

**BAZI YENİ 1(2H)- FTALAZİNON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ**

Yüksek Lisans Tezi

Ezgi GÜNEŞDOĞDU

Eskişehir 2019

**BAZI YENİ 1(2H)- FTALAZİNON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİ**

Ezgi GÜNEŞDOĞDU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç Dr. Ahmet Çağrı KARABURUN

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ağustos 2019

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Ezgi GÜNEŞDOĞDU'nun "Bazı Yeni 1(2H)-Ftalazinon Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktiviteleri" başlıklı tezi 23.08.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Yeterlik Tezi olarak kabul edilmiştir.

Unvanı-Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Doç. Dr. Ahmet Çağrı KARABURUN

Üye : Doç. Dr. Murat DURAN

Üye : Doç. Dr. Leyla YURTTAŞ

Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN

Enstitü Müdürü



ÖZET

BAZI YENİ 1(2H)-FTALAZİNON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ

Ezgi GÜNEŞDOĞDU

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağustos 2019

Danışman: Doç.Dr. Ahmet Çağrı KARABURUN

Alzheimer, kişilerin günlük aktivitelerini kısıtlayan, hastalığın ilerleyen evrelerinde yaşam kalitelerini düşüren, yürüme bozuklukları ve nöbetler şeklinde gözlenebilen, ilerleyici, nörodejeneratif, ölümcül bir hastalıktır. Epidemiyolojik çalışmalar, dünya çapındaki hasta sayısının her yirmi yılda iki katına yükselmekte olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalardan elde edilen patolojik ve fizikokimyasal veriler, hastalığın tedavisini aydınlatamamaktadır. Buna rağmen bazı yaklaşımlar geliştirilmiştir. İçinde bulunduğumuz dönemde; tedavi yaklaşımları kolinesteraz inhibisyonu üzerinde yoğunlaşmaktadır. Ancak klinikte kullanılan ilaçların aşırı kolinerjik ve hepatotoksisite gibi ciddi yan etkileri olması tedavide önemli bir sorun oluşturmaktadır. Ftalazin halka sistemi taşıyan bileşiklerin klinikte önemli farmakolojik etkileri olması sebebiyle; bu bileşiklerin en bilinen üyelerinden ftalazinon türevleri üzerine çalışma yapılabileceğini göstermiştir. Bu çalışmada, yeni antikolinerjik ajan oluşturabilmek için bazı yeni 1(2H)-ftalazinon türevleri sentezlenmiştir. Bu türevlere ulaşabilmek için; halka sisteminin hidrojen ve metil süstitüsyonları ftalik ve süksinik anhidritlerle tepkimeye sokularak yeni moleküller elde edilmiştir. Bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır. Bileşiklerin antikolinerjik etkileri klinikte kullanılan donepezil ve takrinle kıyaslanarak ölçülmüştür. A5 ve B2 bileşiklerinde diğer bileşiklere kıyasla en yüksek orta düzey asetilkolin esteraz inhibisyonu, A3 ve B4 bileşiklerinde diğer bileşiklere kıyasla en yüksek düşük düzey butirilkolinesteraz inhibisyonu saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Ftalazinon, Alzheimer, Antikolinerjik aktivite,

Asetilkolinesteraz inhibitörleri, Butirilkolinesteraz inhibitörleri

ABSTRACT

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF SOME NEW 1(2H)- PHTHALAZINONE DERIVATIVES

Ezgi GÜNEŞDOĞDU

Department of Pharmaceutical Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, August 2019

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ahmet Çağrı KARABURUN

Alzheimer's disease is a progressive, neurodegenerative and mortal disease that restricts daily activities of individuals, decreases their quality of life in the later stages of the disease, and can be observed as walking disorders and seizures. Epidemiological studies show that the number of patients in the world has doubled every twenty years. Pathological and physicochemical data based on the experimental studies cannot explain the treatment of this disease. However, some approaches have been developed. The treatment approaches are focusing on cholinesterase inhibition in our current period. But, it is an important problem that the medicines used in clinical practice have serious side effects like excessive cholinergic effect and the hepatotoxicity. Because of significant pharmacological effects of compounds that have phthalazine ring, it's shown that phthalazinone derivatives, one of the most popular members of these group can be investigated. In our study, we have synthesized new 1(2H) -phthalazinone derivative for creating a new anticholinergic agent. For gaining these derivatives, hydrogen and methyl substitutions of the ring were reacted with phthalic and succinic anhydrides and the new molecules are formed. The structures of the compounds were analyzed by spectroscopic methods. The anticholinergic effects of the compounds were measured by comparing donepezil and tacrine that are used in the clinical practice. The highest intermediate level of acetylcholine esterase inhibition was found in the A5 and B2 compounds compared to the other compounds and the highest low level of butyrylcholinesterase inhibition was found in the A3 and B4 compounds.

Keywords: Phthalazinone, Alzheimer's, Anticholinergic activity, Acetylcholinesterase inhibitors, Butyrylcholinesterase inhibitors

23/08/2019

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Ezgi GÜNEŞDOĞDU

TEŞEKKÜR

01/08/2019

Yüksek lisans eğitimim boyunca üzerimden emeğini eksik etmeyen, bilgisi ve tecrübeleriyle tüm sorularımı sabırla aydınlatan, insanlığı ve mesleki bilgisiyle her zaman örnek aldığım, farmasötik kimya alanındaki tüm çalışmalarında ve manevi anlamda her zaman yanımda olan, engin deneyimlerini aktararak bana laboratuvarı ve kimyayı öğreten çok sevdiğim, saygı duyduğum, çok değerli hocam Doç. Dr. Ahmet Çağrı KARABURUN'a

Kendisinden çok şey öğrendiğim, desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen, bilgi ve birikimiyle her zaman doğru yola yönlendiren ve bu mesleği sevdiğini kıymetli hocam Prof.Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN'a,

Her zaman sevgi ve desteklerini hissettiğim Farmasötik Kimya Anabilim Dalındaki saygıdeğer hocalarıma,

Çalışmalarım esnasında her zaman destek olan ve yardımını esirgemeyen, engin bilgisayar bilgisine sahip olan çok kıymetli meslektaşım Asaf Evrim EVREN'e,

Eğitim-öğretim ve çalışma hayatım boyunca hiçbir zaman beni yalnız bırakmayan, en iyi eğitimleri almamı sağlayan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, canım anneme, kıymetli babama ve biricik kardeşime, en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BAŞLIĞI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	5
2.1. Alzheimer Hastalığı.....	5
2.1.1. Kolinesteraz enzimleri	8
2.1.2. Kolinesteraz enzim inhibitörleri	9
2.1.3. Antikolinesteraz aktivite tayin yöntemleri	11
2.2. 1(2H)-Ftalazinin Halkası Hakkında Genel Bilgiler	11
2.2.1. 1(2H)-ftalazinin türevlerinin sentezi	12
2.2.1.1. Fitalik asit türevlerinden hareketle 1(2H)- ftalazinin sentezi	12
2.2.1.2. Çok bileşenli reaksiyonlardan hareketle 1(2H)- ftalazinin sentezi	15
2.2.2. 1(2H)-ftalazinin türevleriyle ilgili çalışmalar	15
2.2.3. 1(2H)-ftalazinin türevlerinin biyolojik aktiviteleri	16
2.3. Prolidin-2,5-dion Halkasına Ait Genel Bilgiler	18

2.3.1. Prolidin-2,5-dion halkasının sentez yöntemleri.....	18
2.3.2. Prolidin-2,5-dion halkası içeren antikolinergik etkili bileşikler.....	19
3. GEREÇLER.....	20
3.1. Kullanılan Maddeler.....	20
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	21
4. YÖNTEMLER.....	22
4.1. Sentez Çalışmaları.....	22
4.1.1. 2-(4-asetamidobenzoil)benzoik asit eldesi (Yöntem A).....	22
4.1.2. 2-(4-aminobenzoil)benzoik asit eldesi (Yöntem B).....	22
4.1.3. 4-(4-Aminofenil)-1(2 <i>H</i>)-ftalazinon eldesi (Yöntem C).....	22
4.1.4. 2-Metil-4-(4-aminofenil)-1(2 <i>H</i>)-ftalazinon eldesi (Yöntem C).....	22
4.1.5. 4-[4-(Süstitüe)fenil]-1(2 <i>H</i>)-ftalazinon türevlerinin eldesi (Yöntem D).....	22
4.1.6. 2-metil-4-[4-(Süstitüe)fenil]-1(2 <i>H</i>)-ftalazinon türevlerinin eldesi (Yöntem D).....	24
4.2. İTK Çalışmaları.....	26
4.3. Erime Noktalarının Tayini.....	27
4.4. IR Spektrumlarının Alınması.....	27
4.5. C, H, N, O tayini.....	27
5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR.....	29
5.1. Sentez Çalışmaları.....	29
5.1.1. 2-(4-asetamidobenzoil)benzoik asit eldesi (Yöntem A).....	29
5.1.2. 2-(4-aminobenzoil)benzoik asit eldesi (Yöntem B).....	29
5.1.3. 4-(4-Aminofenil)-1(2 <i>H</i>)-ftalazinon eldesi (Yöntem C).....	30
5.1.4. 2-Metil-4-(4-aminofenil)-1(2 <i>H</i>)-ftalazinon eldesi (Yöntem C).....	31
5.1.5. 4-[4-(Süstitüe)fenil]-1(2 <i>H</i>)-ftalazinon türevlerinin eldesi (Yöntem D).....	32

5.1.5.1. 2-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)izoindolin-1,3-dion A1 eldesi	32
5.1.5.2. 4-nitro-2-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)izoindolin-1,3-dion A2 eldesi	33
5.1.5.3. 1-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)pirolidin-2,5-dion A3 eldesi	36
5.1.5.4. 1-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-3-fenilpirolidin-2,5-dion A4 eldesi.....	38
5.1.5.5. 4,5,6,7-tetrakloro-2-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)izoindolin-1,3-dion A5 eldesi	39
5.1.6. 2-metil-4-[4-(Süstitüe)fenil]-1(2 <i>H</i>)-ftalazinon türevlerinin eldesi (Yöntem D)	41
5.1.6.1. 2-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-izoindolin-1,3-dion B1 eldesi.....	41
5.1.6.2. 2-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-4-nitroizoindolin-1,3-dion B2 eldesi	42
5.1.6.3. 1-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)pirolidin-2,5-dion B3 eldesi	43
5.1.6.4. 1-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-3-fenilpirolidin-2,3-dion B4 eldesi	45
5.1.6.5. 4,5,6,7-tetrakloro-2-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)izoindolin-1,3-dion B5 eldesi	46
5.2. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi	48
5.2.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi	48
5.2.2. ¹ H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi	48
5.3. Antikolinerjik aktivite değerlendirilmesi.....	48
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	50
KAYNAKÇA.....	51
ÖZGEÇMİŞ	

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1. Sentezlenen bileşikler	4
Tablo 5.1. Antikolinerjik aktivite sonuçları	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Hidralazin ve dihidrohidralazin bileşiklerinin halkaları.....	3
Şekil 2.2. 2019 verilerine göre Alzheimer hastalığına yakalanan hastaların yaş ortalaması (15).....	5
Şekil 2.3. Kodergokrin bileşiği.....	7
Şekil 2.4. Sülfoksazin bileşiği	7
Şekil 2.5. Pirasetam bileşiği	8
Şekil 2.6. Asetilkolinin asetilkolinesteraz ile metabolize olması	8
Şekil 2.7. Asetilkolinesteraz 3D görüntüsü	9
Şekil 2.8. Bütirikolinesteraz 3D görüntüsü	9
Şekil 2.9. Takrin bileşiği.....	10
Şekil 2.10. Donezepil bileşiği.....	10
Şekil 2.11. Rivastigmin bileşiği.....	10
Şekil 2.12. Galantamin bileşiği.....	11
Şekil 2.13. Fizostigmin bileşiği	11
Şekil 2.14. 1(2H)- Ftalazinon Halkası ve 3 boyutlu görüntüsü	12
Şekil 2.15. 1(2H)-Ftalazinon Numaralandırması	12
Şekil 2.16. Fitalik asitlerden hareketle ftalazinon sentezi	13
Şekil 2.17. Ftalik anhidritlerden hareketle ftalazinon sentezi	13
Şekil 2.18. Ftalik anhidritlerden Friedel Crafts koşullarında ftalazinon sentezi	13
Şekil 2.19. 3- alkiliden izobenzofuranonlardan hareketle ftalazinon sentezi	14
Şekil 2.20. 3- alkilidenizoidolin-1-on dan hareketle 1(2H)-ftalazinon sentezi	14
Şekil 2.21. 4-arilaminoftalazin-1(2H)-on eldesi sentez şeması.....	15
Şekil 2.22. Ugi dört bileşenli reaksiyon şeması.....	15
Şekil 2.23. Yamaguchi ve arkadaşları tarafından sentezlenen yeni 1(2H)-ftalazinon türevi bileşik.....	16
Şekil 2.24. Çalışmalar sonucu elde edilen farklı süstitüsyonlar içeren ftalazinon türevleri	16
Şekil 2.25. Zopolrestat bileşiği	17
Şekil 2.26. Olaparib bileşiği	17
Şekil 2.27. Hidralazin bileşiği	17
Şekil 2.28. Azelastin bileşiği	18

Şekil 2.29. Pirolidin-2,5-dion halkası numaralandırması, 2D ve 3D görüntüsü	18
Şekil 2.30. Sübstitüe karboksilik asitlerden hareketle piridazinon-2,5-dion eldesi.....	18
Şekil 2.31. Kumarin-3-karboksilik asit türevlerinden pirolidin-2,5-dionların elde edilme mekanizmaları	19
Şekil 2.32. 3-aril-1-(arilmethylidinamino)pirolidine-2,5-dion eldesi ve reaksiyon mekanizması.....	19
Şekil 5.1. 2-(4-asetamidobenzoil)benzoik asitin ön görülen reaksiyon mekanizması ...	29
Şekil 5.2. 2-(4-aminobenzoil)benzoik asitin ön görülen reaksiyon mekanizması.....	31

KISALTMALAR DİZİNİ

$^1\text{H-NMR}$: Proton nükleer manyetik rezonans
$^{13}\text{C-NMR}$: Karbon nükleer manyetik rezonans
2D	: İki boyut
3D	: Üç boyut
AChE	: Asetilkolin esteraz
BChE	: Bütirikolin esteraz
BSA	: Bovin serum albümin
DMF	: Dimetilformamit
DMSO	: Dimetilsülfoksit
E.n.	: Erime noktası
FDA	: Amerikan sağlık bakanlığı gıda ve ilaç bürosu
IR	: Infrared (Kızıl ötesi)
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
NMDA	: N-metil-D-aspartat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer hastalığı, genelde 60 yaş ve üzeri kişilerde gözlenen, nedeni tam olarak bilinmeyen, hastaların günlük aktivitelerini gerçekleştirmeye imkân tanımayan, ilerleyen dönemlerde kişilik değişiklikleri, psikiyatrik semptomlarla (halüsinasyonlar, hezeyanlar vb.) kendini gösterebilen ölümcül olabilen nörodejeneratif bir hastalıktır [1,3].

Hastalığa yakalanan kişilerde her beş yaşta bir hastalık görülme yüzdesi iki katına çıkmaktadır [1]. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, hastalığın görülme sıklığının yıllara bağlı olarak arttığını, dünya çapında tahmini 24 milyon Alzheimer hastası olduğunu ve 2040 yılında 81 milyona ulaşacağını öngörmektedir. Türk Nöroloji Derneği, ülkemizde tahmini olarak 600 bin ile bir milyon arası hasta olduğu, 2050 yılında dünyada en fazla hastaya sahip 4. ülke olacağımızı yayınlamıştır.

Hastalığın klinik belirtileri; aşına olunan işleri yaparken zorluk, yazma ve konuşmada zorluklar, mekânsal problemler, soyut düşünme ve algılamada güçlüklerdir [1]. Kliniğe başvuran hastaların ilk ve en önemli şikâyetleri hatırlayamamaktan kaynaklanır. Hastalar uzak geçmişle ilgili anılarını korurken, günlük hayatta işlerini sıklıkla takip edemez. Hastalık motor ve duyuşsal anomaliler, kas gücü kaybı ile ilerler ve daha ileri evrelerde nöbetler gözlenebilir [3].

Hastalığın fizyopatolojisi net olarak bilinmemekle beraber çeşitli teoremler mevcuttur. Birden çok mekanizma ve nörotransmitter değişikliklerini içeren kompleks bir süreçtir. Mekanizmanın 3 temel bileşeni β amiloid plaklar, nörofibriller yumaklar ve nöronal hücre ölümüdür. Bir dizi oksidasyon, eksitotoksisite, inflamasyon ve tau hiperfosforilasyonu gibi mekanizmaların eş zamanlı gerçekleşmesi ve nörotransmitter yetmezliği ve tetiklenen apoptotik hücre ölümü ile hastalığın ortaya çıktığı düşünülmektedir [2].

Risk faktörleri arasında; yaş, cinsiyet (kadınlarda erkeklerden 1,5 kat daha fazla), aile öyküsü, diyabet, tansiyon gibi kronik hastalıkların varlığı, sigara kullanımı, düşük fiziksel aktivite, depresyon, kafa travması, işitme kaybı sayılabilir [4].

Alzheimer hastalığında histopatolojik olarak nörofibriller yumak (NFY) oluşumu, senil amiloid plaklar (SP), sinaps nöron kaybı ve beyinde bir atrofi saptanır [5]. Kesin tanı için nörofibriller yumak ve amiloid plakların belirli miktarlarda belirli bir nöroanatomik dağılımda bulunması gereklidir.

Asetilkolin nörotransmitter bir maddedir. Kolin ve asetil koA'dan asetilkolinesteraz enzimi ile oluşmaktadır. Hastalıkta birincil kayıp kolinerjik sistemin bozulmasıdır.

Bunun nedeninin; asetilkolin salınımı sağlayan asetilkolin transferaz seviyesinin hastalarda %58-90 arasında azalması olduğu düşünülmektedir. Böylelikle sinir iletimini sağlamak daha zor olmaktadır [7].

Kolinerjik hipoteze göre asetilkolin düzeyini arttırabilmek için; asetilkolinin yıkımını sağlayan asetilkolinesteraz enzimlerinin baskılanmasıdır. Asetilkolinesteraz olarak adlandırılan iki adet enzim vardır; asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimidir. Ancak sıklıkla asetilkolinesteraz kullanılmaktadır. Her ikisi de kolinerjik iletimde birlikte görev almaktadır [9].

Asetilkolinesteraz karboksilesteraz ailesine ait olup, merkezi ve periferik dokular gibi birçok iletken dokuda bulunmaktadır. Genellikle düşük seviyedeki bütirilkolinesteraz ile karakterize kas ve dokularda bulunur. Bütirilkolinesteraz diğer dokularda eksprese edilir ve özellikle karaciğerde sentezlenip plazmaya salgılanır [10, 11].

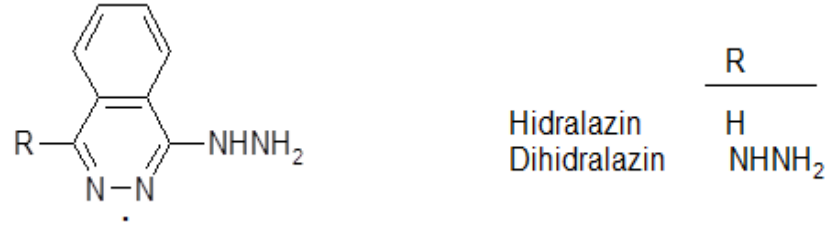
Asetilkolinesteraz enzimlerinin baskılanmasıyla asetilkolin düzeyi artmaya başlaması ve bu durumda hafif kognitif bozuklukların giderilebileceği çalışmalarla ortaya konmuştur [3].

Hastalığın tedavisinde asetilkolinesteraz inhibitörü ilaçlardan yararlanılmaktadır. Bunların ilki takrin olarak bilinen kullanımı ilk onaylanan ilaçtır. Takrin günümüzde sadece hafiften orta dereceye kadar bilişsel işlev zayıflıklarında kullanılmaktadır. Hastaların %25' inde hepatik transaminaz düzeylerinde artışa sebep olduğundan kullanımı sınırlıdır. Donepezil onay alan diğer bir ilaçtır. Tedaviye verilecek en erken klinik yanıtların alınması ve donepezil hidroklorürün kararlı durum konsantrasyonlarına ulaşabilmesi için 5 mg/gün'lük doza en az bir ay süreyle devam edilmelidir. Devamlı kullanılacak bir ilaç değildir. Kullanım süresi boyunca belli aralıklarla terapötik yararlanımı kontrol edilmelidir. Rivastigmin, eptastigmin, galantamin de tedavide kullanılmakta ancak yan etkiler kullanımlarını sınırlamaktadır [3].

Tedavide kullanılan ilaçların azlığı yeni, yan etkisi daha az, seçici inhibitör bileşiklerin sentezi ile ilgili çalışmaların gerekliliğini ortaya koymaktadır. Kolinerjik sistem üzerine etkili bileşikler incelenirken piridazin halka sistemine ulaşılmıştır. Bu halka sistemi üzerinden sentezlenebilecek yeni ve basit türevlerin kolinerjik sistem üzerine etkili olabileceği çalışmalarla kanıtlanmıştır.

Piridazin halka sisteminin en bilindik üyesi ftalazin türevlerinden elde edilen bileşiklerden kanıtlanmış birçok biyolojik aktiviteye sahip olanlar vardır. Ftalazinon

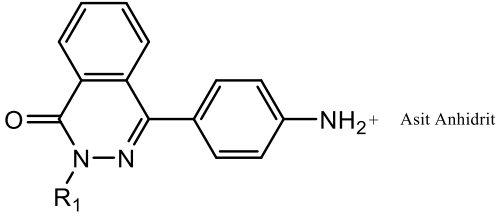
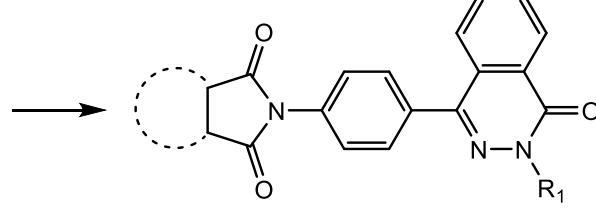
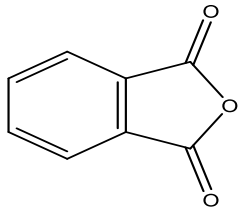
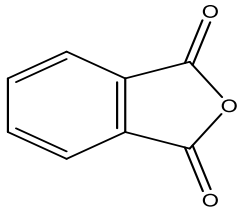
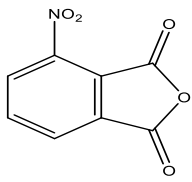
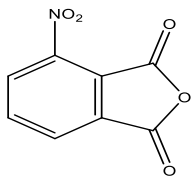
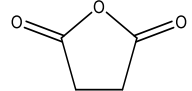
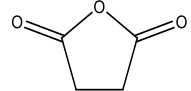
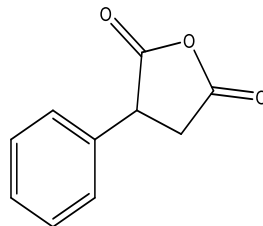
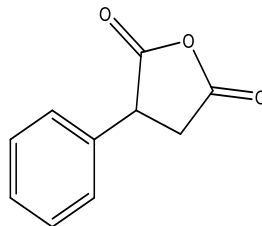
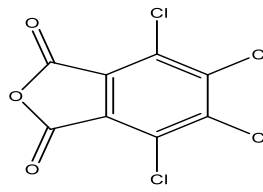
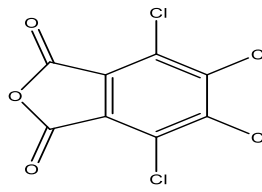
türevlerinin antikanser, antiinflamatuvar, antibakteriyal, antioksidan, anti nörodejeneratif gibi çeşitli farmasötik özellikler gösterirler ve kullandıkları hastalıklara göre farklı mekanizmalarda bulunabilirler.



Şekil 1.1. Hidralazin ve dihidrohidralazin bileşiklerinin halkaları

Ftalazin türevleri içerisinde en tanınmış üye kardiyovasküler sistem üzerine etkili hidralazin ve dihidrohidralazindir.

Tablo 1.1. Sentezlenen bileşikler

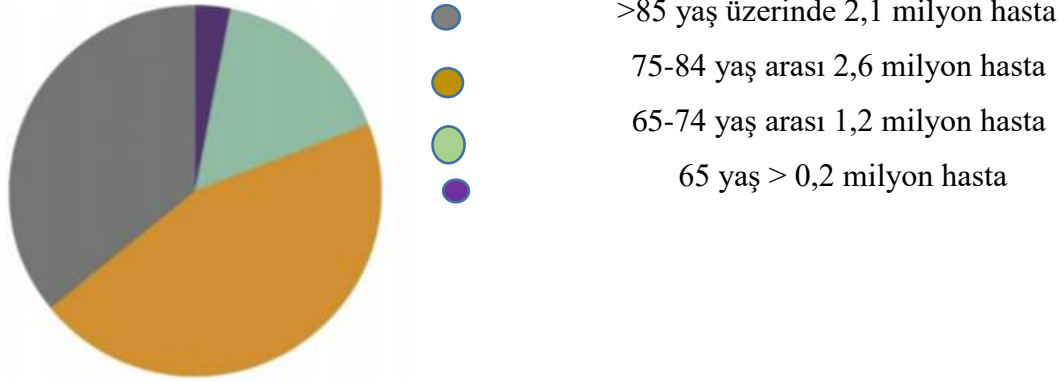
					
Madde Kodu	R1	Kullanılan anhidrit	Madde Kodu	R1	Kullanılan anhidrit
A1	H		B1	CH ₃	
A2	H		B2	CH ₃	
A3	H		B3	CH ₃	
A4	H		B4	CH ₃	
A5	H		B5	CH ₃	

Bu çalışmada, yukarıda belirtilen 1(2*H*)-ftalazinon türevlerinin sentezlenmesi ve antikolinergik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı, koroner arter hastalığının bir kalp hastalığı olması gibi bir çeşit beyin hastalığıdır. Nörodejeneratif bir hastalıktır yani hastalık zamanla daha da kötüleşir. Hastalığın belirtiler ortaya çıkmadan 20 yıl ve daha önce başladığı düşünülmektedir [4,13]. Yıllar süren beyin değişikliğinden sonra, bireyler hafıza kaybı dil problemleri gibi belirgin semptomlar göstermeye başlarlar [14]. Belirtiler bilişsel aktiviteyle yani düşünme, öğrenme, hafıza ile ilgili beyin bölümündeki sinir hücrelerinin tahrip olmasıyla oluşur. Hastaların çoğu birkaç yıl sonra sağlıklı bir birey ve kuruluş tarafından takip ve bakıma muhtaç olur. Ölüm nedenleri genelde pnömoni, pulmoner emboli gibi komplikasyonlardan olmaktadır [1].



Şekil 2.2. 2019 verilerine göre Alzheimer hastalığına yakalanan hastaların yaş ortalaması (15)

Alzheimer hastalığında risk her beş yaşta iki katına çıkmaktadır [1]. Hastalığın klinik tanımlara (uğun laboratuvar testleri, klinik değerlendirme) göre sınıflandırılması yapılsa da kesin tanı hastanın ölüm sonrasında beyin incelemesiyle yapılmaktadır [16]. Alzheimer hastalığından sorumlu başlıca iki protein vardır. Bunlar; senil plakların yapısındaki beta amiloid ve nörofibriler yumakların yapısındaki tau proteini olmakla beraber hastalığa yol açan en önemli olaylardan biri erimeyen tipte beta amiloid çökeltilerinin oluşumudur. Diğerisi ise tau proteininin artmış fosforilasyonudur. Bunlar dışında inflamasyon, oksidatif stres, apoptoz ve mitokondri hasarı da söz konusudur [17]. Alzheimerlı hastalarda yapılan bazı çalışmalar sonrasında kortekste bazı nöromediyatörlerin (asetilkolin) azaldığı tespit edilmiştir [18].

Hastalığın nedeni henüz kesin olarak bilinmemekle beraber birden çok risk etmeninin olduğu düşünülmektedir. Genetik faktörler (aile öyküsünde hastalığı geçirmiş birinci

dereceden aile üyesi varlığı), otoimmün reaksiyonlar, cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı, kronik hastalıkların varlığı gibi birçok sebep sayılabilir [3,18]. Genetik faktörlerin hastalığa sebep olabileceği hala üzerinde durulan bir araştırma konusu olsa da en az dört gen lokusundaki mutasyonların hastalıkla ilgili olduğu söylenebilir. Bunların en çok bilinenleri; amiloit prekürsör proteinini (APP) şifrelediği bilinen 21. kromozom (Down sendromuyla ilişkili), 19 ve 14. kromozom dizisindeki mutasyonlardır [19]. Bu genlerin şifrelediği proteinlerdeki farklılığın beyin reaktif antikörlerini oluşturarak hastalığa neden olduğu düşünülmektedir. Hastalığın immüniteyle ilgisi olduğu da araştırılmış, otoimmün bileşenlerin beyin reaktif antikoru oluşumuyla ilgisi olduğu düşünülmüştür. Ayrıca alüminyumun nörofibriller dejenerasyona yol açtığı düşünülmektedir. Deferoksamin ve deferipron gibi bileşiklerin alüminyum ile şelat oluşturarak hastalık belirtileri üzerinde etkili olacağı düşünülmektedir [19].

Serabral kan damarları fonksiyonunda azalmaya bağlı iskemi oluşturması ve bununla ilişkili olarak hücre deformasyonu ve hücre ölümü gerçekleşmesi hastalığın klinik tablosunu açıklamaktadır. Hastalığın en önemli bulgularından biri β -amiloid birikiminin varlığıdır. Bu konuyla ilgili yapılan çalışmalar son zamanlarda hız kazanmış ve mekanizması kısmen aydınlatılabilmektedir. Buna göre; β -amiloid bir 36-43 proteinli bir aminoasittir ve hem hastalıklı hem de sağlıklı insanlarda bulunmaktadır. APP beta sekretaz ve gama sekretaz enzimleri tarafından kesilerek amiloid beta peptitleri oluşturulur. Bu moleküller çözünebilir oligomerleri oluşturmak için bir araya gelebilir. Eğer bazı oligomerler yanlış katlanırsa diğer amiloid beta peptitlerin de yanlış katlanmış oligomerlere dönüşmesine neden olabilir. Bu durum zincirleme bir tepkime oluşturarak nihayetinde bir prion enfeksiyonuna yol açabilir. Peptitlerin yanlış katlanarak birikmesi sonucu amiloid plaklar oluşur. Bu plaklar nöronlar için toksik özellik gösterirler. Alzheimer hastalığında yanlış katlanan tau proteinlerinin varlığı gösterilmiştir. Bu tau proteinlerinin yanlış katlanmasının kendinden önce yanlış katlanmış amiloid peptitleri yüzünden olabileceği düşünülmektedir [20].

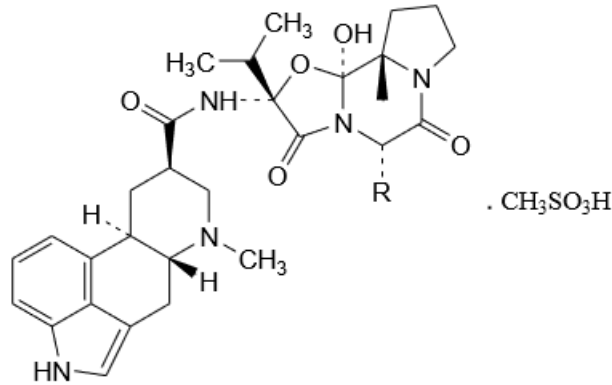
Alzheimer hastalığında asetilkolinin seçici eksikliği gözlenmektedir. Bu hastalığın semptomlarında etkili asetilkolin eksikliğinin önemini vurgulayan “kolinerjik hipotez”in ortaya atılmasına neden olmuştur.

Alzheimer hastalığının patogenezi ve patofizyolojisi tam olarak aydınlatılmadığı için henüz yeterli ve tam önleyici bir tedavisi bulunmamaktadır. Tedavi, kognitif

kapasiteye, hastalık seyri sırasında gelişen psikiyatrik rahatsızlıklara, hasta ve bakıcı eğitimine, yaşam kalitesinin korunmasına ve artırılmasına yönelik olmalıdır [1, 3, 12].

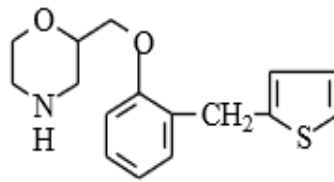
Hastalığın tedavisinde; vazodilatörler, serabral metabolik arttırıcılar, nootropikler, nörotransmitterlerden yararlanılmaktadır.

Beyin semptomlarının tedavisinde kodergokrin mezilat kullanılmaktadır. Kodergokrin mezilat 3 adet ergot alkoloitinin karışımından oluşmaktadır [19].



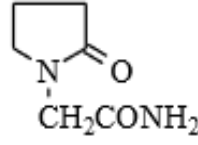
Şekil 2.3. Kodergokrin bileşiği

Alzheimer hastalığında beyinde düzensiz oksijenlenmenin meydana geldiği çalışmalarla gösterilmiştir. Bu oksijenlenmenin sülfoksazin gibi bileşiklerle düzenlenmesi; anormal kalsiyum depolanmasında olumlu etki göstererek glukoz tüketimini düzenlemektedir [19].



Şekil 2.4. Sülfoksazin bileşiği

Beyindeki oksijenlenme ve glukoz konsantrasyonu üzerinde etkili nootropiklerin hafıza artışı üzerinde etkileri vardır. Bu bileşiklerin en eskisi pirasetam olup, pirolidin-2-on yapısındadır [12,19].



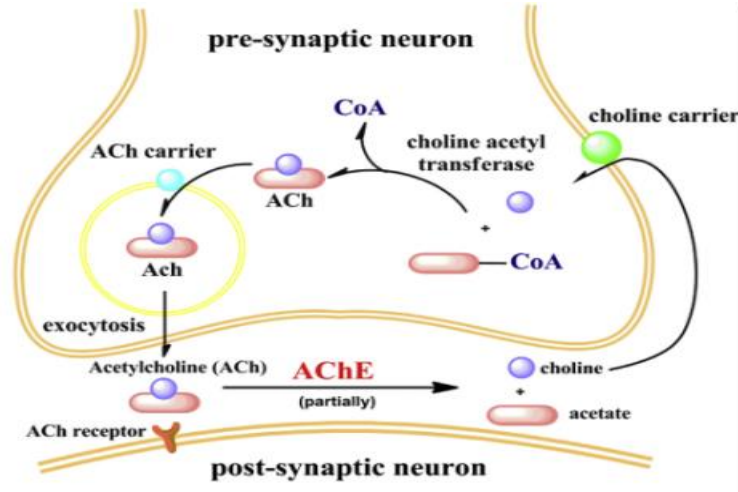
Şekil 2.5. Pirasetam bileşiği

En sık kullanılan tedavi yöntemlerinden biri de azalmış asetilkolin metabolizması üzerindedir. Bu yöntemde asetilkolini yıkan asetilkolinesteraz enziminin baskılanması amaçlanmaktadır. Artan asetilkolin düzeyi ile beraber hastalığın kognitif yetmezliği iyileştirilebilmektedir [4,15].

2.1.1. Kolinesteraz enzimleri

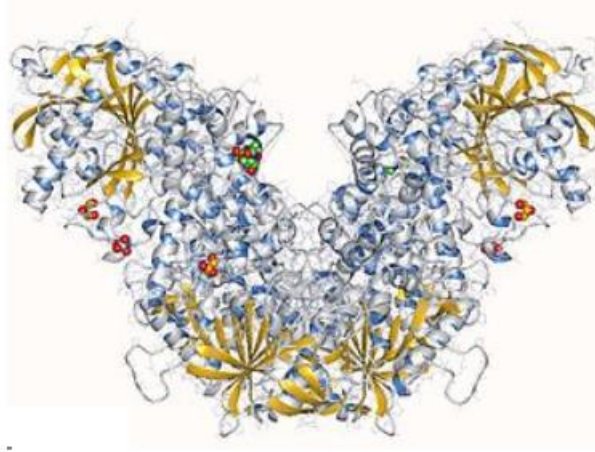
Asetilkolinesteraz (AChE) ve kardeşi sayılan bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi hayvanlar aleminde yaygın olarak eksprese edilmektedir. Her ikisi de %50 ye yakın aynı homolog dizilim homologunu taşır ve nispeten aynı sayılabilecek üçüncül ve kuaterner yapılarla sahiptirler [21,22].

AChE 7. kromozom tarafından kodlanırken, BChE ise 3. kromozom tarafından kodlanmaktadır.



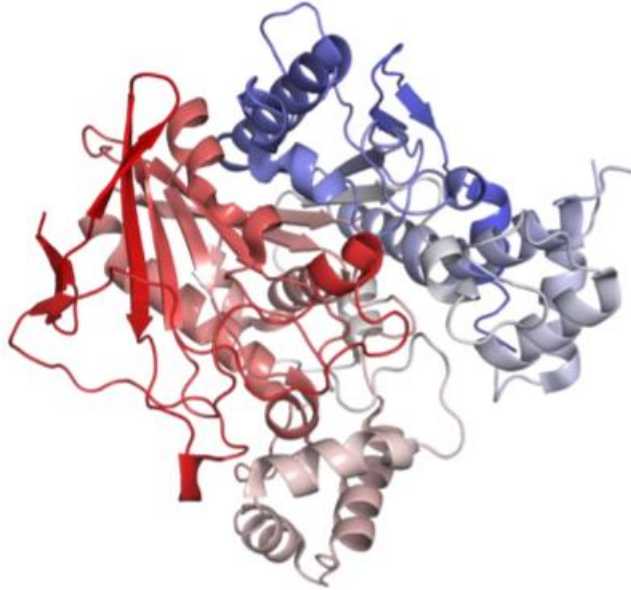
Şekil 2.6. Asetilkolinin asetilkolinesteraz ile metabolize olması

Asetilkolinesteraz enziminin mekanizması hakkındaki bilgilerin varlığına rağmen butilkolinesterazın mekanizması hakkında çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Bu yolakta sıklıkla asetilkolinesteraz kullanılmaktadır. Kolinesteraz enziminin iki aktif bölgesi vardır; triptofan tarafından oluşturulan bir anyonik bölge ve serin tarafından oluşturulan bir bölgedir [23].



Şekil 2.7 Asetilkolinesteraz 3D görüntüsü

Butirilkolinesterazın düz kaslarda kolinerjik iletiyi düzenlediği gösterilmiş olmasına rağmen işlevi tam olarak bilinmemektedir. Asetilkolinesteraz geni olmayan farelerle yapılan çalışmalarda; bütirilkolinesteraz inhibisyonu ve organofosfat etkilerine karşı aşırı derecede duyarlı oldukları tespit edilmiştir [24,25].

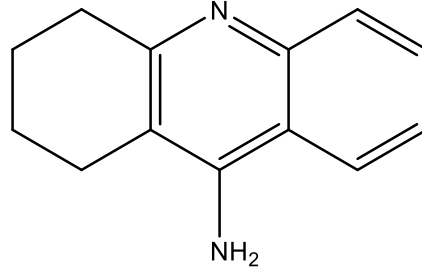


Şekil 2.8. Bütirilkolinesteraz 3D görüntüsü

2.1.2. Kolinesteraz enzim inhibitörleri

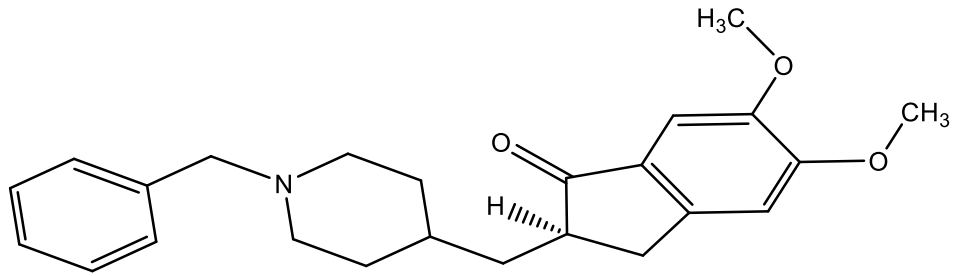
Kolinesteraz inhibitörleri, asetilkolinin sinapslarda yüksek düzeylerde kalmasını sağlamak için asetilkolinesterazı inhibe ederler. Takrin hastalığın tedavisi için FDA onayı almıştır. Reversibl ve selektif olmayan asetilkolin esteraz inhibitörüdür. Aktif metaboliti 1-hidroksitakrin'dir. Özellikle hafif ve orta derece bilişsel yıkımı olan Alzheimer

hastalarında çalışılmıştır [26]. Hastaların %30 ' unda karaciğer enzimlerinde yükseldiği tespit edilmiştir.



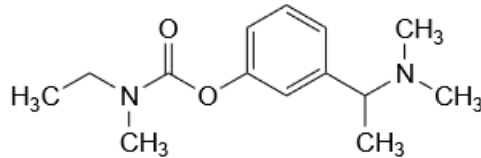
Şekil 2.9. Takrin bileşiği

Reversibl, selektif asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Donepezil, takrin ile benzer etkinliğe sahiptir [27]. Yüksek dozlarda aşırı kolinerjik etkilerden kaynaklanmaktadır.

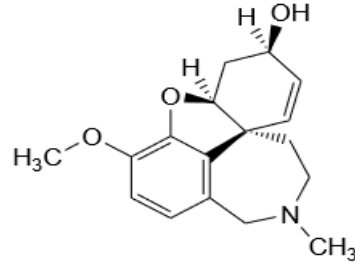


Şekil 2.10. Donepezil bileşiği

Rivastigmin, eptastigmin gibi kolinesteraz inhibitörleri de tedavide kullanılmaktadır ancak yine benzer yan etkiler göstermektedir [3]. Rivastigmin psödoirreversibl selektif asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Asetilkolin gibi asetilkolinesteraz enziminin esteratik kısmına bağlanırlar.

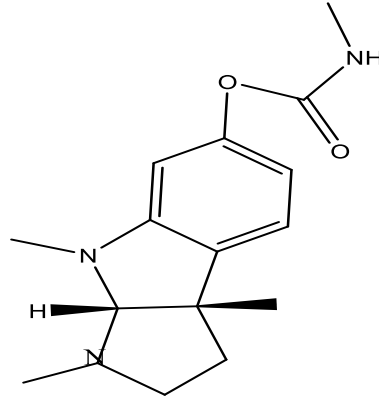


Şekil 2.11. Rivastigmin bileşiği



Şekil 2.12. Galantamin bileşiği

Fizostigmin, etil fizostigmin ve bitkilerden elde edilen doğal bir asetilkolinesteraz inhibitörü olan huperzin A da klinik vakalarda tedavide kullanılabilmektedir [28].



Şekil 2.13. Fizostigmin bileşiği

2.1.3. Antikolinesteraz aktivite tayin yöntemleri

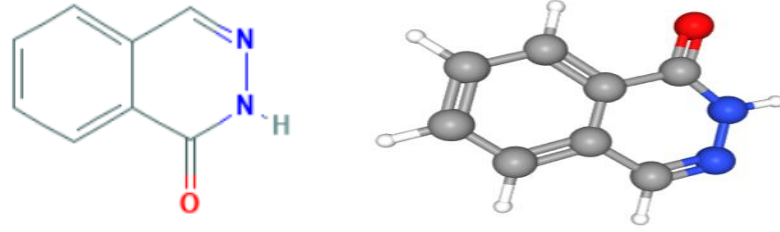
Ellman metodu kolinesteraz aktivitenin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Deneyin presibi; asetilkolin veya asetiltiyokolinin hidrolizini gerçekleştiren kolinesteraz enzimlerinin inhibisyonunun belirlenmesi için; tiyokolin (TCh) ile Ellman reaktifi olarak bilinen 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asitin (DTNB) reaksiyona girer ve oluşan sarı renkli kompleksin 412 nm'deki absorpsiyonunun ölçülmesiyle sonuca ulaşılır [29].

Ellman metodunun iki olumsuzluğu vardır. Bunlardan biri, tepkime sonucu oluşan sarı kompleksin bileşimi ve bu bileşiğin 412 nm'deki absorpsiyon katsayısı reaksiyon karışımının bileşimine ve özellikle de pH değerine yüksek oranda bağlı olmasıdır. Diğer bir olumsuzluk ise, substrat olarak asetilkolin yerine asetiltiyokolin kullanılmasının gerekliliğidir.

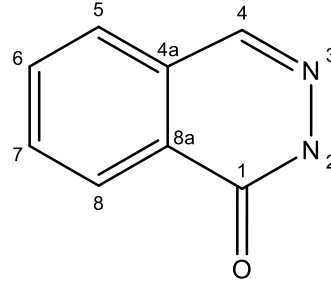
Ellman yöntemi spektrofotometrik ölçüme dayanmaktadır.

2.2. 1(2H)-Ftalazinon Halkası Hakkında Genel Bilgiler

$C_8H_6N_2O$ moleküler formülüne sahiptir. 146.15 g/mol'dür. Ftalazin halka grubunun bir üyesidir. Kaynama noktası 639 ° F olup, erime noktası 188 °C'dir ve suda çözünmeyen, iki bitişik azot atomuyla, 1,2-diazin halkasına kaynaşmış benzen halkasından oluşan heterosiklik bir bileşiktir [30].



Şekil 2.14. 1(2H)- Ftalazinon Halkası ve 3 boyutlu görüntüsü



Şekil 2.15. 1(2H)-Ftalazinon Numaralandırması

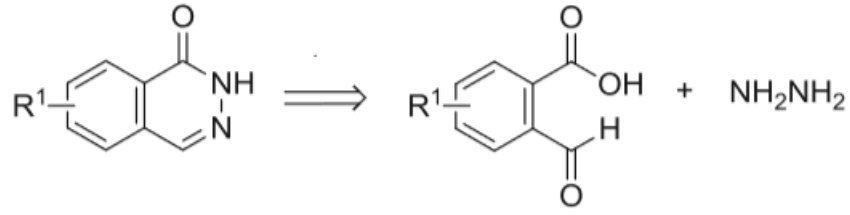
Bileşik laktim ve laktam formları arasında tautomerik bir denge göstermektedir.

2.2.1. 1(2H)-ftalazinon türevlerinin sentezi

Ftalazinon grubunun sentezi için ana metodolojiler temelde iki sınıfta toplanabilir. Bunlardan ilki; fitalik asit, benzoik asit türevleri ve o-dikarbonil analoglarının hidrazin içeren iki bileşenli siklokondenzasyonlarıyla gerçekleştiği gösterilmiştir. Hidrazin veya sübstitüe edilmiş hidrazinlerle bu siklo kondansasyon tepkimesi, metal içermeyen koşullar altında gerçekleşir. İkincisi, çoğu geçiş metalleriyle katalize edilen ve üç bileşenli stratejiye dayanan yaklaşımlar ile gerçekleştiği gösterilmiştir [32].

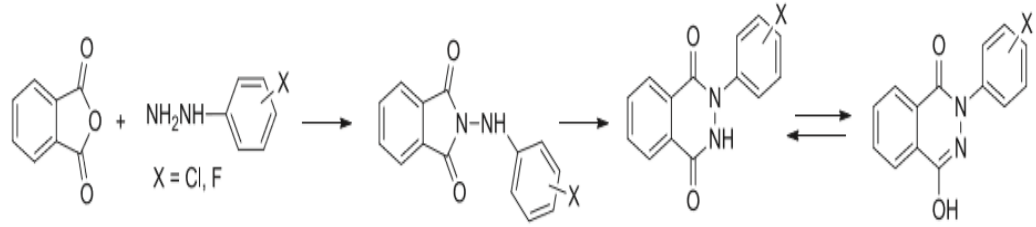
2.2.1.1. Fitalik asit türevlerinden hareketle 1(2H)- ftalazinon sentezi

Fitalik anhidritler, fitalamitler veya dialkil fitalatlar gibi fitalik asit türevlerinin hidrazin hidrat veya sübstitüe edilmiş hidrazinlerden hareketle 4- hidroksi- 1(2H)-ftalazin veya tautomer dengesinden dolayı 2,3-dihidroftalazin-1,4 dionlar ortaya çıkmaktadır [33].



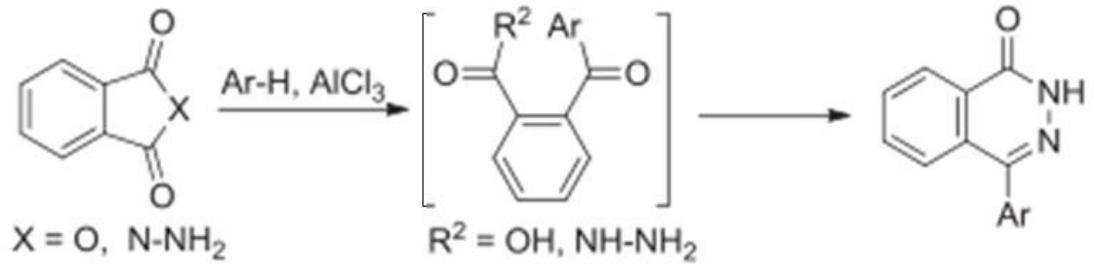
Şekil 2.16. Fitalik asitlerden hareketle ftalazinon sentezi

Fitalik anhidritlerin süstitüe edilmiş hidrazinlerle özellikle elektron fakir fenil hidrazinlerle reaksiyona sokulması, istenilen ftalazinonu vermek için daha sert koşullarını takip eden halka genişleme tepkimesini gerektiren *N*-arilaminofitalamit ile sonuçlanır [34].



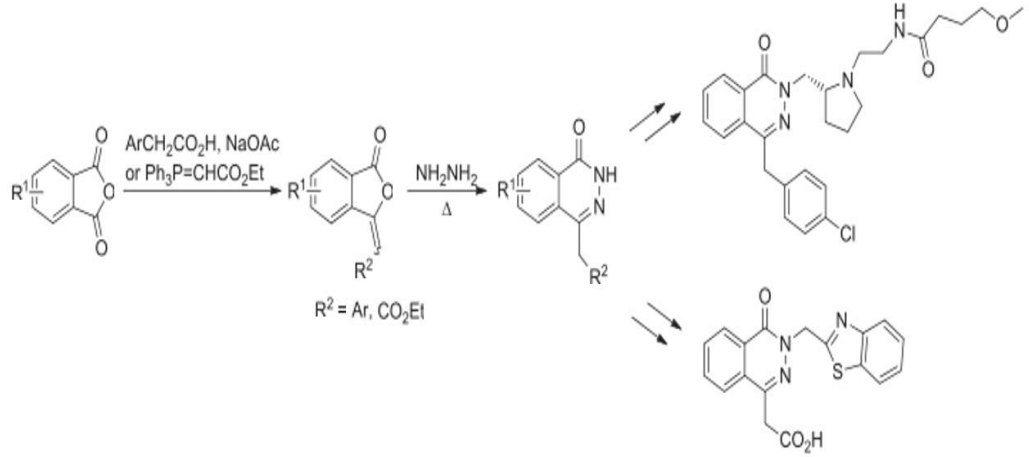
Şekil 2.17. Fitalik anhidritlerden hareketle ftalazinon sentezi

Fitalik anhidritler ve *N*-amino fitalamitlerden, Friedel Crafts koşulları altında reaksiyon verebilmeleri nedeniyle, birçok fosfodiesteraz 4 inhibitöründe ayrıca analjezik ve antiinflamatuvar özellik gösteren bazı bileşiklerde de bulunan, kardiyovasküler tedavi için bir farmakoforik grup olarak kabul edilen 4-arilftalazinon çekirdeği elde edilebilir. Reaksiyon sırasıyla 2-asetilbenzoik asit veya 2-hidroksibenzoik asit hidraziti vasıtasıyla gerçekleşen bir desiklizasyon ve siklokondansasyon işleminde geçiyor gibi görünmektedir.



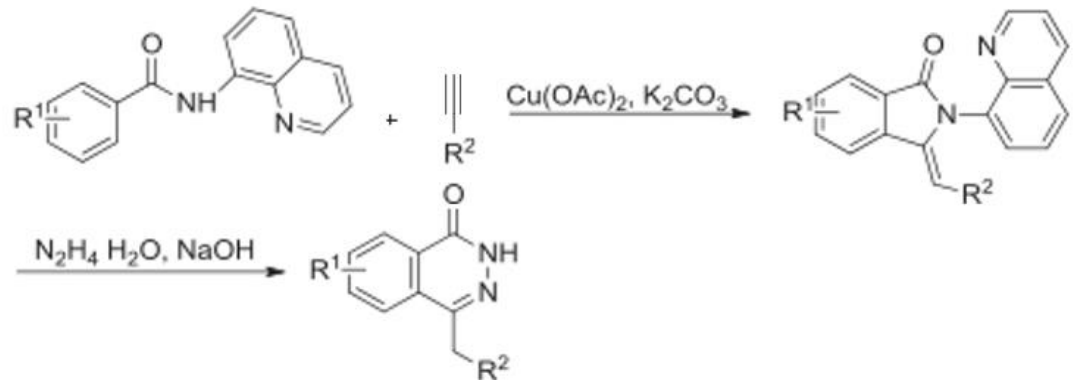
Şekil 2.18. Fitalik anhidritlerden Friedel Crafts koşullarında ftalazinon sentezi

C4'te fonksiyonelleştirilmiş alkil parçaları içeren ftalazinonlar öncü olarak, 3-alkiliden izobenzofuranonların kullanılmasını içerir. Seçilen 3-alkiliden izobenzofuranonlar genellikle farklı aril asetik asitlerle yoğunlaştırma, yüksek sıcaklıkta veya mikrodalga ışınlama altında çoğunlukla Z izomerine yol açar veya çoğunlukla E izomerine yol açan stabilize edilmiş fosforan ile bir Wittig tip alkenilasyon tepkimesi verebilir [35,36].



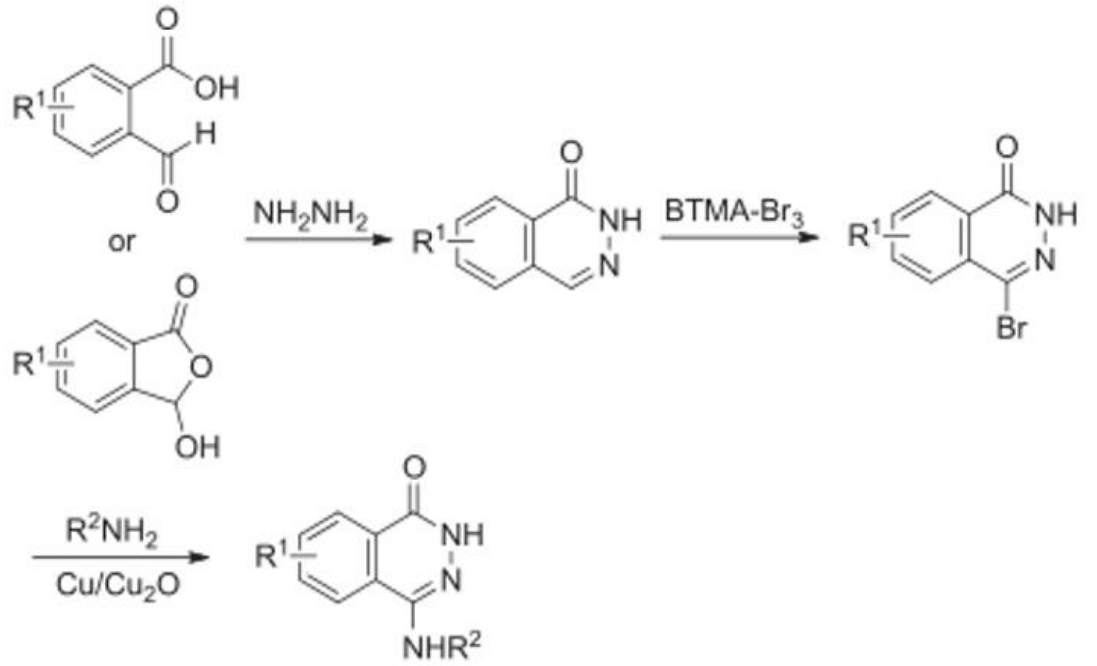
Şekil 2.19. 3-alkiliden izobenzofuranonlardan hareketle ftalazinon sentezi

3-alkilidenizindolin-1-on' lardan hareketle 4-alkilftalazin-1(2H)-on sentezi gerçekleştirilmektedir.



Şekil 2.20. 3-alkilidenizindolin-1-on dan hareketle 1(2H)-ftalazinon sentezi

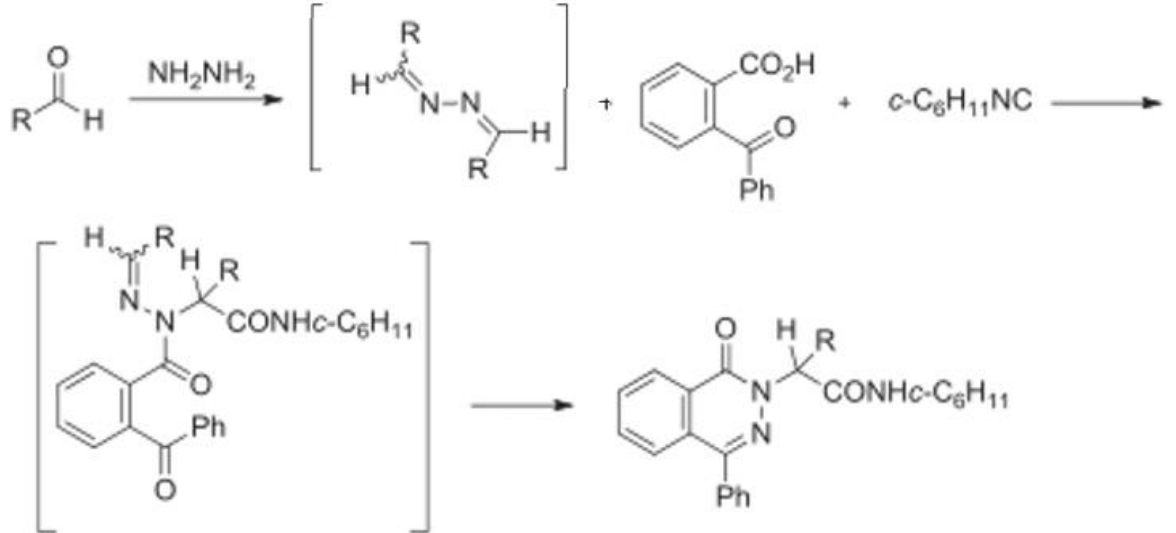
2-formilbenzoikasit veya 3-hidroksibenzofuran-1(2H)-on' dan hareketle, 4-alkilamino ve 4-arilaminoftalazin-1(2H)-on sentezlenebilir [37].



Şekil 2.21. 4-arilaminoftalazin-1(2H)-on eldesi sentez şeması

2.2.1.2. Çok bileşenli reaksiyonlardan hareketle 1(2H)-ftalazinon sentezi

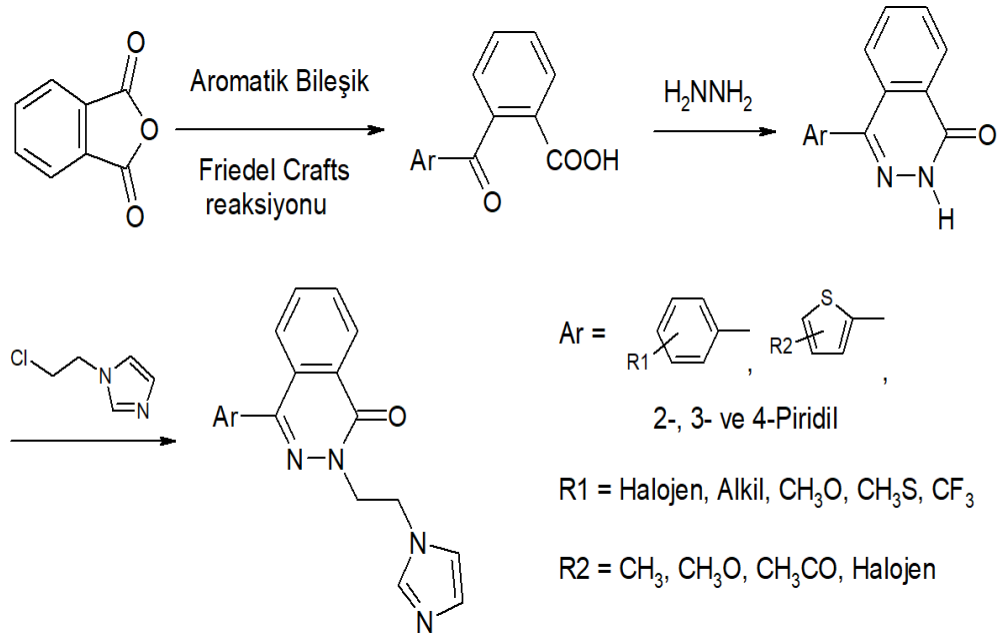
Ugi dört bileşenli reaksiyon, çok dallı aminokarbonil alkil grubu $\text{N}2'$ de taşıyan 4-fenilftalazin-1-(2H)-on sentezlemek için kullanılabilir.



Şekil 2.22. Ugi dört bileşenli reaksiyon şeması

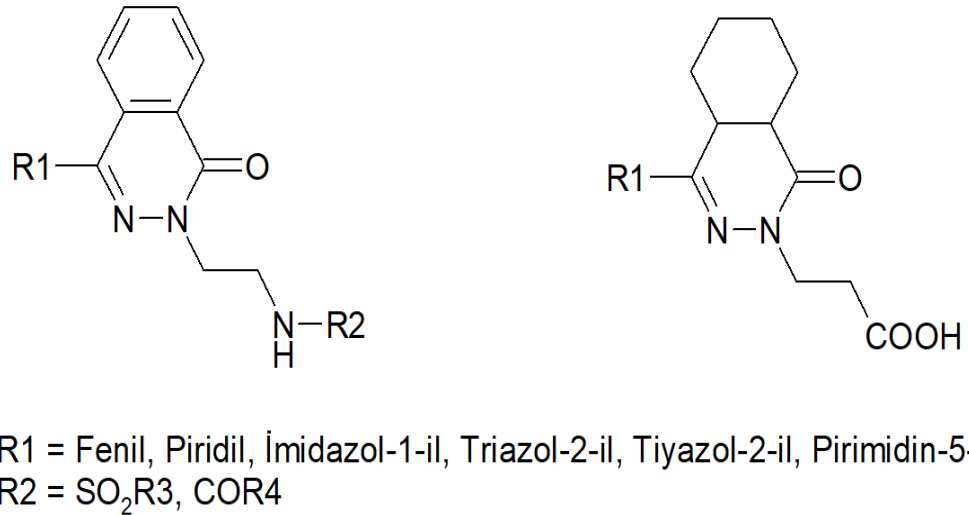
2.2.2. 1(2H)-ftalazinon türevleriyle ilgili çalışmalar

Yamaguchi ve arkadaşları, ftalazinon halkasının 4 konumuna sübstitute fenil, tienil ve pirdil grupları getirmişler ve bronkodilasyon için çalışmalar yapmışlardır.



Şekil 2.23. Yamaguchi ve arkadaşları tarafından sentezlenen yeni 1(2H)-ftalazinon türevi bileşik

Başka bir çalışmada; ftalazinon halkasındaki sübstitüsyonların çeşitliliği arttırılmış. Farklı etkinlikler araştırılmıştır.

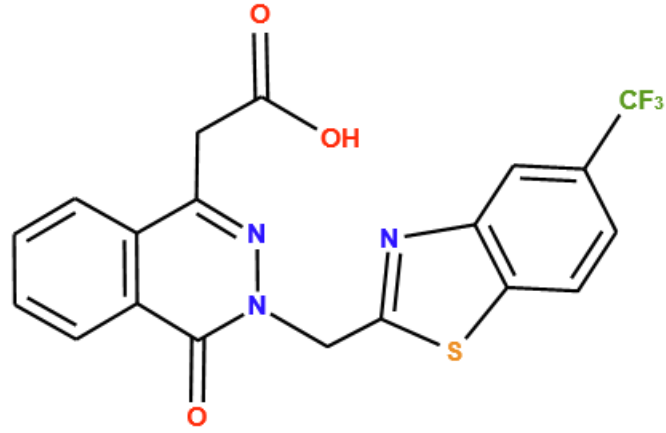


Şekil 2.24. Çalışmalar sonucu elde edilen farklı sübstitüsyonlar içeren ftalazinon türevleri

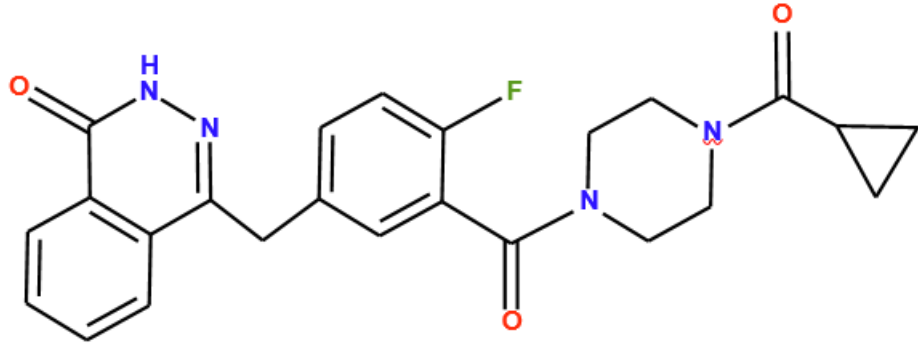
2.2.3. 1(2H)-ftalazinon türevlerinin biyolojik aktiviteleri

Halka türevleri birçok biyolojik aktivite göstermektedir. Antikanser tedavisinde oluparib, antidiyabetik olarak zopolrestat, antiastmatik, antihistaminik olarak azelastin,

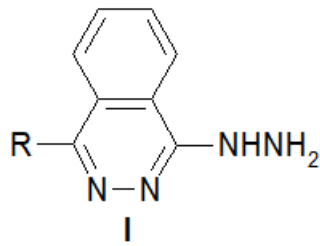
antihipertansif olarak hidralazin, antitrombotik, antiinflamatuvar, analjezik, antidepresan ve antimikrobiyal aktivite gösterdikleri bilinmektedir. (31)



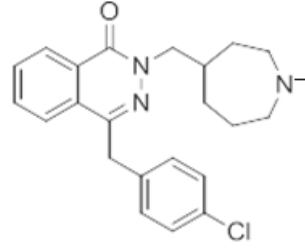
Şekil 2.25. Zopolrestat bileşiği



Şekil 2.26. Olaparib bileşiği



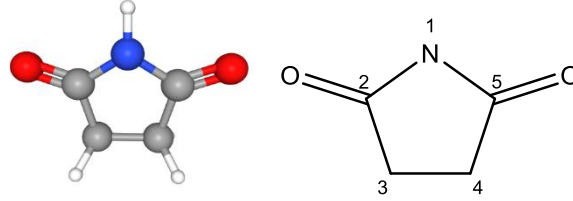
Şekil 2.27. Hidralazin bileşiği



Şekil 2.28. Azelastin bileşiği

2.3. Pirolidin-2,5-dion Halkasına Ait Genel Bilgiler

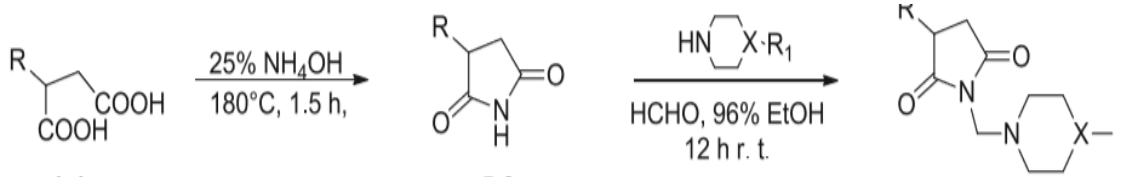
Pirolidin-2,5-dion, heterosiklik bir halka yapısına sahiptir. $C_4H_5NO_2$ kapalı formülüne sahiptir. Halka elektrofilik süstitüsyon reaksiyonlarına yatkındır. Bu özelliği yapısında yer alan azottan almaktadır [43].



Şekil 2.29. Pirolidin-2,5-dion halkası numaralandırması, 2D ve 3D görüntüsü

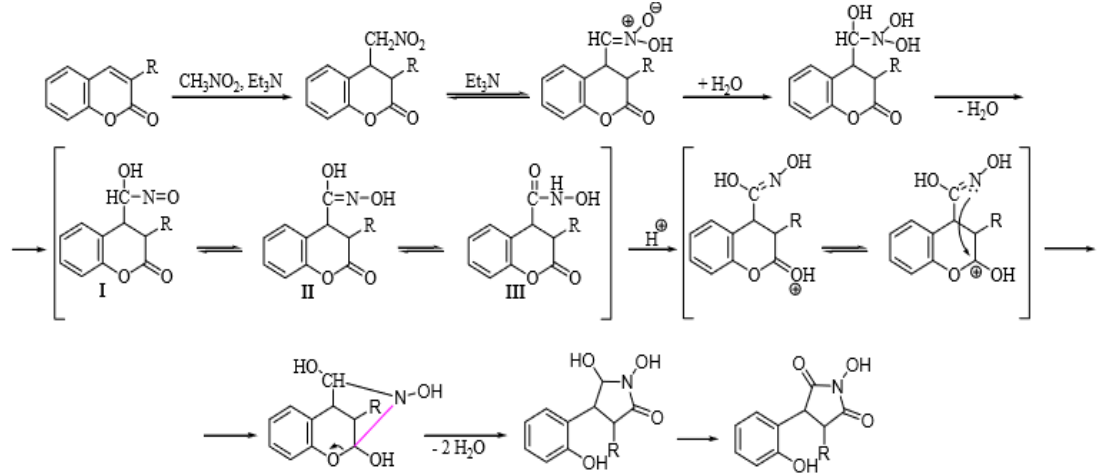
2.3.1. Pirolidin-2,5-dion halkasının sentez yöntemleri

1,4-dikarboksilik asitler veya bunların aminleri veya amidleri gibi türevlerinin nükleofilik açıl süstitüsyonlarını temel alan yaklaşım en sık başvurulan pirolidin-2,5-dion sentez yöntemidir [44].



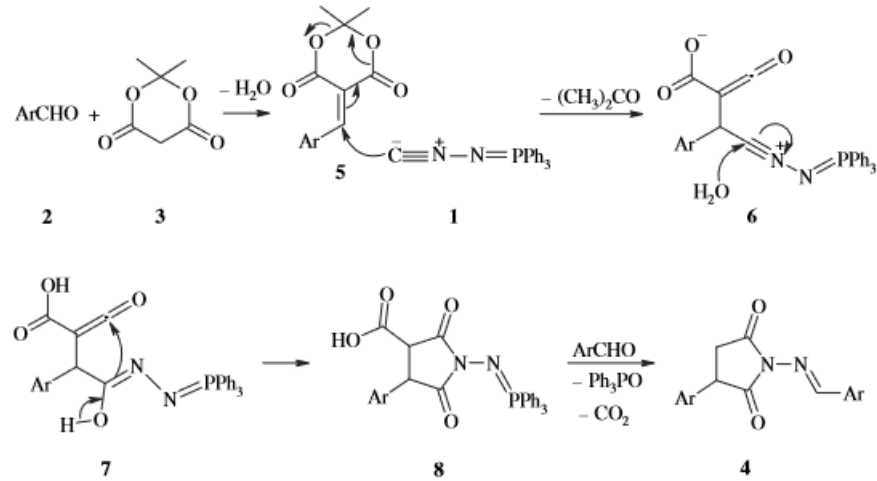
Şekil 2.30. Süstitüe karboksilik asitlerden hareketle piridazinon-2,5-dion eldesi

Kumarin-3-karboksilik asit türevlerinden (dimetil amit, etil ester ve nitril) hareketle süstitüe pirolidin-2,5-dionların elde edilebildiği gösterilmiştir [44].



Şekil 2.31. Kumarin-3-karboksilik asit türevlerinden pirolidin-2,5-dionların elde edilme mekanizmaları

N-izosiyanimotriphenilfosforan, bir aldehit ve Meldrum asidiyle tetrahidrofuran içerisinde tepkimeye sokulduğunda pirolidin-2,5-dion türevleri sentezlenmektedir [49].



Şekil 2.32. 3-aryl-1-(arilmethylidamino)pirolidine-2,5-dion eldesi ve reaksiyon mekanizması

2.3.2. Pirolidin-2,5-dion halkası içeren antikolinerjik etkili bileşikler

Çalışma konumuz olan antikolinerjik aktivite ile pirolidin-2,5-dion halka sistemi arasındaki ilişkiye ait kaynak araştırmalarımızda; pirolidin-2,5-dionun bazı çalışmalarda antidiyabetik, antioksidan, antidepresan, antikonvülzan aktivite gösterdiği görüldüğü de, pirolidin-2,5-dion halka yapısının antikolinerjik etkisini doğrudan gösteren bir çalışma bulunamamıştır [45,46,47].

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

Alüminyum klorür	: Merck, Almanya
Asetanilid	: Merck, Almanya
Asetik asid	: Riedel-de Haen
Diklorometan	: Merck, Almanya
Dimetilformamid	: Merck, Almanya
Dimetilsülfoksid	: Merck, Almanya
Etil alkol	: Yerli
Ftalik anhidrid	: Sigma-Aldrich, Almanya
Fenil süksinik anhidrit	: Sigma-Aldrich, Almanya
Hidrazin hidrat	: Sigma-Aldrich, Almanya
Hidroklorik asid	: Sigma-Aldrich, Almanya
Karbondisülfür	: Sigma-Aldrich, Almanya
Kloroform	: Merck, Almanya
Metilhidrazin	: Merck, Almanya
3-Nitroftalik anhidrit	: Sigma-Aldrich, Almanya
Petrol eteri (40-60°)	: Merck, Almanya
Silikajel 60 GF ₂₅₄	: Merck, Almanya
Silikajel 60 G	: Merck, Almanya
Sodyum bikarbonat	: Merck, Almanya
Susuz Sodyum asetat	: Merck, Almanya
Süksinik anhidrid	: Merck, Almanya
Tetrakloroftalik anhidrit	: Sigma-Aldrich, Almanya

3.2. Kullanılan Cihazlar

Elektronik terazi	: Shimadzu, Libror EB-330 HU, Japonya
Erime derecesi tayin cihazı	: Mettler Toledo-MP90 Melting Point System, İsviçre
Etüv	: Heraeus, Almanya
İnkübatör	: Heraeus, Almanya
Kızıl ötesi spektrofotometresi	: Shimadzu-IR Affinity-1S, Japonya
Manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı	: Heidolph, MR 3003, Almanya
Moleküler görüntüleme cihazı	: BIO-RAD, ChemiDoc XRS+, ABD
Nükleer manyetik rezonans spektrometresi	: Bruker, UltraShield 300 MHz, ABD
Steril kabin	: Class II TypeA2 (CHC-222A2-60), Güney Kore
Ultraviyole lambası	: Camag, Cabinet, İsviçre
Vorteks	: Wisemix, Güney Kore

4. YÖNTEMLER

4.1. Sentez Çalışmaları

4.1.1. 2-(4-asetamidobenzoil)benzoik asit eldesi (Yöntem A)

Asetanilid (0,2 mol) ve ftalik anhidrid (0,22 mol) ve içine diklorometan eklendi. İyiye karıştırılarak alüminyum klorür eklenerek 8 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Diklorometan distile edildi. Kalan ürün, bir buz banyosuna yerleştirildi ve buzlu seyreltik hidroklorik asit ile dekompoze edildi. Oluşan katı madde süzdürüldü ve alınan ürün, doymuş sodyum bikarbonat çözeltisiyle muamele edilerek süzüldü. Süzüntü asidik olana değin seyreltik hidroklorik asit ile asitlendirildi. Çökelek süzülerek alındı.

4.1.2. 2-(4-aminobenzoil)benzoik asit eldesi (Yöntem B)

2-(4-Asetilaminobenzoil)benzoik asit (0,02 mol) konsantre hidroklorik asit ile geri çeviren soğutucu altında 2 saat kaynatıldı. Çözelti soğutuldu. Hacmi kadar suyla seyreltildi ve sodyum bikarbonat ile nötral hale getirildi. Çöken ürün süzülerek alındı. Ürün etanolden kristallendirildi.

4.1.3. 4-(4-Aminofenil)-1(2H)-ftalazinon eldesi (Yöntem C)

2-(4-aminobenzoil)benzoik asit (0,018 mol) ve hidrazin hidrat (0,036 mol) etanol içinde geri çeviren soğutucu altında 6 saat kaynatıldı. Karışım soğutularak, oluşan ürün süzüldü. Etanolden kristallendirildi.

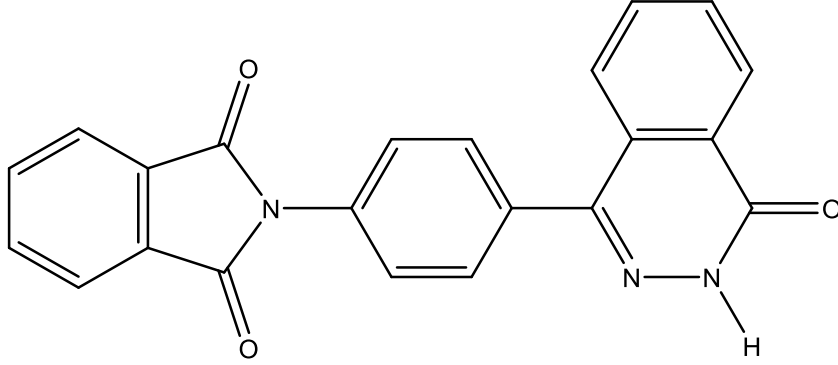
4.1.4. 2-Metil-4-(4-aminofenil)-1(2H)-ftalazinon eldesi (Yöntem C)

2-(4-Aminobenzoil)benzoik asit (0,018 mol) ve metilhidrazin (0,036 mol) susuz sodyum asetat (0,054 mol) eşliğinde, etanol ilave edilerek geri çeviren soğutucu altında 6 saat kaynatıldı. Karışım soğutularak, oluşan ürün süzülerek alınıp su ile yıkandı ve etanolden kristallendirildi.

4.1.5. 4-[4-(Süstitüe)fenil]-1(2H)-ftalazinon türevlerinin eldesi (Yöntem D)

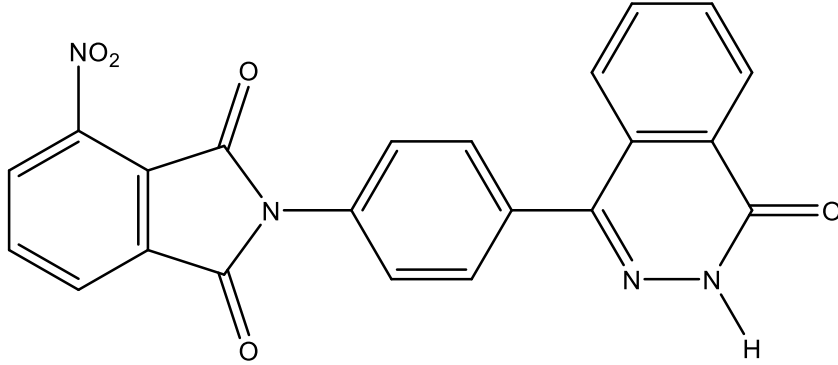
Eşit eşivalanda alınan süksinik veya ftalik anhidrit türevi ve 4-(4-aminofenil)-1(2H)-ftalazinon; sodyum asetat ilave edilerek, etanol içinde geri çeviren soğutucu altında iki saat kaynatıldı. Soğutma sonucu çöken ürün süzülerek alındı. Çeşitli çözücüler denenmesine rağmen uygun bir kristallendirme solventi bulunamadığından, ürün sıcak etanol ile yıkanarak temizlendi.

2-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)izoindolin-1,3-dion A1 eldesi:



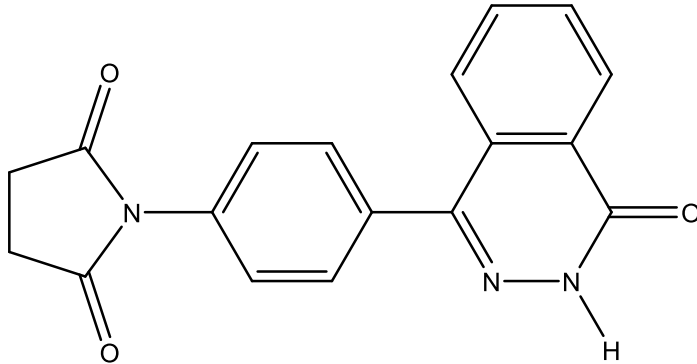
Eşit eşivalan alınan 4-[4-(Sübstütü)fenil]-1(2*H*)-ftalazinon ve ftalik anhidrit kullanılarak yöntem D belirtildiği şekilde elde edildi.

4-nitro-2-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)izoindolin-1,3-dion A2 eldesi:



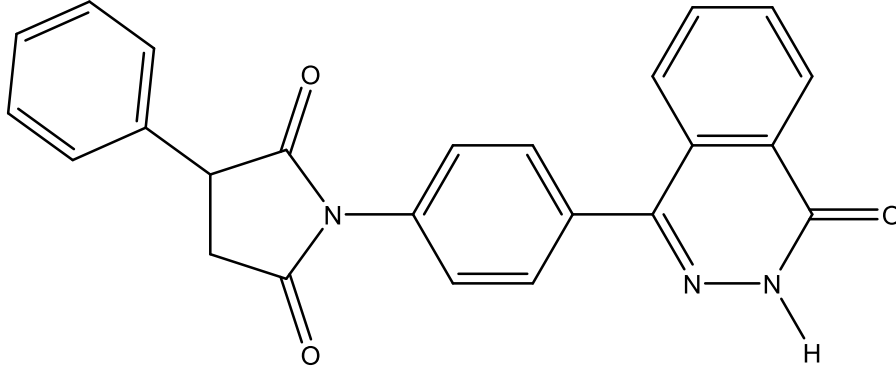
Eşit eşivalan alınan 4-[4-(Sübstütü)fenil]-1(2*H*)-ftalazinon ve 4-nitroizobenzofuran-1,3-dion kullanılarak yöntem D belirtildiği şekilde elde edildi.

1-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)pirolidin-2,5-dion A3 eldesi:



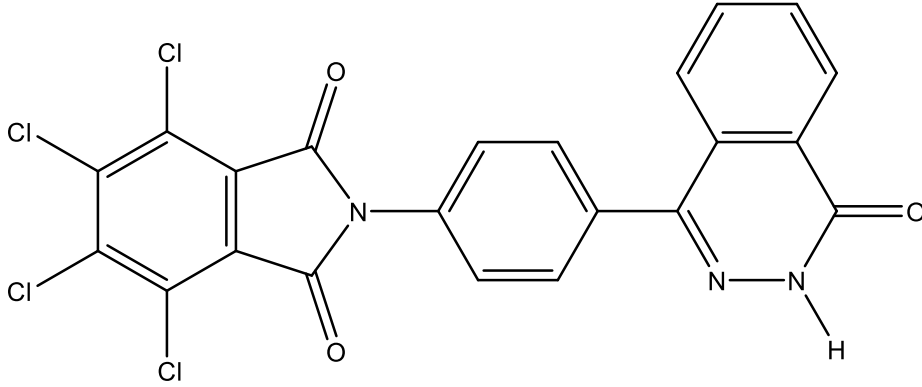
Eşit eşivalan alınan 4-[4-(Sübstütü)fenil]-1(2*H*)-ftalazinon ve Süksinik anhidrit kullanılarak yöntem D belirtildiği şekilde elde edildi.

1-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-3-fenilpirolidin-2,5-dion A4 eldesi:



Eşit eşivalan alınan 4-[4-(Süstitüe)fenil]-1(2H)-ftalazinon ve fenil süksinik anhidrit kullanılarak yöntem D belirtildiği şekilde elde edildi.

4,5,6,7-tetrakloro-2-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)izoindolin-1,3-dion A5 eldesi:

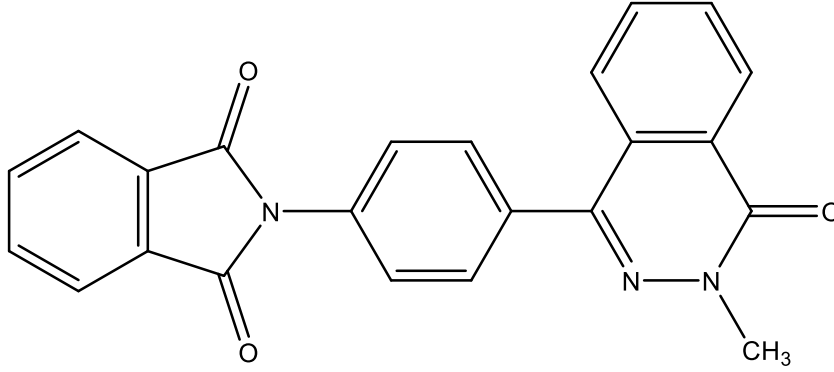


Eşit eşivalan alınan 4-[4-(Süstitüe)fenil]-1(2H)-ftalazinon ve tetrakloroftalik anhidrit kullanılarak yöntem D belirtildiği şekilde elde edildi.

4.1.6. 2-metil-4-[4-(Süstitüe)fenil]-1(2H)-ftalazinon türevlerinin eldesi (Yöntem D)

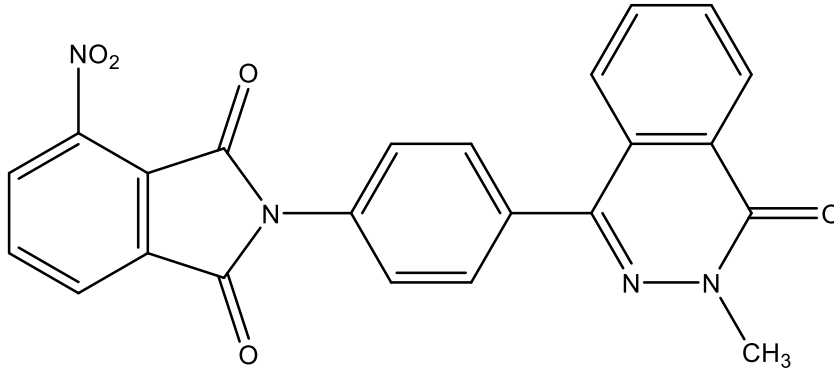
Eşit eşivelanda alınan süksinik veya ftalik anhidrit türevi ve 4-(4-aminofenil)-1(2H)-ftalazinon; sodyum asetat karışımı ilave edilerek, geri çeviren soğutucu altında iki saat kaynatıldı. Soğutma sonucu çöken ürün süzülerek alındı. Çeşitli çözücüler denenmesine rağmen uygun bir kristallendirme solventi bulunamadığından, ürün sıcak etanol ile yıkanarak temizlendi.

2-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-izoindolin-1,3-dion B1 eldesi:



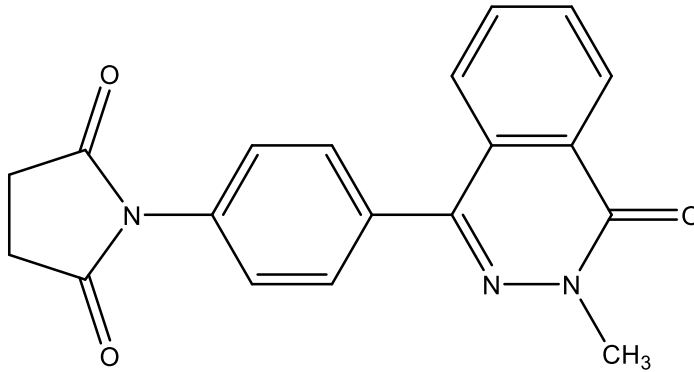
Eşit eşivalan alınan 2-Metil-4-(4-aminofenil)-1(2*H*)-ftalazinon ve ftalik anhidrit kullanılarak yöntem D belirtildiği şekilde elde edildi.

2-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-4-nitroizoindolin-1,3-dion B2 eldesi:



Eşit eşivalan alınan 2-Metil-4-(4-aminofenil)-1(2*H*)-ftalazinon ve 4-nitroizobenzofuran-1,3-dion kullanılarak yöntem D belirtildiği şekilde elde edildi.

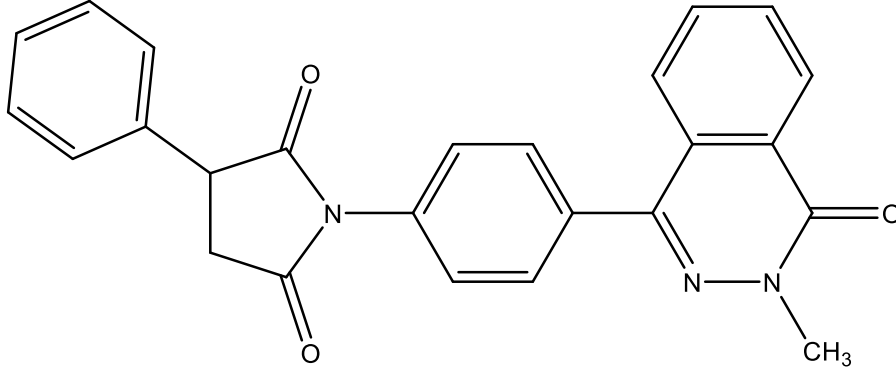
1-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)pirolidin-2,5-dion B3 eldesi:



Eşit eşivalan alınan 2-Metil-4-(4-aminofenil)-1(2*H*)-ftalazinon ve Süksinik anhidrit kullanılarak yöntem D belirtildiği şekilde elde edildi.

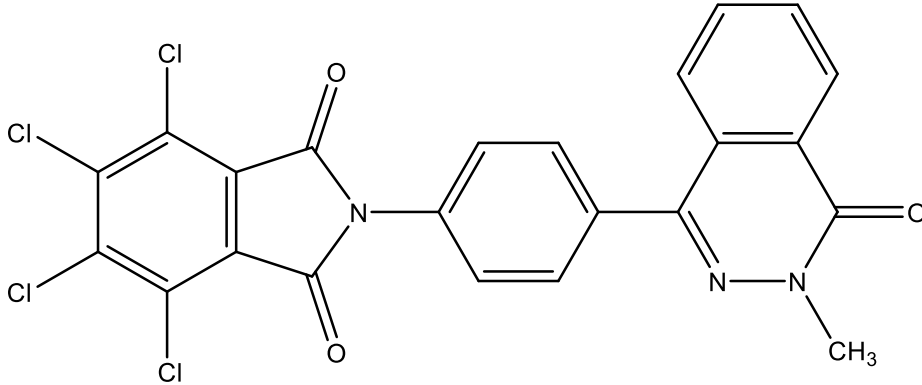
1-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-3-fenilpirolidin-2,3-dion

B4 eldesi



Eşit eşivalan alınan 2-Metil-4-(4-aminofenil)-1(2H)-ftalazinon ve fenil süksinik anhidrit kullanılarak yöntem D belirtildiği şekilde elde edildi.

4,5,6,7-tetrakloro-2-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)izindolin-1,3-dion B5 eldesi:



Eşit eşivalan alınan 2-Metil-4-(4-aminofenil)-1(2H)-ftalazinon ve tetrakloroftalik anhidrit kullanılarak yöntem D belirtildiği şekilde elde edildi.

4.2. İTK Çalışmaları

Tüm sentez çalışmalarında tepkimelerin kontrolü İTK uygulamaları ile kontrol edilmiştir. Adsorban olarak seçilen silika jel 60 F254 kaplı, önceden uygun çözücü karışımları ile doyurulmuş alüminyum plaklara kılcal boru yardımıyla; deney balonlarından alınan numuneler ve sentezlerde kullanılan başlangıç maddelerinin etanoldeki çözeltileri ilave edilmiş ve hareketli fazlar içerisinde sürüklendirilmiştir. Ultraviyole ışığı (254 nm ve 366 nm) kullanılarak lekeler saptanmıştır. İTK sonucuna

göre tepkimelere devam süreci değerlendirilmiştir. Bu çalışmada her bir sentezin kontrolü için uygun İTK hareketli fazları, farklı çözücü karışımları denenerek saptanmıştır. Sentezlerin kontrolü için uygun hareketli fazın petrol eteri:etil asetat (3:1) olduğu tespit edilmiştir.

4.3. Erime Noktalarının Tayini

Elde edilen bileşiklerin erime noktaları Mettler Toledo-MP90 Melting Point System kullanılarak ölçülmüştür. Bileşikler bir ucu kapalı kılcal borulara ½ cm kadar konulan cihazın haznelere koyulmuştur. Süre sonunda cihazdan alınan videolar izlenmiş ve erime noktası tayini saptanmıştır.

4.4. IR Spektrumlarının Alınması

IR spektrumları, Shimadzu-IR Affinity-IS cihazı kullanılarak bulunmuş olup, spektrumlar IR spektrofotometresi ATR ataçmanına toz maddeler konularak elde edilmiştir.

4.5. C, H, N, O tayini

Bileşiklerin C, H, N, O yüzdelerinin analizi bir Leco CHNS Elementel Analiz Aleti kullanılarak alınmıştır.

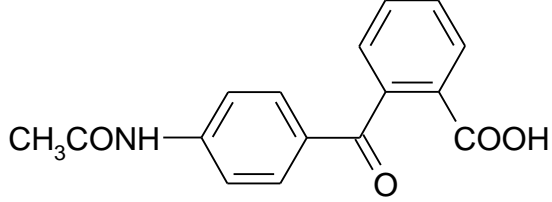
4.6. ¹H NMR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen orijinal bileşiklerin ¹H NMR spektrumları DMSO-d₆ içindeki çözeltilerinin, tetrametilsilana (TMS) karşı Bruker 300 MHz'lik NMR spektrometresine uygulanması sonucu alınmıştır.

5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR

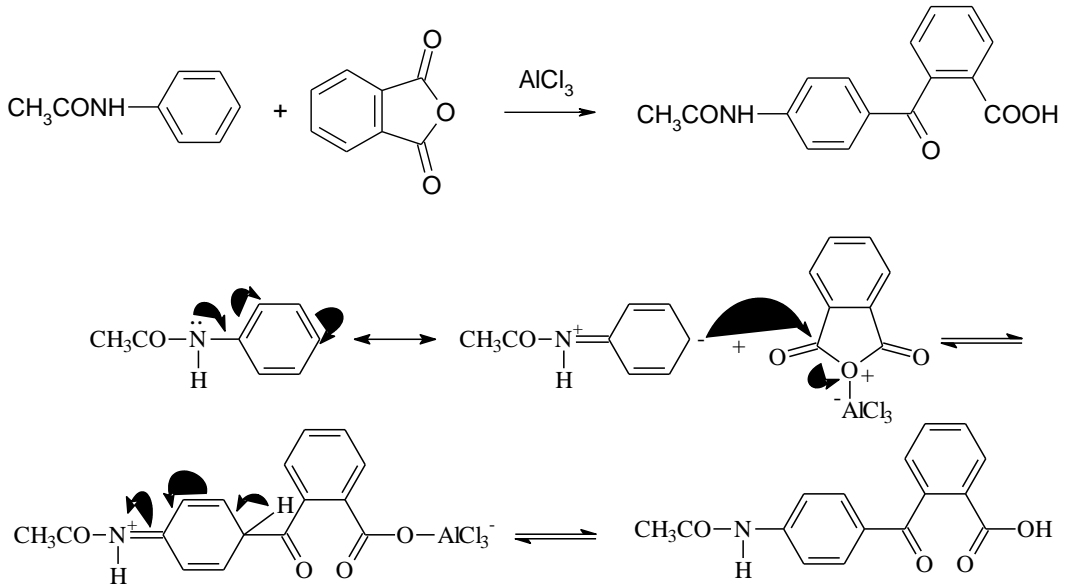
5.1. Sentez Çalışmaları

5.1.1. 2-(4-asetamidobenzoil)benzoik asit eldesi (Yöntem A)



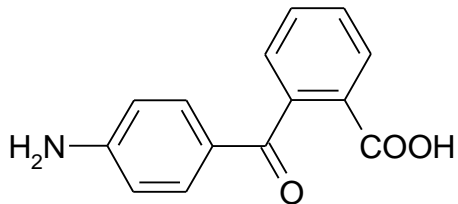
Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir. Başlangıç maddemiz olan, 2-(4-asetamidobenzoil)benzoik asit; asetanilitten hareketle alüminyum klorür katalizörlüğünde Friedel-Crafts reaksiyonu şartlarında sentezlenmiştir [38].

Verim %65 . Deneysel E.n: 270 °C; Lit. [39] E.n.:277 °C



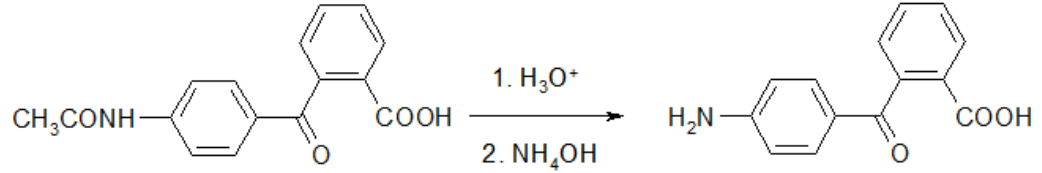
Şekil 5.1. 2-(4-asetamidobenzoil)benzoik asitin ön görülen reaksiyon mekanizması

5.1.2. 2-(4-aminobenzoil)benzoik asit eldesi (Yöntem B)

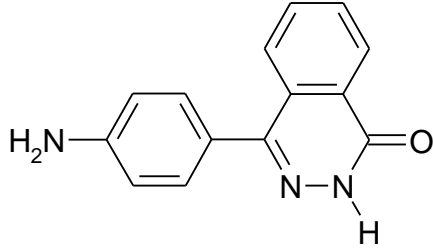


Yöntem B'ye göre sentezlenmiştir. Elde edilen bileşik asit ortamda hidroliz edilerek 2-(4-aminobenzoil)benzoik asit elde edilmiştir [38].

Verim %60. Deneysel E.n:195 °C; literatür E.n: 200°C [40].

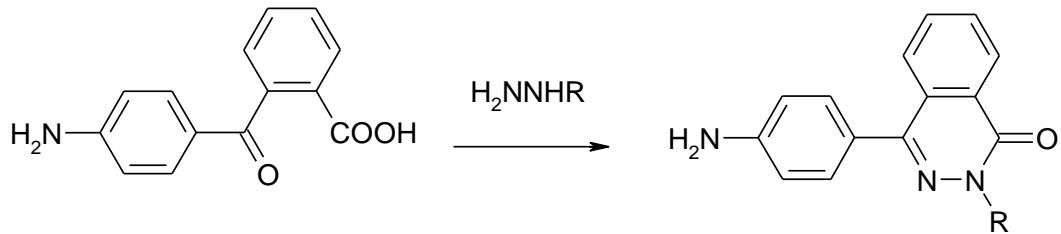


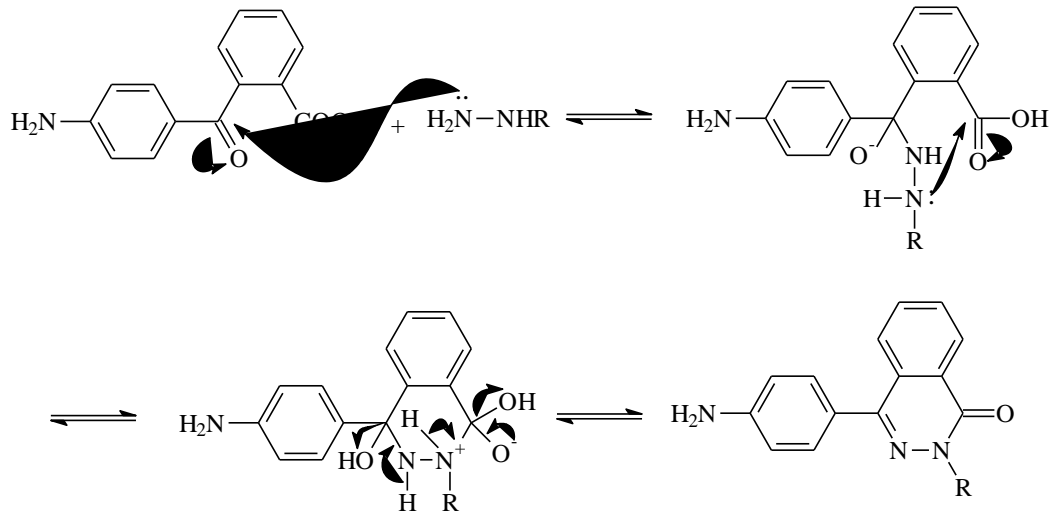
5.1.3. 4-(4-Aminofenil)-1(2H)-ftalazinon eldesi (Yöntem C)



Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir ftalazinon halkasının oluşturulması için 2-(4-aminobenzoil)benzoik asit etanol içinde hidrazinler ile reaksiyona sokuldu [38].

Verim %40 . Deneysel E.n: 240°C Lit. [41] E.n.:246-248 °C

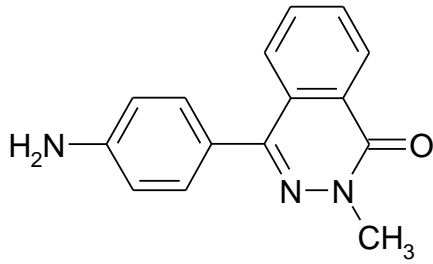




R:H

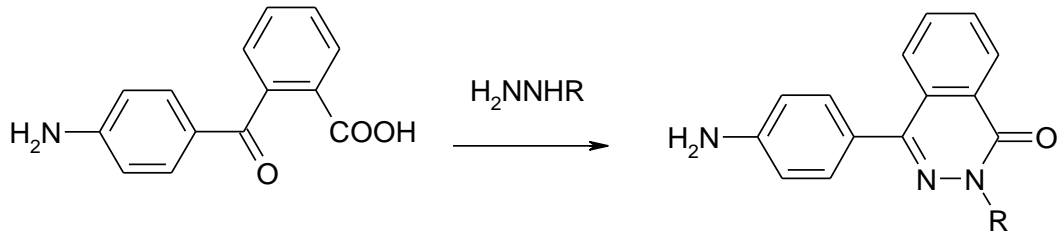
Şekil 5.2. 2-(4-aminobenzoil)benzoik asitin ön görülen reaksiyon mekanizması

5.1.4. 2-Metil-4-(4-aminofenil)-1(2H)-ftalazinon eldesi (Yöntem C)



Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir ftalazinon halkasının oluşturulması için 2-(4-aminobenzoil)benzoik asid etanol içinde hidrazinler ile reaksiyona sokuldu [38].

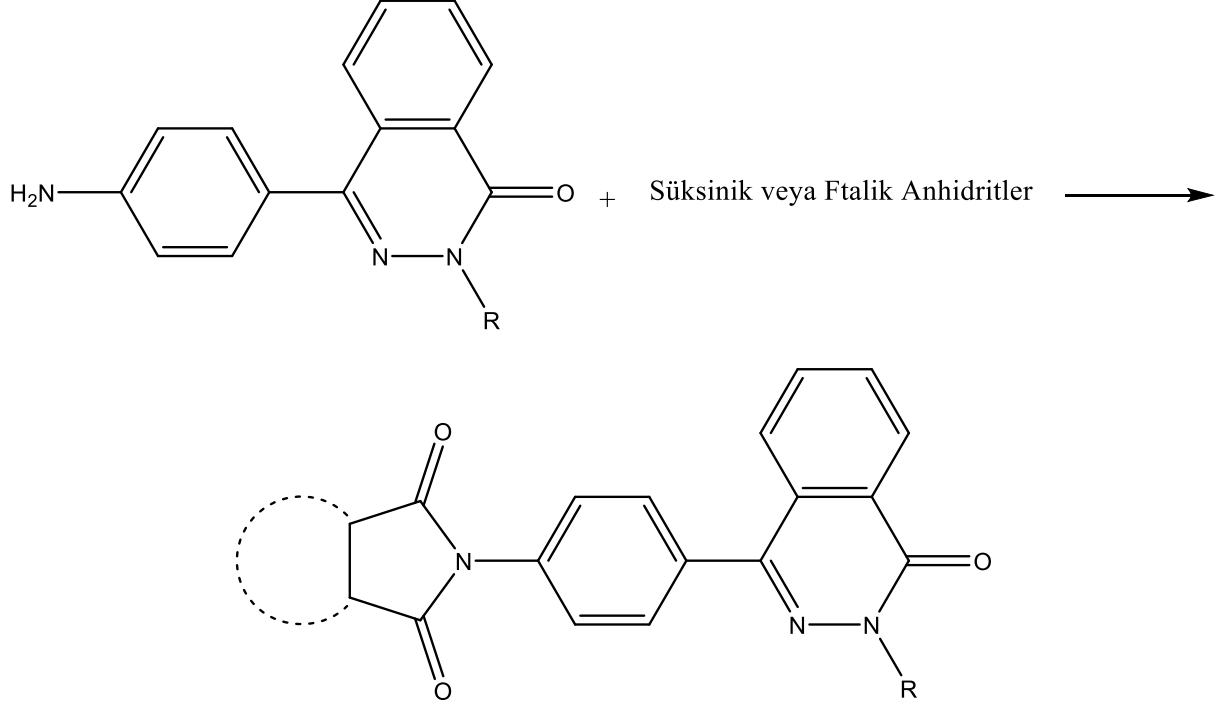
Verim %40 . Deneysel E.n.:210 °C Lit. [42] E.n.:220 °C



R:CH₃

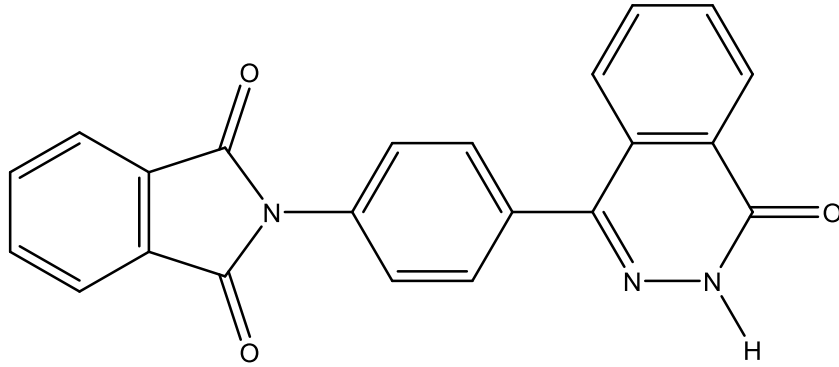
Böylece, başlangıç maddeleri olan 4-(4-aminofenil)-1(2H)-ftalazinon ve 2-metil-4-(4-aminofenil)-1(2H)-ftalazinon elde edilmiş oldu.

5.1.5. 4-[4-(Süstitüe)fenil]-1(2H)-ftalazinon türevlerinin eldesi (Yöntem D)



Araştırma konumuzu oluşturan 1(2H)-ftalazinon türevlerinin sentezi için anhidritlerin sodyum asetat içerisinde ısıtılmasıyla sonuç bileşikleri elde edilmiştir.

5.1.5.1. 2-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)izoindolin-1,3-dion A1 eldesi



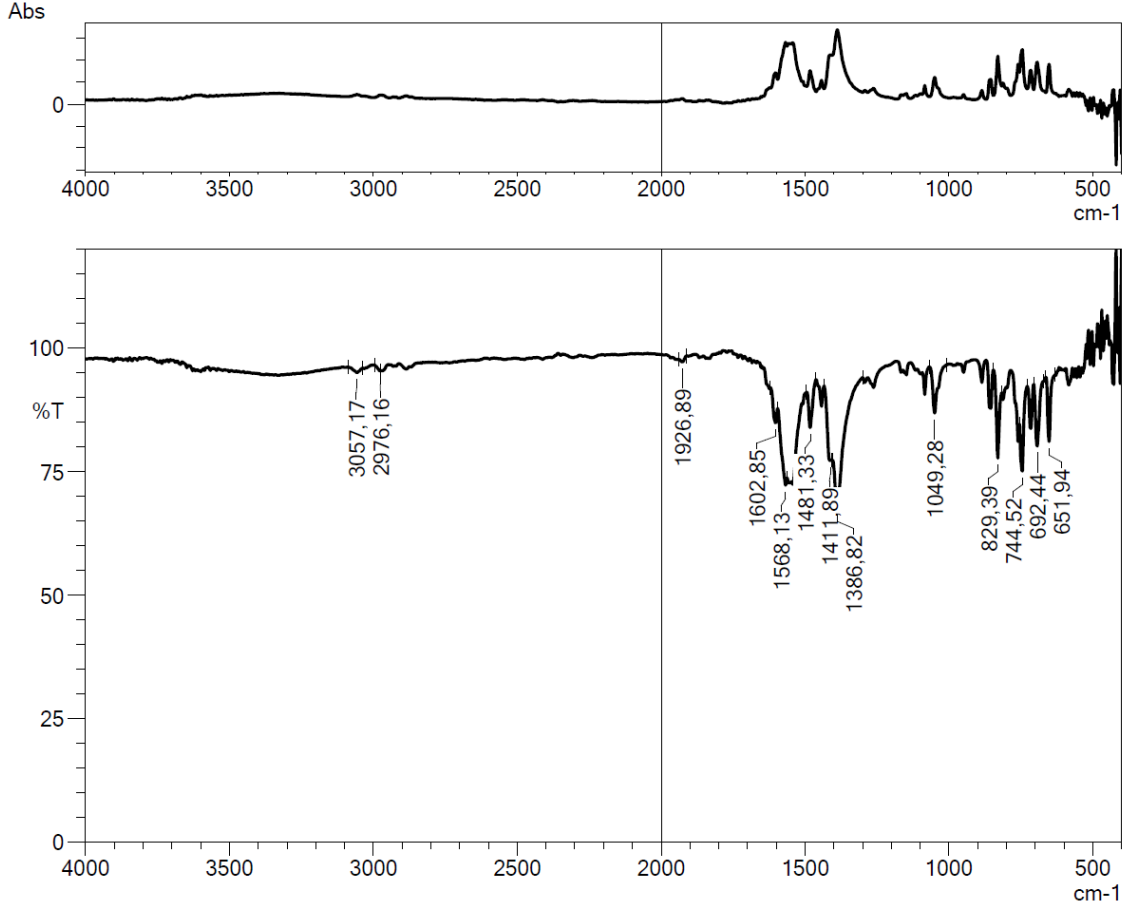
Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 352 °C. Görünüm: beyaz renkli toz .

Verim % 60

Hesaplanan	: C: 71,93	H: 3,57	N: 11,44
Bulunan	: C: 71,90	H: 3,59	N: 11,46

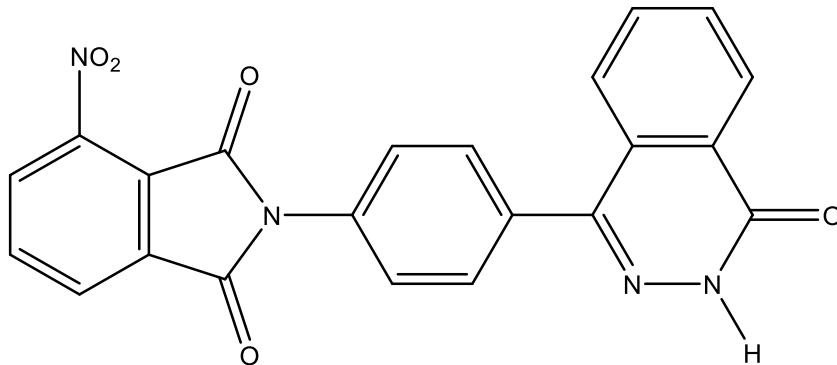
Analiz: C₂₂H₁₃N₃O₃

IR (ATR) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 3057 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2976 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1602 ve 1568 (C=O), 1481-1386 (C=N, C=C gerilim bandı), 1049 (C-N gerilim bandı), 829 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).



Şekil 5.3. Bileşik A1'e ait IR spektrumu

5.1.5.2. 4-nitro-2-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)izoinolin-1,3-dion A2
eldesi

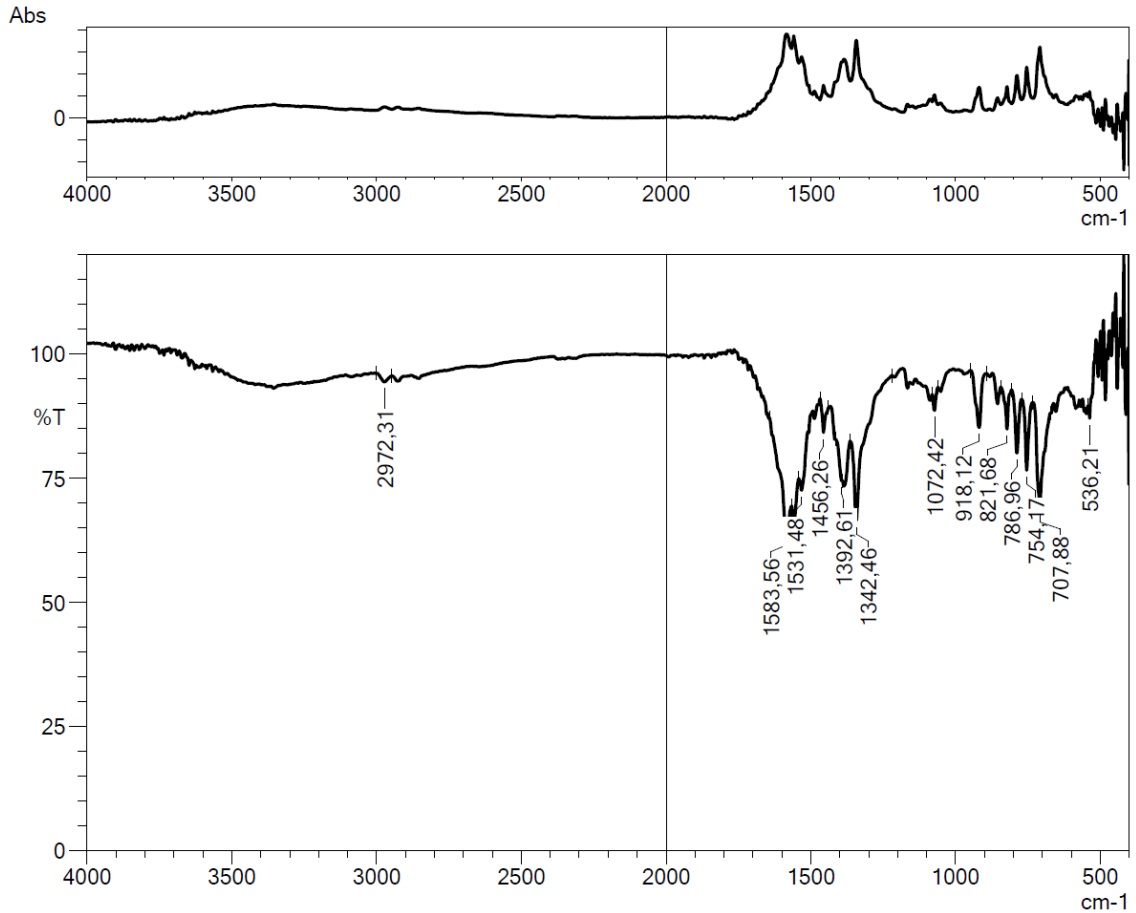


Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 335°C. Görünüm: kirli beyaz toz .
Verim % 65

Hesaplanan : C: 64.08 H: 2,93 N: 13,59
Bulunan : C: 64,05 H: 2,94 N: 13.61

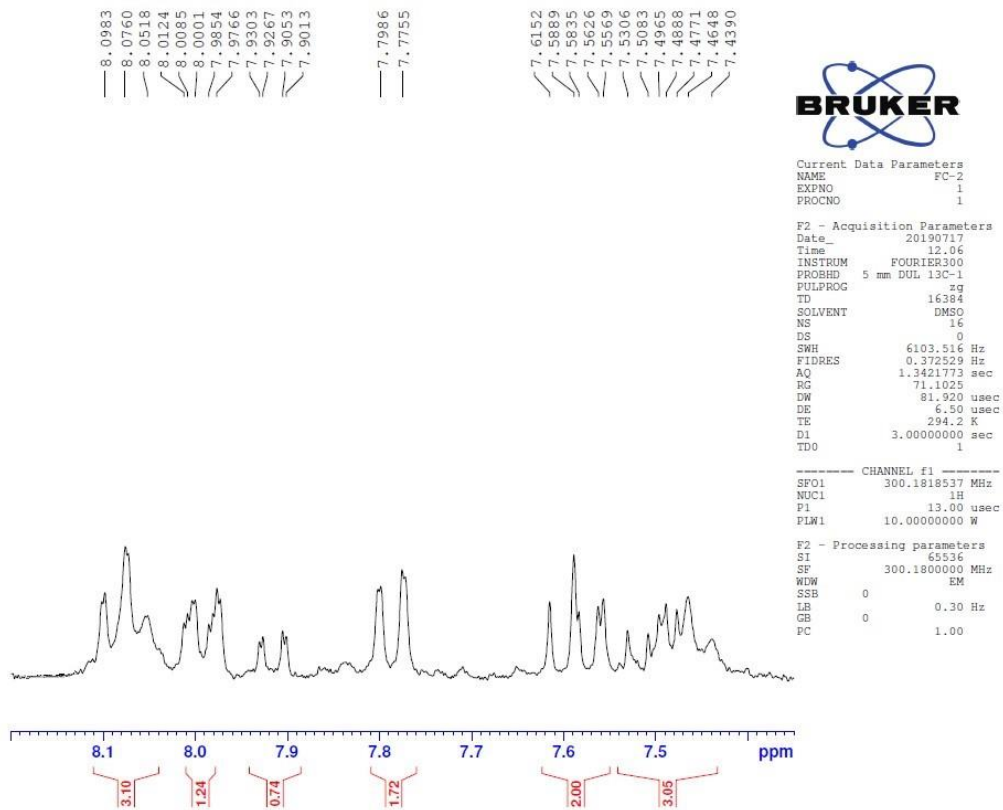
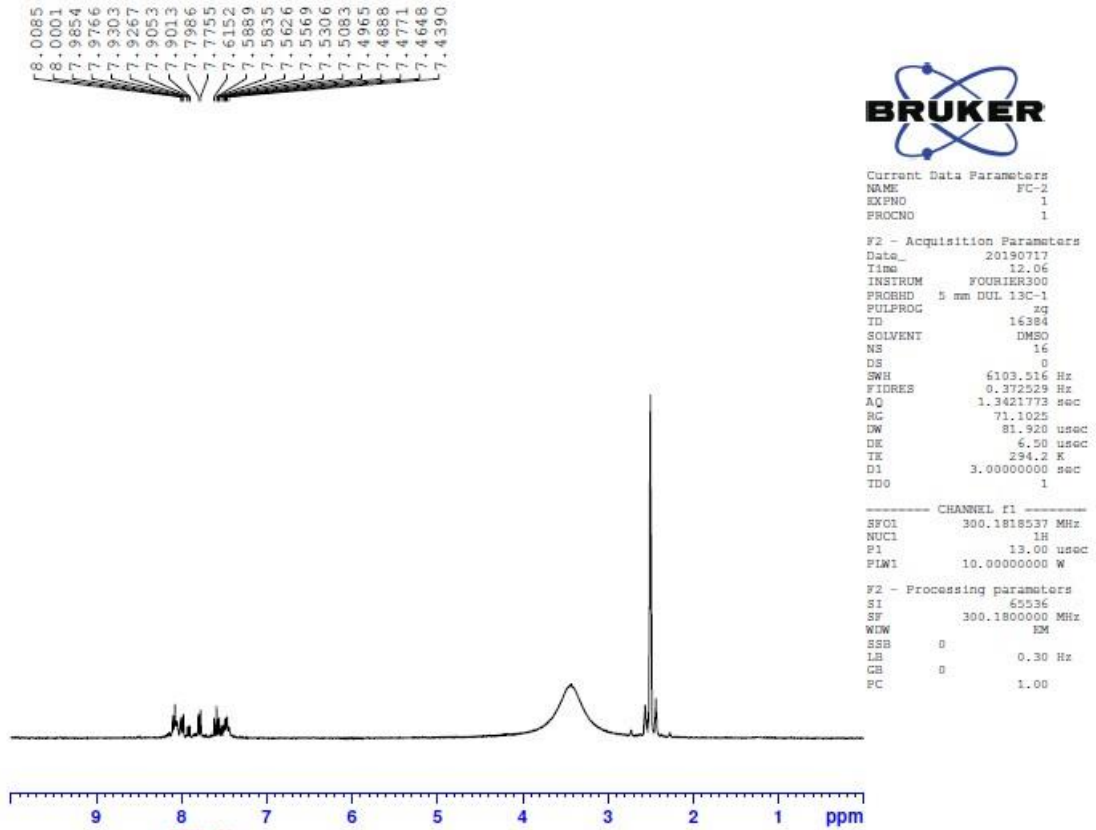
Analiz: C₂₂H₁₂N₄O₅

IR (ATR) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 2972 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1583 (C=O), 1456-1342 (C=N, C=C gerilim bandı), 1072 (C-N gerilim bandı), 821 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).



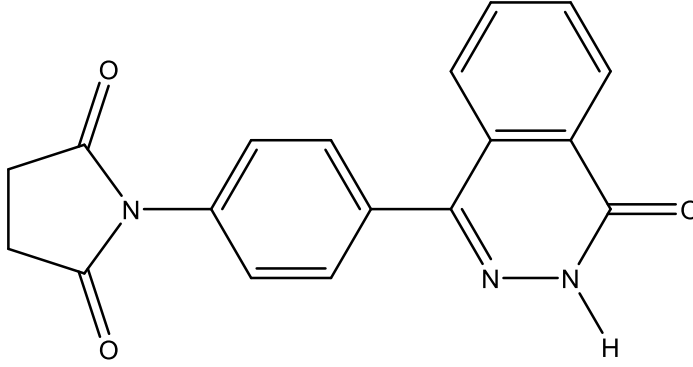
Şekil 5.4. Bileşik A2'ye ait IR spektrumu

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 7.44-8.10 (Ar-H).



Şekil 5.5. Bileşik A2'ye ait NMR spektrumları

5.1.5.3. 1-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)pirolidin-2,5-dion A3 eldesi



Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 191°C. Görünüm: Beyaz katı toz.

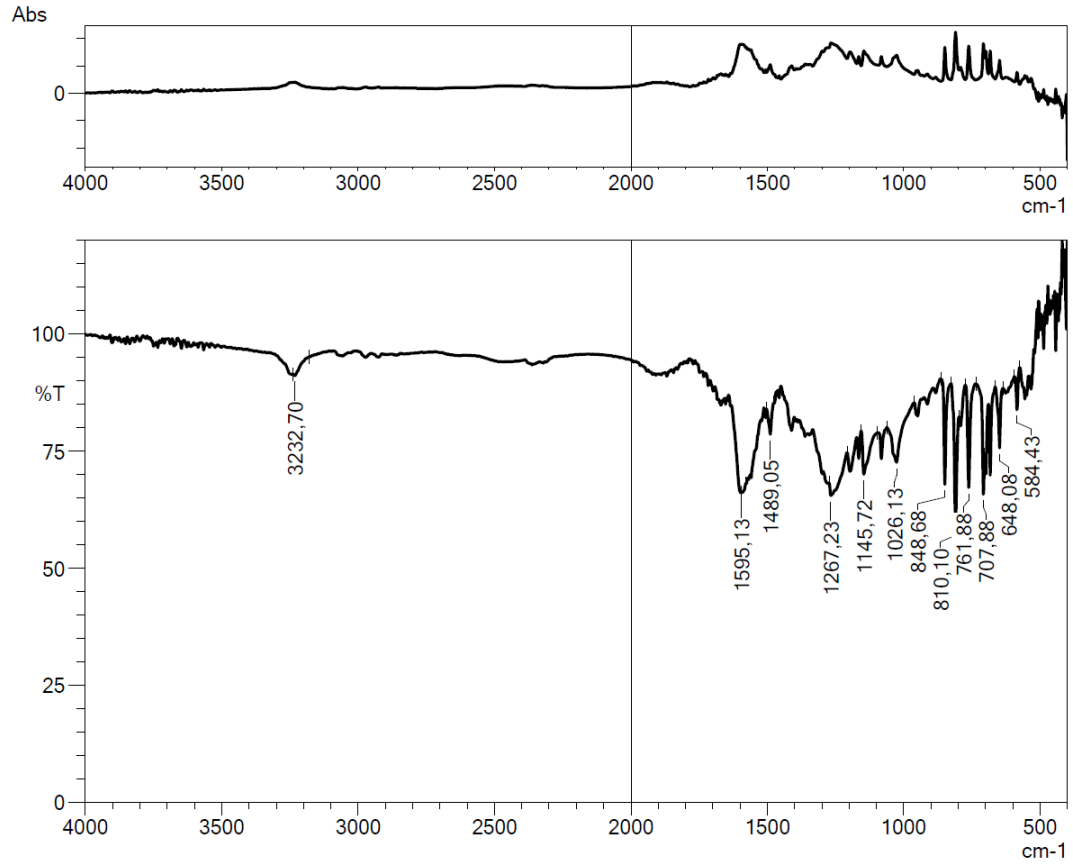
Verim % 57

Hesaplanan : C: 67.71 H: 4.10 N: 13.16

Bulunan : C: 64.74 H: 4.8 N: 13.14

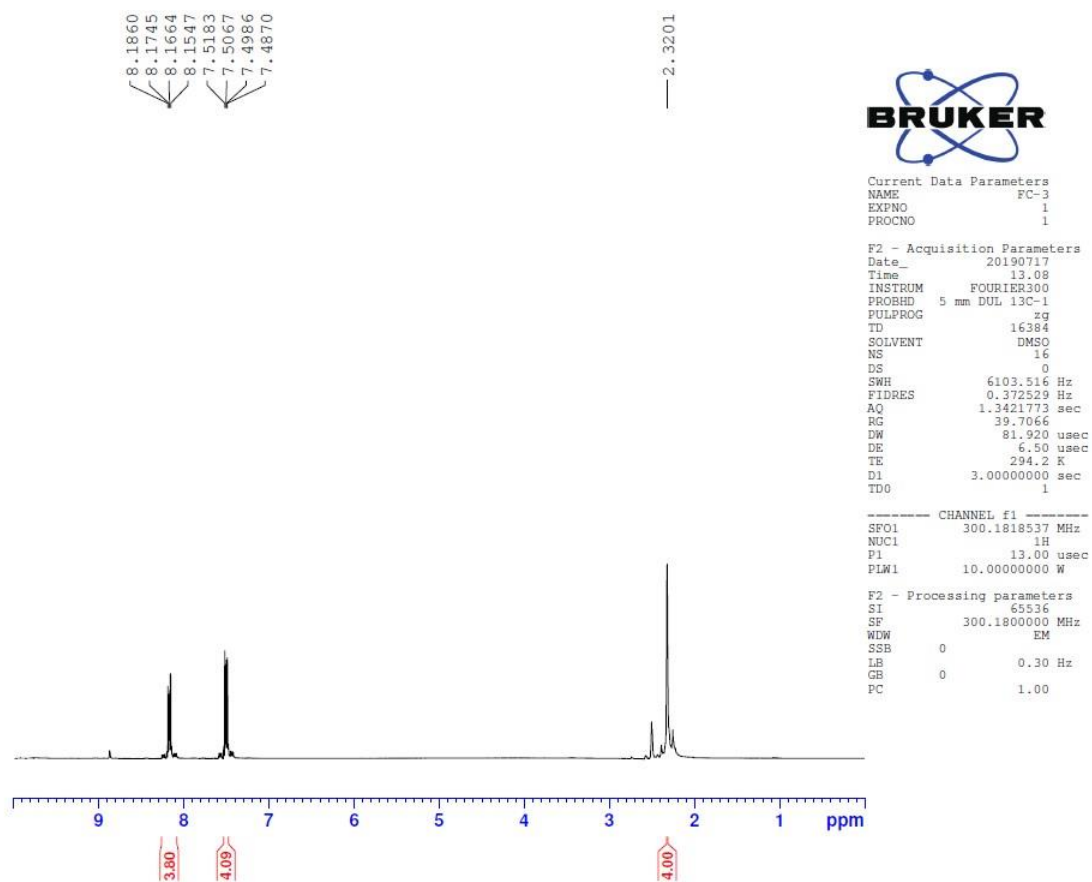
Analiz: C₁₈H₁₃N₃O₃

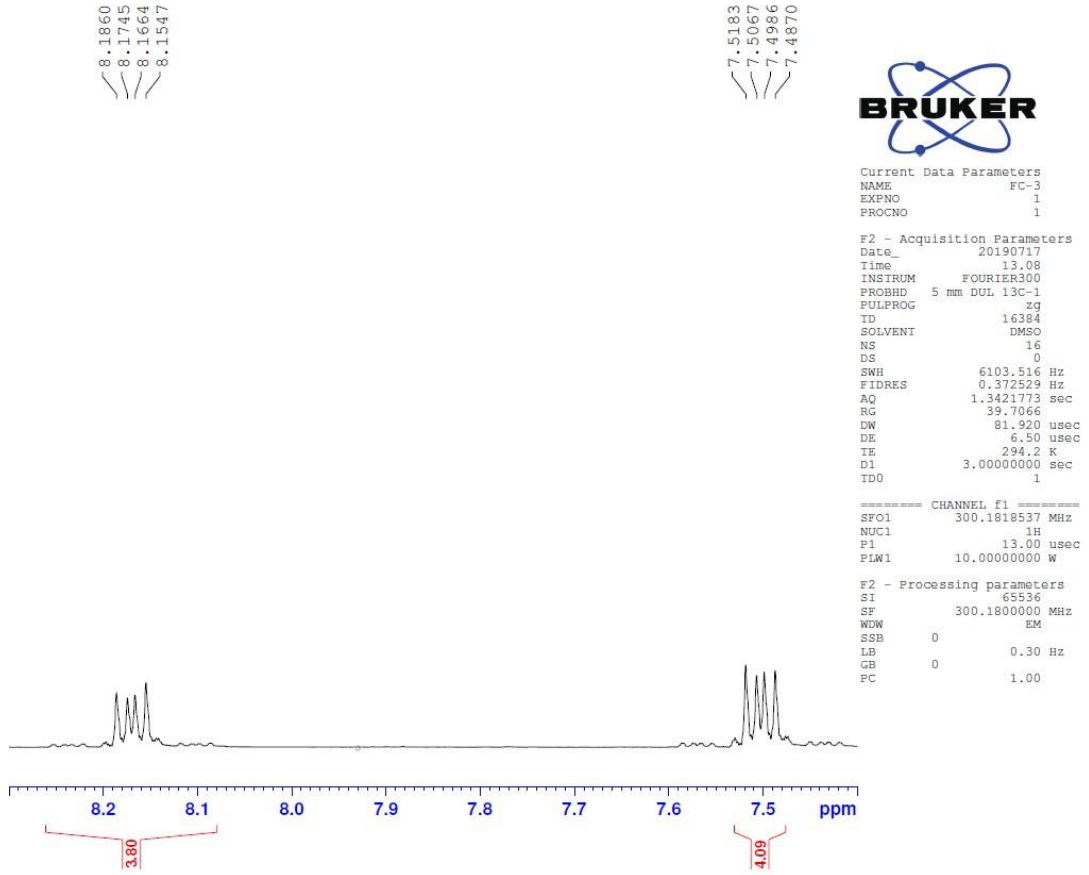
IR (ATR) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 3232 (N-H gerilim bandı), 1595 (C=O), 1489 (C=N, C=C gerilim bandı), 1267-1026 (C-N gerilim bandı), 848 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).



Şekil 5.6. Bileşik A3'e ait IR spektrumu

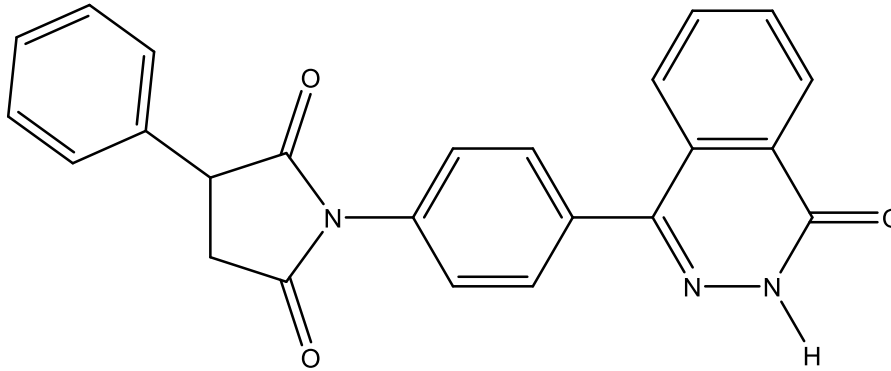
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ: 2.50 (4H, CH₂), 7.49-8.19 (Ar-H).





Şekil 5.7. Bileşik A3'e ait NMR spektrumları

5.1.5.4. 1-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-3-fenilpirolidin-2,5-dion A4 eldesi



Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 295°C. Görünüm: beyazımsı toz.

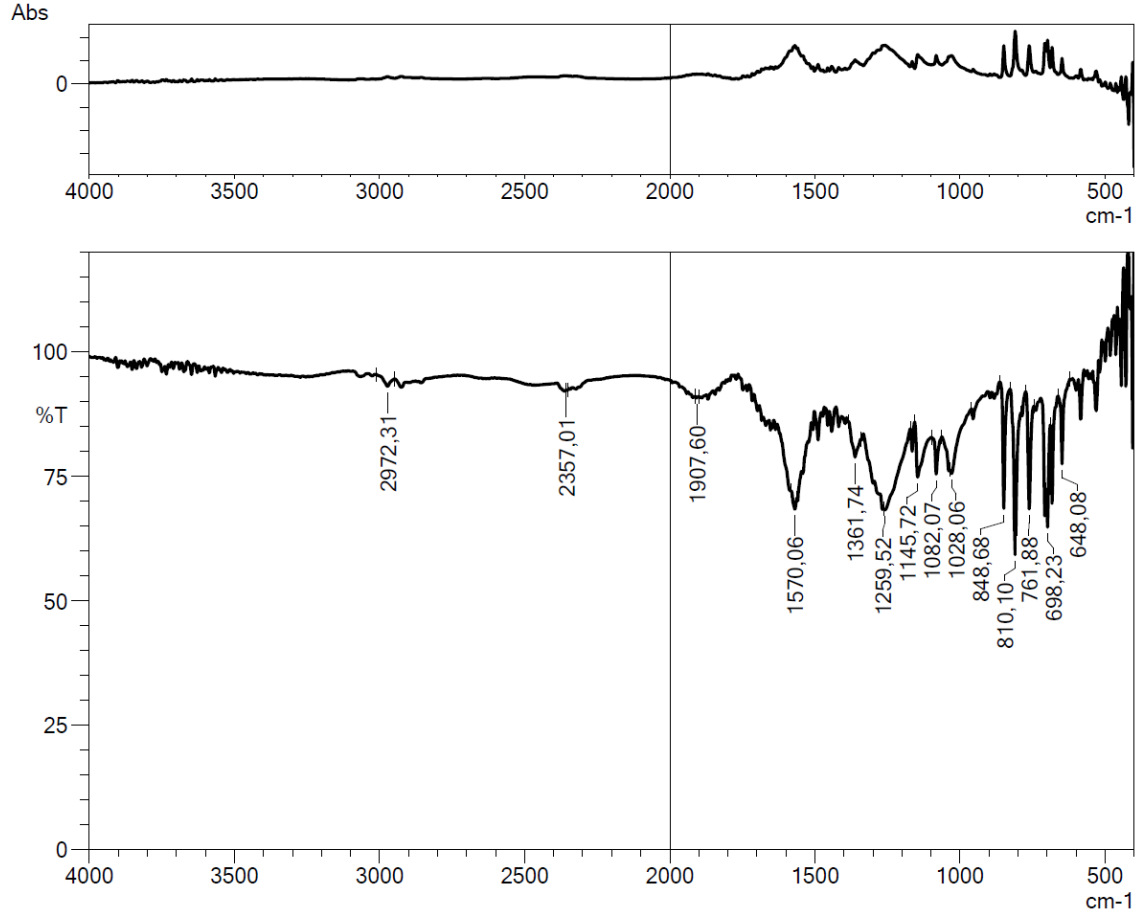
Verim % 58

Hesaplanan : C: 72.90 H: 4.33 N: 10.63

Bulunan : C: 72.93 H: 4.32 N: 10.61

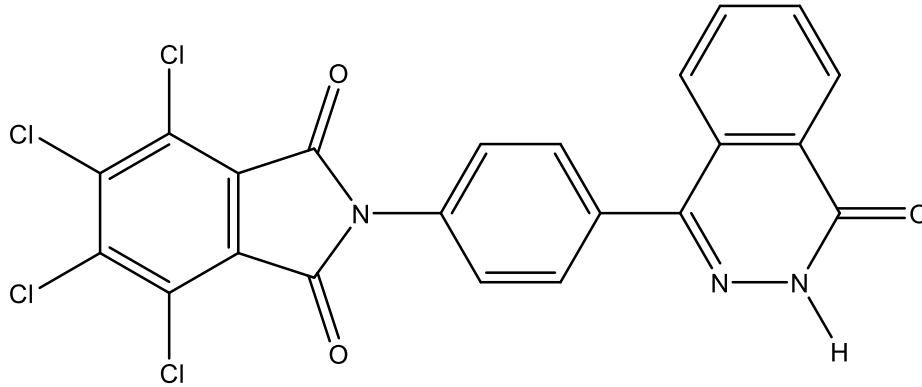
Analiz: C₂₄H₁₇N₃O₃

IR (ATR) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 2972 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1570 (C=O), 1361-1259 (C=N, C=C gerilim bandı), 1145-1082 (C-N gerilim bandı), 810 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı), 761 ve 698 (monosübstitüe benzen).



Şekil 5.8. Bileşik A4'e ait IR spektrumu

5.1.5.5. 4,5,6,7-tetrakloro-2-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)izoidolin-1,3-dion A5 eldesi

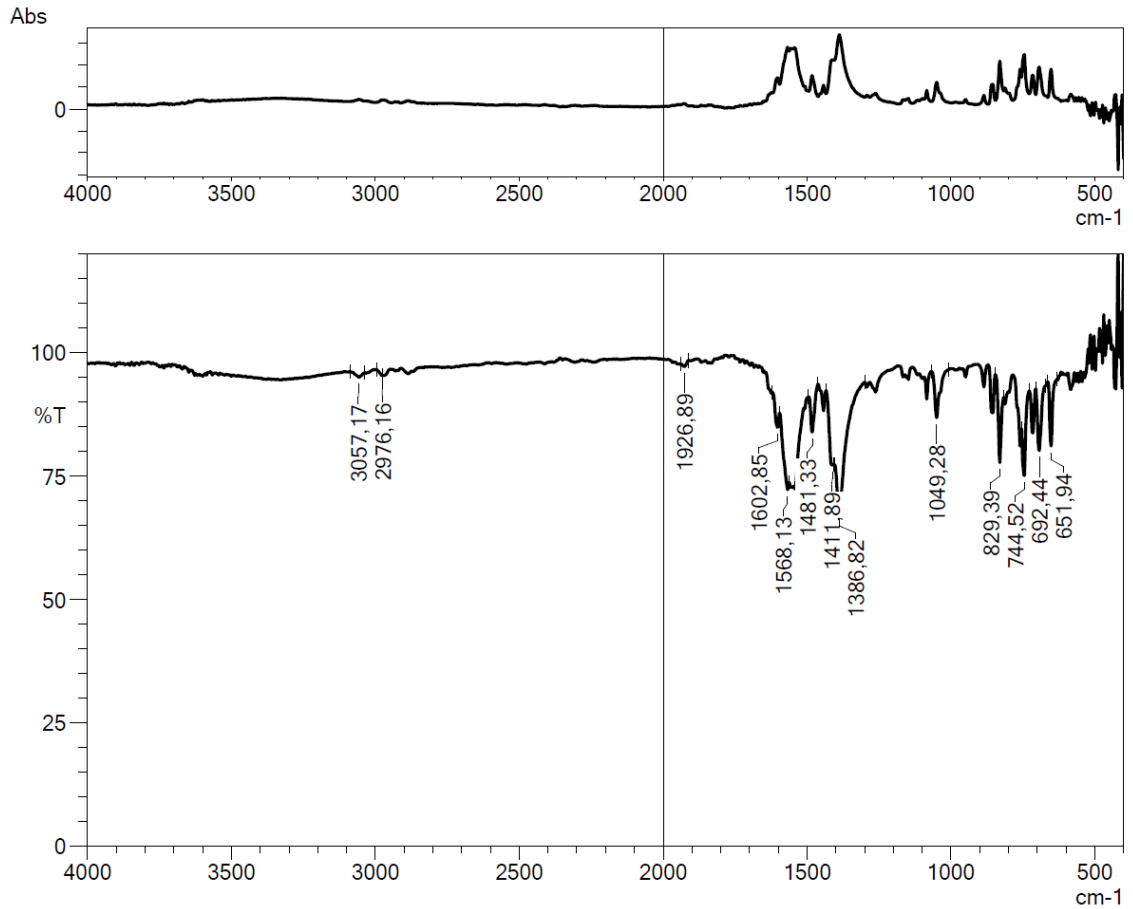


Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 300 °C. Görünüm: beyazımtırak toz.
Verim % 61

Hesaplanan : C: 52.31 H: 1.80 N: 8.32
Bulunan : C: 52.34 H: 1.78 N: 8.30

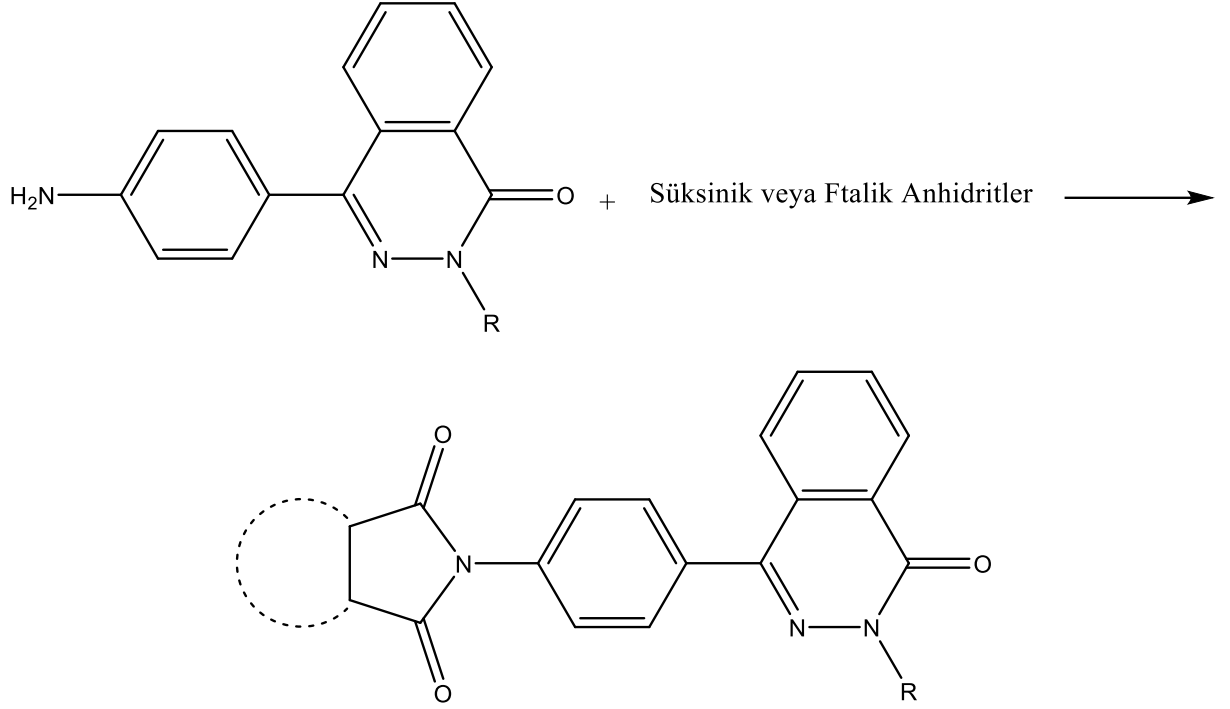
Analiz: $C_{22}H_9Cl_4N_3O_3$

IR (ATR) $\nu_{maks}(cm^{-1})$: 3350 (N-H gerilim bandı), 1716, 1597 (C=O), 1408-1361 (C=N, C=C gerilim bandı), 1197-1066 (C-N gerilim bandı), 789 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).



Şekil 5.9. Bileşik A5'e ait IR spektrumu

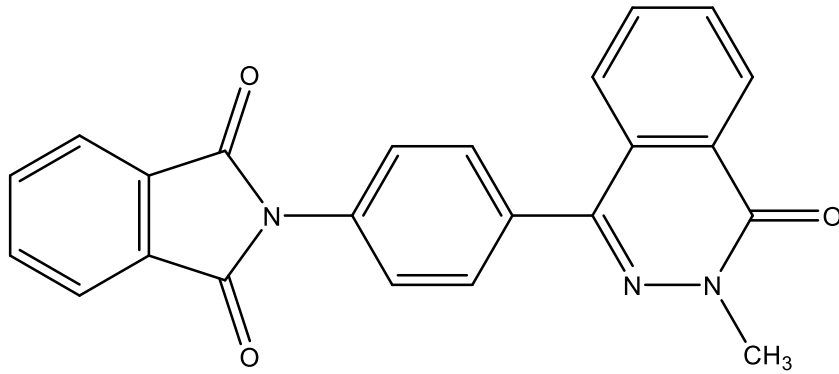
5.1.6. 2-metil-4-[4-(Süstitüe)fenil]-1(2*H*)-ftalazinon türevlerinin eldesi (Yöntem D)



R:CH₃

Araştırma konumuzu oluşturan 1(2*H*)-ftalazinon türevlerinin sentezi için anhidritlerin sodyum asetat ile etanol içerisinde ısıtılmasıyla sonuç bileşikleri elde edilmiştir.

5.1.6.1. 2-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-izoindolin-1,3-dion *B1* eldesi



Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 378°C. Görünüm: kirli beyaz toz.

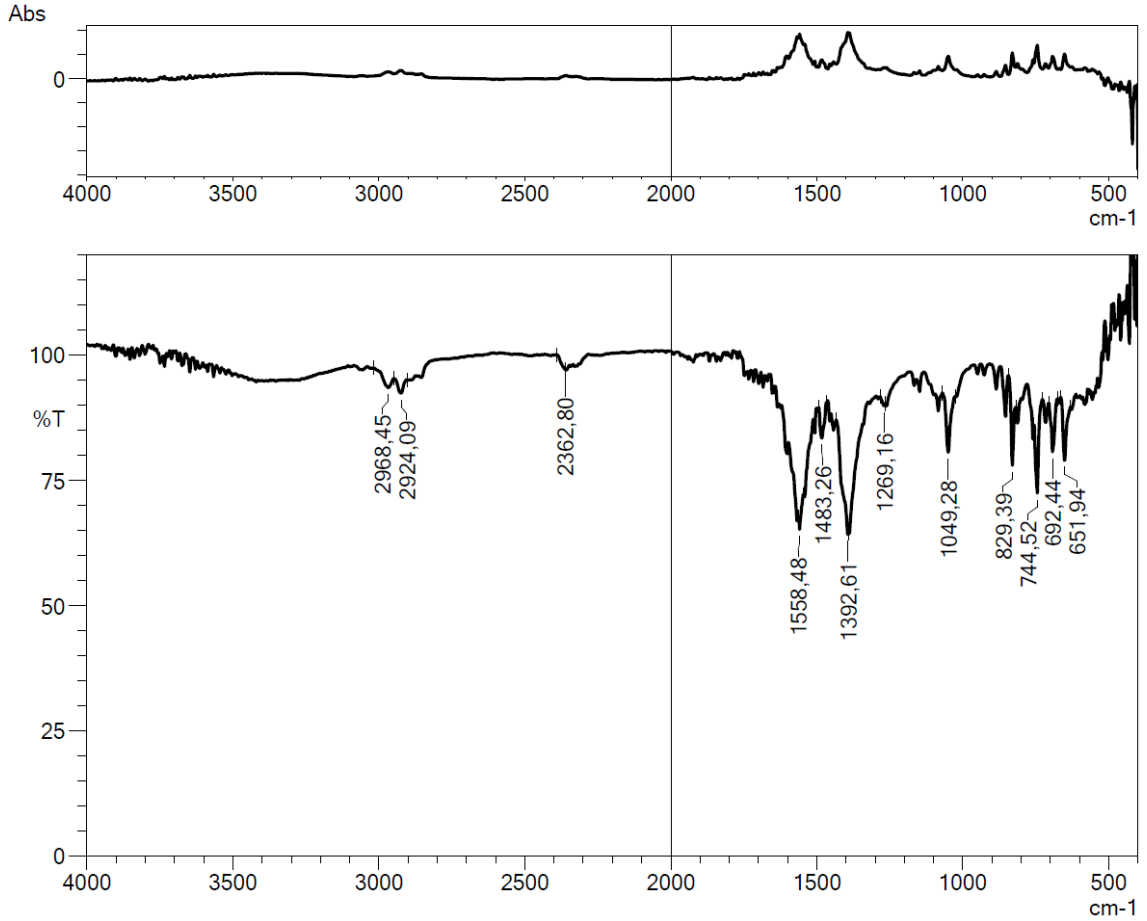
Verim % 48

Hesaplanan : C: 72.43 H: 3.96 N: 11.02

Bulunan : C: 72.46 H: 3.94 N: 11.01

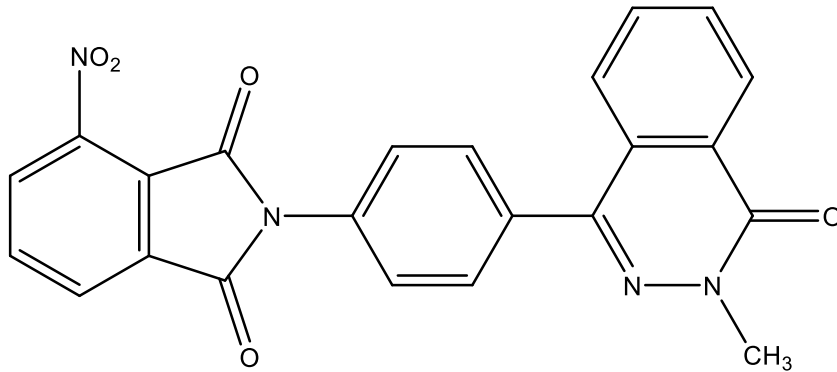
Analiz: C₂₃H₁₅N₃O₃

IR (ATR) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 2968 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2924 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1558 (C=O), 1483-1392 (C=N, C=C gerilim bandı), 1268-1049 (C-N gerilim bandı), 829 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).



Şekil 5.10. Bileşik B1'e ait IR spektrumu

5.1.6.2. 2-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-4-nitroizindolin-1,3-dion B2 eldesi

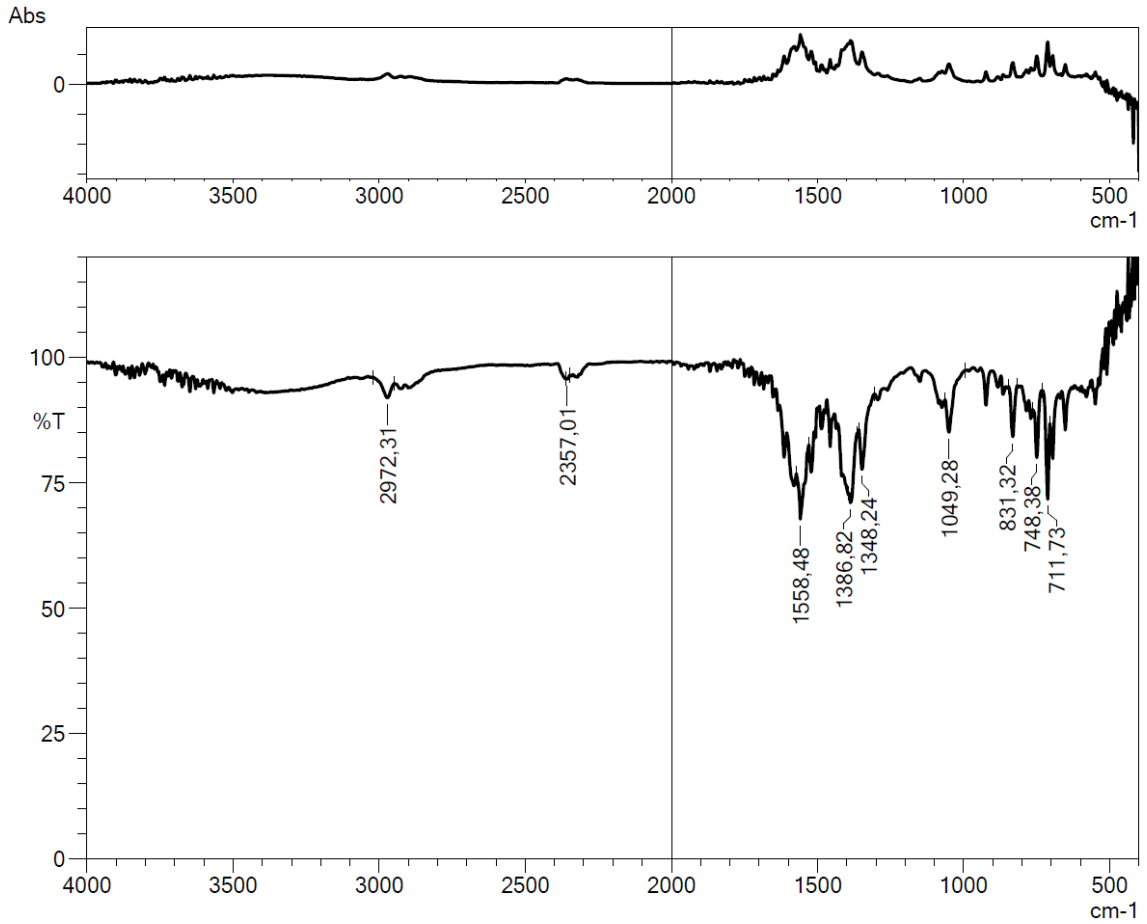


Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 348 °C. Görünüm: kirli beyaz toz.
Verim % 45

Hesaplanan : C: 64.79 H: 3.31 N: 13.14
Bulunan : C: 64.76 H:3.33 N: 13.16

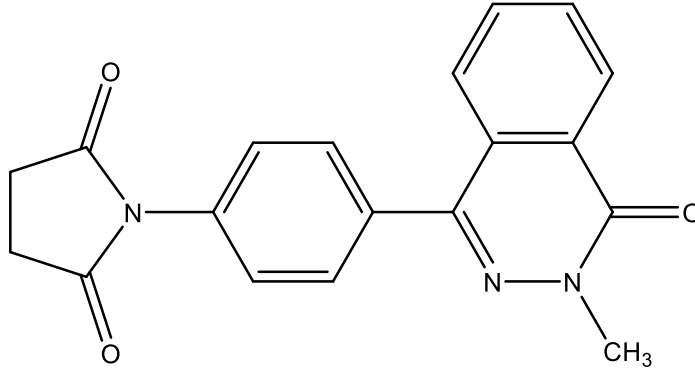
Analiz: C₂₃H₁₄N₄O₃

IR (ATR) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 2972 (Aromatik C-H gerilim bandı), 1558 (C=O), 1386-1348 (C=N, C=C gerilim bandı), 1049 (C-N gerilim bandı), 831 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).



Şekil 5.11. Bileşik B2'ye ait IR spektrumu

5.1.6.3. 1-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)pirolidin-2,5-dion B3 eldesi



Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 349 °C. Görünüm: kirli beyaz toz .

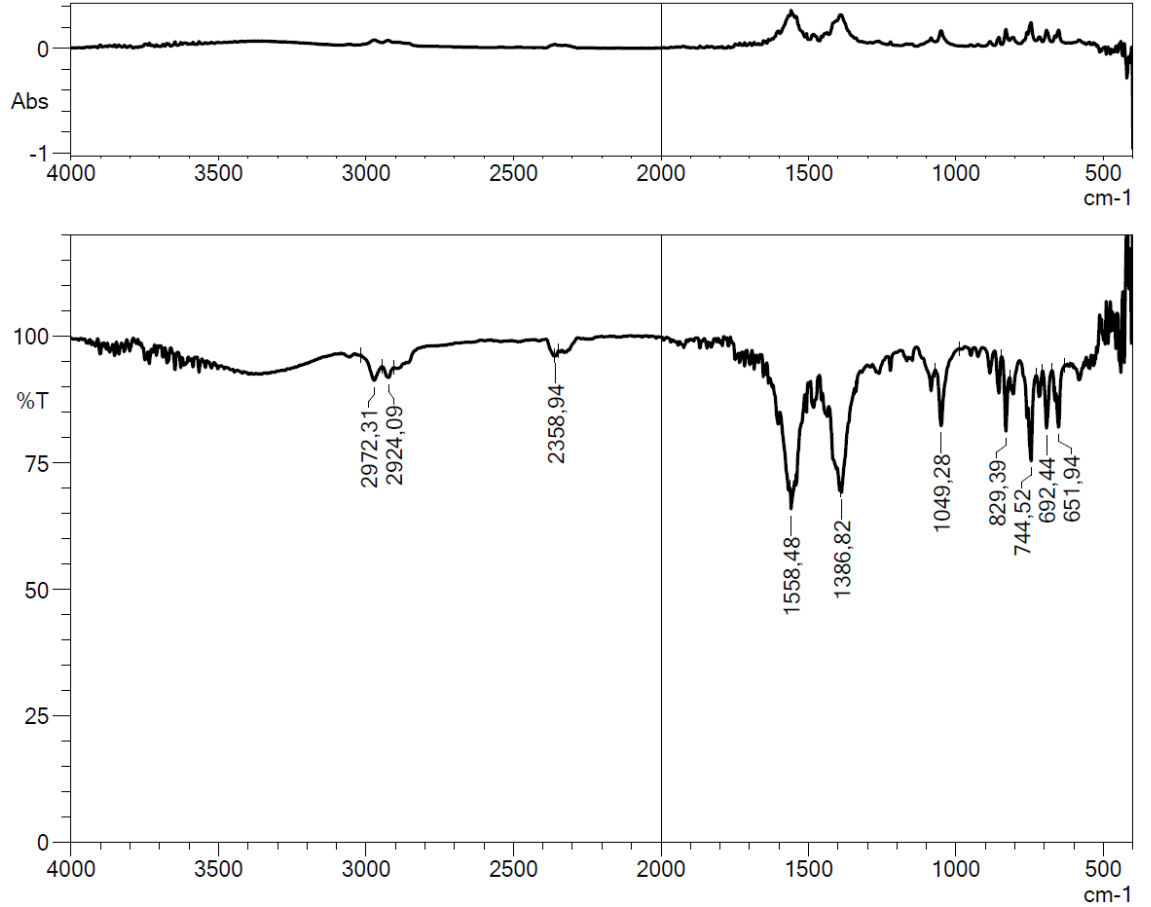
Verim % 42

Hesaplanan : C: 68.46 H: 4.54 N: 12.61

Bulunan : C: 68.49 H: 4.52 N: 12.60

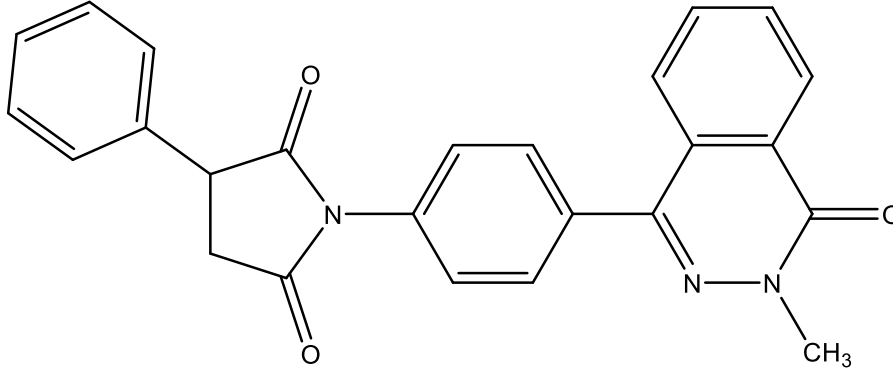
Analiz: C₁₉H₁₅N₃O₃

IR (ATR) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 2972 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2924 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1558 (C=O), 1386 (C=N, C=C gerilim bandı), 1049 (C-N gerilim bandı), 829 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).



Şekil 5.12. Bileşik B3'e ait IR spektrumu

**5.1.6.4. 1-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-3-fenilpirolidin-2,3-dion
B4 eldesi**

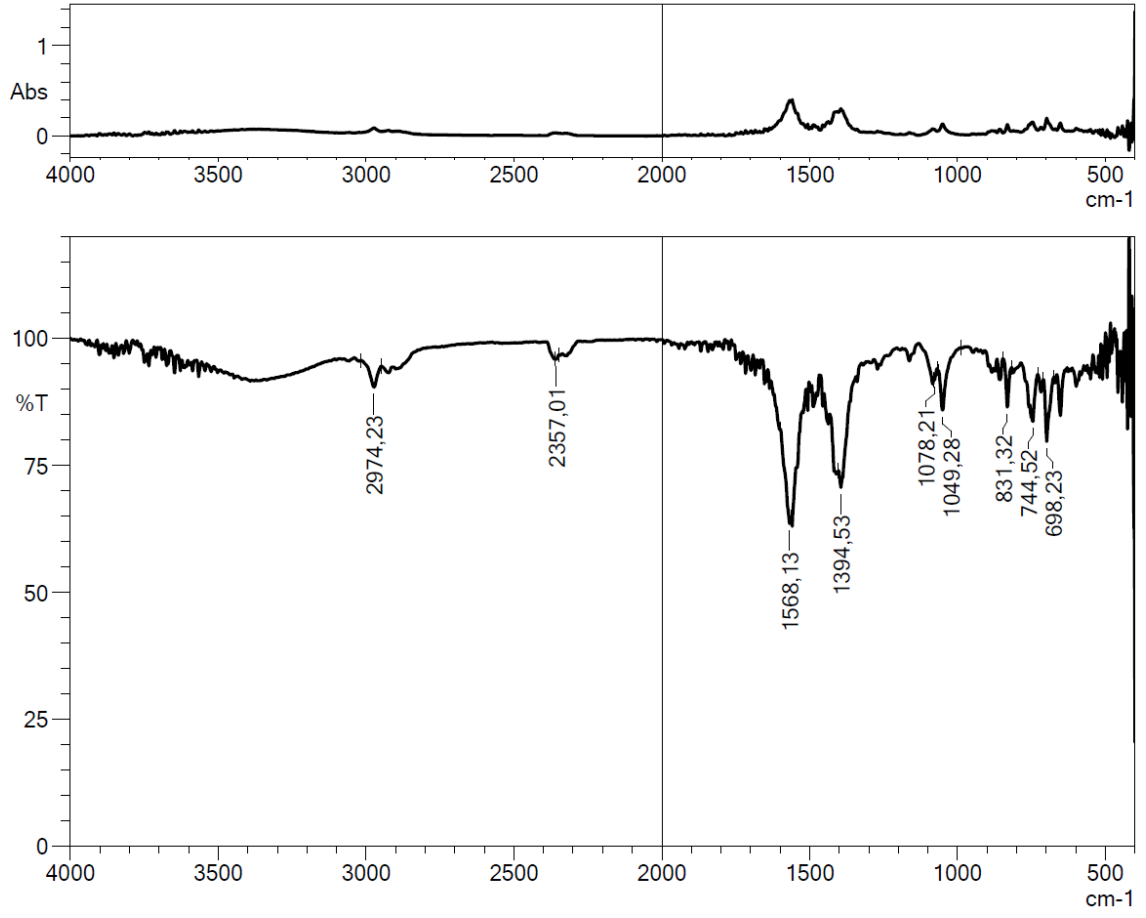


Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 366 °C. Görünüm: kirli beyaz toz .
Verim % 44

Hesaplanan	: C: 73.34	H: 4.68	N: 10.26
Bulunan	: C: 73.31	H: 4.69	N: 10.28

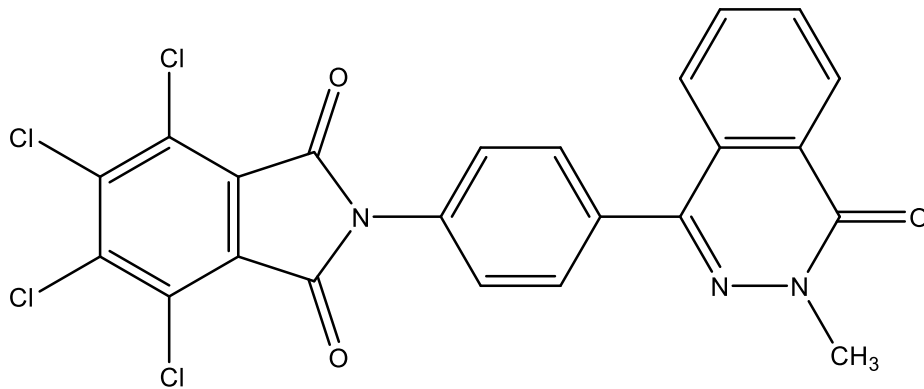
Analiz: C₂₅H₁₉N₃O₃

IR (ATR) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 2974 (Aromatik C-H gerilim bandı), 1568 (C=O), 1394 (C=N, C=C gerilim bandı), 1078-1049 (C-N gerilim bandı), 831 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı), 744 ve 698 (monosüstitüe benzen düzlem içi ve dışı deformasyon bantları).



Şekil 5.13. Bileşik B4'e ait IR spektrumu

5.1.6.5. 4,5,6,7-tetrakloro-2-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazın-1-il)fenil)izindolin-1,3-dion B5 eldesi



Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 376 °C. Görünüm: kirli beyaz toz .

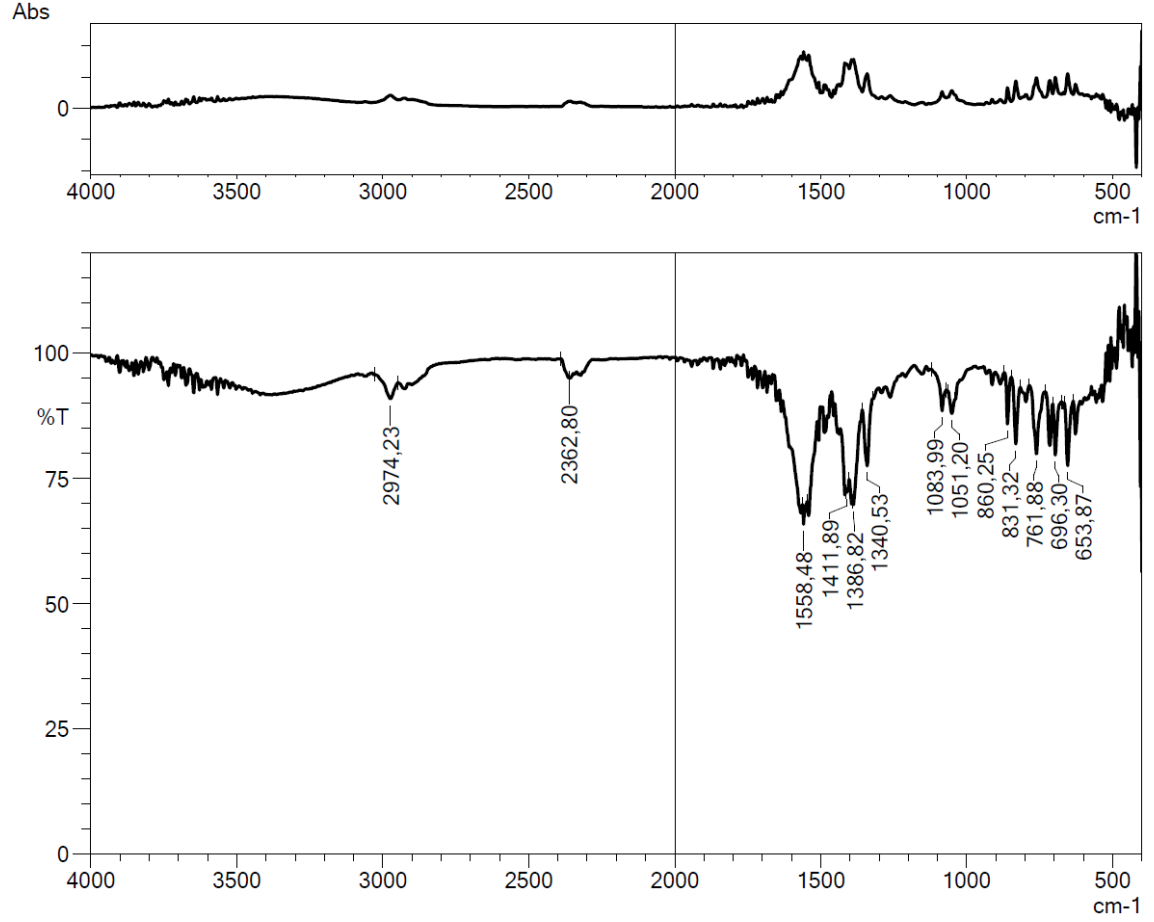
Verim % 46

Hesaplanan : C: 53.21 H: 2.14 N: 8.09

Bulunan : C: 53.24 H: 2.12 N: 8.07

Analiz: C₂₃H₁₁Cl₄N₃O₃

IR (ATR) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 2974 (Aromatik C-H gerilim bandı), 1558 (C=O), 1411-1340 (C=N, C=C gerilim bandı), 1083-1051 (C-N gerilim bandı), 831 (1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).



Şekil 5.14. Bileşik B5'e ait IR spektrumu

5.2. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

5.2.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi

Moleküllerdeki karakteristik bantlardan; N-H gerilim bantları 3200-3300 cm^{-1} civarında, aromatik ve alifatik hidrojen gerilme bantları 2990-2930 cm^{-1} arasında, C=O bağlarına ait bantlar 1600-1580 cm^{-1} arasında gözlenmiştir. ATR tekniği ile alınan spektrumlarda tüm A serisi türevler için N-H bantları gözlemlenememiştir. Tüm türevlerde ortak olan C=C ve C=N ile C-N bağlarına ait bantlar beklendiği üzere yaklaşık 1400-1100 cm^{-1} arasında ve 1050 cm^{-1} civarında gözlenmiştir. Mono ve disüstitüe benzen için beklenen düzlem içi ve dışı deformasyon bantları sırasıyla 700 ve 750 cm^{-1} ile 830 cm^{-1} arasında elde edilmiştir.

5.2.2. $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarının değerlendirilmesi

Sonuç bileşiklerinin spektrumlarını almak için denenen tüm çözücüler bileşikleri çözmekte genelde yetersiz kalmıştır. Bu denemelerde başarı sağlanarak DMSO- d_6 içinde çözünen iki bileşik için alınan spektrumlarda, moleküllerin yapısındaki hidrojen atomlarına ait aromatik ve bazı türevlerdeki alifatik pikler beklendiği şekilde sırasıyla 7.4-8.2 ve 2.5 ppm civarında gözlenmiştir. Ftalazinon halkasında N-H taşıyan türevlerde oldukça asidik karakter taşıyan bu hidrojenlere ait pik gözlemlenememiştir. Çözünürlüğü zor olan maddeler oldukları için uzun süre döterolanmış çözücü içinde beklediklerinden bu piklerin döteryum ile yer değiştirmiş olması veya çok asidik olmaları nedeniyle ölçüm aralığı dışında kalmış olmaları mümkündür.

5.3. Antikolinerjik aktivite değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerde genel olarak antikolinerjik aktivite gözlenmiştir.

Asetilkolinesteraz inhibisyonu açısından; A grubu bileşikler incelendiğinde, A1, A2, A4 ve A5 bileşiklerinde orta düzey aktivite ve A3 bileşiğinde düşük düzey aktivite gözlenmiştir. En yüksek aktivite A5 bileşiğinde görülmüştür. B grubu bileşiklerde ise; B1, B2 ve B5 bileşiklerinde orta düzey etkinlik, B2 ve B3 bileşiklerinde düşük düzey etkinlik saptanmıştır. B grubu bileşiklerde en yüksek aktivite, B2 bileşiğinde gözlenmiştir. Aktiviteler donepezil referans alınarak değerlendirilmiş olup, aktivite sonuçları **Tablo 5.1.** 'de gösterilmektedir. Sentezlenen bileşikler kıyaslandığında; en yüksek asetilkolinesteraz aktivasyonunun A5 bileşiğinde olduğu ve bu durumun metil süstitüsyonuna bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Bütirikolinesteraz inhibisyonu açısından; tüm bileşikler düşük aktivite göstermekle beraber; en yüksek aktivite A grubu bileşiklerde A5 ve B grubu bileşiklerde B4 bileşiğinde gözlenmiştir. B4 bileşiğinde en yüksek bütirikolinesterazaktivite gözlenmiştir. Aktiviteler takrin referans alınarak değerlendirilmiştir. Aktivite sonuçları **Tablo 5.1.**'de gösterilmektedir.

Tablo 5.1. Antikolinergik aktivite sonuçları

Bileşik	AChE % İnhibisyon		BChE % İnhibisyon	
	10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M	10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M
A1	38,211 ± 0,688	20,145 ± 0,566	23,548 ± 0,887	18,750 ± 0,820
A2	40,218 ± 0,975	21,355 ± 0,877	20,489 ± 0,731	14,755 ± 0,601
A3	34,788 ± 0,623	29,561 ± 0,565	24,652 ± 0,664	17,450 ± 0,455
A4	38,256 ± 0,952	20,471 ± 0,412	19,268 ± 0,510	13,258 ± 0,479
A5	45,219 ± 0,885	38,788 ± 0,707	24,778 ± 0,518	21,623 ± 0,499
B1	39,122 ± 0,635	31,298 ± 0,479	16,789 ± 0,719	10,528 ± 0,419
B2	42,589 ± 0,599	34,801 ± 0,488	20,589 ± 0,528	16,452 ± 0,472
B3	31,014 ± 0,994	21,963 ± 0,404	22,889 ± 0,995	18,233 ± 0,661
B4	37,316 ± 0,477	25,181 ± 0,455	25,126 ± 0,577	20,901 ± 0,996
B5	35,260 ± 0,940	29,397 ± 0,587	18,028 ± 0,749	10,299 ± 0,388
Donepezil	95,868 ± 0,259	88,357 ± 1,477	-	-
Takrin	-	-	98,257 ± 1.205	97.158 ± 1.056

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Yeni antikolinergic ajan oluşturabilmek için 1(2*H*)-ftalazinon türevleri sentezlediğimiz çalışmamızda; dört basamakta sentezi gerçekleştirilen on yeni 1(2*H*)-ftalazinon türevi bileşik elde edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları elementel analiz, IR ve bazı bileşikleri için ¹H-NMR ile açığa çıkarılmıştır. Sonuç ürünlerinin çok zor çözünen maddeler olması tüm bileşikler için NMR spektrumlarının alınmasına imkân vermemiştir. Bu bileşiklerin asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz enzimleri üzerine etkileri takrin ve donepezil referans alınarak değerlendirilmiştir.

Sentezi yapılan, 4,5,6,7-tetrakloro-2-(4-(4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)izindolin-1,3-dion (A5) bileşiğinde en yüksek asetilkolinesteraz inhibiyonu saptanmakla beraber; aynı grupta tepkimeye giren metil sübitüsyonlu B bileşiğindeki türevleriyle kıyaslandığında daha yüksek aktivite gözlenmiştir. Bu durum; aktivasyonun moleküler yapıda hidrojen veya metil olmasıyla ilgili olma yönünde ipuçları vermektedir.

Öte yandan, elde edilen bileşiklerin tamamında düşük düzey butirilkolinesteraz aktivite saptanmıştır. 2-(4-(3-metil-4-okso-3,4-dihidroftalazin-1-il)fenil)-4-nitroizindolin-1,3-dion (B4) bileşiğinin en aktif butirilkolinesteraz aktiviteyi gösterdiği görülmüştür.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, sübitüentlerin niteliği, konumu ve heteroaromatik grubun varlığının antikolinergic aktiviteyi etkilediği düşünülmüştür.

Antikolinergic aktivitenin araştırılacağı çalışmalarda; çalışmamızda sentezlenen bileşiklerin referans ilaçlara göre belirlenen antikolinergic etkinlikleri göz önüne alınarak, 1(2*H*)-ftalazinon türevleriyle yeni türevlerin sentezinin gerçekleştirilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- [1] Guyton, A.C., Hall, J.E. (2007). Alzheimer Hastalığı-Amiloid Plaklar ve Bellek Baskılanması. H. Çavuşoğlu, B. Çağlayan Yeğen (T. Demiralp). Tıbbi Fizyoloji (11. bs.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- [2] The Pathophysiology of Alzheimer's Disease *Neşe TUNCER ELMACI Nöroloji AD, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul Türkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics*. 2012;5(3):7-10
- [3] Brunton, L.L., Lazo, J.S., Parker, K.L. (2006). Antikolinesterazlar. Ö. Süzer (P. Taylor/O. Yollar). Santral Sinir Sistemi Dejeneratif Bozuklukların Tedavisi. (D.G., Standaert, A.B., Young/H.R., Yananlı). Goodman&Gillman Tedavinin Farmakolojik Temeli. (201-214/527-544). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- [4] Atri, A. (2019). The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Diagnosis and Management. *Med Clin North Am*, 103 (2), 263-293.
- [5] . Katzman R, Saitoh T. Advances in Alzheimer's disease. *FASEB J* 1991; 5: 278-86.
- [6] Ferri, C.P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., Hall, K., Hasegawa, K., Hendrie, H., Huang, Y., Jarm, A., Mathers, C., Menezes, P.R., Rimmer, E., Sczufca, M. (2005). Global Prevalence of Dementia: A Delphi Consensus Study. *Lancet*. 366, 2112–2117.
- [7] Davis KL. Alzheimer's disease: seeking new ways to preserve brain function. *Geriatrics* 1999; 54: 42-7
- [8] Li, Q., He, S., Chen, Y., Feng, F., Qu, W., Sun, H. (2018). Donepezil-based multi-functional cholinesterase inhibitors for treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem*, 158, 463-477.
- [9] C.R. Jack Jr., H.J. Wiste, P. Vemuri, S.D. Weigand, M.L. Senjem, G. Zeng, M.A. Bernstein, J.L. Gunter, V.S. Pankratz, P.S. Aisen, M.W. Weiner, R.C. Petersen, L.M. Shaw, J.Q. Trojanowski, D.S. Knopman, I. Alzheimer's Disease Neuroimaging, Brain beta-amyloid measures and magnetic resonance imaging atrophy both predict time-to-progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease, *Brain: J. Neurol.* 133 (2010) 3336e3348.
- [10] N. Ariel, A. Ordentlich, D. Barak, T. Bino, B. Velan, A. Shafferman, The 'aromatic patch' of three proximal residues in the human acetylcholinesterase active centre allows for versatile interaction modes with inhibitors, *Biochem. J.* 335 (Pt 1) (1998) 95e102.

- [11] H. Zakut, J. Lieman-Hurwitz, R. Zamir, L. Sindell, D. Ginzberg, H. Soreq, Chorionic villus cDNA library displays expression of butyrylcholinesterase: putative genetic disposition for ecological danger, *Prenat. Diagn.* 11 (1991) 597-607.
- [12] Morley, J.E., Farr, S.A., Nguyen, A.D. (2018). Alzheimer Disease. *Clin Geriatr Med*, 34 (4), 591-601.
- [13] Villemagne VL, Burnham S, Bourgeat P, Brown B, Ellis KA, Salvado O, et al. Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: A prospective cohort study. *Lancet Neurol* 2013;12:357-67
- [14] Braak H, Thal DR, Ghebremedhin E, Del Tredici K. Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: age categories from 1 to 100 years. *J Neuropathol Exp Neurol* 2011;70:960-9.
- [15] Hebert LE, Weuve J, Scherr PA, Evans DA. Alzheimer disease in the United States (2010-2050) estimated using the 2010 Census. *Neurology* 2013;80:1778-83.
- [16] Yaka, E. (2004). Alzheimer Hastalığında beyin omurilik sıvısında (BOS) biyolojik belirteçler ve BOS'un PC 12 hücre hattı canlılığı üzerine in vitro etkisinin değerlendirilmesi. Nöroloji Uzmanlık Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir.
- [17] Erkol G. Theories on Etiology and Physiopathology of Alzheimer's Disease. *Türkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics*. 2009;2(1):14-9
- [18] Kayaalp, O. (2005). Tıbbi Farmakoloji. Ankara: Hacettepe Taş.
- [19] Akgün, H., Balkan, A., Bilgin, A. A., Çalış, Ü., Gökhan, N., Dalkara, S., Erdoğan, H., Erol, D. D., Ertan, M., Özkanlı, F., Palaska, E., Saraç, S., Şafak, C., Tozkoparan, B. (2004). *Farmasötik Kimya*. Ankara: Hacettepe Yayınları.
- [20] Vassar, R., Bennett, B.D., Babu-Kahn, S., Mendiaz, E.A., Denis, P., Teplow, B.W., Ross, S., Amarante, P., Loeloff, R. (1999). β -Secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* (Washington, D. C.). 286(5440), 735-741
- [21] L. Pezzementi, A. Chatonnet, Evolution of cholinesterases in the animal kingdom, *Chem. Biol. Interact.* 187 (2010) 27-33.
- [22] A. Chatonnet, O. Lockridge, Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase, *Biochem. J.* 260 (1989) 625-634.
- [23] Wang P, Li H, Hassan MM, Guo Z, Zhang ZZ, Chen Q. Fabricating an Acetylcholinesterase Modulated UCNPs-Cu²⁺ Fluorescence Biosensor for

- Ultrasensitive Detection of Organophosphorus Pesticides-Diazinon in Food. *J. Agric. Food Chem.* 2019 Apr 10;67(14):4071-4079.
- [24] Darvesh, S., Grantham, D.L., Hopkins, D.A. (1998). Distribution of butyrylcholinesterase in the human amygdala. *J. Comp. Neurol.* 393, 374-390.
- [25] Xie, W., Wilder, P.J., Stribley, J., Chatonnet, A., Rizzino, A., Taylor, P., Hinrichs, S.H., Lockridge, O. (1999). Knockout of one AChE allele in the mouse. *Chem. Biol. Interact.* 119-120, 120;289-299.
- [26] Şahin, H.A. (2002). Asetilkolin, Kolinesterazlar ve Alzheimer Hastalığı. *Demans Derg.* 2, 69-73.
- [27] Dooley, M., Lamb, H.M. (2000). Donepezil: a review of its use in Alzheimer's disease. *Drug Aging*, 16, 199-226.
- [28] Huang, X.T., Qian, Z.M., He, X., Gong, Q., Wu, K.C., Jiang, L.R., Lu, L.N., Zhu, Z., Zhang, H.Y., Yung, W.H., Ke, Y. (2013). Reducing iron in the brain: a novel pharmacologic mechanism of huperzine A in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging.* 1-10.
- [29] Kovarova, M., Komersa, K., Stepankova, S., Parik, P., Cegan, A. (2013). New Method for the Determination of the Half Inhibition Concentration (IC50) of Cholinesterase Inhibitors. *Z. Naturforsch.* 68c, 133 – 138.
- [30] National Toxicology Program, Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health (NTP). 1992. National Toxicology Program Chemical Repository Database. Research Triangle Park, North Carolina.
- [31] Vila, N., Besada, P., Costas, M.C., Costas-Lago, C., Terán, C. *Eur. J. Med. Chem.* 97 (2015) 462.
- [32] Teran, C., Besada, P., Vila, N., Costas-Lago, M.C. (2019). Recent advances in the synthesis of phthalazin-1(2H)-one core as a relevant pharmacophore in medicinal chemistry. *Eur J Med Chem*, 161, 468-478.
- [33] A.E. Kümmerle, M.M. Vieira, M. Schmitt, A.L.P. Miranda, C.A.M. Fraga, J.J. Bourignon, E.J. Barreiro, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19 (2009) 4963-4966;
- [34] M.E. Prime, S.M. Courtney, F.A. Brookfield, R.W. Marston, V. Walker, J. Warne, A.E. Boyd, N.A. Kairies, W. von der Saal, A. Limberg, G. Georges, R.A. Engh, B. Goller, P. Rueger, M. Rueth, *J. Med. Chem.* 54 (2011) 312-319.

- [35]) E. del Olmo, M. García, J.L. Lopez-Perez, R. Grace, F. Vargas, A. Gimenez, E. Deharo, A. San Feliciano, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11 (2001) 2755e2757;
- [36] M.A. Buil, M. Calbet, M. Castillo, J. Castro, C. Esteve, M. Ferrer, P. Forns, J. Gonzalez, S. Lopez, R.S. Roberts, S. Sevilla, B. Vidal, L. Vidal, P. Vilaseca, *Eur. J. Med. Chem.* 113 (2016) 102e133.
- [37]] S. Krishnananthan, D. Smith, D.-R. Wu, S. Yip, P. Gunaga, A. Mathur, J. Li, *J. Org. Chem.* 81 (2016) 1520e1526.
- [38] English, J.P., Clapp, R.C., Cole, Q.P., Krapcho, J., An improved synthesis of γ -(3,4-ureylene-cyclohexyl)-butyric acid, *J. Am. Chem. Soc.*, 67, 2264-2265 (1945)
- [39] Howell, E., T., Gubelmann, I. N-Substituted p-aminobenzoyl-o-benzoic acid derivatives, US, 1,892, 890. C.A. 27, 2161, (1933).
- [40] Gubelmann, I., p-amino-o-benzoylbenzoic acid US., 1,654, 290. C.A. 22, 788, (1928).
- [41] Haikala, H., O., Honkanen, E., J., Lonnberg, K., K., Nore., P., T., Pystynen, J., J., Luro, A., M., Pippuri, A., K., Preparation of arylazolinones for treatment of congestive heart failure, *Brit. Uk. Pat. Appl. GB. 2, 228, 04. C.A. 121, 280, 683. (1994)*
- [42] Johnson, R.E., Schlegel, D.C., Ezrin, A.M. Aryl-fused and heteroaryl-fused 2,4-diazocine antiarrhythmic agents, *Eur. Pat. Appl. EP. 597, 540. C.A. 121, 280, 683 (1994)*
- [43] Yu, M., Huang, X., & Gao, F. (2012). *Pyrrolidine-2,5-dione. Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online*, 68(9), o2738–o2738.
- [44] Ilieva, E.D., Petkova, N.I., Nikolova, R.D. (2012). A new and efficient method for the synthesis of 3,4-disubstituted pyrrolidine-2,5-diones. *Molecules*, 17 (5), 4936-4949.
- [45] Rybka, S., Obniska, J., Rapacz, A., Filipek, B., Zmudzki, P. (2017). Synthesis and evaluation of anticonvulsant properties of new N-Mannich bases derived from pyrrolidine-2,5-dione and its 3-methyl-, 3-isopropyl, and 3-benzhydryl analogs. *Bioorg Med Chem Lett*, 27 (6), 1412-1415.
- [46] Wrobel, M.Z., Chodkowski, A., Herold, F., Gomolka, A., Kleps, J., Mazurek, A.P., Plucinski, F., Mazurek, A., Nowak, G., Siwek, A., Stachowicz, K., Slawinska, A., Wolak, M., Szewczyk, B., Satala, G., Bojarski, A.J., Turlo, J. (2013). Synthesis and biological evaluation of novel pyrrolidine-2,5-dione derivatives as potential antidepressant agents. Part 1. *Eur J Med Chem*, 63, 484-500.

- [47] Hussain, F., Khan, Z., Jan, M.S., Ahmad, S., Ahmad, A., Rashid, U., Ullah, F., Ayaz, M., Sadiq, A. (2019). Synthesis, in-vitro alpha-glucosidase inhibition, antioxidant, in-vivo antidiabetic and molecular docking studies of pyrrolidine-2,5-dione and thiazolidine-2,4-dione derivatives. *Bioorg Chem*, 91, 103128.
- [48] Matviuk, T., Rodriguez, F., Saffon, N., Mallet-Ladeira, S., Gorichko, M., de Jesus Lopes Ribeiro, A.L., Pasca, M.R., Lherbet, C., Voitenko, Z., Baltas, M. (2013). Design, chemical synthesis of 3-(9H-fluoren-9-yl)pyrrolidine-2,5-dione derivatives and biological activity against enoyl-ACP reductase (InhA) and Mycobacterium tuberculosis. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 70, 37-48.
- [49] Adib, M., Ansari, S., Fatemi, S., Bijanzadeh, H.R., Zhu, L.-G. (2010). A multi-component synthesis of 3-aryl-1-(arylmethylideneamino)pyrrolidine-2,5-diones. *Tetrahedron*, 66 (14), 2723-2727.