

**YENİ TİYOSEMİKARBAZON TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE DUAL
AChE ve MAO-B İNHİBİTÖR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

AYŞE NUR UYTUN

Eskişehir, 2022

**YENİ TİYOSEMİKARBAZON TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE DUAL
AChE ve MAO-B İNHİBİTÖR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

AYŞE NUR UYTUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Haziran 2022

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Ayşe Nur UYTUN'un "Yeni Tiyosemikarbazon türevlerinin sentezleri ve Dual AchE ve MAO-B inhibitör etkilerinin araştırılması" başlıklı tezi 24. 06. 2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Unvanı-Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI

Üye : Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Üye : Doç. Dr. Kaan KÜÇÜKOĞLU

Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ÖZET

YENİ TİYOSEMİKARBAZON TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE DUAL ACHE VE MAO-B İNHİBİTÖR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşe Nur UYTUN

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Haziran 2022

Danışman: Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI

Alzheimer hastalığı genellikle davranışsal semptomlar ile bilişsel ve fiziksel işlev kaybı ile karakterize ilerleyici ve patofizyolojisi tam olarak bilinmeyen ölümcül kronik bir hastalıktır. Demansın en yaygın nedenidir. Tau proteinlerinin hiperfosforilasyonu, β amiloid protein agregasyonu, nörotransmitterlerin azalması ve oksidatif stres mekanizmaları Alzheimer hastalığının nöropatolojik bulguları olarak tahmin edilmektedir ve semptomatik tedavisinde AChE inhibitörleri kullanılmaktadır.

Bu çalışmada; tiyosemikarbazon türevi 15 bileşik sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin analizi; $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve Mass spektroskopik yöntemleri analiz bulguları ile aydınlatılmıştır. Elde edilen bileşiklerin kolinesteraz ve monoaminoksidaz (MAO) enzimleri üzerindeki inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin hiçbiri butirilkolinesteraz (BChE) enzimi üzerinde önemli bir aktivite göstermemiştir. **3b**, **3c**, **3e**, **3k**, **3l**, **3m**, **3n** ve **3o** kodlu bileşikler; Asetikolinesteraz (AChE) ve **3f**, **3i**, **3k**, **3l**, **3m**, **3n**, **3o** kodlu bileşikler de MAO-B enzimleri üzerinde kayda değer inhibitör etki göstermişlerdir.

Tez kapsamında AChE ve MAO-B enzim aktif bölgelerinin yapısı moleküler modelleme çalışmaları ile aydınlatılmıştır. Seçilen bileşikler için *docking* çalışmaları yapılarak enzim aktif bölgesi ile bağlanma noktaları tespit edilmiştir. AChE ve MAO-B enzim aktif bölgeleri ile en güçlü etkileşim **3k** kodlu bileşikte gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Tiyosemikarbazon, Alzheimer, Monoaminoksidaz, Asetilkolinesteraz, Doking.

ABSTRACT

SYNTHESIS OF NEW THIOSEMICARBAZONE DERIVATIVES AND INVESTIGATION OF DUAL ACHE AND MAO-B INHIBITORY EFFECTS

Ayşe Nur UYTUN

Department of Pharmaceutical Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, Jun 2022

Supervisor: Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI

Alzheimer's disease is a progressive and fatal chronic disease characterized by behavioral symptoms and loss of cognitive and physical function. It is the most common cause of dementia. Hyperphosphorylation of tau proteins, β amyloid protein aggregation, reduction of neurotransmitters and oxidative stress mechanisms are predicted as neuropathological findings of Alzheimer's disease and AChE inhibitors are used in the symptomatic treatment.

In this study; 15 thiosemicarbazone derivative compounds were synthesized. Analysis of the obtained compounds; $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ and Mass spectroscopic methods are illuminated by the analysis findings. The inhibition effect of the obtained compounds on cholinesterase and monoaminoxidase (MAO) enzymes was investigated. None of the synthesized compounds showed significant activity on butyrylcholinesterase (BChE) enzyme. **3b**, **3c**, **3e**, **3k**, **3l**, **3m**, **3n** and **3o** coded compounds; Acetylcholinesterase (AChE) and **3f**, **3i**, **3k**, **3l**, **3m**, **3n**, **3o** coded compounds also showed remarkable effects on MAO-B enzymes.

Within the scope of the thesis, the structure of AChE and MAO-B enzyme active sites has been clarified by molecular modeling studies. For the selected compounds, docking studies were performed and the enzyme active site and binding points were determined. It was revealed that the strongest interaction with AChE and MAO-B enzyme active sites was observed with the **3k** coded compound.

Keywords: Thiosemicarbazone, Alzheimer, Monoaminoxidase, Acetylcholinesterase, Docking.

TEŞEKKÜR

24 / 06 /2022

Hazırlamış olduğum bu yüksek lisans tezinin her aşamasında değerli bilgi ve tecrübelerini her zaman benimle paylaşıp, yardım ve yönlendirmeleriyle desteğini esirgemeyen tez danışmanım, sayın hocam Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI'ya

Her zaman sevgisini hissettiğim tezimi tamamlamamda büyük emeği olan, laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olup bilgisini ve birikimlerini benimle paylaşan hem mesleki hem de özel hayatımda desteğini, ilgisini her zaman hissettiğim değerli hocam Araş. Gör. Dr. Derya OSMANİYE'ye

Yüksek lisans çalışmalarım süresince her türlü desteklerini hissettiğim sevgili hocalarım Doç. Dr. Ulviye ACAR ÇEVİK'e, Doç. Dr. Begüm Nurpelin SAĞLIK'a, Öğr. Gör. Serkan LEVENT'e ve Öğr. Gör. Asaf Evrim EVREN'e,

Hayatımın her evresinde ve her koşulda yanımda olan, sevgi ve inançlarıyla beni bugüne getiren canım annem Sedef UYTUN'a ve babam Ayhan UYTUN'a, her zaman sevgi ve bağlılıklarıyla yanımda olan kardeşlerim Orhun Kani UYTUN ve Zeynep Eda UYTUN'a teşekkür ederim.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

24. 06. 2022

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”nda tarandığımı beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkabilecek tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Ayşe Nur UYTUN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BAŞLIĞI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	3
2.1. Alzheimer Hastalığı.....	3
2.1.1. Alzheimer hastalığının tanımı.....	3
2.1.2. Alzheimer hastalığının belirtileri.....	3
2.1.3. Alzheimer hastalığının nedenleri ve tedavisi	4
2.1.4. Kolinesteraz enzimi ve inhibitörleri	7
2.1.5. AChE enziminin kristal yapısı ve tedavide kullanılan AChE inhibitörleri	8
2.1.5.1. Donepezil	8
2.1.5.2. Rivastigmin	9
2.1.5.3. Galantamin.....	9
2.1.5.4. Takrin	10
2.1.6. MAO enzimi ve inhibitörleri.....	10
2.1.6.1. Selejilin	11

2.1.7. NMDA reseptör antagonistleri	11
2.1.7.1. Memantin	12
2.2. Antikolinesteraz ve MAO-B İnhibitör Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Tiyosemikarbazon Türevleri.....	12
2.3. Antikolinesteraz Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Piperazin Türevleri.....	13
3. GEREÇLER.....	16
3.1. Kullanılan Maddeler.....	16
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	1
4. YÖNTEMLER	2
4.1. Sentez Çalışmaları.....	2
4.1.1. 4-Süstitüe benzaldehit türevlerinin sentezi (1a-1c) (Yöntem A).....	2
4.1.2. Tiyosemikarbazid türevlerinin sentezi (2a-2e) (Yöntem B)	2
4.1.3. Tiyosemikarbazon türevlerinin sentezi (3a-3o) (Yöntem C).....	2
4.2. İTK Çalışmaları	3
4.3. Erime Noktalarının Tespiti	4
4.4. ¹ H-NMR Spektrumlarının Alınması.....	4
4.5. ¹³ C-NMR Spektrumlarının Alınması.....	4
4.6. Kütle Spektrumlarının Alınması	4
4.7. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	4
4.7.1. Antikolinesterazaktivite çalışmaları.....	5
4.7.1.1. AChE ve BChEenzim solüsyonunun hazırlanması	5
4.7.1.2. Asetiltiyokoliniyodür (ATC) çözeltisinin hazırlanması (0.075 M).....	5
4.7.1.3. Bütiriltiyokoliniyodür (BTC) çözeltisinin hazırlanması (0.075 M).....	5
4.7.1.4. 5-5-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) solüsyonunun hazırlanması (0.01 M)	5

4.7.1.5. Fosfat tamponunun hazırlanması (pH=8.0)	6
4.7.1.6. Test bileşiklerin çözeltilerinin hazırlanması	6
4.7.2. AChE ve BChE inhibisyon çalışması	6
4.7.3. Monoamin oksidaz enzim aktivite çalışmaları	7
4.8. Moleküler Modelleme Çalışmaları	8
5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR	9
5.1. Sentez Çalışmaları	9
5.1.1. <i>N</i> -Etil-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1- karbotiyoamid (3a)	9
5.1.2. <i>N</i> -Allil-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1- karbotiyoamid (3b)	13
5.1.3. <i>N</i> -fenil-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1- karbotiyoamid (3c)	17
5.1.4. <i>N</i> -(4-Metoksifenil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1- il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3d)	21
5.1.5. <i>N</i> -(4-Klorofenil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin- 1-karbotiyoamid (3e)	25
5.1.6. <i>N</i> -Etil-2-(4-(4-(4-florofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1- karbotiyoamid (3f)	29
5.1.7. <i>N</i> -Allil-2-(4-(4-(4-florofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1- karbotiyoamid (3g)	33
5.1.8. 2-(4-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il)benziliden)- <i>N</i> -fenilhidrazin- 1-karbotiyoamid (3h)	37
5.1.9. 2-(4-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il)benziliden)- <i>N</i> -(4- metoksifenil)hidrazin-1-karbotiyoamid (3i)	41
5.1.10. <i>N</i> -(4-klorofenil)-2-(4-(4-(4-florofenil)piperazin-1- il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3j)	45
5.1.11. <i>N</i> -Etil-2-(4-(4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin- 1-karbotiyoamid (3k)	49

5.1.12. <i>N</i> -Allil-2-(4-(4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3l)	53
5.1.13. 2-(4-(4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)- <i>N</i> -fenilhidrazin-1-karbotiyoamid (3m)	57
5.1.14. 2-(4-(4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)- <i>N</i> -(4-metoksifenil)hidrazin-1-karbotiyoamid (3n).....	61
5.1.15. <i>N</i> -(4-Klorofenil)-2-(4-(4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3o).....	65
5.2. Sentez Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	69
5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi	70
5.3.1. ¹ H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	70
5.3.2. ¹³ C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	71
5.3.3. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi	71
5.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi	71
5.4.1. AChE ve BChE enzim aktivite çalışmalarının değerlendirilmesi	71
5.4.2. MAO-A ve MAO-B enzim aktivite çalışmalarının değerlendirilmesi	72
5.5. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi	75
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	85
ÖZGEÇMİŞ	

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 5.1. Elde edilen bileşiklerin 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında AChE, BChE, MAO-A ve MAO-B enzimine karşı % inhibisyon oranları ve IC_{50} (μ M) değerleri.....	73
---	----

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. AChE inhibitörlerinin fonksiyonları	7
Şekil 2.2. Donepezil İlacının Kimyasal Yapısı.....	8
Şekil 2.3. Rivastigmin'in Kimyasal Yapısı	9
Şekil 2.4. Galantaminin kimyasal yapısı	9
Şekil 2.5. Takrinin kimyasal yapısı	10
Şekil 2.6. Selejilin'in kimyasal yapısı	11
Şekil 2.7. Memantin'in kimyasal yapısı	12
Şekil 2.8. (E)-2-((4,6-dimetoksi-3-fenil-1 <i>H</i> -indol-7-yl)metilen) - <i>N</i> -metilhidrazin-1-karbotiyoamid	12
Şekil 2.9. 2-(Benzofuran-2-il metilen)- <i>N</i> -(2-metoksietil) hidrazin-1-karbotiyoamid.....	13
Şekil 2.10. 2-((2-Kloro-6-metoksi kinolin-3-il)metilen) - <i>N</i> -(2-morfolinoetil) hidrazinkarbotiyoamid	13
Şekil 2.11. 3-Asetilkumarin tiyosemikarbazon	13
Şekil 2.12. 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil)bis[<i>N</i> -(<i>p</i> -metoksifenil) hidrazin karbotiyoamid	13
Şekil 2.13. <i>N</i> -(2-(4-Benzilpiperazin-1-il)etil)-2-(4-kloro-2-nitrofenoksi) asetamid	14
Şekil 2.14. 2-[(3-Kloro-4-florofenil) amino]-2-oksoetil 4-fenilpiperazin-1-karbotiyoamid	14
Şekil 2.15. 3-(2-Hidroksi-4,6-dimetoksifenil)-3-oksopropil piperazin-1-karboksilat	14
Şekil 2.16. {4-[2-(Dimetilamino)etil]piperazin-1-il} {4-[1-(prop-2-in-1-il)-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-2-il]fenil}	15
Şekil 2.17. 1-Benzil-4-(2-(4-(4, 5-diphenil-1 <i>H</i> -imidazol-2-il) fenoksi)etil)piperazin	15
Şekil 4.1. 4-Süstitüe benzaldehit türevlerinin (1a-1c) sentezi.....	2
Şekil 4.2. Tiyosemikarbazid türevlerinin (2a-2e) sentezi.....	2
Şekil 4.3. Tiyosemikarbazon türevlerinin (3a-3o) sentezi	3

Şekil 5.1. <i>N</i> -Etil-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1 -karbotiyoamid (3a).....	9
Şekil 5.2. ¹ H-NMR spektrumu (3a).....	10
Şekil 5.3. ¹³ C-NMR spektrumu (3a).....	11
Şekil 5.4. HRMS spektrumu (3a)	12
Şekil 5.5. <i>N</i> -Allil-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden) hidrazin-1-karbotiyoamid (3b).....	13
Şekil 5.6. ¹ H-NMR spektrumu (3b).....	14
Şekil 5.7. ¹³ C-NMR spektrumu (3b)	15
Şekil 5.8. HRMS spektrumu (3b).....	16
Şekil 5.9. <i>N</i> -fenil-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazine -1-karbotiyoamid (3c)	17
Şekil 5.10. ¹ H-NMR spektrumu (3c)	18
Şekil 5.11. ¹³ C-NMR spektrumu (3c).....	19
Şekil 5.12. HRMS spektrumu (3c)	20
Şekil 5.13. <i>N</i> -(4-Metoksifenil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il) benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3d).....	21
Şekil 5.14. ¹ H-NMR spektrumu (3d).....	22
Şekil 5.15. ¹³ C-NMR spektrumu (3d)	23
Şekil 5.16. HRMS spektrumu (3d).....	24
Şekil 5.17. <i>N</i> -(4-Klorofenil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il) benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3e).....	25
Şekil 5.18. ¹ H-NMR spektrumu (3e).....	26
Şekil 5.19. ¹³ C-NMR spektrumu (3e).....	27
Şekil 5.20. HRMS spektrumu (3e)	28
Şekil 5.21. <i>N</i> -Etil-2-(4-(4-(4-florofenil)piperazin-1-il) benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3f)	29
Şekil 5.22. ¹ H-NMR spektrumu (3f)	30
Şekil 5.23. ¹³ C-NMR spektrumu (3f)	31
Şekil 5.24. HRMS spektrumu (3f).....	32
Şekil 5.25. <i>N</i> -Allil-2-(4-(4-(4-florofenil)piperazin-1-il) benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3g).....	33
Şekil 5.26. ¹ H-NMR spektrumu (3g).....	34

Şekil 5.27. ¹³ C-NMR spektrumu (3g).....	35
Şekil 5.28. HRMS spektrumu (3g).....	36
Şekil 5.29. 2-(4-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il)benziliden) - <i>N</i> -fenilhidrazin-1-karbotiyoamid (3h).....	37
Şekil 5.30. ¹ H-NMR spektrumu (3h).....	38
Şekil 5.31. ¹³ C-NMR spektrumu (3h).....	39
Şekil 5.32. HRMS spektrumu (3h).....	40
Şekil 5.33. 2-(4-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il) benziliden)- <i>N</i> -(4-metoksifenil)hidrazin-1-karbotiyoamid (3i).....	41
Şekil 5.34. ¹ H-NMR spektrumu (3i).....	42
Şekil 5.35. ¹³ C-NMR spektrumu (3i).....	43
Şekil 5.36. HRMS spektrumu (3i).....	44
Şekil 5.37. <i>N</i> -(4-klorofenil)-2-(4-(4-(4-florofenil)piperazin-1-il) benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3j).....	45
Şekil 5.38. ¹ H-NMR spektrumu (3j).....	46
Şekil 5.39. ¹³ C-NMR spektrumu (3j).....	47
Şekil 5.40. HRMS spektrumu (3j).....	48
Şekil 5.41. <i>N</i> -Etil-2-(4-(4-(4-florobenzil)piperazin-1-il) benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3k).....	49
Şekil 5.42. ¹ H-NMR spektrumu (3k).....	50
Şekil 5.43. ¹³ C-NMR spektrumu (3k).....	51
Şekil 5.44. HRMS spektrumu (3k).....	52
Şekil 5.45. <i>N</i> -Allil-2-(4-(4-(4-florobenzil)piperazin-1-il) benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3l).....	53
Şekil 5.46. ¹ H-NMR spektrumu (3l).....	54
Şekil 5.47. ¹³ C-NMR spektrumu (3l).....	55
Şekil 5.48. HRMS spektrumu (3l).....	56
Şekil 5.49. 2-(4-(4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)benziliden) - <i>N</i> -fenilhidrazin-1-karbotiyoamid (3m).....	57
Şekil 5.50. ¹ H-NMR spektrumu (3m).....	58
Şekil 5.51. ¹³ C-NMR spektrumu (3m).....	59
Şekil 5.52. HRMS spektrumu (3m).....	60

Şekil 5.53. 2-(4-(4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)- <i>N</i> -(4-metoksifenil)hidrazin-1-karbotiyoamid (3n)	61
Şekil 5.54. ¹ H-NMR spektrumu (3n).....	62
Şekil 5.55. ¹³ C-NMR spektrumu (3n)	63
Şekil 5.56. HRMS spektrumu (3n).....	64
Şekil 5.57. <i>N</i> -(4-klorofenil)-2-(4-(4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3o).....	65
Şekil 5.58. ¹³ C-NMR ait spektrumu (3o).....	67
Şekil 5.59. HRMS spektrumu (3o)	68
Şekil 5.60. Hedef bileşiklerin sentezi	69
Şekil 5.61. Bileşik 3k 'nın iki boyutlu olarak AChE enzim aktif yöresiyle etkileşimi.	76
Şekil 5.62. Bileşik 3k 'nın üç boyutlu olarak AchE enzim aktif bölgesiyle etkileşimi (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler gri renkli, bileşik 3k ise kırmızı renkli gösterilmiştir).	76
Şekil 5.63. Bileşik 3l 'nin iki boyutlu olarak AChE enzim aktif yöresiyle etkileşimi.....	77
Şekil 5.64. Bileşik 3k 'nın üç boyutlu olarak AchE enzim aktif bölgesiyle etkileşimi (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler gri renkli, bileşik 3k ise mavi renkli gösterilmiştir).	78
Şekil 5.65. Bileşik 3m 'nin iki boyutlu olarak AChE enzim aktif yöresiyle etkileşimi.....	79
Şekil 5.66. Bileşik 3m 'nin üç boyutlu olarak AchE enzim aktif bölgesiyle etkileşimi(Enzim aktif bölgesindeki amino asitler gri renkli, bileşik 3m ise sarı renkli gösterilmiştir).....	79
Şekil 5.67. Bileşik 3n 'nin iki boyutlu olarak AChE enzim aktif yöresiyle etkileşimi.....	80
Şekil 5.68. Bileşik 3n 'nin üç boyutlu olarak AchE enzim aktif bölgesiyle etkileşimi (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler gri renkli, bileşik 3n ise mor renkli gösterilmiştir).	81
Şekil 5.69. Bileşik 3o 'nun iki boyutlu olarak AChE enzim aktif yöresiyle etkileşimi.....	82

Şekil 5.70. Bileşik 3o 'nun üç boyutlu olarak AchE enzim aktif bölgesiyle etkileşimi (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler gri renkli, bileşik 3o ise yeşil renkli gösterilmiştir).	82
Şekil 5.71. Bileşik 3k 'nın iki boyutlu olarak MAO-B enzim aktif yöresiyle etkileşimi.	83
Şekil 5.72. Bileşik 3k 'nın üç boyutlu olarak MAO-B enzim aktif bölgesiyle etkileşimi (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler yeşil renkli, bileşik 3k ise kırmızı renkli gösterilmiştir. FAD ise siyah renk ile belirtilmiştir).	84

KISALTMALAR DİZİNİ

A β	: Beta amiloid
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
AH	: Alzheimer Hastalığı
ATC	: Asetiltiyokolin iyodür
BChE	: Bütirilkolinesteraz
ChE	: Kolinesteraz
¹³ C-NMR	: Karbon nükleer manyetik rezonans
DMF	: Dimetilformamit
DTNB	: 5-5'-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit)
E.n.	: Erime noktası
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi
¹ H-NMR	: Proton Nükleer Magnetik Rezonans
HRMS	: Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi
IC ₅₀	: %50 İnhibisyon konsantrasyonu
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
J	: Eşleşme sabiti
m/z	: Kütle/yük
MAO	: Monoamin oksidaz
MAO-A	: Monoamin oksidaz A
MAO-B	: Monoamin oksidaz B
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NMDA	: N-metil-D-aspartik asit
PAS	: Periferik anyonik bölge
TMS	: Tetrametilsilan

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlk olarak 1907'de Alois Alzheimer tarafından karakterize edilen Alzheimer hastalığı (AH), biliş, davranış ve fonksiyonel durumu kademeli olarak etkilemektedir ve demansın en yaygın nedenidir [1]. Alzheimer hastalığının altında yatan patofizyolojik mekanizmalar tam olarak bilinmese de β -amiloid plak oluşumu, oksidatif stres, kolinesteraz miktarının azalması gibi nedenler öne sürülmüştür [2]. AH'nın tedavisi henüz yoktur. İlaçlar bir süre AH semptomlarını azaltabilse de hastalık sonunda ölümcüldür. Yaşlanma AH için en büyük risk faktörü olmasına rağmen, AH'nın yaşlanmanın normal bir parçası olmadığı bilinmektedir. AH'nin kesin etiyojisi bilinmemektedir; bununla birlikte, çeşitli genetik ve çevresel faktörlerin neden olabileceği düşünülmektedir. Genetik faktörler, hem erken hem de geç başlangıçlı AH ile ilişkilendirilmiştir, ancak kalıtsal AH formları vakaların %1'inden daha azını oluşturmaktadır [3]. Yaş, beyinin rezerv kapasitesinde azalma (örneğin, beyin boyutunda azalma, düşük eğitim düzeyi, azalmış zihinsel ve fiziksel aktivite), kafa travması, Down sendromu ve depresyon Alzheimer hastalığı ile ilişkilendirilmiş çevresel faktörlerdir [4]. Hafıza kaybı AH'nin en önemli belirtisidir ve AH'nin başlangıcında fark edilmeyebilmektedir. AH'nin erken evrelerinde öğrenmede güçlük, hafıza kaybı ve ruh hali değişiklikleri gözlenirken ilerleyen dönemlerde kişilik, muhakeme, konuşma ve mekansal yönelimde değişiklikler yaşayabilmekte ve fonksiyonel düşüş yürüme değişiklikleri, yutma güçlükleri gözlenmektedir [5].

Artan küresel yaşam süresi ve yaşlanan nüfusla birlikte demans insidansı hızla artmaktadır. 2030 yılına kadar demanslı birey sayısının 75,6 milyona yükseleceği ve 2050 yılına kadar 135,5 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir [6]. Artan vakalar ve hastalığın radikal bir tedavisinin mevcut olmaması ülkeler üzerinde sosyal ve ekonomik anlamda önemli bir yük oluşturmaktadır. Günümüzde AH'nin tedavisinde AChE inhibitörleri olan donepezil, rivastigmin, galantamin ve NMDA reseptör antagonisti olan memantin kullanılmaktadır [7]. Bu ilaçlar hastalığın semptomlarını nispeten önlemekte ve hastanın yaşam kalitesini nispeten yükseltmektedir ancak tedavi etmemektedir. AH'nin radikal tedavisinin olmaması, mevcut tedavilerin yetersizliği ve kullanılan ilaçların potansiyel yan etkileri bu alanda yeni ilaç geliştirme çalışmalarına hız ve önem vermektedir. Diğer yandan AH'da gözlenen MAO-B enzim aktivasyonundaki artış, AH tedavisinde MAO inhibitörlerinin alternatif bir tedavi yolağı olabileceği hipotezini doğurmuştur [8].

AH'nin giderek yayılan insidansı mevcut ilaçların sayısının azlığı, bilim insanlarını yeni ve etkili bileşiklerin geliştirilmesine teşvik etmektedir. Yeni ajanlar geliştirirken ise tek hedefe yönelik olmasından ziyade çoklu hedefi olan ajanlar tercih edilmektedir. Böylece hasta birden çok ilaç kullanmak yerine tek ilaç kullanacaktır. Hem hastaya kullanım kolaylığı sunması hem de aynı anda AH'na sebep olduğu düşülen birden fazla yolağı inhibe etmesi yeni dual etkili bileşikleri ön plana çıkarmaktadır.

Bu çalışma kapsamında 15 yeni tiyosemikarbazon türevi bileşik tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bileşiklerin tasarımı sırasında hem AChE hem MAO-B enzim aktif yöreleri ile etkileşebilecek farmakofor ve hacimsel grupların doğru yerleşimlerine dikkat edilmiştir.

AChE enzim yapısı incelendiğinde katyonik anyonik bölge ve periferik anyonik bölge olduğu görülmektedir. Donepezilin yapısı incelendiğinde indanon halkası ve benzilpiperidin yapısı taşıdığı görülmektedir. Donepezilin yapısında bulunan benzil piperidin grubu enzimin katalitik anyonik bölgesi ile etkileşmektedir. Enzimin bu bölgesi ile etkileşmesi için yapımızda fenilpiperazin, 4-florofenilpiperazin ve 4-florobenzilpiperazin yapıları tercih edilmiştir. Böylelikle fenilamin ve benzilamin arasındaki aktivite farkını kıyaslama imkânı oluşmuştur. Tiyosemikarbazon yapısı hem AChE hem de MAO inhibitörü olarak sıklıkla kullanılan bir farmakofor gruptur. Tiyosemikarbazon grubu bu zengin aktivite profili için seçilmiştir. Tiyosemikarbazon kısmının kalıntısına ise periferik anyonik bölge ile etkileşim kurabilecek aromatik ve alifatik yapılar tercih edilmiştir.

Sentez çalışmaları sonucunda elde edilen bileşiklerin yapı tayinleri HRMS, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik yöntemleri ile yapılmıştır. Aktivite çalışmaları modifiye Ellman metodu ile *in vitro* olarak gerçekleştirilmiş ve moleküler modelleme çalışmaları Schrödinger programı kullanılarak *in silico* değerlendirilmiştir.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Alzheimer Hastalığı

2.1.1. Alzheimer hastalığının tanımı

AH bilişsel ve fiziksel işlevselliğin kademeli olarak kaybolduğu nörodejeneratif bir hastalıktır [8]. AH ilk defa 1907 yılında Dr. Alois Alzheimer tarafından tanımlanmış olan ve yalnızca hastaları değil hasta yakınlarını da etkileyen kronik bir hastalıktır. AH'nın altında yatan nedenler tam olarak bilinmemektedir ve tedavisi yoktur. Mevcut tedaviler AH'nın semptomlarını önlemek ve azaltmak için kullanılmaktadır. AH'nın nedenleri arasında genetik ve çevresel faktörler de araştırılmıştır ve genetik faktörlerin vakaların %1'inden daha azını oluşturduğu gösterilmiştir. Dünya genelinde 35 milyondan fazla insanı etkileyen bu rahatsızlık 65 yaş üstü bireylerde demansın en yaygın nedenidir [4, 9]. Dünya genelinde demans vakalarının %50-70'ini Alzheimer hastaları oluşturmaktadır. Nöropsikiyatrik semptomlar ile başlayan AH hafıza kaybı ile kendini göstermeye başlamaktadır. Hastalık kademeli olarak ilerler ve bilişsel bozukluklar, günlük işlerde aksama, ruh hali ve davranış değişiklikleri, konuşma esnasında kelimeleri seçememe, fiziksel aktivitede güçlük gibi yaşam kalitesini etkileyen durumlar meydana gelmektedir [10]. Yaşa bağlı bir hastalık olması nedeniyle yaşlı popülasyonun arttığı ülkelerde önemli bir sağlık sorunu haline gelmektedir.

2.1.2. Alzheimer hastalığının belirtileri

Genellikle nöropsikiyatrik belirtilerle başlayan AH bilişsel bozukluğun kademeli ilerlemesi şeklinde gözlemlenmektedir [10]. Hastalarda belirgin bir hafıza kaybı gözlenmektedir ve bu AH'nın en önemli belirtisidir [9]. Nüfusa dayalı çalışmalarda AH tanısı konan hastalara bakıldığında nöropsikiyatrik semptomların genel nüfusa göre çok daha yüksek olduğu görülmüştür. AH'da depresyon ve apati en sık görülen semptomlar arasındadır ve apati hemen hemen AH'nın tüm evrelerinde devam etmektedir. Hastalık ilerledikçe sanrılar ve saldırganlık yaygın hale gelmektedir [10] Başlangıçta hafıza bozukluğu, yakın hafıza kaybı ve öğrenememe şeklinde gözlemlenip uzak hafıza korunmaktadır [11]. Hastalık ilerledikçe beyinde oluşan patolojik değişiklikler nedeniyle sanrılar, kişilik değişiklikleri, sirkadyen ritim ve yeme-içme bozuklukları, görsel-uzaysal becerilerde bozulma ve uzak hafızada da bozulma meydana gelmektedir [12, 13]. Bu durum hastaların yaşam kalitesinde düşüşe neden olmaktadır. AH orta evrelerinde hastalar artık günlük yaşamda sıklıkla gerçekleştirdiği aktiviteleri gerçekleştirmede ve kişileri-yerleri hatırlamada güçlük çekmektedir. Hastalığın ileri evrelerinde ise hastalar

artık günlük aktivitelerini yerine getirememeye başlamakta ve giyinme, yıkanma, yeme-içme gibi temel ihtiyaçları için bakıma ihtiyaç duymaktadır.

İnsülin dengesinin bozulması, vasküler hasar, inflamatuvar süreçler, kalsiyum regülasyon kaybı ve kolesterol metabolizmasındaki bozukluklar AH'nın belirtilerinin kişiye göre değişmesinin nedenidir [4].

2.1.3. Alzheimer hastalığının nedenleri ve tedavisi

AH'nın altında yatan patofizyolojik mekanizmalar tam olarak bilinmemekle birlikte bu zamana kadar yapılan çalışmalarda başlıca nedenler sunulmuştur [4]. AH'nın nöropatolojik işaretleri arasında beyindeki özellikli nöronların ilerleyici kaybı, çözünmeyen hücre dışı birikintiler olarak amiloid-beta ($A\beta$) fibrillerini içeren senil plakların oluşumu, nörofibriler yumakların intranöral birikimi ve yaygın oksidatif hasar yer almaktadır [14]. İleri yaşlarda gerçekleşen birlikte kafa travması, beyin hacmi ve ağırlığında azalma, amiloid öncü protein ve presenilin genlerinin mutasyonlarını içeren genetik faktörler ve yetersiz beslenme gibi çevresel faktörler de AH'nın nedenleri arasındadır [15].

AH'nın patofizyolojisi başlıca amiloid kaskat ve kolinerjik hipotez olarak ele alınmaktadır [9]. Amiloid kaskat hipotezi, amloid peptidlerin üretimi ve klirensi arasındaki dengesizliğin, birikmesi ve toplanması sonucu plak oluşumunu öne sürmüştür. Bu $A\beta$ peptidlerinin nöronlar için zararlı boyutlarda birikmesi, nöronların ölümüne ve AH'na sebep olmaktadır. Amloid plaklar 36 ile 43 aminoasitten oluşan $A\beta$ peptidleridir. Beyin ve serebral vaskülatürde bulunan hücre dışı lezyonlardır. $A\beta$ peptidleri, amloid öncü proteinlerinin işlenmesi yoluyla üretilmektedir [4]. Bu işlem γ -sekretaz, β -sekretaz ya da α -sekretaz enzim aktiviteleri tarafından sağlanmaktadır. İlk olarak α -sekretaz ya da β -sekretaz enzimi amloid öncü proteini keser ve ikinci kesim γ -sekretaz tarafından gerçekleştirilir. İlk kesilme β -sekretaz tarafından gerçekleşir ise $A\beta$ peptidi oluşur ve bu durumda AH'nda $A\beta$ peptidini oluşturan yolun daha aktif olduğu ya da $A\beta$ temizlenme mekanizmasında bir bozukluk olduğu düşünülmektedir [4, 16]. Bununla birlikte $A\beta$ 'nin varlığının AH'nın birincil patolojik nedenlerinden olup olmadığı veya $A\beta$ 'nin alternatif bir patolojinin sonucu olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir [4, 6].

Kolinerjik hipotez ilk olarak 30 yıl kadar önce ortaya atılan ve AH'ı açıklayan en yaygın teoridir. ACh'nin hidrolizi AChE tarafından gerçekleşmektedir. Kolinerjik hipoteze göre kolinerjik sinapstaki ACh miktarını artırmak için, AChE'nin inhibisyonu gerekmektedir [17]. AH'da meydana gelen nöron kaybına paralel olarak kolinerjik,

nonkolinerjik, serotonerjik, dopaminerjik gibi birçok nörotransmitterin azaldığı gözlemlenmektedir. AH'da gözlemlenen hafıza kaybı, öğrenmede ve kavramada güçlük gibi bilişsel bozuklukların açıklanmasında kolinerjik sistem en çok ilişkili olanıdır, bu nedenle kolinerjik bozukluk ve AH arasında doğrudan ilişki olduğu düşünülmektedir [18].

AH'nın patofizyolojisini ortaya çıkarmak için yapılan çalışmalarda, tau proteinlerinin hiperfosforilasyonunun da AH'na neden olabileceği öne sürülmüştür. Mikrotübüleri stabilize eden ve hücre iskeletinin bütünlüğünün sağlanmasında rol oynayan tau proteinleri, nörofibriler yumakların ana bileşenini oluşturmaktadır. Merkezi sinir sistemi nöronlarında çok sayıda bulunan bir proteindir. Hiperfosforillenmiş tau proteini, sinir hücrelerinin içinde nörofibriler yumakların oluşmasına ve hücre iskeletinin bozulmasına neden olmaktadır. Hücre iskelet bütünlüğünün bozulması nöronların transport sisteminin çökmesine neden olmaktadır. Sinir iletiminin bozulmasının ardından nöron ölümü gerçekleşmektedir [3, 19].

Günümüzde AH'nın tedavisi, hastalığın semptomlarını iyileştirmeye yönelik olarak yapılmaktadır ve AH'nı tamamen iyileştiren bir tedavi henüz bulunamamıştır. AH'nda görülen hafıza kaybı ve bilişsel bozukluklar kolinerjik sistemde ACh eksikliği ile ilişkilendirilmiş olup tedavide, sinaptik aralıkta asetilkolin miktarının artırılması hedeflenmiştir. Bu ilaçlar ACh'i sinaptik aralıkta hidroliz ederek etkisini sonlandıran kolinesteraz enzimlerini inhibe etmektedir [20]. ACh'in hidrolizinin inhibisyonu ile kolinerjik aktivitenin iyileştirilmesi hastalığın ilerlemesini yavaşlatır ve hastanın yaşam kalitesini artırır ancak meydana gelen nöron kaybını geri döndüremez [21]. Donepezil, galantamin ve rivastigmin AH tedavisinde kullanılan AChE inhibitörleridir. Takrin, AH'nda kullanılmaya başlanan FDA tarafından onaylanan AChE inhibitörlerinin ilkidir [22]. Günümüzde tedavide kullanılan AChE inhibitörlerinin özellikle gastrointestinal yan etkilerinin olması ve semptomatik tedaviye yönelik olmaları AH tedavisi için yeni ilaç araştırmalarının artarak devam etmesinin nedeni olmaktadır. AH tedavisinde MAO inhibitörleri ve *N*-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistleri diğer tedavi seçeneklerini oluşturmaktadır [4, 8, 12].

Asetilkolinesterazı geri dönüşümlü olarak inhibe eden Huperzine A, Huperzia serrata'dan izole edilen bir alkaloiddir Huperzin A'nın AH'nın semptomatik tedavisinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır ancak tedavideki yerini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır [23].

Östrojen replasman tedavisi ile AH insidansının düştüğünü öne süren çalışmalar olmasına rağmen prospektif klinik denemeler bilişsel bozukluğun tedavisinde östrojen kullanımını desteklememektedir. Soya içeren gıdaların ve takviyelerin içinde bulunan fitoöstrojenler AH tedavisinde önerilmiştir ancak bu tür kullanımı destekleyen hiçbir çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların (NSAID) AH'a karşı koruyucu olduğu öne sürülmüştür ancak buna karşılık yapılan prospektif klinik denemelerde nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların ve steroidlerin AH'na karşı önemli düzeyde koruyuculuğunun olmadığı ortaya çıkmıştır. Aynı zamanda bu ilaçların gastrointestinal yan etkilerinin olması nedeniyle AH tedavisinde kullanılmaları desteklenmemektedir. AH'nın Patofizyolojik nedenleri arasında oksidatif stres yer almaktadır. Bu nedenle AH tedavisinde antioksidanların kullanımına ilişkin çalışmalar yapılmıştır ve E vitamini takviyesinin AH üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Ancak bilişsel fayda gözlemlenmemiştir, bununla birlikte yüksek doz E vitamini mortaliteyi artırmaktadır. Tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında AH tedavisinde E vitamini kullanımı da önerilmemektedir. Kan akışını artırma, trombosit aktive edici faktör reseptörlerini antagonize etme, monoamin oksidazı inhibe etme ve bir antioksidan olarak etkinlik gösterme potansiyeli göz önüne alındığında Ginkgo biloba AH tedavisinde kullanımı için incelenmiştir fakat yapılan çalışmalar yetersizdir. Yapılan çalışmalarda bilişsel bozuklukta önemli bir düzelme gözlenmemiştir [4, 24]

Farmakolojik tedavinin yanında AH'nın gelişmesini önlemede özellikle orta yaş grubunda yaşam tarzı değişikliğinin de umut vadettiği düşünülmektedir. Yaşam tarzı değişikliği ilaç tedavisiyle birlikte uygulanmalıdır. Dünya sağlık örgütü AH riskini azaltmak ve hastalığa maruz kalan kişilerde ilerleyişi durdurmak için ilaç tedavisine ek olarak haftalık en az 150 dakika egzersiz önermektedir. Egzersize ek olarak dans, masaj, müzik, sanat terapisi, aile üyelerinin ses ve görüntü kayıtları gibi farmakolojik olmayan tedavilerde AH tedavisinde uygulanan diğer yöntemlerdir [12, 24].

AH tanısı konulduktan sonra hasta yakınları hastalığın seyri ve mevcut tedaviler hakkında bilgilendirilmelidir. Hastanın yaşam kalitesini artırmak, hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak amacıyla gürültü, televizyon gibi arka planda çok fazla dikkat dağınıklığına sebep olan tetikleyicilerden hasta uzak tutulmalı, bunun yanında ağrı, açlık, susuzluk, kabızlık, yorgunluk, enfeksiyonlar, kişisel bakım, sıcaklık, korku ve hayal kırıklıkları gibi kişisel etkenler de hasta için tetikleyici olabilmektedir. Bu nedenle hasta yakını bu tetikleyicilere karşı dikkatli olmalıdır [24].

2.1.4. Kolinesteraz enzimi ve inhibitörleri

AH'nın nedenleri tam olarak bulunamamakla birlikte AH'na neden olabilecek hipotezler öne sürülmüştür. Kolinerjik hipotez bunlardan biridir. AH'da meydana gelen nöron ve nörotransmitter kaybı sinapslardaki ACh miktarı ile ilişkilendirilmiştir. Kolinerjik hipotez, AChE'nin inhibisyonunun, ACh'nin hidrolizini önleyeceği ve böylece kolinerjik sinapstaki ACh seviyesinin artacağı varsayımına dayanmaktadır [17]. Yapılan çalışmalarda, AChE inhibisyonu ile ACh miktarının artması, AH'nın erken evrelerindeki kognitif yetmezliği yavaşlatabildiği gösterilmiştir [9].

Kolinesteraz enzimleri omurgalılarda AChE ve bütirilkolinesteraz (BChE) olarak ikiye ayrılmaktadır. Bu iki izoform arasındaki en önemli farklardan biri yerleşim bölgeleridir. AChE en yüksek konsantrasyonlarda eritrositler ve beyinde bulunurken; BChE santral sinir sistemi, pankreas, karaciğer ve serumda bulunmaktadır [22]. ChE inhibitörlerinin geliştirilmesinde ise asıl önemli enzim AChE'dir. Bunun sebebinin AChE enziminin başka enzimlerde bulunmayan aktif bölge ve katalitik bölgeden oluştuğunun düşünülmesidir [17].



Şekil 2.1. AChE inhibitörlerinin fonksiyonları

Beyindeki ACh'nin sinapstaki varlığı AChE enziminin etkinliğine bağlıdır. Üretilen ACh presinaptik nöronlardaki veziküllerde depolanır ve ACh veziküllerden sinaptik aralığa salınır. Sinaptik aralığa salınan ACh molekülü yüksek oranda postsinaptik reseptörlere bağlanır. Reseptörlere bağlanamayan ACh molekülleri AChE tarafından hidrolize uğrar. Postsinaptik nörona bağlanan ACh molekülleri, sinir uyarısının diğer

nörona iletilmesinin ardından reseptörden ayrılır ve AChE tarafından hidroliz edilir. Açığa çıkan kolin yeniden kullanılmak üzere presinaptik nörona gönderilir [9]. AChE inhibitörleri bu döngüde sinapslardaki ACh'nin miktarını artırmak için AChE'ı inhibe ederek ACh'nin hidrolizini önlemekle sorumludur.

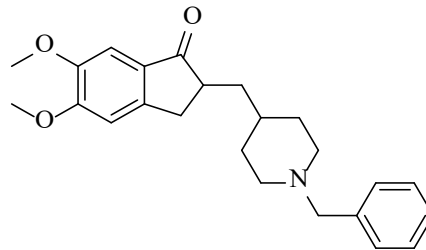
2.1.5. AChE enziminin kristal yapısı ve tedavide kullanılan AChE inhibitörleri

AChE'in aktif bölgesi iki ayrı ligand bağlanma bölgesi taşımaktadır. Bu aktif bölgede yaklaşık 20 Å uzunluğunda ve en dar yerinin çapı 4,5 Å olan dar ve uzun enzim çukurunun dip kısmında, Ser200, His440 ve Glu327 olmak üzere üç amino asit ve 14 aromatik amino asit artığından oluşan bir esteratik bölge bulunmaktadır. AChE aktif yöresi, serin amino asidi taşıyan bir esteratik bölge, bu bölgeye 14.7 Å mesafede bulunan anyonik bölge ve hidrofobik bölge olmak üzere üç majör bölgeden meydana gelmektedir. Ser200, His440, Glu327 amino asitleri katalitik üçlü denilen, derin ve dar boğazın tabanını oluşturmaktadır ve bu yapıdaki serin aminoasidinin hidroksil grubu, histidin aminoasidinin imidazol grubu ve glutamat aminoasidinin karboksil grubu katalitik üçlünün önemli noktalarıdır [19].

Perifik anyonik bölge (PAS), katalitik çukurun giriş kısmında ve esteratik bölgeye 14 Å uzaklığındadır. Periferik anyonik bölge, allosterik aktivatörler ve inhibitörler için örtüşen bağlanma bölgelerini kapsar. PAS inhibitörlerinin, vadiye giren veya çıkan ligandlar için sterik blokaj ve katalitik merkez konformasyonunun ve verimliliğinin allosterik değişiminin bir kombinasyonu yoluyla katalizi etkilediği gösterilmiştir [25].

Aβ peptidin periferik anyonik yöre ile etkileşimi AChE-Aβ stabil kompleksi ile amiloid plakların oluşmasına ve kolinerjik nöronlarda hasara neden olmaktadır. Bu nedenle PAS umut vadeden ilaçların hedefleri arasındadır ve AChE enziminin kristal yapısının çözümlenmesinin ardından PAS'ın kesin yapısını ve işleyişini anlamak için birçok girişimde bulunulmuştur.

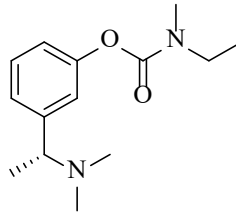
2.1.5.1. Donepezil



Şekil 2.2. Donepezil İlacının Kimyasal Yapısı

Donepezil, 1997 yılından itibaren AH tedavisinde kullanılmaya başlanan selektif ve reversible AChE inhibitörüdür. Kimyasal olarak indanonbenzilpiperidin türevidir. Donepezil hafif ve orta dereceli AH'nın tedavisinde, yarılanma ömrünün uzun olması nedeniyle günde bir kere kullanılabilir olması, yiyeceklerle birlikte kullanıldığında emiliminin önemli düzeyde etkilenmemesi ve diğer ilaçlarla etkileşiminin az olması nedeniyle diğer AChE inhibitörleri arasında en çok tercih edilen ilaçtır [26].

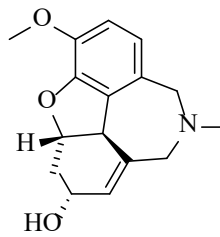
2.1.5.2. Rivastigmin



Şekil 2.3. Rivastigmin'in Kimyasal Yapısı

Rivastigmin nonselektif ve irreversible AChE inhibitörüdür. Hafif ve orta dereceli AH tedavisinde kullanılan, karbamat türevi bir ilaçtır. Hem AChE'ı hem de BChE'ı inhibe etme özelliğine sahiptir. Kan-beyin bariyerini aşma yeteneğinin kısıtlı olması ve ilk geçiş etkisi nedeniyle oral formunun yeterince etkili olduğu düşünülmemektedir [21].

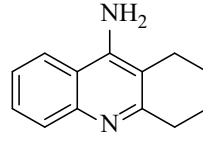
2.1.5.3. Galantamin



Şekil 2.4. Galantaminin kimyasal yapısı

Galantamin seçici ve reversible AChE inhibitörü olan tersiyer bir alkaloiddir. AChE enzimini inhibe ederek ACh'in hidrolizini reversible olarak engellemektedir ve bu nedenle düşünme öğrenme ve hafızadaki bozuklukların ilerlemesini önlediği düşünülmektedir. Ancak hastalık ilerledikçe, kolinerjik nöronların sayısı azaldıkça Galantamin'in etkisi giderek zayıflayabilmektedir [27].

2.1.5.4. *Takrin*



Şekil 2.5. *Takrinin kimyasal yapısı*

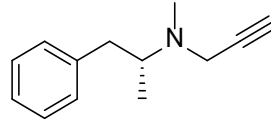
Takrin orta ve ileri evre AH tedavisinde kullanılan AChE ve BChE enzimlerinin reversibl inhibitörüdür. AH tedavisinde kullanılan ilk AChE inhibitörüdür. Kan-beyin bariyerini aşabilmesine rağmen hepatoksisite gibi ciddi yan etkileri nedeniyle günümüzde klinik olarak kullanılmamaktadır. Ciddi yan etkilerinin yanında günlük doz miktarının fazla olması da günümüzde kullanılmamasının bir diğer sebebidir. Takrin AChE inhibisyonuna ek olarak, H₂O₂ tarafından indüklenmiş apoptotik yolağı antagonize etme, reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltma, Aβ tarafından indüklenmiş oksidatif stresi azaltma ve tau proteinin fosforilasyonunun önleme gibi etkilere de sahiptir [28].

2.1.6. MAO enzimi ve inhibitörleri

MAO, hem merkezi sinir sisteminde, hem de periferal nöronlarda ve dokularda bulunan ve oksidatif deaminasyon reaksiyonunu katalizleyen flavoenzimlerdir [29]. MAO'lar, substrat özgüllüğüne ve duyarlılığına bağlı olarak dopamin, adrenalin ve noradrenalin gibi katekolamin nörotransmitterleri ve serotonin katabolizmasından sorumlu iki izoform MAO-A ve MAO-B'den meydana gelmektedir. Bu iki izoformun aktif bölgeleri aynı olmasına rağmen substrat, enzim gibi ligand tanıma bölgeleri birbirinden farklıdır ve aynı substrat ve inhibitörlerle farklı etkileşim göstermelerinin sebebi MAO-A ve MAO-B'nin üç boyutlu yapısının farklı olmasıdır. 2002 yılında MAO'ların kristal yapılarının keşfedilmesinin ardından MAO-A ve MAO-B'nin nörotransmitterlerin oksidasyonundan sorumlu olduğu ortaya çıkmıştır [18]. MAO-A, MSS'de serotonin ve noradrenalinin deaminasyonundan sorumludur. MAO-B ise dopamin, norepinefrin ve epinefrin dahil olmak üzere monoaminlerin oksidatif deaminasyonunda işlev görmektedir [30]. Farklı MSS hastalıkları için ilaç hedefi haline gelmişlerdir. MSS'indeki MAO'lar AH'da görülen nörolojik ve psikiyatrik bozukluklarla ilişkili olmaktadır ve MAO-B aktivitesinin yaşla orantılı arttığı ve bu artışın, glial hücre proliferasyonu ile bağlantılı nöron kaybından kaynaklanabileceği düşünülmektedir [31].

MAO-B inhibitörleri nörotransmitterleri düzenleme ve oksidatif hasarı inhibe etme kapasitesine sahip olduğundan, AH'na karşı etkili olabilecek potansiyel ilaçlar olarak düşünülmektedir [32, 33].

2.1.6.1. *Selejilin*



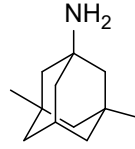
Şekil 2.6. *Selejilin*'in kimyasal yapısı

Deprenilin *R(-)*-izomeri olan selejilin, Jôsef Knoll tarafından yetmişli yıllarda bulunmuştur [31]. Deprenil molekülünün ilk sentezlenme amacı enerji verici olarak kullanımı olmuştur. Daha sonra bu molekülün antidepresan etkileri test edilmiştir. MAO-B inhibitörü (irreversibl) olarak nitelendirilmesi ise 1960'lı yıllarda olmuştur. Enzime karşı olan yüksek afinitesi ve seçiciliği ile dikkat çekmiştir [29]. Selejilin, beyindeki dopamin miktarını MAO-B'yi inhibe ederek artırması sebebiyle Parkinson hastalığında da kullanılmaktadır.

2.1.7. NMDA reseptör antagonistleri

Mevcut tedavide kullanılan ve NMDA (N-metil-d-aspartat) reseptörünü antagonize ederek glutaminerjik sinir iletimini bloke eden tek ilaç memantindir. Glutamat glutaminden glutaminaz enzimi ile sentezlenen beyinde, öğrenme ve hafızayı güçlendirmede önemli rol oynayan önemli bir nörotransmitterdir. NMDA reseptör antagonistleri, NMDA reseptörlerinin glutamat ile aşırı etkinliğine karşı etkili olmakta ve nöronal hücre ölümüne ve bilişsel işlev bozukluğuna neden olabilecek anormal glutamat etkilerini bloke etmektedir. Hafızayı koruyup ve güçlendirmesi NMDA reseptör antagonistlerinin AH'da kullanılmasını sağlamaktadır [24, 34].

2.1.7.1. Memantin

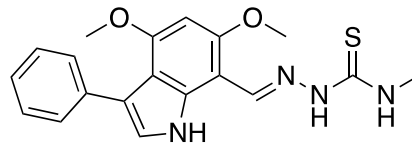


Şekil 2.7. Memantin'in kimyasal yapısı

Memantin günümüzde orta ile şiddetli Alzheimer tedavisinde kullanılan mevcut tek NMDA antagonistidir. Memantin düşük afiniteli ve nonkompetitiftir. NMDA reseptörlerini antagonize ederek glutamaterjik sinir iletimini bloke etmektedir. NMDA reseptörlerinin ve glutamaterjik sistemin morfin bağımlılığıyla ilişkisi olduğu bilinmektedir. Bu nedenle memantin morfin bağımlılığında da kullanılmakta ve yoksunluk sendromunu azaltmada endikedir [34]. Donepezil ile kombinasyon halinde kullanıldığında biliş ve işlev bozuklukları üzerinde olumlu sonuçlar gözlenmiştir. Genel olarak, memantin klinik çalışmalarda iyi tolere edilmiş olsa da baş ağrısı, kabızlık, kafa karışıklığı ve baş dönmesi gibi yan etkileri gözlenmektedir [4].

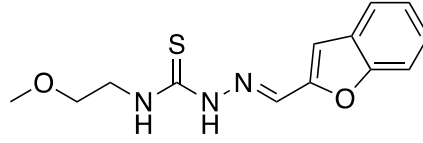
2.2. Antikolinesteraz ve MAO-B İnhibitör Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Tiyosemikarbazon Türevleri

Yıldız ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada yeni tiyosemikarbazon türevleri sentezlenmiş ve AH'na karşı etkileri incelenmiştir. Yapılan aktivite çalışmaları sonucunda (E)-2-((4,6-dimetoksi-3-fenil-1H-indol-7-yl)metilen)-N-metilhidrazin-1-karbotiyamoamid bileşiği $IC_{50}=30.39\pm 0.24 \mu M$ değeri ile AChE enzime karşı inhibitör etkinlik göstermiştir [35].



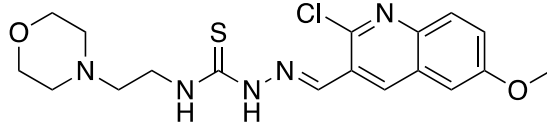
Şekil 2.8. (E)-2-((4,6-dimetoksi-3-fenil-1H-indol-7-yl)metilen)-N-metilhidrazin-1-karbotiyamoamid

Osmaniye ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada yeni tiyosemikarbazon türevleri sentezlenmiş ve AChE inhibitör etkileri incelenmiştir. Yapılan aktivite çalışmaları sonucunda 2-(Benzofuran-2-il metilen)-N-(2-metoksietil)hidrazin-1-karbotiyamoamid bileşiği $IC_{50}=0.042 \pm 0.002 \mu M$ değeri ile AChE enzime karşı inhibitör etkinlik göstermiştir [36].



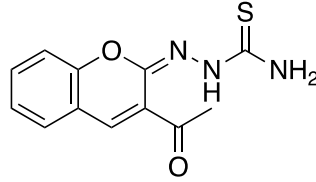
Şekil 2.9. 2-((Benzofuran-2-il metilen)-N-(2-metoksietil) hidrazin-1-karbotiyoamid

Yeni tiyosemikarbazon türevleri sentezi ve AChE inhibitör etkileri incelendiği Zaib ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada 2-((2-kloro-6-metoksi kinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil) hidrazinkarbotiyoamid bileşiği $IC_{50}=0.12 \pm 0.02\mu M$ değeri ile AChE enzimine karşı inhibitör etkinlik göstermiştir [37].



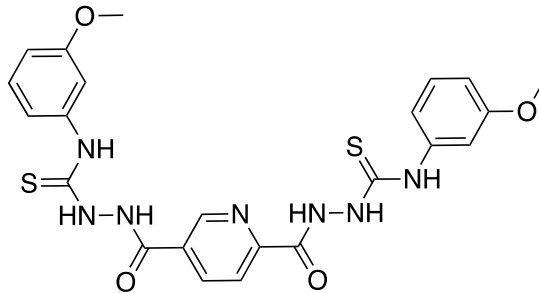
Şekil 2.10. 2-((2-Kloro-6-metoksi kinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil) hidrazinkarbotiyoamid

Tiyosemikarbazon türevleri üzerine yapılan başka bir çalışmada Varma ve diğerleri sentezledikleri 3-asetilkumarin tiyosemikarbazon bileşiği $IC_{50}=11.02 \mu M$ değeri ile AChE enzimine karşı inhibitör etkinlik gözlemişlerdir [38].



Şekil 2.11. 3-Asetilkumarin tiyosemikarbazon

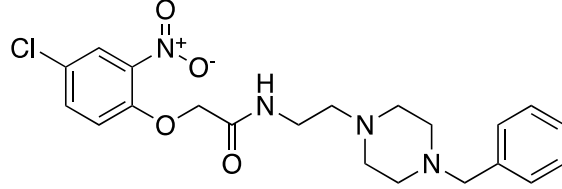
Bulut ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada yeni 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil) bis[N-(p-metoksifenil) hidrazin karbotiyoamid bileşiği $IC_{50}=3.07\pm 0.76 \mu M$ değeri ile AChE enzimine karşı inhibitör etkinlik göstermiştir [39].



Şekil 2.12. 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil)bis[N-(p-metoksifenil)hidrazin karbotiyoamid

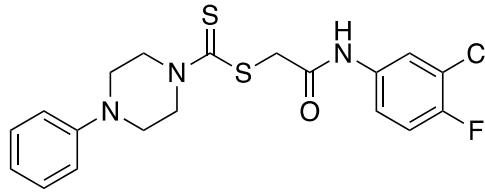
2.3. Antikolinesteraz Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Piperazin Türevleri

Brunetti ve diğeri tarafından yapılan çalışmada yeni piperazin türevleri sentezlenmiş ve AH'ye karşı etkileri incelenmiştir. Yapılan aktivite çalışmaları *N*-(2-(4-Benzilpiperazin-1-il)etil)-2-(4-kloro-2-nitrofenoksi)asetamid bileşiği $IC_{50}=0.0008 \pm 0.0002 \mu M$ değeri ile AChE enzimine karşı inhibitör etkinlik göstermiştir [40].



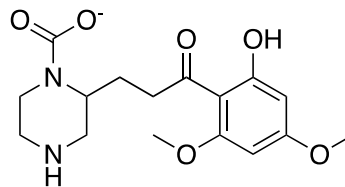
Şekil 2.13. *N*-(2-(4-Benzilpiperazin-1-il)etil)-2-(4-kloro-2-nitrofenoksi)asetamid

Mohammadi-Khanaposhtani ve diğeri tarafından yapılan çalışmada piperazin içeren yeni bileşikler sentezlenmiş ve AChE enzim inhibitör etkinlikleri incelenmiştir. Elde edilen aktivite sonuçlarına göre 2-[(3-kloro-4-florofenil) amino]-2-oksoetil 4-fenilpiperazin-1-karboditiyoat bileşiği $IC_{50}=10.63 \pm 1.73 \mu M$ değeri ile AChE enzimine karşı inhibitör etkinlik göstermiştir [41].



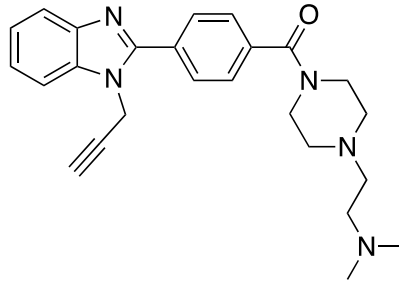
Şekil 2.14. 2-[(3-Kloro-4-florofenil) amino]-2-oksoetil 4-fenilpiperazin-1-karboditiyoat

Yeni piperazin türevleri üzerine Kaur ve diğeri tarafından yapılan çalışmada piperazin içeren bir seri bileşik sentezlenmiştir. Spektroskopik yöntemler ile yapıları aydınlatılan bileşiklerin aktivite potansiyelleri *in vitro* yöntemler ile test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 3-(2-Hidroksi-4,6-dimetoksifenil)-3-oksopropilpiperazin-1-karboksilat bileşiği $IC_{50}=13.86 \pm 0.65 \mu M$ değeri ile AChE enzimine karşı inhibitör etkinlik göstermiştir [42].



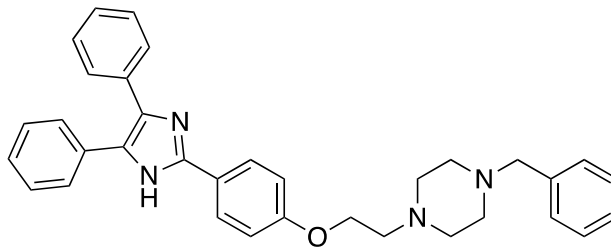
Şekil 2.15. 3-(2-Hidroksi-4,6-dimetoksifenil)-3-oksopropilpiperazin-1-karboksilat

Osmaniye ve diğ erleri tarafından yeni piperazin türevleri üzerine yapılan çalışmada piperazin iç eren yeni türevler sentezlenmiş ve AChE-MAO-B dual inhibitör etkileri incelenmiştir. Spektroskopik yöntemler ile yapıları aydınlatılan bileşikler arasından {4-[2-(Dimetilamino)etil]piperazin-1-il} {4-[1-(prop-2-in-1-il)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-il]fenil} metanon bileşiği $IC_{50}=0.024\pm 0.001 \mu M$ değeri ile AChE enzimine karşı inhibitör etkinlik göstermiştir. Bileşiğin doking çalışmaları ile enzim aktif bölgesinde donepezil gibi davrandığı ve piperazin kısmının enzim aktif bölgesindeki katalitik anyonik bölge ile etkileştiği görülmüştür [43].



Şekil 2.16. {4-[2-(Dimetilamino)etil]piperazin-1-il}{4-[1-(prop-2-in-1-il)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-il]fenil}

Ramrao ve diğ erleri tarafından yapılan çalışmada bir seri yeni piperazin türevi bileşik sentezlenmiş ve AChE inhibitör etkinlikleri *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Yapılan aktivite çalışmaları sonucunda 1-benzil-4-(2-(4-(4, 5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)fenoksi)etil)piperazin bileşiği $IC_{50}=0.416 \pm 0.018. \mu M$ değeri ile AChE enzimine karşı inhibitör etkinlik göstermiştir [44].



Şekil 2.17. 1-Benzil-4-(2-(4-(4, 5-diphenil-1*H*-imidazol-2-il)fenoksi)etil)piperazin

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

4-Fenilpiperazin	: Merck, Almanya
4-Florofenilpiperazin	: TCI, Japonya
4-Florobenzilpiperazin	: Acros Organics, Almanya
4-Florobenzaldehit	: TCI, Japonya
Etil izotiyosiyonat	: TCI, Japonya
Allil izotiyosiyonat	: TCI, Japonya
Fenil izotiyosiyonat	: TCI, Japonya
4-Metoksifenil izotiyosiyonat	: TCI, Japonya
4-Klorofenil izotiyosiyonat	: TCI, Japonya
Hidrazin hidrat	: Sigma-Aldrich, Almanya
Etanol	: VWR Chemicals, Fransa
Dimetil formamit	: VWR Chemicals, Fransa
Potasyum karbonat	: Sigma-Aldrich, Almanya
DİMETİLSÜLFOKSİT- <i>d</i> ₆	: Euroisotop, Almanya
AChE-E.C.3.1.1.7, electric eel	: Sigma, Almanya
BChE-E.C. 3.1.1.8, equine serum	: Sigma, Almanya
Jelatin	: Sigma-Aldrich, Almanya
Asetiltiyokolin iyodür (ATC)	: Fluka, Almanya
Bütiriltiyokolin iyodür (BTC)	: Fluka, Almanya
5,5'-Ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB)	: Merck, Almanya
Sodyum bikarbonat	: Merck, Almanya
Potasyum dihidrojen fosfat	: Merck, Almanya
Dimetilsülfoksit	: Merck, Almanya
Donepezil	: Merck, Almanya

Takrin	: Merck, Almanya
Monoamine Oxidase-A human	: Biovision, Almanya
Monoamine Oxidase-B human	: Biovision, Almanya
Horseradish Peroksidaz	: Sigma, Almanya
Ampliflu TM Red	: Sigma, Almanya
Triamin	: Sigma, Almanya
Moklobemid	: Sigma, Almanya
Selejilin	: Sigma, Almanya
PBS	: Gibco, Birleşik Krallık
Etanol	: Merck, Almanya
Etil asetat	: Carlo Erba Reagents, Fransa
Petrol eteri	: VWR Chemicals, Fransa
Potasyum karbonat	: Sigma-Aldrich, Almanya
Silikajel 60 F254 kaplı alüminyum İTK plağı	: Merck, Almanya

3.2. Kullanılan Cihazlar

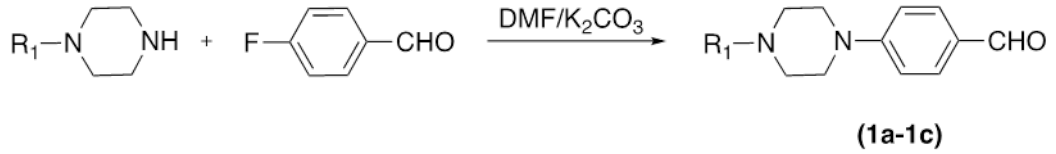
Elektronik terazi	: Shimadzu, Libror EB-330 HU, Japonya
Erime derecesi tayin cihazı	: Mettler Toledo-MP90 Melting Point System
Kütle spektrometresi	: Shimadzu, LCMS-IT-TOF, Japonya
Manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı	: Heidolph, MR 3003, Almanya
Nükleer manyetik rezonans spektrometresi	: Bruker, UltraShield 300 MHz, ABD
Ultraviyole lambası	: Camag, Cabinet, İsviçre
Mikroplate okuyucu	: BioTek-Synergy H1 ABD
Robotik pipetleme tablası	: BioTek-Preccision XS, ABD

4. YÖNTEMLER

4.1. Sentez Çalışmaları

4.1.1. 4-Süstitüe benzaldehit türevlerinin sentezi (1a-1c) (Yöntem A)

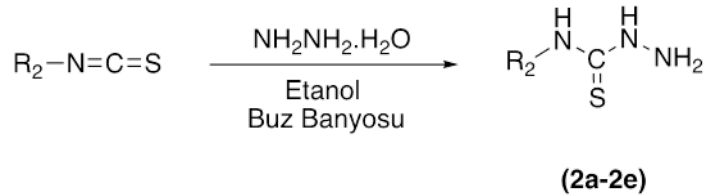
Sekonder amin türevleri (0.01 mol) ve 4-Floro benzaldehit (0.01 mol, 0.88 mL) DMF içerisinde çözündürülmüştür. Reaksiyon ortamına katalizör olarak potasyum karbonat (0.01 mol, 1.38 g) ilave edilmiştir. 36 saat boyunca geri çeviren soğutucu altında kaynatılan reaksiyon içeriği İTK kontrolü ile sonlandırılmıştır. Sonlandırma aşamasında reaksiyon içeriği buzlu suya dökülmüş ve çöken ürün süzülerek alınıp kurutulmuştur. Kuruyan ham ürün etanolden kristallendirilmiştir.



Şekil 4.1. 4-Süstitüe benzaldehit türevlerinin (1a-1c) sentezi

4.1.2. Tiyosemikarbazid türevlerinin sentezi (2a-2e) (Yöntem B)

Etanol içerisinde çözündürülen izotiyosiyanat türevleri (0.01 mol) buz banyosuna alınarak karıştırılmaya başlanmıştır. Başka bir kapta hidrazin hidrat (0.03 mol, 1.20 mL) etanol içerisinde çözündürülmüş ve elde edilen çözelti ayırma hunisine alınmıştır. Ayırma hunisi yardımı ile damla damla izotiyosiyanat çözeltisi içerisine ilave edilmiştir. Damlatma işlemi bittikten sonra İTK kontrolü sağlanmış ve çöken ürün süzülerek alınmıştır. Hidrazin hidratın fazlasını uzaklaştırmak amacıyla ürün soğuk etanol ile yıkanmıştır.

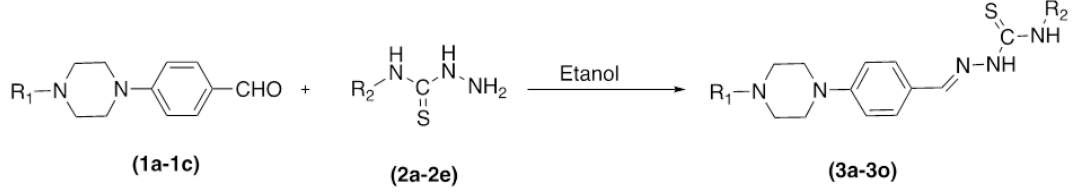


Şekil 4.2 Tiyosemikarbazid türevlerinin (2a-2e) sentezi

4.1.3. Tiyosemikarbazon türevlerinin sentezi (3a-3o) (Yöntem C)

Sentezlenen N-süstitüetiyosemikarbazit türevleri (2a-2e) (0.001 mol) ve 4-süstitüe benzaldehit türevleri (1a-1c) (0.001mol) etanol içerisinde çözündürülmüş ve

karışım geri çeviren soğutucu altında 6 saat boyunca kaynatılmıştır. Bu süre boyunca belirli aralıklar ile İTK kontrolü sağlanmıştır. İTK uygulaması ile reaksiyon bitimine karar verildikten sonra reaksiyon içeriği oda ısısına soğutulmuş ve çöken ürün süzülerek alınmıştır.



Bileşik	R ₁	R ₂
3a	Fenil	Etil
3b	Fenil	Allil
3c	Fenil	Fenil
3d	Fenil	4-Metoksifenil
3e	Fenil	4-Klorofenil
3f	4-Florofenil	Etil
3g	4-Florofenil	Allil
3h	4-Florofenil	Fenil
3i	4-Florofenil	4-Metoksifenil
3j	4-Florofenil	4-Klorofenil
3k	4-Florobenzil	Etil
3l	4-Florobenzil	Allil
3m	4-Florobenzil	Fenil
3n	4-Florobenzil	4-Metoksifenil
3o	4-Florobenzil	4-Klorofenil

Şekil 4.3 Tiyosemikarbazon türevlerinin (3a-3o) sentezi

4.2. İTK Çalışmaları

Bütün sentez çalışmalarında reaksiyonun tamamlanıp tamamlanmadığı İTK ile kontrol edilmiştir. Deney ortamında belirli zaman aralıklarında alınan numunelerin ve başlangıç maddelerinin etanoldeki çözeltisi ile adsorban olarak kullanılan silikajel 60 F254 kaplı, önceden uygun çözücü karışımlarıyla doyurulmuş alüminyum plaklara kılcal borular yardımı ile uygulanıp Petrol eteri-etil asetat (3:1) çözücü sisteminin kullanıldığı hareketli faz içerisinde sürüklenmiştir. Ultraviyole (254 nm ve 366 nm) ışığı altında absorpsiyon noktaları saptanmıştır. İTK sonucuna göre reaksiyon süreci yönlendirilmiştir.

4.3. Erime Noktalarının Tespiti

Mettler Toledo-MP90 Melting Point System erime derecesi tayin cihazı kullanılarak gerçekleştirilen erime noktası tayininde kapiler boruların ½ cm'i kadar madde konulmuştur.

4.4. ¹H-NMR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları, Bruker 300 MHz NMR spektrometresi cihazı kullanılarak elde edilmiştir. Çözücü olarak dimetilsülfoksit-d₆ (Dimetilsülfoksit-*d*₆) kullanılmıştır.

4.5. ¹³C-NMR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumları, Bruker 75 MHz NMR spektrometresi cihazı kullanılarak elde edilmiştir. Çözücü olarak dimetilsülfoksit-d₆ (Dimetilsülfoksit-*d*₆) kullanılmıştır.

4.6. Kütle Spektrumlarının Alınması

LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto, Japonya) cihazında elektron sprey iyonizasyon (ESI) iyonlaştırma tekniği kullanılarak bileşiklerin kütle spektrumları elde edilmiştir. Çözücü olarak metanol (>99%) kullanılmıştır.

4.7. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Tez çalışmasında sentezi tamamlanan bileşiklerin ChE ve MAO enzimleri üzerinde inhibisyon etkinlikleri araştırılmıştır. Yapılan biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılan distile suyu Milipor, Milli-Q Synthesis A10 saflaştırma cihazından elde edilmiştir. Çalışmalar zamanı kullanılan tüm çözeltiler yeni hazırlanmış ve 1 hafta içerisinde tüketilmiştir. BioTek-Precision Power (Amerika Birleşik Devletleri) robotik pipetleme sistemi kullanılarak enzim inhibisyon çalışması için hazırlanmış solusyonların porsiyonlar şeklinde ayrılmış, test bileşiklerinin 96 kuyucuklu plakalara uygulanmış, enzim substrat çözeltilerinin ilave edilmiştir. BioTek-Synergy H1 Microplate Reader (Amerika Birleşik Devletleri) cihazı kullanılarak enzim protokolü oluşturulmuş, izlenmiş ve spektrofotometrik ölçümlerin alınması işlemleri yapılmıştır.

4.7.1. Antikolinesterazaktivite çalışmaları

Sentezlenen maddelerin AChE ve BChE enzim inhibitör aktivitelerinin araştırılması modifiye Ellman metodu ile yapılmıştır [2, 17, 45-54].

4.7.1.1. AChE ve BChE enzim solüsyonunun hazırlanması

Liyofilize toz halde olan AChE/BChE enzimini çözmek için 500 U/mL konsantrasyonda %1'lik jelatin çözeltisi hazırlanmıştır. Enzim çözeltisinin 1 mL'i 100 mL'ye tamamlamak için balon jöje içinde hacim su kullanılmıştır. Bu işlem sonrasında stok enzim çözeltisi 5 U/mL'ye seyreltilmiştir. Elde edilen stok enzim solüsyonu 0.7 mL'lik porsiyonlar şeklinde -20°C'de muhafaza edilmiştir. Enzim deneyine geçmeden hemen önce enzim çözeltileri oda ısısına getirilmiş ve suyla 1.4 mL'ye tamamlanarak metod konsantrasyonu olan 2.5U/mL'ye seyreltilmiştir.

4.7.1.2. Asetiltiyokoliniyodür (ATC) çözeltisinin hazırlanması (0.075 M)

Asetiltiyokoliniyodür (0.217 g) bir miktar suda çözündürüldükten sonra 10 mL'ye tamamlamak için su kullanılmıştır. Hazırlanan solüsyon, kullanılabildiği kadar 0.4 mL'lik hacimler şeklinde -20°C'de muhafaza edilmiştir (163).

4.7.1.3. Bütiriltiyokoliniyodür (BTC) çözeltisinin hazırlanması (0.075 M)

Bütiriltiyokoliniyodür (0.237 g) bir miktar suda çözündürüldükten sonra 10 mL'ye tamamlamak için su kullanılmıştır. Hazırlanan solüsyon, kullanılabildiği kadar 0.4 mL'lik hacimler şeklinde -20°C'de muhafaza edilmiştir (163).

4.7.1.4. 5-5-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) solüsyonunun hazırlanması (0.01 M)

5-5-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (0.396 g) tartılmış ve bir miktar suyla çözündürüldükten sonra sodyum bikarbonat (0.15 g) eklenmiştir. Toplam hacim suyla 100 mL'e tamamlanmıştır. Hazırlanan solüsyon, 3 mL'lik hacimler şeklinde 20°C'de muhafaza edilmiştir.

4.7.1.5. Fosfat tamponunun hazırlanması (pH=8.0)

Potasyum dihidrojen fosfatın (13.61 g) suda çözülmesi için 1 L su kullanılmıştır. Hazırlanan solüsyonun pH'sı pH metre kullanılarak 0.1 N potasyum hidroksit solüsyonu ile kontrollü biçimde 8.0±0.1'e ayarlanmıştır. Ayarlı tampon solüsyonunu süzmek için çapı 0.22 µm por olan tek kullanımlık filtreler kullanılmıştır. Hazırlanan solüsyon, kullanıma kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir.

4.7.1.6. Test bileşiklerin çözeltilerinin hazırlanması

Test edilecek bileşiklerin ön tarama niteliğindeki enzim inhibitör aktivite çalışmaları %2'lik dimetilsülfoksit içinde hazırlanmış 10^{-3} ve 10^{-4} M'lık iki konsantrasyonları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İnhibisyon oranları %0-100 aralığında değerlendirilmiştir. İkinci aşama enzim inhibisyon deneyinde ise 10^{-4} M konsantrasyonda %50 ve daha fazla oranda inhibitör aktivite gösteren bileşiklerin seri seyreltmelerle 10^{-9} M konsantrasyona kadar konsantrasyonları hazırlanarak gerçekleştirilmiştir. Böylelikle seçilen bileşiklerin 10^{-3} - 10^{-9} M konsantrasyon aralıklarında % inhibisyon oranları belirlenmiş ve IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

4.7.2. AChE ve BChE inhibisyon çalışması

Elde edilen tüm bileşikler öncelikle ön tarama testine tabi tutulmuştur. Ön tarama testi bileşiklerin 10^{-3} ve 10^{-4} M'lık konsantrasyonda test çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin çözeltilerini hazırlamada çözücü olarak %2'lik dimetilsülfoksit kullanılmıştır. Aktivite değerleri %0-100 aralığında inhibisyon şeklinde değerlendirilmiştir.

Kolorimetrik Ellman metodu modifiye edilerek gerçekleştirilen enzim inhibisyon çalışmalarına başlamadan önce test işlemlerinde kullanılacak bütün çözeltiler 20-25°C'ye getirilmiştir. 96 kuyucuklu plaklar biyolojik aktivite çalışmaları süresince kullanılmıştır. Her bir kuyucuğa 210 µL hacimli çözelti eklenmiştir. Bu çözeltinin içeriğini; 140 µL fosfat tamponu, 20 µL enzim solüsyonu, 20 µL inhibitör çözelti, 20 µL DTNB çözeltisi, 10 µL ATC/BTC çözeltileri oluşturmaktadır. Çözeltiler, 96 kuyucuğa da yetecek miktarlarda iki farklı test çözeltisi meydana getirecek şekilde karıştırılmıştır. Birinci test çözeltisi; 1 kuyucuk için 70 µL fosfat tamponu, 20 µL enzim çözeltisi ve 20 µL DTNB çözeltisi, ikinci çözelti ise; 1 kuyucuk için 70 µL fosfat tamponu ve 10 µL ATC/BTC çözeltisi içerecek şekilde hazırlanmıştır.

Biotek Precision XS robotik sistemi kullanılarak birinci test çözeltisi ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış test bileşiği çözeltileri (20 µL) 96 kuyucuklu plakalara eklenmiştir. Bu aşamada her bir bileşik için dört tekrar olacak şekilde deney prosedürü planlanmıştır. Hazırlanan plakalar BioTek-Synergy H1 mikropilaka okuyucusuna yerleştirilerek 5 dk süre ile karıştırılmış ve hemen arkasından 25°C'de 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. 15 dk'lık inkübasyon süresi sonunda mikro pilaka okuyucusu dispenser haznesinde bulunan ikinci test çözeltisi her kuyucuğa 80 µL olacak şekilde ilave edilmiştir. Bu ekleme işleminden sonra 30 sn'lik bir karıştırma işlemi daha yapılmıştır. 30 sn sonunda 412 nm'de birinci absorban okuması gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonun devam etmesini sağlamak adına mikro plakalar 5 dk daha karışmaya bırakılmış ve bu süre sonunda ikinci absorban okunmuştur.

İki okuma arasındaki absorban farkları alınarak % inhibisyon oranları hesaplanmıştır.

4.7.3. Monoamin oksidaz enzim aktivite çalışmaları

Fluorometrik metod ile araştırılan MAO-A ve MAO-B enzim inhibitör aktiviteleri için tez kapsamında elde edilen bileşiklerin çözeltileri hazırlanmıştır [33, 53-64].

Enzim inhibisyon çalışmaları sırasında kullanılan üç farklı çözelti günlük olarak hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden ilki tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşikler ve referans bileşiklerin çözeltileridir. İkinci olarak kullanılan çözelti için rekombinant hMAO-A (0.5 U/mL) ve rekombinant hMAO-B (0.64 U/mL) enzimleri fosfat tamponu içerisinde çözündürülerek 10 mL hacimli çözelti haline getirilmiştir. Son çözelti ise Ampliflu™ Red (20 mM, 200 µL), Horseradish Peroksidaz (200 U/mL, 100 µL) ve tiramin (100 mM, 200 µL), fosfat tamponu içinde çözündürülerek hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır.

Birinci çözeltiden 20 µL, ikinci çözeltiden 100 µL alınarak siyah renkli düz tabanlı 96 kuyucuklu plakalara eklenmiştir. Çözeltileri içeren plakalar 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Inkübasyon süresi tamamlandıktan sonra üçüncü çözeltiden 100 µL ilave edilerek reaksiyonun başlaması sağlanmıştır. Bu karışım 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiş ve 30 dk sonrasında her 5 dakikada floresans ölçüm yapılmıştır. Floresans ölçümün dalga boyu Ex/Em=535/587 nm'dir. Blank kontrol olarak inhibitör bileşiklerini çözmede kullanılan %2'lik DİMETİLSÜLFOKSİT kullanılmıştır. İnhibitörlerin horseradish peroksidaz üzerine inhibitör etkisini kontrol etmek için enzim solüsyonu

yerine %3 H₂O₂ (20 mM) kullanılarak paralel okuma yapılmıştır. Blank, kontrol ve tüm inhibitör konsantrasyonları dördümlü tekrar şeklinde yapılmış ve yüzde inhibisyonları hesaplanmıştır.

4.8. Moleküler Modelleme Çalışmaları

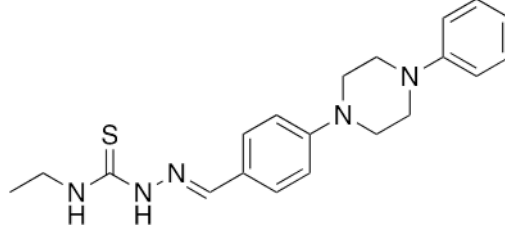
Aktif bileşiklerin moleküler modelleme çalışmaları AChE (PDB: 4EY7 [65]) ve MAO-B (PDB: 2V5Z [66]) enzimlerinin kristalleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Doking çalışmaları *Schrödinger Suite 2020 Update 2* [67] programı kullanılarak standart prosedürler ile gerçekleştirilmiştir. *LigPrep 3.8* [68], *Glide 7.1* [69] ara yüzleri kullanılarak single precision (SP) ile docking işlemi gerçekleştirilmiştir.

Standart prosedürler kullanılarak hem AChE (PDB:4EY7) hem de MAO-B (PDB:2V5Z) enzimleri için grid dosyaları hazırlanmıştır. Sentez çalışmaları sonucunda elde edilen türevlerin (**3a-3o**) molekül şekilleri ChemDrawn programı ile çizilmiş ve Ligprep ara yüzü kullanılarak pH=7.4±1 değerlerine göre ligand formları hazırlanmıştır. Elde edilen dosyalar ile doking prosedürü başlatılmış ve elde edilen pozlar iki boyutlu ve üç boyutlu olarak alınarak sunulmuştur.

5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR

5.1. Sentez Çalışmaları

5.1.1. *N*-Etil-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3a)



Şekil 5.1. *N*-Etil-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3a)

Verim: %79.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₀H₂₅N₅S: 368.1903; bulunan: 368.1894.

¹H-NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 300 MHz): δ = 1.14 (CH₃, 3H, t, *J*=7.1 Hz), 3.25-3.29 (piperazin, 4H, m), 3.37-3.40 (piperazin, 4H, m), 3.54-3.63 (-CH₂-, 2H, m), 6.81 (Ar-H, 1H, t, *J*=7.2 Hz), 6.98-7.03 (Ar-H, 4H, m), 7.21-7.27 (Ar-H, 2H, m), 7.65 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.8 Hz), 7.96 (-CH=N-, 1H, s), 8.43 (-NH, 1H, t, *J*=5.9 Hz), 11.26 (-NH, 1H, s).

¹³C-NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 75 MHz): δ = 15.23, 38.63, 47.79, 48.63, 115.16, 116.15, 119.67, 124.83, 128.94, 129.47, 142.73, 151.31, 152.27, 176.59.

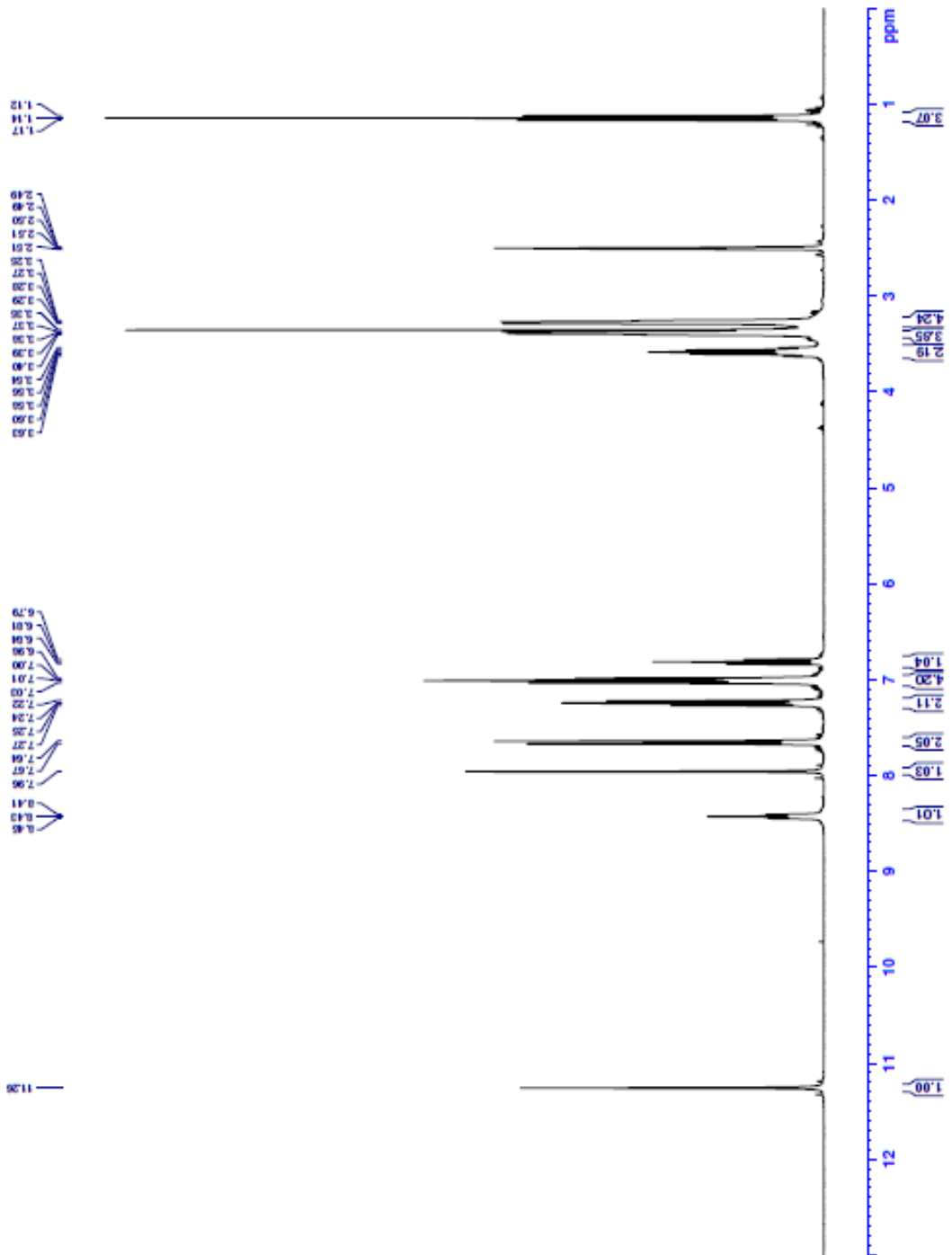


Current Data Parameters
NAME ZOF-2
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 2021120
Time 2:42
INSTRUM FOCUS300
PROBHD 5 mm BBO 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 65536
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6102.216 Hz
FIDRES 0.37229 Hz
AQ 1.201872 sec
RG 204.872
DM 81.920 umsec
DE 6.50 umsec
TE 291.3 K
D1 3.00000000 sec
TDD 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1388537 MHz
NUC1 13C
P1 13.00 umsec
PLM1 10.0000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1388537 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.2. ¹H-NMR spektrumu (3a)

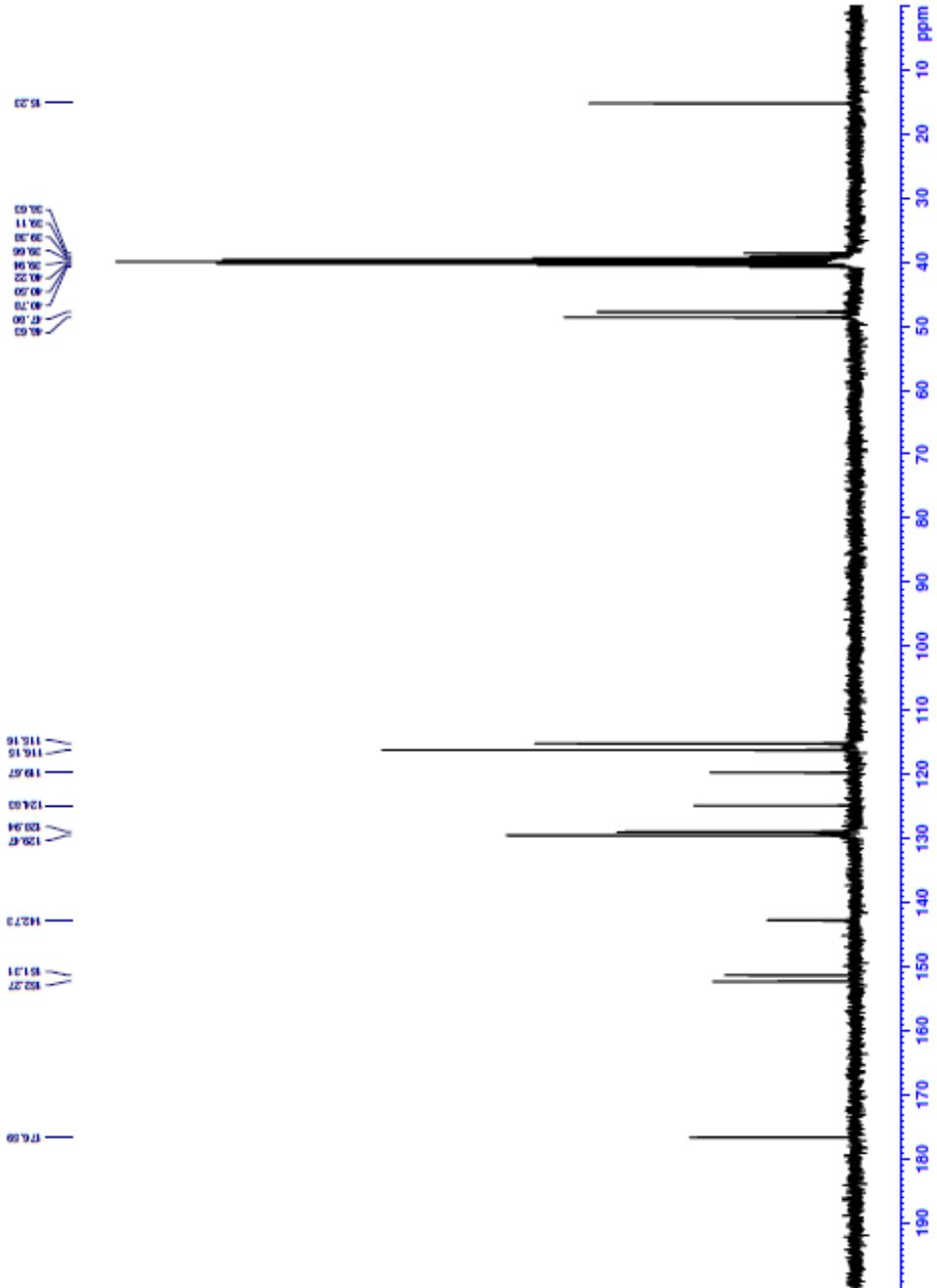


Current Data Parameters
 NAME 25F-2
 KEYP0
 PRUNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 2021120
 Time 2.44
 INSTRUM PULPROB300
 PULPROG zgpg30
 F1F2PRG2 TO 32768
 SOLVENT DMSO
 NS 2048
 DS 4
 SWH 24414.062 Hz
 FIDRES 0.745058 Hz
 AQ 0.6710886 sec
 RG 501.187
 INW 20.400 umsec
 EX 1.0000000 umsec
 TR 291.3 K
 D1 1.00000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 D31 0.00015000 sec
 D40 0.00000000 sec
 L4 23
 L5 26
 P32 90.00 umsec
 P33 1
 P30 CHANNEL F1
 SFO1 75.4878687 MHz
 NUQ1 13C
 P1 0.0000000 M
 P1A1 15.0000000 M

CHANNEL F2
 SFO2 300.1812007 MHz
 NUQ2 1H
 P1 0.0000000 M
 P1A1 15.0000000 M
 P1A2 10.0000000 M
 P1A3 0.20863999 M
 P1A4 0.10431999 M

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4802210 MHz
 SDW 2K
 SFO 75.4802210 MHz
 GB 1.00 Hz
 CB 0
 PC 1.40



Şekil 5.3. ^{13}C -NMR spektrumu (3a)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Anal\tderya\SDF-2_2.lcd

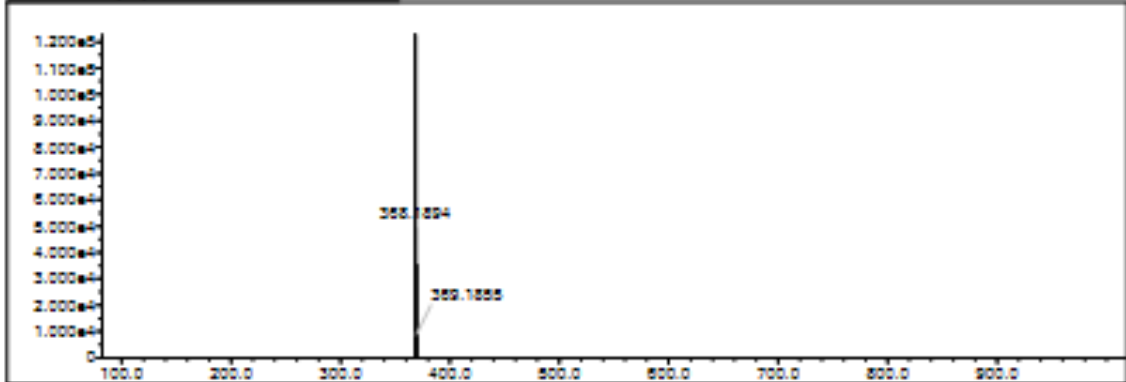
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	3	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

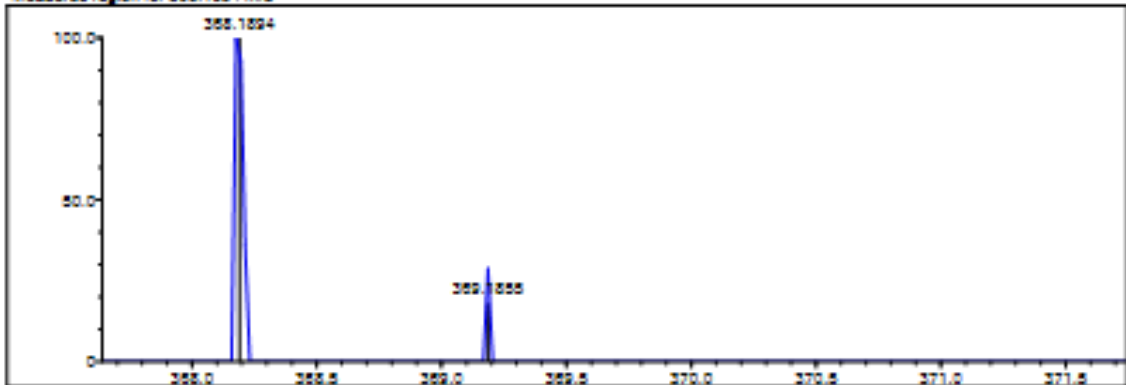
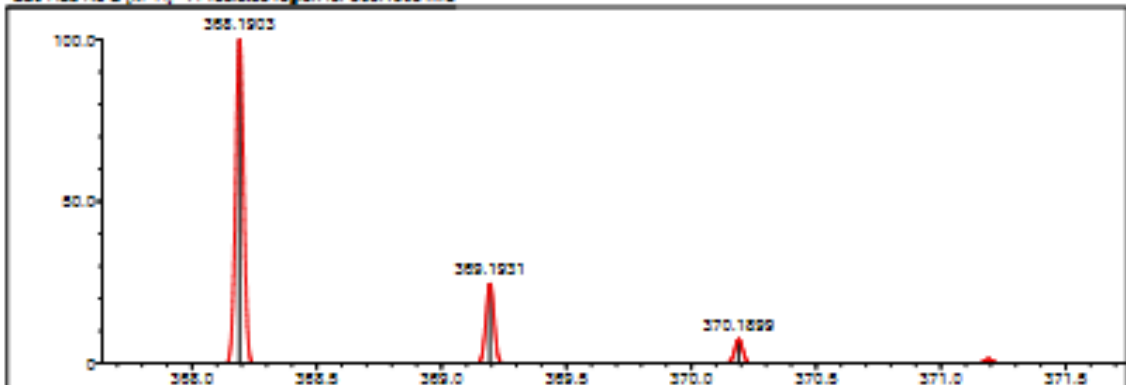
DBE Range: 5.0 - 15.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Max: 9000
 Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Rel. Time : 4.440 Scan#: 557



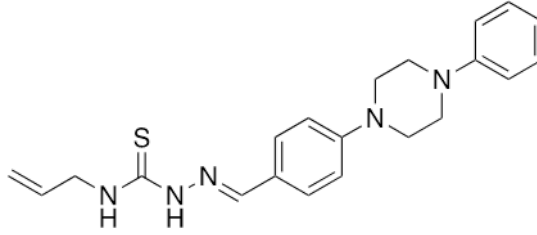
Measured region for 368.1894 m/z

C20 H25 N5 S [M+H]⁺ : Predicted region for 368.1903 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass. m/z	Pred. m/z	DL (mDa)	DL (ppm)	Isr	DBE
1	0.00	C20 H25 N5 S	[M+H] ⁺	368.1894	368.1903	-0.9	-2.44	0.00	11.0

Şekil 5.4. HRMS spektrumu (3a)

5.1.2. *N*-Allil-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3b)



Şekil 5.5. *N*-Allil-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3b)

Verim: %80.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₁₄H₁₈N₂O₃S₃: 359.0552; bulunan: 359.0546.

¹H-NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 300 MHz): δ = 3.27-3.28 (piperazin, 4H, m), 3.37-3.39 (piperazin, 4H, m), 4.21 (Allil-H, 2H, t, *J*=5.6 Hz), 5.06-5.18 (Allil-H, 2H, m), 5.87-5.96 (Allil-H, 1H, m), 6.81 (Ar-H, 1H, t, *J*=7.2 Hz), 6.98-7.03 (Ar-H, 4H, m), 7.22-7.27 (Ar-H, 2H, m), 7.67 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.9 Hz), 7.97 (-CH=N-, 1H, s), 8.56 (-NH, 1H, t, *J*=5.9 Hz), 11.36 (-NH, 1H, s).

¹³C-NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 75 MHz): δ = 46.15, 47.79, 48.62, 115.15, 115.89, 116.15, 119.67, 124.76, 128.99, 129.47, 135.77, 143.00, 151.31, 152.31, 177.11.



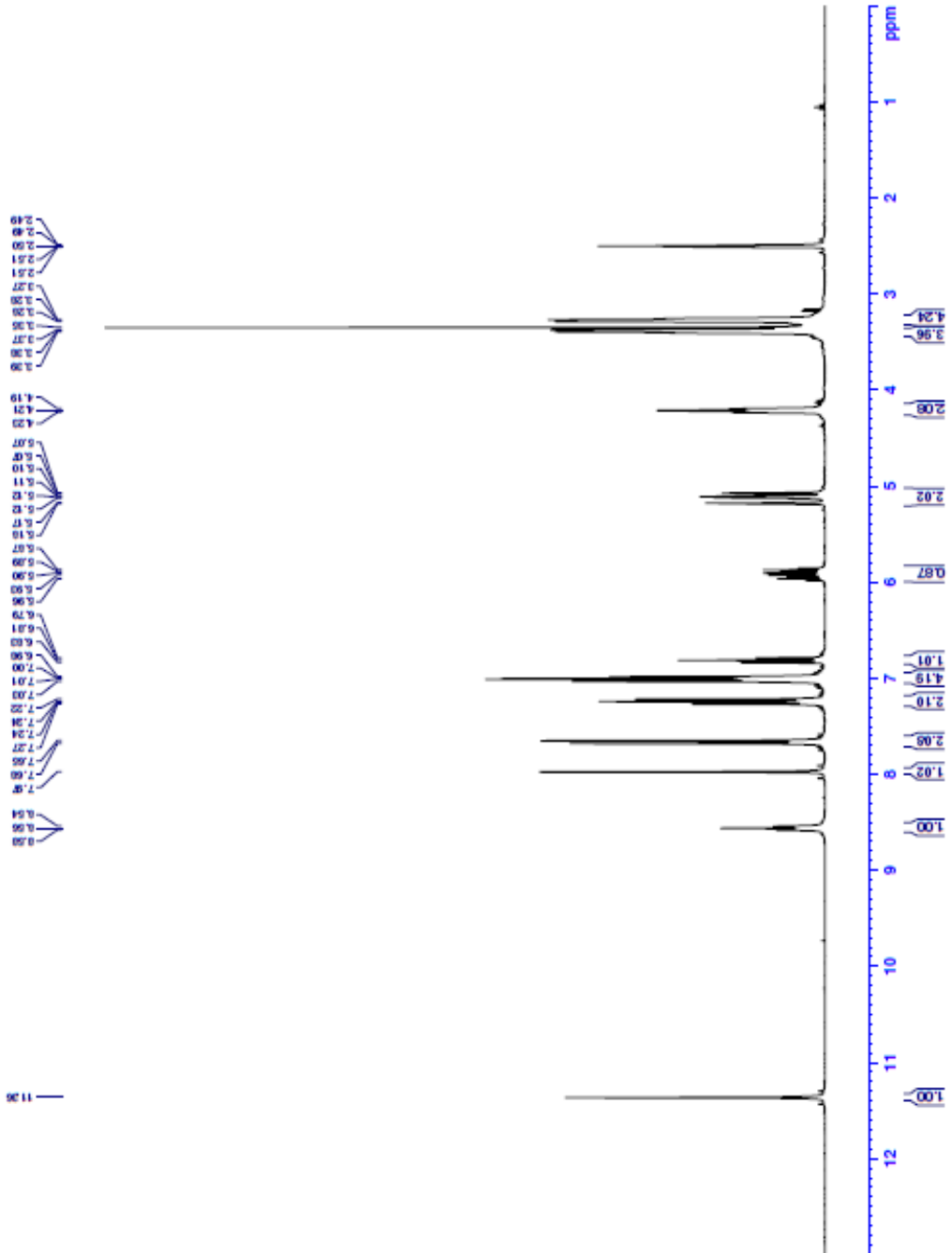
```

Current Data Parameters
NAME          55F-1
EXPNO        3
PROCNO       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         2021122
Time          11.53
INSTRUM      FOURIER300
PROBHD       5 mm DEL 13C-1
PULPROG      zgpg30
TD            65536
SOLVENT      DMF-D7
NS            16
DS            0
SWH           6105.81 Hz
FIDRES        0.373439 Hz
AQ            1.3421775 sec
RG            21.2412
DM            81.920 usec
DE            6.50 usec
TE            300.2 K
DQ            3.0000000 sec
TD0           1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1          13C
P1            13.00 usec
PL1           10.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI            0
SF            300.1480000 MHz
WDW           EM
SSB           0
LB            0.30 Hz
GB            0
PC            1.00
  
```



Şekil 5.6. ¹H-NMR spektrumu (3b)



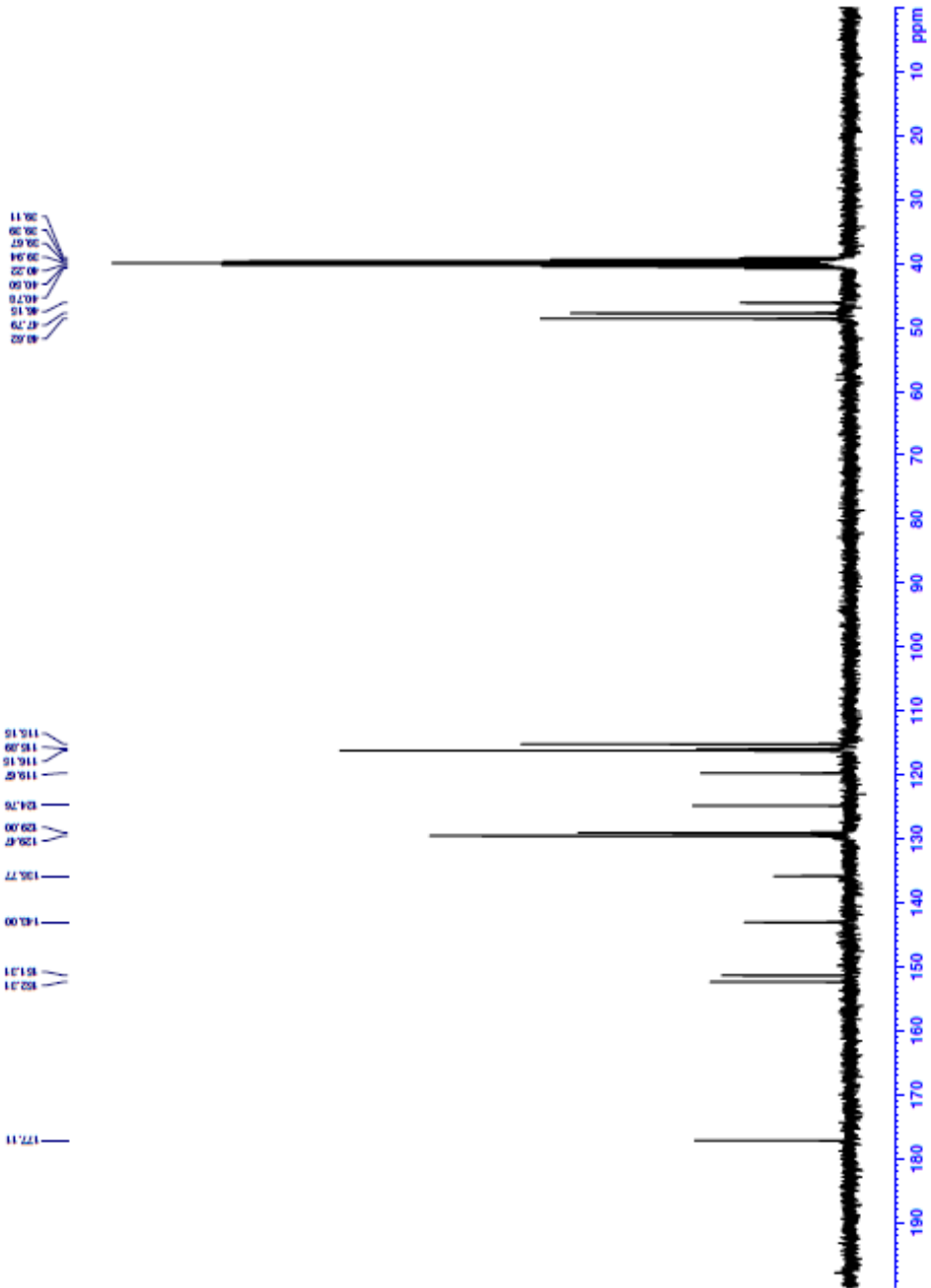
Current Data Parameters
NAME 3b
EXPNO 4
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 2011122
Time 11.53
INSTRUM FOCUS300
PROBHD 5 mm DOL 13C-1
PULPROG zgpg30
SOLVENT DMSO
NS 2048
DS 4
SWH 2444.206 Hz
FIDRES 0.745066 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
IM 20.480 usec
TE 300.2 K
NUC1 13C
NUC2 13C
FLM1 15.0000000 M
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SF01 75.487647 MHz
NUC1 13C
P1 15.00 usec
PLM1 15.0000000 M

===== CHANNEL f2 =====
SF02 300.1812007 MHz
NUC2 13C
PCPD2 90.00 usec
PLM2 10.0000000 M
PLM3 0.2086399 M
PLM4 0.1049200 M

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4803210 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



Şekil 5.7. ^{13}C -NMR spektrumu (3b)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiziderya\SDF-1_1.tcd

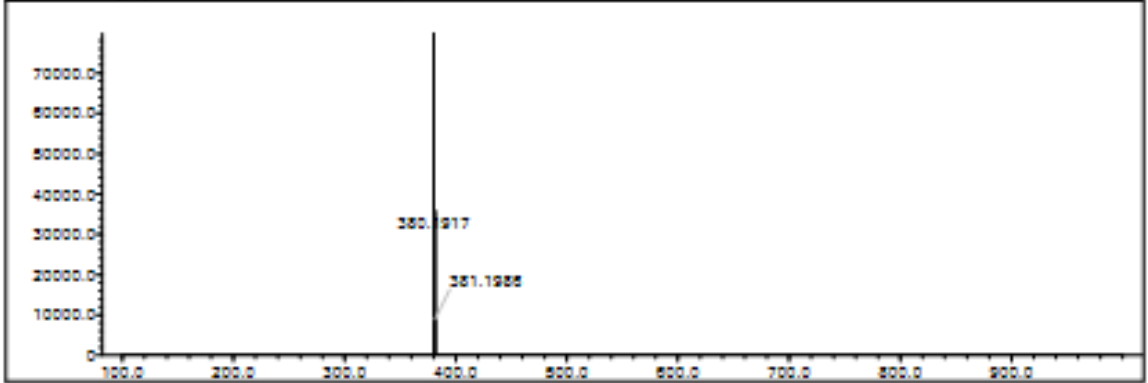
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct	
H	1	9	25	O	2	0	4	Cl	1	0	0		1	3	0	0	H
S	3	0	0	P	1	0	0	Br	1	0	0						
C	4	7	37	P	3	0	0	Ru	2	0	0						
N	3	2	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0						

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

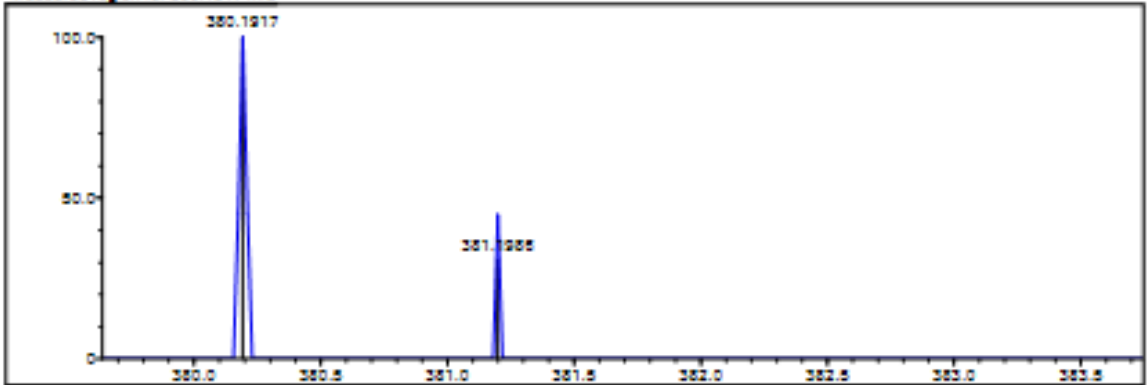
DSE Range: 5.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Max: 9000
 Max Results: 50

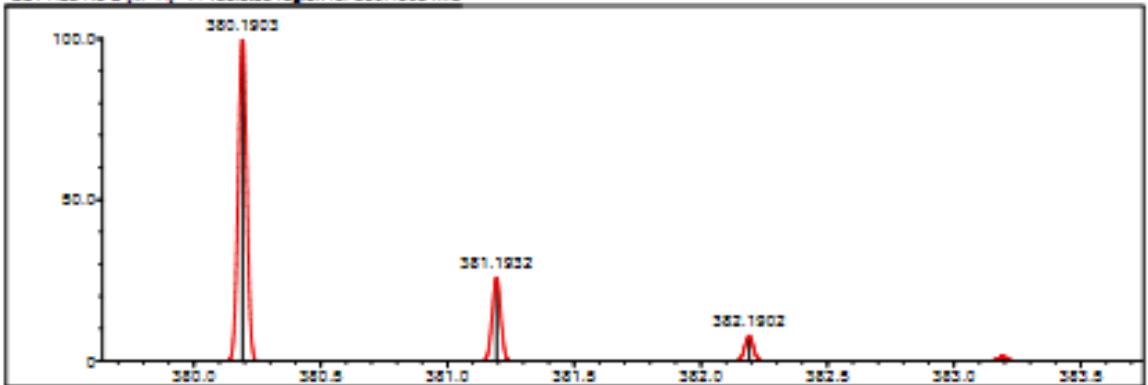
Event#: 1 MS(E+), Ret. Time: 4.733, Scan#: 711



Measured region for 380.1917 m/z



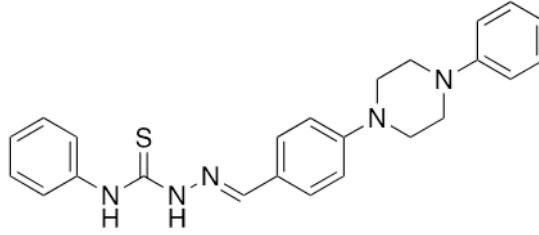
C21 H25 N5 S [M+H]⁺: Predicted region for 380.1903 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass. m/z	Pred. m/z	DE (mDa)	DE (ppm)	Isr	DSE
1	0.00	C21 H25 N5 S	[M+H] ⁺	380.1917	380.1903	1.4	3.68	0.00	12.0

Şekil 5.8. HRMS spektrumu (3b)

5.1.3. *N*-fenil-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazine-1-karbotiyoamid (3c)



Şekil 5.9. *N*-fenil-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazine-1-karbotiyoamid (3c)

Verim: %77.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₄H₂₅N₅S: 416.1903; bulunan: 416.1877.

¹H-NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 300 MHz): δ = 3.27-3.29 (piperazin, 4H, m), 3.39-3.41 (piperazin, 4H, m), 6.81 (Ar-H, 1H, t, $J=7.2$ Hz), 6.98-7.04 (Ar-H, 4H, m), 7.19-7.22 (Ar-H, 1H, m), 7.24-7.27 (Ar-H, 2H, m), 7.34-7.39 (Ar-H, 2H, m), 7.57-7.60 (Ar-H, 2H, m), 7.76 (Ar-H, 2H, d, $J=8.9$ Hz), 8.07 (-CH=N-, 1H, s), 10.01 (-NH, 1H, s), 11.68 (-NH, 1H, s).

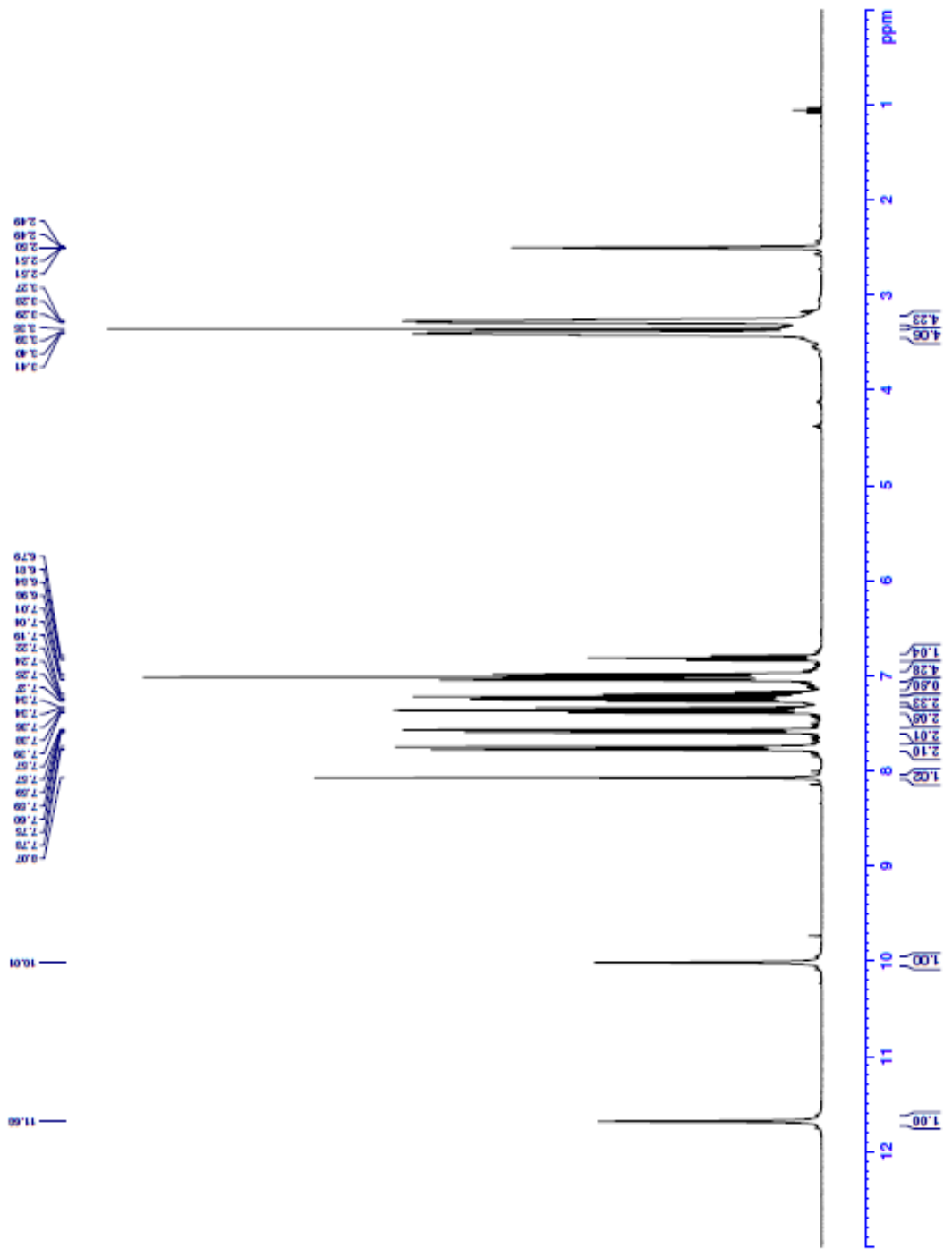
¹³C-NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 75 MHz): δ = 47.71, 48.62, 115.05, 116.15, 119.67, 124.48, 125.58, 126.21, 128.46, 129.41, 129.47, 139.65, 143.86, 151.30, 152.46, 175.68.



Current Data Parameters
 NAME: 20P-3
 EXPNO: 1
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 2021120
 Time: 4.46
 INSTRUM: PDSXPR300
 PULPROG: zgpg30
 SOLVENT: DMF0
 NS: 16
 DS: 0
 SWH: 6105.816 Hz
 FWHM: 1.242173 Hz
 AQ: 1.342173 sec
 RG: 21.7706
 ENW: 81.920 usec
 DE: 6.50 usec
 TE: 291.3 K
 D1: 3.0000000 sec
 D11: 1

===== CHANNEL f1 =====
 SF01: 300.1318537 MHz
 NUC1: 1H
 P1: 13.00 usec
 PL1: 0.00000000 dB
 F2 - Processing parameters
 SI: 65536
 SF: 300.1300000 MHz
 WDW: EM
 SSB: 0
 GB: 0
 PC: 1.00



Şekil 5.10. ¹H-NMR spektrumu (3c)



```

Current Data Parameters
NAME      20F-2
EXPNO    1
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    2021120
Time     11:05:06
INSTRUM  PULPROB
PROBHD   5 mm BBO-13C-1
PULPROG  zgpg30
TD       32768
SOLVENT  DMSO
NS       2048
DS       4
SWH      24414.062 Hz
FIDRES   0.745258 Hz
AQ       0.6710886 sec
RG       501.187
DM       20.480 uS
DC       0.0000000
TE       300.2 K
NUC1     13C
NUC2     13C
D1       1.00000000 sec
D11      0.03000000 sec
D12      0.00001500 sec
D13      0.89999998 sec
D14      0.00000000 sec
SFO      125.7611950 MHz
AQ       2.00000000 sec
TD0      1
FID0     90.00 uS

===== CHANNEL f1 =====
NUC1     13C
P1       15.00 uS
PL1      15.00000000 M

===== CHANNEL f2 =====
NUC2     13C
P2       15.00 uS
PL2      15.00000000 M

===== CHANNEL f3 =====
NUC3     13C
P3       15.00 uS
PL3      15.00000000 M

===== CHANNEL f4 =====
NUC4     13C
P4       15.00 uS
PL4      15.00000000 M

===== CHANNEL f5 =====
NUC5     13C
P5       15.00 uS
PL5      15.00000000 M

===== CHANNEL f6 =====
NUC6     13C
P6       15.00 uS
PL6      15.00000000 M

===== CHANNEL f7 =====
NUC7     13C
P7       15.00 uS
PL7      15.00000000 M

===== CHANNEL f8 =====
NUC8     13C
P8       15.00 uS
PL8      15.00000000 M

===== CHANNEL f9 =====
NUC9     13C
P9       15.00 uS
PL9      15.00000000 M

===== CHANNEL f10 =====
NUC10    13C
P10      15.00 uS
PL10     15.00000000 M

===== CHANNEL f11 =====
NUC11    13C
P11      15.00 uS
PL11     15.00000000 M

===== CHANNEL f12 =====
NUC12    13C
P12      15.00 uS
PL12     15.00000000 M

===== CHANNEL f13 =====
NUC13    13C
P13      15.00 uS
PL13     15.00000000 M

===== CHANNEL f14 =====
NUC14    13C
P14      15.00 uS
PL14     15.00000000 M

===== CHANNEL f15 =====
NUC15    13C
P15      15.00 uS
PL15     15.00000000 M

===== CHANNEL f16 =====
NUC16    13C
P16      15.00 uS
PL16     15.00000000 M

===== CHANNEL f17 =====
NUC17    13C
P17      15.00 uS
PL17     15.00000000 M

===== CHANNEL f18 =====
NUC18    13C
P18      15.00 uS
PL18     15.00000000 M

===== CHANNEL f19 =====
NUC19    13C
P19      15.00 uS
PL19     15.00000000 M

===== CHANNEL f20 =====
NUC20    13C
P20      15.00 uS
PL20     15.00000000 M

===== CHANNEL f21 =====
NUC21    13C
P21      15.00 uS
PL21     15.00000000 M

===== CHANNEL f22 =====
NUC22    13C
P22      15.00 uS
PL22     15.00000000 M

===== CHANNEL f23 =====
NUC23    13C
P23      15.00 uS
PL23     15.00000000 M

===== CHANNEL f24 =====
NUC24    13C
P24      15.00 uS
PL24     15.00000000 M

===== CHANNEL f25 =====
NUC25    13C
P25      15.00 uS
PL25     15.00000000 M

===== CHANNEL f26 =====
NUC26    13C
P26      15.00 uS
PL26     15.00000000 M

===== CHANNEL f27 =====
NUC27    13C
P27      15.00 uS
PL27     15.00000000 M

===== CHANNEL f28 =====
NUC28    13C
P28      15.00 uS
PL28     15.00000000 M

===== CHANNEL f29 =====
NUC29    13C
P29      15.00 uS
PL29     15.00000000 M

===== CHANNEL f30 =====
NUC30    13C
P30      15.00 uS
PL30     15.00000000 M

===== CHANNEL f31 =====
NUC31    13C
P31      15.00 uS
PL31     15.00000000 M

===== CHANNEL f32 =====
NUC32    13C
P32      15.00 uS
PL32     15.00000000 M

===== CHANNEL f33 =====
NUC33    13C
P33      15.00 uS
PL33     15.00000000 M

===== CHANNEL f34 =====
NUC34    13C
P34      15.00 uS
PL34     15.00000000 M

===== CHANNEL f35 =====
NUC35    13C
P35      15.00 uS
PL35     15.00000000 M

===== CHANNEL f36 =====
NUC36    13C
P36      15.00 uS
PL36     15.00000000 M

===== CHANNEL f37 =====
NUC37    13C
P37      15.00 uS
PL37     15.00000000 M

===== CHANNEL f38 =====
NUC38    13C
P38      15.00 uS
PL38     15.00000000 M

===== CHANNEL f39 =====
NUC39    13C
P39      15.00 uS
PL39     15.00000000 M

===== CHANNEL f40 =====
NUC40    13C
P40      15.00 uS
PL40     15.00000000 M

===== CHANNEL f41 =====
NUC41    13C
P41      15.00 uS
PL41     15.00000000 M

===== CHANNEL f42 =====
NUC42    13C
P42      15.00 uS
PL42     15.00000000 M

===== CHANNEL f43 =====
NUC43    13C
P43      15.00 uS
PL43     15.00000000 M

===== CHANNEL f44 =====
NUC44    13C
P44      15.00 uS
PL44     15.00000000 M

===== CHANNEL f45 =====
NUC45    13C
P45      15.00 uS
PL45     15.00000000 M

===== CHANNEL f46 =====
NUC46    13C
P46      15.00 uS
PL46     15.00000000 M

===== CHANNEL f47 =====
NUC47    13C
P47      15.00 uS
PL47     15.00000000 M

===== CHANNEL f48 =====
NUC48    13C
P48      15.00 uS
PL48     15.00000000 M

===== CHANNEL f49 =====
NUC49    13C
P49      15.00 uS
PL49     15.00000000 M

===== CHANNEL f50 =====
NUC50    13C
P50      15.00 uS
PL50     15.00000000 M

===== CHANNEL f51 =====
NUC51    13C
P51      15.00 uS
PL51     15.00000000 M

===== CHANNEL f52 =====
NUC52    13C
P52      15.00 uS
PL52     15.00000000 M

===== CHANNEL f53 =====
NUC53    13C
P53      15.00 uS
PL53     15.00000000 M

===== CHANNEL f54 =====
NUC54    13C
P54      15.00 uS
PL54     15.00000000 M

===== CHANNEL f55 =====
NUC55    13C
P55      15.00 uS
PL55     15.00000000 M

===== CHANNEL f56 =====
NUC56    13C
P56      15.00 uS
PL56     15.00000000 M

===== CHANNEL f57 =====
NUC57    13C
P57      15.00 uS
PL57     15.00000000 M

===== CHANNEL f58 =====
NUC58    13C
P58      15.00 uS
PL58     15.00000000 M

===== CHANNEL f59 =====
NUC59    13C
P59      15.00 uS
PL59     15.00000000 M

===== CHANNEL f60 =====
NUC60    13C
P60      15.00 uS
PL60     15.00000000 M

===== CHANNEL f61 =====
NUC61    13C
P61      15.00 uS
PL61     15.00000000 M

===== CHANNEL f62 =====
NUC62    13C
P62      15.00 uS
PL62     15.00000000 M

===== CHANNEL f63 =====
NUC63    13C
P63      15.00 uS
PL63     15.00000000 M

===== CHANNEL f64 =====
NUC64    13C
P64      15.00 uS
PL64     15.00000000 M

===== CHANNEL f65 =====
NUC65    13C
P65      15.00 uS
PL65     15.00000000 M

===== CHANNEL f66 =====
NUC66    13C
P66      15.00 uS
PL66     15.00000000 M

===== CHANNEL f67 =====
NUC67    13C
P67      15.00 uS
PL67     15.00000000 M

===== CHANNEL f68 =====
NUC68    13C
P68      15.00 uS
PL68     15.00000000 M

===== CHANNEL f69 =====
NUC69    13C
P69      15.00 uS
PL69     15.00000000 M

===== CHANNEL f70 =====
NUC70    13C
P70      15.00 uS
PL70     15.00000000 M

===== CHANNEL f71 =====
NUC71    13C
P71      15.00 uS
PL71     15.00000000 M

===== CHANNEL f72 =====
NUC72    13C
P72      15.00 uS
PL72     15.00000000 M

===== CHANNEL f73 =====
NUC73    13C
P73      15.00 uS
PL73     15.00000000 M

===== CHANNEL f74 =====
NUC74    13C
P74      15.00 uS
PL74     15.00000000 M

===== CHANNEL f75 =====
NUC75    13C
P75      15.00 uS
PL75     15.00000000 M

===== CHANNEL f76 =====
NUC76    13C
P76      15.00 uS
PL76     15.00000000 M

===== CHANNEL f77 =====
NUC77    13C
P77      15.00 uS
PL77     15.00000000 M

===== CHANNEL f78 =====
NUC78    13C
P78      15.00 uS
PL78     15.00000000 M

===== CHANNEL f79 =====
NUC79    13C
P79      15.00 uS
PL79     15.00000000 M

===== CHANNEL f80 =====
NUC80    13C
P80      15.00 uS
PL80     15.00000000 M

===== CHANNEL f81 =====
NUC81    13C
P81      15.00 uS
PL81     15.00000000 M

===== CHANNEL f82 =====
NUC82    13C
P82      15.00 uS
PL82     15.00000000 M

===== CHANNEL f83 =====
NUC83    13C
P83      15.00 uS
PL83     15.00000000 M

===== CHANNEL f84 =====
NUC84    13C
P84      15.00 uS
PL84     15.00000000 M

===== CHANNEL f85 =====
NUC85    13C
P85      15.00 uS
PL85     15.00000000 M

===== CHANNEL f86 =====
NUC86    13C
P86      15.00 uS
PL86     15.00000000 M

===== CHANNEL f87 =====
NUC87    13C
P87      15.00 uS
PL87     15.00000000 M

===== CHANNEL f88 =====
NUC88    13C
P88      15.00 uS
PL88     15.00000000 M

===== CHANNEL f89 =====
NUC89    13C
P89      15.00 uS
PL89     15.00000000 M

===== CHANNEL f90 =====
NUC90    13C
P90      15.00 uS
PL90     15.00000000 M

===== CHANNEL f91 =====
NUC91    13C
P91      15.00 uS
PL91     15.00000000 M

===== CHANNEL f92 =====
NUC92    13C
P92      15.00 uS
PL92     15.00000000 M

===== CHANNEL f93 =====
NUC93    13C
P93      15.00 uS
PL93     15.00000000 M

===== CHANNEL f94 =====
NUC94    13C
P94      15.00 uS
PL94     15.00000000 M

===== CHANNEL f95 =====
NUC95    13C
P95      15.00 uS
PL95     15.00000000 M

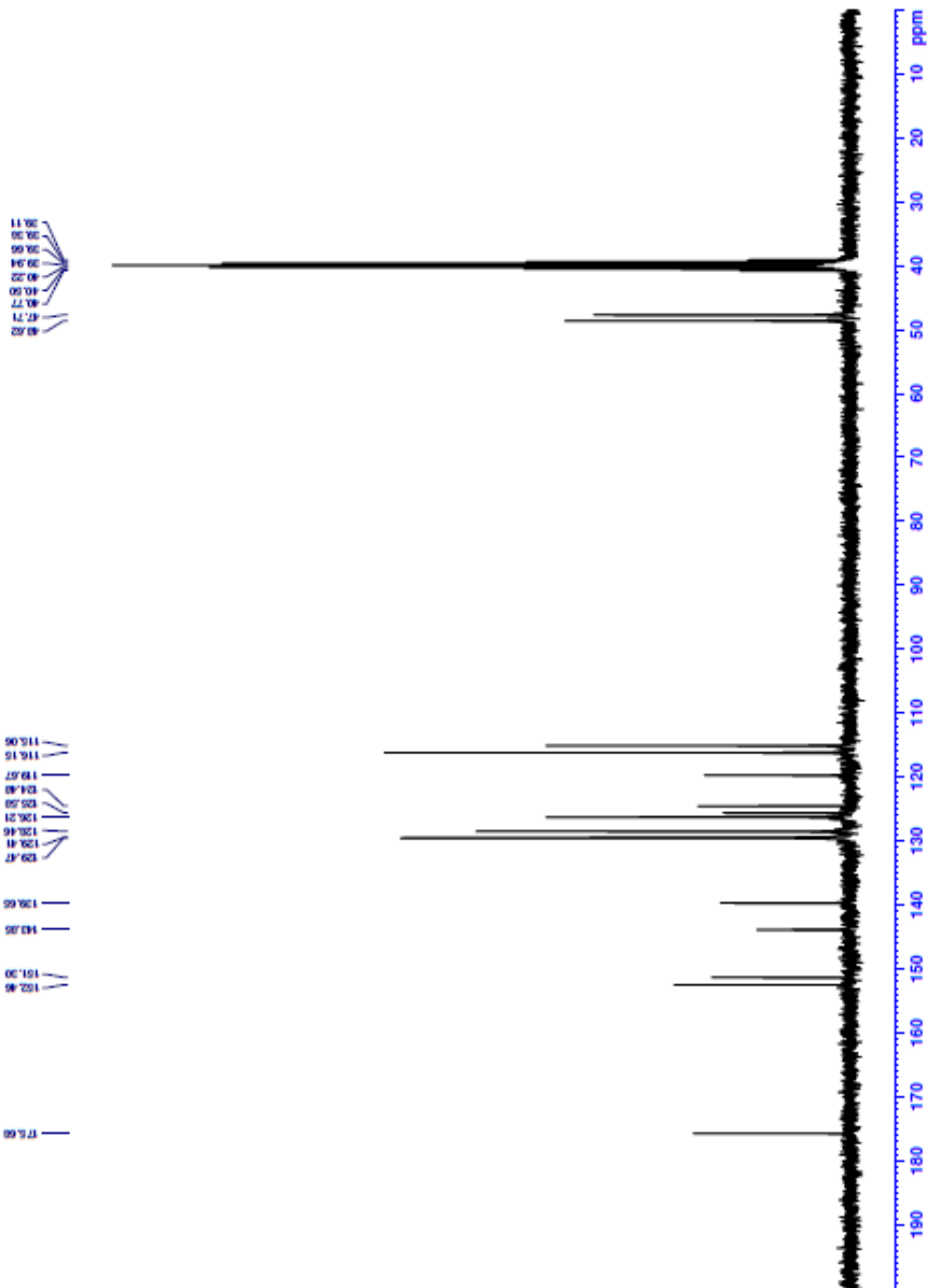
===== CHANNEL f96 =====
NUC96    13C
P96      15.00 uS
PL96     15.00000000 M

===== CHANNEL f97 =====
NUC97    13C
P97      15.00 uS
PL97     15.00000000 M

===== CHANNEL f98 =====
NUC98    13C
P98      15.00 uS
PL98     15.00000000 M

===== CHANNEL f99 =====
NUC99    13C
P99      15.00 uS
PL99     15.00000000 M

===== CHANNEL f100 =====
NUC100   13C
P100     15.00 uS
PL100    15.00000000 M
  
```



Şekil 5.11. ¹³C-NMR spektrumu (3c)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analysis\507-3_3.lcd

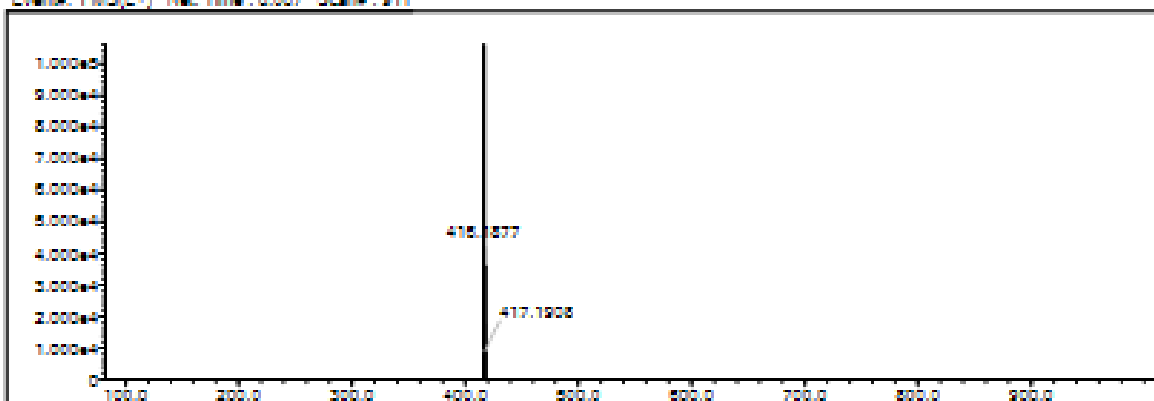
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	3	S	2	0	2	Pu	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pa	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 7
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

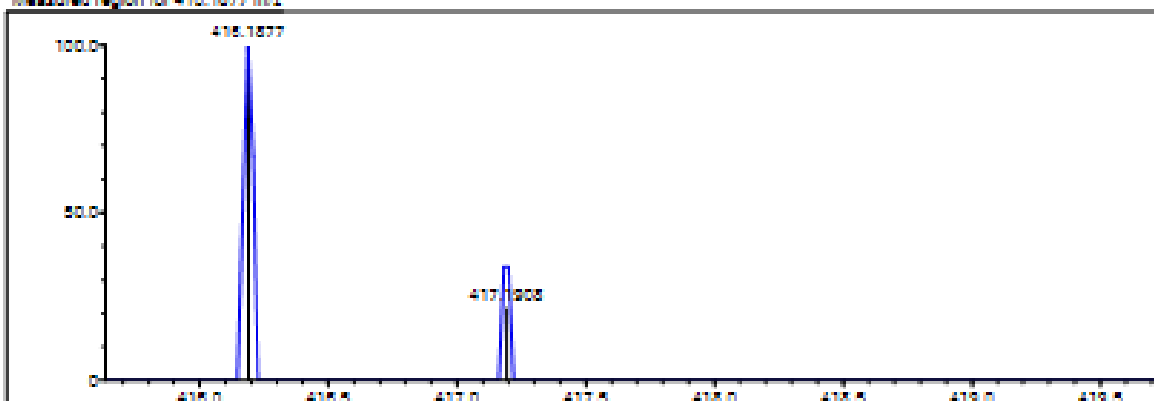
DBE Range: 5.0 - 15.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 5000
 Max Results: 150

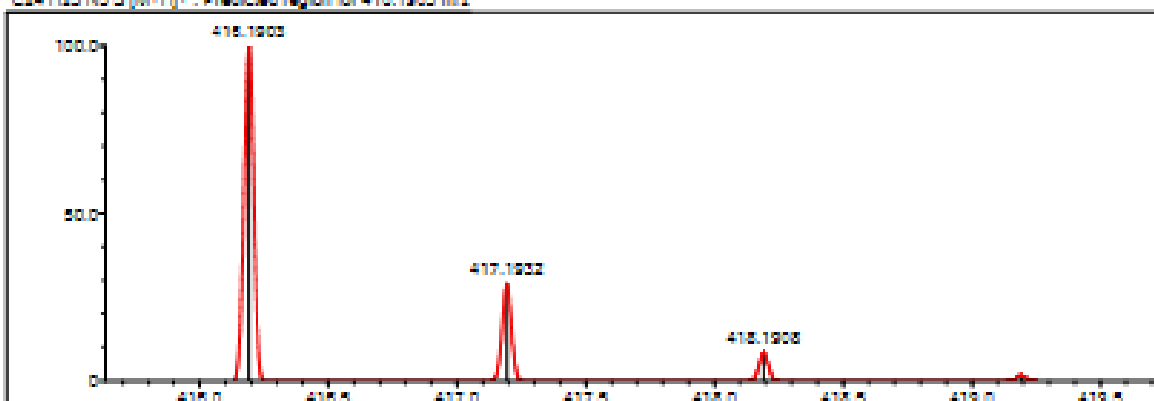
Event#: 1 MS2+ Rel. Time: 5.057 Scan#: 911



Measured region for 418.1877 m/z



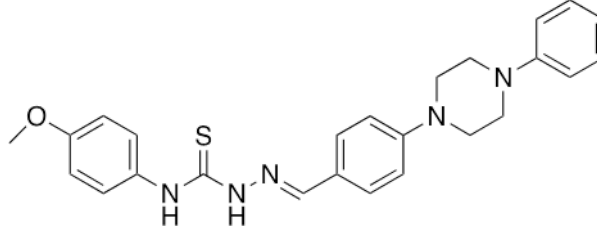
C24 H25 N3 S [M+H]+ : Predicted region for 418.1903 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass, m/z	Pred. m/z	DL (mDa)	DL (ppm)	Is	DBE
1	6.00	C24 H25 N3 S	[M+H]+	418.1877	418.1903	-3.6	-8.29	0.00	15.0

Şekil 5.12. HRMS spektrumu (3c)

5.1.4. *N*-(4-Metoksifenil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3d)



Şekil 5.13. *N*-(4-Metoksifenil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3d)

Verim: %81.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₅H₂₇N₅OS: 446.2009; bulunan: 446.2007.

¹H-NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 300 MHz): δ = 3.26-3.29 (piperazin, 4H, m), 3.38-3.42 (piperazin 4H, m), 3.76 (-OCH₃, 3H, s), 6.81 (Ar-H, 1H, t, J =7.3 Hz), 6.92 (Ar-H, 2H, d, J =8.9 Hz), 6.98-7.04 (Ar-H, 4H, m), 7.21-7.27 (Ar-H, 2H, m), 7.40 (Ar-H, 2H, d, J =8.9 Hz), 7.75 (Ar-H, 2H, d, J =8.9 Hz), 8.05 (-CH=N-, 1H, s), 9.91 (-NH, 1H, s), 11.59 (-NH, 1H, s).

¹³C-NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 75 MHz): δ = 47.73, 48.62, 55.65, 113.64, 115.07, 116.15, 119.67, 124.61, 127.98, 129.34, 129.47, 132.54, 143.52, 151.31, 152.40, 157.27, 176.12.

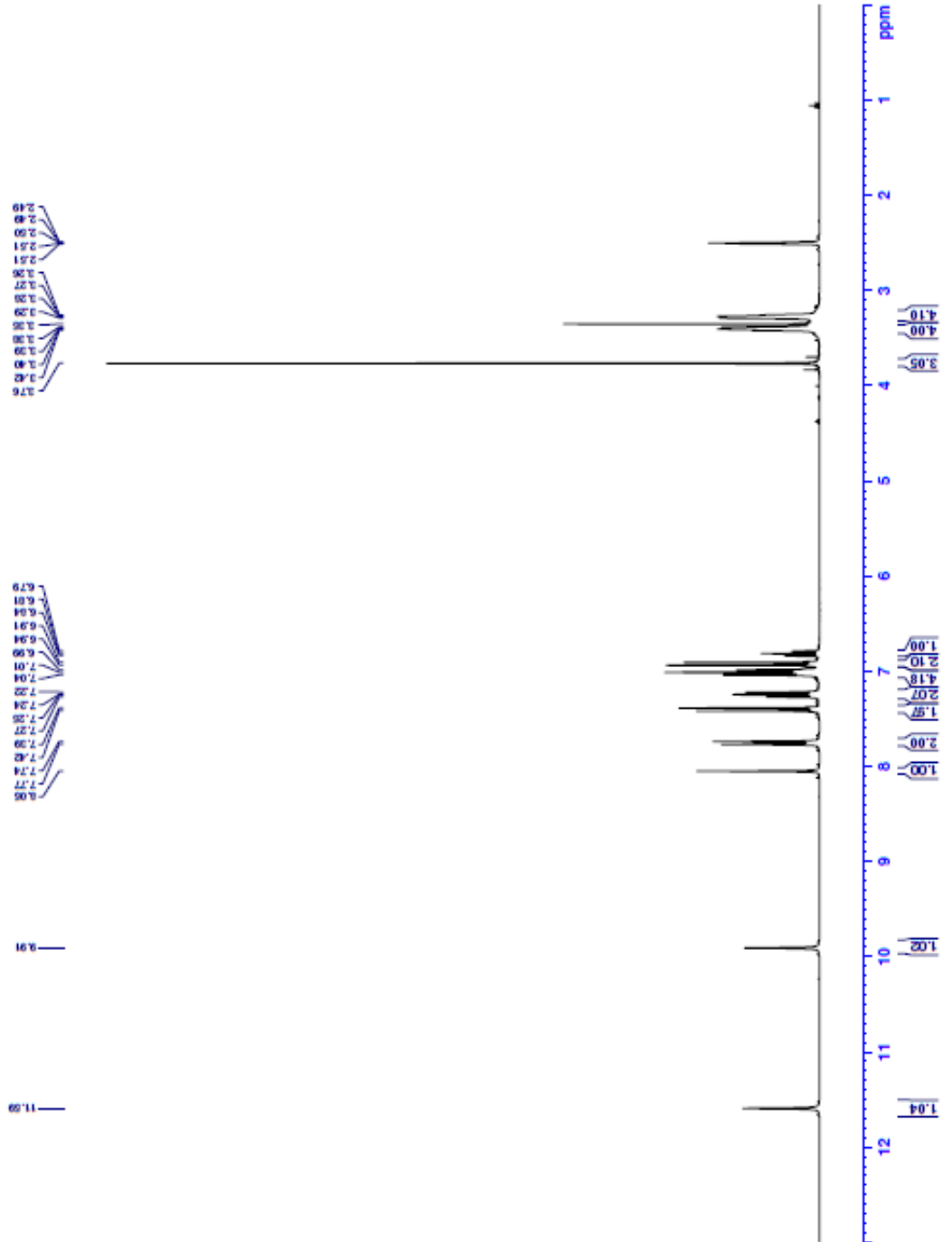


Current Data Parameters
NAME: 2SF-4
EXPNO: 1
PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_: 2021120
Time: 5.48
INSTRUM: PDSXDR300
PROBHD: 5 mm DDL 13C-1
PULPROG: zgpg30
TD: 65536
SOLVENT: DMSO
NS: 16
DS: 0
SWH: 6103.516 Hz
FIDRES: 0.32727 Hz
AQ: 1.342173 sec
RG: 26.2298 Hz
DM: 81.920 uSsec
DE: 6.50 uSsec
TE: 291.5 K
D1: 3.0000000 sec
D11: 1.00

===== CHANNEL f1 =====
SFO1: 300.1818337 MHz
NUC1: 13C
P1: 13.00 uSsec
PLM1: 10.00000000 M

F2 - Processing parameters
SI: 65536
SF: 300.1800000 MHz
WDW: EM
SSB: 0.30 Hz
GB: 0
PC: 1.00



Şekil 5.14. $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (*3d*)

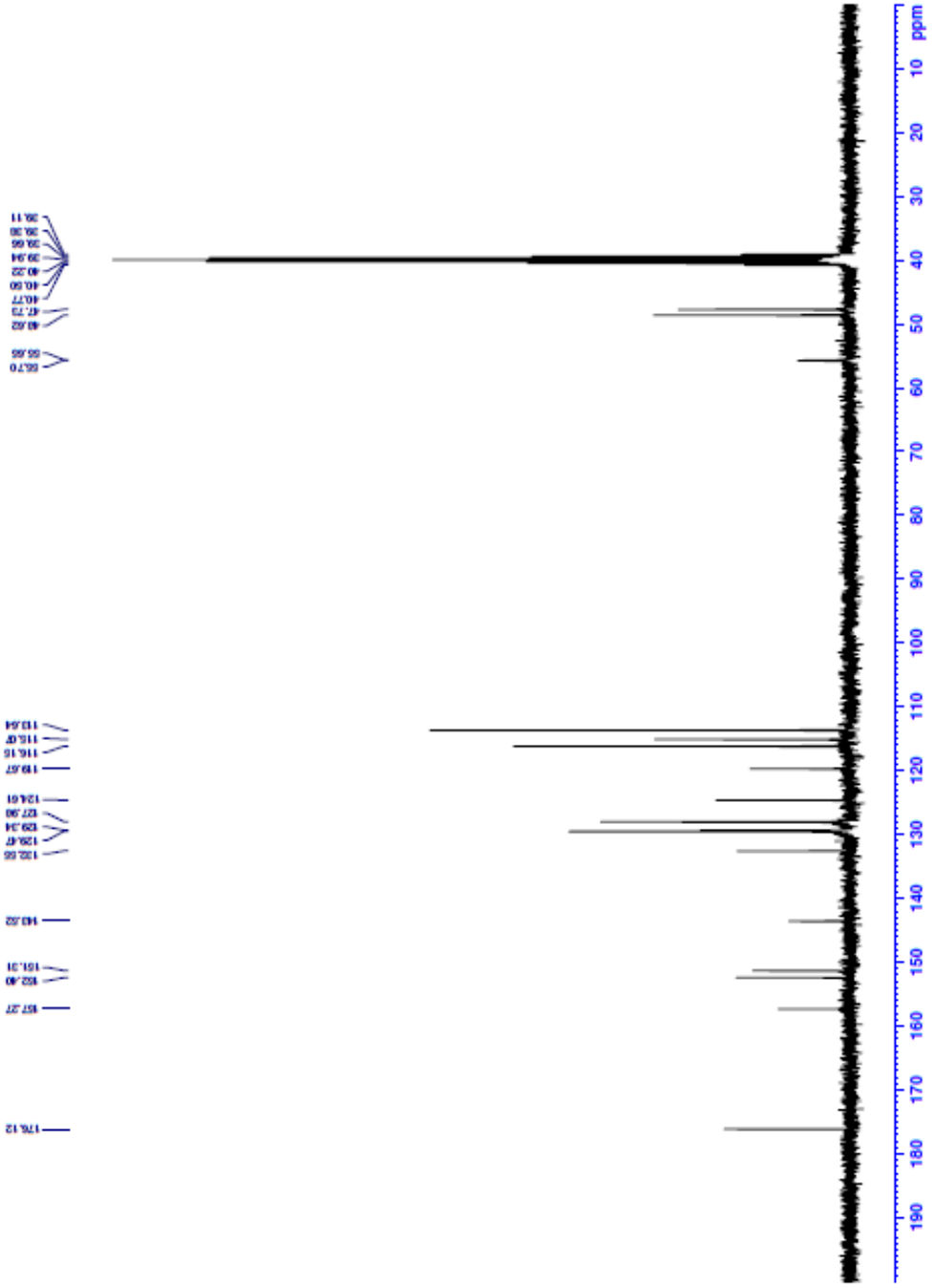


```

Current Data Parameters
NAME      5ZF-4
EXPNO    2
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20211120
Time      5.50
INSTRUM   PUCKER300
PROBHD    5 mm QNP 13C-1
PULPROG   zgpg30
TD        32768
SOLVENT   DMSO
NS         2048
DS         4
SWH        24414.062 Hz
FIDRES     0.34628 Hz
AQ         0.6710886 sec
RG         501.187
IN         20.480 uS
DE         6.50 uS
TE         300.2 K
NUC1       13C
NUC2       13C
PC         1.00000000 sec
D1         0.03000000 sec
D11        0.00001500 sec
D32        0.89999998 sec
D40        0.00003990 sec
SFO1       125.760 MHz
SFO2       125.760 MHz
P1         15.00 uS
P181       15.00000000 M
SFO3       300.1312007 MHz
NUC3       1H
P2         15.00 uS
P2181      15.00000000 M
PCYPRG2    waltz16
PCYPRG1    waltz16
P3         10.00000000 M
P3181      10.00000000 M
P4         0.20000000 M
P4181      0.20000000 M
P5         0.10000000 M
P5181      0.10000000 M

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         75.4803110 MHz
WDW         EM
SSB         0
LB         1.00 Hz
GB         0
PC         1.40
  
```



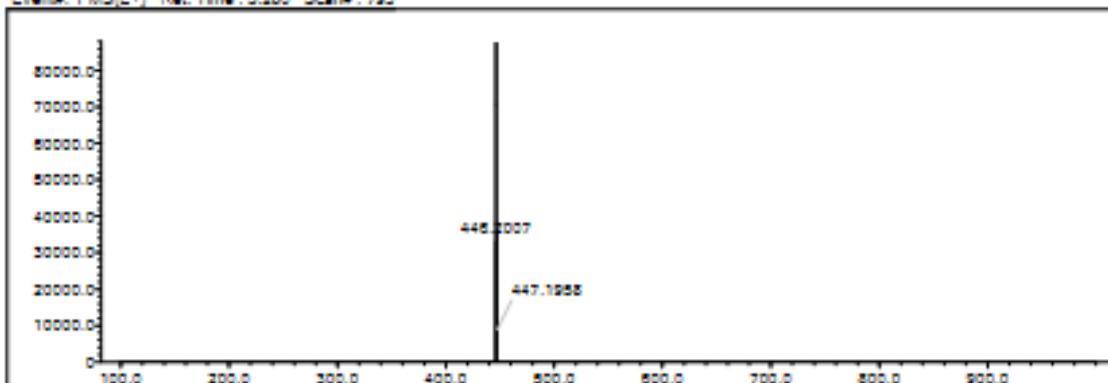
Şekil 5.15. ¹³C-NMR spektrumu (3d)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiziderya\SDF-4_4.lcd

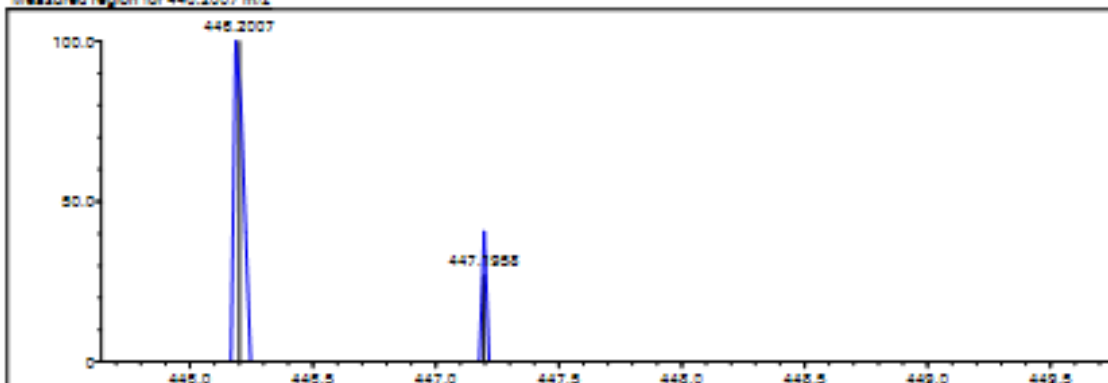
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	3	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5 DBE Range: 5.0 - 15.0 Electron Ions: both
 HC Ratio: unlimited Apply N Rule: yes Use MSn Info: yes
 Max Isotopes: 3 Isotope RI (%): 1.00 Isotope Max: 9000
 MSn Isotope RI (%): 10.00 MSn Logic Mode: AND Max Results: 150

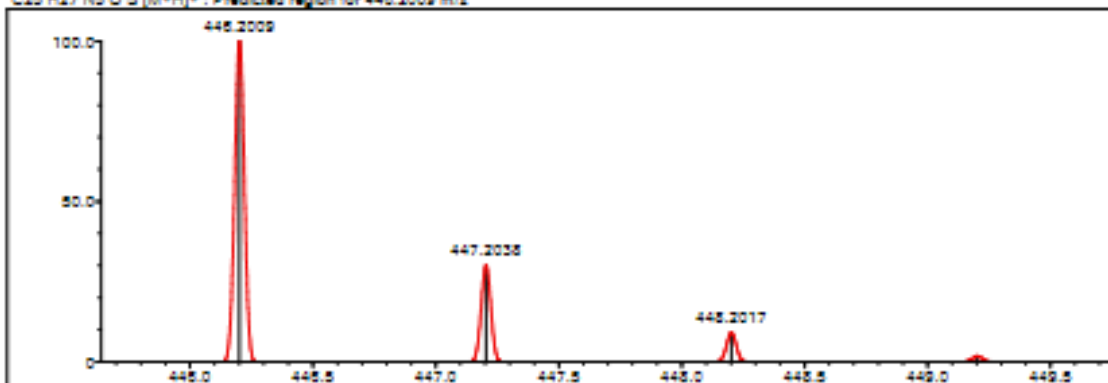
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 5.260 Scan#: 793



Measured region for 448.2007 m/z



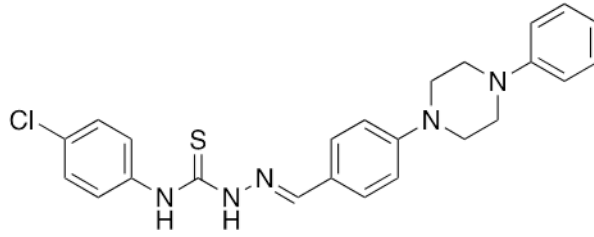
C18 H27 N5 O 5 [M+H]+ : Predicted region for 448.2009 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass. m/z	Pred. m/z	DK (mDa)	DK (ppm)	bc	DBE
1	0.00	C18 H27 N5 O 5	[M+H] ⁺	448.2007	448.2009	-0.2	-0.45	0.00	15.0

Şekil 5.16. HRMS spektrumu (3d)

5.1.5. *N*-(4-Klorofenil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3e)



Şekil 5.17. *N*-(4-Klorofenil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3e)

Verim: %78.

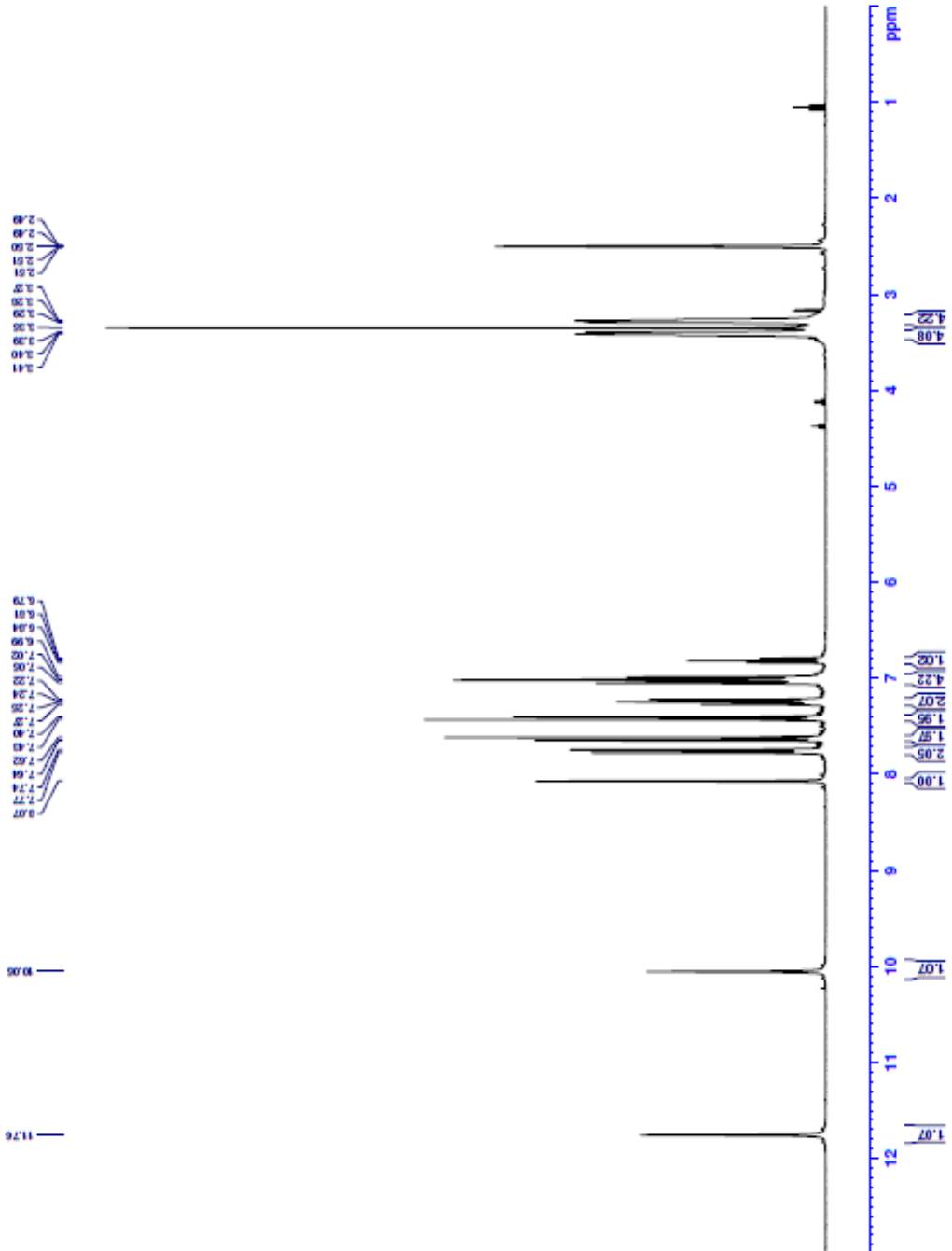
HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₄H₂₄N₅SCl: 450.1514; bulunan: 450.1500.

¹H-NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 300 MHz): δ = 3.27-3.29 (piperazin, 4H, m), 3.39-3.41 (piperazin, 4H, m), 3.76 (-OCH₃, 3H, s), 6.81 (Ar-H, 1H, t, *J*=7.3 Hz), 6.98-7.05 (Ar-H, 4H, m), 7.22-7.27 (Ar-H, 2H, m), 7.41 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.8 Hz), 7.63 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.8 Hz), 7.76 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.9 Hz), 8.07 (-CH=N-, 1H, s), 10.05 (-NH, 1H, s), 11.76 (-NH, 1H, s).

¹³C-NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 75 MHz): δ = 47.68, 48.61, 115.02, 116.15, 119.67, 124.36, 127.82, 128.33, 129.47, 129.52, 138.65, 144.15, 144.19, 151.30, 152.51, 175.63.



Current Data Parameters
 Name: 3e
 EXPNO: 1
 PROCNO: 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 2011120
 Time: 12.00
 INSTRUM: PULPROG
 PULPROG: zgpg30
 FREQH0: 5 mm DCL 13C-1
 TD: 65536
 SFO1: 101.625
 ACQ: 1.321773 sec
 DE: 3.00 usec
 INJ: 10.00 usec
 DE: 6.20 usec
 TR: 291.6 K
 D1: 3.00000000 sec
 T0: 1
 ===== CHANNEL f1 =====
 SFO1: 300.1318337 MHz
 NUC1: 1H
 P1: 13.00 usec
 PL1: 0.00000000 W
 F2 - Processing parameters
 SI: 65536
 SF: 300.1400000 MHz
 WDW: EM
 SSB: 0.30 Hz
 GB: 0
 PC: 1.00



Şekil 5.18. ¹H-NMR spektrumu (3e)



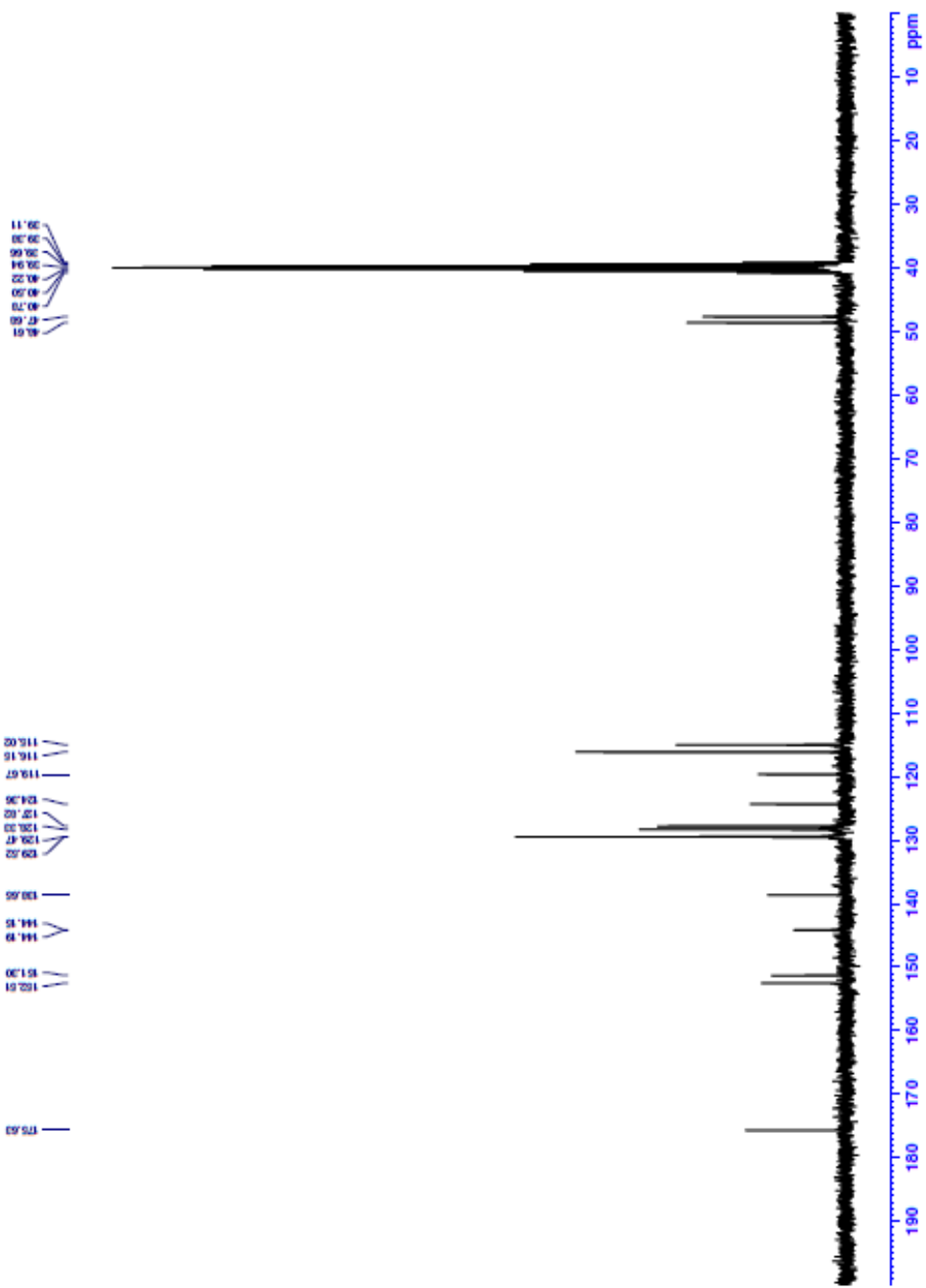
Current Data Parameters
 NAME: 3e
 K1PR0
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ Time: 2011.06.12
 INSTRUM: P001R0300
 PROBRD: 5 mm DEL 113C-1
 PULPROG: zgpg30
 TD: 32768
 SFO: 125.761
 AQC: 2048
 AS: 2048
 DS: 4
 SWH: 24414.042 Hz
 FIDRES: 0.745088 Hz
 AQ: 0.191187 Hz
 RG: 513.187
 IN: 20.480 usec
 DE: 6.10 usec
 TE: 293.2 K
 D1: 1.000000 sec
 D11: 0.000000 sec
 D31: 0.0001500 sec
 D32: 0.8399998 sec
 D40: 0.0002320 sec
 L4: 2
 L5: 2
 F2: 90.00 usec
 T00: 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1: 13C
 P1: 15.00 usec
 PL1: 15.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
 NUC2: 1H
 WPC2: 300.000000 MHz
 CPDPRG2: waltz16
 PCPD2: 90.00 usec
 PL2: 10.00000000 W
 PL3: 0.10000000 W
 PL4: 0.10000000 W
 PL5: 0.10000000 W

F2 - Processing parameters
 SI: 32768
 SF: 125.761 MHz
 WDW: EM
 SSB: 0
 LB: 1.00 Hz
 GB: 0
 PC: 1.40



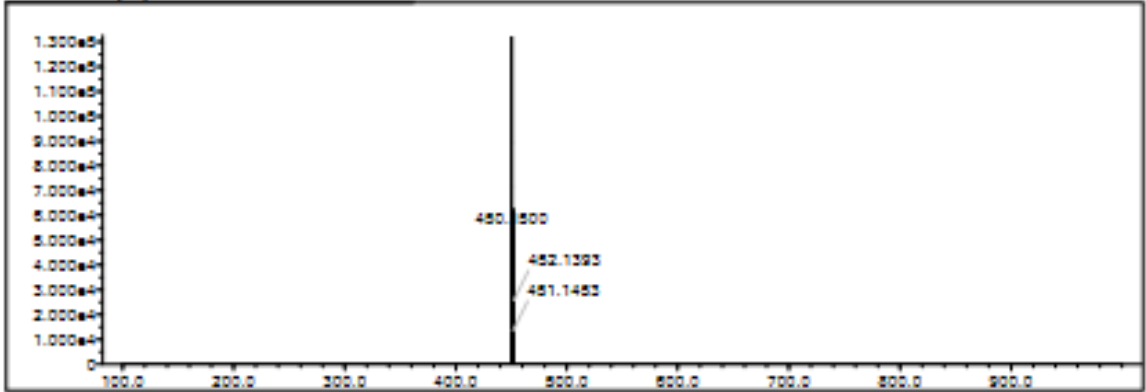
Şekil 5.19. ¹³C-NMR spektrumu (3e)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Anal\tderya\SDF-5_5.tcd

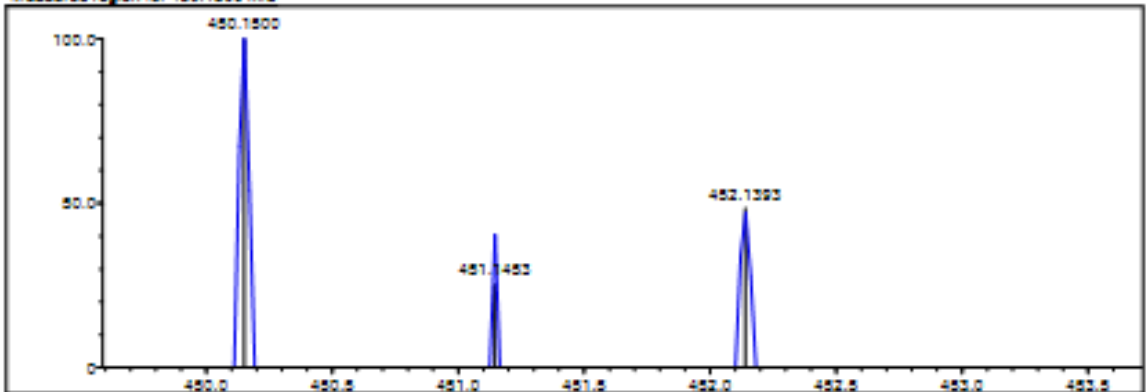
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	3	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	1	1	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5 DBE Range: 5.0 - 15.0 Electron Ions: both
 HC Ratio: unlimited Apply N Rule: yes Use MSn Info: yes
 Max Isotopes: 3 Isotope RI (%): 1.00 Isotope Max: 9000
 MSn Iso RI (%): 10.00 MSn Logic Mode: AND Max Results: 150

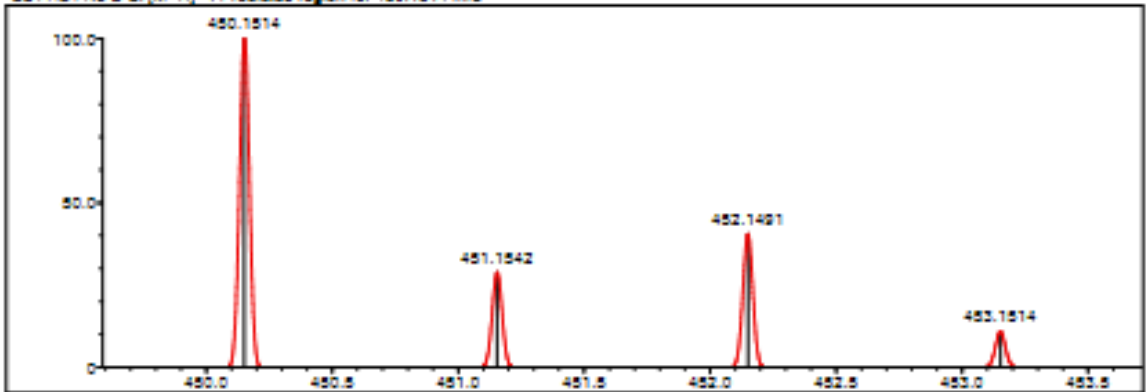
Event#: 1 MS(E+) Rel. Time : 5.350 Scan#: 1255



Measured region for 450.1500 m/z



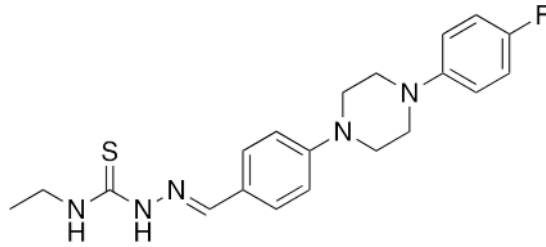
C24 H24 N8 S Cl [M+H]⁺ : Predicted region for 450.1514 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass. m/z	Pred. m/z	DK. (mDa)	DK. (ppm)	Isot	DBE
1)	52.40	C ₂₄ H ₂₄ N ₈ S Cl	[M+H] ⁺	450.1500	450.1514	-1.4	-3.11	55.32	15.0

Şekil 5.20. HRMS spektrumu (3e)

5.1.6. N-Etil-2-(4-(4-(4-florofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3f)



Şekil 5.21. N-Etil-2-(4-(4-(4-florofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3f)

Verim: %80.

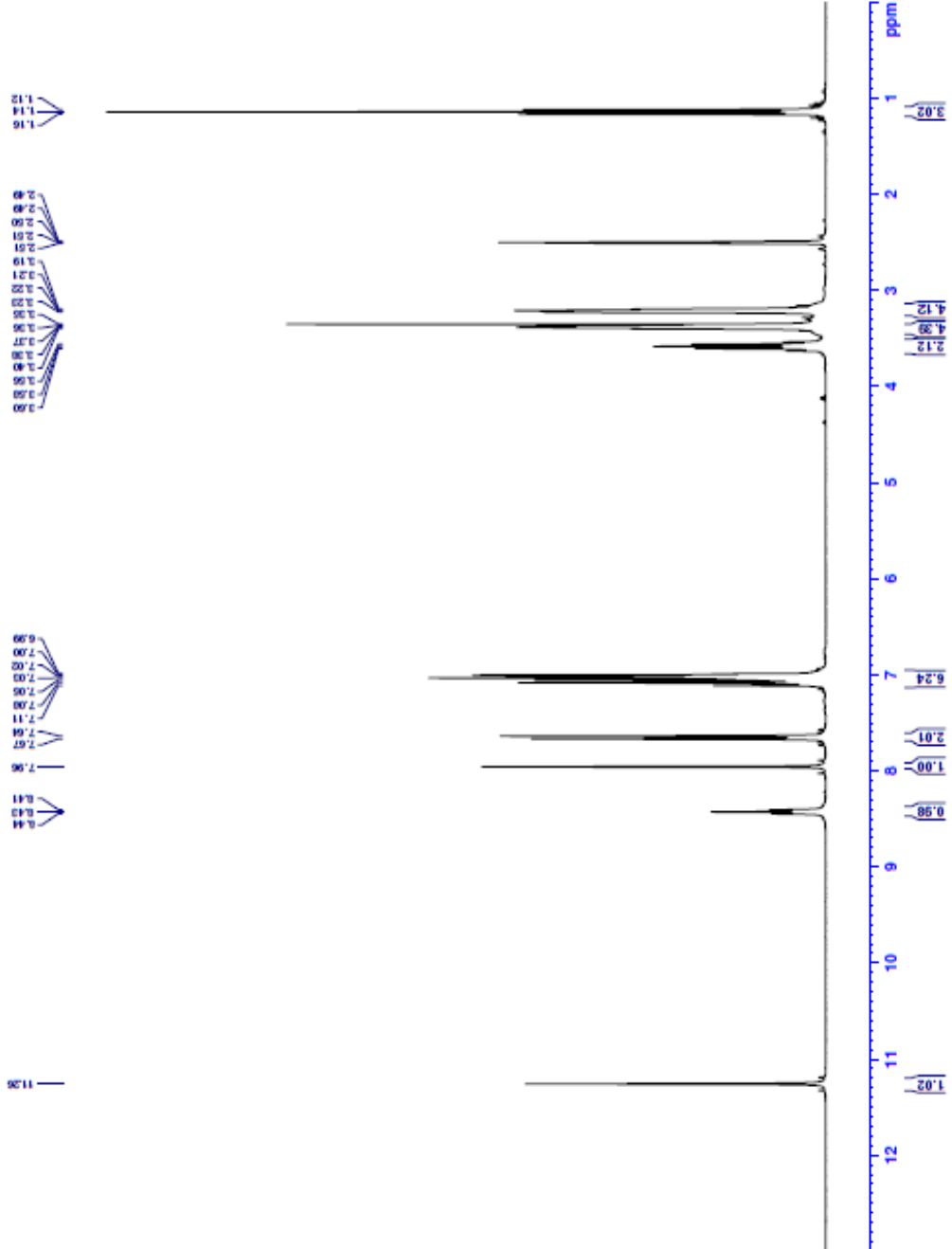
HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₀H₂₄N₅FS: 386.1809; bulunan: 386.1798.

¹H-NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 300 MHz): δ = 1.14 (-CH₃, 3H, t, J =7.1 Hz), 3.19-3.23 (piperazin, 4H, m), 3.37-3.40 (piperazin, 4H, m), 3.56-3.60 (-CH₂-, 2H, m), 6.99-7.11 (Ar-H, 6H, m), 7.65 (Ar-H, 2H, d, J =8.9 Hz), 7.96 (-CH=N-, 1H, s), 8.43 (-NH, 1H, t, J =5.9 Hz), 11.26 (-NH, 1H, s).

¹³C-NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 75 MHz): δ = 15.23, 38.63, 47.82, 49.43, 115.18, 115.82 (d, J =21.8 Hz), 117.97 (d, J =7.6 Hz), 124.85, 128.93, 142.69, 148.22 (d, J =1.8 Hz), 152.24, 156.67 (d, J =235.9 Hz), 176.59



Current Data Parameters
NAME 5ZF-6
EXPNO 1
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 2021120
Time 7.52
INSTRUM PULPROB
PROBHD 5 mm DEL 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 65536
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 1
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.3775229 Hz
AQ 1.3421773 sec
RG 21.3246
DM 81.920 usec
DE 1.000 usec
TE 281.4 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 13.00 usec
PL1 10.00000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
GB 0
CB 0
PC 1.00



Şekil 5.22. ¹H-NMR spektrumu (3f)



```

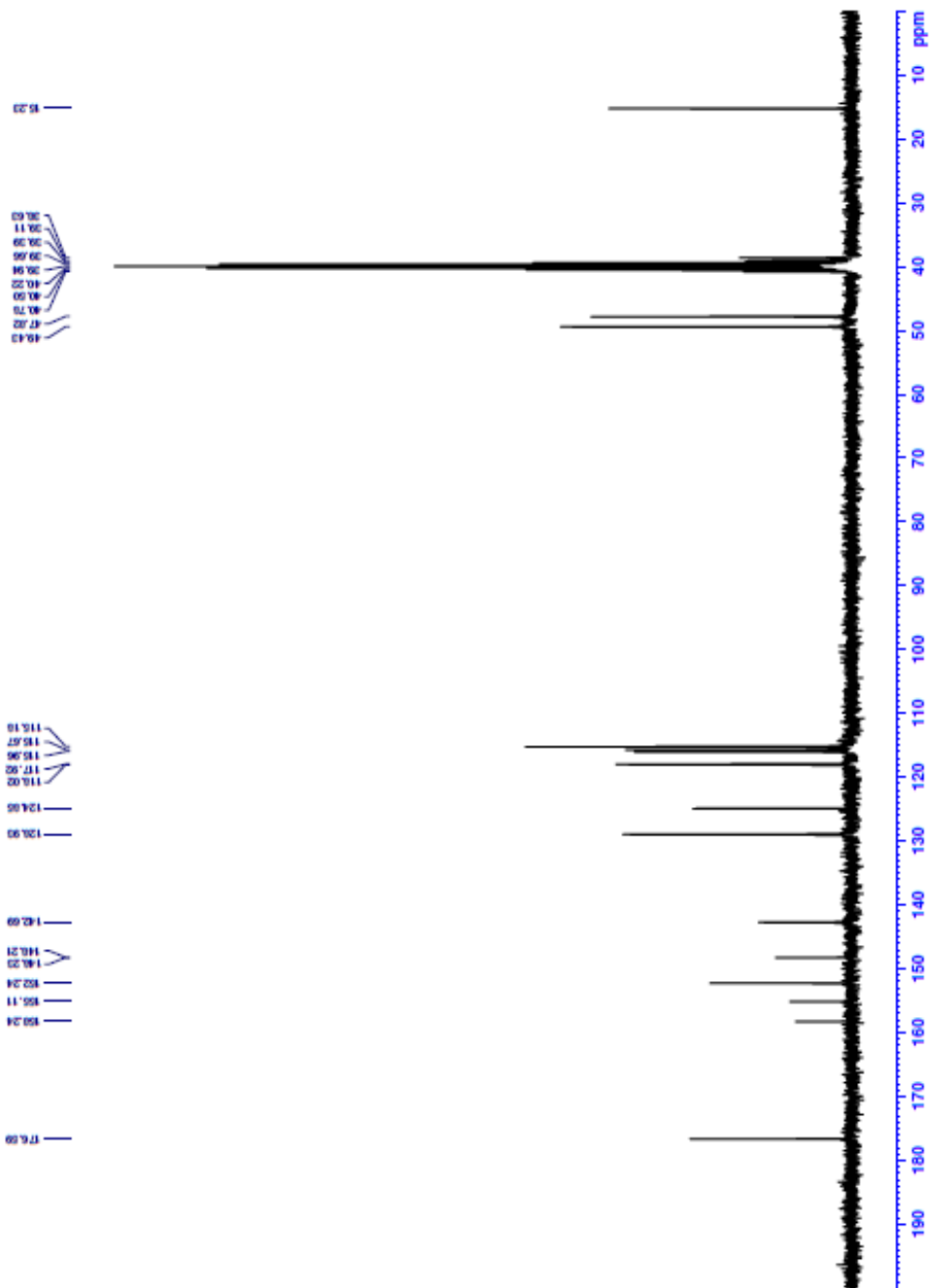
Current Data Parameters
NAME        2DF-2
EXPNO      2
PROCNO     1

F2 - Acquisition Parameters
Date_      20241103
Time       17:15
INSTRUM    PDSXDR300
PROBHD     5 mm DDL 13C-1
PULPROG    zgpg
TD         32768
SFO2       101.253
AQ         2.648
DS         4
SWH         24414.062 Hz
FIDRES     0.745058 Hz
AQ         0.745058 Hz
RG         503.187
SFO1       20.480 umsc
DSF         6.50 umsc
TE         293.4 K
D1         1.000000 sec
D11        0.000000 sec
D2         0.0001500 sec
D31        0.8999398 sec
D40        0.0003390 sec
L4         2
L5         2
F22        95.00 umsc
T20        1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1       13C
P1         75.4878187 MHz
PL1        15.00 umsc
PLW1       15.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2       101.253007 MHz
NUC2       1H
PROG2      zgpg
PCPD2     wait216
PCPD2     95.00 umsc
P2         0.2000000 W
PLW2       0.20000000 W
PLW13     0.10495200 W

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         75.4803180 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         1.00 Hz
GB         0
PC         1.40
  
```



Şekil 5.23. ¹³C-NMR spektrumu (3f)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analt\deriv\SDF-6_6.tcd

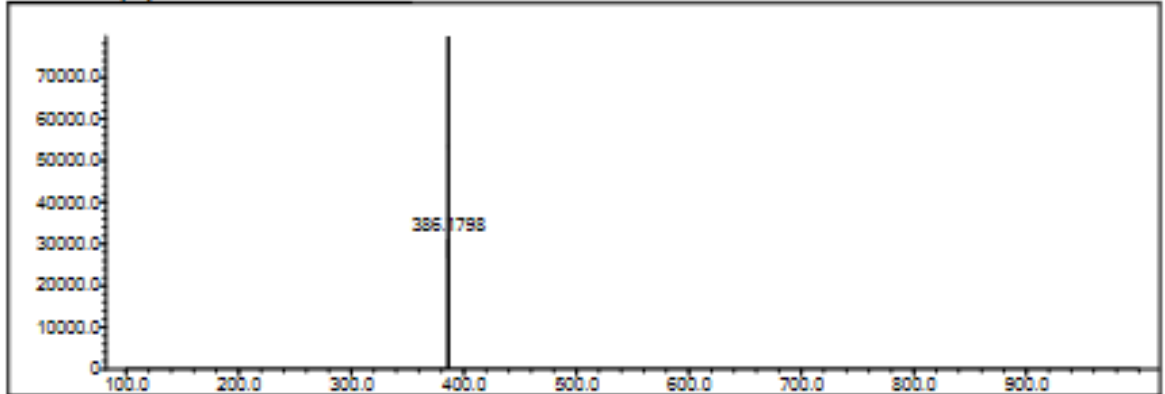
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	3	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	1	1	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

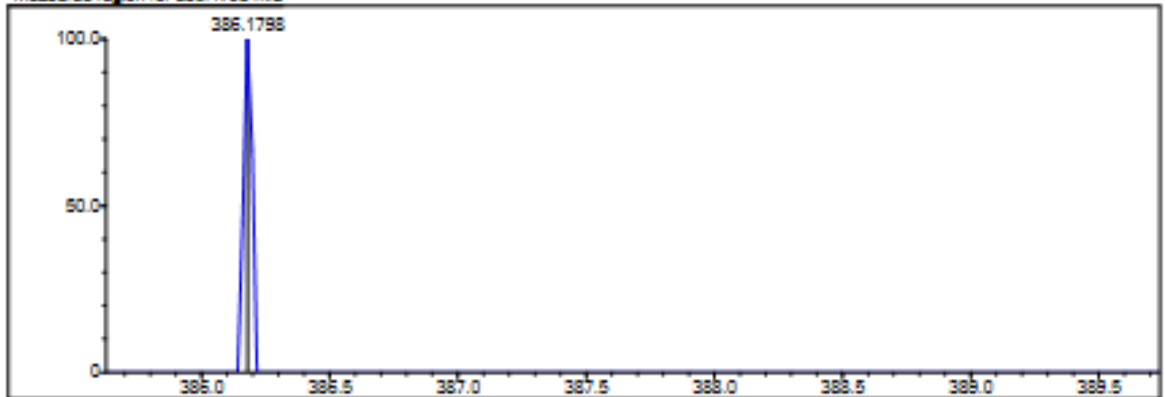
DBE Range: 5.0 - 15.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 150

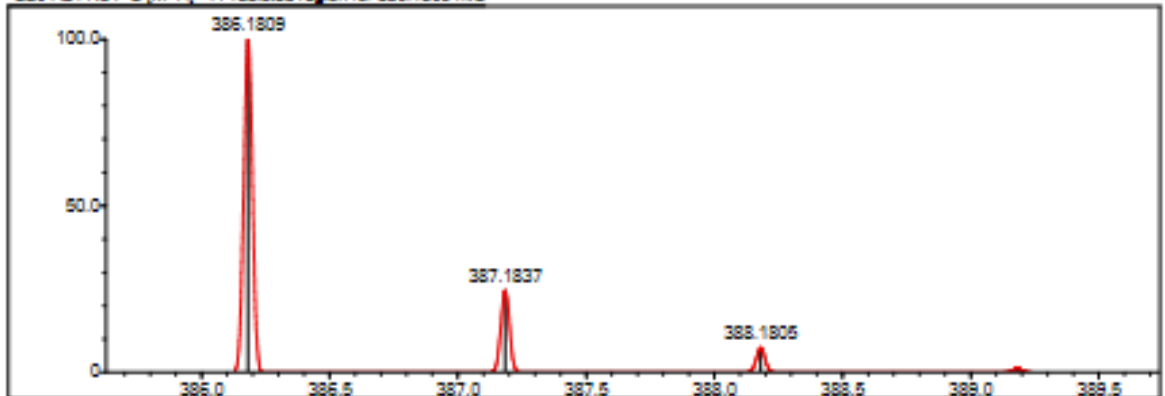
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.440 Scan#: 667



Measured region for 386.1798 m/z



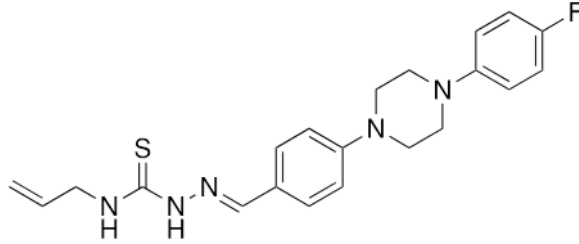
C20 H24 N5 F 8 [M+H]+ : Predicted region for 386.1809 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass. m/z	Pred. m/z	Diff. (mDa)	Diff. (ppm)	Iso	DBE
1	0.00	C20 H24 N5 F 8	[M+H]+	386.1798	386.1809	-1.1	-2.85	0.00	11.0

Şekil 5.24. HRMS spektrumu (3f)

5.1.7. *N*-Allil-2-(4-(4-(4-florofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3g)



Şekil 5.25. *N*-Allil-2-(4-(4-(4-florofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3g)

Verim: %77.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₁H₂₄N₅FS: 398.1809; bulunan: 398.1788.

¹H-NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 300 MHz): δ = 3.19-3.23 (piperazin, 4H, m), 3.37-3.40 (piperazin, 4H, m), 4.21 (Allil-H, 2H, t, $J=5.6$ Hz), 5.07-5.18 (Allil-H, 2H, m), 5.87-5.93 (Allil-H, 1H, m), 6.99-7.11 (Ar-H, 6H, m), 7.66 (Ar-H, 2H, d, $J=8.8$ Hz), 7.97 (-CH=N-, 1H, s), 8.56 (-NH, 1H, t, $J=5.9$ Hz), 11.36 (-NH, 1H, s).

¹³C-NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 75 MHz): δ = 46.14, 47.81, 49.43, 115.18, 115.81 (d, $J=21.6$ Hz), 115.88, 117.97 (d, $J=7.6$ Hz), 124.79, 128.99, 135.77, 143.00, 148.24, 152.29, 156.68 (d, $J=235.9$ Hz), 177.11.

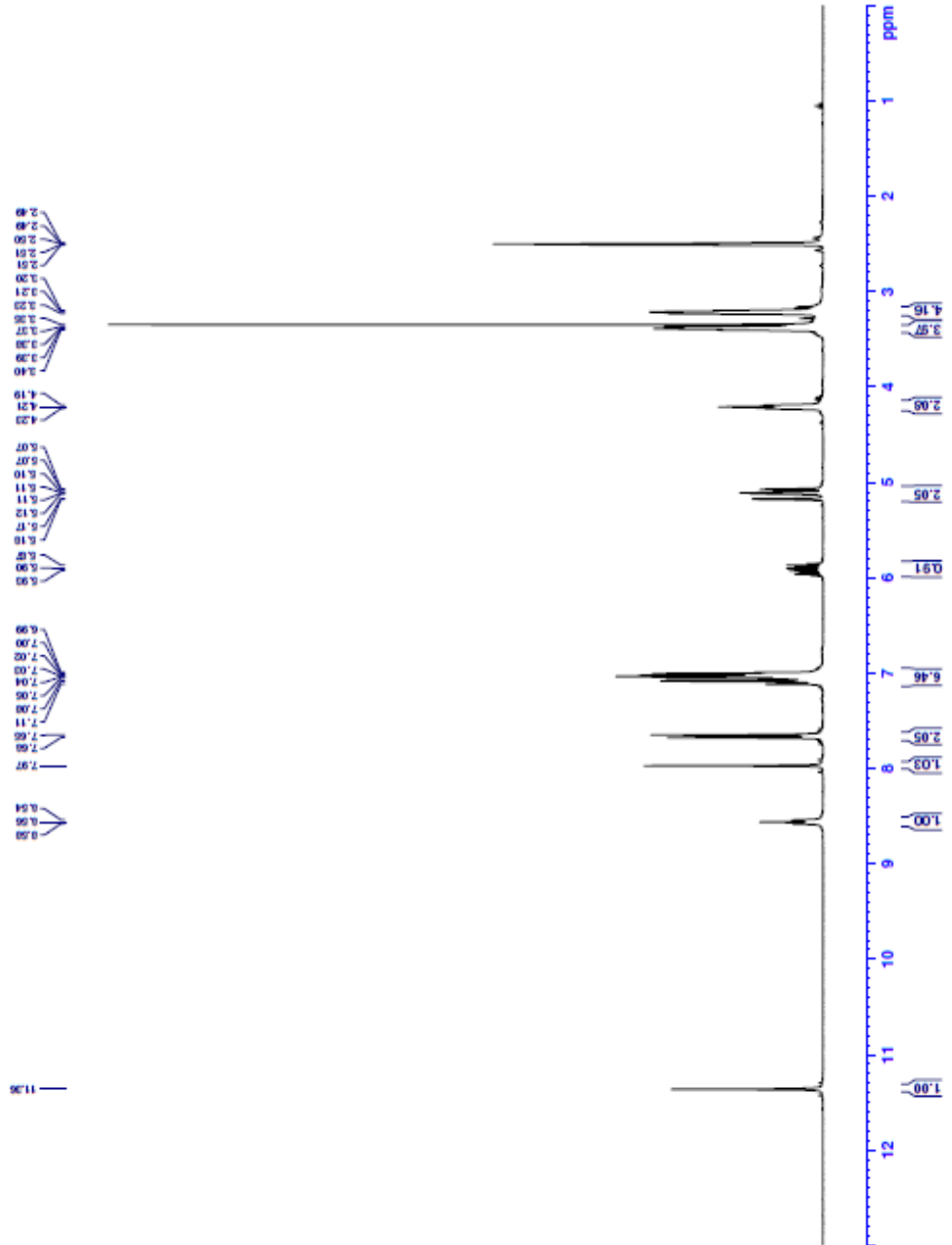


Current Data Parameters
 NAME 3g
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20231226
 Time 3.26
 INSTRUM FOCUS300
 PROBHD 5 mm ETL 13C-1
 PULPROG zgpg30
 SOLVENT DMSO
 NS 16
 DS 16
 SWH 6102.316 Hz
 FIDRES 0.1421773 Hz
 AQ 16.4248 sec
 RG 36-4248
 DW 81.320 usec
 DE 6.50 usec
 TE 300.2 K
 TD 3,000,000
 F0 3,000,000.00 MHz

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 13C
 P1 13.00 usec
 PLW1 10.0000000 W

F2 - Processing Parameters
 SI 65536
 SF 300.1360000 MHz
 WDW EM
 SSF 0.30 Hz
 LB 1.00
 GB 0
 PC 1.00



Şekil 5.26. ¹H-NMR spektrumu (3g)



```

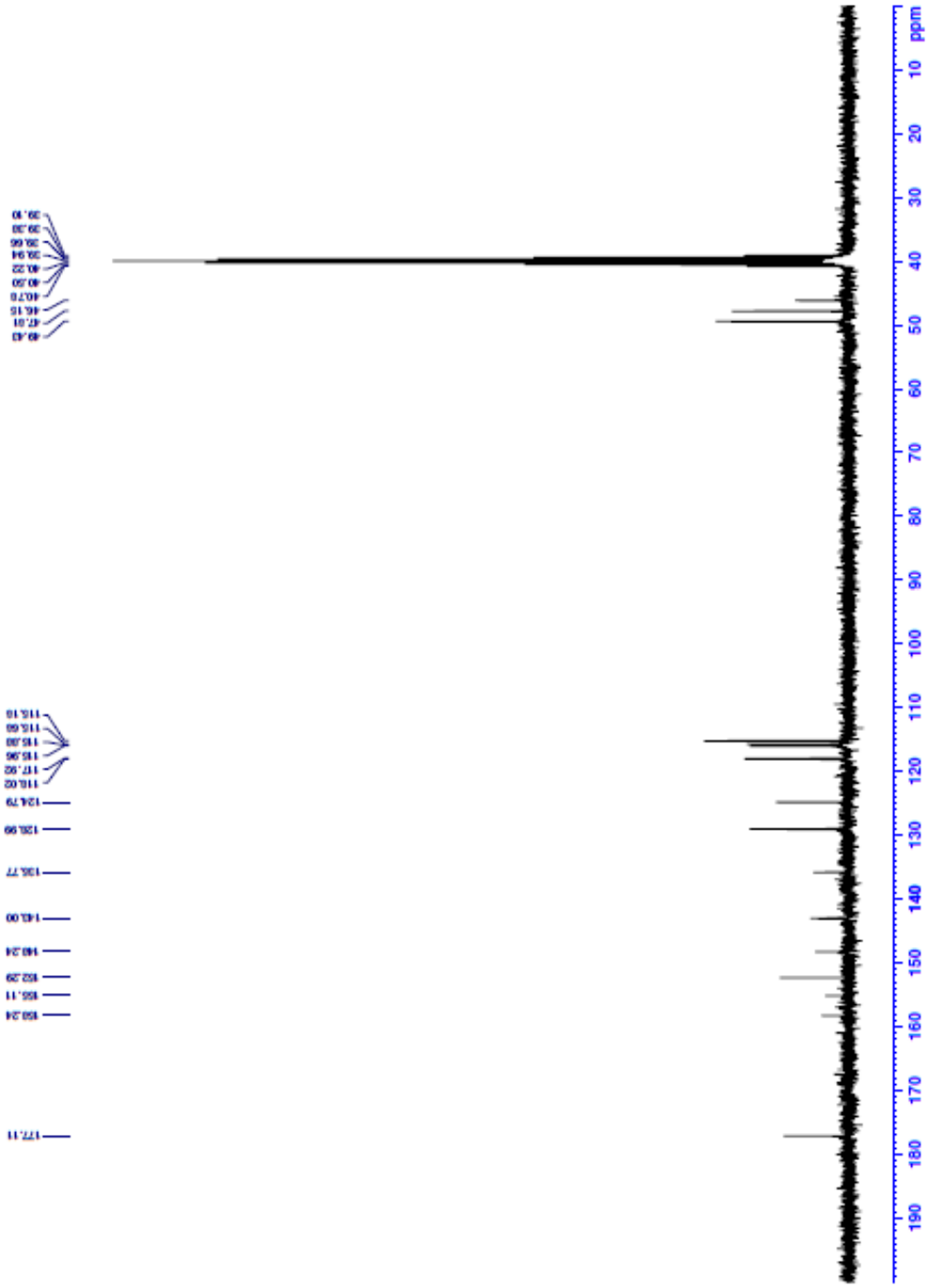
Current Data Parameters
NAME      25P-7
EXPNO    2
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20231123
Time     11:21
INSTRUM  PDSXSI300
PROBHD   5 mm DOL 13C-1
PULPROG  zgpg30
TD       32768
SOLVENT  DMSO
NS       2094
DS       4
SWH      24414.062 Hz
FIDRES   0.745058 Hz
AQ       0.6710886 sec
RG       501.187
SR       250.1350000 MHz
TK       293.17 K
D1       1.00000000 sec
D11      0.03000000 sec
D12      0.00015000 sec
D13      0.00015000 sec
D14      0.00015000 sec
D15      0.00015000 sec
L4       23
L5       26
F2       90.00 umsc
TD0      1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1     75.4879687 MHz
NUC1     13C
P1       15.00 umsc
PL1      15.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2     300.1812007 MHz
NUC2     1H
CPDPRG2  waltz16
PCPD2    90.00 umsc
PL2      0.00000000 W
PL3      0.00000000 W
PL4      0.00000000 W
PL5      0.10495000 W

F2 - Processing parameters
SI       32768
SF       75.4803210 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       1.00 Hz
GB       0
PC       1.40
  
```



Şekil 5.27. ¹³C-NMR spektrumu (3g)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Anal\iderya\SDF-7_7.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	3	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	1	1	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

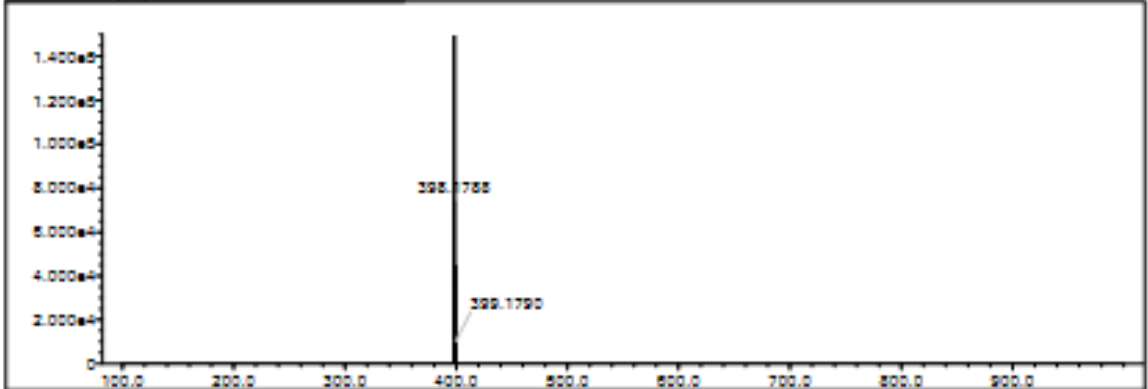
Electron Ion: both

Use MSn Infor: yes

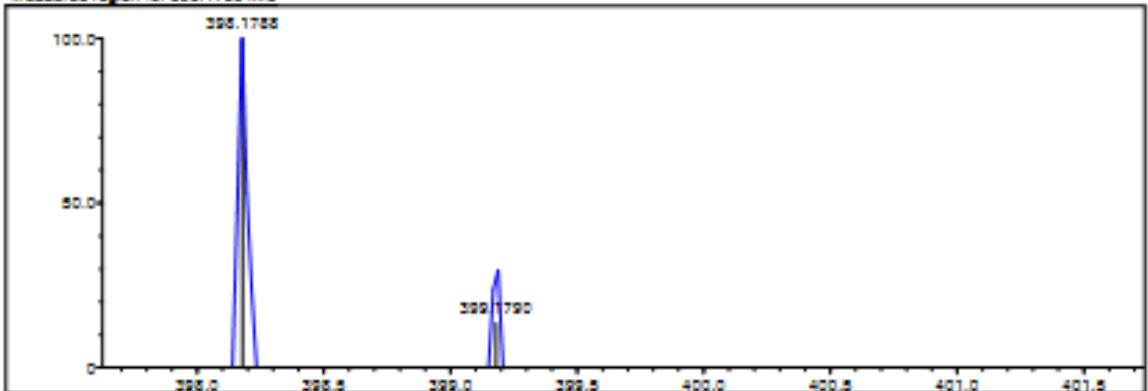
Isotope Max: 5000

Max Results: 150

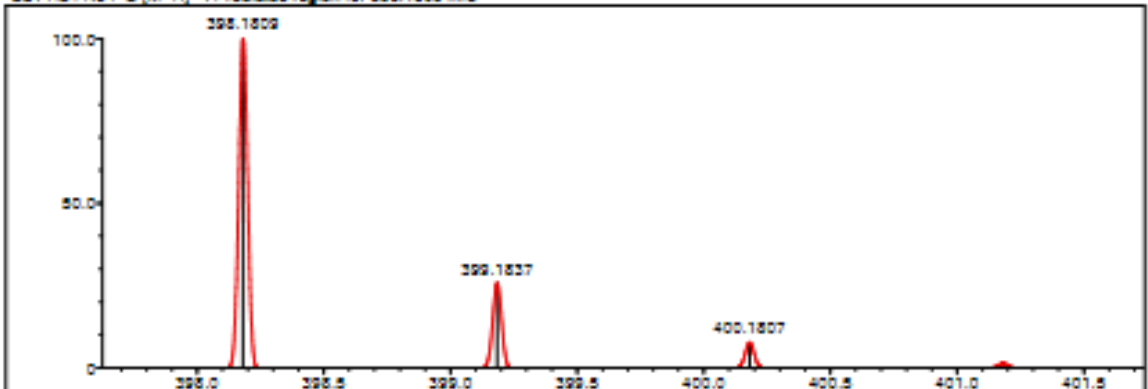
Event#: 1 MS(E+) Rel. Time : 4.413 Scan#: 553



Measured region for 398.1788 m/z



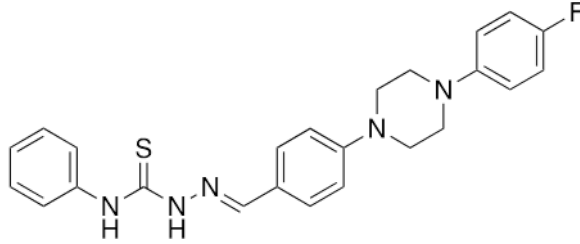
C21 H24 N5 F 5 (M+H)+ : Predicted region for 398.1809 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass. m/z	Pred. m/z	DK (mDa)	DK (ppm)	Isot	DBE
1	0.00	C21 H24 N5 F 5	(M+H)+	398.1788	398.1809	-2.1	-5.27	0.00	12.0

Şekil 5.28. HRMS spektrumu (3g)

5.1.8. 2-(4-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il)benziliden)-*N*-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid (3h)



Şekil 5.29. 2-(4-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il)benziliden)-*N*-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid (**3h**)

Verim: %90.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₄H₂₄N₅FS: 434.1809; bulunan: 434.1794.

¹H-NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 300 MHz): δ = 3.20-3.23 (piperazin, 4H, m), 3.39-3.40 (piperazin, 4H, m), 6.99-7.11 (Ar-H, 6H, m), 7.17-7.22 (Ar-H, 1H, m), 7.36 (Ar-H, 2H, t, *J*=7.8 Hz), 7.56-7.59 (Ar-H, 2H, m), 7.75 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.9 Hz), 8.07 (-CH=N-, 1H, s), 10.01 (-NH, 1H, s), 11.67 (-NH, 1H, s).

¹³C-NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 75 MHz): δ = 47.74, 49.42, 115.08, 115.82 (d, *J*=21.9 Hz), 117.97 (d, *J*=7.6 Hz), 124.51, 125.58, 126.22, 128.46, 129.41, 139.64, 143.84, 148.22 (d, *J*=1.8 Hz), 152.43, 156.67 (d, *J*=235.67), 175.69.



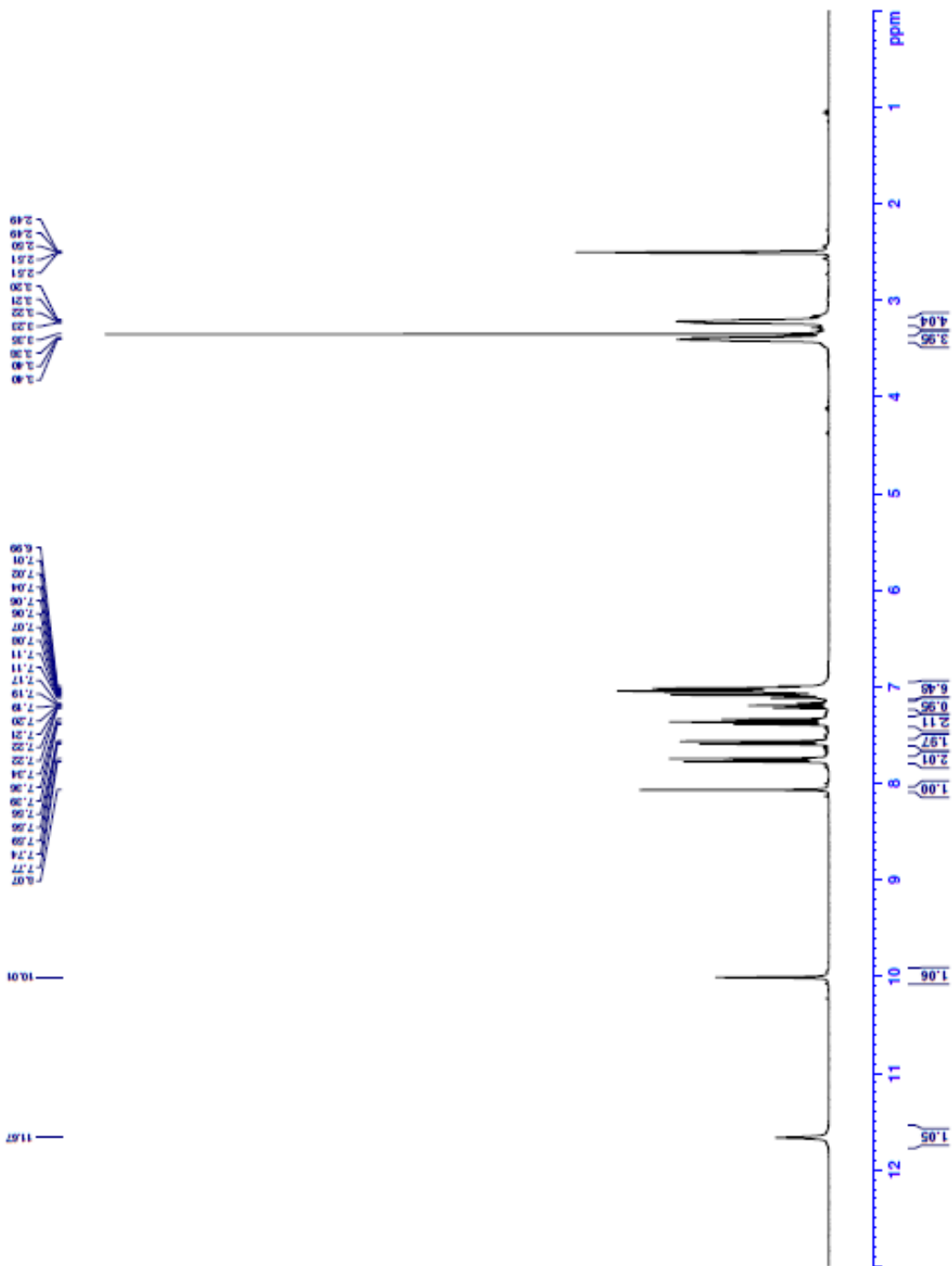
```

Current Data Parameters
Name      ZDF-1
EXPNO    1
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    2011123
Time     14.22
INSTRUM  PULPROG
PROBHD   5 mm QNP 13C-1
PULPROG zgpg30
TD       65536
SOLVENT  DMSO
NS       16
DS       4
SWH      6103.516 Hz
FIDRES   0.372529 Hz
AQ       1.3421773 sec
RG       38.3376
DM       91.920 usec
DE       35.50 usec
TE       300.2 K
DQ       3.0000000 sec
TD0      1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1     13C
P1       13.00 usec
PL1      0.0000000 dB
===== CHANNEL f2 =====
NUC2     1H
P2       13.00 usec
PL2      0.0000000 dB

F2 - Processing parameters
SI       65536
SF       300.1800000 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       0.30 Hz
GB       0
PC       1.00
  
```



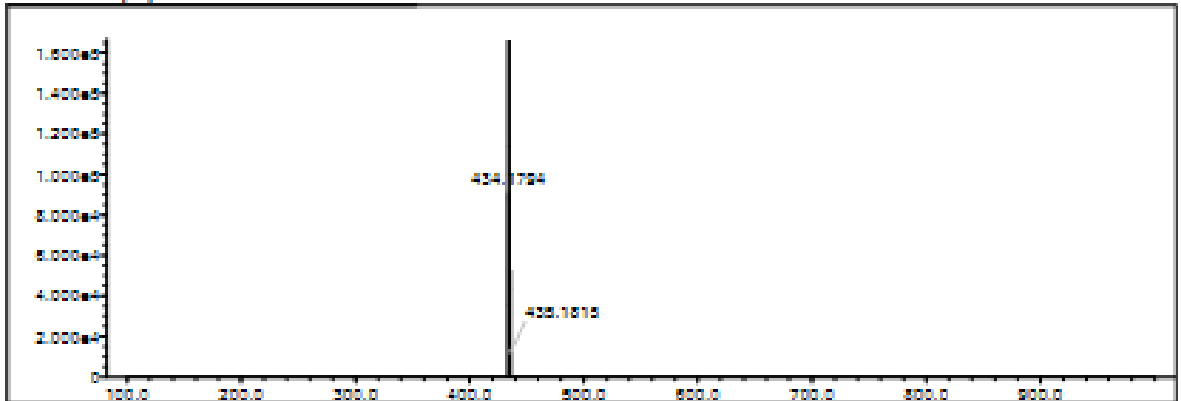
Şekil 5.30. $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (*3h*)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analysis\MSD\SDF-S_8.tcd

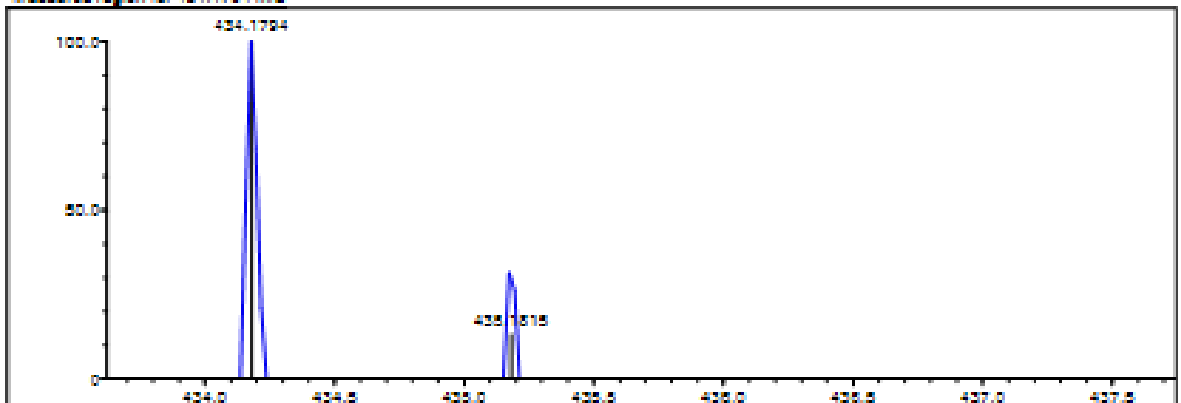
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	2	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	1	1	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5 DBE Range: 5.0 - 15.0 Electron Ioniz: both
 HC Ratio: unlimited Apply N Rule: yes Use MSn Info: yes
 Max Isotope: 5 Isotope RI (N): 1.00 Isotope Res: 5000
 MSn Isot RI (N): 10.00 MSn Logic Mode: AND Max Results: 100

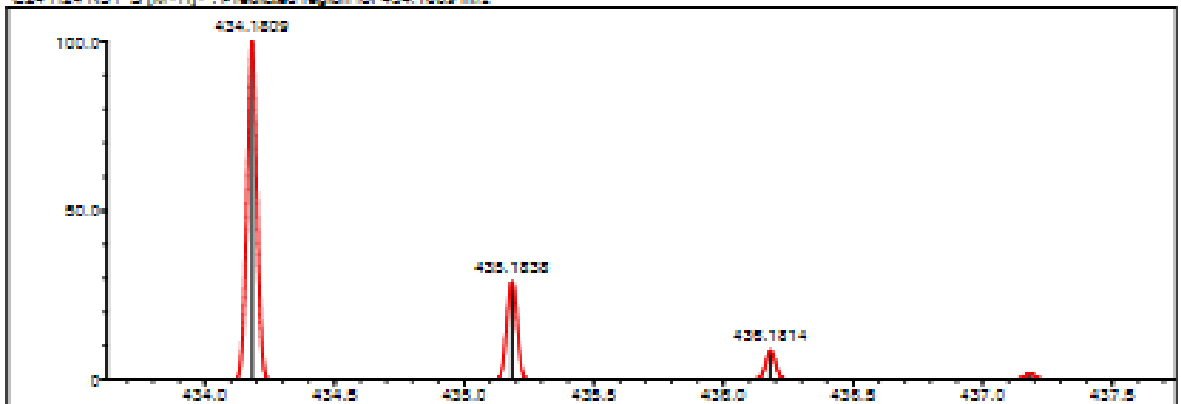
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 8.860 Scan#: 835



Measured region for 434.1794 m/z



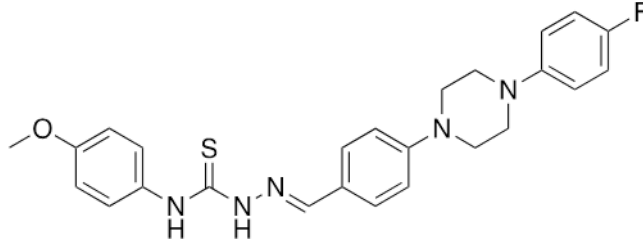
C24 H24 N3 P S [M+H]⁺ : Predicted region for 434.1809 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass. m/z	Pred. m/z	DK. (mDa)	DK. (ppm)	Isot	DBE
1	0.00	C ₂₄ H ₂₄ N ₃ P S	[M+H] ⁺	434.1794	434.1809	-1.5	-3.45	0.00	15.0

Şekil 5.32. HRMS spektrumu (3h)

5.1.9. 2-(4-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il)benziliden)-N-(4-metoksifenil)hidrazin-1-karbotiyoamid (3i)



Şekil 5.33. 2-(4-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il)benziliden)-N-(4-metoksifenil)hidrazin-1-karbotiyoamid (3i)

Verim: %91.

HRMS (m/z): $[M+H]^+$ hesaplanan $C_{22}H_{26}N_4O_2S$: 411.1849; bulunan: 411.1854.

1H -NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 300 MHz): δ = 3.21-3.23 (piperazin, 4H, m), 3.38-3.41 (piperazin, 4H, m), 3.76 (-OCH₃, 3H, s), 6.92 (Ar-H, 2H, d, $J=8.9$ Hz), 7.01-7.11 (Ar-H, 6H, m), 7.39 (Ar-H, 2H, d, $J=8.9$ Hz), 7.75 (Ar-H, 2H, d, $J=8.8$ Hz), 8.05 (-CH=N-, 1H, s), 9.91 (-NH, 1H, s), 11.58 (-NH, 1H, s).

^{13}C -NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 75 MHz): δ = 47.76, 49.43, 55.64, 113.64, 115.09, 115.82 (d, $J=21.9$ Hz), 117.96 (d, $J=7.6$ Hz), 124.64, 127.98, 129.34, 132.54, 143.51, 148.23, 152.37, 155.11, 156.67 (d, $J=234.4$ Hz), 157.27, 176,12.

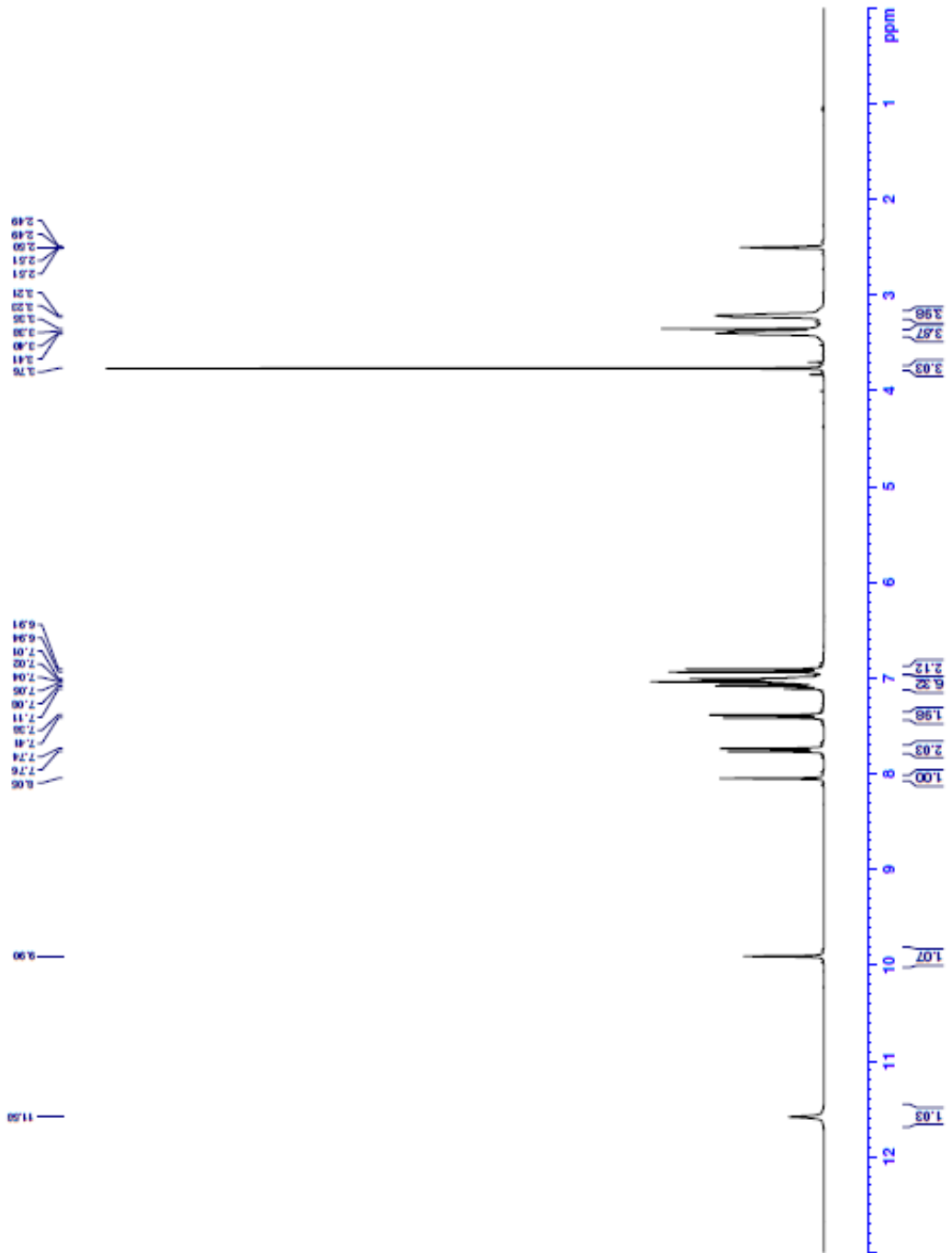


Current Data Parameters
 NAME: 25P-1
 EXPNO: 1
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 20251122
 Time: 17:32
 INSTRUM: PDSXSI300
 PROBHD: 5 mm DDL 13C-1
 PULPROG: zg30
 TD: 65536
 SFOF0: 125.760 MHz
 SOLVENT: DMSO
 NS: 10
 DS: 4
 SWH: 6103.516 Hz
 FIDRES: 0.372529 Hz
 AQ: 1.3421773 sec
 RG: 261.8047 umsec
 HQ: 81.2525 umsec
 HR: 6.50 umsec
 TE: 293.6 K
 D1: 3.00000000 sec
 TDO: 1

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1: 300.181837 MHz
 NUC1: 1H
 P1: 13.00 umsec
 PLW1: 10.00000000 M

F2 - Processing parameters
 SI: 65536
 SF: 300.1800000 MHz
 WDW: EM
 SSB: 0
 LB: 0.30 Hz
 GB: 0
 PC: 1.00



Şekil 5.34. ¹H-NMR spektrumu (3i)

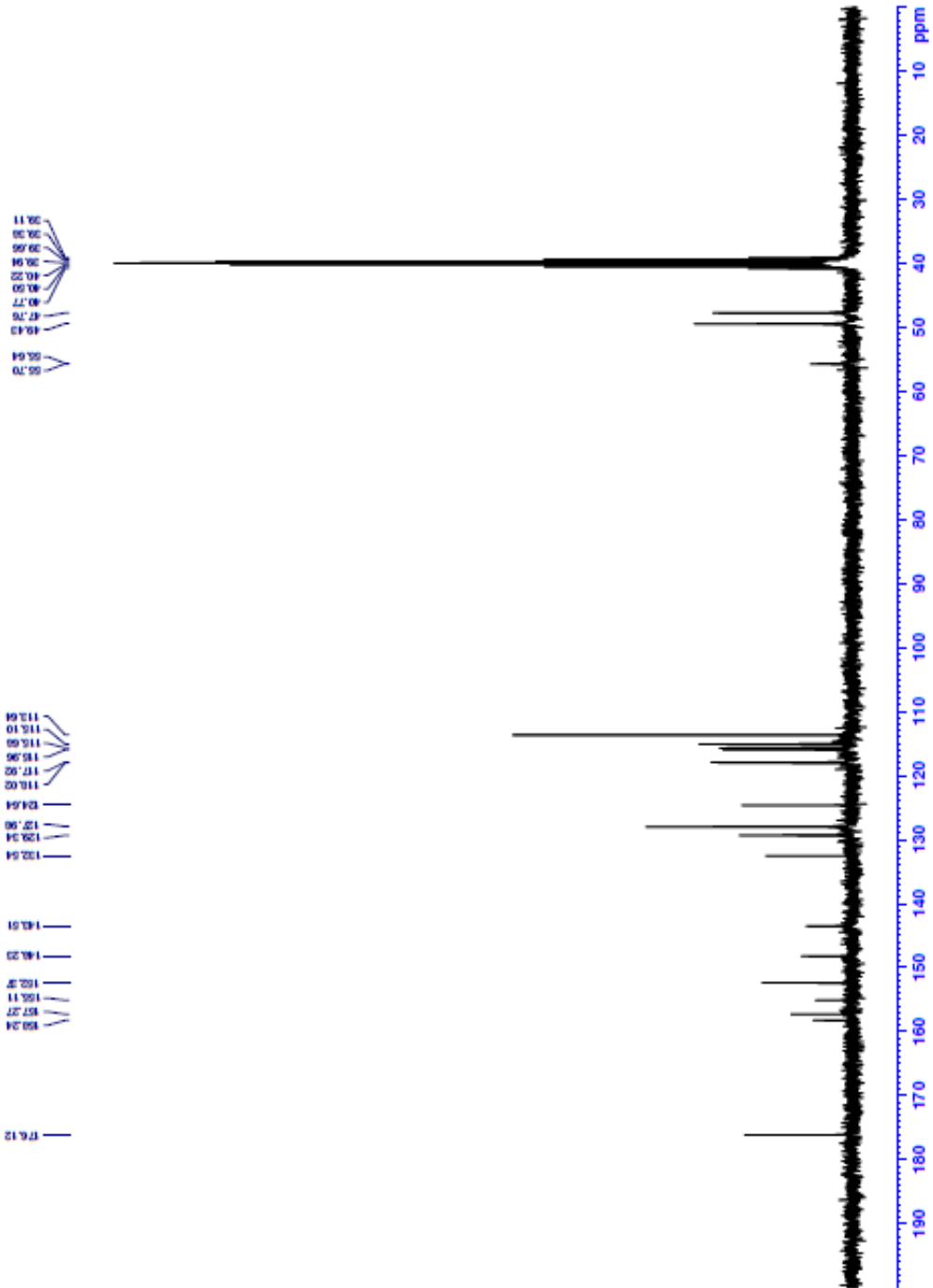


Current Data Parameters
 NAME 22F-9
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 2021123
 Time 7.35
 INSTRUM PULPROB
 PROBRD 5 mm DEL 13C-1
 PULPROG zgpg30
 SOLVENT DMSO
 NS 2048
 DS 4
 SWH 24414.562 Hz
 FIDRES 0.745558 Hz
 AQ 0.181187 sec
 RG 303.187
 DW 20.480 usec
 DE 6.50 usec
 TE 231.6 K
 D1 1.0000000 sec
 D11 0.0000000 sec
 D3 0.0001000 sec
 D32 0.8399998 sec
 D40 0.0009390 sec
 L4 23
 L5 26
 L6 26
 L7 26
 L8 26
 L9 26
 SFO1 75.4878487 MHz
 NUC1 13C
 P1 15.00 usec
 PL1 15.0000000 W

CHANNEL #2
 SFO2 300.1812007 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG2 waltz16
 P2 10.0000000 usec
 PL2 0.2086399 W
 PL12 0.2086399 W
 PLW13 0.1049500 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4803180 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



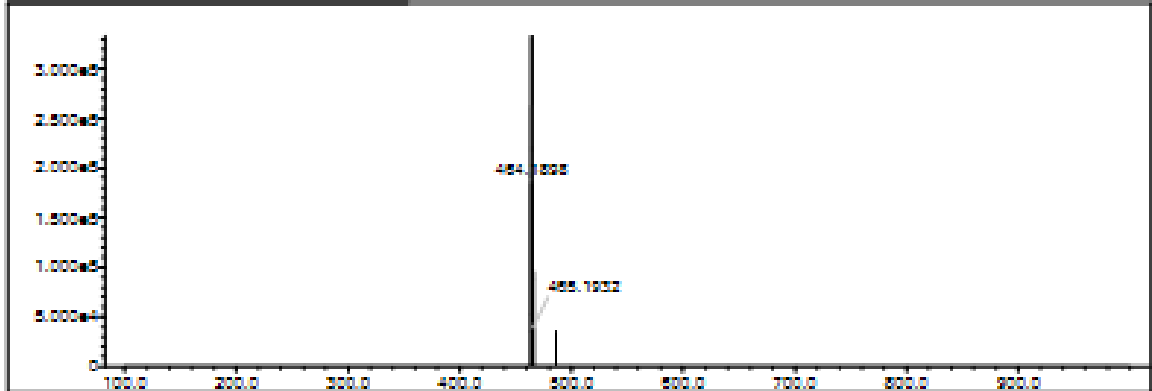
Şekil 5.35. ^{13}C -NMR spektrumu (3i)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Anal\tderya\SOP-9_S.tcd

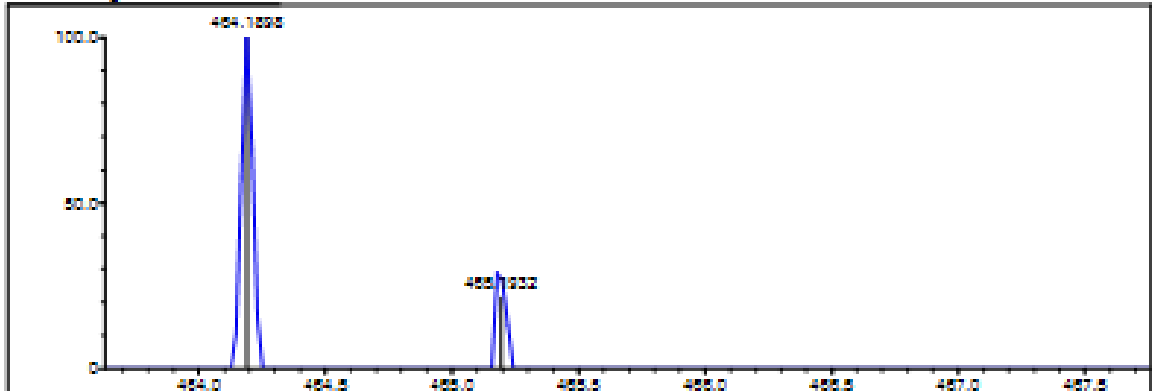
Elem	Val.	Min	Max	Elem	Val.	Min	Max	Elem	Val.	Min	Max	Elem	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	1	3	S	2	0	2	Fu	2	0	0	H
C	4	10	40	P	1	0	1	Cl	1	0	0	Pa	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Isot. RI (%): 10.00
 DBE Range: 5.0 - 15.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND
 Electron Ioniz: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Max: 9000
 Max Results: 150

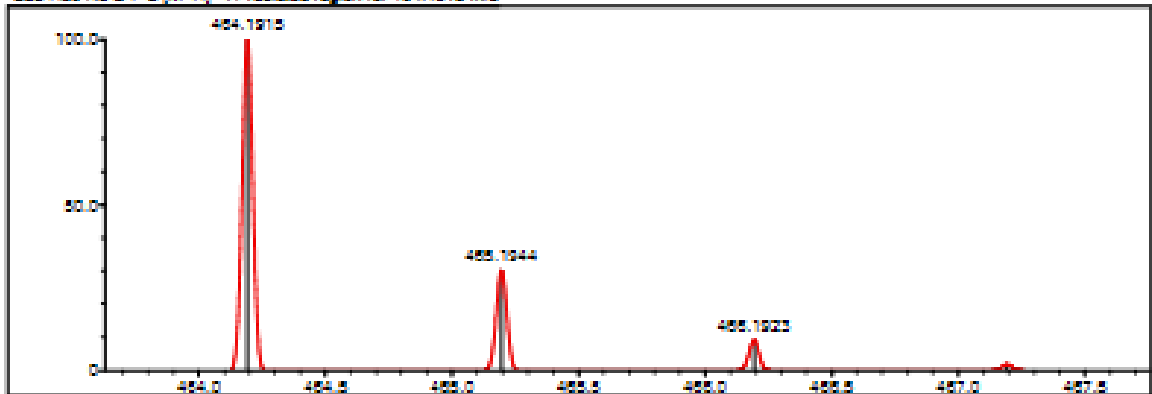
Event#: 1 MS(E+) Rel. Time: 5.040 Scan#: 757



Measured region for 454.1895 m/z



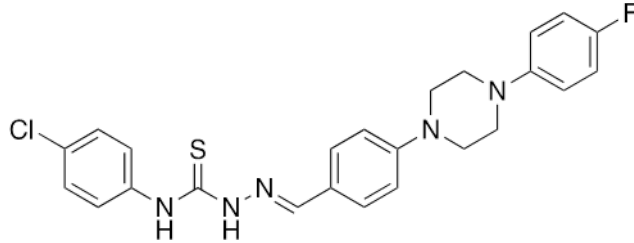
C25 H25 N5 O P S (M+H)+ : Predicted region for 454.1915 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass, m/z	Prdct. m/z	DL (mDa)	DL (ppm)	Isot	DBE
1	0.00	C25 H25 N5 O P S	(M+H) ⁺	454.1898	454.1915	-1.7	-3.55	0.00	15.0

Şekil 5.36. HRMS spektrumu (3i)

5.1.10. *N*-(4-klorofenil)-2-(4-(4-(4-florofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3j)



Şekil 5.37. *N*-(4-klorofenil)-2-(4-(4-(4-florofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3j)

Verim: %79.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₄H₂₃N₅FSCl: 468.1419; bulunan: 468.1400.

¹H-NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 300 MHz): δ = 3.20-3.23 (piperazin, 4H, m), 3.39-3.42 (piperazin, 4H, m), 7.02-7.08 (Ar-H, 6H, m), 7.41 (Ar-H, 2H, d, $J=8.8$ Hz), 7.63 (Ar-H, 2H, d, $J=8.8$ Hz), 7.76 (Ar-H, 2H, d, $J=8.9$ Hz), 8.07 (-CH=N-, 1H, s), 10.05 (-NH, 1H, s), 11.75 (-NH, 1H, s).

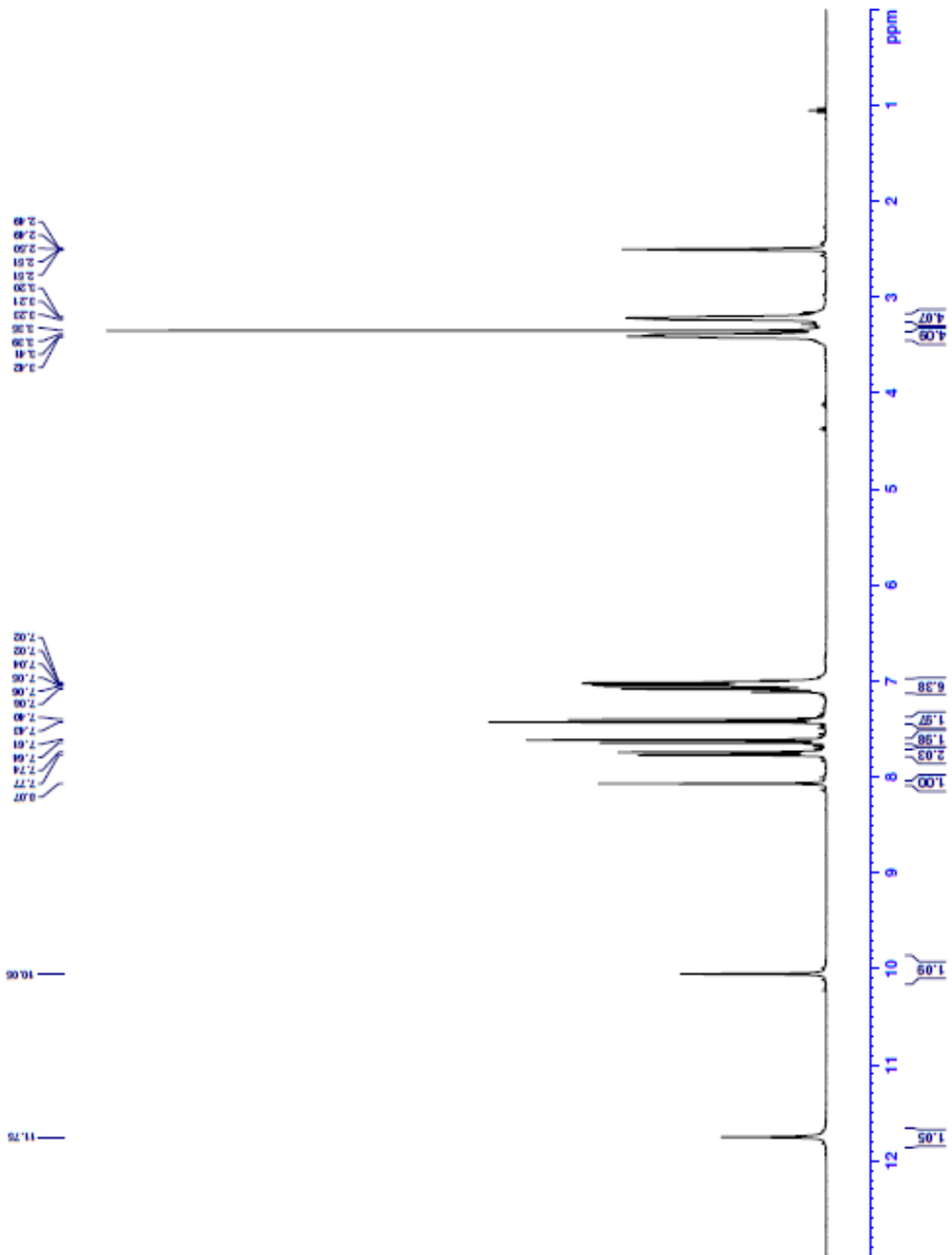
¹³C-NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 75 MHz): δ = 47.11, 49.42, 115.05, 115.82 (d, $J=21.8$ Hz), 117.97 (d, $J=7.7$ Hz), 124.39, 127.82, 128.33, 129.49 (d, $J=3.5$ Hz), 138.65, 144.15, 148.23, 152.48, 156.68 (d, $J=236.0$ Hz), 175.64.



Current Data Parameters
Name: 3j
EXPNO: 1
PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_: 2021122
Time: 22:09
INSTRUM: PULPROG
PROBHD: 5 mm DOL 13C-1
PULPROG: zgpg30
TD: 65536
SOLVENT: DMF0
AQ: 1.0000000
RG: 327.68
SI: 2
SF: 300.1360000 MHz
WDW: EM
SSB: 0
LB: 0.30 Hz
GB: 0
PC: 1.00

===== CHANNEL f1 =====
NUC1: 13C
P1: 13.00 usec
PL1: 0.0000000 W
SFO1: 300.1360000 MHz
===== CHANNEL f2 =====
NUC2: 1H
PC2: 13.00 usec
PL2: 0.0000000 W
SFO2: 300.1360000 MHz



Şekil 5.38. $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (3j)



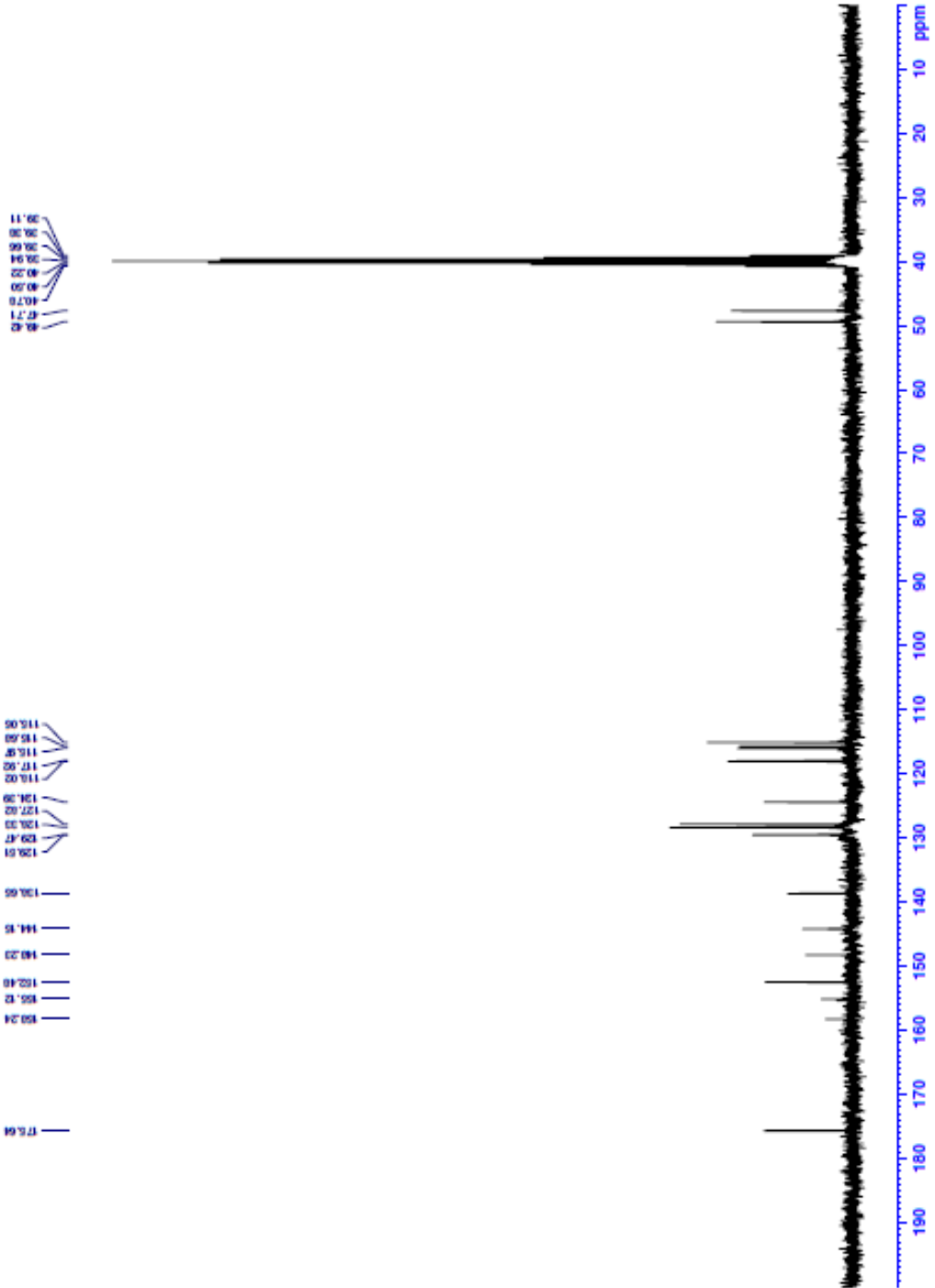
Current Data Parameters
 Name: DEF-10
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 20211122
 Time: 23.21
 INSTRUM: spect
 PROCNO: 1
 PULPROG: zgpg30
 TD: 32768
 SOLVENT: DMSO
 NS: 2048
 DS: 4
 SWH: 24484.562 Hz
 FWHM: 5.71452 Hz
 AQ: 0.6710986 sec
 RG: 501.187
 ENF: 20.480 usmc
 DE: 6.50 usmc
 TE: 291.2 K
 D1: 1.0000000 sec
 D2: 0.0000000 sec
 D3: 0.0001500 sec
 D32: 0.8999998 sec
 D40: 0.0009390 sec
 L4: 23
 L5: 26
 L6: 26
 F32: 90.00 usmc
 T0: 1

===== CHANNEL f1 =====
 SF01 75.4874687 MHz
 NU1 13C
 P1 15.00 usmc
 PLW1 15.0000000 W

===== CHANNEL f2 =====
 SF02 300.1812007 MHz
 NU2 1H
 CPDPRG2 waltz16
 PCPD2 90.00 usmc
 PLW2 10.0000000 W
 PLW12 0.2080399 W
 PLW13 0.1040199 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4803210 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 GB 1.0 Hz
 PC 1.40



Şekil 5.39. ^{13}C -NMR spektrumu (3f)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Anal\tderya\SDF-10_10.lcd

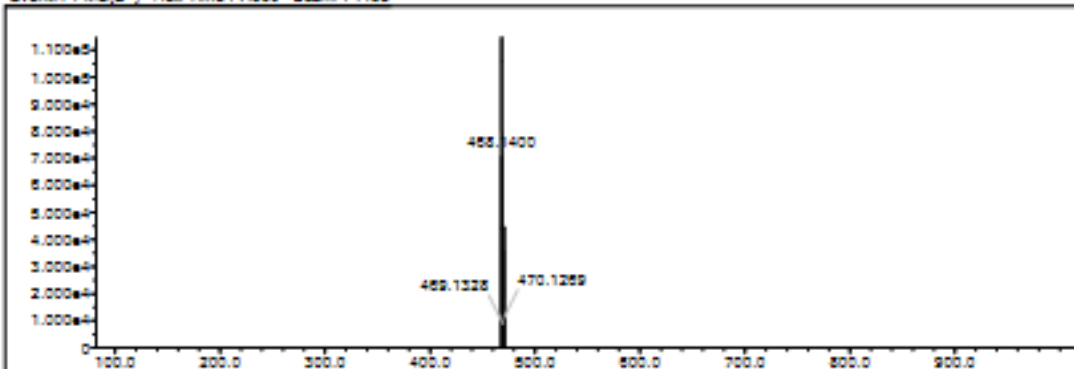
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	3	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	1	1	Cl	1	1	1	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

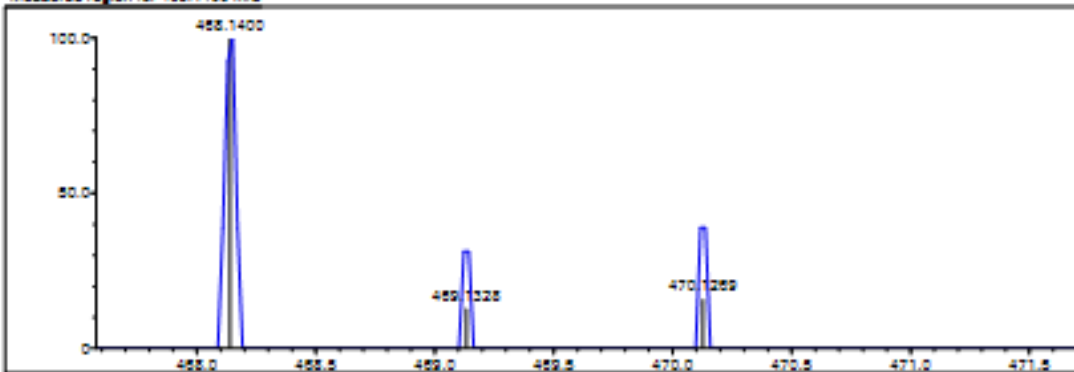
DBE Range: 5.0 - 15.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 150

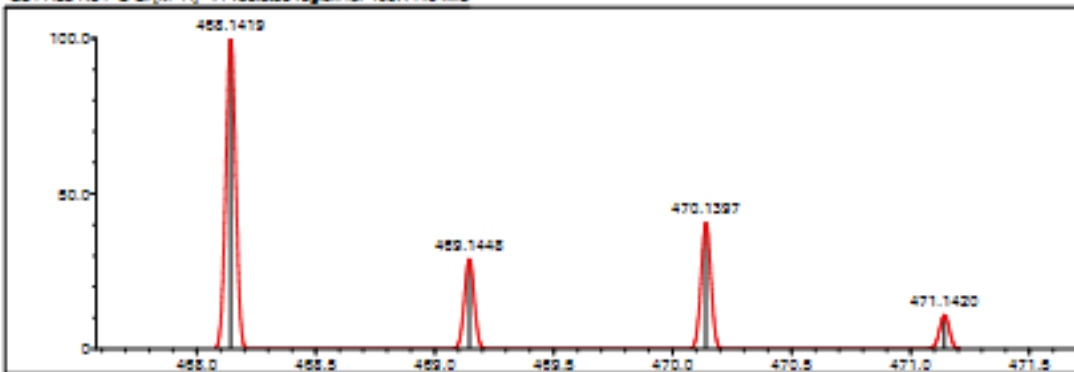
Event#: 1.MS(E+) Rel. Time : 7.950 Scan#: 1195



Measured region for 455.1400 m/z



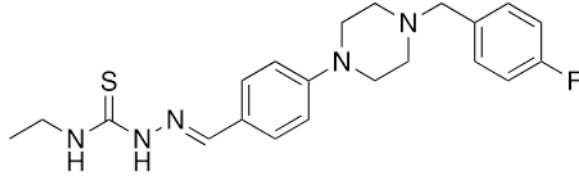
C24 H23 N5 F 5 Cl [M+H]⁺ - Predicted region for 455.1419 m/z



Peak#	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	DK (mDa)	DK (ppm)	Isr	DBE
1	44.41	C24 H23 N5 F 5 Cl	[M+H] ⁺	455.1400	455.1419	-1.9	-4.06	48.05	15.0

Şekil 5.40. HRMS spektrumu (3j)

5.1.11. N-Etil-2-(4-(4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3k)



Şekil 5.41. *N-Etil-2-(4-(4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3k)*

Verim: %86.

HRMS (m/z): $[M+H]^+$ hesaplanan $C_{21}H_{26}N_5FS$: 400.1966; bulunan: 400.1957.

1H -NMR (Dimetilsülfoksit-*dötoro*, 300 MHz): δ = 1.13 (-CH₃, 3H, t, $J=7.1$ Hz), 2.46-2.50 (piperazin, 4H, m), 3.21-3.24 (piperazin, 4H, m), 3.50 (-CH₂-, 2H, s), 3.55-3.59 (-CH₂-, 2H, m), 6.93 (Ar-H, 2H, d, $J=8.9$ Hz), 7.13-7.19 (Ar-H, 2H, m), 7.34-7.38 (Ar-H, 2H, m), 7.61 (Ar-H, 2H, d, $J=8.9$ Hz), 7.93 (-CH=N-, 1H, s), 8.39 (-NH, 1H, t, $J=5.9$ Hz), 11.23 (-NH, 1H, s).

^{13}C -NMR (Dimetilsülfoksit-*dötoro*, 75 MHz): δ = 15.22, 38.61, 47.75, 52.71, 61.49, 114.91, 115.39 (d, $J=21.0$ Hz), 124.51, 128.88, 131.19 (d, $J=7.9$ Hz), 134.61 (d, $J=2.9$ Hz), 142.74, 152.36, 161.74 (d, $J=242.5$ Hz), 176.56.



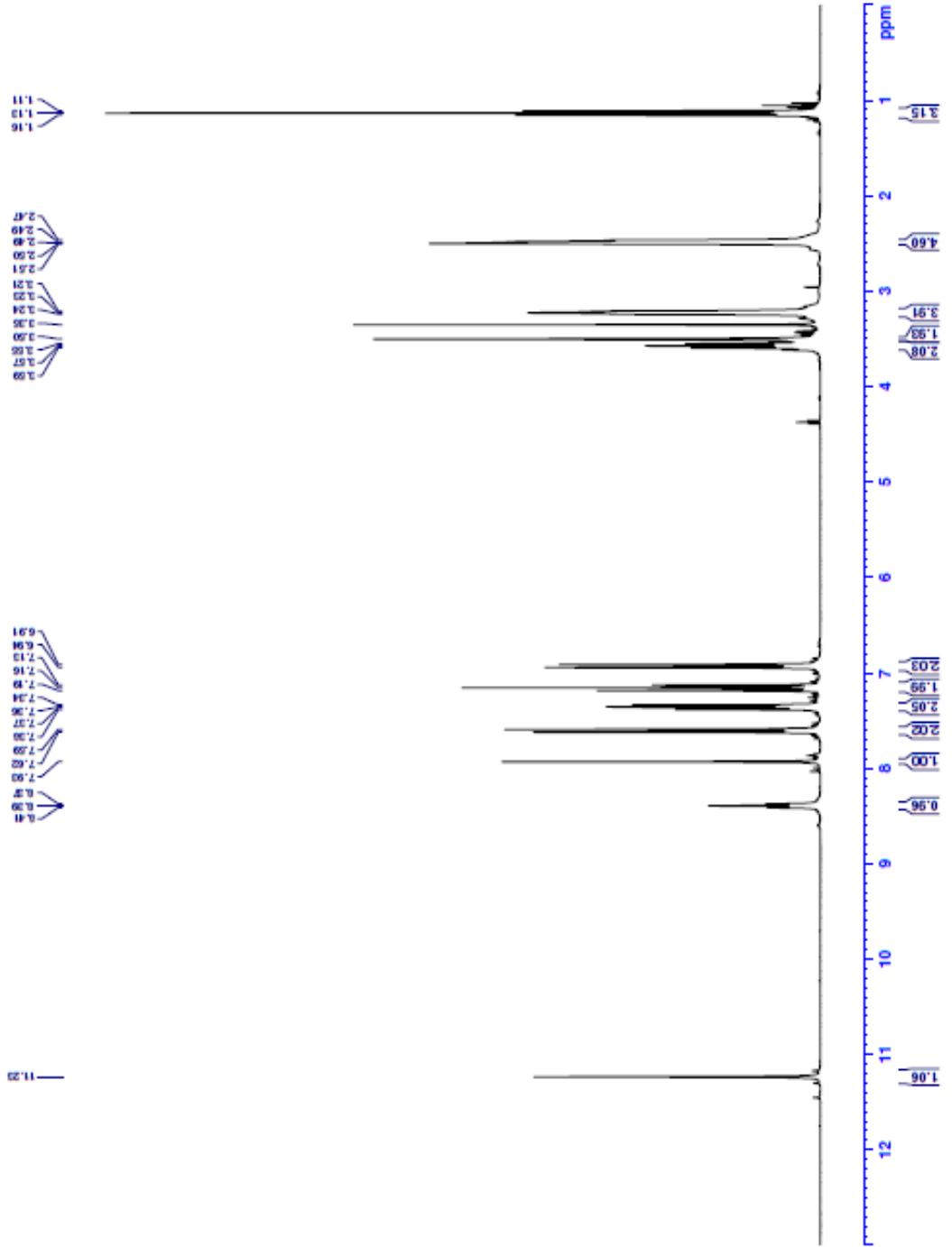
```

Current Data Parameters
Name      3k
EXPNO    1
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    2021123
Time     13.00
INSTRUM  PULPROG
PROBHD   5 mm ZORX 13C-1
PULPROG  zgpg30
TD       65536
SOLVENT  DMSO
NS       16
DS       4
SWH      6103.516 Hz
FIDRES   0.372529 Hz
AQ       1.2421773 sec
RG       17.3163
DM       01.7200 sec
DE       391.500 Hz
TE       300.2 K
DQ       0.0000000 sec
TDO      1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1     13C
P1       13.00000000 sec
P1A1     10.00000000 M

F2 - Processing parameters
SI       65536
SF       300.1360000 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       0.30 Hz
GB       0
PC       1.00
  
```



Şekil 5.42. ¹H-NMR spektrumu (3k)



```

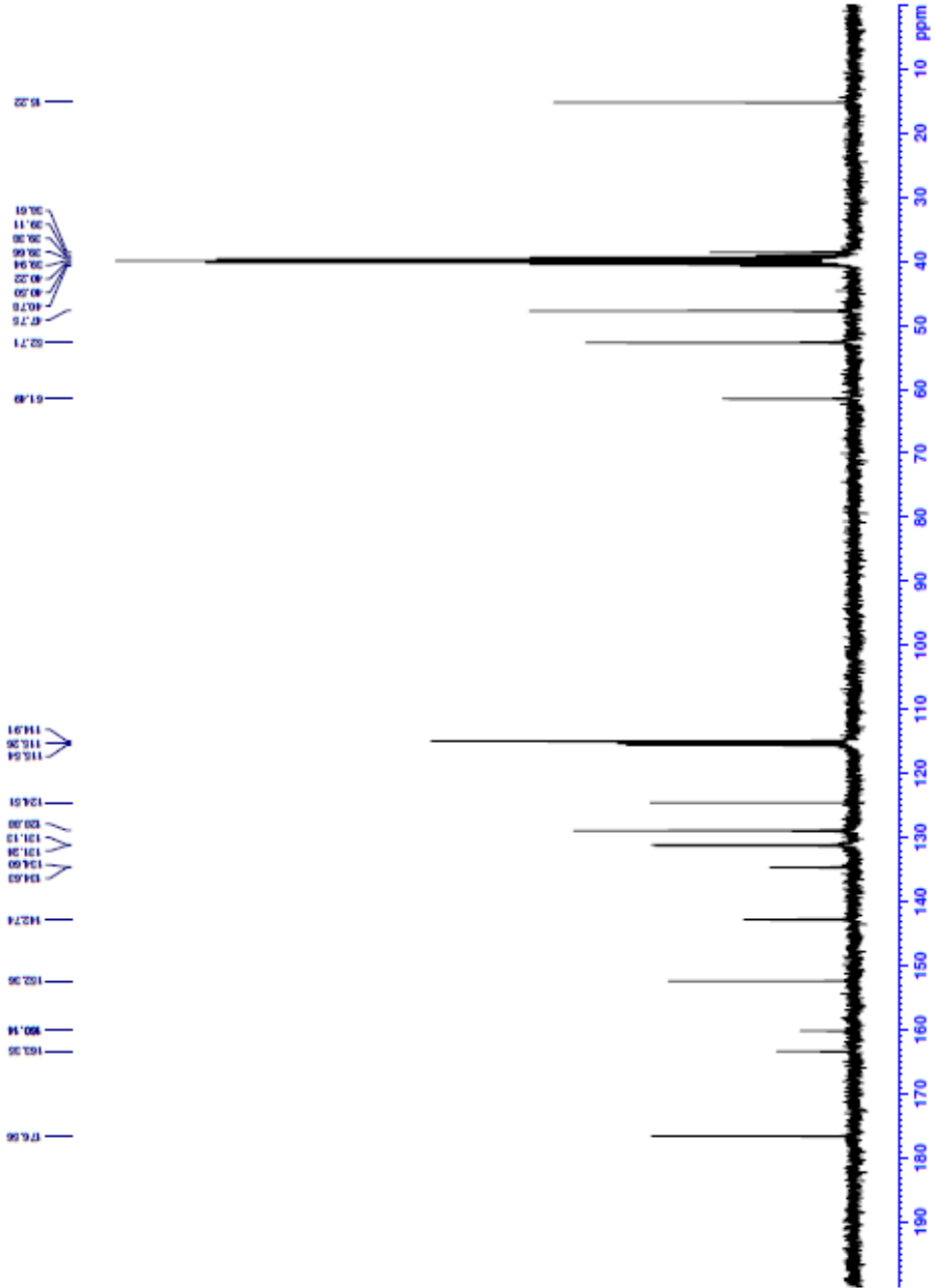
Current Data Parameters
NAME: 3k
EXPNO: 2
PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 2021123
Time 12.52
INSTRUM PULPROB300
PROBHD 5 mm DOL 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT DMSO
NS 256
DS 4
SWH 24414.062 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.711086 sec
RG 327.68
DM 20.480 usec
DE 6.50 usec
TE 293.2 K
D1 1.0000000 sec
D11 0.2000000 sec
D12 0.2000000 sec
D13 0.8999998 sec
D14 0.0000000 sec
L4 23
L5 26
SFO 90.13 usec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.4878487 MHz
NUC1 13
P1 15.00 usec
PL1 0.0000000 M

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.1812007 MHz
NUC2 13
PCYPRG12 waltz16
PCYPRG2 90.00 usec
PLM2 10.0000000 M
PLM12 0.2080399 M
PLM13 0.1040500 M

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4803210 MHz
WDW EM
SSB 0
GB 0
PC 1.40
  
```



Şekil 5.43. ^{13}C -NMR spektrumu (3k)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analisis\denya\SDF-15_15.lcd

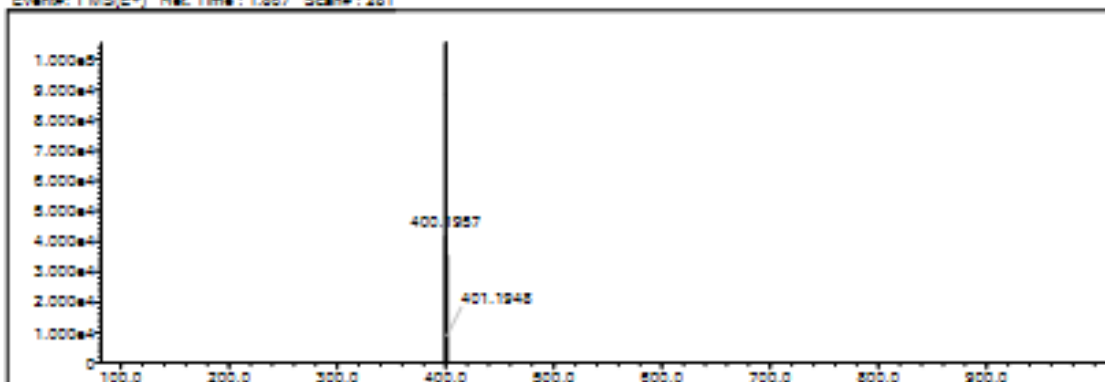
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	3	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	1	1	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

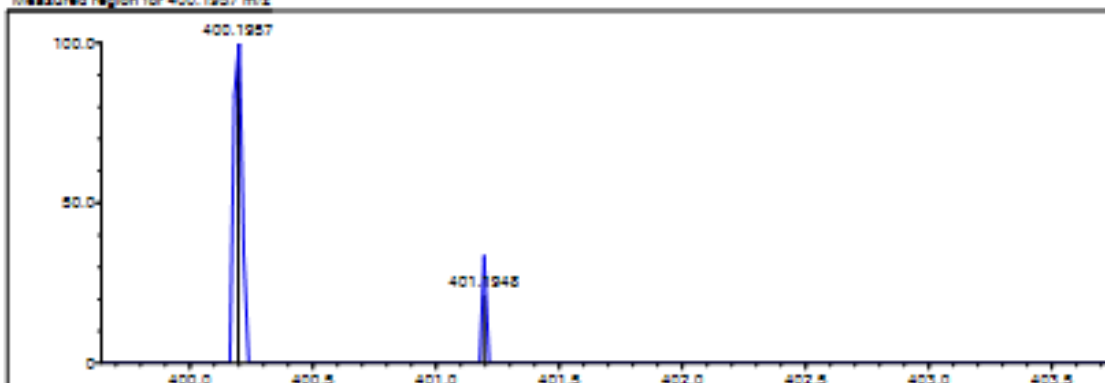
DBE Range: 5.0 - 15.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ion: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Max: 9000
 Max Results: 150

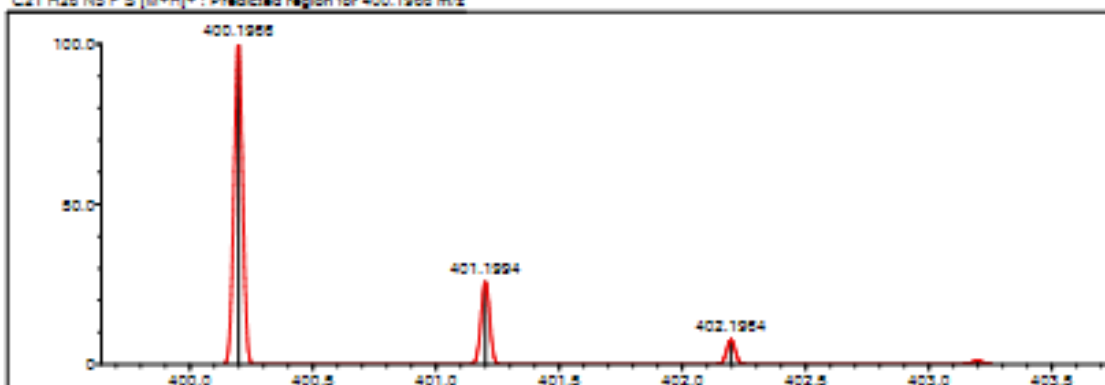
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 3.857 Scan#: 251



Measured region for 400.1957 m/z



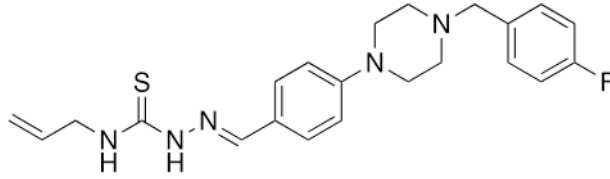
C21 H25 N5 F 5 [M+H]⁺: Predicted region for 400.1955 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass, m/z	Pred. m/z	DK (mDa)	DK (ppm)	Isi	DBE
1	0.00	C21 H25 N5 F 5	[M+H] ⁺	400.1957	400.1955	-0.9	-2.25	0.00	11.0

Şekil 5.44. HRMS spektrumu (3k)

5.1.12. *N*-Allil-2-(4-(4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3I)



Şekil 5.45. *N*-Allil-2-(4-(4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3I)

Verim: %81.

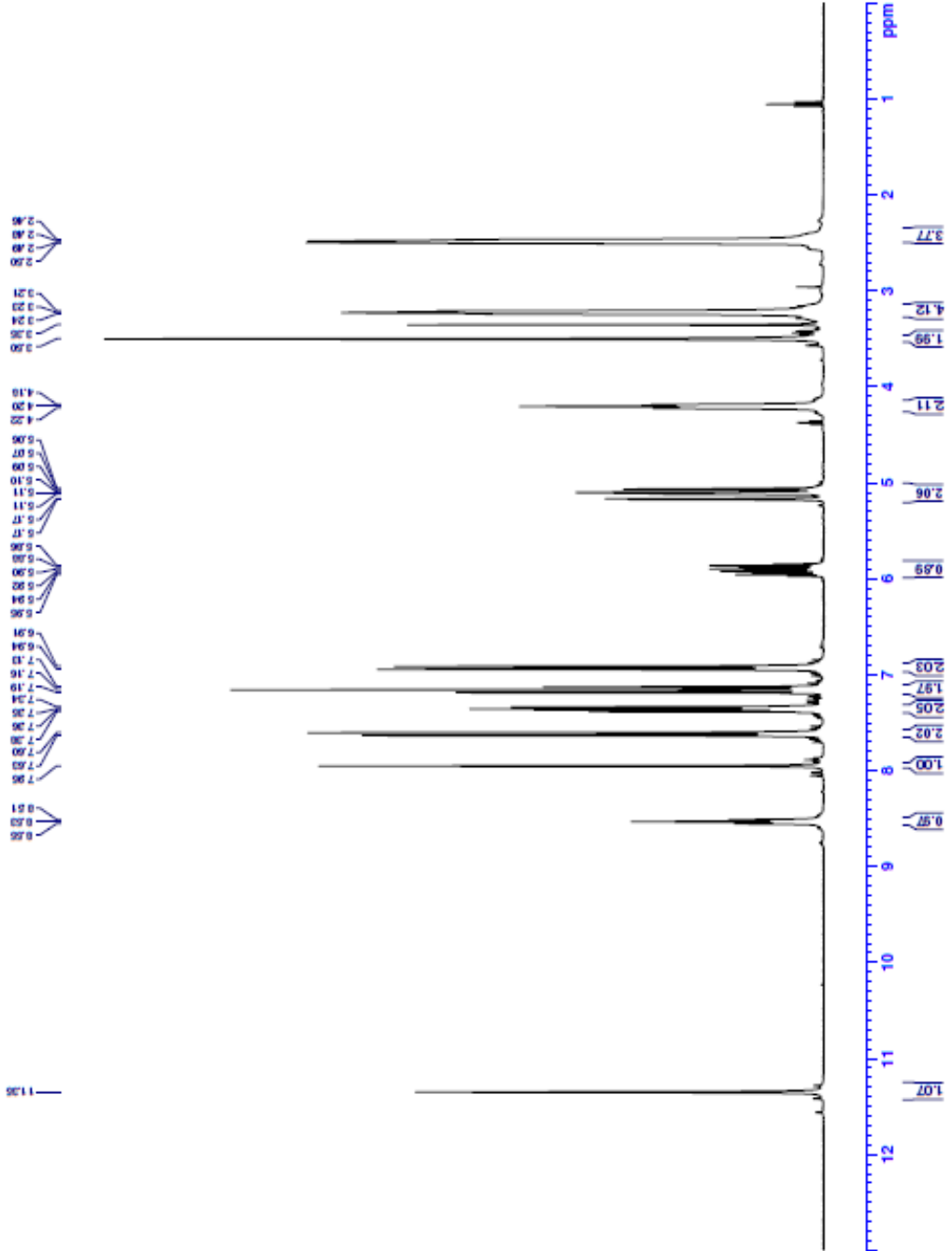
HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₂H₂₆N₅FS: 412.1966; bulunan: 412.1949.

¹H-NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 300 MHz): δ = 2.46-2.49 (piperazin, 4H, m), 3.21-3.24 (piperazin, 4H, m), 3.50 (-CH₂-, 2H, s), 4.20 (Allil-H, 2H, t, *J*=5.6 Hz), 5.06-5.17 (Allil-H, 2H, m), 5.86-5.95 (Allil-H, 1H, m), 6.93 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.9 Hz), 7.13-7.19 (Ar-H, 2H, m), 7.33-7.38 (Ar-H, 2H, m), 7.62 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.9 Hz), 7.95 (-CH=N-, 1H, s), 8.53 (-NH, 1H, t, *J*=5.9 Hz), 11.35 (-NH, 1H, s).

¹³C-NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 75 MHz): δ = 46.14, 47.74, 52.71, 61.49, 114.90, 115.40 (d, *J*=21.1 Hz), 115.87, 124.45, 128.94, 131.19 (d, *J*=8.0 Hz), 134.61 (d, *J*=2.9 Hz), 135.77, 143.02, 152.41, 161.74 (d, *J*=242.4 Hz), 177.07.



Current Data Parameters
NAME: 31
EXPNO: 1
PROCNO: 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ : 2021.05
Time: 4.28
INSTRUM: PDSXSI300
PROBHD: 5 mm QNP 13C-1
PULPROG: zgpg30
TD: 65536
SOLVENT: DMSO
NS: 16
DS: 0
SWH: 6103.516 Hz
FIDRES: 0.373529 Hz
AQ: 1.364776 sec
RG: 315.268 Hz
DM: 81.920 usec
DE: 6.50 usec
TE: 293.7 K
D1: 3.00000000 sec
D11: 1
===== CHANNEL f1 =====
SF01: 300.131537 MHz
NUC1: ¹³C
P1: 13.00 usec
PL1: 0.00 dB
SFO2: 10.00000000 MHz
F2 - Processing parameters
SI: 65536
SF: 300.14000000 MHz
WDW: EM
SSB: 0
CB: 0.30 Hz
GB: 0
PC: 1.00



Şekil 5.46. ¹H-NMR spektrumu (31)



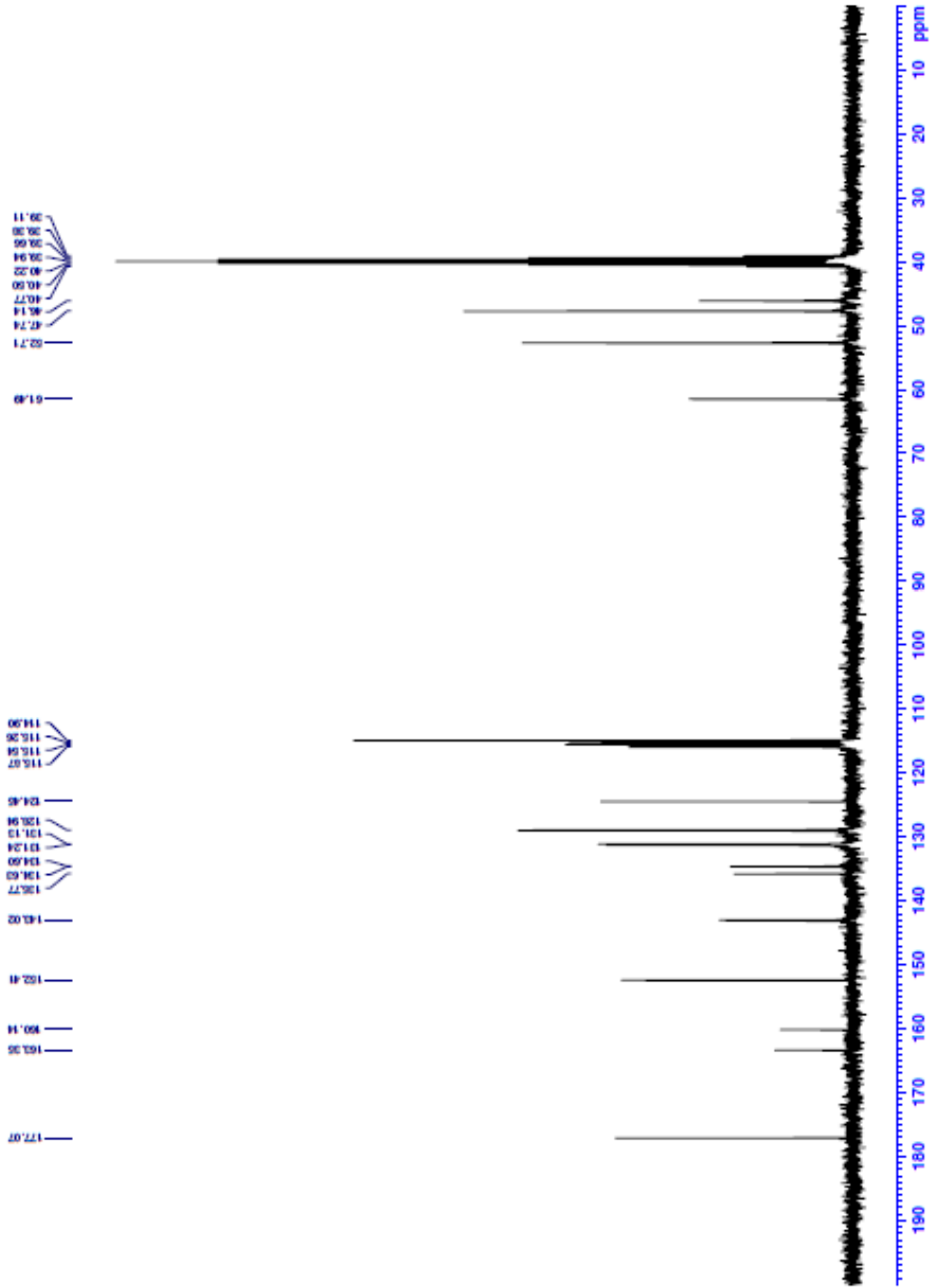
Current Data Parameters
 NAME: 3D-17
 EXPNO: 2
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 2021123
 Time: 4.30
 PROBNM: 3D-17-0
 PULPROG: zgpg30
 SOLVENT: DMSO
 NS: 2048
 DS: 4
 SWH: 24414.062 Hz
 FIDRES: 0.745058 Hz
 AQ: 0.6710886 sec
 RG: 501.187
 DM: 20.480 usec
 DE: 8.17 usec
 TE: 311.7 K
 D1: 1.00000000 sec
 D11: 0.03000000 sec
 D31: 0.00015000 sec
 D32: 0.89999998 sec
 L4: 0.00033900 sec
 L5: 2.6 usec
 F32: 96.00 usec
 TD: 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1: 13C
 P1: 15.00 usec
 PLW1: 15.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
 NUC2: 1H
 P2: 19.00 usec
 PLW2: 19.00000000 W

F2 - Processing parameters
 SI: 32768
 SF: 75.4803210 MHz
 SFO2: 500.1327007 MHz
 EQ2: 1.00 Hz
 GB: 0
 PC: 1.40



Şekil 5.47. ¹³C-NMR spektrumu (3I)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Anal\Zdenya\SDF-17_17.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	3	S	2	0	2	Mu	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	1	1	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Model: AND

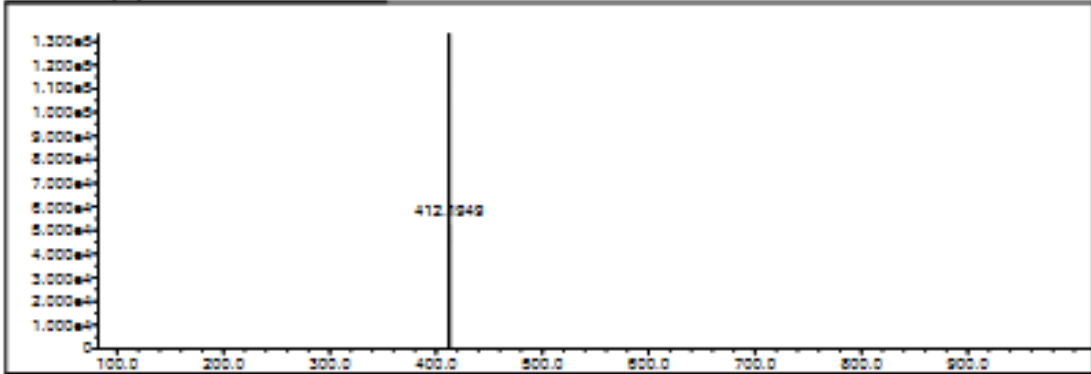
Electron Ion: both

Use MSn Info: yes

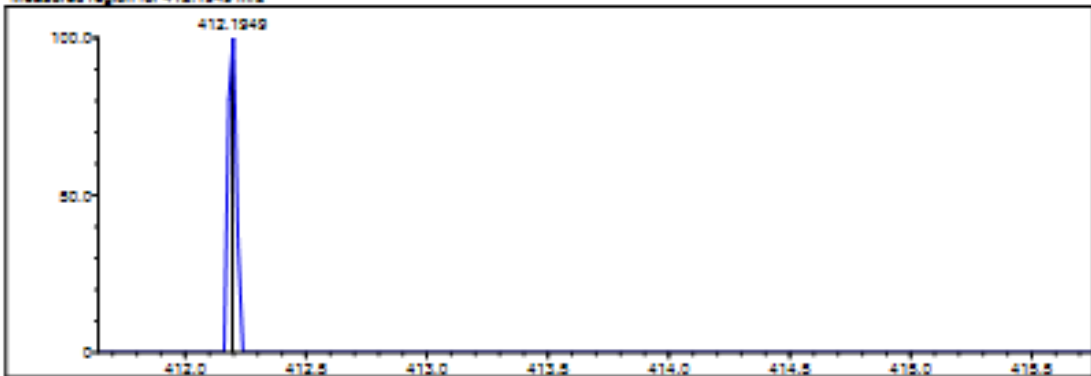
Isotope Res: 5000

Max Results: 150

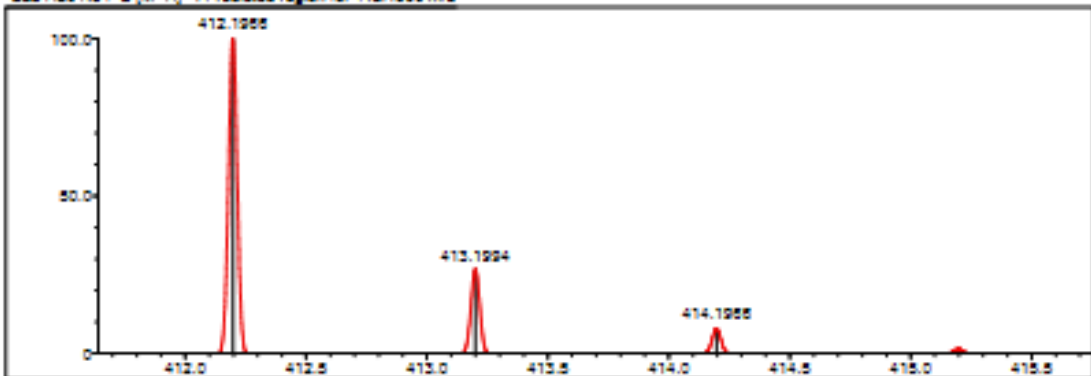
Event#: 1 MS(E+) Rel. Time: 2.400 Scan#: 351



Measured region for 412.1949 m/z



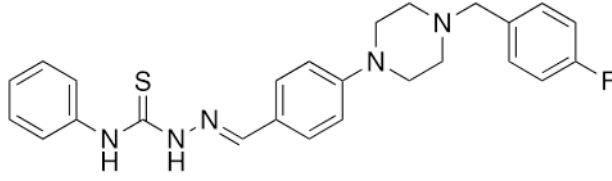
C22 H26 N5 F 5 [M+H]+ : Predicted region for 412.1955 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass. m/z	Pred. m/z	DK (mDa)	DK (ppm)	Isr	DBE
1	0.00	C22 H26 N5 F 5	[M+H] ⁺	412.1949	412.1955	-1.7	-4.12	0.00	12.0

Şekil 5.48. HRMS spektrumu (31)

5.1.13. 2-(4-(4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)-*N*-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid (3m)



Şekil 5.49. 2-(4-(4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)-*N*-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid (3m)

Verim: %79.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₅H₂₆N₅FS: 448.1966; bulunan: 448.1964.

¹H-NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 300 MHz): δ = 2.49-2.51 (piperazin, 4H, m), 3.24 (piperazin, 4H, y), 3.50 (-CH₂-, 2H, s), 6.94 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.8 Hz), 7.15-7.19 (Ar-H, 3H, m), 7.33-7.38 (Ar-H, 4H, m), 7.57 (Ar-H, 2H, d, *J*=7.8 Hz), 7.71 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.8 Hz), 8.04 (-CH=N-, 1H, s), 9.98 (-NH, 1H, s), 11.66 (-NH, 1H, s).

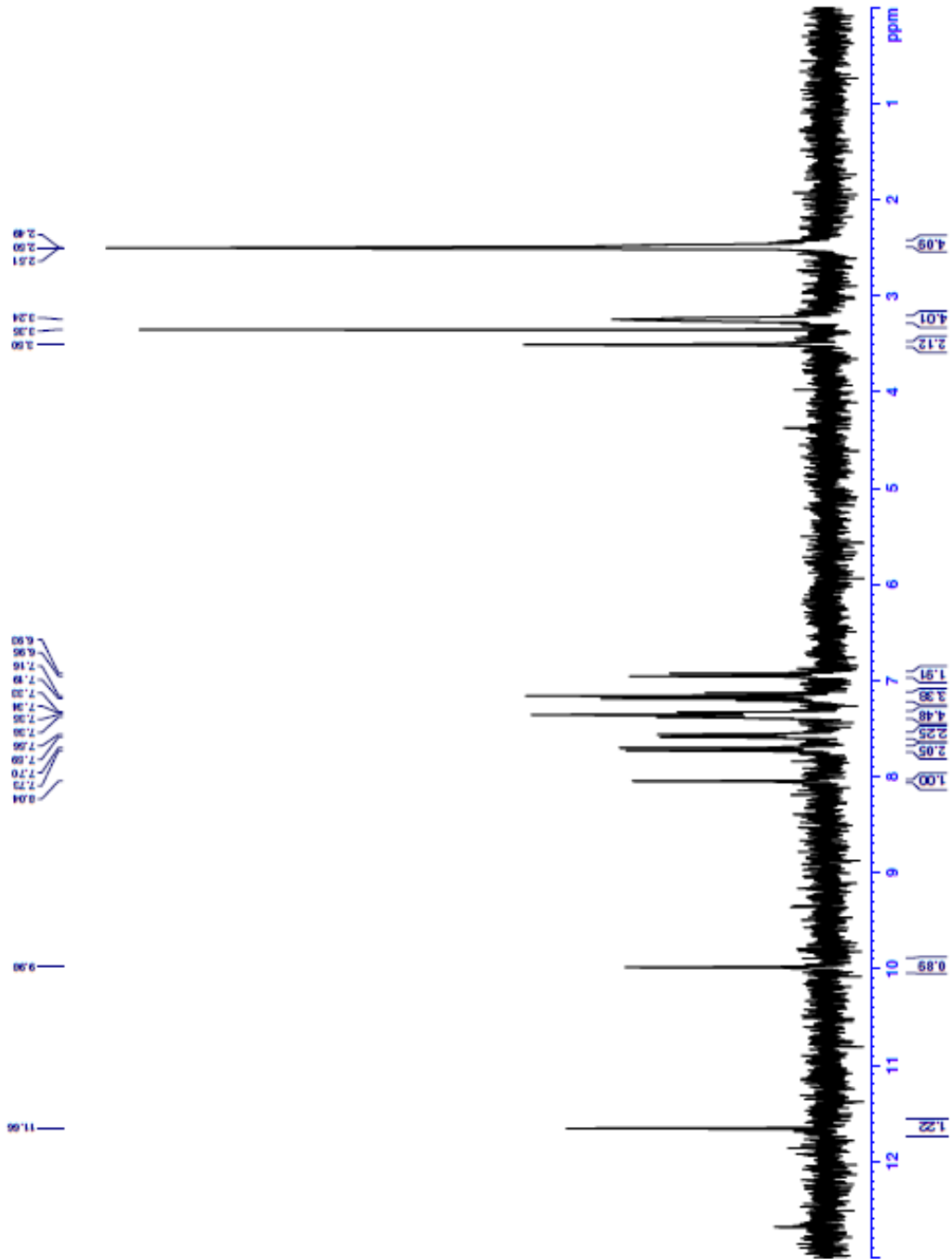
¹³C-NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 75 MHz): δ = 47.67, 52.71, 61.49, 114.82, 115.41 (d, *J*=21.1 Hz), 124.17, 125.56, 126.17, 128.46, 129.36, 131.20 (d, *J*=7.9 Hz, Ar-H), 134.63, 139.63, 143.88, 152.55, 161.75 (d, *J*=242.3 Hz), 175.63.



Current Data Parameters
NAME: 2021123
EXPNO: 1
PROCNO: 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_: 2021123
Time: 9:01
INSTRUM: PUCKER200
PROBHD: 5 mm BBO 1H-2
PULPROG: zgpg30
TD: 65536
SOLVENT: DMSO
NS: 16
DS: 0
SWH: 6303.81 Hz
FIDRES: 0.372329 Hz
AQ: 1.341173 sec
RG: 69.8324
DM: 81.920 umsec
DE: 251.50 umsec
TE: 300.2
DQ: 3.0000000 sec
TD0: 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1: 1H
P1: 13.00 umsec
PL1: 0.00 dB
NUC2: 13C
P2: 13.00 umsec
PL2: 10.00 dB
===== CHANNEL f2 =====
NUC3: 13C
P3: 13.00 umsec
PL3: 10.00 dB

F2 - Processing Parameters
SI: 65536
SF: 300.1800000 MHz
WDW: EM
SSB: 0
LB: 0.30 Hz
GB: 0
CB: 0
PC: 1.00



Şekil 5.50. $^1\text{H-NMR}$ spektrumu ($3m$)



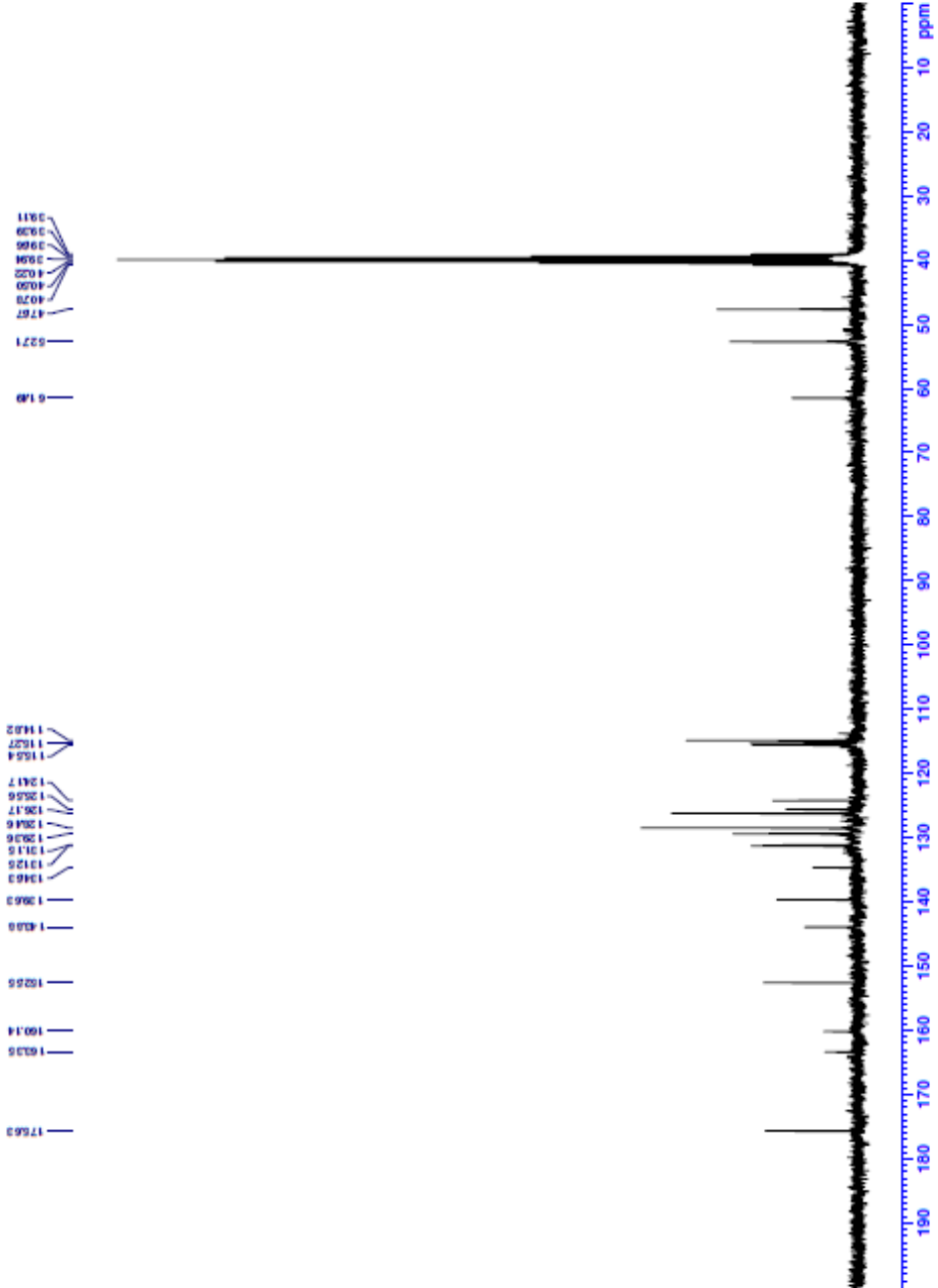
Current Data Parameters
 NAME: SUF-18
 DATNO: 2
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 2021123
 Time: 9.03
 INSTRUM: spect
 PROBHD: 5 mm ZGT1.3CZ-1
 PULPROG: zgpg30
 TD: 32768
 SOLVENT: DMSO
 DMSO: 250.0
 NS: 4
 DS: 4
 SWH: 24414.562 Hz
 FIDRES: 0.745058 Hz
 AQ: 0.101981 sec
 RG: 201.881
 INJ: 20.480 usec
 DE: 6.50 usec
 TE: 291.2 K

==== CHANNEL f1 =====
 SFO1: 75.480310 MHz
 NUC1: ¹³C
 P1: 15.00 usec
 PLW1: 15.0000000 W

==== CHANNEL f2 =====
 SFO2: 300.1812007 MHz
 NUC2: ¹H
 CPDPRG2: waltz16
 SFO3: 90.000000 MHz
 P2: 10.000000 usec
 PLW2: 0.20863399 W
 PLW12: 0.20863399 W
 PLW13: 0.10431699 W

F2 - Processing Parameters
 SI: 32768
 SF: 75.480310 MHz
 NTF: 0
 SSB: 0
 LB: 1.00 Hz
 GB: 0
 PC: 1.40



Şekil 5.51. ¹³C-NMR spektrumu (3m)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analz\data\5DF-15_15.lcd

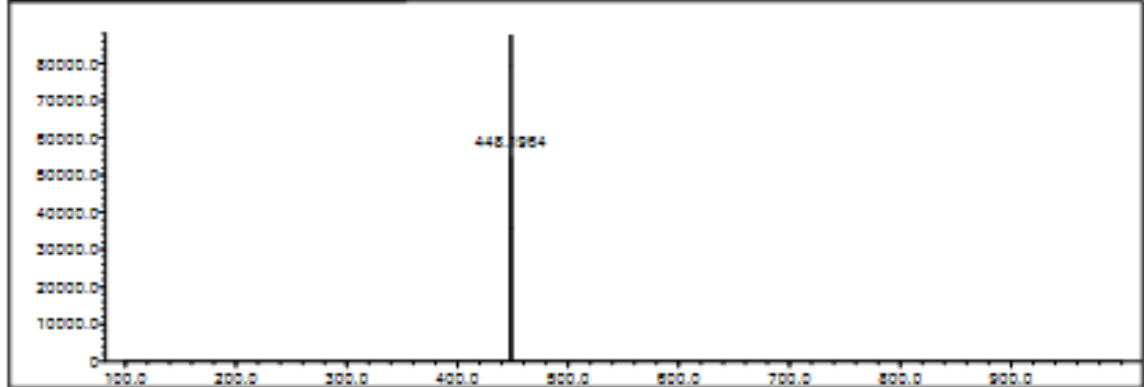
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	3	S	2	0	2	Ku	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	1	1	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Isp RI (%): 10.00

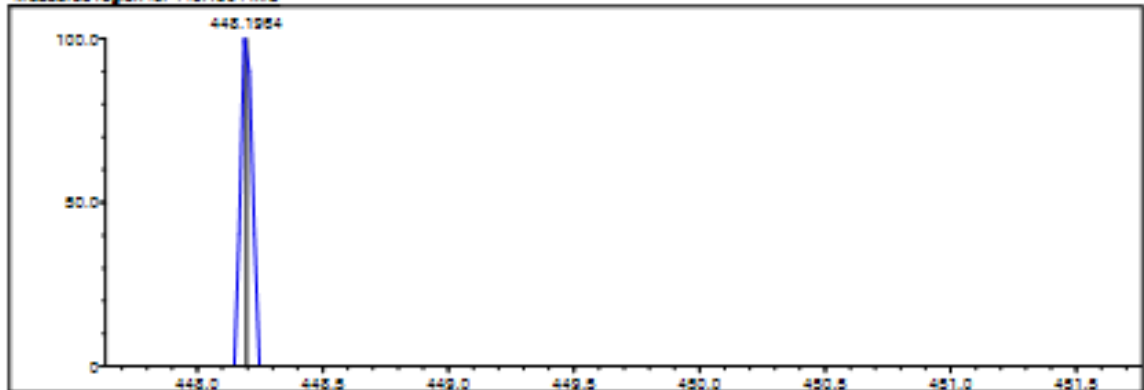
DBE Range: 5.0 - 15.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ion: both
 Use MSn Infr: yes
 Isotope Max: 9000
 Max Results: 150

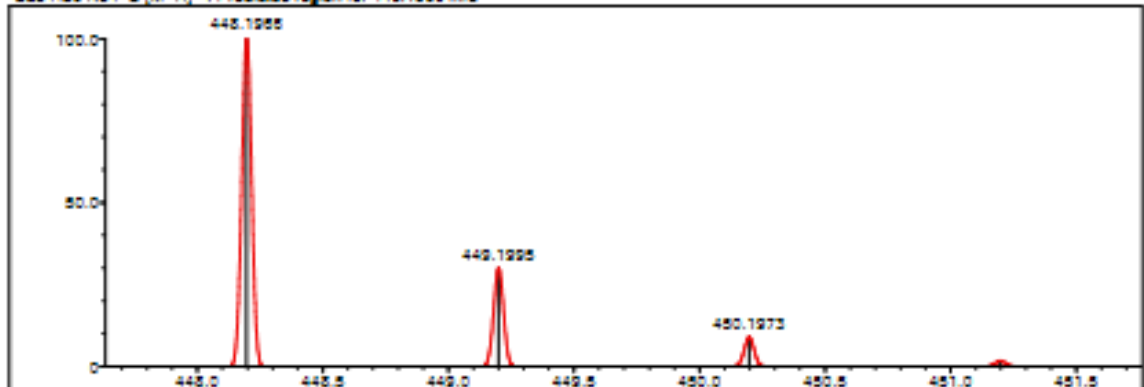
Event#: 1 MS(E+) Rel. Time: 2.947 Scan#: 383



Measured region for 448.1954 m/z



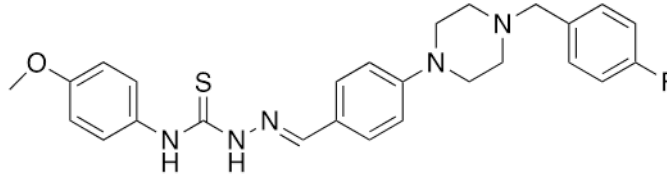
C25 H26 N5 F 5 (M+H)+ : Predicted region for 448.1955 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass. m/z	Pred. m/z	DK. (mDa)	DK. (ppm)	Isp	DBE
1	0.00	C25 H26 N5 F 5	(M+H)+	448.1954	448.1955	-0.2	-0.45	0.00	15.0

Şekil 5.52. HRMS spektrumu (3m)

5.1.14. 2-(4-(4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)-N-(4-metoksifenil)hidrazin-1-karbotiyoamid (3n)



Şekil 5.53. 2-(4-(4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)-N-(4-metoksifenil)hidrazin-1-karbotiyoamid (3n)

Verim: %77.

HRMS (m/z): $[M+H]^+$ hesaplanan $C_{26}H_{28}N_5OFS$: 478.2071; bulunan: 478.2059.

1H -NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 300 MHz): δ = 2.48-2.49 (piperazin, 4H, m), 3.24 (piperazin, 4H, y), 3.50 (-CH₂-, 2H, s), 3.76 (-OCH₃, 3H, s), 6.90-6.94 (Ar-H, 4H, m), 7.12-7.18 (Ar-H, 2H, m), 7.33-7.41 (Ar-H, 4H, m), 7.71 (Ar-H, 2H, d, $J=7.9$ Hz), 8.03 (-CH=N-, 1H, s), 9.88 (-NH, 1H, s), 11.58 (-NH, 1H, s).

^{13}C -NMR (Dimetilsülfoksit-*d*ötoro, 75 MHz): δ = 47.69, 52.72, 55.69, 61.49, 113.63, 114.83, 115.39 (d, $J=21.1$ Hz), 124.30, 127.95, 129.28, 131.19 (d, $J=7.9$ Hz), 132.54, 134.61 (d, $J=2.8$ Hz, Ar-H), 143.57, 152.49, 157.26, 161.75 (d, $J=242.4$ Hz, Ar-H), 176.07.

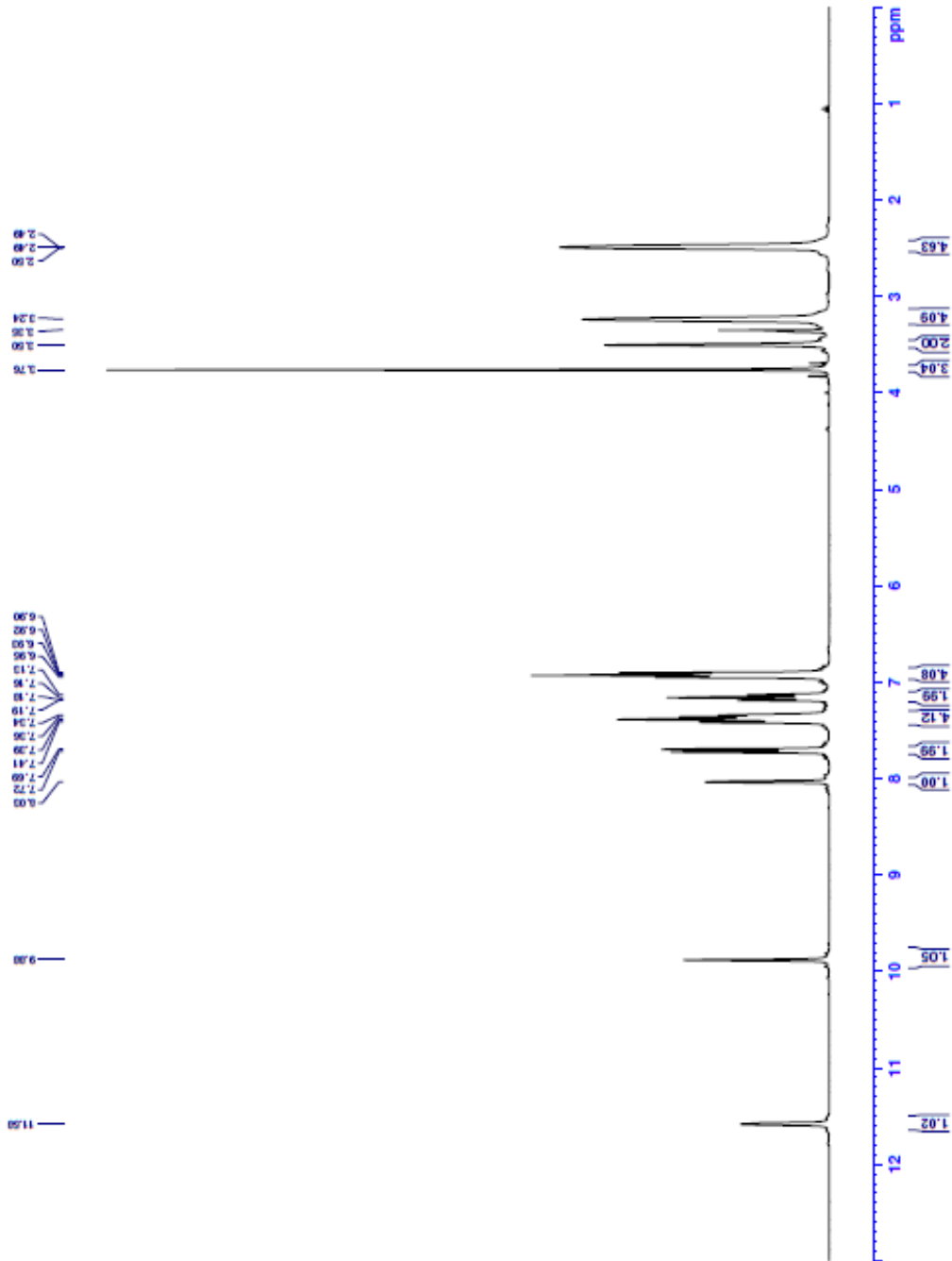


Current Data Parameters
NAME: 20P-19
EXPNO: 1
PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ : 2021122
Time : 22.16
INSTRUM : PUCKER300
PROBHD : 5 mm DEL 13C-1
PULPROG : zgpg30
SOLVENT : DMSO
NS : 16
DS : 0
SWH : 6102.316 Hz
FIDRES : 0.242173 Hz
AQ : 1.221773 sec
RG : 15.48254
DM : 81.920 umsec
DE : 6.50 umsec
TE : 291.2 K
D1 : 3.00000000 sec
TD0 :

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 : 300.181837 MHz
NUC1 : 13C
P1 : 0.00000000 sec
PLW1 : 10.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI : 65536
SF : 300.1800000 MHz
WDW : EM
SSB : 0
LB : 0.20 Hz
GB : 0
PC : 1.00



Şekil 5.54. ¹H-NMR spektrumu (3n)



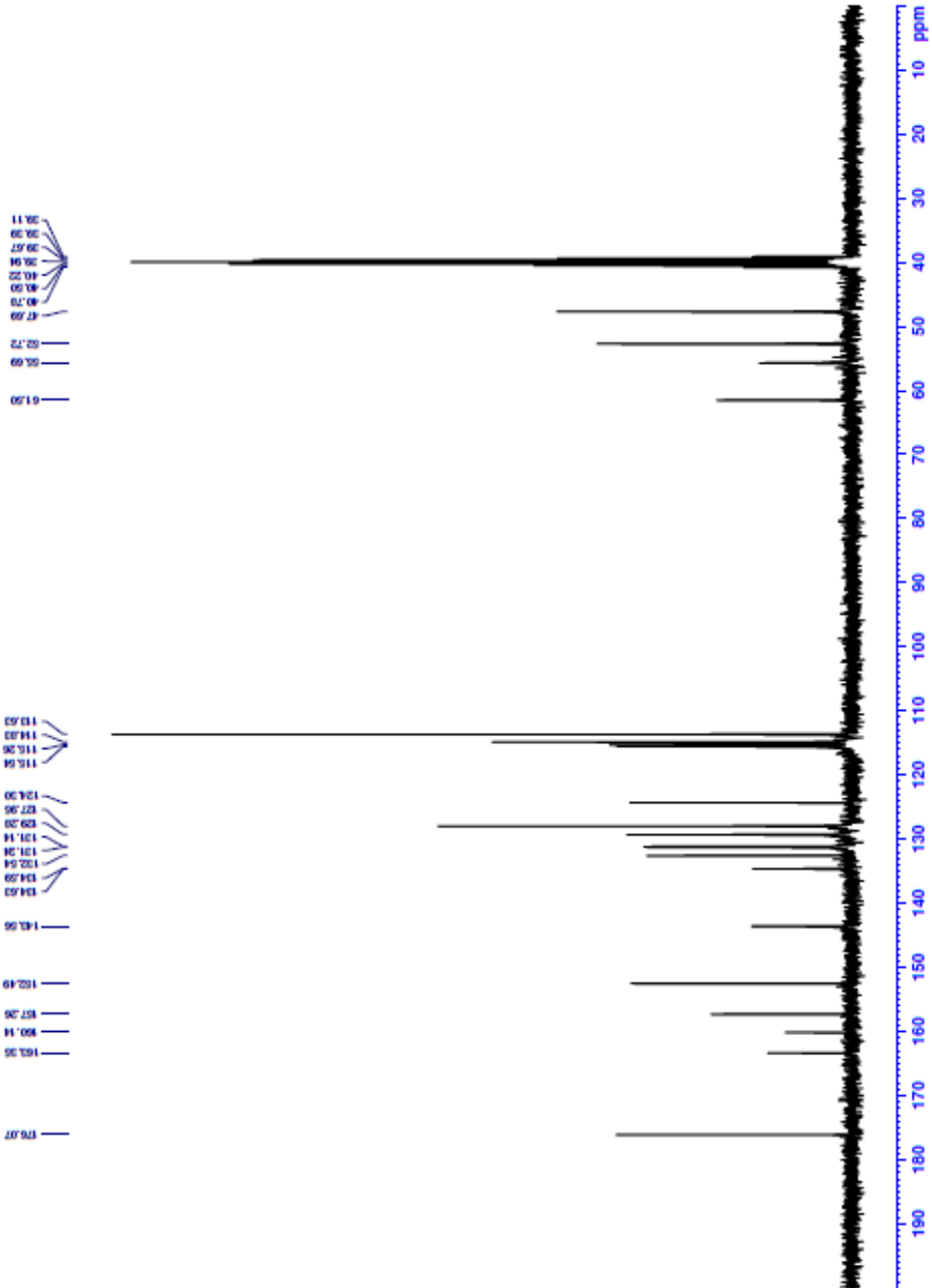
Current Data Parameters
NAME: 3n
EXPNO: 2
PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20221122
Time 22:11:11
INSTRUM PULPROG
PROBHD 5 mm DOL 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 32768
SFO 125.761
RG 656
SC 2548
DS 4
SWH 24414.062 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.710187 sec
RG 656
DS 4
SW 20.480 uSAC
DE 6.50 uSAC
TE 291.2 K
D1 1.0000000 sec
D2 0.0000000 sec
D3 0.0001500 sec
D32 0.8999998 sec
D40 0.0001990 sec
L4 23
L5 23
SFO2 95.00 uSAC
TSD 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 15.00 uSAC
PL1 15.0000000 W

===== CHANNEL f2 =====
NUC2 1H
P2 300.1812000 MHz
PL2 0.0000000 W
PCY2 95.00 uSAC
PLW2 10.0000000 W
PLW3 0.2006399 W
PLW4 0.10493000 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 125.761 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



Şekil 5.55. ^{13}C -NMR spektrumu (3n)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analysis\SDF-19_19.lcd

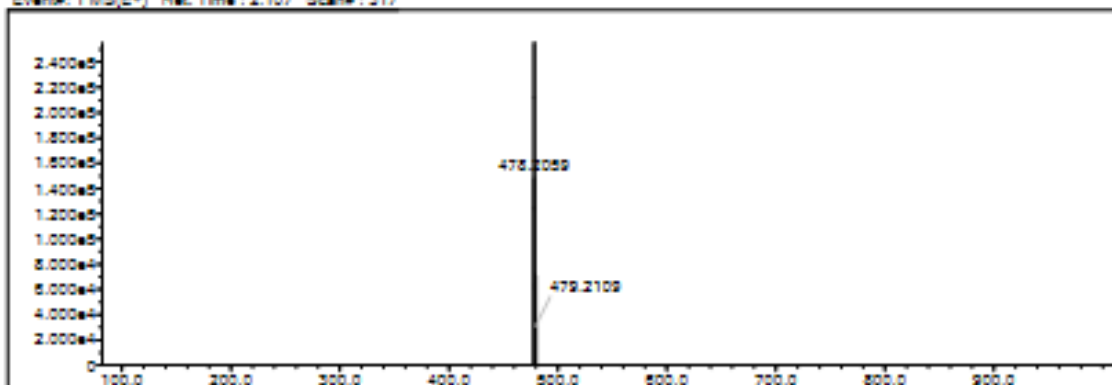
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	3	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	1	1	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

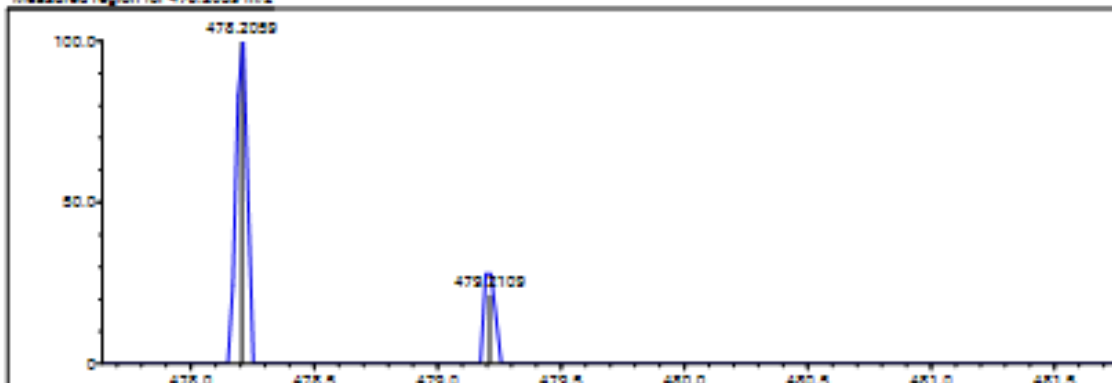
DBE Range: 5.0 - 15.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 150

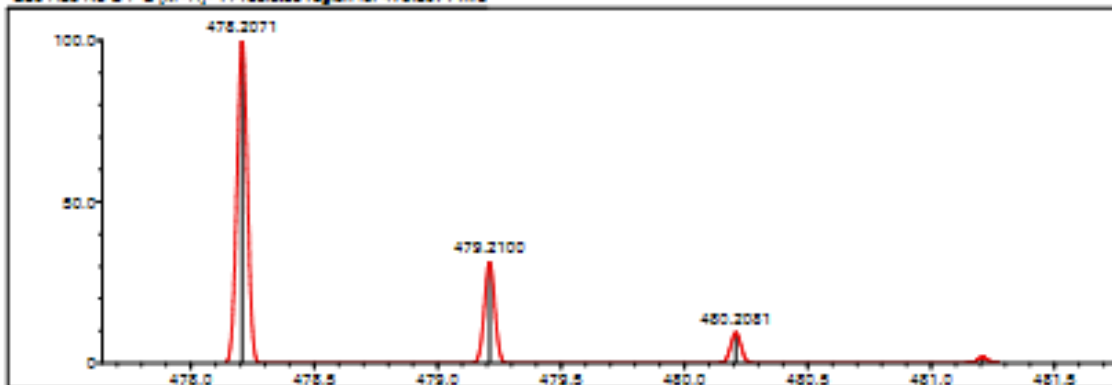
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.107 Scan#: 317



Measured region for 478.2059 m/z



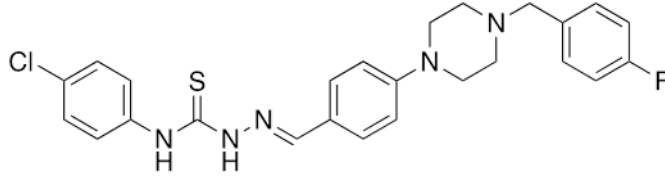
C26 H28 N5 O F S (M+H)+ : Predicted region for 478.2071 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	DK (mDa)	DK (ppm)	bc	DBE
1	0.00	C26 H28 N5 O F S	(M+H)+	478.2059	478.2071	-1.2	-2.51	0.00	15.0

Şekil 5.56. HRMS spektrumu (3n)

5.1.15. *N*-(4-Klorofenil)-2-(4-(4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3o)



Şekil 5.57. *N*-(4-klorofenil)-2-(4-(4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3o)

Verim: %88.

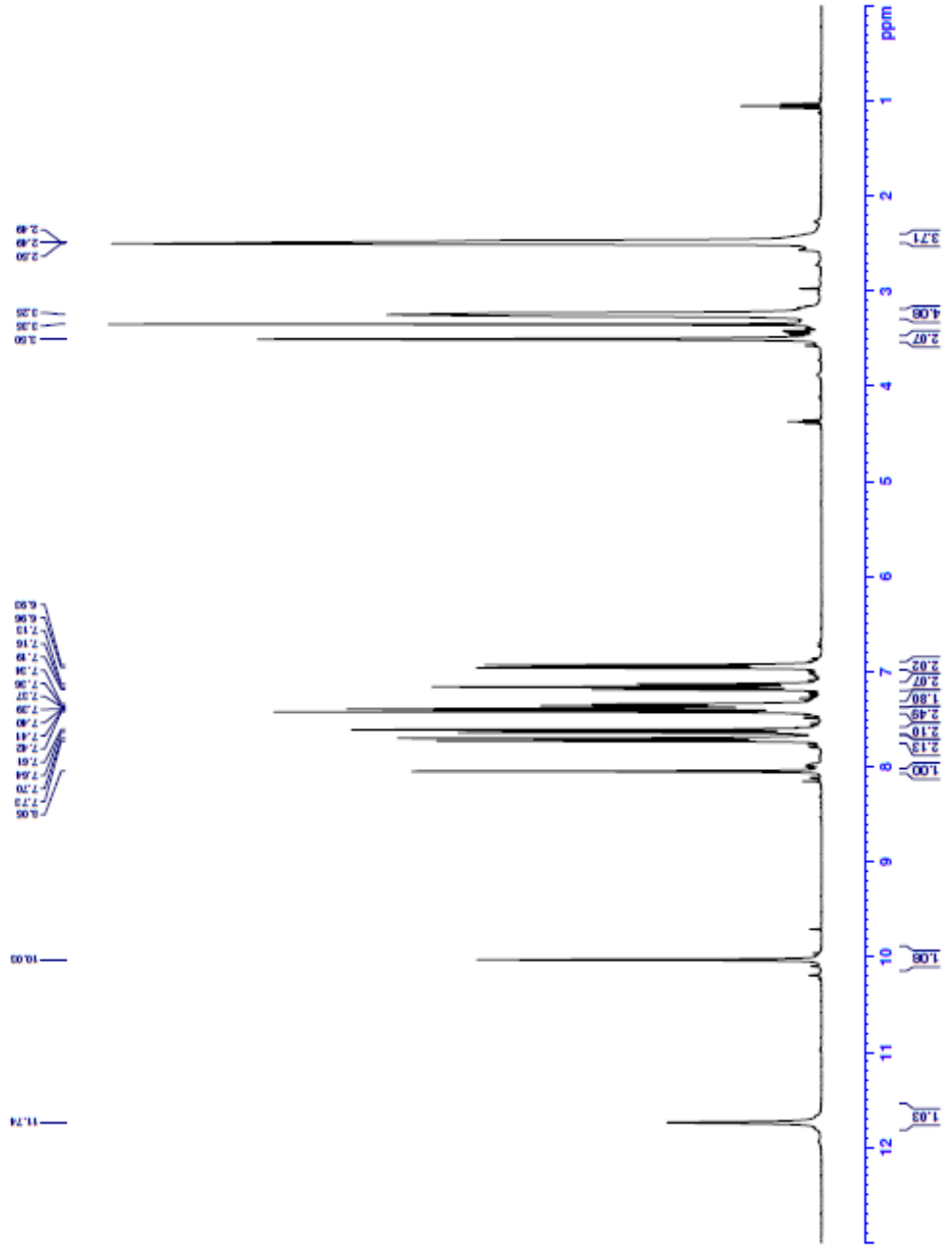
HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₅H₂₅FSCl: 482.1576; bulunan: 482.1566.

¹H-NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 300 MHz): δ = 2.49-2.50 (piperazin, 4H, m), 3.24 (piperazin, 4H, y), 3.50 (-CH₂-, 2H, s), 6.94 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.8 Hz), 7.16 (Ar-H, 2H, t, *J*=8.8 Hz), 7.33-7.37 (Ar-H, 2H, m), 7.39-7.42 (Ar-H, 2H, m), 7.62 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.7 Hz), 7.71 (Ar-H, 2H, d, *J*=8.8 Hz), 8.05 (-CH=N-, 1H, s), 10.03 (-NH, 1H, s), 11.74 (-NH, 1H, s).

¹³C-NMR (Dimetilsülfoksit-dötoro, 75 MHz): δ = 47.65, 52.70, 61.48, 114.79, 115.40 (d, *J*=21.0 Hz), 124.05, 127.78, 128.32, 129.41, 129.49, 131.19 (d, *J*=8.1 Hz), 134.61 (d, *J*=2.9 Hz), 138.64, 144.19, 152.60, 161.74 (d, *J*=242.5 Hz), 175.58.



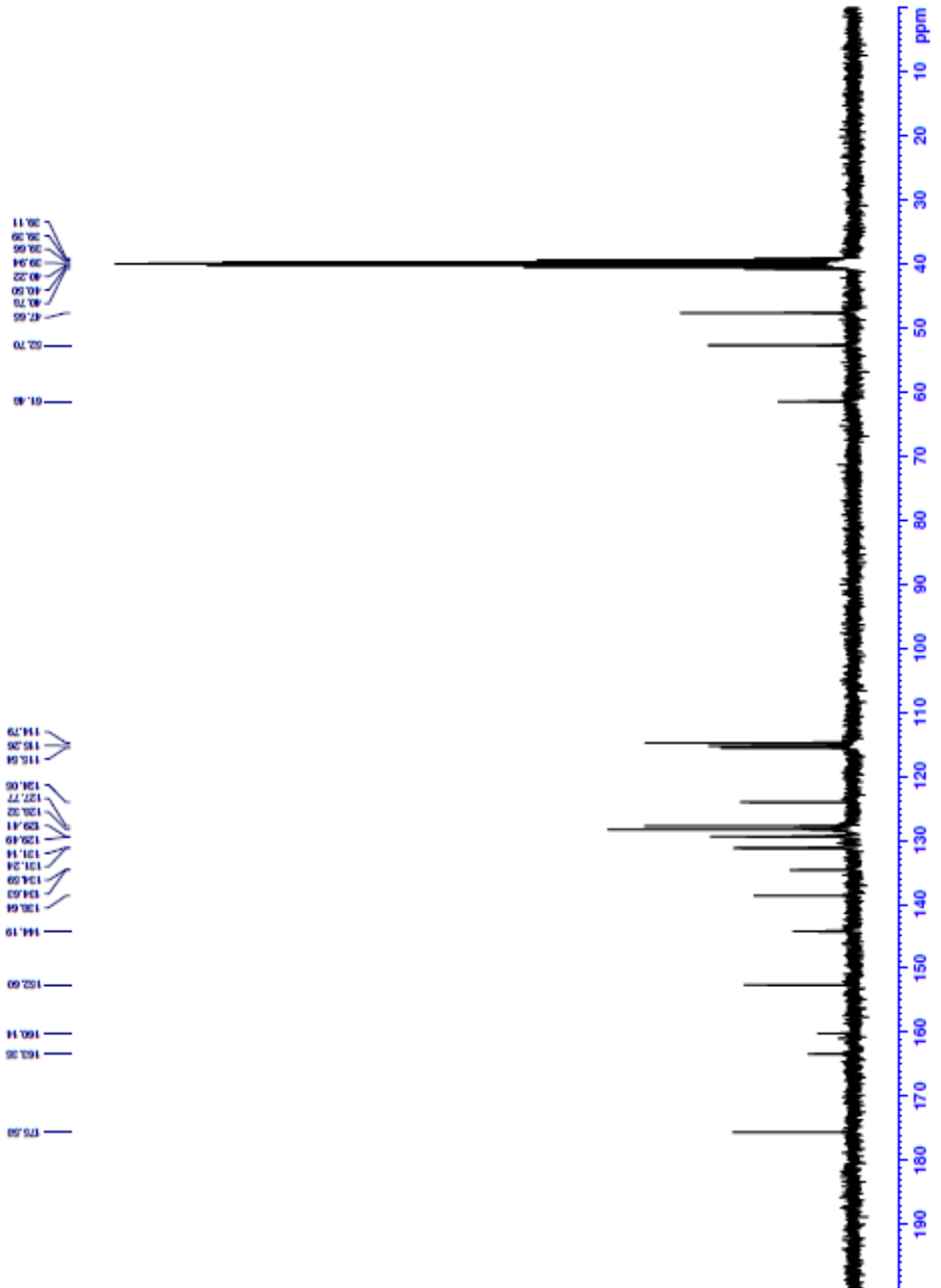
Current Data Parameters
NAME SFZ-20
EXPNO 1
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 2021123
Time 0.20
INSTRUM PULPROB300
PROBHD 5 mm BBI 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 65536
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 16
SWH 6103.916 Hz
FIDRES 0.3775259 Hz
AQ 1.3421715 sec
RG 27.0119
DM 81.900 usec
DE 1.000 usec
TE 281.2 K
TK 281.2 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 13.00 usec
PL1 10.0000000 W
===== CHANNEL f2 =====
NUC2 1H
P2 13.00 usec
PL2 10.0000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.56. ¹H-NMR ait spektrumu (3o)



Current Data Parameters
 NAME: 3DF-2D
 EXPNO: 1
 PROCNO: 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 2021123
 Time: 0:22
 INSTRUM: spect
 PULPROG: zgpg30
 FULPROG: 5 mm DOL-13C-1
 TD: 32768
 SOLVENT: DMSO
 DS: 4
 SC: 4
 SWH: 24434.062 Hz
 FIDRES: 0.745068 Hz
 AQ: 0.610886 sec
 RG: 501.187 umsc
 DE: 6.50 umsc
 TE: 293.2 K
 D1: 1.00000000 sec
 D11: 0.03000000 sec
 D12: 0.03000000 sec
 D13: 0.03000000 sec
 D14: 0.03000000 sec
 D40: 0.00000000 sec
 L4: 23
 L5: 26
 L6: 26
 P2: 90.00 umsc
 P3: 1
 P4: 1
 ===== CHANNEL f1 =====
 NUC1: 13C
 P1: 15.0000000 M
 PL1: 15.0000000 M
 ===== CHANNEL f2 =====
 NUC2: 1H
 P2: 500.1312007 MHz
 PL2: 15.0000000 M
 PL12: 15.0000000 M
 PL13: 15.0000000 M
 PL14: 15.0000000 M
 PL15: 15.0000000 M
 PL16: 15.0000000 M
 PL17: 15.0000000 M
 PL18: 15.0000000 M
 PL19: 15.0000000 M
 PL20: 15.0000000 M
 PL21: 15.0000000 M
 PL22: 15.0000000 M
 PL23: 15.0000000 M
 PL24: 15.0000000 M
 PL25: 15.0000000 M
 PL26: 15.0000000 M
 PL27: 15.0000000 M
 PL28: 15.0000000 M
 PL29: 15.0000000 M
 PL30: 15.0000000 M
 PL31: 15.0000000 M
 PL32: 15.0000000 M
 PL33: 15.0000000 M
 PL34: 15.0000000 M
 PL35: 15.0000000 M
 PL36: 15.0000000 M
 PL37: 15.0000000 M
 PL38: 15.0000000 M
 PL39: 15.0000000 M
 PL40: 15.0000000 M
 PL41: 15.0000000 M
 PL42: 15.0000000 M
 PL43: 15.0000000 M
 PL44: 15.0000000 M
 PL45: 15.0000000 M
 PL46: 15.0000000 M
 PL47: 15.0000000 M
 PL48: 15.0000000 M
 PL49: 15.0000000 M
 PL50: 15.0000000 M
 F2 - Processing parameters
 SI: 32768
 SF: 75.4803110 MHz
 SFO1: 75.4803110 MHz
 SFO2: 500.1312007 MHz
 WDW: EM
 SSB: 0
 LB: 0.0000000 Hz
 GB: 0
 PC: 1.40



Şekil 5.58. ¹³C-NMR ait spektrumu (3o)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analz\data\SDF-20_20.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	3	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	1	1	Cl	1	1	1	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

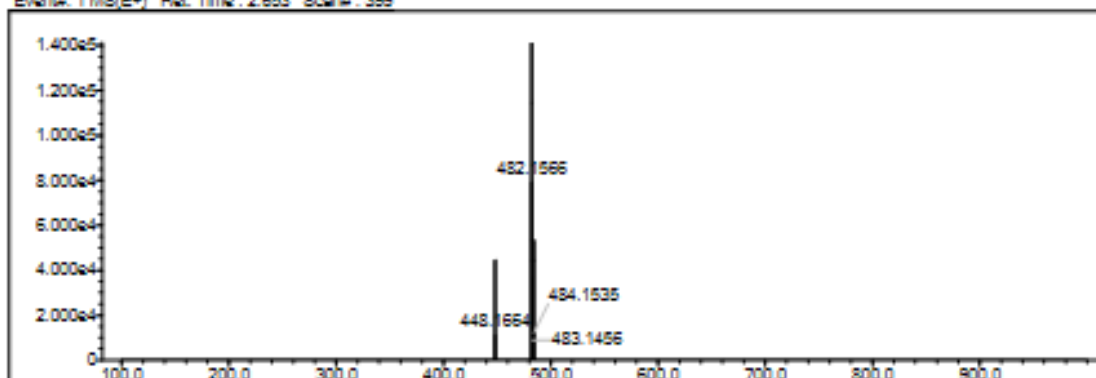
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

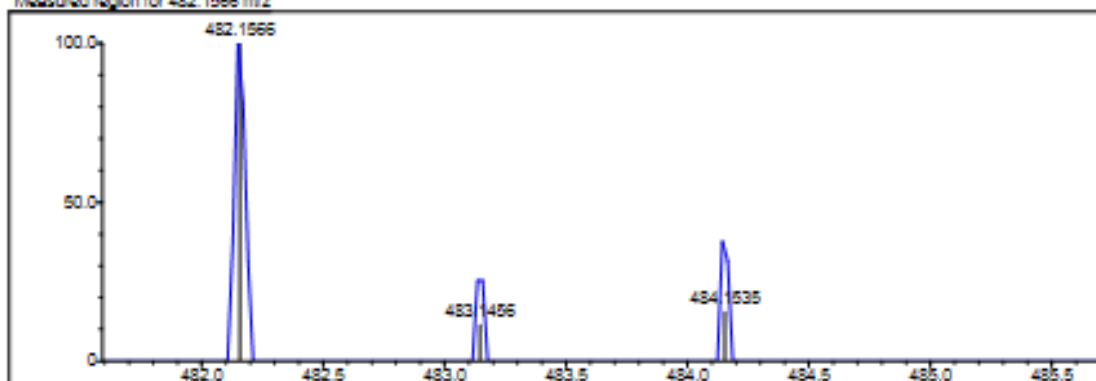
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

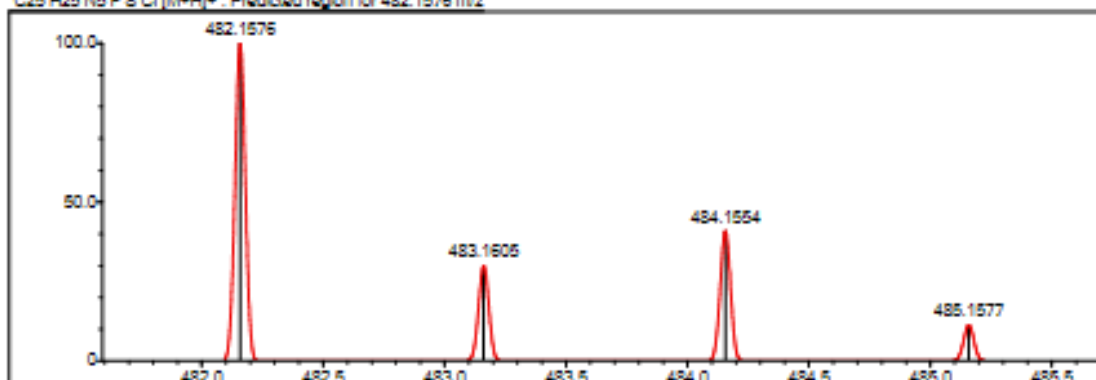
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.653 Scan#: 399



Measured region for 482.1566 m/z



C25 H25 N5 F 8 Cl [M+H]+ : Predicted region for 482.1576 m/z

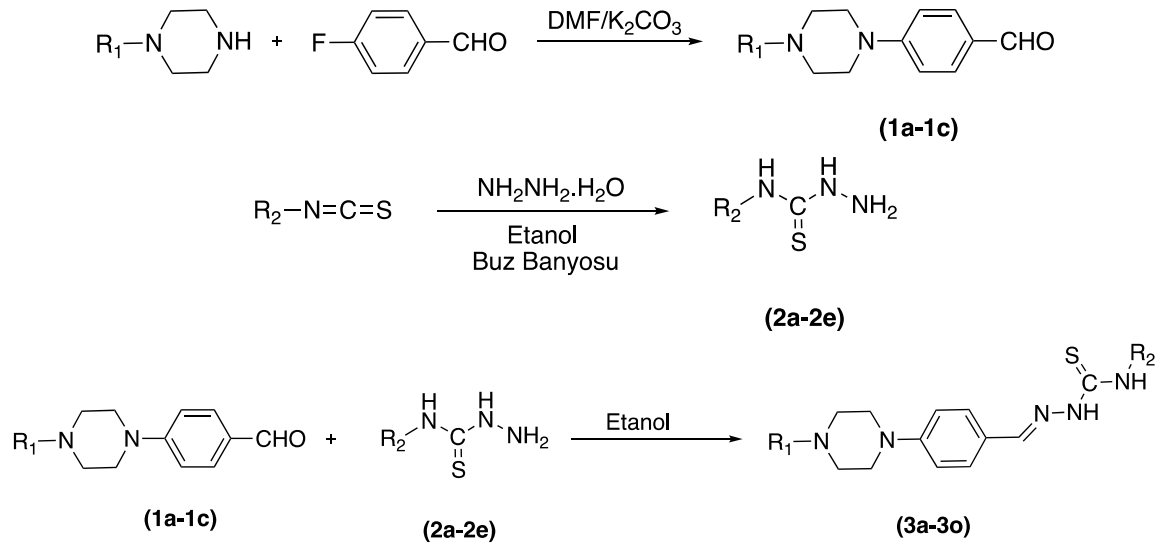


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mass. m/z	Pred. m/z	DK. (mDa)	DK. (ppm)	Iso	DBE
1	34.71	C25 H25 N5 F 8 Cl	[M+H]+	482.1566	482.1576	-1.0	-2.07	35.67	15.0

Şekil 5.59. HRMS spektrumu (30)

5.2. Sentez Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Yürütülen tez kapsamında 15 yeni tiyosemikarabzon türevi bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin sentezi üç basamaklı bir yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.60). İlk olarak sekonder amin ve 4-floro benzaldehit reaksiyona sokularak 4-süstitüe benzaldehit türevleri sentezlenmiştir. İkinci basamakta İzotiyosiyonat türevleri, hidrazin hidrat ile reaksiyona sokularak tiyosemikarbazit türevleri elde edilmiştir. Son olarak sentezlenen 4-süstitüe benzaldehit ve tiyosemikarbazit türevleri reaksiyona sokularak tiyosemikarbazon türevleri elde edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve HRMS spektroskopik yöntemleri ile aydınlatılmıştır.



Bileşik	R ₁	R ₂
3a	Fenil	Etil
3b	Fenil	Allil
3c	Fenil	Fenil
3d	Fenil	4-Metoksifenil
3e	Fenil	4-Klorofenil
3f	4-Florofenil	Etil
3g	4-Florofenil	Allil
3h	4-Florofenil	Fenil
3i	4-Florofenil	4-Metoksifenil
3j	4-Florofenil	4-Klorofenil
3k	4-Florobenzil	Etil
3l	4-Florobenzil	Allil
3m	4-Florobenzil	Fenil
3n	4-Florobenzil	4-Metoksifenil
3o	4-Florobenzil	4-Klorofenil

Şekil 5.60. Hedef bileşiklerin sentezi

5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

Sentez çalışmaları sonucunda 15 adet yeni tiyosemikarbazon türevi bileşik elde edilmiştir. Bileşiklerin yapılarının aydınlatılması için spektroskopik yöntemlere başvurulmuştur. Bu amaçla HRMS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR teknikleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar tahmin edildiği gibidir. Tez kapsamında tüm bileşiklerin analiz sonuçları ve raporları sunulmuştur.

5.3.1. ¹H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Tez kapsamında elde edilen bileşiklerin alifatik ve aromatik protonları beklenildiği şekilde gözlenmiştir. Bileşiklerin genel yapıları incelendiğinde hepsinde ortak olarak piperazin halka sistemi, tiyosemikarbazon yapısı ve 1,4-disübstitüe benzen halkası bulunmaktadır.

Ortak yapılar haricinde bileşik **3a**, **3f** ve **3k** etil sübstitüenti içermektedir. Etil yapısına ait protonlar 1.14 ppm de $J=7.1$ Hz değeri ile 3 protonluk triplet şeklinde gözlenmiştir. Etil yapısına ait diğer protonlar ise 3.54-3.63 ppm aralığında 2 protonluk multipleret olarak kaydedilmiştir.

Bileşik **3b**, **3g** ve **3l** ise yapılarında allil grubu taşımaktadır. Bu gruba ait protonlar 4.20-4.21 ppm de $J= 5.6$ Hz değeri ile 2 protonluk triplet olarak gözlenmiştir. Allil grubunun diğer protonları ise 5.06- 5.18 ppm değeri aralığında 2 protonluk multipleret ve 5.87- 5.96 ppm değeri aralığında 1 protonluk multipleret olarak gözlenmiştir.

Bileşiklerin hepsinde ortak olarak bulunan piperazin halkası incelendiğinde bileşikler **3a-3j** 3.19-3.29 ppm değerinde 4 protonluk multipleret ve 3.37-3.42 ppm değerinde 4 protonluk multipleret olarak gözlenmiştir. Bileşikler **3k-3o**'ya ait piperazin protonları ise 2.46-2.50 ppm değerinde ve 3.21-3.42 ppm değeri aralığında gözlenmiştir. Aradaki bu farkın bileşikler **3k-3o**'nun benzil yapısı taşımasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Bileşiklerin hepsinde ortak olarak bulunan bir diğer yapı ise imin grubuna bağlı metilen protonudur. Bu gruba ait protonlar 7.95-8.07 ppm değerleri arasında 1 protonluk singlet pik şeklinde gözlenmiştir. İmin yapısına yakın olan azot hidrojeni ise 11.26-11.76 ppm değerleri arasında singlet olarak gözlenmiştir.

İzotiyosiyanat kalıntısından gelen amin grubu ise 8.39-10.05 ppm değeri aralığında gözlenmiştir. Etil grubu içeren bileşiklere (**3a**, **3f**, **3k**) ait amin grubu protonları $J=5.9$ Hz

değeri ile triplet olarak gözlenmiştir. Benzer şekilde allil grubu içeren bileşiklere (**3b**, **3g**, **3l**) ait amin protonları $J=5.9$ Hz değeri ile triplet olarak gözlenmiştir.

Bahsi geçen bu protonların dışında kalan diğer sübtitüe benzen protonları literatür verileri ile uyumlu olarak gözlenmiştir.

5.3.2. ^{13}C -NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Tez kapsamında elde edilen bileşiklerin ^{13}C -NMR verileri incelendiğinde yapıdaki tüm alifatik ve aromatik karbonların beklenildiği şekilde elde edildiği görülmüştür. C=S grubuna ait pikler 175.58-177.11 ppm değerleri arasında kaydedilmiştir. Bu grup haricinde kalan alifatik karbonlara ait pikler 15.22-61.49 ppm değerleri arasında gözlenirken; aromatik karbonlara ait pikler ise 113.63-161.75 ppm değerleri arasında gözlenmiştir.

5.3.3. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentez edilen bileşiklerin kütle spektrumları yüksek çözünürlüklü kütle spektroskopisi cihazında, elektron spray iyonizasyon tekniği ile pozitif modda incelenmiştir ve elde edilen kütleler teorik kütlelere en fazla 5 ppm uzaklıkta aranmıştır ve sonuçlar uyumlu olarak elde edilmiştir.

5.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi

5.4.1. AChE ve BChE enzim aktivite çalışmalarının değerlendirilmesi

Tez kapsamında 15 adet yeni tiyosemikarbazon türevi bileşik sentezlenmiş ve yapı tayini ile yapıları aydınlatılmıştır. Elde edilen bu bileşiklerin kolinesteraz enzimine karşı inhibitör etkinlikleri incelenmek üzere *in vitro* Ellman metodu kullanılmıştır. Aktivite testlerinde öncelikle tüm bileşiklerin ve referans ilaçların 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonda çözeltileri hazırlanmış ve AChE ve BChE enzimlerine karşı inhibitör etkileri incelenmiştir. Bu ilk adımda %50 üzeri inhibitör etkinlik gösteren bileşikler ikinci adım aktivite testlerine tabi tutulmuştur. İkinci adımda ise bileşiklerin 10^{-3} - 10^{-9} M konsantrasyonda bileşik çözeltileri hazırlanmış ve aktif bileşiklerin IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar **Tablo-5.1**'de sunulmuştur.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde bileşiklerin hiçbirinin BChE enzimi üzerinde aktivite göstermediği görülmüştür. BChE daha ziyade perifer hücrelerde bulunduğu için AH hedefi AChE enzimi olmuştur. Bu sebeple BChE enzimi üzerinde inhibitör etkinlik

göstermemesi bileşiklerin değerini düşürmemektedir. Tam aksine, seçici inhibitörler sayesinde yan etki görülme oranı azalmaktadır.

AChE enzimi üzerindeki aktivite değerleri incelendiğinde ise bileşikler **3b**, **3c**, **3e**, **3k**, **3l**, **3m**, **3n** ve **3o** önemli aktivite profili sergilemişlerdir. Bu bileşiklerin IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.250±0.012 µM, 0.378±0.017 µM, 0.192±0.009 µM, 0.033±0.001 µM, 0.092±0.004 µM, 0.046±0.002 µM, 0.077±0.003 µM, 0.115±0.005 µM olarak hesaplanmıştır. Donepezil IC₅₀=0.0201±0.0014 µM değeri ile AChE enzimine karşı aktivite sergilemektedir. Özellikle bileşik **3k** IC₅₀=0.033±0.001 µM değeri ile donepezile yakın bir aktivite potansiyeli sergilemiştir.

Aktivite sonuçlarına bakıldığında benzil piperazin içeren bileşiklerin diğer bileşiklere kıyasla daha aktif oldukları görülmüştür. Bu bileşikler arasından ise tiyosemikarbazon kalıntısında etil süstitüenti taşıyan türev (**3k**) en aktif bulunmuştur. Tiyosemikarbazon kalıntısına bağlı süstitüent hacmi arttıkça aktivitenin azaldığı görülmektedir.

5.4.2. MAO-A ve MAO-B enzim aktivite çalışmalarının değerlendirilmesi

AChE enzimi yanında bileşiklerin bileşiklerin dual etki potansiyellerini incelemek için MAO enzim inhibitör aktiviteleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar **Tablo-5.1**'de sunulmuştur. Selejilin ve moklobemid referans ilaçlar olarak kullanılmıştır. Aktivite testleri iki adımda gerçekleştirilmiş ve ilk adımda yine 10⁻³ ve 10⁻⁴ M konsantrasyondaki bileşikler ve referans ilaçlar hazırlanarak aktivite potansiyelleri incelenmiştir. MAO-A enzimi üzerinde elde edilen sonuçlara göre bileşiklerin hiçbiri %50 üzerinde inhibitör etkinlik gösterememiştir.

MAO-B enzimi üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde selejilin referans molekülünün IC₅₀=0.0374±0.0016 µM değeri ile aktivite gösterdiği bilinmektedir. Bileşikler **3f**, **3i**, **3k**, **3l**, **3m**, **3n**, **3o** ise sırasıyla IC₅₀=0.336±0.015 µM, 0.428±0.020 µM, 0.062±0.002 µM, 0.143±0.006 µM, 0.094±0.004 µM, 0.183±0.008 µM, 0.241±0.011 µM değeri ile MAO-B enzimine karşı inhibitör etkinlik göstermiştir. Selejiline en yakın aktivite potansiyelini ise bileşik **3k** sergilemiştir. Bileşik **3k** hem AChE hem de MAO-B enzimlerini önemli düzeyde inhibe ederek dual etkili bileşik profili sergilemiştir. Bileşiklerin yapı-etki ilişkilerinin daha yakından incelenebilmesi için *in silico* çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Tablo 5.1 Elde edilen bileşiklerin 10⁻³ ve 10⁻⁴ M konsantrasyonlarında AChE, BChE, MAO-A ve MAO-B enzimine karşı % inhibisyon oranları ve IC₅₀ (μM) değerleri

Bileşik	AChE % İnhibisyon		AChE IC ₅₀ (μM)	BChE % İnhibisyon		BChE IC ₅₀ (μM)	MAO-A % İnhibisyon		MAO-A IC ₅₀ (μM)	MAO-B % İnhibisyon		MAO-B IC ₅₀ (μM)
	10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M		10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M		10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M		10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M	
3a	72.634 ±2.164	42.367 ±0.851	>100	31.232 ±0.932	23.532 ±0.748	>1000	42.523 ±1.332	29.241 ±0.882	>1000	55.354 ±1.336	35.633 ±0.857	>100
3b	88.415 ±1.637	85.484 ±1.051	0.250 ±0.012	35.941 ±1.055	30.314 ±0.836	>1000	45.341 ±1.552	26.665 ±0.937	>1000	62.487 ±1.632	42.741 ±0.951	>100
3c	83.174 ±2.337	76.151 ±1.275	0.378 ±0.017	30.469 ±0.962	21.168 ±0.774	>1000	40.257 ±1.074	27.487 ±0.827	>1000	48.762 ±0.928	40.452 ±0.974	>1000
3d	46.898 ±1.023	38.728 ±0.974	>1000	28.157 ±0.889	24.479 ±0.851	>1000	38.189 ±0.921	24.824 ±0.737	>1000	46.518 ±0.839	41.867 ±0.851	>1000
3e	89.562 ±1.855	87.461 ±0.837	0.192 ±0.009	25.748 ±0.731	20.820 ±0.810	>1000	46.464 ±1.315	30.199 ±1.087	>1000	54.996 ±1.057	43.948 ±0.766	>100
3f	81.333 ±2.167	48.934 ±0.928	>100	36.664 ±1.154	31.915 ±0.937	>1000	42.822 ±1.432	31.761 ±0.851	>1000	83.155 ±1.857	78.169 ±1.864	0.336 ±0.015
3g	74.741 ±1.985	44.847 ±0.755	>100	39.528 ±1.121	27.764 ±0.762	>1000	37.734 ±1.039	31.932 ±0.947	>1000	40.232 ±0.962	30.351 ±0.919	>1000
3h	49.928 ±0.874	37.585 ±0.809	>1000	30.399 ±1.074	21.067 ±0.889	>1000	38.651 ±1.231	30.245 ±0.974	>1000	42.841 ±1.003	31.420 ±0.932	>1000
3i	48.564 ±0.961	30.691 ±0.917	>1000	24.858 ±0.809	19.890 ±0.832	>1000	43.978 ±1.634	28.378 ±0.723	>1000	84.678 ±1.557	77.575 ±1.157	0.428 ±0.020
3j	69.054 ±1.864	41.536 ±0.862	>100	28.231 ±0.974	22.389 ±0.737	>1000	47.069 ±0.974	29.510 ±0.957	>1000	70.454 ±2.046	41.289 ±0.822	>100
3k	96.438 ±2.632	93.336 ±1.257	0.033 ±0.001	32.028 ±1.255	21.631 ±0.830	>1000	40.128 ±1.333	24.068 ±0.857	>1000	92.398 ±2.862	88.664 ±1.337	0.062 ±0.002

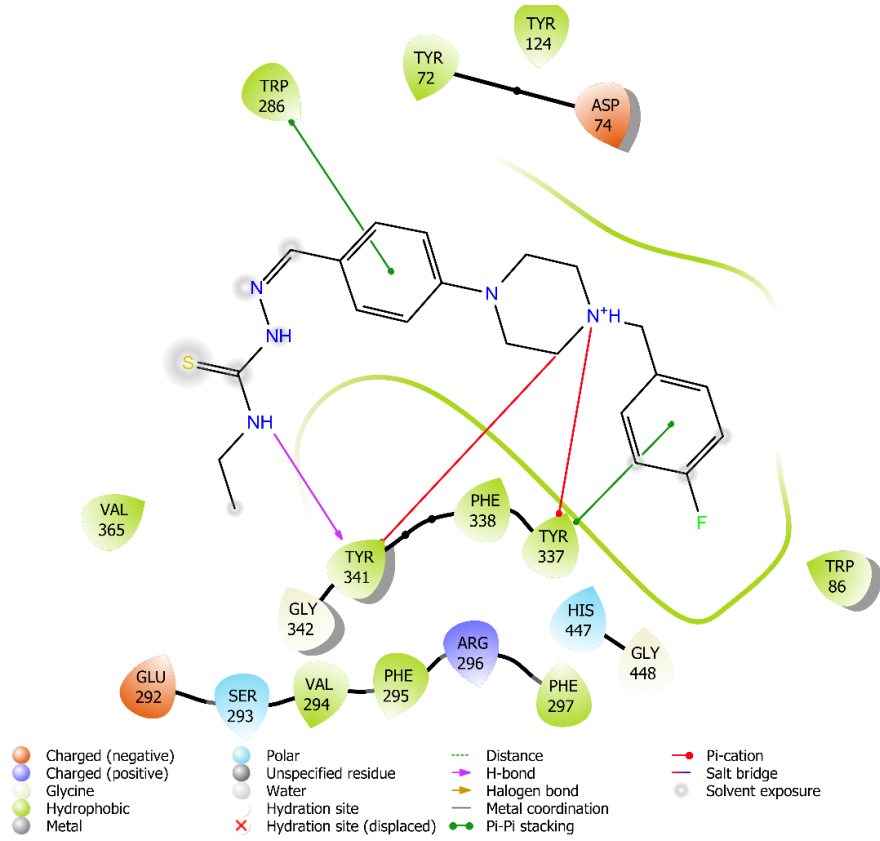
3l	91.195 ±2.164	87.457 ±1.057	0.092 ±0.004	36.107 ±1.339	26.102 ±0.851	>1000	38.633 ±0.932	32.199 ±0.857	>1000	89.262 ±1.952	87.864 ±2.237	0.143 ±0.006
3m	95.562 ±1.831	91.648 ±2.157	0.046 ±0.002	39.667 ±1.064	32.241 ±0.975	>1000	48.308 ±1.839	36.741 ±0.955	>1000	91.831 ±2.354	89.051 ±1.737	0.094 ±0.004
3n	93.840 ±1.678	89.792 ±1.490	0.077 ±0.003	37.864 ±0.931	30.058 ±0.820	>1000	41.451 ±1.182	34.608 ±0.734	>1000	88.504 ±2.157	84.429 ±1.904	0.183 ±0.008
3o	90.978 ±2.261	87.155 ±1.244	0.115 ±0.005	31.475 ±0.975	26.574 ±0.822	>1000	40.740 ±1.236	30.965 ±0.864	>1000	87.759 ±1.741	81.537 ±1.065	0.241 ±0.011
Donepezil	99.156 ±1.302	97.395 ±1.255	0.0201 ±0.0014	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Takrin	-	-	-	99.827 ±1.378	98.651 ±1.402	0.0064 ±0.0002	-	-	-	-	-	-
Moklobemid	-	-	-	-	-	-	94.121 ±2.760	82.143 ±2.691	6.0613 ±0.2625	-	-	-
Selejilin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98.589 ±2.055	94.850 ±1.114	0.0374 ±0.0016

5.5. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi

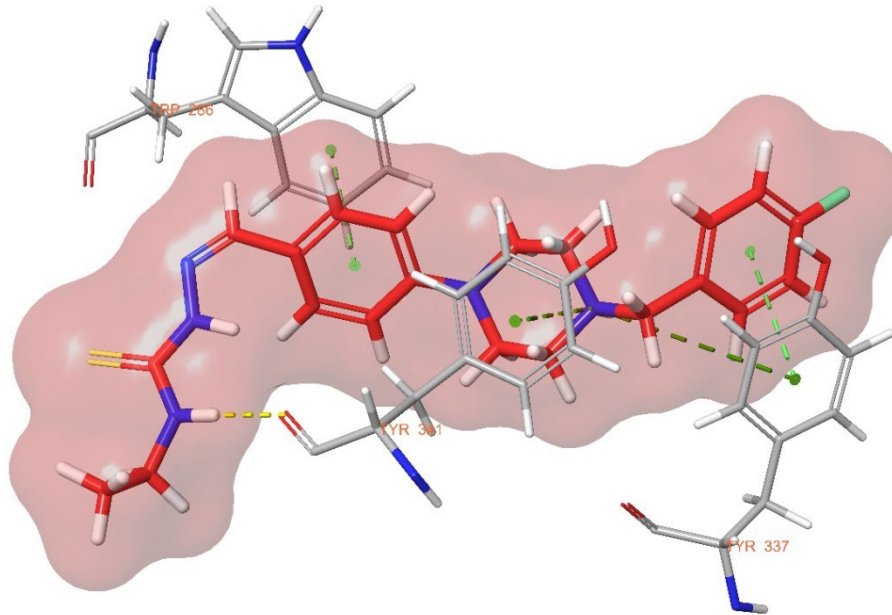
Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen, AChE ve MAO-B enzimleri üzerine inhibisyon aktivitesi en yüksek bulunan bileşikler **3k**, **3l**, **3m**, **3n** ve **3o**'nun moleküler modelleme çalışmaları AChE (PDB: 4EY7 [65]) ve MAO-B (PDB: 2V5Z [66]) enzimlerinin kristalleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Doking çalışmaları *Schrödinger Suite 2020 Update 2* [67] programı kullanılarak standart prosedürler ile gerçekleştirilmiştir. *LigPrep 3.8* [68], *Glide 7.1* [69] ara yüzleri kullanılarak single precision (SP) ile docking işlemi gerçekleştirilmiştir.

Yapılan birçok modelleme çalışmasında donepezilin çift bağlanma bölgesi özelliği (dualbindingside-DBS) ile AChE enziminin her iki bölgesi ile de etkileşerek geçide çok iyi yerleştiği belirlenmiştir. 2012 yılında Cheung ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada donepezilin AChE enzim aktif bölgelerine bağlanma noktaları analiz edilerek donepezilin aktif bölgelerle olan etkileşimleri açıklanmıştır. Enzim aktif yöresi CAS ve PAS olarak nitelendirilen iki bölümden oluşmaktadır. Donepezilin yapısında yer alan benzil halkası ile Trp86 amino asidinin indol halkası arasında tespit edilen π - π etkileşimi CAS bölgesinde görülen bir etkileşimdir. Kimyasal yapıda bulunan karbonil oksijeni önemli bir etkileşime sahiptir. İndanon halkasında yer alan karbonil oksijeninin Phe338'in amino grubu ile bir hidrojen bağı oluşturduğu tespit edilmiştir. PAS bölgesi incelendiğinde ise indanon halkası ile Trp286'daki indol halkası arasında bir π - π etkileşimi oluşturduğu görülmektedir. Kimyasal yapının orta kısmında bulunan piperidin halkasının hem CAS hem de PAS bölgeleriyle van der Waals etkileşimi yaparak enzim aktif bölgesine bağlanmada katkı sağladığı belirlenmiştir [65].

Şekil 5.60 ve **5.61** incelendiğinde bileşik **3k**'nin AchE enzim aktif yöresi ile etkileşimi görülmektedir. Tiyosemikarbazid kısmının uç amini ile Tyr341 aminoasidinin karbonil grubu arasında bir hidrojen bağı gözlenmektedir. Aynı aminoasidin fenil halkası ise piperazin halkasının azotu ile katyon- π etkileşimi sergilemektedir. Piperazin halkasının azotu aynı zamanda Tyr337 aminoasidinin fenil halkası ile katyon- π etkileşimi oluşturmuştur. Piperazin halkasına bağlı 4-florobenzil yapısına ait fenil halkası Tyr337 aminoasidinin fenil halkası ile π - π etkileşimi oluştururken; yapıda bulunan diğer fenil halkası ise Trp286 aminoasidinin indol halkası ile π - π etkileşimi oluşturmuştur.

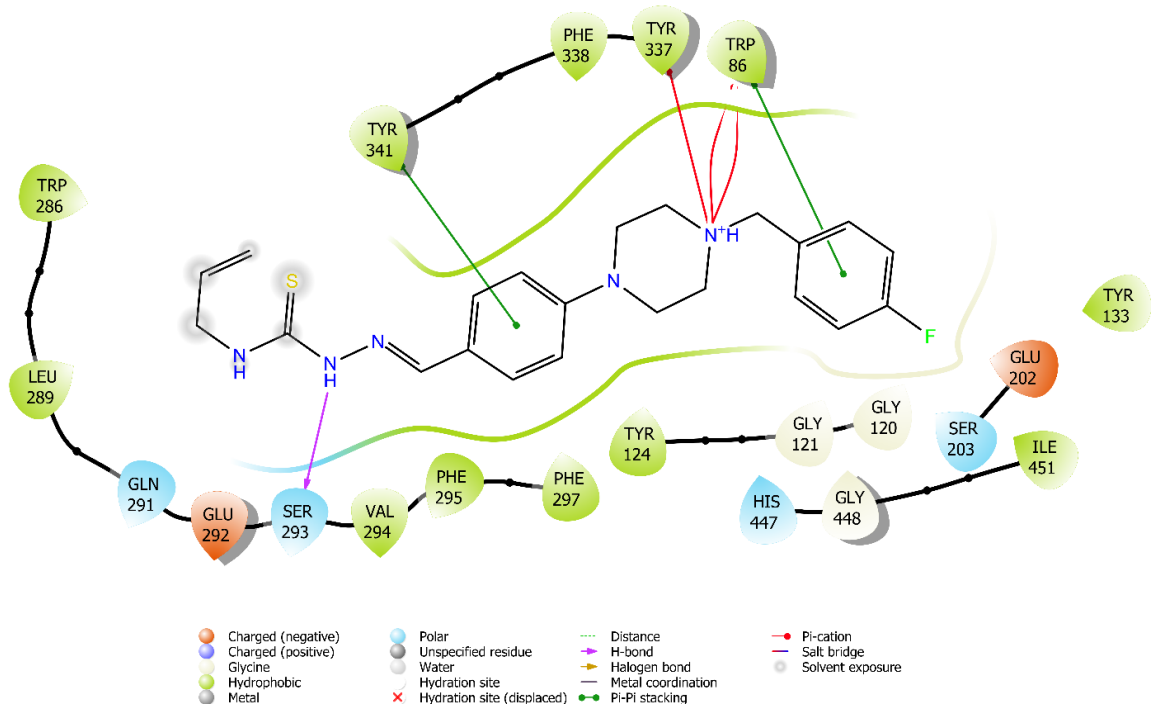


Şekil 5.61. Bileşik 3k'nın iki boyutlu olarak AChE enzim aktif yoresiyle etkileşimi.

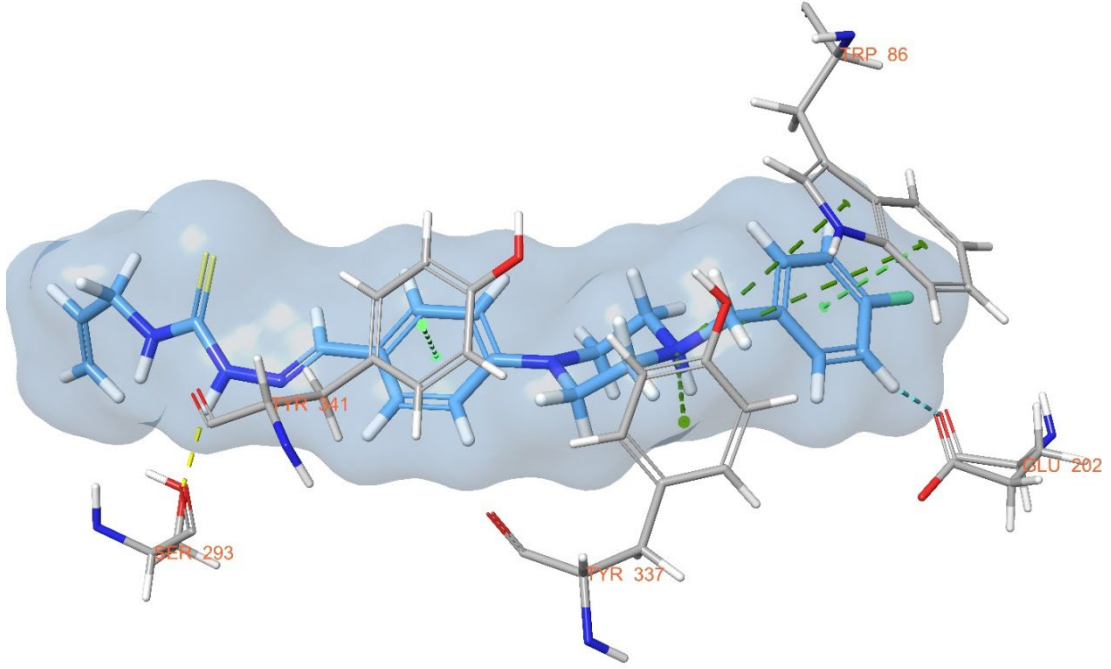


Şekil 5.62. Bileşik 3k'nın üç boyutlu olarak AchE enzim aktif bölgesiyle etkileşimi (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler gri renkli, bileşik 3k ise kırmızı renkli gösterilmiştir).

Şekil 5.62 ve 5.63 incelendiğinde bileşik 3I'nin AchE enzim aktif yoresi ile etkilesimi görölmektedir. Tiyosemikarbazid kısmının amini ile Ser293 aminoasidinin hidroksil grubu arasında bir hidrojen bağı gözlenmektedir. Bileşik 3I'nin fenil halkası ile Tyr341 aminoasidinin fenil halkası arasında π - π etkilesimi görölmektedir. Piperazin halkasının azotu ile Tyr337 aminoasidinin fenil halkası arasında bir tane, Trp86 aminoasidinin indol halkası ile iki tane katyon- π etkilesimi sergilemiştir. Trp86 aminoasidinin indol halkası ile 4-florobenzil halkası arasında da π - π etkilesimi görölmüştür.



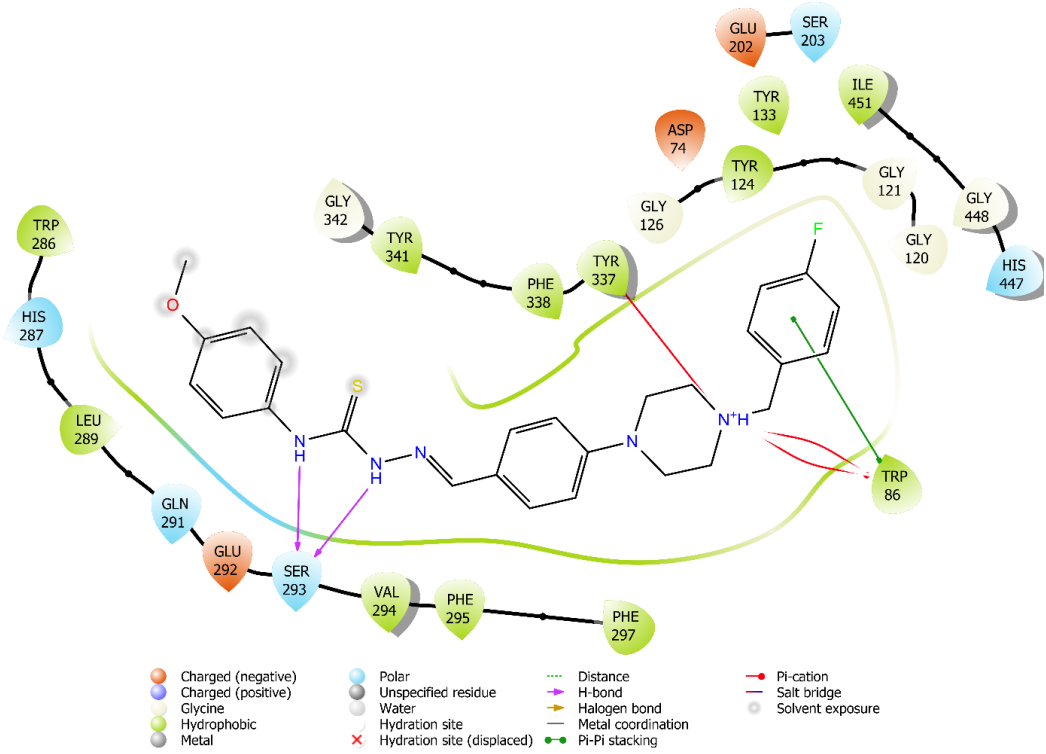
Şekil 5.63. Bileşik 3I'nin iki boyutlu olarak AchE enzim aktif yoresiyle etkilesimi.



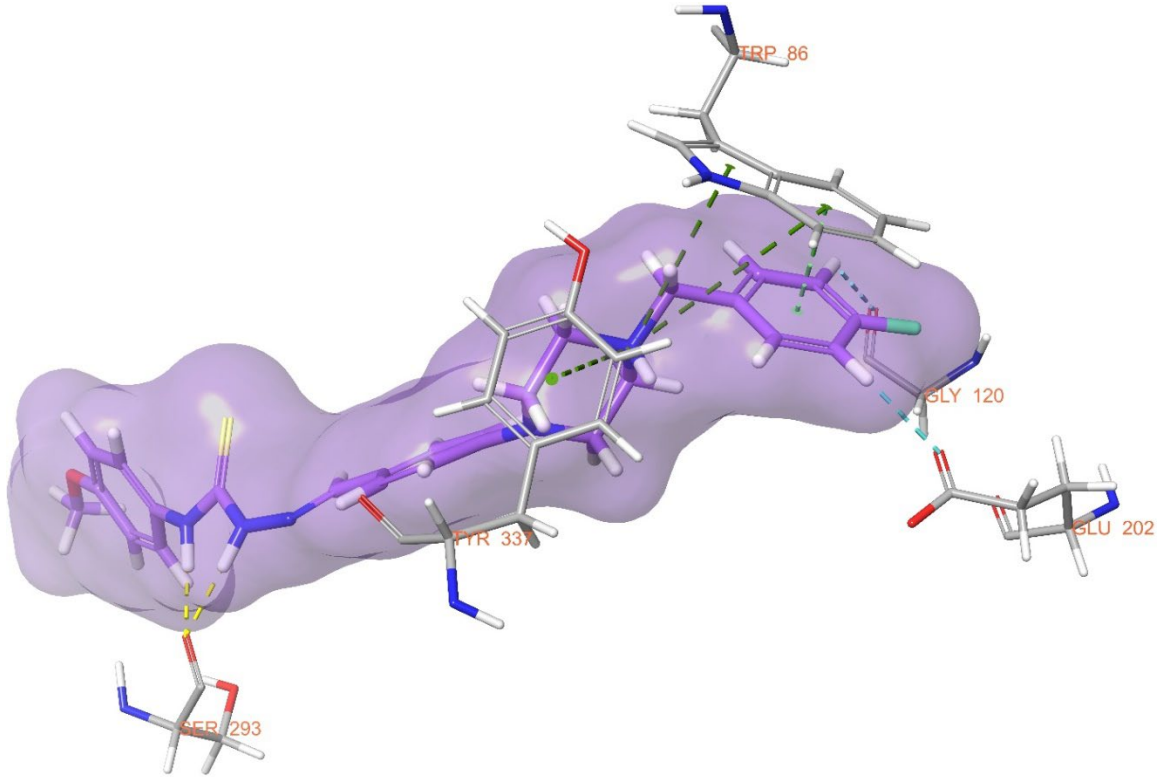
Şekil 5.64. Bileşik **3k**'nin üç boyutlu olarak AchE enzim aktif bölgesiyle etkileşimi (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler gri renkli, bileşik **3k** ise mavi renkli gösterilmiştir).

Şekil 5.64 ve **Şekil 5.65** incelendiğinde bileşik **3m**'nin AChE enzim aktif yöresi ile etkileşimi görülmektedir. Tiyosemikarbazid kısmının her iki amini ile Ser293 aminoasidinin hidroksil grubu arasında ikili hidrojen bağı gözlenmektedir. Tiyosemikarbazid kalıntısına bağlı fenil halkası Gln291 aminoasidinin karbonili ile aromatik hidrojen bağı oluşturmuştur. Bileşik **3m**'nin fenil halkası ile Tyr341 aminoasidinin fenil halkası arasında π - π etkileşimi görülmektedir. Piperazin halkasının azotu ile Tyr337 aminoasidinin fenil halkası arasında bir tane, Trp86 aminoasidinin indol halkası ile iki tane katyon- π etkileşimi gözlenmiştir. Trp86 aminoasidinin indol halkası ile 4-florobenzil yapısı arasında da iki tane π - π etkileşimi görülmüştür. Son olarak 4-florobenzil yapısı ile Glu202 arasında aromatik hidrojen bağı gözlenmektedir.

Şekil 5.66 ve Şekil 5.67 incelendiğinde bileşik 3n'nin AChE enzim aktif yoresi ile etkileşimi görülmektedir. Tiyosemikarbazid kısmının her iki amini ile Ser293 aminoasidinin hidroksil grubu arasında ikili hidrojen bağı gözlenmektedir. Piperazin halkasının azotu ile Tyr337 aminoasidinin fenil halkası arasında bir tane, Trp86 aminoasidinin indol halkası ile iki tane katyon- π etkileşimi sergilemiştir. Trp86 aminoasidinin indol halkası ile 4-florobenzil halkası arasında da bir tane π - π etkileşimi görülmüştür. 4-Florobenzil halkası aynı zamanda Gly120 ve Glu202 aminoasitlerinin karbonil grupları ile aromatik hidrojen bağı sergilemiştir.

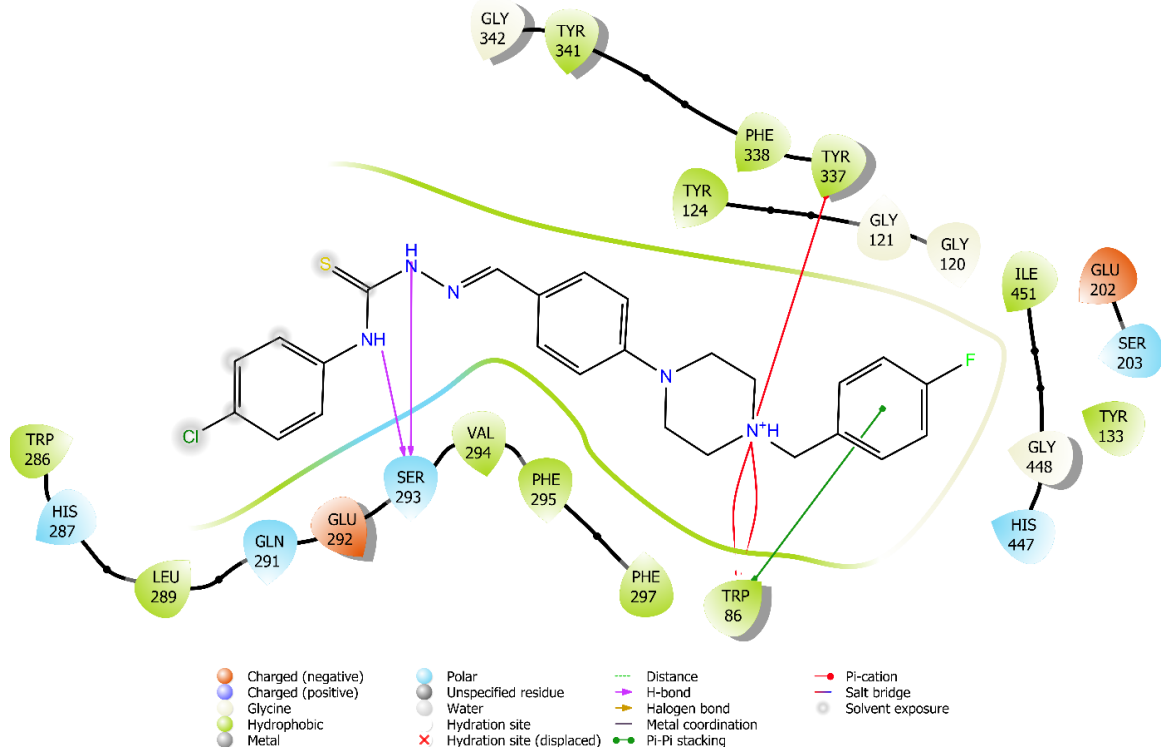


Şekil 5.67. Bileşik 3n'nin iki boyutlu olarak AChE enzim aktif yoresiyle etkileşimi.

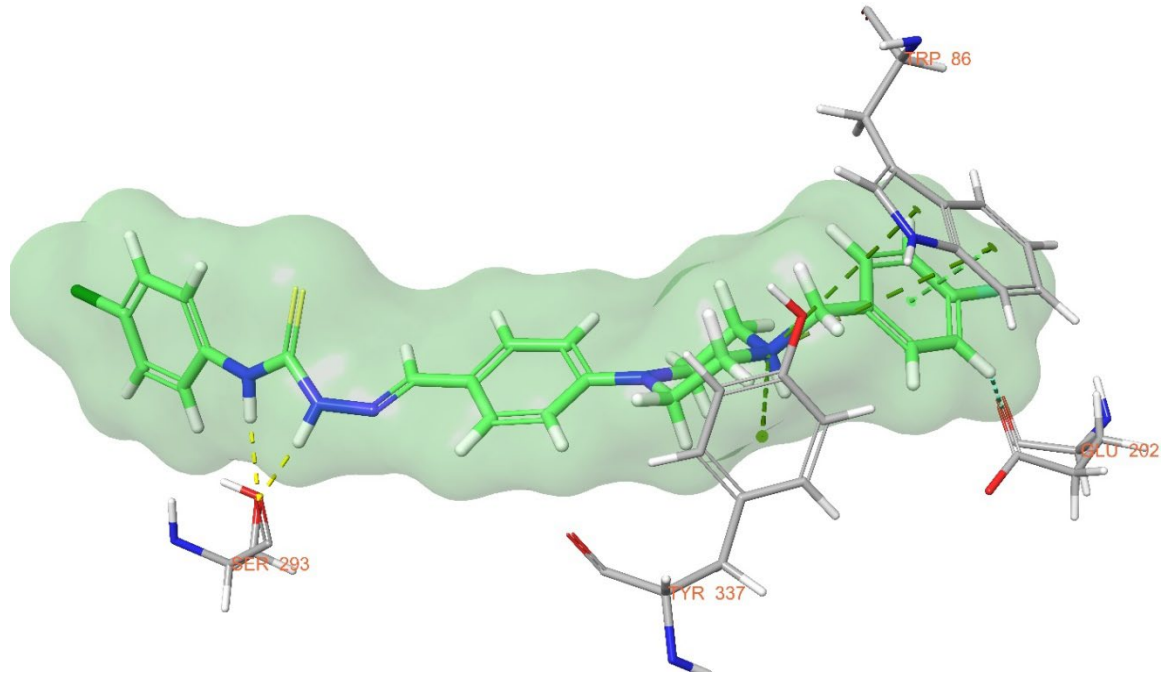


Şekil 5.68. Bileşik 3n'nin üç boyutlu olarak AchE enzim aktif bölgesiyle etkileşimi (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler gri renkli, bileşik 3n ise mor renkli gösterilmiştir).

Şekil 5.68 ve **Şekil 5.69** incelendiğinde bileşik 3o'nun AchE enzim aktif yöresi ile etkileşimi görülmektedir. Tiyosemikarbazid kısmının her iki amini ile Ser293 aminoasidinin hidroksil grubu arasında ikili hidrojen bağı gözlenmektedir. Piperazin halkasının azotu ile Tyr337 aminoasidinin fenil halkası arasında bir tane, Trp86 aminoasidinin indol halkası ile iki tane katyon- π etkileşimi sergilemiştir. Trp86 aminoasidinin indol halkası ile 4-florobenzil halkası arasında da bir tane π - π etkileşimi görülmüştür. 4-Florobenzil yapısı aynı zamanda Glu202 aminoasidinin karbonil grubu ile aromatik hidrojen bağı sergilemiştir.

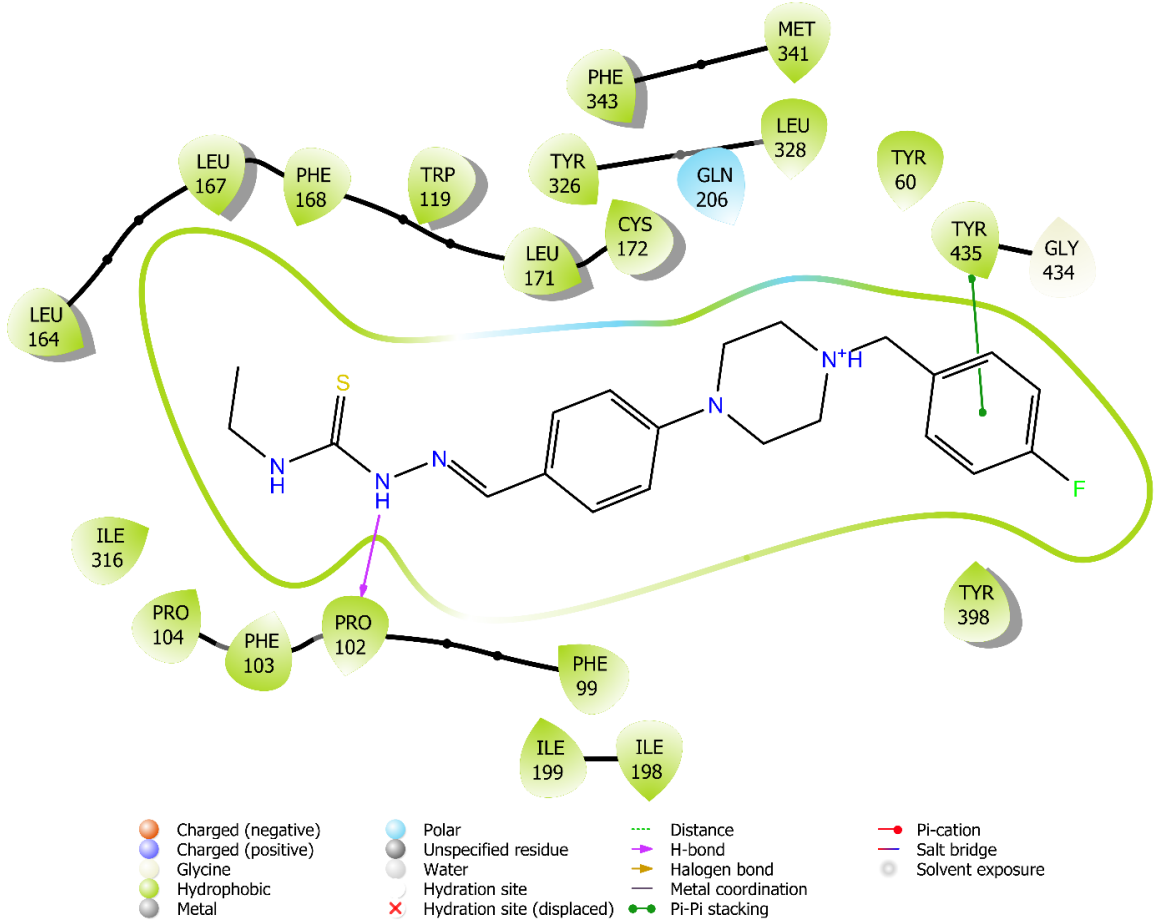


Şekil 5.69. Bileşik 30'nun iki boyutlu olarak AChE enzim aktif yöresiyle etkileşimi.

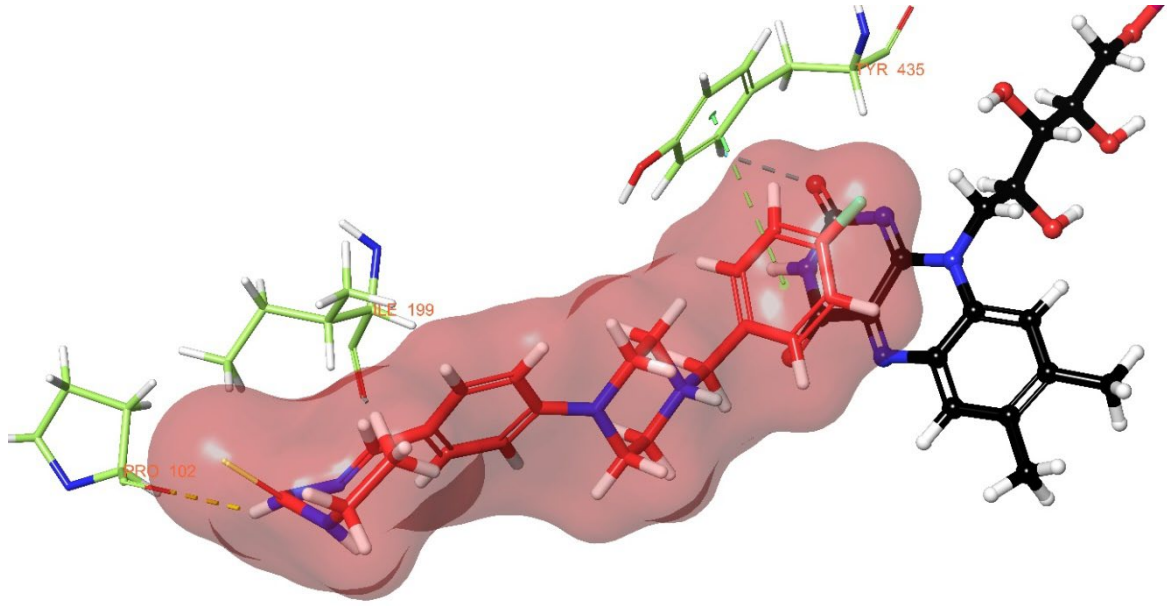


Şekil 5.70. Bileşik 30'nun üç boyutlu olarak AchE enzim aktif bölgesiyle etkileşimi (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler gri renkli, bileşik 30 ise yeşil renkli gösterilmiştir).

Şekil 5.70 ve 5.71 incelendiğinde bileşik 3k'nın MAO-B enzim aktif yoresi ile etkileşimi görülmektedir. Tiyosemikarbazid kısmının amini ile Pro102 aminoasidinin karbonil grubu arasında bir hidrojen bağı gözlenmektedir. Tiyosemikarbazid kalıntısına bağılı etil grubu ise Ile199 aminoasidinin karbonil grubu ile aromatik hidrojen bağı oluşturmuştur. Son olarak 4-florobenzil yapısındaki fenil halkası ile Tyr435 aminoasidinin fenil halkası arasında π - π etkileşimi görülmüştür.



Şekil 5.71. Bileşik 3k'nın iki boyutlu olarak MAO-B enzim aktif yöresiyle etkileşimi.



Şekil 5.72. Bileşik **3k**'nin üç boyutlu olarak MAO-B enzim aktif bölgesiyle etkileşimi (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler yeşil renkli, bileşik **3k** ise kırmızı renkli gösterilmiştir. FAD ise siyah renk ile belirtilmiştir).

Sonuç olarak tüm veriler incelendiğinde bileşikler **3k-3o** AchE enzimine karşı elde edilen diğer bileşiklerden daha aktif bulunmuştur. Piperazin halkasına bağlı benzil grubunun bu aktivite farkını yarattığı düşünülmektedir. Bu bileşikler kendi arasında kıyaslandığında ise bileşikler **3m**, **3n** ve **3o**'nun bileşikler **3k** ve **3l**'ye göre daha aktif olduğu görülmektedir. Bu durumda tiyosemikarbazid kısmına getirilen aromatik sübstitüentlerin aktiviteyi arttırdığı düşünülmektedir. Aromatik yapı içeren bileşiklerin hepsi Glu202 aminoasidi ile aromatik hidrojen bağı oluşturmuştur. Aktivitede gözlenen artış bu bağ ile de açıklanabilir. MAO-B enzimi ile gerçekleştirilen çalışmalarda ise bileşik **3k**'nin potansiyel bir MAO-B inhibitörü olduğu fark edilmiştir. Ve yapılan *in silico* çalışmalar ile de bu kanıtlanmıştır. Bileşik **3k** MAO-B enziminde FAD molekülüne yakın bir şekilde konumlanmaktadır. Ayrıca MAO-B enzim aktif bölgesinde önemli aminoasitler ile etkileşim göstermiştir. Sonuç olarak bileşik **3l-3o** AchE enzimi üzerinden inhibitör etkinlik gösterirken; bileşik **3k** ise AchE-MAO-B enzimleri üzerinden dual etkinlik sergilemiştir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Artan küresel yaşam süresi ve yaşlanan nüfusla birlikte demans insidansı hızla artmaktadır. 2030 yılına kadar demanslı birey sayısının 75,6 milyona yükseleceği ve 2050 yılına kadar 135,5 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Günümüzde AH'nın tedavisinde AChE inhibitörleri olan donepezil, rivastigmin, galantamin ve NMDA reseptör antagonisti olan memantin kullanılmaktadır. Bu ilaçlar hastalığın semptomlarını nispeten önlemekte ve hastanın yaşam kalitesini nispeten yükseltmektedir ancak tedavi etmemektedir. AH'nın radikal tedavisinin olmaması, mevcut tedavilerin yetersizliği ve kullanılan ilaçların potansiyel yan etkileri bu alanda yeni ilaç geliştirme çalışmalarına hız ve önem vermektedir. Diğer yandan AH'da gözlenen MAO-B enzim aktivasyonundaki artış, AH tedavisinde MAO inhibitörlerinin de alternatif bir tedavi yoluğ olabileceğ hipotezini doğurmuştur.

AH'nin giderek yayılan insidansı mevcut ve ilaçların sayısının azlığı, bilim insanlarını yeni ve etkili bileşiklerin geliştirilmesine teşvik etmektedir. Yeni ajanlar geliştirirken ise tek hedefe yönelik olmasından ziyade çoklu hedefi olan ajanlar tercih edilmektedir. Böylece hasta birden çok ilaç kullanmak yerine tek ilaç kullanacaktır. Hem hastaya kullanım kolaylığı sunması hem de aynı anda AH'na sebep olduğ düşülen birden fazla yoluğ inhibe etmesi yeni dual etkili bileşikleri ön plana çıkarmaktadır.

Dünya genelinde geriatrik popülasyonun ve yaşlılığa bağlı kronik hastalıkların sayısının her geçen gün arttığı bilinmektedir. Kronik hastalıklar sağlık sisteminde en yüksek maliyet yaratan hastalıklardır. Yıkıcı bir nörolojik hastalık olan AH demans tipi hastalıklar içerisinde en yaygındır, dünya çapında milyonlarca insanı etkilemekte ve toplumlar üzerinde önemli bir sosyoekonomik yüke neden olmaktadır. AH'ın önümüzdeki yıllar için tahmin edilen prevelans rakamları gerçekten endişe vericidir. Şu anda FDA tarafından AH tedavisi için onaylanan ilaçlar, genellikle ciddi yan etkileri göstermelerinin yanında radikal bir tedavi sunmamakta sadece hastalığın semptomlarını iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadırlar. Bu nedenle daha etkili yeni ajanların geliştirilmesine duyulan ihtiyaç gün geçtikçe artmaktadır. Hastalığın patogenezinin tam olarak netleşmemesi ile birlikte hastalık sürecinin beyindeki plaklar ve nörofibriler yumaklar ile ilişkili olduğ saptanmıştır. Bunların esas nedeni azalan asetilkolin (ACh) seviyesi ağırlıklı olarak kolinerjik sistemi etkileyen nörodejeneratif süreçler, öğrenme süreçlerini ve hafıza oluşumunu engelleyen düşük ACh seviyeleri ile sonuçlanır, Aβ agregasyonu ve beyindeki tau proteinlerinin değişikliklerin kombinasyonu olmakla

birlikte artmış MAO-B aktivitesi de sayılabilir. Azalan ACh seviyesine bağlı olarak değişen kolinerjik sistem dengelerindeki değişimin AH ile olan ilişkisine kolinerjik hipotez adı verilmektedir. Kolinerjik hipotez Alzheimer hastalarında gözlenen kognitif düşüşün açıklanmasına önemli katkıda bulunmuş aynı zamanda AH tedavi stratejilerinin ve ilaç geliştirme çalışmalarının birçoğunun temelini oluşturmuştur. Bu sebeple AH'da ACh seviyelerini arttırmak için kullanılmakta olan AChE ilaçlar arasında rivastigmin, donepezil, galantamin sayılabilir. Donepezil AH tedavisinde bu ilaçlar arasında en sık reçete edilen ajandır. Klinikte en sık kullanılan donepezil geri dönüşümlü ve selektif bir AChE inhibitörüdür. Donepezilin yapısı incelendiğinde yapıda bulunan benzilpiperidin grubu dikkat çekicidir ve bu grup enzim inhibisyonunda anahtar rol oynamaktadır.

Bu çalışma kapsamında 15 yeni tiyosemikarbazon türevi bileşik tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bileşiklerin tasarımı sırasında hem AChE hem MAO-B enzim aktif yöreleri ile etkileşebilecek farmakofor ve hacimsel grupların doğru yerleşimlerine dikkat edilmiştir.

AChE enzim yapısı incelendiğinde katyonik anyonik bölge ve periferik anyonik bölge olduğu görülmektedir. Donepezilin yapısında bulunan benzil piperidin grubu enzimin katalitik anyonik bölgesi ile etkileşmektedir. Enzimin bu bölgesi ile etkileşmesi için yapımızda fenilpiperazin, 4-florofenilpiperazin ve 4-florobenzilpiperazin yapıları tercih edilmiştir. Böylelikle fenilamin ve benzilamin arasındaki aktivite farkını kıyaslama imkânı oluşmuştur. Tiyosemikarbazon yapısı hem AChE hem de MAO inhibitörü olarak sıklıkla kullanılan bir farmakofor gruptur. Tiyosemikarbazon grubu bu zengin aktivite profili için seçilmiştir. Tiyosemikarbazon kısmının kalıntısına ise periferik anyonik bölge ile etkileşim kurabilecek aromatik ve alifatik yapılar tercih edilmiştir.

Sentez çalışmaları sonucunda elde edilen bileşiklerin yapı tayinleri HRMS, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik yöntemleri ile yapılmıştır. Aktivite çalışmaları modifiye Ellman metodu ile *in vitro* olarak gerçekleştirilmiş ve moleküler modelleme çalışmaları Schrödinger programı kullanılarak *in silico* değerlendirilmiştir.

Aktivite çalışmaları gerçekleştirilirken bileşiklerin dual etki profillerinin incelenmesi amacıyla AChE, BChE, MAO-A ve MAO-B enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri incelenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda AChE enzimi üzerinde önemli inhibisyon gösteren bileşikler (**3b**, **3c**, **3e**, **3k**, **3l**, **3m**, **3n**, **3o**) ve MAO-B enzimi üzerinde önemli inhibisyon gösteren bileşikler (**3f**, **3i**, **3k**, **3l**, **3m**, **3n**, **3o**) olarak belirlenmiştir. Bu türevler içerisinde AChE enzimine karşı en aktif bileşik olan **3k** IC₅₀=0,033±0.001 µM

değeri ile öne çıkmıştır. MAO-B enzimi üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar incelendiğinde ise en aktif bileşiğin $IC_{50}=0.062\pm 0.002$ μ M değeri ile **3k** olduğu belirlenmiştir. Bileşiklerin yapıları incelendiğinde benzil piperazin içeren grubun (**3k-3o**) fenil piperazin içeren bileşiklere (**3a-3j**) kıyasla daha aktif oldukları görülmüştür. Bu bilgiden hareketle donepezilin de yapısında bulunan benzil grubunun aktiviteyi pozitif yönde etkilediği düşünülmektedir. Benzil piperazin içeren türevler (**3k-3o**) arasından ise bileşik **3k** hem AChE hem de MAO-B enzimi üzerinde en yüksek aktiviteye sahip olarak dual etkili ilaç tasarımına yönelik önemli bir bileşik olarak ön plana çıkmıştır. Aktif bileşikler üzerinden gerçekleştirilen moleküler doking çalışmaları aktivite çalışmaları ile uyum içerisindedir.

In silico çalışmalar sonucunda elde edilen veriler incelendiğinde 4-florobenzilpiperazin kalıntısının AChE enziminin katalitik anyonik bölgesine yerleştiği görülmektedir. Bileşikler arasında sadece bileşik **3k** Trp286 ile etkileşim göstermiştir. Bileşik **3k** MAO-B enzimi üzerinde de FAD ile yakın bir yerleşim göstermiştir. FAD'ın kendisinin de etkileşim yaptığı ve MAO-B enzim aktif bölgesi için oldukça önemli olan Tyr435 aminoasidi ile π - π etkileşimi kurmaktadır.

Tez kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen bileşik **3k** baz alınarak daha aktif dual etkili bileşiklere ulaşılması hedeflenmektedir.

KAYNAKÇA

- [1] Masand, N., P Gupta, S., Lal Khosa, R., M Patil, V. (2017). Heterocyclic secretase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: An Overview. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)*, 17 (1), 3-25.
- [2] Hussein, W., Saglik, B.N., Levent, S., Korkut, B., Ilgin, S., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2018). Synthesis and Biological Evaluation of New Cholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease. *Molecules*, 23 (8), 2033.
- [3] Topal, G. R., Mészáros, M., Porkoláb, G., Szecskó, A., Polgár, T. F., Siklós, L., Deli, M.A., Veszelka, S., Bozkir, A. (2020). ApoE-targeting increases the transfer of solid lipid nanoparticles with donepezil cargo across a culture model of the blood–brain barrier. *Pharmaceutics*, 13(1), 38.
- [4] Peron, E.P., Zimmerman, K.M., Crouse, E.L., Slattum, P.W., Hobgood, S.E. (2020). Alzheimer Disease, J. T. Dipiro, G. C. Yee, L. M. Posey, S. T. Haines, T. D. Nolin ve V. Ellingrod (Eds.), *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, 11e* içinde (s. New York, NY: McGraw-Hill Education).
- [5] Alzheimer's, A. (2016). 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*, 12 (4), 459-509.
- [6] Heaton, G., M Davis, B., A Turner, L., F Cordeiro, M. (2015). Ocular biomarkers of Alzheimer's disease. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)*, 15 (2), 117-125.
- [7] Özçelik, A.B., Akdağ, M., Ergün, M., Uysal, M. (2019). Alzheimer Hastalığının Tedavisinde Kullanılan İlaçlar ve Yeni Yaklaşımlar. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(2), 1149-1159.
- [8] Shinde, P., Vidyasagar, N., Dhulap, S., Dhulap, A., Hirwani, R. (2016). Natural Products based P-glycoprotein Activators for Improved β -amyloid Clearance in Alzheimer's Disease: An in silico Approach. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)*, 16 (1), 50-59.
- [9] Işık, M. (2015). Alzheimer tipi demans ve koroner arter hastalarında asetilkolinesteraz gen ekspresyonu ve bazı biyomarkır düzeylerinin belirlenmesi

ve asetilkolinesteraz aktivitesinin belirlenerek bazı fenolik bileşiklerin bu enzim aktivitesi üzerine in vitro etkilerinin incelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.*

- [10] Lyketsos, C.G., Carrillo, M.C., Ryan, J.M., Khachaturian, A.S., Trzepacz, P., Amatniek, J., Cedarbaum, J., Brashear, R., Miller, D.S. (2011). Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 7 (5), 532-539.
- [11] Selekler, K. (2010). Alois Alzheimer and Alzheimer's Disease. *Turkish Journal Of Geriatrics*, 13, 9-14.
- [12] Keleş, E., Özalevli, S. (2018). Alzheimer hastalığı ve tedavi yaklaşımları. *İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 3 (2), 39-42.
- [13] Sağlık, B.N., Osmaniye, D., Acar Cevik, U., Levent, S., Kaya Cavusoglu, B., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2020). Design, Synthesis, and Structure-Activity Relationships of Thiazole Analogs as Anticholinesterase Agents for Alzheimer's Disease. *Molecules*, 25 (18), 4312.
- [14] Belkacemi, A., Ramassamy, C. (2016). Innovative anthocyanin/anthocyanidin formulation protects SK-N-SH cells against the amyloid- β peptide-induced toxicity: relevance to Alzheimer's disease. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)*, 16 (1), 37-49.
- [15] Armstrong, R.A. (2013). What causes alzheimer's disease? *Folia Neuropathologica*, 51 (3), 169-188.
- [16] Aydın, A., Elçioğlu, H., Yavuz, A. İntraserebroventriküler A β 42 Peptidi Uygulamasıyla Siçanlarda Oluşturulan Deneysel Alzheimer Hastalığı Modelinde Kannabidiol'ün Etkilerinin İncelenmesi. *International Congress on Medical Sciences and Multidisciplinary Approaches*'da sunulan bildiri, İstanbul:Marmara Üniversitesi
- [17] Demir Ozkay, U., Can, O.D., Sağlık, B.N., Acar Cevik, U., Levent, S., Ozkay, Y., Ilgin, S., Atli, O. (2016). Design, synthesis, and AChE inhibitory activity of new benzothiazole-piperazines. *Bioorg Med Chem Lett*, 26 (22), 5387-5394.
- [18] Çeçen, M. (2021). Bazı yeni hidrazon türevlerinin sentezi, anti-alzheimer aktivitelerinin araştırılması ve moleküler modelleme çalışmaları. *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Malatya.*

- [19] Sağlık, B.N. (2019). Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılacak yeni bileşiklerin tasarımı, sentezi ve biyolojik aktivite çalışmaları. *Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Eskişehir.*
- [20] Özkurt, H. (2015). Galantamin'in ilaç preparatlarından kapiler elektroforez yöntemiyle tayini. *Uşak Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Uşak,*
- [21] Mutlu, N.B., Değim, Z., Yılmaz, Ş., Eşsiz, D., Nacar, A. (2011). New perspective for the treatment of Alzheimer diseases: liposomal rivastigmine formulations. *Drug development and industrial pharmacy*, 37 (7), 775-789.
- [22] Temel, H. (2008). Demanslı hastalarda asetilkolinesteraz aktivitesi ve oksidatif stresin asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri ile değişimi. *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Doktora Tezi, Eskişehir.*
- [23] Peron, E.P., Slattum, P.W., Powers, K.E., Hobgood, S.E. (2017). Alzheimer Disease, J. T. Dipiro, R. L. Talbert, G. C. Yee, G. R. Matzke, B. G. Wells ve L. M. Posey (Eds.), *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, 10e* içinde (s. New York, NY: McGraw-Hill Education).
- [24] Crouse, E.L., Zimmerman, K.M., Peron, E.P., Sargent, L.J., Hobgood, S.E. (2021). Alzheimer Disease, J. T. Dipiro, G. C. Yee, L. Michael Posey, S. T. Haines, T. D. Nolin ve V. L. Ellingrod (Eds.), *DiPiro: Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach, 12e* içinde (s. New York, NY: McGraw Hill).
- [25] Bourne, Y., Radic, Z., Kolb, H.C., Sharpless, K.B., Taylor, P., Marchot, P. (2005). Structural insights into conformational flexibility at the peripheral site and within the active center gorge of AChE. *Chem Biol Interact*, 157-158, 159-165.
- [26] Toptaş, B. (2020). Asetilkolinesteraz İnhibitörü Donepezil'in Dana Kardiyak Ven Düz Kasına Etkileri-Temperatürün Rolü. *Necmettin Erbakan University Doktora Tezi, Konya.*
- [27] Sanli, N., Bulduk, I., Ozkurt, H., Şanlı, S., Ozkan, S.A. (2016). Development and validation of a capillary zone electrophoretic method for rapid and sensitive determination of galanthamine: Application in plant and pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 131, 188-194.
- [28] Bayraktar, G. Yeni bir grup potansiyel anti-alzheimer etkili takrin-donepezil hibritleri üzerinde çalışmalar. *Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir.*

- [29] Baysal, İ. (2012). Selektif MAO-B İnhibitörü Selejilin Yüklü PLGA-b-PEG Nanopartiküllerin Hazırlanması ve Beta Amiloid Fibrillerle Etkileşiminin İncelenmesi. *Hacettepe Üniversitesi Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara.*
- [30] Mathew, B., Suresh, J., E Mathew, G., Parasuraman, R., Abdulla, N. (2014). Plant secondary metabolites-potent inhibitors of monoamine oxidase isoforms. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)*, 14 (1), 28-33.
- [31] Mathew, B., Dev, S., Suresh, J., E Mathew, G., Lakshmanan, B., Haridas, A., Fathima, F., K Krishnan, G. (2016). Pharmacophore modeling, 3D-QSAR and molecular docking of furanochalcones as inhibitors of monoamine oxidase-B. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)*, 16 (2), 105-111.
- [32] Mathew, B., Suresh, J., Anbazhagan, S., Elizabeth Mathew, G. (2013). Pyrazoline: A promising scaffold for the inhibition of monoamine oxidase. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)*, 13 (3), 195-206.
- [33] Ilgin, S., Osmaniye, D., Levent, S., Saglik, B.N., Acar Cevik, U., Cavusoglu, B.K., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2017). Design and Synthesis of New Benzothiazole Compounds as Selective hMAO-B Inhibitors. *Molecules*, 22 (12), 2187.
- [34] ASLAN, A. (2017). Zenginleştirilmiş Çevre, Memantin Ve Skf82958'in Siçanlarda Nalokson İle Başlatılan Morfin Yoksunluk Sendromuna Etkileri: Hipokampal Doku Plazminojen Aktivatörü Mrna Düzeyleri. *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İstanbul.*
- [35] Yildiz, M., Bingul, M., Zorlu, Y., Saglam, M.F., Boga, M., Temel, M., Koca, M.S., Kandemir, H., Sengul, I.F. (2022). Dimethoxyindoles based thiosemicarbazones as multi-target agents; synthesis, crystal interactions, biological activity and molecular modeling. *Bioorg Chem*, 120, 105647.
- [36] Osmaniye, D., Kurban, B., Saglik, B.N., Levent, S., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2021). Novel Thiosemicarbazone Derivatives: *In Vitro* and *In Silico* Evaluation as Potential MAO-B Inhibitors. *Molecules*, 26 (21)

- [37] Zaib, S., Munir, R., Younas, M.T., Kausar, N., Ibrar, A., Aqsa, S., Shahid, N., Asif, T.T., Alsaab, H.O., Khan, I. (2021). Hybrid Quinoline-Thiosemicarbazone Therapeutics as a New Treatment Opportunity for Alzheimer's Disease Synthesis, In Vitro Cholinesterase Inhibitory Potential and Computational Modeling Analysis. *Molecules*, 26 (21), 6640.
- [38] Varma, M., Shravage, B., Tayade, S., Kumbhar, A., Butcher, R., Jani, V., Sonavane, U., Joshi, R., Kulkarni, P.P. (2021). A simple methyl substitution of 3-acetylcoumarin thiosemicarbazone enhances cellular autophagy flux, reduces inflammation and ameliorates rough eye phenotype in the Drosophila model of Alzheimer's disease. *Journal of Molecular Structure*, 1235, 130265.
- [39] Bulut, N., Kocyigit, U.M., Gecibesler, I.H., Dastan, T., Karci, H., Taslimi, P., Durna Dastan, S., Gulcin, I., Cetin, A. (2018). Synthesis of some novel pyridine compounds containing bis-1,2,4-triazole/thiosemicarbazide moiety and investigation of their antioxidant properties, carbonic anhydrase, and acetylcholinesterase enzymes inhibition profiles. *J Biochem Mol Toxicol*, 32 (1).
- [40] Brunetti, L., Leuci, R., Carrieri, A., Catto, M., Occhineri, S., Vinci, G., Gambacorta, L., Baltrukevich, H., Chaves, S., Laghezza, A., Altomare, C.D., Tortorella, P., Santos, M.A., Loiodice, F., Piemontese, L. (2022). Structure-based design of novel donepezil-like hybrids for a multi-target approach to the therapy of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 237, 114358.
- [41] Mohammadi-Khanaposhtani, M., Nori, M., Valizadeh, Y., Javanshir, S., Dastyafteh, N., Moaazam, A., Hosseini, S., Larijani, B., Adibi, H., Biglar, M., Hamedifar, H., Mahdavi, M., Kamci, H., Karakus, A., Taslimi, P. (2022). New 4-phenylpiperazine-carbodithioate-*N*-phenylacetamide hybrids: Synthesis, *in vitro* and *in silico* evaluations against cholinesterase and alpha-glucosidase enzymes. *Archiv Der Pharmazie*, 355 (5), e2100313.
- [42] Kaur, S., Bansal, Y. (2022). Design, molecular Docking, synthesis and evaluation of xanthoxylin hybrids as dual inhibitors of IL-6 and acetylcholinesterase for Alzheimer's disease. *Bioorganic Chemistry*, 121, 105670.
- [43] Osmaniye, D., Evren, A.E., Saglik, B.N., Levent, S., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2022). Design, synthesis, biological activity, molecular docking, and molecular dynamics of novel benzimidazole derivatives as potential AChE/MAO-B dual inhibitors. *Archive Der Pharmazie*, 355 (3), e2100450.

- [44] Ramrao, S.P., Verma, A., Waiker, D.K., Tripathi, P.N., Shrivastava, S.K. (2021). Design, synthesis, and evaluation of some novel biphenyl imidazole derivatives for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Molecular Structure*, 1246, 131152.
- [45] Sağlık, B.N., Ilgın, S., Özkay, Y. (2016). Synthesis of new donepezil analogues and investigation of their effects on cholinesterase enzymes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 124, 1026-1040.
- [46] Acar Cevik, U., Levent, S., Nurpelin Sağlık, B., Ozkay, Y., Asım Kaplancıklı, Z. (2017). Synthesis of Novel 4-(Dimethylaminoalkyl) piperazine-1-carbodithioa te Derivatives as Cholinesterase Inhibitors. *Letters in Drug Design & Discovery*, 14 (5), 528-539.
- [47] Acar Cevik, U., Sağlık, B.N., Levent, S., Osmaniye, D., Kaya Cavusoglu, B., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2019). Synthesis and AChE-Inhibitory Activity of New Benzimidazole Derivatives. *Molecules*, 24 (5), 861.
- [48] Demir Ozkay, U., Can, O.D., Sağlık, B.N., Turan, N. (2017). A benzothiazole/piperazine derivative with acetylcholinesterase inhibitory activity: Improvement in streptozotocin-induced cognitive deficits in rats. *Pharmacological Reports*, 69 (6), 1349-1356.
- [49] Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Feather-Stone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7 (2), 88-95.
- [50] Levent, S., Acar Çevik, U., Sağlık, B.N., Özkay, Y., Can, Ö.D., Özkay, Ü.D., Uçucu, Ü. (2017). Anticholinesterase activity screening of some novel dithiocarbamate derivatives including piperidine and piperazine moieties. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 192 (4), 469-474.
- [51] Osmaniye, D., Sağlık, B.N., Acar Cevik, U., Levent, S., Kaya Cavusoglu, B., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A., Turan, G. (2019). Synthesis and AChE Inhibitory Activity of Novel Thiazolylylhydrazone Derivatives. *Molecules*, 24 (13), 2392.
- [52] Sağlık, B.N., Özkay, Y., Demir Özkay, Ü., Karaca Gençer, H. (2014). Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel Dithiocarbamate Derivatives. *Journal of Chemistry*, 2014, 1-9.
- [53] Tok, F., Kocyigit-Kaymakcioglu, B., Sağlık, B.N., Levent, S., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2019). Synthesis and biological evaluation of new pyrazolone

Schiff bases as monoamine oxidase and cholinesterase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 84, 41-50.

- [54] Turan-Zitouni, G., Hussein, W., Sağlık, B.N., Baysal, M., Kaplancikli, Z.A. (2018). Fighting Against Alzheimer's Disease: Synthesis of New Pyrazoline and Benzothiazole Derivatives as New Acetylcholinesterase and MAO Inhibitors. *Letters in Drug Design & Discovery*, 15 (4), 414-427.
- [55] Altıntop, M.D., Sever, B., Osmaniye, D., Sağlık, B.N., Özdemir, A. (2018). Design, synthesis, *in vitro* and *in silico* evaluation of new pyrrole derivatives as monoamine oxidase inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, 351 (7), 1800082.
- [56] Can, N.Ö., Osmaniye, D., Levent, S., Sağlık, B.N., Inci, B., Ilgın, S., Özkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2017). Synthesis of new hydrazone derivatives for MAO enzymes inhibitory activity. *Molecules*, 22 (8), 1381.
- [57] Can, N.Ö., Osmaniye, D., Levent, S., Sağlık, B.N., Korkut, B., Atlı, Ö., Özkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2018). Design, synthesis and biological assessment of new thiazolyldiazine derivatives as selective and reversible hMAO-A inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 144, 68-81.
- [58] Can, Ö.D., Osmaniye, D., Özkay, Ü.D., Sağlık, B.N., Levent, S., Ilgın, S., Baysal, M., Özkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2017). MAO enzymes inhibitory activity of new benzimidazole derivatives including hydrazone and propargyl side chains. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 131, 92-106.
- [59] Çavuşoğlu, B.K., Sağlık, B.N., Osmaniye, D., Levent, S., Acar Çevik, U., Karaduman, A.B., Özkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2017). Synthesis and biological evaluation of new thiosemicarbazone derivative schiff bases as monoamine oxidase inhibitory agents. *Molecules*, 23 (1), 60.
- [60] Kaya, B., Sağlık, B.N., Levent, S., Özkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2016). Synthesis of some novel 2-substituted benzothiazole derivatives containing benzylamine moiety as monoamine oxidase inhibitory agents. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31 (6), 1654-1661.
- [61] Kaya, B., Yurttas, L., Sağlık, B.N., Levent, S., Özkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2017). Novel 1-(2-pyrimidin-2-yl) piperazine derivatives as selective monoamine oxidase (MAO)-A inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32 (1), 193-202.

- [62] Çavuşoğlu, B.K., Sağlık, B.N., Özkay, Y., Inci, B., Kaplancıklı, Z.A. (2018). Design, synthesis, monoamine oxidase inhibition and docking studies of new dithiocarbamate derivatives bearing benzylamine moiety. *Bioorganic Chemistry*, 76, 177-187.
- [63] Sağlık, B.N., Çavuşoğlu, B.K., Osmaniye, D., Levent, S., Çevik, U.A., Ilgın, S., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A., Öztürk, Y. (2019). In vitro and in silico evaluation of new thiazole compounds as monoamine oxidase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 85, 97-108.
- [64] Turan-Zitouni, G., Hussein, W., Sağlık, B.N., Tabbi, A., Korkut, B. (2018). Design, synthesis and biological evaluation of novel N-pyridyl-hydrazone derivatives as potential monoamine oxidase (MAO) inhibitors. *Molecules*, 23 (1), 113.
- [65] Cheung, J., Rudolph, M.J., Burshteyn, F., Cassidy, M.S., Gary, E.N., Love, J., Franklin, M.C., Height, J.J. (2012). Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55 (22), 10282-10286.
- [66] Binda, C., Wang, J., Pisani, L., Caccia, C., Carotti, A., Salvati, P., Edmondson, D.E., Mattevi, A. (2007). Structures of human monoamine oxidase B complexes with selective noncovalent inhibitors: safinamide and coumarin analogs. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50 (23), 5848-5852.
- [67] Schrödinger, L. (2020). New York, NY, USA, 2012. LigPrep. version, 3
- [68] Release, S. (2020). 2: LigPrep, version 3.8 (2020) Schrödinger. LLC, New York, NY.
- [69] Schrödinger, L. (2020). Glide, version 7.1. Schrödinger, LLC: New York, NY, USA.

