



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**hTOPO II α ENZİM İNHİBİTÖRÜ OLABİLECEK BAZI
BENZAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN *IN SILICO*
TASARIMI, SENTEZİ VE ANTİKANSER ETKİ
ÇALIŞMALARI**

Gözde YENİCE ÇAKMAK

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI ADI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. İlkay YILDIZ**

**ANKARA
2024**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**hTOPO II α ENZİM İNHİBİTÖRÜ OLABİLECEK BAZI
BENZAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN *IN SILICO* TASARIMI,
SENTEZİ VE ANTİKANSER ETKİ ÇALIŞMALARI**

Gözde YENİCE ÇAKMAK

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. İlkay YILDIZ

İKİNCİ DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Serap YILMAZ ÖZGÜVEN

**Bu araştırma Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı'nın 2022-B-02/ 22566
numaralı ve Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin
TDK-2023-2877 numaralı projeleriyle desteklenmiştir.**

ANKARA

2024

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “hTopo II α Enzim İnhibitörü Olabilecek Bazı Benzazol Türevi Bileşiklerin *In Silico* Tasarımı, Sentezi ve Antikanser Etki Çalışmaları” 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: Gözde YENİCE ÇAKMAK

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Kimya Anabilim Dalında
Gözde YENİCE ÇAKMAK tarafından hazırlanan
“hTopo II α Enzim İnhibitörü Olabilecek Bazı Benzazol Türevi Bileşiklerin *in silico*
Tasarımı, Sentezi ve Antikanser Etki Çalışmaları” adlı
tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY
ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20.12.2024

İmza

Prof. Dr. A. Hakan GÖKER
Ankara Üniversitesi Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr. İlkay YILDIZ
Ankara Üniversitesi
Üye

İmza

Prof. Dr. Burcu ÇALIŞKAN
Gazi Üniversitesi
Üye

İmza

Doç. Dr. Zuhale KILIÇ KURT
Ankara Üniversitesi
Üniversitesi
Üye

İmza

Doç. Dr. Yalçın ERZURUMLU
Isparta Süleyman Demirel
Üniversitesi
Üye

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

İmza

Prof. Dr. Füzen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

hTopo II α Enzim İnhibitörü Olabilecek Bazı Benzazol Türevi Bileşiklerin *In Silico* Tasarımı, Sentezi ve Antikanser Etki Çalışmaları

hTopo II α enzimi, kanser tedavisinde önemli bir hedef olup, bu enzimin inhibisyonu çeşitli kanser türlerinde etkili bir tedavi yaklaşımı sunmaktadır. Bu doktora tez çalışmasında, hTopo II α enzimi inhibitörü olabilecek yeni 13 adet ve toplamda 30 adet metil (2-süstitüefenil)-1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilat (**2a-2p**) ve metil (2-süstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat (**3a-3p**) türevleri tasarlanmış, sentezlenmiş ve sitotoksite ve hTopo II α enzim inhibisyonu çalışmaları ile biyolojik aktiviteleri kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir.

Benzimidazol türevlerinin sentezinde, 3,4-diaminobenzoik asidin tiyonil klorür varlığında metanol ile esterleşmesiyle metil 3,4-diaminobenzoat (**1a**) ara ürünü hazırlanmıştır. Bu ara ürün, çeşitli benzaldehit türevleriyle reaksiyona sokularak metil (2-süstitüefenil)-1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilat (**2a-2p**) türevlerine dönüştürülmüştür. Benzoksazol türevlerinin sentezinde ise 3-amino-4-hidroksibenzoik asit, asetil klorür varlığında metanol ile esterleştirilerek metil ester türevi olan metil 3-amino-4-hidroksibenzoat (**1b**) elde edilmiştir. Bu ara ürün, farklı süstitü benzaldehit türevleriyle reaksiyona sokularak metil (2-süstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat (**3a-3p**) türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin saflık ve yapısal karakterizasyonu, erime noktası, ince tabaka kromatografisi (İTK), ¹H NMR, ¹³C NMR, LC, Mass (ESI+) ve IR analizleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bileşiklerin *in vitro* antikanser aktiviteleri, prostat (LNCaP), karaciğer (HepG2) ve akciğer (A549) kanseri hücre hatlarında ve sağlıklı insan embriyonik böbrek hücre hattı (293T) üzerinde WST-1 testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Referans inhibitör olarak etoposid kullanılmış ve bileşiklerin antikanser etkinlikleri IC₅₀ değerleri üzerinden karşılaştırılmıştır. Ayrıca, 13'ü orijinal toplamda 30 adet sentezlenen bileşiklerin hTopo II α enzimi üzerindeki bağlanma potansiyelleri *in vitro* enzim çalışmaları üzerinden incelenmiştir.

Bileşiklerin moleküler düzeyde bağlanma özelliklerini ve enzim-DNA kompleksindeki etkileşimlerini analiz etmek ve bağlanma mekanizmalarını değerlendirmek için hTopo II α enziminin (PDB: 5GWK) kristal yapısı kullanılarak moleküler kenetlenme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, bileşiklerin *in silico* ADMET özellikleri değerlendirilerek farmakokinetik profilleri, biyoyararlanımları ve toksisite tahminleri kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, benzimidazol türevlerinin benzoksazol türevlerine kıyasla daha yüksek antikanser aktivite sergilediği gözlemlenmiştir. Özellikle **2n** bileşiği, HepG2 ve A549 hücre hatlarında etoposide kıyasla sırasıyla (33,58 (±5,31) ve 35,29 (±3,35) μ M değerleri ile daha güçlü antikanser aktivite ve hTopo II α enzime karşı yüksek bağlanma potansiyelleri (1,10 μ g/L) göstermiştir. Bunun yanında **2h** ve **2l** bileşikler de LNCaP, HepG2 ve A549 hücrelerine karşı (sırasıyla, 11,84 (±3,48); 19,59 (±2,15) μ M ve 20,22 (±3,05) ve 10,83 (±4,74); 15,58 (±5,25); 14,48 (±4,28) μ M olmak üzere) güçlü antikanser aktiviteleriyle dikkat çekmiştir.

Moleküler kenetlenme çalışmaları, bileşiklerin DNA stabilizasyonunda önemli π - π ve π -katyon etkileşimleri sergilediğini ortaya koymuştur. ADMET analizleri, bileşiklerin büyük çoğunluğunun iyi farmakokinetik profile sahip olduğunu ve Lipinski ve Veber kurallarına uygunluk gösterdiğini ortaya koymuştur. Düşük toksisite profiliyle **3m** ve **3i** türevleri öne çıkarken, **2d** bileşiği yüksek kardiyotoksisite potansiyeli nedeniyle dikkatle değerlendirilmesi gereken bir aday olarak belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Antikanser bileşikler, benzimidazol, benzoksazol, moleküler kenetlenme, hTopo II α inhibisyonu.

SUMMARY

***In Silico* Design, Synthesis and Anticancer Activity Studies of Some Benzazole Derivatives As Potential hTopo II α Enzyme Inhibitors**

hTopo II α enzyme is a significant target in cancer therapy, and its inhibition offers an effective treatment approach for various types of cancer. In this doctoral thesis study, 13 novel and a total of 30 derivatives of methyl (2-substituted phenyl)-1*H*-benzimidazole-5(6)-carboxylate (**2a-2p**) and methyl (2-substituted phenyl)benzoxazole-5-carboxylate (**3a-3p**) were designed, synthesized, and comprehensively evaluated for their biological activities through cytotoxicity and hTopo II α enzyme inhibition studies.

In the synthesis of benzimidazole derivatives, methyl 3,4-diaminobenzoate (**1a**) was prepared as an intermediate by esterification of 3,4-diaminobenzoic acid with methanol in the presence of thionyl chloride. This intermediate was reacted with various benzaldehyde derivatives to yield methyl (2-substituted phenyl)-1*H*-benzimidazole-5(6)-carboxylate (**2a-2p**) derivatives. For the synthesis of benzoxazole derivatives, 3-amino-4-hydroxybenzoic acid was esterified with methanol in the presence of acetyl chloride to obtain the methyl ester derivative, methyl 3-amino-4-hydroxybenzoate (**1b**). This intermediate was reacted with different substituted benzaldehyde derivatives to synthesize methyl (2-substituted phenyl)benzoxazole-5-carboxylate (**3a-3p**) derivatives. The purity and structural characterization of the synthesized compounds were performed using melting point, thin-layer chromatography (TLC), ¹H NMR, ¹³C NMR, LC-MS, Mass (ESI+), and IR analyses.

The *in vitro* anticancer activities of the compounds were evaluated using the WST-1 assay on prostate (LNCaP), liver (HepG2), and lung (A549) cancer cell lines, as well as the healthy embryonic kidney cell line (293T). Etoposide was used as a reference inhibitor, and the anticancer activities of the compounds were compared based on their IC₅₀ values. Additionally, the binding potentials of the 13 novel and 30 as total synthesized compounds on hTopo II α were analyzed through *in vitro* enzymatic assays.

To analyze the molecular-level binding properties and interactions of the compounds within the enzyme-DNA complex, molecular docking studies were conducted using the crystal structure of the hTopo II α enzyme (PDB: 5GWK). Furthermore, the *in silico* ADMET properties of the compounds were assessed to comprehensively analyze their pharmacokinetic profiles, bioavailability, and toxicity predictions.

The results showed that benzimidazole derivatives exhibited higher anticancer activity compared to benzoxazole derivatives. Notably, compound **2n** demonstrated stronger anticancer activity against HepG2 and A549 cell lines compared to etoposide, with values of 33.58 ($\pm$ 5.31) and 35.29 ($\pm$ 3.35), respectively, as well as high activity against hTopo II α enzyme (1.10 μ g/L). Additionally, compounds **2h** and **2l** showed remarkable anticancer activities against LNCaP, HepG2, and A549 cells (11.84 ($\pm$ 3.48), 19.59 ($\pm$ 2.15), and 20.22 ($\pm$ 3.05) μ M for **2h**; 10.83 ($\pm$ 4.74), 15.58 ($\pm$ 5.25), and 14.48 ($\pm$ 4.28) μ M for **2l**).

Molecular docking studies revealed significant π - π and π -cation interactions of the compounds in DNA stabilization. ADMET analyses indicated that the majority of the compounds had favorable pharmacokinetic profiles and complied with Lipinski's and Veber's rules. While compounds **3m** and **3i** stood out with low toxicity profiles, compound **2d** was identified as a candidate requiring careful evaluation due to its high cardiotoxicity potential.

Keywords: Anticancer agents, benzimidazole, benzoxazole, molecular docking, hTopo II α inhibition.

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	ix
Simgeler ve Kısaltmalar	xi
Şekiller	xiii
Çizelgeler	xxi
1. GİRİŞ	1
1.1. Kanser	1
1.2. DNA'nın Topolojik Yapısı, DNA Topoizomerazları, Sınıflandırılmaları ve Fonksiyonları	2
1.2.1. İnsanlarda Bulunan Topo Enzimleri	4
1.2.1.1. Tip IIA Topo'lar	4
1.2.1.1.1. Kanser Tedavisinde Kritik Hedefler Olarak Tip IIA Topo'lar	7
1.2.1.1.2. Topo II İnhibitörleri	8
1.2.1.1.2.1. Topo II Zehirleri	8
1.2.1.1.2.2. Topo II Katalitik İnhibitörleri	13
1.2.1.1.2.3. Klinik Çalışmalarda Olan Topo İnhibitörleri	14
1.2.1.1.2.4. Doğal Kaynaklı Topo Enzim İnhibitörleri	18
1.3. Benzazol Halkası Taşıyan Bileşikler	21
1.3.1. Benzimidazol Halka Sistemleri	21
1.3.1.1. Benzimidazol Halka Sistemlerinin Kimyası	23
1.3.1.2. Benzimidazol ve Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri	25
1.3.1.3. Antikanser Etkili Benzimidazol Türevleri	39
1.3.2. Benzoksazol Halka Sistemleri	51
1.3.2.1. Benzoksazol Halka Sistemlerinin Kimyası	53
1.3.2.2. Benzoksazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri	55
1.3.2.3. Antikanser Etkili Benzoksazol Türevleri	64
1.4. Moleküler Modelleme Yöntemleri	74
1.4.1. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımında (CADD) Kullanılan Güncel Yaklaşımlar	75
1.4.1.1. Reseptör Yapısına Dayalı İlaç Tasarımı	76
1.4.1.1.1. Moleküler Kenetlenme (Moleküler Doking)	78
1.4.1.1.2. Moleküler Dinamik (MD)	79
1.4.1.2. Ligand Yapısına Dayalı İlaç Tasarımı	81
1.4.1.2.1. Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (QSAR)	82
1.4.1.3. De novo İlaç Tasarımı	83
1.4.1.4. Farmakofor Modelleme	84
1.4.1.5. Sanal Tarama (Virtual Screening, VS)	87
2. GEREÇ VE YÖNTEM	89
2.1. Doktora Tez Kapsamında Sentezlenecek Bileşiklerin Tasarımı	89
2.1.1. Proteinin hazırlanması	89
2.1.2. Ligandların Hazırlanması	89
2.1.3. Moleküler Kenetlenme İşlemi	89

2.2. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez, Saflaştırma İşlemleri ve Yapı Analizlerinde Kullanılan Gereçler	90
2.3. Sentez, Saflaştırma ve Analiz İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler	91
2.4. Tasarlanan Bileşiklerin Sentez ve Saflaştırma Yöntemleri	91
2.4.1. Benzimidazol Heterosiklik Yapısı İçeren Bileşiklerin Sentez Yöntemleri	93
2.4.1.1. Metil 3,4-diaminobenzoat Bileşiğinin Sentezi (Yöntem A)	93
2.4.1.2. Elde Edilen Metil (2-süstitüefenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karboksilat Türevi Bileşiklerin Sentezi ve Saflaştırma Yöntemleri (Yöntem B)	93
2.4.2. Benzoksazol Heterosiklik Yapısı İçeren Bileşiklerin Sentez Yöntemleri	94
2.4.2.1. Metil 3-amino-4-hidroksibenzoat Bileşiğinin Sentezi (Yöntem C)	94
2.4.2.2. Elde Edilen Metil (2-süstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat Bileşiklerinin Sentezleri (Yöntem D)	94
2.5. Bileşiklerin Yapı Analizinde Kullanılan Analitik Teknikler	95
2.5.1. Sentezlenen Bileşiklerin ¹ H NMR Spektral Analizleri	95
2.5.2. Sentezlenen Bileşiklerin ¹³ C NMR Spektral Analizleri	96
2.5.3. Sentezlenen Bileşiklerin Kütle Spektral Analizleri	97
2.5.4. Sentezlenen Bileşiklerin Likit Kromatografi Analizleri	98
2.5.5. Sentezlenen Bileşiklerin Erime Noktası Tayinleri	98
2.5.6. Sentezlenen Bileşiklerin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) Spektral Analizleri	98
2.6. <i>In Vitro</i> Biyolojik Aktivite Çalışmaları	100
2.6.1. Hücre Kültürü Çalışmaları	100
2.6.1.1. WST-1 aracılı sitotoksosite testleri	100
2.6.2. hTopo IIα ELISA Testi	101
2.7. Sentezlenen Bileşiklerin Moleküler Kenetlenme Çalışmaları	102
2.7.1. Proteinin Hazırlanması	103
2.7.2. Ligandların Hazırlanması	103
2.7.3. Moleküler Kenetlenme İşlemi	103
2.8. Sentezlenen Bileşiklerin <i>In Silico</i> ADME/Toksisite (ADMET) ve İlaça Benzerlik Özelliklerinin Değerlendirilmesi	104
3. BULGULAR	107
3.1. Tasarlanan Bileşiklerin Moleküler Kenetlenme Çalışmalarına Ait Bulgular	107
3.2. Başlangıç Maddelerinin Eldesi	108
3.2.1. Metil 3,4-diaminobenzoat (Bileşik 1a)	108
3.2.2. Metil 3-amino-4-hidroksibenzoat (Bileşik 1b)	109
3.2.3. Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi	109
3.2.3.1. Metil 2-(4-florofenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2a)	109
3.2.3.2. Metil 2-(3-florofenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2b)	110
3.2.3.3. Metil 2-(4-bromofenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2c)	110
3.2.3.4. Metil 2-(3-kloro-4-florofenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2d)	111
3.2.3.5. Metil 2-(4-metilfenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2e)	113
3.2.3.6. Metil 2-(4-etilfenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2f)	114
3.2.3.7. Metil 2-(4-propilfenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2g)	115
3.2.3.8. Metil 2-(4-izopropilfenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2h)	116
3.2.3.9. Metil 2-(4-bütilfenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2i)	117
3.2.3.10. Metil 2-(4-izobütilfenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2k)	119
3.2.3.11. Metil 2-(4-(<i>tert</i> -bütil)fenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2l)	121
3.2.3.12. Metil 2-(4-pentilfenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2m)	122
3.2.3.13. Metil 2-(4-metoksifenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2n)	124
3.2.3.14. Metil 2-(3,5-dimetilfenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2o)	125
3.2.3.15. Metil 2-(3,5-dimetoksifenil)- ¹ H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2p)	126
3.2.4. Benzoksazol Türevi Bileşiklerin Sentezleri	128

3.2.4.1. Metil 2-(4-florofenil)benzoksazol-5-karboksilat (3a)	128
3.2.4.2. Metil 2-(3-florofenil)benzoksazol-5-karboksilat (3b)	129
3.2.4.3. Metil 2-(4-bromofenil)benzoksazol-5-karboksilat (3c)	130
3.2.4.4. Metil 2-(3-kloro-4-florofenil)benzoksazol-5-karboksilat (3d)	130
3.2.4.5. Metil 2-(4-metilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3e)	132
3.2.4.6. Metil 2-(4-etilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3f)	133
3.2.4.7. Metil 2-(4-propilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3g)	135
3.2.4.8. Metil 2-(4-izopropilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3h)	137
3.2.4.9. Metil 2-(4-bütilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3i)	139
3.2.4.10. Metil 2-(4-izobütilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3k)	141
3.2.4.11. Metil 2-(4- <i>tert</i> -bütilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3l)	143
3.2.4.12. Metil 2-(4-pentilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3m)	144
3.2.4.13. Metil 2-(4-metoksifenil)benzoksazol-5-karboksilat (3n)	146
3.2.4.14. Metil 2-(3,5-dimetilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3o)	147
3.2.4.15. Metil 2-(3,5-dimetoksifenil)benzoksazol-5-karboksilat (3p)	149
3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	150
3.3.1. Sentezlenen Bileşiklerin Sitotoksosite Bulguları	150
3.3.2. Sentezlenen Bileşiklerin hTopo II α 'ya Bağlanma Potansiyellerine Ait Bulgular	151
3.4. Sentezlenen Bileşiklerin hTopo II α Enzimi (5GWK) ile Yapılan Moleküler Kenetlenme Çalışmaları	151
3.4.1. Bazı Bileşiklerin 5GWK Enzimi ile Etkileşimleri	153
3.5. Bileşiklerin ADMET Tahminleri ve İlaça Benzerliklerinin Değerlendirilmesi	155
4. TARTIŞMA	160
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	170
KAYNAKLAR	173
ÖZGEÇMİŞ	215

ÖNSÖZ

Kanser, dünya nüfusunun yaşlanmasıyla birlikte insidansının artması sonucu, giderek daha ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Bu nedenle, antikanser tedavilerde daha az yan etkiye sahip, yüksek selektivite gösteren yeni ajanların tasarımı üzerine araştırmalar hızla devam etmektedir. Doktora tez çalışması kapsamında, bazı yeni metil (2-sübstitüefenil)-1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilat ve metil (2-sübstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat türevlerinin sentezlenmesi ve yapılarının aydınlatılması amaçlanmıştır. Buna ek olarak, bu bileşiklerin çeşitli kanser hücre hatlarına karşı *in vitro* sitotoksik aktivitelerinin ve hTopo II α enzimi üzerindeki inhibisyon potansiyellerinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca, bileşiklerin hTopo II α enzimi ile öngörülen etkileşimlerinin ve ADMET özelliklerinin *in silico* ortamda değerlendirilmesi planlanmıştır.

Tez sürecim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana rehberlik eden, bilgi ve birikimlerini paylaşarak akademik gelişimime katkıda bulunan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. İlkay YILDIZ'a ve Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Serap YILMAZ ÖZGÜVEN'e,

Yapı-aydınlatma çalışmaları sırasında bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren, destek ve yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nın değerli Öğretim Üyesi ve Merkez Laboratuvarı Sorumlusu Sayın Prof. Dr. A. Hakan GÖKER'e,

Antikanser aktivite çalışmalarının gerçekleştirilmesinde sağladığı katkılar ve rehberlik için Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nın kıymetli Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Yalçın ERZURUMLU'ya,

Enzimatik inhibisyon çalışmalarında göstermiş olduğu özverili destek ve yardımları için Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nın değerli Öğretim Üyesi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Uğur KARAGÖZ'e,

Tez sürecinde benimle bilgi birikimlerini paylaşan ve akademik alanda farklı bir bakış açısı kazanmamı sağlayan değerli hocam Harvard Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik ve Translasyonel Bilim Merkezi Öğretim Üyesi Sayın Dr. Lijun SUN ve ekibine,

Ayrıca, çalışmamı destekleyen Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) (Proje No: 2022-B-02, 22566) ve Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi'ne (Proje No: TDK-2023-2877) sağlanan proje destekleri için,

Doktora sürecim boyunca aldığım teorik dersler ve sağladıkları değerli bilgi birikimiyle bu süreçte donanımlı bir akademik altyapı kazanmama katkı sağlayan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nın değerli Öğretim Üyelerine, bilgi ve tecrübelerini paylaşan Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma, yüksek lisans ve doktora öğrencisi meslektaşlarıma ve sayın Tülin EFE başta olmak üzere tüm Anabilim Dalı çalışanlarına,

Doktora sürecim boyunca desteklerini esirgemeyen, akademik ve kişisel gelişimime önemli katkılarda bulunan Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerine, çalışmalarımda büyük bir rol oynayan Farmasötik Kimya Laboratuvarı'nı kullanmama olanak tanıyan tüm hocalarıma ve bu süreçte her zaman yanımda olan bilgi ve deneyimlerini paylaşan değerli Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma,

Bu süreçte manevi destekleriyle her an yanımda olan, sabırları ve sevgileriyle her zorluğa benimle birlikte göğüs geren kıymetli annem Remziye YENİCE'ye, babam Mehmet YENİCE'ye, hayatımın en büyük destekçilerinden biri olan sevgili eşim Erkan ÇAKMAK'a, gülüşüyle her anı güzelleştiren canım oğlum Ozan Deniz ÇAKMAK'a, her zaman yanımda hissettiğim sevgili kardeşim Merve YENİCE BAL'a sonsuz minnettarlık ve teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

[Acr-Mes] ⁺ (ClO ₄) ⁻	9-Mesitil-10-metilakridinyum perklorat
[Zn(OTf) ₂]	Çinko triflat
A498	Böbrek Kanseri Hücre Hattı
A549	Akciğer Kanseri Hücre Hattı
ADMET	Adsorbsiyon, Dağılım, Metabolizma, Eliminasyon, Toksisite
AML	Akut Myeloid Lösemi
AMO-1	Çoklu Miyelom Hücre Hattı
Ar	Aril Grubu
ATM	Ataksi-Telangiyektazi-Mutant
BCG Aşısı	Bacillus Calmette-Guérin Aşısı
BDDE	Bis(2,3-dibromo-4,5-dihidroksibenzil) eter
BF ₃ ·OEt ₂	Boron triflorür eteratlar
C ₆	Beyin Kanseri Hücre Hattı
CDCl ₃	Döterokloroform
ChCl	Kolin Klorür
CoMFA	Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi
CoMSIA	Karşılaştırmalı Moleküler Benzerlik İndeksleri Analizi
Cs ₂ CO ₃	Sezyum Karbonat
CuI	Bakır İyodür
CuO	Bakır(II) Oksit
DABCO	1,4-Diazabisiklo[2.2.2]oktan
DDQ	2,3-Dikloro-5,6-disiyano-1,4-benzokinon
DDR	DNA Hasar Yanıtı
DES	Derin Ötektik Çözücü
DME	Dimetoksietan
DMEDA	<i>N,N'</i> -Dimetiletilediamin
DMF	Dimetil Formamit
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DMSO- <i>d</i> ₆	Döterolanmış Dimetil Sülfoksit- <i>d</i> ₆
DPC 3'	DNA-Protein Çapraz Bağları
DPPAP	Dipropilaminopropanol
Dppf	1,1'-Bis(difenilfosfino)ferrosen
EGFR	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
Et ₃ N	Trietilamin
FeCl ₃	Demir (III) Klorür

HAT	Hidrojen Atom Transferi
HCT-116	Kolon Kanseri Hücre Hattı
HDAC6	Histon Deasetilaz 6
HepG-2	Karaciğer Kanseri Hücre Hattı
HFCl ₄	Hidroflorik Asit Tetra Klorür
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HT-29	Kolon Kanseri Hücre Hattı
[In(OTf) ₃]	İndiyum Triflat
IUPAC	Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği
K ₂ CO ₃	Potasyum Karbonat
LBVS	Ligand Tabanlı Sanal Tarama
LiHMDS	Lityum Hekzametildisilazit
MAGL	Monoağılglicerol Lipaz
m-AMSA	4'-Amino-Metan-Sülfon-M-Anisidid
MCF7	Meme Kanseri Hücre Hattı
MD	Moleküler Dinamik
MDA-MB-231	Meme Kanseri Hücre Hattı
MTT	MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazolyum Bromür)
Na ₃ AlF ₆	Sodyum Heksafloroalüminat
NaN ₃	Sodyum Azid
NCOR1 ve NCOR2	Nükleer Reseptör Korepresör 1 ve 2
NCTS	<i>N</i> -Siyano- <i>N</i> -Fenil- <i>p</i> -Toluensülfonamid
PaCa2	Pankreas Kanseri Hücre Hattı
PARP-2	Poli (ADP-Riboz) Polimeraz 2
PC3	Prostat Kanseri Hücre Hattı
PDB	Protein Data Bank
PDE4	Fosfodiesteraz 4
WST-1	Suda çözünür tetrazolium tuzu-1, Water Soluble Tetrazolium Salt

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. DNA metabolizmasının topolojik etkileri	3
Şekil 1.2. İnsan Tip IIA enzimlerinin protein alanları	6
Şekil 1.3. Tip IIA Topo'ların zincir geçiş mekanizması	6
Şekil 1.4. Klinikte kullanılan antrasiklin türevi Topo inhibitörleri	9
Şekil 1.5. Klinikte yer alan epipodofilotoksin türevi Topo II enzim inhibitörleri	11
Şekil 1.6. Topo II inhibitörü amsakrin bileşiğinin kimyasal yapısı	12
Şekil 1.7. Klinikte yer alan antrakınon sınıfı Topo II zehirleri	12
Şekil 1.8. Topo II zehirlerine ve Topo II katalitik inhibitörlerine ait etki mekanizmaları	13
Şekil 1.9. İndenoizokinolinlerin kimyasal yapısı	14
Şekil 1.10. Namitecan bileşiğinin kimyasal yapısı	14
Şekil 1.11. Voreloxin bileşiğinin kimyasal yapısı	15
Şekil 1.12. Aldoksorubisin bileşiğinin yapısı	15
Şekil 1.13. Silatecan (AR67), becatecarin (BMS118176) ve Edotecarin (ED749) yapıları	16
Şekil 1.14. CX-5461 ve piridostatin yapıları	16
Şekil 1.15. NK314 bileşiğinin yapısı	17
Şekil 1.16. Resveratrol bileşiğinin kimyasal yapısı	18
Şekil 1.17. Benzazol halka sistemleri	21
Şekil 1.18. Benzimidazol halka sistemine sahip klinikte aktif olarak kullanılan inhibitörler	22
Şekil 1.19. Benzimidazol halkasının numaralandırılması	23
Şekil 1.20. a. Benzimidazollerin numaralandırılması ve tautomerizm, b. 3-(6-metil-1H-benzimidazol-2-il)fenol bileşiğine ait rotamerler	24
Şekil 1.21. DMSO-d ₆ 'da Benzimidazol halkasına ait ¹ H NMR (400MHz) ve ¹³ C NMR spektrumları	24
Şekil 1.22. 2,5-Dimetil benzimidazol bileşiğine ait sentez denklemi	25
Şekil 1.23. o-Fenilendiamin ve trikloroasetimidattan hareketle 2-triklorometil benzimidazol bileşiğinin sentez denklemi	26
Şekil 1.24. o-Fenilendiamin ve aldehitlerden hareketle 2- sübtitübenzimidazollerin sentezi	26
Şekil 1.25. 2-nitroanilinler ve karboksilli asitlerden hareketle benzimidazol türevleri eldesi	26
Şekil 1.26. 1,2-Fenilendiaminler ve karboksilik asitlerden hareketle 2-sübtitü benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi	27
Şekil 1.27. Esomeprazol magnezyum'un Philips Reaksiyonu üzerinden sentez denklemi	27
Şekil 1.28. o-Fenilendiaminlerle aldehitlerden sodyum metabisülfid varlığında 2-aril benzimidazol türevlerinin sentezi	28
Şekil 1.29. Bakır (II) asetat tuzu varlığında sentezlenen 2-sübtitü benzimidazollere ait genel sentez denklemi	28

Şekil 1.30. <i>o</i> -Fenilendiaminler ve aldehitlerden hareketle 2-sübstütüe-1 <i>H</i> -benzimidazollerin eldesi	29
Şekil 1.31. <i>o</i> -Fenilendiamin ve aldehitlerden iyot/su katalizörlüğünde 2-aril- <i>N</i> -alkil sübstütüe benzimidazol türevlerinin sentezi	29
Şekil 1.32. <i>o</i> -Fenilendiamin ve aldehitlerden hareketle 2- sübstütüe benzimidazol türevlerinin sentezi	29
Şekil 1.33. İnamoleküler C-H amidasyon metodolojisi ile bazik koşullar altında moleküler iyot kullanılarak gerçekleştirilen <i>N</i> -sübstütüe benzimidazol sentezi	30
Şekil 1.34. <i>o</i> -Fenilendiamininin ketonlarla reaksiyonu sonucu oluşabilecek benzimidazol bileşikleri	30
Şekil 1.35. <i>o</i> -Fenilendiamin ve asetofenondan hareketle benzimidazol sentezi	30
Şekil 1.36. <i>o</i> -Fenilendiamin ve aril alkil ketonlar üzerinden benzimidazol sentezi	31
Şekil 1.37. <i>o</i> -Fenilendiamin ve β-diketonlardan hareketle gerçekleştirilen benzimidazol sentezi	31
Şekil 1.38. <i>o</i> -Fenilendiamin ve asetik anhidritten hareketle 2-metilbenzimidazol eldesi	31
Şekil 1.39. <i>o</i> -Fenilendiamin ve asit klorürlerin ısıtılması ile 2-sübstütüe benzimidazollerin eldesi	32
Şekil 1.40. <i>N</i> -sübstütüe <i>o</i> -fenilendiamin ve asit klorürlerden hareketle elde edilen benzimidazoller	32
Şekil 1.41. <i>o</i> -Fenilendiamin ve asit klorürlerden hareketle 2-metilbenzimidazol sentezi	33
Şekil 1.42. <i>o</i> -Fenilendiaminler ile esterlerden hareketle benzimidazol eldesi	33
Şekil 1.43. <i>o</i> -Fenilendiaminler ile esterlerin DABAL-Me ₃ katalizörlüğünde benzimidazol eldesi	33
Şekil 1.44. <i>o</i> -Fenilendiaminler ile DMF türevlerinden hareketle benzimidazol sentezi	34
Şekil 1.45. <i>o</i> -Fenilendiaminler ile BrCN'den hareketle 2- sübstütüe benzimidazol eldesi	34
Şekil 1.46. Nitrillerden hareketle gerçekleştirilen siklizasyon reaksiyonu	34
Şekil 1.47. 1,3-Dihidro-2 <i>H</i> -benzoimidazol-2- <i>tiyondan</i> hareketle benzimidazol sentezi	35
Şekil 1.48. İnamoleküler <i>N</i> -arilasyon üzerinden benzimidazollerin eldesi	35
Şekil 1.49. NaN ₃ üzerinden benzimidazol sentezi	36
Şekil 1.50. 2,2,2-Triklorometil imidatlar üzerinden benzimidazol eldesi	36
Şekil 1.51. <i>o</i> -Fenilendiaminler ile Weinreb amitlerinden hareketle 2- sübstütüe benzimidazol eldesi	36
Şekil 1.52. <i>N</i> -aril iminlerin CuI katalizli aminasyonu yoluyla benzimidazol eldesi	37
Şekil 1.53. Üre/tiyosiyannattan hareketle benzimidazol sentezi	37
Şekil 1.54. Transiminasyon yoluyla primer alkil aminlerden hareketle benzimidazol eldesi	37
Şekil 1.55. D-Glukoz ve <i>o</i> -fenilendiaminlerden hareketle benzimidazol eldesi	38
Şekil 1.56. Nitroarenlerden hareketle 2-sübstütüe benzimidazol sentezi	38
Şekil 1.57. Fenilendiaminler ve alkollerden hareketle 2- sübstütüe benzimidazol sentezi	39
Şekil 1.58. Klinikte çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanımı olan benzimidazol türevi ajanlar	39
Şekil 1.59. 5-(4-Metilpiperazin-1-il)-2'-fenil-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bibenzimidazol (1)	40
Şekil 1.60. Metil 2-feniltiyometil-1 <i>H</i> -benzimidazol-5-karboksilat (2)	41
Şekil 1.61. CoMFA ve CoMSIA çalışmalarında kullanılan heterosiklik bileşikler	41

Şekil 1.62. 2-(2-Etoksifenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (3) ve 2-(2-(2-(pirolidin-1-il)etoksi)fenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (4) bileşikleri	42
Şekil 1.63. 1-(5-Karboksi-1 <i>H</i> -benzimidazol-2-ilmetil)piridinyum klorür (5)	42
Şekil 1.64. 2'-(2,4-Diflorofenil)-5-(4-metilpiperazin-1-il)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bibenzimidazol (6) ve 2'-(2,4-diklorofenil)-5-(4-metilpiperazin-1-il)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,5'-bibenzimidazol (7)	43
Şekil 1.65. 1-(2-Klorofenil)-1,2,3,4-tetrahidrobenzo[4,5]imidazo[1,2- <i>d</i>][1,2,4]triazin (8)	43
Şekil 1.66. 2-Metoksi- <i>N</i> -(2-((2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-2-oksoetil)tiyo)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5-il)benzamid (9)	43
Şekil 1.67. <i>N</i> -(1-allil-2-metil-1 <i>H</i> -benzimidazol-6-il)-2-(pirolidin-1-il)kinazolin-4-amin (10)	44
Şekil 1.68. 1-(2,3-Dibromopropil)-2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -benzimidazol (11)	44
Şekil 1.69. Sentezlenen benzimidazol ile kaynaşmış elliptisin türevleri (18)	45
Şekil 1.70. Benzoazolil grubu taşıyan benzimidazol türevi bileşikler (19-21)	45
Şekil 1.71. 2-((1 <i>H</i> -Benzimidazol-2-il)(metil)amino)izoindolin-1,3-dion (29), etil 2-(((1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il)metil)amino)-5,6,7,8-tetrahidro-4 <i>H</i> -siklohepta[b]tiyofen-3-karboksilat (30) ve 2-((1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il)metil)-5-metil-2,4-dihidro-3 <i>H</i> -pirazol-3-on (31)	46
Şekil 1.72. 2-(4-metilpiperazin-1-il)benzimidazo[1,2- <i>a</i>]kinolin-6-karbonitril (26) ve 2-(3,5-dimetilpiperazin-1-il)benzimidazo[1,2- <i>a</i>]kinolin-6-karbonitril (27) bileşikleri	46
Şekil 1.73. 2-(3-((4-Metilantrasen-9-il)amino)fenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-7-karboksamid (28)	47
Şekil 1.74. Bis((5-nitro-1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il)metil)sülfan (29), [((2-(4-Bromofenil)-2-okso)etiltio)metil]-5-nitro-1 <i>H</i> -benzimidazol (30) ve 2-(((2-(4-Bromofenil)-2-okso)etiltio)metil)-5-nitro-1 <i>H</i> -benzimidazol (31)	47
Şekil 1.75. (<i>Z</i>)-2-(5-((1-(4-metilbenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il)metilen)-4-okso-2-tiyoksotiyazolidin-3-il)asetik asit (32) ve (<i>Z</i>)-2-(5-((1-(2-florobenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il)metilen)-4-okso-2-tiyoksotiyazolidin-3-il)asetik asit (33)	48
Şekil 1.76. 18-(4-(2-amino-1 <i>H</i> -benzimidazol-1-il)bütoksi)-5-hidroksi-2-fenil-4 <i>H</i> -kromen-4-on (34)	48
Şekil 1.77. <i>N</i> '-(2,4-diklorobenziliden)-4-(6-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il) benzo hidrazid (35) ve <i>N</i> '-(2-nitrobenziliden)-4-(6-kloro-1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il) benzohidrazid (36)	49
Şekil 1.78. 2-(1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il)-1-(3,5-bis(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etan-1-on (37)	49
Şekil 1.79. 2-(5-Kloro-2-hidroksifenil)- <i>N</i> -hidroksi-1 <i>H</i> -benzimidazol-6-karboksamid (38), 2-(5-(2-florofenil)tiyofen-2-il)- <i>N</i> -hidroksi-1 <i>H</i> -benzimidazol-6-karboksamid (39) ve <i>N</i> -hidroksi-2-(5-feniltiyofen-2-il)-1 <i>H</i> -benzimidazol-6-karboksamid (40)	50
Şekil 1.80. <i>N</i> -(3-((1 <i>H</i> -benzimidazol-1-il)metil)benzil)-4-bromo-1 <i>H</i> -pirol-2-karboksamid (41) ve <i>N</i> -(3-((1 <i>H</i> -benzimidazol-1-il)metil)benzil)-1 <i>H</i> -indol-2-karboksamid (42)	50
Şekil 1.81. (<i>E</i>)-1-(4-bromofenil)-3-(1-(2-florobenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il)prop-2-en-1-on (43) ve (<i>E</i>)-3-(1-(4-metilbenzil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il)-1-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on (44)	51
Şekil 1.82. <i>N,N</i> -dimetil-3-((5-(3-(1-(metilsülfonil)indolin-6-il)-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridin-5-il)piridin-2-il)oksi)propan-1-amin (45) ve <i>N,N</i> -dimetil-3-((5-(3-(1-(metilsülfonil)-1,2,3,4-	

tetrahidrokinolin-7-il)-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridin-5-il)piridin-2-il)oks)propan-1-amin (46) bileşikleri	51
Şekil 1.83. Bazı benzoksazol bazlı doğal ürünlerin yapıları	52
Şekil 1.84. Klinikte yer alan yapısında benzoksazol çekirdeği taşıyan bileşikler	53
Şekil 1.85. Benzoksazol ve 1,3-oksazol halka sistemlerinin numaralandırılması	53
Şekil 1.86. CDCl ₃ ’te benzoksazole ait ¹ H NMR (400MHz) (a) ve ¹³ C NMR (b) spektrumları	54
Şekil 1.87. 4,4'-Bis(benzoksazol-2-il)stilben	55
Şekil 1.88. <i>o</i> -Aminofenoller ve çeşitli asitlerden hareketle benzoksazol sentezi	56
Şekil 1.89. Aril halojenür, izosiyaniür ve <i>o</i> -aminofenollerden hareketle benzoksazol sentezi	56
Şekil 1.90. <i>o</i> -Aminofenoller ve <i>orto</i> -esterlerden hareketle benzoksazol sentezi	57
Şekil 1.91. <i>o</i> -Aminofenoller ve aldehyitlerden hareketle benzoksazol eldesi	57
Şekil 1.92. <i>o</i> -Aminofenollerden hareketle Pd katalizli 2-aminobenzoksazol türevlerinin eldesi	57
Şekil 1.93. 2-aminofenoller ve β-diketonlardan hareketle siklizasyon reaksiyonu üzerinden benzoksazol eldesi	58
Şekil 1.94. <i>o</i> -Aminofenoller ile arilmetil klorürlerin reaksiyonu sonucu benzoksazol eldesi	58
Şekil 1.95. <i>o</i> -Aminofenoller ve aril/ vinil bromürlerden hareketle benzoksazol sentezi	58
Şekil 1.96. NCTS ve çeşitli 2-aminofenol türevlerinden hareketle benzoksazol sentezi	59
Şekil 1.97. 2-Aminofenollerin ketonlardan hareketle benzoksazol eldesi	59
Şekil 1.98. 2-Aminofenoller, stirenler ve elementel sülfürden hareketle benzoksazol eldesi	60
Şekil 1.99. α-Keto asitler ve 2-aminofenolden hareketle benzoksazol sentezi	60
Şekil 1.100. <i>o</i> -Haloanilitler üzerinden benzoksazol eldesi	60
Şekil 1.101. 1,2-Dihaloarenler/primer amitler üzerinden benzoksazol eldesi	61
Şekil 1.102. CuO nanopartiküllerinden hareketle benzoksazol eldesi	61
Şekil 1.103. Formal arilasyon yöntemi üzerinden 2-arilbenzoksazollerin eldesi	62
Şekil 1.104. Aldehit ve ketonlardan hareketle benzoksazol eldesi	62
Şekil 1.105. Benzamitten hareketle 2-sübstitüe benzoksazol sentezi	62
Şekil 1.106. 2-Fenil-4-nitrooksazol ve 2,3-dimetil-1,3-bütadienden hareketle benzoksazol eldesi	63
Şekil 1.107. Elementel sülfür, DABCO, <i>o</i> -nitrofenol ve aldehyitlerden hareketle benzoksazol sentezi	63
Şekil 1.108. Benzoksazol sentezinde intramoleküler O-arilasyon sentezi	63
Şekil 1.109. <i>o</i> -İzosiyaniodiaril eterlerden hareketle benzoksazol eldesi ve önerilen mekanizması	64
Şekil 1.110. 2-(3,4-Dimetoksi-fenil)-5-florobenzotiyazol (47), 5-Floro-2-(2-metoksifenil)benzoksazol (48) ve 5-floro-2-(3,4-dimetoksifenil)benzoksazol (49)	64
Şekil 1.111. 2-(Benzoksazol-2-ilamino)- <i>N</i> -(2-kloro-4-florofenil)-4-metil-6-(3-nitrofenil) pirimidin-5-karboksamid (59)	66
Şekil 1.112. (<i>E</i>)-2-(4-(2-(4-klorobenziliden)hidrazinil)fenil)benzoksazol (60)	66
Şekil 1.113. 3-(Benzoksazol-2-iltiyo)- <i>N</i> -(4-(<i>N</i> -sikloheksilkarbamoil)sülfamoil) fenil) propanimid (61) ve <i>N</i> -(4-(<i>N</i> -sikloheksilkarbamoil)sülfamoil)fenil)-3-((5-metil benzoksazol-2-il)tiyo)propanimid (62)	67

Şekil 1.114. 2-(4-(Benzoksazol-2-il)-2-metilfenil)izindolin-1,3-dion (63)	67
Şekil 1.115. 2-(2-aminobenzotiyazol-6-il)benzoksazol-5-amin (64)	67
Şekil 1.116. 4-(Benzoksazol-2-il)-1-(4-nitrofenil)pirolidin-2-on (64) ve 4-(4-(benzoksazol-2-il)-2-okzopirolidin-1-il)benzensülfonamid (65)	68
Şekil 1.117. <i>N</i> -(4-(Benzoksazol-2-il)fenil)-2-(4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)asetamid (66) ve <i>N</i> -(4-(Benzoksazol-2-il)fenil)-2-(4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)asetamid (67) bileşikleri	68
Şekil 1.118. 5-Nitro-2-(4-bütilfenil)benzoksazol (68) ve 2-(4-bütilfenil)oksazolo[4,5- <i>b</i>]piridin (69)	69
Şekil 1.119. 2-(1 <i>H</i> -indol-6-il)-7-(3,4,5-trimetoksifenil)benzoksazol (70)	70
Şekil 1.120. 2-(4-Etilfenil)benzoksazol-5-amin (71)	70
Şekil 1.121. 4-(2-(Benzoksazol-2-iltiyo)asetamido)- <i>N</i> -(4-nitrofenil)benzamid (72)	70
Şekil 1.122. <i>N</i> -(4-(5-klorobenzoksazol-2-il)fenil)-3-morfolinopropanamid (73) ve <i>N</i> -(4-(5-klorobenzoksazol-2-il)fenil)-3-(piperidin-1-il)propanamid (74)	71
Şekil 1.123. Paklitaksel ve 2-((2-fenilbenzoksazol-4-il)oksi)etil (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-3-benzamido-2-hidroksi-3-fenilpropanoat (75)	71
Şekil 1.124. 2-Kloro- <i>N</i> -(2-(4-etilfenil)benzoksazol-5-il)-5-nitrobenzamid (76) ve 2-bromo- <i>N</i> -(2-(4-etilfenil)benzooksazol-5-il)-5-nitrobenzamid (77)	72
Şekil 1.125. 2-(1-((4-Metoksifenil)sülfonil)piperidin-4-il)benzoksazol (78) ve 2-(1-(<i>N</i> '-(4-metilbenziliden)hidrazinokarbonilmetil)piperidin-4-il)benzoksazol (79)	72
Şekil 1.126. 2-(2-[(5-Metilbenzoksazol-2-il)tiyo]asetil)- <i>N</i> -fenilhidrazin-1-karboksamid (80) ve <i>N</i> -sikloheksil-2-(5-metilbenzoksazol-2-il)hidrazin-1-karboksamid (81)	73
Şekil 1.127. 2-(4-Etilpiperazin-1-il)okzazol türevi (82)	73
Şekil 1.128. Klinik aday TAK-117 ve 5-(3-((4 <i>aR</i> ,7 <i>aS</i>)-heksahidro-6 <i>H</i> -[1,4]dioksino[2,3- <i>c</i>]pirol-6-yl)kinoksalin-6-il)benzoksazol-2-amin (83)	73
Şekil 1.129. İlaç keşfi ve geliştirme sürecinin şematik gösterimi	74
Şekil 1.130. Bilgisayar destekli ilaç tasarım sürecinin şematik görünümü	77
Şekil 1.131. Reseptör yapısına dayalı ilaç tasarımının ana basamakları	78
Şekil 1.132. Moleküler kenetlenme işleminin süreci	79
Şekil 1.133. Farmakofor modelleme yöntemi ve uygulama alanları	85
Şekil 1.134. Temel farmakoforik özelliklere ait kimyasal yapılar	86
Şekil 1.135. SBVS ve LBVS yöntemlerine ait şema	87
Şekil 1.136. Tez kapsamında sentezlenen benzimidazol ve benzoksazol halkasına sahip bileşikler	88
Şekil 2.1. Etoposid (yeşil) ve kenetlenme sonrası en uygun konformasyon (pembe)	90
Şekil 2.2. Metil 3,4-diaminobenzoat bileşiklerinin sentez denklemi	93
Şekil 2.3. Metil (2-sübstitüefenilbenzimidazol)-5(6)-karboksilat bileşiklerin sentez denklemi	93
Şekil 2.4. Metil 3-amino-4-hidroksibenzoat bileşiklerinin sentez denklemi	94
Şekil 2.5. Metil (2-sübstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat bileşiklerin sentez denklemleri	95

Şekil 2.6. Etoposid (sarı) ve doking sonucu bulunan en uygun konformasyon (yeşil)	104
Şekil 3.1. Tasarlanan 2l bileşiğinin 5GWK'nın aktif bölgesinde 2B (sol) ve 3B (sağ) görünümü	107
Şekil 3.2. Tasarlanan 3h bileşiğinin 5GWK'nın aktif bölgesinde 2B (sol) ve 3B (sağ) görünümü	107
Şekil 3.3. Tasarlanan bileşiklerin yapılan ön moleküler kenetlenme çalışmaları sonucu 5GWK'nın aktif bölgesi ile etkileşimleri	108
Şekil 3.4. 2c Bileşiğine ait kütle spektrumu	111
Şekil 3.5. 2d Bileşiğine ait kütle spektrumu	112
Şekil 3.6. 2d Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	112
Şekil 3.7. 2d Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	112
Şekil 3.8. 2d Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	113
Şekil 3.9. 2f Bileşiğine ait kütle spektrumu	114
Şekil 3.10. 2g Bileşiğine ait kütle spektrumu	115
Şekil 3.11. 2h Bileşiğine ait kütle spektrumu	116
Şekil 3.12. 2i Bileşiğine ait kütle spektrumu	117
Şekil 3.13. 2i Bileşiğine ait LC spektrumu	118
Şekil 3.14. 2i Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	118
Şekil 3.15. 2i Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	118
Şekil 3.16. 2i Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	119
Şekil 3.17. 2k Bileşiğine ait kütle spektrumu	120
Şekil 3.18. 2k Bileşiğine ait LC spektrumu	120
Şekil 3.19. 2k Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	120
Şekil 3.20. 2k Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	121
Şekil 3.21. 2k Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	121
Şekil 3.22. 2m Bileşiğine ait kütle spektrumu	123
Şekil 3.23. 2m Bileşiğine ait LC spektrumu	123
Şekil 3.24. 2m Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	123
Şekil 3.25. 2m Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	124
Şekil 3.26. 2m Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	124
Şekil 3.27. 2o Bileşiğine ait kütle spektrumu	126
Şekil 3.28. 2p Bileşiğine ait kütle spektrumu	127
Şekil 3.29. 2p Bileşiğine ait LC spektrumu	127
Şekil 3.30. 2p Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	127
Şekil 3.31. 2p Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	128
Şekil 3.32. 2p Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	128
Şekil 3.33. 3d Bileşiğine ait kütle spektrumu	131
Şekil 3. 34. 3d Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	131
Şekil 3. 35. 3d Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	132
Şekil 3. 36. 3d Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	132
Şekil 3.37. 3f Bileşiğine ait kütle spektrumu	133

Şekil 3.38. 3f Bileşiğine ait LC spektrumu	134
Şekil 3.39. 3f Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	134
Şekil 3.40. 3f Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	134
Şekil 3.41. 3f Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	135
Şekil 3.42. 3g Bileşiğine ait kütle spektrumu	136
Şekil 3.43. 3g Bileşiğine ait LC spektrumu	136
Şekil 3.44. 3g Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	136
Şekil 3.45. 3g Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	137
Şekil 3.46. 3g Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	137
Şekil 3.47. 3h Bileşiğine ait kütle spektrumu	138
Şekil 3.48. 3h Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	138
Şekil 3.49. 3h Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	139
Şekil 3.50. 3h Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	139
Şekil 3.51. 3i Bileşiğine ait kütle spektrumu	140
Şekil 3.52. 3i Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	140
Şekil 3.53. 3i Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	140
Şekil 3.54. 3i Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	141
Şekil 3.55. 3k Bileşiğine ait kütle spektrumu	142
Şekil 3.56. 3k Bileşiğine ait LC spektrumu	142
Şekil 3.57. 3k Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	142
Şekil 3.58. 3k Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	143
Şekil 3.59. 3k Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	143
Şekil 3.60. 3l Bileşiğine ait kütle spektrumu	144
Şekil 3.61. 3m Bileşiğine ait kütle spektrumu	145
Şekil 3.62. 3m Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	145
Şekil 3.63. 3m Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	145
Şekil 3.64. 3m Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	146
Şekil 3.65. 3n Bileşiğine ait kütle spektrumu	147
Şekil 3.66. 3o Bileşiğine ait kütle spektrumu	148
Şekil 3.67. 3o Bileşiğine ait LC spektrumu	148
Şekil 3.68. 3o Bileşiğine ait 1H NMR spektrumu	148
Şekil 3.69. 3o Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	148
Şekil 3.70. 3o Bileşiğine ait FT-IR spektrumu	149
Şekil 3.71. 2a Bileşiğinin 5GWK enzimi ile etkileşimleri	153
Şekil 3.72. 2n Bileşiğinin 5GWK enzimi ile etkileşimleri	153
Şekil 3.73. 2b Bileşiğinin 5GWK enzimi ile etkileşimleri	154
Şekil 3.74. 2c Bileşiğinin 5GWK enzimi ile etkileşimleri	154
Şekil 3.75. 3o Bileşiğinin 5GWK enzimi ile etkileşimleri	155
Şekil 4.1. Metil (2-sübstütüefenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol-5(6)-karboksilatların genel sentezi	162



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Piyasada bulunan ve kanser kemoterapisinde kullanılan Topo inhibitörleri	10
Çizelge 1.2. Son yıllarda Topo inhibitörü olarak bildirilen doğal kaynaklı bileşikler	19
Çizelge 1.3. Oksuzoglu ve arkadaşlarının hTopo I ve hTopo II inhibisyon verileri	65
Çizelge 2.1. Doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşikler	92
Çizelge 3.1. Sentezlenen bileşikler ile etoposide ait antikanser aktivite (IC ₅₀) değerleri (μM)	150
Çizelge 3. 2. Sentezlenen bileşikler ile etoposide ait <i>in vitro</i> hTopoIIα bağlanma değerleri (μg/L)	151
Çizelge 3.3. Sentezlenen bileşiklerin <i>in silico</i> bağlanma enerjileri (kcal/mol) ve gösterdikleri etkileşimler	152
Çizelge 3.4. Sentezlenen bileşiklere ait fizikokimyasal parametreler	156
Çizelge 3.5. Sentezlenen bileşiklere ait öngörülen dağılım parametreleri	157
Çizelge 3.6. Sentezlenen bileşiklere ait öngörülen metabolizma parametreleri	158
Çizelge 3.7. Sentezlenen bileşiklerin öngörülen toksisite profilleri	159

1. GİRİŞ

1.1. Kanser

Kanser, kontrolsüz hücre çoğalmasını ve bağışıklık sisteminden kaçışını tetikleyebilen bir dizi edinilmiş genetik mutasyondan (El Tekle ve Garrett, 2023) ve sayısız endojen veya eksojen kanserojen ajanlar ile çeşitli etiyolojik mekanizmalardan kaynaklanan çok sayıda hastalık koleksiyonudur (Coleman ve Tsongalis, 2001). 21. yüzyılda büyük bir toplumsal, halk sağlığı ve ekonomik sorun haline gelen bu hastalık, dünya genelinde neredeyse her altı ölümden birinin (%16,8) ve bulaşıcı olmayan hastalıklardan kaynaklanan ölümlerin dörtte birinin (%22,8) sorumlusudur (Bray vd., 2024).

Dünya çapında erken ölümlerin üçte birine (%30,3) neden olan ve 30-69 yaş grubunda 183 ülkenin 177'sinde ölüm nedenleri arasında ilk üçte yer alan kanser (Bray vd., 2021) yaşam süresini uzatmanın önündeki önemli bir engel olmasının yanı sıra, kanser türleri, coğrafya ve cinsiyete göre değişen toplumsal ve makroekonomik maliyetlerle yakından ilişkilidir (Chen vd., 2023).

Kanser hücreleri, normal hücre davranışını kontrol eden sinyallere uygun şekilde yanıt vermek yerine, kontrolsüz bir şekilde büyür ve bölünür, normal doku ve organlara saldırır ve nihayetinde vücut boyunca yayılır. Bu hücrelerin sergilediği genel büyüme kontrolünün kaybı, birden fazla hücre düzenleyici sistemde biriken anormalliklerden kaynaklanır (Cooper, 2019).

Son araştırmalar, farklı kanser türlerinin hücresel proliferasyonu kontrol eden ortak moleküler mekanizmaları paylaştığını ortaya koymuştur; bu mekanizmalar, hücresel proliferasyonu, göçü ve farklılaşmayı pozitif ve negatif yönde düzenleyen genlerin kaybı, mutasyonu veya disfonksiyonunu içerir. Belirli kanserlerin hastalık patogenezi yöneten moleküler mekanizmaların tartışılmasında, bu hastalıkların dünya nüfusları arasında dağılımının, hastalığın oluşumunda rol oynayan spesifik risk faktörleri ve etiyolojik ajanların dikkate alınmasının önemi büyüktür (Coleman ve Tsongalis, 2001).

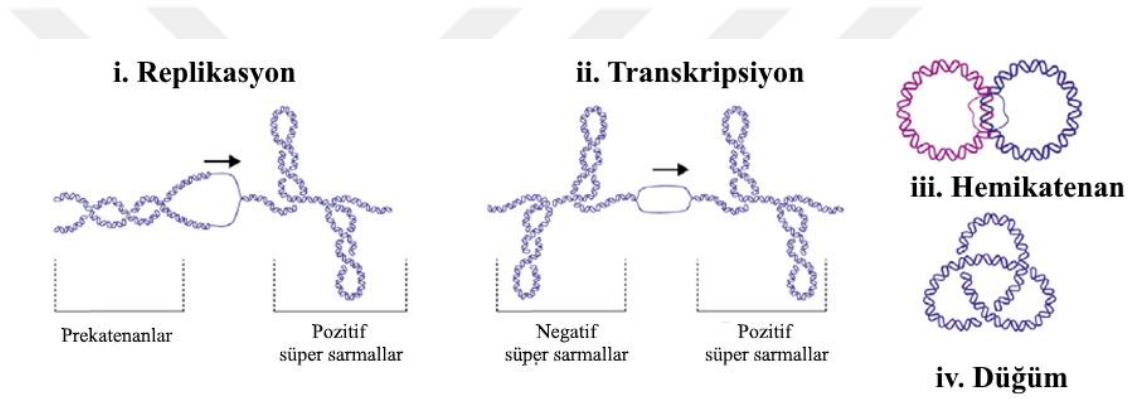
1.2. DNA'nın Topolojik Yapısı, DNA Topoizomerazları, Sınıflandırılmaları ve Fonksiyonları

Yaşamın temel moleküllerinden biri olan DNA, organizmanın bütünlüğünün korunması açısından son derece önemlidir. Çift sarmallı yapıda olan bu moleküle dair potansiyel topolojik sorunlar, yapısının 1953'te ilk kez James Watson, Francis Crick ve Rosalind Franklin tarafından aydınlatılmasından kısa bir süre sonra fark edilmiştir (Watson ve Crick, 1953a, 1953b).

Çift sarmal içindeki topolojik değişiklikler (DNA süper sarılımlar, dolanmalar ve düğümlenmeler), genetik bilginin nesilden nesile aktarılması, ifade edilmesi ve tüm canlı sistemlerde yeniden birleşme süreçlerini önemli ölçüde etkiler (Ketrone ve Osheroff, 2014). Bu durumlar genellikle çift sarmalın zincirlerinin ayrıldığı replikasyon ve transkripsiyon ve ayrıca kromozom ayrılması ve rekombinasyon gibi çeşitli metabolik süreçler sırasında ortaya çıkabilmektedir. Bilindiği gibi, replikasyon sürecinde DNA çift sarmalının iki zinciri, yeni zincirlerin sentezine olanak sağlamak için ayrılır. Zincirlerin ayrılması, replikasyon çatallının önünde pozitif süper sarmalların ve arkasında yeni sentezlenen yavru zincirlerin birbirine dolanarak prekatenanların oluşmasına yol açar. Latince 'catena (zincir)' anlamına gelen bu yapılar, zincirdeki iki halka gibi birbirine geçmiş, ayrılabilmeleri için kovalent bir bağın kırılması gereken iki kenetlenmiş döngü olarak tanımlanabilir (Moerdijk ve Bielawski, 2012). Prekatenan oluşumu sırasında, ilerleyen protein komplekslerinin önünde pozitif süpersarmallar ve arkasında negatif süpersarmallar oluşur. Bu yapılar replikasyon tamamlanmadan önce çözülmezse, katenalı DNA molekülleri meydana gelir (Bates ve Maxwell, 2005; Liu ve Wang, 1987; Postow vd., 2001). Replikasyon çatallının ilerlemesi ve yavru zincirlerin birbirinden ayrılmaması sonucu genomun bölünmesi engellenir ve böylece hücre bölünmesi süreci baskılanmış olur (Racko vd., 2018). Hemikatenan yapılarının oluşumu da replikasyon sürecinin muhtemel bir sonucudur, bu durumda replike edilen çift sarmalların ana zincirleri baz eşleşmesiyle birbirine bağlı kalır. DNA düğümlenmesi de DNA replikasyonunun bir yan ürünü olarak bir DNA molekülünün kendi içinde bağlanması sonucu ortaya çıkabilmektedir. Transkripsiyon sürecinde görülen topolojik değişiklikler replikasyona benzer olarak, transkripsiyon kompleksinin önünde pozitif süper sarmallar ve arkasında negatif süper sarmallar oluşmasıyla ortaya çıkar (Şekil 1.1) (McKie vd., 2021).

Aşırı torsiyon gerilmesi sonucu ilk olarak helikal bükülme değişir, ardından DNA veya RNA'nın tamamı kendi etrafında dönerek alternatif plektonemik yapılarla geçiş

segmentleri ve dolanmalar oluşturur (Pommier vd., 2022). Hücre bölünmesi ve canlılığı sağlanması için, bu topolojik değişikliklerin çözülmesi, DNA metabolizmasının devam etmesi, hücrenin DNA'yı verimli bir şekilde kopyalaması, transkripsiyon yapması ve genomu bölmesi gerekir. Sonuç olarak bu topolojik streslerin yönetilmesi, DNA replikasyonu ve transkripsiyon süreçlerinin sorunsuz ilerlemesini ve genetik materyalin hücre bölünmesi sırasında yavru hücrelere doğru şekilde dağıtılmasını sağlar. Tüm bunların yanında DNA topolojisinin yararlı yönlerinden de bahsetmek mümkündür. Buna örnek olarak plazmid replikasyonu (Schvartzman ve Stasiak, 2004) ve *Escherichia coli* genomunun sıkışması negatif süper sarmal ile sağlanır (Woldringh vd., 1995). DNA topolojisini kontrol etmede bu hayati rolleri üstlenen temel proteinlere DNA topoizomerazları (Topo'lar) denir (McKie vd., 2021).



Şekil 1.1. DNA metabolizmasının topolojik etkileri

Topo'ların ortak özelliği, Topo'nun aktif bölgesinde yer alan tirozin rezidüsünün DNA omurgasını kesip yeniden birleştirmesidir. Bu işlem, bir nükleotidin fosfat esteri ile TOP enzimine ait aktif tirozin rezidüsünün alkoksi grubu ile yer değiştirdiği kimyasal bir reaksiyon olan transesterifikasyon yoluyla gerçekleştirilir (Pommier vd., 2016). Böylece, DNA'ya kovalent bağlı bir fosfotirozil bağlantısı olan DNA-Topo kesme kompleksi olarak bilinen (TOP cleavage complex, Topocc) ara ürünü oluşur (Bates ve Maxwell, 2005; Pommier vd., 2022). Hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda yer alan Topo'lar, DNA üzerinde tek zincirli veya çift zincirli geçici kırıklar oluşumunu ve yeniden bağlanmasını katalize etme özelliklerine göre sırasıyla Tip I ve Tip II Topo'lar olarak sınıflandırılır (Bates ve Maxwell, 2005; Bush vd., 2015; Champoux, 2001).

1.2.1. İnsanlarda Bulunan Topo Enzimleri

İnsanlarda iki adet Tip IA (Topo III α ve Topo III β), iki adet Tip IB (Topo I ve mitokondriyal Topo I (Topo Imt)) ve iki adet Tip IIA (Topo II α ve Topo II β) olmak üzere toplam altı adet Topo enzimi bulunur. Bu enzimler ve bunlara ait onarım enzimleri olan tirozil-DNA fosfodiesterazlar (TDP'ler; TDP1 ve TDP2) hem nükleusta hem de mitokondride yer alır (Pommier vd., 2022; Pommier vd., 2016). Sitoplazmik RNA'lar Topo III β ve TDP2 enzimleri tarafından işlenir (Saha vd., 2020).

İnsan Topo enzimleri çeşitli biyokimyasal farklılıklar gösterir. Bu özelliklerden ilki polaritedir; DNA üzerinde 3'-fosfat veya 5'-fosfata kovalent tirozin bağı oluşturabilirler. Bir diğeri substrat özgülüğüdür; bu, enzimlerin çift veya tek zincirli DNA veya RNA omurgasını keserek etkilerini göstermesi anlamına gelir. Bir başka özellik ise nükleik asit gevşeme mekanizmalarıdır; burada DNA sarmal rotasyonu ve geçiş noktası inversiyonu gibi mekanizmalardan söz edilebilir. Son olarak, kofaktör gereksinimleri arasında farklılıklar görülür; bazı enzimler ATP ve/veya Mg²⁺ bağımlı olarak çalışırken, bazıları bu kofaktörlerden birine veya ikisine de ihtiyaç duymadan çalışır (Pommier vd., 2022).

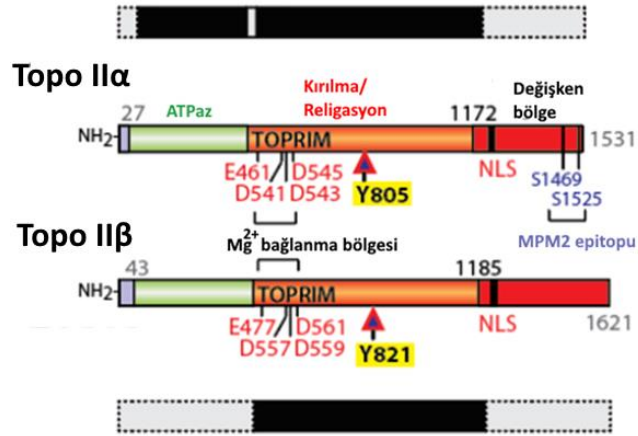
Tip IB Topo'lar (Topo I ve Topo Imt), yalnızca çift sarmallı DNA'nın bir ipliğinde kırıklar oluşturarak 3'-fosfotirozin bağı (3' DNA-protein çapraz bağları (DPC'ler)) meydana getirir. Bu durum onları prokaryotik Tyr rekombinaz enzimleriyle ilişkilendirir (Champoux, 2001; W. Yang, 2010). Böylece kofaktöre ihtiyaç duymadan DNA'ya ait pozitif (Sc⁺) ve negatif (Sc⁻) süper sarmalları gevşetir (Pommier vd., 2022; Seol vd., 2013; Stewart vd., 1998).

1.2.1.1. Tip IIA Topo'lar

Nükleus, nükleoplazma ve mitokondride yer alan Tip IIA Topo'lar (Topo II α ve Topo II β), ATP/Mg²⁺ bağımlı olarak hem DNA'da oluşan süper sarmallara hem de katenanlara ve düğümlere etki ederler. Çift sarmallı DNA'nın her iki zincirinde de 4-baz çifti aralıklı kırıklar oluştururlar. DNA'nın 5'-uçlarına katalitik tirozin (Tyr) kovalent olarak bağlanarak Topo II-DNA kırılma kompleksi (Topo II-DNA cleavage complex, Topo IIcc) adı verilen önemli bir ara ürün oluştururlar. Bu sayede DNA'nın çapraz geçiş noktalarında birbirine dolanan bölümleri çözerler ve DNA kırıklarının sorunsuz bir şekilde yeniden bağlanmasını sağlayarak topolojisini yeniden düzenlerler (Pommier vd., 2022; Uusküla-Reimand ve

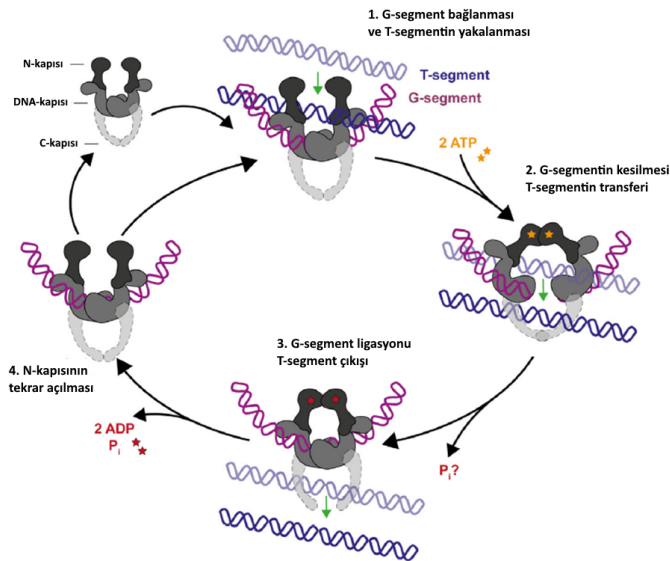
Wilson, 2022). Ayrıca, Topo II α ve Topo II β enzimleri, dimere ait yalnızca bir proteininin DNA'da kesikler oluşturduğu durumda tek sarmallı kırıklar da meydana getirebilirler (Pommier vd., 2016).

Şekil 1.2'de gösterilen tip IIA enzimleri önemli yapısal ve işlevsel alanlar içerir. ATP bağlanma ve hidrolizi işleminin gerçekleştirildiği N-terminal alan, Topo II'nin konformasyonel değişiklikleri için gereklidir. Merkezde yer alan sarı renk ile ifade edilen DNA bağlanma ve kırılma alanı (DNA kapısı), Topo II ve DNA çift zincir kırıklarının 5' uçları arasında kovalent komplekslerin oluşturulması için gereken aktif tirozin (Tyr) bölgesini içerir (Berger vd., 1996; Nitiss, 2009). TOPRIM bölgesinde yer alan kırmızı renkteki rezidüer Mg^{2+} ile şelat yapan bölgeleri ifade eder. Karboksil-terminal alanları (C-terminal Domainleri, CTD'ler), evrimsel çeşitliliğin en büyük ölçüde gözlemlendiği bölgedir. CTD'ler, nükleusa ait lokalizasyon motiflerini içerir ve Topo II'nin katalitik aktivitesini, protein-protein etkileşimlerini ve DNA bağlanma özelliklerini düzenleyen geniş kapsamlı post-translasyonel modifikasyonların gerçekleştiği bölgelerdir. NLS (Nükleer Lokalizasyon Sinyali) bir proteinin çekirdeğe taşınması için gerekli olan kısa amino asit dizisidir. Gri renk ile gösterilmiş alanlar için yapısal veriler mevcut değildir. (Uusküla-Reimand ve Wilson, 2022). Tip IIA Topo'ların genel işleyiş mekanizmaları (Şekil 1.3), kapı segmenti (G-segmenti) olarak adlandırılan DNA kapısında yer alan bir DNA çift sarmalının bağlanması ile başlar. Taşıma segmenti (T-segmenti) olarak adlandırılan bir diğer çift sarmal, ATP ile işlevini gösteren kısaç (N-kapısı) tarafından yakalanır (1). (2) ATP bağlanması ile N-kapısı dimerleşir, G-segmentinde geçici bir kırık oluşturulmasının ardından, T segmenti bu kırığın içinden geçirilerek enzimin C-kapısından serbest bırakılır (2) ve DNA'da kırılan G-segmenti yeniden birleştirilir ve T-segmenti C-kapısından çıkar (3). Son olarak, ADP ve fosfatın (Pi) ayrılması ile başka bir zincir geçişi veya DNA'dan salınımı sağlama amacıyla N-kapısı yeniden açılır (McKie vd., 2021).



Şekil 1.2. İnsan Tip IIA enzimlerinin protein alanları

Topo II α ve Topo II β enzimleri, birden fazla katlanmış protein alanına sahip homodimerik enzimlerdir. Ancak aralarında yapısal ve işlevsel bazı temel farklılıklar bulunmaktadır (Hoang vd., 2020; Pommier vd., 2016). Bunlardan ilki, hücre döngüsü düzenlemelerinde görülmektedir. Topo II α , S fazı boyunca artar, mitozun sonunda parçalanarak enzim konsantrasyonunda hızlı bir azalma görülür (Lee ve Wang, 2019; Woessner vd., 1991). Ayrıca, Topo II α pozitif süper sarmalları (Sc^+) gevşetirken Topo II β 'nin hem pozitif hem de negatif süper sarmallar üzerine etkilidir (McClendon vd., 2005; Vann vd., 2021).



Şekil 1.3. Tip IIA Topo'ların zincir geçiş mekanizması

Son olarak, her iki enzimin CTD'lerine ait polipeptit dizilerinde farklılıklar ortaya konulmuştur (Şekil 1.2). Yapılan proteomik çalışmalar, CTD'lerde birçok post-translasyonel modifikasyonun varlığını doğrulamaktadır, fakat bunların çoğu henüz bir işlevle ilişkilendirilmemiştir. Örneğin, Topo II α ve Topo II β 'nin CTD'leri, DNA ile etkileşimlerine ve iplik geçişi aktivitelerine katkıda bulunur, dekatasyon kontrol noktasının düzenlenmesinde rol alır ve Topo II α ve Topo II β 'nin ilaç duyarlılığını etkiler. Ayrıca, Topo II α 'nın C-terminal bölgesinde bulunup, Topo II β 'da bulunmayan kromatin bağlayıcı (ChT), alan enzimin kromozomlarla etkileşimleri ve mitotik sentromerlere yerleşimini teşvik eder. Topo II α ve Topo II β 'nin C-terminal domainlerinin farklı yapısı ve işlevinin araştırılması, ilaç geliştirme çalışmaları için yeni fırsatlar sunmaktadır (Zhang vd., 2020).

1.2.1.1.1. Kanser Tedavisinde Kritik Hedefler Olarak Tip IIA Topo'lar

İnsanlarda Tip II Topo'lar Topo II α ve Topo II β olmak üzere iki izoformda bulunur (Shu vd., 2024). Her iki izoform da ayrı genler tarafından kodlanmalarına rağmen amino asit dizisi açısından yaklaşık %70 oranında benzerlik gösterirler. Ancak işlevsel olarak farklı özelliklere sahiptirler. Topo II α , hücre döngüsünün S ve M fazlarında ifade edilir ve kanser hücrelerinin çoğalması ile mitoz sırasında DNA replikasyonu ve kromozom ayrılmasında kritik bir rol oynar (Grue vd., 1998; Kimura vd., 1994; Wang, 1996; Woessner vd., 1991). Topo II β ise hücre döngüsünden bağımsız olup, hücre transkripsiyon ve farklılaşma süreçlerinde daha çok yer alır (Chen ve Beck, 1995; Kimura vd., 1994; Woessner vd., 1991; Yang vd., 2000). Ancak, onkogenik transkripsiyon faktörleri tarafından sıkça aktive edilir ve kanser hücrelerinin proliferatif bir transkriptoma sahip olmasına katkıda bulunur (Haffner vd., 2010; Ju vd., 2006; Lin vd., 2009).

Yukarıda belirtildiği gibi, insan Topo II α ve Topo II β enzimlerini hedef alan bazı kanser tedavileri, kardiyotoksisite ve ikincil malignite gibi ciddi ve hayatı tehdit eden yan etkilere neden olabilir. Topo II β 'nin bu istenmeyen toksik etkilerde rol oynayabileceğine dair kanıtlar da mevcuttur. Bu nedenle, terapötik bir perspektiften bakıldığında, antikanser ajanlar için Topo II α 'nın Topo II β 'ya kıyasla daha uygun bir hedef olduğu düşünülmektedir. İzoformlar arasındaki farklılıkları belirlemek, seçici inhibitörlerin geliştirilmesine yardımcı olabilir. (Cowell ve Austin, 2012; Cowell vd., 2012; Lyu vd., 2007).

1.2.1.1.2. Topo II İnhibitörleri

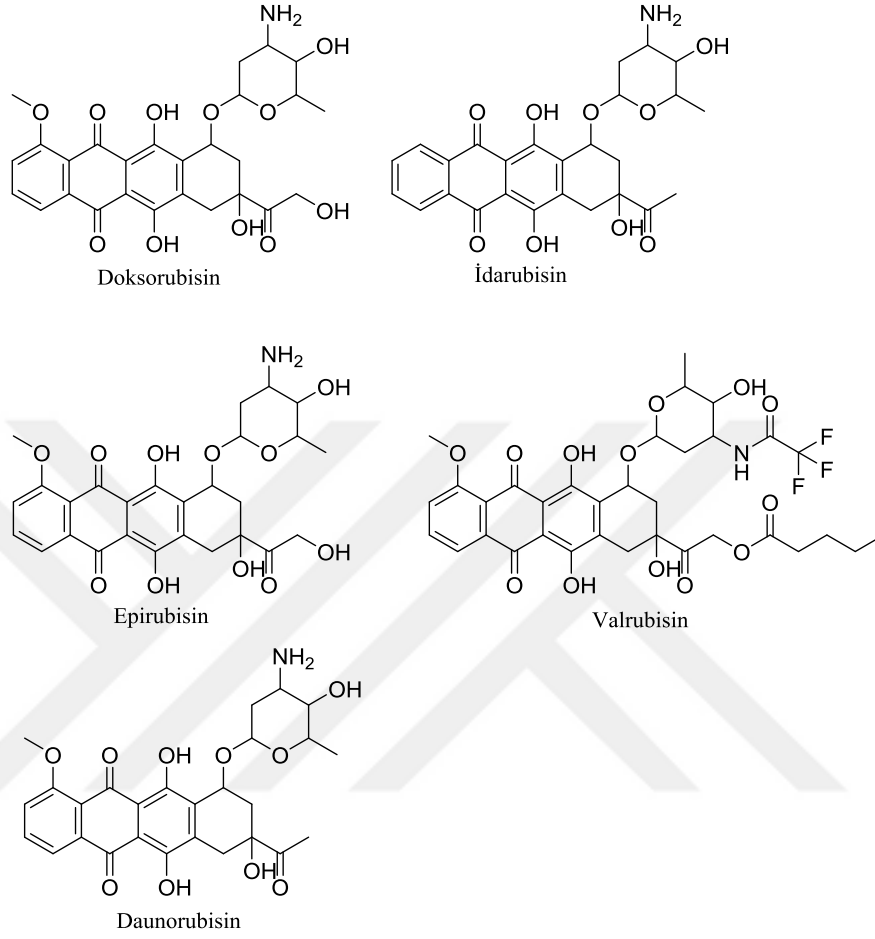
Topo II α ve Topo II β enzimleri, geniş çapta reçete edilen kanser ilaçlarının hedef biyomolekülleridir. Bunlar; klinikte lösemi, lenfoma, sarkoma, nöroblastoma, germ hücreli tümörler, meme, akciğer, mide, kemik ve mesane kanserleri de dahil olmak üzere solid tümörler ve hematolojik malignitelerde rutin olarak kullanılmaktadır (Vann vd., 2021).

Topo II'lere yönelik kemoterapötik tedavi Topo II zehirleri ve katalitik inhibitörler olmak üzere iki ana başlıkta toplanır. Bu bileşikler, Topo II'nin katalitik döngüsünü farklı mekanizmalarla engelleyerek, hızla çoğalan kanser hücrelerinde torsiyonel stres birikimine, DNA hasar yanıtı (DNA Damage Response, DDR) yollarının tetiklenmesine ve apoptoza yol açarlar (Delgado vd., 2018; Nitiss, 2009; Pommier vd., 2010).

1.2.1.1.2.1. Topo II Zehirleri

Topo II zehirleri klinikte en yaygın kullanılan antikanser ajanlar arasındadır. Çizelge 1.1'de şu anda piyasada bulunan ve kanser kemoterapisinde kullanılan Topo II zehirlerine yer verilmiştir (Government of Canada, 2024; EMA, 2024; FDA, 2024). Antikanser terapide kullanılan ilk Topo II inhibitörleri antrasiklinlerdir. İlk olarak bakteriyel *Streptomyces* türlerinden elde edilmiş ve antibiyotik ve antitümör aktiviteye sahip oldukları ortaya konmuş olan antrasiklin türevleri (Oki, 1984) doksorubisin, daunorubisin, valrubisin, idarubisin ve epirubisin (Şekil 1.4) güçlü interkalasyon aktiviteleri sayesinde DNA baz çiftleri arasına girerler. Şeker gruplarından biri veya daha fazlası DNA'nın minör oluşuna oturarak molekülü sabitler. DNA topolojik olarak kısıtlandığında, araya giren bu moleküller iplik ayrılmasına yol açar, çift sarmalı çözer ve DNA süper sarmallarını oluşturur, bu da torsiyonel stresin artmasına neden olur. Ökaryotların lineer genomları, CCCTC-bağlama faktörü (CTCF) gibi izolatör bağlayıcı proteinler tarafından bağımsız topolojik alanlara ayrılır ve böylece her alan topolojik olarak kısıtlanmış olur (Dixon vd., 2012; Yang vd., 2014). Ayrıca, DNA'yı ve diğer hücrel makromoleküllere zarar vererek hücre ölümüne yol açabilen serbest radikaller oluştururlar (Kim vd., 2006). Antrasiklinler, doz bağımlı bir şekilde akut ve kronik kalp komplikasyonlarıyla sonuçlanan kardiyotoksik etkilere neden olurlar. Bu konuda önerilen bir mekanizma antrasiklinlerin kalp kası hücrelerinde süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit üretmesi, bu durumun oksidatif strese ve nihayetinde apoptoza yol açması şeklindedir Bunun yanında, bu gruptaki bileşikler kalp hücrelerinde kalsiyum ve

demir seviyelerini bozarak daha fazla serbest radikal oluşumuna da neden olurlar (Menna vd., 2008).



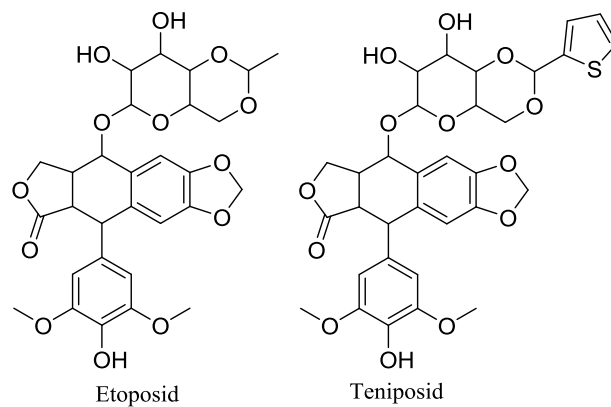
Şekil 1.4. Klinikte kullanılan antrasiklin türevi Topo inhibitörleri

Çizelge 1.1. Piyasada bulunan ve kanser kemoterapisinde kullanılan Topo inhibitörleri

İlaç	Sınıf	Onay	Hedef	Endikasyon ^a
Doksorubisin	Antrasiklin	07/08/1974 (ABD)	Tip II Zehri	Diğer kemoterapi ajanlarıyla birlikte, meme kanseri; akut lenfoblastik/miyeloblastik lösemi; lenfoma, metastatik nöroblastom, Wilms tümörü, yumuşak doku ve kemik sarkomları; metastatik over, mesane, tiroid, mide ve bronkojenik karsinom tedavisinde kullanılır.
Epirubisin	Antrasiklin	15/09/1999 (ABD)	Tip II Zehri	Aksiller lenf nodu tutulumu olan meme kanserinde diğer kemoterapi ajanlarıyla kombinasyon halinde kullanılır.
Valrubisin	Antrasiklin	25/09/1998 (ABD)	Tip II Zehri	Bacillus Calmette-Guérin (BCG) aşısı tedavisine dirençli mesane kanseri olan ve sistektomi için aday olmayan hastalarda intravezikal uygulamalarda kullanılır.
Daunorubisin	Antrasiklin	19/12/1979 (ABD)	Tip II Zehri	Diğer kemoterapi ajanlarıyla kombinasyon halinde, yetişkinlerde akut myeloid, monositik ve eritroid lenfositik lösemilerde; çocuklarda ise akut lenfoblastik lösemide kullanılır.
İdarubisin	Antrasiklin	27/09/1990 (ABD)	Tip II Zehri	Diğer ajanlarla kombinasyon halinde, Fransız-Amerikan-İngiliz (FAB) M1–M7 sınıflamaları dahil akut myeloid lösemi (AML) olan yetişkinlerin tedavisinde kullanılır.
Mitoksantron	Antrakinin	23/12/1987 (ABD)	Tip II Zehri	Sekonder (kronik) multipl sklerozda; ileri evre hormon dirençli prostat kanserine bağlı ağrıyı tedavisinde; akut lenfoblastik anemi tedavisinde diğer ajanlarla birlikte kullanılır.
Piksantron	Antrakinin	16/02/2012 (Avrupa)	Tip II Zehri	Yetişkin hastalarda çoklu nüks etmiş veya dirençli agresif Non-Hodgkin B-hücreli lenfomaların tedavisinde kullanılır.
Etoposid	Epipodofilotoksin	10/11/1983 (ABD)	Tip II Zehri	Diğer kemoterapi ajanlarıyla kombine halde tedavi edilmesi zor testis tümörleri için; küçük hücreli akciğer kanseri için ilk basamak tedavi olarak sisplatin ile kombinasyon halinde kullanılır.
Teniposid	Epipodofilotoksin	14/07/1992 (ABD)	Tip II Zehri	Tedaviye dirençli çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemi hastalarında kullanılır.
Amsakrin	Çeşitli	31/12/1983 (Kanada)	Tip II Zehri	Konvansiyonel tedavilere dirençli akut yetişkin lösemisinde kullanılır.

^a İlaç endikasyonları, onaylayan ülkenin ilaç düzenleyici kurumlarına ait internet sitelerinden alınmıştır (Government of Canada, 2024; EMA, 2024; FDA, 2024).

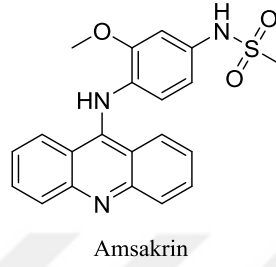
Epipodofilotoksinler mayapple bitkisinden (wild mandrake), *Podophyllum peltatum*'dan elde edilen doğal maddelerdir (Yu vd., 2017; Zhang vd., 2018). Epipodofilotoksin türevi olan ilaçlar etoposid ve teniposid 1980'lerin başından beri klinik kullanıma sahiptir. Etoposid (Şekil 1.5) doğrudan Topo II enzimine bağlanarak Etoposid-Topo II-DNA (veya Etoposid-Topo IIcc) üçlü komplekslerini oluşturur. Bu şekilde, etoposid ile zehirlenmiş Topo IIcc'ler, Topo'ları DNA'nın 5' uçlarında hapsederek, Topo kaynaklı kırılan DNA zincirlerinin tekrar birleşmesini (religasyonunu) engeller. DNA uçları tuzağa düşmüş Topo'larla işlenir ve bu durum, DDR ve onarım yollarını aktive eder. Sonuç olarak, proteinden arındırılmış çift sarmallı kırıkların birikmesine neden olur ve eğer tekrar birleştirilmezse, sitotoksik yanıtı neden olur ve Topo IIcc 26S proteazom tarafından yok edilir (Nitiss, 2009; Pommier vd., 2010). Terapötik olarak kullanılan Topo II zehirleri hem Topo II α hem de Topo II β ile etkileşime girer. Seçici olmayan bu etki mekanizması, hastalarda ikincil malignite ve kardiyotoksisite gibi ciddi yan etkilerin ortaya çıkmasına neden olur (Bjornsti ve Kaufmann, 2019; Murphy vd., 2017; Nitiss, 2009; Renu vd., 2018; Zhang vd., 2012). Ayrıca, Topo II'nin yıkımı, kanser hücrelerindeki sitotoksik Topo IIcc seviyelerinde düşüşe neden olarak antikanser ilaçlara karşı direnç gelişimine de yol açabilmektedir (Lee vd., 2016; Van Ravenstein vd., 2022). Etoposid, dirençli testis tümörlerinde kemoterapi rejiminde ve küçük hücreli akciğer kanseri tedavisinde siklofosamid ile kombine halde kullanılır. Teniposid (Şekil 1.5) de diğer Topo zehirleri gibi işlev görerek DNA'da iplik kırılmalarına neden olur. Klinikte teniposid dirençli çocukluk dönemi akut lenfoblastik lösemi hastalarında çoklu tedavi protokolünde yer alır (Hevener vd., 2018).



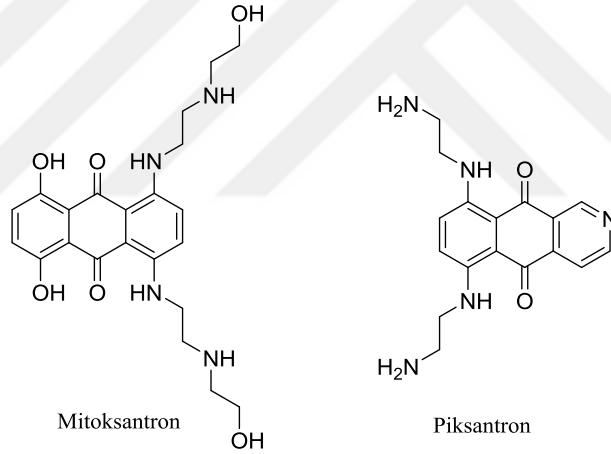
Şekil 1.5. Klinikte yer alan epipodofilotoksin türevi Topo II enzim inhibitörleri

Kimyasal sınıfında tek onaylı ilaç olan amsakrin (m-AMSA, Şekil 1.6), düz bir akridin halka sistemine sahip sentetik bir ajandır. Diğerleri gibi Topo II'leri hedefleyen bir Topo

zehri olarak işlev görür. Amsakrin, ökaryotik Topo II'yi hedefleyen ilk ilaç olarak bilinir. İlacın DNA'ya interkalasyon yapmasını sağlayan akridin halkası, ilacın etkinliğini artırırken, 4'-amino-metan-sülfon-*m*-anisidid (m-AMSA) başlık grubu DNA-Topo kesme kompleksine özgüllük kazandırır. Amsakrin, Kanada'da konvansiyonel tedaviye dirençli akut lösemi hastalarında remisyonda indüksiyon sağlamak üzere onaylanmıştır (Jehn ve Heinemann, 1991; Ketron vd., 2012; Nelson vd., 1984).



Şekil 1.6. Topo II inhibitörü amsakrin bileşiğinin kimyasal yapısı



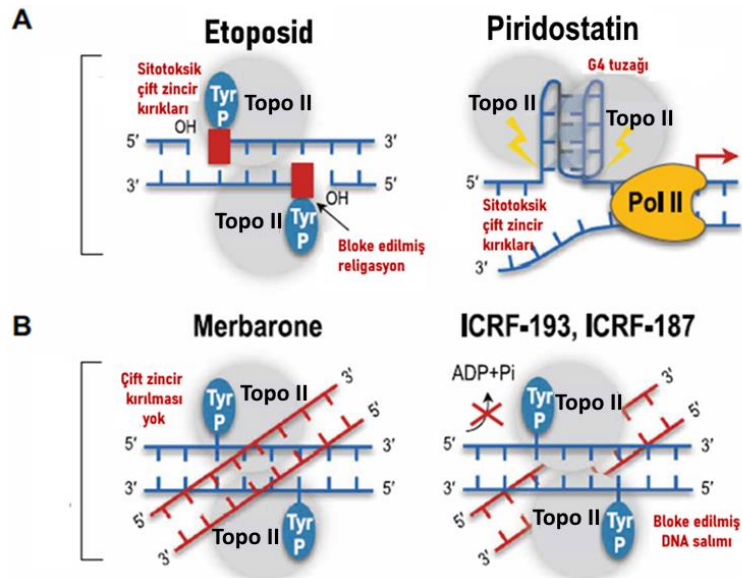
Şekil 1.7. Klinikte yer alan antrakınon sınıfı Topo II zehirleri

Antrakınonlar, antrasiklin türevi ajanlar temelinde tasarlanmış sentetik bileşiklerdir. Bu gruptaki ajanlar Topo zehirleri olup özellikle Topo II'leri etkilerler. Genellikle daha az yan etki ve toksisite profiline sahiptirler. Mitoksantron ve piksantron (Şekil 1.7) antrasiklin türevi ilaçlar sınıfında yer alırlar. Kan-beyin bariyerini geçebilen mitoksantron otoimmün hastalıkların tedavisinde ve lösemi için sekonder tedavide kullanıma sahiptir (Hevener vd., 2018; Pommier vd., 2022). Mitoksantron, Topo enzimi bağlı DNA'ya interkalasyon yaparak DNA'nın religasyonunu engeller. Sonuç olarak DNA ipliğinde kırılmalara DNA onarımının bozulmasına neden olur. Piksantron, non-Hodgkin B-hücreli lenfoma tedavisinde onaylanmış bir aza-antrasendion yapısına sahip bir bileşik olup, mitoksantron gibi DNA'ya

interkalasyon yaparak sitotoksik etkilerini gösterir, ayrıca mitoz ve kromozomların segregasyonunda hatalara neden olarak uzun vadeli hücre hasarına ve hücre ölümüne yol açar (Hevener vd., 2018).

1.2.1.1.2.2. Topo II Katalitik İnhibitörleri

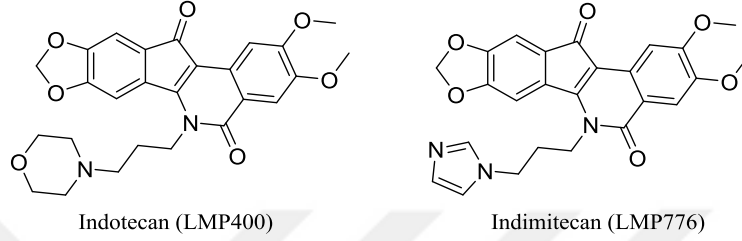
Topo II zehirlerinin neden olduğu kardiyotoksisite ve ikincil malignitelerin ortaya çıkması ve bildirilen ilaç dirençleri, yeni ajanların geliştirilmesine ışık tutmuş ve Topo II katalitik inhibitörleri keşfedilmiştir. Bu grup bileşikler, Topo II'nin katalitik adımlarını bozarak enzimatiik aktivitesini azaltır ve Topo II zehirlerinden farklı biyokimyasal ve hücrel etkilere neden olurlar (Pommier, 2013; Pommier vd., 2010). Örneğin, tiyobarbitürik asit türevi bir bileşik olan merbaron (Şekil 1.8B), Topo II- DNA kompleksindeki substrat DNA sarmalının kesilmesini engelleyerek enzimin katalitik aktivitesini belirgin şekilde azaltır (Fortune ve Osherooff, 1998; Uusküla-Reimand ve Wilson, 2022). ICRF-193 ve ICRF-187 bileşikler (Şekil 1.8 B) ise Topo II enzimine ait katalitik döngüde ATP hidroliz adımını inhibe eder. Böylece, bu bileşikler, Topo II'yi DNA üzerinde kapalı klamp içinde tuzağa düşürür ve hem enzimin salınımını hem de yeniden oluşumunu engellerler (Morris vd., 2000; Roca vd., 1994).



Şekil 1.8. Topo II zehirlerine ve Topo II katalitik inhibitörlerine ait etki mekanizmaları

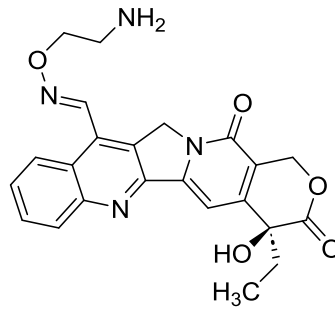
1.2.1.1.2.3. Klinik Çalışmalarda Olan Topo İnhibitörleri

Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Kanseri Enstitüsü (NCI), yeni bir non-kamptotesin tip I Topo inhibitörleri sınıfına ait olan indenoizokinolinlerin (LMP400 and LMP776) neoplazm lenfoması tedavisinde etkilerini incelemek üzere faz 1 klinik çalışmalarını (NCT-01794104, NCT01051635) yürütmüştür (ClinicalTrials.gov, 2024) (Şekil 1.9).



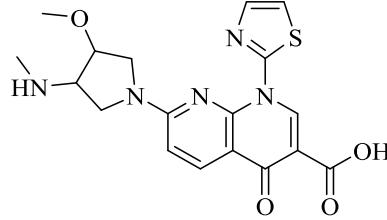
Şekil 1.9. İndenoizokinolinlerin kimyasal yapısı

İrinotekan ve topotekana göre daha yüksek antitümör etkinlik ve daha iyi bir farmakokinetik profile sahip (Beretta vd., 2012; Meco vd., 2012) olan namitecan (ST1968) Topo I inhibitörü olarak Sigma-Tau Pharmaceuticals sponsorluğunda solid tümörlerin tedavisi için faz I klinik çalışmaları (NCT01748019) yürütülmüştür. Yapılan farmakinetik çalışmalar bileşiğin kısa yarı ömrüne bağlı hem metabolit üretiminin hem de birikimin olmadığını ortaya koymuştur. Elde edilen sonuçlara göre namitecan mesane ve endometriyum kanserlerinde başarılı antitümör aktivite göstermiştir (Joerger, Hess, Delmonte, Gallerani, Barbieri, vd., 2015; Joerger, Hess, Delmonte, Gallerani, Fasolo, vd., 2015) (Şekil 1.10).



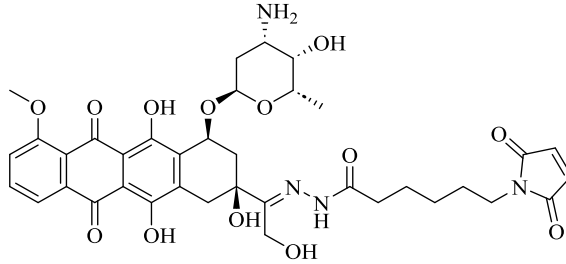
Şekil 1.10. Namitecan bileşiğinin kimyasal yapısı

Kinolon türevi bir bileşik olan Voreloxin (SNS-595; Vosaroxin; AG 7352)'in çeşitli kanserler üzerine olan aktiviteleri halen klinik çalışmalarda incelenmektedir (ClinicalTrials.gov, 2024; Pommier vd., 2022) (Şekil 1.11).



Şekil 1.11. Voreloxin bileşiğinin kimyasal yapısı

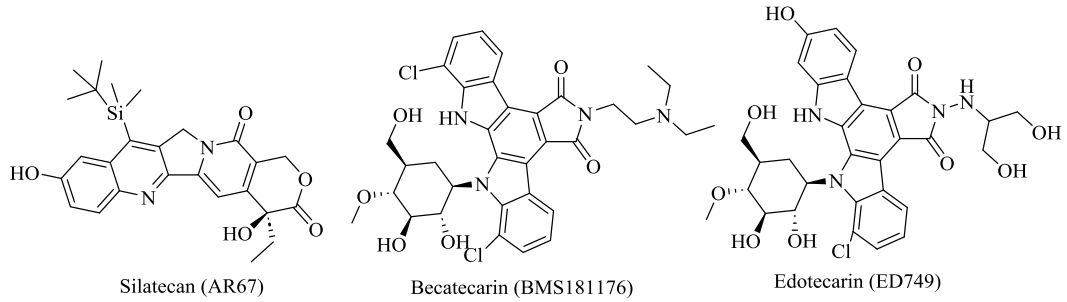
Yumuşak doku sarkomlarının tedavisinde primer ajan olarak kullanılan doksorubisinin ön ilaç formu aldoksorubisindir. Aldoksorubisin, içerdiği karboksilik hidrazin yapısı sayesinde kanda albümine kovalent bağlarla bağlanarak asidik tümör ortamına ulaşır. Bu ortamda hidrazon bağı açılarak doksorubisini dokuya salar (Kohli vd., 2014). CytRx tarafından sponsor olunan bir faz 3 çalışması (NCT-02049905), aldoksorubisinin yumuşak doku sarkomlarının tedavisindeki etkinliğini değerlendirmiştir. Elde edilen ön verilere göre, aldoksorubisin ile tedavi edilen leyomiyosarkom ve liposarkom tanılı hastalarda progresyonsuz sağkalım (PFS) avantajı görülmüştür (Sachdev vd., 2017) (Şekil 1.12).



Şekil 1.12. Aldoksorubisin bileşiğinin yapısı

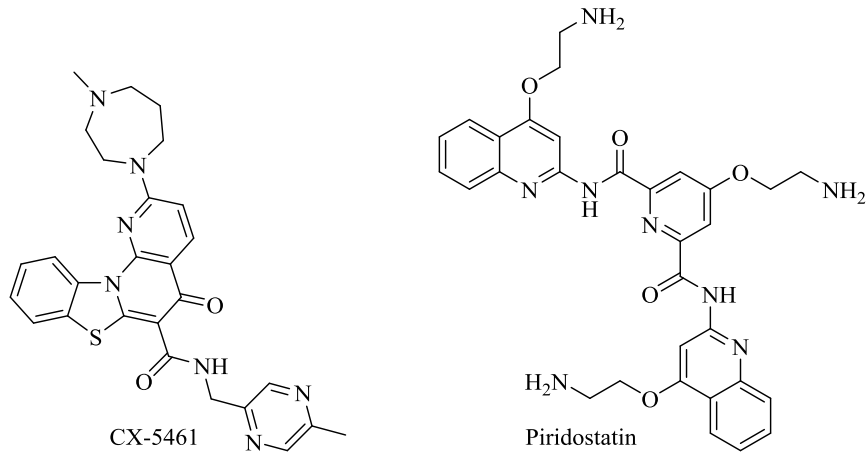
Klinik çalışmalar altında etkinliği değerlendirilen dikkate değer Topo inhibitörleri arasında kamptotesin türevi silatecan yer alır (Şekil 1.13). Bu bileşik, klinik aşamalara ulaşmış yapısında silisyum içeren tek Topo I inhibitörüdür (Chen vd., 2005; Lazareva vd., 2018). Gliosarkom tedavisinde kullanımı için Arno Therapeutics tarafından kayıt altına alınmış bir faz 2 çalışması bulunmaktadır (NCT-01124539). Doğal kaynaklı rebeccamycin analogları olan becatekarin ve edotecarin, şeker grubuna bağlı bir indolokarbazol halka sistemi içerir. Hem Topo I hem de Topo II zehirleri olarak işlev gören bu bileşikler faz 2

klirik denemelere kadar ilerlemiştir (şekil 1.13) (Prudhomme, 2000; Schwandt vd., 2012; Tolcher vd., 2001).



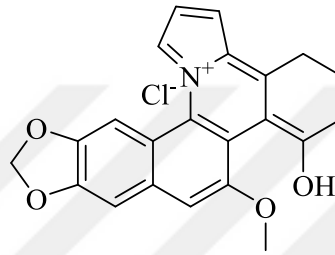
şekil 1.13. Silatecan (AR67), becatecarin (BMS181176) ve Edotecarin (ED749) yapıları

Son yıllarda iki klastojenik G4 ligandı olan piridostatin (RR82, PDS) ve CX-5461 (Pidnarulex) (şekil 1.14)'in DNA kırıklarının indüksiyonunun Topo II zehirlerine benzer mekanizma ile olabileceği ileri sürölmüştür. Bu G4 ligandları Topo II'yi tuzağa düşürerek 4 iplikli G-dörtlüsünü ve R-loop DNA'nın ikincil yapılarını stabilize edebilirler. Özellikle genomun yüksek transkribe edilen guaninden zengin bölgelerinde DNA çift sarmal kırıklarını ve sitotoksiteyi indükleyebilirler (şekil 1.8 A) (Bossaert vd., 2021; Bruno vd., 2020; Olivieri vd., 2020). Geleneksel Topo II zehirlerine kıyasla G4 ligandları Topo II α ve Topo II β enzimlerini hedef almaz; PDS Topo II α zehirlenmesi yoluyla sitotoksik ve DNA hasar verici etkilerini gösterirken, CX-5461 Topo II β 'yı hedef alır (Bossaert vd., 2021; Pan vd., 2021). Halen klinik çalışma aşamasında olan PDS ve CX-5461'in aktiviteleri meme, yumurtalık, pankreas ve prostat kanserlerinin tedavisi için araştırılmaktadır (ClinicalTrials.gov, 2024).



şekil 1.14. CX-5461 ve piridostatin yapıları

Günümüzdeki araştırmaların önemli bir hedefi, yeni ve daha spesifik kemoterapötik ajanların geliştirilmesi ve özellikle en agresif tümörler için yeni biyolojik hedeflerin belirlenmesidir. Ancak, bugüne kadar çok az sayıda seçici inhibitör geliştirilmiştir (Murphy vd., 2017; Toyoda vd., 2008). Bununla birlikte, Topo II alanındaki araştırmalar hala olanca hızıyla devam etmektedir. NK314, Topo II α üzerinde Topo II β 'ye göre seçicilik gösteren bilinen ilk ajandır. Bu bileşik, Topo II aracılığıyla çift sarmallı kırıkları indükler, ancak etkisinin ve Topo II α seçiciliğinin tam mekanizması henüz anlaşılamamıştır. NK314 (Şekil 1.15) klinik olarak onaylanmış ajanlarla test edilmekte olsa da bu yaklaşımların hiçbirisi henüz klinik aşamaya ulaşmamıştır (Macieja vd., 2019).



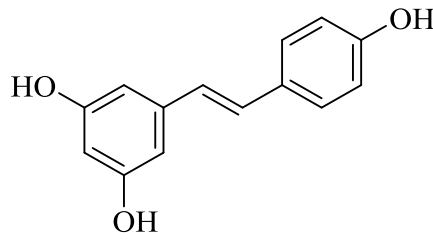
Şekil 1.15. NK314 bileşiğinin yapısı

Preklinik çalışmalarda, çeşitli halka sistemlerine sahip Topo inhibitörleri üzerinde araştırmalar devam etmektedir. Hao ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen ve yeni 2-fenilnaftalen yapısı içeren bir grup bileşik üzerine yapılan bir yapı-aktivite ilişkisi çalışması da yeni Topo II inhibitörlerinin geliştirilmesine yönelik önemli bir diğer çalışma olarak kabul edilmektedir. Bu serideki öncü bileşikler, meme, karaciğer ve prostat kanseri hücre hatlarında submikromolar düzeyde sitotoksikite değerleri göstermiştir (Hao vd., 2015). Ayrıca son dönemde, Topo II'nin katalitik inhibitörleri olarak görev yapan ve Topo II β 'ya kıyasla Topo II α 'ya karşı 100 kat daha fazla seçicilik gösteren yeni bir 6-amino-tetrahidrokinazolin bileşikler sınıfı keşfedilmiştir. Bu bileşiklerin, özellikle G-361 melanoma hücreleri olmak üzere çeşitli kanser hücre hatlarında hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmada, öncü bileşik olan bileşik 14 (ARN-21934)'ün *in vivo* çalışmalarda uygun farmakokinetik profile sahip olduğu rapor edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ARN-21934'ün Topo II zehirlenmesi ile ilişkili ikincil lösemilerin gelişimini engelleyebilecek Topo II enzimi üzerine hedeflenen yeni terapötik ajanlar geliştirmek için devam eden optimizasyon çalışmaları için uygun olduğunu göstermektedir (Ortega vd., 2020).

1.2.1.1.2.4. Doğal Kaynaklı Topo Enzim İnhibitörleri

İnsanlık tarihi boyunca doğa, çeşitli terapötik moleküller ve özellikle antikanser ajanlar için ana kaynak olmuştur. Günümüzde kanser kemoterapisinde kullanılan antikanser ilaçların yaklaşık %60'ı doğadan izole edilmiştir. Bu bileşiklere örnek olarak etoposid, doksorubisin ve daunorubisin gibi antrasiklinler; topotekan ve irinotekan gibi kamptotesin türevleri, paklitaksel, dosetaksel, vinkristin, vinblastin, mitomisin C, aktinomisin D ve bleomisin verilebilir. Doğal ürünler her zaman doğrudan antikanser tedavide kullanılabilecek bileşikler olmasa da terapötik olarak etkili antikanser ilaçların geliştirilmesi için bir temel iskelet sağlarlar. Bu nedenle, doğa antikanser moleküllerin zengin bir kaynağıdır ve doğal kaynaklardan yeni antikanser moleküllerin keşfedilmesi, kanser tedavisini geliştirmeye katkıda bulunacaktır (Cragg ve Newman, 2005, 2013; Ferguson vd., 2015). Çizelge 1.2.'de Topo enzim inhibisyonu özelliklerine sahip çeşitli doğal kaynaklı moleküller verilmiştir.

Çizelge 1.2'de verilen doğal ürünlerin dışında 2017 yılında Lee ve arkadaşları, Topo II inhibitörü olarak doğal bir polifenol olan resveratrol bileşiğini rapor etmişlerdir (Şekil 1.16) (Lee vd., 2017) Yapılan biyolojik aktivite çalışmaları resveratrolün Topo II üzerinde daha önce bilinmeyen bir etki mekanizmasıyla hareket ettiğini ve ATPaz bölgesinin dimerizasyonunu önleyerek Topo II'nin katalitik aktivitesini inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Ayrıca doğal polifenoller olan flavonoidlerin Topo II ve/veya Topo I üzerine inhibisyon etkilerinin bu mekanizma üzerinden olabileceği ileri sürülmüştür (Bandeale ve Osheroff, 2007; Lee vd., 2017; Liang vd., 2019).



Şekil 1.16. Resveratrol bileşiğinin kimyasal yapısı

Çizelge 1.2. Son yıllarda Topo inhibitörü olarak bildirilen doğal kaynaklı bileşikler

Bileşik	Kaynak	Hedef	İnhibisyon	Referans
(-)-Ksantin	<i>Xanthium strumarium</i>	Topo IIα	Katalitik İnhibitör	(Akihisa vd., 2011; Yasuda vd., 2014)
4-Hidroksiderrisin	<i>Angelica keiskei</i>	Topo II		(Solhaug vd., 2012; Wollenhaupt vd., 2008)
Albanol A	<i>Morus alba</i>	Topo I-II	Çalışma yok	(Chan vd., 2009)
Alternariol	<i>Alternaria alternata</i>	Topo I-IIα-IIβ	Topo Zehri	(Brugger vd., 2006; DiCosmo ve Straus, 1985; Fehr, 2007; Fehr vd., 2010; Geng vd., 2012; Kikuchi vd., 2010; Solhaug vd., 2014)
Bis(2,3-dibromo-4,5-dihidroksibenzil) eter (BDDE)	<i>Leathesia nana</i> , <i>Rhodomela confervoides</i> , <i>Rhodomela confervoides</i>	Topo I	Katalitik İnhibitör	(Liu vd., 2011; Maurich vd., 2006; Tesauro vd., 2010)
Daurinol	<i>Haplophyllum dauricum</i>	Topo IIα	Katalitik İnhibitör	(Chen vd., 2015)
Ekinosid A	<i>Holothuria nobilis</i>	Topo II	DNA bağlanması ve katalitik döngüye etki eder	(Takeda vd., 2011; Takeda vd., 2013)
Erybraedin C	<i>Bituminaria bituminosa</i>	Topo I	Katalitik İnhibitör	(Bailly, 2015; Khiati vd., 2014)
Evodiamine	<i>Evodia rutaecarpa</i>	Topo I-II	Katalitik İnhibitör ve Topo I Zehri	(Castelli vd., 2013; Fayad vd., 2009)
Fisetin	Çeşitli meyve/sebzeler	Topo I-II	Katalitik İnhibitör	(Chou vd., 2013; López-Lázaro vd., 2010; Sahu vd., 2014)
Mirisetin	Çeşitli meyve/sebzeler	Topo I-II	Topo Zehri	(Chou vd., 2013; López-Lázaro vd., 2010)

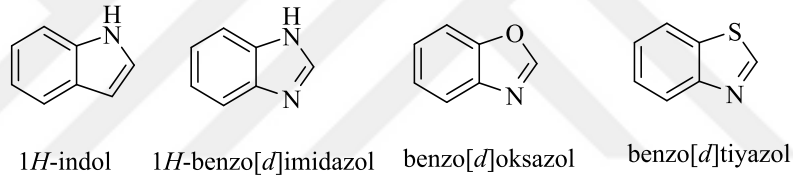
Çizelge 1.2 Devam

Bileşik	Kaynak	Hedef	İnhibisyon	Referans
Lamellarin D	<i>Lamellaria sp.</i>	Topo I, (nükleer veya mitokondrial)	Topo Zehri	(Ballot vd., 2010; Ballot vd., 2009; Facompré vd., 2003; Gao vd., 1999; Kluza vd., 2006; Mazerska vd., 2001)
Plumbagin	<i>Plumbago Zeylanica</i>	Topo I	Çalışma yok	(Jain vd., 2015)
Rikkardin D	<i>Dumortiera hirsute</i>	Topo II	Çalışma yok	(Zhao vd., 2012)
Sülfokinovozil digliserid (SQDG)	<i>Azadirachta indica</i>	Topo I	Katalitik İnhibitör	(Kuriyama vd., 2005)
Taspin	<i>Croton lechleri</i>	Topo I-II	Topo Zehri	(Liu vd., 2014; Liu vd., 2012)
Trisitrinol B	<i>Penicillium citrinum</i>	Topo IIa	Topo Zehri	(Hsieh vd., 2014)
Wedelolakton	<i>Wedelia chinensis</i> , <i>Eclipta</i> <i>Prostrata</i>	Topo IIa	Çalışma yok	(Kaushik-Basu vd., 2008)

1.3. Benzazol Halkası Taşıyan Bileşikler

Benzazol halka sistemleri, içerisinde hem en az bir heteroatom (genellikle azot, oksijen veya kükürt) bulunduran hem de halkaya kondanse bir benzen halkası içeren bisiklik iskeletlerin genel adını ifade eder. Yapılarda yer alan heteroatomlar elektronegatiflik düzeyleri ve halka sistemiyle etkileşimleri aracılığıyla, bileşiğin özgün bir reaktivite kazanmasına neden olarak yapıların farmakolojik ve kimyasal özelliklerini belirlerler. Biyolojik olarak aktif birçok molekülün temel yapısını oluşturan bu sistemler hem kimya hem de biyokimya alanlarında büyük öneme sahiptirler.

Benzazoller, içerdikleri heteroatoma göre çeşitli alt gruplara ayrılırlar. Bunlardan indol N1 pozisyonunda bir azot atomu içerirken, benzimidazol N1 ve N3 pozisyonlarında iki adet azot atomu içerir. Benzoksazol ve benzotiyazoller ise bir azot atomu ve sırasıyla bir oksijen veya kükürt atomu içerirler (Şekil 1.17) (Yadav vd., 2011).



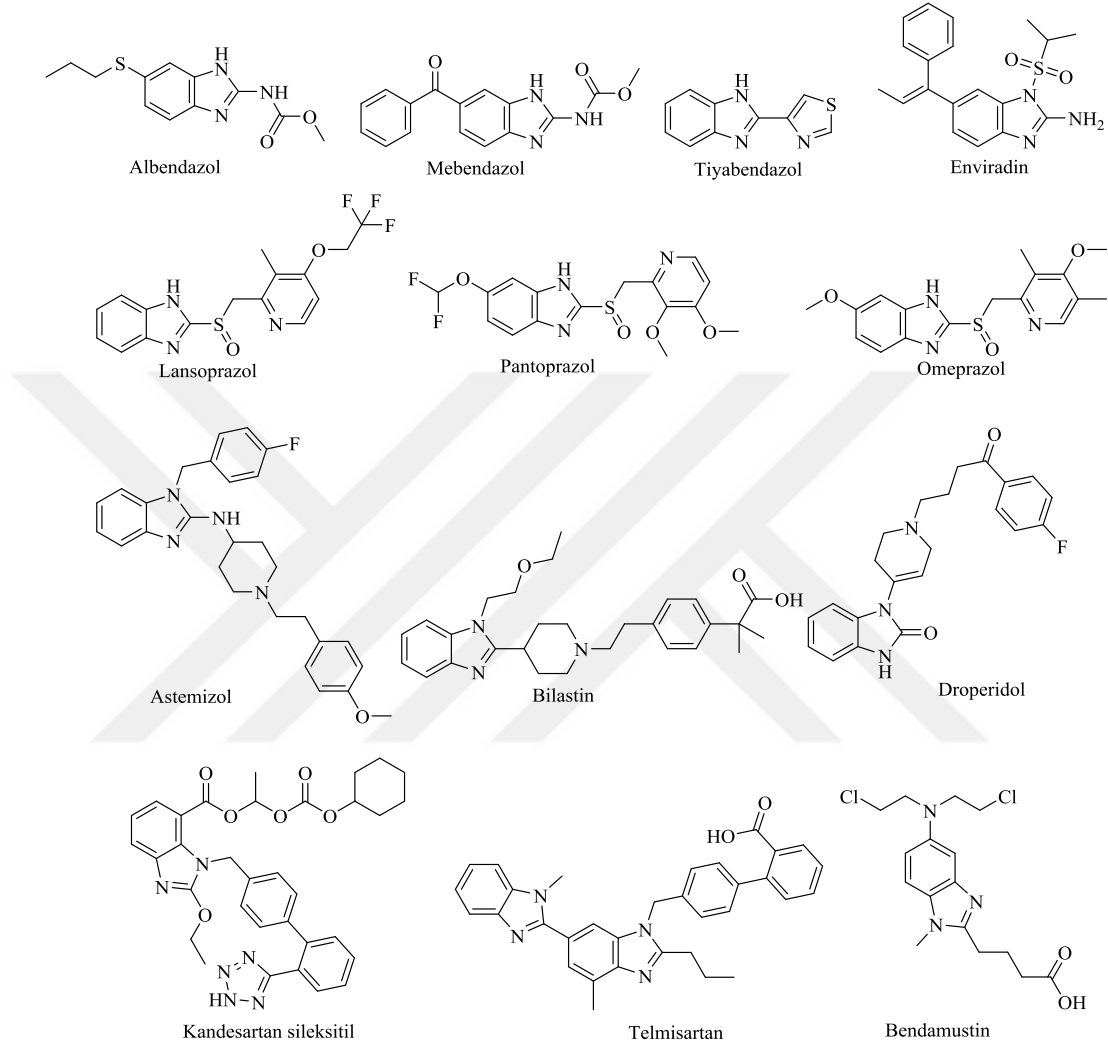
Şekil 1.17. Benzazol halka sistemleri

1.3.1. Benzimidazol Halka Sistemleri

İlk sentezi 1872 yılında rapor edilen (Wright, 1951) benzimidazol halka sisteminin terapötik potansiyeli 1944 yılında ortaya konulmuştur. Woolley, benzimidazolün bazı biyolojik tepkileri tetiklemek amacıyla pürinlere benzer şekilde hareket edebileceğini öne sürmüştür (Woolley, 1944). Beş yıl sonra, 5,6-dimetilbenzimidazol, vitamin B12'nin bozunma ürünü olarak rapor edilmiş ve bu yapının bazı türevlerinin vitamin B12 benzeri aktivite gösterdiği bulunmuştur (Brink ve Folkers, 1949; Emerson vd., 1950).

Bu bulgular, benzimidazolün çeşitli farmakolojik aktiviteler için araştırılmasını teşvik etmiştir. Daha sonra antiparazitikler, antikonvülsanlar, analjezikler, antihistaminikler, antiülserler, antihipertansifler, antiviral, antikanser, antifungal, antiinflamatuvar ajanlar, proton pompası inhibitörleri ve antikoagülanlar gibi geniş bir yelpazedeki biyoaktif bileşiklerde bulunduğu ortaya konulan benzimidazol çekirdeği, organik ve medisinale

kimyacılar için önemli bir halka sistemi haline gelmiştir (Boiani ve González, 2005; Dubey ve Sanyal, 2010; McKellar ve Scott, 1990; Narasimhan vd., 2012; Patil vd., 2008; Rossignol ve Maisonneuve, 1984; Spasov vd., 1999).

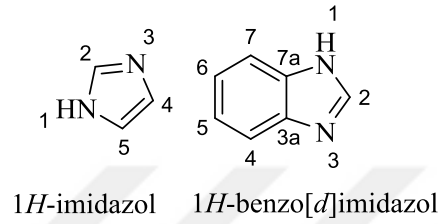


Şekil 1.18. Benzimidazol halka sistemine sahip klinikte aktif olarak kullanılan inhibitörler

Günümüzde klinikte halen aktif olarak kullanılan benzimidazol çekirdeği taşıyan bileşikler arasında antihelmintik olarak albendazol, mebendazol, tiyabendazol; proton pompası inhibitörleri olarak omeprazol, lansoprazol, pantoprazol; antihistaminik olarak astemizol; antiviral olarak enviradin; antihistaminikler olarak bilastin, antikanser olarak bendamustin, antiemetik/antipsikotik olarak droperidol ve antihipertansifler olarak kandesartan sileksitil ve telmisartan bulunur. Çeşitli terapötik kullanımların yanı sıra, benzimidazoller birçok organik reaksiyonda önemli ara maddeler olarak da yer alırlar (Bansal ve Silakari, 2012) (Şekil 1.18).

1.3.1.1. Benzimidazol Halka Sistemlerinin Kimyası

Bir benzen halkasının imidazol halkasının 4,5-pozisyonlarına kaynaşması sonucu bisiklik, düzlemsel, aromatik, 10π elektronlu bir halka sistemi olan benzimidazol elde edilir (Şekil 1.19). Bu yapıda yer alan iki azot atomunun doğası farklıdır. 1 numaralı konumdaki azot (N1) pirol tipi bir azot iken, 3 numaralı konumdaki azot (N3) piridin benzeri olup asit varlığında tuz oluşturur (Delepine, 1951; Gaba vd., 2014).

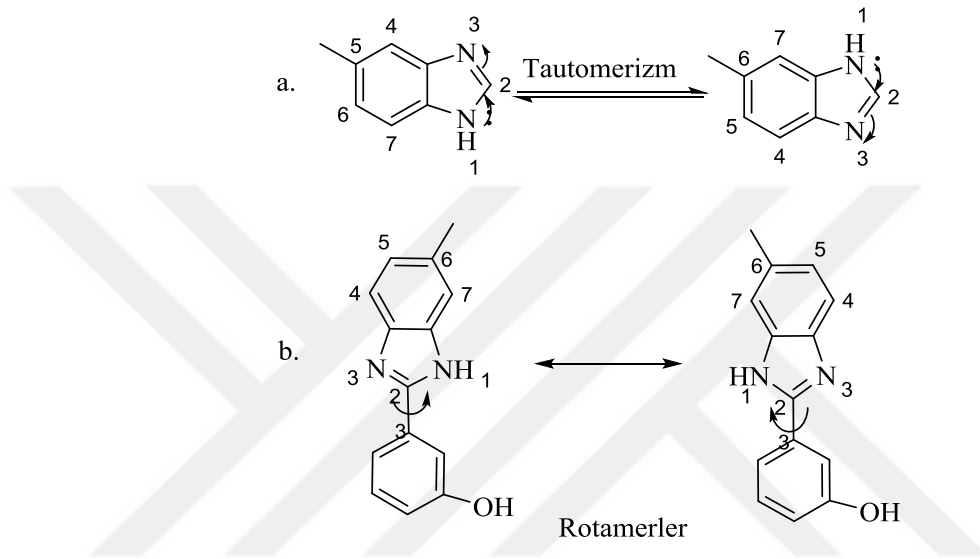


Şekil 1.19. Benzimidazol halkasının numaralandırılması

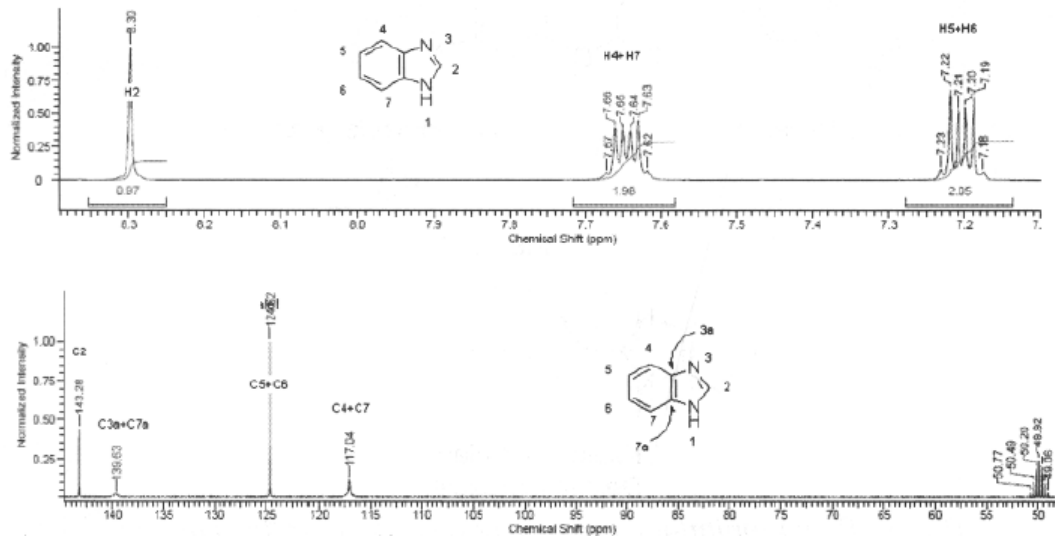
Benzimidazol bileşiği ($pK_a = 5.68$), imidazolden ($pK_a = 7.00$) daha az baziktir, ancak imidazolden daha güçlü bir N–H asididir ($pK_a = 12.75$, imidazol: $pK_a = 14.52$) ve alkali içinde oldukça iyi çözünürlüğe sahiptir (Eicher vd., 2013; Gupta vd., 2013). Oda sıcaklığında kristal katı formda olup erime sıcaklığı $169-171\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'dir. Çekirdeğin 1 numaralı azot atomuna bağlı hidrojen atomu kolayca tautomerleşir (Şekil 7), bu da benzimidazol türevlerinde izomerizasyondan sorumludur. Genel olarak, tautomerik bileşiklerde süstitüent grubunun (veya gruplarının) pozisyonu iki sayı veya sayı grubu verilerek ve ikinci sayı veya sayı grupları parantez içinde belirtilerek adlandırılır. Bu kurala göre, Şekil 1.19'de verilen benzimidazol halkası 5 (veya 6)-metilbenzimidazol olarak adlandırılır (Gaba vd., 2014; Li, 2013).

1H-Benzimidazollerin tautomerleri, genellikle çözücü moleküllerinin katılımıyla 1 numaralı ve 3 numaralı azot atomları arasında protonların kimyasal değişimini içerir (Şekil 1.19 ve Şekil 1.20a). Bu nedenle, genel olarak benzimidazoller 4(7) veya 5(6) pozisyonlarında süstitüentlere sahip olduklarında oda sıcaklığında NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) zaman ölçeğinde tautomerik bir karışımdan ziyade tek bir bileşik olarak görünürler. Ancak bazı durumlarda konformerler arası dönüşüm hızı çözücü (hidrojen bağ alıcı veya verici özelliği), sıcaklık ve bileşiğin konsantrasyonu gibi faktörlerden etkilenir. Bu durumda NMR ve HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) spektrumlarındaki piklerin görünümü ve çokluğu değişkenlik gösterebilir (Singh vd., 2018; Su vd., 2018).

Rotamer konformerler ise tek bir bağ etrafında kısıtlı dönme nedeniyle oluşurlar. Şekil 1.20 b’deki 3-(6-metil-1*H*-benzimidazol-2-il)fenol bileşiği için bu durum, benzimidazol ve fenol yapılarını bağlayan C2-C3 bağı etrafında olur. Ayrıca, benzimidazol halkasındaki azot atomuna bağlı protonun bir alkil grubu veya başka bir sübstitüent ile değiştirilmesi, bir çift bölgesel olarak seçici bileşiğin oluşumuna yol açar. Bu nedenle, C4-C7 pozisyonları arasında herhangi bir sübstitüent bulunan tüm *N*-sübstitüe benzimidazollerin sentezinde bölgesel olarak seçicilik dikkat edilmesi gereken önemli bir husustur (Li, 2013).



Şekil 1.20. a. Benzimidazollerin numaralandırılması ve tautomerizm, b. 3-(6-metil-1*H*-benzimidazol-2-il)fenol bileşiğine ait rotamerler

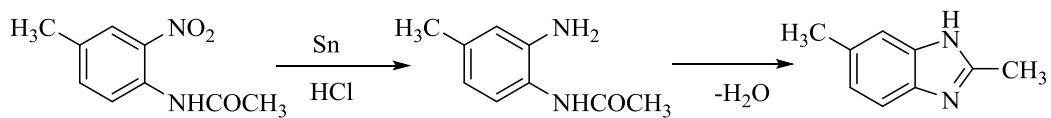


Şekil 1.21. DMSO-*d*₆’da Benzimidazol halkasına ait ¹H NMR (400MHz) ve ¹³C NMR spektrumları

Benzimidazol halkasının ^1H -NMR (Proton Nükleer Manyetik Rezonans) ve ^{13}C -NMR (Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans) spektrumlarında imidazol ve benzen halkalarının kimyasal kaymaları birlikte gözlenir (Şekil 1.21). 400 MHz'lik bir ^1H -NMR spektrumunda ve çözücü olarak döterolanmış dimetil sülfoksit- d_6 ($\text{DMSO}-d_6$) kullanıldığında, imidazol halkasına ait 2 numaralı proton (H2) 8.30 ppm'de bir singlet olarak görülürken, benzene ait H4 ve H7 ile H5 ve H6 protonları sırasıyla 7.60 ppm ve 7.20 ppm'de iki ayrı multipler olarak gözlenir. Benzimidazolün ^{13}C -NMR spektrumunda, 2 numaralı karbon (C2) en çok kimyasal kayma göstererek 143.3 ppm'de, 4 ve 7 numaralı karbonlar (C4+ C7) ile 5 ve 6 numaralı karbonlar (C5+ C6) sırasıyla yaklaşık 124.6 ppm ve 117.0 ppm'de gözlenirler (Li, 2013).

1.3.1.2. Benzimidazol ve Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri

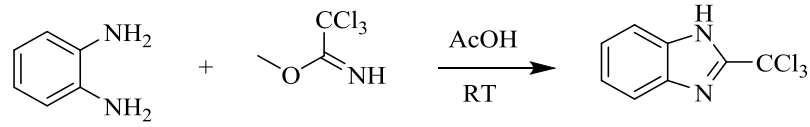
Literatürde benzimidazollerin sentezi için birçok yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemlerin çoğu, birbirlerine *orto* konumda azot içeren fonksiyonel gruplara sahip benzen türevleriyle başlar. Özellikle, *o*-fenilendiamin ve türevlerinin karboksilik asitler veya aldehitlerle kondensasyonu üzerinden yaklaşımı yaygın bir kullanıma sahiptir. Benzimidazol türevlerinin ZrCl_4 (Zirkonyum Tetra Klorür), SnCl_4 (kalay tetra klorür), TiCl_4 (titanyum Tetra klorür), $\text{ZrOCl}_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (zirkonyum(IV)oksit klorür oktahidrat) ve HFCl_4 (hidroflorik asit tetra klorür) gibi çeşitli Lewis asidi katalizörlerin varlığında *orto* esterlerin *orto*-fenilendiamin ile kondensasyonu gibi çeşitli katalitik sentezleri bildirilmiştir. 1827 yılında Hoebreck (Wright) tarafından 2-nitro-4-metilasetanilit'in redüksiyonu yoluyla elde edilen ilk benzimidazol bileşiği 2,5-dimetilbenzimidazol'dür (Wright, 1951) (Şekil 1.22).



Şekil 1.22. 2,5-Dimetil benzimidazol bileşiğine ait sentez denklemi

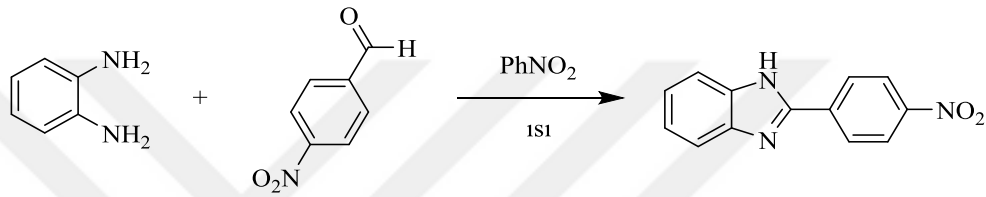
Aşağıda benzimidazol sentezi için rapor edilmiş çok çeşitli sentez yöntemleri, başlangıç maddelerine göre gruplandırılmıştır.

Hollan ve arkadaşları, uygun imidat esterinin (trikloroasetimidat) *o*-fenilendiamin veya onun tuzu ile oda sıcaklığında reaksiyona girmesiyle benzimidazol-2-il-karboksilik asitlerin önemli bir başlangıç ürünü olan 2-triklorometil benzimidazol bileşiğinin elde edildiğini bildirmiştir (Şekil 1.23) (Holan vd., 1967).



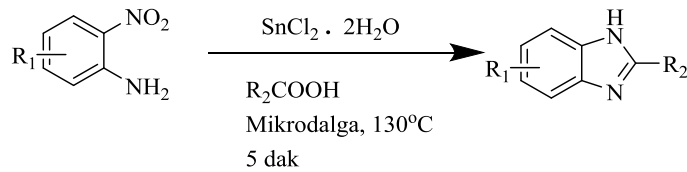
Şekil 1.23. o-Fenilendiamin ve trikloroasetimidattan hareketle 2-triklorometil benzimidazol bileşiğinin sentez denklemi

Mann ve arkadaşları, o-fenilendiamin ve 4-nitrobenzaldehiti nitrobenzen içinde yaklaşık 140 °C'de kondenzasyona sokmuşlardır. Karışım soğutulup buz eklenerek katı madde süzölmüş ve iyi verimde 2-nitro benzimidazol elde edilmiştir (Şekil 1.24) (Mann vd., 2001).



Şekil 1.24. o-Fenilendiamin ve aldehytlerden hareketle 2- sübtitüebenzimidazollerin sentezi

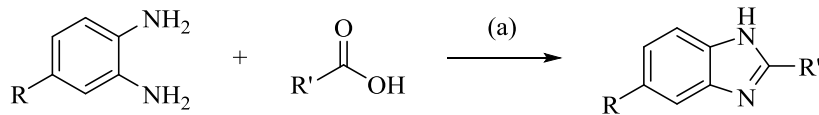
VanVliet ve arkadaşları, 2005 yılında mikrodalga ışıınımlı altında 2-nitroanilinlerden hızlı ve tek kaptı 2-sübtitü benzimidazoller üretmek için bir yöntem geliştirmiştir. Bu yöntemde, nitro grubunun indirgenmesi sırasında fazla asit varlığı *N,N*-diacilfenilendiaminler oluşturmalarına rağmen, istenmeyen yan ürünlerin oluşumu engellenir; bu sayede benzimidazoller kolayca izole edilebilmektedir (Şekil 1.25) (VanVliet vd., 2005).



Şekil 1.25. 2-nitroanilinler ve karboksilli asitlerden hareketle benzimidazol türevleri eldesi

Literatür taramasına göre, o-fenilendiaminler karboksilik asitlerle kolayca reaksiyona girerek yüksek verimlerde 2-substitü benzimidazoller verir. Phillips Reaksiyonu, bu dönüşümde en bilinen yöntemlerden biridir ve 1,2-diaminobenzenlerin karboksilik asitlerle 4N HCl varlığında ısıtılmasıyla kondensasyon reaksiyonu gerçekleşir (Phillips, 1928a, 1928b). Hein ve arkadaşları, karboksilik asitlerin polifosforik asit (PPA) ile reaksiyona sokulmasıyla yüksek verimle 2-sübtitü benzimidazoller elde etmişlerdir (Hein vd., 1957). Cui ve ekibi, tetrahidrofuran-trihidroboran kompleksi (BH₃-THF) ile *in situ* oluşan triaciloksi

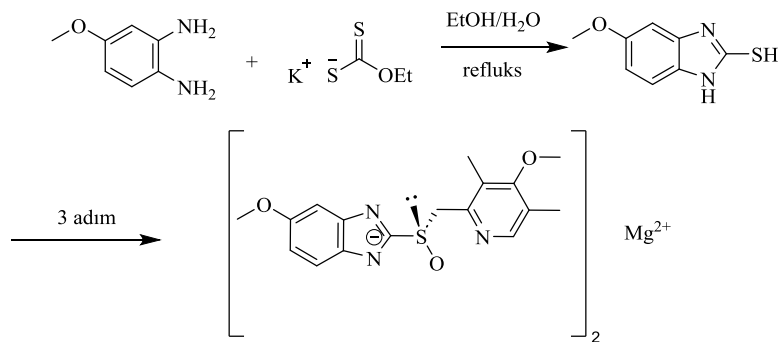
boran aracılığıyla aside duyarlı grupları tolere eden tek basamaklı bir sentez geliştirmiştir (Cui vd., 2012). Rithe ve arkadaşları, amonyum klorür katalizörlüğünde aromatik karboksilik asitlerle yeşil bir yöntem sunmuştur (Rithe vd., 2015). Saberi ise mikrodalga ışınlaması ve alumina veya zeolit yardımıyla çözücüsüz koşullarda benzimidazol sentezlemiştir (Saberi, 2015). Laha'nın çalışmasında, arilglükoksilik asitler ve DMSO kullanılarak 40 °C'de α -imino karboksilik asitlerden N-heterosiklik yapılar elde edilmiştir (Laha ve Hunjan, 2022) (Şekil 1.26).



(a) 4N HCl; PPA, BH₃-THF; EtOH.NH₄Cl; Mikrodalga, Zeolit HY/Silika jel/ Alumina (asidik); DMSO

Şekil 1.26. 1,2-Fenilendiaminler ve karboksilik asitlerden hareketle 2-süstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin sentezi

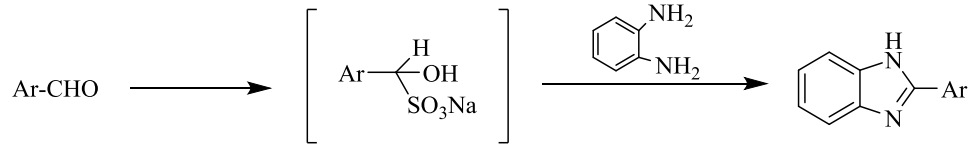
Mevcut pratik uygulamalarda, karboksilik asit reaktifinin çeşitli ekivalanlarla değiştirilmesi, bu yöneme geniş bir kullanım alanı ve çeşitlilik kazandırmıştır. Bu genel yaklaşım, benzimidazol içeren ilaçların sentezinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin, esomeprazol magnezyum sentezinde benzimidazol çekirdeği, 3,4-diaminoanisol'ün potasyum etil ksantogenat ile etanol/su ortamında geri çeviren soğutucu altında kaynatılmasıyla elde edilmektedir (Şekil 1.27) (Li, 2013).



Şekil 1.27. Esomeprazol magnezyum'un Philips Reaksiyonu üzerinden sentez denklemi

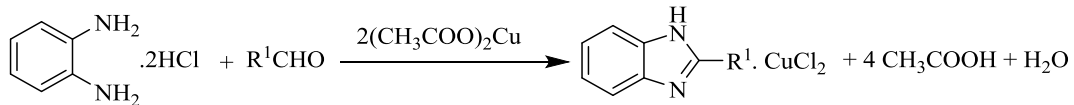
o-Fenilendiaminlerin aldehitlerle kondensasyonu sodyum piro-sülfid (sodyum metabisülfid, Na₂S₂O₅) varlığında gerçekleştirilebilir. Özbey ve arkadaşları, aril aldehitin bisülfitleri üzerinden benzimidazol elde etmiştir. Aril aldehitin etanoldeki çözeltisi,

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 'in sulu çözeltisine eklenmiş ve ham ürün çöktürülerek elde edilmiştir. Ardından, DMF içindeki *o*-fenilendiamin eklenip karışım 130 °C'de birkaç saat ısıtılarak benzimidazol sentezlenmiştir (Şekil 1.28) (Özbey vd., 2002). Benzer bir çalışmada, Kamal ve arkadaşları etanol ve su içinde $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ kullanarak başarılı bir biçimde benzimidazol halkaları sentezlemişlerdir (Kamal vd., 2015).



Şekil 1.28. *o*-Fenilendiaminlerle aldehitlerden sodyum metabisülfid varlığında 2-aril benzimidazol türevlerinin sentezi

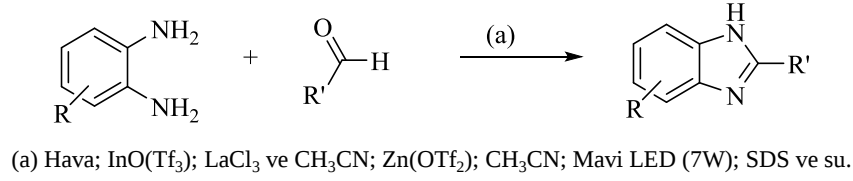
Benzimidazol oluşumu bir oksidasyon reaksiyonu olduğundan, oksidatif koşullar gereklidir. Oksidasyon, hava veya oksitleyici ajanlar kullanılarak başlatılabilir. Weidenhagen (1936) yöntemine göre diamin ve aldehitin bakır(II) asetat gibi bir bakır tuzu ile sulu veya alkolü ortamda reaksiyona girmesiyle benzimidazolün bakır (I) tuzu oluşur. Oluşan bakır(I) tuzu, hidrojen sülfür ile benzimidazole ve bakır(I) sülfide ayrılır, sülfid ise filtrasyonla uzaklaştırılarak yüksek verimle 2-sübtitüe benzimidazoller elde edilir (Şekil 1.29) (Rathod vd., 2013).



Şekil 1.29. Bakır (II) asetat tuzu varlığında sentezlenen 2-sübtitüe benzimidazollere ait genel sentez denklemi

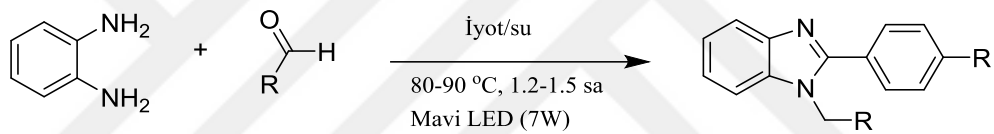
o-Fenilendiamin ve aldehitler temel başlangıç maddeleri olarak kullanılarak, farklı katalizör ve koşullarla çeşitli benzimidazol sentez yöntemleri geliştirilmiştir. Lin ve Yang (2005), hava oksidantıyla tek basamakta benzimidazol sentezi yaparken, Trivedi vd. (2006) indiyum triflat [$\text{In}(\text{OTf})_3$] katalizörlüğünde, çözücüsüz ortamda yüksek verimle sentez gerçekleştirmiştir. Venkateswarlu vd. (2013), lantanum klorür (LaCl_3) ile asetonitril ortamında benzimidazol türevleri elde etmiştir. Srinivasulu (2014) çinko triflat [$\text{Zn}(\text{OTf}_2)$] kullanılarak etanol ortamında sentez, Birajdar (2014) dioksan dibromürle hızlı siklizasyon, ya da Park (2014) tarafından görünür ışık (Mavi LED, 7W) kullanılarak çevre dostu yöntemler geliştirilmiştir. 2015 yılında Pardeshi ve Thore, sulu ortamda sodyum dedosil sülfat (SDS) kullanarak benzimidazol sentezini rapor etmiştir (Pardeshi ve Thore, 2015). Bu

pratik ve kolay uygulanabilir yöntemler, 2-süstitüe-1*H*-benzimidazollerinin sentezi için uygun bir metodoloji sunmaktadır (Şekil 1.30).



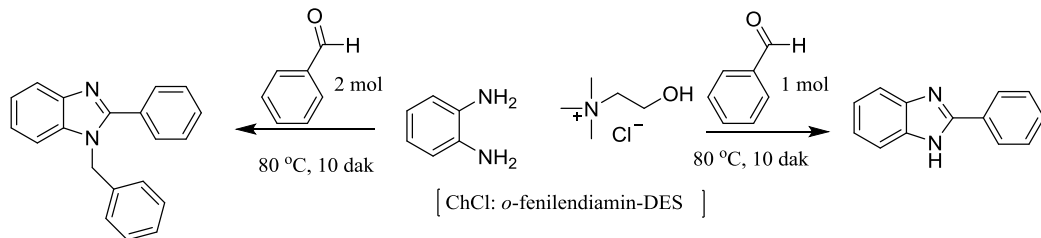
Şekil 1.30. *o*-Fenilendiaminler ve aldehitlerden hareketle 2-süstitüe-1*H*-benzimidazollerin eldesi

Aniket ve arkadaşları, 2015 yılında mavi LED (7W) kullanarak benzen-1,2-diamin ve aldehitlerden iyot katalizörlüğünde oksidatif siklizasyon yöntemiyle 2-aril-*N*-alkil süstitüe benzimidazol türevlerini sentezlemişlerdir. Bu yöntem, 90 °C'de benzen-1,2-diamin ile 2 mol aldehitin tepkimesi sonucu yüksek verim ve saflıkta tek ürün elde edilmesini sağlamaktadır (Şekil 1.31) (Aniket vd., 2015).



Şekil 1.31. *o*-Fenilendiamin ve aldehitlerden iyot/su katalizörlüğünde 2-aril-*N*-alkil süstitüe benzimidazol türevlerinin sentezi

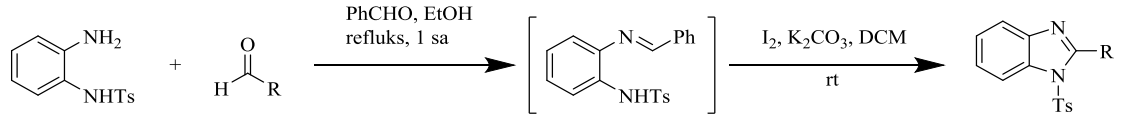
2019'da bildirilen bir yöntemde, benzen-1,2-diamin ve benzaldehit, kolin klorür:üre (ChCl:üre) içeren derin ötektik çözücü (DES) kullanılarak 80 °C'de 10 dakika ısıtılmıştır. Bu işlem sonucunda %88 verimle 2-süstitüe ve %12 verimle 1,2-disüstitüe benzimidazol türevleri elde edilmiştir (Şekil 1.32) (Di Gioia vd., 2019).



Şekil 1.32. *o*-Fenilendiamin ve aldehitlerden hareketle 2- süstitüe benzimidazol türevlerinin sentezi

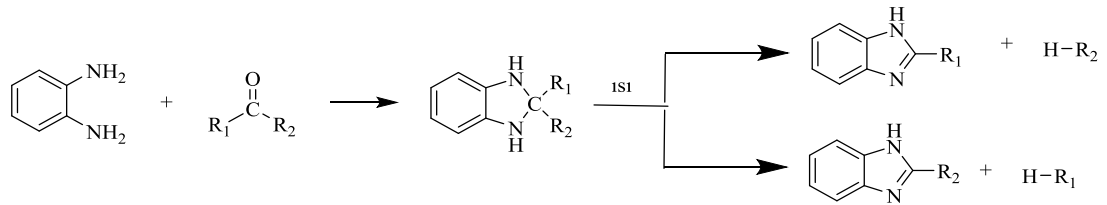
2017 yılında Hu ve arkadaşları, *N*-süstitüe fenilendiaminler ile aromatik, alifatik veya sinnamaldehitlerden moleküler iyot (I₂) kullanarak bazik koşullar altında intramoleküler C–

H amidasyon yöntemi geliştirmiştir. Bu yöntemde, imin ara ürünleri *o*-fenilendiamin türevleri ile aldehitlerin kondensasyonu ile elde edilmiştir. Geçiş metali içermeyen bu reaksiyon, N-süstitüe benzimidazollerin sentezini ham iminlerin saflaştırılmasını gerektirmeden mümkün kılmaktadır. Uygulaması basit olan bu yaklaşım, çeşitli aldehit türevleri için geçerli olup, 1,2-disüstitüe benzimidazol bileşiklerinin verimli ve ölçeklenebilir sentezini sağlamaktadır (Şekil 1.33) (Hu vd., 2017).



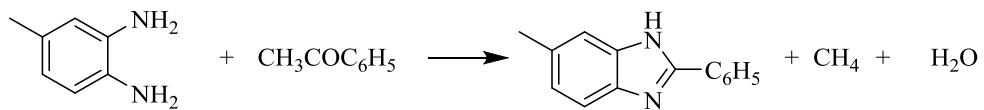
Şekil 1.33.İntramoleküler C-H amidasyon metodolojisi ile bazik koşullar altında moleküler iyot kullanılarak gerçekleştirilen N-süstitüe benzimidazol sentezi

o-Fenilendiaminler ketonlarla reaksiyona girerek 2-disüstitüe benzimidazolinler oluştururlar. Bu ara ürünler, ısı etkisi altında 2-süstitüe benzimidazol ve bir hidrokarbona parçalanır. Asimetrik olarak süstitüe edilmiş benzimidazolinlerin parçalanması, R₁ veya R₂ süstitüentinin tercihi olarak elimine edilmesi nedeniyle iki farklı benzimidazol ürününün oluşumuna yol açabilir (Şekil 1.34) (Elderfield ve McCarthy, 1951).



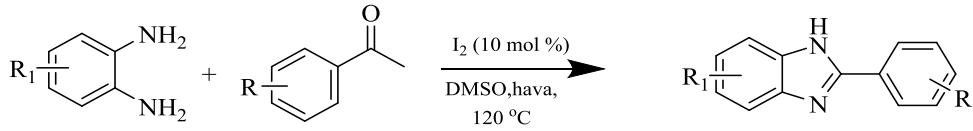
Şekil 1.34. *o*-Fenilendiamininin ketonlarla reaksiyonu sonucu oluşabilecek benzimidazol bileşikleri

Ladenburg ve Rügheimer, *o*-fenilendiamin ile asetofenonun 180 °C'de 15 dakika ısıtılması ile 2-fenil-5 (veya 6)-metil benzimidazol sentezini gerçekleştirmişlerdir. Bu işlem sonucunda, tercihen metil grubunun elimine olduğu benzimidazol türevi elde edildiği bildirilmiştir (Şekil 1.35) (Ladenburg A ve Rügheimer, 1879).



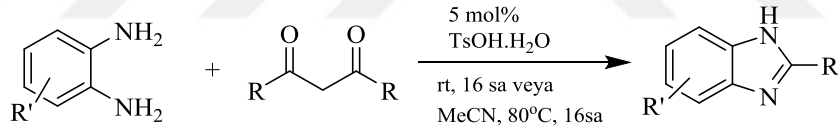
Şekil 1.35. *o*-Fenilendiamin ve asetofenondan hareketle benzimidazol sentezi

2017 yılında Ravi ve arkadaşları *o*-fenilendiaminler ve aril alkil ketonlardan hareketle ilk kez C (sp²)-C bağ kırılması ve halka oluşumu yoluyla 2-aril sübstitüe benzimidazollerini dönüştüren basit ve düşük maliyetli bir sentez yöntemi geliştirmişlerdir. Reaksiyon, metal içermeyen koşullarda katalitik miktarda iyot kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 1.36) (Ravi vd., 2017).



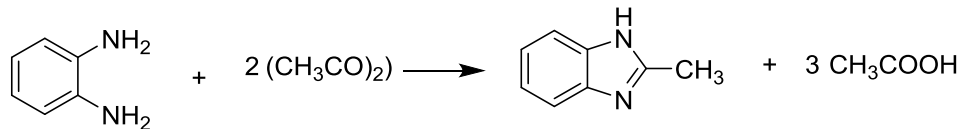
Şekil 1.36. *o*-Fenilendiamin ve aril alkil ketonlar üzerinden benzimidazol sentezi

2022 yılında Mayo ve arkadaşları, hafif koşullarda benzimidazollerin sentezi için yeni bir yöntem geliştirmiştir. Bu yöntem, oksidan, metal katalizör veya radyasyon kullanılmadan, düşük sıcaklıkta gerçekleştirilebilen ve kolayca temin edilebilen başlangıç maddeleri ile geniş substrat kapsamı sunmaktadır. Çalışmada, *o*-fenilendiaminler ile β -diketonların Brønsted asit katalizörlüğünde optimize edilmiş koşullarda orta-iyi verimlerle 2-sübstitüe benzimidazoller elde edilmiştir (Şekil 1.37) (Mayo vd., 2014).



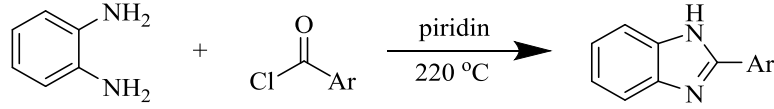
Şekil 1.37. *o*-Fenilendiamin ve β -diketonlardan hareketle gerçekleştirilen benzimidazol sentezi

Literatürde, asit anhidritler ve *o*-fenilendiaminlerden, reaksiyon koşullarına bağlı olarak benzimidazoller veya *N,N'*-diakilfenilendiaminler sentezlenebileceği bildirilmiştir. Buna göre *o*-fenilendiaminlerin asetik anhidrit ile birkaç saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılmasıyla tamamen 2-metilbenzimidazole dönüştüğü gösterilmiştir. (Şekil 1.38) (Rathod vd., 2013).



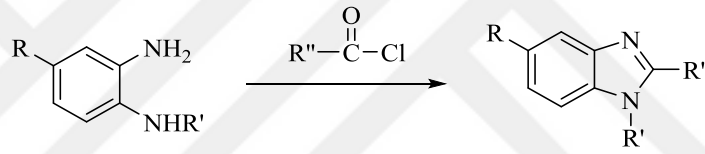
Şekil 1.38. *o*-Fenilendiamin ve asetik anhidritten hareketle 2-metilbenzimidazol eldesi

Benzimidazoller, *o*-fenilendiaminlerin genellikle aroil klorürler ile reaksiyonları sonucu elde edilmiştir. Bu reaksiyonlar bileşenlerin genellikle geri çeviren soğutucu altında yaklaşık 200-220 °C’de veya piridin ya da benzer bir bazik madde ile buhar banyosunda ısıtılmasıyla gerçekleştirilir (Şekil 1.39) (Wright, 1951).



Şekil 1.39. *o*-Fenilendiamin ve asit klorürlerin ısıtılması ile 2-sübstütie benzimidazollerin eldesi

1-Konumunda sübstütüsyonu bulunmayan benzimidazoller, asit klorürlerle açillenebileceğinden, çoğu reaksiyon *N*-sübstütie *o*-fenilendiaminlerle gerçekleştirilmiştir. Şekil 1.40’ta *N*-sübstütie *o*-fenilendiaminler ile asit klorürlerin reaksiyonları sonucu hazırlanabilecek bileşikler listelenmiştir (Şekil 1.40) (Wright, 1951).

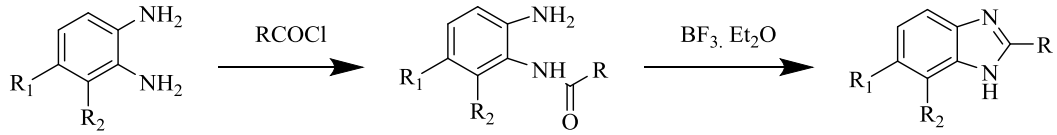


R: -NO₂, -CH₃; R': -CH₃, *o*-tolil, *p*-tolil, α -naftil, β -naftil, fenil; R'': -, -CH₃, fenil, 4-nitrofenil

Şekil 1.40. *N*-sübstütie *o*-fenilendiamin ve asit klorürlerden hareketle elde edilen benzimidazoller

Monoaçilllenmiş *o*-fenilendiaminlerin eldesi, çeşitli sulu asidik çözücüler veya yeşil kimya koşulları altında gerçekleştirilebilir. Kullanılabilecek reaktifler arasında 1-hekzil-3-metilimidazolyum tetrafloroborat ([Hbim] BF₄) iyonik sıvısı Nadaf vd. (2004), heteropoli asit Heravi vd. (2008), potasyum florür-alümina (KF-Al₂O₃) Khalili ve Sardarian (2012), tarımsal atık ekstraktı WEPBA Kantharaju ve Hiremath (2018), zeolit Heravi vd. (2006) ve boron triflorür dietil eterat (BF₃·Et₂O) Tandon ve Kumar (2004) tarafından rapor edilmiş maddeler yer almaktadır.

Tandon ve arkadaşlarının 2004 yılında raporladığı çalışmada, 1,2-fenilendiaminlere 0 °C’de kuru dioksan içinde asit klorür eklenerek *N*-açıl-1,2-fenilendiamin ara ürünü elde edilmiştir. Bu ara ürüne BF₃·Et₂O eklenip, geri çeviren soğutucu altında 130 °C’de kaynatıldığında, 2-sübstütie benzimidazoller % 92–98 verimle elde edilmiştir (Şekil 1.41) (Tandon ve Kumar, 2004).



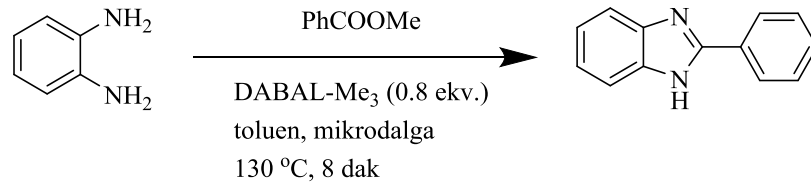
Şekil 1.41. *o*-Fenilendiamin ve asit klorürlerden hareketle 2-metilbenzimidazol sentezi

Jing ve arkadaşlarının 2006 yılında yayınladığı çalışmada, *o*-fenilendiamin ve ester türevlerinden hareketle benzimidazol bileşiklerinin sentezi bildirilmiştir. 1,2-fenilenediamin dihidroklorür ve çeşitli esterlerin yaklaşık 90 saniye boyunca 165W mikrodalga ışıınımlı altında reaksiyona sokulmasıyla %90'dan fazla verimle 2-sübstitüe benzimidazoller elde edilmiştir. (Şekil 1.42) (Jing vd., 2006).



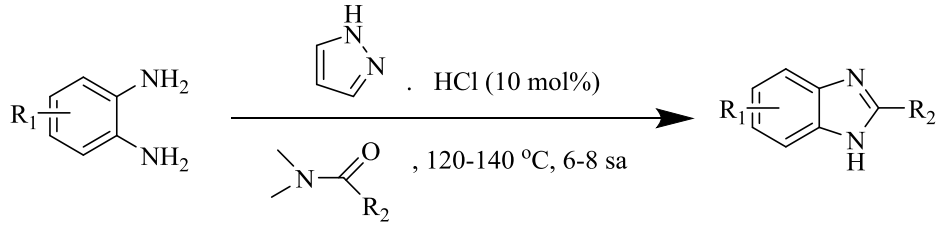
Şekil 1.42. *o*-Fenilendiaminler ile esterlerden hareketle benzimidazol eldesi

2013 yılında Dubois ve arkadaşları, *o*-fenilendiaminler ile basit esterler üzerinden amit sentezlemek için di- α -benzyl- α -(*N,N,N*-trimetilamino) etoksibor (DABAL- Me_3) katalizörlüğünde eşleşme reaksiyonu gerçekleştirmeyi hedeflemiştir. Ancak, amin gruplarının yakınlığı nedeniyle siklizasyon meydana gelmiş ve orta verimde benzimidazoller sentezlenmiştir (Şekil 1.43) (Dubois vd., 2013).



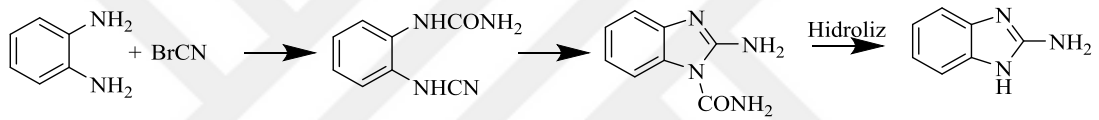
Şekil 1.43. *o*-Fenilendiaminler ile esterlerin DABAL- Me_3 katalizörlüğünde benzimidazol eldesi

Gan ve arkadaşları, 2018 yılında *o*-fenilendiaminlerin dimetilformamid (DMF) türevleri ile imidazolyum klorür katalizörü kullanarak, çeşitli fonksiyonel gruplara sahip benzimidazollerin ve 2-sübstitüe benzimidazollerin kolay, genel ve ekonomik bir sentezini gerçekleştirmiştir. Bu protokol, alifatik, aromatik ve heteroaromatik amitler için geniş bir substrat yelpazesi sunarak, orta ile mükemmel verimler arasında değişen çeşitli benzimidazol ve 2-sübstitüe benzimidazoller elde edilmesini sağlamıştır (Şekil 1.44) (Gan vd., 2018).



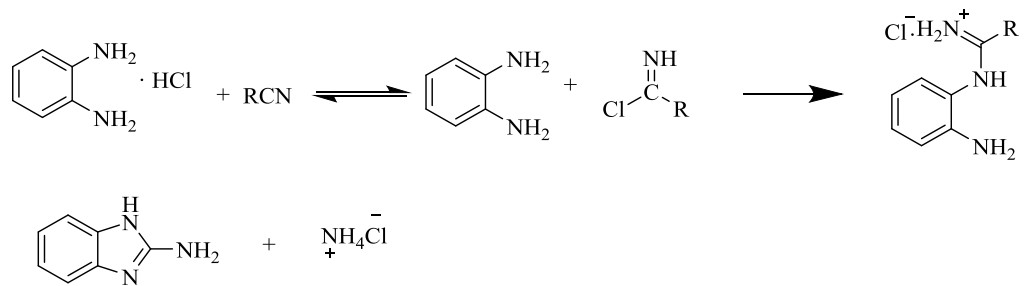
Şekil 1.44. *o*-Fenilendiaminler ile DMF türevlerinden hareketle benzimidazol sentezi

Pelizzari ve arkadaşları, *p*-fenilendiaminin siyanogen bromür (BrCN) ile reaksiyonu sonucunda iyi verimle 2-amino benzimidazol bromür tuzu sentezlemiştir. Yöntemlerine göre, reaksiyon reaktanların sulu süspansiyon içinde karıştırılmasıyla gerçekleştirilir. Kararsız bir ara ürün olan *o*-fenilen- α -guanilüre, hidroliz ile 2-amino benzimidazol bileşiğini oluşturur. (Şekil 1.45) (Pelizzari, 1919, 1920).



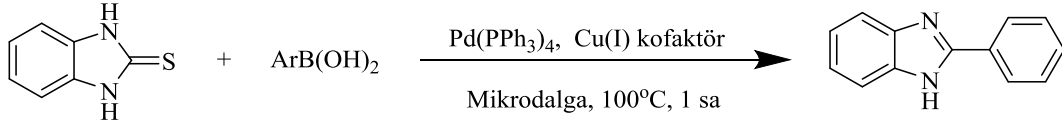
Şekil 1.45. *o*-Fenilendiaminler ile BrCN'den hareketle 2- süstitüe benzimidazol eldesi

Hölljes ve Wagner'in yaptığı bir çalışmada, *o*-fenilendiaminin monohidroklörür tuzunun 200 °C'de alifatik veya aromatik bir nitril ile ısıtılmasıyla 2-süstitüe benzimidazoller elde edilmiştir. Ancak, aynı koşullar altında serbest formdaki *o*-fenilendiamin 200 °C'de benzonitril ile reaksiyona girmemiştir, bu da benzimidazol oluşumunun H⁺ gerektirdiği ve bu nedenle asidik koşullarda gerçekleştiğini göstermektedir. Yaklaşık 200 °C'de gerçekleştirilen bu prosedürde amonyum klorür parçalanarak ek hidrojen klorür meydana getirir ve reaksiyonun devamını sağlar. Sonuç olarak 2-süstitüe benzimidazoller elde edilir (Şekil 1.46) (Hölljese, 1944).



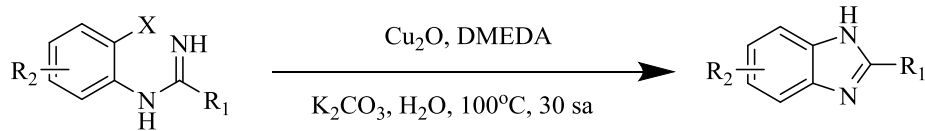
Şekil 1.46. Nitrillerden hareketle gerçekleştirilen siklizasyon reaksiyonu

Prokopcova ve Kappe tarafından 2007 yılında yayımlanan çalışmada, siklik tiyoamitlerin arilboronik asitlerle palladyum katalizli ve stokiyometrik miktarda bakır (I) kofaktörü varlığında çapraz bağlanma (cross-coupling) protokolü tanımlanmıştır. Bu desülfatatif karbon-karbon çapraz bağlanma protokolü, nötr koşullarda mikrodalga ışınlamı ile 100 °C'de ortalama 2 saatte gerçekleştirilmiş ve iyi verimlerde benzimidazoller elde edilmiştir (Şekil 1.47) (Prokopcová ve Kappe, 2007).



Şekil 1.47. 1,3-Dihidro-2*H*-benzoimidazol-2-tiyondan hareketle benzimidazol sentezi

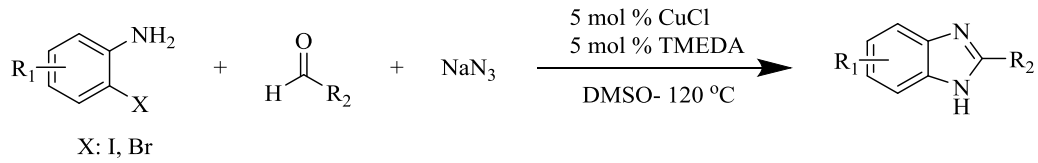
Peng ve arkadaşları 2011 yılında benzimidazol halka sisteminin eldesi için intramoleküler *N*-arilasyonu hedefleyen basit ve verimli bir bakır katalizli yöntem geliştirmiştir. Bu protokolde bakır (I) oksit (Cu₂O) katalizör, *N,N'*-dimetiletilediamin (DMEDA) ligand ve potasyum karbonat (K₂CO₃) baz olarak kullanılmıştır. Reaksiyon tamamen su içinde gerçekleştirilmiş olup, bu durum yöntemin çevresel ve ekonomik açıdan değerli olduğunu göstermektedir. (Şekil 1.48) (Peng vd., 2011).



X: Br, I; R₁: fenil, metil

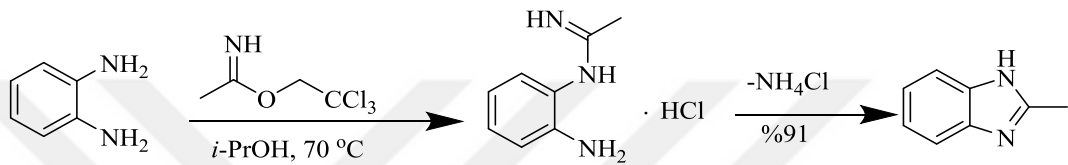
Şekil 1.48. İnamoleküler *N*-arilasyon üzerinden benzimidazollerin eldesi

Kim ve arkadaşları 2011 yılında bakır katalizörlüğünde benzimidazol sentezini tek kapta gerçekleştirmiştir. Reaksiyon, 2-iyodo veya 2-bromoanilinler, çeşitli aldehytler ve azot kaynağı olarak sodyum azid (NaN₃) kullanılarak yapılmıştır. Bu bileşikler, bakır (I) klorür (CuCl) ve tetrametiletilediamin (TMEDA) varlığında DMSO içinde 120 °C'de reaksiyona sokulmuş ve iyi ile orta verimlerde 2-süstitüe benzimidazoller elde edilmiştir (Şekil 1.49) (Kim vd., 2011).



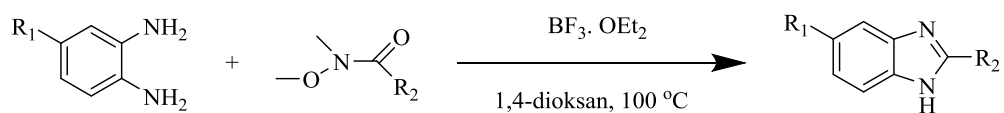
Şekil 1.49. NaN₃ üzerinden benzimidazol sentezi

2012 yılında Caron ve arkadaşları tarafından bildirilen bir çalışmada, açılme ajanı olarak 2,2,2-trikloroetil imidatlar kullanılmış ve hafif koşullar altında iyi verimlerle benzimidazoller hazırlanmıştır (Şekil 1.50) (Caron vd., 2012).



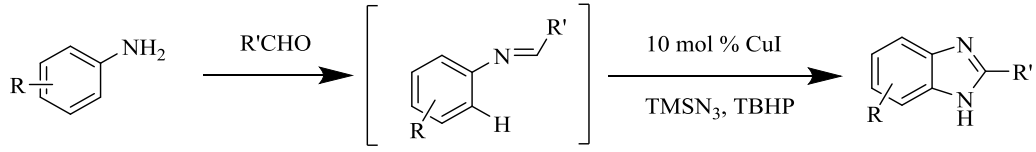
Şekil 1.50. 2,2,2-Triklorometil imidatlar üzerinden benzimidazol eldesi

Bommegowda ve arkadaşları 2013 yılında, *N*-metoksi-*N*-metilamit (Weinreb amiti) ile *o*-fenilendiaminin kondensasyonu ve ardından siklizasyonu ile 2-sübstitüe benzimidazol sentezini tek kapta gerçekleştirmiştir. Reaksiyon, 1,4-dioksan içinde bor triflorür eterat varlığında 60 dakika içinde yüksek verim (%75–94) ile tamamlanmıştır. Weinreb amitinin, karboksil, halojen, siyano ve metoksi gibi diğer aktif fonksiyonel gruplarla yüksek seçicilik gösterdiği bildirilmiştir. (Şekil 1.51) (Bommegowda vd., 2013).



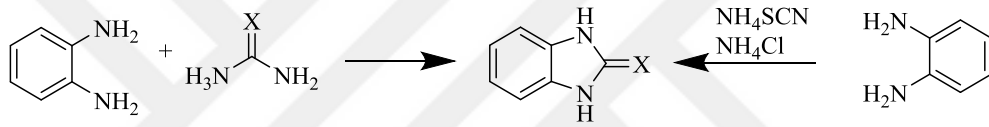
Şekil 1.51. *o*-Fenilendiaminler ile Weinreb amitlerinden hareketle 2- sübstitüe benzimidazol eldesi

Mahesh ve arkadaşları 2015 yılında, *N*-aril iminlerin bakır katalizli aminasyonu için yeni ve etkili bir yöntem tanımlamıştır. Bu yöntemde, iminler metal merkezini şelatlayarak yönlendirici grup olarak işlev görür. Tek kapta gerçekleştirilen bu basit reaksiyon, ucuz bir bakır katalizör (CuI) kullanır ve kolayca temin edilebilen aril aminler, aldehitler ve azitlerin tandem kondensasyonu, C–H azidasyonu ve C–N bağ oluşumu ile benzimidazol yapı birimlerine dönüştürülmesine olanak tanır (Şekil 1.52) (Mahesh vd., 2015).



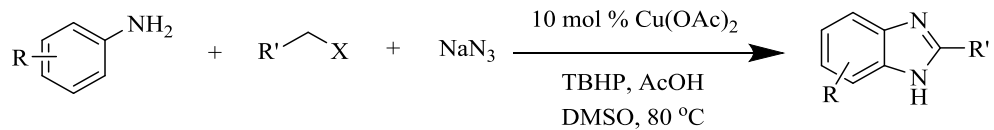
Şekil 1.52. *N*-aril iminlerin CuI katalizli aminasyonu yoluyla benzimidazol eldesi

Çeşitli süstitüe üre ve tiyoüre veya amonyum tiyosiyanatın *o*-fenilendiaminlerle çözücüsüz bilyalı öğütme tekniği ile reaksiyonu sonucunda benzimidazolonlar sentezlenmiştir. Bilyalı öğütme, reaktiflerin çözücü olmadan yüksek hızlarda sallanan bir kap içinde öğütme bilyeleri ile öğütüldüğü çevre dostu bir yöntemdir. Bu yöntem, geleneksel yöntemlere göre tam dönüşüm oranı, kısa reaksiyon süresi, daha düşük toksisite ve kolay deneysel prosedürler gibi birçok avantaj sunmaktadır (Şekil 1.53) (El-Sayed vd., 2016; Rightmire ve Hanusa, 2016; Schmidt vd., 2016).



Şekil 1.53. Üre/tiyosiyanattan hareketle benzimidazol sentezi

2016 yılında Mahesh ve arkadaşları, bakır(II) katalizli oksidatif çapraz eşleşme reaksiyonu ile anilinler, primer alkil aminler ve sodyum azid kullanarak, *tert*-bütil hidroperoksit (TBHP) varlığında orta sıcaklıkta benzimidazol sentezi gerçekleştirmişlerdir. Bu tek kapta çok bileşenli protokol, C–H fonksiyonelleştirme, transiminasyon, *orto*-selektif aminasyon ve siklizasyon dizisini içerir. Yöntem, geniş substrat yelpazesi ve fonksiyonel grup uyumluluğu ile benzil alkol ile yapılan çapraz eşleşmeye de orta verimlerle uygulanabilmesi gibi güçlü özelliklere sahiptir (Şekil 1.54) (Mahesh vd., 2016).

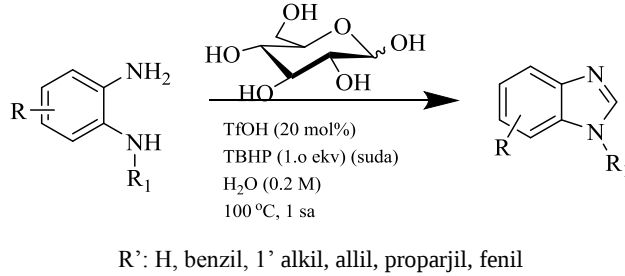


R: Elektron çekici ve verici gruplar; R₁: aril, X: NH₂, OH

Şekil 1.54. Transiminasyon yoluyla primer alkil aminlerden hareketle benzimidazol eldesi

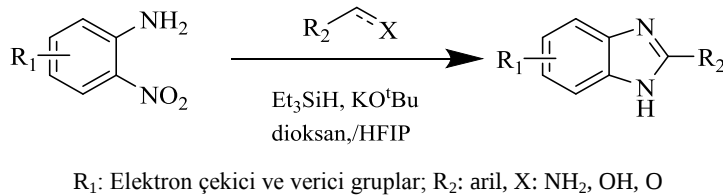
Raja ve arkadaşlarının 2020 yılında yayınladıkları bir çalışmalarında *o*-fenilendiaminlerden hareketle benzimidazol sentezinde etkin bir C1 sintonu olarak D-Glukoz tanımlanmıştır. Oksidatif siklizasyon stratejisine dayanan bu yöntemin önemli özellikleri

arasında geniş fonksiyonel grup toleransı, biyoyenilenebilir metin kaynağı, mükemmel reaksiyon verimleri, kısa reaksiyon süresi, çevre dostu çözücü olarak su kullanımı yer almaktadır (Şekil 1.55) (Raja vd., 2020).



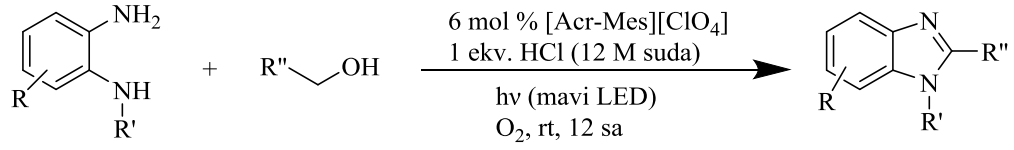
Şekil 1.55. D-Glukoz ve o-fenilendiaminlerden hareketle benzimidazol eldesi

2021 yılında Kabi ve arkadaşları, nitro-aromatiklerin redoks-kondensasyonu için geçiş metal bazlı katalizörlerin kullanılmadığı ve toksik atık oluşumunu engelleyen etkili bir reaksiyon stratejisi geliştirmiştir. Bu redoks-ekonomik yöntem, benzimidazol türevlerinin sentezi için potasyum *tert*-butoksit (KO^tBu) ve trietilsilan (Et₃SiH) kullanılarak uygulanmıştır. Geliştirilen yöntem, hedef bileşenlere ulaşmak için gerekli redoks adımlarını azaltarak, çeşitli fonksiyonel gruplar içeren geniş bir substrat yelpazeyle iyi/mükemmel verimlerle 2-sübstitüe benzimidazoller elde edilmesini sağlamaktadır (Şekil 1.56) (Kabi vd., 2021).



Şekil 1.56. Nitroarenlerden hareketle 2-sübstitüe benzimidazol sentezi

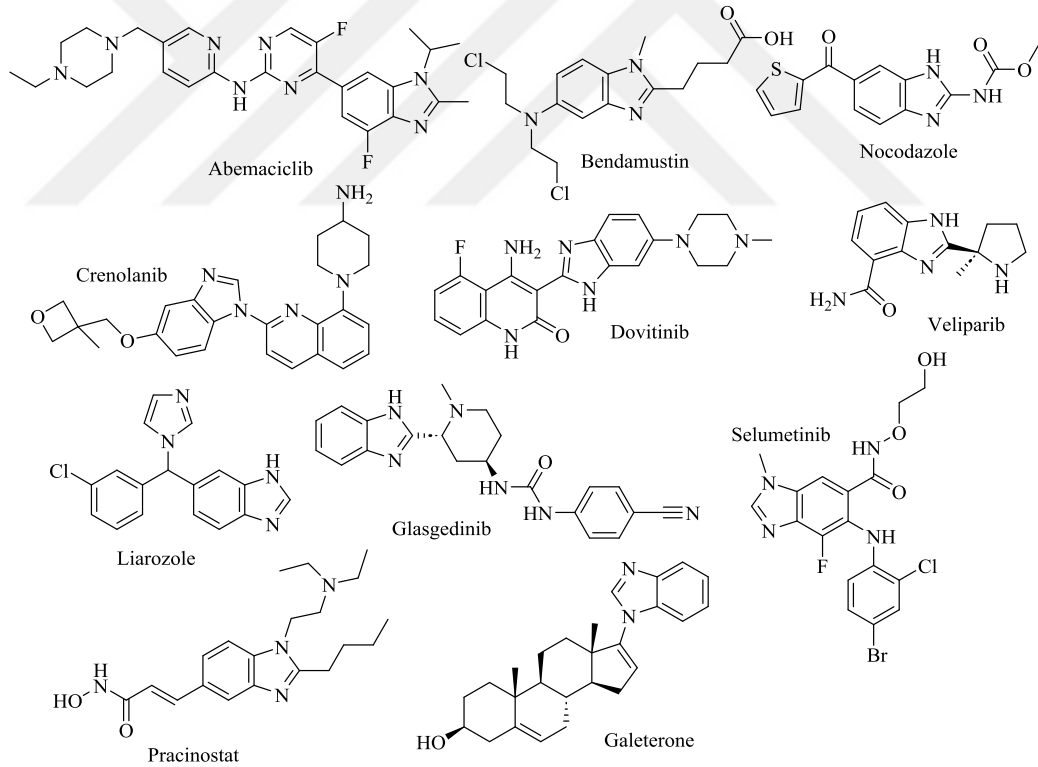
2023 yılında Kumari ve arkadaşları, metal içermeyen bir fotomediyatörlü aktivasyon yöntemi kullanarak o-fenilendiaminler ile etanol veya yüksek zincirli alifatik alkoller aracılığıyla benzimidazollerin hafif koşullarda sentezini gerçekleştirmiştir. Bu yöntem, pahalı ve kararsız aldehytler yerine alkoller kullanarak benzimidazol sentezini sağlamaktadır. Protokol, bir fotokatalizör ve bir hidrojen atom transferi (HAT) reaktanı arasındaki etkileşimi kullanarak, çeşitli fonksiyonel gruplara sahip diaminerin alifatik ve benzilik alkoller ile yüksek verimlerle sentezine olanak tanımaktadır. Bu, görünür ışıkla tetiklenen ilk protokol olarak öne çıkmaktadır (Şekil 1.57) (Kumari vd., 2023).



Şekil 1.57. Fenilendiaminler ve alkollerden hareketle 2- sübstütie benzimidazol sentezi

1.3.1.3. Antikanser Etkili Benzimidazol Türevleri

Son zamanlarda, geleneksel antikanser tedavilerde kullanılan ilaçların seçici olamaması ve yüksek sitotoksisiteye sahip olmaları, normal hücrelere de zarar vererek hastaların yaşam kalitesini düşürmektedir. Hücre biyolojisi ve moleküler biyolojinin hızla gelişmesiyle birlikte, kanser hücrelerinin sinyal iletim yolları, büyüme faktörleri ve bunların reseptörleri ve apoptoz yolları gibi daha seçici yeni hedeflere yönelik yeni ajanların tasarımı dikkat çekmiştir (Gerber, 2008; İbrahim ve Refaat, 2020; Sawyers, 2004).



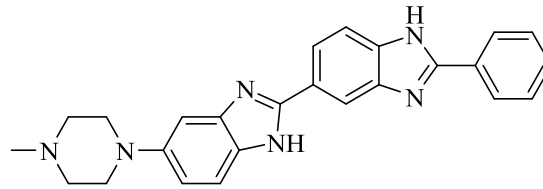
Şekil 1.58. Klinikte çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanımı olan benzimidazol türevi ajanlar

Antikanser tedavi çalışmaları kapsamında benzimidazol yapısının potansiyel etkileri belirlenmiş ve karmaşık etki mekanizmaları sayesinde geniş bir kanser türünü hedefleme potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu yapılar, bireyselleştirilmiş ve hedefe yönelik

kanser tedavisi için yeni seçenekler sunmaktadır (İbrahim ve Refaat, 2020). Bunun yanı sıra, klinikte çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanılan abemaciclib, bendamustin, crenolanib, dovitinib, galeterone, glasgedinib, liarozole, nocodazole, pracinostat, selumetinib ve veliparib (Şekil 1.58) gibi benzimidazol halkasına sahip bileşikler, bu yapıların kansere karşı yeni ajanların geliştirilmesi için yararlı bir iskelet olduğunu ortaya koymaktadır (Bansal vd., 2021; Hernández-Romero vd., 2021). Bu nedenle, benzimidazol halkası içeren bileşikler, yeni ilaç adayı olarak birçok çalışmada incelenen önemli bir halka sistemi haline gelmiştir (Feng vd., 2022).

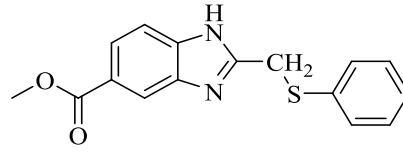
Şimdiye kadar yapılan araştırmalar, benzimidazol halkası içeren bileşiklerin çeşitli etki mekanizmaları üzerinden antitümör aktivite sergilediğini göstermiştir. Bu etki mekanizmaları arasında DNA alkilasyonu, DNA bağlanması, tübül polimerizasyonunun veya depolimerizasyonunun bozulması, enzim inhibisyonu, anti-anjiyogenez ve sinyal iletim inhibitörleri yer almaktadır (Chalkappa vd., 2023).

2000 yılında yapılan bir çalışmada, bir dizi 5-fenil-bibenzimidazol türevi (1) hazırlanmış ve bu türevlerin Topo I zehirleri olarak aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, bu bileşiklerin yapılarında hidrojen bağları oluşturmaya katılabilen bir hidrojen atomu içermesinin Topo I zehri olarak aktiviteleri ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 1.59) (Jin vd., 2000).



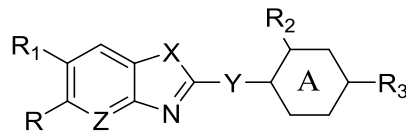
Şekil 1.59. 5-(4-Metilpiperazin-1-il)-2'-fenil-1*H*,1'*H*-2,5'-bibenzimidazol (1)

2004 yılında Pinar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; 2,5,6-süstitüe benzoksazol, benzimidazol, benzotiyazol ve oksazolo(4,5-b)piridin türevlerinin ökaryotik DNA Topo II inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada 37 bileşikten 28'inin DNA Topo II'yi 100 µg/ml başlangıç konsantrasyonunda inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca sentezlenen bileşiklerden metil 2-(feniltiyometil)-1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2) bileşiğinin IC₅₀ değeri 17 µM ile referans bileşik etoposidten (IC₅₀= 21,8 µM) daha iyi inhibitör etki gösterdiği ortaya konulmuştur (Şekil 1.60) (Pinar vd., 2004).



Şekil 1.60. Metil 2-feniltiyometil-1*H*-benzimidazol-5-karboksilat (2)

2005 ve 2006 yıllarında aynı seri moleküller üzerinden aktiviteden sorumlu bölgelerin belirlenmesi için 3D QSAR CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis, Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi) ve CoMSIA (Molecular Similarity Indices in a Comparative Analysis, Karşılaştırmalı Moleküler Benzerlik indeksleri Analizi) çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalara göre hidrofobik etkileşimlerin Topo II enzim, inhibitör aktivitesini arttırmada anahtar bir rolü olduğu gösterilmiş ve heterosiklik çekirdeğin 5. veya 6. pozisyonunda hidrofilik bir grup varlığının hidrofobik olanlara göre ve heterosiklik halkanın 2. pozisyonundaki fenil halkasının *orto* ve *para* pozisyonlarında hidrofobik grubun bulunmasının aktivitede daha önemli olduğu bildirilmiştir. 3D CoMFA çalışmasına göre; heterosiklik yapının 5. veya 6. pozisyonundaki bir elektronegatif grubun ve 2. pozisyonundaki fenil halkasının *orto* konumunda bir elektropozitif grubun varlığının Topo II enzim inhibisyonunu artıracak da gösterilmiştir (Temiz-Arpaci vd., 2005). Ek olarak hem CoMFA (Temiz-Arpaci vd., 2005) hem de CoMSIA (Tekiner-Gulbas vd., 2006) çalışmaları ile, sterik özelliklerin aktivitede önemli olduğu ve heterosiklik halkanın 2. pozisyonunda bulunan fenilin *orto* ve *para* konumlarına hacimli grupların dahil edilmesiyle aktivitenin arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, 5 (veya 6) pozisyonunda elektron çekici bir süstitüsyonun varlığının aktiviteyi olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (Şekil 1.61).

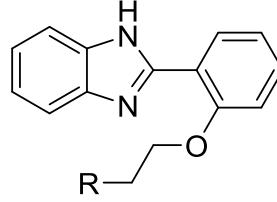


Z: CH, N; X: O, NH, S; Y: -, CH₂, C₂H₄, CH₂O, CH₂S;
A: Fenil, Sikloheksil, siklopentil; R: H, Cl, CH₃, NO₂, NH₂, COOCH₃;
R₁: H, CH₃, NO₂; R₂: F, CH₃, NO₂, OCH₃;
R₃: H, Cl, CH₃, C₂H₅, C(CH₃)₃, NH₂, NHCH₃, OCH₃, OC₂H₅.

Şekil 1.61. CoMFA ve CoMSIA çalışmalarında kullanılan heterosiklik bileşikler

2009 yılında Coban ve arkadaşları, çeşitli 2-süstitüe benzimidazol türevlerini sentezlemiş ve bu bileşiklerin HeLa (serviks adenokarsinomu), MCF7 (meme adenokarsinomu) ve A431 (cilt epidermoid karsinomu) hücre hatlarında antikanser aktiviteleri ile Topo I inhibisyon potansiyellerini değerlendirmiştir. Elde edilen verilere göre,

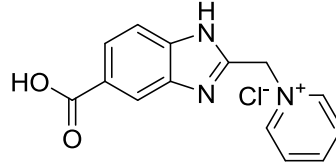
bileşiklerin IC_{50} değerleri $6,04 \mu M$ ile $> 30 \mu M$ arasında değişmekte olup, 2-(2-etoksifenil)-1*H*-benzimidazol (3) ve 2-(2-(2-(pirolidin-1-il)etoksi)fenil)-1*H*-benzimidazol (4) bileşikleri sırasıyla %95,4 ve %90,2 inhibisyon oranlarına sahip olduğu bildirilmiştir (Şekil 1.62) (Coban vd., 2008).



R: H (3), 1-pirolidin (4)

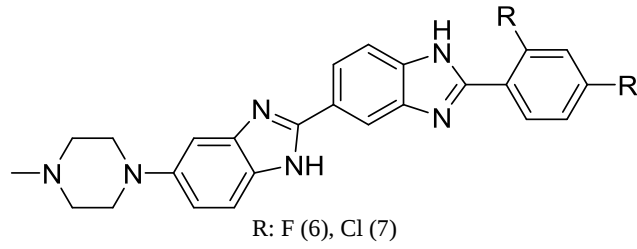
Şekil 1.62. 2-(2-Etoksifenil)-1*H*-benzimidazol (3) ve 2-(2-(2-(pirolidin-1-il)etoksi)fenil)-1*H*-benzimidazol (4) bileşikleri

Galal ve arkadaşları tarafından tasarlanan ve sentezlenen yeni bir Cu^{2+} kompleksi olan 2-piridinilbenzimidazol-5-karboksilik asit analogları arasında, bileşik 5 en etkili aday olarak belirlenmiş ve P388 Topo II'nin DNA-relaksasyon aktivitesini IC_{50} $2,5 \mu M$ ile inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, sentezlenen bileşiklerin 21 insan solid tümör hücre hattı (8 akciğer, 7 kolon ve 6 mide kanseri hücre hattı) üzerinde ortalama GI_{50} değeri $0,091 \mu M$ olarak bulunmuştur (Şekil 1.63) (Galal vd., 2010).



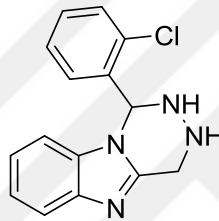
Şekil 1.63. 1-(5-Karboksi-1*H*-benzimidazol-2-ilmetil)piridinyum klorür (5)

Singh ve arkadaşları, 2011 yılında 2-aril-5-süstitüe-2,5-bisbenzimidazol türevlerinden oluşan analoglar sentezlemişlerdir. Bileşiklerden 6 ve 7, U87 (insan glioblastoma), MCF7 ve HeLa insan tümör hücrelerine karşı IC_{50} değerleri $0,6-5,5 \mu M$ ile DNA kırılmasını en yüksek oranda indükleyen bileşikler olarak bulunmuştur. Yapılan yapı-aktivite çalışması, fenil halka üzerindeki halojen gruplarının (özellikle flor ve klor) ct-DNA'ya bağlanma afinitesini artırdığını ve insan tümör hücre hatlarına karşı belirgin sitotoksik aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur (Şekil 1.64) (Singh ve Tandon, 2011).



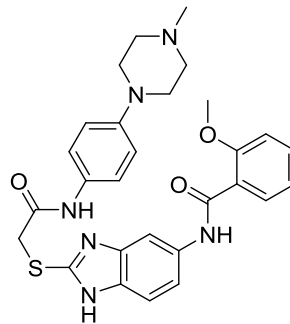
Şekil 1.64. 2'-(2,4-Diflorofenil)-5-(4-metilpiperazin-1-il)-1H,1'H-2,5'-bibenzimidazol (6) ve 2'-(2,4-diklorofenil)-5-(4-metilpiperazin-1-il)-1H,1'H-2,5'-bibenzimidazol (7)

El-Nassan ve arkadaşları tarafından geliştirilen benzimidazol türevi bir seri bileşik, MCF7 hücre hattında antikanser etkinlik açısından incelenmiş ve elde edilen verilere göre bileşik 8'in, 0,039 μM IC_{50} değeri ile etkili olduğu bildirilmiştir (Şekil 1.65) (El-Nassan, 2012).



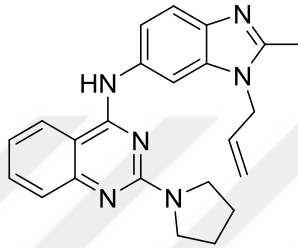
Şekil 1.65. 1-(2-Klorofenil)-1,2,3,4-tetrahidrobenzo[4,5]imidazo[1,2-d][1,2,4]triazin (8)

Xiang ve arkadaşları, benzimidazol halkası taşıyan antikanser ajanlar olarak bir seri bileşik sentezlemişlerdir. Elde edilen verilere göre, bileşik 9, HCT-116 (kolorektal kanser) hücre hattında 1,25 μM IC_{50} değeri ile iyi bir antikanser etkinlik sergilemiştir. Ayrıca, bileşiğin etki mekanizmasının sitozolik vakuolizasyon yoluyla gerçekleştiği ileri sürülmüştür (Şekil 1.66) (Xiang vd., 2012).



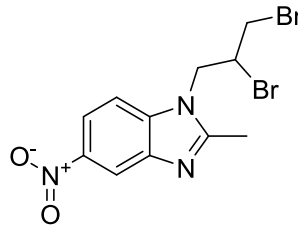
Şekil 1.66. 2-Metoksi-N-(2-((2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-2-oksoetil)tiyo)-1H-benzimidazol-5-il)benzamid (9)

2013 yılında Sharma ve arkadaşları, bölgesel seçici kinazolin/benzimidazol hibritleri sentezlenmiş ve *in vitro* antikanser etkinlikleri 60 tümör hücre hattına karşı taranmıştır. Elde edilen sonuçlara göre bileşik 10 ile kanser hücreleri üzerinde önemli bir inhibisyon gözlemlenmiş ve bazı tümör hücre hatlarında referans inhibitör 5-fluorourasil (5-FU) ile karşılaştırıldığında daha aktif olduğu görülmüştür. Bileşik 10, lösemi (K-562, MOLT-4, RPMI-8226 ve SR), kolon (HCC-2998, HCT-116 ve HT-29) ve melanoma (LOX IMVI ve SK-MEL-5) kanser hücre hatlarına karşı kayda değer antikanser aktivite göstermiştir. (Şekil 1.67) (Sharma vd., 2013).



Şekil 1.67. N-(1-allyl-2-metil-1H-benzimidazol-6-il)-2-(pirolidin-1-il)kinazolin-4-amin (10)

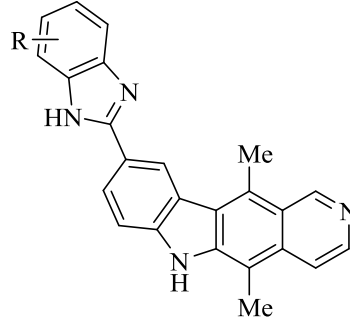
Shaker ve arkadaşları 2015 yılında çeşitli 5-nitro-1H-benzimidazol bileşiklerini sentezleyerek çeşitli hücre hatları üzerinde sitotoksik etkilerini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre 1-(2,3-dibromopropil)-2-metil-5-nitro-1H-benzimidazol (11)'un, A-549 (insan akciğer adenokarsinomu hücre hattı) ve HCT-116 (insan kolon kanseri hücre hattı) ve MCF-7 hücre hatlarına karşı doksorubisine kıyasla IC₅₀ değeri 28,29 µM değeriyle daha iyi aktivite sergilediği rapor edilmiştir (Şekil 1.68) (Shaker vd., 2015).



Şekil 1.68. 1-(2,3-Dibromopropil)-2-metil-5-nitro-1H-benzimidazol (11)

Reddy ve arkadaşları ise 2016 yılında raporladıkları bir çalışmada insan kanser hücre hatlarına karşı benzimidazol ile kaynaşmış elliptisin türevleri içeren bir seri bileşik sentezlemişler (18) ve aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bu bileşiklerin aktiviteleri, Zr-75-1, HeLa, MCF-7 ve A-549 hücre hatlarına karşı, standart etoposid ile karşılaştırıldığında

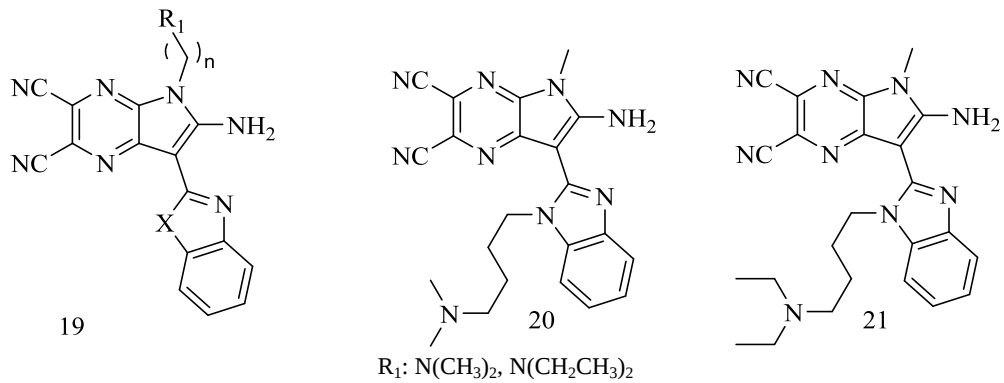
(GI₅₀ 0.2-3.08 μ M), GI₅₀ <0,1-34,6 μ M arasında değişen değerleri ile daha yüksek antiproliferatif aktivite gösterdiği bildirilmiştir (şekil 1.69) (Bramhananda Reddy vd., 2016).



R:H,5-OMe, 5,6-diOMe, 5-CF₃, 5-Cl, 5-NO₂, 5-F, 5-Br, 5,6-diCl, 5,6-diNO₂

şekil 1.69. Sentezlenen benzimidazol ile kaynaşmış elliptisin turevleri (18)

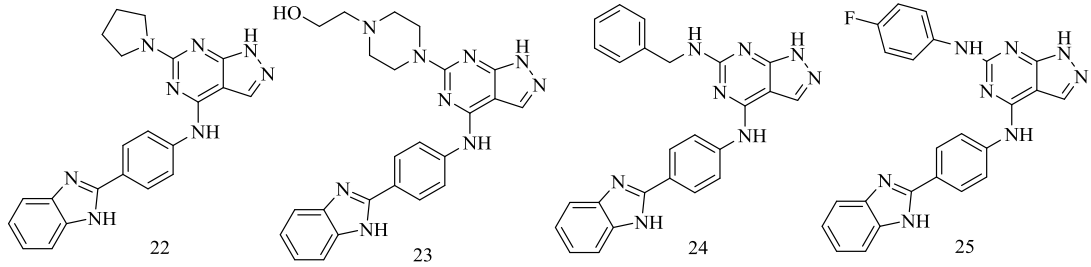
2016 yılında Li ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada gcl Topo II inhibitörleri olarak görev yapabilecek kırk beş adet 1,3-benzozazolil sübstitüe pirolo[2,3-*b*]pirazin turevleri tasarlanmış, sentezlenmiş ve sentezlenen bileşiklerin 7 kanser hücre hattı üzerinde antikanser aktiviteleri ve Topo II enzimi inhibisyon mekanizmaları incelenmiştir. Elde edilen verilere göre bileşiklerin bazılarının (19-21) nemli derecede sitotoksik etki ve Topo II katalitik inhibitör etki sergilediklerini ortaya koymuştur. Yapı-aktivite ilişkisi (SAR) alışmaları, alkilamino yan zincirinin ve benzoazolil grubunun önemli Topo II inhibitör aktivitesi ve antiproliferatif aktivite sergilediğini belirtilmiştir (şekil 1.70) (Li vd., 2016).



şekil 1.70. Benzoazolil grubu taşıyan benzimidazol turevi bileşikler (19-21)

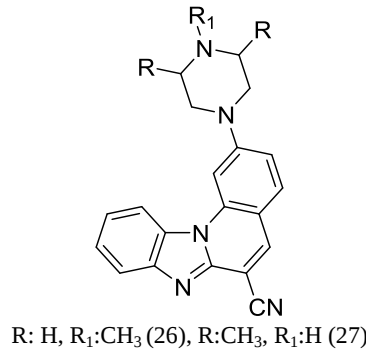
Singla ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada 4-(1*H*-benzimidazol-2-il)-fenilamin parçası içeren yeni bir pirazolo[3,4-*d*]pirimidin serisi tasarlamış ve sentezlemişlerdir. Bu seride yer alan bileşik 22, 23, 24 ve 25'in çeşitli kanser hücre hatlarına karşı ortalama GI₅₀ değerleri sırasıyla 1,30 μ M, 1,43 μ M, 2,38 μ M ve 2,18 μ M olarak bulunmuş ve yüksek

antikanser potansiyeller sergiledikleri belirlenmiştir. Ayrıca, bu bileşenler apoptozu indüklemiş ve insan Topo II α enzimini baskılamıştır. Tüm bu elde edilen veriler, DNA ve protein etkileşimleri alanında önemli bilgiler sağlayacak güçlü ajanların tasarımı için önemli bir altyapı oluşturmaktadır (Şekil 1.71) (Singla vd., 2016).



Şekil 1.71. Pirazolo[3,4-*d*]pirimidin türevi bileşikler (22-25)

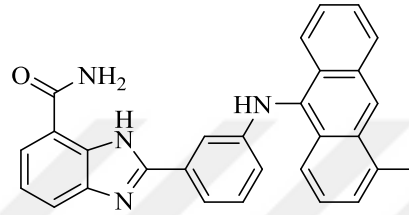
2016 yılında Perin ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada, 2-amino, 5-amino ve 2,5-diamino süstitüe benzimidazo[1,2-*a*]kinolinlerin sentezi yapılmış ve bu bileşiklerin antikanser etkileri, kolon, akciğer ve meme kanseri hücre hatlarına karşı *in vitro* olarak test edilmiştir. Sonuçlara göre, en güçlü antikanser aktivite 2-amino süstitüe analoglarda gözlenmiş ve 4-metil veya 3,5-dimetil-1-piperazinil süstitüe türevlerin (bileşik 26 ve 27) de aktif bileşikler olduğu bildirilmiştir. Üç hücre hattına karşı elde edilen veriler üzerinden, antikanser etkinliğe neden olan moleküler özellikleri belirlemek amacıyla 3D-QSAR analizi yapılmış ve bu analizde hidrojen bağlanma özellikleri, hidrofobiklik, moleküler esneklik ve hidrofobik bölgelerin dağılımının önemli olduğu vurgulanmıştır (Şekil 1.72) (Perin vd., 2016).



Şekil 1.72. 2-(4-metilpiperazin-1-il)benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (26) ve 2-(3,5-dimetilpiperazin-1-il)benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (27) bileşikleri

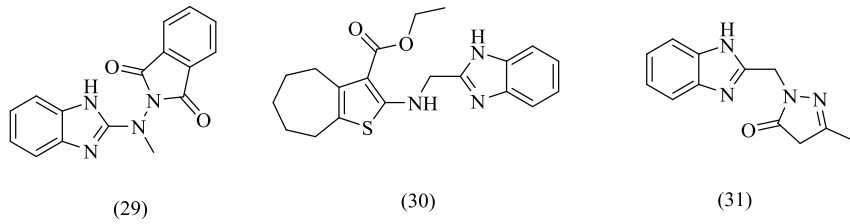
2017 yılında Yuan ve ekibi, antitümör etkinliği arttırmak ve dirençle gelişimi gibi süreçlerle baş edebilmek amacıyla ikili Topo ve PARP-1 inhibitörleri olarak tasarlanan ve

sentezlenen bir dizi 4-amidobenzimidazol akridin türevini raporlamışlardır. Çalışma bulgularına göre bileşik 28 hem Topo hem de PARP-1 üzerinde güçlü inhibitör aktivite göstermiş ve kanser hücrelerinin çoğalmasını önemli ölçüde durdurmuştur. Mekanizma çalışmaları, bileşik 28 ile tedavide MCF-7 hücrelerinde DNA çift sarmal kırılmalarına, belirgin apoptozun indüklenmesine ve G0/G1 hücre döngüsünde duraksamaya neden olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, bileşik 28 farelerde tümör büyümesini büyük ölçüde engellemiş ve karaciğer mikrozomlarında olumlu metabolik özellikler sergilemiştir (Şekil 1.73) (Yuan vd., 2017).



Şekil 1.73. 2-(3-((4-Metilantrasen-9-il)amino)fenil)-1H-benzimidazol-7-karboksamid (28)

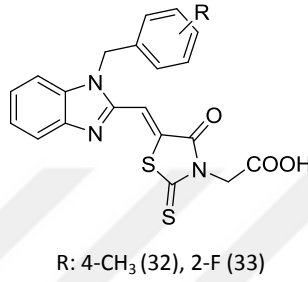
El-Gohary ve arkadaşlarının 2017 yılında bildirdiği bir çalışmada, sentezlenen bir grup benzimidazol türevi bileşiğin antikanser etkinlikleri test edilmiş ve tatmin edici sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, bileşiklerden 29, 30 ve 31'in HepG2, HCT-116 ve MCF-7 kanser hücre hatlarına karşı güçlü inhibitör potansiyellere sahip oldukları belirlenmiştir. Özellikle, bileşik 29 ve 31'in, referans bileşik 5-FU ile benzer şekilde güçlü DNA bağlanma afinitesi sergiledikleri ve bu nedenle antikanser aktivite açısından önemli oldukları rapor edilmiştir (Şekil 1.74) (El-Gohary ve Shaaban, 2017).



Şekil 1.74. 2-(((1H-Benzimidazol-2-il)(metil)amino)izoindolin-1,3-dion (29), etil 2-(((1H-benzimidazol-2-il)(metil)amino)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-siklohepta[b]tiyofen-3-karboksilat (30) ve 2-(((1H-benzimidazol-2-il)(metil)-5-metil-2,4-dihidro-3H-pirazol-3-on (31)

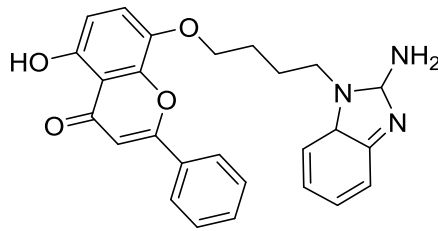
2018 yılında yapılan bir çalışmada, bir seri benzimidazol-rodanin konjugatının Topo II inhibisyonu ve sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir. Sonuçlar, bu bileşiklerin güçlü Topo II inhibitör etkileri gösterdiğini ve dokuz bileşiğin 10 µM'de Topo II aktivitesini neredeyse

tamamen inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Özellikle (Z)-2-(5-((1-(4-metilbenzil)-1H-benzimidazol-2-il)metilen)-4-okso-2-tiyoksotiyazolidin-3-il)asetik asit (32) ve (Z)-2-(5-((1-(2-florobenzil)-1H-benzimidazol-2-il)metilen)-4-okso-2-tiyoksotiyazolidin-3-il)asetik asit (33), sırasıyla 0,54-3,22 μ M ve 0,21-2,67 μ M arasında değişen IC_{50} değerleri ile daha güçlü sitotoksik aktivite göstermiştir. Ayrıca, yapı/aktivite ilişkisi ile elektronik etkilerin, fenil grubunun ve rodanin kısmının Topo II inhibisyon gücü ve sitotoksisite için önemli olduğu bildirilmiştir (Şekil 1.75) (Li vd., 2018).



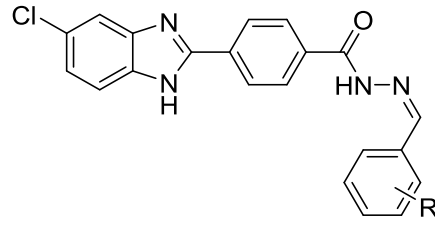
Şekil 1.75. (Z)-2-(5-((1-(4-metilbenzil)-1H-benzimidazol-2-il)metilen)-4-okso-2-tiyoksotiyazolidin-3-il)asetik asit (32) ve (Z)-2-(5-((1-(2-florobenzil)-1H-benzimidazol-2-il)metilen)-4-okso-2-tiyoksotiyazolidin-3-il)asetik asit (33)

2018 yılında Wang ve arkadaşları tarafından benzimidazol bileşikleri sentezlenmiş ve antikanser aktiviteleri çeşitli hücre hatları üzerinde değerlendirilmiştir. Özellikle bileşik 18-(4-(2-amino-1H-benzimidazol-1-il)bütoksi)-5-hidroksi-2-fenil-4H-kromen-4-on (34)'un IC_{50} değeri $25,72 \pm 3,95 \mu$ M ile MCF-7 hücrelerine karşı en etkili antiproliferatif etkiyi gösterdiği bildirilmiştir (Şekil 1.76) (Z. Wang vd., 2018).



Şekil 1.76. 8-(4-(2-amino-1H-benzimidazol-1-il)bütoksi)-5-hidroksi-2-fenil-4H-kromen-4-on (34)

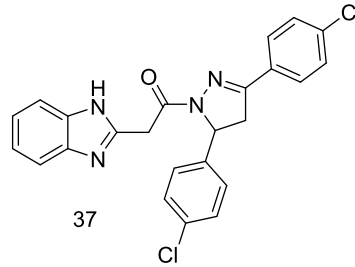
Aynı yıl Acar Cevik ve arkadaşları sentezledikleri bir seri benzimidazol türevleri üzerinden antitümör aktivite çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Buna göre sentezlenen bileşiklerden bileşik 35 ve 36, IC_{50} değeri 0,0316 μ M ile standart inhibitör cisplatine kıyasla ($IC_{50} = 0,045 \mu$ M) daha yüksek sitotoksisiteye sahip olduğu bildirilmiştir (Şekil 1.77) (Acar Cevik vd., 2018).



R: 2,4-dikloro (35), 2-nitro (36)

Şekil 1.77. N'-(2,4-diklorobenziliden)-4-(6-kloro-1H-benzimidazol-2-il) benzohidrazid (35) ve N'-(2-nitrobenziliden)-4-(6-kloro-1H-benzimidazol-2-il) benzohidrazid (36)

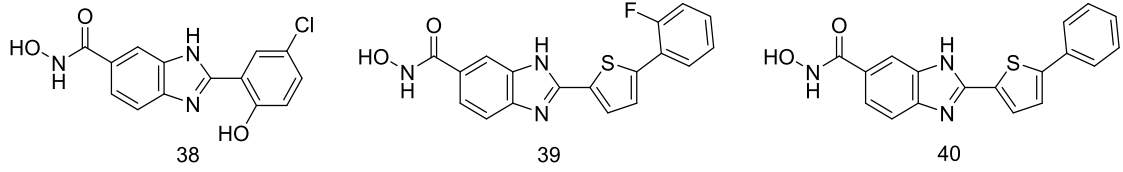
2018 yılında Akhtar ve arkadaşları, benzimidazolün C-2 pozisyonuna pirazol ve pirazolün C-3 ve C-5 pozisyonlarına çeşitli aril halkaları ekleyerek sentezledikleri bileşiklerin antikanser aktivitelerini değerlendirmiştir. Bileşik 37, 0,97 mM'de epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) inhibisyonu gösterirken, A549 kanser hücre hattına karşı 2,2 mM IC₅₀ değeri ile güçlü antitümör özellik sergilemiş ve hücre döngüsünü G2/M fazında durdurup apoptozu indüklemiştir. Ayrıca, bileşiğin doksorubisin gibi kardiyomiyopatiye yol açmadığı bildirilmiştir. Ayrıca yapılan moleküler moleküler kenetlenme çalışmalarında bileşik 37'nin en iyi bağlanma enerjisine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma, pirazol halkası içeren benzimidazol türevlerinin antikanser ajan geliştirmede potansiyel taşıdığını göstermiştir (Şekil 1.78) (Akhtar vd., 2018).



Şekil 1.78. 2-(1H-benzimidazol-2-il)-1-(3,5-bis(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)etan-1-on (37)

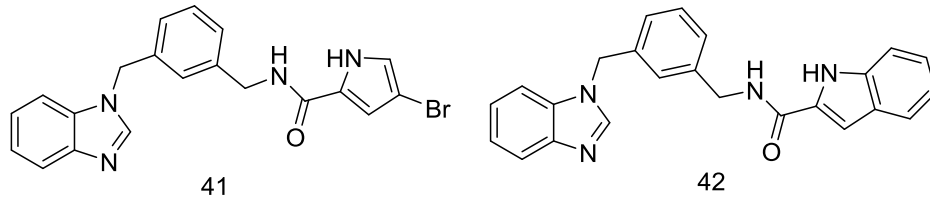
2020 yılında, Schultz ve arkadaşları tarafından bildirilen bir patentte, kanser tedavisinde önemli enzim gruplarından biri olan ve hücre mitozu, metastaz, proliferasyon gibi çeşitli hücresel işlevleri histonların asetilasyonu ve deasetilasyonu yoluyla düzenleyen Histon deasetilaz 6 (HDAC6) enziminin inhibisyonunda benzimidazol türevlerinin etki gösterebileceği bildirilmiştir. Buna göre bileşik 38-40 periferik kan mononükleer hücrelerine kıyasla kanser hücre hatları olan U266, PaCa2 ve AMO-1'e karşı seçici bir sitotoksosite

profili sergilemiş ve HDAC6'yı sırasıyla 2, 2,9 ve 3,1 nM IC₅₀ değeriyle inhibe etmiştir (Şekil 1.79) (Schultz, 2020).



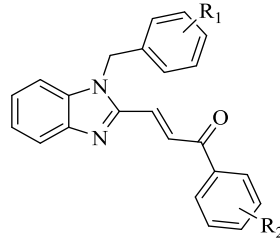
Şekil 1.79. 2-(5-Kloro-2-hidroksifenil)-*N*-hidroksi-1*H*-benzimidazol-6-karboksamit (38), 2-(5-(2-florofenil)tiyofen-2-il)-*N*-hidroksi-1*H*-benzimidazol-6-karboksamit (39) ve *N*-hidroksi-2-(5-feniltiyofen-2-il)-1*H*-benzimidazol-6-karboksamit (40)

Serafini ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptığı çalışmada, indolamin 2,3-dioksijenaz-1 (IDO1) inhibitörü olarak benzimidazol türevleri sentezlenmiştir. Sitotoksite testlerinde, özellikle bileşik 41'in IDO1'i düşük nanomolar seviyelerde etkili bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Metabolik stabilite çalışmalarında ise, bileşik 42'nin oksidatif metabolizmaya uğrayarak kısa bir yarı ömre sahip olmasına rağmen, farelere 10 mg/kg dozunda intravenöz enjeksiyonu sonrasında in vivo ortamda güçlü bir IDO1 inhibitörü olduğu rapor edilmiştir (Şekil 1.80) (Serafini vd., 2020).



Şekil 1.80. *N*-(3-((1*H*-benzimidazol-1-il)metil)benzil)-4-bromo-1*H*-pirol-2-karboksamit (41) ve *N*-(3-((1*H*-benzimidazol-1-il)metil)benzil)-1*H*-indol-2-karboksamit (42)

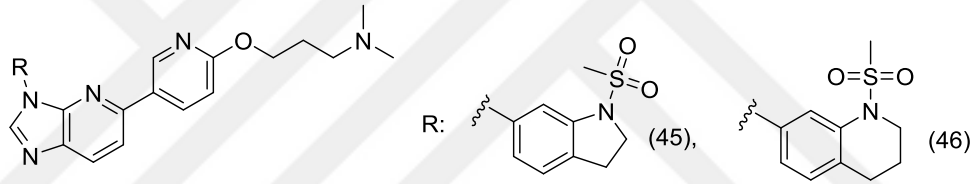
Zhou ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptığı çalışmada, benzimidazol-kalkon hibritleri tasarlanarak sentezlenmiş ve bu bileşiklerin Topo II inhibitör etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre, bileşik 43 ve 44'ün IC₅₀ değerleri 5 µM'den düşük olup, dört farklı tümör hücre hattında etoposide kıyasla güçlü antiproliferatif etkiler gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca, yapı-aktivite ilişkisi ve moleküler kenetlenme analizleri, kalkon yapısının Topo II inhibisyonuna ve antiproliferatif etkisine katkıda bulunabileceğini ortaya koymuştur. (Şekil 1.81) (Zhou vd., 2020).



R₁: 3-F, R₂: 4-Br (43); R₁: 4-CH₃, R₂: 3,4,5-OCH₃ (44)

Şekil 1.81. (*E*)-1-(4-bromofenil)-3-(1-(2-florobenzil)-1*H*-benzimidazol-2-il)prop-2-en-1-on (43) ve (*E*)-3-(1-(4-metilbenzil)-1*H*-benzimidazol-2-il)-1-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on (44)

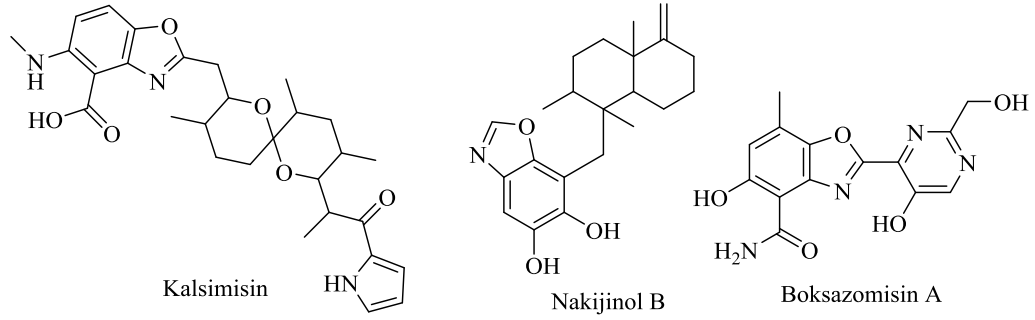
Dimitrov ve arkadaşlarının 2023 yılında yaptığı çalışmada, ataksi-telangiektazi-mutant (ATM) kinaz enzimini hedefleyen yeni bileşikler geliştirilmiştir. İmidazo[4,5-*c*]kinolin-2-on iskeleti üzerine kurulan bileşik 45 ve 46, etoposid ile sinerjik etki göstermiştir. Özellikle, bileşik 46'nın ATM üzerinde subnanomolar potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir. (Şekil 1.82) (Dimitrov vd., 2023).



Şekil 1.82. *N,N*-dimetil-3-((5-(3-(1-(metilsülfonil)indolin-6-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-5-il)piridin-2-il)oksi)propan-1-amin (45) ve *N,N*-dimetil-3-((5-(3-(1-(metilsülfonil)-1,2,3,4-tetrahidrokinolin-7-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-5-il)piridin-2-il)oksi)propan-1-amin (46) bileşikleri

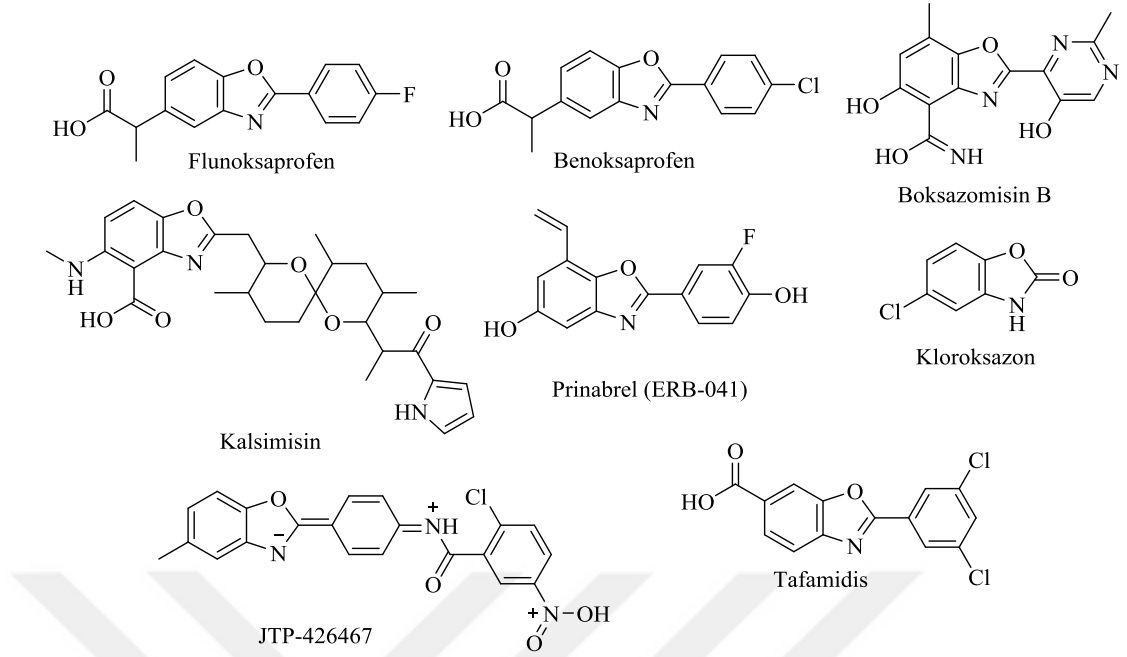
1.3.2. Benzoksazol Halka Sistemleri

Genel olarak, farmasötik ve medisinal kimya alanında yeni ilaçlar sürekli olarak belirlenmiş aktiviteye sahip öncü bileşiğin moleküler modifikasyonu sonucu ortaya konulur. Moleküler modifikasyon, öncü bileşiğin yapı grubuna yeni grubun/grupların süstitasyonu veya bunların süstitasyonun kaldırılmasıyla, yeni bir yapı eklenmesi veya benzer aktiviteye sahip farklı grupları tek bir bileşikte birleştirerek aktiviteyi artırma yolu ile yapılabilen yöntemlerdir. Literatür taramasında, moleküler modifikasyonla ilaç tasarımının yeni ilaçların tasarımında tercih edilen bir yöntem olduğu görülmektedir. Çalışılan çeşitli bileşikler arasında, benzoksazol türevleri önemli bir sınıf oluşturmaktadır (Aggarwal vd., 2017). Kalsimisin, nakijinol ve boksazomisin A (Kale ve Chavan, 2019) gibi çok sayıda doğal ürünün temel yapısını oluşturan benzoksazoller, ilaç tasarımında yaygın olarak tercih edilen halka sistemleridir (Şekil 1.83) (Wei vd., 2018).



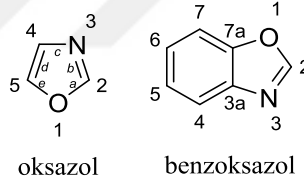
Şekil 1.83. Bazı benzoksazol bazlı doğal ürünlerin yapıları

Benzoksazol halkası farmakolojik olarak aktif bileşiklerde bulunan önemli iskeletlerden biridir ve benzoksazol içeren birçok bileşik geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahiptir. Bu farmakolojik etkiler arasında, antibakteriyel (Gadhe vd., 2010), antifungal (Ryu vd., 2009), antikanser (Stefania Aiello vd., 2008), antiinflamatuvar (Sondhi vd., 2006), antimikobakteriyel (Rodríguez vd., 1999), antihistaminik (Katsura vd., 1992), antiparkinson (Benazzouz vd., 1995), hepatit C virüsü inhibisyonu (Smith ve Ward, 2014), 5-HT₃ antagonistik etki (Sato vd., 1998), melatonin reseptör antagonizmi (Sun vd., 2004), amiloidogenez inhibisyonu (Razavi vd., 2003) ve Rho-kinaz inhibisyonu (Sessions vd., 2008) sayılabilir. Bu nedenle benzoksazol türevleri, gösterdikleri çeşitli biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri ile giderek daha ilgi çekici hale gelmiştir (Kakkar vd., 2018). Benzoksazollerin medisinal kimya alanındaki kullanımlarının yanı sıra, anyon ve metal katyon sensörleri gibi floresan problemler için önemli bir yapı taşı olarak kullanımları mevcuttur (Taki vd., 2004; Tanaka vd., 2001; Wu vd., 2007). Yapısında benzoksazol çekirdeği taşıyan ve klinikte kullanılan bileşikler arasında non-steroidal anti-inflamatuvar ilaç (NSAID) etkili flunoksaprofen ve benoksaprofen, antibiyotik etkili kalsimisin, antibakteriyel etkili boksazomisin B, kas gevşetici olarak kloroksazon, östrojen reseptör- β agonisti prinabrel (ERB-041) ve transtiretin aracılı amiloidoz kardiyomiyopatisi tedavisinde kullanılan tafamidis yer almaktadır (Şekil 1.84) (Kakkar vd., 2018; Soni vd., 2023).



Şekil 1.84. Klinikte yer alan yapısında benzoksazol çekirdeği taşıyan bileşikler

1.3.2.1. Benzoksazol Halka Sistemlerinin Kimyası



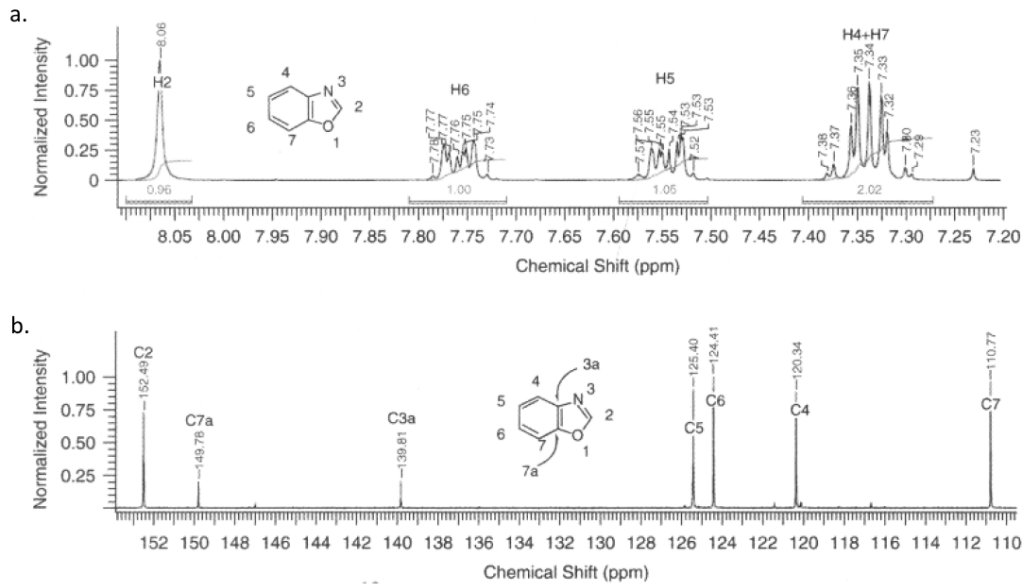
Şekil 1.85. Benzoksazol ve 1,3-oksazol halka sistemlerinin numaralandırılması

Oksazol, 1 ve 3 konumlarında oksijen (O) ve piridin tipi azot (N) heteroatomları ve bunların arasında bir karbon (C) atomu içeren, doymamış beş üyeli bir heterosiklik halka sistemidir (Şekil 1.85) (Kakkar ve Narasimhan, 2019; Laeeq vd., 2013). Benzoksazol (Şekil 1.85), bir benzen halkası ile 1,3-oksazol halkasının kaynaşması sonucu oluşan düzlemsel bir geometriye sahip önemli bir bisiklik aromatik yapıdır (Aggarwal vd., 2017; Paliwal ve Bhargava, 2014).

IUPAC okunuşu 1-oksa-3-aza-1*H*-inden şeklinde olan, kapalı formülü C_7H_5NO olan benzoksazol çekirdeğinin erime noktası 28-30 °C, kaynama noktası 182-185 °C ve yoğunluğu 1,1754 g/cm³'tür. Ayrıca suda çözünürlüğü düşük olan çekirdeğin pK_b değeri 13,2 ve molar yanma entalpisi -3445 kJ'dür (Ji Ram vd., 2019).

Benzoksazol halkası konjuge π elektron sekstetine sahip düzlemsel bir moleküldür. Heterosiklik yapı ile aynı düzlemde olan ve bu nedenle delokalizasyona dahil olmayan azot üzerinde yer alan ortaklanmamış elektron çifti, yapıya zayıf bazik özellikler kazandırır (Aggarwal vd., 2017). Bu kimyasal yapı, çeşitli biyolojik hedeflere karşı sıklıkla afinitesi ve seçiciliği ile bilinir. Oksazol halkası üzerinde yer alan oksijen ve azot atomları hidrojen alıcısı olarak işlev görebildiğinden, hedef moleküllerle çok sayıda kovalent olmayan etkileşimler oluşturabilir. Bunun yanında, düzlemsel benzen halkasının varlığı, biyomakromoleküllerle π - π , π -katyon etkileşimi ve yapının lipofilik özelliği sayesinde de hidrofobik etkileşimler yapabilmesine olanak tanır. Bu nedenle benzoksazol iskeleti çeşitli farmakolojik olarak önemli moleküllerin sentezinde yapı taşı olarak yer alır (Demmer ve Bunch, 2015).

Benzoksazoller, nükleik asitlerde bulunan adenin ve guanin bazlarının biyoizosteri olarak da bilinirler. Bu yapısal benzerlik, benzoksazoller ile canlı sistemlerdeki biyopolimerler arasında etkileşimleri olanaklı kılmakla beraber; bu özellik benzoksazollerde gözlemlenen geniş biyolojik aktivite yelpazesini de açıklayabilir (Wong ve Yeong, 2021).



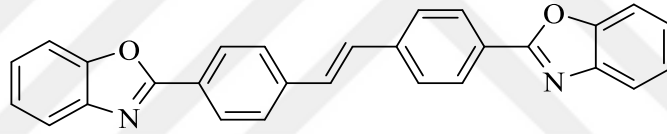
Şekil 1.86. CDCl_3 'te benzoksazole ait ^1H NMR (400MHz) (a) ve ^{13}C NMR (b) spektrumları

Benzoksazolün ^1H NMR spektrumunda en az perdelenmiş proton olan H2, bir singlet olarak görünür. H4 ve H7 ise, elektronik benzerliklerinden dolayı 7.28 ve 7.37 ppm arasında iç içe geçmiş multipler olarak gözlemlenir. H5 protonu, H6'ya kıyasla spektrumun hafif

yukarısında yer alır ve sırasıyla 7.72-7.78 ppm ve 7.52-7.58 ppm aralıklarında multiplerler olarak görünür (Şekil 1.86a) (Li, 2013).

Benzoksazolün ^{13}C NMR spektrumunda da C2, en az perdelenmiş karbon olarak 151 ppm'de gözlemlenir. Köprü başı karbonlar C3a ve C7a sırasıyla yaklaşık 140 ppm ve 150 ppm'de görünür; bu fark, oksazol halkasının oksijeninin elektron verici yeteneği ve elektron yoğunluğunu C7a'ya delokalize etme özelliğinden kaynaklanır. Son olarak, benzen halkasına ait karbon atomları (C4-C7) spektrumda 110 ile 126 ppm arasında yer alır (Şekil 1.86b) (Li, 2013).

Oksazol ve benzoksazol yapıları, C2 konumunda aril sübstituentleri taşıdıklarında güçlü floresan özellikler gösterir ve optik beyazlatıcı olarak işlev görebilirler. Örneğin, bazı deterjanlarda bulunan 4,4'-bis(benzoksazol-2-il)stilben katkı maddesi, giysi liflerine nüfuz eder ve benzoksazolün mavi floresansı, giysilerin "beyazdan daha beyaz" görünmesini sağlar (Şekil 1.87) (Li, 2013).



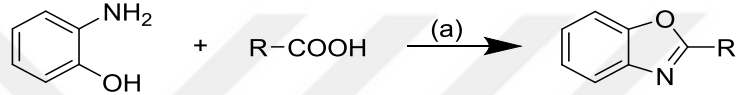
Şekil 1.87. 4,4'-Bis(benzoksazol-2-il)stilben

1.3.2.2. Benzoksazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri

Benzoksazol sentezinde geleneksel yöntem, ana prekürsör *o*-aminofenolün çeşitli karbonil bileşikleriyle farklı reaksiyon koşulları altında kondenzasyonunu kapsamaktadır. Aşağıda, *o*-aminofenol ile asitler ve asit türevleri, aldehitler, benzil alkol, benzoil klorürler, alkinonlar, izotiyosiyanatlar, ketonlar, *orto*-esterler ve stirenler gibi çeşitli substratlar kullanılarak gerçekleştirilen sentez protokolleri ve ardından farklı başlangıç maddeleri üzerinden gerçekleştirilen benzoksazol sentez prosedürleri sunulmuştur (Ji Ram vd., 2019; Soni vd., 2023).

Literatürde başlangıç maddeleri olarak *o*-aminofenoller ve çeşitli karboksilik asitler kullanılarak yapılan farklı reaktifler üzerinden başarılı sonuçlar elde edilen çeşitli çalışmalar yer almaktadır. Hein vd. (1957), polifosforik asit (PPA) varlığında ve 250 °C'de uygun karboksilik asit ile kondenzasyon reaksiyonu ile 2-sübstitüe benzoksazollerin elde edildiğini

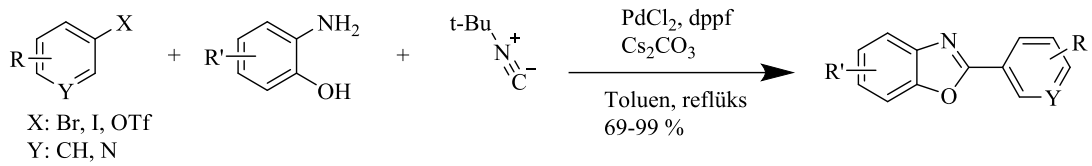
bildirmiştir. 1970 yılında Kanaoka ve ekibi, polifosfat esteri (PPE) katalizörlüğünde daha hafif koşullarda ve 100 °C'de benzoksazoller elde etmişlerdir (Kanaoka vd., 1970). 1984 yılında ise fosforpentoksit, hekzametildisiloksan ve 1,2-diklorobenzenin azot atmosferinde ısıtılmasıyla elde edilen ile trimetilsililpolifosfat esteri (PPSE) katalizörlüğünde benzoksazol sentezi gerçekleştirilmiştir (Aizpurua ve Palomo, 1984). Son olarak, Rezazadeh ve arkadaşları (Rezazadeh vd., 2015), trifenilfosfin (PPh₃) ve trikloroizosiyanürik asit (TCCA) sistemi varlığında basit ve pratik bir protokolle yüksek verimde benzoksazoller elde etmişlerdir. Bu yöntem, geniş bir substrat yelpazesine uygulanabilirliği ve hafif reaksiyon koşulları altında ucuz reaktiflerin kullanımı ile mevcut metodolojilere önemli bir katkı sağlamaktadır (Şekil 1.88).



(a) PPA, 250 °C; PPE, 100 °C; PPSE; PPh₃, TCCA, 1-4-dioksan, 190 °C

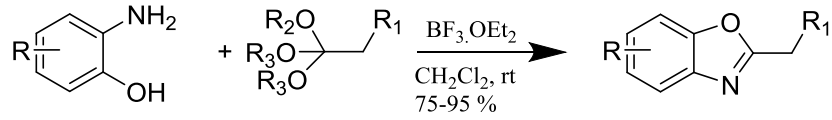
Şekil 1.88. o-Aminofenoller ve çeşitli asitlerden hareketle benzoksazol sentezi

Boissarie ve arkadaşlarının 2011 yılında raporladığı çalışmada, aril halid, izosiyanür ve 2-aminofenolün paladyum katalizi altında gerçekleştirilen verimli ve kullanışlı üç bileşenli kondenzasyonu ile çeşitli benzoksazol türevlerinin iyi verimlerde elde edildiği bildirilmiştir (Şekil 1.89) (Boissarie vd., 2011).



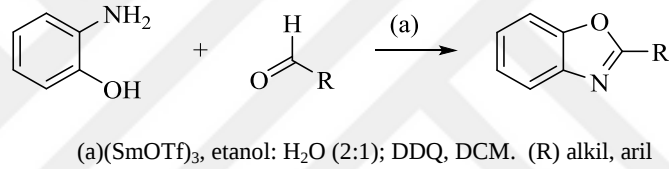
Şekil 1.89. Aril halojenür, izosiyanür ve o-aminofenollerden hareketle benzoksazol sentezi

2012 yılında Bastug ve arkadaşları, süstitüe anilinlerin fonksiyonel *orto*-esterlerle kondenzasyonu ile benzoksazol türevlerinin hazırlanması için etkili bir yöntem geliştirmiştir. Reaksiyon, boron triflorür eteratlar (BF₃·OEt₂) varlığında oda sıcaklığında gerçekleştirilmiş ve 3 saat içinde iyi/mükemmel verimlerle tamamlanmıştır. Hem elektron-verici hem de elektron-çekici gruplarla etkin bir şekilde gerçekleşen bu yöntemin, fonksiyonel alkil yan zinciri taşıyan benzoksazollerin sentezi için etkili olduğu bildirilmiştir (Şekil 1.90) (Bastug vd., 2012).



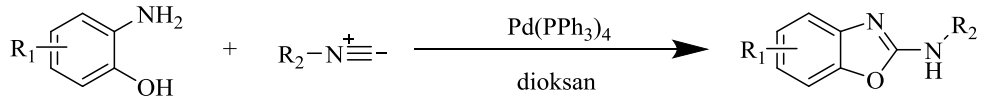
Şekil 1.90. *o*-Aminofenoller ve *ortho*-esterlerden hareketle benzoksazol sentezi

o-Aminofenoller ile alifatik veya aromatik aldehytlerden yola çıkarak gerçekleştirilen benzoksazol sentezlerinde, Gorepatil ve arkadaşları 2013 yılında samaryum triflat (SmOTf) kullanarak hafif koşullarda sulu ortamda 2-süstitüe benzoksazoller elde etmiştir. SmOTf, yeniden kullanılabilir asidik katalizör olarak çevre dostu bir yöntem sunmaktadır (Gorepatil vd., 2013). Benzer şekilde, Wang ve arkadaşlarının patent çalışmasında, aromatik aldehytlerin 2,3-dikloro-5,6-disiyano-1,4-benzokinin (DDQ) katalizörlüğünde DCM içinde oda sıcaklığında karıştırılmasıyla orta ila yüksek verimlerde benzoksazol türevleri elde edilmiştir (Şekil 1.91) (Wang vd., 2020).



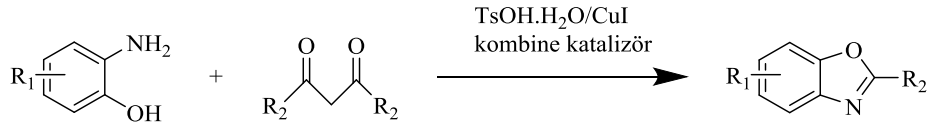
Şekil 1.91. *o*-Aminofenoller ve aldehytlerden hareketle benzoksazol eldesi

Liu ve arkadaşları 2013 yılında, hava atmosferinde *o*-aminofenollerin palladyum katalizörlüğünde aerobik oksidasyonu ile orta/ iyi verimlerde 2-aminobenzoksazoller elde etmiştir. Bu yöntemin geniş bir substrat yelpazesi, deneysel sadelik, hafif koşullar ve kolay erişilebilir başlangıç malzemeleri gibi avantajları bulunmaktadır. Ayrıca, azot içeren diğer heterosiklik yapıların sentezine de uygulanabilmektedir (Şekil 1.92) (Liu vd., 2013).



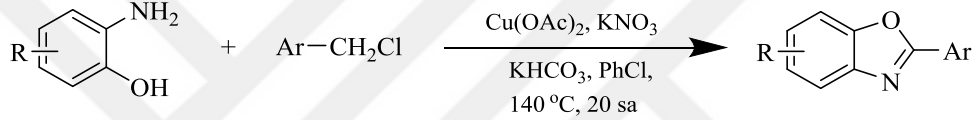
Şekil 1.92. *o*-Aminofenollerden hareketle Pd katalizli 2-aminobenzoksazol türevlerinin eldesi

Mayo ve arkadaşları 2014 yılında 2-aminofenollerin β -diketonlar ile Brønsted asidi CuI katalizörlüğünde siklizasyon reaksiyonları gerçekleştirmiştir. Bu yöntemle çeşitli 2-süstitüe benzoksazoller elde edilmiş ve farklı süstitüentler için optimize edilmiş reaksiyon koşulları sunulmuştur. Sonuç olarak, iyi verimlerde benzoksazol bileşikleri sentezlenmiştir (Şekil 1.92) (Mayo vd., 2014).



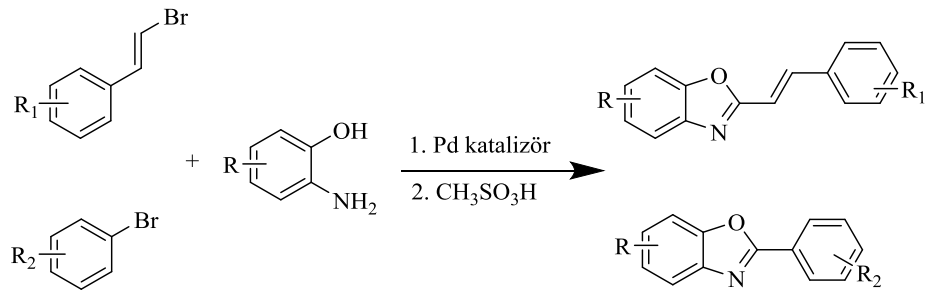
Şekil 1.93. 2-aminofenoller ve β -diketonlardan hareketle siklizasyon reaksiyonu üzerinden benzoksazol eldesi

2015 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından raporlanan bir çalışmada bakır katalizli tandem kondenzasyon/oksidasyon reaksiyonu kullanılarak *o*-aminofenoller ile arilmetil klorürlerden hareketle 2-arilbenzoksazollerin kolay ve verimli bir şekilde sentezi gerçekleştirilmiştir. Kolay temin edilebilir, düşük maliyetli zararsız bir oksidan olan potasyum nitrat (KNO_3) ve basit bir reaktan olan arilmetil klorürlerin kullanılması bu reaksiyonun avantajları arasındadır (Şekil 1.94) (Zhang vd., 2015).



Şekil 1.94. *o*-Aminofenoller ile arilmetil klorürlerin reaksiyonu sonucu benzoksazol eldesi

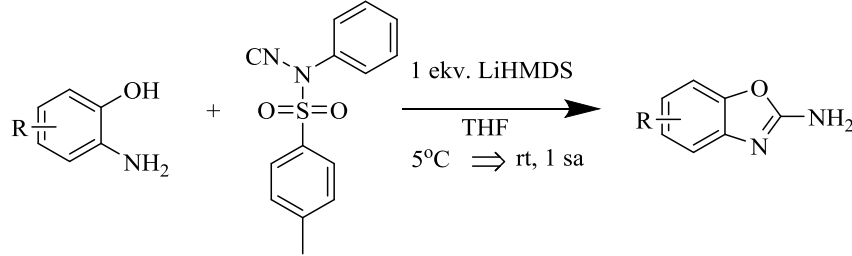
Neumann ve ekibinin çalışmasında, *o*-aminofenoller kullanılarak aril ve vinil bromürlerden 2-(hetero)aril veya 2-stiril benzoksazollerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu tek kapta uygulanan yöntemle, 2-aminofenoller nükleofil olarak rol oynar; ardından aminokarbonilasyon işlemi ve asit katalizli halka kapaması ile heterosiklik yapı oluşur. Metodoloji, orta ile mükemmel verimlerde ürün elde edilmesine ve geniş bir substrat çeşitliliğine imkân tanımaktadır (Şekil 1.95) (Neumann vd., 2015).



Şekil 1.95. *o*-Aminofenoller ve aril/ vinil bromürlerden hareketle benzoksazol sentezi

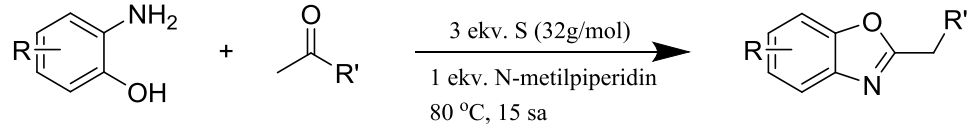
Kasthuri ve ekibinin yaptığı bir çalışmada, zararsız elektrofilik siyanatlayıcı ajan olan *N*-siyano-*N*-fenil-*p*-toluensülfonamid (NCTS), çeşitli 2-aminofenol türevleri ile lityum

hekzametildisilazit (LiHMDS) varlığında reaksiyona sokularak kolayca 2-aminobenzoksazol ve 2-aminobenzimidazol türevleri sentezlenmiştir. Bildirilen yöntem, kolay uygulanabilirliği, kısa reaksiyon süresi ve basit saflaştırma süreçleri gibi avantajlar sunmaktadır (Şekil 1.96) (Kasthuri vd., 2015).



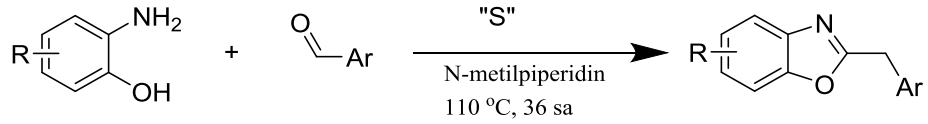
Şekil 1.96. NCTS ve çeşitli 2-aminofenol türevlerinden hareketle benzoksazol sentezi

Nguyen ve arkadaşlarının 2017 yılında bildirdiği çalışmada, *o*-aminofenoller ile ketonlar arasında elementel sülfür ve *N*-metilpiperidin kullanılarak oksidatif yeniden düzenlenme reaksiyonu ile 2-süstitüe benzoksazoller için ekonomik bir sentez yöntemi geliştirilmiştir. Hafif koşullarda gerçekleştirilen bu protokol, alifatik ve aromatik ketonlar ile geniş bir 2-alkilbenzoksazol türevlerinin elde edilmesini sağlamıştır (Şekil 1.97) (Nguyen ve Retailleau, 2017).



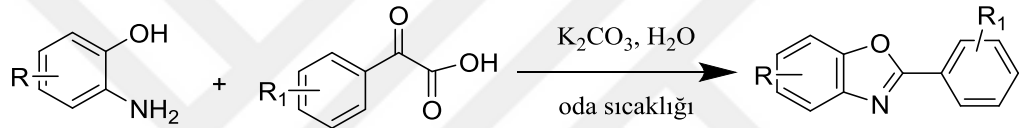
Şekil 1.97. 2-Aminofenollerin ketonlardan hareketle benzoksazol eldesi

Zhang ve arkadaşlarının 2021 yılında bildirdiği çalışmada, oksidatif siklizasyon yoluyla çeşitli 2-süstitüe benzoksazoller iyi verimlerle elde edilmiştir. C=C çift bağları tek karbon kaynağı olarak kullanılarak, geleneksel yöntemlere kıyasla atom-ekonomik bir yöntem sunulmuştur. Elementel sülfür (S), 2-aminofenollerin benzoksazol türevlerine dönüşümünü teşvik eden etkili bir oksidan olarak görev yapmış ve çözücüsüz/metalsiz koşullar altında kolayca uygulanabilir bir reaksiyon gerçekleştirilmiştir (Şekil 1.98) (J. Zhang vd., 2021).



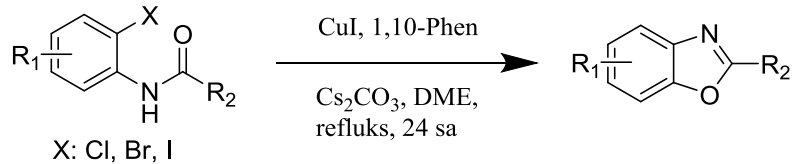
Şekil 1.98. 2-Aminofenoller, stirenler ve elementel sülfürden hareketle benzoksazol eldesi

2024 yılında Mathavan ve ekibi tarafından yapılan bir çalışmada, α -keto asitler ve 2-aminofenoller üzerinden bazik ortamda 2-aril sübstitüe benzoksazoller sentezlendiği bildirilmiştir. Oda sıcaklığında gerçekleştirilen bu protokol, geniş bir ürün yelpazesi ile ve %87-99 verimle hedef ürünlerin sentezleri sağlanmıştır. Bu yöntem katalizör kullanılmaması, kısa reaksiyon süreleri, kolay işlem koşulları ve kromatografi gerektirmeyen saflaştırma işlemleri gibi avantajlarıyla dikkat çekmektedir (Şekil 1.99) (Mathavan vd., 2024).



Şekil 1.99. α -Keto asitler ve 2-aminofenolden hareketle benzoksazol sentezi

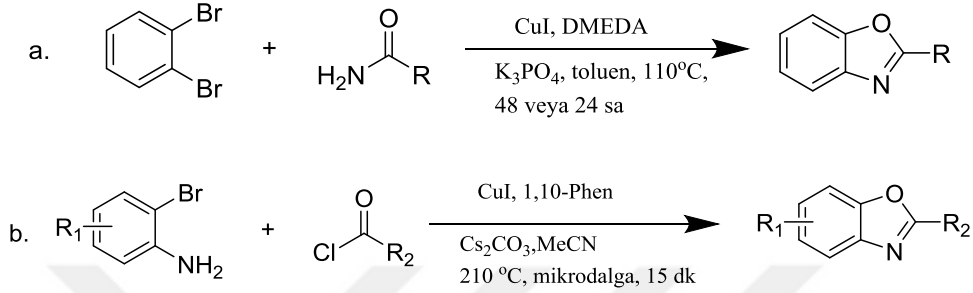
2006 yılında rapor edilen çalışmada, bakır katalizörlü *o*-haloanilidlerin siklizasyonu ile benzoksazoller elde edilmiştir. Reaksiyonun mekanizmasının, *orto*-haloanilidlerin intramoleküler C–O çapraz bağlanmasının ardından Cu(I)/Cu(III) yolu ile oksidatif ekleme/indirgeme yoluyla ilerlediği öne sürülmektedir. Ayrıca, ligand hızlandırma ve stabilizasyonunu sağlamak amacıyla 1,10-fenantrolin ve *N,N'*-dimetiletilediamin gibi çeşitli ligandlar kullanılmıştır (Şekil 1.100) (Evindar ve Batey, 2006).



Şekil 1.100. *o*-Haloanilitler üzerinden benzoksazol eldesi

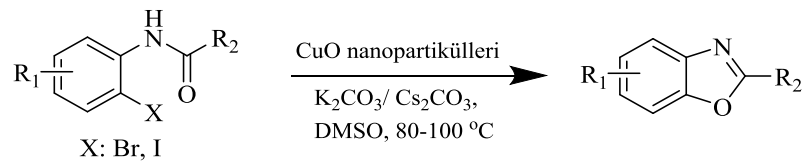
2008 yılında Viirre ve arkadaşları, benzoksazol sentezi için iki yaklaşım geliştirmiştir. İlk yöntemde, 1,2-dihaloarenler ve primer amitler kullanılarak bakır katalizör eşliğinde intermoleküler çapraz bağlanma ile önce Ar–N bağı, ardından intramoleküler siklizasyon ile Ar–O bağı oluşturulmuştur. Bu yöntemle özellikle 1,2-dibromobenzenin yüksek verimle

reaksiyona girmesi sağlanmıştır (Şekil 1.101a). İkinci yöntemde ise, 2-bromoanilinler asit klorürlerle sezyum karbonat (Cs_2CO_3), CuI ve 1,10-fenantrolin varlığında mikrodalga ışınlı altında reaksiyona girmiştir. Bu tek kap protokolde anilinin açılması sonrası bakır katalizli intramoleküler siklizasyon ile benzoksazol halkası elde edilmiştir (Şekil 1.101b) (Viirre vd., 2008).



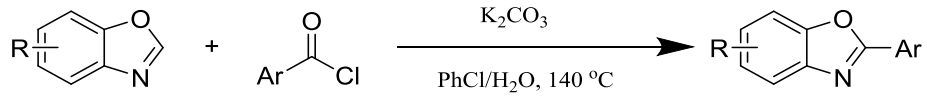
Şekil 1.101. 1,2-Dihaloarenler/primer amitler üzerinden benzoksazol eldesi

2009 yılında Saha ve arkadaşları, hava atmosferinde bakır (II) oksit (CuO) nanopartikülleri kullanarak *o*-bromoaril türevlerinin intramoleküler siklizasyonu ile benzoksazoller elde etmiştir. CuO nanopartikülleri, kolayca erişilebilir olmaları, hava atmosferinde kararlı kalmaları ve reaksiyon sonrası geri kazanılıp yeniden kullanılabilimleri nedeniyle çeşitli organik bileşiklerin sentezinde tercih edilmektedir. Bu prosedür, basit, genel ve geniş bir substrat yelpazesi ile ligand içermeyen koşullarda iyi verimle benzoksazollerin sentezine olanak tanımaktadır (Şekil 1.102) (Saha vd., 2009).



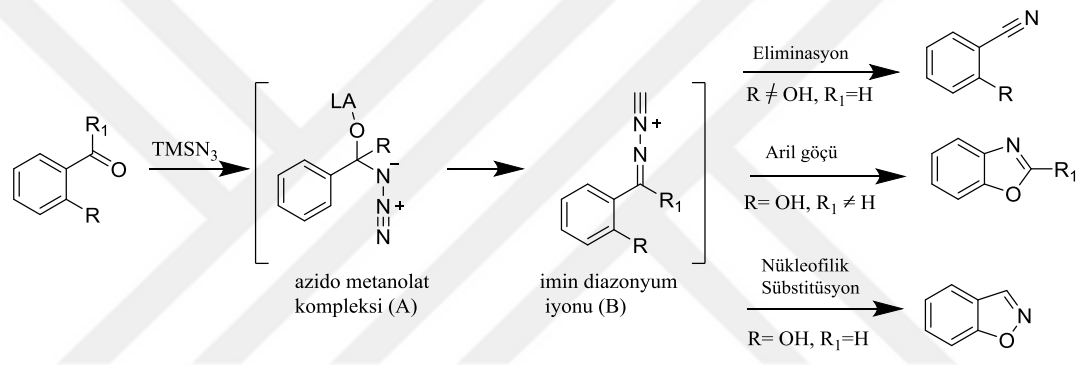
Şekil 1.102. CuO nanopartiküllerinden hareketle benzoksazol eldesi

2013 yılında Wang ve arkadaşları, bazik ortamda gerçekleştirilen formal arilasyon reaksiyonunda benzoksazolleri açıl klorür ile orta ila iyi verimlerde elde etmiştir. Bu yöntem, benzoksazol başlangıç ürünü ile başlayarak *N*-açılasyonla iminyum ara ürünü oluşturur. İminyuma su eklenmesiyle hemiasetaldehit ara ürünü elde edilir. Daha sonra halka açılması, karbonmonoksit çıkışı ve dehidratasyon adımları ile benzoksazoller sentezlenir. Bu yöntem, Bu yöntem, 2-arilbenzoksazol eldesinde geçiş metal katalizli yöntemlere alternatif bir arilasyon yöntemi olarak tanımlanmaktadır (Şekil 1.103) (Wang vd., 2013).



Şekil 1.103. Formal arilasyon yöntemi üzerinden 2-arilbenzoksazollerin eldesi

2015 yılında Nimnual ve arkadaşları, azidotrimetilsilan (TMSN₃) ile zirkonyum (IV) klorür (ZrCl₄) veya trifilik asit (TfOH) varlığında aldehytler veya ketonlardan azido komplekslerinin sentezini gerçekleştirmiştir. Bu kompleksler, substratlara bağlı olarak üç farklı reaksiyon yolu izleyebilir: proton eliminasyonu ile nitril, aril göçü ve intramoleküler nükleofilik adisyon (AN) ile benzoksazol, ve intramoleküler nükleofilik süstitüsyon ile benzizoksazol ürünleri elde edilebilir (Şekil 1.104) (Nimnual vd., 2015).



Şekil 1.104. Aldehyt ve ketonlardan hareketle benzoksazol eldesi

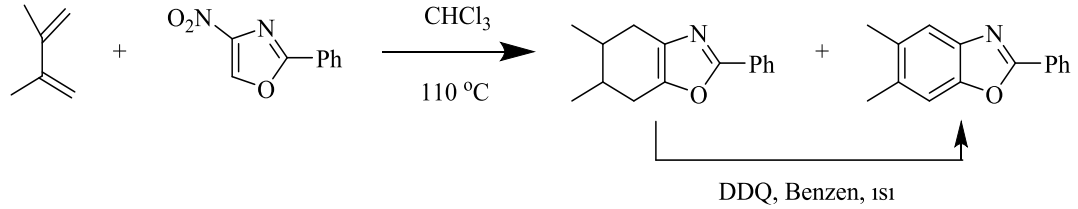
Yang ve arkadaşlarının 2018 yılında geliştirdiği çalışmada, çevre dostu bir yöntemle iyi verimlerde benzoksazol sentezi gerçekleştirilmiştir. Demir katalizli ardışık C–N/C–O çapraz bağlanma reaksiyonları kullanılarak 2-arilbenzoksazoller elde edilmiştir. Bu yaklaşım, dar substrat yelpazesi ve uzun reaksiyon süreleri gibi kısıtlamaları olan palladyum ve bakır katalizörlere alternatif sunmaktadır (Şekil 1.105) (Yang vd., 2018).



Şekil 1.105. Benzamitten hareketle 2-süstitüe benzoksazol sentezi

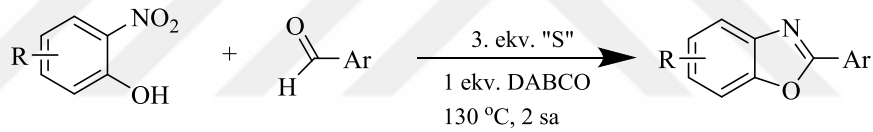
Dienofil olarak 2-fenil-4-nitrooksazol ve 2,3-dimetil-1,3-bütadien kullanılarak kloroformda 110 °C'de yapılan sikloaddisyon reaksiyonu sonucunda 5,6-dimetil-2-fenilbenzoksazol (%13) ve 5,6-dimetil-2-fenil-4,7-dihidrobenzoksazol (%71) karışımı elde

edilmiştir. Daha sonra, 4,7-dihidrobenzoksazol, DDQ varlığında kaynama sıcaklığında aromatzile edilerek 5,6-dimetil-2-fenilbenzoksazol verimi artırılmıştır (Şekil 1.106) (Ji Ram vd., 2019).



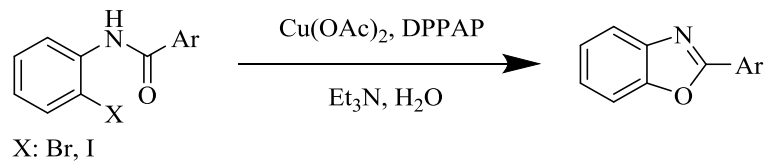
Şekil 1.106. 2-Fenil-4-nitrooksazol ve 2,3-dimetil-1,3-bütadienden hareketle benzoksazol eldesi

Dang ve arkadaşlarının 2020 yılında gerçekleştirdiği çalışmada, *o*-nitrofenoller ve benzaldehitlerden hareketle, elemental sülfür ve 1,4-diazabisiklo[2.2.2]oktan (DABCO) kullanarak çözücü ve katalizör olmadan doğrudan redoks kondenzasyonu sağlayan yeni bir çevre dostu yöntem geliştirilmiştir. Bu protokol ile geniş bir yelpazede, iyi verimle 2-arilbenzoksazol türevleri elde edilmiştir (Şekil 1.107) (Dang vd., 2020).



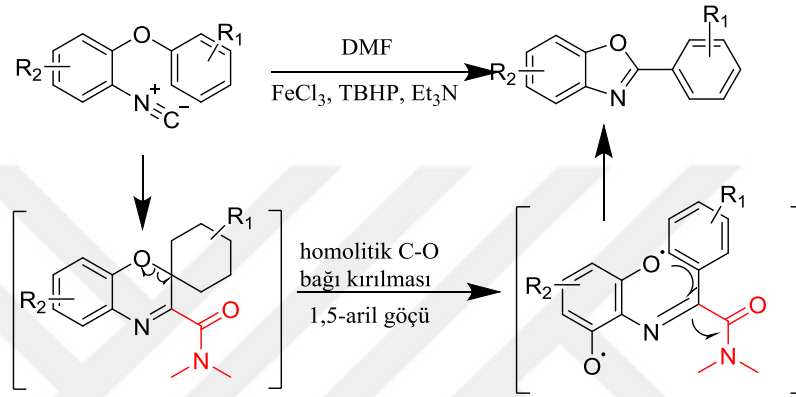
Şekil 1.107. Elemental sülfür, DABCO, *o*-nitrofenol ve aldehitlerden hareketle benzoksazol sentezi

Tang ve arkadaşları tarafından 2020 yılında bildirilen bir çalışmada, bakır katalizli intramoleküler O-arilasyon yöntemiyle *o*-halobenzanilidlerden benzoksazoller sentezlenmiştir. Bu protokol, elektron donörü ve akseptörü içeren çeşitli substratlara uygulanabilir ve yüksek verimle ürün elde edilmesini sağlar. Ayrıca, suyun çözücü olarak kullanılması yöntemin çevre dostu olmasını sağlamaktadır (Şekil 1.108) (Tang vd., 2020).



Şekil 1.108. Benzoksazol sentezinde intramoleküler O-arilasyon sentezi

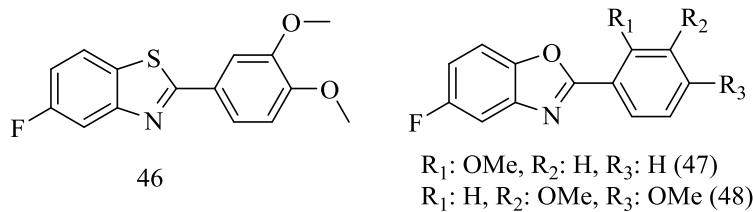
2022 yılında Yuan ve arkadaşlarının yayınladığı bir çalışmada, demir (III) klorür (FeCl_3), *tert*-butil hidroperoksit (TBHP) ve trietilamin (Et_3N) katalizörlüğünde ve DMF yardımlı 1,5-aril göçü ile radikal siklizasyonu yoluyla orta/iyi verimlerde 2-arilbenzoksazol sentezi gerçekleştirilmiştir. Mekanizma çalışmaları, DMF'in radikal siklizasyonda katalitik rol oynadığını ve 1,5-aril grubunun göçü ile dimetilkarbamoilin C-C bağının kırılmasının ardından intramoleküler yeniden düzenlenme ile benzoksazol sentezinin gerçekleştiğini bildirmiştir (Şekil 1.109) (Yuan vd., 2022).



Şekil 1.109. *o*-İzosiyaniadiaryl eterlerden hareketle benzoksazol eldesi ve önerilen mekanizması

1.3.2.3. Antikanser Etkili Benzoksazol Türevleri

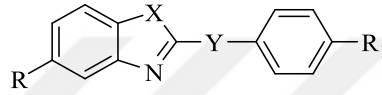
Aiello ve arkadaşlarının 2008 yılında yayınladığı çalışmada, güçlü antitümör etkisi bilinen 2-(3,4-dimetoksi-fenil)-5-florobenzotiyazol (47) bileşiğinden yola çıkarak bir dizi 2-aril-benzoksazol türevi sentezlenmiş ve MCF-7 ile MDA 468 meme kanseri hücre hatlarındaki etkinlikleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar, bazı analogların (48 ve 49) her iki hücre hattında submikromolar GI_{50} değerleri gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak, bu yeni bileşikler, temel bileşik 46'nın antikanser potansiyelini yakalayamadığı bildirilmiştir (Şekil 1.110) (S. Aiello vd., 2008).



Şekil 1.110. 2-(3,4-Dimetoksi-fenil)-5-florobenzotiyazol (47), 5-Floro-2-(2-metoksifenil)benzoksazol (48) ve 5-floro-2-(3,4-dimetoksifenil)benzoksazol (49)

Oksuzoglu ve arkadaşlarının 2008 yılında gerçekleştirdikleri bir çalışmada, çeşitli süstitüe benzoksazol ve benzimidazol yapısına sahip bileşiklerin ökaryotik DNA Topo II üzerindeki inhibitör potansiyelleri değerlendirilmiştir. Buna göre, bileşik 50, 51, 53, 5, 56, 57 ve 58'in kamptotesinden daha güçlü ökaryotik DNA Topo I inhibitörleri olarak belirlenmiştir. Bileşik 52, 54 ve 55 ise etoposidten daha güçlü hTopo II enzim inhibisyon aktivitesi göstermiştir. Yapılan yapı-aktivite çalışmalarıyla, hTopo II inhibisyonu açısından benzoksazol halkasının benzimidazolden daha önemli olduğunu bildirilmiştir (Çizelge 1.3) (Oksuzoglu vd., 2008).

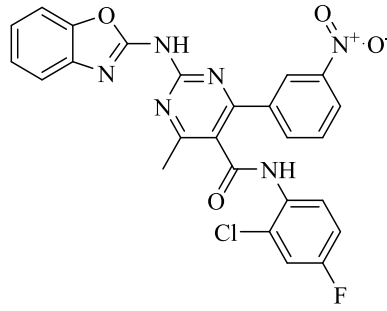
Çizelge 1.3. Oksuzoglu ve arkadaşlarının hTopo I ve hTopo II inhibisyon verileri



B	X	Y	R	R ₁	IC ₅₀ μM*	IC ₅₀ μM**	No	X	Y	R	R ₁	IC ₅₀ μM*	IC ₅₀ μM**
50	O	-	NH ₂	H	495	580	56	O	CH ₂	H	Cl	443,5	NE
51	O	-	NH ₂	F	132,3	487,8	57	NH	CH ₂ O	H	H	14,1	NE
52	O	-	Cl	CH ₃	1065	22,3	58	NH	CH ₂ O	NO ₂	H	248	2456
53	O	-	NH ₂	Br	134,1	NE	CPT					526	-
54	O	CH ₂	H	NO ₂	NE	17,4	EP					-	170
55	O	CH ₂	NO ₂	NO ₂	NE	91,4							

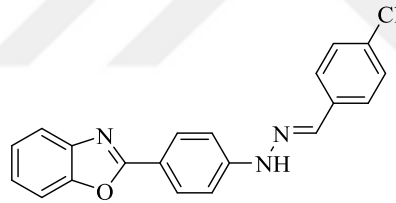
*hTopo I enzim inhibisyon değerleri; ** hTopo II enzim inhibisyon değerleri, B: Bileşik, CPT: Kamptotesin, EP: Etoposid, NE: Değerlendirilmedi (Not evaluated).

2018 yılında yapılan bir çalışmada, *in silico* farmakofor modelleme yöntemi ile yeni potansiyel protein tirozin kinaz (PTK) inhibitörleri tasarlanmıştır. Antikanser aktivite testleri, bileşik 58'in RPMI-8226 için 0,7244 μM, böbrek kanseri (A498) için 0,8511 μM ve prostat kanseri (PC-3) için 0,7932 μM IC₅₀ değerleriyle en yüksek aktiviteyi gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, bileşik 59'un insan meme kanseri hücre hattında (MDA-MB-468) 0,07 μM IC₅₀ değeriyle umut verici bir aktivite sergilediği belirlenmiştir. Moleküler kenetlenme çalışmaları, bileşiğin PTK ile iyi bağlanma modelleri gösterdiğini ve farmakokinetik sonuçların olumlu olduğunu doğrulamıştır; böylece bileşik 59'un gelecekteki çalışmalarda potansiyel bir öncül molekül olabileceği düşünülmektedir (Şekil 1.111) (Chikhale vd., 2018).



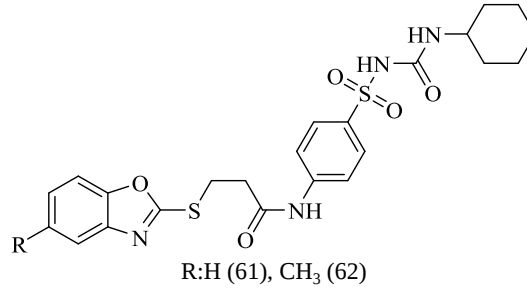
Şekil 1.111. 2-(Benzoksazol-2-ilamino)-*N*-(2-kloro-4-florofenil)-4-metil-6-(3-nitrofenil) pirimidin-5-karboksamid (59)

2018 yılında Labib ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol çekirdekleri içeren azol-hidrazon türevleri tasarlanmış, sentezlenmiş ve MCF-7 ile HepG2 hücre hatlarında *in vitro* sitotoksisiteleri değerlendirilmiştir. Benzoksazol halkası taşıyan bileşik 60, MCF-7'ye karşı $IC_{50} = 0,067 \mu M$ değeri ile en yüksek antikanser aktiviteye sahip bileşiklerden biri olarak belirlenmiştir. Ayrıca, bileşik 60, EGFR inhibisyon aktivitesi açısından da ileri testlerde en yüksek aktiviteyi göstermiştir (Şekil 1.112) (Labib vd., 2018).



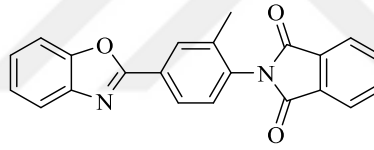
Şekil 1.112. (*E*)-2-(4-(2-(4-klorobenziliden)hidrazinil)fenil)benzoksazol (60)

2019 yılında El-Helby ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, bir dizi benzoksazol bileşiği tasarlanmış, sentezlenmiş ve HepG2, HCT-116 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı potansiyel antikanser aktiviteleri değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre, bileşik 61, HepG2, HCT-116 ve MCF-7 hücrelerine karşı sırasıyla $4,13 \pm 0,2$, $6,93 \pm 0,3$ ve $8,67 \pm 0,5 \mu M$ IC_{50} değerleriyle en yüksek antikanser aktiviteyi göstermiştir. Ayrıca, bileşik 61 ve 62'nin vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGFR-2) inhibisyonu, referans inhibitör sorafenibe ($IC_{50} = 0,1 \pm 0,02 \mu M$) kıyasla sırasıyla $0,07 \pm 0,01$ ve $0,08 \pm 0,01 \mu M$ IC_{50} değerleriyle güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (Şekil 1.113) (El-Helby vd., 2019).



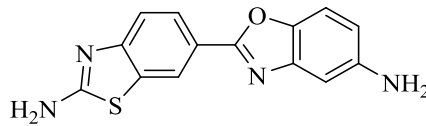
Şekil 1.113. 3-(Benzoksazol-2-iltiyo)-N-(4-(N-sikloheksilkarbamoyl)sülfamoil) fenil) propanamid (61) ve N-(4-(N-sikloheksilkarbamoyl)sülfamoil)fenil)-3-((5-metil benzoksazol-2-il)tiyo)propanamid (62)

2019 yılında Philoppes ve Lamie tarafından yapılan çalışmada, fitalimid çekirdeği içeren bir dizi benzoksazol türevi sentezlenmiş ve antikanser etkileri ile EGFR ve HER2 enzimleri üzerindeki inhibisyon potansiyelleri değerlendirilmiştir. En etkili bileşik 63, HepG2 ve MCF7 hücrelerinde sırasıyla 0,011 ve 0,024 μM IC_{50} değerleri ile yüksek sitotoksikite göstermiştir. Hücre döngüsü analizi, bu bileşiklerin pre-G1 apoptozu ve G2/M evresinde duraklatma etkisi olduğunu ortaya koymuş ve apoptozun kaspaz-7 ve kaspaz-9'un aktivasyonu yoluyla gerçekleştiği öngörülmüştür (Şekil 1.114) (Philoppes ve Lamie, 2019).



Şekil 1.114. 2-(4-(Benzoksazol-2-il)-2-metilfenil)izoindolin-1,3-dion (63)

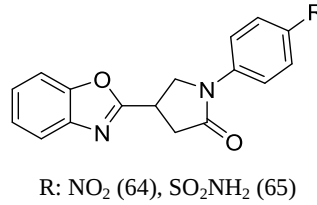
2020 yılında Jiao ve arkadaşlarının bildirdiği bir çalışmada sanal tarama ile 2-(2-aminobenzotiyazol-6-il)benzoksazol-5-amin türevleri tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bileşiklerin anti-tümör aktiviteleri çeşitli hücre hatlarına karşı taranmıştır. Elde edilen verilere göre bileşik 64, HeLa hücrelerine karşı 380 nM IC_{50} ile yüksek bir antiproliferatif etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Şekil 1.115) (Jiao vd., 2020).



Şekil 1.115. 2-(2-aminobenzotiyazol-6-il)benzoksazol-5-amin (64)

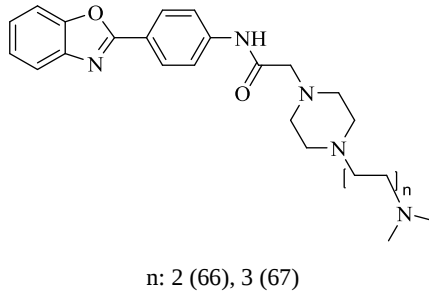
Afzal ve arkadaşlarının 2021 yılında raporladığı çalışmada, insan monoaçilgliserol lipaz (MAGL) inhibitörleri olarak tasarlanan on adet 2-pirolidinon benzoksazol türevi

bileşikler sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Bu bileşiklerden 64 ve 65 numaralı olanlar, Ulusal Kanser Enstitüsü'nün 60 insan kanser hücre hattı üzerinde antikanser aktivite taramasına tabi tutulmuştur. Sonuçlar, bu bileşiklerin SNB-75 hücre hattında sırasıyla %35,49 ve %31,88 büyüme inhibisyonu sağladığını göstermiştir (Şekil 1.116) (Afzal vd., 2021).



Şekil 1.116. 4-(Benzoksazol-2-il)-1-(4-nitrofenil)pirolidin-2-on (64) ve 4-(4-(benzoksazol-2-il)-2-okzopirolidin-1-il)benzensülfonamit (65)

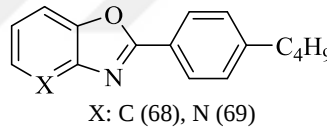
Osmaniye ve arkadaşlarının 2021 yılında bildirdiği çalışmada, antikanser aktiviteye sahip Phortress'in aktif metaboliti (5F-203) yapısındaki benzotiyazol çekirdeği, biyoizosterik olarak benzoksazol ile değiştirilerek yeni Phortress analogları elde edilmiştir. Bu bileşiklerin antikanser aktiviteleri HT-29, MCF7, A549, HepG2 ve C6 kanser hücreleri üzerinde değerlendirilmiştir. Sonuçlar, 66 ve 67 numaralı bileşiklerin doksorubisine kıyasla iyi aktivite gösterdiğini ve muhtemelen Phortress ile aynı etki mekanizmasıyla önemli antikanser aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 1.117) (Osmaniye vd., 2021).



Şekil 1.117. N-(4-(Benzoksazol-2-il)fenil)-2-(4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)asetamid (66) ve N-(4-(Benzoksazol-2-il)fenil)-2-(4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)asetamid (67) bileşikleri

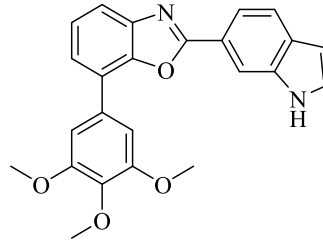
2021 yılında Karatas ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; benzoksazol halkasının 5 (veya 6) pozisyonu için elektron çekici ve hidrofilik bir grup ve 2. konumdaki fenil halkasının özellikle *para* konumunda süstitüe hidrofobik alkil zincirleri bulunan benzoksazol ve oksazolo[4,5-*b*]piridin türevi çeşitli moleküler yapılar tasarlanmıştır. Çalışmada 5 (veya 6) konumunda nitro grubu taşıyan yeni 2-(süstitüe fenil)benzoksazol türevleri ve 2-(süstitüe fenil)oksazolo[4,5-*b*]piridinlerin insan Topo II α enzimleri

üzerindeki inhibitör etkileri referans bileşik etoposid varlığında değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda; 5-nitro-2-(4-bütilfenil)benzoksazol (68) ve 2-(4-bütilfenil)oksazolo[4,5-*b*]piridin (69) moleküllerinin insan Topo II α üzerindeki inhibitör etkileri (IC_{50} = 2 μ M), etoposid ile kıyaslandığında (IC_{50} = 10 μ M), bu bileşiklerin etoposidten daha iyi bir potansiyele sahip oldukları gösterilmiştir. Yapılan kenetlenme ve Moleküler Dinamik (MD) çalışmalarına göre, bileşiklerin reseptörün aktif bölgesinin yakınında bulunan rezidüer ile çeşitli etkileşimler gösterdiği ortaya konulmuştur. Test edilen bileşiklerin ilaca benzerliği ve farmakokinetik özelliklerinin *in silico* tahminleri yapılmış ve iyi bir biyoyararlanım sergileyecekleri öngörülmüştür. Ek olarak, bu çalışmada fenil halkasının *orto* ve *para* pozisyonlarında hidrofobik ve hacimli bir grubun varlığının Topo II α inhibitör aktivitesini arttırmada önemli bir rolü olduğu rapor edilmiştir. En etkili bileşiklerin fenil halkasının *para* pozisyonunda *n*-bütil grubu taşıyan bileşikler olduğu ve *para* pozisyonunda daha fazla hidrofobik ve sterik süstitüsyona sahip olduğunda, daha iyi Topo II α inhibisyon aktivitesi elde edileceği bildirilmiştir. Bunun yanında, benzoksazol halkasının 5. veya 6. konumlarda bulunan nitro grubunun aktiviteye etkisi karşılaştırıldığında 5 numaralı konumunun 6'dan daha iyi Topo II α inhibisyon potansiyeli sağlamada etkili olduğu bildirilmiştir (Şekil 1.118) (Karatas vd., 2021).



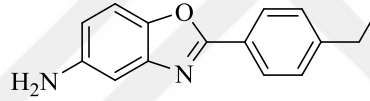
Şekil 1.118. 5-Nitro-2-(4-bütilfenil)benzoksazol (68) ve 2-(4-bütilfenil)oksazolo[4,5-*b*]piridin (69)

Liu ve arkadaşlarının 2021 yılında yaptıkları bir çalışmada, fosfodiesteraz 4 (PDE4)/tubulin ikili inhibitörleri olarak tasarladıkları 7-trimetoksifenilbenzoksazol ve 4-trimetoksifenilbenzoksazol türevlerinin antikanser etkinlikleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; özellikle indol-5-il yan zinciri taşıyan bileşik 70, U251 hücrelerinde 300 ± 50 nM IC_{50} , A549 ve H460 hücrelerinde ise ortalama 39,5 nM IC_{50} değerleri ile dikkate değer sitotoksikite sergileyerek yeni ve etkili bir PDE4/tubulin ikili inhibitörü olarak tanımlanmıştır (Şekil 1.119) (Liu vd., 2021).



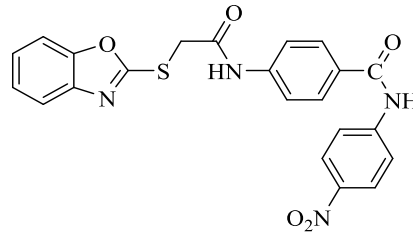
Şekil 1.119. 2-(1*H*-indol-6-il)-7-(3,4,5-trimetoksifenil)benzoksazol (70)

Zilifdar Foto ve arkadaşlarının 2022 yılında yaptığı çalışmada, (5 veya 6)-amino-2-(süstitüe fenil veya benzil) benzoksazol türevlerinin *in vitro* kanser hücre hatlarında sitotoksik, genotoksik aktiviteleri ve Topo enzimi üzerindeki inhibitör potansiyelleri değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre, bileşik 71, çalışılan tüm kanser hücrelerinde 50 μM 'nin altında selektif sitotoksik etkisi ile en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Ayrıca, yapı-aktivite çalışmalarına göre, benzoksazol halkasının 2. konumundaki metilen köprüsünün bileşiğin antiproliferatif özelliğini ve Topo enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerini azalttığı bildirilmiştir (Şekil 1.120) (Zilifdar Foto vd., 2022).



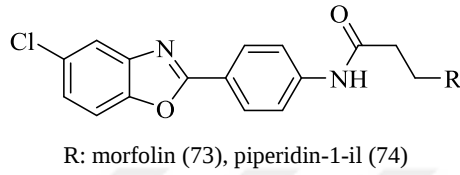
Şekil 1.120. 2-(4-Etilfenil)benzoksazol-5-amin (71)

Elwan ve arkadaşlarının 2022 yılında yaptığı çalışmada, on üç yeni benzoksazol türevi bileşik sentezlenmiş ve MCF-7, HCT116 ve HepG2 kanser hücrelerinde antitümöral aktivite ve VEGFR-2 kinaz aktivitesine karşı inhibitör potansiyelleri değerlendirilmiştir. Bileşik 72, MCF-7, HCT116 ve HepG2 hücrelerinde sırasıyla 3,43, 2,79 ve 2,43 μM IC_{50} değerleri ile standart inhibitör sorafenibten daha yüksek aktivite göstermiştir. Ayrıca, bileşik 72, VEGFR-2 inhibisyonunda 0,0554 μM IC_{50} değeri ile mükemmel bir aktivite sergilemiştir (Şekil 1.121) (Elwan vd., 2022).



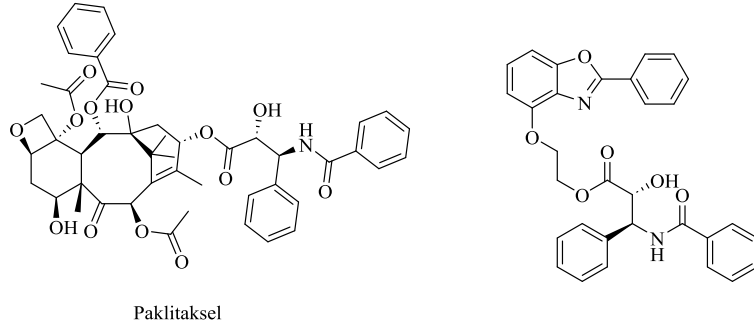
Şekil 1.121. 4-(2-(Benzoksazol-2-iltiyo)asetamido)-*N*-(4-nitrofenil)benzamid (72)

El-Ghobashy ve arkadaşlarının 2022 yılında bildirdiği bir çalışmaya göre sentezledikleri çeşitli benzoksazol türevi bileşikler ve MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı anti-meme kanseri aktivitesi için MTT deneyi ile taranmıştır. En güçlü sitotoksik bileşikler *in vitro* PARP-2 enzim inhibisyonu açısından daha fazla değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre bileşik 73 ve 74, sırasıyla 0,07 μM ve 0,057 μM IC_{50} değerleriyle en aktif PARP-2 inhibitörleri olarak bildirilmiştir (Şekil 1.122) (El-Ghobashy vd., 2022).



Şekil 1.122. N-(4-(5-klorobenzoksazol-2-il)fenil)-3-morfolinopropanamid (73) ve N-(4-(5-klorobenzoksazol-2-il)fenil)-3-(piperidin-1-il)propanamid (74)

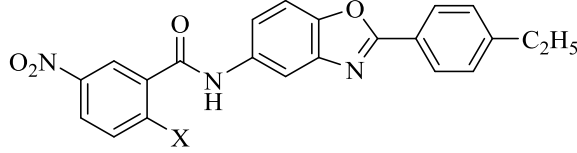
Jiang ve arkadaşları tarafından 2022 yılında bildirilen bir çalışmada paklitakselin C-13 yan zincirini taşıyan yirmi altı yeni paklitaksel-benzoksazol hibriti sentezlenmiş ve çeşitli kanser hücre hatları üzerinde antiproliferatif etkileri incelenmiştir. Buna göre özellikle bileşik 75'in, HepG2 hücre proliferasyonunu $17,6 \pm 0,8 \mu\text{M}$ IC_{50} değeri ile en iyi şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir (Şekil 1.123) (Jiang vd., 2022).



Şekil 1.123. Paklitaksel ve 2-((2-fenilbenzoksazol-4-il)oksi)etil (2R,3S)-3-benzamido-2-hidroksi-3-fenilpropanoat (75)

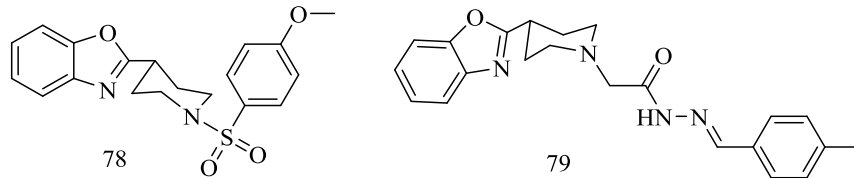
2022 yılında Orsi ve arkadaşlarının çalışmasında, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör gama ($\text{PPAR}\gamma$) hedef alınarak nükleer reseptör korepresör 1 ve 2 (NCOR1 ve NCOR2) ile etkileşimleri artıran benzoksazol çekirdeği içeren invers-agonist bileşikler tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bileşik 76 ve 77'nin fizikokimyasal özellikleri mükemmel olmasa da, $\text{PPAR}\gamma$ invers-agonistleri ile karşılaştırıldığında *in vitro* potansiyel ve

etkinliklerinde gözlemlenen iyileşmeler, bu bileşiklerin PPAR γ invers-agonizmasının anlaşılmasına katkıda bulunabileceğini göstermiştir (Şekil 1.124) (Orsi vd., 2022).



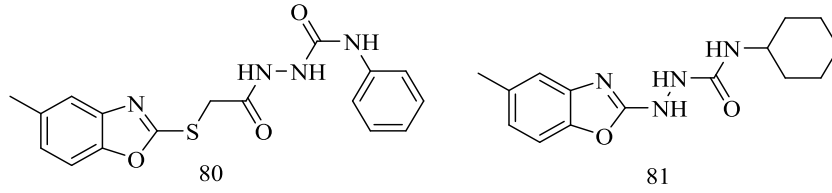
Şekil 1.124. 2-Kloro-*N*-(2-(4-etilfenil)benzoksazol-5-il)-5-nitrobenzamid (76) ve 2-bromo-*N*-(2-(4-etilfenil)benzooksazol-5-il)-5-nitrobenzamid (77)

AboulWafa ve arkadaşlarının 2023 yılında yaptığı çalışmada, benzoksazole bağlı piperidin halkası taşıyan bileşikler tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre, bileşiklerin IC₅₀ değerleri MCF-7 için 33,32 $\pm$ 0,2 μ M, MDA-MB-231 için 7,31 $\pm$ 0,43 μ M ve 1,66 $\pm$ 0,08 μ M ile 12,10 $\pm$ 0,57 μ M arasında bulunmuştur. Referans bileşik doksorubisine (MCF-7 IC₅₀ = 8,20 $\pm$ 0,39 μ M ve MDA-MB-231 IC₅₀ = 13,34 $\pm$ 0,63 μ M) kıyasla önemli antiproliferatif etkinlik göstermişlerdir. Ayrıca, bileşik 78 ve 79, erlotinib'e karşı sırasıyla 0,08 $\pm$ 0,002 μ M ve 0,09 $\pm$ 0,002 μ M ile güçlü EGFR inhibisyonu göstermiştir (erlotinib IC₅₀ = 0,11 $\pm$ 0,003 μ M) (Şekil 1.125) (AboulWafa vd., 2023).



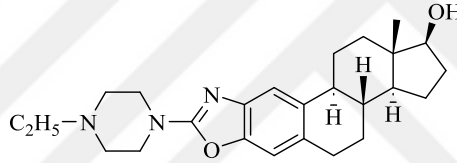
Şekil 1.125. 2-(1-((4-Metoksifenil)sülfonil)piperidin-4-il)benzoksazol (78) ve 2-(1-(*N'*-(4-metilbenziliden)hidrazinokarbonilmetil)piperidin-4-il)benzoksazol (79)

2023 yılında Elkady ve arkadaşlarının bildirdiği bir çalışmada antikanser etkili talidomid analogu on bir yeni benzoksazol/benzotiyazol türevi tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşikler, HepG-2, HCT-116, PC3 ve MCF-7 hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiş olup bunlardan özellikle bileşik 80 HepG-2, HCT-116, PC3 ve MCF-7'ye karşı sırasıyla 6,14; 5,79; 10,26 ve 4,71 μ M IC₅₀ değerleri ile ve bileşik 81 sırasıyla 7,93; 8,23; 12,37 ve 5,43 μ M IC₅₀ değerleri ile en yüksek aktivite profili sergilemişlerdir (Şekil 1.126) (Elkady vd., 2023).



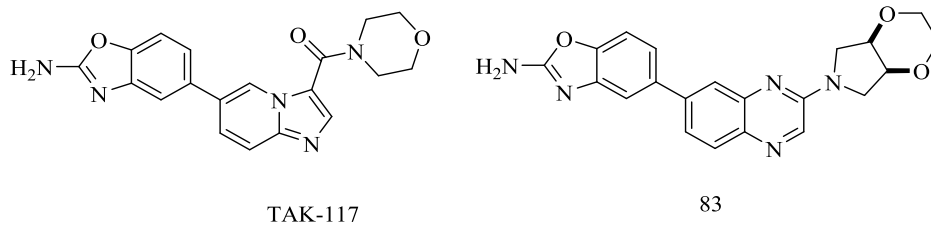
Şekil 1.126. 2-(2-[(5-Metilbenzoksazol-2-il)tiyo]asetil)-*N*-fenilhidrazin-1-karboksamit (80) ve *N*-sikloheksil-2-(5-metilbenzoksazol-2-il)hidrazin-1-karboksamit (81)

Kovács ve arkadaşlarının 2023 yılında yaptığı çalışmada, yeni estradiol-bazlı A-halka-füzyonuna sahip oksazol türevleri tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Antiproliferatif etkileri dört insan kanser hücre hattında değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre, özellikle 2-(4-etilpiperazin-1-il)oksazol türevleri (82), güçlü antikanser aktivite sergilemekte ve kansere neden olan hücrelerin apoptozunu tetiklemektedir. Bu etkinin, yapısal olarak benzer ve daha önce incelenmiş antikanser ajan olan 2-metoksi-estradiole benzer şekilde olduğu bildirilmiştir (Şekil 1.127) (Kovács vd., 2023).



Şekil 1.127. 2-(4-Etilpiperazin-1-il)oksazol türevi (82)

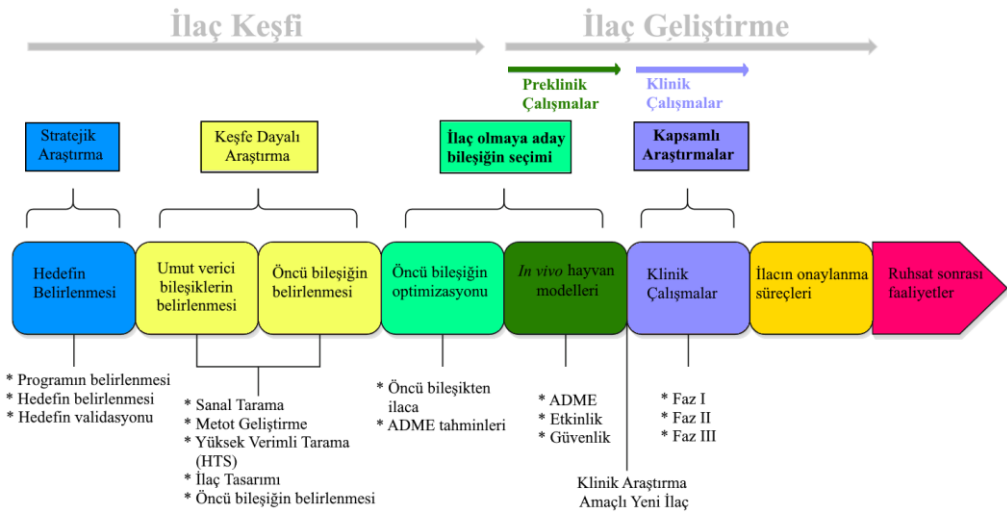
Zheng ve arkadaşlarının 2023 yılında yaptığı çalışmada, klinik aday TAK-117 bileşiği temelinde üç seri süstitüe benzoksazol türevi tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Yapılan yapı-aktivite ilişkisi (SAR) çalışmaları sonucunda, bileşik 83, 2.5 nM IC₅₀ değeriyle fosfoinositid 3-kinaz- α (PI3K α) üzerinde TAK-117'ye (IC₅₀: 11 nM) kıyasla çok daha güçlü bir inhibitör aktivite göstermiştir. Ayrıca, bileşik 83 HCT-116 kanser hücre hattında 3.79 μ M IC₅₀ değeri ile TAK-117'ye (IC₅₀: 5,80 μ M) göre 1,5 kat daha etkili bir antiproliferatif etki sergilemiştir ve sağlıklı hücrelere karşı daha iyi bir seçicilik göstermiştir (Şekil 1.128) (Zheng vd., 2023).



Şekil 1.128. Klinik aday TAK-117 ve 5-(3-((4aR,7aS)-hekzahidro-6H-[1,4]dioksino[2,3-c]pirol-6-yl)kinoksalin-6-il)benzoksazol-2-amin (83)

1.4. Moleküler Modelleme Yöntemleri

İlaç keşfi, hastalık etmenlerini etkili şekilde hedefleyip faydalı klinik sonuçlar sağlayan bileşikler tanımlamayı amaçlayan uzun ve maliyetli bir süreçtir. Bir molekülün ilaç haline gelmesi için toplam maliyetin 2-3 milyar dolar, sürenin ise 13-15 yıl olduğu tahmin edilmektedir (Abraham, 2005; Kannt ve Wieland, 2016; Zhang vd., 2022). Bu süreç, ilaç adaylarının belirlenmesi, sentezi, karakterizasyonu, optimizasyonu ve etkinliğinin değerlendirilmesi gibi temel aşamalardan oluşur. İlk adım, patolojik bozukluğun belirlenmesi ve hedef dokunun tanımlanmasıdır. Bunun ardından, keşif araştırmaları kapsamında ilk büyük tarama testleri ile umut verici afinite gösteren bileşikler (HIT moleküller) belirlenir. Daha detaylı incelemelerle hedefe spesifik ve selektif bağlanan, yeterli etkinlik gösteren öncü moleküller (LEAD moleküller) seçilir. Belirlenen öncü bileşik, biyolojik aktiviteyi ve ADME (emilim, dağılım, metabolizma ve atılım) özelliklerini iyileştirmek için çeşitli modifikasyonlara tabi tutulur. Amaç, uygun *in vivo* farmakokinetik (PK) davranış sergileyen ve kabul edilebilir toksisiteye sahip bileşikler elde etmektir. Ayrıca, bu moleküllerin uygun formülasyon ve sentez ölçeklenebilirliğine sahip olması ve İyi Üretim Uygulamaları (GMP) standartlarına uyması gerekmektedir. Bu niteliklere sahip moleküller, klinik denemeler için uygun ilaç adayları haline gelir. Klinik aşamaları başarıyla tamamlayan bileşiklerin, ilaç olarak pazara sunulabilmesi için FDA veya EMA gibi otoritelerden onay alması gerekmektedir. Ruhsatlandırma sonrası, ilacın piyasada kullanım süresince görülen advers reaksiyonlar ve yarar/risk dengeleri, farmakovijilans kapsamında izlenmektedir (Şekil 1.129) (Duelen vd., 2019; Hughes vd., 2011).



Şekil 1.129. İlaç keşfi ve geliştirme sürecinin şematik gösterimi

İlk ilaç keşif yöntemleri genellikle yüksek verimli tarama (HTS) tekniklerine dayanır. Ancak, teknolojik gelişmeler ve veri toplamadaki ilerlemeler sayesinde potansiyel ilaç adaylarının ve biyolojik hedeflerin sayısı artmakta, bu durum aynı zamanda çok sayıda yanlış pozitif sonucun üretilmesine yol açmaktadır. Bu durum, yalnızca deneysel yöntemlere dayanarak araştırma projeleri yürütmeyi zorlaştırmaktadır (Basith vd., 2018; Cherkasov vd., 2014; Tropsha ve Golbraikh, 2007).

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı (CADD), terapötik etkili kimyasal ajanların keşfi ve geliştirilmesi amacıyla çeşitli kimyasal-moleküler ve kuantum stratejilerini içeren bir disiplindir. CADD'nin ilaç keşif sürecindeki rolü, ağırlıklı olarak keşif aşamasında deneysel sentez veya test için bileşenlerin filtrelenmesi ve seçilmesidir. Ayrıca, onay almış ilaçların yeni potansiyel kullanım alanlarını belirleme olanağı sunar (Drug Repurposing) (Medina-Franco vd., 2007; Talele vd., 2010).

Yeni teknolojik gelişmeler ve CADD tekniklerinin uygulanması, ilaç tasarım süreçlerinde daha kapsamlı ve detaylı çalışmalar yapılmasını mümkün kılmaktadır. CADD, *in vitro* deney aşamalarına geçmeden önce biyolojik aktivite, ADME ve toksisite tahminlerine olanak tanır ve bilim insanlarının organik sentez süreçlerini önceliklendirmelerine yardımcı olur (Macalino vd., 2015). Ayrıca, aktif veya toksik moleküllerin tespiti için farmakolojik, farmakodinamik ve *in silico* toksisite tahminlerini içeren veri setleri sunar (Usha vd., 2017; Yu ve MacKerell, 2017). Ligand-reseptör etkileşimlerini simüle eden yazılımlar, moleküler etki mekanizmalarının öngörülmesine katkıda bulunmaktadır (Chang vd., 2022; Cherkasov vd., 2014).

1.4.1. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımında (CADD) Kullanılan Güncel Yaklaşımlar

CAAD, reseptör yapısına dayalı ve ligand yapısına dayalı ilaç tasarımı olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır (Şekil 1.143). Reseptör yapısına dayalı tasarımda, test edilen bileşiklerin bağlanma enerjileri için hedef protein yapısı bilgisi kullanılır. Ligand yapısına dayalı tasarımda ise, aktif ve inaktif moleküllerin kimyasal benzerlikleri veya kantitatif yapı-aktivite ilişkisi (QSAR) modelleri oluşturulmaktadır (Kalyanamoorthy ve Chen, 2011).

Yüksek çözünürlüklü kristal yapının mevcut olduğu durumlarda reseptör yapısına dayalı ilaç tasarımı tercih edilirken, bilginin çok az olduğu veya hiç olmadığı durumlarda

veya membran proteinleri üzerinde çalışılıyorsa ligand yapısına dayalı ilaç tasarımı tercih edilir. Reseptör yapısına dayalı tasarımın amacı, hedefle güçlü bağlanma profilleri sergileyen ve yan etki riski düşük bileşikler tasarlamaktır (Jorgensen, 2010). Bu yöntemlerin başarısı, etkinliği *in vitro* ve *in vivo* olarak doğrulanan ve ko-kristal yapı üzerinden belirlenen bileşenlerle sonuçlanır (Sliwoski vd., 2014).

Reseptör ve ligand yapısına dayalı yaklaşımlar, hem akademide hem de endüstride ilaç keşfi çalışmalarında önemli araçlardır (Drwal ve Griffith, 2013). Bu yaklaşımların entegrasyonu, yapısal, kimyasal ve biyolojik verilere dair birçok araştırmada başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Trossini vd., 2009; Valasani vd., 2014).

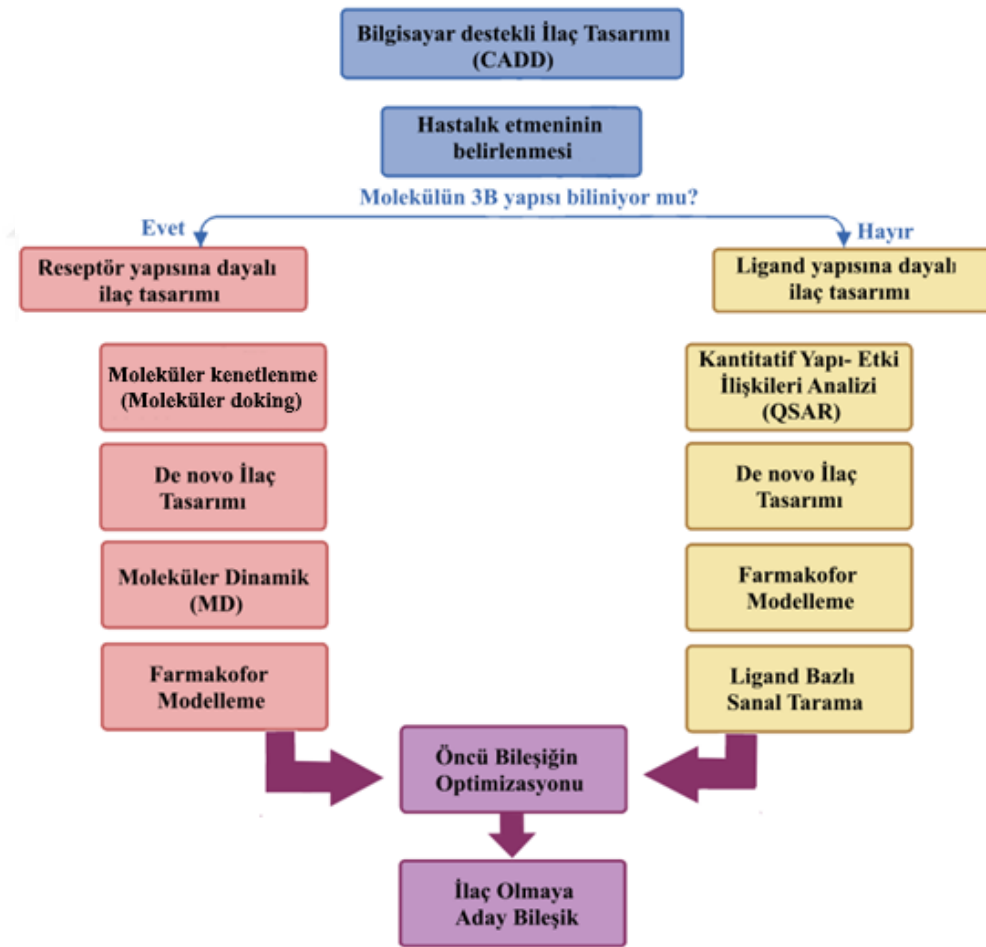
Gelişen teknolojik teknikler sayesinde, X-ışını kristalografisi ve NMR spektroskopisi gibi biyofiziksel yöntemler kullanılarak 3B hedef yapıların belirlenmesi mümkün olmuştur ve bu veriler çeşitli veri tabanlarında depolanmaktadır. Örneğin, PDB (Protein Data Bank) (Burley vd., 2022) 81,000'den fazla protein yapısını içermektedir; ayrıca PDDBIND (Wang vd., 2004) gibi veri tabanları sırasıyla 2003 yılı itibarıyla 5,671 ve 129 adet ligand-protein ko-kristal yapılarını barındırmaktadır. Hedef yapının mevcut olmadığı durumlarda ise "homoloji modelleme" yöntemi, kristalize edilmemiş biyolojik hedeflerin 3D modellerini oluşturmak için mevcut yapısal bilgileri kullanmaktadır. Bu nedenle, homoloji modelleme, yeni terapötik hedeflerin yapısal tasarımı veya kalsiyum kanalları ve bazı epigenetik ve protein kompleksleri gibi zor kristalize edilen yapıların keşfi için değerli bir araç olarak hizmet etmektedir (Sliwoski vd., 2014).

1.4.1.1. Reseptör Yapısına Dayalı İlaç Tasarımı

Küçük moleküllerin makromolekülleri tanıma ve etkileşime girme prensiplerini anlamak, farmasötik araştırma ve geliştirme (Ar-Ge) açısından büyük önem taşımaktadır (Blaney, 2012). Reseptör yapısına dayalı ilaç tasarımı, deneysel olarak veya homoloji modelleme yoluyla elde edilen makromoleküllere ait yapısal verilerin sistematik bir biçimde kullanılmasıdır (Mandal vd., 2009). Bu yaklaşım, belirli elektrostatik ve stereokimyasal özelliklere sahip ligandların tasarımına odaklanarak güçlü reseptör bağlanma afiniteleri elde etmeyi amaçlar. 3B makromoleküler yapının bilinmesi, bağlanma yeri topolojisinin dikkatli incelenmesine ve elektrostatik özelliklerin analizine olanak tanır (Blaney, 2012; Mandal vd., 2009). Kullanılan yöntemler, hedef reseptörün etkin modülasyonu için gerekli özelliklere

sahip ligandların tasarımı sağlar; yüksek afiniteli ligandlar, belirli hücresel süreçlere etki ederek istenen farmakolojik ve terapötik etkilerin ortaya çıkmasına yol açar (Urwyler, 2011).

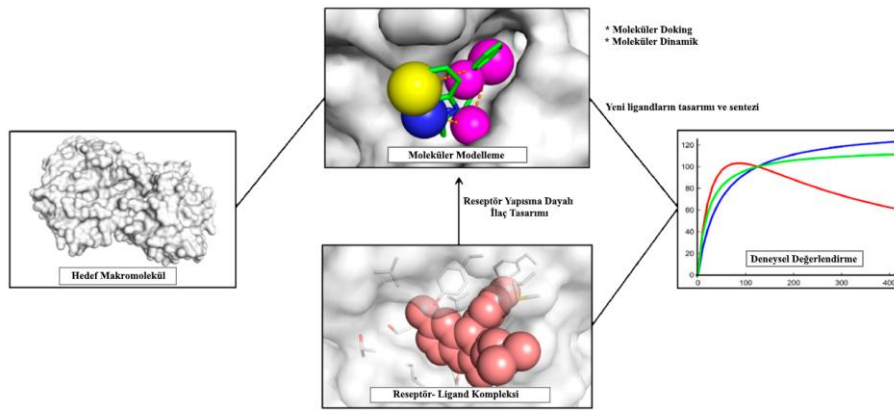
Reseptör yapısına dayalı ilaç tasarımı, hedef yapısından hareketle potansiyel ligandları tanımlamak amacıyla bir dizi *in silico* çalışmayı içeren bir yaklaşımdır (Şekil 1.130). Bu *in silico* prosedürlerin ardından, en umut verici bileşiklerin sentezi gerçekleştirilir (Wilson ve Lill, 2011). Sonraki aşamada, çeşitli deneysel platformlar kullanılarak potansiyel aktivite, afinite ve etkinlik gibi biyolojik özellikler değerlendirilir (Fang, 2012). Aktif bileşikler belirlendiğinde, reseptör-ligand kompleksinin üç boyutlu yapısı üzerinden bağlanma konformasyonları araştırılır ve önemli intermoleküler etkileşimler karakterize edilir (Kahsai vd., 2011). Elde edilen yapısal verilerle biyolojik aktivite verileri ilişkilendirilerek, bağlanma bölgesiyle yüksek afinite artırma potansiyeline sahip yeni ligandlar tasarlanır (Shoichet ve Kobilka, 2012)



Şekil 1.130. Bilgisayar destekli ilaç tasarım sürecinin şematik görünümü

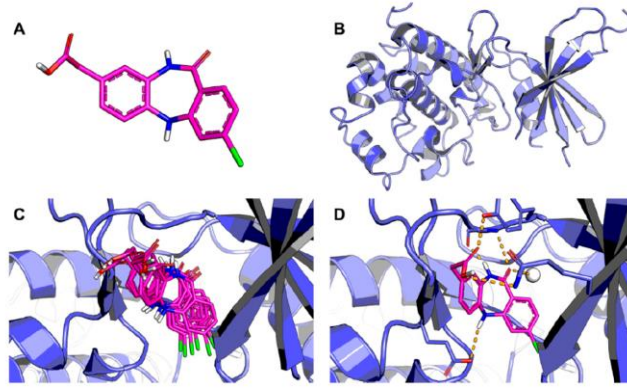
1.4.1.1.1. Moleküler Kenetlenme (Moleküler Doking)

Moleküler kenetlenme (Moleküler doking), küçük molekül ligandlarının hedef bağlanma alanındaki konformasyonlarını yüksek doğrulukla tahmin edebilmesi sayesinde 3B reseptör-ligand etkileşimlerini incelemek için yaygın bir tekniktir (Şekil 1.130 ve Şekil 1.131) (Leonardo G Ferreira vd., 2015; Meng vd., 2011). Bu yöntem, olası konformasyonları ortaya çıkararak hangi konformasyonların daha geçerli olduğunu değerlendirir, reseptör-ligand etkileşimlerini karakterize eder ve ligand-reseptör kompleksini stabilize eden intermoleküler etkileşimleri inceler (Pagadala vd., 2017). Burada kullanılan çeşitli algoritmalar üzerinden bağlanma enerjisi ile ilgili nicel tahminler yapılarak birden çok konformasyonu elde edilmiş olan ligand-reseptör komplekslerinin bağlanma afinitesine dayalı olarak sıralamalarını sağlamaktadır (Huang ve Zou, 2010; López-Vallejo vd., 2011).



Şekil 1.131. Reseptör yapısına dayalı ilaç tasarımının ana basamakları

Moleküler kenetlenme süreci Şekil 1.132’de gösterilmektedir (L. G. Ferreira vd., 2015). Burada (A) Ligandın 3B yapısı; (B) Reseptörün 3B yapısı; (C) Bağlanma cebine yerleştirilen ligand ile olası konformasyonlar oluşturulur; (D) En uygun konformasyon ve intermoleküler etkileşimler belirlenir. Ligand (karbon atomları magenta) ve bağlanma bölgesi rezidüleri (karbon atomları mavi) gösterilmektedir. Su beyaz bir küre ile ve hidrojen bağları sarı kesikli çizgilerle belirtilmiştir. En uygun bağlanma modunu belirlemek için geniş bir konformasyonel alan keşfedilmeli ve her tahmin edilen bağlanma konformasyonunun etkileşim enerjisi öngörülmelidir. Moleküler kenetlenme yazılımları, belirli skorumla fonksiyonları kullanarak ligand konformasyonunu değerlendirir ve minimum enerjiye ulaşana kadar süreç devam eder (Huang ve Zou, 2010; Kapetanovic, 2008; Yuriev vd., 2011).



Şekil 1.132. Moleküler kenetlenme işleminin süreci

1.4.1.1.2. Moleküler Dinamik (MD)

Hedef bağlanma bölgesinin esnekliği, moleküler kenetlenme açısından önemli ancak genellikle göz ardı edilen bir durumdur. Moleküler tanıma sırasında enzimler ve reseptörler konformasyonel değişikliklere uğrayabilir (Lin, 2011). Bu değişiklikler küçük olabileceği gibi, bazı proteinler önemli konformasyonel değişiklikler geçirebilir. Bu nedenle, moleküler dinamik (MD) gibi teknikler esneklik sorunlarını ele almaktadır (Salsbury, 2010).

“Simülasyon,” beklenen bir olayın taklididir. MD simülasyonu, atomların ve moleküllerin belirli bir süre boyunca etkileşime girmesine izin vererek bu yapıların fiziksel hareketlerini ve kimyasal etkileşimlerini analiz eden bir yaklaşımdır (Durrant ve McCammon, 2011; Kitchen vd., 2004). Bu bağlamda MD, deneysel yöntemlerden farklı olarak, moleküllerin hareketlerini zaman içinde taklit ederek biyolojik moleküllerin yapısı, dinamikleri ve termodinamikleri hakkında detaylı bilgi sağlar (Durrant ve McCammon, 2011; Hollingsworth ve Dror, 2018).

Klasik MD yönteminde atomlar katı küreler, bağlar ise yaylar olarak tanımlanır ve atomların belirli bir mesafe içinde salınmasına izin verir. Atomların konum ve hızları izlenerek bir ligand-reseptör kompleksinin evrimi incelenir. Başlangıçta, gerçek sistemin sıcaklık ve basıncını yeniden oluşturmak için atomlara belirli bir yapı atanır ve kuvvetler hesaplandığında, atomların sonraki konumları ve hızları belirlenebilir (Ganesan vd., 2017).

Biyolojik sistemler için MD simülasyonlarında yaygın olarak kullanılan kuvvet alanları arasında CHARMM (Brooks vd., 1983), AMBER (Cornell vd., 1995) ve GROMOS (Christen vd., 2005) yer almaktadır; bu kuvvet alanları, MD simülasyonları için farklı

işlevsel formlara sahip olduğundan, bir kuvvet alanından diğerine parametre aktarımını zorlaştırmaktadır (Badar vd., 2022). Sistemdeki kuvvetler genellikle kuantum kimyasal hesaplamalar veya deneysel verilere dayalı olarak belirlenen moleküler etkileşim potansiyelleri ile tanımlanır ve bu parametre seti, her etkileşim türünün toplam enerjiye katkısını ortaya koyar (Badar vd., 2022; Ganesan vd., 2017; Kitchen vd., 2004).

Ligand, reseptörlerin çeşitli konformasyonlarını stabilize ederek dengeyi minimum enerji yapılarına kaydırır (Durrant ve McCammon, 2011). Bu bağlamda, moleküler dinamik (MD) simülasyonları, ligand etkisiyle ortaya çıkan alternatif konformasyonel durumları yaratabilir. Eğer belirli bir moleküler hedef için uygun kristalografik yapılar mevcut değilse, MD simülasyonları kullanılarak moleküler kenetlenme için uygun yapı setleri oluşturulabilir (Harvey ve De Fabritiis, 2012). Mevcut kristalografik verilere dayanarak, potansiyel konformasyonel durumlar MD simülasyonları ile örneklenir ve iyi tanımlanmış bağlanma boşluklarına sahip konformasyonlar seçilir (Salsbury, 2010). MD, ayrıca moleküler kenetlenme tarafından önerilen ligand-reseptör komplekslerinin kararlılığını tahmin etmek için de kullanılabilir; bir ligand konformasyonu, belirli bir kök ortalama kare sapması (İngilizce; Root Mean Square Deviation, RMSD) değerinin üzerine çıkıyorsa, bu kompleksin kararsız olduğu kabul edilir (Alonso vd., 2006; Chen, 2015).

İlaç keşfi sürecinde, MD, potansiyel allosterik bölgelerin modellenmesi ve bağlanma modlarının incelenmesi açısından önem taşır. (Arcon vd., 2017; Clark vd., 2016; Leone vd., 2010; Papaleo vd., 2016; Spiliotopoulos ve Caflisch, 2014). Son dönemde, MD'nin ölçeklenebilirliği, protein esnekliğinin ötesinde karmaşık sorunları çözebilen yeni tekniklerin geliştirilmesine olanak tanımaktadır. MD'nin ölçeklenebilirliği, karmaşık sorunların çözümünde yeni tekniklerin geliştirilmesine olanak tanımaktadır. Örneğin, ligandların bağlanmasındaki enerjiyi hesaplamak için serbest enerji perturbasyonları kullanılabilir (Mortier vd., 2015). Ayrıca, aktif bölgelerin çevresini değerlendirmek ve yan zincirlerdeki pKa değerlerini düzeltmek için pH-REMD adlı geliştirilmiş bir örnekleme yöntemi (Sabri Dashti vd., 2012) ve ab initio ile moleküler mekaniklerin neden olduğu fiziksel değişikliklere dayalı kuantum mekanikleri/ moleküler mekanikler (Quantum mechanics/molecular mechanics, QM/MM) (Aldeghe vd., 2016) hibrit yaklaşımı gibi diğer yöntemler de yer almaktadır. Bu teknikler, kovalent inhibitörler gibi enzimatik mekanizmalara ait süreçlerin araştırılmasına imkan tanımaktadır (Prieto-Martínez vd., 2019).

MD simülasyonları, 40 yılı aşkın süredir ilaç keşfi ve moleküler modelleme alanında önemli bir gelişme kaydederek sıkça tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir (Alonso vd., 2006). Ancak, büyük sistemlerin simülasyonu yüksek hesaplama maliyetleri ve zaman ölçekleri gibi çeşitli sınırlamaları beraberinde getirir (Beauchamp vd., 2012; Durrant ve McCammon, 2011). Tüm olumsuzluklara rağmen, MD, moleküler kenetlenme gibi diğer modelleme yöntemleriyle birleştiğinde ilaç geliştirme süreçlerine önemli katkılarda bulunan bir yaklaşım olarak öne çıkmaktadır (Prieto-Martínez vd., 2019).

1.4.1.2. Ligand Yapısına Dayalı İlaç Tasarımı

Ligand yapısına dayalı ilaç tasarımı yaklaşımında, hedefe ait yapı bilgileri mevcut olmadığında, hedefle etkileşime giren bilinen ligandların fizyokimyasal özelliklerinin biyolojik aktivite ile ilişkisi analiz edilir (Duelen vd., 2019). Bu yaklaşımın ana hedeflerinden biri, aktif bileşikler tanımlamak veya mevcut bileşiklerin aktivitesini artırmaktır (Siju vd., 2017). Burada, hedefle etkileşim gösteren bileşiklerden oluşturulan bir referans setinin kimyasal yapılarına yönelik 2B veya 3B analiz gerçekleştirilir. Böylece, istenen etkileşimler için önemli fizikokimyasal özelliklerin korunması sağlanırken, etkileşimlerle alakasız gereksiz bilgiler dışarıda bırakılır (Sliwoski vd., 2014).

Ligand yapısına dayalı ilaç tasarımı, ilaç tasarım süreçleri için ya bilinen aktif bileşiklere benzer kimyasal yapılara sahip yeni bileşikler seçilir; ya da kimyasal yapı üzerinden biyolojik aktiviteyi tahmin eden bir QSAR modeli oluşturulur. Bu iki yöntem arasındaki fark, QSAR modelinde elde edilen kimyasal yapının özelliklerinin istenilen biyolojik aktivite üzerindeki etkilerine göre belirlenmesidir; diğer yöntem ise bu prensibe dayanmaz. Bu yöntemler, istenilen biyolojik aktiviteye sahip yeni bileşiklerin *in silico* taraması, aktif bileşiklerden öncü ve ilaç adaylarının optimizasyonu, ayrıca iyileştirilmiş ADMET özelliklerinin elde edilmesi için uygulanır. Bu yaklaşım, Johnson ve arkadaşları (1990) tarafından tanımlanan, yapısal olarak benzer moleküllerin genellikle benzer özelliklere sahip olacağına dair Benzer Özellikler Prensibi'ne dayanmaktadır (Johnson, 1990; Sliwoski vd., 2014). En çok kullanılan yöntemler arasında benzerlik arama, QSAR modelleme, farmakofor oluşturma ve ligand tabanlı sanal tarama bulunmaktadır (Şekil 1.130) (Bacilieri ve Moro, 2006).

1.4.1.2.1. Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (QSAR)

Kantitatif yapı-aktivite ilişkisi (QSAR) modellemesi, medisinal kimya alanında önemli bir hesaplama aracıdır (Cherkasov vd., 2014). Corwin Hansch tarafından 50 yıl önce geliştirilen QSAR, başlangıçta fiziksel organik kimyanın bir uzantısı olarak ortaya çıkmışken, günümüzde büyük veri setlerinin analizi için istatistiksel ve makine öğrenimi tekniklerinin kullanıldığı bir alan haline gelmiştir (Cherkasov vd., 2014; Hansch vd., 1962; Prieto-Martínez vd., 2019).

QSAR, yapısal olarak benzer bileşiklerin benzer biyolojik etkiler göstermesi şeklinde tanımlanmış benzerlik-özellik ilkesine (similarity-property principle, SPP) dayanır (Peltason ve Bajorath, 2007). QSAR yöntemleri, tanımlayıcı parametrelerin sayısına göre gruplandırılır: 1B-QSAR genel moleküler özelliklerle, 2B-QSAR moleküler grafiklerle, 3D-QSAR non-kovalent etkileşim alanlarıyla, 4B-QSAR ligand konfigürasyonlarıyla ve 5B-QSAR farklı indüklenmiş uyum modelleriyle ilgilenir. 6B-QSAR ise bu modelde farklı çözünme modellerini entegre eder (Tropsha vd., 2024; Verma vd., 2010).

Klasik QSAR, benzer biyolojik aktiviteyi sağlayan küçük molekül setlerinden türetilmiş lineer regresyon modellerine dayanır. Bu modeller, kimyasal yapıdaki değişikliklerin aktivitedeki etkilerini tahmin eder (Fujita ve Winkler, 2016; Hansch vd., 1962). QSAR modelinin başarısı, eğitim setinin kalitesine ve aktiviteyi tanımlayan parametrelerin seçiminde uygun matematiksel ilişkiyi kurma yeteneğine bağlıdır. Eğitim setinin geniş kimyasal çeşitliliğe sahip olması, modelin kalitesini artırır (Sliwoski vd., 2014; Zhang, 2011).

3B-QSAR tekniği olarak bilinen CoMFA, biyolojik aktivite ile ilişkili özellikleri belirlemeye odaklanırken, her atomun özellikleri yerine moleküler etkileşim alanlarının hizalanmasını temel alır (Cramer vd., 1988). CoMSIA, sterik ve Coulombik etkileşimlerin yanı sıra hidrofobik ve hidrojen bağı etkileşimlerini de dikkate alır (Klebe vd., 1994). Ancak, bu yöntemlerin önemli bir kısıtlaması, benzer iskelet yapılarına sahip statik moleküllerle sınırlı kalması ve ligandların dinamik doğasını göz ardı etmesidir (Acharya vd., 2011).

Son yıllarda yapay zeka ve derin öğrenme tekniklerinin QSAR modellemesine entegrasyonu, moleküler tasarım ve sanal tarama gibi alanlarda önemli gelişmeler göstermiştir. Derin öğrenme, büyük veri setlerindeki karmaşık kalıpları tanıyabilme yeteneği

sayesinde QSAR tahminlerini artırmakta ve ilaç keşif süreçlerinde devrim yaratmaktadır. Ayrıca, kuantum hesaplamanın gelişimi derin QSAR uygulamalarını hızlandırma potansiyeline sahiptir (Tropsha vd., 2024).

1.4.1.3. De novo İlaç Tasarımı

De novo ilaç tasarımı, "başlangıçtan" anlamına gelen "de novo" terimiyle, daha önce sentezlenmiş bileşenleri taramak yerine yeni moleküler yapıların sıfırdan oluşturulmasını ifade eder (Devi vd., 2015). Bu yöntem, reseptör veya ligand bilgileri kullanılarak kimyasal yapıların oluşturulmasına dayanır (A Nicolaou vd., 2012; Cruz-Monteagudo vd., 2008; Nicolaou ve Brown, 2013; Perez-Castillo vd., 2018; Sánchez-Rodríguez vd., 2017). Moleküller hedef yapının 3B bağlanma bölgesine uyumlu hale getirilip uygun bağlayıcılarla birleştirilir. Avantajları arasında geniş kimyasal alan keşfi, yenilikçi bileşikler tasarımı ve maliyet-verimli ilaç geliştirme süreçleri yer alır, ancak en büyük zorluk moleküllerin sentetik erişilebilirliğidir (Schneider ve Fechner, 2005).

De novo ilaç tasarımı, reseptör-temelli veya ligand-temelli olabilir. Reseptör-temelli de novo tasarımda reseptörün aktif bölgesi analiz edilir ve ligand için etkileşim bölgeleri tanımlanır. Ligandlar genellikle hidrojen bağları, elektrostatik ve hidrofobik etkileşimlerle reseptöre bağlanır (Böhm, 1992; Clark vd., 1995; Danziger ve Dean, 1989; Gillet vd., 1995; Waszkowycz vd., 1994). Daha sonra bir kuvvet alanı kullanılarak fonksiyonel gruplar minimize edilir ve etkileşim enerjisi belirli bir eşik değerine dayanarak aktif bölge ile uygun olmayan gruplar elenir ve aday yapılar oluşturulur. Bu yapıların etkinlikleri reseptörün bağlanma bölgesi ile serbest bağlanma enerjisi üzerinde değerlendirilir (Liu vd., 1999; Luo vd., 1996; Pearlman ve Murcko, 1996; Zhu, Fan, vd., 2001; Zhu, Yu, vd., 2001). Reseptör yapısına dayalı de novo ilaç tasarım araçlarına örnek olarak LUDI (Böhm, 1992), PRO_LIGAND (Clark vd., 1995; Waszkowycz vd., 1994) ve HIPPO (Gillet vd., 1995) verilebilir.

Reseptöre dair 3B bilgi eksik olduğunda, homoloji modelleme yöntemi kullanılarak uygun bir hedef yapı elde edilebilir (Muhammed ve Aki-Yalcin, 2019). Reseptöre ait verinin olmadığı veya kristal yapının elde edilmesinin zor olduğu durumlarda, ligand yapısına dayalı ilaç tasarımı tercih edilir (Fischer vd., 2019; Wise vd., 2002). Bu yöntem, literatürdeki tarama ve yapı-etki ilişki çalışmalarına dayanarak uygulanır (Y. Wang vd., 2018). Ligandlar

ve ilaç benzeri biyolojik aktif moleküllere ilişkin bilgiler genellikle ChEMBL gibi veri tabanlarında bulunur (Gaulton vd., 2017).

Ligand-temelli tasarımda, bilinen ligandlardan oluşturulan farmakofor modeli yeni bileşiklerin tasarımında kullanılır. Bu model, psödo-reseptör oluşturmak veya benzerlik tasarımı yapmak için de uygundur (Waszkowycz vd., 1994). Farmakofor modeli, ortak bir bağlanma modunun varsayımına dayanır. Ligandların yapısal çeşitliliği, geliştirilen modelin kalitesini etkileyebilir; bu nedenle kantitatif yapı-etki ilişki modeli ile değerlendirme yapılabilir (Afantitis vd., 2011). Ligand-temelli de novo ilaç tasarımında kullanılan araçlar arasında TOPAS (Schneider vd., 2000), SYNOPSIS (Vinkers vd., 2003) ve DOGS (Hartenfeller vd., 2012) bulunmaktadır.

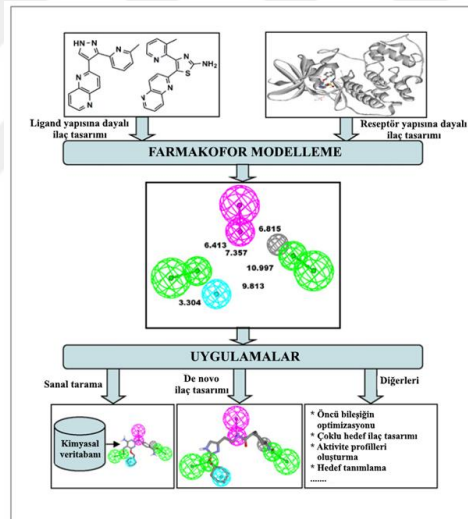
1.4.1.4. Farmakofor Modelleme

Farmakofor kavramı, ilk olarak 1909'da Ehrlich tarafından bir ilacın biyolojik aktivitesini sağlayan temel özelliklere sahip moleküler çerçeve olarak tanımlanmıştır (Paul vd., 2010). Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) ise farmakoforu, “Belirli bir biyolojik hedefle optimal supramoleküler etkileşimleri sağlamak ve biyolojik yanıt tetiklemek (veya engellemek) için gerekli olan sterik ve elektriksel özellikler bütünüdür.” şeklinde tanımlamıştır (Wermuth vd., 1998). Bu yaklaşım üzerinden oluşturulan farmakofor modelleri, öncü bileşiklerin tanımlanması ve optimizasyonu, yapı-selektivite verilerinin eldesi, *in silico* ligand aktivite profillerinin oluşturulması, bileşiklerin metabolizma yolları, ilaç etkileşimleri, yan etkiler ve toksisite tahminleri ve de novo ilaç tasarımı gibi çeşitli uygulamalarda etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Schuster, 2010; Van Drie, 2003; Walters vd., 1998). Son dönemlerde, çoklu hedeflere etki eden ilaçların gelişimi ile farmakofor modelinin, ilaç yeniden konumlandırma ve çok hedefli ilaç keşfi süreçlerinde polifarmakoloji tahmin etme konusundaki potansiyeli artış göstermektedir (Ashburn ve Thor, 2004; Liu vd., 2013; Ma vd., 2010).

Bir farmakofor modeli, aktif moleküllerin üst üste bindirilmesi ve aktivite için gerekli ortak kimyasal özelliklerin çıkarılmasıyla ligand yapısına dayalı veya ligand-reseptör etkileşimlerini araştırarak reseptör yapısına dayalı olarak oluşturulabilir (Şekil 1.133) (S.-Y. Yang, 2010). Modelleme sırasında hidrofobik merkezler, aromatik halkalar, hidrojen bağı donörleri/akseptörleri, katyonlar ve anyonlar gibi kimyasal özellikler dikkate alınarak yeni ligandların tasarımı yapılır. Reseptör-ligand etkileşimlerinde "polar pozitif," "polar negatif"

ve "hidrofobik" etkileşimlerin varlığı önemli kabul edilir (Şekil 1.134) (Giordano vd., 2022; Shin ve Seong, 2013).

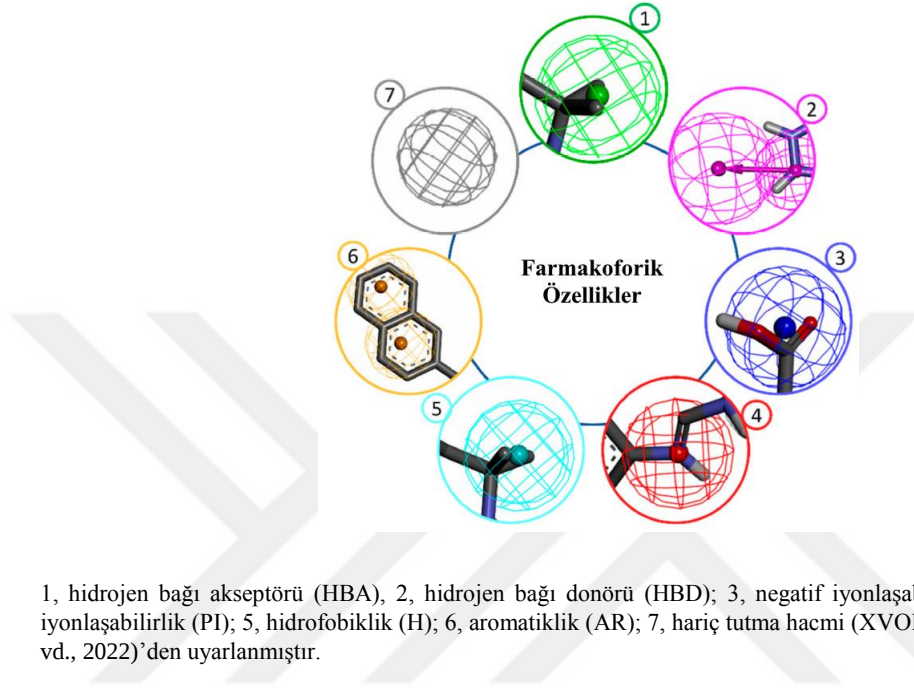
Farmakofor modeli metodolojisine bakıldığında genel olarak, aktif moleküllerin bir setinin üst üste çakıştırılması ve biyolojik aktiviteleri için gerekli ortak kimyasal grupların/özelliklerin belirlenmesi yoluyla ligand yapısına dayalı veya makromoleküler hedef ile ligandlar arasındaki olası etkileşim noktalarını araştırarak reseptör yapısına dayalı yaklaşımlar altında oluşturulabilir (Pautasso vd., 2014). Son yıllarda, reseptör tabanlı yöntemler, deneysel 3B hedef yapı bilgileri sayesinde daha fazla ilgi görmektedir (Wolber vd., 2008). Ayrıca, literatürde, reseptör tabanlı yöntemlerin ligand-tabanlı yöntemlere kıyasla ligand kemotiplerine daha az yanlı yaklaştığı, bağlanma bölgeleri hakkında bilgi sağladığı ve reseptör-ligand etkileşimlerinin analiz edilerek ligand optimizasyonuna olanak tanıdığı belirtilmiştir (Leach vd., 2010; Lu vd., 2018).



Şekil 1.133. Farmakofor modelleme yöntemi ve uygulama alanları

Ligand yapısına dayalı farmakofor modelleme yöntemi, makromoleküler hedef yapısına dair veri bulunmadığında tercih edilir ve bilinen aktif ligandların 3B yapılarından yararlanarak ortak kimyasal özelliklerin belirlenmesiyle yapılır. Bu yöntem, ligandların konformasyonel esnekliğini temsil eden bir alan oluşturmak ve birden fazla ligandın hizalanmasıyla ortak özellikleri belirlemek şeklinde iki temel adımdan oluşur. Günümüzde ligand-tabanlı farmakofor modeller oluşturabilmek için çeşitli sağlayıcılar tarafından geliştirilen HipHop (Barnum vd., 1996), HypoGen (Li vd., 2000), DISCO (Martin, 2000), GASP (Jones vd., 2000) GALAHAD (TriposInc, 2024.), PHASE (Dixon vd., 2006) ve MOE

(Chemical Computing Group ULC, 2024) gibi ticari ve akademik yazılımlar mevcuttur. Bu yazılımlar arasındaki farklar genel olarak ligandların esnekliğini yönetme ve moleküllerin hizalanması için kullanılan algoritmalarla ilgilidir (Dror vd., 2006; Poptodorov vd., 2006; Van Drie, 2004).



1, hidrojen bağı akseptörü (HBA), 2, hidrojen bağı donörü (HBD); 3, negatif iyonlaşabilirlik (NI), 4, pozitif iyonlaşabilirlik (PI); 5, hidrofobiklik (H); 6, aromatiklik (AR); 7, hariç tutma hacmi (XVOL))(Kaynak: (Giordano vd., 2022)'den uyarlanmıştır.

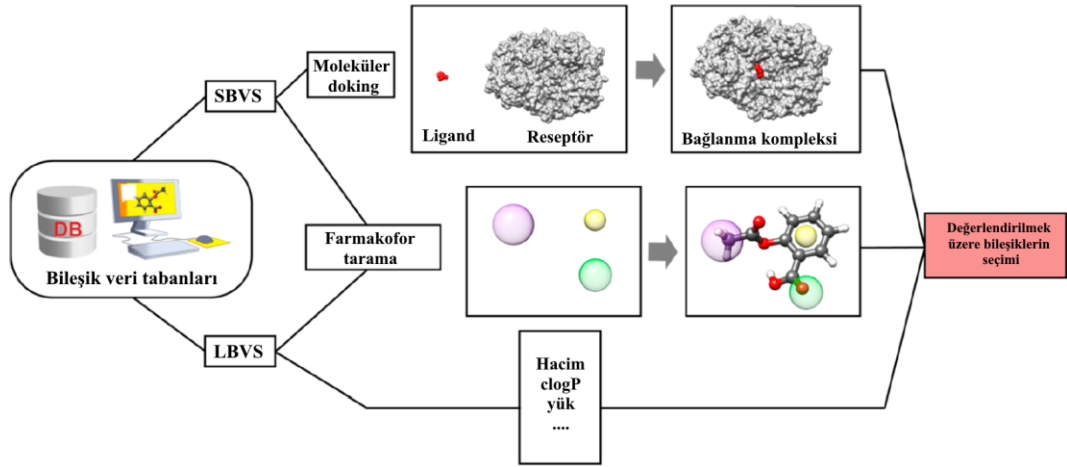
Şekil 1.134. Temel farmakoforik özelliklere ait kimyasal yapılar

Reseptör tabanlı farmakofor modelleme, makromoleküler hedefin veya makromolekül-ligand kompleksinin 3B yapısına dayanır ve makromolekül-ligand kompleksi tabanlı ve makromolekül tabanlı yaklaşımlar olmak üzere iki alt kategoriye ayrılır (Pautasso vd., 2014; S.-Y. Yang, 2010). Makromolekül-ligand kompleksi tabanlı yaklaşım, bağlanma bölgesinin yerini belirlemek ve ligand-hedef etkileşim noktalarını tanımlamak için kullanılır. LigandScout (Wolber ve Langer, 2005), Pocket v.2 (Chen ve Lai, 2006) ve GBPM (Ortuso vd., 2006) yazılımları bu yaklaşıma dayanır. Makromolekül tabanlı yaklaşım ise sadece hedef yapıya dayanır ve bağlanma bölgelerindeki olası etkileşim noktalarını analiz ederek ligandın reseptöre bağlanması için gerekli olan tamamlayıcı özellikleri tanımlar (Choudhury ve Narahari Sastry, 2019; Seidel vd., 2019; S.-Y. Yang, 2010). Bu yaklaşımların sınırlamalarını aşmak ve daha güvenilir sonuçlar elde etmek için, MD simülasyonu, moleküler kenetlenme çalışmaları, yüksek verimli tarama sistemleri ve makine öğrenimi gibi yöntemlerle birleştirilmeleri önerilmektedir. Bu tür çoklu stratejiler, ilaç keşfi sürecinde başarı olasılığını artırabilir (Giordano vd., 2022).

1.4.1.5. Sanal Tarama (Virtual Screening, VS)

Sanal tarama (Virtual Screening, VS), kimyasal veri tabanlarında mevcut moleküllerin biyolojik veya kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılması yöntemidir. IUPAC'a göre, VS, veri tabanındaki molekülleri belirli bir moleküler hedefe karşı biyolojik aktivite potansiyellerine göre sınıflandıran hesaplamalı bir yöntemdir (Martin vd., 2016). İlaç keşfinde yaygın olarak büyük ve çeşitli bileşik kütüphaneleri kullanılır (Kodadek, 2011).

VS, başlangıçta istenen etkiyi destekleyen veya ilaca benzer özelliklere sahip molekülleri seçer. Daha sonra, toksisite olasılığı taşıyan moleküller elenir. Aday ligandlar belirlenerek farmakokinetik özelliklerini (ADMET) iyileştirmek amacıyla optimize edilir (Nunes da Rocha vd., 2023; Zerroug vd., 2019) VS genellikle, ligand tabanlı sanal tarama (LBVS) ve yapı (reseptör) tabanlı sanal tarama (SBVS) olmak üzere iki ana strateji altında incelenir (Şekil 1.135) (Leonardo G Ferreira vd., 2015; Nunes da Rocha vd., 2023; Oprea ve Matter, 2004; Zerroug vd., 2019).



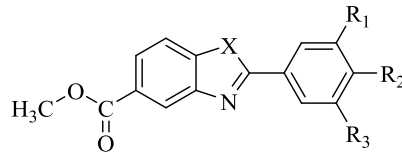
Şekil 1.135. SBVS ve LBVS yöntemlerine ait şema

LBVS yönteminde, bileşik serisinin ortak özellikleri belirlenip moleküler filtreler olarak veritabanlarına uygulanır. Bu sayede deneysel değerlendirme için seçilecek bileşikler belirlenirken, kimyasal alan daraltılır. Molinspiration (Jarrahpour vd., 2012; Molinspiration, 2024), OSIRIS Property Explorer (Jarrahpour vd., 2012), Molsoft (Molsoft, 2024) ve MoKa Molecular Discovery. (Milletti vd., 2007; MoKA, 2024) gibi yazılımlar bu amaçla yaygın olarak kullanılır (Inglese vd., 2006). Ayrıca, bilinen ligandların yapısal özellikleri ile

farmakofor modelleri oluşturulabilir; bu modeller biyolojik aktiviteyle ilişkili yapısal özellikleri içerir (Spitzer vd., 2010).

SBVS, iki molekülün stabil bir kompleks oluşturma potansiyelini tahmin eder ve genellikle moleküler hedefin 3B yapısının bilindiği durumlarda tercih edilir (Banegas-Luna vd., 2018) SBVS, aday ligandlar ile hedef protein arasındaki etkileşimin olasılığını değerlendirirken, moleküler kenetlenme en yaygın kullanılan tekniktir (Willett, 2006). SBVS, genel olarak proteinler, enzimler gibi reseptörler ile karbonhidratlar ve DNA gibi makromoleküller için uygulanabilir. SBVS’de hedefin hazırlanması, bileşik veri tabanının seçimi, moleküler kenetlenme ve moleküler kenetlenme sonrası analizi gibi aşamalar yer alır (Gangwal vd., 2015). Hazırlanan veri tabanı, hedef bağlanma bölgesinde moleküler kenetlenme işlemine tabi tutularak ve çeşitli algoritmalar üzerinden yüksek skor alan bileşikler potansiyel ligandlar olarak seçilir (Scior vd., 2012). Moleküler kenetlenme sonrası yüksek skor alan bileşikler seçilir ve moleküler kenetlenme sonrası analizi ile ligand-reseptör kompleksleri değerlendirilir (Jain ve Nicholls, 2008; Jorge Moura Barbosa ve Del Rio, 2012).

Bu doktora tez çalışması kapsamında, tasarlanan yeni metil (2-sübstitüefenil)-1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilat ve metil (2-sübstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat türevi bileşiklerin (Şekil 1.136) tasarımı, sentezi, kimyasal yapılarının ¹H NMR, ¹³C NMR, LC-MS, Kütle Spektroskopisi, IR Spektroskopisi kullanılarak aydınlatılması ve antikanser aktivitelerinin *in vitro* olarak LNCaP insan prostat adenokarsinomu, HepG2 insan hepatosellüler karsinomu ve A549 insan akciğer adenokarsinomu hücre hatlarında ve hTopo IIa enzim,ne bağlanma potansiyellerinin referans inhibitör etoposid varlığında araştırılması, *in silico* ortamda hTopo IIa enzimi ile öngörülen etkileşimlerinin kıyaslamalı olarak araştırılması ve ADMET özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



Şekil 1.136. Tez kapsamında sentezlenen benzimidazol ve benzoksazol halkasına sahip bileşikler

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Doktora Tez Kapsamında Sentezlenecek Bileşiklerin Tasarımı

Doktora tez çalışması kapsamında sentezlenecek bileşiklerin tasarımında, hTopo II α enzimi ile etkileşimlerini değerlendirmek amacıyla Protein Veri Bankası'ndan (Protein Data Bank, PDB) alınan Topo II α (PDB ID: 5GWK) enzimi üzerinde ön moleküler kenetlenme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda protein-ligand etkileşimleri detaylı bir şekilde analiz edilmiştir.

2.1.1. Proteinin hazırlanması

Öncelikle, 5GWK proteini yazılım içerisinde bulunan hazırlama modülü ile eksik/hatalı kısımları tespit edilerek düzeltilmiştir. Ardından CHARMM (Adopted Basis Newton Raphson, ABNR) algoritması yardımıyla protein minimizasyon işlemi tamamlanmıştır. Kristal yapının içerisinde bulunan ligandın (etoposid) konumlandığı bölgeler seçilerek tasarlanan bileşiklerle yapılacak doking işleminin gerçekleşeceği küre şeklinde aktif bölgeye ait çap ve koordinat değerleri belirlenir (Aktif bölgenin koordinatları:31,8637; -23,2363;-58,0491; Aktif bölgenin çapı: 10,5553)

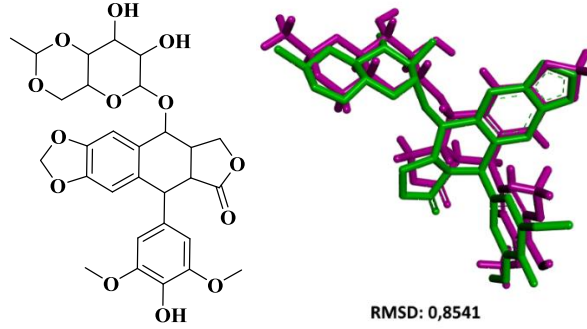
2.1.2. Ligandların Hazırlanması

Doktora tez kapsamında tasarlanan bileşikler ChemDraw Professional 2022 programı üzerinden çizilerek Discovery Studio 3.5 (Accelrys, 2012) programına aktarılmıştır. Ligandların en uygun konformasyonlarını belirlemek amacıyla ligand hazırlama modülü kullanılmıştır. Daha sonra protein minimizasyonunda kullanılan CHARMM (Adopted Basis Newton Raphson, ABNR) algoritması ile ligandların minimizasyon işlemi tamamlanmıştır (Momany ve Rone, 1992).

2.1.3. Moleküler Kenetlenme İşlemi

Moleküler Kenetlenme işleminin doğruluğunu ve valide edilebilirliğini kontrol etmek için kristal yapıdaki referans ligand etoposidhazırlık ve enerji minimizasyonu süreçlerinden geçirilerek CDocker yöntemiyle aktif bölgede yeniden kenetlenme işlemi

gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 10 pozisyon, 5GWK kristal yapısındaki ligandla üst üste çakıştırılarak RMSD değerleri hesaplanmıştır. Etoposid için RMSD değeri 0,8541 olarak bulunmuştur (Şekil 14).



Şekil 2.1. Etoposid (yeşil) ve kenetlenme sonrası en uygun konformasyon (pembe)

Daha sonra referansa ait en uygun konformasyon üzerinden elde edilen parametreler doğrultusunda CDocker yöntemi ile tasarlanan ligandların 5GWK proteini üzerinde moleküler kenetlenme işlemi gerçekleştirilmiştir.

2.2. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez, Saflaştırma İşlemleri ve Yapı Analizlerinde Kullanılan Gereçler

Doktora tezi kapsamında yapılan sentez işlemleri, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Bileşiklerin saflaştırılması amacıyla kolon kromatografisi yapılmış, SilicaGel 60 (Merck) kullanılmıştır. Reaksiyon ilerleyişini ve ürünlerin saflık derecelerini belirlemek için ince tabaka kromatografisi (İTK) yöntemi uygulanmıştır. Bu analizlerde, SilicaGel 60 GF254 ve Supelco HX20882570 alüminyum plaklar (Merck ve Millipore Sigma) kullanılmış, uygun çözücü sisteminde sürüklenme tamamlandıktan sonra plaklar açık havada kurutulmuştur. Lekelerin belirlenmesi için 254 ve 366 nm dalga boyundaki UV ışığı sağlayan Camag UV Lambası kullanılmıştır. Ek saflaştırma adımı olarak flash kolon kromatografisi uygulaması Harvard Üniversitesi Klinik ve Translasyonel Bilim Merkezi'nde gerçekleştirilmiş ve bu süreçte Advion Interchim Puriflash XS520 Plus 60 cihazı kullanılmıştır.

NMR analizleri için, sentezlenen bileşiklerin ^1H NMR spektrumları 400 ve 500 MHz frekansında, ^{13}C NMR spektrumları ise 126 MHz frekansında Varian Mercury High Performance Digital FT-NMR spektrometresi kullanılarak kaydedilmiştir.

Kütle analizleri, Elektrosprey İyonizasyonu (ESI) yöntemi ile Waters 2695 Alliance Mikromass ZQ LC/MS ve Advion Interchim Scientific Expression® CMS spektrometre cihazları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. LC analizleri Jasco LC Net II/ADC cihazı ile yapılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin erime noktası, MPM-H2 cihazı kullanılarak kapiller yöntemle belirlenmiş olup, değerler düzeltilmeden rapor edilmiştir.

2.3. Sentez, Saflaştırma ve Analiz İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler

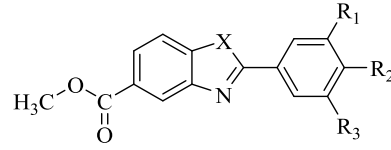
Bileşiklerin sentez işlemlerinde kullanılan kimyasal bileşikler şu şekildedir; 2,3-dikloro-5,6-disiyano-1,4-benzokinon (DDQ) (Aldrich), 2,5-dimetilbenzaldehit (Aldrich), 3,5-dimetilbenzaldehit (Ambeed), 3,5-dimetoksibenzenal (Ambeed), 3-amino-4-hidroksi benzoik asit (Aldrich), 3-bromobenzenal (Aldrich), 3-florobenzenal (Ambeed), 3-kloro-4-florobenzenal (Ambeed), 4-bromobenzenal (Aldrich), 4-bütilbenzenal (Ambeed), 4-etilbenzenal (Ambeed), 4-florobenzenal (Aldrich), 4-izobütilbenzenal (Ambeed), 4-izopropilbenzenal (Ambeed), 4-klorobenzenal (Aldrich), 4-metilbenzenal (Ambeed), 4-metoksibenzenal (Aldrich), 4-pentilbenzenal (TCI), 4-propilbenzenal (Ambeed), 4-*tert*-bütilbenzenal (Ambeed), dimetilsülfoksit- d_6 (DMSO- d_6) (Merck), diklorometan (DCM) (Carlo Erba), dietil eter (Carlo Erba), döterokloroform (CDCl_3) (Merck), etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (Riedel-de Haën), etil asetat (EtOAc , $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$) (Riedel-de Haën), kloroform (CCl_3) (Riedel-de Haën), metanol (CH_3OH) (Riedel-de Haën), n-hekzan (Merck), petrol eteri (Riedel-de Haën), potasyum karbonat (K_2CO_3) (Aldrich), sodyum bikarbonat (NaHCO_3) (Aldrich), sodyum hidroksit (NaOH) (Riedel-de Haën), sodyum metabisülfat (sodyum disülfat, sodyum piro sülfat, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) (Thermo Fischer Scientific), susuz sodyum sülfat (Na_2SO_4) (Riedel-de Haën), tiyonil klorür (SOCl_2) (Aldrich).

2.4. Tasarlanan Bileşiklerin Sentez ve Saflaştırma Yöntemleri

Doktora tezi çalışmaları kapsamında, ön moleküler kenetlenme çalışmaları ile tasarlanan, benzimidazol ve benzoksazol heterosiklik yapısı taşıyan iki ayrı seri bileşik sentezlenmiştir. Benzimidazol türevleri için öncelikle metil 3,4-diaminobenzoat bileşiği, ardından bu ara üründen türetilen metil (2-süstitüefenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksilat

türevleri (2a-2p), farklı sentez yöntemleri kullanılarak başarıyla sentezlenmiş ve bu bileşiklerin yapıları Çizelge 2.1' de ayrıntılı olarak belirtilmiştir. Benzoksazol türevleri için ise, ilk aşamada metil 3-amino-4-hidroksibenzoat bileşiği ve sonrasında bu ara üründen türetilen metil (2-süstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat türevleri (3a-3p) çeşitli sentez yöntemleri üzerinden başarıyla sentezlenmiş, bileşikler Çizelge 2.1'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşikler

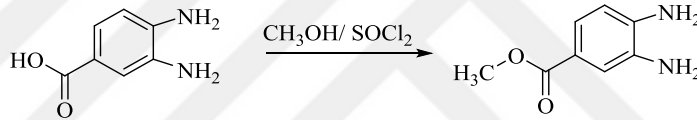


No	Bileşik	X	R ₁ (3-)	R ₂ (4-)	R ₃ (5-)
1	2a	NH	H	F	H
2	2b	NH	F	H	H
3	2c	NH	H	Br	H
4	2d	NH	Cl	F	H
5	2e	NH	H	CH ₃	H
6	2f	NH	H	C ₂ H ₅	H
7	2g	NH	H	<i>n</i> -C ₃ H ₇	H
8	2h	NH	H	<i>i</i> -C ₃ H ₇	H
9	2i	NH	H	<i>n</i> -C ₄ H ₉	H
10	2k	NH	H	<i>i</i> -C ₄ H ₉	H
11	2l	NH	H	<i>t</i> -C ₄ H ₉	H
12	2m	NH	H	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	H
13	2n	NH	H	OCH ₃	H
14	2o	NH	CH ₃	H	CH ₃
15	2p	NH	OCH ₃	H	OCH ₃
16	3a	O	H	F	H
17	3b	O	F	H	H
18	3c	O	H	Br	H
19	3d	O	Cl	F	H
20	3e	O	H	CH ₃	H
21	3f	O	H	C ₂ H ₅	H
22	3g	O	H	<i>n</i> -C ₃ H ₇	H
23	3h	O	H	<i>i</i> -C ₃ H ₇	H
24	3i	O	H	<i>n</i> -C ₄ H ₉	H
25	3k	O	H	<i>i</i> -C ₄ H ₉	H
26	3l	O	H	<i>t</i> -C ₄ H ₉	H
27	3m	O	H	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	H
28	3n	O	H	OCH ₃	H
29	3o	O	CH ₃	H	CH ₃
30	3p	O	OCH ₃	H	OCH ₃

2.4.1. Benzimidazol Heterosiklik Yapısı İçeren Bileşiklerin Sentez Yöntemleri

2.4.1.1. Metil 3,4-diaminobenzoat Bileşiğinin Sentezi (Yöntem A)

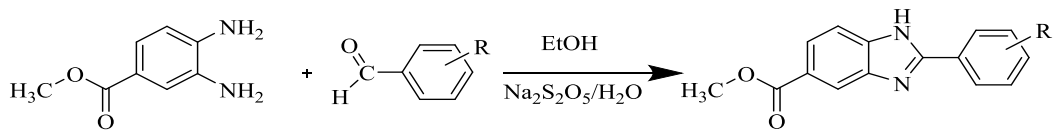
15 mL metanol içindeki 3,4-diaminobenzoik asit (1.00 g, 6.58 mmol, 1 ekivalan) çözeltisi 80 °C'ye kadar ısıtılır ve 10 dakika boyunca damla damla tiyonil klorür (0.72 mL, 9.80 mmol, 1,49 ekivalan) ilave edilir. Reaksiyon, 4 saat boyunca 80 °C'de geri çeviren soğutucu sistemi altında ısıtılır. 4 saatlik ısıtmanın ardından çözücü buharlaştırılarak reaksiyon karışımının su ve etil asetat ile ekstraksiyonu gerçekleştirilir. Etil asetat fazına geçirilen organik katman, sırasıyla sulu sodyum bikarbonat, tuzlu su ve su ile yıkanır; ardından susuz magnezyum sülfat altında kurutulur. Çözücü süzülür ve buharlaştırılır. Bu işlem sonucunda, kahverengi bir katı halinde 3,4-diaminobenzoik asit metil ester elde edilir (990 mg, %91,6 Verim) (Rf: 0.37 (Etil asetat/Hekzan 50:50) (Şekil 2.1) (Lee vd., 2012).



Şekil 2.2. Metil 3,4-diaminobenzoat bileşiklerinin sentez denklemi

2.4.1.2. Elde Edilen Metil (2-süstitüefenil)-1H-benzimidazol-5(6)-karboksilat Türevi Bileşiklerin Sentezi ve Saflaştırma Yöntemleri (Yöntem B)

Etanol (25 mL) içinde metil 3,4-diaminobenzoat (0,830 g, 5 mmol, 1 ekivalan) ve uygun benzaldehit (5 mmol, 1 ekivalan) karışımı, sulu Na₂S₂O₅ (1.42 g, 7.5 mmol, 1,5 ekivalan, 5 mL H₂O) çözeltisi ile 4-6 saat boyunca geri çeviren soğutucu altında 100 °C' de ısıtılır. Reaksiyon tamamlandığında, etanol vakum altında buharlaştırılır. Elde edilen kalıntı kloroform (CHCl₃, 2x15 mL) içinde çözülür; ardından su ile yıkanır. Birleştirilen organik fazlar, susuz Na₂SO₄ üzerinde kurutulur ve çözücü uçurulur. Elde edilen ham ürün etil asetatdan yeniden kristallendirilir ve bir gece boyunca vakum altında kurutulur (952 mg, %30-65 Verim) (Şekil 2.2) (Kamal vd., 2015).

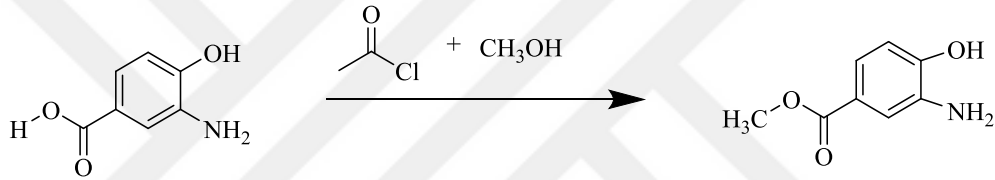


Şekil 2.3. Metil (2-süstitüefenilbenzimidazol)-5(6)-karboksilat bileşiklerin sentez denklemi

2.4.2. Benzoksazol Heterosiklik Yapısı İçeren Bileşiklerin Sentez Yöntemleri

2.4.2.1. Metil 3-amino-4-hidroksibenzoat Bileşiğinin Sentezi (Yöntem C)

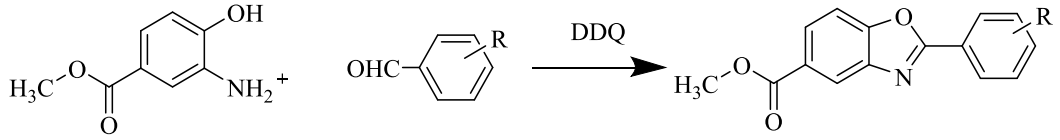
Bir buz banyosunda karıştırılan susuz metanole (30 mL) 10 °C'nin altında damla damla asetil klorür (42 mmol, 3 mL, 4.2 ekivalan) eklenir. Daha sonra 3-amino-4-hidroksibenzoik asit (1,5 g, 10 mmol, 1 ekivalan) eklenir. Karışım, oda sıcaklığında 2 gün boyunca karıştırılır. İTK (EtOAc/petrol eteri = 1:1) reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra MeOH, rotarievaporatörle ortamdan uzaklaştırılır. Karışıma 20 mL distile su ve K₂CO₃, pH = 10 olana kadar yavaş yavaş ilave edilir. Organik faz ayrılır, susuz Na₂SO₄ üzerinde kurutulur ve konsantre edilerek (990 mg, %80 verim) kahverengi bir katı elde edilir (R_f: 0.22 (EtOAc/petrol eteri = 1:1) (Şekil 2.3) (Jonckers vd., 2012).



Şekil 2.4. Metil 3-amino-4-hidroksibenzoat bileşiklerinin sentez denklemi

2.4.2.2. Elde Edilen Metil (2-süstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat Bileşiklerinin Sentezleri (Yöntem D)

Literatürde (Y. Zhang vd., 2021) verilen prosedüre göre, 20 mL metanol içinde çözünen metil 3-amino-4-hidroksibenzoat (0,5 g, 3 mmol, 1 ekivalan) ile uygun bir benzaldehit (3 mmol, 1 ekivalan) karışımı, bir balonda geri çeviren soğutucu altında 100 °C'de 1 saat kaynatılır. Isıtma işleminin ardından çözücünün buharlaştırılmasıyla elde edilen kalıntı, 30 mL DCM içinde tekrar çözülür. Ardından, 2,3-dikloro-5,6-disiyano-1,4-benzokinon (DDQ) (1,703 g, 7,5 mmol) eklenerek oda sıcaklığında 1 saat karıştırılır. Daha sonra karışım, DCM ile seyreltilir ve sırasıyla sulu Na₂S₂O₃ çözeltisi ve NaHCO₃ çözeltisi ile yıkanır. Birleştirilen organik fazlar, susuz Na₂SO₄ üzerinde kurutulur ve vakum altında konsantre edilir. Elde edilen ham ürün, katı metil (2-süstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat bileşiğini vermek üzere kolon kromatografisi veya flash kromatografisi kullanılarak saflaştırılır ve oluşan kristaller vakum altında kurutulur (%25-55 Verim) (Şekil 2.4).



Şekil 2.5. Metil (2-süstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat bileşiklerin sentez denklemleri

Sentez işlemleri sırasında, reaksiyonu izlemek ve elde edilen ham ürünlerin saflığını kontrol etmek amacıyla yapılan İTK uygulamasında ve saflaştırma amacıyla kullanılan kolon kromatografisi ve flash kromatografisinde yararlanılan çözücü sistemleri aşağıda verilmiştir:

İTK uygulaması

n-Hekzan: Etil asetat (50:50)

n-Hekzan: Etil asetat (2:1)

n-Hekzan: Etil asetat (75:25)

Etil Asetat: Petrol eteri (20:80)

Kolon Kromatografisi

Diklorometan (%100)

Diklorometan: Metanol (95:5)

Flash Kromatografisi

n-Hekzan: Etil asetat (50:50)

n-Hekzan: Etil asetat (2:1)

n-Hekzan: Etil asetat (20:80)

Diklorometan: Metanol (95:5)

2.5. Bileşiklerin Yapı Analizinde Kullanılan Analitik Teknikler

Bileşiklerin kimyasal yapılarının ve sistematik isimlerinin oluşturulması amacıyla ChemDraw Professional (22.2.0.3300, PerkinElmer Informatics, Inc.) profesyonel yazılımından yararlanılmıştır.

2.5.1. Sentezlenen Bileşiklerin ¹H NMR Spektral Analizleri

Spektral yorumlama için MestReNova x64 yazılımı kullanılmıştır. Tüm kimyasal kaymalar, iç standart olarak tetrametil silan (TMS), DMSO-*d*₆ veya CDCl₃ kullanılarak δ ölçeğinde verilmiştir. Bileşiklere ait ¹H NMR spektrumu sinyalleri ¹H NMR (spektrometre

frekansı, çözücü) ppm (proton sayısı, yarıma sayıları, varsa eşleşme (kapling) sabiti J , ilgili H atomu ataması) şeklinde belirtilmiştir. J sabiti en yakın 0.1 Hz'e kadar Hertz cinsinden verilmiş olup, kimyasal kaymalar (δ) milyon başına parça (İngilizce: parts per million, ppm) olarak belirtilmiş ve çözücü piki iç standart olarak kullanılmıştır. Sinyallere ait yarımlar s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kuartet, m= multiplet, dd= dubletlerin dubletleri, dt = tripletlerin dubletleri şeklinde belirtilmiştir.

DMSO- d_6 veya $CDCl_3$ kullanılarak hazırlanan numune çözeltilerinin 1H NMR spektrumlarında, çözücü piki olarak döterolanmamış DMSO için 2.50 ppm'de pentet pikler ($J_{HD}=1.9Hz$) ve DMSO- d_6 içerisinde yer alan H_2O için 3.30-3.35 ppm arasında pikler gözlemlenmiştir. 7.24- 7.26 ppm'de gözlemlenen singlet pik ise döterolanmamış $CHCl_3$ 'ten ve 1.55- 1.6 ppm'de gözlenen pik $CDCl_3$ 'teki H_2O moleküllerinden kaynaklanmaktadır.

Bileşiklerin 1H NMR spektrumları öncelikle sadece döteryumlu çözücüler kullanılarak elde edilmiştir. Ancak, benzimidazol halkasında meydana gelen tautomerik değişimlerden kaynaklanan sorunlar nedeniyle bazı maddelerde net sonuçlar alınamamıştır. Bu nedenle spektrumlar bir damla trifluoroasetik asit (TFA) ilavesiyle kaydedilmiştir. TFA'nın eklenmesi, benzimidazol halkasında bulunan azot atomlarının protonlanmasını sağlamış ve bu sayede yapı, yüksek konjugasyon etkisiyle daha kararlı hale gelmiştir. Sonuç olarak, yapıda yer alan tüm protonlara ait sinyaller spektrumda görünür hale gelmiştir.

Sentezlenen benzimidazol türevi bileşiklerin 1H NMR spektrumları incelendiğinde; benzimidazol halkasının 5. konumuna bağlı olan metil esterinin CH_3 protonları 3,90- 4,00 ppm arasında singlet olarak, benzimidazol halkasında yer alan azot atomuna ait H protonu genel olarak 12,50- 13,50 ppm ve aromatik protonlar 6,7-8,1 ppm arasında gözlenmiştir. Benzoksazol türevi bileşiklerin 1H NMR spektrumları incelendiğinde; benzoksazol halkasının 5. konumuna bağlı olan metil esterinin CH_3 protonları 3,90- 4,00 ppm arasında singlet olarak gözlenirken, aromatik protonlar 7,4-8,5 ppm arasında gözlenmiştir.

2.5.2. Sentezlenen Bileşiklerin ^{13}C NMR Spektral Analizleri

Spektral yorumlama için MestReNova x64 yazılımı kullanılmıştır. Tüm kimyasal kaymalar, iç standart olarak DMSO- d_6 veya $CDCl_3$ kullanılarak δ ölçeğinde verilmiştir. Bileşiklere ait ^{13}C NMR spektrumlarında ölçülen sinyaller ^{13}C NMR (spektrometre frekansı, çözücü) ppm (ilgili C atomu ataması) şeklinde belirtilmiştir.

^1H NMR'da olduğu gibi çözücü piki olarak tamamen dötörolanmamış çözücülerden kaynaklanan sinyaller ^{13}C NMR'da da gözlenir. DMSO- d_6 'nın ^{13}C kimyasal kayması septetler şeklinde 39,52 ppm'de görülürken, CDCl_3 'te 77,16 ppm'de bir triplet çözücü piki gözlenmektedir.

Benzimidazol ve benzoksazol yapılarına ait ^{13}C NMR spektrum verileri incelendiğinde, her iki çekirdeğin karbon atomlarının benzer kimyasal kaymalar sergilediği görülmüştür. Her iki yapıda bulunan karbonil grubu ($\text{C}=\text{O}$) 165-167 ppm aralığında kimyasal kayma göstermiştir. Ancak, benzimidazol halkasında C2 pozisyonundaki karbon atomu genellikle 150-157 ppm arasında kaymalar gösterirken, benzoksazol halkasında C2 karbonu daha çok kaymaya uğrayarak 160-164 ppm civarında yer aldığı gözlenmiştir. Benzimidazol yapısındaki C7a karbonu 135-153 ppm arasında kayma gösterirken, benzoksazol yapısındaki C7a karbonu 153 ppm civarında kaymalar göstermiştir. Aromatik halka üzerindeki fenil halkasına bağlı karbon atomları (özellikle C3', C5', C2', C6') her iki yapıda da genellikle 120-130 ppm civarında gözlenmiştir. Ayrıca, her iki çekirdeğin 5. konumunda bulunan ester yapısındaki metil grubunda yer alan karbon atomu yaklaşık 52-56 ppm'de kayma göstermektedir.

2.5.3. Sentezlenen Bileşiklerin Kütle Spektral Analizleri

Sentezlenen bileşiklere ait Kütle Spektrometresi analizlerinde Elektrosprey İyonizasyonu (ESI) yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemle buharlaştırılmış bileşikler kütle spektrometresinin iyonizasyon odasına geçtiğinde, yüksek enerjili elektronlarla bombalanarak organik molekülden bir elektronu çıkarır ve böylece pozitif bir iyon oluşturur. Bu iyon, moleküler iyon olarak adlandırılır ve genellikle M^+ veya M^+ şeklinde gösterilir. ESI yönteminde pozitif mod kullanıldığında, molekül bir proton (H^+) alarak iyonize olur ve bu iyon genel olarak $[\text{M}+\text{H}]^+$ olarak ifade edilir. Bu durumda, protonun kütlesi (1 Da) nedeniyle iyonun gözlemlenen kütlesi molekül ağırlığından bir birim fazla olur. Ayrıca bazı spektrumlarda $\text{M}^++\text{H}+1$ piki ise, moleküldeki ^{13}C izotopunun (tüm karbon atomlarının %1,11'ini oluşturur) veya ^2H izotopunun (hidrojen atomlarının yaklaşık %0,015'ini oluşturur) varlığından kaynaklanmaktadır (Soderberg, 2012). Elde edilen spektral verilere göre birçok bileşikte M^+ moleküler iyon piklerinin yanı sıra M^++1 pikleri tespit edilmiştir.

Klor, brom ve kükürt içeren bileşiklerde ise hem klora (doğal bolluk oranları yaklaşık %75 ^{35}Cl ve %25 ^{37}Cl) hem broma (bolluk oranları yaklaşık %50 ^{79}Br ve %50 ^{81}Br) ait

izotoplar için kolaylıkla ayırt edilebilir ve doğal bolluklarıyla orantılı şiddette $M^{+}+2$ ve $M^{+}+4$ pikleri belirlenmiştir.

ESI sırasında, bazı moleküller proton yerine Na^{+} , K^{+} ve NH_4^{+} katyonları gibi iyonlarla etkileşime girerek, öncü iyonun hem kendi bileşen atomlarını hem de bu katyonlardan gelen ek atomları içeren bir iyon oluşturur. Bu durumda $M^{+}+23$ (Na), $M^{+}+39$ (K), $M^{+}+41$ (CH_3CN) ve $M^{+}+18$ (H_2O) pikleri gözlemlenmektedir (Murray vd., 2013)

2.5.4. Sentezlenen Bileşiklerin Likit Kromatografi Analizleri

Likit Kromatografisi/ Kütle Spektrometrisi (LC/MS) analizi, Agilent 1260 Infinity HPLC/UV ($\lambda = 254$ nm) sistemi ile bir Agilent 6130 kütle spektroskopisi dedektörü veya bir Advion CMS-1200 kütle spektroskopisi dedektörü ile donatılmış bir JASCO LC-4000 HPLC kullanılarak Harvard Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik ve Translasyonel Bilim Merkezi'ne ait araştırma laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşikler, 254 nm dalga boyunda ve >%98 saflıkta elde edilmiştir.

HPLC (Metot, General-B5-1mL, Harvard Üniversitesi/BIDMC) 10 dakikalık bir gradyan yöntemiyle 5:95 v/v su: asetonitril kullanılarak, 5 μ m partikül boyutuna sahip 250 x 4.6 mm Shimadzu LC-2030C Plus C18 Rapid Resolution kolonunda gerçekleştirilmiştir. Analiz edilen her bir bileşik için enjeksiyondan tespit anına kadar geçen süreyi ifade eden alıkonma veya tutunma zamanı (Retention time, t_R) değerleri verilmiştir.

2.5.5. Sentezlenen Bileşiklerin Erime Noktası Tayinleri

Bileşiklere ait erime noktaları, MPM-H2 cihazı kullanılarak kapiller yöntem ile belirlenmiştir.

2.5.6. Sentezlenen Bileşiklerin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) Spektral Analizleri

IR spektroskopisi, Perkin Elmer Spectrum IR cihazı kullanılarak, elmas ATR modülü ile ve her spektrum için 16 tarama ile 500– 4000 cm^{-1} bölgesinde, 4 dalga sayısı/ cm^{-1} rezolüsyonunda gerçekleştirilmiştir. Absorpsiyon maksimumları (ν_{max}) dalga sayısı (cm^{-1}) cinsinden rapor edilmiştir.

Elde edilen IR spektral veriler, benzimidazollere ait spektrumların 3300-2500 cm^{-1} aralığında güçlü ve geniş bantlar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu bulgu, benzimidazol yapısının intermoleküler N-H...N hidrojen bağları yoluyla polimerik bir etkileşim oluşturduğunu düşündürmektedir (Arslan, 2007; Xavier vd., 2011). Literatürde, heterosiklik bileşiklerde N-H gerilme bantlarının genellikle 3200–2700 cm^{-1} aralığında yer aldığı bildirilmiş olup (Lin-Vien vd., 1991), N-H gerilme bantlarında gözlenen maviye kaymanın intermoleküler hidrojen bağlanmasından kaynaklandığı ifade edilmiştir (Xavier vd., 2011). Çalışmamızda da bileşiklere ait N-H gerilme bantları 3300 cm^{-1} civarında gözlenmiştir. C-H gerilimleri 3002-2999 cm^{-1} aralığında gözlemlenmiştir. Ester grubuna ait C=O gerilimi 1686-1691 cm^{-1} aralığında, benzimidazol halkasına ait N-H eğilimi ve Ar-C=C- gerilimleri ise 1428-1609 cm^{-1} aralığında kaydedilmiştir. Ester grubuna ait C-O gerilimi 1216-1283 cm^{-1} aralığında bulunmuş, benzimidazol türevlerine bağlı farklı aromatik halkalara özgü gerilimler, örneğin Ar-F gerilimi 1162-1215 cm^{-1} , Ar-Br gerilimi 1065 cm^{-1} ve Ar-Cl gerilimi 1090 cm^{-1} şeklinde gözlemlenmiştir. Benzoksazol halkasına bakıldığında tüm bileşiklerde görülen karakteristik sinyaller görülmektedir. C-H gerilim sinyalleri genellikle 3025–2840 cm^{-1} arasında görülmüştür. Ester C=O gerilimi, tüm bileşiklerde 1709–1725 cm^{-1} aralığında net bir pik olarak kaydedilmiştir. Aromatik C=C- ve C=N gerilimleri, 1578–1684 cm^{-1} aralığında yoğun bantlar vermiştir. Süstitüe aril gruplarına bağlı, Ar-F (1215–1221 cm^{-1}), Ar-Br (1070 cm^{-1}) ve Ar-Cl (1088 cm^{-1}) gibi halojenli yapılara ait gerilim sinyalleri gözlemlenmiştir. Aromatik eter C-O gerilimi, metoksi substitüenti bulunan bileşiklerde 1206–1261 cm^{-1} arasında olduğu tanımlanmıştır.

Tüm spektrumlarda gözlenen ortak absorpsiyon pikleri aşağıda sunulmuştur.

- 3385-3252 cm^{-1} : N-H gerilim bandı,
- 3188-3027 cm^{-1} : sp^2 C-H gerilim bandı,
- 2980 -2850 cm^{-1} : sp^3 C-H gerilim bandı,
- 1730 – 1710 cm^{-1} : Aril esterler için C=O gerilim bandı
- 1650-1600 cm^{-1} : C=C (Ar) gerilim bantları,
- 1600-1550 cm^{-1} : C=N gerilim bandı,
- 1300-1100 cm^{-1} : Aril esterler için C-O gerilim bandı
- 1480-1350 cm^{-1} : sp^3 C-H eğilim bandı,
- 1250-1100 cm^{-1} : Ar – F gerilim bandı
- 1100-1035 cm^{-1} : Ar – Cl gerilim bandı
- 1075-1030 cm^{-1} : Ar – Br gerilim bandı
- 900-600 cm^{-1} : Ar-H düzlem dışı eğilim bantları

2.6. *In Vitro* Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.6.1. Hücre Kültürü Çalışmaları

Doktora tezi kapsamında sentezlenen moleküllerin sitotoksosite çalışmaları Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında Doç. Dr. Yalçın ERZURUMLU'nun koordinatörlüğünde gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada sağlıklı insan embriyonik böbrek hücre hattı 293T, insan prostat adenokarsinomu hücre hattı LNCaP, insan hepatosellüler karsinomu hücre hattı HepG2 ve insan akciğer adenokarsinomu hücre hattı A549 hücre hattından faydalanılmıştır. LNCaP hücreleri 10% fetal sıgır serumu (FBS) ve 2 mM L-glutamin içeren Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 besi ortamı içerisinde konvansiyonel hücre kültürü şartları olan 37 °C derecede %5 CO₂ varlığında büyütülmüştür. 293T, HepG2 ve A549 hücre hatları ise 10% fetal sıgır serumu (FBS) ve 2 mM L-glutamin içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Media) besi ortamı içerisinde konvansiyonel hücre kültürü şartları olan 37 °C derecede %5 CO₂ varlığında kültüre edilmiştir. Kültür çalışmalarında hücrelerden elde edilen yanıtları etkilediğinden herhangi bir antibiyotik ilavesi kullanılmamıştır. Hücrelerin mikoplazma içermediği MycoAlert™ kiti kullanılarak rutin olarak değerlendirilmiştir.

2.6.1.1. WST-1 aracılı sitotoksosite testleri

Geniş ölçekli yüksek verimli bileşik taramalarında sıklıkla kullanılan formazan bazlı testler (MTT, MTS, XTT ve WST-1), seçilen kimyasal bileşikle belirli bir inkübasyon süresinin ardından optik absorbans plaka okuyucular aracılığıyla hayatta kalan hücre sayısını ölçen biyokimyasal testlerdir (Bácskay vd., 2017; Sazonova vd., 2022).

Hücre ölümünü ölçmek için yaygın olarak kullanılan MTT testi, MTT boyasında yer alan 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromidin tetrazolyum yapısının indirgenerek renkli bir formazan ürünü oluşturması esasına dayanır. Pozitif yüklü olan MTT boyası, hücre zarından geçerek hücre içine alınır ve burada oksidoredüktazlar tarafından kataliz edilen kimyasal reaksiyon gerçekleşir. Hücrenin oksidatif durumu ve mitokondriyal solunum zinciri bu dönüşüm için kritik öneme sahiptir (Berridge vd., 2005; Mosmann, 1983). XTT, MTS ve WST-1-8 testleri ise MTT'nin geliştirilmiş versiyonlarıdır. Bu testlerde kullanılan bileşikler negatif yüklü olduğundan hücre zarından doğrudan geçemezler ve

tetrazolyumun renkli formazan ürününe redüksiyonunu sağlamak için elektronları sitoplazma veya plazma zarından taşıyan bir ara elektron akseptörüne ihtiyaç duyarlar (Riss vd., 2016).

Sentezlenen moleküllerin sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla WST-1 ajanı kullanılarak hücre canlılık testleri gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda 96 kuyucuklu hücre kültür kaplarına 293T, LNCaP, HepG2 ve A549 hücreleri 10.000 hücre/kuyucuk konsantrasyonunda ekimi gerçekleştirilmiş ve hücreler 24 saat kültür şartlarında inkübe edilmiştir. Hücreler kültür kabı zeminine tutunduktan ve özgün morfolojilerini kazanmasını takiben DMSO içerisinde çözündürülerek hazırlanan etkinliği test edilecek bileşikler 0,5, 12,5, 37,5, 45, 65, 87,5 ve 100 μ M final konsantrasyonda olacak şekilde hücrelere 48 saat uygulanmıştır. Kontrol uygulaması olarak hücrelere çözücü uygulaması gerçekleştirilmiştir. 48 Saatlik süre sonunda WST-1 premix (Takara WST-1 premix # MK400) kullanılarak spektrofotometre tabanlı devam analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda üretici firmanın önermiş olduğu protokol adımları takip edilerek tüm örnekler 2 teknik tekrar ve 3 biyolojik tekrar seti ile çalışılmıştır. IC₅₀ değerlerinin hesaplanması için GraphPad Prism Version 8.0 programından faydalanılmıştır.

2.6.2. hTopo II α ELISA Testi

Doktora tezi kapsamında sentezlenen moleküllerin hTopo II α enzim inhibisyonuna yönelik çalışmaları Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında Dr. Öğr. Üyesi Uğur KARAGÖZ'ün koordinatörlüğünde gerçekleştirilmiştir.

Enzim bağlantılı immünosorbent testi (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) yöntemi kullanılan bu çalışmada, hTopo II α 'nın kantitatif tespiti için tasarlanmış Topo II α ELISA kiti (#E6652Hu BT-LAB, Shanghai Korain Biotech, Shanghai, China) kullanılmıştır.

Çalışmanın temel prensibi, hTopo II α antikoru ile önceden kaplanmış plakadaki kuyucuklara örnekte bulunan hTopo II α 'nın bağlanmasıyla başlamaktadır. Ardından biyotinlenmiş İnsan hTopo II α antikoru eklenerek, örnekteki hTopo II α ile etkileşim sağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş antikorlara bağlanır. İnkübasyon sonrasında, bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama tamponu ile uzaklaştırılır. Devamında substrat çözeltileri eklenir ve oluşan renk değişimi, örnekteki hTopo II α miktarına orantılıdır.

Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisi eklenerek sonlandırılır ve absorbands, 450 nm dalga boyunda ölçülür.

Kitte bulunan tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun olarak hazırlanmış ve kullanımdan önce oda sıcaklığına getirilmiştir. Standartlar ve numuneler, her bir kuyucuğa üç kez olacak şekilde uygulanmıştır. Kuyucuklara sırasıyla 50 µL standart çözeltisi, ardından hazırlanan numunelerden 40 µL ve 10 µL hTopo IIα antikoru eklenmiştir. Sonra, boş kontrol kuyusu hariç tüm numune ve standart kuyularına 50 µL Streptavidin-HRP eklenmiştir. Plaka 37 °C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, bağlanmamış Streptavidin-HRP'yi uzaklaştırmak için plaka yıkama tamponu ile 5 kez yıkanmıştır.

Her bir kuyuya sırasıyla 50 µL substrat çözeltisi A ve ardından 50 µL substrat çözeltisi B eklenmiş, plaka 37 °C'de karanlık bir ortamda 10 dakika inkübe edilmiştir. İşlemin sonunda, her bir kuyuya 50 µL durdurma çözeltisi eklenmiş ve bir mikropilaya okuyucusu kullanılarak 450 nm dalga boyunda optik yoğunluk (OD) değerleri ölçülmüştür.

Standart eğri oluşturulması için her bir standartın ortalama OD değeri düşey (Y) eksenine, bilinen konsantrasyon değerleri (4000, 2000, 1000, 500, 250 ve 0 ng/L) ise yatay (X) eksenine yerleştirilmiştir. Bu noktalar kullanılarak grafik üzerinde en iyi uyum eğrisi çizilmiştir. Elde edilen denklem, her bir numunenin absorbands ortalamalarından hareketle, ortamda kalan bağlanmamış hTopo IIα konsantrasyonlarının hesaplanmasında kullanılmıştır.

2.7. Sentezlenen Bileşiklerin Moleküler Kenetlenme Çalışmaları

3.15 Å rezolüsyona sahip etoposid referans ligandıyla kompleks oluşturmuş hTopo IIα enzimine ait kristal yapı (PDB: 5GWK) (Wang vd., 2017) PDB'den indirilmiştir (Berman vd., 2000; Burley vd., 2019). Moleküler kenetlenme çalışmaları için, tasarlanan moleküller ChemDraw Professional (22.2.0.3300, PerkinElmer Informatics, Inc.) kullanılarak oluşturulmuş ve moleküllerin 3B yapıları tanıtılmıştır.

Çalışma, Windows-x64 platformunda kullanılan Maestro versiyon 14.1.138, MMshare Versiyon 6.7.138, Sürüm 2024-3 yazılımı (Schrödinger, 2024b) yazılımı aracılığıyla gerçekleştirilmiştir.

2.7.1. Proteinin Hazırlanması

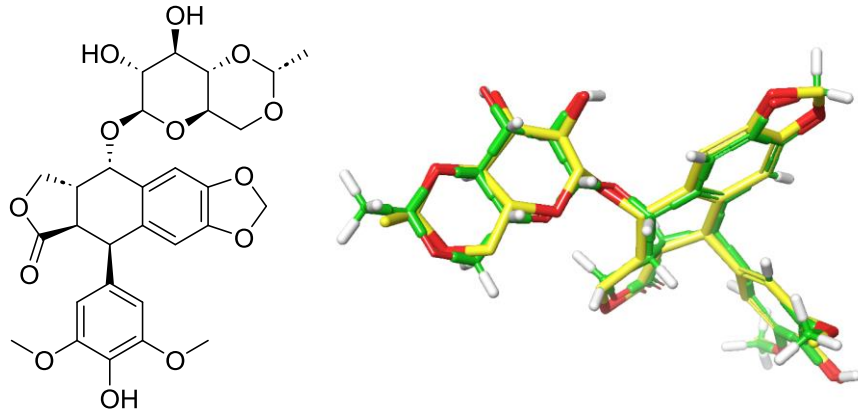
PDB'den indirilen 5GWK kodlu hTopo II α enzimine ait kristal yapı, Maestro Schrödinger yazılımında yer alan Protein Hazırlama Sihirbazı (İng. Protein Preparation Wizard) kullanılarak ön işleme tabi tutulmuştur (Schrödinger, 2024a). H-bağı atamaları, pH değeri 7.0 olan PROPKA ile optimize edilmiştir (Rostkowski vd., 2011). Protein yapısı, ağır atomlar için 0.30 Å RMSD varsayılan kısıtlamasıyla OPLS4 kuvvet alanı parametreleri kullanılarak minimize edilmiştir (Lu vd., 2021). Olası bağlanma bölgesi, 5GWK kristal yapısı içerisinde yer alan etoposid molekülünün merkezi reseptör sekmesinde seçili olacak şekilde kapsayıcı kutu içinde sınırlandırılmıştır. Kübik şeklindeki bağlanma bölgesinin bir kenar uzunluğu 20 Å olarak belirlenmiştir.

2.7.2. Ligandların Hazırlanması

hTopo II α enzimi ve DNA bağlanma bölgesindeki fizyolojik koşulları taklit etmek amacıyla Schrödinger Suite 2024–2 LigPrep modülü ile hazırlanan ve OPLS4 kuvvet alanı ve yükleriyle oluşturulmuş ve hazırlanmıştır. Tüm olası protonasyon ve iyonizasyon durumları pH 7,0 $\pm$ 2,0'de üretilmiştir. Her ligand için maksimum 32 stereoizomer sınırı oluşturulmuştur.

2.7.3. Moleküler Kenetlenme İşlemi

Moleküler kenetlenme çalışmaları Schrödinger Yazılımının GLIDE (Grid-based Ligand Docking with Energetics) modülü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ligandlar, hazırlanan bağlanma bölgesine "Ekstra Hassasiyet Modu" (XP) kullanılarak ve her ligand için on adet poz üreterek moleküler kenetlenme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bağlanma yöntemi, bilinen inhibitör etoposidin 0,398 Å RMSD (root mean square deviation, kök ortalama kare sapması) değeriyle bağlanmasıyla doğrulanmıştır. Elde edilen pozlar, moleküler bağlanma enerjilerinin validasyonu amacıyla daha ileri bir hesaplama yöntemi olan Prime modülünde yer alan MM-GBSA (Molecular Mechanics-Generalized Born Surface Area) minimizasyon adımına tabi tutulmuştur (varsayılan ayarlar, ligand çevresindeki 5 Å içinde kalan kalıntıları esnek olarak kabul etmiştir).



Şekil 2.6. Etoposid (sarı) ve doking sonucu bulunan en uygun konformasyon (yeşil)

Enzim aktif bölgesindeki bileşiklerin bağlanma afinitelerini ve en iyi hizalanmalarını tahmin etmek için, ligandlar tarafından oluşturulan hidrojen bağları ve pi etkileşimleri ile çevreleyen amino asitler incelenmiş ve glideXP ve MMGBSA ΔG Bağlanma skorları kullanılmıştır.

2.8. Sentezlenen Bileşiklerin *In Silico* ADME/Toksisite (ADMET) ve İlaça Benzerlik Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Klinik çalışmaların çoğu test edilen ilaç adaylarının zayıf farmakokinetik ve toksisite özelliklerinden dolayı başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Bu nedenle, pahalı deneysel prosedürlerden önce sentezlenen bileşiklerin ADMET özelliklerinin tahmini, başarılı adayların seçiminde önemli bir yere sahiptir. *In silico* ADMET hesaplamaları, yapı-aktivite ilişkilerini anlamak, ilaç metabolizmasını ve farmakokinetik özelliklerini tahmin etmek amacıyla moleküler modelleme çalışmaları kapsamında yaygın olarak kullanılan bir araçtır (Ferreira ve Andricopulo, 2019).

Moleküler kenetlenme çalışmaları ile hedef ile potansiyel etkileşimleri incelenen doktora tez çalışması kapsamında sentezlenen moleküllerin ilaç benzerliği (drug-likeness) özelliklerini belirlemek için ADMETLab 3.0 aracı kullanılarak ADME analizleri gerçekleştirilmiştir (Dong vd., 2018; Fu vd., 2024). Analiz edilen özellikler arasında moleküllere ait çeşitli fizikokimyasal parametreler (Molekül ağırlığı, M_A ; hidrojen bağı alıcısı sayısı, n_{HA} ; hidrojen bağı vericisi sayısı, n_{HD} ; dönebilen bağı sayısı, n_{Rot} ; molekülde yer alan halka sayısı, n_{Ring} ; toplam polar yüzey alanı, $TPSA$; partisyon katsayısı, $logP$; suda çözünürlük, $LogS$; Lipinski'nin beş kuralı (Molekül ağırlık <500 g/mol, $LogP <5$, $n_{HD} \leq 5$, $n_{HA} \leq 10$) (Lipinski vd., 1997), Veber kurallarına uygunlukları ($TPSA <140 \text{ \AA}^2$, $n_{Rot} \leq 10$)

(Veber vd., 2002) ve QED (İlaç olabilirlik skoru, Quantitative Estimate of Drug-likeness) gibi ilaca benzerliklerinin değerlendirilmesine ek olarak, emilim parametreleri (Caco-2 Geçirgenliği, Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) Geçirgenliği, P-glikoprotein (Pgp) İnhibitörü, P-glikoprotein (Pgp) Substratı, kan-beyin-bariyeri (KBB) penetrasyonu yer almaktadır. Bir başka parametre olarak, ilaçların hedef makromoleküllere taşınmasında önemli adımlardan biri olan insan bağırsak absorpsiyon (Human intestinal absorption HIA) potansiyellerini değerlendirmek amacıyla ADMET-AI çevrimiçi aracı üzerinden sentezlenen bileşiklerin HIA (Human Intestinal Absorption) değerleri hesaplanmıştır (Swanson vd., 2024).

Sitokrom P450 (CYP) enzimleri, birçok ilacın faz I metabolizmasında kritik rol oynar (Wilkinson, 2005). CYP inhibisyonu veya indüksiyonu, birlikte kullanılan ilaçların plazma konsantrasyonlarında değişikliklere yol açarak istenmeyen etkilere veya etkinlik kaybına neden olabilir (Backman vd., 1999; Ducharme vd., 1997; SoRelle, 1998; Villikka vd., 1997). Bu durum, hasta sağlığını ve ilaç geliştirme süreçlerini olumsuz etkileyebilir. Bu nedenle, potansiyel ilaç-ilac etkileşimlerinin erken tespiti büyük önem taşır. İlaçları metabolize eden enzimlerin karaciğerde üretilmesi nedeniyle, ilaç metabolizmasının büyük bir kısmı bu organda gerçekleşir. Yapılan çalışmalarla insan karaciğer mikrozomal (HLM) stabilitesinin, bir bileşiğin metabolik klerensiyle yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (Kwon, 2001). Doktora tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin, ADMETLab 3.0 çevrimiçi aracı kullanılarak CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, CYP2B6 ve CYP2C8 enzimlerine substrat veya inhibitör olma potansiyelleri ile HLM stabiliteyi değerlendirilmiştir (Fu vd., 2024). Mikrozomlar, hepatositlerin düz endoplazmik retikulumundan türeyen veziküllerdir ve metabolize edici enzimlerin ana yeridir. Mikrozomal analiz, Sitokrom P450 (CYP) aracılı metabolizma dahil olmak üzere Faz I nedeniyle bir bileşiğin klirensini ölçer.

Bir ilaç molekülünün eliminasyon süreci, eliminasyon yarı ömrü ($t_{1/2}$) ve klirens (CL) parametreleri üzerinden değerlendirilmektedir (Storpirtis vd., 2011). $t_{1/2}$, İlacın plazma konsantrasyonunun başlangıç değerinin yarısına düşmesi için gereken süreyi ifade ederken; CL, ilacın vücuttan ne kadar etkili bir şekilde elimine edildiğini gösterir ve belirli bir zaman diliminde temizlenen kan hacmini temsil eder (LaBonia, 2018; Storpirtis vd., 2011). Bu nedenle, yeni bir ilacın eliminasyon süreçlerinin detaylı bir şekilde değerlendirilmesi büyük önem taşır.

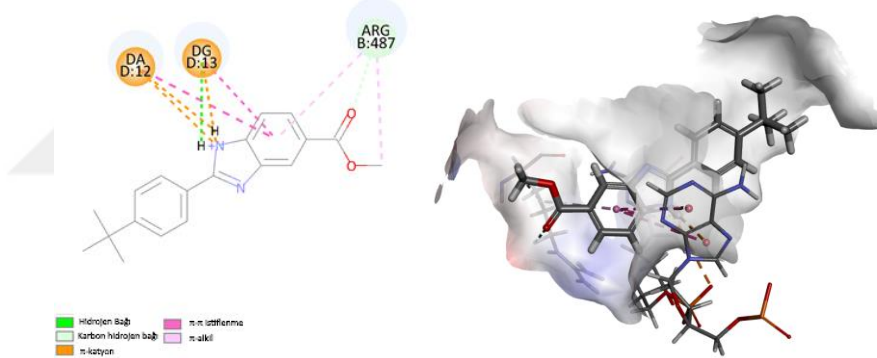
İlaç geliştirme süreçlerindeki en önemli başarısızlık nedenlerinden biri toksisite sorunlarıdır. Kardiyotoksisite riskinin değerlendirilmesinde bileşiğin hERG blokörlüğünün belirlenmesi önemli bir adımdır. Bu kapsamda, kardiyak süreçlerde kritik bir rol oynayan insan ether-a-go-go ile ilişkili gen (hERG) proteini, potansiyel kardiyotoksik riskleri de beraberinde getirebilir. Bu nedenle, ilaç geliştirme süreçlerinde bileşiklerin hERG kanalı ile bağlanma potansiyelinin erken aşamalarda değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır (Wang vd., 2012). Bir diğer önemli değerlendirme yöntemi olan Ames testi, bileşiklerin mutajenik potansiyelini belirlemek için kullanılan en yaygın araçlardan biridir. Özellikle ilaç endüstrisinde, potansiyel kanserojenlerin tespitinde sıklıkla başvurulanan bu yöntem, aynı zamanda *in silico* ADMET hesaplamalarında bileşiklerin mutajenite riskini değerlendirmek amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. (Niu vd., 2024). Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin, ADMETLab 3.0 çevrimiçi aracı üzerinden *in silico* eliminasyon süreçleri ve toksisite potansiyelleri değerlendirilmiştir (Fu vd., 2024).

Önerilen bileşiklerin farmakokinetik özelliklerini analiz etmek için, bileşiklerin 2D yapıları ChemDraw Professional (22.2.0.3300, PerkinElmer Informatics, Inc.) kullanılarak oluşturulmuştur. Her bir bileşiği içe aktarmak için, her bir bileşik için elde edilen smile formatı web sitesinin arayüzüne girilmiştir. ADMETLab 3.0 ilaç tasarımı çevrimiçi hizmeti, ADMET özelliklerini ve parametrelerini elde etmek için kullanılmıştır (Fu vd., 2024).

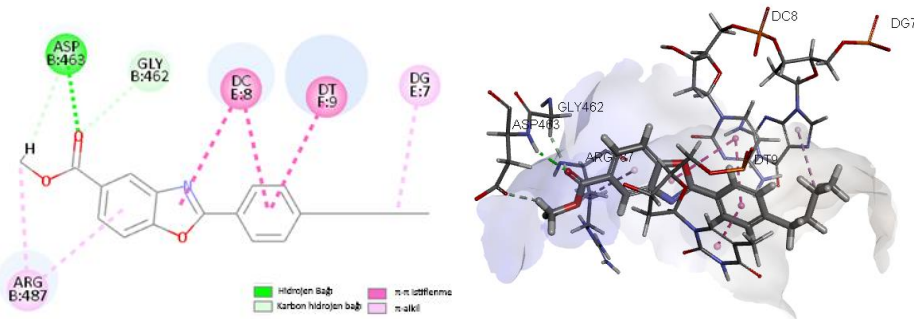
3. BULGULAR

3.1. Tasarlanan Bileşiklerin Moleküler Kenetlenme Çalışmalarına Ait Bulgular

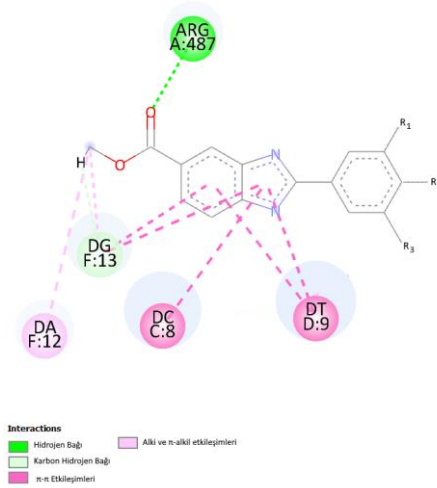
Elde edilen parametreler doğrultusunda CDocker yöntemi ile 5GWK proteini üzerinde moleküler kenetlenme işlemi gerçekleştirilmiştir. 5. Konumda metoksikarbonil yapısı sabit tutularak benzimidazol ve benzoksazol ana halkalarına 2. konumda süstitüe fenil halkasına çeşitli hidrofobik özellikte grupların bağlanması ile moleküllerin tasarımları gerçekleştirilmiştir. Tasarlanan bileşiklerin bağlanma enerjileri -13,56 ile -5,67 kcal/mol aralığında bulunmuştur. Tasarlanan bileşiklerden 2l ve 3h kodlu bileşiklerin 5GWK proteininin aktif bölgesi ile etkileşiminin üç boyutlu görünümü (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2) ve tasarlanan bileşiklerde bağlanma cebinde gözlenen ortak etkileşimler (Şekil 3.3) aşağıdaki gibidir.



Şekil 3.1. Tasarlanan 2l bileşiğinin 5GWK'nın aktif bölgesinde 2B (sol) ve 3B (sağ) görünümü



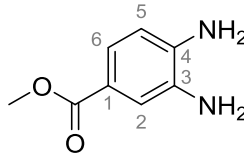
Şekil 3.2. Tasarlanan 3h bileşiğinin 5GWK'nın aktif bölgesinde 2B (sol) ve 3B (sağ) görünümü



Şekil 3.3. Tasarlanan bileşiklerin yapılan ön moleküler kenetlenme çalışmaları sonucu 5GWK'nın aktif bölgesi ile etkileşimleri

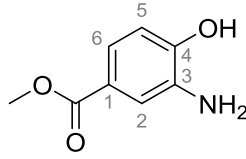
3.2. Başlangıç Maddelerinin Eldesi

3.2.1. Metil 3,4-diaminobenzoat (Bileşik 1a)



3,4-Diaminobenzoik asitten hareketle yöntem A'ya göre sentezlenmiş ve etil asetattan yeniden kristallendirilmiştir (990 mg, %91,6 verim). CAS: 36692-49-6. Rf: 0,37 (Etil asetat/Hekzan 50:50). Erime Noktası (EN): 108,5 °C (109,04 °C (Mizuno vd., 2009) 104-108 °C (Yıldız-Oren vd., 2004). C₈H₁₀N₂O₂ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 167,18; bulunan: 167,34. FT-IR ν_{maks} 3435,42; 3362,01; 3324,17; 3264,70 (primer amin, N-H gerilimleri, asimetrik ve simetrik); 3197,69- 3022,66 (sp² C-H gerilimleri); 2983,53-2839,65 (sp³ C-H gerilimleri); 1666,84 (Ester C=O gerilimi); 1585,59; 1512,61 (N-H eğilmesi ile Ar-C=C- ve C=N gerilimleri); 1449,02- 1314,99 (sp³ C-H eğilimleri); 1314,99 (Ester C-O gerilimi); 891,54 ve 765,83 (1,2,4-trisüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.

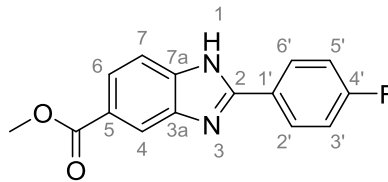
3.2.2. Metil 3-amino-4-hidroksibenzoat (Bileşik 1b)



3-Amino-4-hidroksibenzoik asitten hareketle yöntem C'ye göre sentezlenmiş ve etil asetatın yeniden kristallendirilmiştir (990 mg, %80 verim). CAS: 536-25-4. R_f: 0,22 (EtOAc/petrol eteri 50:50). EN: 143,6 °C (143°C (Ampati vd., 2010)). C₈H₉NO₃ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 168,16; bulunan: 168,35. FT-IR ν_{maks} 3480,35 (O-H gerilimi); 3389,76; 3297,93 (primer amin, N-H gerilimleri, asimetric ve simetric); 3088,09; 3012,09 (sp² C-H gerilimleri); 2959,74- 2959,74 (sp³ C-H gerilimleri); 1694,71 (Ester C=O gerilimi), 1607,94; 1596,85; 1520,32 (N-H eğilmesi ile Ar-C=C- ve C=N gerilimleri); 1465,99 - 1341,05 (sp³ C-H eğilimleri); 1370,08 (Fenol O – H düzlem-içi eğilme); 1197,80 (Ester C-O gerilimi); 919,13; 762,93 (1,2,4-trisüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimleri) cm⁻¹.

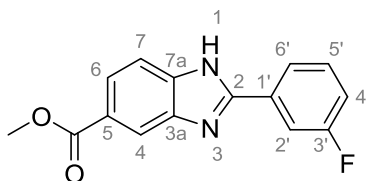
3.2.3. Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi

3.2.3.1. Metil 2-(4-florofenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2a)



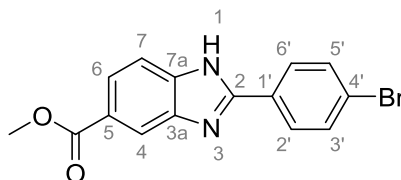
Bileşik **1a** ve 4-florobenzaldehitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve etil asetatın yeniden kristallendirilmiştir (952mg, %68 verim). CAS:1307237-88-2. R_f: 0,54 (Etil asetat/Hekzan 50:50). EN: 231,8 °C (232–234,8 °C (Hikawa vd., 2018)). C₁₅H₁₁FN₂O₂ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 271,26; bulunan: 271,0. LC t_R (dk): 4,50. FT-IR ν_{maks}: 3329,53 (N-H gerilimi); 3093,96- 3009,10 (sp² C-H gerilimleri); 2960,5- 2843,39 (sp³ C-H gerilimleri); 1691,07 (Ester C=O gerilimi); 1609,68- 1428,07 (N-H eğilmesi ile Ar-C=C- ve C=N gerilimleri); 1478,25- 1358,26 (sp³ C-H eğilimleri); 1223,59 (Ester C-O gerilimi); 1162,87 (Ar-F gerilimi); 771,01 ve 742,00 (monosüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimleri) cm⁻¹.

3.2.3.2. Metil 2-(3-florofenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2b)

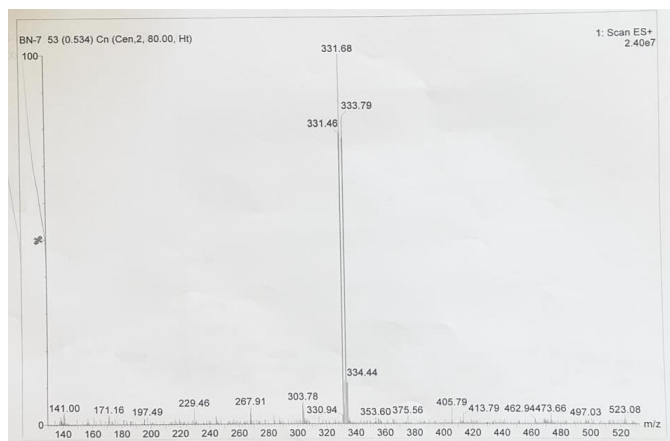


Bileşik **1a** ve 3-florobenzaldehitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve etil asetatтан yeniden kristallendirilmiştir (864 mg, %64 verim). CAS: 1307238-78-3. R_f: 0,47 (Etil asetat/Hekzan 50:50). EN: 243,1 °C. EN: 232,8 °C (238–240 °C (Kamal vd., 2015). C₁₅H₁₁FN₂O₂ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan:271,08; bulunan:271,64. LC t_R değeri (dk.): 5,06. FT-IR ν_{maks}: 3333,62 (N-H gerilimi); 3084,17-3008,15 (sp² C-H gerilimleri); 2960,85-2843,14 (sp³ C-H gerilimleri); 1690,46 (Ester C=O gerilimi); 1589,67; 1545,37; 1496,99 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1472,37-1359,71 (sp³ C-H eğilimleri); 1238,27 (Ester C-O gerilimi); 1189,76 (Ar-F gerilimi); 985,20; 879,58; 790,57 (1,3-disübstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.

3.2.3.3. Metil 2-(4-bromofenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2c)

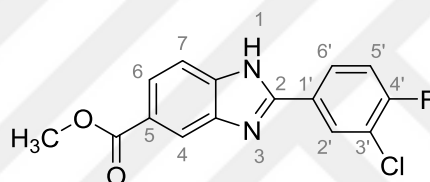


Bileşik **1a** ve 4-bromobenzaldehitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve etil asetatтан yeniden kristallendirilmiştir (907 mg, %55 verim). CAS: 1307239-87-7 R_f: 0,55 (Etil asetat/Hekzan 50:50). EN: 240,8 °C. C₁₅H₁₁BrN₂O₂ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 331,00; bulunan: 331,68. LC t_R (dk): 5,12. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,33 (1H, s, NH); 8,20 (1H, s, H4); 8,17 – 8,11 (2H, m, H2' ve H6'); 7,86 (1H, dd, J = 8,5 ve 1,6 Hz; H6); 7,83 – 7,77 (2H, m, H3' ve H5'); 7,69 (1H, d, J = 8,5 Hz, H7); 3,88 (3H, s, CH₃). FT-IR ν_{maks}: 3287,37 (N-H gerilimi), 3164,08- 3002,31 (sp² C-H gerilimleri); 2954,01- 2844,07 (sp³ C-H gerilimleri); 1688,43 (Ester C=O gerilimi); 1597,18; 1492,31 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1468,92- 1358,33 (sp³ C-H eğilimleri); 1216,20 (Ester C-O gerilimi); 1065,13 (Ar-Br gerilimi); 770,07 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.

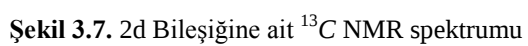
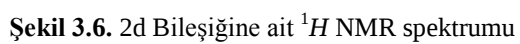
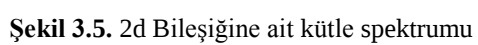


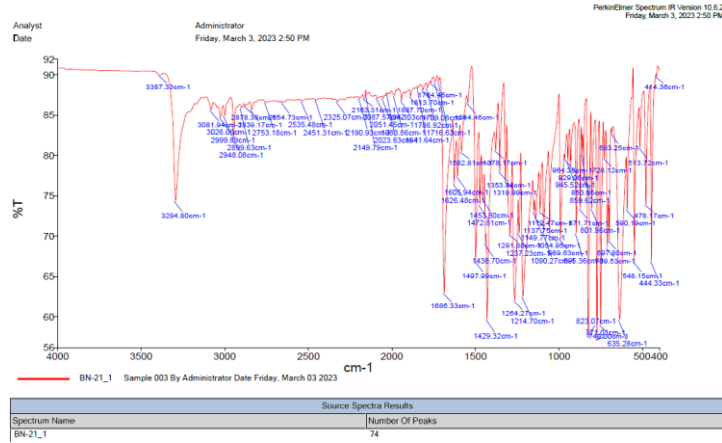
Şekil 3.4. 2c Bileşiğine ait kütle spektrumu

3.2.3.4. Metil 2-(3-kloro-4-florofenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2d)



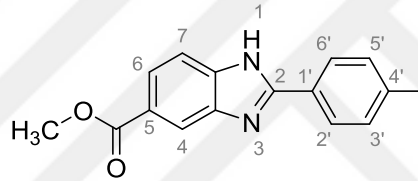
Bileşik **1a** ve 3-kloro-4-florobenzaldehitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve etil asetatтан yeniden kristallendirilmiştir (925 mg, % 60,8 verim). R_f: 0,55 (Etil asetat/Hekzan 50:50). EN: 259,8 °C. C₁₅H₁₀ClFN₂O₂ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 305,04; bulunan: 305,39. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,36 (1H, s, NH); 8,35 (1H, d, *J* = 2,3 Hz, H1'); 8,18 (2H, m, H4, H6'); 7,85 (1H, dd, *J* = 8,5, 1,6 Hz, H6); 7,68 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H7); 7,63 (1H, t, *J* = 8,9 Hz, H5'); 3,87 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 166,65 (C=O); 159,37 (C4'); 157,38 (C2); 151,60 (C7a); 128,79 (C3a); 127,67 (C6); 127,61 (C5); 127,43 (C6); 123,73 (C4); 123,58 (C7); 120,50 (C3'); 120,35 (C5'); 117,90 (C2'); 117,72 (C6'); 52,04 (C-H₃). FT-IR ν_{maks}: 3294,80 (N-H gerilimi); 3081,94-3026,06 (sp² C-H gerilimleri); 2999,89-2839,17 (sp³ C-H gerilimleri); 1686,33 (Ester C=O gerilimi); 1605,94; 1582,81; 1544,46; 1482,65 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C-gerilimleri); 1472,81-1319,99 (sp³ C-H eğilimleri); 1264,27 (Ester C-O gerilimi); 1214,70 (Ar-F gerilimi); 1090,27 (Ar-Cl gerilimi); 859,62; 771,01 (1,2,4-trisüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.





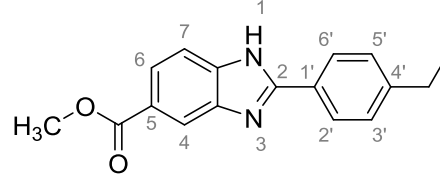
Şekil 3.8. 2d Bileşiğine ait FT-IR spektrumu

3.2.3.5. Metil 2-(4-metilfenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2e)

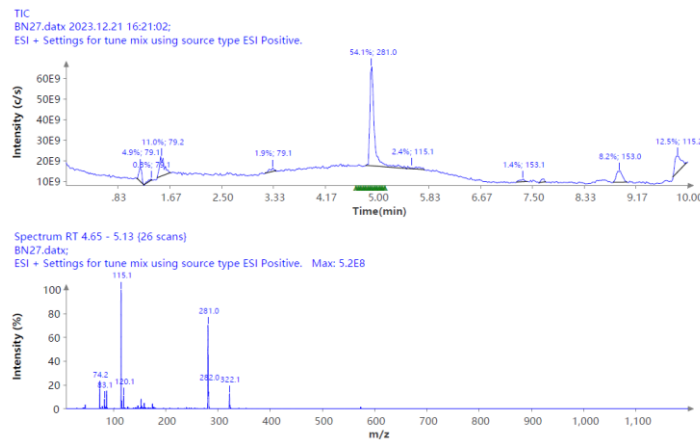


Bileşik **1a** ve 4-metilbenzaldehitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve flash kolon kromatografisi (Diklorometan/Metanol 95:5) ile saflaştırılmıştır (650 mg, %49 verim). *R_f*: 0,48 (Diklorometan/Metanol 95:5). CAS: 1416340-79-8. EN: 239,5 °C (237–239 °C Literatür Hikawa 2018). C₁₆H₁₄N₂O₂ için kütle (ESI+) *m/z* [M+H]⁺ hesaplanan: 267,10; bulunan: 267,64. LC *t_R* (dk.): 4,43. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,16 (1H, s, NH); 8,19 (1H, s, H4); 8,09 (2H, m, H2', H6'); 7,84 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H6); 7,65 (1H, s, H7); 7,39 (2H, d, *J* = 8,0 Hz, H3', H5'); 3,88 (3H, s, OCH₃); 2,40 (3H, s, CH₃). NMR karakterizasyonu literatürler uygunluk göstermektedir (Hikawa vd., 2018). FT-IR *ν*_{max}: 3308,54 (N-H gerilimi); 3060,94; 3014,57 (sp² C-H gerilimleri); 2985,55- 2840,28 (sp³ C-H gerilimleri); 1691,41 (Ester C=O gerilimi); 1577,33; 1550,07; 1490,75 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1464,16- 1316,69 (sp³ C-H eğilimleri); 1283,46 (Ester C-O gerilimi); 744,18 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.

3.2.3.6. Metil 2-(4-etilfenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2f)

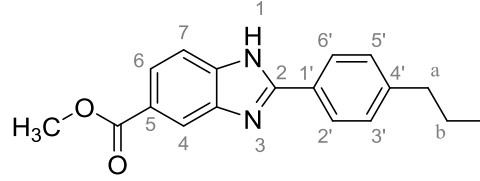


Bileşik **1a** ve 4-etilbenzaldehyitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve flaş kolon kromatografisi (Diklorometan/Metanol 95:5) ile saflaştırılmıştır (600 mg, %43 verim). R_f:0,62 (Diklorometan/Metanol 95:5). CAS: 1416342-83-0. EN: 173,1 °C. C₁₇H₁₆N₂O₂ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 281,12; bulunan: 281,0. LC t_R (dk.): 4,47. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,16 (1H, s, NH); 8,18 (1H, s, H4); 8,12 (2H, m, H2', H6'); 7,84 (1H, dd, *J* = 8,4; 1,6 Hz, H6); 7,66 (1H, s, H7); 7,42 (2H, d, *J* = 8,0 Hz; H3', H5'); 3,88 (3H, s, OCH₃); 2,69 (2H, q, *J* = 7,6 Hz, CH₂); 1,23 (3H, t, *J* = 7,7 Hz, CH₃). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆ + 1 damla CF₃CO₂H) δ 165,99 (C=O); 151,87 (C2); 151,15 (C4'); 135,39 (C7a); 132,23 (C4a); 129,61 (C1'); 128,74 (C6); 127,54 (C3', C5'); 126,97 (C2', C6'); 120,66 (C5); 115,70 (C6); 114,63 (C4); 52,89 (OCH₃); 28,67 (CH₂); 15,29 (CH₃). FT-IR ν_{maks}: 3080,06 (N-H gerilimi); 3025,16 (sp² C-H gerilimi); 2951,48 (sp³ C-H gerilimi); 1709,30 (Ester C=O gerilimi); 1613,76, 1584,28, 1554,52, 1503,77 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1466,46 - 1316,58 (sp³ C-H eğilimleri); 1281,86 (Ester C-O gerilimi); 777,60 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.

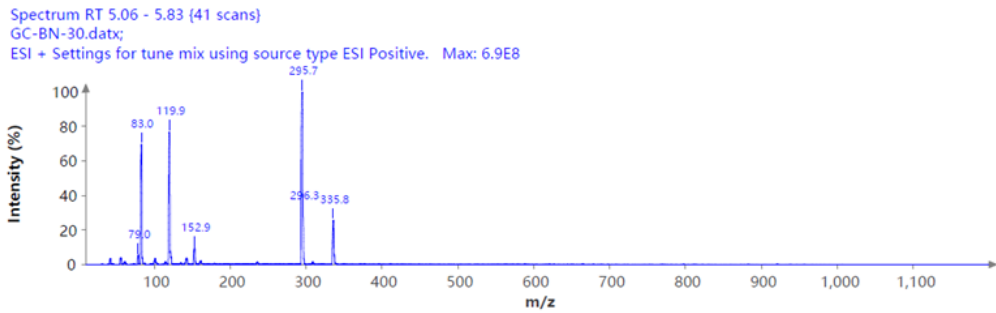


Şekil 3.9. 2f Bileşiğine ait kütle spektrumu

3.2.3.7. Metil 2-(4-propilfenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2g)

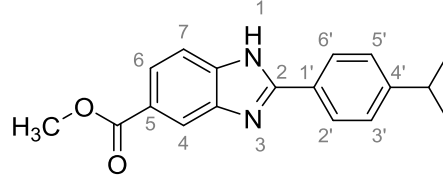


Bileşik **1a** ve 4-propilbenzaldehyitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve flash kolon kromatografisi (Diklorometan/Metanol 95:5) ile saflaştırılmıştır (525 mg, %46 verim). R_f: 0,59 (Diklorometan/Metanol 95:5). CAS: 2601739-18-6. EN: 171,2 °C. C₁₈H₁₈N₂O₂ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 295,14; bulunan: 295,7. LC t_R (dk.): 5,22. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,06 (1H, s, NH); 8,18 (1H, s, H₄); 8,10 (2H, d, *J* = 8,1 Hz; H_{2'}, H_{6'}); 7,84 (1H, dd, *J* = 8,5; 1,6 Hz, H₆); 7,65 (1H, d, *J* = 8,4 Hz, H₇); 7,39 (2H, d, *J* = 8,0 Hz; H_{3'}, H_{5'}); 3,88 (3H, s, OCH₃); 2,65 (2H, t, *J* = 7,5 Hz, CH_{2a}); 1,66 (2H, m, Hz; CH_{2b}); 0,93 (3H, t, *J* = 7,3 Hz, CH₃). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆ + 1 damla CF₃CO₂H) δ 166,07 (C=O); 151,85 (C₂); 149,94 (C_{7a}); 135,23 (C_{3a}, C_{4'}); 132,08 (C_{2'}, C_{6'}); 130,26 (C_{1'}); 128,81 (C_{3'}, C_{5'}); 127,88 (C₆); 127,19 (C₅); 115,79 (C₄); 114,61 (C₇); 52,85 (OCH₃); 37,76 (CH_{2a}); 24,15 (CH_{2b}); 13,76 (CH₃). FT-IR ν_{maks}: 3299,29 (N-H gerilimi); 3033,37 (sp² C-H gerilimi); 2958,21 - 2871,50 (sp³ C-H gerilimleri); 1.689,42 (Ester C=O gerilimi); 1620,38; 1574,92; 1543,67; 1492,15 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1482,11 - 1312,82 (sp³ C-H eğilimleri); 1288,02 (Ester C-O gerilimi); 746,89 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.

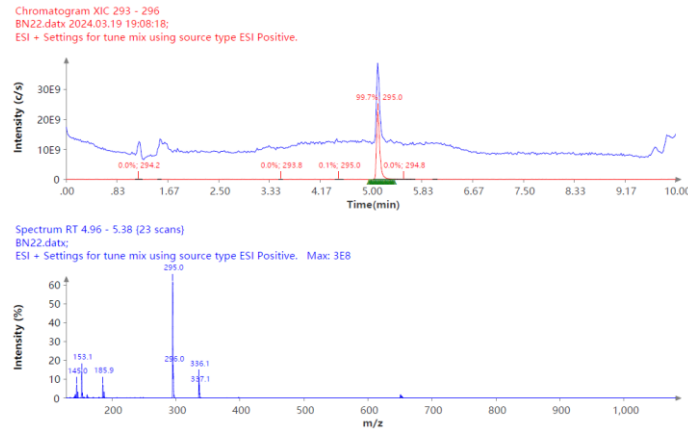


Şekil 3.10. 2g Bileşiğine ait kütle spektrumu

3.2.3.8. Metil 2-(4-izopropilfenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2h)

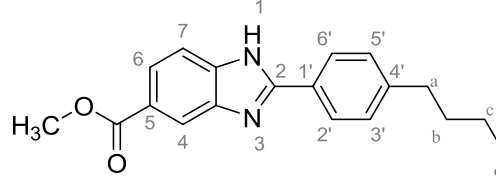


Bileşik **1a** ve izopropilbenzaldehyitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve etil asetatdan yeniden kristallendirilmiştir (680 mg, % 60,8 verim). CAS: 1416344-06-3. R_f: 0,57 (Etil asetat/Hekzan 50:50). EN: 178,9 °C. C₁₈H₁₈N₂O₂ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 295,13; bulunan: 295,00. LC t_R (dk.): 5,15. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,19 (1H, s, NH); 8,18 (1H, s, H4); 8,12 (2H, m, H2', H6'); 7,84 (1H, dd, *J* = 8,5, 1,7 Hz, H6); 7,66 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H7); 7,45 (2H, m, H3', H5'), 2,97 (1H, m); 1,24 (6H, d, *J* = 6,9 Hz). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 166,81 (C=O); 153,98 (C2, C3a); 151,12 (C4', C7a); 127,20 (C1'); 127,05 (C6); 126,87 (C6, C4, C2', C6'); 123,30 (C3', C5'); 52,03 (OCH₃); 33,43 (CH); 23,67 (CH₃). FT-IR ν_{maks}: 3411,48 (N-H gerilimi); 3075,78-3013,35 (sp² C-H gerilimleri); 2955,31-2846,51 (sp³ C-H gerilimleri); 1711,70 (Ester C=O gerilimi); 1593,85, 1550,18, 1515,98, 1494,43 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1468,08-1318,27 (sp³ C-H eğilimleri); 1297,75 (Ester C-O gerilimi); 757,13 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi)cm⁻¹.

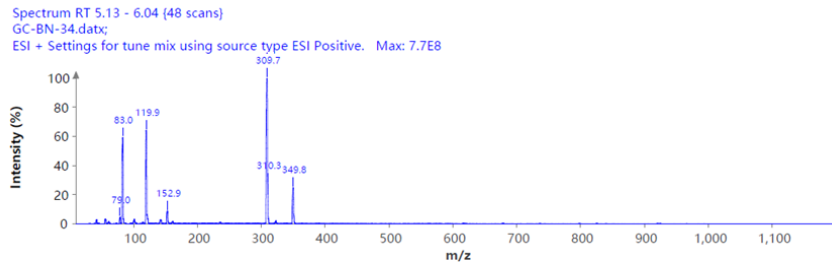


Şekil 3.11. 2h Bileşiğine ait kütle spektrumu

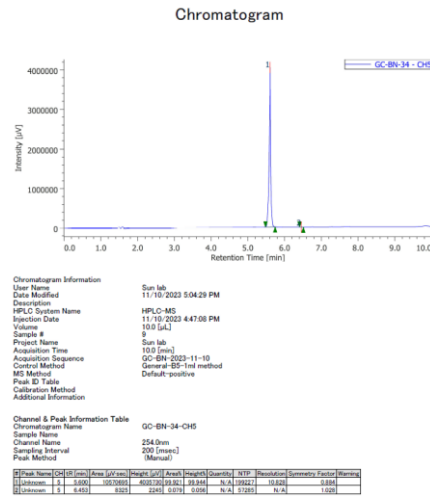
3.2.3.9. Metil 2-(4-bütilfenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2i)



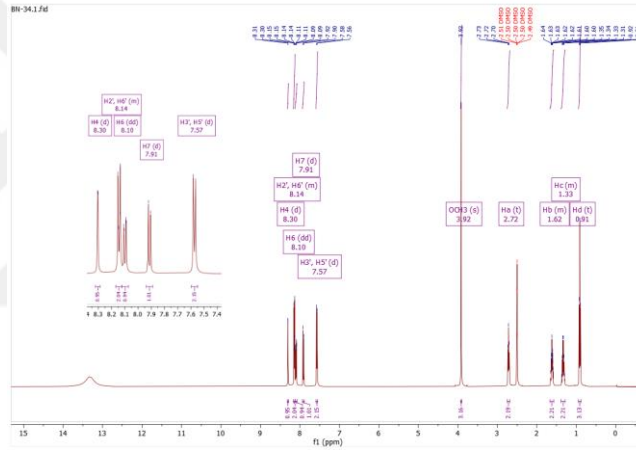
Bileşik **1a** ve 4-bütilbenzaldehyitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve flash kolon kromatografisi (Diklorometan/Metanol 95:5) ile saflaştırılmıştır (450 mg, %29,2 verim). R_f: 0,43 (Diklorometan/Metanol 95:5). EN: 144 °C. C₁₉H₂₀N₂O₂ için kütle (ESI⁺) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 309,16; bulunan: 309,7. LC t_R (dk.): 5,32. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆+ 1 damla CF₃CO₂H) δ 8,30 (1H, d, *J* = 1,5 Hz; H₄); 8,14 (2H, m; H_{2'}, H_{6'}); 8,10 (1H, dd, *J* = 8,6; 1,6 Hz; H₆); 7,91 (1H, d, *J* = 8,6 Hz; H₇); 7,57 (2H, d, *J* = 8,0 Hz; H_{3'}, H_{5'}); 3,92 (3H, s, CH₃); 2,72 (2H, t, *J* = 7,7 Hz; H_a); 1,62 (2H, m; H_b); 1,33 (2H, m; H_c); 0,91 (3H, t, *J* = 7,4 Hz; H_d). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆+ 1 damla CF₃CO₂H) δ 165,75 (C=O); 151,66 (C₂); 149,21 (C_{4'}); 135,55 (C_{7a}); 132,38 (C_{3a}); 129,77 (C_{1'}); 128,26 (C_{2'}, C_{3'}, C_{5'}, C_{6'}); 126,92 (C₆); 126,42 (C₅); 115,48 (C₇); 114,38 (C₄); 52,61 (OCH₃); 34,93 (C_a); 32,74 (C_b); 21,85 (C_c); 13,75 (C_d). FT-IR ν_{maks}: 3310,49 (N-H gerilimi); 2928,56-2857,71 (sp³ C-H gerilimi); 1702,54 (Ester C=O gerilimi); 1584,90, 1553,69, 1505,97 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1432,43- 1315,95 (sp³ C-H eğilimleri); 1208,83 (Ester C-O gerilimi); 752,92 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.



Şekil 3.12. 2i Bileşiğine ait kütle spektrumu



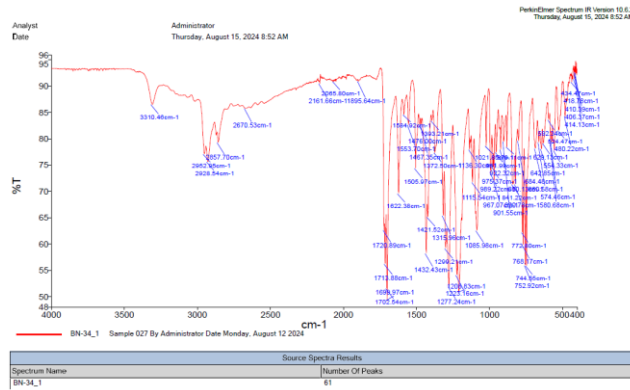
Şekil 3.13. 2i Bileşiğine ait LC spektrumu



Şekil 3.14. 2i Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu

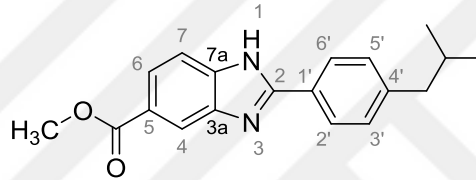


Şekil 3.15. 2i Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

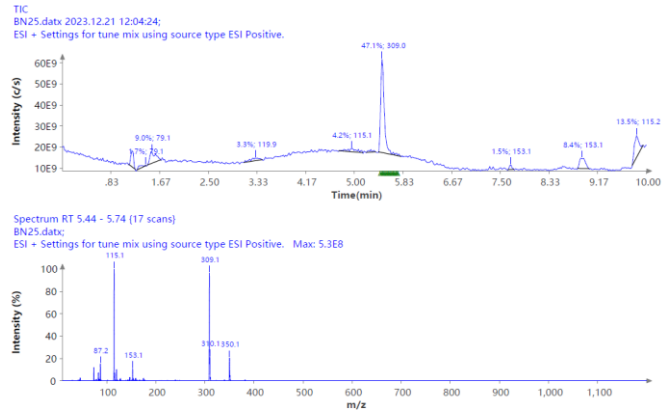


Şekil 3.16. 2i Bileşiğine ait FT-IR spektrumu

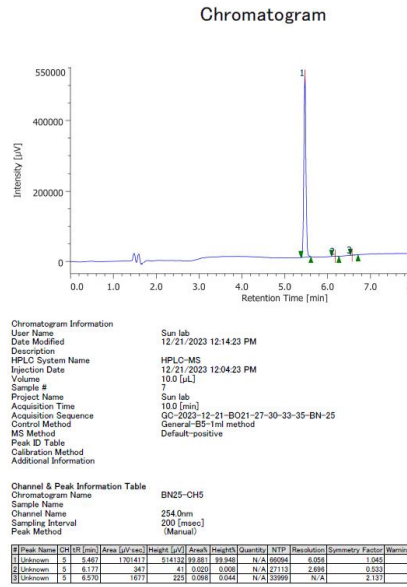
3.2.3.10. Metil 2-(4-izobütilfenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2k)



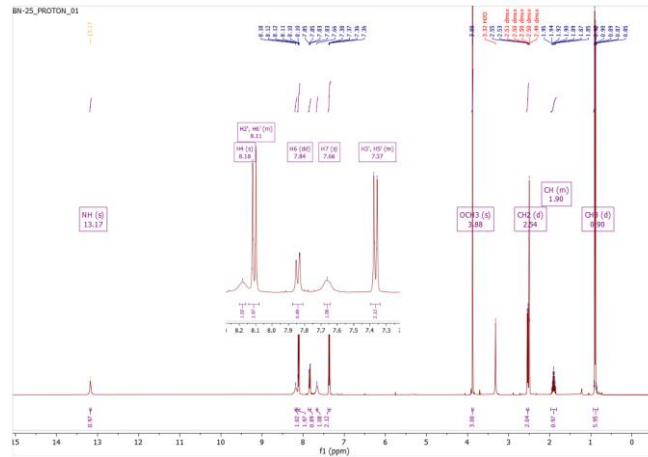
Bileşik **1a** ve 4-izobütlbenzaldehyitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve flash kolon kromatografisi (Diklorometan: Metanol 95:5) ile saflaştırılmıştır (500 mg, %32,5 verim). *R_f*: 0,62 (Diklorometan/Metanol 95:5). EN: 161,1 °C. C₁₉H₂₀N₂O₂ için kütle (ESI+) *m/z* [M+H]⁺ hesaplanan: 309,15; bulunan: 309,1. LC *t_R* (dk.): 5,25. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,17 (1H, s, NH); 8,18 (1H, s, H₄); 8,11 (2H, d, *J* = 8,1 Hz, H_{2'}, H_{6'}); 7,84 (1H, dd, *J* = 8,4, 1,6 Hz, H₆); 7,66 (1H, s, H₇); 7,37 (2H, m, H_{3'}, H_{5'}); 3,88 (3H, s, OCH₃); 2,54 (2H, d, *J* = 7,2 Hz, CH₂); 1,90 (1H, m, CH); 0,90 (6H, d, *J* = 6,6 Hz, CH₃). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆+ 1 damla CF₃CO₂H) δ 165,90 (C=O); 151,86 (C₂); 135,16 (C_{7a}); 132,00 (C_{3a}); 130,67 (C_{1'}); 128,50 (C_{3'}, C_{5'}); 127,58 (C_{2'}, C_{6'}); 126,97 (C₅); 120,53 (C₆); 115,61 (C₄); 114,54 (C₇); 52,80 (OCH₃); 44,78 (CH); 29,86 (CH₂); 22,22 (CH₃). FT-IR *v*_{maks}: 3310,47 (N-H gerilimi); 2950,86- 2867,85 (sp³ C-H gerilimleri); 1701,31 (Ester C=O gerilimi); 1553,3, 1506,29, 1477,46 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1465,81 - 1314,66 (sp³ C-H eğilimleri); 1223,46 (Ester C-O gerilimi); 752,59 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.



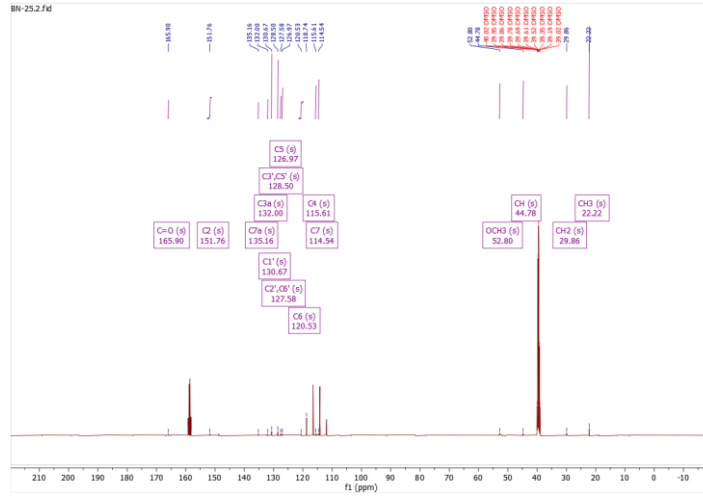
Şekil 3.17. 2k Bileşiğine ait kütle spektrumu



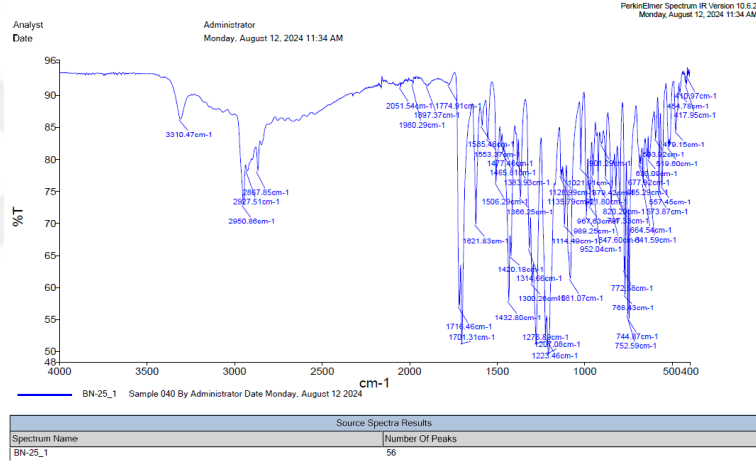
Şekil 3.18. 2k Bileşiğine ait LC spektrumu



Şekil 3.19. 2k Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu

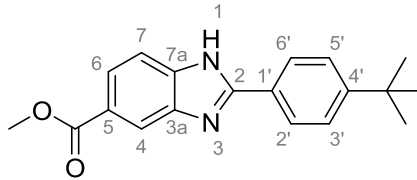


Şekil 3.20. 2k Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu



Şekil 3.21. 2k Bileşiğine ait FT-IR spektrumu

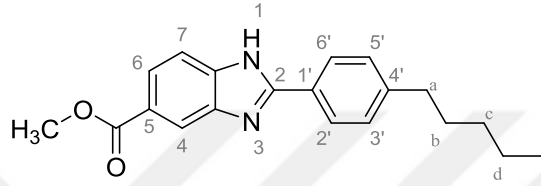
3.2.3.11. Metil 2-(4-(*tert*-bütil)fenil)- ^1H -benzimidazol-5(6)-karboksilat (2l)



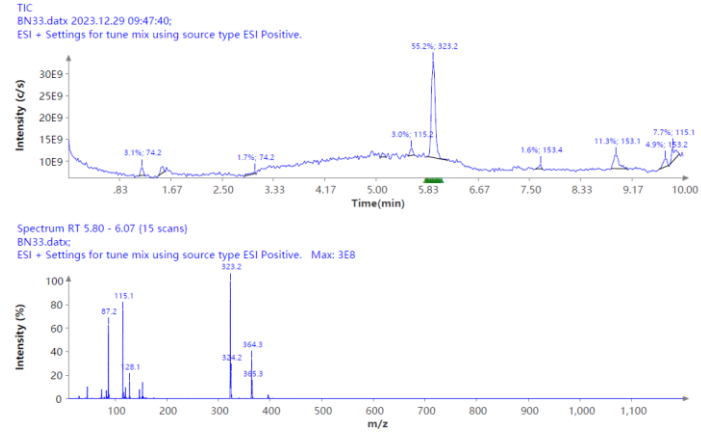
Bileşik **1a** ve 4-*tert*-bütilbenzaldehyden hareketle Yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve etil asetatdan yeniden kristallendirilmiştir (864 mg, %56 verim). CAS: 104224-21-7. *R*_f: 0,64 (Etil asetat/Hekzan 50:50). EN: 215,2 °C (212 °C (Bernardon, 1984), 208 °C (Shroot, 1988)). C₁₉H₂₀N₂O₂ için kütle (ESI+) *m/z* [M+H]⁺ hesaplanan: 309,38; bulunan: 309,1. LC *t*_R (dk): 5,12. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,18 (1H, s, NH); 8,24 (1H, s, H₄); 8,16 – 8,10

(2H, m, H2' ve H6'); 7,84 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H6); 7,71 (1H, s, H7); 7,62 – 7,58 (2H, m, H3' ve H5'); 3,88 (3H, s, OCH₃); 1,34 (9H, s, CH₃). FT-IR ν_{maks} : 3297,52 (N-H gerilimi); 3066,29- 3020,58 (sp² C-H gerilimleri); 2951,54- 2864,76 (sp³ C-H gerilimleri); 1688,62 (Ester C=O gerilimi); 1445,79- 1362,15 (asimetrik ve simetrik sp³ C-H eğilimleri); 1510,79; 1491,05; 1445,79 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1284,99 (Ester C-O gerilimi); 765,49 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.

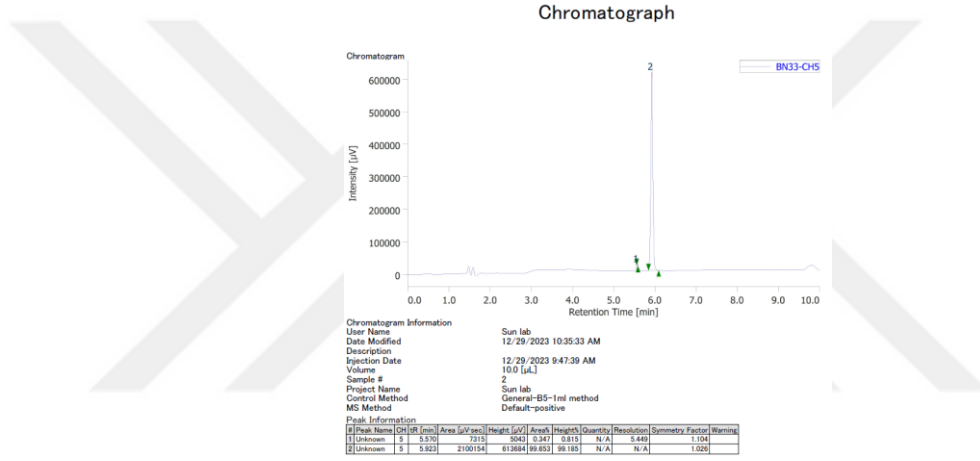
3.2.3.12. Metil 2-(4-pentilfenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2m)



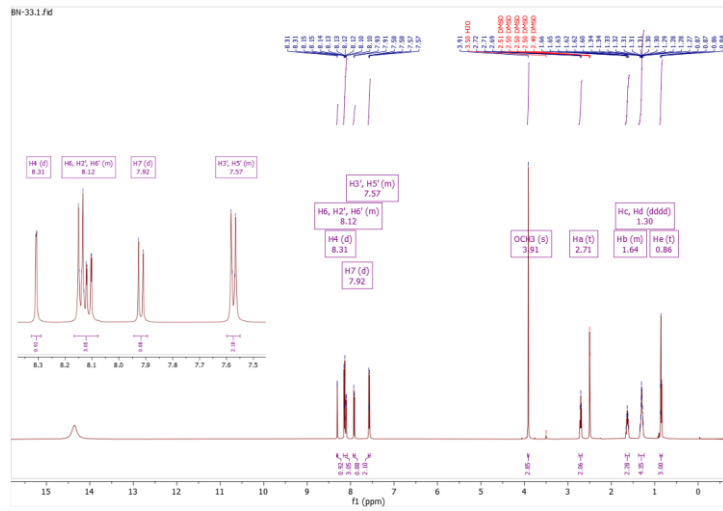
Bileşik 1a ve 4-pentilbenzaldehyitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve flash kolon kromatografisi (Diklorometan/Metanol 95:5) ile saflaştırılmıştır (500 mg, %30 verim). Rf: 0,47 (Diklorometan/Metanol 95:5). EN: 133,7 °C. C₂₀H₂₂N₂O₂ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan:323,17; bulunan: 323,2. LC t_R (dk.): 5,59. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆+ 1 damla CF₃CO₂H) δ 8,31 (1H, d, $J = 1,4$ Hz; H4); 8,12 (3H, m; H2', H6', H6); 7,92 (1H, d, $J = 8,6$ Hz; H7); 7,57 (2H, m; H3', H5'); 3,91 (3H, s, OCH₃); 2,71 (2H, t, $J = 7,7$ Hz; H_a), 1,64 (2H, m, H_b); 1,30 (4H, dddd, $J = 13,9; 10,9; 6,6; 2,6$ Hz, H_c ve H_d); 0,86 (3H, t, $J = 6,9$ Hz, H_e). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-d₆+ 1 damla CF₃CO₂H) δ 165,76 (C=O); 151,58 (C2); 149,59 (C4'); 135,18 (C7a); 132,02 (C3a); 129,88 (C1'); 128,44 (C3', C5'); 127,26 (C2', C6'); 126,70 (C6); 120,44 (C5); 118,65 (C4); 114,41 (C7); 52,67 (OCH₃); 35,31 (C_a); 31,04 (C_b, C_c); 22,07 (C_d); 13,92 (C_e). FT-IR ν_{maks} :3310,53 (N-H gerilimi); 2950,13-2855,76 (sp³ C-H gerilimi); 1701,19 (Ester C=O gerilimi); 1701,19; 1584,42; 1543,67; 1553,23; 1505,88 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1467,60-1315,37 (sp³ C-H eğilimleri); 1208,13 (Ester C-O gerilimi); 752,61 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.



Şekil 3.22. 2m Bileşiğine ait kütle spektrumu



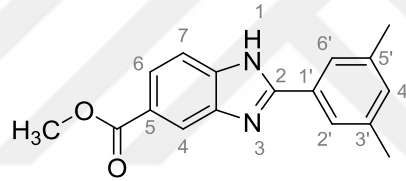
Şekil 3.23. 2m Bileşiğine ait LC spektrumu



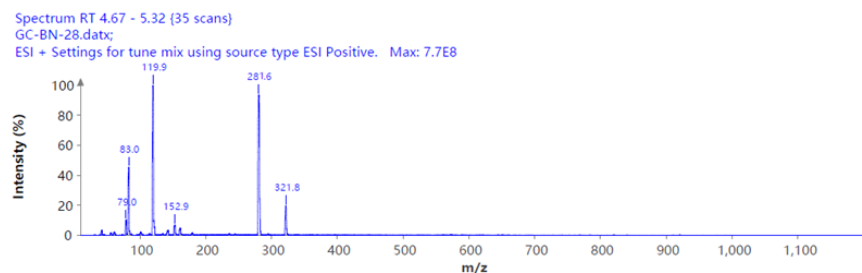
Şekil 3.24. 2m Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu

°C (Hikawa vd., 2018), 231-234 °C (Kamal vd., 2015), 226 °C (Ayhan-Kılıcıgil vd., 1999)). $C_{16}H_{14}N_2O_3$ için kütle (ESI+) m/z $[M+H]^+$ hesaplanan: 283,10; bulunan: 283,49. LC t_R (dk.): 4,48. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 + 1 damla CF_3CO_2H) δ 8,24 (1H, d, $J = 1,4$ Hz; H4); 8,18 (2H, m; H2', H6'); 8,07 (1H, dd, $J = 8,5; 1,5$ Hz, H6); 7,86 (1H, d, $J = 8,6$ Hz; H7); 7,28 (2H, m; H3', H5'); 3,89 (6H, s; H_a, H_b). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6 + 1 damla CF_3CO_2H) δ 165,79 (C=O); 164,09 (C4'); 151,38 (C2); 134,98 (C7a); 131,78 (C3a); 130,57 (C6); 127,24 (C2', C6'); 126,71 (C5); 118,76 (C4); 115,23 (C7); 114,71 (C3', C5'); 56,03 (C_b); 52,67 (C_a). NMR karakterizasyonu literatürle uygunluk göstermektedir (Hikawa vd., 2018). FT-IR ν_{maks} : 2991,66–2839,31 (N-H gerilimi, sp³ C-H gerilimleri); 1714,27 (Ester C=O gerilimi); 1608,79, 1581,57, 1552,87, 1553,23, 1504,88 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1462,99–1319,93 (sp³ C-H eğilimleri); 1280,93 (Ester C-O gerilimi); 1255,19 (Aromatik eter C-O gerilimi); 739,74 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm^{-1} .

3.2.3.14. Metil 2-(3,5-dimetilfenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2o)

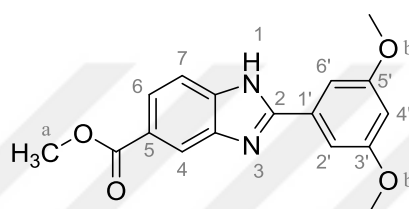


Bileşik **1a** ve 3,5-dimetilbenzaldehyitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve flash kolon kromatografisi (Diklorometan/Metanol 95:5) ile saflaştırılmıştır (650 mg, %46 verim). R_f : 0,50 (Diklorometan/Metanol 95:5). CAS:2623353-04-6. EN: 208,8 °C. $C_{17}H_{16}N_2O_2$ için kütle (ESI+) m/z $[M+H]^+$ hesaplanan: 281,12; bulunan: 281,6. LC t_R (dk.): 4,47. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 + 1 damla CF_3CO_2H) δ 8,28 (1H, d, $J = 1,4$ Hz, H4); 8,09 (1H, dd, $J = 8,6; 1,5$ Hz, H6); 7,91 (1H, s, H7); 7,85 (2H, d, $J = 1,6$ Hz; H2', H6'); 7,40 (1H, s, H4'); 3,91 (3H, s, OCH₃); 2,41 (6H, s, CH₃). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6 + 1 damla CF_3CO_2H) δ 165,73 (C=O); 151,64 (C2); 139,34 (C7a); 135,47 (C3', C5'); 135,17 (C3a); 132,32 (C1', C4'); 126,50 (C6); 125,84 (C2', C6'); 123,14 (C5); 115,51 (C4); 114,42 (C7); 52,62 (OCH₃); 20,83 (CH₃). FT-IR ν_{maks} : 3335,48 (N-H gerilimi); 3020,48 (sp² C-H gerilimi); 2951,32-2844,48 (sp³ C-H gerilimleri); 1690,86 (Ester C=O gerilimi); 1605,26, 1579,64, 1529,83, 1490,56 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1458,17- 1313,07 (sp³ C-H eğilimleri); 1286,80 (Ester C-O gerilimi); 849,25 ve 750,50 (1,3,5-trisüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimleri) cm^{-1} .

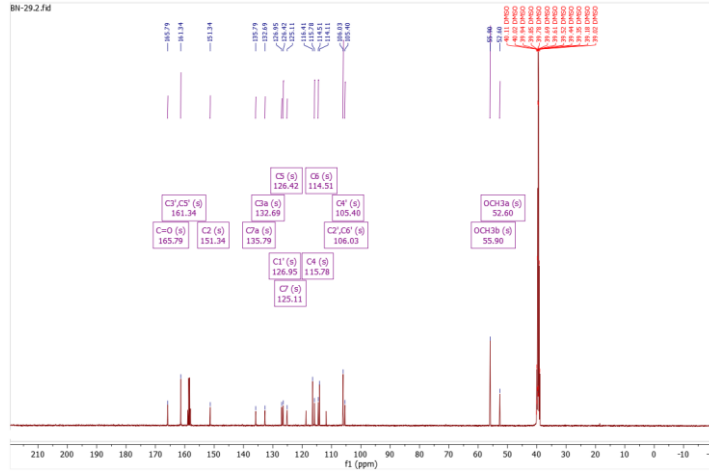


Şekil 3.27. 2o Bileşiğine ait kütle spektrumu

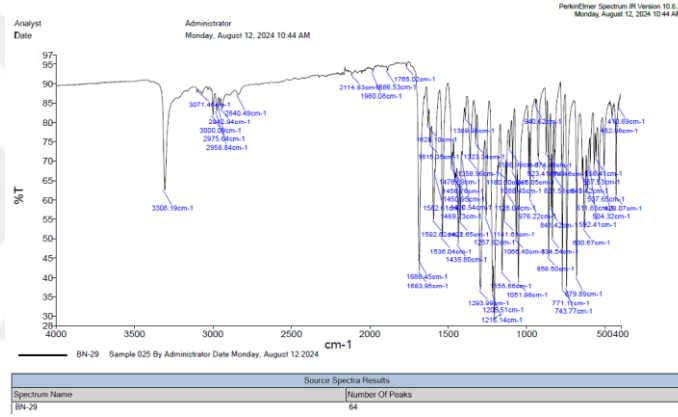
3.2.3.15. Metil 2-(3,5-dimetoksifenil)-¹H-benzimidazol-5(6)-karboksilat (2p)



Bileşik **1a** ve 3,5-dimetoksibenzaldehitten hareketle yöntem B'ye göre sentezlenmiş ve flash kolon kromatografisi (Diklorometan/Metanol 95:5) ile saflaştırılmıştır (500 mg, %46 verim). R_f : 0,58 (Diklorometan/Metanol 95:5). EN: 208,5 °C. $C_{17}H_{16}N_2O_4$ için kütle (ESI+) m/z $[M+H]^+$ hesaplanan: 312,11; bulunan: 312,7. LC t_R (dk.): 4,17. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 + 1 damla CF_3CO_2H) δ 8,29 (1H, d, J = 1,5 Hz, H4); 8,06 (1H, dd, J = 8,6; 1,6 Hz, H6); 7,89 (1H, d, J = 8,6 Hz, H7); 7,40 (2H, d, J = 2,3 Hz, H2', H6'); 6,83 (1H, t, J = 2,2; 2,2 Hz; H4'); 3,90 (3H, s, OCH_{3a}); 3,86 (6H, s, OCH_{3b}). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6 + 1 damla CF_3CO_2H) δ 165,79 (C=O); 161,34 (C3', C5'); 151,34 (C2); 135,79 (C7a); 132,69 (C3a); 126,95 (C1'); 126,42 (C5); 125,11 (C7); 115,78 (C4); 114,51 (C6); 106,03 (C2', C6'); 105,40 (C4'); 55,90 (OCH_{3b}); 52,60 (OCH_{3a}). FT-IR ν_{maks} : 3308,19 (N-H gerilimi); 3071,46 ve 3000,09 (sp^2 C-H gerilimi); 2975,64-2840,49 (sp^3 C-H gerilimi); 1683,95 (Ester C=O gerilimi); 1615,35; 1592,62; 1582,61; 1536,04 (N-H eğilimi, C=N ile Ar-C=C- gerilimleri); 1478,69-1323,34 (sp^3 C-H eğilimleri); 1293,99 (Ester C-O gerilimi); 1205,51 ve 1216,14 (Aromatik eter C-O gerilimleri); 858,50 ve 743,77 (1,3,5-trisüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimleri) cm^{-1} .



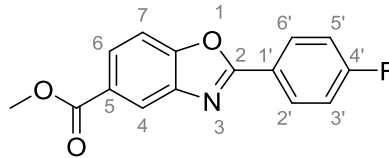
Şekil 3.31. 2p Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu



Şekil 3.32. 2p Bileşiğine ait FT-IR spektrumu

3.2.4. Benzoksazol Türevi Bileşiklerin Sentezleri

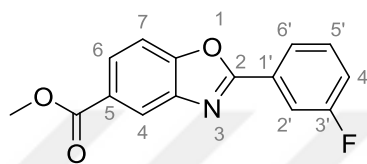
3.2.4.1. Metil 2-(4-florofenil)benzoksazol-5-karboksilat (3a)



Bileşik **1b** ve 4-florobenzaldehitten hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş ve kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) ile saflaştırılmıştır (550 mg, %39,3 verim). R_f: 0,57 (Etil asetat/Petrol eteri 20:80). CAS: 779204-18-1. EN: 125,1 °C (122 °C (Thakral vd., 2022)). C₁₅H₁₀FNO₃ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 272,07; bulunan: 272,35. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,33 (1H, d, *J* = 1,6 Hz; H₄), 8,28 (2H, m; H_{2'}, H_{6'}), 8,06

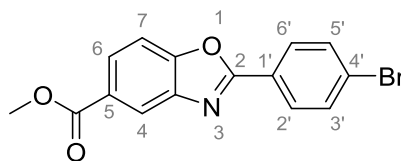
(1H, dd, $J = 8,6; 1,7$ Hz; H6), 7,92 (1H, d, $J = 8,5$ Hz; H7), 7,48 (2H, m; H3', H5'), 3,91 (3H, s; CH₃). NMR karakterizasyonu literatür ile uygunluk göstermektedir (Thakral vd., 2022). FT-IR ν_{maks} : 3191,29–3029,65 (sp² C-H gerilimleri); 2962,08–2850,08 (sp³ C-H gerilimleri); 1725,94 (Ester C=O gerilimi); 1598,37–1501,45 (Ar-C=C- ve C=N gerilimleri); 1469,14–1353,00 (sp³ C-H eğilimleri); 1300,83 (Ester C-O gerilimi); 1215,44 (Ar-F gerilimi); 749,21 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimleri) cm⁻¹.

3.2.4.2. Metil 2-(3-florofenil)benzoksazol-5-karboksilat (3b)



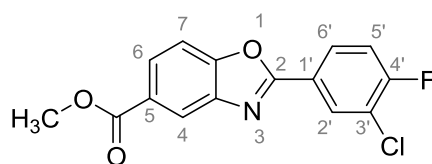
Bileşik **1b** ve 3-florobenzaldehitten hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş ve flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (600 mg, %36.3 verim). R_f: 0,45 (Etil asetat/Petrol eteri 20:80). CAS: 1307238-78-3. EN: 131,0 °C (136 °C, (Thakral vd., 2022). C₁₅H₁₀BrNO₃ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 272,06; bulunan: 272,2. LC t_R (dk.): 6,40. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,37 (1H, d, $J = 1,7$ Hz; H4); 8,09 (2H, ddd, $J = 7,7; 2,7; 1,5$ Hz; H6, H1'); 7,97 (2H, m; H7, H6'); 7,71 (1H, td, $J = 8,1; 8,0; 5,8$ Hz; H5'); 7,55 (1H, m, H4'); 3,91 (3H, s, OCH₃). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ 165,84 (C=O); 163,31 (C2); 162,88 (d, $^1J_{C-F} = 237,7$ Hz, C3'); 153,26 (C7a); 141,55 (C3a); 131,83 (d, $^3J_{C-F} = 8,3$ Hz, C1'); 130,99 (C5); 128,08 (d, $^3J_{C-F} = 8,7$ Hz, C5'); 127,28 (C6); 123,85 (C6'); 121,18 (C4); 119,47 (d, $^2J_{C-F} = 21,1$ Hz, C2'); 114,32 (d, $^2J_{C-F} = 23,3$ Hz, C4'); 111,49 (C7); 52,47 (OCH₃). NMR karakterizasyonu literatürle uygunluk göstermektedir (Thakral vd., 2022). FT-IR ν_{maks} : 3059,29 (sp² C-H gerilimi); 2954,72 (sp³ C-H gerilimi); 1712,91 (Ester C=O gerilimi); 1610,06; 1592,15; 1489,82; 1476,24 (C=N ve Ar-C=C- gerilimleri); 1453,59- 1351,88 (sp³ C-H eğilimleri); 1293,37 (Ester C-O gerilimi); 1206,20 (Ar-F gerilimi); 930,32; 879,57; 796,09 (1,3-disübstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.

3.2.4.3. Metil 2-(4-bromofenil)benzoksazol-5-karboksilat (3c)



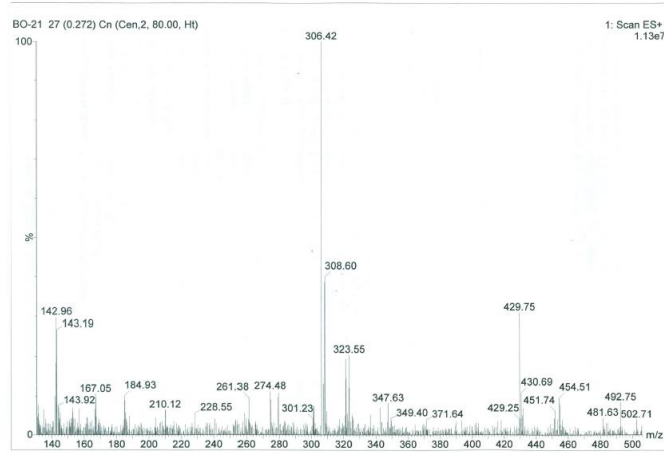
Bileşik **1b** ve 4-bromobenzaldehitten hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş ve flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (600 mg, %36.3 verim). R_f: 0,55 (Etil asetat/Petrol eteri 20:80). CAS: 1307239-87-7. EN: 155,6 °C (144 °C (Thakral vd., 2022)). C₁₅H₁₀BrNO₃ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 330,98; bulunan: 332,43. LC t_R (dk.): 7,12. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,35 (1H, d, *J* = 1,7 Hz; H4); 8,15 (2H, m, H2', H6'); 8,08 (1H, dd, *J* = 8,6; 1,7 Hz, H6); 7,93 (1H, d, *J* = 8,7 Hz; H7); 7,86 (2H, m; H3', H5'), 3,91 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165,77 (C=O); 163,00 (C2); 153,18 (C7a); 141,59 (C3a); 132,46 (C2', C6'), 129,37 (C3', C5'); 127,05 (C1'); 126,80 (C4'); 126,16 (C5); 125,07 (C6); 120,98 (C4); 111,30 (C7); 52,33 (OCH₃). NMR karakterizasyonu literatürle uygunluk göstermektedir (Thakral vd., 2022). FT-IR ν_{maks}: 2993,66; 2951,60 (sp³ C-H gerilimleri); 1716,94 (Ester C=O gerilimi); 1679,56; 1621,94 (C=N ve Ar-C=C- gerilimleri); 1478,02-1350,30 (sp³ C-H eğilimleri); 1296,39 (Ester C-O gerilimi); 1070,34 (Ar-Br gerilimi); 765,62 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.

3.2.4.4. Metil 2-(3-kloro-4-florofenil)benzoksazol-5-karboksilat (3d)

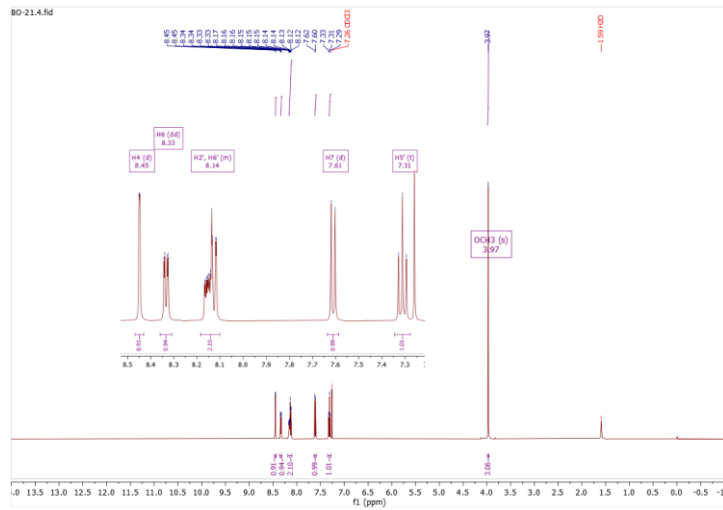


Bileşik **1b** ve 3-kloro-4-florobenzaldehitten hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (549 mg, % 36 verim). R_f: 0,69 (Etil asetat/Petrol eteri 20:80). EN: 194,1 °C. C₁₅H₉ClFNO₃ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 306,03; bulunan: 306,42. LC t_R (dk.): 7,2. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8,45 (1H; d; *J* = 1,6 Hz; H4); 8,33 (1H; dd; *J* = 7,0; 2,2 Hz; H6); 8,14 (2H; m; H2', H6'); 7,61 (1H, d, *J* = 8,5 Hz; H7); 7,31 (1H, t, *J* = 8,6; 8,6 Hz; H5'); 3,97 (3H, s, OCH₃). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 166,74 (C=O); 162,33 (C2); 161,53 (d, ¹J_{C-H} = 257,3 Hz, C4'); 153,82 (C7a); 142,17 (C3a); 130,47 (C5); 128,03 (d, ³J_{C-H} = 7,3 Hz, C2'); 127,56

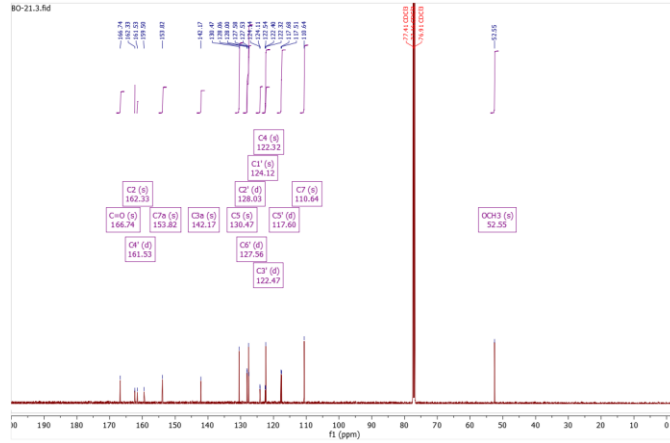
(d, $^3J_{C-H} = 6,4$ Hz, C6'); 124,12 (C1'); 122,47 (d, $^2J_{C-H} = 18,4$ Hz, C3'); 122,32 (C4); 117,60 (d, $^2J_{C-H} = 22,0$ Hz C5'); 110,64 (C7); 52,55 (OCH₃). FT-IR ν_{maks} : 3099,35- 3027,01 (sp² C-H gerilimleri); 2957,74- 2838,09 (sp³ C-H gerilimleri); 1720,10 (Ester C=O gerilimi); 1623,25; 1601,88; 1485,88 (C=N ve Ar-C=C- gerilimleri); 1455,89-1349,33 (sp³ C-H eğilimleri); 1287,95 (Ester C-O gerilimi); 1221,78 (Ar-F gerilimi); 1088,01 (Ar-Cl gerilimi); 886,62; 763,52 (1,2,4-trisübstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.



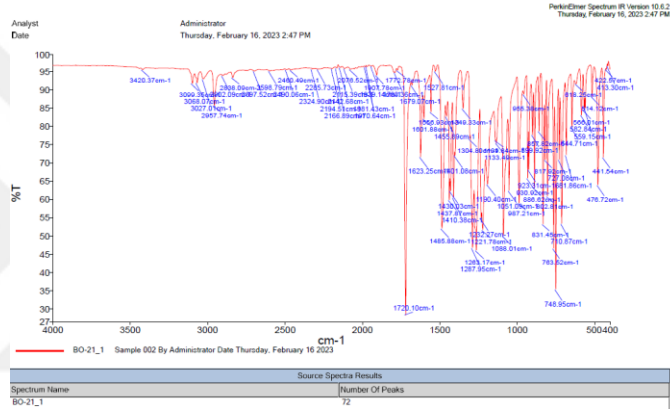
Şekil 3.33. 3d Bileşiğine ait kütle spektrumu



Şekil 3. 34. 3d Bileşiğine ait ¹H NMR spektrumu

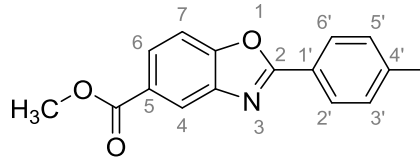


Şekil 3. 35. 3d Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu



Şekil 3. 36. 3d Bileşiğine ait FT-IR spektrumu

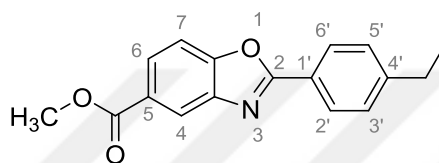
3.2.4.5. Metil 2-(4-metilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3e)



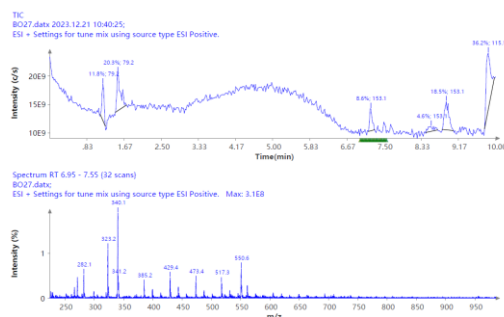
Bileşik **1b** ve 4-metilbenzaldehyden hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (450 mg, %34 verim). R_f: 0,42 (Etil asetat/Petrol eteri 20:80). CAS: 63556-97-8. EN: 235,3 °C (237–239 °C (Hikawa vd., 2018)). C₁₆H₁₃NO₃ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 268,09; bulunan: 268,0. LC t_R (dk.): 7,12. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,32 (1H, m, H₄); 8,13 (2H, m, H₂', H₆'); 8,05 (1H; dd; *J* = 8,5; 1,7 Hz; H₆); 7,91 (1H; d; *J* = 8,5 Hz; H₇); 7,45 (2H; d; *J* = 8,1 Hz; H₃'; H₅'); 3,91 (3H, s, OCH₃); 2,43 (3H, s, CH₃). ^1H NMR

karakterizasyonu literatürle uygunluk göstermektedir (Yeob; vd., 2017). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 165,90 (C=O); 164,00 (C2); 153,15 (C7a); 142,78 (C3a); 141,78 (C4'); 129,98 (C3', C5'); 127,54 (C2', C6'); 126,72 (C6); 126,60 (C1'); 123,12 (C5); 120,74 (C4); 111,16 (C7); 52,38 (OCH₃); 21,21 (CH₃). FT-IR ν_{maks} : 2989,32; 2951,52 (sp³ C-H gerilimleri); 1718,00 (Ester C=O gerilimi); 1611,06; 1579,63; 1498,14 (C=N ve Ar-C=C- gerilimleri); 1469,54 1313,84 (sp³ C-H eğilimleri); 1294,23 (Ester C-O gerilimi); 748,22 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.

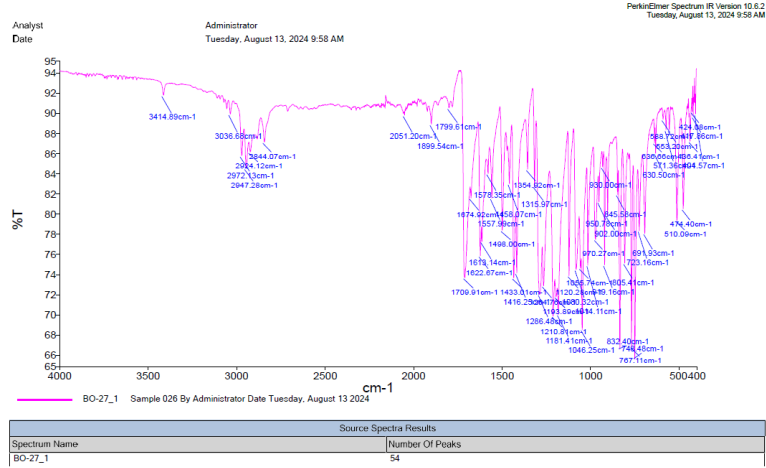
3.2.4.6. Metil 2-(4-etilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3f)



Bileşik **1b** ve 4-etilbenzaldehitten hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (512 mg, % 36 verim). R_f: 0,44 (Etil asetat/Petrol eteri 20:80). EN: 127,3 °C. C₁₇H₁₅NO₃ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 282,11; bulunan: 282,1. LC t_R (dk.): 7,22. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,32 (1H; d; J = 1,6 Hz; H4); 8,15 (2H, m, H2', H6'); 8,05 (1H; dd; J = 8,5; 1,6 Hz; H6); 7,91 (1H; d; J = 8,5 Hz; H7); 7,48 (2H, m, H3', H5'); 3,90 (3H, s, OCH₃); 2,72 (2H, q; J = 7,6 Hz; CH₂); 1,24 (3H; t; J = 7,6 Hz; CH₃). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 165,91 (C=O); 164,01 (C2); 153,17 (C7a); 148,84 (C4'); 141,80 (C3a); 128,83 (C3', C5'); 127,66 (C1'); 126,74 (C2', C6'); 126,62 (C5); 123,37 (C6); 120,76 (C4); 111,18 (C7); 52,39 (OCH₃); 28,21 (CH₂); 15,12 (CH₃). FT-IR ν_{maks} : 3036,68 (sp² C-H gerilimi); 2972,13-2844,07 (sp³ C-H gerilimleri); 1709,91 (Ester C=O gerilimi); 1613,14; 1578,35; 1498,00 (C=N ve Ar-C=C- gerilimleri); 1458,07- 1315,97 (sp³ C-H eğilimleri); 1286,48 (Ester C-O gerilimi); 767,11 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.

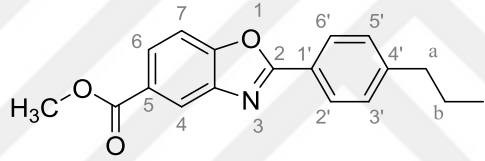


Şekil 3.37. 3f Bileşiğine ait kütle spektrumu

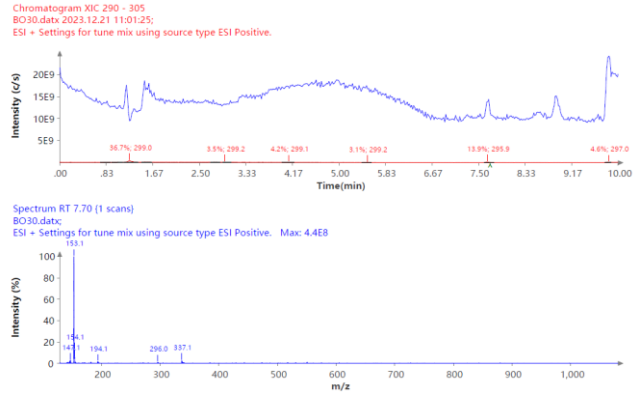


Şekil 3.41. 3f Bileşiğine ait FT-IR spektrumu

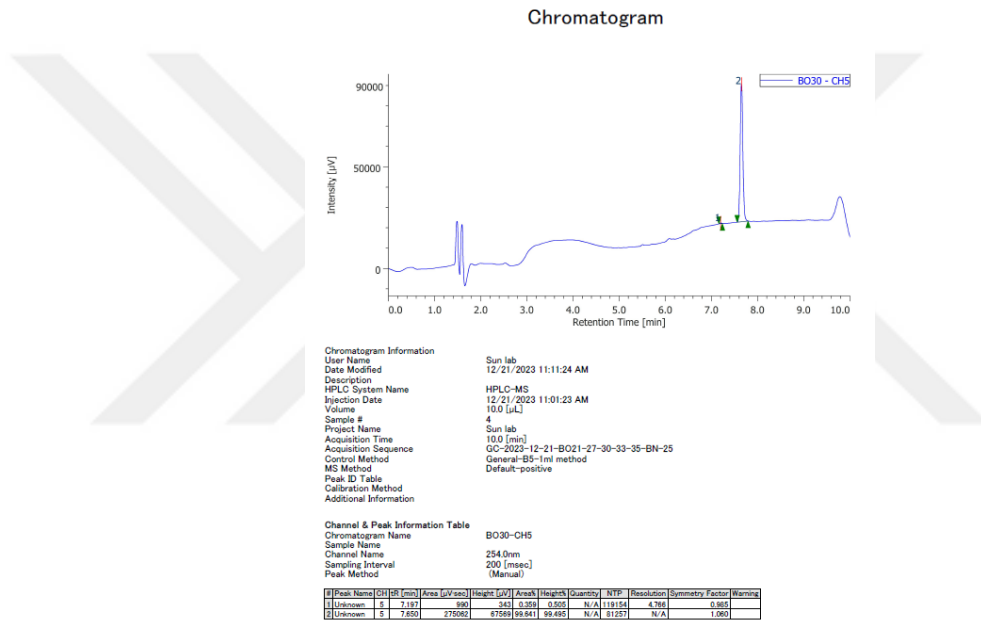
3.2.4.7. Metil 2-(4-propilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3g)



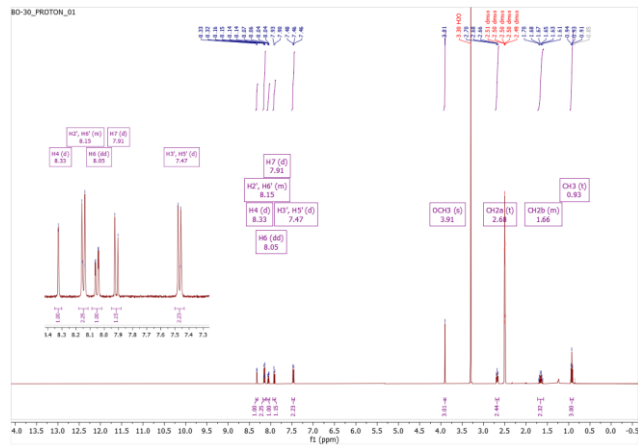
Bileşik **1b** ve 4-propilbenzaldehyitten hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (524 mg, %35,5 verim). R_f : 0,42 (Etil asetat/Petrol eteri 20:80). EN: 98,1 °C. $C_{18}H_{17}NO_3$ için kütle (ESI+) m/z $[M+H]^+$ hesaplanan: 296,12; bulunan: 296,0. LC t_R (dk.): 7,43. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,33 (1H, d, J = 1,7 Hz, H4); 8,15 (2H, m, H2', H6'); 8,05 (1H, dd, J = 8,6; 1,7 Hz, H6), 7,91 (1H, d, J = 8,6 Hz; H7); 7,47 (2H, d, J = 8,1 Hz; H3', H5'); 3,91 (3H, s, OCH₃); 2,68 (2H, t, J = 7,6 Hz; H_a); 1,66 (2H, m, H_b); 0,93 (3H, t, J = 7,3 Hz; H_c). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 165,97 (C=O); 164,07 (C2); 153,21 (C7a); 147,33 (C4'); 141,83 (C3a); 129,43 (C3', C5'); 127,62 (C2', C6'); 126,79 (C5); 126,65 (C1'); 123,43 (C6); 120,80 (C4); 111,22 (C7); 52,44 (OCH₃); 37,22 (C_a); 23,76 (C_b); 13,65 (C_c). FT-IR ν_{maks} : 2956,59-2872,07 (sp^3 C-H gerilimi); 1715,20 (Ester C=O gerilimi); 1623,48; 1579,67; 1499,245 (C=N ve Ar-C=C- gerilimleri); 1452,72- 1321,12 (sp^3 C-H eğilimleri); 1293,07 (Ester C-O gerilimi); 749,91 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm^{-1} .



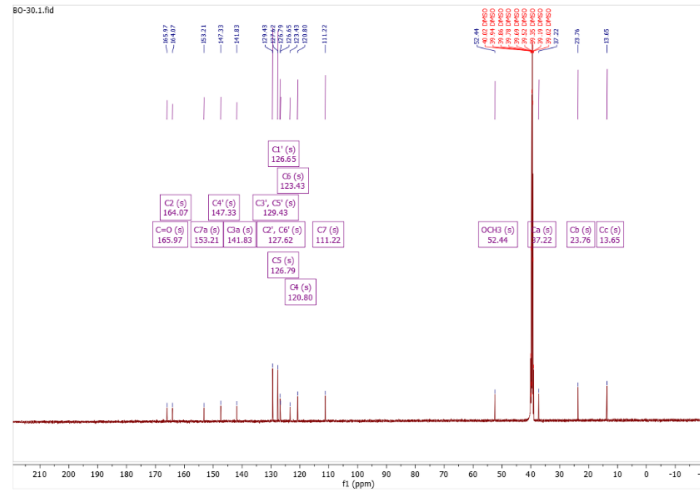
Şekil 3.42. 3g Bileşiğine ait kütle spektrumu



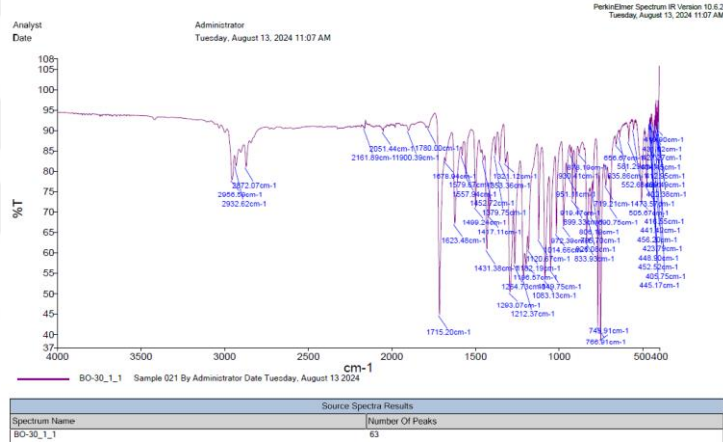
Şekil 3.43. 3g Bileşiğine ait LC spektrumu



Şekil 3.44. 3g Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu

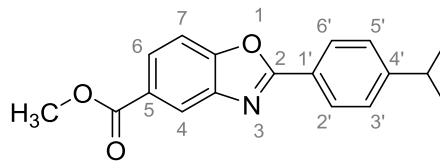


Şekil 3.45. 3g Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu



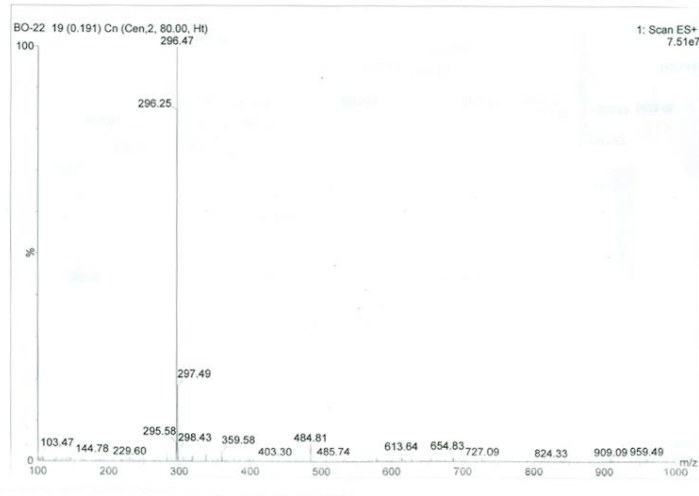
Şekil 3.46. 3g Bileşiğine ait FT-IR spektrumu

3.2.4.8. Metil 2-(4-izopropilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3h)

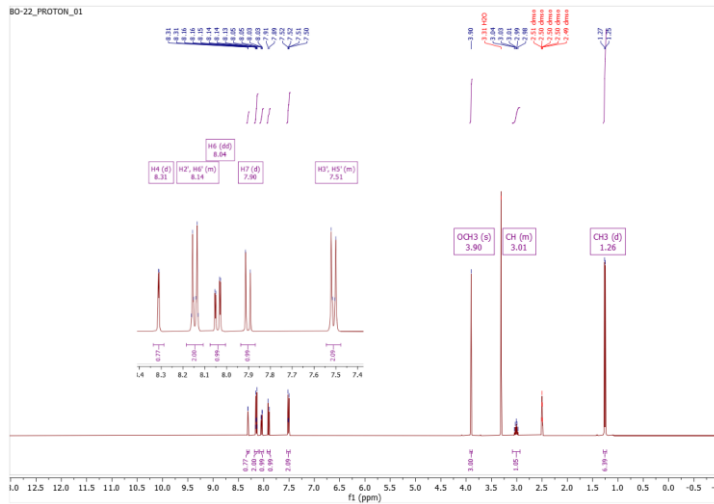


Bileşik **1b** ve 4-izopropilbenzaldehyitten hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (487 mg, %33 verim) R_f : 0,42 (Etil asetat/Petrol eteri 20:80). EN: 103,6 °C. $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ için kütle (ESI+) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ hesaplanan: 296,12; bulunan: 296,47. LC t_R (dk.): 7,2. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,31 (1H; d; J = 1,6 Hz; H4); 8,14 (2H, m, H2', H6'); 8,04 (1H; dd; J = 8,5; 1,7

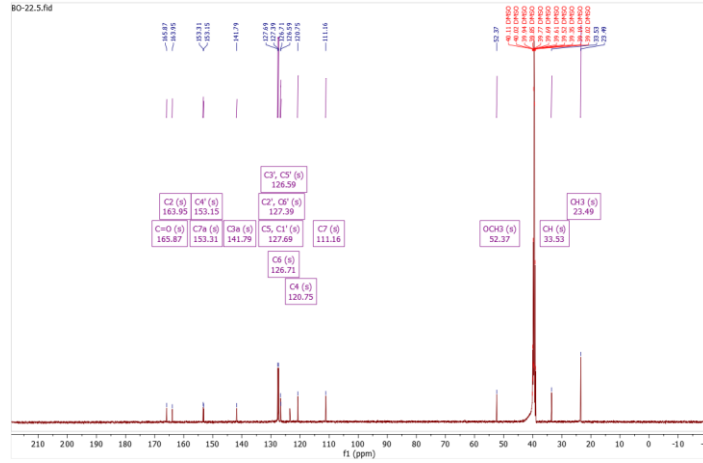
Hz; H6); 7,90 (1H; d; $J = 8,6$ Hz; H7); 7,51 (2H, m, H3', H5'); 3,90 (3H, s, OCH₃); 3,01 (1H; m; CH); 1,26 (6H; d; $J = 6,9$ Hz; CH₃). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165,87 (C=O); 163,95 (C2); 153,31 (C7a); 153,15 (C4'); 141,79 (C3a); 127,69 (C5, C1'); 127,39 (C2', C6'); 126,71 (C6); 126,59 (C3', C5'); 120,75 (C4); 111,16 (C7); 52,37 (OCH₃); 33,53 (CH); 23,49 (CH₃). FT-IR ν_{maks} : 3162,83; 3060,71 (sp² C-H gerilimleri); 2977,34- 2842,03 (sp³ C-H gerilimleri); 1716,29 (Ester C=O gerilimi); 1611,49; 1581,81; 1468,68 (C=N ve Ar-C=C- gerilimleri); 1452,89- 1313,91 (sp³ C-H eğilimleri); 1292,43 (Ester C-O gerilimi); 766,62 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.



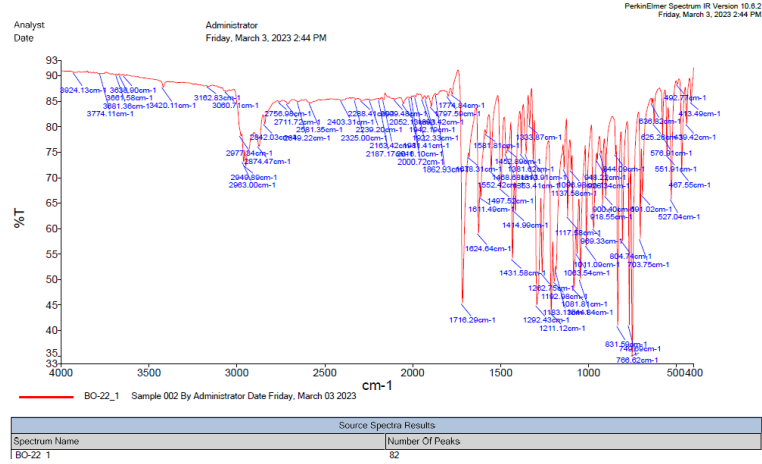
Şekil 3.47. 3h Bileşiğine ait kütle spektrumu



Şekil 3.48. 3h Bileşiğine ait ¹H NMR spektrumu

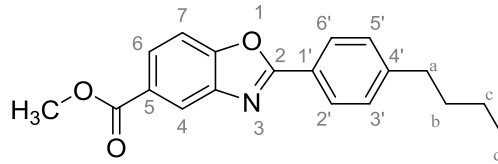


Şekil 3.49. 3h Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu



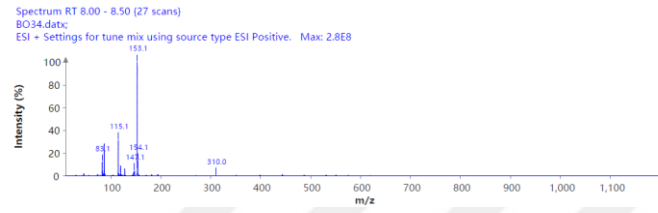
Şekil 3.50. 3h Bileşiğine ait FT-IR spektrumu

3.2.4.9. Metil 2-(4-bütilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3i)

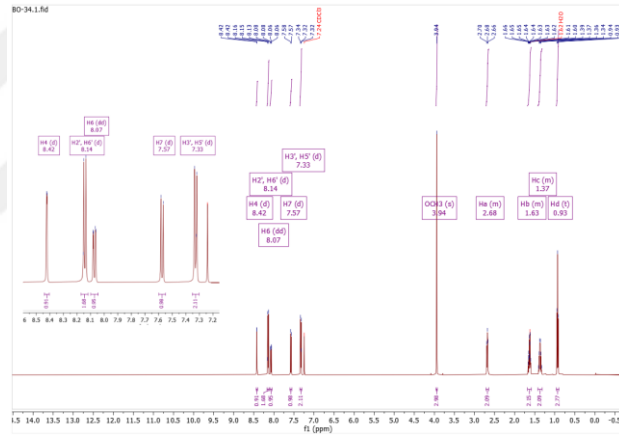


Bileşik **1b** ve 4-bütilbenzaldehyitten hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (450 mg, %29 verim). R_f : 0,45 (EtOAc/Pet 20:80). EN: 121,1 °C. $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ için kütle (ESI+) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ hesaplanan: 310,14; bulunan: 310,0. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,42 (1H, d, J = 1,6 Hz; H4); 8,14 (2H, d, J = 8,3 Hz; H2', H6'); 8,07 (1H, dd, J = 8,5; 1,7 Hz; H6); 7,57 (1H, d, J = 8,5 Hz; H7); 7,33 (2H, d, J = 8,1 Hz; H3', H5'); 3,94 (3H, s, OCH_3); 2,68 (2H, m, H_a); 1,63

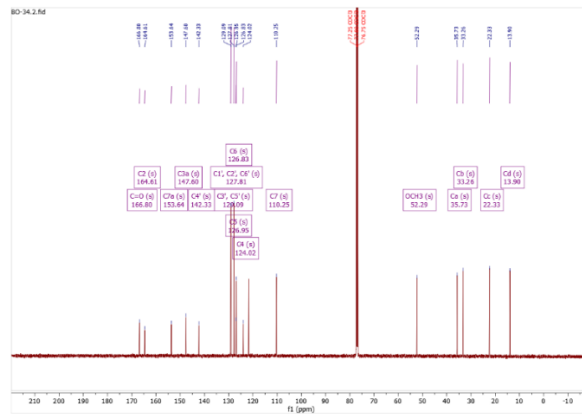
(2H, m, H_b); 1,37 (2H, m, H_c); 0,93 (3H, t, $J = 7,4$ Hz; H_d). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 166,80 (C=O); 164,61 (C2); 153,64 (C7a); 147,60 (C3a); 142,33 (C4'); 129,09 (C3', C5'); 127,81 (C1', C2', C6'); 126,95 (C5); 126,83 (C6); 124,02 (C4); 110,25 (C7); 52,29 (OCH₃); 35,73 (C_a), 33,26 (C_b); 22,33 (C_c); 13,90 (C_d). FT-IR ν_{maks} : 2956,99-2857,89 (sp^3 C-H gerilimi); 1715,07 (Ester C=O gerilimi); 1622,88; 1500,27; 1578,58; 1469,44 (C=N ve Ar-C=C- gerilimleri); 1434,84-1322,75 (sp^3 C-H eğilimleri); 1292,83 (Ester C-O gerilimi); 750,68 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi). cm^{-1} .



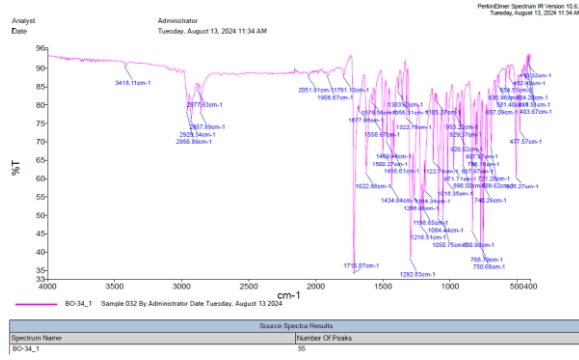
Şekil 3.51. 3i Bileşiğine ait kütle spektrumu



Şekil 3.52. 3i Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu

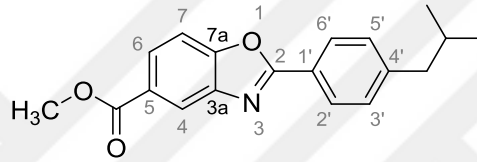


Şekil 3.53. 3i Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

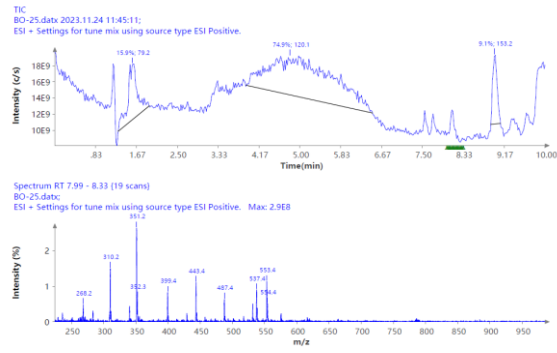


Şekil 3.54. 3i Bileşiğine ait FT-IR spektrumu

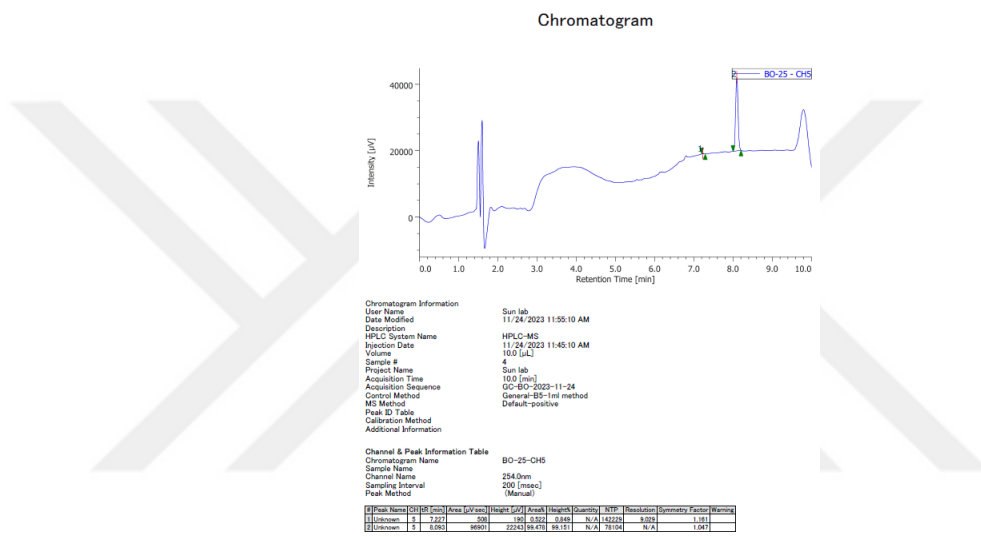
3.2.4.10. Metil 2-(4-izobütilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3k)



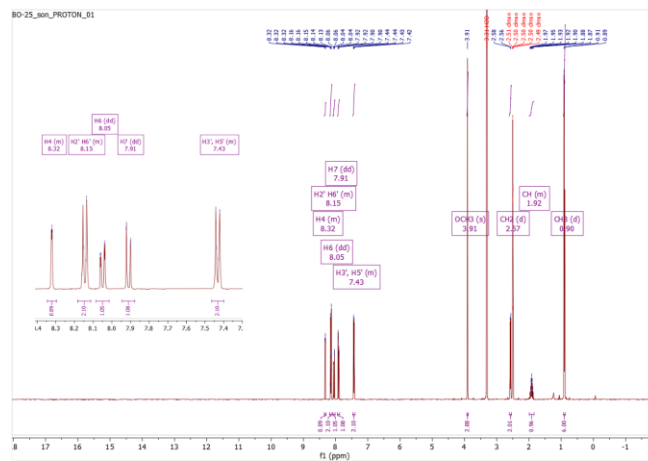
Bileşik **1b** ve 4-izobütilbenzaldehyitten hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (500 mg, %32 verim). R_f: 0,43 (Etil asetat/Petrol eteri 20:80). EN: 107,2 °C. C₁₉H₁₉NO₃ için kütle (ESI+) m/z [M+H]⁺ hesaplanan: 310,14; bulunan: 310,2. LC t_R (dk.): 8,12. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,32 (1H, m, H₄); 8,15 (2H, m, H₂', H₆'); 8,05 (1H, dd, *J* = 8,6; 1,7 Hz, H₆); 7,91 (1H, dd, *J* = 8,5; 0,7 Hz, H₇); 7,43 (2H, m, H₃', H₅'); 3,91 (3H, s, OCH₃); 2,57 (2H, d, *J* = 7,2 Hz, CH₂); 1,92 (1H, m, CH); 0,90 (6H, d, *J* = 6,6 Hz, CH₃). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165,82 (C=O); 163,95 (C₂); 153,12 (C_{7a}); 146,19 (C_{3a}); 141,76 (C₄'); 129,88 (C₃', C₅'); 127,37 (C₂', C₆'); 126,64 (C₁'); 126,55 (C₅); 123,40 (C₆); 120,70 (C₄); 111,08 (C₇); 52,29 (OCH₃); 44,41 (CH₂); 29,45 (CH); 22,06 (CH₃). FT-IR ν_{maks}: 2969,10- 2846,02 (sp³ C-H gerilimleri); 1718,60 (Ester C=O gerilimi), 1621,28; 1577,61; 1498,89 (C=N ve Ar-C=C- gerilimleri); 1462,50-1313,57 (sp³ C-H eğilimleri); 1291,83 (Ester C-O gerilimi); 766,31 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm⁻¹.



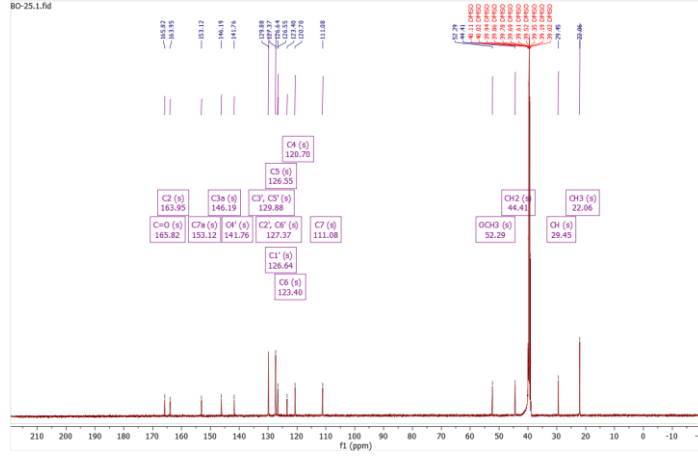
Şekil 3.55. 3k Bileşiğine ait kütle spektrumu



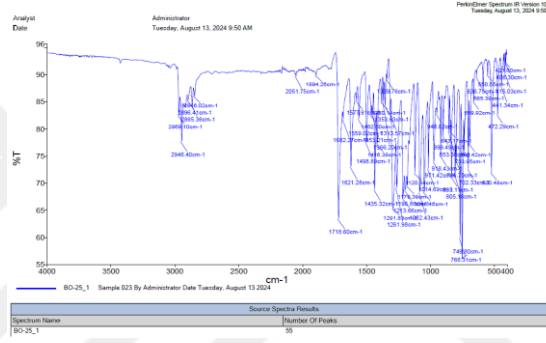
Şekil 3.56. 3k Bileşiğine ait LC spektrumu



Şekil 3.57. 3k Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu

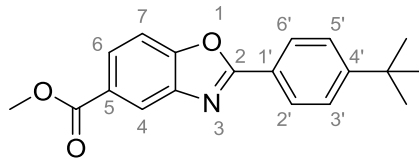


Şekil 3.58. 3k Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu



Şekil 3.59. 3k Bileşiğine ait FT-IR spektrumu

3.2.4.11. Metil 2-(4-*tert*-bütilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3l)

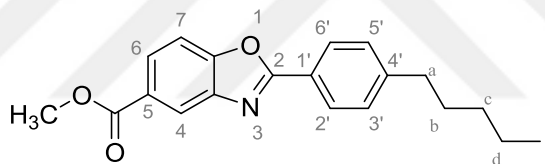


Bileşik **1b** ve 4-*tert*-bütilbenzaldehyden hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş ve flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (450 mg, %29 verim). R_f : 0,53 (Etil asetat/Petrol eteri 20:80). CAS: 1982132-35-3. EN: 151,5 °C. $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ için kütle (ESI+) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ hesaplanan: 310,14; bulunan: 310,2. LC t_R (dk.): 7,40. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,33 (1H, d, $J = 1,6$ Hz; H4), 8,17 (2H, m; H2', H6'), 8,05 (1H, dd, $J = 8,6, 1,7$ Hz; H6), 7,92 (1H, d, $J = 8,6$ Hz; H7), 7,67 (2H, m; H3', H5'), 3,91 (3H, s; OCH_3), 1,35 (9H, s; CH_3). NMR karakterizasyonu literatürle uygunluk göstermektedir (Yeob; vd., 2017). ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 165,78 (C=O); 163,82 (C2); 155,42 (C4'); 153,09 (C7a); 141,73 (C3a); 127,35 (C1'); 126,58 (C2', C6'); 126,14

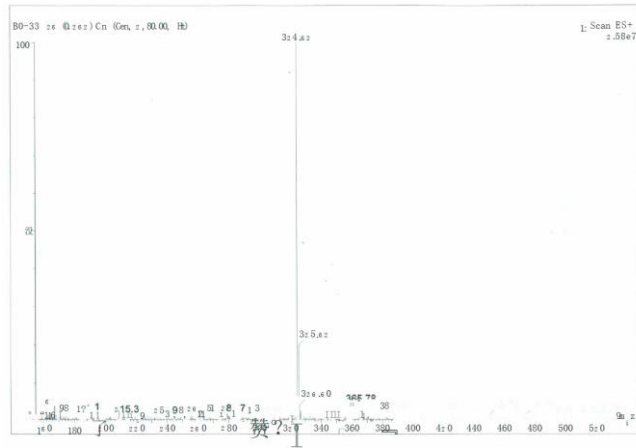
Şekil 3.60. 3l Bileşiğine ait kütle spektrumu

3.2.4.12. Metil 2-(4-pentilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3m)

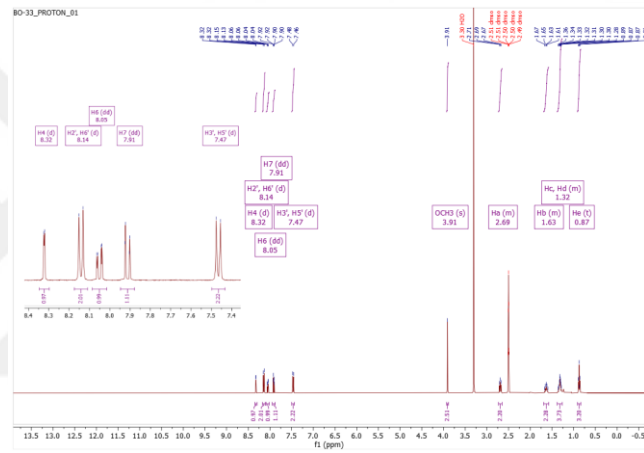
3.2.4.12. Metil 2-(4-pentilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3m)



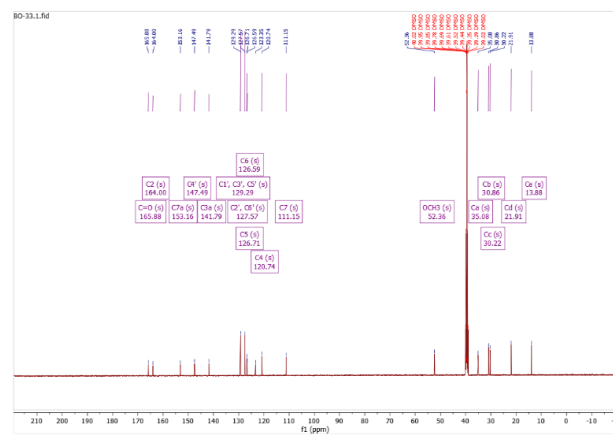
144



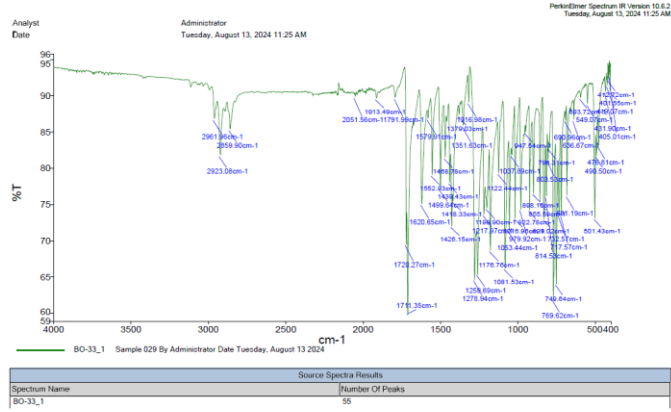
Şekil 3.61. 3m Bileşiğine ait kütle spektrumu



Şekil 3.62. 3m Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu

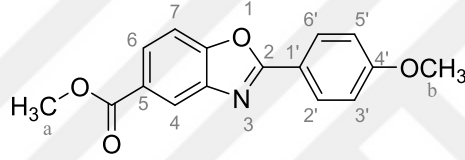


Şekil 3.63. 3m Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

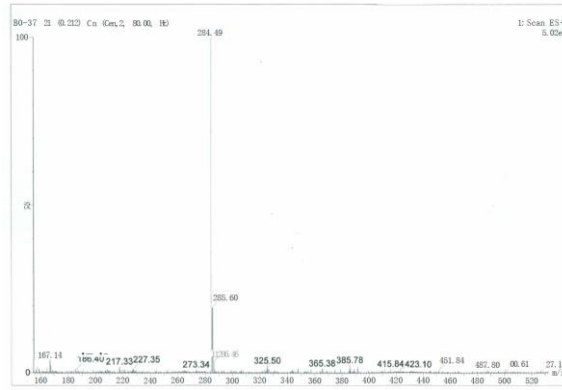


Şekil 3.64. 3m Bileşiğine ait FT-IR spektrumu

3.2.4.13. Metil 2-(4-metoksifenil)benzoksazol-5-karboksilat (3n)

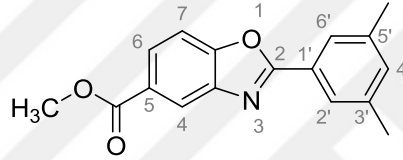


Bileşik **1b** ve 4-metoksibenzaldehitten hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (625 mg, %44 verim). R_f : 0,60 (EtOAc/Pet 20:80). CAS: 1554031-59-2. EN: 173,4 °C. $C_{16}H_{13}NO_4$ için kütle (ESI+) m/z $[M+H]^+$ hesaplanan: 284,08; bulunan: 284,49. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8,39 (1H, dd, $J = 1,7; 0,6$ Hz; H4); 8,17 (2H, m, H2', H6'); 8,04 (1H, dd, $J = 8,5; 1,7$ Hz; H6); 7,54 (1H, dd, $J = 8,5; 0,6$ Hz; H7); 7,01 (2H, m, H3', H5'); 3,93 (3H, s, H_a); 3,87 (3H, s, H_b). NMR karakterizasyonu literatürle uygunluk göstermektedir (Ham 2016). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 166,81 (C=O); 164,43 (C2); 162,67 (C4'); 153,62 (C7a); 142,42 (C3a); 129,61 (C2', C6'); 126,87 (C5); 126,59 (C6); 121,52 (C1'); 119,09 (C4); 114,43 (C3', C5'); 110,11 (C7); 55,46 (C_b); 52,26 (C_a). FT-IR ν_{maks} : 3003,33 (sp^3 C-H gerilimi); 2954,27; 2842,01 (sp^3 C-H gerilimleri); 1712,32 (Ester C=O gerilimi); 1606,64; 1583,67; 1497,76 (C=N ve Ar-C=C- gerilimleri); 1457,92-1321,81 (sp^3 C-H eğilimleri); 1293,06 (Ester C-O gerilimi); 1215,71 (Aromatik eter C-O gerilimi); 765,89 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimi) cm^{-1} .



Şekil 3.65. 3n Bileşiğine ait kütle spektrumu

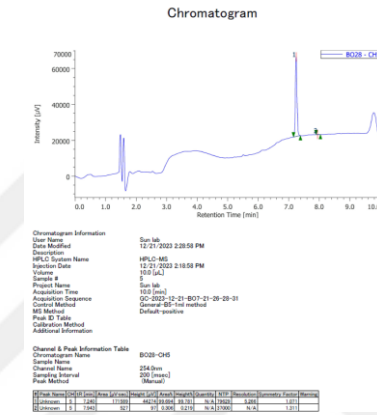
3.2.4.14. Metil 2-(3,5-dimetilfenil)benzoksazol-5-karboksilat (3o)



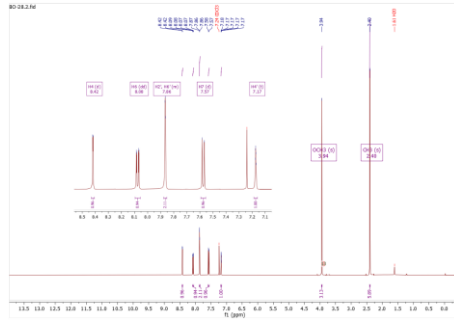
Bileşik **1b** ve 3,5-dimetilbenzaldehyitten hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (488 mg, %34,6 verim). R_f : 0,50 (Etil asetat/Petrol eteri 20:80). EN: 156,9 °C. $C_{17}H_{15}NO_3$ için kütle (ESI+) m/z $[M+H]^+$ hesaplanan: 282,11; bulunan: 282,0. LC t_R (dk.): 7,20. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8,42 (1H, d; J = 1,6 Hz; H4); 8,08 (1H; dd; J = 8,5; 1,7 Hz; H6); 7,86 (2H, m, H2', H6'), 7,57 (1H; d; J = 8,4 Hz; H7); 7,17 (1H, t, J = 1,8; 1,5 Hz; H4'); 3,94 (3H, s, OCH_3); 2,40 (6H, s, CH_3). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 166,93 (C=O); 164,91 (C2); 153,80 (C7a); 142,39 (C3a), 138,90 (C3', C5'); 133,95 (C4'); 127,15 (C2', C6'); 127,09 (C5); 126,51 (C5); 125,72 (C1'); 122,00 (C4); 110,44 (C7); 52,47 (OCH_3); 21,38 (CH_3). FT-IR ν_{maks} : 3068,05-3025,30 (sp^2 C-H gerilimi); 2955,77; 2916,00 (sp^3 C-H gerilimi); 1717,28 (Ester C=O gerilimi); 1624,21; 1607,10; 1476,65 (C=N ve Ar-C=C- gerilimleri); 1461,66-1311,57 (sp^3 C-H eğilimleri); 1283,39 (Ester C-O gerilimi); 854,96 ve 766,54 (1,3,5-trisüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimleri) cm^{-1} .



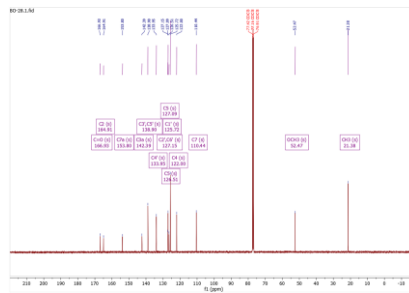
Şekil 3.66. 3o Bileşiğine ait kütle spektrumu



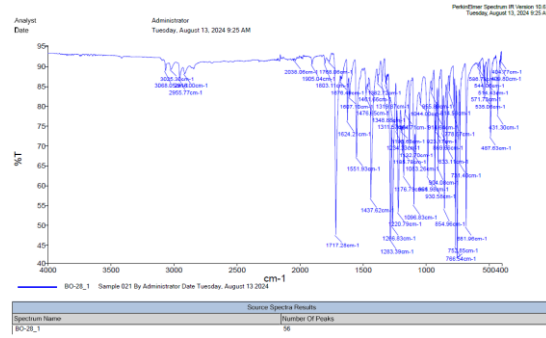
Şekil 3.67. 3o Bileşiğine ait LC spektrumu



Şekil 3.68. 3o Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu

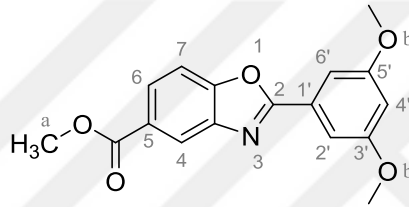


Şekil 3.69. 3o Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu



Şekil 3.70. 3o Bileşiğine ait FT-IR spektrumu

3.2.4.15. Metil 2-(3,5-dimetoksifenil)benzoksazol-5-karboksilat (3p)



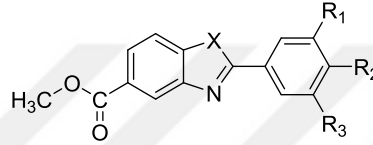
Bileşik **1b** ve 3,5-dimetoksibenzaldehitten hareketle yöntem D'ye göre sentezlenmiş flash kolon kromatografisi (Diklorometan: %100) kullanılarak saflaştırılmıştır (462 mg, % 30 verim). R_f : 0,60 (Etil asetat/Petrol eteri 20:80). CAS: 2148297-46-3. EN: 165,2 °C. $C_{17}H_{15}NO_5$ için kütle (ESI+) m/z $[M+H]^+$ hesaplanan: 313,1; bulunan: 314,3. LC t_R (dk.): 6,32. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,35 (1H; d; J = 1,6 Hz, H4); 8,07 (1H, dd, J = 8,6; 1,7 Hz; H6); 7,94 (1H; d; J = 8,5 Hz; H7), 7,34 (2H, d, J = 2,3 Hz; H2', H6'); 6,81 (1H, t, J = 2,3; 2,3 Hz, H4'); 3,89 (9H, s; H_a, H_b). NMR karakterizasyonu literatürle uygunluk göstermektedir (Ham 2016). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 165,77(C=O); 163,49 (C2); 160,92 (C2, C3', C5'); 153,10 (C7a); 141,51 (C3a); 127,52 (C5); 126,92 (C1'); 126,71 (C6); 120,89 (C4); 111,21 (C7); 105,15 (C2', C6'); 104,59 (C4'); 55,58 (C_b); 52,28 (C_a). FT-IR ν_{maks} : 3084,29 ve 3012,69 (sp^2 C-H gerilimi); 2999,93- 2843,68 (sp^3 C-H gerilimi); 1712,87 (Ester C=O gerilimi); 1625,94; 1598,81; 1467,02 (C=N ve Ar-C=C- gerilimleri); 1453,70- 1316,43 (sp^3 C-H eğilimleri); 1292,52 (Ester C-O gerilimi); 1261,27 ve 1206,14 (Aromatik eter C-O gerilimleri); 844,11 ve 749,15 (1,3,5-trisüstitüe benzen düzlem dışı C-H eğilimleri) cm^{-1} .

3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.3.1. Sentezlenen Bileşiklerin Sitotoksikite Bulguları

Doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşikler ile standart inhibitör olarak kullanılan etoposidin, 293T, LNCaP, HepG2 ve A549 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri, WST-1 yöntemiyle belirlenen IC₅₀ değerleri üzerinden değerlendirilmiş olup, bu veriler Çizelge 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Sentezlenen bileşikler ile etoposide ait antikanser aktivite (IC₅₀) değerleri (μM)



B	X	R ₁	R ₂	R ₃	293T	LNCaP	HepG2	A549
2a	NH	H	F	H	>100	>100	>100	>100
2b	NH	F	H	H	>100	57,29 (±4,28)	61,05 (±5,02)	60,59 (±4,29)
2c	NH	H	Br	H	68,29 (±4,15)	30,13 (±4,28)	33,47 (±3,25)	33,06 (±4,22)
2d	NH	Cl	F	H	84,91 (±2,26)	51,25 (±2,75)	59,59 (±1,74)	57,48 (±2,42)
2e	NH	H	CH ₃	H	69,14 (±2,94)	33,02 (±4,29)	36,75 (±5,95)	39,61 (±1,46)
2f	NH	H	C ₂ H ₅	H	66,36 (±3,04)	21,59 (±3,28)	25,26 (±3,11)	28,44 (±1,95)
2g	NH	H	<i>n</i> -C ₃ H ₇	H	70,45 (±2,74)	25,62 (±2,29)	28,24 (±3,18)	29,14 (±1,70)
2h	NH	H	<i>i</i> -C ₃ H ₇	H	65,28 (±3,78)	11,84 (±3,48)	19,59 (±2,15)	20,22 (±3,05)
2i	NH	H	<i>n</i> -C ₄ H ₉	H	68,28 (±3,52)	29,83 (±3,84)	35,68 (±2,07)	34,22 (±4,07)
2k	NH	H	<i>i</i> -C ₄ H ₉	H	54,25 (±2,83)	33,27 (±2,08)	35,72 (±2,06)	33,47 (±4,28)
2l	NH	H	<i>t</i> -C ₄ H ₉	H	68,14 (±5,75)	10,83 (±4,74)	15,58 (±5,25)	14,48 (±4,28)
2m	NH	H	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	H	69,48 (±4,25)	30,48 (±3,79)	31,94 (±1,33)	30,67 (±4,29)
2n	NH	H	OCH ₃	H	>100	29,35 (±3,14)	33,58 (±5,31)	35,29 (±3,35)
2o	NH	CH ₃	H	CH ₃	65,95 (±1,26)	23,57 (±4,85)	27,48 (±2,28)	26,54 (±2,05)
2p	NH	OCH ₃	H	OCH ₃	>100	>100	>100	>100
3a	O	H	F	H	>100	>100	>100	>100
3b	O	F	H	H	>100	>100	>100	>100
3c	O	H	Br	H	>100	>100	>100	>100
3d	O	Cl	F	H	>100	>100	>100	>100
3e	O	H	CH ₃	H	>100	>100	>100	>100
3f	O	H	C ₂ H ₅	H	>100	>100	>100	>100
3g	O	H	<i>n</i> -C ₃ H ₇	H	>100	>100	>100	>100
3h	O	H	<i>i</i> -C ₃ H ₇	H	>100	>100	>100	>100
3i	O	H	<i>n</i> -C ₄ H ₉	H	>100	>100	>100	>100
3k	O	H	<i>i</i> -C ₄ H ₉	H	>100	>100	>100	>100
3l	O	H	<i>t</i> -C ₄ H ₉	H	>100	>100	>100	>100
3m	O	H	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	H	>100	>100	>100	>100
3n	O	H	OCH ₃	H	>100	>100	>100	>100
3o	O	CH ₃	H	CH ₃	>100	>100	>100	>100
3p	O	OCH ₃	H	OCH ₃	>100	>100	>100	>100
EP					144,62 (±3,49)	11,37 (±2,94)	45,25 (±5,83)	104,28 (±6,92)

EP: Etoposid, B: Bileşikler.

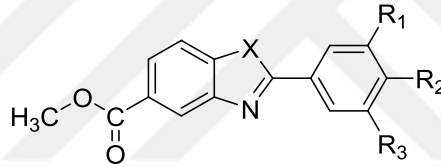
3.3.2. Sentezlenen Bileşiklerin hTopo IIα'ya Bağlanma Potansiyellerine Ait Bulgular

Doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşikler ile standart inhibitör etoposidin hTopo IIα testi üzerindeki inhibisyon etkileri, ELISA yöntemiyle belirlenen konsantrasyon değerleri kullanılarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 3.2'de sunulmuştur.

3.4. Sentezlenen Bileşiklerin hTopo IIα Enzimi (5GWK) ile Yapılan Moleküler Kenetlenme Çalışmaları

Doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşiklerin (2a-2p, 3a-3p) hTopo IIα (5GWK) ile Schrödinger Suite 2024-2 yazılımı üzerinden gerçekleştirilen moleküler kenetlenme çalışmasının sonuçları Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.2. Sentezlenen bileşikler ile etoposide ait *in vitro* hTopoIIα bağlanma değerleri (µg/L)

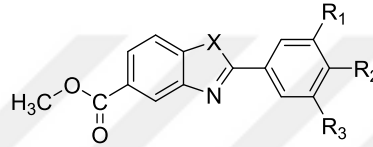


B	X	R ₁	R ₂	R ₃	Hesaplanan Enzim Konsantrasyonları (µg/L)
2a	NH	H	F	H	1.07
2b	NH	F	H	H	1.22
2c	NH	H	Br	H	1.26
2d	NH	Cl	F	H	1.59
2e	NH	H	CH ₃	H	1.52
2f	NH	H	C ₂ H ₅	H	1.52
2g	NH	H	<i>n</i> -C ₃ H ₇	H	1.52
2h	NH	H	<i>i</i> -C ₃ H ₇	H	1.44
2i	NH	H	<i>n</i> -C ₄ H ₉	H	1.52
2k	NH	H	<i>i</i> -C ₄ H ₉	H	1.39
2l	NH	H	<i>t</i> -C ₄ H ₉	H	1.28
2m	NH	H	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	H	1.55
2n	NH	H	OCH ₃	H	1.1
2o	NH	CH ₃	H	CH ₃	1.37
2p	NH	OCH ₃	H	OCH ₃	1.28
3a	O	H	F	H	1.31
3b	O	F	H	H	1.47
3c	O	H	Br	H	1.32
3d	O	Cl	F	H	1.33
3e	O	H	CH ₃	H	1.36
3f	O	H	C ₂ H ₅	H	1.34
3g	O	H	<i>n</i> -C ₃ H ₇	H	1.36

Çizelge 3.2. Devam

B	X	R1	R2	R3	Hesaplanan Enzim Konsantrasyonları (µg/L)
3h	O	H	<i>i</i> -C ₃ H ₇	H	1.37
3i	O	H	<i>n</i> -C ₄ H ₉	H	1.36
3k	O	H	<i>i</i> -C ₄ H ₉	H	1.38
3l	O	H	<i>t</i> -C ₄ H ₉	H	1.36
3m	O	H	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	H	1.68
3n	O	H	OCH ₃	H	1.3
3o	O	CH ₃	H	CH ₃	1.27
3p	O	OCH ₃	H	OCH ₃	1.39
EP					1.4

Çizelge 3.3. Sentezlenen bileşiklerin *in silico* bağlanma enerjileri (kcal/mol) ve gösterdikleri etkileşimler



	X	R ₁	R ₂	R ₃	XP Gscore	MMGBSA ΔGBind	Etkileşimler
2a	NH	H	F	H	-7,11	-42.64	Arg487 ^a (1,89 Å), DA12 ^b DG13 ^c , DA12 ^c , DC8 ^c
2b	NH	F	H	H	-7,09	-32.88	Arg487 ^a (1,88 Å), DG13 ^c
2c	NH	H	Br	H	-7,00	-29.98	Arg487 ^a , DG13 ^c , DC8 ^c
2d	NH	Cl	F	H	-5,92	-34.83	Arg487 ^a (2,00Å), DA12 ^b
2e	NH	H	CH ₃	H	-5,85	-31.85	DG13 ^a (2,48 Å), DC8 ^c
2f	NH	H	C ₂ H ₅	H	-5,78	-35.65	DC8 ^c , DG13 ^c
2g	NH	H	<i>n</i> -C ₃ H ₇	H	-5,78	-30.89	Arg487 ^a (2,1 Å), DC8 ^c , DG13 ^c
2h	NH	H	<i>i</i> -C ₃ H ₇	H	-6,57	-31.64	Arg487 ^a (2,11 Å)
2i	NH	H	<i>n</i> -C ₄ H ₉	H	-5,89	-41.67	Arg487 ^a (2,23 Å), DC8 ^c , DG13 ^c
2k	NH	H	<i>i</i> -C ₄ H ₉	H	-6,78	-36.65	Arg487 ^a (1,94 Å), DC8 ^c
2l	NH	H	<i>t</i> -C ₄ H ₉	H	-7,08	-31.24	Arg487 ^a (2,02 Å), DC8 ^b
2m	NH	H	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	H	-5,85	-35.35	Arg487 ^a (2,25 Å), DA12 ^b , DC8 ^c DC8 ^c , DG13 ^{b,c}
2n	NH	H	OCH ₃	H	-7,04	-32.48	Arg487 ^a (2,1 Å), DG13 ^c , DC8 ^c
2o	NH	CH ₃	H	CH ₃	-6,43	-29.82	Arg487 ^a (1,85 Å), DC8 ^c
2p	NH	OCH ₃	H	OCH ₃	-7,23	-33.38	Arg487 ^a (1,85 Å), DC8 ^c
3a	O	H	F	H	-6,88	-32.93	Arg487 ^b , DC8 ^c , DG13 ^c
3b	O	F	H	H	-6,63	-36.13	DT9 ^c
3c	O	H	Br	H	-6,93	-35.12	Arg487 ^b , DC8 ^c , DG13 ^c
3d	O	Cl	F	H	-6,78	-37.77	Arg487 ^a (1,92 Å)
3e	O	H	CH ₃	H	-6,77	-37.94	Arg487 ^a (1,93 Å)
3f	O	H	C ₂ H ₅	H	-7,07	-34.87	Arg487 ^a (1,95 Å), DC8 ^c
3g	O	H	<i>n</i> -C ₃ H ₇	H	-6,66	-34.79	Arg487 ^a (2,02 Å)
3h	O	H	<i>i</i> -C ₃ H ₇	H	-6,31	-37.93	DC8 ^c
3i	O	H	<i>n</i> -C ₄ H ₉	H	-6,58	-36.48	Arg487 ^a (2,11 Å), DC8 ^c
3k	O	H	<i>i</i> -C ₄ H ₉	H	-6,69	-40.17	Arg487 ^b , DC8 ^c , DG13 ^c
3l	O	H	<i>t</i> -C ₄ H ₉	H	-6,59	-37.54	Arg487 ^a (2,01 Å)
3m	O	H	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	H	-6,03	-38.61	DA12 ^a (2,16Å), DC8 ^c
3n	O	H	OCH ₃	H	-6,94	-39.08	Arg487 ^b , DC8 ^c , DG13 ^c
3o	O	CH ₃	H	CH ₃	-7,12	-38.64	Arg487 ^b , DG13 ^c , DC8 ^c
3p	O	OCH ₃	H	OCH ₃	-6,74	-29.65	Arg487 ^a (1,70 Å), Ser763 ^a (2,09Å)

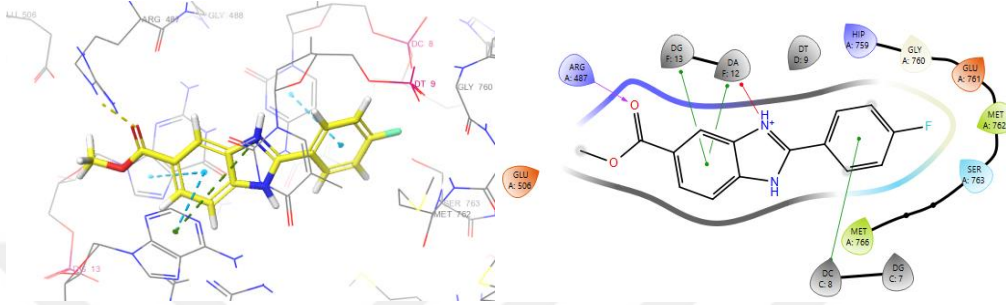
a: Hidrojen bağı, b: π -katyon etkileşimi, c: π - π etkileşimi

3.4.1. Bazı Bileşiklerin 5GWK Enzimi ile Etkileşimleri

2a Bileşiğinin 5GWK Enzimi ile Etkileşimleri

Bağlanma Enerjisi XP GScore: -7,105 kcal/mol; MMGBSA dGBind: -42,64 kcal/mol

H bağı: Arg487 (1,89 Å); π -katyon etkileşimi: DA12, π - π etkileşimi: DA12, DG13, DC8



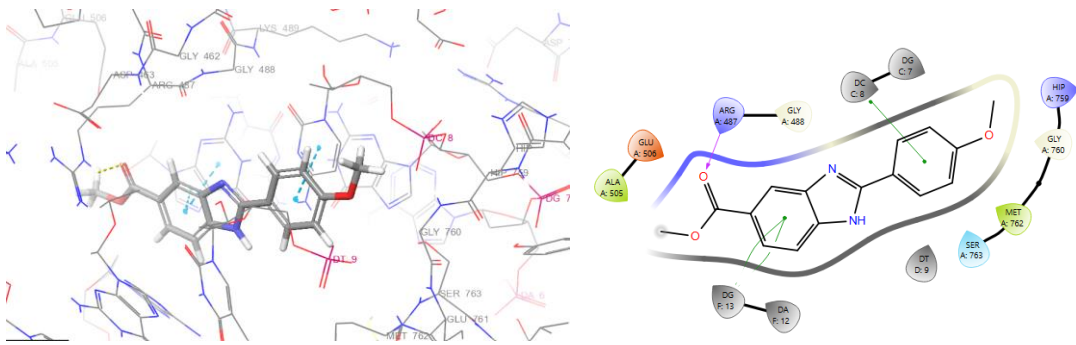
Etkileştiği aminoasit ve DNA rezidüleri (sol), 2B Gösterimi (sağ) (pembe H-bağı, kırmızı: π -katyon etkileşimi, yeşil: π - π etkileşimleri)

Şekil 3.71. 2a Bileşiğinin 5GWK enzimi ile etkileşimleri

2n Bileşiğinin 5GWK Enzimi ile Etkileşimleri

Bağlanma Enerjisi XP GScore:-7,04 kcal/mol; MMGBSA dGBind: -32,48 kcal/mol

H bağı: Arg487 (2,1 Å); π - π etkileşimi: DG13, DC8



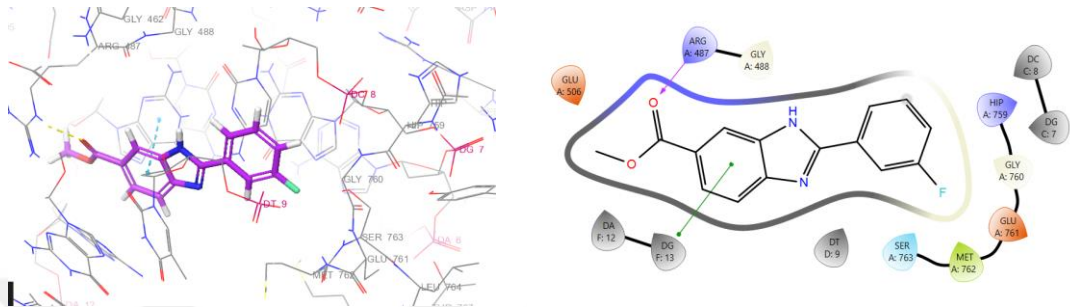
Etkileştiği aminoasit ve DNA rezidüleri (sol), 2B Gösterimi (sağ) (pembe: H-bağı, yeşil: π - π etkileşimleri)

Şekil 3.72. 2n Bileşiğinin 5GWK enzimi ile etkileşimleri

2b Bileşiğinin 5GWK Enzimi ile Etkileşimleri

Bağlanma Enerjisi XP GScore: -7,09 kcal/mol; MMGBSA dGBind: -32,88 kcal/mol

H bağı: Arg487 (1,88 Å); π - π etkileşimi: DG13



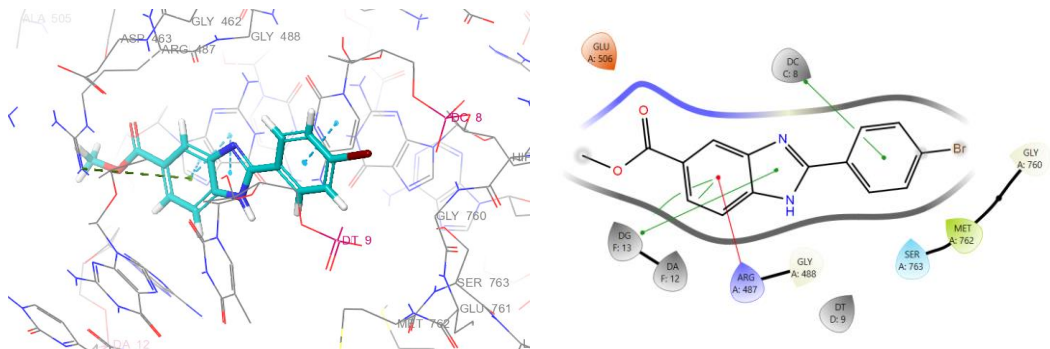
Etkileştiği aminoasit ve DNA rezidüleri (sol), 2B Gösterimi (sağ) (pembe: H-bağı, yeşil: π - π etkileşimi)

Şekil 3.73. 2b Bileşiğinin 5GWK enzimi ile etkileşimleri

2c Bileşiğinin 5GWK Enzimi ile Etkileşimleri

Bağlanma Enerjisi XP GScore: -7,00 kcal/mol; MMGBSA dGBind: -29,98 kcal/mol

π -katyon: Arg487; π - π etkileşimi: DG13, DC8



Etkileştiği aminoasit ve DNA rezidüleri (sol), 2B Gösterimi (sağ) (kırmızı: π -katyon, yeşil: π - π etkileşimi)

Şekil 3.74. 2c Bileşiğinin 5GWK enzimi ile etkileşimleri

Çizelge 3.4. Sentezlenen bileşiklere ait fizikokimyasal parametreler

Bileşik	M _A	nHA	nHD	nRot	nRing	TPSA	LogS	LogP	QED	Lipinski/Veber Kuralı İhlali
2a	270,08	4	1	3	3	54,98	-4,437	3,16	0,728	Hayır
2b	270,08	4	1	3	3	54,98	-4,51	3,39	0,728	Hayır
2c	330	4	1	3	3	54,98	-5,07	3,718	0,727	Hayır
2d	304,04	4	1	3	3	54,98	-4,888	3,946	0,732	Hayır
2e	266,11	4	1	3	3	54,98	-4,592	3,368	0,724	Hayır
2f	280,12	4	1	4	3	54,98	-4,397	3,791	0,746	Hayır
2g	294,14	4	1	5	3	54,98	-4,835	4,127	0,741	Hayır
2h	294,14	4	1	4	3	54,98	-4,73	4,193	0,739	Hayır
2i	308,15	4	1	6	3	54,98	-5,114	4,708	0,712	Hayır
2k	308,15	4	0	5	3	54,98	-5,299	4,851	0,734	Hayır
2l	308,15	4	1	4	3	54,98	-5,701	5,161	0,718	1
2m	322,17	4	0	7	3	54,98	-5,184	5,08	0,526	1
2n	282,1	5	1	4	3	64,21	-4,231	3,048	0,75	Hayır
2o	280,12	4	0	3	3	54,98	-4,93	3,85	0,729	Hayır
2p	312,11	4	0	5	3	73,44	-4,511	3,168	0,75	Hayır
3a	271,06	4	0	3	3	52,33	-5,041	3,855	0,67	Hayır
3b	271,06	4	0	3	3	52,33	-5,021	3,787	0,67	Hayır
3c	330,98	4	0	3	3	52,33	-5,566	4,368	0,665	Hayır
3d	305,03	4	0	3	3	52,33	-5,163	4,232	0,67	Hayır
3e	267,09	4	0	3	3	52,33	-5,258	4,142	0,666	Hayır
3f	281,11	4	0	4	3	52,33	-5,021	4,37	0,684	Hayır
3g	294,14	4	1	5	3	54,98	-5,499	4,127	0,741	Hayır
3h	295,12	4	0	4	3	52,33	-5,462	4,973	0,672	Hayır
3i	309,14	4	0	6	3	52,33	-6,125	5,49	0,645	1
3k	309,14	4	0	5	3	52,33	-6,001	5,431	0,667	1
3l	309,14	4	0	4	3	52,33	-6,519	5,683	0,65	1
3m	323,15	4	0	7	3	52,33	-6,493	5,97	0,472	1
3n	283,08	5	0	4	3	61,56	-4,596	3,713	0,69	Hayır
3o	281,11	4	0	3	3	52,33	-5,429	4,464	0,668	Hayır
3p	313,1	4	0	5	3	70,79	-4,571	3,677	0,688	Hayır

M_A: Molekül ağırlığı, nHA: hidrojen bağı alıcısı, nHD: hidrojen bağı vericisi sayısı, nRot: dönebilen bağı sayısı, nRing: molekülde yer alan halka sayısı, TPSA: toplam polar yüzey alanı, LogS: suda çözünürlük, Çok iyi çözünürlük: > 0; Orta Düzey Çözünürlük ≈ -1 ile 0; Düşük Çözünürlük ≈ -4 ile -1; Çok Düşük Çözünürlük: < -4, LogP: partiyon katsayısı, QED (Quantitative Estimate of Drug-likeness): İlaç olabilirlik skoru, yüksek ilaç olabilirlik (> 0.67); Orta İlaç Olabilirlik (0.49-0.67); Düşük İlaç Olabilirlik (< 0.34)

Çizelge 3.5. Sentezlenen bileşiklere ait öngörülen dağılım parametreleri

Bileşik	Caco-2 Geçirgenliği	MDCK Geçirgenliği	Pgp İnhibitörü	Pgp Substratı	HIA (%)	PPB(%)	KBB
2a	-4,824	-4,831	+++	---	97,17	97,70	+
2b	-4,809	-4,837	+++	---	98,49	98,20	---
2c	-4,846	-4,633	+++	---	96,12	98,40	++
2d	-5,003	-4,892	+	---	97,67	98,50	+
2e	-4,744	-4,746	+++	---	96,39	98,20	--
2f	-4,831	-4,706	++	---	94,53	98,80	--
2g	-4,811	-4,604	++	---	92,56	99,10	-
2h	-4,887	-4,858	+++	---	91,39	98,60	---
2i	-4,842	-4,673	+++	---	92,71	99,30	---
2k	-4,922	-4,738	---	+	88,25	98,60	+
2l	-5,099	-4,954	+++	---	92,05	98,60	---
2m	-4,903	-4,756	---	---	90,19	99,30	--
2n	-4,927	-4,731	+	---	88,99	97,40	---
2o	-4,825	-4,838	---	---	95,23	98,30	-
2p	-4,873	-4,66	---	---	85,65	97,80	-
3a	-4,544	-4,505	+++	---	98,57	97,80	++
3b	-4,566	-4,454	+++	---	99,61	98,60	+
3c	-4,723	-4,654	+++	---	97,91	98,40	+++
3d	-4,695	-4,553	++	---	99,15	98,80	+++
3e	-4,532	-4,449	+++	---	98,26	98,20	-
3f	-4,631	-4,524	++	---	97,25	98,90	+
3g	-4,811	-4,604	++	---	96,24	99,10	+
3h	-4,674	-4,599	+++	---	95,93	98,70	---
3i	-4,679	-4,591	+++	---	96,08	99,40	-
3k	-4,61	-4,641	---	+++	93,18	98,60	+++
3l	-4,858	-4,702	+++	---	96,12	98,70	---
3m	-4,838	-4,687	---	---	94,26	99,40	+
3n	-4,563	-4,467	+	---	94,69	97,00	---
3o	-4,576	-4,491	---	---	97,75	98,80	--
3p	-4,545	-4,496	---	---	89,76	98,10	---

Caco-2 ve MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) geçirgenliği: >-5.15 Log cm/s: Optimal, <-5.15 Log cm/s: Pgp (P-glikoprotein); Pgp-inhibitör: kategori 1: İnhibitör, kategori 0: non-inhibitör; Pgp-substrat: kategori 1: substrat, kategori 0: non-substrat; İnsan Bağırsak Emilimi (HIA): kategori 1: HIA+ (HIA < %30), kategori 0: HIA- (HIA ≥ %30); Kan-Beyin Bariyeri Geçışı (KBB): Kategori 1: KBB+, Kategori 0: KBB-.

Çizelge 3.6. Sentezlenen bileşiklere ait öngörülen metabolizma parametreleri

	CYP1A2		CYP2C19		CYP2C9		CYP2D6		CYP3A4		CYP2B6		CYP2C8
B	İ	S	İ	S	İ	S	İ	S	İ	S	İ	S	İ
2a	+++	--	+++	---	++	-	---	+	---	---	---	---	+++
2b	+++	--	+++	---	+++	--	---	+	---	---	---	---	+++
2c	+++	--	+++	---	+++	---	---	+	---	---	---	---	+++
2d	+++	--	+++	---	+++	---	---	+	---	---	---	---	+++
2e	+++	--	+++	---	+++	---	---	+	---	---	---	---	+++
2f	++	--	+++	---	++	--	---	+	---	---	---	---	++
2g	+++	--	+++	---	+++	--	---	+	---	---	---	---	+++
2h	-	---	++	---	+	---	---	---	---	---	--	---	+++
2i	-	---	++	---	+	---	---	---	---	---	--	---	+++
2k	--	---	+++	+++	+++	-	+	--	---	+++	---	---	+++
2l	+++	---	+++	---	+++	---	---	---	---	---	--	---	+++
2m	+++	--	+++	---	+++	--	---	+	---	---	---	---	+++
2n	+++	--	+++	---	++	-	---	+	---	---	---	---	+++
2o	+++	+	+++	---	+++	-	---	+++	++	---	--	---	+++
2p	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	++
3a	+++	--	+++	---	++	-	---	+	---	---	---	---	+++
3b	+++	--	+++	---	+++	--	---	+	---	---	---	---	+++
3c	+++	--	+++	---	+++	---	---	+	---	---	---	---	+++
3d	+++	--	+++	---	+++	---	---	+	---	---	---	---	+++
3e	+++	--	+++	---	+++	---	---	+	---	---	---	---	+++
3f	++	--	+++	---	++	--	---	+	---	---	---	---	++
3g	+++	--	+++	---	+++	--	---	+	---	---	---	---	+++
3h	--	---	++	---	-	---	---	---	---	---	--	---	+++
3i	--	---	++	---	-	---	---	---	---	---	--	---	+++
3k	-	---	+++	+++	+++	-	--	--	---	+++	-	---	+++
3l	+++	---	+++	---	+++	---	---	---	---	--	--	---	+++
3m	+++	--	+++	---	+++	--	---	+	---	---	---	---	+++
3n	++	--	+++	---	+++	--	---	+	---	---	---	---	+++
3o	+++	--	+++	---	+++	--	---	+++	+++	---	---	---	+++
3p	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	+++	---	---	---	+

B: bileşik, İ: inhibitör, S: substrat; kategori 1: İnhibitör, kategori 0: non-inhibitör; CYP inhibitörlük ve substratlık tahminleri: 0-0.1 (---): çok düşük olasılık; 0.1-0.3 (--): düşük olasılık; 0.3-0.5 (-): orta-düşük olasılık; 0.5-0.7 (+): Orta-yüksek olasılık; 0.7-0.9 (++): yüksek olasılık; 0.9-1.0 (+++): çok yüksek olasılık.

Çizelge 3.7. Sentezlenen bileşiklerin öngörülen toksisite profilleri

B	CL_{plazma}	T_{1/2}	hERG Blokörü	AMES Toksosite	Hepatotoksosite	Karsinojenisite	Genotoksosite
2a	6,061	0,685	0,301	0,736	0,408	0,823	0,912
2b	7,373	0,851	0,28	0,753	0,403	0,768	0,935
2c	5,208	0,783	0,298	0,498	0,283	0,738	0,903
2d	6,761	0,886	0,357	0,731	0,466	0,834	0,931
2e	6,165	0,633	0,261	0,708	0,349	0,758	0,628
2f	8,495	0,787	0,322	0,748	0,514	0,788	0,69
2g	6,729	0,785	0,475	0,558	0,442	0,642	0,172
2h	7,177	0,618	0,248	0,605	0,438	0,764	0,512
2i	5,561	0,458	0,637	0,406	0,382	0,489	0,013
2k	7,089	0,728	0,538	0,394	0,557	0,593	0,12
2l	7,216	0,503	0,373	0,459	0,243	0,644	0,209
2m	4,73	0,569	0,797	0,403	0,398	0,387	0,005
2n	5,149	0,794	0,161	0,467	0,281	0,792	0,296
2o	7,886	0,595	0,279	0,688	0,394	0,767	0,64
2p	7,564	0,377	0,257	0,708	0,419	0,823	0,792
3a	4,004	0,869	0,139	0,439	0,336	0,773	0,672
3b	5,522	1,118	0,146	0,456	0,322	0,726	0,698
3c	3,628	1,011	0,162	0,203	0,219	0,704	0,677
3d	5,001	1,222	0,161	0,406	0,36	0,749	0,642
3e	4,091	0,878	0,14	0,378	0,275	0,725	0,274
3f	5,996	0,901	0,161	0,453	0,435	0,727	0,384
3g	4,441	0,912	0,251	0,267	0,342	0,548	0,031
3h	5,35	0,796	0,103	0,283	0,349	0,669	0,163
3i	3,633	0,812	0,381	0,162	0,296	0,374	0,002
3k	5,081	0,84	0,29	0,15	0,449	0,48	0,021
3l	5,518	0,85	0,173	0,18	0,186	0,535	0,05
3m	3,308	0,888	0,561	0,152	0,303	0,266	0,001
3n	7,483	0,629	0,324	0,76	0,33	0,828	0,59
3o	6,121	0,726	0,146	0,282	0,311	0,745	0,221
3p	6,138	0,594	0,113	0,415	0,304	0,757	0,263

B: Bileşik; CL_{plazma}: Plazma klirensi (mL/dk/kg), >15 mL/dk/kg: yüksek klirens, 5-15 mL/dk/kg: orta düzeyde klirens, <5 mL/dk/kg: düşük klirens; T_{1/2}: Yarılanma süreleri (saat), ultra-kısa: <1 saat, kısa: 1-4 saat, orta: 4-8 saat, uzun T_{1/2}: >8 saat; Ames Toksisite (Kategori 1, Ames +), (Kategori 0, Ames -), 0-1 aralığı Ames+ olarak kabul edilir; hERG+ (Kategori 1): IC₅₀ ≤10 µM veya 10 µM'de ≥%50 inhibisyon, hERG- (Kategori 0): IC₅₀ >10 µM veya 10 µM'de <%50 inhibisyon, 0-1 aralığı hERG+ olarak kabul edilir; Karsinojenite: kategori 1: karsinojen, kategori 0: non-karsinojen; genotoksosite: kategori 0: non-genotoksik (-), kategori 1: genotoksik (+); 0-1 aralığı genotoksosite (+).

4. TARTIŞMA

Doktora tezi kapsamında, yapılan ön moleküler kenetlenme çalışmasına dayanarak, 13'ü orijinal olmak üzere toplam 30 adet metil (2-sübstitüefenil)-1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilat ve metil (2-sübstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat türevleri tasarlanmış, sentezlenmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerin, A549, LnCAP ve HepG2 kanser hücreleri üzerindeki *in vitro* sitotoksik etkinlikleri ile α enzimatik inhibisyon aktiviteleri analiz edilmiştir. Yapılan moleküler kenetlenme çalışmaları ile bileşiklerin enzim üzerindeki moleküler etkileşim dinamikleri incelenmiş, enzimatik aktivitenin moleküler temelleri detaylı bir şekilde anlaşılma çalışılmıştır. Ayrıca *in silico* ADMET çalışmaları ile moleküllerin farmakokinetik profilleri, biyoyararlanımları ve potansiyel toksisite özellikleri değerlendirilmiştir.

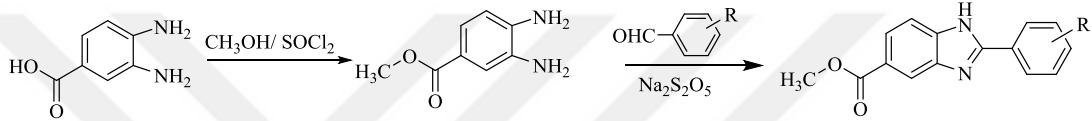
Hücre döngüsü süreçlerinde özellikle S ve M fazlarında ifade edilen Topo II α kanser hücrelerinin proliferasyonunda ve mitoz bölünme süreçlerinde DNA replikasyonu kromozomların segregasyonunda önemli bir yere sahiptir (Chen ve Beck, 1995; Kimura vd., 1994; Woessner vd., 1991; Yang vd., 2000). Antikanser tedavide hedef biyomolekül olarak karşımıza çıkan bu enzim lösemi, lenfoma, sarkoma, nöroblastoma, germ hücreli tümörler, meme, akciğer, mide, kemik ve mesane kanserleri de dahil olmak üzere solid tümörler ve hematolojik malignitelerin tedavisinde hedef yapılardan birini oluşturmaktadır (Vann vd., 2021). Topo II zehirleri ve katalitik inhibitörler olmak üzere iki ayrı sınıf molekülün oluşturduğu bu tedavi süreçlerinin antikanser mekanizmaları birbirinden ayrılrsa da her iki süreçte de Topo enzimlerinin inhibisyonu üzerinden kanserli dokularda DDR'yi tetikleyerek apoptoza neden olurlar ve hücre ölümünü gerçekleştirirler (Delgado vd., 2018; Nitiss, 2009; Pommier vd., 2010).

Antikanser tedavide en yaygın kullanılan ajanlar arasında yer alan Topo II zehirleri, güçlü interkalasyon aktiviteleri sayesinde DNA baz çiftleri arasına girerek DNA'nın topolojisini bozar. Bu etki, DNA'nın süper sarmal yapılar oluşturmaya, topolojik olarak kısıtlanmasına ve serbest radikal oluşumuna neden olur (Dixon vd., 2012; Yang vd., 2014). (Kim vd., 2006). Her iki Tip II Topo enzimi (hTopo II α ve hTopo II β) epipodofilin toksinler (örneğin, etoposid) gibi son derece etkili antikanser ilaçların hedefidir; ancak bazı hastalarda bu ilaçlar, akut miyeloid lösemi gibi tedaviye bağlı malignitelerin oluşma olasılığını da artırmaktadır. Topo II zehri etoposid, doğrudan enzime bağlanarak etoposid-Topo IIcc üçlü

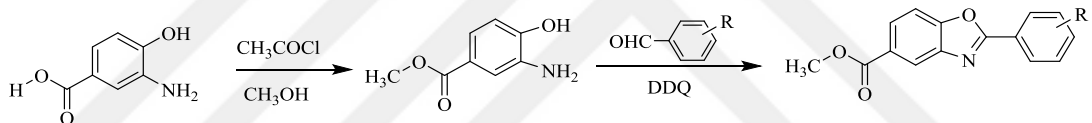
kompleksleri oluşturarak hücre döngüsü süreçleri sırasında kırılmış olan DNA zincirlerinin religasyonunu engeller. Böylece DDR hasarı üzerinden sitotoksik etkilerini gösterirler (Nitiss, 2009; Pommier vd., 2010). Daha önce yapılmış kristalizasyon çalışmaları sonucu elde edilen Topo II α -DNA-etoposid kompleksinde etoposid bağlanma bölgesinde serin 800 (Ser800), metiyonin 766 (Met766), metiyonin 762 (Met762), asparajin 463 (Asp463), ve arjinin 487 (Arg487) amino asit kalıntılarının yer aldığı görülmektedir (Wendorff vd., 2012). Yapılan kristalizasyon çalışmaları sonucu elde edilen 5GWK kompleksinde yer alan etkileşimler incelendiğinde etoposidin DNA'ya ait guanin (DG13) ile hidrojen bağı ve pi-pi etkileşimi ve Asp463 aminoasiti ile hidrojen bağı etkileşimlerinde bulunduğu belirlenmiştir. Bunun yanında son zamanlarda yapılan çalışmalarda da Arg487 aminoasiti ile yapılan çeşitli etkileşimlerin de aktivitede rol oynayabileceği bildirilmiştir (Dastyafteh vd., 2024; Karatas vd., 2021).

Daha önce yapılan CoMFA ve CoMSIA çalışmalarında, heterosiklik yapıların 5. veya 6. konumlarında bulunan elektronegatif ve hidrofobik olmayan grupların aktivite için önemli olduğu rapor edilmiştir (Temiz-Arpaci vd., 2005; Tekiner-Gulbas vd., 2006). Bu verilerden hareketle, benzimidazol ve benzoksazol ana halkalarına 5. konumda ester süstitüsüyonu eklenmesinin aktiviteye olan etkisi araştırılmak istenmiştir. Moleküler kenetlenme çalışmaları sonucunda, bu süstitüsyonların bağlanma cebindeki Asp463 ve Arg487 gibi aminoasitlerle çeşitli etkileşimlerde bulunduğu tespit edilmiştir. Bileşiklerin *in silico* tasarımları, Discovery Studio 3.5 yazılımı kullanılarak moleküler kenetlenme yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar, bileşiklerin genel olarak enzimin aktif bölge kalıntıları olan Arg487, guanin (DG13), adenin (DA12), timin (DT9) ve sitozin (DC8) ile etkileşimler kurarak bağlandığını göstermiştir. Bu doğrultuda, ana halkaya bağlı ester süstitüsüyonu başlangıç noktası olarak seçilmiştir. Ayrıca, önceki çalışmalarda, halkanın 2. konumunda yer alan fenil grubuna hacimli grupların eklenmesinin aktiviteye olumlu katkı sağladığı bildirilmiştir (Temiz-Arpaci vd., 2005; Tekiner-Gulbas vd., 2006). Bu nedenle, bileşiklerin tasarım aşamasında bu tür grupların varlığı dikkate alınmıştır. Yapılan moleküler kenetlenme çalışmaları, bileşiklerin bağlanma bölgesinde çeşitli π - π etkileşimleri ve hidrojen bağları oluşturarak, etoposid ile benzer bir şekilde konumlandığını ortaya koymuştur (Şekil 3.3). Bu bulgulara dayanarak, benzimidazol ve benzoksazol ana iskeletlerine, 2. konumdan bağlı fenil halkasının çeşitli hidrofobik gruplarla süstitüsyonunun aktivite üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla, her biri 15 bileşikten oluşan benzimidazol ve benzoksazol türevleri tasarlanmıştır.

Tasarlanan türevlerin sentezine öncelikle başlangıç maddelerinin hazırlanmasıyla başlanmıştır. Benzimidazol türevlerinin başlangıç maddesi olan 3,4-diaminobenzoik asit, tiyonil klorür ve metanol ile reaksiyona sokularak metil 3,4-diaminobenzoat elde edilmiştir. Benzoksazol türevlerinin başlangıç maddesi olan 3-amino-4-hidroksibenzoat ise, 3-amino-4-hidroksibenzoik asidin asetil klorür varlığında metanol ile reaksiyonu sonucu sentezlenmiştir. Hazırlanan başlangıç maddelerinden hareketle, benzimidazol türevleri, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ varlığında çeşitli aldehitlerle reaksiyona sokularak metil (2-süstitüefenil)-1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilat türevleri elde edilmiştir. Benzoksazol türevleri ise, DDQ varlığında çeşitli aldehitlerle reaksiyona sokularak metil (2-süstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat türevlerine dönüştürülmüştür (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Metil (2-süstitüefenil)-1*H*-benzimidazol-5(6)-karboksilatların genel sentezi



Şekil 4.2. Metil (2-süstitüefenil)benzoksazol-5-karboksilat türevlerinin genel sentezi

Elde edilen bileşiklerin saflık ve yapı analizleri; erime noktası, İTK ve ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR, kütle spektroskopisi, LC analizleri olmak üzere çeşitli enstrümantal analiz yöntemleri ile karakterize edilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin antikanser aktiviteleri, Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyokimya Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Yalçın ERZURUMLU tarafından, LNCaP, HepG2 ve A549 olmak üzere üç insan kanser hücre hattı ile bir sağlıklı insan embriyonik böbrek hücre hattı (293T) üzerinde referans inhibitör etoposid varlığında incelenmiş ve bileşiklerin (**2a-2p** ve **3a-3p**) kanser ve sağlıklı hücre hatlarına karşı inhibitör aktiviteleri (IC_{50} değerleri) Tablo 4.1'de sunulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde benzoksazol halkasını taşıyan yapılarda aktivite gözlenememiş, benzimidazol halkası taşıyan yapıların neredeyse hepsinde 293T sağlıklı hücre hattında referans inhibitör etoposide (IC_{50} : 144,62 μM) göre daha düşük IC_{50} değerleri (54.25-100 μM) sergilediği ortaya konulmuştur.

LNCaP, HepG2 ve A549 kanser hücre hatlarında elde edilen sonuçlar, benzimidazol halkası taşıyan bileşiklerin (**2a-2p**), genelde benzoksazol halkası taşıyanlara (**3a-3p**) kıyasla daha güçlü antiproliferatif aktivite sergilediğini göstermiştir. Tablo 4.1'e göre, bileşiklerin çoğu üç kanser hücre hattına karşı IC₅₀ değerleri sırasıyla 10,83–57,29, 15,58–61,05 ve 14,48–104,28 µM arasında değişen güçlü *in vitro* antikanser etkiler göstermiştir. Benzimidazol halkasına bağlı fenil grubunun para pozisyonunda izopropil grubu taşıyan **2h** bileşiği, LNCaP hücre hattında IC₅₀ = 11,84 µM ile etkili bir aktivite sergilemiş ve etoposide benzer bir sonuç elde göstermiştir. Aynı bileşik, HepG2 (19,59 µM) ve A549 (20,22 µM) hücre hatlarında, referans inhibitöre kıyasla daha düşük IC₅₀ değerleri göstermiştir. Ayrıca, para pozisyonunda tert-bütil grubu taşıyan **2l** bileşiği, LNCaP hücre hattında en düşük IC₅₀ değeri (10,83 µM) ile referans inhibitöre göre daha yüksek aktivite göstermiştir.

Halkada yer alan R₁, R₂ ve R₃ gruplarında yapılan değişikliklerin antiproliferatif aktivite üzerinde belirgin etkileri olduğu tespit edilmiştir. Benzimidazol halkasına bağlı fenil grubunun meta pozisyonunda flor gibi elektron çekici bir grubun bulunması (**2b**), sitotoksik aktivitenin azalmasına neden olmuştur. Buna karşın, 3 ve 5 pozisyonlarında elektron verici özellikte metil grupları taşıyan **2o** bileşiğinde aktivitede yaklaşık iki kat artış gözlenmiştir. Bunun yanında **2d** bileşiği dikkate alındığında, meta ve para pozisyonlarında elektron çekici klor ve flor gruplarının varlığı aktivitenin azalmasına neden olmuştur. Ancak, yalnızca para pozisyonda metil ve dallanmış alkil grupları (*i*-C₃H₇ ve *t*-C₄H₉) taşıyan türevlerin referans inhibitöre göre belirgin derecede daha iyi sitotoksik etkiler gösterdiği gözlemlenmiştir.

Fenil halkasına para konumunda sübstitüe düz zincirli alkil grupları (örneğin, C₂H₅, *n*-C₄H₉ ve *n*-C₅H₁₁) genellikle aktiviteyi artırma eğiliminde olmuş, ancak etkileri zincir uzunluğuna göre değişiklik göstermiştir. Daha küçük alkil grupları genelde daha yüksek biyolojik aktivite sergilemiştir. Örneğin, R₂ grubu C₂H₅ ve *n*-C₃H₇ olan **2f** ve **2g** bileşikler, HepG2 ve A549 hücre hatlarında sırasıyla 25,26 (±3,11); 28,24 (±3,18) ve 28,44 (±1,95); 29,14 (±1,70) olmak üzere düşük IC₅₀ değerleriyle dikkat çekmiştir. Orta uzunluktaki zincirler arasında yer alan **2i** (R₂: *n*-C₄H₉), sınırlı bir aktivite artışı gösterirken, daha uzun zincirli analoglar (örneğin, **2m**, R₂: *n*-C₅H₁₁) aktivitede bir miktar azalma eğilimi göstermiştir. Yapıda yer alan daha uzun alkil zincirlerinin hidrofobik yapıyı artırarak permeabilityi kolaylaştırabileceği, ancak sterik engeller nedeniyle bu türevlerde aktivitenin azaldığı sonucuna varılmıştır. Bu durum, sterik etkilerin bileşiklerin hareketliliğini sınırladığını ve daha uzun zincirlerin lipid permeasyonuna uygun olmasına rağmen sterik engellerin aktiviteyi azalttığını düşündürmektedir.

Doktora tez çalışması kapsamında sentezlenen bileşiklerin hTopo II α enzimi üzerindeki inhibisyonlarına yönelik çalışmalar kapsamında enzime bağlanma potansiyelleri değerlendirilmiştir. Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilen bu çalışma, E6652Hu hTopo II α ELISA Kiti kullanılarak yapılmıştır. Referans inhibitör etoposid ile kıyaslamalar gerçekleştirilmiş ve bağlanma sonrası ortamda kalan enzim miktarlarına ait absorbans değerleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre, standart inhibitör etoposid (1.40 $\mu\text{g/L}$) ile karşılaştırıldığında, daha düşük konsantrasyonlar elde edilen bileşiklerin daha yüksek bağlanma potansiyelleri gösterdiği belirlenmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde, benzimidazol halkası taşıyan bileşiklerin (**2a-2p**), benzoksazol halkası taşıyan bileşiklere (**3a-3p**) kıyasla genellikle daha güçlü bağlanma profilleri sergiledikleri belirlenmiştir. Bu durum, benzazol halkalarının yapısal olarak doğal pürinlere benzerlik göstermesi sayesinde güçlü DNA bağlanma aktivitesi sergileyebilmelerinin yanı sıra, benzimidazol halkasının hem hidrojen bağı vericisi hem de alıcısı olarak davranabilen çok yönlü kimyasal özellikleri ile ilişkilendirilebilir (Hagar vd., 2024). Özellikle, benzimidazol halkasına bağlı fenil grubunda flor gibi elektron çekici gruplar içeren türevlerde (**2a**: 1,07 $\mu\text{g/L}$ ve **3a**: 1,31 $\mu\text{g/L}$) daha yüksek bağlanma potansiyelleri gözlenmiştir. Bu durum, flor atomunun küçük boyutu ve yüksek elektronegatifliği sayesinde hedef proteinle daha güçlü etkileşimler kurmasına bağlanabilir (Bégué ve Bonnet-Delpon, 2008). Öte yandan, brom içeren türevlerde aktivitenin azaldığı belirlenmiş ve bu durum bromun sterik etkilerinin bağlanma stabilitesini olumsuz yönde etkilemesiyle açıklanmıştır. Fenile bağlı alkil gruplarında dallanmanın, düz zincir yapılarına göre enzime bağlanma kapasitesini artırdığı tespit edilmiştir. Örneğin, *n*-bütil grubu taşıyan **2i**'nin aktivitesi 1,52 $\mu\text{g/L}$ iken, dallanmış yapıdaki *i*-bütil (**2k**) ve *t*-bütil (**2l**) taşıyan türevlerde bağlanma kapasiteleri sırasıyla 1,39 $\mu\text{g/L}$ ve 1,28 $\mu\text{g/L}$ olarak kaydedilmiştir. Ayrıca, fenil grubunda metoksi substitüentinin varlığı genellikle enzime bağlanma potansiyelini artırıcı bir etki göstermiştir. Özellikle 3,5-dimetoksi grubu taşıyan **2p** türevinin bağlanma kapasitesi 1,28 $\mu\text{g/L}$ olarak ölçülmüştür. Benzoksazol halkası taşıyan türevlerden elde edilen sonuçlar incelendiğinde; 2. konumdan bağlı fenil gruplarında, halojen substitüentlerinin *para* konumunda bulunmasının, *meta* konumuna göre daha iyi bağlanma potansiyeli sağladığı gözlemlenmiştir. Örneğin, 4-Flor (**3a**), 3-Flor (**3b**), ve 4-Brom (**3c**) türevlerinin bağlanma kapasiteleri sırasıyla 1,3 $\mu\text{g/L}$, 1,47 $\mu\text{g/L}$ ve 1,32 $\mu\text{g/L}$ olarak belirlenmiştir. Fenile bağlı alkil gruplarında zincir uzunluğunun artmasıyla bağlanma potansiyelinde azalma gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, dimetoksi grubu taşıyan türevlerde

bağlanma potansiyelinin genel olarak düştüğü tespit edilmiştir. Örneğin, 4-metoksi (**3n**) ve 3,5-dimetoksi (**3p**) türevlerinin bağlanma kapasiteleri sırasıyla 1,3 ve 1,39 µg/L olarak kaydedilmiştir. Bu bulgular hem benzimidazol hem de benzoksazol türevlerinde substitüentlerin türü ve pozisyonunun enzime bağlanma potansiyelini önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymaktadır.

Bileşiklerin hTopo IIα enzime bağlanma potansiyellerinin *in silico* ortamda moleküler düzeyde değerlendirilmesi amacıyla, hTopo IIα enzime ait 5GWK kristal yapısı (rezolüsyon: 3,25 Å) kullanılarak moleküler kenetlenme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Benzimidazol (**2a-2p**) ve benzoksazol (**3a-3p**) halkası içeren bileşiklerin, -7,11 ile -5,85 kcal/mol arasında değişen bağlanma enerjileriyle enzime bağlandığı belirlenmiştir. Ayrıca Prime MM/GBSA hesaplamaları ile bileşiklerin bağlanma modlarının daha detaylı analizi gerçekleştirilmiş serbest bağlanma enerjilerinin daha kapsamlı bir şekilde hesaplanması sağlanmıştır. Benzimidazol (**2a-2p**) ve benzoksazol (**3a-3p**) halkası içeren bileşiklerin, -42,64 ile -29,65 kcal/mol arasında değişen bağlanma enerjileriyle enzime bağlandığı belirlenmiştir. Benzoksazol halkasına sahip bileşikler (**3a-3p**), sergiledikleri polar etkileşimler ile bazı türevlerde daha iyi bağlanma motifleri sergileseler de biyolojik aktivite genelde benzimidazol halkası taşıyan bileşiklere (**2a-2p**) oranla daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bağlanma motifleri incelendiğinde; bileşiklerin çoğunun, etoposid gibi hTopo IIα'nın bağlanma bölgesinde yer alan aminoasitlerden biri olan arjinin (Arg487) ile etkileşim gösterdiği gözlemlenmiştir. Özellikle ana halkalara 2. konumdan bağlı fenil halkasında flor içeren yan zincirler taşıyan türevlerde, yine aktivite için önemli kabul edilen metiyonin (Met762) aminoasidine yakınlığı tespit edilmiştir (Wendorff vd., 2012; Wu vd., 2011). Ancak benzer konformasyonlarda brom içeren türevlerle karşılaştırıldığında aktivitenin brom içeren türevler için daha düştüğü gözlemlenmiştir. Bu durum bromun daha büyük atomik yapıya sahip olmasından dolayı sterik etkilere neden olabileceği ve bunun da aktiviteyi görece düşüreceği tahmin edilmektedir.

Önceki araştırmalardan elde edilen verilere göre, π - π etkileşimleri aromatik gruplar arasında gerçekleşen güçlü, çekici, kovalent olmayan bağlar olarak tanımlanmış ve bu etkileşimlerin özellikle DNA stabilizasyonunda, ilaç interkalasyonunda ve benzeri biyomoleküler süreçlerde kritik bir rol oynadığı bildirilmiştir (Hunter vd., 2001). Bu nedenle, aromatik halkalar arasında görülen bu güçlü etkileşimler, moleküller arası bağlanmayı güçlendirerek komplekslerin stabilitesini artırabilir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde; DNA hedef bölgelerinden biri olan guanin (DG13) ile hidrojen bağları, π - π veya π -katyon

etkileşimleri yoluyla etoposid benzeri bağlanma profilleri sergiledikleri belirlenmiştir (Wu vd., 2011). Bunun yanında fenil halkası üzerinde kısa zincirli alkil grupları (CH_3 ve C_2H_5) taşıyan türevlerde daha stabil kenetlenme profilleri ve biyolojik aktivite gösterdiği; uzun zincirli alkil gruplarında (C_4H_9 ve C_5H_{11}) ise, sterik etkileri nedeniyle daha düşük aktivite sergiledikleri tahmin edilmektedir. Fenil halkasına bağlı daha küçük yan zincirler taşıyan türevler, Arg487 ile metil estere ait karbonil oksijeni üzerinden hidrojen bağı oluştururken, daha uzun zincir taşıyan türevler aktif bölgeye yerleşebilmek için pozisyon değişikliği göstermiştir. Bu durumda, hidrojen bağı karbonil oksijeninden değil, imidazol halkasına ait azot atomu üzerinden Arg487 ile gerçekleştiği gözlemlenmektedir. Ancak, imidazol halkası tautomerik özellikler sergilediğinden, oluşan bu hidrojen bağının stabilitesi diğer türevlerdeki kadar güçlü olmaması ve sonuç olarak molekülün aktif bölgedeki stabilitesini etkilediği ve dolayısıyla diğerlerine göre daha düşük bağlanma profilleri sergiledikleri tahmin edilmektedir.

Fenil halkasının *para* pozisyonunda bulunan metoksi grubunun etkisi *in silico* çalışmalarda değerlendirildiğinde, bu grubun molekülü Met762'den uzaklaştırmasına rağmen, **2n** (1,10 μM) ve **3n** (1,10 μM) bileşiklerinde yüksek bir aktivite sergilediği belirlenmiştir. Bu durum, metoksi grubunun fenil halkasına elektron vererek halkayı aktifleştirmesiyle açıklanabilir. Halkadaki bu aktivasyon, DG13 ve DG8 gibi DNA bölgeleriyle gözlenen π - π etkileşimlerini güçlendirebilir ve böylece molekülün bağlanma bölgesindeki stabilitesini artırabilir.

Lipinski (Lipinski vd., 1997) ve Veber (Veber vd., 2002) kurallarına uygunlukları açısından bileşiklerin ilaca benzerlik özellikleri incelendiğinde; moleküler ağırlıkları 270,08 ile 323,15 arasında değişmekte; nHA ve nHD sayıları 4 ve 0–1 arasında sabit kalarak ilaca benzerlik kriterleriyle uyumlu görülmekte; dönebilen bağ sayıları 3 ile 7 arasında değişmekte; ve $\text{TPSA} \leq 140 \text{ \AA}^2$ olduğu, bununla birlikte logP değerleri 5'ten biraz büyük olan olan **2l**, **2m**, **3i**, **3k**, **3l**, ve **3m** bileşiklerinin Lipinski kurallarından birini ihlal ettiği; ancak diğer bileşiklerin her iki kurala da uygunluk gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum bileşiklerin oral biyoyararlanım açısından uygun olabileceklerini göstermektedir (Çizelge 3.4).

QED, ilaç benzerliğinin nicel tahmini olarak adlandırılan ve molekülün ilaç benzeri özelliklerini sayısal olarak değerlendiren bir skorum sistemidir. QED değerleri, 0 (tüm özellikler olumsuz) ile 1 (tüm özellikler olumlu) arasında değişmektedir. Bu skorum

sistemi kullanıldığında, 0'a yakın değerler düşük ilaç benzerliğini, 1'e yakın değerler ise yüksek ilaç benzerliğini ifade etmektedir. (Bickerton vd., 2012). Sentezlenen bileşiklerin QED değerleri genel olarak 0,472 ile 0,75 arasında değişmekte, bu durum bileşiklerin ilaca benzerliklerinin orta ila iyi düzeyde olduğunu göstermektedir (Çizelge 3.5).

Bileşiklerin oral biyoyararlanımlarının değerlendirmesinde, ADME profillemesinin önemli bir unsuru olan adsorbsiyon kapasiteleri analiz edilmiştir. İnsan bağırsak adsorbsiyonu ile geçirgenlik arasında belirgin bir ilişki olduğu, geçirgenlik değerlerinin bağırsaktan adsorbsiyonu yansıttığı görülmüştür. Caco-2 ve MDCK hücre hatları *in vivo* geçirgenlik tahmininde yaygın olarak kullanılmakta, özellikle Caco-2 hücrelerindeki P-glikoprotein (P-gp) önemli bir taşıyıcı olarak öne çıkmaktadır. Bu nedenle yapılan *in silico* analizlerde Caco-2 ve MDCK geçirgenlikleri değerleri negatif değerlerle ifade edilmekte, -5'in altındaki değerler düşük emilime işaret etmektedir. Ayrıca, bileşiklerin Pgp inhibitörü veya substratı olma potansiyelleri incelenmiştir. Buna göre elde edilen veriler incelendiğinde genel olarak Caco-2 ve MDCK geçirgenliklerinin sırasıyla -4,2 ile -5,7 ile -4,4 ile -4,9 arasında bulunmuş, çoğu bileşik için sınırlı bir bağırsaktan adsorbsiyon potansiyellerine işaret etmekte özellikle 2d ve 2l bileşiklerinin sergiledikleri düşük değerler ile bağırsak geçirgenliklerinin sınırlı olabileceğini düşündürmektedir. Bunun yanında; 2m ve 3m bileşiklerinin düşük Caco-2 ve MDCK geçirgenliklerinin yanı sıra P-gp substratı/inhibitörü olarak aktif görünmemesi de bu bileşiklerin biyoyararlanım açısından daha da sınırlı olabileceğine işaret etmektedir. Bunların yanında bileşikler 3k ve 2i hem P-gp inhibitörlüğü hem de iyi seviyede bağırsak geçirgenlik potansiyeli göstermeleri oral biyoyararlanım açısından diğerlerine göre dikkat çekmektedir.

Doktora tez çalışması kapsamında sentezlenen bileşiklerin ADME özelliklerinin önemli bir bileşeni olan HIA potansiyelini değerlendirmek için ADMET-AI çevrimiçi uygulaması kullanılarak HIA değerleri hesaplanmıştır (Swanson vd., 2024). Çizelge 3.5'te sunulan sonuçlar incelendiğinde, sentezlenen bileşiklerin büyük çoğunluğunun bağırsaktan emilim oranlarının %90'ın üzerinde olduğu görülmüş, bu da bileşiklerin yüksek bağırsak emilim potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, düşük HIA değerine sahip bileşik bulunmaması, sentezlenen bileşiklerin bağırsaktan emilim açısından yeterli olduğunu desteklemektedir. Özellikle 2a, 2b, 2d, 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 3f ve 3o bileşiklerinin %97–%99 aralığında HIA değerleri ile yüksek adsorbsiyon kapasitesi sergilediği ve bu durumun bileşiklerin oral biyoyararlanım açısından uygun aday olma potansiyellerine işaret etmektedir.

Bileşiklerin plazma proteinlerine bağlanma potansiyelleri incelendiğinde, %98'in üzerinde plazma protein bağlanma oranlarına sahip oldukları görülmektedir. Bu durum, bileşiklerin büyük bir kısmının dolaşımda plazma proteinlerine bağlı şekilde taşınacağını göstermektedir. Bununla birlikte, 3i (%99,40) ve 2m (%99,30) gibi bileşiklerde gözlemlenen yüksek PPB değerleri, serbest fraksiyonun düşük olabileceğini işaret etmektedir. Bu durum, bileşiklerin hedef dokulara ulaşımında zorluklara ve dolayısıyla biyoyararlanımın azalmasına yol açabilir. Öte yandan, 2b (%98,20) ve 3k (%98,60) gibi bileşiklerde daha düşük PPB değerleri, dolaşımda daha fazla serbest ve aktif formun bulunmasına neden olabilir. Bu durum, bileşiklerin daha hızlı eliminasyonu, etkilerinin daha kısa süreli olması ve toksisite riskinin artması gibi olası dezavantajları beraberinde getirebilir (Han vd., 2025). Bileşiklerin KBB üzerindeki geçiş potansiyelleri değerlendirildiğinde, benzoksazol halkası içeren bileşiklerin genel olarak KBB'den yüksek geçiş sergilediği tespit edilmiştir. Özellikle, 3a, 3c, 3d ve 3k'nin yüksek düzeyde, 2c, 3f ve 3g'nin ise orta düzeyde geçiş profili sergilediği belirlenmiştir (Çizelge 3.5).

Bileşiklerin ilaç-ilaç etkileşim potansiyellerini değerlendirmek amacıyla mikrozomal CYP enzimleri üzerinden substrat ve inhibitör olma potansiyelleri incelendiğinde, CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4 ve CYP2C8 enzimleri üzerinde güçlü inhibitör etkilere sahip bileşikler olarak 2p ve 3p öne çıkmaktadır. Bu bileşikler, genel inhibitör etkiler sergilemektedir. Buna karşılık, 2h ve 3h bileşiklerinin mikrozomal enzimler üzerinde genel olarak zayıf inhibitör etkiler göstereceği ve sınırlı substrat etkinliklerine sahip olacağı tahmin edilmektedir. Ayrıca, 2o ve 3o bileşiklerinin CYP2D6 enzimi üzerinden substrat olma potansiyeli taşıdığı, 3o'nun ise CYP3A4 enzimi üzerinde inhibitör etkinlik gösterebileceği gözlemlenmiştir (Çizelge 3.6).

Sentezlenen bileşiklerin plazma klirensi (CL_{plazma}) ve yarılanma süreleri ($T_{1/2}$) değerlendirildiğinde, 2f ve 2o bileşikleri (sırasıyla 8,495 ve 7,886 mL/dak) en yüksek plazma klirenslerine sahip bileşiklerdir ve bu durum vücuttan hızlı bir şekilde elimine edileceğine işaret etmektedir. Bunun yanında 3c ve 3m bileşiklerinde gözlenen düşük klirens değerleri (sırasıyla 3,628 ve 3,308 mL/dak) diğerlerine göre daha düşüktür ve bu bileşiklerin vücuttan daha yavaş elimine edileceklerini göstermektedir. Tabloda bileşiklerin $T_{1/2}$ değerleri kıyaslandığında en uzun yarılanma süresine sahip bileşik olarak 1,222 saatlik yarı ömür ile 3d, 1,118 saat ile 3b ve 1,011 saat ile 3c bileşikleri; en kısa yarılanma ömrü ise 2p (0,377 sa) ve 2i (0,458 sa) bileşikleri olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.7).

Sentezlenen bileşiklerin toksisite profilleri değerlendirildiğinde, bileşiklere ait belirlenen AMES toksisite skorları karşılaştırıldığında 2a, 2b, 2d, 2e, 2f, 2p, 3n bileşikleri en yüksek (>0.7) mutajenik potansiyel gösterdikleri bunun yanında 3c ve 3i, 3k, 3l ve 3m bileşiklerinin ≤ 2.0 değeri ile mutajenite açısından güvenli bir profile sahip olabilecekleri belirlenmiştir. Kardiyotoksisite riski açısından hERG blokajı üzerine yapılan değerlendirmelerde, 2i ve 2m bileşikleri sırasıyla 0,637 ve 0,797 değerleri ile en yüksek hERG bloke etme potansiyeline sahip bileşikler olarak dikkat çekmektedir. Buna karşın, 3p ve 3h gibi bileşikler sırasıyla 0,113 ve 0,103 değerleri ile daha düşük hERG blokajı aktivitesi göstermekte ve bu durum, kardiyotoksisite riski açısından daha güvenli bileşikler olabileceklerine işaret etmektedir. Hepatotoksisite riskleri açısından değerlendirildiklerinde 2f (0,514) ve 2k (0,557) bileşiklerinin yüksek karaciğer toksisite potansiyelleri taşıyabilecekleri, bunun yanında 3l, 3c ve 2l bileşiklerinin görece daha az karaciğer toksisitesi riski (<0.25) taşıdığı gözlenmektedir. Bileşiklerin karsinogenite profilleri değerlendirildiğinde, 2d ve 2n bileşiklerinin yüksek karsinogenik potansiyele sahip oldukları (>0.8) belirlenmiştir. Buna karşın, 3m bileşiğinde bu riskin diğerlerine göre düşük olduğu (<0.3) görülmektedir. Genotoksisite değerlendirmesinde, 3m ve 3i bileşiklerinin düşük genotoksisite değerlerine (sırasıyla 0,001 ve 0,002) sahip oldukları tespit edilmiştir. Ancak 2a, 2b, 2c ve 2d bileşiklerinin yüksek genotoksisite skorları (>0.9) ile DNA'ya zarar verme potansiyellerinin daha yüksek olabileceği belirlenmiştir. Sonuç olarak doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşiklerden 3m ve 3i bileşikleri genotoksisite, karsinogenisite, ve mutajenite açısından düşük risk taşımaktadır. 2d bileşiği kardiyotoksisite, mutajenite, hepatotoksisite ve genotoksisite açısından dikkat edilmesi gereken bileşiklerdir (Çizelge 3.7).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yürütülen bu doktora tez çalışmasında, 13'ü orijinal olmak üzere 15 adet benzimidazol (**2a-2p**) ve 15 adet benzoksazol (**3a-3p**) türevi toplam 30 bileşik tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bileşiklerin yapısal karakterizasyonu, ^1H NMR, ^{13}C NMR, LC-MS ve IR gibi enstrümantal analiz yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Biyolojik aktiviteleri ise 293T, A549, HepG2 ve LNCap hücre hatları üzerinde yapılan hücre kültürü çalışmaları ve hTopo II α enzim inhibisyonu analizleri ile incelenmiştir. Ayrıca, *in silico* analizlerle, hTopo II α enzimiyle olan moleküler düzeydeki etkileşim dinamikleri ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmiştir.

WST-1 aracılı sitotoksosite testi sonuçlarına göre, doktora tezi kapsamında sentezlenen bileşiklerin A549, LNCaP ve HepG2 insan kanser hücre hatlarında güçlü antikanser aktiviteler sergilediği, özellikle benzimidazol türevlerinin benzoksazol türevlerine kıyasla daha yüksek antiproliferatif aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, sentezlenen bileşiklerin tamamının sağlıklı insan embriyonik böbrek hücre hattı (293T) üzerinde referans inhibitör etoposide kıyasla daha düşük IC₅₀ değerleri sergilediği ve yüksek sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, HepG2 ve A549 hücre hatlarında etoposide kıyasla sırasıyla (33,58 ($\pm 5,31$) ve 35,29 ($\pm 3,35$) değerleri ile daha güçlü antikanser aktiviteleri ve kanserli hücrelere karşı daha yüksek seçiciliği ile **2n** bileşiği öne çıkmaktadır. Bunun yanında, **2l** ve **2h** bileşikler LNCaP, HepG2 ve A549 hücrelerine karşı (sırasıyla, 11,84 ($\pm 3,48$); 19,59 ($\pm 2,15$) ve 20,22 ($\pm 3,05$) ve 10,83 ($\pm 4,74$); 15,58 ($\pm 5,25$); 14,48 ($\pm 4,28$) olmak üzere yüksek antikanser aktiviteleri nedeniyle dikkat çekmektedir.

Yapılan hTopo II α enzimine bağlanma potansiyellerinin değerlendirildiği çalışmada, benzimidazol türevi bileşiklerin (**2a-2p**), benzoksazol türevlerine (**3a-3p**) kıyasla genellikle daha güçlü bağlanma profilleri sergilediğini ortaya koymuştur. Bu durum, benzimidazol halkasının hem doğal pürinlere yapısal benzerliği hem de hidrojen bağı vericisi ve alıcısı olarak davranabilmesi ile ilişkilendirilmiştir. Flor gibi elektron çekici gruplar içeren türevlerin yüksek bağlanma potansiyelleri gösterdiği (örneğin, **2a**: 1,07 $\mu\text{g/L}$ ve **3a**: 1,31 $\mu\text{g/L}$), brom substitüentlerinin ise sterik etkiler nedeniyle aktiviteyi olumsuz etkilediği gözlenmiştir (örneğin, 4. konumda *i*-bütil (**2k**: 1,39 $\mu\text{g/L}$), *t*-bütil (**2l**: 1,28 $\mu\text{g/L}$) ve *n*-bütil (**2i**: 1,52 $\mu\text{g/L}$) taşıyan türevlerde olduğu gibi).

hTopo IIa (pdb:5GWK) enziminin-DNA ve etoposid kompleksi şeklindeki kristal formu kullanılarak gerçekleştirilen moleküler kenetlenme çalışmaları sonucunda sentezlenen bileşiklerin etkili skorlara ve enzim-DNA kompleksi ile güçlü bağlantılara sahip olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen veriler, DNA stabilizasyonu ve ilaç interkalasyonu gibi biyomoleküler süreçlerde önemli yere sahip olan aromatik gruplar arasında görülen π etkileşimlerinin önemli olduğunu, bu bağlamda, DG13 gibi DNA hedef bölgeleri ile π - π etkileşimi veya π -kasyon etkileşimleri yoluyla benzer bağlanma profilleri sergileyen türevlerin, biyolojik aktivite açısından öne çıktığı belirlenmiştir. Ayrıca, fenil halkasına bağlı daha kısa zincirli alkil grupları taşıyan türevlerin, daha uzun zincirli alkil grupları taşıyanlara göre daha iyi bağlanma profilleri sergiledikleri ve yüksek biyolojik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bunun yanında yapıda metoksi grubunun varlığının molekülü biyolojik aktivitede önemli yere sahip Met762 aminoasit kalıntısından uzaklaştırmasına rağmen aktivitede yüksek değerlerin elde edilmesinin halkayı aktive edici metoksi grubunun π - π etkileşimlerini güçlendirdiği ve molekülün bağlanma stabilitesini artırarak aktiviteye katkı sağladığı belirlenmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin ADME özellikleri, ilaç olabilirlik potansiyelleri ve toksisite profilleri kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir. Genel olarak, bileşiklerin iyi bir farmakokinetik profile sahip olduğu ve Lipinski ve Veber kurallarına uygunluk gösterdikleri, insan bağırsak emilim oranlarının yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunlardan **3m** ve **3i** bileşiklerinin düşük toksisite profilleriyle öne çıkan türevler olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında, **2d** bileşiği, yüksek kardiyotoksisite, hepatotoksisite, mutajenite ve genotoksisite potansiyeli taşıdığı için dikkatle değerlendirilmesi gereken bir aday olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerden elde edilen veriler ışığında, gelecekte planlanacak çalışmalarda benzimidazol halkası üzerinden devam edilerek biyolojik aktivitelerin optimizasyonu hedeflenebilir. Bu kapsamda, uzun ve dallanmış grupların yanı sıra daha kısa alkil zincirleri taşıyan ve/veya elektron çekici grupların (örneğin, F ve Cl) farklı pozisyonlarda süstitüe edilmesinin aktivite üzerindeki etkilerinin araştırılması önerilmektedir.

hTopo IIa enzimine bağlanma potansiyellerine yönelik çalışmalar incelendiğinde; gelecekteki çalışmalarda, farklı halkalar ve substitüentlerle yapılan modifikasyonların enzime bağlanma ve biyolojik aktivite üzerindeki etkilerinin kapsamlı şekilde incelenmesi önerilmektedir. Bu tür analizler, daha etkili bileşiklerin tasarımına katkı sağlayabilir.

In silico ADMET sonuçları değerlendirildiğinde, düşük bağırsak geçirgenliği gösteren bileşikler (özellikle fenil halkasında hidrofobik alkil zincirleri taşıyan türevler, örneğin 2m ve 3m gibi) için biyoyararlanımın artırılması amacıyla çeşitli ilaç taşıyıcı sistemlerinin kullanılması veya ön ilaç tasarımlarının değerlendirilmesi önerilmektedir.

Moleküler kenetlenme çalışmalarıyla elde edilen en uygun konformasyonların ve bağlanma cebindeki etkileşim dinamiklerinin daha derinlemesine incelenmesi için moleküler dinamik simülasyonlarının ek olarak yapılması, bileşiklerin etkileşim mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayabilir.

Ciddi toksisite riski taşıyan bileşikler için, klinik gelişim sürecinden önce toksikolojik riskleri azaltmaya yönelik alternatif yapı modifikasyonlarının yapılması önemlidir. Ayrıca, tez çalışması kapsamında sentezlenen benzimidazol ve benzoksazol türevlerinin, daha geniş bir kanser hücre hattı yelpazesinde ve farklı biyolojik hedefler üzerindeki etkinliklerinin incelenmesi önerilmektedir.

Doktora tez çalışması kapsamında elde edilen bu sonuçlar, antikanser tedavi süreçlerinde benzimidazol ve benzoksazol türevlerinin umut vadeden adaylar olduğunu ve uygun modifikasyonlarla biyolojik aktivitelerinin daha da artırılabilceğini ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

- AboulWafa, O. M., Daabees, H. M. G., & El-Said, A. H. (2023). Benzoxazole-appended piperidine derivatives as novel anticancer candidates against breast cancer. *Bioorganic Chemistry*, 134, 106437. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106437>
- Abraham, D. J. (2005). *Drug discovery in academia: A case study*. In *Chemoinformatics in drug discovery* (pp. 457-484). <https://doi.org/10.1002/3527603743>
- Acar Çevik, U., Sağlık, B. N., Korkut, B., Özkay, Y., & Ilgin, S. (2018). Antiproliferative, cytotoxic, and apoptotic effects of new benzimidazole derivatives bearing hydrazone moiety. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 55(1), 138-148. <https://doi.org/10.1002/jhet.3016>
- Accelrys. (2012). *Discovery Studio* [Computer software].
- Acharya, C., Coop, A., Polli, J. E., & MacKerell, A. D. (2011). Recent advances in ligand-based drug design: Relevance and utility of the conformationally sampled pharmacophore approach. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(1), 10-22. <https://doi.org/10.2174/157340911793743547>
- Afantitis, A., Melagraki, G., Koutentis, P. A., Sarimveis, H., & Kollias, G. (2011). Ligand-based virtual screening procedure for the prediction and identification of novel β -amyloid aggregation inhibitors using Kohonen maps and counterpropagation artificial neural networks. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(2), 497-508. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.11.029>
- Afzal, O., Altamimi, A. S. A., Shahroz, M. M., Sharma, H. K., Riadi, Y., & Hassan, M. Q. (2021). Analgesic and anticancer activity of benzoxazole clubbed 2-pyrrolidinones as novel inhibitors of monoacylglycerol lipase. *Molecules*, 26(8). <https://doi.org/10.3390/molecules26082389>
- Aggarwal, N., Kaur, A., Anand, K., Kumar, H., & Wakode, S. (2017). Biologically active benzoxazole: A comprehensive review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(2), 1-5.
- Aiello, S., Wells, G., Stone, E. L., Kadri, H., Bazzi, R., Bell, D. R., Stevens, M. F., Matthews, C. S., Bradshaw, T. D., & Westwell, A. D. (2008). Synthesis and biological properties of benzothiazole, benzoxazole, and chromen-4-one analogues of the potent antitumor agent 2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-fluorobenzothiazole (PMX 610, NSC 721648). *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(16), 5135-5139. <https://doi.org/10.1021/jm800418z>
- Aizpurua, J. M., & Palomo, C. (1984). Reagents and synthetic methods: Improved synthesis of 2-substituted benzoxazoles induced by trimethylsilylpolyposphate (PPSE). *Société Chimique de France Bulletin*, 27, 142-144.
- Akhtar, M. J., Khan, A. A., Ali, Z., Dewangan, R. P., Rafi, M., Hassan, M. Q., Akhtar, M. S., Siddiqui, A. A., Partap, S., Pasha, S., & Yar, M. S. (2018). Synthesis of stable benzimidazole derivatives bearing pyrazole as anticancer and EGFR receptor inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 78, 158-169. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.03.002>

- Akihisa, T., Kikuchi, T., Nagai, H., Ishii, K., Tabata, K., & Suzuki, T. (2011). 4-Hydroxyderricin from *Angelica keiskei* roots induces caspase-dependent apoptotic cell death in HL60 human leukemia cells. *Journal of Oleo Science*, 60(2), 71-77. <https://doi.org/10.5650/jos.60.71>
- Aldeghi, M., Heifetz, A., Bodkin, M. J., Knapp, S., & Biggin, P. C. (2016). Accurate calculation of the absolute free energy of binding for drug molecules. *Chemical Science*, 7(1), 207-218. <https://doi.org/10.1039/C5SC02678D>
- Alonso, H., Bliznyuk, A. A., & Gready, J. E. (2006). Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design. *Medicinal Research Reviews*, 26(5), 531-568. <https://doi.org/10.1002/med.20067>
- Ampati, S., Jukanti, R., Sagar, V., Ganta, R., & Manda, S. (2010). Synthesis and in vivo anti-inflammatory activity of a novel series of benzoxazole derivatives. *Der Chemica Sinica*, 1(3), 157-168.
- Aniket, P., Shantanu, D., Anagha, O., & Ajinkya, P. (2015). Iodine catalyzed convenient synthesis of 2-aryl-1-arylmethyl-1H-benzimidazoles in aqueous media. *International Journal of ChemTech Research*, 8, 496-500.
- Arcon, J. P., Defelipe, L. A., Modenutti, C. P., López, E. D., Alvarez-Garcia, D., Barril, X., Turjanski, A. G., & Martí, M. A. (2017). Molecular dynamics in mixed solvents reveals protein–ligand interactions, improves docking, and allows accurate binding free energy predictions. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 57(4), 846-863. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00678>
- Arslan, H. (2007). Theoretical studies of molecular structure and vibrational spectra of 2-ethyl-1H-benzimidazole. *Asian Journal of Chemistry*, 19(3), 2229.
- Ashburn, T. T. and Thor, K. B. (2004). Drug repositioning: Identifying and developing new uses for existing drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(8), 673-683. <https://doi.org/10.1038/nrd1468>
- Ayhan-Kılıçgil, G., Tunçbilek, M., Altanlar, N., & Göker, H. (1999). Synthesis and antimicrobial activity of some new benzimidazole carboxylates and carboxamides. *Il Farmaco*, 54(8), 562-565. [https://doi.org/10.1016/S0014-827X\(99\)00059-2](https://doi.org/10.1016/S0014-827X(99)00059-2)
- Backman, J. T., Wang, J. S., Wen, X., Kivistö, K. T., & Neuvonen, P. J. (1999). Mibefradil but not isradipine substantially elevates the plasma concentrations of the CYP3A4 substrate triazolam. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 66(4), 401-407. <https://doi.org/10.1053/cp.1999.v66.a101461>
- Bácskay, I., Nemes, D., Fenyvesi, F., Váradi, J., Vasvári, G., Fehér, P., Vecsernyés, M., & Ujhelyi, Z. (2017). Role of cytotoxicity experiments in pharmaceutical development. *Cytotoxicity*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72539>
- Bacilieri, M., & Moro, S. (2006). Ligand-based drug design methodologies in drug discovery process: An overview. *Current Drug Discovery Technologies*, 3(3), 155-165. <https://doi.org/10.2174/157016306780136781>

- Badar, M. S., Shamsi, S., Ahmed, J., & Alam, M. A. (2022). Molecular dynamics simulations: Concept, methods, and applications. In *Transdisciplinarity* (pp. 131-151). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-94651-7_7
- Bailly, C. (2015). Anticancer properties of lamellarins. *Marine Drugs*, 13(3), 1105-1123. <https://doi.org/10.3390/md13031105>
- Ballot, C., Kluza, J., Lancel, S., Martoriati, A., Hassoun, S. M., Mortier, L., Vienne, J. C., Briand, G., Formstecher, P., & Bailly, C. (2010). Inhibition of mitochondrial respiration mediates apoptosis induced by the anti-tumoral alkaloid lamellarin D. *Apoptosis*, 15, 769-781. <https://doi.org/10.1007/s10495-010-0471-2>
- Ballot, C., Kluza, J., Martoriati, A., Nyman, U., Formstecher, P., Joseph, B., Bailly, C., & Marchetti, P. (2009). Essential role of mitochondria in apoptosis of cancer cells induced by the marine alkaloid lamellarin D. *Molecular Cancer Therapeutics*, 8(12), 3307-3317. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-09-0639>
- Bandeale, O. J. and Osheroff, N. (2007). Bioflavonoids as poisons of human topoisomerase II alpha and II beta. *Biochemistry*, 46(20), 6097-6108. <https://doi.org/10.1021/bi7000664>
- Banegas-Luna, A. J., Cerón-Carrasco, J. P., & Pérez-Sánchez, H. (2018). A review of ligand-based virtual screening web tools and screening algorithms in large molecular databases in the age of big data. *Future Medicinal Chemistry*, 10(22), 2641-2658. <https://doi.org/10.4155/fmc-2018-0076>
- Bansal, Y., Minhas, R., Singhal, A., Arora, R. K., & Bansal, G. (2021). Benzimidazole: A multifaceted nucleus for anticancer agents. *Current Organic Chemistry*, 25, 669-694. <https://doi.org/10.2174/1385272825666210208141107>
- 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>
- Barnum, D., Greene, J., Smellie, A., & Sprague, P. (1996). Identification of common functional configurations among molecules. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 36(3), 563-571. <https://doi.org/10.1021/ci950273r>
- Basith, S., Cui, M., Macalino, S. J., Park, J., Clavio, N. A., Kang, S., & Choi, S. (2018). Exploring G protein-coupled receptors (GPCRs) ligand space via cheminformatics approaches: Impact on rational drug design. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 128. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00128>
- Bastug, G., Eviolitte, C., & Markó, I. E. (2012). Functionalized orthoesters as powerful building blocks for the efficient preparation of heteroaromatic bicycles. *Organic Letters*, 14(13), 3502-3505. <https://doi.org/10.1021/ol301472a>
- Bates, A. D. and Maxwell, A. (2005). *DNA topology*. Oxford University Press, USA.
- Beauchamp, K. A., Lin, Y. S., Das, R., & Pande, V. S. (2012). Are protein force fields getting better? A systematic benchmark on 524 diverse NMR measurements. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 8(4), 1409-1414. <https://doi.org/10.1021/ct2007814>

- Bégué, J. P. and Bonnet- Delpon, D. (2008). Chapter 13 - Biological impacts of fluorination: Pharmaceuticals based on natural products. In A. Tressaud (Ed.), *Fluorine and health* (pp. 553-622). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53086-8.00013-8>
- Benazzouz, A., Boraud, T., Dubédat, P., Boireau, A., Stutzmann, J.-M., & Gross, C. (1995). Riluzole prevents MPTP-induced parkinsonism in the rhesus monkey: A pilot study. *European Journal of Pharmacology*, 284(3), 299-307. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(95\)00362-0](https://doi.org/10.1016/0014-2999(95)00362-0)
- Beretta, G. L., Zuco, V., De Cesare, M., Perego, P., & Zaffaroni, N. (2012). Namitecan: A hydrophilic camptothecin with a promising preclinical profile. *Current Medicinal Chemistry*, 19(21), 3488-3501. <https://doi.org/10.2174/092986712801323252>
- Berger, J. M., Gamblin, S. J., Harrison, S. C., & Wang, J. C. (1996). Structure and mechanism of DNA topoisomerase II. *Nature*, 379(6562), 225-232. <https://doi.org/10.1038/379225a0>
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235-242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
- Bernardon, J.-M., Eustache, J., & Shroot, B. (1984). Aromatische, heterocyclische Derivate und ihre Verwendung auf dem pharmazeutischen und kosmetischen Gebiet. Deutsches Patent DE3533308C2. <https://patents.google.com/patent/DE3533308C2/ko>
- Berridge, M. V., Herst, P. M., & Tan, A. S. (2005). Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *Biotechnology Annual Review*, 11, 127-152. [https://doi.org/10.1016/s1387-2656\(05\)11004-7](https://doi.org/10.1016/s1387-2656(05)11004-7)
- Bickerton, G. R., Paolini, G. V., Besnard, J., Muresan, S., & Hopkins, A. L. (2012). Quantifying the chemical beauty of drugs. *Nature Chemistry*, 4(2), 90-98. <https://doi.org/10.1038/nchem.1243>
- Birajdar, S. S., Hatnapure, G. D., Keche, A. P., & Kamble, V. M. (2014). Synthesis of 2-substituted-1H-benzimidazoles through oxidative cyclization of o-phenylenediamine and substituted aldehydes using dioxane dibromide.
- Bjornsti, M. A. and Kaufmann, S. H. (2019). Topoisomerases and cancer chemotherapy: Recent advances and unanswered questions. *F1000Research*, 8. <https://doi.org/10.12688/f1000research.20201>
- Blaney, J. (2012). A very short history of structure-based design: How did we get here and where do we need to go? *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 26(1), 13-14. <https://doi.org/10.1007/s10822-011-9518-x>
- Böhm, H.-J. (1992). LUDI: rule-based automatic design of new substituents for enzyme inhibitor leads. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 6(6), 593-606. <https://doi.org/10.1007/BF00126217>
- Boiani, M. and González, M. (2005). Imidazole and benzimidazole derivatives as chemotherapeutic agents. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 5(4), 409-424. <https://doi.org/10.2174/1389557053544047>

- Boissarie, P. J., Hamilton, Z. E., Lang, S., Murphy, J. A., & Suckling, C. J. (2011). A powerful palladium-catalyzed multicomponent process for the preparation of oxazolines and benzoxazoles. *Organic Letters*, 13(23), 6256-6259. <https://doi.org/10.1021/ol202725y>
- Bommegowda, Y. K., Lingaraju, G. S., Thamas, S., Vinay Kumar, K. S., Pradeepa Kumara, C. S., Rangappa, K. S., & Sadashiva, M. P. (2013). Weinreb amide as an efficient reagent in the one pot synthesis of benzimidazoles and benzothiazoles. *Tetrahedron Letters*, 54(21), 2693-2695. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.03.075>
- Bossaert, M., Pipier, A., Riou, J. F., Noirot, C., Nguyễn, L. T., Serre, R. F., Bouchez, O., Defrancq, E., Calsou, P., Britton, S., & Gomez, D. (2021). Transcription-associated topoisomerase 2 α (TOP2A) activity is a major effector of cytotoxicity induced by G-quadruplex ligands. *eLife*, 10. <https://doi.org/10.7554/eLife.65184>
- Bramhananda Reddy, N., Burra, V. R., Ravindranath, L. K., Naresh Kumar, V., Sreenivasulu, R., & Sadanandam, P. (2016). Synthesis and biological evaluation of benzimidazole fused ellipticine derivatives as anticancer agents. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, 147(3), 599-604. <https://doi.org/10.1007/s00706-016-1684-z>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229-263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Bray, F., Laversanne, M., Weiderpass, E., & Soerjomataram, I. (2021). The ever- increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer*, 127(16), 3029-3030. <https://doi.org/10.1002/cncr.33587>
- 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/ja01176a532>
- Brooks, B. R., Bruccoleri, R. E., Olafson, B. D., States, D. J., Swaminathan, S. A., & Karplus, M. (1983). CHARMM: A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations. *Journal of Computational Chemistry*, 4(2), 187-217. <https://doi.org/10.1002/jcc.540040211>
- Brugger, E.-M., Wagner, J., Schumacher, D. M., Koch, K., Podlech, J., Metzler, M., & Lehmann, L. (2006). Mutagenicity of the mycotoxin alternariol in cultured mammalian cells. *Toxicology Letters*, 164(3), 221-230. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.01.001>
- Bruno, P. M., Lu, M., Dennis, K. A., Inam, H., Moore, C. J., Sheehe, J., Elledge, S. J., Hemann, M. T., & Pritchard, J. R. (2020). The primary mechanism of cytotoxicity of the chemotherapeutic agent CX-5461 is topoisomerase II poisoning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(8), 4053-4060. <https://doi.org/10.1073/pnas.1921649117>
- Burley, S. K., Berman, H. M., Bhikadiya, C., Bi, C., Chen, L., Di Costanzo, L., Christie, C., Dalenberg, K., Duarte, J. M., & Dutta, S. (2019). RCSB Protein Data Bank: Biological macromolecular structures enabling research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology and energy. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D464-D474. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1004>

- Burley, S. K., Berman, H. M., Duarte, J. M., Feng, Z., Flatt, J. W., Hudson, B. P., Lowe, R., Peisach, E., Piehl, D. W., Rose, Y., Sali, A., Sekharan, M., Shao, C., Vallat, B., Voigt, M., Westbrook, J. D., Young, J. Y., & Zardecki, C. (2022). Protein Data Bank: A comprehensive review of 3D structure holdings and worldwide utilization by researchers, educators, and students. *Biomolecules*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/biom12101425>
- Bush, N. G., Evans-Roberts, K., & Maxwell, A. (2015). DNA topoisomerases. *EcoSal Plus*, 6(2), 10.1128/ecosalplus.ESP-0010-2014. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0010-2014>
- Caron, S., Jones, B. P., & Wei, L. (2012). Preparation of substituted benzimidazoles and imidazopyridines using 2,2,2-trichloroethyl imidates. *Synthesis*, 44, 3049-3054. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1317019>
- Castelli, S., Katkar, P., Vassallo, O., Falconi, M., Linder, S., & Desideri, A. (2013). A natural anticancer agent thaspine targets human topoisomerase IB. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 13(2), 356-363. <https://doi.org/10.2174/187152013804711128>
- Chalkappa, P. K. B., Aralihalli, S., Sudileti, M., Aithal, S. J., Praveen, B. M., & Birjadar, K. (2023). The medicinal panorama of benzimidazoles and their scaffolds as anticancer and antithrombotic agents: A review. *Archiv der Pharmazie*, 356(10), e2300206. <https://doi.org/10.1002/ardp.202300206>
- Champoux, J. J. (2001). DNA topoisomerases: Structure, function, and mechanism. *Annual Review of Biochemistry*, 70(1), 369-413. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.70.1.369>
- Chan, A. L.-F., Chang, W.-S., Chen, L.-M., Lee, C.-M., Chen, C.-E., Lin, C.-M., & Hwang, J.-L. (2009). Evodiamine stabilizes topoisomerase I-DNA cleavable complex to inhibit topoisomerase I activity. *Molecules*, 14(4), 1342-1352. <https://doi.org/10.3390/molecules14041342>
- Chang, Y., Hawkins, B. A., Du, J. J., Groundwater, P. W., Hibbs, D. E., & Lai, F. (2022). A guide to in silico drug design. *Pharmaceutics*, 15(1). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010049>
- Chemical Computing Group ULC. (2024). *Molecular Operating Environment (MOE)* (Version 2024.06).
- Chen, A. Y., Shih, S. J., Garriques, L. N., Rothenberg, M. L., Hsiao, M., & Curran, D. P. (2005). Silatecan DB-67 is a novel DNA topoisomerase I-targeted radiation sensitizer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 4(2), 317-324. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.317.4.2>
- Chen, H., Gao, S., Li, J., Liu, D., Sheng, C., Yao, C., Jiang, W., Wu, J., Chen, S., & Huang, W. (2015). Wedelolactone disrupts the interaction of EZH2-EED complex and inhibits PRC2-dependent cancer. *Oncotarget*, 6(15), 13049. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3790>
- Chen, J. and Lai, L. (2006). Pocket v. 2: Further developments on receptor-based pharmacophore modeling. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 46(6), 2684-2691. <https://doi.org/10.1021/ci600246s>
- Chen, M. and Beck, W. T. (1995). DNA topoisomerase II expression, stability, and phosphorylation in two VM-26-resistant human leukemic CEM sublines. *Oncology Research*, 7(2), 103-111.

- Chen, S., Cao, Z., Prettnner, K., Kuhn, M., Yang, J., Jiao, L., Wang, Z., Li, W., Geldsetzer, P., & Bärnighausen, T. (2023). Estimates and projections of the global economic cost of 29 cancers in 204 countries and territories from 2020 to 2050. *JAMA Oncology*, 9(4), 465-472. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2022.7826>
- Chen, Y.-C. (2015). Beware of docking! *Trends in Pharmacological Sciences*, 36(2), 78-95. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.12.001>
- Cherkasov, A., Muratov, E. N., Fourches, D., Varnek, A., Baskin, I. I., Cronin, M., Dearden, J., Gramatica, P., Martin, Y. C., & Todeschini, R. (2014). QSAR modeling: Where have you been? Where are you going to? *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(12), 4977-5010. <https://doi.org/10.1021/jm4004285>
- Chikhale, R., Thorat, S., Choudhary, R. K., Gadewal, N., & Khedekar, P. (2018). Design, synthesis and anticancer studies of novel aminobenzazoyl pyrimidines as tyrosine kinase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 77, 84-100. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.01.008>
- Chou, R.-H., Hsieh, S.-C., Yu, Y.-L., Huang, M.-H., Huang, Y.-C., & Hsieh, Y.-H. (2013). Fisetin inhibits migration and invasion of human cervical cancer cells by down-regulating urokinase plasminogen activator expression through suppressing the p38 MAPK-dependent NF- κ B signaling pathway. *PloS One*, 8(8), e71983. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071983>
- Choudhury, C. and Narahari Sastry, G. (2019). Pharmacophore modelling and screening: Concepts, recent developments and applications in rational drug design. In *Structural bioinformatics: Applications in preclinical drug discovery process* (pp. 25-53). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-05282-9_2
- Christen, M., Hünenberger, P. H., Bakowies, D., Baron, R., Bürgi, R., Geerke, D. P., Heinz, T. N., Kastenholz, M. A., Kräutler, V., & Oostenbrink, C. (2005). The GROMOS software for biomolecular simulation: GROMOS05. *Journal of Computational Chemistry*, 26(16), 1719-1751. <https://doi.org/10.1002/jcc.20303>
- Clark, A. J., Tiwary, P., Borrelli, K., Feng, S., Miller, E. B., Abel, R., Friesner, R. A., & Berne, B. J. (2016). Prediction of protein–ligand binding poses via a combination of induced fit docking and metadynamics simulations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 12(6), 2990-2998. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.6b00201>
- Clark, D. E., Frenkel, D., Levy, S. A., Li, J., Murray, C. W., Robson, B., Waszkowycz, B., & Westhead, D. R. (1995). PRO_LIGAND: An approach to de novo molecular design. 1. Application to the design of organic molecules. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 9(1), 13-32. <https://doi.org/10.1007/BF00117275>
- ClinicalTrials.gov. (2024, August 1). *ClinicalTrials.gov*. Retrieved August 1, 2024, from <https://clinicaltrials.gov/>
- Coban, G., Zencir, S., Zupkó, I., Réthy, B., Gunes, H. S., & Topçu, Z. (2008). Synthesis and biological activity evaluation of 1H-benzimidazoles via mammalian DNA topoisomerase I and cytostaticity assays. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(5), 2280-2285. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.06.018>
- Coleman, W. B. and Tsongalis, G. J. (2001). *The molecular basis of human cancer*. Springer Science & Business Media.

Cooper, G. (2019). *The Cell: A Molecular Approach* (8th ed.). Oxford University Press.

Cornell, W. D., Cieplak, P., Bayly, C. I., Gould, I. R., Merz, K. M., Ferguson, D. M., Spellmeyer, D. C., Fox, T., Caldwell, J. W., & Kollman, P. A. (1995). A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *Journal of the American Chemical Society*, 117(19), 5179-5197. <https://doi.org/10.1021/ja955032e>

Cowell, I. G. and Austin, C. A. (2012). Mechanism of generation of therapy-related leukemia in response to anti-topoisomerase II agents. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9(6), 2075-2091. <https://doi.org/10.3390/ijerph9062075>

Cowell, I. G., Sondka, Z., Smith, K., Lee, K. C., Manville, C. M., Sidorczuk-Lesthuruge, M., Rance, H. A., Padget, K., Jackson, G. H., & Adachi, N. (2012). Model for MLL translocations in therapy-related leukemia involving topoisomerase II β -mediated DNA strand breaks and gene proximity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(23), 8989-8994. <https://doi.org/10.1073/pnas.1204406109>

Cragg, G. M. and Newman, D. J. (2005). Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 72-79. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.011>

Cragg, G. M. and Newman, D. J. (2013). Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(6), 3670-3695. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.008>

Cramer, R. D., Patterson, D. E., & Bunce, J. D. (1988). Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. *Journal of the American Chemical Society*, 110(18), 5959-5967. <https://doi.org/10.1021/ja00226a005>

Cruz- Monteagudo, M., Borges, F., & Cordeiro, M. N. D. (2008). Desirability- based multiobjective optimization for global QSAR studies: Application to the design of novel NSAIDs with improved analgesic, anti-inflammatory, and ulcerogenic profiles. *Journal of Computational Chemistry*, 29(14), 2445-2459. <https://doi.org/10.1002/jcc.20994>

Cui, W., Kargbo, R. B., Sajjadi-Hashemi, Z., Ahmed, F., & Gauuan, J. F. (2012). Efficient one-pot synthesis of 2-substituted benzimidazoles from triacyloxyborane intermediates. *Synlett*, 2012(02), 247-250. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1290129>

Dang, M.-H. D., Nguyen, L. H. T., & Tran, P. H. (2020). Sulfur/DABCO promoted reductive coupling/annulation cascade reaction between o-hydroxy/amino nitrobenzenes and benzaldehydes. *Synthesis*, 52, 1687-1694. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1690823>

Danziger, D. and Dean, P. (1989). Automated site-directed drug design: A general algorithm for knowledge acquisition about hydrogen-bonding regions at protein surfaces. *Proceedings of the Royal Society of London. B. Biological Sciences*, 236(1283), 101-113. <https://doi.org/10.1098/rspb.1989.0015>

Dastyafteh, N., Negahdaripour, M., Sayahi, M. H., Emami, M., Ghasemi, Y., Safaei, E., Azizian, H., Jahromi, Z. P., Asadi, M., & Mohajeri-Tehrani, M. R. (2024). Design, synthesis, biological evaluation, and in silico studies of novel N-substituted-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1H-benzimidazole-6-carboxamides as promising anticancer agents. *RSC Advances*, 14(48), 35323-35335. <https://doi.org/10.1039/D4RA04492D>

- Delepine, M. (1951). Joseph Pelletier and Joseph Caventou. *Journal of Chemical Education*, 28(9), 454. <https://doi.org/10.1021/ed028p454>
- Delgado, J. L., Hsieh, C. M., Chan, N. L., & Hiasa, H. (2018). Topoisomerases as anticancer targets. *Biochemical Journal*, 475(2), 373-398. <https://doi.org/10.1042/bcj20160583>
- Demmer, C. S. and Bunch, L. (2015). Benzoxazoles and oxazolopyridines in medicinal chemistry studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 778-785. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.11.064>
- Devi, R. V., Sathya, S. S., & Coumar, M. S. (2015). Evolutionary algorithms for de novo drug design—A survey. *Applied Soft Computing*, 27, 543-552. <https://doi.org/10.1016/j.asoc.2014.09.042>
- Di Gioia, M. L., Cassano, R., Costanzo, P., Herrera Cano, N., Maiuolo, L., Nardi, M., Nicoletta, F. P., Oliverio, M., & Procopio, A. (2019). Green synthesis of privileged benzimidazole scaffolds using active deep eutectic solvent. *Molecules*, 24(16), 2885. <https://doi.org/10.3390/molecules24162885>
- DiCosmo, F. and Straus, N. (1985). Alternariol, a dibenzopyrone mycotoxin of *Alternaria spp.*, is a new photosensitizing and DNA cross-linking agent. *Experientia*, 41(9), 1188-1190. <https://doi.org/10.1007/BF01951722>
- Dimitrov, T., Moschopoulou, A. A., Seidel, L., Kronenberger, T., Kudolo, M., Poso, A., Geibel, C., Wölffing, P., Dauch, D., Zender, L., Schollmeyer, D., Bajorath, J., Forster, M., & Laufer, S. A. (2023). Design and optimization of novel benzimidazole- and imidazo[4,5-b]pyridine-based ATM kinase inhibitors with subnanomolar activities. *Journal of Medicinal Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c02104>
- Dixon, J. R., Selvaraj, S., Yue, F., Kim, A., Li, Y., Shen, Y., Hu, M., Liu, J. S., & Ren, B. (2012). Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions. *Nature*, 485(7398), 376-380. <https://doi.org/10.1038/nature11082>
- Dixon, S. L., Smondyrev, A. M., Knoll, E. H., Rao, S. N., Shaw, D. E., & Friesner, R. A. (2006). PHASE: A new engine for pharmacophore perception, 3D QSAR model development, and 3D database screening: 1. Methodology and preliminary results. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 20, 647-671. <https://doi.org/10.1007/s10822-006-9087-6>
- Dong, J., Wang, N.-N., Yao, Z.-J., Zhang, L., Cheng, Y., Ouyang, D., Lu, A.-P., & Cao, D.-S. (2018). ADMETlab: A platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of Cheminformatics*, 10(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s13321-018-0283-x>
- Dror, O., Shulman-Peleg, A., Nussinov, R., & Wolfson, H. J. (2006). Predicting molecular interactions in silico: I. An updated guide to pharmacophore identification and its applications to drug design. In *Frontiers in Medicinal Chemistry* (Vol. 551, pp. 551-584). Bentham Science Publishers. <https://doi.org/10.2174/0929867043456287>
- Drwal, M. N. and Griffith, R. (2013). Combination of ligand- and structure-based methods in virtual screening. *Drug Discovery Today: Technologies*, 10(3), e395-401. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2013.02.002>

- Dubey, A. and Sanyal, P. (2010). Benzimidazoles in a wormy world. *Vet Scan| Online Veterinary Medical Journal*, 5(2). [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(90\)90225-s](https://doi.org/10.1016/0169-4758(90)90225-s)
- Dubois, N., Glynn, D., Mcinally, T., Rhodes, B., Woodward, S., Irvine, D. J., & Dodds, C. (2013). On DABAL-Me3 promoted formation of amides. *Tetrahedron*, 69, 9890-9897. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2013.08.062>
- Ducharme, M. P., Bernstein, M. L., Granvil, C. P., Gehrcke, B., & Wainer, I. W. (1997). Phenytoin-induced alteration in the N-dechloroethylation of ifosfamide stereoisomers. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 40, 531-533. <https://doi.org/10.1007/s002800050698>
- Duelen, R., Corvelyn, M., Tortorella, I., Leonardi, L., Chai, Y. C., & Sampaolesi, M. (2019). Medicinal biotechnology for disease modeling, clinical therapy, and drug discovery and development. In *Introduction to Biotech Entrepreneurship: From Idea to Business: A European Perspective* (pp. 89-128). https://doi.org/10.1007/978-3-030-22141-6_5
- Durrant, J. D. and McCammon, J. A. (2011). Molecular dynamics simulations and drug discovery. *BMC Biology*, 9, 1-9. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-9-71>
- Eicher, T., Hauptmann, S., & Speicher, A. (2013). *The chemistry of heterocycles: Structures, reactions, synthesis, and applications*. John Wiley & Sons.
- El-Ghobashy, N. M., El-Sayed, S. M., Shehata, I. A., & El-Ashmawy, M. B. (2022). Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling studies of new benzoxazole derivatives as PARP-2 inhibitors targeting breast cancer. *Scientific Reports*, 12(1), 16246. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20260-1>
- El-Gohary, N. S. and Shaaban, M. I. (2017). Synthesis and biological evaluation of a new series of benzimidazole derivatives as antimicrobial, antitumor-sensing and antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 131, 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.018>
- El-Helby, A. A., Sakr, H., Eissa, I. H., Abulkhair, H., Al-Karmalawy, A. A., & El-Adl, K. (2019). Design, synthesis, molecular docking, and anticancer activity of benzoxazole derivatives as VEGFR-2 inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, 352(10), e1900113. <https://doi.org/10.1002/ardp.201900113>
- El-Nassan, H. B. (2012). Synthesis, antitumor activity and SAR study of novel [1,2,4]triazino[4,5-a]benzimidazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 53, 22-27. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.03.028>
- El-Sayed, T. H., Aboelnaga, A., & Hagar, M. (2016). Ball milling assisted solvent and catalyst free synthesis of benzimidazoles and their derivatives. *Molecules*, 21(9), 1111. <https://doi.org/10.3390/molecules21091111>
- El Tekle, G. and Garrett, W. S. (2023). Bacteria in cancer initiation, promotion and progression. *Nature Reviews Cancer*, 23(9), 600-618. <https://doi.org/10.1038/s41568-023-00594-2>
- Elderfield, R. C. and McCarthy, J. R. (1951). The reaction of o-phenylenediamines with carbonyl compounds. II. Aliphatic ketones. *Journal of the American Chemical Society*, 73(3), 975-984. <https://doi.org/10.1021/ja01147a026>

- Elkady, H., Khaled, E.-A., Sakr, H., Abdelraheem, A. S., Sally, I. E., & El-Zahabi, M. A. (2023). Novel promising benzoxazole/benzothiazole- derived immunomodulatory agents: Design, synthesis, anticancer evaluation, and in silico ADMET analysis. *Archiv der Pharmazie*, 356(9), 1-18. <https://doi.org/10.1002/ardp.202300097>
- Elwan, A., Abdallah, A. E., Mahdy, H. A., Dahab, M. A., Taghour, M. S., Elkaeed, E. B., Mehany, A. B. M., Nabeeh, A., Adel, M., Alsouk, A. A., Elkady, H., & Eissa, I. H. (2022). Modified benzoxazole-based VEGFR-2 inhibitors and apoptosis inducers: Design, synthesis, and anti-proliferative evaluation. *Molecules*, 27(15). <https://doi.org/10.3390/molecules27155047>
- EMA. (2024, Augustos 1). European Medicines Agency. *Medicines*. Retrieved August 1, 2024, from <https://www.ema.europa.eu/en/medicines>
- Emerson, G., Brink, N. G., Holly, F. W., Koniuszy, F., Heyl, D., & Folkers, K. (1950). Vitamin B12. VIII. Vitamin B12-like activity of 5,6-dimethylbenzimidazole and tests on related compounds. *Journal of the American Chemical Society*, 72(7), 3084-3085. <https://doi.org/10.1021/ja01163a078>
- Evindar, G. and Batey, R. A. (2006). Parallel synthesis of a library of benzoxazoles and benzothiazoles using ligand-accelerated copper-catalyzed cyclizations of ortho-halobenzanilides. *Journal of Organic Chemistry*, 71(5), 1802-1808. <https://doi.org/10.1021/jo051927q>
- Facompré, M., Tardy, C., Bal-Mahieu, C., Colson, P., Perez, C., Manzanares, I., Cuevas, C., & Bailly, C. (2003). Lamellarin D: a novel potent inhibitor of topoisomerase I. *Cancer Research*, 63(21), 7392-7399.
- Fang, Y. (2012). Ligand-receptor interaction platforms and their applications for drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 7(10), 969-988. <https://doi.org/10.1517/17460441.2012.715631>
- Fayad, W., Fryknäs, M., Brnjic, S., Olofsson, M. H., Larsson, R., & Linder, S. (2009). Identification of a novel topoisomerase inhibitor effective in cells overexpressing drug efflux transporters. *PloS One*, 4(10), e7238. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007238>
- FDA. (2024, Augustos 1). *Drugs@FDA: FDA-Approved Drugs*. Retrieved August 1, 2024, from <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/>
- Fehr, M. (2007). Alternariol acts as a topoisomerase poison. *Proceedings of the 29th Mycotoxin Workshop*, May 14-16, 2007, Stuttgart-Fellbach, Germany.
- Fehr, M., Baechler, S., Kropat, C., Mielke, C., Boege, F., Pahlke, G., & Marko, D. (2010). Repair of DNA damage induced by the mycotoxin alternariol involves tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1. *Mycotoxin Research*, 26, 247-256. <https://doi.org/10.1007/s12550-010-0063-6>
- Feng, L. S., Su, W. Q., Cheng, J. B., Xiao, T., Li, H. Z., Chen, D. A., & Zhang, Z. L. (2022). Benzimidazole hybrids as anticancer drugs: An updated review on anticancer properties, structure-activity relationship, and mechanisms of action (2019-2021). *Archiv der Pharmazie (Weinheim)*, 355(6), e2200051. <https://doi.org/10.1002/ardp.202200051>

- Ferguson, L. R., Chen, H., Collins, A. R., Connell, M., Damia, G., Dasgupta, S., Malhotra, M., Meeker, A. K., Amedei, A., Amin, A., Ashraf, S. S., Aquilano, K., Azmi, A. S., Bhakta, D., Bilsland, A., Boosani, C. S., Chen, S., Ciriolo, M. R., Fujii, H.,...Maxwell, C. A. (2015). Genomic instability in human cancer: Molecular insights and opportunities for therapeutic attack and prevention through diet and nutrition. *Seminars in Cancer Biology*, 35, S5-S24. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.03.005>
- Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7), 13384-13421. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- Ferreira, L. L. G., & Andricopulo, A. D. (2019). ADMET modeling approaches in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 24(5), 1157-1165. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.03.015>
- Fischer, T., Gazzola, S., & Riedl, R. (2019). Approaching target selectivity by de novo drug design. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 14(8), 791-803. <https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1615435>
- Fortune, J. M. and Osheroff, N. (1998). Merbarone inhibits the catalytic activity of human topoisomerase II α by blocking DNA cleavage. *Journal of Biological Chemistry*, 273(28), 17643-17650. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.28.17643>
- Fu, L., Shi, S., Yi, J., Wang, N., He, Y., Wu, Z., Peng, J., Deng, Y., Wang, W., Wu, C., Lyu, A., Zeng, X., Zhao, W., Hou, T., & Cao, D. (2024). ADMETlab 3.0: An updated comprehensive online ADMET prediction platform enhanced with broader coverage, improved performance, API functionality and decision support. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W422-W431. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae236>
- Fujita, T. and Winkler, D. A. (2016). Understanding the roles of the “two QSARs”. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 56(2), 269-274. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00229>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.01.030>
- Gadhe, D., Chilumula, R. N., & Gudipati, R. A., Srinivas Manda, Sarangapani. (2010). Synthesis of some novel methyl-2-(2-arylideneamino)oxazol-4-ylamino-benzoxazole-5-carboxylate derivatives as antimicrobial agents. *International Journal of Chemistry Research*, 1-6.
- 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.2010.09.023>
- Gan, Z., Tian, Q., Shang, S., Luo, W., Dai, Z., Wang, H., Li, D., Wang, X., & Yuan, J. (2018). Imidazolium chloride-catalyzed synthesis of benzimidazoles and 2-substituted benzimidazoles from o-phenylenediamines and DMF derivatives. *Tetrahedron*, 74(52), 7450-7456. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2018.11.014>
- Ganesan, A., Coote, M. L., & Barakat, K. (2017). Molecular dynamics-driven drug discovery: leaping forward with confidence. *Drug Discovery Today*, 22(2), 249-269. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.11.001>

- Gangwal, R. P., Damre, M. V., Das, N. R., Dhoke, G. V., Bhadauriya, A., Varikoti, R. A., Sharma, S. S., & Sangamwar, A. T. (2015). Structure-based virtual screening to identify selective phosphodiesterase 4B inhibitors. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 57, 89-98. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2015.01.007>
- Gao, H., Huang, K.-C., Yamasaki, E. F., Chan, K. K., Chohan, L., & Snapka, R. M. (1999). XK469, a selective topoisomerase II β poison. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(21), 12168-12173. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.21.12168>
- Gaulton, A., Hersey, A., Nowotka, M., Bento, A. P., Chambers, J., Mendez, D., Mutowo, P., Atkinson, F., Bellis, L. J., Cibrián-Uhalte, E., Davies, M., Dedman, N., Karlsson, A., Magariños, M. P., Overington, J. P., Papadatos, G., Smit, I., & Leach, A. R. (2017). The ChEMBL database in 2017. *Nucleic Acids Research*, 45(D1), D945-D954. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1074>
- Geng, C.-A., Ma, Y.-B., Zhang, X.-M., Yao, S.-Y., Xue, D.-Q., Zhang, R.-P., & Chen, J.-J. (2012). Mulberrofuran G and isomulberrofuran G from *Morus alba* L.: Anti-hepatitis B virus activity and mass spectrometric fragmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(33), 8197-8202. <https://doi.org/10.1021/jf302639b>
- Gerber, D. E. (2008). Targeted therapies: a new generation of cancer treatments. *American Family Physician*, 77(3), 311-319.
- Gillet, V. J., Myatt, G., Zsoldos, Z., & Johnson, A. P. (1995). SPROUT, HIPPO and CAESA: Tools for de novo structure generation and estimation of synthetic accessibility. *Perspectives in Drug Discovery and Design*, 3(1), 34-50. <https://doi.org/10.1007/BF02174466>
- Giordano, D., Biancaniello, C., Argenio, M. A., & Facchiano, A. (2022). Drug design by pharmacophore and virtual screening approach. *Pharmaceuticals*, 15(5), 646. <https://doi.org/10.3390/ph15050646>
- Gorepatil, P. B., Mane, Y. D., & Ingle, V. (2013). Samarium(III) triflate as an efficient and reusable catalyst for facile synthesis of benzoxazoles and benzothiazoles in aqueous medium. *Synlett*, 24, 2241-2244. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1339758>
- Government of Canada. (2024, August 1). *Drug Product Database online query*. Health Canada. Retrieved August 1, 2024, from <https://health-products.canada.ca/dpd-bdpp/>
- Grue, P., Grässer, A., Sehested, M., Jensen, P. B., Uhse, A., Straub, T., Ness, W., & Boege, F. (1998). Essential mitotic functions of DNA topoisomerase II α are not adopted by topoisomerase II β in human H69 cells. *Journal of Biological Chemistry*, 273(50), 33660-33666. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.50.33660>
- Gupta, R. R., Kumar, M., & Gupta, V. (2013). *Heterocyclic Chemistry: Volume II: Five-Membered Heterocycles*. Springer Science & Business Media.
- Haffner, M. C., Aryee, M. J., Toubaji, A., Esopi, D. M., Albadine, R., Gurel, B., Isaacs, W. B., Bova, G. S., Liu, W., & Xu, J. (2010). Androgen-induced TOP2B-mediated double-strand breaks and prostate cancer gene rearrangements. *Nature Genetics*, 42(8), 668-675. <https://doi.org/10.1038/ng.613>

- Hagar, F. F., Abbas, S. H., Atef, E., Abdelhamid, D., & Abdel- Aziz, M. (2024). Benzimidazole scaffold as a potent anticancer agent with different mechanisms of action (2016–2023). *Molecular Diversity*. <https://doi.org/10.1007/s11030-024-10907-8>
- Ham, J. Y., Kim, T. J., Park, Y. T., Kim, Y. J., Lee, J. W., Noh, T. S., Hwang, B. S., & Kim, K. S. (2016). Novel nocarbenzoxazole derivatives: A preparation method thereof and use thereof (Korea Patent No. KR101792743B1). *Korean Intellectual Property Office*.
- Han, Z., Xia, Z., Xia, J., Tetko, I. V., & Wu, S. (2025). The state-of-the-art machine learning model for plasma protein binding prediction: Computational modeling with OCHEM and experimental validation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 204, 106946. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2024.106946>
- Hansch, C., Maloney, P. P., Fujita, T., & Muir, R. M. (1962). Correlation of biological activity of phenoxyacetic acids with Hammett substituent constants and partition coefficients. *Nature*, 194(4824), 178-180.
- Hao, H., Chen, W., Zhu, J., Lu, C., & Shen, Y. (2015). Design and synthesis of 2-phenylnaphthalenoids and 2-phenylbenzofuranoids as DNA topoisomerase inhibitors and antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 102, 277-287. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.07.048>
- Hartenfeller, M., Zettl, H., Walter, M., Rupp, M., Reisen, F., Proschak, E., Weggen, S., Stark, H., & Schneider, G. (2012). DOGS: Reaction-driven de novo design of bioactive compounds. *PLoS Computational Biology*, 8(2), e1002380. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002380>
- Harvey, M. J., & De Fabritiis, G. (2012). High-throughput molecular dynamics: The powerful new tool for drug discovery. *Drug Discovery Today*, 17(19-20), 1059-1062. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2012.03.017>
- Hein, D., Alheim, R., & Leavitt, J. (1957). The use of polyphosphoric acid in the synthesis of 2-aryl- and 2-alkyl-substituted benzimidazoles, benzoxazoles, and benzothiazoles. *Journal of the American Chemical Society*, 79(2), 427-429. <https://doi.org/10.1021/ja01559a053>
- Heravi, M. M., Sadjadi, S., Oskooie, H. A., Shoar, R. H., & Bamoharram, F. F. (2008). Heteropolyacids as heterogeneous and recyclable catalysts for the synthesis of benzimidazoles. *Catalysis Communications*, 9(4), 504-507. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2007.03.011>
- Heravi, M. M., Tajbakhsh, M., Ahmadi, A. N., & Mohajerani, B. (2006). Zeolites: Efficient and eco-friendly catalysts for the synthesis of benzimidazoles. *Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly*, 137, 175-179. <https://doi.org/10.1007/s00706-005-0407-7>
- Hernández-Romero, D., Rosete-Luna, S., López-Monteon, A., Chávez-Piña, A., Pérez-Hernández, N., Marroquín-Flores, J., Cruz-Navarro, A., Pesado-Gómez, G., Morales-Morales, D., & Colorado-Peralta, R. (2021). First-row transition metal compounds containing benzimidazole ligands: An overview of their anticancer and antitumor activity. *Coordination Chemistry Reviews*, 439, 213930. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.213930>
- Hevener, K., Verstak, T. A., Lutat, K. E., Riggsbee, D. L., & Mooney, J. W. (2018). Recent developments in topoisomerase-targeted cancer chemotherapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 8(6), 844-861. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2018.07.008>

- Hikawa, H., Ichinose, R., Kikkawa, S., & Azumaya, I. (2018). Palladium- catalyzed dehydrogenation of benzyl alcohols for construction of 2- arylbenzimidazoles “on water”. *Asian Journal of Organic Chemistry*, 7(2), 416-423. <https://doi.org/10.1002/ajoc.201700618>
- Hoang, K. G., Menzie, R. A., Rhoades, J. H., Fief, C. A., & Deweese, J. E. (2020). Reviewing the modification, interactions, and regulation of the C-terminal domain of Topoisomerase II α as a prospect for future therapeutic targeting. *EC Pharmacology and Toxicology*, 8, 27-43.
- Holan, G., Samuel, E. L., Ennis, B. C., & Hinde, R. W. (1967). 2-Trihalogenomethylbenzazoles. Part I. Formation. *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions 1*, 1, 20-25.
- Hollingsworth, S. A., & Dror, R. O. (2018). Molecular dynamics simulation for all. *Neuron*, 99(6), 1129-1143. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.08.011>
- Hu, Z., Zhao, T., Wang, M., Wu, J., Yu, W., & Chang, J. (2017). I₂-mediated intramolecular C–H amidation for the synthesis of N-substituted benzimidazoles. *The Journal of Organic Chemistry*, 82(6), 3152-3158. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b00142>
- Huang, S. Y., & Zou, X. (2010). Advances and challenges in protein-ligand docking. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(8), 3016-3034. <https://doi.org/10.3390/ijms11083016>
- Hughes, J. P., Rees, S., Kalindjian, S. B., & Philpott, K. L. (2011). Principles of early drug discovery. *British Journal of Pharmacology*, 162(6), 1239-1249. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01127.x>
- Hunter, C. A., Lawson, K. R., Perkins, J., & Urch, C. J. (2001). Aromatic interactions. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*(5), 651-669. <https://doi.org/10.1039/B008495F>
- Ibrahim, H. A., & Refaat, H. M. (2020). Versatile mechanisms of 2-substituted benzimidazoles in targeted cancer therapy. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 41. <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00048-8>
- Inglese, J., Auld, D. S., Jadhav, A., Johnson, R. L., Simeonov, A., Yasgar, A., Zheng, W., & Austin, C. P. (2006). Quantitative high-throughput screening: A titration-based approach that efficiently identifies biological activities in large chemical libraries. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(31), 11473-11478. <https://doi.org/10.1073/pnas.060434810>
- Jain, A. N., & Nicholls, A. (2008). Recommendations for evaluation of computational methods. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 22, 133-139. <https://doi.org/10.1007/s10822-008-9196-5>
- Jain, C. K., Pradhan, B. S., Banerjee, S., Mondal, N. B., Majumder, S. S., Bhattacharyya, M., Chakrabarti, S., Roychoudhury, S., & Majumder, H. K. (2015). Sulfonoquinovosyl diacylglyceride selectively targets acute lymphoblastic leukemia cells and exerts potent anti-leukemic effects in vivo. *Scientific Reports*, 5(1), 12082. <https://doi.org/10.1038/srep12082>
- Jarrahpour, A., Fathi, J., Mimouni, M., Hadda, T. B., Sheikh, J., Chohan, Z., & Parvez, A. (2012). Petra, Osiris and Molinspiration (POM) together as a successful support in drug design: antibacterial activity and biopharmaceutical characterization of some azo Schiff bases. *Medicinal Chemistry Research*, 21, 1984-1990. <https://doi.org/10.1007/s00044-011-9723-0>

- Jehn, U., & Heinemann, V. (1991). New drugs in the treatment of acute and chronic leukemia with some emphasis on m-AMSA. *Anticancer Research*, 11(2), 705-711.
- Ji Ram, V., Sethi, A., Nath, M., & Pratap, R. (2019). Chapter 5 - Five-Membered Heterocycles. In V. Ji Ram, A. Sethi, M. Nath, & R. Pratap (Eds.), *The Chemistry of Heterocycles* (pp. 149-478). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101033-4.00005-X>
- Jiang, T., Cao, Y. N., Xu, J. B., Gao, F., & Zheng, L. L. (2022). Molecular-docking-guided design, palladium-catalyzed synthesis and anticancer activity of paclitaxel-benzoxazoles hybrids. *Scientific Reports*, 12(1), 10021. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14172-3>
- Jiao, P., Wang, Y., Mao, B., Wang, B., Zhong, Y., Jin, H., Zhang, L., Zhang, L., & Liu, Z. (2020). Discovery of 2-(2-aminobenzo[d]thiazol-6-yl) benzo[d]oxazol-5-amine derivatives that regulated HPV relevant cellular pathway and prevented cervical cancer from abnormal proliferation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 204, 112556. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112556>
- Jin, S., Kim, J. S., Sim, S.-P., Liu, A., Pilch, D. S., Liu, L. F., & LaVoie, E. J. (2000). Heterocyclic bibenzimidazole derivatives as topoisomerase I inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 10(8), 719-723. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(00\)00087-1](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(00)00087-1)
- Jing, X., Zhu, Q., Xu, F., Ren, X., Li, D., & Yan, C. (2006). Rapid one- pot preparation of 2-substituted benzimidazoles from esters using microwave conditions. *Synthetic Communications*, 36(18), 2597-2601. <https://doi.org/10.1002/chin.200707098>
- Joerger, M., Hess, D., Delmonte, A., Gallerani, E., Barbieri, P., Pace, S., & Sessa, C. (2015). Phase-I dose finding and pharmacokinetic study of the novel hydrophilic camptothecin ST-1968 (namitecan) in patients with solid tumors. *Investigational New Drugs*, 33(2), 472-479. <https://doi.org/10.1007/s10637-015-0219-5>
- Joerger, M., Hess, D., Delmonte, A., Gallerani, E., Fasolo, A., Gianni, L., Cresta, S., Barbieri, P., Pace, S., & Sessa, C. (2015). Integrative population pharmacokinetic and pharmacodynamic dose finding approach of the new camptothecin compound namitecan (ST1968). *British Journal of Clinical Pharmacology*, 80(1), 128-138. <https://doi.org/10.1111/bcp.12583>
- Johnson, M. (1990). *Concepts and Applications of Molecular Similarity* (M. A. Johnson & G. M. Maggiora, Eds.).
- Jonckers, T. H., Rouan, M.-C., Haché, G., Schepens, W., Hallenberger, S., Baumeister, J., & Sasaki, J. C. (2012). Benzoxazole and benzothiazole amides as novel pharmacokinetic enhancers of HIV protease inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(15), 4998-5002. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.06.022>
- Jones, G., Willet, P., & Glen, R. (2000). GASP: genetic algorithm superimposition program. *Pharmacophore Perception, Development, and Use in Drug Design*, 85-106. <https://doi.org/10.3390/50700987>
- Barbosa, J. M., and Del Rio, A. (2012). Freely accessible databases of commercial compounds for high-throughput virtual screenings. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 12(8), 866-877. <https://doi.org/10.2174/156802612800166710>

- Jorgensen, W. L. (2010). Drug discovery: Pulled from a protein's embrace. *Nature*, 466(7302), 42–43. <https://doi.org/10.1038/466042a>
- Ju, B.-G., Lunyak, V. V., Perissi, V., Garcia-Bassets, I., Rose, D. W., Glass, C. K., & Rosenfeld, M. G. (2006). A topoisomerase II β -mediated dsDNA break required for regulated transcription. *Science*, 312(5781), 1798–1802. <https://doi.org/10.1126/science.1127196>
- Kabi, A. K., Gujjaraappa, R., Roy, A., Sahoo, A., Musib, D., Vodnala, N., Singh, V., & Malakar, C. C. (2021). Transition-metal-free transfer hydrogenative cascade reaction of nitroarenes with amines/alcohols: Redox-economical access to benzimidazoles. *Journal of Organic Chemistry*, 86(21), 14597–14607. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c01450>
- Kahsai, A. W., Xiao, K., Rajagopal, S., Ahn, S., Shukla, A. K., Sun, J., Oas, T. G., & Lefkowitz, R. J. (2011). Multiple ligand-specific conformations of the β 2-adrenergic receptor. *Nature Chemical Biology*, 7(10), 692–700. <https://doi.org/10.1038/nchembio.634>
- Kakkar, S., and Narasimhan, B. (2019). A comprehensive review on biological activities of oxazole derivatives. *BMC Chemistry*, 13(1), 16. <https://doi.org/10.1186/s13065-019-0531-9>
- Kakkar, S., Tahlan, S., Lim, S. M., Ramasamy, K., Mani, V., Shah, S. A. A., & Narasimhan, B. (2018). Benzoxazole derivatives: Design, synthesis and biological evaluation. *Chemistry Central Journal*, 12, 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0459-5>
- Kale, M., and Chavan, V. (2019). Exploration of the biological potential of benzoxazoles: An overview. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 16(2), 111–126. <https://doi.org/10.2174/1570193X15666180627125007>
- Kalyanamoorthy, S., and Chen, Y. P. (2011). Structure-based drug design to augment hit discovery. *Drug Discovery Today*, 16(17–18), 831–839. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.07.006>
- Kamal, A., Nagaseshadri, B., Nayak, V. L., Srinivasulu, V., Sathish, M., Kapure, J. S., & Reddy, C. S. (2015). Synthesis and biological evaluation of benzimidazole–oxindole conjugates as microtubule-targeting agents. *Bioorganic Chemistry*, 63, 72–84. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2015.09.003>
- Kanaoka, Y., Hamada, T., & Yonemitsu, O. (1970). Polyphosphate ester as a synthetic agent. XIII. Syntheses of 2-substituted benzoxazoles and benzthiazoles with PPE. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 18, 587–590.
- Kannt, A., and Wieland, T. (2016). Managing risks in drug discovery: Reproducibility of published findings. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 389, 353–360. <https://doi.org/10.1007/s00210-016-1216-8>
- Kantharaju, K., and Hiremath, P. B. (2018). One-pot, green approach synthesis of 2-aryl substituted benzimidazole derivatives catalyzed by water extract of papaya bark ash. *Asian Journal of Chemistry*, 30(7), 1634–1638. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2018.21296>
- Kapetanovic, I. M. (2008). Computer-aided drug discovery and development (CADD): in silico-chemico-biological approach. *Chemical Biology Interactions*, 171(2), 165–176. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.12.006>

- Karatas, E., Foto, E., Ertan-Bolelli, T., Yalcin-Ozkat, G., Yilmaz, S., Ataei, S., Zilifdar, F., & Yildiz, I. (2021). Discovery of 5-(or 6)-benzoxazoles and oxazolo[4,5-b]pyridines as novel candidate antitumor agents targeting hTopo II α . *Bioorganic Chemistry*, 112, 104913. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.104913>
- Kasthuri, M., Babu, H. S., Kumar, K. S., Sudhakar, C., & Kumar, P. V. N. (2015). A facile synthesis of 2-aminobenzoxazoles and 2-aminobenzimidazoles using N-cyano-N-phenyl-p-toluenesulfonamide (NCTS) as an efficient electrophilic cyanating agent. *Synlett*, 26, 897–900. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1380166>
- Katsura, Y., Nishino, S., Inoue, Y., Tomoi, M., & Takasugi, H. (1992). Studies on antiulcer drugs. II. Synthesis and antiulcer activities of imidazo[1,2-a]pyridinyl-2-alkylaminobenzoxazoles and 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pyridinyl derivatives. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 40(2), 371–380. <https://doi.org/10.3390/md9091554>
- Kaushik-Basu, N., Bopda-Waffo, A., Talele, T. T., Basu, A., Costa, P. R., Da Silva, A. J., Sarafianos, S. G., & Noel, F. (2008). Identification and characterization of coumestans as novel HCV NS5B polymerase inhibitors. *Nucleic Acids Research*, 36(5), 1482–1496. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm1178>
- Ketron, A., and Osheroff, N. (2014). DNA topology and topoisomerases. In E. Bell (Ed.), *Molecular Life Sciences: An Encyclopedic Reference* (pp. 1–19). <https://doi.org/10.1002/bmb.20244>
- Ketron, A. C., Denny, W. A., Graves, D. E., & Osheroff, N. (2012). Amsacrine as a topoisomerase II poison: Importance of drug-DNA interactions. *Biochemistry*, 51(8), 1730–1739. <https://doi.org/10.1021/bi201159b>
- Khalili, S. B., and Sardarian, A. R. (2012). KF/Al₂O₃ : An efficient solid heterogeneous base catalyst in one-pot synthesis of benzimidazoles and bis-benzimidazoles at room temperature. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 143, 841–846. <https://doi.org/10.1007/s00706-011-0647-7>
- Khiati, S., Seol, Y., Agama, K., Dalla Rosa, I., Agrawal, S., Fesen, K., Zhang, H., Neuman, K. C., & Pommier, Y. (2014). Poisoning of mitochondrial topoisomerase I by lamellarin D. *Molecular Pharmacology*, 86(2), 193–199. <https://doi.org/10.1124/mol.114.092833>
- Kikuchi, T., Nihei, M., Nagai, H., Fukushi, H., Tabata, K., Suzuki, T., & Akihisa, T. (2010). Albanol A from the root bark of *Morus alba* L. induces apoptotic cell death in HL60 human leukemia cell line. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58(4), 568–571. <https://doi.org/10.1248/cpb.58.568>
- Kim, S. Y., Kim, S. J., Kim, B. J., Rah, S. Y., Chung, S. M., Im, M. J., & Kim, U. H. (2006). Doxorubicin-induced reactive oxygen species generation and intracellular Ca²⁺ increase are reciprocally modulated in rat cardiomyocytes. *Experimental and Molecular Medicine*, 38(5), 535–545. <https://doi.org/10.1038/emm.2006.63>
- K Kim, Y., Kumar, M. R., Park, N., Heo, Y., & Lee, S. (2011). Copper-catalyzed, one-pot, three-component synthesis of benzimidazoles by condensation and C–N bond formation. *The Journal of Organic Chemistry*, 76(23), 9577–9583. <https://doi.org/10.1021/jo2019416>

- Kimura, K., Saijo, M., Ui, M., & Enomoto, T. (1994). Growth state- and cell cycle-dependent fluctuation in the expression of two forms of DNA topoisomerase II and possible specific modification of the higher molecular weight form in the M phase. *Journal of Biological Chemistry*, 269(2), 1173–1176. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)42238-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)42238-1)
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11), 935–949. <https://doi.org/10.1038/nrd1549>
- Klebe, G., Abraham, U., & Mietzner, T. (1994). Molecular similarity indices in a comparative analysis (CoMSIA) of drug molecules to correlate and predict their biological activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 37(24), 4130–4146. <https://doi.org/10.1021/jm00050a010>
- Kluza, J., Gallego, M.-A., Loyens, A., Beauvillain, J.-C., Sousa-Faro, J.-M. F., Cuevas, C., Marchetti, P., & Bailly, C. (2006). Cancer cell mitochondria are direct proapoptotic targets for the marine antitumor drug lamellarin D. *Cancer Research*, 66(6), 3177–3187. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-1929>
- Kodadek, T. (2011). The rise, fall and reinvention of combinatorial chemistry. *Chemical Communications*, 47(35), 9757–9763. <https://doi.org/10.1039/C1CC12102B>
- Kohli, A. G., Kierstead, P. H., Venditto, V. J., Walsh, C. L., & Szoka, F. C. (2014). Designer lipids for drug delivery: From heads to tails. *Journal of Controlled Release*, 190, 274–287. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.04.047>
- Kovács, F., Huliák, I., Árva, H., Kiricsi, M., Erdős, D., Kocsis, M., Takács, G., Balogh, G. T., & Frank, É. (2023). Medicinal-chemistry-driven approach to 2-substituted benzoxazole-estradiol chimeras: Synthesis, anticancer activity, and early ADME profile. *ChemMedChem*, 18(22), e202300352. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202300352>
- Kumari, S., Joshi, A., Borthakur, I., & Kundu, S. (2023). Activation of ethanol via conjunction of a photocatalyst and a HAT reagent for the synthesis of benzimidazoles. *The Journal of Organic Chemistry*, 88(16), 11523–11533. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c00674>
- Kuriyama, I., Musumi, K., Yonezawa, Y., Takemura, M., Maeda, N., Iijima, H., Hada, T., Yoshida, H., & Mizushima, Y. (2005). Inhibitory effects of glycolipids fraction from spinach on mammalian DNA polymerase activity and human cancer cell proliferation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(10), 594–601. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.02.007>
- Kwon, Y. (2001). *Handbook of essential pharmacokinetics, pharmacodynamics and drug metabolism for industrial scientists*. Springer Science & Business Media.
- Labib, M. B., Philoppes, J. N., Lamie, P. F., & Ahmed, E. R. (2018). Azole-hydrazone derivatives: Design, synthesis, in vitro biological evaluation, dual EGFR/HER2 inhibitory activity, cell cycle analysis and molecular docking study as anticancer agents. *Bioorganic Chemistry*, 76, 67–80. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.10.016>
- LaBonia, G. J. (2018). Investigation of in vitro models for colon cancer research [Doktora tezi]. University of Notre Dame.

- Ladenburg, A., & Rügheimer, L. (1879). On the constitution of the pyridine bases. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 12, 951.
- Laeq, S., Sirbaiya, A. K., & Siddiqui, H. H. (2013). Benzoxazole: Progress report on chemistry, synthesis, and biological activities. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 3(12), 8550–8562. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.10.046>
- Laha, J. K. and Hunjan, M. K. (2022). Diversity in heterocycle synthesis using α -iminocarboxylic acids: Decarboxylation dichotomy. *The Journal of Organic Chemistry*, 87(5), 2315–2323. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c02110>
- Lazareva, N. F., Baryshok, V. P., & Lazarev, I. M. (2018). Silicon-containing analogs of camptothecin as anticancer agents. *Archiv der Pharmazie (Weinheim)*, 351(1). <https://doi.org/10.1002/ardp.201700297>
- Leach, A. R., Gillet, V. J., Lewis, R. A., & Taylor, R. (2010). Three-dimensional pharmacophore methods in drug discovery. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(2), 539–558. <https://doi.org/10.1021/jm900817u>
- Lee, J. H., Wendorff, T. J., & Berger, J. M. (2017). Resveratrol: A novel type of topoisomerase II inhibitor. *The Journal of Biological Chemistry*, 292(51), 21011–21022. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.810580>
- Lee, K., Goo, J.-I., Jung, H. Y., Kim, M., Boovanahalli, S. K., Park, H. R., Kim, M.-O., Kim, D.-H., Lee, H. S., & Choi, Y. (2012). Discovery of a novel series of benzimidazole derivatives as diacylglycerol acyltransferase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(24), 7456–7460.
- Lee, K. C., Bramley, R. L., Cowell, I. G., Jackson, G. H., & Austin, C. A. (2016). Proteasomal inhibition potentiates drugs targeting DNA topoisomerase II. *Biochemical Pharmacology*, 103, 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.12.015>
- Lee, S. K. and Wang, W. (2019). Roles of topoisomerases in heterochromatin, aging, and diseases. *Genes*, 10(11), 884. <https://doi.org/10.3390/genes10110884>
- Leone, V., Marinelli, F., Carloni, P., & Parrinello, M. (2010). Targeting biomolecular flexibility with metadynamics. *Current Opinion in Structural Biology*, 20(2), 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2010.01.011>
- Li, H., Sutter, J., & Hoffmann, R. (2000). HypoGen: An automated system for generating 3D predictive pharmacophore models. In *Pharmacophore perception, development, and use in drug design* (pp. 171–190).
- Li, J. J. (2013). *Heterocyclic chemistry in drug discovery*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.019>
- Li, P.-H., Zeng, P., Chen, S.-B., Yao, P.-F., Mai, Y.-W., Tan, J.-H., Ou, T.-M., Huang, S.-L., Li, D., Gu, L.-Q., & Huang, Z.-S. (2016). Synthesis and mechanism studies of 1,3-benzoxazolyl substituted pyrrolo[2,3-b]pyrazine derivatives as nonintercalative topoisomerase II catalytic inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(1), 238–252. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01284>

- Li, P., Zhang, W., Jiang, H., Li, Y., Dong, C., Chen, H., Zhang, K., & Du, Z. (2018). Design, synthesis, and biological evaluation of benzimidazole–rhodanine conjugates as potent topoisomerase II inhibitors. *MedChemComm*, 9(7), 1194–1205. <https://doi.org/10.1039/C8MD00278A>
- Liang, X., Wu, Q., Luan, S., Yin, Z., He, C., Yin, L., Zou, Y., Yuan, Z., Li, L., Song, X., He, M., Lv, C., & Zhang, W. (2019). A comprehensive review of topoisomerase inhibitors as anticancer agents in the past decade. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 171, 129–168. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.03.034>
- Lin-Vien, D., Colthup, N. B., Fateley, W. G., & Grasselli, J. G. (1991). *The handbook of infrared and Raman characteristic frequencies of organic molecules*. Elsevier.
- Lin, C., Yang, L., Tanasa, B., Hutt, K., Ju, B.-G., Ohgi, K. A., Zhang, J., Rose, D. W., Fu, X.-D., & Glass, C. K. (2009). Nuclear receptor-induced chromosomal proximity and DNA breaks underlie specific translocations in cancer. *Cell*, 139(6), 1069–1083. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.11.030>
- Lin, J.-H. (2011). Accommodating protein flexibility for structure-based drug design. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 11(2), 171–178. <https://doi.org/10.2174/156802611794863580>
- Lin, S., & Yang, L. (2005). A simple and efficient procedure for the synthesis of benzimidazoles using air as the oxidant. *Tetrahedron Letters*, 46(25), 4315–4319. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.04.101>
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23(1–3), 3–25.
- Liu, H., Duan, Z., Luo, Q., & Shi, Y. (1999). Structure-based ligand design by dynamically assembling molecular building blocks at binding site. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 36(4), 462–470. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0134\(19990901\)36:4<462::AID-PROT10>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0134(19990901)36:4<462::AID-PROT10>3.0.CO;2-7)
- Liu, J., Ye, W., Xu, J.-P., Wang, H.-T., Li, X.-F., Wang, W.-Y., & Zhou, Z.-Z. (2021). Discovery of novel trimethoxyphenylbenzo[d]oxazoles as dual tubulin/PDE4 inhibitors capable of inducing apoptosis at G2/M phase arrest in glioma and lung cancer cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 224, 113700. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113700>
- Liu, L. F., & Wang, J. C. (1987). Supercoiling of the DNA template during transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(20), 7024–7027. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.20.7024>
- Liu, M., Wang, G., Xiao, L., Xu, X., Liu, X., Xu, P., & Lin, X. (2014). Bis(2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl) ether, a marine algae derived bromophenol, inhibits the growth of *Botrytis cinerea* and interacts with DNA molecules. *Marine Drugs*, 12(7), 3838–3851. <https://doi.org/10.3390/md12073838>
- Liu, M., Zhang, W., Wei, J., & Lin, X. (2011). Synthesis and α -glucosidase inhibitory mechanisms of bis(2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl) ether, a potential marine bromophenol α -glucosidase inhibitor. *Marine Drugs*, 9(9), 1554–1565. <https://doi.org/10.3390/md9091554>

- Liu, M., Zhang, W., Wei, J., Qiu, L., & Lin, X. (2012). Marine bromophenol bis(2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl) ether induces mitochondrial apoptosis in K562 cells and inhibits topoisomerase I in vitro. *Toxicology Letters*, 211(2), 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.03.771>
- Liu, X., Zhu, F., Ma, X., Shi, Z., Yang, S. Y., Wei, Y. Q., & Chen, Y. Z. (2013). Predicting targeted polypharmacology for drug repositioning and multi-target drug discovery. *Current Medicinal Chemistry*, 20(13), 1646–1661. <https://doi.org/10.2174/0929867311320130005>
- López-Lázaro, M., Willmore, E., & Austin, C. A. (2010). The dietary flavonoids myricetin and fisetin act as dual inhibitors of DNA topoisomerases I and II in cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 696(1), 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2009.12.010>
- López-Vallejo, F., Caulfield, T., Martínez-Mayorga, K., Giulianotti, M. A., Nefzi, A., Houghten, R. A., & Medina-Franco, J. L. (2011). Integrating virtual screening and combinatorial chemistry for accelerated drug discovery. *Comb Chem High Throughput Screen*, 14(6), 475–487. <https://doi.org/10.2174/138620711795767866>
- Lu, C., Wu, C., Ghoreishi, D., Chen, W., Wang, L., Damm, W., Ross, G. A., Dahlgren, M. K., Russell, E., & Von Bargen, C. D. (2021). OPLS4: Improving force field accuracy on challenging regimes of chemical space. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 17(7), 4291–4300. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c00302>
- Lu, X., Yang, H., Chen, Y., Li, Q., He, S.-y., Jiang, X., Feng, F., Qu, W., & Sun, H. (2018). The development of pharmacophore modeling: Generation and recent applications in drug discovery. *Current Pharmaceutical Design*, 24(29), 3424–3439. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180810162944>
- Luo, Z., Wang, R., & Lai, L. (1996). RASSE: A new method for structure-based drug design. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 36(6), 1187–1194. <https://doi.org/10.1021/ci950277w>
- Lyu, Y. L., Kerrigan, J. E., Lin, C.-P., Azarova, A. M., Tsai, Y.-C., Ban, Y., & Liu, L. F. (2007). Topoisomerase II β -mediated DNA double-strand breaks: Implications in doxorubicin cardiotoxicity and prevention by dexrazoxane. *Cancer Research*, 67(18), 8839–8846. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1649>
- Ma, X. H., Shi, Z., Tan, C., Jiang, Y., Go, M. L., Low, B. C., & Chen, Y. Z. (2010). In-silico approaches to multi-target drug discovery: Computer-aided multi-target drug design and virtual screening. *Pharmaceutical Research*, 27, 739–749. <https://doi.org/10.1007/s11095-010-0065-2>
- Macalino, S. J., Gosu, V., Hong, S., & Choi, S. (2015). Role of computer-aided drug design in modern drug discovery. *Archives of Pharmacal Research*, 38(9), 1686–1701. <https://doi.org/10.1007/s12272-015-0640-5>
- Maciejka, A., Kopa, P., Galita, G., Pastwa, E., Majsterek, I., & Poplawski, T. (2019). Comparison of the effect of three different topoisomerase II inhibitors combined with cisplatin in human glioblastoma cells sensitized with double strand break repair inhibitors. *Molecular Biology Reports*, 46(4), 3625–3636. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04605-0>

- Mahesh, D., Sadhu, P., & Punniyamurthy, T. (2015). Copper(I)-catalyzed regioselective amination of N-aryl imines using TMSN₃ and TBHP: A route to substituted benzimidazoles. *Journal of Organic Chemistry*, 80(3), 1644–1650. <https://doi.org/10.1021/jo502574u>
- Mahesh, D., Sadhu, P., & Punniyamurthy, T. (2016). Copper(II)-catalyzed oxidative cross-coupling of anilines, primary alkyl amines, and sodium azide using TBHP: A route to 2-substituted benzimidazoles. *Journal of Organic Chemistry*, 81(8), 3227–3234. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.6b00186>
- Mandal, S., Moudgil, M., & Mandal, S. K. (2009). Rational drug design. *European Journal of Pharmacology*, 625(1–3), 90–100. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.06.065>
- Mann, J., Baron, A., Opoku-Boahen, Y., Johansson, E., Parkinson, G., Kelland, L. R., & Neidle, S. (2001). A new class of symmetric bisbenzimidazole-based DNA minor groove-binding agents showing antitumor activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 44(2), 138–144. <https://doi.org/10.1021/jm000297b>
- Martin, Y. (2000). DISCO: What we did right and what we missed. *Pharmacophore Perception, Development, and Use in Drug Design*, 2, 49–68. <https://doi.org/10.3390/50700987>
- Martin, Y. C., Abagyan, R., Ferenczy, G. G., Gillet, V. J., Oprea, T. I., Ulander, J., Winkler, D., & Zefirov, N. S. (2016). Glossary of terms used in computational drug design, part II (IUPAC Recommendations 2015). *Pure and Applied Chemistry*, 88(3), 239–264. <https://doi.org/10.1515/pac-2012-1204>
- Mathavan, S., Ramesh, S., & Yamajala, R. B. R. D. (2024). Base-promoted coupling of α -ketoacids and 2-substituted aromatic amines: Green synthesis of diverse benzoxazoles, benzothiazoles, quinoxalinones, and benzoxazinones and its practical application. *Synthetic Communications*, 54(1), 50–65. <https://doi.org/10.1080/00397911.2023.2280599>
- Maurich, T., Iorio, M., Chimenti, D., & Turchi, G. (2006). Erybraedin C and bitucarpin A, two structurally related pterocarpan purified from *Bituminaria bituminosa*, induced apoptosis in human colon adenocarcinoma cell lines MMR- and p53-proficient and -deficient in a dose-, time-, and structure-dependent fashion. *Chemico-Biological Interactions*, 159(2), 104–116. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.10.103>
- Mayo, M. S., Yu, X., Zhou, X., Feng, X., Yamamoto, Y., & Bao, M. (2014). Convenient synthesis of benzothiazoles and benzimidazoles through Brønsted acid-catalyzed cyclization of 2-amino thiophenols/anilines with β -diketones. *Organic Letters*, 16(3), 764–767. <https://doi.org/10.1021/ol403475v>
- Mazarska, Z., Dziegielewska, J., & Konopa, J. (2001). Enzymatic activation of a new antitumor drug, 5-diethylaminoethylamino-8-hydroxyimidazoacridinone, C-1311, observed after its intercalation into DNA. *Biochemical Pharmacology*, 61(6), 685–694. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(01\)00527-5](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(01)00527-5)
- McClendon, A. K., Rodriguez, A. C., & Osheroff, N. (2005). Human topoisomerase II α rapidly relaxes positively supercoiled DNA: Implications for enzyme action ahead of replication forks. *Journal of Biological Chemistry*, 280(47), 39337–39345. <https://doi.org/10.1074/jbc.M503320200>

- McKellar, Q. A., & Scott, E. W. (1990). The benzimidazole anthelmintic agents—a review. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 13(3), 223–247. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.1990.tb00773.x>
- McKie, S. J., Neuman, K. C., & Maxwell, A. (2021). DNA topoisomerases: Advances in understanding of cellular roles and multi- protein complexes via structure- function analysis. *BioEssays*, 43(4), 2000286. <https://doi.org/10.1002/bies.202000286>
- Meco, D., Di Francesco, A. M., Cusano, G., Bucci, F., Pierri, F., Patriarca, V., Torella, A. R., Pisano, C., & Riccardi, R. (2012). Preclinical evaluation of the novel 7-substituted camptothecin Namitecan (ST1968) in paediatric tumour models. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 70(6), 811–822. <https://doi.org/10.1007/s00280-012-1973-0>
- Medina- Franco, J. L., Martínez- Mayorga, K., Juárez- Gordiano, C., & Castillo, R. (2007). Pyridin- 2 (1H)- ones: A promising class of HIV- 1 non- nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery*, 2(8), 1141–1147. <https://doi.org/10.1002/cmdc.200700054>
- Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2), 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- Menna, P., Salvatorelli, E., & Minotti, G. (2008). Cardiotoxicity of antitumor drugs. *Chemical Research in Toxicology*, 21(5), 978–989. <https://doi.org/10.1021/tx800002r>
- Milletti, F., Storchi, L., Sforza, G., & Cruciani, G. (2007). New and original pKa prediction method using grid molecular interaction fields. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 47(6), 2172–2181. <https://doi.org/10.1021/ci700018y>
- Mizuno, C. S., Chittiboyina, A. G., Patny, A., Kurtz, T. W., Pershadsingh, H. A., Speth, R. C., Karamyan, V. T., & Avery, M. A. (2009). Design, synthesis, and docking studies of telmisartan analogs for the treatment of metabolic syndrome. *Medicinal Chemistry Research*, 18, 611–628.
- Moerdyk, J. P. and Bielawski, C. W. (2012). 4.20 - Architectures of polymers synthesized using ROMP. In K. Matyjaszewski & M. Möller (Eds.), *Polymer Science: A Comprehensive Reference* (pp. 523–550). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53349-4.00094-7>
- MoKA. (2024, Agosto 1). MoKa: A tool for pKa prediction. <http://www.moldiscovery.com/software/moka/>
- Molinspiration. (2024, Agosto 1). Molinspiration Cheminformatics. <http://www.molinspiration.com/>
- Molsoft. (2024, Agosto 1). Molsoft LLC: Drug Discovery Solutions. <http://molsoft.com/>
- Momany, F. A. and Rone, R. (1992). Validation of the general-purpose QUANTA® 3.2/CHARMm® force field. *Journal of Computational Chemistry*, 13(7), 888–900. <https://doi.org/10.1002/jcc.540130714>

- Morris, S. K., Baird, C. L., & Lindsley, J. E. (2000). Steady-state and rapid kinetic analysis of topoisomerase II trapped as the closed-clamp intermediate by ICRF-193. *Journal of Biological Chemistry*, 275(4), 2613–2618. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.4.2613>
- Mortier, J., Rakers, C., Bermudez, M., Murgueitio, M. S., Riniker, S., & Wolber, G. (2015). The impact of molecular dynamics on drug design: Applications for the characterization of ligand–macromolecule complexes. *Drug Discovery Today*, 20(6), 686–702. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2015.01.003>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1–2), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Muhammed, M. T. and Aki- Yalcin, E. (2019). Homology modeling in drug discovery: Overview, current applications, and future perspectives. *Chemical Biology & Drug Design*, 93(1), 12–20. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13388>
- Murphy, M., Mercer, S., & Deweese, J. (2017). Inhibitors and poisons of mammalian type II topoisomerases. In *DNA Topoisomerases in Biology and Medicine* (pp. 203–240). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812522-9.00005-1>
- Murray, K. K., Boyd, R. K., Eberlin, M. N., Langley, G. J., Li, L., & Naito, Y. (2013). Definitions of terms relating to mass spectrometry (IUPAC Recommendations 2013). *Pure and Applied Chemistry*, 85(7), 1515–1609. <https://doi.org/10.1351/PAC-REC-06-04-06>
- Nadaf, R., Siddiqui, S., Daniel, T., Lahoti, R., & Srinivasan, K. (2004). Room temperature ionic liquid promoted regioselective synthesis of 2-aryl benzimidazoles, benzoxazoles, and benzthiazoles under ambient conditions. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 214(1), 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2003.10.064>
- Narasimhan, B., Sharma, D., & Kumar, P. (2012). Benzimidazole: A medicinally important heterocyclic moiety. *Medicinal Chemistry Research*, 21, 269–283. <https://doi.org/10.1007/s00044-010-9533-9>
- Nelson, E. M., Tewey, K. M., & Liu, L. F. (1984). Mechanism of antitumor drug action: Poisoning of mammalian DNA topoisomerase II on DNA by 4'-(9-acridinylamino)-methanesulfon-m-anisidide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81(5), 1361–1365. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.5.1361>
- Neumann, K. T., Lindhardt, A. T., Bang-Andersen, B., & Skrydstrup, T. (2015). Access to 2-(Het)aryl and 2-Styryl Benzoxazoles via Palladium-Catalyzed Aminocarbonylation of Aryl and Vinyl Bromides. *Organic Letters*, 17(9), 2094–2097. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b00642>
- Nguyen, T. B. and Retailleau, P. (2017). Elemental sulfur-promoted oxidative rearranging coupling between o-aminophenols and ketones: A synthesis of 2-alkyl benzoxazoles under mild conditions. *Organic Letters*, 19(14), 3887–3890. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.7b01775>
- Nicolaou, C. A. and Brown, N. (2013). Multi-objective optimization methods in drug design. *Drug Discovery Today: Technologies*, 10(3), e427–e435. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2013.02.001>

- Nicolaou, C. A., Kannas, C., & Loizidou, E. (2012). Multi-objective optimization methods in de novo drug design. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 12(10), 979–987. <https://doi.org/10.2174/138955712802762284>
- Nimnual, P., Tummatorn, J., Thongsornkleeb, C., & Ruchirawat, S. (2015). Utility of nitrogen extrusion of azido complexes for the synthesis of nitriles, benzoxazoles, and benzisoxazoles. *The Journal of Organic Chemistry*, 80(17), 8657–8667. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.5b01305>
- Nitiss, J. L. (2009). DNA topoisomerase II and its growing repertoire of biological functions. *Nature Reviews Cancer*, 9(5), 327–337. <https://doi.org/10.1038/nrc2608>
- Niu, Z., Xiao, X., Wu, W., Cai, Q., Jiang, Y., Jin, W., Wang, M., Yang, G., Kong, L., Jin, X., Yang, G., & Chen, H. (2024). PharmaBench: Enhancing ADMET benchmarks with large language models. *Scientific Data*, 11(1), 985. <https://doi.org/10.1038/s41597-024-03793-0>
- Nunes da Rocha, M., Machado Marinho, M., Silva dos Santos, H., Silva Marinho, E., Junior, J. I., Rosas, J. F., & Coutinho, H. D. M. (2023). Structure-based virtual screening of new antitumor natural berberines: Bioactivity against pancreas cancer by HIF1 inhibition effect. *Journal of Molecular Structure*, 1294, 136508. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136508>
- Oki, T. (1984). Recent developments in the process improvement of production of antitumor anthracycline antibiotics. *Advances in Biotechnology Processes*, 3, 163–196.
- Oksuzoglu, E., Tekiner-Gulbas, B., Alper, S., Temiz-Arpaci, O., Ertan, T., Yildiz, I., Diril, N., Sener-Aki, E., & Yalcin, I. (2008). Some benzoxazoles and benzimidazoles as DNA topoisomerase I and II inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 23(1), 37–42. <https://doi.org/10.1080/14756360701342516>
- Olivieri, M., Cho, T., Álvarez-Quilón, A., Li, K., Schellenberg, M. J., Zimmermann, M., Hustedt, N., Rossi, S. E., Adam, S., Melo, H., Heijink, A. M., Sastre-Moreno, G., Moatti, N., Szilard, R. K., McEwan, A., Ling, A. K., Serrano-Benitez, A., Ubhi, T., Feng, S., ... Durocher, D. (2020). A genetic map of the response to DNA damage in human cells. *Cell*, 182(2), 481–496.e421. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.040>
- Oprea, T. I. and Matter, H. (2004). Integrating virtual screening in lead discovery. *Current Opinion in Chemical Biology*, 8(4), 349–358. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2004.06.008>
- Orsi, D. L., Pook, E., Bräuer, N., Friberg, A., Lienau, P., Lemke, C. T., Stellfeld, T., Brüggemeier, U., Pütter, V., Meyer, H., Baco, M., Tang, S., Cherniack, A. D., Westlake, L., Bender, S. A., Kocak, M., Strathdee, C. A., Meyerson, M., Eis, K., & Goldstein, J. T. (2022). Discovery and structure-based design of potent covalent PPAR γ inverse-agonists BAY-4931 and BAY-0069. *Journal of Medicinal Chemistry*, 65(21), 14843–14863. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01379>
- Ortega, J. A., Arencibia, J. M., Minniti, E., Byl, J. A. W., Franco-Ulloa, S., Borgogno, M., Genna, V., Summa, M., Bertozzi, S. M., Bertorelli, R., Armirotti, A., Minarini, A., Sissi, C., Osheroff, N., & De Vivo, M. (2020). Novel, potent, and druglike tetrahydroquinazoline inhibitor that is highly selective for human topoisomerase II α over β . *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(21), 12873–12886. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00774>

- Ortuso, F., Langer, T., & Alcaro, S. (2006). GBPM: GRID-based pharmacophore model: Concept and application studies to protein–protein recognition. *Bioinformatics*, 22(12), 1449–1455. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl115>
- Osmaniye, D., Korkut Çelikeş, B., Sağlık, B. N., Levent, S., Acar Çevik, U., Kaya Çavuşoğlu, B., Ilgın, S., Özkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A. (2021). Synthesis of some new benzoxazole derivatives and investigation of their anticancer activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 210, 112979. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112979>
- Özbey, S., Kaynak, F. B., Kuş, C., & Göker, H. (2002). 2-(2,4-Dichlorophenyl)-5-fluoro-6-morpholin-4-yl-1H-benzimidazole monohydrate. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 58(10), o1062–o1064.
- Pagadala, N. S., Syed, K., & Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: A review. *Biophysical Reviews*, 9(2), 91–102. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1>
- Paliwal, R. and Bhargava, S. (2014). A review on synthesis and various reaction of benzoxazole. *International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical & Bio Sciences*, 4(1), B1–B1. <https://link.gale.com/apps/doc/A436889791/AONE?u=anon~252a5d04&sid=googleScholar&xid=3117580d>
- Pan, M., Wright, W. C., Chapple, R. H., Zubair, A., Sandhu, M., Batchelder, J. E., Huddle, B. C., Low, J., Blankenship, K. B., Wang, Y., Gordon, B., Archer, P., Brady, S. W., Natarajan, S., Posgai, M. J., Schuetz, J., Miller, D., Kalathur, R., Chen, S., ... Geeleher, P. (2021). The chemotherapeutic CX-5461 primarily targets TOP2B and exhibits selective activity in high-risk neuroblastoma. *Nature Communications*, 12(1), 6468. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26640-x>
- Papaleo, E., Saladino, G., Lambrugh, M., Lindorff-Larsen, K., Gervasio, F. L., & Nussinov, R. (2016). The role of protein loops and linkers in conformational dynamics and allostery. *Chemical Reviews*, 116(11), 6391–6423. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00623>
- Pardeshi, S. and Thore, S. (2015). Mild and efficient synthesis of 2-aryl benzimidazoles in water using SDS. *International Journal of Chemical and Physical Sciences*, 4, 300–307.
- Park, S., Jung, J., & Cho, E. J. (2014). Visible- light- promoted synthesis of benzimidazoles. *European Journal of Organic Chemistry*, 2014(19), 4148–4154. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201402141>
- 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.
- Paul, S. M., Mytelka, D. S., Dunwiddie, C. T., Persinger, C. C., Munos, B. H., Lindborg, S. R., & Schacht, A. L. (2010). How to improve R&D productivity: The pharmaceutical industry's grand challenge. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9(3), 203–214. <https://doi.org/10.1038/nrd3078>
- Pautasso, C., Troia, R., Genuardi, M., & Palumbo, A. (2014). Pharmacophore modeling technique applied for the discovery of proteasome inhibitors. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 9(8), 931–943. <https://doi.org/10.1517/17460441.2014.923838>

- Pearlman, D. A. and Murcko, M. A. (1996). CONCERTS: Dynamic connection of fragments as an approach to de novo ligand design. *Journal of Medicinal Chemistry*, 39(8), 1651–1663. <https://doi.org/10.1021/jm950792l>
- Pelizzari, G. (1919). Gaza. *Chimica Italiana*, 49(I), 22.
- Pelizzari, G. (1920). *Chemical Abstracts*, 14, 169.
- Peltason, L. and Bajorath, J. (2007). SAR index: Quantifying the nature of structure–activity relationships. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50(23), 5571–5578. <https://doi.org/10.1021/jm0705713>
- Peng, J., Ye, M., Zong, C., Hu, F., Feng, L., Wang, X., Wang, Y., & Chen, C. (2011). Copper-catalyzed intramolecular C–N bond formation: A straightforward synthesis of benzimidazole derivatives in water. *The Journal of Organic Chemistry*, 76(2), 716–719. <https://doi.org/10.1021/jo1021426>
- Perez-Castillo, Y., Sanchez-Rodriguez, A., Tejera, E., Cruz-Monteagudo, M., Borges, F., Cordeiro, M. N. D., Le-Thi-Thu, H., & Pham-The, H. (2018). A desirability-based multi-objective approach for the virtual screening discovery of broad-spectrum anti-gastric cancer agents. *PLoS One*, 13(2), e0192176. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192176>
- Perin, N., Nhili, R., Cindrić, M., Bertoša, B., Vušak, D., Martin-Kleiner, I., Laine, W., Karminski-Zamola, G., Kralj, M., David-Cordonnier, M. H., & Hranjec, M. (2016). Amino substituted benzimidazo[1,2-a]quinolines: Antiproliferative potency, 3D QSAR study and DNA binding properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 122, 530–545. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.07.007>
- Phillips, M. A. (1928a). CCCXVII.—The formation of 2-substituted benziminazoles. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 2393–2399.
- Phillips, M. A. (1928b). XXV.—The formation of 2-methylbenziminazoles. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 172–177.
- Philoppes, J. N. and Lamie, P. F. (2019). Design and synthesis of new benzoxazole/benzothiazole-phthalimide hybrids as antitumor-apoptotic agents. *Bioorganic Chemistry*, 89, 102978. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102978>
- 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>
- Pommier, Y. (2013). Drugging topoisomerases: Lessons and challenges. *ACS Chemical Biology*, 8(1), 82–95. <https://doi.org/10.1021/cb300648v>
- Pommier, Y., Leo, E., Zhang, H., & Marchand, C. (2010). DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. *Chemistry & Biology*, 17(5), 421–433. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2010.04.012>

- Pommier, Y., Nussenzweig, A., Takeda, S., & Austin, C. (2022). Human topoisomerases and their roles in genome stability and organization. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(6), 407–427. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00452-3>
- Pommier, Y., Sun, Y., Huang, S.-Y. N., & Nitiss, J. L. (2016). Roles of eukaryotic topoisomerases in transcription, replication and genomic stability. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 17(11), 703–721. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.111>
- Poptodorov, K., Luu, T., & Hoffmann, R. D. (2006). Pharmacophore model generation software tools. *Pharmacophores and Pharmacophore Searches*, 32, 15–47. <https://doi.org/10.1002/3527609164.ch2>
- Postow, L., Crisona, N. J., Peter, B. J., Hardy, C. D., & Cozzarelli, N. R. (2001). Topological challenges to DNA replication: conformations at the fork. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(15), 8219–8226. <https://doi.org/10.1073/pnas.111006998>
- Prieto-Martínez, F. D., López-López, E., Juárez-Mercado, K. E., & Medina-Franco, J. L. (2019). Computational drug design methods—current and future perspectives. *In silico drug design*, 19–44. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816125-8.00002-X>
- Prokopcová, H. and Kappe, C. O. (2007). Palladium(0)-catalyzed, copper(I)-mediated coupling of boronic acids with cyclic thioamides. Selective carbon–carbon bond formation for the functionalization of heterocycles. *The Journal of Organic Chemistry*, 72(12), 4440–4448. <https://doi.org/10.1021/jo070408f>
- Prudhomme, M. (2000). Recent developments of rebeccamycin analogues as topoisomerase I inhibitors and antitumor agents. *Current Medicinal Chemistry*, 7(12), 1189–1212. <https://doi.org/10.2174/0929867003374138>
- Racko, D., Benedetti, F., Goundaroulis, D., & Stasiak, A. (2018). Chromatin loop extrusion and chromatin unknotting. *Polymers*, 10(10), 1126. <https://doi.org/10.3390/polym10101126>
- Raja, D., Philips, A., Palani, P., Lin, W. Y., Devikala, S., & Senadi, G. C. (2020). Metal-free synthesis of benzimidazoles via oxidative cyclization of d-glucose with o-phenylenediamines in water. *Journal of Organic Chemistry*, 85(17), 11531–11540. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c01053>
- Rathod, C., Rajurkar, R., & Thonte, S. (2013). Benzimidazole synthesis and biological evaluation: A review. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 3(2), 2323–2329.
- Ravi, O., Shaikh, A., Upare, A., Singarapu, K. K., & Bathula, S. R. (2017). Benzimidazoles from aryl alkyl ketones and 2-amino anilines by an iodine-catalyzed oxidative C(CO)–C(alkyl) bond cleavage. *The Journal of Organic Chemistry*, 82(8), 4422–4428. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b00165>
- Razavi, H., Palaninathan, S. K., Powers, E. T., Wiseman, R. L., Purkey, H. E., Mohamedmohaideen, N. N., Deechongkit, S., Chiang, K. P., Dendle, M. T., & Sacchettini, J. C. (2003). Benzoxazoles as transthyretin amyloid fibril inhibitors: synthesis, evaluation, and mechanism of action. *Angewandte Chemie*, 115(24), 2864–2867. <https://doi.org/10.1002/anie.200351179>

- Renu, K., V.G. A., P.B. T. P., & Arunachalam, S. (2018). Molecular mechanism of doxorubicin-induced cardiomyopathy – An update. *European Journal of Pharmacology*, 818, 241–253. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.10.043>
- Rezazadeh, S., Akhlaghinia, B., & Razavi, N. (2015). Trichloroisocyanuric acid/triphenylphosphine-mediated synthesis of benzimidazoles, benzoxazoles, and benzothiazoles. *Australian Journal of Chemistry*, 68, 145–155. <https://doi.org/10.1071/CH14037>
- Rightmire, N. R. and Hanusa, T. P. (2016). Advances in organometallic synthesis with mechanochemical methods. *Dalton Transactions*, 45(6), 2352–2362. <https://doi.org/10.1039/C5DT03866A>
- Riss, T. L., Moravec, R. A., Niles, A. L., Duellman, S., Benink, H. A., Worzella, T. J., & Minor, L. (2016). Cell viability assays. *Assay guidance manual [Internet]*.
- Rithe, S., Jagtap, R., & Ubarhande, S. (2015). One pot synthesis of substituted benzimidazole derivatives and their characterization. *Rasayan Journal of Chemistry*, 8, 213–217.
- Roca, J., Ishida, R., Berger, J. M., Andoh, T., & Wang, J. C. (1994). Antitumor bisdioxopiperazines inhibit yeast DNA topoisomerase II by trapping the enzyme in the form of a closed protein clamp. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(5), 1781–1785. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.5.1781>
- Rodríguez, A. D., Ramírez, C., Rodríguez, I. I., & González, E. (1999). Novel antimycobacterial benzoxazole alkaloids from the West Indian sea whip *Pseudopterogorgia elisabethae*. *Organic Letters*, 1(3), 527–530. <https://doi.org/10.1021/ol9907116>
- Rossignol, J. and Maisonneuve, H. (1984). Benzimidazoles in the treatment of trichuriasis: A review. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 78(2), 135–144. <https://doi.org/10.1080/00034983.1984.11811787>
- Rostkowski, M., Olsson, M. H., Søndergaard, C. R., & Jensen, J. H. (2011). Graphical analysis of pH-dependent properties of proteins predicted using PROPKA. *BMC Structural Biology*, 11, 1–6.
- Ryu, C.-K., Lee, R.-Y., Kim, N. Y., Kim, Y. H., & Song, A. L. (2009). Synthesis and antifungal activity of benzo[d]oxazole-4,7-diones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19(20), 5924–5926. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.08.062>
- Saberi, A. (2015). Efficient synthesis of benzimidazoles using zeolite, alumina, and silica gel under microwave irradiation. *Iranian Journal of Science*, 39(1), 7–10.
- Sabri Dashti, D., Meng, Y., & Roitberg, A. E. (2012). pH-replica exchange molecular dynamics in proteins using a discrete protonation method. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116(30), 8805–8811. <https://doi.org/10.1021/jp303385x>
- Sachdev, E., Sachdev, D., & Mita, M. (2017). Aldoxorubicin for the treatment of soft tissue sarcoma. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 26(10), 1175–1179. <https://doi.org/10.1080/13543784.2017.1371134>

- Saha, P., Ramana, T., Purkait, N., Ali, M. A., Paul, R., & Punniyamurthy, T. (2009). Ligand-free copper-catalyzed synthesis of substituted benzimidazoles, 2-aminobenzimidazoles, 2-aminobenzothiazoles, and benzoxazoles. *The Journal of Organic Chemistry*, 74(22), 8719–8725. <https://doi.org/10.1021/jo901813g>
- Saha, S., Sun, Y., Huang, S.-Y. N., Baechler, S. A., Pongor, L. S., Agama, K., Jo, U., Zhang, H., Tse-Dinh, Y.-C., & Pommier, Y. (2020). DNA and RNA cleavage complexes and repair pathway for TOP3B RNA-and DNA-protein crosslinks. *Cell Reports*, 33(13). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108569>
- Sahu, B. D., Kalvala, A. K., Koneru, M., Mahesh Kumar, J., Kuncha, M., Rachamalla, S. S., & Sistla, R. (2014). Ameliorative effect of fisetin on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats via modulation of NF- κ B activation and antioxidant defence. *PloS One*, 9(9), e105070. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105070>
- Salsbury, F. R., Jr. (2010). Molecular dynamics simulations of protein dynamics and their relevance to drug discovery. *Current Opinion in Pharmacology*, 10(6), 738–744. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2010.09.016>
- Sánchez-Rodríguez, A., Pérez-Castillo, Y., Schürer, S. C., Nicolotti, O., Mangiatordi, G. F., Borges, F., Cordeiro, M. N. D., Tejera, E., Medina-Franco, J. L., & Cruz-Monteagudo, M. (2017). From flamingo dance to (desirable) drug discovery: A nature-inspired approach. *Drug Discovery Today*, 22(10), 1489–1502. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.05.008>
- Sato, Y., Yamada, M., Yoshida, S., Soneda, T., Ishikawa, M., Nizato, T., Suzuki, K., & Konno, F. (1998). Benzoxazole derivatives as novel 5-HT₃ receptor partial agonists in the gut. *Journal of Medicinal Chemistry*, 41(16), 3015–3021. <https://doi.org/10.1021/jm9801004>
- Sawyers, C. (2004). Targeted cancer therapy. *Nature*, 432(7015), 294–297. <https://doi.org/10.1038/nature03095>
- Sazonova, E. V., Chesnokov, M. S., Zhivotovsky, B., & Kopeina, G. S. (2022). Drug toxicity assessment: Cell proliferation versus cell death. *Cell Death Discovery*, 8(1), 417. <https://doi.org/10.1038/s41420-022-01207-x>
- Schmidt, R., Fuhrmann, S., Wondraczek, L., & Stolle, A. (2016). Influence of reaction parameters on the depolymerization of H₂SO₄-impregnated cellulose in planetary ball mills. *Powder Technology*, 288, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.11.002>
- Schneider, G. and Fechner, U. (2005). Computer-based de novo design of drug-like molecules. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(8), 649–663. <https://doi.org/10.1038/nrd1799>
- Schneider, G., Lee, M.-L., Stahl, M., & Schneider, P. (2000). De novo design of molecular architectures by evolutionary assembly of drug-derived building blocks. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 14(5), 487–494. <https://doi.org/10.1023/A:1008184403558>
- Shroot, B., Eustache, J., & Bernardon, J.-M. (1988). Benzo[b]thiophene carboxylate derivatives and pharmaceutical compositions (U.S. Patent No. US4740519A). *Centre International de Recherches Dermatologiques Galderma*. <https://patents.google.com/patent/US4740519A/en>
- Schrödinger, L. (2024a). Protein Preparation Wizard; Epik. *Schrödinger, LLC*.

- Schrödinger, L. (2024b). Schrödinger Release 2024-3: Maestro. *Schrödinger, LLC*.
- Schultz, J. V., Olsson, E., Farnegardh, K., Jonsson, M., Hammer, K., & Kruger, L. (2020). Benzimidazole derivatives useful as inhibitors of mammalian histone deacetylase activity (Sweden Patent No. EP3294715B1).
- Schuster, D. (2010). 3D pharmacophores as tools for activity profiling. *Drug Discovery Today: Technologies*, 7(4), e205–e211. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2010.11.006>
- Schwartzman, J. B. and Stasiak, A. (2004). A topological view of the replicon. *EMBO Reports*, 5(3), 256–261. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400101>
- Schwandt, A., Mekhail, T., Halmos, B., O'Brien, T., Ma, P. C., Fu, P., Ivy, P., & Dowlati, A. (2012). Phase-II trial of rebeccamycin analog, a dual topoisomerase-I and -II inhibitor, in relapsed “sensitive” small cell lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, 7(4), 751–754. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e31824abca2>
- Scior, T., Bender, A., Tresadern, G., Medina-Franco, J. L., Martínez-Mayorga, K., Langer, T., Cuanalo-Contreras, K., & Agrafiotis, D. K. (2012). Recognizing pitfalls in virtual screening: A critical review. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 52(4), 867–881. <https://doi.org/10.1021/ci200528d>
- Seidel, T., Schuetz, D. A., Garon, A., & Langer, T. (2019). The pharmacophore concept and its applications in computer-aided drug design. In *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products 110: Cheminformatics in Natural Product Research* (pp. 99–141). https://doi.org/10.1007/978-3-030-14632-0_4
- Seol, Y., Hardin, A. H., Strub, M. P., Charvin, G., & Neuman, K. C. (2013). Comparison of DNA decatenation by *Escherichia coli* topoisomerase IV and topoisomerase III: Implications for non-equilibrium topology simplification. *Nucleic Acids Research*, 41(8), 4640–4649. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt136>
- Serafini, M., Torre, E., Aprile, S., Grosso, E. D., Gesù, A., Griglio, A., Colombo, G., Travelli, C., Paiella, S., Adamo, A., Orecchini, E., Coletti, A., Pallotta, M. T., Ugel, S., Massarotti, A., Piralì, T., & Fallarini, S. (2020). Discovery of highly potent benzimidazole derivatives as indoleamine 2,3-dioxygenase-1 (IDO1) inhibitors: From structure-based virtual screening to in vivo pharmacodynamic activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(6), 3047–3065. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01809>
- Sessions, E. H., Yin, Y., Bannister, T. D., Weiser, A., Griffin, E., Pocas, J., Cameron, M. D., Ruiz, C., Lin, L., & Schürer, S. C. (2008). Benzimidazole- and benzoxazole-based inhibitors of Rho kinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(24), 6390–6393. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.10.095>
- Shaker, Y. M., Omar, M. A., Mahmoud, K., Elhallouty, S. M., El-Senousy, W. M., Ali, M. M., Mahmoud, A. E., Abdel-Halim, A. H., Soliman, S. M., & El Diwani, H. I. (2015). Synthesis, in vitro and in vivo antitumor and antiviral activity of novel 1-substituted benzimidazole derivatives. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 30(5), 826–845. <https://doi.org/10.3109/14756366.2014.979344>

- Sharma, A., Luxami, V., and Paul, K. (2013). Synthesis, single crystal, and antitumor activities of benzimidazole–quinazoline hybrids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(11), 3288–3294. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.03.107>
- Shin, W.-J. and Seong, B. L. (2013). Recent advances in pharmacophore modeling and its application to anti-influenza drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 8(4), 411–426. <https://doi.org/10.1517/17460441.2013.767795>
- Shoichet, B. K. and Kobilka, B. K. (2012). Structure-based drug screening for G-protein-coupled receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, 33(5), 268–272. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2012.03.007>
- Shu, J., Jiang, J., Wang, X., Yang, X., Zhao, G., & Cai, T. (2024). MDM2 provides TOP2 poison resistance by promoting proteolysis of TOP2 β cc in a p53-independent manner. *Cell Death & Disease*, 15(1), 83. <https://doi.org/10.1038/s41419-024-06474-3>
- Siju, E., Rajalakshmi, G., Paulose, A. P., Dhanya, F., Hariraj, N., & Rahul, K. (2017). CADD: pharmacological approaches in drug design and drug discovery. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 892–908. <https://doi.org/10.20959/wjpps20174-8999>
- Singh, M. and Tandon, V. (2011). Synthesis and biological activity of novel inhibitors of topoisomerase I: 2-aryl-substituted 2-bis-1H-benzimidazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(2), 659–669. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.11.046>
- Singh, S., Cooper, S. L., Glenn, J. R., Beresford, J., Percival, L. R., Tyndall, J. D. A., Hill, S. J., Kilpatrick, L. E., & Vennall, A. J. (2018). Synthesis of novel (benzimidazolyl)isoquinolinols and evaluation as adenosine A1 receptor tools. *RSC Advances*, 8(29), 16362–16369. <https://doi.org/10.1039/c7ra13148h>
- Singla, P., Luxami, V., & Paul, K. (2016). Synthesis and in vitro evaluation of novel triazine analogues as anticancer agents and their interaction studies with bovine serum albumin. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 117, 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.03.088>
- Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., & Lowe, E. W., Jr. (2014). Computational methods in drug discovery. *Pharmacological Reviews*, 66(1), 334–395. <https://doi.org/10.1124/pr.112.007336>
- Smith, P., & Ward, D. (2014). *Heterocyclic benzoxazole compositions as inhibitors of hepatitis C virus* (U.S. Patent No. 8,822,515). U.S. Patent and Trademark Office.
- Soderberg, T. (2012). *Organic chemistry with a biological emphasis*. University of California, Davis.
- Solhaug, A., Torgersen, M. L., Holme, J. A., Lagadic-Gossmann, D., & Eriksen, G. S. (2014). Autophagy and senescence, stress responses induced by the DNA-damaging mycotoxin alternariol. *Toxicology*, 326, 119–129. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.10.009>
- Solhaug, A., Vines, L., Ivanova, L., Spilsberg, B., Holme, J., Pestka, J., Collins, A., & Eriksen, G. (2012). Mechanisms involved in alternariol-induced cell cycle arrest. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 738, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2012.09.001>

- Sondhi, S. M., Singh, N., Kumar, A., Lozach, O., & Meijer, L. (2006). Synthesis, anti-inflammatory, analgesic and kinase (CDK-1, CDK-5 and GSK-3) inhibition activity evaluation of benzimidazole/benzoxazole derivatives and some Schiff's bases. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(11), 3758–3765. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.01.054>
- Soni, S., Sahiba, N., Teli, S., Teli, P., Agarwal, L. K., & Agarwal, S. (2023). Advances in the synthetic strategies of benzoxazoles using 2-aminophenol as a precursor: an up-to-date review. *RSC Advances*, 13(34), 24093–24111. <https://doi.org/10.1039/D3RA03871H>
- Sorelle, R. (1998). Withdrawal of Posicor from market. *Circulation*, 98(9), 831–832.
- Spasov, A., Yozhitsu, I., Bugaeva, L., & Anisimova, V. (1999). Benzimidazole derivatives: Spectrum of pharmacological activity and toxicological properties (a review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 33(5), 232–243. <https://doi.org/10.1007/BF02510042>
- Spiliotopoulos, D., & Caflisch, A. (2014). Molecular dynamics simulations of bromodomains reveal binding- site flexibility and multiple binding modes of the natural ligand acetyl- lysine. *Israel Journal of Chemistry*, 54(8- 9), 1084–1092. <https://doi.org/10.1002/ijch.201400009>
- Spitzer, G. M., Heiss, M., Mangold, M., Markt, P., Kirchmair, J., Wolber, G., & Liedl, K. R. (2010). One concept, three implementations of 3D pharmacophore-based virtual screening: distinct coverage of chemical search space. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 50(7), 1241–1247. <https://doi.org/10.1021/ci100136b>
- Srinivasulu, R., Kumar, K. R., & Satyanarayana, P. V. V. (2014). Facile and efficient method for synthesis of benzimidazole derivatives catalyzed by zinc triflate. *Green and Sustainable Chemistry*, 2014. <https://doi.org/10.4236/gsc.2014.41006>
- Stewart, L., Redinbo, M. R., Qiu, X., Hol, W. G., & Champoux, J. J. (1998). A model for the mechanism of human topoisomerase I. *Science*, 279(5356), 1534–1541. <https://doi.org/10.1126/science.279.5356.1534>
- Storpirtis, S., Gai, M. N., Campos, D. R., & Gonçalves, J. E. (2011). Farmacocinética: conceitos, definições, e relação com a farmacodinâmica e biofarmácia (biofarmacotécnica). In M. N. G. S. Storpirtis, D. R. Campos, J. E. Gonçalves (Ed.), *Farmacocinética Básica e Aplicada* (1. ed.).
- Su, F., Sun, Z., Su, W., & Liang, X. (2018). NMR investigation and theoretical calculations on the tautomerism of benzimidazole compounds. *Journal of Molecular Structure*, 1173, 690–696. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.07.038>
- Sun, L.-Q., Chen, J., Bruce, M., Deskus, J. A., Epperson, J. R., Takaki, K., Johnson, G., Iben, L., Mahle, C. D., & Ryan, E. (2004). Synthesis and structure–activity relationship of novel benzoxazole derivatives as melatonin receptor agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14(14), 3799–3802. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.04.082>
- Swanson, K., Walther, P., Leitz, J., Mukherjee, S., Wu, J. C., Shivnaraine, R. V., & Zou, J. (2024). ADMET-AI: a machine learning ADMET platform for evaluation of large-scale chemical libraries. *Bioinformatics*, 40(7). <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btae416>

- Takeda, S., Matsuo, K., Yaji, K., Okajima-Miyazaki, S., Harada, M., Miyoshi, H., Okamoto, Y., Amamoto, T., Shindo, M., & Omiecinski, C. J. (2011). (–)-Xanthatin selectively induces GADD45 γ and stimulates caspase-independent cell death in human breast cancer MDA-MB-231 cells. *Chemical Research in Toxicology*, 24(6), 855–865. <https://doi.org/10.1021/tx200046s>
- Takeda, S., Noguchi, M., Matsuo, K., Yamaguchi, Y., Kudo, T., Nishimura, H., Okamoto, Y., Amamoto, T., Shindo, M., & Omiecinski, C. J. (2013). (–)-Xanthatin up-regulation of the GADD45 γ tumor suppressor gene in MDA-MB-231 breast cancer cells: Role of topoisomerase II α inhibition and reactive oxygen species. *Toxicology*, 305, 1–9. <https://doi.org/10.1021/tx200046s>
- Taki, M., Wolford, J. L., & O'Halloran, T. V. (2004). Emission ratiometric imaging of intracellular zinc: design of a benzoxazole fluorescent sensor and its application in two-photon microscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 126(3), 712–713. <https://doi.org/10.1021/ja039073j>
- Talele, T. T., Khedkar, S. A., & Rigby, A. C. (2010). Successful applications of computer-aided drug discovery: moving drugs from concept to the clinic. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 10(1), 127–141. <https://doi.org/10.2174/156802610790232251>
- Tanaka, K., Kumagai, T., Aoki, H., Deguchi, M., & Iwata, S. (2001). Application of 2-(3, 5, 6-trifluoro-2-hydroxy-4-methoxyphenyl) benzoxazole and benzothiazole to fluorescent probes sensing pH and metal cations. *The Journal of Organic Chemistry*, 66(22), 7328–7333. <https://doi.org/10.1021/jo010462a>
- Tandon, V. K., & Kumar, M. (2004). BF₃· Et₂O promoted one-pot expeditious and convenient synthesis of 2-substituted benzimidazoles and 3, 1, 5-benzoxadiazepines. *Tetrahedron Letters*, 45(21), 4185–4187. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.03.117>
- Tang, Y., Li, M., Gao, H., Rao, G., & Mao, Z. (2020). Efficient Cu-catalyzed intramolecular O-arylation for synthesis of benzoxazoles in water. *RSC Advances*, 10(24), 14317–14321. <https://doi.org/10.1039/D0RA00570C>
- Tekiner-Gulbas, B., Temiz-Arpaci, O., Yildiz, I., Aki-Sener, E., & Yalcin, I. (2006). 3D-QSAR study on heterocyclic topoisomerase II inhibitors using CoMSIA. *SAR QSAR Environmental Research*, 17(2), 121–132. <https://doi.org/10.1080/10659360600636105>
- Temiz-Arpaci, O., Tekiner-Gulbas, B., Yildiz, I., Aki-Sener, E., & Yalcin, I. (2005). 3D-QSAR analysis on benzazole derivatives as eukaryotic topoisomerase II inhibitors by using comparative molecular field analysis method. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13(23), 6354–6359. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.06.002>
- Tesauro, C., Fiorani, P., d'Annessa, I., Chillemi, G., Turchi, G., & Desideri, A. (2010). Erybraedin C, a natural compound from the plant *Bituminaria bituminosa*, inhibits both the cleavage and religation activities of human topoisomerase I. *Biochemical Journal*, 425(3), 531–539. <https://doi.org/10.1042/BJ20091127>
- Thakral, S., Kumar, D., Thakral, S., Singh, V., Muni Nagesh, A., Verma, S., & Pandey, D. (2022). Synthesis and biological evaluation of 2- (halophenyl) benzoxazole- 5- carboxylic acids as potential anti- inflammatory and cytotoxic agents with molecular docking studies. *Chemistry & Biodiversity*, 19(10), e202200489. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200489>

- Tolcher, A. W., Eckhardt, S. G., Kuhn, J., Hammond, L., Weiss, G., Rizzo, J., Aylesworth, C., Hidalgo, M., Patnaik, A., Schwartz, G., Felton, S., Campbell, E., & Rowinsky, E. K. (2001). Phase I and pharmacokinetic study of NSC 655649, a rebeccamycin analog with topoisomerase inhibitory properties. *Journal of Clinical Oncology*, 19(11), 2937–2947. <https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.11.2937>
- Toyoda, E., Kagaya, S., Cowell, I. G., Kurosawa, A., Kamoshita, K., Nishikawa, K., Iizumi, S., Koyama, H., Austin, C. A., & Adachi, N. (2008). NK314, a topoisomerase II inhibitor that specifically targets the alpha isoform. *Journal of Biological Chemistry*, 283(35), 23711–23720. <https://doi.org/10.1074/jbc.M803936200>
- TroposInc. (2024, 1 Augustos). *Tropos software*. <http://www.tropossoftware.com>
- Trivedi, R., De, S. K., & Gibbs, R. A. (2006). A convenient one-pot synthesis of 2-substituted benzimidazoles. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 245(1–2), 8–11. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2005.09.025>
- Tropsha, A., & Golbraikh, A. (2007). Predictive QSAR modeling workflow, model applicability domains, and virtual screening. *Current Pharmaceutical Design*, 13(34), 3494–3504. <https://doi.org/10.2174/138161207782794257>
- Tropsha, A., Isayev, O., Varnek, A., Schneider, G., & Cherkasov, A. (2024). Integrating QSAR modelling and deep learning in drug discovery: the emergence of deep QSAR. *Nature Reviews Drug Discovery*, 23(2), 141–155. <https://doi.org/10.1038/s41573-023-00832-0>
- Trossini, G. H., Guido, R. V., Oliva, G., Ferreira, E. I., & Andricopulo, A. D. (2009). Quantitative structure-activity relationships for a series of inhibitors of cruzain from *Trypanosoma cruzi*: molecular modeling, CoMFA and CoMSIA studies. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 28(1), 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2009.03.001>
- Urwyler, S. (2011). Allosteric modulation of family C G-protein-coupled receptors: from molecular insights to therapeutic perspectives. *Pharmacological Reviews*, 63(1), 59–126. <https://doi.org/10.1124/pr.109.002501>
- Usha, T., Shanmugarajan, D., Goyal, A. K., Kumar, C. S., & Middha, S. K. (2017). Recent updates on computer-aided drug discovery: time for a paradigm shift. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 17(30), 3296–3307. <https://doi.org/10.2174/1568026618666180101163651>
- Uusküla-Reimand, L., & Wilson, M. D. (2022). Untangling the roles of TOP2A and TOP2B in transcription and cancer. *Science Advances*, 8(44), eadd4920. <https://doi.org/10.1126/sciadv.add4920>
- Valasani, K. R., Vangavaragu, J. R., Day, V. W., & Yan, S. S. (2014). Structure-based design, synthesis, pharmacophore modeling, virtual screening, and molecular docking studies for identification of novel cyclophilin D inhibitors. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54(3), 902–912. <https://doi.org/10.1021/ci5000196>
- Van Drie, J. H. (2003). Pharmacophore discovery-lessons learned. *Current Pharmaceutical Design*, 9(20), 1649–1664. <https://doi.org/10.2174/1381612033454568>

- Van Drie, J. H. (2004). Pharmacophore discovery: a critical review. *Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery*, 437–455. <https://doi.org/10.2174/1381612033454568>
- Van Ravenstein, S. X., Mehta, K. P., Kavlashvili, T., Byl, J. A. W., Zhao, R., Osheroff, N., Cortez, D., & Dewar, J. M. (2022). Topoisomerase II poisons inhibit vertebrate DNA replication through distinct mechanisms. *EMBO Journal*, 41(12), e110632. <https://doi.org/10.15252/emboj.2022110632>
- Vann, K. R., Oviatt, A. A., & Osheroff, N. (2021). Topoisomerase II poisons: converting essential enzymes into molecular scissors. *Biochemistry*, 60(21), 1630–1641. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.1c00240>
- VanVliet, D. S., Gillespie, P., & Scicinski, J. J. (2005). Rapid one-pot preparation of 2-substituted benzimidazoles from 2-nitroanilines using microwave conditions. *Tetrahedron Letters*, 46(39), 6741–6743. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.07.130>
- Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H.-Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12), 2615–2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>
- Venkateswarlu, Y., Kumar, S. R., & Leelavathi, P. (2013). Facile and efficient one-pot synthesis of benzimidazoles using lanthanum chloride. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 3(1), 7. <https://doi.org/10.1186/2191-2858-3-7>
- Verma, J., Khedkar, V. M., & Coutinho, E. C. (2010). 3D-QSAR in drug design—a review. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 10(1), 95–115. <https://doi.org/10.2174/156802610790232260>
- Viiirre, R. D., Evindar, G., & Batey, R. A. (2008). Copper-catalyzed domino annulation approaches to the synthesis of benzoxazoles under microwave-accelerated and conventional thermal conditions. *Journal of Organic Chemistry*, 73(9), 3452–3459. <https://doi.org/10.1021/jo702145d>
- Villikka, K., Kivistö, K. T., Backman, J. T., Olkkola, K. T., & Neuvonen, P. J. (1997). Triazolam is ineffective in patients taking rifampin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 61(1), 8–14.
- Vinkers, H. M., de Jonge, M. R., Daeyaert, F. F. D., Heeres, J., Koymans, L. M. H., van Lenthe, J. H., Lewi, P. J., Timmerman, H., Van Aken, K., & Janssen, P. A. J. (2003). SYNOPSIS: SYNthesize and OPTimize System in Silico. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46(13), 2765–2773. <https://doi.org/10.1021/jm030809x>
- Walters, W. P., Stahl, M. T., & Murcko, M. A. (1998). Virtual screening—an overview. *Drug Discovery Today*, 3(4), 160–178. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(97\)01163-X](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(97)01163-X)
- 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, L., Ren, X., Yu, J., Jiang, Y., & Cheng, J. (2013). Base-promoted formal arylation of benzo[d]oxazoles with acyl chloride. *Journal of Organic Chemistry*, 78(23), 12076–12081. <https://doi.org/10.1021/jo402106q>

- Wang, R., Fang, X., Lu, Y., & Wang, S. (2004). The PDBbind database: collection of binding affinities for protein-ligand complexes with known three-dimensional structures. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(12), 2977–2980. <https://doi.org/10.1021/jm030580l>
- Wang, S., Li, Y., Wang, J., Chen, L., Zhang, L., Yu, H., & Hou, T. (2012). ADMET evaluation in drug discovery. 12. Development of binary classification models for prediction of hERG potassium channel blockage. *Molecular Pharmaceutics*, 9(4), 996–1010. <https://doi.org/10.1021/mp300023x>
- Wang, Y.-R., Chen, S.-F., Wu, C.-C., Liao, Y.-W., Lin, T.-S., Liu, K.-T., Chen, Y.-S., Li, T.-K., Chien, T.-C., & Chan, N.-L. (2017). Producing irreversible topoisomerase II-mediated DNA breaks by site-specific Pt(II)-methionine coordination chemistry. *Nucleic Acids Research*, 45(18), 10861–10871. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx742>
- Wang, Y., Zhang, Y., Fu, B., Wang, J., & Ding, L. (2020). Immunomodulators, compositions and methods thereof (China Patent No. WO 2020/015717 A1).
- Wang, Y., Zhao, H., Brewer, J. T., Li, H., Lao, Y., Amberg, W., Behl, B., Akritopoulou-Zanze, I., Dietrich, J., & Lange, U. E. (2018). De novo design, synthesis, and biological evaluation of 3,4-disubstituted pyrrolidine sulfonamides as potent and selective glycine transporter 1 competitive inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(17), 7486–7502. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00295>
- Wang, Z., Deng, X., Xiong, S., Xiong, R., Liu, J., Zou, L., Lei, X., Cao, X., Xie, Z., Chen, Y., Liu, Y., Zheng, X., & Tang, G. (2018). Design, synthesis and biological evaluation of chrysin benzimidazole derivatives as potential anticancer agents. *Natural Product Research*, 32(24), 2900–2909. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1389940>
- Waszkowycz, B., Clark, D. E., Frenkel, D., Li, J., Murray, C. W., Robson, B., & Westhead, D. R. (1994). PRO_LIGAND: An approach to de novo molecular design. 2. Design of novel molecules from molecular field analysis (MFA) models and pharmacophores. *Journal of Medicinal Chemistry*, 37(23), 3994–4002. <https://doi.org/10.1021/jm00049a019>
- Watson, J. D. and Crick, F. (1953a). Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature*, 171(4361), 964–967. <https://doi.org/10.1038/171964b0>
- Watson, J. D. and Crick, F. (1953b). A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356), 737–738. <https://doi.org/10.1038/171737a0>
- Wei, P.-F., Qi, M.-Z., Wang, Z.-P., Ding, S.-Y., Yu, W., Liu, Q., Wang, L.-K., Wang, H.-Z., An, W.-K., & Wang, W. (2018). Benzoxazole-linked ultrastable covalent organic frameworks for photocatalysis. *Journal of the American Chemical Society*, 140(13), 4623–4631. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b00571>
- Weidenhagen, R. (1936). Eine neue Synthese von Benzimidazol-Derivaten. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, 69(10), 2263–2272. <https://doi.org/10.1002/cber.19360691010>
- Wendorff, T. J., Schmidt, B. H., Heslop, P., Austin, C. A., & Berger, J. M. (2012). The structure of DNA-bound human topoisomerase II alpha: conformational mechanisms for coordinating inter-subunit interactions with DNA cleavage. *Journal of Molecular Biology*, 424(3–4), 109–124. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2012.07.014>

- Wermuth, C.-G., Ganellin, C., Lindberg, P., & Mitscher, L. (1998). Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC Recommendations 1998). *Pure and Applied Chemistry*, 70(5), 1129–1143. <https://doi.org/10.1351/pac199870051129>
- Wilkinson, A. G. R. (2005). Drug metabolism and variability among patients in drug response. *New England Journal of Medicine*, 352(21), 2211–2221. <https://doi.org/10.1056/NEJMra032424>
- Willett, P. (2006). Similarity-based virtual screening using 2D fingerprints. *Drug Discovery Today*, 11(23–24), 1046–1053. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2006.10.005>
- Wilson, G. L. and Lill, M. A. (2011). Integrating structure-based and ligand-based approaches for computational drug design. *Future Med Chem*, 3(6), 735–750. <https://doi.org/10.4155/fmc.11.18>
- Wise, A., Gearing, K., & Rees, S. (2002). Target validation of G-protein coupled receptors. *Drug Discovery Today*, 7(4), 235–246. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(01\)02131-6](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(01)02131-6)
- Woessner, R. D., Mattern, M. R., Mirabelli, C. K., Johnson, R. K., & Drake, F. H. (1991). Proliferation-and cell cycle-dependent differences in expression of the 170 kilodalton and 180 kilodalton forms of topoisomerase II in NIH-3T3 cells. *Cell Growth Differ*, 2(4), 209–214.
- Wolber, G. and Langer, T. (2005). LigandScout: 3-D pharmacophores derived from protein-bound ligands and their use as virtual screening filters. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 45(1), 160–169. <https://doi.org/10.1021/ci049885e>
- Wolber, G., Seidel, T., Bendix, F., & Langer, T. (2008). Molecule-pharmacophore superpositioning and pattern matching in computational drug design. *Drug Discovery Today*, 13(1–2), 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.09.007>
- Woldringh, C. L., Jensen, P. R., & Westerhoff, H. V. (1995). Structure and partitioning of bacterial DNA: determined by a balance of compaction and expansion forces? *FEMS Microbiology Letters*, 131(3), 235–242. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(95\)00243-X](https://doi.org/10.1016/0378-1097(95)00243-X)
- Wollenhaupt, K., Schneider, F., & Tiemann, U. (2008). Influence of alternariol (AOH) on regulator proteins of cap-dependent translation in porcine endometrial cells. *Toxicology Letters*, 182(1–3), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.08.005>
- Wong, X. K. and Yeong, K. Y. (2021). A patent review on the current developments of benzoxazoles in drug discovery. *ChemMedChem*, 16(21), 3237–3262. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202100370>
- 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)
- Wright, J. B. (1951). The chemistry of the benzimidazoles. *Chemical Reviews*, 48(3), 397–541.
- Wu, C.-C., Li, T.-K., Farh, L., Lin, L.-Y., Lin, T.-S., Yu, Y.-J., Yen, T.-J., Chiang, C.-W., & Chan, N.-L. (2011). Structural basis of type II topoisomerase inhibition by the anticancer drug etoposide. *Science*, 333(6041), 459–462. <https://doi.org/10.1126/science.1204117>

- Wu, Y., Peng, X., Fan, J., Gao, S., Tian, M., Zhao, J., & Sun, S. (2007). Fluorescence sensing of anions based on inhibition of excited-state intramolecular proton transfer. *The Journal of Organic Chemistry*, 72(1), 62–70. <https://doi.org/10.1021/jo061634c>
- Xavier, T., Rashid, N., & Joe, I. H. (2011). Vibrational spectra and DFT study of anticancer active molecule 2-(4-Bromophenyl)-1H-benzimidazole by normal coordinate analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78(1), 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2010.10.013>
- Xiang, P., Zhou, T., Wang, L., Sun, C. Y., Hu, J., Zhao, Y. L., & Yang, L. (2012). Novel benzothiazole, benzimidazole and benzoxazole derivatives as potential antitumor agents: synthesis and preliminary in vitro biological evaluation. *Molecules*, 17(1), 873–883. <https://doi.org/10.3390/molecules17010873>
- Yadav, P., Dahiya, D. P., & Senthilkumar, G. P. (2011). ChemInform Abstract: Benzothiazole: Different Methods of Synthesis and Diverse Biological Activities. *ChemInform*, 42. <https://doi.org/10.1002/chin.201140238>
- Yang, B., Hu, W., & Zhang, S. (2018). Synthesis of benzoxazoles via an iron-catalyzed domino C–N/C–O cross-coupling reaction [10.1039/C7RA13080E]. *RSC Advances*, 8(5), 2267–2270. <https://doi.org/10.1039/C7RA13080E>
- Yang, F., Teves, S. S., Kemp, C. J., & Henikoff, S. (2014). Doxorubicin, DNA torsion, and chromatin dynamics. *Biochim Biophys Acta*, 1845(1), 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2013.12.002>
- Yang, S.-Y. (2010). Pharmacophore modeling and applications in drug discovery: challenges and recent advances. *Drug Discovery Today*, 15(11–12), 444–450. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.03.013>
- Yang, W. (2010). Topoisomerases and site-specific recombinases: similarities in structure and mechanism. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 45(6), 520–534. <https://doi.org/10.3109/10409238.2010.513375>
- Yang, X., Li, W., Prescott, E. D., Burden, S. J., & Wang, J. C. (2000). DNA topoisomerase II β and neural development. *Science*, 287(5450), 131–134. <https://doi.org/10.1126/science.287.5450.131>
- Yasuda, M., Kawabata, K., Miyashita, M., Okumura, M., Yamamoto, N., Takahashi, M., Ashida, H., & Ohigashi, H. (2014). Inhibitory effects of 4-hydroxyderricin and xanthoangelol on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW264 macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(2), 462–467. <https://doi.org/10.1021/jf404175t>
- Yeob, H. J., Jung, K. T., Tae, P. Y., Joo, K. Y., Wook, L. J., Sub, N. T., Su, H. B., & Sun, K. K. (2017). Novel nocarbenzoxazole derivatives a preparation method thereof and use thereof.
- Yildiz-Oren, I., Yalcin, I., Aki-Sener, E., & Ucarturk, N. (2004). Synthesis and structure–activity relationships of new antimicrobial active multisubstituted benzazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 39(3), 291–298. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2003.11.014>
- Yu, W. and MacKerell, A. D. (2017). Computer-aided drug design methods. *Antibiotics: Methods and Protocols*, 85–106. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6634-9_5

- Yu, X., Che, Z., & Xu, H. (2017). Recent advances in the chemistry and biology of podophyllotoxins. *Chemistry*, 23(19), 4467–4526. <https://doi.org/10.1002/chem.201602472>
- Yuan, S., Ye, X., Cai, J., Song, Z., Tan, Y., Peng, Y., & Ding, Q. (2022). DMF-Assisted Radical Cyclization of o-Isocyanodiaryl Ethers via 1,5-Aryl Migration: Construction of 2-Arylbenzoxazoles. *The Journal of Organic Chemistry*, 87(2), 1485–1492. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c02806>
- Yuan, Z., Chen, S., Chen, C., Chen, J., Chen, C., Dai, Q., Gao, C., & Jiang, Y. (2017). Design, synthesis and biological evaluation of 4-amidobenzimidazole acridine derivatives as dual PARP and Topo inhibitors for cancer therapy. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 138, 1135–1146. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.050>
- Yuriev, E., Agostino, M., & Ramsland, P. A. (2011). Challenges and advances in computational docking: 2009 in review. *Journal of Molecular Recognition*, 24(2), 149–164. <https://doi.org/10.1002/jmr.1077>
- Zerroug, A., Belaidi, S., BenBrahim, I., Sinha, L., & Chtita, S. (2019). Virtual screening in drug-likeness and structure/activity relationship of pyridazine derivatives as Anti-Alzheimer drugs. *Journal of King Saud University - Science*, 31(4), 595–601. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.03.024>
- Zhang, G., Wang, P., Yang, F., & Wu, Y. (2015). Copper-catalyzed synthesis of 2-arylbenzoxazoles from o-aminophenol derivatives with arylmethyl chlorides. *Tetrahedron*, 71(1), 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.11.040>
- Zhang, J., Hu, L., Liu, Y., Zhang, Y., Chen, X., Luo, Y., Peng, Y., Han, S., & Pan, B. (2021). Elemental Sulfur-Promoted Benzoxazole/Benzothiazole Formation Using a C=C Double Bond as a One-Carbon Donator. *The Journal of Organic Chemistry*, 86(21), 14485–14492. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c01357>
- Zhang, M., Liang, C., Chen, Q., Yan, H., Xu, J., Zhao, H., Yuan, X., Liu, J., Lin, S., & Lu, W. (2020). Histone H2A phosphorylation recruits topoisomerase II α to centromeres to safeguard genomic stability. *The EMBO Journal*, 39(3), e101863. <https://doi.org/10.15252/emboj.2019101863>
- Zhang, S. (2011). Computer-aided drug discovery and development. *Drug Design and Discovery: Methods and Protocols*, 23–38. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-012-6_2
- Zhang, S., Liu, X., Bawa-Khalfe, T., Lu, L. S., Lyu, Y. L., Liu, L. F., & Yeh, E. T. (2012). Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nature Medicine*, 18(11), 1639–1642. <https://doi.org/10.1038/nm.2919>
- Zhang, X., Rakesh, K. P., Shantharam, C. S., Manukumar, H. M., Asiri, A. M., Marwani, H. M., & Qin, H. L. (2018). Podophyllotoxin derivatives as an excellent anticancer aspirant for future chemotherapy: A key current imminent needs. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 26(2), 340–355. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.11.026>
- Zhang, Y., Luo, M., Wu, P., Wu, S., Lee, T.-Y., & Bai, C. (2022). Application of computational biology and artificial intelligence in drug design. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 13568. <https://doi.org/10.3390/ijms232113568>

- Zhang, Y., Wang, Y., Bang, F., Chen, J., Wang, J., & Ding, L. (2021). Immunomodulators, compositions and methods thereof (China Patent No. US 2022/0119411 A1).
- Zhao, Q., Xue, Y., Wang, J. F., Li, H., Long, T. T., Li, Z., Wang, Y. M., Dong, P., & Xue, C. H. (2012). In vitro and in vivo anti- tumour activities of echinoside A and ds- echinoside A from *Pearsonothuria graeffei*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(4), 965–974. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4678>
- Zheng, X. M., Chen, Y. S., Ban, Y. J., Wang, Y. J., Dong, Y. X., Lei, L., Guo, B., Wang, J. T., Tang, L., Li, H. L., & Zhang, J. Q. (2023). Design, synthesis and bioevaluation of PI3K α -selective inhibitors as potential colorectal cancer drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 260, 115754. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115754>
- Zhou, W., Zhang, W., Peng, Y., Jiang, Z.-H., Zhang, L., & Du, Z. (2020). Design, synthesis and anti-tumor activity of novel benzimidazole-chalcone hybrids as non-intercalative topoisomerase II catalytic inhibitors. *Molecules*, 25(14), 3180. <https://doi.org/10.3390/molecules25143180>
- Zhu, J., Fan, H., Liu, H., & Shi, Y. (2001). Structure-based ligand design for flexible proteins: application of new F-DycoBlock. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 15, 979–996. <https://doi.org/10.1023/a:1014817911249>
- Zhu, J., Yu, H., Fan, H., Liu, H., & Shi, Y. (2001). Design of new selective inhibitors of cyclooxygenase-2 by dynamic assembly of molecular building blocks. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 15, 447–463. <https://doi.org/10.1023/a:1011114307711>
- Zilifdar Foto, F., Foto, E., Ertan-Bolelli, T., & Yildiz, I. (2022). Biological activity and ADME/Tox prediction of some 2-substituted benzoxazole derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 123, 105756. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.105756>