

Yeni Benzimidazol Bileşiklerinin Sentezi, Antioksidan ve Antiürez Aktiviteleri

Hakan AKGÜN¹, Taner İlker GÜMRÜKÇÜOĞLU², Hakan BEKTAŞ³,
Bahar Bilgin SÖKMEN⁴

Araştırma Makalesi/Research Article
DOI: 10.59312/ebshhealth.1326437

Geliş Tarihi / Received: 12.07.2023
Kabul Tarihi / Accepted: 30.07.2023

ÖZET

Bu çalışmada, yeni bir seri benzimidazol türevi (1-5) sentezlenerek antioksidan ve antiürez aktiviteleri spektrofotometrik metotlarla incelendi. Sentezlenen yeni benzimidazol bileşiklerinin antioksidan aktiviteleri, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikal süpürme aktivitesi, ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu) radikal süpürme aktivitesi, antiürez aktivite tayini ve demir indirgeme gücü gibi metotlarla tayin edildi. Antioksidanlar, reaktif oksijen çeşitlerinin meydana gelmesinin önlemek ve bunların oluşturmuş olduğu tahribatı engellemek için vücutta var olan bir tür savunma mekanizmalarıdır. Serbest radikalleri nötralize etmek amacıyla kullanılırlar. Antioksidan aktivitesinin kanıtı açıkça bizlere vücutta oluşabilecek hastalıklara karşı savunma mekanizmasının varlığını sergilemektedir. Elde edilen deneysel bulgulardan, benzimidazol bileşiklerinden özellikle 4 numaralı bileşiğin antioksidan aktivite değerlerinin diğer bileşiklere oranla daha yüksek olduğu saptandı. Tüm test bileşikleri, standart ürez inhibitöründen (tiyoüre) daha yüksek aktivite gösterdi. En yüksek ve en düşük antiürez aktivite gösteren bileşikler sırasıyla 1 ve 5 numaralı bileşikler olarak belirlendi.

Anahtar Kelimeler: ABTS aktivitesi, Antioksidan aktivite, Antiürez aktivite, Benzimidazol türevleri, Demir indirgeme gücü, DPPH aktivitesi

Synthesis, Antioxidant and Antiurease Activities of Novel Benzimidazole Compounds

ABSTRACT

In this study, a new series of benzimidazole derivatives (1-5) were synthesized and their antioxidant and antiurease activities were investigated by spectrophotometric methods. Antioxidant activities of synthesized new benzimidazole compounds, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) free radical scavenging activity, ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) radical scavenging activity were determined by methods such as antiurease activity assay and iron reducing power. Antioxidants are a kind of defense mechanism in the body to prevent the formation of reactive oxygen species and to prevent the damage they have caused. They are used to neutralize free radicals. Evidence of antioxidant activity clearly shows us that there is a defense mechanism against diseases that may occur in the body. From the experimental findings obtained, the antioxidant activity values of benzimidazole compounds, especially the number 4 compound, were found to be higher than the other compounds. All test compounds showed higher activity than the standard urease inhibitor (thiourea). Compounds with the highest and lowest antiurease activity were determined as compounds 1 and 5, respectively.

Keywords: ABTS activity, Antioxidant activity, Antiurease activity, Benzimidazole derivatives, Iron reducing power, DPPH activity

¹ Doktora Öğrencisi, Giresun Üniversitesi. E-posta: hakan.akgun@giresun.edu.tr, ORCID :0000-0003-3586-4194

² Öğr. Gör., Gümüşhane Üniversitesi Kürtün Meslek Yüksekokulu. ORCID: 0000-0002-9453-602X

³ Prof. Dr., Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü. ORCID: 0000-0002-5202-7323

⁴ Prof. Dr., Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü. ORCID: 0000-0003-3004-8178

GİRİŞ

Benzimidazoller, yapısında iki farklı azot atomu bulunan ve imidazol halkasının 4 ve 5. konumlarına benzen molekülünün bağlanmasıyla oluşan bileşiklerdir. Benzimidazol yapısında hidrojen atomu taşıyan “imino azotu” veya “pirol azotu” ve tersiyer yapılı “piridin azotu” veya “tersiyer azot” olmak üzere iki azot atomu bulunmaktadır. İmino azotunun taşıdığı hidrojen atomuna ise “imino hidrojeni” denir (Hoffmann, 1953).

Benzimidazol bileşikleri ve türevleri, bakteri ve maya gelişimini inhibe etme yeteneğine sahiptir. Bu özelliklerinin yanı sıra, benzimidazol bileşikleri antifungal, antialerjik, antihelmintik, antineoplastik, antihistaminik, vazodilatör, lokal analjezik, spazmotik gibi farklı biyolojik aktivite göstermektedir (Demirayak, 1985; Desai & Desai, 2006; Güven, 2000).

Büyük bir hızla gelişmekte olan ve aynı zamanda sürekli yenilenen teknoloji, radyasyon, çevresel kirlilik, tarımsal ilaçlar, ağır metaller ve canlı hücrelerde gerçekleşen oksijen metabolizması şeklinde çok çeşitli faktörler insan vücudunda kaçınılmaksızın serbest radikallerin oluşmasına yol açmaktadır. Serbest radikaller, oksijenin çok reaktif olduğu formlarıdır. Bu yüzden insan vücudundaki canlı hücrelerini tahribine neden olmaktadır. Dolayısıyla karaciğer tahribatı, kanser, kalp ve damar rahatsızlıkları, diyabet gibi çeşitli hastalıklara yol açmaktadır. Bu çeşitli rahatsızlıkların tedavisi için ilk olarak serbest radikallerin kötü etkilerini ortadan kaldırarak rahatsızlıkların oluşumunu engellemekten geçmektedir (Kasnak & Palamutoğlu, 2015).

Üreaz, hepatik ensefalopati, hepatik koma ürolitiazis, piyelonefrit, amonyak ve üriner kateter kabuklaşmasının patogeneğinde yer alır (Mobley vd., 1995). *Helicobacter pylori* tarafından indüklenen patolojilerin de önemli bir nedenidir çünkü bu, bakterilerin midenin düşük pH'ında hayatta kalmasına izin verir ve dolayısıyla peptik ve mide ülserlerinin üretilmesinde önemli bir rol oynar (Mobley & Hausinger, 1989). Yakın geçmişte, çevresel sorunları azaltmak ve bitkiler tarafından üretilen nitrojen alımını ve sağlık sorunlarını azaltmak için üreaz inhibitörleri olarak bir dizi bileşik önerilmiştir (Amtul vd., 2004). Son yıllarda imidazoller, fosfordiamidatlar ve hidroksamik asit türevleri gibi birçok üreaz inhibitörü araştırılmıştır, ancak bu bileşiklerin çoğu in vivo kullanımlarına izin vermeyecek kadar kararsız veya toksiktir. Bu nedenle, ümit verici aktivite seviyelerine sahip yeni üreaz inhibitörleri için araştırma halen devam etmektedir (Amtul vd., 2002).

Ayrıca benzimidazol türevleri ile ilgili birçok biyolojik aktivite tanımlanmıştır: antelmintik (Stuchlíková vd., 2016), antiüreaz (Baltas vd., 2016), antimikrobiyal (Fang vd., 2016), sitotoksik özellikler (Marinelli vd., 2016), antitümör aktivite (Castillo vd., 2016; Kahveci vd., 2013), antibakteriyel aktivite (Strelciunaite vd., 2016), anti-MRSA ve anti-VRE ajanlar (Göker vd., 2016), antikanser ajanlar (Chhabra vd., 2016), antiviral ajanlar (Eldebss vd., 2016) ve anti tüberküloz aktivite (Chandrasekera vd., 2015).

Bu nedenle, farklı fonksiyonel gruplar içeren yeni benzimidazol türevlerinin preparasyonları, sentetik bilim insanlarının artan ilgisini çekmektedir. Bu çalışmada yeni bir seri benzimidazol türevi sentezlenerek antioksidan ve antiürez aktivite araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

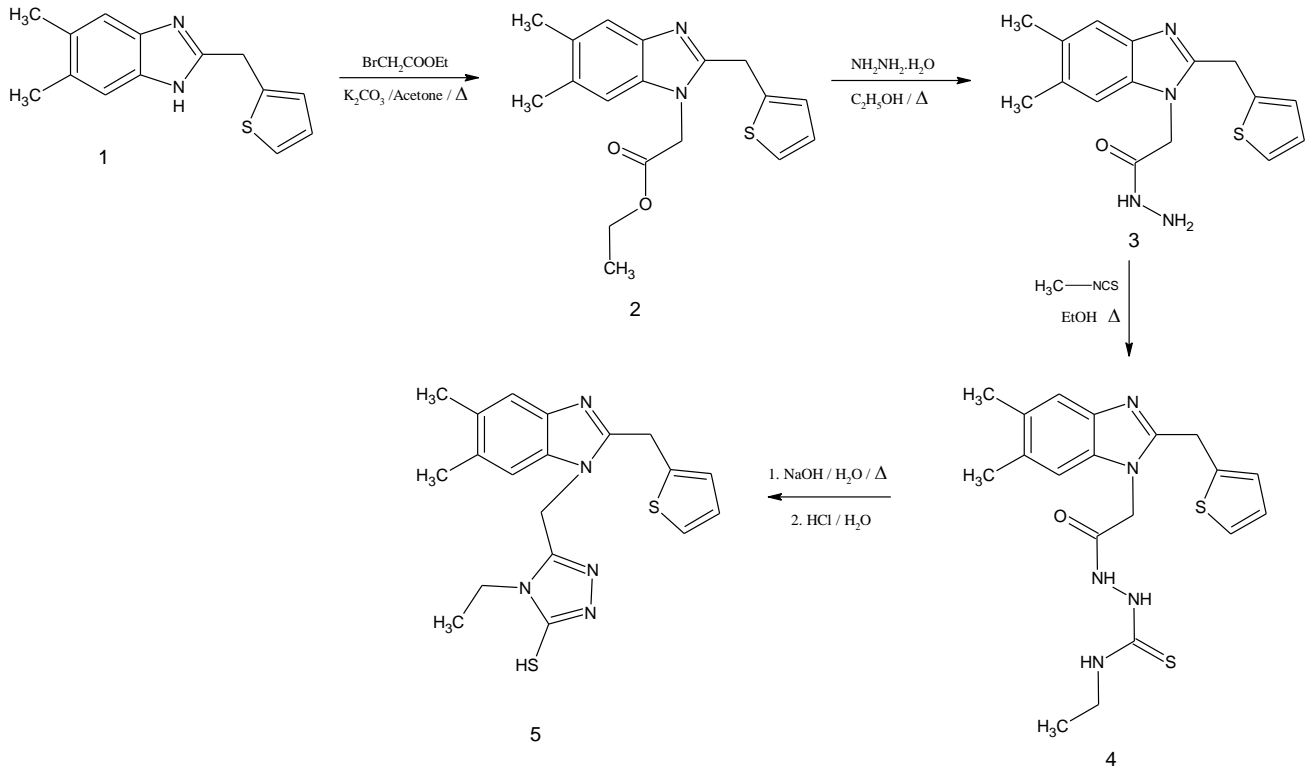
Gereç

Sentezlenen orijinal bileşiklerin yapı aydınlatmasında NMR verileri için Bruker AVANCE III 400 MHz NMR Spektrometre cihazı, kütle spektrometresi için Agilent LC/MS –TOF Spektrofotometre cihazı ve erime noktası tayini için Optimelt dijital erime noktası tayini cihazı kullanılmıştır.

Bu çalışmada antioksidan aktivite absorbans ölçümleri için Shimadzu UV Mini-1240 seri nolu UV-VIS Spektrofotometre cihazı kullanıldı. Chiltern Hotplate HS 31 marka manyetik karıştırıcı, Butech marka pH metre, Velp Scientifica marka vorteks, Sartorius marka hassas terazi, Memmert marka çalkalamalı su banyosu, Selectra marka sonik su banyosu, santrifüj için Kubota 4200 markalı cihazlar kullanılarak çalışma tamamlandı.

Yöntem

Hedef bileşiklerin elde edilmesi için sentez stratejileri Şekil 1’de gösterilmektedir.



Şekil 1. Yeni benzimidazol türevlerinin sentetik yolu

5,6-dimetil-2-(2-tiyofen-metil)-1H-benzimidazol sentezi (1)

1 nolu başlangıç bileşiği 4,5-dimetil-*o*-fenilendiamin bileşiğın, karşılığı iminoester hidroklorürle reaksiyonu sonucu literatürdeki yöntem esas alınarak yapılmış ve yapısı aydınlatılmıştır (Emre vd., 2014). Verim: 3,24 % 93, e.n: 145-146 °C, ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) , δ, ppm: 2.28 (s, 6H, 2CH₃), 4.32 (s, 2H, CH₂), 6.97 (t, 2H, Ar-H), 7.25 (s, 2H, Ar-H), 7.38 (t, 1H, Ar-H), 12.09 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ, ppm: 20.41 (2CH₃), 29.76 (CH₂), ArC: [125.41 (C), 126.47 (2C), 127.38 (2C), 130.17 (3C), 140.17 (2C)], 152.17 (C=N). LC-MS, m/z: 370,21 [M + H]⁺.

Ethyl [5,6-dimetil-2-(2-tiyofen-metil)-1H-benzimidazol-1-yl]asetat sentezi (2)

0,01 mol 1 bileşiği ile ekivalent molde 0,01 mol etilbromoasetat ve 30 mL aseton 50 mL'lik balonda 4,5 saat geri soğutucu altında reflaks sonrası deney bitirildi. Elde edilen karışıma su eklendi, çöken beyaz renkli katı ürün süzöldü ve devamında aseton-su (1:1) karışımından kristallendirilerek saflaştırıldı. Vakum altında kurutuldu ve 2 bileşiği denildi. Verim: 3,02 g, % 92 e.n: 120-121 °C, ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) , δ, ppm: 1.16 (t, 3H, CH₃), 2.29 (s, 6H, 2CH₃), 4.04 (q, 2H, CH₂), 4.44 (s, 2H, CH₂), 5.11 (s, 2H, CH₂), 6.94 (t, 2H, Ar-H), 7.21 (s, 1H, Ar-H), 7.38 (t, 2H, Ar-H). ¹³C-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ, ppm: 14.41 (CH₃), 20.55 (2CH₃), 28.03 (CH₂), 44.92 (CH₂), 61.58 (CH₂), ArC: [110.70 (C), 119.33 (C), 125.77 (C), 126.70 (C), 127.12 (C), 130.38 (C), 131.13 (C), 135.10 (C), 138.20 (C), 141.18 (C)], 152.50 (C=N), 168.30 (C=O). LC-MS, m/z: 330,14 [M + H]⁺.

2-[5,6-dimetil-2-(2-tiyofen-metil)-1H-benzimidazol-1-yl]aseto hidrazit sentezi (3)

2 bileşiğinden 0,01 mol, 0,03 mol üç katı olacak şekilde hidrazin hidrat ile 20 mL mutlak etanol 50 mL'lik reaksiyon balonunda 4,5 saat süre ile reflaks edildikten sonra reaksiyon TLC ile kontrolü sağlanarak deney bitirildi. Bir gece 0°C'de buzdolabında bekletildi ve maddenin tamamının çöktüğü gözlemlendikten sonra ürün süzölüp alındı. Etil alkolle yıkanarak saflaştırıldı ve vakum altında kurutuldu. Elde edilen saf bileşik 3 nolu bileşik denilerek tanımlandı. Verim: 2,52 g, % 80 e.n: 253-254 °C, ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) , δ, ppm: 2.29 (s, 6H, 2CH₃), 4.33 (s, 2H, CH₂), 4.44-4.61 (s, 2H, NH₂), 4.75-5.11 (s, 2H, NCH₂), 6.96 (m, 2H, Ar-H), 7.19 (s, 1H, Ar-H), 7.34 (s, 1H, Ar-H), 7.39 (s, 1H, Ar-H), 8.77-9.49 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ, ppm: 20.54 (2CH₃), 28.51 (CH₂), 44.85 (CH₂), ArC: [110.62 (C), 119.29 (C), 125.63 (C), 126.58 (C), 127.23 (C), 130.20 (C), 130.88 (C), 134.52 (C), 139.36 (C), 141.07 (C)], 152.76 (C=N), 166.47 (C=O). LC-MS, m/z: 316,13 [M + H]⁺.

2-[[5,6-dimetil-2-(2-tiyofen-metil)-1H-benzimidazol-1-yl]asetil]-N-etilhidrazin karbotiyo amit sentezi (4)

0,01 mol 3 bileşiği üzerine yine 0,01 mol etilizotiyosiyanat ve 30 mL mutlak etanol ilave edilerek 100 mL'lik balon içerisinde 2 saat reflaks edilip, deney sonlandırıldıktan sonra buzdolabında 0°C'de bir gece bekletildi ve elde edilen madde süzölüp alındı. Madde DMSO-su (1:1)'dan kristallendirildi ve vakum altında kurutuldu. Elde edilen ürün 4 olarak belirlendi. Verim: 3,29 g, % 82

e.n: 223-224 °C, ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ, ppm: 1.14 (t, 3H, CH₃), 2.30 (s, 6H, 2CH₃), 3.58 (m, 2H, CH₂), 4.36-4.42 (s, 2H, CH₂), 4.88 (s, 2H, CH₂), 6.98 (m, 2H, Ar-H), 7.13,7.23 (s, 1H, Ar-H), 7.35-7.41 (m, 1H, Ar-H), 8.09 (s, 1H, Ar-H), 9.28 (s, 1H, NH), 9.49,9.66 (s, 1H, NH), 10.24 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ, ppm: 14.92 (CH₃), 20.40 (2CH₃), 28.11 (CH₂), 38.96 (DMSO+CH₂), 44.86 (CH₂) ArC: [110.81 (C), 119.27 (C), 125.62 (C), 126.63 (C), 127.29 (C), 130.29 (C), 130.95 (C), 134.54 (C), 139.28 (C), 141.12 (C)], 152.68 (C=N), 166.93 (C=O), 178.12 (C=S). LC-MS, m/z: 403,15 [M + H]⁺.

5-[[5,6-dimetil-2-(2-tiyofen-metil)-1H-benzimidazol-1-yl]metil]-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol sentezi (5)

0,01 mol **4** bileşiği 0,01 mol metilizotiyosyanat ile 40 mL saf etil alkol içerisinde 100 mL'lik balonun içinde 4 saat reflaks edildi. Reaksiyon TLC yardımıyla kontrol edilip bitirildi ve çöken katı madde süzülerek alındı. Elde edilen ürün etil alkolden saflaştırıldı. Vakum altında kurutuldu ve **5** bileşiği denilerek belirlendi. Verim: 3,26 g, % 84 e.n: 242-243 °C, ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ, ppm: 1.07 (t, 3H, CH₃), 2.29 (s, 6H, 2CH₃), 3.96 (q, 2H, CH₂), 4.47 (s, 2H, CH₂), 5.63 (s, 2H, N-CH₂), 6.90-6.92 (m, 2H, Ar-H), 7.27 (s, 1H, Ar-H), 7.34-7.38 (m, 2H, Ar-H), 13.57 (s, 1H, SH). ¹³C-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ, ppm: 13.47 (CH₃), 20.29 (CH₃), 20.56 (CH₃), 28.01 (CH₂), 38.95 (CH₂), 4.60 (DMSO-db+ CH₂), ArC: [110.81 (C), 119.43 (C), 125.67 (C), 126.64 (C), 127.06 (C), 130.64 (C), 131.36 (C), 134.34 (C), 139.09 (C), 141.02 (C)], 148.18 (Triazol- C₃), 152.54 (C=N), 167.44 (Triazol- C₅). LC-MS, m/z: 385,14 [M + H]⁺.

Antioksidan Aktivite Tayini

Yeni sentezlenen benzimidazol türevlerinin biyolojik aktivite tayini için önce dimetil sülfoksitte (DMSO) 1 mg/mL konsantrasyondaki stok çözeltileri hazırlandı. Daha sonra, yine aynı çözücü kullanılarak farklı konsantrasyonlara seyreltildi.

DPPH Radikal Giderme Aktivitesi Tayini

DPPH çözeltisi, 20 mg/L (metanolde) konsantrasyonda günlük olarak hazırlandı. 1,5 mL DPPH çözeltisinin üzerine belli bir konsantrasyon aralığında (50-200 µg/mL) hazırlanan benzimidazol türevlerinden 0,75'er mL ilave edildi. Standart olarak, Bütillendirilmiş Hidroksi Toluen (BHT) kullanıldı. Bu şekilde hazırlanan örnek, kontrol ve standart tüpleri vorteks cihazında karıştırılarak 30 dakika karanlıkta bekledikten sonra 517 nm'de UV'de kör deneme olan metanole karşın absorbans verileri belirlendi (Brand-Williams vd., 1995). Tüm ölçümler üç kez yapıldı ve ortalaması alındı. DPPH radikal giderme aktiviteleri aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı:

$$\text{DPPH radikal giderme aktivitesi (\%)} = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

(1)

A₀: Kontrol denemenin absorbanı

A₁: Örnek absorbanı

Antioksidan aktivite değerleri, %50 inhibisyona neden olan standart (ya da örnek) konsantrasyonu olan IC₅₀ olarak ifade edildi.

ABTS Radikal Giderme Aktivitesi Tayini

7,4 mM ABTS ve 2,6 mM potasyum persülfat 1:1 oranında mL karıştırılarak ve 14 saat oda sıcaklığında bekletildi, daha sonra karışımın üzerine 60 mL metanol eklenerek spektrofotometrede metanole karşı 734 nm'de absorban değeri okundu (Absorban değeri $1,1 \pm 0,02$). Bu metanollü ABTS çözeltisi, günlük hazırlandı. Metanollü ABTS çözeltisinden 2850 µL alınıp, farklı konsantrasyonda hazırlanmış (100-400 µg/mL) benzimidazol bileşiklerinin her birinden 150'şer µL üzerine ilave edildi. Standart olarak, Bütillendirilmiş Hidroksi Toluen (BHT) kullanıldı. Bu şekilde hazırlanan örnek, kontrol ve standart tüpleri oda sıcaklığında 2 saat bekletildikten sonra UV cihazında'da 734 nm'de kör deneme metanole karşı absorban değerleri okundu (Arnao vd., 2001). Tüm ölçümler üç kez yapıldı ve ortalaması alındı. ABTS radikal giderme aktiviteleri aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı:

$$\text{ABTS radikal giderme aktivitesi (\%)} = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

(2)

A₀: Kontrol denemenin absorbanı

A₁: Örnek absorbanı

Antioksidan aktivite değerleri, %50 inhibisyona neden olan standart (ya da örnek) konsantrasyonu olan IC₅₀ olarak ifade edildi.

Antiürez Aktivite Tayini

Kompozitlerin antiürez koşullandırması, literatüre uygun olarak spektrofotometrik olarak ölçüldü (Van Slyke & Archibald, 1944). Kısaca, 16 mg/mL konsantrasyonda (0,1 M, pH 6,8 fosfat tamponunda) 500 µL ürez solüsyonu (Jack bean), 500 µL standart (Thiourea) ve numunelere ($1,0 \times 10^{-2}$ - $1,0 \times 10^{-5}$ µg/mL) eklendi. Tepki karışımı, oda sıcaklığında 15 dakika süreyle inkübe edildi. Daha sonra karışıma 400 µL fenol kırmızısı solüsyonu (üre-fosfat tamponunda, pH: 6.8) eklendi. Kör olarak, Ph 6.8 ve 0,1 M üre-fosfat tamponu kullanıldı. Tüm bileşiklerin absorban değerleri 570 nm dalga boyunda ölçüldü. Standart ürez inhibitörü için tiyüre kullanıldı. Tüm ölçümler üç dakika boyunca tekrarlandı. Anti-ürez inhibisyonu, % inhibisyon olarak hesaplandı ve değerler, %50 inhibisyona neden olan numunelerin dikkati olan EC₅₀ olarak hesaplandı.

$$(\% \text{ inhibisyon}) = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

(3)

A₀: Kontrolün absorbansı

A₁: Örnek absorbansı

Antiürez aktivite değerleri, %50 inhibisyona neden olan standart (ya da örnek) konsantrasyonu olan IC₅₀ olarak ifade edildi.

Demir İndirgeme Gücü Tayini

Benzimidazol bileşiklerinin indirgeme gücü tayini, Oyaizu metodu kullanılarak yapıldı (Oyaizu, 1986). Standart ve benzimidazol türevlerinin standart konsantrasyon aralığındaki (50-200 µg/mL) çözeltileri hazırlandı. Standart olarak, BHT kullanıldı. Üzerine 2,5 mL 0,2 M fosfat tamponu (pH= 6,6) eklendi. Daha sonra 2,5 mL % 1'lik potasyum ferrisiyanür çözeltisi ilave edilerek reaksiyon karışımı 50 °C sıcaklıkta çalkalamalı su banyosu kullanılarak 20 dakika süresince inkübe edildi. İnkübasyonun ardından karışıma 2,5 mL % 10' luk TCA eklenerek tüpler vorteks cihazında karıştırıldı ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemi uygulandı. Santrifüj işleminin ardından 2,5 mL süpernatant alınıp 2,5 mL destile su ve 0,5 mL % 0,1'lik demir (III) klorür eklenerek 10 dakika karanlık ortamda beklemeye alındı. Kör deney uygulamak için ise 5 mL destile su ve 2,5 mL demir (III) klorür karışımı kullanıldı. Spektrofotometrede 700 nm'de kör deneyee karşı absorbans değerleri okundu. Tüm ölçümler üç kez yapıldı ve ortalaması alındı.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Sentezlenen bileşiklerin yapıları incelendiğinde **1** nolu benzimidazol bileşiğinin etilbromoasetat ile reaksiyonu sonucunda **2** nolu ester bileşiği oluşmuştur. **1** nolu bileşiğin ¹H-NMR spektrumunda 12.09 ppm'de görülen NH pikinin **2** nolu bileşikte kaybolması ve yapıya asetat grubunun katılması sentezi doğrulamaktadır.

2 nolu ester bileşiğinin hidrazinhidrat ile reaksiyonu sonucu **3** nolu hidrazit yapısı elde edilmiştir. Etoksi grubunun kaybolması ve yerine 4.44, 4.61 ppm'de NH₂, 8.77, 9.49 ppm'de NH pikinin görülmesi yapı ile uyum içindedir.

3 nolu bileşikten elde edilen **4** yapısını bazik ortamda halka kapanması reaksiyonu ile **5** nolu bileşik oluşmuştur. **4** nolu bileşikteki NH pikleri kapanma sonucu kaybolarak **5** nolu bileşikte spesifik bir pik olan 13.57 ppm'de SH piki görülmektedir. Yapıların ¹³C-NMR ve kütle spektrumları incelendiğinde sentezlenen bileşikler ile uyum içerisindedir.

Sentezlenmiş benzimidazol bileşiklerinin ve standardın DPPH serbest radikal yakalama aktiviteleri Tablo 1'de verilmiştir. Düşük IC₅₀ değerleri, daha yüksek DPPH radikal yakalama potansiyeline işaret etmektedir. Test edilen tüm benzimidazol türevleri, DPPH radikal süpürme aktivitelerini gösterdi. Test edilen tüm benzimidazol türevleri arasında en yüksek DPPH serbest radikal giderme aktivitesini **4** nolu bileşik; en düşük ise **2** nolu bileşik gösterdi. **1**, **3**, **4** ve **5** nolu bileşiklerin standart antioksidan olan BHT'den daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi (IC₅₀= 269,48 ± 49,93 µM).

Tablo 1, BHT'ye göre benzimidazol türevlerinin ABTS radikal giderme aktivitesi gösterdi. ABTS'nin radikal giderme aktivitesi artan konsantrasyonla birlikte artmıştır. Bu çalışmada test edilen tüm benzimidazol türevleri içinde en büyük ABTS radikal giderme aktivite değerine sahip **4** ve en düşük ABTS radikal giderme aktivite değerine sahip **1** olarak belirlendi. Ancak bileşik **3** ve **4** BHT'den daha yüksek aktivite gösterdi ($IC_{50} = 223,83 \pm 36,27 \mu M$).

Son zamanlarda sentezlenen tüm benzimidazol bileşikleri ve standart (Tiyöüre), operatif üreaz inhibitör etkisini gösterdi (Tablo 1). Daha düşük EC_{50} değerleri, daha yüksek enzim inhibitör aktivitesine işaret eder. Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin tümü, antiüreaz aktivitesi gösterdi. $EC_{50} = 0,0237 \pm 0,0066 \mu M$ olan Bileşik **1**'in en güçlü enzim inhibisyon aktivitesi olduğu görüldü. En düşük aktif bileşik **5**, $EC_{50} = 0,1926 \pm 0,0401 \mu M$ 'ye sahipti. **1**, **2**, **3** ve **4** nolu bileşik standart tiyöüreden daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi ($EC_{50} = 0.1864 \pm 0.0810 \mu M$).

Tablo 1. Benzimidazol türlerin DPPH, ABTS radikal süpürücü ve antiüreaz antioksidan aktiviteleri (1-5)

Bileşikler	DPPH IC_{50} (μM)*	ABTS IC_{50} (μM)*	Antiüreaz EC_{50} (μM)*
1	257.13 \pm 237.13	1278.71 \pm 1048.25	0.0237 \pm 0.0066
2	316.55 \pm 256.04	1234.13 \pm 1338.77	0.1253 \pm 0.0179
3	194.95 \pm 178.40	176.98 \pm 150.63	0.1755 \pm 0.0368
4	104.11 \pm 124.21	122.85 \pm 49.11	0.1615 \pm 0.0347
5	184.13 \pm 157.42	257.89 \pm 218.12	0.1926 \pm 0.0401
Tiyöüre	-	-	0.1864 \pm 0.0810
BHT	269.48 \pm 49.93	223.83 \pm 36.27	-

*Değer, üç tekrarın ortalaması \pm Standart sapma (SD)

DPPH, çeşitli malzemelerin serbest radikal yakalama yeteneğini test etmek için yaygın olarak kullanılan bir serbest radikal bileşiktir. Proton radikal temizleyicisine maruz kaldığından beri, DPPH önemli ölçüde azalır (Bilgin Sökmen vd., 2017).

Bir bileşiğin demir indirgeme gücünün azaltılması, onun antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesi olabilir. En yüksek ve en düşük aktivite seviyeleri sırasıyla **2** ve **4** bileşiklerinde gözlemlendi (Tablo 2). Benzimidazol türevlerinin ve BHT'nin Fe^{3+} indirgeme gücü, çalışılan tüm konsantrasyonlarda şu sırayı göstermiştir: **4**>**BHT**>**3**>**5**>**1**>**2**.

Ester grubunun etkinliği demir indirgemedede daha fazladır. Yapıda bulunan etoksi grubu demir indirgemedede daha etkili olmuştur. Etoksi, metoksi gibi gruplar karbonil grubuna yapılan elektrofilik, nükleofilik saldırıda kolay ayrılma etkisiyle demir indirgeme gücünü arttırmıştır.

Tablo 2. Benzimidazol türevlerinin demir indirgeme gücü antioksidan aktiviteleri (1-5)

Bileşikler	Demir İndirgeme Gücü*	Bileşikler	Demir İndirgeme Gücü*
1	50 µg/mL 0.0671 ± 0.0168 100 µg/mL 0.1375 ± 0.0304 150 µg/mL 0.1905 ± 0.0078 200 µg/mL 0.2108 ± 0.0144	4	50 µg/mL 0.2804 ± 0.0659 100 µg/mL 0.4470 ± 0.5520 150 µg/mL 0.5945 ± 0.0262 200 µg/mL 0.7980 ± 0.0495
2	50 µg/mL 0.0603 ± 0.0259 100 µg/mL 0.1230 ± 0.0156 150 µg/mL 0.1715 ± 0.0148 200 µg/mL 0.1995 ± 0.0120	5	50 µg/mL 0.0620 ± 0.0141 100 µg/mL 0.0163 ± 0.0297 150 µg/mL 0.2400 ± 0.0127 200 µg/mL 0.2925 ± 0.0120
3	50 µg/mL 0.0974 ± 0.0165 100 µg/mL 0.1790 ± 0.0354 150 µg/mL 0.2760 ± 0.0552 200 µg/mL 0.4215 ± 0.0233	BHT	50 µg/mL 0.1415 ± 0.0289 100 µg/mL 0.2575 ± 0.0615 150 µg/mL 0.4195 ± 0.0261 200 µg/mL 0.5450 ± 0.0580

*Değerler, üç tekrarın ortalaması ± Standart sapma (SD)

SONUÇ

Bu çalışmada yeni bir benzimidazol bileşikleri serisi sentezlendi. Bulgular, sentezlenen benzimidazol bileşiklerinin antioksidan ve antiürez aktiviteye sahip olduğunu ortaya koydu.

Teşekkür

Bu çalışma, FEN-230123-03 nolu proje Giresun Üniversitesi BAP birimi tarafından desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

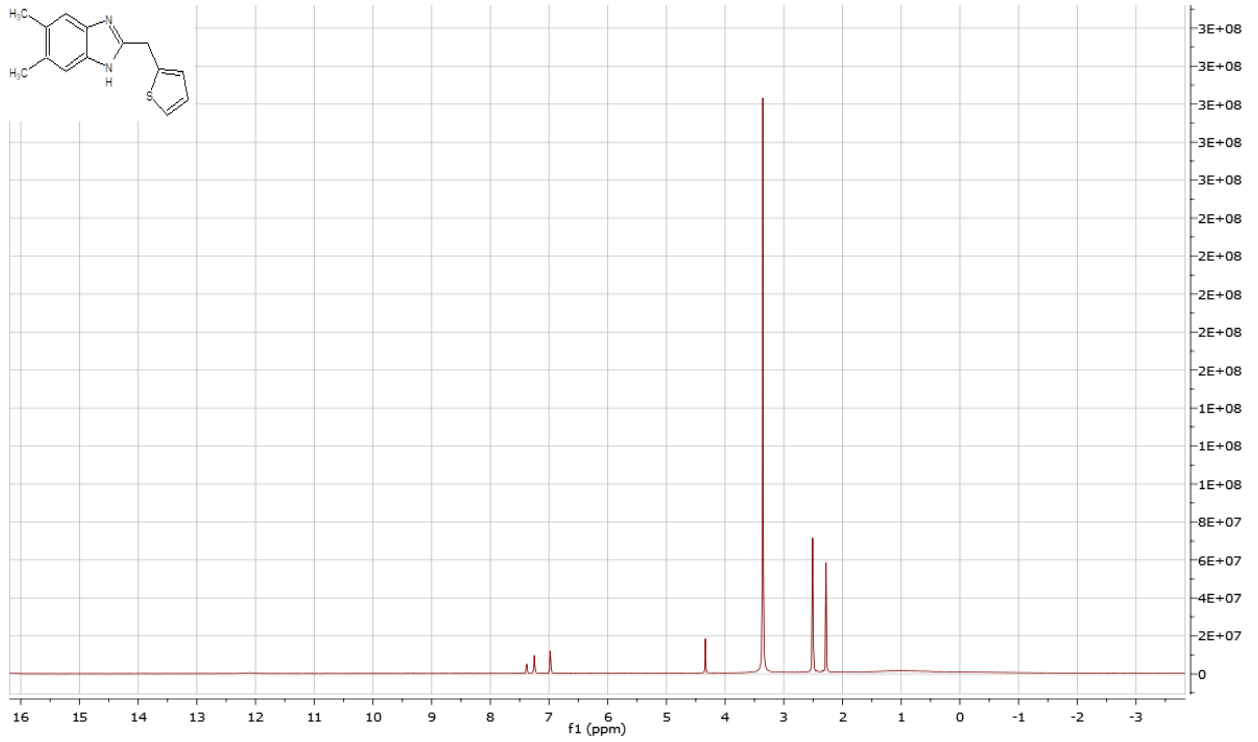
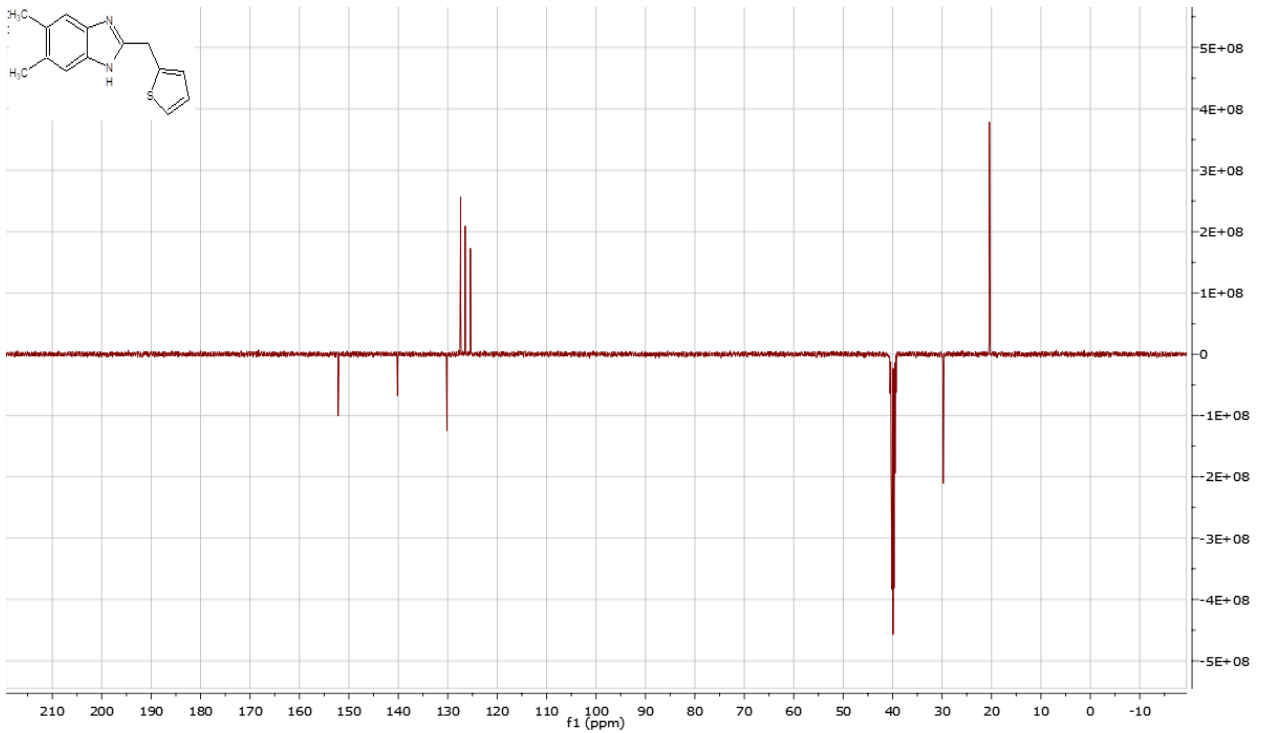
KAYNAKLAR

- Amtul, Z., Rasheed, M., Chouhary, M. I., Supino, R., Khan, K. M., & Rahman, A. U. (2004). Kinetics of novel competitive inhibitors of urease enzymes by a focused library of oxadiazoles/thiadiazoles and triazoles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 319(3), 1053-63. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.05.036>
- Amtul, Z., Rahman, A. U., & Choudhary, M. I. (2002). Chemistry and mechanism of urease inhibition. *Curr Med Chem.*, 9(14), 1323-48. <https://doi.org/10.2174/0929867023369853>
- Arnao, M. B., Cano, A. & Acosta, M. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem.*, 73, 239-244. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00324-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00324-1)
- Baltaş, N., Yılmaz F., & Menteşe E. (2016). Synthesis, Antioxidant, Xanthine Oxidase and Urease Inhibitory Activities of Some Chlorine Containing Benzimidazoles. *Hacettepe J. Biol. & Chem.*, 44(3), 293-305
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C., (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. Technol.-Food Sci. Technol.*, 28, 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

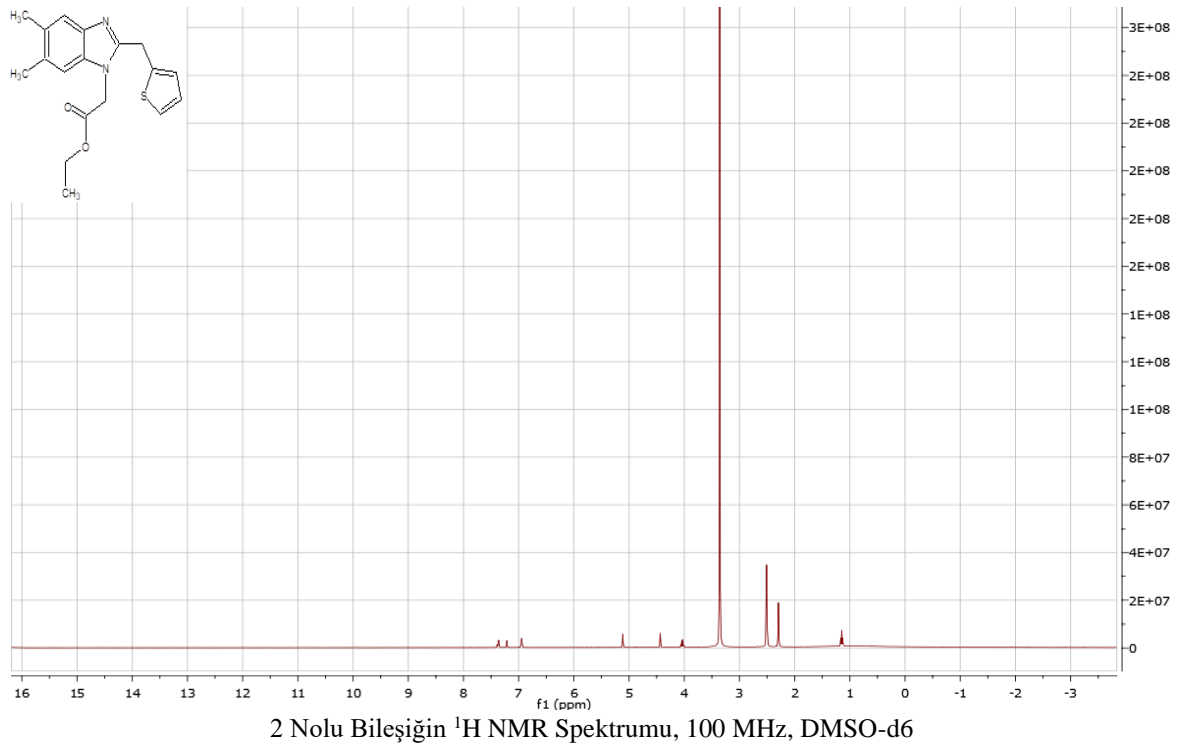
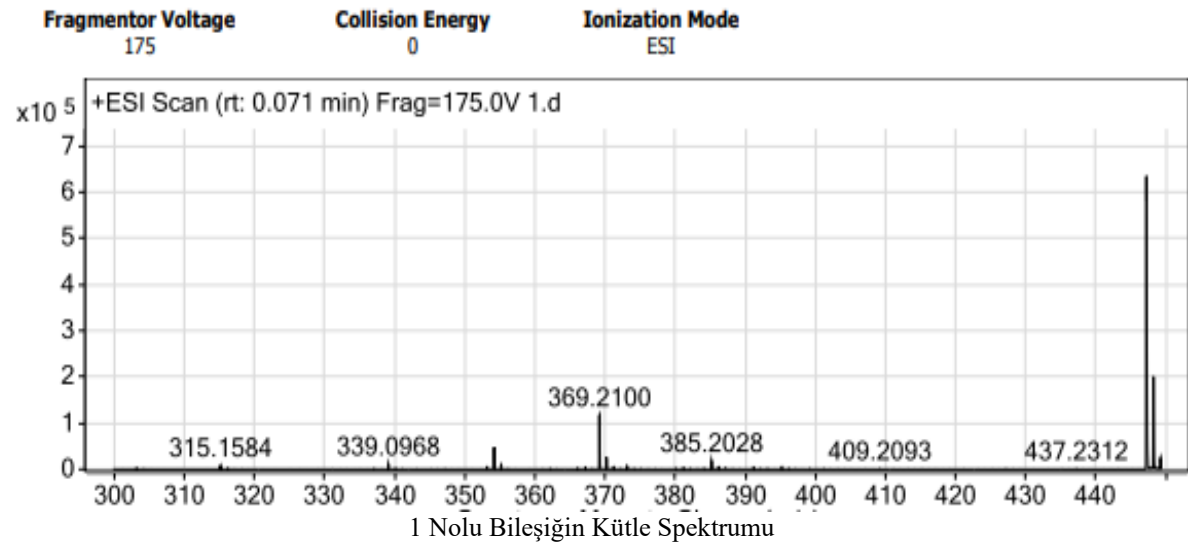
- Bilgin Sökmen, B., Serter, T., Çakır, D. & Bektaş, H. (2017). İlk Defa Sentezlenen Benzimidazol Türevlerinin Antioksidan Aktivitesinin İncelenmesi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 7 (2), 87-95. <https://doi.org/10.31466/kfbd.317706>
- Castillo, I., Suwalsky, M., Gallardo, M. J., Troncoso, V., Sánchez-Eguía, B. N., Santiago-Osorio, E., Aguiñiga, I., & González-Ugarte, A. K. (2016). Structural and functional effects of benzimidazole/thioether–copper complexes with antitumor activity on cell membranes and molecular models. *J. Inorg. Biochem.*, 156, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.12.022>
- Chandrasekera, N. S., Alling, T., Bailey, M. A., Files, M., Julie V. Early, J. V., Ollinger, J., Ovechkina, Y., Masquelin, T., Desai, P. V., Cramer, J. W., Hipskind, P. A., Odingo, J. O., & Parish, T. (2015). Identification of Phenoxyalkylbenzimidazoles with Antitubercular Activity. *J Med Chem.*, 18, 7273–7285. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00546>
- Chhabra, M., Sinha, S., Banerjee, S., & Paira P. (2016). An efficient green synthesis of 2-arylbenzothiazole analogues as potent antibacterial and anticancer agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 26, 213–217. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.10.087>
- Desai, K. G., & Desai, K. R. (2006). Green Route for the Heterocyclization of 2-Mercaptobenzimidazole into β -Lactam Segment Derivatives Containing –CONH– Bridge with Benzimidazole: Screening in Vitro Antimicrobial Activity with Various Microorganisms. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14, 8271-8279. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.09.017>
- Demirayak, Ş. (1985). *Biyolojik Aktifliği Olan Bazı Benzimidazol Türevlerinin Sentezi, Fiziksel Sabitlerinin Saptanması ve Değerlendirilmesi* [Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Eldebss, T. M. A., Farag, A. M., Abdulla, M. M., & Arafa, R., K. (2016). Novel benzo[d]imidazole-based heterocycles as broad spectrum anti-viral agents: Design, synthesis and exploration of molecular basis of action. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 16, 67–83. <http://doi.org/10.2174/138955751601151029115533>
- E. Mentese, H. Bektaş, S. Ülker, O. Bekircan, B. Kahveci, *J Enzyme Inhib Med Chem* 2014, 29, 64
- Fang, X., Jeyakkumar, P., Avula, S. R., Zhou, Q., & Zhou, C. (2016). Design, synthesis and biological evaluation of 5-fluorouracil-derived benzimidazoles as novel type of potential antimicrobial agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 26(11), 2584–2588. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.04.036>
- Göker, H., Karaaslan, C., Puskullu, M. O., Yildiz, S., Duydu, Y., Üstündağ, A., & Yalcin, C. Ö. (2016). Synthesis and In Vitro Activity of Polyhalogenated 2-phenylbenzimidazoles as a New Class of anti-MRSA and Anti-VRE Agents. *Chem. Biol. Drug. Des.*, 87, 57–68. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12623>
- Güven M. (2000). *Benzimidazol türevlerinin sentezi ve özelliklerinin incelenmesi* [Yüksek lisans tezi]. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Hoffmann, K. (1953). *Imidazole and its derivatives*. Interscience Publishers, INC, New York.
- Kahveci, B., Mentese, E., Özil, M., Ülker, S., & Ertürk, M. (2013). An efficient synthesis of benzimidazoles via a microwave technique and evaluation of their biological activities. *Monatsh. Chem.*, 144, 993–1001. <https://doi.org/10.1007/s00706-012-0916-0>
- Kasnak, C., & Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(5), 226-234. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v3i5.226-234.171>
- Marinelli, M., Pellei, M., Cimarelli, C., Dias H.V.R., Marzano C., Tisato F., Porchia M., Gandin V., & Santini C. (2016). Novel multicharged silver(I)-NHC complexes derived from zwitterionic 1,3-symmetrically and 1,3-unsymmetrically substituted imidazoles and benzimidazoles: Synthesis and cytotoxic properties. *J. Organomet. Chem.*, 806, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2016.01.018>
- Mobley, H. L. T., & Hausinger, R. P. (1989). Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiol. Rev.*, 53(1), 85-108. <https://doi.org/10.1128/mr.53.1.85-108.1989>

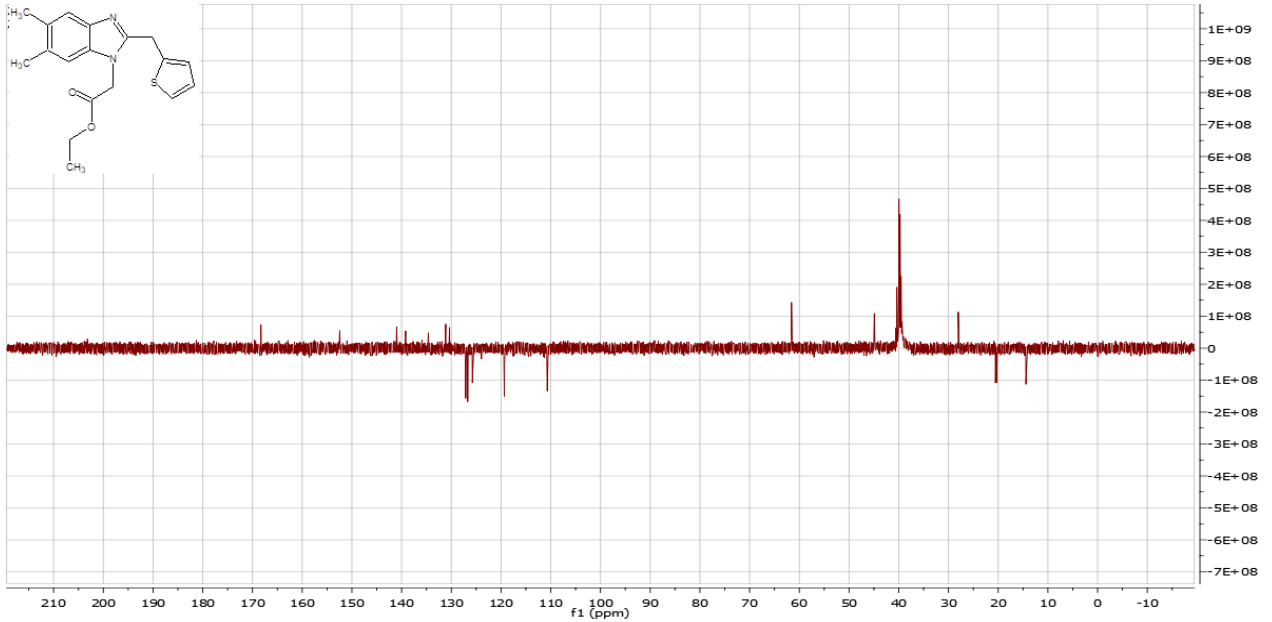
- Mobley, H. L. T., Island, M. D., & Hausinger, R. P. (1995). Molecular biology of microbial ureases. *Microbiol. Rev.*, 59(3), 451-480. <https://doi.org/10.1128/mr.59.3.451-480.1995>
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-315. <http://dx.doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>
- Strelciunaite, V., Anusevicius, K., Tumosiene, I., Siugzdaite, J., Jonuskiene, I., Ramanauskaite, I., & Vytautas, M. (2016). synthesis of novel benzimidazoles 2-functionalized with pyrrolidinone and γ -amino acid with a high antibacterial activity. *Heterocycles*, 92, 235–251. <https://doi.org/10.3987/COM-15-13343>
- Stuchlíková, L., Jirásko, R., Skálová, L., Pavlík, F., Szotáková, B., Holčápek, M., Vaněk, T., & Podlipná, R. (2016). Metabolic pathways of benzimidazole anthelmintics in harebell (*Campanula rotundifolia*). *Chemosphere*, 157, 10-7. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.015>
- Van Slyke, D. D., & Archibald, R. M. (1944). Manometric, titrimetric and colorimetric methods for measurements of urease activity. *The Journal of Biological Chemistry*, 154, 623-642.

EKLER

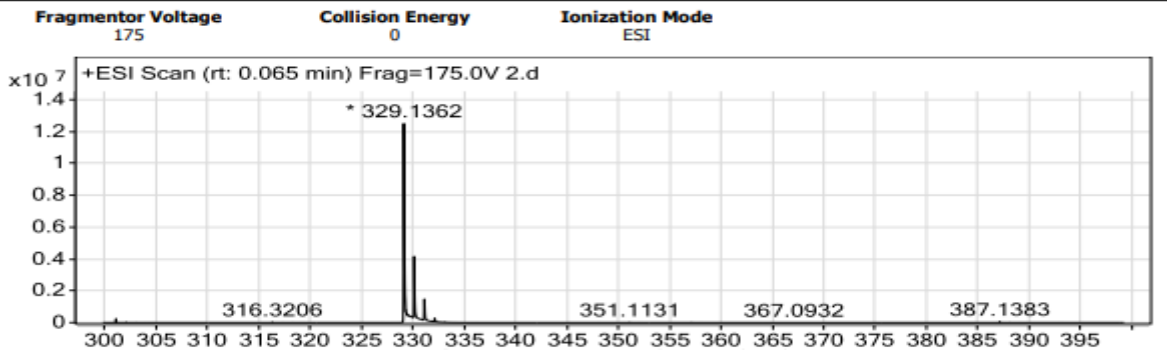
1 Nolu Bileşiğin ¹H NMR Spektrumu, 100 MHz, DMSO-d₆1 Nolu Bileşiğin ¹³C NMR Spektrumu, 100 MHz, DMSO-d₆

User Spectra

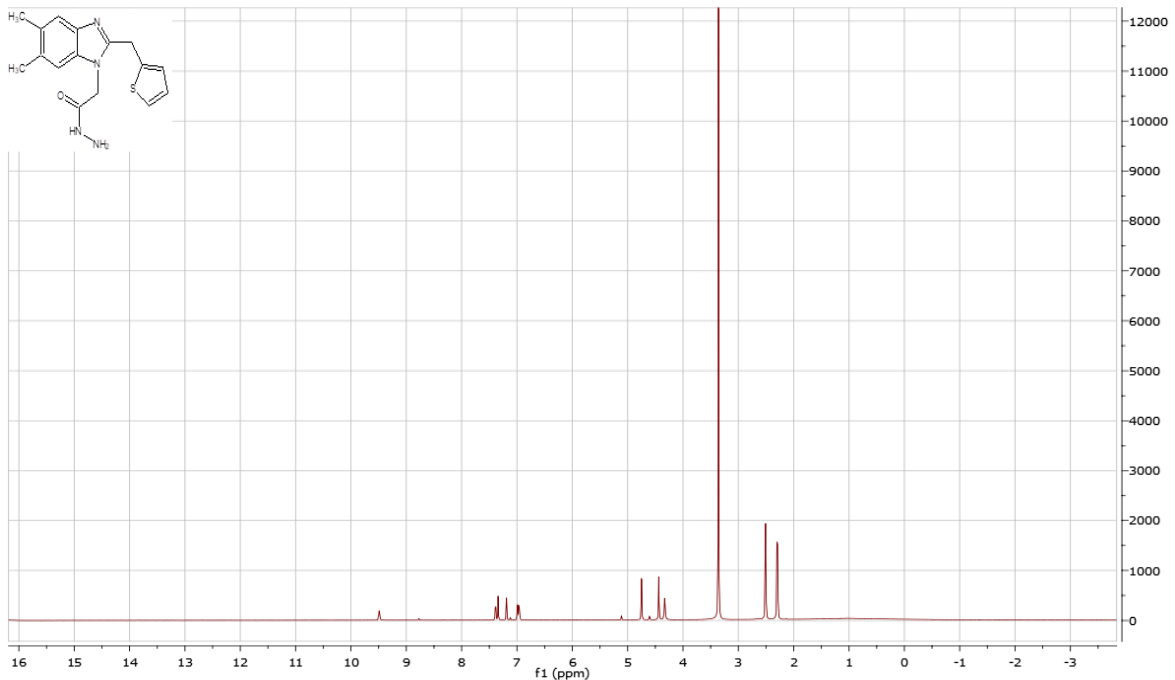


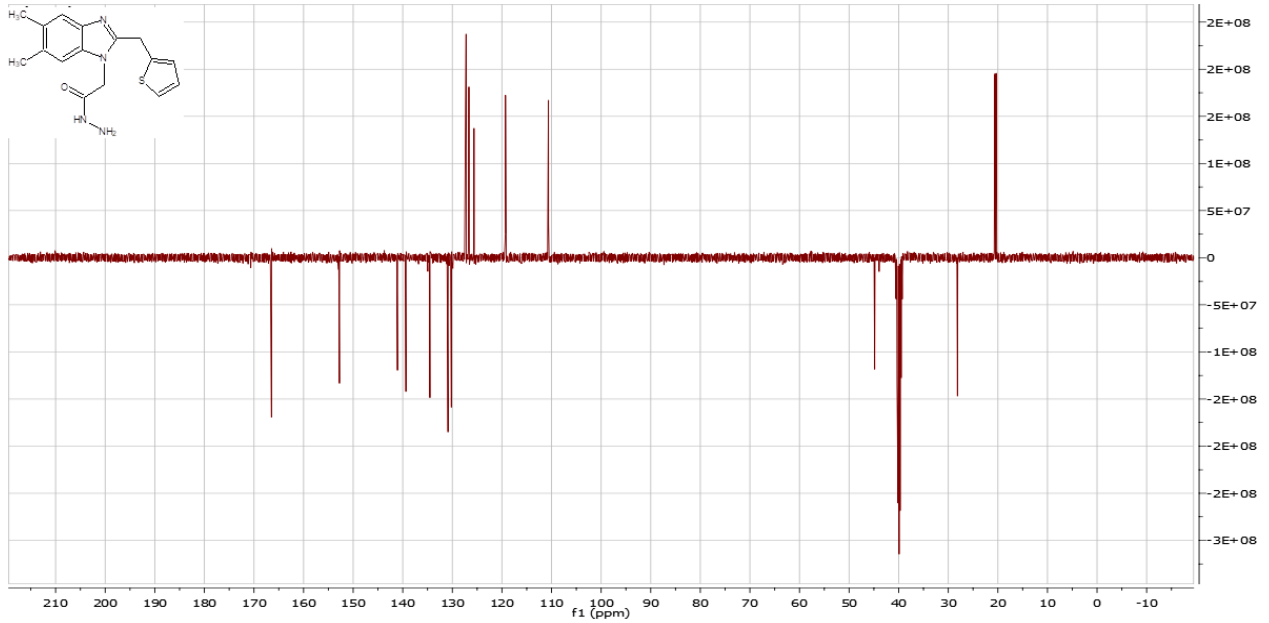
2 Nolu Bileşimin ^{13}C NMR Spektrumu, 100 MHz, DMSO-d₆

User Spectra

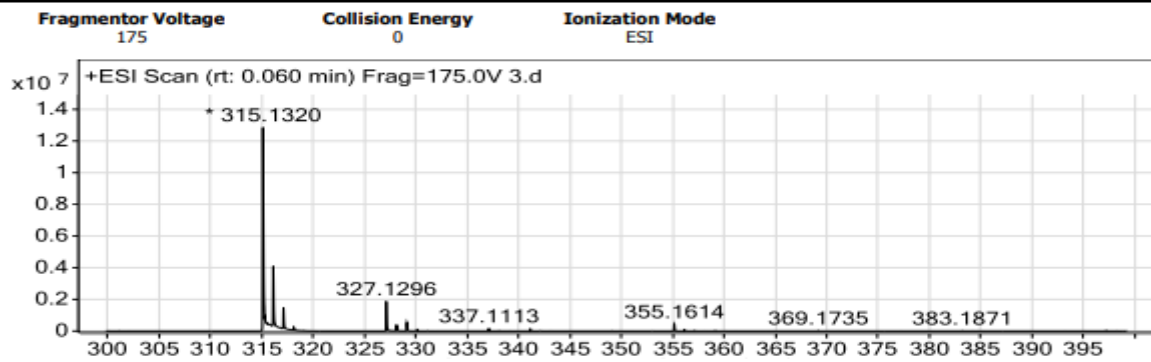


2 Nolu Bileşimin Kütle Spektrumu

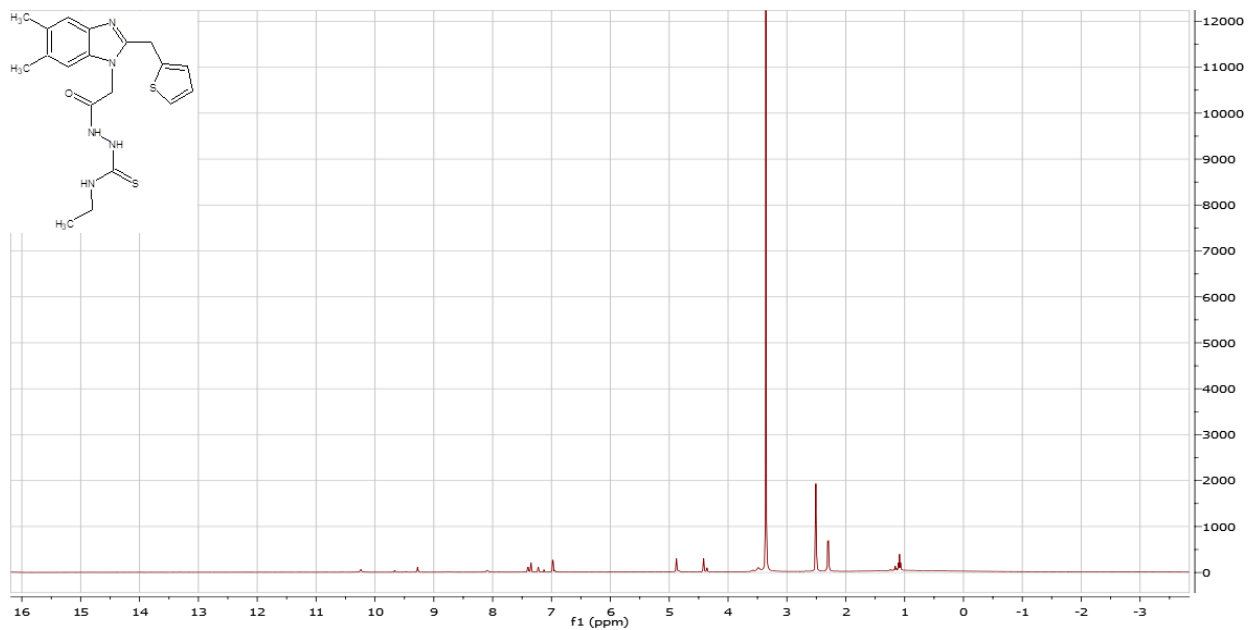
3 Nolu Bileşimin ^1H NMR Spektrumu, 100 MHz, DMSO-d₆

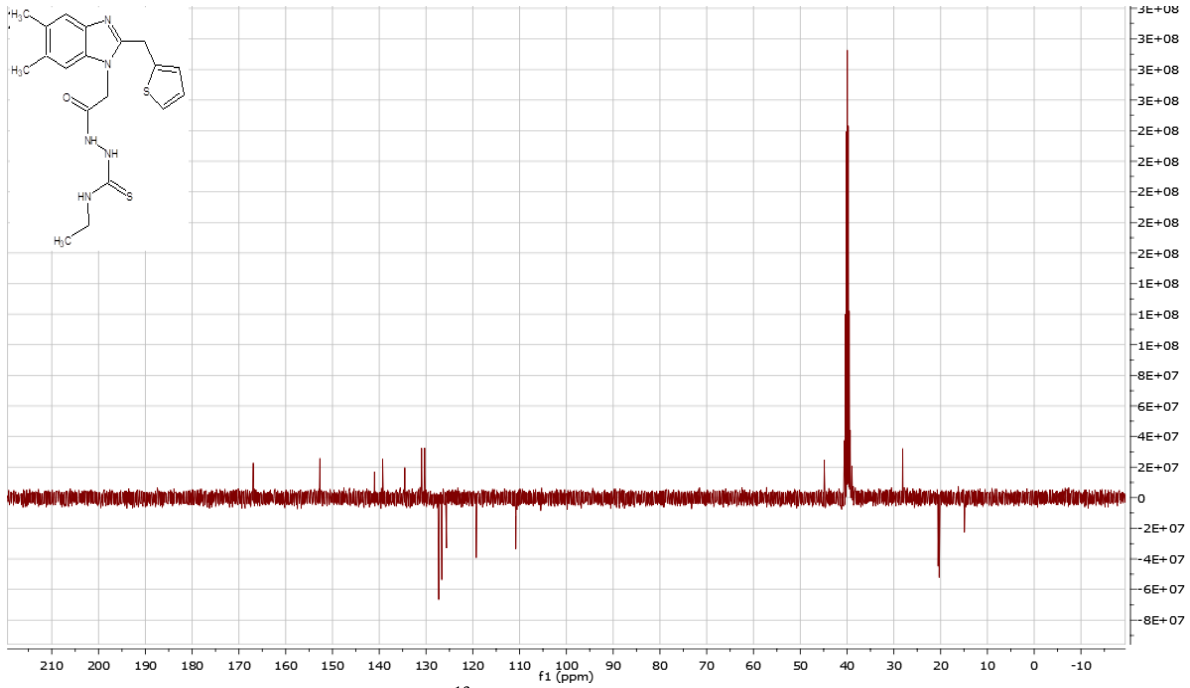
3 Nolu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu, 100 MHz, DMSO- d_6

User Spectra



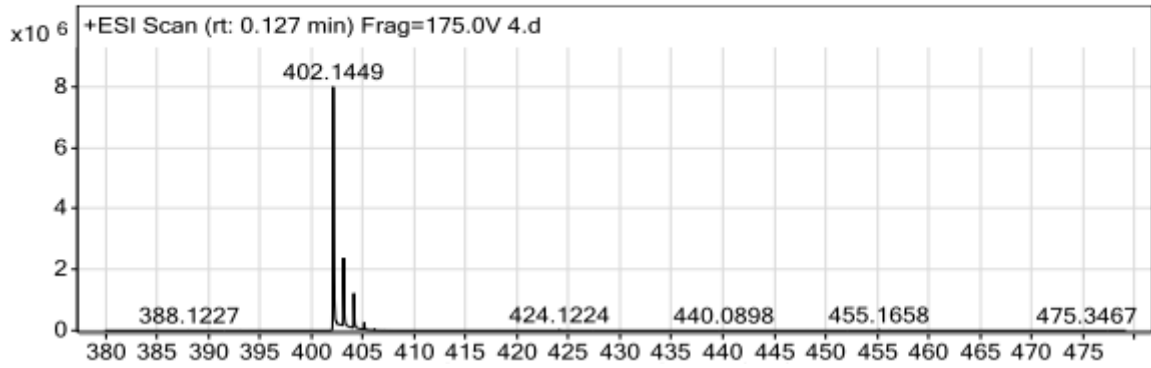
3 Nolu Bileşğin Kütle Spektrumu



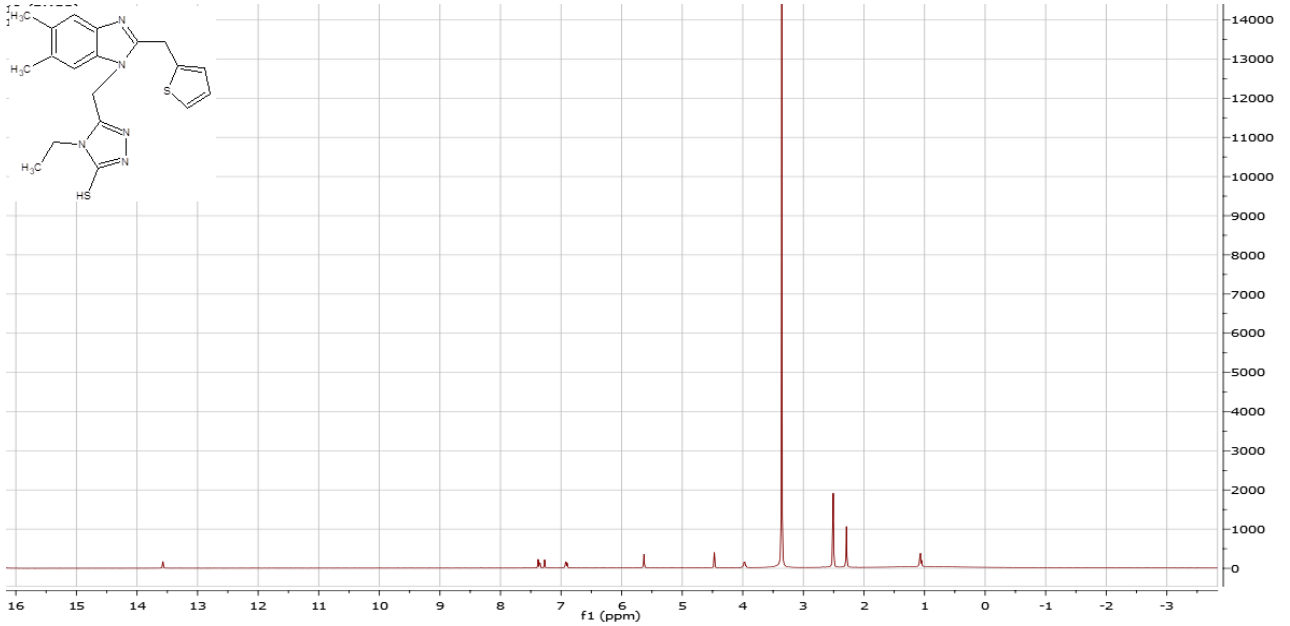
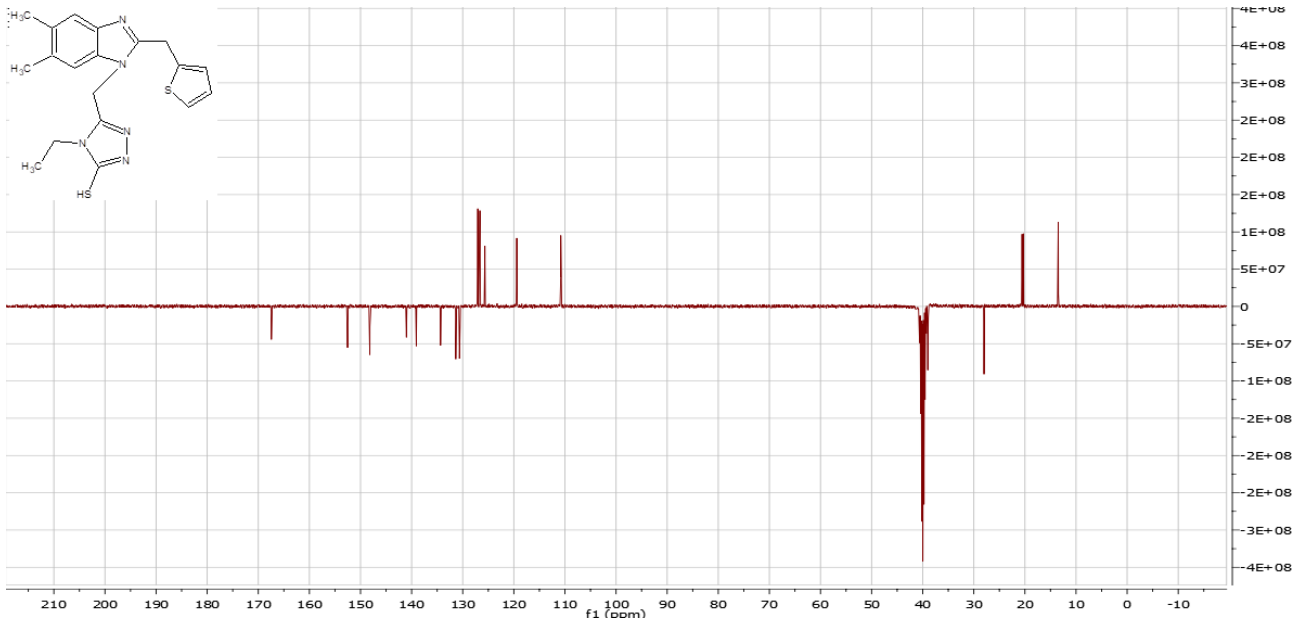
4 Nolu Bileşimin ^1H NMR Spektrumu, 100 MHz, DMSO-d₆

User Spectra

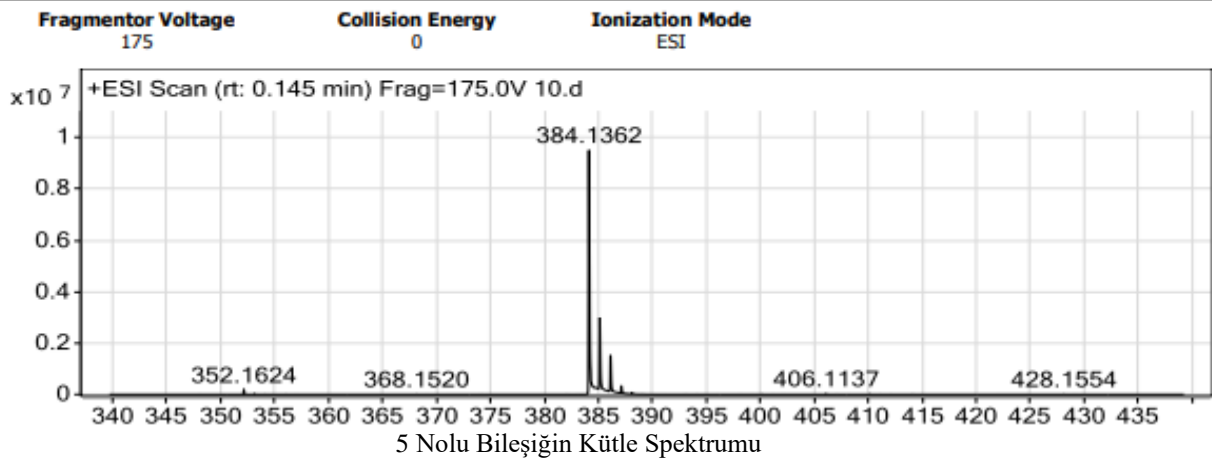
Fragmentor Voltage	Collision Energy	Ionization Mode
175	0	ESI



4 Nolu Bileşimin Kütle Spektrumu

5 Nolu Bileşiğin ¹H NMR Spektrumu, 100 MHz, DMSO-d₆5 Nolu Bileşiğin ¹³C NMR Spektrumu, 100 MHz, DMSO-d₆

User Spectra



5 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu