

**POTANSİYEL BİYOAKTİF BİLEŞİKLER OLAN 2-  
(4-HİDROKSİFENİL) BENZİMİDAZOL MANNİCH  
BAZLARI ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

**Zehra YAZICI**

**Farmasötik Kimya Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. H. İnci GÜL**

**Yüksek Lisans Tezi-2013**

**T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**POTANSİYEL BİYOAKTİF BİLEŞİKLER OLAN 2-(4-  
HİDROKSİFENİL)BENZİMİDAZOL MANNİCH BAZLARI  
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

**Zehra YAZICI**

**Farmasötik Kimya Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. H. İnci GÜL**

**ERZURUM  
2013**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**POTANSİYEL BİYOAKTİF BİLEŞİKLER OLAN 2-(4-HİDROKSİFENİL)BENZİMİDAZOL MANNİCH BAZLARI  
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

**Zehra YAZICI**

**Tez Savunma Tarihi** : 01.03.2013

**Tez Danışmanı** : Prof. Dr. H. İnci GÜL (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. H. İnci GÜL (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Erçin ERCİYAS (Ege Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ (Atatürk Üniversitesi)

*[Handwritten signatures of the jury members]*

**Onay**

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

*[Handwritten signature of Prof. Dr. Yavuz Selim SAGLAM]*  
**Prof. Dr. Yavuz Selim SAGLAM**  
Enstitü Müdürü

**Yüksek Lisans Tezi  
ERZURUM-2013**

# İÇİNDEKİLER

|                                                                       |             |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>TEŞEKKÜR .....</b>                                                 | <b>V</b>    |
| <b>ÖZET .....</b>                                                     | <b>VI</b>   |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                                  | <b>VII</b>  |
| <b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....</b>                            | <b>VIII</b> |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ.....</b>                                           | <b>X</b>    |
| <b>TABLOLAR DİZİNİ.....</b>                                           | <b>XIII</b> |
| <b>1. GİRİŞ.....</b>                                                  | <b>1</b>    |
| <b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>                                         | <b>2</b>    |
| 2.1. Karbonik Anhidraz Enzimi ve Karbonik Anhidraz İnhibitörleri..... | 2           |
| 2.1.1. Karbonik Anhidraz Enzimi .....                                 | 2           |
| 2.1.2. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri .....                          | 4           |
| 2.1.2.1. Fenoller .....                                               | 4           |
| 2.1.2.2. Sülfonamidler .....                                          | 5           |
| 2.1.2.3. Kumarinler .....                                             | 5           |
| 2.2. Mannich Bazları.....                                             | 5           |
| 2.3. $\alpha,\beta$ -Doymamış Ketonlar .....                          | 8           |
| 2.4. Aktif Karbon-Karbon Çift Bağlarına Michael Katım Tepkimesi.....  | 9           |
| 2.4.1. Michael Katım Tepkimesinin Mekanizması.....                    | 9           |
| 2.5. Fenolik Mannich Bazları Üzerinde Yapılmış Çalışmalar .....       | 10          |
| 2.5.1. Amodiakin Analogu.....                                         | 11          |
| 2.5.2. Kinolin Analogu .....                                          | 11          |
| 2.5.3. Naftiridin Analogu .....                                       | 11          |
| 2.5.4. Klorokinolin Analogu .....                                     | 11          |
| 2.5.5. Kinazolin Analogu.....                                         | 11          |

|                                                                                         |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.6. Bu Tez Kapsamında Tasarlanan Z Serisi Bileşiklerle İlgili Literatür Verileri ..... | 12        |
| 2.7. Mikrodalga Yöntemi ve Kimyasal Sentezlerde Kullanımı.....                          | 12        |
| 2.7.1. Mikrodalga Teorisi .....                                                         | 12        |
| 2.7.2. Mikrodalga Işımadan Kaynaklanan Ürün Seçiciliği.....                             | 14        |
| 2.7.3. Mikrodalga Sentez Yönteminin Avantajları .....                                   | 14        |
| 2.7.4. Mikrodalga Sentez Yönteminin Dezavantajları.....                                 | 15        |
| 2.7.5. Mikrodalga Reaksiyon Teknikleri .....                                            | 15        |
| 2.7.5.1. Çözücüsüz Reaksiyonlar .....                                                   | 15        |
| 2.7.5.2. Faz-Transfer Katalizleri .....                                                 | 16        |
| 2.7.5.3. Çözücülü Reaksiyonlar .....                                                    | 16        |
| 2.8. İlaç Tasarımında Fizikokimyasal Özelliklerin Önemi .....                           | 17        |
| 2.8.1. Hidrofobisite .....                                                              | 18        |
| 2.8.2. Partisyon Katsayısı (P).....                                                     | 18        |
| 2.8.3. Sübstitüent Hidrofobiklik Sabiti ( $\pi$ ) .....                                 | 19        |
| 2.8.4. Elektronik Etkiler.....                                                          | 19        |
| 2.8.5. Sterik Faktörler .....                                                           | 20        |
| 2.8.5.1. Taft'ın Sterik Faktörü (Es).....                                               | 20        |
| 2.8.5.2. Molar Refraktivite (MR).....                                                   | 21        |
| 2.8.6. Hansch Eşitliği .....                                                            | 21        |
| 2.8.7. İyonlaşma Sabiti (Ka) .....                                                      | 22        |
| 2.8.8. Topliss Yaklaşımı .....                                                          | 24        |
| 2.9. Biyoaktivite Testleri .....                                                        | 27        |
| <b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>                                                        | <b>28</b> |
| 3.1. Kimyasallar ve Yöntemler .....                                                     | 28        |
| 3.1.1. Sentez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar .....                               | 28        |

|                                                                                                      |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.1.2. Yöntemler .....                                                                               | 28        |
| 3.1.2.1. Kromatografik Analizler .....                                                               | 28        |
| 3.1.2.2. Spektral Analizler .....                                                                    | 29        |
| 3.1.2.3. Erime Noktası Tayinleri .....                                                               | 29        |
| 3.1.2.4. Mikrodalga Cihazı .....                                                                     | 29        |
| 3.2. Tasarlanan Bileşiklerin Sentezi .....                                                           | 29        |
| 3.2.1. Z Bileşiği: 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol .....                                             | 29        |
| 3.2.2. Z1M Bileşiği: 2-[3-(Dimetilaminometil)-4-hidroksifenil]benzimidazol .....                     | 32        |
| 3.2.3. Z1B Bileşiği: 2-[3,5-Bis(dimetilaminometil)-4-hidroksifenil]benzimidazol .....                | 35        |
| 3.2.4. Z2M Bileşiği: 2-[3-(Pirolidin-1-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol .....                  | 38        |
| 3.2.5. Z2B Bileşiği: 2-[3,5-Bis(pirolidin-1-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol .....             | 41        |
| 3.2.6. Z3M Bileşiği: 2-[3-(Piperidin-1-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol .....                  | 44        |
| 3.2.7. Z3B Bileşiği: 2-[3,5-Bis(piperidin-1-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol .....             | 46        |
| 3.2.8. Z4M Bileşiği: 2-[3-(4-Metil-piperazin-1-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol .....          | 49        |
| 3.2.9. Z4B Bileşiği: 2-[3,5-Bis(4-metil-piperazin-1-il-metil)-4-hidroksifenil]<br>benzimidazol ..... | 51        |
| 3.2.10. Z5M Bileşiği: 2-[3-(Morfolin-4-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol .....                  | 54        |
| 3.2.11. Z5B Bileşiği: 2-[3,5-Bis(morfolin-4-il-metil)-4-hidroksifenil] benzimidazol ...              | 56        |
| 3.3. Biyoaktivite Çalışmaları .....                                                                  | 58        |
| <b>4. BULGULAR .....</b>                                                                             | <b>60</b> |
| <b>5. TARTIŞMA .....</b>                                                                             | <b>66</b> |
| <b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>                                                                    | <b>73</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                                               | <b>74</b> |
| <b>EKLER .....</b>                                                                                   | <b>86</b> |
| <b>EK 1. ÖZGEÇMİŞ .....</b>                                                                          | <b>86</b> |

|                                          |           |
|------------------------------------------|-----------|
| <b>EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU .....</b> | <b>87</b> |
|------------------------------------------|-----------|

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. H. İnci GÜL'e en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

$^1\text{H}$  NMR ve  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumlarımı alan Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi'nin değerli kadrosuna, MS spektrumları ve CA inhibisyon testleri için Prof. Supuran'a ve Kimyager Muhammet Tanc'a, laboratuvar çalışmalarında her türlü desteği sağlayan Yrd. Doç. Dr. Kadir Özden YERDELEN'e, Yrd. Doç. Dr. Kaan KÜÇÜKOĞLUN'a, Arş. Gör. Mehtap TUĞRAK'a, Elif Ünlüer'e ve Fatma YEŞİLYURT'a, her zaman yanımda olan ve beni destekleyen sevgili aileme ve değerli arkadaşım Uzm. Ecz. Nuran GÜNDOĞDU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Zehra YAZICI

## ÖZET

### Potansiyel Biyoaktif Bileşikler Olan 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol Mannich Bazları Üzerinde Çalışmalar

**Amaç.** Bu tez kapsamında potansiyel biyoaktif bileşikler olacağı düşünülen 2-(4-hidroksifenil)benzimidazol (Z) ve bu bileşiğin Mannich bazlarının (Z1M, Z1B, Z2M, Z2B, Z3M, Z3B, Z4M, Z4B, Z5M, Z5B) sentezi ve CA I ve CA II enzimleri üzerindeki inhibe edici etkisinin araştırılması tasarlanmıştır.

**Materyal ve Metot.** Amin grupları; dimetilamin (Z1M, Z1B), pirolidin (Z2M, Z2B), piperidin (Z3M, Z3B), N-metilpiperazin (Z4M, Z4B) ve morfolin (Z5M, Z5B) olarak seçilmiştir. Aminlerin farklı pKa değerlerinin deaminasyon oranını / tiyol alkilasyonu oranını / biyoaktiviteyi yönlendireceği düşünülmektedir. Sentezlenen Mannich bazları klasik yöntemle (Z1M) veya mikrodalga yöntemiyle (Z1B, Z2M, Z2B, Z3M, Z3B, Z4M, Z4B, Z5M, Z5B) sentezlenmiştir.

**Bulgular.** Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapıları  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR ve MS spektrumları ile doğrulanmıştır. Reaksiyon verimleri % 16-63 arasında değişmektedir. Bileşiklerin tamamı katı bileşikler olarak elde edilmiştir. Bileşikler  $10^{-8}$ - $10^{-4}$  M konsantrasyonda CA I'i % 12-29, CA II'yi % 3-73 oranında inhibe etmiştir.

**Sonuç.** Bu tez kapsamında tasarlanan tüm bileşikler başarı ile sentezlenmiştir. Bileşiklerin sentez ve yapı aydınlatma değerlendirmeleri medisinal kimya ve ilaç geliştirmedeki temel kavram, prensipler ve teknikler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar bu çalışmada değerlendirilip, tartışılarak sunulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Biyoaktivite, CA, deaminasyon, Mannich bazları, mikrodalga, pKa, tiyol alkilasyonu.

## ABSTRACT

### Studies on Mannich Bases of 2-(4-Hydroxyphenyl)benzimidazole Which is Potential Bioactive Compounds

**Aim.** The aims of this thesis were to synthesize 2-(4-hydroxyphenyl)benzimidazole and its Mannich bases (Z1M, Z1B, Z2M, Z2B, Z3M, Z3B, Z4M, Z4B, Z5M, Z5B), which are thought to be potentially bioactive compounds, and to evaluate their inhibiting effects on CA I and CA II enzymes.

**Material and Method.** Amine groups were selected as dimethylamine (Z1M, Z1B), pyrrolidin (Z2M, Z2B), piperidine (Z3M, Z3B), N-methylpiperazin (Z4M, Z4B) and morpholin (Z5M, Z5B). It is thought that different pKa values of the amines may affect the deamination rate / thiol alkylation rate / bioactivity. Mannich bases were synthesized by classical (Z1M) or microwave (Z1B, Z2M, Z2B, Z3M, Z3B, Z4M, Z4B, Z5M, Z5B) methods.

**Results.** The chemical structures of the synthesized compounds were confirmed by  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR and MS spectra. The yields of the reactions were 16-63 %. All of the compounds were obtained in solid form. Compounds (at  $10^{-8}$ - $10^{-4}$  M concentrations) inhibited CA I and CA II by 12-29 % and 3-73 %, respectively.

**Conclusion.** In this thesis, all of the compounds designed are synthesized successful. Synthesis, elucidation of the chemical structure of the compounds were realized according to the basic concepts, principles and techniques used in medicinal chemistry and drug development. The results obtained in this study are evaluated, presented and discussed.

**Keywords:** Bioactivity, CA, deamination, Mannich bases, microwave, pKa, thiol alkylation.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                           |                                             |
|---------------------------|---------------------------------------------|
| <b>°C</b>                 | : Santigrad                                 |
| <b>CA</b>                 | : Karbonik Anhidraz                         |
| <b>CDCl<sub>3</sub></b>   | : Döterokloroform                           |
| <b>CD<sub>3</sub>OD</b>   | : Döterometanol                             |
| <b><sup>13</sup>C NMR</b> | : <sup>13</sup> C Nükleer Manyetik Rezonans |
| <b>d</b>                  | : Dublet                                    |
| <b>dk</b>                 | : Dakika                                    |
| <b>DNA</b>                | : Deoksiribonükleik Asit                    |
| <b>Es</b>                 | : Taft'ın Sterik Faktörü                    |
| <b>g</b>                  | : Gram                                      |
| <b><sup>1</sup>H NMR</b>  | : <sup>1</sup> H Nükleer Manyetik Rezonans  |
| <b>Hz</b>                 | : Herzt                                     |
| <b>İTK</b>                | : İnce Tabaka Kromatografisi                |
| <b>J</b>                  | : Jiromanyetik Sabiti                       |
| <b>Ka</b>                 | : İyonlaşma Sabiti                          |
| <b>m</b>                  | : Multiplet                                 |
| <b>M</b>                  | : Molar                                     |
| <b>M.A</b>                | : Molekül Ağırlığı                          |
| <b>MHz</b>                | : Megaherzt                                 |
| <b>ml</b>                 | : Mililitre                                 |
| <b>mM</b>                 | : Milimolar                                 |
| <b>mmol</b>               | : Milimol                                   |
| <b>MR</b>                 | : Molar Refraktivite                        |
| <b>MS</b>                 | : Kütle Spektrumu                           |

|                            |                                       |
|----------------------------|---------------------------------------|
| <b>nm</b>                  | : Nanometre                           |
| <b>nM</b>                  | : Nanomolar                           |
| <b>P</b>                   | : Partisyon Katsayısı                 |
| <b>ppm</b>                 | : Milyonda Bir Kısım                  |
| <b>PTC</b>                 | : Faz Transfer Katalizi               |
| <b>QSAR</b>                | : Kantitatif Yapı Aktivite İlişkileri |
| <b>RNA</b>                 | : Ribonükleik Asit                    |
| <b>s</b>                   | : Singlet                             |
| <b>sa</b>                  | : Saat                                |
| <b>UV</b>                  | : Ultraviyole                         |
| <b>W</b>                   | : Watt                                |
| <b>X-RAY</b>               | : X ışınları                          |
| <b><math>\delta</math></b> | : Kimyasal Kayma                      |
| <b><math>\pi</math></b>    | : Süstitüent Hidrofobiklik Sabiti     |
| <b><math>\sigma</math></b> | : Hammett süstitüent sabiti           |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>Şekil No</u>                                                                            | <u>Sayfa No</u> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Şekil 2.1. Karbonik anhidrazın katalizlediği reaksiyon.....                                | 2               |
| Şekil 2.2. Genel Mannich reaksiyonu.....                                                   | 6               |
| Şekil 2.3. Mannich bazı oluşum mekanizması .....                                           | 6               |
| Şekil 2.4. Bir keton bileşiği ve Mannich bazı.....                                         | 7               |
| Şekil 2.5. $\alpha,\beta$ -Doymamış keton .....                                            | 8               |
| Şekil 2.6. $\alpha,\beta$ -Doymamış sistemlerde rezonans yapılar (R: H, Alkil, Aril) ..... | 9               |
| Şekil 2.7. Dissosiyasyon tiyollerin Michael katım mekanizması .....                        | 10              |
| Şekil 2.8. Nondissosiyasyon tiyollerin Michael katım mekanizması .....                     | 10              |
| Şekil 2.9. Partisyon katsayısının formülü .....                                            | 18              |
| Şekil 2.10. Sübstitüent hidrofobiklik sabitinin formülü .....                              | 19              |
| Şekil 2.11. Hammett sübstitüent sabitinin formülü .....                                    | 20              |
| Şekil 2.12. Taft'ın Es parametresinin formülü .....                                        | 20              |
| Şekil 2.13. Molar refraktivitenin formülü .....                                            | 21              |
| Şekil 2.14. Hansch eşitliğinin formülü .....                                               | 22              |
| Şekil 2.15. Henderson-Hasselbach denklemi .....                                            | 23              |
| Şekil 2.16. pH'nın formülü.....                                                            | 23              |
| Şekil 2.17. Moleküllerin % iyonize şeklinin formülü .....                                  | 24              |
| Şekil 2.18. Aromatik halkada sübstitüent seçmek için Topliss şeması .....                  | 26              |
| Şekil 3.1. Sodyum hidroksil(4-hidroksifenil)metansülfonat tuzunun sentezi .....            | 30              |
| Şekil 3.2. Z bileşiğinin sentezi.....                                                      | 30              |
| Şekil 3.3. Z bileşiğinin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....                                  | 31              |
| Şekil 3.4. Z bileşiğinin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....                               | 31              |
| Şekil 3.5. Z bileşiğinin kütle spektrumu.....                                              | 32              |

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.6. Z1M bileşiğinin sentezi .....                        | 33 |
| Şekil 3.7. Z1M bileşiğinin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....     | 34 |
| Şekil 3.8. Z1M bileşiğinin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....  | 34 |
| Şekil 3.9. Z1M bileşiğinin kütle spektrumu .....                | 35 |
| Şekil 3.10. Z1B bileşiğinin sentezi .....                       | 36 |
| Şekil 3.11. Z1B bileşiğinin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....    | 37 |
| Şekil 3.12. Z1B bileşiğinin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu ..... | 37 |
| Şekil 3.13. Z1B bileşiğinin kütle spektrumu .....               | 38 |
| Şekil 3.14. Z2M bileşiğinin sentezi .....                       | 39 |
| Şekil 3.15. Z2M bileşiğinin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....    | 40 |
| Şekil 3.16. Z2M bileşiğinin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu ..... | 40 |
| Şekil 3.17. Z2M bileşiğinin kütle spektrumu .....               | 41 |
| Şekil 3.18. Z2B bileşiğinin sentezi .....                       | 42 |
| Şekil 3.19. Z2B bileşiğinin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....    | 42 |
| Şekil 3.20. Z2B bileşiğinin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu ..... | 43 |
| Şekil 3.21. Z2B bileşiğinin kütle spektrumu .....               | 43 |
| Şekil 3.22. Z3M bileşiğinin sentezi .....                       | 44 |
| Şekil 3.23. Z3M bileşiğinin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....    | 45 |
| Şekil 3.24. Z3M bileşiğinin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu ..... | 45 |
| Şekil 3.25. Z3M bileşiğinin kütle spektrumu .....               | 46 |
| Şekil 3.26. Z3B bileşiğinin sentezi .....                       | 47 |
| Şekil 3.27. Z3B bileşiğinin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....    | 47 |
| Şekil 3.28. Z3B bileşiğinin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu ..... | 48 |
| Şekil 3.29. Z3B bileşiğinin kütle spektrumu .....               | 48 |
| Şekil 3.30. Z4M bileşiğinin sentezi .....                       | 49 |

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 3.31.</b> Z4M bileşiğinin $^1\text{H}$ NMR spektrumu.....     | 50 |
| <b>Şekil 3.32.</b> Z4M bileşiğinin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu.....  | 50 |
| <b>Şekil 3.33.</b> Z4M bileşiğinin kütle spektrumu .....               | 51 |
| <b>Şekil 3.34.</b> Z4B bileşiğinin sentezi .....                       | 52 |
| <b>Şekil 3.35.</b> Z4B bileşiğinin $^1\text{H}$ NMR spektrumu.....     | 52 |
| <b>Şekil 3.37.</b> Z4B bileşiğinin kütle spektrumu .....               | 53 |
| <b>Şekil 3.38.</b> Z5M bileşiğinin sentezi .....                       | 54 |
| <b>Şekil 3.39.</b> Z5M bileşiğinin $^1\text{H}$ NMR spektrumu.....     | 55 |
| <b>Şekil 3.40.</b> Z5M bileşiğinin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu.....  | 55 |
| <b>Şekil 3.41.</b> Z5M bileşiğinin kütle spektrumu .....               | 56 |
| <b>Şekil 3.42.</b> Z5B bileşiğinin sentezi .....                       | 57 |
| <b>Şekil 3.43.</b> Z5B bileşiğinin $^1\text{H}$ NMR spektrumu.....     | 57 |
| <b>Şekil 3.44.</b> Z5B bileşiğinin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu.....  | 58 |
| <b>Şekil 3.45.</b> Z5B bileşiğinin kütle spektrumu .....               | 58 |
| <b>Şekil 4.1.</b> Sentezlenen bileşiklerin genel kimyasal yapısı ..... | 60 |

## TABLÖLAR DİZİNİ

| <b><u>Tablo No</u></b>                                                         | <b><u>Sayfa No</u></b> |
|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| <b>Tablo 4.1.</b> Sentezlenen bileşiklerin deneysel verileri.....              | 61                     |
| <b>Tablo 4.2.</b> Sentezlenen bileşiklerin <sup>1</sup> H NMR sonuçları .....  | 62                     |
| <b>Tablo 4.3.</b> Sentezlenen bileşiklerin <sup>13</sup> C NMR sonuçları ..... | 63                     |
| <b>Tablo 4.4.</b> Sentezlenen Bileşiklerin MS Sonuçları .....                  | 64                     |
| <b>Tablo 4.5.</b> Sentezlenen bileşiklerin CA I % inhibisyon sonuçları .....   | 64                     |
| <b>Tablo 4.6.</b> Sentezlenen bileşiklerin CA II % inhibisyon sonuçları .....  | 65                     |

## 1. GİRİŞ

Mannich bazlarının,<sup>1-4</sup> benzimidazol türevlerinin,<sup>5-11</sup> fenol bileşiklerinin<sup>12</sup> çok geniş biyoaktivite spektrumu pek çok literatürde rapor edilmiştir.

Farklı kimyasal yapıdaki fenolik bazı Mannich bazlarının antimalaryal aktiviteleri rapor edilmiştir.<sup>13-19</sup>

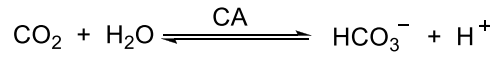
Bu tez kapsamında benzimidazol (2-(4-hidroksifenil)benzimidazol) iskeleti taşıyan fenolik mono, bis Mannich bazlarının sentezi tasarlanmıştır. Bileşiklerden Z2B, Z3M, Z3B, Z4M ve Z5M üç adet Çince literatürde<sup>20-22</sup> rapor edilmiş, bu literatürlerin yalnızca özetine ulaşılmıştır. Z5B bileşiğine ise Sci-Finder taramalarında formül olarak rastlanmıştır; ancak herhangi bir literatüre ulaşılamamıştır. Dolayısıyla tez kapsamında sentezlenen bileşikler detaylı sentez, spektral analiz ve biyoaktivite verileri ile orjinaldir. İlk kez bu çalışma ile rapor edilip, literatürdeki eksikliği doldurmaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Karbonik Anhidraz Enzimi ve Karbonik Anhidraz İnhibitörleri

#### 2.1.1. Karbonik Anhidraz Enzimi

CA'lar, CO<sub>2</sub>'in reversibl olarak bikarbonat ve protona dönüşümü olan basit fizyolojik olayı katalize eder (Şekil 2.1).<sup>23</sup>



**Şekil 2.1.** Karbonik anhidrazın katalizlediği reaksiyon

Çoğu CA'nın aktif bölgesi kataliz için temel olan bir çinko iyonu (Zn<sup>+2</sup>) içerir. CA reaksiyonu pek çok fizyolojik ve patolojik işlemde CO<sub>2</sub> ve HCO<sub>3</sub>'ın akciğerler ve metabolize edici dokular arasında taşınması ve solunumu içeren, pH ve CO<sub>2</sub> hemostazisi, çeşitli dokularda ve organda elektrolit salınımı, biyosentetik reaksiyonlarda (glukogenez, lipogenez ve ürogenez), kemik resorpsiyonu (CA kemik zayıflaması), kalsifikasyon ve kanserleşmede rol alır.<sup>24, 25</sup>

Birçok CA izoenzimi ödem, glokom, obezite, kanser, epilepsi, osteoporoz gibi rahatsızlıkları tedavi hedefidir. İnhibe veya aktive edilir.<sup>25, 26</sup>

Karbonik anhidrazlar (CA) aynı anda birden fazla yerde olan metaloenzimlerdir. Prokaryot ve ökaryotlarda bulunur. Beş familyası mevcuttur:<sup>24</sup>

α-CA: Vertebra, bakteri, alg ve yeşil bitkilerin stoplazmasında bulunur.

β-CA: Daha çok bakteride, alg ve monodikotiledon ve dikotiledonlarda bulunur.

γ-CA: Daha çok archaea ve bazı bakterilerde bulunur.

δ, ζ-CA: Bazı deniz diatomlarında bulunur.

Tüm CA'lar metaloenzimdir:<sup>27</sup>

$\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ -CA: Zn (II)'yi aktif yörede kullanır.

$\gamma$ -CA: Fe (II) enzimi fakat Zn (II), Ca (II) iyonu bağlı iken de aktiftir.

$\zeta$ -CA: Cd (II), Zn (II).

CA'nın üç boyutlu yapıları (CA 3D):<sup>27</sup>

$\alpha$ -CA: Monomer, nadiren dimer (r: CA IX, XII).

$\beta$ -CA: Dimer, tetramer, octamer.

$\gamma$ -CA: Trimer.

$\delta$  ve  $\zeta$ : Muhtemelen monomer.

Memelilerde 16 farklı  $\alpha$ -CA izomeri ya da farklı katalitik aktiviteli proteinlerle ilişkili CA'lar subsellüler lokalizasyon ve doku dağılımına sahiptir.<sup>24</sup>

Bugüne dek 16 CA izoenzimi tanımlanmıştır. Bu enzimler sitozolik (CA I, II, III, VII, XIII) ve membran bağlı (CA IV, IX, XII, XIV, XV), iki tanesi mitokondriyaldır (CA VA, VB) ve bir tanesi de tükürük bezlerinden (CA VI) salgılanır.<sup>26</sup>

CA XV'in izo formu insan ya da primatlarda bulunmaz fakat kemirgenlerde ve diğer daha yüksek omurgalılarda bulunur.<sup>26</sup>

İki büyük CA izoenzimi CA I ve CA II yüksek konsantrasyonda eritrositlerin sitozolunda bulunur. CA II bütün CA'lar içinde en yüksek bulunma oranına sahiptir.<sup>26</sup>

CA VA ve CA VB mitokondriyal izoenzimlerdir ve antiobezite ajan tasarımında potansiyel hedeflerdir.<sup>28</sup>

Çoğu hipoksik tümörlerde CA IX ve XII mevcuttur. Karaciėer dominat olarak CA VA ve XIV' içerir.<sup>27</sup>

Tüm enzim sınıflarında enzimin metal hidroksit yüzeyi katalitik aktivite yöresidir. (L3-M+2-OH) burası nötral pH'da yakındaki hidrofobik cepteki bağlı CO<sub>2</sub> molekülü üzerinde kuvvetli bir nükleofil olarak davranır.<sup>27</sup>

### 2.1.2. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri

Çeşitli CA inhibitörleri mevcuttur. Metallerle kompleksleşen anyonlar, nonsüstitüe sülfonamidler ve onların biyoizosterleri (sülfamat ve sülfamid bileşikleri), kumarinler ve poliaminler, fenol, polifenol, fenolik asit gibi doğal ürünler CA inhibitörüdürler. CA inhibitörlerinin etki mekanizmaları kinetik çalışmalar ve X-ışınları (X-RAY) ile açıklanmıştır ve akılcı ilaç tasarımında bu bilgilerden faydalanılmıştır.<sup>24</sup>

CA II inhibitörleri glokomda, epilepside ve diüretik olarak kullanılır.<sup>27</sup>

#### 2.1.2.1. Fenoller

Fenolün CA inhibitörü olduğu keşfedilmiştir. Lindskog fenolün predominant sitozolik human isoform II ile etkileşimini araştırmıştır. Christianson'un grubu fenol ile enzim katımının X-RAY yapısını rapor etmiştir. Bu X-RAY, fenolün inorganik anyonlar, sülfonamidler ve onların izosterleri gibi diğer CA inhibitörlerinden farklı bir şekilde CA'ya bağlanarak inhibisyon yaptığını göstermiştir.<sup>29, 30</sup>

Fenol hidroksili su molekülünün hidroksid iyonuna bağlı Zn ile hidrojen bağı yapar. Ayrıca fenol bütün CA'larda mevcut olan Thr199 amino asidinin amid NH'ı ile hidrojen bağı yapar. Dahası fenol bileşiklerindeki fenol, CA II'nin aktif yöresindeki hidrofobik bölgeye uzanır. Orada enzimin CO<sub>2</sub>'in substratı olduğu farz edilir. Prekatalitik komplekse bağlanır. Bu durum bu bileşiğin CO<sub>2</sub>'in eşsiz yarışmalı inhibitörü olmasını açıklar. Fenoller CO<sub>2</sub> ile CA II'nin yarışmalı inhibitörüdür.<sup>30</sup>

Bazı basit fenoller tüm memeli CA izoformları CAI-XV ile etkileşir. Basit fenollerin CA II ile etkileşiminin X-RAY'i, bu bileşiğin eşsiz bir şekilde enzim aktif yöresine bağlandığını göstermiştir.<sup>30</sup>

Fenollerin CA'a inhibisyon profili sülfonamit ve benzerinden farklıdır. Sülfonamitler rastlantısal iken fenoller farz edilen aktivite için arzu edilen özelliklere sahiptir.<sup>30</sup>

#### **2.1.2.2. Sülfonamitler**

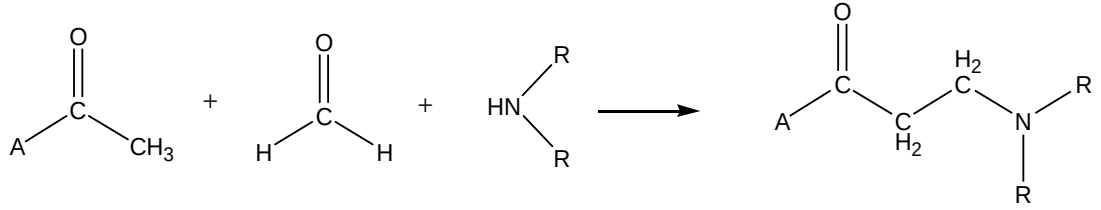
Metalle kompleksleşen anyonlar ve non-süstitüe sülfonamitler ve onların biyoizosterleri (sülfamat, sülfamit); enzimin Zn (II) iyonunu tetrahedral katım ürünü üretecek şekilde protein olmayan Zn ligantına süstitüe ederek ya da metal kordinasyon alanına yüzey katım yaparak bağlarlar. Trigonal-bipiramidal yüzey üretecek şekilde ve substrat olarak CO<sub>2</sub> ile yarışmasız inhibitördür.<sup>31</sup> Sülfonamitlerin ve sülfamatların hedef izoenzim üzerinde selektivite yokluğu ana problemidir.<sup>30</sup>

#### **2.1.2.3. Kumarinler**

Kumarinler enzim aktif yöresinde hidroksisinnamik asit türevine dönüştürülür, inhibitör olarak davranır.<sup>31, 32</sup>

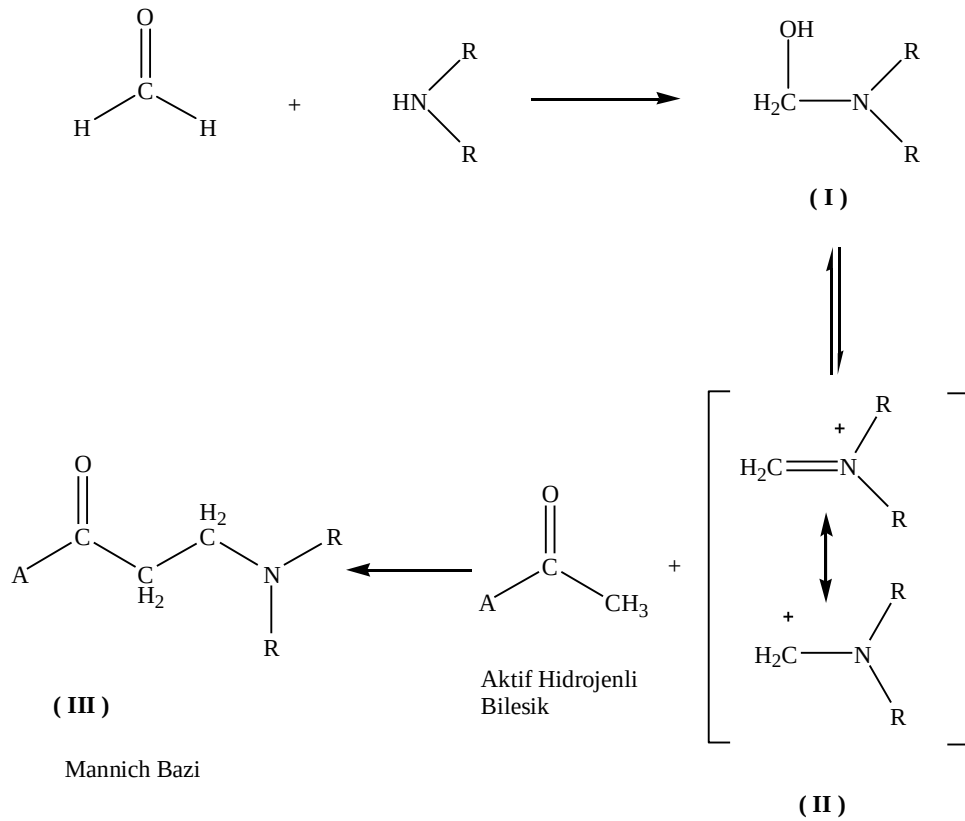
#### **2.2. Mannich Bazları**

Mannich reaksiyonu, aktif bir veya daha fazla hidrojen atomu içeren bir bileşikle, bir aldehit ve genellikle hidroklorür tuzu halinde amonyak, primer veya sekonder aminin kondensasyonu olarak tanımlanır.<sup>33</sup> Reaksiyon sonucu oluşan  $\beta$ -aminokarbonil bileşiği Mannich bazı olarak adlandırılır.<sup>34</sup> Örnek bir Mannich reaksiyonu aşağıda Şekil 2.2'de gösterilmiştir. Bu reaksiyon "Mannich Reaksiyonu" ismini kimyacı Carl Mannich'den 1912 yılında almıştır.<sup>35</sup> Organik kimyada en önemli C-C bağı oluşum reaksiyonlarından biridir.<sup>36</sup>



**Şekil 2.2.** Genel Mannich reaksiyonu

Mannich bazlarının oluşum mekanizması Şekil 2.3’de verilmiştir. Mekanizmaya göre ilk basamak formaldehitin bir aminle kondensasyonu sonucu hidroksimetilaminin oluşturmasıdır (I). Daha sonra bu hidroksimetilamin bileşiği dekompoze olarak yüksek reaktif özellikte metileniminium tuzuna dönüşür (II), ve bu yüksek reaktif bileşik aktif hidrojen bulunduran substrat bileşikle reaksiyona girerek Mannich bazını (III) oluşturur.



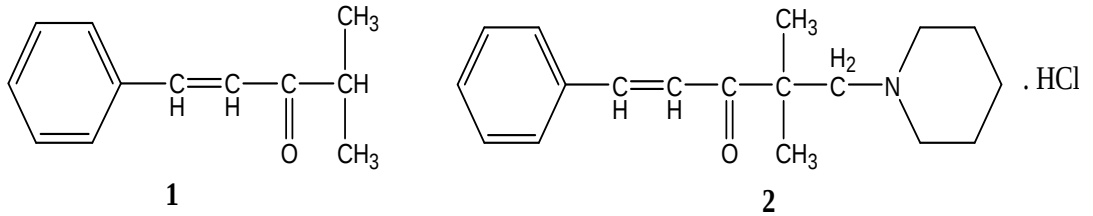
**Şekil 2.3.** Mannich bazı oluşum mekanizması

Bis-Mannich bazlarının sentezinde Mannich tepkimesi yavaş yürür. Bu tip tepkimelerde büyük oranda mono-Mannich bazlarının oluşması nedeniyle verim düşük olmaktadır.

Mannich bazları Michael akseptörü olan  $\alpha,\beta$  doymamış ketonların prodrugları olarak dizayn edilirler.<sup>37</sup> Mannich bazlarının sitotoksik,<sup>1, 38-46</sup> antikanser,<sup>47</sup> analjezik,<sup>48</sup> antienflamatuar,<sup>49, 50</sup> diüretik,<sup>51</sup> antimikrobiyal<sup>52-55</sup> ve antikonvulzan<sup>56-59</sup> gibi farklı biyolojik aktiviteleri rapor edilmiştir.

Mannich bazlardaki aminometil grubu hücresel bileşenlerin elektrofilik atakları için moleküler bölge oluşturur. Ayrıca, ayrıcalıklı kimyasal duyarlılık ve buna bağlı etki artışı / biyolojik potansiyelde artış beklenebilir.

Bir çalışmada enonların Mannich bazları hazırlanmıştır. Bu çalışmada Mannich bazının (2) prekürsör keton bileşiğinden (1) P388 ve L1210 hücre hatlarına karşı daha fazla sitotoksik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Şekil 2.4).<sup>60</sup>



**Şekil 2.4.** Bir keton bileşiği ve Mannich bazı

Sitotoksik aktivite artışı Mannich bazlarının fizikokimyasal ve biyokimyasal özelliklerinden kaynaklanabilir. Bu özelliklerden bazıları;

a) Sudaki çözünürlük artırıldığından aktif bileşiklerin daha iyi taşınmasıyla bir veya birden fazla bölgede aktivite meydana gelebilir.

b) Mannich bazlarının toksisitesi, mitokondrideki elektron taşıma zincirine ya kısmen ya da tamamen müdahale etmesiyle görülür.<sup>61</sup>

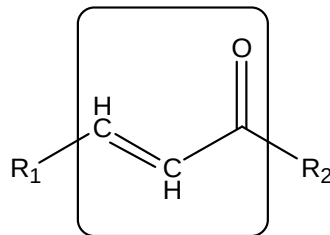
c) Farklı Mannich bazlarının bir tiyolle reaksiyonunun analog ketonların tiyolle reaksiyonundan daha hızlı olduğu bulunmuştur.<sup>62</sup>

### 2.3. $\alpha,\beta$ -Doymamış Ketonlar

Mannich bazlarının sitotoksik / antifungal aktivite gibi bazı biyolojik aktiviteleri deaminasyonla oluşturdıkları  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonlara atfedilir. Üretilen enonlar hücrel nükleofilleri (tiyol gibi) alkilerler.

$\alpha,\beta$ -Doymamış ketonların (Şekil 2.5), amin ve hidroksil gruplarına karşı ilgisi az ya da yok denecek kadar az, tiyollere karşı ilgisi ise çok fazladır.<sup>63, 64</sup> Bu özellik nükleik asitlerle etkileşmeyi engeller. Bundan dolayı bu bileşiklerde alkilleyici bileşiklerin kullanımında gözlenen kanserojenik<sup>65</sup> ve mutajenik<sup>66</sup> yan etkiler gözlenmez.

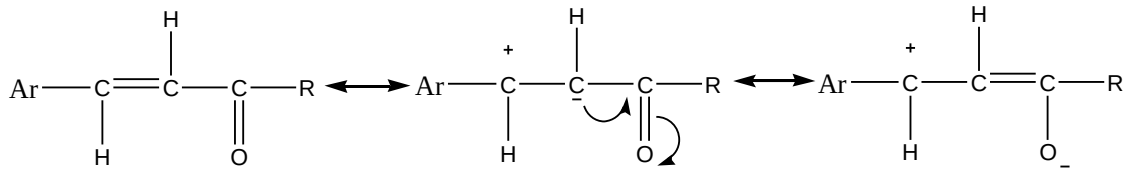
Tiyollere karşı  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonların tercihlili afinitesi daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir.<sup>67, 68</sup> Hücre bölünmesinden hemen önce artmış glutatyon seviyeleri daha önce rapor edilmiştir.<sup>69</sup> Bu yüzden normal dokulardan ziyade tümörlü dokulara karşı başarılı bir seçici sitotoksiste  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonlarla mümkün olabilir. Ayrıca bazı seçici tiyol alkilleyicilerin tümörlü dokulara normal dokulardan daha fazla etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu tespit, genellikle kanserli dokulardan daha çok normal dokulardaki makromoleküllere bağlanmayı tercih eden geleneksel alkilleyici ajanlara ve antimetabolitlere karşı, tercihen tümörlü dokulardaki DNA, RNA ve proteinlerin farklı prekürsörlerine bağlanan seçici tiyol alkilleyicilerin yeteneğine atfedilir.<sup>70</sup>



Şekil 2.5.  $\alpha,\beta$ -Doymamış keton

## 2.4. Aktif Karbon-Karbon Çift Bağlarına Michael Katım Tepkimesi

Michael katım tepkimesi aktif  $\alpha$ -hidrojeni taşıyan bir vericinin bazik koşullarda konjuge bir sistemin parçasını oluşturan aktif karbon-karbon doymamışlığına (Şekil 2.6) katım yapması demektir.<sup>71</sup> Tepkimenin bu tanımı tiyol, amin ve hidroksil gibi elektron verici nükeofilik grupların  $\alpha,\beta$ -doymamış keton sistemi ile tepkimeye girebilme yeteneğine sahip olduğunu açıklar. Nükleofilik atak için karbon-karbon arasında  $\pi$  elektronlarının varlığı ve rezonans ya da indüktif etkilerle  $\beta$ -karbonunun elektron yoğunluğunu azaltan aktifleştirici grupların bulunması gerekir. Tepkimenin gerçekleşmesine katkıda bulunan rezonans yapılar Şekil 2.6'da gösterilmiştir.<sup>72</sup>

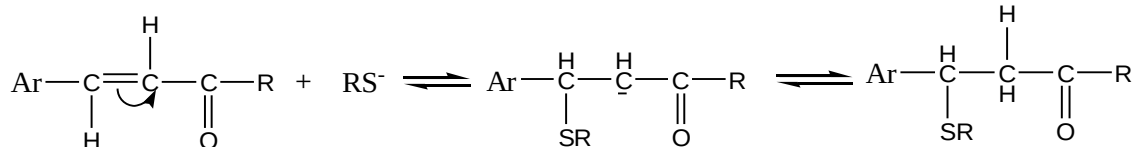


**Şekil 2.6.**  $\alpha,\beta$ -Doymamış sistemlerde rezonans yapılar (R: H, Alkil, Aril)

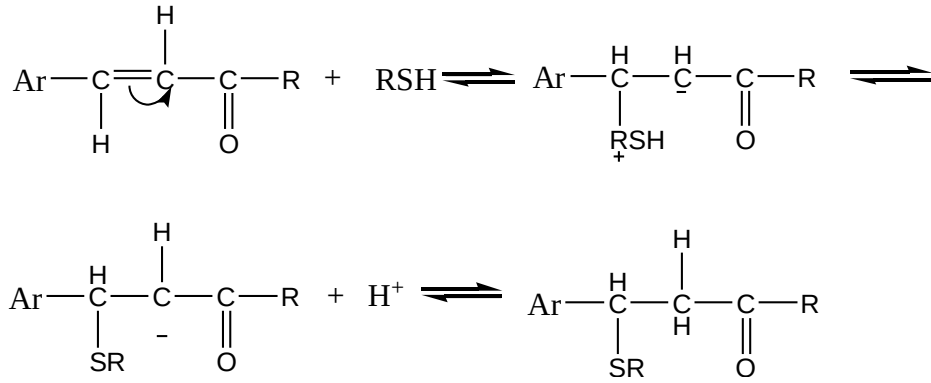
Ancak Michael tepkimesi sadece konjuge enonlarla sınırlı olmayan genel bir tepkime niteliğindedir. Konjuge aldehytler, esterler, nitriller, amitler ve nitro bileşikleri de elektrofilik akseptör olarak davranarak Michael tipi tepkimelerde yer alabilirler.<sup>73</sup>

### 2.4.1. Michael Katım Tepkimesinin Mekanizması

Dissosiyе olmuş ( $\text{RS}^-$ ) ve dissosiyе olmamış ( $\text{RSH}$ ) tiyol nükleofilleri ile  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonların verdikleri tepkime mekanizmaları Şekil 2.7 ve Şekil 2.8'de verilmiştir.



**Şekil 2.7.** Dissosiyeli tiyollerin Michael katım mekanizması



**Şekil 2.8.** Nondissosiyeli tiyollerin Michael katım mekanizması

Katım tepkimelerine ilişkin kinetik çalışmalarda şu noktalar vurgulanmaktadır:

1. En yavaş tepkime basamağı nükleofilin  $\beta$ -karbonuna atak yaptığı basamaktır.<sup>74</sup>
2.  $\beta$ -karbonunun elektrofilliği ve verici grubun nükleofilliği arttıkça tepkime hızlanır.
3. Sterik ve elektronik etkiler, çözücüler ve pH gibi diğer etkenler de tepkime hızını önemli ölçüde değiştirirler.<sup>75</sup>

## 2.5. Fenolik Mannich Bazları Üzerinde Yapılmış Çalışmalar

Amodiakin, kinolin, naftiridin, klorokinolin ve kinazolin analogu mono ve bis Mannich bazlarının antimalaryal aktiviteleri rapor edilmiştir.<sup>13-19</sup>

### 2.5.1. Amodiakin Analogu

Amodiakin analogu mono ve bis Mannich bazları sentezlenmiş, klorokine rezistan / duyarlı Plasmodium falciparum'a karşı test edilmiş ve klorokine benzer aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.<sup>13, 14</sup>

### 2.5.2. Kinolin Analogu

2(ve 4)-[2(ve 8)-triflorometilkinolin-4-il-amino]fenol mono ve bis Mannich bazları sentezlenmiş, klorokine duyarlı Plasmodium falciparum'a karşı test edilmiş ve  $7\text{-CF}_3 > 8\text{-CF}_3 > 2\text{-CF}_3$  süstitüent sırası ile etkili olduğu tespit edilmiştir.<sup>15</sup>

### 2.5.3. Naftiridin Analogu

4-(7'-triflorometil-1',5'-naftiridin-4'-il-amino)fenol ve 2-[7'-bromo (ve triflorometil)-1',5'-naftiridin-4'-il-amino]fenol mono ve bis Mannich bazları sentezlenmiş, klorokine duyarlı Plasmodium falciparum'a karşı test edilmiştir. Bis Mannich bazlarının bir kısmının klorokinden daha fazla aktif, diğer bir kısmının ise klorokinden daha az aktif olduğu tespit edilmiş ve 7-bromo analogunun da diğer naftiridin analoglarından biraz daha fazla aktif olduğu saptanmıştır.<sup>16-18</sup>

### 2.5.4. Klorokinolin Analogu

2-(7'-klorokinolin-4'-il-amino) fenol mono ve bis Mannich bazları sentezlenmiş, klorokine duyarlı / rezistan Plasmodium falciparum'a karşı test edilmiş ve bis Mannich bazlarının çoğunun klorokinden daha üstün aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir.<sup>17</sup>

### 2.5.5. Kinazolin Analogu

4-(7'-triflorometilkinazolin-4'-il-amino)fenol bis Mannich bazları sentezlenmiş, Plasmodium falciparum'a karşı test edilmiş ve kinolinden daha az aktif olduğu tespit edilmiştir.<sup>19</sup>

## 2.6. Bu Tez Kapsamında Tasarlanan Z Serisi Bileşiklerle İlgili Literatür

### Verileri

Sentezlenen bileşiklerden Z2B (pirolidinli bis Mannich bazı),<sup>20</sup> Z3M (piperidinli mono Mannich bazı),<sup>21</sup> Z3B (piperidinli bis Mannich bazı),<sup>20, 21</sup> Z4M (N-metilpiperazinli mono Mannich bazı)<sup>22</sup> ve Z5M (morfolinli mono Mannich bazı)<sup>22</sup> literatürde rapor edilmiştir. Z5B bileşiğine (morfolinli bis Mannich bazı) Sci-Finder taramalarında formül olarak rastlanmıştır; ancak herhangi bir literatüre ulaşılammıştır.

Bileşiklerimizle ilgili yapılan taramalar 3 ana literatüre işaret etmiştir. Bunlar Çince yazıldığından yalnızca özetlerine ulaşılabilmiştir.<sup>20-22</sup>

Z2B ve Z3B bileşiklerinin bahsedildiği literatürde bazı bifenol ve 4-heteroarilfenol Mannich bazlarının antiaritmik aktivitesi araştırılmıştır.<sup>20</sup>

Z3M ve Z3B bileşiklerinin bahsedildiği literatürde 4-heteroarilaminofenol tipi bileşiklerde antiinflamatuvar aktivite sıçanlarda 20 bileşik ile araştırılmış ve bunlardan 10 bileşiğin kuantum kimyasal hesaplamaları CNDO / 2 metodu ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada antiinflamatuvar aktivite ile bileşiklerin elektronik yapısı arasındaki ilişkilerin tartışıldığı bildirilmektedir.<sup>21</sup>

Z4M ve Z5M bileşiklerinin bahsedildiği literatürde trombosit agregasyonunu önleyici aktivitenin bazı 4-heteroarilaminometilfenoller için *in vitro* olarak araştırıldığı bildirilmekte; ancak hiçbir sonuç verilmemektedir.<sup>22</sup>

## 2.7. Mikrodalga Yöntemi ve Kimyasal Sentezlerde Kullanımı

### 2.7.1. Mikrodalga Teorisi

Elektromanyetik enerji, ısımlandığı bir ortamda bulunan maddelerin yapılarıyla etkileşime girerek maddenin içine dalarak onun moleküler yapısıyla titreşime girer. Bu titreşim sonucu, elektromanyetik enerji ısıya dönüşür. Elektromanyetik enerjinin ısı

enerjisine dönüşümü, maddenin elektromanyetik özelliklerine ve aynı zamanda maddenin sıcaklığına ve frekansa bağlı olarak gerçekleşir.

Elektromanyetik alanla madde arasındaki etkileşim, maddenin moleküler yapısına bağlıdır. Polar moleküller veya asimetrik moleküler yapılar (örneğin su) mikrodalga enerjisini tutarak ısınır. Polar moleküllerin mikrodalga frekanslarında titreşime rotasyona zorlanmalarıyla elektromanyetik enerji ısıya dönüşmektedir. Isı gradyanı içten dışarıya doğru olan mikrodalga ısıtma işlemlerinin, klasik ısıtma yöntemlerine göre önemli avantajları vardır.<sup>76</sup>

Yüksek frekansa sahip bir elektromanyetik dalganın etkisi altında bulunan bir maddenin ısınabileceği uzun zamandır bilinmektedir. Bu ısınma etkisi, madde içindeki yüklü parçacıklar ile mikrodalganın elektrik saha komponentinin etkileşiminden kaynaklanır. Bu etkileşim sonucu ortaya çıkan ısınmaya 2 önemli etki sebep olur. Eğer yüklü parçacıklar madde içinde serbestçe hareket edebiliyorlarsa, bu saha içinde serbestçe hareketlenmeye sebep olacak bir akım oluşacaktır. Eğer bu yüklü parçacıklar, mikrodalga ışıma altında bulunan madde içerisinde bağlı ise, bu durumda mikrodalganın elektrik saha komponenti, bu yüklü parçacıkların hareketlenmesini teşvik edecektir. Yüklü parçacığı bir arada materyal içerisinde tutan bağ, bu hareketlenmeye zıt bir kuvvet oluşturacaktır. Bu durum elektrik sahasının oluşturmuş olduğu kuvvetin, bağın oluşturduğu zıt kuvvetlerle dengelenmesine kadar sürer ve materyal içerisindeki dipolar polarizasyon olarak tanımlanır. Neticede, yüklü partiküller ötelenme, dönme ve titreşim hareketleri yapmaya zorlanırlar. Yüklü partiküllerin hareketlenmesinden dolayı polar partiküllerin polarizasyon derecesi artar. Mikrodalgaların elektrik ve magnetik alanları etkisi ile birlikte oluşturulan bu çok hızlı hareketlilik (saniyede  $2.4 \times 10^9$  kez) partikülün ısınmasına yol açacaktır. Partikülü oluşturan moleküllerin bir arada bulunması bu hareketlenmeye çok çabuk cevap veremeyecektir. Bu gecikmeden dolayı

hareketlenmeyi engelleyici zıt bir kuvvet oluşacak ve partikül içerisinde meydana gelen bu sürtünme sonucunda belirli bir ısı oluşacaktır. Bu olay literatürde mikrodalga dielektrik ısıtma olarak geçmektedir.

### **2.7.2. Mikrodalga ışımadan Kaynaklanan Ürün Seçiciliği**

Mikrodalga ısıtma sonunda oluşan ürün seçiciliği birkaç reaksiyonla incelenmiştir. 6-Dimetoksi- $\beta$ -dihidrohebin ile aşırı metilvinilketonun vermiş olduğu Diels-Alder reaksiyonu klasik şartlar altında yapılmış ve yaygın olan polimerizasyon ürünleri elde edilmiştir. Aynı reaksiyon mikrodalga ısıtma altında yapılıncaya daha az polimerik madde elde edilmiştir.

### **2.7.3. Mikrodalga Sentez Yönteminin Avantajları**

1. İşlem hızı klasik metotlardan daha hızlıdır.
2. Kimyasal maddeleri direkt olarak ısıtır.
3. Karışımlarda seçici ısıtma sağlar. Mikrodalga ekipmanları otomatik sistemlerle kolaylıkla adapte edilebilir ve güç seviyesi elektronik olarak görülebilir.
4. Klasik ısıtmanın aksine, sıcaklık gradyeni üreten volumetrik bir işlemdir.
5. Kayıp faktörü, sıcaklık belirli bir kritik sıcaklığa ulaştığı zaman hızla yükselir ve bu durum mikrodalga ile ısıtılan maddenin sıcaklığında ani bir yükselme meydana getirir.
6. Isıtma doğrudan ve merkezdendir.
7. Enerji elektromagnetik dalgalarla taşındığından ortamda enerji kaybı meydana gelmez, maddede sıcaklık gradienti minimum olur.
8. Enerji maddenin içine kadar nüfuz ederek endüstriyel işlemin daha aktif ve hızlı yapılmasını sağlar.
9. Sistemler kolaylıkla otomatize edilebilir.

10. Optimum şartlarda klasik sistemlere nazaran enerji ve zaman tasarrufu sağlanır ve bunun sonucunda enerji kaybı minimum olur.

11. Uzaktan etki yapar, enerjiyi malzemeye taşıyan doğrudan bir araç bulunmaz.

12. Kullanılan ortamda kirlenme olmadığından sistemin daha sağlıklı ve temiz olarak kullanılabilmesini ve sistemlerin kesikli ve sürekli olacak şekilde esnek olarak uygulanabilmesini sağlar.<sup>76</sup>

#### **2.7.4. Mikrodalga Sentez Yönteminin Dezavantajları**

1. Isının ve basıncın aniden artması nedeniyle patlama tehlikesi bulunmaktadır.

2. İnsan sağlığı açısından radyasyon sızıntısının önlenmesi gerektiğinden tamamen kapalı bir sistem olması zorunludur.

3. Kullanılan kapların, ambalaj malzemelerinin mikrodalga ortamına uygun olması gerekmektedir.

4. İletken maddeler mikrodalga etkisi ile ark oluşmasına neden olmakta ürün ve ekipmana hasar verebilmektedir. Kuartz cam, porselen, plastik, mikrodalga için uygun malzemeler olarak bilinmektedir.<sup>77</sup>

#### **2.7.5. Mikrodalga Reaksiyon Teknikleri**

##### **2.7.5.1. Çözücüsüz Reaksiyonlar**

Bu reaksiyonlarda reaktifler ya mikrodalga geçiren bir maddeyle (silika, alümina, kalay) sarılır ya da güçlü adsorbe edici özelliği olan inorganik bir destek kullanılır. Özellikle ilk yıllarda bu teknoloji, evde bulunan mikrodalga fırınlarla güvenli bir şekilde uygulanabileceğinden çok popüler olmuştur. Homojen ısıtmanın olmayışı, karıştırma, reaksiyon sıcaklığının kesin olarak belirlenememesi gibi problemler mevcuttur.<sup>77</sup>

### **2.7.5.2. Faz-Transfer Katalizleri**

Çözücüsüz uygulamalara ek olarak faz transfer katalizi (PTC) koşulları da mikrodalga destekli organik sentez tekniklerinde yaygın olarak uygulanmaktadır. Faz transfer katalizlerinde reaktantlar iki ayrı fazda bulunur; bunlar sıvı-sıvı veya sıvı-katı olabilir. Sıvı-sıvı PTC’de fazlar birbiri içinde çözünmediğinden, iyonik reaktifler sulu fazda çözünmüş halde bulunurken, substrattan kalanlar organik fazdadır. Öte yandan katı-sıvı PTC’de iyonik reaktifler organik ortamda süspansiyon halinde katı halde kalabilirler. Sulu veya katı fazdan organik faza anyonların transferi faz transfer katalizörleri ile kolaylaştırılır. Bunlar kuarterner amonyum tuzları veya katyon kompleks ajanlarıdır. Organik sentezlerdeki bu transferler genellikle atmosferik basınçta ve açık kaplarda gerçekleştirilir.<sup>77</sup>

### **2.7.5.3. Çözücülü Reaksiyonlar**

#### **Açık Kap-Kapalı Kap Şartları**

Organik çözücüler kullanılarak yapılan mikrodalga destekli sentezler ya açık ya da kapalı kaplarda gerçekleştirilir. Eğer açık bir kapta ve atmosfer basıncında çözücüler mikrodalga ışıma ile ısıtılıyorsa, çözücülerin kaynama noktası reaksiyon sıcaklığını kısıtlar. Yüksek reaksiyon hızlarına ulaşmak için, dimetil sülfoksit, 1-metil-2-pirolidon, 1,2-diklorobenzen veya etilen glikol gibi yüksek kaynama noktasına ve mikrodalga absorblama gücüne sahip çözücüler kullanılır. Ancak bu çözücülerin kullanımı ürünün ayrılması sırasında ciddi zorluklar ortaya çıkarır. Bu yaklaşım toluen gibi düşük kaynama noktalı çözücüler için ısıtmanın periyodik olarak kesilmesi ile ayarlanmıştır. Bu yöntem modifiye edilmemiş ev tipi mikrodalga cihazların kullanımında ciddi yangın tehlikesi oluşturmaktadır. Son yıllarda bilgisayardan sıcaklık ve basınç kontrolleri

sayesinde kapalı kaplarda gerçekleştirilen mikrodalga destekli organik sentezler yeniden önem kazanmıştır.

### **Basınçlı Reaksiyon Kapları**

Diğer yöntemlere nazaran kapalı kaplarda gaz halindeki çözücülerle daha az mikrodalga deneyleri yapılmıştır. Her ne kadar çeşitli yayınlarda endüstriyel işlemler için heterojen gaz fazı katalitik reaksiyonlarının önemli olduğu vurgulansa da, basınçlı reaksiyon kaplarının mikrodalga destekli organik sentezlerde kullanımı yaygın değildir. Modern tek modlu mikrodalga reaktörlerin ve reaksiyon kaplarının tasarımı nedeniyle basınçlandırma mümkün değildir. Ancak bazı araştırmacılar deney boyunca bir miktar (2-3 bar) basıncı artırarak gaz reaktiflerin deneylerde kullanımını tarif etmişlerdir.<sup>77</sup>

Mikrodalga ile sentez yöntemine rosiglitazonun sentezi örnek olarak verilebilir. Tip II diyabette antihiperglisemik bir ajan olan rosiglitazonun basit, hızlı, yüksek verimde ve çevreye zararı olmadan mikrodalga destekli total sentezi geliştirilmiştir. Bu bileşik Mikrodalga yönteminde su ile 140 °C’da 10 dk’da % 90 verimle, çözücüsüz ortamda 140 °C’da 20 dk’da % 92 verim elde edilirken, klasik yöntemle aynı çözücü ve sıcaklıklarda sırasıyla 12 ve 15 dk’da % 82 ve % 85 verimle sentezlenmiştir.<sup>78</sup>

## **2.8. İlaç Tasarımında Fizikokimyasal Özelliklerin Önemi**

Quantitative Structure Activity Relationship, Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (QSAR) yaklaşımı, ilacın fizikokimyasal özelliklerini inceleme ve tanımlamaya ve bu özelliklerin ilacın biyolojik aktivitesi üzerinde herhangi bir etkisi olup olmadığını anlamamızı sağlar. Son yüzyılda QSAR için ilk yaklaşım kimyasal yapı ve biyoaktivite arasındaki ilişkileri kantitatif olarak ifade etmek olmuştur.<sup>79</sup> Bununla birlikte kantitatif metodlar ilk kez modern medisinal kimyaya Corwin Hansch tarafından tanıtılmıştır.<sup>80, 81</sup> QSAR yaklaşımı ile birçok fiziksel, yapısal ve kimyasal özellikler çalışılmıştır. Fakat

çoğunlukla birçok araştırmacı ortak olarak bu çalışmaları hidrofobik, elektronik ve sterik parametreler üzerinde yoğunlaştırmıştır.

### 2.8.1. Hidrofobisite

Bir ilacın lipofilik karakteri o ilacın canlı hücre membranlarından geçmesinde ve ilacın reseptörle etkileşmesinde çok önemlidir. Bir ilaç molekülünde farklı sübstitüentlerin kullanımı o ilacın lipofilik özelliğini dolayısıyla da ilacın biyoaktivitesini de değiştirecektir.

### 2.8.2. Partisyon Katsayısı (P)

Yağ / su partisyon katsayılarının (dağılım katsayısı), geniş bir bileşik grubunun narkotik etkisi üzerinde önemli bir rolü olduğu rapor edilmiştir.<sup>82, 83</sup> Bir ilacın hidrofobik özelliği deneysel olarak oktanol / su karışımında ilacın dağılımı test edilerek ölçülebilir.<sup>84</sup> Hidrofilik moleküller bu ikili faz sisteminin su tabakasında, hidrofobik moleküller ise oktanol tabakasında çözünecektir. Bu değişken dağılım, partisyon katsayısı (P) olarak tanımlanmaktadır ve aşağıdaki eşitlikle hesaplanır:

$$P = \frac{(\text{Oktanol'de çözünen ilaç konsantrasyonu})}{(\text{Suda çözünen ilaç konsantrasyonu}) \times (1-\alpha)}$$

$\alpha$ : İyonizasyon derecesi

### Şekil 2.9. Partisyon katsayısının formülü

Hidrofobik bileşikler yüksek P değerine, hidrofilik bileşikler ise düşük P değerine sahiptirler. Bir bileşik serisinde lider bir moleküle değişik sübstitüentler takılarak farklı hidrofobisite dolayısıyla farklı P değerleri hesaplanır. Bu da P değeriyle biyolojik aktivite arasında bir ilişki olup olmadığını görmemizi sağlar. Biyolojik aktivite

1/C olarak tanımlanır. Buradaki C değeri, ilacın biyolojik etkinlik gösterebilmesi için gerekli konsatrasyonunu ifade etmektedir.<sup>34</sup>

### 2.8.3. Sübstitüent Hidrofobiklik Sabiti ( $\pi$ )

Bir moleküldeki farklı sübstitüentlerin varlığı, bileşiğin hidrofobikliğine katkıda bulunur ve bu katkı kullanılarak partiyon katsayısı hesaplanabilir. Bu katkı sübstitüentin hidrofobiklik sabiti ( $\pi$ ) olarak bilinir.<sup>85</sup> X sübstitüenti için hidrofobiklik sabiti ( $\pi_x$ ) aşağıdaki eşitlikle elde edilir:

$$\pi_x = \log P_x - \log P_H = \frac{\log P_x}{\log P_H}$$

#### Şekil 2.10. Sübstitüent hidrofobiklik sabitinin formülü

Bu eşitlikte  $P_H$  standart bileşiğin partiyon katsayısını ve  $P_x$  ise sübstitüe bileşiğin partiyon katsayısını ifade etmektedir. Bu eşitlikten çıkan  $\pi$  değerinin pozitif olması sübstitüentin hidrojenen daha hidrofobik olduğunu, negatif değer ise sübstitüentin hidrojenen daha hidrofilik olduğunu gösterir.

### 2.8.4. Elektronik Etkiler

Elektronik etki, bir bileşiğin biyoaktivitesinin bağlı olduğu birçok fizikokimyasal parametreden biridir. Bir ilacın iyonizasyonu ve polaritesi değişik sübstitüentlerin elektronik etkilerinden etkilenir. Elektronik etkiler, ilacın reseptörle nasıl kuvvetli bağlanabileceğini veya hücre membranlarından nasıl kolayca geçebileceği üzerindeki etkiyi açıklar.<sup>34</sup> Hammett sübstitüent sabiti ( $\sigma$ ) bir sübstitüentin elektron alıcı veya elektron verici özelliğinin bir ölçüsüdür.<sup>86</sup>

Bir sübstitüent için Hammett sübstitüent sabiti ( $\sigma_x$ ) aşağıdaki eşitlikle hesaplanabilir:

$$\sigma_x = \log \frac{K_x}{K_H} = \log K_x - \log K_H$$

**Şekil 2.11.** Hammett sübstitüent sabitinin formülü

$K_H$  non-sübstitüe bileşiğin denge veya disosiasyon sabitidir ve  $K_x$  ise sübstitüe bileşiğin denge veya disosiasyon sabitidir. Elektron çeken sübstitüentler ( $\text{NO}_2$ , F, Br, Cl, CN,  $\text{CF}_3$ , vs.) pozitif  $\sigma$  değerleri, elektron veren sübstitüentler ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{OCH}_3$ , vs.) negatif  $\sigma$  değerleri alırlar. Hidrojen atomu için Hammett sabiti ise sıfırdır.

#### **2.8.5. Sterik Faktörler**

İlacın etkisini gösterebilmesi için etki edeceği bölgeye bağlanması gereklidir. Bundan dolayı ilaç molekülünün büyüklüğü, şekli ve hacmi bu bağlanmada önemli bir rol oynar.

##### **2.8.5.1. Taft'ın Sterik Faktörü ( $E_s$ )**

Taft'ın  $E_s$  parametresi, sübstitüentlerin sterik özelliklerinin hesaplamasında kullanılan ortak bir parametredir. Aşağıdaki eşitlik ile alifatik esterlerin asit hidrolizi ile  $E_s$  değeri bulunabilir:

$$E_s = \log \left( \frac{K}{K_0} \right)$$

K: Sübstitüe esterin asidik hidroliz oranı  
 $K_0$ : Esterin hidroliz oranı

**Şekil 2.12.** Taft'ın  $E_s$  parametresinin formülü

### 2.8.5.2. Molar Refraktivite (MR)

Molar refraktivite, sterik faktörlerin ölçümü için kullanılan diğer bir parametredir. Molar refraktivite bir atom veya atom grubu tarafından işgal edilen hacmin ölçüsüdür. Molar refraktivite aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanabilir:

$$MR = \frac{(n^2-1)}{(n^2+2)} \times \frac{M.A}{d}$$

n: Refraksiyon indeksi

M.A: Molekül ağırlığı

d: Yoğunluk

**Şekil 2.13.** Molar refraktivitenin formülü

M.A / d hacmi tanımlar iken,  $(n^2-1) / (n^2+2)$  ise süstitüentin nasıl kolay polarize olabileceğini tanımlamak üzere doğrulama faktörünü ifade eder. Eğer süstitüent pi elektronu veya ortaklaşmamış elektron çifti taşıyorsa molar refraktivite oldukça önemlidir. Bahsedilen parametrelere ilaveten Van der Waals etkileşimi, molekül ağırlığı ve hatta uzaysal konumlanma modelleri biyoaktiviteye sterik katkıyı açıklamakta kullanılan diğer parametrelerdir.

### 2.8.6. Hansch Eşitliği

Eğer bir bileşiğin biyolojik aktivitesi sadece bir fizikokimyasal özelliğe bağlı olsaydı basit bir eşitlik oluşturulabilirdi. Ancak bunun tam aksine çoğu ilacın biyolojik aktivitesi birçok fizikokimyasal parametre ile ilişkilidir. Bundan dolayı eşitliklerde sıklıkla biyolojik aktivite ile ilişkilendirilebilecek birden fazla parametre kullanılır. Hansch eşitliği gibi eşitlikler genellikle biyolojik aktivite ile birçok ortak fizikokimyasal özellikleri ilişkilendirir. Aşağıdaki eşitlikte olduğu gibi eğer lipofilik değerler oranı küçük bir oranda tutulabilirse eşitlik lineer olacaktır.

$$\text{Log } \frac{1}{C} = k_1 \times \log P + k_2 \times \sigma + k_3 \times E_s + k_4$$

Eğer P değeri yüksek bir oranda çıkarsa, eşitlik parabolik olacaktır.

Aşağıdaki eşitlikte olduğu gibi;

$$\text{Log } \frac{1}{C} = -k \times (\log P)^2 + k_2 \times \log P + k_3 \times \sigma + k_4 \times E_s + k_5$$

C: Spesifik etki oluşturmak için gereken ilaç konsantrasyonu

P: Partisyon katsayısı değeri

$\sigma$ : Hammett sübstitüent sabiti

$E_s$ : Taft'ın sterik faktörü

#### Şekil 2.14. Hansch eşitliğinin formülü

#### 2.8.7. İyonlaşma Sabiti (Ka)

Her asit ya da baz sulu ortama alındığında, yapısına bağlı olarak değişik iyonizasyon oranlarında dissosiyeye olur. Asitlerin ya da bazların dissosiyasyonunu etkileyen nedenlerden birisi de içinde bulundukları ortamın pH'sıdır. Eğer ortam asidik ise bazik ilaçlar katyonik durumda, eğer ortam bazik ise asidik ilaçlar anyonik durumda olmayı tercih ederler. Her iki durumda söz konusu bileşikler iyonize durumdadır. Zayıf asit ya da zayıf baz niteliğinde olan ilaçların lipoid nitelikteki zarlardan geçişleri ne kadar iyonize olduklarına bağlıdır. Noniyonize durumda olanlar, lipoid nitelikteki zarlardan kolay geçerler. Böylece oluşan konsantrasyonun biyolojik etki üzerindeki rolü büyüktür.

İlaçlar bilindiği gibi iyonize, noniyonize, kısmen iyonize ve kısmen noniyonize olmak üzere üç şekilde bulunabilirler. Belirli pH'da bir ilacın iyonize ya da noniyonize şekillerinin bağlı konsantrasyonu Henderson-Hasselbach denklemi ile hesaplanabilir:

$$\text{Asitler için: } \log \frac{[\text{iyonize olmamış ilaç}]}{[\text{iyonize ilaç}]} = \text{pKa} - \text{pH}$$

$$\text{Bazlar için: } \log \frac{[\text{iyonize olmamış ilaç}]}{[\text{iyonize ilaç}]} = \text{pH} - \text{pKa}$$

**Şekil 2.15.** Henderson-Hasselbach denklemi

Bu denklemlerden çıkarak her zaman zayıf asit ya da zayıf bazık özellikteki bir ilacın iyonize ya da noniyonize kısımlarının konsantrasyonunu hesaplamak mümkündür:

$$\text{pH} = \log \frac{(\text{B})}{(\text{BH}^+)} + \text{pKa}$$

**Şekil 2.16.** pH'nın formülü

Zayıf asit içeren çözeltinin pH'sı yükseldikçe, asidin iyonik şeklinin konsantrasyonu yükselir. Zayıf bir baz içeren çözeltinin pH'sı yükseldikçe bazın moleküler şeklinin konsantrasyonu yükselir.

Henderson-Hasselbach denklemiyle zayıf asit molekülünün iyonizasyon yüzdesi ya da fraksiyonu hesaplanabilir. Yüzde iyonize şekil aşağıdaki denklem ile bulunur:

$$\% \text{ İyonize Şekil} = \frac{i \times 100}{i + N}$$

i: İlacın iyonik şeklinin konsantrasyonudur.

N: Noniyonik (moleküler) şeklinin konsantrasyonudur.

**Şekil 2.17.** Moleküllerin % iyonize şeklinin formülü

Asitler düşük pH değerinde yani asit pH’da daha güçlü biyolojik etki gösterir. pH arttıkça etki düşmeye başlar. Çünkü bu sahada iyonizasyon artmaktadır. Bunun tam tersi zayıf bazlar için doğrudur.

Moleküller genellikle hücre zarlarını parçalanmamış ve dissosiyeye olmamış şekilde geçerler. Zayıf asitler, düşük pH’larda nondissosiyeye durumda bulunacakları için bu pH’larda hücre zarlarını kolay geçerler. Aynı bileşikler yüksek pH değerinde iyonize olmaya başlarlar. Bu ise hücre zarlarını en zor geçebilecekleri durumdur. Bu nedenle daha düşük etki gösterirler. Bunun tam tersi durumda zayıf bazik bileşikler için söz konusudur.

### 2.8.8. Topliss Yaklaşımı

Topliss yaklaşımı, moleküler modifikasyonla öncü ilaç optimizasyon yöntemidir. Moleküler modifikasyonla ilaç geliştirmede sentez edilebilecek molekül sayısı çok fazla olduğundan süstitüent seçmede eğer akılcı bir yol izlenmezse, başarı şansı oldukça azdır. Bundan dolayı, molekül optimizasyonunda çok sayıdaki molekül kombinasyonundan, öncelikle hangi molekülün sentez edileceğine karar vermek için, belli kural ve kolaylıklar getiren yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden en çok bilineni, Topliss tarafından önerilen ve kendi adıyla bilinen yöntemdir. Bu yaklaşımın temeli, moleküle eklenen belirli bir süstitüent; hidrofobik, elektronik ve sterik etkilerle meydana gelecek değişikliklerin bir sonucu olarak, aktiviteyi ana bileşiğe göre modifiye ettiği şeklinde özetlenebilir. Bu esastan yola çıkan Topliss aromatik ve alifatik

zincirdeki süstitüent değışiklikleri için kullanılan ‘Topliss’in karar ağaçları’ olarak bilinen iki şema hazırlamıştır. Bu şemalarda mümkün olabildiğince etkili olabilecek optimum süstitüentler dizayn edilmiş ve farklı süstitüentlerin hidrofobik, elektronik ve sterik faktörleri düşünülerek hazırlanmıştır.<sup>87</sup>

Aril halkalı bileşiklerde önce 4-kloro analogu hazırlanır ve bunun biyolojik aktivitesi non-süstitüe ana bileşiklerle karşılaştırılır. Bu aşamada 3 olasılık vardır; kloro türevi daha aktif olabilir (M), eşit aktivite göstermiş olabilir (E) veya non-süstitüe ana bileşikten daha az aktif (L) olabilir. Eğer 4-kloro türevi daha aktif ise bir sonraki basamakta 3,4-dikloro türevi sentezlenir. Böylece hem  $\pi$ , hem de  $\sigma$  değeri önemli ölçüde artırılmış olur. Eğer 4-kloro türevi ana bileşikten daha az aktif ise  $\pi$  ve  $\sigma$  değeri ana bileşiğe göre daha düşürmek amacıyla 4-metoksi türevi hazırlanır. 4-kloro türevi ana bileşiklerle eşit aktiviteye sahipse 4-metil analogu hazırlanır.  $\pi$  ve  $\sigma$  değeri göz önünde tutularak bu sistematik basamaklandırma işlemine optimum aktivite elde edilinceye kadar devam edilir (Şekil 2.18). Son olarak 4-nitro türevi denenir. Bu yaklaşım ile en aktif bileşiği bulmak için sentezi yapılacak bileşik sayısı genellikle 15-20’yi aşmaz.



## 2.9. Biyoaktivite Testleri

Herhangi bir biyolojik aktivitenin tayini amacıyla kullanılan testler *in vivo* ve *in vitro* yöntemler olmak üzere ikiye ayrılır. En yaygın kullanılan *in vitro* yöntemler hücre kültürü, enzim aktivite / inhibisyon testleri, spektroskopik yöntemler gibidir. *In vivo* testler ise çeşitli deney hayvanları (fare, sıçan, tavşan gibi) kullanılarak yapılır. Hayvanların çeşitli vücut doku veya sıvılarındaki ilgili biyokimyasal parametreler deney sonunda değerlendirilir.<sup>88, 89</sup>

### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. Kimyasallar ve Yöntemler**

##### **3.1.1. Sentez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar**

Bileşiklerin sentezinde 4-hidroksibenzaldehit (Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, Germany), sodyum hidrojen sülfid (Riedel-de Haen, Seelze, Germany), o-fenilendiamin (Fluka, Steinheim, Germany), dimetilamin (Fluka, Steinheim, Germany), pirolidin (Fluka, Steinheim, Germany), piperidin (Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, Germany), N-metilpiperazin (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany), morfolin (Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, Germany), paraformaldehit (Fluka, Steinheim, Germany), formaldehitin % 37'lik metanoldeki çözeltisi (J.T. Baker, Deventer, Holland), asetonitril (Sigma Aldrich, Buchs, Switzerland), metanol (Riedel-de Haen, Hanover, Germany), etanol (Riedel-de Haen, Hanover, Germany) ve saf su kullanılmıştır.

##### **3.1.2. Yöntemler**

###### **3.1.2.1. Kromatografik Analizler**

Sentez çalışmaları sırasında tepkimeyi izlemek ve sentezlenen bileşiklerin saflıklarını kontrol etmek amacıyla ince tabaka kromatografisinden (İTK) yararlanıldı. İTK için 0.25 mm kalınlıktaki silikajel 60 HF<sub>254</sub> (Merck Art 5715) hazır kromatografi plakları kullanıldı. Kromatografi işlemi oda sıcaklığında yapıldı ve sürüklenme işlemi kromatografi tankının çözücü buharlarıyla doyurulmasından sonra gerçekleştirildi. Sürüklenme işleminden sonra açık havada kurutulan plaklar üzerindeki lekelerin belirlenmesinde 254 nanometre (nm) dalga boyundaki ultraviyole (UV) ışığından (Mineralight Lamp UVGL-58) faydalanıldı. Saflaştırma işlemlerinde kullanılan sütun

kromatografisi yönteminde adsorban olarak silikajel 60 (0.063-0.2 mm, Merck, Darmstadt, Germany) kullanılmıştır.

### **3.1.2.2. Spektral Analizler**

Bileşiklerin  $^1\text{H}$  Nükleer Manyetik Rezonans ( $^1\text{H}$  NMR) spektrumları Bruker DPX-500FT-NMR (U.S.A) spektrofotometresinde ve  $^{13}\text{C}$  Nükleer Manyetik Rezonans ( $^{13}\text{C}$  NMR) spektrumları 400 (100) Megahertz (MHz) Varian spektrometresinde (Danbury, USA) alınmıştır. Z1M, Z1B, Z2M, Z2B, Z3M, Z3B, Z4M, Z4B, Z5M ve Z5B bileşikleri için döterokloroform ( $\text{CDCl}_3$ ), Z bileşiği için döterometanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) NMR çözücüsü olarak kullanılmıştır. Bileşiklerin kütle spektrumları Thermo Electron Coop. Finnigor LTQ kütle spektrometresinde (IT-MS / ESI-MS) alınmıştır.

### **3.1.2.3. Erime Noktası Tayinleri**

Bileşiklerin erime dereceleri Electrothermal 9100 marka (IA9100, U.K) erime derecesi tayini cihazı kullanılarak tespit edildi.

### **3.1.2.4. Mikrodalga Cihazı**

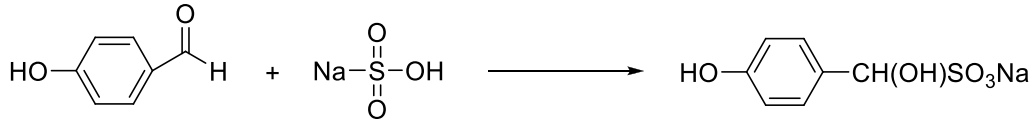
Bileşiklerin sentezinde CEM Discover (Matthews, NC, USA) marka mikrodalga cihazı kullanılmıştır.

## **3.2. Tasarlanan Bileşiklerin Sentezi**

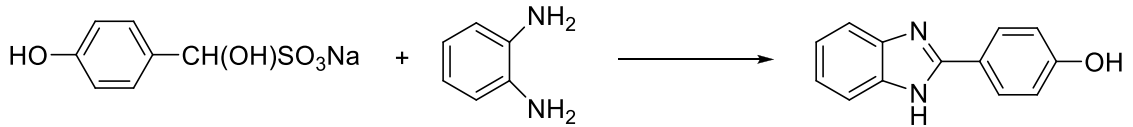
### **3.2.1. Z Bileşiği: 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol**

4-Hidroksibenzaldehit (3 g, 24.6 milimol (mmol) ) ve sodyum hidrojen sülfidin % 40'lık çözeltisine (2.56 g, 24.6 mmol, 6.4 ml) etanol:su (3:1, 60 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 120 dakika oda sıcaklığında karıştırıldı. Reaksiyon sonucu oluşan beyaz çökelek (sodyum hidroksil(4-hidroksifenil)metansülfonat tuzu) süzüldü,

kurutuldu.<sup>90</sup> Bu bileşik (1 g, 4.4 mmol) ve o-fenilendiaminin (0.479 g, 4.4 mmol) asetonitrildeki (15 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında 13.8 bar basınçta 145 °C’de 200 Watt (W)’da 10 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İTK ile izlendi. Reaksiyon ortamında sodyum hidroksil(4-hidroksifenil)metansülfonat tuzunun tükenmesinden dolayı 10 dakika sonunda reaksiyona son verildi. Reaksiyon sonucu oluşan açık kahverenkli çökelek süzülerek ayrıldı ve metanol:su (3:1) karışımından kristallendirilerek saflaştırıldı. Z bileşiği % 73.87 verimle 0.687 g koyu kahverenkli katı olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 291-293 °C’dir. Bileşiğin literatürdeki erime derecesi 294-296 °C’dir.<sup>91, 92</sup>



**Şekil 3.1.** Sodyum hidroksil(4-hidroksifenil)metansülfonat tuzunun sentezi



**Şekil 3.2.** Z bileşiğinin sentezi

### **<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) (Şekil 3.3.)**

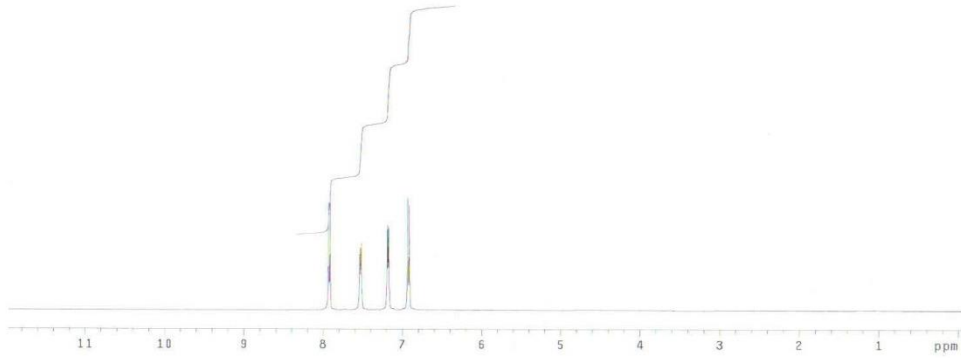
Kimyasal kayma (δ) 6.90-6.93 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, dublet (d) görünümlü, jromanyetik sabiti (J) = 8.7 Herzt (Hz), 2H), 7.16-7.20 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, J = 2.9 Hz, 2H), 7.51-7.55 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, J = 2.9 Hz, 2H), 7.90-7.93 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, J = 8.7 Hz, 2H)

**$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (Şekil 3.4.)**

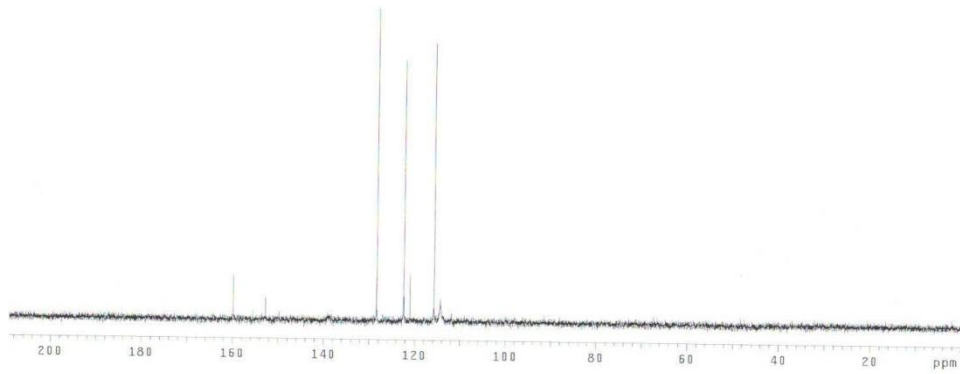
$\delta$  114.3, 115.7, 120.9, 122.3, 128.3, 152.7, 159.8

**Kütle spektrumu (Şekil 3.5.)**

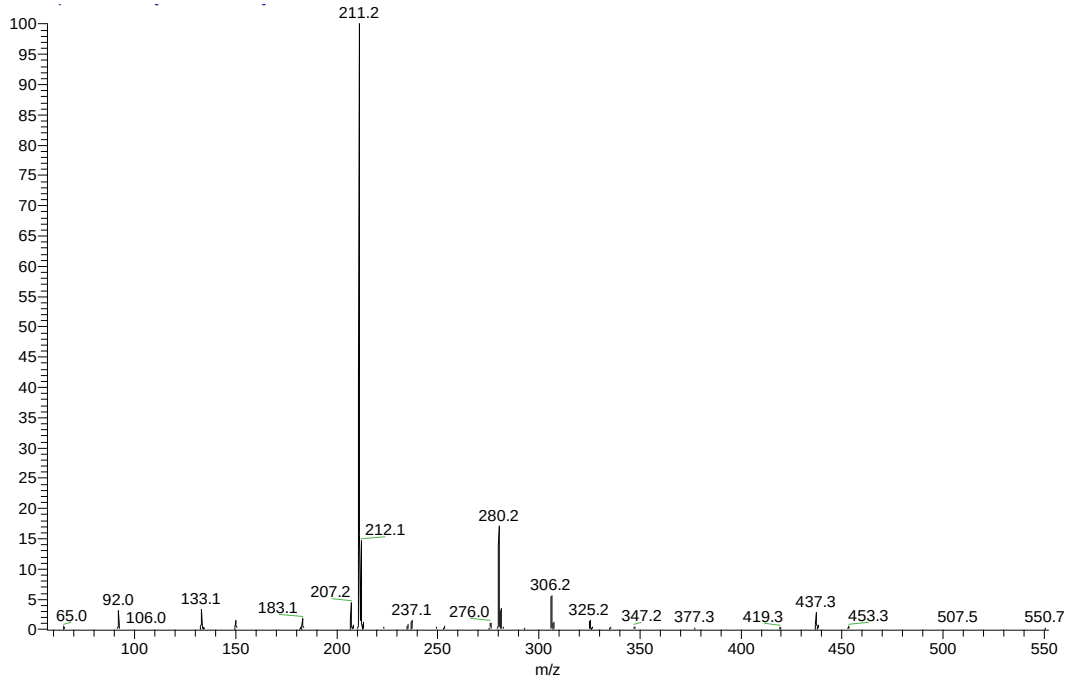
MS [ES(+)] ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ) m/z:  $\text{M}^+ + 1$  (211.2)



**Şekil 3.3.** Z bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



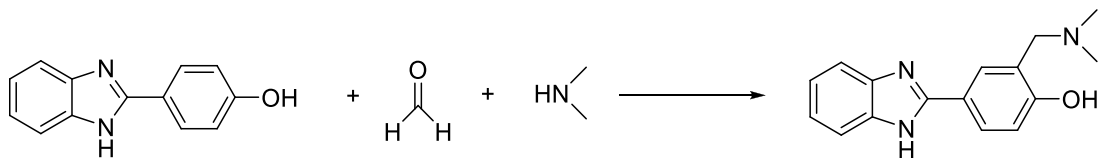
**Şekil 3.4.** Z bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



**Şekil 3.5.** Z bileşiğinin kütle spektrumu

### 3.2.2. Z1M Bileşiği: 2-[3-(Dimetilaminometil)-4-hidroksifenil]benzimidazol

2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol (0.5 g, 2.4 mmol), paraformaldehit (0.286 g, 9.5 mmol) ve dimetilaminin % 40'lık sudaki çözeltisinin (0.107 g, 2.4 mmol, 0.3 ml) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi geri çeviren soğutucu altında reflux edildi. Tepkimenin yürüyüşü İTK ile izlendi. Reaksiyon ortamında 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol bileşiğinin tükenmesinden dolayı 90 dakika sonunda reaksiyona son verildi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sütun kromatografisi yöntemiyle [silikajel 60 (70–230 mesh)] kloroform:metanol (80:20) çözücü sistemi kullanılarak saflaştırıldı. Z1M bileşiği % 36.79 verimle 0.234 g beyaz renkli katı olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 187-189 °C'dir.



**Şekil 3.6.** Z1M bileşiğinin sentezi

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.7.)**

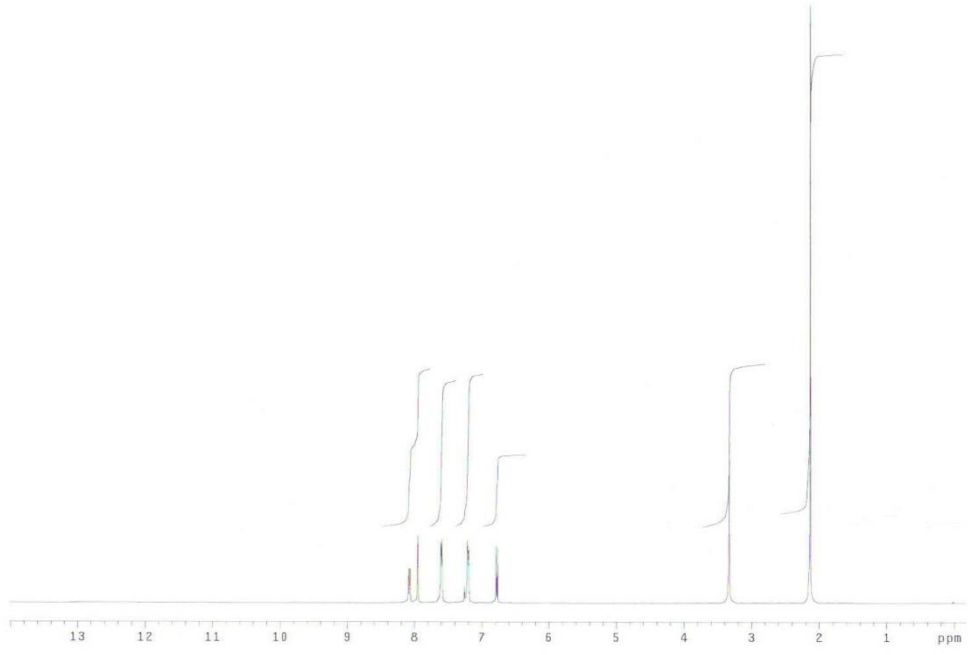
$\delta$  2.13 (s, 6H), 3.33 (s, 2H), 6.76-6.78 (B, ABX sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.19-7.21 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 3.0$  Hz, 2H), 7.58-7.61 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 3.0$  Hz, 2H), 7.84-7.99 (X, ABX sisteminin parçası, singlet (s) görünümlü,  $J = 1.4$  Hz, 1H), 8.06-8.08 (A, ABX sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 8.4$  Hz, 1H)

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.8.)**

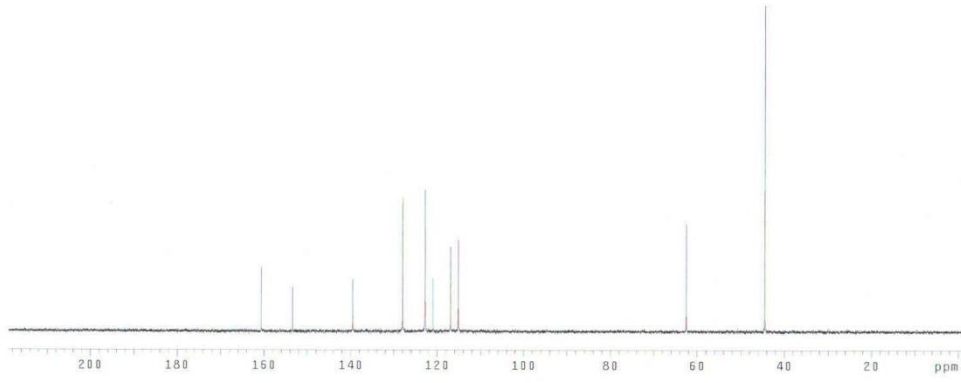
$\delta$  44.4, 62.4, 115.1, 116.8, 120.9, 122.7, 122.7, 127.9, 139.5, 153.4, 160.6

**Kütle spektrumu (Şekil 3.9.)**

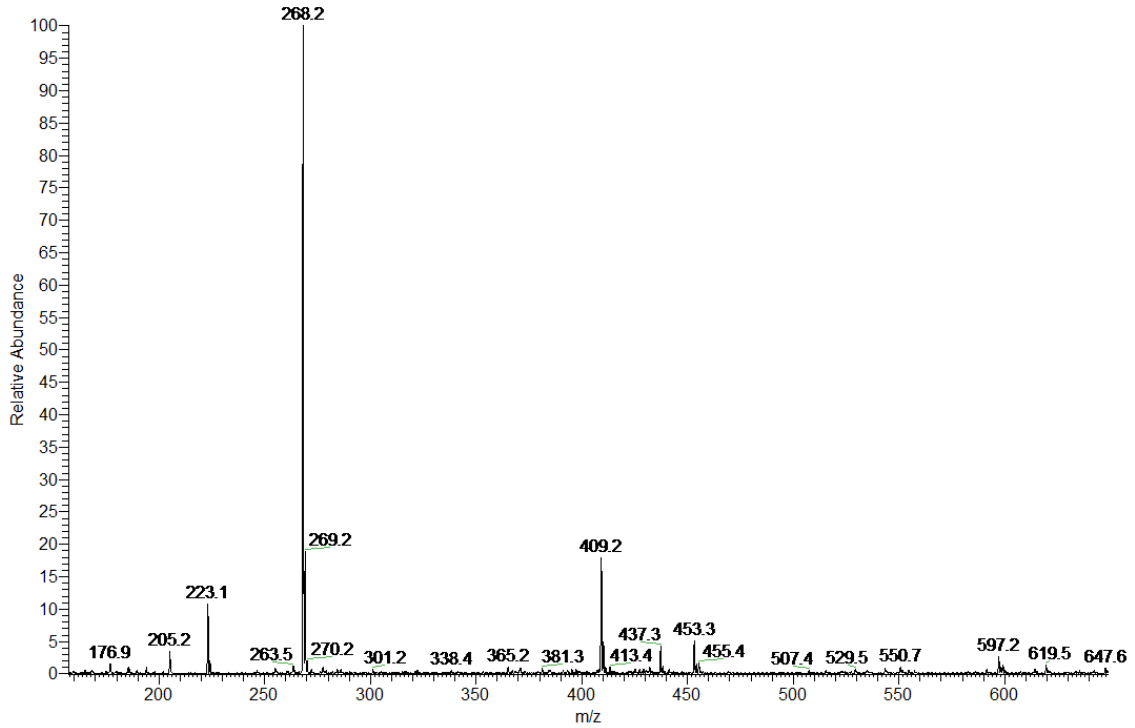
MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>)  $m/z$ :  $M^+ + 1$  (268.2)



**Şekil 3.7.** Z1M bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



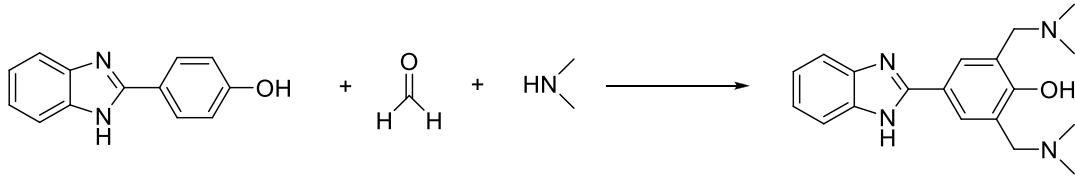
**Şekil 3.8.** Z1M bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



Şekil 3.9. Z1M bileşiğinin kütle spektrumu

### 3.2.3. Z1B Bileşiği: 2-[3,5-Bis(dimetilaminometil)-4-hidroksifenil]benzimidazol

2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol (3 g, 14.3 mmol), paraformaldehit (1.714 g, 57.1 mmol) ve dimetilaminin % 40'lık sudaki çözeltisinin (2.573 g, 57.1 mmol, 6.4 ml) asetonitrildeki (40 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında 13.8 bar basınçta 110 °C'de 150 W'da 5 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İTK ile izlendi. Reaksiyon ortamında 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol bileşiğinin tükenmesinden dolayı 5 dakika sonunda reaksiyona son verildi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sütun kromatografisi yöntemiyle [silikajel 60 (70–230 mesh)] kloroform:metanol:amonyum hidroksit (80:20:2) çözücü sistemi kullanılarak saflaştırıldı. Z1B bileşiği % 26.25 verimle 1.215 g açık sarı renkli katı olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 170-172 °C'dir.



**Şekil 3.10.** Z1B bileşiğinin sentezi

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.11.)**

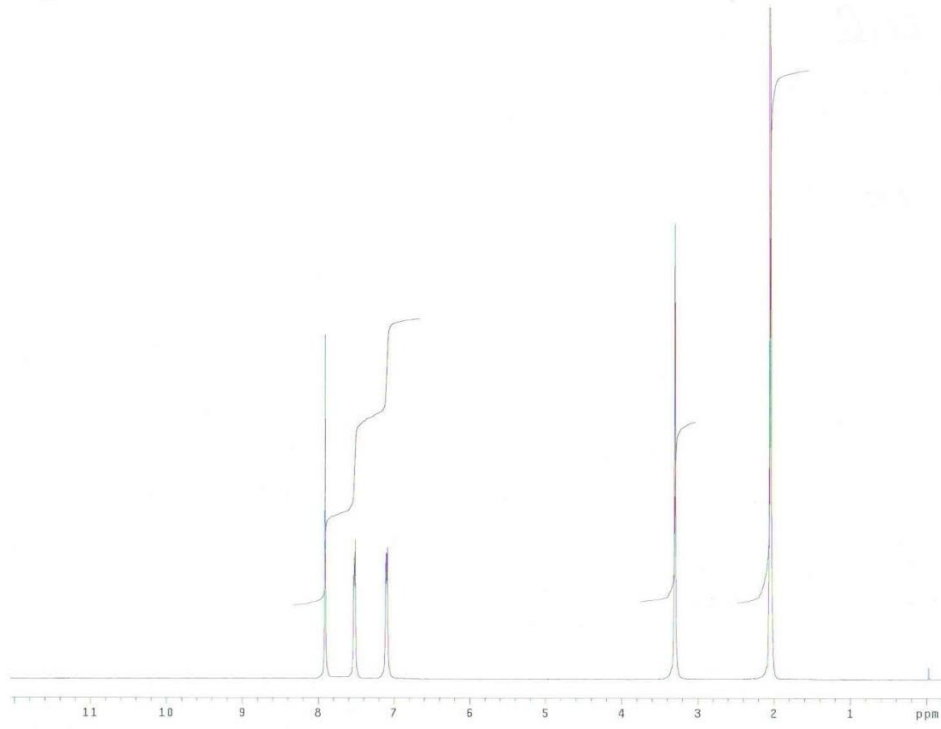
δ 2.04 (s, 12H), 3.30 (s, 4H), 7.09-7.11 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 2.9$  Hz, 2H), 7.51-7.53 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 2.9$  Hz, 2H), 7.91 (s, 2H)

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.12.)**

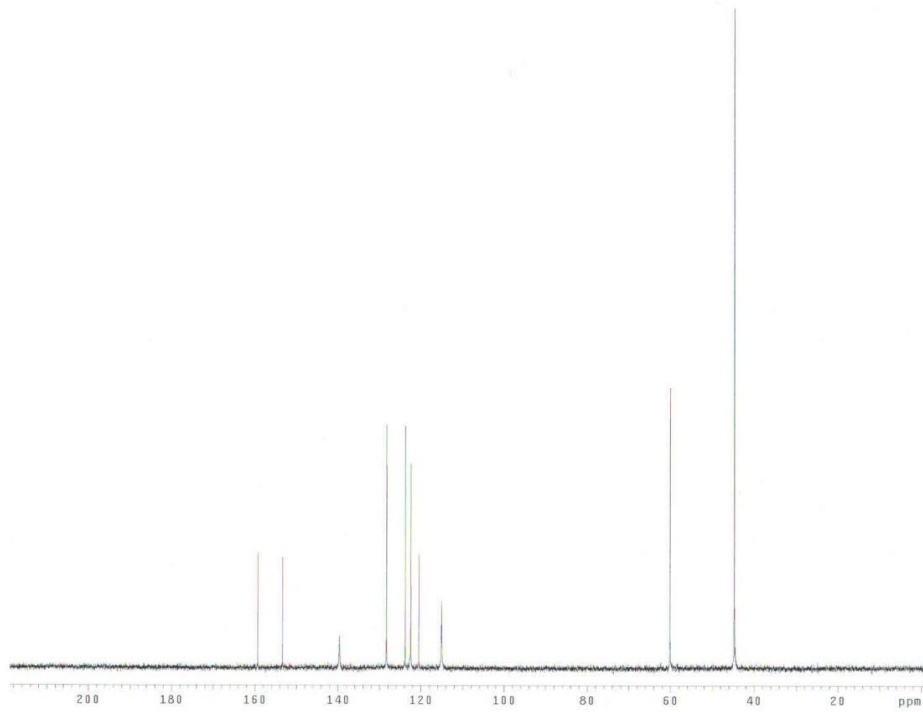
δ 44.7, 60.0, 115.0, 120.5, 122.4, 123.7, 128.2, 139.6, 153.3, 159.3

**Kütle spektrumu (Şekil 3.13.)**

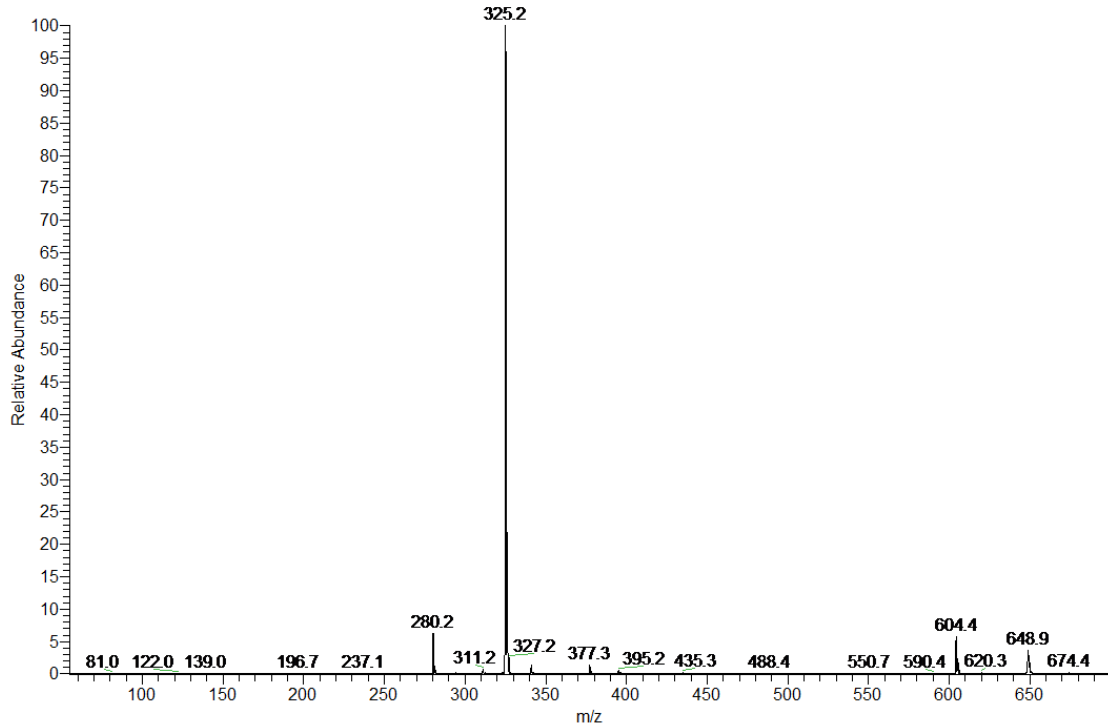
MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>) m/z: M<sup>+</sup> +1 (325.2)



**Şekil 3.11.** Z1B bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



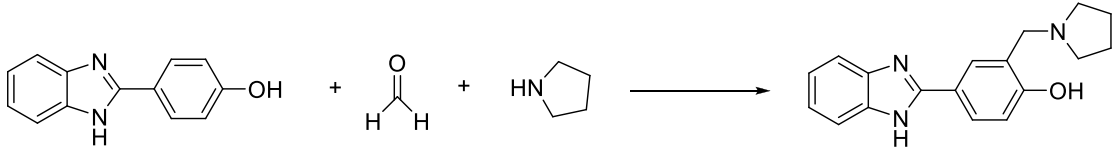
**Şekil 3.12.** Z1B bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



**Şekil 3.13.** Z1B bileşiğinin kütle spektrumu

#### **3.2.4. Z2M Bileşiği: 2-[3-(Pirolidin-1-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol**

2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol (0.5 g, 2.4 mmol), paraformaldehit (0.286 g, 9.5 mmol) ve pirolidinin (0.169 g, 2.4 mmol) asetonitrildeki (7 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında 13.8 bar basınçta 120 °C’de 100 W’da 5 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İTK ile izlendi. Reaksiyon ortamında 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol bileşiğinin tükenmesinden dolayı 5 dakika sonunda reaksiyona son verildi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sütun kromatografisi yöntemiyle [silikajel 60 (70–230 mesh)] kloroform: metanol:amonyum hidroksit (70:30:1) çözücü sistemi kullanılarak saflaştırıldı. Z2M bileşiği % 25.79 verimle 0.180 g turuncu renkli katı olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 200-203 °C’dir.



**Şekil 3.14.** Z2M bileşiğinin sentezi

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.15.)**

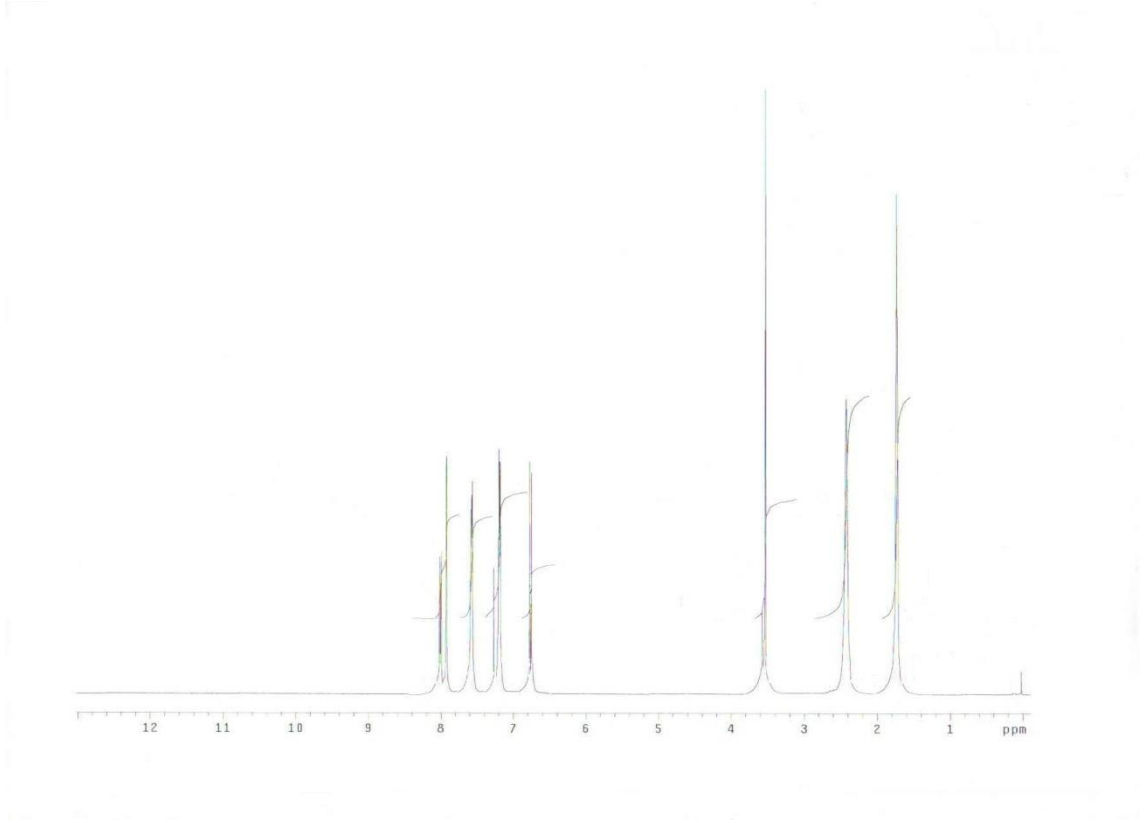
δ 1.60-1.90 (m, 4H), 2.30-2.69 (m, 4H), 3.57 (s, 2H), 6.75-6.77 (B, ABX sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.18-7.20 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 3.1$  Hz, 2H), 7.56-7.59 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 3.1$  Hz, 2H), 7.92-7.93 (X, ABX sisteminin parçası, s görünümlü,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 7.99-8.02 (A, ABX sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 8.4$  Hz, 1H)

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.16.)**

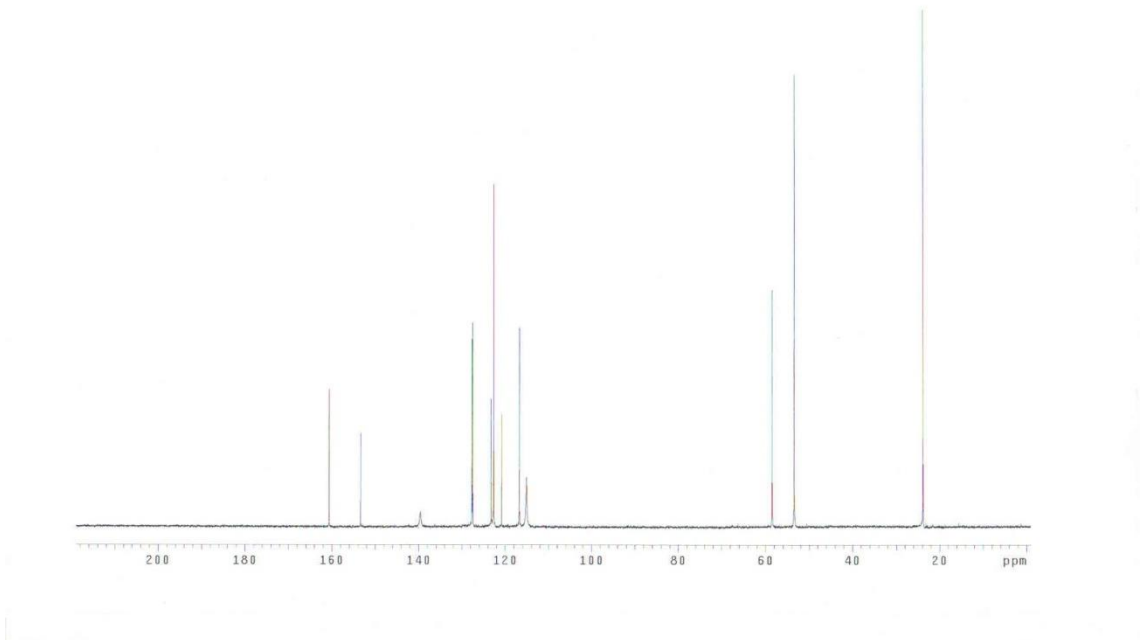
δ 23.8, 53.4, 58.4, 115.0, 116.6, 120.8, 122.6, 123.2, 127.5, 127.6, 139.5, 153.3, 160.6

**Kütle spektrumu (Şekil 3.17.)**

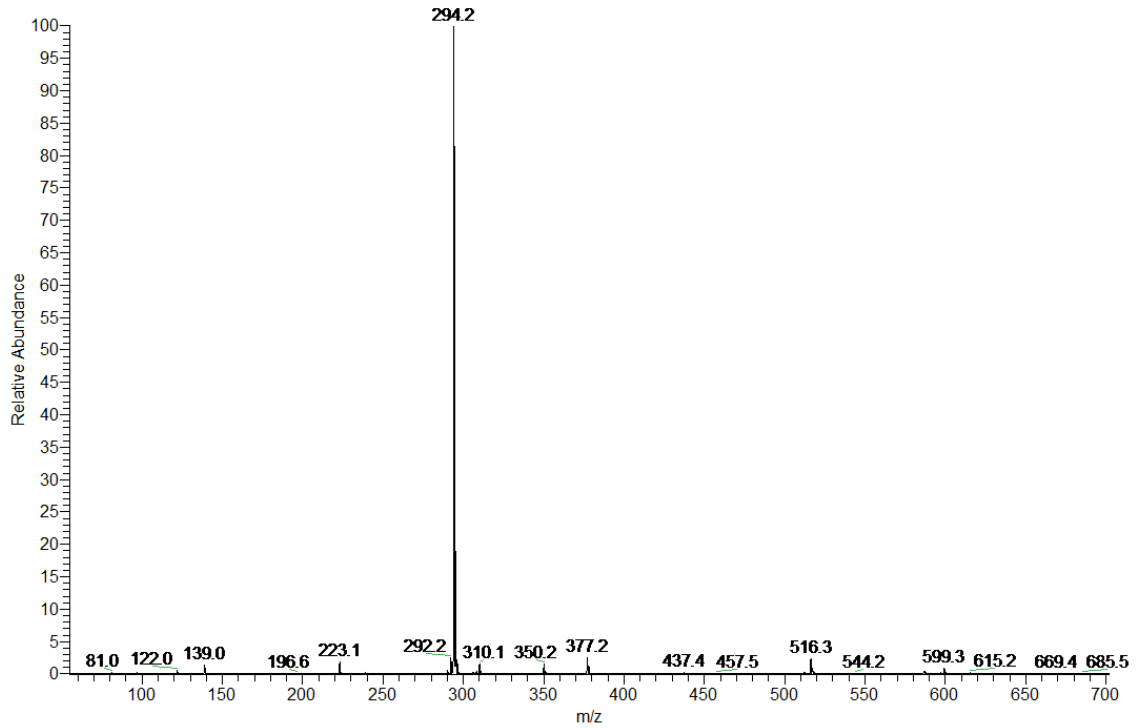
MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>) m/z: M<sup>+</sup> + 1 (294.2)



Şekil 3.15. Z2M bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



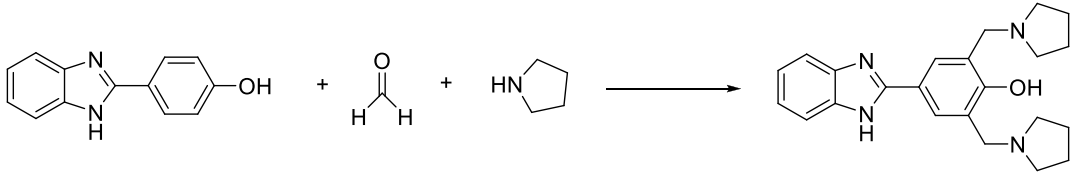
Şekil 3.16. Z2M bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



Şekil 3.17. Z2M bileşiğinin kütle spektrumu

### 3.2.5. Z2B Bileşiği: 2-[3,5-Bis(pirolidin-1-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol

2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol (2 g, 9.5 mmol), paraformaldehit (1.143 g, 38.0 mmol) ve pirolidinin (2.706 g, 38.0 mmol) asetonitrildeki (30 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında 13.8 bar basınçta 110 °C’de 150 W’da 5 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İTK ile izlendi. Reaksiyon ortamında 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol bileşiğinin tükenmesinden dolayı 5 dakika sonunda reaksiyona son verildi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı viskoz madde dietileterle muamele edilerek katılaştırıldı. Oluşan katı madde süzülerek ayrıldı. Ham ürün dietileterde (2x10 ml) kaynatılarak süzüldü. Z2B bileşiği % 44.00 verimle 1.576 g kahverenkli katı olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 189-191 °C’dir.



**Şekil 3.18.** Z2B bileşiğinin sentezi

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.19.)**

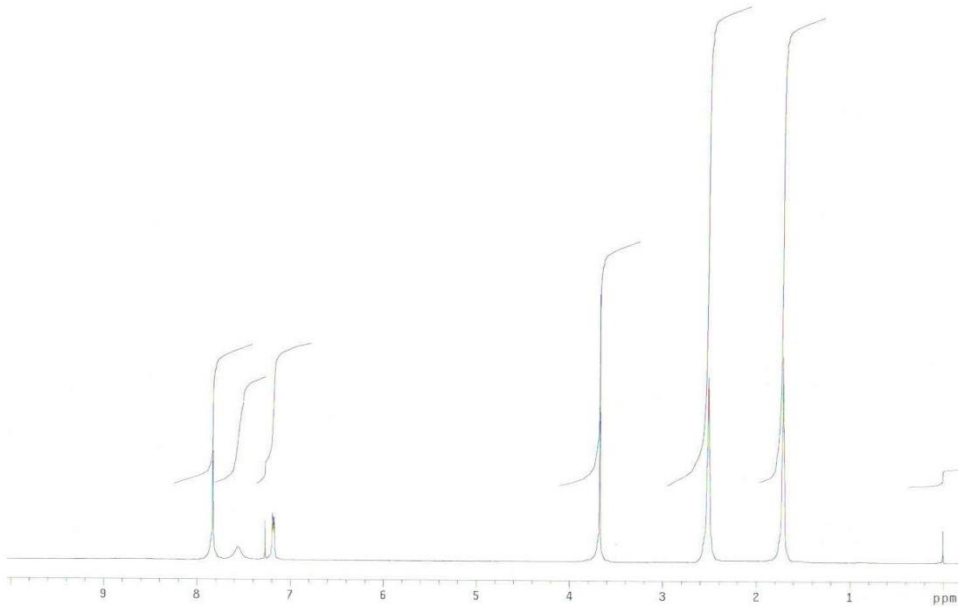
δ 1.60-1.80 (multiplet (m), 8H), 2.41-2.62 (m, 8H), 3.67 (s, 4H), 7.17-7.19 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 3.2$  Hz, 2H), 7.45-7.65 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, m, 2H), 7.83 (s, 2H)

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.20.)**

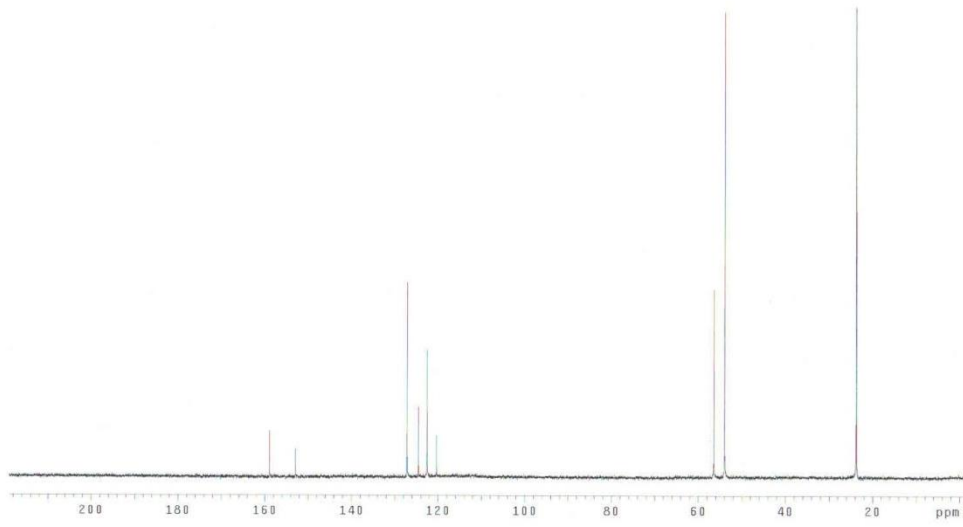
δ 23.7, 53.9, 56.4, 120.3, 122.4, 124.5, 127.1, 152.9, 158.9

**Kütle spektrumu (Şekil 3.21.)**

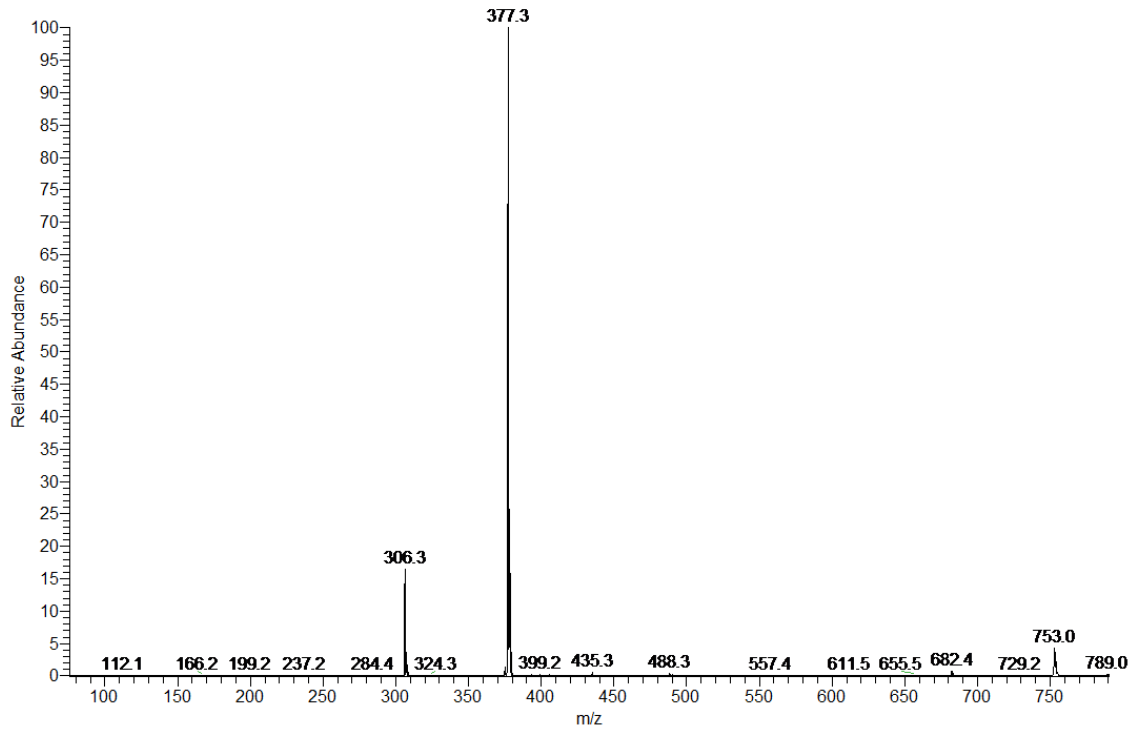
MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>)  $m/z$ :  $M^+ + 1$  (377.3)



**Şekil 3.19.** Z2B bileşiğinin <sup>1</sup>H NMR spektrumu



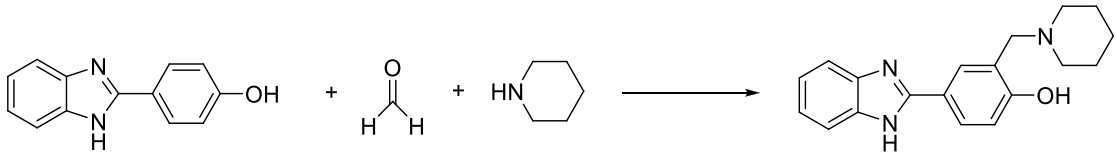
Şekil 3.20. Z2B bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



Şekil 3.21. Z2B bileşiğinin kütle spektrumu

### 3.2.6. Z3M Bileşiği: 2-[3-(Piperidin-1-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol

2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol (0.6 g, 2.9 mmol), formaldehitin % 37'lik metanoldeki çözeltisi (0.343 g, 11.4 mmol, 0.9 ml) ve piperidinin (0.243 g, 2.9 mmol) asetonitrildeki (15 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında 13.8 bar basınçta 120 °C'de 100 W'da 5 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İTK ile izlendi. Reaksiyon ortamında 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol bileşiğinin tükenmesinden dolayı 5 dakika sonunda reaksiyona son verildi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sütun kromatografisi yöntemiyle [silikajel 60 (70–230 mesh)] kloroform:metanol (70:30) çözücü sistemi kullanılarak ön saflaştırmaya tabi tutuldu. Sütundan alınan fraksiyon etanolden 3 kez kristallendirilerek saflaştırıldı. Z3M bileşiği % 38.77 verimle 0,340 g beyaz renkli katı olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 254-256 °C'dir.



Şekil 3.22. Z3M bileşiğinin sentezi

#### <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.23.)

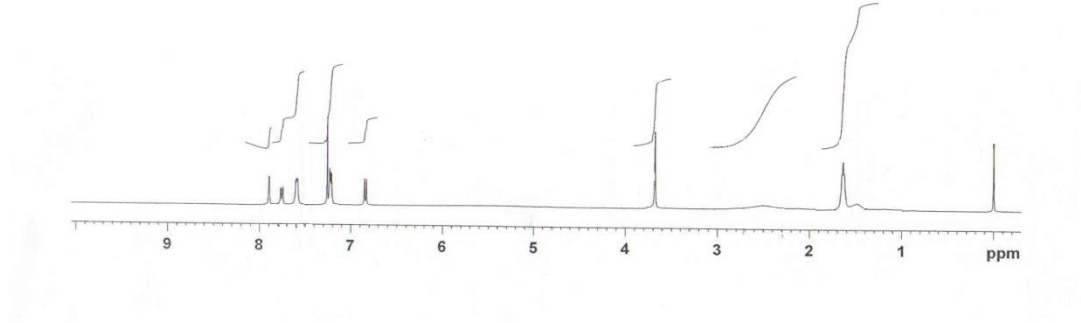
δ 1.49-1.65 (m, 6H), 2.10-2.90 (m, 4H), 3.68 (s, 2H), 6.83-6.85 (B, ABX sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.21-7.23 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 2.9$  Hz, 2H), 7.58-7.60 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 2.9$  Hz, 2H), 7.75-7.77(A, ABX sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.85-7.95 (X, ABX sisteminin parçası, s görünümlü,  $J = 1.8$  Hz, 1H)

#### <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.24.)

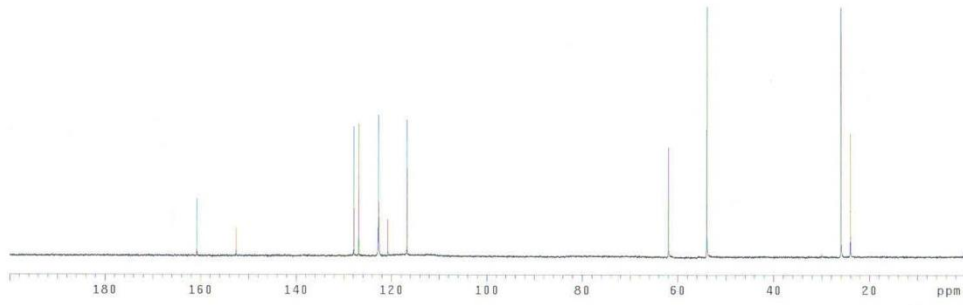
δ 24.0, 25.9, 53.9, 61.9, 116.7, 120.7, 122.6, 122.7, 126.9, 127.9, 152.5, 160.7

**Kütle spektrumu (Şekil 3.25.)**

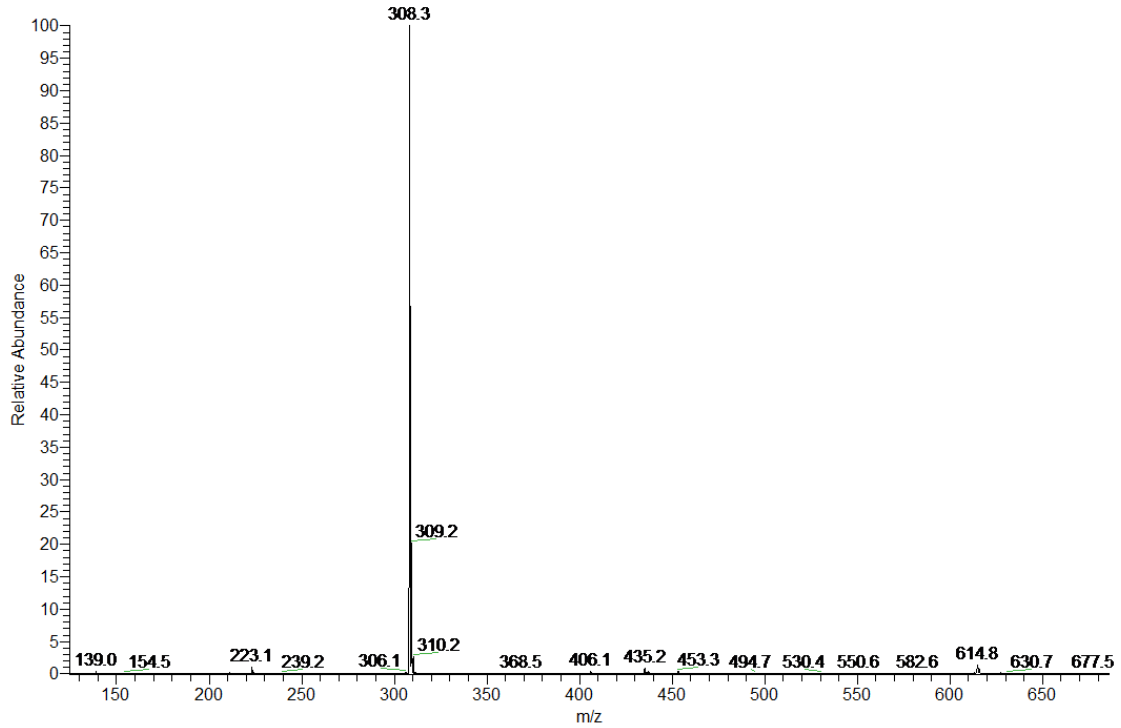
MS [ES(+)] ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ )  $m/z$ :  $M^+ + 1$  (308.3)



**Şekil 3.23.** Z3M bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



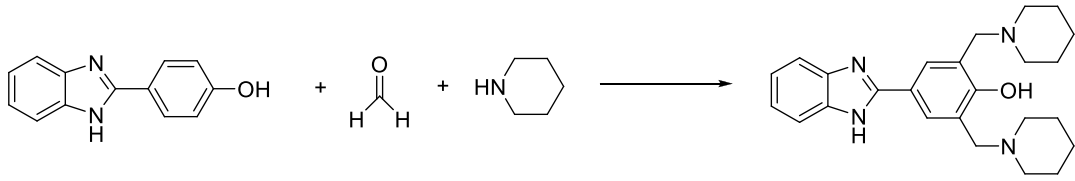
**Şekil 3.24.** Z3M bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



**Şekil 3.25.** Z3M bileşiğinin kütle spektrumu

### 3.2.7. Z3B Bileşiği: 2-[3,5-Bis(piperidin-1-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol

2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol (1 g, 4.8 mmol), paraformaldehit (0.571 g, 19.0 mmol) ve piperidinin (1.215 g, 14.3 mmol) asetonitrildeki (15 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında 13.8 bar basınçta 120 °C’de 100 W’da 5 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İTK ile izlendi. Reaksiyon ortamında 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol bileşiğinin tükenmesinden dolayı 5 dakika sonunda reaksiyona son verildi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı viskoz madde dietileterle muamele edilerek katılaştırıldı. Oluşan katı madde süzülerek ayrıldı. Daha sonra katı madde asetonla (2x10 ml) yıkandı, kurutuldu ve etilasetat:metanol’ den kristallendirilerek saflaştırıldı. Z3B bileşiği % 16.27 verimle 0.313 g beyaz renkli katı olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 238-240 °C’dir.



**Şekil 3.26.** Z3B bileşiğinin sentezi

**$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) (Şekil 3.27.)**

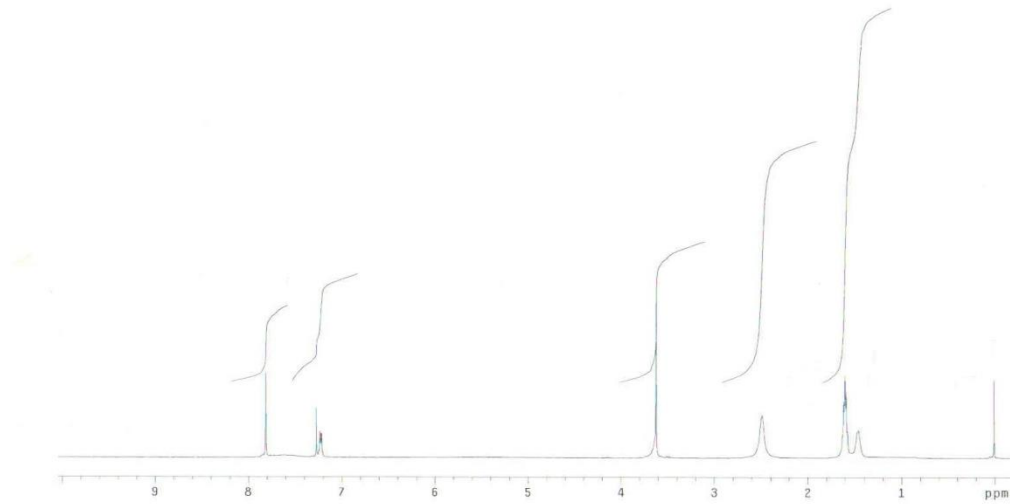
$\delta$  1.46-1.62 (m, 12H), 2.38-2.61 (m, 8H), 3.62 (s, 4H), 7.21-7.23 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümü,  $J = 2.9$  Hz, 2H), 7.43-7.65 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümü, m, 2H), 7.81 (s, 2H)

**$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) (Şekil 3.28.)**

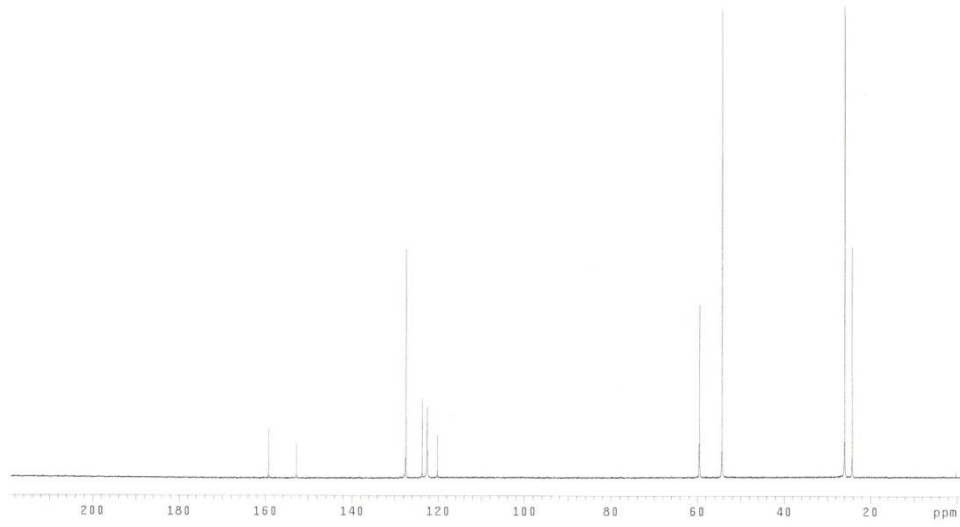
$\delta$  24.2, 25.9, 54.3, 59.5, 120.1, 122.5, 123.6, 127.4, 152.7, 159.3

**Kütle spektrumu (Şekil 3.29.)**

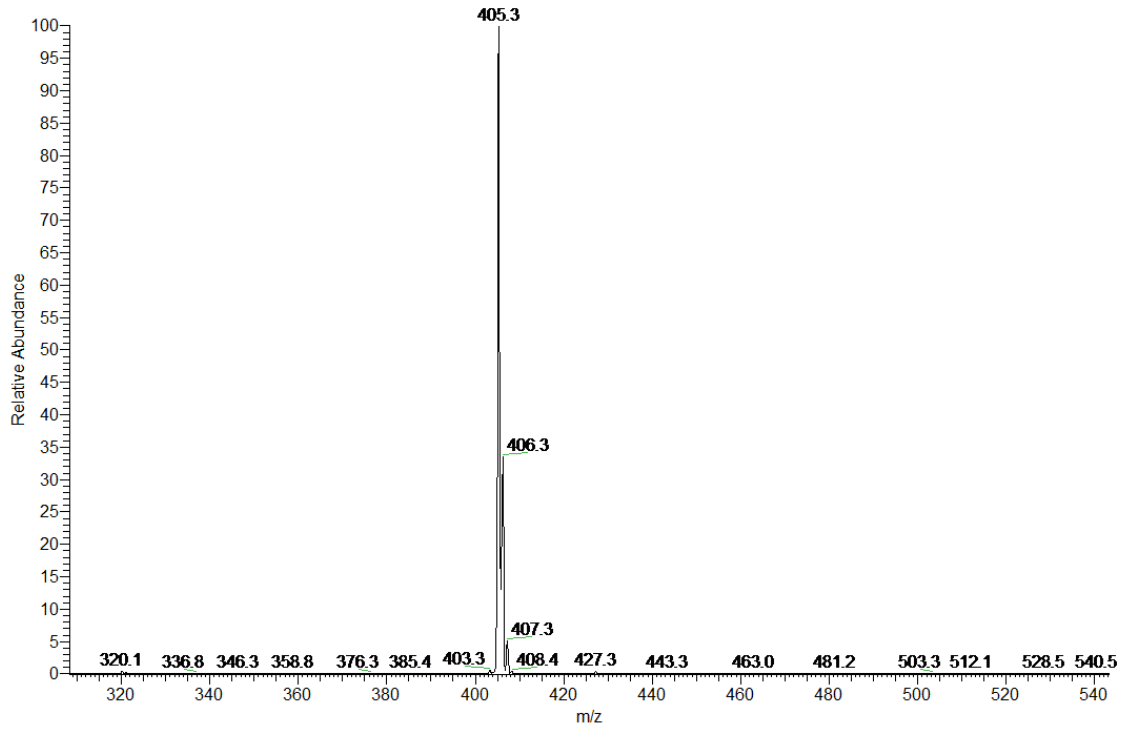
MS [ES(+)] ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ )  $m/z$ :  $M^+ + 1$  (405.3)



**Şekil 3.27.** Z3B bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



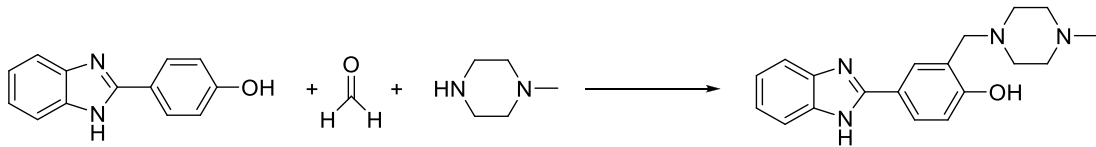
Şekil 3.28. Z3B bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



Şekil 3.29. Z3B bileşiğinin kütle spektrumu

**3.2.8. Z4M Bileşiği: 2-[3-(4-Metil-piperazin-1-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol**

2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol (0.3 g, 1.4 mmol), formaldehitin %37'lik metanoldeki çözeltisi (0.171 g, 5.7 mmol, 0.5 ml) ve N-metilpiperazinin (0.143 g, 1.4 mmol) asetonitrildeki (7 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında 13.8 bar basınçta 120 °C'de 100 W'da 5 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İTK ile izlendi. Reaksiyon ortamında 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol bileşiğinin tükenmesinden dolayı 5 dakika sonunda reaksiyona son verildi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sütun kromatografisi yöntemiyle [silikajel 60 (70–230 mesh)] kloroform:metanol (70:30) çözücü sistemi kullanılarak saflaştırıldı. Z4M bileşiği % 20.65 verimle 0.095 g açık sarı renkli katı olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 116-118 °C'dir.



**Şekil 3.30.** Z4M bileşiğinin sentezi

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.31.)**

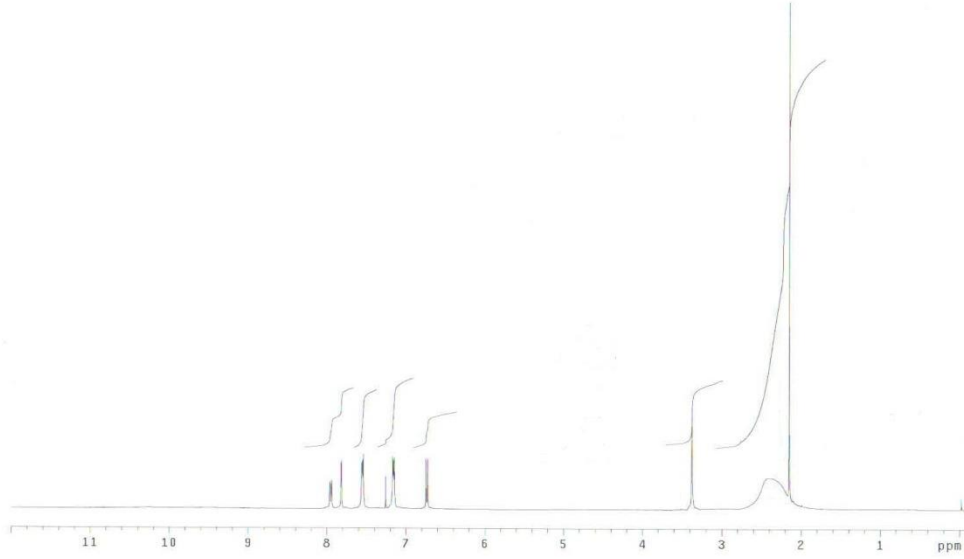
δ 2.15 (s, 3H), 2.17-2.60 (m, 8H), 3.37 (s, 2H), 6.72-6.74 (B, ABX sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.14-7.17 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 3.0$  Hz, 2H), 7.54-7.56 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 3.0$  Hz, 2H), 7.81-7.82 (X, ABX sisteminin parçası, s görünümlü,  $J = 1.8$  Hz, 1H), 7.94-7.96 (A, ABX sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 8.5$  Hz, 1H)

**$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) (Şekil 3.32.)**

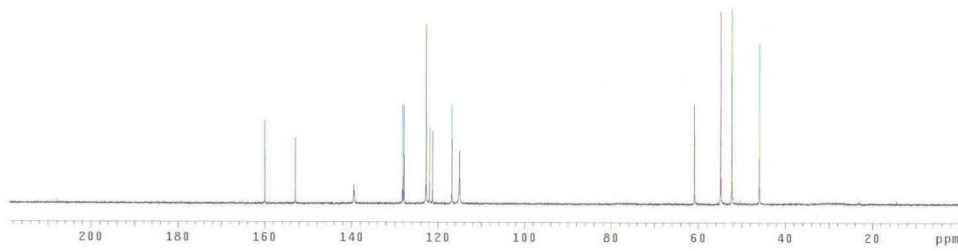
$\delta$  45.9, 52.2, 54.8, 60.8, 115.0, 116.8, 121.2, 121.9, 122.7, 127.8, 128.1, 139.4, 152.9, 160.0

**Kütle spektrumu (Şekil 3.33.)**

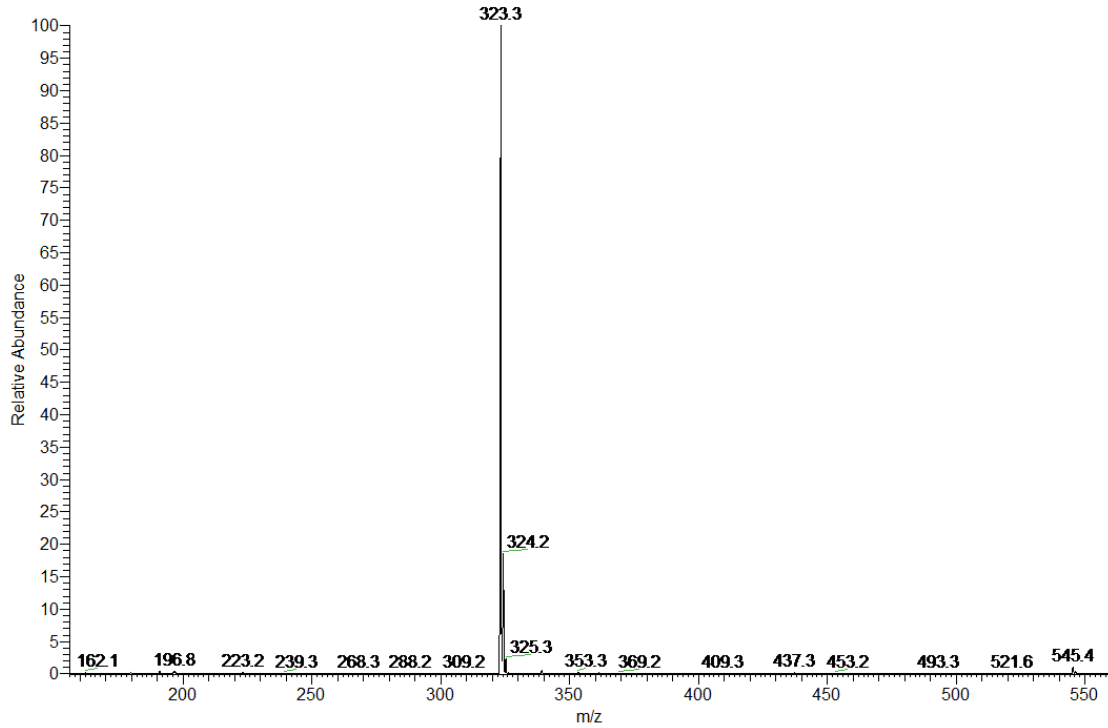
MS [ES(+)] ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ )  $m/z$ :  $\text{M}^+ + 1$  (323.3)



**Şekil 3.31.** Z4M bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



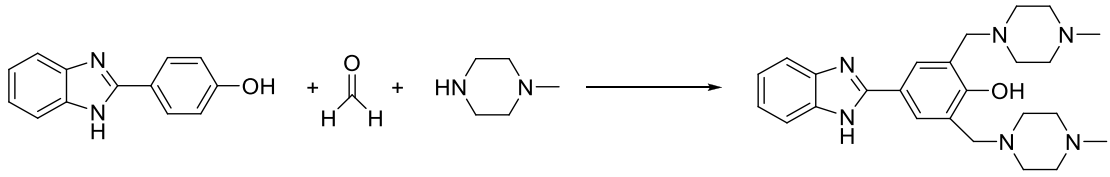
**Şekil 3.32.** Z4M bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



Şekil 3.33. Z4M bileşiğinin kütle spektrumu

### 3.2.9. Z4B Bileşiği: 2-[3,5-Bis(4-metil-piperazin-1-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol

2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol (1 g, 4.8 mmol), paraformaldehit (0.571 g, 19.0 mmol) ve N-metilpiperazinin (1.906 g, 19.0 mmol) asetonitrildeki (20 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında 13.8 bar basınçta 120 °C’de 100 W’da 5 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İTK ile izlendi. Reaksiyon ortamında 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol bileşiğinin tükenmesinden dolayı 5 dakika sonunda reaksiyona son verildi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı viskoz madde dietileterle muamele edilerek katılaştırıldı. Oluşan katı madde süzülerek ayrıldı. Ham ürün dietileterde (3x10 ml) kaynatılarak, süzüldü. Z4B bileşiği % 46.54 verimle 0.962 g beyaz renkli katı olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 231-233 °C’dir.



**Şekil 3.34.** Z4B bileşiğinin sentezi

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.35.)**

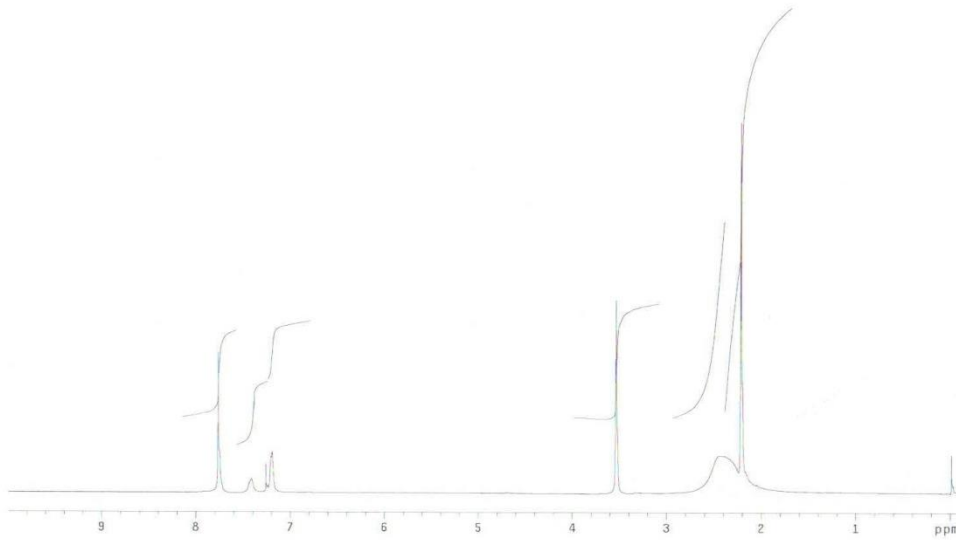
δ 2.21 (s, 6H), 2.25-2.43 (m, 16H), 3.53 (s, 4H), 7.16-7.22 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 2.9$  Hz, 2H), 7.38-7.50 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, m, 2H), 7.76 (s, 2H)

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.36.)**

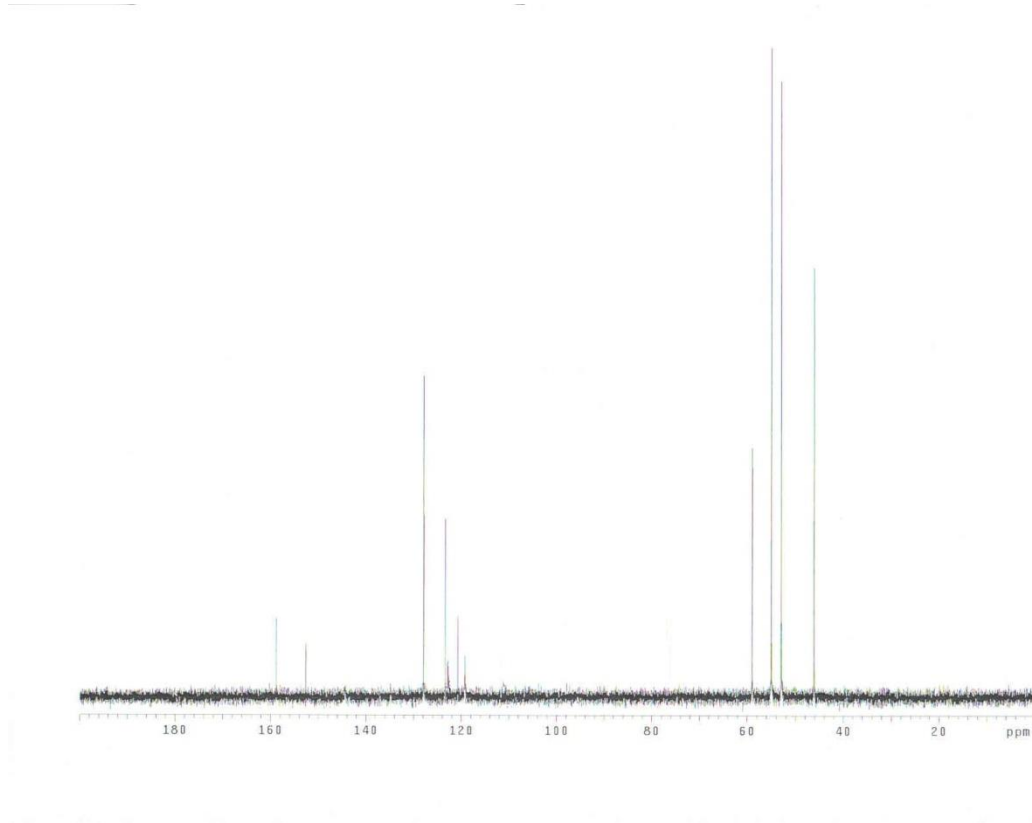
δ 46.0, 52.9, 54.9, 58.9, 119.2, 120.7, 122.8, 123.3, 127.9, 152.5, 158.7

**Kütle spektrumu (Şekil 3.37.)**

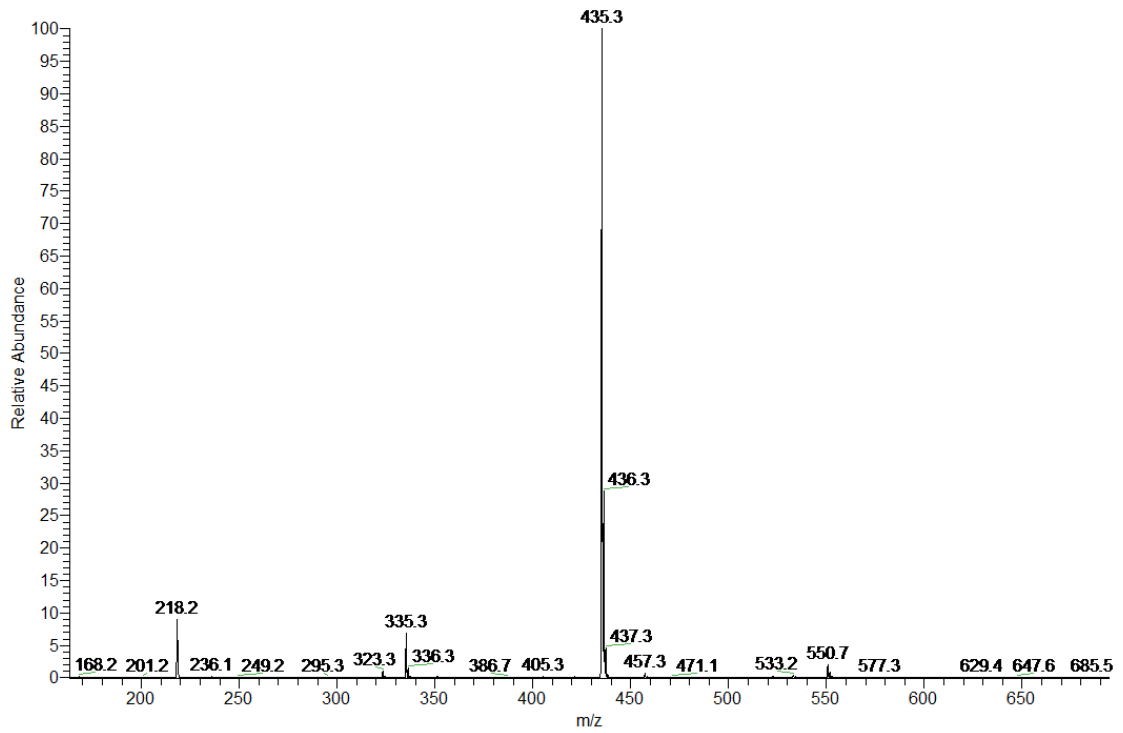
MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>)  $m/z$ :  $M^+ + 1$  (435.3)



**Şekil 3.35.** Z4B bileşiğinin <sup>1</sup>H NMR spektrumu



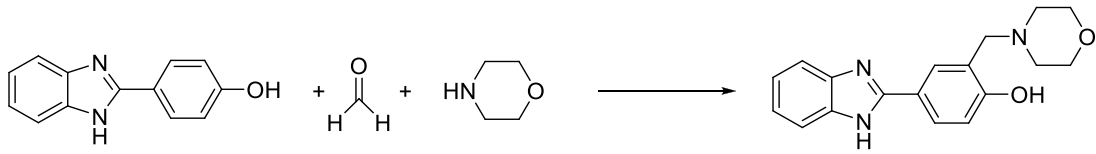
Şekil 3.36. Z4B bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



Şekil 3.37. Z4B bileşiğinin kütle spektrumu

### 3.2.10. Z5M Bileşiğı: 2-[3-(Morfolin-4-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol

2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol (0.5 g, 2.4 mmol), paraformaldehit (0.286 g, 9.5 mmol) ve morfolinin (0.207 g, 2.4 mmol) asetonitrildeki (7 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında 13.8 bar basınçta 120 °C’de 100 W’da 5 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İTK ile izlendi. Reaksiyon ortamında 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol bileşiğinin tükenmesinden dolayı 5 dakika sonunda reaksiyona son verildi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sütun kromatografisi yöntemiyle [silikajel 60 (70–230 mesh)] diizopropileter:metanol (80:20) çözücü sistemi kullanılarak saflaştırıldı. Z5M bileşiğı % 63.72 verimle 0.469 g beyaz renkli katı olarak elde edildi. Bileşiğın erime derecesi 120-123 °C’dir.



Şekil 3.38. Z5M bileşiğının sentezi

#### <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.39.)

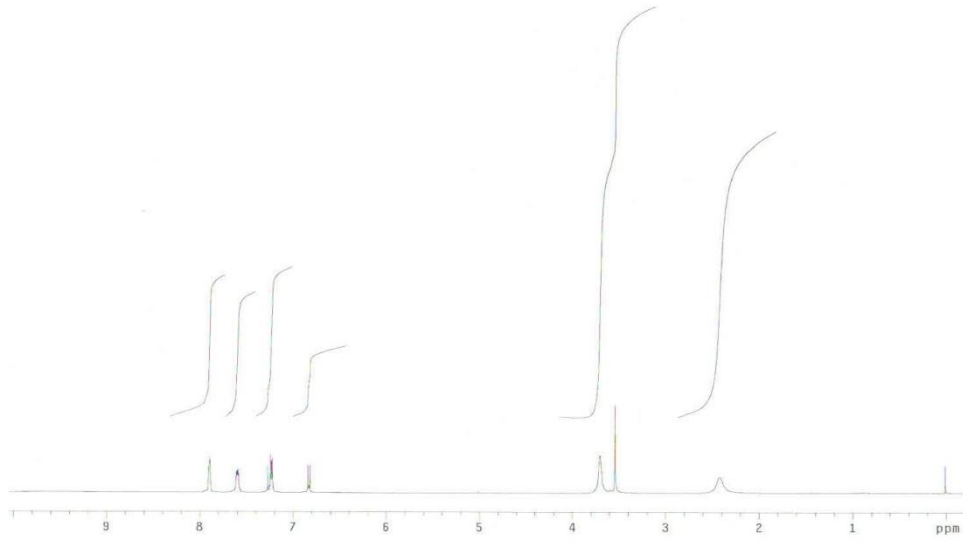
δ 2.24-2.50 (m, 4H), 3.54 (s, 2H), 3.60-3.80 (m, 4H), 6.81-6.84 (B, ABX sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.22-7.24 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 2.9$  Hz, 2H), 7.58-7.60 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 2.9$  Hz, 2H), 7.89-7.90 (A, ABX sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.91-7.93 (X, ABX sisteminin parçası, s görünümlü,  $J = 1.8$  Hz, 1H)

#### <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.40.)

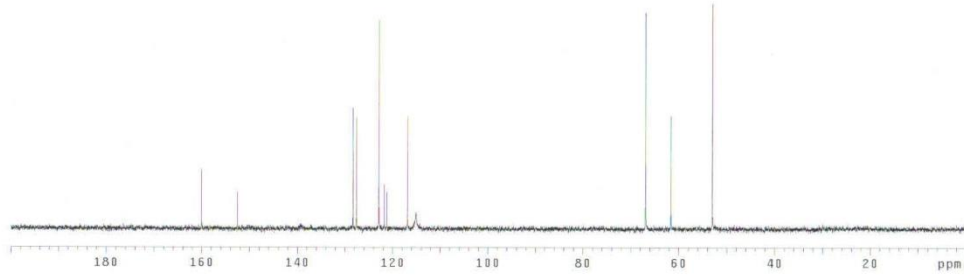
δ 52.9, 61.5, 66.8, 115.1, 116.8, 121.2, 121.7, 122.9, 127.5, 128.3, 152.5, 160.0

#### Kütle spektrumu (Şekil 3.41.)

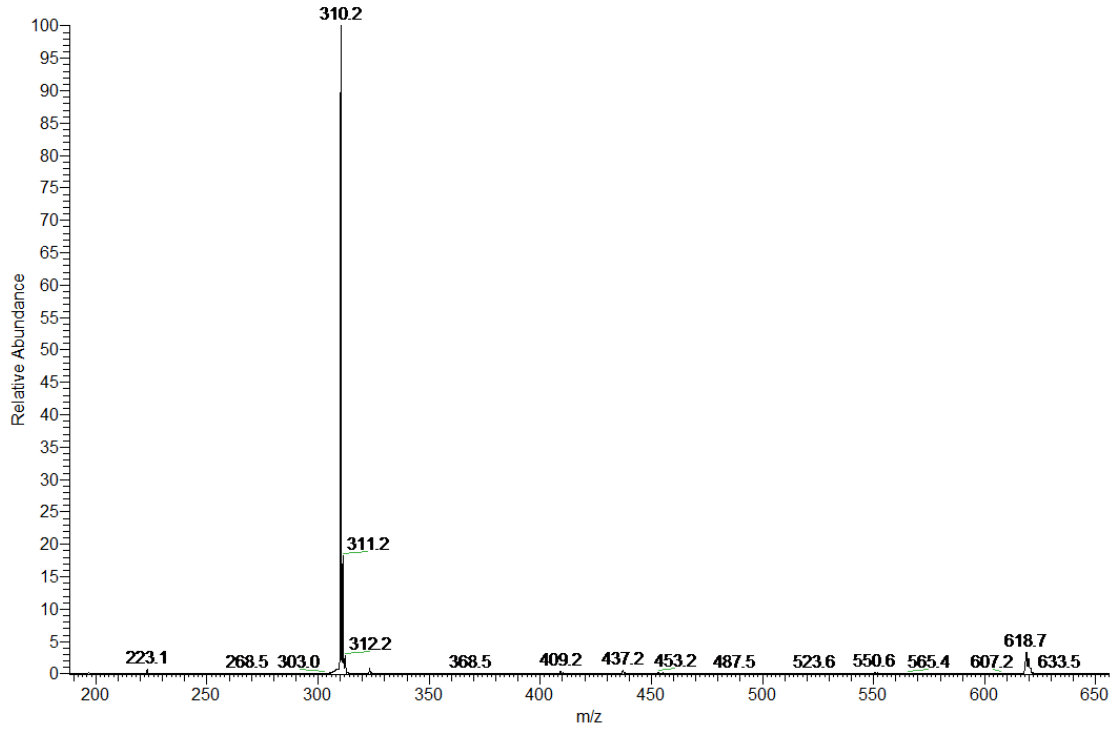
MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>)  $m/z$ :  $M^+ + 1$  (310.2)



**Şekil 3.39.** Z5M bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



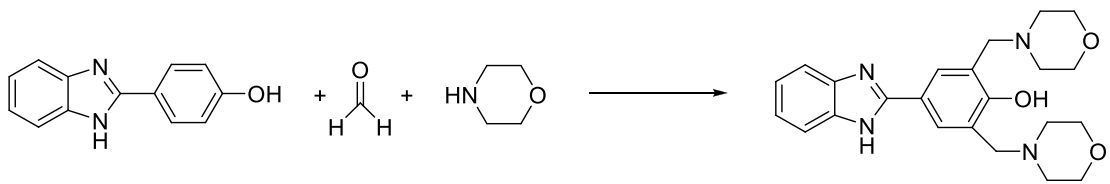
**Şekil 3.40.** Z5M bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



**Şekil 3.41.** Z5M bileşiğinin kütle spektrumu

**3.2.11. Z5B Bileşiği: 2-[3,5-Bis(morfolin-4-il-metil)-4-hidroksifenil]benzimidazol**

2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol (0.5 g, 2.4 mmol), paraformaldehit (0.286 g, 9.5 mmol) ve morfolinin (0.829 g, 9.5 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında 80 °C’de 200 W’da 20 dakika ısıtıldı. Daha sonra reaksiyona sıcaklık 80 °C’de tutulurken 300 W’da 90 dakika daha devam edildi. Tepkimenin yürüyüşü İTK ile izlendi. Reaksiyon ortamında 2-(4-Hidroksifenil)benzimidazol bileşiğinin tükenmesinden dolayı 110 dakika sonunda reaksiyona son verildi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sütun kromatografisi yöntemiyle [silikajel 60 (70–230 mesh)] diizopropileter:metanol (80:20) çözücü sistemi kullanılarak saflaştırıldı. Z5B bileşiği % 25.41 verimle 0.247 g beyaz renkli katı olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 209-210 °C’dir.



**Şekil 3.42.** Z5B bileşiğinin sentezi

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.43.)**

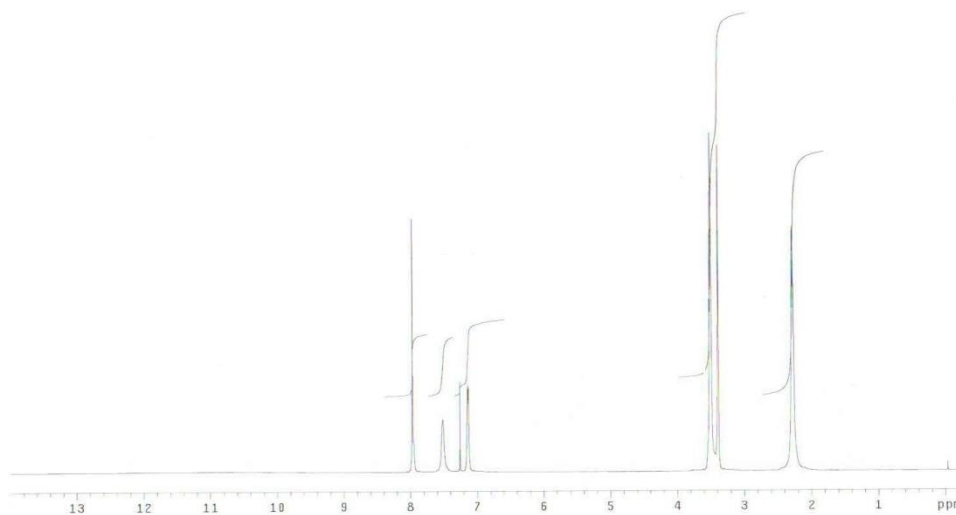
δ 2.16-2.41 (m, 8H), 3.39 (s, 4H), 3.42-3.60 (m, 8H), 7.12-7.15 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 2.9$  Hz, 2H), 7.39-7.60 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, m, 2H), 7.96 (s, 2H)

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.44.)**

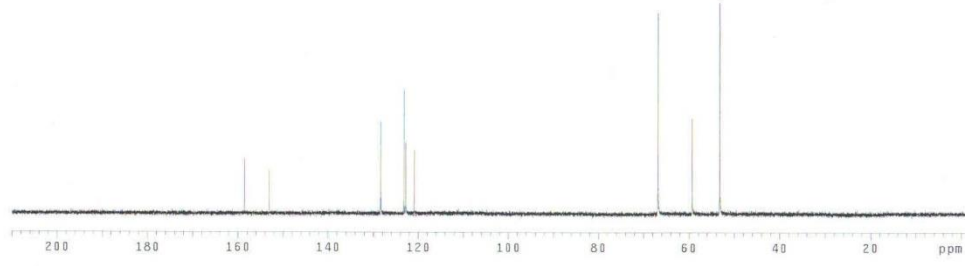
δ 53.2, 59.2, 66.8, 120.8, 122.7, 123.1, 128.3, 153.0, 158.5

**Kütle spektrumu (Şekil 3.45.)**

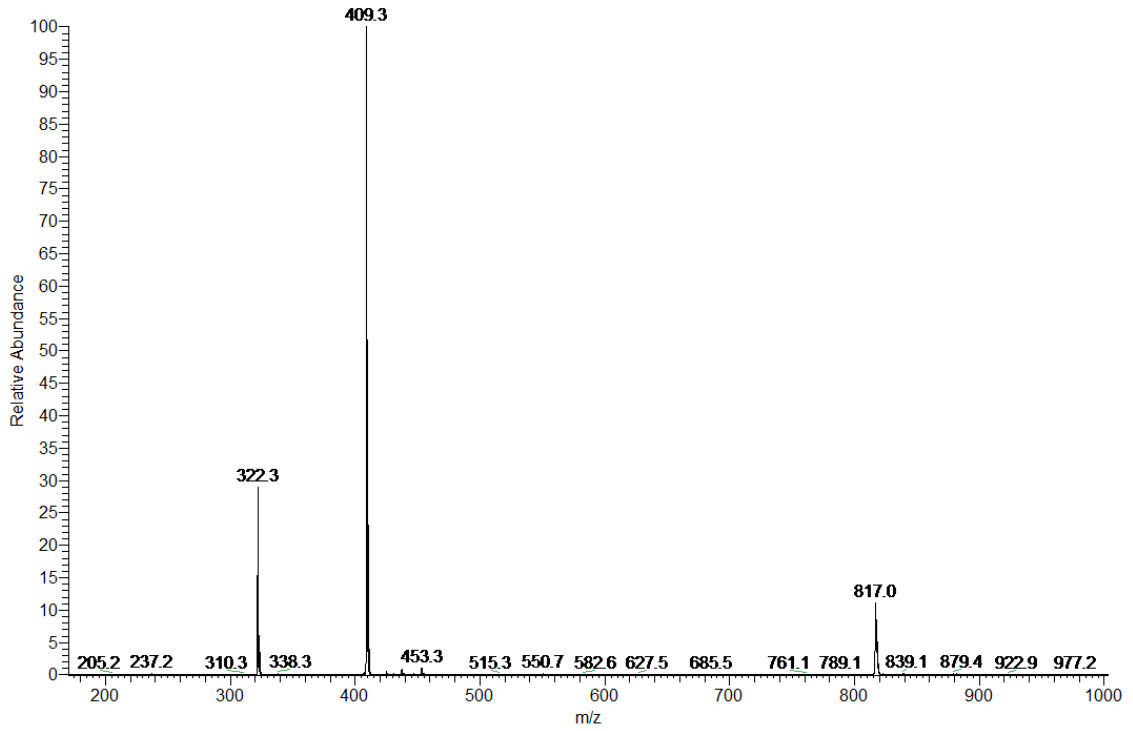
MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>) m/z: M<sup>+</sup> +1 (409.3)



**Şekil 3.43.** Z5B bileşiğinin <sup>1</sup>H NMR spektrumu



**Şekil 3.44.** Z5B bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



**Şekil 3.45.** Z5B bileşiğinin kütle spektrumu

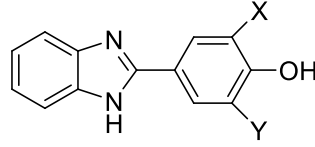
### 3.3. Biyoaktivite Çalışmaları

CA'nın katalize ettiği  $\text{CO}_2$  hidrasyon aktivitesinin ölçülmesi için uygulamalı fotofizik akım durdurma (Applied Photophysics stopped-flow instrument) cihazı kullanılmıştır. 20 milimolar (mM) Hepes (pH 7.4) tamponunda ve 20 mM  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (iyonik gücü sabit tutmak için) varlığında, 557 nm maksimum absorpsiyon dalga

boyunda çalışan fenol kırmızısı (0,2 mM'lık konsantrasyonda) CA'ın katalize ettiği CO<sub>2</sub> hidrasyon reaksiyonunun 10-100 saniyelik bir süre boyunca başlangıç hızlarını izlemek için indikatör olarak kullanılmıştır.<sup>93</sup> İnhibisyon sabitleri ve kinetik parametrelerin saptanmasında CO<sub>2</sub> konsantrasyonları 1.7-17 mM aralığında değişmekteydi. Başlangıç hızını belirlemek amacıyla her bir inhibitör için reaksiyonun başlangıçtaki en az 6 trasesi kullanıldı. Katalizörsüz reaksiyon hızları da aynı şekilde belirlendi ve gözlenen toplam reaksiyon hızlarından çıkartıldı. Distile-deiyonize su içinde inhibitörün stok çözeltileri (10 mM) hazırlandı ve daha sonra deney tamponu ile 0.001 nanomolar (nM)'a kadar seyreltmeler yapıldı. İnhibitör ve enzim çözeltileri E-I kompleksinin oluşumuna imkan vermek için deney öncesinde oda sıcaklığında 15 dk süreyle beraber ön inkübasyona tabi tutuldu. (Proteinler de 1-24 sa arasında uzun süre inkübe edildi, fakat aktivitede herhangi fark tespit edilmedi). İnhibisyon sabitleri daha önce rapor edildiği gibi<sup>32, 94, 95</sup> PRISM 3 kullanılarak doğrusal olmayan en küçük kareler yöntemi ile elde edildi. Değerler en az üç farklı tayinin ortalamasını göstermektedir. Tüm CA izoformları Dr. Supuran'ın laboratuvarında elde edilen rekombinant olanlardı.<sup>96</sup>

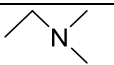
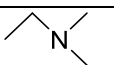
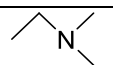
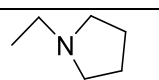
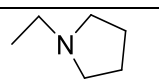
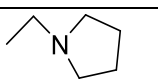
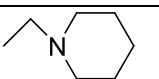
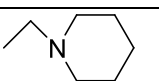
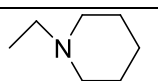
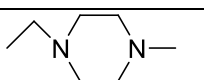
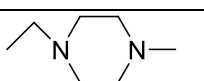
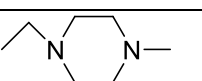
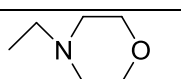
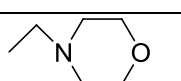
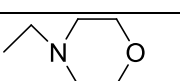
#### 4. BULGULAR

Sentezlenen bileşiklerin deneysel verileri Tablo 4.1’de sunulmuştur. Spektrumlar ve değerlendirmeleri deneysel bölümde detaylı bir biçimde verilmiş, bu spektral analizlerin toplu değerlendirmeleri Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4’de sunulmuştur. Tablo 4.5 ve Tablo 4.6’da ise biyoaktivite sonuçları sunulmuştur.



**Şekil 4.1.** Sentezlenen bileşiklerin genel kimyasal yapısı

**Tablo 4.1.** Sentezlenen bileşiklerin deneysel verileri

| Bileşik    | X-                                                                                  | Y-                                                                                  | Z Bileşiği<br>(mmol) | Paraformaldehit<br>(mmol) | Amin<br>(mmol) | Reaksiyon Süresi<br>(dk) | Verim<br>(%) | Erime Derecesi<br>(°C) |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|---------------------------|----------------|--------------------------|--------------|------------------------|
| <b>Z1M</b> |    | —H                                                                                  | 2.4                  | 9.5                       | 2.4            | 90                       | 36.79        | 187-189                |
| <b>Z1B</b> |    |    | 14.3                 | 57.1                      | 57.1           | 5                        | 26.25        | 170-172                |
| <b>Z2M</b> |    | —H                                                                                  | 2.4                  | 9.5                       | 2.4            | 5                        | 25.79        | 200-203                |
| <b>Z2B</b> |    |    | 9.5                  | 38.0                      | 38.0           | 5                        | 44.00        | 189-191                |
| <b>Z3M</b> |    | —H                                                                                  | 2.9                  | 11.4                      | 2.9            | 5                        | 38.77        | 254-256                |
| <b>Z3B</b> |    |    | 4.8                  | 19.0                      | 14.3           | 5                        | 16.27        | 238-240                |
| <b>Z4M</b> |   | —H                                                                                  | 1.4                  | 5.7                       | 1.4            | 5                        | 20.65        | 116-118                |
| <b>Z4B</b> |  |  | 4.8                  | 19.0                      | 19.1           | 5                        | 46.54        | 231-233                |
| <b>Z5M</b> |  | —H                                                                                  | 2.4                  | 9.5                       | 2.4            | 5                        | 63.72        | 120-123                |
| <b>Z5B</b> |  |  | 2.4                  | 9.5                       | 9.5            | 110                      | 25.41        | 209-210                |

**Tablo 4.2.** Sentezlenen bileşiklerin <sup>1</sup>H NMR sonuçları

| Bileşik    | δ (ppm)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Z</b>   | 6.90-6.93 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 8.7 Hz, 2H), 7.16-7.20 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 2.9 Hz, 2H), 7.51-7.55 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 2.9 Hz, 2H), 7.90-7.93 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 8.7 Hz, 2H)                                                                                                                      |
| <b>Z1M</b> | 2.13 (s, 6H), 3.33 (s, 2H), 6.76-6.78 (B, ABX sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H), 7.19-7.21 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 3.0 Hz, 2H), 7.58-7.61 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 3.0 Hz, 2H), 7.84-7.99 (X, ABX sisteminin parçası, s görünümlü, <i>J</i> = 1.4 Hz, 1H), 8.06-8.08 (A, ABX sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H)                         |
| <b>Z1B</b> | 2.04 (s, 12H), 3.30 (s, 4H), 7.09-7.11 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 2.9 Hz, 2H), 7.51-7.53 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 2.9 Hz, 2H), 7.91 (s, 2H)                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Z2M</b> | 1.60-1.90 (m, 4H), 2.30-2.69 (m, 4H), 3.57 (s, 2H), 6.75-6.77 (B, ABX sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H), 7.18-7.20 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 3.1 Hz, 2H), 7.56-7.59 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 3.1 Hz, 2H), 7.92-7.93 (X, ABX sisteminin parçası, s görünümlü, <i>J</i> = 1.6 Hz, 1H), 7.99-8.02 (A, ABX sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H) |
| <b>Z2B</b> | 1.60-1.80 (m, 8H), 2.41-2.62 (m, 8H), 3.67 (s, 4H), 7.17-7.19 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 3.2 Hz, 2H), 7.45-7.65 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, m, 2H), 7.83 (s, 2H)                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>Z3M</b> | 1.49-1.65 (m, 6H), 2.10-2.90 (m, 4H), 3.68 (s, 2H), 6.83-6.85 (B, ABX sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H), 7.21-7.23 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 2.9 Hz, 2H), 7.58-7.60 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 2.9 Hz, 2H), 7.75-7.77 (A, ABX sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H), 7.85-7.95 (X, ABX sisteminin parçası, s görünümlü, <i>J</i> = 1.8 Hz, 1H) |
| <b>Z3B</b> | 1.46-1.62 (m, 12H), 2.38-2.61 (m, 8H), 3.62 (s, 4H), 7.21-7.23 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 2.9 Hz, 2H), 7.43-7.65 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, m, 2H), 7.81 (s, 2H)                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Z4M</b> | 2.15 (s, 3H), 2.17-2.60 (m, 8H), 3.37 (s, 2H), 6.72-6.74 (B, ABX sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 8.5 Hz, 1H), 7.14-7.17 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 3.0 Hz, 2H), 7.54-7.56 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 3.0 Hz, 2H), 7.81-7.82 (X, ABX sisteminin parçası, s görünümlü, <i>J</i> = 1.8 Hz, 1H), 7.94-7.96 (A, ABX sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 8.5 Hz, 1H)      |
| <b>Z4B</b> | 2.21 (s, 6H), 2.25-2.43 (m, 16H), 3.53 (s, 4H), 7.16-7.22 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 2.9 Hz, 2H), 7.38-7.50 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, m, 2H), 7.76 (s, 2H)                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>Z5M</b> | 2.24-2.50 (m, 4H), 3.54 (s, 2H), 3.60-3.80 (m, 4H), 6.81-6.84 (B, ABX sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H), 7.22-7.24 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 2.9 Hz, 2H), 7.58-7.60 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 2.9 Hz, 2H), 7.89-7.90 (A, ABX sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H), 7.91-7.93 (X, ABX sisteminin parçası, s görünümlü, <i>J</i> = 1.8 Hz, 1H) |
| <b>Z5B</b> | 2.16-2.41 (m, 8H), 3.39 (s, 4H), 3.42-3.60 (m, 8H), 7.12-7.15 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, <i>J</i> = 2.9 Hz, 2H), 7.39-7.60 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü, m, 2H), 7.96 (s, 2H)                                                                                                                                                                                                                                    |

**Tablo 4.3.** Sentezlenen bileşiklerin <sup>13</sup>C NMR sonuçları

| Bileşik    | δ (ppm)                                                                                      |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Z</b>   | 114.3, 115.7, 120.9, 122.3, 128.3, 152.7, 159.8                                              |
| <b>Z1M</b> | 44.4, 62.4, 115.1, 116.8, 120.9, 122.7, 122.7, 127.9, 139.5, 153.4, 160.6                    |
| <b>Z1B</b> | 44.7, 60.0, 115.0, 120.5, 122.4, 123.7, 128.2, 139.6, 153.3, 159.3                           |
| <b>Z2M</b> | 23.8, 53.4, 58.4, 115.0, 116.6, 120.8, 122.6, 123.2, 127.5, 127.6, 139.5, 153.3, 160.6       |
| <b>Z2B</b> | 23.7, 53.9, 56.4, 120.3, 122.4, 124.5, 127.1, 152.9, 158.9                                   |
| <b>Z3M</b> | 24.0, 25.9, 53.9, 61.9, 116.7, 120.7, 122.6, 122.7, 126.9, 127.9, 152.5, 160.7               |
| <b>Z3B</b> | 24.2, 25.9, 54.3, 59.5, 120.1, 122.5, 123.6, 127.4, 152.7, 159.3                             |
| <b>Z4M</b> | 45.9, 52.2, 54.8, 60.8, 115.0, 116.8, 121.2, 121.9, 122.7, 127.8, 128.1, 139.4, 152.9, 160.0 |
| <b>Z4B</b> | 46.0, 52.9, 54.9, 58.9, 119.2, 120.7, 122.8, 123.3, 127.9, 152.5, 158.7                      |
| <b>Z5M</b> | 52.9, 61.5, 66.8, 115.1, 116.8, 121.2, 121.7, 122.9, 127.5, 128.3, 152.5, 160.0              |
| <b>Z5B</b> | 53.2, 59.2, 66.8, 120.8, 122.7, 123.1, 128.3, 153.0, 158.5                                   |

**Tablo 4.4.** Sentezlenen Bileşiklerin MS Sonuçları

| Bileşik    | $M^{+}+1$<br>Hesaplanan | $M^{+}+1$<br>Ölçülen |
|------------|-------------------------|----------------------|
| <b>Z</b>   | 211.2                   | 211.2                |
| <b>Z1M</b> | 268.3                   | 268.2                |
| <b>Z1B</b> | 325.2                   | 325.2                |
| <b>Z2M</b> | 294.3                   | 294.2                |
| <b>Z2B</b> | 377.4                   | 377.3                |
| <b>Z3M</b> | 308.3                   | 308.3                |
| <b>Z3B</b> | 405.5                   | 405.3                |
| <b>Z4M</b> | 323.4                   | 323.3                |
| <b>Z4B</b> | 435.5                   | 435.3                |
| <b>Z5M</b> | 310.3                   | 310.2                |
| <b>Z5B</b> | 409.4                   | 409.3                |

**Tablo 4.5.** Sentezlenen bileşiklerin CA I % inhibisyon sonuçları

| Bileşik    | $10^{-8}$ M | $10^{-7}$ M | $10^{-6}$ M | $10^{-5}$ M |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Z</b>   | 13          | 17          | 20          | 23          |
| <b>Z1M</b> | 12          | 18          | 26          | 29          |
| <b>Z1B</b> | 14          | 19          | 20          | 21          |
| <b>Z2M</b> | 17          | 20          | 20          | 21          |
| <b>Z2B</b> | 13          | 16          | 18          | 21          |
| <b>Z3M</b> | 17          | 19          | 23          | 33          |
| <b>Z3B</b> | 18          | 20          | 21          | 25          |
| <b>Z4M</b> | 18          | 21          | 22          | 23          |
| <b>Z4B</b> | 17          | 18          | 19          | 21          |
| <b>Z5M</b> | 14          | 16          | 18          | 20          |
| <b>Z5B</b> | 15          | 17          | 18          | 20          |

**Tablo 4.6.** Sentezlenen bileşiklerin CA II % inhibisyon sonuçları

| Bileşik    | $10^{-8}$ M | $10^{-7}$ M | $10^{-6}$ M | $10^{-5}$ M | $10^{-4}$ M |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Z</b>   | 7           | 8           | 10          | 11          | 18          |
| <b>Z1M</b> | 11          | 14          | 21          | 37          | 42          |
| <b>Z1B</b> | 7           | 9           | 7           | 0           | -61         |
| <b>Z2M</b> | 5           | 5           | 11          | 12          | -37         |
| <b>Z2B</b> | 3           | 12          | 12          | -8          | -49         |
| <b>Z3M</b> | 13          | 18          | 20          | 21          | 31          |
| <b>Z3B</b> | 3           | 14          | 13          | 16          | 73          |
| <b>Z4M</b> | 11          | 24          | 20          | 18          | -25         |
| <b>Z4B</b> | 15          | 16          | 14          | -1          | -51         |
| <b>Z5M</b> | 19          | 24          | 24          | 28          | 8           |
| <b>Z5B</b> | 22          | 24          | 25          | -4          | -55         |

## 5. TARTIŞMA

Z1M, Z1B, Z2M, Z2B, Z3M, Z3B, Z4M, Z4B, Z5M ve Z5B bileşiklerideğişik oranlarda Z bileşiğı, paraformaldehit / formaldehit çözeltisi ve farklı aminler baz formda kullanılarak farklı sıcaklık aralıklarında (80-120 °C) konvansiyonel yöntem (Z1M bileşiğı) ve mikrodalga yöntemi (Z1B, Z2M, Z2B, Z3M, Z3B, Z4M, Z4B ve Z5M bileşikleride basınçlı ortamda; Z5B bileşiğı ise normal atmosfer basıncında) ile başarı ile % 16-63 verimle katı olarak sentezlenmiştir.

Sentezlenen bileşiklerde (Z1M-Z5B) amin kısmı sırasıyla dimetilamin, pirolidin, piperidin, N-metilpiperazin, morfolin olarak değiştirilmiştir. Aminlerin farklı pKa değerlerinin deaminasyon oranını / tiyol alkilasyonu oranını / biyoaktiviteyi yönlendirebileceğı düşüncesinden hareket edilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerden Z1M, Z1B, Z2M ve Z4B ilk kez bu çalışma ile rapor edilmiştir. Z2B (pirolidinli bis Mannich bazı),<sup>20</sup> Z3M (piperidinli mono Mannich bazı),<sup>21</sup> Z3B (piperidinli bis Mannich bazı),<sup>20, 21</sup> Z4M (N-metilpiperazinli mono Mannich bazı)<sup>22</sup> ve Z5M (morfolinli mono Mannich bazı)<sup>22</sup> literatürde rapor edilmiştir. Z5B bileşiğine (morfolinli bis Mannich bazı) Sci-Finder taramalarında formül olarak rastlanmış; ancak herhangi bir literatüre ulaşılammıştır.

Bileşiklerimizle ilgili yapılan taramalar 3 ana literatüre işaret etmiştir. Bunlar Çince yazıldığından yalnızca özetlerine ulaşılabilmiştir.<sup>20-22</sup>

Z2B ve Z3B bileşiklerinin bahsedildiğı literatürde bazı bifenol ve 4-heteroarilfenol Mannich bazlarının antiaritmik aktivitesi araştırılmıştır.<sup>20</sup>

Z3M ve Z3B bileşiklerinin bahsedildiğı literatürde 4-heteroarilaminofenol tipi bileşiklerde antiinflamatuvar aktivite sıçanlarda 20 bileşik ile araştırılmış ve bunlardan 10 bileşiğın kuantum kimyasal hesaplamaları CNDO / 2 metodu ile gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada antiinflamatuvar aktivite ile bileşiklerin elektronik yapısı arasındaki ilişkilerin tartışıldığı bildirilmektedir.<sup>21</sup>

Z4M ve Z5M bileşiklerinin bahsedildiği literatürde trombosit agregasyonunu önleyici aktivitenin bazı 4-heteroarilaminometilfenoller için *in vitro* olarak araştırıldığı bildirilmekte; ancak hiçbir sonuç verilmemektedir.<sup>22</sup>

Bileşiklerin kimyasal yapıları <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR ve MS spektrumları ile aydınlatılmış ve yapı ile uyumlu bulunmuştur. Örnek olarak Z1M ve Z1B bileşiğinin spektral verileri değerlendirildiğinde:

Z1M bileşiğinin <sup>1</sup>H NMR spektrumunda (Tablo 4.2);  $\delta$  2.13 (s, 6H), 3.33 (s, 2H), 6.76-6.78 (B, ABX sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.19-7.21 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 3.0$  Hz, 2H), 7.58-7.61 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 3.0$  Hz, 2H), 7.84-7.99 (X, ABX sisteminin parçası, s görünümlü,  $J = 1.4$  Hz, 1H), 8.06-8.08 (A, ABX sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 8.4$  Hz, 1H) gözlenmiştir. Veriler kimyasal yapı ile uyumludur.

Z1M bileşiğinin <sup>13</sup>C NMR spektrumunda (Tablo 4.3);  $\delta$  44.4, 62.4, 115.1, 116.8, 120.9, 122.7, 122.7, 127.9, 139.5, 153.4, 160.6 gözlenmiştir. Veriler kimyasal yapı ile uyumludur.

MS spektrumlarına bakıldığında Z1M bileşiği için hesaplanan  $M^+ + 1$  değeri 268.3 iken ölçülen  $M^+ + 1$  değeri 268.2'dir. Bu sonuç kimyasal yapıyı doğrulamaktadır.

Z1B bileşiğinin <sup>1</sup>H NMR spektrumunda (Tablo 4.2);  $\delta$  2.04 (s, 12H), 3.30 (s, 4H), 7.09-7.11 (XX', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 2.9$  Hz, 2H), 7.51-7.53 (AA', AA'XX' sisteminin parçası, d görünümlü,  $J = 2.9$  Hz, 2H), 7.91 (s, 2H) gözlenmiştir. Veriler kimyasal yapı ile uyumludur.

Z1B bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumunda (Tablo 4.3);  $\delta$  44.7, 60.0, 115.0, 120.5, 122.4, 123.7, 128.2, 139.6, 153.3, 159.3 gözlenmiştir. Veriler kimyasal yapı ile uyumludur.

MS spektrumlarına bakıldığında Z1B bileşiği için hesaplanan  $M^++1$  değeri ve ölçülen  $M^++1$  değeri 325.2'dir. Bu sonuç kimyasal yapıyı doğrulamaktadır.

Bileşiklerin biyoaktivitesi CA I inhibisyonu açısından değerlendirildiğinde, bileşik konsantrasyonu arttıkça az miktarda da olsa CA I inhibisyonu artmıştır.

Z bileşiğinden dimetilaminli mono Mannich bazının (Z1M) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  Molar (M) konsantrasyonlarda % 6'luk bir CA I inhibisyon artışı görülmüştür. Z bileşiğinden dimetilaminli bis Mannich bazının (Z1B) hazırlanması ise Z bileşiğine kıyasla CA I inhibisyonunu pek değiştirmemiştir. Z1M ve Z1B bileşikleri birbiri ile kıyaslandığında Z1M bileşiğinin özellikle  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda kısmen de olsa daha etkili CA I inhibisyonu gerçekleştirdiği söylenebilir.

Z bileşiğinden pirolidinli mono Mannich bazının (Z2M) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-8}$  M konsantrasyonda % 4'lük,  $10^{-7}$  M konsantrasyonda % 3'lük bir CA I inhibisyon artışı görülmüştür. Z bileşiğinden pirolidinli bis Mannich bazının (Z2B) hazırlanması ise Z bileşiğine kıyasla CA I inhibisyonunu pek değiştirmemiştir. Z2M ve Z2B bileşikleri birbiri ile kıyaslandığında Z2M bileşiğinin özellikle  $10^{-8}$  ve  $10^{-7}$  M konsantrasyonlarda kısmen de olsa daha etkili CA I inhibisyonu gerçekleştirdiği söylenebilir.

Z bileşiğinden piperidinli mono Mannich bazının (Z3M) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-8}$  M konsantrasyonda % 4'lük,  $10^{-6}$  M konsantrasyonda % 3'lük,  $10^{-5}$  M konsantrasyonda ise %10'luk bir CA I inhibisyon artışı görülmüştür. Z bileşiğinden piperidinli bis Mannich bazının (Z3B) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla

$10^{-8}$  M konsantrasyonda % 5'lik,  $10^{-7}$  M konsantrasyonda % 3'lük bir CA I inhibisyon artışı görülmüştür. Z3M ve Z3B bileşikleri birbiri ile kıyaslandığında Z3M bileşiğinin özellikle  $10^{-5}$  M konsantrasyonda kısmen de olsa daha etkili CA I inhibisyonu gerçekleştirdiği söylenebilir.

Z bileşiğinden N-metilpiperazinli mono Mannich bazının (Z4M) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-8}$  M konsantrasyonda % 5'lik,  $10^{-7}$  M konsantrasyonda % 4'lük bir CA I inhibisyon artışı görülmüştür. Z bileşiğinden N-metilpiperazinli bis Mannich bazının (Z4B) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-8}$  M konsantrasyonda % 4'lük bir CA I inhibisyon artışı görülmüştür. Z4M ve Z4B bileşikleri birbiri ile kıyaslandığında Z4M bileşiğinin özellikle  $10^{-7}$  ve  $10^{-6}$  M konsantrasyonlarda kısmen de olsa daha etkili CA I inhibisyonu gerçekleştirdiği söylenebilir.

Z bileşiğinden morfolinli mono Mannich bazının (Z5M) ve morfolinli bis Mannich bazının (Z5B) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla CA I inhibisyonu her iki durumda da artmamıştır. Z5M ve Z5B bileşikleri birbiri ile kıyaslandığında iki bileşiğin de CA I inhibisyonunda birbirlerinden daha üstün olmadıkları söylenebilir.

Bileşiklerin biyoaktivitesi CA II inhibisyonu açısından değerlendirildiğinde bileşik konsantrasyonu  $10^{-6}$  M oluncaya kadar CA II inhibisyonu az miktarda da olsa artmış,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda ise CA II inhibisyonu bazı bileşiklerde artarken bazı bileşiklerde ise azalmaya başlamıştır. Hatta bileşiklerin bir kısmı  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda CA II enzimini inhibe etmek yerine aktive etmeye başlamıştır.

Z bileşiğinden dimetilaminli mono Mannich bazının (Z1M) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-8}$  M konsantrasyonda % 4'lük,  $10^{-7}$  M konsantrasyonda % 6'lık,  $10^{-6}$  M konsantrasyonda % 11'lik,  $10^{-5}$  M konsantrasyonda ise % 26'lık,  $10^{-4}$  M konsantrasyonda ise % 24'lük bir CA II inhibisyon artışı görülmüştür. Z bileşiğinden

dimetilaminli bis Mannich bazının (Z1B) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla CA II inhibisyonunda bir artış gözlenmemiştir. Z1M ve Z1B bileşikleri birbiri ile kıyaslandığında Z1M bileşiğinin  $10^{-8}$ - $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda daha etkili inhibisyon gerçekleştirdiği söylenebilir. Z1M bileşiği, Z1B bileşiğinden  $10^{-6}$  M konsantrasyonda % 37 daha etkilidir.

Z bileşiğinden pirolidinli mono Mannich bazının (Z2M) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla CA II inhibisyonu artmamıştır. Z bileşiğinden pirolidinli bis Mannich bazının (Z2B) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-7}$  M konsantrasyonda % 4'lük bir CA II inhibisyon artışı görülmüştür. Z2M ve Z2B bileşikleri birbiri ile kıyaslandığında  $10^{-7}$  M konsantrasyonda kısmen de olsa Z2B bileşiğinin,  $10^{-5}$  M konsantrasyonda ise Z2M bileşiğinin daha etkili CA II inhibisyonu gerçekleştirdiği söylenebilir.

Z bileşiğinden piperidinli mono Mannich bazının (Z3M) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-8}$  M konsantrasyonda % 6'luk,  $10^{-7}$ - $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda % 10'luk,  $10^{-4}$  M konsantrasyonda ise % 13'lük bir CA II inhibisyon artışı görülmüştür. Z bileşiğinden piperidinli bis Mannich bazının (Z3B) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-7}$  M konsantrasyonda % 6'luk,  $10^{-6}$  M konsantrasyonda % 3'lük,  $10^{-5}$  M konsantrasyonda %5'lik,  $10^{-4}$  M konsantrasyonda ise % 55'lik bir CA II inhibisyon artışı görülmüştür. Z3M ve Z3B bileşikleri birbiri ile kıyaslandığında  $10^{-8}$ - $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda kısmen de olsa Z3M bileşiğinin,  $10^{-4}$  M konsantrasyonda ise Z3B bileşiğinin % 42 daha etkili CA II inhibisyonu gerçekleştirdiği söylenebilir.

Z bileşiğinden N-metilpiperazinli mono Mannich bazının (Z4M) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-8}$  M konsantrasyonda % 4'lük,  $10^{-7}$  M konsantrasyonda % 16'luk,  $10^{-6}$  M konsantrasyonda % 10'luk ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonda ise % 7'lik bir CA II inhibisyon artışı görülmüştür. Z bileşiğinden N-metilpiperazinli bis Mannich bazının (Z4B) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$  M konsantrasyonlarda % 8'lik,  $10^{-6}$

<sup>6</sup> M konsantrasyonda % 4'lük bir CA II inhibisyon artışı görülmüştür. Z4M ve Z4B bileşikleri birbiri ile kıyaslandığında  $10^{-8}$  M konsantrasyonda Z4B bileşiğinin,  $10^{-7}$ - $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda ise Z4M bileşiğinin daha etkili CA II inhibisyonu gerçekleştirdiği söylenebilir.

Z bileşiğinden morfolinli mono Mannich bazının (Z5M) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-8}$  M konsantrasyonda % 12'lik,  $10^{-7}$  M konsantrasyonda % 16'lık,  $10^{-6}$  M konsantrasyonda % 14'lük,  $10^{-5}$  M konsantrasyonda ise % 17'lik bir CA II inhibisyon artışı görülmüştür. Z bileşiğinden morfolinli bis Mannich bazının (Z5B) hazırlanması ile Z bileşiğine kıyasla  $10^{-8}$  M konsantrasyonda % 15'lik,  $10^{-7}$  M konsantrasyonda % 16'lık,  $10^{-6}$  M konsantrasyonda ise % 15'lik bir CA II inhibisyon artışı görülmüştür. Z5M ve Z5B bileşikleri birbiri ile kıyaslandığında  $10^{-8}$  M konsantrasyonda Z5B bileşiğinin,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonda Z5M bileşiğinin daha etkili CA II inhibisyonu gerçekleştirdiği söylenebilir.

En yüksek CA I inhibisyon yüzdesinin, Z1M ( $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda) Z3M ( $10^{-5}$  M konsantrasyonda) ve Z3B ( $10^{-5}$  M konsantrasyonda) bileşiklerinde gözleendiği, en yüksek CA II inhibisyon yüzdesinin ise, Z1M ( $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda) Z3B ( $10^{-4}$  M konsantrasyonda) ve Z5M ( $10^{-5}$  M konsantrasyonda) bileşiklerinde gözleendiği söylenebilir.

Bu bileşiklerden Z1M bileşiğinin  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda Z bileşiğinden % 26 (3 katından fazla) ve % 24 (2 katından fazla) daha etkili CA II inhibisyonu gerçekleştirdiği söylenebilir. Z3B bileşiğinin ise  $10^{-4}$  M konsantrasyonda Z bileşiğinden % 55 (3 katı) daha etkili CA II inhibisyonu gerçekleştirdiği söylenebilir. Z5M bileşiğinin de  $10^{-5}$  M konsantrasyonda Z bileşiğinden % 17 (2 katından fazla) daha etkili CA II inhibisyonu gerçekleştirdiği söylenebilir.

Z2B, Z4B ve Z5B bileşiklerinin  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda, Z1B, Z2M ve Z4M bileşiklerinin ise sadece  $10^{-4}$  M konsantrasyonda CA II enzimini inhibe etmek yerine aktive etmeye başlamış olduğu görülmektedir.

Çalışılan bileşikler arasında  $10^{-8}$ - $10^{-5}$  M konsantrasyon aralığında Z5M bileşiği,  $10^{-8}$ - $10^{-6}$  M konsantrasyon aralığında ise Z5B bileşiği en yüksek CA II % inhibisyon değerlerine sahiptir ve bu bileşikler belirtilen konsantrasyon aralıklarında Z bileşiğinden 2-3 kat daha fazla CA II inhibisyonu göstermektedirler.

Z3B bileşiği  $10^{-8}$  M konsantrasyonda % 3 CA II inhibisyonu yaparken bu değer  $10^{-4}$  M konsantrasyonda 24 katı olan % 73'e çıkmaktadır. Z3B bileşiği için gözlenen % 73'lük CA II inhibisyon oranı, inhibisyon çalışmalarındaki en yüksek inhibisyon yüzdesi olup, konsantrasyona bağımlıdır.

Sonuç olarak sentezlenen bileşiklerden 2 tanesi (Z1M, Z3M) CA I inhibitörü, 4 tanesi (Z1M, Z3B, Z5M, Z5B) CA II inhibitörü yeni bileşikler geliştirmek üzere aday bileşikler olarak ele alınabilir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında sentezi tasarlanan bileşiklerin tümü başarıyla sentezlenmiş ve saflaştırılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapısı  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR ve MS spektrumları ile aydınlatılmıştır.

Çalışılan bileşiklerden Z1M ve Z3M CA I inhibitörü yeni bileşikler tasarlayıp, geliştirmede; Z1M, Z3B, Z5M ve Z5B bileşikleri CA II inhibitörü yeni bileşikler tasarlayıp geliştirmede model bileşikler olarak göz önünde bulundurulabilir.

Yeni bileşik tasarımlarında benzimidazol halkası üzerinde farklı pozisyonlarda elektron verici ve elektron çekici süstitüentler içeren yeni bileşikler de sentezlenerek araştırılabilir.

En fazla CA II inhibisyonu gösteren Z3B bileşiği CA'nın diğer izoformlarına karşı da test edilerek değerlendirilebilir.

## KAYNAKLAR

1. Dimmock JR, Kumar P. Anticancer and cytotoxic properties of Mannich bases. *Current Medicinal Chemistry*, 1997, 4: 1-22.
2. Kousar F, Nosheen S, Zahra SN, Kousar S, Jahan N. Synthesis and biological activity of important phenolic Mannich bases. *Asian Journal of Chemistry*, 2013, 25: 59-62.
3. Obniska J, Rzepka S, Kaminski K. Synthesis and anticovulsant activity of new N-Mannich bases derived from 3-(2-fluorophenyl)- and 3-(2-bromophenyl)-pyrrolidine-2,5-diones. Part II. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2012, 20: 4872-4880.
4. Singh B, Chetia D, Purj SK, Srivastava K, Prakash A. Synthesis and *in vitro* and *in vivo* antimalarial activity of novel 4-anilinoquinoline Mannich base derivatives. *Medicinal Chemistry Research*, 2011, 20: 1523-1529.
5. Abu-Bakr SM, Bassvouni FA, Rehim MA. Pharmacological evaluation of benzimidazole derivatives with potential antiviral and antitumor activity. *Research on Chemical Intermediates*, 2012, 38: 2523-2545.
6. Narasimhan B, Sharma D, Kumar P. Benzimidazole: A medically important heterocyclic moiety. *Medicinal Chemistry Research*, 2012, 21: 269-283.
7. Lutz P. Benzimidazole and its derivatives- from fungicides to designer drugs. A new occupational and environmental hazards. *Medycyna Pracy*, 2012, 63: 505-513.
8. Vyas VK, Ghate M. Substituted benzimidazole derivatives as angiotensin II-AT(1) receptor antagonist: A review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 2010, 10: 1366-1384.
9. Bhattacharya S, Chaudhuri P. Medical implications of benzimidazole derivatives as drug designed for targeting DNA and DNA associated processes. *Current Medicinal Chemistry*, 2008, 15: 1762-1777.

10. Boiani M, Gonzalez M. Imidazole and benzimidazole derivatives as chemotherapeutic agents. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 2005, 5: 409-424.
11. Townsend LB, Revankar GR. Benzimidazole nucleosides, nucleotides, and related derivatives. *Chemical Reviews*, 1970, 70: 389-438.
12. Takaishi Y. Bioactivity of phenol and quinoid type diterpenes. *Nippon Nogeikagaku Kaishi-Journal of the Japan Society for Bioscience Biotechnology and Agrochemistry*, 1995, 69: 1193-1197.
13. Gorlitzer K, Enge C, Jones PG, Jomaa H, Wiesner J. Benzo[c][2,7]naphthyridine-5-yl-arylamines-phenol Mannich bases of the amodiaquine-, cycloquine- and pyronarldine-type. *Pharmazie*, 2007, 62: 89-93.
14. Gorlitzer K, Stockmann R, Walter RD. Antimalaria active 10H-indol[3,2-b]quinoline-11-ylamines. 1. Phenol-Mannich-bases of the amodiaquine and cycloquine type. *Pharmazie*, 1994, 49: 231-235.
15. Barlin GB, Nguyen TMT, Kotecka B, Rieckman KH. Potential antimalarials. 17. Di- Mannich and mono-Mannich bases of 2(and 4)-[2(and 8)-trifluoromethylquinolin-4-ylamino]phenol. *Australian Journal of Chemistry*, 1993, 46: 21-29.
16. Barlin GB, Jiravinyu C, Butcher GA, Kotecka B, Rieckmann KH. The *in vitro* and *in vivo* antimalarial activity of some Mannich-bases derived from 4-(7'-trifluoromethyl-1',5'-naphthyridin-4'-ylamino)phenol, 2-(7'-trifluoromethylquinolin-4'-ylamino)phenol, and 4'-chloro-5-(7''-trifluoromethylquinolin-4''-ylamino)biphenyl-2-ols. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1992, 86: 323-331.
17. Barlin GB, Nguyen TMT, Kotecka B, Rieckman KH. Potential antimalarials. 15. Di-Mannich bases of 2-(7'-chloroquinolin-4'-ylamino)phenol and 2-[7'-bromo(and

- trifluoromethyl)-1',5'-naphthyridin-4'-ylamino]phenol. *Australian Journal of Chemistry*, 1992, 45: 1651-1662.
18. Barlin GB, Jiravinyu C. Potential antimalarials. 10. Di-Mannich bases of 4-(7'-trifluoromethyl-1',5'-naphthyridin-4'-ylamino)phenol and N-(4'-diethylamino-1'-methylbutyl)-7-trifluoromethyl-1,5-naphthyridin-4-amine. *Australian Journal of Chemistry*, 1990, 43: 1175-1181.
  19. Barlin GB, Jiravinyu C. Potential antimalarials. 9. Di-Mannich bases of 4-(7'-trifluoro-methylquinazolin-4'-ylamino)phenol and 4-(7'-trifluoromethylquinolin-4'-ylamino)phenol. *Australian Journal of Chemistry*, 1990, 43: 311-319.
  20. Zhang Y, Zhang Y, Peng S, Dai D. Synthesis of 4-aryl(heteroaryl)(aminomethyl)phenols. *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao*, 1988, 19: 167-170.
  21. Xia Z, Cao G, Peng S. Synthesis and quantum chemical calculation of 4-heteroaryl-mono/di-aminomethylphenol derivatives. *Yaoxue Xuebao*, 1988, 23: 574-583.
  22. Xia Z, Cao G, Peng S, Sun X, Xu F. Platelet antiaggregating activity (*in vitro*) of some 4-heteroarylaminomethylphenols. *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao*, 1988, 19: 68-69.
  23. Carta F, Aggarwal M, Maresca A, Scozzafava A, McKenna R, Supuran CT. Dithiocarbamates: A new class of carbonic anhydrase inhibitors. Crystallographic and kinetic investigations. *Chemical Communications*, 2012, 48: 1868-1870.
  24. Sethi KK, Sahoo SK, Pichikala JN, Suresh P. Carbonic anhydrase I and II inhibition with natural products: Caffeine and piperine. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2012, 27: 97-100.

25. Senturk M, Gulcin I, Beydemir S, Kufrevioglu ÖI, Supuran CT. *In vitro* inhibition of human carbonic anhydrase I and II isozymes with natural phenolic compounds. *Chemical Biology and Drug Design*, 2011, 77: 494-499.
26. Balaydin HT, Soyut H, Ekinici D, Goksu S, Beydemir S, Menzek A, Sahin E. Synthesis and carbonic anhydrase inhibitory properties of novel bromophenols including natural products. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2012, 27: 43-50.
27. Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibition/activation: Trip of a scientist around the world in the search of novel chemotypes and drug targets. *Current Pharmaceutical Design*, 2010, 16: 3233-3245.
28. Davis RA, Innocenti A, Poulsen SA, Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors. Identification of selective inhibitors of the human mitochondrial isozymes VA and VB over the cytosolic isozymes I and II from a natural product-based phenolic library. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2010, 18: 14-18.
29. Innocenti A, Vullo D, Scozzafava A, Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors: Interactions of phenols with the 12 catalytically active mammalian isoforms (CA I-XIV). *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2008, 18: 1583-1587.
30. Innocenti A, Gulcin I, Scozzafava A, Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors. Antioxidant polyphenols effectively inhibit mammalian isoforms I-XV. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2010, 20: 5050-5053.
31. Sahin H, Aliyazicioglu R, Yildiz O, Kolayli S, Innocenti A, Supuran CT. Honey, pollen, and propolis extracts show potent inhibitory activity against the zinc metalloenzyme carbonic anhydrase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2011, 26: 440-444.

32. Maresca A, Temperini C, Pochet L, Masereel B, Scozzafava A, Supuran CT. Deciphering the mechanism of carbonic anhydrase inhibition with coumarins and thiocoumarins. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, 53: 335-344.
33. Blicke FF. Mannich Reaction. In: Adams R (ed). *Organic Reactions*, 1<sup>st</sup> ed. New York, John Wiley and Sons, 1942: 303-341.
34. Kandepu NM. Mannich bases of chalcones and cyclohexanones as candidate cytotoxic agents. Pharmacy. Thesis PhD, Ottawa: University of Saskatchewan, 1999.
35. Mannich C, Krosche W. Ueber ein kondensations produkt aus formaldehyd, ammoniak und antipyrin. *Archiv der Pharmazie*, 1912, 250: 647-667.
36. Davioud-Charvet E, McLeish MJ, Veine DM, Giegel D, Arscott LD, Andricopulo AD, Becker K, Muller S, Schirmer RH, Williams CH, Kenyon GL. Mechanism-based inactivation of thioredoxin reductase from *Plasmodium falciparum* by Mannich bases. Implication for cytotoxicity. *Biochemistry*, 2003, 42: 13319-13330.
37. Arend M, Westermann B, Risch N. Modern variants of the Mannich reaction. *Angewandte Chemie International Edition*, 1998, 37: 1044-1070.
38. Gul HI, Yerdelen KO, Das U, Gul M, Pandit B, Li PK, Dimmock JR. Synthesis and cytotoxicity of novel 3-aryl-1-(3'-dibenzylaminomethyl-4'-hydroxyphenyl)-propenones and related compounds. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 56: 1675-1681.
39. Gul HI, Yerdelen KO, Gul M, Das U, Pandit B, Li PK, Secen H, Sahin F. Synthesis of 4'-hydroxy-3'-piperidinomethylchalcone derivatives and their cytotoxicity against PC-3 cell lines. *Archiv der Pharmazie*, 2007, 340: 195-201.

40. Gul HI, Vepsalainen J, Gul M, Erciyas E, Hanninen O. Cytotoxic activities of mono and bis Mannich bases derived from acetophenone against Renca and Jurkat cells. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 2000, 74: 393-398.
41. Gul HI, Gul M, Erciyas E. Synthesis and stability studies of some Mannich bases of acetophenones and evaluation of their cytotoxicity against Jurkat cells. *Arzneimittelforschung Drug Research*, 2002, 52: 628-635.
42. Gul HI, Gul M, Hanninen O. Cytotoxic activities of some mono and bis Mannich bases derived from acetophenone in brine shrimp bioassay. *Arzneimittelforschung Drug Research*, 2002, 52: 840-843.
43. Gul M, Gul HI, Hanninen O. Effects of Mannich bases on cellular glutathione and related enzymes of Jurkat cells in culture conditions. *Toxicology in Vitro*, 2002, 16: 107-112.
44. Gul HI, Gul M, Erciyas E. Toxicity of some bis Mannich bases and corresponding piperidinols in the brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay. *Journal of Applied Toxicology*, 2003, 23: 53-57.
45. Gul HI, Gul M, Vepsalainen J, Erciyas E, Hanninen, O. Cytotoxicity of some azines of acetophenone derived mono Mannich bases against Jurkat cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2003, 26: 631-637.
46. Gul M, Mete E, Atalay M, Arik M, Gul HI. Cytotoxicity of 1-aryl-3-buthylamino-1-propanone hydrochlorides against Jurkat and L6 cells. *Arzneimittelforschung Drug Research*, 2009, 59: 364-369.
47. Siatra-Papastaikoudi T, Tsotinis A, Chinou I, Roussakis C. Synthesis and anticancer activity of new phenyl-ring substituted 4-morpholino-1-phenylthio-2-butanones [Mannich bases]. *II Farmaco*, 1994, 49: 221-223.

48. Pilli G, Erdogan H, Safak C, Calis U, Sunal R. Some N-Mannich bases of 2-benzoxazolinones and their analgesic activities. *Archiv der Pharmazie*, 1992, 325: 537-540.
49. Suleyman H, Gul HI, Asoglu M. Anti-inflammatory activity of 3-benzoyl-1-methyl-4-phenyl-4-piperidinol hydrochloride. *Pharmacological Research*, 2003, 47: 471-475.
50. Suleyman H, Gul HI, Gul M, Alkan M, Gocer F. Anti-inflammatory activity of bis(3-aryl-3-oxo-propyl)methylamine hydrochloride in rat. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2007, 30: 63-67.
51. Lee CM, Plattner JJ, Ours CW, Horrom BW, Smital JR, Martin YC, Pernet AG, Bunnell PR, Masry SEE, Dodge PW. [(Aminomethyl)aryloxy]acetic acid esters. A new class of high-ceiling diuretics. 1. effects of nitrogen and aromatic nuclear substitution. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1984, 27: 1579-1587.
52. Erciyas E, Erkaleli HI, Cosar G. Antimicrobial evaluation of some styryl ketone derivatives and related thiol adducts. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1994, 83: 545-548.
53. Gul HI, Denizci AA, Erciyas E. Antimicrobial evaluation of some Mannich bases of acetophenones and their representative quaternary derivatives. *Arzneimittelforschung Drug Research*, 2002, 52: 773-777.
54. Gul HI, Ojanen T, Hanninen O. Antifungal evaluation of bis Mannich bases derived from acetophenone and their corresponding piperidinols and stability studies. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2002, 25: 1307-1310.
55. Gul HI, Ojanen T, Vepsalainen J, Gul M, Erciyas E, Hanninen O. Antifungal activity of some mono, bis and quaternary Mannich bases derived from acetophenone. *Arzneimittelforschung Drug Research*, 2001, 51: 72-75.

56. Dimmock JR, Jonnalagadda SS, Phillips OA, Erciyas E, Shyam K, Semple HA. Anticonvulsant properties of some Mannich bases of conjugated arylidene ketones. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1992, 81: 436-440.
57. Gul HI, Calis U, Vepsalainen J. Synthesis and evaluation of anticonvulsant activities of some bis Mannich bases and corresponding piperidinols. *Arzneimittelforschung Drug Research*, 2002, 52: 863-869.
58. Gul HI, Calis U, Vepsalainen J. Synthesis of some mono Mannich bases and corresponding azine derivatives and evaluation of their anticonvulsant activity. *Arzneimittelforschung Drug Research*, 2004, 54: 359-364.
59. Gul HI, Calis U, Ozturk Z, Tutar E, Calikiran L. Evaluation of anticonvulsant activities of bis(3-aryl-3-oxo-propyl)ethylamine hydrochlorides and 4-aryl-3-arylcarbonyl-1-ethyl-4-piperidinol hydrochlorides. *Arzneimittelforschung Drug Research*, 2007, 57: 133-136.
60. Dimmock JR, Kumar P, Quail JW, Pugazhenth U, Yang J, Chen M, Reid RS, Allen TM, Kao GY, Cole SPC, Batist G, Balzarini J, Clercq ED. Synthesis and cytotoxic evaluation of some styryl ketones and related compounds. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 1995, 30: 209-217.
61. Hamon NW, Bassendowski DL, Wright DE, Dimmock JR, Noble LM. Effect of antineoplastic and cytotoxic Mannich bases derived from conjugated styryl ketones on mitochondrial respiration in rat liver cells. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1978, 67: 1539-1542.
62. Dimmock JR, Smith LM, Smith PJ. The reaction of some nuclear substituted acyclic conjugated styryl ketones and related Mannich bases with ethanethiol. *Canadian Journal of Chemistry*, 1980, 58: 984-991.

63. Ashby J. Potential carcinogenicity of alkylating agents. *Chemistry in Britain*, 1978, 14: 595.
64. Dimmock JR, Raghavan SK, Bigam GE. Evaluation of Mannich bases of 2-arylidene-1,3-diketones versus murine P388 leukemia. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 1988, 23: 111-117.
65. Farmer PB. Monitoring for human exposure to carcinogens. *Chemistry in Britain*, 1982, 18: 790-794.
66. Cairns J. Efficiency of the adaptive response of *Escherichia coli* to alkylating agents. *Nature*, 1980, 286: 176-178.
67. Waddell TG, Gebert PH, Tait DL. Michael type reactions of tenulin, a biologically active sesquiterpene lactone. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1983, 72: 1474-1476.
68. Baluja G, Municio AM, Vega S. Reactivity of some  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketones towards sulphhydryl compounds and their antifungal activity. *Chemistry and Industry*, 1964; 3: 2053-2054.
69. Stern H. Sulphydryl groups and cell division. *Science*, 1956, 124: 1292-1293.
70. Knock FE, Galt RM, Oester YT. Preferential attack on cancer by selected SH inhibitors. *The Journal of the American Medical Association*, 1970, 214: 146.
71. Bergmann ED, Gingsburg D, Pappo R. Comprehensive organic synthesis. *Organic Reaction*, 1959, 10: 179-555.
72. Patai S. *The Chemistry of Alkenes*, 1<sup>st</sup> ed. New York, John Wiley and Sons, 1964: 469-584.
73. Smith MB, March J. *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure*, 6<sup>th</sup> ed. New York, John Wiley and Sons, 2007: 999-1250.

74. Ingold CK, Powell WJ. The reversibility of the Michael reaction. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 1921, 119: 1976-1982.
75. Friedman M, Cavins JF, Wall JS. Relative nucleophilic reactivities of amino groups and mercaptide ions in addition reactions with  $\alpha,\beta$ -unsaturated compounds. *Journal of the American Chemical Society*, 1965, 87: 3672-3682.
76. Uslu MK, Certel M. Dielektrik ısıtma ve gıda işlemede kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2006, 3: 61-69.
77. Kappe CO, Dallinger D. The impact of microwave synthesis on drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2006, 9: 51-63.
78. Gaonkar SL, Shimizu H. Microwave-assisted synthesis of the antihyperglycemic drug rosiglitazone. *Tetrahedron*, 2010, 66: 3314-3317.
79. Tute MS. History and Objectives of Quantitative Drug Design. In: Hansch C, Sammes PG, Taylor JB (eds). *Comprehensive Medicinal Chemistry*, 1<sup>st</sup> ed. New York, Pergamon Press, 1990: 1-31.
80. Hansch C. The physicochemical approach to drug design and discovery (QSAR). *Drug Development Research*, 1981, 1: 267-309.
81. Craig PN. QSAR-Origins and present status: A historical perspective. *Drug Information Journal*, 1984, 18: 123-130.
82. Overton E. Osmotic properties of cells in the bearing on toxicology and pharmacology. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 1897, 22: 189-209.
83. Meyer H. Zur theorie der alkohalnarkose. *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, 1899, 42: 109-118.
84. Hansch C, Maloney PP, Fujita T, Muir RM. Correlation of biological activity of phenoxyacetic acids with Hammett substituent constants and partition coefficients. *Nature*, 1962, 194: 178-180.

85. Hansch C, Fujita T.  $\rho$ - $\sigma$ - $\pi$  Analysis: A method for the correlation of biological activity and chemical structure. *Journal of the American Chemical Society*, 1964, 86: 1616-1626.
86. Hammett LP. *Physical Organic Chemistry*. 1<sup>st</sup> ed. New York, McGraw-Hill Book Company, 1940: 184-228.
87. Dalkara S, Saraç S. Yapı-Aktivite İlişkileri. İçinde: Bilgin AA, Şafak C (editörler). *Farmasötik Kimya*, 2. Baskı. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2004: 73-108.
88. Quintero A, Pelcastre A, Solano JD, Guzman A, Diaz E. Antitumoral activity of new pyrimidine derivatives of sesquiterpene lactones. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1999, 2: 108-112.
89. Onda M, Wang Q, Guo H, Cheung NKV, Pastan I. In vitro and in vivo cytotoxic activities of recombinant immunotoxin 8H9(Fv)-PE38 against breast cancer, osteosarcoma, and neuroblastoma. *Cancer Research*, 2004, 64: 1419-1424.
90. Alpan AS, Gunes HS, Topcu Z. 1H-Benzimidazole derivatives as mammalian DNA topoisomerase I inhibitors. *Acta Biochimica Polonica*, 2007, 54: 561-565.
91. Lewis JC, Berman AM, Bergman RG, Ellman JA. Rh(I)-Catalyzed arylation of heterocycles via C-H bond activation: Expanded scope through mechanistic insight. *Journal of American Chemical Society*, 2008, 130: 2493-2500.
92. Yu C, Guo P, Jin C, Su W. The synthesis of benzimidazole derivatives in the absence of solvent and catalyst. *Journal of Chemical Research*, 2009, 2009: 333-336.
93. Khalifah RG. The carbon dioxide hydration activity of carbonic anhydrase. I. Stop-flow kinetic studies on the native human isoenzymes B and C. *Journal of Biological Chemistry*, 1971, 246: 2561-2573.

94. Durdagi S, Senturk M, Ekinici D, Balaydin HT, Goksu S, Kufrevioglu OI, Innocenti A, Scozzafava A, Supuran CT. Kinetic and docking studies of phenol-based inhibitors of carbonic anhydrase isoforms I, II, IX and XII evidence a new binding mode within the enzyme active site. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2011, 19: 1381-1389.
95. Maresca A, Temperini C, Vu H, Pham NB, Poulsen SA, Scozzafava A, Quinn RJ, Supuran CT. Non-zinc mediated inhibition of carbonic anhydrases: Coumarins are a new class of suicide inhibitors. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131: 3057-3062.
96. Temperini C, Innocenti A, Scozzafava A, Parkkila S, Supuran CT. The coumarin-binding site in carbonic anhydrase accommodates structurally diverse inhibitors: The antiepileptic lacosamide as an example. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, 53: 850-854.

## EKLER

### EK 1. ÖZGEÇMİŞ

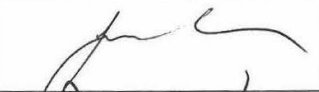
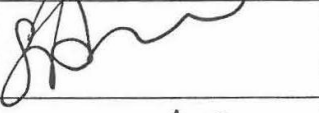
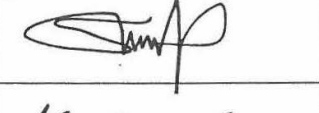
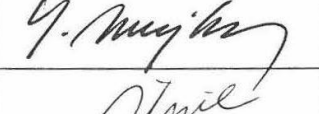
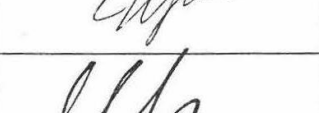
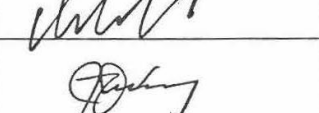
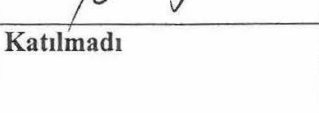
| KİŞİSEL BİLGİLER               |                                                                                              |
|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Adı Soyadı                     | : Zehra YAZICI                                                                               |
| Doğum tarihi                   | : 04.10.1984                                                                                 |
| Doğum yeri                     | : Erzurum                                                                                    |
| Medeni hali                    | : Bekar                                                                                      |
| Uyruğu                         | : T.C.                                                                                       |
| Adres                          | : Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya<br>Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM |
| Tel                            | : 0535 573 84 81                                                                             |
| Faks                           | :                                                                                            |
| E-mail                         | : zehrayazici84@hotmail.com                                                                  |
| EĞİTİM                         |                                                                                              |
| Lise                           | : Nevzat Karabağ Anadolu Öğretmen Lisesi (2002)                                              |
| Lisans                         | : Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2003-2007)                                       |
| Yüksek lisans                  | :                                                                                            |
| Doktora                        | :                                                                                            |
| YABANCI DİL BİLGİSİ            |                                                                                              |
| İngilizce                      | :                                                                                            |
|                                |                                                                                              |
| ÜYE OLUNAN MESLEKİ KURULUŞLAR  |                                                                                              |
| 13. Bölge Erzurum Eczacı Odası |                                                                                              |
|                                |                                                                                              |
|                                |                                                                                              |
| İLGİ ALANLARI, HOBİLER         |                                                                                              |
| Gezmek                         |                                                                                              |
|                                |                                                                                              |
|                                |                                                                                              |

## EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU

### "2012. 4.1/ 8 "SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 28.09.2012

4.1/8 - Enstitümüz Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Zehra YAZICI'nın "Potansiyel Biyoaktif Bileşikler Olan 2-(4-hidroksifenil) Benzimidazol Mannich Bazları Üzerinde Çalışmalar" tez konusu görüşüldü;

İlgilinin tez konusunun etik değerlere uygun olduğu mevcudun oybirliği ile,

| ADI SOYADI                  | GÖREVİ                                                     | İMZA                                                                                  |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Prof. Dr. Funda BAYINDIR    | Sağlık Bilimleri Enstitüsü<br>Etik Kurul Başkanı           |    |
| Doç. Dr. Ayşe OKANLI        | Sağlık Bilimleri Enstitüsü<br>Etik Kurul Başkan Yardımcısı |    |
| Prof. Dr. Samih DİYARBAKIR  | Sağlık Bilimleri Enstitüsü<br>Etik Kurul Üyesi             |   |
| Prof.Dr.Yavuz Selim SAĞLAM  | Sağlık Bilimleri Enstitüsü<br>Etik Kurul Üyesi             |  |
| Prof. Dr. H. İnci GÜL       | Sağlık Bilimleri Enstitüsü<br>Etik Kurul Üyesi             |  |
| Doç.Dr. Ahmet YILDIZ        | Sağlık Bilimleri Enstitüsü<br>Etik Kurul Üyesi             |  |
| Doç. Dr.Abdulkadir YILDIRIM | Sağlık Bilimleri Enstitüsü<br>Etik Kurul Üyesi             |  |
| Yrd.Doç.Dr.Engin SAYGIN     | Sağlık Bilimleri Enstitüsü<br>Etik Kurul Üyesi             | Katılmadı                                                                             |
| Yrd. Doç. Dr. İlhan ŞEN     | Sağlık Bilimleri Enstitüsü<br>Etik Kurul Üyesi ve Raportör | Katılmadı                                                                             |