

2 위치가 치환된 5-니트로 Benzimidazole 유도체들의 Topoisomerase I 억제 활성

권민진 · Edmond J. LaVoie* · 김정선#

동서대학교 생명공학과, *College of Pharmacy, Rutgers the State University of New Jersey, USA

(Received April 3, 2003; Revised April 28, 2003)

Topoisomerase I Inhibition of 2-Substituted 5-Nitrobenzimidazoles

Min-Jin Kwon, Edmond J. LaVoie* and Jung Sun Kim#

Dept. of Biotechnology, Dongseo University, Busan 617-716, Korea

*College of Pharmacy, Rutgers the State University of New Jersey, USA

Abstract — A series of 2-phenyl-5-nitrobenzimidazoles substituted at the para position of the 2-phenyl moiety was synthesized & evaluated for their activity to inhibit topoisomerase I. The structure-activity relationship study revealed that neither the electronic nor lipophilic parameters were related to the topoisomerase I inhibition. A strict spatial requirement seems to be present for retention of topoisomerase I inhibition activity.

Keywords □ 2-Phenyl-5-nitrobenzimidazole, topoisomerase I inhibition, structure-activity relationship

Hoechst 33342, 2'-(4-ethoxyphenyl)-5-(4-ethylpiperazinyl)-2,5'-bi-1H-benzimidazole과 같은 benzimidazole 유도체들이 인체의 topoisomerase I(topo I)에 억제 활성을 가지고 있다고 알려져 있다.^{1,2)} 최근에는 5-phenyl terbenzimidazole과 이것의 유도체들이 topo I 억제 활성과 RPMI 8402 cell line 내에서 세포독성이 있는 것으로 보고되었으며 이들 bi-와 terbenzimidazole들을 합성하는 과정에서 나온 중간체인 2,5 치환 benzimidazole 유도체들 중에서도 흥미로운 topo I 억제 활성이 확인되었다.³⁾ 구조가 비교적 간단한 2,5 치환 benzimidazole들은 화학적으로 안정되어 camptothecin 보다는 약효의 반감기가 길 것으로 예측되며, DNA-mediated topoisomerase I 억제 실험에서 terbenzimidazole과는 다른 양상을 보여 새로운 항암 topoisomerase I 억제 약물류의 개발 가능성을 제시해 준다.³⁾

현재까지 보고된 유도체 중에서는 5-nitro-2-(p-methoxyphenyl)-benzimidazole(1)(Fig. 1)³⁾의 활성이 가장 탁월하였으므로 본 연구에서는 이 화합물의 2-phenyl기의 methoxy group과 관련된 구조결성관계를 살펴 보기 위해 다양한 electronic 및 lipophilic

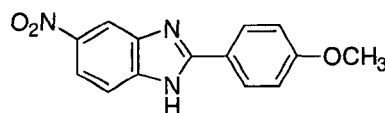


Fig. 1 – Structure of 5-nitro-2-(para-methoxyphenyl)benzimidazole (1).

인자를 가지는 유도체를 합성하여 topoisomerase I 억제 활성에 대한 영향을 살펴보고자 한다.

실험방법

시약 및 기기

화합물 합성에 사용한 시약은 모두 Aldrich사에서 구입하였으며 박층크로마토그래피(TLC)는 silica gel plate(Merck 60 F₂₅₄)를 사용하였다. 물질의 분리 및 정제에 사용한 column chromatography용 silica gel은 Merck 60을 용매는 HPLC grade을 사용하였다. UV 스펙트럼은 Hitachi U-2000 UV/VIS을 이용하여 측정하였으며, NMR 스펙트럼은 Varian Gemini-200를 이용하여 tetramethylsilane(TMS)를 내부표준물질로 사용하여 측정하였으며, chemical shift는 δ unit(ppm)으로 coupling constant는 Hz로 나타내었다. IR 스펙트럼은 Perkin-Elmer 1600을 이용

#본 문헌에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 051-320-1798 (팩스) 051-313-0432
(E-mail) jsk@gdsu.dongseo.ac.kr

하여 KBr pellet을 사용하여 측정하였다. 융점 측정은 Thomas-Hoover Unimelt를 사용하여 측정하였으며 온도 보정은 하지 않았다. 질량 스펙트럼은 Nebraska-Lincoln & Washington University의 Mass spectrometry Midwest 센터에서 측정되었다. 원소분석은 Atlantic Microlabs에서 측정되어졌다. 화합물(9), 5-nitro-2-methyl-1H-benzimidazole은 Aldrich사에서 구입하여 사용하였다.

합성

5-Nitro-2-(*p*-methoxyphenyl)-1H-benzimidazole(1)의 합성 - *p*-Anisaldehyde(224 mg, 1.65 mmol)와 4-nitro-1,2-phenylenediamine(253 mg, 1.65 mmol)을 nitrobenzene(3 ml)을 용매로 사용하여 질소 기류 하에 145°C로 14시간 가열 교반하여 반응시켰다. 반응물을 상온으로 냉각한 후, 10~30% EtOAc/hexanes를 사용하여 silica gel column으로 분리 정제하여 백색 분말 212 mg을 얻었다.

Yield: 48%; mp: 237~238°C; IR(KBr) cm^{-1} : 3296, 2931, 1612, 1500, 1448, 1290, 1180; ^1H NMR(DMSO- d_6 +3 drops of CF_3COOH) δ : 3.90(s, 3H), 7.27(d, 2H, $J=9.0$), 7.91(d, 1H, $J=9.0$), 8.20(d, 2H, $J=9.0$), 8.30(d, 1H, $J=9.0$), 8.55(s, 1H); ^{13}C NMR(DMSO- d_6 +3 drops of CF_3COOH) δ : 55.9, 110.7, 114.7, 115.4, 116.4, 120.4, 130.3, 133.9, 138.2, 144.5, 154.1, 163.6; Anal. calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3$: C, 62.45; H, 4.12; N, 15.61. found: C, 62.42; H, 4.15; N, 15.53.

5-Nitro-2-(*p*-tolyl)-1H-benzimidazole(2)의 합성 - *p*-Tolualdehyde(201 mg, 1.67 mmol)와 4-nitro-1,2-phenylenediamine(256 mg, 1.67 mmol)을 원료로 하여 화합물(1)과 같은 합성 방법으로 백색 분말 302 mg을 얻었다.

Yield: 71%; mp: 215~216°C(lit.⁴) 210°C; IR(KBr) cm^{-1} : 3324, 1503, 1330; ^1H NMR(DMSO- d_6 +3 drops of CF_3COOH) δ : 2.43(s, 3H), 7.48(d, 2H, $J=8.0$), 7.85(d, 1H, $J=9.0$), 8.13(d, 2H, $J=8.0$), 8.23(d, 1H, $J=9.2$), 8.52(d, 1H, $J=2.0$); ^{13}C NMR(DMSO- d_6 +3 drops of CF_3COOH) δ : 21.2, 111.3, 114.9, 119.9, 122.8, 128.0, 130.3, 135.4, 139.5, 143.5, 144.2, 154.7.

5-Nitro-2-(*p*-fluorophenyl)-1H-benzimidazole(3)의 합성 - *p*-Fluorobenzaldehyde(182 mg, 1.47 mmol)과 4-nitro-1,2-phenylenediamine 225 mg, 1.47 mmol)을 원료로 하여 화합물(1)과 같은 합성 방법으로 노란색 분말 252 mg을 얻었다.

Yield: 67%; mp: 259~260°C(lit.⁵) 260°C; IR(KBr) cm^{-1} : 3311, 1501, 1329; ^1H NMR(DMSO- d_6 +3 drops of CF_3COOH) δ : 7.47(m, 2H), 7.77(d, 1H, $J=9.0$), 8.14(dd, 1H, $J=9.0, 2.0$), 8.23-8.30(m, 2H), 8.47(d, 1H, $J=2.0$); ^{13}C NMR(DMSO- d_6 +3 drops of CF_3COOH) δ : 112.2, 114.8, 116.4, 116.8, 110.4, 125.3, 129.7, 129.9, 139.1, 143.1, 155.0, 161.4, 166.3.

5-Nitro-2-(*p*-chlorophenyl)-1H-benzimidazole(4)의 합성 - *p*-Chlorobenzaldehyde(196 mg, 1.39 mmol)과 4-nitro-1,2-phenylenediamine(213 mg, 1.39 mmol)을 원료로 하여 화합물(1)을 합성한 방법으로 노란색 분말 218 mg을 합성하였다.

Yield: 57%; mp: >280°C(lit.⁵) 308°C; IR(KBr) cm^{-1} : 3292, 1502, 1333; ^1H NMR(DMSO- d_6 +3 drops of CF_3COOH) δ : 7.70(d, 2H, $J=8.0$), 7.80(d, 1H, $J=9.0$), 8.16(dd, 1H, $J=9.0, 2.0$), 8.23(d, 2H, $J=8.0$), 8.49(d, 1H, $J=2.0$); ^{13}C NMR(DMSO- d_6 +3 drops of CF_3COOH) δ : 106.6, 112.4, 112.5, 115.0, 118.2, 118.6, 124.0, 129.1, 129.6, 139.3, 142.7.

5-Nitro-2-(*p*-hydroxymethylphenyl)-1H-benzimidazole(5)의 합성 - α -Hydroxy-*p*-tolualdehyde(7)(42.7 mg, 0.28 mmol)과 4-nitro-1,2-phenylenediamine(42.7 mg, 0.28 mmol)을 원료로 하여 화합물(1)을 합성한 방법으로 백색 분말 21 mg을 합성하였다.

Yield: 30%; mp: 269~270°C; IR(KBr) cm^{-1} : 3326, 3097, 1516, 1337; UV λ_{max} (MeOH) nm: 330, 270, 205(log ϵ = 4.11, 4.27, 4.11); ^1H NMR(DMSO- d_6 +3 drops of CF_3COOH) δ : 4.81(s, 2H), 7.71(d, 2H, $J=8.0$), 7.81(d, 1H, $J=9.0$), 8.18(dd, 1H, $J=9.0, 2.0$), 8.22(d, 2H, $J=8.0$), 8.52(d, 1H, $J=2.0$); ^{13}C NMR(DMSO- d_6 +3 drops of CF_3COOH) δ : 61.9, 111.6, 115.1, 119.2, 125.2, 127.3, 130.4, 140.9, 143.5, 143.8, 147.6, 155.1; HRMS(EI) calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3(\text{M}^+)$ 269.0800, found 269.0796.

5-Nitro-2-(*p*-methoxymethylphenyl)-1H-benzimidazole(6)의 합성 - α -Methoxy-*p*-tolualdehyde(8)(300 mg, 2.0 mmol)과 4-nitro-1,2-phenylenediamine(306 mg, 2.0 mmol)을 원료로 하여 화합물(1)을 합성한 방법으로 노란색을 띠는 백색 분말 528 mg을 합성하였다.

Yield: 93%; mp: 194~195°C; IR(KBr) cm^{-1} : 3097, 1515, 1333; ^1H NMR(DMSO- d_6) δ : 3.36(s, 3H), 4.53(s, 2H), 7.55(d, 2H, $J=8.5$), 7.77(d, 1H, $J=9.0$), 8.15(dd, 1H, $J=9.0, 2.0$), 8.21(d, 2H, $J=8.5$), 8.48(s, 1H); ^{13}C NMR(DMSO- d_6 +3 drops of CF_3COOH) δ : 58.0, 73.3, 112.1, 114.9, 118.5, 127.2, 127.8, 128.2, 139.1, 142.1, 143.2, 155.7, 159.0; Anal. calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3$: C, 63.60; H, 4.63; N, 14.83. found C; 63.68, H; 4.64, N; 14.85.

α -Hydroxy-*p*-tolualdehyde(7)의 합성 - *p*-Bromobenzyl alcohol(1.05 g, 5.61 mmol)을 새롭게 증류한 THF에 용해한 후 78°C로 냉각하여, 1.6 M *n*-BuLi(7.9 ml, 12.7 mmol)을 한 방울씩 적하하였다. 30분 동안 교반 한 후, 0°C에서 dry DMF(6.7 ml, 86.2 mmol)을 주입한 후 천천히 실온으로 올려주었다. 실온에서 14시간 교반한 후, 10~40% EtOAc/hexanes를 사용하여 silica gel column으로 분리 정제하여 50 mg의 (7)화합물을 합성하였다.

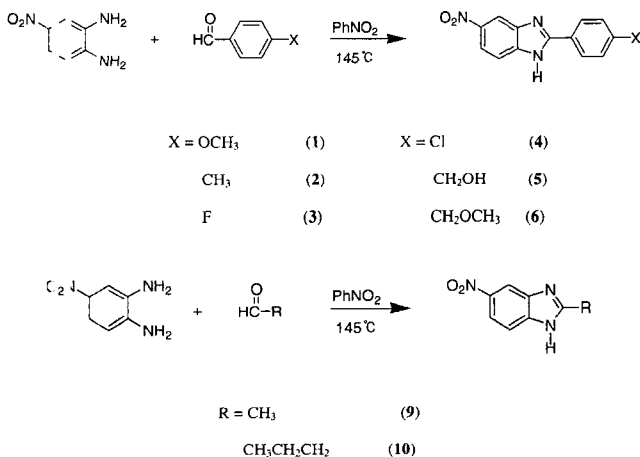
Yield: 6.6%; mp: 38~40°C(lit.⁶) 37~46°C.

α -Methoxy-*p*-tolualdehyde(8)의 합성 - α -Bromo-*p*-tolunitrile(17 g, 8.67 mmol)을 새롭게 증류한 MeOH(100 ml)에 용해한 후, NaOCH₃(656 mg, 9.0 mmol)을 주입하여 실온에서 질소 기류하에 14시간 교반하며 반응시켰다. 반응이 완료되면 물을 조심스럽게 가한 후, MeOH을 감압 농축하였다. EtOAc와 물을 사용하여 추출한 유기층을 무수 황산마그네슘으로 건조하고, 여과, 감압 농축한 후 0~30% EtOAc/hexanes를 사용하여 silica gel column으로 분리하였다. 분리한 후 깨끗한 액상의 α -methoxy-*p*-tolunitrile, 712 mg을 얻을 수 있었다. 여기에 formic acid(3 ml), 물(10 ml), Ni-Al 촉매(2.2 g)을 넣은 후 95°C에서 6시간 교반하여 반응시켰다. 뜨거운 상태의 반응물을 celite를 통과시켜 무기물을 제거한 후, 감압하여 formic acid를 제거하였다. 2N NaOH를 사용하여 pH 9로 조정한 후 EtOAc와 물을 사용하여 추출, 건조, 감압 농축하여 노란색 기름 380 mg을 합성하였는데, 다른 정제 과정 없이 다음 반응에 바로 사용되었다.

Crude yield: 30%.

5-Nitro-2-propyl-1H-benzimidazole(10)의 합성 - Butyraldehyde(102 mg, 1.41 mmol)와 5-nitrophenylenediamine (400 mg, 2.61 mmol)을 nitrobenzene(3 ml)에 넣은 후 sealed tube를 사용하여 145°C에서 14시간 동안 가열 교반하여 반응시켰다. 반응물을 상온으로 냉각 한 후, 10~30% EtOAc/hexanes를 사용하여 silica gel column으로 분리 정제하였다. 그리하여 노란색을 띠는 액색 분말 183 mg을 얻었다.

Yield: 63%; mp: 140~141°C; IR(KBr) cm⁻¹: 3099, 2964, 1519, 1338; ¹H NMR(CD₃OD) δ : 1.03(t, 3H, *J*=7.5), 1.91(m, 2H), 2.92(t, 2H, *J*=7.5), 7.59(d, 1H, *J*=9.0), 8.13(dd, 1H, *J*=9.0, 2.0), 8.39(d, 1H, *J*=2.0); ¹³C NMR(DMSO-d₆+3 drops of CF₃COOH) δ : 13.4, 20.2, 28.7, 110.9, 115.0, 120.7, 131.6, 135.4, 144.9, 159.4.



Scheme 1 - Synthesis of 5-nitro-benzimidazoles.

Topo I 저해 활성

*E. coli*에서 expressed된 human topo I을 이용하여 topo I mediated DNA cleavage assay를 실시하였다. 실험 방법은 Hsiang 등의 방법으로 하였다.⁷⁾ Positive control은 Camptothecin의 0.2% 정도의 활성을 보인 5-nitro-2-(*p*-methoxyphenyl)-1H-benzimidazole을 사용하였다.

합성한 화합물들의 세포독성(MTT assay)

Topo I 활성과 가장 좋은 상관관계를 보이는 RPMI 8402 cell line에서의 세포독성을 살펴보았다. 실험방법은 Denizot 등의 방법을 따랐으며 2000 cells/well을 사용하며 200 μ l의 growth media를 사용하고 37°C와 5% CO₂ 조건에서 실시하였다.⁸⁾

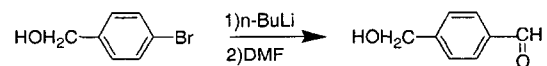
결과 및 고찰

합성

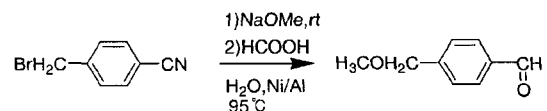
4-Nitrophenylenediamine과 적절한 aldehyde를 nitrobenzene 하에 반응시켜 5-nitro-2-phenyl benzimidazole 유도체(1)~(6)과 (10)을 30~93%의 수득률로 얻었다. 대부분의 aldehyde들은 시판되는 것을 구입하여 사용하였으나 (5), (6) 합성에 필요한 α -hydroxy-*p*-tolualdehyde(7)와 α -methoxy-*p*-tolualdehyde(8)은 합성하여 사용하였다. (7)은 Scheme 2에서 보는 바와 같이 bromobenzyl alcohol로부터 n-BuLi과 DMF를 사용하여 얻을 수 있었으며, (8)은 α -bromo-*p*-tolunitrile을 우선 α -methoxy-methyl-*p*-benzonitrile로 전환시킨 후에 Ni/Al 촉매하에 formic acid과 반응시켜 원하는 aldehyde를 얻을 수 있었다(Scheme 3). (2), (3)과 (4) 화합물처럼 이미 알려진 것들은 문헌에 보고된 용점과 NMR, IR data로 구조를 확인하였으며 기존에 알려지지 않은 (5)와 (6) 화합물의 경우는 용점과 NMR, IR data 외에 High resolution mass 또는 원소분석 data를 이용하여 구조를 확인하였다.

Topo I 억제 활성

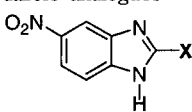
합성된 benzimidazole 유도체(1)~(6)과 (9), (10)의 topoisomerase I 억제 활성을 측정할 결과는 Table I과 같다. (1)과



Scheme 2 - Synthesis of hydroxymethylbenzaldehyde.



Scheme 3 - Synthesis of *p*-methoxymethylbenzaldehyde.

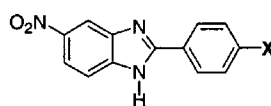
Table I – Topoisomerase I inhibition activities of 5-nitrobenzimidazole analogues


Compound	X	Topo I mediated cleavage ^(a)
(1)		1
(2)		100
(3)		2
(4)		1.1
(5)		10
(6)		Inactive
(9)		Inactive
(10)		Inactive

^(a)Topo I mediated cleavage values are reported as REC, relative effective concentration, i.e. concentration relative to (1), whose value is arbitrarily assumed as 1, that are able to produce the same cleavage on plasmid DNA in the presence of human topoisomerase I. (1) possesses approximately 0.2% of the activity of camptothecin as a topoisomerase I poison.

비교하였을 때 2-phenyl기의 para 위치에 methoxy기가 F로 치환된 (3)은 활성이 1/2 정도로 감소했으며, Cl이 치환된 (4)는 거의 (1)과 유사한 활성을 보였다. 반면, methoxy기 대신 methyl기가 치환된 (2)의 경우는 활성이 100배 감소되는 현상을 보였다. Sun 등은⁹⁾ (1)의 OCH₃기가 ortho나 meta 위치에 있을 때 보다는 para 위치에 있을 때 topo I 억제 활성이 가장 강했다고 보고한다. 그러나, para 위치의 치환기들이 활성에 어떤 영향을 미치는지는 확실하지 않다. Lipophilicity 또는 electronic 성질과의 관련 여부를 보기 위해 Hansch의 π , σ 값들을 비교한 결과 (Table II) 가장 lipophilic한 Cl group의 활성이 가장 lipophilicity가 낮은 lead compound(1)과 활성이 유사했으며 비교적 lipophilic한 CH₃ group이 치환된 (2)의 경우는 활성이 상당히 낮은 것으로 나타났다. 그리고 nonlinear regression을 한 결과

$$\log \frac{1}{\text{TopoI}} = 0.3137 - 2.3462\pi + 4.1976\sigma_p, \quad p = 0.5145 \text{로}$$

Table II – Hansch coefficients of select substituents


Compound	X	π	σ_p
(1)	OCH ₃	-0.02	-0.2
(2)	CH ₃	0.56	-0.17
(3)	F	0.14	0.06
(4)	Cl	0.71	0.23

Table III – Cytotoxicity of select 5-nitro-benzimidazole analogues

Compound	Cytotoxicity ^(a)
(1)	28
(3)	11.7
(4)	5.5
(6)	31.8
(9)	Inactive
(10)	Inactive

^(a)IC₅₀, μM in RPMI 8402 cells.

topoisomerase I 억제 활성은 lipophilicity와 electronic parameter와 명확한 상관관계를 보이지 않았다. 그러나 확실한 관계 규명을 위해서는 유도체들의 추가 합성과 상관관계 연구가 필요한 것으로 사료된다.

Topoisomerase I 억제 활성을 유지하기 위해서는 benzimidazole의 2-위치에 rigid한 공간적인 조건이 충족되어야 한다고 생각되었다. (6)은 (1)의 phenyl group과 OCH₃ group 사이에 methylene group을 연결시킨 화합물이었는데, topoisomerase I 억제 활성이 완전히 소실되는 반면, (1)과 거의 유사한 활성을 보였던 5-nitro-2-(p-hydroxyphenyl)-benzimidazole⁹⁾의 OH기와 phenyl 사이에 methylene group을 연결시킨 (5)의 경우는 활성이 (1)에 비해 10배 정도만 감소하였다.

RPMI 8402 cell line에서의 세포 독성을 살펴본 결과 Table III과 같다. 가장 활성이 좋은 (4)는 5.5 μM 의 IC₅₀로 (1)의 28 μM 보다는 좋기는 하나, (1)의 세포독성보다 유의성있는 증가를 볼 수 있는 유도체는 없었다. (1)의 2-위치의 aromatic ring 대신 -CH₃기와 -CH₂CH₂CH₃기를 치환 시킨 경우는 topoisomerase I 억제 활성뿐 아니라 세포 독성도 완전히 소실되었다.

대부분의 benzimidazole 유도체들의 topo I 억제 활성은 RPMI 8402 세포에서의 cytotoxicity와 상관관계가 있는 것으로 알려져 있다.³⁾ 그러나 Table III에서 보는 바와 같이 이들 유도체들의 세포 독성은 topoisomerase I 억제 활성과 명확한 상관관계를 보기 힘들다. 이는 이들 benzimidazole 유도체들의 세포독성이 topoisomerase I 억제 기전 외의 다른 기전과도 관련이 있을 가능성을 제시해준다.

결 론

2-위치가 치환된 5-nitro benzimidazole유도체 8개를 합성하여 topoisomerase I 억제 활성을 살펴 본 결과 2-위치의 phenyl 기는 활성을 유지하는데 반드시 필요하며 phenyl기의 para 위치는 치환기에 따라 다양한 활성을 보여주었다. 이들 치환기의 lipophilicity나 electronic factor와 topo I 활성과의 상관관계를 보기는 힘들었으나 rigid한 공간적인 요건이 충족되어야 활성이 유지된다고 생각되었으며, 이들의 세포 독성은 topo I 억제 기전

외의 다른 기전과도 상관이 될 것이라고 추정된다. 가장 활성이 좋은 유도체는 5-nitro-2-(*p*-chlorophenyl)benzimidazole로 lead compound인 (1)과 유사한 topo I 억제 활성과 RPMI 8402 세포에서의 세포 독성은 IC₅₀가 5.5 μM였다.

감사의 말씀

본 연구는 2001년도 보건복지부 보건의료기술진흥사업(01-PJ1-PG3-21500-0021)에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다. Topoisomerase I 억제 활성과 세포 독성실험을 해주신 미국 뉴저지 주립대학교의 Leroy Liu 교수님, Chiang Yu 선생님, 그리고 Angela Liu 선생님께 감사드립니다.

문헌

- Chen, A. Y., Yu, C., Peng, L. F. and Liu, L. F. : A new mammalian DNA topoisomerase I poison Hoechst 33342: Cytotoxicity and drug resistance in the human cell cultures. *Cancer Res.* **53**, 1332 (1993).
- Chen, A., Yu, C., Gatto, B. and Liu, L. F. : DNA minor groove-binding ligands: A different class of mammalian DNA topoisomerase I inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **90**, 1311 (1993).
- Kim, J. S., Sun, Q., Gatto, B., Yu, C., Liu, A., Liu, L. F. and LaVoie, E. J. : Structure-Activity Relationships of Benzimidazoles and related heterocycles as topoisomerase I poisons. *Bioorg. Med. Chem.* **4**, 621 (1996).
- Kim, J. S., Yu, C., Liu, A., Liu, L. F. and LaVoie, E. J. : 2-Substituted benzimidazoles: influence of 2-, 4-, and 5-substituents on cytotoxicity and relative potency as topoisomerase I poisons. *J. Med. Chem.* **40**, 2818 (1997).
- Jin, S., Kim, J. S., Sim, S.-P., Liu, A., Pilch, D. S., Liu, F. and Lavoie, E. J. : Heterocyclic bibenzimidazole derivatives as topoisomerase I inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **10**, 719 (2000).
- Bapat, D. G. and Shirsat, M. V. : Chemotherapy of bacterial infections. XV. Synthesis of some new 2-alkyl, 2-aryl- and 2-pyridyl-5(6)-aminobenzimidazoles. *Ind. J. Chem.* **3**, 81 (1965).
- Sandera, G., Isensee, R. W. and Joseph, L. : Derivatives of 2-phenylbenzimidazoles. II. *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 5173 (1954).
- Weinshenker, N. M., Crosby, G. A. and Wong, J. Y. : Polymeric reagents. IV. Synthesis and utilization of an insoluble polymeric organotin dihydride reagent. *J. Org. Chem.* **40**, 1966 (1975).
- Hsiang, Y.-H., Hertzberg, R., Hecht, S. and Liu, L. F. : Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *J. Biol. Chem.* **260**, 14873 (1985).
- Denizot, F. and Lang, R. : Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods* **89**, 271 (1986).
- Sun, Q., Ph.D. dissertation, January 1996, Rutgers, the State University of New Jersey.
- Hansch, C., Leo, A. and Hoekman, D. : Exploring QSAR-hydrophobic, electronic, and steric constants. *ACS Professional reference book, American Chemical Society, Washington, D.C.* (1995).
- Polanski, J. and Walczak, B. : The comparative molecular surface analysis (COMSA): a novel tool for molecular design. *Computers. Chem.* **24**, 615 (2000).