



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



YENİ BENZİMİDAZOL TÜREVLERİ ÜZERİNDE ANTIENFLAMATUVAR ETKİ ARAŞTIRMASI

Aylin ANT OKTAR

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Canan KUŞ

ANKARA

2026

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ BENZİMİDAZOL TÜREVLERİ ÜZERİNDE
ANTIENFLAMATUVAR ETKİ ARAŞTIRMASI

Aylin ANT OKTAR

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Canan KUŞ

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün TYL-2025-3931
proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

2026

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “**Yeni Benzimidazol Türevleri Üzerinde Antienflamatuvar Etki Araştırması**” 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: Aylin ANT OKTAR

Tarih: 21.01.2026

İmza

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Anabilim Dalında

AYLİN ANT OKTAR tarafından hazırlanan

“Yeni Benzimidazol Türevleri Üzerinde Antienflamatuvar Etki Araştırması” adlı
tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul
edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21.01.2026

İmza

Prof. Dr. Canan KUŞ
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza

Doç. Dr. Çiğdem KARAASLAN
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Raportör

İmza

Prof. Dr. Zeynep ATEŞ ALAGÖZ
Ankara 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

Yeni Benzimidazol Türevleri Üzerinde Antienflamatuvar Etki Araştırması

Steroid olmayan antiinflatuar ilaçların (NSAİİ) uzun zamandır piyasada bulunmaları sebebiyle etki mekanizmaları, endikasyonları izlenebilmiş, özellikle enfeksiyon tedavisinde anlamlı etkiler yaptıkları gözlemlenmiştir. Çeşitli makalelerde benzimidazol halkasına sahip ilaçların antienflamatuvar etkisi olduğunu doğrulanmıştır. Bu araştırmanın amacı da yeni benzimidazol türevlerini tasarlayıp, sentezlemek; moleküler yerleştirme çalışmaları ve biyolojik aktivite analizleri yaparak, sentezlenen bileşiklerin antienflamatuvar etkilerini araştırmaktır.

1,4-Dikloro-2-nitrobenzen bileşiğinin DMF içinde çözülerek *izo*-propilamin ve anhidroz K_2CO_3 eklenerek, 80 °C’de 6 saat refluks edilmesi sonucunda 4-kloro-2-nitro-*N-izo*-propil-anilin elde edildi. Yapılan indirgeme işlemi sonucunda elde edilen 4-kloro-*N*1-izopropilbenzen-1,2-diamin bileşiğinin, istenilen benzaldehitlerin sodyum metabisülfid tuzları ile DMF içinde 135- 140 °C’de 12 saat refluks edilmesi ile **A1-A4** bileşikler elde edildi. Sentezlenen, **A1-A4** bileşiklerinin, ortam soğutularak soğuk suya dökülmesinin ardından filtrasyon yapıldı, devamında İTK ile uygunluğu belirlenen kolon solvanı ile kolon kurularak saflaştırma işlemi tamamlandı.

Sentezlenen bileşiklerin biyolojik analizleri yapılarak antienflamatuvar etkileri incelenmiştir. Cresset Flare yazılımı ile moleküler yerleştirme çalışmaları COX-1 ve COX-2 enzimlerine karşı yapılmıştır. Buna ek olarak farmakokinetik nitelikler ve ilaç benzerlikleri için SwissADME programı kullanılarak Lipinski kuralları ve Veber kurallarına göre tahminler yapıldı.

Docking çalışmaları yapılan, **A1 - A4** bileşikler için piyasa da halihazırda kullanılan NSAİİ grubu ilaçlardan diklofenak, selekoksib, aspirin ve indometazin referans alınmıştır. Elde edilen verilere göre **A2 ve A4** bileşiklerinin COX-1 ve COX-2 enzimlerine karşı piyasadaki ilaçlarla kıyaslandıklarında umut vaad etikleri belirlenmiştir.

SwissADME programı ile farmakokinetik nitelikleri belirlenerek ilaç benzerlik çalışmaları yapılan **A1-A4** bileşiklerinin verileri **Tablo 3.2**’de kaydedilmiş, Lipinski ve Veber kurallarına göre yapılan değerlendirme sonuçları olumlu olmuştur.

Sentezlenen bileşikler arasında **A2 ve A4** bileşiklerinin, biyolojik analiz sonuçları, yapılan *docking* çalışmaları ile benzer çıkmış ve COX enzim inhibisyonu sağladıkları, **A4** bileşiğinin seçici COX-2 inhibitörü olabileceği düşünülmüştür. **A2** bileşiğinin, 10^{-4} M konsantrasyonda hem COX-1 hem de COX-2 enzim aktivitelerini %100 oranında inhibe etmesi ve her iki izoform üzerinde de eşit derecede güçlü etki göstermesi nedeniyle izoform-selektif olmayan (non-spesifik) bir inhibitör profili sergilediği tespit edilmiştir. Yapılarında ortak nokta olan flor atomunun, COX inhibisyonuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: antienflamatuvar etki, COX-1, COX-2, benzimidazol, sentez

SUMMARY

Study of Anti-inflammatory Effect on Novel Benzimidazole Derivatives

Since nonsteroidal anti-inflammatory medications (NSAIDs) have been on the market for a long time, their mechanisms of action and indications have been explored, and notable effects have been noted, especially in the treatment of infections. The anti-inflammatory properties of medications with a benzimidazole ring have been documented in several publications. This study aims to design and synthesize novel derivatives of benzimidazoles and perform molecular docking studies and biological activity investigations to examine the compounds anti-inflammatory properties.

1,4-Dichloro-2-nitrobenzene is dissolved in DMF, *iso*-propylamine and anhydrous K₂CO₃ are added, and refluxing at 80 °C for six hours yields 4-chloro-2-nitro-*N*-*iso*-propyl-aniline. Compounds **A1–A4** are obtained by refluxing 4-chloro-*N*1-isopropylbenzene-1,2-diamine compound with sodium metabisulfite salts of the required benzaldehydes in DMF at 135–140 °C for 12 hours. The synthesised **A1–A4** compounds were poured into cold water after cooling the environment, then filtration was performed, and subsequently, the purification process was completed by setting up a column with a column solvent whose compatibility with ITC was determined.

Molecular docking studies against COX-1 and COX-2 enzymes were carried out using Cresset Flare software, and the produced compounds were biologically evaluated to examine their anti-inflammatory activities. Additionally, the SwissADME tool was used to predict pharmacokinetic characteristics and drug similarities in accordance with Lipinski and Veber guidelines.

Diclofenac, celecoxib, aspirin, and indomethacin, which are currently available NSAID medications, serve as references for the **A1–A4** compounds utilized in docking investigations. The data acquired shows that, in comparison to current medications on the market, compounds **A2** and **A4** are promising in terms of COX-1 and COX-2 enzymes.

Table 3.2. contains data from the **A1–A4** compounds, whose pharmacokinetics were ascertained using the SwissADME program and whose drug similarity was studied; the Lipinski and Veber rules produced positive evaluation outcomes.

Compounds **A2** and **A4**, two of the produced compounds, demonstrated comparable outcomes in docking experiments and biological analysis, suggesting COX enzyme inhibition. Compound **A4** was proposed as a potential selective COX-2 inhibitor. At a concentration of 10⁻⁴ M, compound **A2** was discovered to have a non-isoform-selective inhibitor profile, completely blocking the enzymatic activities of both COX-1 and COX-2, and having similar effects on both isoforms. A common fluorine atom in their structure is thought to be the basis for their activity, which are involved in inhibiting COX enzymes.

Key words: Anti-inflammatory effect, COX-1, COX-2, benzimidazole, synthesis

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xi
Çizelgeler	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Enflamasyon	1
1.2. Enflamasyon Oluşumu	1
1.2.1. Enflamatuvar Hücreler	2
1.2.1.1. Nötrofiller	2
1.2.1.2. Mast Hücreleri	3
1.2.1.3. Monositler ve Makrofajlar	3
1.2.2. Enflamatuvar Yollar	5
1.2.2.1. NF-KB Yolu	5
1.2.2.2. MAPK Yolu	6
1.2.2.3. JAK-STAT Yolu	7
1.2.3. Enflamatuvar İndikatörler	8
1.2.4. Enflamasyon Sitokinleri	9
1.2.5. Enflamasyon Proteinleri ve Enzimleri	9
1.2.5.1. COX-1, COX-2 ve Prostaglandinler	10
1.2.5.2. COX'ların Çeşitli Organlardaki Roller	11
1.3. Steroid Olmayan Anti-Enflamatuvar İlaçlar (NSAİİ)	12
1.3.1. Steroid Olmayan Anti-Enflamatuvar İlaçların Yan Etkileri	14
1.4. Yapı Aktivite İlişkisi (SAR)	16
2. GEREÇ VE YÖNTEM	18
2.1. Gereç	18
2.1.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentezi, Saflaştırma İşlemleri ve Yapı Analizlerinde Kullanılan Gereçler	18
2.1.1.1. Sentez İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Malzemeler	18
2.1.1.2. Kromatografik Analizler	18
2.1.1.3. Erime Noktası Belirleme	18
2.1.1.4. Nükleer Manyetik Rezonans Analizleri (^1H NMR, ^{13}C NMR)	19
2.1.1.5. Kütle Spektrumları (MS)	19
2.1.1.6. Parr Hidrojenasyon Cihazı (3911)	19
2.1.2. Elde Edilen Bileşiklerin Anti-enflamatuvar Etki Tayininde Kullanılan Gereçler	19
2.1.3. Moleküler Yerleştirme (Docking) Çalışmaları	19
2.1.3.1. Ligandı ve Hedef Molekülü Hazırlayarak Molekül Yerleştirmesi	19
2.1.4. İlaç Benzerlik Çalışmaları	20
2.2. Yöntem	20
2.2.1. A1-A4 Bileşiklerinin Sentezi	20
2.2.1.1. Ara Ürünlerin Sentezi	21
2.2.1.1.1. 4-Kloro-2-nitro-N- <i>izo</i> -propil-anilin (3) Sentezi	21
2.2.1.1.2. 4-Kloro-N1-izopropilbenzen-1,2-diamin (4) Sentezi	21
2.2.1.1.3. Sübstitüe Benzaldehitlerin Sodyum Metabisülfid Tuzları (6)	21
2.2.1.2. A1-A4 Bileşiklerin Sentezi	21
3. BULGULAR	23

3.1. Sentezlenen Sonuç Bileşiklerin Kimyasal Özellikleri	23
3.1.1. 4-kloro-N-izopropil-2-nitroanilin (3)	23
3.1.2. 2-(2,4-diklorofenil)-1-izopropil-1H-benzo[d]imidazol (A1)	23
3.1.3. 5-Kloro-2-(2,5-diflorofenil)-1-izopropil-1H-benzo[d]imidazol (A2)	25
3.1.4. 2-(4-Bromofenil)-5-kloro-1-izopropil-1H-benzo[d]imidazol (A3)	28
3.1.5. 2-(2-Florofenil)-1-izopropil-1H-benzo[d]imidazol (A4)	29
3.2. Sentezlenen Sonuç Ürünlerin Biyolojik Aktiviteleri	31
3.3. Moleküler Yerleştirme Çalışmaları	32
3.4. İlaç Benzerlik Çalışmaları	37
4.TARTIŞMA	39
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	48



ÖNSÖZ

Benzimidazol halkası yapıya antimikrobiyal, antikanser, antiproliferatif ve antitümör özellikler kazandırabilmekte olup, 2 ve/veya 5- sübstitüe benzimidazol halkaları üzerinde yapılan çalışmamızda ise antienflamatuvar özelliklerine yoğunlaşmıştır. Moleküler modellemesi yapılan bileşiklerin hedef molekül-ligand etkileşimlerini, ilaç benzerlik çalışmalarını ve biyolojik aktivite sonuçlarını incelemek, çalışmanın geleceği açısından ilgi çekici olmuştur.

Bu yüksek lisans tezinin gerçekleşmesinde şahsıma sağladıkları desteklerden kaynaklı teşekkürü borç bildiklerimi sıralamak isterim.

Başta tez danışmanım **Sn. Prof. Dr. Canan KUŞ**'a süreç içerisinde sağladığı destek, olumlu yönlendirmeler ve sabrı için çok teşekkür ederim.

Sn. Dr. Hind KHALIFA'ya benim için yaptığı her şey için çok teşekkür ederim. Bazı zamanlar da istemeye gerek kalmadan uzattığı yardım eli benim için çok kıymetliydi.

Ankara Üniversitesi Merkez Laboratuvarı yetkilisi **Sn. Prof. Dr. Hakan GÖKER**'e sunduğu uzmanlığı, bilgi birikimi ve desteği için çok teşekkür ederim.

Ayrıca Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda görevli sayın hocalarıma ve lisans üstü öğrenim gören arkadaşlarıma sundukları yardımseverlik için çok teşekkür ederim.

Tezimin biyolojik aktivite çalışmalarını yürüten Üniversitemiz Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nda görevli **Sn. Prof. Dr. Tülay ÇOBAN** ve **Sn. Doç. Dr. Sezen YILMAZ SARIALTIN**'a sundukları katkılarından ötürü çok teşekkür ederim.

İş yerim ve meslek örgütüm olan **Türk Eczacıları Birliği**'ne eğitim izni hakkımı verdikleri ve bu süreçte bana anlayış gösterdikleri; iş arkadaşlarıma da tezime odaklanabilmem için bana alan oluşturdıkları için çok teşekkür ederim.

Ve tabii ki canım annem, babam, kardeşim ve eşime yanımda oldukları, beni anlayıp desteklerini esirgemedikleri ve bütün bu süreçte yaslanacağım duygusal kayam oldukları için çok teşekkür ederim.

Bu yüksek lisans tezi sürecinin tamamlanabilmesinde bana destek olan herkese minnettarlığımı sunar, desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ASC	Aktif Bölgeye Giriş
COX	Siklooksijenaz
CRP	C-Reaktif Protein
CSF	Koloni Uyarıcı Faktör
DMF	Dimetil Formamid
DMSO	Dimetilsülfoksit
DSB	Çift Sarmallı Kırıklar
ERK1/2	Ekstraselüler Sinyal Düzenleyici Kinaz
ESI	Elektrosprey İyonizasyon
GI	Gastrointestinal
GM-CSF	Granülosit-Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
GPx	Glutasyon Peroksidaz
HBA	Hidrojen Bağı Alıcısı
HBD	Hidrojen Bağı Donörü
His	Histidin
HMGB1	Yüksek Hareketlilik Grubu 1
HR	Homolog Rekombinasyonu
IBS	Enflamatuvar Bağırsak Hastalığı
IKK/IKB	İkappab Kinazı
IL	İnterlökin
ILE	İzolösin
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
JAK	Janus Kinaz
JNK	C-Jun N-Terminal Kinazları
LTB4	Lökotrien B4
MAPK	Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz
MS	Kütle Spektrumları
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NADPH	İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NERD	NSAİİ- Kullanımıyla Şiddetlenen Solunum Yolu Hastalığı
NET	Nötrofil Ekstraselüler Tuzaklar
NF-KB	Nükleer Faktör Kappa B
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
NOX	İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidaz
NSAİİ	Steroid Olmayan Antiinflamatuvar İlaçlar
N-ROTB	Döndürülebilir Bağ Sayısı

PG	Prostaglandin
PLA2	Fosfolipaz A2
PRR	Desen Tanıma Reseptörü
RNA	Ribonükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SAR	Yapı -Aktivite İlişkisi
SOD	Süperoksit Dismutaz
STAT	Sinyal Dönüşüm Sistemleri Ve Transkripsiyon Aktivatörü
TGF- β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
TMS	Tetrametilsilan
TMPD	Tetrametil- <i>p</i> -fenilendiamin
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
TNFR	Tümör Nekrozis Faktör Reseptörü
TPSA	Topolojik Polar Yüzey Alanı
TRPV-1	Transient Reseptör Potansiyel Vanilloid 1
VAL	Valin
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER

Şekil 1. 1: Enflamasyon oluşumu ve iyileşmesinin şematik gösterimi	2
Şekil 1. 2: Monositler ve makrofajların döngüsü. Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin temel bileşenlerindendir	4
Şekil 1. 3: NF-KB Yolu	6
Şekil 1. 4: MAPK Yolu, hücre dışı tetikleyiciler olan stres ve sitokinlerle başlatılan hücre içindeki sinyal iletimini kontrol eder	7
Şekil 1. 5: JAK-STAT yolu	8
Şekil 1. 6: Prostaglandin Sentezi	11
Şekil 1. 7: Siklooksijenaz (COX-1 ve COX-2'nin) substrat bağlayıcı kanalları arasındaki yapısal farklılıkların şematik gösterimi	13
Şekil 1. 8: Benzimidazol yapısı	16
Şekil 1. 9: 2- Fenil bağlanmış benzimidazol SAR'ları	16
Şekil 2. 1: A1-A4 Maddelerinin Sentezi	20
Şekil 3. 1: A1 bileşiğinin kütle spektrumu	24
Şekil 3. 2: A1 Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	24
Şekil 3. 3: A1 Bileşiğinin ¹³ C- NMR Spektrumu	25
Şekil 3. 4: A2 Bileşiğinin Kütle Spektrumu	26
Şekil 3. 5: A2 Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	27
Şekil 3. 6: A2 Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	27
Şekil 3. 7: A3 Bileşiğinin Kütle Spektrumu	28
Şekil 3. 8: A3 Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	29
Şekil 3. 9: A4 Bileşiğinin Kütle Spektrumu	30
Şekil 3. 10: A4 Bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	30
Şekil 3. 11: A4 bileşiği ve standart diklofenak COX-1 enzimi ile 2D etkileşimi	33
Şekil 3. 12: A4 bileşiği ve standart diklofenak COX-1 enzimi ile 3D etkileşimi, diklofenak sarı, A4 kırmızı renkte	34
Şekil 3. 13: A4 bileşiği ve standart selekoksib COX-2 enzimi ile 2D etkileşimi	34
Şekil 3. 14: A4 bileşiği ve standart selekoksib COX-2 enzimi ile 3D etkileşimi. Selekoksib mavi renkte, A4 bileşiği kırmızı renkte	35
Şekil 3. 15: A2 bileşiği ve standart diklofenak, COX-1 enzimi ile 2D etkileşimi	35
Şekil 3. 16: A2 bileşiği ve standart diklofenak COX-1 enzimi ile 3D etkileşimi. Diklofenak sarı, A2 pembe renkte	36
Şekil 3. 17: A2 bileşiği ve standart selekoksib COX-2 enzimi ile 2D etkileşimi	36
Şekil 3. 18: A2 bileşiği ve standart selekoksib COX-2 enzimi ile 3D etkileşimi. Selekoksib mavi, A2 bileşiği pembe renkli	37

ÇİZELGELER

Tablo 1. 1: Sitokinler ve hedef hastalıklar (Gulati vd., 2016)	9
Tablo 1. 2: COX-1 ve COX-2 enzimlerinin organlardaki rolleri (Faki ve Er, 2021).	11
Tablo 1. 3: Kimyasal yapılarına göre NSAİİ örnekleri	14
Tablo 1. 4: Bazı NSAİİ kimyasal yapı örnekleri	15
Tablo 2. 1: A1-A4 maddelerinin sübstitüenlerinin gösterimi	21
Tablo 3. 1: COX-1 ve COX-2 İnhibitörü Olarak Test Edilen A1-A4 Maddelerinin İn Vitro İnhibisyon Etkileri	31
Tablo 3. 2: Moleküler yerleştirme çalışmaları yapılan bileşiklerin COX-1 ve COX-2'ye karşı konumları	32
Tablo 3. 3: İncelenen bileşiklerin ilaç benzerlik değerlendirmesi	37

1. GİRİŞ

1.1. Enflamasyon

Enflamasyon, vücudun zararlı uyaranlara karşı verdiği bir bağışıklık tepkisidir. Bu uyaranlar patojenler, zarar görmüş hücreler, toksik maddeler olabilir; enfeksiyon oluşumu kalp, pankreas, karaciğer, böbrek, akciğer, beyin, bağırsak yolu ve üreme sisteminde görülebilir ve sayılan olumsuz uyaranların ortadan kaldırılmaya çalışılmasıyla beraber iyileşme süreci başlar.

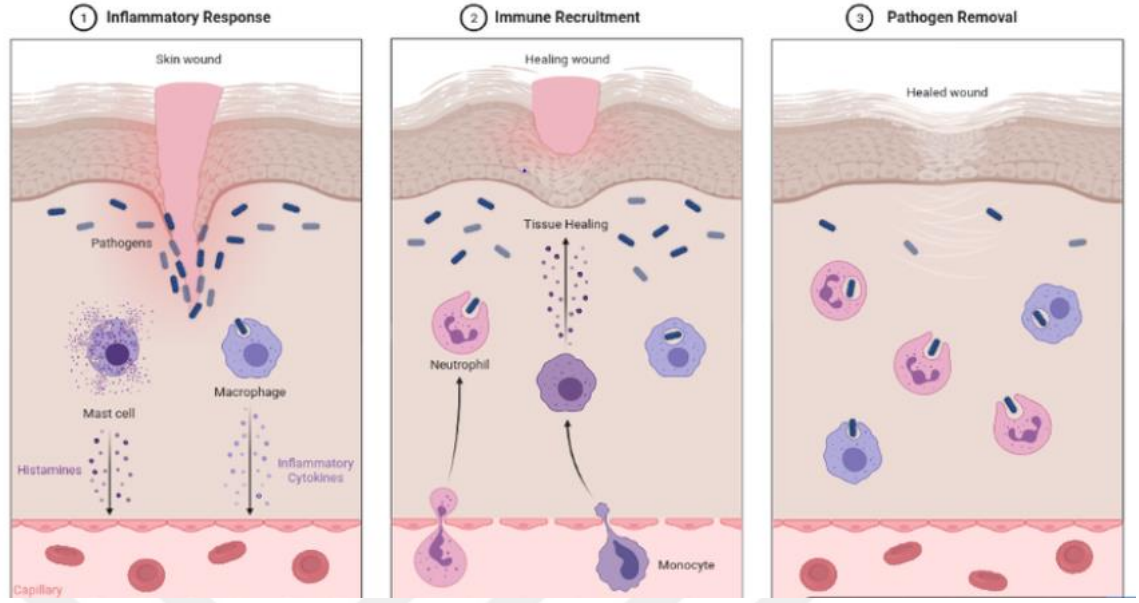
Enflamasyonlar akut ve kronik olarak ikiye ayrılabilir. Genelde akut enflamasyonlar vücudun hızlı tepki vermesiyle doku restorasyonu sağlanarak çözümlenir ancak kontrol edilemeyen durumlar da kronik enflamasyonlara dönüşür ki bu da enflamasyon kontrolünü bir an önce sağlamanın önemini anlatmaktadır.

Enflamasyonlar kızarıklık, şişkinlik, sıcaklık artışı, acı/ ağrı şeklinde kendilerini gösterebilir ve bunun sonucunda lokal bağışıklık, vasküler ve enfekte olmuş hücre yanıtı oluşmuş olur (Chen vd., 2017).

Akut enflamasyon en fazla birkaç hafta sürerken, devam ettiği durumlarda kronik enflamasyon oluşmuş olur (James, 2004).

1.2. Enflamasyon Oluşumu

Çeşitli sebeplerle (yaralanma, toksin maruziyeti, hücre hasarı, vb.) vücutta enflamasyon oluştuğunda, bağışıklık sistemine dahil aşağıda sıralanan hücreler önemli rol oynar (Soliman ve Barreda, 2023; Turabelidze vd., 2012):



Şekil 1. 1: Enflamasyon oluşumu ve iyileşmesinin şematik gösterimi (Pendleton, 2023)

- Nötrofiller
- Mast hücreleri
- Monositler/ Makrofajlar

1.2.1. Enflamatuvar Hücreler

1.2.1.1. Nötrofiller

Yaralanma bölgesine ilk ulaşan enflamatuvar hücrelerdir, bölgedeki asıl işlevleri fagositoz, toksik granüller (granüller bakterisidal ajanlar içerir), oksidatif patlama ve nötrofil ekstraselüler tuzaklar (NET, mikropları hareketsizleştirmek ve yok etmek için ekstraselüler olarak salınan kromatin filamentleri) gibi yollarla antimikrobiyal tepkiler vererek istilacı patojenlerle savaşmaktır.

Fagositoz yaparak ilgili bölgedeki bakterileri, yabancı maddeleri ve hasarlı hücreleri temizler ancak mikrobiyal bir yara söz konusu olmadığında nötrofillerin faydalı olmanın yanı sıra zararlı olabileceği düşünülür.

Son zamanlarda nötrofillerin, inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBS) olan hastalarda proinflamatuvar mikroRNA'lar bulunduran mikropartiküllerin salınımını içeren reaktif oksijen türleri (ROS) bağımsız yol ile genomik instabiliteye sebep olduğu bulunmuştur. Enflamasyonun çözülmesini ve bağırsakların iyileşmesini engelleyen unsur, belirtilen

miRNA'ların homolog rekombinasyonu (HR) inhibe ederek çift sarmallı kırıkların (DSB'ler) birikimini teşvik etmesidir.

1.2.1.2. Mast Hücreleri

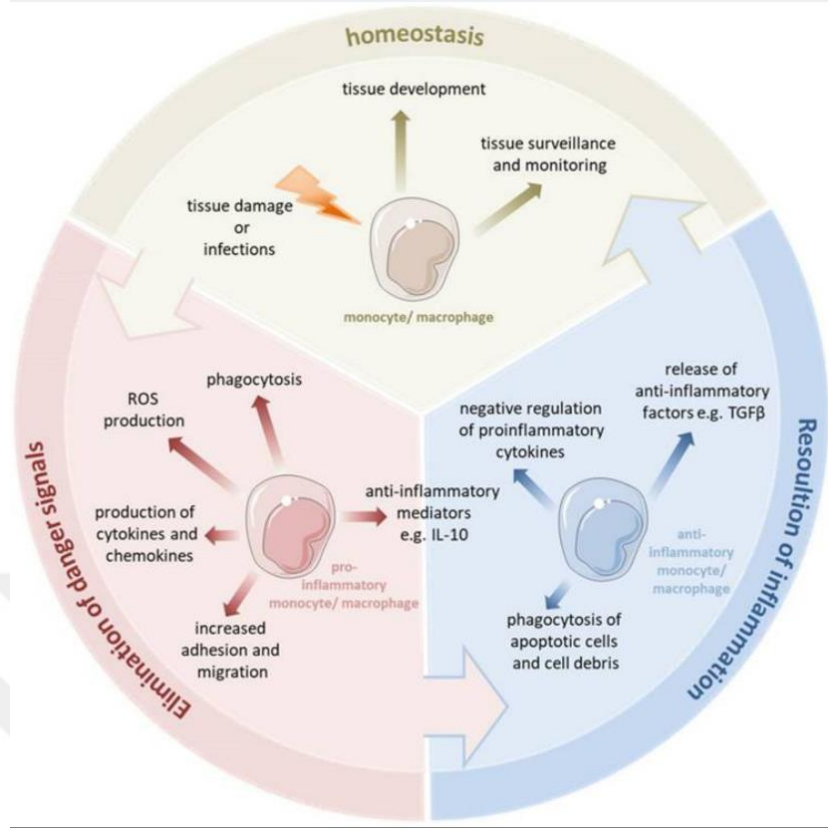
Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin unsuru olup, doku bütünlüğü ve işlevi açısından kritiktir. Alerji ve parazit işgaline karşı rollerinin yanı sıra doku onarımındaki katkısı da (proliferasyon etkisi ile) ön plana çıkmaktadır. Çeşitli ligandlara bağlanarak aktive olan mast hücresi reseptörleri, üç ayrı türde molekül salgılar:

- 1) Granüllerde sürekli olarak depolanan mediatörler: histamin, serotonin, triptaz ve heparin
- 2) Uyarılara yanıt olarak sentezlenen mediatörler: lökotrien B4 (LTB4), prostaglandin (PG) D2 ve lipid mediatörleri
- 3) Sitokinler ve büyüme faktörleri: TNF- α , IL-1 β , IL-5, IL-8, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), IL-10, VEGF ve TGF- β

Yaralanma durumunda, mast hücreleri granüllerinden ayrılır ve granüllerinden - önceden depolanmış - medyatörleri serbest bırakır. Mast hücrelerinin azalması yaralardaki nötrofillerin azalmasına da sebep olur. Mast hücreleri nötrofillerden daha yavaş bir sürede olsa da yaralara katılır. Yapılan bir çalışmada yaralanan dokularındaki az sayıdaki yerleşik mast hücresinin, özellikle nötrofilleri çekmek için ani-erken aktivasyon olaylarında şaşırtıcı derecede önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür (Martin ve Leibovich, 2005).

1.2.1.3. Monositler ve Makrofajlar

Anjiyogenez [vücuttaki kan damarlarından yeni kılcal damarlar oluşturma süreci (Adair vd., 2010) ve fibrojenezi [yara iyileşmesi ve onarım mekanizması (Kisseleva vd., 2008)] uyarıcı büyüme faktörleri ürettikleri için yara iyileşmesinde son derece gereklidir.



Şekil 1. 2: Monositler ve makrofajların döngüsü. Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin temel bileşenlerindendir (Austermann vd., 2022).

Fenotiplerini homeostatik halden proenflamatuvar hale geçirmelerinin sebebi patojenleri elimine etmek ve enfeksiyon ile savaşmaktır. Kompleks olmayan enflamasyonlarda proenflamatuvar halden antienflamatuvar duruma geçilir böylece enflamasyon çözülerek denge tekrar sağlanır. Sinyalin veya patofizyolojik duruma göre monositler ve makrofajlar spesifik fenotipik polarizasyona uğrayıp, çeşitli işlevsel fenotipler kazanabilirler (Austermann vd., 2022).

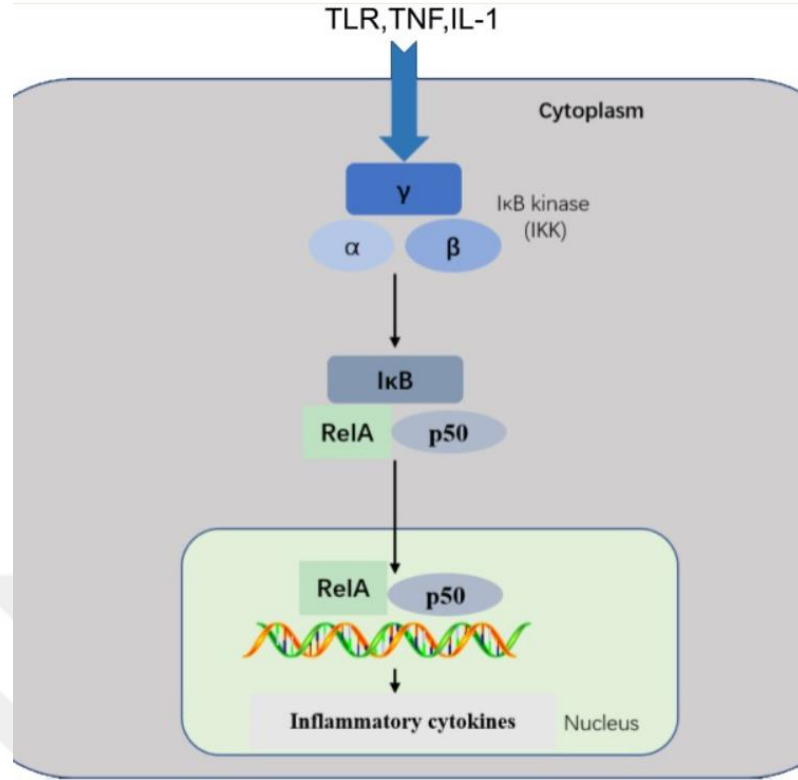
Yapılan bir çalışmada (Meszaros vd., 2008), nötrofillerin oluşumundan sonra, kaybolmalarından önce yaralanma bölgesine gelen makrofajların, *in vitro* nötrofil apoptozunu başlatabildiği anlaşılmıştır. Buna ek olarak, makrofajların içindeki fagozomlarda nötrofil kaynaklı parçalar bulunmuş olup, böylece makrofajların yara iyileşmesindeki en önemli fonksiyonlarından birinin, nötrofillerin ortadan kaldırılması, bu sayede enflamatuvar yanıtın gerilemesini hızlandırmak olduğu görülmektedir.

1.2.2. Enflamatuvar Yollar

Enflamatuvar yollar, birçok kronik hastalığın gelişimini etkileyen unsurlardır ve yaygın enflamatuvar medyatörler ile düzenleyici yolları barındırır. Enflamatuvar unsurlar devamında, enflamatuvar medyatörlerin oluşumunu tetikleyen hücre içi sinyal yollarını harekete geçirir. Başlıca enflamatuvar uyarıcılar, interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) gibi sitokinlerdir. TLR'ler, IL-1 reseptörü (IL-1R), IL-6 reseptörü (IL-6R) ve TNF reseptörü (TNFR) ile etkileşimde bulunarak enflamasyonu yönlendirir. Reseptörlerin aktivasyonu, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), nükleer faktor kappa-B (NF-KB) ve janus kinaz (JAK) ile ilgili sinyal dönüşüm sistemleri ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) yolları gibi önemli hücre içi iletişim yollarını başlatır (Chen vd., 2017).

1.2.2.1. NF-KB Yolu

NF-KB transkripsiyon faktörü, enflamasyon, bağışıklık tepkileri, hayatta kalma ve apoptoz gibi süreçlerde kritik öneme sahiptir. NF-KB'nin aktivasyonu, patojen kökenli maddeler, hücreler arası iltihap sitokinleri ve birçok enzim gibi çeşitli uyarıcılardan etkilenir. Normal koşullar altında sitoplazmada bulunan IKB proteinleri NF-KB etkinliğini engeller. PRR'ler (desen tanıma reseptörü), IKK'nın (IKB Kinazı) iki kinaz alt birimi IKK α ile IKK β ve bir düzenleyici alt birim olan IKK γ 'yı aktifleştirmek için benzer sinyal yollarını kullanır. IKK, NF-KB fosforilasyonu aracılığıyla NF-KB yolunu harekete geçirir. IKB'nin fosforile edilmesi, proteazom tarafından parçalanmasını sağlar ve bunun sonucunda NF-KB çekirdek translokasyonu ve gen transkripsiyonunun etkinleşmesini sağlar. Bu yol ile sitokin üretimi ve enflamasyon hücrelerinin alımı düzenlenerek enflamasyon yanıtına katkı sağlanır.



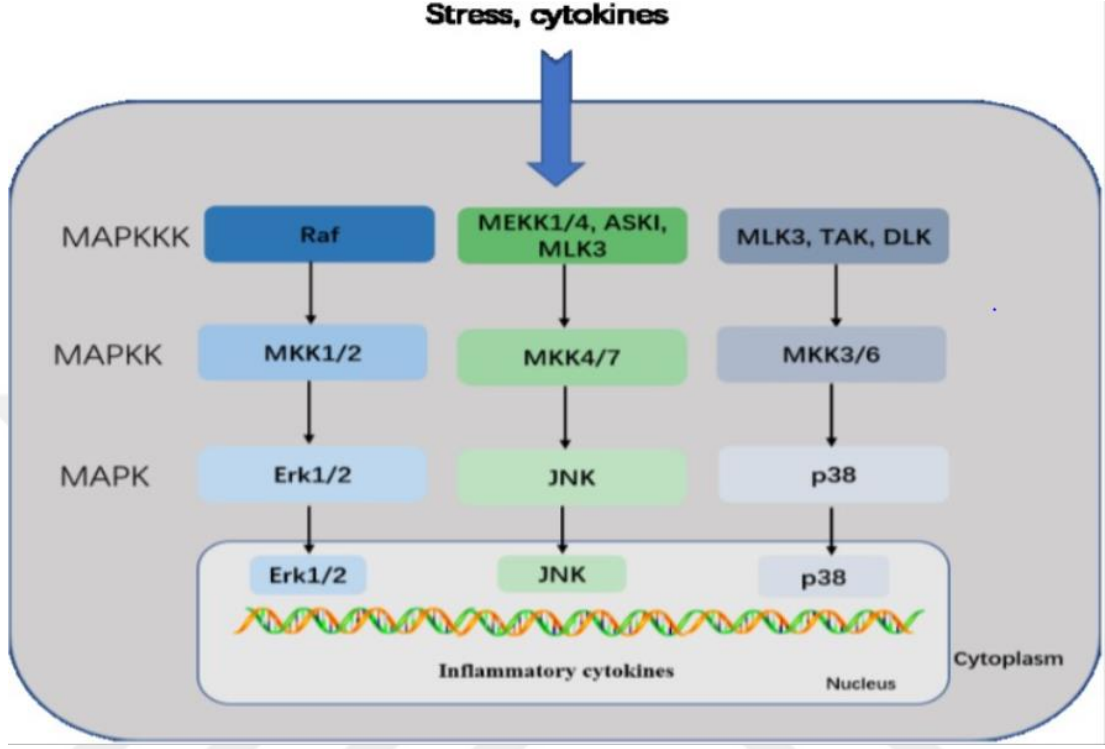
Şekil 1. 3: NF-KB Yolu (Chen vd., 2017).

Şekil 1.3’te anlatılmak istenen TNF ve IL-1 gibi inflamatuvar sitokinler tarafından tetiklenen enflamasyon yolu ve inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu düzenleyen RelA/p50 komplekslerinin aktivasyonu olup, NF-κB sinyal iletimi, IKK alt birimlerini gerektirir. Bu alt birimler, IκB fosforilasyonu yoluyla yol aktivasyonunu düzenler(Chen vd., 2017).

1.2.2.2. MAPK Yolu

MAPK’ler, hücrel tepkileri yönlendiren ve çeşitli uyarıcılar (ozmotik stres, mitojenler, ısı şoku) ile inflamatuvar sitokinlere (IL-1, TNF-α ve IL-6 gibi) tepki veren serin/treonin protein kinazlar ailesidir. Bu yapılar, hücrelerin çoğalma, farklılaşma, hayatta kalma ve apoptoz süreçlerini düzenler. Memeli MAPK’leri arasında hücre dışı sinyallerle aktifleştirilen ERK1/2, p38 MAP kinazları ve c-Jun N-terminal kinazları (JNK) mevcuttur. Her MAPK sinyal yolu, bir MAPK, bir MAPK kinazı (MAPKK), bir MAPKK kinazı (MAPKKK) olmak üzere en az 3 temel bileşenden oluşur. Her biri, bir öncekinin fosforilasyonu ve aktifleşmesi ile oluşur. Genelde ERK’lerin aktivasyonu, mitojenler ve farklılaşma sinyalleri aracılığıyla gerçekleşirken, inflamatuvar sinyaller ve stres halleri JNK ve p38’i aktive eder. MKK1 ve MKK2, ERK1/2’yi; MKK4 ve MKK7, JNK’yi; MKK3 ve MKK6 ise p38’i aktifleştirir. Erk1/2’nin yanında JNK aktivasyonu, sitoplazmada veya çekirdek içinde bulunan p38

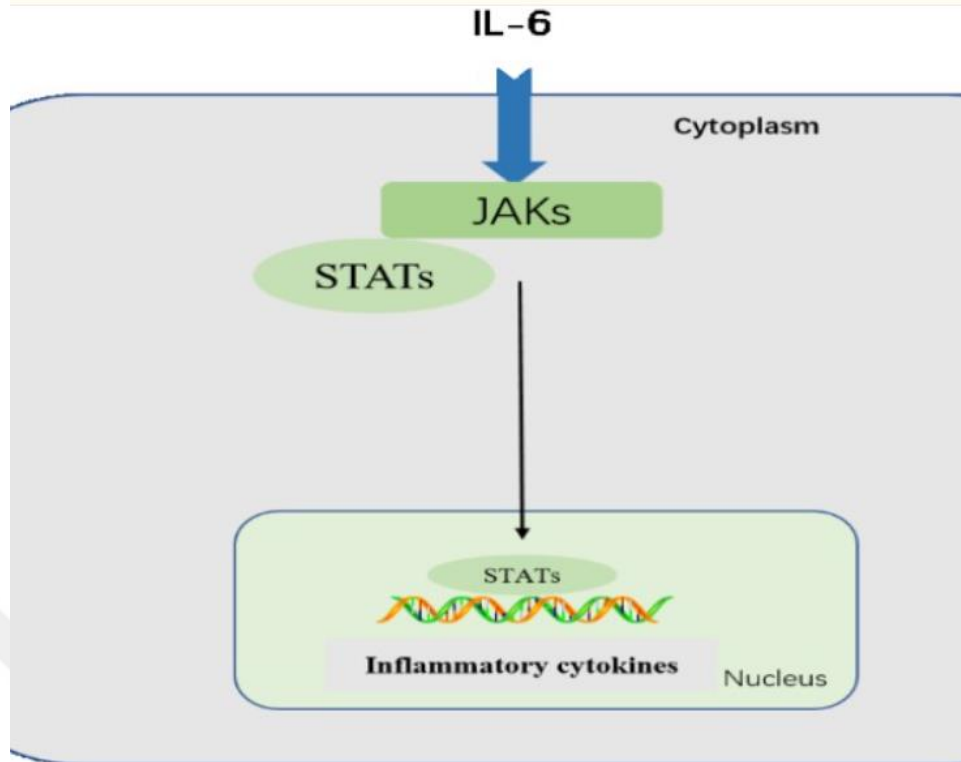
transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonuna ve etkinleştirilmesine neden olur, enflamatuvar tepkimeler tetiklenir.



Şekil 1. 4: MAPK Yolu, hücre dışı tetikleyiciler olan stres ve sitokinlerle başlatılan hücre içindeki sinyal iletimini kontrol eder (Chen vd., 2017).

1.2.2.3. JAK-STAT Yolu

İyi korunmuş JAK-STAT yolu, farklı sitokinleri, büyüme faktörlerini, interferonları, leptin ile büyüme hormonu gibi molekülleri kapsayan bir sinyal mekanizmasıdır. Bu mekanizma hücre dışı faktörlerin gen ifadesini yönetme yeteneğine sahiptir. Reseptörle bağlantılı JAK'lar ligandlar tarafından uyarıldığında, birbirlerini fosforile ederek, sitoplazmada bulunan gizli transkripsiyon faktörleri olan STAT'lar için alanları oluştururlar. Bu alanlara getirilen STAT'lar çekirdeğe geçmeden önce fosforilasyondan ve ardından dimerleşmeden geçerler. Tirozin fosforilasyonu, STAT dimerleşmesi ve DNA ile etkileşimi için gereklidir. Bu nedenle JAK/STAT sinyalleşmesi dışarıdan gelen bir sinyalin doğrudan gen transkripsiyonuna dönüşmesini sağlar. Örneğin IL-6 ailesi plazma zarı üzerindeki reseptörlere bağlandığında, JAK-STAT proteinleri aktif hale gelir. Çekirdeğe taşınan STAT proteinleri, enflamatuvar genlerin transkripsiyonunu kontrol etmek için hedef genlerin promotör bölgelerine bağlanır.



Şekil 1. 5: JAK-STAT yolu (Chen vd., 2017).

Şekil 1.5'te IL-6'nın bağlanması sonrasında, bir sinyal reseptörü JAK'ları etkinleştirmek için sinyali iletir, STAT'lar aktive olur. STAT'lar çekirdek içinde defosforile edilerek aşağı akış sitokinlerinin etkinleşmesine yol açar.

NF-KB, MAPK veya JAK-STAT yolunun düzensizliği, enflamatuvar, otoimmün ve metabolik hastalıklar ve kanserle bağlantılıdır. Transkripsiyon faktörlerinin aracılığıyla gerçekleşen sinyal iletimi, sitokinlerin salgılanmasını tetikler. Birçok transkripsiyon faktörü, IL-1, TNF- α , IL-6, koloni uyarıcı faktör (CSF), interferonlar, dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) ve kemokinler gibi çeşitli enflamatuvar genlerin düzenlenmesinde rol oynar (Chen vd., 2017).

1.2.3. Enflamatuvar İndikatörler

Enflamatuvar belirteçler, problemin ne olduğu ve nerede olduğuyla ilgili bilgi verebilir; kardiyovasküler hastalık, endotel disfonksiyon gibi hastalıklarla sebep-sonuç alakalı ilişki kurabilir.

Uyarılar, makrofajlar ile yağ hücreleri gibi enflamatuvar hücrelerin harekete geçmesini sağlar. IL-1 β , IL-6, TNF- α ve enflamatuvar proteinler ile enzimlerin üretimini başlatan

enflamatuvar sitokinlerin oluşumunu tetikler. Bu moleküller, hastalıkların tanısında, seyrinin belirlenmesinde ve tedavi yöntemlerinin seçilmesinde biyobelirteç olarak rol alabilir.

1.2.4. Enflamasyon Sitokinleri

Bu enflamatuvar maddeler, mikrobiyal saldırılar ya da yaralanma sonucu vücudun bağışıklık tepkisi ile üretilir. Duruma bağlı olarak vücudun normal dengesi etkin savunma sistemi ile geri kazanılabilirken, bazı durumlarda aşırı miktarda immün düzenleyici bağışıklık mediyatörlerinin üretimi zararlı olabilir; buna örnek olarak anafilaktik şok, otoimmün hastalıklar ve immün kompleks bozuklukları verilebilir (Cerami vd., 1992).

Tablo 1. 1: Sitokinler ve hedef hastalıklar (Gulati vd., 2016)

Sitokinler	Hedef Hastalık
IFN- α	Hepatit B ve C
IFN- β	Multipl skleroz
IFN- γ	Kronik granulomatoz hastalığı, Crohn hastalığı, Çoklu ilaç dirençli tüberküloz
TNF- α	Romatoid artrit, Sepsis, Rekrater astım, Sedef hastalığı
G-CSF	Kemik iliği baskılanması, Crohn hastalığı
IL-2	Metastatik melanom, Renal hücre karsinomu
IL-4	Astım
IL-5	Astım
IL-6	Romatik hastalıklar
IL-10	Crohn Hastalığı, Ülseratif kolit, Sedef, Romatoid artrit
IL-11	Crohn Hastalığı, Ülseratif kolit, Sedef, Romatoid artrit
IL-13	Astım
Eritropoietin	Anemi, Kemik iliği yetmezliği
HER2-Spesifik Monoklonal Antikor	Mide adenokarsinomu, Meme kanseri

1.2.5. Enflamasyon Proteinleri ve Enzimleri

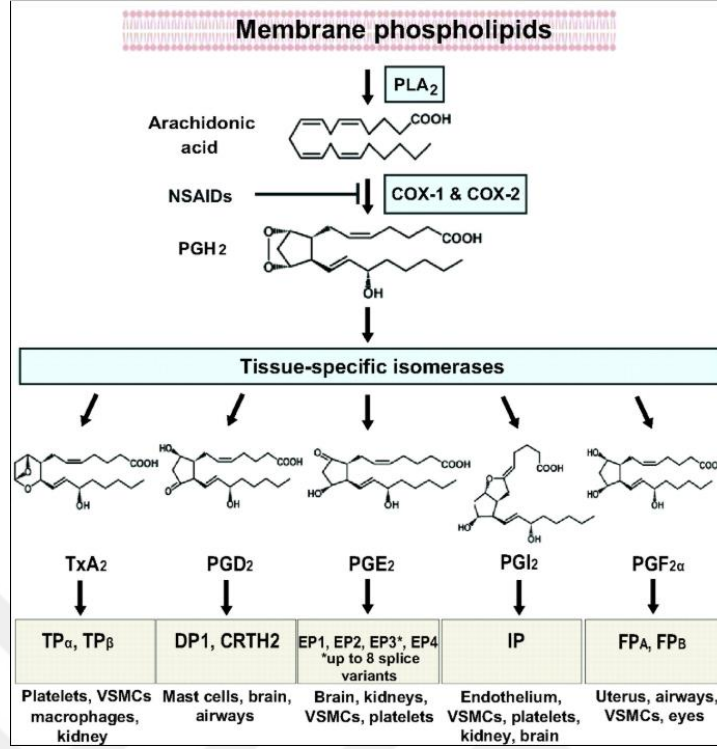
Kan içerisindeki C-reaktif protein (CRP), haptoglobin, serum amiloid A, fibrinojen ve alfa 1-asit glikoprotein gibi enflamasyon proteinleri, travma, stres veya enfeksiyon anlarında antikorlardan bağımsız olarak vücut dengesini yeniden sağlama ve mikrobiyal yayılımı azaltma görevinde bulunurlar. Yüksek hareketlilik grubu 1 (HMGB1), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), NADPH oksidaz (NOX), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz (COX)-2 gibi bazı enzimlerin aşırı aktivasyonu, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi iltihapla ilişkili sağlık sorunlarının ortaya çıkmasında önemli bir etki gösterir. İnflamatuvar proteinler ve enzimler, tıpta enfeksiyon ve travma ile ilgili biyobelirteçler olarak değerlendirilmiştir (Chen vd., 2017).

1.2.5.1. COX-1, COX-2 ve Prostaglandinler

Siklooksijenaz enzimleri (COX-1 ve COX-2 izoenzimlerini içerir) araşidonik asidin prostanoidlere biyotransformasyonunu başlatan enzim olarak tanımlanmıştır (Adelizzi, 1999).

Prostaglandin biyosentezi enflamasyon yanıtında önemli rol oynar. Biyosentezleri iltihaplı dokuda önemli ölçüde artar ve akut inflamasyonun temel belirtilerinin gelişimine katkıda bulunurlar.

COX-1, yapısal olarak üretilir, gastrik epitel hücrelerinin koruması ve denge sağlama gibi temel işlevleri yerine getiren prostanoidlerin başlıca kaynağıdır. Enflamatuvar tetikleyiciler, hormonlar ve büyüme faktörleri aracılığıyla etkinleşen COX-2, indüklenebilir, enflamasyon ve kanser gibi yayılma gösteren hastalıklarda prostanoid üretiminin daha önemli bir kaynağı olup, COX-2 tarafından oluşturulan PG'ler (prostaglandin) öncelikle ağrı ve inflamasyona aracılık eder. Bununla beraber, her iki enzim de düzenleyici ve dengeleyici prostanoidlerin oluşumuna katkıda bulunur ve her ikisi de inflamasyon sürecinde prostaglandin salınımına destek verebilir. Her yerde üretilirler ve vücutta lokal homeostazı korumak için otokrin ve parakrin lipid aracıları olarak görev yaparlar. Enflamasyon yanıtı sırasında, PG üretiminin hem seviyesi hem de profili ciddi ölçüde değişir. PG üretimi, iltihaplanmamış dokularda genellikle çok düşüktür, ancak akut enflamasyonda lökositlerin toplanması ve bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonundan hemen önce artar (Ricciotti ve FitzGerald, 2011).



Şekil 1. 6: Prostaglandin Sentezi (Hazarika ve Selvam., 2015).

Bu iki önemli izoenzime ek olarak COX-3 isimli yeni bir üye keşfedilmiştir. COX-1 enziminin varyantı olduğu için ayrı bir izoenzim değildir. Bu enzimin önemi COX-1 ve COX-2'nin zayıf engelleyicileri olan, fakat merkezi sinir sistemine rahatlıkla girebilen parasetamol ve diğer ateş düşürücü, ağrı kesici ilaçların etkilerini açıklayabilmesidir. Diklofenak ya da ibuprofen gibi steroid olmayan antienflamatuvar ilaçlar (NSAİİ'ler) da kültür hücrelerinde güçlü COX-3 engelleyicileri olarak işlev görür ancak oldukça polar olduklarından, beyindeki COX-3'e etkili seviyelerde ulaşmalarının pek mümkün olmadığı tespit edilmiştir. COX-3 ün yapı ve etki mekanizmasının aydınlatılması için çalışmalar sürdürülmektedir (Hazarika ve Selvam., 2015).

1.2.5.2. COX'ların Çeşitli Organlardaki Rollerleri

Tablo 1. 2: COX-1 ve COX-2 enzimlerinin organlardaki rolleri (Faki ve Er, 2021).

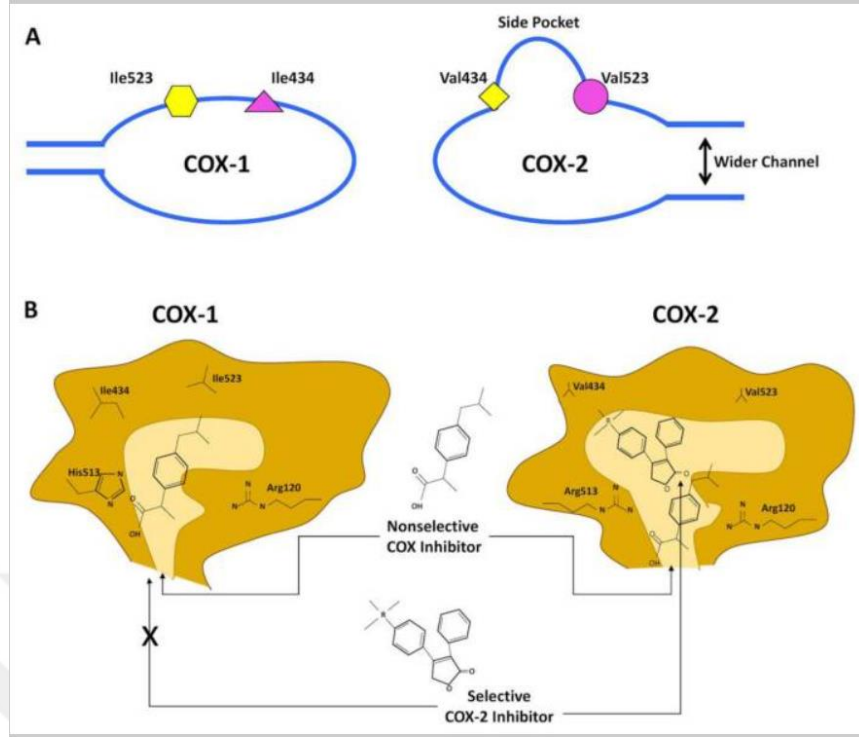
COX-1	COX-2	Organ/Sistem
Mukus ve bikarbonatın epitelden salgılanmasını ve mukozal kan akışını düzenleyen PG'leri üretir.	Endotel-lökosit yapışmasını ve epitel proliferasyonunu etkileyen PG'leri üretir.	Gastrointestinal (GI) sistem savunmasında
Böbrek hemodinamiğinin ve glomerüler filtrasyon hızının kontrolünde rol oynar.	İzoformu öncelikli olarak tuz ve su atılımında rol oynar ve damar içi hacme yanıt olarak düzenlenir.	Böbrek
Uterusta desidualizasyon (erken gebelikte hızla)	Yumurtlama, implantasyon ve desidualizasyon gibi dişi üreme	Üreme Sistemleri

genişleyen plasentayı barındırabilen dinamik bir doku olan desidua döndüren yoğun doku yeniden yapılanması süreci (Bortoletto vd., 2022)) ve/veya devam eden lokalize endometriyal vasküler geçirgenlikte rol oynar. Implamante etmede glandüler ve lüminal epitelde bulunur.	fonksiyonları, plasenta oluşumu için anjiyogeneze rol oynar. Implamantasyonda lüminal epitelde ve perivasküler hücrelerde bulunur.	
Trombositlerde ve çoğu dokuda vasküler homeostazda rol oynarken, trombositlerde tespit edilen tek izoformdur.	İskemik ön koşullandırma sırasında kalpteki ekspresyonu ve aktivitesi artar, bu da miyokard çarpıntısı ve enfarktüsüne karşı koruyucu etkiye rol oynar.	Kalp ve Trombositler
Kırık iyileşmesini etkilemediği düşünülmektedir.	Kırık iyileşmesini hızlandırdığı düşünülmektedir.	Kemik
Nöroenflamasyonda rol oynar (Ghazanfari vd.,2021).	Korteks ve hipokampusundeki nöronlarda bulunur. Bellek konsolidasyonu, sinaptik aktivite ve işlevsel hiperemi gibi temel beyin işlevlerine yardımcı olur.	Beyin
Vasküler endotel hücrelerinde ifade edilir ve tümör veya endometriyal büyüme, yara iyileşmesi ve inflamasyonda rol oynayan anjiyogeneze katkıda bulunurken etkisi nispeten küçüktür.	Tümör oluşumunda ve tümör büyümesinde önemlidir. Tümör hücrelerinde fazla görünümü, hücrelerin apoptozdan kaçmasına ve matriksi istila etmesine neden olur. Böbrek, rahim, bağırsak ve mesane kanseri dahil olmak üzere kanser öncesi lezyonlarda ve kanserde aşırı miktarda görülmektedir.	Kanser

Yukarıda belirtilenlere ek olarak nörodejeneratif bozukluklarda COX-2 enziminin aşırı ekspresyonunun görüldüğü ve bu izoformun beyin parenkimal amiloid plak oluşumunu artırarak Alzheimer hastalığına yol açtığı, dolayısıyla enzimin inhibisyonunun Alzheimer hastalığı riskini azalttığı bildirilmiştir.

1.3. Steroid Olmayan Anti-Enflamatuvar İlaçlar (NSAİİ)

NSAİİ, antipiretik, analjezik ve anti-inflamatuvar etki gösteren bir ilaç grubu olup, PG sentezi sırasındaki COX-1 ve COX-2 evresini inhibe ederek etkilerini gösterirler. 1970'lerin sonuna kadar yaygın olarak ağrı ve iltihap tedavisinde kullanılan aspirin (asetil salisilik asit) isimli ilacın, etki mekanizmasının siklooksijenaz enzimini inhibe ederek PG sentezini engellemek olduğu bilinmemekteydi. Dolayısıyla siklooksijenaz izoenzimlerinin keşfi, birbirinden farklı etkilerinin olduğunun bilinmesiyle, gastrointestinal toksisiteye neden olan COX-1 ve COX-2 seçici inhibitörlerinin geliştirilmesini sağlamıştır (Vishwakarma ve Negi, 2020).



Şekil 1. 7: Siklooksijenaz (COX-1 ve COX-2'nin) substrat bağlayıcı kanalları arasındaki yapısal farklılıkların şematik gösterimi (Faki ve Er, 2021)

Şekil 7'de görüldüğü üzere genel benzerlikler olmasına rağmen, COX-1 ve COX-2'nin aktif bölgelerinde amino asit yapısında ufak farklılıklar mevcuttur.

A: COX-1'de izolösün (Ile) yer alırken, COX-2'de valin görülmektedir. Bu değişim, COX-1'de bulunmayan COX-2'nin aktif bağlanma bölgesinin yan cebini (*side pocket*) meydana getirir. Ayrıca, COX-2'nin aktif bölge kanalı, COX-1'inkinden daha geniştir.

B: COX-1'deki hacimce daha büyük kalıntılar dar bir giriş kanalı oluştururken, bu durum seçici COX-2 inhibitörünün daha hacimli yan zincirlerinin buraya ulaşmasını engeller. COX-2'deki yan cep, seçici COX-2 inhibitörünün uygun şekilde bağlanmasını sağlar. Bu yapısal ufak farklılıklar sayesinde seçici inhibitör yapıları oluşturulabilmiştir. Buna ek olarak yapısal benzerlikler sayesinde seçici olmayan inhibitörler, iki enzim tipine de etki etmektedir (Faki ve Er, 2021).

Tablo 1. 3: Kimyasal yapılarına göre NSAİİ örnekleri

Grup Adı	İlaçlar
Salisilik asit türevleri	Asetilsalisilik asit (Aspirin) Sodyum salisilat Diflunisal Sulfasalazin Olsalazin
Para-aminofenol türevleri	Asetaminofen
İndol ve inden asetik asit	İndoemetazin Sulindak Etodolak
Heteroaril asetik asit	İbuprofen Flurbiprofen
Antranilik asit (Fenematlar)	Mefenamik asit Meklofenamik asit
Enolik asit türevleri (Oksikamlar)	Piroksikam Tenoksikam Meloksikam

1.3.1. Steroid Olmayan Anti-Enflamatuvar İlaçların Yan Etkileri

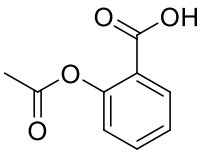
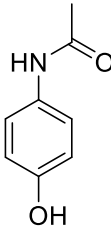
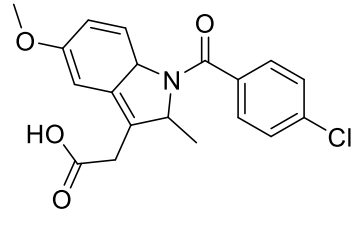
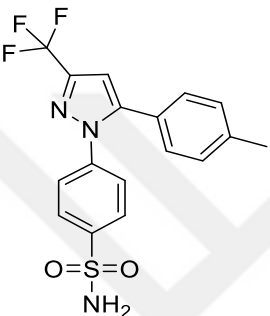
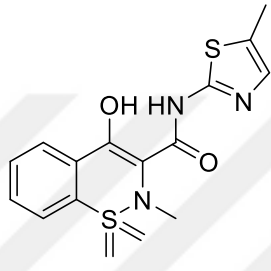
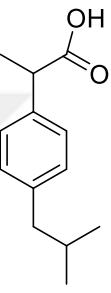
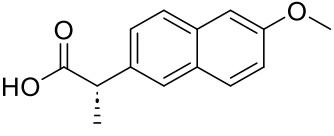
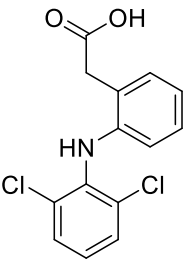
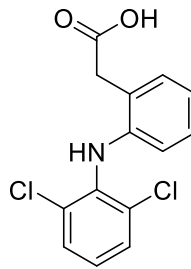
NSAİİ grubu ilaçlar uzun zamandır piyasada olmaları sebebiyle geniş popülasyonlara ulaşmış ve oluşan yan etkiler kayıt altına alınabilmektedir. Bu ilaç grubunda kullanıcılar özellikle GI sistem kanaması, kardiyovasküler ve renal yan etkiler gözlemlemişlerdir. İlaçların yan etkilerini incelerken reçeteli ve reçetesiz kullanımına göre, doza bağlı yan etkileri anlayabilmek için ayırım yapılması gereklidir.

İbuprofen, diklofenak ve naproksen yaygın kullanılan COX inhibitörleridir. Düşük dozda, baş ağrısı, diş ağrısı, sırt ağrısı, adet sancıları, soğuk algınlığı, kas ağrıları ve artrit gibi hafif ağrı ve sızıların kısa süreli (10 günden az) giderilmesinde kullanılabilir.

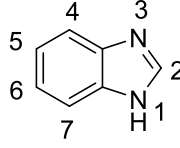
Ibuprofenin diklofenak, naproksen, piroksikam ve indometazene göre gastrointestinal kanama oluşumu açısından en düşük riske sahiptir. Her bir ilaç için yan etki olasılığının doz miktarı ile arttığı anlaşılmıştır. Aspirin harici diğer tüm NSAİİ'lerin, kalp damarı pıhtılaşma riski açısından olası bir artış ile bağlantılı olabileceği bildirilmektedir (Moore vd., 2015).

Tjenggal ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, özellikle ibuprofenin böbrek problemlerine, felç riski ve NSAİİ kullanımıyla şiddetlenen solunum yolu hastalığına (NSAİİ exacerbated respiratory disease, NERD) neden olduğu bildirilmiştir. Diklofenak ve loksoprofenin peptik ülser ve GI kanamasını; ketorolak kullanımının akut miyokardiyal enfarktüs riskini; asetamofenin ise NERD oluşum riskini arttıracak bildirilmiştir. Ibuprofen ve aspirinin ürtiker ve anjiyoödem gibi deride gözlenebilecek hipersensitivite reaksiyonlarına neden olabileceği düşünülmektedir (Tjenggal vd., 2021).

Tablo 1. 4: Bazı NSAİİ kimyasal yapı örnekleri

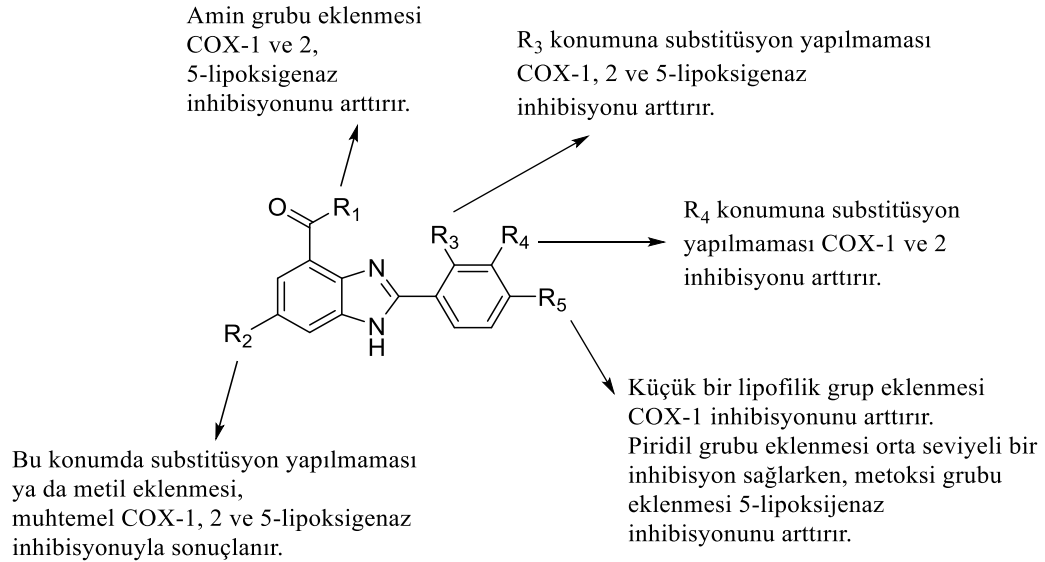
		
Aspirin- Asetil salisilik asit	Asetaminofen	İndometasin
		
Selekoksib	Meloksikam	İbuprofen
		
Naproksen	Diklofenak	Loksoprofen

1.4. Yapı Aktivite İlişkisi (SAR)



Şekil 1. 8: Benzimidazol yapısı

Yapılan bir başka çalışmada 1, 2, 5 ve 6 numaralı pozisyonlarda farklı gruplarla değiştirilirken 4 ve 7 numaralı yerleri değiştirilmemiş benzimidazol yapısının etkili ağrı kesici ve iltihap önleyici maddeler ürettiği belirlendiği saptanmıştır. TRPV-1 antagonisti olarak benzimidazolün 1 numaralı yeri değiştirilmeyip; sübstütientlerin , polihidroksi şekerlerden metil ya da fenilsülfonil gruplara; sikloalkanlardan alkil, elektronik ya da heterosiklik gruplara kadar farklı aril/heteroaril kısımlarla uygun şekilde birleştirilmiş olabileceği belirtilmiştir. Benzer şekilde, 2 numaralı konumda, alkil veya alkil, elektronik ya da heterosiklik gruplarla değiştirilmiş ve büyük lipofilik aril/heteroaril kısımlarıyla doldurulabileceği belirtilmiştir. Çekirdeğin 5 ya da 6 numaralı pozisyonu değişmeden kalabileceği veya halojenler, nitro, amino, metil, triflorometil, hidroksil, alkoksi, sülfonil, N-sülfonamid gibi fonksiyonel gruplarla değiştirileceği aril/heteroaril gruplar ile sübstütüsyon yapılabilceği tespit edilmiştir (Gaba vd., 2014).



Şekil 1. 9: 2- Fenil bağlanmış benzimidazol SAR'ları (Bukhari vd., 2016)

Bir dizi, 2-fenil bağlanmış benzimidazolun COX ve 5-lipoksijenaz inhibisyonu üzerine araştırmalar yapılmıştır. R₂, R₃ ve R₄ pozisyonlarındaki ikamesiz gruplar, hem COX-1 hem de COX-2 ile 5-lipoksijenaz inhibisyonu için daha fazla tercih edilmektedir; buna karşın R₁ pozisyonundaki amin grubunun, üç enzimin inhibisyonunu güçlendirdiği tespit edilmiştir. Bunun yanında R₅ pozisyonundaki lipofilik grubun COX-1 inhibisyonunu artırırken, hidrofilik grubun COX-2 inhibisyonuna katkıda bulunduğu ve metoksi ikamesi 5-lipoksijenaz inhibisyonunu desteklediği belirlenmiştir. R₂'de -CH₃, R₁'de -NH₂ ve R₃ ile R₄'te -H bulunduran bir bileşik, daha etkili bir COX-1 inhibisyonu sergilediği bildirilmiş ancak R₅ pozisyonunda nitril grubu içeren başka bir bileşik, hem COX-1 hem de COX-2 üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiği belirtilmiştir. R₅'te 2-aminopiridin-4-il taşıyan farklı bir bileşik ise daha etkili bir 5-lipoksijenaz inhibisyonu sergilediği bildirilmiştir. Genel olarak, yukarıda belirtilen pozisyonlardaki önerilen grupların yer değiştirilmesi, güçlü COX-1 ve COX-2 ile 5-lipoksijenaz inhibisyonunu desteklediği belirtilmiştir (Bukhari vd., 2016).

Küçükbaş ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada benzimidazol halkası pürin-bazlı nükleik asitlerin izomeri olup, benzen ve imidazolün kaynaşması ile oluşan antimikrobiyal, antikanser, antiproliferatif ve antitümör etkilere sahip heterosiklik yapı olduğu belirtilmiştir. 1-substitüe benzimidazol tuzlarının ve kobalt, çinko gibi metal komplekslerinin antikanser etkisi bildirilmiştir. Nitrojen, sülfür ve oksijen gibi heteroatom içeren heterosiklik bileşiklerin DNA ile güçlü H bağları kurabildiği, bu sayede antikanser özelliklerini gösterebildiği belirtilmiştir (Küçükbaş vd., 2021).

SAR incelemelerinde, benzimidazol yapısının N1, C2, C5 ve C6 pozisyonlarındaki değişikliklerin anti-enflamatuvar etkinliği önemli ölçüde etkilediği ortaya koymuştur. Örneğin C2 pozisyonunda anakardik asit ile değiştirilen benzimidazol, COX-2'yi inhibe ederken; 5-karboksamid, sülfamoil veya sülfonil benzimidazol kanabinoid reseptörünün etkileşimini engellediği; buna karşılık benzimidazol yapısındaki C2 diarilamin ve C3 karboksamid yerleştirilmeleri bradikinin reseptörünün inhibe olmasına yol açtığı belirlenmiştir. Benzimidazollerin, anti-enflamatuvar özelliklerini temel olarak geçici reseptör potansiyelli vanilloid-1, kanabinoid, bradikinin reseptörleri, belirli sitokinler ve 5-lipoksijenaz aktive edici protein veya siklooksijenaz (COX) ile etkileşimde bulunarak sağladıkları tespit edilmiştir (Veerasamy vd., 2021).

Bu tez çalışmasının amacı, 2 ve/veya 5- substitüe benzimidazol halkasından elde edilen türevlerin antienflamatuvar özelliklerini aydınlatabilmek, COX enzimlerine olası inhibisyon etkileri araştırabilmek; bileşiklerin moleküler yerleştirme programları ve ilaç benzerlik çalışmalarını yaparken elde edilen teorik bilginin, laboratuvar ortamında elde edilecek biyolojik aktivite analiz sonuçları ile uyumunu tespit edebilmektir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentezi, Saflaştırma İşlemleri ve Yapı Analizlerinde Kullanılan Gereçler

2.1.1.1. Sentez İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Malzemeler

1,4-Dikloro-2 nitrobenzen (Sigma Aldrich), 2,4-dikloro benzaldehit (Sigma Aldrich), 2,5-difloro benzaldehit (Sigma Aldrich), 4-bromo benzaldehit (Sigma Aldrich), 2-floro benzaldehit (Sigma Aldrich) Kalay (II) klorür (Sigma Aldrich), kons. Hidroklorik asit (%37) (Merck), anhidroz potasyum karbonat (Across Organics), sodyum bisülfid (Sigma Aldrich), izopropilamin (Sigma Aldrich), potasyum hidroksit (Riedel deHaen), N,N-dimetil formamid (DMF) (Tekkim), (DMSO) (Carlo Erba), absolüt etanol (Riedel deHaen), metanol (Merck), etil asetat (Carlo Erba), *n*-hekzan (Isolab), kloroform (Carlo Erba), Pd/C (Sigma Aldrich), aseton (Sigma Aldrich).

2.1.1.2. Kromatografik Analizler

Sentez çalışmaları esnasında reaksiyon ortamlarındaki gelişmeyi izlemek, izole edilen ürünlerin saflık derecelerini tespit edebilmek amacıyla İnce Tabaka Kromatografisinden (İTK) faydalanılmıştır. Pratikte kullanılan Alüminyum plaklar Kieselgel-60 GF254 (Merck) olmaktadır. Lekelerin tespitinde 254 nm ve 366 nm dalga boyundaki UV (Camag UV Lambası) ışığından yararlanılmıştır. İTK'de kullanılan çözücü sistemleri 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 2:1, 3:1, 4:1 ve 5:1 oranlarında etil asetat: *n*-hekzan ve sadece *n*-hekzandır. Elde edilen tüm bileşikler kolon kromatografisi yapılarak saflaştırılmıştır. Partikül boyutu 60, 0,040 0,060 nm (230-400 mesh) olan silika jel (Merck) kullanılmıştır. Kullanılan kolonun çapı 4 cm ve kullanılan silika jel miktarı 40-50 g arasındadır. Elde edilen bileşikler az miktarda mobil fazda (5-6 ml) çözündürüldükten sonra kolona tatbik edilmiştir. Kolon kromatografisinde mobil faz olarak kullanılan çözücünün türü ve bileşimi yöntemler bölümünde belirlenmiştir.

2.1.1.3. Erime Noktası Belirleme

Buchi B-540 cihazı ile erime noktası tayinleri yapılan bileşiklerin sonuçları düzeltilme yapılmadan paylaşılmıştır.

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

NMR Spektrumları, Varian Mercury (AGILENT) 400 MHz and BRUKER AVANCE NEO 500 MHz FT spektrometresinde gerçekleştirilmiştir. İç standart madde olarak tetrametilsilan (TMS), çözücü olarak DMSO-d₆ ve kloroform kullanılmıştır. Analizler Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

2.1.1.5. Kütle Spektrumları (MS)

Sentezlenen bileşiklerin molekül ağırlıklarını tayin etmek/doğrulamak ve saflıklarını kontrol edebilmek amacıyla, Waters 2695 Alliance Micromass ZQ marka LC-MS spektrometresinde Elektro Sprey İyonizasyon (ESI) (+) yöntemi ile kütle analizleri Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

2.1.1.6. Parr Hidrojenasyon Cihazı (3911)

Sentezlenen bileşiklerin redükleme işlemini manuel olarak ayarlanabilir basınç altında ortama H₂ gazı salınımı yaparak sağlamaktadır. Makinenin parçalarından olan 500 ml hacimli cam şişenin içine solvanda çözülen madde koyulur, cihaza dahil bir mandal aracılığıyla camın sallanmasını sağlarken, ortama salınan H₂ gazı ile indirgeme işlemi gerçekleştirir.

2.1.2. Elde Edilen Bileşiklerin Antienflamatuvar Etki Tayininde Kullanılan Gereçler

Siklooksijenaz (COX) inhibitör aktivitesinin belirlenmesinde Cayman Chemical COX Colorimetric Inhibitor Screening Assay Kit (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, ABD) kullanıldı. Kit; saflaştırılmış COX enzimi, araşidonik asit substratı, hemin, N,N,N',N'-tetrametil-p-fenilendiamin (TMPD), reaksiyon tamponları ve referans inhibitör içermektedir. Test edilen bileşikler deneylerde kullanılmadan önce DMSO da hazırlanmıştır.

2.1.3. Moleküler Yerleştirme (*Docking*) Çalışmaları

2.1.3.1. Ligandı ve Hedef Molekülü Hazırlayarak Molekül Yerleştirme

Bileşiklerin kimyasal yapısı ChemDraw programının 22.2.0 sürümü ile çizilmiş olup, 3D yapıyı Open Babel uygulamasının mol2 formatında oluşturulmuştur (O'Boyle vd., 2011). Ligand hazırlandıktan sonra Cresset Flare programı ile hesaplamalar yapılarak optimizasyon sağlanmıştır. Hedef bileşiğin 3D yapısı, RCSB protein veri bankasından alınmıştır. Çeşitli makaleler incelenerek uygun rezolüsyon ve validasyon sonuçlarına sahip yapı kullanılmış, Cresset Flare yazılımında hazırlandıktan sonra, mol2 formatındaki bileşikler, pdb formatındaki hedeflerle yazılıma yüklenmiştir. Grid kutusu eş kristalize liganda göre tanımlanarak, *docking* yapılan bileşiklerin 2D ve 3D yapıları yazılımdan alınmıştır (Cheeseright vd., 2006).

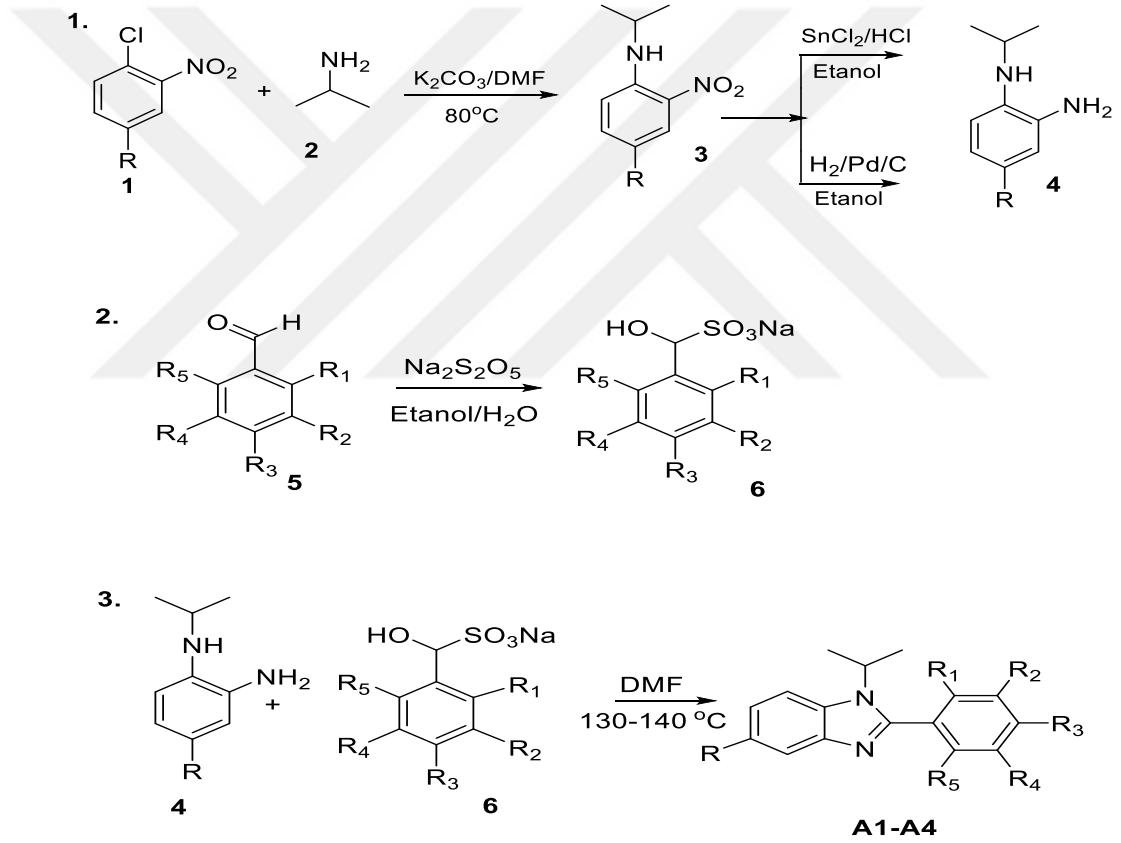
2.1.4. İlaç Benzerlik Çalışmaları

Sonuç bileşikler, SwissADME programı kullanılarak ADME özelliklerinin tahmini ve çeşitli parametrelerinin (hidrojen bağı donörü, hidrojen bağı alıcısı, topolojik polar yüzey alanı, döndürülebilir bağı sayısı, vb) değerleri hesaplanmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. A1-A4 Bileşiklerinin Sentezi

Sentezlenen A1-A4 bileşiklerinin sentez yolları ve elde edilen bileşiklere ulaşmak için gereken ara bileşikler Şekil 2.1’de gösterilmektedir.



Şekil 2. 1: A1-A4 Maddelerinin Sentezi

Tablo 2. 1: A1-A4 maddelerinin süstitüenlerinin gösterimi

BİLEŞİK	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
A1	H	Cl	H	Cl	H	H
A2	Cl	F	H	H	F	H
A3	Cl	H	H	Br	H	H
A4	H	F	H	H	H	H

2.2.1.1. Ara ürünlerin Sentezi

2.2.1.1.1. 4-Kloro-2-nitro-*N*-izo-propil-anilin (3) Sentezi

4-Kloro-2-nitro-*N*-izo-propil-anilin **3** molekülünü elde edebilmek için, 1,4-dikloro-2-nitrobenzen (1 mmol) **1**, 20 ml DMF içinde çözülür ve 1 mmol *izo*-propilamin **2** ile 1 mmol anhidr K₂CO₃ eklenir ve karışım 80 °C'de 6 saat refluks edilir, ardından reaksiyon ortamı soğutulur ve soğuk suya dökülür. Çökelti süzülür ve kurutulur. Etanolden kristallendirilerek saflaştırılır.

2.2.1.1.2. 4-Kloro-*N*1-izopropilbenzen-1,2-diamin (4) Sentezi

1 mmol 4-Kloro-2-nitro-*N*-izo-propil-anilin **3** etanolde çözülür, SnCl₂/HCl'li ortamda indirgenir ve oda sıcaklığında 30 dakika karıştırılır. Ortam %10 KOH ile nötralize edilir, etanolün buharlaştırılmasından sonra ürün etil asetat ile ekstraksiyon yapılarak saflaştırılır. Etil asetat indirgenmiş basınçta buharlaştırılarak 4-kloro-*N*1-izopropilbenzen-1,2-diamin (**4**) elde edilir (Kus vd., 2001). **A3** bileşiğinde redüksiyon bu yöntemle yapılmıştır.

Bir diğer yöntem olarak, 4-kloro-*N*1-izopropilbenzen-1,2-diamin **4** bileşiği, 1 mmol 4-kloro-2-nitro-*N*-izo-propil-anilin **3** etanolde çözülmesi üzerine, 1 spatül Pd/C eklenerek hazırlanan çözeltinin, 40 psi basınçta H₂ (g) salınımı yapan Parr Hidrojenasyon Cihazına konularak 20-30 dakika beklenmesi sonucu da elde edilebilmiştir. **A1**, **A2** ve **A4** bileşiklerinde redüksiyon cihazı kullanılarak yapılmıştır.

2.2.1.1.3. Süstitüe Benzaldehitlerin Sodyum Metabisülfite Tuzları (6)

Benzimidazol halkasının siklizasyonunu sağlayan ve başlangıç maddesi olarak kullanılan ilgili benzaldehit türevleri **5** (1mmol), 20 mL etanolde çözülür. 0,01 mol Sodyum bisülfite 10 mL suda çözülür ve soğutulan etanol çözeltisinin üzerine porsiyonlar halinde ve iyice karıştırarak ilave edilir. Oluşan çökelti süzülür ve kurutulur, böylece ilgili süstitüe benzaldehitlerin sodyum metabisülfite tuzları **6** elde edilir (Kus vd., 2003).

2.2.1.2. A1- A4 Bileşiklerinin Sentezi

Elde edilen, 4-kloro-*N*1-izopropilbenzen-1,2-diamin **4** ve uygun benzaldehit'in sodyum metabisülfite tuzu **6** ile DMF içinde 135-140 °C'de 12 saat refluks edilir. Reaksiyon İTK ile

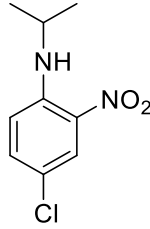
kontrol edilir ve reaksiyon sonlandırılır. Reaksiyon ortamı soğutulur ve soğuk suya dökülür, oluşan çökelti süzülür ve kurutulur. Temiz, **A1-A4** bileşiklerini elde edebilmek için uygun solvan sistemleri kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmaları ve etanol kristalizasyonu gerekmektedir (Karataş vd., 2012; Özden vd., 2005; Ridley vd., 1965).



3. BULGULAR

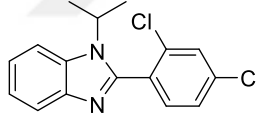
3.1. Sentezlenen Sonuç Bileşiklerin Kimyasal Özellikleri

3.1.1. 4-kloro-*N*-izopropil-2-nitroanilin (3)

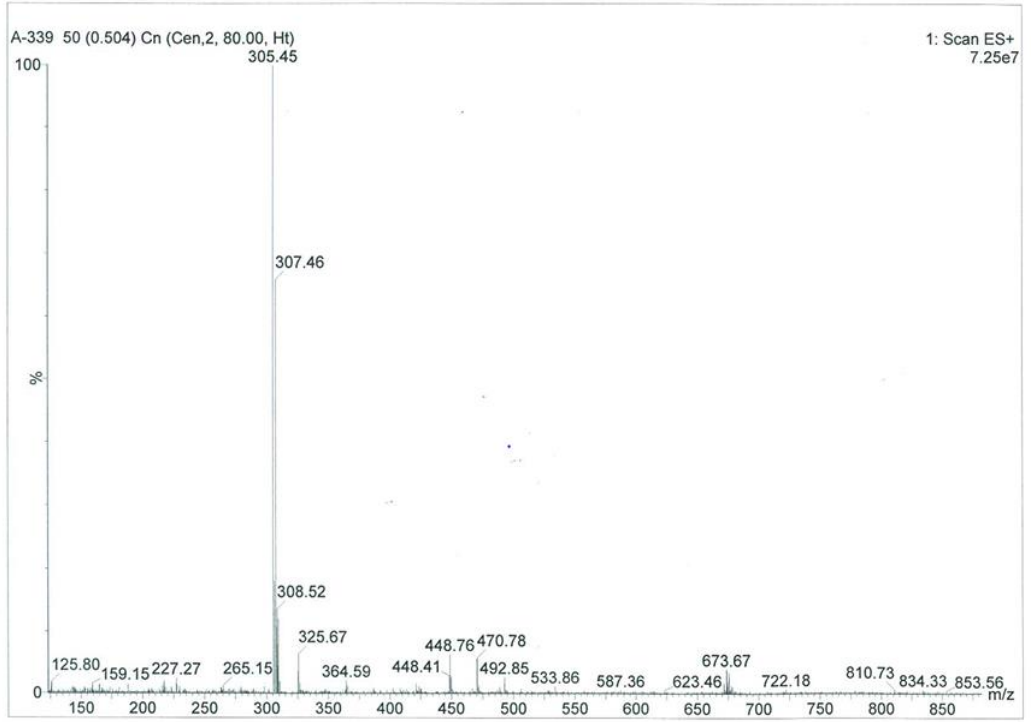


Verim	: %98
Fiziksel Özellikler	: Turuncu renkli kristal
Erime Noktası	: 60-65 °C (Magar vd., 2017)
Saflaştırma Yöntemi	: Etanol ile kristalizasyon
Moleküler Formül	: C ₉ H ₁₁ ClN ₂ O ₂
Molekül Ağırlığı	: 214,65 g/mol

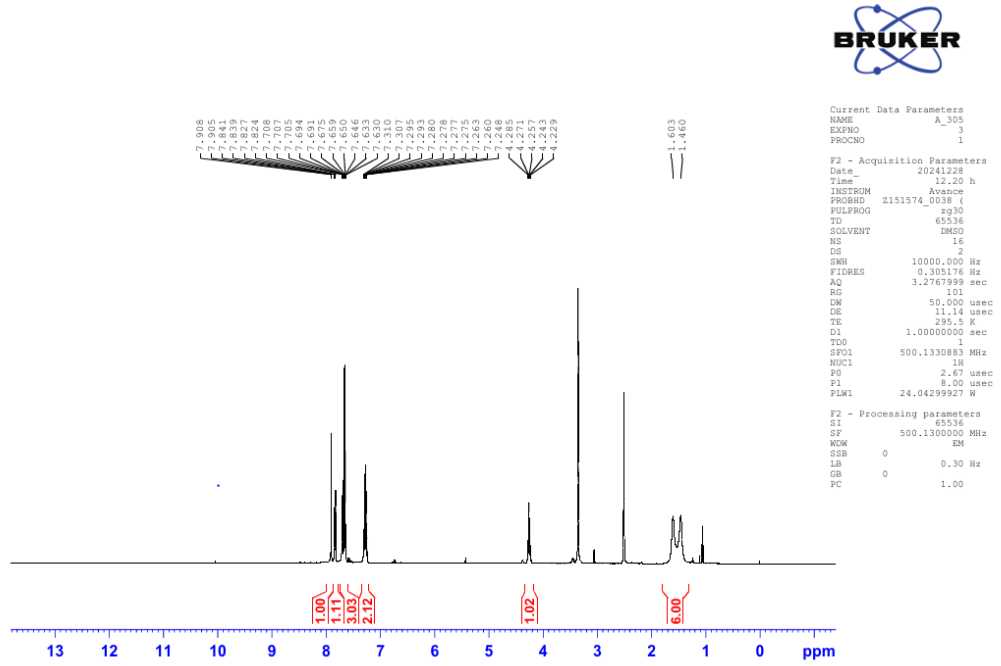
3.1.2. 2-(2,4-diklorofenil)-1-izopropil-1H-benzo[d]imidazol (A1)



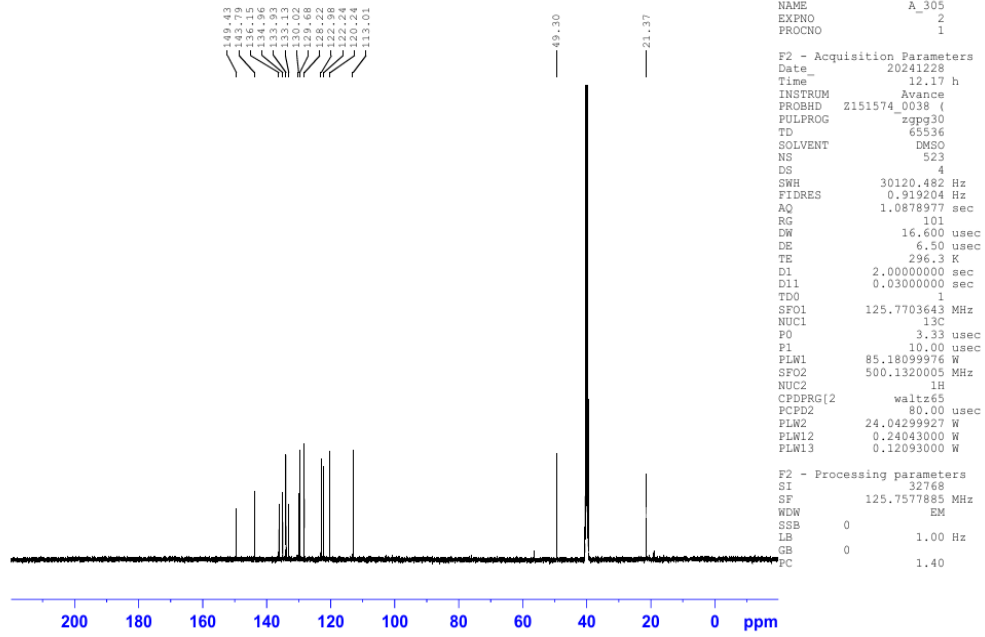
Verim	: %15
Fiziksel Özellikler	: Krem rengi kristal
Erime Noktası	: 139 -141 °C
Saflaştırma Yöntemi	:Kolon kromatografisi; <i>n</i> -hekzan: etil asetat (5:1) ve etanol ile kristalizasyon
Moleküler Formül	: C ₁₆ H ₁₄ Cl ₂ N ₂
Molekül Ağırlığı	: 305,20 g/mol
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z:	: 305 (M ⁺ , %100), 307 ([M+2] ⁺ , %70), 309 ([M+4] ⁺ , %17)
¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆)	: δ ppm 1,40 (s, 3H, alif-CH ₃); 1,60 (s, 3H, alif-CH ₃), 4,23-4,28 (m, 1H, -CH-), 7,25-7,31 (m, 2H, ArH-5,6), 7,64 (dd, 1H, J _o =8,2, J _m =1,9, ArH-5'), 7,67 (d, 1H, J _o =8,1, ArH-6'), 7,70 (dd, 1H, J _o =7,0, J _m =1,3, ArH-4), 7,83 (dd, 1H, J _o =7,0, J _m =1,4, ArH-7), 7,91 (ds, 1H, J _m =1,75, ArH-3)
¹³ C NMR (125 MHz, DMSO-d ₆)	: δ ppm 21,37; 49,30; 113,01; 120,24; 122,24; 122,98; 128,22; 12968; 130,02; 133,13; 133,93; 134,96; 136,15; 143,79; 149,43



Şekil 3. 1: A1 bileşiğinin kütle spektrumu

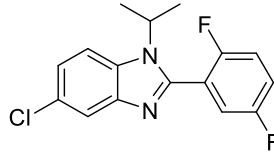


Şekil 3. 2: A1 Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 3. 3: A1 Bileşiğinin ¹³C- NMR Spektrumu

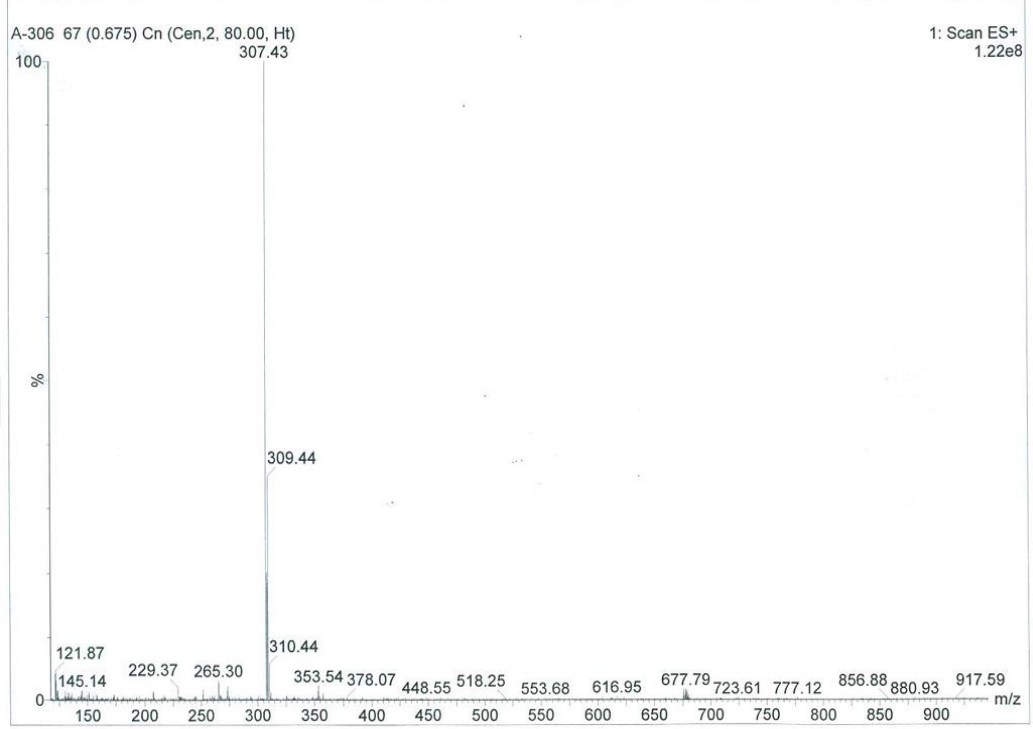
3.1.3.5-Kloro-2-(2,5-diflorofenil)-1-izopropil-1H-benzo[d]imidazol (A2)



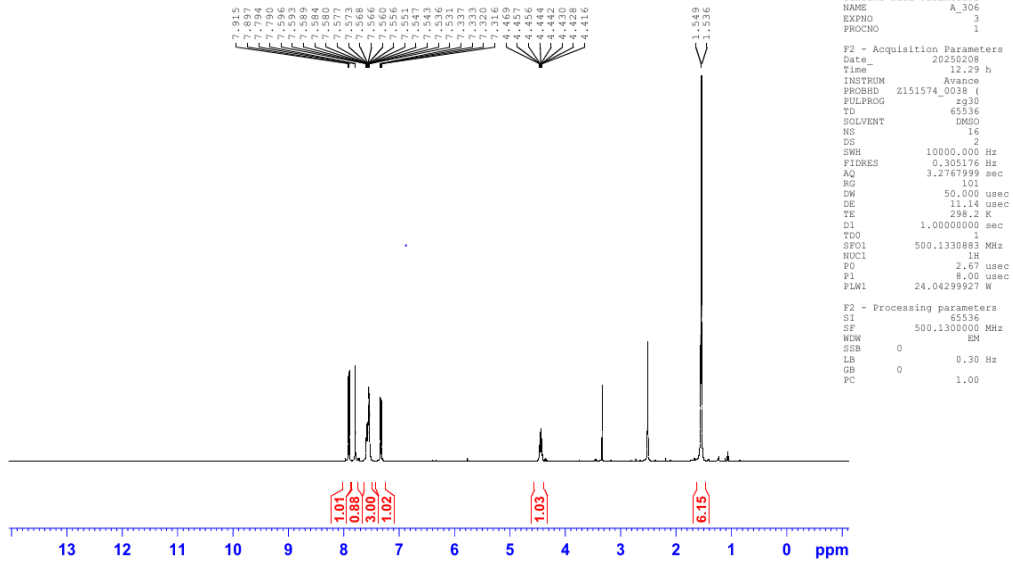
Verim	: %15
Fiziksel Özellikler	: Krem rengi kristal
Erime Noktası	: 118-120 °C
Saflaştırma Yöntemi	: Kolon kromatografisi; <i>n</i> -hekzan: etil asetat (3:1) ve etanol ile kristalizasyon
Moleküler Formül	: C ₁₆ H ₁₃ ClF ₂ N ₂
Molekül Ağırlığı	: 306,74 g/mol
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z	: 307 [M+] ⁺ , %100, 309 ([M+2] ⁺ , %32

¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆)	: δ ppm 1,54 (d, 6H, J=6,9, alif-CH ₃), 4,42 - 4,47 (m, 1H, alif-CH-), 7,35 (dd, 1H, j _o =8,78, J _m = 2,0, Ar-H6), 7,53-7,60 (m, 3H, Ar-H 3',4',6'), 7,80 (ds, 1H, J _m =2,0, Ar-H4), 7,90 (d, 1H, J _o = 8,75, Ar-H7)
--	--

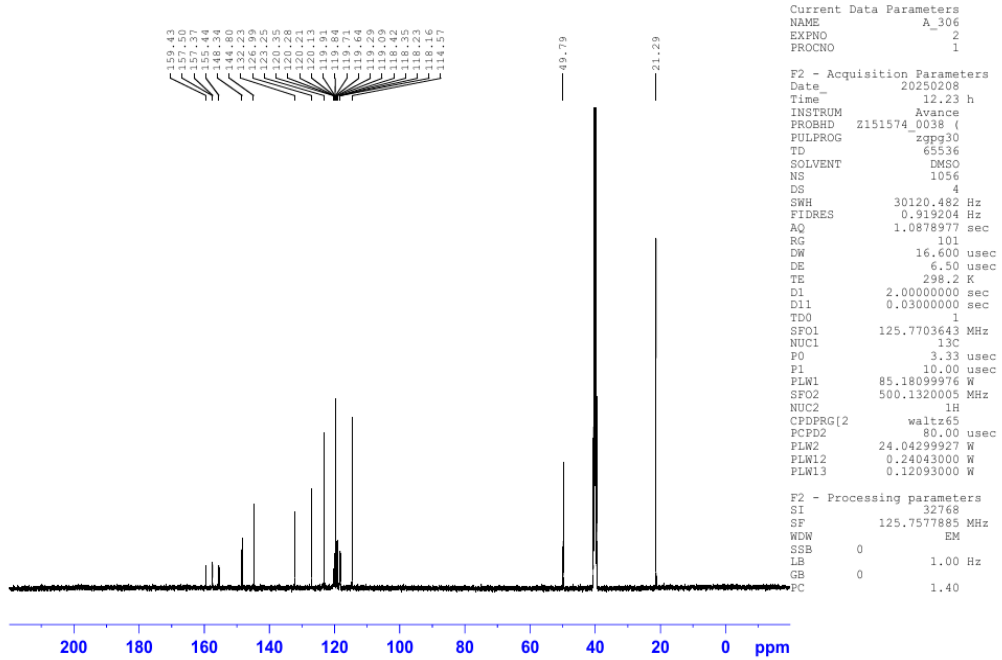
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm 21,29; 49,79; 114,57; 118,19; 118,39; 119,19;
119,77; 120,24; 123,25; 126,99; 132,23; 144,80;
148,34; 155,44; 157,44; 159,43



Şekil 3. 4: A2 Bileşiğinin Kütle Spektrumu

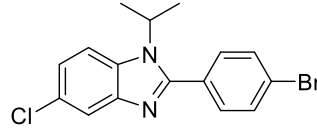


Şekil 3. 5: A2 Bileşiminin ^1H -NMR Spektrumu

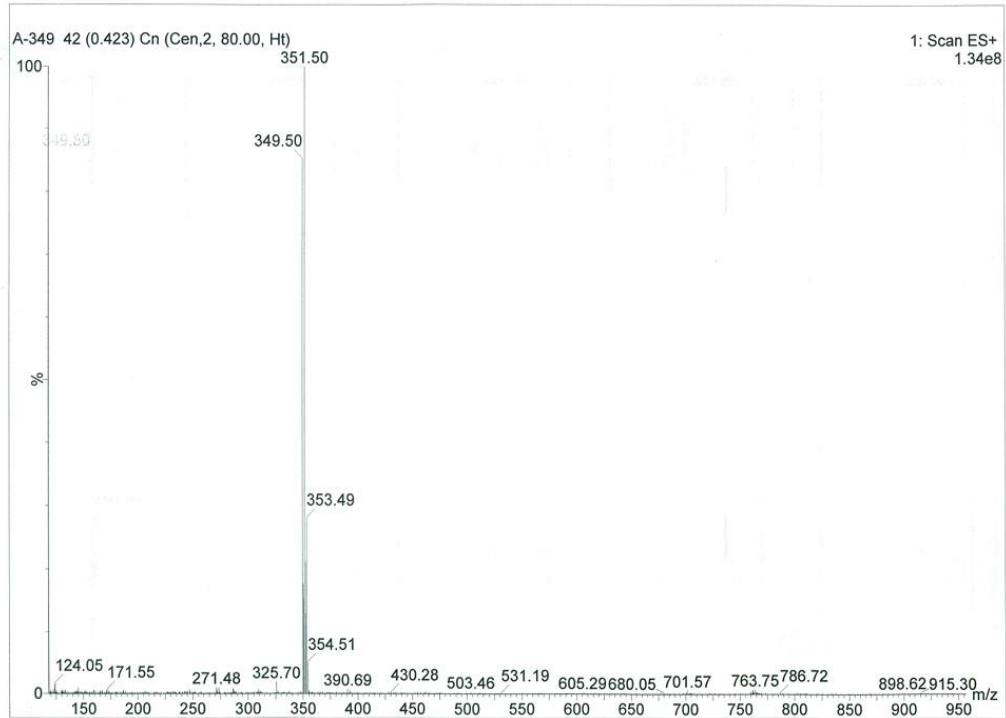


Şekil 3. 6: A2 Bileşiminin ^{13}C -NMR Spektrumu

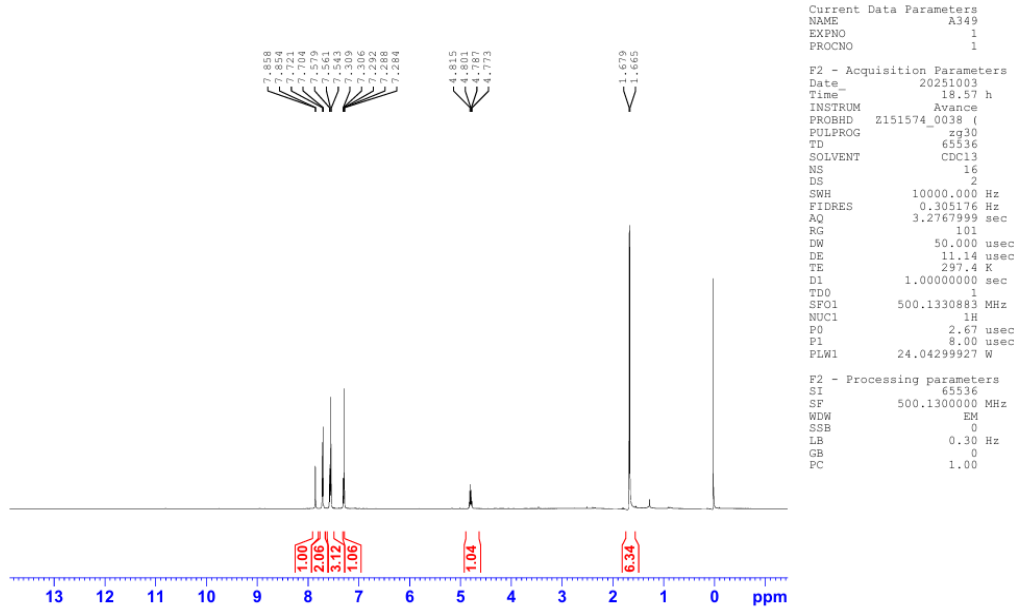
3.1.4. 2-(4-Bromofenil)-5-kloro-1-izopropil-1H-benzo[d]imidazol (A3)



Verim	: %2,5
Fiziksel Özellikler	: Krem- açık sarı kristal
Erime Noktası	: 115,5-117,0 °C
Saflaştırma Yöntemi	: Kolon kromatografisi; n-hekzan: etil asetat (5:1) ve etanol ile kristalizasyon
Moleküler Formül	: C ₁₆ H ₁₄ BrClN ₂
Molekül Ağırlığı	: 349,66 g/mol
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z	: 349 [M ⁺], %85, 351 [M+2] ⁺ , %100, 353 [M+4] ⁺ , %27
¹H NMR (500 MHz, Kloroform)	: δ ppm 1,67 (ds, 6H, J= 7, alif-CH ₃); 4,77-4,81 (m, 1H, alif-CH-); 7,3 (dd, 1H, J _m =1,95, J _o =8,75, Ar-H6); 7,48- 7,58 (m, 3H, Ar-H); 7,72 (d, 2H, J _o =8,4, Ar-H); 7,85 (d, 1H, J _m =1,8, Ar-H4)

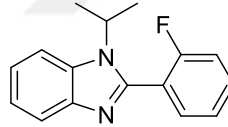


Şekil 3. 7: A3 Bileşiğinin Kütle Spektrumu

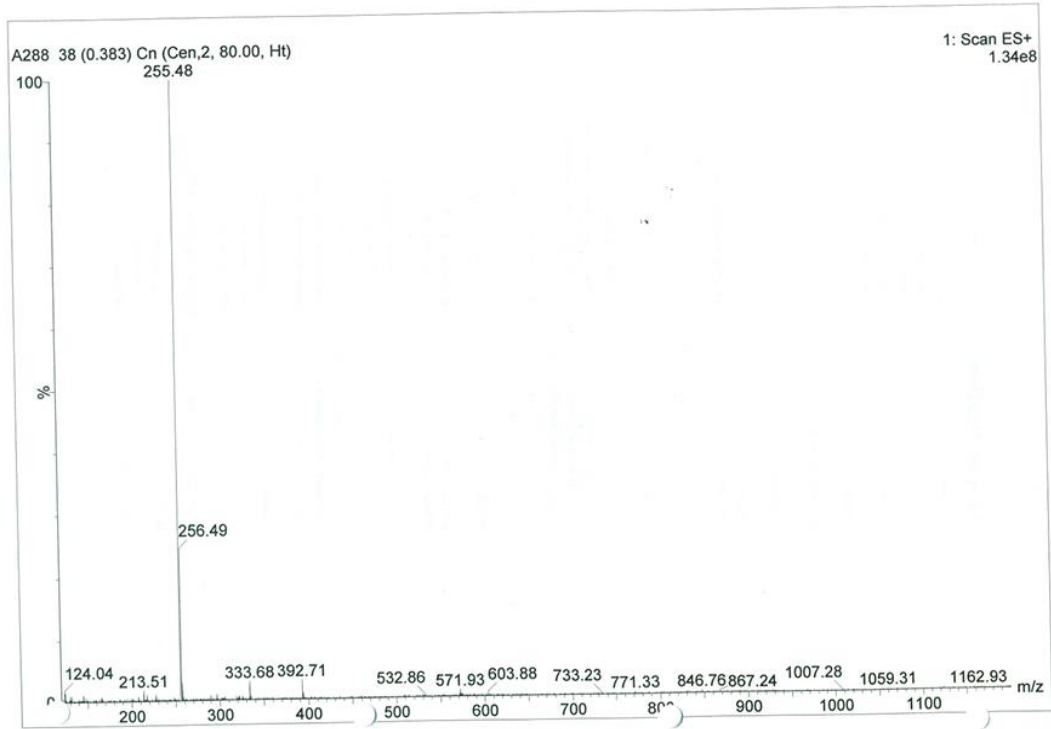


Şekil 3. 8: A3 Bileşiğinin 1H-NMR Spektrumu

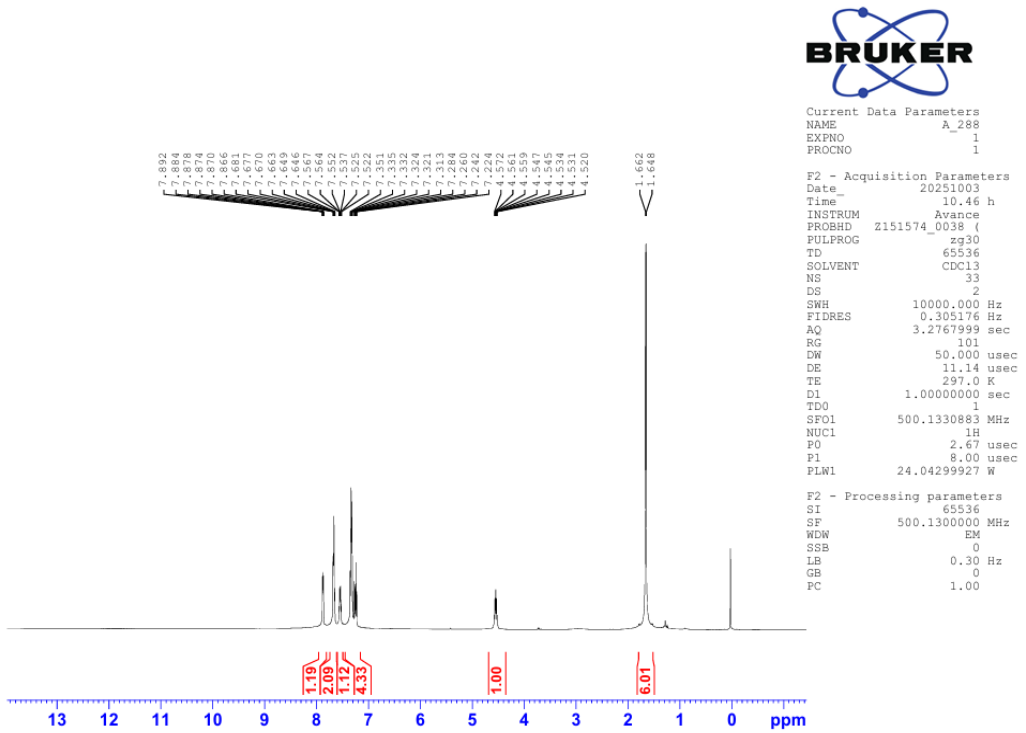
3.1.5. 2-(2-Florofenil)-1-izopropil-1H-benzo[d]imidazol (A4)



Verim	: % 2,5
Fiziksel Özellikler	: Beyaz renkli kristal
Erime Noktası	: 114-116 °C
Saflaştırma Yöntemi	: Kolon kromatografisi; <i>n</i> -hekzan: etil asetat (3:1) ve etanol ile kristalizasyon
Moleküler Formül	: C ₁₆ H ₁₅ FN ₂
Molekül Ağırlığı	: 254,31 g/mol
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z	: 255 [M+1] ⁺ , %100
1H NMR (500 MHz, kloroform)	: δ ppm 1,65 (ds, 6H, J:7, alif -CH ₃); 4,52- 4,57 (m, 1H, alif -CH-); 7,2-7,4 (m, 4H, Ar-H 3', 4', 5', 6'); 7,54 (m, 1H, Ar-H); 7,65-7,68 (m, 2H, ArH); 7,87-7,89 (m, 1H, Ar-H)



Şekil 3. 9: A4 Bileşiğinin Kütle Spektrumu



3.2. Sentezlenen Sonuç Ürünlerin Biyolojik Aktiviteleri

Siklooksijenaz (COX) inhibitör aktivitesi, Cayman Chemical tarafından sağlanan COX Colorimetric Inhibitor Screening Assay Kit kullanılarak belirlendi. Yöntem, COX enziminin araşidonik asidi prostaglandin G₂/H₂'ye dönüştürmesi sırasında ortaya çıkan peroksidaz aktivitesinin, N,N,N',N'-tetrametil-p-fenilendiamin (TMPD) oksidasyonu yoluyla spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanmaktadır.

Deneyler 96 kuyucuklu mikropalakalarda gerçekleştirildi. Reaksiyon kuyucuklarına sırasıyla reaksiyon tamponu, hemin ve COX enzimi eklendi. Test bileşikleri, ön deneme sonuçlarına göre belirlenen konsantrasyon aralıklarında çalışıldı ve ilgili kuyucuklara ilave edilerek karışım, oda sıcaklığında belirli bir süre ön inkübasyona bırakıldı. Enzim kontrolü (inhibitör içermeyen), blank (enzim içermeyen) ve pozitif kontrol grupları da deney setine dahil edildi. Reaksiyon, araşidonik asit ve TMPD eklenmesiyle başlatıldı. Tüm pipetleme işlemleri hızlı ve eş zamanlı olacak şekilde gerçekleştirildi. Reaksiyon sonucunda oluşan renk değişimi, mikropalaka okuyucuda 590 nm dalga boyunda ölçüldü. Arka plan absorbansı, blank kuyucuklar kullanılarak düzeltildi.

COX enzimleri, araşidonik asidi prostaglandin G₂ ve H₂'ye dönüştüren bifonksiyonel enzimlerdir. Bu reaksiyon sırasında ortaya çıkan peroksidaz aktivitesi, TMPD'nin oksidasyonu ile sonuçlanır ve mavi renkli bir ürün oluşur. Oluşan renk yoğunluğu, COX enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır. Test bileşiklerinin inhibitör etkisi, TMPD oksidasyonundaki azalma üzerinden kolorimetrik olarak değerlendirilmiştir.

COX İnhibisyonunun Hesaplanması

COX inhibitör aktivitesi, aşağıdaki formül kullanılarak yüzde inhibisyon olarak hesaplandı:

$$\%İnhibisyon = [(1 - A_{numune} - A_{blank}) / (A_{kontrol} - A_{blank})] \times 100$$

Tablo 3. 1: COX-1 ve COX-2 İnhibitörü Olarak Test Edilen A1-A4 Maddelerinin İn Vitro İnhibisyon Etkileri

Numune	COX1 % İnhibisyon		COX2 % İnhibisyon	
	(10 ⁻⁴ M)	(10 ⁻⁵ M)	(10 ⁻⁴ M)	(10 ⁻⁵ M)
A1	86±2	-	68±3	37±3
A2	100±3	22±2	100±2	53±4
A3	-	-	22±4	-
A4	-	-	100±2	52±2
İndometazin	65±2		-	-
Selokoksib			100±2	

Tablo 3.1'de belirtilen veriler dikkate alındığında **A4** bileşiğinin COX-1 inhibisyonu yapmazken, değerlendirmesi yapılan 2 konsantrasyonda COX-2 inhibisyonu yaptığı görülmüştür. **A2** maddesinin 10^{-4} M konsantrasyonda hem COX-1 hem de COX-2 enzim aktivitelerini %100 oranında inhibe ettiği görülmüştür. **A1** maddesi 10^{-4} M konsantrasyonda COX-1 inhibisyonu yaparken, COX-2 analizine ait her konsantrasyonda ortalama bir değer elde etmiştir. Son olarak **A3** maddesi konsantrasyonlarda COX-1 inhibisyonu yapamamış; COX-2 inhibisyonu için düşük bir değer elde etmiştir.

3.3. Moleküler Yerleştirme Çalışmaları

Moleküler yerleştirme çalışması, Cresset Flare yazılımı kullanılarak COX-1 (PDB: 3N8Z), COX-2 (PDB: 5IKQ) enzimlerine karşı yapıldı ve çıkan skorlar Tablo 3.1'de gösterildi.

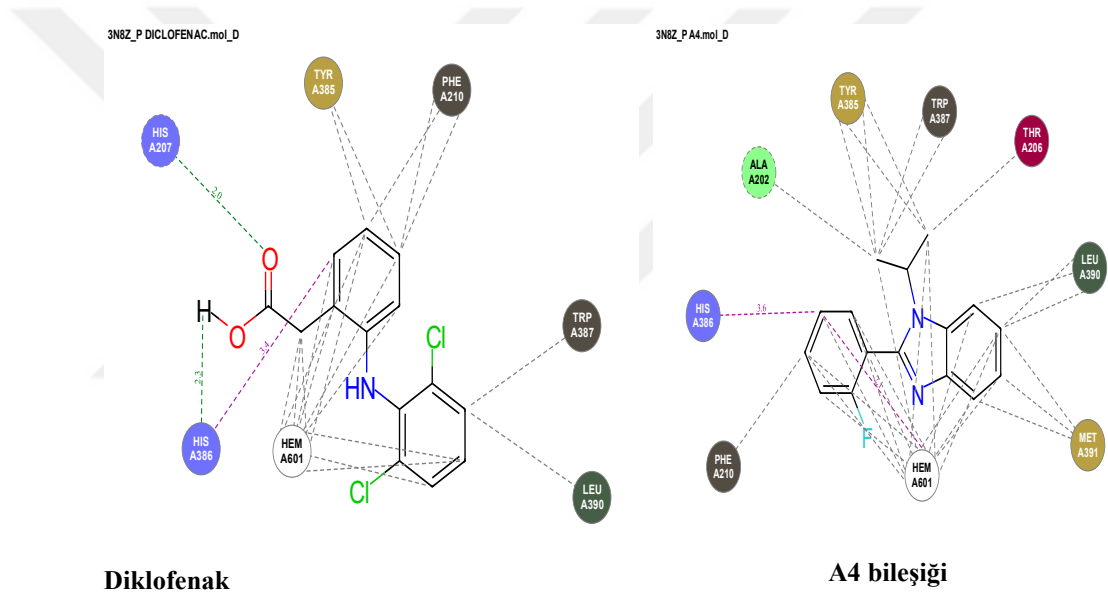
Sentezlenen **A4** bileşiğinin yerleştirme sonuçları incelendiğinde COX-1 ve COX-2 enzimlerine daha düşük bağlanma skorları ile bağlandığı ve daha kararlı bir yapıda olduğu görülmüştür. **A4** bileşiğinin COX-1 enzimine, aspirin ve indometazinden daha kararlı şekilde bağlanabildiği belirlenmiştir. **A2** bileşiğinin ise yine COX-1'e indometazine yakın, aspirinden kararlı bir skorla bağlandığı görülmüştür.

Buna ek olarak COX-2 enzimine karşı tutumları incelendiğinde; **A4** bileşiği (-)9,24 kcal/mol skorla kararlı bir yapıda olduğu, indometazine ve aspirine kıyasla daha kararlı görüldüğü tespit edilmiştir. Benzer bir durum **A2** bileşiğinde geçerli olduğu, indometazin ile aynı skoru (-8,72 kcal/mol), aspirinden ise daha kararlı bir skor elde ettiği belirlenmiştir.

Tablo 3. 2: Moleküler yerleştirme çalışmaları yapılan bileşiklerin COX-1 ve COX-2'ye karşı konumları

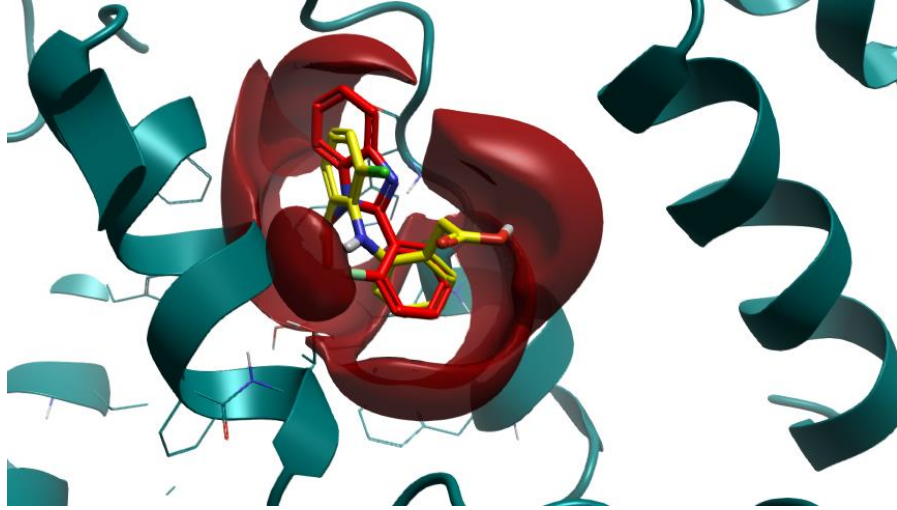
Bileşik Kodu	Yerleştirme Kodu (kcal/mol)	
	COX-1 (3N8Z)	COX-2 (5IKQ)
A FLP 701	-11,31	-
A JMS 602	-	-9,59
Diklofenak	-9,59	-9,85
Selekoksib	-8,39	-10,86
Aspirin	-6,82	-6,44
İndometazin	-8,98	-8,72
A1	-5,87	-5,80
A2	-8,78	-8,72
A3	-5,88	-5,59
A4	-9,08	-9,24

COX enziminde yer alan aktif bölgeye giriş (ASC), ASC'nin derin kısmında bulunan COX-2'nin hidrofobik "cebi" ile çevrelenmiştir; bu cep arginin (Arg)120, glutamik asit (Glu)524 ve tirozin (Tyr)355 amino asit kalıntılarından oluşmaktadır. COX-1 ile karşılaştırıldığında, izolösün (Ile)523, izolösün (Ile)434, L-fenilalanin (Phe)503 ve histidin (His)513 amino asitlerine sahip olan COX-1 daha dar bir bağlanma alanına sahipken, COX-2'nin valin (Val)523, Val434, lösin (Leu)503 ve Arg513 amino asitlerinden oluşan daha geniş bir bağlantı boşluğu bulunduğu bildirilmiştir. COX-2'nin kritik amino asitlerinin inhibitörün kimyasal yapısıyla nasıl bir etkileşimde bulunduğunu inceleyerek etkili, seçici ve güvenilir COX-2 inhibitörlerinin geliştirilmesinin mümkün olabileceği ifade edilmiştir (Ahmadi vd., 2022).



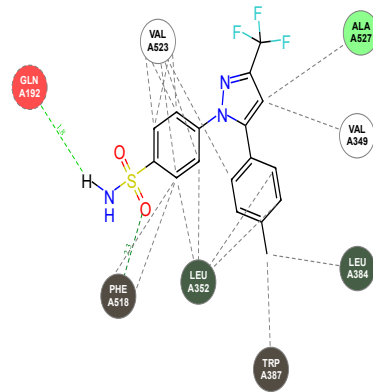
Şekil 3. 11: A4 bileşiği ve standart diklofenak COX-1 enzimi ile 2D etkileşimi

A4 bileşiği Thr206, Ala202, Val523, Leu384, Tyr385, His207, Trp387, Met391, His207 ve Gln203 aminoasitlerine **Şekil 3.11** ve **Şekil 3.13**'te gösterildiği şekilde bağlanarak, referans diklofenak ve aspirin bileşiklerine benzer sonuç göstermiştir.



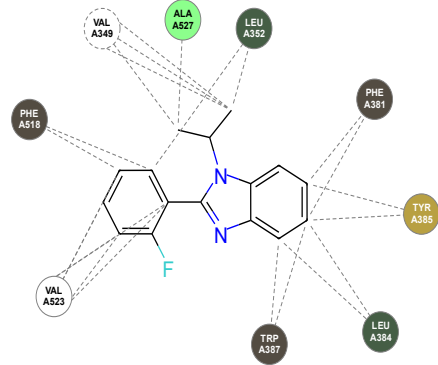
Şekil 3. 12: A4 bileşiği ve standart diklofenak COX-1 enzimi ile 3D etkileşimi, diklofenak sarı, A4 kırmızı renkte

5IKQ_P_CELECOXIB.mol_D



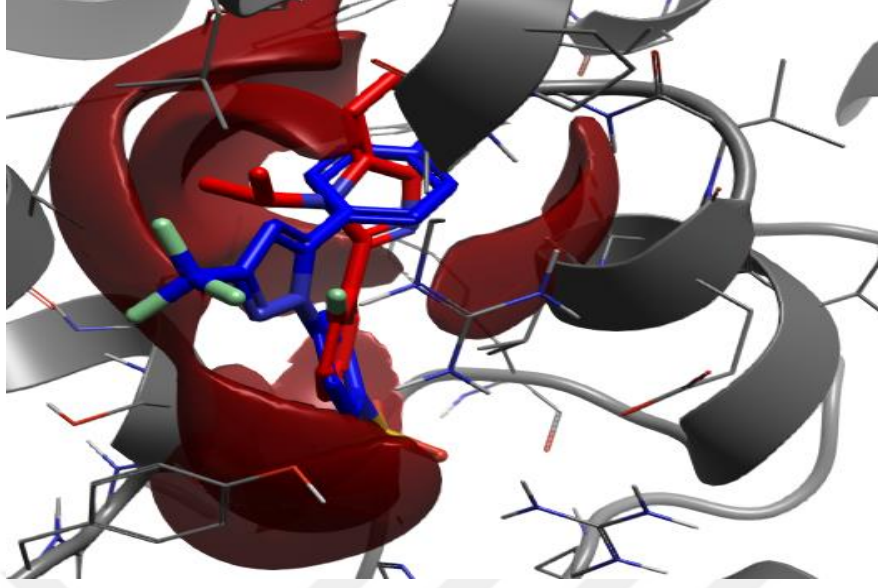
Selekoksib

5IKQ_PA4.mol_D



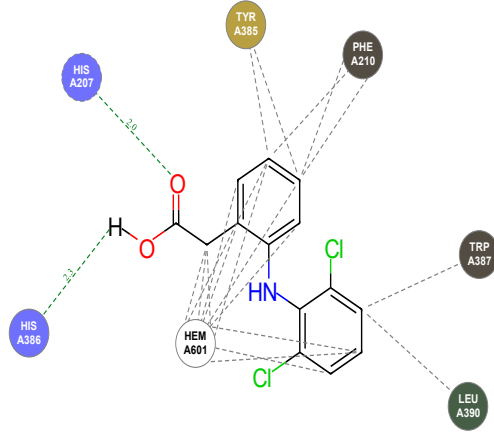
A4 Bileşiği

Şekil 3. 13: A4 bileşiği ve standart selekoksib COX-2 enzimi ile 2D etkileşimi



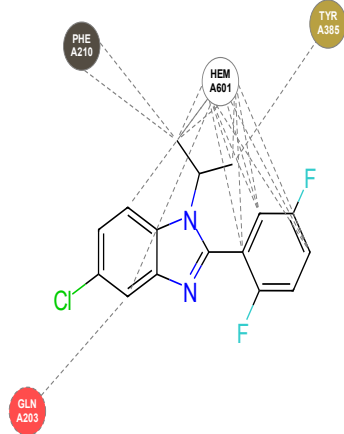
Şekil 3. 14: A4 bileşiği ve standart selekoksib COX-2 enzimi ile 3D etkileşimi. Selekoksib mavi renkte, A4 bileşiği kırmızı renkte

3N8Z_P DICLOFENAC.mol_D



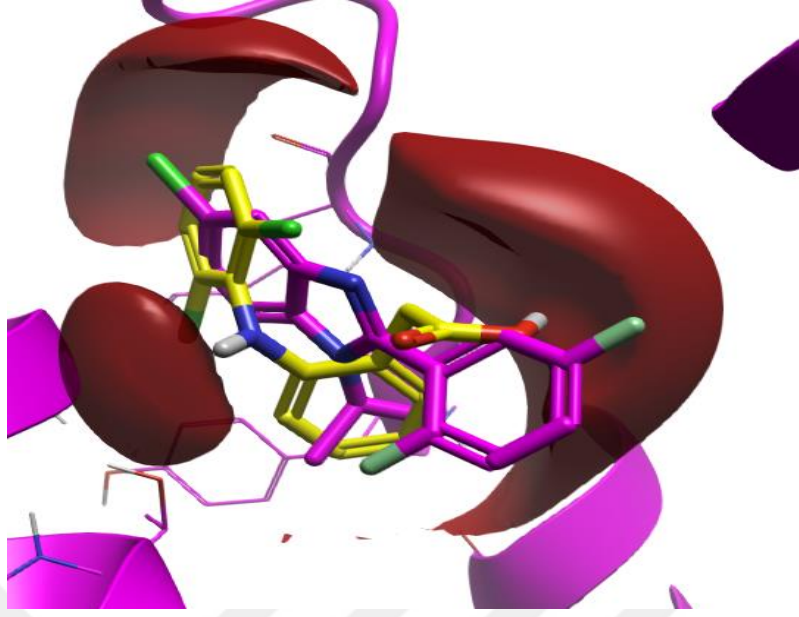
Diklofenak

3N8Z_P A2.mol_D



A2 Bileşiği

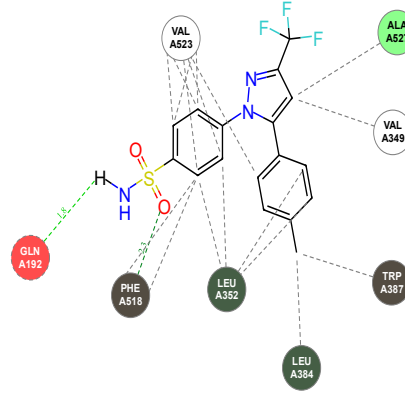
Şekil 3. 15: A2 bileşiği ve standart diklofenak, COX-1 enzimi ile 2D etkileşimi



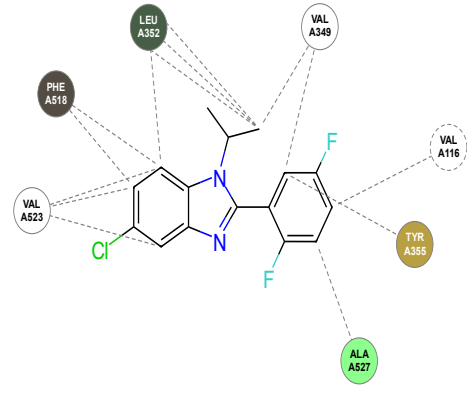
Şekil 3. 16: A2 bileşiği ve standart diklofenak COX-1 enzimi ile 3D etkileşimi. Diklofenak sarı, A2 pembe renkte

IKQ_P CELECOXIB.mol_D

IKQ_PA2.mol_D

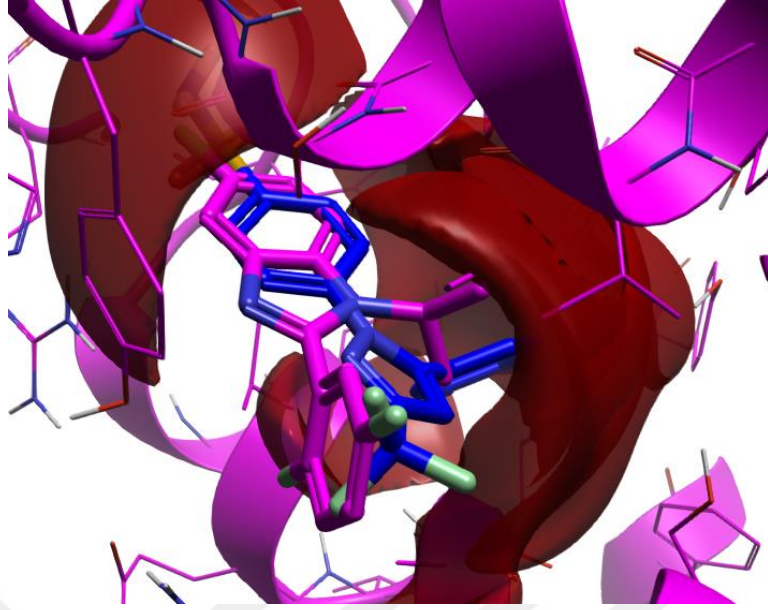


Selekoksib



A2 Bileşiği

Şekil 3. 17: A2 bileşiği ve standart selekoksib COX-2 enzimi ile 2D etkileşimi



Şekil 3. 18: A2 bileşiği ve standart selekoksib COX-2 enzimi ile 3D etkileşimi. Selekoksib mavi, A2 bileşiği pembe renkli

A2 bileşiği için Şekil 3.15 ve Şekil 3.17 incelendiğinde Hem601, Val523, Tyr38, Thr206, Phe210 aminoasitlerine bağlanarak referans diklofenak ve selekoksib ile benzer yapı göstermiştir.

3.4. İlaç Benzerlik Çalışmaları

Lipinski kurallarına dayalı olarak farmakokinetik parametrelerinin tahmini açısından, bileşiklerin daha ileri değerlendirilmesi ve SwissADME programı kullanılarak hesaplamalı ilaç benzerlik çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar **Tablo 3.2'de** özetlenmiştir.

Tablo 3. 3: İncelenen bileşiklerin ilaç benzerlik değerlendirmesi

Bileşik	Molekül ağırlığı (g/mol)	LogP	TPSA (Å²)	HBDs	HBAs	n-rotb	Log S	GI abs.	Lipinski Kuralı
A1	305,20	4,61	17,82	0	1	2	-5,34	Yüksek	Evet; 1 violation
A2	306,74	4,72	17,82	0	3	2	-5,06	Yüksek	Evet; 1 violation
A3	349,65	4,74	17,82	0	1	2	-5,66	Yüksek	Evet; 1 violation
A4	254,30	3,87	17,82	0	2	2	-4,33	Yüksek	Evet; 0 violation

İyi bir ilaç adayı bileşik teorik olarak Lipinski ve Veber kurallarına uyumlu olmalıdır. Lipinski'nin 5 kuralına göre bileşiklerin molekül ağırlıkları 500 g/mol, log p değerleri 5'ten, hidrojen bağı alıcısı (HBA) değeri 10'dan ve hidrojen bağı vericisi (HBD) değeri 5'ten az

olmalıdır (Lipinski vd., 2012). Veber kurallarına göre ise döndürülebilir bağ sayısı 10'dan, topolojik polar yüzey alanı ise 140 Å^2 'dan az olmalıdır (Plinski ve Plinska, 2020).

Yukarıda sonuçları verilen **A1-A4** bileşikleri hem Lipinski hem de Veber kurallarına uyumlu sonuçlar vermiştir.



4. TARTIŞMA

Hazırlanan bu tez kapsamında 4 orijinal 2 ve/veya 5 substitüe benzimidazol türevleri (**A1-A4** bileşikleri) sentezlenmiş olup, bileşiklerin antienflamatuvar etkileri, COX-1 ve COX-2 enzim inhibisyonları araştırılarak gerçekleştirilmiştir.

Bileşikler, 1,4-dikloro-2-nitrobenzen **1** bileşiğinin DMF içinde çözülerek *izo*-propilamin **2** ve anhidroz K₂CO₃ eklenmesi ve 80 °C’de 6 saat refluks edilmesi sonucunda 4-kloro-2-nitro-*N*-*izo*-propil-anilin **3** elde edilmiştir. İndirgeme işlemi yapabilmek için Parr Hidrojenasyon Cihazı 40 psi basınçta kurulmuş, 20-30 dk sonra var olan turuncu rengin (**3** nolu maddeden kaynaklı) kaybolması ve basınç değişiminin durması ile indirgemenin bittiği anlaşılmış, İTK ile tespit edilmiştir. **A1, A2 ve A4** maddelerinde indirgeme yöntemi olarak cihaz kullanılmıştır. **A1 ve A4** maddesinde 30 dakika sonra cihaz durdurularak İTK yapılmış, **A2** maddesinde 20 dakika sonra İTK yapılmıştır. Maddelerin mass ve NMR analizlerinde 5. konumda olması istenilen -Cl atomunun aradaki 10 dakikalık farktan kaynaklı koptuğu tahmin edilmektedir. **A3** maddesi için yapılan indirgeme işleminde, madde etanolde çözülmüş, 30 dakika boyunca SnCl₂/HCl’li ortamda indirgenmiştir. Ortam %10 KOH ile nötralize edilmiş ve etanol buharlaştırıldıktan sonra etil asetat ekstraksiyonu ile saflaştırılması yapılmıştır. Etil asetat ortamdan indirgenmiş basınçta buharlaştırılarak ayrılmıştır. Oluşan 4-kloro-*N*-*izo*-propilbenzen-1,2-diamin (**4**) maddesine istenilen benzaldehitlerin metabisüfit tuzları 135-140 °C de DMF içinde takılarak **A1-A4** maddeleri elde edilmiştir. Deney ortamından izole edilip, kolon kromatografisiyle saflaştırma işlemi tamamlanmıştır.

Maddelerin saflık kontrolleri İTK, erime noktası analizi ile yapılırken, kimyasal yapı belirlenmesi için Elektrosprey İyonizasyon (ESI) yöntemi kullanılan, kütle spektrometresi ile ¹H- NMR ve ¹³C-NMR analizleri kullanılmıştır.

Biyolojik aktivite analizlerinde referans olarak COX-1 inhibisyonu için indometazin, COX-2 inhibisyonu için selekoksib alınmıştır. Cayman Chemical COX Colorimetric Inhibitor Screening Assay Kit kullanılmış, bileşikler deney öncesinde DMSO-*d*₆ ile hazırlanmıştır. 2 ayrı ortam konsantrasyonunda (10⁻⁴ M, 10⁻⁵ M) numuneler test edilmiştir. Elde edilen bulgular, test edilen bileşiklerin COX izoformları üzerindeki etkilerinin bileşik yapısına ve konsantrasyona bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

A1 maddesi için yapılan NMR analizinde DMSO-D₆ solvanı kullanılmış ve 40 ppm de pik vermiştir. Maddenin yapısındaki 2-(2,4-diklorofenil) yapısından kaynaklı 2 klor atomu taşımakta ve mass analizinde M⁺, M+2 ve M+4 değerleri gözlenmektedir. İzotopların bağlı

bollukları -yaklaşık olarak- sırasıyla 9:6:1 oranında çıkmıştır (Erdik, 2020). Bileşiğin yapısında N1 azotuna bağlı *izo*-propil grubu ¹H-NMR alifatik sahada (0-5 ppm arasında) 7H atomu olacak şekilde gözlenmiştir. Aromatik yapıya bağlı hidrojenler ise dublet ya da multipler yapıda 6-13 ppm arasında, 7-8 ppm bandında yoğunlaşarak gözlenmiştir. ArH-5,6 orto, meta ve para etkileşimde bulunarak multipler yarılmış; diğer hidrojenler orto ve/veya meta etkileşimde bulunarak dublet yarımlar yapmıştır. Yapılan moleküler yerleştirme çalışmasında referans alınan 4 bileşik kıyaslandığında **A1** maddesinin, referans moleküllerden daha antienflamatuvar yapıda olabileceği düşünülmese de, ilaç benzerlik analizlerinde hem Lipinski hem de Veber kurallarına uyumluluk gösterdiği görülmüştür.

A1 maddesinin biyolojik analiz sonuçları incelendiğinde, aynı konsantrasyonda COX-1 üzerinde daha yüksek (%86) ve COX-2 üzerinde daha düşük (%68) inhibisyon göstermiş olup, görece COX-1 tercihli bir etki ortaya koymuştur.

A2 maddesi incelendiğinde NMR analizinde kullanılan DMSO-D₆ solvanının 40 ppm de pik verdiği gözlemlenmiştir. Maddenin yapısında tek klor bulunmakta olup; M⁺ ve M+2 pikleri 3:1 oranında görülmüştür. Yapıya 2. konumdan bağlı 2,4 diflorofenil halkasındaki flor atomları ¹³C-NMR'da kırılmalara sebep olduğu için yapıda bulunan karbon sayısından daha fazla skor gözlemlenmiştir. Yapıdaki izopropil amin alifatik sahada görülmüş, Ar-6H orto ve meta konumunda etkileşim yaptığı için *dublet dublet* yarımları yapmıştır.

A2 Maddesi için yapılan *docking* çalışmasında olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Madde COX-1 enziminde selekoksib ve aspirin ilaçlarından daha iyi; indometazin ile benzer bir skor sergilemiş, yapı olarak kararlı olabileceği sonucunu düşündürmüştür. COX-2 enzimine karşı ise aspirinden daha iyi indometazin ile aynı skoru almıştır. İki enzime karşı kararlı bir yapı sergilediği düşünülmektedir. **A2** Bileşiğinin bağ oluşturabildiği tahmin edilen, Fenilalanin (Phe) COX-1 için; Valin (Val) ve Tirozin (Tyr) ise COX-2 için bağlanma bölgesini inhibe edebileceği düşünülmektedir. **A2** Bileşiğinin ilaç benzerlik analizlerinde hem Lipinski hem de Veber kurallarına uyumluluk gösterdiği görülmüştür.

A2 maddesinin biyolojik analiz sonuçları incelendiğinde, 10⁻⁴ M konsantrasyonda hem COX-1 hem de COX-2 enzim aktivitelerini %100 oranında inhibe etmiştir; ancak her iki izoform üzerinde de eşit derecede güçlü etki göstermesi nedeniyle izoform-selektif olmayan (non-spesifik) bir inhibitör profili sergilemiştir.

A3 maddesi NMR analizinde dötoro kloroform (CDCl₃) kullanılmış ve pik vermemiştir. Yapının 5. konumunda klor, 2-(4-bromofenil)'deki bromdan kaynaklı mass analizinde M⁺, M+2 ve M+4 değerleri gözlemlenmiş ve oran 3:4:1 şeklinde olmuştur (Erdik, 2020).

Bileşğin yapısında N1 azotuna bağlı izopropil grubu ¹H-NMR alifatik sahada (0-5 ppm arasında) dublet ve multiplet yarılmalarla, 7H atomu olacak şekilde kendini göstermiştir. Kalan 7 hidrojen atomu da 7-9 ppm arasında yarıma yapmıştır. ArH-4,6 *dublet* yapıda net ayrılma yapsa da, kalan hidrojenlerin *ji* değerleri yakın olduğu için yarılmaları net tespit edilememiştir.

A3 maddesinin, referans bileşiklerden daha antienflamatuvar etkide olabileceği düşünülmese de, ilaç benzerlik analizlerinde hem Lipinski hem de Veber kurallarına uyumluluk gösterdiği görülmüştür.

A3 maddesinin biyolojik analiz sonuçları incelendiğinde, konsantrasyonlarda COX-1'i inhibe etmese de 10⁻⁴ M konsantrasyonda düşük oranda (%22) COX-2 inhibisyonu; COX-2 için düşük bir potense sahip olabileceğini düşündürmektedir.

A4 maddesinin NMR analizi CDCl₃ solvanı ile yapılmış ve NMR da pik vermemiştir. Bileşğin yapısında 2-(2-florofenil)'in heteroatomu olan flor, kütle analizinde M+1'de %100'lük bağlanma yapmıştır. Bileşğin yapısında N1 azotuna bağlı izopropil grubu ¹H-NMR alifatik sahada (0-5 ppm arasında) *dublet ve multiplet* yarılmalarla, 2. konumdan bağlı fenilin hidrojenleri ise *multiplet* yarılmalarla görülmüştür. *ji* değerleri çok net ayrılmadığı için 4,5,6 ve 7.konumlardaki hidrojenler nmr da net bir şekilde belirlenememiştir.

A4 maddesinin moleküler yerleştirme çalışmaları incelendiğinde A1, A2 ve A3 maddelerinden daha kararlı olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak aspirin ve indometazinden kararlı, diklofenaktan düşük kararlılıkta olsa da yakın değer verdiği belirlenmiştir.

A4 bileşiği Thr206, Ala202, Val523, Leu384, Tyr385, His207, Trp387, Met391, His207 ve Gln203 aminoasitlerine referans bileşiklere benzer şekillerde bağlanmıştır. COX-2'nin hidrofobik cebine Tirozin (Tyr) ile yaptığı bağla bağlanabileceği, COX-2'nin Valinden kaynaklı geniş bağlanma boşluğuna yine Valin (Val) ile yaptığı bağ ile bağlanabileceği gözlemlenmiş; Histidin (His) ve Lösin (Leu) ile COX-1 enzimine bağlanabileceği bu sebeplerle enzim inhibisyonunu sağlayabileceği düşünülmüştür. Buna ek olarak, yapılan ilaç benzerlik çalışmalarında hem Lipinski hem Veber kurallarına uygun sonuçlar elde edilmiştir.

A4 bileşiğinin biyolojik analiz sonuçlarına bakıldığında, konsantrasyonlarda COX-1 inhibisyonu yapamazken, 10⁻⁴ M konsantrasyonda COX-2 aktivitesini %100 oranında inhibe edip, COX-1 üzerindeki etkisinin sınırlı kalması nedeniyle, COX-2 yönünde seçicilik potansiyeli taşıyan bir bileşik olarak öne çıktığı görülmüştür. Bu özellik, A4'ün enflamatuvar süreçlerde COX-2 hedeflenmesi açısından daha avantajlı bir aday olabileceğini düşündürmektedir.

A2 bileşiminin 5.konumunda klor, 2-(2,5-diflorofenil) yapısından gelen iki flor atomu; **A4** bileşiminin ise 5.konumunda hidrojen olup, 2-(2-florofenil) yapısından gelen bir flor atomu bulunmaktadır. Biyolojik aktivite testinin sonuçlarına göre ön plana çıkan **A2 ve A4** bileşiklerinin yapılarına bakıldığında flor atomunun önemli bir ortak nokta olduğu ve yapıya COX inhibisyonu özelliği kazandırdığı düşünülmektedir. Özellikle COX-2 inhibisyonu konusunda seçicilik kattığı düşünülmektedir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hazırlanan bu tez kapsamında 4 orijinal 2 ve/veya 5 substitüe benzimidazol türevleri (**A1-A4** bileşikleri) sentezlenmiş olup, bileşiklerin antienflamatuvar etkileri araştırılmıştır. Maddelerin saflık tayinlerinde İTK ve erime noktası testleri; kimyasal yapı aydınlatmalarında ise $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve ESI yöntemiyle yapılan kütle spektrometresi kullanılmıştır.

1,4-Dikloro-2-nitrobenzen bileşiğine isopropilamin bağlanmasıyla başlayıp, önce redüksiyon sonra benzimidazol halkasını oluşturmaya çalışılarak devam edilen yöntemde, kullanılan saflaştırma teknikleri sonucunda **A1-A4** maddeleri elde edilmiş; yapı aydınlatılmıştır.

Sentezlenen bileşikler arasında *docking* çalışmasında en çok umut vadeden bileşikler **A2** ve **A4** olmuş; referans bileşiklere karşı daha iyi skorlar elde edilirken kararlı yapıda olabilecekleri düşünülmüştür. İki bileşiğin de COX enzimlerinde bulunan aminoasitlere yapabileceği bağlanmalarla, inhibisyon yeteneklerinin olabileceği düşünülmektedir. İlaç benzerlik çalışmalarında elde edilen veriler de Lipinski ve Veber kurallarına uyumluluk tespit edilmiştir.

Sentezlenen bileşikler arasında **A2** ve **A4** bileşiklerinin, biyolojik analiz sonuçları, yapılan *docking* çalışmaları ile benzer çıkmış ve COX enzim inhibisyonu sağladıkları, **A4** bileşiğinin seçici COX-2 inhibitörü olabileceği düşünülmüş; **A2** bileşiğinin ise hem COX-1 hem de COX-2 enzim aktivitelerini %100 oranında inhibe etmesi ve her iki izoform üzerinde de eşit derecede güçlü etki göstermesi nedeniyle izoform-selektif olmayan (non-spesifik) bir inhibitör profili sergilediği görülmüştür. Yapılarında ortak nokta olan flor atomunun, COX inhibisyonuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmanın sonucunda **A2** ve **A4** maddelerinin aktivite aydınlatmalarının yapılması, özellikle **A4** maddesinin hem farmakokinetik hem farmakodinamik niteliklerinin aydınlatılabilmesi ve toksikolojik değerlendirmelerin yapılabilmesidir. Antienflamatuvar etki araştırmasında COX enzimlerine karşı yapılan *in-vitro* çalışmalar baz alınarak *in-vivo* çalışmalar tasarlanmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Adair TH, Montani JP. Angiogenesis. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2010. Chapter 1, Overview of Angiogenesis. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53238/>
- Adelizzi R. A. (1999). COX-1 and COX-2 in health and disease. *The Journal of the American Osteopathic Association*, 99(11 Suppl), S7–S12.
- Ahmadi, M., Bekeschus, S., Weltmann, K. D., von Woedtke, T., & Wende, K. (2022). Non-steroidal anti-inflammatory drugs: Recent advances in the use of synthetic COX-2 inhibitors. *RSC medicinal chemistry*, 13(5), 471-496.
- Anna Turabelidze, Luisa A. Dipietro, 2012, <https://doi.org/10.1111/etp.12012>
- Austermann, J., Roth, J., & Barczyk-Kahlert, K. (2022). The Good and the Bad: Monocytes' and Macrophages' Diverse Functions in Inflammation. *Cells*, 11(12), 1979. <https://doi.org/10.3390/cells11121979>
- Bukhari, S. N. A., Lauro, G., Jantan, I., Fei Chee, C., Amjad, M. W., Bifulco, G., ... & Rahman, N. A. (2016). Anti-inflammatory trends of new benzimidazole derivatives. *Future medicinal chemistry*, 8(16), 1953-1967.
- Cerami, A. (1992). Inflammatory cytokines. *Clinical immunology and immunopathology*, 62(1), S3-S10.
- Cheeseright, T., Mackey, M., Rose, S., & Vinter, A. (2006). Molecular field extrema as descriptors of biological activity: definition and validation. *Journal of chemical information and modeling*, 46(2), 665-676. <https://doi.org/10.1021/ci050357s>
- Chen L, Deng H, Cui H, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2017;9:7204–7218 (doi: 10.18632/oncotarget.23208)
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L. (2017). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204–7218. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>

- Cortés, E. C. and Anaya, L. A. A. (1997). Synthesis and Spectral Properties of Methyl 5-[(o-, m-, and p)Phenoxy]-2-benzimidazolecarbamate. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 34(3), 745–748. <https://doi.org/10.1002/jhet.5570340307>.<https://doi.org/10.1002/jhet.5570340307>
- Emanuela Ricciotti and Garret A. FitzGerald, Prostaglandins and Inflammation, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, Volume 31, Number 5, 2011, <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449>
- Ender, E. (2020). Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler (Vol. 7).
- Faki, Y., & Er, A. (2021). Different Chemical Structures and Physiological/Pathological Roles of Cyclooxygenases. *Rambam Maimonides medical journal*, 12(1), e0003. <https://doi.org/10.5041/RMMJ.10426>
- Gaba, M., Singh, S., & Mohan, C. (2014). Benzimidazole: an emerging scaffold for analgesic and anti-inflammatory agents. *European journal of medicinal chemistry*, 76, 494-505.
- Ghazanfari, N., van Waarde, A., Dierckx, R. A. J. O., Doorduyn, J., & de Vries, E. F. J. (2021). Is cyclooxygenase-1 involved in neuroinflammation?. *Journal of neuroscience research*, 99(11), 2976–2998. <https://doi.org/10.1002/jnr.24934>
- Gulati, K., Guhathakurta, S., Joshi, J., Rai, N., & Ray, A. J. M. I. (2016). Cytokines and their role in health and disease: a brief overview. *Moj Immunol*, 4(2), 00121.
- Gurney Gutekunst, B. O. and LeB Gray, H. (1922). The 6-alkyloxyquinaldines. *Journal of the American Chemical Society*, 44(8), 1741–1746. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Haynes, W.M. (ed.) CRC Handbook of Chemistry and Physics. 91st ed. Boca Raton, FL: CRC Press Inc., 2010-2011, p. 3-158
- Haynes, W.M. (ed.). CRC Handbook of Chemistry and Physics. 95th Edition. CRC Press LLC, Boca Raton: FL 2014-2015, p. 3-332
- Hazarika, I., & Selvam, P. (2015). Cyclooxygenase 3 inhibition: a probable mechanism of acetaminophen in human: a review. *Res Rev AJ Pharm Sci*, 53, 23-29.
- Hind M., Designing new benzimidazole derivatives, docking studies, synthesis and investigation of anti-inflammatory, antioxidant activities, 2024

- James, A. R. (2004). Biological Mediators of Acute Inflammation. *AACN Clinical Issues*, 15(1), 3–17.
- Karataş, H., Alp, M., Yildiz, S., & Göker, H. (2012). Synthesis and Potent In vitro Activity of Novel 1H-Benzimidazoles as Anti-MRSA Agents. *Chemical Biology and Drug Design*, 80(2), 237–244. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2012.01393.x>
- Kisseleva T, Brenner DA. Mechanisms of fibrogenesis. *Exp Biol Med* (Maywood). 2008 Feb;233(2):109-22. doi: 10.3181/0707-MR-190. PMID: 18222966.
- Kowalski, M. L., & Makowska, J. S. (2015). Seven steps to the diagnosis of NSAİİ hypersensitivity: how to apply a new classification in real practice?. *Allergy, asthma & immunology research*, 7(4), 312-320.
- Kuş, C., Altanlar, N., & Kus, C. (2003). Synthesis of Some New Benzimidazole Carbamate Derivatives for Evaluation of Antifungal Activity. *Turkish Journal of Chemistry*, 27(1), 35–40. <https://journals.tubitak.gov.tr/chemAvailableat:https://journals.tubitak.gov.tr/chem/27/iss1/6>
- Küçükbay, H., Uçkun, M., Apohan, E., & Yeşilada, Ö. (2021). Cytotoxic and antimicrobial potential of benzimidazole derivatives. *Archiv Der Pharmazie*, 354(8), 2100076.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2012). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 64, 4-17.
- Magar, Vidya K.; *International Journal of Pharmacy and Technology*, (2017), 9(3), 30800-30826, CAplus
- Meszaros, A. J., Reichner, J. S., & Albina, J. E. (2000). Macrophage-induced neutrophil apoptosis. *The Journal of Immunology*, 165(1), 435-441.
- Moore, N., Pollack, C., & Butkerait, P. (2015). Adverse drug reactions and drug–drug interactions with over-the-counter NSAİİ. *Therapeutics and clinical risk management*, 1061-1075.
- O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of cheminformatics*, 3(1), 33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>

- Özden, S., Atabey, D., Yildiz, S., & Göker, H. (2005). Synthesis and potent antimicrobial activity of some novel methyl or ethyl 1H-benzimidazole-5-carboxylates derivatives carrying amide or amidine groups. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 13(5), 1587–1597. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.12.025>
- Pendleton, S. (2023). Investigations into the patient voice: a multi-perspective analysis of inflammation, doi: 10.13140/RG.2.2.12411.18729
- Plinski, E. F., & Plinska, S. (2020). Veber's Rules in Terahertz Light. Doi:10.21203/rs.2.22281/v1
- Ridley, H. F., Spickett, R. G. W., & Timmis, G. M. (1965). A New Synthesis of Benzimidazoles and Aza-analogs. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2(4), 453–456.
- Soliman, A. M., & Barreda, D. R. (2023). Acute Inflammation in Tissue Healing. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 641. <https://doi.org/10.3390/ijms24010641>
- Tjenggal, K. A., Sinuraya, R. K., Rahayu, C., & Abdulah, R. (2021). NSAİİ-induced adverse drug reaction: mechanism and management. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 15(2), 207-217.
- Veerasamy, R., Roy, A., Karunakaran, R., & Rajak, H. (2021). Structure-Activity Relationship Analysis of Benzimidazoles as Emerging Anti-Inflammatory Agents: An Overview. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 14(7), 663. <https://doi.org/10.3390/ph14070663>
- Vishwakarma, R. K., & Negi, D. S. (2020). The development of COX-1 and COX-2 inhibitors: a review. *Int J Pharm Sci Res*, 11(8), 3544.
- Wang, W., Kong, D., Cheng, H., Tan, L., Zhang, Z., Zhuang, X., Long, H., Zhou, Y., Xu, Y., Yang, X., & Ding, K. (2014). New benzimidazole-2-urea derivatives as tubulin inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.07.035>
- Wiegrebbe, W., Faber, L., & Budzikiewicz, H. (1970). Synthese des (+/-)-6-Hydroxy-2, 3-dimethoxy 9, 11, 12, 13, 14-hexahydro-dibenzo-/f, h/-pyrrolo/1, 2-b/-isochinolins. *Justus Liebigs Annalen Der Chemie*, 733, 125–140.

ÖZGEÇMİŞ

