

Bazı Heterosiklik Bileşiklerin İyonlaşma/Protonasyon, Lipofilisite ve Çözünürlük Sabitlerinin Belirlenmesi

Kader POTURCU*¹, Ebru ÇUBUK DEMİRALAY²

Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 32260, Isparta, Türkiye

(Alınış / Received: 14.04.2019, Kabul / Accepted: 19.08.2019, Online Yayınlanma / Published Online: 30.08.2019)

Anahtar Kelimeler

İmidazol grubu ilaçlar,
Benzimidazol grubu ilaçlar,
RPLC,
İyonlaşma/Protonasyon sabitleri,
Lipofilisite,
Abraham çözünen tanımlayıcıları

Özet: B12 vitamini yapısında bulunan benzimidazol halkası ve histidin yapısında bulunan imidazol halkası; tıpta, eczacılıkta, ilaç kimyasında önemli biyolojik ve klinik uygulamalara sahip heterosiklik yapılardır. Bu yapıların anthelmintik, antifungal, antiviral ve anti-HIV gibi birçok farklı biyolojik aktiviteye sahip olması ve son zamanlarda antikanser ajan olarak kullanılması dikkatleri bu yapılar üzerine çekmektedir. Bu çalışmada benzimidazol/imidazol halkası içeren altı ilaç molekülünün ters faz sıvı kromatografik yöntemle %40 (v/v) ACN:H₂O içeren mobil faz ortamında iyonlaşma/protonasyon sabitleri belirlenmiştir. Deneysel çalışmalarda Gemini NX C18 (250 x 3.0 mm I.D., 5 µm) kolon kullanılmıştır ve kromatografik analizler 1 mL/dakika akış hızında, 30°C'de gerçekleştirilmiştir. Abraham çözünen tanımlayıcıları ve ters faz sıvı kromatografik yöntemle elde edilen bu alıkonma verileri kullanılarak bu altı ilaç molekülünün lipofilisite ve çözünürlük değerleri hesaplanmıştır.

Evaluation of Ionization/Protonation, Lipophilicity and Solubility Constants for Some Heterocyclic Compounds

Keywords

Imidazole group drugs,
Benzimidazole group drugs,
RPLC,
Ionization/Protonation constants,
Lipophilicity,
Abraham solute descriptors

Abstract: The benzimidazole ring in the structure of B12 vitamin and the imidazole ring in the structure of histidine are heterocyclic structures with important biological and clinical applications in medicine, pharmacy and pharmaceutical chemistry. These structures have many different biological activities such as anthelmintic, antifungal, antiviral and anti-HIV and have recently been used as an anticancer agent, draws attention to these structures. In this study, the ionization/protonation constants of six active pharmaceutical ingredient (API) which have containing benzimidazole/imidazole moiety were determined in mobile phase media containing 40% (v/v) ACN:H₂O by reversed phase liquid chromatographic method. Gemini NX C18 (250 x 3,0 mm I.D., 5 µm) column was used in experimental studies and chromatographic analyzes were performed at a flow rate of 1 mL/min and at 30°C. The lipophilicity and solubility values of these six API were calculated using the Abraham solute descriptor values and the retention data obtained by the reversed phase liquid chromatographic method.

1. Giriş

Heterosiklik yapı içeren bileşikler, ilaç endüstrisinde yeni biyoaktif moleküllerin araştırılmasında oldukça önemli ve ilgi çekicidir [1]. Özellikle azot atomu içeren heterosiklikler biyolojik aktivitelerde belirgin farklılıklar gösterirler [2]. Bu sebeple imidazol ve benzimidazol halkalarını içeren bileşikler farmasötik ve biyolojik tedavi edici moleküllerin

geliştirilmesinde ayrıcalıklı olarak kullanılmaktadır [3,4]. Bu yapıları içeren ilaçların etki spektrumlarının geniş olması, oral biyoyararlanımlarının iyi olması ve toksisitelerinin düşük olması nedeniyle insan ve hayvanların tedavisinde kullanımı hala büyük bir yer tutmaktadır. Son zamanlarda bu moleküllerin antikanser ajanı olarak kullanımı oldukça yaygındır [5,6]. Bu nedenle imidazol ve benzimidazol halkası içeren bileşiklerin herhangi bir metotla kalitatif ve

kantitatif tayinlerinin yapılabilmesi oldukça önemlidir [7,8].

İlaç moleküllerinin en önemli fizikokimyasal parametrelerinden biri olan iyonlaşma/protonasyon sabiti (pK_a), protonlanmış ve nötral türün oranı olarak tanımlanan denge sabitidir [9] ve bu sabitin bilinmesi birçok uygulama ve araştırma alanında hayati öneme sahiptir [10,11]. pK_a değeri $\geq 7,4$ olan bir ilaç molekülü ele alındığında, fizyolojik pH'ta bu molekül net bir yüke sahiptir ve kan beyin bariyeri gibi lipofilik yapıdaki membranlardan çok yavaş şekilde geçer. Bu bağlamda incelenen ilaç molekülünün pK_a değerinin bilinmesi ile lipofilite ($\log P_{o/w}$) çözünürlük ($\log S_w$) gibi fizikokimyasal özellikler; biyolojik membranlar arasından ilaç molekülünün difüzyonu, molekülün kan-beyin bariyerinden geçişi ve hedef proteinlere bağlanması hakkında bilgi edinilir [12].

Uygulama yoluna ve etki alanlarına bağlı olarak ilaç molekülleri, hedef bölgelerine ulaşmak için bağırsak, deri ve kan-beyin bariyeri gibi çeşitli biyolojik membranları geçmek zorundadır. Bu biyolojik membranlardan ilaç moleküllerinin dağılması lipofilite ile ifade edilir. Lipofilite için literatürde en yaygın kullanılan indeks $\log P_{o/w}$ veya $\log D'$ 'dir [13,14].

İlaç/ilaç adayı moleküllerin önemli bir diğer fizikokimyasal özelliği olan çözünürlük ($\log S_w$), verilen çözücü/çözelti karışımında çözünebilir maksimum ilaç miktarı olarak tanımlanır. İlaç keşif çalışmalarının erken aşamalarından, ilaç formülasyonunun son aşamasına kadar çözünürlüğün bilinmesine ihtiyaç duyulmaktadır. İlaç moleküllerinin organik çözücülerde çözünürlüğünün bilinmesi geliştirilen sentez/ekstraksiyon ortamında gerekliken; sudaki çözünürlüğünün bilinmesi farmakolojik/toksikolojik aktivitelerini test etmek için çözelti hazırlamada gereklidir. Bunun yanında biyofarmasötik sınıflandırmada, oral veya parenteral çözelti olarak ilacın hazırlanmasına karar vermede yani ilaç geliştirmenin son basamağında da ilacın çözünürlük özelliğinden yararlanılmaktadır [15].

Son yıllarda Abraham tarafından önerilen Lineer Solvasyon Enerji İlişkisi (LSER) eşitliği (Eşitlik 1) alıkonma sürecinin tanımlanmasında ve farklı durgun fazların karakterizasyonunda iyi sonuçlar verdiği için yaygın şekilde kullanılmaktadır [16].

$$SP = c + eE + sS + aA + bB + vV \quad (1)$$

Bu eşitlikte çözünen özellikleri veya tanımlayıcıları olan E, aşırı molar kırılma ($(\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})/10$); S, dipolarite/polarlanabilirlik; A ve B, tüm H bağı asitliği ve bazlığı; V, McGowan'ın karakteristik hacmi, $(\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})/100$ olarak ifade edilmektedir.

Eşitlikteki regresyon katsayıları, durgun ve mobil faz arasındaki çeşitli moleküler etkileşimler arasındaki

farkları doğru şekilde yansıtır. Pozitif katsayılar sorumlu moleküler etkileşimlerin durgun fazda güçlü olduğunu ve alıkonmayı artırdığını gösterir. Negatif katsayılar sorumlu moleküler etkileşimlerin mobil fazda daha güçlü olduğunu gösterir ve bu alıkonmayı azaltır [16].

Parazitik helmantik enfeksiyonlar dünya çapında hastalık ve ölümlerin en önemli nedenleri arasındadır. Bu enfeksiyonların tedavisi için Dünya Sağlık Örgütü'nün zaruri ilaçlar listesinin anthelmintik ilaçlar sınıfında albendazol ve mebendazol bulunmaktadır. Albendazol (ABZ), metil N-(6-propilsülfanil-1H-benzimidazol-2-il) karbamat, tıpta ve veterinerlik uygulamalarında kullanılan, etkili, geniş spektrumlu aktiviteye sahip anthelmintik ajandır [17]. Albendazol, anthelmintik özelliğinin yanında anti-kanser ilacı olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Topraktan bulaşan helmint enfeksiyonlarına müdahalede kullanılan diğer bir benzimidazol karbamat türevi ilaç mebendazoldür. Mebendazol (MBZ) (metil N-(6-benzoil-1H-benzimidazol-2-il) karbamat, biyofarmasötik sınıflandırma sisteminde sınıf II'ye ait benzimidazol grubu anthelmintiktir. Mebendazolün son zamanlarda anti-kanser ilacı olarak kullanılmasına dair çalışmalar da rapor edilmiştir [18]. Astemizol, (ASZ) (1-[(4-florofenil) metil]-N-{1-[2-(4-metoksifenil) etil] piperidin-4-il}-1H-1,3-benzodiazol-2-amin), antihistaminik ilaç olarak geliştirilmesine rağmen transmembran protein olan *Eter a go-go 1* (*Eag1*) kanallarını [19] bloke ettiği, hastalarda kalp ritim bozukluğu ve kardiyak aritmiden kaynaklı ani ölümlere neden olduğu gerekçesiyle 1999'da piyasadan kaldırılmıştır [20]. Daha sonra *Ether à-go-go* (*Eag*), kanallarının çeşitli kanser hücrelerinde yüksek derecede ifade edildiği ve bu kanalların birinin bloke edilmesiyle kanserin çoğalmasının önlendiğinin araştırmacılar tarafından ortaya çıkartılması ile astemizol anti-kanser ilacı olarak günümüzde tekrar kullanılmaktadır [21]. Tiyabendazol (TBZ) (4-(1H-benzimidazol-2-il)-1,3-tiyazol) anthelmintik ajan olarak sentezlenen, evcil hayvanlarda gastrointestinal nematodlara karşı iyi etkinlik gösterdiği ortaya çıkınca da veterinerlikte uygulanmaya başlanan benzimidazol türevi diğer ilaçtır [22]. Bitkilerde bazı fungal hastalıklara karşı etkili olduğundan antifungal ajan olarakta kullanılmaktadır. İmidazol grubu ilaçlardan olan klotrimazol (KLZ), geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahip, toksik olmayan sentetik imidazoldür [23]. Klotrimazol, patojenik dermatofitlere, mayalara, Candida, Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton ve Malassezia'nın çeşitli türlerine karşı etki gösteren geniş spektrumlu antimikotik ajandır. Hem dermal enfeksiyonlara müdahalede hem de vulvovajinal kandidiyaza karşı etki gösterir. Diğer bir imidazol fonksiyonel grubu içeren bileşik metronidazol (MTZ); bakteri, protozoa ve parazitlerin neden olduğu enfeksiyonlara müdahalede kullanılan nitroimidazol sınıfı antibiyotiktir. Bakterilerin neden

olduğu mide ülserlerinin tedavisinde de bu ilacın uygulamaları mevcuttur [24].

Benzimidazol halkası ve histidin yapılarında bulunan imidazol halkası; ilaç sanayinde ciddi önem arz etmektedir. Bu yapıların anthelmintik, antifungal, antiviral ve anti-HIV gibi birçok farklı biyolojik aktiviteye sahip olması ve son zamanlarda antikanser ajan olarak kullanılması dikkatleri bu yapılar üzerine çekmektedir. Bu bağlamda ilgili makalede gerçekleştirilen bileşiklerin absorpsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon (ADME) özelliklerinin belirlenmesine katkı sağlayacak fizikokimyasal bir parametre olan pK_a değerinin tayininin yapılması en önemli özgülüktür. Ayrıca yine bu bileşiklerin $\log P_{o/w}$ ve $\log S_w$ değerleri de Abraham çözünen tanımlayıcıları [25] kullanılarak hesaplanmıştır. Literatürde az ve çok farklı sayısal veriler bulunduğundan bu fizikokimyasal parametrelerin tayini, analitik metod geliştirme çalışmalarında yol gösterici olacaktır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Deneyisel çalışmalarda kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır. o-fosforik asit ($o\text{-H}_3\text{PO}_4$), amonyum klorür (NH_4Cl), amonyak (NH_3), sodyum hidroksit (NaOH), asetonitril (ACN), potasyum hidrojen ftalat (KHP), Merck (Darmstadt, Germany) firmasından; urasil, albendazol, astemizol, mebendazol, tiyabendazol, klotrimazol ve metronidazol Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) firmasından temin edilmiştir.

2.2. Kromatografik koşullar

Bu çalışmada seçilen ABZ, MBZ, ASZ, TBZ, KLZ ve MTZ'nin kromatografik davranışı RPLC yöntemiyle, %40 ACN içeren ACN:H₂O (v/v) mobil faz ortamında gerçekleştirilmiştir. pH 2,5-8,0 aralığında mobil faz ortamına 25 mM $o\text{-H}_3\text{PO}_4$ ilave edilerek istenilen pH değeri 1 M NaOH ile ayarlanmıştır. Aynı şekilde pH 8,5-11,8 aralığındaki mobil faz ortamına ise 25 mM olacak şekilde katı NH_4Cl ilave edilerek, istenilen pH değeri derişik NH_3 ilavesiyle ayarlanmıştır.

Çalışma, 1 mL/dakika akış hızı ile 30°C kolon sıcaklığında yürütülmüştür. Bileşiklerin dalga boyları ABZ için 210 nm, ASZ için 205 nm, MBZ için 240 nm, TBZ için 205 nm, KLZ için 195 nm ve MTZ için 277 nm olarak belirlenmiştir.

2.3. Kullanılan cihazlar

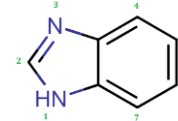
Bileşiklerin seçilen koşulda alıkonma davranışı ve pK_a değerlerinin belirlenmesinde, Shimadzu LC-VP marka (Shimadzu Technologies, Kyoto, Japan) Yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) cihazı kullanılmıştır. HPLC sisteminde, pompa (LC-20AD), kolon fırını (CTO-10AS), gaz giderme ünitesi (DGU-

20A₃) ve UV-vis dedektör (SPD-20A) bulunmaktadır. Çalışılan bileşiklerin izokratik elüsyonu Gemini NX C18 (250 × 3,0 mm I.D., 5 µm, Phenomenex, Torrance, CA) kolonda gerçekleştirilmiştir.

Mobil faz pH ölçümleri pH/iyon metre (Mettler Toledo MA 235, Schwerzenbach, Switzerland) ve Mettler Toledo Ag/AgCl kombine cam elektrot (In Lab 412) ile gerçekleştirilmiştir. Mobil faz pH'ı IUPAC kurallarına uygun şekilde, referans primer standart madde olarak kullanılan KHP'nin 0,05 molkg⁻¹ olacak şekilde, uygun miktarda ACN'de çözülmesiyle ayarlanmıştır [26].

3. Bulgular

Benzimidazol halka sistemi, 4,5 konumunda benzen halkasıyla birleşmiş imidazol halkası üzerinde iki tane azot atomu içeren, potansiyel farmakolojik özelliklere sahip, önemli bir heterosiklik yapıdır. Benzimidazol halka sistemindeki bu iki N atomu iki farklı yapıdadır. Üzerinde hidrojen atomu taşıyan 1 no'lu azot atomu "imino azotu" veya "pirol azotu", tersiyer yapıdaki 3 no'lu azot atomu ise "tersiyer azot" olarak adlandırılmaktadır (Şekil 1). İmino azotunun taşıdığı hidrojen atomuna da, "imino hidrojeni" denir [27].



Şekil 1. Benzimidazolün kimyasal yapısı [28]

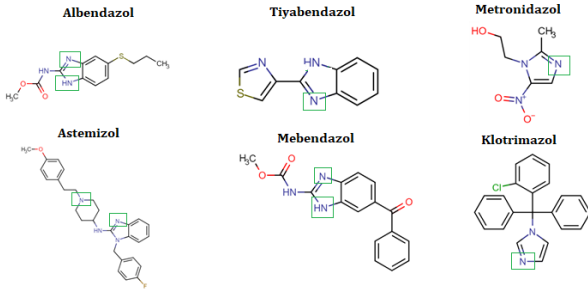
İmino hidrojeni taşıyan benzimidazoller zayıf bazik özelliğinin yanı sıra, zayıf asit özelliğe de sahip amfoter karakterde bileşiklerdir. Bazik karakterin asidik karakterden daha fazla olduğu benzimidazoller; bazik özelliği, tersiyer azot atomu sağlar. Asidik özelliği ise yapısındaki imino azotu üzerindeki hidrojeni vererek göstermektedirler. Benzimidazoller, elektron çekici gruplar ile sübtitüe edilirse asidik karakterleri artmaktadır [27, 29].

Bu bağlamda ilaç moleküllerinin pK_a değerlerini bilmek, verilen pH'ta çözelti içinde bileşiğin nötral veya iyonlaşmış formda olduğunu tanımlamaya yardımcı olur ve bu, ilaç çalışmalarında ve kataliz reaksiyonlarında yapı-aktivite ilişkilerinde oldukça önemlidir [30].

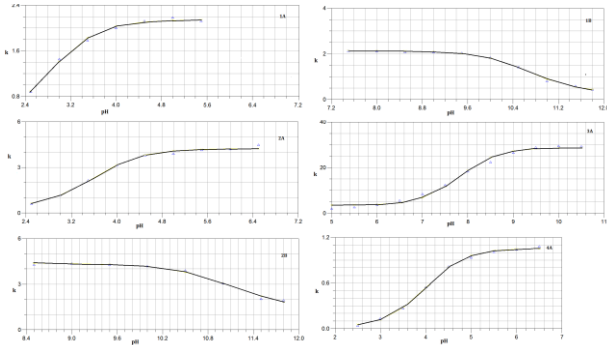
Bu çalışmada seçilen altı tane bileşiğin kimyasal yapısı ve belirlenen iyonlaşma/protonasyon sabitinin hangi N atomuna ait olduğu, Şekil 2'de gösterilmiştir [28].

Bu çalışmada bileşiklerin pK_a tayini %40 ACN içeren ACN:H₂O (v/v) ortamında ters faz sıvı kromatografik yöntemle gerçekleştirilmiştir. Her bir bileşiğe ait alıkonma faktörü (k) değerleri kullanılarak, pH-k grafikleri non-lineer regresyon (NLREG) programıyla [31] elde edilmiştir (Şekil 3, Şekil 4). NLREG programı

ile pK_a değerleri, nötral ve protonlanmış formun alıkonma faktörü değerleri, Tablo 1’de verilmiştir.



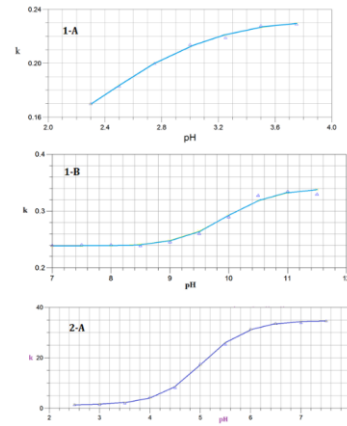
Şekil 2. Çalışılan bileşiklerin kimyasal yapıları ve iyonlaşma/protonasyon sabitlerinin belirlendiği N atomları [28].



Şekil 3. Benzimidazol grubunu içeren bileşikler için elde edilen NLREG grafikleri **1A)** MBZ pH 2,5-6,5; **1B)** MBZ pH 7,5-11,8; **2A)** ABZ pH 2,5-6,5; **2B)** ABZ pH 8,5-11,8; **3A)** ASZ pH 5,0-10,5; **4A)** TBZ pH 2,5-6,5

Çalışılan bileşiklerin bir kısmı suda çözünür özelliktedir bir kısmı da çözünmemektedir. Suda çözünür bileşikler HPLC kolonundan elue edilememiştir. Bu yüzden çalışma koşulu olarak ACN:H₂O ikili karışımı tercih edilmiştir. Literatürde bu koşula ait HPLC yöntemiyle elde edilmiş herhangi bir pK_a verisi bulunmamaktadır. ABZ için spektrofotometrik yöntemle Takács-Novák, vd.

tarafından pK_{a1} :3,594; pK_{a2} :11,125 olarak hesaplanmıştır [32]. MBZ için kapiler elektroforez yöntemiyle su ortamında Shalaeva vd. tarafından pK_a değerleri tayin edilmiştir. Bu değerler pK_{a1} :3,20; pK_{a2} :9,64 olarak verilmiştir [33]. Tsinman vd. tarafından ASZ'nin spektrofotometrik yöntemle pK_a değeri 8,31 olarak tayin edilmiştir [34]. TBZ için yine spektrofotometrik yöntemle Koner vd., tarafından pK_a değeri 4,60 olarak verilmiştir [35]. MTZ için literatürler incelendiğinde sadece pK_{a1} değerine ait veri vardır. pK_{a2} değerine ait hiçbir veri yoktur. Shalaeva vd. tarafından %30, %40, %50, %60 (v/v) metanol:su ortamında elde edilen pK_a değerlerin ortalaması 2,49 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmacılar aynı zamanda KLZ için su ortamındaki pK_a değerini 5,83 olarak hesaplamışlardır [33]. Bu bileşikler için literatür pK_a verilerinin deneysel pK_a değerlerine yakın olduğu görülmektedir. Değerler arasındaki farklılıkların sebebi çalışmada kullanılan çözücünün farklılığıdır.



Şekil 4. İmidazol grubunu içeren bileşikler için elde edilen NLREG grafikleri **1-A)** MTZ pH 2,30-3,75 **1-B)** MTZ pH 7,00-11,50; **2-A)** KLZ pH 2,50-7,50

Tablo 1. NLREG programı ile hesaplanan pK_a ve k değerleri

| Benzimidazol grubunu içeren bileşikler | | | | | |
|--|----------------------------------|--------------------------------|------------------|-------------------------------|-------------------|
| | $k_{H_2X^+}$ | k_{HX} | k_{X^-} | pK_{a1} | pK_{a2} |
| MBZ | 0,291 (0,174) | 2,146 (0,025) | 0,315 (0,041) | 2,814 (0,098) | 10,664 (0,043) |
| ABZ | 0,362 (0,172) | 4,275 (0,075) | 1,299 (0,207) | 3,594 (0,077) | 11,125 (0,097) |
| ASZ | k_{HX} 1,155 (0,543) | k_{X^-} 28,449 (0,804) | | pK_{a1} 7,686 (0,083) | |
| TBZ | $k_{H_2X^+}$ 0,023 (0,017) | k_{HX} 1,057 (0,011) | | pK_{a1} 3,996 (0,036) | |
| İmidazol grubunu içeren bileşikler | | | | | |
| | $k_{H_2X^+}$ | k_{HX} | k_{X^-} | pK_{a1} | pK_{a2} |
| MTZ | 0,108 (0,015) | 0,341 (0,005) | 0,234 (0,016) | 2,321 (0,010) | 9,945 (0,093) |
| KLZ | k_{HX} 1,365 (0,213) | k_{X^-} 34,672 (0,219) | | pK_{a1} 5,051 (0,018) | |

*Verilerin standart sapma değerleri parantez içinde verilmiştir.

İlaç uygulamalarında ilacın emilimi hakkında bilgi veren diğer fizikokimyasal parametre olan çözünürlük değerleri Abraham çözünen tanımlayıcıları (Tablo 2) kullanılarak hesaplanmıştır. Bileşiklerin su ortamındaki çözünürlüğü ($\log S_w$) ve ACN ortamındaki çözünürlüğü ($\log S_{ACN}$) Abraham çözünen tanımlayıcıları (Tablo 2) kullanılarak Eşitlik 2 ve 3 [36] ile hesaplanmıştır.

$$\log S_w = 0,395 - 0,955E + 0,320S - 1,155A + 3,255B - 0,785AB - 3,330V \quad (2)$$

$$\log S_{ACN} = 0,413 + 0,077E + 0,326S - 1,566A - 4,391B + 3,364V \quad (3)$$

Molekülün lipofilik ortama afinitesini gösteren, genellikle n-oktanol ve su arasında bileşiğin dağılım katsayısının logaritması ($\log P_{o/w}$) olarak tanımlanan ve temel fizikokimyasal parametrelerden biri olan lipofilite değeri ise Abraham çözünen tanımlayıcıları (Tablo 2) kullanılarak, Eşitlik 4'de [37] hesaplanmıştır.

$$\log P_{o/w} = 0,088 + 0,562E - 1,054S + 0,034A - 3,460B + 3,814V \quad (4)$$

Tablo 2. Çalışılan bileşiklerin Abraham çözünen tanımlayıcıları

| Bileşik | E | S | A | B | V | Ref. |
|---------|------|------|------|------|------|------|
| KLZ | 2,70 | 2,34 | 0,00 | 0,80 | 2,62 | [37] |
| MTZ | 1,12 | 1,75 | 0,31 | 0,86 | 1,19 | [37] |
| ABZ | 2,01 | 1,96 | 0,71 | 1,12 | 1,95 | [38] |
| ASZ | 3,10 | 2,70 | 0,13 | 1,64 | 3,56 | [38] |
| MBZ | 2,45 | 2,76 | 0,71 | 1,38 | 2,13 | [38] |
| TBZ | 1,93 | 1,88 | 0,41 | 0,87 | 1,40 | [39] |

Eşitlikler ve Abraham çözünen tanımlayıcıları kullanılarak hesaplanan lipofilite ve çözünürlük değerleri Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Bileşiklerin Abraham çözünen tanımlayıcıları kullanılarak hesaplanan $\log P_{o/w}$ ve $\log S_w$ değerleri

| Bileşik | $\log P_{o/w}$ | $\log S_w$ | $\log S_{ACN}$ |
|---------|----------------|------------|----------------|
| ABZ | 2,74 | -3,55 | 1,74 |
| ASZ | 6,90 | -8,24 | 6,10 |
| MBZ | 1,93 | -3,61 | 1,50 |
| TBZ | 1,53 | -2,48 | 1,42 |
| KLZ | 6,36 | -7,56 | 6,69 |
| MTZ | 0,45 | -1,13 | 0,81 |

Literatürde Abraham çözünen tanımlayıcıları kullanılarak hesaplanmış $\log P_{o/w}$ verisi bulunmamaktadır. Santaladchaiyakit ve Srijaranai tarafından ABZ MBZ ve MTZ için EPI suite v 4.1 programı ile sırasıyla $\log P$ değerleri 2,92, 2,44 ve -0,1 olarak hesaplanmıştır [40]. pH metrik yöntemle Box ve Comer tarafından ASZ için $\log P$ değeri 5,70 olarak tayin edilmiştir [41]. TBZ için ChemDraw Ultra Software Version 6.0.1 programı ile $\log P$ 1,58 olarak hesaplanmıştır [42]. KLZ için Brogi vd. QikProp programı ile $\log P$ değerini 5,39 olarak

hesaplamışlardır [43] Genel olarak literatürlerde kullanılan hesaplama programlarının farklılığı ve bir kısım verinin de deneysel çalışma olmasından dolayı $\log P$ değerleri arasında az da olsa farklılıklar görülmektedir.

$\log S$ değerlerinin değerlendirilmesinde Çözünmez < -10 < Zayıf < -6 < Orta < -4 < Çözünebilir < -2 < Çok < 0 < Oldukça çok çözünür skalası kullanılmaktadır. Bu skala yardımıyla hesaplanan değerler yorumlandığında ASZ ve KLZ'nin su ortamında çözünmediği; ABZ ve MBZ'nin kısmen çözündüğü; MTZ ve TBZ'nin su ortamında iyi çözündüğü sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada hesaplanan verilerin genel olarak literatürdeki değerlerle uyumlu olduğu görülmektedir [40, 41, 43]. Ayrıca bileşiklerin asetonitril ortamındaki çözünürlüklerine dair hiçbir veri bulunmamaktadır. Bu yüzden elde edilen sonuçlar karşılaştırılamamıştır.

4. Tartışma ve Sonuç

İlaç analizlerinde anahtar bir fizikokimyasal parametre olarak nitelendirilen pK_a değeri bu çalışmada benzimidazol ve imidazol halkasını içeren altı bileşik için %40 ACN içeren ACN:H₂O (v/v) ikili karışımında RPLC yöntemiyle tayin edilmiştir. Elde edilen bu veriler, seçilen çözücü ortamı ve yöntem bakımından yapılmış ilk çalışmadır. Bunun yanı sıra ilaç geliştirme aşamasında en az pK_a kadar önemli olan $\log P$ ve $\log S$ değerleri de Abraham çözünen tanımlayıcıları kullanılarak hesaplanmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı (ÖYP-05234-Dr-2013) ve Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (5020-ÖYP-D2-17) tarafından desteklenmiştir.

Kaynakça

- [1] Gaba, M., Singh, S., Mohan, C. 2014. Benzimidazole: an Emerging Scaffold for Analgesic and Anti-Inflammatory Agents. European Journal of Medicinal Chemistry, 76, 494-505.
- [2] Vitaku, E., Smith, D.T., Njardarson, J.T. 2014. Analysis of the Structural Diversity, Substitution Patterns, and Frequency of Nitrogen Heterocycles among U.S. FDA Approved Pharmaceuticals. Journal of Medicinal Chemistry, 57, 10257-10274.
- [3] Anand, K., Wakod, S. 2017. Development of Drugs Based on Benzimidazole Heterocycle: Recent Advancement and Insights. International Journal of Chemical Studies, 5(2), 350-362.

- [4] Verma, A., Joshi, S., Singh, D. 2013. Imidazole: Having Versatile Biological Activities. *Journal of Chemistry*, 2013, 1-12.
- [5] Ali, I., Lone, M.N., Aboul-Enein, H.Y. 2017. Imidazoles as Potential Anticancer Agents. *Medicinal Chemistry Communications*, 8, 1742-1773.
- [6] El Rashedy, A.A., Aboul-Enein, H.Y. 2013. Benzimidazole Derivatives as Potential Anticancer Agents. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(3), 399-407.
- [7] Wan, H., Holmén, A.G., Wang, Y., Linbeg, W., Englund, M., Någård, M.B., Thompson, R.A. 2003. High-Throughput Screening of pK_a Values of Pharmaceuticals by Pressure-Assisted Capillary Electrophoresis and Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 17(23), 2639-2648.
- [8] Brown, T.N., Mora-Diez, N. 2006. Computational Determination of Aqueous pK_a Values of Protonated Benzimidazoles (Part 2). *Journal of Physical Chemistry B*, 110(41), 20546-20554.
- [9] Rupp, M., Körner, R., Tetko, I.V., 2011. Predicting the pK_a of Small Molecules. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 14, 307-327.
- [10] Barbosa, J., Bergés, R., Sanz-Nebot, V., 1996. Solvatochromic Parameter Values and pH in Aqueous-Organic Mixtures Used in Liquid Chromatography Prediction of Retention of a Series of Quinolones. *Journal of Chromatography A*, 719(1), 27-36.
- [11] Demiralay, E.C., Alsancak, G., Ozkan, S.A. 2009. Determination of pK_a Values of Nonsteroidal Antiinflammatory Drug-Oxicams by RP-HPLC and Their Analysis in Pharmaceutical Dosage Forms. *Journal of Separation Science*, 32(17), 2928-2936.
- [12] Sun, N., Avdeef, A. 2011. Biorelevant pK_a (37°C) Predicted from the 2D Structure of the Molecule and Its pK_a at 25°C. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56, 173-182.
- [13] Wiechers, J.W. 1989. The Barrier Function of the Skin in Percutaneous Absorption of Drugs Relation to Percutaneous Absorption of Drugs. *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, 11, 185-198.
- [14] Testa, B., Crivori, P., Reist, M., Carrupt, P-A. 2000. The Influence of Lipophilicity on the Pharmacokinetic Behavior of Drugs: Concepts and Examples. *Perspectives in Drug Discovery and Design*, 19, 179-211.
- [15] Jouyban, A., Fakhree, M.A.A., Shayanfar, A. 2008. Solubility Prediction Methods for Drug/Drug Like Molecules. *Recent Patents on Chemical Engineering*, 1, 220-231.
- [16] Abraham, M.H., Rosés, A. 1994. Hydrogen Bonding. 38. Effect of Solute Structure and Mobile Phase Composition on Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatographic Capacity Factors. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 7, 672-684.
- [17] Cook, G.C. 1990. Use of Benzimidazole Chemotherapy in Human Helminthiasis: Indications and Efficacy. *Parasitology Today*, 6 (4), 133-136.
- [18] Sasaki, J.I., Ramesh, R., Chada, S., Gomyo, Y., Roth, J.A., Mukhopadhyay, T. 2002. The Anthelmintic Drug Mebendazole Induces Mitotic Arrest and Apoptosis by Depolymerizing Tubulin in Non-Small Cell Lung Cancer Cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 1(13), 1201-1209.
- [19] Ludwig, J., Terlau, H., Wunder, F., Bruggemann, Pardo, L.A., Marquardt, A., Stuhmer, W., Pongs, O. 1994. Functional Expression of a Rat Homologue of the Voltage Gated ether á go-go Potassium Channel Reveals Differences in Selectivity and Activation Kinetics between the Drosophila Channel and Its Mammalian Counterpart. *The EMBO Journal*, 13(19), 4451-4458.
- [20] Izumi-Nakaseko, H., Nakamura, Y., Cao, X., Wada, T., Ando, K., Sugiyama, A. 2016. Possibility as an Anti-Cancer Drug of Astemizole: Evaluation of Arrhythmogenicity by the Chronic Atrioventricular Block Canine Model. *Journal of Pharmacological Sciences*, 131, 150-153.
- [21] Garcia-Quiroz, J., Camacho, J. 2011. Astemizole: an Old Anti-Histamine as a New Promising Anti-Cancer Drug. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 11(3), 307-314.
- [22] Davidse, L.C., Flach, W. 1978. Interaction of Thiabendazole with Fungal Tubulin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- General Subjects*, 543(1), 82-90.
- [23] Abdel-Moety, E.M., Khattab, F.I., Kelani, K.M., AbouAl-Alamein, A.M. 2002. Chromatographic Determination of Clotrimazole, Ketoconazole and Fluconazole in Pharmaceutical Formulations. *II Farmaco* 57, 931-938.
- [24] Kümmerer, K., Al-Ahmad, A., Mersch-Sundermann, V. 2000. Biodegradability of Some Antibiotics, Elimination of the Genotoxicity and Affection of Wastewater Bacteria in a Simple Test. *Chemosphere*, 40, 701-710.
- [25] Abraham, M.H. 1993. Scales of Solute Hydrogen-Bonding: Their Construction and Application to Physicochemical and Biochemical Processes. *Chemical Society Reviews*, 22, 73-83.
- [26] Rondinini, S., Mussini, P.R., Mussini, T. 1987. Reference Value Standards and Primary Standards for pH Measurements in Organic Solvents and Water+Organic Solvent Mixtures of

- Moderate to High Permittivities. *Pure and Applied Chemistry*, 59, 1549-1560.
- [27] 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.
- [28] Chemicalize, 2019. Kimyasal Hesaplama <https://chemicalize.com/#/calculation> (Erişim Tarihi: 11.01.2019).
- [29] Wright, J.B. 1951. The Chemistry of the Benzimidazoles. *Chemical Reviews*, 48(3), 397-541.
- [30] Seybold, P.G., Shields, G.C. 2015. Computational Estimation of pKa Values. *WIREs Computational Molecular Science*, 5, 290-297.
- [31] Sherrod, P.H. 1993. NLREG version 4.0. <http://www.nlreg.com/> (Erişim tarihi: 21.01.2019).
- [32] Takács-Novák, K., Jozan, M., Szasz, G. 1995. Lipophilicity of Amphoteric Molecules Expressed by the True Partition Coefficient. *International Journal of Pharmaceutics*, 113 (1), 47-55.
- [33] Shalaeva, M., Kenseth, J., Lombardo, F., Bastin, A. 2008. Measurement of Dissociation Constants (pKa Values) of Organic Compounds by Multiplexed Capillary Electrophoresis Using Aqueous and Cosolvent Buffers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(7), 2581-2606.
- [34] Tam, K.Y., Avdeef, A., Tsinman, O., Sun, N. 2010. The Permeation of Amphoteric Drugs through Artificial Membranes – An in Combo Absorption Model Based on Paracellular and Transmembrane Permeability. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(1), 392-401.
- [35] Koner, A.L., Ghosh, I., Saleh, N., Nau, W.M. 2011. Supramolecular Encapsulation of Benzimidazole derived Drugs by Cucurbit[7]uril. *Canadian Journal of Chemistry*, 89, 139-147.
- [36] Stovall, D.M., Givens, C., Keown, S., Hoover, K.R., Rodriguez, E., Acree Jr Jr, W.E., Abraham, M.H. 2005. Solubility of Crystalline Nonelectrolyte Solutes in Organic Solvents: Mathematical Correlation of Ibuprofen Solubilities with the Abraham Solvation Parameter Model. *Physics and Chemistry of Liquids*, 43(3), 261-268.
- [37] Lombardo, F., Shalaeva, M.Y., Tupper, K.A., Gao, F., Abraham, M.H. 2000. ElogPoct: A Tool for Lipophilicity Determination in Drug Discovery. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43, 2922-2928.
- [38] Abraham, M.H., Rupert P. Austin, R.P. 2012. The Effect of Ionized Species on Microsomal Binding. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 47, 202-205.
- [39] Abraham, MH, Gola, JMR, Ibrahim A, William, E Acree, Jr., Liu, X. 2014. The Prediction of Blood-Tissue Partitions, Water-Skin Partitions and Skin Permeation for Agrochemicals. *Pest Management Science*. 70(7), 1130-1137.
- [40] Santaladchaiyakit, Y., Srijaranai, S. 2012. A Simplified Ultrasound-Assisted Cloud-Point Extraction Method Coupled with High Performance Liquid Chromatography for Residue Analysis of Benzimidazole Anthelmintics in Water and Milk Samples. *Analytical Methods*, 4, 3864-3873.
- [41] Box, K.J., Comer, J.E.A. 2008. Using Measured pKa, LogP and Solubility to Investigate Supersaturation and Predict BCS Class. *Current Drug Metabolism*, 9, 869-878.
- [42] ChemDraw Ultra Software Version 6.0.1, 2007. CambridgeSoft, 100 Cambridge Park Drive, MA 02140, USA.
- [43] Brogi, S., Brindisi, M., Joshi, B.P., Coccone, S.S., Parapini, S., Basilico, N., Novellino, E., Campiani, G., Gemma, S., Butin, S. 2015. Exploring Clotrimazole-Based Pharmacophore: 3D-QSAR Studies and Synthesis of Novel Antiplasmodial Agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25 (22), 5412-5418.