T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

YENİ BENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE MİKROZOMAL PROSTAGLANDİN E2 SENTAZ-1 (mPGES-1) İNHİBİTÖRÜ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

AZİZE GİZEM ERGÜL

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

ARALIK 2022


GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

YENİ BENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE MİKROZOMAL PROSTAGLANDİN E_2 SENTAZ-1 (mPGES-1) İNHİBİTÖRÜ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Azize Gizem ERGÜL

DOKTORA TEZİ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ARALIK 2022

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Azize Gizem ERGÜL

Aralık 2022

YENİ BENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE MİKROZOMAL PROSTAGLANDİN E2 SENTAZ-1 (mPGES-1) İNHİBİTÖRÜ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

(Doktora Tezi)

Azize Gizem ERGÜL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2022

ÖZET

Prostaglandinler (PG) pek çok fizyolojik ve patofizyolojik aktivitede rol alan yağ asidi yapısında moleküllerdir. Prostaglandin E2 (PGE2), ağrı, ateş ve enflamatuvar süreçlerde görev yapan ana prostaglandindir. Sitozolik fosfolipaz A2 enzimi aracılığı ile membran fosfolipitlerinden ayrılan araşidonik asit, öncelikle siklooksijenazlar tarafından prostaglandin H2'ye dönüştürülmekte ve bu ara prostanoidi substrat olarak kullanan indüklenebilir mPGES-1 enzimi, enflamatuvar PGE2 biyosentezinde görev almaktadır. Enflamatuvar hastalıklarda mPGES-1 ekspresyonu ve PGE2 üretiminin rol alması nedeniyle mPGES-1 enzimi terapötik hedef olarak dikkatleri üzerine toplamıştır. Nonsteroidal antienflamatuvar ilaçlar, COX enzimlerinin inhibisyonu sonucu diğer prostaglandinler ve tromboksan biyosentezini engelledikleri için ciddi kardiyovasküler, renal ve gastrointestinal yan etkilere sahip ilaç gruplarıdır. Bu tez kapsamında bu ilaçların yan etkilerini göstermeden seçici olarak mPGES-1 enzimini inhibe eden yeni bileşiklerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, benzimidazol ana yapısında iki bileşik serisi sentezlenmiş ve yapı etki ilişkileri incelenmiştir. Elde edilen türevler içinde Bileşik 74'ün interlökin 1β ile uyarılan A549 hücre mikrozomlarında mPGES-1 aktivitesini 0.22 nM IC50 değeri ile potent olarak inhibe ettiği gözlenmiştir. Yapılan ileri in vitro çalışmalarda bileşiğin PGE2 biyosentezini selektif olarak inhibe ettiği bulunmuştur. Bileşik 74'ün kobaylarda düşük oral biyoyararlanıma (% 16) sahip olması nedeniyle in vivo hayvan deneylerinde test edilmek üzere oral biyoyararlanımı yüksek (% 60.8) ve potent bir inhibitör olan Bileşik 72 (IC50 = 2.9 nM) seçilmiştir. Bileşik 72'nin kobaylarda in vivo antienflamatuvar, antipiretik ve analjezik etkinliği gösterilmiştir. Tez kapsamında elde edilen sonuçlara göre potent mPGES-1 inhibitörü aktivitesine ve uygun oral biyoyararlanıma sahip Bileşik 72, preklinik çalışmalara aday ilaç geliştirmek için uygun bir analog olarak belirlenmiştir.

Bilim Kodu	:	1019
Anahtar Kelimeler	:	antienflamatuvar, analjezik, mPGES-1, benzimidazol
Sayfa Adedi	:	155
Danışman	:	Prof. Dr. Burcu ÇALIŞKAN

SYNTHESIS OF NEW BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES AND INVESTIGATION OF THEIR INHIBITORY EFFECTS ON MICROSOMAL PROSTAGLANDIN E2 SYNTHASE-1 (mPGES-1)

(Ph. D. Thesis)

Azize Gizem ERGÜL

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

December 2022

ABSTRACT

Prostaglandins (PG) are fatty acids that play important role in many physiological and pathophysiological activities. Prostaglandin E2 (PGE2) is the main PG involved in pain, fever and inflammatory processes. Arachidonic acid, which is released from membrane phospholipids by the action of cytosolic phospholipase A2, is first converted to PGH2 by cyclooxygenases. Then, the intermediate PGH2 was subsequently metabolized to inflammatory PGE2 by the action of inducible microsomal PGE2 synthase-1 (mPGES-1). Because expression of mPGES-1 and formation of PGE2 play important role in inflammatory diseases, the mPGES-1 enzyme has attracted attention as a new therapeutic target. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) cause serious cardiovascular, renal and gastrointestinal side effects because they inhibit the biosynthesis of other PGs and thromboxane as a result of nonselective inhibition of COX isoforms. In this thesis, it is aimed to develop new compounds that inhibit the mPGES-1 selectively without showing the side effects of associated with NSAIDs. For this purpose, two series of benzimidazole derivatives were synthesized and structure-activity relationships were investigated. Among the derivatives obtained, it was observed that Compound 74 potently and selectively inhibited mPGES-1 activity with an IC50 value of 0.22 nM in microsomes of A549 cells stimulated with interleukin 1β. Due to the low oral bioavailability of Compound 74 (16 %) in guinea pigs, Compound 72 (IC50 = 2.9 nM), a potent mPGES-1 inhibitor with high oral bioavailability (60.8 %) was selected for testing in in vivo animal experiments. Anti-inflammatory, antipyretic, and analgesic in vivo efficacy of Compound 72 have been demonstrated in guinea pigs. According to the results obtained within the scope of the thesis, Compound 72 with potent mPGES-1 inhibitory activity and appropriate oral bioavailability was selected as a suitable analogue for further studies to develope drug candidates for preclinical studies.

Science Code : 1019
Key Words : anti-inflammatory, analgesic, mPGES-1, benzimidazole
Page Namber : 155
Supervisor : Prof. Dr. Burcu ÇALIŞKAN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım ve doktora sürecim boyunca merakı ve bilgi birikimine hayran kaldığım, tecrübesi ve bilgisi ile yolumu aydınlatan, yeni şeyleri öğrenmekten korkmadan sevmemi sağlayan, desteğini hep yanımda hissettiğim, azmini, bilimsel objektifliğini ve disiplinini örnek aldığım Sevgili Danışmanım Prof. Dr. Burcu ÇALIŞKAN'a; işine olan heyecanı, çalışmaya, öğrenmeye ve geliştirmeye devamlı açık olmasıyla bizlere örnek olan, hepimizi bir grup çatısı altında toplayıp, yeniliklere ve hayata atılmamız için her birimizi cesaretlendirip, her anlamda destekleyen ve en iyi olanaklar ile çalışmamızı sağlayan Sevgili Prof. Dr. Erden BANOĞLU'na sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmalarım süresince bilgisi ve tecrübesiyle destek olan Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe GÜR MAZ'a ve çalışmalarıma olan katkıları için Arş. Gör. Dr. Abdurrahman OLĞAÇ'a, *in vitro* aktivite çalışmalarını gerçekleştiren Jena Üniversitesi'nden Oliver WERZ ve ekibine, *in vivo* biyolojik aktivite çalışmalarını gerçekleştiren Prof. Dr. Orhan ULUDAĞ ve Dr. Öğr. Üyesi Nur Banu BAL'a ve analiz çalışmalarını gerçekleştiren Ankara Üniversitesi'nden Prof. Dr. Hakan GÖKER'e teşekkür ediyorum.

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde verdiği proje ve burs desteklerinden ötürü Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK-218S555, BİDEB 2211-A, BİDEB-2250); ayrıca 100/2000 Doktora Programı dahilinde bursiyeri olduğum Yüksek Öğretim Kurulu'na ve bu bursu kazanmamda emeği geçen Sevgili Prof. Dr. Tijen ÖNKOL hocamıza teşekkür ediyor, kendisini rahmetle anıyorum.

Çalışmalarım boyunca her zaman sevgilerini, yardımlarını ve desteklerini hissettiğim dostlarım Kübra İBİŞ, Deniz LENGERLİ ve Sümeyye TURANLI'ya içtenlikle teşekkür ediyorum.

Sevgileriyle her anımı kuşatan, heyecanımı, üzüntümü benimle birlikte yaşayıp gücüme güç katan, tezim sürecinde benimle birlikte her zorluğa sabreden sevgili annem Havva USLU, babam Levent USLU ve kardeşim Hatice Zehra USLU'ya, çalışmalarımda yaşadığım tüm zorluklarda bana destek olan, şefkatle yoğunluklarıma anlayış gösteren sevgili eşim Erhan ERGÜL'e teşekür ediyor, sonsuz bir sevgi ile bu tezi onlara ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET…… iv

ABSTRACT……... v

TEŞEKKÜR……... vi

İÇİNDEKİLER…….. vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ…… ix

ŞEKİLLERİN LİSTESİ……. x

RESİMLERİN LİSTESİ…… xiii

SİMGELER VE KISALTMALAR……..... xiv

1. GİRİŞ……. 1

2. GENEL BİLGİLER……. 7

2.1. Siklooksijenaz Yolağı……. 7

2.2. COX Enzimleri……... 8

2.3. PGE_2'nin Biyolojik Etkileri……..... 8

2.4. PGE_2 Reseptörleri……... 9

2.5. MAPEG Süper Ailesi…….. 10

2.6. PGE_2 Sentaz Enzimleri…… 10

2.7. mPGES-1 Enzimi…… 10

2.8. Antienflamatuvar İlaçlar……. 13

2.8.1. Nonsteroidal antienflamatuvar ilaçlar…… 13

2.8.2. Selektif COX-2 inhibitörleri……... 14

2.8.3. mPGES-1 inhibitörleri…….…….... 15

3. GEREÇ VE YÖNTEM…… 33

3.1. Kimyasal Çalışmalar……... 33

3.1.1. Gereçler…….. 33

3.1.2. Genel sentez yöntemleri……. 34

3.2. Analitik Çalışmalar……. 37

Sayfa

3.2.1. Gereçler…….. 37
3.3. Biyolojik Çalışmalar……... 38
3.4. *İn vitro* ADME, *in vivo* Biyoyararlanım ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları……. 40
3.4.1. Bileşik 74'ün *in vitro* ADME çalışmaları……..……. 40
3.4.2. Bileşik 74 ve analoglarının kobay karaciğer mikrozomal stabilite tayini… 41
3.4.3. Bileşik 74 ve 72'nin *in vivo* farmakokinetik çalışmaları……. 41
3.4.4. *İn vivo* biyolojik aktivite çalışmaları…… 41
4. BULGULAR……. 45
4.1. Kimyasal Bulgular…….. 45
4.2. Biyolojik Bulgular…….. 91
4.2.1. *İn vitro* biyolojik aktivite çalışmaları bulguları ……..…… 91
4.2.2. *İn vitro* ADME ve *in vivo* farmakokinetik çalışmaları bulguları…….. 98
4.2.3. *İn vivo* biyolojik aktivite bulguları……...…… 100
5. TARTIŞMA……...……...……...……. 105
5.1. Sentez Çalışmaları…….. 105
5.2. Yapı Aydınlatma Çalışmaları ……. 115
5.3. Biyolojik Çalışmalar ve Yapı Etki İlişkileri ……... 118
5.3.1. *İn vitro* biyolojik aktivite çalışmaları……..…… 118
5.3.2. *İn vitro* ADME ve *in vivo* farmakokinetik çalışmalar…….. 126
5.3.3. Bileşik 72'nin *in vivo* biyolojik aktivite çalışmaları……..…… 127
6. SONUÇ VE ÖNERİLER…… 129
KAYNAKLAR…….. 131
EKLER……... 149
EK.1. Etik Kurul Kararı-1…….. 150
EK.2. Etik Kurul Kararı-2……. 152
ÖZGEÇMİŞ……... 155

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge		Sayfa
Çizelge 1.1.	Tez kapsamında sentezlenen birinci seriye ait final bileşikler…….	3
Çizelge 1.2.	Tez kapsamında sentezlenen ikinci seriye ait final Bileşik 38-46 ve 47-48…….	4
Çizelge 1.3.	Tez kapsamında sentezlenen ikinci seriye ait diğer final bileşikler…..	5
Çizelge 4.1.	Birinci seriden Bileşik 4-9, 13, 16, 18-19, 26 ve 27'nin A549 hücrelerinde % mPGES-1 ürün oluşumu üzerindeki etkileri ve IC_{50} değerleri……...	90
Çizelge 4.2.	Birinci seriden Bileşik 34 ve 35'in A549 hücrelerinde % mPGES-1 ürün oluşumu üzerindeki etkileri ve IC_{50} değerleri……	91
Çizelge 4.3.	İkinci seriden Bileşik 38-46 ve 47-48'in A549 hücrelerinde % mPGES-1 ürün oluşumu üzerindeki etkileri ve IC_{50} değerleri……	92
Çizelge 4.4.	İkinci seriden Bileşik 50, 53-54, 56-58, 60-61, 63-64, 67-69 ve 71-74'ün A549 hücrelerinde % mPGES-1 ürün oluşumu üzerindeki etkileri ve IC_{50} değerleri……..	93
Çizelge 4.5.	Bileşik 74'ün *in vitro* ADME özellikleri…….	97
Çizelge 4.6.	Bileşik 69, 72-74 için *in vitro* kobay karaciğer mikrozomal stabilite test sonuçları…….	97
Çizelge 4.7.	Bileşik 74'ün *in vivo* farmakokinetik özellikleri…….	98
Çizelge 4.8.	Bileşik 72'nin *in vivo* farmakokinetik özellikleri…….	98

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil		Sayfa
Şekil 1.1.	Öncü bileşik BRP-351'in kimyasal yapısı…….……..	2
Şekil 1.2.	Bileşik 38'in kimyasal yapısı……..	2
Şekil 2.1.	Siklooksijenaz yolağı ve PGE_2 biyosentezi…….....	7
Şekil 2.2.	mPGES-1 enzimi 3 boyutlu görünümü……...	11
Şekil 2.3.	mPGES-1 enzimi aktif bölgesi……	12
Şekil 2.4.	Bazı nonsteroidal antienflamatuvar ilaçların kimyasal yapısı……	14
Şekil 2.5.	Selektif COX-2 inhibitörü bileşiklerin kimyasal yapısı……..	15
Şekil 2.6.	Merck'e ait Bileşik 1 ve 2'nin kimyasal yapısı……..	16
Şekil 2.7.	Merck'e ait Bileşik 3 ve 4'ün kimyasal yapısı……	17
Şekil 2.8.	Merck'e ait Bileşik 5 ve 6'nın kimyasal yapısı…..…….	17
Şekil 2.9.	Bileşik 3'ün ve Bileşik 5 analoğunun mPGES-1 aktif bölgesinde bağlanma modu……..	18
Şekil 2.10.	NovaSaid'e ait Bileşik 7-9'un kimyasal yapısı……..	19
Şekil 2.11.	Novasaid'e ait Bileşik 10-13'ün kimyasal yapısı……	20
Şekil 2.12.	Pfizer'a ait Bileşik 14-16'nın kimyasal yapısı……	21
Şekil 2.13.	AstraZeneca'ya ait Bileşik 17-18'in kimyasal yapısı…….	21
Şekil 2.14.	Dainippon Sumitomo Pharma'ya ait Bileşik 19 ve 20'nin kimyasal yapısı……...	22
Şekil 2.15.	Bayer-Evotec firmalarına ait Bileşik 21-22'nin kimyasal yapısı…….	23
Şekil 2.16.	Eli Lilly'e ait LY-3031207 (23) ve LY-3023703 (24) bileşiklerinin kimyasal yapısı ve mPGES-1 aktif bölgesindeki bağlanma modu…….	24
Şekil 2.17.	Eli Lilly'e ait Bileşik 25'in kimyasal yapısı ve mPGES-1 aktif bölgesine bağlanma modu……...	25
Şekil 2.18.	Eli Lilly'e ait Bileşik 26'nın kimyasal yapısı……..	26
Şekil 2.19.	Eli Lilly'e ait Bileşik 27-28'in kimyasal yapısı……..	27
Şekil 2.20.	Boehringer Ingelheim'e ait Bileşik 29-34'ün kimyasal yapısı……	28
Şekil 2.21.	Boehringer Ingelheim'e ait Bileşik 35-37'nin kimyasal yapısı……..	28

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.22. Gesyntha Pharma'ya ait Vipoglanstat'ın kimyasal yapısı…….. 29

Şekil 2.23. Glenmark Pharma'ya ait Bileşik 39-40'ın kimyasal yapısı…… 29

Şekil 2.24. Glenmark'a ait Bileşik 41-42'nin kimyasal yapısı…….. 30

Şekil 2.25. Glenmark'a ait Bileşik 43-45'in kimyasal yapısı…… 31

Şekil 2.26. Glenmark'a ait Zaloglanstat'ın kimyasal yapısı……. 32

Şekil 4.1. Bileşik 74 uygulamasını takiben M1 ve M2 makrofajlarında lipid profilini gösteren heat-map……. 95

Şekil 4.2. Bileşik 74 uygulamasını takiben A) periferal kan mononükleer hücrelerinde (PBMC) PGE_2 ve TXB_2 seviyeleri B) İnsan tam kanda PGE_2 ve TXB_2 seviyeleri…… 96

Şekil 4.3. Bileşik 74 için MTT ve LDH salınımı testi sonuçları…….. 96

Şekil 4.4. Karagenin uygulanmasını takiben kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (10 ve 30 mg/kg) gruplarında ölçülen ödem volümü-zaman grafiği…….. 99

Şekil 4.5. Karagenin uygulanmasını takiben kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (10 ve 30 mg/kg) gruplarında 120, 180 ve 240. dakikalarda ölçülen ödem volümü grafikleri……. 99

Şekil 4.6. Karagenin uygulanmasını takiben kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (10 ve 30 mg/kg) gruplarında ölçülen pençe ağrı eşiği değişim grafiği……..…….. 100

Şekil 4.7. Karagenin uygulanmasını takiben kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (10 ve 30 mg/kg) gruplarında 60, 120, 180 ve 240. dakikalarda ölçülen pençe ağrı eşiği grafikleri…..…….. 100

Şekil 4.8. LPS uygulamasını takiben kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (30 mg/kg) gruplarında ölçülen rektal ateş-zaman grafiği…….…. 101

Şekil 4.9. LPS uygulamasını takiben kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (30 mg/kg) gruplarında 60, 120, 180 ve 240. dakikalarda ölçülen ΔT (°C) grafikleri…….. 101

Şekil 4.10. Kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (30 mg/kg) gruplarında antienflamatuvar-analjezik aktivite deneyleri sonrası toplanan plazma örneklerinde AST, ALT ve ALP düzeyi……. 102

Şekil 5.1. Bileşik 4-9'un sentez şeması……... 106

Şekil 5.2. Bileşik 13'ün sentez şeması…… 107

Şekil 5.3. Bileşik 16, 18 ve 19'un sentez şeması……. 108

Şekil 5.4. Bileşik 26 ve 27'nin sentez şeması…….. 108

Şekil **Sayfa**

Şekil 5.5. Bileşik 34-35'in sentez şeması…… 109

Şekil 5.6. Bileşik 38-46'nın sentez şeması…….. 110

Şekil 5.7. Bileşik 47-48'in sentez şeması…… 110

Şekil 5.8. Bileşik 50'nin sentez metodu…….. 111

Şekil 5.9. Bileşik 53 ve 54'ün sentez şeması……... 111

Şekil 5.10. Bileşik 56-58'in sentez şeması…… 111

Şekil 5.11. Bileşik 60-61'in sentez şeması…… 112

Şekil 5.12. Bileşik 63-64'ün sentez şeması……... 112

Şekil 5.13. Bileşik 67-69'un sentez şeması……... 113

Şekil 5.14. Bileşik 71-74'ün sentez şeması……... 114

Şekil 5.15. Bileşik 72'ye ait hidrojenler…… 115

Şekil 5.16. Bileşik 72'ye ait karbonlar…….. 116

Şekil 5.17. BRP-351 öncü bileşiği…… 118

Şekil 5.18. Birinci seri bileşiklerin 10 µM konsantrasyonda % mPGES-1 inhibisyon değer grafiği…….. 119

Şekil 5.19. BRP-351'in mPGES-1 aktif bölgesine bağlanma modu…….. 120

Şekil 5.20. Bileşik 38-46 ve 47-48'in mPGES-1 IC_{50} (µM) değer grafiği……... 121

Şekil 5.21. Bileşik 54, 56-58 ve 63-64'ün mPGES-1 IC_{50} (nM) değer grafiği……. 122

Şekil 5.22. Klinik çalışmalara girmiş olan mPGES-1 inhibitörleri…….. 123

Şekil 5.23. Bileşik 67-69 ve 71-74'ün mPGES-1 IC_{50} (nM) değerleri grafiği……. 124

Şekil 5.24. Bileşik 74 uygulamasını takiben proenflamatuvar insan M1 ve antienflamatuvar M2 makrofajlarında PGE_2 seviyeleri…….. 125

Şekil 5.25. Bileşik 72 ve 74'ün kobaylara oral (20 mg/kg) ve IV (2 mg/kg) uygulama sonrası ortalama plazma konsantrasyon-zaman grafiği…….. 127

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim		Sayfa
Resim 4.1.	a) İndometazin (10 mg/kg), b) Bileşik 72 (10 mg/kg), c) Bileşik 72'nin (30 mg/kg) uygulandığı analjezik ve antienflamatuvar deneyler sonrası alınan midelerin görüntüsü…….	102
Resim 5.1.	Bileşik 72'nin ^{1}H-NMR Spektrumu……...	116
Resim 5.2.	Bileşik 72'nin ^{13}C-NMR Spektrumu……..	117

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simge ve kısaltmalar, açıklamaları ile aşağıda alfabetik sırayla sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
Å	Angstrom
% F	Biyoyararlanım
° C	Santigrat derece
µM	Mikromolar
CL_{int}	İntrinsik hepatik klirens
C_{max}	Maksimum konsantrasyon
dk	dakika
Hz, MHz	Hertz, Megahertz
IC_{50}	Maksimum inhibisyonun % 50'sini oluşturan ilaç konsantrasyonu
kg	Kilogram
mg	Miligram
ml	Mililitre
mmol	Milimol
nM	Nanomolar
ppm	Milyonda bir birim
s	saat
$t_{1/2}$	Kandaki ilaç konsantrasyonunun yarılanma süresi

Kısaltmalar	Açıklamalar
A549	İnsan küçük hücreli akciğer kanseri hücre hattı
AA	Araşidonik Asit
ADME	Absorbsiyon-Dağılım-Metabolizasyon-Atılım
ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz

AUC	Eğri altında kalan alan
Caco-2	İnsan kolorektal adenokarsinom hücre hattı
COX	Siklooksijenaz
cPLA$_2$	Fosfolipaz A$_2$
CYP450	Sitokrom P450
cPGES	Sitozolik PGE$_2$ sentaz
DCM	Diklorometan
DHA	Dokosahekzanoik asit
DMAP	4-Dimetilaminopiridin
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Media
DMF	*N*,*N*-Dimetilformamit
DMSO	Dimetilsülfoksit
ELISA	Enzyme linked immuno sorbent assay
EPA	Eikosapentanoik asit
ESI	Elektrospray iyonizasyon
FCS	Fetal calf serum
FDA	Food and drug administration
FFA	Serbest yağ asidi
FLAP	5-Lipoksijenaz aktive edici protein
GİS	Gastrointestinal sistem
GSH	Glutatyon
HDHA	Hidroksidokosahekzanoik asit
HEPE	Hidroksieikosapentanoik asit
HETE	Hidroksieikosatetraenoik asit
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
HRMS	Yüksek çözünürlüklü kütle spektroskopisi
HWB	İnsan tam kanı
HTS	Yüksek verimli tarama
IL-1β	İnterlökin-1β
İTK	İnce tabaka kromatografisi

LC/MS	Liquid chromatography/Mass spectrometry
LDH	Laktat dehidrojenaz
LO	Lipoksijenaz
LPS	Lipopolisakkarit
LT	Lökotrien
MAPEG	Eikozanoid ve glutatyon metabolizmasındaki membran bağımlı proteinler
Mar1	Maresin 1
MeOH	Metanol
mGST	Mikrozomal glutatyon S-Transferaz
mPGES	Mikrozomal prostaglandin E_2 sentaz
MTT	3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NSAEİ	Nonsteroidal antienflamatuvar ilaçlar
NMR	Nükleer manyetik rezonans
PBMC	Periferal kan mononükleer hücreleri
PD1	Polidispersite indeksi
PDB	Protein Data Bank
PG	Prostaglandin
PGE_2	Prostaglandin E_2
PPB	Plazma proteinlerine bağlanma
RvD5	Resolvin D5
SACM	*Staphylacoccus-aureus* conditioned medium
SF	Serum fizyolojik
SGF	Simüle edilmiş gastrik sıvı
SIF	Simüle edilmiş intestinal sıvı
STI	Soya tripsin inhibitörü
THF	Tetrahidrofuran
SPM	Speciallized pro-resolving mediator
TGF_α	Transforme edici büyüme faktörü-α
TNF_α	Tümör nekrozis faktörü-α

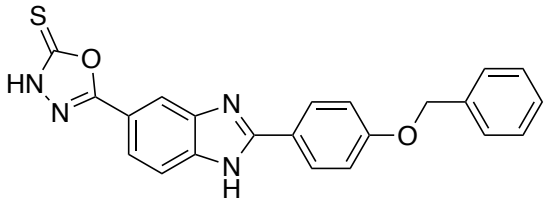
TxA_2	Tromboksan A_2
UV	Ultraviyole
UPLC	Ultra Performanslı Sıvı Kromatografi
YEİ	Yapı Etki İlişkileri

1. GİRİŞ

Ağrı, ateş ve enflamatuvar süreçlerde görevi olan ana prostaglandin (PG); Prostaglandin E_2 (PGE_2)'dir. Araşidonik asit yolağında, fosfolipidlerin fosfolipaz A_2 ile metabolizasyonu sonucunda araşidonik asit oluşmaktadır [1]. Araşidonik asit, ilk olarak siklooksijenazlar (COX-1/2) ile PGH_2'ye dönüştürülmekte ve bu ara prostanoidden spesifik sentazlar ile PGE_2, PGI_2, PGD_2, PGF_2 ve tromboksan A_2 (TxA_2)'ye dönüşüm meydana gelmektedir [2]. PGE_2 biyosentezinde son basamakta görevli 3 farklı enzim (cPGES, mPGES-1 ve mPGES-2) mevcuttur, bunlardan mPGES-1, MAPEG (eikozanoid ve glutatyon metabolizmasındaki membran bağımlı proteinler) süper enzim ailesinin bir üyesidir ve COX-2 enzimi ile ilişkili olarak enflamasyon süreçlerinde PGE_2 üretimini düzenlemekte ve enflamatuvar uyaranlar ile indüklenebilmektedir [3]. IL-1β (interlökin 1β), TNF_{α}, lipopolisakkarit (LPS) ve epidermal büyüme faktörü gibi enflamatuvar süreçlerde etkisi olan uyaranların mPGES-1'in çeşitli dokularda ekspresyonunun indüklenmesine sebep olduğu yapılan çalışmalarda gözlenmiştir [4-6].

Nonsteroidal antienflamatuvar ilaçlar (NSAEİ), hem yapısal izoform COX-1 hem de indüklenebilir izoform COX-2 enzimlerinin aktivitelerini inhibe etmektedir. Romatoid artrit, enflamatuvar ağrı ve osteoartrit tedavisinde kullanılmaktadır. Bu ilaçların kullanımında COX-1 enzim inhibisyonu nedeni ile gastrointestinal yan etkiler görülmektedir. Alternatif olarak geliştirilen selektif COX-2 inhibitörleri enflamatuvar PGE_2 biyosentezini inhibe ederken aynı zamanda antitrombotik PGI_2 biyosentezini de inhibe etmiş ciddi kardiyovasküler komplikasyonlara neden oldukları için piyasadan çekilmiştir. Yeni NSAEİ geliştirmek amacıyla mPGES-1 inhibitörlerinin COX-2 inhibitörleri gibi potent olduğu ve bildirilen yan etkileri göstermediği belirlenmiştir. Böylece klinik kullanım açısından güvenilir yan etki profiline sahip, selektif enflamatuvar PGE_2 biyosentezini baskılayan mPGES-1 yeni bir terapötik hedef olmuştur [7-12].

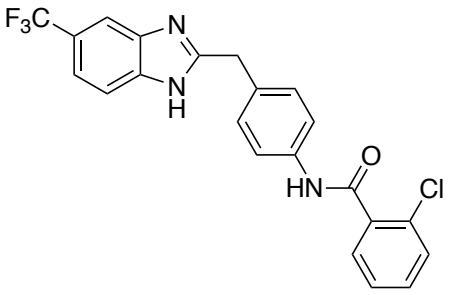
Araştırma grubumuz tarafından analjezik, antienflamatuvar etkili yeni mPGES-1 inhibitörü bileşik keşfi amacı ile yürütülen çalışmalar sonucunda 5-(2-(4-(benziloksi)fenil)-1*H*-benzimidazol-5-il)-1,3,4-oksadiazol-2(3*H*)-tiyon kimyasal yapısındaki öncü bileşik **BRP-351** A549 hücrelerinde mPGES-1 ürün oluşumunu 30 nM IC_{50} değeri ile inhibe etmiştir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Öncü bileşik BRP-351'in kimyasal yapısı

Bu tez çalışması kapsamında öncelikle **BRP-351** bileşiğinden hareketle bir seri bileşik sentezlenmesi planlanmıştır. İlk seri bileşiklerde, **BRP-351** bileşiğinin benzimidazol halkasının 5. konumundaki heterosiklik halka değiştirilmiş, benzimidazol halkasının birinci azotu metillenmiş, 2. konumdaki fenil ile benzimidazol arasına metilen grubu eklenmiş ve benziloksi grubu fenoksi grubu ile değiştirilmiştir. Bir sonraki aşamada benzimidazol halkasının açık zincir analogları sentezlenmiştir. Bu amaçla sentezlenen benzimidazol türevi ve açık zincir analoğu bileşikler Çizelge 1.1'de belirtilmiştir.

İlk seri bileşiklerde, öncü bileşikten daha aktif bileşiğe ulaşılamaması nedeniyle benzimidazol yapısı taşıyan ikinci seri bileşikler hazırlanmıştır. Bu seri bileşiklerin öncü bileşiği tez kapsamında sentezlenen Bileşik **38**'dir (Şekil 1.2). 2-klorobenzamit grubunu bulunduran benzimidazol türevi Bileşik **38**'den hareketle hazırlanan ikinci seri bileşiklerde 2-sübstitüe benzamit analogları, benzimidazol ve fenil halkası arasında metilen grubunun etilen, metilenoksi, metilentiyoksi analogları, metilen taşımayan analoglar, amit grubu yerine sülfonamit ve ürenin eklendiği analoglar ve son olarak 2-klorobenzamit grubunun fenil halkası 5. konumuna amidometil ve türevleri eklenen analogları sentezlenmiş ve Çizelge 1.2 ve 1.3'teki bileşikler elde edilmiştir.

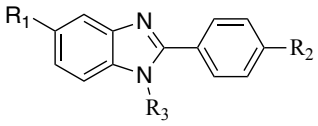


Şekil 1.2. Bileşik 38'in kimyasal yapısı

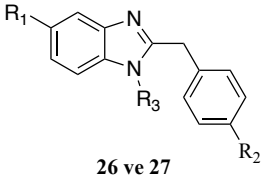
Bu tez çalışması kapsamında, benzimidazol ana yapısında mPGES-1 enzim inhibitörü iki farklı bileşik serisinin sentezi ve yapı etki ilişkilerinin incelenmesi gerçekleştirilmiştir. Yapılan optimizasyon çalışmaları ile potent inhibitörlerin geliştirilmesi ve en etkili türevde

in vitro ADME ve *in vivo* farmakokinetik özelliklerinin araştırılması ve *in vivo* hayvan deneyi çalışmalarının yapılması hedeflenmiştir.

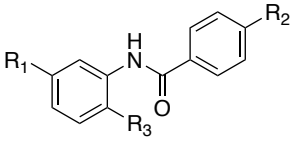
Çizelge 1.1. Tez kapsamında sentezlenen birinci seriye ait final bileşikler



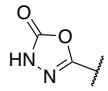
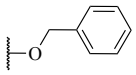
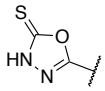
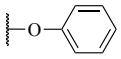
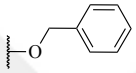
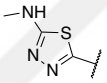
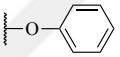
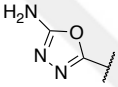
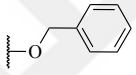
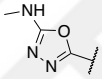
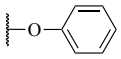
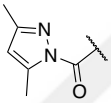
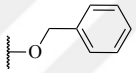
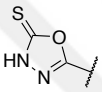
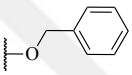
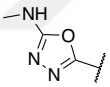
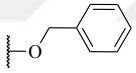
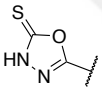
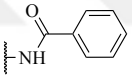
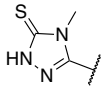
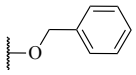
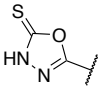
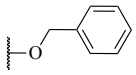
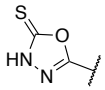
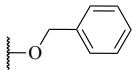
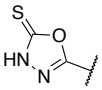
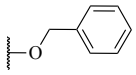
4-9, 13, 16 ve 18-19



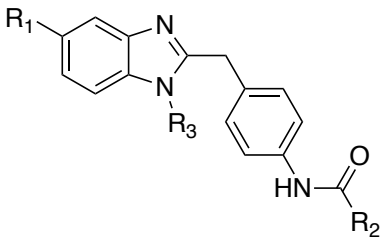
26 ve 27

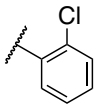
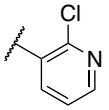
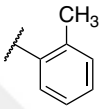
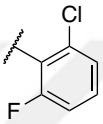
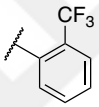
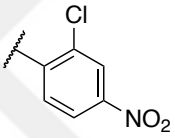
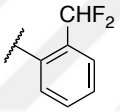
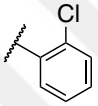
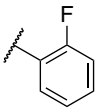
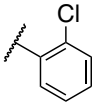
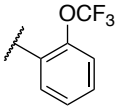


34-35

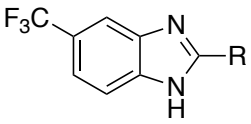
Bileşik	-R_1	-R_2	-R_3	Bileşik	-R_1	-R_2	-R_3
4			-H	**16**			-H
5			-H	**18**			-H
6			-H	**19**			-H
7			-H	**26**			-H
8			-H	**27**			-H
9			-H	**34**			-F
13			-CH_3	**35**			-H

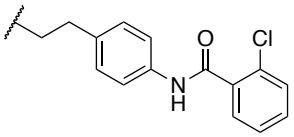
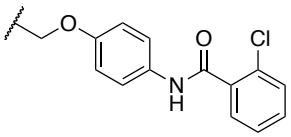
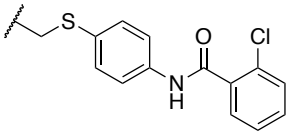
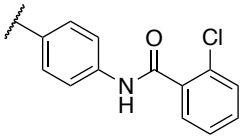
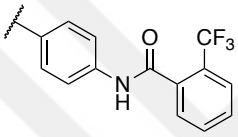
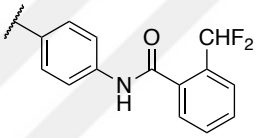
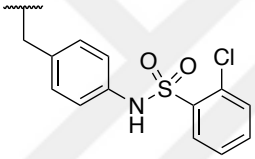
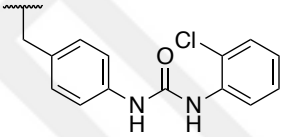
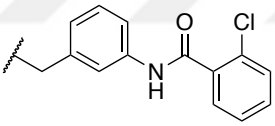
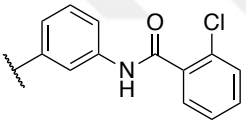
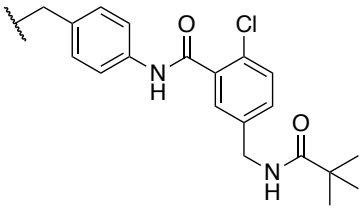
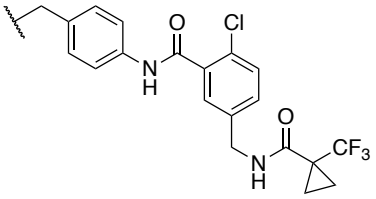
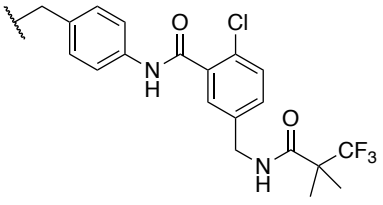
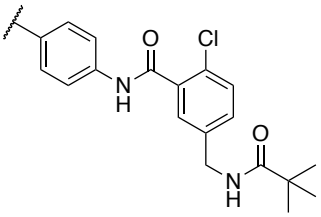
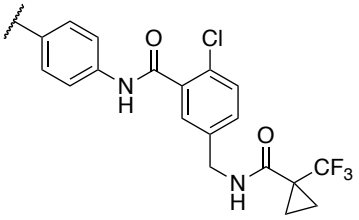
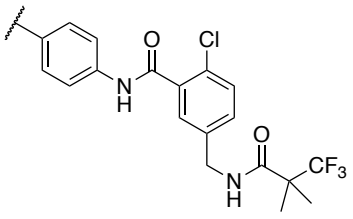
Çizelge 1.2. Tez kapsamında sentezlenen ikinci seriye ait final Bileşik 38-46 ve 47-48



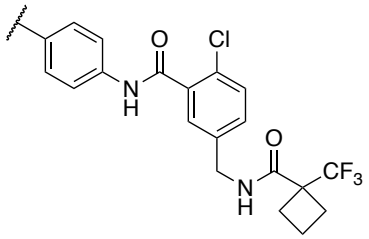
Bileşik	- R_1	-R_2	-R_3	Bileşik	-R_1	-R_2	-R_3
38	-CF_3		-H	**44**	-CF_3		-H
39	-CF_3		-H	**45**	-CF_3		-H
40	-CF_3		-H	**46**	-CF_3		-H
41	-CF_3		-H	**47**	-CH_3		-H
42	-CF_3		-H	**48**	-CF_3		-CH_3
43	-CF_3		-H				

Çizelge 1.3. Tez kapsamında sentezlenen ikinci seriye ait diğer final bileşikler



Bileşik	-R	Bileşik	-R
50		**53**	
54		**56**	
57		**58**	
60		**61**	
63		**64**	
67		**68**	
69		**71**	
72		**73**	

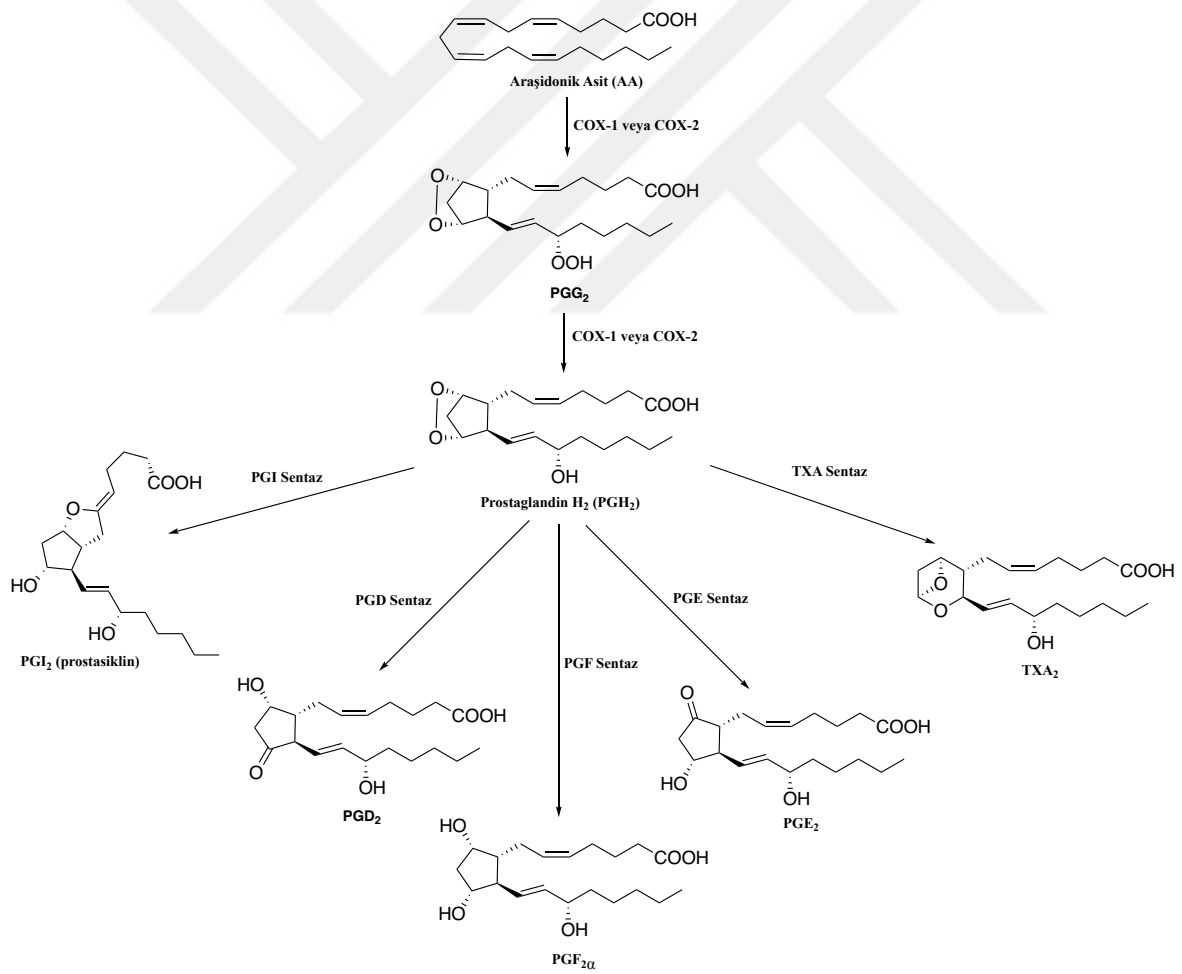
Çizelge 1.3. (devam) Tez kapsamında sentezlenen ikinci seriye ait diğer final bileşikler

74	

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Siklooksijenaz Yolağı

Siklooksijenaz yolağının ana başlangıç maddesi olan araşidonik asit (AA), hücre membranlarında bulunur ve sitozolik fosfolipaz A_2'nin ($cPLA_2$) aktivasyonu sonucunda membran fosfolipidlerinden serbestleşip, salınarak, oksidatif olarak metabolizasyonu gerçekleşir [1]. Daha sonra AA, siklooksijenazlar (COX-1/2) tarafından PGG_2'ye dönüştürülür. PGG_2, COX enzimleri peroksidaz bölgesi için yüksek bağlanma afinitesine sahiptir ve peroksidaz aktivitesi ile PGH_2'ye indirgenir. PGH_2'den hareketle yolak içerisinde özel sentazlar ile PGE_2, PGI_2, PGD_2, PGF_2 ve TxA_2'ye metabolize edilir [13-18].



Şekil 2.1. Siklooksijenaz yolağı ve PGE_2 biyosentezi

COX enzimleri, prostaglandinler (PGE_2, PGD_2, PGF_2), prostasiklin (PGI_2) ve tromboksan A_2 (TxA_2) üretimini sağlamaktadır. Vasküler endotel hücreler PGI sentaz enzimi ile PGI_2 sentezlerken, beyin ve mast hücrelerde PGD sentaz aracılığı ile PGD_2, bunun üzerinden de

uterusta PGF sentaz aracılığı ile de $PGF_{2\alpha}$ ve plateletlerde Tx sentaz aracılığı ile TxA_2 sentezlenmektedir. PGI_2 ve TxA_2 kararsız formlar olup sırası ile keto-$PGF_{1\alpha}$ ve TxB_2'ye hidroliz olmaktadırlar [19, 20].

PGE_2 biyosentezi, PGE sentazlar (PGES) tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu enzimler yapısal olarak önemli olan PGE_2 sentezini sağlayan COX-1 ilişkili cPGES, mPGES-2 ve enflamatuvar PGE_2 biyosentezinden sorumlu COX-2 ilişkili olan indüklenebilir izoform mPGES-1 olmak üzere 3 çeşittir [8, 21, 11].

2.2. COX Enzimleri

COX enziminin; COX-1 ve COX-2 olarak iki izoformu vardır. İki izoform arasında biyokimyasal ve patofizyolojik olarak farklar mevcuttur [22]. COX-1, çok sayıda dokuda eksprese edilir, fizyolojik düzeni sağlar. Mide mukozasının bütünlüğünü korumak için hayati olan PGI_2 ve sitoprotektif prostaglandinlerden olan PGE_2'nin üretiminden sorumludur [23-25]. COX-2, ana kan damarlarında, solunum yollarında, mide-bağırsak ve ürogenital sistemde bulunur [26]. Proenflamatuvar uyarılar ve çeşitli hücre içi ve dışı uyaranlar COX-2'yi indükler. Bunlar; lipopolisakkarit (LPS) [27-29], interlökin-1β (IL-1β) , tümör nekrozis faktörü (TNF) [30, 31], epidermal büyüme faktörü (EGF) [32], dönüştürücü büyüme faktörü-α (TGFα) [33] ve endotelin [34] gibi uyaranlardır.

2.3. PGE_2'nin Biyolojik Etkileri

Prostaglandin E_2 (PGE_2), ağrı, ateş ve enflamasyon durumlarında görev alan bir prostaglandindir [8, 35]. PGE_2, akut ve kronik enflamasyon süreçlerinin başlatılması ve devam ettirilmesi için gereklidir. Hipotalamustaki kan damarları endotel hücrelerinde, sentezlenen ve salınımı gerçekleşen PGE_2, hipotalamusun ateşi kontrol eden sorumlu bölgesine uyarı verir ve piretik etki oluşturur. PGE_2, mide paryetal hücreleri tarafından mide asidi salgılanmasını ve histaminle uyarılan asit salgısını azaltır, mide mukozasında vazodilatör etkinliği ile kan akımındaki artış sayesinde mide dokusunun bütünlüğünü korumasını sağlayan sitoprotektif bir prostaglandindir [36, 20]. Aynı zamanda böbrek ve bağışıklık sisteminde fizyolojik fonksiyonları olan bir prostaglandindir. Böbrekte vazodilatör etkisi sayesinde renal kan akışının, glomerüler filtrasyon hızının ve renin salınımının uyarılmasında etkinliği vardır [20, 37, 38].

PGE_2, bağışıklık sistemini aktive eden, periferik nöronların duyarlılığını artıran, farklı kanserlerde mitogenez ve hücre proliferasyonunu uyaran [39], anjiyojenezi ve doku iyileşmesini destekleyen, ovülasyon, emriyo implantasyonu ve korpus luteum oluşumunu kontrol eden bir mediatördür [40-42].

2.4. PGE_2 Reseptörleri

PGE_2, işlevini G-protein bağlı reseptörler üzerinden etki ederek göstermektedir. Bu EP reseptör tipleri, sinyal iletiminde, doku lokalizasyonunda ve ekspresyonun düzenlenmesinde farklılıklar göstermektedir. Reseptörlerin moleküler ve biyokimyasal farklılıkları, PGE_2'nin çok yönlü bir prostanoid olmasını sağlamaktadır. PGE_2, EP1-EP4 reseptörlerine bağlanarak ağrı, enflamasyon ve ateş gibi patofizyolojik durumlara neden olmaktadır [8, 43, 5].

Fare modelinde, EP1-EP4 reseptörlerinden dört EP alt tipinin tamamı PGE_2'ye yanıt verse de, EP'ler arasında aminoasit özdeşliğinin farklı olduğu gözlenmiştir [44]. EP alt tipleri, cAMP, Ca^{2+} ve inositol fosfat gibi ikincil haberciler ile yönetilen sinyal iletim yollarını kullanmaktadır [38]. Her bir EP reseptörünün vücutta spesifik dağıldığı ve ekspresyonunun dokular arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir [45-48]. İncelenen neredeyse tüm fare dokularında EP3 ve EP4 reseptörleri en yaygın eksprese olanlardır. EP1, böbrek, akciğer ve mide gibi birkaç organ ile sınırlıdır. EP2 en az yaygın olan türdür. EP3 reseptörü pirojenik etkiye aracılık etmektedir [20, 38].

Her bir EP reseptör tipi silinerek, fareler üzerinde her alt tipin aracılık ettiği PGE_2 etkisi tanımlanmış ve EP alt tiplerinin hangi fizyolojik ve patofizyolojik tepkilerde rol oynadığı belirlenmiştir [38]. PGE_2, gastrointestinal mukozanın bütünlüğünün korunması (EP1 ve EP3 reseptörleri aracılığıyla) [49-51], natriürez, renal kan akışı ve kan basıncının düzenlenmesi (EP1 ve EP2 reseptörleri aracılığıyla) [52-54] gibi fizyolojik olaylarda rol oynamaktadır [8]. Ayrıca farelerde yapılan asetik asit ile indüklenen kıvranma testinde akut ağrı tepkisinde EP1 reseptörü aracılık ederken [53], lipopolisakkarit ile indüklenen hiperaljezi modellerinde EP3 reseptörü etkinlik göstermektedir [55].

2.5. MAPEG Süper Ailesi

Eikozanoid ve glutatyon metabolizmasındaki membran bağımlı proteinler (MAPEG) süper enzim ailesi AA yolağından mediatörlerin biyosentezinde ve oksidatif strese karşı koruyucu olarak işlev gören enzimlerdir. Genom çalışmalarında, MAPEG enzim ailesine ait 136 protein olduğu bulunmuştur. Bu proteinlerin, prokaryotlar ve ökaryotlarda bulunduğu belirlenmiştir [56]. MAPEG süper enzim ailesi; lökotrien C4 (LTC_4) sentaz, 5-lipoksijenaz aktive edici protein (FLAP), prostaglandin E sentaz (PGES) enzimi ve üç mikrozomal glutatyon S-transferaz (mGST-1, mGST-2, mGST-3) olmak üzere 6 insan proteinini içermektedir [56-58].

2.6. PGE_2 Sentaz Enzimleri

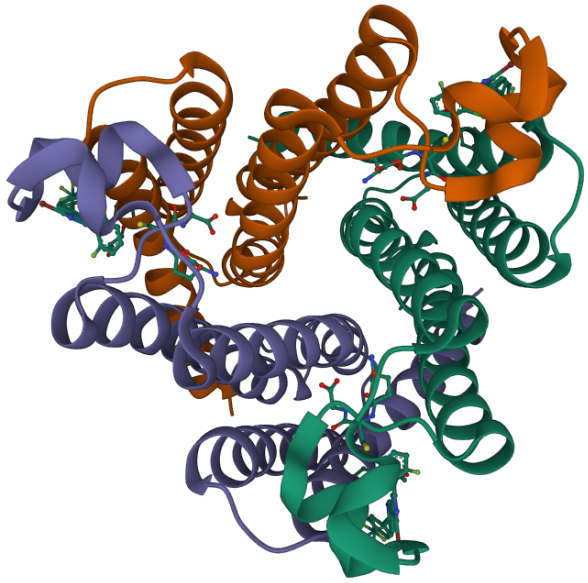
PGE_2 biyosentezini sağlayan üç PG sentaz enzimi vardır. Bunlar; mikrozomal PGE_2 sentaz-1 (mPGES-1), mikrozomal PGE_2 sentaz-2 (mPGES-2) ve sitozolik PGE_2 sentazdır (cPGES) [8, 41]. cPGES, yapısal form olup, COX-1 enzimi ile bağlantılı bir şekilde fizyolojik olarak önemli olan PGE_2 üretiminden sorumludur [8, 11, 59]. mPGES-2, hem COX-1 hem COX-2'den oluşan PGH_2'yi kullanabilir ve bazal PGE_2 sentezine katkıda bulunur, ancak biyolojik fonksiyonu henüz çok iyi anlaşılamamıştır [21]. İndüklenebilir form olan mPGES-1, akut ve kronik enflamasyon süreçlerinde önemli rol oynayan enflamatuvar PGE_2 biyosentezini COX-2 bağlantılı olarak gerçekleştirmektedir. Enflamasyonlu dokularda ve birçok kanser türünde COX-2 ile ilişkili olarak mPGES-1 ekspresyonunun ve aktivitesinin önemli derecede arttığı gösterilmiştir [60, 9, 42, 59, 61].

2.7. mPGES-1 Enzimi

mPGES-1, MAPEG süper enzim ailesine ait, glutatyon bağımlı bir enzimdir ve 1999 yılında ilk olarak keşfedilmiştir [9, 10, 62]. mPGES-1 enzimi, araşidonik asit yolağında PGE_2 biyosentezinde son basamakta görevli olan 3 enzimden (mPGES-1, mPGES-2, cPGES) biridir. COX-2 tarafından sentezlenen PGH_2 substratını kullanarak PGE_2 biyosentezini gerçekleştirir. Farklı ağrı ve enflamasyon durumlarında indüklenebilir olduğu ve COX-2 ile ilişkili enflamatuvar PGE_2'nin biyosentezini yaptığı kanıtlanmıştır [63, 64].

mPGES-1, homotrimer yapıda bir enzimdir [58]. Her monomer 4 heliksten oluşur, her trimerin ikinci heliksi sitoplazmik tarafa doğru huni şeklinde bir kavite oluşturur (Şekil 2.3,

PDB kodu: 4YL3). Monomerler arasında yayılmış 3 aktif bağlanma bölgesi vardır. Ana kofaktör glutatyon (GSH), bölgede π- stacking ve hidrojen bağları ile U-şekilli bir konformasyonda, trimerlerin arasında oluşan aktif bölgede bulunur ve bu konformasyonda iken aktif bağlanmaya yardımcı olmaktadır [9, 65, 66, 58].

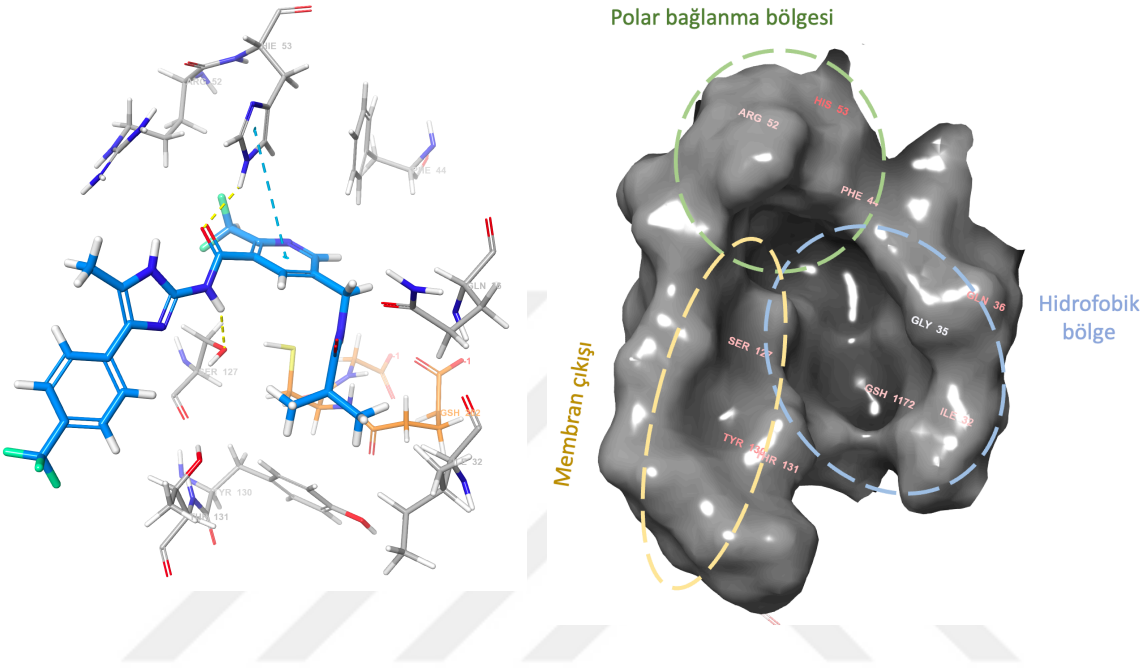


Şekil 2.2. mPGES-1 enzimi 3 boyutlu görünümü

Gerçekleştirilen modelleme çalışmaları, PGH_2'nin aktif bağlanma bölgesine peroksifuran çekirdeği ve esnek alifatik zincir yapılarının lipid membrana ya da membran ile sitozol arasındaki arayüze uyumlu bir şekilde yerleştiğini göstermiştir [62]. Treonin (T131), lösin (L135), alanin (A138), arjinin (R52) ve histidin (H53) aktif bölgeye substrat girişini sınırlayarak, kontrol edici bir görev üstlenmektedir. İnsanlarda ve sıçanlarda bu bölgede aminoasit değişimi olması nedeniyle türler arası farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Birçok mPGES-1 inhibitör bileşik; insan mPGES-1 enzimini güçlü bir şekilde inhibe etmesine rağmen bazı hayvan modellerinde etki göstermemiştir. Ayrıca MF-63 gibi fenantren imidazol türevi bileşikler insan ve kobay mPGES-1 enzimini inhibe ederken fare ve sıçan enzimini inhibe etmekte başarısız olmuştur. İnsan mPGES-1 enziminde treonin (T131), lösin (L135) ve alanin (A138) bulunan bölgede, sıçanda valin (V131) ve fenilalanin (F135 ve 138) gibi hacimli aminoasitler bulunmaktadır. Görülen aktivite kaybının nedeninin türler arasında substratın aktif bölgeye girişini kontrol eden 3 aminoasitlik dizilimdeki farklılıktan kaynaklandığı gösterilmiştir [1, 5, 67-69].

mPGES-1 enzimi bağlanma bölgesinde; polar bağlanma bölgesi (arjinin, histidin), hidrofobik bir iç cep (lösin, izolösin, tirozin) ve membrana doğru ayrı bir hidrofobik alan

bulunmaktadır. Enzim substratları (inhibitör ligandlar), polar bağlanma bölgesinde arjinin ve histidin ile su veya tuz köprüsü yardımıyla ya da direkt olarak hidrojen bağı etkileşimleri yapmaktadır. Glutatyon üzerindeki alana yerleşerek hidrofobik cebe ya da membrana doğru yönelerek farklı bağlanma modları göstermektedir (Şekil 2.3, PDB kodu: 5BQI[70]) [71, 72, 70].



Şekil 2.3. mPGES-1 enzimi aktif bölgesi (PDB kodu: 5BQI[70])

mPGES-1 silinmiş farelerde, hem enflamatuvar PGE_2 biyosentezinde [73] hem de kolajen kaynaklı artrit modelinde enflamasyon oluşumunda azalma olduğu görülmüştür [74]. Ayrıca mPGES-1 silinen bu farelerde ateş [75], kronik enflamasyon [74], trombogenez ve hipertansiyon [13] gibi PGE_2 ile şiddetlenen hastalıklara yatkınlık ve hastalık semptomlarında şiddetlenme olmadığı, bu sebeple, mPGES-1'in, çeşitli enflamatuvar hastalıklarda rol oynadığı yapılan deneylerle gösterilmiştir. Sonuçlara göre antienflamatuvar bileşikler geliştirmek için mPGES-1 enzimi, yeni bir terapötik hedef olarak düşünülmüştür [76, 77]. Nörodejeneratif hastalıklarda, indüklenebilir mPGES-1 ve enflamatuvar PGE_2'nin rol oynadığı gösterilmiştir [78]. İnsanlarda, mPGES-1'in artritik sinoviyal dokularda, osteoartritik hastaların kıkırdak ve kondrositlerinde [79-81], enflamatuvar bağırsak hastalığında iltihaplı bağırsak mukozasında [82], aterosklerotik karotis plaklarında [83-85], Alzheimer hastalığı dokularında [86], akut miyokard enfarktüsü olanların kalp dokusunda, hepatitli hastalardan alınan karaciğer dokusunda [21] eksprese olduğu yapılan farklı çalışmalarda belirlenmiştir.

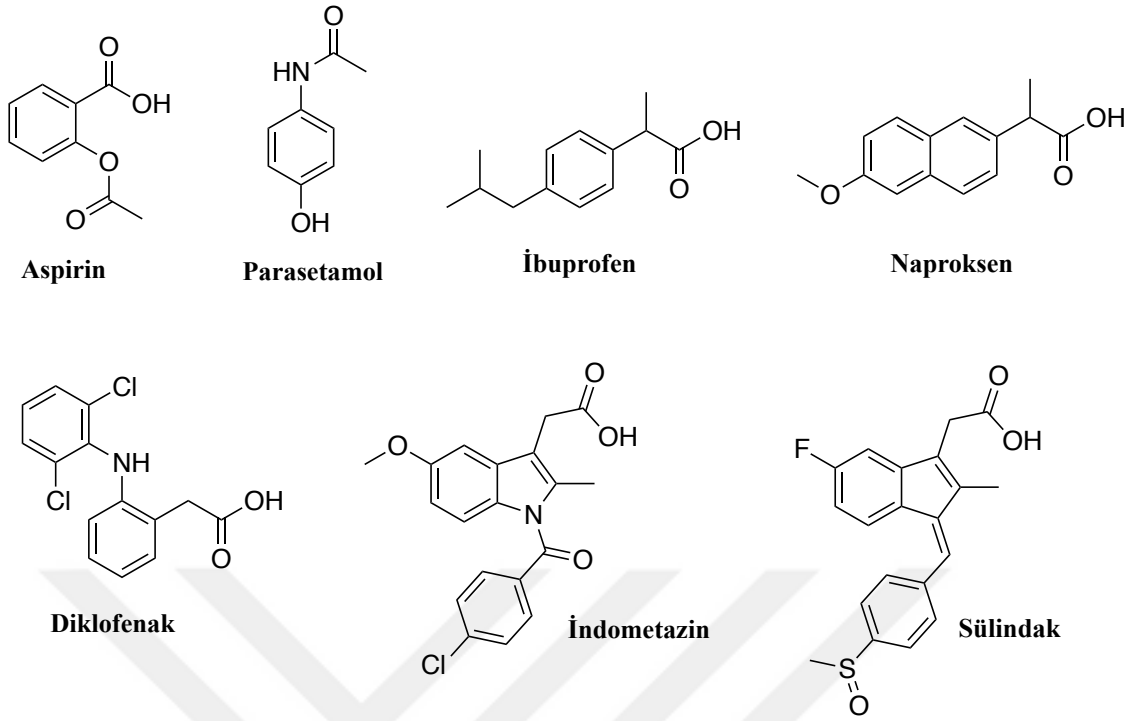
İnsanlarda mide [87-89], akciğer [9, 90], kolon [90], bağırsak [91], yemek borusu [92, 93], gırtlak [94], karaciğer [95, 96], pankreas [97], meme [98], yumurtalık [99], skuamöz epitel [100, 101] ve beyin [102-104] gibi kanser hücre hatlarında mPGES-1'in aşırı ekspresyonu ve PGE_2'nin biyosentezinin arttığı belirlenmiş ve bu da mPGES-1'in kanserde önemli rol oynadığını göstermiştir [95, 98, 89, 39, 90].

2.8. Antienflamatuvar İlaçlar

2.8.1. Nonsteroidal antienflamatuvar ilaçlar

Nonsteroidal antienflamatuvar ilaçların (NSAEİ) etkilerini COX-1 veya COX-2'nin inhibisyonu sonucunda prostaglandin biyosentezinin inibisyonu ile göstermektedir [105, 22]. Enflamasyona karşı ilk tedaviler, asetilsalisilik asit ve indometazin gibi, COX inhibisyonunu sağlayan steroid olmayan antienflamatuvar ilaçlarla sağlanmıştır (Şekil 2.4) [106-108]. NSAEİ'ın kullanımı sonucu; yapısal işlevleri olan COX-1 ve enflamatuvar süreçlerde indüklenen COX-2 izoformlarının inhibisyonu ile gastrointestinal (COX-1 ile bağlantılı), kardiyovasküler ve renal (COX-2 ile bağlantılı) ciddi yan etkiler görülmüştür [109, 106-108]. NSAEİ'ın kullanımı, COX-1 inhibisyonu ile sitoprotektif PGI_2 ve PGE_2'nin biyosentezinin inhibe olması sonucu yaşamı tehdit eden gastrointestinal ülserasyon, kanama gibi yan etkiler oluşabilmektedir [110, 111, 26]. Düzenli NSAEİ kullananlarda bu riskin kullanmayanlara oranla üç kat daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu yan etki riski sonrası sadece COX-2 inhibisyonunun hedeflenmesi amaçlanmıştır [110, 111, 26]. COX-1 tarafından üretilen prostaglandinler sitoprotektif ajanlar olarak hareket ettiğinden, COX-1 inhibisyonu gastrik irritasyon ile ilişkilendirilmiştir [112-114].

Aspirin, asetaminofen ve indometazin gibi geleneksel NSAEİ'ın çoğu, mPGES-1'i inhibe etmekte başarısız olmaktadır, sadece ön ilaç olan Sülindak'ın aktif metaboliti olan Sülindak sülfit (IC_{50}= 80 μM) zayıf mPGES-1 inhibitör etkinlik göstermiştir (Şekil 2.4) [61].



Şekil 2.4. Bazı nonsteroidal antienflamatuvar ilaçların kimyasal yapısı

2.8.2. Selektif COX-2 inhibitörleri

COX enzimlerinin her iki formunun da hedef olduğu geleneksel NSAEİ'ın tehlikeli gastrointestinal sistem yan etkilerinden kaçınmak için 2000'li yılların başında selektif COX-2 inhibitörleri piyasaya sunulmuştur. Koksibler, azaltılmış gastrointestinal yan etkiler ile çeşitli akut ve kronik durumlarda ağrı ve enflamasyonu tedavi etmek için kullanılan bir ilaç grubu olmuştur. Esas olarak romatoid artrit ve osteoartrit, diğer artritik hastalıklar ve dismenore tedavisinde kullanılmıştır [115, 116].

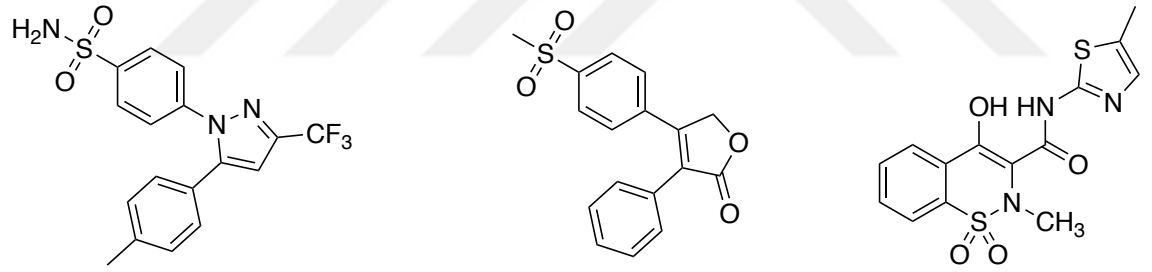
COX-2; beyin, bağırsak, timüs, akciğer ve böbreğin iç medullası gibi bölgelerde yapısal olarak eksprese edilmektedir [117-120]. Ayrıca, COX-2'nin enflamasyon bölgelerinde [121] ve kanserde [122] hızla indüklendiği görülmüştür.

1999 yılında piyasaya sürülen FDA tarafından onaylanan ilk iki koksib Selekoksib (Pfizer) ve Rofekoksib (Merck) olmuştur (Şekil 2.5) [123]. Koksibler, selektif COX-2 inhibisyonu yaparak seçici şekilde enflamatuvar PGE_2 biyosentezini baskılıyor olsa da artrit gibi kronik NSAEİ tedavisi gerektiren hastalıkların tedavisinde uzun süreli kullanılmaları sonucunda kalp krizi, ani kardiyak ölüm ve inme risklerini artırdıkları için tedaviden geri çekilmiştir [124]. Rofekoksib'in (Vioxx) önemli kardiyovasküler risklerle ilişkili olduğu tespit edilmiş

ve Merck, 30 Eylül 2004'te hem yerel hem de uluslararası pazardan Rofekoksib'i geri çekmiştir [125]. Benzer şekilde, Rofekoksib'in ardından Valdekoksib (Bextra, Pfizer) ve Lumirakoksib (Novartis) gibi diğer coxibler de çok hızlı bir şekilde piyasadan geri çekilmiştir [126-129].

Selektif COX-2 inhibitör ilaçlardaki kardiyovasküler sistem yan etkilerinin COX-2 inhibisyonu ile antitrombotik, vazoprotektif ve vazodilatör etkili PGI_2 biyosentezinin baskılanması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir [35, 130]. Endotelyal COX-2 ile üretilen PGI_2, trombosit agregasyonunu baskılamaktadır. Koksibler, TxA_2 sentezini etkilemeden PGI_2 sentezini baskılayarak trombozu desteklemektedir [131].

Bu gelişmelerden sonra, meloksikam ve nimesulid gibi orta derecede seçici COX-2 inhibitörlerinin tercih edilmesinin daha avantajlı olduğu belirlenmiştir. Bu yaklaşım kardiyovasküler toksisite risklerini azaltmıştır. COX-2 inhibitörlerinin selektivitesini sağlayan yapısal modeli (diaril heterosiklik) ve şekli değiştirerek orta derecede seçici COX-2 inhibitörleri tasarlamanın daha güvenli olduğu sonucuna varılmıştır [132].



Selekoksib **Rofekoksib** **Meloksikam**

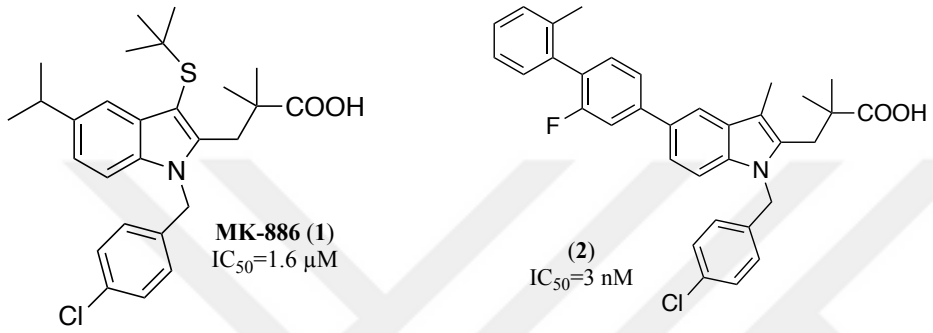
Şekil 2.5. Selektif COX-2 inhibitörü bileşiklerin kimyasal yapısı

2.8.3. mPGES-1 inhibitörleri

mPGES-1, geleneksel NSAEİ ve selektif COX-2 inhibitörlerinin neden olduğu yan etkileri göstermeyen, enflamatuvar PGE_2 biyosentezini selektif olarak inhibe edecek, iyi güvenlik profiline sahip bir hedef olarak belirlenmiştir [7].

Merck araştırmacıları 2005 yılında, mPGES-1 ve FLAP'in de dahil olduğu MAPEG süper enzim ailesinin bir üyesi olduğu için bazı FLAP inhibitörlerinin mPGES-1 inhibitör aktivitesini incelemiştir. Potent FLAP inhibitörü MK-886'nın (**1**, IC_{50}= 26 nM) rekombinant insan mPGES-1 enzim inhibitör aktivitesi de iyi düzeyde çıkmıştır (IC_{50}= 1.6 μM). Bu yapı

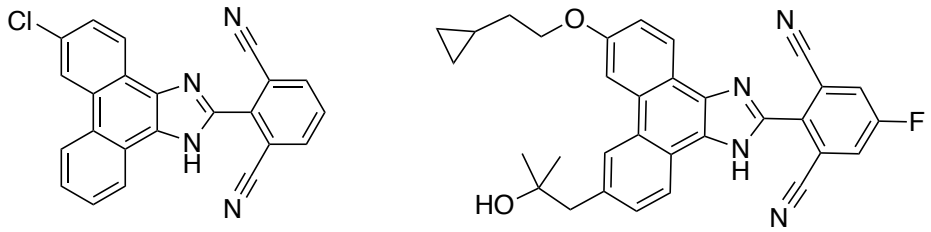
öncü molekül seçilip, bunun üzerinden optimizasyonlar yapılmış, molekülün 1-(4-klorobenzil)indol iskeleti sabit kalarak denenen optimizasyonlar sonucu **2** numaralı bileşiğe (IC_{50}= 3 nM) ulaşılmıştır. Bu bileşik mPGES-2 ve tromboksan sentaz inhibisyonuna göre mPGES-1'e 100 kat daha iyi seçicilik göstermiştir. Ancak, enzim deneylerinde selektivitenin yüksek olduğu potent bileşikler olmalarına rağmen, IL-1β ile uyarılan A549 hücreleri ile yapılan deneylerde aktivitesi 2000 kat azalmış (IC_{50}= 5.8 μM) ve plazma proteinlerinin varlığında aktivitede kayıplar yaşandığı belirlenmiştir (Şekil 2.6) [77].



Şekil 2.6. Merck'e ait Bileşik 1 ve 2'nin kimyasal yapısı

2007 yılında Merck araştırmacıları, indol karboksilik asit türevi bileşiklerin aktivitelerini iyileştirme çalışmalarından sonuç alamayınca yeni bir inhibitör bileşik arayışına girilmiş ve yüksek verimli tarama (HTS, high throughput screening) yaklaşımı ile azafenantron türevi bir bileşik bulunmuş ve bu bileşik üzerinde yapılan optimizasyon çalışmaları ile mPGES-1 inhibitör aktivitesi iyileşmiş fenantren imidazol halka sistemine ulaşılmıştır. Bu halka sistemi ile yapılan optimizasyonlar sonucu da 2,6-disiyanofenil grubu taşıyan MF-63 (**3**) isimli potent mPGES-1 inhibitör bileşiği keşfedilmiştir. Bu bileşik insan ve kobayda oldukça potent ve selektif inhibitör aktivite gösterirken (IC_{50}= 1 ve 0.9 nM), bileşiğin diğer PGE_2 sentazlara karşı inhibitör aktivitesinin de 1000 kat daha düşük olduğu belirlenerek mPGES-1 selektif inhibitörü olduğu bulunmuştur. Ancak insan tam kanında (HWB) yapılan deneylerde mPGES-1 inhibisyonunun büyük oranda azaldığı gözlenmiştir (HWB IC_{50}= 1300 nM) (Şekil 2.7). MF-63 (**3**) bileşiği 30-100 mg/kg oral dozda analjezik etki göstermesine rağmen sıçan ve fare modellerinde etkisiz bulunmuştur. İnsan mPGES-1 enzimi taşıyan farelerde yapılan deneylerde etkinliğini gösterebilmiştir. Yapılan deneylerde NSAEİ'da gözlenen yaygın yan etkilere de sahip olmadığı anlaşılmıştır [133]. Ancak bu bileşiğin, oral uygulamada kısa yarı ömrü ve istenenden zayıf farmakokinetik özellikleri nedeniyle üzerinde optimizasyonlar yapılmaya başlanmıştır. Yapılan incelemelerde, fenantren ve disiyanofenilin aktivite için önemli oldukları bulunmuş, bu yapılar korunarak

selektif, potent ve oral biyoyararlanımı **3**'ten daha iyi olan **4** numaralı bileşiğe ulaşılmıştır (insan mPGES-1 IC_{50} =0.9 nM, HWB IC_{50} = 140 nM). Bu bileşik ratlarda uygulamayı takiben iyi absorbsiyon göstermiş ve 1 saatte Cmax'a (maksimum konsantrasyon) ulaşmıştır ve kobay hiperaljezi modelinde, oldukça iyi oral *in vivo* etkinlik göstermiştir [2].

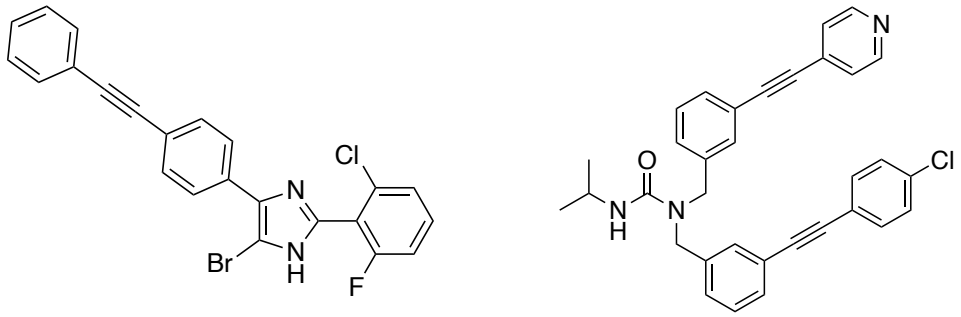


MF-63 (**3**)
HWB IC_{50} = 1.3 nM

(**4**)
IC_{50} =1 nM

Şekil 2.7. Merck'e ait Bileşik 3 ve 4'ün kimyasal yapısı

Daha sonraki çalışmalarda, geniş çaplı yapı etki ilişkileri (YEİ) incelemeleri sonucunda 2,4-biarilimidazol iskeleti taşıyan bileşikler elde edilmiş ve yapılan optimizasyon çalışmaları ile potent bir mPGES-1 inhibitörü olan bileşik **5** geliştirilmiştir (IC_{50}= 1 nM). Ancak bu bileşikte yapıya eklenmiş olan hidrofobik fenil alkin kısmı, yapının lipofilisitesini artırmış, plazma proteinlerine bağlanma oranını yükseltmiş ve bunun sonucunda tam kan aktivitesinde kayba neden olmuştur (IC_{50}= 1600 nM) [134]. Firmanın yine HTS yaklaşımı ile keşfetmiş olduğu üçüncü bir kemotip olan trisübstitüe üre türevleri üzerinde de ileri optimizasyonlar yapılmış, yapıya hidrofobik aril alkin sübstütientleri eklenerek lipofilisitesi yüksek potent bileşik **6** (mPGES-1 IC_{50}= 2 nM, A549 IC_{50}= 340 nM, HWB IC_{50}= 2100 nM) ve türevlerine ulaşılmıştır (IC_{50}: 1-3 nM) (Şekil 2.8) [135].

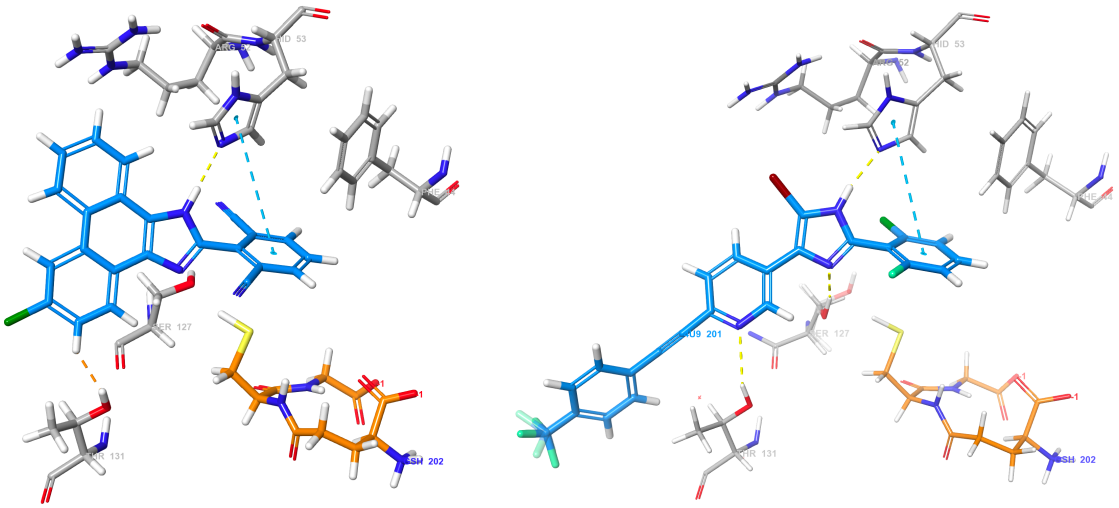


(5)
IC_{50} = 1 nM

(6)
IC_{50} = 2 nM

Şekil 2.8. Merck'e ait Bileşik 5 ve 6'nın kimyasal yapısı

Fenantren imidazol türevi MF-63 (**3**) bileşiği, glutatyon (GSH) üzerinde yer alan bağlanma bölgesinin oldukça üstünde bir alanda etkileşim göstermektedir. Düzlemsel klorofenantren yapısı, homotrimer enzimin monomer 1'inin 4. zinciri üzerinde fenilalanin (P124), serin (S127) ve valin (V128) ile etkileşir. 2,6-disiyanofenil grubu, iki protein zinciri arasına doğru yerleşir, histidinin (H53) imidazolü ile su molekülü aracılı hidrojen bağı yaparken, etkileştiği bölgedeki aminoasitler ile van der Waals etkileşimleri yaptığı bulunmuştur (PDB kodu: 4YL0, Şekil 2.9). Yapılan çalışmalarda, aktif bölge aminoasit farklılıkları nedeniyle bu molekülün bağlanma modunun türlere göre oldukça farklılık gösterdiği de bulunmuştur [71]. Ancak, 2,4-biarilimidazol iskeleti taşıyan **5** numaralı bileşiğin analoğuna ait mPGES-1'e bağlı kristal yapısı incelendiğinde; bu bileşiğin GSH üzerindeki bağlanma bölgesine bis-*o*-kloroflorofenil yapısı ile yerleştiği, monomer 1'in alanin (A123) ve serin (S127) aminoasitlerinin yan zincirleri ve monomer 2'nin arjinin (R38), lösin (L39), fenilalanin (F44), aspartat (D49) ve histidin (H53) aminoasitleri yan zincirleri ile van der Waals ve hidrofobik etkileşimler yaptığı, kloroflorofenile bağlı olan merkezi imidazolün histidin (H53) ve su molekülü aracılı olarak serin (S127) ile hidrojen bağı etkileşimi yaptığı bulunmuştur. İmidazol üzerindeki brom sübstitüentinin arjinin (R52) yan zincirine doğru konumlandığı, merkezi imidazol halkasının bu konformasyonunun, triflorometilbenzen kuyruğu için bir yön belirlediği bulunmuştur. Piridin azotu, monomer 1'in treonin (T131) aminoasiti yan zinciri ile hidrojen bağı yaptığı ve molekülün kuyruk kısmının sadece monomer 1'in a4'ündeki serin (S127), valin (V128), treonin (T131), lösin (L132 ve L135) aminoasitleri yan zincirleri ile hidrofobik ve van der Waals etkileşimleri yaptığı belirlenmiştir (PDB kodu: 4YL3, Şekil 2.9) [71].

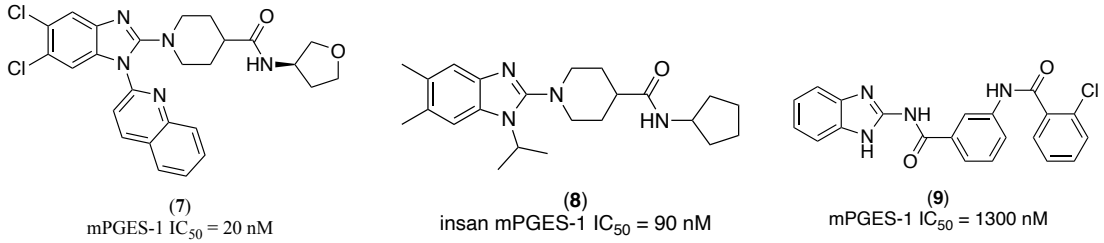


Şekil 2.9. Bileşik 3'ün ve Bileşik 5 analoğunun mPGES-1 aktif bölgesinde bağlanma modu

NovaSaid firmasının 2012 yılında patentlediği ve 2019 yılında ileri çalışmalarını yayınladığı Bileşik **7,** rekombinant insan ve sıçan mPGES-1'i *in vitro* olarak 20 nM IC_{50} değeri ile seçici olarak inhibe etmiştir. IL-1β ile muamele edilmiş insan hücrelerinde, PGE_2 üretiminde güçlü inhibisyon göstermiştir. Bileşik ayrıca LPS ile indüklenmiş insan tam kan deneylerinde (24 saat) test edilmiş; TXA_2 sentezini etkilemeden düşük mikromolar aralıkta IC_{50} değerleri ile PGE_2 üretimini bloke ettiği belirlenmiştir (Şekil 2.10) [136].

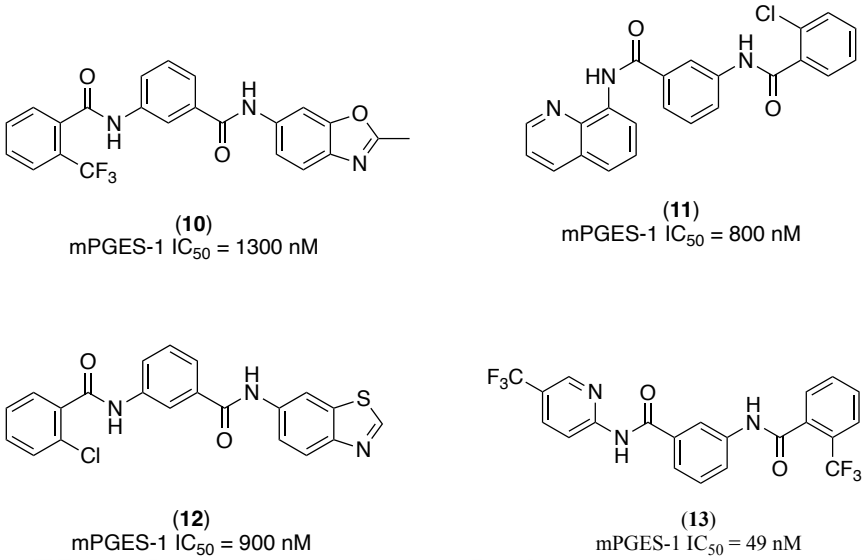
NovaSaid firmasının 2013 yılında yayınlanan bir yayınına göre Bileşik **8**, insan mPGES-1 inhibisyonunun IC_{50} değeri 0,09 μM iken sıçan modelinde 0,9 μM olarak hem sıçan hem de insan mPGES-1'ini konsantrasyona bağlı bir şekilde inhibe etmiştir. Yapılan selektivite çalışmalarında, COX-1 ve COX-2'ye karşı konsantrasyona bağlı inhibisyon tespit edilememiş ve 50 μM'ye kadar bu enzimler için inhibisyon % 20'nin altında kalmıştır (Şekil 2.10) [137].

NovaSaid'in 2009 yılındaki patentinde bildirilen, 1,3-disübstitüe fenil türevlerinden benzimidazol iskeleti taşıyan **9** numaralı bileşiğin mPGES-1 inhibisyon değeri 1300 nM olarak ölçülmüştür. Çeşitli optimizasyonlarla 12-5800 nM aralığında IC_{50} değerine sahip bir seri elde edilmiştir [138].



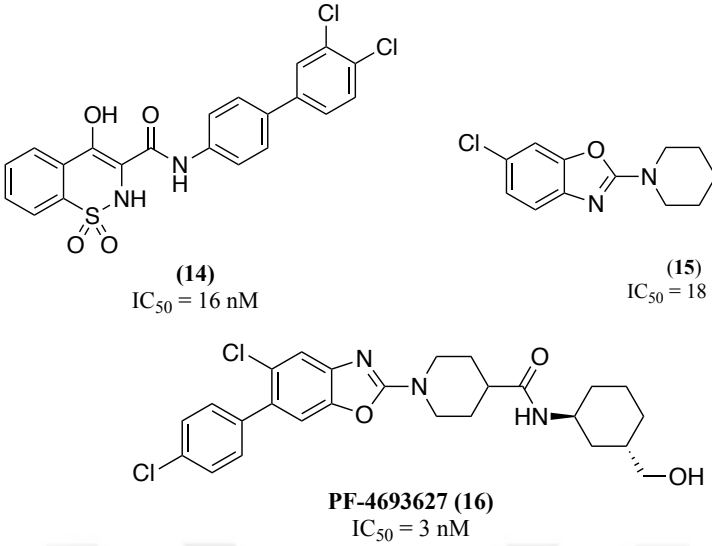
Şekil 2.10. NovaSaid'e ait Bileşik 7-9'un kimyasal yapısı

Novasaid araştırmacılarının farklı halka sistemleri taşıyan 1,3-disübstitüe fenil analoglarını incelediği çalışmasında, benzoksazol iskeleti taşıyan **10** numaralı bileşik için mPGES-1 inhibisyonu IC_{50} değeri 1300 nM olarak belirlenmiştir. Kinolin yapısı taşıyan **11** numaralı bileşikte IC_{50} değerinin 800 nM olduğu belirlenmiştir. Benzotiyazol iskeleti taşıyan **12** numaralı bileşiğin mPGES-1 IC_{50} değerinin 900 nM olduğu ve **13** numaralı bileşiğinin de potent mPGES-1 inhibitörü olduğu bulunmuştur (insan mPGES-1 IC_{50} = 49 nM) (Şekil 2.11) [138].



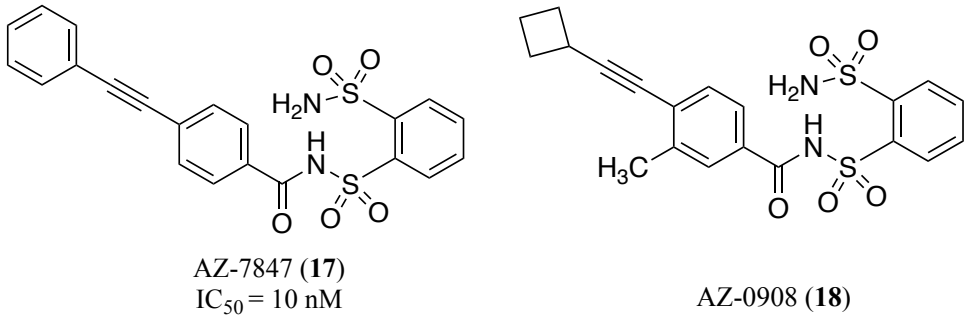
Şekil 2.11. Novasaid'e ait Bileşik 10-13'ün kimyasal yapısı

Pfizer tarafından 2010 yılında paylaşılan bir çalışmada, yapılan HTS çalışmaları ile ulaşılmış olan oksikam türevlerinden bileşik **14**'ün hem hücresiz (IC_{50}= 16 nM) hem de hücre deneylerinde (IC_{50}= 0.14 uM) potent etkinlikte olduğu ve COX-2 enzimine karşı 200 kat daha selektif olarak mPGES-1'i inhibe ettiği bulunmuştur. Ancak kimyasal yapısından da anlaşıldığı üzere bu türevlerde de lipofilisitenin yüksek olması ve buna bağlı olarak plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanması nedeniyle tam kan aktivitelerinde önemli kayıp gözlenmiştir (IC_{50}= 5 μM) (Şekil 2.12) [3]. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda, HTS ile bulunan yeni türevlerde başarılı sonuçlarla önce **15** numaralı bileşik elde edilmiş (IC_{50}= 18 nM), ancak yine plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanma sonucu insan tam kan deneylerinde inhibitör etkinin fazlasıyla düştüğü görülmüş (HWB IC_{50}= 7.56 μM) [139], yarılanma ömürlerinin insan ve sıçanda çok düşük olması ve yüksek oranda metabolize olmaları, siklopentan halkası yapıda var olduğunda *in vivo* farmakokinetik sonuçlarının değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu durumun sebebi; cLogP değerinin oldukça yüksek olmasına (cLogP= 4.2) bağlanmıştır [140]. Ancak bu bileşiğin suda çözünürlüğünün düşük olmasının, klinikte doz sınırlamasına neden olabileceği için optimizasyon çalışmaları yapılmış ve tam kan aktivitesi daha iyi olan PF-4693627 (**16**) bileşiği keşfedilmiştir (IC_{50}= 3 nM, HWB IC_{50}= 109 nM). Selektivitesi yüksek, potent, insan tam kan deneylerinde ve *in vivo* farmakokinetik deneylerde iyi sonuçlar vermesi, ön klinik çalışmalar için güvenli bir profile sahip olması nedeniyle osteoartrit ve romatoid artrit için klinik çalışma safhasına ilerlemiştir (Şekil 2.12) [141].



Şekil 2.12. Pfizer'a ait Bileşik 14-16'nın kimyasal yapısı

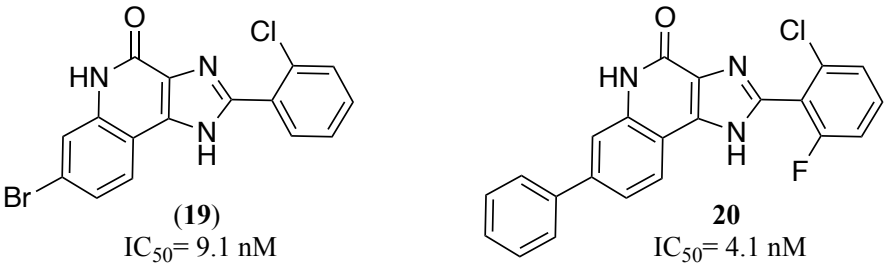
2013 yılında AstraZeneca araştırmacıları tarafından keşfedilen bis-sülfonamit türevi bileşikler, potent mPGES-1 inhibitör özellik göstermiştir (**17** için IC_{50} = 10 nM). Ancak bu ilk türev bileşiklerde yapılan ileri çalışmalarda, metabolik yolaklarda bileşiğin uygulamasını takiben amit hidrolizi sonucu benzen-1,2-disülfonamit metabolitinin meydana geldiği ve bu bileşiğin ratlarda böbrek hasarını indüklediği gözlenmiştir. Bunun önüne geçebilmek amacıylaoptimizasyon çalışmaları sonucunda potent bir bileşiğe ulaşılmış ve ileri deneyleri yapılmıştır. Rat hepatositlerinde hidrolize olamayan, biyoyararlanımı ve farmakokinetik profili iyileştirilmiş **18** numaralı bileşik elde edilmiştir (Şekil 2.13) [142].



Şekil 2.13. AstraZeneca'ya ait Bileşik 17-18'in kimyasal yapısı

Dainippon Sumitomo Pharma tarafından 2012 yılında HTS taraması sonucu bulunan imidazokinolin türevi öncü bileşik üzerinden geliştirilen, imidazokinolon türevi **19** numaralı bileşik oldukça potent mPGES-1 inhibitör etki (IC_{50} = 9.1 nM) ve COX-1/2'ye göre 1000

kat daha selektivite göstermiştir [143]. Daha sonra 2013 yılında bildirilen 2. ve 7. konumlarında fenil sübstitüenti taşıyan mPGES-1 inhibitörü bileşik **20** (IC_{50} = 4.1 nM), COX-1/2'ye göre 1000 kat daha selektiftir, oldukça iyi ADME profili ve iyi oral absorbsiyonu nedeniyle ileri optimizasyon çalışmaları için aday olarak seçilmiştir (Şekil 2.14) [144, 145, 143].

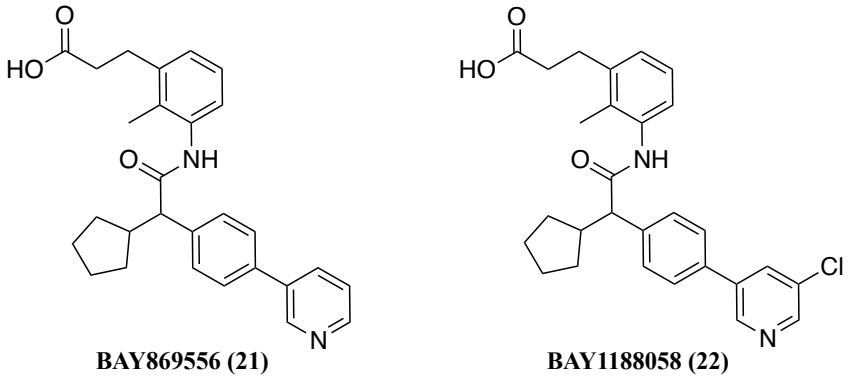


(**19**)
IC_{50}= 9.1 nM

20
IC_{50}= 4.1 nM

Şekil 2.14. Dainippon Sumitomo Pharma'ya ait Bileşik 19 ve 20'nin kimyasal yapısı

Bayer-Evotec araştırmacıları 2019 yılında, mevcut mPGES-1 inhibitörlerinin farmakofor yapılarını göz önünde bulundurarak, geniş bir yapı etki ilişkileri (YEİ) çalışması sonucunda yeni bir molekül serisini keşfetmiştir (Şekil 2.15). Potent mPGES-1 inhibitör aktivite gösteren Bileşik **21**'in (IC_{50} = 670 nM) insan ve kemirgen proteinleri arasındaki protein farkından kaynaklanan aktivite farklılıklarını optimize etmek ve farmakokinetik profilini iyileştirmek için optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Yapılan modifikasyonlar sonucu, meta kloro taşıyan piridil grubunun aktiviteyi artırdığı gözlenmiştir. Asit grubu yerine, biyoizosterleri denenmiş, aktivitenin düşmesi nedeniyle asitin aktivite için gerekli olduğu anlaşılmıştır. Asit grubunun bağlı olduğu fenil halkasının 2. konumunda metil sübstitüsyonu triflorometoksi, metoksi, triflorometil olan analoglara göre aktiviteyi artırmıştır. Kiral karbona göre (-) enantiomerin daha aktif olduğu bulunmuştur. **22** numaralı bileşiğin farmakokinetik profilinin çok iyi (düşük klirens), metabolik stabilitesinin yüksek, yarılanma ömrünün uzun ($t_{1/2}$= 4.3 saat), biyoyararlanımının yüksek (% 98) ve Caco-2 permeabilitesinin makul olması nedeniyle hayvan deneylerine seçilmiştir (Şekil 2.15). 60 nM IC_{50} değerine sahip bileşiğin mPGES-1 aktif bölgesine bağlı kristal yapısında, bileşiğin asit grubunun polar bağlanma cebiyle histidin (H53), arjinin (R52) ve serin (S127) ile hidrojen bağ etkileşimleri yaptığı, amit karbonilinin enzimin glutatyonu ile, meta kloropiridil azotu ile glutamin (Q134) arasında hidrojen bağı ve treonin (T130) ile π- π etkileşimi, siklopentil karbonları ile glisin (G35), lösin (L39) ve izolösin (I32) arasında hidrofobik etkileşimler olduğu belirlenmiştir [146].



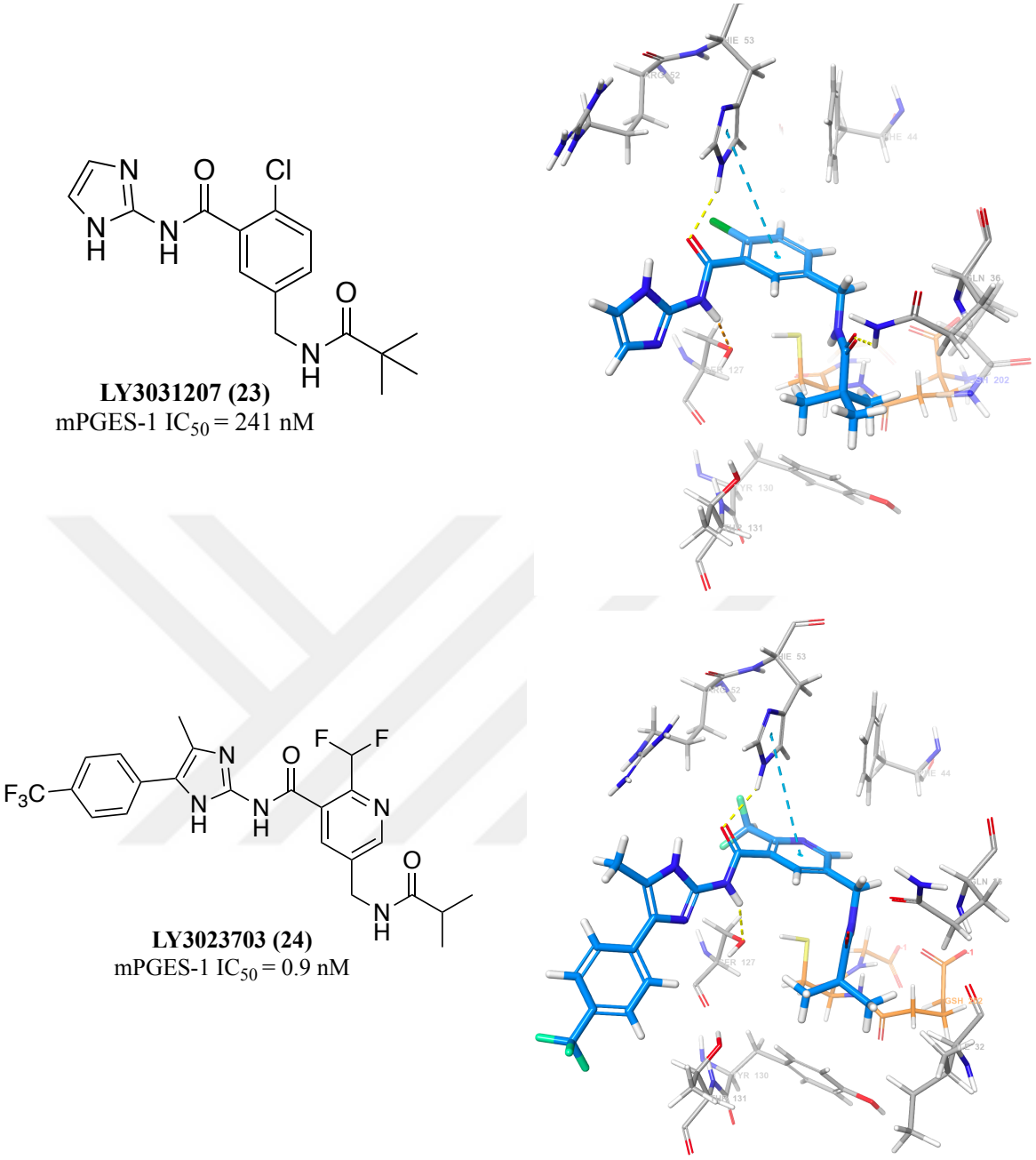
BAY869556 (21)
mPGES-1 IC_{50} = 670 nM

BAY1188058 (22)
mPGES-1 IC_{50} = 60 nM

Şekil 2.15. Bayer-Evotec firmalarına ait Bileşik 21-22'nin kimyasal yapısı

Eli Lilly araştırmacıları tarafından 2012 yılında, yapı-temelli ilaç tasarımı yaklaşımı kullanılarak geliştirilen 2-aminoimidazol türevi **23** numaralı bileşiğin mPGES-1 inhibisyonu için *in vitro* IC_{50} değeri 241 nM iken insan tam kan deneylerindeki IC_{50} değeri 744 nM olarak ölçülmüştür. **24** numaralı bileşiğin mPGES-1 inhibisyonu için *in vitro* IC_{50} değeri 0.9 nM ve *ex vivo* insan tam kan deneylerindeki IC_{50} değeri 12 nM olarak ölçülmüştür (Şekil 2.16). **24** numaralı bileşikten hidrofobik 4-triflorometil fenil grubu olmadığı durumda da Bileşik **23**'ün bağlanma etkileşimlerini koruduğu belirlenmiştir [70].

mPGES-1'e bağlı **23** numaralı bileşiğin X-ray ortak kristali incelendiğinde, bileşiğin merkezi hidrofobik çekirdeğinin, enzim kofaktörü glutatyonun üst kısmındaki boşluğa yerleşmiş durumda olduğu ve bu bağlanma modunun glutatyon bağlama bölgesini çevreleyen hidrojen bağı donörleri ile etkileşimleri sağlayan bir bağlanma modu olduğu belirlenmiştir. Karbonil oksijeninin, enzim polar bağlanma bölgesindeki histidin (H53) ile direkt, arjinin (R52) ile su köprüsü ile hidrojen bağı etkileşimleri, imidazol azotunun da su köprüsü ile arjinin (R52) ile hidrojen bağı etkileşimi, bir diğer imidazol azotunun yine su molekülü aracılığı ile treonin (T131) ile H bağı etkileşimleri yaptığı ve imidazolün 2. konumundan çıkan amino grubu azotunun serin (S127) ile hidrojen bağı etkileşimleri yaptığı bulunmuştur (PDB kodu= 5T37, Şekil 2.16) [72]. mPGES-1'e bağlı **24** numaralı bileşiğin X-ray ortak kristali incelendiğinde; amit NH'ı ile serin (S127) arasında hidrojen bağı etkileşimi, fenile bağlı karbonil oksijeninin histidin (H53) ile hidrojen bağı etkileşimi, ve izopropile bağlı karbonil oksijeni izolösin (I32), glutamin (Q36) ile su molekülü aracılı H bağı etkileşimi yaptığı bulunmuştur (PDB kodu= 5BQI, Şekil 2.16) [70].

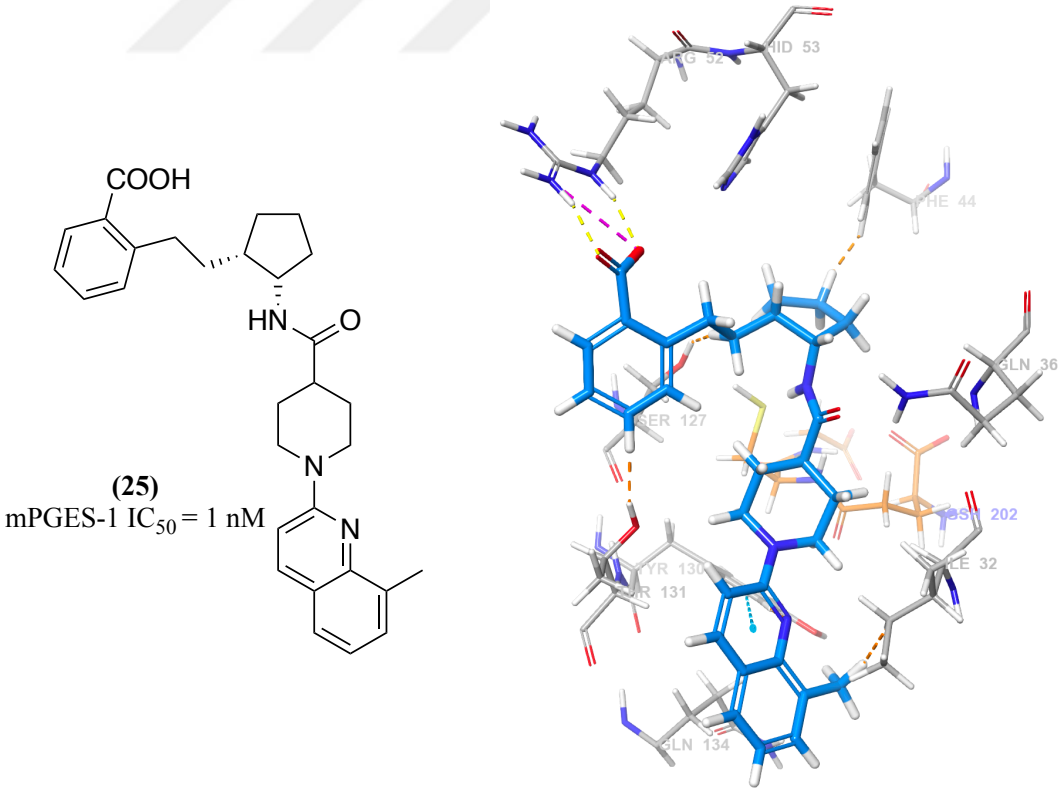


Şekil 2.16. Eli Lilly'e ait LY-3031207 (23) ve LY-3023703 (24) bileşiklerinin kimyasal yapısı ve mPGES-1 aktif bölgesindeki bağlanma modu

2011 yılında LY-3031207 (**23**) ve 2013 yılında LY-3023703 (**24**) bileşikleri, mPGES-1 inhibitörü olarak klinik çalışmalara girmiştir (klinik çalışma no: NCT01449630 ve NCT01849055). 48 sağlıklı gönüllüde yapılan çalışma sonuçlarına göre LY-3023703 (**24**) bileşiği, prostasiklin seviyelerini etkilemeden indüklenebilir PGE_2 sentezini inhibe etmiştir, bu sonuç da mPGES-1'in ağrı ve enflamasyonun tedavisinde terapötik bir hedef olabileceğini göstermiştir [147]. Ancak bu bileşiklerin metabolik biyoaktivasyonu sonucu

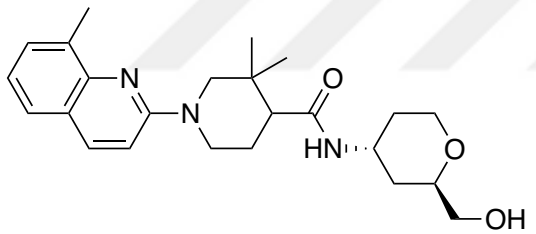
ilaç ile indüklenen karaciğer hasarına neden olabileceği tespit edilmiş, Faz-I aşaması sonrasında klinik çalışmalarına son verilmiştir (Şekil 2.16)[148, 70].

Eli Lilly araştırmacıları 2013 yılında ulaştıkları **25** numaralı bileşik, *in vitro* potensi yüksek (IC_{50}= 1 nM), düşük CYP2C9 inhibisyonu ve sıçan modelinde orta seviyede klirensi ile ileri çalışmalar için seçilmiştir. Yapılan deneylerde, mPGES-1 inhibisyonunun, COX-1 ve COX-2 inhibisyonuna göre 10.000 kat daha seçici olduğu ve LPS ile uyarılmış HWB'de PGE_2 oluşumunun *in vitro* inhibisyon deneylerinde IC_{80} değerinin 24 nM olduğu bulunmuştur. Bu bileşiğin mPGES-1'e bağlı X-ray kristal yapısı incelendiğinde; benzoik asit ile enzim polar bağlanma bölgesi aminoasitlerinden arjinin (R52) arasında bir tuz köprüsü ve histidin (H53) ile bir su köprüsü aracılığıyla etkileştiği gözlenmiştir. Hidrofobik siklopentan halkası, enzim glutatyonu üzerindeki alana yerleşmiş durumdadır, amit karbonilinin su köprüsü ile glutamin (Q36) ile etkileştiği gözlenmiştir. *N*-aril piperidin grubu, hidrofobik bölgede tirozin (Y28 ve Y130), izolösin (I32) ve glutamin (Q134) ile van der Waals etkileşimleri yapmıştır. Ayrıca kinolin üzerindeki metil grubunun izolösinin (I32) arkasındaki bir cebe yerleşip aktiviteye olumlu etki ettiği bulunmuştur (Şekil 2.17, PDB kodu= 5TL9) [72].



Şekil 2.17. Eli Lilly'e ait Bileşik 25'in kimyasal yapısı ve mPGES-1 aktif bölgesine bağlanma modu

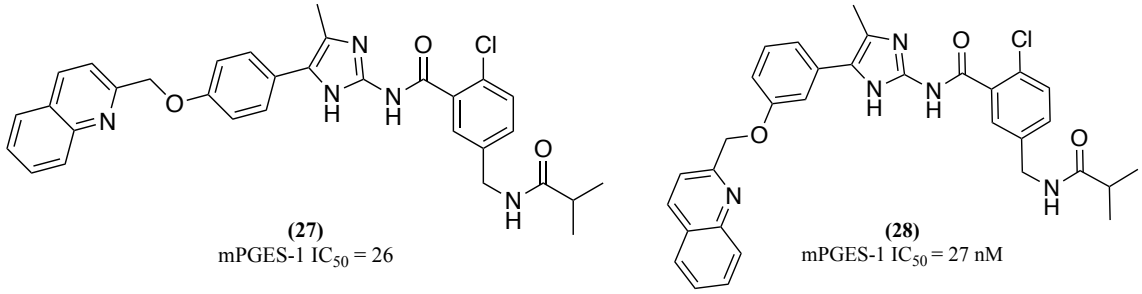
2016 yılında Eli Lilly araştırmacıları tarafından geliştirilen **26** numaralı bileşik potent bir mPGES-1 inhibitörüdür (IC_{50} = 2 nM). İnsan tam kan deneylerinde de güçlü bir inhibisyon yaptığı (HWB IC_{50}= 7 nM), ayrıca insan COX-1 veya COX-2 deneylerinde 30 μM'da hiçbir aktivitenin gözlenmediği, mPGES-1 selektif inhibitörüdür (Şekil 2.18). Rat farmakokinetik deney modelinde, çok iyi biyoyararlanım (% F= % 100), insan karaciğer mikrozom teslerinde iyi bir klirens ve bileşik serisine göre iyi bir yarılanma ömrü ($t_{1/2}$= 2.3 saat) olan ileri çalışmalar için seçilen bir bileşiktir. Bileşiğin amit karbonil oksijen atomunun su köprüsü aracılığıyla glutamin (Q36) ve izolösin (I32) ile hidrojen bağı etkileşimi yaptığı belirlenmiştir. Ayrıca, bileşiğin hidroksili ile histidin (H53) arasında hidrojen bağı etkileşimi olduğu bulunmuştur. Enzim kofaktörü glutatyon üzerindeki alana yerleşen tetrahidropiran ile van der Waals etkileşimleri yaptığı, kinolin üzerindeki metil grubunun, proteinde özel bir cebe yerleştiği, kinolin halkasının tirozin (Y28 ve Y130), treonin (T131) ve glutamin (Q134) aminoasitleri arasında hidrofobik etkileşim ve tetrahidropiran oksijeni su molekülü aracılığıyla arjinin (R52) ve serin (S127) aminoasitleri arasında hidrojen bağı yaptığı belirlenmiştir (Şekil 2.18) [149].



(26)
mPGES-1 IC_{50} = 2 nM

Şekil 2.18. Eli Lilly'e ait Bileşik 26'nın kimyasal yapısı

Eli Lilly firması 2021 yılında yayınladığı bir çalışmada, bilinen mPGES-1 inhibitörleri ve FLAP inhibitörlerinin X-ray kristal yapılarını inceleyip moleküler modelleme stratejilerinden de faydalanarak hem mPGES-1 hem de FLAP inhibisyonu sağlayan, dual inhibitör özellikteki yapılar bulunmuştur (**27** için mPGES-1 IC_{50} = 26, **28** için mPGES-1 IC_{50} = 27 nM). FLAP bağlanma için Ki değerleri sırasıyla 1500 ve 2200 nM olarak ölçülmüştür (Şekil 2.19) [150].

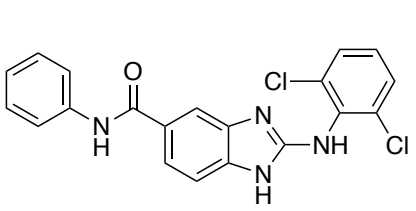


(27)
mPGES-1 IC_{50} = 26

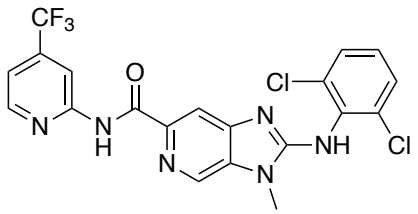
(28)
mPGES-1 IC_{50} = 27 nM

Şekil 2.19. Eli Lilly'e ait Bileşik 27-28'in kimyasal yapısı

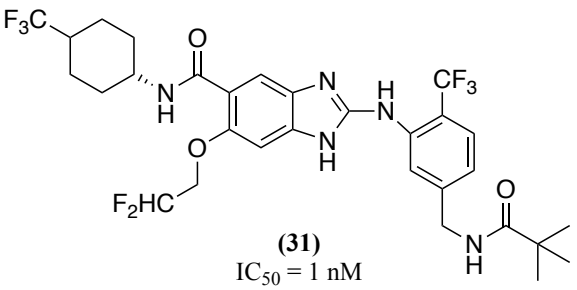
Boehringer Ingelheim araştırmacıları, 2010-2012 yıllarında, 2-arilaminobenzimidazol karboksamit türevi ve 2-aminoimidazopiridin karboksamit türevi (**29-34**) potent mPGES-1 inhibitör bileşikler açıklamışlardır. Bu bileşiklerden 2,6-diklorofenil taşıyan **29** numaralı benzimidazol ve **30** numaralı imidazopiridin analoğu bileşikler 10 µM konsantrasyonda %100 mPGES-1 inhibisyonu göstermiştir. 2-sübstitüe-5-pivalamidometil ve analoglarının yer aldığı bir çalışmada **31** numaralı bileşik ve potent analoglarına ait sonuçlar patentlenmiştir. Bir başka çalışmada 2,6-dikloro-3-pivalamidometil ve analogları getirilerek nanomolar düzeyde potent inhibitör bileşiklere ulaşılmıştır (**32-34**). Ayrıca 5. konumunda karboksamido grubu içermeyen benzimidazol türevi Bileşik **34** ve analoglarının da incelenmesi sonucu potent inhibitör özellikte bileşikler elde edilmiştir (**34**, IC_{50}= 1.3 nM) (Şekil 2.20) [151].



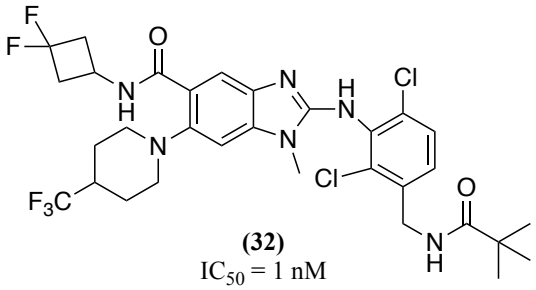
(29)
% mPGES-1 inh. = %100 @ 10 µM



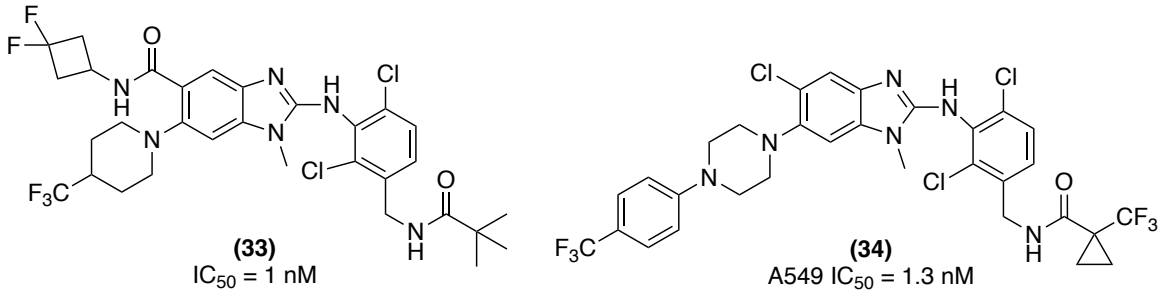
(30)
% mPGES-1 inh. = %100 @ 10 µM



(31)
IC_{50} = 1 nM

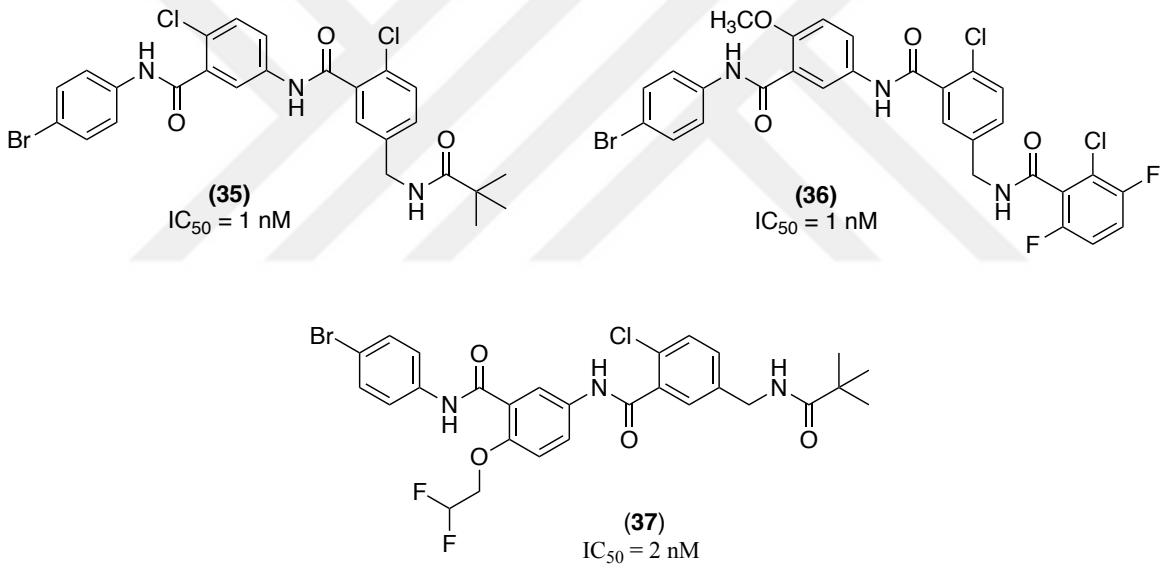


(32)
IC_{50} = 1 nM



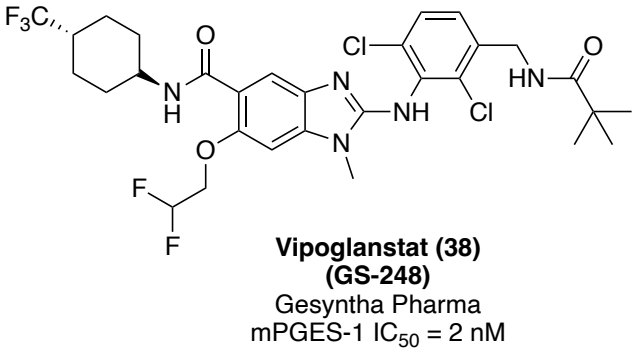
Şekil 2.20. Boehringer Ingelheim'e ait Bileşik 29-34'ün kimyasal yapısı

2011 yılında Boehringer Ingelheim araştırmacıları 1,3-disübstitüe fenil türevi olan potent inhibitör serisi geliştirmiş ve bu seriye ait **35-37** numaralı bileşiklerin mPGES-1 inhibisyonu IC_{50} değeri 1 ve 2 nM olarak belirlenmiştir (Şekil 2.21) [152].



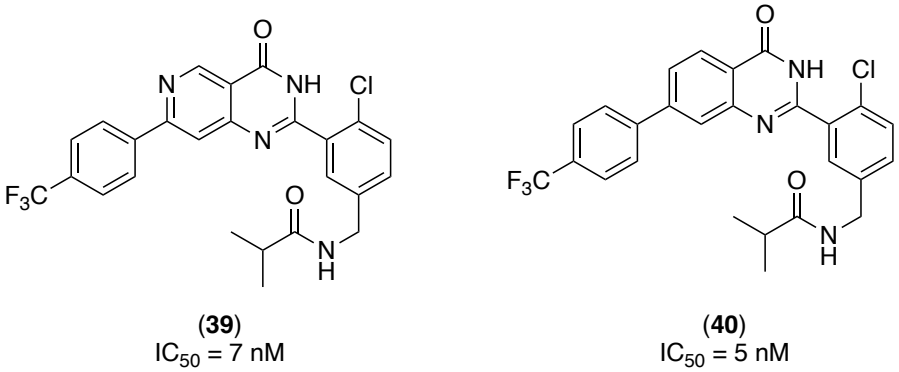
Şekil 2.21. Boehringer Ingelheim'e ait Bileşik 35-37'nin kimyasal yapısı

GS-248 (**38**) (Vipoglanstat, OX-MPI/BI-1029539), Gesyntha Pharma tarafından geliştirilen oral, potent, selektif bir mPGES-1 inhibitörü moleküldür (Şekil 2.22). Mayıs 2020'de sistemik sklerozis için Faz I çalışmaları tamamlanmıştır. Haziran 2022'de sistemik sklerozis hastalarındaki güvenilirlik, Raynaud fenomeni ve periferal vasküler hastalıklardaki etkinlik için bir Faz II çalışması başlatılmıştır. Vasküler enflamasyonda selektif olarak mPGES-1 inhibisyonu sağlar, PGE_2 biyosentezini azaltırken vazodilatör etkili PGI_2 biyosentezini artırdığı belirlenmiştir. Sistemik sklerozis için Ağustos 2022'de Faz II çalışmaları tamamlanmıştır (Klinik çalışma no= NCT04744207). Ayrıca sistemik sklerozis için FDA tarafından 2022 Nisan'da Yetim İlaç Statüsü verilmiştir [153-156].



Şekil 2.22. Gesyntha Pharma'ya ait Vipoglanstat'ın kimyasal yapısı

Glenmark Pharma 2014 yılında, mPGES-1 inhibitörü geliştirme çalışmalarına piridoizotiyazol ve fitalazinon ana yapılarını taşıyan bileşiklerle başlamış bu bileşikler üzerinde yapılan modifikasyonlar sonucunda pirido[4,3-d]pirimidin-4(3*H*)-on (**39**) ve 2-aril sübstitüe kinazolin-4(3*H*)-on (**40**) iskeletine sahip bileşikler üzerinde yapı aktivite çalışmaları yapılmıştır. Bu bileşiklerden **39** ve **40** mPGES-1 enziminin farklı deney koşullarında oldukça güçlü inhibitörü olarak tespit edilmiştir (**39** için mPGES-1 IC_{50} 7 nM, A549 IC_{50} 10 nM, HWB IC_{50} 234 nM, **40** için mPGES-1 IC_{50} 5 nM, A549 IC_{50} 5 nM, HWB IC_{50} 376 nM). Bu iki seriden pirido[4,3-d]pirimidin-4(3*H*)-on (**39**) türevi olan bileşik mPGES-1 için selektif olup, COX-1, COX-2, mPGES-2, cPGES, PGI_2, PGD_2 ve TxA_2 sentazlara göre 1000 kat daha seçici olduğu belirlenmiştir [7].

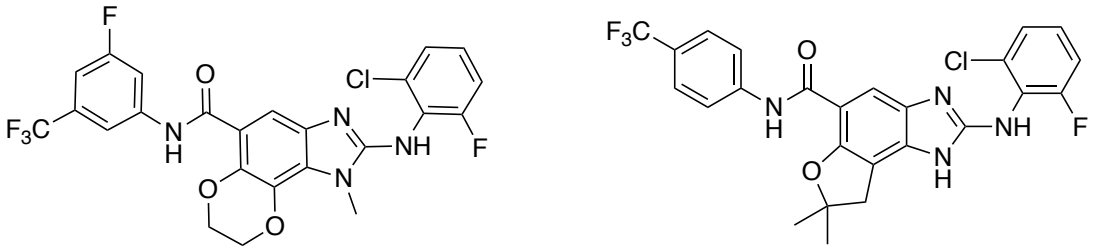


Şekil 2.23. Glenmark Pharma'ya ait Bileşik 39-40'ın kimyasal yapısı

Glenmark Pharma, Boehringer Ingelheim bileşiklerinden yola çıkarak aminobenzimidazol-5-karboksamit yapısında bileşiklerin YEİ'ni incelemiştir [157]. 2016 yılında, dioksan halkası ile kaynaşmış trisiklik benzimidazol türevi **41** numaralı bileşik için *in vitro* insan mPGES-1 IC_{50} değeri 8 nM ve insan tam kanındaki IC_{50} değeri 249.9 nM olarak ölçülmüştür. İnhibisyon oranı türler arasında farklılık göstermiş, kobayda IC_{50} değeri 10.8 nM iken fare,

sıçan ve köpekte inhibisyon göstermemiştir. Ayrıca bu bileşiğin mPGES-2, cPGES ve COX-1/2 enzimlerine göre mPGES-1'e karşı yüksek seçiciliğe sahip olduğu bulunmuştur. Bu bileşiğin sıçan ve kobaylarda iyi bir oral farmakokinetik profil gösterdiği ve kobayda LPS ile indüklenmiş termal hiperaljezi ağrı modelinde iyi etkinlik gösterdiği bulunmuştur (Şekil 2.24) [158].

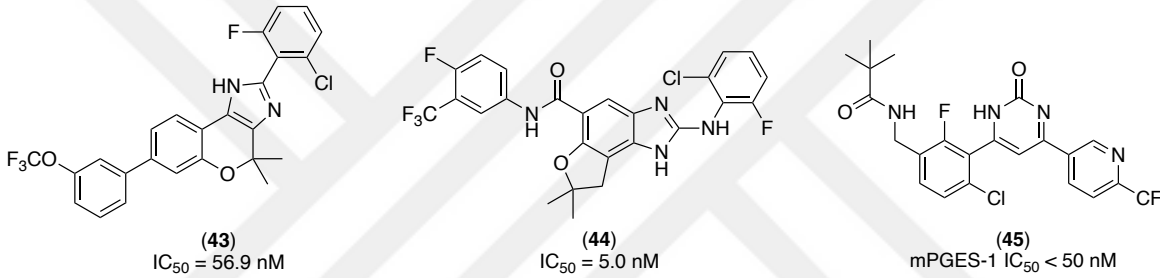
Glenmark Pharma devam eden ilaç keşfi çalışmalarında, furan veya dihidrofuran ile kaynaşmış benzimidazol yapısında rijit trisiklik bileşiklerin mPGES-1 inhibisyonu üzerine araştırmalar yapmış ve potent inhibitör bileşiklere ulaşılmıştır [157]. Dihidrofuran halkası ile kaynaşmış trisiklik benzimidazol türevi **42** numaralı bileşik için *in vitro* insan mPGES-1 IC_{50} değeri 3.9 nM, A549 hücrelerinde 10 nM, insan tam kanında 275 nM olarak ölçülmüştür. Preklinik aday olan bileşiğin kobay mPGES-1 enzimine karşı IC_{50} değeri ise 6.3 nM ve kobay tam kanında 222 nM olmakla birlikte, sıçan ve fare enzimini inhibe etmediği tespit edilmiştir. Bileşiğin mPGES-2, cPGES ve COX-1/2 enzimlerine göre mPGES-1'e karşı yüksek seçiciliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Bileşiğin oral farmakokinetik parametreleri sıçan, kobay, köpek ve *cynomolgus* maymununda değerlendirilmiş ve bileşiğin LPS ile indüklenmiş hiperaljezi ağrı modelinde ED_{50} değeri 14.3 mg/kg olarak tespit edilmiştir (Şekil 2.24) [157].



Şekil 2.24. Glenmark'a ait Bileşik 41-42'nin kimyasal yapısı

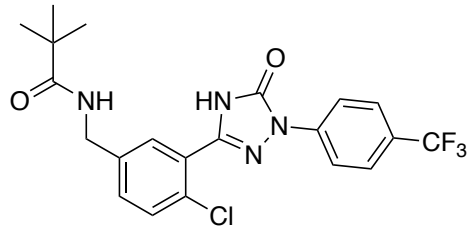
Glenmark araştırmacılarının 2017 yılında yayınladığı çalışmalarda, rijit bir trisiklik iskelet olan dihidrokromenoimidazol türevi **43** numaralı bileşiğin (IC_{50}= 56.9 nM) potent bir mPGES-1 inhibitör olduğu belirlenmiştir. A549 hücrelerinde PGE_2 oluşumunu daha zayıf (IC_{50}= 839 nM) inhibe etmesi nedeniyle hücrelerdeki PGE_2 oluşumu etkisi ile *in vivo* etkinliği kıyaslamak için *in vivo* oral farmakokinetiği ve etkinliği test edilmiştir. Bileşik **43** sıçanlarda 10 mg/kg dozda % 33 biyoyararlanım göstermiştir, kobayda ise 100 mg/kg dozda karşılaştırılabilir sonuçlar elde edilmiştir. Bileşiğin LPS ile indüklenmiş hiperaljezi kobay

ağrı modelinde diklofenakla kıyaslandığında orta derecede etki gözlenmiştir. (Şekil 2.25) [159]. İyi bir *in vivo* farmakokinetik profil ve oral biyoyararlanıma sahip, COX-1/2'ye kıyasla mPGES-1'e daha selektif olan bileşik, ileri optimizasyonlar için seçilmiştir (Şekil 2.25) [159]. Tüm bu çalışmalardan elde edilen veriler kullanılarak yapılan YEİ çalışmaları sonrası 2018 yılında **44** numaralı bileşiğe ait çalışmalar yayınlanmıştır (A549 IC_{50} = 14 nM, HWB IC_{50}= 208 nM). **44** bileşiğinin, mPGES-1 izoformlarına ve diğer PG sentezlara karşı seçici olarak mPGES-1 inhibisyonu sağladığı bulunmuştur. Akut hiperaljezi ve osteoartrit ağrı için *in vivo* hayvan deneylerinde etkinlik göstermiştir [157]. 2015 tarihli patentte bildirilen pirimidinon türevi **45** numaralı bileşiğin mPGES-1 inhibisyon deney sonuçlarında IC_{50} değeri 50 nM altında ölçülmüştür [160].



Şekil 2.25. Glenmark'a ait Bileşik 43-45'in kimyasal yapısı

Glenmark tarafından 2020 yılında, orta dereceli osteoartrit ağrısını tedavi ettiği bildirilen yeni selektif oral kullanılabilir bir mPGES-1 inhibitörü olan Zaloglanstat (**46**, ISC-27864, GRC-27864) Faz-II klinik çalışmalarını tamamlamıştır (Klinik çalışma no= NCT02179645). Henüz faz çalışmaları sonuçları yayınlanmamış olan bu bileşik ile ilgili olumsuz bir bildirim de yapılmamıştır (Şekil 2.26). Yapılan çalışmalarda bu bileşiğin rekombinant mPGES-1 inhibisyon IC_{50} değeri 5 nM, IL-1β ile indüklenen A549 hücre hattında mPGES-1 inhibisyon değeri de yine 5 nM olarak ölçülmüşken, COX-1/2 ve diğer PG'leri inhibe etmediği belirlenmiştir. İnsan tam kan deneylerinde IC_{50} değeri 376 nM, kobayda 161 nM ve köpekte 154 nM olarak ölçülmüş potent bir mPGES-1 inhibitör bileşik olduğu gösterilmiştir. Selekoksib ile kıyaslanan çalışmalarda, doz bağımlı olarak PGE_2 biyosentezini inhibe ettiği bulunmuştur [156].



(**46**)
Zaloglanstat (ISC-27864)

Şekil 2.26. Glenmark'a ait Zaloglanstat'ın kimyasal yapısı

22 yıldır bu alanda pek çok firma araştırmalarını devam ettirmiş, yapılan geniş çalışmalar neticesinde kliniğe ilaç sunma konusunda sıkıntılar yaşanmıştır. Şu ana kadar 2 bileşik Faz-II aşamasını tamamlamıştır (Zaloglanstat ve Vipoglanstat). Potent inhibitör olan bileşiklerin, lipofilisitesinin oldukça yüksek olması, plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanma göstermesi, ilaç benzeri fizikokimyasal özelliklerinin zayıf olması ve deneylerin yapıldığı türler arasındaki genetik farklılıklardan dolayı *in vitro* ve *in vivo* deneyler arasında aktivite değişikliklerinin olması kliniğe geçişte karşılaşılan zorluklardandır [5].

mPGES-1 ekspresyonu ve PGE_2 üretiminin osteoartrit, romatoid artrit, sistemik skleroz, kolon kanseri, enflamatuvar bağırsak hastalığı, kutanöz skleroz, nöropatik ağrı, enflamasyon, ağrı, ateş, migren, kronik ağrı, akut ağrı, baş ağrısı, astım, pulmoner fibroz, fibromiyalji, dismenore, ateroskleroz, gut, artrit, romatizmal ateş, multipl skleroz, Hodgkin hastalığı, konjonktivit, ankilozan spondilit, egzama, psöriazis, sistemik lupus eritematozus, pankreatit, diyabet, kanser, vaskülit, Alzheimer hastalığı gibi nör odejeneratif bozukluklar, Parkinson hastalığı, otoimmün hastalıklar, alerjik bozukluklar, rinit, koroner kalp hastalığı ve ülser gibi hastalıklarda karakteristik olduğu belirlenmiştir. Tüm bu hastalıkların dahil olduğu enflamatuvar hastalıklarda mPGES-1 inhibisyonu selektif ve güvenilir bir hedef olarak ilaç geliştirme çalışmaları için ilgi çekmektedir [5].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Gereçler

Tez kapsamında yapılan deneylerde kullanılan kimyasallar Merck (Almanya), Abcr (Almanya), Sigma Aldrich (Almanya), Enamine (Ukrayna) ve BLD Pharm (ABD) firmalarından temin edildi. Tüm aşamalarda kullanılan çözücüler analitik saflıktadır. İnert ortam deneyleri azot atmosferinde gerçekleştirildi. Kuru ortam deneylerinde kullanılan THF, Na/Benzofenon kullanılarak distillendi.

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile Yapılan Saflık Kontrolleri

Kimyasal sentez ve saflaştırma aşamalarında saflık kontrolü yapılırken Silikajel GF254 (Merck) hazır plaklar kullanıldı. Çözücü sistemi olarak; diklorometan:etil asetat (60:40), diklorometan:metanol (90:10) kullanıldı. Lekelerin belirlenmesi için UV ışığından (254 nm ve 280 nm) ve çeşitli belirteçlerden (2,4-dinitrofenilhidrazin, dragendorf, ninhidrin veya demir (III) klorür gibi) yararlanıldı.

Preparatif Kolon Kromatografisi

Sentezlenen bileşiklerin bir kısmının saflaştırılması UV dedektörlü Interchim Puriflash® 4250 Prep HPLC veya Reveleris® PREP Purification System otomatik preparatif kromatografi sistemleri ile yapıldı. Sabit faz olarak hazır Interchim C18 kolonu (C18-HQ 5 µm 150x21.2 mm US5C18HQ-250/212) veya Buchi C18 kolonu (C18 10 µm 250x21.2 mm), hareketli faz olarak su: asetonitril gradient çözücü sistemi kullanıldı. Bileşiklerin saflıkları İTK ve UPLC/MS-TOF analizleri ile kontrol edildi.

Flash Kromatografi

Sentezlenen bileşiklerin bir kısmının saflaştırma işlemleri UV dedektörlü Reveleris® PREP Purification System cihazının otomatik flash kromatografi sistemi kullanılarak yapıldı. Sabit faz olarak Redisep® silika kolonları (12 g ve 24 g), hareketli faz olarak diklorometan:etil

asetat, diklorometan:metanol gradient çözücü sistemleri kullanıldı. Bileşiklerin saflıkları İTK ve UPLC/MS-TOF analizleri ile kontrol edildi.

Mikrodalga sentez reaktörü

Mikrodalga şartlarında gerçekleştirilen reaksiyonlar için, Biotage® Initiator+ Mikrodalga Sentez Sistemi ve uygun mikrodalga vialleri (0,5-2 ml, 2-5 ml ve 10-20 ml) kullanıldı. Reaksiyonlarda uygun ısı ve koşullarda, çözücü olarak; DMF ve asetonitril tercih edildi.

3.1.2. Genel sentez yöntemleri

Genel Sentez Yöntemi 1: Oksadiazoltiyon halkası içeren türevlerin sentezi

İlgili hidrazit türevi bileşikler (1 eq), EtOH içerisine alındı, KOH (0.6 eq) suda çözüldükten sonra karışım damla damla balona eklendi. En son CS_2 (6 eq) ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 90°C'de 5-9 saat arasında karıştırıldı. EtOH uçuruldu, reaksiyon içeriği suya alındı, 2N HCl ile pH yaklaşık 5 yapıldı, çöken katı vakum altında süzüldü. Ham ürünler uygun solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı.

Genel Sentez Yöntemi 2: Asit türevlerinden ester türevi bileşiklerin sentezi

İlgili asit türevleri (1-3 mmol), metanol (3-6 ml) içerisinde çözülüp, H_2SO_4 (0.5-1.5 ml) eklendi ve geri çeviren soğutucu altında 2-4 saat arasında karıştırıldı. Süre sonunda MeOH vakum altında uçuruldu ve reaksiyon içeriği suya alındı. pH, $NaHCO_3$ ile nötrlendi. Etil asetat ile ekstre edildi (3x15 ml), organik faz doymuş sodyum klorür çözeltisi ile yıkandı (2x10 ml). Susuz sodyum sülfat ile kurutulduktan sonra uçuruldu.

Genel Sentez Yöntemi 3: Ester türevlerin hidrolizi

İlgili ester türevi bileşik (1 eq), THF:su (1:1) içerisine alınarak, $LiOH.H_2O$ (2.5 eq) ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 3-5 saat arasında karıştırıldı. THF uçuruldu, reaksiyon karışımı su içerisine alındı. pH, derişik HCl ile asitlendirildi, çöken katı vakum altında süzüldü ve sonraki basamaklarda kullanıldı.

Genel Sentez Yöntemi 4: Asit türevinden hareketle amit türevi sentezi

İlgili amin türevi bileşik (1 eq), DCM içerisinde çözüldü, DMAP (0.2 eq) eklendi 5 dakika karıştırıldı. Sonra ilgili asit türevi bileşik (1.1 eq) eklendikten sonra EDC.HCl (1.2 eq) eklendi ve 10-24 saat arasında azot atmosferinde, oda sıcaklığında karıştırıldı. Reaksiyon içeriği diklorometan ile ekstre edildi (3x15 ml), organik faz doymuş sodyum klorür çözeltisi ile yıkandı (2x10 ml). Susuz sodyum sülfat ile kurutulduktan sonra uçuruldu.

Genel Sentez Yöntemi 5: Amit türevlerinden benzimidazol halkası kapatma sentez yöntemi

İlgili amit türevi bileşik, AcOH (2-4 ml) içerisinde 100 ºC'de 2-6 saat arasında karıştırıldı. Reaksiyon içeriği oda sıcaklığına soğutularak, suya alındı, pH $NaHCO_3$ ile nötrlendikten sonra etil asetat ile ekstre edildi (3x15 ml), organik faz doymuş sodyum klorür çözeltisi ile yıkandı (2x10 ml). Susuz sodyum sülfat ile kurutulduktan sonra uçuruldu.

Genel Sentez Yöntemi 6: Açil klorürden hareketle amit türevi sentezi

İlgili amin türevi bileşik (1 eq), DCM içerisine alınarak, üzerine Et_3N (2 eq) eklendi, daha sonra ilgili asit klorür türevleri veya **59a** için 2-klorosülfonil klorür (1 eq) eklenerek oda sıcaklığında, azot atmosferinde, 4-10 saat arasında karıştırıldı. Reaksiyon içeriği diklorometan ile ekstre edildi (3x15 ml), organik faz doymuş sodyum klorür çözeltisi ile yıkandı (2x10 ml). Susuz sodyum sülfat ile kurutulduktan sonra uçuruldu.

Genel Sentez Yöntemi 7: Bileşik **65 a-d** için genel sentez yöntemi

1. Basamak: **65a** için pivalik asit, **65b** için 1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksilik asit, **65c** için 3,3,3-trifloro-2,2-dimetil propionik asit ve **65d** için 1-(triflorometil)siklobütan-1-karboksilik asit (1 eq), DCM (2-4 ml) içerisine alınarak, $SOCl_2$ (1 eq) ve katalitik miktar DMF eklendi. 50 ºC'de azot atmosferinde 2 saat karıştırıldı. Ayrı bir balonda, metil-5-(aminometil)-2-klorobenzoat hidroklorür (1.4 eq) DCM (2-4 ml) içerisine alınarak, Et_3N (5.6 eq) eklendi, 30 ºC'de azot atmosferinde 30 dakika karıştırıldı. Azot atmosferinde, ilk reaksiyon içeriği ikinci içeriğe yavaş yavaş 0 ºC'de eklendi. Reaksiyon balonu oda sıcaklığına alınarak, 4 saat karıştırıldı. Süre sonunda reaksiyon içeriği, diklorometan ile ekstre edildi (3x15 ml), organik faz doymuş sodyum klorür çözeltisi ile yıkandı (2x10 ml).

Susuz sodyum sülfat ile kurutulduktan sonra uçuruldu. Elde edilen amit türevleri etil asetat ile yıkanarak, vakum altında süzüldü. *2. Basamak:* Elde edilen ester türevlerinden hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre **65 a-d** bileşikleri elde edildi.

3.2. Analitik Çalışmalar

3.2.1. Gereçler

Erime Noktası Tayini

Bileşiklerin erime dereceleri, Stuart SMP40 dijital erime derecesi cihazıyla tayin edildi ve değerler düzeltilmeden verildi.

^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR Spektrumları

Sentezlenen final bileşiklerin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları, DMSO-d_6 veya $CDCl_3$ (gerekli durumlarda trifloroasetik asit (TFA) ilavesi ile) içindeki çözeltileri ile Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda tetrametilsilan iç standartı ile Varian Mercury (Agilent) 400 MHz ve Bruker Avance Neo 500 MHz spektrometrelerinde, ^{1}H-NMR spektrumu için 400 veya 500 MHz, ^{13}C-NMR spektrumu için 100 veya 125 MHz frekansta alınıp kimyasal kayma değerleri ppm (δ) sklasında değerlendirildi. Ayrıca 7, 8, 9, 19 ve 26 numaralı bileşikler için Fırat Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'nda Bruker Avance III 400 MHz spektrometresinde ^{13}C-NMR spektrumu için 100 MHz frekansta alınıp kimyasal kayma değerleri ppm (δ) skalasında değerlendirildi. Eşleşme sabitleri Hertz (Hz) olarak verildi.

HRMS Spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin HRMS spektrumları metanol içerisindeki çözeltilerinden pozitif iyon (ESI+) ve negatif iyon (ESI-) elektrosprey iyonizasyon teknikleri ile Waters LCT Premier XE UPLC/MS-TOF sistemi ile MassLynx 4.1 yazılımı kullanılarak alınmıştır. Sabit faz olarak Aquity BEH C18 kolon (2,1 *100 mm 1,7 µM, akış hızı: 0,3 ml/dakika) hareketli faz olarak formik asit içeren (% 0,1) CH_3CN:H_2O (% 1-% 90) gradient çözücü sistemi kullanılmıştır.

3.3. Biyolojik Çalışmalar

Sentezlenen bileşiklerin *in vitro* biyolojik aktivite çalışmaları Almanya Jena Üniversitesi'nde Prof. Dr. Oliver Werz ve ekibi tarafından gerçekleştirilmiştir. Seçilen Bileşik **72** ile *in vivo* biyolojik aktivite çalışmaları Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Orhan ULUDAĞ ve Dr. Öğr. Üyesi Nur Banu BAL tarafından gerçekleştirilmiştir. *İn vitro* ADME ve *in vivo* farmakokinetik çalışmalar için Pharmaron Technology Development (Ningbo ve Beijing, Çin) tarafından hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir.

<u>mPGES-1 inhibitör aktivitesinin belirlenmesi</u>

mPGES-1 aktivite tayini için A549 hücreleri literatürde belirtilen yönteme göre hazırlanmıştır [35]. Kısaca, A549 hücreleri FCS (Fetal calf serum, % 2) ve IL-1β (2 ng/mL) içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Media) ortamında 37°C'de % 5 CO_2 altında 72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra hücreler toplanıp ve potasyum fosfat tamponu (0.1 M, pH 7.4), fenilmetansülfonil florür (PMSF, 1 µM), soya tripsin inhibitörü (STI, 60 µg/mL), leupeptin (1 µg/mL), 2.5 µM glutatyon ve sükrozdan (250 µM) oluşan 1 mL homojenizasyon çözeltisinde süspande edildikten sonra 2.5 µM glutatyon içeren 0.1 M potasyum fosfat tamponu ile dilüe edilmiştir. Daha sonra, hücreler sıvı nitrojen içinde dondurulup, her biri 20 saniye boyunca üç kez sonikasyona tabi tututulup, 4°C'de önce 10 dakika diferansiyel santrifüjleme yapılmış ve 4°C'de tekrar 1 saat daha santrifüj edilmiştir. Daha sonra pelletler aynı homojenizasyon tamponunda yeniden süspande edilmiştir. Mikrozomlar, potasyum fosfat tamponu (0.1 M, pH 7.4) içinde glutatyon (2 mM) ile seyreltilmiş ve test bileşiği (10 µM) ile veya kontrol (% 0.1 DMSO) eklenerek 15 dakika boyunca ön inkübasyona tabi tutulmuştur. Ön inkübasyon sonrasında 20 µM PGH_2 substratı ilave edilmiştir. 4°C'de 1 dakika boyunca tutulduktan sonra reaksiyon, 100 µl çözelti (40 µM $FeCl_2$, 80 µM sitrik asit ve 10 µM 11β-PGE_2) durdurma solüsyonu ilavesi ile sonlandırılmıştır. PGE_2 ürününün oluşumu HPLC yöntemi ile analiz edilmiştir [161, 162].

<u>İnsan tam kan PGE_2 seviyesi ölçümü</u>

Yeni alınmış kan ile DMSO veya Bileşik **74**'ün (10 µM) 15 dakika ön inkübasyonu yapılmıştır. Daha sonra kan, mPGES-1 ve COX-2 ekspresyonunu indüklemek için 1 ug/ml

LPS ile 24 saat ön inkübasyonu yapılmıştır. 24 saat sonra tam kan, DMSO veya Bileşik **74** (10 μM) ile 15 dakika ön inkübasyon yapılmış ve bundan sonra lipid mediatör üretimini indüklemek için %1 *S. aureus* ile şartlandırılmış ortam (SACM) ile 90 dakika süreyle uyarılmıştır. Süre sonunda reaksiyon durdurulmuş ve UPLC-MS/MS yoluyla değerlendirilmiştir [163].

M1 ve M2 makrofajlarında lipit mediyatörleri tayini

İnsan kaynaklı makrofajların, 15 dakika süreyle DMSO, Bileşik **74** (0.001-1 μM) veya indometazin (M1 için, 10 μM) veya zileuton (M2 için, 3 μM) ile ön inkübasyonu yapılmış ve ardından lipid mediyatör üretimini indüklemek için 90 dakika boyunca %1 SACM ile uyarılmıştır. Süre sonunda reaksiyon durdurulmuş ve UPLC-MS/MS yoluyla değerlendirilmiştir [164, 163].

Periferal mononükleer hücrelerinde (PBMC) PGE_2 seviyesi ölçümü

İnsan kaynaklı PBMC; DMSO, Bileşik **74** (0.001-1 μM) veya indometazin (10 μM) ile 15 dakika süreyle ön inkübasyon yapılmış ve ardından 90 dakika süreyle %1 SACM ile uyarılmıştır. Süre sonunda reaksiyon durdurulmuş ve UPLC-MS/MS yoluyla değerlendirilmiştir [164, 163].

MTT testi

İnsan kaynaklı makrofajlar plate kuyucuklarına alınmış (0.1×10^6 hücre/oyuk), DMSO veya Bileşik **74** (0.001-1 μM) ile 3 saat ön inkübasyonu yapılmıştır. Ölçüm, kit protokolüne göre yapılmıştır [163].

LDH salınımı testi

İnsan kaynaklı makrofajlar plate kuyucuklarına alınmış (0.5×10^6 hücre/oyuk), DMSO veya Bileşik **74** (0.001-1 μM) ile 1 saat ön inkübasyonu yapılmıştır. Ölçüm, kit protokolüne göre yapılmıştır [164].

3.4. *İn vitro* ADME, *in vivo* Biyoyararlanım ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.4.1. Bileşik 74'ün *in vitro* ADME çalışmaları

Bileşik **74**'ün *in vitro* ADME profiline yönelik detaylı çalışmaları (kinetik çözünürlük tayini, LogD tayini, plazma proteinlerine bağlanma tayini) ve tez dahilinde sentezlenen bazı analogların (**69, 72-74**) ise; karaciğer mikrozomlarındaki stabilite çalışmaları Pharmaron Technology Development'dan (Ningbo, Çin) hizmet alımı olarak gerçekleştirilmiştir.

Kinetik çözünürlük tayini

Bileşik **74**'ün kinetik çözünürlüğü, fosfat tamponunda (pH 7.4), simüle edilmiş intestinal sıvıda (SIF; pH 6.8) ve simüle edilmiş gastrik sıvıda (SGF; pH 1.2) belirlenmiştir. Numuneler plaka çalkalayıcıda çalkanlanmış (1100 rpm, 25°C'de 2 saat) ve testler iki tekrar yapılmıştır. Çalkalanan numuneler süzülmüş ve süzüntüden alınan numuneler LC-MS/MS sisteminde incelenmiştir.

LogD tayini

Doygun oktanol/PBS pH 7.4 (50 mM, 1:1) ile dağılım katsayısı (LogD) belirlenmiştir. Bileşik **74** ve kontrol bileşiği bileşiklerinin stok çözeltileri (10 μM) 25 °C'de, 2000 rpm'de 2 saat çalkalanıp, inkübe edilmiştir. Organik ve sulu fazdaki madde konsantrasyonları LC-MS/MS ile değerlendirilmiştir.

Plazma proteinlerine bağlanma (PPB) tayini

Bileşik **74** (1 μM) ve kontrol bileşiği (1 μM) ile kobay, fare ve insan plazma solüsyonları hazırlanmıştır. Diyaliz membranı kullanılmış, 37 °C'ye kadar ısınması için ön ısıtmaya bırakılmıştır. Hazırlanan plazma solüsyonları ve tampon solüsyonu arasında denge sağlandıktan sonra membranın her iki tarafındaki konsantrasyon LC-MS/MS ile analiz edilmiştir, bağlanan ve serbest kalan bileşik %'leri hesaplanmıştır.

3.4.2. Bileşik 74 ve analoglarının kobay karaciğer mikrozomal stabilite tayini

Kontrol bileşiği (1 μM) ve test bileşikleri (**69**, **72**, **73** ve **74,** 1 μM) su banyosunda 60 dakika 37 °C'de inkübe edilerek deney gerçekleştirilmiştir. Deney süresince 0.5, 5, 15, 30 ve 60. dakikalarda 30 μL örnekler alınmış, örneklerde reaksiyonlar durdurulmuş, santrifüjlenerek elde edilen süpernatanlardan, LC-MS/MS ile CL_{int} ve $t_{1/2}$ değerleri belirlenmiştir.

3.4.3. Bileşik 74 ve 72'nin *in vivo* farmakokinetik çalışmaları

Bileşik **74** ve **72**'nin *in vivo* farmakokinetik ve biyoyararlanım çalışmaları Pharmaron Technology Development (Beijing, Çin) tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar erkek kobaylarda, tek doz 2 mg/kg intravenöz (IV) ve tek doz 20 mg/kg oral (PO) olarak gerçekleştirilmiştir.

3.4.4. *İn vivo* biyolojik aktivite çalışmaları

Bu çalışmada; tez kapsamında sentezlenen Bileşik **72**'nin *in vitro* çalışmaları tamamlanmış bileşiğimizin *in vivo* etkin dozunu belirlemek için 10 ve 30 mg/kg dozlarda kobaylarda antienflamatuvar ve analjezik aktiviteleri test edilmiştir. Daha sonra yapılan antipiretik aktivite deneylerinde güçlü analjezik ve antienflamatuvar aktivite gösteren 30 mg/kg doz seçilerek kullanılmıştır. Referans olarak indometazin (10 mg/kg) kullanılmıştır. Çalışmada 300-400 g ağırlığında erkek kobaylar kullanılmış ve standart laboratuvar koşullarında (25 ± 2 °C sıcaklık, 55 ± 5 °C relatif nem, 12 saat aydınlık/karanlık döngü) polipropilen kafesler içerisinde muhafaza edilerek standart diyet ve su ile ad libitum beslenmişlerdir (Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Evrak No: E.36190, Kod: G.Ü.ET-18.017, Tarih:01/03/2018 ve Evrak No: E.125536, Kod: G.Ü.ET-18.017, Tarih: 20/09/2018).

İstatistiksel yöntem olarak iki grubun karşılaştırılmasında Student t testi, gruplar arası farkın anlamlılığında da tek yönlü varyans analizi yapılmış (ANOVA) kullanılmıştır.

Antienflamatuvar ve Analjezik (Mekanik Hiperaljezi Testi) Etkinliğin Değerlendirilmesi (Pençe Ödemi Testi):

Grup 1: Kontrol Grubu (% 40 PEG 400 çözeltisi, 0.5 ml/100 g kobaya) (n=7)
Grup 2: Referans madde İndometazin (10 mg/kg, gavaj) grubu (n=7)
Grup 3: Bileşik **72** (10 mg/kg, gavaj) grubu (n=7)
Grup 4: Bileşik **72** (30 mg/kg, gavaj) grup (n=7)

Çalışmada test maddelerinin antienflamatuvar aktivitenin belirlenebilmesi için karagenin ile oluşturulmuş pençe ödemi modeli kullanılmıştır. Karageninle indüklenen enflamasyon modeli Ghezzi ve Campbell'in kullandıkları yöntem modifiye edilerek erkek Dunkin-Hartley kobaylarda (300-400 g) oluşturulmuştur [165, 166]. Pençe enflamasyonu indüklenmeden 60 dk önce test maddeleri veya çözücü (PEG 400) gavaj yoluyla verilmiştir. Daha sonra serum fizyolojik (SF) içerisinde taze hazırlanan karagenin süspansiyonu (Tip I, λ, % 1 a/h) 100 µl/pençe olacak şekilde kobayların sağ arka pençesine subplantar enjekte edilmiştir. Her kobayın kendi kontrolü için, sol arka pençesine subplantar olarak 100 µl SF enjekte edilmiştir. Karagenin enjeksiyonundan sonra 0, 60, 120, 180 ve 240. dakikalarda pençe volümleri pletismometre cihazı (Ugo Basile) ile ml olarak ölçülmüştür. Daha sonra sağ ve sol pençeler arasındaki fark elde edilerek ödem volümü hesaplanmış, tedavi edilen grupların ortalama değerleri kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

Mekanik analjezi ölçümleri de pençe enflamasyon modeli oluşturulmuş kobaylardan alınmıştır. Karagenin enjeksiyonundan önce kobayların baseline ağrı eşikleri gram olarak Randall-Sellito yöntemine göre [167] analjeziyometre (Ugo Basile) ile ölçülmüş ardından karagenin enjeksiyonu yapılmıştır. Belirtilen saatlerde pençe volümü ölçümünün hemen ardından analjezik aktivite için kobayların sağ arka pençesine mekanik güç uygulanarak "pençesini çekmeye çalışması, ses çıkararak tepki göstermesi" gibi tepkileri gösterdiği ağırlık (gram olarak) "ağrı eşiği" olarak ölçülmüştür. Bu ölçümlerde en yüksek eşik değeri (cut-off) 250 g olarak belirlenmiştir [165]. Kobayların karagenin uygulamasından önce ölçülen bazal eşik değerleri (baseline) 100 olarak kabul edilmiş ve tüm ölçüm saatlerinde alınan ağrı eşik değerleri (g), baseline ölçümlerin %'si olarak hesaplanmıştır [168].

240. dk ölçümünden sonra hayvanlar yüksek doz anestezi ve intrakardiyak kan alınarak sakrifiye edilmiş ve kan örneklerinden plazma ayrılarak (15 dk 1000g'de santrifüj) karaciğer

enzimlerinin ölçümü için -80 °C'de saklanmıştır. Ayrıca kobayların mideleri dikkatle çıkarıldıktan sonra formalinle fikse edilip açılmıştır. Mideler büyüteçle incelenerek peteşi (kanama noktası) olup olmadığına bakılmış ve fotoğrafları çekilmiştir.

Kobaylarda Antipiretik aktivite ölçümü

Grup 1: Kontrol grubu (% 40'lık PEG400 çözeltisi, 0.5 ml/100g kobaya) (n = 7)
Grup 2: Referans madde İndometazin (10 mg/kg, gavaj) grubu (n = 7)
Grup 3: Bileşik **72** (30 mg/kg, gavaj) grubu (n = 7)

Antipiretik aktivitenin belirlenmesinde Rowland ve arkadaşlarının yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır [169]. Antipiretik aktivite deneylerinde Bileşik **72**'nin en güçlü analjezik ve antienflamatuvar etki gösteren 30 mg/kg dozu seçilerek kullanılmıştır. Rektal probun yapacağı stresin etkisini ortadan kaldırmak amacı ile deneylerden birkaç gün önce kobaylar rektal prob uygulamasına adapte edilmiş, deneyin yapılacağı gün deneyin yapılacağı ortamda kobaylar 1 saat tutulduktan sonra bazal eşik değeri ölçümleri alınmıştır. Ardından indometazin, Bileşik **72** veya çözücü (% 40 PEG 400) gavaj yoluyla verilmiştir. LPS (E. coli serotype 0111: B4, Sigma) kobaylara 100 ug/kg dozunda ve 0,5 ml/100g kobaya olacak şekilde subkutan uygulanmıştır. Vücut sıcaklığı dijital rektal termometre (May 9404-A small animal temperature controller) kullanılarak 60, 120, 180 ve 240. dakikalarda ölçülmüştür. Her kobay için kendi baseline ölçümünden belirtilen zaman noktalarında alınan ölçümün farkı alınmış ve ΔT (°C) değerleri hesaplanmıştır.

Plazma Örneklerinde ALT, AST ve ALP Ölçümü

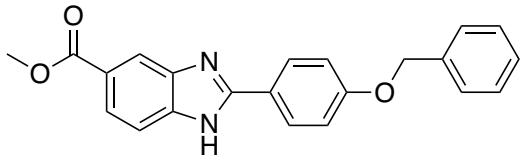
Plazma örneklerinde ALT (alanin aminotransferaz), AST (aspartat aminotransferaz) ve ALP (alkalen fosfataz) ölçümleri Baran Medikal San. ve Tic. Ltd.Şti.'den hizmet alımı şeklinde yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Bulgular

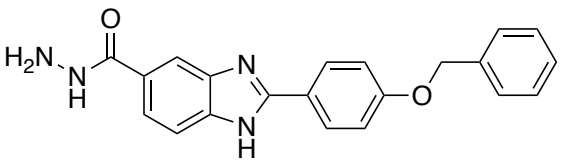
Ara Ürün Bulguları

Metil 2-(4-(benziloksi)fenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksilat (Bileşik 1)



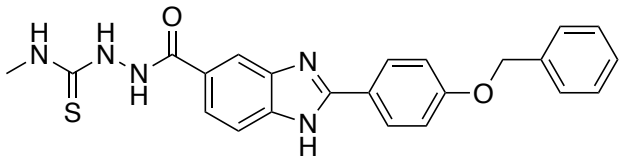
4-(Benziloksi)benzaldehit (1 eq), EtOH (6 ml) içerisinde çözüldü. Daha sonra sodyum metabisülfit (1.5 eq), su (1 mL) içerisinde çözüldü ve balon içeriğine damla damla ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığında 5 saat karıştırıldı. Süre sonunda reaksiyon içeriği EtOH ile seyreltildi, çöken katı vakum altında süzüldü ve sodyum(4-(benziloksi)fenil) (hidroksi)metansülfonat elde edildi. Metil-3,4-diaminobenzoat (1 eq), DMF (2-4 mL) içerisinde çözündükten sonra, sodyum(4-(benziloksi)fenil)(hidroksi)metansülfonat (1.1 eq) eklenip, 60˚C'de 4 saatte reaksiyon gerçekleştirildi. Süre sonunda reaksiyon içeriği suya alındı, çöken katı vakum altında süzüldü, bir sonraki basamakta kullanıldı (Verim: % 89). CAS #1024351-33-4. Erime Derecesi: 228.6-229.9 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$): δ 3.86 (3H, s), 5.21 (2H, s), 7.22 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.32-7.42 (3H, m), 7.47 (2H, d, J = 7.6 Hz), 7.65 (1H, d, J = 8.8 Hz), 7.84 (1H, dd, J = 8.0, 1.6 Hz), 8.12 (2H, d, J = 8.8 Hz), 8.15 (1H, d, J = 1.6 Hz). $C_{22}H_{19}N_2O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 359.1396; bulunan: 359.1383.

2-(4-(Benziloksi)fenil)-1*H*-benzimidazol-5-karbohidrazit (Bileşik 2)



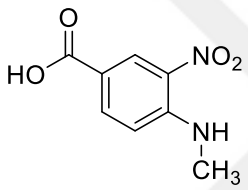
Bileşik **1** (1 eq), MeOH (2-4 mL) içerisinde çözünerek, üzerine hidrazin hidrat (% 80, 60 eq) eklendi, 15 saat 90˚C'de karıştırıldı. Süre sonunda reaksiyon içeriği suya alındı, der. HCl ile pH yaklaşık 6 yapıldı ve çöken katı vakum altında süzüldü. Elde edilen ürün sıcak MeOH ile yıkanarak vakum altında süzüldü (Verim: % 93). CAS #1903619-33-9. Erime Derecesi: 250.8-251.9 ºC. $C_{21}H_{19}N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 359.1508; bulunan: 359.1509.

2-(2-(4-(Benziloksi)fenil)-1*H*-benzimidazol-5-karbonil)-*N*-metilhidrazin-1-karbotiyoamit (Bileşik 3)



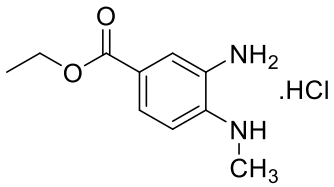
Bileşik **2** (1 eq) ve metilizotiyosiyanat (% 97, 1.1 eq), EtOH (3 mL) içerisinde çözüldü ve mikrodalgada 130 ˚C'de 10 dakikada reaksiyon gerçekleştirildi. Süre sonunda çöken katı vakum altında süzüldü, bir sonraki basamakta kullanıldı (Verim: % 80). Erime Derecesi: 148.6-150.1 ºC. $C_{23}H_{21}N_5O_2S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 431.1613; bulunan: 431.1610.

4-(Metilamino)-3-nitrobenzoik asit (Bileşik 10)



4-Floro-3-nitrobenzoik asit (1 eq), MeOH (5 mL) içerisinde çözüldü, üzerine metilamin sulu çözeltisi (% 40, 10 eq) eklendi, oda sıcaklığında 5 saat karıştırıldı. Reaksiyon içeriği, suya alındı, HCl ile asitlendirildi, çöken sarı renkli katı vakum altında süzüldü. Madde bir sonraki basamakta kullanıldı (Verim: % 96). CAS #41263-74-5. Erime Derecesi: 258.2-260.3 ºC [170]. $C_8H_9N_2O_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 197.0562; bulunan: 197.0572.

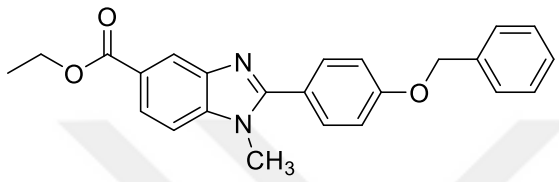
Etil 3-amino-4-(metilamino)benzoat hidroklorür (Bileşik 11)



1.Basamak: Bileşik **10** (2.345 mmol), $SOCl_2$ (3 mL) içerisinde 7 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Süre sonunda $SOCl_2$ uçuruldu. Elde edilen 4-(metilamino)-3-nitrobenzoil klorür bir sonraki basamakta kullanıldı. *2. Basamak:* 4-(Metilamino)-3-nitrobenzoil klorür üzerine EtOH ilave edildi, 4 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Süre sonunda EtOH uçuruldu ve etil-4-(metilamino)-3-nitrobenzoat bileşiği elde edildi. *3. Basamak:* Etil-4-(metilamino)-3-nitrobenzoat (1 eq), EtOH (4 ml) içerisinde çözüldü, üzerine $SnCl_2.2H_2O$ (5 eq) porsiyonlar halinde eklendi, 6 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Süre

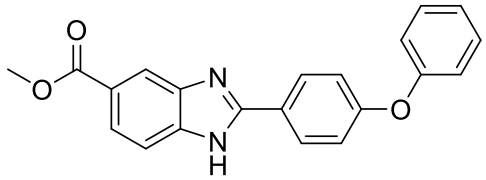
sonunda EtOH uçuruldu, reaksiyon içeriği suya alındı. pH, $NaHCO_3$ çözeltisi ile nötralize edildi. Etil asetat eklenerek karışım vakum altında Celite'den süzüldü. Süzüntü ekstre edildi (3x15 ml), organik faz doymuş sulu sodyum klorür çözeltisi ile yıkandı (2x10 ml). Susuz sodyum sülfat ile kurutulduktan sonra uçuruldu. Elde edilen madde suya alınarak, HCl ile tuzu elde edildi ve sonraki basamakta kullanıldı (Verim: % 72). $C_{10}H_{15}N_2O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 195.1134; bulunan: 195.1139.

Etil 2-(4-(benziloksi)fenil)-1-metil-1*H*-benzimidazol-5-karboksilat (Bileşik 12)



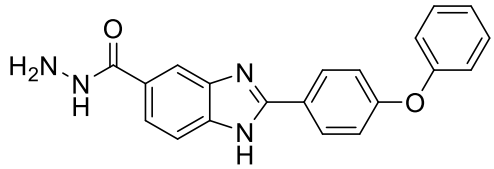
Bileşik **11** ve sodyum(4-(benziloksi)fenil)(hidroksi)metansülfonattan hareketle Bileşik **1**'in sentez metoduna göre sentezlendi. Madde hareketli faz olarak DCM:EtOAc (70:30) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 66). Erime Derecesi: 146.2-147.7 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 1.36 (2H, t, J = 7.1 Hz), 3.91 (3H, s), 4.34 (2H, q, J = 7.1 Hz), 5.23 (2H, s), 7.22 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.36 (1H, t, J = 7.3 Hz), 7.43 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.50 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.71 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.84 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.92 (1H, dd, J = 8.5, 1.5 Hz), 8.25 (1H, d, J = 1.5 Hz). $C_{24}H_{23}N_2O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 387.1709; bulunan: 387.1718.

Metil 2-(4-fenoksifenil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksilat (Bileşik 14)



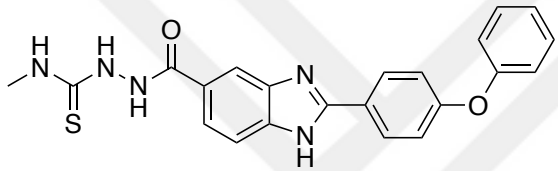
4-(Fenoksi)benzaldehitten (1 eq) hareketle Bileşik **1**'de verilen sentez yöntemine göre sodyum(4-fenoksifenil)(hidroksi)metansülfonat elde edildi. Metil 3,4-diaminobenzoat ve sodyum(4-fenoksifenil)(hidroksi)metan sülfonattan hareketle Bileşik **1**'in sentez metoduna göre Bileşik **14** sentezlendi (Verim: % 84). CAS #220955-73-7. Erime Derecesi: 195.4-197.5 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3.86 (3H, s), 7.11-7.23 (5H, m), 7.42-7.46 (2H, m), 7.64 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.82 (1H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz), 8.16 (1H, s), 8.19 (2H, d, J = 8.4 Hz). $C_{20}H_{17}N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 345.1352, bulunan: 345.1335.

2-(4-Fenoksifenil)-1*H*-benzimidazol-5-karbohidrazit (Bileşik 15)



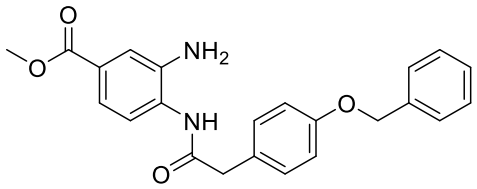
Bileşik **14**'ten hareketle Bileşik **2**'nin sentez metoduna göre sentezlendi (Verim: % 86). Erime Derecesi: 218.4-220.2 ºC. $C_{20}H_{17}N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 345.1239; bulunan: 345.1243.

N-metil-2-(2-(4-fenoksifenil)-1*H*-benzimidazol-5-karbonil)hidrazin-1-karbotiyoamit (Bileşik 17)



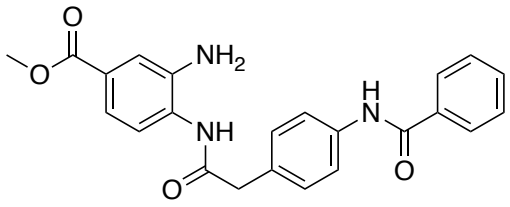
Bileşik **15**'ten hareketle Bileşik **3**'ün sentez metoduna göre sentezlendi (Verim: % 80). Erime Derecesi: 94.7-96.3 ºC. $C_{22}H_{19}N_5O_2S$ için HRMS (m/z) $[M+H]^+$ hesaplanan: 418.1338; bulunan: 418.1338.

Metil 3-amino-4-(2-(4-(benziloksi)fenil)asetamido)benzoat (Bileşik 20)



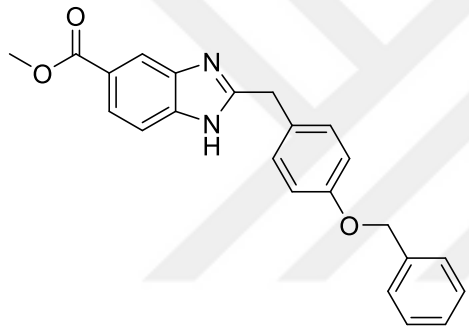
Metil 3,4-diaminobenzoat (1.432 mmol) ve 2-(4-(benziloksi)fenil)asetik asitten (1.575 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre 18 saatte sentezlendi. Ham katı, EtOAc ile yıkanarak vakum altında süzüldü ve bir sonraki basamakta kullanıldı (Verim: % 87). Erime Derecesi: 186.7-188.5 ºC. $C_{23}H_{23}N_2O_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 391.1658; bulunan: 391.1671.

Metil 3-amino-4-(2-(4-benzamidofenil)asetamido)benzoat (Bileşik 21)



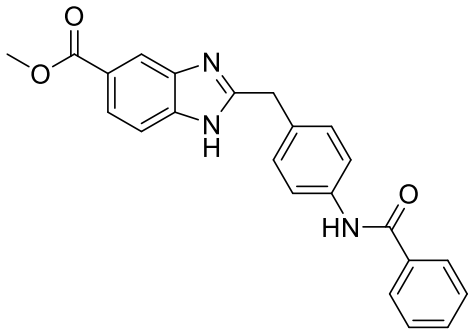
Metil 3,4-diaminobenzoat (1.32 mmol) ve 2-(4-benzamidofenil)asetik asitten (1.45 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre 10 saatte sentezlendi (Verim: % 90). Erime Derecesi: 242.6-244.3 ºC. $C_{23}H_{22}N_3O_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 404.1610; bulunan: 404.1614.

Metil 2-(4-(benziloksi)benzil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksilat (Bileşik 22)



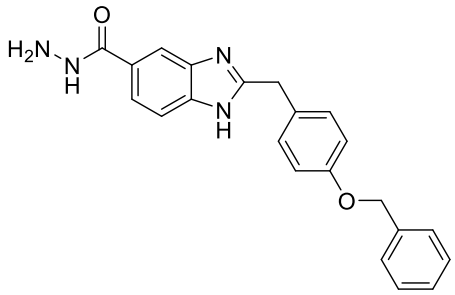
Bileşik **20**'den (1.370 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre 6 saatte sentezlendi (Verim: % 93). Erime Derecesi: 172.3-174.6 ºC. CAS #2568331-50-8. $C_{23}H_{21}N_2O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 373.1552; bulunan: 373.1542.

Metil 2-(4-benzamidobenzil)-1*H*-benzimidazol-5-karboksilat (Bileşik 23)



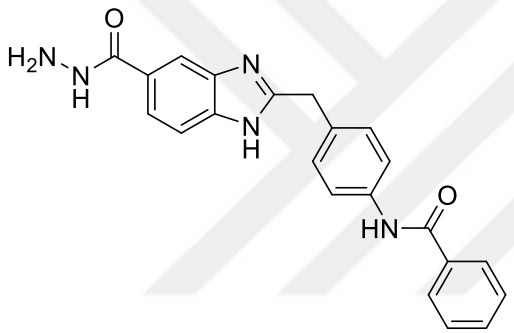
Bileşik **21**'den (1.250 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre 2 saatte sentezlenip ve ham madde EtOAc ile yıkanarak, sonraki basamakta kullanıldı (Verim: % 52). Erime Derecesi: 260.6-262.3 ºC. $C_{23}H_{20}N_3O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 386.1505; bulunan: 386.1510.

2-(4-(Benziloksi)benzil)-1*H*-benzimidazol-5-karbohidrazit (Bileşik 24)



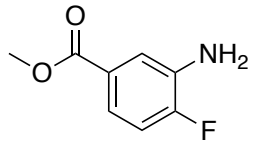
Bileşik **22**'den (1.141 mmol) hareketle Bileşik **2**'nin sentez metoduna göre 15 saatte sentezlendi (Verim: % 76). Erime Derecesi: 145.5-147.1 ºC. CAS #1903619-33-9. $C_{22}H_{21}N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 373.1665; bulunan: 373.1655.

N-(4-((5-(hidrazinkarbonil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 25)



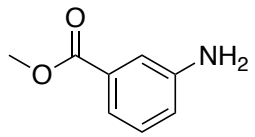
Bileşik **23**'ten (1.1 mmol) hareketle Bileşik **2**'nin sentez metoduna göre sentezlendi (Verim: % 92). Erime Derecesi: 154.7-156.6 ºC. $C_{22}H_{20}N_5O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 386.1617; bulunan: 386.1627.

Metil 3-amino-4-florobenzoat (Bileşik 28)



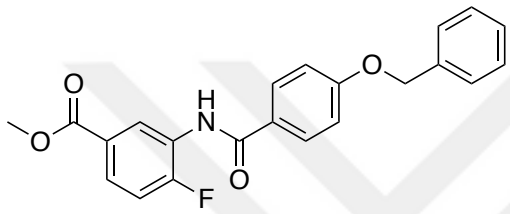
3-Amino-4-florobenzoik asitten (5.29 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 2'ye göre 3 saatte sentezlendi (Verim: % 73). CAS #369-26-6. Erime Derecesi: 75.2-76.8 ºC. $C_8H_9FNO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 170.0573; bulunan: 170.0578.

Metil 3-aminobenzoat (Bileşik 29)



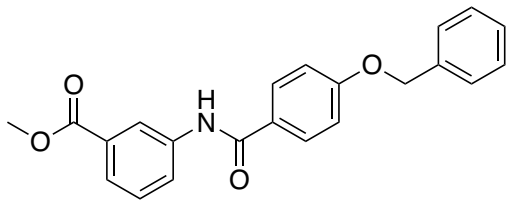
3-Aminobenzoik asitten (5 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 2'ye göre 2 saatte sentezlendi (Verim: % 85). CAS #4518-10-9. Erime Derecesi: 44.9-46.2 ºC [Lit E.D: 44 ºC] [171]. $C_8H_9NO_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 152.0712; bulunan: 152.0709.

Metil 3-(4-(benziloksi)benzamido)-4-florobenzoat (Bileşik 30)



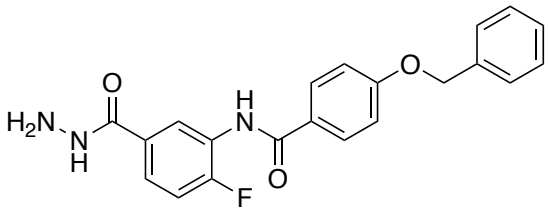
Bileşik **28** (2.763 mmol) ve 4-(benziloksi)benzoil klorürden (3.039 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 6'ya göre 12 saatte sentezlendi. Ham ürün MeOH ile yıkanarak ve vakum altında süzüldü (Verim: % 78). CAS #2790742-02-6. Erime Derecesi: 157.8-159.3 ºC. $C_{22}H_{18}FNO_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 380.1298; bulunan: 380.1317.

Metil 3-(4-(benziloksi)benzamido)benzoat (Bileşik 31)



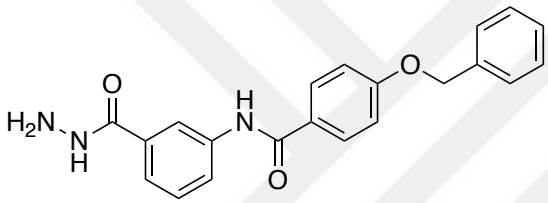
Bileşik **29** (2.6 mmol) ve 4-(benziloksi)benzoil klorürden (3.12 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 6'ya göre 10 saatte sentezlendi. Ham katı hekzan/EtOAc ile yıkanarak vakum altında süzüldü (Verim: % 94). CAS #1181191-33-2. Erime Derecesi: 70.3-72.1 ºC. $C_{22}H_{19}NO_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 362.1392; bulunan: 362.1389.

4-(Benziloksi)-*N*-(2-floro-5-(hidrazinkarbonil)fenil)benzamit (Bileşik 32)



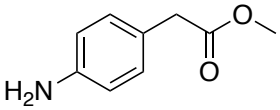
Bileşik **30**'dan (1.2 mmol) hareketle Bileşik **2**'nin sentez metoduna göre sentezlendi. Ham ürün MeOH ile yıkanıp ve bir sonraki basamakta kullanıldı (Verim: % 68). Erime Derecesi: 211.5-213.4 ºC. $C_{21}H_{18}FN_3O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 380.1410; bulunan: 380.1413.

4-(Benziloksi)-*N*-(3-(hidrazinkarbonil)fenil)benzamit (Bileşik 33)



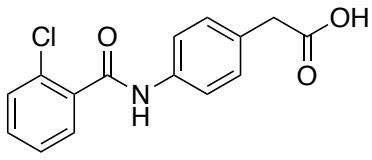
Bileşik **31**'den (1.2 mmol) hareketle Bileşik **2**'nin sentez metoduna göre sentezlendi (Verim: % 74). Erime Derecesi: 271.6273.5 ºC. $C_{21}H_{19}N_3O_3$ için HRMS (m/z) $[M+H]^+$ hesaplanan: 362.1505; bulunan: 362.1505.

Metil 2-(4-aminofenil)asetat (Bileşik 36)



4-Aminofenilasetik asitten (6.48 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 2'ye göre sentezlendi (Verim: % 88). CAS #39552-81-3. $C_9H_{12}NO_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 166.0868 bulunan: 166.0858.

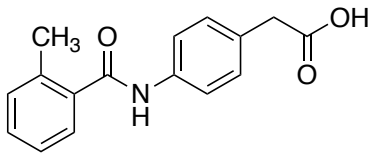
2-(4-(2-Klorobenzamido)fenil)asetik asit (Bileşik 37a)



1.basamak: Bileşik **36** (2.82 mmol) ve 2-klorobenzoik asitten (3.10 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 2-(4-(2-klorobenzamido)fenil)asetat sentezlendi (Verim: %

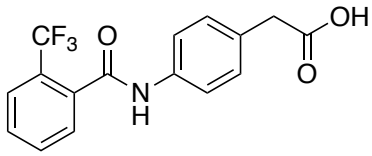
93). CAS #500263-11-6. Erime Derecesi: 99.7-101.2 ºC. $C_{16}H_{15}ClNO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 304.0740 bulunan: 304.0743. *2.basamak:* Metil-2-(4-(2-kloro benzamido)fenil)asetattan (2.617 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **37a** sentezlendi (Verim: % 73). CAS #178559-08-5. Erime derecesi: 177.6-179.5 ºC. $C_{15}H_{13}ClNO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 290.0584; bulunan: 290.0573.

2-(4-(2-Metilbenzamido)fenil)asetik asit (Bileşik 37b)



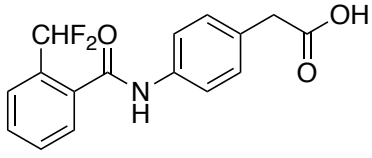
Bileşik **36** (3.009 mmol) ve 2-metilbenzoik asitten (3.309 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 2-(4-(2-metilbenzamido)fenil)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (2.98 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **37b** sentezlendi (Verim: % 84). CAS #954578-61-1. Erime derecesi: 177.6-179.2 ºC. $C_{16}H_{16}NO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 270.1130, bulunan: 270.1132.

2-(4-(2-(Triflorometil)benzamido)fenil)asetik asit (Bileşik 37c)



Bileşik **36** (3.03 mmol) ve 2-(triflorometil)benzoik asitten (3.33 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 2-(4-(2-(triflorometil)benzamido)fenil)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (2.573 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **37c** sentezlendi (Verim: % 60). CAS #1051227-45-2. Erime derecesi: 189.6-190.9 ºC. $C_{16}H_{13}F_3NO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 324.0848, bulunan: 324.0835.

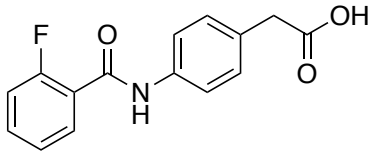
2-(4-(2-(Diflorometil)benzamido)fenil)asetik asit (Bileşik 37d)



Bileşik **36** (3.03 mmol) ve 2-(diflorometil)benzoik asitten (3.33 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 2-(4-(2-(diflorometil)benzamido)fenil)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (2.693 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **37d**

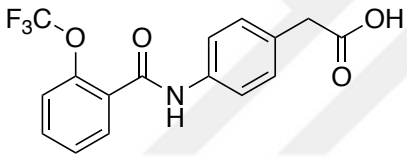
sentezlendi (Verim: % 77). Erime derecesi: 185.5-187.3 ºC. $C_{16}H_{14}F_2NO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 306.0942, bulunan: 306.0943.

2-(4-(2-Florobenzamido)fenil)asetik asit (Bileşik 37e)



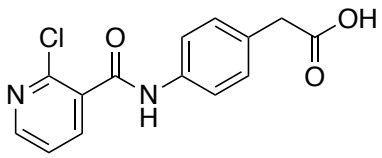
Bileşik **36** (3.03 mmol) ve 2-florobenzoik asitten (3.33 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 2-(4-(2-florobenzamido)fenil)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (2.732 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **37e** sentezlendi (Verim: % 64). CAS #953890-88-5. Erime Derecesi: 184.5-185.9 ºC. $C_{15}H_{13}FNO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 274.0879; bulunan: 274.0874.

2-(4-(2-(Triflorometoksi)benzamido)fenil)asetik asit (Bileşik 37f)



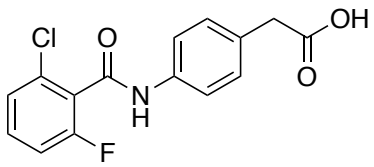
Bileşik **36** (3.03 mmol) ve 2-(triflorometoksi)benzoik asitten (3.33 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 2-(4-(2-(triflorometoksi)benzamido)fenil)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (2.830 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **37f** sentezlendi (Verim: % 74). Erime Derecesi: 156.5-158.0 ºC. $C_{16}H_{13}F_3NO_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 340.0797; bulunan: 340.0796.

2-(4-(2-Kloronikotinamido)fenil)asetik asit (Bileşik 37g)



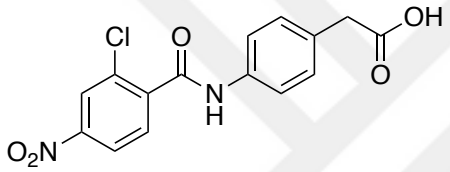
Bileşik **36** (3.0 mmol) ve 2-kloropiridin-3-karboksilik asitten (3.3 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 2-(4-(2-kloronikotinamido)fenil)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **37g** sentezlendi (Verim: % 53). CAS #1003264-06-9. Erime Derecesi: 201.7-203.3 ºC. $C_{14}H_{12}ClN_2O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 291.0536; bulunan: 291.0544.

2-(4-(2-Kloro-6-florobenzamido)fenil)asetik asit (Bileşik 37h)



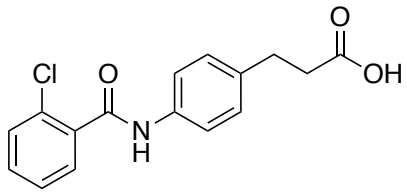
Bileşik **36** (3.008 mmol) ve 2-kloro-6-florobenzoik asitten (3.31 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 2-(4-(2-kloro-6-florobenzamido)fenil)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (2.953 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **37h** sentezlendi (Verim: % 55). CAS #1018549-06-8. Erime Derecesi: 162.0-164.0 ºC. $C_{15}H_{12}ClFNO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 308.0496; bulunan: 308.0477.

2-(4-(2-Kloro-4-nitrobenzamido)fenil)asetik asit (Bileşik 37i)



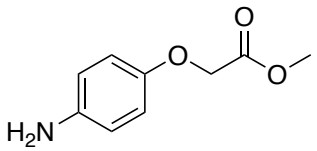
Bileşik **36** (3.0 mmol) ve 2-kloro-4-nitrobenzoik asitten (3.3 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 2-(4-(2-kloro-4-nitrobenzamido)fenil)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **37i** sentezlendi (Verim: % 63). CAS #1030562-96-9. Erime Derecesi: 176.7-178.5 ºC. $C_{15}H_{12}ClN_2O_5$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 335.0435; bulunan: 335.0431.

3-(4-(2-Klorobenzamido)fenil)propanoik asit (Bileşik 49)



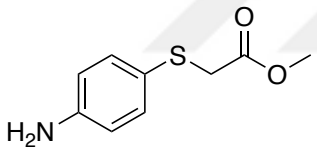
Metil 3-(4-aminofenil)propanoat (3.2 mmol) ve 2-klorobenzoil klorürden (3.2 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 6'ya göre metil 3-(4-(2-klorobenzamido)fenil)propanoat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (2.800 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **49** sentezlendi (Verim: % 62). CAS #895951-17-4. Erime Derecesi: 177.9-179.8 ºC [Lit E.D: 179-181 ºC] [172]. $C_{16}H_{15}ClNO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 304.0740; bulunan: 304.0740.

Metil 2-(4-aminofenoksi)asetat (Bileşik 51a)



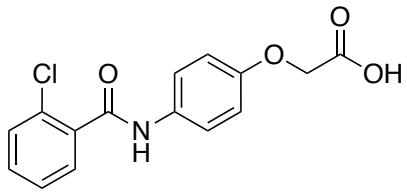
1. Basamak: 4-nitrofenol (1 eq), asetonitril (4 mL) içerisine alınarak, K_2CO_3 (2 eq) ve metilbromoasetat (1.1 eq) eklenip, geri çeviren soğutucu altında 5 saat kaynatıldı. Asetonitril uçuruldu. Balon içeriği su içerisine alınıp, karıştırıldı ve çöken katı süzüldü ve metil 2-(4-nitrofenoksi)asetat elde edildi (Verim: % 97). CAS #19786-48-2. Erime Derecesi: 97.1-98.3 ºC [Lit E.D: 98-99 ºC] [173]. $C_9H_9NO_5$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 212.0559; bulunan: 212.0560. *2. Basamak:* Metil 2-(4-nitrofenoksi)asetat (1.32 mmol, 1 eq), MeOH (3 mL) içerisinde çözülüp, Pd/C (% 10) eklendi, hidrojen gazı altında, oda sıcaklığında karıştırıldı. Reaksiyon karışımı Celite'den süzülüp, uçuruldu. Elde edilen metil 2-(4-aminofenoksi)asetat bir sonraki basamakta kullanıldı (Verim: % 90). CAS #59954-04-0. $C_9H_{12}NO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 182.0817; bulunan: 182.0811.

Metil 2-((4-aminofenil)tiyo)asetat (Bileşik 51b)



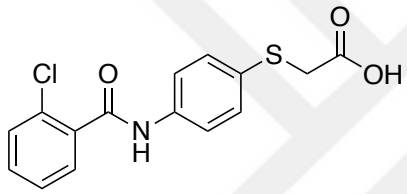
1. Basamak: 4-nitrotiyofenolden hareketle Bileşik **51a**'nın 1. basamak sentez metoduna göre metil 2-((4-nitrofenil)tiyo)asetat sentezlendi (Verim: % 76). CAS #6625-35-0. Erime Derecesi: 53.3-54.4 ºC [Lit E.D: 51-52 ºC] [174]. $C_9H_9NO_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 228.0331; bulunan: 228.0328. *2. Basamak:* Metil 2-((4-nitrofenil)tiyo)asetattan (2.209 mmol) hareketle Bileşik **11**'in 3. basamak sentez metoduna göre metil-2-((4-aminofenil)tiyo)asetat sentezlendi (Verim: % 92). CAS #24477-56-3. $C_9H_{12}NO_2S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 198.0589; bulunan: 198.0586.

2-(4-(2-Klorobenzamido)fenoksi)asetik asit (Bileşik 52a)



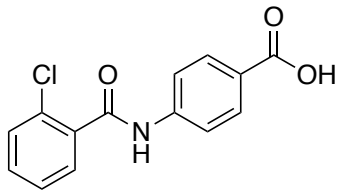
Bileşik **51a** (1.313 mmol) ve 2-klorobenzoil klorürden (1.313 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 6'ya göre metil 2-(4-(2-klorobenzamido)fenoksi)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (1.220 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **52a** sentezlendi (Verim: % 74). CAS #552843-16-0. Erime Derecesi: 179.8-181.5 ºC. $C_{15}H_{13}ClNO_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 306.0533; bulunan: 306.0536.

2-((4-(2-Klorobenzamido)fenil)tiyo)asetik asit (Bileşik 52b)



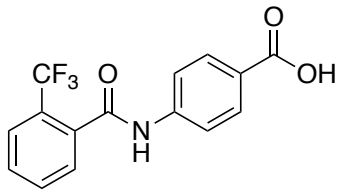
Bileşik **51b** (2.028 mmol) ve 2-klorobenzoil klorürden (2.028 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 6'ya göre metil 2-((4-(2-klorobenzamido)fenil)tiyo)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (1.787 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **52b** sentezlendi (Verim: % 42). Erime Derecesi: 230.2-231.8 ºC. $C_{15}H_{13}ClNO_3S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 322.0305; bulunan: 322.0319.

4-(2-Klorobenzamido)benzoik asit (Bileşik 55a)



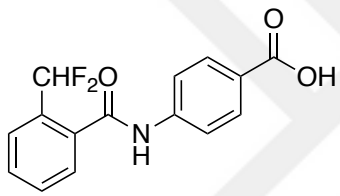
4-aminobenzoik asitten (7.292 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 2'ye göre metil 4-aminobenzoat elde edildi. Metil 4-aminobenzoat ve 2-klorobenzoik asitten hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 4-(2-klorobenzamido)benzoat sentezlendi. Elde edilen bileşikten hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **55a** sentezlendi (Verim: % 90). CAS #70204-54-5. Erime derecesi: 260.2-261.8 ºC [Lit. E.D: 262-263 ºC][175]. $C_{14}H_{11}ClNO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 276.0427, bulunan: 276.0425.

4-(2-(Triflorometil)benzamido)benzoik asit (Bileşik 55b)



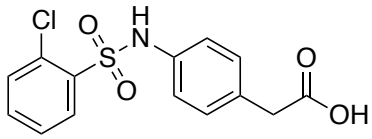
Metil 4-aminobenzoat (1.913 mmol) ve 4-(triflorometil)benzoik asitten (2.104 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 4-(2-(triflorometil)benzamido)benzoat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (1.856 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **55b** sentezlendi (Verim: % 91). CAS #183990-89-8. Erime Derecesi: 250.8-251.7 ºC. $C_{15}H_{11}F_3NO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 310.0691; bulunan: 310.0586.

4-(2-(Diflorometil)benzamido)benzoik asit (Bileşik 55c)



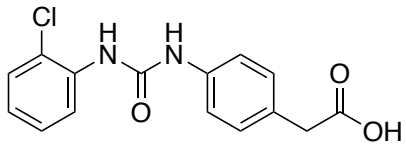
Metil 4-aminobenzoat (1.553 mmol) ve 2-(diflorometil)benzoik asitten (1.708 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 4-(2-(diflorometil)benzamido)benzoat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (1.474 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **55c** sentezlendi (Verim: % 50). Erime Derecesi: 187.1-189.2 ºC. $C_{15}H_{12}F_2NO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 292.0785; bulunan: 292.0788.

2-(4-((2-Klorofenil)sulfonamido)fenil)asetik asit (Bileşik 59a)



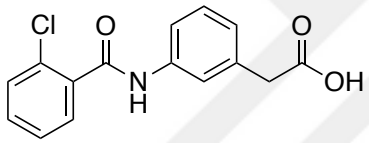
Bileşik **36** (3.814 mmol) ve 2-klorobenzensülfonil klorürden (3.814 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 6'ya göre metil 2-(4-((2-klorofenil)sülfonamido)fenil)asetat sentezlendi (Verim: % 71). Elde edilen metil 2-(4-((2-klorofenil)sülfonamido)fenil)asetattan (3.749 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **59a** sentezlendi (Verim: % 82). CAS #851216-05-2. Erime Derecesi: 220.6-222.3 ºC. $C_{14}H_{13}ClNO_4S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 326.0254; bulunan: 326.0238.

2-(4-(3-(2-Klorofenil)üreido)fenil)asetik asit (Bileşik 59b)



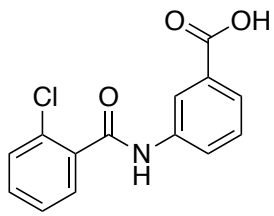
1. Basamak: Bileşik **36** (3.026 mmol, 1 eq), DMF (3 mL) içerisine alındı. 2-kloro-2-izosiyanatobenzen (3.026 mmol, 1 eq) eklendi, oda sıcaklığında 3 saat karıştırıldı. Balon içeriği, su içerisine alındı, çöken katı süzüldü, kurutuldu. Elde edilen metil 2-(4-(3-(2-kloro fenil)üreido)fenil)asetat bir sonraki basamakta kullanıldı (Verim: % 93). *2. Basamak:* Metil 2-(4-(3-(2-klorofenil)üreido)fenil)asetattan (2.635 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **59b** sentezlendi (Verim: % 94). CAS #896222-24-5. Erime Derecesi: 210.5-212.3 ºC. $C_{15}H_{14}ClN_2O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 305.0693; bulunan: 305.0691.

2-(3-(2-Klorobenzamido)fenil)asetik asit (Bileşik 62a)



3-Aminofenilasetik asitten (2.98 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 2'ye göre metil 2-(3-aminofenil)asetat sentezlendi. CAS #52913-11-8. Elde edilen amin türevi (2.621 mmol) ve 2-klorobenzoil klorürden (2.621 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 6'ya göre metil 2-(3-(2-klorobenzamido)fenil)asetat sentezlendi. CAS #2774886-30-3. Elde edilen metil 2-(3-(2-klorobenzamido) fenil)asetattan (2.195 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **62a** sentezlendi (Verim: % 87). CAS #1018549-48-8. Erime Derecesi: 150.9-152.8 ºC. $C_{15}H_{13}ClNO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 290.0584; bulunan: 290.0583.

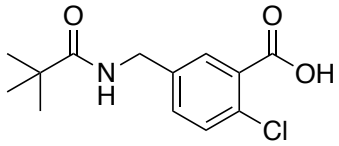
3-(2-Klorobenzamido)benzoik asit (Bileşik 62b)



Bileşik **29** (2.516 mmol) ve 2-klorobenzoil klorürden (2.516 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 6'ya göre metil 3-(2-klorobenzamido)benzoat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (2.195 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **62b** sentezlendi (Verim: %

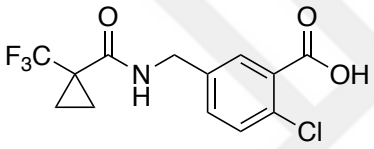
87). CAS #42122-72-5. Erime Derecesi: 218.8-219.6 ºC. $C_{14}H_{11}ClNO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 276.0427; bulunan: 276.0417.

2-Kloro-5-(pivalamidometil)benzoik asit (Bileşik 65a)



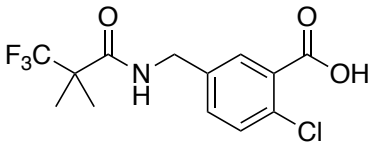
Pivalik asitten (0.880 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 7'ye göre Bileşik **65a** sentezlendi (Verim: % 48). CAS #1294496-58-4. Erime Derecesi: 148.2-150.0 ºC. $C_{13}H_{17}ClNO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 270.0897; bulunan: 270.0894.

2-Kloro-5-((1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksamido)metil)benzoik asit (Bileşik 65b)



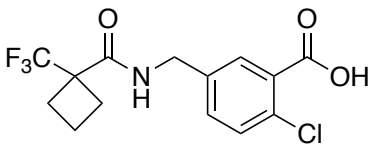
1-(Triflorometil)siklopropan-1-karboksilik asitten (0.880 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 7'ye göre Bileşik **65b** sentezlendi (Verim: % 54). CAS #1819365-58-6. Erime Derecesi: 166.8-168.1 ºC. $C_{13}H_{12}ClF_3NO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 322.0458; bulunan: 322.0465.

2-Kloro-5-((3,3,3-trifloro-2,2-dimetilpropanamido)metil)benzoik asit (Bileşik 65c)



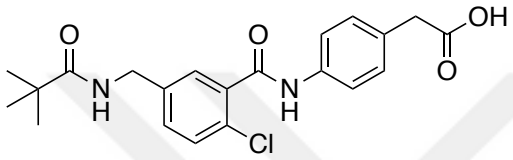
3,3,3-Trifloro-2,2-dimetil propiyonik asitten (1.174 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 7'ye göre Bileşik **65c** sentezlendi (Verim: % 50). CAS #1294497-30-5. Erime Derecesi: 168.7-170.1 ºC. $C_{13}H_{14}ClF_3NO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 324.0614; bulunan: 324.0608.

2-Kloro-5-((1-(triflorometil)siklobütan-1-karboksamido)metil)benzoik asit (Bileşik 65d)



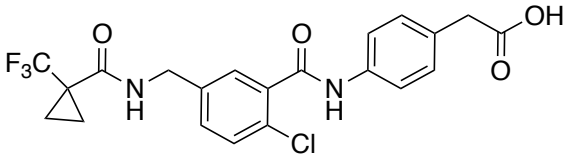
1-(Triflorometil)siklobütan-1-karboksilik asitten (0.880 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 7'ye göre Bileşik **65d** sentezlendi (Verim: % 55). Erime Derecesi: 161.7-163.3 ºC. $C_{14}H_{14}ClF_3NO_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 336.0614; bulunan: 336.0623.

2-(4-(2-Kloro-5-(pivalamidometil)benzamido)fenil)asetik asit (Bileşik 66a)



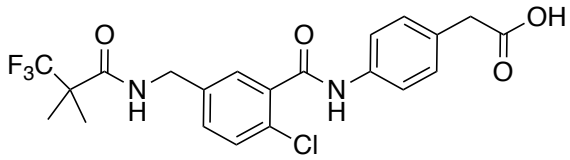
Bileşik **36** (0.472 mmol) ve **65a**'dan (0.519 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 2-(4-(2-kloro-5-(pivalamidometil)benzamido)fenil)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (0.504 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **66a** sentezlendi (Verim: % 60). $C_{14}H_{24}ClN_2O_4$ çin HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 443.0985; bulunan: 443.0990.

2-(4-(2-Kloro-5-((1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksamido)metil)benzamido)fenil) asetik asit (Bileşik 66b)



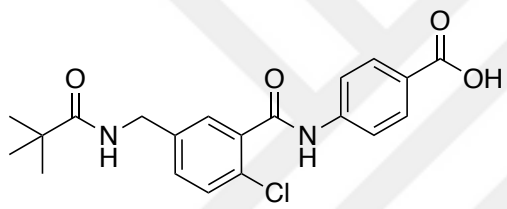
Bileşik **36** (0.633 mmol) ve **65b**'den (0.696 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 2-(4-(2-kloro-5-((1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksamido)metil)benzamido) fenil)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (0.610 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **66b** sentezlendi (Verim: % 60). $C_{21}H_{19}ClF_3N_2O_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 455.0985; bulunan: 455.0969.

2-(4-(2-Kloro-5-((3,3,3-trifloro-2,2-dimetilpropanamido)metil)benzamido)fenil)asetik asit (Bileşik 66c)



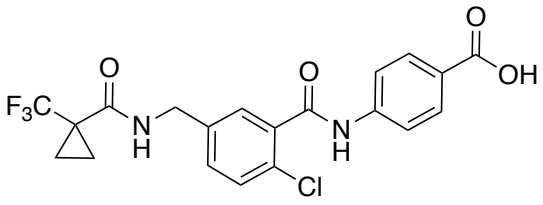
Bileşik **36** (0.842 mmol) ve **65c**'den (0.926 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 2-(4-(2-kloro-5-((3,3,3-trifloro-2,2-dimetilpropanamido)metil)benzamido)fenil)asetat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (0.915 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **66c** sentezlendi (Verim: % 85). $C_{21}H_{20}ClF_3N_2O_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 457.1142; bulunan: 457.1137.

2-(4-(2-Kloro-5-(pivalamidometil)benzamido)fenil)asetik asit (Bileşik 70a)



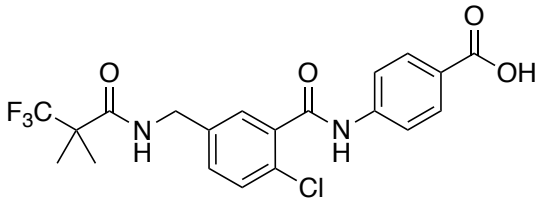
Metil 4-aminobenzoat (0.616 mmol) ve Bileşik **65a**'dan (0.678 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 4-(2-kloro-5-(pivalamidometil)benzamido)benzoat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (0.596 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **70a** sentezlendi (Verim: % 60). Erime Derecesi: 150.2-152.5 ºC. $C_{20}H_{22}ClN_2O_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 389.1268; bulunan: 389.1276.

4-(2-Kloro-5-((1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksamido)metil)benzamido) benzoik asit (Bileşik 70b)



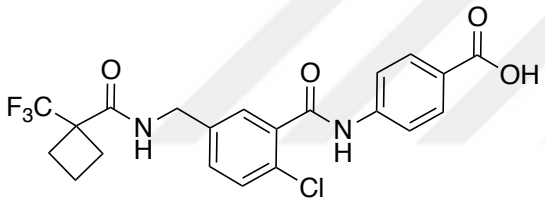
Metil 4-aminobenzoat (0.808 mmol) ve Bileşik **65b**'den (0.889 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 4-(2-kloro-5-((1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksamido)metil) benzamido)benzoat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (0.792 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **70b** sentezlendi (Verim: % 70). Erime Derecesi: 180.0-181.8 ºC. $C_{20}H_{17}ClF_3N_2O_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 441.0829; bulunan: 441.0848.

4-(2-Kloro-5-((3,3,3-trifloro-2,2-dimetilpropanamido)metil)benzamido)benzoik asit (Bileşik 70c)



Metil 4-aminobenzoat (0.843 mmol) ve Bileşik **65c**'den (0.927 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 4-(2-kloro-5-((3,3,3-trifloro-2,2-dimetilpropanamido)metil) benzamido)benzoat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (0.832 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **70c** sentezlendi (Verim: % 50). Erime Derecesi: 179.2-181.1 ºC. $C_{20}H_{19}ClF_3N_2O_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 443.0985; bulunan: 443.0981.

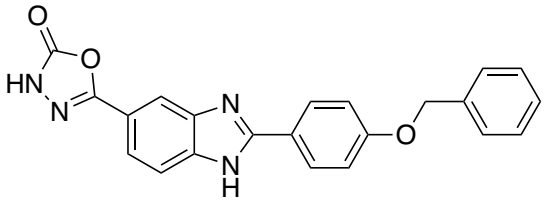
4-(2-Kloro-5-((1-(triflorometil)siklobütan-1-karboksamido)metil)benzamido)benzoik asit (Bileşik 70d)



Metil 4-aminobenzoat (0.433 mmol) ve Bileşik **65d**'den (0.476 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre metil 4-(2-kloro-5-((1-(triflorometil)siklobütan-1-karboksamido) metil)benzamido)benzoat sentezlendi. Elde edilen bileşikten (0.426 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre Bileşik **70d** sentezlendi (Verim: % 45). Erime Derecesi: 176.7-177.8 ºC. $C_{21}H_{19}ClF_3N_2O_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 455.0985; bulunan: 455.0977.

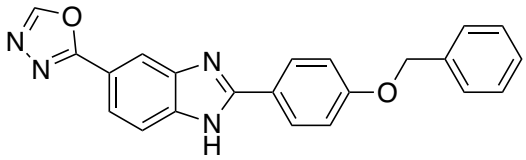
Final Bileşik Bulguları

5-(2-(4-(Benziloksi)fenil)-1*H*-benzimidazol-5-il)-1,3,4-oksadiazol-2(3*H*)-on (Bileşik 4)



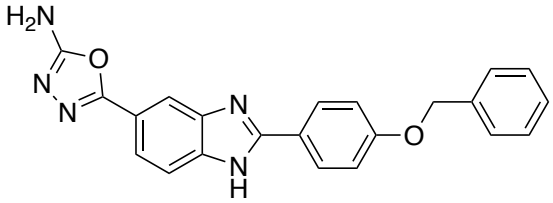
Bileşik **2** (0.922 mmol, 1 eq), DMSO (2 mL) içerisinde çözülüp, CDI (1.383 mmol, 1.5 eq) eklendi, gece boyu oda ısısında karıştırıldı. Süre sonunda reaksiyon içeriği suya alındı, çöken katı vakum altında süzüldü. Madde hareketli faz olarak su:AcCN (10:90) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 10). Erime Derecesi: 153.7-155.0 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 5.20 (2H, s), 7.20 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.32-7.48 (5H, m), 7.62-7.69 (2H, m), 7.91 (1H, s), 8.13 (2H, d, J = 8.8 Hz), 12.90 (1H, s).^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 63.3, 115.2, 117.4, 119.1, 122.1, 127.6, 127.8, 128.2, 128.3, 135.4, 36.6, 154.5, 154.6, 160.0. $C_{22}H_{15}N_4O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^-$ hesaplanan: 383.1144; bulunan: 383.1152.

2-(2-(4-(Benziloksi)fenil)-1*H*-benzimidazol-5-il)-1,3,4-oksadiazol (Bileşik 5)



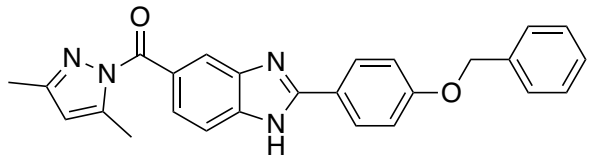
Bileşik **2** (0.374 mmol), trimetilortoformat (2 mL) içerisinde çözündükten sonra, 100 ºC'de 5 saat karıştırıldı. Süre sonunda reaksiyon içeriği suya alındı, pH 6'ya çekildi ve çöken katı vakum altında süzüldü. Madde hareketli faz olarak DCM:EtOAc (90:10) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 64). Erime Derecesi: 217.0-218.6 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 5.20 (2H, s), 7.20 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.31-7.34 (1H, m), 7.39 (2H, t, J = 7.4 Hz), 7.47 (2H, d, J = 6.8 Hz), 7.68-7.85 (2H, m), 8.13 (2H, d, J = 8.8 Hz), 8.21 (1H, m), 9.26 (1H, s), 13.08 (1H, bs). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 69.4, 112.6, 115.3, 116.6, 119.8, 122.1, 127.6, 127.8, 128.4, 128.8, 136.6, 153.9, 160.2, 164.4. $C_{22}H_{17}N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 369.1352; bulunan: 369.1354.

5-(2-(4-(Benziloksi)fenil)-1*H*-benzimidazol-5-il)-1,3,4-oksadiazol-2-amin (Bileşik 6)



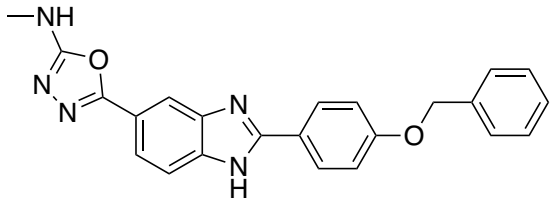
Bileşik **2** (0.407 mmol, 1 eq), EtOH (3 ml) içerisine alındı, BrCN (0.488 mmol, 1.2 eq) eklendi, oda sıcaklığında 4 saatte reaksiyon gerçekleştirildi. Süre sonunda EtOH uçuruldu, reaksiyon içeriği suya alındı (pH~2), çöken katı vakum altında süzüldü. Madde hareketli faz olarak DCM:MeOH (90:10) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 34). Erime Derecesi: 293.5-295.1 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 5.19 (2H, s), 7.11 (2H, s), 7.19 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.31-7.34 (1H, m), 7.39 (2H, t, J = 7.2 Hz), 7.46 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.65 (2H, bs), 7.89 (1H, s), 8.11 (2H, d, J = 8.8 Hz), 12.95 (1H, bs). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 69.4, 115.2, 118.1, 122.3, 127.6, 127.8, 128.2, 128.4, 136.6, 153.6, 158.2, 159.9, 163.4. $C_{22}H_{18}N_5O_2$ için HRMS (m/z) $[M+H]^+$ hesaplanan: 384.1461; bulunan: 384.1465.

(2-(4-(Benziloksi)fenil)-1*H*-benzimidazol-5-il)(3,5-dimetil-1*H*-pirazol-1-il)metanon (Bileşik 7)



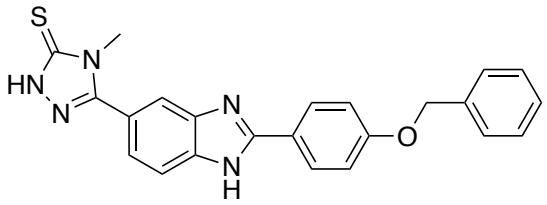
Bileşik **2** (0.558 mmol, 1 eq) ve asetilaseton (0.670 mmol, 1.2 eq) agat havan içinde öğütüldü, homojenize edildi. H_2SO_4 (1.5 mL) eklendi ve 30 dakika boyunca homojenize edildi. Havan içeriğine % 10'luk Na_2CO_3 çözeltisi ilave edilip, karıştırıldı. Çöken katı vakum altında süzüldü. Madde hareketli faz olarak DCM:EtOAc (70:30) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 10). Erime Derecesi: 87.4-89.2 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6+TFA): δ 2.21 (3H, s), 2.59 (3H, s), 5.23 (2H, s), 6.30 (1H, d, J = 3.3 Hz), 7.24 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.34-7.38 (1H, m), 7.43 (2H, t, J = 7.0 Hz), 7.51 (2H, d, J = 7.0 Hz), 7.61-7.82 (3H, m), 8.16-8.19 (2H, m). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 14.0, 14.4, 69.9, 111.4, 115.8, 118.1, 123.3, 125.4, 126.5, 128.3, 129.0, 134.5, 137.2, 138.7, 143.3, 144.9, 147.6, 151.6, 153.9, 154.9, 160.7, 168.5. $C_{26}H_{23}N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 423.1821; bulunan: 423.1823.

5-(2-(4-(Benziloksi)fenil)-1*H*-benzimidazol-5-il)-*N*-metil-1,3,4-oksadiazol-2-amin (Bileşik 8)



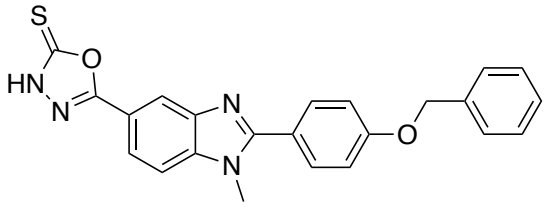
Bileşik **3** (0.198 mmol, 1 eq) ve EDC.HCl (0.238 mmol, 1.2 eq), DMSO (1.5 mL) içerisine alındı, 60˚C'de 30 dakika karıştırıldı. Süre sonunda reaksiyon içeriği suya alındı, çöken katı vakum altında süzüldü. Madde hareketli faz olarak DCM:MeOH (80:20) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 60). Erime Derecesi: 262.6-264.2 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.86 (3H, s), 5.18 (2H, s), 7.19 (2H, d, J = 7.0 Hz), 7.32-7.97 (9H, m), 8.10 (2H, d, J = 7.0 Hz), 12.92-12.97 (1H, m). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6+TFA): δ 29.3, 70.2, 111.6, 115.1, 115.3, 116.4, 120.3, 123.6, 128.1, 128.4, 128.8, 130.7, 132.5, 134.2, 136.5, 151.5, 157.0, 161.1, 163.2. $C_{23}H_{20}N_5O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 398.1617; bulunan: 398.1608.

5-(2-(4-(Benziloksi)fenil)-1*H*-benzimidazol-5-il)-4-metil-4*H*-1,2,4-triazol-3-tiyon (Bileşik 9)



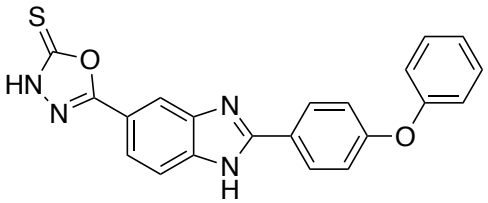
Bileşik **3** (0.288 mmol, 1 eq) ve 2N NaOH (5.187 mmol, 18 eq) çözeltisi mikrodalgada 150 ºC'de 4 dakika karıştırıldı. Süre sonunda reaksiyon içeriği suya alındı. HCl ile pH nötrlendi, çöken katı vakum altında süzüldü. Madde hareketli faz olarak DCM:MeOH (90:10) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 58). Erime Derecesi: 298.0-300.0 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3.55 (3H, s), 5.20 (2H, s), 7.20 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.31-7.51 (6H, m), 7.69 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.90 (1H, s), 8.14 (2H, d, J = 8.8 Hz), 13.83 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 32.2, 69.9, 115.8, 120.0, 122.5, 123.1, 128.3, 128.5, 128.9, 129.0, 137.2, 152.7, 153.6, 160.6, 167.7. $C_{23}H_{20}N_5OS$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 414.1389; bulunan: 414.1385.

5-(2-(4-(Benziloksi)fenil)-1-metil-1*H*-benzimidazol-5-il)-1,3,4-oksadiazol-2(3*H*)-tiyon (Bileşik 13)



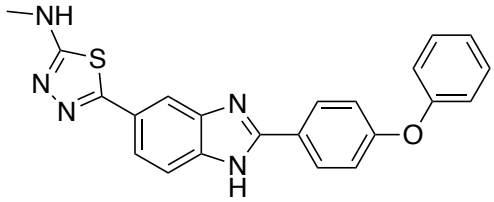
1. basamak: Bileşik **12**'den (0.650 mmol) hareketle Bileşik **2**'nin sentez metoduna göre 2-(4-(benziloksi)fenil)-1-metil-1*H*-benzimidazol-5-karbohidrazit sentezlendi (Verim: % 87). Erime Derecesi: 229.1-230.8 ºC. $C_{22}H_{21}N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 373.1665; bulunan: 373.1668. *2. basamak:* 2-(4-(benziloksi)fenil)-1-metil-1*H*-benzimidazol -5-karbohidrazit bileşiğinden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Madde hareketli faz olarak su:AcCN (30:70) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 21). Erime Derecesi: 261.7-263.5 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 3.92 (3H, s), 5.23 (2H, s), 7.23 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.36 (1H, t, J = 7.2 Hz), 7.43 (2H, t, J = 7.2 Hz), 7.51 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.81 (2H, s), 7.85 (2H, d, J = 8.8 Hz), 8.11 (1H, s). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ 32.5, 69.9, 112.2, 115.5, 116.8, 117.2, 120.6, 122.3, 128.3, 128.5, 129.0, 131.4, 137.2, 139.6, 142.8, 155.7, 160.3, 161.9, 177.8. $C_{23}H_{19}N_4O_2S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 415.1229; bulunan: 415.1217.

5-(2-(4-Fenoksifenil)-1H-benzimidazol-5-il)-1,3,4-oksadiazol-2(3H)-tiyon (Bileşik 16)



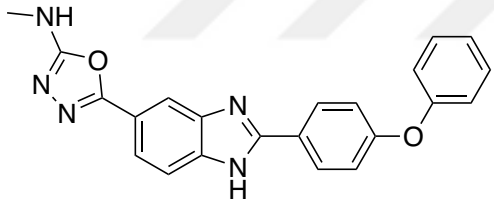
Bileşik **15**'ten (0.681 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Ham katı, sıcak MeOH ile yıkanarak vakum altında süzüldü (Verim: % 58). Erime Derecesi: 274.7-276.2 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7.11-7.23 (5H, m), 7.44 (2H, t, J = 7.8 Hz), 7.70-7.75 (2H, m), 8.01 (1H, s), 8.19 (2H, d, J = 8.8 Hz). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 116.1, 118.2, 119.5, 120.2, 123.9, 124.2, 128.8, 130.2, 153.3, 155.5, 159.0, 161.3, 177.2. $C_{21}H_{15}N_4O_2S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 387.0916; bulunan: 387.0904.

N-metil-5-(2-(4-fenoksifenil)-1*H*-benzimidazol-5-il)-1,3,4-tiyadiazol-2-amin (Bileşik 18)



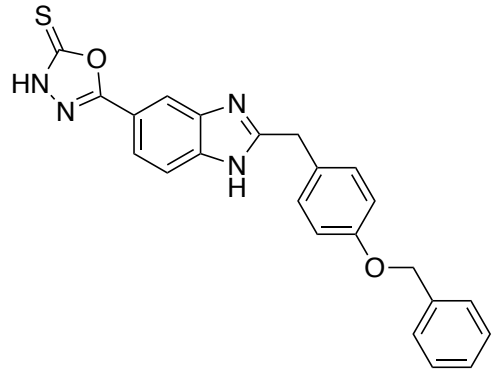
Bileşik **17** (0.376 mmol) üzerine 5 mL H_3PO_4 (% 85) ilave edildi ve 85 ºC'de 2.5 saatte reaksiyon gerçekleştirildi. Süre sonunda reaksiyon içeriği sulu NaOH çözeltisi ile nötralize edildi, çöken katı vakum altında süzüldü. Madde hareketli faz olarak DCM:MeOH (90:10) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 35). Erime Derecesi: 161.8-163.7 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.91 (3H, d, J = 4.4 Hz), 7.10-7.15 (3H, m), 7.20 (1H, t, J = 7.6 Hz), 7.41-7.45 (2H, m), 7.57-7.92 (4H, m), 8.17 (2H, d, J = 8.8 Hz), 13.03 (1H, bs). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 31.2, 113.0, 115.6, 118.2, 119.4, 120.8, 124.1, 124.5, 128.4, 130.1, 130.7, 132.4, 134.0, 150.8, 155.6, 158.6, 168.6. $C_{22}H_{17}N_5OS$ için HRMS (m/z) $[M+H]^+$ hesaplanan: 400. 1232; bulunan: 400.1233.

N-metil-5-(2-(4-fenoksifenil)-1*H*-benzimidazol-5-il)-1,3,4-oksadiazol-2-amin (Bileşik 19)



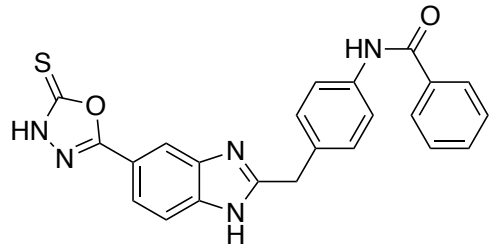
Bileşik **17**'den hareketle Bileşik **8**'in sentez metoduna göre sentezlendi. Madde hareketli faz olarak DCM:MeOH (90:10) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 21). Erime Derecesi: 236.5-238.5 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.96 (3H, d, J = 4.4 Hz), 7.10-7.22 (5H, m), 7.41-7.45 (2H, m), 7.52-7.90 (3H, m), 8.17 (2H, d, J = 8.4 Hz), 13.1 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 29.0, 112.0, 115.2, 118.2, 119.7, 120.5, 123.8, 125.3, 130.4, 130.9, 132.3, 134.5, 151.3, 154.8, 156.7, 159.9, 162.0. $C_{22}H_{17}N_5O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 384.1460; bulunan: 384.1456.

5-(2-(4-(Benziloksi)benzil)-1*H*-benzimidazol-5-il)-1,3,4-oksadiazol-2-tiyon (Bileşik 26)



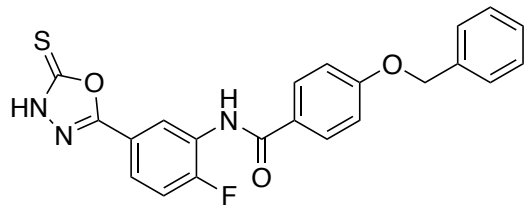
Bileşik **24**'ten hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre 6 saatte sentezlendi. Madde hareketli faz olarak DCM:MeOH (90:10) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 11). Erime Derecesi: 265.7-267.9 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 4.14 (2H, s), 5.05 (2H, s), 6.95 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.23 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.26-7.31 (1H, m), 7.34 (2H, t, J = 7.2Hz), 7.40 (2H, d, J = 7.2Hz), 7.61-7.66 (2H, m), 7.94 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6+TFA): δ 31.9, 69.6, 112.6, 115.6, 115.7, 120.3, 123.8, 125.6, 128.0, 128.2, 128.7, 130.9, 131.7, 133.7, 137.3, 156.2, 158.5, 160.4. $C_{23}H_{18}N_4O_2S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 415.1229; bulunan: 415.1222.

N-(4-((5-(5-tiyokso-4,5-dihidro-1,3,4-oksadiazol-2-il)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil) benzamit (Bileşik 27)



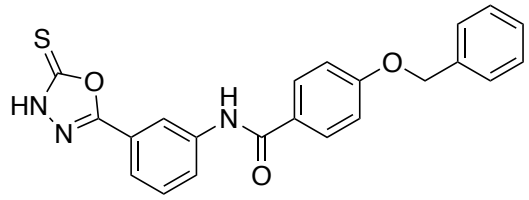
Bileşik **25**'ten hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre 2 saatte sentezlendi. Madde hareketli faz olarak su:AcCN (30:70) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 15). Erime Derecesi: 239.9-241.3 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 4.21 (2H, s), 7.31 (2H, d, J = 8 Hz), 7.49-7.53 (2H, m), 7.55-7.59 (1H, m), 7.64 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.67 (1H, dd, J = 8.4, 1.2 Hz), 7.72 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.92-7.96 (3H, m), 10.23 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 19.0, 34.9, 56.5, 116.0, 120.1, 121.0, 128.1, 128.8, 129.5, 132.0, 132.6, 135.3, 138.3, 151.4, 157.1, 162.0, 166.0, 174.0, 177.7. $C_{23}H_{18}N_5O_2S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 428.1181; bulunan: 428.1177.

4-(Benziloksi)-*N*-(2-floro-5-(5-merkapto-1,3,4-oksadiazol-2-il)fenil)benzamit (Bileşik 34)



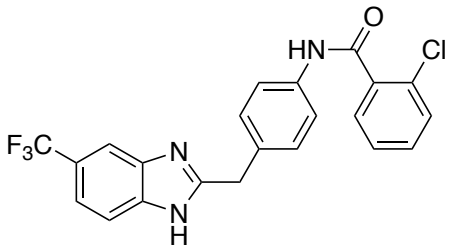
Bileşik **32**'den (0.527 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre 5 saatte sentezlendi. Madde hareketli faz olarak DCM:MeOH (90:10) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 38). Erime Derecesi: 255.2- 256.8 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 5.20 (2H, s), 7.14 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.31-7.41 (3H, m), 7.45-7.52 (3H, m), 7.71-7.75 (1H, m), 7.96 (2H, d, J = 8.8 Hz), 8.22 (1H, dd, J = 7.2, 2.0 Hz), 10.15 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 69.4, 114.5, 117.1 (d, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 21.2 Hz), 118.9 (d, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 3.2 Hz), 123.9, 124.3 (d, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 8.9 Hz), 125.8, 127.2 (d, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 12.9 Hz), 127.7, 127.9, 128.4, 129.8, 136.5, 157.1 (d, $^{1}J_{C\text{-}F}$ = 252.7 Hz), 159.6, 161.3, 164.9, 177.4. $C_{22}H_{17}FN_3O_3S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 422.0975; bulunan: 422.0980.

4-(Benziloksi)-*N*-(3-(5-tiyokso-4,5-dihidro-1,3,4-oksadiazol-2-il)fenil)benzamit (Bileşik 35)



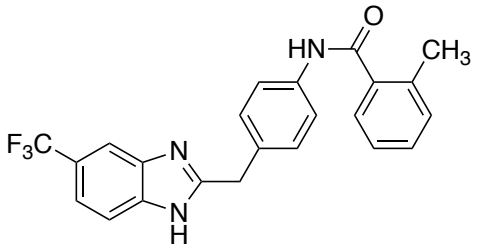
Bileşik **33**'ten (0.428 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Elde edilen ham ürün, THF/MeOH ile yıkanarak süzüldü (Verim: % 83). Erime Derecesi: 276.9-278.4 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 5.19 (2H, s), 7.13 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.30-7.46 (5H, m), 7.84 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.94-7.99 (4H, m), 10.36 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 69.4, 114.4, 116.8, 120.1, 126.6, 126.7, 127.6, 127.8, 128.3, 129.6, 136.5, 142.8, 160.4, 161.1, 165.1, 177.2. $C_{22}H_{18}N_3O_3S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 404.1069; bulunan:404.1054.

2-Kloro-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 38)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (1.2 mmol) ve Bileşik **37a**'dan (1.32 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) amino)-2-oksoetil)fenil)-2-klorobenzamit sentezlendi. DCM ile yıkanan ürün bir sonraki basamakta kullanıldı (Verim: % 50). Erime Derecesi: 180.2-182.5 ºC. $C_{22}H_{18}ClF_3N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 448.1040; bulunan: 448.1049. *2. Basamak:* Elde edilen *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-klorobenzamitten (0.655 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre 2 saatte sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak DCM:EtOAc (70:30) kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 61). Erime Derecesi: 199.2-200.9 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 4.20 (2H, s), 7.30 (2H, d, J = 8 Hz), 7.40-7.55 (5H, m), 7.65 (3H, m), 7.82 (1H, bs), 10.42 (1H, s), 12.61 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 34.4, 118.0, 119.7, 119.8, 122.0 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 31.4 Hz), 125.1 (q, $^1J_{C\text{-}F}$= 270 Hz), 127.1, 128.8, 129.1, 129.5, 129.9, 130.9, 132.3, 136.9, 137.5, 156.6, 164.7. $C_{22}H_{16}ClF_3N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 430.0934; bulunan: 430.0932.

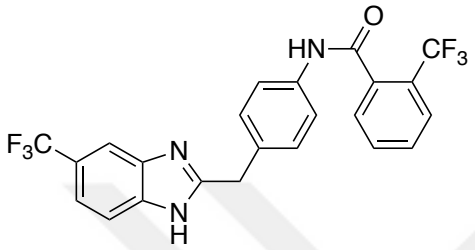
2-Metil-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 39)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (1.34 mmol) ve Bileşik **37b**'den (1.47 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) amino)-2-oksoetil)fenil)-2-metilbenzamit sentezlendi (Verim: % 79). $C_{23}H_{21}F_3N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 428.1586; bulunan: 428.1588. *2. Basamak: N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) amino)-2-oksoetil)fenil)-2-metilbenzamitten (1.413 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde hareketli faz olarak su:AcCN (20:80) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 40). Erime Derecesi: 182.4-184.2 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.35 (3H, s), 4.19 (2H,

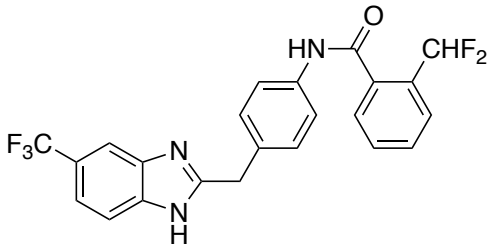
s), 7.24-7.44 (7H, m), 7.63-7.68 (3H, m), 7.81 (1H, s), 10.19 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSOd$_6$): δ 19.1, 34.3, 117.9, 119.8, 121.9 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 30.8 Hz), 125.0 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 270.0 Hz), 125.4, 126.9, 128.9, 129.4, 130.3, 131.9, 135.0, 136.7, 137.2, 137.7, 156.6, 167.6. $C_{23}H_{19}F_3N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 410.1480; bulunan: 410.1474.

2-(Triflorometil)-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 40)



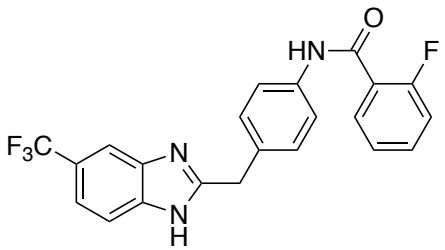
1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.773 mmol) ve Bileşik **37c**'den (0.85 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) amino)-2-oksoetil)fenil)-2-(triflorometil)benzamit sentezlendi (Verim: % 95). Erime Derecesi: 167.6-168.9 ºC. $C_{23}H_{18}F_6N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 482.1303; bulunan: 482.1311. *2. Basamak: N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-(trifloro metil)benzamitten (0.683 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde hareketli faz olarak DCM:EtOAc (70:30) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 41). Erime Derecesi: 223.1-224.8 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d$_6$ ± TFA): δ 4.58 (2H, s), 7.43 (2H, d, J = 8.6 Hz), 7.66-7.84 (7H, m), 7.98 (1H, d, J = 8.6 Hz), 8.15 (1H, s), 10.64 (1H, s). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d$_6$ ± TFA): δ 32.2, 112.2 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 4.2 Hz), 115.6, 120.6, 122.7 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 3.4 Hz), 123.1 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 28.75 Hz), 125.2 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 271.7 Hz), 125.4 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 270.6 Hz), 126.3 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 31.0 Hz), 126.8 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 32.0 Hz), 126.6 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 4.3 Hz), 128.7, 128.8, 130.3, 131.1, 132.9, 133.8, 136.5, 139.0, 156.2, 166.0. $C_{23}H_{16}F_6N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 464.1198; bulunan: 464.1196.

2-(Diflorometil)-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 41)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (1.146 mmol) ve Bileşik **37d**'den (1.26 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil) fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-(diflorometil)benzamit sentezlendi. Elde edilen madde hekzan/EtOAc ile yıkandı, süzüldü, bir sonraki basamakta kullanıldı (Verim: % 96). $C_{23}H_{19}F_5N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 464.1397; bulunan: 464.1397. *2. Basamak:* *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-(difloro metil)benzamitten (1.045 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde hareketli faz olarak DCM:MeOH (90:10) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 35). Erime Derecesi: 157.1-158.6 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$ ± TFA): δ 4.55 (2H, s), 7.28 (1H, t, J = 56.0 Hz), 7.42 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.65-7.77 (6H, m), 7.82 (1H, dd, J = 8.4, 1.6 Hz), 7.97 (1H, d, J = 8.0 Hz), 8.15 (1H, s), 10.65 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d$_6$ ± TFA): δ 32.0, 112.1 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 4.3 Hz), 112.8 (t, $^1J_{C\text{-}F}$ = 235.0 Hz), 115.4, 120.5, 122.2 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 3.1 Hz), 124.2 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 270.0 Hz), 125.6 (t, $^3J_{C\text{-}F}$ = 7.0 Hz), 126.0 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 32.4 Hz), 128.3, 128.8, 129.8, 130.8, 131.3, 132.3 (t, $^2J_{C\text{-}F}$ = 21.8 Hz), 133.9, 135.4 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 5.8 Hz), 138.6, 156.0, 165.9. $C_{23}H_{17}F_5N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 446.1292; bulunan: 446.1292.

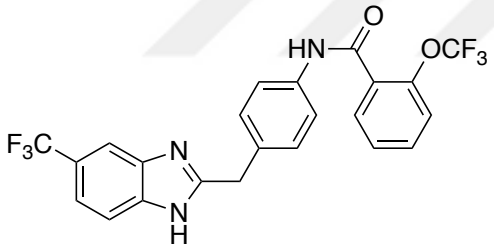
2-Floro-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 42)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (1.098 mmol) ve Bileşik **37e**'den (1.21 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) amino)-2-oksoetil)fenil)-2-florobenzamit sentezlendi (Verim: % 98). Erime Derecesi:

179.6-181.5 ºC. $C_{22}H_{18}F_4N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 432.1335; bulunan: 432.1334. *2. Basamak: N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-florobenzamitten (1.019 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak DCM:EtOAc (80:20) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 40). Erime Derecesi: 227.4-228.6 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 4.62 (2H, s), 7.32-7.33 (1H, m), 7.35 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.50 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.57-7.62 (1H, m), 7.67-7.71 (1H, m), 7.82 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.88 (1H, d, J = 8.8 Hz), 8.01 (1H, d, J = 8.8 Hz), 8.19 (1H, s), 10.47 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 32.1, 112.2 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 4.5 Hz), 115.6, 116.4 (d, $^2J_{C\text{-}F}$ = 21.8 Hz), 120.6, 122.7 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 3.2 Hz), 124.7 (d, $^1J_{C\text{-}F}$ = 270.6 Hz), 124.8 (d, $^3J_{C\text{-}F}$ = 3.9 Hz), 125.1 (d, $^2J_{C\text{-}F}$ = 14.7 Hz), 126.8 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 32.7 Hz), 128.6, 130.1, 130.2 (d, $^4J_{C\text{-}F}$ = 3.2 Hz), 131.1, 132.8 (d, $^3J_{C\text{-}F}$ = 8.3 Hz), 133.7, 138.9, 156.1, 159.3 (d, $^1J_{C\text{-}F}$ = 245.6 Hz), 163.2. $C_{22}H_{16}F_4N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 414.1230; bulunan: 414.1221.

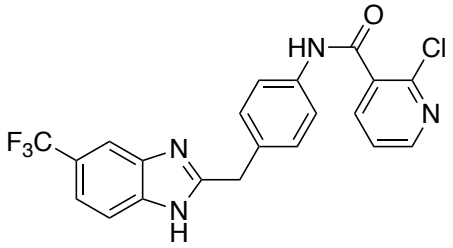
2-(Triflorometoksi)-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 43)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (1.34 mmol) ve Bileşik **37f**'den (1.47 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) amino)-2-oksoetil)fenil)-2-(triflorometoksi)benzamit sentezlendi (Verim: % 91). Erime Derecesi: 84.7-86.2 ºC. $C_{23}H_{18}F_6N_3O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 498.1252; bulunan: 498.1277. *2. Basamak: N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-(trifloro metoksi)benzamitten (1.005 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde hareketli faz olarak su:AcCN (15:85) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 35). Erime Derecesi: 99.6-101.3 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 4.65 (2H, s), 7.43-7.47 (3H, m), 7.54 (1H, td, J = 8.4, 1.7 Hz), 7.60 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.70 (1H, td, J = 8.4, 1.7 Hz), 7.80 (1H, d, J = 8.8 Hz), 7.85 (1H, d, J = 8.8 Hz), 7.96-7.99 (2H, m). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 32.2, 111.7 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 4.0 Hz), 114.6, 120.2 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 258.7 Hz), 121.6, 123.5 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 270.5 Hz), 124.3 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 3.3 Hz), 124.6, 125.8, 127.9, 128.7, 129.7, 130.2 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 34.0

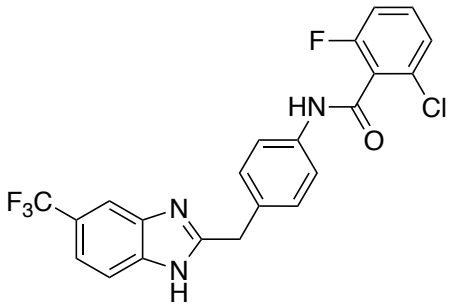
Hz), 130.7, 131.0, 132.0, 134.3, 136.1, 146.1, 155.0, 166.6. $C_{23}H_{16}F_6N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 480.1147; bulunan: 480.1137.

2-Kloro-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)nikotinamit (Bileşik 44)



1.Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (1.39 mmol) ve Bileşik **37g**'den (1.53 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre 2 saatte *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-kloronikotinamit sentezlendi (Verim: % 90). Erime Derecesi: 100.8-102.6 ºC. $C_{21}H_{17}ClF_3N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 449.0992; bulunan: 449.0986. *2. Basamak: N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-kloronikotinamitten (1.256 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde hareketli faz olarak su:AcCN (10:90) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 15). Erime Derecesi: 216.4-218.0 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 4.23 (2H, s), 7.34 (2H, d, J = 8.25 Hz), 7.46 (1H, t, J = 9.5 Hz), 7.55-7.77 (4H, m), 7.90 (1H, s), 8.06 (1H, dd, J_1 = 7.5, J_2 = 1.6 Hz), 8.53 (1H, dd, J_1 = 4.72, J_2 = 1.6 Hz), 10.64 (1H, s), 12.69 (1H, bs). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ 34.9, 112.4, 118.9, 119.4, 120.2, 122.4 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 24.8 Hz), 123.7, 129.8, 133.2, 133.7, 135.9 (q, $^1J_{C\text{-}F}$= 300 Hz), 137.8, 138.6, 143.3, 146.9, 151.0, 156.8, 157.5, 163.9. $C_{21}H_{15}ClF_3N_4O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 431.0886; bulunan: 431.0876.

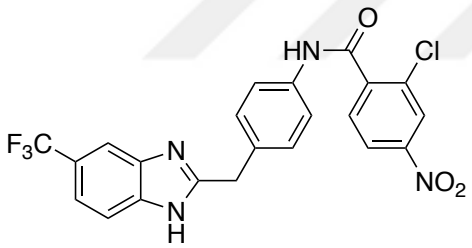
2-Kloro-6-floro-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 45)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (1.033 mmol) ve Bileşik **37h**'den (1.136 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)

fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-kloro-6-florobenzamit sentezlendi (Verim: % 90). $C_{22}H_{17}ClF_4N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 466.0945; bulunan: 466.0945. *2. Basamak: N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-kloro-6-floro benzamitten (0.938 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak DCM:MeOH (90:10) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 37). Erime Derecesi: 238.4-239.9 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 4.58 (2H, s), 7.36 (1H, t, J = 8.3 Hz), 7.43-7.46 (3H, m), 7.53-7.57 (1H, m), 7.74 (2H d, J = 8.6 Hz), 7.85 (1H, dd, J = 8.6, 1.3 Hz), 7.99 (1H, d, J = 8.6 Hz), 8.20 (1H, d, J = 1.3 Hz). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 32.3, 112.3 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 4.2 Hz), 115.2 (d, $^2J_{C\text{-}F}$ = 21.5 Hz), 115.7, 120.4, 122.7 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 3.3 Hz), 124.6 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 272.2 Hz), 126.0 (d, $^4J_{C\text{-}F}$ = 2.8 Hz), 126.2 (d, $^2J_{C\text{-}F}$ = 22.8 Hz), 126.6 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 32.4 Hz), 129.2, 130.4, 131.5 (d, $^3J_{C\text{-}F}$ = 5.8 Hz), 132.2 (d, $^3J_{C\text{-}F}$ = 9.0 Hz), 134.0, 138.6, 156.3, 159.5 (d, $^1J_{C\text{-}F}$ = 246.5 Hz), 160.5. $C_{22}H_{15}ClF_4N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 448.0840; bulunan: 448.0836.

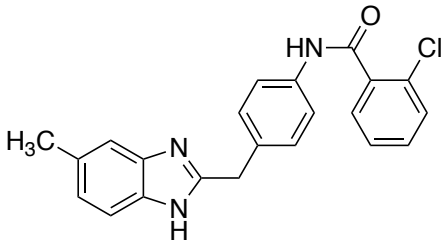
2-Kloro-4-nitro-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 46)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (1.91 mmol) ve Bileşik **37i**'den (2.10 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre 2 saatte *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil) fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-kloro-4-nitrobenzamit sentezlendi. (Verim: % 95). Erime Derecesi: 168.9-170.7 ºC. $C_{22}H_{17}ClF_3N_4O_4$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 493.0890; bulunan: 493.0898. *2. Basamak: N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-kloro-4-nitro benzamitten (1.769 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde hareketli faz olarak DCM:EtOAc (60:40) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 41). Erime Derecesi: 159.1-161.4 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 4.23 (2H, s), 7.35 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.45 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.66 (3H, d, J = 8.4 Hz), 7.84 (1H, s), 7.87 (1H, d, J = 8.0 Hz), 8.28 (1H, dd, J_1 = 8.0, J_2 = 2.4 Hz), 8.40 (1H, d, J = 2.4 Hz), 10.68 (1H, s), 12.80 (1H, bs). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 34.3, 118.0, 119.9, 122.0 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 30.2 Hz), 122.4, 124.5, 125.4 (q, $^1J_{C\text{-}F}$=

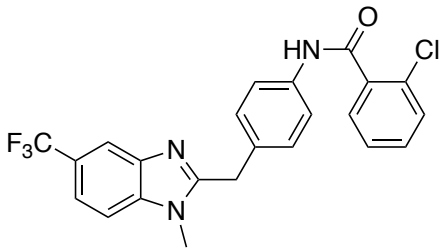
269.3 Hz), 129.1, 129.2, 129.9, 131.0, 132.9, 137.0, 142.3, 148.3, 156.5, 163.2. $C_{22}H_{15}ClF_3N_4O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 475.0785; bulunan: 475.0799.

2-Kloro-*N*-(4-((5-metil-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 47)



1. Basamak: 4-Metilbenzen-1,2-diamin (2.472 mmol) ve Bileşik **37a**'dan (2.72 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(2-((2-amino-4-metilfenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-klorobenzamit sentezlendi (Verim: % 50). Erime Derecesi: 174.8-176.6 ºC. $C_{22}H_{21}ClN_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 394.1322; bulunan: 394.1334. *2. Basamak:* *N*-(4-(2-((2-amino-4-metilfenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-klorobenzamitten (0.888 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak DCM:MeOH (85:15) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 25). Erime Derecesi: 244.3-245.2 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 2.39 (3H, s), 4.12 (2H, s), 6.94 (1H, t, J = 8.1 Hz), 7.20-7.57 (8H, m), 7.66 (2H, d, J = 8.3 Hz), 10.48 (1H, s), 12.08 (1H, s). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ 21.7, 34.9, 111.2, 118.3, 120.2, 122.8, 127.7, 129.4, 129.6, 130.1, 130.4, 131.2, 131.5, 132.9, 133.6, 135.2, 137.5, 137.9, 141.9, 144.2, 153.5. $C_{22}H_{19}ClN_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 376.1217; bulunan: 376.1212.

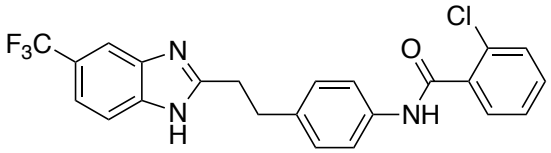
2-Kloro-*N*-(4-((1-metil-5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 48)



1. Basamak: 2-Nitro-4-(triflorometil)anilin (3.96 mmol, 1 eq), DMF (4 mL) içerisine alınarak, $CsCO_3$ (5.892 mmol, 1.488 eq) ve MeI (5.892 mmol, 1.488 eq) eklenip oda sıcaklığında 19 saat karıştırıldı. Balon içeriği su içerisine alındı, EtOAc ile ekstre edildi. Elde edilen *N*-metil-2-nitro-4-(triflorometil)anilin bir sonraki basamakta kullanıldı (Verim: %

95). CAS #20200-22-0. Erime Derecesi: 71.3-73.1 ºC [176]. $C_8H_8F_3N_2O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 221.0538; bulunan: 221.0530. *2. Basamak:* N^1-metil-2-nitro-4-(triflorometil)anilin (3.94 mmol, 1 eq), Bileşik **11**'in 3. basamak sentez metoduna göre N^1-metil-4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak DCM:EtOAc (90:10) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: %20). CAS #35203-49-7. Erime Derecesi: 49.1-51.6 ºC. $C_8H_{10}F_3N_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 191.0796; bulunan: 191.0794. *3. Basamak:* Elde edilen N^1-metil-4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin ve Bileşik **37a**'dan hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre 2-kloro-*N*-(4-(2-((2-(metilamino)-5-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)benzamit sentezlendi (Verim: % 88). Erime Derecesi: 203.6-205.5 ºC. $C_{23}H_{20}ClF_3N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 462.1196; bulunan: 462.1185. *4. Basamak:* 2-kloro-*N*-(4-(2-((2-(metilamino)-5-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)benzamitten (0.509 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak DCM:MeOH (90:10) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 65). Erime Derecesi: 242.1-243.3 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 3.77 (3H, s), 4.34 (2H, s), 7.27 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.45-7.57 (5H, m), 7.67 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.72 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.95 (1H, s), 10.51 (1H, s). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ 30.6, 33.0 111.4, 116.2, 118.8 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 3.3 Hz), 120.3, 122.7 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 31.2 Hz), 125.6 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 269.6 Hz), 127.7, 129.4, 129.5, 130.1, 130.4, 131.5, 132.1, 137.4, 138.0, 138.7, 142.1, 157.0, 165.3. $C_{23}H_{18}ClF_3N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 444.1090; bulunan: 444.1086.

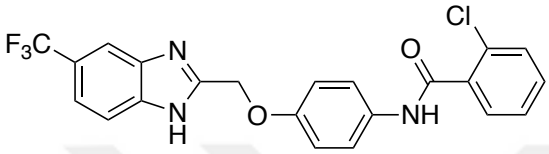
2-Kloro-*N*-(4-(2-(5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)etil)fenil)benzamit (Bileşik 50)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (1.086 mmol) ve Bileşik **49**'dan (1.19 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(3-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) amino)-3-oksopropil)fenil)-2-klorobenzamit sentezlendi (Verim: % 88). $C_{23}H_{20}ClF_3N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 462.1196; bulunan: 462.1198. *2. Basamak: N*-(4-(3-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-3-oksopropil)fenil)-2-klorobenzamitten (0.929 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak DCM:MeOH (90:10) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 35). Erime Derecesi: 276.8-278.3 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 3.18 (2H, t,

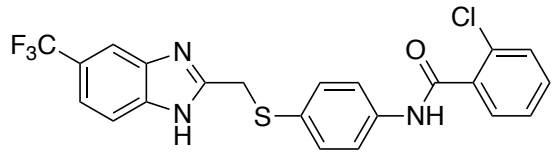
J = 7.6 Hz), 3.47 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 7.21 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.39-7.54 (4H, m), 7.63 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.83 (1H, dd, *J* = 8.8, 1.2 Hz), 8.00 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 8.19 (1H, s), 10.46 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 28.5, 31.8, 112.0 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 3.8 Hz), 115.3, 119.9, 122.5, 124.2 (q, $^{1}J_{C\text{-}F}$ = 270.6 Hz), 126.4 (q, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 32.1 Hz), 127.4, 128.7, 129.1, 129.8, 130.1, 130.7, 131.2, 133.4, 134.5, 137.1, 137.6, 156.6, 164.9. $C_{23}H_{18}ClF_3N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 444.1090; bulunan: 444.1081.

2-Kloro-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metoksi)fenil)benzamit (Bileşik 53)



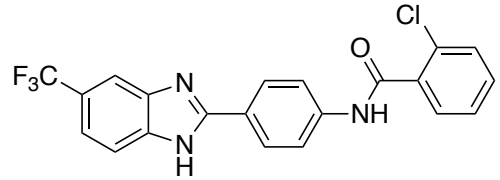
1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.785 mmol) ve Bileşik **52a**'dan (0.863 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) amino)-2-oksoetoksi)fenil)-2-klorobenzamit sentezlendi (Verim: % 86). $C_{22}H_{18}ClF_3N_3O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 464.0989; bulunan: 464.0983. *2.Basamak: N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetoksi)fenil)-2-klorobenzamitten (0.724 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak DCM:EtOAc (70:30) kullanılarak otomatik kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 34). Erime Derecesi: 251.6-252.8 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 5.72 (2H, s), 7.17 (2H, d, *J* = 9.2 Hz), 7.44-7.53 (2H, m), 7.55-7.60 (2H, m), 7.75 (2H, d, *J* = 9.2 Hz), 7.87 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.0 Hz), 8.06 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 8.23 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 62.3, 112.7 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 3.8 Hz), 115.7, 115.9, 121.5, 122.5, 123.0, 124.4 (q, $^{1}J_{C\text{-}F}$ = 270.0 Hz), 126.6 (q, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 32.0 Hz), 127.5, 129.2, 130.4, 131.3, 132.0, 134.0, 134.5, 137.3, 153.1, 153.7, 164.9. $C_{22}H_{16}ClF_3N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 446.0883; bulunan: 446.0885.

2-Kloro-*N*-(4-(((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)tiyo)fenil)benzamit (Bileşik 54)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.678 mmol) ve Bileşik **52b**'den (0.746 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-((2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) amino)-2-oksoetil)tiyo)fenil)-2-klorobenzamit sentezlendi (Verim: % 98). $C_{22}H_{18}ClF_3N_3O_2S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 480.0760; bulunan: 480.0748. *2.Basamak: N*-(4-((2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)tiyo)fenil)-2-klorobenzamitten (0.667 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (15:85) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 20). Erime Derecesi: 193.9-195.7 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 4.72 (2H, s), 7.43-7.58 (6H, m), 7.74 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.85 (1H, dd, J = 8.8, 1.2 Hz), 8.00 (1H, d, J = 8.4 Hz), 8.17 (1H, s), 10.53 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 30.5, 112.4, 115.7, 120.8, 122.8 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 3.4 Hz), 124.7 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 272.3 Hz), 126.7, 127.0 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 32.7 Hz), 127.5, 129.2, 129.9, 130.4, 131.3, 131.4, 133.0, 133.9, 137.1, 139.6, 154.5, 165.4. $C_{22}H_{16}ClF_3N_3OS$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 462.0655; bulunan: 462.0651.

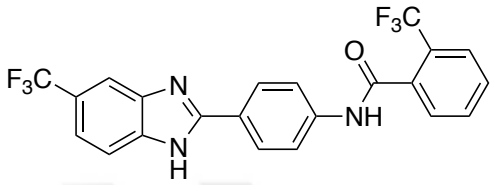
2-Kloro-*N*-(4-(5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)fenil)benzamit (Bileşik 56)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.600 mmol) ve Bileşik **55a**'dan (0.660 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil) fenil)karbamoil)fenil)-2-klorobenzamit sentezlendi. Elde edilen ham ürün EtOAc ile yıkanarak vakum altında süzüldü (Verim: % 80). $C_{21}H_{15}ClF_3N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 434.0883; bulunan: 434.0863. *2.Basamak: N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil) fenil)karbamoil)fenil)-2-klorobenzamitten (1.332 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (13:87) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 20). Erime Derecesi: 136.7-138.2

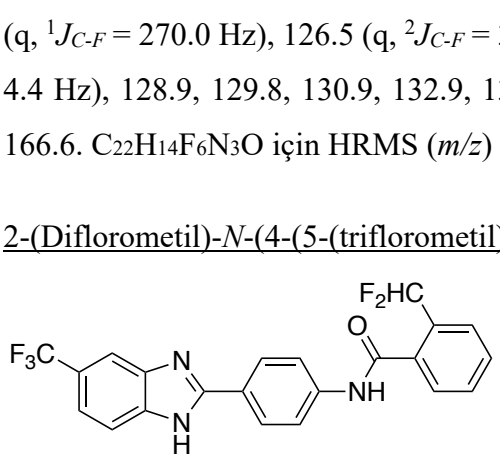
ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$): δ 7.44-7.63 (7H, m), 7.72-7.78 (2H, m), 7.89-7.95 (2H, m), 8.75 (1H, s), 10.74 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSOd$_6$): δ 118.1, 118.8 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 3.1 Hz), 121.7, 122.1, 122.7 (q, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 30.8 Hz), 124.9 (q, $^{1}J_{C\text{-}F}$ = 270.0 Hz), 127.2, 128.9, 129.0, 129.5, 129.6, 129.8, 129.9, 131.1, 136.7, 139.5, 153.7, 165.1. $C_{21}H_{14}ClF_3N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 416.0777; bulunan: 416.0767.

2-(Triflorometil)-*N*-(4-(5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)fenil)benzamit (Bileşik 57)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.705 mmol) ve Bileşik **55b**'den (0.776 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) karbamoil)fenil)-2-(triflorometil)benzamit sentezlendi (Verim: % 78). $C_{22}H_{16}F_6N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 468.1147; bulunan: 468.1130. *2. Basamak: N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) karbamoil)fenil)-2-(triflorometil)benzamitten (0.642 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (10:90) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 31). Erime Derecesi: 270.0-271.9 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d$_6$ ± TFA): δ 7.74-7.78 (2H, m), 7.81-7.88 (3H, m), 8.02 (1H, d, J = 8.6 Hz), 8.05 (2H, d, J = 8.9 Hz), 8.15 (1H, s), 8.25 (2H, d, J = 8.9 Hz), 11.12 (1H, s). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d$_6$ ± TFA): δ 112.2 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 4.2 Hz), 115.5, 118.6, 120.3, 122.5 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 3.7 Hz), 124.2 (q, $^{1}J_{C\text{-}F}$ = 272.0 Hz), 124.6 (q, $^{1}J_{C\text{-}F}$ = 270.0 Hz), 126.5 (q, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 31.4 Hz), 126.4 (q, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 32.4 Hz), 126.8 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 4.4 Hz), 128.9, 129.8, 130.9, 132.9, 133.1, 135.4, 135.9 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 7.5 Hz), 143.9, 151.9, 166.6. $C_{22}H_{14}F_6N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 450.1041; bulunan: 450.1026.

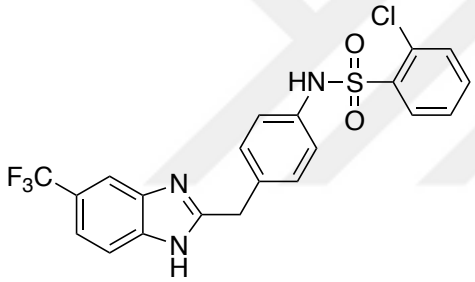
2-(Diflorometil)-*N*-(4-(5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)fenil)benzamit (Bileşik 58)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.624 mmol) ve Bileşik **55c**'den (0.686 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) karbamoil)fenil)-2-(diflorometil)benzamit sentezlendi (Verim: % 80). $C_{22}H_{17}F_5N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 450.1241; bulunan: 450.1227. *2. Basamak: N*-(4-((2-

amino-4-(triflorometil)fenil) karbamoil)fenil)-2-(diflorometil)benzamitten (0.556 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (10:90) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 30). Erime Derecesi: 257.2-259.0 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 7.33 (1H, t, J = 55.5 Hz), 7.68-7.72 (2H, m), 7.77-7,85 (2H, m), 7.85 (1H, dd, J = 8.6, 1.25 Hz), 8.02 (1H, d, J = 8.6 Hz), 8.10 (2H, d, J =8.9 Hz), 8.14 (1H, s), 8.26 (2H, d, J = 8.9 Hz). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 111.9 (q, $^{4}J_{C-F}$ = 4.2 Hz), 113.1 (t, $^{1}J_{C-F}$ = 235.0 Hz), 115.4, 117.8, 120.6, 122.7 (q, $^{4}J_{C-F}$ = 3.11 Hz), 124.5 (q, $^{1}J_{C-F}$ = 271.9 Hz), 126.1 (t, $^{3}J_{C-F}$ = 6.8 Hz), 126.8 (q, $^{2}J_{C-F}$ = 32.7 Hz), 128.8, 129.7, 131.1, 131.5, 132.2, 132.9 (t, $^{2}J_{C-F}$ = 22.1 Hz), 134.7, 135.2 (t, $^{3}J_{C-F}$ = 5.4 Hz), 144.3, 151.7, 166.9. $C_{22}H_{15}F_5N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 432.1135; bulunan: 432.1124.

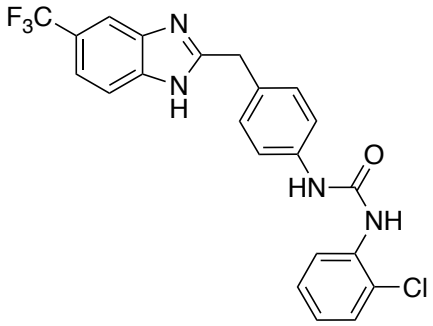
2-Kloro-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzensülfonamit (Bileşik 60)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (1.231 mmol) ve Bileşik **59a**'dan (1.354 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(2-amino-4-(triflorometil)fenil)-2-(4-((2-klorofenil)sülfonamido)fenil)asetamit sentezlendi (Verim: % 98). Erime Derecesi: 79.9-81.8 ºC. $C_{21}H_{17}ClF_3N_3O_3S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 484.0710; bulunan: 484.0702.

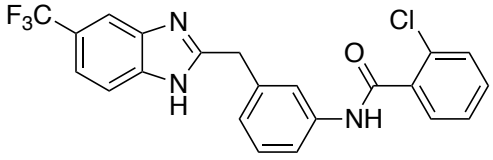
2. *Basamak:* *N*-(2-amino-4-(triflorometil)fenil)-2-(4-((2-klorofenil)sülfonamido)fenil) asetamitten (1.095 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (20:80) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 14). Erime Derecesi: 117.6-119.7 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 4.41 (2H, s), 7.10 (2H, dd, J = 8.8, 2.0 Hz), 7.26 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.47-7.51 (1H, m), 7.57-7.61 (2H, m), 7.78-7.81 (1H, m), 7.92 (1H, d, J = 8.4 Hz), 8.05 (1H, d, J = 7.2 Hz), 8.11 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 31.8, 112.1 (q, $^{3}J_{C-F}$ = 4.6 Hz), 115.4, 119.2, 122.0 (q, $^{3}J_{C-F}$ = 3.2 Hz), 124.2 (q, $^{1}J_{C-F}$ = 270.0 Hz), 125.8 (q, $^{2}J_{C-F}$ = 32.0 Hz), 127.8, 128.9, 130.2, 130.8, 131.5, 131.6, 132.0, 134.1, 134.8, 136.5, 136.7, 155.7. $C_{21}H_{16}ClF_3N_3O_2S$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 466.0604; bulunan: 466.0605.

1-(2-Klorofenil)-3-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)üre (Bileşik 61)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (1.274 mmol) ve Bileşik **59b'**den (1.40 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(2-amino-4-(triflorometil)fenil)-2-(4-(3-(2-klorofenil)üreido)fenil)asetamit sentezlendi (Verim: % 61). Erime Derecesi: 199.6-201.3 ºC. $C_{22}H_{19}ClF_3N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 463.1149; bulunan: 463.1150. *2. Basamak: N*-(2-amino-4-(triflorometil)fenil)-2-(4-(3-(2-klorofenil)üreido)fenil)asetamitten (0.739 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (15:85) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 42). Erime Derecesi: 138.6-140.2 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 4.56 (2H, s), 7.24-7.27 (1H, m), 7.33-7.37 (3H, m), 7.40 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.49 (1H, dd, J = 8.0, 1.25 Hz), 7.69 (1H, d, J = 7.95 Hz), 7.77 (1H, d, J = 8.7 Hz), 7.84 (1H, d, J = 8.7 Hz), 7.93 (1H, m). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 32.1, 111.7 (q, $^3J_{C-F}$ = 4.0), 114.7, 123.5 (q, $^1J_{C-F}$ = 271.0 Hz), 124.2 (q, $^3J_{C-F}$ = 2.78 Hz), 125.1, 125.7, 127.8, 127.9 128.1, 128.2 129.7, 129.9 (q, $^2J_{C-F}$ = 33.6 Hz), 130.3, 130.7, 132.0, 132.3, 136.5, 154.9, 156.7. $C_{22}H_{17}ClF_3N_4O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 445.1043; bulunan: 445.1038.

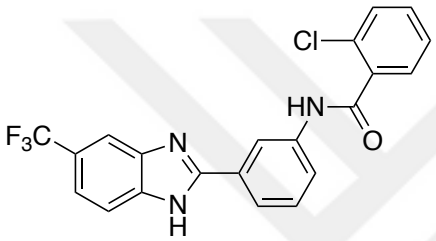
2-Kloro-*N*-(3-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 63)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.563 mmol) ve Bileşik **62a**'dan (0.619 mmol) genel sentez yöntemi 4'e göre sentezlendi (Verim: %100). $C_{22}H_{18}ClF_3N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 448.1040; bulunan: 448.1028. *2. Basamak: N*-(3-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-klorobenzamitten (0.514 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN

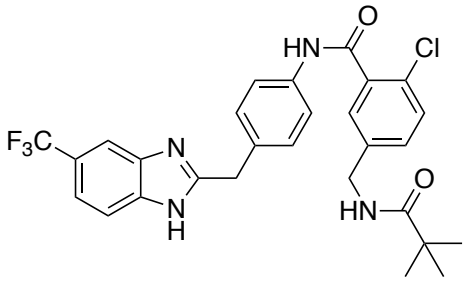
(15:85) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 42). Erime Derecesi: 107.5-109.3 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d$_6$ ± TFA): δ 4.61 (2H, s), 7.19 (1H, d, J = 7.75 Hz), 7.38-7.56 (5H, m), 7.63 (1H, d, J = 8.1 Hz), 7.84-7.87 (2H, m), 8.01 (1H, d, J = 8.6 Hz), 8.19 (1H, s), 10.59 (1H, s). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d$_6$ ± TFA): δ 32.9, 112.1 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 4.2 Hz), 115.8, 119.4, 120.4, 122.7 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 3.2 Hz), 124.4 (q, $^{1}J_{C\text{-}F}$ = 270.0 Hz), 125.0, 126.6 (q, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 32.2 Hz), 127.7, 129.3, 129.9, 130.1, 130.3, 131.6, 134.2, 134.6, 137.2, 139.9, 156.0, 165.4. $C_{22}H_{16}ClF_3N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 430.0934; bulunan: 430.0934.

2-Kloro-*N*-(3-(5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)fenil)benzamit (Bileşik 64)



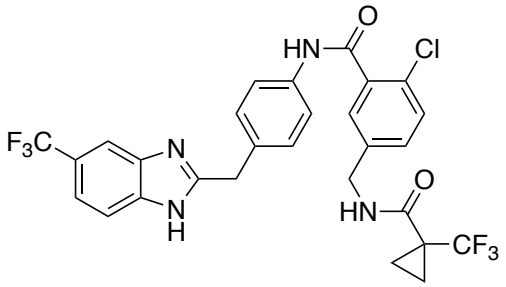
1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (1.645 mmol) ve Bileşik **62b**'den (1.810 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(3-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) karbamoil)fenil)-2-klorobenzamit sentezlendi (Verim: % 88). Erime Derecesi: 88.1-89.6 ºC. $C_{21}H_{16}ClF_3N_3O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 434.0883; bulunan: 434.0863. *2. Basamak: N*-(3-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)karbamoil)fenil)-2-klorobenzamitten (1.38 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (10:90) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 30). Erime Derecesi: 127.7-129.3 ºC. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d$_6$ ± TFA): δ 7.49-7.59 (4H, m), 7.75 (2H, t, J = 7.8 Hz), 7.91 (1H, dd, J = 8.7, 1.1 Hz), 7.97 (1H, d, J = 8.7 Hz), 8.05 (1H, dd, J = 7.9, 1.1 Hz), 8.11 (1H, s), 9.26- 9.27 (1H, t, J = 1.9 Hz). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d$_6$ ± TFA): δ 111.9 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 4.3 Hz), 114.9, 119.3, 121.6, 123.1 (q, $^{1}J_{C\text{-}F}$ = 270.0 Hz), 124.7 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 3.2 Hz), 125.2, 126.3, 127.8, 129.8, 130.4, 130.5 (q, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 32.0 Hz), 131.1, 131.2, 131.5, 132.1, 132.7, 133.5, 138.2, 150.5, 167.8. $C_{21}H_{14}ClF_3N_3O$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 416.0777; bulunan: 416.0763.

2-Kloro-5-(pivalamidometil)-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil) benzamit (Bileşik 67)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.306 mmol) ve Bileşik **66a**'dan (0.337 mmol) genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)amino)-2-oksoetil)fenil)-2-kloro-5-(pivalamidometil)benzamit sentezlendi (Verim: % 80). $C_{28}H_{29}ClF_3N_4O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 561.1880; bulunan: 561.1874. *2. Basamak:* Elde edilen amit türevinden (0.250 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (20:80) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 20). Erime Derecesi: 140.5-142.1 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 1.10 (9H, s), 4.27 (2H, s), 4.57 (2H, s), 7.32 (1H, dd, J = 8.4, 2.4 Hz), 7.38 (1H, d, J = 1.6 Hz), 7.41 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.45 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.75 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.83 (1H, dd, J = 8.6, 1.8 Hz), 7.97 (1H, d, J = 8.8 Hz), 8.14 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 27.5, 32.1, 38.3, 41.6, 112.2 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 4.2 Hz), 115.5, 120.4, 122.6 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 3.2 Hz), 124.3 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 270.6 Hz), 125.3, 126.7 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 32.7 Hz), 127.6, 128.2, 128.5, 129.7, 129.8, 130.2, 130.9, 133.7 (q, $^4J_{C\text{-}F}$ = 1.1 Hz), 136.8, 138.9, 140.1, 156.1, 165.4, 177.9. $C_{28}H_{27}ClF_3N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 543.1775; bulunan: 543.1771.

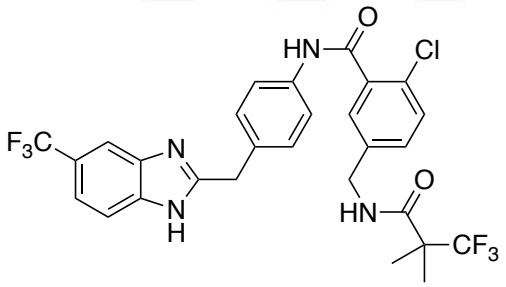
2-Kloro-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)-5-((1-(triflorometil) siklopropan-1-karboksamido)metil)benzamit (Bileşik 68)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.437 mmol) ve Bileşik **66b**'den (0.480 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)

amino)-2-oksoetil)fenil)-2-kloro-5-((1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksamido)metil) benzamit sentezlendi (Verim: % 70). $C_{28}H_{24}ClF_6N_4O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 613.1441; bulunan: 613.1445. *2. Basamak:* Elde edilen amit türevinden (0.426 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (10:90) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 30). Erime Derecesi: 221.8-223.2 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 1.18-1.32 (4H, m), 4.31 (2H, s), 4.57 (2H, s), 7.33 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz), 7.39 (1H, d, J = 2.4 Hz), 7.42 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.47 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.75 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.83 (1H, dd, J = 8.8, 1.6 Hz), 7.97 (1H, d, J = 8.8 Hz), 8.15 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 10.6 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 2.0 Hz), 27.8 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 31.9 Hz), 32.1, 42.0, 112.2 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 5.0 Hz), 115.6, 120.4, 122.7 (q, $^4J_{C\text{-}F}$ = 3.6 Hz), 124.2 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 270.6 Hz), 124.4 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 271.2 Hz), 126.7 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 32.7 Hz), 127.8, 128.5, 128.6, 129.8, 129.9, 130.2, 131.0, 133.7, 136.9, 138.9, 139.1, 156.2, 165.3, 166.0. $C_{28}H_{22}ClF_6N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 595.1335; bulunan: 595.1323.

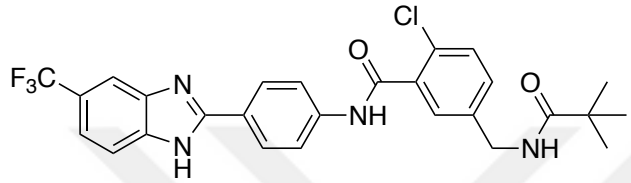
2-Kloro-5-((3,3,3-trifloro-2,2-dimetilpropanamido)metil)-*N*-(4-((5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)metil)fenil)benzamit (Bileşik 69)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.696 mmol) ve Bileşik **66c'**den (0.766 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-(2-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) amino)-2-oksoetil)fenil)-2-kloro-5-((3,3,3-trifloro-2,2-dimetilpropan amido)metil)benzamit sentezlendi (Verim: % 92). $C_{28}H_{26}ClF_6N_4O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 615.1598; bulunan: 615.1593. *2. Basamak:* Elde edilen amit türevinden (0.667 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (10:90) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 40). Erime Derecesi: 212.3-214.1 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 1.35 (6H, s), 4.33 (2H, s), 4.57 (2H, s), 7.32 (1H, dd, J = 8.4, 2.0 Hz), 7.39 (2H, d, J = 1.6 Hz), 7.42 (1H, d, J = 8.6 Hz), 7.47 (1H, d, J = 8.4), 7.76 (2H, d, J = 8.6 Hz), 7.82 (1H, dd, J = 8.8, 1.2 Hz), 7.97 (1H, d, J = 8.8 Hz), 8.14 (1H, s). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 19.4 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ =

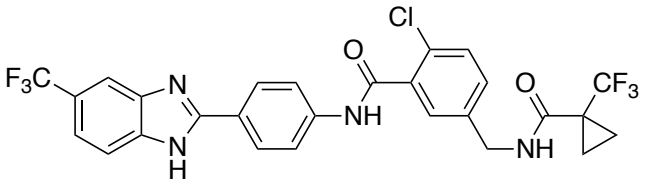
2.9 Hz), 32.1, 42.0, 47.8 (q, $^{2}J_{C-F}$ = 24.3 Hz), 112.2 (q, $^{3}J_{C-F}$ = 3.9 Hz), 115.6, 120.4, 122.6 (q, $^{3}J_{C-F}$ = 3.4 Hz), 124.5 (q, $^{1}J_{C-F}$ = 270.0 Hz), 126.7 (q, $^{2}J_{C-F}$ = 32.0 Hz), 127.5 (q, $^{1}J_{C-F}$ = 281.0 Hz), 127.7, 128.5, 128.6, 129.7, 129.8, 130.2, 131.0, 133.6, 136.9, 138.9, 139.3, 156.1, 165.3, 168.9. $C_{28}H_{24}ClF_6N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 597.1492; bulunan: 597.1489.

2-kloro-5-(pivalamidometil)-*N*-(4-(5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)fenil) benzamit (Bileşik 71)



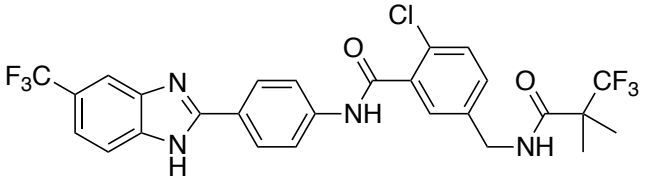
1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.412 mmol) ve Bileşik **70a**'dan (0.454 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) karbamoil)fenil)-2-kloro-5-(pivalamidometil)benzamit sentezlendi (Verim: % 70). $C_{27}H_{27}ClF_3N_4O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 547.1724; bulunan: 547.1733. *2. Basamak:* Elde edilen *N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil)fenil)karbamoil)fenil)-2-kloro-5-(pivalamidometil)benzamitten (0.389 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (10:90) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 21). Erime Derecesi: 152.2-154.8 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 1.10 (9H, s), 4.27 (2H, s), 7.35 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz), 7.44 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 7.50 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.83 (1H, dd, *J* = 8.8, 1.2 Hz), 8.00 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 8.04 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 8.13 (1H, s), 8.23 (2H, d, *J* = 9.2 Hz). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 27.5, 38.2, 41.5, 111.9 (q, $^{3}J_{C-F}$ = 3.5 Hz), 115.3, 118.1, 120.0, 122.5 (q, $^{3}J_{C-F}$ = 3.1 Hz), 124.3 (q, $^{1}J_{C-F}$ = 270.5 Hz), 126.2 (q, $^{2}J_{C-F}$ = 32.0 Hz), 127.6, 128.1, 129.6, 129.8, 129.9, 132.4, 134.9, 136.2, 140.2, 143.8, 151.6, 165.8, 177.8. $C_{27}H_{25}ClF_3N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 528.1618; bulunan: 528.1608.

2-Kloro-*N*-(4-(5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)fenil)-5-((1-(triflorometil)siklo propan-1-karboksamido)metil)benzamit (Bileşik 72)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.358 mmol) ve Bileşik **70b**'den (0.395 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) karbamoil)fenil)-2-kloro-5-((1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksamido)metil)benzamit sentezlendi (Verim: % 70). $C_{27}H_{22}ClF_6N_4O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 599.1285; bulunan: 599.1265. *2. Basamak:* Elde edilen *N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil) fenil)karbamoil)fenil)-2-kloro-5-((1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksamido)metil) benzamitten (0.339 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (10:90) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 40). Erime Derecesi: 130.6-132.3 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 1.20-1.32 (4H, m), 4.33 (2H, s), 7.38 (1H, dd, J = 8.2, 1.8 Hz), 7.48 (1H, d, J = 1.6 Hz), 7.54 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.85 (1H, d, J = 8.4 Hz), 8.01 (1H, d, J = 8.4 Hz), 8.07 (2H, d, J = 8.8 Hz), 8.14 (1H, s), 8.26 (2H, d, J = 8.8 Hz). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 10.5 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 2.3 Hz), 27.5 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 32.0 Hz), 41.8, 111.8 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 3.5 Hz), 115.3, 118.1, 120.0, 122.4 (q, $^3J_{C\text{-}F}$ = 4.8 Hz), 124.3 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 270.5 Hz), 124.4 (q, $^1J_{C\text{-}F}$ = 271.0 Hz), 126.3 (q, $^2J_{C\text{-}F}$ = 32.0 Hz), 127.8, 128.4, 129.6, 129.9, 130.2, 132.4, 134.8, 136.3, 139.1, 143.7, 151.6, 165.7, 165.8. $C_{27}H_{20}ClF_6N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 581.1179; bulunan: 581.1191.

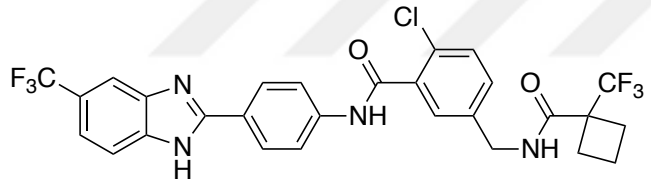
2-Kloro-5-((3,3,3-trifloro-2,2-dimetilpropanamido)metil)-*N*-(4-(5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)fenil)benzamit (Bileşik 73)



1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.687 mmol) ve Bileşik **70c**'den (0.723 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) karbamoil)fenil)-2-kloro-5-((3,3,3-trifloro-2,2-dimetilpropanamido)metil)benzamit sentez-lendi (Verim: % 60). $C_{27}H_{24}ClF_6N_4O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 601.1441;

bulunan: 601.1445. *2. Basamak:* Elde edilen *N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) karbamoil)fenil)-2-kloro-5-((3,3,3-trifloro-2,2-dimetilpropanamido)metil)benzamitten (0.641 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (10:90) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 30). Erime Derecesi: 167.2-169.0 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 1.35 (6H, s), 4.34 (2H, s), 7.36 (1H, dd, J = 8.0, 2.2 Hz), 7.46 (1H, d, J = 2.2 Hz), 7.50 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.84 (1H, dd, J = 8.8, 1.6 Hz), 8.01 (1H, d, J = 8.8 Hz), 8.08 (2H, d, J = 9.2 Hz), 8.13 (1H, s), 8.25 (2H, d, J =8.8 Hz). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 19.5 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 3.9 Hz), 42.2, 47.8 (q, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 24.7 Hz), 111.8 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 5.0 Hz), 115.5, 117.8, 120.3, 122.9 (q, $^{4}J_{C\text{-}F}$ = 3.7 Hz), 124.5 (q, $^{1}J_{C\text{-}F}$ = 270.0 Hz), 127.0 (q, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 32.7 Hz), 127.7 (q, $^{1}J_{C\text{-}F}$ = 280.0 Hz), 127.9, 128.7, 130.0, 130.1, 130.2, 132.0, 134.6, 136.6, 139.6, 144.3, 151.7, 166.1, 169.1. $C_{27}H_{22}ClF_6N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 583.1335; bulunan: 583.1326.

2-Kloro-*N*-(4-(5-(triflorometil)-1*H*-benzimidazol-2-il)fenil)-5-((1-(triflorometil)siklobütan -1-karboksamido)metil)benzamit (Bileşik 74)



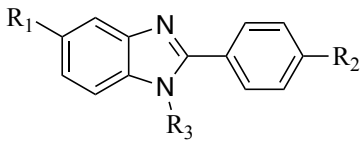
1. Basamak: 4-(Triflorometil)benzen-1,2-diamin (0.372 mmol) ve Bileşik **70d**'den (0.409 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 4'e göre *N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil)fenil) karbamoil)fenil)-2-kloro-5-((1-(triflorometil)siklobütan-1-karboksamido)metil)benzamit sentezlendi (Verim: % 60). $C_{28}H_{24}ClF_6N_4O_3$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 613.1441; bulunan: 613.1441. *2. Basamak:* Elde edilen *N*-(4-((2-amino-4-(triflorometil) fenil)karbamoil)fenil)-2-kloro-5-((1-(triflorometil)siklobütan-1-karboksamido)metil) benzamitten (0.356 mmol) hareketle genel sentez yöntemi 5'e göre sentezlendi. Madde, hareketli faz olarak su:AcCN (10:90) kullanılarak otomatik preparatif kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Verim: % 27). Erime Derecesi: 140.2-142.1 ºC. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 1.81-1.92 (2H, m), 2.32-2.39 (2H, m), 2.49-2.50 (2H, m), 4.38 (2H, s), 7.38 (1H, dd, J = 8.4, 2.4 Hz), 7.48 (1H, d, J = 2.4 Hz), 7.55 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.85 (1H, dd, J = 8.4, 1.4 Hz), 8.02 (1H, d, J = 8.8 Hz), 8.07 (2H, d, J = 8.8 Hz), 8.14 (1H, s), 8.25 (2H, d, J = 8.8 Hz). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ± TFA): δ 14.9, 25.7 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 2.6 Hz), 41.9,

50.8 (q, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 27.0 Hz), 112.0 (q, $^{4}J_{C\text{-}F}$ = 3.2 Hz), 115.3, 117.9, 120.0, 122.6 (q, $^{3}J_{C\text{-}F}$ = 4.3 Hz), 124.3 (q, $^{1}J_{C\text{-}F}$ = 270.0 Hz), 125.5 (q, $^{1}J_{C\text{-}F}$ = 271.0 Hz), 125.4, 126.5 (q, $^{2}J_{C\text{-}F}$ = 32.5 Hz), 127.7, 129.7, 130.0, 132.2, 134.7, 136.3, 137.3, 139.2, 143.8, 151.6, 165.8, 168.5. $C_{28}H_{22}ClF_6N_4O_2$ için HRMS (*m/z*) $[M+H]^+$ hesaplanan: 595.1335; bulunan: 595.1330.

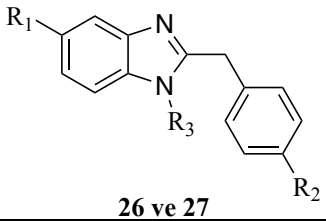
4.2. Biyolojik Bulgular

4.2.1. *İn vitro* biyolojik aktivite sonuçları bulguları

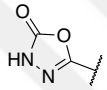
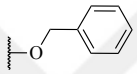
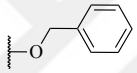
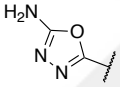
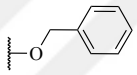
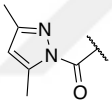
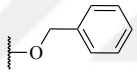
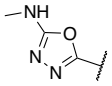
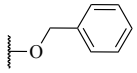
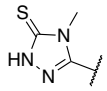
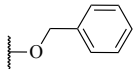
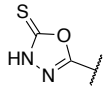
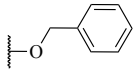
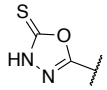
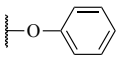
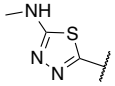
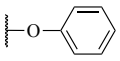
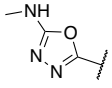
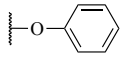
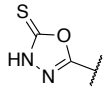
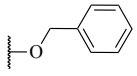
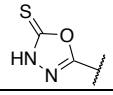
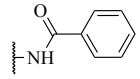
Çizelge 4.1. Birinci seriden Bileşik 4-9,13, 16, 18-19, 26 ve 27'nin A549 hücrelerinde % mPGES-1 ürün oluşumu üzerindeki etkileri ve IC_{50} değerleri



4-9, 13, 16 ve 18-19

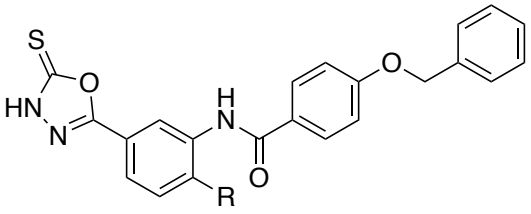


26 ve 27

Bileşik No	-R_1	-R_2	-R_3	% mPGES-1 ürün oluşumu (10 µM)	IC_{50} (µM)
4			-H	70.09 ± 13.24	-
5			-H	75.39 ± 5.59	-
6			-H	81.35 ± 2.91	-
7			-H	87.59 ± 16.99	-
8			-H	78.21 ± 3.29	-
9			-H	72.28 ± 3.41	-
13			-CH_3	29.18 ± 4.21	1.06 ± 0.08
16			-H	12.52 ± 1.99	0.03 ± 0.01
18			-H	66.91 ± 4.36	-
19			-H	69.42 ± 11.61	-
26			-H	25.35 ± 2.51	1.60 ± 0.36
27			-H	93.14 ± 17.56	-

% inhibisyon ve IC_{50} değerleri, inhibisyon değerinin ortalaması (n = 3) ± SEM olarak verilmiştir.

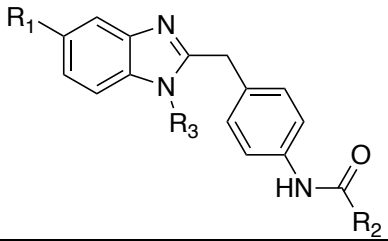
Çizelge 4.2. Birinci seriden Bileşik 34 ve 35'in A549 hücrelerinde % mPGES-1 ürün oluşumu üzerindeki etkileri ve IC_{50} değerleri

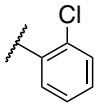
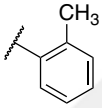
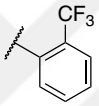
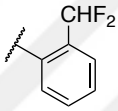
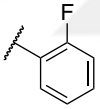
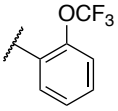
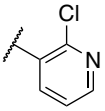
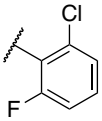
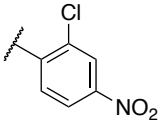
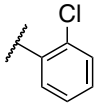
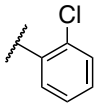


Bileşik No	**-R**	**% mPGES-1 ürün oluşumu (10 µM)**	**IC_{50} (µM)**
34	-F	26.72 ± 6.06	2.20 ± 0.05
35	-H	22.8 ± 9.59	2.50 ± 0.19

% inhibisyon ve IC_{50} değerleri, inhibisyon değerinin ortalaması (n = 3) ± SEM olarak verilmiştir.

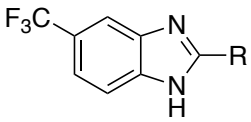
Çizelge 4.3. İkinci seriden Bileşik 38-46 ve 47-48'in A549 hücrelerinde % mPGES-1 ürün oluşumu üzerindeki etkileri ve IC_{50} değerleri

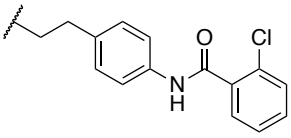
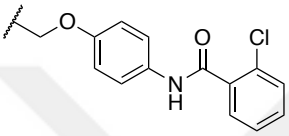
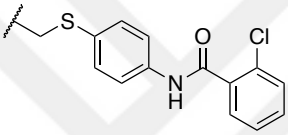
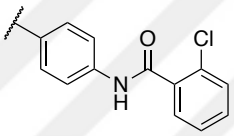
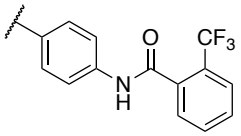
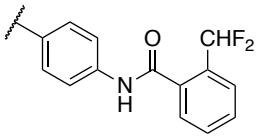
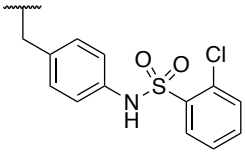
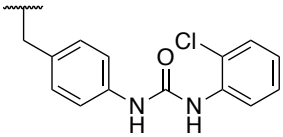
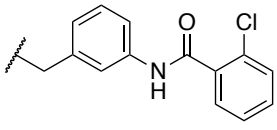


No	-R_1	-R_2	-R_3	% mPGES-1 ürün oluşumu (10 µM)	IC_{50} (µM)
38	-CF_3		-H	16.51 ± 4.19	0.23 ± 0.05
39	-CF_3		-H	10.21 ± 3.37	0.50 ± 0.02
40	-CF_3		-H	5.38 ± 1.23	0.18 ± 0.02
41	-CF_3		-H	1.96 ± 0.24	0.06 ± 0.002
42	-CF_3		-H	19.70 ± 9.67	3.52 ± 0.4
43	-CF_3		-H	34.87 ± 5.38	3.45 ± 0.27
44	-CF_3		-H	34.26 ± 7.65	2.65 ± 0.85
45	-CF_3		-H	15.57 ± 1.97	0.43 ± 0.12
46	-CF_3		-H	30.37 ± 6.30	1.40 ± 0.29
47	-CH_3		-H	24.74 ± 10.03	2.06 ± 0.23
48	-CF_3		-CH_3	19.21 ± 9.09	0.39 ± 0.03

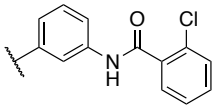
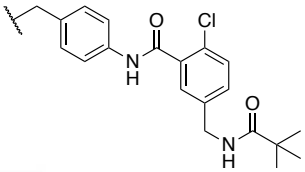
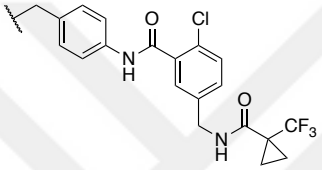
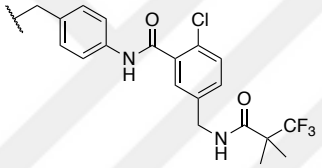
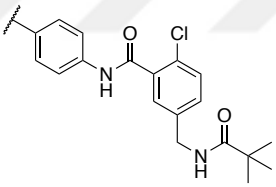
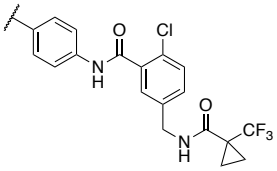
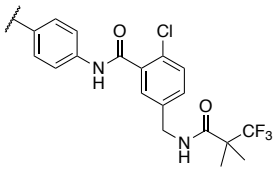
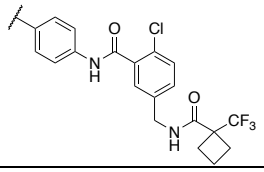
% inhibisyon ve IC_{50} değerleri, inhibisyon değerinin ortalaması (n = 3) ± SEM olarak verilmiştir.

Çizelge 4.4. İkinci seri Bileşik 50, 53-54, 56-58, 60-61, 63-64, 67-69 ve 71-74'ün A549 hücrelerinde % mPGES-1 ürün oluşumu üzerindeki etkileri ve IC_{50} değerleri



No	-R	% mPGES-1 ürün Oluşumu (10 µM)	IC_{50} (µM)
50		89.45 ± 4.85	-
53		100.70 ± 15.96	-
54		15.96 ± 5.65	0.54 ± 0.040
56		1.83 ± 1.00	0.064 ± 0.022
57		3.47 ± 1.94	0.074 ± 0.019
58		4.32 ± 2.19	0.014 ± 0.002
60		29.42 ± 5.34	5.38 ± 0.600
61		52.42 ± 1.42	-
63		2.39 ± 1.28	0.080 ± 0.002

Çizelge 4. 5. (devam) İkinci seri 50, 53-54, 56-58, 60-61, 63-64, 67-69 ve 71-74 numaralı bileşiklerin A549 hücrelerinde % mPGES-1 ürün oluşumu üzerindeki etkileri ve IC_{50} değerleri

No	-R	% mPGES-1 ürün Oluşumu (10 µM)	IC_{50} (µM)
64		52.42 ± 1.42	0.10 ± 0.010
67		2.40 ± 1.25	0.0054 ± 0.001
68		2.28 ± 1.26	0.007 ± 0.0015
69		2.57 ± 1.54	0.0014 ± 0.0003
71		2.44 ± 1.63	0.00057 ± 0.00005
72		5.72 ± 1.64	0.0029 ± 0.0007
73		9.88 ± 2.11	0.0013 ± 0.0003
74		4.33 ± 1.31	0.00022 ± 0.00002

% inhibisyon ve IC_{50} değerleri, inhibisyon değerinin ortalaması (n = 3) ± SEM olarak verilmiştir.

M1 ve M2 makrofajlarında lipid profili deney bulguları

M1

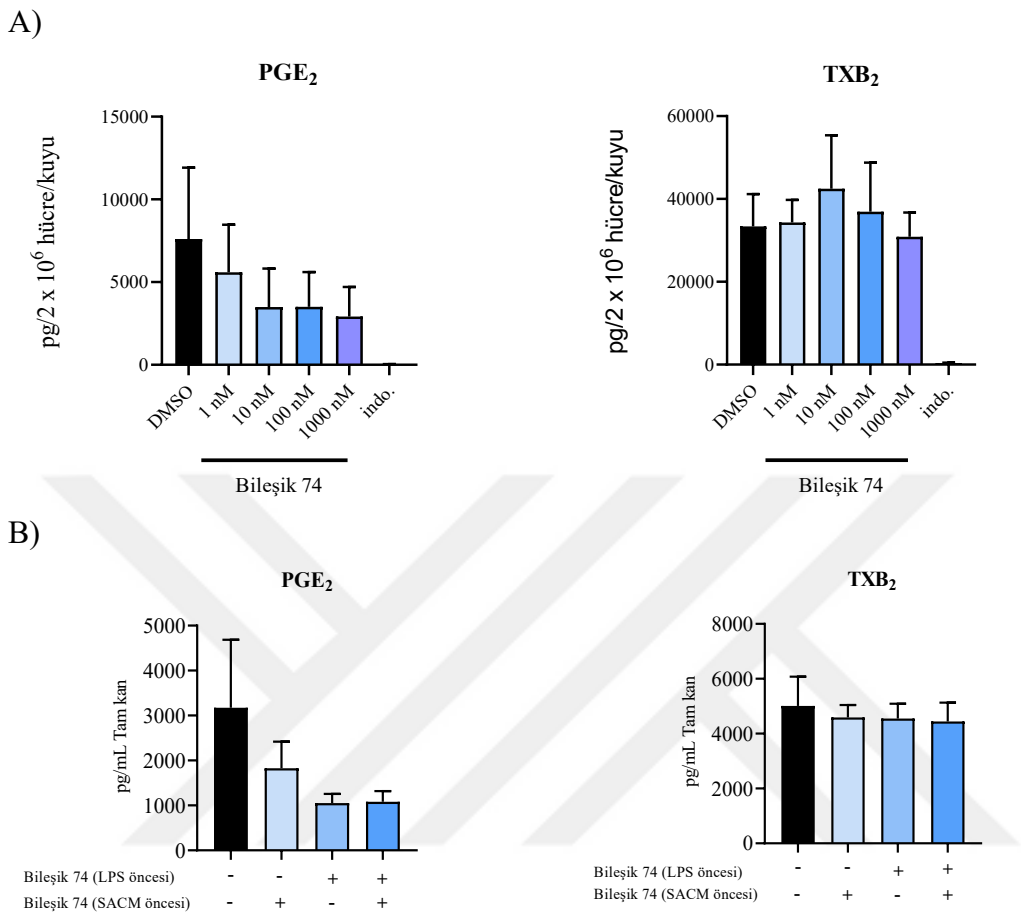
		DMSO	1 nM	oran	10 nM	oran	100 nM	oran	1000 nM	oran
5-LOX	5-HEPE	605 ± 138	943 ± 288	1.6	458 ± 73	0.8	542 ± 89	0.9	410 ± 110	0.7
	5-HETE	3645 ± 1066	5507 ± 1885	1.5	2368 ± 467	0.6	3301 ± 750	0.9	2329 ± 813	0.6
	t-LTB_4	420 ± 137	671 ± 286	1.6	258 ± 67	0.6	331 ± 80	0.8	249 ± 100	0.6
	LTB_4	3049 ± 995	4920 ± 2149	1.6	2038 ± 463	0.7	2541 ± 543	0.8	1636 ± 651	0.5
	5S,6R-diHETE	222 ± 70	302 ± 104	1.4	145 ± 42	0.7	184 ± 52	0.8	128 ± 52	0.6
COX	PGE_2	9422 ± 4539	9795 ± 4821	1.0	4342 ± 1909	0.5	1362 ± 500	0.1	1201 ± 375	0.1
	PGD_2	384 ± 154	354 ± 145	0.9	319 ± 118	0.8	387 ± 173	1.0	512 ± 233	1.3
	$PGF_{2\alpha}$	455 ± 167	588 ± 213	1.3	695 ± 279	1.5	767 ± 276	1.7	926 ± 382	2.0
	TXB_2	7770 ± 2635	10035 ± 3376	1.3	10895 ± 3771	1.4	12723 ± 4229	1.6	14208 ± 5497	1.8
SPM prekürsörleri	17-HDHA	532 ± 85	704 ± 75	1.3	565 ± 63	1.1	582 ± 66	1.1	619 ± 75	1.2
	14-HDHA	213 ± 71	344 ± 115	1.6	302 ± 117	1.4	266 ± 81	1.3	288 ± 72	1.4
	7-HDHA	181 ± 28	248 ± 60	1.4	169 ± 18	0.9	171 ± 22	0.9	161 ± 29	0.9
	4-HDHA	136 ± 9	166 ± 13	1.2	136 ± 40	1.0	137 ± 20	1.0	155 ± 17	1.1
	15-HEPE	75 ± 6	104 ± 7	1.4	93 ± 6	1.2	90 ± 2	1.2	95 ± 8	1.3
	12-HEPE	61 ± 19	94 ± 30	1.5	85 ± 20	1.4	77 ± 23	1.3	81 ± 15	1.3
	15-HETE	1348 ± 356	1620 ± 357	1.2	1089 ± 181	0.8	1334 ± 294	1.0	1391 ± 369	1.0
	12-HETE	361 ± 122	521 ± 187	1.4	433 ± 146	1.2	440 ± 142	1.2	462 ± 113	1.3
	5,15-diHETE	n.d.	n.d.		n.d.		n.d.		n.d.	
SPMs	PD1	25 ± 10	26 ± 9	1.0	22 ± 6	0.9	24 ± 4	0.9	23 ± 8	0.9
	PDX	7 ± 3	7 ± 3	1.0	6 ± 2	0.9	7 ± 1	0.9	7 ± 2	0.9
	RvD5	9 ± 3	9 ± 4	1.0	6 ± 2	0.7	5 ± 2	0.6	6 ± 3	0.7
	MaR1	37 ± 12	40 ± 8	1.1	44 ± 8	1.2	39 ± 8	1.0	73 ± 17	2.0
FFA	AA	989273 ± 102399	1204724 ± 46700	1.2	935554 ± 85987	0.9	1036307 ± 94315	1.0	1185829 ± 177952	1.2
	EPA	313724 ± 35911	412010 ± 47106	1.3	339605 ± 42962	1.1	343205 ± 30723	1.1	372175 ± 25880	1.2
	DHA	535163 ± 67441	660269 ± 29555	1.2	532040 ± 22070	1.0	570709 ± 62667	1.1	604150 ± 114461	1.1

M2

		DMSO	1 nM	oran	10 nM	oran	100 nM	oran	1000 nM	oran
5-LOX	5-HEPE	193 ± 58	238 ± 106	1.2	208 ± 59	1.1	203 ± 69	1.1	168 ± 61	0.9
	5-HETE	1672 ± 811	2148 ± 1373	1.3	1741 ± 919	1.0	1696 ± 931	1.0	1058 ± 572	0.6
	t-LTB_4	134 ± 73	173 ± 123	1.3	142 ± 84	1.1	151 ± 94	1.1	91 ± 47	0.7
	LTB_4	877 ± 642	1170 ± 957	1.3	849 ± 652	1.0	908 ± 691	1.0	451 ± 341	0.5
	5S,6R-diHETE	88 ± 62	100 ± 74	1.1	74 ± 51	0.8	74 ± 52	0.8	51 ± 38	0.6
COX	PGE_2	293 ± 52	288 ± 44	1.0	287 ± 47	1.0	294 ± 28	1.0	551 ± 75	1.9
	PGD_2	87 ± 11	95 ± 6	1.1	84 ± 9	1.0	93 ± 7	1.1	175 ± 23	2.0
	$PGF_{2\alpha}$	79 ± 15	79 ± 14	1.0	74 ± 6	0.9	78 ± 9	1.0	217 ± 113	2.7
	TXB_2	4413 ± 749	4548 ± 672	1.0	4615 ± 916	1.0	4501 ± 630	1.0	5455 ± 1168	1.2
SPM prekürsörleri	17-HDHA	4366 ± 1404	4400 ± 1205	1.0	4598 ± 1424	1.1	4787 ± 1627	1.1	4081 ± 1243	0.9
	14-HDHA	1142 ± 369	1201 ± 285	1.1	1122 ± 246	1.0	1271 ± 327	1.1	1140 ± 317	1.0
	7-HDHA	201 ± 33	212 ± 21	1.1	203 ± 21	1.0	212 ± 32	1.1	194 ± 28	1.0
	4-HDHA	154 ± 6	171 ± 19	1.1	155 ± 9	1.0	176 ± 20	1.1	175 ± 10	1.1
	15-HEPE	644 ± 242	611 ± 203	0.9	677 ± 280	1.1	688 ± 259	1.1	552 ± 191	0.9
	12-HEPE	135 ± 28	134 ± 10	1.0	130 ± 21	1.0	139 ± 23	1.0	124 ± 18	0.9
	15-HETE	6707 ± 2406	6462 ± 1985	1.0	7268 ± 3067	1.1	7264 ± 2738	1.1	5902 ± 1758	0.9
	12-HETE	1083 ± 177	1111 ± 79	1.0	1093 ± 112	1.0	1097 ± 102	1.0	953 ± 117	0.9
	5,15-diHETE	n.d.	n.d.		n.d.		n.d.		n.d.	
SPMs	PD1	94 ± 36	112 ± 39	1.2	119 ± 37	1.3	125 ± 38	1.3	111 ± 38	1.2
	PDX	13 ± 2	15 ± 1	1.2	10 ± 2	0.8	11 ± 3	0.9	21 ± 14	1.7
	RvD5	143 ± 66	144 ± 60	1.0	146 ± 53	1.0	166 ± 63	1.2	138 ± 67	1.0
	MaR1	121 ± 48	114 ± 61	0.9	152 ± 50	1.3	192 ± 31	1.6	119 ± 57	1.0
FFA	AA	934805 ± 19506	900875 ± 33794	1.0	857143 ± 29604	0.9	1021604 ± 36585	1.1	938912 ± 39623	1.0
	EPA	228000 ± 17244	261055 ± 15716	1.1	226487 ± 9899	1.0	286361 ± 26631	1.3	289528 ± 22433	1.3
	DHA	370579 ± 5758	365078 ± 14187	1.0	345351 ± 6674	0.9	405958 ± 7499	1.1	387410 ± 18265	1.0

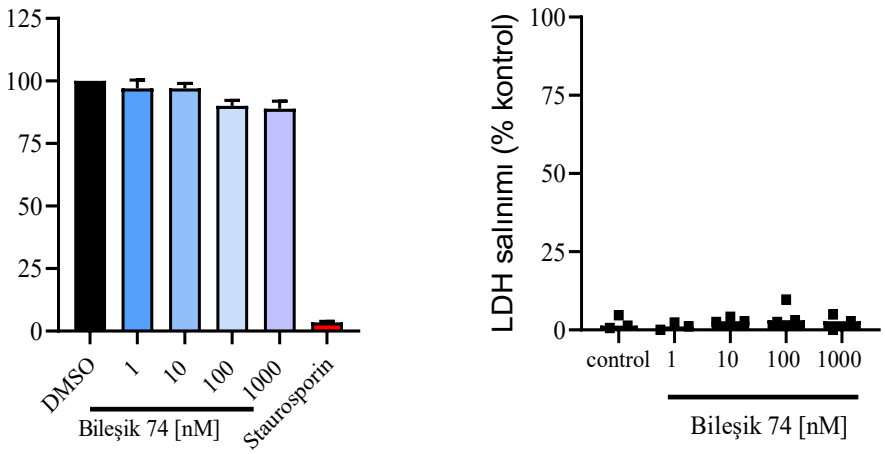
Şekil 4.1. Bileşik 74 uygulamasını takiben M1 ve M2 makrofajlarında lipid profilini gösteren heat-map (Değerler pg/2x10^6 hücre/kuyu olarak verilmiştir. pg:pikogram, 5-HEPE: 5-hidroksieikosapentanoik asit, 5-HETE: 5-hidroksieikosatetraenoik asit, t-LTB_4: trans lökotrien B_4, HDHA: hidroksidokosahekzanoik asit, SPM: specialized pro-resolving mediator, FFA: serbest yağ asiti, PD1: polidispersity index, PDX: protectin DX, RvD5: resolvin D5, Mar1: maresin 1, EPA: eikosapentanoik asit, DHA: dokosaheksanoik asit)

Periferal kan mononükleer hücrelerinde (PBMC) ve insan tam kanda PGE_2 ve TXB_2 seviyeleri



Şekil 4.2. Bileşik 74 uygulamasını takiben A) periferal kan mononükleer hücrelerinde (PBMC) PGE_2 ve TXB_2 seviyeleri B) İnsan tam kanda PGE_2 ve TXB_2 seviyeleri

MTT ve LDH salınımı deneyleri bulguları



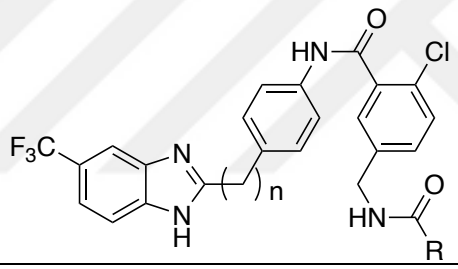
Şekil 4. 3. Bileşik 74 için MTT ve LDH salınımı testi sonuçları

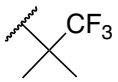
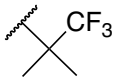
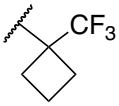
4.2.2. *İn vitro* ADME ve *in vivo* farmakokinetik çalışmaları bulguları

Çizelge 4.5. Bileşik 74'ün *in vitro* ADME özellikleri

***In vitro* ADME**		
$LogD_{7.4}$	>5	Lipofilik
Çözünürlük (SIF)	20 µM	Düşük suda çözünürlük
Çözünürlük (SGF)	76 µM	Düşük suda çözünürlük
Çözünürlük (PBS pH 7.4)	<1 µM	Düşük suda çözünürlük
Kobay LMS	$t_{1/2}$: 8.5 dk	Metabolik dayanıksız
PPB (insan/kobay)	% 99.87/99.78	Yüksek PPB
CL_{int} (µL/dk/mg protein)	163.37	Yüksek hepatik klirens

Çizelge 4.6. Bileşik 69, 72-74 için *in vitro* kobay karaciğer mikrozomal stabilite test sonuçları



Bileşik	**n**	**R**	**$t_{1/2}$ (dk)**	**CL_{int} (µL/dk/mg protein)**
69	1		49.33	28.28
72	0		>184.78	<7.50
73	0		103.09	13.86
74	0		8.5	163.37

Çizelge 4.7. Bileşik 74'ün *in vivo* farmakokinetik özellikleri

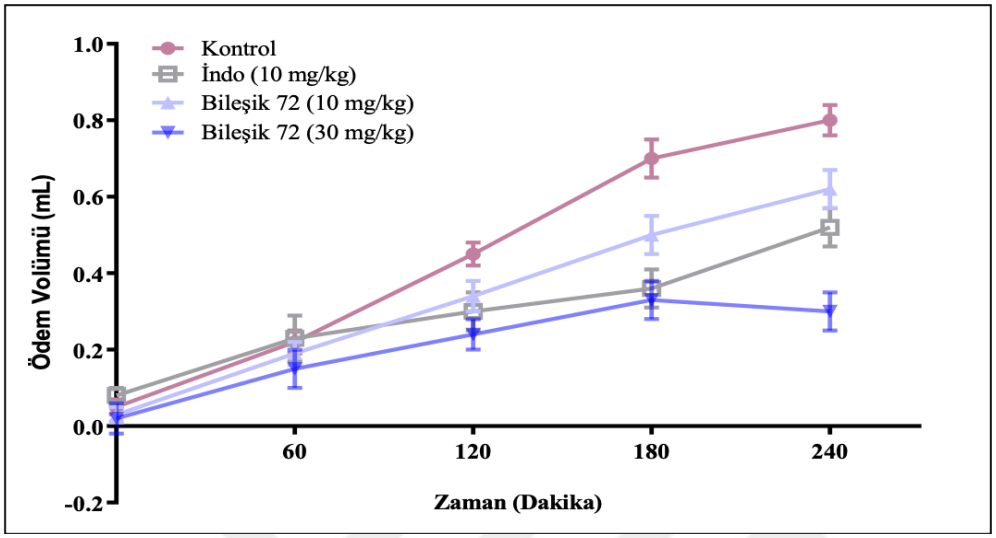
FK Parametreler	**Bileşik 74**	
	IV (2 mg/kg)	**Oral (20 mg/kg)**
C_{max} (ng/mL)	-	49.0
AUC (ng*s/mL)	-	527
T_{max} (s)	-	3.33
$T_{1/2}$ (s)	5.16	5.67
CL (mL/ dk/kg)	87.7	-
Biyoyararlanım (%F)	-	16

Çizelge 4.8. Bileşik 72'nin *in vivo* farmakokinetik özellikleri

FK Parametreler	**Bileşik 72**	
	IV (2 mg/kg)	**Oral (20 mg/kg)**
C_{max} (ng/mL)	-	1370
AUC (ng*s/mL)	-	13170
T_{max} (s)	-	4.67
$T_{1/2}$ (s)	3.92	4.82
CL (mL/ dk/kg)	14.9	-
Biyoyararlanım (%F)	-	60.8

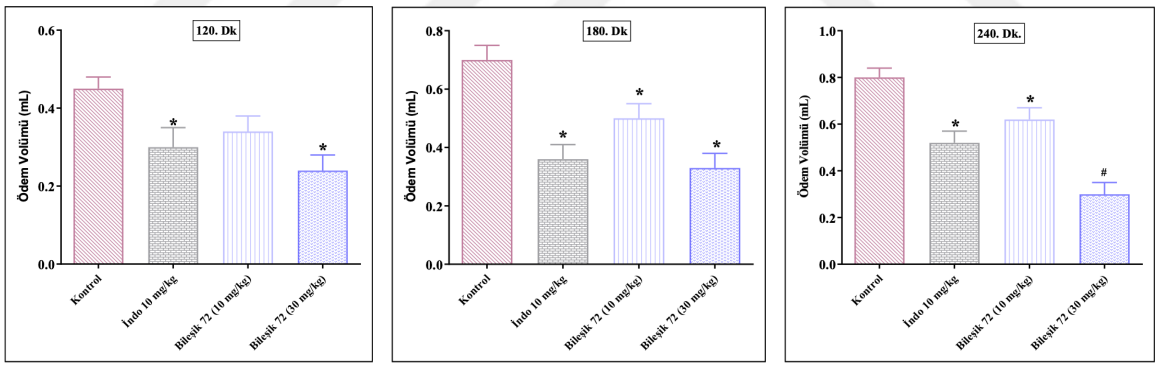
4.2.3. *İn vivo* biyolojik aktivite bulguları

Antienflamatuvar Aktivite



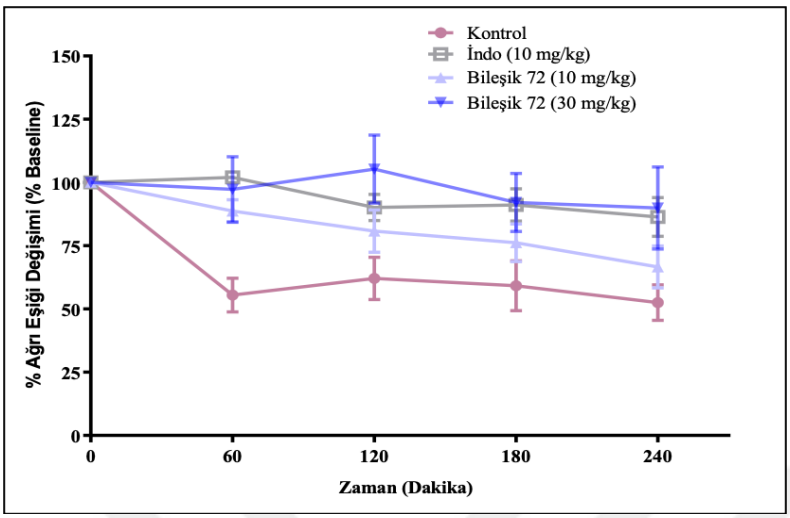
Şekil 4.4. Karagenin uygulanmasını takiben kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (10 ve 30 mg/kg) gruplarında ölçülen ödem volümü-zaman grafiği (n:6-7)

a. b. c.



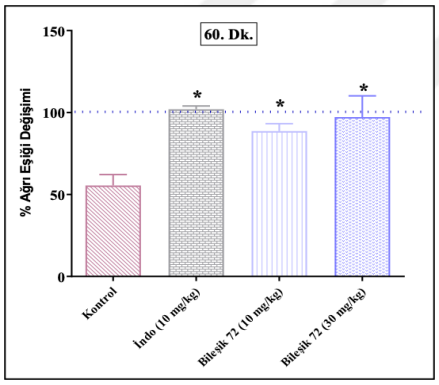
Şekil 4.5. Karagenin uygulanmasını takiben kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (10 ve 30 mg/kg) gruplarında 120, 180 ve 240. dakikalarda ölçülen ödem volümü grafikleri (n:6-7). One-way ANOVA post-hoc Newman-Keuls Multiple Comparison testi, *Kontrol grubundan anlamlı farklı, #İndometazin grubundan anlamlı farklı.

Analjezik Aktivite

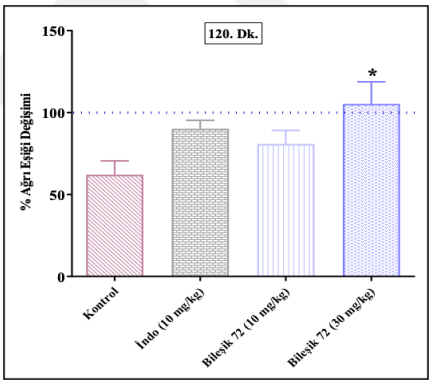


Şekil 4.6. Karagenin uygulanmasını takiben kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (10 ve 30 mg/kg) gruplarında ölçülen pençe ağrı eşiği değişim grafiği

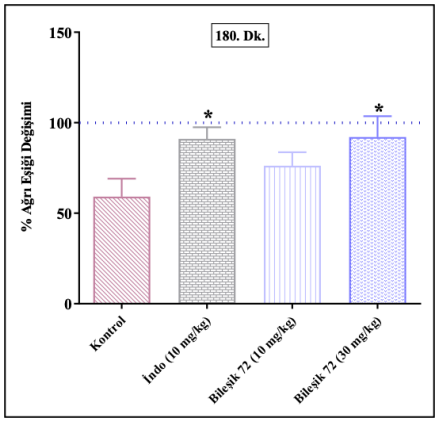
a.



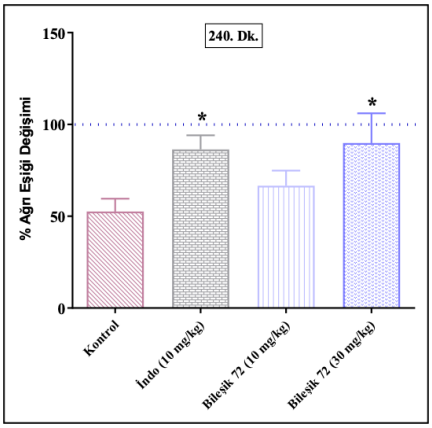
b.



c.

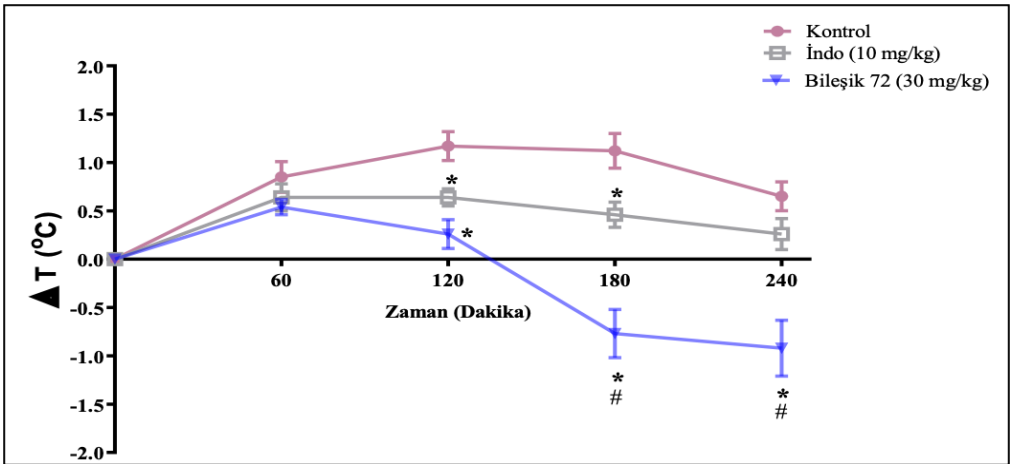


d.



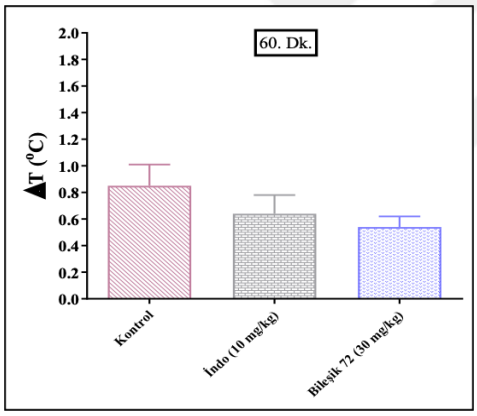
Şekil 4.7. Karagenin uygulanmasını takiben kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (10 ve 30 mg/kg) gruplarında 60, 120, 180 ve 240. dakikalarda ölçülen pençe ağrı eşiği grafikleri (n:6-7). One-way ANOVA post-hoc Newman-Keuls Multiple Comparison testi, *Kontrol grubundan anlamlı farklı.

Antipiretik Aktivite

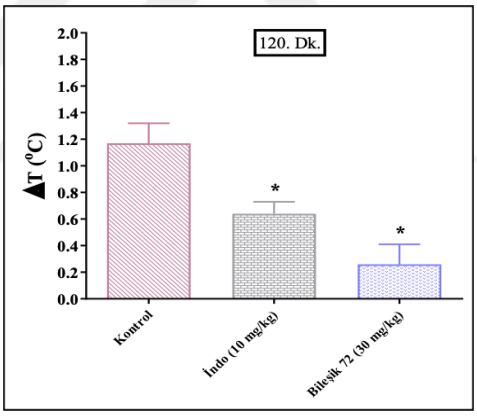


Şekil 4.8. LPS uygulamasını takiben kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (30 mg/kg) gruplarında ölçülen rektal ateş-zaman grafiği

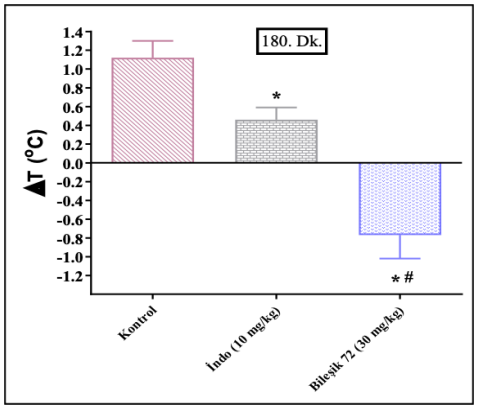
a.



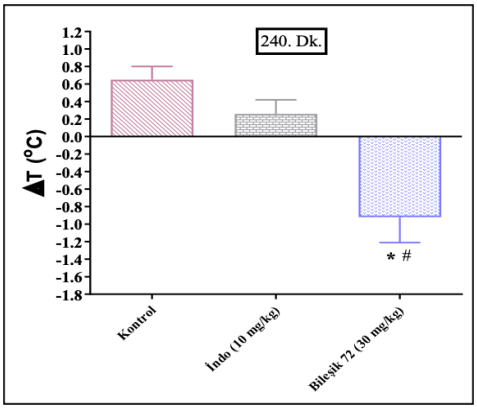
b.



c.



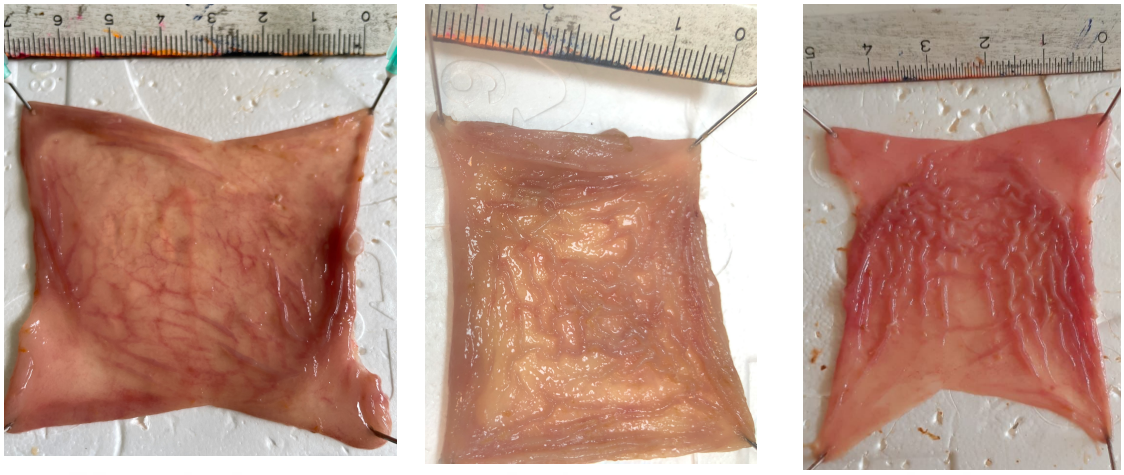
d.



Şekil 4.9. LPS uygulamasını takiben kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (30 mg/kg) gruplarında 60, 120, 180 ve 240. dakikalarda ölçülen ΔT (°C) grafikleri (n:6-7). One-way ANOVA post-hoc Newman-Keuls Multiple Comparison testi, *Kontrol grubundan anlamlı farklı, #İndometazin grubundan anlamlı farklı.

Ülserojenik Etki

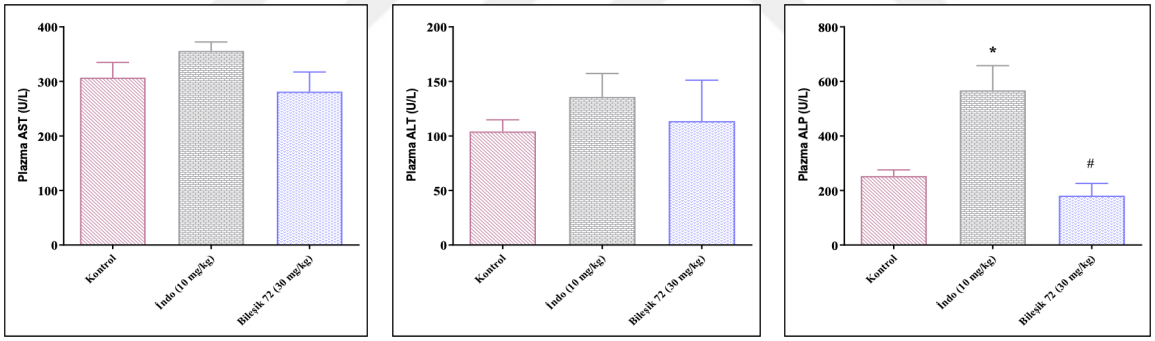
a. b. c.



Resim 4.1. a) İndometazin (10 mg/kg), b) Bileşik 72 (10 mg/kg), c) Bileşik 72'nin (30 mg/kg) uygulandığı analjezik ve antienflamatuvar deneyler sonrası alınan midelerin görüntüsü

Plazma ALT, AST ve ALP Düzeyi

a. b. c.



Şekil 4.10. Kontrol, indometazin (10 mg/kg) ve Bileşik 72 (30 mg/kg) gruplarında antienflamatuvar-analjezik aktivite deneyleri sonrası toplanan plazma örneklerinde AST, ALT ve ALP düzeyleri (n:6-7). One-way ANOVA post-hoc Newman-Keuls Multiple Comparison testi, *Kontrol grubundan anlamlı farklı, #İndometazin grubundan anlamlı farklı.

5. TARTIŞMA

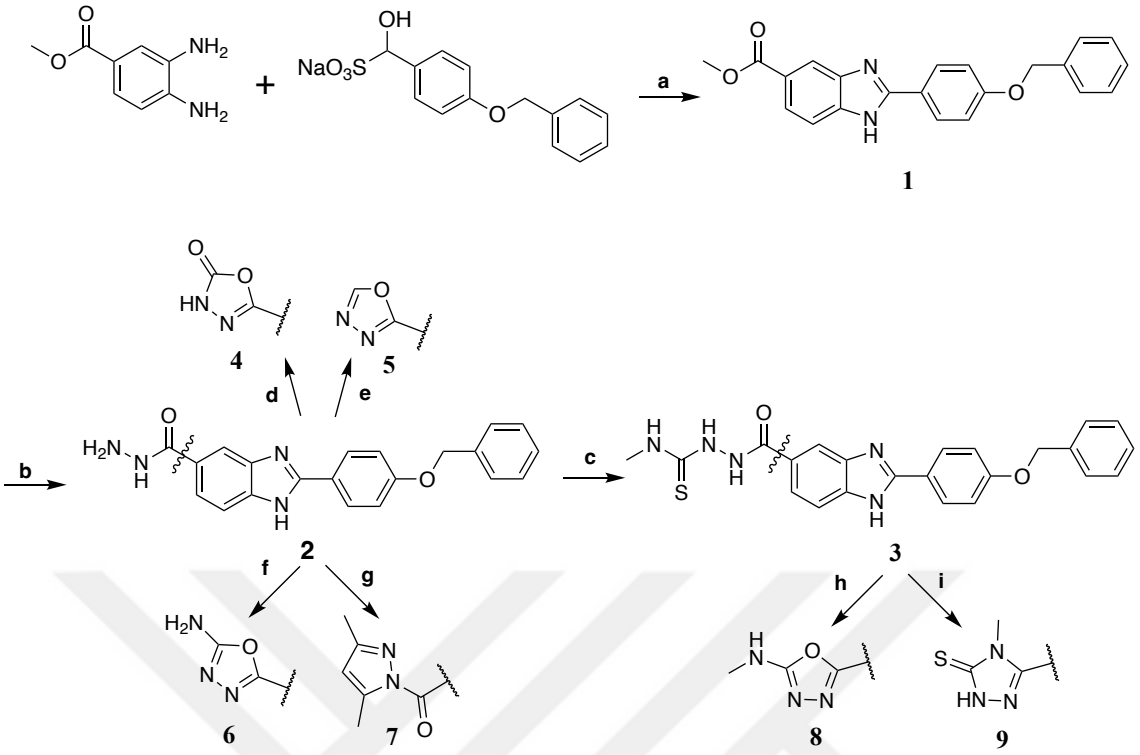
5.1. Sentez Çalışmaları

Bu tez kapsamında, **BRP-351** öncü bileşiğinden hareketle daha potent mPGES-1 inhibitörleri geliştirmek amacıyla yürütülen çalışmada birinci seri bileşiklerde öncelikle 5. konumdaki oksadiazoltiyon halkasının aktiviteye katkısını anlamak amacıyla bu bölgede çeşitli analoglar sentezlenmiştir.

BRP-351 üzerinde, 5. konumdaki oksadiazoltiyon halkasının benzer heterosiklik eşdeğerleri olan Bileşikler **4-9** sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin sentezi için metil 3,4-diaminobenzoat bileşiği, 4-benziloksibenzaldehit'in sodyum metabisülfit ile elde edilen katım ürünü ile reaksiyona sokularak benzimidazol türevi Bileşik **1** elde edilmiştir. Bileşik **1**'in hidrazin hidrat ile metanol içerisindeki reaksiyonu sonucu hidrazit türevi Bileşik **2** elde edilmiştir. Oksadiazolon halkası taşıyan Bileşik **4**'e, Bileşik **2**'nin karbonildiimidazol (CDI) ile reaksiyonu sonucunda ulaşılmıştır. Oksadiazol taşıyan Bileşik **5**, Bileşik **2**'nin trimetilortoformat ile reaksiyonu ile elde edilmiştir (Şekil 5.1).

Oksadiazol amin taşıyan Bileşik **6**, Bileşik **2**'nin siyanojen bromür (BrCN) ile reaksiyonu sonucu, Bileşik **7**'ye ise asetilaseton ile reaksiyonu sonucu ulaşılmıştır (Şekil 5.1).

BRP-351 öncü bileşiğinin 5. konum analogları olan Bileşik **8** ve **9**'un sentezi için öncelikle, Bileşik **2**'nin metilizotiyosiyanat ile mikrodalga koşullarında reaksiyonu sonucu Bileşik **3** elde edilmiştir. Sonrasında, Bileşik **8**'in sentezi için Bileşik **3,** EDC ile reaksiyona sokulurken, Bileşik **9**'un sentezi için Bileşik **3,** NaOH ile reaksiyona sokulmuştur (Şekil 5.1).

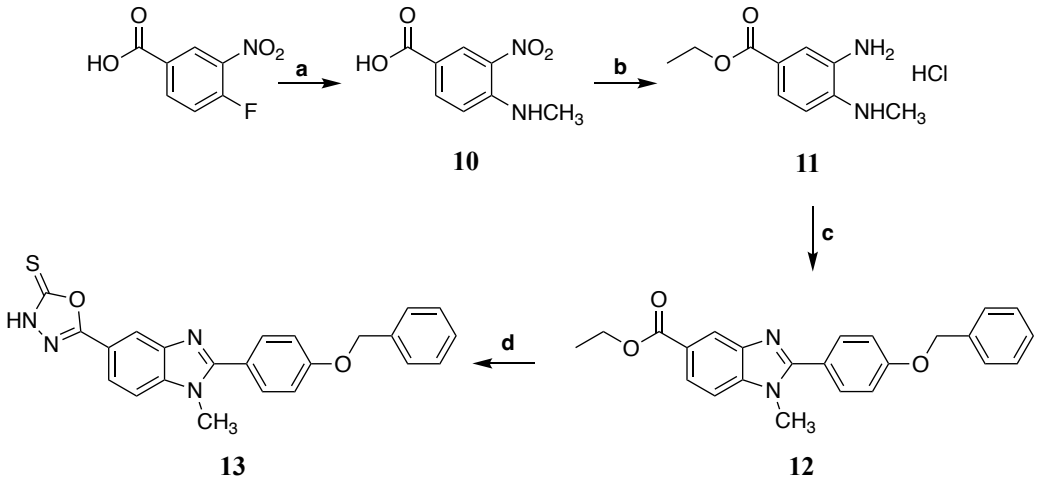


Reajan ve koşullar: **a)** DMF, 60°C; **b)** $NH_2NH_2.H_2O$, MeOH, 90°C; **c)** metilizotiyosiyanat, EtOH, MW, 130°C, 10 dk; **d)** CDI, DMSO, oda ısısı; **e)** trimetilortoformat, 100°C, 5 saat; **f)** BrCN, EtOH, oda ısısı, 4 saat; **g)** asetilaseton, H_2SO_4, 30 dk, Δ; **h)** EDC, DMSO, 60°C, 30 dk.; **i)** 2N NaOH, MW, 150°C, 4 dk.

Şekil 5.1. Bileşik 4-9'un sentez şeması

BRP-351 öncü bileşiğinde, serbest NH grubu metillenerek hidrojen bağı donör özelliğinin önemi araştırılmıştır. 3-Nitro-4-florobenzoik asitin metilamin ile reaksiyonu sonucu Bileşik **10** elde edilmiştir. Bileşik **10**'un öncelikle $SOCl_2$ ile asit klorürü elde edilmiş, EtOH ile etil esterine geçilmiştir, daha sonra nitro grubu kalay klorür ile redüklenerek Bileşik **11** elde edilmiştir.

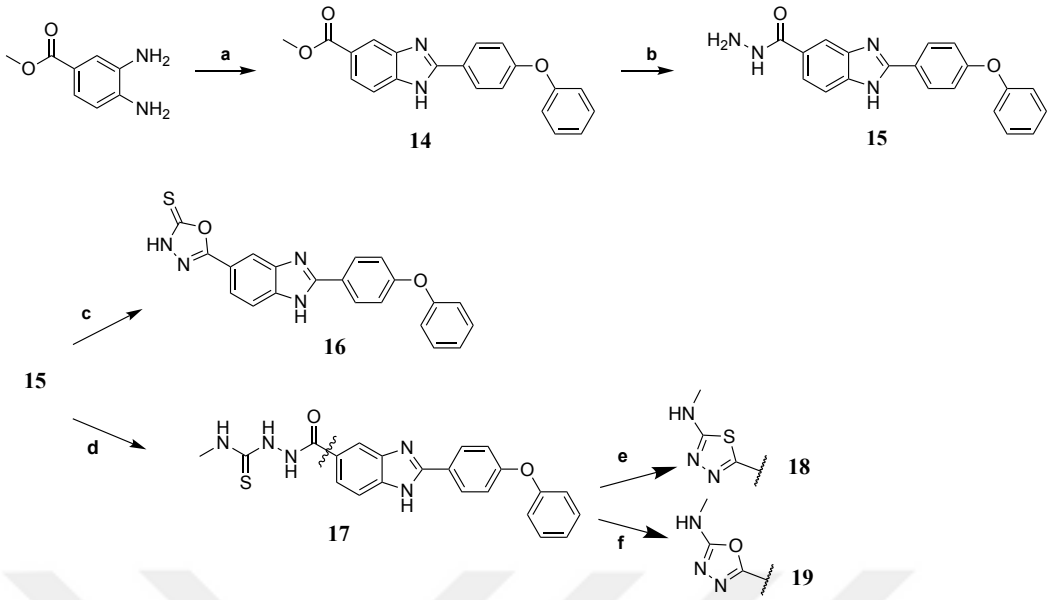
Bileşik **11**'in 4-benziloksibenzaldehitin sodyum metabisülfit katım ürünü ile reaksiyonu sonucu benzimidazol halkası kapatılarak Bileşik **12** elde edilmiştir. Bileşik **12**, hidrazin hidratla reaksiyonu sonucu elde edilen hidrazit türevi bileşik, CS_2 ile etanol içerisinde geri çeviren soğutucu altında kaynatılarak oksadiazoltiyon halkası taşıyan final Bileşik **13** elde edilmiştir (Şekil 5.2).



Reajan ve koşullar: **a)** Metilamin (%40), MeOH, oda ısısı; **b)** *i*. $SOCl_2$, Δ; *ii.* EtOH, Δ; *iii*. $SnCl_2.2H_2O$, EtOH, Δ; **c)** 4-(Benziloksi)benzaldehit katım ürünü, DMF, 60˚C; **d)** *i*. Hidrazin hidrat (%80), EtOH, Δ; *ii*. CS_2, KOH, EtOH, H_2O, Δ.

Şekil 5.2. Bileşik 13'ün sentez şeması

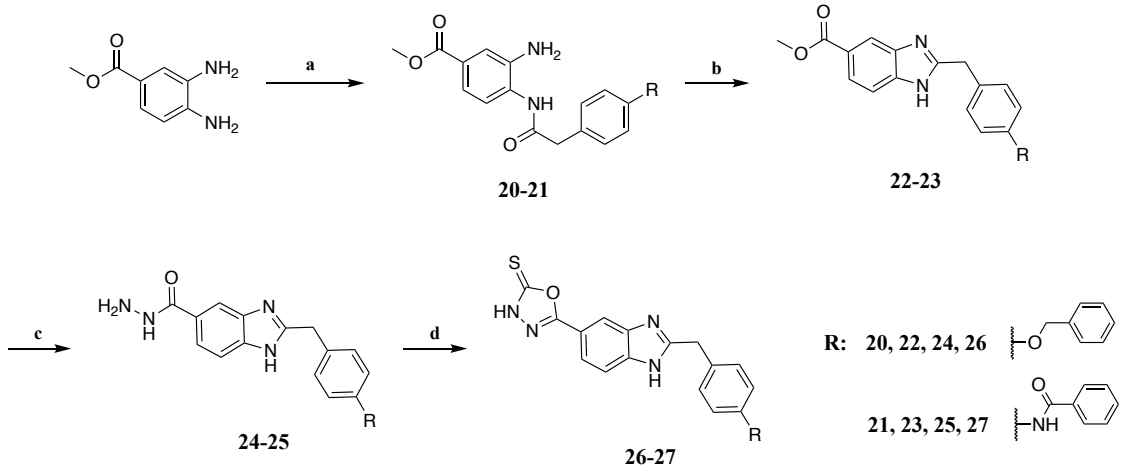
BRP-351 bileşiğinin benziloksifenil grubu yerine fenoksifenil taşıyan Bileşik **16** sentezlenmiştir. Öncelikle metil 3,4-diaminobenzoat ve 4-fenoksifenil benzaldehitin sodyum metabisülfit katım ürününden hareketle Bileşik **13**'ün sentez metoduna göre Bileşik **16** sentezlenmiştir. Fenoksi türevinin mPGES-1 inhibitör aktivitesi 30 nM olarak belirlenmiş ve bu bileşiğin benzimidazol halkasının 5. konumunda farklı halkalar taşıyan Bileşik **18** ve **19** sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin sentezi için öncelikle Bileşik **15**, metilizotiyosiyanatla reaksiyona sokularak Bileşik **17** elde edilmiştir. Bileşik **17**'nin fosforik asitle reaksiyonu sonucu Bileşik **18** elde edilmiştir. Bileşik **17**'nin EDC ile reaksiyonu sonucunda Bileşik **19** elde edilmiştir (Şekil 5.3).



Reajan ve koşullar: **a)** 4-fenoksifenil benzaldehit katım ürünü, DMF, 60°C; **b)** $NH_2NH_2.H_2O$, MeOH, Δ; **c)** CS_2, KOH, EtOH, H_2O, Δ; **d)** metilizotiyosiyanat, EtOH, MW, 130°C, 10 dk; **e)** H_3PO_4, 85°C, 3 saat; **f)** EDC, DMSO, 60°C, 30 dk.

Şekil 5.3. Bileşik 16, 18 ve 19'un sentez şeması

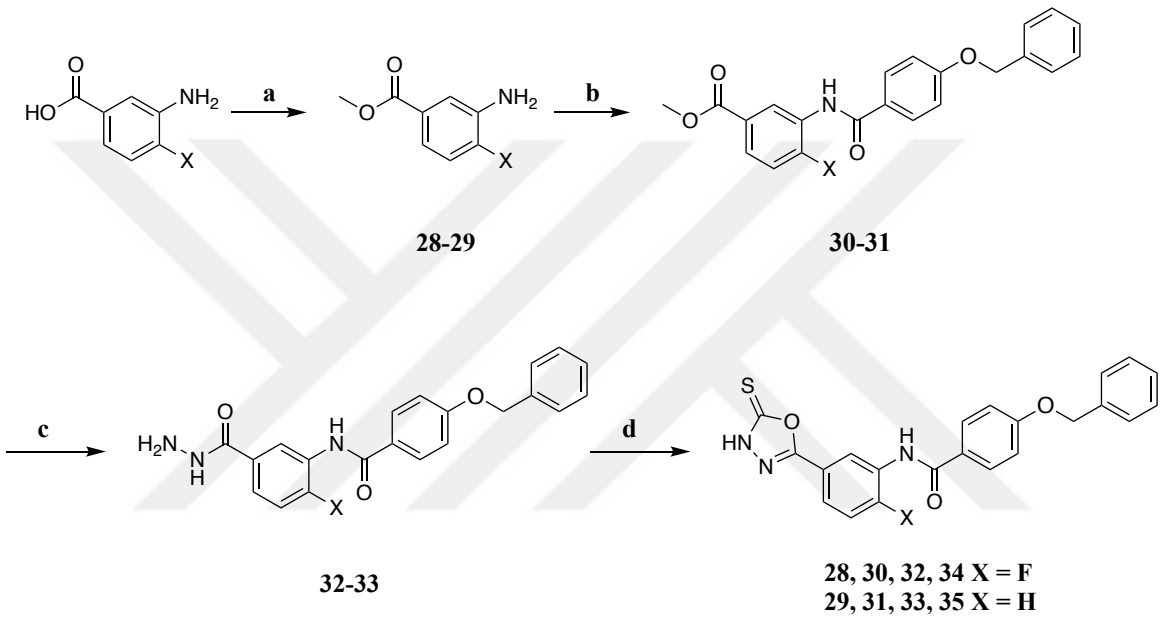
BRP-351 öncü bileşiğinin 2. konumundaki fenil halkası ile benzimidazol halkası arasına metilen köprüsü eklemek için benziloksi türevi Bileşik **26** sentezlenmiştir. Bileşik **26**'nın sentezi için metil 3,4-diaminobenzoat, 4-benziloksifenilasetik asit ile reaksiyona sokularak amit türevi Bileşik **20** elde edilmiştir. Bileşik **27**'nin sentezinde metil 3,4-diaminobenzoatın 2-(4-benzamidofenil)asetik asit ile reaksiyonu sonucu Bileşik **21** elde edilmiştir. Bileşik **20** ve Bileşik **21**'den asetik asit ile benzimidazol halkası kapatılarak Bileşik **22** ve **23** elde edilmiştir. Bileşik **22** ve **23**'ten hidrazin hidrat ile Bileşik **24** ve **25** sentezlenmiş, bu bileşikler üzerinden de CS_2 ve KOH ile Bileşik **26** ve **27** elde edilmiştir (Şekil 5.4).



Reajan ve koşullar: **a)** 20 için; 4-benziloksifenasetik asit ve 21 için; 2-(4-benzamidofenil)asetik asit, DMAP, EDC.HCl, DCM, oda ısısı, 6 saat; **b)** asetik asit, Δ; **c)** $NH_2NH_2.H_2O$, MeOH, Δ; **d)** CS_2, KOH, EtOH, H_2O, Δ.

Şekil 5.4. Bileşik 26 ve 27'nin sentez şeması

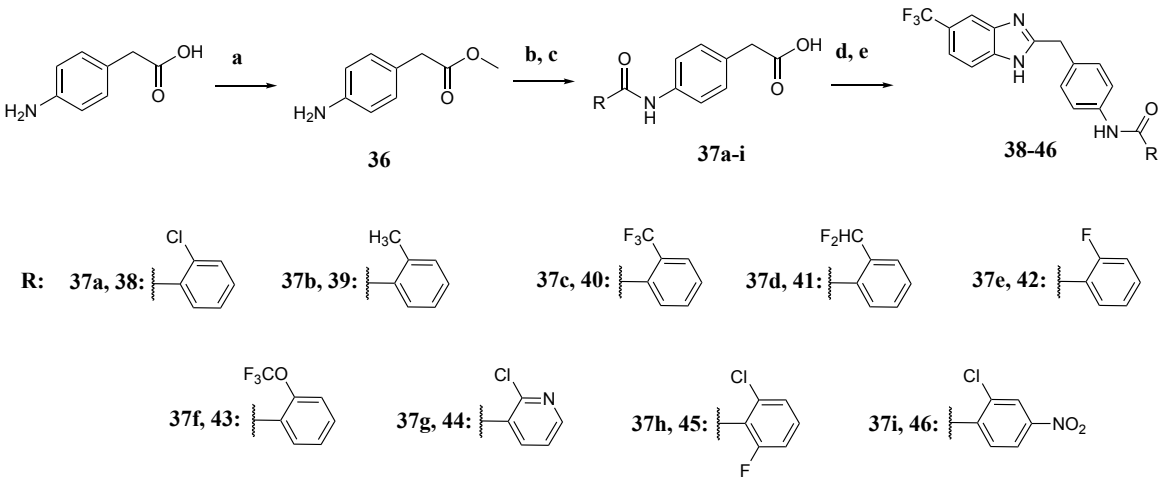
Şu ana kadar sentezi yapılan bileşiklerde karşılaşılan çözünürlük problemleri bileşiklerin saflaştırılmasında sorunlara yol açtığı için ileri yapı aktivite ilişkisi çalışmalarına devam edilememiş ve benzimidazol halkasının açık zincir analoğu Bileşik **34** ve **35** sentezlenmiştir. Uygun asit türevlerinin metil esteri olan Bileşik **28-29** elde edilmiş, daha sonra 4-(benziloksi)benzoil klorür ile Et_3N varlığında Bileşik **30-31** elde edilmiştir. Bileşik **32** ve **33**, hidrazin hidrat ile hidrazit türevi bileşiklere dönüştürülmüştür. Daha sonra CS_2 ve KOH varlığında oksadiazoltiyon halkası taşıyan Bileşik **34** ve **35** elde edilmiştir (Şekil 5.5).



Reajan ve koşullar: **a)** H_2SO_4, MeOH, Δ; **b)** 4-(benziloksi)benzoil klorür, Et_3N, DCM, oda ısısı; **c)** $NH_2NH_2.H_2O$, MeOH, Δ; **d)** CS_2, KOH, EtOH, H_2O, Δ.

Şekil 5.5. Bileşik 34-35'in sentez şeması

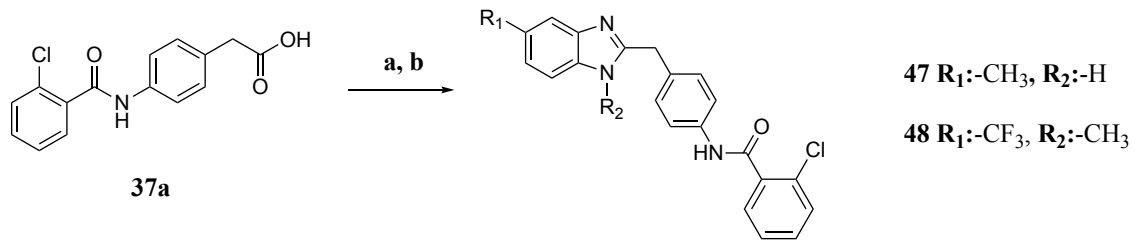
Açık zincir analoglarında aktivitenin düşmesi nedeniyle bir sonraki aşamada literatürde kayıtlı inhibitörlerin kimyasal yapıları ve bağlanma modları incelenerek moleküllerde 2-klorobenzamit yapısının kullanılması ve benzimidazol halkasının membrana doğru yöneleceği hipotezi ile benzimidazol halkası 5. konumuna triflorometil grubu getirilmesi planlanarak Bileşik **38** ve türevleri (**39-46**) sentezlenmiştir. Bileşiklerin sentezinde 4-aminofenilasetik asit, asit ortamda MeOH içerisinde esterleştirilmiş ve uygun asit türevleri ile EDC varlığında amit türevleri **37a-i** elde edilmiştir. 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin ile **37a-i** bileşikleri amitleştirilip, asetik asit içerisinde kaynatılarak final bileşikler **38-46** elde edilmiştir (Şekil 5.6).



Reajan ve koşullar: **a)** H_2SO_4, MeOH, Δ; **b)** Uygun asit türevi, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda ısısı; **c)** LiOH.H_2O, THF:su (1:1), Δ; **d)** 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda ısısı; **e)** asetik asit, Δ.

Şekil 5.6. Bileşik 38-46'nın sentez şeması

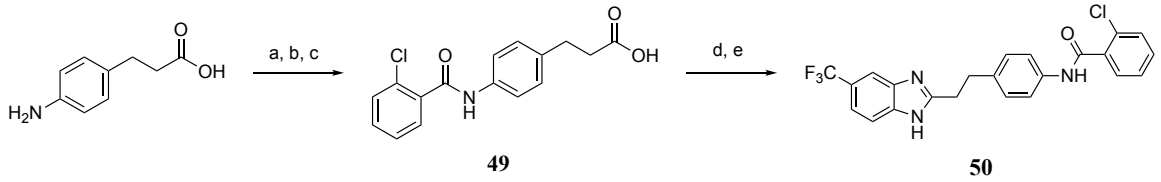
Bu seride aktif bulunan **38** nolu bileşiğin, 5. konumundaki triflorometilin metille yer değiştirildiği Bileşik **47** ve benzimidazol azotu üzerinde metil grubu taşıyan Bileşik **48** sentezlenmiştir. Bu bileşikler, Bileşik **37a**'nın 4-metilbenzen-1,2-diamin veya N^1-metil-4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin ile reaksiyonu sonrasında halka kapanması ile elde edilmiştir (Şekil 5.7).



Reajan ve koşullar: **a)** 4-metilbenzen-1,2-diamin veya N^1-metil-4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda ısısı; **b)** asetik asit, Δ.

Şekil 5.7. Bileşik 47-48'in sentez şeması

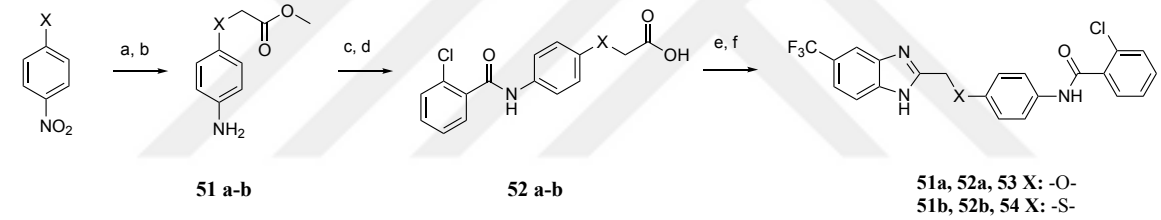
Bir sonraki aşamada Bileşik **38**'de benzimidazol halkası ve 2. konumdaki fenil arasındaki metilen ara zincirinin etilen analoğu yapılmıştır. 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin ve Bileşik **49**'dan hareketle Bileşik **38**'in sentez metoduna göre Bileşik **50** sentezlenmiştir (Şekil 5.8).



Reajan ve koşullar: **a)** H_2SO_4, MeOH, Δ; **b)** 2- klorobenzoil klorür, Et_3N, DCM, oda sıcaklığı; **c)** $LiOH.H_2O$, THF:su (1:1), Δ; **d)** 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda ısısı; **e)** asetik asit, Δ.

Şekil 5.8. Bileşik 50'nin sentez metodu

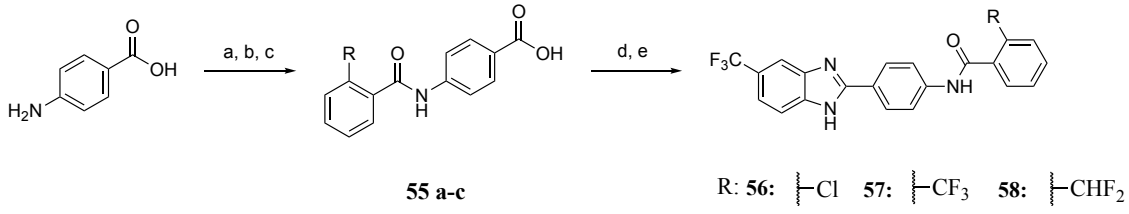
Etilen ara zincirinde metilen grubu yerine kükürt ve oksijen atomu getirilmesi amacıyla Bileşik **53** ve **54** sentezlenmiştir. 4-Nitrofenol veya 4-nitrotiyofenol, asetonitril içerisinde K_2CO_3 ve metilbromoasetat ile kaynatılarak Bileşik **51a-b** sentezlenmiştir. Bileşik **51a-b**, 2-klorobenzoilklorür ile Et_3N varlığında amitleştirilmiş, elde edilen ester türevinin hidrolizi ile **Bileşik 52a-b** elde edilmiştir. **Bileşik 52a-b**'den hareketle Bileşik **38**'in sentez metoduna göre Bileşik **53** ve **54** sentezlenmiştir (Şekil 5.9).



Reajan ve koşullar: **a)** 4-nitrofenol veya 4-nitrotiyofenol, AcCN, K_2CO_3, metilbromoasetat, Δ; **b)** Pd/C, MeOH, oda ısısı; **c)** 2-klorobenzoil klorür, Et_3N, DCM, oda sıcaklığı; **d)** $LiOH.H_2O$, THF:su, Δ; **e)** 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda ısısı; **f)** asetik asit, Δ.

Şekil 5.9. Bileşik 53 ve 54'ün sentez şeması

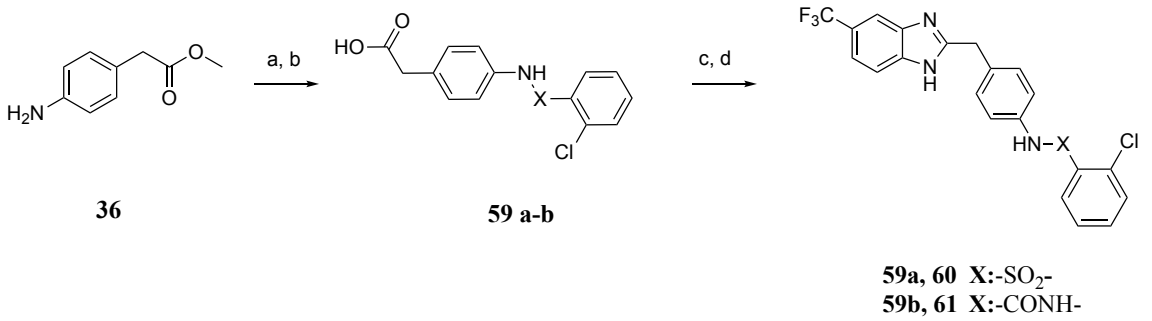
Aktivite sonuçları doğrultusunda Bileşik **38**, **40**, **41**'in metilen köprüsü taşımayan türevleri Bileşik **56**, **57** ve **58** sentezlenmiştir. Bu bileşikler 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin ve uygun asit türevlerinden hareketle Bileşik **38**'in sentez metoduna göre sentezlenmiştir (Şekil 5.10).



Reajan ve koşullar: **a)** H_2SO_4, MeOH, Δ; **b)** 55a için; 2-klorobenzoik asit, 55b için; 2-(triflorometil)benzoik asit veya 55c için; 2-(difloromethil)benzoik asit, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda ısısı; **c)** $LiOH.H_2O$, THF:su (1:1), Δ; **d)** 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda ısısı; **e)** asetik asit, Δ.

Şekil 5.10. Bileşik 56-58'in sentez şeması

2-klorobenzamit yapısında amit grubu izosteri olabilecek sülfonamit ve üre gruplarının yapıya eklemek amacıyla ise Bileşik **60** ve **61** sentezlenmiştir. 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin ve uygun asit türevlerinden hareketle Bileşik **38**'in sentez metoduna göre Bileşik **60** ve **61** sentezlenmiştir (Şekil 5.11).



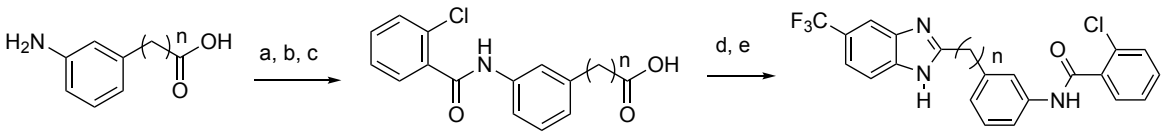
36 **59 a-b**

59a, 60 X:-SO_2-
59b, 61 X:-CONH-

Reajan ve koşullar: **a)** 59a için; 2-klorobenzensülfonil klorür, Et_3N, DCM, oda ısısı ve 59b için; 2-klorobenzen izosiyanat, DMF, oda ısısı; **b)** $LiOH.H_2O$, THF:su (1:1), Δ; **c)** 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda ısısı; **d)** asetik asit, Δ.

Şekil 5.11. Bileşik 60-61'in sentez şeması

Bir sonraki aşamada ise, 2-klorobenzamit grubunu fenil halkasının meta konumunda içeren, Bileşik **38** analoğu Bileşik **63** ve metilen köprüsü taşımayan Bileşik **56** analoğu Bileşik **64** sentezlenmiştir. Bu bileşikler 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin ve uygun asit türevlerinden hareketle daha önce verilen yöntemlere göre sentezlenmiştir (Şekil 5.12).



62 a-b

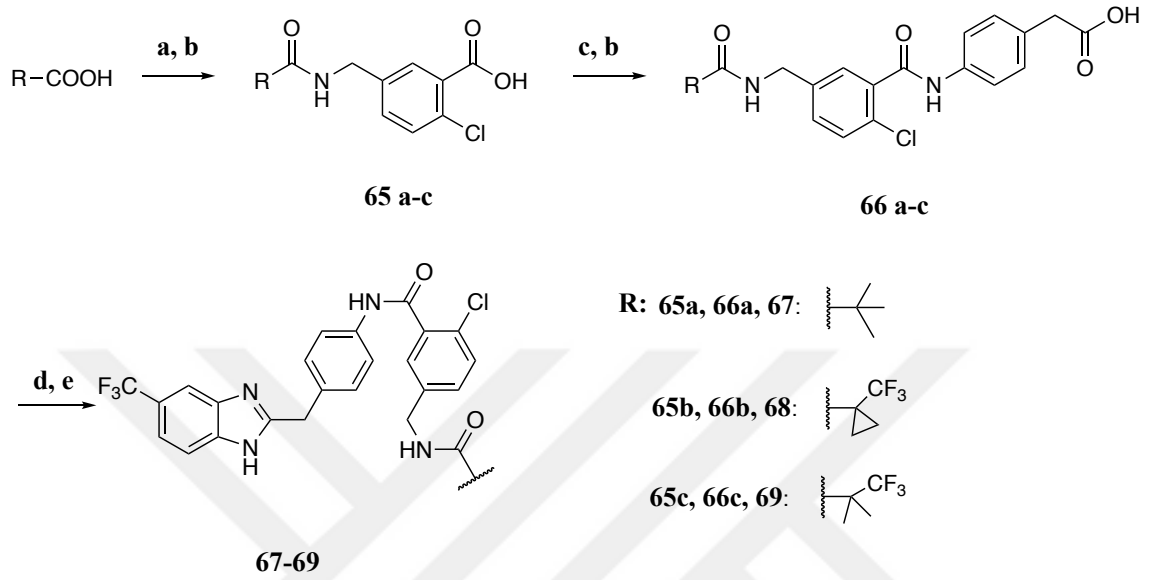
62a, 63 n: 1
62b, 64 n: 0

Reajan ve koşullar: a) H_2SO_4, MeOH, Δ; b) 62a için; 3-aminofenilasetik asit ve 62b için 3-aminobenzoik asit, 2-klorobenzoil klorür, Et_3N, DCM, oda sıcaklığı; c) $LiOH.H_2O$, THF:su (1:1), Δ; d) 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda ısısı; e) asetik asit, Δ.

Şekil 5.12. Bileşik 63-64'ün sentez şeması

Literatür bilgilerine dayanılarak son aşamada 2-sübstitüe benzamidin 5. konumunda pivalamidometil ve analogları sentezlenmiştir. **65a** bileşiği için pivalik asit, **65b** için 1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksilik asit ve **65c** için 3,3,3-trifloro-2,2-dimetil propionik asit bileşiklerinden $SOCl_2$ ile asit klorür türevleri elde edilmiştir, bu türevler metil 5-(aminometil)-2-klorobenzoat hidroklorür bileşiği ile Et_3N varlığında azot atmosferinde amitleştirilmiştir ve ester grubu hidroliz edilerek asit türevleri Bileşik **65a-c** elde edilmiştir.

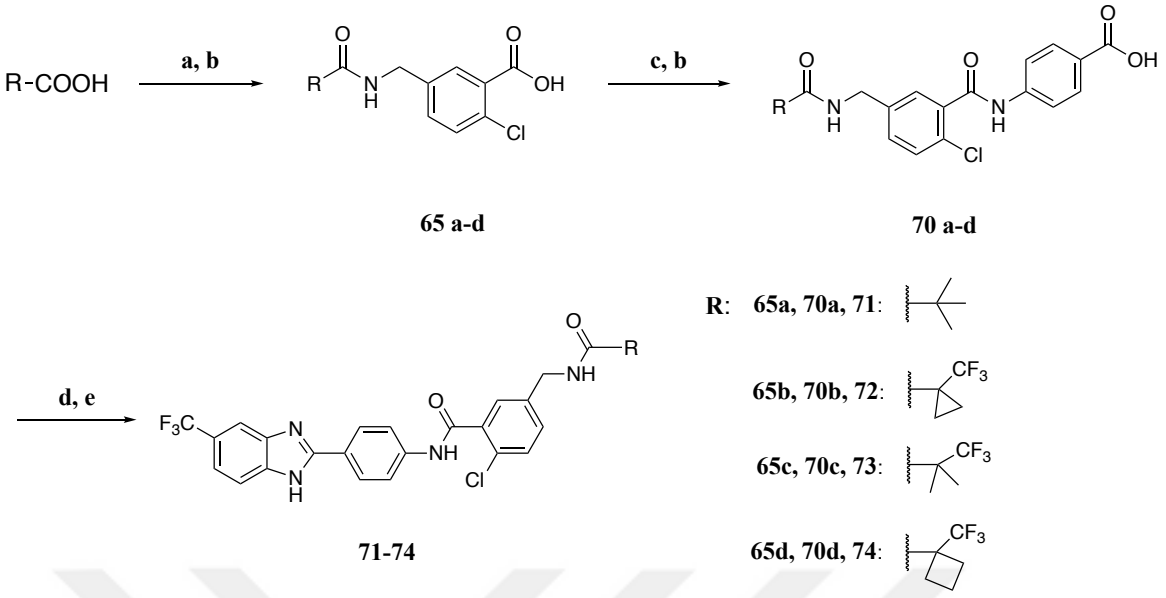
Bileşik **65a-c** ve metil 4-aminofenilasetat (**36**) EDC varlığında amitleştirilmiş, daha sonra ester grubu hidroliz edilerek Bileşik **66a-c** sentezlenmiştir. 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin ve Bileşik **66a-c**'den hareketle daha önce verilen yöntemlere göre Bileşik **67-69** sentezlenmiştir (Şekil 5.13).



Reajanlar ve koşullar: **a**) *i)* **65a** için Pivalik asit, **65b** için 1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksilik asit veya **65c** için 3,3,3-trifloro-2,2-dimetil propionik asit, $SOCl_2$, kat. DMF, DCM, 50ºC; *ii)* metil 5-(aminometil)-2-klorobenzoat HCl, Et_3N, DCM, oda sıcaklığı; **b**) $LiOH.H_2O$, THF:su (1:1), Δ; **c**) Bileşik 36, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda sıcaklığı; **d**) 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda sıcaklığı; **e**) AcOH, Δ.

Şekil 5.13. Bileşik 67-69'un sentez şeması

Metilen köprüsü taşımayan analogların sentezi için; **65 a-d** bileşikleri kullanılmış ayrıca **65d** bileşiğinin eldesi için 1-(triflorometil)siklobütan-1-karboksilik asitin asit klorürüne $SOCl_2$ ile geçilmiş, bu türev metil 5-(aminometil)-2-klorobenzoat hidroklorür bileşiği ile Et_3N varlığında amitleştirilmiş ve ester grubu hidroliz edilmiştir. Daha sonra Bileşik **65 a-d** ve metil 4-aminobenzoat EDC varlığında amitleştirilmiş, ester grubu hidroliz edilerek Bileşik **70a-d** sentezlenmiştir. 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin ve Bileşik **70a-d**'den hareketle daha önce verilen yöntemlere göre Bileşik **71-74** sentezlenmiştir (Şekil 5.14).

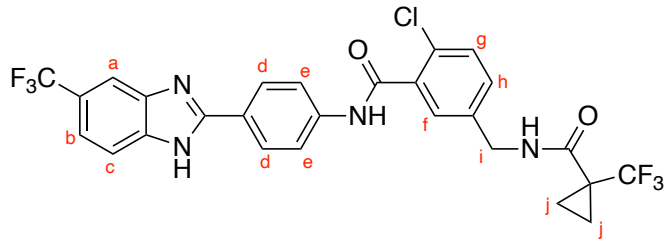


Reajanlar ve koşullar: **a**) **65a** için Pivalik asit, **65b** için 1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksilik asit, **65c** için 3,3,3-trifloro-2,2-dimetil propionik asit veya **65d** için 1-(triflorometil)siklobütan-1-karboksilik asit, $SOCl_2$, kat. DMF, DCM, 50ºC; *ii)* metil 5-(aminometil)-2-klorobenzoat HCl, Et_3N, DCM, oda sıcaklığı; **b**) $LiOH.H_2O$, THF:su (1:1), Δ; **c**) metil 4-aminobenzoat, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda sıcaklığı; **d**) 4-(triflorometil)benzen-1,2-diamin, EDC.HCl, DMAP, DCM, oda sıcaklığı; **e**) AcOH, Δ.

Şekil 5.14. Bileşik 71-74'ün sentez şeması

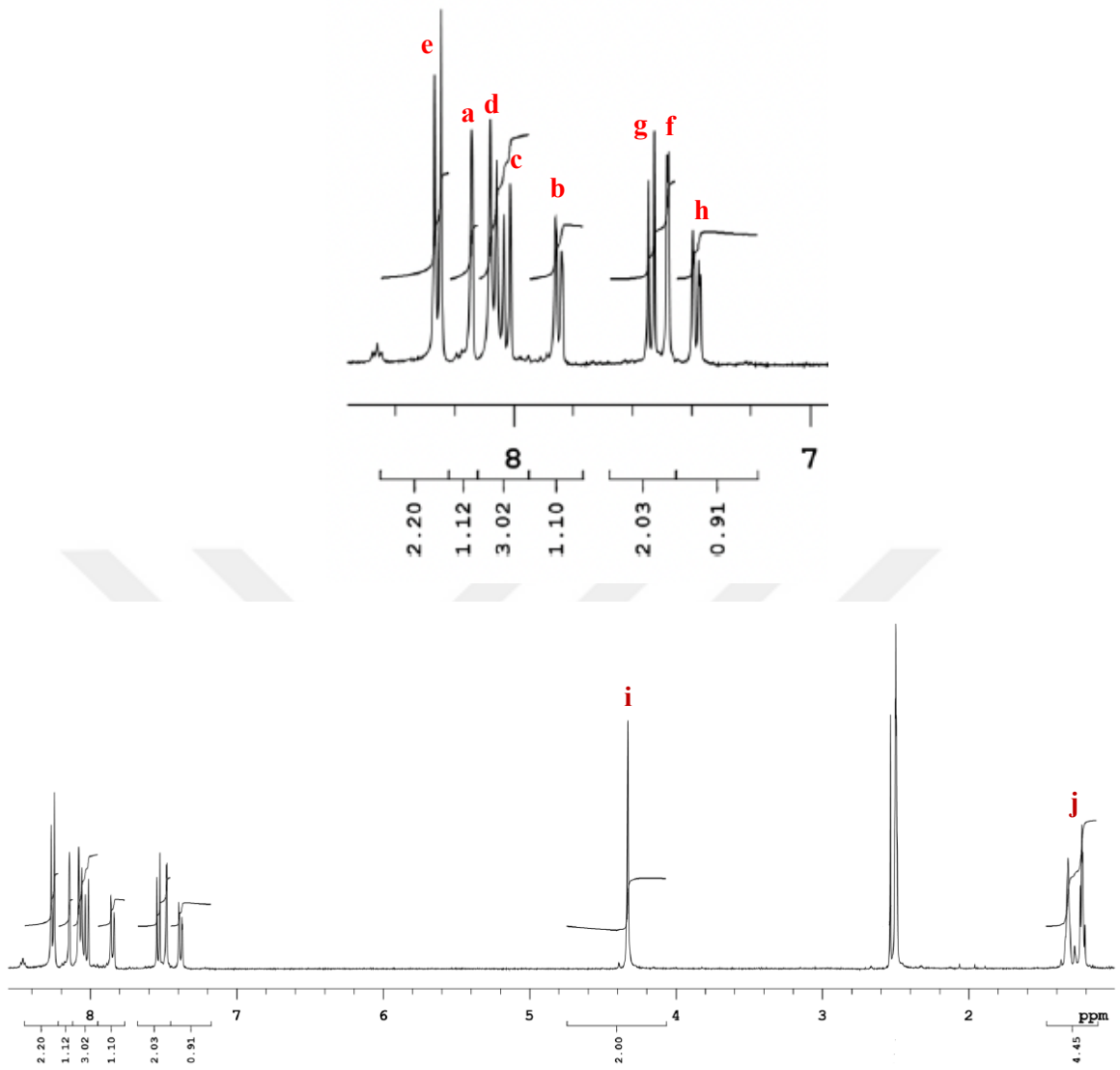
5.2. Yapı Aydınlatma Çalışmaları

Bu tez çalışmasında 42 orijinal final bileşik sentezlenmiş ve yapıları ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR spektrumları ve HRMS sonuçları ile aydınlatılmıştır.

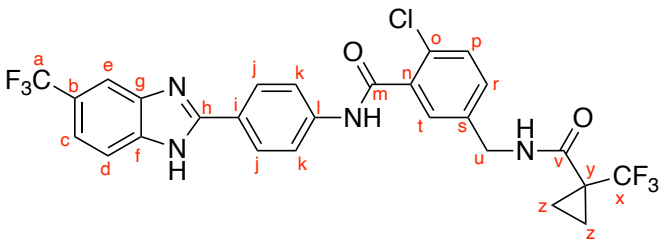


Şekil 5.15. Bileşik 72'ye ait hidrojenler

Final bileşiklerin yapıları ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR spektrumları ve HRMS sonuçları ile aydınlatılmıştır. Final ürün serisinden Bileşik **72**'nin 400 MHz frekansta DMSO-d_6+TFA solvanı içerisinde alınan ^{1}H-NMR spektrumunda; siklopropan halkasına ait 4 proton (j) 1.20-1.32 ppm'de multiplet olarak gözlenmiştir. Amidometil grubunun 2 protonu (i) 4.33 ppm'de singlet, bu grubun bağlı olduğu fenil halkası (h) protonu 7.38 ppm'de dubletin dubleti (J = 8.4, 1.6 Hz), (g) protonu 7.54 ppm'de dublet (J = 8.4 Hz) ve (f) protonu 7.48 ppm'de dublet (J = 1.6 Hz) olarak gözlenmiştir. Benzimidazolün 2. konumuna bağlı olan fenil halkasının, orto konumundaki protonları (d) 8.06 ppm'de dublet (J = 8.8 Hz) ve meta konumundaki protonları (e) protonları 8.25 ppm'de dublet (J = 8.8. Hz) olarak gözlenmiştir. Benzimidazol halkasının 4. konumunda bulunan (a) protonu 8.14 ppm'de singlet, 6. konumunda bulunan (b) protonu 7.85 ppm'de dublet (J = 8.4 Hz) ve 7. konumundaki (c) protonu 8.02 ppm'de dublet (J = 8.4 Hz) olarak gözlenmiştir (Şekil 5.15 ve Resim 5.1).



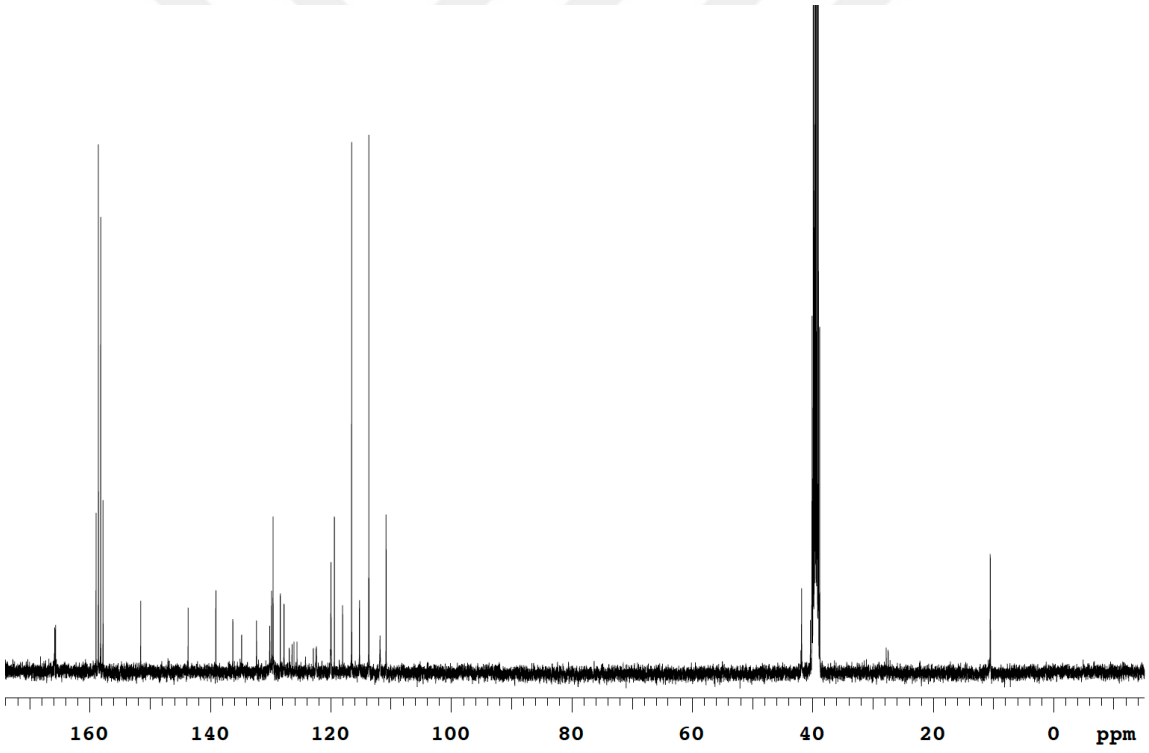
Resim 5.1. Bileşik 72'nin ^{1}H-NMR Spektrumu



Şekil 5.16. Bileşik 72'ye ait karbonlar

Bileşik **72**'nin 100 MHz frekansta DMSO-d_6+TFA solvanı içerisinde trifloroasetik asit (TFA) ile alınan ^{13}C-NMR spektrumunda; siklopropana ait z karbonları 10.5 ppm'de quartet ($^{3}J_{C\text{-}F}$ = 2.3 Hz), y karbonu 27.5 ppm'de quartet ($^{2}J_{C\text{-}F}$ = 32.0 Hz) olarak gözlenmiştir. Siklopropan halkasına bağlı CF_3 grubu karbonu (x) 124.4 ppm'de quartet ($^{1}J_{C\text{-}F}$ = 271.0 Hz), karbonil karbonu (v) 165.8 ppm'de gözlenmiştir. Bu yan zincirde amit grubuna bağlı metilen

karbonu (u) 41.8 ppm'de gözlenmiştir. 2-klorobenzamit fenil grubunun karbonları (n, o, p, r, s ve t); 127.8, 128.4, 129.8, 134.8, 136.3, 139.1 ppm'de ve fenil halkasının 1. konumuna bağlı olan amit bağının karbonil karbonu (m) 165.7 ppm'de gözlenmektedir. Benzimidazol 2. konumuna bağlı fenil halkasının karbonları (l, k, j ve i); 143.7, 129.6, 120.0 ve 122.4 ppm'de gözlenmektedir. Benzimidazol 2. konumundaki karbon (h) 151.6 ppm'de, 4. konumundaki karbon (e) 118.1 ppm'de quartet ($^{3}J_{C\text{-}F}$ = 4.8 Hz), 5. konumundaki karbon (b) 126.3 ppm'de quartet ($^{2}J_{C\text{-}F}$ = 32.0 Hz), 6. konumundaki karbon (c) 111.8 ppm'de quartet ($^{3}J_{C\text{-}F}$ = 3.45 Hz), 7. konumundaki karbon (d) 115.3 ppm'de, 8. konumdaki karbon (f) 130.2 ppm'de ve 9. konumdaki karbon (g) 132.4 ppm'de olduğu belirlenmiştir. Benzimidazole bağlı CF_3 grubunun karbonu (a) 124.3 ppm'de quartet ($^{1}J_{C\text{-}F}$ = 270.0 Hz) olarak belirlenmiştir. Trifloroasetik asit pikleri; 110.0-119.0 ppm'de quartet ve 157.0-159.0 ppm'de quartet olarak gözlenmiştir (Şekil 5.16 ve Resim 5.2).



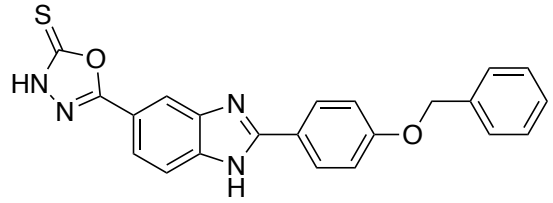
Resim 5.2. Bileşik 72'nin ^{13}C-NMR spektrumu

5.3. Biyolojik Çalışmalar ve Yapı Etki İlişkileri

5.3.1. *İn vitro* biyolojik aktivite çalışmaları

PGE_2 biyosentezi, sitozolik fosfolipaz A_2 ($cPLA_2$) ile araşidonik asit salınımı ile başlayıp ve AA, COX enzimleri ile PGG_2/PGH_2 ye dönüştürüldükten sonra PGH_2, mPGES-1, mPGES-2 veya cPGES enzimleri ile PGE_2'ye dönüştürülmektedir. Tez kapsamında enflamatuvar PGE_2 biyosentezini inhibe etmek için enflamatuvar süreçlerde eksprese edilen mPGES-1 enzimi inhibisyonunu sağlayacak bileşikler sentezlenmiştir. A549 hücre mikrozomları kullanılarak *in vitro* mPGES-1 inhibitör aktivite tayini yapılmıştır.

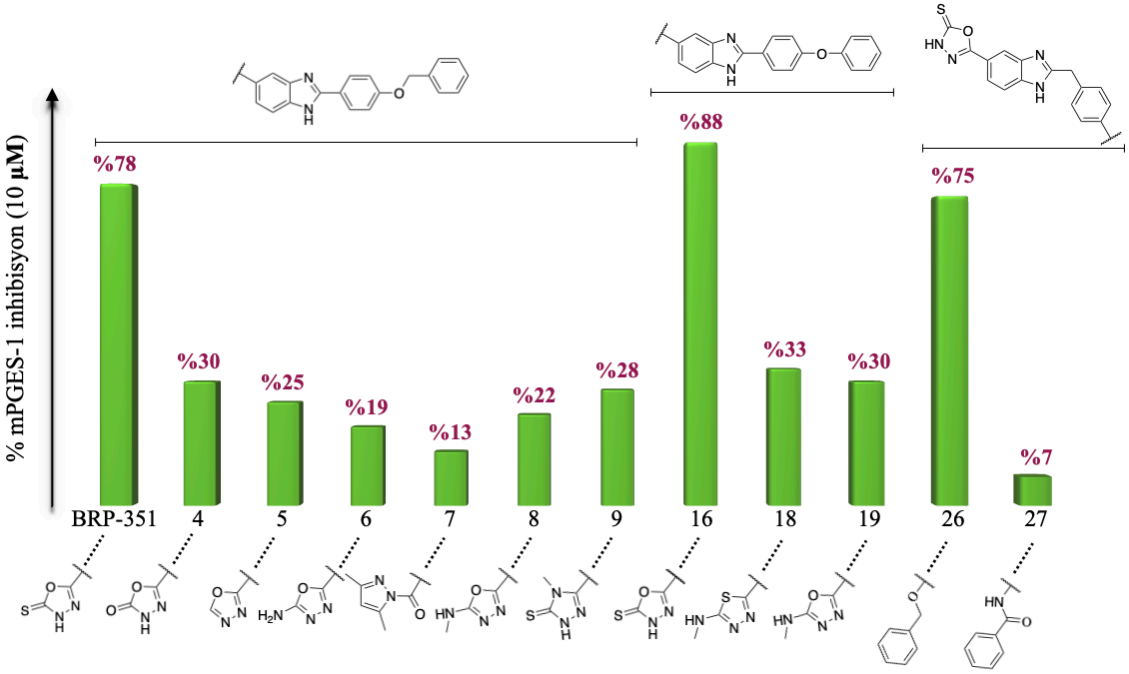
Tez çalışmasında, benzimidazol iskelet sistemini taşıyan iki ana molekül serisi bulunmaktadır. Birinci bileşik serisi, ön çalışmalarda tespit edilen potent mPGES-1 inhibitörü olan **BRP-351** öncü bileşiğinden hareketle tasarlanmıştır. Bu ilk seride benzimidazol analogları ve iki adet açık zincir analoğu olmak üzere 16 bileşik yer almaktadır. **BRP-351** (Şekil 5.17, IC_{50}= 30 nM) bileşiğinde ilk olarak benzimidazol halkasının 5. konumundaki oksadiyazoltiyon halkası yerine farklı heterosiklik halkalar taşıyan Bileşik **4-9** elde edilmiş ancak bu bileşikler 10 µM konsantrasyonda mPGES-1 ürün oluşumunu % 12-30 arası inhibe etmiş, **BRP-351** bileşiği kadar etkinlik gösteren bir bileşiğe erişilememiştir (Şekil 5.18). Daha sonra **BRP-351**'de benzimidazol halkasının azot atomunun metillendiği Bileşik **13**'de IC_{50} değeri 1.06 µM olarak tespit edilmiş ve aktivitede 35 kat düşüş yaşanmıştır (Çizelge 4.1).



BRP-351
IC_{50} = 30 nM

Şekil 5.17. BRP-351 öncü bileşiği

Daha sonra benzimidazol halkası 2. konumunda yer alan benziloksifenil yan zinciri, fenoksifenil ile değiştirilmiş ve bu değişiklik sonrasında aktivitenin korunduğu (**16**, IC_{50} = 30 nM) gözlenmiştir. Bileşik **16**'da benzimidazolün 5. konumunda iki farklı halka sistemi denenmiş (**18**, **19**) ancak bu bileşikler 10 µM konsantrasyonda % 33 ve 30 inhibisyon göstermiştir (Şekil 5.18).



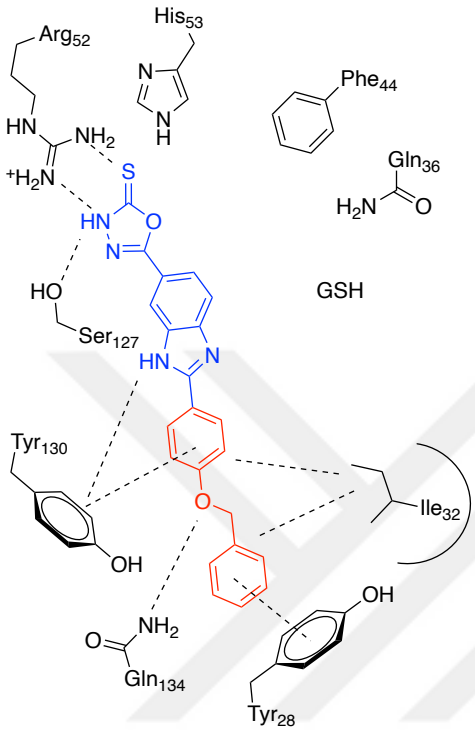
Şekil 5.18. Birinci seri bileşiklerin 10 µM konsantrasyonda % mPGES-1 inhibisyon değer grafiği

BRP-351 bileşiğinde benzimidazol halkası ve 2. konumdaki fenil arasında metilen köprüsü taşıyan Bileşik **26**'nın IC_{50} değeri 1.6 µM olarak tespit edilmiş Bileşik **26**'nın amit analoğu Bileşik **27**'de ise aktivite gözlenmemiştir (Şekil 5.18 ve Çizelge 4.1).

Bu serideki benzimidazol iskeleti taşıyan bileşiklerde çözünürlük sorunları ileri optimizasyon çalışmalarına engel olmuştur, bu seride son olarak benzimidazol halkasının aktivite için önemini gözlemlemek için pseudo halka yaklaşımından yola çıkarak Bileşik **34**'ün aktivitesi değerlendirilmiş, IC_{50} değeri 2.2 µM olarak tespit edilmiştir. Bu bileşikte flor atomu ve karbonil oksijeni arasında hidrojen bağı ile yapılan pseudo halkanın etkisini anlamak amacıyla hazırlanan ve flor taşımayan Bileşik **35**'in ise IC_{50} değeri benzer şekilde 2.5 µM olarak bulunmuştur. Bu bileşiklerde öncü bileşik **BRP-351**'e göre aktivitede kayıp olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Bu serideki bileşiklerin sentezi ve saflaştırılmasında yaşanan sorunların nedeninin aromatik bileşiklerin düzlemsel konjuge moleküler yapı göstermeleri ve yüksek erime noktasına (>250°C) yani yüksek kristal enerjisine sahip olmaları olabileceği düşünülmüştür. 218S555 kodlu TÜBİTAK 1001 projesi kapsamında yapılan moleküler modelleme çalışmalarında **BRP-351** kodlu bileşiğin mPGES-1 aktif bölgesine bağlanma modu incelendiğinde; arjinin (R52) aminoasiti ile hidrojen bağı etkileşimi, serin (S127) aminoasiti ile hidrojen bağı

etkileşimi, izolösin (I32) ile van der Waals etkileşimleri, tirozin (Y28 ve Y130) aminoasitleri ile π-π etkileşimleri ve glutamin (Q134) ile hidrojen bağı etkileşimleri yaptığı gözlenmektedir (Şekil 5.19) [177].

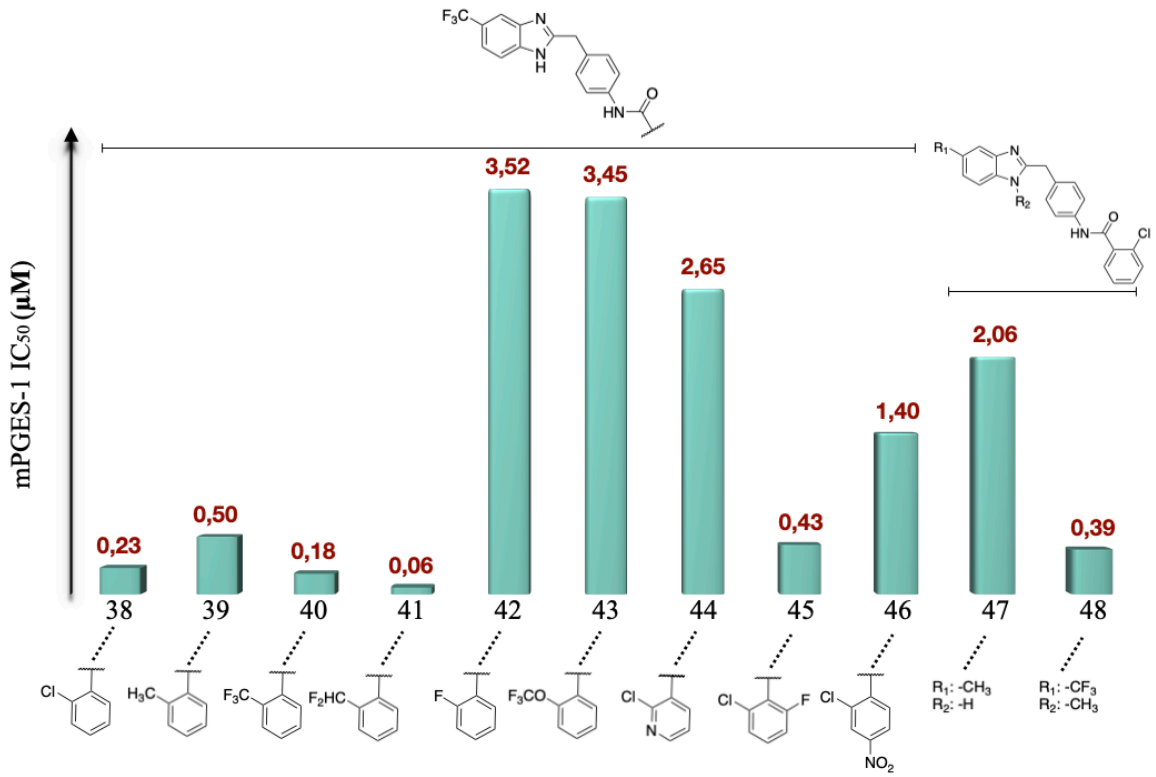


Şekil 5.19. BRP-351'in mPGES-1 aktif bölgesine bağlanma modu

İkinci seri bileşikler için mPGES-1 inhibitörlerinde rastlanan 2-klorobenzamit yapısı benzimidazol ana iskeletine 2. konumdaki fenil halkasının 4. konumu üzerinden bağlanmıştır. Bileşiklerin 2-klorobenzamit kısmının glutatyon üzerindeki aktif bölgeye yerleşeceği, benzimidazol halkasının membrana doğru yöneleceği hipotezi ile yeni bileşikler tasarlanmıştır. Bu amaçla tasarlanan Bileşik **38** (IC_{50} = 230 nM) geliştirilebilir aktiviteye sahip ilk bileşik olarak bulunmuştur (Şekil 5.20).

Bu bileşik üzerinde öncelikle 2-klorobenzamit kısmında klor yerine farklı sübstitütentlerin etkileri incelenmiştir. Klor yerine metil (**39**), triflorometil (**40**), diflorometil (**41**), flor (**42**), triflorometoksi (**43**) getirildiğinde bu bileşikler içinde Bileşik **40** (IC_{50} = 180 nM) ve **41** (IC_{50} = 60 nM) için aktivite iyileşmiştir, Bileşik **39**'da (IC_{50} = 500 nM) aktivite yaklaşık 2 kat azalmış ancak Bileşik **42** ve **43** için aktivitede büyük oranda kayıp yaşanmıştır (IC_{50} = 3.52 ve 3.45 µM). Bileşik **38**'de fenil yerine piridin taşıyan Bileşik **44**'de ise aktivitede azalma meydana gelmiştir (IC_{50} = 2.65 µM). Benzamit kısmında 2. konumda klorla birlikte 6.

konumda flor taşıyan Bileşik **45** için IC_{50} değeri 430 nM olarak tespit edilirken, 4. konumda nitro taşıyan bileşik **46** da aktivitede yine düşüş yaşanmıştır (Çizelge 4.3 ve Şekil 5.20).



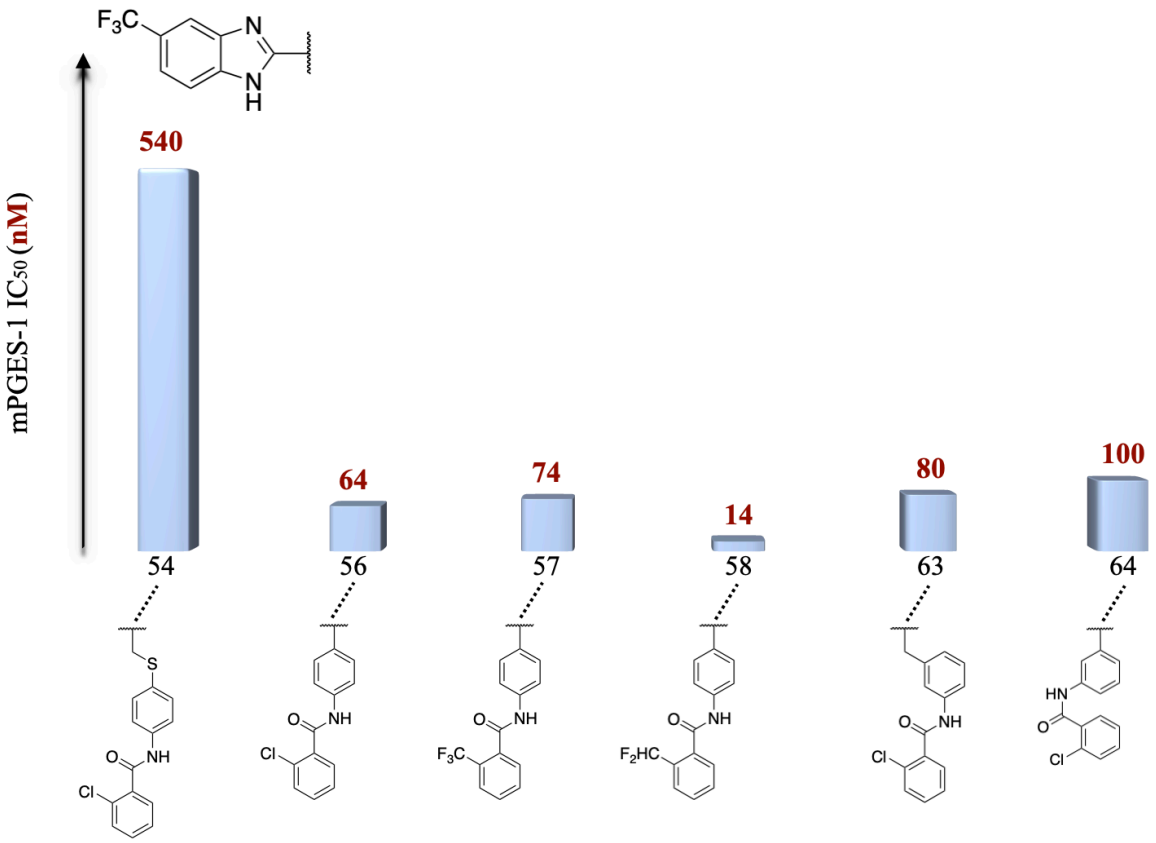
Şekil 5.20. Bileşik 38-46 ve 47-48'in mPGES-1 IC_{50} (µM) değer grafiği

38 numaralı bileşiğin 5. konumundaki triflorometil grubunun metil ile değiştirildiği Bileşik **47**'de aktivitenin 10 kat düştüğü gözlenmiştir (IC_{50} = 2.06 µM). Benzimidazol birinci konumdaki azotunun metillendiği Bileşik **48**'de ise aktivitenin 1,5 kat düştüğü (IC_{50} = 390 nM) belirlenmiştir (Şekil 5.20).

38 numaralı bileşiğin metilen grubunun, etilen (**50**), metilenoksi (**53**) ve metilentiyoksi (**54**) grupları ile değiştirilmesi sonucunda elde edilen bileşiklerden Bileşik **50** ve Bileşik **53** için 10 µM'da önemli bir inhibisyon gözlenmezken (Çizelge 4.4), Bileşik **54** için IC_{50} değeri 540 nM olarak tespit edilmiştir (Şekil 5.21).

Bileşik **38**'in metilen grubunun kaldırıldığı **56** numaralı bileşikte aktivitenin yaklaşık 4 kat arttığı (IC_{50} = 64 nM) tespit edilmiş ve daha önceki seride klor yerine triflorometil ve diflorometil getirilmesinin aktiviteye katkısı göz önüne alınarak Bileşik **56** için de aynı analoglar hazırlanmış ve aktiviteleri test edilmiştir. Triflorometil analoğu Bileşik **57** için

aktivite Bileşik **38**'e göre yaklaşık 3 kat artarken (IC_{50} = 74 nM), diflorometil analoğu Bileşik **58** için (IC_{50} = 14 nM), aktivitede 16 kat artış gözlenmiştir (Şekil 5.21).



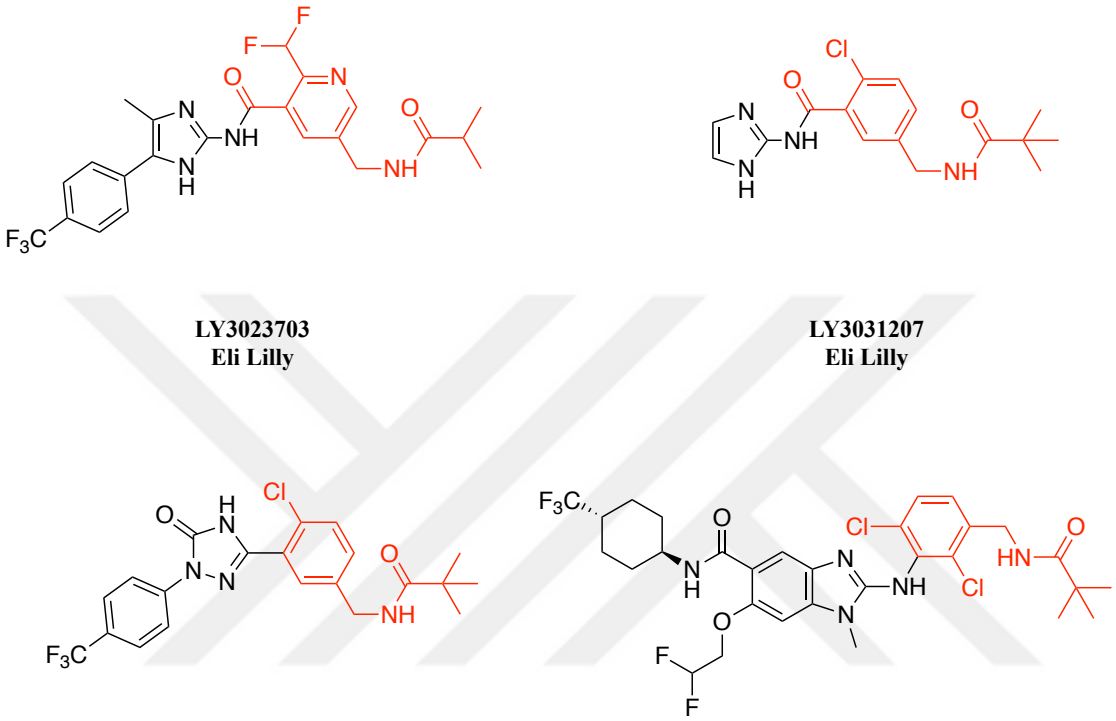
Şekil 5.21. Bileşik 54, 56-58 ve 63-64'ün mPGES-1 IC_{50} (nM) değer grafiği

Bileşik **38'**in amit grubunun aktivite için önemini belirlemek için amit yerine izosteri sülfonamit grubu getirilmiş Bileşik **60**'ın IC_{50} değeri 5.4 µM olarak tespit edilmiştir. Amit yerine üre grubu taşıyan Bileşik **61**'de ise 10 µM'da % 47 inhibisyonla aktivitede büyük oranda kayıp gözlenmiştir (Çizelge 4.4) .

Bileşik **38** ve **56** benzimidazol halkası ve 2-klorobenzamit yapısı ara fenil grubu üzerinde para konumlanmıştır, bu grupların meta konumlandığı türevler olan Bileşik **63** ve **64**'ün aktivite sonuçlarına bakıldığında Bileşik **38**'in meta konumlu analoğunda aktivite yaklaşık 3 kat iyileşmiş (**63,** IC_{50} = 80 nM), Bileşik **56**'nın meta analoğunda ise aktivitede bir miktar düşüş olmuştur (**64,** IC_{50} = 100 nM) (Şekil 5.21).

Tez kapsamında yapı aktivite ilişkisini anlamaya yönelik yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen Bileşik **56** (IC_{50} = 64 nM) ve onunla sonuçları kıyaslamak amacıyla serinin başlangıç

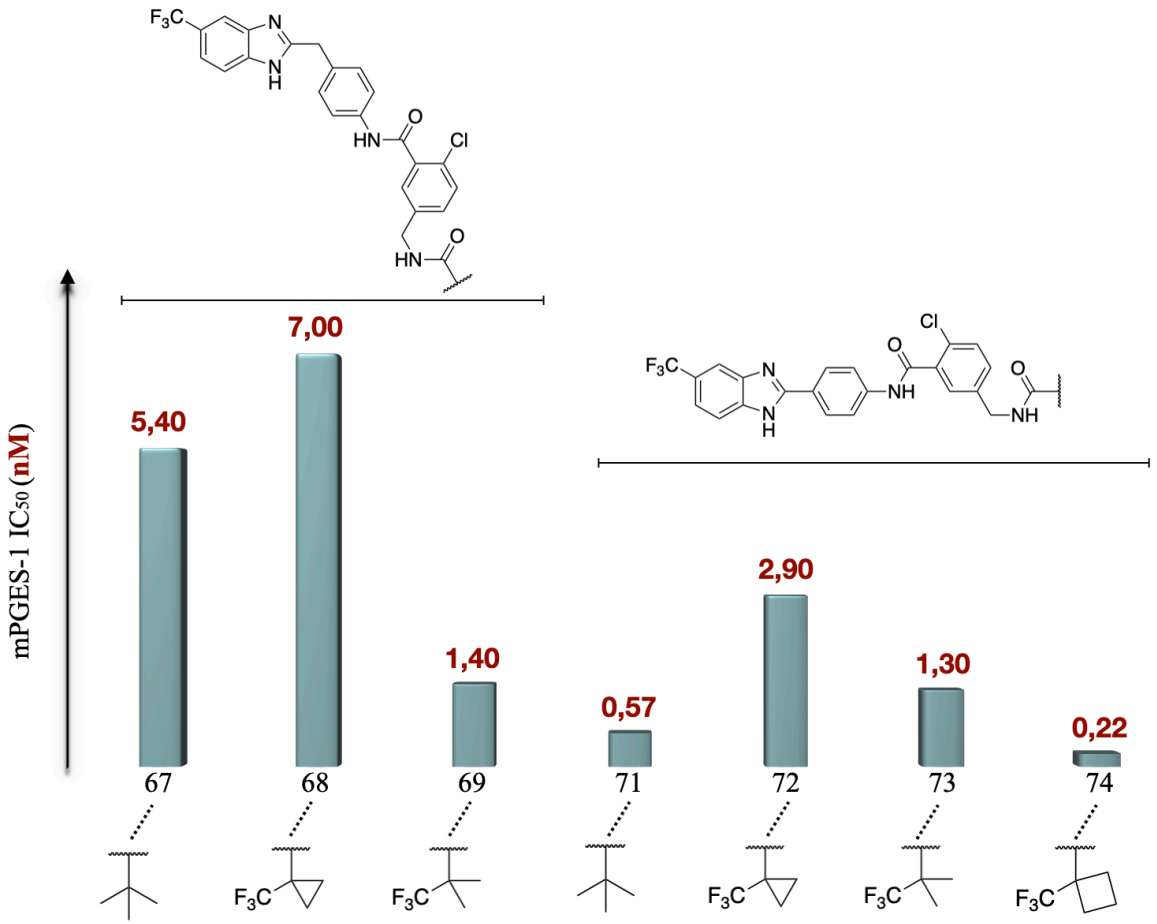
bileşiği Bileşik **38**'in **(**IC_{50} = 230 nM) yapıları korunarak bir sonraki aşamada klinik denemelere giren mPGES-1 inhibitörleri (Şekil 5.22) yapısında yer alan fragmanlar göz önüne alınarak ve bilinen ligandların kristal yapıları incelenerek 2-klorobenzamit halkasının 5. konumuna amidometil grupları getirilmiştir.



Şekil 5.22. Klinik çalışmalara girmiş olan mPGES-1 inhibitörleri

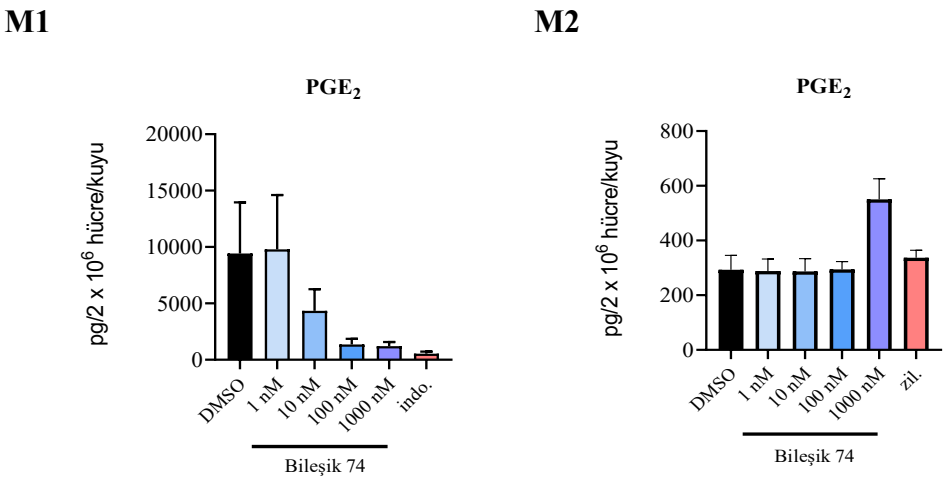
Bileşik **38** türevi bileşiklerde klorobenzamit halkası 5. konumunda pivaloilamidometil taşıyan Bileşik **67** 5.4 nM**,** (1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksamido)metil taşıyan Bileşik **68** 7 nM ve (3,3,3-trifloro-2,2-dimetilpropanamido)metil taşıyan Bileşik **69** 1.4 nM IC_{50} değeri ile mPGES-1 ürün oluşumunu inhibe etmiştir. Bu gruplar getirildiğinde aktivitede önemli ölçüde artış sağlamıştır. Bileşik **56** türevi olarak hazırlanan Bileşik **71-74** numaralı bileşikler için de sırasıyla pivalamidometil, (1-(triflorometil)siklopropan-1-karboksamido)metil, (3,3,3-trifloro-2,2-dimetilpropanamido)metil ve (1-(triflorometil)siklo bütan-1-karboksamido)metil grupları getirilmiştir. Bu bileşikler ile tez kapsamındaki en aktif analoglara ulaşılmıştır. Bileşik **71** için 0.57 nM, Bileşik **72** için 2.9 nM, Bileşik **73** için 1.3 nM ve Bileşik **74** için 0.22 nM IC_{50} değeri ile Bileşik **38** ve **56**'dan oldukça aktif türevlere ulaşılmıştır. Bu bileşiklerin daha etkili inhibitörler olmasının nedeninin yapıya kazandırılan

ikinci amit grubunun glutaminle yaptığı hidrojen bağı etkileşimleri olduğu düşünülmektedir (Şekil 5.23).



Şekil 5.23. Bileşik 67-69 ve 71-74'ün mPGES-1 IC_{50} (nM) değerleri grafiği

İnsan monosit türevi makrofajlar *S. aureus*'a maruz kaldığında enflamatuvar lökotrien ve prostaglandinlerin üretimi M1 makrofajlarda artmakta iken özel enflamasyon azaltıcı lipid mediatörleri (SPM, specialized pro-resolving lipid mediators) ve diğer 15-LOX ürünleri biyosentezi M2 makrofajlarda artmaktadır [163]. En potent özellikteki Bileşik **74**'ün (IC_{50} = 0.22 nM), proenflamatuvar M1 ve antienflamatuvar M2 makrofajlarındaki 25 lipid mediatörü üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bileşik **74,** mPGES-1'i güçlü bir şekilde eksprese eden insan M1 makrofajlarında doz bağımlı olarak (1 nM-1 µM) PGE_2 oluşumunu baskılarken, M2 makrofajlarında PGE_2 seviyelerini etkilemediği gözlenmiştir. Lipid mediatörler üzerindeki etkisi incelendiğinde M1 makrofajlarında oldukça selektif olarak PGE_2 üretimini baskıladığı bulunmuştur (Şekil 5.24 ve 4.1).



Şekil 5.24. Bileşik 74 uygulamasını takiben proenflamatuvar insan M1 ve antienflamatuvar M2 makrofajlarında PGE_2 seviyeleri

Bileşik **74**'ün insan periferal kan mononükleer hücrelerinde (PBMC) etkili bir şekilde PGE_2 seviyelerini baskıladığı ve TxB_2 ürün oluşumunu etkilemediği tespit edilmiştir. Ayrıca insan tam kan hücrelerinde LPS ve SACM ile indüklenen enflamasyon hücre modellerinde Bileşik **74** (10 µM) uygulandığı durumlarda PGE_2 ve TxB_2 oluşumu incelenmiştir. LPS ve SACM verilerek indüklenme öncesinde bileşik verilmeyen kontrol grubu ile, LPS veya SACM öncesi Bileşik **74**'ün verildiği gruplar arası farka bakıldığında PGE_2 oluşumu baskılanırken TxB_2 için bir değişiklik oluşturmadığı gözlenmektedir (Şekil 4.2).

Bir sonraki aşamada makrofajlara karşı Bileşik **74**'ün sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla MTT ve LDH salınımı deneyi yapılmıştır. Laktat dehidrojenaz (LDH), canlı hücrelerde olan bir enzim olup hücre bütünlüğü bozulduğunda hücreden dışarı sızmaktadır. Makrofajlarda Bileşik **74**'ün artan dozlarında LDH salınımında bir artış gözlenmemiştir. MTT testlerinde tetrazolyum tuzları yalnızca canlı hücrelerin mitokondrilerinde parçalanarak mor renkli formazan bileşiğini açığa çıkarmaktadır. Bileşik **74** için MTT deneyinde makrofajlarda kontrol grubuna eşdeğer sonuçlar gözlenmiştir, her iki deney sonucuna göre makrofajlara karşı sitotoksisite gözlenmemiştir (Şekil 4.3).

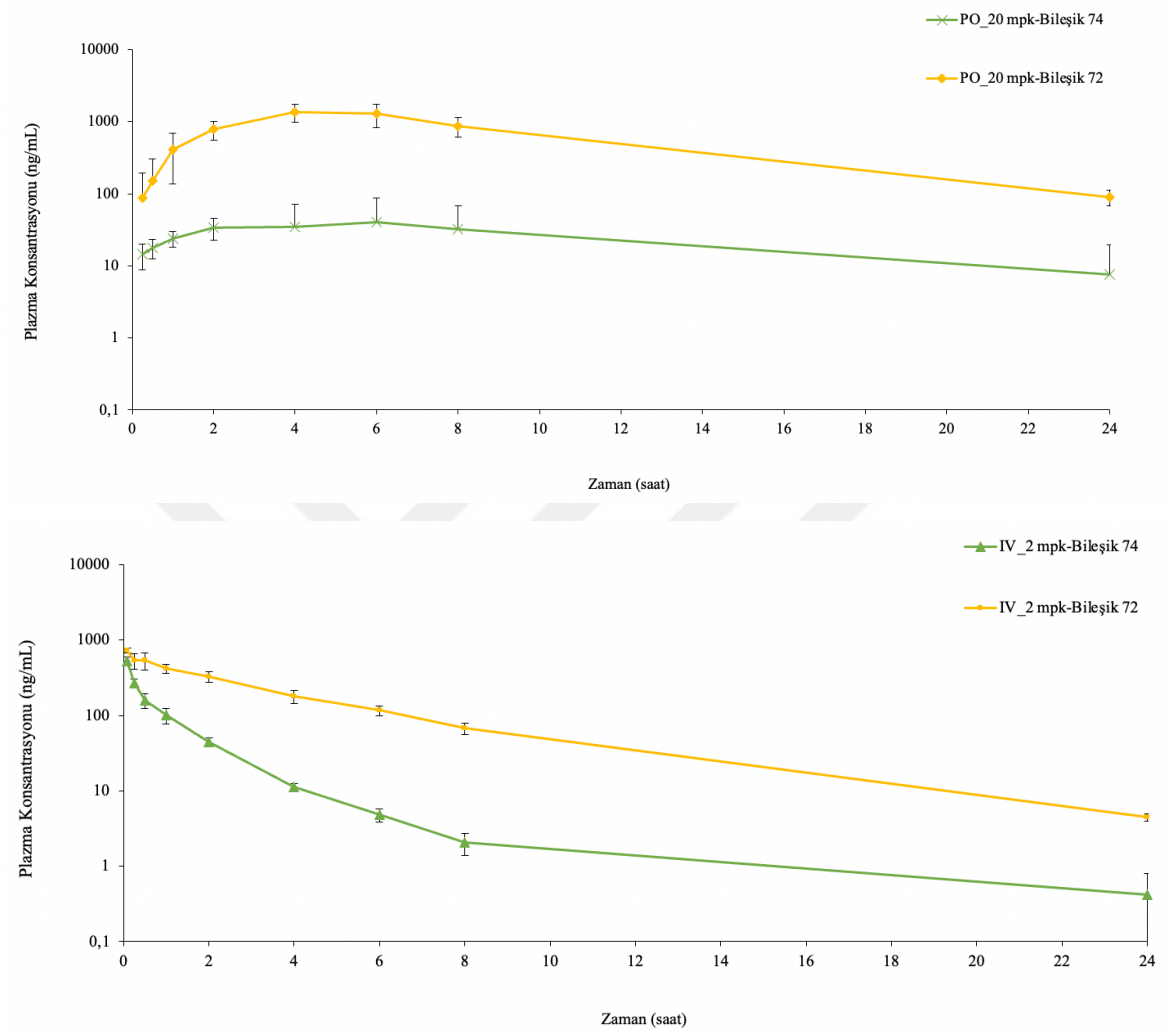
5.3.2. *İn vitro* ADME ve *in vivo* farmakokinetik çalışmalar

İn vitro biyolojik aktivite çalışmalarının devamında, en potent bileşik olan Bileşik **74**'ün ileri ön klinik çalışmalara taşınması amacıyla kobay modelinde *in vitro* ADME ve *in vivo* farmakokinetik çalışmalar hizmet alımı ile Pharmaron firması tarafından yapılmıştır. Sonuçlara göre, Bileşik **74**'ün $logD_{7.4}$ değerinin 5'in üzerinde olduğu, bileşiğin lipofilik olduğu bulunmuştur. Gastrointestinal sistemin farklı pH ortamlarında SIF (simüle edilmiş intestinal sıvı) ve SGF'da (simüle edilmiş gastrik sıvı) yapılan çözünürlük deneyinde 20 µM ve 76 µM ile düşük suda çözünürlük gösterdiği ve fizyolojik pH'da 1 µM'dan az çözündüğü tespit edilmiştir. Bileşik **74**'ün insan ve kobay plazma proteinlerine (% 99) yüksek oranda bağlandığı gösterilmiştir. Bileşiğin kobay karaciğer mikrozomlarında hızla metabolize olduğu ($t_{1/2}$ = 8.5 dk) ve *in vivo* klirens değerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kobayda 20 mg/kg oral dozda uygulandığında biyoyararlanımı % 16 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.5 ve 4.7)

Bu sonuçlara göre, oldukça potent ve selektif etki gösteren Bileşik **74**'teki ADME/FK özelliklerindeki yetersizlikler nedeniyle bu molekülün seçilen analoglarının kobay karaciğer mikrozomlarındaki *in vitro* metabolik stabiliteleri incelenmiştir. Bileşik **69** ve **73**'ün metabolik stabilitelerine bakıldığında Bileşik **69** için $t_{1/2}$ 49.3 dk, Bileşik **73** için ise $t_{1/2}$ 103.1 dk olarak tespit edilmiştir. Bu iki türevin kimyasal yapıları arasındaki fark Bileşik **69**'un benzimidazol halkasının 2. konumunda metilen köprüsü taşımasıdır ve bu durumun metabolik stabiliteyi azalttığı söylenebilir. Bileşik **72**'nin ise yarılanma ömrünün oldukça uzun olduğu ($t_{1/2}$ >184.8 dk) bulunmuştur. **72**, **73** ve **74** bileşiklerinin kimyasal yapıları arasındaki fark ise amidometil grubunda bulunan siklopropan, geminal dimetil ve siklobütan yapılarıdır. Bu sonuçlar incelendiğinde Bileşik **74**'ün metabolik olarak dayanıksız olmasının sebebinin amidometil kısmındaki siklobütan grubu olduğu anlaşılmaktadır. Bu bileşiklerin yarılanma ömürlerinin ve hepatik klirenslerinin Bileşik **74**'ten daha iyi olduğu bulunmuştur. Bu bileşikler içinde Bileşik **72** hem yarılanma ömrü hem klirens hem de aktivitesi (IC_{50} 2.9 nM) ile ileri *in vivo* hayvan deneyleri için seçilmiştir. Bu amaçla Bileşik **72**'nin kobayda *in vivo* farmakokinetik özellikleri araştırılmış ve 20 mg/kg oral dozda uygulandığında biyoyararlanımı % 60.8 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6 ve 4.8).

Bileşik **72** ve **74**'ün kobaylarda oral (20 mg/kg) uygulama sonrası ortalama plazma konsantrasyon-zaman grafikleri karşılaştırıldığında Bileşik **72**'nin daha iyi bir profil sergilediği, C_{max} değerinin ve tüm saatlerde plazma konsantrasyonunun Bileşik **74**'den daha

yüksek olduğu gözlenmektedir. Aynı şekilde i.v. (2 mg/kg) uygulama sonrasında da Bileşik **72**'nin tüm zaman dilimlerinde plazma konsantrasyonu daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 5.25).



Şekil 5.25. Bileşik 72 ve 74'ün kobaylara oral (20 mg/kg) ve IV (2 mg/kg) uygulama sonrası ortalama plazma konsantrasyon-zaman grafiği

5.3.3. Bileşik 72'nin *in vivo* biyolojik aktivite çalışmaları

İn vivo hayvan deneylerinde antienflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkileri kobaylarda test edilmiştir. Antienflamatuvar aktivitesinin değerlendirilmesi için kobayda karagenin ile indüklenmiş pençe ödemi testi yapılmıştır. Bileşik **72**, 10 ve 30 mg/kg dozlarda, indometazin ise 10 mg/kg dozda oral olarak uygulanmıştır. Deney sonuçlarına göre Bileşik **72**, 60 ve 180. dakikada indometazinle benzer oranda ödem hacmini azaltırken ve 240. dakikada 10 mg/kg dozda antienflamatuvar etkisi indometazine yakınken, 30 mg/kg dozda antienflamatuvar etkisi indometazin grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Şekil 4.4 ve 4.5).

Bileşiğin analjezik etkisini değerlendirmek amacıyla mekanik hiperaljezi testinde Bileşik **72** 10 ve 30 mg/kg dozda, indometazin ise 10 mg/kg dozda uygulanmıştır. Bu deneyde karagenin uygulamasından sonra kobaylarda pençe ağrı eşikleri azalmış, indometazin ve Bileşik **72** uygulanan kobayların pençe ağrı eşikleri ise düşmemiştir. Bileşik **72**'nin her iki dozunda da tüm ölçüm saatlerinde pençe ağrı eşikleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuş ve güçlü bir analjezik etki gösterdiği saptanmıştır. İndometazin ile 30 mg/kg dozda Bileşik **72**'nin analjezik etki bakımından benzer profile sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.6 ve 4.7).

Bileşiğin antipiretik etkisinin değerlendirilmesi için **72**, 30 mg/kg dozda indometazin ise 10 mg/kg dozda uygulanmıştır. Bu deneyde LPS uygulamasından önce tüm kobayların bazal rektal sıcaklıkları ölçülmüştür ve belirli saatlerde (60, 120, 180 ve 240. dk) yapılan ölçümlerle ΔT (°C) değerleri hesaplanmıştır. Bileşik **72**, 120. dakikadan itibaren güçlü antipiretik etki göstermektedir. Bileşik **72**'nin antipiretik etkisinin indometazinden daha güçlü ve uzun süreli olduğu görülmüştür (Şekil 4.8 ve 4.9).

Bileşiğin ülserojenik etkisini değerlendirmek amacıyla analjezik ve antienflamatuvar aktivite deneyleri sonrası kobaylardan toplanan midelerde Bileşik **72**'nin midede peteşi ve ülsere neden olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.10). Aynı zamanda bu deneylerden sonra bileşiğin akut karaciğer toksisitesini değerlendirmek amacıyla Bileşik **72** (30 mg/kg), indometazin (10 mg/kg) ve kontrol gruplarından toplanan plazma örneklerinde AST, ALT ve ALP düzeyleri ölçülmüştür. AST ve ALT düzeyleri tüm gruplarda benzer iken ALP düzeyi indometazin grubunda kontrol ve Bileşik **72** grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bileşik **72** uygulamasının plazma ALT, AST ve ALP düzeylerine bir etkisi gözlenmemiştir (Şekil 4.10).

Sonuç olarak Bileşik **72**'nin *in vivo* hayvan deneylerinde analjezik, antienflamatuvar ve antipiretik etkinliği gösterilmiş ve ülserojenik etkisinin olmadığı ve karaciğer enzimlerini etkilemediği tespit edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında yeni mPGES-1 inhibitörü bileşiklerin geliştirilmesi amacıyla IC_{50} değeri 30 nM olan **BRP-351** öncü bileşiğinden yola çıkılarak benzimidazol ana yapısı taşıyan iki seri bileşik sentezlenmiş ve yapı etki ilişkileri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ilk seri bileşiklerde sadece Bileşik **16** öncü bileşikle aynı aktiviteyi göstermiş bu nedenle ileri optimizasyonlarına devam edilmemiştir. İkinci seri benzimidazol türevlerinin öncü bileşiği **38,** 230 nM IC_{50} değeri ile yeni bileşiklerin dizayn edilmesinde temel oluşturmuştur. 2-sübstitüe benzamit taşıyan türevlerde klor yerine triflorometil veya diflorometil getirilmesi aktiviteyi artırmış, benzimidazol ve fenil halkası arasındaki metilen köprüsünün kaldırılması ise bu üç türevde aktiviteyi yaklaşık 3-16 kat artırmıştır. Bileşiklerin terminal fenil halkasının 5. konumuna amidometil türevlerinin eklenmesi ile oldukça potent mPGES-1 inhibitörlerine ulaşılmıştır.

Sentezlenen bileşikler içinde en aktif olan Bileşik **74**'ün IC_{50} değeri 0.22 nM olarak belirlenmiştir. Yapılan ileri farmakolojik deneylerde Bileşik **74**'ün, mPGES-1'i güçlü bir şekilde eksprese eden proenflamatuvar insan M1 makrofajlarında PGE_2 oluşumunu doz bağımlı olarak baskıladığı, mPGES-1'i eksprese etmeyen antienflamatuvar M2 makrofajlarında PGE_2 seviyelerini etkilemediği, M1 ve M2 makrofajlarındaki 25 lipid mediatörü arasında PGE_2 üretimini selektif olarak baskıladığı, insan periferik kan mononükleer hücrelerinde ve insan tam kanında PGE_2 seviyeleri baskıladığı belirlenmiştir. Ancak Bileşik **74** kobay karaciğer mikrozomlarında düşük metabolik stabilite göstermiş ($t_{1/2}$ = 8.5 dk) ve kobayda oral biyoyararlanımı % 16 olarak tespit edilmiştir. Bu nedenle in vivo hayvan deneyleri için kobay karaciğer mikrozomlarında yüksek metabolik stabilite gösteren ($t_{1/2}$ >184.8 dk) ve oral biyoyararlanımı % 60.8 olan Bileşik **72** (IC_{50} = 2.9 nM) seçilmiştir. Bileşik **72**'nin kobaylarda *in vivo* antienflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkisi gösterilmiştir.

Sonuç olarak tez kapsamında sentezlenen bileşikler arasından Bileşik **72**'nin mPGES-1 inhibitörü ilaç geliştirilmesi çalışmaları için umut vadettiği ortaya konulmuştur. İleriki dönemde Bileşik **72** analoglarının ilaç benzeri özelliklerini, *in vivo* farmakokinetik özelliklerini iyileştirmek üzere türevlerinin hazırlanması planlanmıştır. Bu tez kapsamında elde edilen veriler ışığında ön klinik çalışmalara aday bileşik geliştirilebileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Côté, B., Boulet, L., Brideau, C., Claveau, D., Ethier, D., Frenette, R., Gagnon, M., Giroux, A., Guay, J., Guiral, S., Mancini, J., Martins, E., Massé, F., Méthot, N., Riendeau, D., Rubin, J., Xu, D., Yu, H., Ducharme, Y., and Friesen, R. W. (2007). Substituted phenanthrene imidazoles as potent, selective, and orally active mPGES-1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 17(24), 6816-6820.

2. Giroux, A., Boulet, L., Brideau, C., Chau, A., Claveau, D., Côté, B., Ethier, D., Frenette, R., Gagnon, M., Guay, J., Guiral, S., Mancini, J., Martins, E., Massé, F., Méthot, N., Riendeau, D., Rubin, J., Xu, D., Yu, H., Ducharme, Y., and Friesen, R. W. (2009). Discovery of disubstituted phenanthrene imidazoles as potent, selective and orally active mPGES-1 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett,* 19(20), 5837-5841.

3. Wang, J., Limburg, D., Carter, J., Mbalaviele, G., Gierse, J., and Vazquez, M. (2010). Selective inducible microsomal prostaglandin E(2) synthase-1 (mPGES-1) inhibitors derived from an oxicam template. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 20(5), 1604-1609.

4. Huang, M., Stolina, M., Sharma, S., Mao, J. T., Zhu, L., Miller, P. W., Wollman, J., Herschman, H., and Dubinett, S. M. (1998). Non-small cell lung cancer cyclooxygenase-2-dependent regulation of cytokine balance in lymphocytes and macrophages: Up-regulation of interleukin 10 and down-regulation of interleukin 12 production1. *Cancer Research,* 58(6), 1208-1216.

5. Koeberle, A., and Werz, O. (2015). Perspective of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 as drug target in inflammation-related disorders. *Biochemical Pharmacology,* 98(1), 1-15.

6. Mitchell, J. A., Belvisi, M. G., Akarasereenont, P., Robbins, R. A., Kwon, O. J., Croxtall, J., Barnes, P. J., and Vane, J. R. (1994). Induction of cyclo-oxygenase-2 by cytokines in human pulmonary epithelial cells: Regulation by dexamethasone. *British Journal Pharmacology,* 113(3), 1008-1014.

7. Banerjee, A., Pawar, M. Y., Patil, S., Yadav, P. S., Kadam, P. A., Kattige, V. G., Deshpande, D. S., Pednekar, P. V., Pisat, M. K., and Gharat, L. A. (2014). Development of 2-aryl substituted quinazolin-4(3h)-one, pyrido[4,3-d]pyrimidin-4(3h)-one and pyrido[2,3-d]pyrimidin-4(3h)-one derivatives as microsomal prostaglandin E(2) synthase-1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 24(20), 4838-4844.

8. Funk, C. D. (2001). Prostaglandins and leukotrienes: Advances in eicosanoid biology. *Science,* 294(5548), 1871-1875.

9. Jakobsson, P. J., Thorén, S., Morgenstern, R., and Samuelsson, B. (1999). Identification of human prostaglandin E synthase: A microsomal, glutathione-dependent, inducible enzyme, constituting a potential novel drug target. *Proceedings National Academy Sciences USA,* 96(13), 7220-7225.

10. Murakami, M., and Kudo, I. (2004). Recent advances in molecular biology and physiology of the prostaglandin E2-biosynthetic pathway. *Progress in Lipid Research,* 43(1), 3-35.

11. Murakami, M., Naraba, H., Tanioka, T., Semmyo, N., Nakatani, Y., Kojima, F., Ikeda, T., Fueki, M., Ueno, A., Oh, S., and Kudo, I. (2000). Regulation of prostaglandin E2 biosynthesis by inducible membrane-associated prostaglandin E2 synthase that acts in concert with cyclooxygenase-2. *Journal of Biological Chemistry,* 275(42), 32783-32792.

12. Santos Nascimento, I. J. D., De Aquino, T. M., and Da Silva Júnior, E. F. (2022). Computer-aided drug design of anti-inflammatory agents targeting microsomal prostaglandin E2 synthase-1 (mPGES-1). *Current Medicinal Chemistry*.

13. Cheng, Y., Wang, M., Yu, Y., Lawson, J., Funk, C. D., and Fitzgerald, G. A. (2006). Cyclooxygenases, microsomal prostaglandin E synthase-1, and cardiovascular function. *Journal of Clinical Investigation,* 116(5), 1391-1399.

14. Murata, T., Ushikubi, F., Matsuoka, T., Hirata, M., Yamasaki, A., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., Aze, Y., Tanaka, T., Yoshida, N., Ueno, A., Oh-Ishi, S., and Narumiya, S. (1997). Altered pain perception and inflammatory response in mice lacking prostacyclin receptor. *Nature,* 388(6643), 678-682.

15. Ogino, N., Miyamoto, T., Yamamoto, S., and Hayaishi, O. (1977). Prostaglandin endoperoxide e isomerase from bovine vesicular gland microsomes, a glutathione-requiring enzyme. *Journal of Biological Chemistry,* 252(3), 890-895.

16. Portanova, J. P., Zhang, Y., Anderson, G. D., Hauser, S. D., Masferrer, J. L., Seibert, K., Gregory, S. A., and Isakson, P. C. (1996). Selective neutralization of prostaglandin E2 blocks inflammation, hyperalgesia, and interleukin 6 production in vivo. *Journal of Experimental Medicine,* 184(3), 883-891.

17. Pulichino, A. M., Rowland, S., Wu, T., Clark, P., Xu, D., Mathieu, M. C., Riendeau, D., and Audoly, L. P. (2006). Prostacyclin antagonism reduces pain and inflammation in rodent models of hyperalgesia and chronic arthritis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics,* 319(3), 1043-1050.

18. Radi, Z. A., and Khan, K. N. (2019). Cardio-renal safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Journal Toxicological Sciences,* 44(6), 373-391.

19. González-Périz, A., and Clària, J. (2007). New approaches to the modulation of the cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase pathways. *Current Topics in Medicinal Chemistry,* 7(3), 297-309.

20. Simmons, D. L., Botting, R. M., and Hla, T. (2004). Cyclooxygenase isozymes: The biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev,* 56(3), 387-437.

21. Murakami, M., Nakashima, K., Kamei, D., Masuda, S., Ishikawa, Y., Ishii, T., Ohmiya, Y., Watanabe, K., and Kudo, I. (2003). Cellular prostaglandinE2 production by membrane-bound prostaglandin E synthase-2 via both cyclooxygenases-1 and -2. *Journal of Biological Chemistry,* 278(39), 37937-37947.

22. Vane, J. R., Bakhle, Y. S., and Botting, R. M. (1998). Cyclooxygenases 1 and 2. *Annual Review of Pharmacology Toxicology,* 38, 97-120.

23. Allison, M. C., Howatson, A. G., Torrance, C. J., Lee, F. D., and Russell, R. I. (1992). Gastrointestinal damage associated with the use of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *New England Journal of Medicine,* 327(11), 749-754.

24. Warner Timothy, D., and Mitchell Jane, A. (2002). Cyclooxygenase-3 (COX-3): Filling in the gaps toward a cox continuum? *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 99(21), 13371-13373.

25. Williams, C. S., Mann, M., and Dubois, R. N. (1999). The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene,* 18(55), 7908-7916.

26. Mitchell, J. A., and Warner, T. D. (1999). Cyclo-oxygenase-2: Pharmacology, physiology, biochemistry and relevance to nsaid therapy. *British Journal of Pharmacology,* 128(6), 1121-1132.

27. Fu, J. Y., Masferrer, J. L., Seibert, K., Raz, A., and Needleman, P. (1990). The induction and suppression of prostaglandin H2 synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. *Journal of Biological Chemistry,* 265(28), 16737-16740.

28. Lee, S. H., Soyoola, E., Chanmugam, P., Hart, S., Sun, W., Zhong, H., Liou, S., Simmons, D., and Hwang, D. (1992). Selective expression of mitogen-inducible cyclooxygenase in macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *Journal of Biological Chemistry,* 267(36), 25934-25938.

29. O'sullivan, M. G., Huggins, E. M., Meade, E. A., Dewitt, D. L., and Mccall, C. E. (1992). Lipopolysaccharide induces prostaglandin H synthase-2 in alveolar macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications,* 187(2), 1123-1127.

30. Coyne, D. W., Nickols, M., Bertrand, W., and Morrison, A. R. (1992). Regulation of mesangial cell cyclooxygenase synthesis by cytokines and glucocorticoids. *American Journal of Physiology,* 263(1 Pt 2), F97-102.

31. Jones, D. A., Carlton, D. P., Mcintyre, T. M., Zimmerman, G. A., and Prescott, S. M. (1993). Molecular cloning of human prostaglandin endoperoxide synthase type II and demonstration of expression in response to cytokines. *Journal of Biological Chemistry,* 268(12), 9049-9054.

32. Hamasaki, Y., Kitzler, J., Hardman, R., Nettesheim, P., and Eling, T. E. (1993). Phorbol ester and epidermal growth factor enhance the expression of two inducible prostaglandin H synthase genes in rat tracheal epithelial cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics,* 304(1), 226-234.

33. Dubois, R. N., Awad, J., Morrow, J., Roberts, L. J., 2nd, and Bishop, P. R. (1994). Regulation of eicosanoid production and mitogenesis in rat intestinal epithelial cells by transforming growth factor-alpha and phorbol ester. *Journal of Clinical Investigation,* 93(2), 493-498.

34. Kester, M., Coroneos, E., Thomas, P. J., and Dunn, M. J. (1994). Endothelin stimulates prostaglandin endoperoxide synthase-2 mrna expression and protein synthesis through a tyrosine kinase-signaling pathway in rat mesangial cells. *Journal of Biological Chemistry,* 269(36), 22574-22580.

35. Koeberle, A., Zettl, H., Greiner, C., Wurglics, M., Schubert-Zsilavecz, M., and Werz, O. (2008). Pirinixic acid derivatives as novel dual inhibitors of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 and 5-lipoxygenase. *Journal of Medicinal Chemistry,* 51(24), 8068-8076.

36. Ek, M., Engblom, D., Saha, S., Blomqvist, A., Jakobsson, P. J., and Ericsson-Dahlstrand, A. (2001). Inflammatory response: Pathway across the blood-brain barrier. *Nature,* 410(6827), 430-431.

37. Smith, W. L. (1989). The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action. *Biochemical Journal,* 259(2), 315-324.

38. Sugimoto, Y., and Narumiya, S. (2007). Prostaglandin E receptors. *Journal of Biological Chemistry,* 282(16), 11613-11617.

39. Wang, M., Zukas, A. M., Hui, Y., Ricciotti, E., Puré, E., and Fitzgerald, G. A. (2006). Deletion of microsomal prostaglandin E synthase-1 augments prostacyclin and retards atherogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA,* 103(39), 14507-14512.

40. Grosser, T., Yu, Y., and Fitzgerald, G. A. (2010). Emotion recollected in tranquility: Lessons learned from the COX-2 saga. *Annual Review of Medicine,* 61(1), 17-33.

41. Koeberle, A., and Werz, O. (2009). Inhibitors of the microsomal prostaglandin E2 synthase-1 as alternative to non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) – a critical review. *Current Medicinal Chemistry,* 16(32), 4274-4296.

42. Samuelsson, B., Morgenstern, R., and Jakobsson, P. J. (2007). Membrane prostaglandin E synthase-1: A novel therapeutic target. *Pharmacol Reviews,* 59(3), 207-224.

43. Koeberle, A., Laufer, S. A., and Werz, O. (2016). Design and development of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 inhibitors: Challenges and future directions. *Journal of Medicinal Chemistry,* 59(13), 5970-5986.

44. Toh, H., Ichikawa, A., and Narumiya, S. (1995). Molecular evolution of receptors for eicosanoids. *FEBS Lett,* 361(1), 17-21.

45. Honda, A., Sugimoto, Y., Namba, T., Watabe, A., Irie, A., Negishi, M., Narumiya, S., and Ichikawa, A. (1993). Cloning and expression of a cDNA for mouse prostaglandin E receptor EP2 subtype. *Journal of Biological Chemistry,* 268(11), 7759-7762.

46. Katsuyama, M., Nishigaki, N., Sugimoto, Y., Morimoto, K., Negishi, M., Narumiya, S., and Ichikawa, A. (1995). The mouse prostaglandin e receptor EP2 subtype: Cloning, expression, and northern blot analysis. *FEBS Letters,* 372(2), 151-156.

47. Sugimoto, Y., Namba, T., Honda, A., Hayashi, Y., Negishi, M., Ichikawa, A., and Narumiya, S. (1992). Cloning and expression of a cdna for mouse prostaglandin e receptor ep3 subtype. *Journal of Biological Chemistry,,* 267(10), 6463-6466.

48. Watabe, A., Sugimoto, Y., Honda, A., Irie, A., Namba, T., Negishi, M., Ito, S., Narumiya, S., and Ichikawa, A. (1993). Cloning and expression of cDNA for a mouse EP1 subtype of prostaglandin e receptor. *Journal of Biological Chemistry,* 268(27), 20175-20178.

49. Araki, H., Ukawa, H., Sugawa, Y., Yagi, K., Suzuki, K., and Takeuchi, K. (2000). The roles of prostaglandin E receptor subtypes in the cytoprotective action of prostaglandin E2 in rat stomach. *Aliment Pharmacology & Therapeutics,* 14 Suppl 1, 116-124.

50. Kunikata, T., Araki, H., Takeeda, M., Kato, S., and Takeuchi, K. (2001). Prostaglandin E prevents indomethacin-induced gastric and intestinal damage through different EP receptor subtypes. *Journal of Physiology-Paris,* 95(1-6), 157-163.

51. Takeuchi, K., Ogawa, Y., Kagawa, S., and Ukawa, H. (2002). Gastric ulcerogenic responses following barrier disruption in knockout mice lacking prostaglandin EP1 receptors. *Aliment Pharmacology & Therapeutics,* 16 Suppl 2, 74-82.

52. Kennedy, C. R., Zhang, Y., Brandon, S., Guan, Y., Coffee, K., Funk, C. D., Magnuson, M. A., Oates, J. A., Breyer, M. D., and Breyer, R. M. (1999). Salt-sensitive hypertension and reduced fertility in mice lacking the prostaglandin EP2 receptor. *Nature Medicine,* 5(2), 217-220.

53. Stock, J. L., Shinjo, K., Burkhardt, J., Roach, M., Taniguchi, K., Ishikawa, T., Kim, H.-S., Flannery, P. J., Coffman, T. M., Mcneish, J. D., and Audoly, L. P. (2001). The prostaglandin E2 EP1 receptor mediates pain perception and regulates blood pressure. *The Journal of Clinical Investigation,* 107(3), 325-331.

54. Tilley, S. L., Audoly, L. P., Hicks, E. H., Kim, H. S., Flannery, P. J., Coffman, T. M., and Koller, B. H. (1999). Reproductive failure and reduced blood pressure in mice lacking the EP2 prostaglandin E2 receptor. *The Journal of Clinical Investigation,* 103(11), 1539-1545.

55. Ueno, A., Matsumoto, H., Naraba, H., Ikeda, Y., Ushikubi, F., Matsuoka, T., Narumiya, S., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., and Oh-Ishi, S. (2001). Major roles of prostanoid receptors ip and EP(3) in endotoxin-induced enhancement of pain perception. *Biochemical Pharmacology,* 62(2), 157-160.

56. Bresell, A., Weinander, R., Lundqvist, G., Raza, H., Shimoji, M., Sun, T.-H., Balk, L., Wiklund, R., Eriksson, J., Jansson, C., Persson, B., Jakobsson, P.-J., and Morgenstern, R. (2005). Bioinformatic and enzymatic characterization of the MAPEG superfamily. *The FEBS Journal,* 272(7), 1688-1703.

57. Jakobsson, P. J., Morgenstern, R., Mancini, J., Ford-Hutchinson, A., and Persson, B. (2000). Membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism (MAPEG). A widespread protein superfamily. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine,* 161(2 Pt 2), S20-24.

58. Thorén, S., Weinander, R., Saha, S., Jegerschöld, C., Pettersson, P. L., Samuelsson, B., Hebert, H., Hamberg, M., Morgenstern, R., and Jakobsson, P. J. (2003). Human microsomal prostaglandin E synthase-1: Purification, functional characterization, and projection structure determination. *Journal of Biological Chemistry,* 278(25), 22199-22209.

59. Tanioka, T., Nakatani, Y., Semmyo, N., Murakami, M., and Kudo, I. (2000). Molecular identification of cytosolic prostaglandin E2 synthase that is functionally coupled with cyclooxygenase-1 in immediate prostaglandin E2 biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry,* 275(42), 32775-32782.

60. Hara, S., Kamei, D., Sasaki, Y., Tanemoto, A., Nakatani, Y., and Murakami, M. (2010). Prostaglandin E synthases: Understanding their pathophysiological roles through mouse genetic models. *Biochimie,* 92(6), 651-659.

61. Thorén, S., and Jakobsson, P. J. (2000). Coordinate up- and down-regulation of glutathione-dependent prostaglandin E synthase and cyclooxygenase-2 in A549 cells. Inhibition by NS-398 and leukotriene C4. *European Journal of Biochemistry,* 267(21), 6428-6434.

62. Sjögren, T., Nord, J., Ek, M., Johansson, P., Liu, G., and Geschwindner, S. (2013). Crystal structure of microsomal prostaglandin E2 synthase provides insight into diversity in the MAPEG superfamily. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 110(10), 3806-3811.

63. Engblom, D., Ek, M., Andersson, I. M., Saha, S., Dahlström, M., Jakobsson, P. J., Ericsson-Dahlstrand, A., and Blomqvist, A. (2002). Induction of microsomal prostaglandin E synthase in the rat brain endothelium and parenchyma in adjuvant-induced arthritis. *Journal of Comparative Neurology,* 452(3), 205-214.

64. Inoue, W., Matsumura, K., Yamagata, K., Takemiya, T., Shiraki, T., and Kobayashi, S. (2002). Brain-specific endothelial induction of prostaglandin E(2) synthesis enzymes and its temporal relation to fever. *Neuroscience Research,* 44(1), 51-61.

65. Jegerschöld, C., Pawelzik, S. C., Purhonen, P., Bhakat, P., Gheorghe, K. R., Gyobu, N., Mitsuoka, K., Morgenstern, R., Jakobsson, P. J., and Hebert, H. (2008). Structural basis for induced formation of the inflammatory mediator prostaglandin E2. *Proc Natl Acad Sci USA,* 105(32), 11110-11115.

66. Ouellet, M., Falgueyret, J. P., Ear, P. H., Pen, A., Mancini, J. A., Riendeau, D., and Percival, M. D. (2002). Purification and characterization of recombinant microsomal prostaglandin E synthase-1. *Protein Expr Purif,* 26(3), 489-495.

67. Korotkova, M., and Jakobsson, P.-J. (2014). Characterization of microsomal prostaglandin E synthase 1 inhibitors. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology,* 114(1), 64-69.

68. Mancini, J. A., Blood, K., Guay, J., Gordon, R., Claveau, D., Chan, C.-C., and Riendeau, D. (2001). Cloning, expression, and up-regulation of inducible rat prostaglandin E synthase during lipopolysaccharide-induced pyresis and adjuvant-induced arthritis. *Journal of Biological Chemistry,* 276(6), 4469-4475.

69. Pawelzik, S.-C., Uda, N. R., Spahiu, L., Jegerschöld, C., Stenberg, P., Hebert, H., Morgenstern, R., and Jakobsson, P.-J. (2010). Identification of key residues determining species differences in inhibitor binding of microsomal prostaglandin E synthase-1, *Journal of Biological Chemistry,* 285(38), 29254-29261.

70. Schiffler, M. A., Antonysamy, S., Bhattachar, S. N., Campanale, K. M., Chandrasekhar, S., Condon, B., Desai, P. V., Fisher, M. J., Groshong, C., Harvey, A., Hickey, M. J., Hughes, N. E., Jones, S. A., Kim, E. J., Kuklish, S. L., Luz, J. G., Norman, B. H., Rathmell, R. E., Rizzo, J. R., Seng, T. W., Thibodeaux, S. J., Woods, T. A., York, J. S., and Yu, X.-P. (2016). Discovery and characterization of 2-acylaminoimidazole microsomal prostaglandin E synthase-1 inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry,* 59(1), 194-205.

71. Luz, J. G., Antonysamy, S., Kuklish, S. L., Condon, B., Lee, M. R., Allison, D., Yu, X.-P., Chandrasekhar, S., Backer, R., Zhang, A., Russell, M., Chang, S. S., Harvey, A., Sloan, A. V., and Fisher, M. J. (2015). Crystal structures of mPGES-1 inhibitor complexes form a basis for the rational design of potent analgesic and anti-inflammatory therapeutics. *Journal of Medicinal Chemistry,* 58(11), 4727-4737.

72. Partridge, K. M., Antonysamy, S., Bhattachar, S. N., Chandrasekhar, S., Fisher, M. J., Fretland, A., Gooding, K., Harvey, A., Hughes, N. E., Kuklish, S. L., Luz, J. G., Manninen, P. R., Mcgee, J. E., Mudra, D. R., Navarro, A., Norman, B. H., Quimby, S. J., Schiffler, M. A., Sloan, A. V., Warshawsky, A. M., Weller, J. M., York, J. S., and Yu, X.-P. (2017). Discovery and characterization of [(cyclopentyl)ethyl]benzoic acid inhibitors of microsomal prostaglandinE synthase-1. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 27(6), 1478-1483.

73. Uematsu, S., Matsumoto, M., Takeda, K., and Akira, S. (2002). Lipopolysaccharide-dependent prostaglandin E2 production is regulated by the glutathione-dependent prostaglandin E2 synthase gene induced by the toll-like receptor 4/myd88/nf-il6 pathway. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950),* 168, 5811-5816.

74. Trebino, C. E., Stock, J. L., Gibbons, C. P., Naiman, B. M., Wachtmann, T. S., Umland, J. P., Pandher, K., Lapointe, J. M., Saha, S., Roach, M. L., Carter, D., Thomas, N. A., Durtschi, B. A., Mcneish, J. D., Hambor, J. E., Jakobsson, P. J., Carty, T. J., Perez, J. R., and Audoly, L. P. (2003). Impaired inflammatory and pain responses in mice lacking an inducible prostaglandin E synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA,* 100(15), 9044-9049.

75. Engblom, D., Saha, S., Engström, L., Westman, M., Audoly, L. P., Jakobsson, P. J., and Blomqvist, A. (2003). Microsomal prostaglandin E synthase-1 is the central switch during immune-induced pyresis. *Nat Neurosci,* 6(11), 1137-1138.

76. Friesen, R. W., and Mancini, J. A. (2008). Microsomal prostaglandin E2 synthase-1 (mPGES-1): A novel anti-inflammatory therapeutic target. *Journal of Medicinal Chemistry,* 51(14), 4059-4067.

77. Riendeau, D., Aspiotis, R., Ethier, D., Gareau, Y., Grimm, E. L., Guay, J., Guiral, S., Juteau, H., Mancini, J. A., Méthot, N., Rubin, J., and Friesen, R. W. (2005). Inhibitors of the inducible microsomal prostaglandin E2 synthase (mPGES-1) derived from MK-886. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 15(14), 3352-3355.

78. Yang, S., Huh, E., Moon, G. H., Ahn, J., Woo, J., Han, H.-S., Lee, H.-H., Chung, K.-S., Lee, K.-T., Oh, M. S., and Lee, J. Y. (2022). In vitro and in vivo neuroprotective effect of novel mPGES-1 inhibitor in animal model of parkinson's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 74, 128920.

79. Kojima, F., Naraba, H., Miyamoto, S., Beppu, M., Aoki, H., and Kawai, S. (2004). Membrane-associated prostaglandin E synthase-1 is upregulated by proinflammatory cytokines in chondrocytes from patients with osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy,* 6(4), R355.

80. Li, X., Afif, H., Cheng, S., Martel-Pelletier, J., Pelletier, J. P., Ranger, P., and Fahmi, H. (2005). Expression and regulation of microsomal prostaglandin E synthase-1 in human osteoarthritic cartilage and chondrocytes. *Journal of Rheumatology,* 32(5), 887-895.

81. Masuko-Hongo, K., Berenbaum, F., Humbert, L., Salvat, C., Goldring, M. B., and Thirion, S. (2004). Up-regulation of microsomal prostaglandin E synthase 1 in osteoarthritic human cartilage: Critical roles of the Erk-1/2 and P38 signaling pathways. *Arthritis & Rheumatism,* 50(9), 2829-2838.

82. Subbaramaiah, K., Yoshimatsu, K., Scherl, E., Das, K. M., Glazier, K. D., Golijanin, D., Soslow, R. A., Tanabe, T., Naraba, H., and Dannenberg, A. J. (2020). Withdrawal: Microsomal prostaglandin E synthase-1 is overexpressed in inflammatory bowel disease: Evidence for involvement of the transcription factor egr-1. *Journal of Biological Chemistry,* 295(1), 293.

83. Cipollone, F., Iezzi, A., Fazia, M., Zucchelli, M., Pini, B., Cuccurullo, C., De Cesare, D., De Blasis, G., Muraro, R., Bei, R., Chiarelli, F., Schmidt, A. M., Cuccurullo, F., and Mezzetti, A. (2003). The receptor rage as a progression factor amplifying arachidonate-dependent inflammatory and proteolytic response in human atherosclerotic plaques: Role of glycemic control. *Circulation,* 108(9), 1070-1077.

84. Cipollone, F., Prontera, C., Pini, B., Marini, M., Fazia, M., De Cesare, D., Iezzi, A., Ucchino, S., Boccoli, G., Saba, V., Chiarelli, F., Cuccurullo, F., and Mezzetti, A. (2001). Overexpression of functionally coupled cyclooxygenase-2 and prostaglandin E synthase in symptomatic atherosclerotic plaques as a basis of prostaglandin E(2)-dependent plaque instability. *Circulation,* 104(8), 921-927.

85. Gómez-Hernández, A., Martín-Ventura, J. L., Sánchez-Galán, E., Vidal, C., Ortego, M., Blanco-Colio, L. M., Ortega, L., Tuñón, J., and Egido, J. (2006). Overexpression of COX-2, prostaglandin E synthase-1 and prostaglandin E receptors in blood mononuclear cells and plaque of patients with carotid atherosclerosis: Regulation by nuclear factor-κb. *Atherosclerosis,* 187(1), 139-149.

86. Chaudhry, U. A., Zhuang, H., Crain, B. J., and Doré, S. (2008). Elevated microsomal prostaglandin-E synthase-1 in alzheimer's disease. *Alzheimers & Dementia Journal,* 4(1), 6-13.

87. Gudis, K., Tatsuguchi, A., Wada, K., Hiratsuka, T., Futagami, S., Fukuda, Y., Kiyama, T., Tajiri, T., Miyake, K., and Sakamoto, C. (2007). Clinical significance of

prostaglandin E synthase expression in gastric cancer tissue. *Human Pathology,* 38(12), 1826-1835.

88. Jang, T. J. (2004). Expression of proteins related to prostaglandin E2 biosynthesis is increased in human gastric cancer and during gastric carcinogenesis. *Virchows Archiv,* 445(6), 564-571.

89. Van Rees, B. P., Sivula, A., Thorén, S., Yokozaki, H., Jakobsson, P. J., Offerhaus, G. J., and Ristimäki, A. (2003). Expression of microsomal prostaglandin e synthase-1 in intestinal type gastric adenocarcinoma and in gastric cancer cell lines. *International Journal of Cancer,* 107(4), 551-556.

90. Yoshimatsu, K., Golijanin, D., Paty, P. B., Soslow, R. A., Jakobsson, P. J., Delellis, R. A., Subbaramaiah, K., and Dannenberg, A. J. (2001). Inducible microsomal prostaglandin E synthase is overexpressed in colorectal adenomas and cancer. *Clinical Cancer Research,* 7(12), 3971-3976.

91. Von Rahden, B. H. A., Brücher, B. L. D. M., Langner, C., Siewert, J. R., Stein, H. J., and Sarbia, M. (2006). Expression of cyclo-oxygenase 1 and 2, prostaglandin E synthase and transforming growth factor β1, and their relationship with vascular endothelial growth factors a and c, in primary adenocarcinoma of the small intestine. *British Journal of Surgery,* 93(11), 1424-1432.

92. Soma, T., Shimada, Y., Kawabe, A., Kaganoi, J., Kondo, K., Imamura, M., and Uemoto, S. (2007). Induction of prostaglandin E synthase by gastroesophageal reflux contents in normal esophageal epithelial cells and esophageal cancer cells. *Diseases of the Esophagus,* 20(2), 123-129.

93. Von Rahden, B. H., Stein, H. J., Hartl, S. A., Theisen, J., Stigler, B., Siewert, J. R., and Sarbia, M. (2008). Expression of prostaglandin E synthase in barrett's cancer. *Diseases of the Esophagus,* 21(4), 304-308.

94. Kawata, R., Hyo, S., Maeda, T., Urade, Y., and Takenaka, H. (2006). Simultaneous expression of cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E synthase in squamous cell carcinoma of the larynx. *Acta Otolaryngol,* 126(6), 627-632.

95. Breinig, M., Rieker, R., Eiteneuer, E., Wertenbruch, T., Haugg, A. M., Helmke, B. M., Schirmacher, P., and Kern, M. A. (2008). Differential expression of E-prostanoid receptors in human hepatocellular carcinoma. *International Journal of Cancer,* 122(3), 547-557.

96. Takii, Y., Abiru, S., Fujioka, H., Nakamura, M., Komori, A., Ito, M., Taniguchi, K., Daikoku, M., Meda, Y., Ohata, K., Yano, K., Shimoda, S., Yatsuhashi, H., Ishibashi, H., and Migita, K. (2007). Expression of microsomal prostaglandin E synthase-1 in human hepatocelluar carcinoma. *Liver International,* 27(7), 989-996.

97. Hasan, S., Satake, M., Dawson, D. W., Funahashi, H., Angst, E., Go, V. L., Reber, H. A., Hines, O. J., and Eibl, G. (2008). Expression analysis of the prostaglandin E2 production pathway in human pancreatic cancers. *Pancreas,* 37(2), 121-127.

98. Mehrotra, S., Morimiya, A., Agarwal, B., Konger, R., and Badve, S. (2006). Microsomal prostaglandin E2 synthase-1 in breast cancer: A potential target for therapy. *Journal of Pathology,* 208(3), 356-363.

99. Rask, K., Zhu, Y., Wang, W., Hedin, L., and Sundfeldt, K. (2006). Ovarian epithelial cancer: A role for PGE2-synthesis and signalling in malignant transformation and progression. *Molecular Cancer,* 5(1), 62.

100. Cohen, E. G., Almahmeed, T., Du, B., Golijanin, D., Boyle, J. O., Soslow, R. A., Subbaramaiah, K., and Dannenberg, A. J. (2003). Microsomal prostaglandin E synthase-1 is overexpressed in head and neck squamous cell carcinoma. *Clinical Cancer Research,* 9(9), 3425-3430.

101. Golijanin, D., Tan, J. Y., Kazior, A., Cohen, E. G., Russo, P., Dalbagni, G., Auborn, K. J., Subbaramaiah, K., and Dannenberg, A. J. (2004). Cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E synthase-1 are overexpressed in squamous cell carcinoma of the penis. *Clinical Cancer Research,* 10(3), 1024-1031.

102. Baryawno, N., SveinbjöRnsson, B., Eksborg, S., Orrego, A., SegerströM, L., ÖQvist, C. O., Holm, S., Gustavsson, B., KåGedal, B., Kogner, P., and Johnsen, J. I. (2008). Tumor-growth–promoting cyclooxygenase-2 prostaglandin E2 pathway provides medulloblastoma therapeutic targets. *Neuro-Oncology,* 10(5), 661-674.

103. Lalier, L., Cartron, P. F., Pedelaborde, F., Olivier, C., Loussouarn, D., Martin, S. A., Meflah, K., Menanteau, J., and Vallette, F. M. (2007). Increase in PGE2 biosynthesis induces a bax dependent apoptosis correlated to patients' survival in glioblastoma multiforme. *Oncogene,* 26(34), 4999-5009.

104. Payner, T., Leaver, H. A., Knapp, B., Whittle, I. R., Trifan, O. C., Miller, S., and Rizzo, M. T. (2006). Microsomal prostaglandin E synthase-1 regulates human glioma cell growth via prostaglandin E(2)-dependent activation of type II protein kinase a. *Molecular Cancer Therapy,* 5(7), 1817-1826.

105. Howard, P. A., and Delafontaine, P. (2004). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cardiovascular risk. *Journal American College of Cardiology,* 43(4), 519-525.

106. Marjoribanks, J., Ayeleke, R. O., Farquhar, C., and Proctor, M. (2015). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for dysmenorrhoea. *Cochrane Database System Review,* 2015(7), Cd001751.

107. Meek, I. L., Van De Laar, M. A., and H, E. V. (2010). Non-steroidal anti-inflammatory drugs: An overview of cardiovascular risks. *Pharmaceuticals (Basel),* 3(7), 2146-2162.

108. Rao, P., and Knaus, E. E. (2008). Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,* 11(2), 81s-110s.

109. Hugo, H. J., Saunders, C., Ramsay, R. G., and Thompson, E. W. (2015). New insights on COX-2 in chronic inflammation driving breast cancer growth and metastasis. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia,* 20(3-4), 109-119.

110. Gabriel, S. E., Jaakkimainen, L., and Bombardier, C. (1991). Risk for serious gastrointestinal complications related to use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. A meta-analysis. *Annals of Internal Medicine,* 115(10), 787-796.

111. Miller, T. A. (1983). Protective effects of prostaglandins against gastric mucosal damage: Current knowledge and proposed mechanisms. *American Journal of Physiology,* 245(5 Pt 1), G601-623.

112. Fitzgerald, G. A., and Patrono, C. (2001). The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *New England Journal of Medicine,* 345(6), 433-442.

113. Goldenberg, M. M. (1999). Celecoxib, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor for the treatment of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clinical Therapy,* 21(9), 1497-1513; discussion 1427-1498.

114. Laine, L., Harper, S., Simon, T., Bath, R., Johanson, J., Schwartz, H., Stern, S., Quan, H., and Bolognese, J. (1999). A randomized trial comparing the effect of rofecoxib, a cyclooxygenase 2-specific inhibitor, with that of ibuprofen on the gastroduodenal mucosa of patients with osteoarthritis. Rofecoxib osteoarthritis endoscopy study group. *Gastroenterology,* 117(4), 776-783.

115. Coxib, Traditional, N. T. C., Bhala, N., Emberson, J., Merhi, A., Abramson, S., Arber, N., Baron, J. A., Bombardier, C., Cannon, C., Farkouh, M. E., Fitzgerald, G. A., Goss, P., Halls, H., Hawk, E., Hawkey, C., Hennekens, C., Hochberg, M., Holland, L. E., Kearney, P. M., Laine, L., Lanas, A., Lance, P., Laupacis, A., Oates, J., Patrono, C., Schnitzer, T. J., Solomon, S., Tugwell, P., Wilson, K., Wittes, J., and Baigent, C. (2013). Vascular and upper gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: Meta-analyses of individual participant data from randomised trials. *Lancet (London, England),* 382(9894), 769-779.

116. Kean, W. F., and Buchanan, W. W. (2005). The use of nsaids in rheumatic disorders 2005: A global perspective. *Inflammopharmacology,* 13(4), 343-370.

117. Harris, R. C., Mckanna, J. A., Akai, Y., Jacobson, H. R., Dubois, R. N., and Breyer, M. D. (1994). Cyclooxygenase-2 is associated with the macula densa of rat kidney and increases with salt restriction. *Journal of Clinical Investigation,* 94(6), 2504-2510.

118. Kirkby, N. S., Chan, M. V., Zaiss, A. K., Garcia-Vaz, E., Jiao, J., Berglund, L. M., Verdu, E. F., Ahmetaj-Shala, B., Wallace, J. L., Herschman, H. R., Gomez, M. F., and Mitchell, J. A. (2016). Systematic study of constitutive cyclooxygenase-2 expression: Role of nf-κb and nfat transcriptional pathways. *Proceeding of the National Academy of Sciences U S A,* 113(2), 434-439.

119. Kirkby, N. S., Zaiss, A. K., Urquhart, P., Jiao, J., Austin, P. J., Al-Yamani, M., Lundberg, M. H., Mackenzie, L. S., Warner, T. D., Nicolaou, A., Herschman, H. R., and Mitchell, J. A. (2013). LC-MS/MS confirms that COX-1 drives vascular prostacyclin whilst gene expression pattern reveals non-vascular sites of COX-2 expression. *PLoS One,* 8(7), e69524.

120. Mitchell, J. A., Knowles, R. B., Kirkby, N. S., Reed, D. M., Edin, M. L., White, W. E., Chan, M. V., Longhurst, H., Yaqoob, M. M., Milne, G. L., Zeldin, D. C., and

Warner, T. D. (2018). Kidney transplantation in a patient lacking cytosolic phospholipase A(2) proves renal origins of urinary pgi-m and tx-m. *Circulation Research,* 122(4), 555-559.

121. Vane, J. R., Mitchell, J. A., Appleton, I., Tomlinson, A., Bishop-Bailey, D., Croxtall, J., and Willoughby, D. A. (1994). Inducible isoforms of cyclooxygenase and nitric-oxide synthase in inflammation. *Proceeding of the National Academy of Sciences U S A,* 91(6), 2046-2050.

122. Hashemi Goradel, N., Najafi, M., Salehi, E., Farhood, B., and Mortezaee, K. (2019). Cyclooxygenase-2 in cancer: A review. *Journal of Cellular Physiology,* 234(5), 5683-5699.

123. Tacconelli, S., Capone, M. L., and Patrignani, P. (2004). Clinical pharmacology of novel selective COX-2 inhibitors. *Current Pharmaceutical Design,* 10(6), 589-601.

124. Tacconelli, S., Bruno, A., Grande, R., Ballerini, P., and Patrignani, P. (2017). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cardiovascular safety - translating pharmacological data into clinical readouts. *Expert Opinion Drug Safety,* 16(7), 791-807.

125. Topol, E. J. (2004). Failing the public health — rofecoxib, Merck, and the FDA. *New England Journal of Medicine,* 351(17), 1707-1709.

126. Bombardier, C., Laine, L., Reicin, A., Shapiro, D., Burgos-Vargas, R., Davis, B., Day, R., Ferraz, M. B., Hawkey, C. J., Hochberg, M. C., Kvien, T. K., and Schnitzer, T. J. (2000). Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. *New England Journal of Medicine,* 343(21), 1520-1528.

127. Bresalier, R. S., Sandler, R. S., Quan, H., Bolognese, J. A., Oxenius, B., Horgan, K., Lines, C., Riddell, R., Morton, D., Lanas, A., Konstam, M. A., and Baron, J. A. (2005). Cardiovascular events associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention trial. *New England Journal of Medicine,* 352(11), 1092-1102.

128. Frolov, R. V., and Singh, S. (2014). Celecoxib and ion channels: A story of unexpected discoveries. *European Journal of Pharmacology,* 730, 61-71.

129. Ray, W. A., Stein, C. M., Hall, K., Daugherty, J. R., and Griffin, M. R. (2002). Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of serious coronary heart disease: An observational cohort study. *Lancet (London, England),* 359(9301), 118-123.

130. Mcgettigan, P., and Henry, D. (2006). Cardiovascular risk and inhibition of cyclooxygenase: A systematic review of the observational studies of selective and nonselective inhibitors of cyclooxygenase 2. *Jama,* 296(13), 1633-1644.

131. Zhu, L., Zhang, Y., Guo, Z., and Wang, M. (2020). Cardiovascular biology of prostanoids and drug discovery. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology,* 40(6), 1454-1463.

132. Arora, M., Choudhary, S., Singh, P. K., Sapra, B., and Silakari, O. (2020). Structural investigation on the selective COX-2 inhibitors mediated cardiotoxicity: A review. *Life Sciences,* 251, 117631.

133. Côté, B., Boulet, L., Brideau, C., Claveau, D., Ethier, D., Frenette, R., Gagnon, M., Giroux, A., Guay, J., Guiral, S., Mancini, J., Martins, E., Massé, F., Méthot, N., Riendeau, D., Rubin, J., Xu, D., Yu, H., Ducharme, Y., and Friesen, R. W. (2007). Substituted phenanthrene imidazoles as potent, selective, and orally active mPGES-1 inhibitors. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters,* 17(24), 6816-6820.

134. Wu, T. Y. H., Juteau, H., Ducharme, Y., Friesen, R. W., Guiral, S., Dufresne, L., Poirier, H., Salem, M., Riendeau, D., Mancini, J., and Brideau, C. (2010). Biarylimidazoles as inhibitors of microsomal prostaglandin E2 synthase-1. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 20(23), 6978-6982.

135. Chiasson, J.-F., Boulet, L., Brideau, C., Chau, A., Claveau, D., Côté, B., Ethier, D., Giroux, A., Guay, J., Guiral, S., Mancini, J., Massé, F., Méthot, N., Riendeau, D., Roy, P., Rubin, J., Xu, D., Yu, H., Ducharme, Y., and Friesen, R. W. (2011). Trisubstituted ureas as potent and selective mPGES-1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 21(5), 1488-1492.

136. Larsson, K., Steinmetz, J., Bergqvist, F., Arefin, S., Spahiu, L., Wannberg, J., Pawelzik, S.-C., Morgenstern, R., Stenberg, P., Kublickiene, K., Korotkova, M., and Jakobsson, P.-J. (2019). Biological characterization of new inhibitors of microsomal PGE synthase-1 in preclinical models of inflammation and vascular tone. *British Journal of Pharmacology,* 176(24), 4625-4638.

137. Leclerc, P., Idborg, H., Spahiu, L., Larsson, C., Nekhotiaeva, N., Wannberg, J., Stenberg, P., Korotkova, M., and Jakobsson, P.-J. (2013). Characterization of a human and murine mPGES-1 inhibitor and comparison to mPGES-1 genetic deletion in mouse models of inflammation. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators,* 107, 26-34.

138. Buchler, I., P., Hayes, M., J., Hegde, S., G., Hockerman, S., L., Jones, D., E., Kortum, S., W., Rico, J., G., Tenbrink, R., E., Wu, K. K. Indazole derivatives, WO2009/103778 A1.

139. Kablaoui, N., Patel, S., Shao, J., Demian, D., Hoffmaster, K., Berlioz, F., Vazquez, M. L., Moore, W. M., and Nugent, R. A. (2013). Novel benzoxazole inhibitors of mPGES-1. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 23(3), 907-911.

140. Arhancet, G. B., Walker, D. P., Metz, S., Fobian, Y. M., Heasley, S. E., Carter, J. S., Springer, J. R., Jones, D. E., Hayes, M. J., Shaffer, A. F., Jerome, G. M., Baratta, M. T., Zweifel, B., Moore, W. M., Masferrer, J. L., and Vazquez, M. L. (2013). Discovery and SAR of PF-4693627, a potent, selective and orally bioavailable mPGES-1 inhibitor for the potential treatment of inflammation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 23(4), 1114-1119.

141. Walker, D. P., Arhancet, G. B., Lu, H.-F., Heasley, S. E., Metz, S., Kablaoui, N. M., Franco, F. M., Hanau, C. E., Scholten, J. A., Springer, J. R., Fobian, Y. M., Carter, J. S., Xing, L., Yang, S., Shaffer, A. F., Jerome, G. M., Baratta, M. T., Moore, W.

M., and Vazquez, M. L. (2013). Synthesis and biological evaluation of substituted benzoxazoles as inhibitors of mPGES-1: Use of a conformation-based hypothesis to facilitate compound design. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 23(4), 1120-1126.

142. Bylund, J., Annas, A., Hellgren, D., Bjurström, S., Andersson, H., and Svanhagen, A. (2013). Amide hydrolysis of a novel chemical series of microsomal prostaglandin E synthase-1 inhibitors induces kidney toxicity in the rat. *Drug Metabolism & Disposition,* 41(3), 634-641.

143. Shiro, T., Takahashi, H., Kakiguchi, K., Inoue, Y., Masuda, K., Nagata, H., and Tobe, M. (2012). Synthesis and SAR study of imidazoquinolines as a novel structural class of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 22(1), 285-288.

144. Shiro, T., Kakiguchi, K., Takahashi, H., Nagata, H., and Tobe, M. (2013). 7-phenyl-imidazoquinolin-4(5H)-one derivatives as selective and orally available mPGES-1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 21(11), 2868-2878.

145. Shiro, T., Kakiguchi, K., Takahashi, H., Nagata, H., and Tobe, M. (2013). Synthesis and biological evaluation of substituted imidazoquinoline derivatives as mPGES-1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 21(7), 2068-2078.

146. Koppitz, M., Bräuer, N., Ter Laak, A., Irlbacher, H., Rotgeri, A., Coelho, A.-M., Walter, D., Steinmeyer, A., Zollner, T. M., Peters, M., and Nagel, J. (2019). Discovery and optimization of pyridyl-cycloalkyl-carboxylic acids as inhibitors of microsomal prostaglandin E synthase-1 for the treatment of endometriosis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 29(18), 2700-2705.

147. Jin, Y., Smith, C. L., Hu, L., Campanale, K. M., Stoltz, R., Huffman, L. G., Jr., Mcnearney, T. A., Yang, X. Y., Ackermann, B. L., Dean, R., Regev, A., and Landschulz, W. (2016). Pharmacodynamic comparison of LY3023703, a novel microsomal prostaglandin E synthase 1 inhibitor, with celecoxib. *Clinical Pharmacology Therapy,* 99(3), 274-284.

148. Norman, B. H., Fisher, M. J., Schiffler, M. A., Kuklish, S. L., Hughes, N. E., Czeskis, B. A., Cassidy, K. C., Abraham, T. L., Alberts, J. J., and Luffer-Atlas, D. (2018). Identification and mitigation of reactive metabolites of 2-aminoimidazole-containing microsomal prostaglandin E synthase-1 inhibitors terminated due to clinical drug-induced liver injury. *Journal of Medicinal Chemistry,* 61(5), 2041-2051.

149. Kuklish, S. L., Antonysamy, S., Bhattachar, S. N., Chandrasekhar, S., Fisher, M. J., Fretland, A. J., Gooding, K., Harvey, A., Hughes, N. E., Luz, J. G., Manninen, P. R., Mcgee, J. E., Navarro, A., Norman, B. H., Partridge, K. M., Quimby, S. J., Schiffler, M. A., Sloan, A. V., Warshawsky, A. M., York, J. S., and Yu, X.-P. (2016). Characterization of 3,3-dimethyl substituted n-aryl piperidines as potent microsomal prostaglandin E synthase-1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 26(19), 4824-4828.

150. Ho, J. D., Lee, M. R., Rauch, C. T., Aznavour, K., Park, J. S., Luz, J. G., Antonysamy, S., Condon, B., Maletic, M., Zhang, A., Hickey, M. J., Hughes, N. E.,

Chandrasekhar, S., Sloan, A. V., Gooding, K., Harvey, A., Yu, X. P., Kahl, S. D., and Norman, B. H. (2021). Structure-based, multi-targeted drug discovery approach to eicosanoid inhibition: Dual inhibitors of mPGES-1 and 5-lipoxygenase activating protein (FLAP). *Biochimica et Biophysica Acta General Subject,* 1865(2), 129800.

151. Priepke, H., Doods, H., Kuelzer, R., Pfau, R., Stenkamp, D., Roenn, R., Pelcman, B. (2011). Aminobenzimidazole derivatives useful in the treatment of inflammation, WO2012/076672 A1.

152. Priepke, H., Doods, H., Kuelzer, R., Pfau, R., Stenkamp, D., Roenn, R., Pelcman, B. (2011). Inhibitors of microsomal prostaglandin E2 synthase-1, WO2011/048004 A1.

153. Gurusamy, M., Nasseri, S., Rampa, D. R., Feng, H., Lee, D., Pekcec, A., Doods, H., and Wu, D. (2021). Inhibition of microsomal prostaglandin E synthase-1 ameliorates acute lung injury in mice. *Journal of Translational Medicine,* 19(1), 340.

154. Priepke, H., Doods, H., Kuelzer, R., Pfau, R., Stenkamp, D., Roenn, R., Pelcman, B. (2012). New compounds, WO2012/022793 A1.

155. Soldner, E. L. B., Hartz, A. M. S., Akanuma, S. I., Pekcec, A., Doods, H., Kryscio, R. J., Hosoya, K. I., and Bauer, B. (2019). Inhibition of human microsomal PGE2 synthase-1 reduces seizure-induced increases of P-glycoprotein expression and activity at the blood-brain barrier. *FASEB Journal,* 33(12), 13966-13981.

156. Zhang, Y. Y., Yao, Y. D., Luo, J. F., Liu, Z. Q., Huang, Y. M., Wu, F. C., Sun, Q. H., Liu, J. X., and Zhou, H. (2022). Microsomal prostaglandin E(2) synthase-1 and its inhibitors: Molecular mechanisms and therapeutic significance. *Pharmacology Research,* 175, 105977.

157. Muthukaman, N., Deshmukh, S., Tambe, M., Pisal, D., Tondlekar, S., Shaikh, M., Sarode, N., Kattige, V. G., Sawant, P., Pisat, M., Karande, V., Honnegowda, S., Kulkarni, A., Behera, D., Jadhav, S. B., Sangana, R. R., Gudi, G. S., Khairatkar-Joshi, N., and Gharat, L. A. (2018). Alleviating cyp and herg liabilities by structure optimization of dihydrofuran-fused tricyclic benzo[d]imidazole series - potent, selective and orally efficacious microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES-1) inhibitors: Part-2. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 28(7), 1211-1218.

158. Muthukaman, N., Deshmukh, S., Sarode, N., Tondlekar, S., Tambe, M., Pisal, D., Shaikh, M., Kattige, V. G., Honnegowda, S., Karande, V., Kulkarni, A., Jadhav, S. B., Mahat, M. Y. A., Gudi, G. S., Khairatkar-Joshi, N., and Gharat, L. A. (2016). Discovery of 2-((2-chloro-6-fluorophenyl)amino)-N-(3-fluoro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1-methyl-7,8-dihydro-1H-[1,4]dioxino[2′,3′:3,4]benzo [1,2-d]imidazole-5-carboxamide as potent, selective and efficacious microsomal prostaglandin E2 synthase-1 (mPGES-1) inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 26(24), 5977-5984.

159. Muthukaman, N., Tambe, M., Shaikh, M., Pisal, D., Deshmukh, S., Tondlekar, S., Sarode, N., Narayana, L., Gajera, J. M., Kattige, V. G., Honnegowda, S., Karande, V., Kulkarni, A., Behera, D., Jadhav, S. B., Gudi, G. S., Khairatkar-Joshi, N., and Gharat, L. A. (2017). Tricyclic 4,4-dimethyl-3,4-dihydrochromeno[3,4-d]imidazole

derivatives as microsomal prostaglandin E2 synthase-1 (mPGES-1) inhibitors: SAR and in vivo efficacy in hyperalgesia pain model. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 27(11), 2594-2601.

160. Gharat, L. A., Muthukaman, N., Tambe, M. S., Pisal, D., Khairatkar-Joshi, N., , and Kattige, V. G. (2015). Substituted pyrimidine compounds as mPGES-1 inhibitors, WO2015/059618A1.

161. Koeberle, A., Siemoneit, U., Bühring, U., Northoff, H., Laufer, S., Albrecht, W., and Werz, O. (2008). Licofelone suppresses prostaglandin E2 formation by interference with the inducible microsomal prostaglandin E2 synthase-1. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeuticals,* 326(3), 975-982.

162. Pergola, C., Gerstmeier, J., Mönch, B., Çalışkan, B., Luderer, S., Weinigel, C., Barz, D., Maczewsky, J., Pace, S., Rossi, A., Sautebin, L., Banoglu, E., and Werz, O. (2014). The novel benzimidazole derivative BRP-7 inhibits leukotriene biosynthesis in vitro and in vivo by targeting 5-lipoxygenase-activating protein (FLAP). *British Journal of Pharmacology,* 171(12), 3051-3064.

163. Miek, L., Jordan, P. M., Günther, K., Pace, S., Beyer, T., Kowalak, D., Hoerr, V., Löffler, B., Tuchscherr, L., Serhan, C. N., Gerstmeier, J., and Werz, O. (2022). Staphylococcus aureus controls eicosanoid and specialized pro-resolving mediator production via lipoteichoic acid. *Immunology,* 166(1), 47-67.

164. Jordan, P. M., Gerstmeier, J., Pace, S., Bilancia, R., Rao, Z., Börner, F., Miek, L., Gutiérrez-Gutiérrez, Ó., Arakandy, V., Rossi, A., Ialenti, A., González-Estévez, C., Löffler, B., Tuchscherr, L., Serhan, C. N., and Werz, O. (2020). Staphylococcus aureus-derived α-hemolysin evokes generation of specialized pro-resolving mediators promoting inflammation resolution. *Cell Reports,* 33(2).

165. Campbell, E. A., Gentry, C., Patel, S., Kidd, B., Cruwys, S., Fox, A. J., and Urban, L. (2000). Oral anti-hyperalgesic and anti-inflammatory activity of NK(1) receptor antagonists in models of inflammatory hyperalgesia of the guinea-pig. *Pain,* 87(3), 253-263.

166. Ghezzi, P., Melillo, G., Meazza, C., Sacco, S., Pellegrini, L., Asti, C., Porzio, S., Marullo, A., Sabbatini, V., Caselli, G., and Bertini, R. (1998). Differential contribution of R and S isomers in ketoprofen anti-inflammatory activity: Role of cytokine modulation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics,* 287(3), 969-974.

167. Randall, L. O., and Selitto, J. J. (1957). A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Archives Internationales de Pharmacodynamie Therapie,* 111(4), 409-419.

168. Mogilski, S., Kubacka, M., Łażewska, D., Więcek, M., Głuch-Lutwin, M., Tyszka-Czochara, M., Bukowska-Strakova, K., Filipek, B., and Kieć-Kononowicz, K. (2017). Aryl-1,3,5-triazine ligands of histamine H4 receptor attenuate inflammatory and nociceptive response to carrageen, zymosan and lipopolysaccharide. *Inflammation Research,* 66(1), 79-95.

169. Rowland, S. E., Clark, P., Gordon, R., Mullen, A. K., Guay, J., Dufresne, L., Brideau, C., Cote, B., Ducharme, Y., Mancini, J., Chan, C.-C., Audoly, L., and Xu, D. (2007). Pharmacological characterization of a selective cox-2 inhibitor mf-tricyclic, [3-(3,4-difluorophenyl)-4-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-2-(5H)-furanone], in multiple preclinical species. *European Journal of Pharmacology,* 560(2), 216-224.

170. Zhou, Q., Du, F., Chen, Y., Fu, Y., and Chen, G. (2019). "On water" promoted n-arylation reactions using cu (0)/myo-inositol catalytic system. *Tetrahedron Letters,* 60(29), 1938-1941.

171. Broch, S., Hénon, H., Debaud, A.-L., Fogeron, M.-L., Bonnefoy-Bérard, N., Anizon, F., and Moreau, P. (2010). Synthesis and biological activities of new di- and trimeric quinoline derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 18(19), 7132-7143.

172. Yang, J., Li, Z., Li, H., Liu, C., Wang, N., Shi, W., Liao, C., Cai, X., Huang, W., and Qian, H. (2017). Design, synthesis and structure–activity relationship studies of novel free fatty acid receptor 1 agonists bearing amide linker. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 25(8), 2445-2450.

173. Oguchi, M., Wada, K., Honma, H., Tanaka, A., Kaneko, T., Sakakibara, S., Ohsumi, J., Serizawa, N., Fujiwara, T., Horikoshi, H., and Fujita, T. (2000). Molecular design, synthesis, and hypoglycemic activity of a series of thiazolidine-2,4-diones. *Journal of Medicinal Chemistry,* 43(16), 3052-3066.

174. Dutov, M. D., Serushkina, O. V., and Shevelev, S. A. (2007). New procedure for nucleophilic sulfonation of aromatic nitro compounds: Destructive oxidation of s-arylthioglycolic acids esters. *Russian Journal of Organic Chemistry,* 43(8), 1167-1169.

175. Ibrahim, E. S. A., Soliman, R., and Gabr, M. (1979). Synthesis of 4-substituted aminobenzoate quaternary salts as potent antispasmodic agents. *Journal of Pharmaceutical Sciences,* 68(3), 332-335.

176. Navarrete-Vázquez, G., Rojano-Vilchis, M. D. M., Yépez-Mulia, L., Meléndez, V., Gerena, L., Hernández-Campos, A., Castillo, R., and Hernández-Luis, F. (2006). Synthesis and antiprotozoal activity of some 2-(trifluoromethyl)-1H-benzimidazole bioisosteres. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 41(1), 135-141.

177. Ergül, A. G., Maz, T. G., Kretzer, C., Olğaç, A., Jordan, P. M., Çalışkan, B., Werz, O., and Banoglu, E. (2022). Novel potent benzimidazole-based microsomal prostaglandin E(2) synthase-1 (mPGES-1) inhibitors derived from BRP-201 that also inhibit leukotriene C(4) synthase. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 231, 114167.

EKLER

EK.1. Etik Kurul Kararı-1

Evrak Tarih ve Sayısı: 01/03/2018-E.36190

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Erden BANOĞLU
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Erden BANOĞLU, Mecit Orhan ULUDAĞ, Burcu ÇALIŞKAN, Nur Banu BAL'dan oluşan, G.Ü.ET-18.017 kod numaralı ve ***"Yeni Mikrozomal Prostaglandin E2 Sentaz-1 (mPGES-1) İnhibitörlerinin Geliştirilmesi Üzerine Çalışmalar"*** başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-18.017 and entitled ***"Studies on the Development of Novel Microsomal Prostaglandine E2 Synthase-1 (mPGES-1) İnhbitors"*** *is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Commitee regulations.*

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Kobay Duncan Hartley
Hayvan Sayısı : 144

Ek:1 Liste

EK.1. (devam) Etik Kurul Kararı-1

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 16.02.2018	TOPLANTI SAYISI : 02

ADI-SOYADI
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU
Prof.Dr.Tuncay PEKER
Prof.Dr.Fatma AKAR
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK
Doç.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ
Doç.Dr.Süleyman YEŞİL
Doç.Dr.Emre BARIŞ
Doç.Dr.İpek SÜNTAR
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR
Vet.Hek.Burcu AVCI
Osman İÇ

EK.2. Etik Kurul Kararı-2

Evrak Tarih ve Sayısı: 20/09/2018-E.125536

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Erden BANOĞLU
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Daha önce 01.03.2018 tarih ve E.36190 sayılı yazımız ile onay alan G.Ü.ET-18.017 kod numaralı "***Yeni Mikrozomal Prostaglandin E2 Sentaz-1 (mPGES-1) İnhibitörlerinin Geliştirilmesi Üzerine Çalışmalar***" başlıklı çalışmanız ile ilgili alınan 14.09.2018 tarihli dilekçe konusu Başkanlığımız tarafından incelenmiştir.

Çalışmanız TÜBİTAK-1001 projesi kapsamında TÜBİTAK tarafından değerlendirilmiş ve in vivo deneyler ile ilgili bazı önerilerde bulunulması nedeniyle, araştırmanız kapsamında deney gruplarına PF-4693627 kodlu 2.Referans maddenin eklenmesi ve ayrı bir deney grubunda analjezik ve antiinflamatuvar aktivite deneylerinde en etkili bulunan madde/maddelerin uygun dozlarında antipiretik aktivitenin değerlendirilmesine karar verdiğiniz çalışmanıza Kurulumuz tarafından daha önce onay verilen 144 deney hayvanına (Kobay) ilave olarak 48 adet deney hayvanı (Kobay) ile birlikte toplam 192 deney hayvanı (Kobay) talebinizin uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiş olup, karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

EK.2. (devam) Etik Kurul Kara

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 17.09.2018	TOPLANTI SAYISI : 08
ADI-SOYADI	**İMZA**
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)	
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU	
Prof.Dr.Tuncay PEKER	
Prof.Dr.Fatma AKAR	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Doç.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ	
Doç.Dr.Süleyman YEŞİL	
Doç.Dr.Emre BARIŞ	
Doç.Dr.İpek SÜNTAR	
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı	:	ERGÜL, Azize Gizem
Uyruğu	:	T.C.

Eğitim Derecesi			**Mezuniyet Yılı**
Doktora	:	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	:	Gazi Üniversitesi/Eczacılık Fakültesi	2017
Lise	:	Tokat Anadolu Lisesi	2012

İş Deneyimi	**Çalıştığı Yer**	**Görevi**
2022-devam ediyor	Lokman Hekim Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı	Öğretim Görevlisi

Yabancı Dili İngilizce

Yayınlar

-**Ergul A. G**., Gür Maz Z. T., Kretzer C., Olğaç A., Jordan P. M., Çalışkan B., Werz O., Banoğlu E., Novel potent benzimidazole-based microsomal prostaglandin E_2 synthase-1 (mPGES-1) inhibitors derived from BRP-201 that also inhibit leukotriene C_4 synthase. European Journal of Medicinal Chemistry 231 (2022) 114167.

-**Uslu A. G**., Gür Maz Z. T., Nocentini A., Banoğlu E., Supuran C. T., Çalışkan B, Benzimidazole derivatives as potent and isoform selective tumor-associated carbonic anhydrase IX/XII inhibitors, Bioorganic Chemistry 95 (2020) 103544.

-Turanlı S., **Ergul A. G**., Jordan P. M., Olğaç A., Çalışkan B., Werz O., Banoğlu E, Quinazoline-4(3H)-one-7-carboxamide Derivatives as Human Soluble Epoxide Hydrolase Inhibitors with Developable 5-Lipoxygenase Activating Protein Inhibition, ACS Omega 2022, 7, 36354−36365.

-Turanli S., **Uslu A. G**., Özdemir A., Synthesis of novel potential ROCK inhibitors and their antimigratory effects, Organic Communications, 13:4 (2020), 165-174.

Patentler

-Benzimidazole Derivatives as Microsomal Prostaglandin E_2 Syntase-1 (mPGES-1) Inhibitors (Uluslararası Patent, Başvuru Numarası: PCT/TR2022/050178).

- Benzimidazol Türevi Mikrozomal Prostaglandin E_2 Sentaz-1 (mPGES-1) İnhibitörleri (Ulusal patent, Başvuru Numarası: 2022/011123).

Poster ve Sözlü Bildiriler

1. Banoğlu, E., Çalışkan, B., Ergül, A. G. , Gür Maz, Z. T. ,Kretzer, C., Olğaç, A., Jordan, P. M., Werz, O. (2022). Discovery of Novel Microsomal Prostaglandin E2 Synthase-1 (mPGES-1) Inhibitors: A New Modality to Treat Inflammation. 10.International Drug Chemistry Conference (pp.12). Antalya, Turkey
2. Gür Maz, Z. T., Ergül, A. G., Jordan, P. M., Çalışkan, B., Werz, O., Banoğlu, E., (2022). Evaluation of oxadiazole derivatives as promising microsomal prostaglandin E_2 synthase-1 (mPGES-1) inhibitors. EFMC-ISMC 2022 - XXVII EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (pp.355). Nice, France
3. Çalışkan, B., Ergül, A. G., Gür Maz, Z. T., Kretzer, C., Olğaç, A., Jordan, P. M., Werz, O., Banoğlu, E., (2022). Novel microsomal prostaglandin E_2 synthase-1 (mPGES-1) inhibitor as a new modality to treat inflammation. EFMC-ISMC 2022 - XXVII EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (pp.321). Nice, France
4. Şimay Demir, Y. D., Dönmez, M. O., Ergül, A. G., (2022). Investigation of the antimigratory activity of 2-aminothiazole derivative compound in two different cancer cells. 9th International Academic Studies Conference (pp.263-264).

Burslar

YÖK 100/2000 Doktora Bursu	Eylül 2017-Eylül 2021
TÜBİTAK ARDEB (218S555)	Eylül 2019-Aralık 2022
TÜBİTAK BİDEB 2211/A Yurt içi Genel Doktora Programı	Haziran 2020-Aralık 2022
TÜBİTAK 2250/1- Lisansüstü Bursları Performans Programı	Şubat 2022-Temmuz 2022



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR…

