



2,5(6)-DİSÜBSTİTÜEBENZİMİDAZOL TÜREVİ LİGANDLARI TAŞIYAN PLATİN KOMPLEKSLERİNİN ANTİKANSER AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF THE ANTICANCER ACTIVITIES OF PLATIN COMPLEXES
BEARING 2,5(6)-DISUBSTITUTEDBENZIMIDAZOLE DERIVATIVE LIGANDS

Yasmin ALJENDY¹ , Hatice ORUÇ DEMİRBAĞ² , Gül BAYRAM³ , Semra UTKU^{1*} 

¹Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, 33169, Mersin, Türkiye

²Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, 33110, Mersin, Türkiye

³Mersin Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü,
33169, Mersin, Türkiye

ÖZ

Amaç: Sisplatin, klinikte kanser hastalarının tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmasına rağmen hastalarda rezistans gelişimi ve ciddi toksik yan etkiler görülmektedir. Bu dezavantajların önüne geçmek için bu çalışmada 2,5(6)-disübstitüebenzimidazol türevi taşıyıcı ligandlar kullanarak platin(II) komplekslerinin sentezlenmesi ve sitotoksik etkilerinin test edilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: L1-L6 taşıyıcı ligandları Philips yöntemine göre elde edilmiştir. K1-K4 kompleksleri, K₂PtCl₄ ve uygun ligandin ısıtılıp karıştırılması ile sentezlenmiştir. Sentez edilen L1-L6 ve K1-K4'ün kimyasal yapıları elementel analiz, İnfrared ve ¹H Nükleer Manyetik Rezonans ile aydınlatılmıştır. L1-L6 taşıyıcı ligandları ve K1-K4 komplekslerinin, MTT yöntemi ile MCF-7 ve DU-145 hücre hatlarına karşı in vitro sitotoksik etkileri test edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma: IC₅₀ değerlerine göre 2 numaralı konumunda -CH₃ sübstitüenti taşıyan ligandlar, nonsübstitü ligandlara göre test edilen hücre hatlarında daha etkili bulunmuştur. Ayrıca 5(6) numaralı konumunda flor sübstitü L5 ve L6 en etkili benzimidazol türevi olarak test edilmiştir. Test edilen kompleksler içerisinde K3, MCF-7 hücre hattına karşı 32.75 µM IC₅₀ değeri ile DU-145 hücre hattında ise 18.842 µM IC₅₀ değeri ile en etkili kompleks olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Benzimidazol, platin(II)kompleksleri, sisplatin, sitotoksik aktivite

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Semra Utku
e-posta / e-mail: utkusemra@mersin.edu.tr, Tel. / Phone: +903243412818/12105

Gönderilme / Submitted : 19.01.2023

Kabul / Accepted : 21.03.2023

Yayınlanma / Published : 20.05.2023

ABSTRACT

Objective: Although cisplatin is used successfully in the treatment of cancer patients in the clinic, resistance development and serious toxic side effects are seen in patients. In order to avoid these disadvantages, in this study, it was aimed to synthesize platinum(II) complexes using 2,5(6)-disubstituted benzimidazole derivative carrier ligands and to test their cytotoxic effects.

Material and Method: L1-L6 carrier ligands were synthesized according to the Philips method. K1-K4 complexes were synthesized by heating and mixing K_2PtCl_4 and the appropriate ligand. The chemical structures of synthesized L1-L6 and K1-K4 were elucidated by elemental analysis, Infrared and 1H Nuclear Magnetic Resonance. In vitro cytotoxic effects of L1-L6 carrier ligands and K1-K4 complexes against MCF-7 and DU-145 cell lines were tested by MTT method.

Result and Discussion: Ligands with $-CH_3$ substituent in position 2 according to IC_{50} values were found to be more effective in tested cell lines than non-substituted ligands. Also, fluorine substituted L5 and L6 at position 5(6) were tested as the most effective benzimidazole derivatives. Among the tested complexes, it was found to be the most effective complex with an IC_{50} value of $32.75 \mu M$ against the K3 MCF-7 cell line and with an IC_{50} value of $18.842 \mu M$ in the DU-145 cell line.

Keywords: Benzimidazole, cisplatin, cytotoxic activity, platinum(II) complexes

GİRİŞ

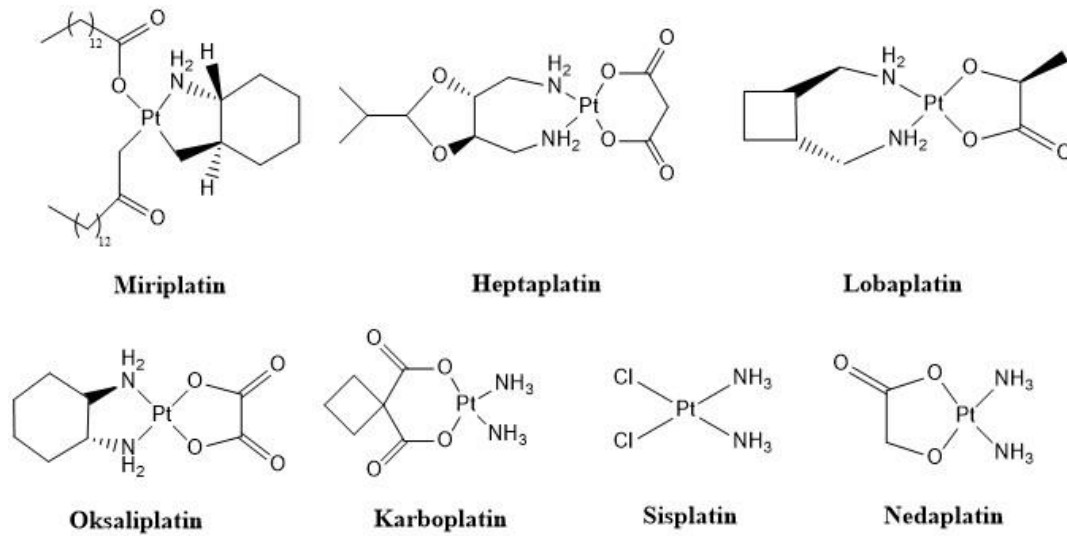
Kanser dünya çapında kardiyovasküler hastalıklardan sonra en önde gelen mortalite sebeplerinden bir tanesidir [1]. Türkiye’de Sağlık Bakanlığının raporuna göre 2030 yılında 22 milyon yeni kanser vakasının ortaya çıkması ön görülmektedir [2]. Önemli bir halk sağlığı problem olan kanser, ülkelerin sosyoekonomik koşulları ile hasta ve yakınlarının psikososyal durumlarını olumsuz olarak etkilemektedir. Bu nedenle erken teşhis ve etkili tedavi yöntemleri ile mortalite ve morbidite oranının düşmesi kanseri tedavi edilebilir hastalıklar arasına koymaktadır. Bu amaçla bilim insanları, tedavisi güç veya direnç gelişmiş kanser türlerini tedavi edebilen kemoterapötik ilaç geliştirme çalışmalarına hız kesmeden devam etmektedirler [3,4].

Kanser tedavisinde kullanılan ve en etkili kemoterapötik gruplardan birisi platin kompleksleridir. Bu gruptan ilk kullanılan ilaç olan sisplatin (*cis*-diammindikloroplatin(II)) 1844 yılında Michael Peyrone tarafından sentezlenmiştir [5]. Rosenberg tarafından yapılan bir çalışmada antikanser etkisi tesadüfen bulunmuş ve 1978 yılında sisplatin kanser tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır [6,7]. Sisplatin, testis, ovaryum, akciğer, baş-boyun, mesane ve küçük hücreli olmayan akciğer tümörleri gibi çeşitli tümör türlerine karşı klinikte etkin olarak kullanılmaktadır [8,9].

Sisplatin günümüzde klinik kemoterapi ilaçlarının reçetelerinde diğer platin ilaçları ile birlikte hastaların tedavisinde kullanılan ilaçların %50’lik bölümünü oluşturmaktadır [10,11]. Sisplatin, karboplatin ve oksaliplatin olmak üzere üç platin(II) kompleksi tüm dünyada, bölgesel olarak ise Japonya’da nedaplatin ve miriplatin, Kore’de heptaplatin ve Çin’de lobaplatin kompleksleri klinik kullanım için onaylanmıştır (Şekil 1) [12].

Klinikte başarılı bir şekilde kullanılan sisplatinin nefrotoksisite, ototoksisite, hepatotoksisite, bulantı ve kusma gibi yan etkiler kullanımını kısıtlamaktadır [13,14]. Ayrıca tedavi sırasında görülen rezistans gelişiminin de önüne geçebilmek için sisplatin yapısında bulunan ayrılan ve/veya taşıyıcı ligandlarının değiştirilmesi ile yeni platin kompleksleri araştırılmaya devam edilmektedir [15]. Sisplatin yapısındaki taşıyıcı amonyak ligandının farklı heterosiklik amin grupları ile yer değiştirilmesi sonucunda rezistans gelişen kanser türlerine karşı etkili olan veya hiç etki görülmeyen kanser türlerine karşı terapötik etkinliği artmış kompleks geliştirme çalışmaları hız kesmeden devam etmektedir [15-19]. Bu amaçla organizmanın tanıdığı çeşitli aminoasitler, glukozaminler ve peptidleri taşıyan veya endojen bileşiklerin biyoizosterleri taşıyıcı ligand olarak kullanılmaktadır [20-22].

Heteroaromatik bisiklik halka sistemine sahip olan benzimidazol, yapısında bulunan asidik ve bazik özelliğe sahip azot atomlarından dolayı amfoterik karakter göstermektedir. DNA yapı taşı oluşturan pürin bazlarına, birçok kofaktör, aminoasitler ve vitamin B12 gibi biyoaktif moleküllerinin yapısında bulunmasından dolayı organizmanın tanıdığı aromatik bir halka sistemidir [22-25]. Benzimidazol halka sistemine sahip ilaçların antikanser, antihelmintik, antifungal, antiviral, antienflamatuvar, antihistaminik, antipsikotik gibi terapötik etkinlikleri bulunmaktadır [25-30].



Şekil 1. Klinikte kullanılan platin(II) kompleksleri

Literatür taramalarında benzimidazol halkasının 1, 2 ve 5 numaralı konumları süstitüe edilerek farklı hastalıkların tedavisi için molekül tasarlama çalışmalarının yapıldığı görülmektedir [23-33]. Bu çalışmada da benzimidazol halkasının 5 numaralı konumunda F/Cl/CH₃ ve 2 numaralı konumunda da H/CH₃ süstitüenti bulunan altı adet 5(6)-floro/kloro/metil-2-hidrojen/metilbenzimidazol türevleri Philips yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir [34]. Sentez edilen **L1-L6**'nın kimyasal yapıları aydınlatıldıktan sonra potasyumtetrakloroplatinat ile dört adet literatüre kayıtlı olan [Pt(L1)₂Cl₂].H₂O (**K1**), [Pt(L2)₂Cl₂].1.5 H₂O (**K2**), [Pt(L3)₂Cl₂] (**K3**) ve [Pt(L4)₂Cl₂].H₂O (**K4**) sentezlenerek MCF-7 (meme kanseri) ve DU-145 (prostat kanseri)'e karşı 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür (MTT) yöntemi ile *in vitro* sitotoksik etkileri test edilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kimyasal Çalışmalar

Sentez çalışmalarında kullanılan 4-floro/kloro/4-metil-1,2-fenilendiamin, potasyum tetrakloroplatinat, sodyumbikarbonat ve solvanlar analitik niteliktedir (Merck veya Aldrich). İnce tabaka kromatografisi (İTK) çalışmalarında 254 nm UV ışığı altında görüntülenecek alüminyum plaklar kullanıldı (Merck). **L1-L6** ve **K1-K4**'ün FTIR-ATR spektrumlarının alınmasında Perkin Elmer Spectrum FT-IR Spektrometresi (4000-600 cm⁻¹ aralığı) kullanıldı. Bileşiklerin NMR spektrumları ise dötero dimetilsülfoksit (DMSO-d₆) içerisinde Bruker 400 MHz NMR Spektrometresinde alındı. Kimyasal kayma değerleri δ skalasında değerlendirildi. Sentezlenen **K1-K4** komplekslerinin elementel analizleri (C, H, N), Leco-932 Cihazı kullanılarak yapıldı.

2,5(6)-Disüstitüebenzimidazol Türevi Bileşiklerin Genel Sentez Yöntemi (Phillips Yöntemi) (L1-L6) [34]

0.01 mol sentezlenmek istenen 2,5(6)-disüstitüebenzimidazole göre 4-floro/kloro/metil-0-fenilendiamin türevi ile 0.02 mol formik asit veya asetik asit balon içerisine alındıktan sonra üzerine 100 ml 5 N HCl ilave edildi. Reaksiyon karışımı 8-24 saat arasında değişen sürelerde ısıtılmasıyla sentezlendi. Reaksiyonun tamamlanması İTK ile izlendi. Reaksiyonun tamamlandığı anlaşıldıktan sonra balon içeriği buz banyosu içerisinde nötralize edildi. Çökelek süzildükten sonra soğuk su ile yıkandı. Kristalizasyon solvanı olarak su veya su-etanol kullanıldı. Oluşan kristal halindeki bileşik süzülerek kurutuldu.

Taşıyıcı Ligandların Karakterizasyonu

5(6)-Klorobenzimidazol (**L1**) Erime noktası: 118-120°C (125-126°C [36, 37], 124-126°C [38],

122-123°C [39]); FTIR-ATR: 3080-2564 (-N-H ve =C-H, gerilimleri), 1623-1283 (C=N ve C=C gerilim, N-H ve C-H eğilim) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 8.34 (s, 1H), 7.70 (d, J= 2 Hz, 1H), 7.66 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.29 (dd, J=8.4 Hz, J= 2 Hz, 1H) ppm.

5(6)-Kloro-2-metilbenzimidazol (L2) Erime noktası: 201-202°C (197-199°C [38], 199-200°C [39]); FTIR-ATR: 3100-2533 (-N-H, =C-H ve -C-H gerilimleri), 1618-1278 (C=N ve C=C gerilim, N-H ve C-H eğilim) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 7.51 (d, J= 2 Hz, 1H), 7.47 (d, J= 8.8 Hz, 1H), 7.14 (dd, J=8.8, J= 2 Hz, 1H), 2.49 (s, 3H, CH_3) ppm.

5(6)-Metilbenzimidazol (L3) Erime noktası: 112-113°C (115-116°C [37]); FTIR-ATR: 3230-2557 (-N-H, =C-H, -C-H gerilimleri), 1618-1245 (C=N ve C=C gerilim, N-H ve C-H eğilim) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 9.53 (s, 1H), 7.75 (d, J= 8.8 Hz, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.41 (d, J=8.4 Hz, 1H), 2.49 (s, 3H, CH_3) ppm.

5(6)-Metil-2-metilbenzimidazol (L4) Erime noktası: 198-200°C (201-202°C [40], 203-204°C [41]); FTIR-ATR: 3146-2563 (-N-H, =C-H, -C-H gerilimleri), 1630-1281 (C=N ve C=C gerilim, N-H ve C-H eğilim) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 7.33 (d, J= 8 Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 6.90 (d, J= 8 Hz, 1H), 2.43 (s, 3H, CH_3), 2.37 (s, 3H, CH_3) ppm.

5(6)-Fluorobenzimidazol (L5) Erime noktası: 132-133°C (128-132°C [42], 130-132°C [43]); FTIR-ATR: 3085-2573 (-N-H, =C-H, -C-H gerilimleri), 1631-1294 (C=N ve C=C gerilim, N-H ve C-H eğilim) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 8.52 (s, 1H), 7.66 (dd, J= 8.8 Hz, J=4.8 Hz, 1H), 7.46 (dd, J=9.2Hz, J=2.4 Hz, 1H), 7.14 (td, J=9.8 Hz, J=2,4 Hz, 1H) ppm.

5(6)-Fluoro-2-metilbenzimidazol (L6) Erime noktası: 177°C (177-179°C [41], 176-178°C [44]); FTIR-ATR: 3115-2587 (-N-H, =C-H, -C-H gerilimleri), 1632-1248 (C=N ve C=C gerilim, N-H ve C-H eğilim), 770 (sübstübenzen =C-H plan dışı eğilim); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 12.20 (s, 1H), 7.40 (dd, J= 8.8, J=4.8 Hz, 1H), 7.21 (dd, J=9.6, 2.4 Hz, 1H), 6.91 (td, J=9.2, J=2.8 Hz, 1H), 2.44 (s, 3H, CH_3) ppm.

K1-K4 Platin(II) Komplekslerinin Genel Sentez Yöntemi [35]

K_2PtCl_4 'ün (0.6 mmol) 5 ml distile su içerisindeki çözeltisine sentez edilmek istenilen komplekse göre seçilen **L1-L4** türevi taşıyıcı-ligand (1.10 mmol) etanol-distile su karışımında (7:3 ml) çözülerek ilave edildi. Reaksiyon karışımı 40-60°C'ye kadar karanlıkta karıştırıldı. Reaksiyon ortamının pH'sı 0.1 M sodyum bikarbonat çözeltisi ile yaklaşık pH 7'ye ayarlandı. Reaksiyonun tamamlandığı İTK ile anlaşıldıktan sonra oluşan çökelek vakumda süzüldü. Ardından oluşan çökelek sırayla su, etanol ve eter ile yıkanarak temizlendi.

[dikloro-di(5(6)-klorobenzimidazol)platin(II).H₂O (K1) [Pt(L1)₂Cl₂].H₂O. Verim: %16.37; Erime Noktası: > 400; FTIR-ATR: 3210-2980 (-N-H, =C-H, O-H gerilimleri), 3183 (N-H gerilim), 1622-1296 (C=N ve C=C gerilim) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 13.64 (s, 2H, 2x N-H, D₂O değişimi yapılmıştır), 8.91 (d, J=1.6 Hz, 1H), 8.85 (s, 1H), 7.89 (dd, J= 1.6 Hz, J= 2 Hz, 1H), 7.83-7.77 (m, 1H), 7.61 (dd, J=1.6 Hz, J= 1.6 Hz, 1H), 7.57-7.53 (m, 1H), 7.32-7.25 (m, 2H) ppm; Elementel analiz: C₁₄H₁₀Cl₄N₄Pt.H₂O Hesaplanan C, 28.54; H, 2.05; N, 9.51. Bulunan: C, 28.79; H, 2.00; N, 9.79.

[dikloro-di(5(6)-kloro-2-metilbenzimidazol)platin(II).1.5 H₂O (K2) [Pt(L2)₂Cl₂].1.5 H₂O. Verim: % 18.3; Erime Noktası: > 400; FTIR-ATR: 3184-2986 (-N-H, =C-H, -C-H ve O-H gerilimleri), 1623-1221 (C=N ve C=C gerilim) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 13.44 (bs, 2H, 2x N-H, D₂O değişimi yapılmıştır), 8.27-7.96 (m, 2H), 7.62- 7.23 (m, 4H), 3.04-2.45 (m, 6H, 2x CH_3) ppm; Elementel analiz: C₁₆H₁₄Cl₄N₄Pt.1.5 H₂O Hesaplanan C, 30.69; H, 2.73; N, 8.94; Bulunan C, 30.12; H, 2.41; N, 8.63.

[dikloro-di(5(6)-metilbenzimidazol)platin(II) (K3) [Pt(L3)₂Cl₂]. Verim: % 28.28; Erime Noktası: > 400; Elementel analiz: C₁₆H₁₆Cl₂N₄Pt; FTIR-ATR: 3277-2981 (-N-H, =C-H ve -C-H gerilimleri), 1597-1248 (C=N ve C=C gerilim) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 13.26 (s, 2H, 2x N-H, D₂O değişimi yapılmıştır), 8.76-8.71 (m, 2H), 7.72-7.57 (m, 2H), 7.36-7.25 (m, 2H), 7.06-6.98 (m, 2H), 2.48-2.30 (m, 6H, 2x CH_3) ppm; Elementel analiz: C₁₆H₁₆Cl₂N₄Pt Hesaplanan C, 36.24; H, 3.04; N, 10.56; Bulunan C, 35.98; H, 3.03; N, 10.54.

[dikloro-di(5(6)-metil-2-metilbenzimidazol)platin(II).H₂O (K4) [Pt(L4)₂Cl₂].H₂O. Verim: % 46.26; Erime Noktası: > 400; FTIR-ATR: 3166-2981 (-N-H, =C-H, -C-H gerilimleri), 1602-1226 (C=N ve C=C gerilim) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 13.04 (bs, 2H, 2x N-H, D₂O değişimi yapılmıştır), 7.97-

7.85 (m, 2H), 7.28- 7.00 (m, 4H), 2.81-2.74 (m, 6H, 2x CH₃), 2.48-2.43 (m, 6H, 2x CH₃) ppm; Elementel analiz: C₁₈H₂₀Cl₂N₄Pt.H₂O Hesaplanan C, 37.51; H, 3.85; N, 9.72; Bulunan C, 37.65; H, 3.47; N, 9.86.

Biyolojik Çalışmalar

Çalışmada ticari olarak satın alınmış MCF-7 meme kanseri hücre hattı (T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Şap Enstitüsü, Hücre Kayıt No: 00092502) ve DU-145 prostat kanseri hücre hattı (ATCC, HTB-81) kullanıldı. Test edilen sentez maddeleri ve sisplatin, hücelere uygulanacak besi yerindeki konsantrasyonu 1/1000 olacak şekilde DMSO ile çözüldü. Testlerde kimyasal madde ve malzeme olarak RPMI 1640 (Sartorius, 01-106-1A) sıgır fetus serumu (FBS, Gibco, 10082147), L-glutamin (Thermo, 25030081), amfoterisin (Thermo, 15290018), penisilin+streptomisin (Thermo, 15140130), tripsin-EDTA (17-161E, Lonza), DMSO (AI0231, Amresco), DPBS-10X (14080-055, Thermo) kullanıldı. MCF-7 ve DU-145 hücreleri 37°C'deki su banyosunda çözüldükten sonra hücreler 15 ml'lik falkon tüpe konulup üzerine katkılı medyum eklendi ve süspansiyon santrifüj edildikten sonra pellet üzerine katkılı medyum eklenerek homojen hücre süspansiyonu T25 flasklara ekildi. Hücreler 37°C sıcaklık ve %5 CO₂ ortamına sahip inkübatörde 3 günde bir medyumunu değiştirilerek çoğaltıldıktan sonra MCF-7 ve DU-145 hücreleri %70-80 konfluent olunca pasajlandı ve fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkandı. Test için yeterli miktarda hücre elde edildikten sonra MTT deney protokolü uygulandı.

MTT Deney Protokolü

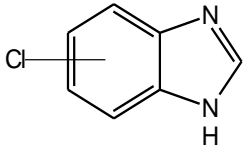
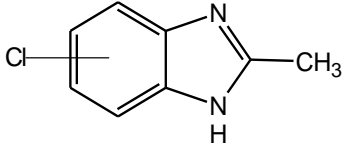
Sentezlenen maddelerin sitotoksik etkileri MTT analizi ile değerlendirildi [45,46]. MTT analizinde **L1-L6** ve **K1-K4**'ün 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 µM ve sisplatinin 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 ve 100 µM konsantrasyonları analiz edildi. MTT analizi için 96 kuyucuklu plakalara her bir konsantrasyon için n=3 olacak şekilde kuyucuk başına 8.7x10³ hücre ekim yapıldı. Ekimden 24 saat sonra hücrelerin üzerindeki medium çekildi ve belirlenen konsantrasyonlarda **L1-L6**, **K1-K4** ve sisplatin içeren medium eklendi. 72 saat sonra hücrelerin üzerindeki medyum uzaklaştırıldı ve her bir kuyucuğa 200 µl medyum ve 50 µl 5 mg/ml MTT içeren medyum eklendi. Hücreler 37°C sıcaklıkta 4 saat inkübe edildi. Daha sonra hücrelerin üzerindeki medyum çekildi ve her bir kuyucuğa 200 µl DMSO ve pH değeri 10.5 olan glisin tamponundan 50 µl eklendi. Plakalar bekletilmeden ELISA cihazında 570 nanometre (nm) dalga boyunda ölçüldü.

IC₅₀ değerinin hesaplanmasında doz-absorbans eğrisi Microsoft excel programı kullanılarak elde edildi.

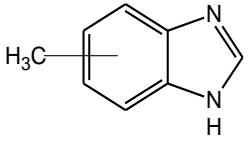
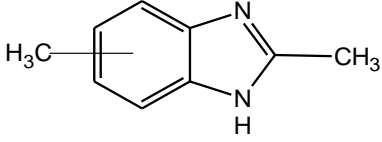
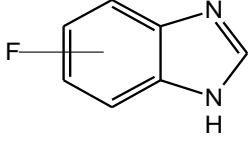
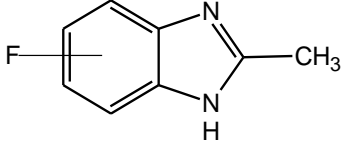
Sitotoksik Aktivite Test Sonuçları

Bu çalışmada sentez edilen **L1-L6** ve **K1-K4**'ün sitotoksik aktiviteleri MTT yöntemi ile MCF-7 ve DU-145 hücre hatlarına karşı test edildi [45,46]. **L1-L6** ve **K1-K4**'ün 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 µM; sisplatin 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µM konsantrasyonlardaki IC₅₀ değerleri Tablo 1'de, MCF-7 ve DU-145 hücre hattına karşı canlılık değerleri Tablo 2'de verilmektedir.

Tablo 1. L1-L6, K1-K4 ve sisplatin MCF-7 ve DU-145 hücre hattına karşı IC₅₀ değeri (µM)

Ligand veya Kompleks No	Formül	MCF-7	DU-145
L1		239.73	513.22
L2		187.85	228.38

Tablo 1 (devamı). L1-L6, K1-K4 ve sisplatin MCF-7 ve DU-145 hücre hattına karşı IC₅₀ değeri (μM)

L3		268.93	383.79
L4		161.35	207.57
L5		68.29	81.27
L6		59.45	61.12
K1	[Pt(L1) ₂ Cl ₂]	67.28	34.92
K2	[Pt(L2) ₂ Cl ₂]	75.62	89.07
K3	[Pt(L3) ₂ Cl ₂]	32.75	18.84
K4	[Pt(L4) ₂ Cl ₂]	66.72	62.82
Sisplatin		62.43	49.96

Tablo 2. L1-L6, K1-K4 ve sisplatin MCF-7 ve DU-145 hücre hattına karşı % canlılık değerleri

% Canlılık (μM ±SS)						
C(μM)	L1		L2		L3	
	MCF-7	DU-145	MCF-7	DU-145	MCF-7	DU-145
160	61.25 ± 1.46	80.42 ± 1.22	54.76 ± 1.63	65.22 ± 4.71	59.70 ± 2.38	74.69 ± 10.96
80	85.63 ± 3.20	83.56 ± 1.20	67.93 ± 6.19	69.07 ± 5.01	64.91 ± 2.54	81.62 ± 1.67
40	89.60 ± 2.84	87.61 ± 1.77	73.49 ± 5.63	83.95 ± 0.68	65.57 ± 1.38	83.31 ± 0.92
20	92.73 ± 1.41	89.26 ± 1.47	74.14 ± 3.12	87.47 ± 3.51	68.02 ± 3.61	86.16 ± 2.54
10	89.06 ± 0.81	91.06 ± 2.23	76.91 ± 1.98	88.65 ± 0.28	70.71 ± 0.59	87.48 ± 2.78
5	90.73 ± 0.99	92.24 ± 0.94	83.15 ± 5.52	90.56 ± 1.99	73.12 ± 3.33	90.84 ± 2.37
2.5	93.53 ± 0.51	94.74 ± 1.88	81.12 ± 1.68	90.72 ± 0.73	73.47 ± 0.78	95.12 ± 3.80
	L4		L5		L6	
160	52.27 ± 2.73	59.69 ± 5.86	14.02 ± 1.15	3.38 ± 1.15	18.46 ± 1.01	18.29 ± 0.72
80	63.40 ± 7.42	72.74 ± 5.54	38.92 ± 5.06	48.27 ± 5.06	38.74 ± 0.95	42.73 ± 3.52
40	71.26 ± 2.03	87.46 ± 4.83	63.77 ± 0.68	83.28 ± 0.68	58.36 ± 1.99	55.63 ± 0.63
20	80.14 ± 0.39	87.90 ± 3.75	68.74 ± 1.82	86.53 ± 1.82	64.77 ± 1.70	61.58 ± 0.48
10	82.32 ± 4.78	89.36 ± 0.96	69.65 ± 1.70	89.90 ± 1.70	66.32 ± 2.20	64.02 ± 2.53
5	83.13 ± 1.30	89.49 ± 5.23	78.94 ± 0.19	91.13 ± 0.19	67.11 ± 3.00	68.43 ± 1.57
2.5	81.65 ± 1.68	89.00 ± 4.03	84.16 ± 2.51	93.16 ± 2.51	68.88 ± 1.14	76.05 ± 1.75

Tablo 2 (devamı). L1-L6, K1-K4 ve sisplatin MCF-7 ve DU-145 hücre hattına karşı % canlılık değerleri

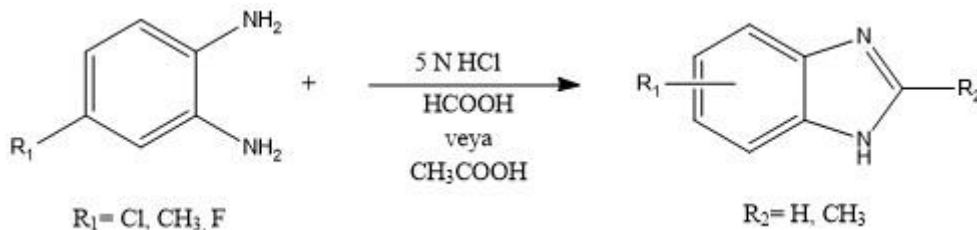
	K1		K2		K3	
160	10.15 ± 0.70	3.96 ± 0.01	12.27 ± 1.45	4.44 ± 0.11	08.75 ± 0.02	3.39 ± 0.04
80	40.37 ± 1.29	8.50 ± 0.19	45.97 ± 1.75	53.36 ± 2.74	10.89 ± 0.34	3.90 ± 0.55
40	55.70 ± 2.73	25.95 ± 1.36	72.52 ± 4.64	92.58 ± 1.25	28.85 ± 0.69	5.82 ± 0.19
20	73.11 ± 1.23	63.77 ± 1.89	75.82 ± 6.77	97.17 ± 0.66	65.10 ± 3.97	33.94 ± 1.19
10	80.00 ± 1.85	80.39 ± 1.56	74.41 ± 1.43	98.12 ± 0.58	68.06 ± 2.65	46.06 ± 4.54
5	81.74 ± 4.74	86.68 ± 0.91	80.24 ± 6.38	94.17 ± 3.90	68.57 ± 2.12	79.34 ± 4.67
2.5	80.12 ± 1.58	93.31 ± 1.65	82.34 ± 3.28	96.05 ± 0.13	82.16 ± 4.27	86.37 ± 2.49
	K4		C(µM)		Sisplatin	
160	07.23 ± 0.36	03.00 ± 0.22	100		34.76 ± 1.82	15.09 ± 1.10
80	18.76 ± 0.44	14.83 ± 3.04	50		50.60 ± 0.51	38.50 ± 2.20
40	63.72 ± 2.28	54.85 ± 3.01	25		59.70 ± 2.49	54.90 ± 3.00
20	71.93 ± 5.70	74.89 ± 2.25	12.5		76.91 ± 1.21	83.77 ± 4.00
10	87.06 ± 6.34	88.06 ± 0.80	6.25		83.53 ± 1.85	93.72 ± 0.47
5	94.00 ± 6.66	96.40 ± 1.50	3.125		86.53 ± 3.49	98.46 ± 0.12
2.5	95.68 ± 2.85	94.85 ± 1.57	1.56		91.02 ± 2.34	99.23 ± 0.47

SONUÇ VE TARTIŞMA

Azot taşıyan heterosiklik bileşikler organizmada ve birçok ilaç etken maddesinin yapısında bulunduğu için medisinale kimya alanında bu bileşikler üzerine yapılan çalışmalar giderek artmaktadır. 1 ve 3 numaralı konumlarında iki adet azot atomu taşıyan benzimidazol ve türevleri antihipertansif, antikanser, antiviral, antidiyabetik, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antikonvulsanlar, antiülser vb. gibi birçok farmakolojik aktiviteye sahiptir [47,48].

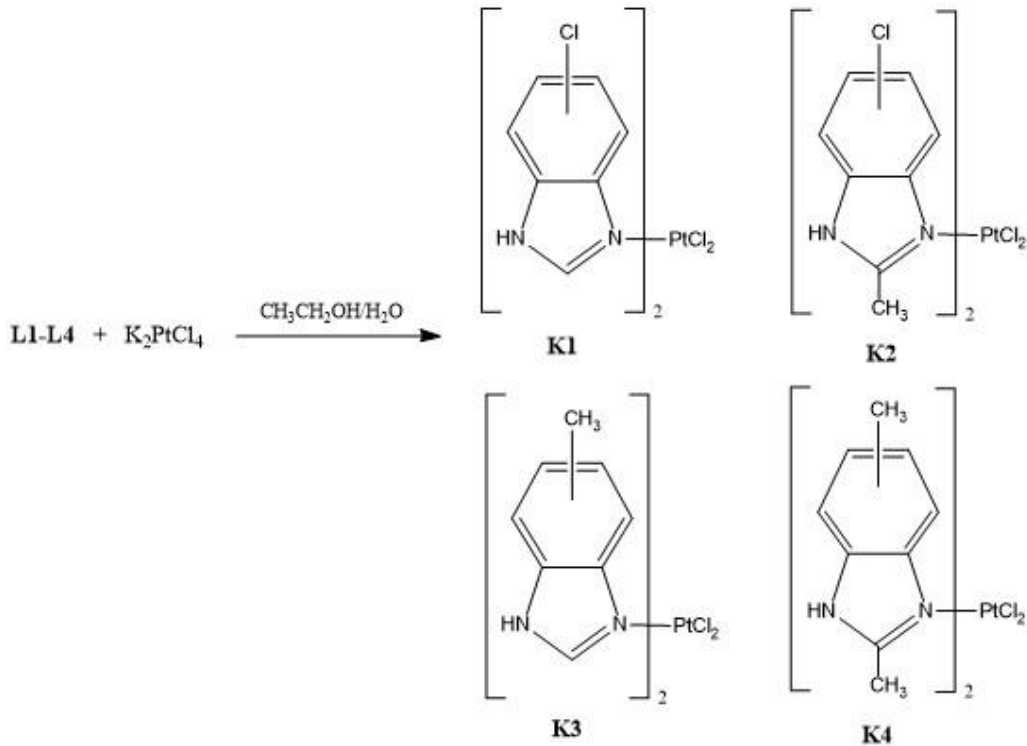
Klinikte kullanılan ilk platin(II) kompleksi bileşik olan sisplatin antikanser etkisinin tesadüfi keşfinden günümüze kadar klinikte en çok reçetelenen ilaç olma özelliğini korumaktadır. Klinik kullanım dezavantajlarını azaltmak için sisplatinin taşıyıcı ve ayrılan ligandının farklı gruplar ile yer değiştirilmesi sonucu binlerce platin kompleksi sentezlenmiş ve sitotoksik etkileri test edilmiştir. [49,50].

Bu çalışmada birçok ilaç molekülünün farmakofor kısmını oluşturan 6 adet benzimidazol türevi bileşik Phillips yöntemi ile sentezlenmiştir [34]. Flor atomu, medisinale kimyada ilaç molekülü geliştirmede en önemli biyoizosterlerden birisi olma özelliğini taşımaktadır. Florun, H atomuna benzemesine rağmen karbon atomu ile oluşturduğu C-F bağı, C-H bağına göre daha kuvvetli ve lipofilitesi daha yüksektir. Ayrıca iyonize olabilen proton taşıyan fonksiyonel gruba sahip bileşiklerin pKa'sını düşürmektedir. Birçok enzim veya reseptörün aktif bölgesine bağlanabilen, H atomuna sahip bileşik ile karşılaştırıldığında, benzer veya daha yüksek farmakolojik etki gösteren florsübstitüe bileşikler tasarlanmaktadır [51]. Yaptığımız literatür taramaları sonucunda antikanser aktivitesi olabilecek benzimidazol halkasının 5 numaralı konumuna F, Cl veya CH₃ ve 2 numaralı konumuna da H/CH₃ olan 6 adet 5(6)-floro/kloro/metil-2-hidrojen/metilbenzimidazol taşıyıcı ligandların sentez şeması Şekil 2'de verilmektedir. L1-L6'nın erime noktaları, FTIR ve ¹H-NMR spektrumları literatürde kayıtlı olan veriler ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen veriler literatür ile uyumludur [36-44].



Şekil 2. Ligand L1-L6'nın sentez şeması

Sentez edilen taşıyıcı ligandlardan 5(6)-flurobenzimidazol (**L5**) ve 5(6)-fluro-2-metilbenzimidazol (**L6**)'ın etanol/su, 0.5 N HCl veya DMF çözücülerinde K_2PtCl_4 ile kompleksleşme reaksiyonları yapılmıştır. Değişen süre ve sıcaklıklarda reaksiyon şartları denenmiş ancak 1H -NMR sonuçları göre saf olarak ürün izole edilemediği anlaşılmıştır. Bu komplekslerin sentezi daha sonraki çalışmalarımızda yapılmak üzere bu çalışmaya dahil edilmemiştir. Diğer taşıyıcı ligandlar **L1-L4** ve K_2PtCl_4 'den hareketle kapalı formülü $[Pt(L1)_2Cl_2].H_2O$, $[Pt(L2)_2Cl_2].1.5H_2O$, $[Pt(L3)_2Cl_2]$ ve $[Pt(L4)_2Cl_2].H_2O$ olan Nzeyimana ve arkadaşları tarafından daha önceden sentezlenen 4 adet **K1-K4** platin (II) komplekleri, literatüre kayıtlı yöntem kullanılarak bu çalışma yeniden sentezlenmiştir (Şekil 3) [35].



Şekil 3. K1-K4'ün sentez şeması

K1-K4'ün kimyasal yapılarının belirlenmesi için **L1-L4**'ün aynı şartlarda FTIR ve 1H -NMR spektrumları alınmıştır. Ek olarak sentez edilen **K1-K4**'ün elementel analiz verileri kullanılmıştır. Komplekslerin kimyasal yapısı, kompleksleşme ile **L1-L4** kimyasal yapısında bulunan belirleyici gruplara ait piklerdeki değişiklikler ve kayma ile belirlenmiştir. Elementel analiz verileri göre **L1-L4** tek dişli ligand olarak potasyum tetrakloroplatinat ile 1:2 Platin: **L1-L4** oranında platin(II) kompleksi oluşturmak üzere reaksiyona girdiği belirlenmiştir.

K1-K4'ün kimyasal yapılarının aydınlatılmasında 3 numaralı konumdan platine bağlandığının kanıtlanması için IR ve 1H -NMR spektrumlarının incelenmesi sırasında N-H grubuna ait sinyallerin varlığı ve yerleri üzerinde durulmuştur. Elde edilen IR ve 1H -NMR verileri kompleksleşmenin, süstitübenzimidazol halkasının 3 numaralı piridin azotu üzerinden olduğunu desteklenmiştir.

L1-L6'ya ait spektrumda $3100-2530\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde kuvvetli, yayvan multiplet absorpsiyon bandları görülmektedir. **K1-K4**'e ait IR spektrumlarında **L1-L4**'ün spektrumunda görülen bu yayvan pikin yerine daha keskin pikler görülmektedir. Bu bulgu, **L1-L4**'ün yapısında bulunan "imino hidrojeni" nin serbest olarak bulunduğunu kanıtlamaktadır. Bu bulgu, bazı azol türevi taşıyıcı ligandların çeşitli metaller ile yapmış oldukları kompleksler için verilmiş literatür verileri ile uygunluk göstermektedir.

[53-55]. N-H gerilim bandlarındaki bu keskinleşme, kompleks oluşumu ile pirol azotuna ait protonun tautomerisinin engellenmiş olmasından kaynaklanmaktadır [56].

K1-K4'ün yapısının aydınlatılması için ¹H-NMR spektrumu kompleksler organik çözücülerde çözünmediği için DMSO-d₆ içinde çözülerek alınmıştır. **L1-L4** ve **K1-K4**'ün sahip olduğu protanlara ait piklerdeki kaymalar ve yarılmalar beklenen alanda gözlenmiştir [35]. 2,5(6)-süstitübenzimidazol halkasının pirol azotuna ait proton, N¹-C-N³ boyunca eşit olarak delokalize olduğundan ¹H-NMR spektrumunda bu sinyal bazen görülmemektedir [57]. Sentez edilen ligandlardan sadece **L6** ligandına ait N-H protonu 12.20 ppm singlet olarak gözlenmiştir. **K1-K4**'e ait N-H protonları sırasıyla δ 13.64, 13.44, 13.26 ve 13.04 ppm de görülmektedir.

Bu çalışmada sentez edilen ligand **L1-L6** ve kapalı formülü **[Pt(L1)₂Cl₂].H₂O**, **[Pt(L2)₂Cl₂].1.5 H₂O**, **[Pt(L3)₂Cl₂]** ve **[Pt(L4)₂Cl₂].H₂O** olan **K1-K4**'ün MCF-7 (meme kanseri) ve DU-145 (prostat kanseri) hücre hatlarına karşı MTT yöntemi ile sitotoksik etkileri test edilmiştir. **K1-K4**'ün 160-2.5 µM ve sisplatinin 100-3.125 µM arasındaki konsantrasyonlarının test edilen hücre hatlarına karşı IC₅₀ değerleri Tablo 1 ve % canlılık değerleri Tablo 2'de verilmektedir.

IC₅₀ değerlerine göre 2 numaralı konumda metil taşıyan ligandlar, nonsüstitüe ligandlara göre daha etkili bulunmuştur. 5(6) numaralı konumda flor süstitüsyonuna sahip **L5** ve **L6** test edilen MCF-7 hücre hattında 68.29 ve 59.45 µM ve DU-145 hücre hatlarına karşı ve 81.27 ve 61.12 µM aktiviteye sahiptir. Diğer ligandlar **L1-L4** MCF-7 hücre hattına karşı sırasıyla 239.73, 187.85, 268.93 ve 161.35 µM IC₅₀ değerlerine sahipken DU-145 hücre hatlarına karşı sırasıyla 513.22, 228.38, 383.79 ve 207.57 µM IC₅₀ değerine sahip olduğu test edilmiştir. 5(6)-Floro süstitüe benzimidazol ligandları **L5** ve **L6** test edilen MCF-7 ve DU-145 hücre hatlarına karşı **L1-L4** taşıyıcı ligandlarından daha düşük IC₅₀ değerlerine sahip olduğu bulunmuştur.

L3 taşıyıcı ligandına sahip **K3** kompleksi MCF-7 hücre hattına karşı 32.75 µM IC₅₀ değeri ile DU-145 hücre hattında ise 18.84 µM IC₅₀ değeri ile en etkili kompleks olarak test edilmiştir. MCF-7 hücre hattına karşı diğer etkili kompleksler sırasıyla 66.72, 67.28 ve 75.62 µM IC₅₀ değerlerine sahip **K4**, **K1** ve **K2** kompleksleri olarak bulunmuştur. Test edilen DU-145 hücre hattında ise 34.92, 62.82 ve 89.07 µM IC₅₀ değerlerine sahip **K1**, **K4** ve **K2** kompleksleri bulunmuştur. Taşıyıcı ligandların tam tersi olarak 2 numaralı konumda metil taşımayan kompleksler (**K1** ve **K3**), metil taşıyan komplekslerden (**K2** ve **K4**) daha etkili bulunmuşlardır.

MTT test sonuçlarına DU-145 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı **K3** ve DU-145 hücre hattına karşı **K1** test edilen kompleksler içerisinde sisplatininden daha etkili olarak bulunmuştur. Diğer sentez edilen kompleksler **K2** ve **K4** test edilen her iki hücre hattına karşı sisplatin ile karşılaştırılabilir etkiye sahip olduğu görülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, 2019-3-TP2-3714 proje numarası ile Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir.

YAZAR KATKILARI

Kavram: Y.A., H.O.D., G.B., S.U.; Tasarım: Y.A., H.O.D., G.B., S.U.; Denetim: Y.A., H.O.D., S.U.; Kaynaklar: Y.A., H.O.D., G.B., S.U.; Malzemeler: Y.A., H.O.D., S.U.; Veri Toplama ve/veya İşleme: Y.A., H.O.D., S.U.; Analiz ve/veya Yorumlama: Y.A., H.O.D., G.B., S.U.; Literatür Taraması: Y.A., H.O.D., G.B., S.U.; Makalenin Yazılması: Y.A., H.O.D., G.B., S.U.; Kritik İnceleme: G.B., S.U.; Diğer: -

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

ETİK KURUL ONAYI

Yazarlar bu çalışma için etik kurul onayının zorunlu olmadığını beyan etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Cancer Report, World Health Organization. (2022). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Erişim tarihi: 15.06.2022.
2. Kanser önleme çalışmaları, T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü (2020). Kanser önleme çalışmaları. <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/kanserden-korunma/kanserden-korunmalist/kanser-%C3%B6nleme-%C3%A7a%C4%B1%C5%9Fmalar%C4%B1.html>. Erişim tarihi: 15.06.2022.
3. Magalhaes, L., Ferreira, L., Andricopulo, A. (2018). Recent advances and prespectives in cancer drug design. *Anias da Academia Brasileira de Ciencias*, 90(2), 1233-1250. [CrossRef]
4. Dembic, Z. (2020). Antitumor drugs and their targets. *Molecules*, 25, 5776. [CrossRef]
5. Peyrone, M. (1844). Über die einwirkung des ammoniaks auf platinchlorid. *Annalen der Chemie und Pharmacie*, 51, 1-29. [CrossRef]
6. Rosenberg, B., Van Camp, L., Krigas, T. (1965). Inhibition of cell division in escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*, 205, 698-699. [CrossRef]
7. Reed, E. (2006). Cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin. In: B.A Chabner and D.L. Long (Eds.), *Cancer Chemotherapy and Biotherapy: Principles and Practice*, (pp.332-343). Philadelphia: PA Lippincott Williams and Wilkins.
8. Wang, D., Lippard, S.J. (2005). Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(4), 307-320. [CrossRef]
9. Paprocka, R., Szadkowska, M., Janciauskiene, S., Kosmalski, T., Kulik, M., Basa, A. (2022). Latest developements in metal complexes as anticancer agents. *Coordination Chemistry Reviews*, 452, 214307. [CrossRef]
10. Justin, J., Lippard, S.J. (2014). Synthetic methods for the preparation of platinum anticancer complexes. *Chemical Reviews*, 114, 4470-4495. [CrossRef]
11. Xiong, X., Liu, L., Mao, Z., Zou, T. (2022). Approaches towards understanding the mechanism of action of metallo drugs. *Coordination Chemistry Reviews*, 453, 214311. [CrossRef]
12. Ma, D.-L., Wu, C., Cheng, S., Lee, F., Han, Q., Leung, C. (2019). Development of natural product-conjugated metal complexes as cancer therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 341. [CrossRef]
13. Peng, K., Liang, B., Liu, W., Mao, Z. (2021). What blocks more anticancer platinum complexes from experiment to clinic: Major problems and potential strategies from drug design. *Coordination Chemistry Reviews*, 449, 214210. [CrossRef]
14. Oun, R., Moussa, Y.E., Wheate, N.J. (2018). The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: A review for chemists. *Dalton Transactions*, 47, 6645–6653. [CrossRef]
15. Deo, K. M., Ang, D.L., McGhie, B., Rajamanickam, A., Dhiman, A., Khoury, A., Holland, J., Bjelosevic, A., Pages, B., Gordon, J., Aldrich-Wright, J.R. (2018). Platinum coordination compounds with potent anticancer activity. *Coordination Chemistry Reviews*, 375, 148-163. [CrossRef]
16. Calvert, H. (2019). The clinical development of carboplatin—A personal perspective. *Inorganica Chimica Acta*, 498, 118987. [CrossRef]
17. Zhao, J., Gou, S., Xu, G., Cheng, L. (2014). Antitumor platinum(II) complexes of N-monoalkyl 1R,2R-diaminocyclohexanes with 3-(nitrooxy)cyclobutane-1,1-dicarboxylate as a leaving group. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 85, 408-417. [CrossRef]
18. Wilson, J.J., Lippard, S.J. (2014). Synthetic methods for the preparation of platinum anticancer complexes. *Chemical Reviews*, 114(8), 4470-4495. [CrossRef]
19. Johnstone, T.C., Suntharalingam, K., Lippard, S.J. (2016). The next generation of platinum drugs: Targeted Pt(II) agents, nanoparticle delivery, and Pt(IV) prodrugs. *Chemical Reviews*, 116(5), 3436-3486. [CrossRef]
20. Ho, Y.P., Au-Yeung, S.C., To, K.K.W. (2003). Platinum-based anticancer agents: Innovative design strategies and biological perspectives. *Medicinal Research Reviews*, 235, 633-655. [CrossRef]
21. Zivkovic, M.D., Rajkovic, S., Glisic, B.D., Draskovic, N.S., Djuran, M.I. (2017). Hydrolysis of the amide bond in histidine- and methionine-containing dipeptides promoted by pyrazine and pyridazine palladium(II)-aqua dimers: Comparative study with platinum(II) analogues. *Bioorganic Chemistry*, 72, 190-198. [CrossRef]
22. Zivkovic, M.D., Rajkovic, S., Djuran, M.I. (2008). Reaction of [Pt(Gly-Gly-N,N',O)]- with the N-acetyl dipeptide L-methionyl-L-histidine: selective platination of the histidine side chain by intramolecular migration of the platinum(II) complex. *Bioorganic Chemistry*, 36(3), 161-164. [CrossRef]
23. Narasimhan, B., Sharma, D., Kumar, P. (2011). Biological importance of imidazole nucleus in the new millennium. *Medicinal Chemistry Research*, 20, 1119-1140. [CrossRef]

24. Sundberg, R.J., Martin, R.B. (1974). Interactions of histidine and other imidazole derivatives with transition metal ions in chemical and biological systems. *Chemical Reviews*, 74(4), 471-517. [\[CrossRef\]](#)
25. Arora, S.S, Babbar, R. (2020). A comprehensive review on therapeutic potential of benzimidazol: a miracle scaffold. *Journal of Pharmaceutical Technology Research and Management*, 8(1), 23-29. [\[CrossRef\]](#)
26. Salahuddin, M.S., Mazumder A. (2017). Benzimidazoles: A biologically active compounds. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, 157-173. [\[CrossRef\]](#)
27. Khokra, S.L., Choudhary, D. (2011). Benzimidazole an important scaffold in drug discovery. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*, 3(1), 476-486.
28. Yongzhen, G., Xuben, H., Hao, F. (2021). Recent applications of benzimidazole as a privileged scaffold in drug discovery. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 21(11), 1367-1379. [\[CrossRef\]](#)
29. Saral, H., Özdamar, Ö., Uçar, İ. (2017). Synthesis, structural and spectroscopic studies of two new benzimidazole derivatives: A comparative study. *Journal of Molecular Structure*, 1130, 46-54. [\[CrossRef\]](#)
30. Alaqeel, S.I. (2017). Synthetic approaches to benzimidazoles from *o*-phenylenediamine: A literature review. *Journal of Saudi Chemical Society*, 21(2), 229-237. [\[CrossRef\]](#)
31. Brishty, S.R., Hossain, J., Khandaker, M.U., Faruque, M.S.I., Osman, H., Rahman, S.M.A. (2021). A comprehensive account on recent progress in Pharmacological activities of benzimidazole derivatives. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 762807. [\[CrossRef\]](#)
32. Bansal, Y., Silakari, O. (2012). The therapeutic journey of benzimidazoles: A review. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 20(21), 6208-6236. [\[CrossRef\]](#)
33. Vasava, M.S., Bhoi, M.N., Rathwa, S.K., Jethava, D.J., Acharya, P.T., Patel D.B., Patel, H.D. (2020). Benzimidazole: A milestone in the field of medicinal chemistry. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 20(7), 532-565. [\[CrossRef\]](#)
34. Phillips, M.A. (1928). The Formation of 2-Substituted Benzimidazole. *Journal of Chemical Society*, 2393-2399. [\[CrossRef\]](#)
35. Nzeyimana, A., Utku, S., Açık, L., Çelebi K.A. (2017). Synthesis, characterization and DNA interaction of novel platinum(II) complexes containing substituted benzimidazole ligands. *Revue Roumaine de Chimie*, 62, (3), 227-236.
36. Valdez, J., Cedillo, R., Hernandez-Campos, A., Yepez, L., Hernandez-Luis, F., Navarrete-Vazquez, G., Tapia, A., Cortes, R. Hernandez, M., Castillo, R. (2002). Synthesis and antiparasitic activity of 1H-benzimidazole derivatives. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 12(16), 2221-2224. [\[CrossRef\]](#)
37. Zhang, Z.H, Li, J.J., Gao, Y.Z., Liu, Y.H. (2008) Synthesis of 2-substituted benzimidazoles by Iodine-mediated condensation of orthoesters with 1,2-phenylenediamines. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 44, 1509-1512. [\[CrossRef\]](#)
38. Liu, J., Liu, Q., Xu, W., Wang, W. (2011). Expedition and efficient synthesis of benzoxazoles, benzimidazoles catalyzed by Ga(OTf)₃ under solvent-free conditions. *Chinese Journal of Chemistry*, 29, 1739-1744. [\[CrossRef\]](#)
39. Aridoss, G., Laali, K.K. (2011). Building heterocyclic systems with RC(OR)₂ cabocations in recyclable bronsted acid ionic liquids: facile synthesis of 1-substituted 1H-1,2,3,4-tetrazoles, benzazoles and other ring systems with CH(OEt)₃ and Et(OEt)₃ in EtNH₃NO₃ and PMIM(SO₃H) Otf. *European Journal Organic Chemistry*, 2827-2835. [\[CrossRef\]](#)
40. Khaksar, S., Heydari, A., Tajbakhsh, M., Vahdat, S.M. (2010). Lewis acid catalyst free synthesis of benzimidazoles and formamidines in 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol. *Journal of Fluorine Chemistry*, 131(12), 1377-1381. [\[CrossRef\]](#)
41. Kim, J., Kim, J., Lee, H., Byung, M.L., Byeong, H.K. (2011). Indium-mediated one-pot benzimidazole synthesis from 2-nitroanilines or 1,2-dinitroarenes with orthoesters. *Tetrahedron*, 67(41), 8027-8033. [\[CrossRef\]](#)
42. Li, X., Zhang, J., Yang, Y., Hong, H., Han, L., Zhu, N. (2021). Reductive cyclization of *o*-phenylenediamine with CO₂ and BH₃NH₃ to synthesize 1H-benzimidazole derivatives. *Journal of Organometallic Chemistry*, 122079, 954-955. [\[CrossRef\]](#)
43. Alasmay, F.A.S, Snelling, A.M., Zain, M.E., Alafeefy, A.M., Awaad, A.S., Karodia, N. (2015). Synthesis and evaluation of selected benzimidazole derivatives as potential antimicrobial agents. *Molecules*, 20(8), 15206-15223. [\[CrossRef\]](#)
44. Shaikh, A., Ravi, O., Ragini, S.P., Sadhana, N., Bathula, S.R. (2020). Benzimidazoles and benzothiazoles from styrenes and N-vinylimidazole via palladium catalysed oxidative C=C and C-N bond cleavage. *Tetrahedron Letters*, 61(1), 151356. [\[CrossRef\]](#)
45. Denizot, F., Lang, R. (1986). Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *Journal of Immunological Methods*, 89(2), 271-277. [\[CrossRef\]](#)

46. International Standard. (2009). Biological evaluation of medical devices- Part 5 Test for *in vitro* cytotoxicity. <http://nhiso.com/wp-content/uploads/2018/05/ISO-10993-5-2009.pdf>. Erişim tarihi: 05 Temmuz 2022.
47. Anand, K., Wakode, S. (2017). Development of drugs based on benzimidazole heterocycle: Recent advancement and insights. *International Journal of Chemical Studies*, 5(2), 350-362.
48. Rashedy, A.A., Aboul-Enein, H.Y. (2013). Benzimidazole derivatives as potential anticancer agents. *Mini Review Medicinal Chemistry*, 13(3), 339-407. [\[CrossRef\]](#)
49. Mastalarz, H., Mastalarz, A., Wietrzyk, J., Milczarek, M., Kochel, A., Regiec, A. (2020). Synthesis of platinum(II) complexes with some 1-methylnitropyrazoles and *in vitro* research on their cytotoxic activity. *Pharmaceuticals*, 13(12), 433. [\[CrossRef\]](#)
50. Bai, L., Gao, C., Liu, Q., Yu, C., Zhang, Z., Cai, L., Yang, B., Qian, Y., Yang, J., Liao, X. (2017). Research progress in modern structure of platinum complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 140, 349-382. [\[CrossRef\]](#)
51. Al-Harthy, T., Zoghaib, W., Abdel-jalil, R. (2020). Importance of fluorine in benzazole compounds. *Molecules*, 25(20), 4677. [\[CrossRef\]](#)
52. Wang, L., Sheng, J., Tian, H., Qian, C. (2004). An efficient procedure for the synthesis of benzimidazole derivatives using Yb (OTf)₃ as catalyst under solvent-free conditions. *Synthetic Communications*, 34(23), 4265-4272. [\[CrossRef\]](#)
53. Ghosh, S.P., Bhattacharjee, P., Dubey, L., Mishra, L.K. (1977). Complexes of some platinum metals with imidazole and benzimidazole. *Journal of Indian Chemical Society*, 54, 230-238.
54. Mylonas, S., Valavanidis, A., Dimitropoulos, K., Polissiou, M., Tsiftoglou, A.S., Vizirianakis, I.S. (1988). Synthesis, molecular structure determination, and antitumor activity of platinum (II) and palladium (II) complexes of 2-substituted benzimidazole. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 34, 265-275. [\[CrossRef\]](#)
55. Wisniewski, M.Z., Glowiak, T., Opolski, A., Wietrzyk, J. (2001). Synthesis, characterization and antiproliferative activity of the Co(II), Ni(II), Cu(II), Pd(II), and Pt(II) complexes of 2-(4-thiazolyl) benzimidazole (thiabenzazole). *Metal Based Drugs*, 8, 189-194. [\[CrossRef\]](#)
56. Rabiger, D.J., Joullie, M.M. (1964). The ionization constants, ultraviolet and infrared spectra of some substituted benzimidazoles. *Journal of Organic Chemistry*, 29(2), 476-482. [\[CrossRef\]](#)
57. Callaghan, V., Goodgame, D.M.L., Tooze, R.P. (1983). Platinum and other metal complexes of 2-methyl-5-nitrobenzimidazole and metronidazole. *Inorganica Chimica Acta*, 78, L1-L4. [\[CrossRef\]](#)