

Araştırma Makalesi - Research Article

Benzimidazol-Tiyadiazol Türevlerinin Sentezi, Karakterizasyonu, Antioksidan ve Antikanser Çalışmaları

Synthesis, Characterization, Antioxidant, and Anticancer Studies of Benzimidazole-Thiadiazole Derivatives

Hayrani Eren Bostancı¹, Ulviye Acar Çevik^{2*}

Geliş / Received: 08/02/2022

Revize / Revised: 23/06/2022

Kabul / Accepted: 01/07/2022

ÖZ

Çalışmamızda yeni antikanser ilaçlar geliştirmek üzere bazı benzimidazol-tiyadiazol türevi bileşikler tasarlanmış ve yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve elemental analiz spektral verileriyle kanıtlanmıştır. Bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri HT29 hücre hattı üzerinde MTT yöntemi kullanılarak referans bileşik fluorourasil ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, bileşiklerin seçiciliklerini tespit etmek amacıyla L929 (sağlıklı fare fibroblast hücresi) hücre hattına karşı sitotoksik etkisi değerlendirilmiştir. Bileşiklerin IC₅₀ değerleri incelendiğinde, 5-(2-(2,6-dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-il)-N-sikloheksil-1,3,4-tiyadiazol-2-amin yapısına sahip BT-2 bileşiği 34,13±2,48 µM IC₅₀ değeri ile referans ilaç fluorourasil (12,84 ± 3,66 µM) ile kıyaslanabilir etki göstermiştir. BT-2 bileşiğinin L929 sağlıklı hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin referans ilaçtan daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, BT-2 bileşiğinin antikanser etkisinin geliştirilebilmesi konusunda umut vericidir. Ayrıca, TAS ve TOS ile bileşiklerin antioksidan özellikleri değerlendirilmiştir. BT-2 bileşiğinin TOS değerinin kontrol ilaçla karşılaştırılabilir düzeyde olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Benzimidazol, Tiyadiazol, Anticancer, Antioksidan*

ABSTRACT

In our study, some benzimidazole-thiadiazole derivative compounds were designed to develop new anticancer drugs, and their structures were proven by ¹H-NMR, ¹³C-NMR, and elemental analysis spectral data. The cytotoxic activities of the compounds were evaluated by comparing the reference compound fluorouracil using the MTT method on the HT29 cell line. In addition, the cytotoxic effect of the compounds against the L929 (healthy mouse fibroblast cell) cell line was evaluated in order to determine the selectivity of the compounds. When the IC₅₀ values of the compounds are examined, the structure of 5-(2-(2,6-dimethoxyphenyl)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-yl)-N-cyclohexyl-1,3,4-thiadiazol-2-amine (BT-2) compound with an IC₅₀ value of 34.13±2.48 µM showed comparable efficacy to the reference drug fluorouracil (12.84 ± 3.66 µM). It was determined that the cytotoxic effect of BT-2 compound on L929 healthy cell line was lower than the reference drug. These results are promising in terms of improving the anticancer effect of BT-2 compound. In addition, TAS and TOS of the compounds and antioxidant properties of the compounds were evaluated. The TOS value of the BT-2 compound appears to be comparable to the control drug.

Keywords: *Benzimidazole, Thiadiazole, Anticancer, Antioxidant*

¹İletişim: erenbostanci@cumhuriyet.edu.tr (<https://orcid.org/0000-0001-8511-2316>)

Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas, Türkiye

^{2*}Sorumlu yazar iletişimi: uacar@anadolu.edu.tr (<https://orcid.org/0000-0003-1879-1034>)

Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye

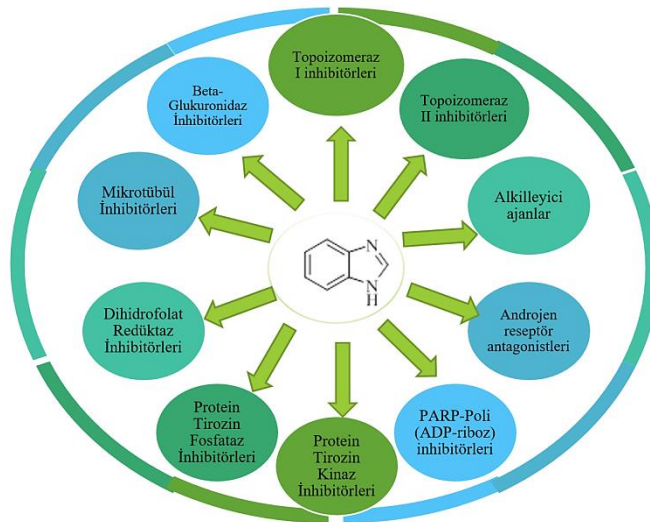
I. GİRİŞ

Kanser; bir takım mutasyonlar sonucu hücrenin kontrolsüz büyümesi, farklılaşması ve normal olmayan bir şekilde yayılması şeklinde oluşan ölümcül bir hastalık olarak tarif edilebilir [1]. Dünya Sağlık Örgütü tarafından yayınlanan dünya kanser raporunda, kansere bağlı ölüm oranının önümüzdeki yıllarda neredeyse ikiye katlanacağı bildirilmektedir [2]. Günümüzde terapötik kanser tedavisindeki en büyük engel, antikanser ilaçların normal hücreler için de toksik olması ve bunun birçok yan etkiye neden olmasıdır [3]. Bu durum mevcut tedavinin etkinliğini sınırlamaktadır. Bu nedenle, yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde, minimal yan etkileri olan yeni ve güçlü kemoterapötiklerin keşfine büyük ihtiyaç vardır [4].

Kanser tedavisinde cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi tedavi seçenekleri arasındadır. Kemoterapi, kanser hücrelerini öldürmek için kimyasalların veya ilaçların kullanıldığı tedavi şeklidir. Antikanser bileşikler farklı mekanizmalar içerirler; Alkilyeyici ajanlar (ör. sisplatin), mitotik inhibitörler (ör., paklitaksel), epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) inhibitörleri (örn., gefitinib), VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü) reseptör inhibitörleri (örneğin bevacizumab), topoizomeraz inhibitörleri (örn. kaptopresinler) yaygın olarak kullanılan antikanser ilaçlardır [5].

Antioksidan bileşiklerin son zamanlarda daha fazla ilgi görmesinin ve öneminin artmasının nedenlerinden birisi de reaktif oksijen türlerinin canlılardaki etki mekanizmasının ve hasarlarının ortaya konduğu çalışmaların artmış olmasıdır. Reaktif oksijenlerin canlılarda çeşitli hastalıklara neden olduğunu gösteren bu çalışmalar hücre onarım sistemi ve savunma mekanizmalarının oksidatif yıkımla ilgili olduğunu göstermiştir. Reaktif oksijen türleri pek çok metabolik olayda görev alan oksijenin metabolik yollarda radikal özellik kazanması ile oluşmaktadır. Reaktif oksijenlerin DNA mutasyonuna neden olmalarının yanı sıra lipit peroksidasyonu sonucu hedef hücre ve dokuların membran yapılarının bozulmasına da neden oldukları bilinmektedir [6].

Yukarıdaki gelişmelere dayanarak yeni, etkili antikanser ve antioksidan terapötik ajanların geliştirilmesinin ilaç kimyasında kritik bir öneme sahip olduğunu söyleyebiliriz. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, heterosiklik bileşiklerin insan biyolojik sisteminde önemli bir rol oynadığı kabul edilmiş ve aynı zamanda hem biyolojik aktivitede hem de ilaç endüstrisinde çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahip heterosiklik bileşiklerin yerini almıştır [7]. Benzimidazol sahip olduğu farklı biyolojik ve farmakolojik etkilerinden dolayı ilaç geliştirmede çok sık kullanılan heterosiklik halkadır. Benzimidazol halkasının pürin bazına olan benzerliğinden dolayı daha az toksik olabileceği düşünülmüştür. Bundan dolayı biyolojik olarak aktif olan birçok bileşiğin yapısında yer almakta ve yeni geliştirilecek olan ilaç adaylarında anahtar rol oynayan önemli bir yapıdır. Benzimidazol antitümör/antiproliferatif/antikanser [8-18], anti-HIV de içeren antimikrobiyal [19-22] antioksidan [23-25] gibi geniş bir aktivite yelpazesine sahiptir. Ayrıca, benzimidazol halkasının kanser oluşumundaki farklı mekanizmalar üzerinde hedefleri bulunmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Benzimidazolün farklı kanser hedefleri [26]

Benzimidazol yapısı taşıyan çok az sayıda antikanser ilaç bulunmaktadır (Bendamustin, Karbendazim, Nokodazol). Ancak literatürde benzimidazolün antikanser etkinliği üzerine yapılan birçok çalışma bulunmaktadır [27-33].

Bu amaçla bu çalışmada benzimidazol-tiyadiazol halkası içeren yeni iki bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve elemental analiz yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HT-29 hücre hattı üzerinde MTT yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca, L929 (sağlıklı fare fibroblast hücresi) hücre hattı üzerinde de bileşiklerin sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Bileşiklerin, toplam oksidatif stresi (TOS) ve toplam antioksidan seviyeleri (TAS)de belirlenmiştir.

II. MATERYAL VE YÖNTEM

A. Sentez Çalışmaları

2,6-Dimetoksibenzaldehitin sodyum bisülfid tuzu sentezi (1):

2,6-Dimetoksibenzaldehit (0.05 mol) etanol içerisinde çözünür. Sodyum metabisülfid (0.05 mol) etanol içerisinde çözülerek damla damla benzaldehit çözeltisine damlatılır. Damlatma tamamlandıktan sonra reaksiyon içeriği oda sıcaklığında bir saat karıştırılır. Çöken ürün süzülerek alınır.

2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-karboksilik asit sentezi (2):

3,4-diamino benzoik asit (0.03 mol) ve 2,6-dimetoksibenzaldehitin sodyum bisülfid tuzu DMF içerisinde çözündürülür ve geri çeviren soğutucu altında 4 saat karıştırılır. İTK ile kontrol edildikten sonra reaksiyon içeriği buzlu suya dökülür ve süzülerek alınır.

Metil 2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-karboksilat sentezi (3):

2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-karboksilik asit (2) türevi bileşik (0.025 mol) metanol ve birkaç damla sülfürik asit ile esterleşme reaksiyonu gerçekleştirilir. Reaksiyonu bitiminde çöken ürün süzülür.

2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-karbohidrazit (4):

Metil 2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-karboksilat (3) (0.018 mol), etanol (15 mL) ve hidrazin hidrat (5 mL) geri çeviren soğutucu altında 5 saat karıştırılır. İTK ile kontrol edildikten sonra reaksiyon içeriği buzlu suya dökülür ve süzülerek alınır.

2-(2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-karbonil)-N-etilhidrazine-1-karbotiyoamid (5) ve 2-(2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-karbonil)-N-sikloheksilhidrazine-1-karbotiyoamid (6) sentezi:

2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-karbohidrazit (4), etil/sikloheksil izotiyosiyanat etanol içerisinde çözülerek geri çeviren soğutucu altında 3 saat karıştırılır. Çöken ürün süzülerek alınır.

5-(2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-il)-N-etil-1,3,4-tiyadiazol-2-amin (BT-1) ve 5-(2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-il)-N-sikloheksil-1,3,4-tiyadiazol-2-amin (BT-2) sentezi:

2-(2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-karbonil)-N-etilhidrazin-1-karbotiyoamid (5) ve 2-(2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-karbonil)-N-sikloheksilhidrazin-1-karbotiyoamid (6) bileşikleri 10 mL der. H₂SO₄ içerisinde buz banyosunda karıştırılır. Daha sonra oda sıcaklığında 10 dk daha karıştırılır, süre sonunda yavaşça buz üzerine dökülüp, sulu amonyak ile pH=8'e ayarlanır ve süzülür. Su ile yıkanır ve etanolden kristallendirilir.

B. Antikanser Aktivite

HT-29 insan kolorektal karsinom hücreleri ATCC'den elde edildi ve hücre hatlarına uygun koşullarda büyütüldü. Çalışmamızda DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) (yüksek glukozlu) içinde %1 L-glutamin, %10 FBS, 10 mg/mL streptomisin ve 100 IU/mL penisilin kullanıldı. Oluşturulan besi yeri içerisindeki hücre hatları 37°C'de %95 nem ve %5 CO₂ altında büyütülmüştür. Hücre yoğunluğu %80'lik bir birleşme düzeyine ulaştığında hücreler pasajlandı. Hücreler, her deney tasarımı için belirli hücre yoğunluklarında deneylerden 24 saat önce 96 oyuklu plakalara ekildi. Ön tarama için, sentezlenen bileşiklerin sitotoksik biyoaktivitesi, MTT tahlili ile HT-29 hücre hattına karşı in vitro olarak değerlendirildi. BT1 ve BT2 bileşikleri DMSO içinde çözüldü ve stok çözeltiler DMEM ile seyreltildi, DMSO'nun nihai konsantrasyonu %0.5'i geçmedi. Hedef bileşiklerin antikanser

potansiyelini değerlendirmek için kanser hücreleri, farklı konsantrasyonda BT1 ve BT2 çözeltilerine maruz bırakıldı. Bileşiklerin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

C. Antioksidan/Oksidan Aktivite

Toplam antioksidan statüsü (TAS), Rel Assay Diagnostic tarafından üretilen ticari kit ile belirlendi. Bu yöntemde göre, numunedeki potansiyel antioksidan yapılar, koyu mavi-yeşil ABTS ((2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)) radikal formunu renksiz ABTS formuna dönüştürür. 660 nm'de ölçülen absorban değışimi, numunenin toplam antioksidan kapasitesi ile ilgilidir. Test, TROLOX eşdeğeri olarak adlandırılan E vitamini analogu olan stabil standart antioksidan çözelti olarak kullanılan referans madde ile kalibre edilmiştir. TAS ölçümü, kit prosedürüne göre yapılmıştır. Absorbans değerleri arasındaki fark hesaplandıktan sonra, aşağıda verilen denkleme göre antioksidan düzeyler belirlenmiştir

$$A_2 - A_1 = \Delta Abs \text{ örnek, standart veya su}$$

$$Sonuç = \frac{[\Delta Abs H_2O - \Delta Abs Örnek]}{[\Delta Abs H_2O - \Delta Abs Standart]} \quad (1)$$

Toplam oksidan statüsü (TOS), Rel Assay Diagnostic tarafından üretilen ticari kit ile belirlendi. Numune içinde bulunan oksidanlar, demir iyon şelatör kompleksini ferrik iyon oksitler. Reaksiyon ortamında çok miktarda bulunan arttırıcı moleküller ile oksidasyon reaksiyonu uzatılmaktadır. Asidik ortamda ferrik iyonu, kromojen renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarıyla orantılı olan renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Test, hidrojen peroksit ile kalibre edilmekte ve sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri olarak ifade edilmektedir (µmol H₂O₂ Eşdeğer./L). Kit prosedürüne göre TOS ölçümü yapılmıştır. Absorbans değerleri arasındaki fark hesaplandıktan sonra, aşağıda verilen denkleme göre antioksidan düzeyler belirlenmiştir.

$$A_2 - A_1 = \Delta Abs \text{ of standart or sample}$$

$$Results = \frac{\Delta Abs Sample}{\Delta Abs Standart} * 20 \quad (2)$$

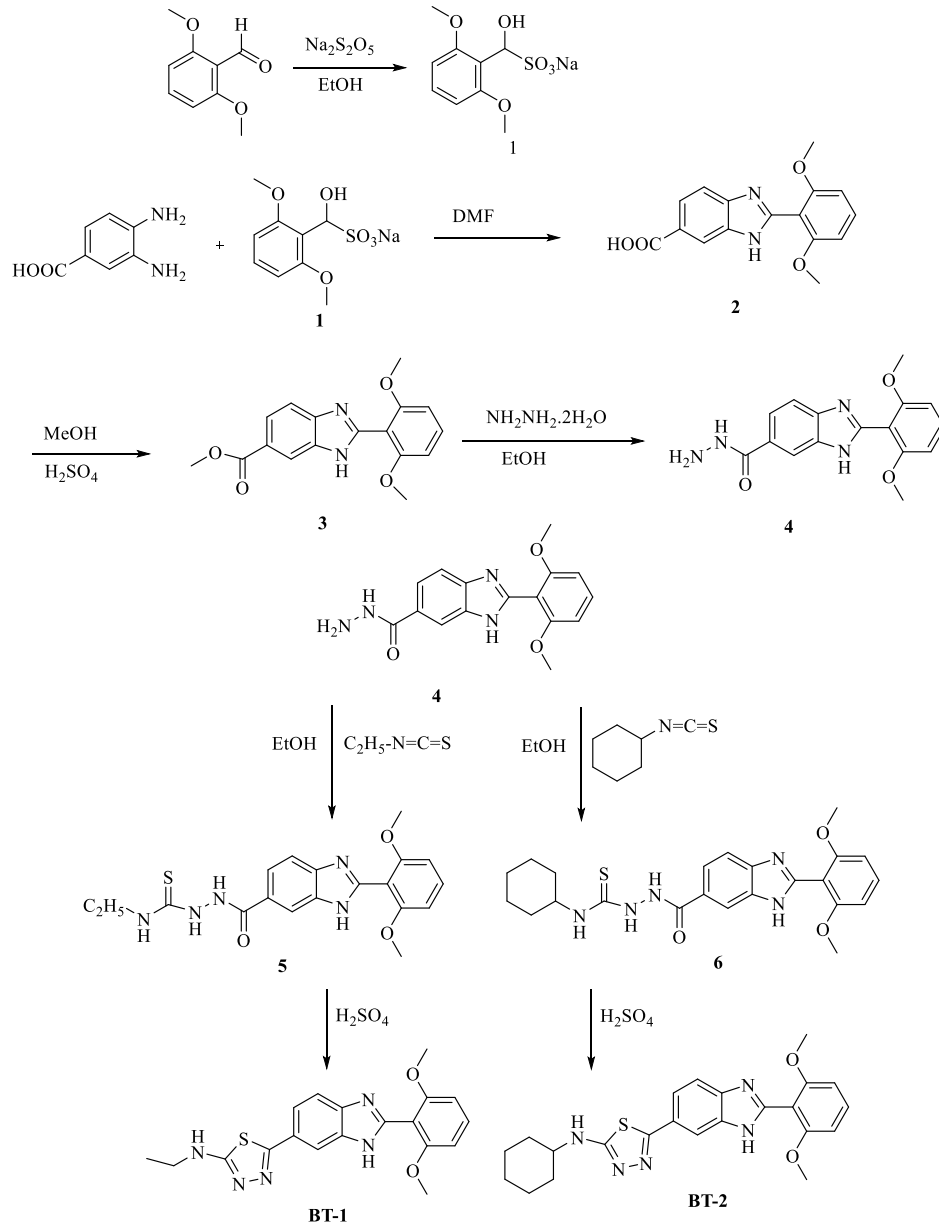
III.BULGULAR VE TARTIŞMA

5-(2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-il)-N-etil-1,3,4-tiyadiazol-2-amin (BT-1):

Verim: % 72. ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ= 1.22 (3H, t, J=7.20 Hz, CH₃), 3.37 (2H, q, J=6.99 Hz, CH₂), 3.85 (3H, s, OCH₃), 4.05 (3H, s, OCH₃), 6.93 (2H, s, Aromatik CH), 7.10 (2H, s, Aromatik CH), 7.72-7.74 (2H, m, Aromatik CH). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-d₆): δ=14.66, 56.41, 57.03, 57.08, 112.25, 114.18, 114.69, 115.75, 121.35, 124.13, 128.09, 133.62, 148.33, 152.52, 153.74, 155.75, 168.78. C₁₉H₁₉N₃O₂S, C, 59.82; H, 5.02; N, 18.36. Bulunan: C, 59.96; H, 5.03; N, 18.30.

5-(2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-il)-N-sikloheksil-1,3,4-tiyadiazol-2-amin (BT-2):

Verim: % 76. ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ= 1.28- 1.37 (5H, m, sikloheksil CH), 1.57-1.62 (1H, m, sikloheksil CH), 1.72 (2H, s, sikloheksil CH), 2.02-2.09 (3H, m, sikloheksil CH), 3.86 (3H, s, OCH₃), 4.05 (3H, s, OCH₃), 6.92 (2H, s, Aromatik CH), 7.10 (2H, s, Aromatik CH), 7.36-7.37 (2H, m, Aromatik CH). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-d₆): δ=24.67, 25.59, 26.34, 32.40, 51.88, 54.41, 111.59, 114.31, 115.59, 118.66, 121.98, 124.68, 132.14, 135.18, 136.17, 142.35, 152.67, 161.05, 167.96. C₂₃H₂₅N₃O₂S, C, 63.43; H, 5.79; N, 16.08. Bulunan: C, 63.57; H, 5.77; N, 16.12.



Şekil 2. Hedef bileşiklerinin sentezi

Hedef bileşiklerin sentezi Şekil 2’de gösterilmiştir. Benzimidazol halkasının sentezi için ilk olarak 2,6-dimetoksibenzaldehitin $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ile muamelesi sonucu benzaldehit tuzu elde edilmiş ve bu tuz o-fenilendiamin ile reaksiyona sokularak benzimidazol halkası kapatılmıştır. Daha sonra karboksilik asit fonksiyonel grubu metanol ile esterleştirme reaksiyonu gerçekleştirilir. Ester fonksiyonel grubu hidrazin hidrat ile reaksiyona sokularak hidrazit türevi elde edilmiştir. Hidrazit bileşiği etil/sikloheksil izotiyosiyanat ile reaksiyonu sonucunda tiyosemikarbazit türevleri elde edilmiştir. 2-(2-(2,6-dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-karbonil)-N-etilhidrazine-1-karbotiyamid (5) ve 2-(2-(2,6-dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-karbonil)-N-sikloheksilhidrazine-1-karbotiyamid (6) bileşiklerinin asit ortamda siklizasyonları sonucunda tiyadiazol türevleri elde edilmiştir.

Sentezi gerçekleştirilen orjinal bileşiklerin yapıları $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve elemental analiz spektroskopisi yöntem verileri ile aydınlatılmıştır. Bileşiklerin yapılarında ortak olarak bulunan metoksi grupları 3.85-4.05 ppm de singlet olarak gözlenmiştir. 5-(2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-il)-N-etil-1,3,4-tiyadiazol-2-amin (BT-1) bileşiğindeki C_2H_5 süstitüentine ait protonlardan $-\text{CH}_3$ protonları 1.22 ppm de triplet olarak

gözlenmiştir. $-CH_2$ protonları 3.37 ppm de quartet şeklinde gözlenmiştir. 5-(2-(2,6-Dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6-yl)-N-sikloheksil-1,3,4-tiyadiazol-2-amin (BT-2) bileşiğinde yer alan sikloheksil protonları 1.28-2.09 ppm aralığında gözlenmiştir. Bileşiklere ait aromatik protonlar ise 6.92-7.37 ppm aralığında gözlenmiştir.

BT1 ve BT2 bileşiklerinin HT-29 hücre hattındaki IC_{50} değerleri, MTT tahlili ile analiz edildi. Elde edilen değerler ile bileşiklerin standart sapmaları hesaplanmış ve **Tablo 1**'de gösterilmiştir. Bileşiklerin IC_{50} değerleri incelendiğinde $34,13 \pm 2,48 \mu M$ değeri ile BT-2 bileşiğinin referans ilaç ile kıyaslanabilir düzeyde olduğu tespit edilmiştir. BT-2 bileşiğinin sağlıklı hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin florourasilinden daha düşük olduğu görülmektedir. Bileşiklerin yapısında yer alan tiyadiazol halkasının 5. konumunda amine bağlı sikloheksil grubunun olması aktiviteyi önemli derecede arttırmıştır.

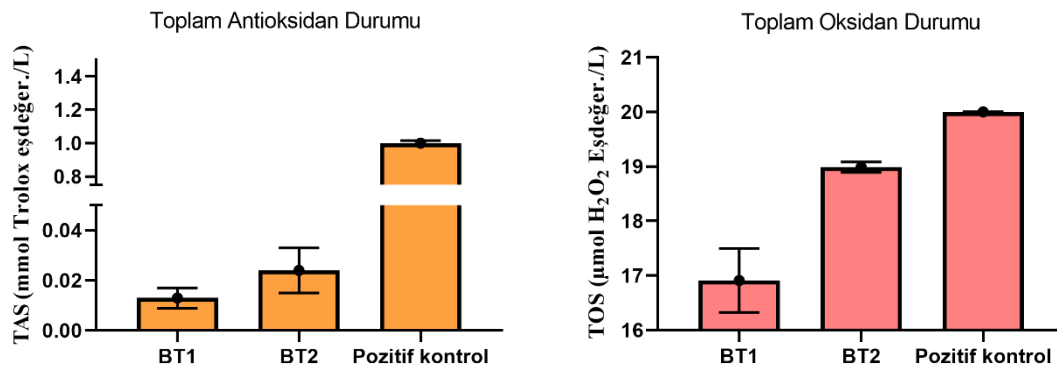
Tablo 1. BT-1, BT-2 bileşiklerinin ve fluorourasilin HT-29 ve L929'a karşı IC_{50} değerleri (μM)

| Bileşik | IC_{50} (μM) | |
|--------------|-----------------------|------------------|
| | Ht-29 | L929 |
| BT1 | $46,51 \pm 1,09$ | >100 |
| BT2 | $34,13 \pm 2,48$ | $88,19 \pm 1,08$ |
| Fluorourasil | $12,84 \pm 3,66$ | $73,45 \pm 2,69$ |

1.0 mmol Trolox Eşdeğer./L'den büyük veya buna eşit toplam antioksidan kapasite değerleri yüksek olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışma sonucu BT1 ve BT2 yapılarının antioksidan düzeylerinin yeterli düzeyde olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, antikanser özellikler göstermesi beklenen bir yapının oksidatif özelliklere sahip olması beklenmektedir. 20 $\mu mol H_2O_2$ Eşdeğer./L ve üzeri aktiviteye sahip yapıların oksidatif etkileri güçlü kabul edilmektedir. Şekil 4'de gösterildiği gibi BT1 ve BT2 oksidan özellik göstermekte olup bununla birlikte bu özelliklere rağmen istenen antikanser özelliklerini HT-29 hücre hattında gösterememiştir. Elde edilen veriler ışığında BT1 ve BT2 yapılarının farklı kanser hücre hatlarında istenilen antikanser özelliği gösterme potansiyeli olduğu sonucuna varılmıştır.

Tablo 2. Bileşiklerin toplam antioksidan durumu (TAS) ve toplam oksidatif durum (TOS) değerleri (mmol Trolox eşdeğer./L)

| | TAS (mmol Trolox eşdeğer./L) | TOS ($\mu mol H_2O_2$ eşdeğer./L) |
|-----------------|---------------------------------|---------------------------------------|
| BT1 | $0,013 \pm 0,004$ | $16,91 \pm 0,59$ |
| BT2 | $0,024 \pm 0,009$ | $18,99 \pm 0,10$ |
| Pozitif Kontrol | $1,000 \pm 0,015$ | $20,00 \pm 0,01$ |



Şekil 3. Bileşiklerin toplam antioksidan durumu (TAS) ve toplam oksidatif durum (TOS) değerleri

IV.SONUÇLAR

Bu çalışmada, 5-(2-(2,6-dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-il)-N-etil-1,3,4-tiyadiazol-2-amin (BT-1) ve 5-(2-(2,6-dimetoksifenil)-1H-benz[d]imidazol-5(6)-il)-N-sikloheksil-1,3,4-tiyadiazol-2-amin (BT-2) bileşikleri sentezlenmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Bileşiklerin antikanser etkinlikleri HT-29 hücre hattı üzerinde incelenmiştir. MTT deneyine göre, BT-1 ve BT-2 maddelerinin sırasıyla IC₅₀ değerleri 46,51 ± 1,09 µM ve 34,13 ± 2,48 µM'dir. Referans ilaç fluorourasilin IC₅₀ değeri ise 12,84 ± 3,66 µM'dir. Bileşiklerden BT-2'nin referans ilaca yakın antikanser özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, bileşiklerin antioksidan özellikleri belirlenmiştir. Bileşiklerin TOS değerlerinin kontrol ilaca yakın değerde oldukları belirlenmiştir. Bu çalışmanın devamı olarak nitelendirilebilecek ileriki çalışmalarda yapı-etki ilişkilerinde bahsedilen bulgulardan faydalanarak benzer kimyasal yapılara sahip daha etkili olabileceği düşünülen yeni bileşiklerin sentezleri planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Bagi, C.M. (2002). Summary-Cancer cell metastasis session. *Journal of Musculoskeletal And Neuronal Interactions*, 2, 579-580.
- [2] Parkin, D. M. (2001). Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncology*, 2(10), 596-596.
- [3] Aydemir, N., & Bilaloğlu, R. (2003). Genotoxicity of two anticancer drugs, gemcitabine and topotecan, in mouse bone marrow in vivo. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 537(1), 43-51.
- [4] Klevens, R. M., Morrison, M. A., Nadle, J., Petit, S., Gershman, K., Ray, S., ... & Active Bacterial Core surveillance (ABCs) MRSA Investigators. (2007). Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *Jama*, 298(15), 1763-1771.
- [5] El-Kalyoubi, S., Agili, F., Adel, I., & Tantawy, M. A. (2021). Novel Uracil Derivatives Depicted Potential Anticancer Agents: In Vitro, Molecular Docking, and ADME Study. *Arabian Journal of Chemistry*, 103669.
- [6] Nazir, A., Mustafa, R., & Iqbal, M. (2021). In vitro & In vivo Phytochemical Evaluation of Bioactive Components Against Hyperglycemic-induced Oxidative Stress in Streptozocin Rat Model: A histopathological investigation. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 20, 7321-7341.
- [7] Mousavi, S. M., Zarei, M., Hashemi, S. A., Babapoor, A., & Amani, A. M. (2019). A conceptual review of rhodanine: current applications of antiviral drugs, anticancer and antimicrobial activities. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47(1), 1132-1148.
- [8] Penning, T. D., Zhu, G. D., Gandhi, V. B., Gong, J., Liu, X., Shi, Y., ... & Giranda, V. L. (2009). Discovery of the poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor 2-[(R)-2-methylpyrrolidin-2-yl]-1H-benzimidazole-4-carboxamide (ABT-888) for the treatment of cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(2), 514-523.
- [9] Romero-Castro, A., León-Rivera, I., Ávila-Rojas, L. C., Navarrete-Vázquez, G., & Nieto-Rodríguez, A. (2011). Synthesis and preliminary evaluation of selected 2-aryl-5 (6)-nitro-1H-benzimidazole derivatives as potential anticancer agents. *Archives of pharmacal research*, 34(2), 181-189.
- [10] Abdel-Mohsen, H. T., Ragab, F. A., Ramla, M. M., & El Diwani, H. I. (2010). Novel benzimidazole-pyrimidine conjugates as potent antitumor agents. *European journal of medicinal chemistry*, 45(6), 2336-2344.
- [11] Demirayak, Ş., Mohsen, U. A., & Karaburun, A. Ç. (2002). Synthesis and anticancer and anti-HIV testing of some pyrazino [1, 2-a] benzimidazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 37(3), 255-260.
- [12] Demirayak, S., Kayagil, I., & Yurttas, L. (2011). Microwave supported synthesis of some novel 1, 3-Diarylpyrazino [1,2-a] benzimidazole derivatives and investigation of their anticancer activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(1), 411-416.
- [13] Galal, S. A., Hegab, K. H., Hashem, A. M., & Youssef, N. S. (2010). Synthesis and antitumor activity of novel benzimidazole-5-carboxylic acid derivatives and their transition metal complexes as topoisomerase II inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12), 5685-5691.
- [14] Moriarty, E., Carr, M., Bonham, S., Carty, M. P., & Aldabbagh, F. (2010). Synthesis and toxicity towards normal and cancer cell lines of benzimidazolequinones containing fused aromatic rings and 2-aromatic ring substituents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(9), 3762-3769.
- [15] Yılmaz, Ü., Apohan, E., Küçükbay, H., Yılmaz, Ö., Tatlıcı, E., Yeşilada, Ö. (2022). Synthesis a Group of 5(6)-Substituted Benzimidazole Zn(II) and Co(II) Complexes and Investigation Their Cytotoxic and Antimicrobial Activities. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 1-6.
- [16] Küçükbay, H., Uçkun, M., Apohan, E., & Yeşilada, Ö. (2021). Cytotoxic and Antimicrobial Potential of Benzimidazole Derivatives. *Archiv Der Pharmazie*, 354 (8), 1-8.

- [17] Yılmaz, Ü., Tekin, S., Buğday, N., Yavuz, K., Küçükbay, H., & Sandal, S. (2019). Synthesis and evaluation of anticancer properties of novel benzimidazole ligand and their cobalt(II) and zinc(II) complexes against cancer cell lines A-2780 and DU-145. *Inorganica Chimica Acta*, 495, 118977.
- [18] Apohan, E., Yılmaz, Ü., Yılmaz, Ö., Serindağ, A., Küçükbay, H., Yeşilada, Ö., & Baran, Y. (2017). Synthesis, cytotoxic and antimicrobial activities of novel cobalt and zinc complexes of benzimidazole derivatives. *Journal of Organometallic Chemistry*, 828, 52-58.
- [19] Kumar, B. V. S., Vaidya, S. D., Kumar, R. V., Bhirud, S. B., & Mane, R. B. (2006). Synthesis and antibacterial activity of some novel 2-(6-fluorochroman-2-yl)-1-alkyl/acyl/aroyle-1H-benzimidazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 41(5), 599-604.
- [20] Kilcigil, G.A., & Altanlar, N. (2006). Synthesis and antifungal properties of some benzimidazole derivatives. *Turkish Journal of Chemistry*, 30(2), 223-228.
- [21] Kerimov, I., Ayhan-Kilcigil, G., Can-Eke, B., Altanlar, N., & İscan, M. (2007). Synthesis, antifungal and antioxidant screening of some novel benzimidazole derivatives. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 22(6), 696-701.
- [22] Sharma, D., Narasimhan, B., Kumar, P., Judge, V., Narang, R., De Clercq, E., & Balzarini, J. (2009). Synthesis, antimicrobial and antiviral activity of substituted benzimidazoles. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24(5), 1161-1168.
- [23] Kus, C., Ayhan-Kilcigil, G., & Eke, B. C. (2004). Synthesis and antioxidant properties of some novel benzimidazole derivatives on lipid peroxidation in the rat liver. *Archives of Pharmacal Research*, 27(2), 156-163.
- [24] Kuş, C., Ayhan-Kilcigil, G., Özbey, S., Kaynak, F. B., Kaya, M., Çoban, T., & Can-Eke, B. (2008). Synthesis and antioxidant properties of novel N-methyl-1, 3, 4-thiadiazol-2-amine and 4-methyl-2H-1,2,4-triazole-3 (4H)-thione derivatives of benzimidazole class. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(8), 4294-4303.
- [25] Buğday, N., Küçükbay, F., Apohan, E., Küçükbay, H., Serindağ, A., & Yeşilada, Ö. (2017). Synthesis and Evaluation of Novel Benzimidazole Conjugates Incorporating Amino Acids and Dipeptide Moieties. *Letters in Organic Chemistry*, 14, 198-206.
- [26] Shrivastava, N., Naim, M.J., Alam, M.J., Nawaz, F., Ahmed, S., & Alam, O. (2017). Benzimidazole scaffold as anticancer agent: synthetic approaches and structure– activity relationship. *Archiv der Pharmazie*, 350 (6), e201700040.
- [27] Gryshchenko, A.A., Tarnavskiy, S.S., Levchenko, K.V., Bdzhola, V.G., Volynets, G.P., Golub, A.G., Ruban, T.P., Vygranenko, K.V., Lukash, L.L., & Yarmoluk, S.M. (2016). Design, synthesis and biological evaluation of 5-amino-4-(1Hbenzoimidazol-2-yl)-phenyl-1, 2-dihydro-pyrrol-3-ones as inhibitors of protein kinase FGFR1. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24 (9), 2053-2059.
- [28] Abdullaziz, M.A., Abdel-Mohsen, H.T., El Kerdawy, A.M., Ragab, F.A., Ali, M. M., Abu-bakr, S.M., Girgis, A.S., & El Diwani, H. I. (2017). Design, synthesis, molecular docking and cytotoxic evaluation of novel 2-furybenzimidazoles as VEGFR-2 inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 136, 315-329.
- [29] El-Gohary, N.S., & Shaaban, M.I. (2017). Synthesis and biological evaluation of a new series of benzimidazole derivatives as antimicrobial, anti-quorum-sensing and antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 131, 255-262.
- [30] El-Gohary, N.S. & Shaaban, M.I. (2017). Synthesis, antimicrobial, anti-quorum-sensing and antitumor activities of new benzimidazole analogs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 137, 439-449.
- [31] Chojnacki, K., Wińska, P., Skierka, K., Wielechowska, M., & Bretner, M. (2017). Synthesis, in vitro antiproliferative activity and kinase profile of new benzimidazole and benzotriazole derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 72, 1-10.
- [32] Abdelgawad, M.A., Bakr, R.B., & Omar, H.A. (2017). Design, synthesis and biological evaluation of some novel benzothiazole/benzoxazole and/or benzimidazole derivatives incorporating a pyrazole scaffold as antiproliferative agents. *Bioorganic Chemistry*, 74, 82-90.
- [33] Çevik, U.A., Sağlık, B.N., Korkut, B., Özkay, Y., & İlgin, S. (2018). Antiproliferative, cytotoxic, and apoptotic effects of new benzimidazole derivatives bearing hydrazone moiety. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 55 (1), 138-148.