



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**YENİ BENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN TASARLANMASI,
DOCKİNG ÇALIŞMALARI, SENTEZ VE ANTI-
ENFLAMATUVAR, ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

HIND MOHAMMED OSMAN KHALIFA

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof.Dr. Canan KUŞ

ANKARA

2024

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ BENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN TASARLANMASI,
DOCKİNG ÇALIŞMALARI, SENTEZ VE ANTİ-
ENFLAMATUVAR, ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

HIND MOHAMMED OSMAN KHALİFA

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof.Dr. Canan KUŞ

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün TDK-2022-2524 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

2024

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum **“Yeni Benzimidazol Türevlerinin Tasarlanması, Docking Çalışmaları, Sentez ve Anti-enflamatuvar, Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması”** 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: HIND MOHAMMED OSMAN KHALIFA

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Anabilim Dalında

HIND MOHAMMED OSMAN KHALIFA tarafından hazırlanan

“Yeni Benzimidazol Türevlerinin Tasarlanması, Docking Çalışmaları, Sentez ve Anti-enflamatuvar,

Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması” adlı

tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Raportör

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Üye

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Üye

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Üye

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

İmza

Prof.Dr.Fügen AKTAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Yeni Benzimidazol Türevlerinin Tasarlanması, Docking Çalışmaları, Sentez ve Anti-enflamatuvar, Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması

NSAİ'lerin çeşitli formları arasında, imidazol ve altı üyeli halkalarla kaynaşmış imidazol türevleri, analjezik ve anti-enflamatuvar ilaçlar olarak önemli bir role sahiptirler. Benzimidazol parçasının, anti-enflamatuvar ilaçlar için minimum yapısal gereklilikleri karşılamakta olduğu bildirilmiştir. Benzimidazol parçası içeren birçok molekülün analjezik aktivitenin yanı sıra önemli anti-enflamatuvar ve antioksidan aktiviteler de sahip olduğu bildirilmiştir. Bu araştırmanın amacı, yeni benzimidazol türevlerinin tasarımı, sentezi, karakterizasyonu, docking çalışmaları, anti-enflamatuvar ve antioksidan aktivitelerinin araştırılmasıdır.

5-(4-Klorofenoksi)- veya 5-(benziloksi)-2-nitroanilin, DMF içinde anhidr K_2CO_3 varlığında, 5-kloro-2-nitroanilin ve 4-kloro-fenol veya benzil alkolden sentezlendi. 5-kloro-4-floro-2-nitroanilin veya 5-kloro-*N*¹-etil-4-floro-2-nitroanilin ve morfolin, DMSO içinde 145-150 °C'de 6 saat ısıtıldı. 5-Kloro-4-floro-2-nitroanilin ve 1-fenilpiperazin ve anhidroz K_2CO_3 , DMF içinde 60 °C'de 6 saat ısıtıldı. 2,4-Dikloro-1-nitrobenzen DMF içinde çözüldü, ardından (4-klorofenil)metanamin ve anhidroz K_2CO_3 eklendi ve karışım 80 °C'de 6 saat ısıtıldı. 1-kloro-2-nitrobenzen, propilamin ve anhidroz K_2CO_3 ile 80 °C'de 3 saat boyunca reaksiyona sokuldu. Yukarıdaki tüm ara ürünler soğuk su ilavesinden sonra elde edildi, süzüldü, kurutuldu ve etanol ile kristallendirildi. Yukarıdaki ara ürünlerdeki nitro grubu $SnCl_2/HCl$ ile ortamda redüklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika karıştırıldı. Redüklenen bileşikler, DMF içinde 135 °C'de 12 saat boyunca ilgili süstitüe benzaldehitlerin sodyum metabisülfid tuzları ile reaksiyonda kullanıldı. Hedef bileşikler **H1-H26**'yı elde etmek için kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 4-(6-kloro-5-floro-1H-benzo[d]imidazol-2-il)benzonitril bileşiği hidroksilamonyum klorür $NH_2OH.HCl$ ve potasyum tert-butoksit $KO.t-But$ ile reaksiyona sokularak **H27** bileşiği elde edildi. Nihai **H1-H27** bileşiklerinin kimyasal yapıları çeşitli spektral yöntemler (MS, 1H NMR ve ^{13}C NMR) kullanılarak tespit edilmiştir. Sentezlenen bileşikler, İnsan Kırmızı Kan Hücreleri Membran Stabilizasyon Kapasitesi kullanılarak anti-enflamatuvar aktivitesi açısından test edilmiş ve ABTS ve DPPH kullanılarak antioksidan aktivite açısından test edilmiştir. Yerleştirme çalışması Cresset Flare yazılımı kullanılarak COX-1, COX-2 ve sitokrom oksidaz enzimlerine karşı yapıldı ve ilgili skorlar kaydedildi. Farmakokinetik özellikler ve ilaç benzerlikleri SwissADMET çevrimiçi sunucusu kullanılarak tahmin edilmiştir.

İnsan kırmızı kan hücresi membranlarının stabilizasyon kapasitesinde en yüksek aktivite sırasıyla %79,35 ve %78,42 stabilizasyon kapasitesi ile **H11** ve **H22**'de bulunmuştur. Yeni sentezlenen moleküllerin DPPH serbest radikal süpürme etkileri en yüksek inhibisyonu **H27** bileşiğinde (%48,04) göstermiştir. Bu aktiviteyi %35,32 inhibisyon ile **H22** takip etmiştir. Yeni sentezlenen moleküllerin ABTS serbest radikali üzerindeki süpürücü etkileri, 0,01 mM, 0,1 mM ve 1 mM konsantrasyonlarda sırasıyla %31,89; %93,02 ve %94,40 ile en yüksek inhibisyonu **H27**'nin gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu aktiviteyi 0,1 mM'da %28,22 ve 1 mM için %84,93 ile **H22** izlemiştir. En yüksek total antioksidan kapasiteye sahip molekül gram numune başına $48,33 \pm 1,47$ mg AAE ile **H27** olarak bulunmuştur. Sentezlenen bileşikler arasında en yüksek anti-enflamatuvar aktiviteyi sergileyen **H11** bileşiğinin yerleştirme çalışması, COX enzimine bağlandığında daha kararlı bir bağlanma etkileşiminin göstergesi olarak daha düşük bir enerji skoru göstermiştir (-10,01 kcal/mol). Ayrıca **H27** bileşiği sitokrom oksidaz ile yerleştirildiğinde yüksek antioksidan aktivite ve düşük enerji skoru (-8,02 kcal/mol) ile yüksek kararlılıkta bağlanma göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: anti-enflamatuvar aktivite, antioksidan aktivite, benzimidazol, sentez.

SUMMARY

Designing New Benzimidazole Derivatives, Docking Studies, Synthesis and Investigation of Anti-Inflammatory, Antioxidant Activities

Among the several forms of NSAIDs, imidazole and fused imidazole with six-membered rings hold a prominent role as analgesic and anti-inflammatory medicines. The benzimidazole moiety meets the minimum structural requirements for anti-inflammatory drugs. It has been reported that many molecules containing benzimidazole moiety have significant anti-inflammatory as well as analgesic and antioxidant activities. The aim of this study to design, synthesize, characterize, docking Studies and investigate the anti-inflammatory and antioxidant activities of new benzimidazole derivatives.

5-(4-chlorophenoxy)- or 5-(benzyloxy)-2-nitroanilin was synthesized from 5-chloro-2-nitroaniline and 4-Chloro-phenol or benzyl alcohol, respectively, in the presence of anhydrous K_2CO_3 in DMF. 5-chloro-4-fluoro-2-nitroaniline or 5-chloro-*N*¹-ethyl-4-fluoro-2-nitroaniline and morpholine were heated in DMSO at 145-150 °C for 6 hours. 5-Chloro-4-fluoro-2-nitroaniline dissolved in DMF with 1-phenylpiperazine and anhydrous K_2CO_3 , then heated at 60 °C for 6 hours. 2,4-Dichloro-1-nitrobenzene was dissolved in DMF, then (4-chlorophenyl)methanamine and anhydrous K_2CO_3 were added and the mixture was heated at 80 °C for 6 hours. 1-chloro-2-nitrobenzene was reacted with propylamine and anhydrous K_2CO_3 at 80 °C for 3 hours. All the intermediate products above were obtained after addition of cold water, filtered, dried, and crystallized by ethanol. The nitro group in the above intermediates was reduced in the medium with $SnCl_2/HCl$ and stirred at room temperature for 30 minutes. The reduced compounds were used in reaction with sodium metabisulfite salts of the respective substituted benzaldehydes in DMF at 135 °C for 12 hours. The target compounds **H1-H26** were purified by column chromatography. Compound 4-(6-chloro-5-fluoro-1*H*-benzo[d]imidazol-2-yl)benzonitrile was reacted with hydroxylammonium chloride $NH_2OH.HCl$ and potassium tert-butoxide $KO.t\text{-}But$ to obtain compound **H27**. The chemical structures of the final compounds **H1-H27** were deduced using various spectral tools (MS, 1H NMR and ^{13}C NMR). The synthesized compounds were tested for its anti-inflammatory activity using Human Red Blood Cell Membrane Stabilisation Capacity and tested for antioxidant activity using ABTS and DPPH. The docking study was done against COX-1, COX-2 and cytochrome oxidase enzymes using Cresset Flare software and the corresponding scores were recorded. Complementary pharmacokinetics properties and their drug likeness was predicted using SwissADMET online server.

The highest activity in stabilisation capacity of human red blood cell membranes was found in **H11** and **H22** with 79.35% and 78.42% stabilisation capacity, respectively. The DPPH free radical scavenging effects of the newly synthesised molecules showed the highest inhibition in compound **H27** (48.04%). This activity was followed by **H22** with 35.32% inhibition. The scavenging effects of the newly synthesised molecules on ABTS free radical showed the highest inhibition of **H27** with 31.89%, 93.02% and 94.40% at 0.01 mM, 0.1 mM and 1 mM concentrations, respectively. This activity was followed by **H22** with 28.22% at 0.1 mM and 84.93% for 1 mM. The molecule with the highest total antioxidant capacity was found to be **H27** with 48.33 ± 1.47 mg AAE per gram sample. The docking study of compound **H11**, which exhibited the highest anti-inflammatory activity among the synthesised compounds, showed a lower energy score (-10.01 kcal/mol) indicative of a more stable binding interaction when bound to the COX enzyme. Furthermore, compound **H27** shows high antioxidant activity and high stability binding with a low energy score (-8.02 kcal/mol) when docked with cytochrome oxidase.

Keywords: anti-inflammatory activity, antioxidant activity, benzimidazole, synthesis.

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	ivv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	x
Simgeler ve Kısaltmalar	xiv
Şekiller	xiv
Çizelgeler	xix
1. GİRİŞ	1
1.1. Enflamasyon	1
1.1.1. Akut Enflamasyon	1
1.1.2. Kronik Enflamasyon	2
1.1.3. Enflamatuvar Yolak	2
1.1.3.1. İnflamasyon İndükleyicileri ve Sensörleri	3
1.1.3.2. Enflamasyon Aracıları ve Eftörleri	4
1.1.4. Eikosanoitler	6
1.1.4.1. Siklooksijenaz Yolları	6
1.2. Non-Steroida Antienflamatuvar İlaçlar (NSAİİ'ler)	10
1.3. Moleküler Hedef Olarak COX Enzimleri	13
1.4. Oksijen Biyolojisi ve Tıp	14
1.5. Serbest Radikaller (SR) ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	15
1.6. Oksidatif Stres	18
1.7. Antioksidan	20
1.7.1. Antioksidan Testleri	21
1.8. Literatür Taraması	23
1.8.1. Benzimidazollerin Biyolojik Aktiviteleri	23
1.8.2. Benzimidazollerin Anti-Enflamatuvar ve Analjezik Aktiviteleri	26
1.8.3. Anti-İnflamatuvar Bileşikler Olarak Benzimidazol Türevlerinin Yapı-Aktivite İlişkileri (SAR)	27
1.8.4. Anti-Enflamatuvar Bileşikler Olarak Benzimidazol Türevleri	31
1.8.5. Antioksidan Bileşikler Olarak Benzimidazol Türevleri	55
2. GEREÇ VE YÖNTEM	82
2.1. Gereç	82
2.1.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentezleri, Saflaştırma işlemleri ve Yapı Analizlerinde Kullanılan Gereçler.	82

2.1.1.1. Sentez İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler	82
2.1.1.2. Kromatografik Analizler	82
2.1.1.3. Erime Noktası Tayinleri	83
2.1.1.4. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizleri (^1H , ^{13}C)	83
2.1.1.5. Kütle (Mass) Spektrumları	83
2.1.2. Elde Edilen Bileşiklerin Anti-İnflamatuar ve Antioksidan Etki Tayininde Kullanılan Gereçler	83
2.2. Yöntem	84
2.2.1. H1-H13 Bileşiklerinin Sentezi	84
2.2.1.1. 5-(4-Klorofenoksi)-2-nitroanilin (4) veya 5-(Benziloksi)-2-nitroanilin (5)	85
2.2.1.2. 4-(4-Klorofenoksi)-orto-fenilendiamin (6) ve 4-(Benziloksi)-orto-fenilendiamin (7)	85
2.2.1.3. Sübstitüe Benzaldehitlerin Sodyum Metabisüfit Tuzları (9)	86
2.2.1.4. H1-H13 Benzimidazol Türevlerinin Sentezi	86
2.2.2. H14-18 Bileşiklerinin Sentezi	86
2.2.3. H19-H21 ve H22 Bileşiklerinin Sentezi	87
2.2.4. H23 Bileşiğinin Sentezi	88
2.2.5. H24 ve H25 Bileşiklerinin Sentezi	90
2.2.6. H26 Bileşiğinin Sentezi	91
2.2.7. H27 Bileşiğinin Sentezi	92
2.2.8. Elde Edilen Sonuç Bileşiklerin Anti-enflamatuar Etki Tayini Yöntemi	92
2.2.8.1. İnsan Kırmızı Kan Hücre Membran Stabilizasyon Kapasitesi	92
2.2.9. Elde Edilen Sonuç Bileşiklerin Antioksidan Etki Tayini Yöntemi	93
2.2.9.1. DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi	93
2.2.9.2. ABTS Radikal Katyon Renk Giderme Testi	93
2.2.9.3. Total Antioksidan Kapasite Tayini	94
2.2.10. İstatistiksel Analiz	94
2.2.11. Moleküler Yerleştirme Çalışmaları	95
2.2.11.1. Ligand Hazırlama	95
2.2.11.2. Hedef Hazırlama	95
2.2.11.3. Sentezlenen Bileşiklerin Önerilen Hedeflerle Moleküler Yerleştirilmesi	95
2.2.12. İlaç Benzerlik Çalışmaları	95
3. BULGULAR	96
3.1. Kimya	96
3.1.1. 5-(4-Klorofenoksi)-2-nitroanilin (4)	96
3.1.2. 5-(Benziloksi)-2-nitroanilin (5)	96
3.1.3. 4-Fluoro-5-morfolino-2-nitroanilin (14)	97
3.1.4. 4-Fluoro-2-nitro-5-(4-fenilpiperazin-1-il)anilin (15)	97
3.1.5. 5-Kloro-N-(4-klorobenzil)-2-nitroanilin (20)	98

3.1.6. 5(6)-(Benziloksi)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol (H1)	99
3.1.7. 5(6)-(Benziloksi)-2-(2-metoksifenil)-1H-benzimidazol (H2)	102
3.1.8. 5(6)-(Benziloksi)-2-(2,5-difluorofenil)-1H-benzimidazol (H3)	104
3.1.9. 4-(5(6)-(Benziloksi)-1H-benzimidazol-2-il)benzonitril (H4)	107
3.1.10. 4-(5(6)-(Benziloksi)-1H-benzimidazol-2-il)benzoik asit (H5)	110
3.1.11. 5(6)-(Benziloksi)-2-(2,6-diklorofenil)-1H-benzimidazol (H6)	113
3.1.12. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(2-metoksifenil)-1H-benzimidazol (H7)	116
3.1.13. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(4-metoksifenil)-1H-benzimidazol (H8)	119
3.1.14. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(3,4-dimetoksifenil)-1H-benzimidazol (H9)	122
3.1.15. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(2,4-dimetoksifenil)-1H-benzimidazol (H10)	125
3.1.16. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(2,6-diklorofenil)-1H-benzimidazol (H11)	128
3.1.17. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(2,4-diklorofenil)-1H-benzimidazol (H12)	131
3.1.18. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(2,5-difluorofenil)-1H-benzimidazol (H13)	133
3.1.19. 6-Kloro-2-(2,5-difluorofenil)-1-etil-5-fluoro-1H-benzimidazol (H14)	135
3.1.20. 5(6)-Kloro-2-(2,4-dimetoksifenil)-5(6)-fluoro-1H-benzimidazol (H15)	137
3.1.21. 5(6)-Kloro-2-(3,4-dimetoksifenil)-5(6)-fluoro-1H-benzimidazol (H16)	139
3.1.22. 5(6)-Kloro-2-(2,6-diklorofenil)-5(6)-fluoro-1H-benzimidazol (H17)	141
3.1.23. 5(6)-Kloro-2-(2,4-diklorofenil)-5(6)-fluoro-1H-benzimidazol (H18)	143
3.1.24. 4-(2-(2,4-Diklorofenil)-5-fluoro-1H-benzimidazol-6-il)morfolin (H19)	145
3.1.25. 4-(2-(2,6-Diklorofenil)-5-fluoro-1H-benzimidazol-6-il)morfolin (H20)	148
3.1.26. 4-(2-(2,5-Difluorofenil)-1-etil-5-fluoro-1H-benzimidazol-6-il)morfolin (H21)	150
3.1.27. 2-(2,6-Diklorofenil)-5-fluoro-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol (H22)	152
3.1.28. 6-Kloro-1-(4-klorobenzil)-2-(2,5-difluorofenil)-1H-benzimidazol (H23)	155
3.1.29. 2-(2,4-Dimetoksifenil)-1-propil-1H-benzimidazol (H24)	157
3.1.30. 2-(2,5-Difluorofenil)-1-propil-1H-benzimidazol (H25)	160
3.1.31. 6-Kloro-2-(2,5-difluorofenil)-1H-benzimidazol (H26)	162
3.1.32. 4-(6-Kloro-5-fluoro-1H-benzimidazol-2-il)-N'-hidroksibenzimidamid (H27)	164
3.2. Sentezlenen Bileşiklerin Biyolojik Aktiviteleri	166
3.2.1. Anti-enflamatuvar Etkinlik Tayini	166
3.2.1.1. İnsan Kırmızı Kan Hücre Membran Stabilizasyon Kapasitesi	166
3.2.2. Antioksidan Etkinlik Tayini	166
3.2.2.1. DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi	167
3.2.2.2. ABTS Radikal Katyon Renk Giderme Testi	167
3.2.2.3. Total Antioksidan Kapasite Tayini	169
3.3. Moleküler Yerleştirme Çalışmaları	170
3.4. İlaç Benzerlik Çalışmaları	174
4. TARTIŞMA	176
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	182

KAYNAKLAR	183
ÖZGEÇMİŞ	207

183
207

ÖNSÖZ

Moleküler yerleştirme, ilaç keşfinde yaygın olarak kullanılan PC yapı tabanlı bir yöntemdir. Docking, diğer hedef modölatörlerin kimyasal yapısını önceden bilmeden, terapötik açıdan ilgi çekici yeni bileşiklerin tanımlanmasını, ligand-hedef etkileşimlerinin moleküler düzeyde tahmin edilmesini veya yapı-aktivite ilişkilerinin tanımlanmasını sağlamaktadır.

Bu tezi tamamlamak, akademik yolculuğumda önemli bir kilometre taşını temsil etmektedir ve bu süreçte bana destek olan ve cesaret veren birçok kişi ve kurum bulunmaktadır, onlara derin bir minnettarlık duyarım.

İlk olarak, bu araştırma sürecindeki rehberliği, uzmanlığı ve kararlı desteği ile başta danışmanım sevgili hocam Sayın **Prof. Dr. Canan KUŞ** olmak üzere tüm kalbimle teşekkür ederim. Onun değerli geri bildirimleri ve özverisi gerçekten bu çalışmayı zenginleştirdi.

Özel teşekkürlerimi, Merkez Laboratuvarı'ndaki Sayın **Prof. Dr. Hakan GÖKER**'e sunmak istiyorum. Onun uzmanlığı ve işbirliği, bu araştırma projesinin başarısında vazgeçilmezdi. Mentörlüğü ve sağladığı bakış açıları, çalışmamın derinliğine ve kalitesine önemli katkılarda bulundu.

Bu tezde sunulan araştırmayı yapabilmemde sağlanan destek için **Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler**'ine derin bir teşekkür borçluyum. Akademik mükemmelliğe yaptıkları yatırım, bu çalışmanın şekillenmesinde kritik bir rol oynamıştır.

Bu tezin tamamlanmasında büyük destek olan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine, bilgi ve deneyimlerde her zaman yardımcı oldukları için teşekkür etmek isterim. Ayrıca, çalışmalarım sırasında yardımlarını hiç esirgemeyen araştırma asistanları, yüksek lisans ve doktora öğrencilerine de minnettarım.

Bu tezde biyolojik aktivite çalışmalarının yapılmasında katkıları olan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Anabilim Dalı'ndan **Prof.Dr. Tülay ÇOBAN** ve **Doç.Dr. Sezen YILMAZ SARIALTIN**'a içtenlikle teşekkür ederim.

Aileme, sürekli teşvikleri ve yeteneklerime olan inançları için minnettarım. Onların sevgisi, sabrı ve anlayışı, akademik hedeflerime kararlılıkla ilerlememi sağlayan güç kaynağım oldu.

Eşim **Hassan**'a, çalışmalarına odaklanmamı mümkün kılan kararlı desteği ve anlayışı için minnettarım. Onun teşviki ve benim hedeflerimdeki inancı, sürekli bir motivasyon kaynağı olmuştur.

Son olarak, ama en önemlisi, çocuğum **Mohammed**'e teşekkür ederim. Merakın, neşenin ve varlığının hayatıma getirdiği mutluluk ve denge, azmin önemini ve öğrenmenin güzelliğini hatırlatmıştır.

Bu tez, beni en yakınlarımdan ve potansiyelime inanan kurumlardan aldığım toplu destek ve teşviklerin bir kanıtıdır. Bu çalışmayı, derin bir minnettarlıkla onlara adıyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAE	Askorbik Asit Eşdeğeri
ABTS	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ADP	Adenozin Difosfat
ATP	Adenozin-5-Trifosfat
BHT	Bütil Hidroksi Toluen
COX	Siklooksijenaz
CUPRAC	Kuprik İyon İndirgeyici Antioksidan Kapasite
DH	Dendritik Hücre
DMF	N,N-dimetil formamid
DMPD	N,N-dimetil- <i>p</i> -fenilendiamin dihidroklorür
DMSO	dimetil sülfoksit
DPPH	2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
EROD	7-Etoksi-Resorufin-O-Deetilaz
ESI	Elektrosprey İyonizasyon
FC	Folin-Ciocalteu
FDA	ABD Gıda ve İlaç İdaresi
FRAP	Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç
FTC	Ferrik Tiyosiyanat
GSH	Glutatyon
HAT	Hidrojen atomu transferi
HBA	Hidrojen Bağ Alıcısı
HBD	Hidrojen Bağ Donörü
HETE	Hidroksieikosatetraenoik Asit

HORAC	Hidroksil Radikal Önleme Kapasitesi
HPETE	Hidroperoksiyeikosatetraenoik Asit
IgE	İmmünoglobulin E
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
LOX	Lipoksijenaz
LPO	Lipid Peroksidasyonu
LPS	Lipopolisakkarit
LT	Lökotrien
MA	Molekül Ağırlığı
MCA	metal şelatlama aktivitesi
MS	Kütle spektrometrisi
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
NO	Nitrik Oksit
n-roth	Döndürülebilir Bağ Sayısı
NSAİİ	Non-Steroidial Antienflamatuvar İlaç
OD	Optik Yoğunluğu
ORAC	oksijen radikal absorban kapasitesi
PG	Prostaglandin
PLA ₂	Fosfolipaz A ₂
RAT	Reaktif Azot Türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SAR	Yapı-Aktivite İlişkisi
SET	Tek Elektron Transferi
SR	Serbest Radikal

SRSA	süperoksit radikal önleme aktivitesi
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TEAC	Troloks Eşiti Antioksidan Kapasite
TNF- α	Tümör Nekroz Faktörü- α
TPSA	Topolojik Kutupsal Yüzey Alanı
TRAP	Toplam Radikal Yakalama Antioksidan Parametresi
TX	Tromboksan
VDKH	Vasküler Düz Kas Hücre
YFT	Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Bir enflamatuar reaksiyonda olayların sırası.	3
Şekil 1.2. AA metabolitlerinin üretimi ve enflamasyondaki rolleri.	10
Şekil 1.3. Bazı NSAİİ'lerin kimyasal yapıları.	13
Şekil 1.4. Reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretim ve temizlenme yolları.	18
Şekil 1.5. Homeostaz, serbest radikal ve antioksidan seviyeleri arasındaki dengedir.	20
Şekil 1.6. Benzimidazolün yapısı.	23
Şekil 1.7. Benzimidazollerin sentezi için kullanılan ilk şemalar.	23
Şekil 1.8. Benzimidazoller için sentetik yöntemler.	24
Şekil 1.9. 1H-benzimidazol ve bazı benzimidazol içeren ilaçlar.	26
Şekil 1.10. Analjezik ve anti-enflamatuar aktiviteler için etkili benzimidazollerin, klinik olarak onaylanmış, etkileştiği hedefler.	27
Şekil 1.11. Benzimidazol türevlerinin anti-enflamatuar aktivite için, yapı-aktivite ilişkileri.	28
Şekil 1.12. Anti-enflamatuar aktiviteye sahip benzimidazol türevlerinin yapı aktivite ilişkisi (SAR)	29
Şekil 1.13. Analjezik ve anti-enflamatuar olarak benzimidazol türevlerinin SAR'ı.	30
Şekil 1.14. Süstitüe pirid-2-il benzimidazol türevlerinin SAR'ı.	30
Şekil 1.15. MBPHYD, MBNHYD, MBHYDX bileşiklerinin yapısı.	31
Şekil 1.16. 4a-d, 5a-b bileşiklerinin yapısı.	31
Şekil 1.17. 3a-i bileşiklerinin yapısı.	32
Şekil 1.18. 3a-l bileşiklerinin yapısı.	33
Şekil 1.19. Bileşik 3j 'nin COX-2 enzimi ile etkileşimleri.	33
Şekil 1.20. 5, 6-7, 8-16 bileşiklerinin yapısı.	34
Şekil 1.21. 5a-r bileşiklerinin yapısı.	35
Şekil 1.22. Ligandların (CEL, 5g ve 5o) COX-2 (PDB: 3LN1) ile 3D ve 2D Grafiksel gösterimi.	36
Şekil 1.23. 11, 12a-c, 13, 14, 15a-c, 16, 17, 18, 19 bileşiklerinin yapısı.	37
Şekil 1.24. Selekoksib ve 16 'nın COX-2 aktif bölgesine kenetlenmiş kompleksleri. (A) Selekoksibin 2D yapısı. (F) Bileşik 16'nın 2D yapısı.	38
Şekil 1.25. 4a-f bileşiklerinin yapısı.	38
Şekil 1.26. 7a-r bileşiklerinin yapısı.	39
Şekil 1.27. 4a-f bileşiklerinin yapısı.	40
Şekil 1.28. A1-4, B1-4, C1-4 bileşiklerinin yapısı.	40
Şekil 1.29. 1-11 bileşiklerinin yapısı.	41
Şekil 1.30. 6a-g, 7a-h bileşiklerinin yapısı.	42
Şekil 1.31. 2a-f, 3b, 3c, 3g, 4b, 4c ve 4h bileşiklerinin yapısı.	43
Şekil 1.32. CuL ₂ ve ZnL ₂ komplekslerinin yapısı	43
Şekil 1.33. 3a-m bileşiklerinin yapısı.	44
Şekil 1.34. 10a-j bileşiklerinin yapısı.	45
Şekil 1.35. 1-12 bileşiklerinin yapısı.	46

Şekil 1.36. 6a-e, 7a-e, 8a-e bileşiklerinin yapısı.	47
Şekil 1.37. (A)-(D) 7b, 7c, 8b ve 8c bileşiklerinin insan COX-2 ile moleküler yerleştirme bağlanma pozları.	47
Şekil 1.38. 11a-l ve 12a-f bileşiklerinin yapısı.	48
Şekil 1.39. Selekoksib (a) ve (b) bileşiği 11b (c) ve (d)'nin 2D ve 3D interaksyonu.	49
Şekil 1.40. 5a-o bileşiklerinin yapısı.	50
Şekil 1.41. 3a-o bileşiklerinin yapısı.	51
Şekil 1.42. 4k Bileşiğinin COX-2'nin bağlanma bölgesinin amino asit rezidüleri ile bağlanma etkileşimlerinin 3D (a) ve 2D (b) sunumu.	51
Şekil 1.43. 4j Bileşiğinin COX-2'nin bağlanma bölgesinin amino asit rezidüleri ile bağlanma etkileşimlerinin 3D (a) ve 2D (b) sunumu.	51
Şekil 1.44. 5a-x bileşiklerinin yapısı.	52
Şekil 1.45. (a, b, c) 5w bileşiğinin COX-1 (PDB ID: 4OZ1) ve (d, e, f) COX-2 (PDB ID: 5IKQ) aktif bölgesindeki protein-ligand interaksyonları.	53
Şekil 1.46. 6a-o bileşiklerinin yapısı.	54
Şekil 1.47. 2-11 bileşiklerinin yapısı.	54
Şekil 1.48. 1-20 bileşiklerinin yapısı.	56
Şekil 1.49. BK1-7 bileşiklerinin yapısı.	57
Şekil 1.50. 3a-e bileşiklerinin yapısı.	57
Şekil 1.51. 4a-d, 5, 6a-b, 7a-b ve 8a-b bileşiklerinin yapısı.	58
Şekil 1.52. 1-20 bileşiklerinin yapısı.	59
Şekil 1.53. 4a-e, 5a-e bileşiklerinin yapısı.	60
Şekil 1.54. 2-4, 5a-h, 6a-h bileşiklerinin yapısı.	60
Şekil 1.55. 1-31 bileşiklerinin yapısı.	62
Şekil 1.56. 5a-l bileşiklerinin yapısı.	62
Şekil 1.57. Bileşik 5'in yapısı.	63
Şekil 1.58. 6a, 7a bileşiklerinin yapısı.	63
Şekil 1.59. 3a-h bileşiklerinin yapısı.	64
Şekil 1.60. BNZ1-19 bileşiklerinin yapısı.	64
Şekil 1.61. 3-40, 45 bileşiklerinin yapısı.	67
Şekil 1.62. 1-2 bileşiklerinin yapısı.	67
Şekil 1.63. 9a-l bileşiklerinin yapısı.	68
Şekil 1.64. 1-16 bileşiklerinin yapısı.	69
Şekil 1.65. 7-12 bileşiklerinin yapısı.	70
Şekil 1.66. 7a-n bileşiklerinin yapısı.	70
Şekil 1.67. 3-15 bileşiklerinin yapısı.	71
Şekil 1.68. 1a-h, 2a-h bileşiklerinin yapısı.	72
Şekil 1.69. 3A-(1-3), 3B-(1-2) bileşiklerinin yapısı.	73
Şekil 1.70. 2a-g, 3-5 bileşiklerinin yapısı.	73

Şekil 1.71. PDB: 2X08 c peroksidaz enziminin askorbik asit ve bileşiklerle (2a ve 5) 3D ve 2D etkileşimi.	74
Şekil 1.72. 1-3(a, b), 4a-d bileşiklerinin yapısı.	75
Şekil 1.73. 1A-5A bileşiklerinin yapısı.	76
Şekil 1.74. 1-12 bileşiklerinin yapısı.	76
Şekil 1.75. C1 bileşiğinin yapısı.	77
Şekil 1.76. 10a-j bileşiklerinin yapısı.	77
Şekil 1.77. III bileşiğinin yapısı.	78
Şekil 1.78. 1-9 bileşiklerinin yapısı.	78
Şekil 1.79. F1-F5 bileşiklerinin yapısı.	79
Şekil 1.80. 3a-g bileşiklerinin yapısı.	79
Şekil 1.81. 1-3 bileşiklerinin yapısı.	80
Şekil 2.1. H1-H13 bileşiklerinin sentezi.	85
Şekil 2.2. H14-H18 bileşiklerinin sentezi.	87
Şekil 2.3. H19-H22 bileşiklerinin sentezi.	90
Şekil 2.4. H23 bileşiğinin sentezi.	90
Şekil 2.5. H24, H25 bileşiklerinin sentezi.	91
Şekil 2.6. H26 bileşiğinin sentezi.	91
Şekil 2.7. H27 bileşiğinin sentezi.	92
Şekil 3.1. H1 bileşiğinin kütle spektrumu.	100
Şekil 3.2. H1 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.	100
Şekil 3.3. H1 bileşiğinin COSY ¹ H-NMR spektrumu.	101
Şekil 3.4. H1 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.	101
Şekil 3.5. H2 bileşiğinin kütle spektrumu.	102
Şekil 3.6. H2 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.	103
Şekil 3.7. H2 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.	103
Şekil 3.8. H3 bileşiğinin kütle spektrumu.	105
Şekil 3.9. H3 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.	105
Şekil 3.10. H3 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.	106
Şekil 3.11. H4 bileşiğinin kütle spektrumu.	108
Şekil 3.12. H4 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.	108
Şekil 3.13. H4 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.	109
Şekil 3.14. H5 bileşiğinin kütle spektrumu.	111
Şekil 3.15. H5 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.	111
Şekil 3.16. H5 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.	112
Şekil 3.17. H6 bileşiğinin kütle spektrumu.	114
Şekil 3.18. H6 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.	114
Şekil 3.19. H6 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.	115
Şekil 3.20. H7 bileşiğinin kütle spektrumu.	117

Şekil 3.21. H7 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	117
Şekil 3.22. H7 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.	118
Şekil 3.23. H8 bileşiğinin kütle spektrumu.	120
Şekil 3.24. H8 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	120
Şekil 3.25. H8 bileşiğinin COSY ^1H -NMR spektrumu.	121
Şekil 3.26. H8 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.	121
Şekil 3.27. H9 bileşiğinin kütle spektrumu.	123
Şekil 3.28. H9 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	123
Şekil 3.29. H9 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.	124
Şekil 3.30. H10 bileşiğinin kütle spektrumu.	126
Şekil 3.31. H10 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	126
Şekil 3.32. H10 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.	127
Şekil 3.33. H11 bileşiğinin kütle spektrumu.	129
Şekil 3.34. H11 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	129
Şekil 3. 35. H11 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.	130
Şekil 3.36. H12 bileşiğinin kütle spektrumu.	132
Şekil 3.37. H12 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	132
Şekil 3.38. H13 bileşiğinin kütle spektrumu.	134
Şekil 3.39. H13 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	134
Şekil 3.40. H14 bileşiğinin kütle spektrumu.	136
Şekil 3.41. H14 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	136
Şekil 3.42. H15 bileşiğinin kütle spektrumu.	138
Şekil 3.43. H15 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	138
Şekil 3.44. H16 bileşiğinin kütle spektrumu.	139
Şekil 3.45. H16 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	140
Şekil 3.46. H17 bileşiğinin kütle spektrumu.	141
Şekil 3.47. H17 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	142
Şekil 3.48. H18 bileşiğinin kütle spektrumu.	143
Şekil 3.49. H18 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	144
Şekil 3. 50. H19 bileşiğinin kütle spektrumu.	146
Şekil 3.51. H19 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	146
Şekil 3.52. H19 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.	147
Şekil 3.53. H20 bileşiğinin kütle spektrumu.	148
Şekil 3.54. H20 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	149
Şekil 3.55. H20 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.	149
Şekil 3.56. H21 bileşiğinin kütle spektrumu.	151
Şekil 3.57. H21 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	151
Şekil 3.58. H22 bileşiğinin kütle spektrumu.	153
Şekil 3.59. H22 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	153

Şekil 3.60. H22 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.	154
Şekil 3.61. H23 bileşiğinin kütle spektrumu.	156
Şekil 3.62. H23 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.	156
Şekil 3.63. H24 bileşiğinin kütle spektrumu.	158
Şekil 3.64. H24 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.	158
Şekil 3.65. H24 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.	159
Şekil 3.66. H25 bileşiğinin kütle spektrumu.	161
Şekil 3.67. H25 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.	161
Şekil 3.68. H26 bileşiğinin kütle spektrumu.	163
Şekil 3.69. H26 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.	163
Şekil 3.70. H27 bileşiğinin kütle spektrumu.	165
Şekil 3.71. H28 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.	165
Şekil 3.72. H27 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.	166
Şekil 3.73. Askorbik asit standart kalibrasyon grafiği	170
Şekil 3.74. H11 bileşiği ve standart indometazin COX-1(PDB: 3N8Z) enzimi ile 2D etkileşimleri.	172
Şekil 3.75. H11 bileşiği ve standart indometazin COX-2 (PDB: 5IKQ) enzimi ile 2D etkileşimleri.	172
Şekil 3.76. H11 bileşiği ve standart indometazin COX-2 (PDB: 3N8Z) enzimi ile 3D etkileşimleri. Bileşik H11 pembe renkte, indometazin sarı renkte.	173
Şekil 3. 77. H27 bileşiği ve standart askorbik asit Sitokrom oksidaz (2X08) enzimi ile 2D etkileşimleri.	173
Şekil 3.78. H27 bileşiği ve standart askorbik asit sitokrom oksidaz (2X08) enzimi ile 3D etkileşimleri. Bileşik H27 mor renkte, askorbik asit sarı renkte.	173

ÇİZELGELER

Tablo 3.1. Yeni sentezlenen moleküller ve referans maddelerin insan kırmızı kan hücre membran stabilizasyon etkileri.	167
Tablo 3.2. Yeni sentezlenen moleküller ve referans maddelerin DPPH serbest radikalini süpürücü etkileri.	168
Tablo 3.3. Yeni sentezlenen moleküller ve referans maddelerin ABTS serbest radikalini süpürücü etkileri.	169
Tablo 3.4. Yeni sentezlenen moleküllerin total antioksidan kapasitesi.	170
Tablo 3.5. Sentezlenen bileşiklerin COX-1, COX-2 ve sitokrom oksidaza karşı yerleştirme enerji skoru.	171
Tablo 3.6. İncelenen bileşiklerin ilaç benzerlik değerlendirmesi.	174

1. GİRİŞ

1.1. Enflamasyon

İltihaplanma olarak bilinen enflamasyon, bağışıklık sisteminin vücudu çeşitli hastalık veya yaralanmalara karşı korumak amacıyla oluşturduğu bir tepkidir. Vücuttaki birçok iyileşme sürecinin temelinde, enflamasyon oluşumu yer alır. Enflamasyon, iyileşme sürecini hazırlamak için zararlı maddeyi lokalize, nötralize ve/veya yok etmek için çalışan spesifik olmayan bağışıklık sisteminin koruyucu bir reaksiyonudur. Bir dokunun vasküler ve destekleyici bileşenlerinin, proteinden zengin eksüda (kılcal damar etrafındaki hücrelerin enflamasyon nedeni ile sızdırdığı sıvı) oluşturan yaralanmaya verdiği lokal bir yanıttır. Enflamasyon esas olarak, kızarıklık, ateş, ağrı, tümör ve işlev kaybı gibi birincil semptomlarla tanınır. Kimyasal, fiziksel, immünolojik veya patojenik organizma enfeksiyonlarının hepsi iltihaplanmaya neden olabilir. Nedeni ne olursa olsun, enflamasyon muhtemel homeostazın yeniden tesis edilmesine yönelik adaptif bir reaksiyon olarak ortaya çıkmaktadır. (Price ve Lorraine, 1986)

Enflamatuvar yanıtın birincil hedefi, rahatsız edici etken veya maddenin etrafındaki dokuyu bulmak, ortadan kaldırmak ve iyileştirmektir. İnflamasyonun aşağıdaki gibi dört aşaması vardır: (James, 2004)

- Zararlı etkenlerin ortadan kaldırılması ve yok edilmesi
- Zararlı etkenlerin kontrol altına alınması
- Bağışıklık tepkisinin uyarılması ve güçlendirilmesi
- İyileşmenin teşvik edilmesi.

Enflamasyon akut ya da kronik olabilir.

1.1.1. Akut Enflamasyon

Akut enflamasyon, enfeksiyona veya doku hasarına karşı hızla gelişen bir reaksiyondur. Bu esnada, kan bileşenlerinin enfeksiyon veya hasar bölgesine ve ödemli dokuya, koordineli olarak iletilmesi de söz konusudur. (Graeme ve Guido, 1977) Makrofajlar ve mast hücreleri, enflamasyonun ilk tanımlanmasında rol oynar ve lokalize enflamatuvar eksüdaya neden olan çeşitli enflamatuvar araçların oluşumunu tetiklerler. (Pober ve Sessa, 2007) Nötrofiller aktive olduklarında, granüllerinden toksik bir madde salgılayarak istilacı davetsiz misafirleri ortadan kaldırmaya çalışırlar. Enfeksiyöz etkenlerin ortadan kaldırılması, başarılı bir akut enflamatuvar

yanıtın sonucudur ve bunu normal dokunun oluşturularak eski haline getirilmesi veya bir bağ doku skarının oluşması gibi onarım aşaması takip eder. (Serhan ve Savill, 2005) Akut enflamasyon birkaç haftadan daha uzun süre devam ederse kronik enflamasyon olarak kabul edilir. (James, 2004)

1.1.2. Kronik Enflamasyon

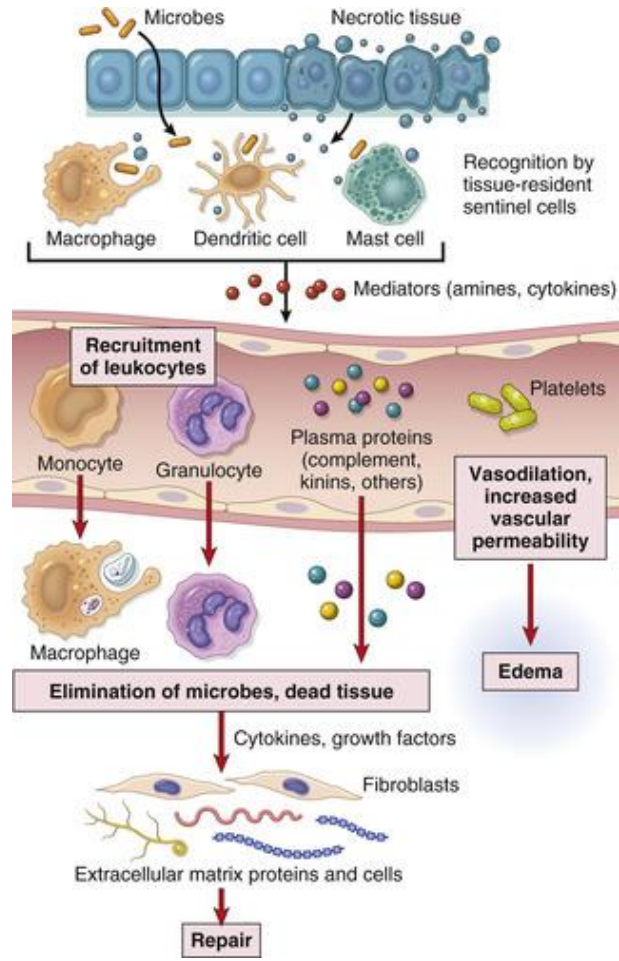
Kronik enflamasyon yavaş ve uzun sürelidir; haftalar, aylar ve hatta yıllar boyunca devam edebilir. Kronik enflamasyonun derecesi ve semptomları, yaralanmanın kaynağına ve vücudun iyileşme ve toparlanma gücüne göre değişir. Kronik enflamasyonun nedenleri arasında; vücudun akut enflamasyona neden olan maddelerden kurtulamaması, az miktarda tahriş edici veya yabancı maddeye maruz kalması veya bağışıklık sisteminin normal vücut parçalarını yabancı antijenler olarak yorumlaması (romatoid artrit vb. otoimmün bozukluklar) yer almaktadır. (Furman vd., 2019) Kronik enflamasyonda rol oynayan kilit hücreler; plazma hücreleri, lenfositler ve makrofajlardır. Bu hücreler doku bölgelerini istila eder ve granülom ve fibrozis dahil olmak üzere doku hasarını ve ikincil iyileşme süreçlerini destekleyen enflamatuvar sitokinleri, büyüme faktörleri ve enzimleri salgılar. (Fujiwara ve Kobayashi, 2005)

Dolaşımdaki lökositlerin kemotaksisini ve diapedezini teşvik eden sitokinler nedeniyle, selektinler ve integrinler yaralanma bölgesindeki endotel hücreleri tarafından salınır. Nötrofiller, antijenleri ya granüller ya da fagositoz yoluyla yok eder. Bir sonraki savunma yolağı, T ve B hücrelerini de içeren lenfositlerden oluşur. Sitokinleri salgılayarak, lenfositleri birlikte uyararak ve antikorlar ve immünolojik kompleksler üreterek enflamasyona aracılık etmede kritik bir rol oynarlar. Trombositler, trombosit agregasyonu, trombüs oluşturma ve bazı mediatörleri serbest bırakma yoluyla enflamasyona potansiyel olarak katkıda bulunabilir. Romatoid artrit, tüberküloz, ateroskleroz ve kronik akciğer hastalıkları, kronik enflamasyonla karakterize, en yaygın ve sakat bırakıcı hastalıklar arasındadır. (Lawrence ve Gilroy, 2007; Majno ve Joris, 2004)

1.1.3. Enflamatuvar Yolak

Enflamatuvar yolak, indükleyiciler, sensörler, araçlar ve efektörlerden oluşur ve her bir bileşen enflamatuvar yanıtın türünü belirler. İndükleyiciler, enflamatuvar yanıtı tetikleyen sinyallerdir. Özel sensörleri aktive ederek spesifik araçların üretimini uyarırlar. Araçlar da doku ve organların (enflamasyonun efektörleri) fonksiyonel durumlarını değiştirerek spesifik

enflamasyon indükleyicisi tarafından belirtilen koşullara uyum sağlamalarına olanak tanır. (Medzhitov, 2008)



Şekil 1.1. Bir enflamatuvar reaksiyonda olayların sırası. (Kumar vd., 2017)

1.1.3.1. İnflamasyon İndükleyicileri ve Sensörleri

İnflamasyon indükleyicileri şunları içerebilir:

- Ekzojen indükleyiciler.
- Endojen indükleyiciler.

➤ Ekzojen enflamasyon indükleyicileri

Ekzojen indükleyiciler iki kategoriye ayrılır: mikrobiyal ve mikrobiyal olmayan.

a. Mikrobiyal indükleyiciler; aşağıdakileri içerir

- Patojenle ilişkili moleküler kalıplar; patojenik veya kommensal (kommün, ortak) olmalarına bakılmaksızın belirli bir sınıftaki tüm mikroorganizmalar tarafından paylaşılan sınırlı ve iyi tanımlanmış bir dizi korunmuş moleküler kalıplardır. (Medzhitov ve Janeway, 1997)
- Virülans faktörleri; patojenlerle sınırlıdır. (Mariathasan vd., 2006)

b. Mikrobik olmayan indükleyiciler; tahriş edici maddeleri, alerjenleri, toksik bileşikler ve silika ve asbest gibi yabancı maddeleri içerir. (Herold ve Mrowka, 2019) Büyük yabancı cisimler ya sindirilmeyen parçacıklardır ya da makrofajlarda fagozomal membran hasarına neden olurlar, bu da fagositik bir kabın oluştuğu ancak bir fagozom oluşturacak şekilde kapanamadığı ve makrofajın bunun yerine vücut çevresinde bir granülom oluşturduğu engellenmiş fagositozla sonuçlanır. Bir makrofaj yabancı cisimlerle karşılaştığında, NALP3 enflamazomu (bir sensör) aktive olur. (Dostert vd., 2008; Rizki ve Rizki, 1992)

➤ **Endojen enflamasyon indükleyicileri**

Endojen enflamatuar indükleyiciler, stresli, hasarlı veya başka şekilde işlevsizleşen dokular tarafından üretilen sinyallerdir. (Medzhitov, 2008)

1.1.3.2. Enflamasyon Aracıları ve Eftörleri

İnflamatuar indükleyiciler, yerel dokularda bulunan hücreler tarafından salgılanabilen veya plazma proteinlerinden türetilen ve çok sayıda doku ve organın işlevselliğini değiştiren çok çeşitli enflamatuar mediatörlerin üretimini uyarır. Bu iltihap araçlarının birçoğu damar sistemi ve lökosit toplanması üzerinde benzer etkilere sahiptir. (Kumar vd., 2017)

Enflamasyon araçları, enflamatuar reaksiyonlarını başlatan ve düzenleyen maddelerdir. İnflamatuar araçlar, biyokimyasal özelliklerine göre yedi grupta sınıflandırılır: (Kumar vd., 2017; Majno ve Joris, 2004)

1. Vazoaktif aminler: histamin ve serotonin

Histamin esas olarak mast hücrelerinden, aynı zamanda bazofillerden ve trombositlerden salınır, vazodilatasyona, vasküler geçirgenliğin artmasına ve düz kasların kasılmasına neden olur. Serotonin trombositlerden, nöroendokrin hücrelerden ve kemirgenlerin mast hücrelerinden salgılanan vazoaktif bir mediyatördür. Anafilaktik şok sırasında, vazoaktif aminlerin ani etkileri vasküler ve solunumsal kollaps ile sonuçlanabilir. (Kumar vd., 2017)

2. Tamamlayıcı sistem (anafilatoksinler)

Bunlar, hem doğal hem de kazanılmış bağışıklıkta rol oynayan 20'den fazla çözünür protein ve bunların membran reseptörlerinden oluşan bir gruptur. Monosit ve granülosit toplanmasını teşvik ederler ve aktive edildiklerinde mast hücrelerini degranüle ederek kemotaksis, artmış vasküler geçirgenlik ve opsonizasyona neden olurlar. (Kumar vd., 2017)

3. Lipid araçlar (eikosanoidler ve trombosit aktive edici faktörler)

Siklooksijenaz (COX1 ve COX2) enzimleri tarafından üretilen prostaglandinler ve tromboksanları içeren eikosanoidler veya lipoksijenazlar (LOX) tarafından üretilen lökotrienler ve lipoksinler 2. Trombosit aktive edici faktörler, lizofosfatidik asit asetillendiğinde üretilir. Bu faktörler lökosit alımı, vazokonstriksiyon ve vazodilatasyon, vasküler geçirgenliğin artması ve trombosit aktivasyonu gibi çeşitli süreçleri uyarır. (Kumar vd., 2017; Majno ve Joris, 2004)

4. Sitokinler

Tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), İnterlökin-1 ve İnterlökin-6 gibi sitokinler, çoğunlukla makrofajlar, lenfositler ve dendritik hücreler tarafından salgılanan proteinlerdir. Enflamasyon sırasında akut faz yanıtını başlatmanın yanı sıra, endotelin, lökositler ve fibroblastlar dahil olmak üzere çeşitli hücrelerin aktivasyonuna katkıda bulunurlar. (Kumar vd., 2017)

5. Kemokinler

Yaklaşık 40 farklı kemokin ve 20 farklı kemokin reseptörü bulunmuştur ve bunlar akut enflamasyon sırasında lökositler için kemoatraktan olarak çalışırlar. Ayrıca, stromal hücreler tarafından salınan homeostatik kemokinler, bazı organlarda doku mimarisinin korunmasına yardımcı olur. (Kumar vd., 2017)

6. Diğer enflamatuar araçlar

Farklı koagülasyon ürünleri ve proteaz enzimleri enflamasyonda farklı işlevler görür. Bu proteazlar konak savunması, doku yeniden şekillenmesi ve lökosit göçü gibi çeşitli süreçler için çok önemlidir. Vazoaktif bir peptid olan Substance P, duyuşal nöronlar tarafından salınır ve mast hücresi degranülasyonunu tetikleyebilir. Kininler, fibrinopeptid A, fibrinopeptid B ve fibrin yıkım ürünleri de dahil olmak üzere bazı vazoaktif peptidler, inert öncüllerin proteolitik parçalanması ile üretilir. Hageman faktörü tarafından tetiklenen kallikrein-kinin kaskadının

ana ürünü olan bradikinin, damar sistemini etkiler ve güçlü bir ağrı uyarıcı etkiye sahiptir. (Kumar vd., 2017)

1.1.4. Eikosanoidler

Eikosanoidler, hücreler mekanik hasar, belirli sitokinler, büyüme faktörleri ve trombositlerde kolajen ve adenosin difosfat (ADP), endotelde bradikinin ve trombin gibi diğer uyarımlarla uyarıldığında sentezlenir. Fosfolipaz A₂ (PLA₂) enzimi tarafından araşidonik asit ve lizofosfatidik asit üreten fosfatidilkolin gibi membran fosfolipidlerinden sentezlenirler. Eikosanoidler araşidonik asitten aşağıdaki yollarla üretilir; (Smith, 1989)

1. Prostanoidler (prostaglandinler ve tromboksanlar) üreten siklooksijenazlar (COX1 ve COX2).
2. Lökotrienler ve lipoksinler üreten lipoksijenazlar (LOX).
3. P-450 epoksijenaz yolu, hidroksieikosatetraenoik asitleri (HETE'ler) ve epoksitleri üretir.

Eikosanoidler, sitokin üretimi, antikor oluşturma, farklılaşma, hücre çoğalması, göç ve antijen sunumu dahil olmak üzere çeşitli önemli bağışıklık süreçlerini kontrol eder. Öncelikle doku makrofajları, sentinel dendritik hücreler (DH'ler) ve nötrofiller gibi doğuştan gelen bağışıklık sistemi hücreleri tarafından üretilirler. Bu eikosanoidler hedef hücreler üzerinde lokal olarak nanomolar miktarlarda etki gösterir ve komşu hücrelerin işleyişini otokrin ve parakrin bir şekilde etkiler. Eikosanoidler ve reseptörleri, sitokinler ve kemokinler de dahil olmak üzere diğer sinyal molekülleriyle işbirliği yapar ve hem homeostatik hem de enflamatuvar koşullarda fizyolojik süreçlerin değiştirilmesinde kritik bir rol oynar. (Harizi vd., 2008)

1.1.4.1. Siklooksijenaz Yolları

COX enzimleri ayrıca prostaglandin endoperoksit sentaz olarak da adlandırılır. COX yolu PGG₂ ve PGH₂'yi yapar ve bunlar daha sonra prostaglandinlere (PG'ler) ve tromboksanlara (TX'ler) dönüşür.

COX enziminin üç izoformu vardır:

- COX-1: yapısal olarak üretilir ve örneğin gastrik mukozada yapısal olarak ifade edilen bir gen tarafından kodlanır.
- COX-2: yüksek oranda indüklenebilir ve örneğin, inflamasyon ve kanser bölgelerinde bir erken yanıt geni tarafından kodlanır. (Turini ve Dubois, 2002)

- COX-3: COX-1 ile aynı gen tarafından üretilir, omurilik ve serebral kortekste ifade edilir ve monositlerde, endotel hücrelerinde ve kalpte bulunur. Ağrı algısında rol oynayabilir. (Kam ve So, 2009)

I. Prostaglandinler (PG'ler)

PG'ler 5 karbonlu bir halkaya ve iki yan zincire sahip 20 karbonlu çoklu doymamış yağ asitleridir; enflamatuar reaksiyonların gelişmesinde çok önemli bir rol oynar. İltihaplı dokuda üretimleri önemli ölçüde artar ve klasik akut iltihap semptomlarının oluşmasına yardımcı olur. *In vivo* üretilen başlıca biyoaktif PG'ler, prostaglandin E₂ (PGE₂), prostasiklin (PGI₂), prostaglandin D₂ (PGD₂) ve prostaglandin F_{2α}'dır (PGF_{2α}). Her iki COX izoformu, PGE₂, PGI₂, PGD₂, PGF_{2α} ve TXA₂ üreten birkaç farklı izomeraz ve sentaz enzimi için ortak bir substrat görevi gören PGH₂'yi üretir. (Ricciotti ve Fitzgerald, 2011)

Sekiz farklı tipte prostanoid reseptörü vardır: PGD reseptörü (DP), PGF reseptörü (FP), PGI reseptörü (IP), TxA reseptörü (TP) ve PGE reseptörünün dört alt tipidir (EP1, EP2, EP3 ve EP4). Her biri yedi transmembran alanına sahip G proteinine bağlı rodopsin tipi bir reseptördür. (Narumiya ve FitzGerald, 2001)

PGE₂, immünolojik tepkilerin kontrolü, kan basıncı, GIT (Gastro İntestinal Tract) sağlığı, kemik oluşumu ve kemik iyileşmesinin düzenlenmesi, vücut ısısı, uyku-uyanıklık aktivitesi ve fizyolojik koşullar altında üreme fonksiyonu dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik süreçlerinde önemli bir role sahiptir. PGE₂, şişme, kızarıklık ve ağrı gibi birincil iltihap belirtilerine neden olur. İltihaplı dokuya artan kan akışı, arteriyel dilatasyonun PGE₂ aracılı olarak artması ve mikrovasküler geçirgenliğin artması nedeniyle kızarıklık ve ödem oluşturmaktadır. PGE₂, beyin ve omurilikteki çekirdek bölgeleri ve periferik duyuşal nöronları etkileyerek ağrıya neden olur. (Legler vd., 2010) Bununla birlikte, PGE₂ aynı zamanda anti-enflamatuar özelliklere de sahiptir. Bradikinin ile indüklenen nöroproteksiyona aracılık eder ve LPS ve ATP ile indüklenen sitokin sentezini bloke eder. Mikroglial EP₂ ve EP₄ reseptörleri, PGE₂'nin anti-enflamatuar ve nöroprotektif etkiler gösterdiği mekanizmalarda rol oynar. Son raporlara göre, PGE₂ öncelikle sitokin ve PG üretimini kısıtlamak için EP₂'yi aktive eder. (Brenneis vd., 2011; Noda vd., 2007)

PGI₂, kardiyovasküler homeostazı kontrol eden, en önemli prostanoidlerden biridir. PGI₂ 'nin birincil kaynağı, vasküler düz kas hücreleri (VDKH'ler) ve endotelial progenitor hücreleri içeren vasküler hücrelerdir. PGI₂ üretildikten sonra, dolaşımdaki trombositler ve VDKH'ler ile etkileşime girmek üzere salınır. Güçlü bir vazodilatör olmasının yanı sıra, PGI₂ trombosit

agregasyonunu, lökosit adezyonunu ve VDKH proliferasyonunu inhibe eder. (Dorris ve Peebles, 2012; Kawabe vd., 2010) PGI₂, akut enflamasyonu karakterize eden ağrı ve ödeme ortamda önemli bir rol oynar. Doku hasarı veya enflamasyondan sonra hızla oluşur ve enflamasyonlu ortamlarda bol miktarda bulunur. (Higgs vd., 1978; Sugita vd., 2016)

PGD₂'nin aktivitesine, esas olarak DP (DP₁) ve CRTH₂ (DP₂) reseptörleri aracılık eder. PGD₂ periferik ve merkezi sinir sistemi dokularında üretilir. Enflamatuvar ve homeostatik işlevlerde rolü olduğu bildirilmektedir. PGD₂ beyinde koku alma fonksiyonu, uyku, vücut ısısı, hormon salınımı ve ağrı algısı dahil olmak üzere çeşitli MSS aktivitelerini kontrol eder. (Joo ve Sadikot, 2012) PGD₂ ayrıca trombosit ayrışmasına, vazodilatasyona ve bronkokonstriksiyona neden olur. (Mohri vd., 2006) Alerjik reaksiyonun hem erken hem de geç evrelerinde PGD₂ bir aracı olarak çok önemli bir rol oynar. Eozinofilik akciğer enflamasyonunu ve lökotrien C₄ (LTC₄) dahil sitokinlerin salınımını artırır. IgE'nin aracılık ettiği tip I akut alerjik reaksiyonları başlatan birincil prostanoid olan PGD₂, mast hücresi aktivasyonu ile üretilir. Bronş epitelindeki DP₁ reseptörünün, enflamatuvar lenfositler ile eozinofilleri içeren ve astımla ilişkili hava yolu enflamasyonu ile hiperreaktiviteyi teşvik eden kemokinler ve sitokinleri oluşturduğu düşünülmektedir. (Kupczyk ve Kuna, 2017)

Bununla birlikte, diğer durumlarda PGD₂, enflamasyonu azaltma işlevi görebilir. DP₁ reseptörü, yabancı antijenlere karşı adaptif bir bağışıklık tepkisinin indüklenmesi için çok önemli olan dendritik hücreler tarafından eksprese edilir. DP₁ reseptörü, dendritik hücrelerin akciğerden lenf düğümlerine göçünü engelleyen ve antijene özgü T hücrelerinin proliferasyonunu ve sitokin üretimini azaltan PGD₂ tarafından aktive edilir. (Hammad vd., 2003)

PGF_{2α}, PGF sentaz tarafından PGH₂ 'den üretilir ve FP reseptörüne etki ederek kadın üreme sisteminde işlev görür. Doğum, ovulasyon, lutealiz ve uterus düz kas kontraksiyonunun başlaması için çok önemlidir. PGF_{2α} analogları, daha önce insan üreme fonksiyonu, östrus senkronizasyonu ve evcilleştirilmiş hayvanlarda küretaj amacı ile çalışılmıştır. (Li vd., 2021; Mialot vd., 2003) Ayrıca, FP agonistleri glokom tedavisinde göz içi basıncını düşürmek için dünya çapında sıklıkla kullanılmaktadır. (Stjernschantz, 2001) Son araştırmalar, PGF_{2α} 'nın arter kasılması, beyin hasarı, ağrı, miyokardiyal disfonksiyon ve böbrek fonksiyonu için çok önemli olduğunu ortaya koymuştur. (Li vd., 2018; Mohan vd., 2018; Wolfram vd., 2005)

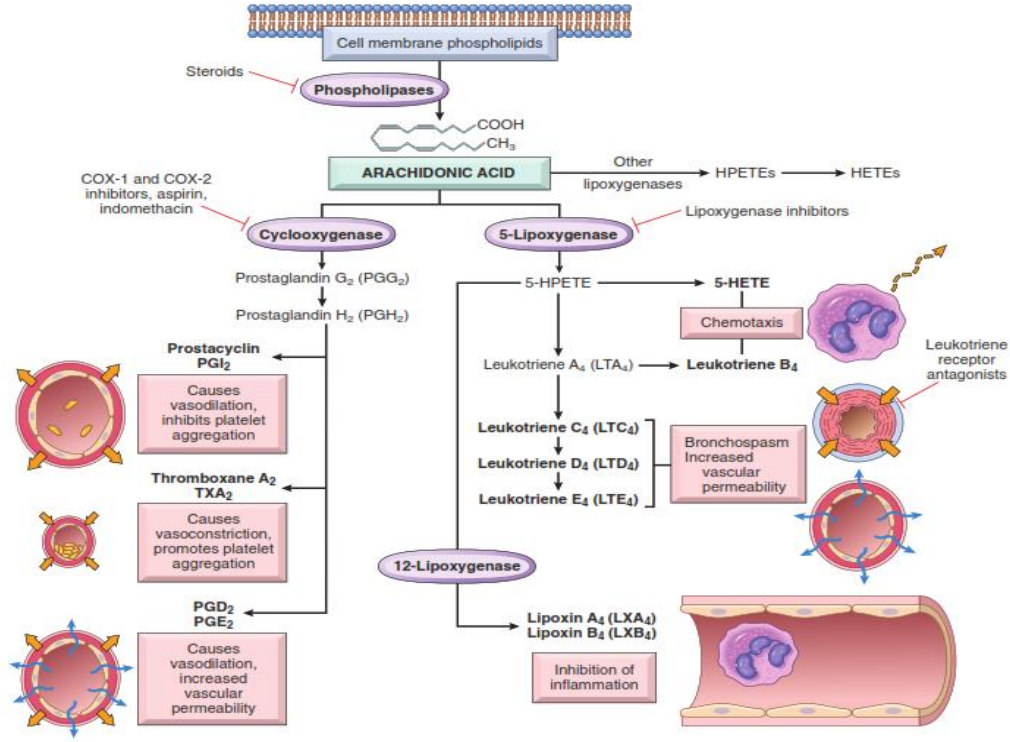
II. Tromboksan

Tromboksan A_2 , yarı ömrü yaklaşık 30 saniye olan instabil bir metabolittir. Tromboksan sentaz tarafından PGH_2 'den oluşturulur ve fizyolojik olarak inaktif TXB_2 'ye nonenzimatik olarak parçalanır. TXA_2 esas olarak trombosit COX-1'den oluşur. Bununla birlikte, makrofaj COX-2 gibi diğer hücre tipleri tarafından da yapılabilir. Tromboksan, düz kas kasılması ve proliferasyonunun yanı sıra trombosit şekil değişikliği ve agregasyonunun güçlü bir modülatörüdür. Yaralanma ve enflamasyon sırasında aktive olur ve protrombotik ve vazokonstriksiyon özelliklerine sahiptir. Trombositlerin yanı sıra makrofajlar, nötrofiller ve endotel hücreleri gibi diğer hücreler de tromboksan salgılar. Akut miyokardiyal iskemi, böbrek hastalıkları, bağışıklık yanıtının modülasyonu, enflamatuvar akciğer hastalığı ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler durumların tümü, artmış tromboksan sentezi ile ilişkilendirilmiştir; bu nedenle, tromboksan reseptör antagonistleri bu durumlar için terapötik olarak kullanılabilirler. (Breyer vd., 2001; Huang vd., 2004)

III. Lökotrienler

Güçlü enflamatuvar araçlar olan lökotrienler (LT'ler) öncelikle mast hücreleri, makrofajlar ve polimorfonükleer lökositler tarafından üretilir. Lipoksijenazlar, araşidonik asidi çeşitli hidroperoksiyeikosatetraenoik asitlere (HPETE'ler) ve HETE'lere dönüştürür. 5-HETE, LTB_4 'ün öncüsü olan lökotrien LTA_4 'e, LTC_4 , LTD_4 ve LTE_4 dahil sisteinil-LT'lere (CysLT'ler) ve lipoksinlere dönüştürülür. (Harizi vd., 2008)

LTA_4 hidroliz, glutatyon ile konjugasyon veya transselüler metabolizma yoluyla diğer mediatörleri oluşturmak üzere dönüştürülür. LTA_4 , lökotrien A_4 hidrolaz tarafından hidrolize edilerek, güçlü bir lökosit adezyon aktivatörü ve nötrofil kemoatraktanı olan LTB_4 'e dönüştürülür. LTC_4 sentaz, LTA_4 'ün glutatyon ile konjugasyonunu katalize ederek hücre dışı metabolizmaya tabi tutulan LTC_4 'ü üretir ve LTD_4 ile LTE_4 'ü oluşturur. Bu üç lökotrien toplu halde, sisteinil lökotrienleri oluştururlar. Düz kasları, yavaş ve kalıcı olarak kasılma kapasiteleri nedeniyle bazen "anafilaksinin yavaş tepki veren maddesi" olarak bilinir. (Peters-Golden ve Brock, 2001)



Şekil 1.2. AA metabolitlerinin üretimi ve enflamasyondaki rolleri. (Kumar vd., 2017)

1.2. Non-Steroidal Antienflamatuvar İlaçlar (NSAİİ'ler)

NSAİİ'ler, inflamatuvar kaskadın bir bileşenini inhibe eden steroidler dışındaki zayıf organik asit maddelerdir. Yaygın olarak reçete edilen ilaçların en önemli grubu, artrit ve romatizma gibi çeşitli iltihaplı hastalıkların tedavisinde ve yaygın ağrı ve sızılarının giderilmesinde ilk seçenek olarak sıklıkla kullanılmaktadırlar. (Garavito, 1996) Bu ilaçlar anti-enflamatuvar, analjezik, antipiretik, antitrombotik ve antiendotoksik özellikleri için kullanılır. Ayrıca, kardiyomiyopati ile ilişkili tromboembolizmi tedavi etmek için diğer tedavilerle birlikte de kullanılırlar. (Moses ve Bertone, 2002)

NSAİİ'ler etkilerini, inflamatuvar yolakda yer alan hız sınırlayıcı siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe ederek, enflamasyon sırasında araşidonik asitten prostaglandin ve tromboksan biyosentezini kısıtlayarak gösterirler. (Vane, 2014)

NSAİİ'ler, COX enzimini inhibe etme şekillerine göre sınıflandırılabilirler: (Moses ve Bertone, 2002)

- Basit, yarışmalı, geri dönüşümlü enzim inhibitörleri. örn. ibuprofen ve piroksikam.
- Zamana bağlı, yarışmalı, geri dönüşümlü inhibitörler (yavaş-sıkı bağlanan inhibitörler). örn. diklofenak ve selekoksib
- Zamana bağlı, rekabetçi, geri dönüşümsüz inhibitör. örn. aspirin

NSAİİ'ler, COX-1 veya COX-2 için seçiciliklerine göre şu şekilde kategorize edilebilirler; Seçici olmayan COX inhibitörleri ve seçici COX-2 inhibitörleri. (Moses ve Bertone, 2002) NSAİİ'lerin advers etkisi, COX-1 inhibisyonu ile ilişkili olup gastrointestinal ve renal sistemlerle ilişkilidir. Prostaglandinler, sindirim sisteminin kan akışını, sekresyonunu, hareketliliğini ve mukozal sitoproteksiyonunu kontrol eder. Bazal prostaglandin sentezinin baskılanması, NSAİİ ile ilişkili böbrek sorunlarının nedenidir. Anjiyotensin, norepinefrin ve vazopressin gibi vazokonstriktör sistemlerin etkisi sırasında böbrek kan akışının azalması, prostaglandinleri serbest bırakan bir geri besleme döngüsüyle sonuçlanır. Sonuçta da vazodilatasyon, düzenli glomerüler filtrasyon ve böbrek kan akışına geri dönüşe neden olur. (Gunaydin ve Bilge, 2018; Moses ve Bertone, 2002)

NSAİİ'lerin en yaygın yan etkileri; (Bjarnason vd., 2018; Wongrakpanich vd., 2018)

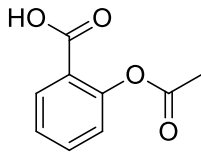
- Gastrointestinal sistem yan etkileri; dispepsi, gastroduodenal ülserler, GI kanama ve perforasyonu içerir.
- Kardiyovasküler yan etkiler; ödem, hipertansiyon, miyokard enfarktüsü, konjestif kalp yetmezliği ve inmeyi içerir.
- Nefrotoksisite; sodyum retansiyonu, elektrolit dengesizliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, akut interstisyel nefrit, nefrotik sendrom, renal papiller nekroz ve kronik böbrek hastalığını içerir.

İbuprofen, indometasin ve aspirin, COX-2'ye karşı COX-1'e karşı olduklarından önemli ölçüde daha az etkilidirler. Mideye en çok zarar veren NSAİİ'ler aspirin, indometasin ve piroksikam gibi en yüksek potansiyele sahip COX-1 inhibitörleridir. (Vane ve Botting, 1998) Karprofen, COX-2 için sadece 1,75 kat daha seçici ve ketoprofen, COX-1 için daha seçici oldukları bildirilmiştir. Meloksikamın COX-2 aktivitesinin, COX-1'e göre 12 kat daha etkili olduğu bildirilmiştir. (Moses ve Bertone, 2002)

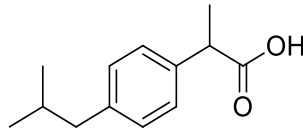
Rofecoxib ve lumiracoxib gibi oldukça seçici COX-2 inhibitörleri, geleneksel NSAİİ'lere kıyasla daha düşük ciddi GIT yan etki insidansına sahiptir. Bu da, COX-2 seçiciliğinin, kullanılan ilaın terapötik plazma seviyelerinde COX-1'i değil de COX-2'yi inhibe ettiğinde, gelişmiş GI güvenliğine dönüştüğünü gösterdiği bildirilmiştir. COX-2 için seçici NSAİİ'lerin kullanımına bağlı kardiyovasküler riski işaret eden pekçok veri mevcuttur. (Day ve Graham, 2013)

İlk seçici COX-2 inhibitörü olan selekoksib (Celebrex®) 1999 yılında G.D. Searle ve Pfizer tarafından piyasaya sürülmüş, bunu Merck tarafından geliştirilen rofekoksib (Vioxx®)

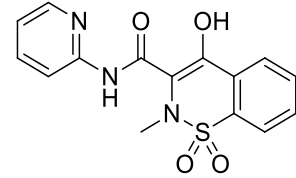
izlemiştir. İkinci nesil bir coxib olan valdecoxib, Kasım 2001'de FDA tarafından osteoartrit ve romatoid artrit tedavisi için ruhsatlandırılmış ve 2005 yılına kadar oldukça önemli bir coxib türevi olarak kalmıştır. Merck, Eylül 2004'te rofekoksibi gönüllü olarak piyasadan çekmeye karar vermiştir. 2005'te yayınlanan FDA danışma komitesi raporuna göre, koksibler kardiyovasküler yan etki riskini artırmaktadırlar. (El-Malah vd., 2022; Rao ve Knaus, 2008) Ayrıca, genel risk/yarar profilinin zayıf olması nedeniyle komite, Pfizer'e valdekoksib pazarlamasını gönüllü olarak durdurmasını tavsiye etmiştir. Sonuç olarak FDA, ciddi yan etkiler nedeniyle etorikoksib (Arcoxia) ve ikinci nesil bir koksib olan lumirakoksibi (Prexige) de reddetmiştir. Günümüzde, koksiblerin bulunabilirliği, reçeteleme kısıtlamaları ve değişken satış askıya almalarına göre ülkeden ülkeye değişmektedir. (El-Malah vd., 2022)



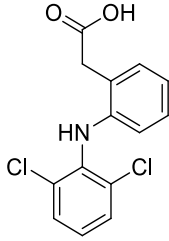
Aspirin



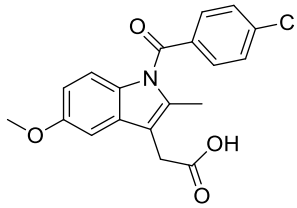
İbuprofen



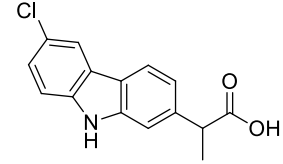
Piroksikam



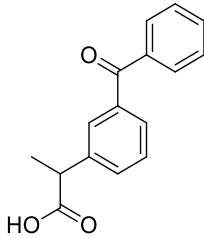
Diklofenak



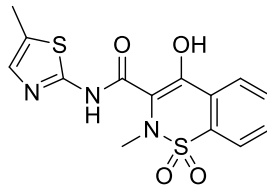
İndometasin



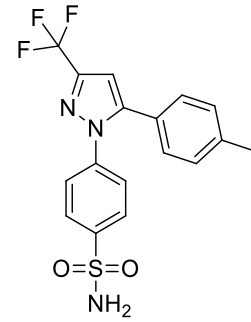
Karprofen



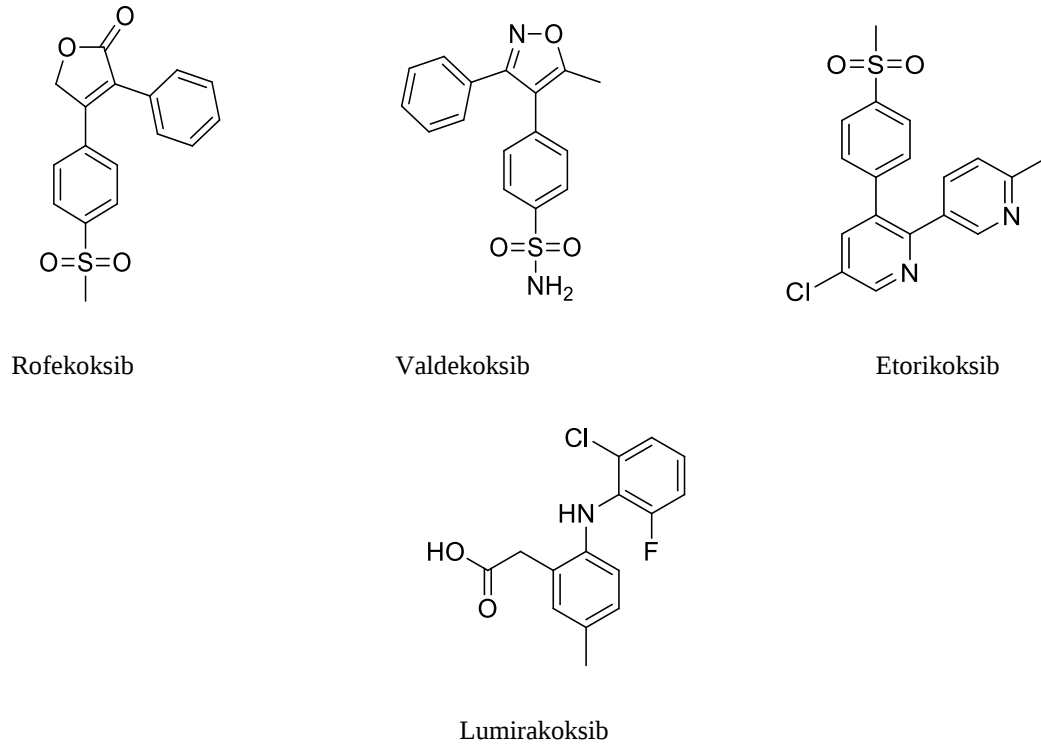
Ketoprofen



Meloksikam



Selekoksib



Şekil 1.3. Bazı NSAİİ'lerin kimyasal yapıları.

1.3. Moleküler Hedef Olarak COX Enzimleri

NSAİİ'lar ve yeni seçici COX-2 inhibitörleri, COX enzimlerinin ana hedefleridir. COX enzimleri çok önemlidir çünkü COX-1 için tromboz ve COX-2 için enflamasyon, ağrı, ateş, kanserler ve Alzheimer hastalığı dahil olmak üzere çeşitli patolojilerde rol oynarlar. (De Gaetano vd., 2003; Sil ve Ghosh, 2016; Thuresson vd., 2001; Zha vd., 2004) Her iki enzim de araşidonatın iki O₂ molekülü varlığında PGG₂'ye dönüştüğü bir siklooksijenaz (bis-oksijenaz) reaksiyonunu ve iki elektronun varlığında PGG₂'nin PGH₂'ye indirgendığı peroksidaz reaksiyonunu katalize eder. NSAİİ'lar siklooksijenaza bağlanmak için doğrudan araşidonik asitle rekabet eder ve siklooksijenaz aktivitesini inhibe eder, ancak peroksidazı inhibe etmez. (Thuresson vd., 2001)

Yapısal analizlere göre COX aktif bölgesi, membran bağlayıcı alandan globüler alana uzanan hidrofobik bir kanaldır. Araşidonik asit ile kompleks oluşturmuş COX enziminin kesin kristal yapısı, 19 aktif bölge kalıntısının etkileşimini öngörmekte olduğu bildirilmiştir. (Malkowski vd., 2000) COX'in, araşidonik asidi PGG₂'ye dönüştürmesi için yedi önemli kalıntı gereklidir; siklooksijenaz katalizinin hız sınırlayıcı adımının başlatılması için gerekli tirozil radikalini sağlayan Tyr385 kalıntısı, araşidonatın 13-pro-S-hidrojeninin çıkarılması; Tyr-348 ve Gly-533, hidrojen çıkarımı için araşidonatın C13'ünün yönlendirilmesi açısından çok önemli olan

araşidonik asit ile hidrofobik etkileşimlerde rol oynaması; Arg-120 arşidonat karboksilat anyonu ile elektrostatik olarak etkileşime giren kalıntısı. Son olarak, Val-349, Trp-387 ve Leu-534 kalıntıları, arşidonatın mümkün olan en iyi düzenlemede PGG₂ üretmek için nasıl yönlendirildiğini kontrol ettiği bildirilmiştir. (Kiefer vd., 2000; Smith vd., 2000; Thuresson vd., 2001)

COX enziminin her iki izoformu olan, COX-1'in yaklaşık 576 amino asit ve COX-2'nin 587 amino asit içermektedir. (Kiefer vd., 2000) Arg-120'nin, guanidinyum grubunun arşidonik asidin COX-1'e yüksek afiniteli bağlanması için önemli olması, ancak COX-2'ye bağlanmaması gibi birkaç istisna dışında benzer amino asit dizilerine ve katalitik mekanizmalara sahiptirler. (Thuresson vd., 2001) COX-2'nin yapısal kararlılığı COX-1'den daha azdır. (Fitzpatrick, 2004) COX-2'nin 509. pozisyonundaki bir valin kalıntısı, COX-1'de 523 pozisyonundaki izölösün kalıntısına karşılık gelmektedir; bu nedenle, COX-2 daha büyük bir substrat bağlama cebine sahiptir ve bu fark, seçici COX-2 inhibitörleri için yapısal temel görevi görür; bu nedenle, COX-1'deki daha büyük izölösün, COX-2 seçici inhibitörlerinin bağlanmasını engellerken, COX-2'deki daha küçük valin, substrat bağlama bölgesine erişime izin verir. (Kurumbail vd., 1996; Luong vd., 1996) Ek olarak, aspirinin COX-1 ve COX-2'yi neden farklı derecelerde inhibe ettiğini açıklar. Aspirin, COX-1'de serin 530'u asetile ederek enzimin arşidonik asidi oksitleme yeteneğini engelleyen geri dönüşümsüz bir inhibitör görevi görür. Buna karşın COX-2, arşidonik asidi PGG₂ yerine HETE'ye oksitlemeye devam edebilir. (Mancini vd., 1994)

COX enziminin aktif bölge boşluk (ABB=ASC) girişi, ASC'nin derin ucunda bulunan COX-2'nin hidrofobik "cebi" olan arginin (Arg)120, glutamik asit (Glu)524 ve tirozin (Tyr)355 amino asit kalıntıları ile çevrilidir. İzölösün (Ile)523, izölösün (Ile)434, L-fenilalanin (Phe)503 ve histidin (His)513 amino asitlerine sahip olan COX-1 ile karşılaştırıldığında, COX-2 valin (Val)523, Val434, lösün (Leu)503 ve Arg513 amino asitlerinden oluşan daha büyük bir bağlanma boşluğuna sahip olduğu bildirilmiştir. Kritik COX-2 amino asitlerinin inhibitörün kimyasal yapısı ile nasıl etkileşime girdiğini analiz ederek etkili, seçici ve güvenli COX-2 inhibitörlerinin geliştirilmesinin mümkün olabileceği bildirilmiştir. (Ahmadi vd., 2022)

1.4. Oksijen Biyolojisi ve Tıp

Oksijen, biyolojik sistemler üzerinde hem yararlı hem de potansiyel olarak zararlı etkilere sahip olduğu için genellikle Janus gazı olarak adlandırılır. Reaktivite, oksijenin yüksek enerjili elektron değişimlerine katılmasını sağlayarak oksidatif fosforilasyon yoluyla büyük

miktarlarda adenoazin-5-trifosfat (ATP) üretimini kolaylaştırır. Bu, karmaşık çok hücreli hayvanların evrimi için çok önemlidir, ancak aynı zamanda lipid, protein veya DNA olsun herhangi bir biyolojik molekülün saldırısına karşı savunmasız hale getirir. Sonuç olarak, vücudumuz sürekli olarak reaktif oksijen türlerinin (ROT) oksidatif saldırısı altındadır. (Burton ve Jauniaux, 2011)

Evrim boyunca oksijen, solunum için terminal elektron alıcısı olarak seçilmiştir. Oksijendeki iki eşleşmemiş elektron aynı yönde dönerek onu biradikal yapar. Metabolizma sırasında veya iyonlaştırıcı radyasyonla üretilen hidroksil radikalleri veya süperoksit anyonu gibi diğer oksijen türevli serbest radikaller daha güçlü oksidanlardır. Oksijen türevi serbest radikaller vücudun metabolizması ve enerji üretimi sırasında üretilir ve sinyal iletimi ve gen ifadesi düzenlemesi, reseptör ve nükleer transkripsiyon faktörü aktivasyonu, hücre bileşenlerinde oksidatif hasar, bağışıklık sistemi hücresi antimikrobiyal ve sitotoksik eylemler, yaşlanma ve yaşa bağlı dejeneratif hastalıklarda rol oynarlar. Öte yandan hücreler, oksidanların etkilerine karşı koymak için antioksidan mekanizmaları muhafaza eder; bu antioksidanlar oksidanları oldukça spesifik bir şekilde (örneğin süperoksit dismutazlar yoluyla) veya daha az spesifik bir şekilde (örneğin C vitamini, E vitamini ve glutatyon gibi küçük moleküller yoluyla) uzaklaştırabilir. (Han vd., 2008)

Mitokondriyal elektron taşıma zincirindeki kompleks IV'ün sitokrom oksidaz (sitokrom c, oksijen, oksidoredüktaz) tarafından katalize edilen bir süreçte, soluduğumuz oksijenin %95'inden fazlası uyumlu bir tetravalent indirgeme yoluyla suya indirgenir. Sitokrom oksidaz zincirin terminal elektron alıcısıdır ve elektron taşınımını sürdürmek için indirgeyici eşdeğerlerinden vazgeçmelidir: elektronlar zincir boyunca akmayı durdurursa, protonmotor kuvveti azalır ve ATP sentezi durur. Dolayısıyla, oksijenin tüm aerobik organizmalardaki birincil görevi bir elektron havuzu veya boşaltım alanı olarak hareket etmektir. (Cadenas ve Davies, 2000)

1.5. Serbest Radikaller (SR) ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Oksidasyon reaksiyonları, mikrosaniyeler içinde zincirleme reaksiyonları tetikleyebilen, hastalık ve programlanmış apoptotik hücre ölümüyle sonuçlanan kararsız bileşikler olan bir dizi SR üretir. Hücreler iyileşebilir ya da apoptotik otofaji veya kontrolsüz nekroza maruz kalabilir. Serbest radikaller, çeşitli çevresel değişkenler, ultraviyole radyasyon, yetersiz beslenme veya hareketsiz bir yaşam tarzı gibi belirli bir uyarımla üretilebilir. FR'ler lipidleri, proteinleri, karbonhidratları ve nükleik asitleri hedef alarak hücrelerde hem hücrel hem de

hücre altı hasara neden olabilir. Oksitlenmiş proteinler proteozomdaki kaspaz enzim yolağını tetikler, hücre içi agregatlar oluşturur ve onarım mekanizmalarını engelleyen çapraz bağlar nedeniyle esas olarak onarılamaz ve devam eden protein sentezi için amino asit geri dönüşümünü azaltır. Bununla birlikte, hidroksil grupları içeren lutein ve fenollerin yanı sıra α -tokoferol/tokotrienol, askorbat ve süperoksit dismutaz, katalaz, GSH redüktaz, GSH peroksidaz ve CoQ10 gibi enzimler eşleşmemiş elektronları kolayca absorbe edebilir. (Armstrong ve Stratton, 2016)

'Reaktif oksijen türleri' terimi hem serbest radikalleri hem de radikal olmayan ara ürünleri ifade eder. Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren varlıklardır ve yüksek reaktiviteleri eksik elektron kabuklarından kaynaklanmaktadır. Serbest radikaller çeşitli bileşenlerden üretilebilir, ancak biyolojik sistemlerde en önemli olanları oksijen ve nitrojen içerenlerdir. Hidroksil radikalleri, süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit gibi ROT'lar sitokrom P450'ler ve diğer tipik biyolojik aktiviteler tarafından üretilir. (Burton ve Jauniaux, 2011)

Fizyolojik koşullar altında, en yaygın oksijen serbest radikali süperoksit anyonudur ($O_2^{\cdot-}$) ve mitokondri birincil jeneratördür. Solunum zincirinin elektron iletimi verimsizdir, bu da elektronların özellikle kompleks I ve III'ten moleküler oksijene sızmasıyla ($O_2^{\cdot-}$) oluşmasına neden olur. Zincirdeki elektron sayısı, diyabet gibi hiperoksi ve aşırı glikoz durumlarında artan üretim hızını belirler. Paradoksal olarak, kompleks IV için son elektron alıcısı olarak hareket edecek oksijen eksikliği elektronların birikmesine neden olduğunda, hipoksi sırasında da artar. (Burton ve Jauniaux, 2011)

Stres altında, vücut artan ROT üreterek membran lipidlerine, hücre zarlarına ve nükleik asitlere zarar verebilecek oksidatif strese neden olur. Bu mekanizma kanser, ateroskleroz ve Alzheimer hastalığı da dahil olmak üzere çeşitli yaşlanma enfeksiyonları ve hastalıklarında belgelenmiştir. ROT başlangıçta aerobik metabolizmanın potansiyel olarak zararlı yan ürünleri olarak tanımlanmış olsa da, biyologlar bugün çok sayıda hücre içi sinyal kaskadında ikincil haberciler olarak kritik işlevler yerine getirdiklerini kabul etmektedir. (Dröge, 2002) CYP'ler, çok çeşitli ksenobiyotikleri oksitleyen bir enzim süper ailesidir. CYP1A1/2 aromatik aminleri ve polisiklik aromatik hidrokarbonları nihai, mutajenik veya karsinojenik metabolitlerine dönüştürebilir. Ayrıca, EROD aktivitesini katalize eden CYP1A1/2 enzimi ROT üretebilir. (Bansal ve Silakari, 2012a) Lipid peroksidasyonu, peroksil, oksil ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikallerin lipidlerden elektronları uzaklaştırdığı ve sonraki

reaksiyonlarda kullanılabilecek reaktif ara ürünlerle sonuçlanan bir reaksiyondur. (Sharma vd., 2009)

Hem reaktif oksijen hem de azot türleri (ROT ve RNT) hücre faaliyetlerinin redoks kontrolünde rol oynar. Oksidatif stres, enflamatuar tepkiler, hücre adezyon molekülü uyarımı ve kemoatraktan üretimi ile ilgili sinyal kaskadında önemli bir yukarı akış bileşeni ve Parkinson, Alzheimer ve Huntington hastalıkları ve amiyotrofik lateral skleroz gibi yaşa bağlı nörodejeneratif bozukluklarda erken bir bileşen olarak giderek daha fazla kabul görmektedir. (Han vd., 2008)

Süperoksit anyonu, üçlü durum moleküler oksijenin ($3O_2$) tek değerlikli indirgenmesiyle üretilir. Bu aktivite, NADPH oksidazlar ve ksantin oksidaz gibi enzimlerin yanı sıra mitokondriyal elektron taşıma zincirinin yarı-ubikinon molekülü gibi redoks reaktif bileşikler tarafından katalize edilir. Süperoksit, biyolojik dokularda enzim kullanılmadan radikal olmayan hidrojen peroksit ve singlet oksijen türlerine dönüştürülebilir. Demir veya bakır iyonları gibi indirgenmiş geçiş metallerinin varlığında, hidrojen peroksit oldukça reaktif hidroksil radikale dönüştürülebilir. Alternatif olarak, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri hidrojen peroksiti suya dönüştürebilir. Glutatyon peroksidaz reaksiyonu glutatyonu glutatyon disülfite okside eder, bu da daha sonra NADPH tüketen bir süreçte glutatyon redüktaz tarafından tekrar glutatyonla dönüştürülür. (Dröge, 2002) Aşırı süperoksit üretimi nitrik oksit (NO) ile etkileşime girerek güçlü bir prooksidan olan peroksinitrit (ONOO) oluşumuna da neden olabilir. Yakındaki hücrelere zarar verme potansiyeline sahiptir çünkü 5 mm'ye kadar yayılabilir. (Burton ve Jauniaux, 2011)

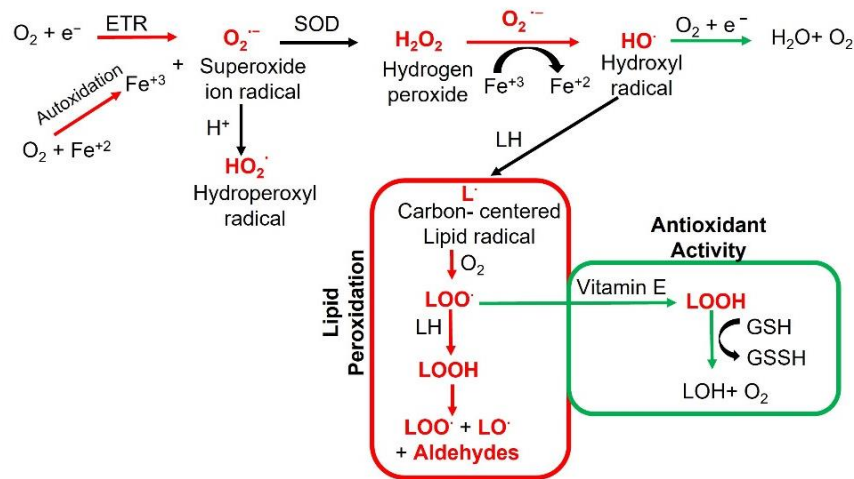
Çeşitli hücre tiplerinde nitrik oksit sentazlar tarafından üretilen bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO), nöronal sinyalizasyon, vazodilatasyon ve enflamasyon dahil olmak üzere çok çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda rol oynar. Nitrik oksit ve süperoksit anyonu arasındaki radikal-radikal etkileşimi son derece önemlidir. Bu, biyolojideki en hızlı enzimatik olmayan reaksiyonlardan biridir ve güçlü radikal olmayan oksidan peroksinitriti üretir. (Han vd., 2008)

Reaktif hidroksil radikali, Fe^{2+} metal bağlayıcı bölgelerde hem içeren enzimlerle etkileşime giren hidrojen peroksit tarafından üretilir. Proteinlere hidroksil radikali hasarının kovalent bağlı protein agregatlarıyla sonuçlandığı ve agregasyon disülfid köprülerinden kaynaklandığında çapraz bağlı protein yapışkanlarının oluştuğu gösterilmiştir. Bu reaktif oksijen radikalleri, metal bağlama bölgelerindeki amino asitleri değiştirerek proteolitik saldırıyı mümkün kılar. Lipid hidroperoksidasyonu (LHP) ve DNA iplikçiklerinin parçalanması SR hasarının diğer iki şeklidir. İyonlaştırıcı radyasyon veya çevresel

toksikolojik süreçler tarafından üretilen hidroksil ($\text{HO}\cdot$) ve hidrojen radikalleri en zararlı FR'lerdir. (Armstrong ve Stratton, 2016)

Çoklu doymamış yağ asitleri, çoklu $\text{C}=\text{C}$ bağlarına sahiptir. Bu yağ asitleri plazma membranına hareket kabiliyeti ve akışkanlık kazandırır; bu özelliklerin hücrel membranların düzgün çalışması için kritik olduğu bilinmektedir. Lipid peroksidasyonu, başlangıç adımı ve birbirini izleyen yayılma süreçleri sırasında bir elektronun uzaklaştırıldığı adım adım ilerleyen bir süreçtir. Demir tuzları ve diğer demir kompleksleri oksijen türleriyle reaksiyona girdiğinde, sürecin başlamasına yardımcı olan alkoksi veya peroksi radikalleri üretirler. (Armstrong ve Stratton, 2016)

Genel olarak, hücreler içinde bulunan indirgeyici koşullar oksidatif hasarı en aza indirmeye yarar. Bu indirgeyici ortamda disülfid bağları (S-S) kendiliğinden oluşmaz çünkü sülfhidril grupları indirgenmiş durumda (SH) tutularak proteinlerin yanlış katlanması veya toplanması önlenir. İndirgeyici ortam, tiyol-disülfid dengesinin korunmasında rol oynayan metabolizma ve enzimlerin yanı sıra tiyoredoksin, glutatyon, E ve C vitaminleri gibi maddeler ve süperoksit katalaz, dismutazlar ve selenyuma bağlı glutatyon redüktaz gibi enzimlerin yanı sıra ROT hidroperoksitleri gideren glutatyon ve tiyoredoksinde bağımsız hidroperoksidazlar tarafından korunur. (Han vd., 2008)



Şekil 1.4. Reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretim ve temizlenme yolları.

1.6. Oksidatif Stres

Geleneksel olarak tanımlandığı şekliyle oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizliktir. Aşırı ROT/RAT, hücrel antioksidan mekanizmaların karşı koyamaması nedeniyle oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres sırasında üretilen serbest

radikallerin aynısı normal metabolizma sırasında da oluşur ve sonuç olarak hem insan sağlığında hem de hastalıklarda rol oynarlar. (Han vd., 2008) "Oksidatif hasar" terimi, geniş bir biyomolekül yelpazesinde rastgele, gelişigüzel hasarı ifade etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. (Halliwell, 2007) Birçok kronik hastalıkta çeşitli oksidatif hasar biyobelirteçlerinin yüksek seviyeleri ve bunların gelişimi için risk faktörleri gözlemlendiğinden, aşırı oksidatif stres çeşitli klinik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Oksidatif stres kanser, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet ve yaşlanma dahil olmak üzere 100'den fazla hastalıkla bağlantılıdır. (Kotha vd., 2022)

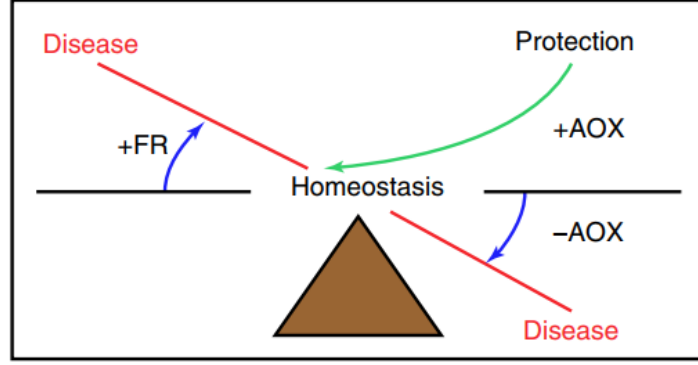
Kronik ağır alkol tüketimi, sigara kullanımı, obezite ve uzun süreli hava kirliliğine maruz kalma oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır. Diyabet veya stres hiperglisemisi, kronik ve akut enflamasyon, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kanser ve iskemi-reperfüzyon sırasında daha yüksek oksidatif stres seviyelerinin keşfedilmesi, oksidatif stresin patojenetik bir rol oynadığı kavramına destek vermektedir. Benzer şekilde, epidemiyolojik veriler antioksidan tükenmesi ile çok sayıda hastalığın ortaya çıkışındaki artış arasında bir bağlantı olduğunu ortaya koymuştur. Buna karşılık, daha fazla meyve ve sebze tüketimi antioksidan aktivite üzerinde sinerjik bir etkiye sahiptir ve kanser ve kalp hastalığı da dahil olmak üzere kronik hastalık riskini azaltır. (Preiser, 2012)

ROT ve antioksidanların dengesi çok önemlidir. Özellikle, birkaç antioksidanın (örneğin, C ve E vitaminleri), onları nötralize etmek için yeterli serbest radikal olmadığında güçlü bir pro-oksidan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, herhangi bir zamanda antioksidan içeriğindeki fizyolojik bir fazlalık, ister takviye ister başka koşullardan kaynaklansın, klinik sonuçları ağırlaştırabilir. (Preiser, 2012)

Bununla birlikte, oksidatif stres belirli durumlarda faydalı olabilir. Örneğin, oksidatif stres doğum kanalını doğuma hazırlamak için apoptoza neden olur. Ayrıca, uygun fiziksel egzersiz ve iskemi sırasında oksidatif stres hücrel savunma mekanizmalarını güçlendirir. Bu nedenle, oksidatif stresin daha pratik bir tanımını "oksidasyonun antioksidan sistemleri aştığı, çünkü aralarındaki dengenin kaybolduğu bir durum" olabilir. Oksidatif stres, yaşam için gerekli olan temel hücre zarı süreçlerini yöneten habercileri modüle eder. Hücre içi redoks durumunu değiştirir, reseptör ve reseptör olmayan tirozin kinazlar, protein kinaz C ve MAP kinaz kaskadı gibi protein kinazları aktive eder ve böylece aktivasyon, proliferasyon ve farklılaşma dahil olmak üzere çeşitli hücrel tepkileri indükler. (Yoshikawa ve Naito, 2002)

1.7. Antioksidan

Çeşitli doğal ve sentetik maddelerin antioksidan aktivitesi, bir serbest radikal türüne tek bir elektron (veya bir elektron ve bir H^+ bağışına eşdeğer H atomu) bağışını içeren bir redoks geçişi ile karakterize edilir. (Ahmad, 2012)



Şekil 1.5. Homeostaz, serbest radikal ve antioksidan seviyeleri arasındaki dengedir.

Antioksidanlar genel olarak çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir: (Cömert ve Gökmen, 2018; Fierascu vd., 2018; Mironczuk-Chodakowska vd., 2018)

1. Doğal ve sentetik
2. Polar ve polar olmayan
3. Enzimatik ve enzimatik olmayan

Enzimatik antioksidanlar arasında süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz bulunur. Glutatyon ve lipoik asit gibi enzimatik olmayan endojen antioksidanlar vücut metabolizmasının yan ürünleridir. Enzimatik antioksidanlar, reaktif süperoksit ve hidrojen peroksite karşı ilk savunma hattıdır ve bunları su ve oksijene dönüştürür. Enzimatik olmayan antioksidanlar, radikalleri ve oksidanları hızla etkisiz hale getirerek ROT'a karşı ikincil bir savunma görevi görebilir. Enzimatik antioksidanlar da detoksifikasyon ve eliminasyon sürecinde üçüncü bir savunma hattı olarak görev yapar. (Mironczuk-Chodakowska vd., 2018)

4. Endojen ve eksojen

Endojen antioksidanlar büyük ölçüde süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerdir. İn vivo aktiviteye sahip diyet antioksidanları arasında vitaminler, polifenoller, karotenoidler, flavonoidler eksojen antioksidanlar olarak kabul edilmiştir. (Mironczuk-Chodakowska vd., 2018)

5. Dahil oldukları mekanizmalara göre

Antioksidanlar etkinliklerini üç farklı yolla gösterirler:

- a. Önleyici mekanizmalar (serbest radikal ve türevlerinin oluşumunun önlenmesi)

- b. Kesinti (radikal oksidasyon reaksiyonlarını keser)
- c. İnaktivasyon (serbest radikal/radikal türevi reaksiyon ürünlerini inaktive etme)
(Mironczuk-Chodakowska vd., 2018; Valko vd., 2007)

1.7.1. Antioksidan Testleri

Antioksidan etki, kimyasal yapılarına, özellikle elektronla hidrojen verme yeteneklerine, metal şelasyonuna ve aromatik yapı içindeki eşleşmemiş elektronun delokalizasyonuna göre belirlendiği bildirilmiştir. Kotha vd., *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar da dahil olmak üzere antioksidan etkilerin her bir unsurunu değerlendirmek için çok sayıda analitik yöntemi tanımlamakta ve tartışmaktadırlar. (Kotha vd., 2022)

Antioksidan analizler aşağıdaki gibi beş mekanistik yolla kategorize edilebilir;

(i) Tek elektron transferi (SET) deneyleri

Bu testlerde, bileşiklerin potansiyelini belirlemek için antioksidan ve substrat arasındaki tek bir elektron transferi değerlendirilir. Bu kategori N,N-dimetil-*p*-fenilendiamin dihidroklorür (DMPD), kuprik iyon indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC), ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP), Folin-Ciocalteu (FC) ve Troloks Eşiti Antioksidan Kapasite (TEAC) yöntemi/ABTS radikal katyon renk giderme deneyi gibi deneyleri içerir. (Apak vd., 2008; Aryal vd., 2019; Mehdi ve Rizvi, 2013)

(ii) Hidrojen atomu transferi (HAT) deneyleri

Bu analizlerde, bir hidrojen atomu antioksidandan substrata doğru hareket eder. Toplam radikal yakalama antioksidan parametresi (TRAP) yöntemi ve oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC) yöntemi gibi testleri içermektedir. (Dubost vd., 2007; Schlesier vd., 2002)

(iii) Elektron/hidrojen atomu transfer deneyleri

İki aşamalı prosedürlerdir ve bu analizlerde hidrojen atomlarının taşınmasını kolaylaştırır. Bu süreç TEAC ve DPPH süpürme aktiviteleri gibi analizlerde gözlemlenir. (Aryal vd., 2019)

(iv) Metal şelasyon deneyleri

Antioksidanlar, bu testlerde Fe(II) ve Cu(II) gibi geçiş metalleri ile bağlanır. Bu kategori demir ve bakır iyonları için şelatlama aktivitelerini içerir. (Kotha vd., 2022)

(v) Lipid oksidasyonu ve ROT/RAT süpürme aktivitesi deneyleri

Bu testler antioksidanların lipid oksidasyonunu azaltma veya önleme ve aynı zamanda ROT ve RAT'leri temizleme kabiliyetine dayanır. Bu kategori ferrik tiyosiyanat yöntemi (FTC), β -karoten linoleik asit yöntemi/konjuge dien deneyi, tiyobarbitürik asit yöntemi (TBA), hidroksil radikal önleme kapasitesi yöntemi (HORAC), hidrojen peroksit (H_2O_2) önleme deneyi, nitrik oksit önleme aktivitesi, süperoksit radikal önleme aktivitesi (SRSA/SOD), peroksinitril radikal önleme aktivitesi ve ksantin oksidaz yöntemlerini içerir. (Aryal vd., 2019; S. Sharma ve Vig, 2013; Sroka ve Cisowski, 2003)

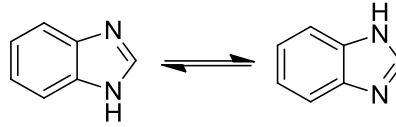
(vi) Enzimatik antioksidan deneyleri

Enzimatik antioksidan testleri arasında katalaz, γ -glutamil transpeptidaz, plazmanın ferrik indirgeme kapasitesi, glutatyon peroksidaz tahmini, glutatyon (indirgenmiş) GSH tahmini, glutatyon-S-transferaz, lipid peroksidasyon testi, Düşük yoğunluklu lipoprotein testi ve süperoksit dismutaz bulunur. (Güngör vd., 2011; Nelson vd., 2006; Rubio vd., 2016; Singhal vd., 2015; Weydert ve Cullen, 2010)

1.8. Literatür Taraması

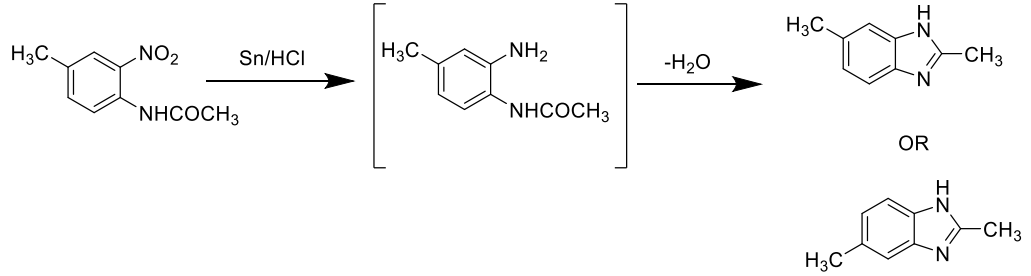
1.8.1. Benzimidazollerin Biyolojik Aktiviteleri

1*H*-benzimidazol ve 1,3-benzodiazol olarak da bilinen benzimidazol, beş üyeli bir imidazol halkası ile kaynaşmış bir benzen halkasından oluşan önemli bir heterosiklik farmakofordur. Hoebrecker 1872 yılında, 4-metil-2-nitroasetanilidi indirgeyerek ilk benzimidazolü (2,5 veya 2,6-dimetilbenzimidazol) sentezlemiştir. Ladenburg aynı kimyasalı birkaç yıl sonra 3,4-diaminotolueni asetik asit ile refluks yöntemi ile elde etmiştir. Bir diğer önemli bulgu ise benzimidazol halkasının *N*-1 hidrojen atomunun kolayca tautomerizeye uğraması ve bunun da elde edilen bileşiklerdeki izomerizasyondan sorumlu olmasıdır. (Wright, 1951)

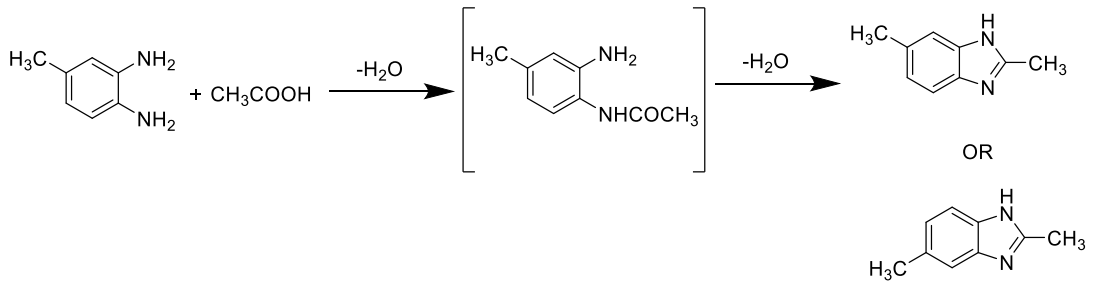


Şekil 1.6. Benzimidazolün yapısı.

Hoebrecker'ın Yöntemi

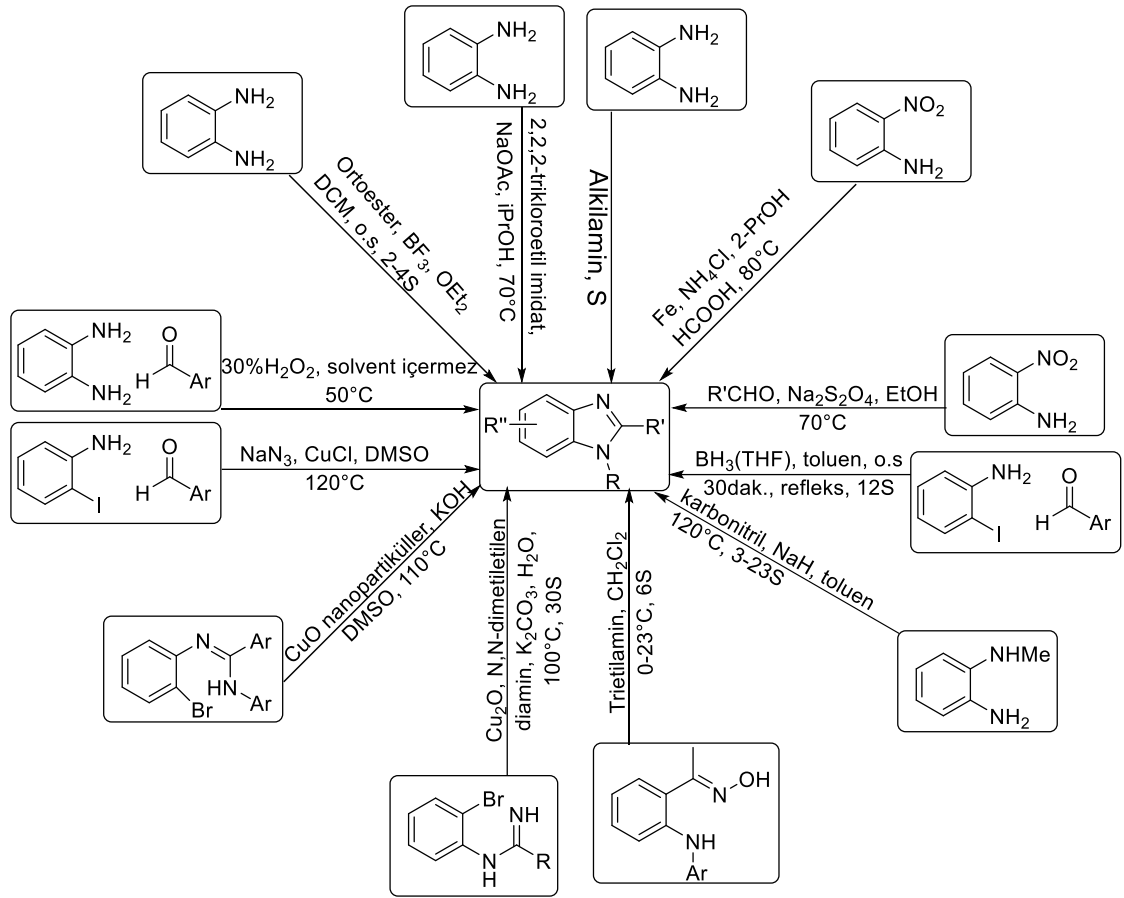


Ladenburg'un Yöntemi



Şekil 1.7. Benzimidazollerin sentezi için kullanılan ilk şemalar. (Wright, 1951)

Son yıllarda, çeşitli sentetik teknikler başarıyla kullanılmaktadır. Şekil 1.8., benzimidazol sentezi için çeşitli sentetik teknikleri göstermektedir. (Yadav ve Ganguly, 2015)

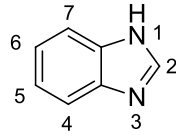


Şekil 1.8. Benzimidazoller için sentetik yöntemler. (Yadav ve Ganguly, 2015)

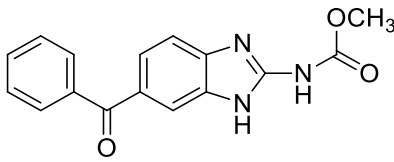
Çok farklı, biyolojik fonksiyonlarla olan bağlantısı nedeniyle benzimidazol, heterosiklik kimyada "ayrıcıklı bir yapı" olarak kabul edilir. (Alaqeel, 2017) Benzimidazol ve türevleri, ilaç ve eczacılık alanında önemli bir biyoaktif molekül sınıfıdır. Antitümör (D. Kumar vd., 2002; Rashedy ve Aboul-Enein, 2013), antidiyabetik, anti-enflamatuar (Bansal ve Silakari, 2012b), antiviral (Salahuddin ve Mazumder, 2017), antikoagulan (Bansal ve Silakari, 2012b), antifungal (Salahuddin ve Mazumder, 2017; Sharma vd., 2004), antimikrobiyal (Bansal ve Silakari, 2012; Salahuddin ve Mazumder, 2017; Sharma vd., 2004; S. Sharma vd., 2009b), (Go'ker vd., 2002; Kuş vd., 2003) antikonvülsan, antidepresan, antileishmanial, antihipertansif (Küçükbay, 2017; Walia vd., 2011), analjezik (Eswayah vd., 2017), antiparazitik (Farahat vd., 2018), antihistaminik (Wang vd., 2012), antioksidan (Ateş-Alagöz vd., 2005; Ayhan-Kilcigil vd., 2007; Kuş vd., 2008) ve antiülser (Noor vd., 2017) gibi çok çeşitli hastalıklara karşı çalışmalar devam etmektedir. (Basha, 2023; Keri vd., 2015)

Benzimidazol türevlerinin yapısal optimizasyonu, antihelmintik olarak albendazol, tiabendazol ve mebendazol, vazodilatör olarak pimobendan (kedi, köpeklerde), antiviral olarak enviradin dahil olmak üzere şu anda piyasada bulunan bir dizi etkili ilaç üretmiştir;

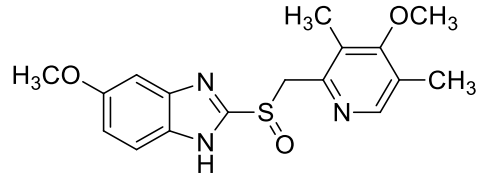
proton pompası inhibitörü olarak omeprazol, pantoprazol ve lansoprazol; antifungal olarak karbendazim; antihipertansif olarak candesartan cilexetil ve telmisartan ve antihistaminik olarak astemizol. (Bansal ve Silakari, 2012) Tıbbi kimyagerler, benzimidazol ile ilişkili ilaçların büyük terapötik potansiyeli nedeniyle benzimidazol içeren, bir dizi yenilikçi kemoterapötik ajan yaratma konusunda motive oldukları bildirilmiştir. (Morais vd., 2017)



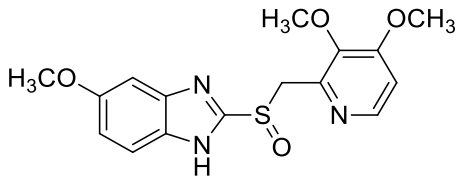
1H-benzimidazol



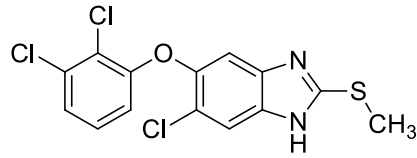
Mebendazol (Anthelmintik)



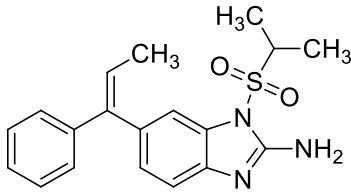
Omeprazol (Proton pompası inhibitörü)



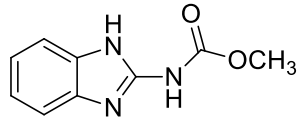
Pantoprazol (Proton pompası inhibitörü)



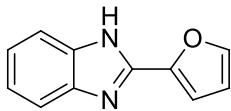
Triklabendazol (Anthelmintik)



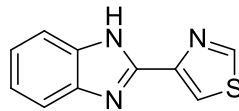
Enviradin (Antiviral)



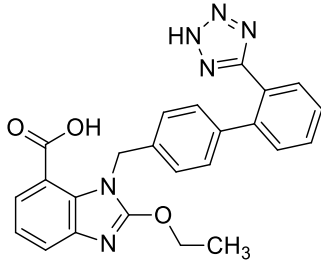
Karbendazim (Mantar öldürücü)



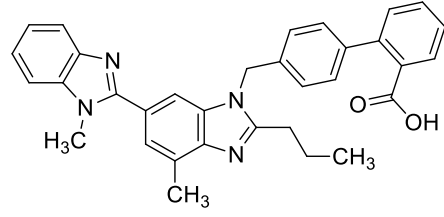
Fuberidazol (Mantar öldürücü)



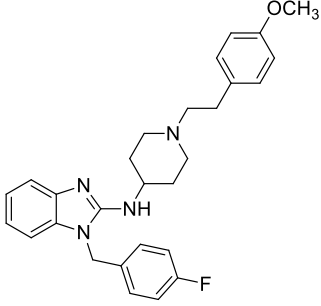
Tiyabendazol (Anthelmintik)



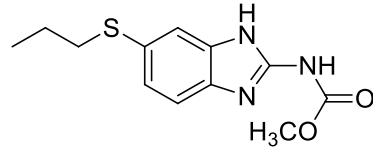
Kandesartan (Antihypertansif)



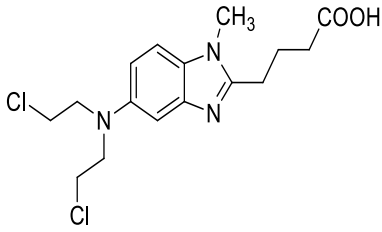
Telmisartan (Antihypertansif)



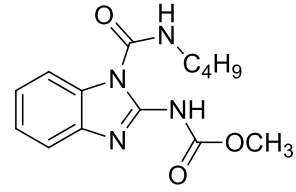
Astemizol (antihistaminik)



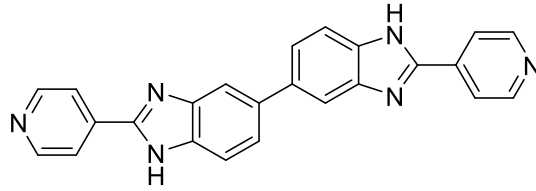
Albendazol (Anthelmintik)



Bendamustin (Antitümör)



Benomyl (Mantar öldürücü)



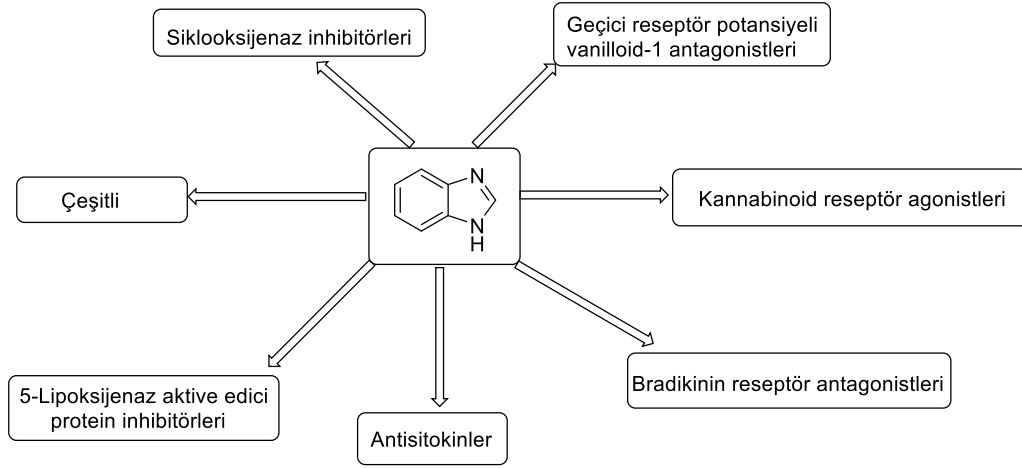
Ridinilazol (Antibakteriyel)

Şekil 1.9. 1H-benzimidazol ve bazı benzimidazol içeren ilaçlar. (Akhtar vd., 2017)

1.8.2. Benzimidazollerin Anti-Enflamatuar ve Analjezik Aktiviteleri

NSAİİ'lerin çeşitli formları arasında, imidazol ve altı üyeli halkalarla kaynaşmış imidazole türevleri, analjezik ve anti-enflamatuar ilaçlar olarak önemli bir role sahiptirler. Benzimidazol parçasının, anti-enflamatuar ilaçlar için minimum yapısal gereklilikleri karşılamakta olduğu bildirilmiştir. (El-Feky vd., 2015; Gaba vd., 2015) Benzimidazol parçası içeren birçok molekülün analjezik aktivitenin yanı sıra önemli anti-enflamatuar aktiviteye de sahip olduğu

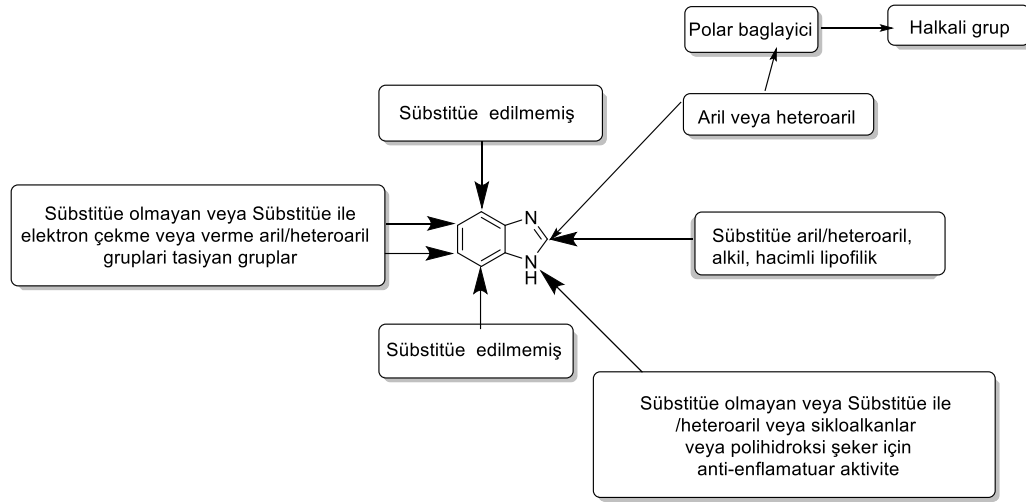
bildirilmiştir. (Mohammed vd., 2013) Prostaglandinler olarak bilinen temel enflamatuar araçların üretiminde yer alan enzimler olan COX'ları inhibe etme yetenekleri nedeniyle, benzimidazol bazlı bileşikler anti-enflamatuar ve analjezik ilaçlar olarak son derece yararlı oldukları açıklanmaktadır. (Akhtar vd., 2017) Benzimidazollerin anti-enflamatuar aktivitesine öncelikle; geçici reseptör, potansiyel vanilloid-1, bradikinin reseptörleri, kannabinoid reseptörleri, 5-lipoksijenaz aktive edici protein, belirli sitokinler ve COX'lar ile etkileşimlerin aracılık ettiği bildirilmektedir. (Veerasamy vd., 2021)



Şekil 1.10. Analjezik ve anti-enflamatuar aktiviteler için etkili benzimidazollerin, klinik olarak onaylanmış, etkileştiği hedefler.

1.8.3. Anti-İnflamatuar Bileşikler Olarak Benzimidazol Türevlerinin Yapı-Aktivite İlişkileri (SAR)

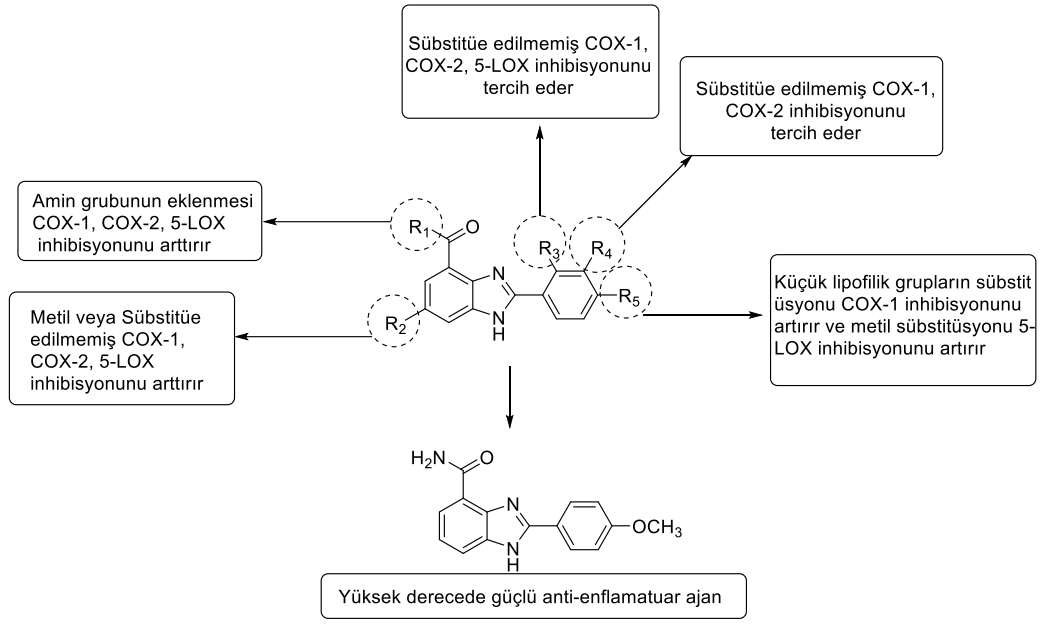
SAR analizlerine göre, benzimidazol çekirdeğinin N1, C2, C5 ve C6 pozisyonlarındaki değişiklikler anti-enflamatuar etkinlik üzerinde önemli role sahip olduğu literatürlerde tanımlanmaktadır. Çeşitli türevlerin, anti-enflamatuar etkileri, benzimidazolün N1'indeki farklı heterosiklik sübstütüsyonlarına bağlanmaktadır. C5 veya C6'daki bir aril/heteroaril sübstütüsyonu anti-enflamatuar aktiviteyi artırırken, C4 ve C7'nin nonsübstütüe olması, anti-enflamatuar aktiviteyi artırdığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, C2'de bir amin grubunun daima anti-enflamatuar aktiviteyi artırırken, benzimidazol N1 konumundaki sübstütüe gruplar ile arasında bir metil veya etil köprüsünün varlığının, anti-enflamatuar aktivite için gerekli olduğu bildirilmektedir. (Veerasamy vd., 2021)



Şekil 1.11. Benzimidazol türevlerinin anti-enflamatuar aktivite için, yapı-aktivite ilişkileri. (Gaba vd., 2014)

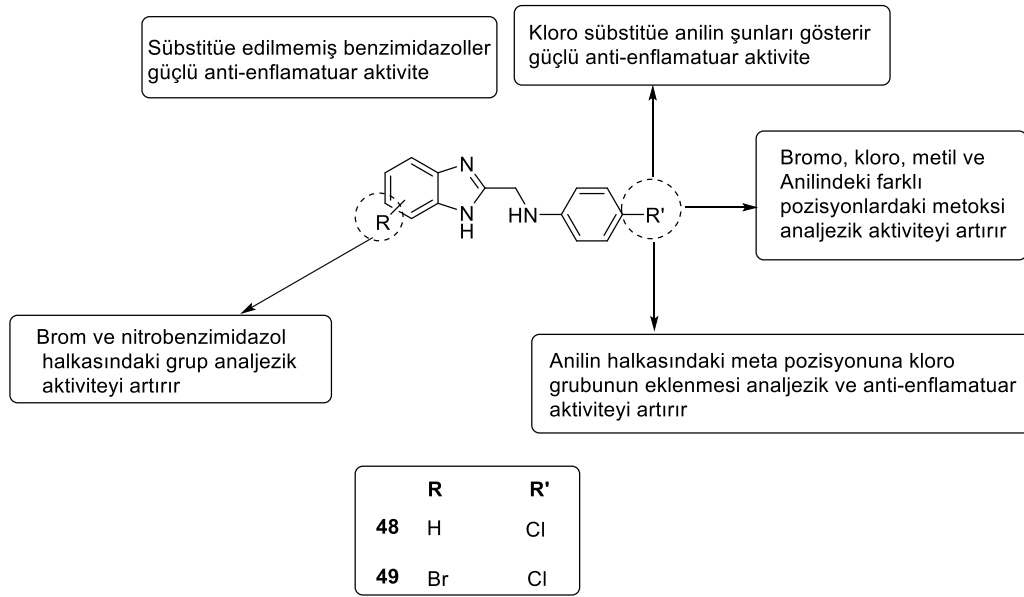
Paramashivappa ve arkadaşları, 2-[[2-alkoksi-6-pentadesil-fenil]metil]tiyo]-1*H*-benzimidazollerini sentezlemiş ve bunların COX-2 inhibitör etkinliğini insanlarda test etmişlerdir. Fenil halkasında metoksi grubu ve 5. pozisyonda süstitüent içermeyen molekül, COX-2 inhibisyonu için COX-1'e göre 384 kat seçicilik ile önemli anti-enflamatuar aktivite gösterdiği bildirilmiştir (COX-1 IC_{50} =384 μ M; COX-2 IC_{50} =1 μ M). Fenil halkasında serbest fenolik fonksiyon ve benzimidazol halkasında metoksi grubu içeren ikinci molekül, selekoksibin 375 kat ve rofekoksibin 200 kat seçiciliği ile karşılaştırılabilir 470 kat seçicilik gösterilmiştir (COX-1 IC_{50} =>500; COX-2 IC_{50} =1,06 μ M). Çalışma, benzimidazolün "NH" kısmının anti-enflamatuar etkideki rolünü daha da doğrulamıştır. Bununla birlikte, C5 pozisyonunda -CH₃ veya -NO₂ ikamesi hafif inhibisyonla sonuçlanırken, -OCHF₂ inhibisyona yol açmamıştır. (Paramashivappa vd., 2003)

Bukhari ve arkadaşları, 2-süstitüefenil benzimidazollerin, COX ve 5-lipoksijenaz enzimleri üzerindeki inhibisyonlarını araştırmışlardır. R2, R3 ve R4 konumları nonsüstitüe türevlerin COX-1 ve COX-2 inhibisyonlarının yanı sıra 5-lipoksijenaz inhibisyonu için tercih edildiğini, ancak R1'deki amin grubunun her üç enzimin içinde inhibisyonu artırdığı bildirilmiştir. R5'teki lipofilik bir grup COX-1 inhibisyonunu desteklerken, hidrofilik bir grup COX-2 inhibisyonunu ve metoksi ikamesi 5-lipoksijenaz inhibisyonunu desteklenmiştir. R2 -CH₃, R1 NH₂, R3 ve R4 -H içeren bileşikler COX-1'i daha iyi inhibe etmiştir. R5 pozisyonunda nitril grubuna sahip bir başka molekülün ikili (COX-1 ve COX-2) inhibitör olduğu gösterilmiştir. R5'te 2-aminopiridin-4-il içeren molekül 5-lipoksijenazı daha iyi inhibe edilmiştir (Şekil 1.12.). (Bukhari vd., 2016)



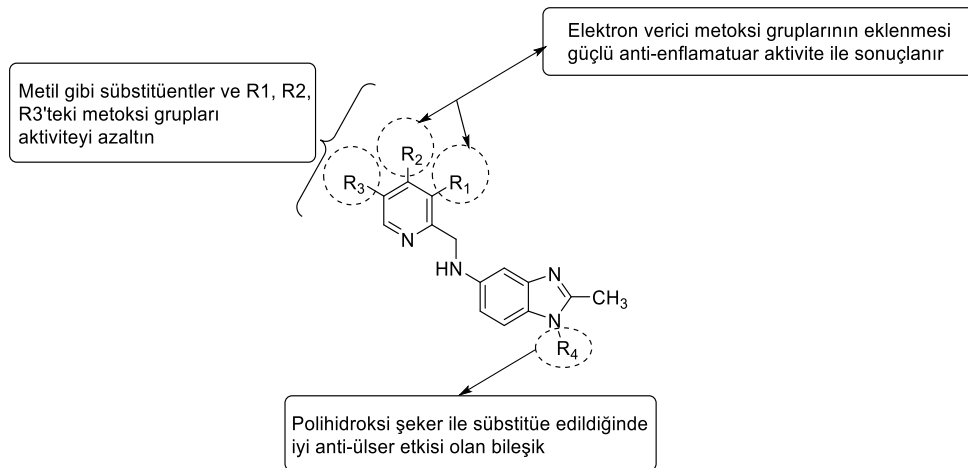
Şekil 1.12. Anti-enflamatuar aktiviteye sahip benzimidazol türevlerinin yapı aktivite ilişkisi (SAR).
 (Bukhari vd., 2016)

Achar ve arkadaşları, Şekil 1.13.'te gösterildiği gibi analjezik ve anti-enflamatuar özelliklere dayanan bazı benzimidazol türevlerinin sentezini, taramasını ve SAR araştırmasını sunulmuştur. Standart ilaç nimesulide (%100 50 mg/kg'de b.w) ile karşılaştırıldığında, 7 ve 2 numaralı bileşikler güçlü analjezik (%89 100 mg/kg'de b.w) ve anti-enflamatuar (%100 100 mg/kg'de b.w) aktivite gösterilmiştir. (Achar vd., 2010)



Şekil 1.13. Analjezik ve anti-enflamatuar olarak benzimidazol türevlerinin SAR'ı. (Achar vd., 2010)

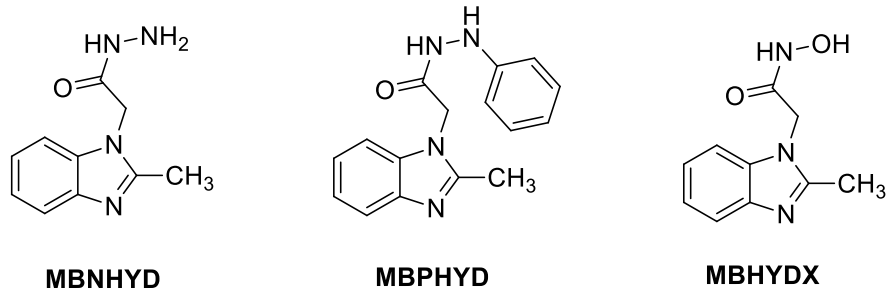
El-Nezhawy ve arkadaşları, yeni süstitüe pirid-2-il ve N-polihidroksi şekere benzimidazol türevleri sentezlenmiş ve anti-enflamatuar aktivitelerini test etmişlerdir. Bileşik **12d** ve **15d**, pençe ödem modelinde enflamasyonu önemli ölçüde azaltarak güçlü anti-enflamatuar türevler olarak tanımlanmışlardır. Bileşiğin gücü, her iki bileşikteki pirid-2-il parçasında elektron verici metoksi gruplarının varlığına bağlanmaktadır. **15d** bileşiğindeki N-benzimidazol parçasına bağlı ekstra polihidroksi şekerin varlığı, Şekil 1.14'te gösterildiği gibi, **12d** bileşiğine kıyasla anti-enflamatuar aktivite ile sonuçlanmaktadır. (El-Nezhawy vd., 2013)



Şekil 1.14. Süstitüe pirid-2-il benzimidazol türevlerinin SAR'ı. (El-Nezhawy vd., 2013)

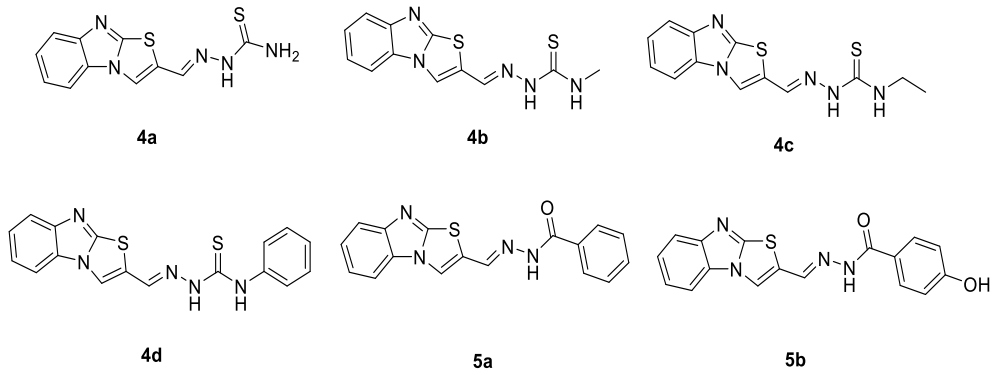
1.8.4. Anti-Enflamatuar Bileşikler Olarak Benzimidazol Türevleri

Moharana vd., 2022 yılında, **MBPHYD**, **MBNHYD** ve **MBHYDX** moleküller sentezlenmiş ve karragenan ile oluşturulan pençe ödemi testi kullanılarak anti-enflamatuar özellikleri test edilmiştir. **MBNHYD**, test kimyasalları arasında en iyi anti-enflamatuar aktiviteye sahipti ve gözlemin tüm zaman noktalarında ibuprofen ile karşılaştırılmıştır. **MBPHYD** aktivitesi **MBNHYD** aktivitesinden daha düşüktü. Bu bulguların aksine, **MBHYDX** etkisinin küçük olduğu ve pençe ödeminin düşük oranda baskılandığı gösterilmiştir. Üç bileşiğin hem in vitro hem de in vivo olarak toksik olmadığı gösterilmiştir. 100 mg/kg seviyesinde, test maddelerinin hiçbirisi öldürücü bulunmamıştır. (Moharana vd., 2022)



Şekil 1.15. MBPHYD, MBNHYD, MBHYDX bileşiklerinin yapısı.

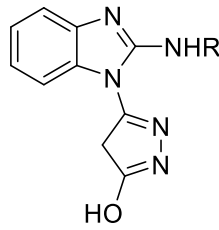
Benzimidazol içeren trisiklik bileşikler sentezlenmiş ve referans bileşik olarak diklofenak sodyum ile protein denatürasyonunu (sığır albümini) inhibe ederek anti-enflamatuar aktivite açısından test edilmişlerdir. Bileşikler, 31,16 ila 88,49 µg/mL arasında değişen IC₅₀ değerleri ile inhibisyon göstermişlerdir. Bileşik **5b**, incelenen kimyasallar arasında en yüksek IC₅₀ değerine sahip olduğu bulunmuştur. (Kamat vd., 2021)



Şekil 1.16. 4a-d, 5a-b bileşiklerinin yapısı.

Yeni 5-[2-(sübstütüe amino)-1*H*-benzimidazol-1-il]-4*H*-pirazol-3-ol (**3a-i**) tasarlanmış, sentezlenmiş ve Cayman'ın kolorimetrik COX deneyi kullanılarak COX enzimlerini inhibe

etme yetenekleri açısından test edilmişlerdir. Tüm moleküller, hem COX-1 hem de COX-2 enzimlerinin güçlü inhibitörleri ancak COX-2 için daha seçici oldukları bildirilmiştir. (seçicilik endeksi, SI 2,42-5,32). En yüksek COX-2 inhibitör aktivitesini gösteren, **3b** ve **3g** bileşikler, referans diklofenak ile kıyaslanmış ve anti-enflamatuar açıdan daha ileri *in vivo* testler için seçilmişlerdir. Bileşik **3b**, diklofenak ile karşılaştırılabilir önemli bir anti-enflamatuar etkinliğe sahip olduğu ve indometasinden daha az ülserojenik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (ülser indeksi = 12,81). (Moneer vd., 2016)



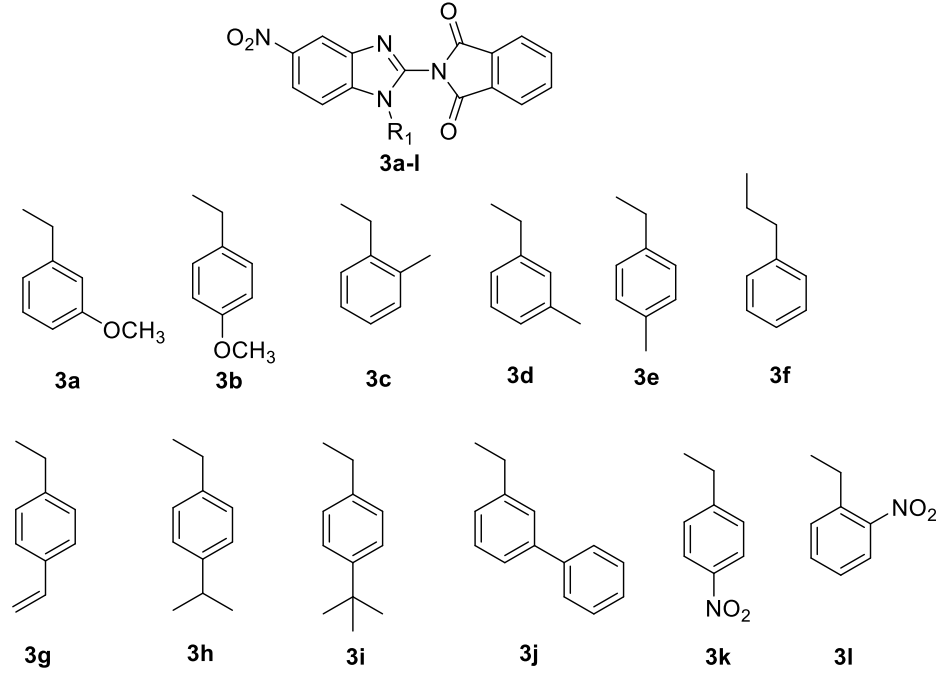
3a-i

3a	C ₂ H ₅	3d	-CH ₂ C ₆ H ₅	3g	3-CH ₃ C ₆ H ₄
3b	<i>n</i> -C ₄ H ₉	3e	C ₆ H ₅	3h	4-CH ₃ C ₆ H ₄
3c	-CH ₂ CH=CH ₂	3f	4-ClC ₆ H ₄	3i	4-CH ₃ OC ₆ H ₄

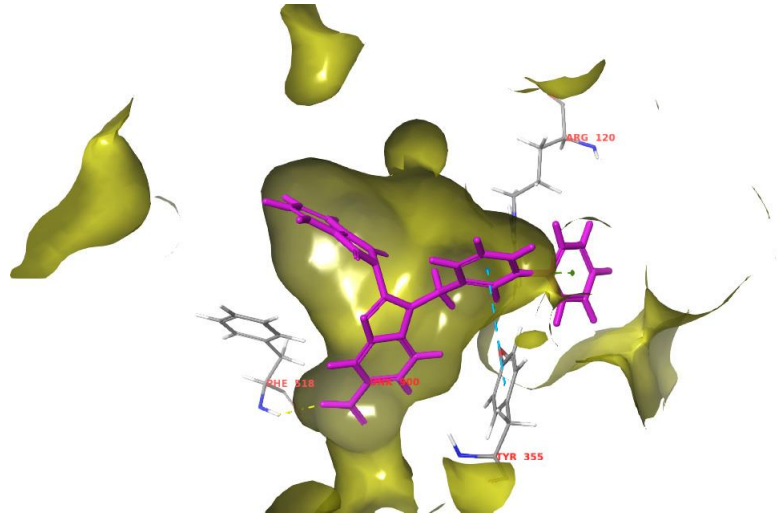
Şekil 1.17. 3a-i bileşiklerinin yapısı.

Çoklu hedef profiline sahip hibrit ilaçların tasarlanması, enflamasyonla mücadele için umut verici bir stratejidir. Bu amaçla, benzimidazoller (COXs ve LOXs inhibitörleri için farmakoforik elementler içeren) ve talidomidin ftalimid alt birimi (TNF- α inhibitörü için bir farmakofor elementi içeren) moleküler hibridizasyon yoluyla tek bir yapı altında birleştirilerek benzimidazol tabanlı hibrit moleküller tasarlanmıştır. Önerilen bileşikler (**3a-l**) sentezlenmiş ve COX'lara (COX-1, COX-2), LOX'lara (5-LOX, 15-LOX) ve TNF- α 'ya karşı inhibitör etkileri açısından test edilmişlerdir. **3j** bileşiği COX-1/2 ve 5-/15-LOX enzimlerinin çoklu inhibisyonu (COX-1 IC₅₀ = 9,85 μ M; COX-2 IC₅₀ = 1,00 μ M; SI = 9,85; 5-LOX IC₅₀ = 0,32 μ M; 15-LOX IC₅₀ = 1,02 μ M) ile anti-enflamatuar ve analjezik özellikler gösterilmiştir. Ayrıca, bileşik **3j**, lipid peroksidasyonunu azaltarak gastrointestinal güvenlik sağlamıştır. Bileşik **3j**'nin COX-2 ve 5-LOX ile kenetlenme sonuçları da *in vivo* anti-enflamatuar sonuçlarla karşılaştırılmış, buna göre, çalışmanın bulguları, **3j**'de gözlenen COX-2 seçiciliği ve 5-LOX inhibisyon kombinasyonunun, etkili anti-enflamatuar etki ve yüksek gastrointestinal güvenlikten sorumlu olabileceği ve mevcut teoriyi desteklediği bildirilmektedir. (Kaur ve Silakari, 2018)

Biyolojik değerlendirme ile belirlenen en etkili bileşik **3j**, COX-2 için -31,94 kcal/mol, 5-LOX için -56,77 kcal/mol ve 15-LOX için 57,68 kcal/mol skorları ile kenetlenmiş bileşikler arasında iyi bağlanma enerjisine sahip olarak açıklanmıştır. **3j** ve COX-2'nin kenetlenmiş kompleksinin analizi, **3j** 'nin nitro grubunun hem Phe-518 hem de Arg-513 ile etkileşerek COX-2'yi inhibe ettiğini ortaya koymuştur (Şekil 1.19.). Bifenil halkasının, Tyr-355 ve Arg-120 ile π - π bağlantıları oluşturduğu da bildirilmiştir. (Kaur ve Silakari, 2018)



Şekil 1.18. 3a-l bileşiklerinin yapısı.



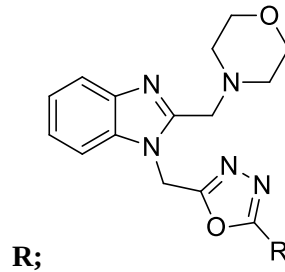
Şekil 1.19. Bileşik 3j 'nin COX-2 enzimi ile etkileşimleri.

2017 yılında Chikkula vd., tarafından, 3-metilizoksazol-5(4*H*)-on/2-hidroksi merkapt-6-metilpirimidin-4(5*H*)-on/3-metil-1-sübstitüe-1*H*-pirazol-5(4*H*)-on sübstitüe benzimidazol türevleri (**5-16**), izoksazol/pirimidin/pirazol sübstitüe benzimidazol hidrazonlar kullanılarak hibrit bir yöntem ile sentezlenmişlerdir. Tüm test maddeleri, kuyruk fiske yöntemi ve karragenan ile oluşturulan pençe ödemi yöntemi kullanılarak analjezik ve anti-enflamatuar özellikler açısından değerlendirilmiştir. Pirazol türevleri, özellikle *p*-sübstitüe fenil analogu, düşük ülser indeksi ile güçlü analjezik ve anti-enflamatuar etkinliğe sahip olduğu bulunmuştur. İzoksazol ve pirimidin türevleri daha düşük ülser indeksi ile mütevazı analjezik ve anti-enflamatuar etkinlik gösterilmiştir. En aktif kimyasallar, pilor ligasyonu prosedürü kullanılarak ülserojenisite açısından test edilmişlerdir. İncelenen bileşikler arasında 4-(2-(4-(1*H*-benzimidazol-2-il) fenil)hidrazono)-1-(4-klorofenil)-3-metil-1*H*-pirazol- 5(4*H*)-on **10** en güçlü kimyasal olarak keşfedilmiştir. Bu kimyasal, normal diklofenak [%69 analjezik aktivite (20 mg/kg; ikinci saat) ve pençe ödemi testinde %65 koruma (20 mg/kg; ikinci saat)] ile eşdeğer olan %72 analjezik aktivite (20 mg/kg; ikinci saat) ve pençe ödemi testinde %67 koruma (20 mg/kg; ikinci saat) gösterilmiştir. Ayrıca, bileşik **10**, referans normun yaklaşık üçte biri olan en düşük ülser indeksine sahip olarak bildirilmiştir. (Chikkula ve Sundararajan, 2017)

6; X=O, **7;** X=S, **8;** R=H, **9;** R=C₆H₅, **10;** R=*p*-ClC₆H₄, **11;** R=*p*-FC₆H₄, **12;** R=*p*-OCH₃C₆H₄, **13;** R= *m*-ClC₆H₄, **14;** R=*m*-FC₆H₄, **15;** R=CSNH₂, **16;** R=C₅H₄NCO

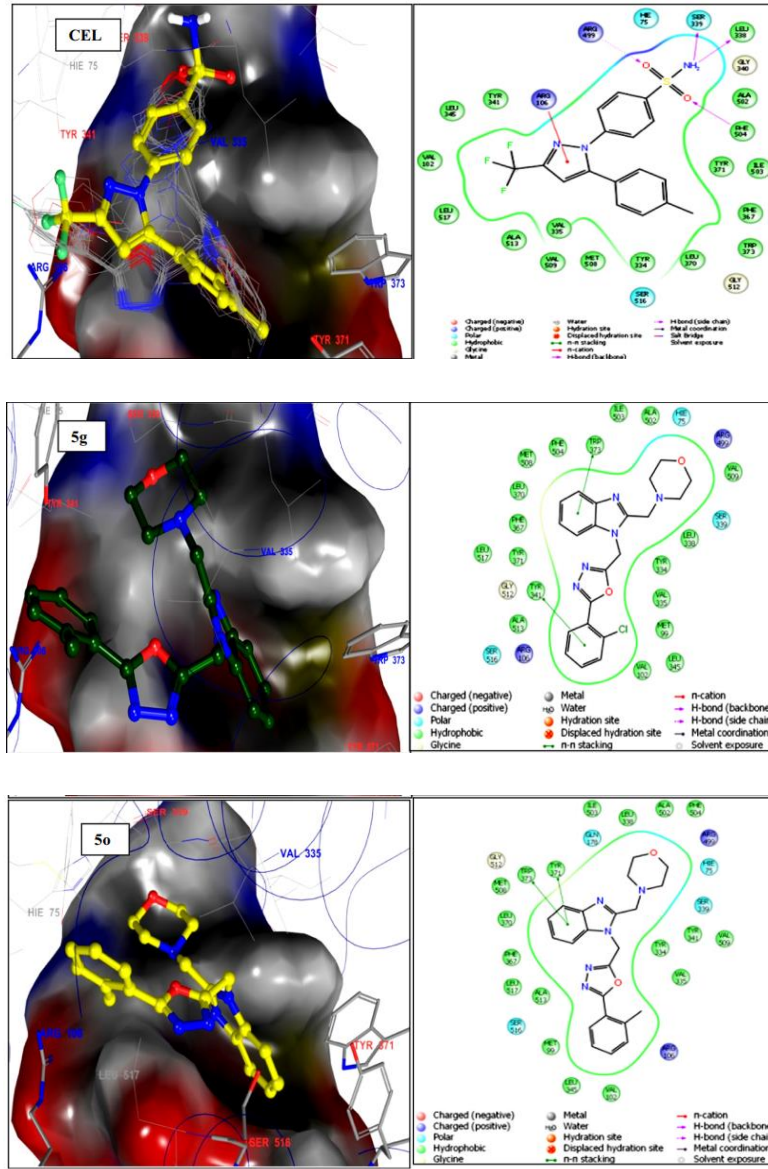
Benzimidazol, morfolin ve oksadiazol halkaları ile bağlanarak 1-{{(5-sübstitüe-1,3,4-oksadiazol-2-il)metil}} ve -2 (morfolinometil)-1*H*-benzimidazoller (**5a-r**) seri oluşturulmuştur. Bunlar karragenan ile oluşturulan pençe ödemi testi kullanılarak anti-enflamatuar özellikleri açısından araştırılmıştır. 1-{{(5-(2-klorofenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)metil}}-2-(morfolinometil)-1*H*-benzimidazol (**5g**), daha düşük ülserojenik ve lipid peroksidasyon profili ile maksimum anti-enflamatuar (%74,17± 1,28 inhibisyon) etki ve ayrıca 8,00 µM IC₅₀ değerleri ile güçlü COX-2 inhibisyonu gösterilmiştir. **5o** ve **5q** Bileşikleri de sırasıyla 11,4 ve 13,7 µM IC₅₀ değerleri ile güçlü COX-2 inhibisyonu gösterilmiştir. Bir moleküler kenetlenme araştırması, benzimidazole bağlı morfolin ve oksadiazol halkalarının, COX-2 ile bağlanmada önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur.

Yerleştirme araştırmaları, COX-2 enzimine (PDB; 3LN1) karşı referans ilaç olan selekoksib (CEL) ile gerçekleştirilmiştir. Ligand reseptör etkileşimlerinin üç farklı bölgesi tespit edilmiştir. CEL'in ilk sülfonil amino bileşeni, Leu338, Ser339 ve Phe504 kalıntıları ile üç hidrojen bağı ve Arg499 ile de tek bir yan zincir hidrojen bağı göstermiştir. İkinci bölümde Arg106 kalıntısı pirazolin çekirdeği ile etkileşime girmiş; son bölgede ise Tyr371, Trp373, Phe367, Leu370 gibi daha hacimli kalıntıların varlığı nedeniyle hidrofobik ve aromatik temaslar görülmüştür. **5g** ve **5o** Bileşiklerinin bağlanma mekanizması, CEL'den farklılık göstermiş, sülfonil aminli fenil halkası ligandların morfolin kısmı ile yer değiştirilmiş ve sonraki bölümde fenil süstitüsyonlu oksadiazol halkası mevcuttur ve Tyr341 ile hidrofobik etkileşimlerden ve Ser516 ile hidrojen bağından sorumlu olduğu bildirilmiştir. (Rathore vd., 2017)



5a	CH ₃	5g	2-ClC ₆ H ₄	5m	2-OHC ₆ H ₄
5b	CH ₂ CH ₃	5h	4-ClC ₆ H ₄	5n	4-OHC ₆ H ₄
5c	CH ₂ Cl	5i	2-FC ₆ H ₄	5o	2-CH ₃ C ₆ H ₄
5d	CH ₂ CH ₂ Cl	5j	4-FC ₆ H ₄	5p	4-CH ₃ C ₆ H ₄
5e	CH ₂ NH ₂	5k	2-NO ₂ C ₆ H ₄	5q	2-OCH ₃ C ₆ H ₄
5f	C ₆ H ₅	5l	4-NO ₂ C ₆ H ₄	5r	4-OCH ₃ C ₆ H ₄

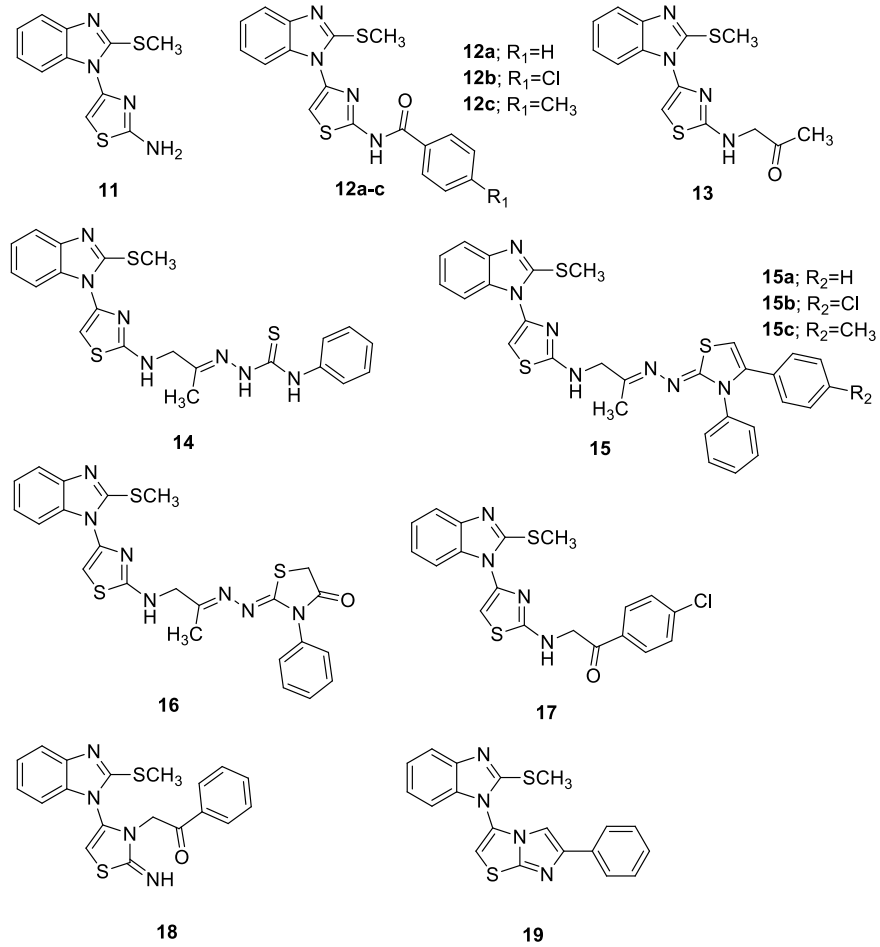
Şekil 1.21. 5a-r bileşiklerinin yapısı.



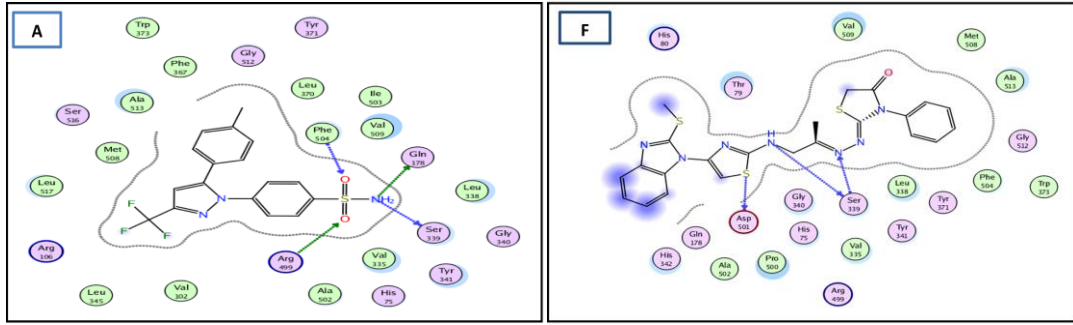
Şekil 1.22. Ligandların (CEL, 5g ve 5o) COX-2 (PDB: 3LN1) ile 3D ve 2D Grafiksel gösterimi.

Maghraby vd. 2020 yılında, 2-aminotiyazol bağlayıcı aracılığıyla çeşitli anti-enflamatuar farmakoforlara bağlanan 2-metiltiyobenzimidazolün yeni moleküler hibritlerinin tasarımı ve sentezini içermektedir ve bu moleküler *in vivo* anti-enflamatuar aktivite olarak, COX ve 15-LOX enzim inhibisyonu üzerindeki etkisinin de araştırılması amaçlanmıştır. Asetil sübstütüe benzimidazol-tiyazol hibriti **13**, fenil tiyosemikarbazon **14**, 1,3-tiyazolinler **15a-c** ve 4-tiyazolidinon **16** güçlü COX-2 inhibisyonu ($IC_{50}=0,045-0,075 \mu M$) gösterilmiştir. Seçicilik indeksleri, SI=142-294 aralığında olarak bildirilmiştir. Tüm hibritler, güçlü 15-LOX inhibitör etkisi gösterilmiştir ($IC_{50}=1,67-6,56 \mu M$). Benzimidazol-tiyazol hibridi **15b**, kuersetine ($IC_{50}=3,34 \mu M$) kıyasla, 15-LOX enzimine karşı iki kat inhibitör aktivite ($IC_{50} = 1,67 \mu M$) ve selekoksibe de (COX-2; $IC_{50}=0,045 \mu M$, SI=327) benzer şekilde etki göstererek,

en güçlü ikili COX-2 ($IC_{50}=0,045 \mu M$, $SI=294$) inhibitör olmuştur. Üç hibrit (**14**, **15b** ve **16**), karragenan ile indüklenmiş pençe ödemi tekniği kullanılarak *in-vivo* tarama için seçilmiştir. Benzimidazol-tiyazol hibridi, 4-Tiyazolidinon **16** 'ya bağlıdır, 3 ve 4 saatlik aralıklarla en yüksek ödem inhibisyonu gösterilmiştir (indometasine kıyasla sırasıyla ~%119 ve %102), ayrıca indometasine kıyasla daha üstün bir gastrointestinal güvenlik profili sergilenmiştir. COX-2 enzimine (PDB ID: 3LN1) karşı yapılan yerleştirme çalışmasında, selekoksib -9,66 Kcal/mol ve bileşik **16** -7,40 Kcal/mol bağlanma skoru gösterilmiştir. İki bileşiğin COX-2 enzimi ile bağlanma paterni Şekil 1,25.'te gösterilmiştir. (Maghraby vd., 2020)

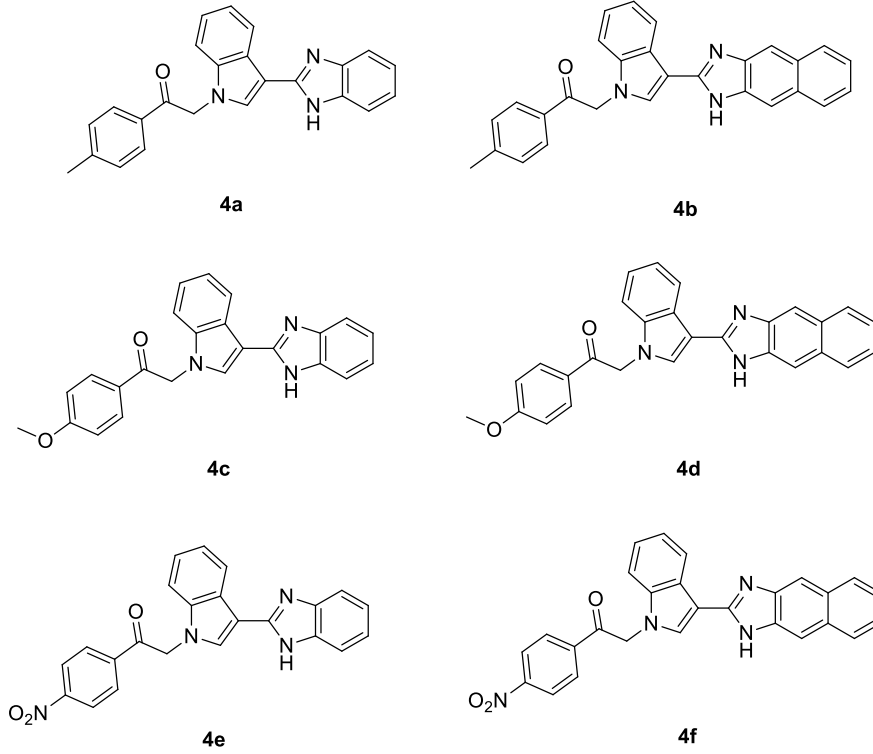


Şekil 1.23. 11, 12a-c, 13, 14, 15a-c, 16, 17, 18, 19 bileşiklerinin yapısı.



Şekil 1.24. Selekoksib ve 16'nın COX-2 aktif bölgesine kenetlenmiş kompleksleri. (A) Selekoksibin 2D yapısı. (F) Bileşik 16'nın 2D yapısı.

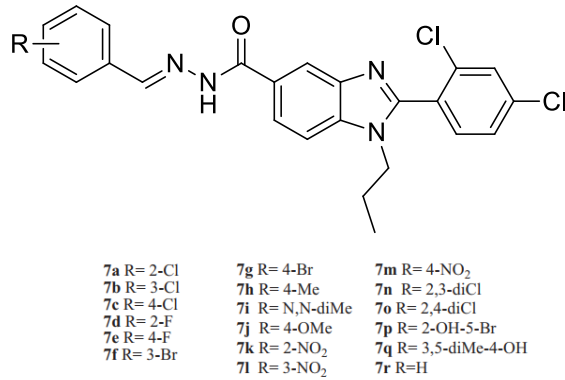
Yeni bir seri, *N*-açıl süstitüe indol-bağlı benzimidazoller ve naftimidazoller sentezlenmiş (**4a-4f**) ve tüm hedef bileşikler için anti-enflamatuar aktivite HRBC (İnsan Kırmızı Kan Hücreleri) membran stabilizasyon testi ile *in-vitro* olarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşikler, 100 µg/ml'de standart ilaç diklofenak ile karşılaştırıldığında önemli bir anti-enflamatuar aktivite gösterdikleri bildirilmiştir. (Abraham vd., 2018)



Şekil 1.25. 4a-f bileşiklerinin yapısı.

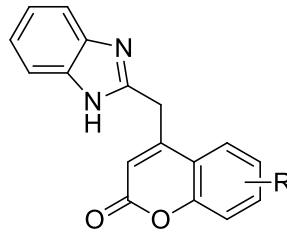
Vasantha ve arkadaşları, 2015 yılında, *N*-ariliden-2-(2,4-diklorofenil)-1-propil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-karbohidrazid, ariliden kısmı üzerindeki farklı süstitüsyonlar ile sentezlenmişlerdir (**7a-r**). Benzimidazol-5-karboksilat, etil 3-nitro-4-(propilamino)benzoat ve 2,4-diklorobenzaldehit (dimetilsülfoksitli solvanda sodyum ditiyonit varlığında)

arasındaki 'tek-pot' nitro indirgeyici siklizasyon reaksiyonu sonucu, yüksek verim ile sentezlenmiştir. Anti-enflamatuar tarama sonuçları, **7a** (%71,97), **7f** (%72,11), **7g** (%69,05) ve **7j** (%64,67) bileşiklerinin yeni sentezlenen on yedi bileşik arasında, en aktif türevler olduğunu ortaya koymuştur. Bileşikler, **7a** ve **7f** tipik ilaç indometasinden (%69,34) 1,07 kat daha aktiftir, **7f** ise **7a**'dan biraz daha aktifken, bileşikler **7d** ve **7g** indometasine eşdeğer etki sergilenmiştir. İlginç bir şekilde, bileşiklerin çoğu dozlamadan sonraki bir saat içinde pençe ödem hacmini önemli ölçüde azaltılmıştır. (Vasantha vd., 2015)



Şekil 1.26. 7a-r bileşiklerinin yapısı.

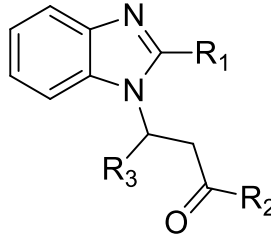
Kumarin ve benzimidazol çekirdeklerinin çeşitli bağlayıcılar aracılığıyla bağlanmasıyla birkaç yeni türev geliştirilmiştir. PASS (maddeler için aktivite spektrumlarının tahmini) yazılımını kullanak yürütülen, *in silico* araştırma, bu kimyasalların güçlü anti-enflamatuar olabileceğini gösterilmiştir. Bileşikler sentezlenmiş ve beklenen aktivitelerin yanı sıra *in vitro* antioksidan potansiyel açısından da test edilmişlerdir. Bileşiklerin (**4a-4f**) iyi ile orta derecede anti-enflamatuar bileşikler olduğu kanıtlanmıştır. Bileşiklerden, **4b** ve **4f** en yüksek anti-enflamatuar etkinliğe (%45 inhibisyon) sahiptir ve bunun da 3 saat sonra (pik enflamatuar yanıt süresi) indometasinin etkisiyle (%48 inhibisyon) karşılaştırılabilir olduğu bildirilmiştir. (Sethi vd., 2018)



A	7-OH	d	8- CH ₃
b	7-CH ₃	e	8-NO ₂
c	6- CH ₃	f	H

Şekil 1.27. 4a-f bileşiklerinin yapısı.

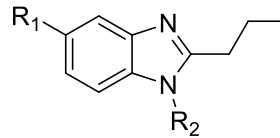
2-Süstitüe benzimidazollerin uygun aldehit ve asetofenon ile reaksiyona sokulmasıyla 2-süstitüe benzimidazollerin bir seri yeni manniş bazı sentezlenmiştir. Bileşikler, sırasıyla kuyruk fiskesi yöntemi ve karragenan ile oluşturulan pençe ödemi testi kullanılarak *in vivo* analjezik ve anti-enflamatuar özellikler açısından test edilmiştir. Yukarıda bahsedilen maddelerin çoğunluğu önemli oranda anti-enflamatuar ve analjezik etkinlik gösterilmiştir. **A1** (%97,17 ve %90,20) ve **B3** (%89,46 ve %93,47) bileşiklerinin sırasıyla sentezlenen tüm bileşikler arasında en güçlü analjezik ve anti-enflamatuar özelliklere sahip olduğu bulunmuştur. Akut ülserojenite deneyleri, **A1** ve **B3** bileşiklerinin gastrointestinal toksisite içermediğini ortaya koymuştur. (Kumar vd., 2015)



Compound	R ₁	R ₂	R ₃	Compound	R ₁	R ₂	R ₃
A1	H	C ₆ H ₅	H	B3	CH ₃	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅
A2	H	CH ₃	H	B4	CH ₃	CH ₃	C ₆ H ₅
A3	H	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	C1	CH ₂ C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	H
A4	H	CH ₃	C ₆ H ₅	C2	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	H
B1	CH ₃	C ₆ H ₅	H	C3	CH ₂ C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅
B2	CH ₃	CH ₃	H	C4	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	C ₆ H ₅

Şekil 1.28. A1-4, B1-4, C1-4 bileşiklerinin yapısı.

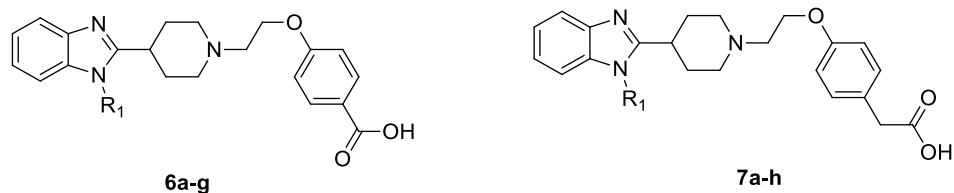
Fizikokimyasal ve 3 boyutlu benzerlik çalışmalarına dayanarak, klinik olarak faydalı anti-enflamatuar ilaçların (nimesulid ve rofekoksib) ve antiülser ilaçların (lansoprazol, omeprazol vb.) yapısal özellikleri entegre edilerek bir seri 5-metansülfonamido benzimidazol türevi geliştirilmiştir. Bileşikler, standart ilaçlar olarak rofekoksib ve indometasin kullanılarak karragenan ile oluşturulan pençe ödemi modelinde anti-enflamatuar etkinlik açısından test edilmiştir. Bileşik **9**, **10** ve **11**, standart grupla karşılaştırılabilir anti-enflamatuar aktivite gösterdiği (ödemde maksimum azalma sırasıyla %92,73, %95,64 ve %97,62) ve test dozunda ülserojenite gösterilmemiştir. (R. Sharma vd., 2017)



Compound	R ₁	R ₂	Compound	R ₁	R ₂	Compound	R ₁	R ₂
1	H	H	5	NO ₂	C ₆ H ₁₃	9	NHSO ₂ CH ₃	C ₄ H ₉
2	NO ₂	H	6	NH ₂	C ₄ H ₉	10	NHSO ₂ CH ₃	C ₅ H ₁₁
3	NO ₂	C ₄ H ₉	7	NH ₂	C ₅ H ₁₁	11	NHSO ₂ CH ₃	C ₆ H ₁₃
4	NO ₂	C ₅ H ₁₁	8	NH ₂	C ₆ H ₁₃			

Şekil 1.29. 1-11 bileşiklerinin yapısı.

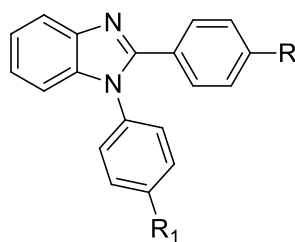
İki seri, 2-(piperidin-4-il)-1*H*-benzo[*d*]imidazol türevi, **6a-g** ve **7a-h**, yeni anti-enflamatuar bileşikler olarak geliştirilmiş ve sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin çoğu, (lipopolisakkaritler) LPS ile uyarılan RAW 264.7 makrofajlarında nitrik oksit NO ve TNF- α üretimini inhibe etmiştir. **6e**, NO (IC₅₀=0,86 μ M) ve TNF- α (IC₅₀=1,87 μ M) üzerinde en güçlü inhibitör aktiviteye sahip bileşik olmuştur. Daha ileri testler, bileşik **6e** 'nin farelerde ksilen kaynaklı kulak ödemeine karşı ibuprofenden daha fazla *in vivo* anti-enflamatuar etkinliğe sahip olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, Western blot incelemesi, bileşik **6e** 'nin LPS ile uyarılan RAW 264,7 makrofajlarında I κ B α fosforilasyonunu ve p65 NF- κ B protein üretimini geri kazandırabildiğini gösterilmiştir. (Li vd., 2015)



Comp.	R ₁	Comp.	R ₁	Comp.	R ₁
6a	1-butyl	6f	4-methoxybenzyl	7d	2-ethoxyethyl
6b	2-methoxyethyl	6g	4-chlorobenzyl	7e	2-phenoxyethyl
6c	2-ethoxyethyl	7a	ethyl	7f	benzyl
6d	2-phenoxyethyl	7b	1-butyl	7g	4-methoxybenzyl
6e	benzyl	7c	2-methoxyethyl	7h	4-chlorobenzyl

Şekil 1.30. 6a-g, 7a-h bileşiklerinin yapısı.

Para pozisyonunda çeşitli aromatik süstitüsyonlara sahip çeşitli 1,2-difenilbenzimidazoller sentezlenmiş ve bunların COX-2 ve nitrik oksit sentaz, iNOS ile etkileşimleri *in silico*, *in vitro* ve *in vivo* olarak incelenmiştir. Bileşik 2-(4-bromofenil)-1-(4-nitrofenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazolün COX-2'yi en fazla inhibe ettiği, *N*-(4-(2-(4-bromofenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)fenil) asetamid ve *N*-(4-(2-(4-klorofenil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)fenil)asetamid bileşiklerinin ise *in vitro* NO üretimini azalttığı bulunmuştur. Ayrıca ağızdan uygulandıklarında *in vivo* olarak önemli ölçüde anti-enflamatuar etki göstermişlerdir. Bileşik **2b** ve **2d**'nin COX-2'ye karşı sırasıyla %51 ve %48 olmak üzere en yüksek inhibisyon oranlarını gösterdiği bulunmuştur. Bileşik **2b**'nin %51 ile en iyi *in vitro* inhibisyona sahip olduğu bulunmuştur; bu oran standart Etox ile görülen %62'lik inhibisyondan daha düşüktür. (García-Aranda vd., 2020)

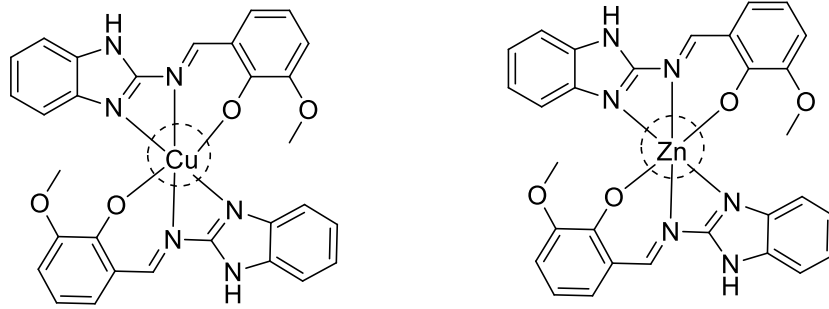


Compound	R	R ₁	Compound	R	R ₁
2a	CN	NO ₂	3b	Br	NH ₂
2b	Br	NO ₂	3c	Cl	NH ₂
2c	Cl	NO ₂	3g	NH ₂	NH ₂

2d	NO ₂	NO ₂	4b	Br	NHCOCH ₃
2e	H	NO ₂	4c	Cl	NHCOCH ₃
2f	COOH	NO ₂	4h	NHCOCH ₃	NHCOCH ₃

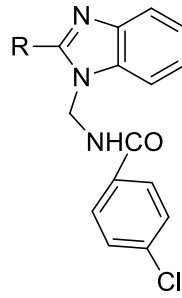
Şekil 1.31. 2a-f, 3b, 3c, 3g, 4b, 4c ve 4h bileşiklerinin yapısı.

2-aminobenzimidazol ve o-vanilinin kondensasyonundan üretilen 2-[(1*H*-benzoimidazol-2-ylimino)-metil]-6-metoksi-fenol Schiff bazı ligandının (**L**) iki yeni bakır (II) ve çinko (II) kompleksi. Yeni sentezlenen bileşikler farelerde asetik asit oluşturulan analjezik ve maya oluşturulan antipiretik özelliklerinin yanı sıra karragenan ile oluşturulan pençe ödemi testi kullanılarak anti-enflamatuar aktivite açısından test edilmiştir. Bulgular, [**CuL₂**] molekülünün (100 mg/kg b.w) önemli anti-enflamatuar aktiviteye sahip olduğunu, [**ZnL₂**]'nin (50 mg/kg ve 100 mg/kg b.w) ise standart ilaçlarla karşılaştırıldığında önemli analjezik aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Her iki kompleksin de orta derecede ateş düşürücü etkiye sahip olduğu görülmektedir. (Alajmi vd., 2016)



Şekil 1.32. CuL₂ ve ZnL₂ komplekslerinin yapısı

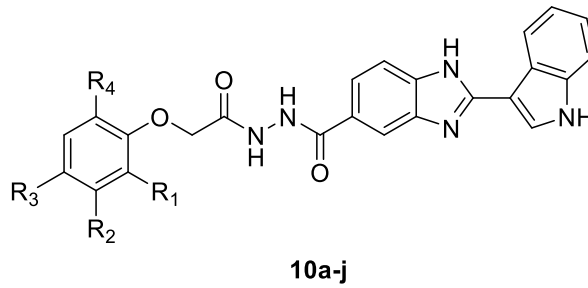
Bir seri N-(benzimidazol-1-ilmetil)-4-klorobenzamid türevi (**3a-3m**) sentezlenmiş ve in vivo anti-enflamatuar açısından değerlendirilmiş, referans ilaç olarak diklofenak sodyum kullanılmıştır. Bileşik **3a**, benzimidazolün 2-pozisyonunda klorometil sübstitüenti içeren, 100 mg/kg dozunda önemli anti-enflamatuar etki gösterilmiştir (66,66%). (Sethi vd., 2018)



3a	CH ₂ Cl	3f	3-Cl-C ₆ H ₄	3k	4-NO ₂ -C ₆ H ₄
3b	C ₆ H ₅	3g	4-Cl-C ₆ H ₄	3l	4-F-C ₆ H ₄
3c	3-NC ₅ H ₄	3h	2-Br-C ₆ H ₄	3m	2-NH ₂ -C ₆ H ₄
3d	2-OH-C ₆ H ₄	3i	3-Br-C ₆ H ₄		
3e	2-Cl-C ₆ H ₄	3j	4-Br-C ₆ H ₄		

Şekil 1.33. 3a-m bileşiklerinin yapısı.

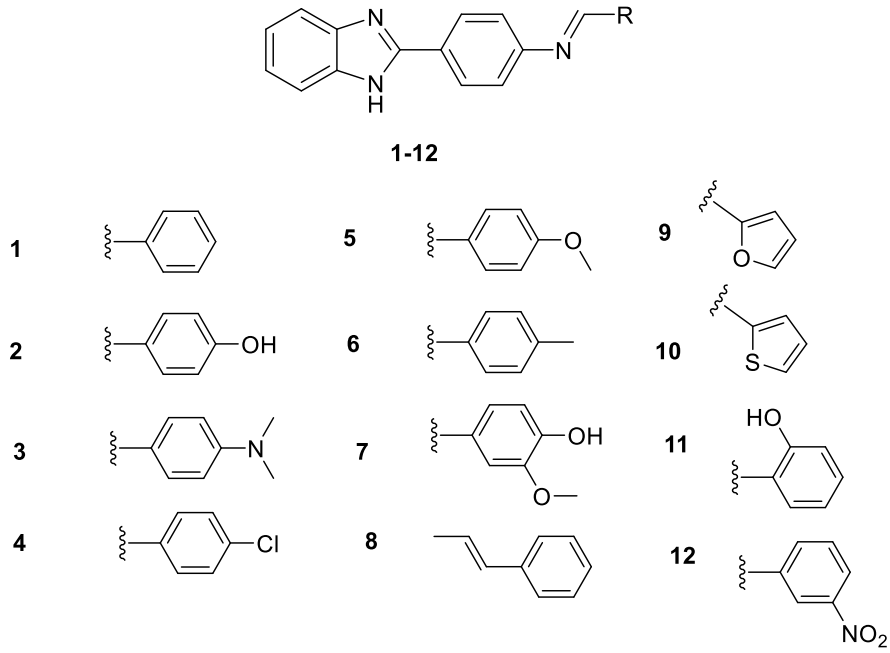
Benzofenon ve indol parçalarına sahip benzimidazol analogları (**10a-j**) sentezlenmiş ve anti-enflamatuar, analjezik ve ülserojenik aktiviteler açısından test edilmiştir. Bileşiklerin (**10a-j**) incelenmesi yüksek oranda anti-enflamatuar etki ortaya koymuştur. Çalışmanın ilk saatinin başlangıcında, tüm maddeler %48,55 ila %72,15 arasında değişen koruma ile güçlü anti-enflamatuar etkinlik gösterilmiştir. Selekoksisib ve indomethacin ise sırasıyla %27,85 ve %35,5 koruma sağlanmıştır. Ayrıca, **10a**, **10d** ve **10g-i** bileşiklerinin potansiyeli bir sonraki saat boyunca azalmış ve aralık %41,55-58,75'e düşmüştür. Bununla birlikte, bileşik **10b** (%67,10) indometasin (%67,30) ile neredeyse aynı aktiviteye sahipken, geleneksel selekoksisib (%37,30) çok az miktarda koruma sağlanmıştır. Ayrıca, **10c** (%86,45) ve **10e** (%78,70) bileşiklerinin çok daha yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. (Nagesh vd., 2022)



Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
10a	CH ₃	H		H	10f	CH ₃	H		CH ₃
10b	CH ₃	H		H	10g	H	H	CH ₃	
10c	CH ₃	H		CH ₃	10h	CH ₃	H	Cl	
10d	CH ₃	H		H	10i	F	H		Cl
10e	CH ₃	H		CH ₃	10j	H	OCH ₃	H	

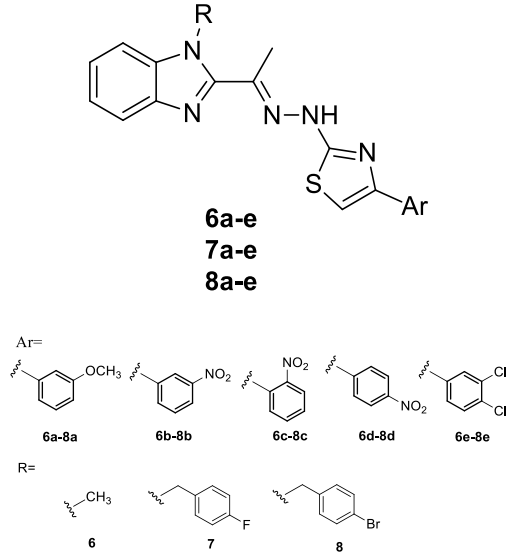
Şekil 1.34. 10a-j bileşiklerinin yapısı.

Yeni bir 13 benzimidazol türevi sentezlenmiş ve fare pençesinde formalin ile indüklenen ağrı ve enflamasyon modeli ile anti-enflamatuar aktivite açısından araştırılmıştır. 50 mg/kg dozunda, **6**, **10** ve **1a** bileşikleri asetik asit enjeksiyonuna verilen kıvranma tepkilerinin yüzdesini sırasıyla kontrolün %45, %18,7 ve %48'ine düşürmüştür. Buna karşılık, aynı dozda Aspirin (50 mg/kg) tepkileri kontrol grubunun %8'ine düşürmüştür. Benzimidazol türevleri **1**, **3**, **6**, **7**, **9**, **10**, **11**, **12** ve **1a**, sıcak bir plaka yüzeyine yerleştirildiğinde hayvanların ısıya tepki süresini önemli ölçüde artırmıştır. Bileşik **1**, **6**, **12** ve ana bileşen (**1a**) 50 mg/kg'da 25 mg/kg'daki morfine benzer veya daha fazla etkiye sahipti. Bileşik **1a** ve **6**, formalin testi kullanılarak anti-enflamatuar özelliklerin daha fazla değerlendirilmesi için seçilmiştir. Her iki ilaç da faz I ve II yanıtlarında önemli azalmalara yol açılmıştır. (Eswayah vd., 2020)

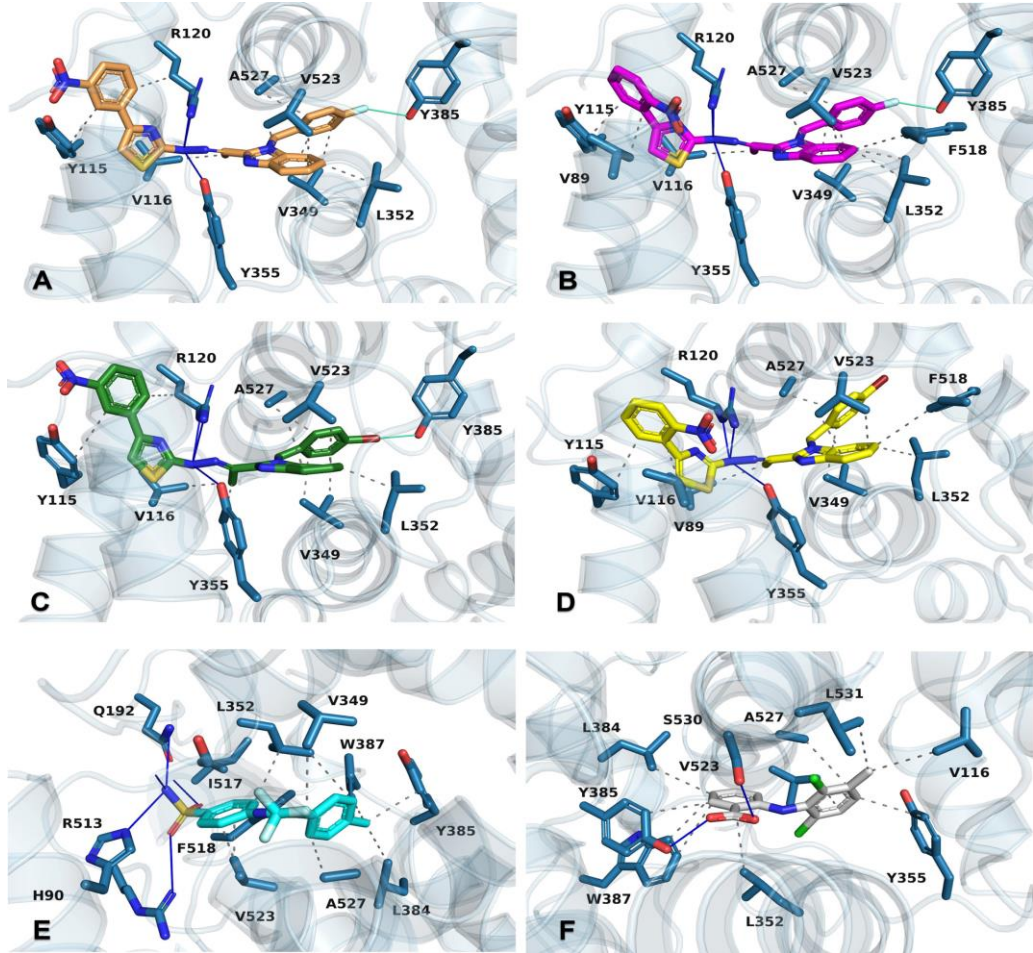


Şekil 1.35. 1-12 bileşiklerinin yapısı.

Siklooksijenaz enzimlerinin potansiyel inhibitörleri olarak 2. pozisyonda bir hidrazinilidenetil yan zincirine bağlı bir tiyazol halkası içeren yeni bir benzimidazol türevleri sınıfı yapılmıştır. Benzimidazolün ilk pozisyonunda metil içeren türevler, karşılık gelen *p*-florobenzil ve *p*-bromobenzil türevlerinden daha zayıf aktivite sergilerken, *p*-florobenzil türevleri (**7a-7e**) *p*-bromo benzil türevlerine (**8a-8e**) benzer bir aktivite profiline (**8e** hariç) sahip olduğu bulunmuştur. Üçüncü ve ikinci pozisyonlarda nitro grubu içeren türevler, ibuprofen ve nimesulidinkinden daha düşük ve selekoksibinkine yakın IC₅₀ değerleri ile en etkili türevlermiş. COX-1 ve COX-2 enzimlerine karşı inhibitör özellikleri değerlendirildiğinde, bileşiklerin COX-2 enzimini önemli ölçüde daha düşük IC₅₀ değerleri ile inhibe ettiği gösterilmiştir (**7b**: 0,297 µM; **7c**: 0,311 µM; **8b**: 0,279 µM; **8c**: 0,215 µM). Bu da sentezlenen bileşiklerin COX-2 enzimi için daha seçici olduğunu göstermektedir. Glide XP kullanılarak COX-2'ye karşı ilaçlar üzerinde moleküler yerleştirme çalışmaları yapılmıştır. **7b**, **7c**, **8b** ve **8c** bileşiklerinin -8,927, -8,578, -8,485 ve -8,899 kcal/mol'lük anlamlı yerleştirme skorlarına sahip olduğu ve bu da COX-2 enzimi ile umut verici bir etkileşime işaret ettiği bulunmuştur. Bileşikler kritik kalıntılar olan Arg120 ve Tyr355 ile hidrojen bağları oluşturulmuştur. (Irmak vd., 2023)



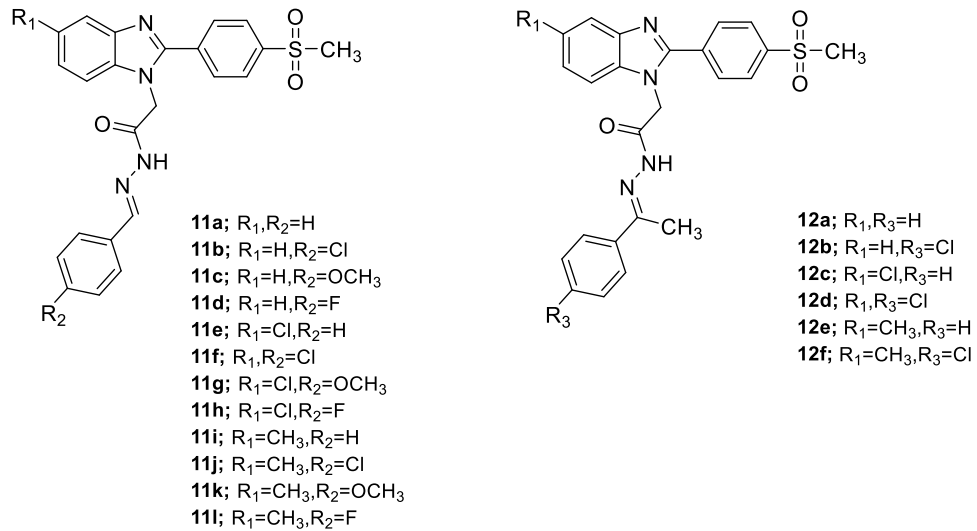
Şekil 1.36. 6a-e, 7a-e, 8a-e bileşiklerinin yapısı.



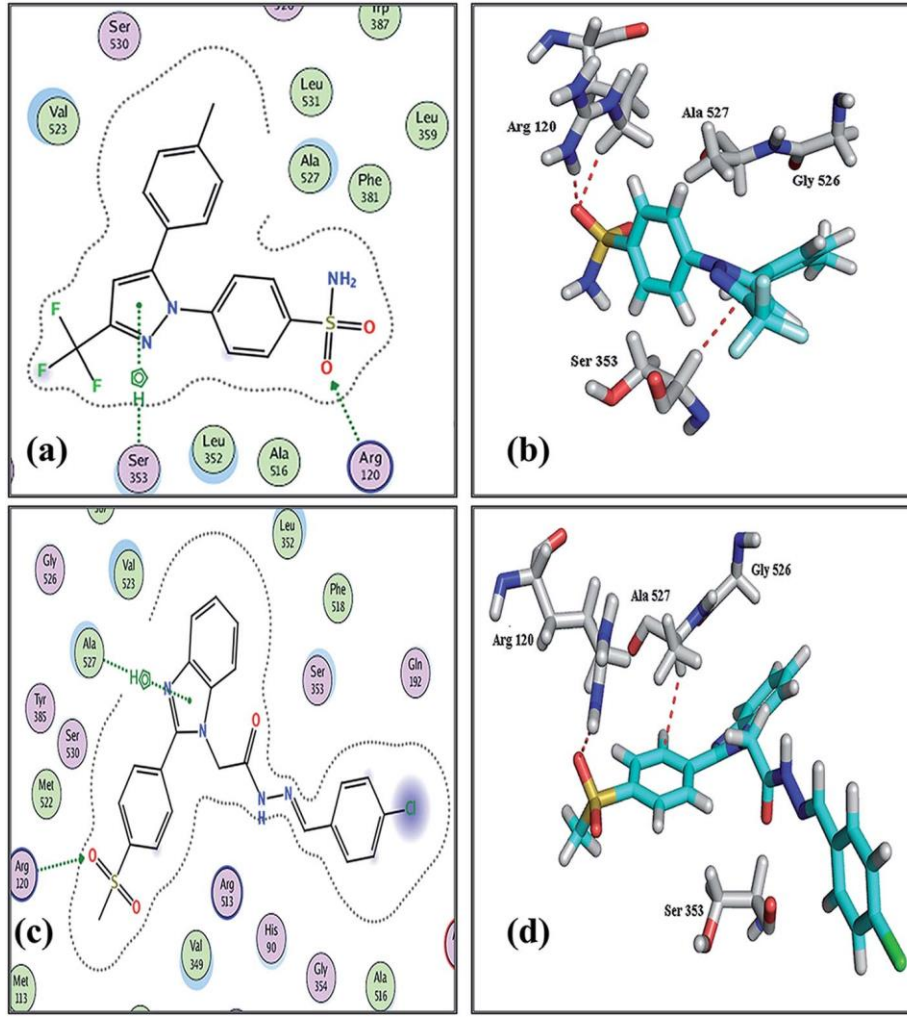
Şekil 1.37. (A)-(D) 7b, 7c, 8b ve 8c bileşiklerinin insan COX-2 ile moleküler yerleştirme bağlanma pozları. (E) in vitro enzim deneylerinde kullanılan seleksipib ve (F) meklofenamik asit bağlanma modları, COX-2 (PDB ID: 5KIQ) yapısında eş kristalize ligandlardır.

Badawy ve arkadaşları, benzimidazol halkasının, C-2 konumundan bağlı, 4-(metilsülfonyl) fenil, farmakoforuна sahip bir seri yeni bileşik tasarlayıp sentezlemişlerdir. Bu moleküller COX-1 ve COX-2 inhibitörleri olarak *in vitro* ortamda test edilmiş, ayrıca anti-enflamatuar ve ülserojenisite açısından da *in vivo* olarak test edilmişlerdir. Üretilen tüm bileşikler indometasinden daha fazla seçicilik göstermiştir. **11b**, **11k**, **12b** ve **12d** Dahil olmak üzere birkaç bileşiğin, COX-2 izozimini spesifik olarak baskılandığını göstermişlerdir (sırasıyla SI=134, 123, 125 ve 132). Bileşik **11b** en güçlü, COX-2 inhibitör etkiye sahiptir ($IC_{50}=0,10$ mM). Değerlendirilen bileşiklerin, aynı zamanda iyi bir anti-enflamatuar aktivite gösterdiği, en güçlü COX-2 inhibitör bileşiklerin **11b**, **11c**, **11j**, **11k**, **12b** ve **12d**, 6 saat sonra enflamasyonu sırasıyla, %95, %93, %93, %95, %95 ve %94,7 oranında azalttıkları için anti-enflamatuar aktivite sergiledikleri de bildirilmektedir. Ülserojenik etkiler açısından, **11b** bileşiği en güvenli bileşik olarak da tanımlanmıştır (Ülser İndeksi = 0,83).

11b Bileşiği, COX-2'ye (PDB ID: 1CX2) karşı yerleştirme çalışması yürütülmüştür. Aktif bölgenin anahtar amino asidi olan, Arg120 ile selekoksib ile aynı bağlanma bölgesinde yer almıştır. Diazol halkası ve metil sülfonil kısmı aracılığıyla COX-2 aktif bölgesinin Ala527, Arg120 amino asitleri ile sırasıyla 4,09 ve 3,26 Å mesafe ile etkileşime girdiği bildirilmektedir. (Badawy vd., 2021)

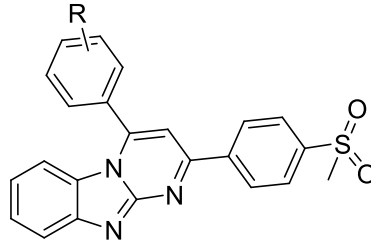


Şekil 1.38. 11a-l ve 12a-f bileşiklerinin yapısı.



Şekil 1.39. Selekoksib (a) ve (b) bileşiği 11b (c) ve (d)'nin 2D ve 3D interaksyonu.

COX-2 inhibitör farmakoforu olarak, metilsülfonil grubu içeren bir seri, benzo[4,5]imidazo [1,2-a]pirimidin sentezlenmiştir. COX-2 inhibitör etkileri hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak değerlendirilmiştir. *İn vitro* testte, yeni üretilen tüm bileşikler COX-2 enzimini inhibe etmek için orta ile iyi seçicilik göstermiş oldukları bildirilmiştir. Bununla birlikte, 2-(4-(metilsülfonil)fenil)-4-fenilbenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pirimidin (**5a**) bileşiği, referans ilaç olan selekoksibden ($IC_{50}=0,06 \mu M$) bile daha güçlü COX-2 inhibitör etkisi ($IC_{50}=0,05 \mu M$) göstermiştir. *İn vivo* araştırmada kıvranma (writhing) refleksi testi kullanılmış ve sonuçlar sentezlenen tüm bileşiklerin doza bağlı güçlü anti-nosiseptif etkiye sahip olduğunu göstermiştir. *İn vivo* testler ayrıca 2-(4-(metilsülfonil)fenil)-4-(4-tolil)benzo[4,5]imidazo[1,2-a]pirimidin (**5d**) bileşiğinin kıvranma refleksi testinde maksimum aktiviteye sahip olduğunu ortaya koyduğu açıklanmıştır ($ED_{50}=5,75 \text{ mg/kg}$). (Bayanati vd., 2023)

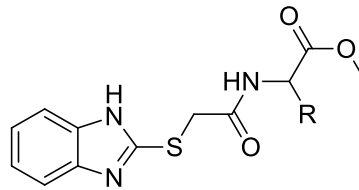


5a-5o

Comp.	R	Comp.	R	Comp.	R
5a	H	5f	3-OCH ₃	5k	3-F
5b	2-CH ₃	5g	4-OCH ₃	5l	4-F
5c	3-CH ₃	5h	3,4-diOCH ₃	5m	2-Cl
5d	4-CH ₃	5i	3,4,5-triOCH ₃	5n	3-Cl
5e	2-OCH ₃	5j	2-F	5o	4-Cl

Şekil 1.40. 5a-o bileşiklerinin yapısı.

Yeni bir seri 2-merkaptobenzimidazol amino asit türevi, **4a-4o** sentezlenmiş ve analjezik, anti-enflamatuar ve gastroprotektif özellikler açısından test edilmiştir. **4k, 4j** ve **4i** Bileşikleri önemli anti-enflamatuar aktivite göstermiş ve karragenan enjeksiyonundan 3 saat sonra ödem kalınlığını $6,32 \pm 0,2$ mm'den sırasıyla $3,21 \pm 0,2$ mm, $3,41 \pm 0,2$ mm ve $3,73 \pm 0,1$ mm'ye düşürmüştür. **4e, 4m** ve **4h** bileşikleri orta düzeyde anti-enflamatuar etkinlik göstererek ortalama ödemi sırasıyla $4,0 \pm 0,119$ mm, $3,99 \pm 0,2$ mm ve $4,04 \pm 0,09$ mm'ye düşürmüştür. Bileşikler **4g, 4f** ve **4o** zayıf anti-enflamatuar etki gösterirken, geri kalan bileşikler zayıf anti-enflamatuar aktivite gösterilmiştir. Pozitif kontrol diklofenak ödem kalınlığını $3,36 \pm 0,06$ mm'ye düşürmüştür. Sentezlenen bileşiklerin hedef protein COX-2 (PDB ID: 3LN1) ile bağlanma afinitelerini ve etkileşimlerini araştırmak için moleküler yerleştirme çalışmaları yapıldığı bildirilmiştir. (Khan vd., 2020)

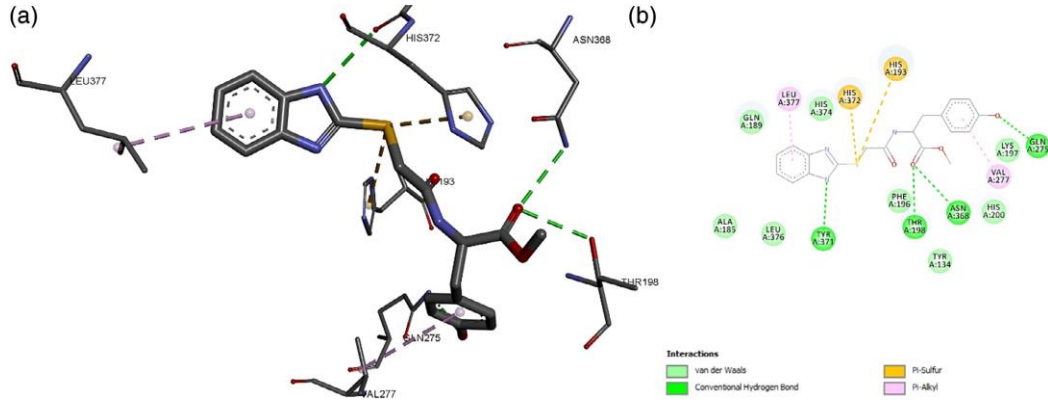


3a-3o

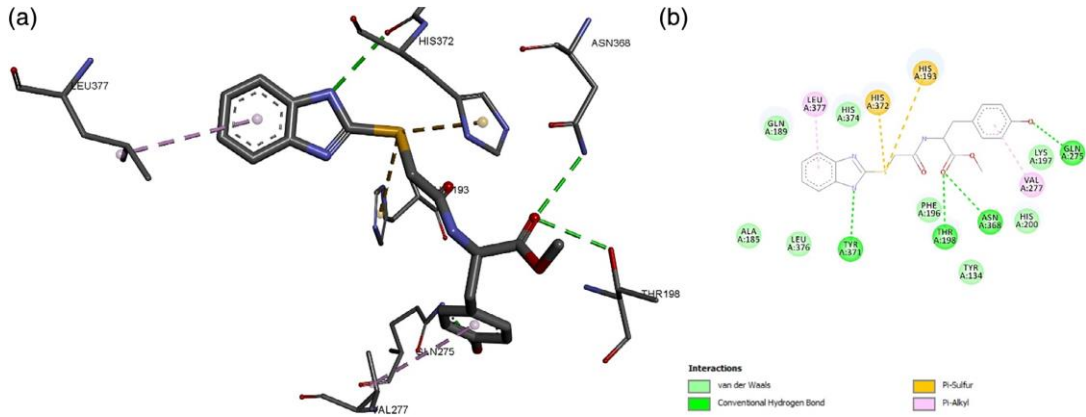
Comp.	R	Comp.	R	Comp.	R
3a	R-Gly	3f	R-Phe	3k	R-Tyr

3b	R-Val	3g	R-Ala	3l	R-Asp
3c	R-Met	3h	R-Cys	3m	R-Glx
3d	R-Leu	3i	R-Pro	3n	R-Thr
3e	R-Ile	3j	R-Ser	3o	R-Hyp

Şekil 1.41. 3a-o bileşiklerinin yapısı.



Şekil 1.42. 4k Bileşiğinin COX-2'nin bağlanma bölgesinin amino asit rezidüleri ile bağlanma etkileşimlerinin 3D (a) ve 2D (b) sunumu.

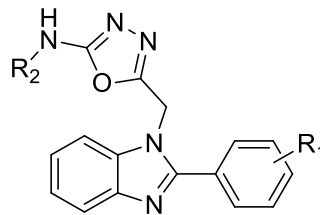


Şekil 1.43. 4j Bileşiğinin COX-2'nin bağlanma bölgesinin amino asit rezidüleri ile bağlanma etkileşimlerinin 3D (a) ve 2D (b) sunumu.

24 Adet, yeni benzimidazol-oksadiazol hybrid molekülü sentezlenmiş ve anti-enflamatuar etkileri test edilmiştir. Anti-enflamatuar etkileri, ısı ile indüklenen insan eritrosit membran hemolizine karşı stabilize edici potansiyelleri ölçülerek değerlendirilmiştir. Oksadiazol halkasının ikinci pozisyonunda R2 grubu olarak sikloheksil ve benzimidazolün ikinci konumunda, 3,4-dimetoksi fenil içeren **5w** bileşiği, 0,50 mM IC₅₀ ile en yüksek membran stabilize edici etkiye sahip olduğu ve bunu **5i**, **5c**, **5o**, **5n** ve **5q** moleküllerinin takip ettiği bildirilmiştir. Buna karşılık, **5d**, **5j**, **5r** ve **5t** kimyasalları 5 mM'den daha büyük IC₅₀ değerlerine sahiptir. Bu dört bileşik dışında, kalan bileşikler referans indometasinden daha

fazla anti-enflamatuar aktiviteye sahip olarak tanımlanmıştır. Tüm bileşiklerin moleküler yerleştirme çalışmaları Glide XP kullanılarak COX-1 ve COX-2'ye karşı gerçekleştirilmiştir. En aktif bileşik **5w**, COX-1 ile -9,937 kcal/mol ve COX-2 ile -6,504 kcal/mol bağlanma enerjileri oluşturduğu ve standart indometasin'in COX-1 ile -4,832 kcal/mol ve COX-2 ile -10,388 kcal/mol olduğu da bildirilmiştir.

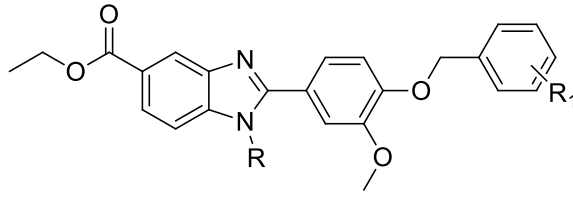
Şekil 1.46.'te gösterildiği gibi, COX-1 aktif bölgesi, bileşik **5w** ve Arg120 arasında 1,82 Å H bağına, Ser353 ve Ser530 ile polar temaslar ile Glu524 ile pi-kasyon etkileşimlerine sahiptir ve Ala527, Ile523, Met522, Leu531, Tyr355, Trp387, Val116, Leu93, Leu535 ve Met113 ile hidrofobik etkileşimlerle sonuçlanmıştır. COX-2 aktif bölgesi, bileşik **5w** ve Tyr355 arasında 4,64 Å Pi-Pi etkileşmesine, Ser530, Hie90, Thr94 ve Gln192 arasında polar etkileşimlere, Arg120 ve Arg513 ile pozitif yüklü etkileşimlere ve Val523, Met522, Leu531, Ala527, Val349, Phe518, Ile517, Ala516, Tyr348, Trp387 ve Tyr385 ile hidrofobik van der Waals etkileşimlerine sahip olduğu açıklanmıştır. Ayrıca, en aktif molekül **5w**'nin protein-ligand stabilitesini araştırmak için, Gromacs kullanılarak COX-1 ve COX-2'yi içeren 100 ns moleküler dinamik simülasyonları da yapılmıştır. (Celik vd., 2022)



5a-5x

R ₁	R ₂					
	methyl	ethyl	propyl	cyclopentyl	cyclohexyl	phenetyl
-Cl	5a	5b	5c	5d	5e	5f
-H	5g	5h	5i	5j	5k	5l
-OCH ₃	5m	5n	5o	5p	5q	5r
-3,4-diOCH ₃	5s	5t	5u	5v	5w	5x

Şekil 1.44. 5a-x bileşiklerinin yapısı.

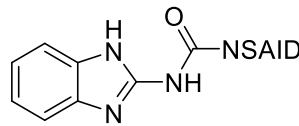


6a-6o

Comp.	R	R ₁	Comp.	R	R ₁	Comp.	R	R ₁
6a	CH ₃	4-Cl	6f	CH ₃	2,4-Cl ₂	6k	CH ₃	3-F
6b	C ₃ H ₇	4-Cl	6g	C ₃ H ₇	2,4-Cl ₂	6l	C ₃ H ₇	3-F
6c	C ₄ H ₉	4-Cl	6h	C ₄ H ₉	2,4-Cl ₂	6m	C ₄ H ₉	3-F
6d	C ₅ H ₁₁	4-Cl	6i	C ₅ H ₁₁	2,4-Cl ₂	6n	C ₅ H ₁₁	3-F
6e	C ₆ H ₁₃	4-Cl	6j	C ₆ H ₁₃	2,4-Cl ₂	6o	C ₆ H ₁₃	3-F

Şekil 1.46. 6a-o bileşiklerinin yapısı.

Bir seri, yeni 2-aminobenzimidazol-NSAID konjugat bileşiği oluşturulmuş ve anti-enflamatuar özellikler açısından test edilmişlerdir. Tüm maddeler, sadece anti-enflamatuar değil, aynı zamanda immünomodülatör ve antioksidan özellikler de göstermiştir. Her bir türevin, ana NSAID'den daha güçlü veya onunla eşit derecede etkili olduğu gösterilmiştir. Tüm ilaçların pençe hacmini baskılama oranı %40 ile %55 arasında değişmiştir. En yüksek anti-enflamatuar etki 60 dakikada ortaya çıkmıştır. Böylece, bir NSAİİ'nin 2-aminobenzimidazol ile konjugasyonu, NSAİİ'nin anti-enflamatuar aktivitesini koruduğu, ve bunun da NSAİİ'lerin kendileri tarafından oluşturulan farmakoforlara atfedilebileceği bildirilmiştir. Bileşik 2 ve 9'un romatoid artrit, ülseratif kolit, multipl skleroz, osteoartrit ve kanser gibi enflamatuar ve immünomodülatör hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir. (Bansal ve Silakari, 2015)

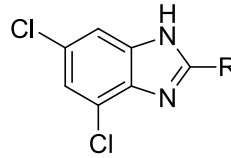


2-11

Şekil 1.47. 2-11 bileşiklerinin yapısı.

1.8.5. Antioksidan Bileşikler Olarak Benzimidazol Türevleri

Bir seri, benzimidazol türevleri (**1-20**) sentezlenmiş ve antioksidan özellikleri açısından test edilmiştir. Bileşik **6** ($IC_{50}=29,14 \pm 0,47 \mu M$) ve **10** ($IC_{50}=22,42 \pm 0,26 \mu M$) standart propil gallat ($IC_{50}=29,20 \pm 1,25 \mu M$) ile karşılaştırıldığında güçlü antioksidan aktivite gösterdiği ve bileşik **7**, **11**, **13**, **15**, **19** ve **20** sırasıyla $73,51 \pm 1,17$, $45,63 \pm 0,92$, $82,30 \pm 1,33$, $75,41 \pm 1,51$, $40,60 \pm 0,80$ ve $64,92 \pm 1,41 \mu M$ IC_{50} değerleri ile yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir. Bu moleküllerin bir hidroksil grubuna sahip olduğu ve daha yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri açıklanmıştır. Başka bir dihidroksi analogu olan, Bileşik **2** de ($IC_{50}=31,71 \pm 0,42 \mu M$) umut verici sonuçlar gösterilmiştir. Sübstituentlerin sayısı ve konumu, aktivitelerindeki farklılıkları belirleyen en önemli faktörler olarak tanımlanmışlardır. (Taha vd., 2020)

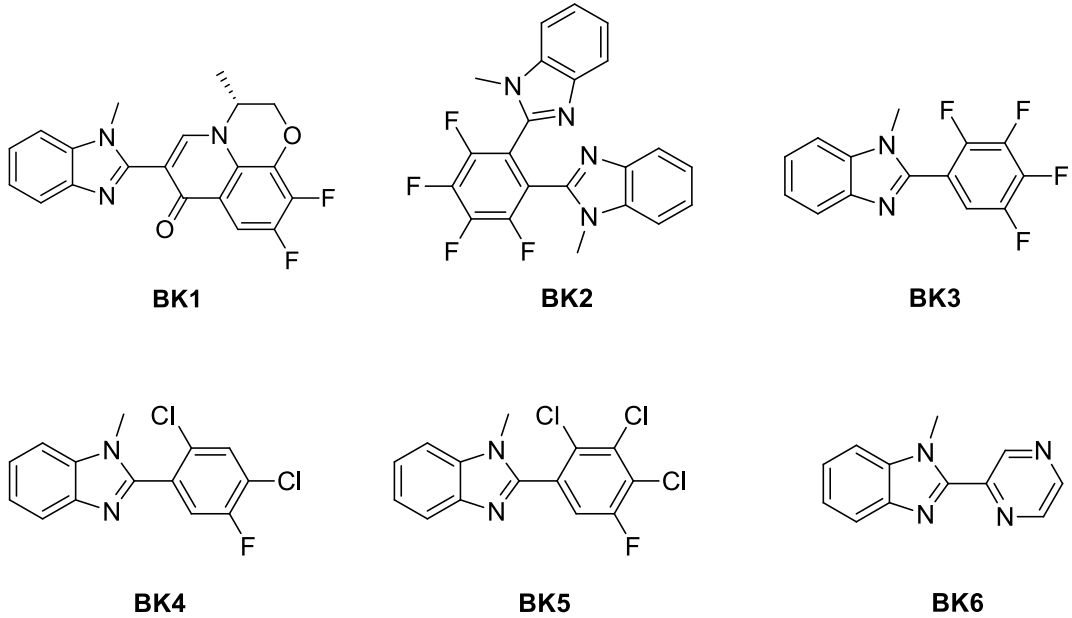


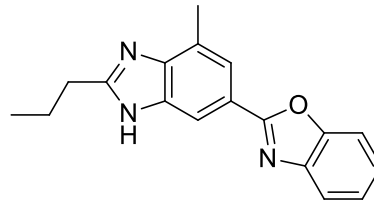
Compounds	R	Compounds	R
1		11	
2		12	
3		13	
4		14	
5		15	
6		16	
7		17	
8		18	
9		19	

10		20	
----	--	----	--

Şekil 1.48. 1-20 bileşiklerinin yapısı.

Antioksidan aktivite göstermesi beklenen, bir dizi yeni 2-süstitüe benzimidazol türevi, *N*-metil-*o*-fenilendiamin veya 2-amino-fenolün aromatik aldehit ile asit karakterli ve etkili bir katalizör çözücü olarak polifosforik asit varlığında, geleneksel bir yöntem kullanılarak kısa reaksiyon sürelerinde ve mükemmel verimle sentezlenmişlerdir. 2-Süstitüe benzimidazol türevleri olan **BK-1** ile **BK-7**, standart askorbik asit ile karşılaştırıldığında iyi ile orta düzeyde antioksidan etkinlik sergiledikleri ve **BK-6**, **BK-7**, **BK-1**, **BK-4** ve **BK-3** bileşiklerin de sentetik antioksidan askorbik asit ($IC_{50}=42,76 \mu g/mL$) ile karşılaştırıldığında sırasıyla 22,45; 27,52; 32,07; 35,17 ve 38,25 $\mu g/mL$ IC_{50} değerleri ile iyi radikal süpürme aktivitesi gösterdikleri bildirilmiştir. Askorbik asit ile karşılaştırıldığında, **BK-6** ve **BK-7** bileşikleri, sentezlenen bileşikler arasında en iyi DPPH radikal süpürme performansını sergilenmiştir. Referans standart askorbik asit ile karşılaştırıldığında, **BK-1** ve **BK-7** bileşikleri dışında sentezlenen diğer tüm bileşiklerin $NO\cdot$ radikal süpürme aktivitesi için son derece düşük antioksidan etkinlik gösterdikleri bildirilmiştir. (Kashid vd., 2019)

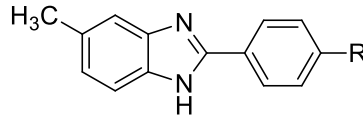




BK7

Şekil 1.49. BK1-7 bileşiklerinin yapısı.

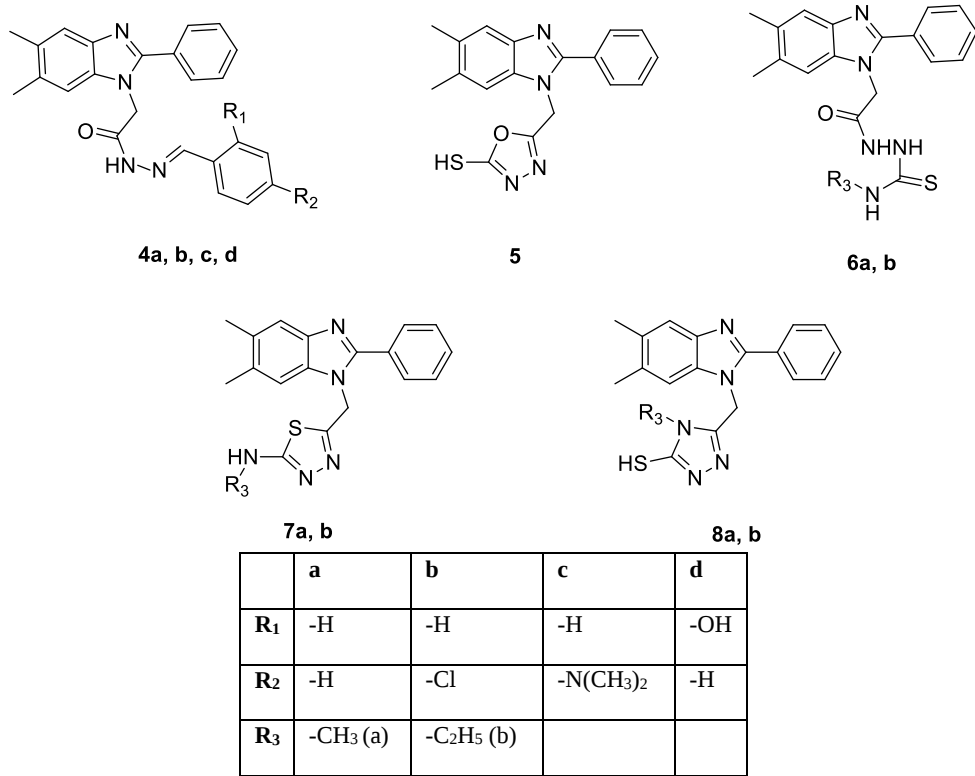
Karmaker vd., 2017 yılında, 2-süstitüe-5-metilbenzimidazol türevleri (**3a-e**), 4-metil-1,2-fenilendiaminin bir dizi *p*-süstitüe benzaldehit ile reaksiyona sokulmasıyla sentezlenmiştir. Bileşikler, DPPH serbest radikal süpürme deneyi kullanılarak antioksidan aktivite açısından test edilmiş ve referans BHT (26,96 µg/ml) ile karşılaştırıldığında 1,054-19,05 µg/ml IC₅₀ değerleri ile önemli antioksidan etkiler göstermişlerdir. Nitro süstitüenti taşıyan, **3e** bileşiği 1,054 µg/ml IC₅₀ ile en yüksek aktiviteyi gösterilmiştir. Bileşikler **3a**, **3b** ve **3c**, muhtemelen birkaç ilaçta halojen süstitüentlerinin varlığına bağlı olarak orta ila önemli antioksidan aktivite (11,38-4,02 µg/ml) gösterilmiştir. (Karmaker vd., 2017)



R: 3a=Cl; 3b=Br; 3c=F; 3d=OMe; 3e=NO₂

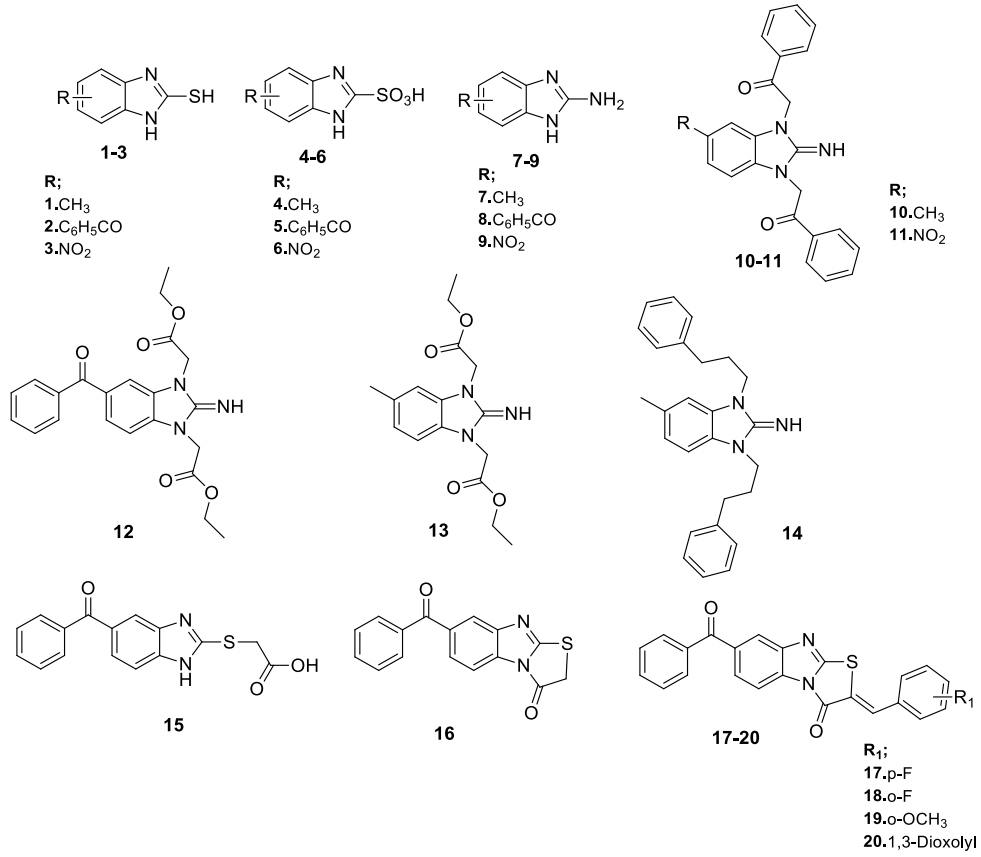
Şekil 1.50. 3a-e bileşiklerinin yapısı.

Karaali ve ark., tarafından yeni bir seri, 5,6-dimetil-2-fenil-1H-benzimidazol türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin, antioksidan aktiviteleri CUPRAC, ABTS ve DPPH testleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Hedef kimyasalların birçoğu önemli antioksidan etki göstermiştir. Bu bileşikler arasında, karbotiyoamid ve 1,2,4-triazol türevlerinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Bileşik **6b**, CUPRAC tekniği kullanılarak ölçülen en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir. **8a**, **8b**, **6a** ve **4c** bileşikleri mükemmel antioksidan aktivite gösterilmiştir. Bileşik **5** ve **6b**, 120 µg/mL final konsantrasyonda etkili DPPH radikal süpürme etkisi gösterilmiştir. Bileşik **6a** ve **6b**, 3,75 µg/mL final konsantrasyonda askorbik asitten daha yüksek süpürücü etki gösterilmiştir. Öte yandan, bileşik **8a** aynı konsantrasyonda, iyi etki göstermiştir. 1,2,4-triazol gruplarının antioksidan aktiviteyi önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir. (Karaali vd., 2020)



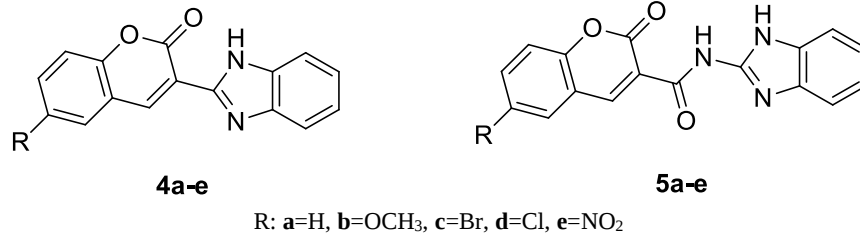
Şekil 1.51. 4a-d, 5, 6a-b, 7a-b ve 8a-b bileşiklerinin yapısı.

İki grup benzimidazol türevi, başlangıç olarak 5(6)-süstitüe 2-merkaptobenzimidazoller ile sentezlenmiş ve antioksidan aktiviteleri TBA-MDA testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, her iki gruptan test edilen maddelerin çoğunun iyi antioksidan kapasiteye sahip olduğunu göstermiştir. Tiyazolo[3,2-a]benzimidazolonlar, 1,3-disüstitüe-benzimidazol-2-iminlerden daha aktif olarak tanımlanmışlardır. 2-(4-Florobenziliden)-7-(fenilkarbonil)[1,3]tiyazolo[3,2-a]benzimidazol-3(2H)-on (**17**) lipid peroksidasyonunun en yüksek oranda baskılandığını göstermiştir ($IC_{50}=53,70$ lg/mL). Bileşik **19**, %74,11 IC_{50} ile bir sonraki en aktif bileşik olarak bulunmuştur. Benzen halkasının o-pozisyonunda bir metoksi grubu vardır. Bileşik **18**'de olduğu gibi benzen çekirdeğinin ikinci pozisyonunda F-atomunun bulunması lipid peroksidasyon inhibisyonunu azalttığı bildirilmiştir ($IC_{50}=86,97$ lg/mL). Bileşik **12**, 1,3-disüstitüe-2-imino-benzimidazoller arasında en güçlü lipid peroksidasyon inhibisyonu gösterilmiştir ($IC_{50}=141,89$ lg/mL). (Mavrova vd., 2015)



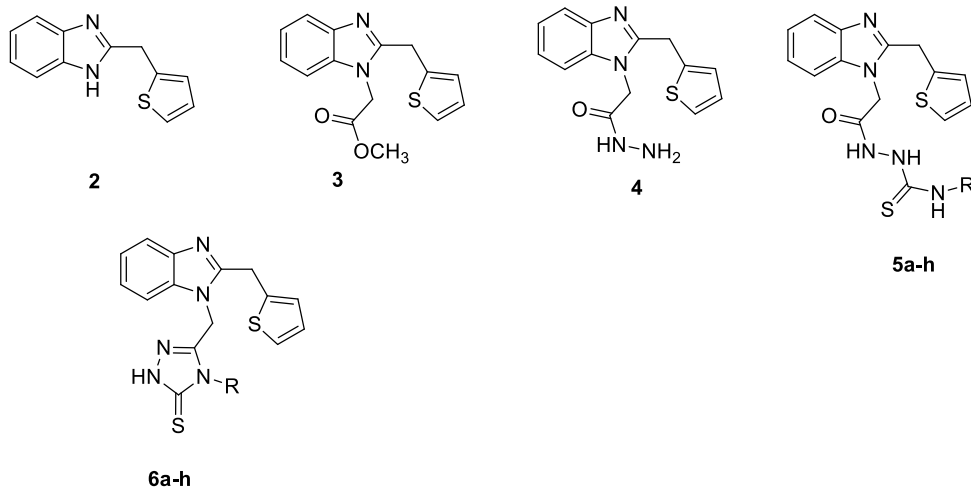
Şekil 1.52. 1-20 bileşiklerinin yapısı.

Kumarin halkasının 3. konumu ile benzimidazol halkasının 2. konumu arasında tekli bir bağ (**4a-e**) ve bir amid bağı (**5a-e**) aracılığı ile konjuge edilmeleriyle, iki seri bileşik sentezlenmiştir. Antioksidan potansiyel, DPPH tekniği kullanılarak radikal süpürme kabiliyeti olarak ölçülmüştür. **5a-e** Bileşikleri çok güçlü antioksidan aktivite göstermiştir; bileşik **5a**'nın en etkili ve standart kimyasal BHT'den bile daha aktif olduğu bildirilmiştir. **4c**, **4d** ve **5a** Bileşikleri BHT (23.4 mmol/L) ile kıyaslandığında, sırası ile, IC₅₀ = 19,7; 13,9 ve 1,2 mmol/L değerlerle iyi antioksidan aktiviteye sahip olarak bildirilmişlerdir. Bu çalışma, elektron çeken grupların antioksidan potansiyeli arttırdığını göstermektedir ki bu da amidin -NH'si üzerindeki pozitif yükün yoğunlaşmasına ve bu grupların negatif indükleyici etkisine bağlanabileceği açıklanmıştır. Pozitif yük yoğunlaşması, serbest radikal söndürme ile sonuçlanabilir. Ayrıca, elektron çeken gruplar etkili serbest radikal söndürücülerdir. Öte yandan, elektron salan gruplarla yer değiştirmenin, muhtemelen pozitif indüktif etkilerinden dolayı radikal süpürme potansiyelini azalttığı gözlenmiştir. (Arora vd., 2014)



Şekil 1.53. 4a-e, 5a-e bileşiklerinin yapısı.

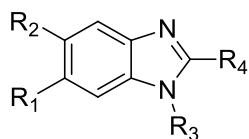
Benzimidazol, tiyofen ve 1,2,4-triazol halkalarını (2-6) içeren çeşitli triheterosiklik bileşikler sentezlenmiş ve antioksidan aktivite açısından test edilmişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin (2-6) antioksidan aktivitesi CUPRAC, ABTS ve DPPH deneyleri ile değerlendirilmiştir. Bileşik 5c, DPPH tekniği kullanılarak $9,89 \pm 0,07$ mg/mL süpürme aktivitesi SC_{50} değeri ile en güçlü antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Azot içeren karbotiyoamid türevi (5h) ABTS testinde yaygın olarak kullanılan referans antioksidanlardan (askorbik asit ve TroloxÖ) daha iyi performans göstermiştir. Ayrıca, 1,2,4-triazol türevleri (6a, 6b, 6c, 6f ve 6d) mükemmel ABTS süpürme aktivitesi (sırası ile, %89,39; %89,72; %89,39; %89,22; %88,72) gösterilmiştir. (Menteşe vd., 2015)



R= **a**: CH₃, **b**: CH₂CH₃, **c**: C₆H₅, **d**: C₆H₄-F(p), **e**: C₆H₄-Br(p), **f**: C₆H₄-I(m), **g**: C₆H₄-CH₃ (p), **h**: C₆H₄-NO₂ (p)

Şekil 1.54. 2-4, 5a-h, 6a-h bileşiklerinin yapısı.

Bir grup arılenmiş benzimidazol (1-31) sentezlenmiş ve radikal temizleme özellikleri açısından test edilmiştir. Bileşikler, ABTS ($0,72 \pm 0,21$ μ M IC₅₀) ve DPPH ($0,73 \pm 0,05$ μ M IC₅₀) değerlerine sahip, askorbik asit ile karşılaştırıldığında, ABTS için $1,37 \pm 0,21$ ila $4,00 \pm 0,10$ μ M ve DPPH radikal süpürme aktiviteleri için $1,36 \pm 0,09$ ila $3,60 \pm 0,20$ μ M arasında değişen IC₅₀ değerleri ile askorbik asitten daha yüksek ABTS ve DPPH radikal süpürme potansiyeline sahip olarak bildirilmişlerdir. (Akande vd., 2021)



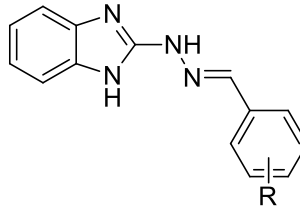
1-31

Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	H	H	H		17	H	F	H	
2	CH ₃	CH ₃	H		18	H	NO ₂	H	
3	H	F	H		19	H	H	H	
4	H	Cl	H		20	CH ₃	CH ₃	H	
5	H	NO ₂	H		21	H	F	H	
6	H	H			22	H	Cl	H	
7	H	H	H		23	H	NO ₂	H	
8	CH ₃	CH ₃	H		24	H	Cl	H	
9	H	F	H		25	CH ₃	CH ₃	H	
10	H	Cl	H		26	H	F	H	
11	CH ₃	CH ₃	H		27	H	Cl	H	
12	H	F	H		28	F	H	H	

13	H	Cl	H		29	H	Cl	H	
14	H	NO ₂	H		30	CH ₃	CH ₃	H	
15	CH ₃	CH ₃	H		31	H	F	H	
16	H	F	H						

Şekil 1.55. 1-31 bileşiklerinin yapısı.

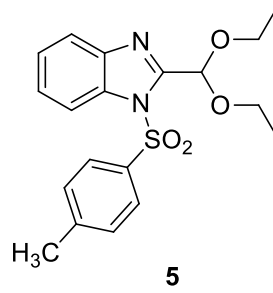
Hidroksil ve metoksi gruplarına sahip bir seri, yeni benzimidazolil-2-hidrazon (**5a-l**) türevi sentezlenmiş ve sonuç bileşiklerin antioksidan aktivitesi, kararlı serbest radikaller DPPH ve ABTS'nin yanı sıra demir kaynaklı oksidatif hasara karşı *in vitro* olarak araştırılmıştır. Di- ve trihidroksi süstitüe 1*H*-benzimidazol-2-il hidrazonlar (**5b-5e**) tüm serideki en etkili radikal süpürücülerdir. Bileşikler **5d** ve **5e** sırasıyla %50'ye yakın veya daha az moleküler hasarı gösteren en büyük koruyucu etkiye sahip ve bileşik **5b** ise referans kuersetin ile karşılaştırıldığında benzer ve hatta daha iyi bir koruma etkisine sahip olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, birden fazla hidroksil grubunun varlığının, özellikle de incelenen 1*H*-benzimidazol-2-il hidrazonların fenil kısmında bitişik pozisyonları işgal ettiklerinde, radikal süpürme aktivitesinin ortaya çıkmasına yardımcı olduğu belirtilmiştir. (Argirova vd., 2021)



5a; R= 2-OH, **5b**; R= 2,3-diOH, **5c**; R= 2,4-diOH, **5d**; R= 3,4-diOH, **5e**; R= 2,3,4-triOH, **5f**; R= 4-OCH₃, **5g**; R= 2,6-diOCH₃, **5h**; R= 3,5-diOCH₃, **5i**; R= 3,4,5-triOCH₃, **5j**; R= 2-OH-3-OCH₃, **5k**; R= 2-OH-4-OCH₃, **5l**; R= 3-OH-4-OCH₃

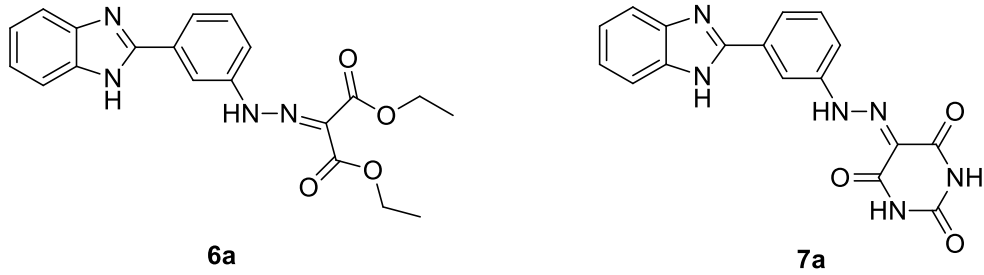
Şekil 1.56. 5a-l bileşiklerinin yapısı.

2-(Dietoksümetil)-1-tosil-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**5**), çevre dostu, yeşil kimya yöntemi kullanılarak 2-(1-etoksipropil)-1*H*-benzo[*d*]imidazolden sentezlenmiştir. Bileşik **5**, standart bütillenmiş hidroksianisole (IC₅₀=58,6 µM) kıyaslandığında, önemli antioksidan aktivite (IC₅₀=42,32 µM) gösterdiği bildirilmiştir. (Almansour vd., 2024)



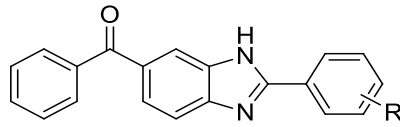
Şekil 1.57. Bileşik 5'in yapısı.

Benzimidazol azopirimidin, 3-aminofenilbenzimidazolün (**6a**) dietil malonat ile diazo-bağlanmasıyla sentezlenmiştir. Benzimidazolopirimidin **7a**'yı elde etmek için, yeni azo-molanat (**6a**), sodyum etoksit içinde üre ile birleştirilmiştir. Hedef bileşik **7a** 'nın antioksidan aktivitesi değerlendirildiği zaman yeni bileşiklerin yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir (%40 ila %60 arasında değişen antioksidan aktivite). (Abdelgawad vd., 2019)



Şekil 1.58. 6a, 7a bileşiklerinin yapısı.

Bir seri, yeni benzoil aril benzimidazol (**3a-h**) türevi sentezlemek için, 3,4-diaminobenzofenon ve uygun bir aril aldehit ile amonyum klorür veya katalizör olarak amonyum klorür ve sodyum metabisülfid kombinasyonunun ılımlı koşullar altında reflüks edilmesi gibi basit ve anlaşılır bir yöntem kullanılmıştır. Hedef benzoil benzimidazollerin antioksidan araştırmaları, dört farklı yöntem kullanılarak değerlendirilen önemli metal şelatlama aktivitesi (MCA), FRAP ve DPPH-SA seviyelerine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bileşik **3e**, herhangi bir bileşik arasında en iyi DPPH-SA'ya sahip olduğu bunun da periferik benzen halkasının *meta*-dikloro türevlerine atfedilebileceği belirtilmiştir. Bileşik **3d** en yüksek MCA ($11,79 \pm 0,66 \mu\text{g EDTA eşdeğeri}$) ve orta düzeyde FRAP ve DPPH-SA gücüne ($4,01 \pm 0,73$ ve $2,81 \pm 0,20 \mu\text{g trolox eşdeğeri}$) sahip olduğunu, bunun da muhtemelen benzen halkası üzerindeki *orto* ve *para* pozisyonlarındaki hidroksi gruplarının varlığından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. (Aroua vd., 2021)

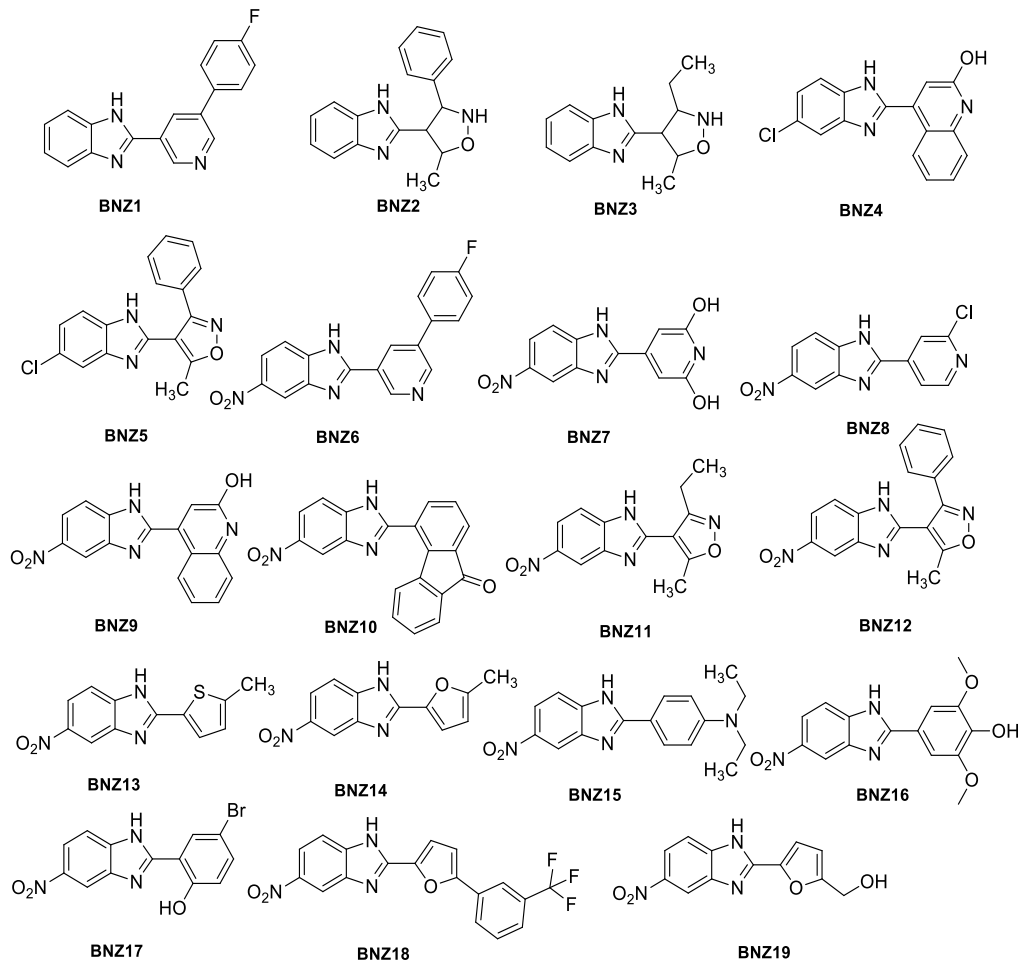


3a-h

R; **3a**=4-Cl, **3b**=4-Br, **3c**=2-OH, **3d**=2,4-dihydroxy, **3e**=2,4-dichloro, **3f**=2-OH, **3g**=4-F, **3h**=4-COOH.

Şekil 1.59. 3a-h bileşiklerinin yapısı.

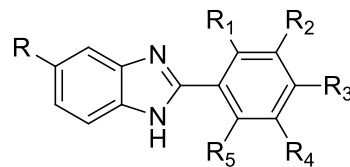
Tamang ve ark., 2020 yılında, 19 Yeni benzimidazol bileşiği sentezlemiş ve antioksidan özellikleri açısından test etmişlerdir. Sonuçlar, **BNZ-1**, **BNZ-2**, **BNZ-3**, **BNZ-9** ve **BNZ-10** bileşiklerinin yüksek dozlarda, askorbik aside benzer mükemmel DPPH temizleyicileri olduğunu, **BNZ-1**, **BNZ-2**, **BNZ-3**, **BNZ-16** ve **BNZ-17** 'nin ise etkili ABTS radikal temizleyicileri olduğunu göstermiştir (%79,02; %78,52; %75,32; %79,54; %79,03; sırasıyla). Yapısal aktivite açısından, benzimidazol çekirdeği üzerindeki elektron verici fonksiyonel grupların konumunun beklenen antioksidan aktiviteyi artırabileceği belirtilmiştir. (Tamang, 2020)



Şekil 1.60. BNZ1-19 bileşiklerinin yapısı.

Bir grup 2-arilbenzimidazol türevi **3-40, 45**, özellikle hem güneş radyasyonu hasarına hem de serbest radikallerin neden olduğu oksidatif strese karşı hareket edebilen çoklu koruyucu ajanlar bağlamında dualistik bir fonksiyonel profile sahip moleküller elde etmek amacıyla sentezlenmiştir. 2-Arilbenzimidazoller, DPPH, FRAP ve ORAC testleri kullanılarak çeşitli radikallere karşı değerlendirilmiş ve değişen aktivite profilleri göstermiştir. 2-Aril kısmındaki hidroksi gruplarının sayısı ve konumunun yanı sıra bir dietilamino veya 2-stiril grubunun varlığının yüksek antioksidan aktivite ile ilişkili olduğu keşfedilmiştir. Benzimidazol çekirdeğinin 5. pozisyonunda bir sülfonik asit grubunun varlığı en az elverişli iken, 5-siyano veya 5-karboksilik asit gruplarına sahip türevler orta ile yüksek antioksidan aktivite sergilenmiştir. En iyi antioksidan kimyasallar, çeşitli profiller ortaya çıkaran UV filtreleme aktiviteleri açısından incelenmiştir. Bileşikler **15, 38** (sülfonik asit grubu ile) ve 2-stirilbenzimidazol **45** en yüksek geniş spektrumlu filtreleme aktivitesine sahip olarak bildirilmiştir.

DPPH test sonuçlarına göre, FRAP analizinde en etkili türevlerin **13-17** ve **31-37** olduğu, 2-hidroksi-3-etoksifenil türevleri (**21, 22**), 2-hidroksi-4-(dietil)amino türevi **38** ve 4-hidroksistiril türevi **45**'inde iyi etki gösterdiği bildirilmiştir. DPPH ve FRAP testlerinden sonra en ilginç profillere sahip bileşikler, genel antioksidan aktivite profillerini belirlemek için ek bir teste (ORAC) tabi tutulmuştur. 4-Hidroksistiril türevi **45** en yüksek antioksidan kapasiteye sahip ve 2-hidroksi-4-(dietil)aminofenil türevleri **37** ve **38** ise yüksek antioksidan kapasiteye sahip olarak bildirilmişlerdir. (Baldiasserotto vd., 2020)

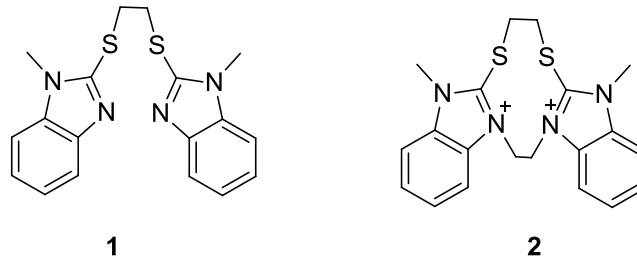


Compound	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
3	H	H	H	OH	H	H
4	CN	H	H	OH	H	H
5	COOH	H	H	OH	H	H
6	SO ₃ H	H	H	OH	H	H
7	COOH	OH	H	H	H	H
8	SO ₃ H	OH	H	H	H	H
9	CN	H	OH	H	H	H
10	COOH	H	OH	H	H	H

11	SO ₃ H	H	OH	H	H	H
12	CN	OH	H	OH	H	H
13	CN	OH	H	H	OH	H
14	COOH	OH	H	H	OH	H
15	SO ₃ H	OH	H	H	OH	H
16	CN	H	OH	OH	H	H
17	COOH	H	OH	OH	H	H
18	CN	H	OH	OMe	H	H
19	COOH	H	OH	OMe	H	H
20	SO ₃ H	H	OH	OMe	H	H
21	COOH	OH	OEt	H	H	H
22	SO ₃ H	OH	OEt	H	H	H
23	COOH	OH	H	OMe	H	H
24	SO ₃ H	OH	H	OMe	H	H
25	CN	OH	H	H	Cl	H
26	COOH	OH	H	H	Cl	H
27	SO ₃ H	OH	H	H	Cl	H
28	CN	OH	H	H	Br	H
29	COOH	OH	H	H	Br	H
30	SO ₃ H	OH	H	H	Br	H
31	CN	OH	OH	OH	H	H
32	COOH	OH	OH	OH	H	H
33	SO ₃ H	OH	OH	OH	H	H
34	CN	OH	H	OH	H	OH
35	COOH	OH	H	OH	H	OH
36	SO ₃ H	OH	H	OH	H	OH
37	COOH	OH	H	OH	H	OH
38	SO ₃ H	OH	H	N(Et) ₂	H	H
39	COOH	2-OH-naphthyl				
40	SO ₃ H	2-OH-naphthyl				
45	COOH	4-OH-styryl				

Şekil 1.61. 3-40, 45 bileşiklerinin yapısı.

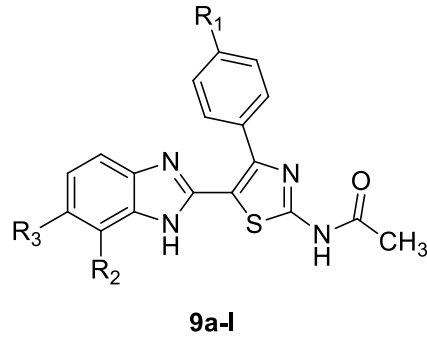
1,2-Bis(1-metil-1*H*benzo[*d*]imidazol-2-iltiyo)etan **1** ve onun dikatyonik analogu **2**, 1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-tiyol'den sentezlenmiş ve DPPH ve hidrojen peroksit radikal süpürme testleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Her iki bileşik de antioksidan etki göstermiştir; ancak, katyonik muadili iyi bilinen antioksidan Vit C'den daha iyi performans göstermiştir. DPPH yaklaşımı, katyonik analog **2** için 14,5 µM ve bileşik **1** için 57,5 µM IC₅₀ değerleri verilmiştir. Hidrojen peroksit temizleme deneyinde, bileşik **1** 'in IC₅₀ değeri 638,6 µg/mL iken, katyonik analog **2** 'nin IC₅₀ değeri 398,9 µg/mL olmuştur. (Yildiz, 2020)



Şekil 1.62. 1-2 bileşiklerinin yapısı.

Moleküler hibridizasyon tekniği ile başlangıç maddesi olarak 2-aminotiyazol kullanılarak bir seri yeni süstitüe benzimidazol-tiyazol **9a-l** sentezlenmiştir. DPPH deneyinde, **9a** (%75,25), **9b** (%80,28), **9d** (%80,36), **9e** (%70,24), **4f** (%72,21) ve **9h** (%73,58) bileşikleri standart olarak askorbik asit (%75,38) ile karşılaştırıldığında mükemmel radikal süpürme aktivitesi sergilenmiştir. Geri kalan bileşikler orta düzeyde radikal süpürme aktivitesi göstermiştir.

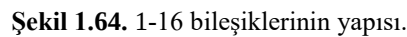
DPPH radikal aktivitesinin tüm aralığı %80,36-60,38 olarak bulunmuştur. Sentezlenen bu bileşikler arasında **9b** (%72,28), **9c** (%72,95), **9d** (%76,57), **9f** (%70,61) ve **9g** (%72,36) ılımlı ·OH radikali süpürme yetenekleri göstermiştir. Bileşiklerin geri kalanı %68,20 ila %50,66 arasında değişen ortalama süpürme özelliği sergilenmiştir. **9b** (%70,39), **9d** (%73,92), **9e** (%71,68) ve **9h** (%72,10) bileşikleri askorbik asit (%75,38) ile karşılaştırıldığında orta düzeyde süperoksit radikali (SOR) süpürme aktivitesi gösterirken, diğer bileşikler tekdüze SOR süpürme aktivitesine (%69,91-48,37) sahip olarak bildirilmiştir. (Hebade vd., 2023)



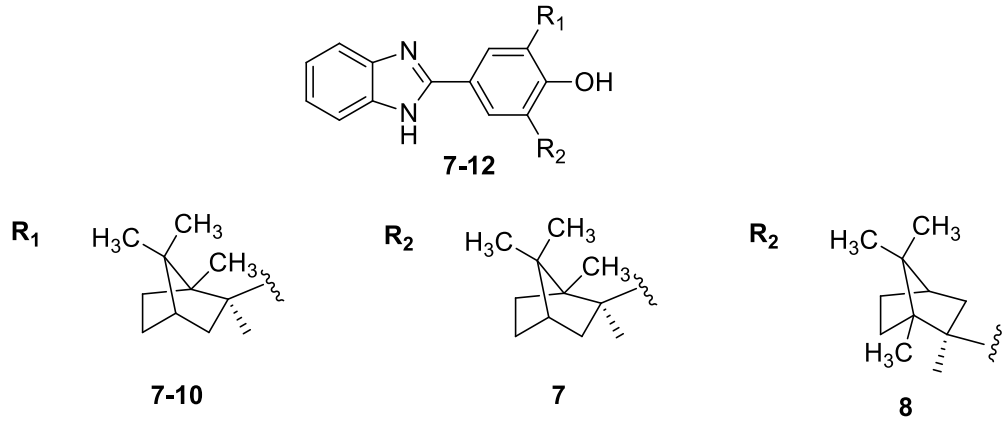
Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	Comp.	R ₁	R ₂	R ₃
9a	Br	H	H	9g	Cl	CH ₃	H
9b	Br	H	CH ₃	9h	Cl	H	OCH ₃
9c	Br	CH ₃	H	9i	NO ₂	H	H
9d	Br	H	OCH ₃	9j	NO ₂	H	CH ₃
9e	Cl	H	H	9k	NO ₂	CH ₃	H
9f	Cl	H	CH ₃	9l	NO ₂	H	OCH ₃

Şekil 1.63. 9a-l bileşiklerinin yapısı.

Çeşitli yeni, 1,2-disüstitüe benzimidazoller sentezlenmiş ve antioksidan aktivite açısından test edilmiştir. Bileşik **3**, **5**, **10** ve **12** (sırası ile, SC₅₀ değerleri: 6,98, 7,69, 6,30 ve 10,10 µg/mL) geleneksel BHT'den (SC₅₀ değeri: 10,67 µg/mL) daha yüksek radikal süpürme aktivitesi göstermişlerdir. Ayrıca, **4**, **6**, **8**, **12** ve **13** numaralı bileşikler önemli ölçüde DPPH radikal süpürme aktivitesine sahip olarak bildirilmiştir. Benzimidazolün ikinci konumundaki 1,2,4-triazol halkasının benzimidazol çekirdeğinin antioksidan aktivitesini arttırdığı belirtilmiştir. CUPRAC tekniğine göre, benzimidazol türevi bileşiklerin antioksidan aktivitesi, en aktif moleküllerden en az aktif moleküllere doğru aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır: **10>5>3>12>13>6>8>4>16>15>2>7>11>1>14>9**. Bileşik **3**, **4**, **5**, **6**, **8**, **10**, **12** ve **13**, ABTS radikal süpürme deneyinde 6,0 µg/mL final konsantrasyonda iyi performans göstermiştir. Ayrıca, 1,5 µg/mL final konsantrasyonda, **3**, **8**, **10** ve **13** numaralı bileşikler ABTS• radikalının yarısından fazlasını temizlenmiştir. (Karaali vd., 2019)



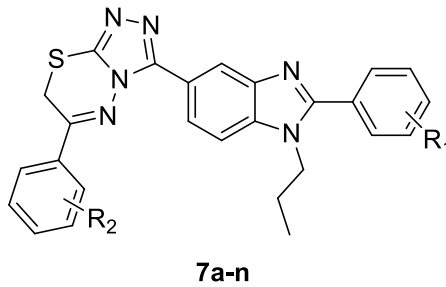
69



$R_2 = \text{Bu}^t$ (9), CH_3 (10)
 $R_1 = R_2 = \text{Bu}^t$ (11)
 $R_1 = R_2 = \text{H}$ (12)

Şekil 1.65. 7-12 bileşiklerinin yapısı.

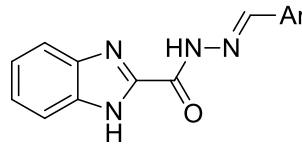
Benzimidazol parçası taşıyan on dört yeni [1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazin türevi (**7a-n**) tek pot nitro indirgeyici siklizasyon işlemi kullanılarak sentezlenmiş ve DPPH, nitrik oksit ve süperoksit radikal süpürme teknikleri kullanılarak *in vitro* antioksidan özellikleri açısından test edilmiştir. Bulgular, 3-(2-(3,4-dimetoksifenil)-1-propil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)6-4-tolil-7*H*-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazin (**7c**) bileşiğinin hem DPPH hem de nitrik oksit radikalini süpürmede güçlü olduğunu ortaya koymuştur. Bileşik **7c**, elektron verici grupların varlığı nedeniyle IC_{50} değerleri sırasıyla, 23,75 ve 23,14 $\mu\text{g/ml}$ olan askorbik asit ile karşılaştırıldığında 13,57 ve 18,55 $\mu\text{g/ml}$ IC_{50} değerlerine sahip bulunmuştur. Elektron veren gruplar elektron çeken gruplarla yer değiştirdiğinde, aktivite azalmıştır. Süperoksit radikal süpürme aktivitesi, muhtemelen aktif bir hidrojen atomunun yokluğundan dolayı orta düzeyde bulunduğu bildirilmiştir. (Sathyanarayana vd., 2020)



7a: $R_1 = 3,4-(\text{MeO})_2$, $R_2 = 4\text{-Cl}$; **7b:** $R_1 = 3,4-(\text{MeO})_2$, $R_2 = 4\text{-Br}$; **7c:** $R_1 = 3,4-(\text{MeO})_2$, $R_2 = 4\text{-Me}$; **7d:** $R_1 = 3,4-(\text{MeO})_2$, $R_2 = 4\text{-H}$; **7e:** $R_1 = 3,4-(\text{MeO})_2$, $R_2 = 4\text{-MeO}$; **7f:** $R_1 = 3,4-(\text{MeO})_2$, $R_2 = 4\text{-O}_2\text{N}$; **7g:** $R_1 = 3,4-(\text{MeO})_2$, $R_2 = 4\text{-F}$; **7h:** $R_1 = 2,3\text{-Cl}_2$, $R_2 = 4\text{-Br}$; **7i:** $R_1 = 2,3\text{-Cl}_2$, $R_2 = 4\text{-Cl}$; **7j:** $R_1 = 2,3\text{-Cl}_2$, $R_2 = 4\text{-F}$; **7k:** $R_1 = 2,3\text{-Cl}_2$, $R_2 = 4\text{-MeO}$; **7l:** $R_1 = 2,3\text{-Cl}_2$, $R_2 = 4\text{-Me}$; **7m:** $R_1 = 2,3\text{-Cl}_2$, $R_2 = 4\text{-H}$; **7n:** $R_1 = 2,3\text{-Cl}_2$, $R_2 = 4\text{-O}_2\text{N}$

Şekil 1.66. 7a-n bileşiklerinin yapısı.

Fenolik hidroksi grupları ve bir hidrazon parçası içeren benzimidazol bileşikleri (**3-15**) radikal temizleyiciler ve antioksidan bileşikler olarak geliştirilmiştir. Hedef bileşikler basit bir sentetik teknik kullanılarak sentezlenmiş ve DPPH, FRAP ve ORAC testleri kullanılarak antioksidan aktivite açısından incelenmiştir. Benzimidazol hidrazon, **3-15** 'in radikal süpürme aktivitesi, aril halkası üzerinde tek bir hidroksi grubu bulunan hidrazonların (**3-5**) düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğunu gösterilmiştir. 4. Pozisyondaki ikinci bir hidroksi grubu (hidrazon **6**), 2-hidroksifenil analogu **3** ile karşılaştırıldığında antioksidan kapasiteyi yaklaşık 8 kat artırdığı bildirilmiştir. Bileşik **7**'deki, 4-hidroksi grubunun 5. pozisyona kaydırılması, hidrazon **3**'ün üzerinde 400 katlık bir aktivite artışı ile sonuçlanmıştır. Hidrazon **6** 'nın 3. pozisyonuna üçüncü bir hidroksi grubunun eklenmesi, bileşik **8**'in aktivitesinde 55 kat artışla sonuçlanmıştır. Aksine, 6. pozisyonuna (bileşik **9**) üçüncü bir hidroksi grubunun eklenmesi, hidrazon **6** ile karşılaştırıldığında neredeyse değişmeden kalan antioksidan etkinliği etkilememiştir. Bu bulgular, yüksek antioksidan etkinliğin hidroksi gruplarının sayısından ziyade konumlarıyla bağlantılı olduğunu açıklamışlardır. (Baldisserotto vd., 2020)



3-15

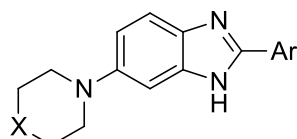
Ar= **3**; 2-OH- fenil, **4**; 3-OH- fenil, **5**; 4-OH- fenil, **6**; 2,4-(OH)₂- fenil, **7**; 2,5-(OH)₂- fenil, **8**; 2,3,4-(OH)₃- fenil, **9**; 2,4,6-(OH)₃-phenyl, **10**; 2-OH-4-OMe-phenyl, **11**; 2-OH-3-OEt-phenyl, **12**; 3-OH-4-OMe-phenyl, **13**; 2-OH-4-N(Et)₂-phenyl, **14**; 2-OH-5-Cl-phenyl, **15**; 2-OH-5-Br-phenyl

Şekil 1.67. 3-15 bileşiklerinin yapısı.

5-Morfolin-4-il (veya 4-metilpiperazin-1-il)-2-nitroanilin ve farklı aldehitlerden başlayarak yeni 2-(aril)-6-morfolin-4-il (veya 4-metilpiperazin-1-il)-1*H*-benzimidazol türevleri, sentezlenmiştir. Başlangıçta, CUPRAC ve FRAP yöntemleri kullanılarak *in vitro* antioksidan aktivite açısından değerlendirilmişler, ayrıca, bu bileşiklerin radikal süpürme kapasiteleri ABTS+ ve DPPH teknikleri kullanılarak da belirlenmiştir. Sonuçlar, tüm bileşiklerin son derece güçlü temizleme aktivitesine sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Bileşik **2d**, CUPRAC tekniğinde $19,703 \pm 0,061$ mM TEAC/mg ile en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu ve bileşik **1c**, **1e** ve **1g** sırasıyla, $19,418 \pm 0,036$; $17,87 \pm 0,130$ ve $17,800 \pm 0,130$ mM/mg 'lık TEAC değerlerine sahip oldukları bildirilmiştir. Bileşiklerin FRAP yöntemine göre antioksidan aktivitesi, en aktif moleküllerden en az aktif moleküllere doğru aşağıdaki gibi sıralanmıştır: **1h** > **2d** > **1g** > **1c** > **2h** > **1e** > **2g** > **2c** > **2b** > **2a** > **2f** > **2e** > **1d** > **1f** > **1a** > **1b**. Bileşik **1a**, **1c**, **1e**, **1f**, **1g**, **1h** ve **2d**'nin, 24 µg/mL nihai konsantrasyonda diğer bileşiklerden daha yüksek ABTS+ radikal süpürme aktivitesine sahip olduğu, bileşik

2d, 6 µg/mL nihai konsantrasyonda radikal süpürme aktivitesi açısından diğer bileşiklerden daha iyi performans gösterdiği, **1d**, **2d** ve **2g** bileşiklerinin 60 µg/mL nihai konsantrasyonda etkili DPPH radikal süpürme etkisi göstermiş olduğu, **1d**, **1g** ve **2d** bileşiklerinin, 3,75 µg/mL nihai konsantrasyonda askorbik asit ve Trolox ile karşılaştırıldığında etkili radikal süpürme etkisi gösterdiği bildirilmiştir. Buna karşılık, **2g** bileşiğinin de aynı konsantrasyonda iyi bir etkiye sahip olduğu da açıklanmıştır. (Özil vd., 2018)



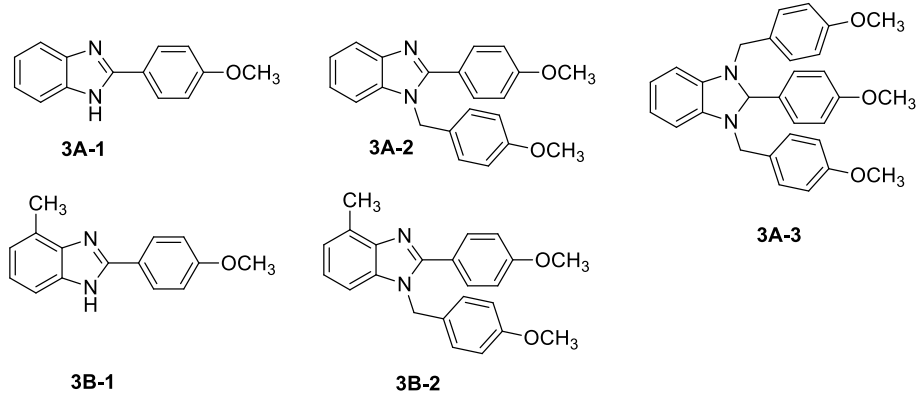
1a-h
2a-h

Ar	Comp.	X	Comp.	X
	1a	NCH ₃	2a	O
	1b	NCH ₃	2b	O
	1c	NCH ₃	2c	O
	1d	NCH ₃	2d	O
	1e	NCH ₃	2e	O
	1f	NCH ₃	2f	O
	1g	NCH ₃	2g	O
	1h	NCH ₃	2h	O

Şekil 1.68. 1a-h, 2a-h bileşiklerinin yapısı.

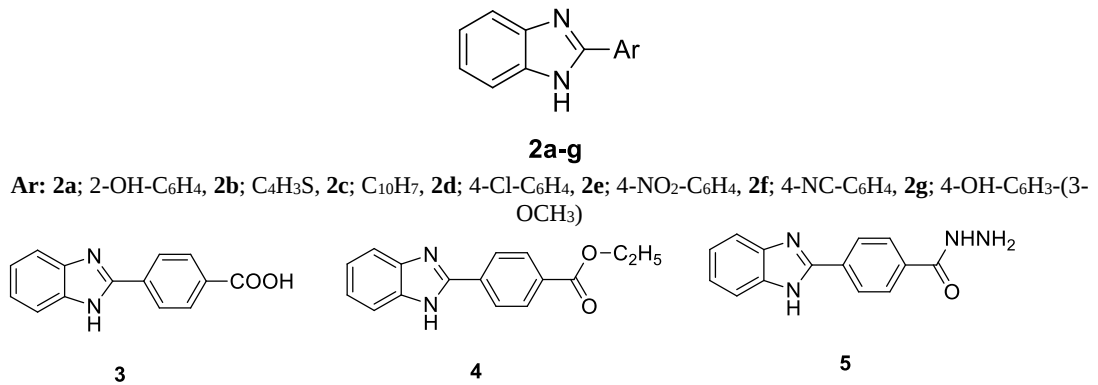
Bir seri, sübstütü benzimidazol türevlerinin (**3A-1**, **3A-2**, **3A-3**, **3B-1** ve **3B-2**) sentezi, katalizör olarak amonyum tuzu kullanılarak, çeşitli *o*-arildiamin bileşiklerinin ilgili aldehit türevleri ile kondenzasyon yoluyla gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen benzimidazol türevlerinin antioksidan aktivitesi, DPPH serbest radikal süpürme testi ile incelenmiştir. **3A-1**, **3A-2**, **3A-3** ve **3B-2** bileşiklerinin, standart bütül hidroksi toluen (BHT) (14,44 µg/ml) ile

karşılaştırıldığında sırasıyla 0,038, 0,959, 8,834 ve 7,519 $\mu\text{g/ml}$ IC_{50} değerleri ile önemli antioksidan aktivite gösterdikleri bildirilmiştir. (Brishty vd., 2020)



Şekil 1.69. 3A-(1-3), 3B-(1-2) bileşiklerinin yapısı.

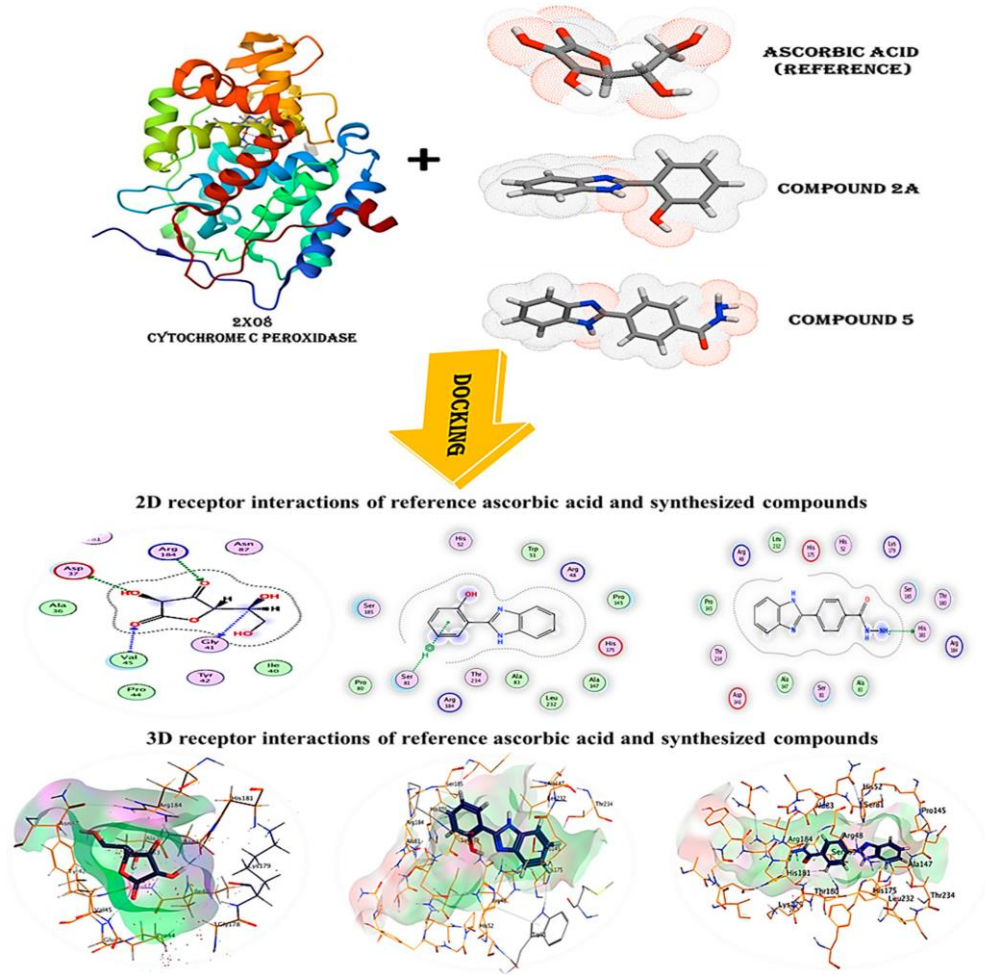
Benzimidazol **2a-g** ve **3-5** türevlerini oluşturmak için verimli ve çevre dostu bir süreç tasarlanmıştır. ZnO nanopartiküller, monosüstitüe benzimidazollerini oluşturmak için süstitüe aromatik aldehytlerin *o*-fenilendiamin ile siklokondensasyonuna aracılık etmiştir. Karşılaştırmak için pozitif kontrol amaçla, askorbik asit kullanılmış ve antioksidan aktivite çalışmasında, DPPH radikal süpürme yöntemi uygulanılmıştır. IC_{50} değeri 7,35 ($\mu\text{g/mL}$) olan **2a** bileşiği en aktif bileşik olarak açıklanmıştır. Bunun nedeni, muhtemelen aromatik halkaya antioksidan nitelikler kazandıran serbest hidroksil grubunun mevcut olması ve serbest radikalın bu gruptan hidrojen alarak nispeten kararlı bir versiyonunu oluşturması olarak açıklanmıştır. **2c** ve **5** Bileşiklerinin orta ile kayda değer düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği de bildirilmiştir (77,07-85,21 $\mu\text{g/mL}$). (Mohammed vd., 2023)



Şekil 1.70. 2a-g, 3-5 bileşiklerinin yapısı.

MOE yazılımı kullanılarak, yeni sentezlenen ilaç hedefleri, sitokrom c peroksidaz enzim (PDB kodu: 2X08) aracılı bir referans olan askorbik asit ile karşılaştırılmıştır. Askorbik asit

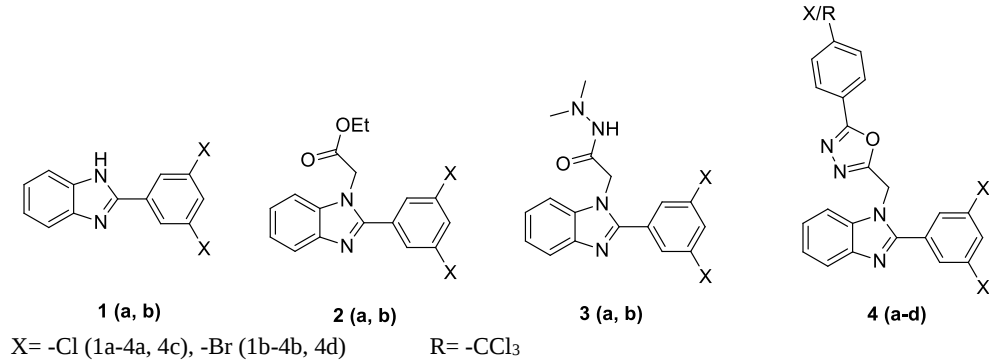
Asp37, Gly41, Val45 ve Arg184 ile dört hidrojen bağlantısı oluşturduğu, bileşik **2a** ve **5**'in, sırasıyla -7,3817 ve -7,1462 kcal/mol enerjileri ile öngörülen bağlanma modlarına sahip olduğu bildirilmiştir. Bileşik **5**, His181 ile başarılı bir hidrojen bağı kurarken, bileşik **2a**, ise Ser81 ile başarılı bir hidrojen bağı kurduğu belirtilmiştir. (Mohammed vd., 2023)



Şekil 1.71. PDB: 2X08 c peroksidaz enziminin askorbik asit ve bileşiklerle (2a ve 5) 3D ve 2D etkileşimi.

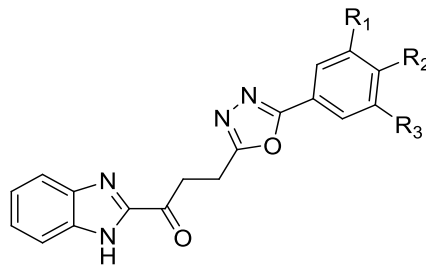
Gümrükçüoğlu vd., 2021 yılında, yeni benzimidazol türevleri üretilmiş ve EROD enzim aktivitesi, lipid peroksidasyon inhibisyonu ve DPPH radikal süpürme güçleri ölçülerek antioksidan aktiviteler açısından incelenmişlerdir. Grupta, en dikkat çekici etkiyi sergileyen **2a**, **2b**, **3a** ve **3b** bileşiklerinin BHT'ye (%81) karşı, sırasıyla %58; 41; 53 ve 39 gibi zayıf inhibisyon değerlerine sahip oldukları bildirilmiştir. EROD enzim aktivitesi testinde **2a** (%69), **4a** (%64), **4c** (%68) ve **4d** (%66) bileşiklerinin kafeine biraz yakın (%79) olduğu tespit edilirken, diğer bileşiklerin de önemli ölçüde (%41-60) etkili olduğu bildirilmiştir. Bileşik **2a** (%58) lipid peroksidasyonu üzerinde BHT (%72) ile karşılaştırılabilir etkilere sahipken,

bileşik **4b** (%40), **4c** (%39) ve **1a** (%34) ise hafif etkilere sahip olarak tanımlanmışlardır. (Gümrükçüoğlu, 2021)



Şekil 1.72. 1-3(a, b), 4a-d bileşiklerinin yapısı.

Bir seri yeni, benzimidazol-1,3,4 oksadiazol türevleri (**1A-5A**) sentezlenmiş ve DPPH radikal süpürme deneyi kullanılarak antioksidan özellikleri açısından test edilmişler ve dikkate değer antioksidan aktivite gösterdikleri bildirilmiştir. Bileşik **3A** en güçlü antioksidan olarak belirlenmiştir ($IC_{50}=78,4\pm1,46$ µg/ml). Bileşik **4A** standart antioksidan askorbik asit ($IC_{50}=11,51\pm0,31$ µg/ml) ile karşılaştırıldığında, ikinci en güçlü antioksidan bileşik olduğu değerlendirilmiştir ($IC_{50}=80,95\pm0,74$ µg/ml). Bu sonuç, sadece **2A**, **3A** ve **4A** bileşiklerinin enzim inhibisyon-seçiciliğini ve *in-vivo* antioksidan aktivite sonuçlarının doğrulandığını göstermekte olduğu şeklinde açıklanmıştır. Bileşiklerin kinetik kararlılığını, elektrik iletkenliğini ve kimyasal reaktivitesini (HOMO ve LUMO) değerlendiren YFT incelemelerinin bulguları, bileşik **1A** ve bileşik **2A** 'nın yüksek X değerlerinin gösterdiği gibi amino asitlerle kolayca etkileşime girebileceği fikrini desteklemekte olduğu belirtilmiştir. (Bhandari vd., 2023)



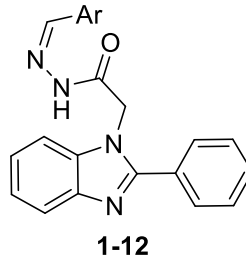
A 1-5

Compound	R ₁	R ₂	R ₃
1A	H	OH	H
2A	H	H	NO ₂
3A	H	Cl	Cl

4A	NO ₂	H	NO ₂
5A	H	H	OCH ₃

Şekil 1.73. 1A-5A bileşiklerinin yapısı.

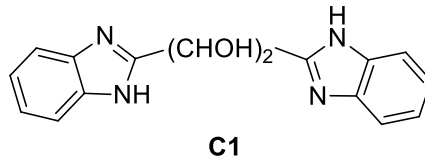
Bazı, 2-(2-fenil)-1*H*-benzo(d)imidazol-1-il)-*N'*-(arilmetilen) asetohidrazid türevleri **1-12**, lipid peroksidasyonu (LPO) seviyelerine bağlı sıçan karaciğer mikrozomal nikotinamidadenin dinükleotid fosfattaki LPO seviyelerinin ve EROD aktivitesinin inhibisyonu ölçülerek *in vitro* antioksidan aktiviteleri açısından incelenmiştir. Bir tiyofen halkasına sahip olan bileşik **6** hariç, sentezlenen tüm bileşikler LPO inhibe edici etki sergilenmiştir (%15-57). Maddelerin neredeyse tamamı EROD üzerinde %2-20 oranında az inhibitör etki göstermiştir. BHT, LPO seviyesinde %65 inhibisyon göstermiştir, ancak benzimidazol halkasının ikinci pozisyonunda bir *p*-bromofenil sübstitüenti bulunan ve en aktif molekül olan **3**'ün ise %57 inhibisyona neden olduğu bildirilmiştir. (Başaran vd., 2020)



Comp.	Ar	Comp.	Ar	Comp.	Ar
1		5		9	
2		6		10	
3		7		11	
4		8		12	

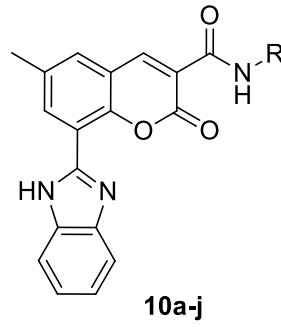
Şekil 1.74. 1-12 bileşiklerinin yapısı.

1,2-Bis(2-benzimidazolil)-1,2-etandiol (**C1**), molekülü sentezlenmiş ve DPPH radikal süpürme aktivitesi kullanılarak antioksidan aktivite açısından test edilmiştir. 1 mg/mL Konsantrasyonda %42,9'luk iyi bir inhibisyon sergilediği bildirilmiştir. (Ouaket vd., 2022)



Şekil 1.75. C1 bileşiğinin yapısı.

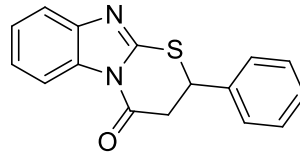
Bir seri benzimidazol sübstitüe kumarin-3-karboksamid analogu sentezlenmiş ve antioksidan kapasiteleri DPPH ve ABTS deneyleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Standart askorbik asit ($IC_{50} = 92,67 \mu M$) ile karşılaştırıldığında, karboksamid bağlayıcı üzerinde pikolin ikamesi olan bileşik **10j**, $89,57 \mu M$ IC_{50} değeri ile DPPH radikal süpürme için en güçlü analog olduğunu kanıtlanmıştır. Benzer şekilde, 3,5-dimetoksi fenil sübstitüe karboksamid bağlayıcılı **10f** bileşiği, standart ilaç trolox ($IC_{50} = 96,24 \mu M$) ile karşılaştırıldığında ABTS radikaline karşı en güçlü süpürme aktivitesini ($IC_{50} = 93,45 \mu M$) gösterdiği bildirilmiştir. (Patagar vd., 2023)



Comp.	R	Comp.	R
10a		10f	
10b		10g	
10c		10h	
10d		10i	
10e		10j	

Şekil 1.76. 10a-j bileşiklerinin yapısı.

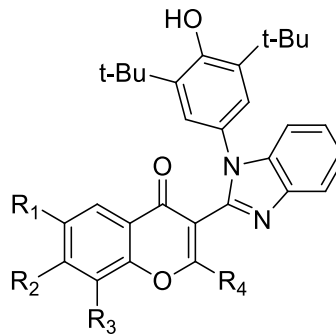
2-Aril-2,3-dihidro-4*H*-[1,3]tiazino[3,2-*a*]benzimidazol-4-on (**III**) bileşiği sentezlenmiş ve referans antioksidan trolox ($70 \pm 0,35$) ile karşılaştırıldığında bileşik III, DPPH radikaline karşı yüksek düzeyde İnhibisyon değeri ($73 \pm 2,42$) gösterilmiştir. Bileşik **III** ile DPPH reaksiyonu için enerji profili kullanılarak, antioksidan aktivitenin aromatik halka ile tiyazin halkasının C12'si arasında, radikal konjugasyonunun meydana gelebileceği HAT (H12) mekanizması yoluyla gerçekleştirildiği gösterilmiştir. Bileşik **III**'ün ABTS-+'daki $99 \pm 1,18$ inhibisyonu, referans antioksidan olarak askorbik asidin $98 \pm 0,34$ inhibisyonu ile karşılaştırıldığında, sonuçların benzer olduğu bildirilmiştir. (Rodríguez vd., 2020)



III

Şekil 1.77. III bileşiğinin yapısı.

3-Formilkromonlar ve 4-((2-aminofenil) imino)-2,6-di-tert-butilsikloheksa-2,5-dienon reaksiyonu bir seri N-süstitüe benzimidazol türevi verilmiştir. Referans standart olarak Trolox kullanılarak, **1-8** bileşiklerinin antioksidan aktivitesini araştırmak için DPPH radikal süpürme teknikniği kullanılmıştır. Trolox'un aktivitesi $0,15 \pm 0,002$. Bileşik **1**, **3**, **5** ve **7**, referans ilaç Trolox ile karşılaştırılabilir HOMO enerji değerleri ile en iyi antioksidan etkinliği gösterdiği bulunmuştur (IC_{50} sırası ile, 0,015; 0,013; 0,017; 0,019 $\mu\text{mol/ml}$). (Shatokhin vd., 2022)



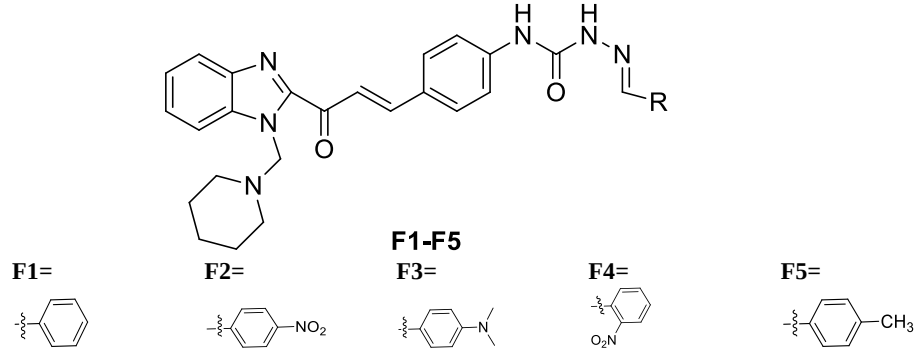
1-9

- | | | |
|--------------------------|-------------------------|--------------------------------|
| 1. $R_1=R_2=R_3=R_4=H$, | 4. $R_2=OCH_3$ | 7. $R_1=CH_3$ |
| 2. $R_1=R_3=CH_3$ | 5. $R_1=F$ | 8. $R_1=CH_3$, $R_3=CH_2Cl$ |
| 3. $R_2=OAc$ | 6. $R_1=CH_3$, $R_3=I$ | 9. $R_1=R_3=H$, $R_4=N(Me)Ph$ |

Şekil 1.78. 1-9 bileşiklerinin yapısı.

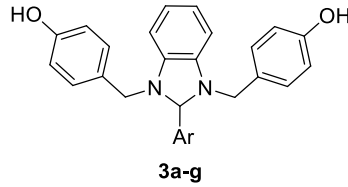
o-Fenilendiaminden hareketle, yeni bir seri, 1-(süstitüe benziliden)-4-(4-(3-okso-3-(1-(piperidin-1-ilmetil)-1*H*-benzoimidazol-2-il) prop-1-enil) fenil) semikarbazid (**F1-F5**)

sentezlenmiştir. DPPH Scavenging tekniği kullanılarak her bir molekülün antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Test edilen beş madde arasında **F3** güçlü antioksidan aktivite göstermiştir (DPPH süpürme aktivitesi $50,88 \pm 0,15$) ve antioksidan aktivite için model kimyasal olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. (Selvakumaran vd., 2023)



Şekil 1.79. F1-F5 bileşiklerinin yapısı.

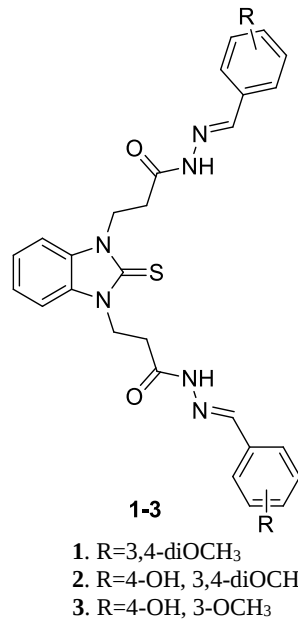
4,4'-((2-(Süstitüe-aril)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1,3(2*H*)-diil)bis(metilen))difenol (**3a-g**), Schiff bazlarının indirgenme ürününün asetik asit varlığında fenolik hidroksil içeren aril aldehitlerle siklize edilmesiyle başarıyla sentezlendiği açıklanmıştır. Antioksidan kapasiteyi taramak için FRAP ve DPPH testleri kullanılmıştır. **3b** ($88,27 \pm 0,043$) ve **3c** ($83,19 \pm 0,059$) bileşiklerinin antioksidan kapasitesi, DPPH İnhibisyon yüzdesi askorbik asitinkinden ($90,67 \pm 0,032$) marjinal olarak daha düşük olarak bulunmuştur. (Shakir vd., 2022)



Comp.	Ar	Comp.	Ar
3a		3e	
3b		3f	
3c		3g	
3d			

Şekil 1.80. 3a-g bileşiklerinin yapısı.

Vanilin, sirinaldehit ve veratraldehit kalıntıları içeren benzimidazol-2-tiyon'lar sentezlenmiş ve kararlı serbest radikaller (ABTS ve DPPH) içeren sistemlerde radikal süpürme potansiyelleri açısından test edilmiş ve lesitin, ferröz demir kaynaklı oksidatif hasarına karşı koruma etkileri değerlendirilmiştir. Her türevin, ABTS konsantrasyonunu düşürme potansiyeli gösterdiği ve veratraldehit kalıntısı içeren bileşiklerin DPPH sisteminde absorbanda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermediği bildirilmiştir. Çalışılan her maddenin, ferröz demirin neden olduğu oksidatif moleküler hasarı azalttığı ve belirlenen koruyucu etkinin, kuersetin ve trolox gibi güçlü referans antioksidanlarla aynı konsantrasyon aralığına düştüğü bildirilmiştir. (Anastassova vd., 2019)



Şekil 1.81. 1-3 bileşiklerinin yapısı.

Bu tez çalışmasının amacı, yeni benzimidazol türevlerinin tasarımı, sentezi, karakterizasyonu, docking çalışmaları, anti-enflamatuar ve antioksidan aktivitelerinin araştırılmasıdır. 5(6)-süstitüe ve/veya 2-süstitüe-1*H*-benzimidazol türevi bileşiklerin (**H1-H27**) tasarımı ve sentezinin gerçekleştirilmesidir. Sentezlenen bileşiklerin çeşitli spektroskopik teknikler (MS, ¹H NMR ve ¹³C NMR) kullanılarak spektral karakterizasyonları ile yapılarının tanımlanması ve bu türevlerin anti-enflamatuar ile antioksidan aktivitelerinin biyolojik açıdan incelenmesi tasarlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentezleri, Saflaştırma işlemleri ve Yapı Analizlerinde Kullanılan Gereçler.

2.1.1.1. Sentez İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler

4-Kloro-fenol (Sigma Aldrich), benzil alkol (Merck), 5-kloro-2-nitroanilin (Sigma Aldrich), 5-Kloro-4-fluoro-2-nitroanilin (abcr), 1-kloro-2-nitrobenzen (Sigma Aldrich), 2,4-Dikloro-1-nitrobenzen (Sigma Aldrich), 4-metoksibenzaldehit (Sigma Aldrich), 2-metoksi benzaldehit (Sigma Aldrich), 2,4-dimetoksi benzaldehit (Sigma Aldrich), 2,4-dikloro benzaldehit (Sigma Aldrich), 2,6-dikloro benzaldehit (Sigma Aldrich), 4-siyano benzaldehit (Sigma Aldrich), 2,5-difluoro benzaldehit (Sigma Aldrich), 3,4-dimetoksi benzaldehit (Sigma Aldrich), kalay(II) klorür (Sigma Aldrich), kons. HCl (%37) (Merck), anhidr potasyum karbonat K_2CO_3 (Across Organics), sodyum bisülfid (Sigma Aldrich), morfolin (Sigma Aldrich), 1-fenilpiperazin (Sigma Aldrich), etilamin (Sigma Aldrich), propilamin (Sigma Aldrich), (4-klorofenil)metanamin (Sigma Aldrich), hidroksilamonyum klorür (Sigma Aldrich), potasyum hidroksit (Riedel deHaen), N,N-dimetil formamid (DMF) (Tekkim), (DMSO) (Carlo Erba), absolüt etanol (Riedel deHaen), metanol (Merck), etil asetat (Carlo Erba), *n*-hekzan (Isolab), kloroform (Carlo Erba), diklorometan (Carlo Erba), dietil eter (Riedel deHaen), aseton (Sigma Aldrich).

2.1.1.2. Kromatografik Analizler

Sentez çalışmaları sırasında reaksiyonlardaki gelişmeyi izlemek, elde edilen ürünlerin saflık derecelerini saptamak amacı ile İnce Tabaka Kromatografisinden (İTK) yararlanılmıştır. Uygulamada Kieselgel-60 GF254 (Merck) kaplı alüminyum plaklar kullanılmıştır. Lekelerin belirlenmesinde 254 nm ve 366 nm dalga boyundaki UV (Camag UV Lambası) ışığından yararlanılmıştır. İTK'de kullanılan çözücü sistemleri 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 2:1, 3:1, 4:1 ve 5:1 oranlarında etil asetat: *n*-hekzandır.

Elde edilen tüm bileşikler kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Partikül boyutu 60, 0,040-0,060 mm (230-400 mesh) olan silikajel (Merck) kullanılmıştır. Kullanılan kolonun çapı 4 cm ve kullanılan silika jel miktarı 40-50 g arasındadır. Elde edilen bileşikler az miktarda mobil

fazda (5-6 ml) çözündürüldükten sonra kolona tatbik edilmiştir. Kolon kromatografisinde mobil faz olarak kullanılan çözücünün türü ve bileşimi yöntemler bölümünde belirlenmiştir.

2.1.1.3. Erime Noktası Tayinleri

Sentezlenen bileşiklerin erime nokta tayinleri, Buchi B-540 cihazı ile belirlenmiş ve sonuçlar düzeltilmeden verilmiştir.

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

NMR Spektrumları, Varian Mercury (AGILENT) 400 MHz and BRUKER AVANCE NEO 500 MHz FT spektrometresinde gerçekleştirilmiştir. İç standart madde olarak tetrametilsilan (TMS), çözücü olarak DMSO- d_6 kullanılmıştır. Analizler Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi merkez laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

2.1.1.5. Kütle (Mass) Spektrumları

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

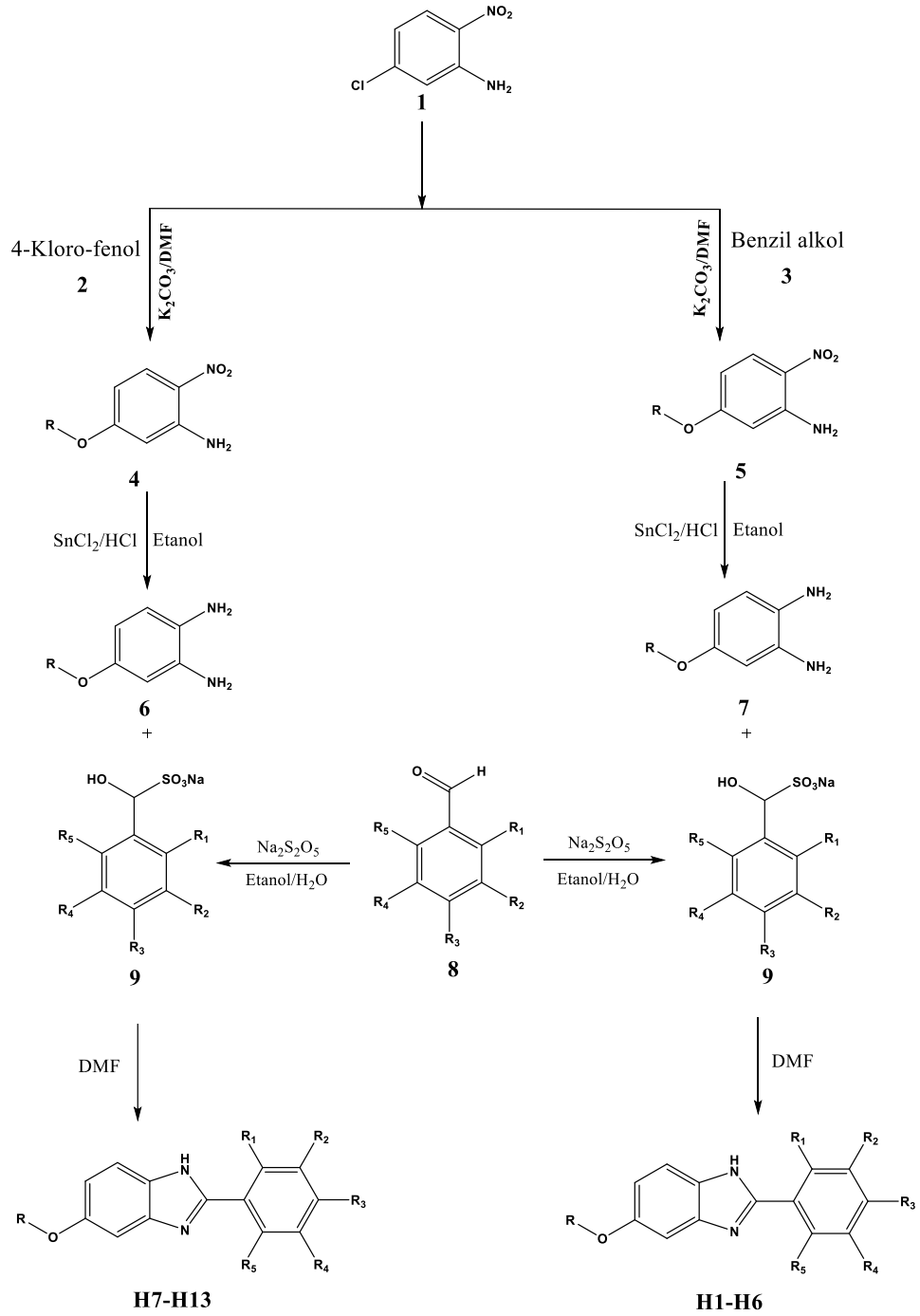
2.1.2. Elde Edilen Bileşiklerin Anti-İnflamatuar ve Antioksidan Etki Tayininde Kullanılan Gereçler

Tam insan kanı, heparinize santrifüj tüpleri, steril salin solüsyonu, İzotonik steril tampon çözeltisi, sodyum fosfat, sodyum klorür, indometazin, DMSO, methanol, DPPH, butil hidroksi toluene (BHT), ABTS, potasyum persülfat, ethanol, Trolox.

2.2. Yöntem

2.2.1. H1-H13 Bileşiklerinin Sentezi

Elde edilen **H1-H13** bileşiklerinin sentetik yolları ve elde edilen bileşiklere ulaşmak için gerekli ara bileşikler Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Bileşik	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
H1	Benzil	H	H	-OCH ₃	H	H
H2	Benzil	-OCH ₃	H	H	H	H
H3	Benzil	F	H	H	F	H
H4	Benzil	H	H	-CN	H	H
H5	Benzil	H	H	-COOH	H	H
H6	Benzil	Cl	H	H	H	Cl
H7	4-Klorofenil	-OCH ₃	H	H	H	H
H8	4-Klorofenil	H	H	-OCH ₃	H	H
H9	4-Klorofenil	H	-OCH ₃	-OCH ₃	H	H
H10	4-Klorofenil	-OCH ₃	H	-OCH ₃	H	H
H11	4-Klorofenil	Cl	H	H	H	Cl
H12	4-Klorofenil	Cl	H	Cl	H	H
H13	4-Klorofenil	F	H	H	F	H

Şekil 2.1. H1-H13 bileşiklerinin sentezi.

2.2.1.1. 5-(4-Klorofenoksi)-2-nitroanilin (4) veya 5-(Benziloksi)-2-nitroanilin (5)

0,01 mol 5-Kloro-2-nitroanilin **1**, 0,01 mol 4-kloro-fenol **2** veya benzil alkol **3** ve 0,01 mol anhidr K₂CO₃ ile DMF içinde 80 °C'de 6 saat boyunca reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon ortamı soğutulup üzerine soğuk su ilave edilip çöktürüldü, süzülüp kurumaya bırakıldı. Elde edilen ürün etanol ile kristallendirilerek, 5-(4-klorofenoksi)- veya 5-(benziloksi)-2-nitroanilin (**4**, **5**) saf kristal olarak elde edildi. (Cortés ve Anaya, 1997a; Gurney Gutekunst ve LeB Gray, 1922; W. Wang vd., 2014; Wiegerebe vd., 1970)

2.2.1.2. 4-(4-Klorofenoksi)-orto-fenilendiamin (6) ve 4-(Benziloksi)-orto-fenilendiamin (7)

1 mmol 5-(4-Klorofenoksi)- veya 5-(benziloksi)-2-nitroanilin (**4** ve **5**) etanolde çözüldü, SnCl₂/HCl 'li ortamda redüklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika karıştırıldı. Ortam %10 KOH ile nötralize edildi, etanolün buharlaştırılmasından sonra ürün etil asetat ile ekstraksiyon yöntemi ile saflaştırılarak elde edildi. Etil asetat indirgenmiş basınçta buharlaştırılarak 4-(4-klorofenoksi)-orto-fenilendiamin **6** ve 4-(benziloksi)-orto-fenilendiamin **7** elde edildi. (Kus vd., 2001)

2.2.1.3. Sübstitüe Benzaldehitlerin Sodyum Metabisülfid Tuzları (9)

Benzimidazol halkasının siklizasyonunu sağlayan ve başlangıç maddesi olarak kullanılan ilgili benzaldehit türevleri **8** (1mmol), 20 mL etanolde çözöldü. 0,01 mol Sodyum bisülfid 10 mL suda çözöldü ve soğutulan etanol çözeltisinin üzerine porsiyonlar halinde ve iyice karıştırarak ilave edildi. Bir miktar etanol daha eklenerek çözelti soğutuldu. Oluşan çökelti süzöldü ve kurutuldu, böylece ilgili sübstitüe benzaldehitlerin sodyum metabisülfid tuzları **9** elde edildi. (Kus vd., 2023)

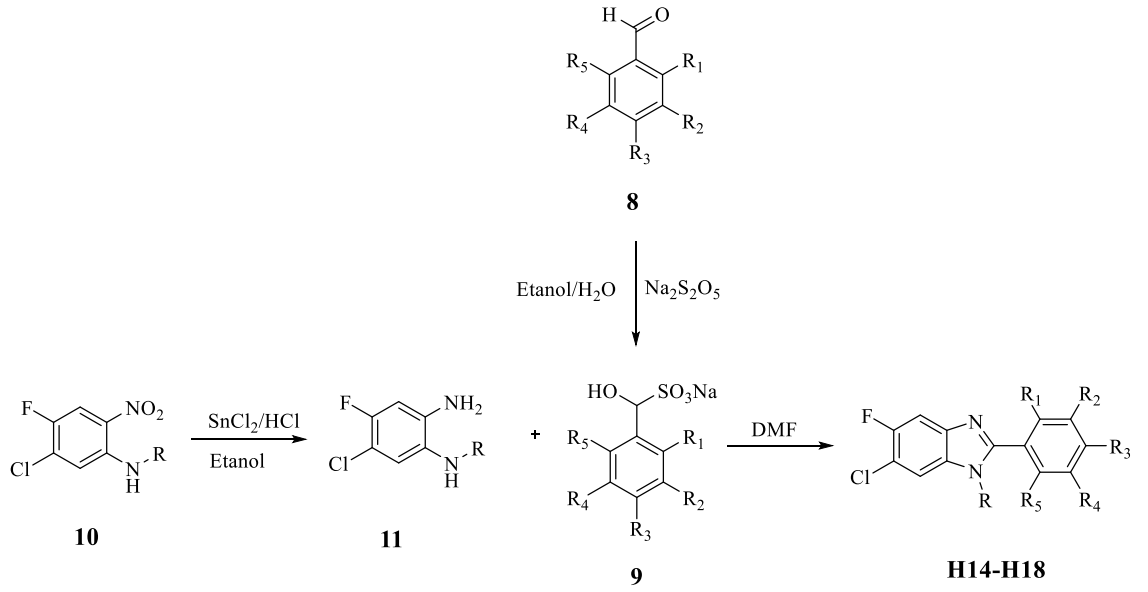
2.2.1.4. H1-H13 Benzimidazol Türevlerinin Sentezi

İlgili sübstitüe benzaldehitlerin **9** sodyum metabisülfid tuzları yukarıda tarif edildiği gibi hazırlandı ve bu tuzlardan 1 mmol, DMF içinde 1 mmol 4-(4-klorofeniloksi)-orto-fenilendiamin **6** veya 4-benziloksi-orto-fenilendiamin **7** ile 135 °C'de 12 saat refluks edildi. Reaksiyonun sonu İTK ile kontrol edilerek reaksiyon sonlandırıldı. Reaksiyon ortamı soğutuldu ve soğuk suya dököldü. Çökelti süzöldü ve kurutuldu, katı madde toplandı ve **H1-H13** bileşiklerini elde etmek için kolon kromatografisi ile saflaştırıldılar. (Karataş vd., 2012; Özden vd., 2005; Ridley vd., 1965)

2.2.2. H14-18 Bileşiklerinin Sentezi

1 mmol 5-Kloro-*N*¹-etil-4-fluoro-2-nitroanilin veya 5-kloro-4-fluoro-2-nitroanilin **10** etanol içinde çözöldü ve SnCl₂/HCl ile redöklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika karıştırıldı. Ortam %10 KOH ile nötrale edildi, etanolün buharlaştırılmasından sonra ürün etil asetat ile ekstraksiyon yoluyla elde edildi. Etil asetat düşük basınç altında buharlaştırılarak 5-kloro-*N*¹-etil-4-fluorobenzen-1,2-diamin veya 4-kloro-5-fluorobenzen-1,2-diamin **11** elde edildi. (Kus vd., 2001)

1 mmol İlgili sübstitüe benzaldehitlerin sodyum metabisülfid tuzu **9** ve 1 mmol 5-kloro-*N*¹-etil-4-fluorobenzen-1,2-diamin veya 4-kloro-5-florobenzen-1,2-diamin **11** ile DMF içinde 135 °C'de 12 saat refluks edildi. Reaksiyonun bitişi, İTK ile kontrol edildi ve reaksiyon sonlandırıldı. Reaksiyon ortamı soğutuldu ve soğuk suya dököldü. Çökelti süzöldü ve kurutuldu ve temiz **H14-H18** bileşiklerini elde etmek için kolon kromatografisi ile saflaştırıldılar. (Karataş vd., 2012; Özden vd., 2005; Ridley vd., 1965)



Bileşik	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
H14	Ethyl	F	H	H	F	H
H15	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H
H16	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H
H17	H	Cl	H	H	H	Cl
H18	H	Cl	H	Cl	H	H

Şekil 2.2. H14-H18 bileşiklerinin sentezi.

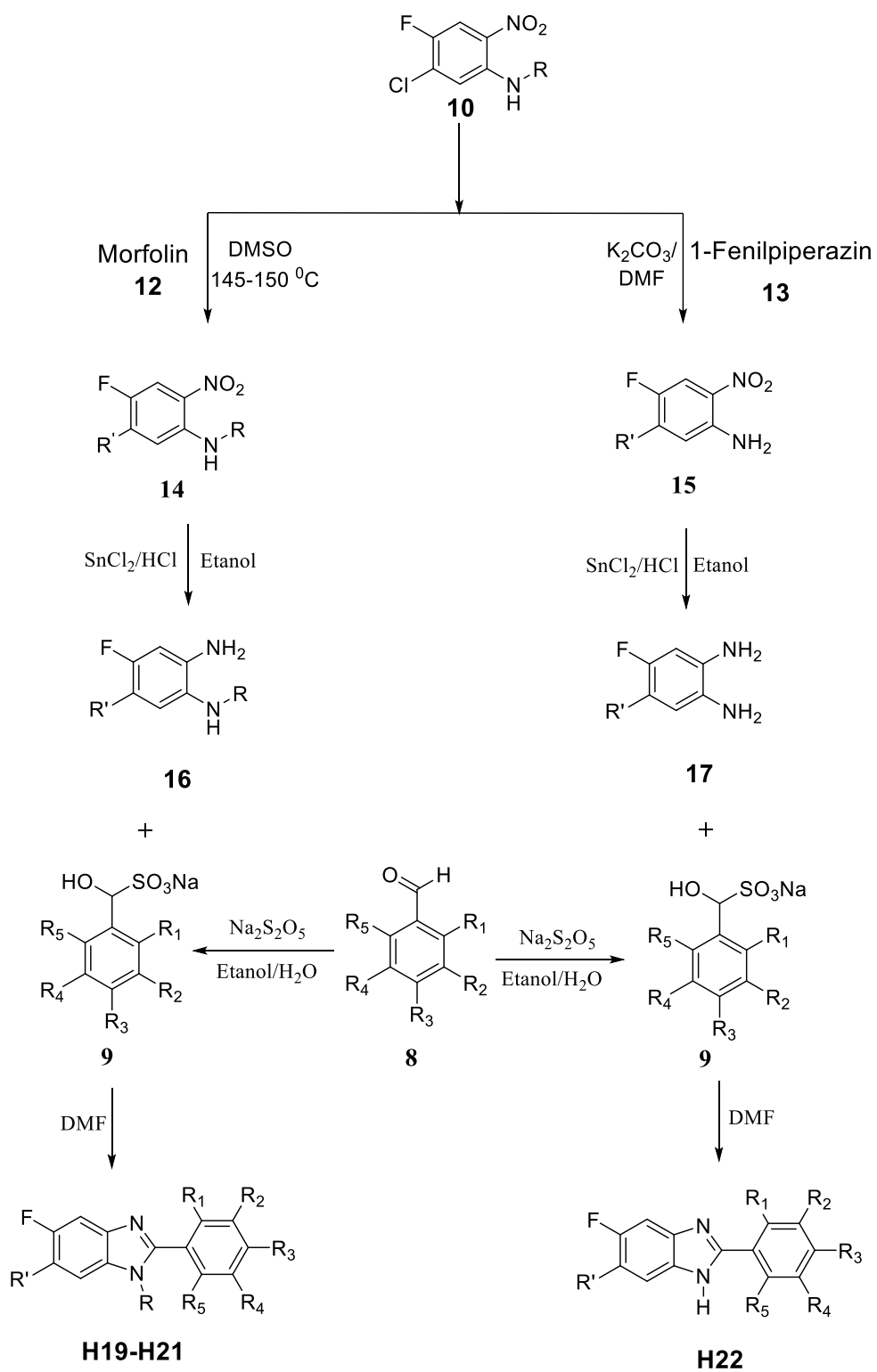
2.2.3. H19-H21 ve H22 Bileşiklerinin Sentezi

5-Kloro-4-fluoro-2-nitroanilin veya 5-kloro-*N*¹-etil-4-fluoro-2-nitroanilin **10** (1 mmol) 10 ml DMSO içinde çözüldü ve 1mmol morfolin ilave edildi. Karışım 145-150 °C'de 6 saat refluks edildi. Reaksiyon ortamı soğutuldu ve soğuk sui lave edildi. Oluşan çökelti süzülde, kurutuldu ve etanolde rekristalize edildi. 4-Fluoro-5-morfolinobenzen-1,2-diamin veya *N*¹-etil-4-fluoro-5-morfolinobenzen-1,2-diamin **16** elde etmek için ürün **14** etanolde çözüldü ve oda sıcaklığında 30 dakika SnCl₂/HCl ile redüklendi. Bileşik **16**, sübstitüe benzaldehitin sodyum metabisülfite tuzu **9** ile DMF içinde 135 °C'de 12 saat refluks edildi. Reaksiyon, İTK ile kontrol edilerek sonlandırıldı. Reaksiyon ortamı soğutuldu ve soğuk suya döküldü. Çökelti süzülde ve kurutuldu ve **H19-H21** bileşiklerini saflaştırabilmek için uygun solvanlar ile kolon kromatografisi uygulandı. (Karataş vd., 2012; Özden vd., 2005; Ridley vd., 1965; Sanna vd., 1998)

20 ml DMF içinde çözülmüş 5-kloro-4-fluoro-2-nitroanilin **10** (1 mmol) ve 1 mmol 1-fenilpiperazin **13** ve 1 mmol anhidr K₂CO₃ ilave edildi ve karışım 60 °C'de 6 saat reflüks edildi. Reaksiyon karışım soğutularak, soğuk su ilave edildi. Oluşan çökelek süzüldü, kurutuldu ve etanolden rekristalize edildi. Ürün **15**, SnCl₂/HCl ortamında oda sıcaklığında 30 dakika boyunca redüklendi. 4-Fluoro-5-(4-fenilpiperazin-1-yl)benzene-1,2-diamine **17** DMF içinde benzaldehitin sodyum metabisülfid tuzu **9** ile 135 °C'de 12 saat reflüks edildi. Reaksiyon İTK ile kontrol edildi ve reaksiyon sonlandırıldı. Reaksiyon ortamı soğutuldu ve soğuk su ilave edildi. Çökelti süzüldü ve kurutuldu. **H22** Bileşiği, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. (Abdel-Jalil ve Voelter, 2005; Karataş vd., 2012; Özden vd., 2005; Ridley vd., 1965)

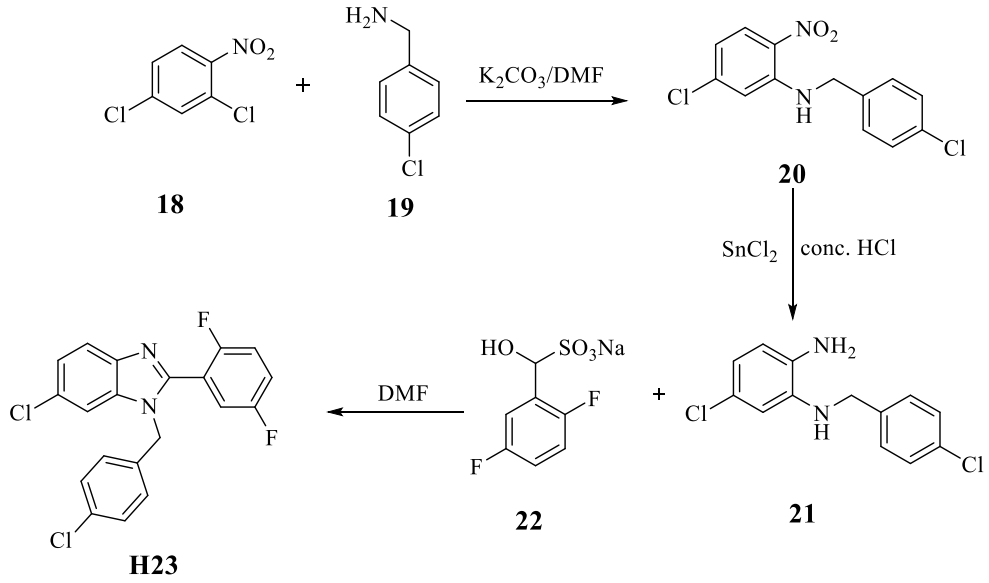
2.2.4. H23 Bileşiğinin Sentezi

5-Kloro-2-nitro-*N*¹-(4-klorobenzil)anilin **20**, elde edebilmek için, 2,4-dikloro-1-nitrobenzen (1 mmol) **18** 20 ml DMF içinde çözüldü ve 1 mmol (4-klorofenil)metanamin **19** ile 1 mmol anhidr K₂CO₃ eklendi. Karışım 80 °C'de 6 saat reflüks edildi, ardından reaksiyon ortamı soğutuldu ve soğuk suya döküldü. Çökelti süzüldü ve kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı. **20** nolu ürün, SnCl₂/HCl ile oda sıcaklığında 30 dakika boyunca redüklendi ve elde edilen, 5-kloro-*N*¹-(4-klorobenzil)benzen-1,2-diamin **21** ve 2,5-difluorobenzaldehit 'nin sodyum metabisülfid tuzu **22** ile DMF içinde 135 °C'de 12 saat reflüks edildi. Reaksiyonun sonu İTK ile kontrol edildi ve reaksiyon sonlandırıldı. Reaksiyon ortamı soğutuldu ve soğuk suya döküldü, oluşan çökelti süzüldü ve kurutuldu. Temiz, **H23** bileşiğini elde edebilmek için kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. (Özden vd., 2004)



Bileşik	R'	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
H19	Morfolin	H	Cl	H	Cl	H	H
H20	Morfolin	H	Cl	H	H	H	Cl
H21	Morfolin	Ethyl	F	H	H	F	H
H22	4-fenilpiperazin	H	Cl	H	H	H	Cl

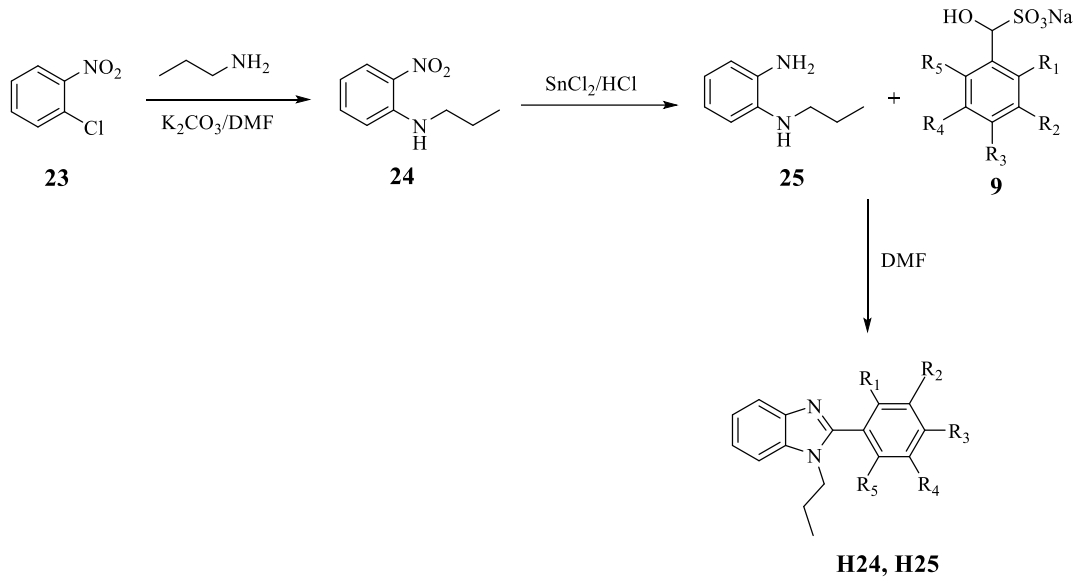
Şekil 2.3. H19-H22 bileşiklerinin sentezi.



Şekil 2.4. H23 bileşiğinin sentezi.

2.2.5. H24 ve H25 Bileşiklerinin Sentezi

1-Kloro-2-nitrobenzen (1 mmol) **23**, 20 ml DMF içinde çözüldü, 1mmol propilamin ve 1mmol anhidr K₂CO₃ ilave edildi. Karışım 80 °C'de 3 saat ısıtıldı, daha sonra reaksiyon ortamı soğutuldu ve soğuk suya döküldü. Oluşan çökelti süzülüp kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı, böylece **24** nolu ürün elde edildi. **24** nolu bileşik, N¹-propilbenzen-1,2-diamin **25** elde etmek için SnCl₂/HCl ortamında oda sıcaklığında 30 dakika boyunca redüklendi. 1 mmol N¹-propilbenzen-1,2-diamin **25**, 1 mmol sübstitüe benzaldehitin sodyum metabisülfid tuzu **9**, ile DMF içinde 135 °C'de 12 saat reflüks edildi. Reaksiyon, İTK ile kontrol edildi ve sonlandırıldı. Reaksiyon ortamı soğutuldu ve soğuk suya döküldü. Çökelti süzüldü ve kurutuldu. **H24** ve **H25** bileşikleri kolon kromatografisi ile saflaştırıldılar. (Karataş vd., 2012; Özden vd., 2004)

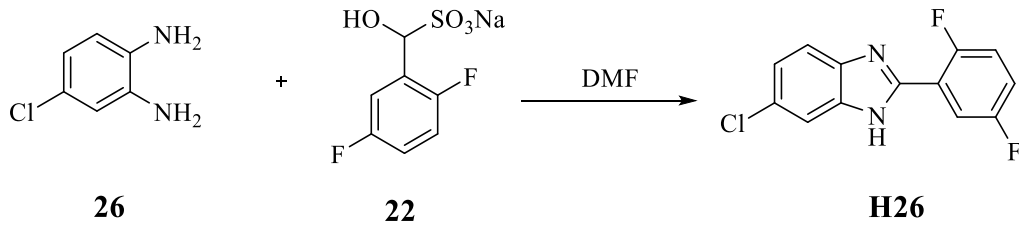


Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
H24	-OCH ₃	H	-OCH ₃	H	H
H25	F	H	H	F	H

Şekil 2.5. H24, H25 bileşiklerinin sentezi.

2.2.6. H26 Bileşiğinin Sentezi

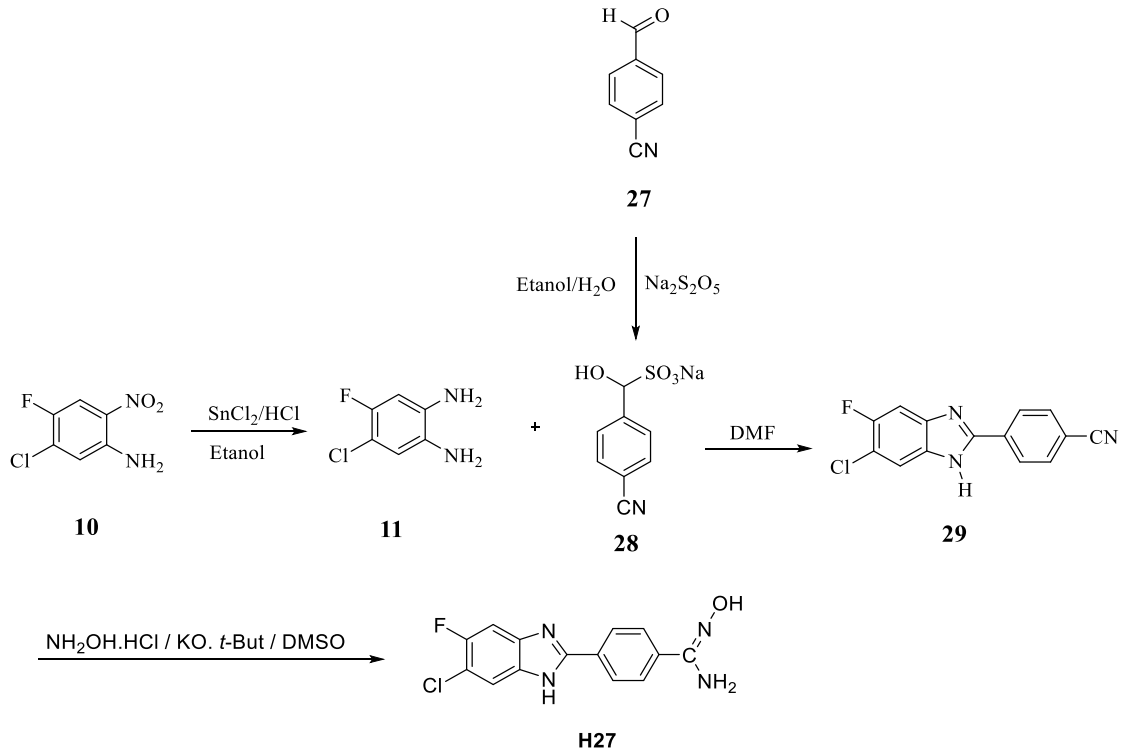
1 mmol, 4-Klorobenzen-1,2-diamin **26** ve 1 mmol 2,5-diflorobenzaldehitin sodyum metabisülfid tuzu **22**, DMF içinde 135 °C'de 12 saat refluks edildi. Reaksiyonun sonu İTK ile kontrol edildi ve sonlandırıldı. Reaksiyon ortamı soğutuldu ve soğuk suya döküldü. Çökelti süzüldü ve kurutuldu, katı toplandı. **H26** bileşiği kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. (Karataş vd., 2012; Özden vd., 2005; Ridley vd., 1965)



Şekil 2.6. H26 bileşiğinin sentezi.

2.2.7. H27 Bileşiğinin Sentezi

4-(6-Kloro-5-fluoro-1*H*-benzimidazol-2-il)benzonitril **29**, Şekil 2.2'de belirtilen yöntemle sentezlenmiştir. 1 mmol Bileşik **29**, 1 mmol hidroksilamonyum klorür (NH₂OH.HCl) ve 1 mmol potasyum tert-butoksit KO.t-But. ile DMSO içinde oda sıcaklığında 24 saat refluks edildi. Reaksiyon ortamı soğuk suya döküldü. Çökelti süzüldü ve kurutuldu, katı madde toplandı ve **H27** bileşiği kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. (Karaaslan, 2020)



Şekil 2.7. H27 bileşiğinin sentezi.

2.2.8. Elde Edilen Sonuç Bileşiklerin Anti-enflamatuvar Etki Tayini Yöntemi

2.2.8.1. İnsan Kırmızı Kan Hücre Membran Stabilizasyon Kapasitesi

Yeni sentezlenen moleküllerin in vitro anti-enflamatuvar aktivitesinin belirlenebilmesi için insan kırmızı kan hücre membran stabilizasyon yöntemi kullanıldı. (Gunathilake vd., 2018; Shinde vd., 1999) Çalışma protokolü Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı (14.05.2020/i5-273-20). Numune alımından önceki iki hafta boyunca herhangi bir anti-enflamatuvar veya steroidil ilaç almamış sağlıklı insan gönüllülerden taze tam insan kanı toplandı ve heparinize santrifüj tüplerine aktarıldı. Tüpler 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant izole edildi. Hücre süspansiyonu eşit hacimde steril salin

solüsyonu (%0,90 a/h NaCl, pH 7,2) ile yıkandı. Bu adım üç kez tekrarlandı. Santrifüjlemeden sonra hücre süspansiyon hacmi ölçüldü. İzotonik steril tampon çözeltisi ile (10 mM sodyum fosfat tamponu, pH 7.4) %10 h/h çalışma solüsyonu hazırlandı. Tampon çözeltisinin (g/L) bileşimi NaH₂PO₄ (0,2), Na₂HPO₄ (1,15) ve NaCl (9,0) idi. Yeni sentezlenen moleküllerin farklı konsantrasyonları hazırlandı (1-10 mM). Test numuneleri %10 h/h kırmızı kan hücre süspansiyonu ile muamele edildi (1:1). Karışım 56°C'de 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüpler akan su altında soğutuldu. Ardından 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant solüsyonunun absorbansı 560 nm'de mikrolaka spektrofotometresinde ölçüldü. Kontrol olarak numunelerin çözücüsü, referans molekül olarak indometazin kullanıldı. Hücre membran stabilizasyon kapasitesi, koruma yüzdesi şu formüle göre hesaplandı:

$$\% \text{ stabilizasyon (\% koruma)} = 100 \times (1 - A_2/A_1), \quad (1) \quad A_1 = \text{kontrol absorbansı}, \quad (2) \quad A_2 = \text{test numunesinin absorbansı}.$$

2.2.9. Elde Edilen Sonuç Bileşiklerin Antioksidan Etki Tayini Yöntemi

2.2.9.1. DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi

Radikal süpürme deneyi, Blois tarafından tarif edilen değiştirilmiş yöntemle belirlendi. (Blois, 1958) Bileşiklerin ve BHT'nin stok çözeltileri DMSO'da 10⁻² M'de hazırlandı. DMSO'daki bir dizi çözelti, 96 kuyucuklu mikrolakalarda değişen konsantrasyonlara seyreltildi ve sonra her kuyucuğa metanolik DPPH solüsyonu (100 µM) eklendi. Plaka 30 dakikalık inkübasyon sonrası, çözeltinin optik yoğunluğu (OD) 517 nm'de okundu. DPPH'nin metanolik çözeltisi kontrol olarak kullanıldı. Kimyasal maddelerin yüzde inhibisyon oranları aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı:

$$\% \text{ engelleme} = ((\text{OD kontrol} - \text{OD numunesi}) / \text{OD kontrol}) \times 100$$

Burada OD kontrol, DMSO ile kontrolün absorbansı ve OD numunesi, bileşiklerin varlığında numunenin absorbansıdır. Tüm testler üç kopya halinde yürütüldü ve ortalamaları alındı. Standart madde olarak BHT (butil hidroksi toluen) kullanıldı.

2.2.9.2. ABTS Radikal Katyon Renk Giderme Testi

Radikal süpürme deneyi, Re ve diğerleri tarafından açıklanan modifiye edilmiş yöntemle belirlendi. (Re vd., 1999) ABTS, suda 7 mM konsantrasyona kadar çözüldü. ABTS radikal katyonu (ABTS•+), ABTS stok çözeltisinin 2,45 mM potasyum persülfat (nihai konsantrasyon) ile reaksiyona sokulması ve kullanımdan önce karışımın oda sıcaklığında 12-

16 saat karanlıkta bekletilmesiyle elde edildi. ABTS•+ çözeltisi, 734 nm'de 0,70 (±0,02)'lik bir absorbans elde etmek için etanol ile seyreltilip ve 30°C'de dengelendi. Seyreltilmiş ABTS•+ çözeltisinin farklı konsantrasyonlardaki kimyasal bileşiklere eklenmesinden sonra, ilk karıştırmadan tam olarak 1 dakika sonra ve 6 dakikaya kadar 30°C'de absorbans okuması yapıldı. Tüm deneyler, en az üç kez ve üç kopya halinde ve standart ve numunelerin her bir konsantrasyonunda gerçekleştirildi. 734 nm'de absorbansın yüzde inhibisyonu, standart referans verileri için bileşiklerin ve Trolox'un konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak hesaplandı. Yüzde inhibisyon, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = ((\text{OD}_{\text{kontrol}} - \text{OD}_{\text{sample}}) / \text{OD}_{\text{kontrol}}) \times 100$$

2.2.9.3. Total Antioksidan Kapasite Tayini

Yeni sentezlenen moleküllerin total antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla (Prieto vd., 1999)'nın fosfomolibden metodu minör modifikasyonlar yapılarak uygulanmıştır. Metod antioksidan etkili maddelerin Mo(VI)'yı Mo(V)'e indirgemesi sonucu asidik ortamda yeşil renkli fosfomolibdat kompleksinin oluşması esasına dayanmaktadır. Öncelikle 28 mM sodyum fosfat, 4 mM amonyum molibdat ve ardından üzerine 0,6 M sülfürik asit ilave edilmiş ve çalışma çözeltisi elde edilmiştir. Yeni sentezlenen moleküller 28 mM sodyum fosfat, 4 mM amonyum molibdat ve 0,6 M sülfürik asitten oluşan çalışma çözeltisi ile 1:10 h/h oranında karıştırılmıştır. Standart madde askorbik asit için de aynı prosedür uygulanmıştır (1:10 h/h). Final konsantrasyon 5-100 µg/mL aralığında olacak şekilde çalışılmıştır. Elde edilen karışımlar 95°C'de 90 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda numuneler oda sıcaklığına soğutulmuştur. Absorbanslar 765 nm'de mikropilaka spektrofotometresinde ölçülmüştür. Her deney en az 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Referans madde olarak askorbik asit kullanılmış ve standart kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Numunelerin total antioksidan kapasitesi askorbik asit kalibrasyon grafiği kullanılarak hesaplanmış, her numune için gram numune başına mg askorbik asit eşdeğeri (AAE) olarak ifade edilmiştir. (Sarıaltın ve Acıkara, 2022)

2.2.10. İstatistiksel Analiz

Tüm veriler SPSS V25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.) yazılımı kullanılarak analiz edildi. Tüm veriler, en az üç bağımsız deneyin ortalama değerleri±standart sapma (SD) olarak verildi. Tek yönlü varyans analizi, post hoc Fisher'in en az anlamlı fark (LSD) testinin ardından ANOVA

prosedürleriyle yapıldı. (SPSS 25.0). 0,05'ten küçük P değerleri “istatistiksel olarak anlamlı” olarak rapor edildi.

2.2.11. Moleküler Yerleştirme Çalışmaları

2.2.11.1. Ligand Hazırlama

Bileşiklerin kimyasal yapısı ChemDraw yazılımının 22,0 sürümü kullanılarak çizilmiştir. 3D yapı Open Babel yazılımı ile mol2 formatında oluşturulmuş. (O’Boyle vd., 2011) Cresset Flare yazılımı ile doğru tip hesaplama yöntemiyle minimize ve optimize edilmiştir. (Cheeseright vd., 2006)

2.2.11.2. Hedef Hazırlama

Seçilen hedeflerin 3D yapısı RCSB protein veri bankasından elde edilmiştir. (Berman vd., 2000) Çalışma için daha iyi rezolüsyon ve validasyon skorlarına sahip yapı seçilmiştir. Hedef hazırlama işlemi Cresset Flare programında varsayılan ayarlara göre gerçekleştirilmiştir. Hazırlama işleminden sonra, hedeflerin 3D yapıları Cresset Flare programı aracılığıyla normal tip hesaplama yöntemiyle küçültülmüştür. (Cheeseright vd., 2006)

2.2.11.3. Sentezlenen Bileşiklerin Önerilen Hedeflerle Moleküler Yerleştirilmesi

Bileşikler mol2 formatında ve hedefler PDB formatında girildi ve docking hesaplamaları Cresset Flare programda normal modda ve varsayılan ayarlarda gerçekleştirildi. Grid kutusu eş kristalize ligandlara göre tanımlanmıştır. Tahmin edilen hedeflerle ve eş kristalize ligandlarla bağlandığı iyi bilinen ilaçlar pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Hedeflerle yerleştirilen bileşiklerin 2D ve 3D yapısı Cresset Flare programından elde edilmiştir. (Cheeseright vd., 2006)

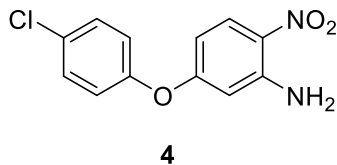
2.2.12. İlaç Benzerlik Çalışmaları

Sentezlenen tüm bileşikler için ADMET özelliklerinin tahmini, döndürülebilir bağ sayısı, topolojik polar yüzey alanı (TPSA) ve hidrojen bağı donörlerinin (HBD) ve alıcılarının (HBA) sayısı SwissADME (<http://www.swissadme.ch.com> adresinde mevcuttur) kullanılarak tahmin edilmiştir.

3. BULGULAR

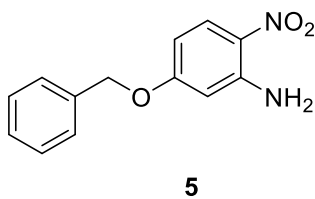
3.1. Sentezlenen Bileşiklerin Kimyasal Özellikler

3.1.1. 5-(4-Klorofenoksi)-2-nitroanilin (4)



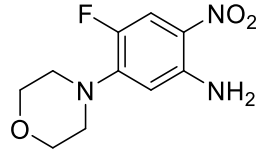
Verim	: %99
Fiziksel özellikler	: Kahverengi kristal
Erime noktası	: 135-137 °C (136 °C, (Cortés ve Anaya, 1997b))
Saflaştırma yöntemi	: Etanol ile kristalizasyon
Moleküler formül	: C ₁₂ H ₉ ClN ₂ O ₃

3.1.2. 5-(Benziloksi)-2-nitroanilin (5)



Verim	: %95
Fiziksel özellikler	: Turuncu kristal
Erime noktası	: 143-144 °C (143 °C, (Wolfgang vd., 1970))
Saflaştırma yöntemi	: Etanol ile kristalizasyon
Moleküler formül	: C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O ₃

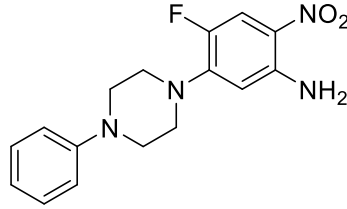
3.1.3. 4-Fluoro-5-morfolino-2-nitroanilin (14)



14

Verim	: %83
Fiziksel özellikler	: Sarı toz
Erime noktası	: 182 °C (182-183°C, (Sanna vd., 1998b))
Saflaştırma yöntemi	: Etanol ile kristalizasyon
Moleküler formül	: C ₁₀ H ₁₂ FN ₃ O ₃

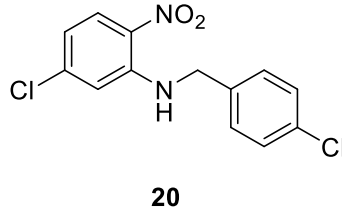
3.1.4. 4-Fluoro-2-nitro-5-(4-fenilpiperazin-1-il)anilin (15)



15

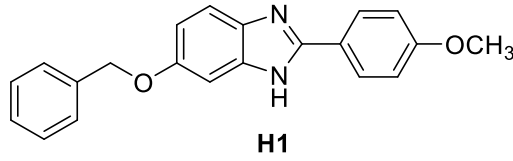
Verim	: %80
Fiziksel özellikler	: Kahverengi toz
Erime noktası	: 180-182 °C (180-181 °C, (Abdel-Jalil ve Voelter, 2005b))
Saflaştırma yöntemi	: Etanol ile kristalizasyon
Moleküler formül	: C ₁₆ H ₁₇ FN ₄ O ₂

3.1.5. 5-Kloro-N-(4-klorobenzil)-2-nitroanilin (20)



Verim	: %75
Fiziksel özellikler	: Turuncu kristal
Erime noktası	: 188 °C
Saflaştırma yöntemi	: Etanol ile kristalizasyon
Moleküler formül	: C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂

3.1.6. 5(6)-(Benziloksi)-2-(4-metoksifenil)-1*H*-benzimidazol (H1)



Verim : %80

Fiziksel özellikler : Kahverengi toz

Erime noktası : 160-161 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (2:1)

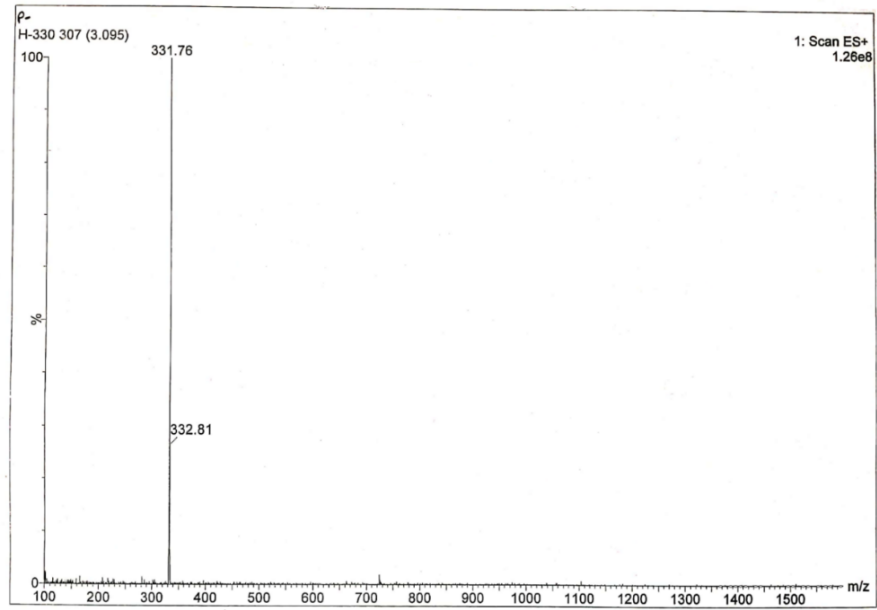
Moleküler formül : C₂₁H₁₈N₂O₂

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 331 ([M+1]⁺, %100).

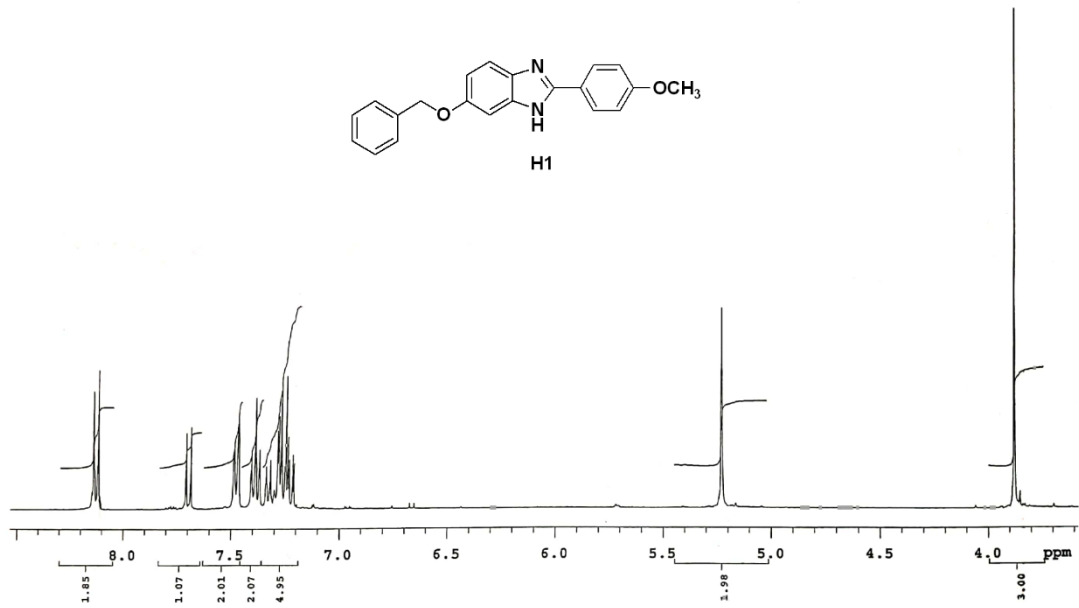
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm 3,88 (s, 3H, -OCH₃), 5,23 (s, 2H, -OCH₂-), 7,21-7,34 (m, 5H, ArH), 7,37-7,41 (m, 2H, ArH), 7,47 (s, 1H, ArH), 7,49 (d, 1H, *J_m*=1,6, ArH), 7,70 (d, 1H, *J_o*=8,8, ArH), 8,13 (dd, 2H, *J_o*=9,2, *J_m*=2,4, ArH), 12,50 (bs, 1H, NH).

COSY (DMSO-*d*₆): δ ppm [(H-4:H-5), (H-2'',6'':H-3'',5'')].

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm 55,78; 70,12; 97,63; 110,88; 113,76; 114,58; 115,27; 116,06; 125,82; 127,69; 128,49; 129,69; 132,37; 136,60; 148,38; 157,02; 163,21.

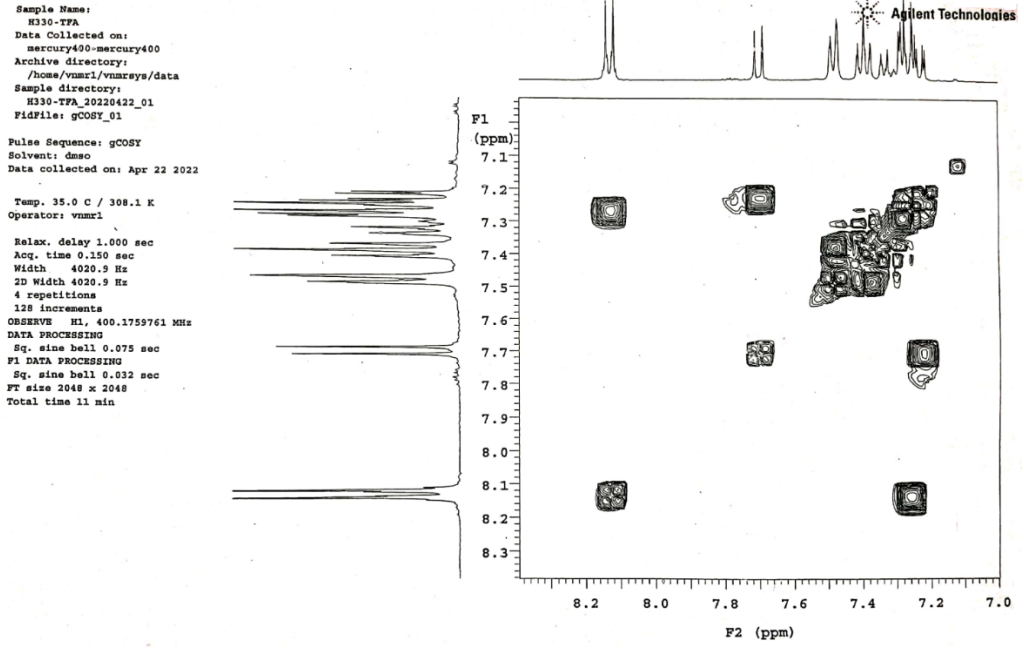


Şekil 3.1. H1 bileşiğinin kütle spektrumu.

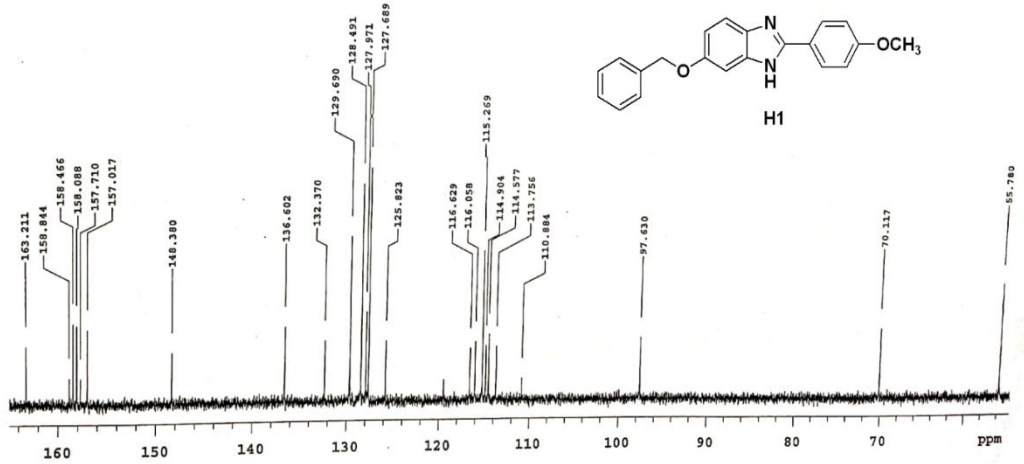


Şekil 3.2. H1 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

H1

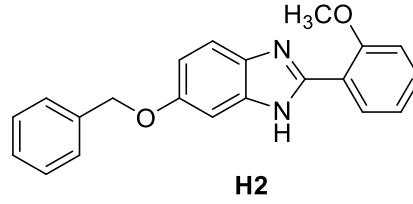


Şekil 3.3. H1 bileşiğinin COSY ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 3.4. H1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

3.1.7. 5(6)-(Benziloksi)-2-(2-metoksifenil)-1*H*-benzimidazol (H2)



Verim : %90

Fiziksel özellikler : Açık sarı toz

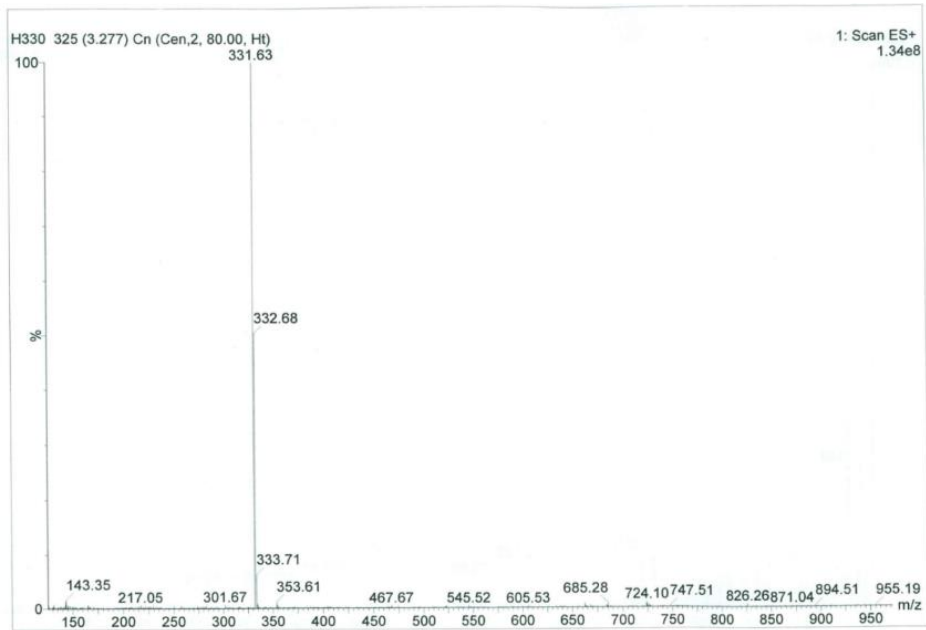
Erime noktası : 169 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (4:1)

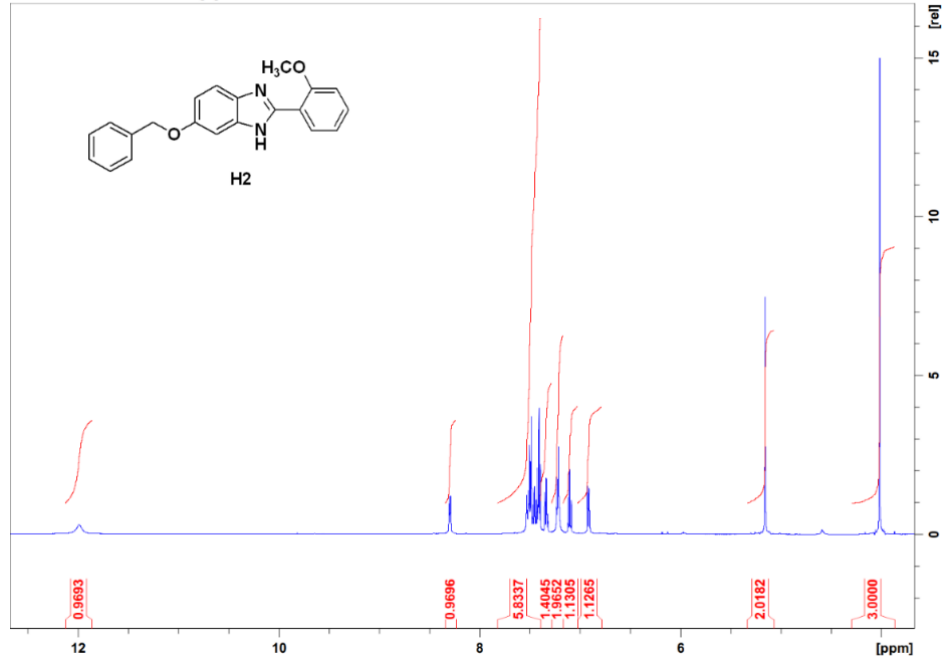
Moleküler formül : C₂₁H₁₈N₂O₂

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 331 ([M+1]⁺, %100)

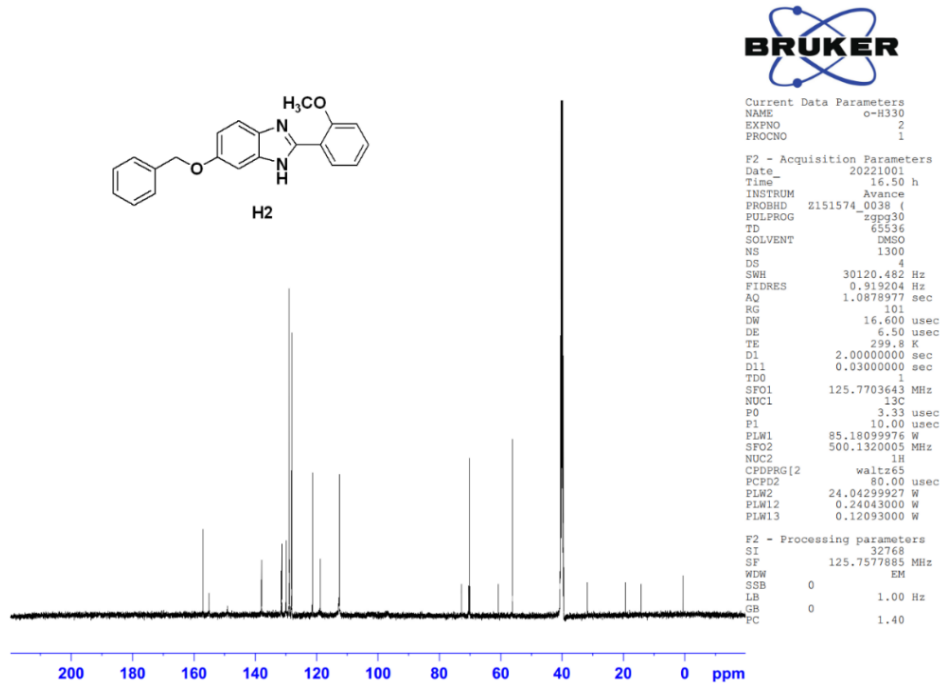
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 4,02 (s, 3H, -OCH₃), 5,16 (s, 2H, -OCH₂-), 6,92 (dd, 1H, *J*_o=8,7, *J*_m=2,4, Ar*H*-5), 7,10 (t, 1H, *J*=7,2, Ar*H*-5'), 7,22 (d, 2H, *J*=8,3, Ar*H*), 7,36 (t, 1H, *J*=7,3, Ar*H*-4'), 7,39-7,53 (m, 6H, Ar*H*), 8,30 (dd, 1H, *J*_o=7,7, *J*_m=1,2, Ar*H*-6'), 11,99 (s, 1H, NH).



Şekil 3.5. H2 bileşiğinin kütle spektrumu.

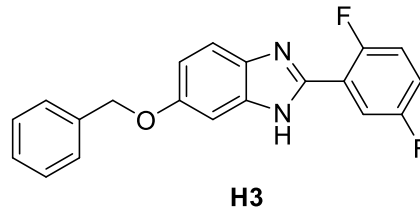


Şekil 3.6. H2 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.7. H2 bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu.

3.1.8. 5(6)-(Benziloksi)-2-(2,5-difluorofenil)-1*H*-benzimidazol (H3)



Verim : %75

Fiziksel özellikler : Sarımsı-beyaz kristal

Erime noktası : 208,3-208,8

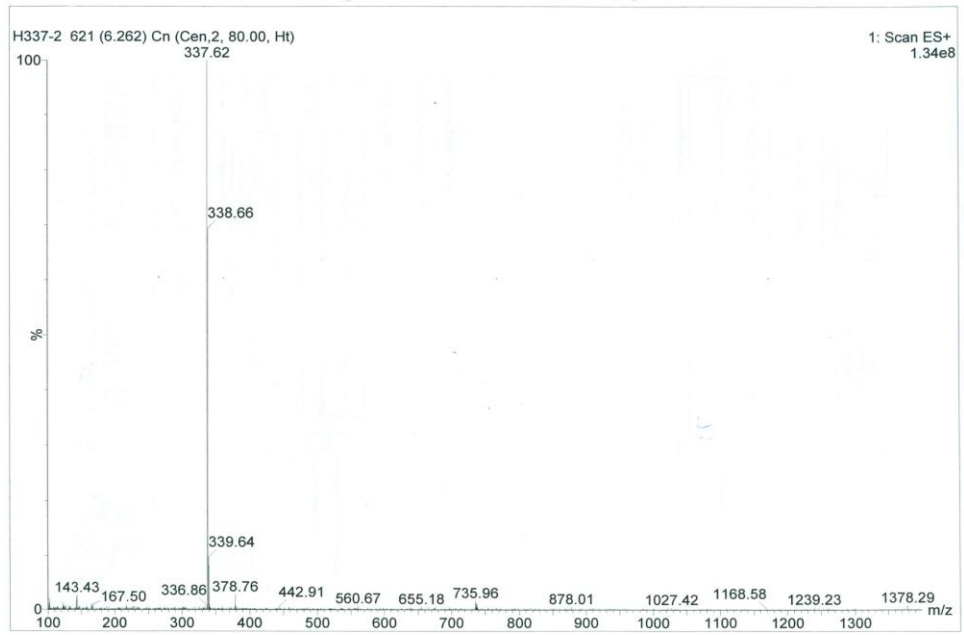
Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (2:1)

Moleküler formül : C₂₀H₁₄F₂N₂O

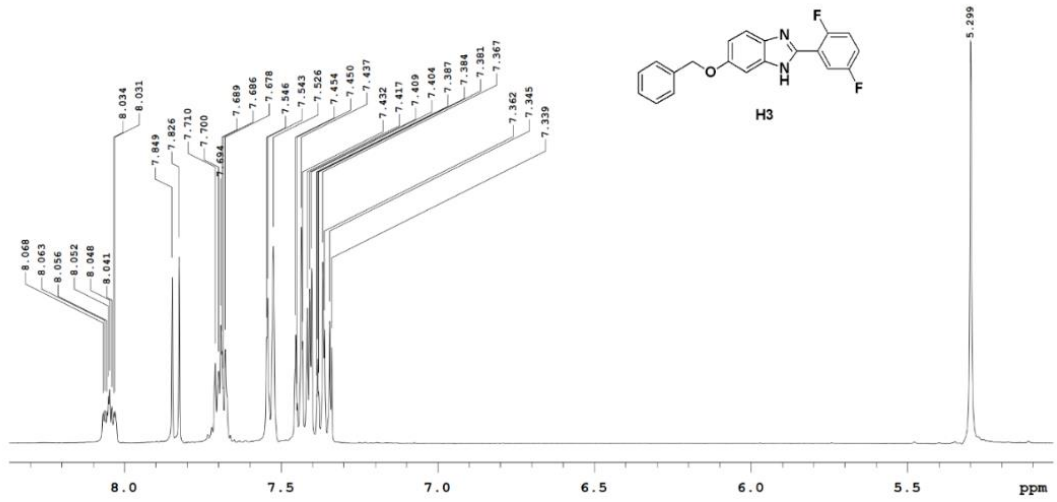
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 337 ([M]⁺, %100)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm, 5,30 (s, 2H, -OCH₂-), 7,34-7,45 (m, 5H, ArH), 7,53 (s, 1H, ArH), 7,54 (ds, 1H, *J_m*=1,2, ArH), 7,68-7,71 (m, 2H, ArH), 7,84 (d, 1H, *J*=9,2, ArH), 8,03-8,07 (m, 1H, ArH), 12,49 (s, 1H, NH).

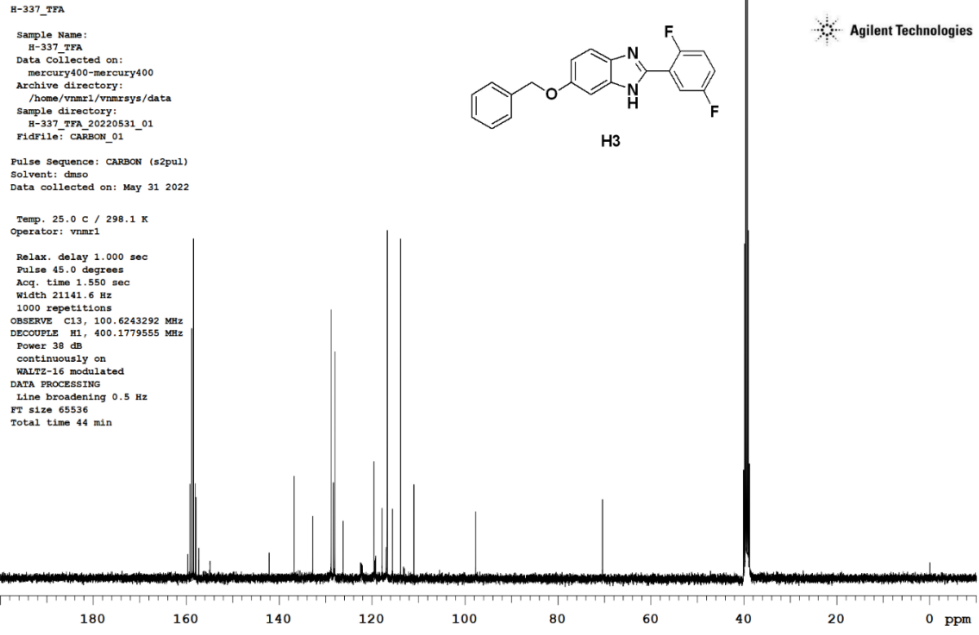
¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, TFA-d): δ ppm 70,42; 97,74; 111,02; 113,87; 115,61; 116,73; 117,85; 119,58; 122,37; 126,26; 128,01; 128,32; 128,82; 132,77; 136,83; 142,17; 154,87; 157,32; 157,92; 159,68.



Şekil 3.8. H3 bileşiğinin kütle spektrumu.

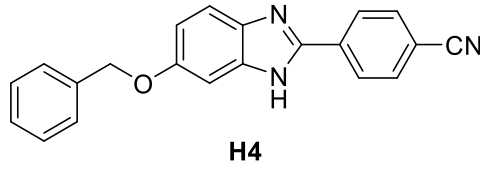


Şekil 3.9. H3 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.10. H3 bileşiminin ^{13}C -NMR spektrumu.

3.1.9. 4-(5(6)-(Benziloksi)-1*H*-benzimidazol-2-il)benzonitril (H4)

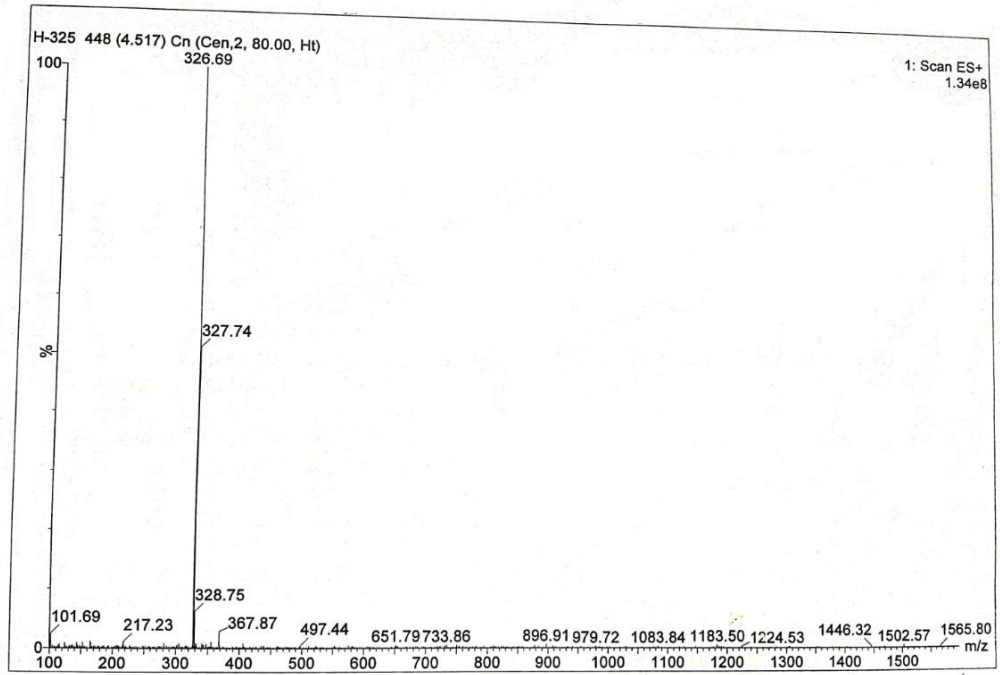


Verim	: %95
Fiziksel özellikler	: Sarı toz
Erime noktası	: 180-181 °C
Saflaştırma yöntemi	: Kolon kromatografisi; etil asetat: <i>n</i> -hekzan: izopropanol (5:5:1)
Moleküler formül	: C ₂₁ H ₁₅ N ₃ O

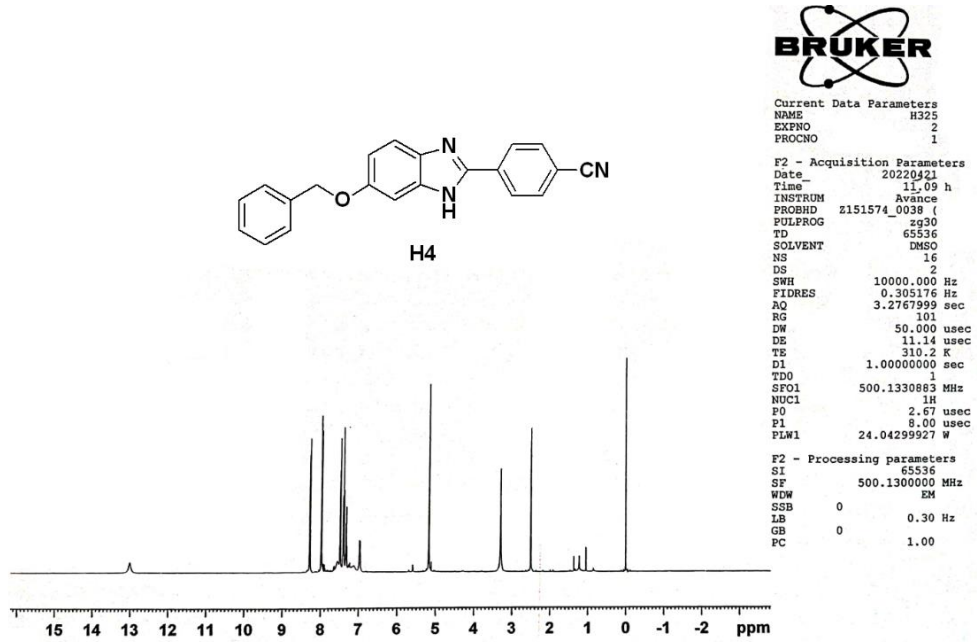
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 326 ([M+1]⁺, %100)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 5,27 (s, 2H, -OCH₂-), 7,29-7,34 (m, 3H, ArH), 7,35-7,41 (t, 2H, *J*=7,2, ArH), 7,49 (s, 1H, ArH), 7,51 (ds, 1H, *J_m*=1,3, ArH), 7,80 (d, 1H, *J*=9, ArH), 8,19 (dd, 2H, *J_o*=6,8, *J_m*=2,0, ArH-3', 5'), 8,32 (dd, 2H, *J_o*=6,8, *J_m*=2,0, ArH-2', 6'), 14,70 (s, 1H, NH).

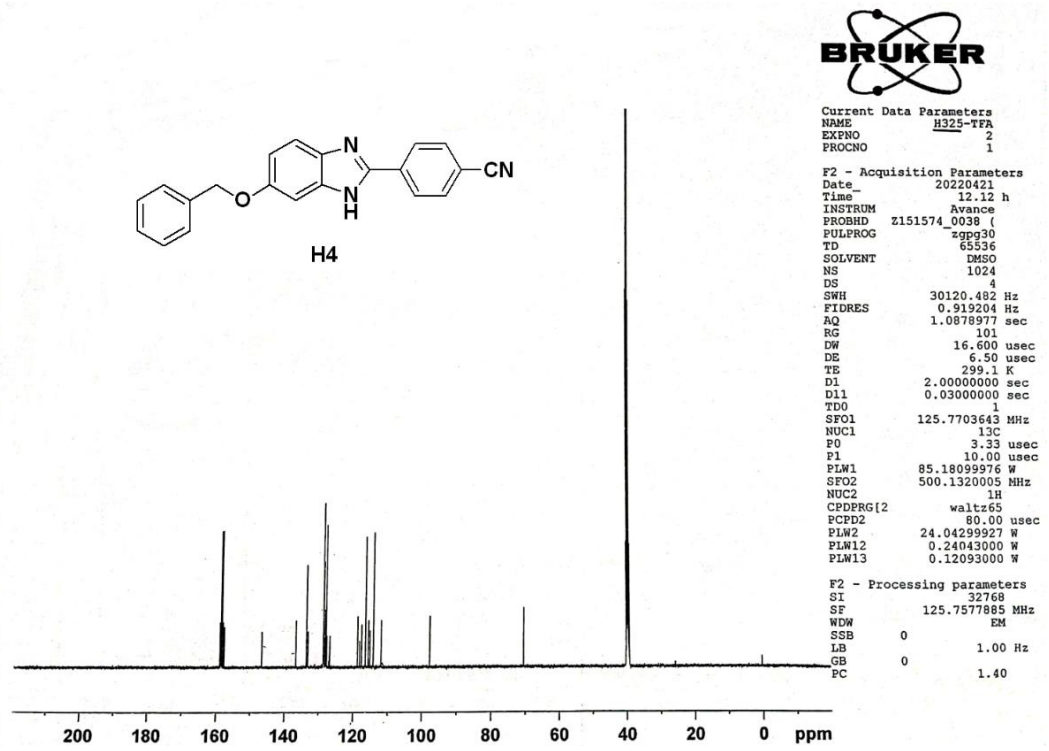
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm 70,51; 97,91; 112,01; 114,30; 115,30; 115,72; 116,59; 117,70; 118,27; 118,88; 127,01; 127,88; 128,40; 128,72; 128,91; 133,43; 133,81; 136,92; 146,87; 157,90.



Şekil 3.11. H4 bileşiğinin kütle spektrumu.

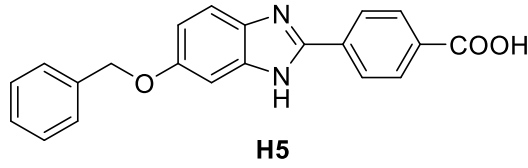


Şekil 3.12. H4 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.13. H4 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

3.1.10. 4-(5(6)-(Benziloksi)-1*H*-benzimidazol-2-il)benzoik asit (H5)

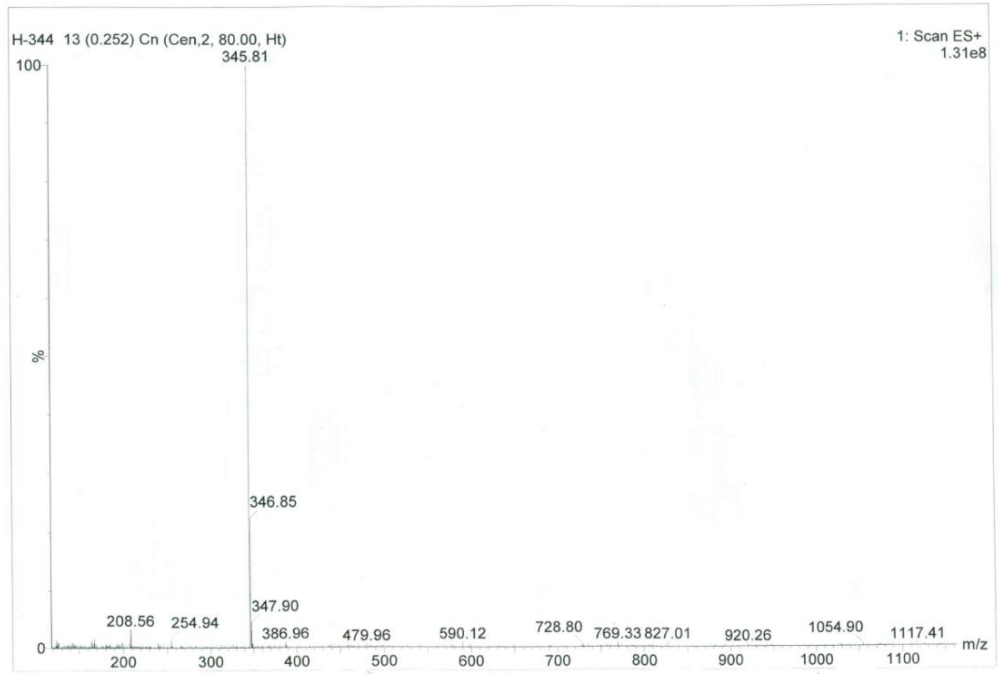


Verim	: 80%
Fiziksel özellikler	: Sarı toz
Erime noktası	: 284-284,5 °C
Saflaştırma yöntemi	: Etanol ile kristalizasyon
Moleküler formül	: C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O ₃

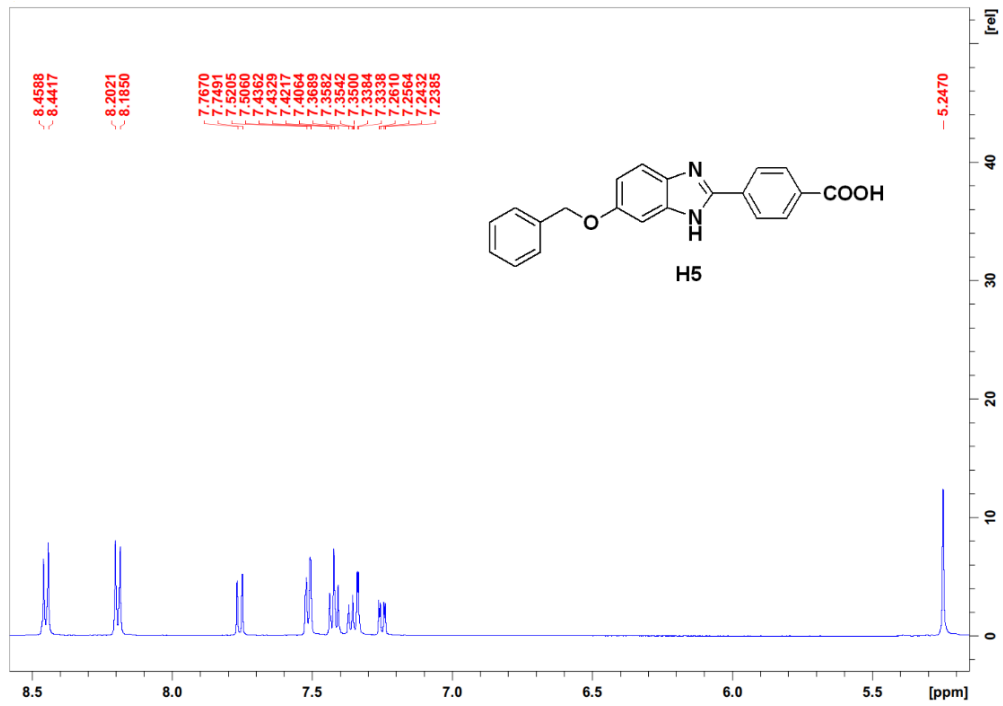
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 345 ([M+1]⁺, %100)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 5,25 (s, 2H, -OCH₂-), 7,25 (dd, 1H, *J*_o=8,9, *J*_m=2,3, Ar*H*-5), 7,34 (ds, 1H, *J*_m=2,3, Ar*H*-7), 7,36 (d, 1H, *J*=7,3, benzyloxy Ar*H*), 7,42 (t, 2H, *J*=7,3, benzyloxy Ar*H*), 7,51 (d, 2H, *J*=7,3, benzyloxy Ar*H*), 7,76 (d, 1H, *J*=8,9, Ar*H*-4), 8,19 (d, 2H, *J*=8,6, Ar*H*-3', 5'), 8,45 (2H, d, *J*=8,6, Ar*H*-2', 6').

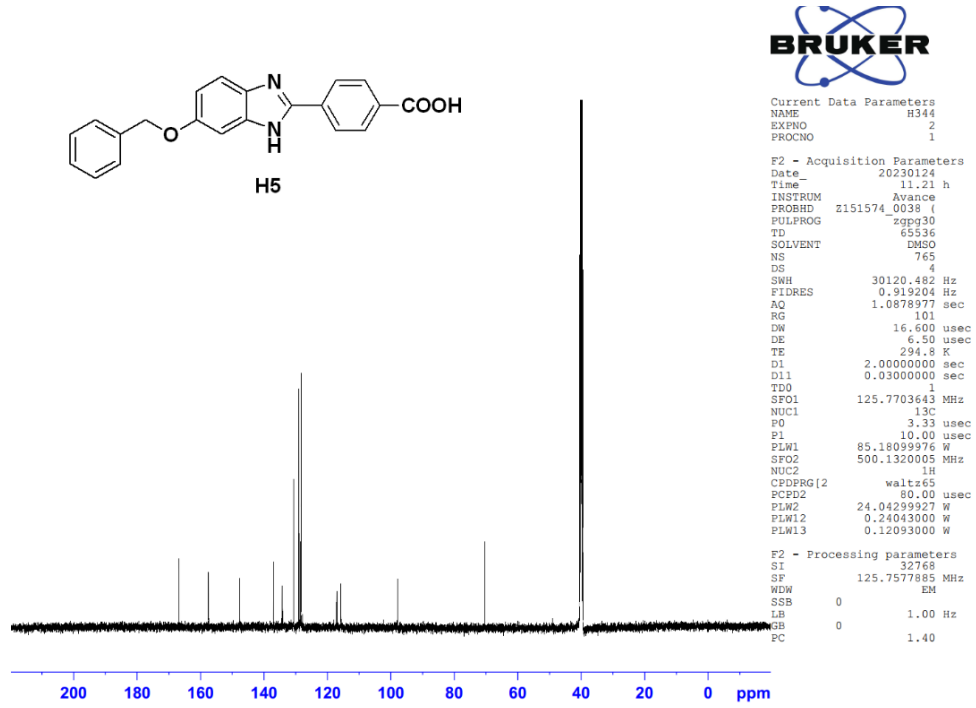
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 70,44; 97,90; 115,75; 116,99; 127,89; 128,24; 128,31; 128,46; 128,98; 130,60; 134,12; 134,34; 137,07; 147,66; 157,45; 166,85.



Şekil 3.14. H5 bileşiğinin kütle spektrumu.

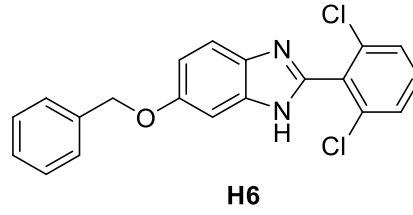


Şekil 3.15. H5 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.16. H5 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

3.1.11. 5(6)-(Benziloksi)-2-(2,6-diklorofenil)-1*H*-benzimidazol (H6)



Verim : %85

Fiziksel özellikler : Sarı toz

Erime noktası : 180-181,5 °C

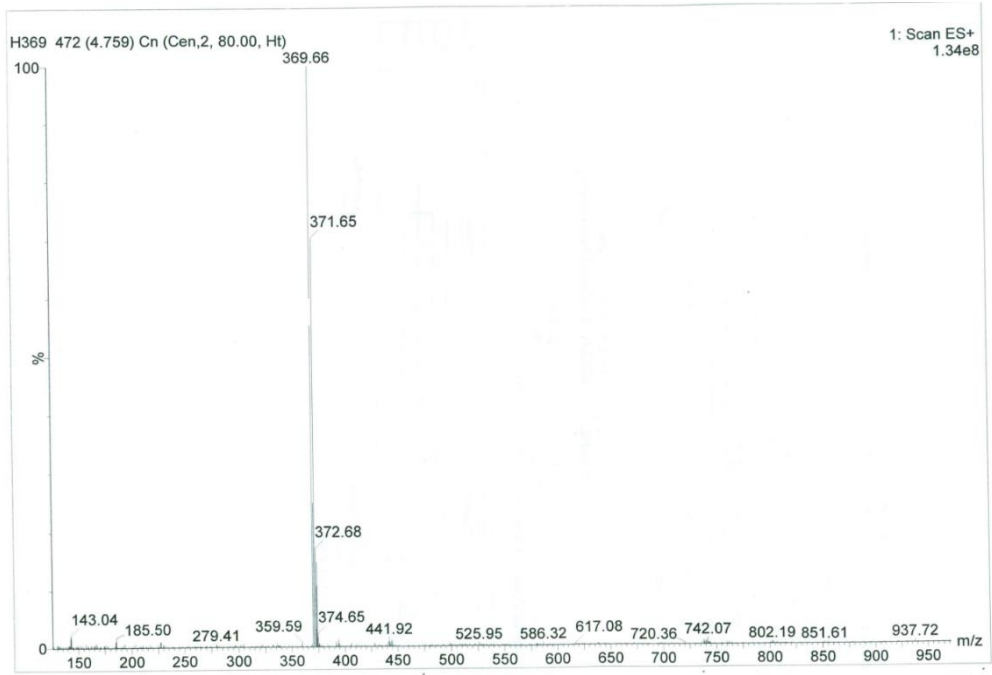
Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (2:1)

Moleküler formül : C₂₀H₁₄Cl₂N₂O

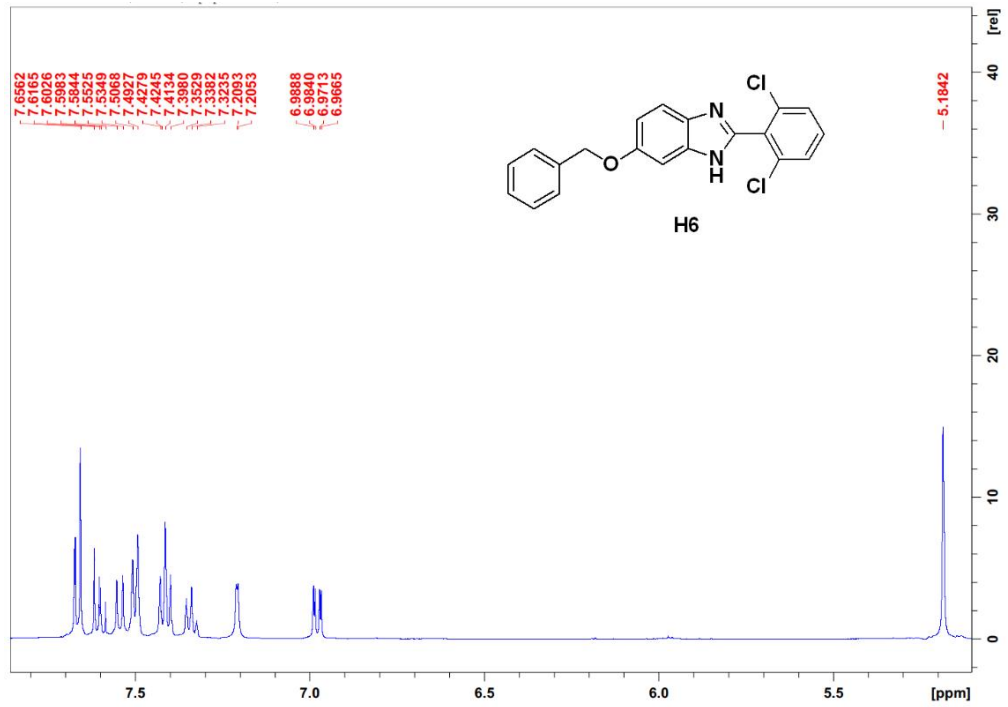
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 369 ([M]⁺, %100), 371 ([M+2]⁺, %70), 373 ([M+4]⁺, %17)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 5,18 (s, 2H, -OCH₂-), 6,98 (dd, 1H, *J*_o=8,8, *J*_m=2,4, Ar*H*-5), 7,20 (ds, 1H, *J*_m=2,0, Ar*H*-7), 7,34 (t, 1H, *J*=7,4, Ar*H*-4"), 7,41 (t, 2H, *J*=7,7, Ar*H*-3",5"), 7,50 (d, 2H, *J*=7,0, Ar*H*-3',5'), 7,54 (d, 1H, *J*=8,8, ArH-4), 7,60 (t, 1H, *J*=7,0, Ar*H*-4'), 7,66 (dd, 2H, *J*_o=7,4, *J*_m=1,5, Ar*H*-2", 6").

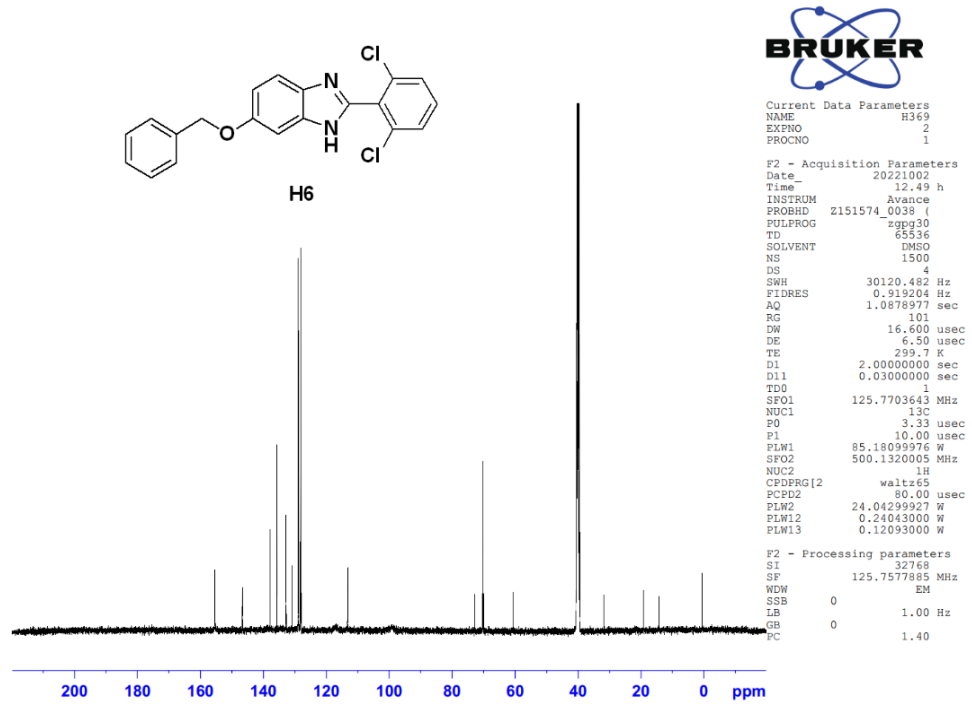
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 60,70; 69,99; 70,23; 70,47; 70,82; 113,18; 128,03; 128,20; 128,80; 128,91; 130,95; 132,80; 135,62; 137,90; 146,63; 155,37.



Şekil 3.17. H6 bileşiğinin kütle spektrumu.

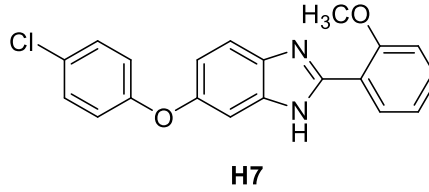


Şekil 3.18. H6 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.19. H6 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

3.1.12. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(2-metoksifenil)-1*H*-benzimidazol (H7)



Verim : %90

Fiziksel özellikler : Beyaz kristal

Erime noktası : 207-208 °C

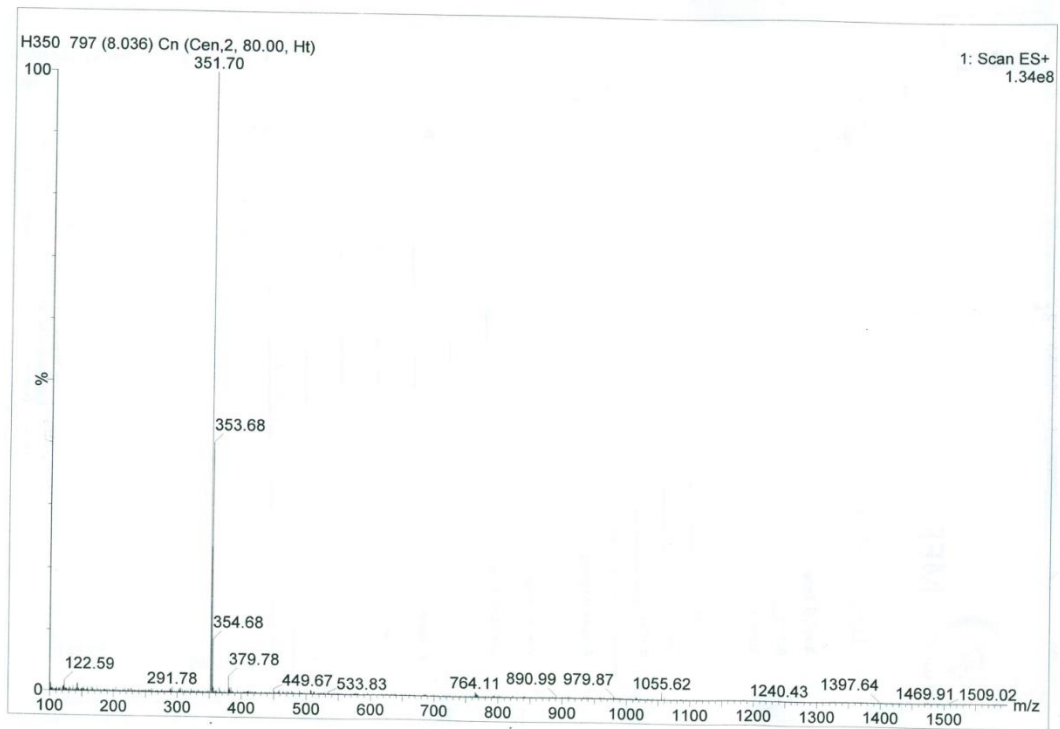
Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (3:1)

Moleküler formül : C₂₀H₁₅ClN₂O₂

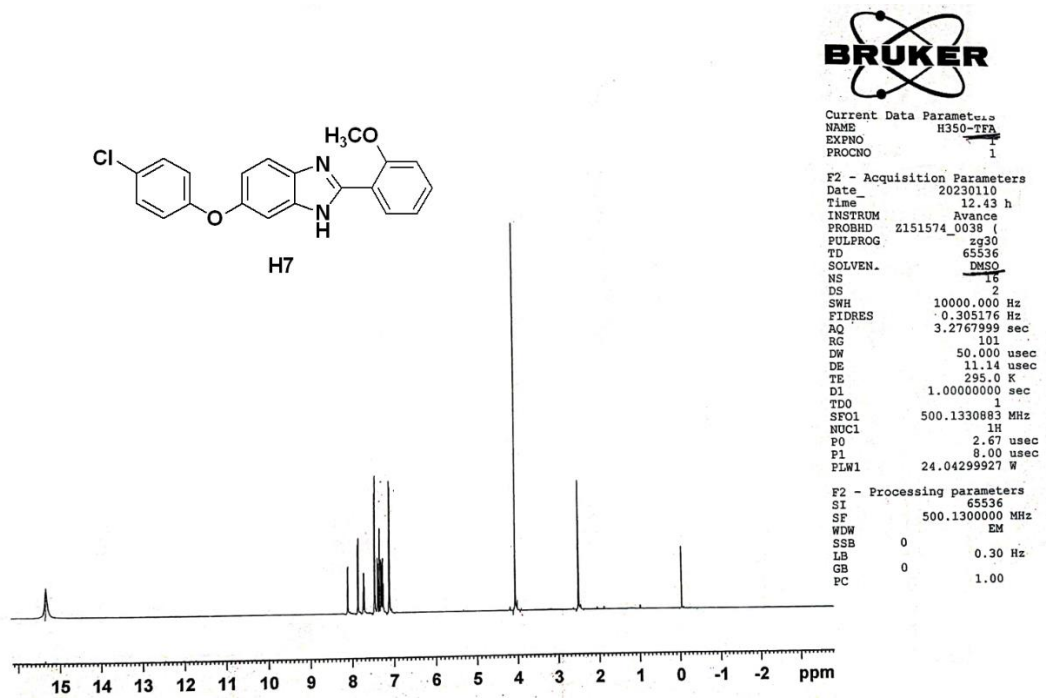
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 351 ([M+1]⁺, %100), 353 ([M+3]⁺, %40)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm 4,06 (s, 3H, -OCH₃), 7,12 (dd, 2H, *J*_o=6,7, *J*_m=2,2, ArH-2", 6"), 7,28 (t, 1H, *J*=7,9, ArH-5'), 7,31 (dd, 1H, *J*_o=8,9, *J*_m=2,3, ArH-5), 7,35 (ds, 1H, *J*_m=2,3, ArH-7), 7,39 (d, 1H, *J*=8,5, ArH-6'), 7,47 (dd, 2H, *J*_o=6,7, *J*_m=2,2, ArH-3", 5"), 7,73 (t, 1H, *J*=7,5, ArH-4'), 7,86 (d, 1H, *J*=8,9, ArH-4), 8,11 (dd, 1H, *J*_o=7,9, *J*_m=1,6, ArH-3'), 15,40 (s, 1H, NH).

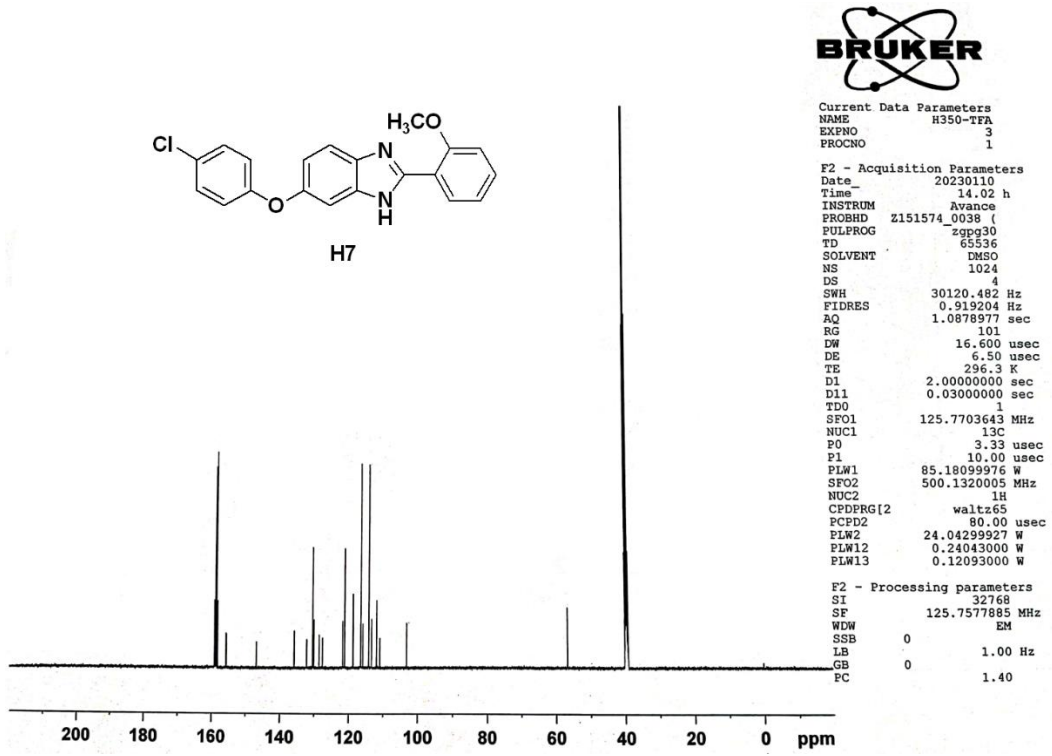
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm 56,66; 103,21; 110,95; 113,35; 115,89; 118,73; 121,18; 121,74; 127,60; 128,55; 130,13; 130,45; 132,21; 135,82; 146,79; 155,57; 155,76; 158,23.



Şekil 3.20. H7 bileşiğinin kütle spektrumu.

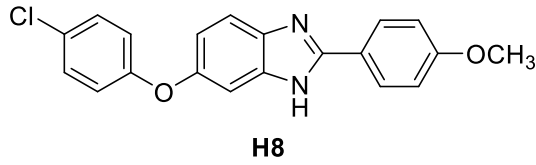


Şekil 3.21. H7 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.22. H7 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

3.1.13. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(4-metoksifenil)-1*H*-benzimidazol (H8)



Verim : %88

Fiziksel özellikler : Beyaz kristal

Erime noktası : 200,5-201 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (1:1)

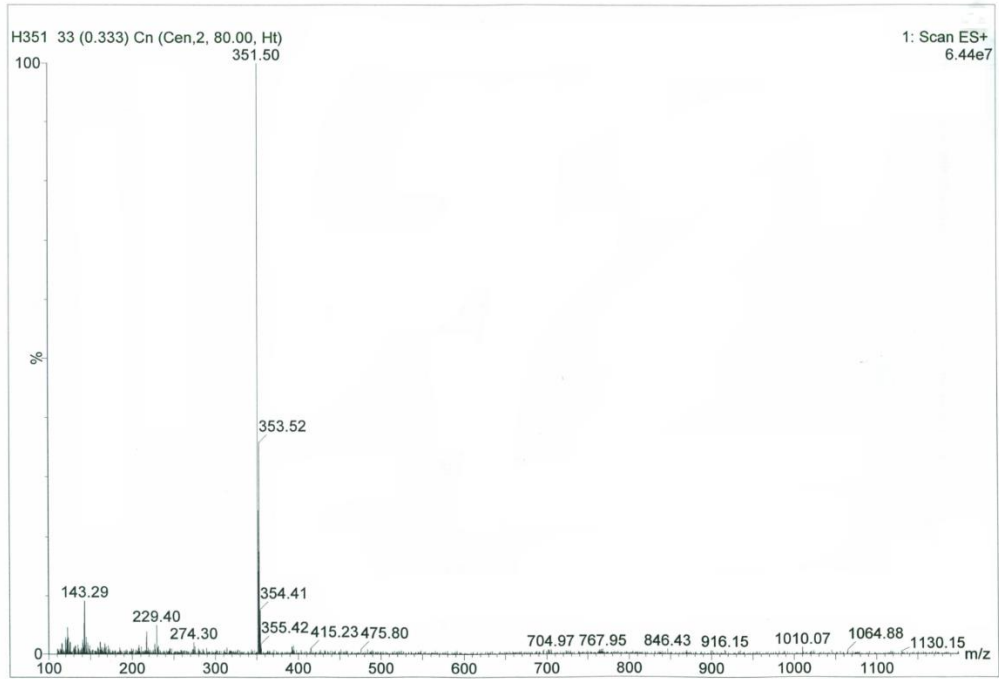
Moleküler formül : C₂₀H₁₅ClN₂O₂

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 351 ([M+1]⁺, %100), 353 ([M+3]⁺, %37)

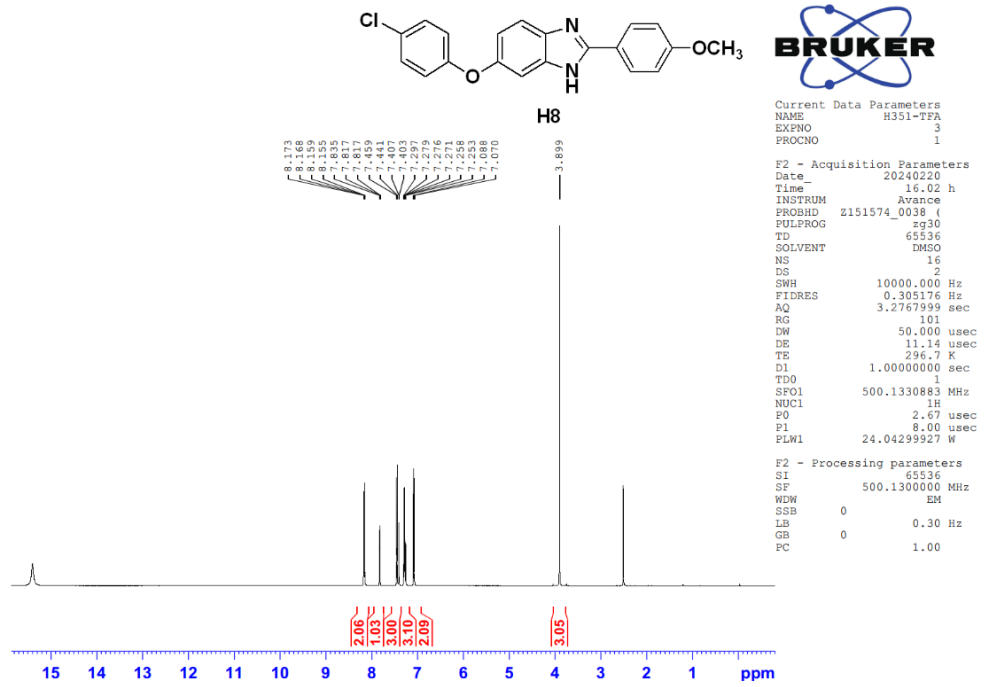
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm 3,90 (s, 3H, -OCH₃), 7,08 (dd, 2H, *J*_o=9,0, Ar*H*-3', 5'), 7,26 (dd, 2H, *J*_o=9,0, *J*_m=2,3, Ar*H*-2', 6'), 7,29 (dd, 1H, *J*_o=9,0, Ar*H*-5), 7,41 (ds, 1H, *J*_m=2,0, Ar*H*-7), 7,45 (dd, 2H, *J*_o=9,0, Ar*H*-2'', 6''), 7,83 (d, 1H, *J*_o=9,0, Ar*H*-4), 8,16 (dd, 2H, *J*_o=9,0, *J*_m=2,0, Ar*H*-3'', 5''), 15,40 (s, 1H, *NH*).

COSY (DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm [(H-4:H-5), (H-2',6':H-3',5'), (H-2'',6'':H-3'',5'')].

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm 56,11; 103,94; 115,01; 115,59; 115,70; 118,61; 120,54; 128,15; 128,32; 130,31; 130,37; 132,73; 149,90; 154,93; 156,21; 163,91.

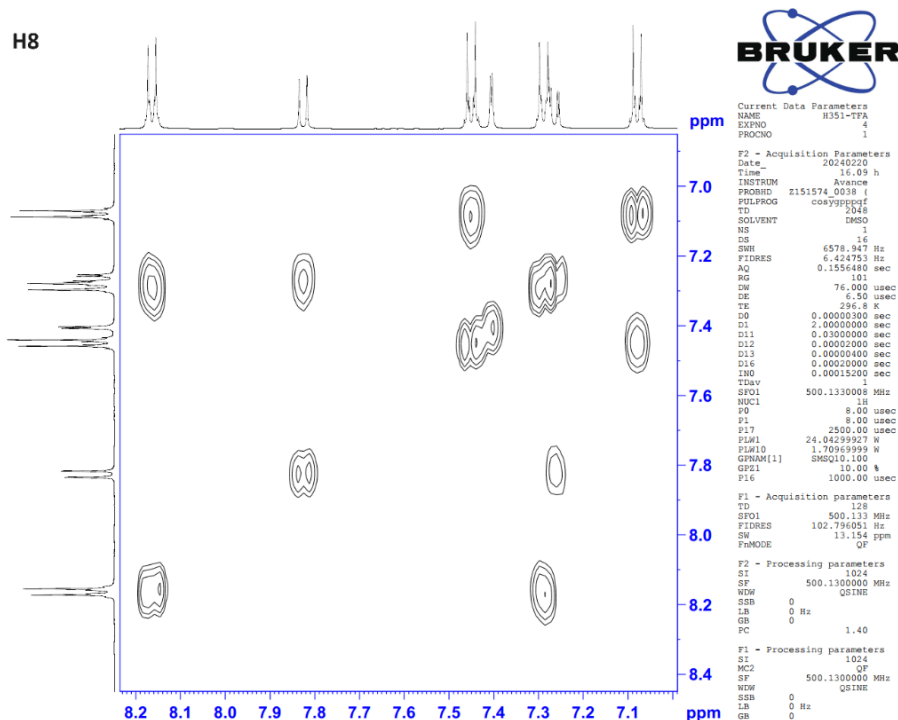


Şekil 3.23. H8 bileşiğinin kütle spektrumu.

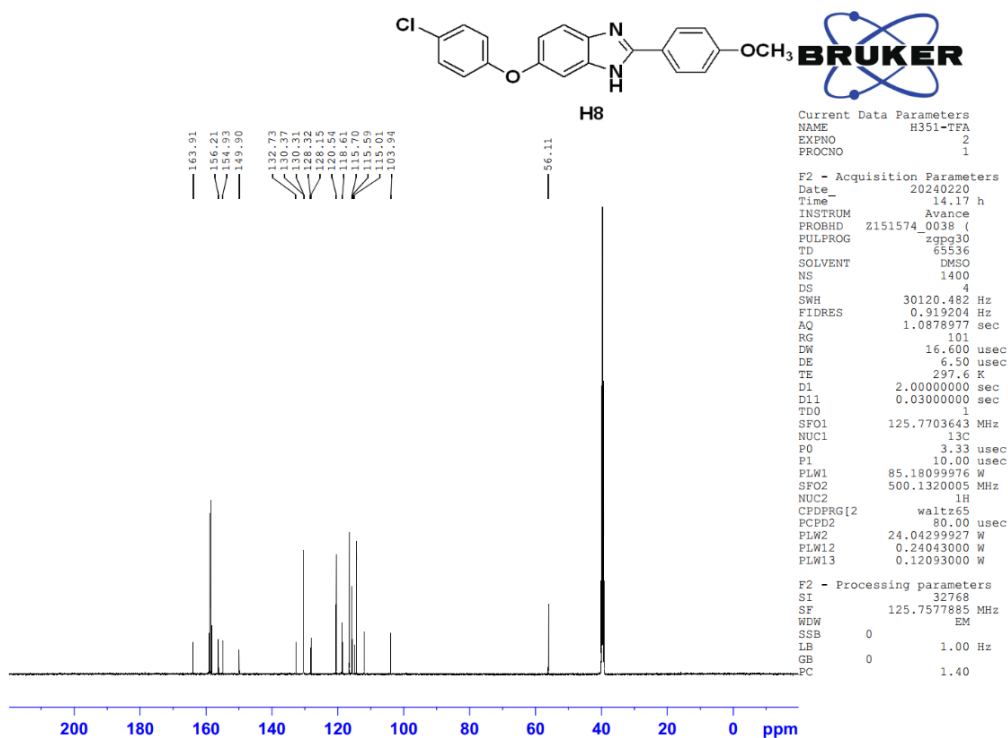


Şekil 3.24. H8 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

H8

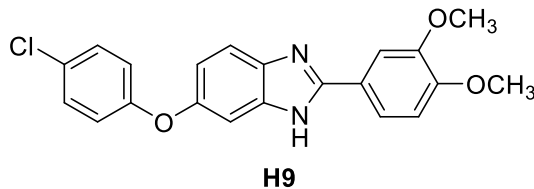


Şekil 3.25. H8 bileşiğinin COSY ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.26. H8 bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu.

3.1.14. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(3,4-dimetoksifenil)-1*H*-benzimidazol (H9)



Verim : %75

Fiziksel özellikler : Kahverengi toz

Erime noktası : 113-114 °C

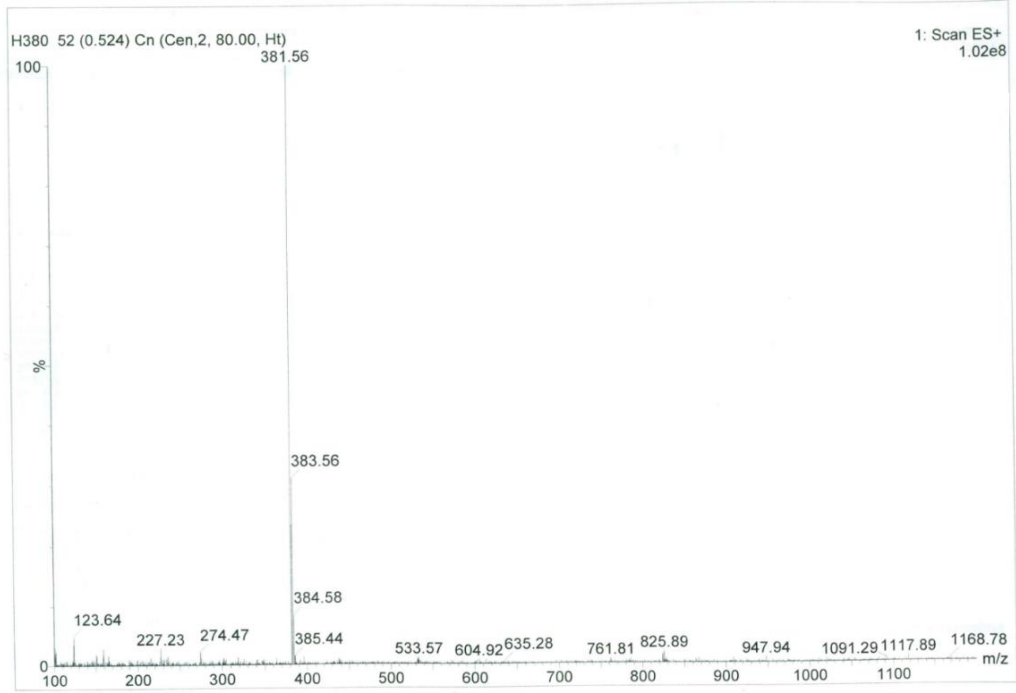
Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (3:1)

Moleküler formül : C₂₁H₁₇ClN₂O₃

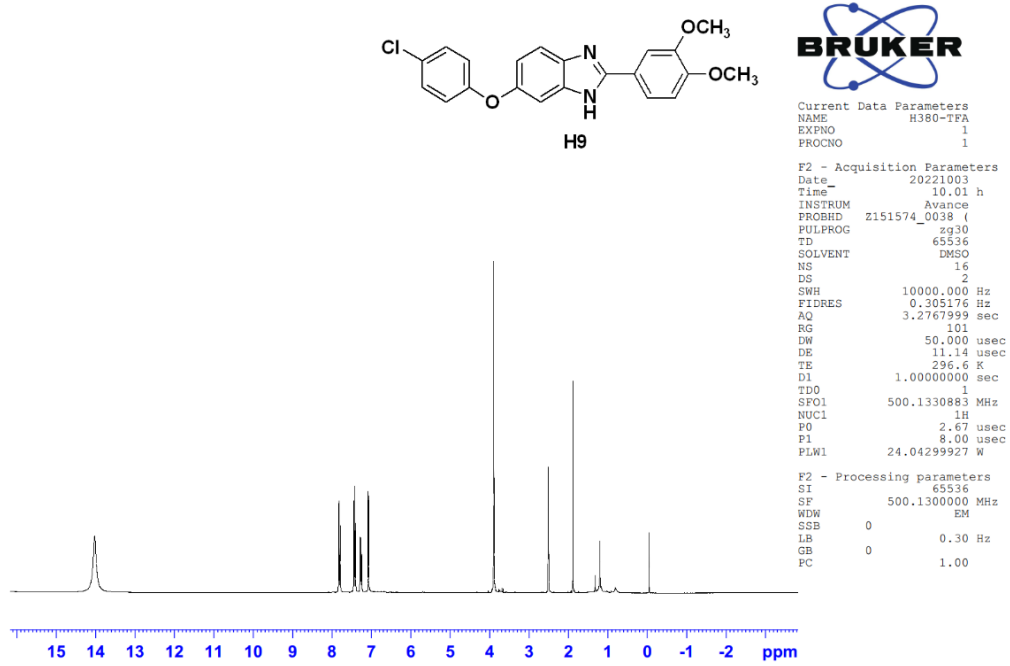
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 381 ([M+1]⁺, %100), 383 ([M+3]⁺, %33)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm 3,90 (s, 6H, -OCH₃), 6,93 (s, 1H, ArH), 7,00 (d, 1H, *J*_o=11,2, ArH), 7,13 (d, 2H, *J*_o=8,4, ArH), 7,32 (s, 1H, ArH), 7,40 (ds, 2H, *J*_m=2,5, ArH), 7,54-7,75 (m, 3H, ArH), 14,00 (s, 1H, NH).

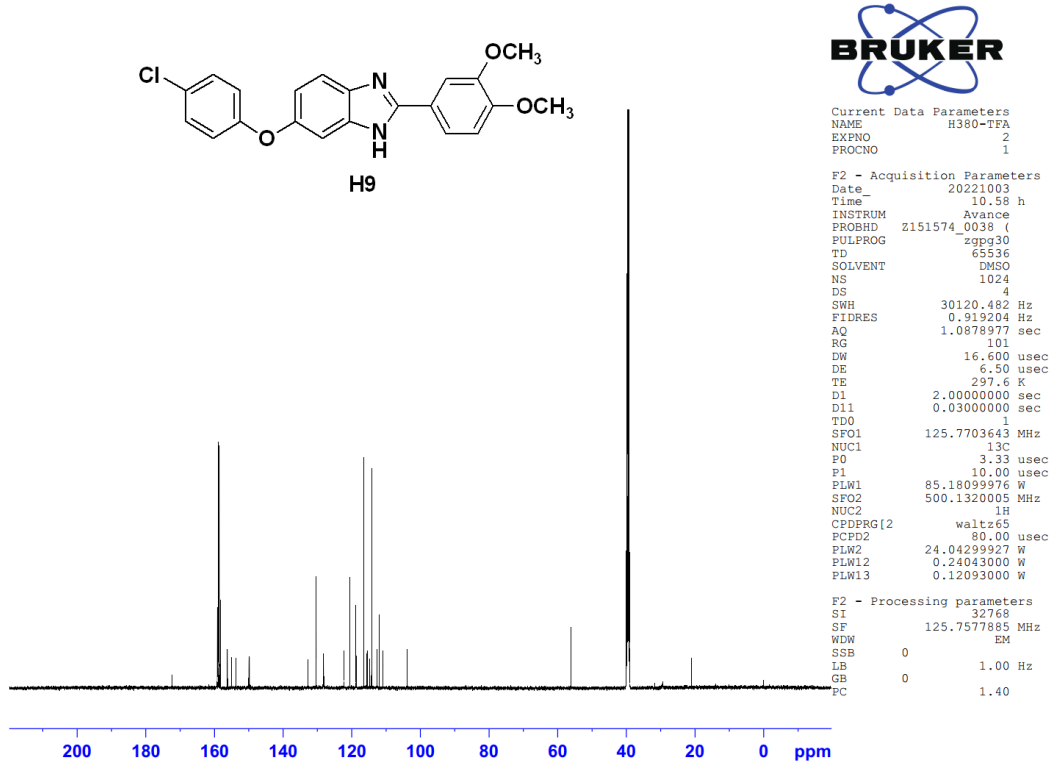
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm 56,15; 56,19; 103,85; 110,85; 112,60; 114,80; 115,52; 118,55; 120,53; 122,27; 128,22; 130,32; 132,72; 149,76; 149,98; 153,70; 154,95; 156,16; 172,32.



Şekil 3.27. H9 bileşiğinin kütle spektrumu.

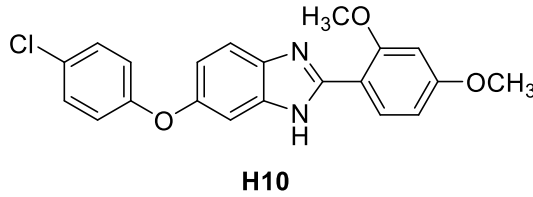


Şekil 3.28. H9 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.29. H9 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

3.1.15. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(2,4-dimetoksifenil)-1*H*-benzimidazol (H10)



Verim : %90

Fiziksel özellikler : Beyaz toz

Erime noktası : 176-178 °C

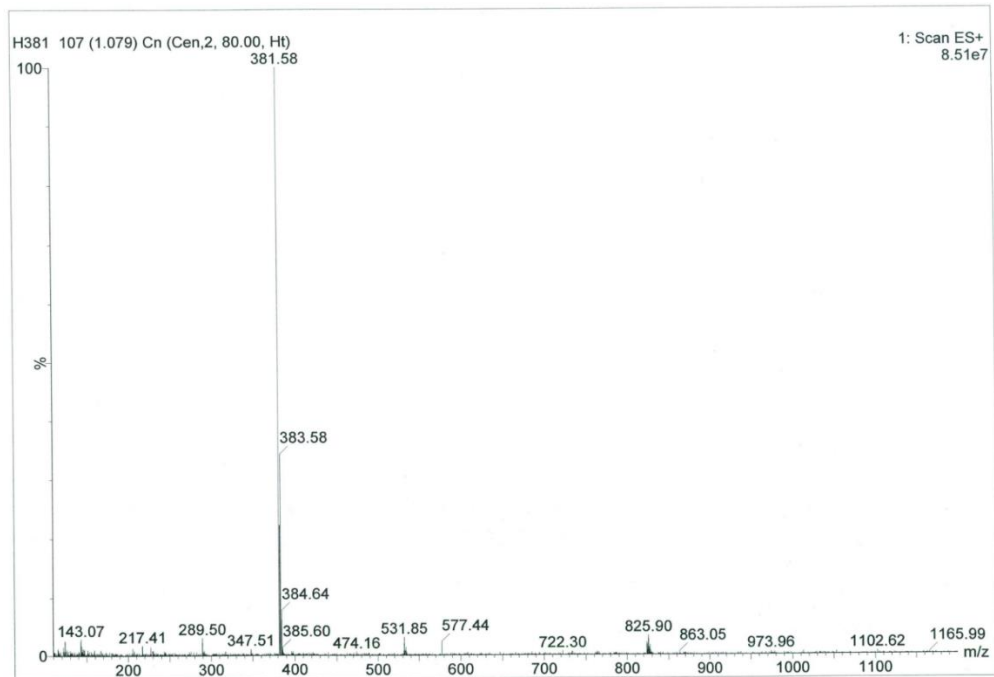
Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (3:1)

Moleküler formül : C₂₁H₁₇ClN₂O₃

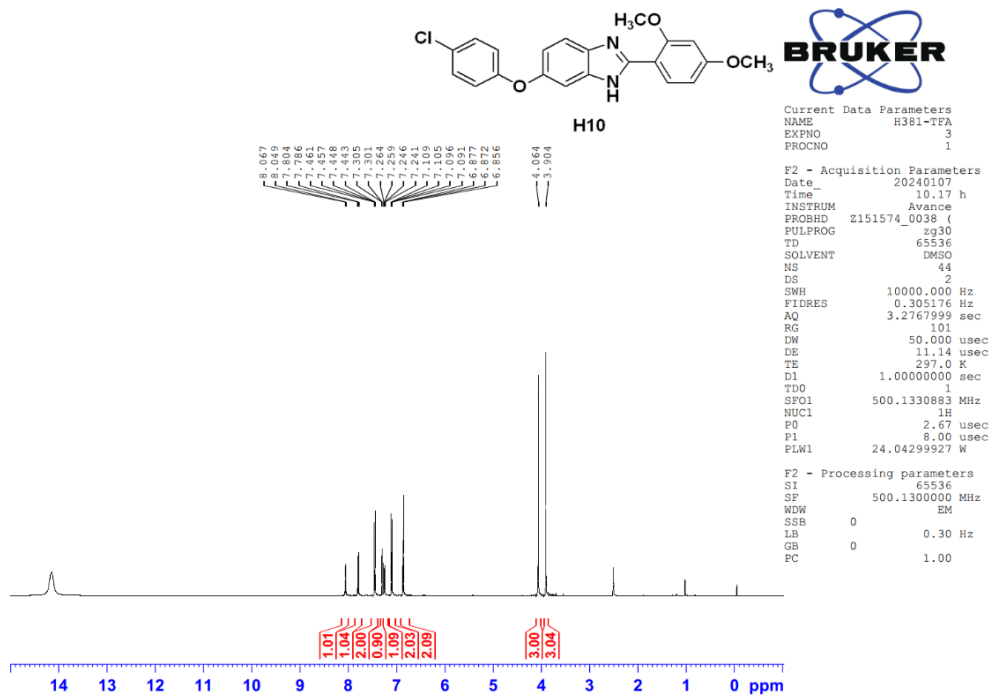
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 381 ([M+1]⁺, %100), 383 ([M+3]⁺, %33)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm 3,90 (s, 3H, -OCH₃), 4,06 (s, 3H, -OCH₃), 6,86 (1H, ArH), 6,87 (ds, 1H, *J*_m=2,3, ArH-7), 7,10 (dd, 2H, *J*_o=6,7, *J*_m=2,2, ArH-2", 6"), 7,25 (dd, 1H, *J*_o=8,9, *J*_m=2,3, ArH-5), 7,30 (ds, 1H, *J*_m=2,2, ArH-3'), 7,45 (dd, 2H, *J*_o=6,7, *J*_m=2,2, ArH-3",5"), 7,80 (d, 1H, *J*=8,9, ArH-4), 8,06 (d, 1H, *J*=9,0, ArH-5'), 14,20 (s, 1H, NH).

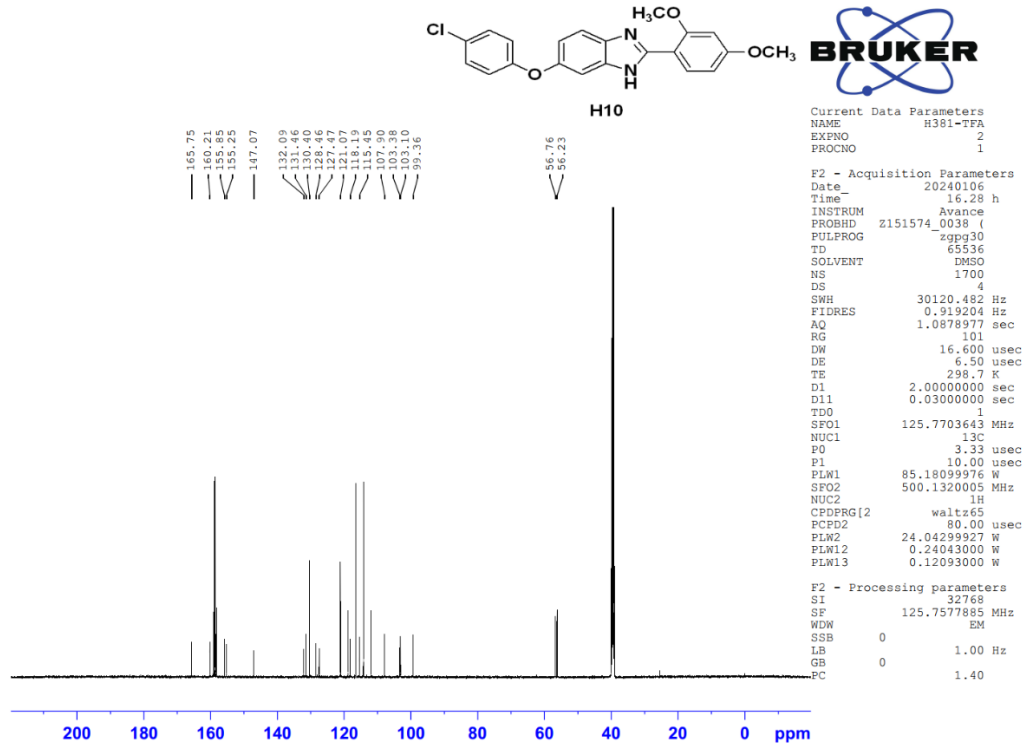
¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm 56,23; 56,76; 99,36; 103,10; 103,38; 107,90; 115,45; 118,19; 121,07; 127,47; 128,46; 130,40; 131,46; 132,09; 147,07; 155,25; 155,85; 160,21; 165,75.



Şekil 3.30. H10 bileşiğinin kütle spektrumu.

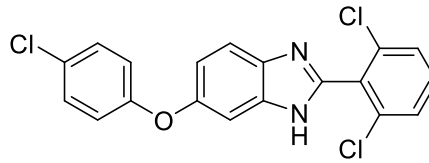


Şekil 3.31. H10 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 3.32. H10 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

3.1.16. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(2,6-diklorofenil)-1*H*-benzimidazol (H11)



H11

Verim : %80

Fiziksel özellikler : sarı toz

Erime noktası : 212-213 °C

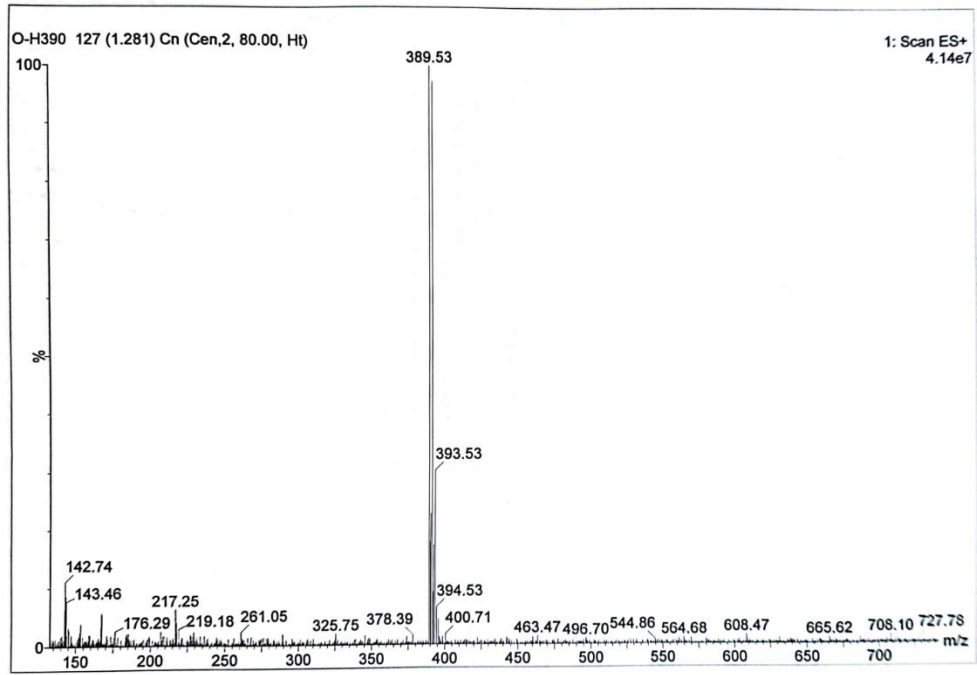
Saflaştırma yöntemi : kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (1:5)

Moleküler formül : C₁₉H₁₁Cl₃N₂O

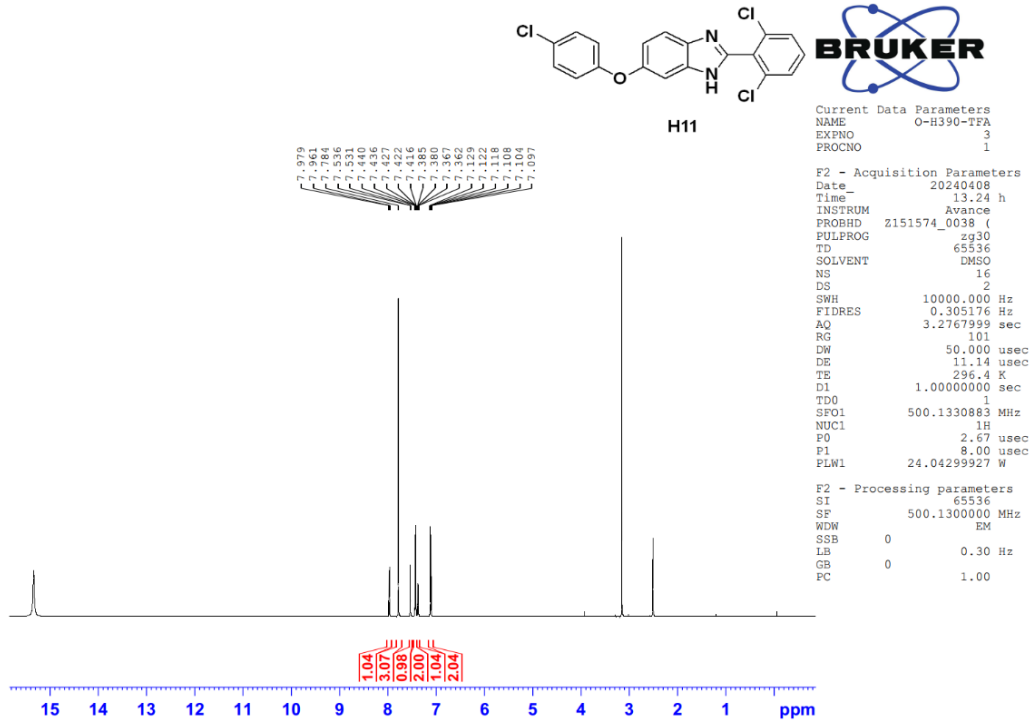
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 389 ([M]⁺, %100), 391 ([M+2]⁺, %97), 393 ([M+4]⁺, %33)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, TFA-d): δ ppm 7,11 (dd, 2H, *J*_o=6,7, *J*_m=2,2, Ar*H*-2", 6"), 7,37 (dd, 1H, *J*_o=9,0, *J*_m=2,3, Ar*H*-5), 7,43 (dd, 2H, *J*_o=6,7, *J*_m=2,2, Ar*H*-3", 5"), 7,53 (ds, 1H, *J*_m=2,3, Ar*H*-7), 7,78 (s, 3H, Ar*H*-3', 4', 5'), 7,97 (d, 1H, *J*=9,0, Ar*H*-4), 15,40 (s, 1H, -NH).

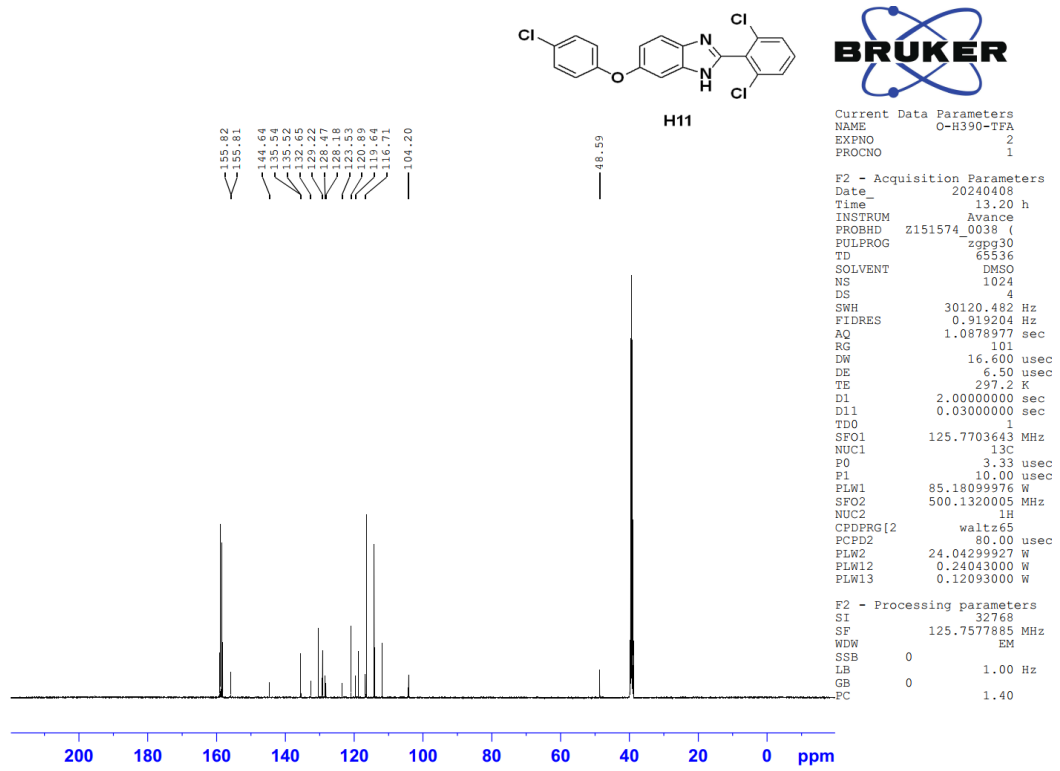
¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, TFA-d): δ ppm 48,59; 104,20; 116,71; 119,64; 120,89; 123,53; 128,18; 128,47; 129,22; 132,65; 135,52; 135,54; 144,64; 155,81; 155,82.



Şekil 3.33. H11 bileşiğinin kütle spektrumu.

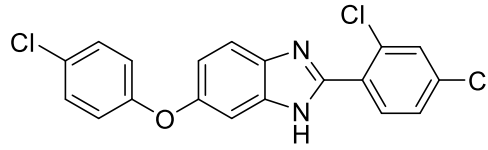


Şekil 3.34. H11 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3. 35. H11 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

3.1.17. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(2,4-diklorofenil)-1*H*-benzimidazol (H12)



H12

Verim : %85

Fiziksel özellikler : Beyaz toz

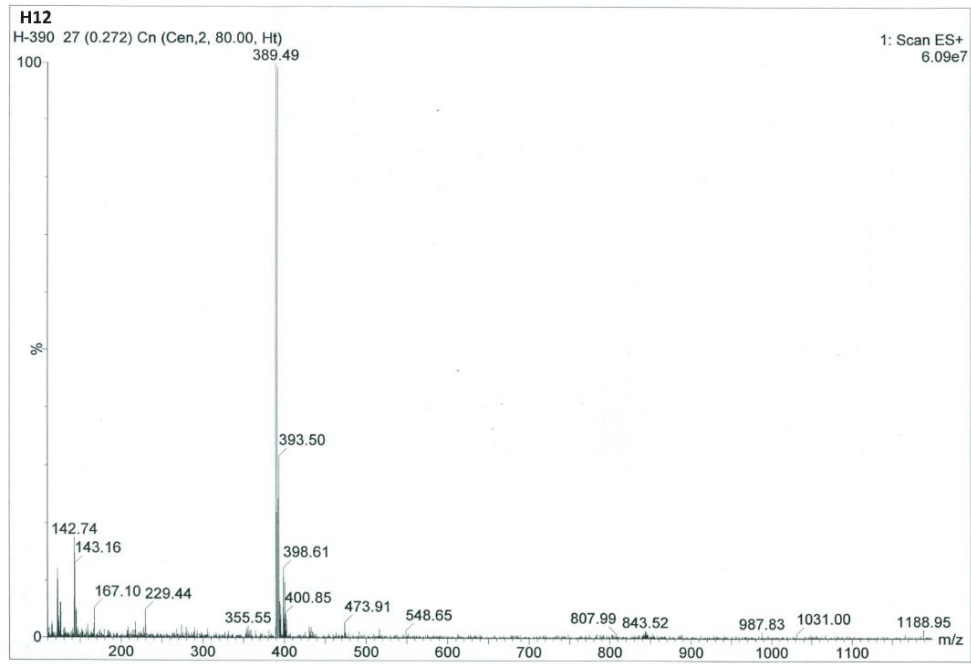
Erime noktası : 157-158 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (1:5)

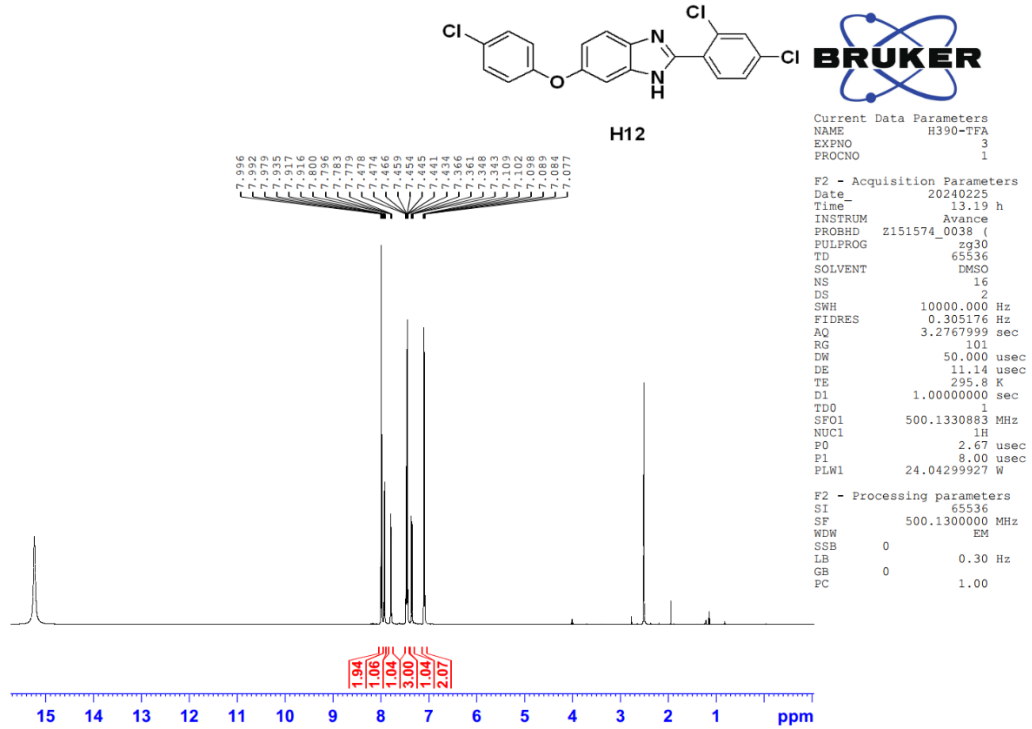
Moleküler formül : C₁₉H₁₁Cl₃N₂O

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 389 ([M]⁺, %100), 391 ([M+2]⁺, %100), 393 ([M+4]⁺, %33)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, TFA-d): δ ppm 7,09 (dd, 2H, *J*_o=6,7, *J*_m=2,2, ArH-2'', 6''), 7,35 (dd, 1H, *J*_o=9,0, *J*_m=2,3, ArH-5), 7,45 (dd, 2H, *J*_o=6,7, *J*_m=2,2, ArH-3'', 5''), 7,48 (ds, 1H, *J*_m=2,0, ArH-7), 7,79 (dd, 1H, *J*_o=8,4, *J*_m=2,0, ArH-5'), 7,93 (d, 1H, *J*=9,0, ArH-4), 7,99 (2H, ArH-3', 5'), 15,40 (s, 1H, -NH).

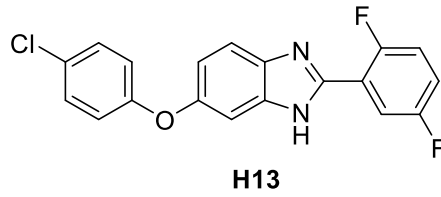


Şekil 3.36. H12 bileşiğinin kütle spektrumu.



Şekil 3.37. H12 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.

3.1.18. 5(6)-(4-Klorofenoksi)-2-(2,5-difluorofenil)-1*H*-benzimidazol (H13)



Verim : %80

Fiziksel özellikler : Sarı toz

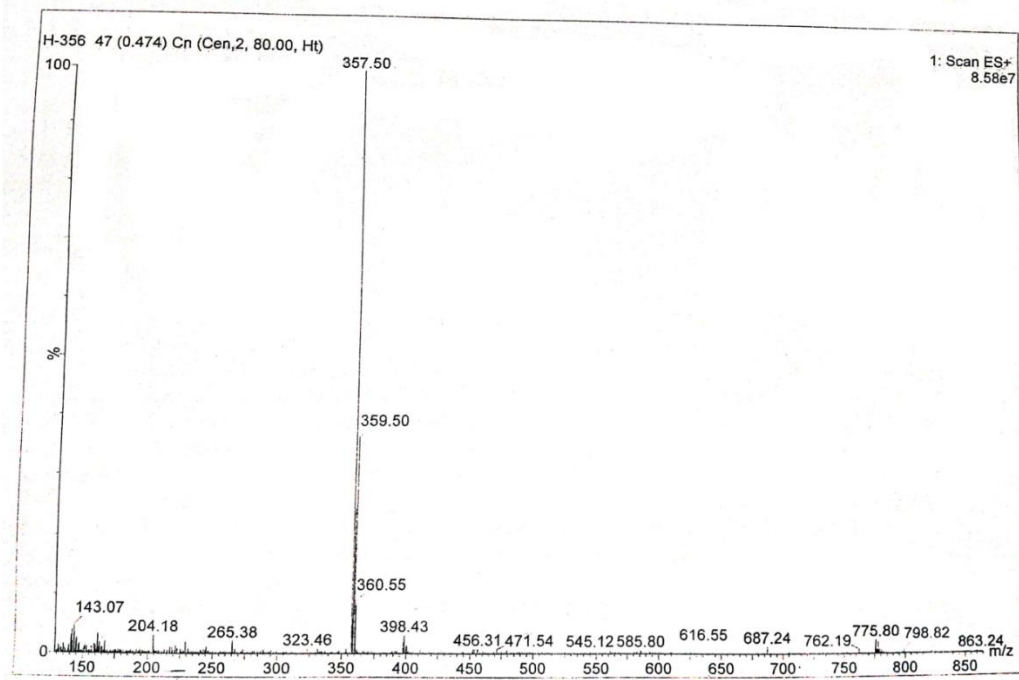
Erime noktası : 144-145 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (1:1)

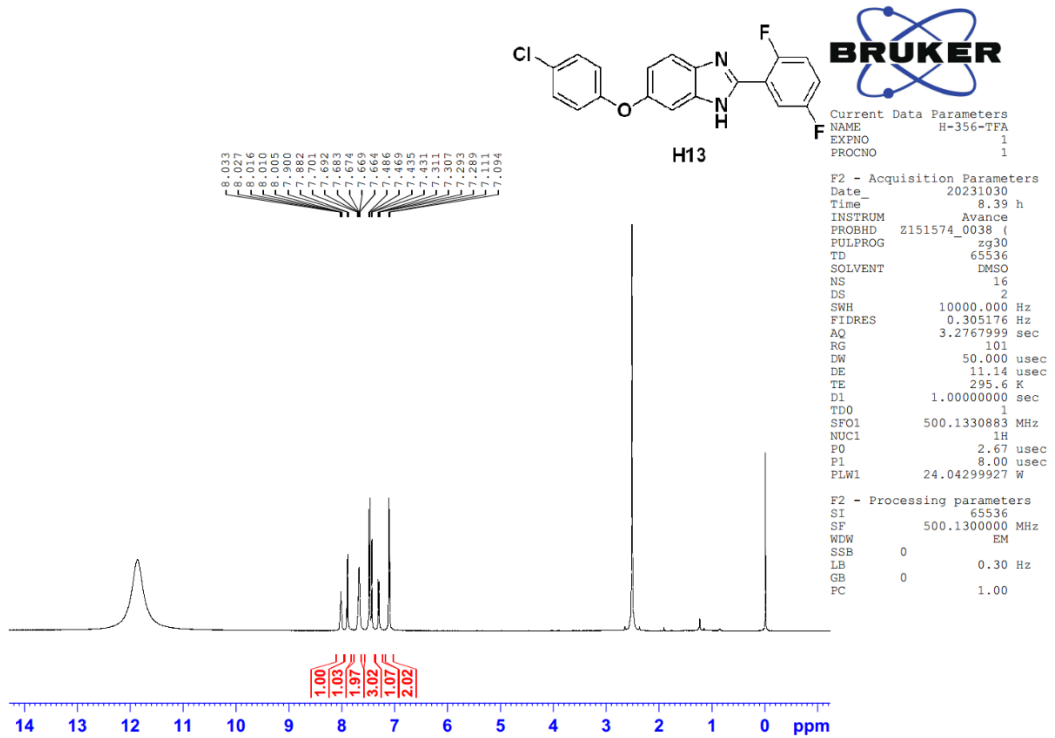
Moleküler formül : C₁₉H₁₁ClF₂N₂O

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 357 ([M+1]⁺, %100), 359 ([M+3]⁺, %37)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, TFA-*d*): δ ppm 7,10 (d, 2H, *J*_o=8,8, Ar*H*-2", 6"), 7,30 (dd, 1H, *J*_o=8,9, *J*_m=2,1, Ar*H*-5), 7,43 (ds, 1H, *J*_m=2,0, Ar*H*-7), 7,48 (d, 2H, *J*_o=8,8, Ar*H*-3", 5"), 7,68 (m, 2H, Ar*H*-3', 4'), 7,89 (d, 1H, *J*_o=8,9, Ar*H*-4), 8,02 (m, 1H, Ar*H*-6'), 11,90 (s, 1H, NH).

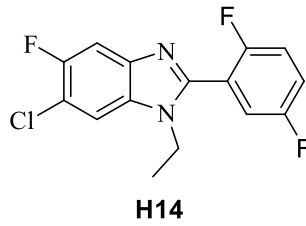


Şekil 3.38. H13 bileşiğinin kütle spektrumu.



Şekil 3.39. H13 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

3.1.19. 6-Kloro-2-(2,5-difluorofenil)-1-etil-5-fluoro-1*H*-benzimidazol (H14)



Verim : %80

Fiziksel özellikler : Açık sarı toz

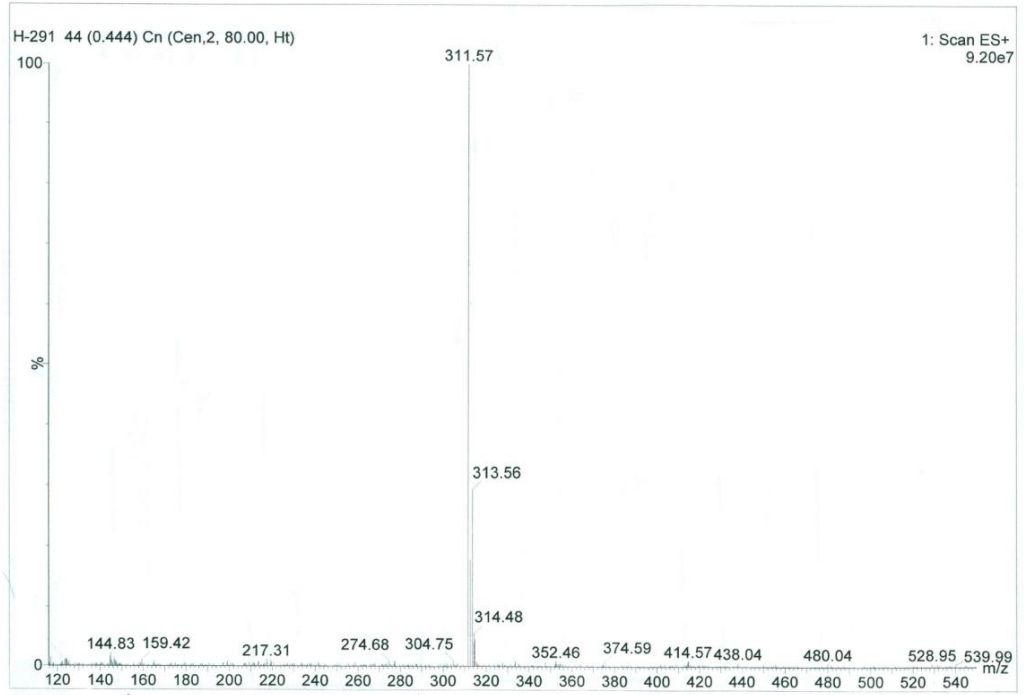
Erime noktası : 144-145 °C

Saflaştırma yöntemi : Etanol ile kristalizasyon

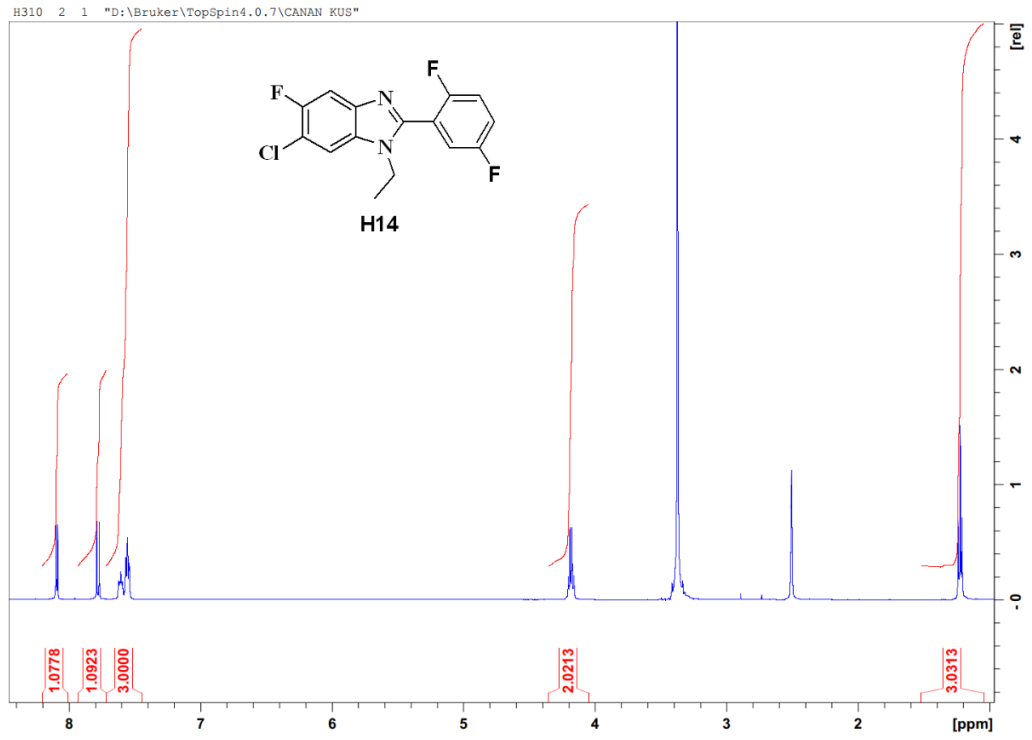
Moleküler formül : C₁₅H₁₀ClF₃N₂

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 311 ([M+1]⁺, %100) 313 ([M+3]⁺, %30)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 1,22 (t, 3H, *J*=7,2, -CH₃), 4,18 (q, 2H, *J*=7,2, N-CH₂-), 7,54-7,57 (m, 2H, ArH), 7,59-7,62 (m, 1H, ArH), 7,78 (d, 1H, *J*=9,8, ArH), 8,09 (d, 1H, *J*_o=6,7, ArH).

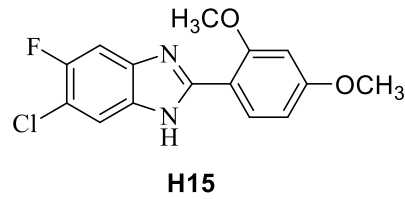


Şekil 3.40. H14 bileşiğinin kütle spektrumu.



Şekil 3.41. H14 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

3.1.20. 5(6)-Kloro-2-(2,4-dimetoksifenil)-5(6)-fluoro-1H-benzimidazol (H15)



Verim : %90

Fiziksel özellikler : Turuncu kristal

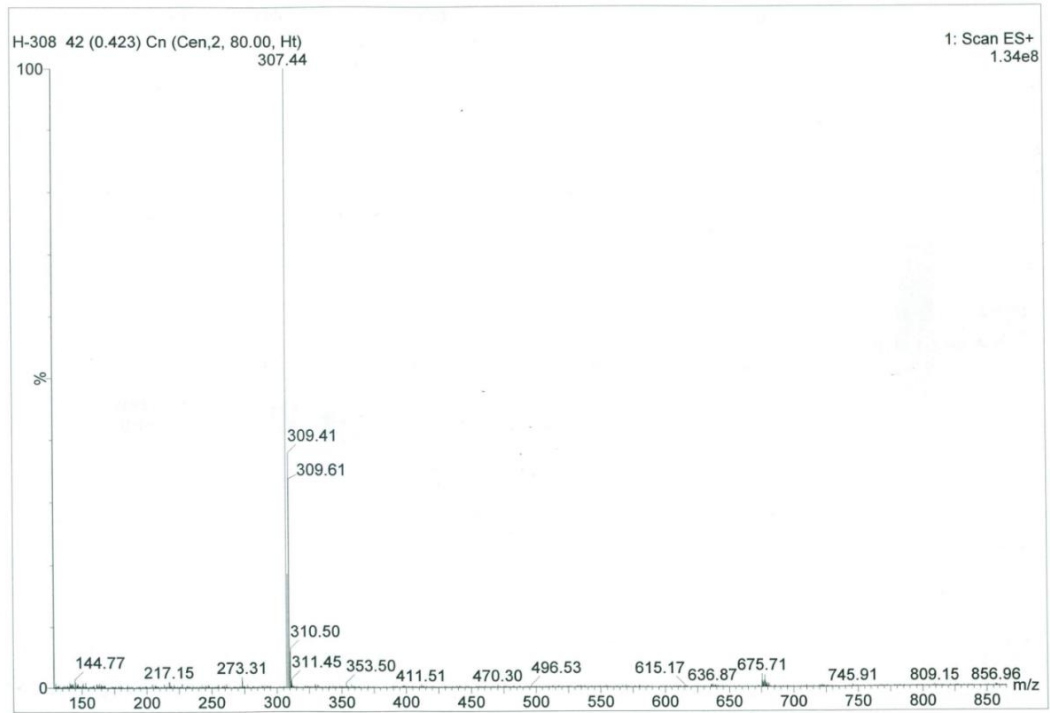
Erime noktası : 195-196 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (2:1)

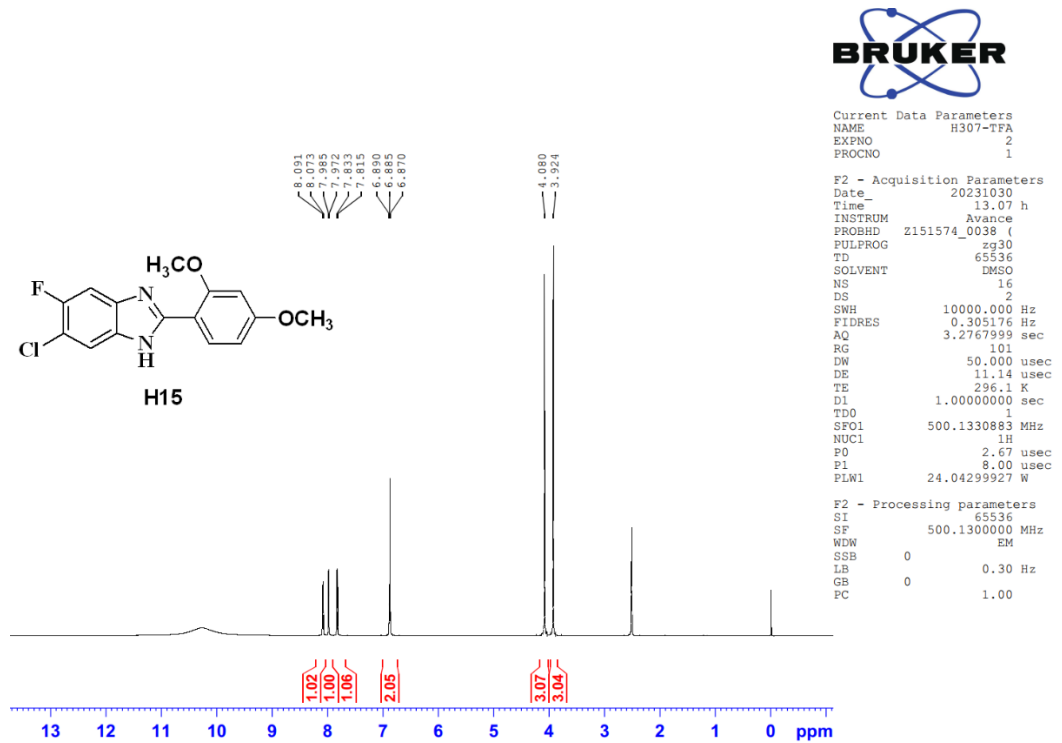
Moleküler formül : C₁₅H₁₂ClFN₂O₂

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 307 ([M+1]⁺, %100), 309 ([M+3]⁺, %33)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA-d): δ ppm 3,92 (s, 3H, -OCH₃), 4,08 (s, 3H, -OCH₃), 6,87 (s, 1H, ArH), 6,89 (ds, 1H, *J_m*=2,3, ArH), 7,82 (d, 1H, *J*=8,7, ArH), 7,98 (d, 1H, *J*=6,4, ArH), 8,08 (d, 1H, *J*=9,4, ArH), 10,30 (bs, 1H, NH).

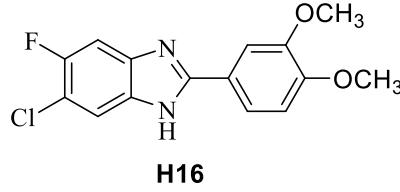


Şekil 3.42. H15 bileşiğinin kütle spektrumu.



Şekil 3.43. H15 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

3.1.21. 5(6)-Kloro-2-(3,4-dimetoksifenil)-5(6)-fluoro-1H-benzimidazol (H16)



Verim : %75

Fiziksel özellikler : Beyaz toz

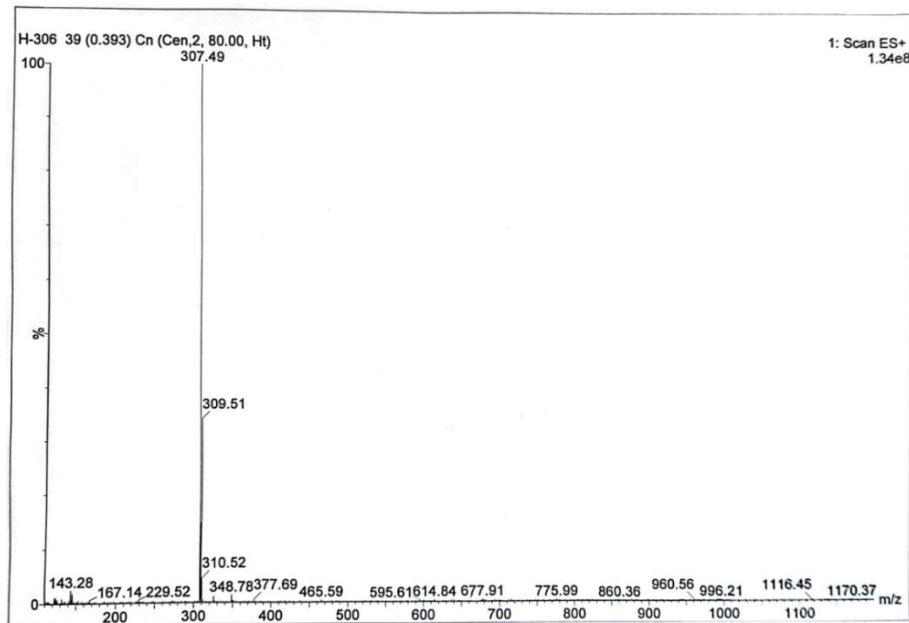
Erime noktası : 229-230 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (2:1)

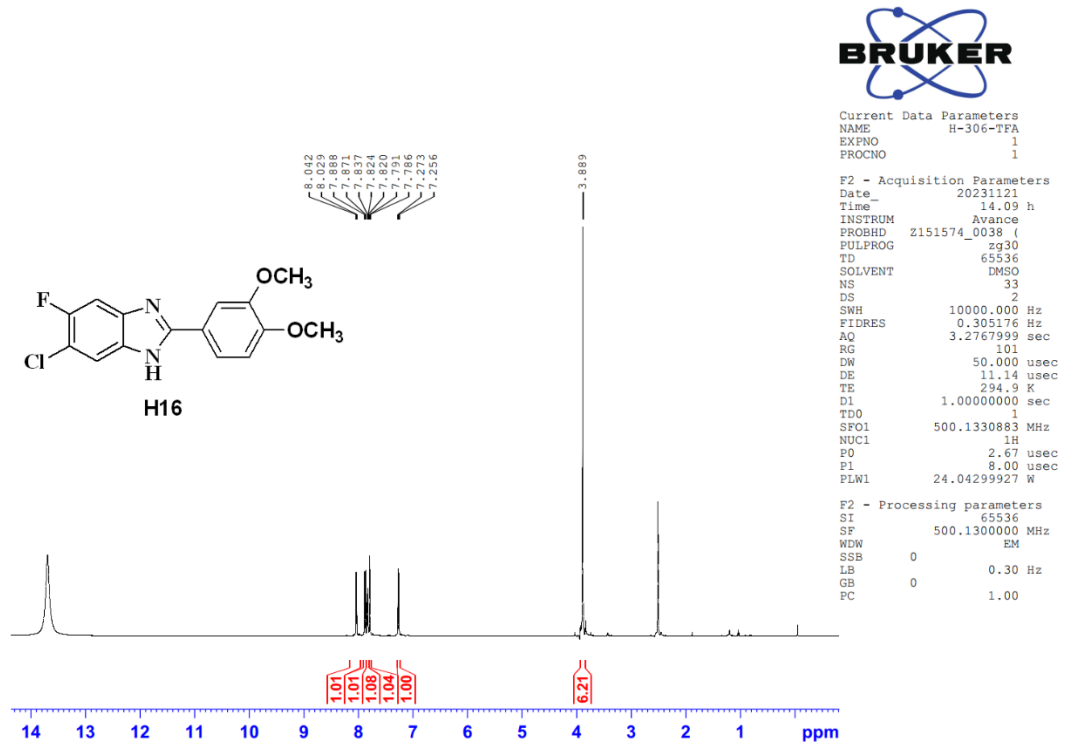
Moleküler formül : C₁₅H₁₂ClFN₂O₂

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 307 ([M+1]⁺, %100), 309 ([M+3]⁺, %37)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA-d): δ ppm 3,89 (s, 6H, 2(-OCH₃)), 7,26 (d, 1H, *J*=8,6, ArH), 7,79 (ds, 1H, *J_m*=2,1, ArH), 7,82 (dd, 1H, *J_o*=8,5, *J_m*=2,2, ArH), 7,88 (d, 1H, *J*=8,6, ArH), 8,04 (d, 1H, *J*=6,3, ArH), 13,70 (s, 1H, NH).

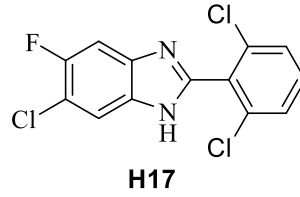


Şekil 3.44. H16 bileşiğinin kütle spektrumu.



Şekil 3.45. H16 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

3.1.22. 5(6)-Kloro-2-(2,6-diklorofenil)-5(6)-fluoro-1H-benzimidazol (H17)



Verim : %90

Fiziksel özellikler : Beyaz kristal

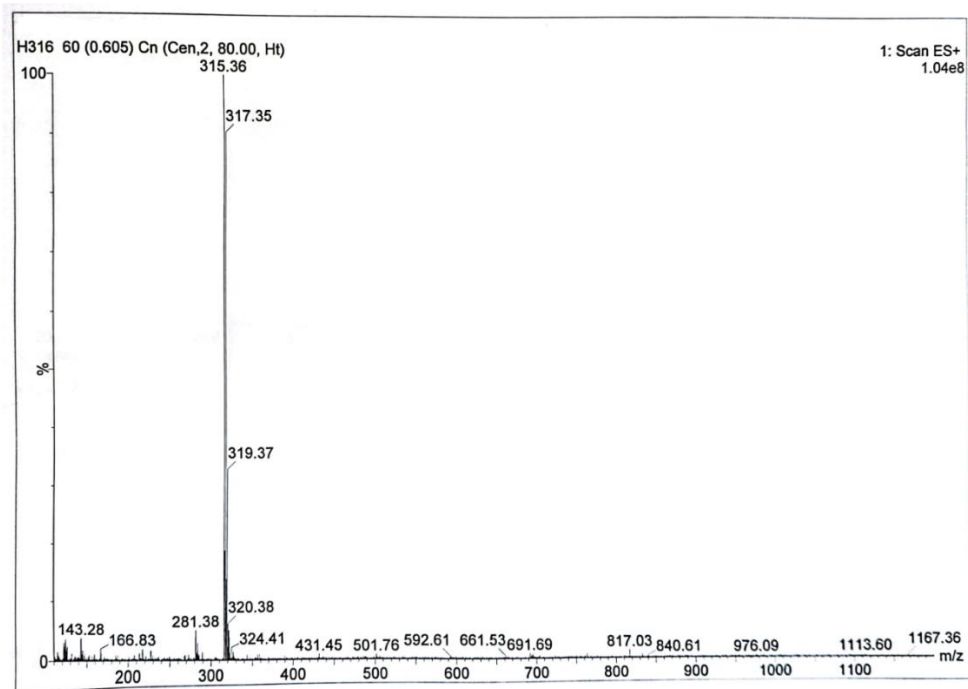
Erime noktası : 265.5-266.5 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (2:1)

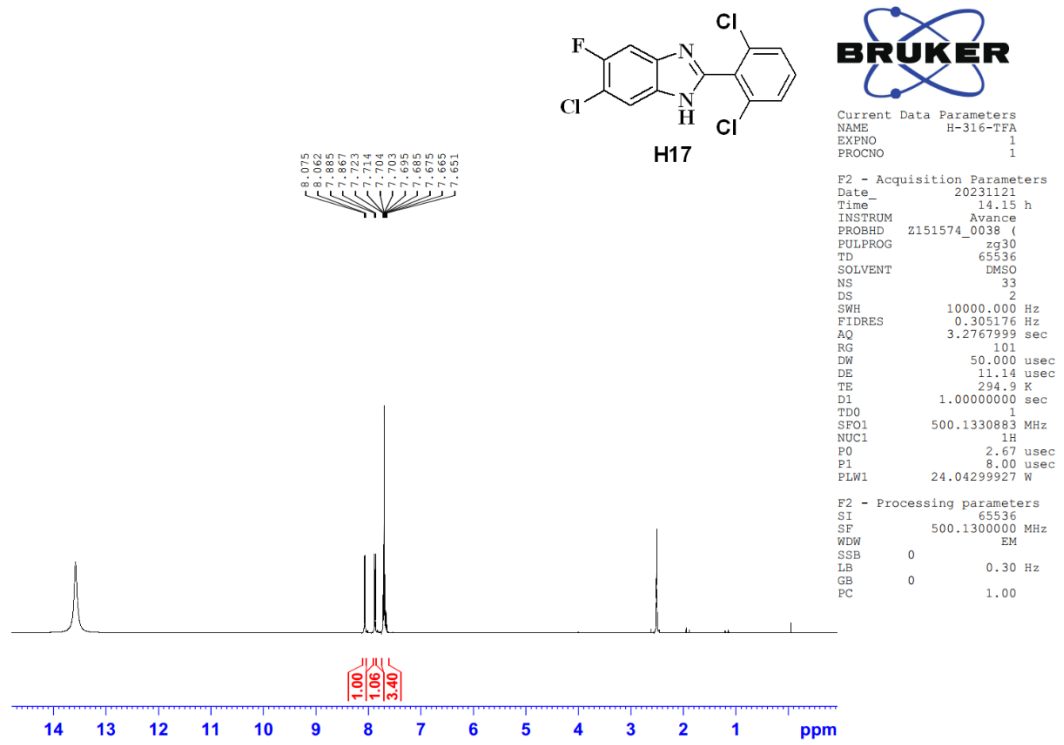
Moleküler formül : C₁₃H₆Cl₃FN₂

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 315 ([M]⁺, %100), 317 ([M+2]⁺, %90), 319 ([M+4]⁺, %33)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA-d): δ ppm 7,65-7,72 (m, 3H, ArH), 7,87 (d, 1H, *J*=9,2, ArH), 8,07 (d, 1H, *J*_o=6,6, ArH), 13,60 (s, 1H, NH).

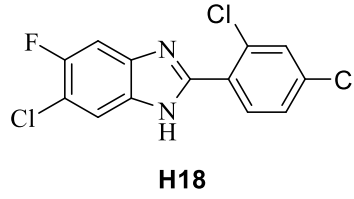


Şekil 3.46. H17 bileşiğinin kütle spektrumu.



Şekil 3.47. H17 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.

3.1.23. 5(6)-Kloro-2-(2,4-diklorofenil)-5(6)-fluoro-1H-benzimidazol (H18)



Verim : %95

Fiziksel özellikler : Beyaz kristal

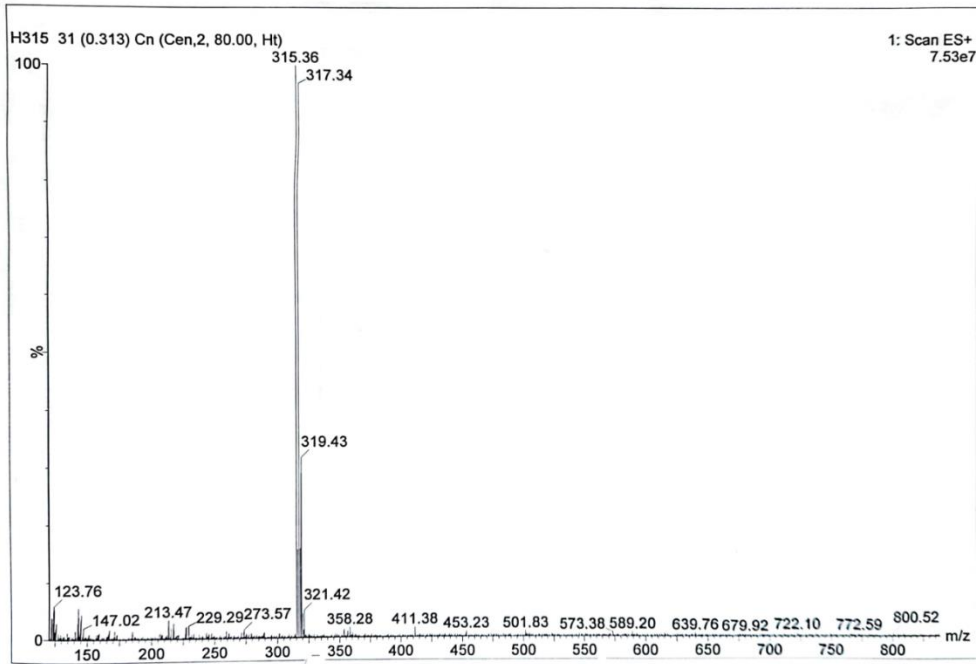
Erime noktası : 205-206 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (2:1)

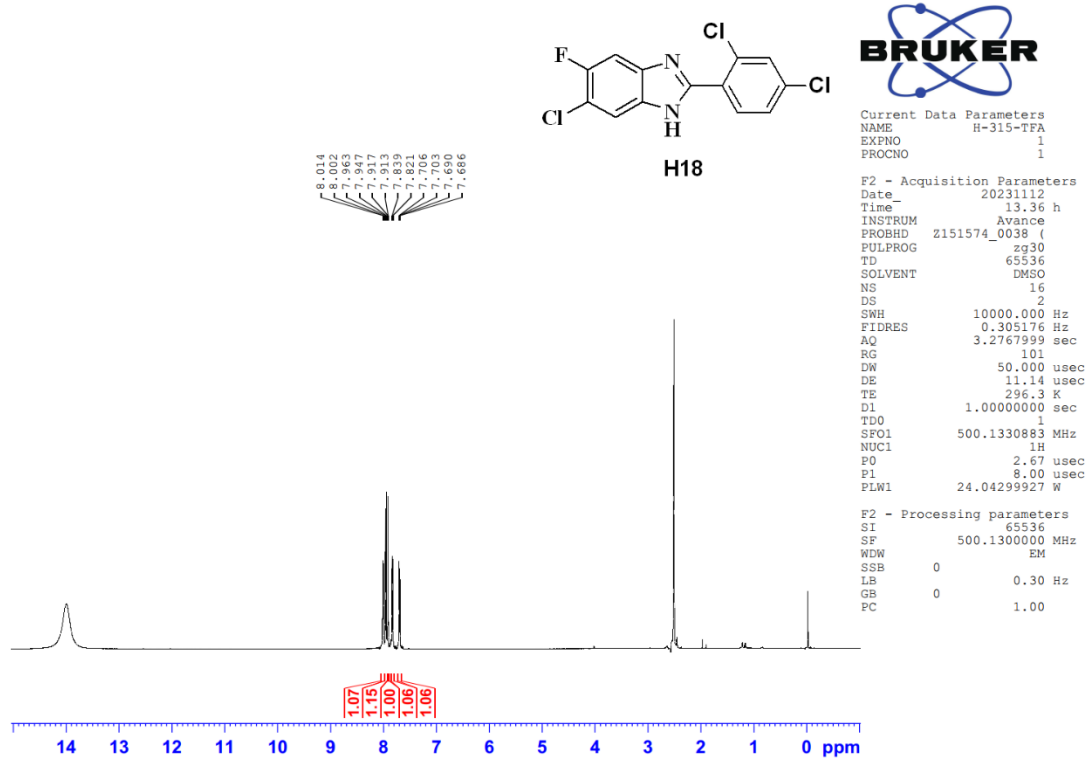
Moleküler formül : C₁₃H₆Cl₃FN₂

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 315 ([M]⁺, %100), 317 ([M+2]⁺, %98), 319 ([M+4]⁺, %33)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA-d): δ ppm 7,70 (dd, 1H, *J*_o=8,4, *J*_m=2,0, ArH-5'), 7,83 (d, 1H, *J*=9,0, ArH), 7,91 (ds, 1H, *J*_m=2,0, ArH-3'), 7,95 (d, 1H, *J*=8,4, ArH-6'), 8,01 (d, 1H, *J*=6,5, ArH), 12,00 (s, 1H, NH).

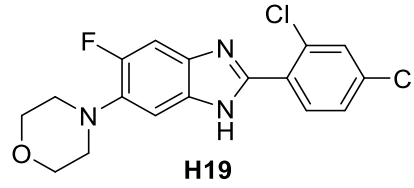


Şekil 3.48. H18 bileşiğinin kütle spektrumu.



Şekil 3.49. H18 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

3.1.24. 4-(2-(2,4-Diklorofenil)-5-fluoro-1*H*-benzimidazol-6-il)morfolin (H19)



Verim : %50

Fiziksel özellikler : Sarı toz

Erime noktası : 129-130 °C

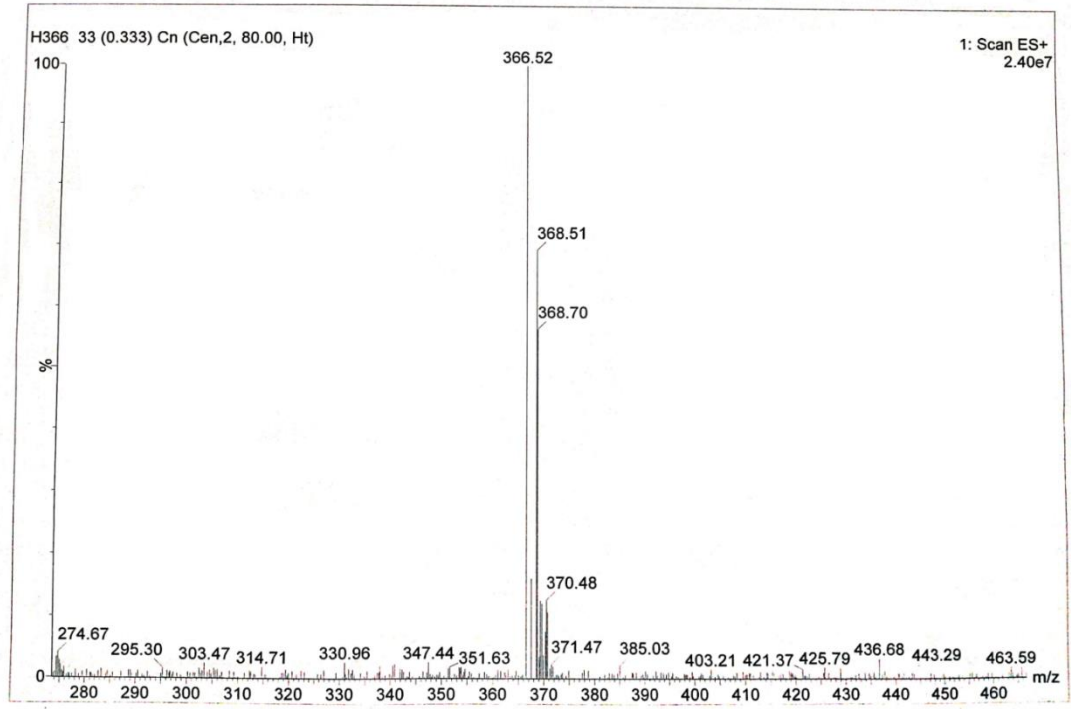
Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; n-hekzan: izopropanol (2:1)

Moleküler formül : C₁₇H₁₄Cl₂FN₃O

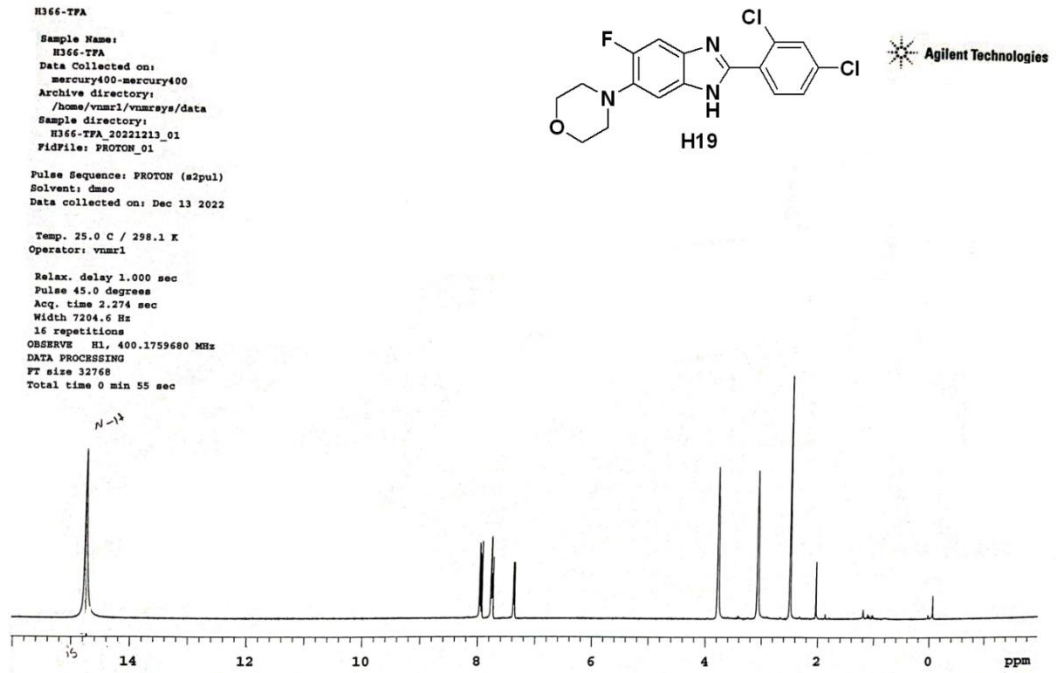
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 366 ([M]⁺, %100), 368 ([M+2]⁺, %70), 370 ([M+4]⁺, %11)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, TFA-d): δ ppm 3,08 (s, 4H, -NCH₂-), 3,78 (s, 4H, -OCH₂-), 7,38 (d, 1H, *J*_o=7,2, ArH), 7,74 (s, 1H, ArH), 7,77 (dd, 1H, *J*_o=7,6, *J*_m=2,4, ArH), 7,95 (d, 1H, *J*=7,9, ArH), 7,97 (ds, 1H, *J*_m=1,6, ArH), 14,80 (s, 1H, NH).

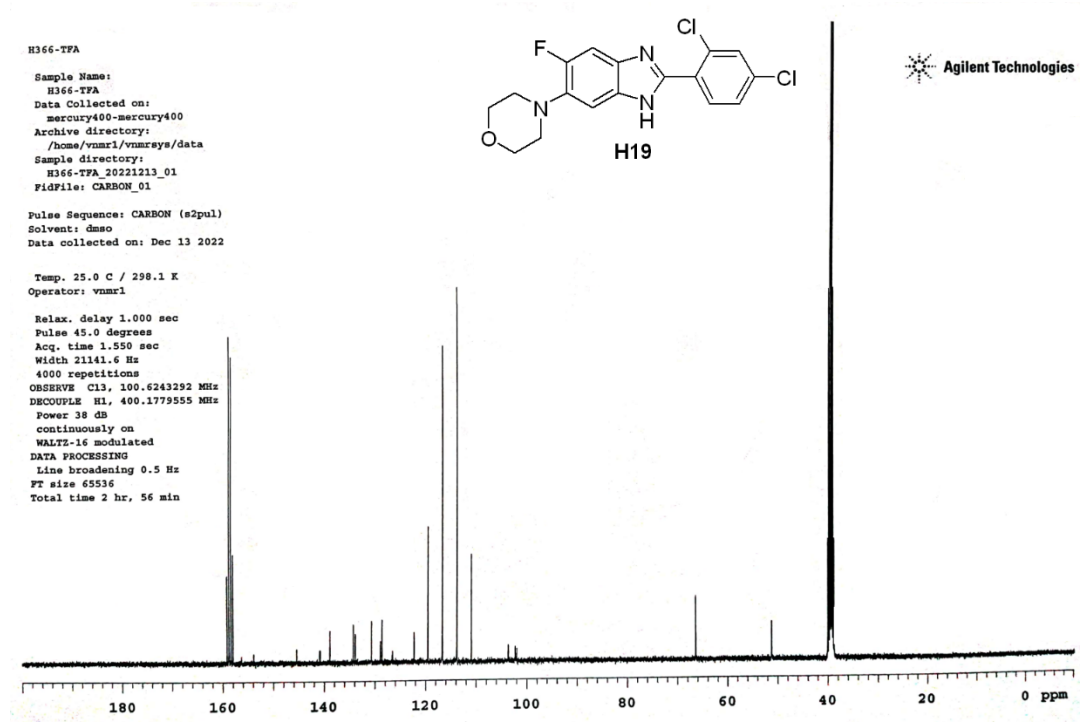
¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, TFA-d): δ ppm 51,29; 66,38; 102,14; 103,64; 122,29; 126,58; 128,78; 130,70; 133,89; 134,27; 138,88; 140,86; 145,48; 153,91; 156,36.



Şekil 3. 50. H19 bileşiminin kütle spektrumu.

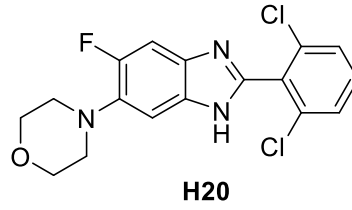


Şekil 3.51. H19 bileşiminin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.52. H19 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

3.1.25. 4-(2-(2,6-Diklorofenil)-5-fluoro-1H-benzimidazol-6-il)morfolin (H20)



Verim : %35

Fiziksel özellikler : Açık sarı toz

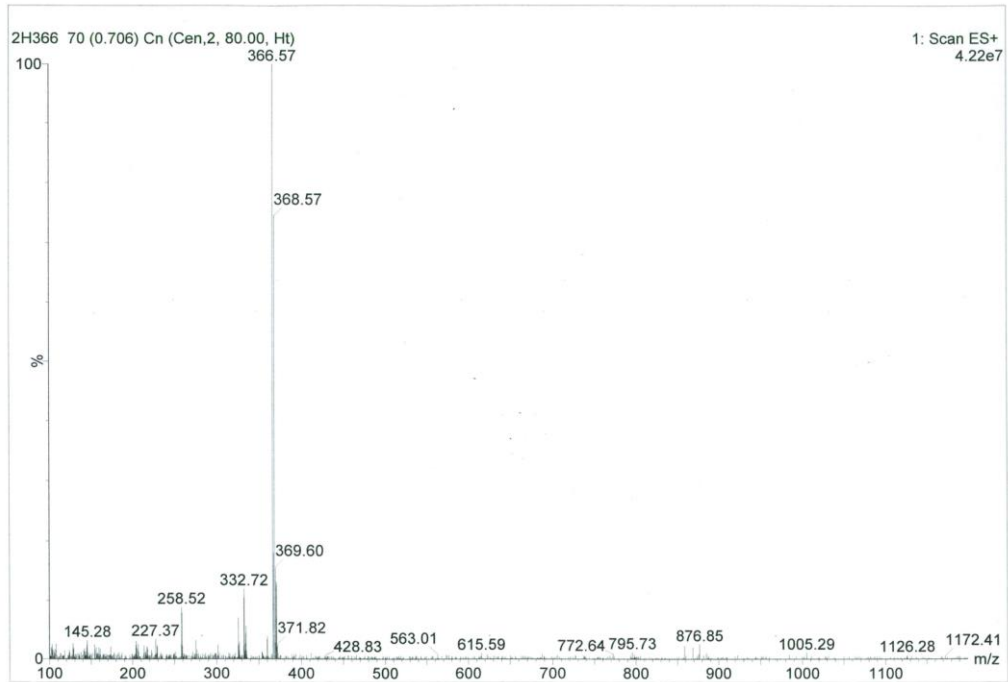
Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (3:1)

Moleküler formül : C₁₇H₁₄Cl₂FN₃O

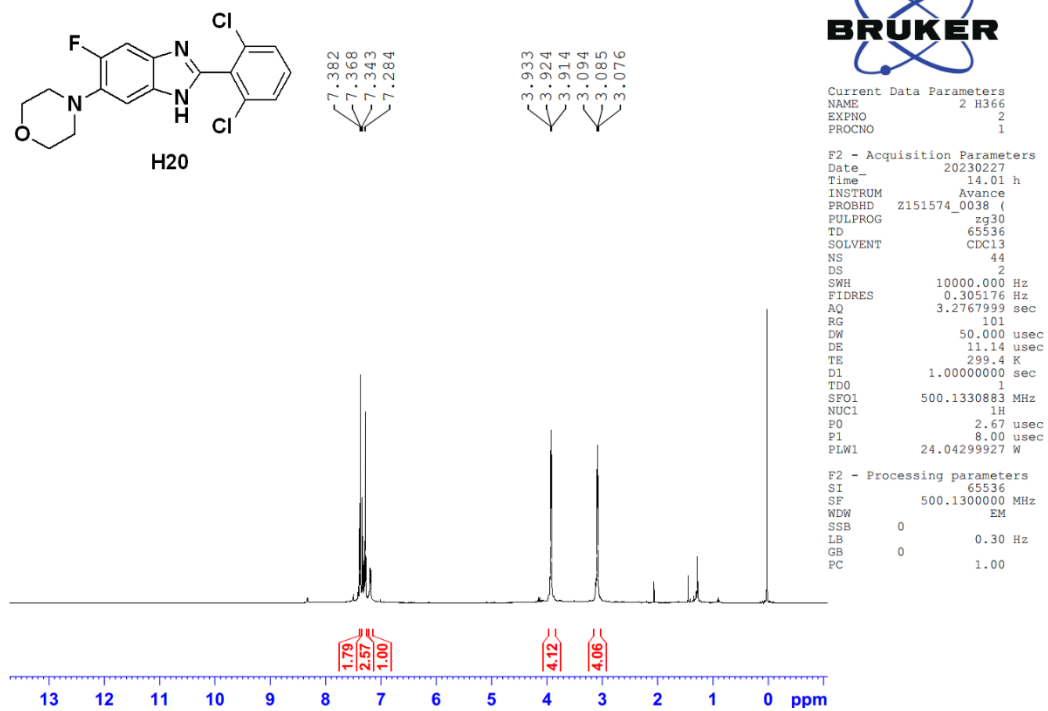
Kütle spektrumu: ESI-MS *m/z*: 366 ([M]⁺, %100), 368 ([M+2]⁺, %77), 370 ([M+4]⁺, %11)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 3,08 (t, 4H, *J*=4.6, -NCH₂-), 3,92 (t, 4H, *J*=4.6, -OCH₂-), 7,28 (t, 1H, ArH), 7,33 (d, 1H, ArH), 7,34 (s, 1H, ArH), 7,37 (d, 2H, *J*=7,1, ArH).

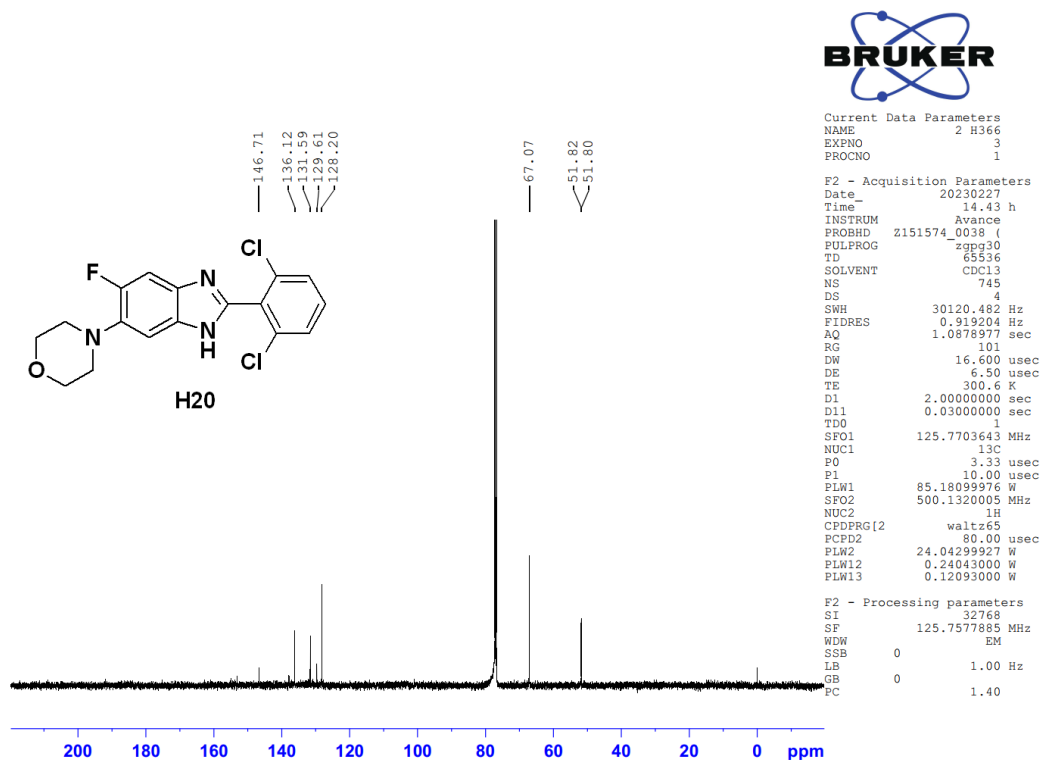
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 51,80; 51,82; 67,07; 128,20; 129,61; 131,59; 136,12; 146,71.



Şekil 3.53. H20 bileşiğinin kütle spektrumu.

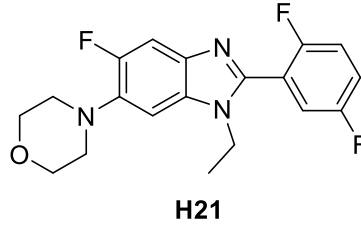


Şekil 3.54. H20 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.55. H20 bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu.

3.1.26. 4-(2-(2,5-Difluorofenil)-1-etil-5-fluoro-1*H*-benzimidazol-6-il)morfolin (H21)



Verim : 45%

Fiziksel özellikler : Sarı toz

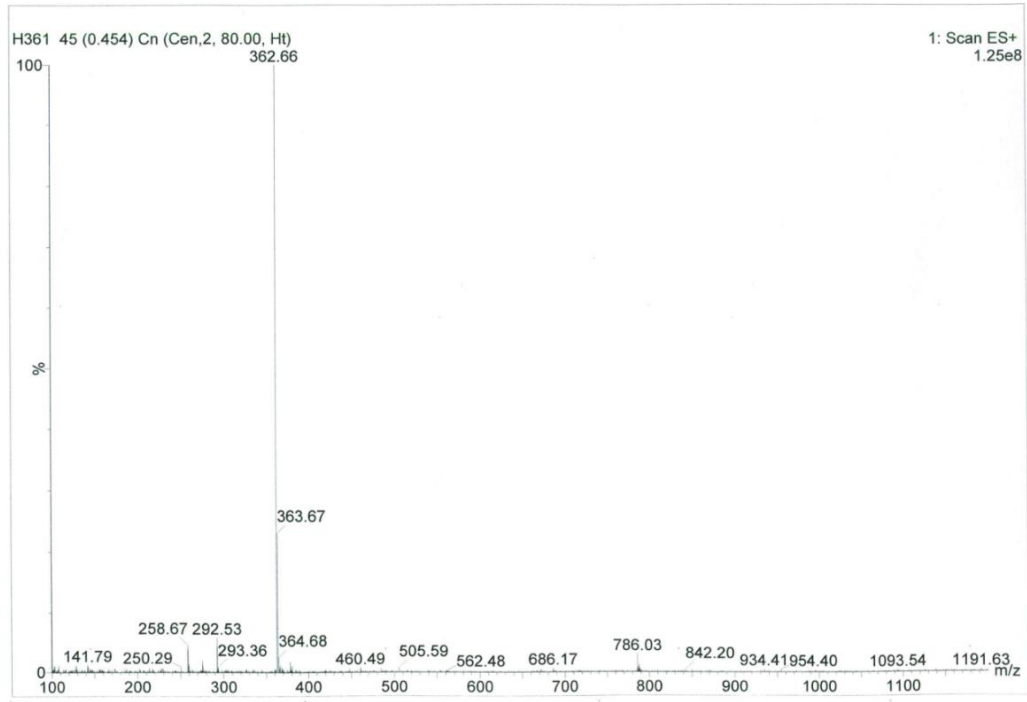
Erime noktası : 195 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (1:1)

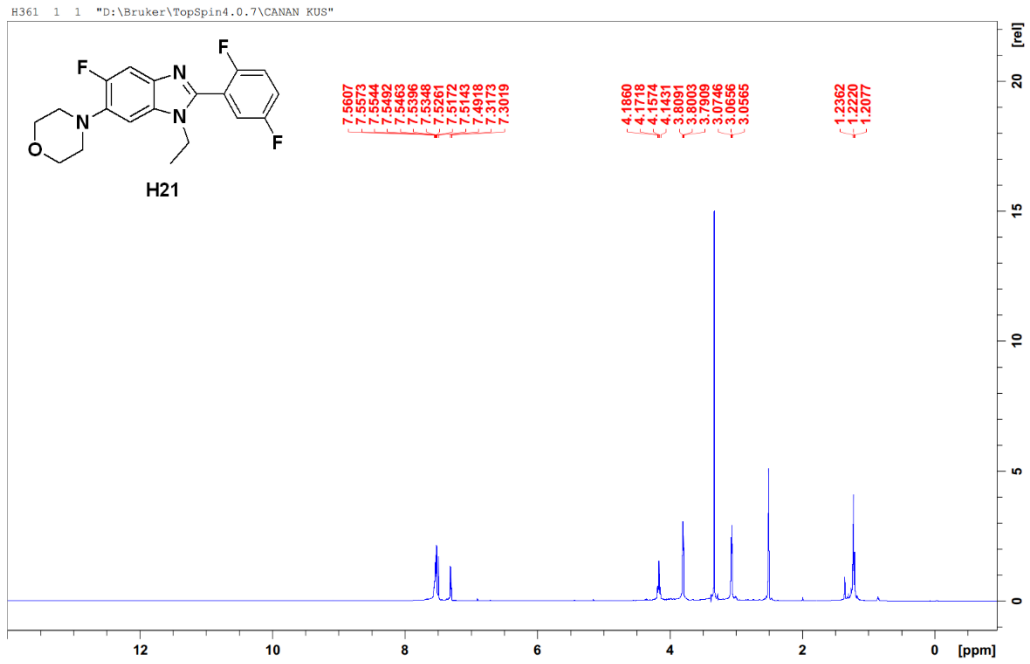
Moleküler formül : C₁₉H₁₈F₃N₃O

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 362 ([M+1]⁺, %100)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 1,22 (t, 3H, *J*=7,2, -CH₃) 3,07 (t, 4H, *J*=4,6, -NCH₂-), 3,80 (t, 4H, *J*= 4,7, -OCH₂-), 4,16 (q, 2H, *J*=7,2, N-CH₂-CH₃), 7,31 (1H, d, *J*=6,2, Ar*H*), 7,49-7,56 (m, 4H, Ar*H*).

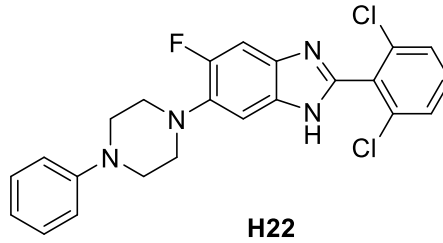


Şekil 3.56. H21 bileşiğinin kütle spektrumu.



Şekil 3.57. H21 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

3.1.27. 2-(2,6-Diklorofenil)-5-fluoro-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol (H22)



Verim : %55

Fiziksel özellikler : Sarı toz

Erime noktası : 142-143 °C

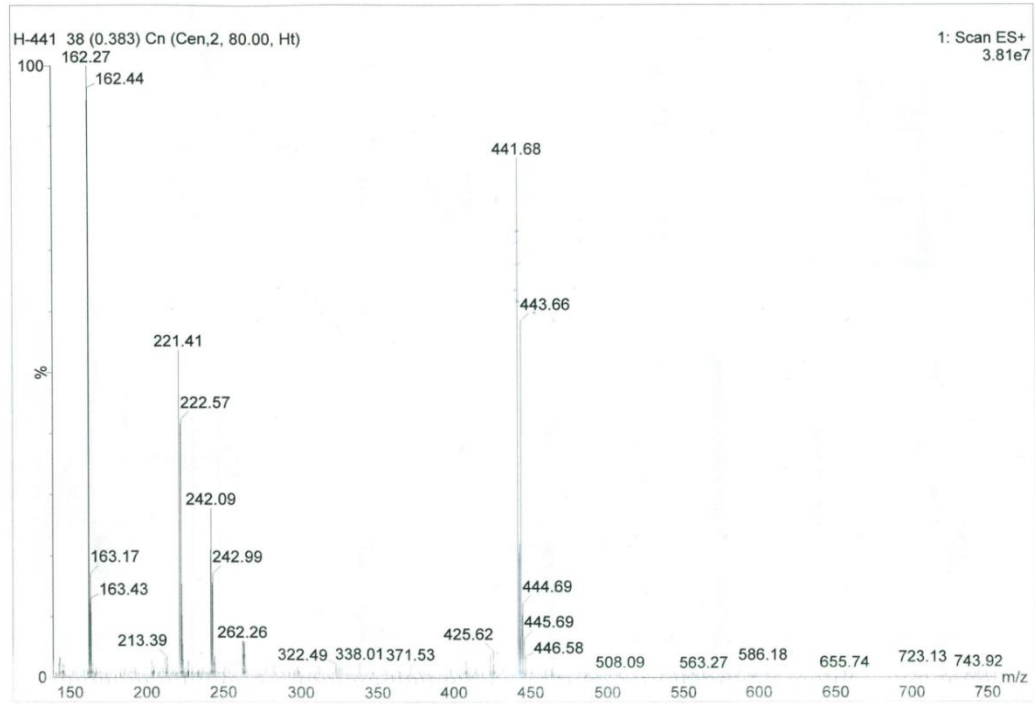
Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (3:1)

Moleküler formül : C₂₃H₁₉Cl₂FN₄

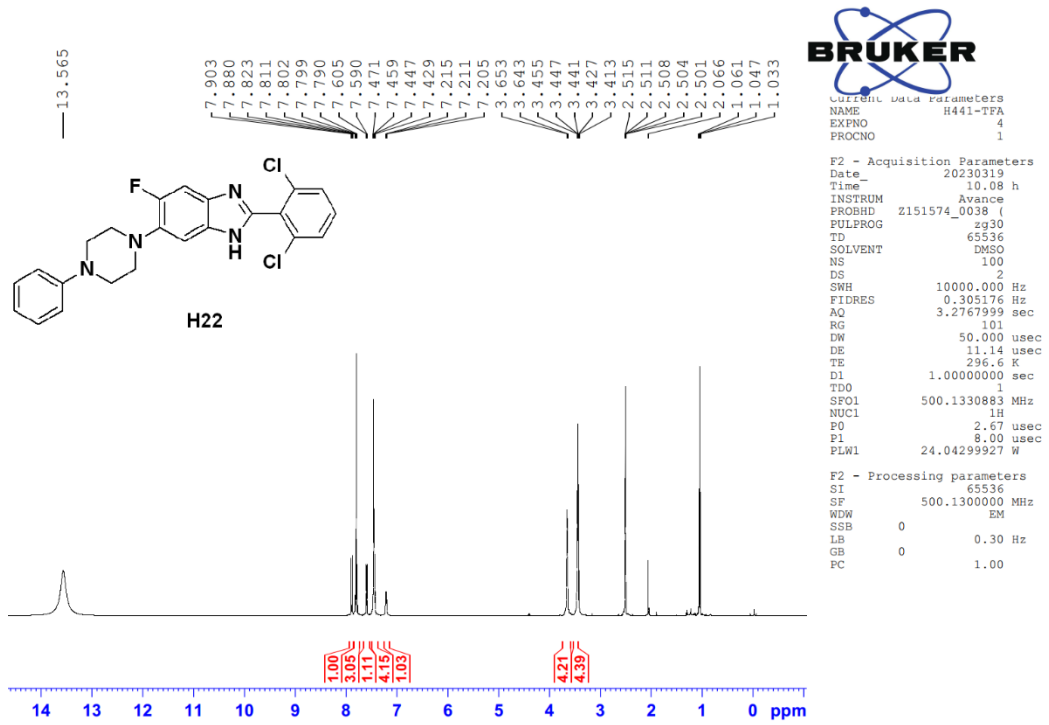
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z : 441 ([M+]⁺, %80), 443 ([M+2]⁺, %60), 445 ([M+4]⁺, %11)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA-d): δ ppm 3,41-3,45 (m, 4H, -NCH₂-), 3,64-3,65 (m, 4H, -NCH₂-), 7,20-7,21 (m, 1H, ArH), 7,42-7,47 (m, 4H, ArH), 7,60 (d, 1H, *J*=7,5, ArH), 7,79-7,82 (m, 3H, ArH), 7,89 (d, 1H, *J*=11,6, ArH), 13,56 (s, 1H, NH).

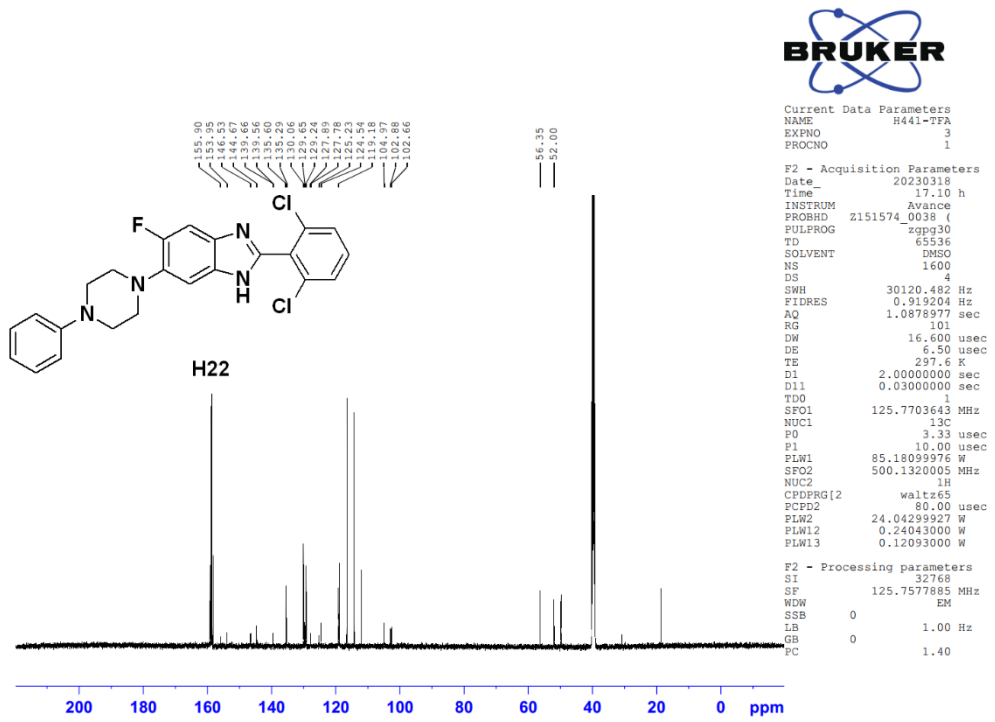
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, TFA-d): δ ppm 52,00; 56,35; 102,66; 102,88; 104,97; 119,18; 124,54; 125,23; 127,78; 127,89; 129,24; 129,65; 130,06; 135,29; 135,60; 139,56; 139,66; 144,66; 146,53; 153,95; 155,90.



Şekil 3.58. H22 bileşiğinin kütle spektrumu.

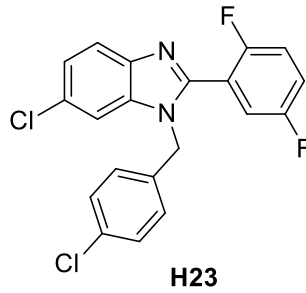


Şekil 3.59. H22 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.60. H22 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

3.1.28. 6-Kloro-1-(4-klorobenzil)-2-(2,5-difluorofenil)-1*H*-benzimidazol (H23)



Verim : %87

Fiziksel özellikler : Beyaz kristal

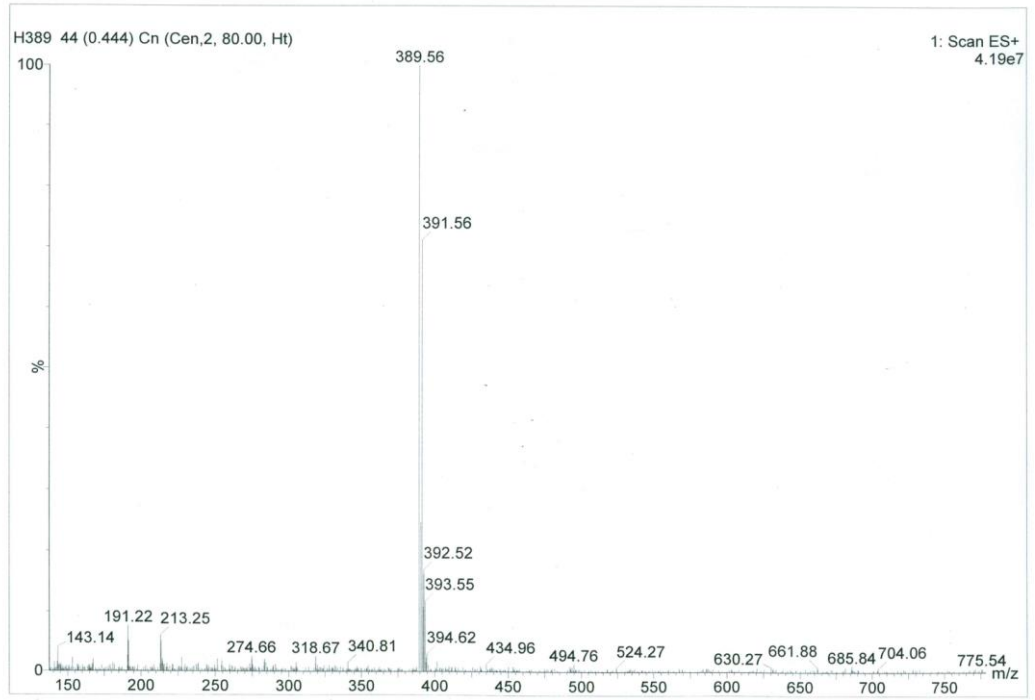
Erime noktası : 141-142 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (1:5)

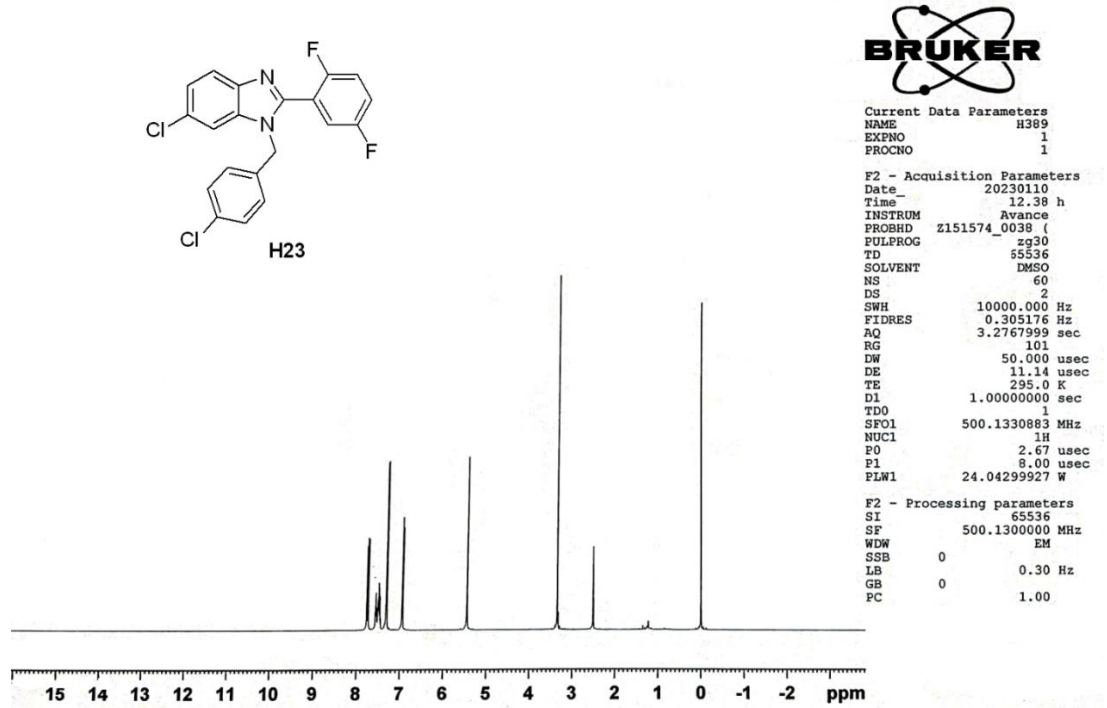
Moleküler formül : C₂₀H₁₂Cl₂F₂N₂

Kütle spektrumu: ESI-MS *m/z*: 389 ([M]⁺, %100), 391 ([M+2]⁺, %70), 393 ([M+4]⁺, %11)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 5,46 (s, 2H, -NCH₂-), 6,96 (d, 2H, *J*=8,5, ArH), 7,32 (dd, 3H, *J*_o=8,5, *J*_m=1,6, ArH), 7,47-7,58 (m, 3H, ArH), 7,74 (ds, 1H, *J*_m=1,8, ArH), 7,77 (d, 1H, *J*=8,6, ArH).

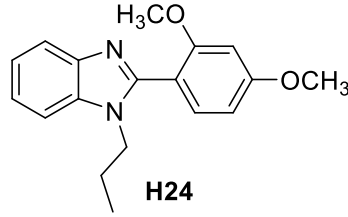


Şekil 3.61. H23 bileşiğinin kütle spektrumu.



Şekil 3.62. H23 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

3.1.29. 2-(2,4-Dimetoksifenil)-1-propil-1*H*-benzimidazol (H24)



Verim : 95%

Fiziksel özellikler : Açık sarı toz

Erime noktası : 136-137 °C

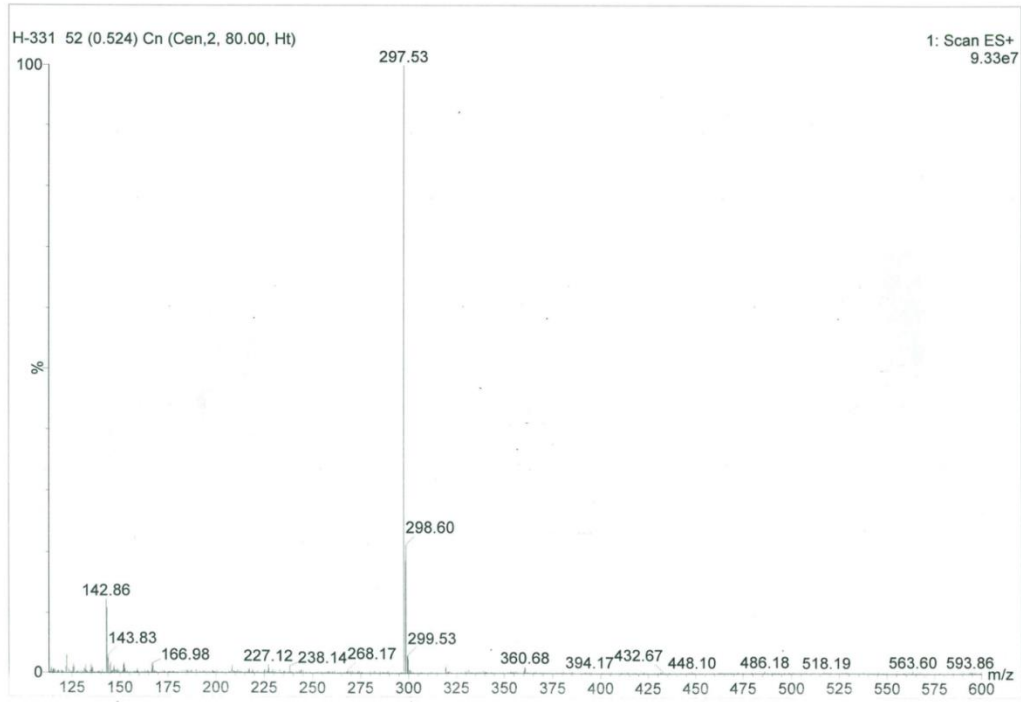
Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (1:1)

Moleküler formül : C₁₈H₂₀N₂O₂

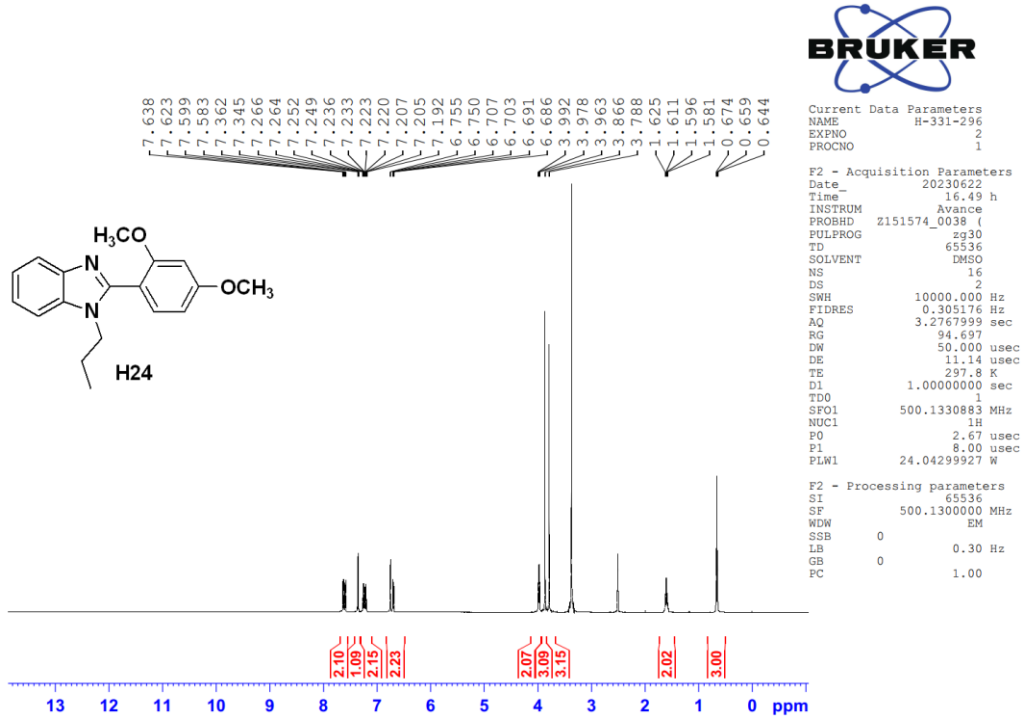
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 297 ([M+1]⁺, %100)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 0,66 (t, 3H, *J*=7,4, CH₂-CH₃), 1,60 (q, 2H, *J*= 7,4, N-CH₂-CH₂), 3,79 (s, 3H, -OCH₃), 3,87 (s, 3H, -OCH₃), 3,98 (t, 2H, *J*=7,3, N-CH₂-), 6,70 (dd, 1H, *J*_o=8,4, *J*_m=2,3, ArH-5'), 6,75 (ds, 1H, *J*_m=2,3, ArH-3'), 7,19-7,27 (m, 2H, ArH-5, 6), 7,35 (d, 1H, *J*=8,4, ArH-6'), 7,59 (d, 1H, *J*=7,6, ArH-4), 7,63 (d, 1H, *J*=7,6, ArH-7).

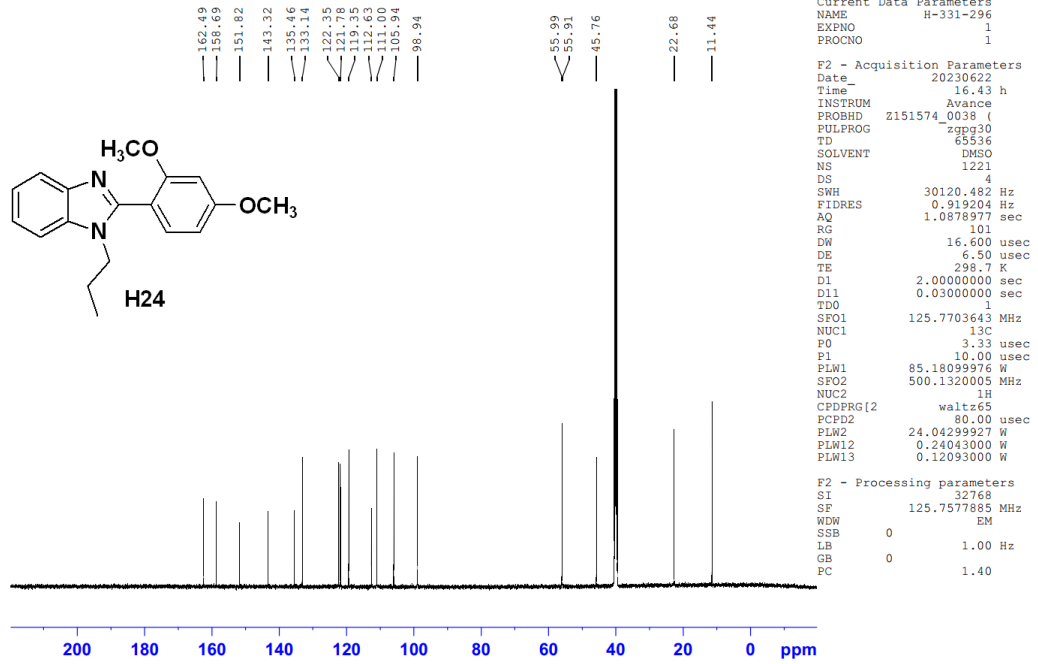
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 11,44; 22,68; 45,76; 55,91; 55,99; 98,94; 105,94; 111,00; 112,63; 119,35; 121,78; 122,35; 133,14; 135,46; 143,32; 151,82; 158,69; 162,49.



Şekil 3.63. H24 bileşiğinin kütle spektrumu.

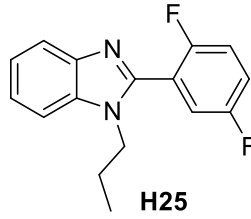


Şekil 3.64. H24 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.65. H24 bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu.

3.1.30. 2-(2,5-Difluorofenil)-1-propil-1H-benzimidazol (H25)



Verim : %85

Fiziksel özellikler : Kahverengi toz

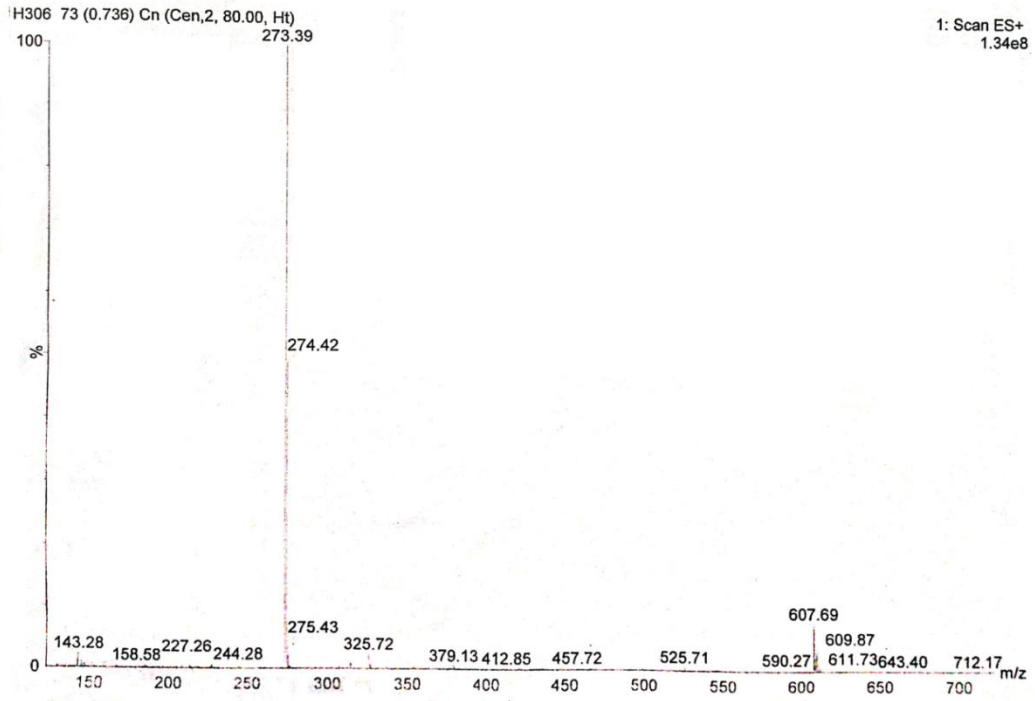
Erime noktası : above 300 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (3:1)

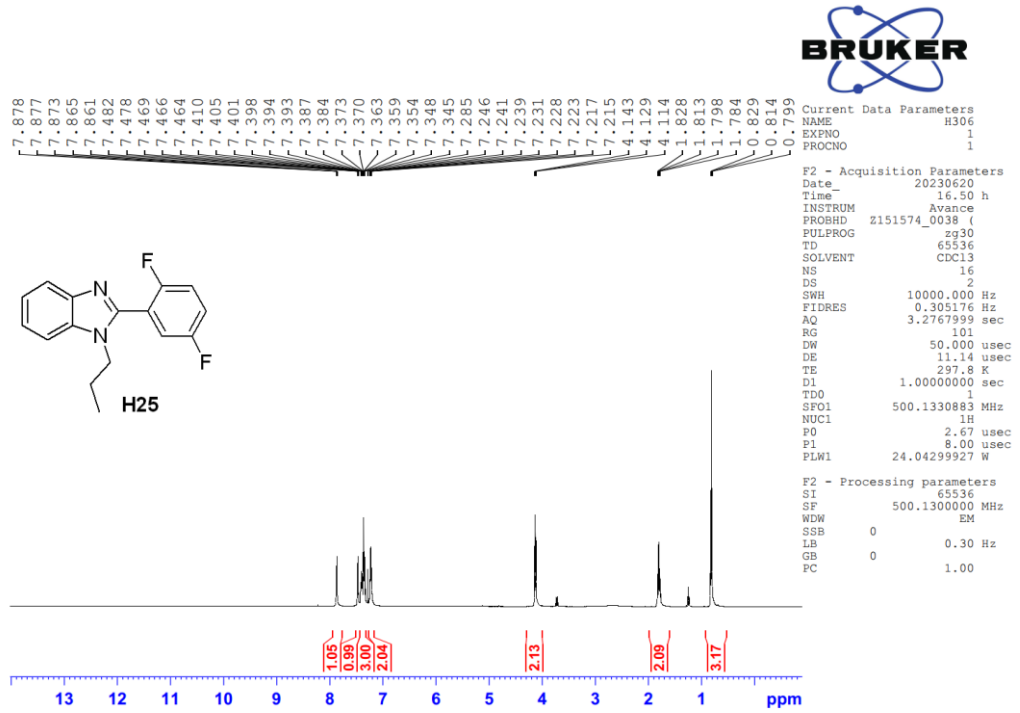
Moleküler formül : C₁₆H₁₄F₂N₂

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 273 ([M+1]⁺, 100%)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 0,81 (t, 3H, *J*= 7,4, CH₂-CH₃), 1,81 (q, 2H, *J*= 7,4, N-CH₂-CH₂), 4,13 (2H, t, *J*=7,4, N-CH₂-), 7,21-7,46 (5H, m, ArH), 7,47 (1H, dd, *J*_o=6,2, *J*_m=1,8, ArH), 7,87 (1H, dd, *J*_o=6,2, *J*_m=1,8, ArH).

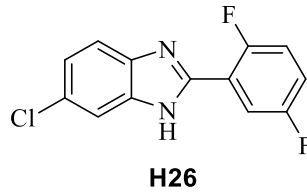


Şekil 3.66. H25 bileşiğinin kütle spektrumu.



Şekil 3.67. H25 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

3.1.31. 6-Kloro-2-(2,5-difluorofenil)-1H-benzimidazol (H26)



Verim : %80

Fiziksel özellikler : Beyaz toz

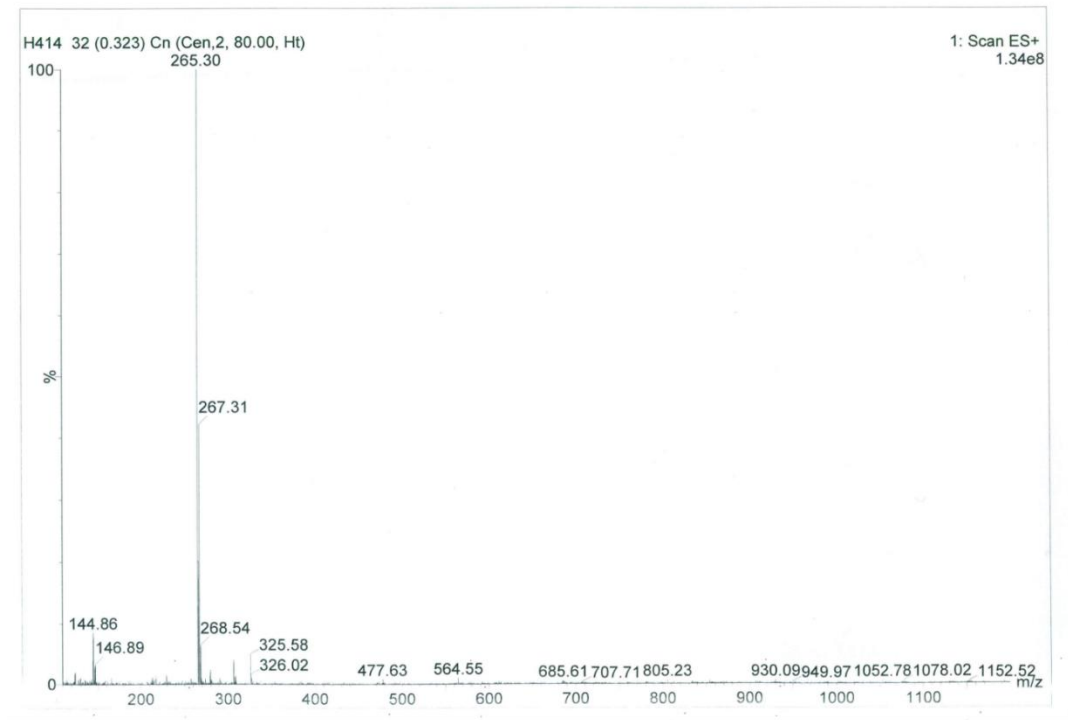
Erime noktası : 178-180 °C

Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (1:1)

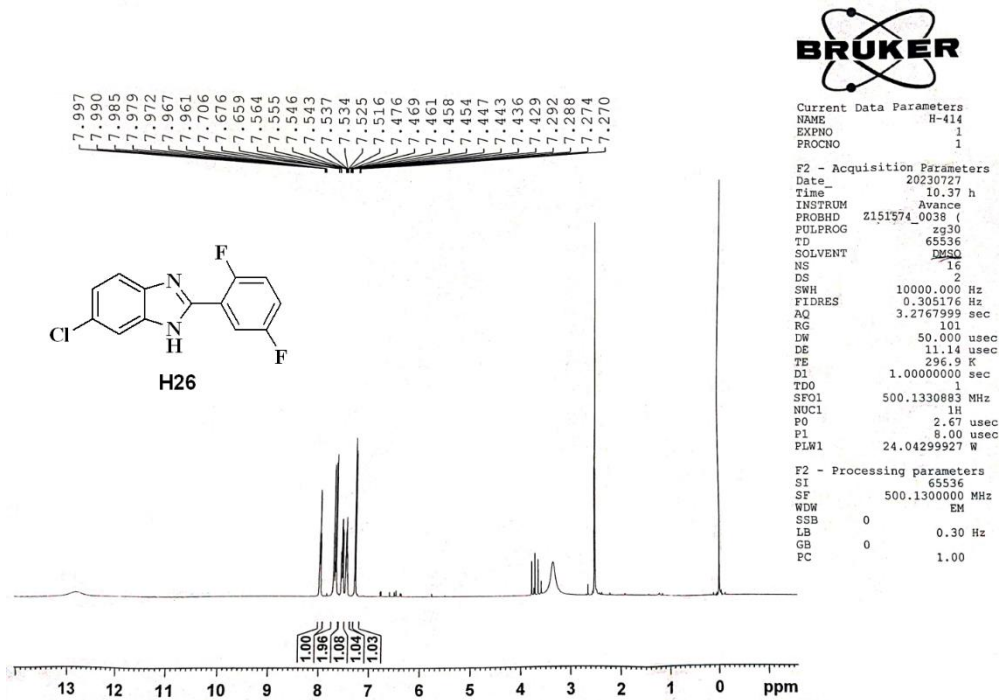
Moleküler formül : C₁₃H₇ClF₂N₂

Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 265 ([M+1]⁺, 100%), 267 ([M+3]⁺, %33)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 7,28 (dd, 1H, *J*_o=8,6, *J*_m=2,1, ArH-5), 7,43-7,48 (m, 1H, ArH), 7,51-7,56 (m, 1H, ArH), 7,67 (d, 1H, *J*=8,6, ArH-4). 7,71 (s, 1H, ArH-7), 7,96-8,00 (m, 1H, ArH), 12,8 (bs, 1H, NH).

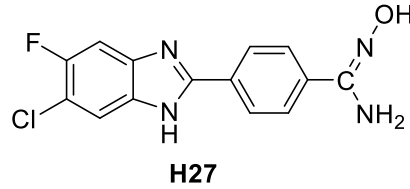


Şekil 3.68. H26 bileşiğinin kütle spektrumu.



Şekil 3.69. H26 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

3.1.32. 4-(6-Kloro-5-fluoro-1*H*-benzimidazol-2-il)-*N'*-hidroksibenzimidamid (H27)



Verim : %75

Fiziksel özellikler : Beyaz kristal

Erime noktası : 241-242 °C

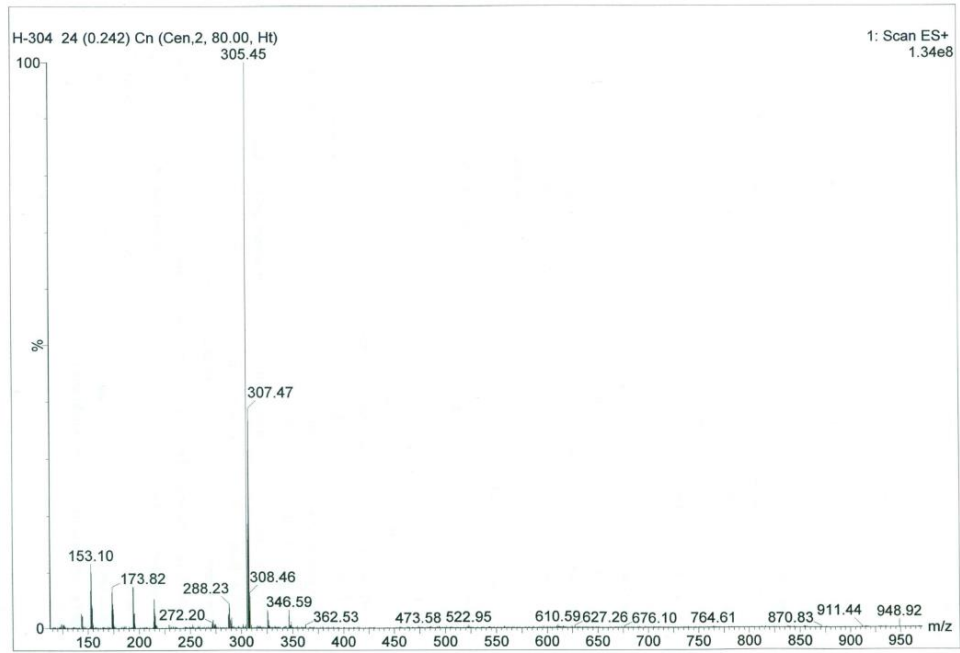
Saflaştırma yöntemi : Kolon kromatografisi; etil asetat: *n*-hekzan (1:1)

Moleküler formül : C₁₄H₁₀ClFN₄O

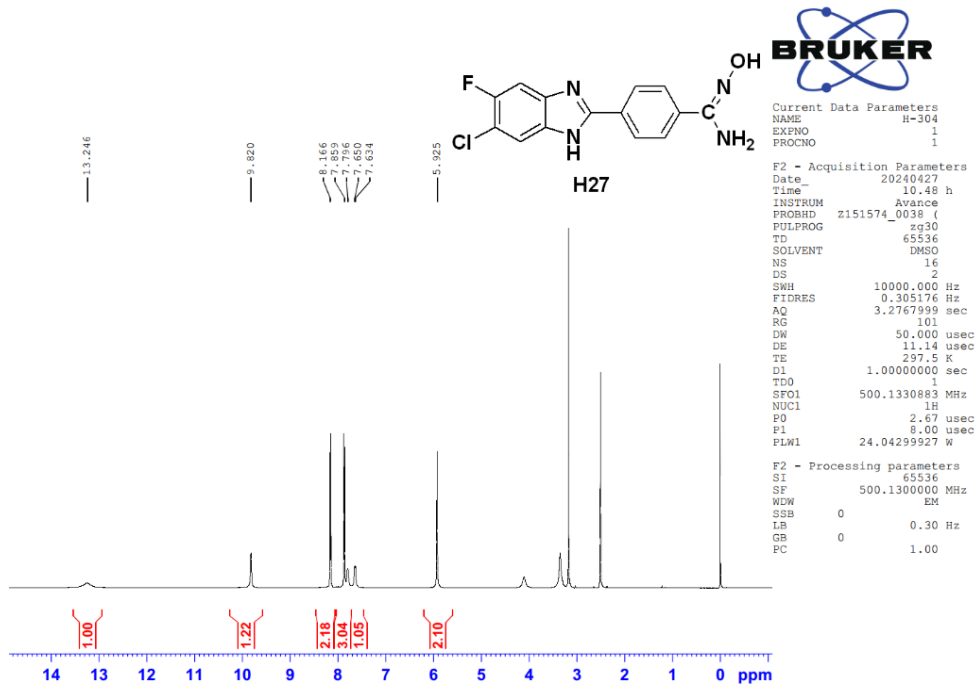
Kütle spektrumu: ESI-MS m/z: 305 ([M+1]⁺, %100), 307 ([M+3]⁺, %37)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 5,92 (s, 2H, C-NH₂), 7,64 (s, 1H, Ar*H*), 7,80 (s, 1H, Ar*H*), 7,86 (d, 2H, Ar*H*), 8,17 (d, 2H, Ar*H*), 9,82 (s, 1H, N-O*H*), 13,25 (bs, 1H, NH).

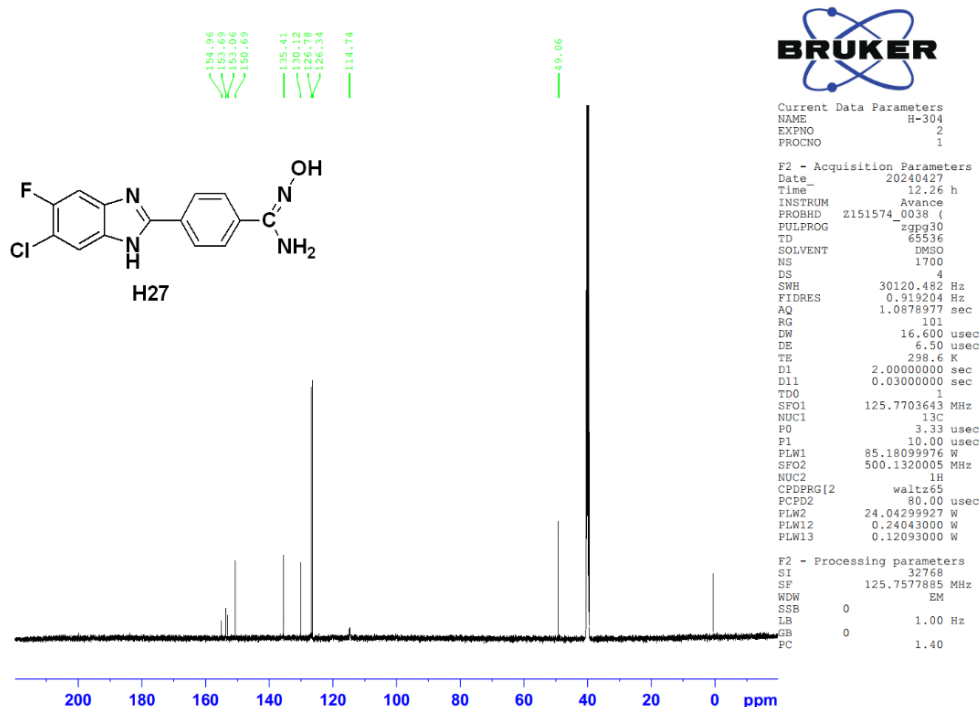
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 49,06; 114,74; 126,34; 126,78; 130,12; 135,41; 150,69; 153,06; 153,69; 154,96.



Şekil 3.70. H27 bileşiğinin kütle spektrumu.



Şekil 3.71. H27 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.72. H27 bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu.

3.2. Sentezlenen Bileşiklerin Biyolojik Aktiviteleri

3.2.1. Anti-enflamatuvar Etkinlik Tayini

3.2.1.1. İnsan Kırmızı Kan Hücre Membran Stabilizasyon Kapasitesi

Yeni sentezlenen moleküllerin anti-enflamatuvar etkinliklerini değerlendirmek amacıyla insan kırmızı kan hücre membranlarının stabilizasyon kapasiteleri ölçülmüş ve sonuçlar Tablo 3.1’de açıklanmıştır. En yüksek etkinlik %79,35 ve %78,42 stabilizasyon kapasitesi ile sırasıyla H11 ve H22’te bulunmuştur.

3.2.2. Antioksidan Etkinlik Tayini

Yeni sentezlenen moleküller ve referans maddelerin antioksidan kapasitelerini değerlendirmek için ABTS ve DPPH serbest radikallerini süpürücü etkileri ölçülmüştür.

Tablo 3.1. Yeni sentezlenen moleküller ve referans maddelerin insan kırmızı kan hücre membran stabilizasyon etkileri.

Bileşik kodu	% stabilizasyon (% koruma) 1mM	Bileşik kodu	% stabilizasyon (% koruma) 1mM
H1	40,71 ± 1,11	H14	51,74 ± 2,63
H2	37,62 ± 1,40	H15	6,33 ± 1,18
H3	11,57 ± 1,40	H16	36,88 ± 0,44
H4	29,77 ± 1,32	H17	EY
H5	22,85 ± 1,03	H18	4,12 ± 1,39
H6	28,05 ± 0,74	H19	33,10 ± 1,23
H7	22,85 ± 1,03	H20	-
H8	13,34 ± 1,04	H21	EY
H9	24,33 ± 0,56	H22	78,42 ± 0,47
H10	6,38 ± 1,55	H23	36,83 ± 0,70
H11	79,35 ± 0,31	H24	35,80 ± 1,19
H12	20,94 ± 2,11	H25	EY
H13	14,71 ± 0,90	H26	49,24 ± 0,43
İndometazin	27,38 ± 1,48	H27	14,86 ± 0,60

Deneysel çalışmalar üç tekrarlı yapılmıştır. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. EY: Etki yok.

3.2.2.1. DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi

Yeni sentezlenen moleküllerin DPPH serbest radikalini süpürücü etkileri Tablo 3.2’de gösterilmiştir. 0,1mM ve 1mM konsantrasyonlarda en yüksek inhibisyonu %20,98 ve %48,04 **H27** göstermiştir. Bu aktiviteyi sırasıyla 1mM’da %35,32 inhibisyonla **H22** takip etmiştir.

3.2.2.2. ABTS Radikal Katyon Renk Giderme Testi

Yeni sentezlenen moleküllerin ABTS serbest radikalini süpürücü etkileri Tablo 3.3’te gösterilmiştir. 0,01mM, 0,1mM ve 1mM konsantrasyonlarda en yüksek inhibisyonu %31,89; %93,02 ve %94,40 ile **H27** göstermiştir. Bu aktiviteyi 0,1mM’da %28,22 ve 1mM için %84,93’le **H22** takip etmiştir.

Tablo 3.2. Yeni sentezlenen moleküller ve referans maddelerin DPPH serbest radikalini süpürücü etkileri.

Bileşik kodu	% inhibisyon	
	1mM	0,1mM
H1	17,64 ± 0,16	EY
H2	4,15 ± 2,73	EY
H3	4,61 ± 3,70	EY
H4	31,18 ± 1,71	11,94 ± 2,88
H5	EY	EY
H6	5,70 ± 0,67	EY
H7	6,85 ± 1,04	EY
H8	5,72 ± 0,46	EY
H9	29,16 ± 1,96	1,60 ± 1,49
H10	3,64 ± 0,93	EY
H11	EY	EY
H12	EY	EY
H13	7,92 ± 0,97	EY
H14	3,10 ± 2,78	EY
H15	13,84 ± 0,78	EY
H16	19,29 ± 3,63	EY
H17	12,4 ± 1,76	EY
H18	18,76 ± 3,66	EY
H19	9,06 ± 1,11	EY
H20	-	-
H21	EY	EY
H22	35,32 ± 0,78	10,94 ± 0,91
H23	11,57 ± 3,31	EY
H24	18,62 ± 0,51	EY
H25	19,66 ± 3,69	EY
H26	24,67 ± 1,02	EY
H27	48,04 ± 1,97	20,98 ± 0,48
BHT	43,78 ± 0,15	5,74 ± 0,81
Askorbik asit	83,08 ± 0,27	54,47 ± 1,05
E-vitamini	81,05 ± 0,06	81,01 ± 0,06

Deneyssel çalışmalar üç tekrarlı yapılmıştır. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. EY: Etki yok, BHT: butilhidroksitoluen

Tablo 3.3. Yeni sentezlenen moleküller ve referans maddelerin ABTS serbest radikalini süpürücü etkileri.

Bileşik kodu	% inhibisyon		
	1 mM	0,1 mM	0,01 mM
H1	68,99 ± 2,59	18,35 ± 0,27	9,11 ± 0,74
H2	21,43 ± 1,34	EY	EY
H3	18,09 ± 2,13	EY	EY
H4	69,85 ± 1,36	21,69 ± 1,72	12,75 ± 0,89
H5	EY	EY	EY
H6	25,62 ± 3,66	EY	EY
H7	EY	EY	EY
H8	EY	EY	EY
H9	54,41 ± 0,73	12,70 ± 0,49	6,33 ± 1,27
H10	8,25 ± 1,12	EY	EY
H11	EY	EY	EY
H12	EY	EY	EY
H13	5,50 ± 0,83	EY	EY
H14	23,48 ± 0,78	EY	EY
H15	EY	EY	EY
H16	EY	EY	EY
H17	EY	EY	EY
H18	EY	EY	EY
H19	18,37 ± 1,78	EY	EY
H20	-	-	-
H21	36,94 ± 0,71	EY	EY
H22	84,93 ± 2,12	28,22 ± 1,10	EY
H23	EY	EY	EY
H24	11,47 ± 1,15	EY	EY
H25	EY	EY	EY
H26	14,91	EY	EY
H27	94,40 ± 0,07	93,02 ± 0,12	31,89 ± 0,18
BHT	94,28 ± 0,30	71,55 ± 0,76	10,97 ± 2,15
Askorbik asit	94,91	94,75 ± 0,14	61,43 ± 0,25
E-vitamini	94,16 ± 0,27	94,59 ± 0,25	94,18 ± 0,32

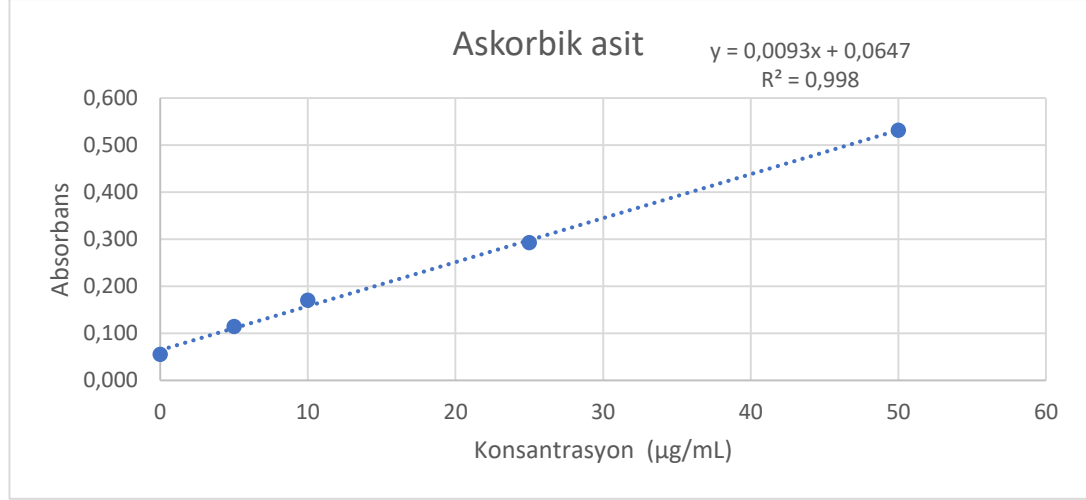
Deneyisel çalışmalar üç tekrarlı yapılmıştır. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. EY: Etki yok, BHT: butilhidroksitoluen

3.2.2.3. Total Antioksidan Kapasite Tayini

Askorbik asit için standart kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 3.73). Denklem Şekil 3.73'te gösterildiği üzere $y = 0,0093x + 0,0647$ ($R^2 = 0,998$) olarak bulunmuştur.

Numunelerin total antioksidan kapasitesi değerleri Tablo 3.4'te açıklanmıştır. En yüksek total antioksidan kapasiteye sahip molekül gram numune başına 48,33±1,47 mg AAE (Askorbik

Asite Eşdeğer) ile **H27** olarak bulunmuştur. Bunu gram numune başına $36,37 \pm 1,48$ mg AAE ile **H22** takip etmiştir. Diğer numuneler araştırılan konsantrasyonlarda hesaplanabilir bir total antioksidan kapasite değeri göstermemiştir.



Şekil 3.73. Askorbik asit standart kalibrasyon grafiği

Tablo 3.4. Yeni sentezlenen moleküllerin total antioksidan kapasitesi.

Bileşik kodu	Mg AAE / g numune
H22	$36,37 \pm 1,48$
H27	$48,33 \pm 1,47$

DeneySEL çalışmalar üç tekrarlı yapılmıştır. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir. AAE: askorbik asit eşdeğeri.

3.3. Moleküler Yerleştirme Çalışmaları

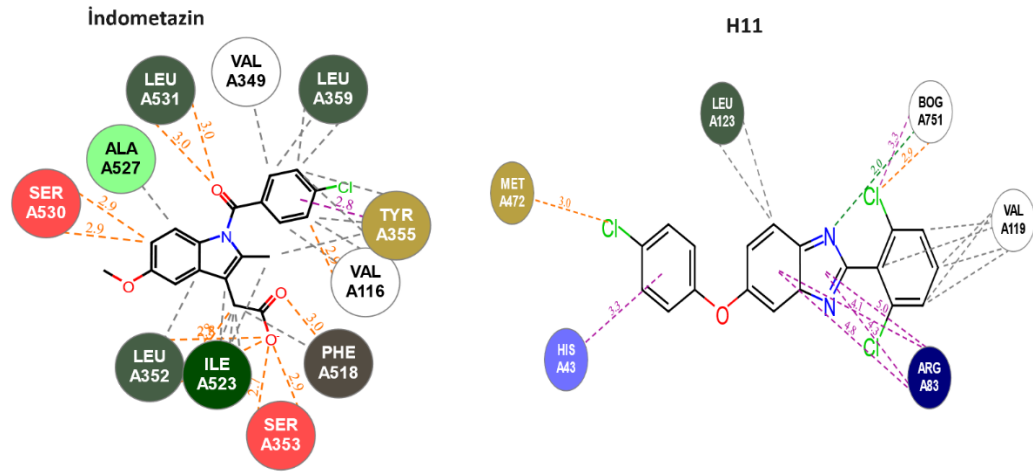
Yerleştirme çalışması Cresset Flare yazılımı kullanılarak COX-1 (PDB: 3N8Z), COX-2 (PDB: 5IKQ) ve sitokrom oksidaz (PDB: 2X08) enzimlerine karşı yapıldı ve ilgili skorlar kaydedildi, Tablo 3.5'te gösterildiği gibi.

Sentezlenen bileşikler arasında en yüksek anti-enflamatuar aktiviteyi sergileyen **H11** bileşiğinin yerleştirme çalışması, COX enzimine bağlandığında daha kararlı bir bağlanma etkileşiminin göstergesi olarak daha düşük bir enerji skoru göstermiştir (-10,01 kcal/mol). Bu hesaplamalı bulgu, laboratuvarındaki deneySEL sonuçlarla uyumludur. Şekil 3.75 ve 3.76'da gösterildiği gibi, **H11** bileşiği COX-2 enzimine indometazin ile aynı şekilde bağlanır. Ayrıca **H27** bileşiği sitokrom oksidaz ile yerleştirildiğinde yüksek antioksidan aktivite ve düşük enerji skoru (-8,02 kcal/mol) ile yüksek kararlılıkta bağlanma göstermektedir

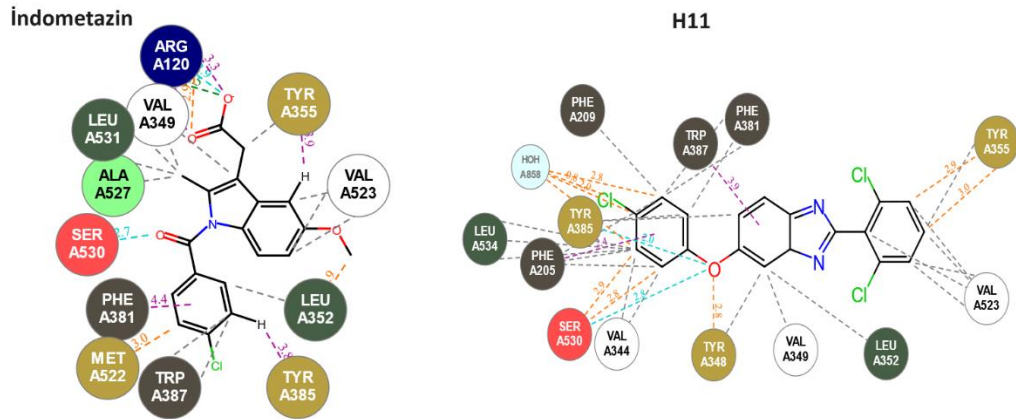
Tablo 3.5. Sentezlenen bileşiklerin COX-1, COX-2 ve sitokrom oksidaza karşı yerleştirme enerji skoru.

Bileşik kodu	Yerleştirme skoru (kcal/mol)		
	COX-1 (3N8Z)	COX-2 (5IKQ)	Sitokrom oksidaz (2X08)
A FLP 701	-9,81	-	-
A JMS 602	-	-9,24	-
Diklofenak	-5,14	-9,21	-
İndometazin	-6,88	-7,98	-
Aspirin	-4,60	-5,31	-
A ASC 1253	-	-	-5,59
H1	-6,70	-7,71	-6,00
H2	-6,51	-9,81	-5,96
H3	-10,15	-10,02	-6,51
H4	-5,76	-7,57	-6,07
H5	-5,26	-8,14	-5,55
H6	-6,86	-11,14	-6,84
H7	-9,36	-8,06	-5,70
H8	-7,57	-8,80	-6,27
H9	-7,23	-9,25	-6,77
H10	-7,11	-8,54	-5,92
H11	-6,69	-10,01	-6,77
H12	-6,88	-9,83	-7,37
H13	-9,32	-8,90	-6,19
H14	-9,10	-8,60	-5,96
H15	-9,26	-8,29	-5,79
H16	-9,00	-8,80	-5,97
H17	-9,63	-9,52	-6,11
H18	-9,93	-9,60	-6,04
H19	-5,75	-6,14	-5,07
H20	-7,41	-9,55	-6,66

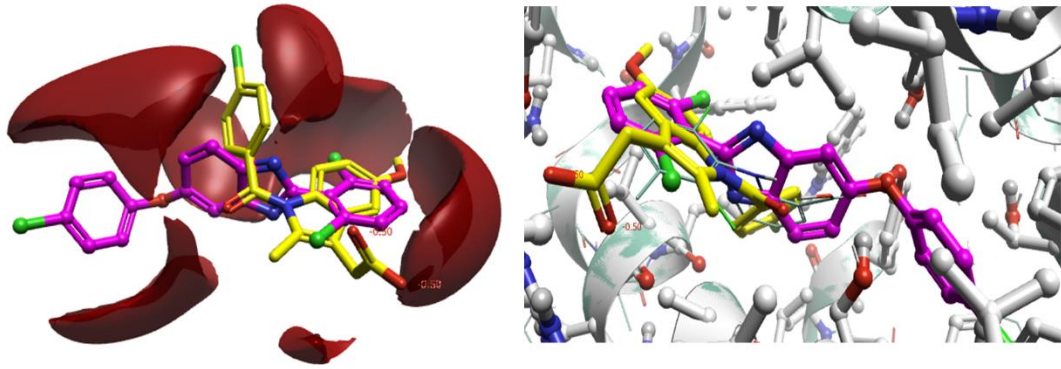
H21	-7,13	-8,54	-6,72
H22	-7,22	-6,40	-7,34
H23	-6,11	-11,24	-6,55
H24	-8,54	-7,93	-5,04
H25	-8,49	-7,90	-4,62
H26	-8,05	-6,98	-4,99
H27	-6,88	-5,30	-8,02



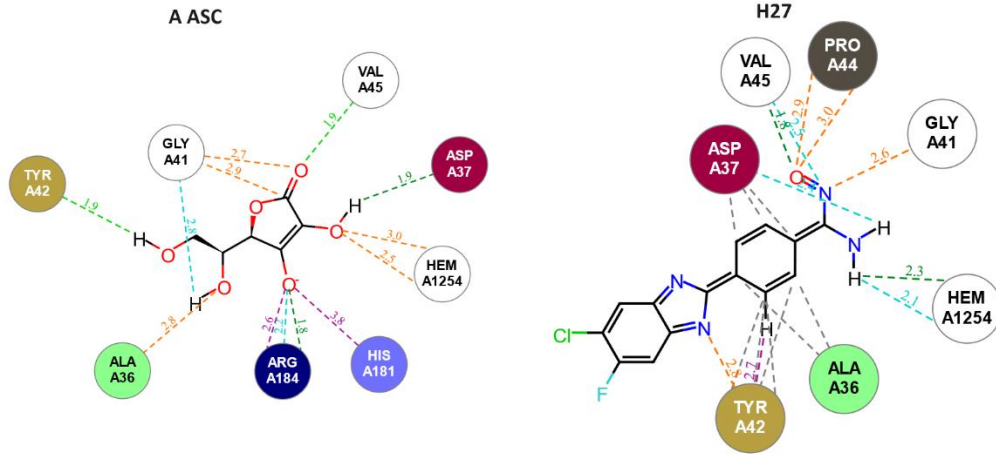
Şekil 3.74. H11 bileşiği ve standart indometazin COX-1(PDB: 3N8Z) enzimi ile 2D etkileşimleri.



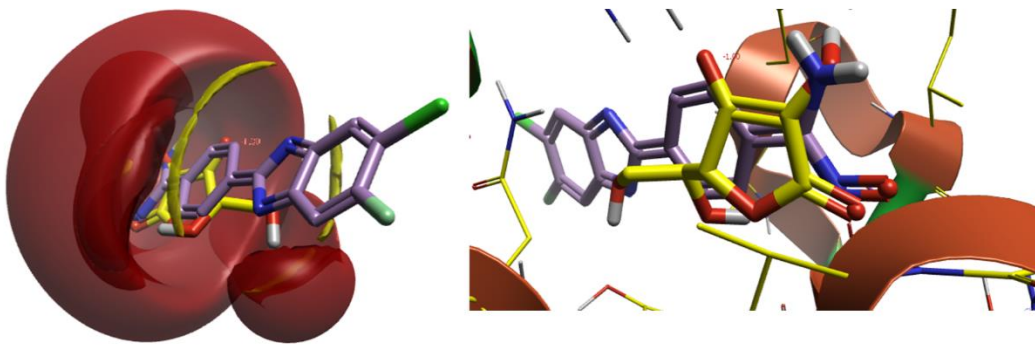
Şekil 3.75. H11 bileşiği ve standart indometazin COX-2 (PDB: 5IKQ) enzimi ile 2D etkileşimleri.



Şekil 3.76. H11 bileşiği ve standart indometazin COX-2 (PDB: 5IKQ) enzimi ile 3D etkileşimleri. Bileşik H11 pembe renkte, indometazin sarı renkte.



Şekil 3. 77. H27 bileşiği ve standart askorbik asit Sitokrom oksidaz (2X08) enzimi ile 2D etkileşimleri.



Şekil 3.78. H27 bileşiği ve standart askorbik asit sitokrom oksidaz (2X08) enzimi ile 3D etkileşimleri. Bileşik H27 mor renkte, askorbik asit sarı renkte.

3.4. İlaç Benzerlik Çalışmaları

Lipinski kurallarına dayalı olarak farmakokinetik parametrelerinin tahmini açısından, bileşiklerin daha ileri değerlendirilmesi ve SwissADME programı kullanılarak hesaplamalı ilaç benzerlik çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Tablo 3.6'de özetlenmiştir.

Tablo 3.6. İncelenen bileşiklerin ilaç benzerlik değerlendirmesi.

Bileşik	Molekül ağırlığı (g/mol)	LogP	TPSA (Å²)	HBDs	HBAs	n-rotb	Log S	GI abs.	Lipinski Kuralı
H1	330,38	4,14	47,14	1	3	5	-5,13	Yüksek	Evet; 0 violation
H2	330,38	4,12	47,14	1	3	5	-5,07	Yüksek	Evet; 0 violation
H3	336,33	4,74	37,91	1	4	4	-5,31	Yüksek	Evet; 1 violation
H4	325,36	3,93	61,70	1	3	4	-5,00	Yüksek	Evet; 0 violation
H5	344,36	3,79	75,21	2	4	5	-4,91	Yüksek	Evet; 0 violation
H6	369,24	5,17	37,91	1	2	4	-6,19	Yüksek	Evet; 1 violation
H7	350,80	4,65	47,14	1	3	4	-5,70	Yüksek	Evet; 0 violation
H8	350,80	4,69	47,14	1	3	4	-5,76	Yüksek	Evet; 0 violation
H9	380,82	4,67	56,37	1	4	5	-5,75	Yüksek	Evet; 0 violation
H10	380,82	4,64	56,37	1	4	5	-5,75	Yüksek	Evet; 0 violation
H11	389,66	5,71	37,91	1	2	3	-6,81	Düşük	Evet; 1 violation
H12	389,66	5,65	37,91	1	2	3	-6,81	Düşük	Evet; 1 violation
H13	356,75	5,28	37,91	1	4	3	-5,95	Düşük	Evet; 1 violation
H14	310,70	4,65	17,82	0	4	2	-4,89	Yüksek	Evet; 1 violation

H15	306,72	3,69	47,14	1	4	3	-4,48	Yüksek	Evet; 0 <i>violation</i>
H16	306,72	3,71	47,14	1	4	3	-4,48	Yüksek	Evet; 0 <i>violation</i>
H17	315,56	4,79	28,68	1	2	1	-5,55	Yüksek	Evet; 1 <i>violation</i>
H18	315,56	4,76	28,68	1	2	1	-5,55	Yüksek	Evet; 1 <i>violation</i>
H19	366,22	4,12	41,15	1	3	2	-5,12	Yüksek	Evet; 0 <i>violation</i>
H20	366,22	4,06	41,15	1	3	2	-5,12	Yüksek	Evet; 0 <i>violation</i>
H21	361,36	3,93	30,29	0	5	3	-4,48	Yüksek	Evet; 0 <i>violation</i>
H22	441,33	5,20	35,16	1	2	3	-6,81	Yüksek	Evet; 1 <i>violation</i>
H23	389,23	5,87	17,82	0	3	3	-6,53	Düşük	Evet; 1 <i>violation</i>
H24	296,36	3,54	36,28	0	3	5	-4,29	Yüksek	Evet; 0 <i>violation</i>
H25	272,29	4,22	17,82	0	3	3	-4,49	Yüksek	Evet; 1 <i>violation</i>
H26	264,66	4,04	28,68	1	3	1	-4,54	Yüksek	Evet; 0 <i>violation</i>
H27	304,71	2,97	87,29	3	4	2	-4,02	Yüksek	Evet; 0 <i>violation</i>

4. TARTIŞMA

Bu tez çalışması kapsamında 27 orijinal 6/2-sübstitüe-1*H*-benzimidazol türevleri (**H1-H27**) sentezlenmiş ve anti-enflamatuar ve antioksidan aktiviteleri açısından incelenmiştir.

Tasarlanan **H1-H13** bileşiklerini elde etmek için, 5-kloro-2-nitroanilin, 5. pozisyonundan, aromatik nükleofilik sübstitüsyon reaksiyonu yoluyla 4-kloro-fenol veya benzil alkol ile sübstitüe edildi, böylece; 5-(4-klorofenoksi)-2-nitroanilin (**4**) veya 5-(benziloksi)-2-nitroanilin (**5**) elde edildi ve bu ürünler etanolden kolayca kristallendirildi. İTK çalışmalarında, başlangıç bileşiği olan, 5-kloro-2-nitroanilin ile **4** ve **5**. bileşikler, aynı Rf değerinde gözlemlendi, bu nedenle yayınlanan verilere göre erime noktaları ile maddeler doğrulandı. 5-(Sübstitüe)-2-nitroanilin, hidrojen kaynağı olarak konsantre HCl varlığında SnCl₂ kullanılarak redüklendi, reaksiyonun sonucu kahverengi veya turuncu rengin kaybolması ile belirlenmiştir. Reaksiyon ortamı nötralize edildi ve ürün etil asetat ile ekstrakte edildi. Redüklenen bileşik **6** ve **7**'nin kararsızlığı nedeniyle, bu bileşikler etil asetatın düşük basınç altında buharlaştırılmasından sonra saflaştırılmadan, bir sonraki basamak için kullanıldı. Bileşik **6** veya **7**, sübstitüe benzaldehitlerin sodyum metabisülfid tuzları ile benzimidazol türevlerini **H1-H13** sentezlemek için reflüks edildiler. Tasarlanan sonuç ürünler, mobil fazda çeşitli çözücü sistemler kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldılar.

5-Kloro-4-fluoro-2-nitro-*N*-(sübstitüe)-anilin **10** bileşiği **H14-18** bileşiklerini sentezlemek için kullanıldı. Nitro grubu SnCl₂/HCl sistemi kullanılarak oda sıcaklığında redüklendi. Redüklenen bileşik kararsız olduğundan, bir sonraki reaksiyon olan kondenzasyon reaksiyonu için mümkün olan en kısa sürede saflaştırılmadan kullanıldı. Bileşik **10**'daki klor atomu, **H19-H21** bileşiklerini oluşturmak için morfolin veya 1-fenilpiperazin ile nükleofilik sübstitüsyon reaksiyonu ile değiştirildi, bileşik **14** ve **15**, hidroklorik asit varlığında, katalizör olarak kalay (II) klorür kullanılarak redüklendi. Redüklenen ürünler, **16** ve **17** kararsız olduğundan saflaştırılmadan bir sonraki adım olan kondensasyon reaksiyonunda kullanıldı.

H23 bileşiği, başlangıç bileşiği olarak 2,4-dikloro-1-nitrobenzen **18**'den sentezlendi. Bileşik **18** in, 2. pozisyonundaki klor atomu aromatik nükleofilik yer değiştirme reaksiyonu ile (4-klorofenil) metanamin ile yer değiştirmiş, ardından nitro grubu yukarıda anlatıldığı gibi önce SnCl₂/HCl kullanılarak redüklendi ve ilave saflaştırma işlemleri uygulanmadan ilgili benzaldehitlerin sodyum meta bisülfid tuzu ile yoğunlaştırma reaksiyonu ile sentezlenmiştir.

1-Kloro-2-nitrobenzen **23**, anhidr K_2CO_3 varlığında propilamin ile süstitüe edilmiştir. Elde edilen ürün **24**, redüklenmiş ve ilgili süstitüe benzaldehitin sodyum metabisülfid tuzu ile yoğunlaştırılarak **H24** ve **H25** bileşikleri elde edilmiştir.

H26 Bileşiğı, 4-klorobenzen-1,2-diamin **26**, DMF içinde, 2,5-difluorobenzaldehit sodyum metabisülfid tuzu **22** ile doğrudan yoğunlaştırılmış ve katı ürün oluşumunu sağlamak için soğuk suya dökülmüş ve kolon kromatografisi ile saflaştırılarak elde edilmiştir.

Amidoksim türevi **H27**, 4-(6-kloro-5-floro-1*H*-benzimidazol-2-il)benzonitril **29**'dan sentezlenmiştir; bileşik **11** ile 4-siyanobenzaldehit sodyum metabisülfid tuzunun **28**, kondensasyon reaksiyonu sonucu bileşik **29** elde edilmiştir. 4-(6-Kloro-5-fluoro-1*H*-benzimidazol-2-il)benzonitril **29**, oda sıcaklığında hidroksilamonyum klorür ve potasyum tert-butoksit ile reaksiyona sokularak **H27** bileşiğı sentezlenmiştir. Potasyum tert-butoksit, hidroksilaminin in situ oluşumuna izin verir.

Anlatıldığı üzere,²⁷ yeni nihai ürün sentezlendi, sentezlenen bileşiklerin saflık kontrolleri İTK ve erime noktası kullanılarak kontrol edildi ve tahmini kimyasal yapıları 1H -NMR, ^{13}C -NMR ve kütle spektral analizleri kullanılarak doğrulandı.

Sentezlenen bileşiklerin 1H -NMR spektrumları tasarlanan kimyasal yapılarla uyumludur. Spektrumlardaki entegre protonların sayısı her durumda beklenen proton sayısıyla eşleşmiştir. Bileşiklerin spektrumları, sırasıyla DMSO-*d*₆ ve H₂O protonlarının artık çözücü piklerine karşılık gelen δ 2,5 ve δ 3,35'te rezonansa giren iki sinyal göstermiştir.

Benzimidazol halkasındaki iki nitrojen arasındaki hidrojenin tautomerizasyon etkisi nedeniyle, bazı proton ve karbon sinyalleri geniş pikler olarak ortaya çıkar ve hatta bazı karbon sinyalleri süstitüe edilmemiş analogların NMR spektrumlarında gözlemlenemez. Bu nedenle, süstitüe olmamış türevlerin proton ve karbon NMR spektrumlarında, piklerin görünümünü netleştirebilmek için trifloroasetik asit kullanılmıştır. (Altaib vd., 2023)

1H -NMR spektrumları incelendiğinde, 6-süstitüe benzimidazol türevlerindeki tüm benzimidazol halka protonları aynı aralıkta ve aynı şekilde ortaya çıkmıştır; H-4 δ 7,54-7,97 ppm aralığında *doublet* olarak, H-5 δ 7,25-7,37 ppm aralığında *doublet doublet* olarak ve H-7 δ 6,87-7,53 ppm aralığında *doublet singlet* olarak gözlenmiştir. Buna karşılık, 5,6-disüstitüe benzimidazol türevleri (**H14-H22**, **H27**), 5. pozisyondaki fluor atomunun varlığı nedeniyle 4. pozisyonda hidrojen ile bölünme göstermiştir.

Benzimidazol halkasının NH protonu için δ 10,30 ila 15,40 ppm arasında değişen, önemli bir düşük alan kayması gözlemlenmekte ve *yayvan singlet* sinyal olarak görünmektedir. Ancak bu pik 1N -süstitüe olan bileşikler için mevcut değildir.

Bileşiklerin (**H1-H6**) spektrumları δ 5,16-5,30 ppm aralığında 6-benziloksi parçasının (-OCH₂-) iki protonuna karşılık gelen *singlet* pik sergilemiş, ayrıca aromatik bölgede benziloksi parçasına karşılık gelen beş hidrojen göstermiştir.

6-(4-Klorofenoksi) türevlerinin (**H7-H13**) 1H -NMR spektrumlarında dört proton iki *doublet doublet* pik olarak görülmüştür; 2", 6" pozisyonundaki eşdeğer protonlar ve 3", 5" pozisyonundaki eşdeğer protonlar sırasıyla 7,09-7,45 ppm ve 7,43-8,16 ppm arasında değişmektedir.

2-(4-Süstitüe fenil) türevlerinin (**H1, H4, H5, H8**) 1H -NMR spektrumları dört aromatik proton göstermiştir; δ 7,26-8,45 ppm arasında değişen 2' ve 6' pozisyonundaki eşdeğer protonlar için *doublet doublet* ve δ 7,08-8,19 ppm arasında değişen 3' ve 5' pozisyonundaki eşdeğer protonlar için *doublet doublet* olarak gözlenmiştir.

2-(2-Süstitüe fenil) türevlerinin (**H2, H7**) 1H -NMR spektrumları dört aromatik proton sergilemiştir: δ 7,10-8,30 ppm aralığında *doublet doublet*, *triplet*, *triplet* ve *doublet doublet* pikleri.

2-(2,5-Difluorofenil) türevlerinin spektrumlarında (**H3, H13, H14, H21, H23, H25, H26**) üç proton *multiplet* olarak ortaya çıkmıştır ve bu protonlar fluorun elektron çeken grubu nedeniyle aşağı alana kaymıştır.

2-(2,6 veya 2,4-Diklorofenil) türevlerinin (**H6, H11, H12, H17, H18, H19, H20, H22**) 1H -NMR spektrumları, δ 7,28-7,99 ppm aralığında klor atomunun varlığı nedeniyle aşağı alana kaymış üç aromatik proton sergilemiştir. 2-(2,4- veya 3,4-Dimetoksifenil) türevleri (**H9, H10, H15, H16, H24**) spektrumları, elektron verici metoksi grubunun varlığı nedeniyle δ 6,70-7,98 ppm arasında değişen üç korunan hidrojen göstermiştir.

1N -Etil süstitüe türevleri (**H14, H21**) beklenen tüm alifatik C-H protonlarını göstermiş, CH₃'ün en korumalı protonları δ 1,22 ppm'de *triplet* sinyal, elektron çeken benzimidazol azot atomuna yakınlığı nedeniyle en korumasız alifatik C-H'ye (ArNCH₂) karşılık gelen δ 4,20 ppm'de *quartet* sinyal olarak görünür hale gelmiştir.

¹N-Propil sübstitüe türevler (**H24**, **H25**) alifatik bölgede üç farklı pik göstermiştir; δ 0,66-0,81 ppm'de *triplet* (üç hidrojen), δ 1,60-1,81 ppm'de *multiplet* (iki hidrojen) ve δ 3,98-4,13 ppm'de N-CH₂ protonu için en korumasız triplet pik olarak gözlenmiştir.

¹H-NMR spektrumlarındaki bileşikler (**H19**, **H20**, **H21**), (-NCH₂-)'nin dört eşdeğer protonu için δ 3,10 ppm'de ve (-OCH₂-)'nin dört eşdeğer protonu için δ 3,78-3,92 ppm aralığında morfolin parçasının alifatik C-H'sini göstermiştir.

¹H-NMR spektrumundaki bileşikler (**H22**), piperazin parçasının sekiz alifatik C-H hidrojenine karşılık gelen δ 3,41-3,65 ppm arasında değişen alifatik C-H protonu göstermiştir.

Genel olarak, tüm bileşiklerdeki ¹³C NMR spektrumları, incelenen bileşikler için önerilen kimyasal yapılarla ve benzimidazol türevlerinin rapor edilen verileriyle uyumludur ve çalışmanın başarısını gösterir. 39,4 ve 164,2'deki sinyaller sırasıyla DMSO-*d*6 ve Trifloroasetik asit-*d*'nin çözücü piklerine karşılık gelmektedir.

Sentezlenen bileşiklerin kütle spektrumları Elektrosprey İyonizasyon (ESI) yöntemi ile elde edilmiştir. Tüm bileşikler pozitif iyonizasyon tekniği ile iyonize edilmiş, bazı bileşikler %100 bağıl bolluğa sahip moleküler iyon (M⁺) piki gösterirken, çoğu bileşik (M+1) iyonları şeklinde pik göstermiştir. Klor atomu içeren bileşiklerin izotoplarının bağıl bollukları 3:1 oranında M⁺ ve M+2 olarak bulunmuştur. 2 klor taşıyan bileşiklerde izotopların bağıl bollukları 10:6:1 oranında ve M⁺, M+2, M+4 pikleri olarak gözlenmiştir. 3 Klor atomu taşıyan bileşiklerde izotopların bağıl bollukları 27:27:9 oranında ve M⁺, M+2 ve M+4 pikleri şeklinde gözlenmiştir. (Ender, 2020)

Yeni sentezlenen bileşiklerin anti-enflamatuar etkisi, insan kırmızı kan hücresi membranlarının stabilizasyon kapasitesi kullanılarak değerlendirildi; **H11** ve **H22** bileşikleri sırasıyla %79,35 ve %78,42 stabilizasyon kapasitesi ile en yüksek aktiviteye sahiptir. **H11** ve **H22** bileşiklerinin her ikisi de 2-(2,6-diklorofenil)-1*H*-benzimidazol yapısı taşımaktadır. %27,38 İnhibisyon gösteren, standart anti-inflamatuar ilaç indometazin ile karşılaştırıldığında en yüksek anti-inflamatuar etkileri göstermişlerdir. Diğer türevler ise; **H1**, **H2**, **H4**, **H14**, **H16**, **H19**, **H23**, **H24** ve **H26** (sırası ile, %40,71; %37,62; %29,77; %51,74; %36,88; %33,10; %36,83; %35,80; %49,24) tipik indometazinden (%27,38) daha yüksek etki sergilemişlerdir.

COX-2 enzimine karşı yapılan yerleştirme çalışması, **H11** bileşiğinin indometazinden (-7,98 kcal/mol) daha düşük bir enerji skoru (-10,01 kcal/mol) gösterdiğini ortaya koymaktadır; bu da **H11**'in COX-2 enzimine bağlandığında daha kararlı bir bağlanma etkileşimine işaret

etmektedir. Bu hesaplamalı bulgu, laboratuvarındaki deneysel sonuçlarla uyumludur. **H11** bileşiği COX-2 enzimine indometasin ile aynı şekilde bağlanır, Try 355, Val 523, Val 349, Val 344, Leu 352, Tyr 348, Ser 530, Phe 205, Tyr 385, Leu 534, Phe 209, Trp 387, Phe 381 ile bağ oluşturur. (Kiefer vd., 2000; Smith vd., 2000; Thuresson vd., 2001) COX için en gerekli yedi kalıntının; siklooksijenaz katalizinin hız sınırlayıcı adımı olan araşidonatın 13-pro-S-hidrojeninin soyutlanmasını başlatmak için gerekli tirozil radikalini sağlayan Tyr 385 rezidüsü olduğunu göstermiştir; Tyr 348 ve Gly 533, hidrojen abstraksiyonu için araşidonatın C13'ünü yönlendirmek için çok önemli olan araşidonik asit ile hidrofobik etkileşimlerde yer alır. Son olarak, Val 349, Trp 387 ve Leu 534 kalıntıları, araşidonatın mümkün olan en iyi düzenlemede PGG₂ üretmek için nasıl yönlendirileceğini kontrol eder. Bu bulgular, **H11** bileşiğinin COX-2 enziminin işlevi için gerekli anahtar amino asitlere bağlandığını ve PG üretimini baskılayabildiğini göstermektedir. Ayrıca **H11**, indometazin gibi Arg 120 amino asidine bağlanamaz, bu da **H11**'in COX-1'den ziyade COX-2 için seçici olabileceğini gösterir, çünkü Thuresson'un çalışmasına göre Arg-120'nin guanidinyum grubu, araşidonik asidin COX-1'e yüksek afiniteli bağlanması için önemlidir ancak COX-2'ye değil. (Thoreson vd., 2001)

Ayrıca **H11**, COX enziminin geri dönüşümsüz inhibisyonundan sorumlu olan Ser 530 amino asidi ile bir bağ oluşturur, COX enzimindeki Serin 530'un asetillenmesi, enzimin araşidonik asidi oksitleme kapasitesini inhibe eder. (Mancini vd., 1994) Bunun yanında, aktif bölge boşluğunun derin ucunda bulunan COX-2'nin hidrofobik "cebinin" bileşeni olan valin (Val 523) amino asidi ile bağlanır ve Ahmadi vd., (2022) tarafından bildirildiği gibi COX-1 enziminden daha büyüktür. Büyük boyutu nedeniyle **H11**, COX-2 enzimindeki bu büyük cebe girebilir, ancak COX-1'e giremez, bu nedenle **H11** bileşiği etkili, seçici ve güvenli COX-2 inhibitörlerinin geliştirilmesi için başlangıç noktası olarak düşünülebilir.

H27 bileşiği 0,1 mM ve 1 mM konsantrasyonlarında sırasıyla %20,98 ve %48,04 ile en yüksek DPPH serbest radikal süpürücü etkiye sahip olmuştur. Bu aktiviteyi 1 mM'da %35,32 inhibisyon gösteren **H22** takip etmiştir. BHT standart olarak kullanılmış ve 1 mM konsantrasyonda %43,78 ve 0,1 mM konsantrasyonda %5,74 inhibisyon göstermiştir. Sentezlenen moleküllerin ABTS serbest radikali üzerindeki süpürücü etkileri, **H27**'nin 0,01 mM, 0,1 mM ve 1 mM konsantrasyonlarında sırasıyla %31,89; %93,02 ve %94,40 ile en yüksek inhibisyonu gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu aktiviteyi 0,1 mM'de %28,22 ve 1 mM'de %84,93 ile **H22** takip ederken, BHT 1mM'de %94,28; 0,1 mM'de %71,55 ve 0,01 mM'de %10,97 inhibisyona uğramıştır. **H27**, gram numune başına 48,33 mg AAE ölçerek en yüksek toplam antioksidan kapasiteye sahip olmuştur. **H22**'nin gram numune başına 36,37

mg AAE'ye sahip olduğu bulunmuştur. **H27** bileşiğı, -5,59 kcal/mol değerine sahip askorbik asit ile karşılaştırıldığında sitokrom oksidaz enzimi ile yerleştirildiğı zaman yüksek antioksidan aktivite ve düşük enerji skoru (-8,02 kcal/mol) ile yüksek stabilite bağlanması göstermiştir. **H22** bileşiğı -7,34 kcal/mol göstermiştir. **H27** bileşiğı Val 45, Pro 44, Gly 41, Asp 37, Hem 125, Ala 36 ve Tyr 42 ile bağ oluşturur. Askorbik asit ile aynı bağlanma bölgesine bağlanır.

Tüm bileşikler Lipinski'nin beş kuralı ve Veber'in parametreleri ile tam bir uyum içinde olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, iyi bir GI absorpsiyon ve iyi bir oral biyoyararlanıma sahip oldukları önerilmektedir. Ayrıca, bileşiklerin Lipinsk kural parametrelerinin ve Veber'in parametrelerinin değerleri, bileşikleri bu kuralların büyük ihlalleri olmaksızın daha fazla modifikasyon için iyi bir aday haline getiren en düşük aralıklardadırlar. Tüm bu bulgularla, bileşiklerin ilaç keşif projeleri için umut verici ve potansiyel öncü bileşikler olarak tasarlanabileceğı öngörülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, 27 yeni 6(5)/2-sübstitüe-1*H*-benzimidazol türevleri (**H1-H27**) sentezlenmiş ve beklenen kimyasal yapılar ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve kütle spektral analizleri kullanılarak doğrulanmıştır. Sentezlenen bileşikler, insan kırmızı kan hücresi membranlarının stabilizasyon kapasitesi ölçülerek anti-enflamatuar ve DPPH, ABTS ile toplam antioksidan kapasite yöntemleri kullanılarak antioksidan aktiviteler açısından incelenmiştir.

H11 ve **H22**, sırasıyla %79,35 ve %78,42 inhibisyon ile insan kırmızı kan hücresi membranlarının stabilizasyon kapasitesinde en yüksek aktiviteye sahip olarak belirlenmiştir.

H27 bileşiği, yeni sentezlenen bileşikler arasında DPPH serbest radikal süpürmede en büyük inhibisyonu göstermiştir (%48,04). Bu aktiviteyi %35,32 inhibisyon ile **H22** takip etmiştir.

Yeni sentezlenen bileşiklerin ABTS serbest radikalleri üzerindeki süpürücü etkileri incelendiğinde, en güçlü inhibisyonu %94,40 ile **H27** bileşiği göstermiş ve bileşik **H22** de (%84,93) takip etmiştir. **H27**, gram numune başına 48,33±1,47 mg AAE ölçekle, en yüksek toplam antioksidan kapasiteye sahip olmuştur.

Sentezlenen bileşikler arasında en güçlü anti-enflamatuar etkiye sahip olan **H11** bileşiğinin yerleştirme araştırması, COX enzimine bağlandığında daha kararlı bir bağlanma ilişkisine işaret eden düşük bir enerji skoruna (-10,01 kcal/mol) sahiptir. Sitokrom oksidaz ile yerleştirildiğinde, **H27** bileşiği güçlü antioksidan aktivite ve bağlanma stabilitesinin yanı sıra düşük enerji skoru (-8,02 kcal/mol) sergilemektedir.

Önerimiz; **H11**'in anti-enflamatuar aktivitesinin altında yatan mekanizmayı aydınlatmak için moleküler seviyede ek çalışmalar yapılmalıdır. Farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri iyileştirmek ve optimum aktiviteye sahip analoglar elde etmek için **H11** ve **H27**'nin daha fazla kimyasal optimizasyonu yapılmalıdır.

COX enzimlerine karşı aktiviteyi araştırmak ve en aktif bileşiklerin farmakodinamik ve toksikolojik profillerini değerlendirmek için *in-vivo* farmakolojik ve toksikolojik çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abdelgawad, M. A., Bakr, R. B., Ahmad, W., Al-Sanea, M. M., & Elshemy, H. A. H. (2019). New pyrimidine-benzoxazole/benzimidazole hybrids: Synthesis, antioxidant, cytotoxic activity, in vitro cyclooxygenase and phospholipase A2-V inhibition. *Bioorganic Chemistry*, 92, 103218. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103218>
- Abdel-Jalil, R. J. and Voelter, W. (2005a). Synthesis of new 2-ferrocenyl-5-fluoro-6-(4-substituted-1-piperazinyl)-1H- benzimidazoles of potential biological interest. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 42(1), 67–71. <https://doi.org/10.1002/jhet.5570420109>
- Abdel-Jalil, R. J. and Voelter, W. (2005b). Synthesis of new 2-ferrocenyl-5-fluoro-6-(4-substituted-1-piperazinyl)-1H- benzimidazoles of potential biological interest. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 42(1), 67–71. <https://doi.org/10.1002/jhet.5570420109>
- Abraham, R., Prakash, P., Mahendran, K., & Ramanathan, M. (2018). A novel series of N-acyl substituted indole-linked benzimidazoles and naphthoimidazoles as potential anti inflammatory, anti biofilm and anti microbial agents. *Microbial Pathogenesis*, 114, 409–413. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.021>
- Achar, K. C. S., Hosamani, K. M., & Seetharamareddy, H. R. (2010). In-vivo analgesic and anti-inflammatory activities of newly synthesized benzimidazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(5), 2048–2054. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.01.029>
- Ahmad, S. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defenses in Biology. In *Oxidative Stress and Antioxidant Defenses in Biology*. Springer Science & Business Media. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-9689-9>
- Ahmadi, M., Bekeschus, S., Weltmann, K. D., von Woedtke, T., & Wende, K. (2022). Non-steroidal anti-inflammatory drugs: recent advances in the use of synthetic COX-2 inhibitors. *RSC Medicinal Chemistry*, 13(5), 465–640. <https://doi.org/10.1039/d1md00280e>
- Akande, A. A., Salar, U., Khan, K. M., Syed, S., Aboaba, S. A., Chigurupati, S., Wadood, A., Riaz, M., Taha, M., Bhatia, S., Kanwal, Shamim, S., & Perveen, S. (2021). Substituted Benzimidazole Analogues as Potential α -Amylase Inhibitors and Radical Scavengers. *ACS Omega*, 6(35), 22726–22739. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03056>

- Akhtar, W., Khan, M. F., Verma, G., Shaquiquzzaman, M., Rizvi, M. A., Mehdi, S. H., Akhter, M., & Alam, M. M. (2017). Therapeutic evolution of benzimidazole derivatives in the last quinquennial period. In *European Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 126, pp. 705–753). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.12.010>
- Alajmi, M. F., Hussain, A., Alsalme, A., & Khan, R. A. (2016). In vivo assessment of newly synthesized achiral copper(ii) and zinc(ii) complexes of a benzimidazole derived scaffold as a potential analgesic, antipyretic and anti-inflammatory. *RSC Advances*, 6(23), 19475–19481. <https://doi.org/10.1039/c5ra25071d>
- Alaqeel, S. I. (2017). Synthetic approaches to benzimidazoles from o-phenylenediamine: A literature review. *Journal of Saudi Chemical Society*, 21(2), 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2016.08.001>
- Almansour, A. I., Arumugam, N., Soliman, S. M., Viswanathan, E., Dege, N., Karuppiah, P., Premnath, D., Kumari, J., Sriram, D., & Perumal, K. (2024). Eco-friendly synthesis, structural elucidation, computational investigation and in vitro antioxidant activity of a new N-tosylated benzimidazole derivative. *Journal of Molecular Structure*, 1296, 136825. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136825>
- Altaib, M., Doganc, F., Kaşkatepe, B., & Göker, H. (2023). Synthesis of some new 2-(substituted-phenyl)imidazo[4,5-c] and [4,5-b]pyridine derivatives and their antimicrobial activities. *Molecular Diversity*, 1–13. <https://doi.org/10.1007/s11030-023-10715-6>
- Anastassova, N. O., Yancheva, D. Y., Argirova, M. A., Hadjimitova, V. A., & Hristova-Avakumova, N. G. (2019). In vitro assessment of the antioxidant activity of new benzimidazole-2-thione hydrazone derivatives and DFT study of their mechanism of action. *Bulgarian Chemical Communications*, 51, 186–192.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Çelik, S. E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*, 160(4), 413–419. <https://doi.org/10.1007/s00604-007-0777-0>
- Argirova, M. A., Georgieva, M. K., Hristova-Avakumova, N. G., Vuchev, D. I., Popova-Daskalova, G. V., Anichina, K. K., & Yancheva, D. Y. (2021). New 1H-benzimidazole-2-yl hydrazones with combined antiparasitic and antioxidant activity. *RSC Advances*, 11(63), 39848–39868. <https://doi.org/10.1039/d1ra07419a>

- Armstrong, D. and Stratton, R. D. (2016). *Oxidative stress and antioxidant protection: The science of free radical biology and disease*. John Wiley & Sons.
- Arora, R. K., Kaur, N., Bansal, Y., & Bansal, G. (2014). Novel coumarin–benzimidazole derivatives as antioxidants and safer anti-inflammatory agents. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4(5), 368–375. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2014.07.001>
- Aroua, L. M., Almuhaylan, H. R., Alminderej, F. M., Messaoudi, S., Chigurupati, S., Al-mahmoud, S., & Hamdoon, M. H. (2021). A facile approach synthesis of benzoylaryl benzimidazole as potential α -amylase and α -glucosidase inhibitor with antioxidant activity. *Bioorganic Chemistry*, 114, 105073. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105073>
- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N. (2019). Total Phenolic content, Flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from western Nepal. *Plants*, 8(4), 96. <https://doi.org/10.3390/plants8040096>
- Ateş-Alagöz, Z., Kuş, C., & Çoban, T. (2005). Synthesis and antioxidant properties of novel benzimidazoles containing substituted indole or 1,1,4,4-tetramethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene fragments. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 20(4), 325–331. <https://doi.org/10.1080/14756360500131706>
- Ayhan-Kilcigil, G., Kuş, C., Özdamar, E. D., Can-Eke, B., & Içan, M. (2007). Synthesis and antioxidant capacities of some new benzimidazole derivatives. *Archiv Der Pharmazie*, 340(11), 607–611. <https://doi.org/10.1002/ardp.200700088>
- Badawy, M. A. S., Abdelall, E. K. A., El-Nahass, E. S., Abdellatif, K. R. A., & Abdel-Rahman, H. M. (2021). Design, synthesis, biological assessment and: In silico ADME prediction of new 2-(4-(methylsulfonyl) phenyl) benzimidazoles as selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *RSC Advances*, 11(44), 27659–27673. <https://doi.org/10.1039/d1ra04756f>
- Baldisserotto, A., Demurtas, M., Lampronti, I., Tacchini, M., Moi, D., Balboni, G., Pacifico, S., Vertuani, S., Manfredini, S., & Onnis, V. (2020). Synthesis and evaluation of antioxidant and antiproliferative activity of 2-arylbenzimidazoles. *Bioorganic Chemistry*, 94, 103396. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103396>
- Baldisserotto, A., Demurtas, M., Lampronti, I., Tacchini, M., Moi, D., Balboni, G., Vertuani, S., Manfredini, S., & Onnis, V. (2020). In-vitro evaluation of antioxidant, antiproliferative and

- photo-protective activities of benzimidazolehydrazone derivatives. *Pharmaceuticals*, 13(4), 68. <https://doi.org/10.3390/ph13040068>
- Bansal, Y. and Silakari, O. (2012). The therapeutic journey of benzimidazoles: A review. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20(21), 6208–6236. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.09.013>
- Bansal, Y., and Silakari, O. (2015). 2-Aminobenzimidazole conjugates of NSAIDS: Novel compounds with immunomodulatory, anti-inflammatory and antioxidant actions. *Medicinal Chemistry Research*, 24(3), 1170–1179. <https://doi.org/10.1007/s00044-014-1198-3>
- Başaran, R., Kilcigil, G., & Eke, B. (2020). Evaluation of the antioxidant activity of some imines containing 1H-benzimidazoles. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(6), 626–630. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2019.05914>
- Basha, N. J. (2023). Therapeutic Efficacy of Benzimidazole and Its Analogs: An Update. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 43(7), 6549–6569. <https://doi.org/10.1080/10406638.2022.2118334>
- Bayanati, M., Khoramjouy, M., Faizi, M., Movahed, M. A., Mahboubi-Rabbani, M., & Zarghi, A. (2023). Novel Benzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyrimidine derivatives as selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors: Design, synthesis, docking studies, and biological evaluation. *Medicinal Chemistry Research*, 32(3), 495–505. <https://doi.org/10.1007/s00044-023-03022-0>
- 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. <http://www.rcsb.org/pdb/status.html>
- Bhandari, S. V., Nagras, O. G., Kuthe, P. V., Sarkate, A. P., Waghmare, K. S., Pansare, D. N., Chaudhari, S. Y., Mawale, S. N., & Belwate, M. C. (2023). Design, Synthesis, Molecular Docking and Antioxidant Evaluation of Benzimidazole- 1,3,4 oxadiazole Derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 1276, 134747. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134747>
- Bjarnason, I., Scarpignato, C., Holmgren, E., Olszewski, M., Rainsford, K. D., & Lanas, A. (2018). Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Gastroenterology*, 154(3), 500–514. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.10.049>
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200.

- Brenneis, C., Coste, O., Altenrath, K., Angioni, C., Schmidt, H., Schuh, C. D., Zhang, D. D., Henke, M., Weigert, A., Brüne, B., Rubin, B., Nusing, R., Scholich, K., & Geisslinger, G. (2011). Anti-inflammatory role of microsomal prostaglandin synthase-1 in a model of neuroinflammation. *Journal of Biological Chemistry*, 286(3), 2331–2342. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.157362>
- Breyer, R. M., Bagdassarian, C. K., Myers, S. A., & Breyer, M. D. (2001). PROSTANOID RECEPTORS: Subtypes and Signaling. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 41(1), 661–690. www.annualreviews.org
- Brishty, S. R., Saha, P., Mahmud, Z. Al, & Rahman, S. A. (2020). Synthesis and Evaluation of Analgesic and Antioxidant Activities of Substituted Benzimidazole Derivatives. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(1), 37–46. <https://doi.org/10.3329/dujps.v19i1.47817>
- Bukhari, S. N. A., Lauro, G., Jantan, I., Chee, C. F., Amjad, M. W., Bifulco, G., Sher, H., Abdullah, I., & Rahman, N. A. (2016). Anti-inflammatory trends of new benzimidazole derivatives. *Future Medicinal Chemistry*, 8(16), 1953–1967. <https://doi.org/10.4155/fmc-2016-0062>
- Burton, G. J. and Jauniaux, E. (2011). Oxidative stress. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 25(3), 287–299. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016>
- Cadenas, E. and Davies, K. J. A. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(3–4), 222–230.
- Celik, I., Sarıaltın, S. Y., Çoban, T., & Kılıçgil, G. (2022). Design, Synthesis, in Vitro and in Silico Studies of Benzimidazole-Linked Oxadiazole Derivatives as Anti-inflammatory Agents. *ChemistrySelect*, 7(28), e202201548. <https://doi.org/10.1002/slct.202201548>
- Cheeseright, T., Mackey, M., Rose, S., & Vinter, A. (2006). Molecular field extreme as descriptors of biological activity: Definition and validation. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 46(2), 665–676. <https://doi.org/10.1021/ci050357s>
- Chikkula, K. V. and Sundararajan, R. (2017). Analgesic, anti-inflammatory, and antimicrobial activities of novel isoxazole/pyrimidine/pyrazole substituted benzimidazole analogs. *Medicinal Chemistry Research*, 26(11), 3026–3037. <https://doi.org/10.1007/s00044-017-2000-0>

- Cömert, E. D. and Gökmen, V. (2018). Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. *Food Research International*, 105, 76–93. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.056>
- Cortés, E. C. and Anaya, L. A. A. (1997). Synthesis and Spectral Properties of Methyl 5-[(o-, m-, andp-R)Phenoxy]-2-benzimidazolecarbamate. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 34(3), 745–748. <https://doi.org/10.1002/jhet.5570340307>
- Day, R. O. and Graham, G. G. (2013). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *British Journal of Sports Medicine*, 48(18), 346. <https://doi.org/10.1136/bmj.f3195>
- De Gaetano, G., Donati, M. B., & Cerletti, C. (2003). Prevention of thrombosis and vascular inflammation: Benefits and limitations of selective or combined COX-1, COX-2 and 5-LOX inhibitors. *Trends in Pharmacological Sciences*, 24(5), 245–252. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(03\)00077-4](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(03)00077-4)
- Dorris, S. L. and Peebles, R. S. (2012). PGI 2 as a regulator of inflammatory diseases. *Mediators of Inflammation*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/926968>
- Dostert, C., Pétrilli, V., Bruggen, R. Van, Steele, C., Mossman, B. T., & Tschopp, J. (2008). Innate Immune Activation Through Nalp3 Inflammasome Sensing of Asbestos and Silica. *Science*, 320(5876), 674–677. www.sciencemag.org
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47–95. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001>
- Dubost, N. J., Ou, B., & Beelman, R. B. (2007). Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 105(2), 727–735. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.030>
- Dvornikova, I. A., Buravlev, E. V., Fedorova, I. V., Shevchenko, O. G., Chukicheva, I. Y., & Kutchin, A. V. (2019). Synthesis and antioxidant properties of benzimidazole derivatives with isobornylphenol fragments. *Russian Chemical Bulletin*, 68(5), 1000–1005. www.ckp-rf.ru/usu/471933/
- El-Feky, S. A. H., Abd El-Samii, Z. K., Osman, N. A., Lashine, J., Kamel, M. A., & Thabet, H. K. (2015). Synthesis, molecular docking and anti-inflammatory screening of novel quinoline

- incorporated pyrazole derivatives using the Pfitzinger reaction II. *Bioorganic Chemistry*, 58, 104–116. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2014.12.003>
- El-Malah, A. A., Gineinah, M. M., Deb, P. K., Khayyat, A. N., Bansal, M., Venugopala, K. N., & Aljahdali, A. S. (2022). Selective COX-2 Inhibitors: Road from Success to Controversy and the Quest for Repurposing. *Pharmaceuticals*, 15(7), 827. <https://doi.org/10.3390/ph15070827>
- El-Nezhawy, A. O. H., Bioumy, A. R., Hassan, F. S., Ismaiel, A. K., & Omar, H. A. (2013). Design, synthesis and pharmacological evaluation of omeprazole-like agents with anti-inflammatory activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 21(7), 1661–1670. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.01.070>
- Ender, E. (2020). *Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler* (Vol. 7).
- Eswayah, A., Khaliel, S., Saad, S., Shebani, N., Fhid, O., Belaid, A., Alsharif, T., Elforjane, H., Saadalla, Y., & Baga, E. (2017). Synthesis and Analgesic Activity Evaluation of Some New Benzimidazole Derivatives. *American Journal of Chemistry and Application*, 4(5), 30–35. <http://www.aascit.org/journal/ajca>
- Eswayah, A., Saad, S., Khaliel, S., Saad, S. E. A., Shamash, A., Elmelady, M., Kamour, R., Elhaddad, E., & Alghali, D. (2020). Evaluation of Antioxidant, Analgesic and Anti-inflammatory Activity of 2-(4-Aminophenyl)Benzimidazole-based Schiff Bases. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 10, 48–56. www.iosrphr.org
- Farahat, A. A., Ismail, M. A., Kumar, A., Wenzler, T., Brun, R., Paul, A., Wilson, W. D., & Boykin, D. W. (2018). Indole and Benzimidazole Bichalcophenes: Synthesis, DNA Binding and Antiparasitic Activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 1590–1596. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.10.056>
- Fierascu, R. C., Ortan, A., Fierascu, I. C., & Fierascu, I. (2018). In vitro and in vivo evaluation of antioxidant properties of wild-growing plants. A short review. *Current Opinion in Food Science*, 24, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.08.006>
- Fitzpatrick, F. A. (2004). Cyclooxygenase Enzymes: Regulation and Function. *Current Pharmaceutical Design*, 10(6), 577–588.
- Fujiwara, N. and Kobayashi, K. (2005). Macrophages in Inflammation. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy*, 4, 281–286.

- Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., Ferrucci, L., Gilroy, D. W., Fasano, A., Miller, G. W., Miller, A. H., Mantovani, A., Weyand, C. M., Barzilai, N., Goronzy, J. J., Rando, T. A., Effros, R. B., Lucia, A., Kleinstreuer, N., & Slavich, G. M. (2019). Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nature Medicine*, 25(12), 1822–1832. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0>
- Gaba, M., Gaba, P., Uppal, D., Dhingra, N., Bahia, M. S., Silakari, O., & Mohan, C. (2015). Benzimidazole derivatives: Search for GI-friendly anti-inflammatory analgesic agents. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5(4), 337–342. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.05.003>
- Gaba, M., Singh, S. and 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>
- Garavito, R. M. (1996). The cyclooxygenase-2 structure: new drugs for an old target? *Nature Structural Biology*, 3(11), 897–901.
- García-Aranda, M. I., Gonzalez-Padilla, J. E., Gómez-Castro, C. Z., Gómez-Gómez, Y. M., Rosales-Hernández, M. C., García-Báez, E. V., Franco-Hernández, M. O., Castrejón-Flores, J. L., & Padilla-Martínez, I. I. (2020). Anti-inflammatory effect and inhibition of nitric oxide production by targeting COXs and iNOS enzymes with the 1,2-diphenylbenzimidazole pharmacophore. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 28(9), 115427. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115427>
- Go“ker, H. G., Kus, C. K., Boykin, D. W., Yildiz, S., & Altanlar, N. (2002). Synthesis of Some New 2-Substituted-phenyl-1H-benzimidazole-5-carbonitriles and Their Potent Activity Against Candida Species. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10(8), 2589–2596.
- Graeme, B. R. and Guido, M. (1977). ACUTE INFLAMMATION. *American Journal of Pathology*, 86(1), 185–274.
- GÜMRÜKÇÜOĞLU, N. (2021). Synthesis and Antioxidant Properties of New Benzimidazole Derivatives. *Politeknik Dergisi*, 24(4), 1699–1706. <https://doi.org/10.2339/politeknik.718979>
- Gunathilake, K. D. P. P., Ranaweera, K. K. D. S., & Rupasinghe, H. P. V. (2018). In vitro anti-inflammatory properties of selected green leafy vegetables. *Biomedicines*, 6(4), 107. <https://doi.org/10.3390/biomedicines6040107>

- Gunaydin, C. and Bilge, S. S. (2018). Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs at the molecular level. *Eurasian Journal of Medicine*, 50(2), 116–121. <https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2018.0010>
- Güngör, N., Özyürek, M., Güllü, K., Eki, S. D., & Apak, R. (2011). Comparative evaluation of antioxidant capacities of thiol-based antioxidants measured by different in vitro methods. *Talanta*, 83(5), 1650–1658. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.11.048>
- Gurney Gutekunst, B. O. and LeB Gray, H. (1922). The 6-alkyloxyquinaldines. *Journal of the American Chemical Society*, 44(8), 1741–1746. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1147–1150. <http://www.oup.com>
- Hammad, H., Jan De Heer, H., Soullie, T., Hoogsteden, H. C., Trottein, F., & Lambrecht, B. N. (2003). Prostaglandin D2 Inhibits Airway Dendritic Cell Migration and Function in Steady State Conditions by Selective Activation of the D Prostanoid Receptor 1. *The Journal of Immunology*, 171(8), 3936–3940. <http://journals.aai.org/jimmunol/article-pdf/171/8/3936/1173528/3936.pdf>
- Han, D., Hamilton, R. T., Lam, P. J., Packer, L., & Patel, M. S. (2008). *Lipoic acid: energy production antioxidant activity and health effects*. Taylor & Francis.
- Harizi, H., Corcuff, J. B., & Gualde, N. (2008). Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. In *Trends in Molecular Medicine* (Vol. 14, Issue 10, pp. 461–469). <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2008.08.005>
- Hebade, M. J., Dhumal, S. T., Kamble, S. S., Deshmukh, T. R., Khedkar, V. M., Hese, S. V., Gacche, R. N., & Dawane, B. S. (2023). DTP/SiO₂ Assisted Synthesis of New Benzimidazole-Thiazole Conjugates Targeting Antitubercular and Antioxidant Activities. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 43(3), 2866–2887. <https://doi.org/10.1080/10406638.2022.2056210>
- Herold, K., & Mrowka, R. (2019). Inflammation—Dysregulated inflammatory response and strategies for treatment. *Acta Physiologica*, 226(3), e13284. <https://doi.org/10.1111/apha.13284>
- Higgs, E. A., Moncada, S., & Vane, J. R. (1978). Inflammatory Effects Of Prostacyclin (PGI₂). *Prostaglandins*, 16(2), 153–162.

- Huang, J. S., Ramamurthy, S. K., Lin, X., & Le Breton, G. C. (2004). Cell signalling through thromboxane A2 receptors. *In Cellular Signalling* (Vol. 16, Issue 5, pp. 521–533). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2003.10.008>
- Irmak, N. E., Saglik, B. N., Celik, I., Tahsin Sen, H., Ozkay, Y., & Ayhan-Kılıcigil, G. (2023). Design, synthesis, molecular docking and molecular dynamic studies of novel benzimidazole-thiazole derivatives as potent and selective COX-2 inhibitors. *New Journal of Chemistry*, 47(47), 21620–21632. <https://doi.org/10.1039/d3nj04438f>
- James, A. R. (2004). Biological Mediators of Acute Inflammation. *AACN Clinical Issues*, 15(1), 3–17.
- Joo, M. and Sadikot, R. T. (2012). PGD synthase and PGD 2 in immune resposne. *Mediators of Inflammation*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/503128>
- Kam, P. C. A. and So, A. (2009). COX-3: Uncertainties and controversies. *Current Anaesthesia and Critical Care*, 20(1), 50–53. <https://doi.org/10.1016/j.cacc.2008.11.003>
- Kamat, V., Yallur, B. C., Poojary, B., Patil, V. B., Nayak, S. P., Krishna, P. M., & Joshi, S. D. (2021). Synthesis, molecular docking, antibacterial, and anti-inflammatory activities of benzimidazole-containing tricyclic systems. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 68(6), 1055–1066. <https://doi.org/10.1002/jccs.202000454>
- Karaali, N., Atik, R., Baltas, N., Sasmaz, S., & Kahveci, B. (2019). Synthesis, inhibitory properties on the metabolic enzymes and antioxidant activity of a new series benzimidazole derivatives. *Rev. Roum. Chim*, 64(8), 719–726. <https://doi.org/10.3224/rch.2019.64.8.08>
- Karaali, N., Aydin, S., Baltas, N., & Mentese, E. (2020). Synthesis of novel tetra-substituted benzimidazole compounds containing certain heterostructures with antioxidant and anti-urease activities. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 57(4), 1806–1815. <https://doi.org/10.1002/jhet.3905>
- Karaaslan, C. (2020). Synthesis and structure elucidation of new benzimidazole amidoxime derivatives. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(1), 108–114. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2019.44270>
- Karataş, H., Alp, M., Yildiz, S., & Göker, H. (2012). Synthesis and Potent In vitro Activity of Novel 1H-Benzimidazoles as Anti-MRSA Agents. *Chemical Biology and Drug Design*, 80(2), 237–244. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2012.01393.x>

- Karmaker, N., Lira, D. N., Das, B. K., Kumar, U., Shara, A., & Rouf, S. (2017). Synthesis and Antioxidant Activity of Some Novel Benzimidazole Derivatives. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(2), 245–249.
- Kashid, B. B., Ghanwat, A. A., Khedkar, V. M., Dongare, B. B., Shaikh, M. H., Deshpande, P. P., & Wakchaure, Y. B. (2019). Design, Synthesis, In Vitro Antimicrobial, Antioxidant Evaluation, and Molecular Docking Study of Novel Benzimidazole and Benzoxazole Derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 56(3), 895–908. <https://doi.org/10.1002/jhet.3467>
- Kaur, G. and Silakari, O. (2018). Benzimidazole scaffold based hybrid molecules for various inflammatory targets: Synthesis and evaluation. *Bioorganic Chemistry*, 80, 24–35. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.05.014>
- Kawabe, J. ichi, Ushikubi, F., & Hasebe, N. (2010). Prostacyclin in vascular diseases - Recent insights and future perspectives. *Circulation Journal*, 74(5), 836–843. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-10-0195>
- Keri, R. S., Hiremathad, A., Budagumpi, S., & Nagaraja, B. M. (2015). Comprehensive review in current developments of benzimidazole-based medicinal chemistry. *Chemical Biology and Drug Design*, 86(1), 799–845. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12462>
- Khan, M. T., Nadeem, H., Khan, A. ullah, Abbas, M., Arif, M., Malik, N. S., Malik, Z., & Javed, I. (2020). Amino acid conjugates of 2-mercaptobenzimidazole provide better anti-inflammatory pharmacology and improved toxicity profile. *Drug Development Research*, 81(8), 1057–1072. <https://doi.org/10.1002/ddr.21728>
- Kiefer, J. R., Pawlitz, J. L., Moreland, K. T., Stegeman, R. A., Hood, W. F., Gierse, J. K., Stevens, A. M., Goodwin, D. C., Rowlinson, S. W., Marnett, L. J., Stallings, W. C., & Kurumbail, R. G. (2000). Structural insights into the stereochemistry of the cyclooxygenase reaction. *Nature*, 405(6782), 97–101. <http://www.tigr.org>
- Kotha, R. R., Tareq, F. S., Yildiz, E., & Luthria, D. L. (2022). Oxidative Stress and Antioxidants—A Critical Review on In Vitro Antioxidant Assays. *Antioxidants*, 11(12), 2388. <https://doi.org/10.3390/antiox11122388>
- Küçükbay, H. (2017). PART I: MICROWAVE-ASSISTED SYNTHESIS OF BENZIMIDAZOLES: AN OVERVIEW (UNTIL 2013). *Journal of the Turkish Chemical Society*, 4(1), 1–22. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.91217>

- Kumar, D., Jacob, M. R., Reynolds, M. B., & Kerwin, S. M. (2002). Synthesis and Evaluation of Anticancer Benzoxazoles and Benzimidazoles Related to UK-1. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10(12), 3997–4004.
- Kumar, N., Sharma, C. S., Ranawat, M. S., Singh, H. P., Chauhan, L. S., & Dashora, N. (2015). Synthesis, analgesic and anti-inflammatory activities of novel mannich bases of benzimidazoles. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 45(1), 65–71. <https://doi.org/10.1007/s40005-014-0145-0>
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2017). *BASIC PATHOLOGY* (Tenth). Elsevier Health Sciences.
- Kupczyk, M. and Kuna, P. (2017). Targeting the PGD2/CRT2/DP1 Signaling Pathway in Asthma and Allergic Disease: Current Status and Future Perspectives. *Drugs*, 77(12), 1281–1294. <https://doi.org/10.1007/s40265-017-0777-2>
- Kurumbail, R. G., Stevens, A. M., Gierse, J. K., McDonald, J. J., Stegeman, R. A., Pak, J. Y., Gildehaus, D., Miyashiro, J. M., Penning, T. D., Seibert, K., Isakson, P. C., & Stallings, W. C. (1996). Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Nature*, 384(6610), 644–648.
- Kuş, C., Altanlar, N., & Kus, C. (2003). Synthesis of Some New Benzimidazole Carbamate Derivatives for Evaluation of Antifungal Activity. *Turkish Journal of Chemistry*, 27(1), 35–40. <https://journals.tubitak.gov.tr/chem> Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/chem/vol27/iss1/6>
- Kuş, C., Ayhan-Kilcigil, G., Özbey, S., Kaynak, F. B., Kaya, M., Çoban, T., & Can-Eke, B. (2008). Synthesis and antioxidant properties of novel N-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-amine and 4-methyl-2H-1,2,4-triazole-3(4H)-thione derivatives of benzimidazole class. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16(8), 4294–4303. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.02.077>
- Kus, C., Göker, H., & Altanlar, N. (2001). Synthesis and antimicrobial activities of 5-fluoro-1,2,6-trisubstituted benzimidazole carboxamide and acetamide derivatives. *Archiv Der Pharmazie: An International Journal Pharmaceutical and Medicinal Chemistry*, 334(11), 361–365.
- Lawrence, T. and Gilroy, D. W. (2007). Chronic inflammation: A failure of resolution? In *International Journal of Experimental Pathology* (Vol. 88, Issue 2, pp. 85–94). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2613.2006.00507.x>

- Legler, D. F., Bruckner, M., Uetz-von Allmen, E., & Krause, P. (2010). Prostaglandin E2 at new glance: Novel insights in functional diversity offer therapeutic chances. In *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* (Vol. 42, Issue 2, pp. 198–201). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.09.015>
- Li, Q., Hu, Q., Wang, X., Zong, Y., Zhao, L., Xing, J., Zhou, J., & Zhang, H. (2015). Discovery of Novel 2-(piperidin-4-yl)-1H-benzo[d]imidazole Derivatives as Potential Anti-Inflammatory Agents. *Chemical Biology and Drug Design*, 86(4), 509–516. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12513>
- Li, W. jiao, Lu, J. wen, Zhang, C. yue, Wang, W. sheng, Ying, H., Myatt, L., & Sun, K. (2021). PGE2 vs PGF2 α in human parturition. In *Placenta* (Vol. 104, pp. 208–219). W.B. Saunders Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.12.012>
- Li, Y., Xia, W., Zhao, F., Wen, Z., Zhang, A., Huang, S., Jia, Z., & Zhang, Y. (2018). Prostaglandins in the pathogenesis of kidney diseases. *Oncotarget*, 9(41), 26586–26602. www.oncotarget.com
- Luong, C., Miller, A., Barnett, J., Chow, J., Ramesha, C., & Browner, M. F. (1996). Flexibility of the NSAID binding site in the structure of human cyclooxygenase-2. *Nature Structural Biology*, 3(11), 927–933.
- Maghraby, M. T. E., Abou-Ghadir, O. M. F., Abdel-Moty, S. G., Ali, A. Y., & Salem, O. I. A. (2020). Novel class of benzimidazole-thiazole hybrids: The privileged scaffolds of potent anti-inflammatory activity with dual inhibition of cyclooxygenase and 15-lipoxygenase enzymes. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 28(7), 115403. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115403>
- Majno, G. and Joris, I. (2004). *Cells, tissues, and disease: principles of general pathology*. Oxford University Press.
- MALKOWSKI, M. G., GINELL, S. L., SMITH, W. L., & GARAVITO, R. M. (2000). The productive conformation of arachidonic acid bound to prostaglandin synthase. *Science*, 289(5486), 1933–1937.
- Mancini, J. A., O'Neill, G. P., Bayly, C., & Vickers, P. J. (1994). Mutation of serine-516 in human prostaglandin G/H synthase-2 to methionine or aspirin acetylation of this residue stimulates 15-R-HETE synthesis. *FEBS Letters*, 342(1), 33–37. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(94\)80579-2](https://doi.org/10.1016/0014-5793(94)80579-2)

- Mariathasan, S., Weiss, D. S., Newton, K., McBride, J., O'Rourke, K., Roose-Girma, M., Lee, W. P., Weinrauch, Y., Monack, D. M., & Dixit, V. M. (2006). Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. *Nature*, 440(7081), 228–232. <https://doi.org/10.1038/nature04515>
- Mavrova, A. T., Yancheva, D., Anastassova, N., Anichina, K., Zvezdanovic, J., Djordjevic, A., Markovic, D., & Smelcerovic, A. (2015). Synthesis, electronic properties, antioxidant and antibacterial activity of some new benzimidazoles. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 23(19), 6317–6326. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.08.029>
- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. In *Nature* (Vol. 454, Issue 7203, pp. 428–435). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nature07201>
- Medzhitov, R. and Janeway, C. A. (1997). Innate Immunity: Minireview The Virtues of a Nonclonal System of Recognition. *Cell*, 91, 295–298.
- Mehdi, M. M. and Rizvi, S. I. (2013). N,N-Dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride-based method for the measurement of plasma oxidative capacity during human aging. *Analytical Biochemistry*, 436(2), 165–167. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2013.01.032>
- Menteşe, E., Yilmaz, F., Baltaş, N., Bekircan, O., & Kahveci, B. (2015). Synthesis and antioxidant activities of some new triheterocyclic compounds containing benzimidazole, thiophene, and 1,2,4-triazole rings. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 30(3), 435–441. <https://doi.org/10.3109/14756366.2014.943203>
- Mialot, J. P., Constant, F., Dezaux, P., Grimard, B., Deletang, F., & Ponter, A. A. (2003). Estrus synchronization in beef cows: Comparison between GnRH + PGF2 α + GnRH and PRID + PGF2 α + eCG. *Theriogenology*, 60(2), 319–330. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01371-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01371-7)
- Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*, 63(1), 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005>
- Mohammed, A. F., Abdel-Moty, S. G., Hussein, M. A., & Abdel-Alim, A. A. M. (2013). Design, synthesis and molecular docking of some new 1,2,4- triazolobenzimidazol-3-yl acetohydrazide derivatives with anti-inflammatory- analgesic activities. *Archives of Pharmacal Research*, 36(12), 1465–1479. <https://doi.org/10.1007/s12272-013-0153-z>

- Mohammed, S. M., Shehab, W. S., Emwas, A. H. M., Jaremko, M., Abdellatif, M. H., Zordok, W. A., & Tantawy, E. S. (2023). Eco-Friendly Synthesis of 1H-benzo[d]imidazole Derivatives by ZnO NPs Characterization, DFT Studies, Antioxidant and Insilico Studies. *Pharmaceuticals*, 16(7), 969. <https://doi.org/10.3390/ph16070969>
- Mohan, S., Koller, E. J., Fazal, J. A., De Oliveria, G., Pawlowicz, A. I., & Doré, S. (2018). Genetic deletion of PGF2a-FP receptor exacerbates brain injury following experimental intracerebral hemorrhage. *Frontiers in Neuroscience*, 12(SEP), 340785. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00556>
- Moharana, A. K., Dash, R. N., Mahanandia, N. C., & Subudhi, B. B. (2022). Synthesis and Anti-Inflammatory Activity Evaluation of Some Benzimidazole Derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 56(8), 1070–1074. <https://doi.org/10.1007/s11094-022-02755-3>
- Mohri, I., Taniike, M., Taniguchi, H., Kanekiyo, T., Aritake, K., Inui, T., Fukumoto, N., Eguchi, N., Kushi, A., Sasai, H., Kanaoka, Y., Ozono, K., Narumiya, S., Suzuki, K., & Urade, Y. (2006). Prostaglandin D2-mediated microglia/astrocyte interaction enhances astrogliosis and demyelination in twitcher. *Journal of Neuroscience*, 26(16), 4383–4393. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4531-05.2006>
- Moneer, A. A., Mohammed, K. O., & El-Nassan, H. B. (2016). Synthesis of Novel Substituted Thiourea and Benzimidazole Derivatives Containing a Pyrazolone Ring as Anti-Inflammatory Agents. *Chemical Biology and Drug Design*, 87(5), 784–793. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12712>
- Morais, G. R., Palma, E., Marques, F., Gano, L., Oliveira, M. C., Abrunhosa, A., Miranda, H. V., Outeiro, T. F., Santos, I., & Paulo, A. (2017). Synthesis and Biological Evaluation of Novel 2-Aryl Benzimidazoles as Chemotherapeutic Agents. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 54(1), 255–267. <https://doi.org/10.1002/jhet.2575>
- Moses, V. S., & Bertone, A. L. (2002). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Vet Clin Equine*, 18(1), 21–37.
- Nagesh, K. M. J., Prashanth, T., Khamees, H. A., & Khanum, S. A. (2022). Synthesis, analgesic, anti-inflammatory, COX/5-LOX inhibition, ulcerogenic evaluation, and docking study of benzimidazole bearing indole and benzophenone analogs. *Journal of Molecular Structure*, 1259, 132741. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132741>

- Narumiya, S., & FitzGerald, G. A. (2001). Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *Journal of Clinical Investigation*, 108(1), 25–30. <https://doi.org/10.1172/jci13455>
- Nelson, S. K., Bose, S. K., Grunwald, G. K., Myhill, P., & McCord, J. M. (2006). The induction of human superoxide dismutase and catalase in vivo: A fundamentally new approach to antioxidant therapy. *Free Radical Biology and Medicine*, 40(2), 341–347. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.08.043>
- Noda, M., Kariura, Y., Pannasch, U., Nishikawa, K., Wang, L., Seike, T., Ifuku, M., Kosai, Y., Wang, B., Nolte, C., Aoki, S., Kettenmann, H., & Wada, K. (2007). Neuroprotective role of bradykinin because of the attenuation of pro-inflammatory cytokine release from activated microglia. *Journal of Neurochemistry*, 101(2), 397–410. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04339.x>
- Noor, A., Qazi, N. G., Nadeem, H., Khan, A. ullah, Paracha, R. Z., Ali, F., & Saeed, A. (2017). Synthesis, characterization, anti-ulcer action and molecular docking evaluation of novel benzimidazole-pyrazole hybrids. *Chemistry Central Journal*, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0314-0>
- O’Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel: An Open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 3(10), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
- Ouaket, A., Chraka, A., Raissouni, I., Amrani, M. A. El, Berrada, M., & Knouzi, N. (2022). Synthesis, spectroscopic (¹³C/¹H-NMR, FT-IR) investigations, quantum chemical modelling (FMO, MEP, NBO analysis), and antioxidant activity of the bis-benzimidazole molecule. *Journal of Molecular Structure*, 1259, 132729. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132729>
- Özden, S., Atabey, D., Yildiz, S., & Göker, H. (2005). Synthesis and potent antimicrobial activity of some novel methyl or ethyl 1H-benzimidazole-5-carboxylates derivatives carrying amide or amidine groups. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 13(5), 1587–1597. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.12.025>
- Özden, S., Karataş, H., Yildiz, S., & Göker, H. (2004). Synthesis and potent antimicrobial activity of some novel 4-(5,6-dichloro-7H-benzimidazol-2-yl)-N-substituted benzamides. *Archiv Der Pharmazie*, 337(10), 556–562. <https://doi.org/10.1002/ardp.200400884>

- Özil, M., Parlak, C., & Baltaş, N. (2018). A simple and efficient synthesis of benzimidazoles containing piperazine or morpholine skeleton at C-6 position as glucosidase inhibitors with antioxidant activity. *Bioorganic Chemistry*, 76, 468–477. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.12.019>
- Paramashivappa, R., Kumar, P. P., Rao, P. V. S., & Rao, A. S. (2003). Design, Synthesis and Biological Evaluation of Benzimidazole/Benzothiazole and Benzoxazole Derivatives as Cyclooxygenase Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13(4), 657–660.
- Patagar, D. N., Batakurki, S. R., Kusanur, R., Patra, S. M., Saravanakumar, S., & Ghate, M. (2023). Synthesis, antioxidant and anti-diabetic potential of novel benzimidazole substituted coumarin-3-carboxamides. *Journal of Molecular Structure*, 1274, 134589. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134589>
- Peters-Golden, M. and Brock, T. G. (2001). Intracellular compartmentalization of leukotriene synthesis: unexpected nuclear secrets. *FEBS Letters*, 487(3), 323–326.
- Pober, J. S. and Sessa, W. C. (2007). Evolving functions of endothelial cells in inflammation. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 7, Issue 10, pp. 803–815). <https://doi.org/10.1038/nri2171>
- Preiser, J. C. (2012). Oxidative stress. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 36(2), 147–154. <https://doi.org/10.1177/0148607111434963>
- Price, S. A., & Lorraine, M. W. (1986). Pathophysiology: clinical concepts of disease processes. In *Journal of pathology* (Vol. 150). McGraw-Hill.
- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E 1. In *Analytical Biochemistry* (Vol. 269). <http://www.idealibrary.comon>
- Rao, P. N. P. and Knaus, E. E. (2008). Evolution of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 11(2), 81–110.
- Rashedy, A. A. and Aboul-Enein, H. Y. (2013). Benzimidazole Derivatives as Potential Chemotherapeutic Agents. *Current Drug Therapy*, 8(1), 1–14.

- Rathore, A., Sudhakar, R., Ahsan, M. J., Ali, A., Subbarao, N., Jadav, S. S., Umar, S., & Yar, M. S. (2017). In vivo anti-inflammatory activity and docking study of newly synthesized benzimidazole derivatives bearing oxadiazole and morpholine rings. *Bioorganic Chemistry*, 70, 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2016.11.014>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Original Contribution ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL CATION DECOLORIZATION ASSAY. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
- Ricciotti, E. and Fitzgerald, G. A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(5), 986–1000. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449>
- Ridley, H. F., Spickett, R. G. W., & Timmis, G. M. (1965). A New Synthesis of Benzimidazoles and Aza-analogs. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2(4), 453–456.
- Rizki, T. M. and Rizki, R. M. (1992). Lamellocyte Differentiation in *Drosophila* Larvae Parasitized by *Leptopilina*. *Developmental and Comparative Immunology*, 16, 103–110.
- Rodríguez, R., Omar, A., Magaña, V., Nancy, E., Mojica, S., Juan, P., Sumaya, M., María, T., & Gómez, S. (2020). Synthesis, crystal structure, antioxidant activity and dft study of 2-aryl-2,3-dihydro-4H-[1,3]thiazino[3,2-a]benzimidazol-4-One. *Journal of Molecular Structure*, 1199, 127036. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127036>
- Rubio, C. P., Hernández-Ruiz, J., Martínez-Subiela, S., Tvarijonaviciute, A., & Ceron, J. J. (2016). Spectrophotometric assays for total antioxidant capacity (TAC) in dog serum: An update. *BMC Veterinary Research*, 12(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0792-7>
- Salahuddin, S. and Mazumder, M. (2017). Benzimidazoles: A biologically active compounds. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S157–S173. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.07.017>
- Sanna, P., Carta, A., Loriga, M., Zanetti, S., & Sechi, L. (1998a). Synthesis of substituted 2-ethoxycarbonyl-and 2-carboxyquinoxalin-3-ones for evaluation of antimicrobial and anticancer activity. *Il Farmaco*, 53(7), 455–461.

- Sarialtın, S. Y. and Acıkara, Ö. B. (2022). Assessment of Correlation Analysis, Phytochemical Profile, and Biological Activities of Endemic *Scorzonera* Species from Turkey. *Chemistry and Biodiversity*, 19(10). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200007>
- Sathyanarayana, R., Poojary, B., Chandrashekarappa, R. B., Kumar, H., & Merugumolu, V. K. (2020). Novel [1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine derivatives embedded with benzimidazole moiety as potent antioxidants. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 67(8), 1501–1516. <https://doi.org/10.1002/jccs.201900452>
- Sathyanarayana, R., Poojary, B., Srinivasa, S. M., Merugumolu, V. K., Chandrashekarappa, R. B., & Rangappa, S. (2022). In vitro, in vivo and in silico-driven identification of novel benzimidazole derivatives as anticancer and anti-inflammatory agents. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 19(4), 1301–1317. <https://doi.org/10.1007/s13738-021-02381-y>
- Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V., & Bitsch, R. (2002). Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radical Research*, 36(2), 177–187. <https://doi.org/10.1080/10715760290006411>
- Selvakumaran, M., Predhanekar, M. I., Kubaib, A., & Visagaperumal, D. (2023). Novel Benzimidazole linked piperidine derivatives screened for antibacterial and antioxidant properties with Density Functional and Molecular Mechanic tools. *Results in Chemistry*, 5, 100765. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.100765>
- Serhan, C. N. and Savill, J. (2005). Resolution of inflammation: The beginning programs the end. In *Nature Immunology* (Vol. 6, Issue 12, pp. 1191–1197). <https://doi.org/10.1038/ni1276>
- Sethi, P., Bansal, Y., & Bansal, G. (2018). Synthesis and PASS-assisted evaluation of coumarin–benzimidazole derivatives as potential anti-inflammatory and anthelmintic agents. *Medicinal Chemistry Research*, 27(1), 61–71. <https://doi.org/10.1007/s00044-017-2036-1>
- Sethi, R., Jain, S., Arora, S., Saini, D., & Jain, N. (2018). Synthesis, Characterization and Molecular Docking Studies of Novel N-(benzimidazol-1-ylmethyl)-4-chlorobenzamide Analogues for Potential Anti-inflammatory and Antimicrobial Activity. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, 17(1), 16–31. <https://doi.org/10.2174/1871523017666180426125141>

- Shakir, R. M., Saoud, S. A., Hussain, D. F., Ali, K. F., Algburi, F. S., & Jasim, H. S. (2022). Synthesis, Antioxidant ability and Docking study for new 4,4'-((2-(Aryl)-1Hbenzo[d]imidazole-1,3(2H)-diyl)bis(methylene))diphenol). *Research Journal of Chemistry and Environment*, 26(10).
- Sharma, P., Rane, N., & Gurram, V. K. (2004). Synthesis and QSAR studies of pyrimido[4,5-d]pyrimidine-2,5-dione derivatives as potential antimicrobial agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 14(16), 4185–4190. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.06.014>
- Sharma, R., Bali, A., & Chaudhari, B. B. (2017). Synthesis of methanesulphonamido-benzimidazole derivatives as gastro-sparing antiinflammatory agents with antioxidant effect. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 27(13), 3007–3013. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.05.017>
- Sharma, S., Gangal, S., & Rauf, A. (2009a). Convenient one-pot synthesis of novel 2-substituted benzimidazoles, tetrahydrobenzimidazoles and imidazoles and evaluation of their in vitro antibacterial and antifungal activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(4), 1751–1757. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.03.026>
- Sharma, S., Gangal, S., & Rauf, A. (2009b). Convenient one-pot synthesis of novel 2-substituted benzimidazoles, tetrahydrobenzimidazoles and imidazoles and evaluation of their in vitro antibacterial and antifungal activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(4), 1751–1757. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.03.026>
- Sharma, S. and Vig, A. P. (2013). Evaluation of in vitro antioxidant properties of methanol and aqueous extracts of Parkinsonia aculeata L. leaves. *The Scientific World Journal*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/604865>
- Shatokhin, S. S., Tuskaev, V. A., Gagieva, S. C., Markova, A. A., Pozdnyakov, D. I., Melnikova, E. K., Bulychev, B. M., & Oganessian, E. T. (2022). Synthesis, cytotoxic and antioxidant activities of new n-substituted 3-(benzimidazol-2-yl)-chromones containing 2,6-di-tert-butylphenol fragment. *Journal of Molecular Structure*, 1249, 131683. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131683>
- Shinde, U. A., Phadke, A. S., Nair, A. M., Mungantiwar, A. A., Dikshit, V. J., & Saraf, M. N. (1999). Membrane stabilizing activity a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of Cedrus deodara wood oil. *Fitoterapia*, 70(3), 251–257.

- Sil, S. and Ghosh, T. (2016). Role of cox-2 mediated neuroinflammation on the neurodegeneration and cognitive impairments in colchicine induced rat model of Alzheimer's Disease. *Journal of Neuroimmunology*, 291, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.12.003>
- Singhal, S. S., Singh, S. P., Singhal, P., Horne, D., Singhal, J., & Awasthi, S. (2015). Antioxidant role of glutathione S-transferases: 4-Hydroxynonenal, a key molecule in stress-mediated signaling. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 289(3), 361–370. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2015.10.006>
- Smith, W. L. (1989). The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action. *Biochem. J*, 259, 315–324.
- Smith, W. L., Dewitt, D. L., & Garavito, R. M. (2000). CYCLOOXYGENASES: Structural, Cellular, and Molecular Biology. *Annual Review of Biochemistry*, 69(1), 145–182. www.annualreviews.org
- Sroka, Z. and Cisowski, W. (2003). Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 41(6), 753–758. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(02\)00329-0](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(02)00329-0)
- Stjernschantz, J. W. (2001). From PGF 2-Isopropyl Ester to Latanoprost: A Review of the Development of Xalatan The Proctor Lecture. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 42(6), 1134–1145.
- Sugita, R., Kuwabara, H., Kubota, K., Sugimoto, K., Kiho, T., Tengeiji, A., Kawakami, K., & Shimada, K. (2016). Simultaneous Inhibition of PGE2 and PGI2 Signals Is Necessary to Suppress Hyperalgesia in Rat Inflammatory Pain Models. *Mediators of Inflammation*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9847840>
- Taha, M., Mosaddik, A., Rahim, F., Ali, S., Ibrahim, M., & Almandil, N. B. (2020). Synthesis, antiglycation and antioxidant potentials of benzimidazole derivatives. *Journal of King Saud University - Science*, 32(1), 191–194. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.04.003>
- Tamang, P. (2020). Study on the Prevalence of Depression and Anxiety among Diabetes Mellitus patients in Tertiary Care Hospital- A Prospective Cross-sectional Study. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 8(2), 26–32. <https://doi.org/10.22270/ajprd.v8i2.658>

- Thuresson, E. D., Lakkides, K. M., Rieke, C. J., Sun, Y., Wingerd, B. A., Micielli, R., Mulichak, A. M., Malkowski, M. G., Garavito, R. M., & Smith, W. L. (2001). Prostaglandin endoperoxide H synthase-1: The functions of cyclooxygenase active site residues in the binding, positioning, and oxygenation of arachidonic acid. *Journal of Biological Chemistry*, 276(13), 10347–10357. <https://doi.org/10.1074/jbc.M009377200>
- Turini, M. E. and Dubois, R. N. (2002). CYCLOOXYGENASE-2: A Therapeutic Target. *Annu. Rev. Med.*, 53, 35–57. www.annualreviews.org
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Vane, J. R. (2014). Inhibition of prostaglandin biosynthesis as the mechanism of action of aspirin-like drugs. *Adv Biosci*, 9, 395–411.
- Vane, J. R. and Botting, R. M. (1998). Mechanism of Action of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. *Am J Med*, 104(3A), 2–8.
- Vasanth, K., Basavarajaswamy, G., Vaishali Rai, M., Boja, P., Pai, V. R., Shruthi, N., & Bhat, M. (2015). Rapid “one-pot” synthesis of a novel benzimidazole-5-carboxylate and its hydrazone derivatives as potential anti-inflammatory and antimicrobial agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 25(7), 1420–1426. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.02.043>
- Veerasingam, R., Roy, A., Karunakaran, R., & Rajak, H. (2021). Structure–activity relationship analysis of benzimidazoles as emerging anti-inflammatory agents: An overview. *Pharmaceuticals*, 14(7), 663. <https://doi.org/10.3390/ph14070663>
- Walia, R., Farha Naaz, S., Iqbal, K., & Lamba, H. S. (2011). Benzimidazole derivatives—an overview. *Int. J. Res. Pharm. Chem*, 1(3), 565–574. www.ijrpc.com
- Wang, W., Kong, D., Cheng, H., Tan, L., Zhang, Z., Zhuang, X., Long, H., Zhou, Y., Xu, Y., Yang, X., & Ding, K. (2014). New benzimidazole-2-urea derivatives as tubulin inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 24(17), 4250–4253. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.07.035>

- Wang, X. J., Xi, M. Y., Fu, J. H., Zhang, F. R., Cheng, G. F., Yin, D. L., & You, Q. D. (2012). Synthesis, biological evaluation and SAR studies of benzimidazole derivatives as H₁-antihistamine agents. *Chinese Chemical Letters*, 23(6), 707–710. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2012.04.020>
- Weydert, C. J. and Cullen, J. J. (2010). Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nature Protocols*, 5(1), 51–66. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.197>
- Wiegerebe, W., Faber, L., & Budzikiewicz, H. (1970). Synthese des (+/-)-6-Hydroxy-2, 3-dimethoxy-9, 11, 12, 13, 13a, 14-hexahydro-dibenzo-/f, h/-pyrrolo/1, 2-b/-isochinolins. *Justus Liebigs Annalen Der Chemie*, 733, 125–140.
- Wolfgang, W. von, Faber, L., & Budzikiewicz, H. (1970). Synthese des (±)-6-Hydroxy-2.3-dimethoxy-9.11.12.13.13a.14-hexahydro-dibenzo[f,h]pyrrolo[1.2-b]isochinolins. *Liebigs Ann. Chem*, 733, 125–140.
- Wolfram, R., Oguogho, A., Palumbo, B., & Sinzinger, H. (2005). Enhanced oxidative stress in coronary heart disease and chronic heart failure as indicated by an increased 8-epi-PGF_{2α}. *European Journal of Heart Failure*, 7(2), 167–172. <https://doi.org/10.1016/j.ejheart.2004.05.007>
- Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., & Rangaswami, J. (2018). A comprehensive review of non-steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly. *Aging and Disease*, 9(1), 143–150. <https://doi.org/10.14336/AD.2017.0306>
- Wright, J. B. (1951). The Chemistry of The Benzimidazoles. *Chemical Reviews*, 48(3), 397–541. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Yadav, G., & Ganguly, S. (2015). Structure activity relationship (SAR) study of benzimidazole scaffold for different biological activities: A mini-review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97(1), 419–443. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.11.053>
- Yildiz, U. (2020). Antioxidant and DNA damage protecting activities of newly synthesized thiol bridged bis-benzimidazole derivative and its dicationic analogue. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 57(11), 4007–4012. <https://doi.org/10.1002/jhet.4110>
- Yoshikawa, T., & Naito, Y. (2002). What Is Oxidative Stress? *Japan Medical Association Journal*, 45(7), 271–276.

Zha, S., Yegnasubramanian, V., Nelson, W. G., Isaacs, W. B., & De Marzo, A. M. (2004). Cyclooxygenases in cancer: Progress and perspective. *Cancer Letters*, 215(1), 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2004.06.014>

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler:

Adı-Soyadı: HIND MOHAMMED OSMAN

Uyruğu: SUDAN

Öğrenim Durumu:

- 2018-(devam ediyor), Doktora Farmasötik kimya, Ankara Üniversitesi, Ankara
- 2018 Tıbbi kimya-yüksek Lisans, Omdurman İslam Üniversitesi, Hartum
- 2016 Farmakoloji-yüksek lisans, Omdurman İslam Üniversitesi, Hartum
- 2013 Lisans eczacılık, Omdurman İslam Üniversitesi, Hartum

Unvanları:

- 2013 Eczacı

Mesleki Deneyim:

- Halk Eczacısı, (2013-2017)
- Öğretim asistanı (farmakoloji), eczacılık fakültesi, Omdurman İslam Üniversitesi; (2013 - 2014).
- Öğretim asistanı (farmakoloji), eczacılık fakültesi, Karary Üniversitesi; (2013 - 2014).
- Öğretim asistanı (Farmasötik kimya), eczacılık fakültesi, Omdurman İslam Üniversitesi; (2015 - 2018).
- Öğretim görevlisi (Farmasötik kimya), eczacılık fakültesi, Omdurman İslam Üniversitesi; (2018 - şimdiye kadar).

Yayınları:

1. **OSMAN, Hind. M.** & Ahmed, A. A. E. (2021). A Therapeutic Application of Systematic Review with Meta-analysis: Epigenetic Analysis Tools and Cancer's Therapy Assessment, 1–103. [https://doi.org/10.9734/bpi/mono/978-93-91882-34-1review with Meta-analysis Study: 2004-2014](https://doi.org/10.9734/bpi/mono/978-93-91882-34-1review%20with%20Meta-analysis%20Study%202004-2014). (KİTAP)
2. **OSMAN, Hind M.**; TUNCBILEK, Meral. Entrectinib: A New Selective Tyrosine Kinase Inhibitor Approved for the Treatment of Pediatric and Adult Patients with NTRK Fusionpositive, Recurrent or Advanced Solid Tumors. Current Medicinal Chemistry, 2022, 29, 2602-2616.
3. **OSMAN, Hind M.**, vd. Schiff bases of isatin and adamantane-1-carbohydrazide: synthesis, characterization and anticonvulsant activity. Journal of Chemistry, 2021, 2021.

4. Basheer, M. Y., Aljaily, A., Ibrahim, M. M., & **Osman, H. M.** Development and validation of UV-spectroscopic method for assay of metoclopramide hydrochloride in bulk and injectable dosage form. American Journal of Research Communication, (2017), 5(3), 22-33.
5. Mohammed, F. S., AbdAlkareem, S. A., AbdAlrhman, S. M., **Osman, H. M.**, Abdelwahid, M. A., & Gaily, M. M. Development of Acid–Base Titrimetric Method for Determination of Bisoprolol Fumarate in Raw Material and Tablet Dosage Form. Int. J. of Multidisciplinary and Current research, 2016, 4 (Sept/Oct 2016).
6. Kislá, M. M., Hassan, M. A. K., **Osman, H. M.**, Aydin, A. S., Sen, H. T., Khazei, S., ... & Kuş, C. (2023). Incorporation of Protecting Groups in Organic Chemistry: A Mini-Review. Current Organic Synthesis, 20(5), 491-503.
7. Kus, C., Ozer, E., **Osman, H. M.**, Sozudonmez, F., Simsek, D., Altanlar, N., ... & Can-Eke, B. (2023). Design, Synthesis, Antimicrobial Evaluation, Antioxidant Studies, and Molecular Docking of Some New 1H-Benzimidazole Derivatives. ChemistrySelect, 8(5), e202203651.