ^1H -NMR spektrumu

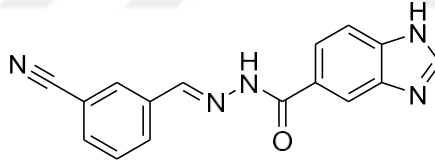


Şekil 3.5. Bileşik 5' in ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.6. Bileşik 5 'in kütle spektrumu

3.1.6. N'-(3-siyanobenziliden)-1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (6)



1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (86 mg, 0,48 mmol) ve 3-siyanobenzaldehit (78 mg, 0,59 mmol), absolü etanol (5 ml) varlığında 80 °C'de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzüldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %75,17 (106 mg)

Fiziksel özellikler: Beyaz toz

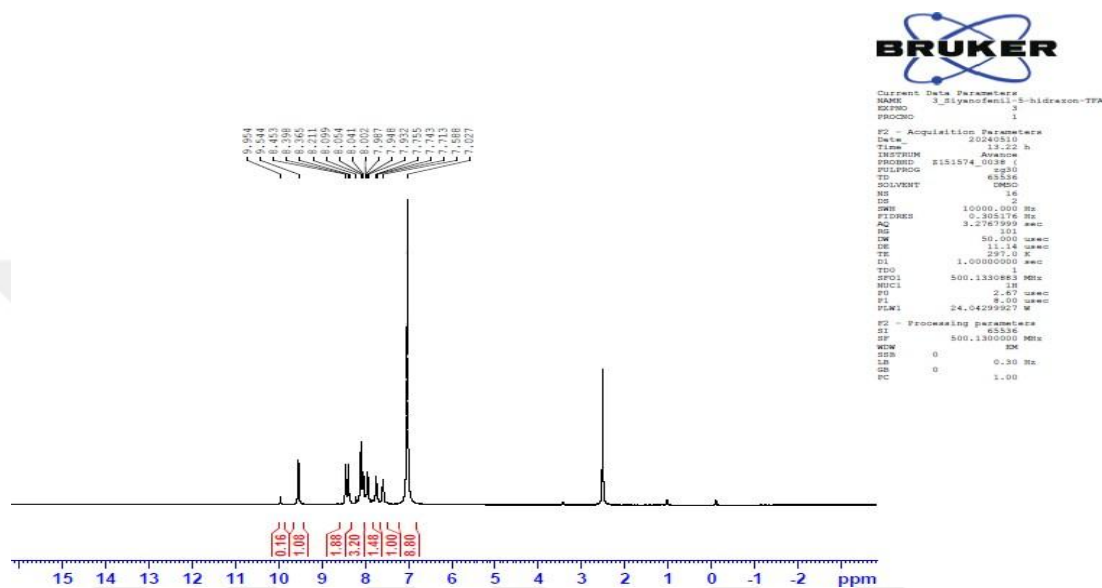
Moleküler formül: C₁₆H₁₁N₅O

Erime noktası: 279 °C

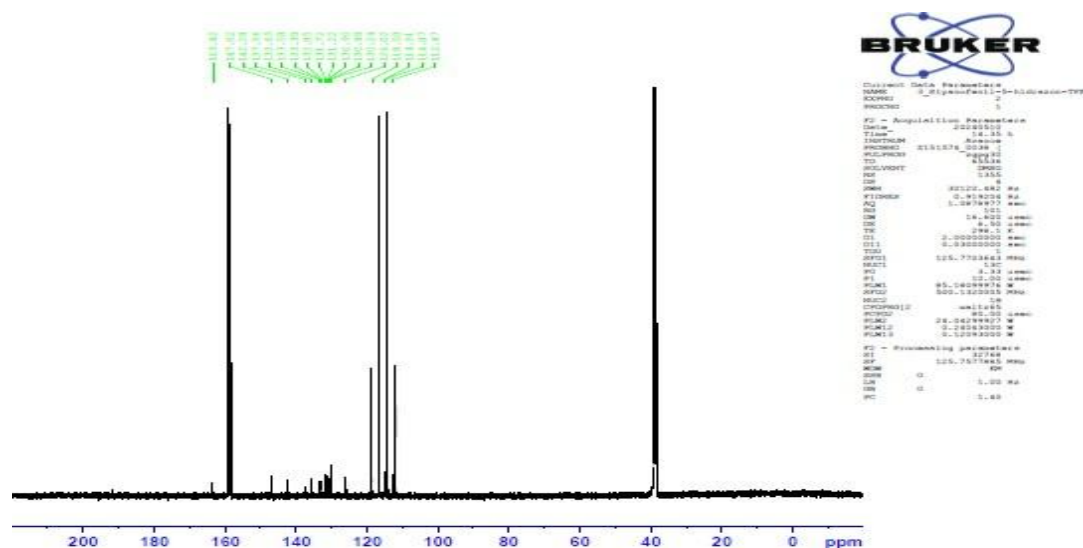
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 290 ([M+1]⁺, %100)

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , TFA) δ (ppm): 7,59 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,74 (d, 1H, $J=6,0$), 7,94(d, 1H, $J=8,1$), 7,99 (d, 1H, $J=7,25$), 8,04 (d, 1H, $J=6,85$), 8,21-8,45 (m, 2H), 9,54 (s,1H).

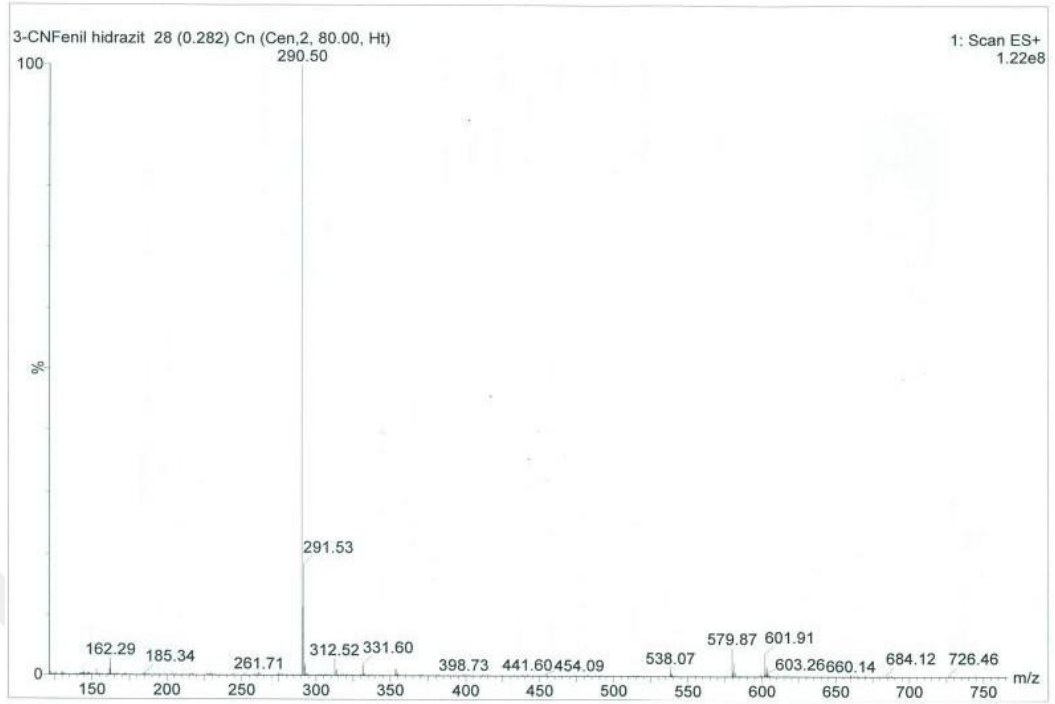
^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , TFA) δ (ppm): 112,47, 114,87, 114,91, 118,58, 126,02, 130,53, 131,22, 131,72, 132,85, 133,38, 135,69, 137,56, 142,28, 147,02, 163,42.



Şekil 3.7. Bileşik 6'nın ^1H -NMR spektrumu

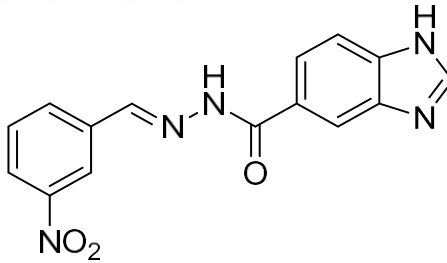


Şekil 3.8. Bileşik 6'nın ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.9. Bileşik 6'nın kütle spektrumu

3.1.7. N'-(3-nitrobenziliden)-1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (7)



1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (86 mg, 0,48 mmol) ve 3-nitrobenzaldehit (78 mg, 0,51 mmol), absolü etanol (5 ml) varlığında 80 °C'de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzüldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %52,31 (79 mg)

Fiziksel özellikler: Açık sarı toz

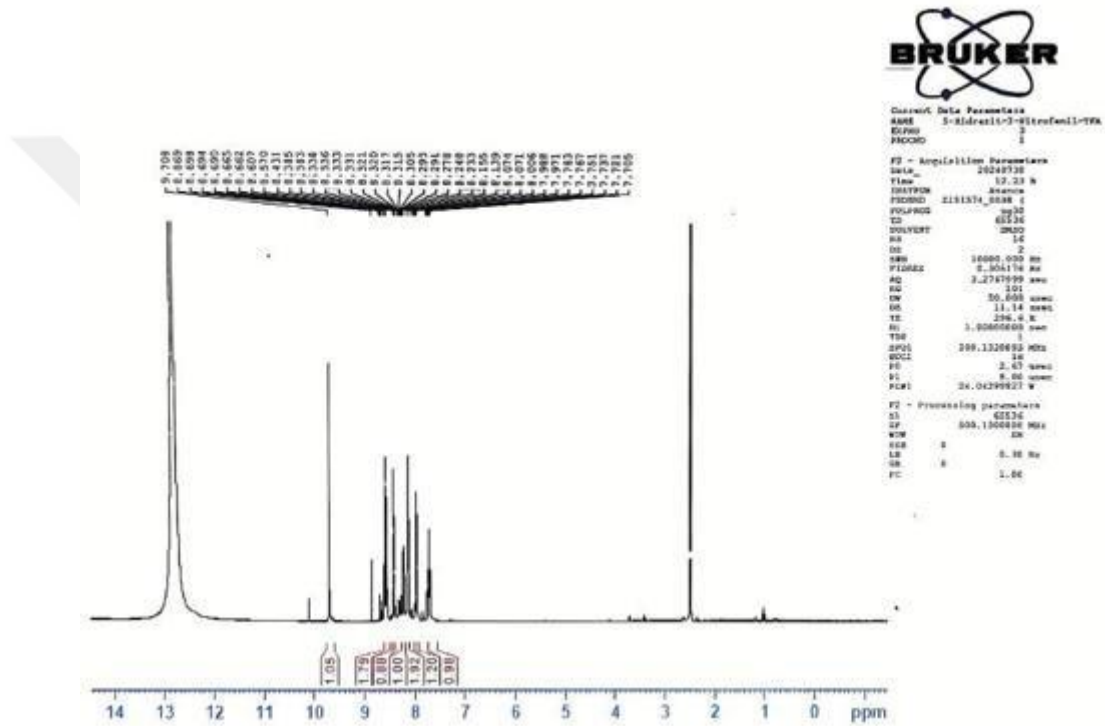
Moleküler formül: C₁₅H₁₁N₅O₃

Erime noktası: 260 °C

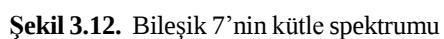
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 7,70-7,78 (m, 1H), 7,98 (t, 1H, *J*=8,6), 8,14 (d, 2H, *J*=8,15), 8,28 (d, 1H, *J*=6,45), 8,43 (s, 1H), 8,86 (s, 2H), 9,70 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 114,90, 121,325, 124,632, 126,06, 130,703, 131,430, 132,970, 133,778, 134,759, 136,523, 142,939, 146,324, 148,676, 160,806, 162,872.

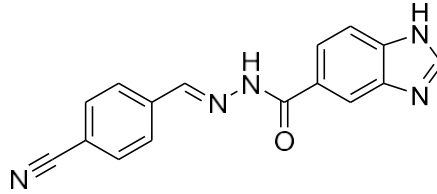
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 310 ([M+1]⁺, %100)



Şekil 3.10. Bileşik 7'nin ¹H-NMR spektrumu



3.1.8. N'-(4-siyanobenziliden)-1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (8)



1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (86 mg, 0,48 mmol) ve 4-siyanobenzaldehyt (78 mg, 0,59 mmol), absölü etanol (5 ml) varlığında 80 °C’de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzöldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %72,34 (102 mg)

Fiziksel özellikler: Beyaz toz

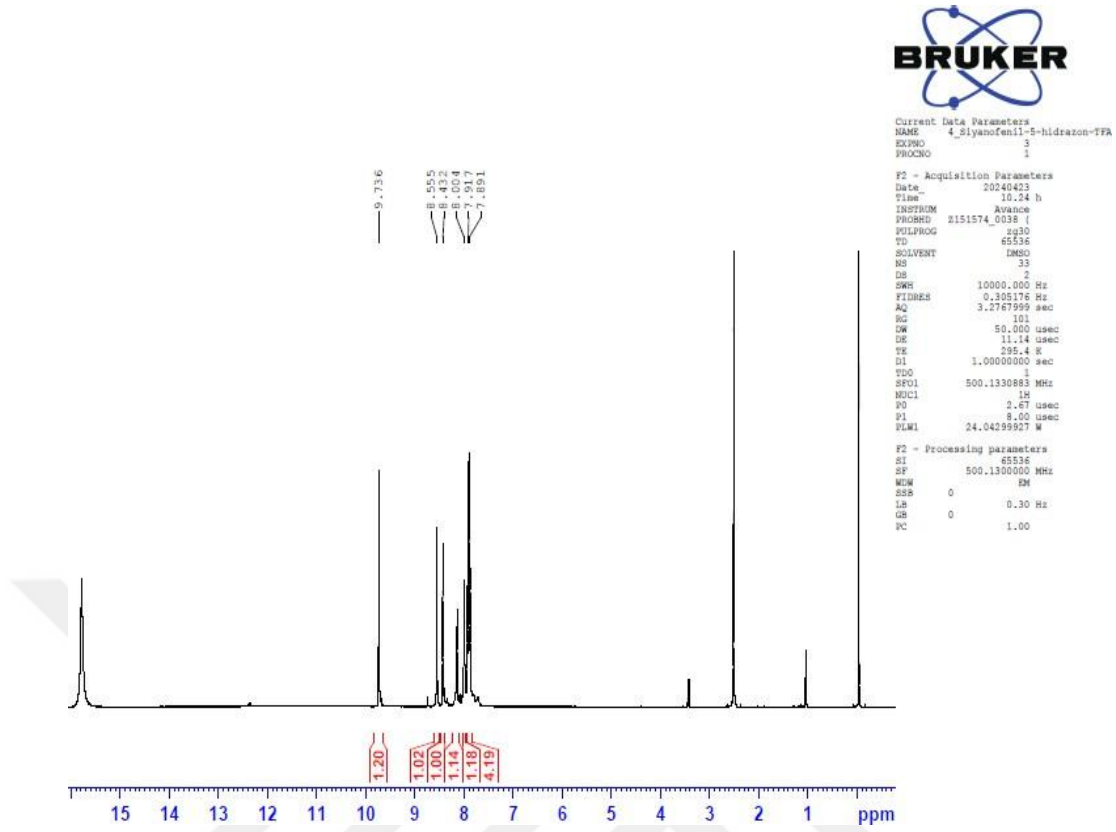
Moleküler formöl: C₁₆H₁₁N₅O

Erime noktası: 332 °C

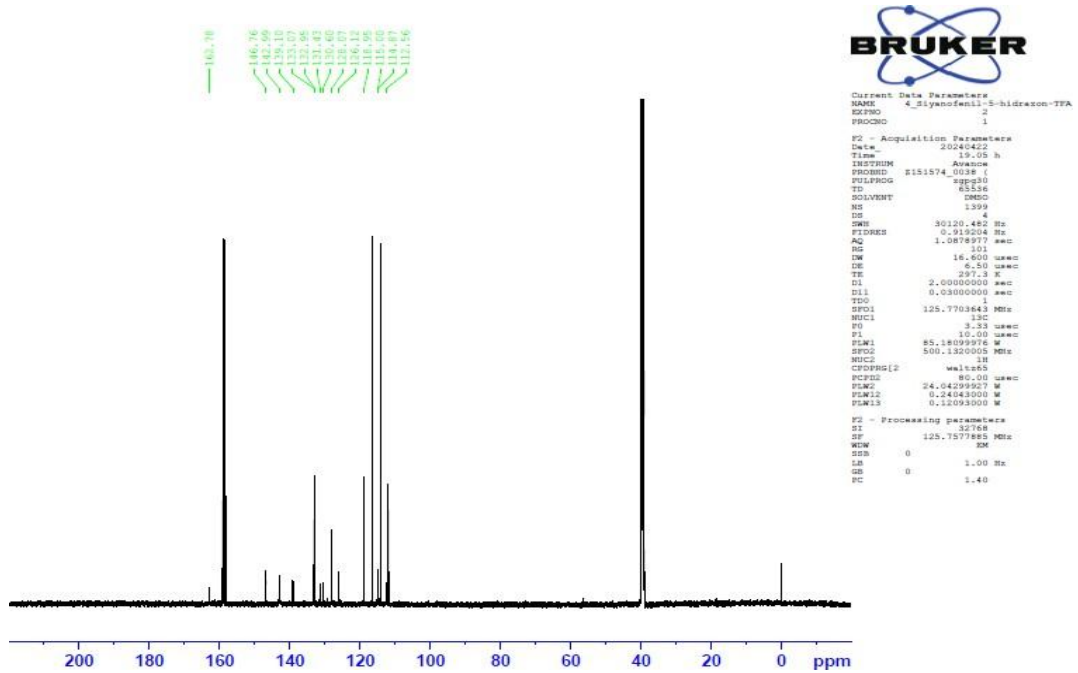
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 7,9-8,00 (m, 6H), 8,43 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 9,73 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 112,56, 114,87, 115,00, 118,95, 126,12, 128,07, 130,60,131,43, 132,95, 133,07, 139,10, 142,99, 146,76, 162,78.

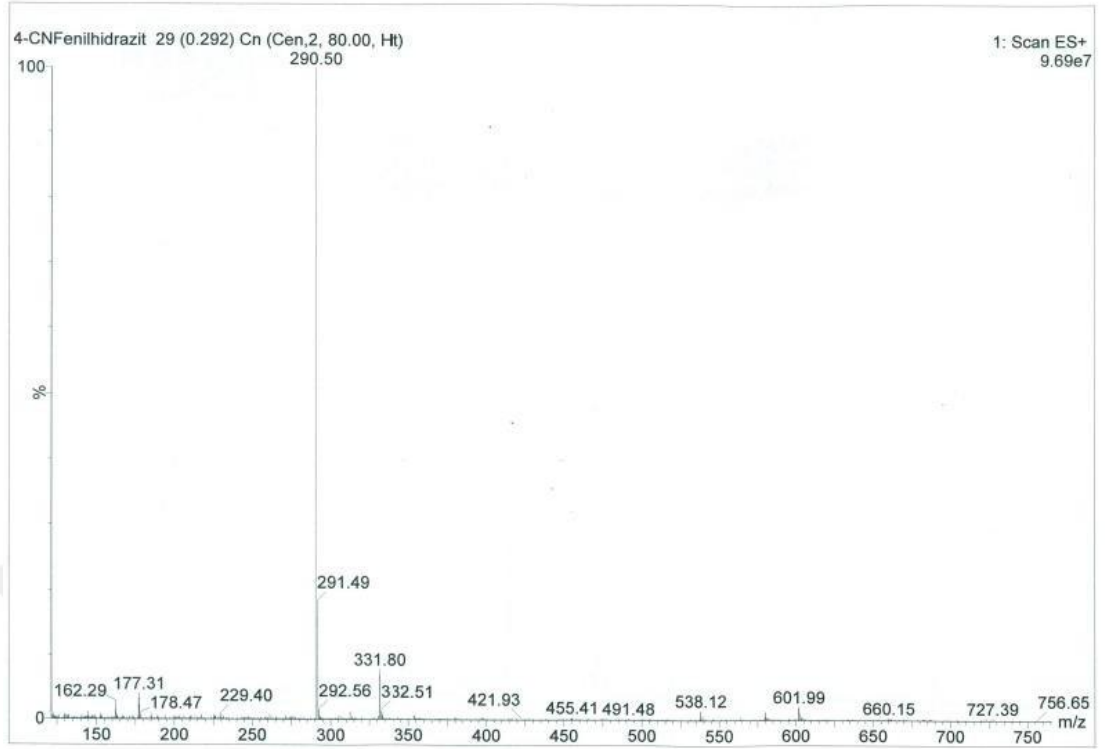
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 290 ([M+1]⁺, %100)



Şekil 3.13. Bileşik 8'in ^1H -NMR spektrumu

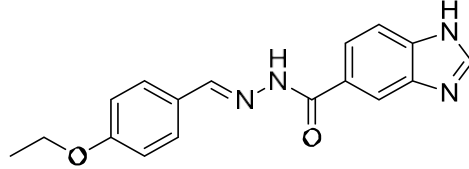


Şekil 3.14. Bileşik 8'in ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.15. Bileşik 8'in kütle spektrumu

3.1.9. N²-(4-etoksibenziliden)-1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (9)



1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (68 mg, 0,38 mmol) ve 4-etoksibenzaldehit (63 mg, 0,42 mmol), absolü etanol (5 ml) varlığında 80 °C'de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzüldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %53,78 (64 mg)

Fiziksel özellikler: Beyaz toz

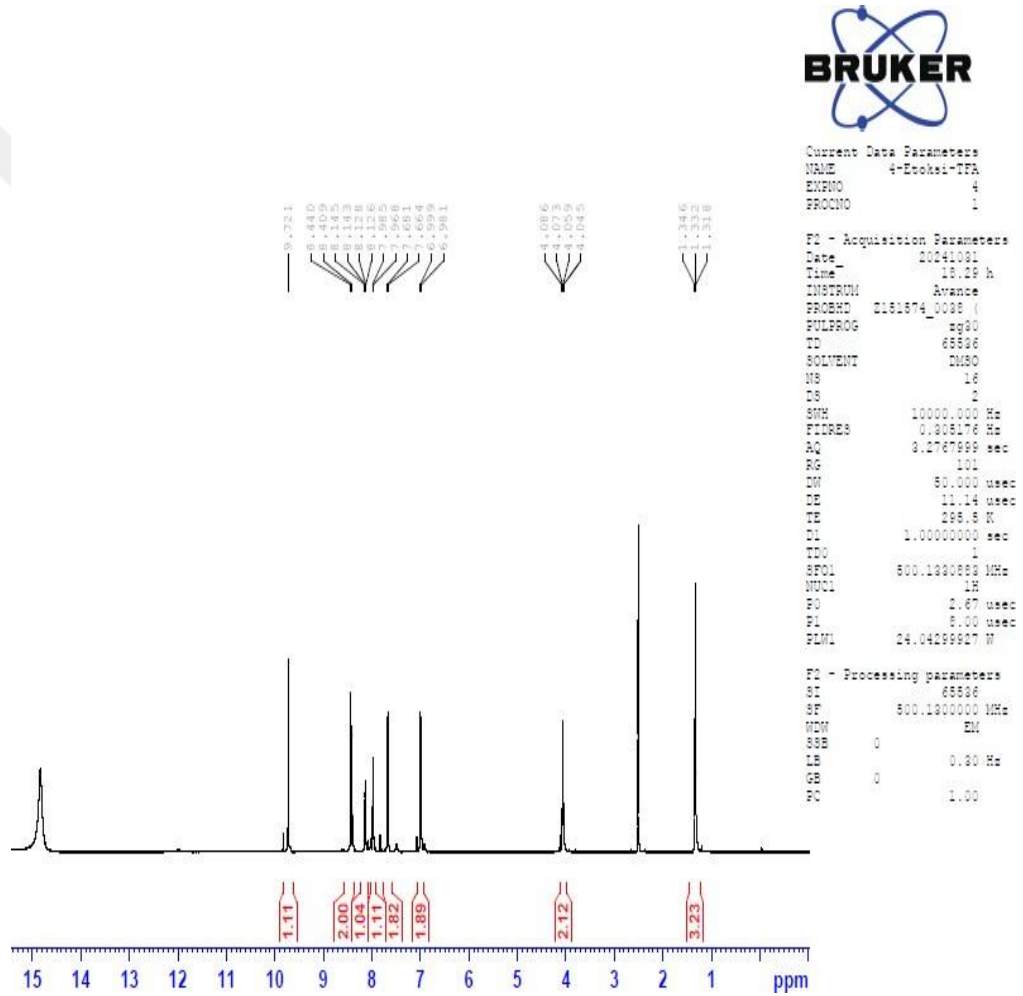
Moleküler formül: C₁₇H₁₆N₄O₂

Erime noktası: 286 °C

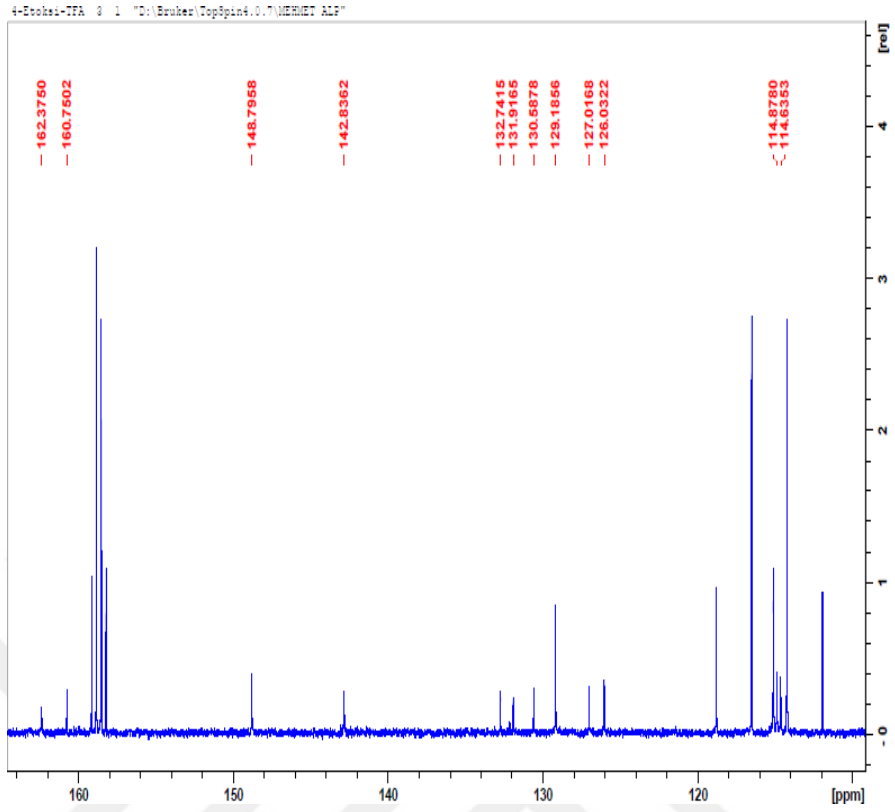
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 1,33 (t, 3H, *J*=6,95), 4,06 (q, 2H, *J*=7,00), 6,99 (d, 2H, *J*=9,2), 7,65 (d, 2H, *J*=8,5), 7,97 (d, 1H, *J*=8,5), 8,13 (dd, 1H, *J*_o=7,5, *J*_m=1,15), 8,40 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 9,72 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 14,76, 63,62, 114,64, 114,88, 126,03, 127,02, 129,19, 130,59, 131,92, 132,74, 142,84, 148,80, 160,75, 162,37.

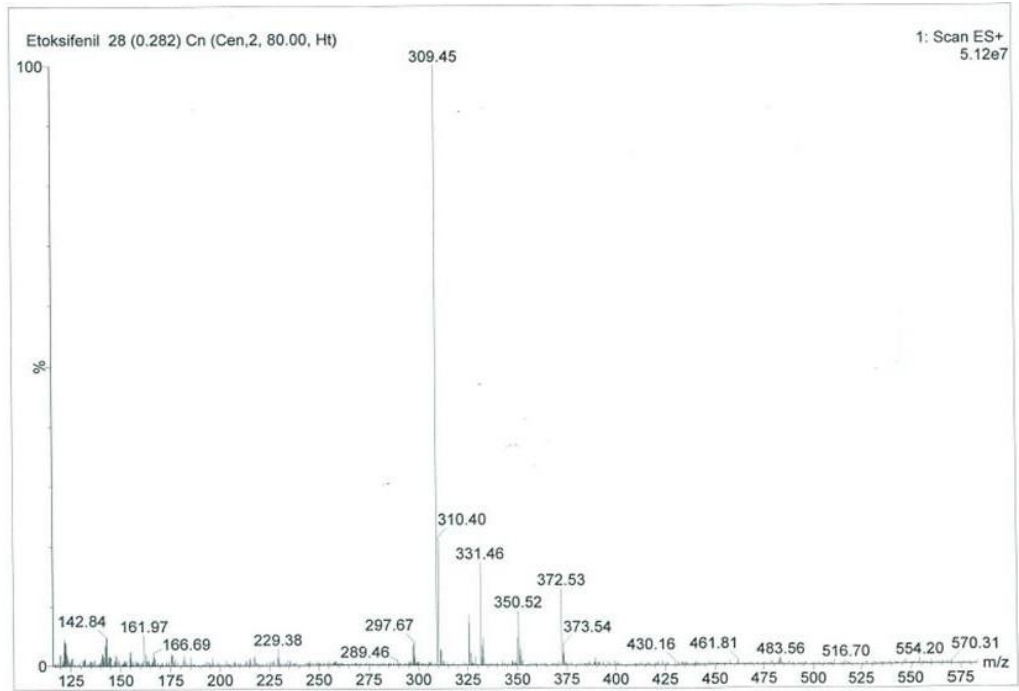
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 309 ([M+1]⁺, %100)



Şekil 3.16. Bileşik 9'un ¹H-NMR spektrumu

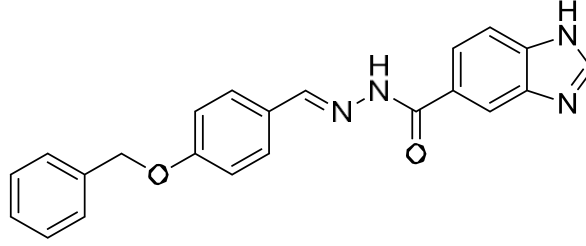


Şekil 3.17. Bileşik 9'un ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.18. Bileşik 9'un kütle spektrumu

3.1.19. N²-(4-(benziloksi) benziliden)-1*H*-benzimidazol-5-karbohidrazit (10)



1*H*-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (86 mg, 0,48 mmol) ve 4 benziloksi benzaldehit (113 mg, 0,53 mmol), absolü etanol (5 ml) varlığında 80 °C’de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzüldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %43,33 (78 mg)

Fiziksel özellikler: Beyaz toz

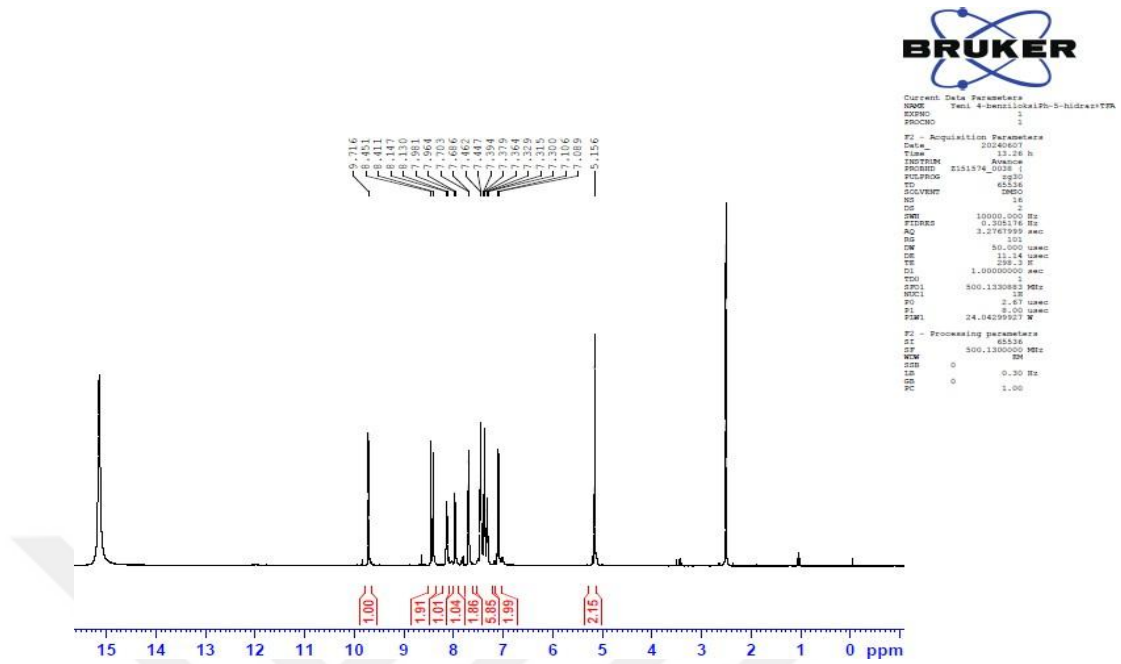
Moleküler formül: C₂₂H₁₈N₄O₂

Erime noktası: 267 °C

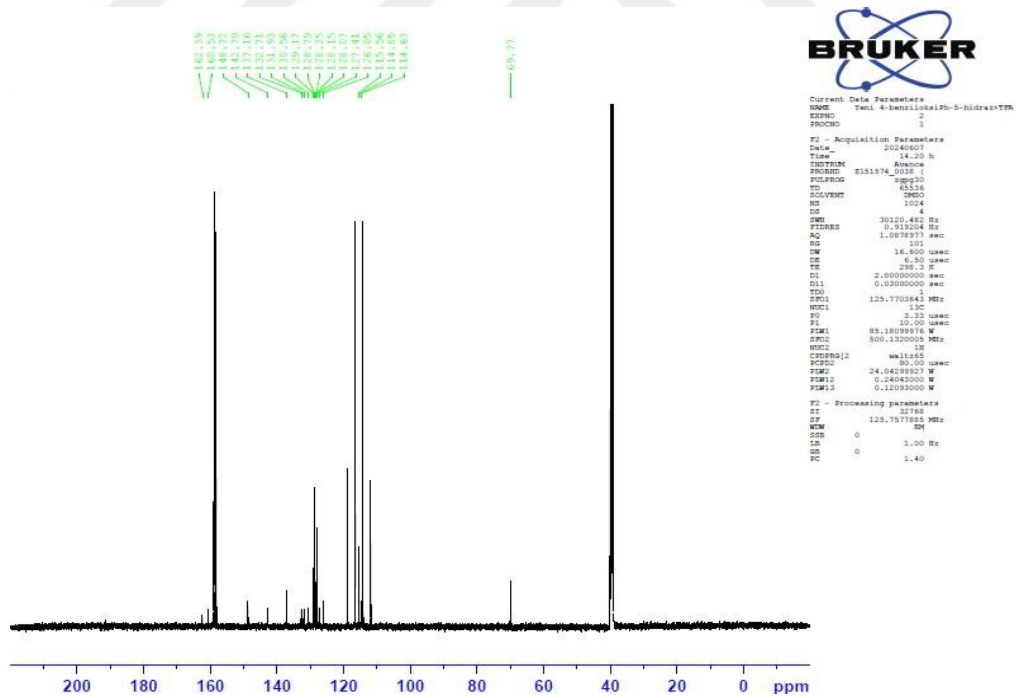
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 5,15 (s, 2H), 7,09 (d, 2H, *J* =8,5), 7,30-7,45 (m, 6H), 7,69 (d, 2H, *J*=8,5), 7,97 (d, 1H, *J*=8,0), 8,13 (d, 1H, *J*=8,6), 8,45 (s, 2H), 9,71 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 69,77, 114,63, 114,85, 115,56, 126,05, 127,41, 128,07, 128,15, 128,25, 128,79, 129,17, 130,56, 131,93, 132,71, 137,16, 142,79, 148,72, 160,53, 162,39.

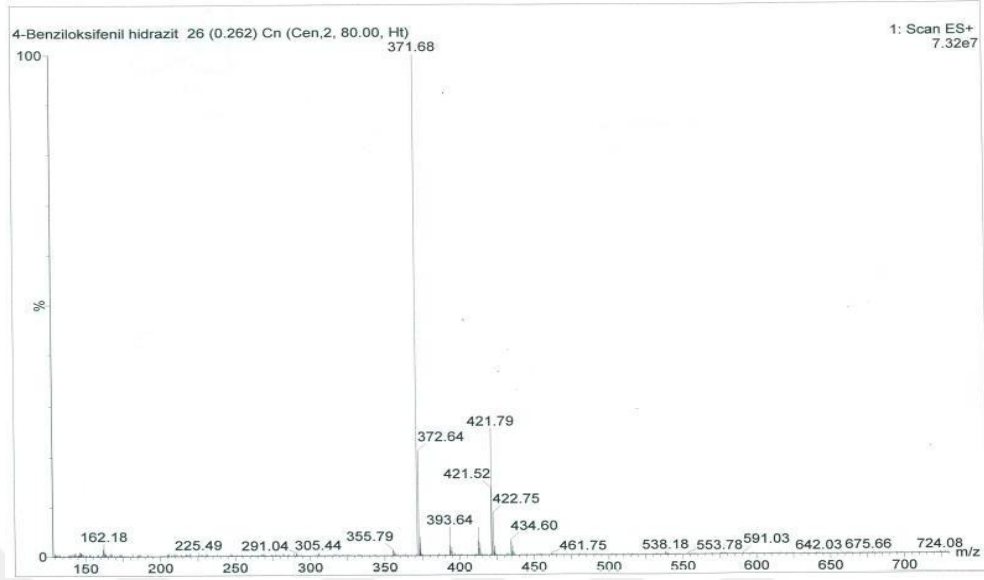
Kütle spektrumu: ESI-MS *m/z*: 371 ([*M*+1]⁺, %100).



Şekil 3.19. Bileşik 10'un ^1H -NMR spektrumu

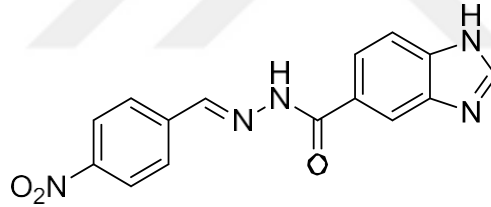


Şekil 3.20. Bileşik 10'un ^{13}C -CMR spektrumu



Şekil 3.21. Bileşik 10'un kütle spektrumu

3.1.11. N'-(4-nitrobenziliden)-1H-benzimidazol-5-karbohidrazit (11)



1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (86 mg, 0,48 mmol) ve 4-nitrobenzaldehit (78 mg, 0,51 mmol), absölu etanol (5 ml) varlığında 80 °C'de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzöldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %82,13 (124 mg)

Fiziksel özellikler: Açık sarı toz

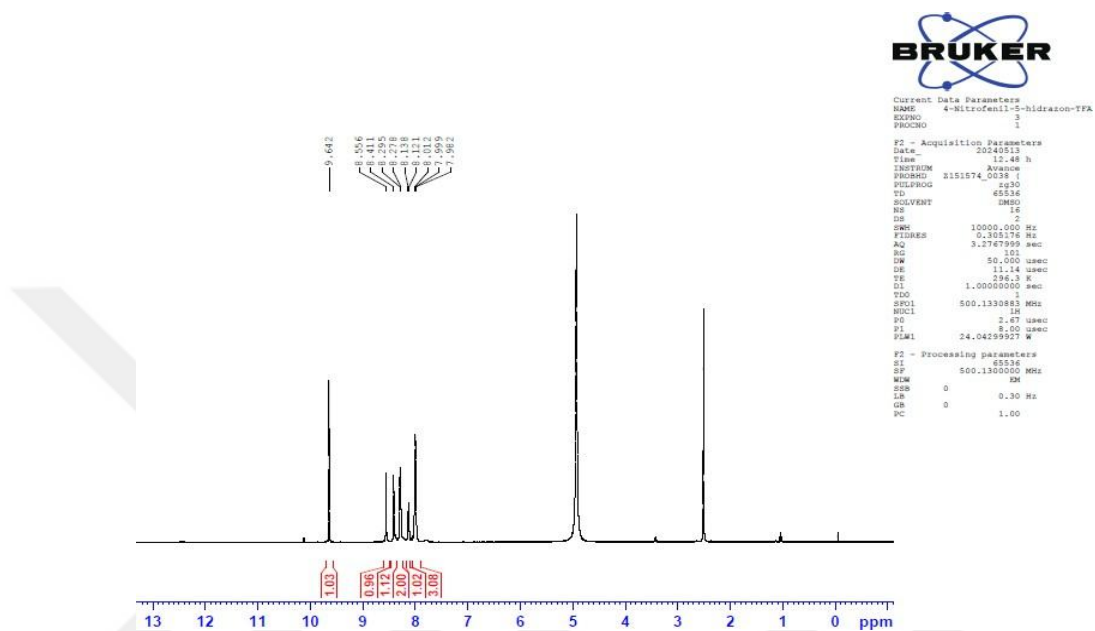
Moleküler formöl: C₁₅H₁₁N₅O₃

Erime noktası: 346 °C

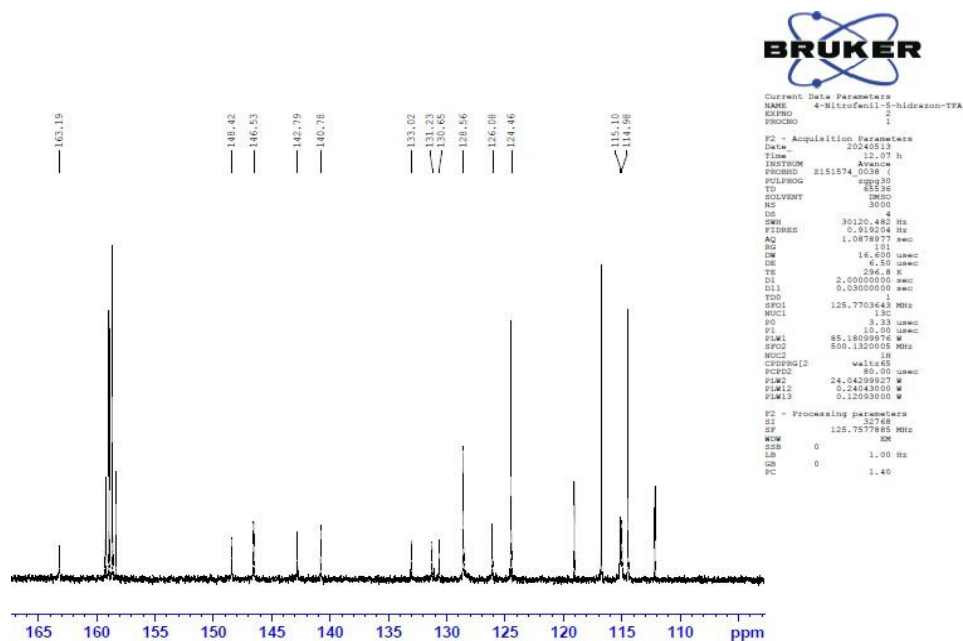
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 310 ([M+1]⁺, %100)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 7,98-8,01 (m, 3H), 8,12 (d, 1H, *J*=8,6), 8,28 (d, 2H, *J*=8,00), 8,41 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 9,62 (s, 1H).

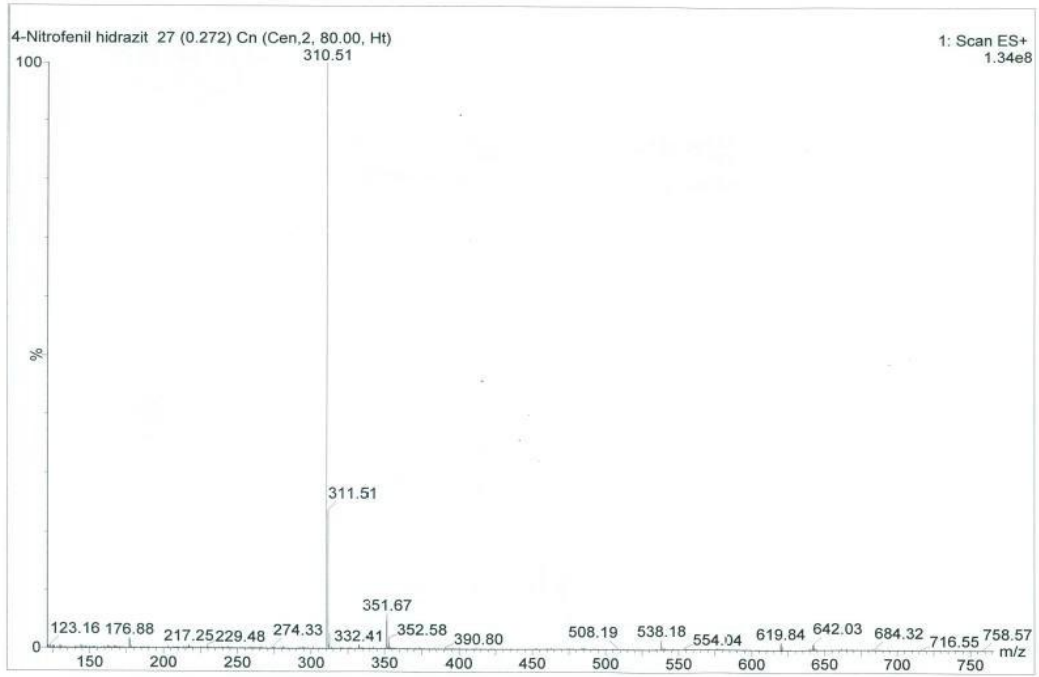
¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 112,82, 114,98, 115,10, 119,2, 124,46, 126,08, 128,56, 130,65, 131,23, 133,02, 140,78, 142,79, 146,53, 148,42, 163,19.



Şekil 3.22. Bileşik 11'in ¹H-NMR spektrumu

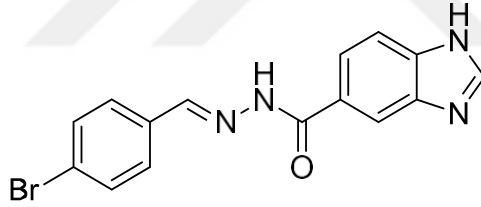


Şekil 3.23. Bileşik 11' in ¹³C-NMR spektrumu



Şekil 3.24. Bileşik 11'in kütle spektrumu

3.1.12. N'-(4-bromobenziliden)-1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (12)



1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (86 mg, 0,48 mmol) ve 4-bromobenzaldehit (101 mg, 0,54 mmol), absö etanol (5 ml) varlığında 80 °C'de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzöldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %45,61 (78 mg)

Fiziksel özellikler: Açık sarı toz

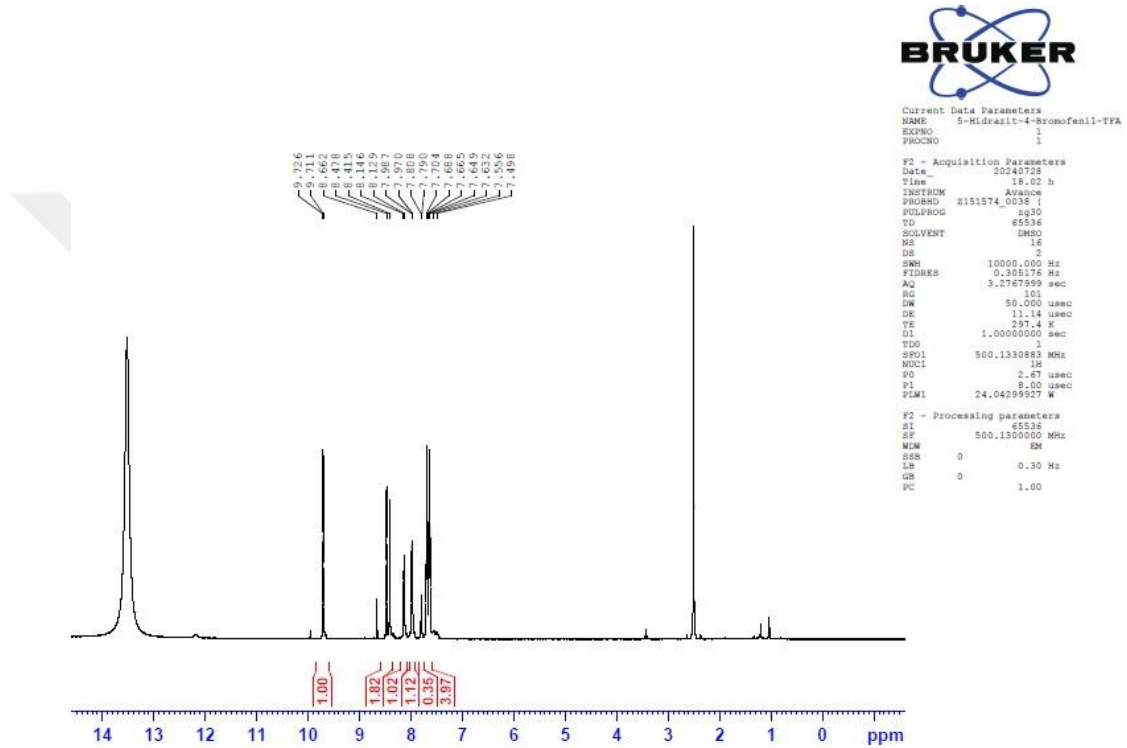
Moleküler formöl: C₁₅H₁₁BrN₄O

Erime noktası: 302 °C

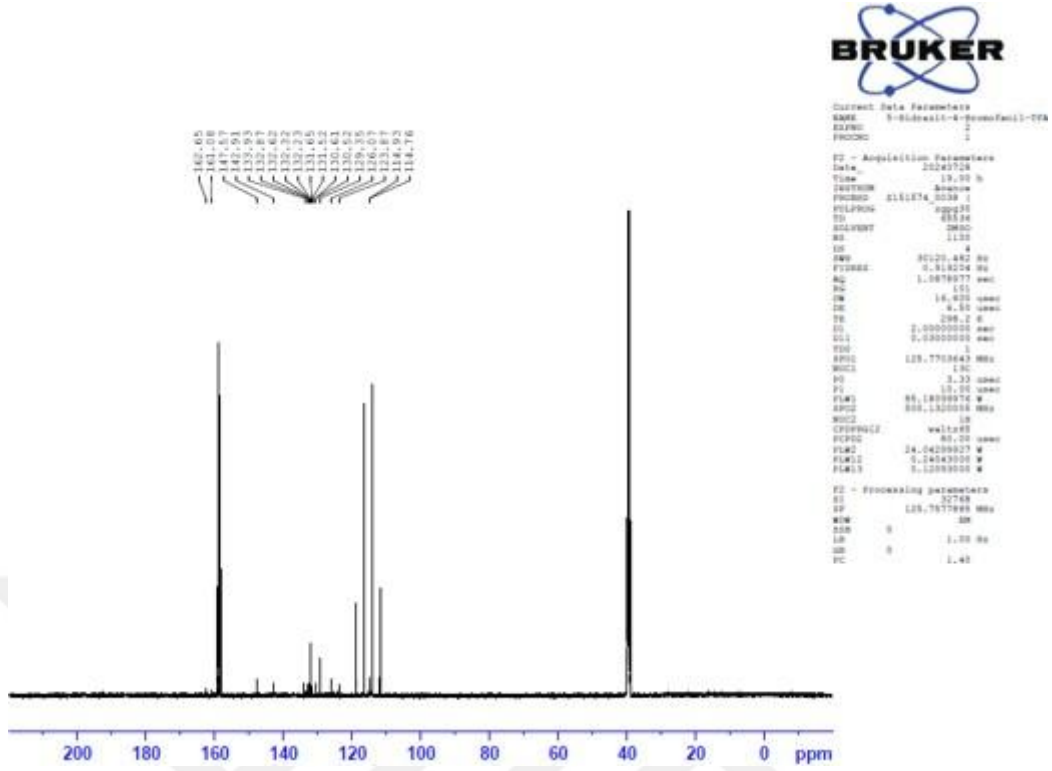
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 7,49-7,98 (m, 4H), 8,13 (d, 1H, J=8,6), 8,41 (s, 1H), 8,47-8,66 (s, 2H), 9,71 (d, 1H, J=7,4).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 114,84, 123,87, 126,07, 129,35, 130,56, 131,52, 131,65, 132,275, 132,62, 132,87, 133,93, 142,91, 147,57, 161,08, 162,65.

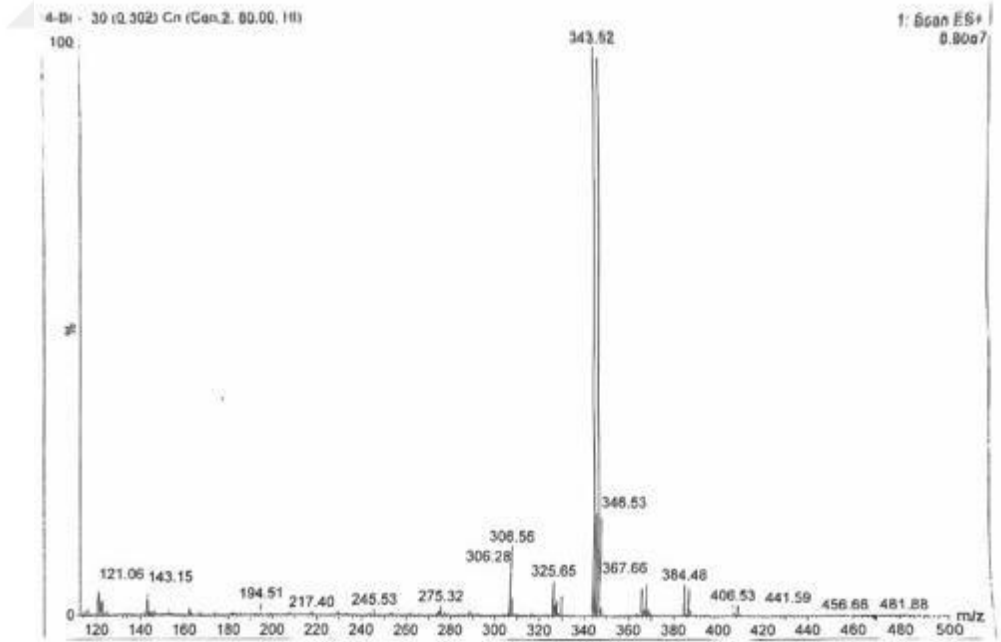
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 343 ([M]⁺, %100), 345 ([M+2]⁺, %100)



Şekil 3.25. Bileşik 12'nin ¹H-NMR spektrumu

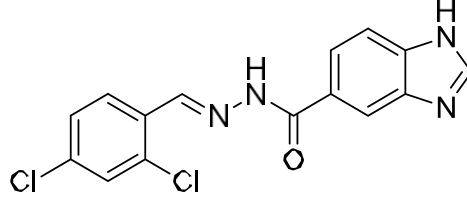


Şekil 3.26. Bileşik 12'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.27. Bileşik 12'nin kütle spektrumu

3.1.13. N'-(2,4-diklorobenziliden)-1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (13)



1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (88 mg, 0,5 mmol) ve 2,4-diklorobenzaldehit (96 mg, 0,5 mmol), absolü etanol (5 ml) varlığında 80 °C'de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzüldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %54,21 (90 mg)

Fiziksel özellikler: Beyaz toz

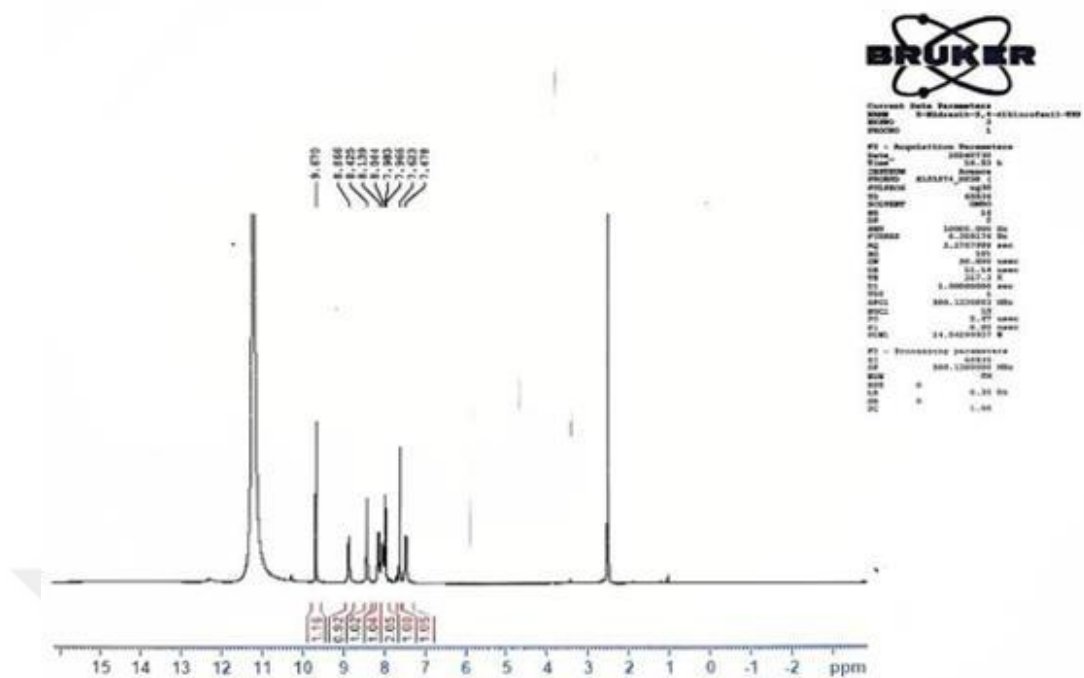
Moleküler formül: C₁₅H₁₀Cl₂N₄O

Erime noktası: 297 °C

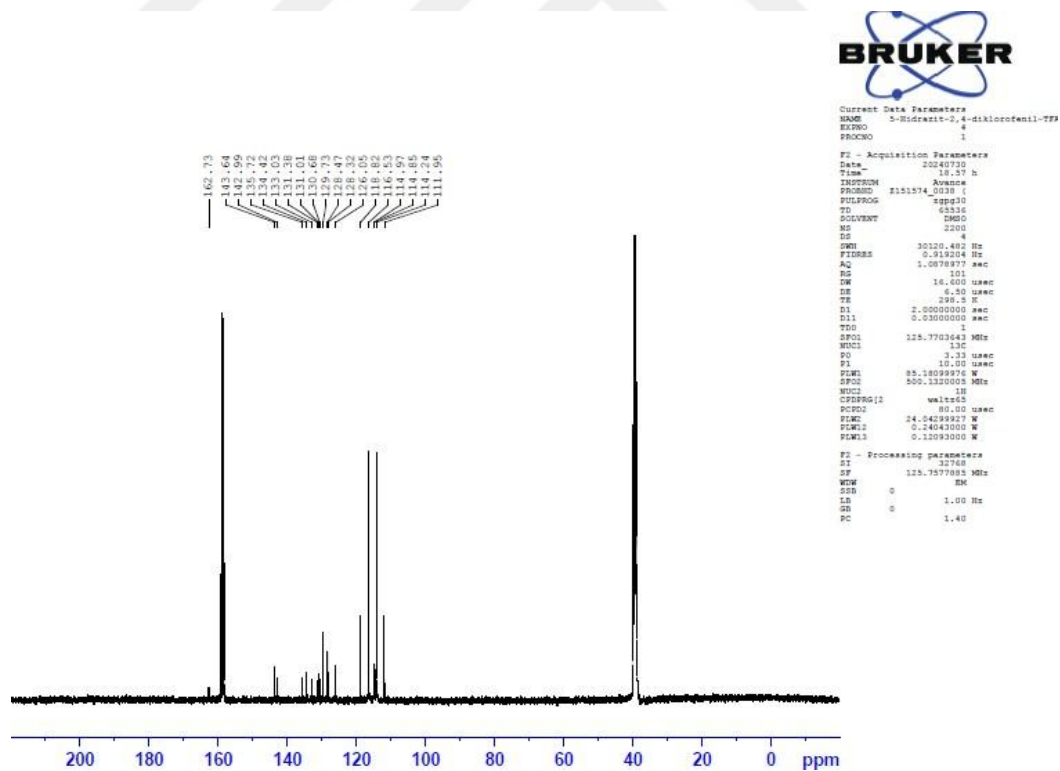
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 7,47 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,97 (d, 1H, *J*=8,4), 8,04 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 9,67 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 111,95, 114,24, 114,85, 114,97, 116,53, 118,18, 118,82, 129,31, 129,39, 130,40, 134,99, 142,90, 144,62, 147,66, 162,73.

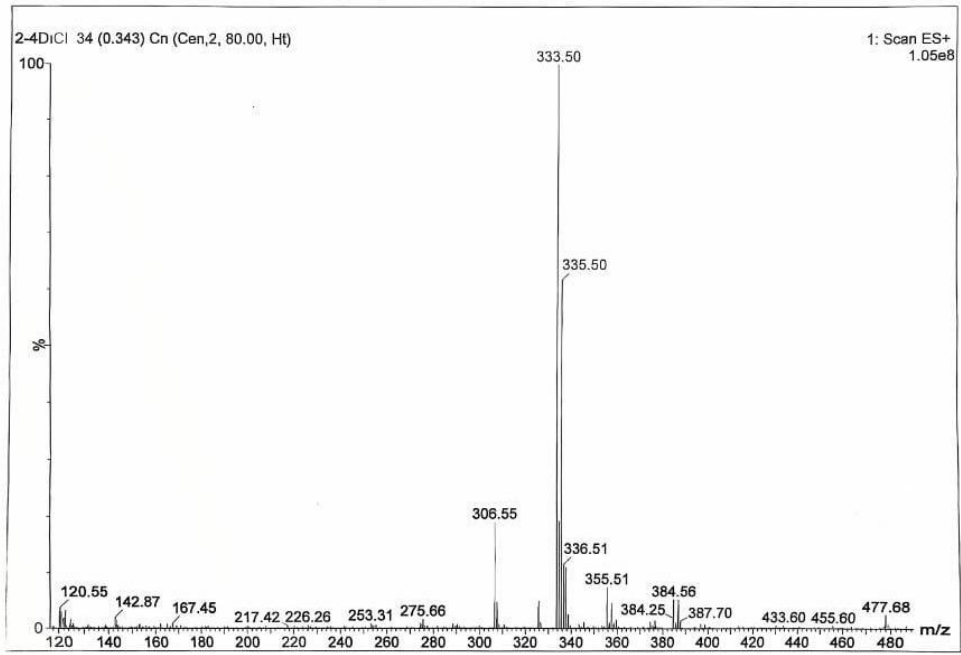
Kütle spektrumu: ESI-MS *m/z*: 333 ([M]⁺, %100), 335 ([M+2]⁺, %65), 337 ([M+2+2]⁺, %11).



Şekil 3.28. Bileşik 13'ün ^1H -NMR spektrumu

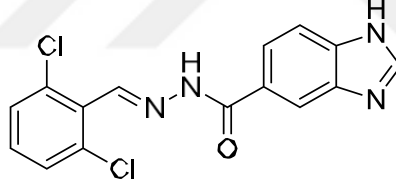


Şekil 3.29. Bileşik 13'ün ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.30. Bileşik 13'ün kütle spektrumu

3.1.14. N'-(2,6-diklorobenziliden)-1H-benzimidazol-5-karbohidrazit (14)



1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (88 mg, 0,5 mmol) ve 2,4-diklorobenzaldehit (96 mg, 0,5 mmol), absölü etanol (5 ml) varlığında 80 °C'de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzöldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %56,62 (94 mg)

Fiziksel özellikler: Beyaz toz

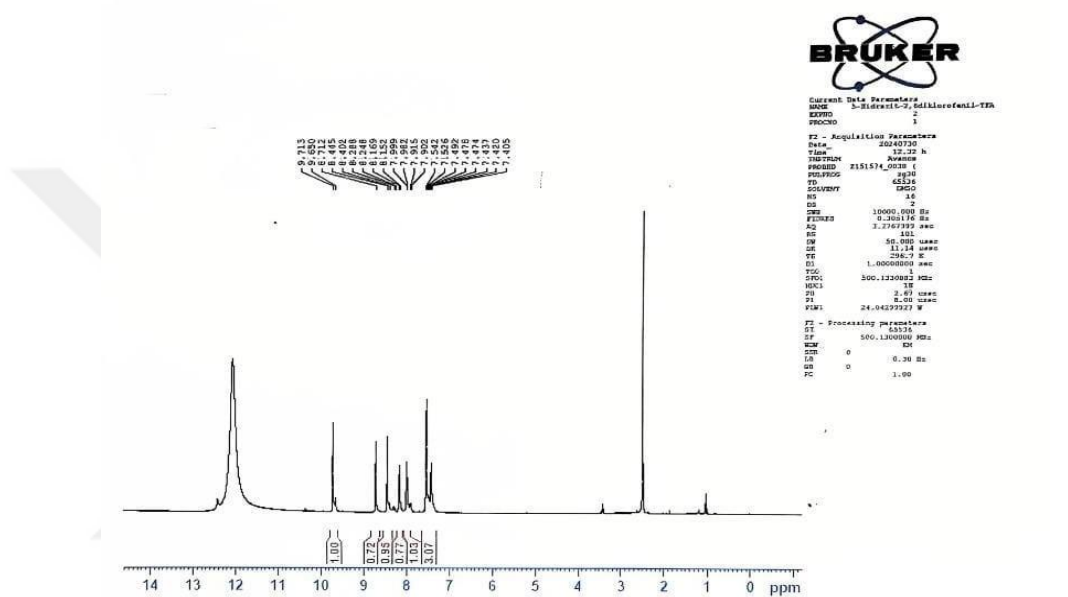
Moleküler formöl: C₁₅H₁₀Cl₂N₄O

Erime noktası: 311 °C

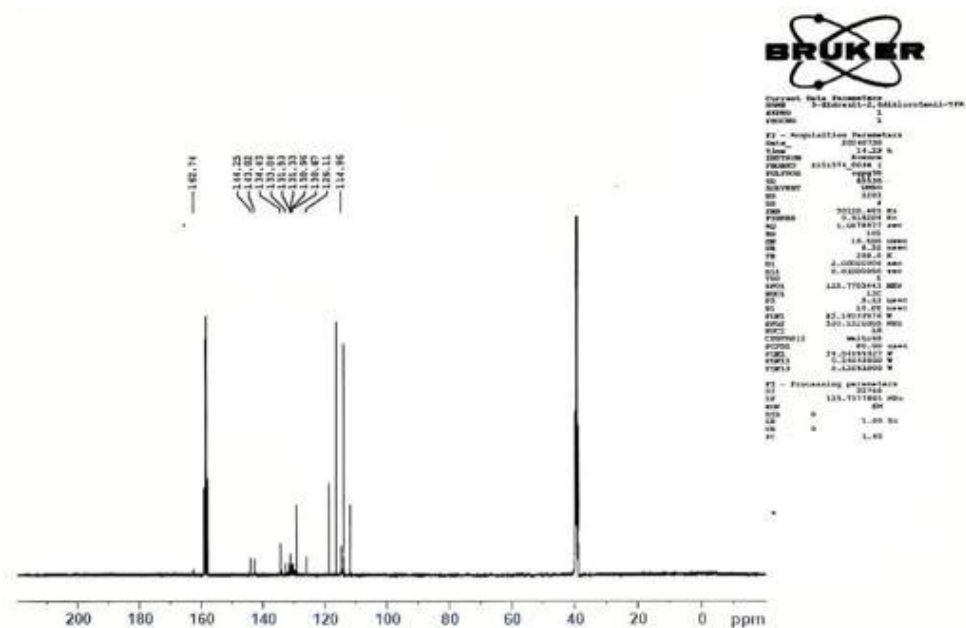
^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , TFA) δ (ppm): 7,40-7,51 (m, 3H), 7,99 (d, 1H, $J=8,5$), 8,16 (d, 1H, $J=8,45$), 8,42 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 9,71 (s, 1H).

^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , TFA) δ (ppm): 114,96, 126,11, 130,67, 130,96, 131,33, 131,53, 133,04, 134,43, 143,02, 144,25, 162,74.

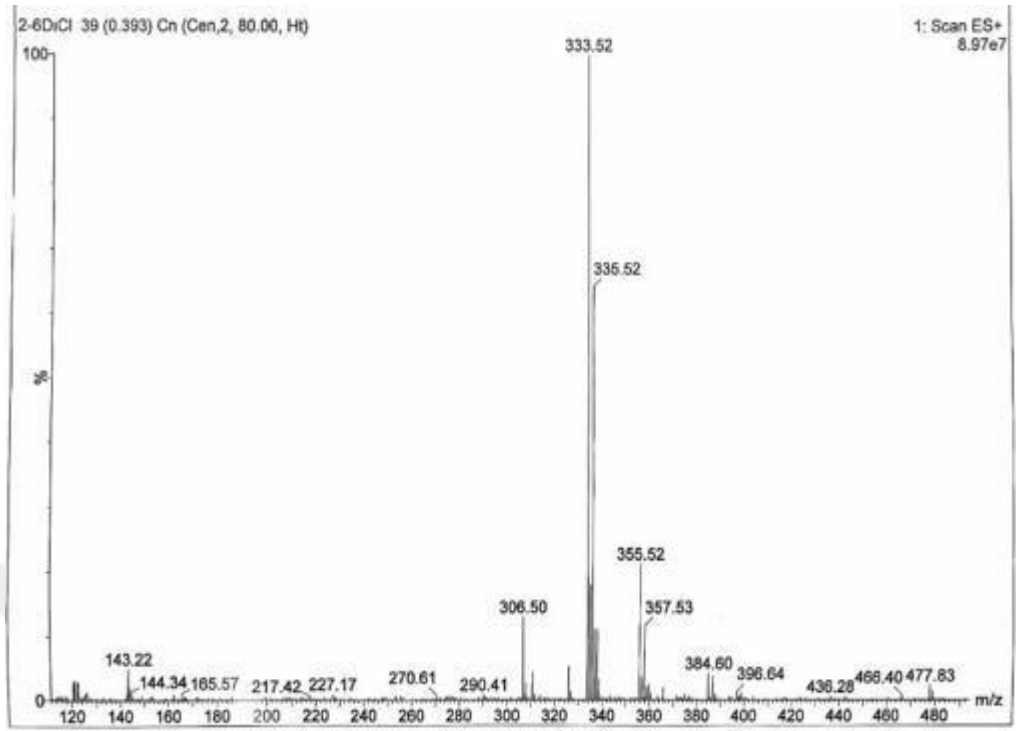
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z : 333 ($[\text{M}]^+$, %100), 335 ($[\text{M}+2]^+$, %65), 337 ($[\text{M}+2+2]^+$, %11).



Şekil 3.31. Bileşik 14'ün ^1H -NMR spektrumu

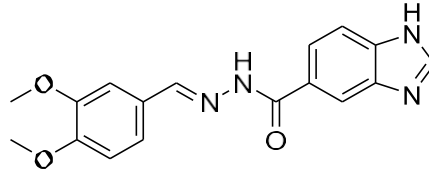


Şekil 3.32. Bileşik 14'ün ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.33. Bileşik 14'ün kütle spektrumu

3.1.15. N'-(3,4-dimetoksibenziliden)-1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (15)



1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (88 mg, 0,5 mmol) ve 3,4-dimetoksi benzaldehit (91 mg, 0,54 mmol), absölü etanol (5 ml) varlığında 80 °C'de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzöldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %52,47 (85 mg)

Fiziksel özellikler: Beyaz toz

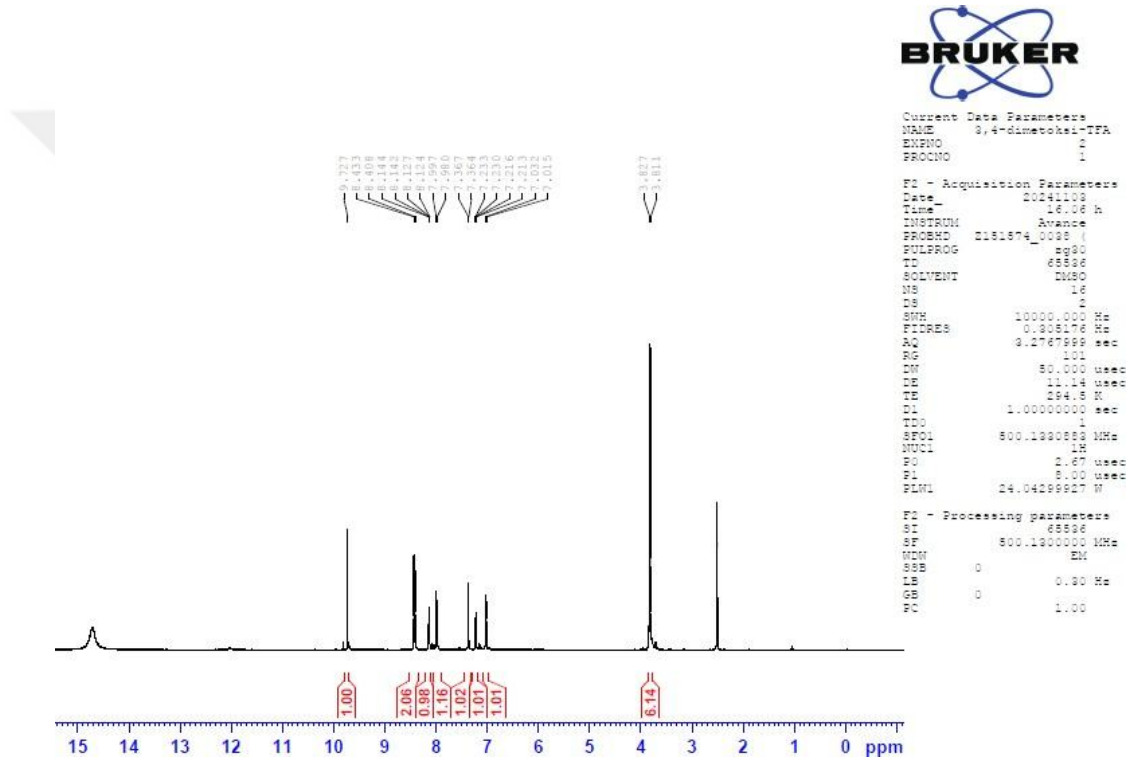
Moleküler formöl: C₁₇H₁₆N₄O₃

Erime noktası: 274 °C

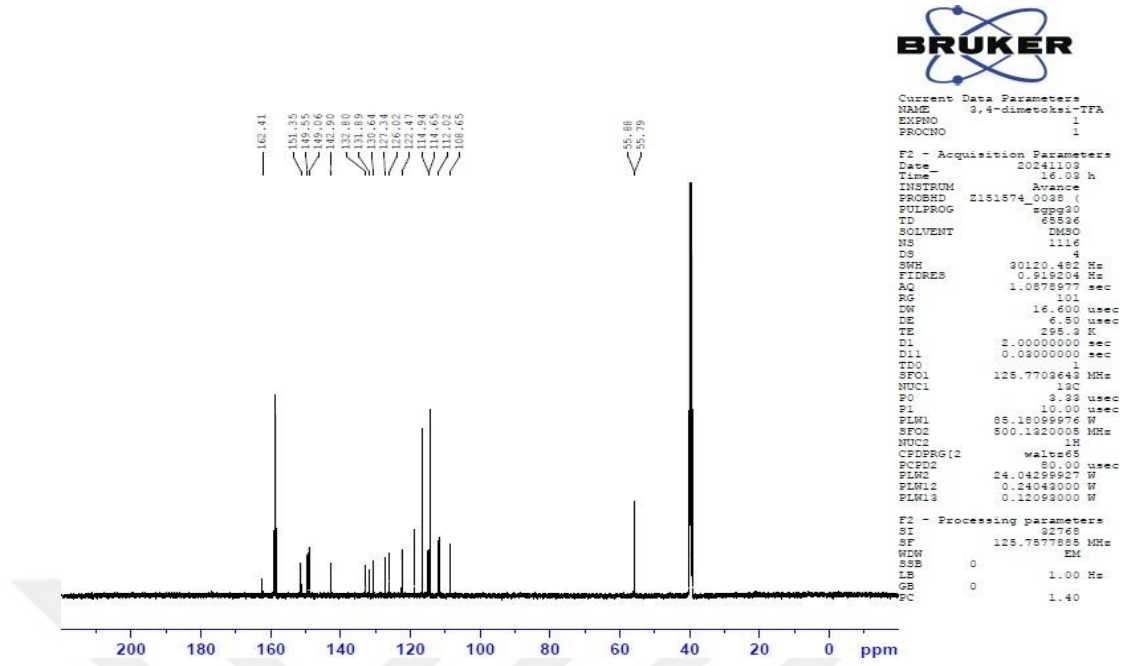
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 6,14 (d, 6H, *J*=8,5), 7,02 (d, 1H, *J*=8,5), 7,22 (dd, 1H, *J*_o=6,75, *J*_m=1,5), 7,36 (s, 1H), 7,98 (d, 1H, *J*=8,65), 8,13 (dd, 1H, *J*_o=7,4, *J*_m=1,25), 8,40 (s, 2H), 8,43 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 55,79, 55,88, 108,65, 112,02, 114,65, 114,94, 122,47, 126,02, 127,34, 130,64, 131,89, 132,80, 142,90, 149,06, 149,55, 151,35, 162,41.

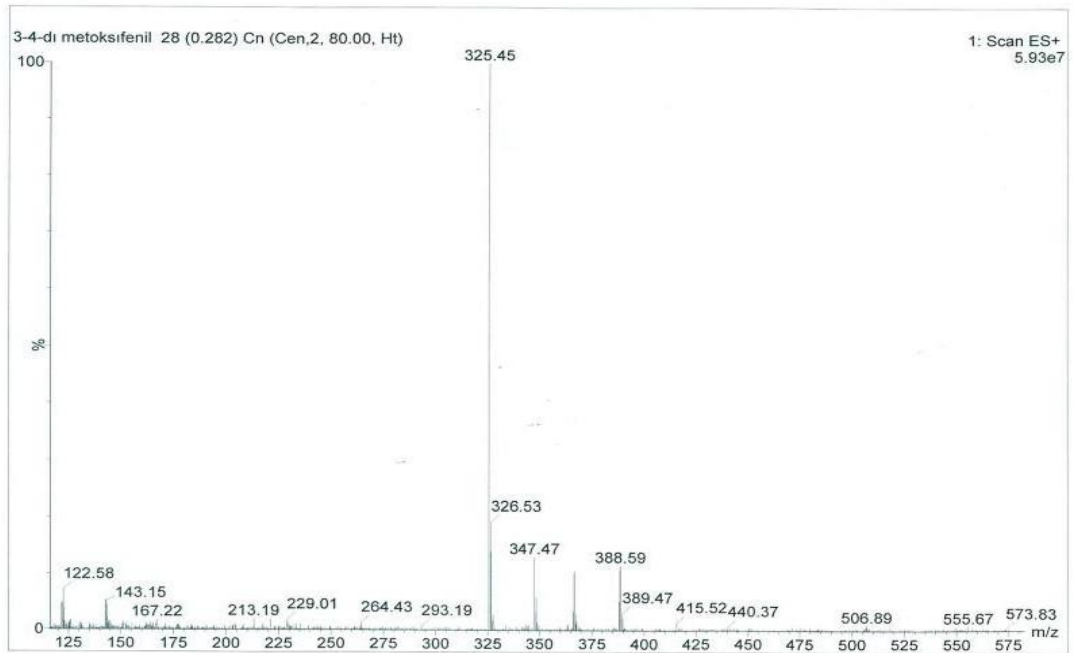
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 325 ([M+1]⁺, %100).



Şekil 3.34. Bileşik 15'in ¹H-NMR spektrumu

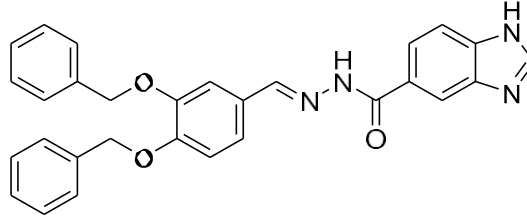


Şekil 3.35. Bileşik 15'in ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.36. Bileşik 15'in kütle spektroskopisi

3.1.16. N'-(3,4-bis(benziloksi)benziliden)-1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (16)



1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (88 mg, 0,5 mmol) ve 3,4-dibenziloksi benzaldehyt (179 mg, 0,56 mmol), absölü etanol (5 ml) varlığında 80 °C’de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzöldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %63,47 (151 mg)

Fiziksel özellikler: Beyaz toz

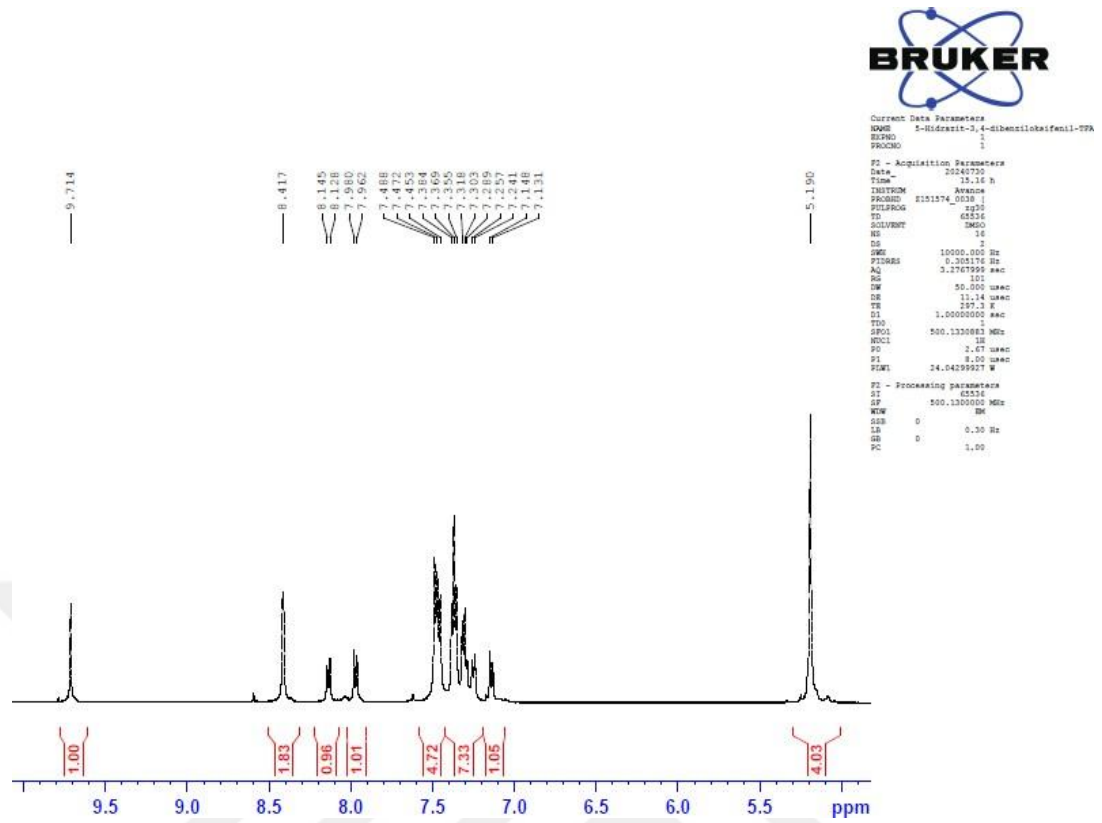
Moleküler formöl : C₂₉H₂₄N₄O₃

Erime noktası: 222 °C

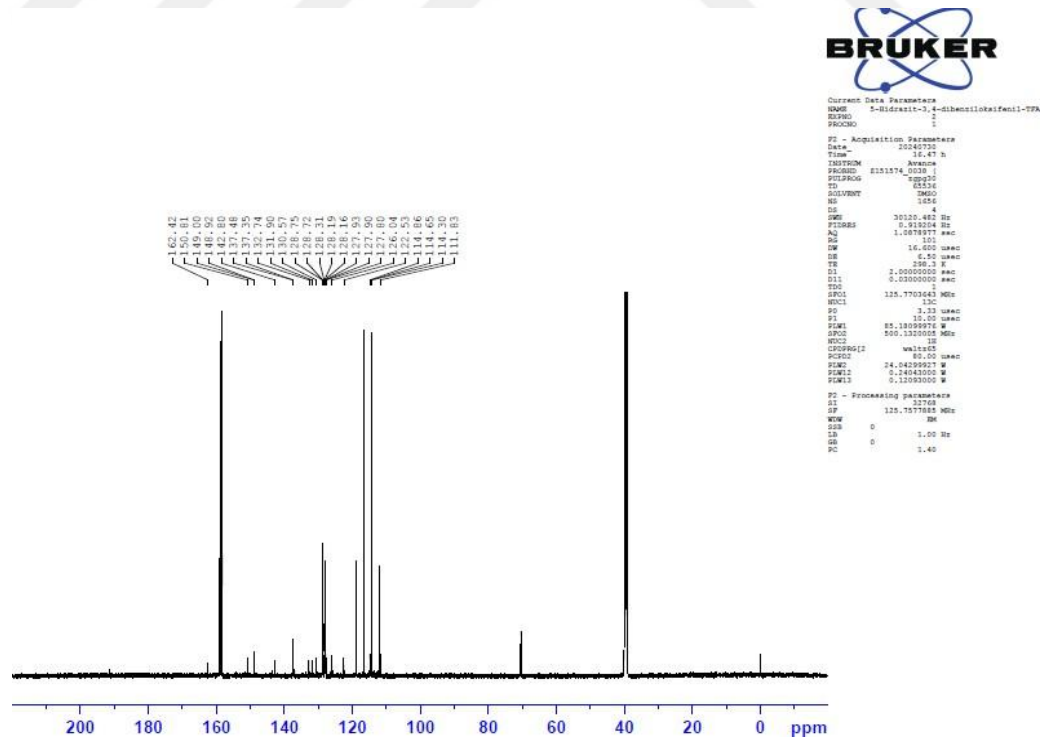
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 5,20 (s, 4H), 7,14 (d, 1H, *J*=8,5), 7,24-7,38 (m, 7H), 7,46 (d, 3H, *J*=9,5), 7,48 (d, 2H, *J*=8,00), 7,97 (d, 1H, *J*=9,00), 8,13 (d, 1H, *J*=8,5), 8,43 (s, 2H), 9,71 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, TFA) δ (ppm): 71,1, 111,83, 114,3, 114,65, 114,86, 122,53, 126,04, 127,8, 127,9, 127,93, 128,16, 128,19, 128,31, 128,72, 128,75, 130,57, 131,9, 132,74, 137,35, 137,48, 142,8, 148,92, 149,0, 150,81, 162,42.

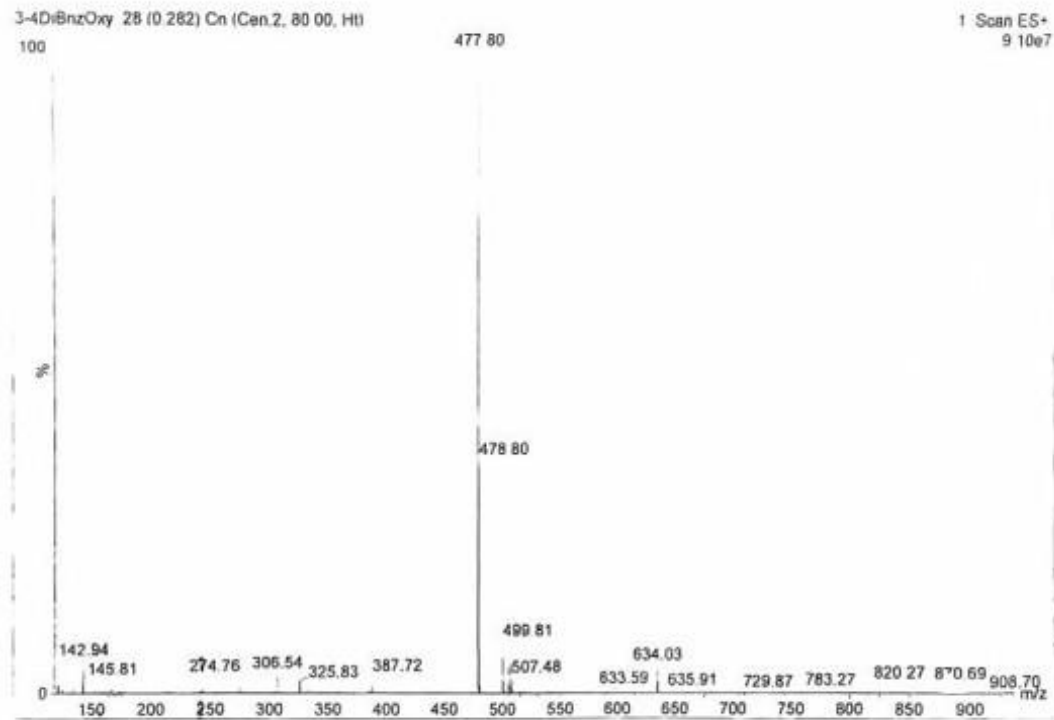
Kütle spektrumu: ESI-MS *m/z*: 477 ([*M*+1]⁺, %100).



Şekil 3.37. Bileşik 16'nın ^1H -NMR spektroskopisi

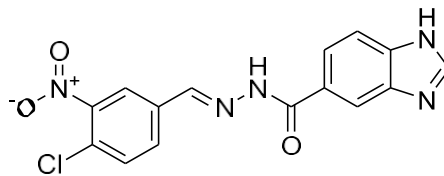


Şekil 3.38. Bileşik 16'nın ^{13}C -NMR spektroskopisi



Şekil 3.39. Bileşik 16'nın kütle spektroskopisi

3.1.17. N'-(4-kloro-3-nitrobenzilden)-1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (17)



1H-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (3) (88 mg, 0,5 mmol) ve 3,4-dibenziloksi benzaldehit (101 mg, 0,54 mmol), absöü etanol (5 ml) varlığında 80 °C'de 12 saat boyunca sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon sonunda oluşan çökelti süzöüldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Verim: %70,55 (121 mg)

Fiziksel özellikler: Açık sarı toz

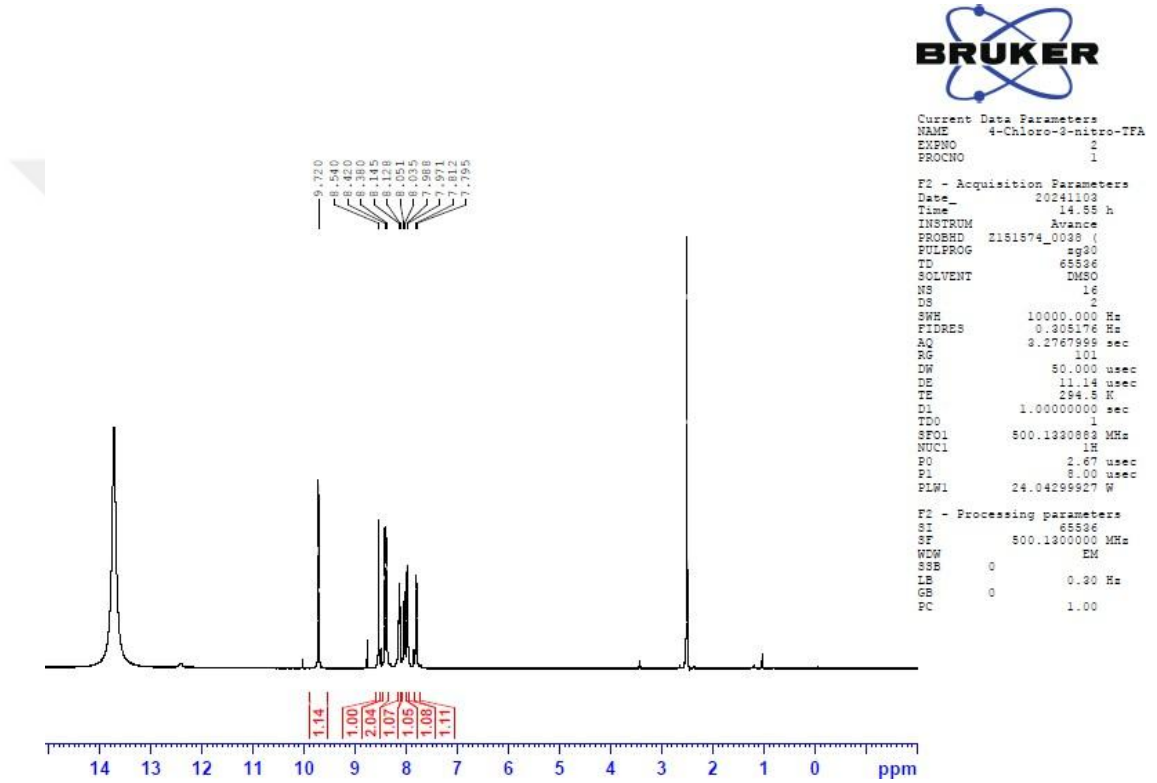
Moleküler formöl: C₁₅H₁₀ClN₅O₃

Erime noktası: 235 °C

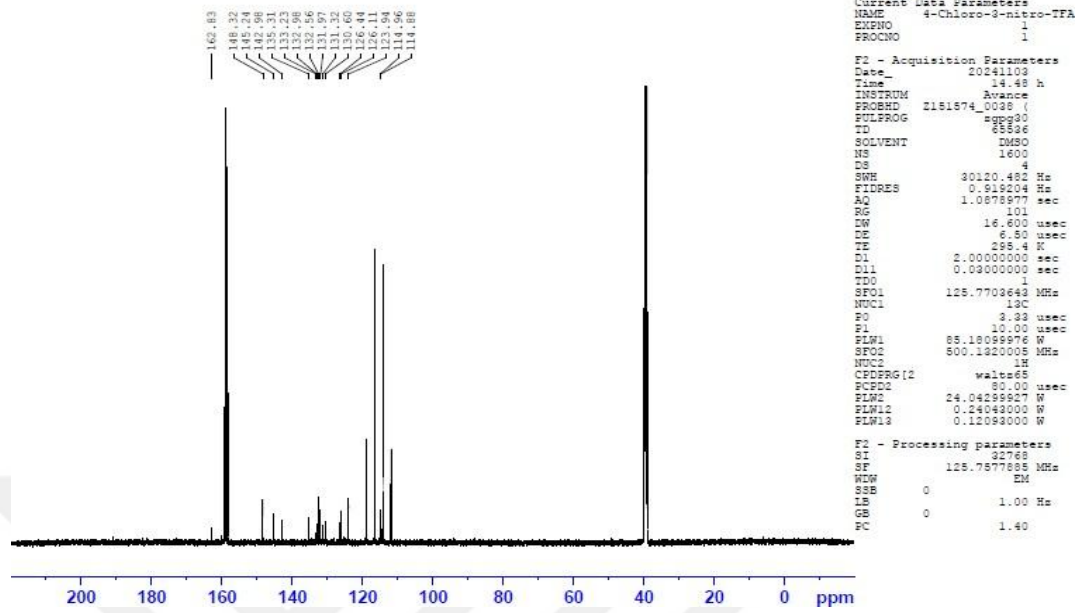
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 344 ($[M+1]^+$, %100), 346 ($[M+1+2]^+$, %33).

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , TFA) δ (ppm): 7,88 (d, 1H, $J=8,3$), 7,98 (d, 1H, $J=8,55$), 8,04 (d, 1H, $J=8,00$), 8,13 (d, 1H, $J=8,05$), 8,38 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 9,72 (s, 1H).

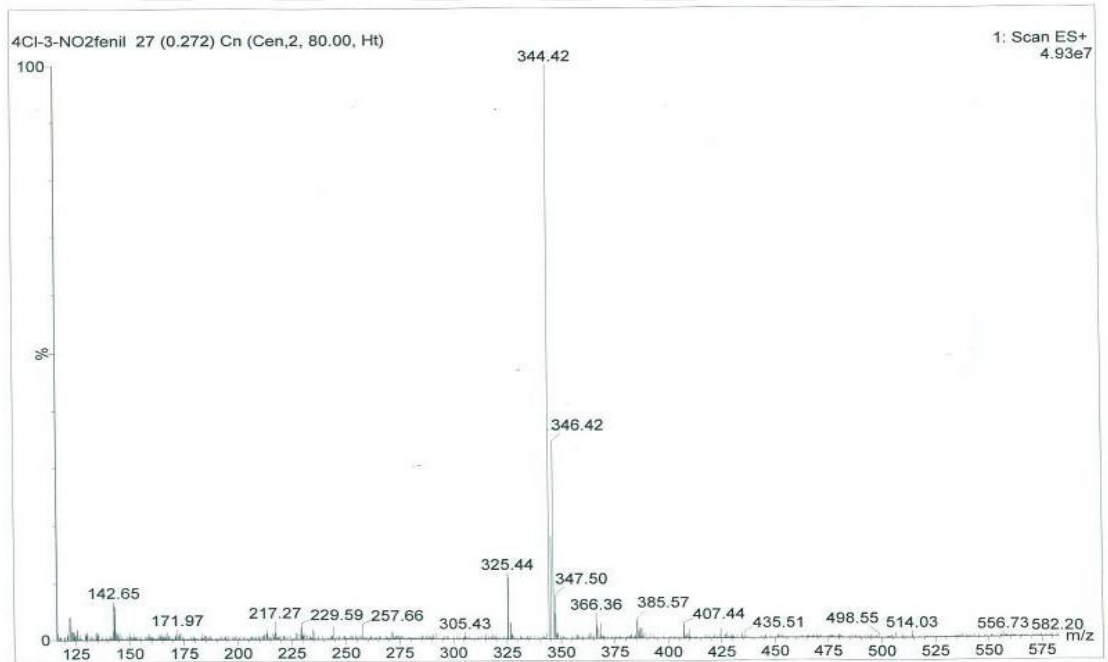
^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , TFA) δ (ppm): 114,92, 123,94, 126,11, 126,44, 130,60, 131,32, 131,97, 132,56, 132,98, 133,23, 135,31, 142,98, 145,24, 148,32, 162,83.



Şekil 3.40. Bileşik 17'nin ^1H -NMR spektroskopisi



Şekil 3.41. Bileşik 17' nin ^{13}C -NMR spektroskopisi



Şekil 3.42. Bileşik 17' nin kütle spektroskopisi

3.2. Sentezlenen Türevlerin MDA-MB-231 Hücrelerine Karşı Antikanser Etki Çalışmaları

3.2.1. Hücre Kültürü

MDA-MB-231 (meme kanseri) hücre serisi, %1 penisilin/streptomisin ve %1 glutamin içeren RPMI 1640 besiyerinde %5 CO₂ ve 37°C inkübatörde 75 cm² flasklarda kültür edilerek pasajlanmaları tripsin çözeltisi kullanılarak yapıldı. %80 ve üzeri yoğunluğa ulaştıklarında yeni sentezlenen bileşikler (4-17) 72 saat süre ile uygulandı.

3.2.2. Yeni Sentezlenen Bileşiklerin Hazırlanması

Tüm bileşiklerin ana stokları DMSO'da hazırlandı, daha ileri seyreltmeler besiyerinde yapıldı. Bileşiklerin DMSO'da 2 mM konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlandı.

3.2.3. Hücre Canlılık Analizi

MTT testi, hücrelerin metabolik aktivitelerini ölçerek canlılık durumlarını değerlendirmektedir (Mossmann, 1983). Bu amaçla, 96 kuyucuklu plaklara, eşit sayıda hücre (5 x 10³) ekildi. Hücreler, bir gece yapışmaları için inkübasyonun ardından, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bileşikler (4-17) ile 72 saat inkübe edildiler. İnkübasyon süresinin sonunda, MTT solüsyonu (5 mg/ml) ile 4 saat inkübe edildiler. İnkübasyon süresi tamamlandığında, hücrelerin üzerindeki besiyeri-MTT karışımı atıldı. Oluşan formazan kristallerinin, 100 ul DMSO eklenerek çözünmesi sağlandı ve 550 nm'de spektrofotometrede absorbans ölçümü yapıldı. Bileşiklerin uygulanmadığı hücreler negatif kontrol olarak kullanıldı ve hücre canlılığı %100 olarak kabul edildi.

3.2.4. İstatistiksel Analiz

Graphpad prism 7 programı kullanılarak One Way Anova varyans analizi ve sonrasında Tukey post-hoc testi yapılarak gerçekleştirildi. p<0,05 olan veriler anlamlı olarak kabul edildi. **** p<0,0001 *** p<0,001 (Mosmann, 1983)

3.2.5. Sentezlenen Sonuç Bileşiklerin MDA-MB-231 Hücre Serisinde Hücre Canlılığı Üzerindeki Etkileri

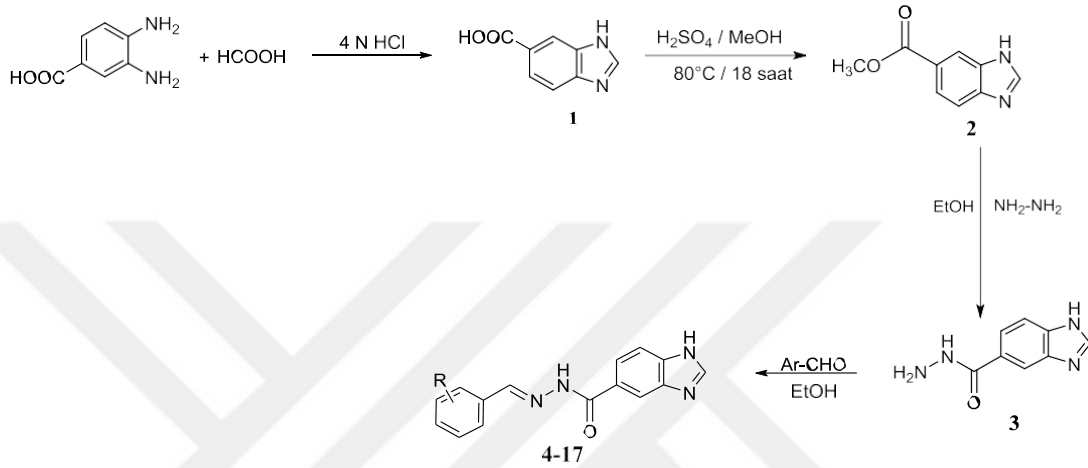
Çizelge 3.1. Sonuç bileşiklerin (10 µM) MDA-MB-231 (meme kanseri) hücre serisinde hücre canlılığı üzerindeki etkileri

Bileşik	Hücre Canlılığı (%)
10	62,80±1,57
12	63,83 ±2,02
13	63,76±5,28
16	48,79 ± 9,24
17	75,37± 9,22

Sonuç bileşiklerin MDA-MB-231 (meme kanseri) hücre serisinde % hücre canlılığı belirlenmiştir. Bileşik **10**, **12**, **13**, **16** ve **17** numaralı bileşikler 10 µM konsantrasyonda hücre canlılığında anlamlı bir azalmaya neden olmuştur. Bu bileşikler içerisinde 3,4-dibenziloksibenziliden türevi olan bileşik **16**, hücre canlılığını en fazla düşüren türevdir.

4. TARTIŞMA

Bu tez çalışması kapsamında hidrazit-hidrazon fonksiyonel grubu içeren 1*H*-benzimidazol türevi 13 tanesi orijinal 5(6)-süstitüe-1*H*-benzimidazol türevleri (4-17) sentezlenmiş ve antikanser açısından incelenmiştir.



Hedeflenen türevleri elde etmek üzere 3,4-diaminobenzoik asit, hidroklorik asit (HCl) ve formik asit ile reaksiyona sokularak 1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilik asit (**1**) hazırlanmıştır. Daha sonra elde edilen benzimidazol türevi derişik sülfirik asit ve metanol ile reaksiyona sokularak metil 1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilat (**2**) sentezlendi. 1*H*-benzimidazol-5(6)- karboksilat (**2**) hidrazin hidrat ile absolü etanol içerisinde reaksiyona girerek 1*H*- benzimidazol-5(6)-karbohidrazit (**3**) elde edildi. 1*H*-benzimidazol-5(6)-karbohidrazit bileşiğı çeşitli aldehitlerle reaksiyonu sonucu hidrazit-hidrazon grubu içeren benzimidazol türevi bileşikler (**4-17**) sentezlenmiştir.

Sentezlediğimiz bileşiklerin saflıkları İTK ve erime noktası kullanılarak kontrol edildi ve tahmini kimyasal yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve kütle spektral analizleri kullanılarak doğrulanmıştır.

Kütle analizleri elektrosprey iyonizasyon (ESI) yöntemi uygulanarak gerçekleştirilmiştir ve sentezlediğimiz sonuç bileşikler pozitif iyonizasyon tekniğı ile (M+1)⁺ iyonları şeklinde belirtilmiştir. Klor ve brom elementi içeren bileşiklerin izotop oranlarının teorik bilgilerle uyumlu olduğı gözlenmiştir.

Benzimidazol halkasındaki imino ve tersiyer azot arasındaki hidrojenin tautomerizasyonu sebebiyle, bazı proton ve karbon sinyalleri geniş pikler olarak ortaya çıkar ve hatta bazı karbon sinyalleri süstitüe edilmemiş analogların NMR spektrumlarında gözlemlenemez. Bu sebeple, proton ve karbon NMR spektrumlarında, piklerin görünümünü netleştirebilmek için trifloroasetik asit kullanılmıştır (Altaib vd., 2023; Osman H.M, 2024).

Biyolojik aktivite değerlendirildiğinde **10**, **12**, **13**, **16** ve **17** numaralı bileşikler 10 µM konsantrasyonda hücre canlılığında anlamlı bir azalmaya neden olmuştur. 3,4-dibenziloksibenziliden grubu taşıyan bileşik **16** en etkili türev olarak belirlenmiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sentezlenen 14 adet hidrazit-hidrazon grubu içeren benzimidazol türevi bileşiğin MDB-MB-231 meme kanseri hücre hattına karşı antikanser aktiviteleri belirlenmiştir.

MDA-MB-231 (meme kanseri) hücre hattına karşı antikanser etki ele alındığında bu hücre serisinde tüm bileşiklerin % hücre canlılığı belirlenmiştir. En etkili türev bileşik **16** olmak üzere **10**, **12**, **13**, **16** ve **17** numaralı bileşiklerde % hücre canlılığında anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir.

Benzimidazol halkasının 5. konumu antikanser aktivite için umut vadetmektedir. Bu elde edilen bileşiklerimize yakın ve önceden yayımlanan literatürler tarandığında farklı kanser hücre hatlarında ve antimikrobiyal etkide dikkate değer sonuçlar gözlemlenmiştir. Hücre canlılıkları (%) incelenen bileşiklerimiz arasında 3,4-dibenziloksibenziliden grubu taşıyan bileşik **16** en etkili türev olmuştur. Bu bileşik başta olmak üzere sentezi gerçekleştirilen sonuç bileşiklerinin farklı kanser hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerin araştırılabilir. Kimyasal yapıda çeşitli modifikasyonlar yapılarak daha etkili antikanser bileşikler sentezlenebilir, antikanser etki dışında antimikrobiyal, antifungal vb. farklı biyolojik etki çalışmaları yapılabilir.

KAYNAKLAR

- Abdallah, A.E., Helal, M. & Elakabawy, N.I. (2015). Heterocyclization, dyeing applications and anticancer evaluations of benzimidazole derivatives: novel synthesis of thiophene, triazole and pyrimidine derivatives. *Egypt J Chem*, 58, 699-719. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2015.1015>
- Abdel-Mohsen, H.T., Ragab, F.A.F., Ramla, M.M. & El Diwani, H.I. (2010). Novel benzimidazole-pyrimidine conjugates as potent antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(6), 2336–2344. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.02.011>
- Aboul-Enein, H.Y. and El Rashedy, A.A. (2015). Benzimidazole derivatives as antidiabetic agents. *Med. Chem*, 5(7), 318-325. <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000280>
- Acar Çevik, U. (2019). 2-(süstitüfenil)-5-(süstitüeheteroaril)-1H-benzimidazol türevlerinin sentezi ve biyolojik etkilerinin araştırılması [Doktora tezi]. Anadolu Üniversitesi
- Akgün, H., Gümrükçüoğlu, T.İ., Bektaş, H. & Sökmen, B.B. (2023). Yeni Benzimidazol Bileşiklerinin Sentezi, Antioksidan ve Antiüreaz Aktiviteleri. *Doğu Karadeniz Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2(2), 60-76. <https://doi.org/10.59312/ebshealth.1326437>
- Alam, S., Ahmad, T., Nazmuzzaman, M., Ray, S., Sharifuzzaman, M., Karim, M., Alam, M., Ajam, M., Maitra, P. & Mandol, D. (2017). Synthesis of benzimidazole derivatives containing schiff base exhibiting antimicrobial activities. *Int. J. Res. Stud. Biosci*, 5(7), 18-24. <https://doi.org/10.20431/2349-0365.0507003>
- Alaqaee, S.I. (2017). Synthetic approaches to benzimidazoles from o-phenylenediamine: A literature review. *Journal of Saudi Chemical Society*, 21(2), 229-237. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jscs.2016.08.001>
- Alpan, A., Gunes, H. & Topcu, Z. (2007). 1H-Benzimidazole derivatives as mammalian DNA topoisomerase I inhibitors. *Acta Biochimica Polonica*, 54(3), 561-565. <https://doi.org/10.18388/ABP.2007.3229>
- Altaib, M., Doganc, F., Kaşkatepe, B. & Göker, H. (2024). Synthesis of some new 2-(süstitüed-phenyl) imidazo[4,5-c] and [4,5-b]pyridine derivatives and their antimicrobial activities. *Molecular Diversity*, 28(5), 2817–2829. <https://doi.org/10.1007/s11030-023-10715-6>
- Altınar, S. (2015). Amino tiyofen bileşiklerinden imin bileşiklerinin sentezlenmesi ve spektroskopik olarak incelenmesi [Yüksek lisans tezi]. Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ates-Alagoz, Z. (2016). Antimicrobial activities of 1-H-benzimidazole-based molecules. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 16(26), 2953-2962. <https://doi.org/10.2174/1568026616666160506130226>
- Bangade, V.M., Mali, P.R. & Meshram, H.M. (2021). Solid-phase reactive chromatography (SPRC): a sustainable method for the synthesis of benzimidazol-diphenyl-2-imino-thiazolidine- 4-ols (hemiaminals) which are active against lung cancer. *RSC advances*, 11(4), 2320-2324. <https://doi.org/10.1039/d0ra09082d>

- Bansal, Y. and Silakari, O. (2012). The therapeutic journey of benzimidazoles: A review. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 20(21), 6208-6236. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.09.013>
- Bao, X.-L., Zhu, W.-B., Shan, T.-L., Wu, Z., Zhang, R.-J., Liao, P.-Y., Zheng, M.-Z., Tang, H.-S., Yan, Y.-J. & Chen, Z.-L. (2017). Design, synthesis and evaluation of novel angiotensin II receptor 1 antagonists with antihypertensive activities. *RSC advances*, 7(42), 26401-26410. <https://doi.org/10.1039/C7RA03915H>
- Belskaya, N.P., Dehaen, W. & Bakulev, V.A. (2010). Synthesis and properties of hydrazones bearing amide, thioamide and amidine functions. *Arkivoc*, 2010(1), 275–332. <https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0011.108>
- Bostancı, H.E. ve Çevik, U.A. (2022). Benzimidazol-Tiyadiazol Türevlerinin Sentezi, Karakterizasyonu, Antioksidan ve Antikanser Çalışmaları. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9(2), 783-790. <https://doi.org/10.35193/bseufbd.1069999>
- Bougrin, K. and Soufiaoui, M. (1995). Nouvelle voie de synthèse des arylimidazoles sous irradiation micro-ondes en “milieu sec”. *Tetrahedron Letters*, 36(21), 3683–3686. [https://doi.org/10.1016/0040-4039\(95\)00611-f](https://doi.org/10.1016/0040-4039(95)00611-f)
- Brain, C.T. and Brunton, S.A. (2002). Microwave-assisted synthesis of benzimidazoles under solvent-free conditions. *Tetrahedron Letters*, 43(10), 1893–1895. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(02\)00069-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(02)00069-3)
- Brink, N.G. and Folkers, K. (1949). Vitamin B₁₂. VI. 5,6-Dimethylbenzimidazole, a degradation product of vitamin B₁₂. *Journal of the American Chemical Society*, 71(8), 2951-2951. <https://doi.org/10.1021/ja01176a530>
- Brishty, S.R., Hossain, M.J., Khandaker, M.U., Faruque, M.R.I., Osman, H. & Rahman, S.A. (2021). A comprehensive account on recent progress in pharmacological activities of benzimidazole derivatives. *Frontiers in pharmacology*, 12, 762807. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.762807>
- Brousil, J.A. and Burke, J.M. (2003). Olmesartan medoxomil: an angiotensin II-receptor blocker. *Clin Ther*, 25(4), 1041-1055. [https://doi.org/10.1016/s0149-2918\(03\)80066-8](https://doi.org/10.1016/s0149-2918(03)80066-8)
- Camacho, J., Barazarte, A., Gamboa, N., Rodrigues, J., Rojas, R., Vaisberg, A., Gilman, R. & Charris, J. (2011). Synthesis and biological evaluation of benzimidazole-5-carbohydrazide derivatives as antimalarial, cytotoxic and antitubercular agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19(6), 2023–2029. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.01.050>
- Chang, H.-Q., Jia, L., Xu, J., Wu, W.-N., Zhu, T.-F., Chen, R.-H. & Tang, J.-Q. (2015). Syntheses, crystal structures, antitumor and antioxidant activities of two hydrazide–hydrazone-based transition metal complexes. *Transition Metal Chemistry*, 40(6), 485–491. <https://doi.org/10.1007/s11243-015-9933-8>
- Cong, C., Wang, H., Hu, Y., Liu, C., Ma, S., Li, X., Cao, J. & Ma, S. (2011). Synthesis and antibacterial activity of novel 4'-O-benzimidazolyl clarithromycin derivatives. *European journal of medicinal chemistry*, 46(7), 3105-3111. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.04.002>

- Cotton, H., Elebring, T., Larsson, M., Li, L., Sørensen, H. & von Unge, S. (2000). Asymmetric synthesis of esomeprazole. *Tetrahedron: Asymmetry*, 11(18), 3819-3825. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(00\)00352-9](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(00)00352-9)
- Crofts, T.S., Men, Y., Alvarez-Cohen, L. & Taga, M.E. (2014). A bioassay for the detection of benzimidazoles reveals their presence in a range of environmental samples. *Frontiers in Microbiology*, 5(592). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00592>
- Cuya, S.M., Bjornsti, M.-A. & van Waardenburg, R.C. (2017). DNA topoisomerase-targeting chemotherapeutics: what's new? *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 80, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s00280-017-3334-5>
- Çakıcı, H.T. (2009). *Hidrazon taşıyan oksim türevlerinin metal komplekslerinde yapı aydınlatılması* [Yüksek lisans tezi]. Adnan Menderes Üniversitesi.
- Çevik, U.A., Kaya, B., Celik, I., Rudrapal, M., Rakshit, G., Karayel, A., Levent, S., Osmaniye, D., Sağlık Özkan, B.N., Baysal, M., Atlı Eklioğlu, Ö., Özkay, Y. & Kaplancıklı, Z.A. (2024). New Benzimidazole-Triazole Derivatives as Topoisomerase I Inhibitors: Design, Synthesis, Anticancer Screening, and Molecular Modeling Studies. *ACS Omega*, 9(11), 13359-13372. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c10345>
- Demirci, E. (2011). Fungisitlere karşı dayanıklılığın gelişimi ve yönetimi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(4). <https://doi.org/10.1007/ataunizfd/issue/2958/40973>
- Dhahri, M., Khan, F.A., Emwas, A.-H., Alnoman, R.B., Jaremko, M., Rezki, N., Aouad, M.R. & Hagar, M. (2022). Synthesis, DFT Molecular Geometry and Anticancer Activity of Symmetrical 2, 2'-(2-Oxo-1 H-benzo [d] imidazole-1, 3 (2 H)-diyl) Diacetate and Its Arylideneacetohydrazide Derivatives. *Materials*, 15(7), 2544. <https://doi.org/10.3390/ma15072544>
- Dogra, N., Kumar, A. & Mukhopadhyay, T. (2018). Fenbendazole acts as a moderate microtubule destabilizing agent and causes cancer cell death by modulating multiple cellular pathways. *Scientific Reports*, 8(1), 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30158-6>
- Donahue, M.G., Jentsch, N.G. & Simons, C.R. (2017). Synthesis of [13C6] 3,4-diaminobenzoic acid as a precursor for stable isotope labeled benzimidazoles. *Tetrahedron Letters*, 58(17), 1692–1694. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.03.083>
- Elancheran, R., Saravanan, K., Choudhury, B., Divakar, S., Kabilan, S., Ramanathan, M., Das, B., Devi, R. & Kotoky, J. (2016). Design and development of oxobenzimidazoles as novel androgen receptor antagonists. *Medicinal Chemistry Research*, 25, 539-552. <https://doi.org/10.1007/s00044-015-1496-6>
- Firat, O. and Yıldız, İ. (2020). Topoisomerase II enzyme inhibitors. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 44(2), 356–372. <https://doi.org/10.33483/jfpau.696349>
- Gaba, M. & Mohan, C. (2015). Development of drugs based on imidazole and benzimidazole bioactive heterocycles: recent advances and future directions. *Medicinal Chemistry Research*, 25(2), 173-210. <https://doi.org/10.1007/s00044-015-1495-5>

- Galal, S.A., Hegab, K.H., Hashem, A.M. & Youssef, N.S. (2010). Synthesis and antitumor activity of novel benzimidazole-5-carboxylic acid derivatives and their transition metal complexes as topoisomerase II inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*, 45(12), 5685-5691. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.09.034>
- Gandhi, V. & Burger, J.A. (2009). Bendamustine in B-cell malignancies: the new 46-year-old kid on the block. *Clinical cancer research*, 15(24), 7456-7461. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-3041>
- Grimmett, M.R. (1997). *Imidazole and benzimidazole synthesis*. San Diego, CA: Academic press.
- Gromiha, M.M. and Nagarajan, R. (2013). Computational approaches for predicting the binding sites and understanding the recognition mechanism of protein–DNA complexes. *Advances in protein chemistry and structural biology*, 91, 65-99. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411637-5.00003-2>
- Guan, Q., Han, C., Zuo, D., Li, Z., Zhang, Q., Zhai, Y., Jiang, X., Bao, K., Wu, Y. & Zhang, W. (2014). Synthesis and evaluation of benzimidazole carbamates bearing indole moieties for antiproliferative and antitubulin activities. *European journal of medicinal chemistry*, 87, 306-315. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.09.071>
- Güven, Ö.Ö., Erdoğan, T., Göker, H. & Yıldız, S. (2007). Synthesis and antimicrobial activity of some novel phenyl and benzimidazole substituted benzyl ethers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17(8), 2233-2236. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.01.061>
- Haider, K. and Yar, M.S. (2022). Advances of benzimidazole derivatives as anticancer agents: Bench to bedside. In *Benzimidazole [Working Title]*. Intech Open. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101702>
- Hakimi, F., Niri, M.D., Taba, S.B. & Golrasan, E. (2020). A facile synthesis of benzimidazole derivatives over zinc sulfide nanoparticles as heterogeneous catalyst. *Asian Journal of Green Chemistry*, 4(3), 239–248. <https://doi.org/10.22034/AJGC.2020.3.1>
- Halpern-Cohen, V. and Blumberg, E.A. (2022). New perspectives on antimicrobial agents: Maribavir. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(9), e02405-21. <https://doi.org/10.1128/aac.02405-21>
- Handratta, V. D., Vasaitis, T. S., Njar, V. C. O., Gediya, L. K., Kataria, R., Chopra, P., Newman, D. Jr., Farquhar, R., Guo, Z., Qiu, Y., & Brodie, A. M. H. (2005). Novel C-17-heteroaryl steroidal CYP17 inhibitors/antiandrogens: Synthesis, in vitro biological activity, pharmacokinetics, and antitumor activity in the LAPC4 human prostate cancer xenograft model. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(7), 2972–2984. <https://doi.org/10.1021/jm040202w>
- Hasanpourghadi, M., Pandurangan, A.K., Karthikeyan, C., Trivedi, P. & Mustafa, M.R. (2017). Mechanisms of the anti-tumor activity of Methyl 2-(-5-fluoro-2-hydroxyphenyl)-1 H-benzo [d] imidazole-5-carboxylate against breast cancer *in vitro* and *in vivo*. *Oncotarget*, 8(17), 28840. <https://doi.org/10.22034/AJGC/2020.3.1>
- Hirashima, S., Suzuki, T., Ishida, T., Noji, S., Yata, S., Ando, I., Komatsu, M., Ikeda, S. & Hashimoto, H. (2006). Benzimidazole derivatives bearing substituted biphenyls as hepatitis C virus NS5B RNA-dependent RNA polymerase inhibitors: structure– activity relationship studies and identification of a potent and highly selective inhibitor JTK-109. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(15), 4721-4736. <https://doi.org/10.1021/jm060269e>

- Hofmann, J., Heinisch, G., Easmon, J., Pürstinger, G. & Fiebig, H.-H. (2003). Heterocyclic hydrazones for use as anti-cancer agents. *US Patent Application No. 20030166658A1*.
- Hofmann, K. (1953). *Imidazole and Its Derivatives*. New York: Interscience Publishers. <https://books.google.com.tr/books?id=2qE6yAEACAAJ>
- Hollan, G., Samuel, L., Ennis, B. & Hinde, R. (1967). *J. Chem. Soc. C*, 1967(20), 20–26. <https://doi.org/10.1039/J39670000020>
- Hranjec, M., Pavlović, G., Marjanović, M., Kralj, M. & Karminski-Zamola, G. (2010). Benzimidazole derivatives related to 2, 3-acrylonitriles, benzimidazo [1, 2-a] quinolines and fluorenes: synthesis, antitumor evaluation *in vitro* and crystal structure determination. *European journal of medicinal chemistry*, 45(6), 2405-2417. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.02.022>
- Isik, A., Cevik, U., Çelik, İ., Bostanci, H.E., Karayel, A., Gundogdu, G. & İnce, U. (2022). Benzimidazole-hydrazone derivatives: Synthesis, *in vitro* anticancer, antimicrobial, antioxidant activities, in silico DFT and ADMET studies. *Journal of Molecular Structure*, 1270. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133946>
- Ibrahim, H.A. and Refaat, H.M. (2020). Versatile mechanisms of 2-süstituted benzimidazoles in targeted cancer therapy. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(41). <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00048-8>
- Johnston, S.R.D. and Dowsett, M. (2003). Aromatase inhibitors for breast cancer: Lessons from the laboratory. *Nature Reviews Cancer*, 3(10), 821–831. <https://doi.org/10.1038/nrc1206>
- Kaushik, P., Rawat, B.S. & Kumar, R. (2023). Various approaches for the synthesis of benzimidazole derivatives and their catalytic application for organic transformation. *Applied Chemical Engineering*, 6(2), 2003. <https://doi.org/10.24294/ace.v6i2.2003>
- Keri, R.S., Hiremathad, A., Budagumpi, S. & Nagaraja, B.M. (2015). Comprehensive review in current developments of benzimidazole-based medicinal chemistry. *Chemical biology & drug design*, 86(1), 19-65. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12462>
- Khurana, J., Kandpal, B., Sharma, P. & Gupta, M. (2015). A novel method of reduction of >C=N-group in hydrazones, phenylhydrazones, azines, and tosylhydrazones by Mg–methanol. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, 146. <https://doi.org/10.1007/s00706-014-1306-6>
- Koç, D. (2013). *Tolmetin üzerinden hidrazit-hidrazonların sentezi ve biyolojik etkileri* [Yüksek lisans tezi]. Marmara Üniversitesi.
- Kromer, W. (1995). Similarities and differences in the properties of süstituted benzimidazoles: A comparison between pantoprazole and related compounds. *Digestion*, 56(6), 443–454. <https://doi.org/10.1159/000201275>
- Küçükbay, H., Durmaz, R., Şireci, N. & Günal, S. (2009). Synthesis of some benzimidazole derivatives and their antibacterial and antifungal activities. *Asian Journal of Chemistry*, 21(8), 6181– 6189. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1300057>

- Lee, Y.T., Tan, Y.J., & Oon, C.E. (2023). Benzimidazole and its derivatives as cancer therapeutics: The potential role from traditional to precision medicine. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 13(2), 478-497. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.09.010>
- Leoni, L.M., Bailey, B., Reifert, J., Bendall, H.H., Zeller, R.W., Corbeil, J., Elliott, G. & Niemeyer, C.C. (2008). Bendamustine (Treanda) displays a distinct pattern of cytotoxicity and unique mechanistic features compared with other alkylating agents. *Clinical cancer research*, 14(1), 309-317. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1061>
- Li, M., Zhu, P., Han, D., Cui, Y., Ding, Z., Yang, H., Wang, L. & Gong, J. (2017). Temperature and solvent dependent apparent thermodynamic behavior of 2-Mercaptomethyl Benzimidazole in pure and binary solvents from 283.15K to 328.15K. *Journal of Molecular Liquids*, 248, 501-508. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.09.118>
- Li, W., Li, X., Hong, H., Xie, R. & Zhu, N. (2024). Synthesis of 1 H-benzimidazoles via the condensation of o-phenylenediamines with DMF promoted by organic acid under microwave irradiation. *Synthetic Communications*, 54(8), 645-654.
- Li, Y., Tan, C., Gao, C., Zhang, C., Luan, X., Chen, X., Liu, H., Chen, Y. & Jiang, Y. (2011). Discovery of benzimidazole derivatives as novel multi-target EGFR, VEGFR-2 and PDGFR kinase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 19(15), 4529-4535. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.06.022>
- Liu, T., Sun, C., Xing, X., Jing, L., Tan, R., Luo, Y., Huang, W., Song, H., Li, Z. & Zhao, Y. (2012). Synthesis and evaluation of 2-[2-(phenylthiomethyl)-1H-benzo [d] imidazol-1-yl] acetohydrazide derivatives as antitumor agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(9), 3122-3125. <https://doi.org/10.1080/00397911.2023.2171234>
- Lv, Y., Fan, M., He, J., Song, X., Guo, J. & Gao, B. (2024). Discovery of novel benzimidazole derivatives as selective and reversible monoamine oxidase B inhibitors for Parkinson's disease treatment. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 274, 116566. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.116566>
- Mane, S.R. (2019). Advances of hydrazone linker in polymeric drug delivery. *Journal of Critical Reviews*, 6(2), 1-4. <https://doi.org/10.22159/jcr.2019v6i2.31833>
- Mavrova, A.T., Denkova, P., Tsenov, Y.A., Anichina, K.K. & Vutchev, D.I. (2007). Synthesis and antitrichinellosis activity of some bis(benzimidazol-2-yl)amines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(18), 6291-6297. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.06.017>
- Mikami, K. (2005). *Green reaction media in organic synthesis*. Garsington Road, Oxford: Blackwell Publishing
- Min, R., Wu, W., Wang, M., Tang, L., Chen, D., Zhao, H., Zhang, C. & Jiang, Y. (2019). Discovery of 2-(1-(3-(4-Chloroxyphenyl)-3-oxo- propyl)pyrrolidine-3-yl)-1H-benzo[d]imidazole-4-carboxamide: A Potent Poly(ADP-ribose) Polymerase (PARP) Inhibitor for Treatment of Cancer. *Molecules*, 24(10), 1901. <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/10/1901>
- Mohamed, L.W., Taher, A.T., Rady, G.S., Ali, M.M. & Mahmoud, A.E. (2018). Synthesis and biological evaluation of certain new benzimidazole derivatives as cytotoxic agents: New cytotoxic benzimidazoles. *Der Pharma Chemica*, 10(5), 112-120.

- Morcoss, M.M., Abdelhafez, E.S., Abdel-Rahman, H.M., Abdel-Aziz, M., El-Ella, A. & Dalal, A. (2020). Novel Benzimidazole/Hydrazone Derivatives as Promising Anticancer Lead Compounds: Design, Synthesis, and Molecular Docking Study. *Journal of advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 3(2), 45-52. <https://doi.org/10.21608/jabps.2020.21160.1064>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Murugappan, S., Dastari, S., Jungare, K., Barve, N.M. & Shankaraiah, N. (2024). Hydrazone-hydrazone/hydrazone as enabling linkers in anti-cancer drug discovery: A comprehensive review. *Journal of Molecular Structure*, 1307(1), 138012. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.138012>
- Nardi, M., Cano, N.C.H., Simeonov, S., Bence, R., Kurutos, A., Scarpelli, R., Wunderlin, D. & Procopio, A. (2023). A Review on the Green Synthesis of Benzimidazole Derivatives and Their Pharmacological Activities. *Catalysts*, 13(2), 392. <https://www.mdpi.com/2073-4344/13/2/392>
- Nelson, W.M. (2003). *Green solvents for chemistry: perspectives and practice*. New York: Oxford University Press.
- Ng, R.A., Lanter, J.C., Alford, V.C., Allan, G.F., Sbriscia, T. & Lundeen, S.G. (2007). Synthesis of potent and tissue-selective androgen receptor modulators (SARMs): 2-(2, 2, 2)-Trifluoroethyl-benzimidazole scaffold. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17(6), 1784–1787. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.01.061>
- Okuda, K., Nakahara, K., Ito, A., Iijima, Y., Nomura, R., Kumar, A., Fujikawa, K., Adachi, K., Shimada, Y., Fujio, S., Yamamoto, R., Takasugi, N., Onuma, K., Osaki, M., Okada, F., Ukegawa, T., Takeuchi, Y., Yasui, N., Yamashita, A., Marusawa, H., Matsushita, Y., Katagiri, T., Shibata, T., Uchida, K., Niu, S.-Y., Lang, N.B., Nakamura, T., Zhang, K.Y.J., Lipton, S.A. & Uehara, T. (2023). Pivotal role for S-nitrosylation of DNA methyltransferase 3B in epigenetic regulation of tumorigenesis. *Nature Communications*, 14(1), 621. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36232-6>
- Onnis, V., Demurtas, M., Deplano, A., Balboni, G., Baldisserotto, A., Manfredini, S., Pacifico, S., Liekens, S. & Balzarini, J. (2016). Design, synthesis and evaluation of antiproliferative activity of new benzimidazolehydrazones. *Molecules*, 21(5), 579. <https://doi.org/10.3390/molecules21050579>
- Osman, H.M. (2024). *Yeni benzimidazol türevlerinin tasarlanması, docking çalışmaları, sentez ve antiinflamatuvar, antioksidan aktivitelerinin araştırılması* [Doktora tezi]. Ankara Üniversitesi .
- Overberger, C.G., Anselme, J.-P. & Lombardino, J.G. (1966). *Organic compounds with nitrogen-nitrogen bonds*. New York: Ronald Press.
- Özkay, Y., Tunalı, Y., Karaca, H. & Işıkdag, İ. (2010). Antimicrobial activity and a SAR study of some novel benzimidazole derivatives bearing hydrazone moiety. *European journal of medicinal chemistry*, 45(8), 3293-3298. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.04.007>

- Pandey, S., Tripathi, P., Parashar, P., Maurya, V., Malik, M.Z., Singh, R., Yadav, P. & Tandon, V. (2022). Synthesis and Biological Evaluation of Novel 1*H*-Benzo[d]imidazole Derivatives as Potential Anticancer Agents Targeting Human Topoisomerase I. *ACS Omega*, 7(3), 2861-2880. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05743>
- Parlar, S., Bayraktar, G., Tarikogullari, A.H., Alptüzün, V. & Erciyas, E. (2016). Synthesis, biological evaluation, and molecular docking study of hydrazone-containing pyridinium salts as cholinesterase inhibitors. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 64(9), 1281–1287. <https://doi.org/10.1248/cpb.c16-00383>
- Patel, M., Avashthi, G., Gacem, A., Alqahtani, M.S., Park, H.-K. & Jeon, B.-H. (2023). A review of approaches to the metallic and non-metallic synthesis of benzimidazole (BnZ) and their derivatives for biological efficacy. *Molecules*, 28(14), 5490. <https://doi.org/10.3390/molecules28145490>
- Patil, A., Ganguly, S. & Surana, S. (2008). A systematic review of benzimidazole derivatives as an antiulcer agent. *Rasayan Journal of Chemistry*, 1(3), 447–460. <https://doi.org/10.31788/RJC.2008.130303>
- Phillips, M.A. (1928). XXV.—The formation of 2-methylbenzimidazoles. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 13, 172–177. <https://doi.org/10.1039/JR9280000172>
- Pinar, A., Yurdakul, P., Yildiz, I., Temiz-Arpaci, O., Acan, N.L., Aki-Sener, E. & Yalcin, I. (2004). Some fused heterocyclic compounds as eukaryotic topoisomerase II inhibitors. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 317(2), 670-674. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.03.093>
- Popiołek, Ł. (2023). The application of hydrazones and hydrazone-hydrazones in the synthesis of bioactive azetidin-2-one derivatives: A mini review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 163, 114853. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114853>
- Preston, P. (1974). Synthesis, reactions, and spectroscopic properties of benzimidazoles. *Chemical Reviews*, 74(3), 279-314. <https://doi.org/10.1021/cr60276a003>
- Raimondi, M.V., Randazzo, O., La Franca, M., Barone, G., Vignoni, E. & Rossi, D. (2019). DHFR inhibitors: Reading the past for discovering novel anticancer agents. *Molecules*, 24(6), 1140. <https://doi.org/10.3390/molecules24061140>
- Rathod, C.P., Rajurkar, R.M. & Thonte, S.S. (2013). Benzimidazole synthesis and biological evaluation. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 3(2), 2323–2329.
- Rios-Soto, L., Hernández-Campos, A., Tovar-Escobar, D., Castillo, R., Sierra-Campos, E., Valdez-Solana, M., Camacho-Corona, M. del R. & Correa-Basurto, J. (2024). Inhibition of shikimate kinase from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by benzimidazole derivatives: Kinetic, computational, toxicological, and biological activity studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(10), 5077. <https://doi.org/10.3390/ijms25105077>
- Rollas, S. and Küçükgül, G. (2008). Hydrazone, amide, carbamate, macromolecular and other prodrugs of doxorubicin. *The Open Drug Delivery Journal*, 2(1), 77–85. <https://doi.org/10.2174/1874126600802010077>

- Roy, A.K., Lavrovsky, Y., Song, C.S., Chen, S., Jung, M.H., Velu, N.K., Bi, B.Y. & Chatterjee, B. (1999). Regulation of androgen action. *Vitamins and Hormones*, 55, 309–352. [https://doi.org/10.1016/s0083-6729\(08\)60938-3](https://doi.org/10.1016/s0083-6729(08)60938-3)
- Sabat, M., VanRens, J.C., Laufersweiler, M.J., Brugel, T.A., Maier, J., Golebiowski, A., De, B., Easwaran, V., Hsieh, L.C., Walter, R.L., Mekel, M.J., Evdokimov, A. & Janusz, M.J. (2006). The development of 2-benzimidazole substituted pyrimidine based inhibitors of lymphocyte specific kinase (Lck). *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 16(23), 5973–5977. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.08.132>
- Saberi, A. (2015). Efficient synthesis of benzimidazoles using zeolite, alumina, and silica gel under microwave irradiation. *Iranian Journal of Science and Technology*, 39(A4), 455–460. <https://doi.org/10.22099/ijsts.2015.2884>
- Shabsoug, B.M. (2023). Synthesis, characterization, and hydrolysis study of the imine and the hydrazone of *p*-nitrobenzaldehyde under simulated physiological conditions. *Journal of Chemistry*, 10(1), 14–20. <https://doi.org/10.48047/ecb/2023.12.5.209>
- Shrivastava, N., Naim, M.J., Alam, M.J., Nawaz, F., Ahmed, S. & Alam, O. (2017). Benzimidazole scaffold as anticancer agent: Synthetic approaches and structure-activity relationship. *Archiv der Pharmazie (Weinheim)*, 350(6). <https://doi.org/10.1002/ardp.201700040>
- Singh, M. and Tandon, V. (2011). Synthesis and biological activity of novel inhibitors of topoisomerase I: 2-Aryl-substituted 2-bis-1*H*-benzimidazoles. *European journal of medicinal chemistry*, 46(2), 659–669. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.11.046>
- Singla, P., Luxami, V. & Paul, K. (2015). Triazine-benzimidazole hybrids: Anticancer activity, DNA interaction, and dihydrofolate reductase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23(8), 1691–1700. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.03.012>
- Sinz, C., Chang, J., Lins, A.R., Brady, E., Candelore, M. & Dallas-Yang, Q. (2011). Discovery of cyclic guanidines as potent, orally active, human glucagon receptor antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(23), 7131–7136. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.09.085>
- Smith, P.A.S. (1965). *The chemistry of open-chain organic nitrogen compounds*. New York: W.A. Benjamin
- Smith, J. and Doe, A. (2017). Recent developments in benzimidazole derivatives. *Archiv der Pharmazie*, 350(10), 1234–1240. <https://doi.org/10.1002/ardp.201700040>
- Stork, G. and Benaim, J. (1971). Monoalkylation of α,β -unsaturated ketones via metalloenamines. *Journal of the American Chemical Society*, 93(22), 5555–5560. <https://doi.org/10.1002/0471264180.os057.18>
- Utku, S., Aljendy, Y., Oruç Demirbağ, H. & Bayram, G. (2023). 2,5(6)-Disubstitue benzimidazol türevi ligandları taşıyan platin komplekslerinin antikanser aktivitelerinin araştırılması. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 47(2), 531–542. <https://doi.org/10.33483/jfpau.1239326>
- Uyar, T. ve Düz, F.S. (2011). *Organik kimya yapı ve işlev*. Ankara: Palme kitabevi

- Ülküseven, B., Tavman, A. & Ötük, G. (1999). Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of d8-10 Metal Complexes of some 2-Substituted-1H-Benzimidazoles. *Metal-Based Drugs*, 6(3), 163-167. <https://doi.org/10.1155/MBD.1999.163>
- Vitaku, E., Smith, D.T. & Njardarson, J.T. (2014). Analysis of the Structural Diversity, Substitution Patterns, and Frequency of Nitrogen Heterocycles among U.S. FDA Approved Pharmaceuticals. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(24), 10257-10274. <https://doi.org/10.1021/jm501100b>
- Woolley, D.W. (1944). Some biological effects produced by benzimidazole and their reversal by purines. *Journal of Biological Chemistry*, 152(2), 225–232. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)72045-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)72045-0)
- Wang, J.C. (1996). DNA topoisomerases. *Annual review of biochemistry*, 65(1), 635-692. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.65.070196.003223>
- Wang, W., Kong, D., Cheng, H., Tan, L., Zhang, Z., Zhuang, X., Long, H., Zhou, Y., Xu, Y., & Yang, X. (2014). New benzimidazole-2-urea derivatives as tubulin inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24(17), 4250-4253. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.07.035>
- Wu, Z., Xia, M.-B., Bertsetseg, D., Wang, Y.-H., Bao, X.-L. & Zhu, W.-B.(2020). Design, synthesis and biological evaluation of novel fluoro-substituted benzimidazole derivatives with anti-hypertension activities. *Bioorganic Chemistry*, 101, 104042. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104042>
- Xue, C.-B., Rafalski, M., Roderick, J., Eyermann, C.J., Mousa, S., Olson, R.E. & DeGrado, W.F. (1996). Design, synthesis and *in vitro* activities of a series of benzimidazole/benzoxazole glycoprotein IIb/IIIa inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 6(3), 339-344. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.07.035>
- Wright, J.B. (1951). The Chemistry of The Benzimidazoles. *Chemical Reviews*, 48(3), 397–541. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.
- Yadav, G. and Ganguly, S. (2015). Structure activity relationship (SAR) study of benzimidazole scaffold for different biological activities: A mini-review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 419-443. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.11.053>
- Yancheva, D., Argirova, M., Georgieva, I., Milanova, V., Guncheva, M., Rangelov, M., Todorova, N. & Tzoneva, R. (2024). Antiproliferative and Pro-Apoptotic Activity and Tubulin Dynamics Modulation of 1 H-Benzimidazol-2-yl Hydrazones in Human Breast Cancer Cell Line MDA-MB-231. *Molecules*, 29(10), 2400. <https://doi.org/10.3390/molecules2910240>
- Youssif, B.G.M., Morcoss, M.M., Bräse, S., Abdel-Aziz, M., Abdel-Rahman, H.M., Abou El-Ella, D. A. & Abdelhafez, E.S.M.N. (2024). Benzimidazole-based derivatives as apoptotic antiproliferative agents: Design, synthesis, docking, and mechanistic studies. *Molecules*, 29(2), 446. <https://doi.org/10.3390/molecules29020446>
- Zhang, X., Chen, J., Davis, B. & Kiechle, F. (1999). Hoechst 33342 induces apoptosis in HL-60 cells and inhibits topoisomerase I *in vivo*. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 123(10), 921–927. <https://doi.org/10.5858/1999-123-0921-HIAIHC>

- Zhang, T., Liu, Q. & Ren, Y. (2020). Design, synthesis and biological activity evaluation of novel methyl substituted benzimidazole derivatives. *Tetrahedron*, 76(13), 131027. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2020.131027>
- Zhong, L., Li, Y., Xiong, L., Wang, W., Wu, M., Yuan, T., Yang, W., Tian, C., Miao, Z., Wang, T. & Yang, S. (2021). Small molecules in targeted cancer therapy: Advances, challenges, and future perspectives. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6, Article 201. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00709-3>

