

**YENİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN
SENTEZİ VE ASETİLKOLİN ESTERAZ VE
MONOAMİN OKSİDAZ İNHİBİTÖR
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Berkant KURBAN

Eskişehir 2023

**YENİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE ASETİLKOLİN
ESTERAZ VE MONOAMİN OKSİDAZ İNHİBİTÖR ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Berkant KURBAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLİ**

**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Haziran 2023**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Berkant KURBAN’ın “YENİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE ASETİLKOLİN ESTERAZ VE MONOAMİN OKSİDAZ İNHİBİTÖR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı tezi 21/06/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI	
Üye	: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Harun USLU	

Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ
Enstitü Müdürü

ÖZET

YENİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE ASETİLKOLİN ESTERAZ VE MONOAMİN OKSİDAZ İNHİBİTÖR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Berkant KURBAN

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Haziran 2023

Danışman: Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLİ

Alzheimer Hastalığı (AH) başta olmak üzere nörodejeneratif hastalıklar insan yaşamının kalitesini düşürmekle beraber yüksek mortaliteye sahip hastalıklardır. AH'nın patofizyolojisinin tam olarak açıklanamamış olması, AH tedavisinde henüz istenilen seviyede olunamaması gibi sebeplerle birlikte AH ve diğer nörodejeneratif hastalıkların tedavisindeki gelişmeler oldukça önemlidir.

Bu yüksek lisans tezi kapsamında, Donepezil'den hareketle tasarlanmış, piperazin ve şalkon yapılarını içeren bir dizi yeni bileşik tasarlanmış, sentezlenmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Bileşiklerin yapıları aydınlatılırken IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve HRMS yöntemlerinden faydalanılmıştır.

Elde edilen bileşiklerin kolin esteraz enzimleri ve monoamin oksidaz enzimleri üzerindeki aktiviteleri araştırılmıştır. Biyolojik aktivite testleri doğrultusunda bileşik **4g**'nin asetilkolin esteraz enzimi ile etkileşimleri moleküler docking ve moleküler dinamik yöntemleri ile açıklanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Asetilkolin Esteraz İnhibitörleri, Monoamin Oksidaz İnhibitörleri, Alzheimer Hastalığı, Piperazin, Şalkon.

ABSTRACT

SYNTHESIS OF NEW HETEROCYCLIC COMPOUNDS AND INVESTIGATION OF THE INHIBITORY EFFECTS OF ACETYLCHOLINE ESTERASE AND MONOAMINE OXIDASE

Berkant KURBAN

Department of Pharmaceutical Chemistry
Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, June 2023

Supervisor: Prof. Dr. Zafer Asim KAPLANCIKLI

Neurodegenerative diseases, especially Alzheimer's Disease, reduce the quality of human life and are diseases with high mortality. Developments in the treatment of AD and other neurodegenerative diseases are very important due to reasons such as the pathophysiology of AD has not been fully explained and the treatment of AD has not yet been achieved at the desired level.

Within the scope of this master's thesis, a series of new compounds designed from Donepezil, including piperazine and chalcone structures, were designed, synthesized and their structures elucidated. While elucidating the structures of the compounds, IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR and HRMS methods were used.

The activities of the obtained compounds on cholinesterase enzymes and monoamine oxidase enzymes were investigated. In accordance with the biological activity tests, the interactions of compound **4g** with the acetylcholine esterase enzyme were explained by molecular docking and molecular dynamics methods.

Keywords: Acetylcholine Esterase Inhibitors, Monoamine Oxidase Inhibitors,
Alzheimer's Disease, Piperazine, Chalcone

TEŞEKKÜR

Mesleğe ve hayata farklı pencerelerden bakabilmemi sağlayan, bilimin tek boyutlu olmadığını bana öğreten, alanımızın dışında birçok konuda beni aydınlatan, bilgi birikimini ve mücadeleci ruhunu örnek aldığım tez danışmanım Sayın Hocam Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLİ'ya,

Akademide attığım ilk adımlarımda yanımda olan, desteğini her zaman hissettiğim, her türlü sorunumu ilgiyle dinleyip, kıymetli zamanını bana ayırarak çözüm üreten, bugüne değin çok şey öğrendiğim Sayın Hocam Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY'a,

İyi veya kötü her anımda yanımda olan, en dipte olduğum anlarda beni tutup oradan çıkartan, büyük emekleri sayesinde bugün akademide gelecek planlıyor olabilmemi kendilerine borçlu olduğum, en yoğun anlarında dahi beni dinleyen bana sabreden, benim için çok kıymetli olan geçirdiğimiz bu süre zarfında mesleğe ve hayata dair kendilerinden çok şey öğrendiğim, tez çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen kıymetli hocalarım Doç. Dr. Begüm Nurpelin SAĞLIK'a, Dr. Öğr. Üyesi Derya OSMANİYE'ye ve Öğr. Görevlisi Serkan LEVENT'e,

Lisans eğitimime başladığım günden itibaren üzerimde çok fazla emeği olan, emeklerine ve ilgilerine her zaman minnet duyduğum Farmasötik Kimya Anabilim Dalından saygıdeğer hocalarıma,

Tüm süreç boyunca yanımda oldukları için laboratuvarındaki çalışma arkadaşlarıma, EKAL'li dostlarıma, eczacılık fakültesinin bana kazandırdığı değerli arkadaşlarıma,

Fedakarlıkları sayesinde bugün bu teşekkür yazısını yazabildiğimi düşündüğüm, tanıdığım en güçlü kadın annem Gülzade KURBAN'a,

Yoldaşım, müstakbel meslektaşım, en güzel anılarımin ortağı kız kardeşim Beril KURBAN'a

Sayesinde Türk gençliğinin bir ferdi olarak, kurduğu cumhuriyetin 100. yılında, onurla ve gururla çalışmalarımı yürütebildiğim Ulu Önder Mustafa Kemal ATATÜRK'e,

Ve son olarak sormayı, sorgulamayı, kalem tutmayı, araba kullanmayı, gülmeyi, güldürmeyi, bilgisayar kullanmayı, matematiği, tornavida tutmayı, uçurtma uçurmayı ve daha nicelerini öğreten öğretmenim, arkadaşım ve en büyük özlemim babama,

Sonsuz saygılarımla birlikte teşekkürlerimi sunarım.

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.

Berkant KURBAN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xx
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Alzheimer Hastalığı.....	4
2.2. Alzheimer Hastalığında Risk Faktörleri.....	4
2.3. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi.....	4
2.4. Alzheimer Hastalığında Tedavi Yaklaşımları	5
2.4.1. Kolinergik hipotez.....	5
2.4.2. Amiloid hipotez.....	5
2.4.3. Nörodejeneratif taupatiler.....	6
2.4.4. Oksidatif stres hipotezi	6
2.5. Alzheimer Hastalığının Tedavisi.....	6
2.5.1. Nörotransmisyonun düzenlenmesi esasına dayanan tedaviler.....	6
2.5.1.1. Kolin Esterazlar ve inhibitörleri.....	6
2.5.1.2. Donepezil.....	7

	<u>Sayfa</u>
2.5.1.3. Takrin.....	8
2.5.1.4. <i>N</i> -metil- <i>d</i> -aspartat reseptör antagonistleri	8
2.5.1.5. GABAerjik modülasyonlar.....	8
2.5.1.6. Serotonin reseptör modülasyonları	8
2.5.1.7. Histaminerjik modülasyon	9
2.5.1.8. Adenozin reseptör modülasyonu.....	9
2.5.2. Tau Temelli Tedaviler.....	9
2.5.2.1. Tau fosforilasyonunun inhibisyonu	9
2.5.2.2. Mikrotübül stabilizasyonu.....	9
2.5.2.3. Tau oligomerizasyonunun engellenmesi.....	10
2.5.2.4. Tau proteinlerinin bozunmasını artırma	10
2.5.3. Amiloid temelli tedaviler	10
2.5.4. Oksidatif stresin baskılanmasını temel alan tedaviler	10
2.6. Monoaminoksidazlar ve İnhibitörleri	10
2.7. Çoklu Etkiye Sahip Bileşiklerin Önemi	11
2.8. Piperazin ve Şalkon Yapılarının İncelenmesi.....	12
2.9. Yapısında Piperazin ve/veya Şalkon İçeren Bileşiklerin Aktivite Çalışmaları.....	12
3. GEREÇLER	23
3.1. Kullanılan Maddeler	24
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	25
4. YÖNTEMLER.....	27
4.1. Sentez Çalışmaları.....	27
4.1.1. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (A) (Yöntem A)	27

4.1.2. 3-(4-Aminofenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on (B) (Yöntem B).....	27
4.1.3. 2-Kloro-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1- il)fenil)asetamid (C) (Yöntem C)	27
4.1.4. Hedef bileşiklerin sentezi (4a-4n) (Yöntem D).....	28
4.2. İTK Çalışmaları ve Rf Değerlerinin Saptanması	29
4.3. Erime Noktalarının Tespiti	29
4.4. IR Spektrumlarının Eldesi	29
4.5. ¹ H-NMR Spektrumlarının Eldesi.....	29
4.6. ¹³ C-NMR Spektrumlarının Eldesi.....	30
4.7. Kütle Spektrumlarının Eldesi	30
4.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	30
4.8.1. Antikolinesteraz enzim aktivite çalışmaları.....	30
4.8.1.1. AChE ve BChE enzim çözeltilerinin hazır hale getirilmesi	31
4.8.1.2. Asetiltiyokolin iyodür (ATC) çözeltisinin hazır hale getirilmesi (0.075 M)	31
4.8.1.3. Bütiriltiyokolin iyodür (BTC) çözeltisinin hazır hale getirilmesi (0.075 M)	31
4.8.1.4. 5-5-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) solüsyonunun hazır hale getirilmesi (0.01 M)	31
4.8.1.5. Fosfat tamponunun hazır hale getirilmesi (pH=8.0)	31
4.8.1.6. AChE ve BChE inhibisyon çalışması.....	32
4.8.2. Monoamin oksidaz enzim aktivite çalışmaları	33
4.9. Moleküler Docking Çalışmaları.....	34
4.10. Moleküler Dinamik Çalışmaları	35

5. BULGULAR VE YORUM	35
5.1. Sentez Çalışmaları.....	36
5.1.1. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)asetamid (4a).....	36
5.1.2. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-etilpiperazin-1-il)asetamid (4b).....	42
5.1.3. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-izopropilpiperazin-1-il)asetamid (4c)	48
5.1.4. 2-(4-Alilpiperazin-1-il)- <i>N</i> -(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (4d)	55
5.1.5. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(prop-2-in-1-il)piperazin-1-il)asetamid (4e).....	61
5.1.6. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-formilpiperazin-1-il)asetamid (4f)	67
5.1.7. 2-(4-Asetilpiperazin-1-il)- <i>N</i> -(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (4g)	72
5.1.8. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(2-metoksietil)piperazin-1-il)asetamid (4h)	77
5.1.9. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(3-hidroksipropil)piperazin-1-il)asetamid (4i)	82
5.1.10. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)asetamid (4j)	87
5.1.11. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)asetamid (4k)	92
5.1.12. 2-(4-Siklopentilpiperazin-1-il)- <i>N</i> -(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (4l)	97
5.1.13. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(metilsülfonil)piperazin-1-il)asetamid (4m)	103

	<u>Sayfa</u>
5.1.14. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(etilsülfonil)piperazin-1-il)asetamid (4n).....	108
5.2. Sentez Çalışmalarının Tartışılması	113
5.3. Spektral Verilerin Tartışılması.....	113
5.3.1. IR verilerinin tartışılması.....	113
5.3.2. NMR verilerinin tartışılması.....	114
5.3.2.1. ¹ H-NMR verilerinin tartışılması.....	114
5.3.2.2. ¹³ C-NMR verilerinin tartışılması	116
5.3.3. HRMS verilerinin tartışılması.....	116
5.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Tartışılması	117
5.4.1. AChE ve BChE enzimlerinin aktivite çalışmalarının tartışılması	117
5.4.2. MAO A ve MAO B enzim inhibisyonu aktivite çalışmalarının tartışılması.....	119
5.5. Yapı Etki İlişkilerinin Değerlendirilmesi.....	121
5.6. Moleküler Docking Çalışmalarının Tartışılması.....	124
5.7. Moleküler Dinamik Çalışmalarının Tartışılması.....	127
6. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER	131
KAYNAKÇA.....	128
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1. Hedeflenen bileşikler	2
Tablo 3.1. Tez çalışmasında kullanılan maddeler	24
Tablo 3.2. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar	25
Tablo 5.1. Elde edilen bileşiklerin AChE ve BChE enzimine karşı 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında % inhibisyon oranları ve IC_{50} (μ M) değerleri.....	111
Tablo 5.2. Elde edilen bileşiklerin MAO A ve MAO B enzimine karşı 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında % inhibisyon oranları ve IC_{50} (μ M) değerleri.....	113

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. 1-(4-(4-((2-(Dimetilamino)benzil)(ethylamino)bütoksi)-2-hidroksifenil)-3-(4-(dimetilamino)fenil)prop-2-en-1-on.....	13
Şekil 2.2. 13-(4-Floro-3-(triflorometil)fenil)-1-(4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)prop-2-en-1-on	13
Şekil 2.3. 1-[4-(Morfolin-4-il)fenil]-3-fenilprop-2-en-1-on	13
Şekil 2.4. 3-(3-(3-Hidroksifenil)akriloil)-7-metoksi-2 <i>H</i> -kromen-2-on	14
Şekil 2.5. 3-(4-Hidroksifenil)-1-(2,2-dimetilkroman-6-il)prop-2-en-1-on.....	14
Şekil 2.6. 3-Fenil-1-(3-(triflorometil)fenil)prop-2-en-1-on.....	14
Şekil 2.7. 2-[(3-Kloro-4-florofenil)amino]-2-oksoetil-4-fenilpiperazin-1-karbotitiyoat.....	15
Şekil 2.8. <i>N</i> -(2-(4-Benzilpiperazin-1-il)etil)-2-(4-kloro-2-nitrofenoksi)asetamit	15
Şekil 2.9. 1-(2'-Hidroksi-4',6'-dimetoksifenil)-4-(piperazin-1-il)bütan-1-on.....	15
Şekil 2.10. 6-(4-(4-Metoksifenil)piperazin-1-il)-2-((5-tiyokso-4-(<i>p</i> -tolil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il)metil)piridazin-3(2 <i>H</i>)-on.....	16
Şekil 2.11. 4-(2-(Dimetilamino)etil)piperazin-1-il)(4-(1-(prop-2-in-1-il)- 1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-2-il)fenil)metanon.....	16
Şekil 2.12. 1-(2'-Hidroksi-4',6'-dimetoksifenil)-4-(piperazin-1-il)bütan-1-on.....	16
Şekil 2.13. <i>N</i> -(2,3,5,6,7,8-Hegzahidro-1 <i>H</i> -siklopenta[<i>b</i>]kinolin-9-il)-2-[4-(4-nitrofenil)-piperazin-1-il]-asetamid	17
Şekil 2.14. 1-(4-(3-(5-floro-1 <i>H</i> -indol-3-il)propil)piperazin-1-il)-2-(4-(4-florobenzoil)piperazin-1-il)etan-1-on	17

Şekil 2.15. 2,3-Dihidro-5,6-dimetoksi-2-[4-(4-(3-klorobenzil)-4-metilpiperazinyum -1-il)benzilidin]-1 <i>H</i> -inden-1-on bromür	18
Şekil 2.16. 4-(3-Metilfenil)-2-(4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il)tiyazol	18
Şekil 2.17. 2-(2,4-Diflorofenil)-5-(4-(piridin-2-il)piperazin-1-il)-1,3,4-oksadiazol .	18
Şekil 2.18. (4-(5-Aminobenzo[d]oksazol-2-il)piperazin-1-il)(4-bromofenil)metanon	19
Şekil 2.19. 2-(4-Metilpiperazin-1-il)- <i>N</i> -(1 <i>H</i> -pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-3-il)asetamid ...	19
Şekil 2.20. 5,6-Difenil-3-okso-2-(2-(4-benzilpiperazin-1-il)etil)-1,2,4-triazin	19
Şekil 2.21. 2-(2-(4-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazinil)-4-(4- metoksifenil)tiyazol	20
Şekil 2.22. 2-(4-(3-(Benziloksi)benzil)piperazin-1-il)-2-oksoetil asetat	20
Şekil 2.23. 2-(4-(4-(2-Etoksifenil)piperazin-1-il)fenil)-5-metil-1 <i>H</i> - benzo[d]imidazol	20
Şekil 2.24. (4-Benzhidrilpiperazin-1-il)(fenil)metanon.....	21
Şekil 2.25. 5,6-Dimetoksi-2-(4-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)).....	21
Şekil 2.26. 4-[3-(4-Fenilpiperazin-1-il)propoksi]-2 <i>H</i> -kromen-2-on	21
Şekil 2.27. <i>N</i> -(4-Hidroksibenziliden)-2-(4-(4-nitrofenil)piperazin-1-il)asetohidrazid	22
Şekil 2.28. <i>N</i> -(4-(3-(4-(4-florofenil)piperazin-1-il)propoksi)fenil)asetamid.....	22
Şekil 2.29. 3-(4-benzilpiperidin-1-il)- <i>N</i> -(piridin-3-ilmetil)propan-1-amin	22
Şekil 2.30. <i>N</i> -(2-(dimetilamino)etil)-2-(5-hidroksi-3-(4-hidroksifenil)-4-okso-4 <i>H</i> - kromen-7-iloksi)asetamid hidroklorür	23
Şekil 2.31. 1-(2,3-Dihidro-1,4-benzodioksin-6-il)-3-(4-florofenil)prop-2-en-1-on ..	23
Şekil 2.32. 3-(3-Florofenil)-1-[4-(morfolin-4-il)-fenil]prop-2-en-1-on	23

Şekil 4.1. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (A) sentezi için reaksiyon denklemi	27
Şekil 4.2. 3-(4-Aminofenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on (B) sentezi için reaksiyon denklemi	27
Şekil 4.3. 2-Kloro- <i>N</i> -(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (C) sentezi için reaksiyon denklemi.....	28
Şekil 4.4. Hedef bileşiklerin sentezi için reaksiyon denklemi.....	29
Şekil 5.1. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2- (4- metilpiperazin-1-il)asetamid (4a) molekülünün kimyasal yapısı.....	36
Şekil 5.2. IR spektrumu (4a)	37
Şekil 5.3. ¹ H-NMR spektrumu (4a).....	38
Şekil 5.4. ¹³ C-NMR spektrumu (4a).....	39
Şekil 5.5. HRMS spektrumu (4a)	40
Şekil 5.6. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-etilpiperazin -1-il)asetamid (4b) molekülünün kimyasal yapısı.....	41
Şekil 5.7. IR spektrumu (4b)	42
Şekil 5.8. ¹ H-NMR spektrumu (4b).....	43
Şekil 5.9. ¹³ C-NMR spektrumu (4b)	44
Şekil 5.10. HRMS spektrumu (4b).....	45
Şekil 5.11. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4- izopropilpiperazin-1-il)asetamid (4c) molekülünün kimyasal yapısı.....	46
Şekil 5.12. IR spektrumu (4c).....	47

Şekil 5.13. ^1H -NMR spektrumu (4c).....	48
Şekil 5.14. ^{13}C -NMR spektrumu (4c).....	49
Şekil 5.15. HRMS spektrumu (4c)	50
Şekil 5.16. 2-(4-Allilpiperazin-1-il)- <i>N</i> -(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (4d) molekülünün kimyasal yapısı.....	51
Şekil 5.17. IR spektrumu (4d)	52
Şekil 5.18. ^1H -NMR spektrumu (4d).....	53
Şekil 5.19. ^{13}C -NMR spektrumu (4d)	54
Şekil 5.20. HRMS spektrumu (4d).....	55
Şekil 5.21. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(prop-2-in-1-il)piperazin-1-il)asetamid (4e) molekülünün kimyasal yapısı	56
Şekil 5.22. IR spektrumu (4e).....	57
Şekil 5.23. ^1H -NMR spektrumu (4e).....	58
Şekil 5.24. ^{13}C -NMR spektrumu (4e).....	59
Şekil 5.25. HRMS spektrumu (4e)	60
Şekil 5.26. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-formilpiperazin-1-il)asetamid (4f) molekülünün kimyasal yapısı	61
Şekil 5.27. IR spektrumu (4f)	62
Şekil 5.28. ^1H -NMR spektrumu (4f)	63
Şekil 5.29. ^{13}C -NMR spektrumu (4f)	64
Şekil 5.30. HRMS spektrumu (4f).....	65

Şekil 5.31. 2-(4-Asetilpiperazin-1-il)- <i>N</i> -(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (4g) molekülünün kimyasal yapısı.....	66
Şekil 5.32. IR spektrumu (4g)	67
Şekil 5.33. ¹ H-NMR spektrumu (4g).....	68
Şekil 5.34. ¹³ C-NMR spektrumu (4g).....	69
Şekil 5.35. HRMS spektrumu (4g)	70
Şekil 5.36. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(2-metoksietil)piperazin-1-il)asetamid (4h) molekülünün kimyasal yapısı ..	71
Şekil 5.37. IR spektrumu (4h)	72
Şekil 5.38. ¹ H-NMR spektrumu (4h).....	73
Şekil 5.39. ¹³ C-NMR spektrumu (4h)	74
Şekil 5.40. HRMS spektrumu (4h).....	75
Şekil 5.41. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(3-hidroksipropil)piperazin-1-il)asetamid (4i) molekülünün kimyasal yapısı	76
Şekil 5.42. IR spektrumu (4i)	77
Şekil 5.43. ¹ H-NMR spektrumu (4i).....	78
Şekil 5.44. ¹³ C-NMR spektrumu (4i).....	79
Şekil 5.45. HRMS spektrumu (4i).....	80
Şekil 5.46. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)asetamid (4j) molekülünün kimyasal yapısı	81
Şekil 5.47. IR spektrumu (4j)	82

Şekil 5.48. ^1H -NMR spektrumu (4j)	83
Şekil 5.49. ^{13}C -NMR spektrumu (4j)	84
Şekil 5.50. HRMS spektrumu (4j).....	85
Şekil 5.51. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)asetamid (4k) molekülünün kimyasal yapısı	86
Şekil 5.52. IR spektrumu (4k)	87
Şekil 5.53. ^1H -NMR spektrumu (4k).....	88
Şekil 5.54. ^{13}C -NMR spektrumu (4k)	89
Şekil 5.55. HRMS spektrumu (4k).....	90
Şekil 5.56. 2-(4-Siklopentilpiperazin-1-il)- <i>N</i> -(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (4l) molekülünün kimyasal yapısı.....	91
Şekil 5.57. IR spektrumu (4l)	92
Şekil 5.58. ^1H -NMR spektrumu (4l).....	93
Şekil 5.59. ^{13}C -NMR spektrumu (4l).....	94
Şekil 5.60. HRMS spektrumu (4l).....	95
Şekil 5.61. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(metilsülfonil)piperazin-1-il)asetamid (4m) molekülünün kimyasal yapısı	96
Şekil 5.62. IR spektrumu (4m)	97
Şekil 5.63. ^1H -NMR spektrumu (4m)	98
Şekil 5.64. ^{13}C -NMR spektrumu (4m)	99

Şekil 5.65. HRMS spektrumu (4m).....	100
Şekil 5.66. <i>N</i> -(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(etilsülfonil)piperazin-1-il)asetamid (4n) molekülünün kimyasal yapısı	101
Şekil 5.67. IR spektrumu (4n)	102
Şekil 5.68. ¹ H-NMR spektrumu (4n).....	103
Şekil 5.69. ¹³ C-NMR spektrumu (4n)	104
Şekil 5.70. HRMS spektrumu (4n).....	105
Şekil 5.71. Hedef bileşiklerin sentezi	106
Şekil 5.72. Hedef bileşikler ile Donepezil'in kıyaslanması.....	115
Şekil 5.73. AChE enziminin aktif bölgesiyle bileşik 4g'nin etkileşiminin iki boyutlu görünümü	117
Şekil 5.74. AChE enziminin aktif bölgesiyle bileşik 4g'nin etkileşiminin üç boyutlu görünümü	120
Şekil 5.75. Bileşik 4g -AChE kompleksi ile gerçekleştirilen MD simülasyon sonuçları.....	123
Şekil 5.75. Bileşik 4g -AChE kompleksi ile gerçekleştirilen MD simülasyon sonuçları (devamı).....	124

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolin Esteraz
ALS	: Amyotrofik Lateral Skleroz
BACE1	: β -site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1
BChE	: Bütirilkolin Esteraz
ChE	: Kolin Esteraz
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
E.N.	: Erime Noktası
ESI	: Elektrosprey İyonlaştırma
HRMS	: High Resolution Mass Spectrometry (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Analizi)
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
NMDA	: <i>N</i> -metil- <i>d</i> -aspartat
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
PH	: Parkinson Hastalığı
PDB	: Protein Data Bank (Protein Veri Bankası)
ROS	: Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
TEA	: Trietilamin
THF	: Tetrahidrofuran

1. GİRİŞ

Nörodejeneratif hastalıklar klinikteki yansımaları nedeniyle oldukça geniş bir sınıflandırmaya sahiptir. Bilişsel veya davranışsal bozuklukların yanı sıra ekstrapiramidal ve piramidal hareket bozuklukları nörodejeneratif hastalıkların karakteristik özellikleri arasındadır. Nörodejeneratif hastalıklar amiloid birikimi gösterenler, taupatiler, sinükleinopatiler gibi başlıklar altında incelenebilir. Spesifik protein birikimi, oksidatif stres, progresif nöronal disfonksiyon, nöroinflamasyon gibi bozukluklar nörodejeneratif hastalıklara temel teşkil etmektedir. Protein birikimi gibi bozukluklarla, henüz hastalığa dair bir semptom mevcut değilken karşılaşılabilmektedir. Ayrıca bireyde birden fazla nörodejeneratif hastalık aynı anda varlık gösterebilir. AH, ALS ve Parkinson Hastalığı en sık karşılaşılan nörodejeneratif hastalıklar arasındadır (Dugger ve Dickson, 2017; Q. Zhang vd., 2023).

Nörodejeneratif hastalıklar arasında en sık karşılaştığımız hastalık Alzheimer Hastalığıdır. Bunun yanı sıra AH tüm ölüm nedenleri arasında kanser, kardiyovasküler sistem rahatsızlıkları gibi nedenlerin ardından gelmektedir ve şüphesiz en fazla ölüme sebebiyet veren nörodejeneratif hastalıktır (Ahmad ve Anderson, 2021).

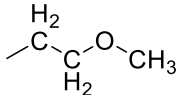
AH'nın tedavisinde çeşitli yaklaşımlar bulunmaktadır. Bu çeşitliliğin başlıca sebeplerinden biri hastalığın mekanizmasına ait farklı bakış açılarından kaynaklıdır. β amiloid tabaka ve reaktif oksijen türevleri gibi AH ile ilişkilendirilen parametrelere müdahale amacıyla kolin esterase (ChE) inhibitörleri, MAO inhibitörleri ve steroid olmayan antiinflamatuvarlar gibi çeşitli gruplar AH tedavisinde kullanılmakta veya AH tedavisinin geleceği için umut vadetmektedir. Bunun yanı sıra AH tedavisinde MAO inhibitörlerinin tek başlarına değil diğer grup ilaçlarla kombinasyonları uygun görülmektedir. Bu bağlamda hem antiChE aktiviteye hem de MAO inhibisyonuna sahip bileşikler AH tedavisinin geleceği için oldukça kıymetlidirler (Kinney vd., 2018; Livingston vd., 2017; Scheltens vd., 2016; Selkoe ve Hardy, 2016; Thomas, 2000).

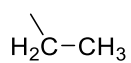
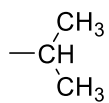
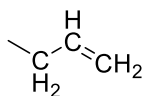
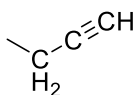
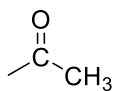
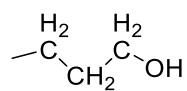
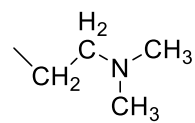
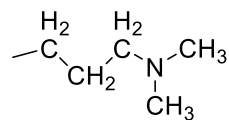
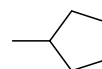
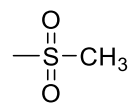
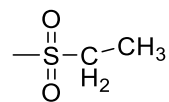
Donepezil öncelikli olmak kaydıyla FDA onaylı ilaçlar ve literatürde yer alan moleküller incelendiğinde AChE, BChE ve MAO B inhibitörü olarak tasarlanan çoklu etkili bileşiklerin, AChE'nin periferik anyonik bölgesi ile etkileşecek bir aromatik gruba, elektron yoğunluğu yüksek bir bağlayıcı gruba ve özellikle AChE'nin katalitik aktif bölgesi ile etkileşecek ana merkezi teşkil eden bir gruba sahip olan moleküller tasarlamak bu çalışmanın temel amaçlarındandır. Periferik anyonik bölge ile etkileşimi beklenen aromatik grup için dimetoksi-benzen yapısı tercih edilmiştir. Elektron yoğunluğu yüksek

bağlayıcı grup için şalkon yapısı seçilmiştir. Katalitik anyonik bölge ile etkileşimi beklenen molekülümüzün ana merkezine piperazin halkası oluşturmaktadır (Sang vd., 2022; Tok vd., 2022).

Bu tez çalışması kapsamında tasarlanan moleküller AChE, BChE ve MAO B enzim inhibisyonunu aynı anda hedefleyen ve nörodejeneratif hastalıkların özellikle de AH'nın tedavisini çoklu etki oluşturarak hedefleyen moleküllerdir. AH gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde çok sınırlı sayıda tedavi seçeneği olması bunun yanı sıra halihazırda kullanılmakta olan bileşikler tam olarak istenilen seviyede olmaması nörodejeneratif hastalıklar ve ilgili enzimler üzerinde aktivite çalışmaları yürütmeye yönlendirmektedir. İlgili moleküllerin tasarım süreçlerinde daha önce etkinlikleri kanıtlanmış farmakofor grupların yapı-etki ilişkileri incelenmiş ve bu gruplarda gerekli görülen modifikasyonlar yapılarak orijinal ilaç adayı moleküller tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. Biyolojik aktivite çalışmaları kapsamında bileşiklerin ChE enzimleri ile MAO enzimleri üzerindeki etkinlikleri araştırılmıştır. Moleküler docking çalışmaları ile elde edilen bileşiklerin AChE enzimi ile olan etkileşimlerinin tespit edilmesinden sonra ve referans molekül olarak seçilen Donepezil ile AChE enzim etkileşimleri kıyaslanmıştır. Bu etkileşimler incelenirken AChE enziminin hangi aktif bölgeleriyle bileşiklerin etkileşim içerisinde oldukları özellikle irdelenmiştir. Moleküler docking çalışmaları ile moleküler dinamik çalışmaları için tercih edilecek bileşik de tespit edilmiş ve bileşik **4g**'nin AChE enziminin hangi bölgelerinde hangi aminoasitlerle etkileştiği ve bu etkileşimlerin, AChE-bileşik **4g** komplekslerinin ne kadar kuvvetli olduğu tespit edilmiştir (Tablo 1.1.).

Tablo 1.1. Hedeflenen bileşikler

Bileşik		Bileşik	
	R		R
4a	—CH ₃	4h	

4b**4c****4d****4e****4f****4g****4i****4j****4k****4l****4m****4n**

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alzheimer Hastalığı

AH hafıza, konuşma ve düşünme gibi beyin sorumluluğundaki yetileri doğrudan etkileyen bir nörodejeneratif rahatsızlıktır. Alois Alzheimer ilk olarak 1901 yılında 51 yaşında bir kadın hastada rastladığı hastalığı, 1906 yılında tanımlayarak AH'nın ilk kez literatüre girmesini sağlamıştır (Soria Lopez vd., 2019). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre 2050 yılında başta AH kaynaklı olmak üzere 139 milyon demans hastası birey olması beklenmektedir (WHO, 2021). Amerika Birleşik Devletleri'nde 65 yaş üstü bireylerin %10,7'sinde AH nedeniyle demans görülmektedir ("2022 Alzheimer's disease facts and figures", 2022). Aynı zamanda AH ölümüne en çok sebebiyet veren nörodejeneratif hastalık olmakla birlikte Türkiye'de her yıl 10.000'den fazla 65 yaş üstü bireyin ölümüne sebebiyet vermektedir (Ahmad ve Anderson, 2021; Bayraktar vd., 2022).

2.2. Alzheimer Hastalığında Risk Faktörleri

AH için genetik faktörler tetikleyici olabileceği gibi dış etkenler de hastalığın gelişiminde rol oynayabilirler. 1., 14. ve 21. kromozomlarda meydana gelen mutasyonların henüz ileri yaşlara gelmeden AH'na sebebiyet verebileceği bilinmektedir. AH ile ilişkilendirilen mutasyonlar amiloid β metabolizmasıyla ilişkilendirilmektedirler. Orta yaşlı bireylerde yapılan çalışmalar arteriyel hipertansiyona sahip hastalar için AH riskinin belirgin bir şekilde arttığını göstermiştir. Hipertansiyon, kan-beyin bariyerinin vasküler bütünlüğünü bozulmasına neden olarak beyin dokusuna protein ekstrasvazasyonuna neden olabilir, böylece AH riskini artırabilir. Beyin dokularına protein ekstrasvazasyonu hücre hasarına, nöronal veya sinaptik fonksiyonlarda azalmaya, apoptoza ve hatta bilişsel bozulma ile sonuçlanan amiloid β birikiminde artışa yol açabilir. Fakat yapılan çalışmalarda arteriyel hipertansiyon tedavisinin AH riskini azaltmadığı belirtilmiştir. Yapılan çalışmalar tip II diyabetin bireylerde AH riskini neredeyse iki katına çıkardığını göstermiştir. Tip II diyabet inme için bir risk faktörü olmakla birlikte, hipertansiyon gibi diğer kardiyovasküler risk faktörlerine eşlik etmektedir. İleri yaş, kafa travmaları, depresyon ve eğitim seviyesi AH ile ilişkilendirilen diğer risk faktörleridir (Borenstein vd., 2006; Kunkle vd., 2019; Reitz ve Mayeux, 2014).

2.3. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi

AH'nın patofizyolojisi için önerilen birkaç hipotez vardır. Bunlar arasında amiloid- β ($A\beta$) birikimi, tau-protein hiperfosforilasyonu, oksidatif stres, azalan

asetilkolin (ACh) seviyeleri, NMDA reseptörü hiper aktivasyonu, CREB (cAMP yanıt elementi bağlayıcı protein) sinyal yolu ile gen transkripsiyonu, biyo-metal dishomeostazisi vb. mevcut ilaç tedavisi yaklaşımları, çok faktörlü rahatsızlığa karşı, hastalığın ilerlemesini engellemek için tek bir molekül ile aynı anda birden fazla hedefle etkileşime girebilen çok işlevli inhibitörlerin tasarlanmasını içerir (Soria vd., 2019; Shrivastava vd., 2022).

2.4. Alzheimer Hastalığında Tedavi Yaklaşımları

Hastalığın patofiyolojisi henüz tam olarak aydınlatılamamış olsa da kabul gören çeşitli yaklaşımlar söz konusudur, bu yaklaşımlar: kolinerjik hipotez, amiloid hipotezi, nörodejeneratif taupatiler ve oksidatif stres hipotezidir.

2.4.1. Kolinerjik hipotez

1982 yılında Bartus ve arkadaşlarının çalışmalarının sonucunda ortaya çık kolinerjik hipotez günümüzde FDA onaylı olarak AH tedavisinde aktif olarak kullanılan Donepezil, Rivastigmin ve Galantamin ilaç moleküllerinin dayandırıldığı hipotezdir ve özelliği nedeniyle diğer hipotezlerden ayrılmaktadır. Bu hipotez, AH'na sahip bireylerde kolinerjik sistemde bir düşüş gözlemlenmesine dayandırılır. Kolinerjik aktivitede bir düşüşle beraber azalan ACh seviyesi ve buna bağlı olarak bireyde öğrenme ve hafıza problemleri ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu nedenledir ki kolinerjik aktiviteyi tekrar yükseltmek için ACh'nin miktarını artırmak çözüm olarak sunulmuştur. ACh miktarını artırmak için ise yıkımından sorumlu AChE enziminin inhibitörleri kullanılmaktadır (Bartus vd., 1982; Craig vd., 2011; Hampel vd., 2018).

2.4.2. Amiloid hipotez

Amiloid hipotez, A β proteinlerinin yanlış katlanması sonucu proteinlerin birikmeye başlaması ve A β plaklarının oluşması esasına dayanmaktadır. A β oluşumunun aşırılaşmasıyla birlikte AH'nın ortaya çıktığı düşünülmektedir. AH'na sahip bireylerin PET görüntülerinde anormal A β tabakaları görüntülenmektedir. Bu da A β birikiminin AH'nın teşhisi için bir biyomarker olarak kabul edilebileceğini gösterirken, A β birikiminin önlenmesini ise AH tedavisi için alternatif bir yol olarak sunmaktadır (J. A. Hardy ve Higgins, 1992; J. Hardy ve Selkoe, 2002; Jack vd., 2018).

2.4.3. Nörodejeneratif taupatiler

Tau proteinleri büyük çoğunluğu aksonlarda olmak üzere merkezi sinir sistemi içerisinde yer alan mikrotübül ile ilişkili proteinlerdir. AH da dahil olmak üzere

nörodejeneratif hastalıklarla doğrudan ilişkilendirilen tau proteinleri, olağan dışı bir fosforilasyona maruz kalıp hiperfosforillenmiş tau proteini halini aldıklarında diğer tau iplikçikleri ile etkileşime girmeye başlarlar ve nörofibriler yumakların oluşmasına sebebiyet verirler. Tau proteinlerinin nörofibriler yumaklar oluşturup mikrotübülleri stabilize edememeye başladıklarında nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıktığı düşünülmektedir (Lee vd., 2001).

2.4.4. Oksidatif stres hipotezi

Serbest radikaller ve reaktif oksijen türevlerinin (ROS) dengelerindeki bozulmalar başta nöron kaybı olmak üzere sinir sisteminde çeşitli hasarlara sebebiyet vererek AH gibi nörodejeneratif hastalıklara neden olmaktadır. Serbest radikaller ve ROS dengesinin bozulmasında alüminyum, demir ve civa gibi serbest radikallerin ve ROS'ların oluşumunu tetikleyen elementlerin rol aldığı düşünülmektedir. Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyonları (O_2^-) ve hidroksil radikalleri ($OH\bullet$), hücrelerin çekirdeklerine, DNA'larına, sitoplazmik proteinlerine ve membranlarına majör hasarlar vermektedirler. ROS'lar DNA oksidasyonu, protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu gibi reaksiyonların doğrudan etkeni oldukları için bu hasarların oluşmasına neden olurlar. Antioksidan etkinliğe sahip bileşiklerin AH ve diğer nörodejeneratif hastalıkların hem tedavisinde hem de nöroprotektif etkileri nedeniyle erken dönemde kullanılabileceği düşünülmektedir (Christen, 2000; Markesbery, 1997).

2.5. Alzheimer Hastalığının Tedavisi

AH tedavisinde belirli düzeyde gelişmiş veya henüz sağlam temellere oturtulamamış çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalardan önde gelenleri etki mekanizmaları üzerinden gruplara ayrılacak olursa nörotransmisyonun düzenlenmesi esasına dayanan tedaviler, tau temelli tedaviler, amiloid temelli tedaviler, oksidatif stresin baskılanmasını temel alan tedaviler, olarak inceleyebiliriz

2.5.1. Nörotransmisyonun düzenlenmesi esasına dayanan tedaviler

ChE inhibitörleri, NMDA reseptör antagonistleri, GABAerjik modülasyonlar, serotonin reseptör modülasyonları, histaminerjik modülasyon ve adenosin reseptör modülasyonu nörotransmisyonun düzenlenmesi esasına dayanan tedaviler olarak kabul edilir.

2.5.1.1. Kolin esterazlar ve inhibitörleri

İlk olarak 1920'li yıllarda Loewi tarafından tanımlanan kolinergik sistem, gerek

merkezi gerekse periferik sinir sisteminde sıklıkla karşılaşılan bir aminoasit olan ACh'e dayanmaktadır (Pohanka, 2011).

ChE enzimlerinin bilinen başlıca görevleri ACh'in hidrolizinin sağlanmasıdır. ChE enzimleri AChE (EC 3.1.1.7.) ve BChE (EC 3.1.1.8) olmak üzere ikiye ayrılırlar. AChE, substratının ACh olması, AH gibi bazı nörodejeneratif hastalıklarda düşük AChE seviyelerinin gözlemlenmesi ve nörolojik hastalıklarda görülen patolojik proteinlerin adhesyonu, oksidatif stres, apoptoz vs. ile ilişkilendirilmesi gibi nedenlerle nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinde oldukça önemli bir aktördür. Kolinergik nörotransmisyonundaki yaşanan olağan dışı durumlar AH'nın ilerlemesi için önemlidir, bu nedenle Donepezil, Galantamin, Rivastigmin, Takrin ve Huperzin A gibi ChE inhibitörleri, AH için semptomatik tedaviler olarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Soreq ve Seidman, 2001; Anand ve Singh, 2013; Cheung vd., 2012; Pohanka, 2011; Walczak-Nowicka ve Herbet, 2021).

Sağlıklı insan beyinde AChE aktivitesi BChE aktivitesini baskılamaktadır. BuChE'ı AChE'dan ayıran en önemli özellik ACh konsantrasyonlarına verdiği kinetik cevaplardır. Düşük ACh konsantrasyonlarında BChE, AChE hidrolizinde daha az etkilidir fakat yüksek ACh konsantrasyonlarının AChE'ı inhibe ettiği durumlarda BChE daha fazla etkinlik göstermeye başlar. AH'nda ise erken dönemde spesifik beyin bölgelerinde AChE kaybı %85'e ulaşabilir. Aynı zamanda BChE'nin özellikle G1 formu hastalığın ilerleyişi ile birlikte artış gösterir. Bu durum BChE'nin sağlıklı bireylerde sahip olduğu ACh'nin hidrolizindeki yardımcı rolünün ortadan kaldırıp, ana rolü sahiplenmesine sebebiyet verir. Bu gibi nedenlerle AH'nda BChE'nin inhibisyonu ACh seviyelerindeki dengeyi gözetmek açısından büyük önem arz etmektedir (Greig vd., 2005).

A β birikimine sekretaz enzimlerinin işlevlerinin bozuklukları da sebep olabilmektedir. BACE1 (β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1) enziminin inhibisyonu ile A β birikiminin önüne geçilebilir dolayısıyla BACE1 enzim inhibitörleri AH'nda ilaç hedeflerinden biridir. AH'na sahip bireylerin beyinlerinde yapılan çalışmalar göstermektedir ki AChE ile pre-amiloid birikimler ve amiloid plak oluşumları arasında doğrudan bir bağlantı vardır (Tok vd., 2022).

2.5.1.2. Donepezil

Donepezil irreversibl bir şekilde AChE enzimini inhibe etmektedir. AChE

enziminin inhibisyon yüzdeleri kadar olmasa da bir miktar BChE enzimini de inhibe ettiği bilinmektedir. Donepezil AH'nın tedavisinde kullanılan sınırlı sayıdaki FDA onaylı ilaç molekülünden biridir. Donepezil oral yolla alınmakla birlikte kan-beyin bariyerini kolaylıkla aşabilmektedir. Özellikle gastro-intestinal sistem üzerinde gösterdiği yan etkileri bilinmektedir. Hafif veya orta şiddette seyretmekte olan AH'nın tedavisinde kullanılmakta olan Donepezil'in ağır seyreden vakalarda olumlu etkileri rapor edilmiştir. Sahip olduğu yüksek aktivite değeri ve AH tedavisi için onaylı birkaç molekülünden biri olması nedeniyle günümüzde AChE inhibitörleriyle ilgili yürütölen araştırmalarda sıklıkla referans molekül olarak kullanılmaktadır ("2022 Alzheimer's disease facts and figures", 2022; Čolović vd., 2013; Petersen vd., 2005).

2.5.1.3. Takrin

AH'na yönelik olarak 1993 yılında FDA tarafından onaylanan ilk ChE inhibitörü bileşik Takrin'dir. Kan-beyin bariyerini aşabilmesi, uzun yarılanma ömrü gibi özelliklerinin yanı sıra oldukça kuvvetli bir yan etki profiline sahiptir. Günümüzde hem radikal bir etkisi olmaması hem de yan etki profili nedeniyle geçmişteki kadar kullanılmamaktadır (Ibach ve Haen, 2004).

2.5.1.4. N-metil-d-aspartat reseptör antagonistleri

Glutamat, beyindeki temel uyarıcı nörotransmitterlerden biridir. Glutamaterjik aşırı uyarım söz konusu olduğunda nöronal hasarlar meydana gelebilir, bu durum nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. Glutamat bir dizi postsinaptik reseptörü uyarmaktadır ve bunlardan biri de N-metil-d-aspartattır. N-metil-d-aspartat hafıza, demans ve AH'nın patogeneğinde doğrudan rol almaktadır. Günümüzde memantin isimli N-metil-d-aspartat reseptör antagonisti AH tedavisinde kullanılmaktadır (Reisberg vd., 2003).

2.5.1.5. GABAerjik modöasyonlar

AH'na sahip bireylerde, beyin ve beyin omurilik sıvısında GABA veya somatostatin düzeylerinde azalma dahil GABAerjik internöron bozukluğuna dair kanıtlar vardır (Andrews-Zwilling vd., 2010).

2.5.1.6. Serotonin reseptör modöasyonları

Beynin öğrenme ve hafıza ile ilgili alanları yüksek konsantrasyonlarda 5-HT1A, 5-HT4, 5-HT6 ve 5-HT7 reseptörleri bulunmaktadır. AH tedavisinde serotonomimetik etkiye sahip selektif serotonin reuptake inhibitörleri ve MAO inhibitörleri tek başlarına

veya AChE inhibitörleri ile birlikte kullanılmaktadırlar. Lekozotan, PRX-03140, idalopirdin ve intepirdin gibi AH endikasyonu üzerinde faz çalışmaları devam eden bileşikler bulunmaktadır (A. Kumar vd., 2015; P. Zhang vd., 2019).

2.5.1.7. Histaminerjik modülasyon

Histamin H₃ reseptörleri uyku başta olmak üzere çeşitli bilişsel aktivitelerle ilişkililerdir ve beynin ilgili bölgelerinde yüksek miktarda bulunurlar. Reseptörün aktive edilmesi beyinde histamin salınımını engeller ancak asetilkolin, GABA, dopamin ve adrenalin gibi çeşitli nörotransmitterlerin salınımını artırır. Birden fazla H₃ reseptör anagonistinin klinik öncesi çalışmaları devam etmektedir. ABT-288, GSK-239512 ve SUVN-G3031 gibi AH endikasyonu üzerinde faz çalışmaları devam eden Histamin H₃ reseptörü blokörü bileşikler bulunmaktadır (A. Kumar vd., 2015; P. Zhang vd., 2019).

2.5.1.8. Adenozin reseptör modülasyonu

Adenozinin nöromodülasyon rolü ve nörodejeneratif hastalıklarla olan bağlantısı araştırılmaktadır. *In-vivo* çalışmalarda bir adenozin reseptör blokörü olan SCH58261'in nöroprotektif etkisi ortaya çıkmıştır. Günümüzde AD ile olan bağlantısı ve yeni reseptör blokörlerinin keşfi üzerine çalışmalar devam etmektedir (Chen vd., 2019).

2.5.2. Tau Temelli Tedaviler

Tau proteinleri mikrotübüllerin oluşmasından sorumluyken hiperfosforilasyona uğramaları sonucunda nörofibriler yumaklar oluşturmaya başlarlar. Nörofibriler yumakların birikmesiyle hücre yapısında bozunmalar meydana gelir ve son olarak nöronal ölümler gerçekleşir. Tau proteinleri ve nörofibriler yumakların oluşumu başta AH olmak üzere nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilendirilmektedirler (Hosseini-Gerami vd., 2023; Prince vd., 2023). Tau proteini ve nörofibriler yumakları temel alan tedavi yaklaşımları şunlardır: tau fosforilasyonunun inhibisyonu, mikrotübül stabilizasyonu, tau oligomerizasyonunun engellenmesi, tau proteinlerinin bozunmasını arttırma ve tau proteinlerini temel alan immünoterapilerdir (A. Kumar vd., 2015).

2.5.2.1. Tau fosforilasyonunun inhibisyonu

Tau fosforilasyonunun engellenmesiyle birlikte tau proteinlerinin işlevlerini sağlıklı bir şekilde devam ettirirken nörofibriler yumakların oluşmasını engellemek amaçlanmaktadır. Özellikle küçük moleküller bu aktivite için ön plana çıkmaktadırlar (Hosseini-Gerami vd., 2023; Prince vd., 2023).

2.5.2.2. Mikrotübül stabilizasyonu

Tau-transgenik farelere mikrotübül dengeleyici pakli takselin uygulanması, hızlı aksonal taşımayı, mikrotübül yoğunluğunu ve motor fonksiyonunu iyileştirmiştir (A. Kumar vd., 2015).

2.5.2.3. *Tau oligomerizasyonunun engellenmesi*

Astemizol, lansoprazol gibi ilaçlar tau proteinlerine bağlanırken yüksek afinite göstermektedirler ve bu sayede dolaylı olarak tau-tau etkileşimlerini engellemiş olurlar (A. Kumar vd., 2015).

2.5.2.4. *Tau proteinlerinin bozunmasını artırma*

HSP 90 proteini tau proteinlerinin bozulmasını önlemektedir. Kurkumin Hsp90'ı inhibe ederek hem yeni nörefibriler yumakların oluşmasını engeller hem de halihazırda mevcut olan nörefibriler yumakların çözülmesini sağlar (A. Kumar vd., 2015).

2.5.3. Amiloid temelli tedaviler

AH üzerine yapılan araştırmalarda, sekretazların A β oluşumundaki rolüne dikkat çekilmektedir. Genel olarak süreç, β -sekretazın (BACE1), sAPP β ve APP-C99 oluşturmak için amiloid öncü proteinini (APP) parçaladığında ve ikinci bir proteazı, yani γ -sekretazı işleyen APP-C99'u içerdiğinde başlatılır. BACE1, endozomlarda ve lizozomlarda asidik bir ortam oluştuğunda ideal aktivitesini gösteren bir tip-I transmembran aspartik asit proteazdır (Mohamed vd., 2016; Ulku vd., 2023).

2.5.4. Oksidatif stresin baskılanmasını temel alan tedaviler

Antioksidan bileşikler ROS'ları inaktive etmek için ROS'lar ile reaksiyona girerler. Antioksidanlar sahip oldukları terapötik potansiyelleri nedeniyle dikkat çeken bileşiklerdir. Yapılan çalışmalar AH tedavisi üzerine olumlu etkilerinin olduğunu göstermiştir (Barnham vd., 2004).

2.6. Monoaminoksidazlar ve İnhibitörleri

MAO (EC 1.3.3.4) monoamin nörotransmitterleri ve ksenobiyotik aminlerin katabolizmasında kilit bir enzimdir (Naoi vd., 2011).

Çoğu memeli dokusunda iki MAO izoenzimi (MAO A ve MAO B) mevcuttur. Bu iki izoenzimden MAO A düşük konanstrasyonlarda klorjilin tarafından inhibe edilir ve 5-HT'nin oksidasyonunu katalizler, MAO B ise düşük konsantrasyonlarda L-deprenil (selejilin) tarafından inhibe edilir ve substrat olarak benzilamin ile 2-feniletilamini tercih eder (Youdim vd., 2006).

MAO A öncelikli olarak norepinefrini ve serotoninini oksitler, selektif olarak klorgilin tarafından inhibe edilirken, MAO B ise öncelikli olarak dopamini deamine eder ve L-deprenil tarafından geri dönüşümsüz olarak inhibe edilir. Aynı zamanda MAO B sıklıkla yapısında hidroksil grubu bulundurmeyen fenilamin, benzilamin v.b. non-polar aromatik aminleri hedef almaktadır. Her iki izoform da nöropsikiyatrik ve nörodejeneratif bozuklukların tedavisinde önemli ilaç hedeflerindendir (Chimenti vd., 2009; Naoi vd., 2011).

MAO tarafından katalize edilen reaksiyon, hidrojen peroksit üretir. Bu molekülün de bir reaktif oksijen türevi (ROS) kaynağı olma ihtimali MAO aktivitesi sonucu nörotoksik etki görülme olasılığını düşündürmektedir. Bu bağlamda, ROS ve diğer reaktif türlerin normalde katalaz ve süperoksit dismutaz gibi enzimler tarafından metabolize edildiği ve bu enzim sistemlerinin işlev bozukluğunun nörodejeneratif hastalıklarda bir faktör olabileceği düşünülmektedir. MAO inhibitörlerinin bu nedenle, oksidatif stres ile ilişkili inmeyi ve diğer doku hasarlarını yönetmede yararlı olabileceği düşünülmektedir (Finberg ve Rabey, 2016; Fişar, 2016; Youdim vd., 2006).

MAO A inhibitörleri antidepresan ve anksiyolitik olarak kullanılırken, MAO B inhibitörleri Parkinson ve Alzheimer hastaları için kullanılmaktadır. Örnek vermek gerekirse, selejilin, rasajilin gibi selektif MAO B inhibitörleri günümüzde Parkinson tedavisinde aktif olarak kullanılmaktadır. Etki ve yan etki profilleri nedeniyle yeni selektif MAO B inhibitörlerinin keşfi, başta AH ve PH olmak üzere nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için oldukça büyük önem arz etmektedir (Cacabelos, 2017; González-Reyes vd., 2017; Thomas, 2000).

2.7. Çoklu Etkiye Sahip Bileşiklerin Önemi

Yalnızca AChE, BChE veya MAO B enzimini inhibe eden bileşiklere nazaran çoklu etkiye sahip bileşikler üzerine çok sayıda çalışma yürütülmüştür. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki tek bir molekül ile birden fazla enzimin inhibe edilebilmesi bir çok avantaja sahiptir. ChE enzimleri ile MAO B enzimini aynı anda inhibe eden bileşiklerin nöroprotektif etkiye sahip olması beklenirken aynı zamanda β amiloid plak oluşumunun önlenmesi, ideal asetilkolin seviyesinin yakalanması ve buna benzer gösterdikleri etkinliklerden dolayı AH gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde yeni bileşiklerin keşfi adına oldukça önemli bir yere sahiptirler (Uddin vd., 2020; Unzeta vd., 2016; Xie vd., 2015).

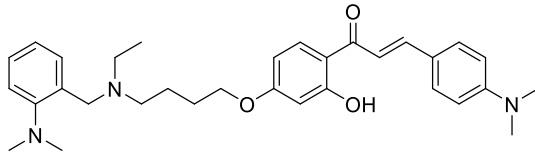
2.8. Piperazin ve Şalkon Yapılarının İncelenmesi

Piperazin 2 sekonder azot atomuna sahip, 6 üyeli diazosiklo alkan sınıfına ait bir halka yapısıdır. Piperazinin sahip olduğu düzlemsel olmayan esnek yapısı sayesinde piperazin hedef enzimlerle hidrojen bağları sayesinde etkileşebilir. Farklı endikasyon gruplarına ait birçok ilaç etkin maddesinin yapısında piperazin bulunmaktadır. Piperazin sahip olduğu hidrofobik karakteri nedeniyle dahil olduğu yapının kan-beyin bariyerini aşmasına yardımcı olabileceği için AH, Parkinson Hastalığı ve diğer nörodejeneratif hastalıkların tedavisine yönelik araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Carradori ve Silvestri, 2015; Mathew vd., 2021).

Şalkonlar bir enonlar grubuna ait olmakla birlikte yüzyılı aşkın süredir organik sentezde ayrıcalıklı bir yapı olmuştur. Kostanecki ve Tambor 1899 yılında, 1,3-difenilprop-2-en-1-onu sentezleyip rapor ederek ilk kez şalkon kavramını literatüre sokmuşlardır. Şalkonlar iki aromatik grup arasında kendi eksenleri etrafında dönebilen üçlü karbon üniteleri bulunduran α , β - doymamış ketonlardır. Yapı içerisinde bağlayıcı görevini üstlenen şalkon yapısı nöroinflamasyonun, amiloid ve tau birikiminin önlenmesini sağlamakla birlikte bir çok farklı aktiveye sahip bileşiğe temel teşkil etmektedir. Şalkonların yapılarının içerisinde bulundukları bileşiklerin MAO B aktivitelerini selektif bir şekilde arttırdıkları bilinmektedir (Carradori ve Silvestri, 2015; Mallia ve Sloop, 2023; Mathew vd., 2021; Sang vd., 2022).

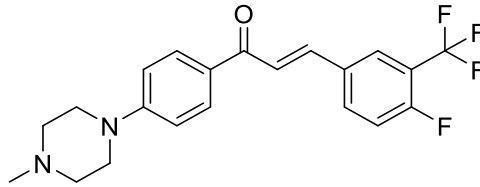
2.9. Yapısında Piperazin ve/veya Şalkon İçeren Bileşiklerin Aktivite Çalışmaları

Sang ve diğerleri (2021) tarafından yapılan bir çalışmada bir dizi yeni şalkon yapısı içeren bileşik sentezlenmiş sonrasında ise biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda sentezlenen bileşiklerden (*E*)-1-(4-(4-((2-(Dimetilamino)benzil)(ethyl)amino)bütoksi)-2-hidroksifenil)-3-(4-(dimetilamino)fenil)prop-2-en-1-on, AChE enzimine karşı $IC_{50}=0.13\mu M$ değeriyle ve MAO B enzimine karşı $IC_{50}=1.0\mu M$ değeriyle etkinlik göstererek yeni sentezlenen bileşikler arasında en aktif olan bileşik olmuştur. A β agregasyonunun inhibisyonunda da en etkili bileşik olmuştur (Şekil 2.1.).



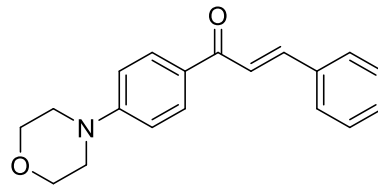
Şekil 2.1. 1-(4-(4-((2-(Dimetilamino)benzil)(ethyl)amino)bütoksi)-2-hidroksifenil)-3-(4-(dimetilamino)fenil)prop-2-en-1-on

El-Damasy ve diğerleri (2023) tarafından yapılan bir çalışmada piperazin halkası ve şalkon yapısı içeren yeni bileşikler sentezlenmiştir. Çalışmalar sonucunda elde edilen bileşiklerin aktiviteleri incelendiğinde en aktif bileşik olan (E)-3-(4-floro-3-(triflorometil)fenil)-1-(4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)prop-2-en-1-on, $IC_{50} = 8.10 \pm 0.69$ μM değeriyle AChE enzimine karşı ve $IC_{50} = 0.71 \pm 0.03$ μM değeriyle MAO B enzimi üzerinde etkinlik göstermiştir (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. 3-(4-Floro-3-(triflorometil)fenil)-1-(4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)prop-2-en-1-on

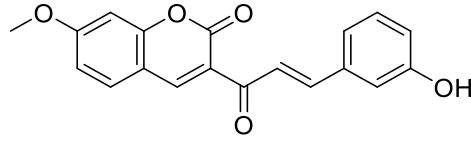
Sasidharan ve diğerleri (2021) tarafından en aktifi 1-[4-(morfolin-4-il)fenil]-3-fenilprop-2-en-1-on olmak üzere bir dizi yeni şalkon türevi sentezlenmiş ve aktiviteleri incelenmiştir. İlgili bileşik $IC_{50} = 16.1 \pm 2.24$ μM değeriyle AChE enzimine karşı ve $IC_{50} = 0.030 \pm 0.062$ μM değeriyle MAO B enzimi üzerinde etkinlik göstermiştir (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. 1-[4-(Morfolin-4-il)fenil]-3-fenilprop-2-en-1-on

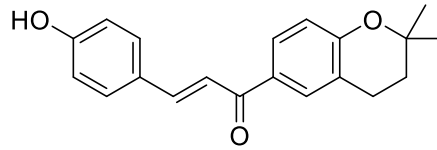
Moya-Alvarado ve diğerleri (2021) tarafından yeni şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sıçan MAO enzimlerine karşı etkinlikleri incelenen bileşikler sıçan MAO B enzimine seçicilik göstermişlerdir. Bileşiklerden (E)-3-(3-(3-

hidroksifenil)akriloil)-7-metoksi-2H-kromen-2-on, $IC_{50}=0.76\pm0.08$ μ M değeriyle MAO B enzimi üzerinde etkinlik göstermiştir (Şekil 2.4.).



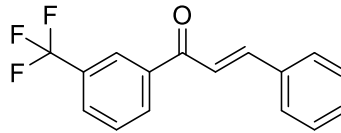
Şekil 2.4. 3-(3-(3-Hidroksifenil)akriloil)-7-metoksi-2H-kromen-2-on

Mellado ve diğerleri (2021) tarafından yeni şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin MAO A ve MAO B enzimlerine karşı etkinlikleri incelenmiştir. Bu bileşiklerden (*E*)-3-(4-Hidroksifenil)-1-(2,2-dimetilkroman-6-il)prop-2-en-1-on, MAO A enzimine karşı etkinlik göstermezken, $IC_{50}=0.17\pm0.001$ μ M değeriyle MAO B enzimi üzerinde etkinlik göstermiştir (Şekil 2.5.).



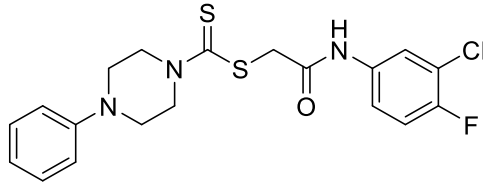
Şekil 2.5. 3-(4-Hidroksifenil)-1-(2,2-dimetilkroman-6-il)prop-2-en-1-on

Iacovino vd. (2021) tarafından yeni şalkon yapısı içeren bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin MAO A ve MAO B enzimlerine karşı etkinlikleri incelenmiştir. Bu bileşiklerden (*E*)-3-Fenil-1-(3-(triflorometil)fenil)prop-2-en-1-on, MAO A enzimine karşı $K_i=(4.6\pm0.5)\times10^3$ nM değeriyle, $K_i=5.0\pm0.5$ nM değeriyle MAO B enzimi üzerinde etkinlik göstermiştir (Şekil 2.6.).



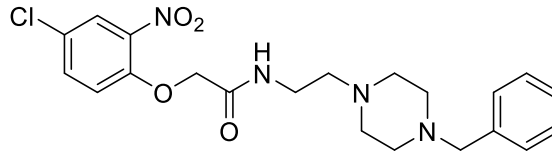
Şekil 2.6. 3-Fenil-1-(3-(triflorometil)fenil)prop-2-en-1-on

Mohammadi-Khanaposhtani vd. (2022) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri incelenmiştir. İlgili bileşikler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda 2-[(3-Kloro-4-florofenil)amino]-2-oksoetil-4-fenilpiperazin-1-karboditiyoat, AChE enzimine karşı $K_i=10.63\pm1.73$ nM değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.7.).



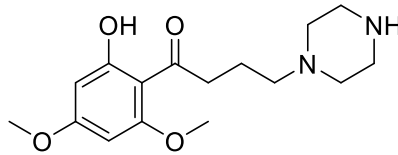
Şekil 2.7. 2-[(3-Kloro-4-florofenil)amino]-2-oksoetil-4-fenilpiperazin-1-karboditiyoat

Brunetti ve diğerleri (2022) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden *N*-(2-(4-Benzilpiperazin-1-il)etil)-2-(4-kloro-2-nitrofenoksi)asetamit, AChE enzimine karşı $IC_{50}=0.0008 \pm 0.0002 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.8.).



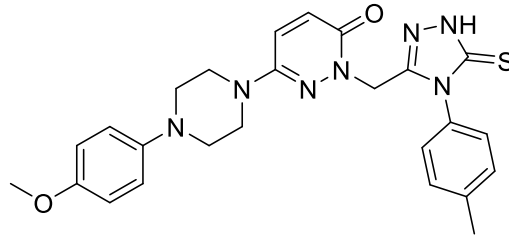
Şekil 2.8. *N*-(2-(4-Benzilpiperazin-1-il)etil)-2-(4-kloro-2-nitrofenoksi)asetamit

Kaur ve Bansal (2022) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 1-(2'-Hidroksi-4',6'-dimetoksifenil)-4-(piperazin-1-il)bütan-1-on, AChE enzimine karşı $IC_{50}=0.73 \pm 0.04 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.9.).



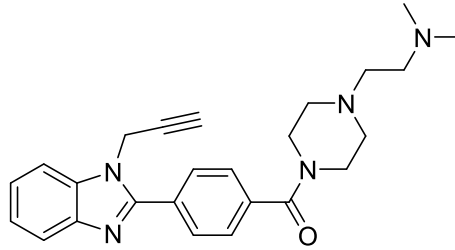
Şekil 2.9. 1-(2'-Hidroksi-4',6'-dimetoksifenil)-4-(piperazin-1-il)bütan-1-on

Merde ve diğerleri (2022) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 6-(4-(4-Metoksifenil)piperazin-1-il)-2-((5-tiyokso-4-(*p*-tolil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-3-il)metil)piridazin-3-on, AChE enzimine karşı $K_i=3.73 \pm 0.9 \text{ nM}$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.10.).



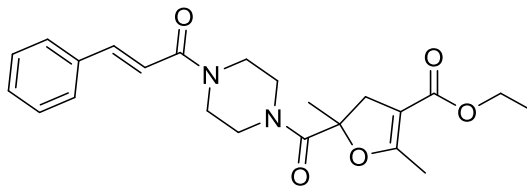
Şekil 2.10. 6-(4-(4-Metoksifenil)piperazin-1-il)-2-((5-tiyokso-4-(p-tolil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-3-il)metil)piridazin-3(2H)-on

Osmaniye ve diğerleri (2022) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden (4-(2-(Dimetilamino)etil)piperazinil)(4(1(prop2in1il)-1H-benzo[d]imidazol2il)fenil)metanon, AChE enzimine karşı $K_i=0.0019 \mu\text{M}$ değeriyle, MAO B enzimine karşı $K_i=0.034 \mu\text{M}$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.11.).



Şekil 2.11. (4-(2-(Dimetilamino)etil)piperazinil)(4(1(prop2in1il)-1H-benzo[d]imidazol2il)fenil)metanon

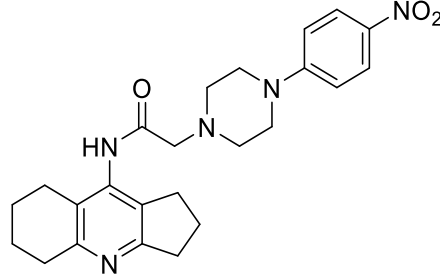
Sarı ve Yılmaz (2021) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 1-(2'-Hidroksi-4',6'-dimetoksifenil)-4-(piperazin-1-il)bütan-1-on, AChE enzimine karşı $\text{IC}_{50}=1.17 \pm 0.7 \mu\text{M}$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.12.).



Şekil 2.12. 1-(2'-Hidroksi-4',6'-dimetoksifenil)-4-(piperazin-1-il)bütan-1-on

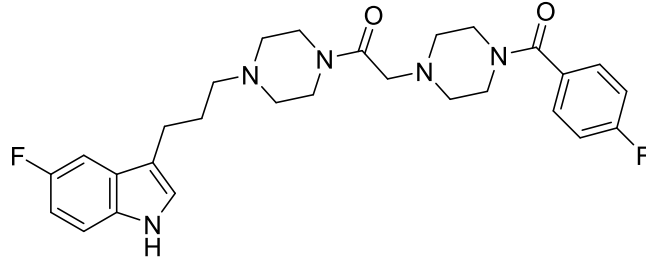
Makhaeva ve diğerleri (2021) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik

sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden *N*-(2,3,5,6,7,8-Hegzahidro-1*H*-siklopenta[*b*]kinolin-9-il)-2-[4-(4-nitro-fenil)piperazin-1-il]-asetamid, AChE enzimine karşı $IC_{50} = 1.83 \pm 0.03 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.13.).



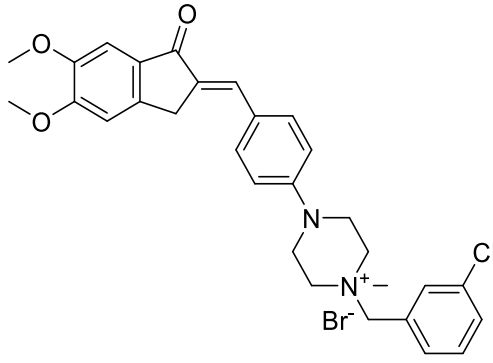
Şekil 2.13. *N*-(2,3,5,6,7,8-Hegzahidro-1*H*-siklopenta[*b*]kinolin-9-il)-2-[4-(4-nitro-fenil)-piperazin-1-il]-asetamid

Rodríguez-Lavado ve diğerleri (2020) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 1-(4-(3-(5-Floro-1*H*-indol-3-il)propil)piperazin-1-il)-2-(4-(4-florobenzoil)piperazin-1-il)etan-1-on, AChE enzimine karşı $IC_{50} = 3.4 \pm 0.4 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.14.).



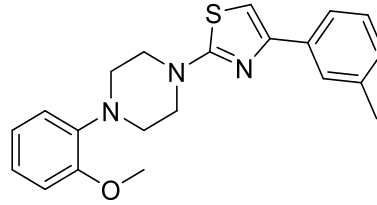
Şekil 2.14. 1-(4-(3-(5-Floro-1*H*-indol-3-il)propil)piperazin-1-il)-2-(4-(4-florobenzoil)piperazin-1-il)etan-1-on

Mozaffarnia ve diğerleri (2020) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 2,3-Dihidro-5,6-dimetoksi-2-[4-(4-(3-klorobenzil)-4-metilpiperazinyum-1-il)benzilidin]-1*H*-inden-1-on bromür, AChE enzimine karşı $IC_{50} = 0.32 \pm 0.011 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.15.).



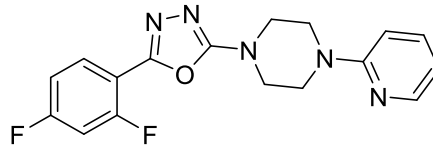
Şekil 2.15. 2,3-Dihidro-5,6-dimetoksi-2-[4-(4-(3-klorobenzil)-4-metilpiperazinyum-1-il)benzilidin]-1H-inden-1-on bromür

Şahin ve diğerleri (2021) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 4-(3-Metilfenil)-2-(4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il)tiyazol, AChE enzimine karşı $IC_{50} = 1.15 \pm 0.14 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.16.).



Şekil 2.16. 4-(3-Metilfenil)-2-(4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il)tiyazol

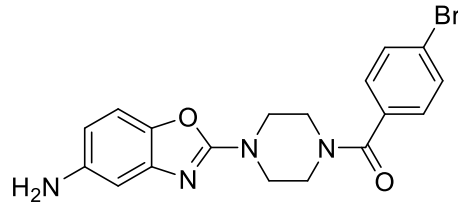
Tripathi ve diğerleri (2019) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 2-(2,4-Diflorofenil)-5-(4-(piridin-2-il)piperazin-1-il)-1,3,4-oksadiazol, AChE enzimine karşı $IC_{50} = 0.054 \pm 0.002 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.17.).



Şekil 2.17. 2-(2,4-Diflorofenil)-5-(4-(piridin-2-il)piperazin-1-il)-1,3,4-oksadiazol

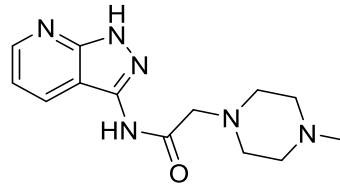
Gutti ve diğerleri (2019) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 4-(5-Aminobenzo[d]oksazol-2-il)piperazin-1-il)(4-bromofenil)metanon, AChE enzimine

karşı $IC_{50} = 0.052 \pm 0.010 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.18.).



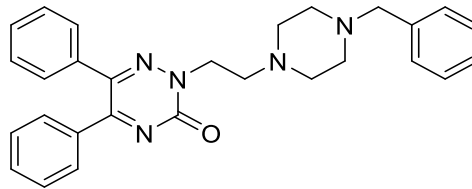
Şekil 2.18. (4-(5-Aminobenzo[d]oksazol-2-il)piperazin-1-il)(4-bromofenil)metanon

Umar ve diğerleri (2019) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 2-(4-Metilpiperazin-1-il)-N-(1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il)asetamid, AChE enzimine karşı $IC_{50} = 0.0048 \pm 0.001 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.19.).



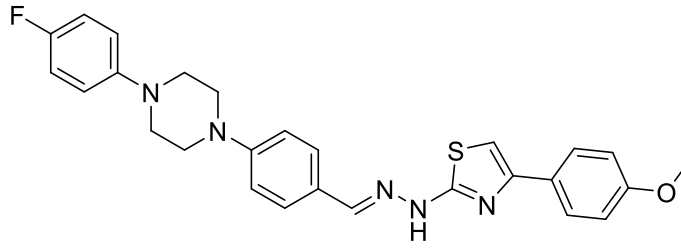
Şekil 2.19. 2-(4-Metilpiperazin-1-il)-N-(1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il)asetamid

Tripathi ve diğerleri (2019) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 5,6-Difenil-3-okso-2-(2-(4-benzilpiperazin-1-il)etil)-1,2,4-triazin, AChE enzimi üzerinde $IC_{50} = 0.2 \pm 0.01 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.20.).



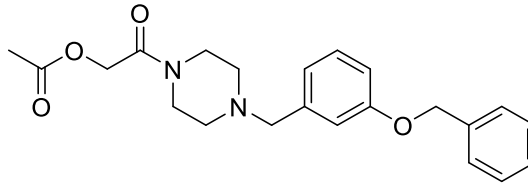
Şekil 2.20. 5,6-Difenil-3-okso-2-(2-(4-benzilpiperazin-1-il)etil)-1,2,4-triazin

Osmaniye ve diğerleri (2019) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 2-(2-(4-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazinil)-4-(4-metoksifenil)tiyazol, AChE enzimine karşı $IC_{50} = 0.0317 \pm 0.001 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.21.).



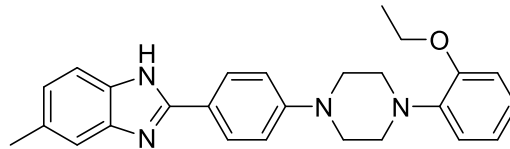
Şekil 2.21. 2-(2-(4-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazineil)-4-(4-metoksifenil)tiyazol

Knez ve diğerleri (2022) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 2-(4-(3-(Benziloksi)benzil)piperazin-1-il)-2-oksoetil asetat, MAO B enzimine karşı $IC_{50} = 19.25 \pm 4.89 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.22.).



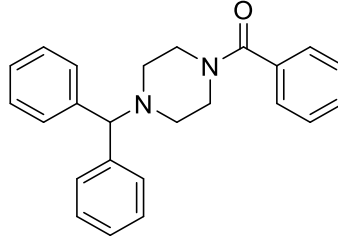
Şekil 2.22. 2-(4-(3-(Benziloksi)benzil)piperazin-1-il)-2-oksoetil asetat

El-Halaby ve diğerleri (2021) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 2-(4-(4-(2-Etoksifenil)piperazin-1-il]fenil}-5-metil-1H-benzo[d]imidazol, MAO B enzimine karşı $IC_{50} = 0.053 \pm 0.002 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.23.).



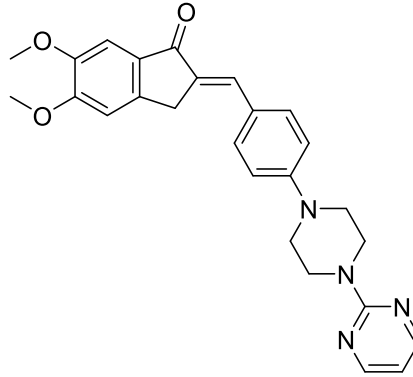
Şekil 2.23. 2-(4-(4-(2-Etoksifenil)piperazin-1-il]fenil}-5-metil-1H-benzo[d]imidazol

Kumar ve diğerleri (2018) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda bileşiklerden (4-Benzhidrilpiperazin-1-il)(fenil)metanon, MAO B enzimine karşı $IC_{50} = 0.08 - 0.003 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.24.).



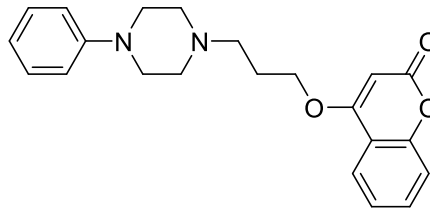
Şekil 2.24. (4-Benzhidrilpiperazin-1-il)(fenil)metanon

Mishra ve diğerleri (2022) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden (*E*)-5,6-Dimetoksi-2-(4-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)benziliden)-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on, AChE enzimine karşı $IC_{50} = 0.025 \pm 0.001 \mu M$ değeriyle etkinlik gösterirken BChE enzimine karşı ise $IC_{50} = 2.434 \pm 0.03 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.25.).



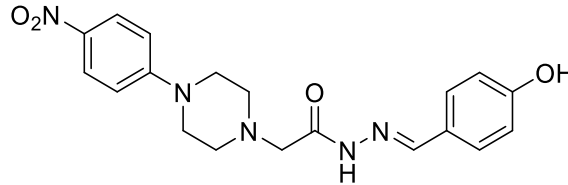
Şekil 2.25. (*E*)-5,6-Dimetoksi-2-(4-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)benziliden)-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on

Singla ve diğerleri (2016) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 4-[3-(4-Fenilpiperazin-1-il)propoksi]-2*H*-kromen-2-on, AChE enzimine karşı $IC_{50} = 2.42 \pm 0.042 \mu M$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.26.).



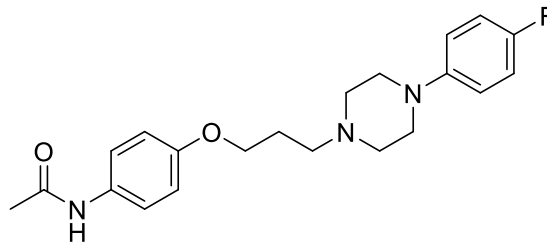
Şekil 2.26. 4-[3-(4-Fenilpiperazin-1-il)propoksi]-2*H*-kromen-2-on

Kaya ve diğeri (2016) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden *N'*-(4-Hidroksibenziliden)-2-(4-(4-nitrofenil)piperazin-1-il)asetohidrazid, AChE enzimine karşı $IC_{50} = 29.5 \pm 2.12$ mg/mL değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.27.).



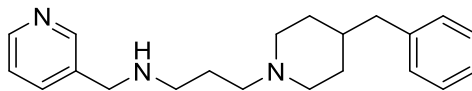
Şekil 2.27. *N'*-(4-Hidroksibenziliden)-2-(4-(4-nitrofenil)piperazin-1-il)asetohidrazid

Piplani ve diğeri (2015) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden *N*-(4-(3-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il)propoksi)fenil)asetamid, AChE enzimine karşı $IC_{50} = 0.49 \pm 0.84$ μ M değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.28.).



Şekil 2.28. *N*-(4-(3-(4-(4-Florofenil)piperazin-1-il)propoksi)fenil)asetamid

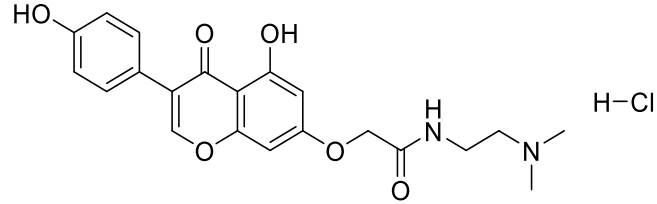
Meena ve diğeri (2015) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 3-(4-Benzilpiperidin-1-il)-*N*-(piridin-3-ilmetil)propan-1-amin, MAO B enzimine karşı $IC_{50} = 2.13 \pm 1.45$ nM değeriyle etkinlik gösterirken BChE enzimine karşı $IC_{50} = 81.70 \pm 3.37$ nM değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.29.).



Şekil 2.29. 3-(4-Benzilpiperidin-1-il)-*N*-(piridin-3-ilmetil)propan-1-amin

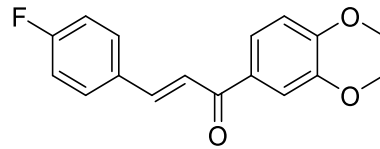
Zhang ve diğeri (2015) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden *N*-

(2-(Dimetilamino)etil)-2-(5-hidroksi-3-(4-hidroksifenil)-4-okso-4H-kromen-7-iloksi)asetamid hidroklorür, MAO B enzimine karşı $IC_{50} = 2.75 \pm 0.28 \mu\text{mol/L}$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.30.).



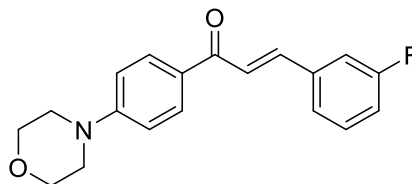
Şekil 2.30. *N-(2-(Dimetilamino)etil)-2-(5-hidroksi-3-(4-hidroksifenil)-4-okso-4H-kromen-7-iloksi)asetamid hidroklorür*

Parambi ve diğerleri (2019) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 1-(2,3-Dihidro-1,4-benzodioxin-6-il)-3-(4-florofenil)prop-2-en-1-on, MAO B enzimine karşı $IC_{50} = 0.0021 \pm 0.00012 \mu\text{M}$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.31.).



Şekil 2.31. *1-(2,3-Dihidro-1,4-benzodioxin-6-il)-3-(4-florofenil)prop-2-en-1-on*

Mathew ve diğerleri (2019) tarafından bir dizi piperazin halkası içeren bileşik sentezlenmiş ve aktiviteleri inlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerden 3-(3-Florofenil)-1-[4-(morfolin-4-il)-fenil]prop-2-en-1-on, MAO B enzimine karşı $IC_{50} = 0.087 \pm 0.008 \mu\text{M}$ değeriyle etkinlik göstermiştir (Şekil 2.32.).



Şekil 2.32. *3-(3-Florofenil)-1-[4-(morfolin-4-il)-fenil]prop-2-en-1-on*

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

Tablo 3.1. *Tez çalışmasında kullanılan maddeler*

Bileşik	Firma, Ülke
4-Asetamidobenzaldehit	Acros, Belçika
3', 4'-Dimetoksiasetofenon	Alfa Aesar, USA
Potasyum hidroksit	Sigma, Almanya
Metanol	Merck, Almanya
Hidroklorik asit	Merck, Almanya
Etanol	Tekim, Türkiye
Kloroasetil klorür	Merck, Almanya
Trietilamin	Merck, Almanya
Tetrahidrofuran	Merck, Almanya
1-Metilpiperazin	Merck, Almanya
1-Etilpiperazin	Merck, Almanya
1-İzopropilpiperazin	Acros, Belçika
1-Allilpiperazin	Alfa Aesar, USA
1-(Prop-2-in-1-il)piperazin	Alfa Aesar, USA
1-(2-Metoksietil)piperazin	Merck, Almanya
3-(1-Piperazinil)-propanol	Merck, Almanya
1-[2-(Dimetilamino)etil]-piperazin	Fluka, Almanya
1-[3-(Dimetilamino)propil]-piperazin	Fluka, Almanya
1-(Metilsülfonil)piperazin	TCI, Japonya
1-(Etansülfonil)piperazin	Sigma-Aldrich, Almanya
1-Siklopentilpiperazin	TCI, Japonya
Aseton	Sigma-Aldrich, Almanya
Potasyum karbonat	Merck, Almanya
Petrol eteri	Merck, Almanya
Etil asetat	Sigma-Aldrich, Almanya
İTK plağı (Silikajel 60 F254 kaplı alüminyum)	Merck, Almanya

DMSO- <i>d</i> ₆	Merck, 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)	Sigma, Almanya
Sodyum bikarbonat	Sigma, Almanya
Potasyum dihidrojen fosfat : Sigma, Almanya	Sigma, Almanya
Dimetilsülfoksit	Sigma, Almanya
Donepezil	Sigma, Almanya
Takrin	Sigma, Almanya
Monoamine Oxidase-A human	Sigma, Almanya
Monoamine Oxidase-B human	Sigma, Almanya
Horseradish Peroksidaz	Sigma, Almanya
Ampliflu TM Red	Sigma, Almanya
Moklobemid	Sigma, Almanya
Selejilin	Sigma, Almanya

3.2. Kullanılan Cihazlar

Tablo 3.2. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

Cihaz	Firma/Model, Ülke
Elektronik terazi	Shimadzu, Libror EB-330 HU, Japonya
Manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı	Heidolph, MR 3003, Almanya
Ultraviyole lambası	Camag, Cabinet, İsviçre
Erime derecesi tayin cihazı	Mettler Toledo-MP90 Melting Point System
Infrared spektrofotometresi	Shimadzu-IR Affinity-1S, Japonya
Nükleer manyetik rezonans	Bruker, UltraShield 300 MHz, ABD

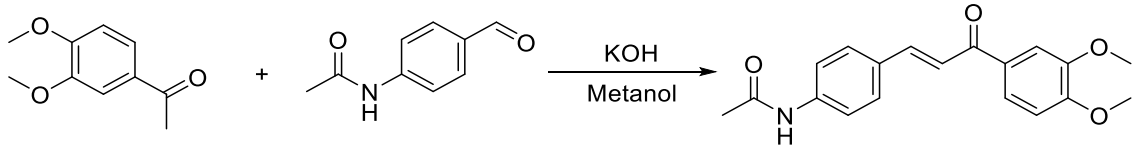
spektrometresi	
Kütle spektrometresi	Shimadzu, LCMS-IT-TOF, Japonya
Vortex	Wisemix, Kore
Steril Kabin	Class II TypeA2 (CHC-222A2-60), Kore
İnkübatör	Heraeus, Almanya
Robotik pipetleme tablası	BioTek-Precision XS ABD
Mikroplate okuyucu	BioTek-Synergy H1 ABD

4. YÖNTEMLER

4.1. Sentez Çalışmaları

4.1.1. *N*-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (A) (Yöntem A)

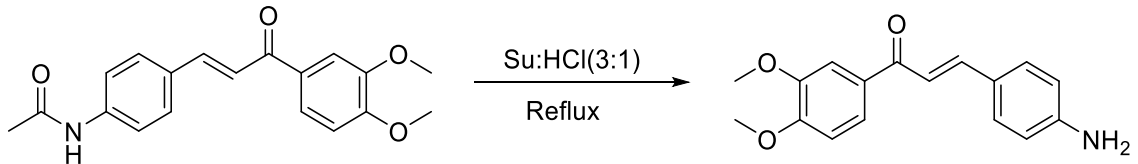
Metanol içerisinde potasyum hidroksit (100 mmol, 5.6 g) çözölmüştür. Çözeltiye önce 3,4-dimetoksiasetofenon (100 mmol, 18.0 g) ardından 4-asetamidobenzaldehit (100 mmol, 16,3 g) eklenerek oda ısısında karışmaya bırakılmıştır. 48 saatlik karıştırma işleminin sonrasında renkli çökelek oluşmuştur ve bu çökelek süzölerek reaksiyon ortamından alınmıştır. Elde edilen ürün ilk olarak kurutulmuştur. Daha sonra etanolden kristallendirilmiştir (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. *N*-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (A) sentezi için reaksiyon denklemi

4.1.2. 3-(4-Aminofenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on (B) (Yöntem B)

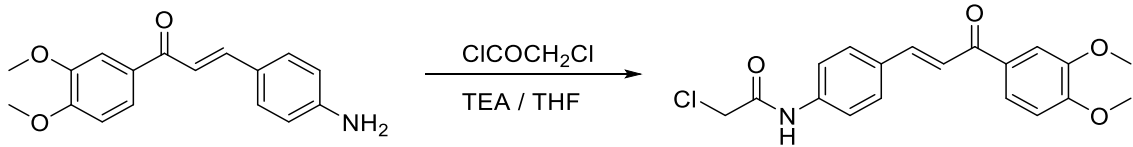
Su (60 mL) ve HCl (20 mL) karışımı içerisinde *N*-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (A) (70mmol, 22.75 g) çözöndürölmüştür. Ardından deney balonu geri çeviren soğutucu altında 12 saat boyunca kaynatılmıştır. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından deney ortamına buzlu su eklenmiş ve amonyak ile nötralize edilmiştir. Çöken madde ilk olarak süzölerek alınmış, su ile yıkanmış, kurutulmuştur. Bu işlemlerin ardından etanol yardımı ile kristallendirme işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. 3-(4-Aminofenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on (B) sentezi için reaksiyon denklemi

4.1.3. 2-Kloro-*N*-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (C) (Yöntem C)

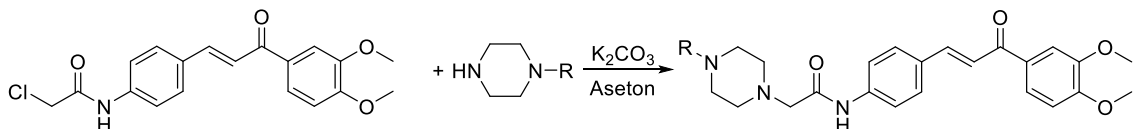
Bir balonda 3-(4-Aminofenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on (**B**) (33 mmol, 9.34 g), THF (30 mL) içerisinde çözölmüştür. Daha sonra üzerine TEA (33 mmol, 4.63 mL) ilavesi gerçekleştirilmiş ve balon manyetik karıştırıcı üzerinde hazır bulunan buz banyosu içerisinde alınmıştır. Bu işlemin ardından bir damlatma hunisine THF (10 mL) içerisinde çözölmüş kloroasetil klorür (33 mmol, 2.63 mL) koyulmuştur. Bu işlemin ardından karışmakta olan 3-(4-Aminofenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on (**B**) çözeltisinin üzerine kloroasetil klorür çözeltisi damlatılmak suretiyle eklenmeye başlanmıştır. Damlatma işleminin tamamlanmasının ardından deney balonu 1 saat boyunca karıştırılmaya devam edilmiştir. Damlatma işlemi ile birlikte kloroasetil klorür ilavesinin sonlanması ardından 1 saat boyunca karıştırma işlemine devam edilmiştir. Reaksiyonun bittiği İTK ile teyit edildikten sonra THF ortamdan uzaklaştırılmış ve bakiye su ile yıkandıktan sonra süzölmüştür. Yıkama işleminin ardından kurutulan ham ürün daha sonra etanolden kristallendirilmiştir (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. 2-kloro-*N*-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (**C**) sentezi için reaksiyon denklemi

4.1.4. Hedef bileşiklerin sentezi (4a-4n) (Yöntem D)

2-Kloro-*N*-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (**C**) (1 mmol, 0,36 g) ve K₂CO₃ (1mmol, 0.138 g) bir balona alınmış ve aseton (30 mL) içerisinde çözölmüş ve çözeltinin içerisinde uygun piperazin türevi (1mmol) ilave edilmiştir. Bu işlemin ardından reaksiyon karışımı 12 saat boyunca geri çeviren soğutucu altında, manyetik ısıtıcı karıştırıcı üzerinde 40°C’de karıştırılmıştır. Reaksiyonun tamamlandığı İTK ile teyit edildikten sonra karışım ağzı açık bir kaba aktarılmış ve çeker ocak içerisinde aseton ortamdan uzaklaştırılmıştır. Daha sonra kalan bakiye su ile yıkanmış ve süzölmüştür. Kurutulan ham ürün etanolden kristallendirilmiştir (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. Hedef sonuç bileşiklerin sentezi için reaksiyon denklemi

4.2. İTK Çalışmaları ve Rf Değerlerinin Saptanması

Bahsi geçen tüm sentez çalışmalarında ilgili reaksiyonların tamamlanıp tamamlanmadığının kontrolü İTK uygulamaları ile yapılmıştır. Reaksiyon başladıktan bir süre sonra belirli aralıklar ile reaksiyon ortamından numune alınmıştır. Daha sonra reaksiyonun başlangıç maddeleri ve reaksiyon ortamından alınan numuneler etanolde çözülmüş vaziyette iken sabit faz olan silikajel 60 F254 kaplı alüminyum plakalara kılcal borular yardımı ile uygulanmıştır. Bu işlemin ardından plakalar hareketli faz tanklarına alınmış ve burada gerek başlangıç maddelerinin gerekse ürünlerin silikajel üzerinde sürüklenmesi sağlanmıştır. Plaklar üzerindeki lekelerin tayininde, 254 nm ve 366 nm dalga boylarındaki ultraviyole ışıklardan faydalanılmıştır. İTK sonucu doğrultusunda reaksiyonun tamamlandığına karar verilirse reaksiyona son verilmiş, henüz reaksiyonun tamamlanmadığına karar verildiyse reaksiyon devam edilmiştir. İTK uygulamalarında kullanılacak olan hareketli fazların seçimi, farklı çözücülerin karışımlarından meydana gelen çözücü sistemlerinin denenmesiyle gerçekleştirilmiştir. Bu denemeler sonucunda petrol eteri:etil asetat (3:1) çözücü sistemi yöntem A, B ve C ile yürütülen reaksiyonların kontrolü için, petrol eteri : etil asetat (1:1) çözücü sistemi ise yöntem D’de yer alan reaksiyonun kontrolü için ideal hareketli fazlar olduğu uygun görülmüştür.

4.3. Erime Noktalarının Tespiti

Tez çalışmaları dahilinde sentezlenen bileşiklere ait erime noktaları (E.N) tayin edilirken “Mettler Toledo MP90 Melting Point System” adlı cihaz kullanılmıştır. Uçlarından yalnızca bir açık olan kapiler borulara yarım santimetrelik seviyelere ulaşıncaya değin sentezlenen maddeler doldurulmuş, ardından bu kapiler borular cihazın ilgili haznelere yerleştirilmiş ve işlemler başlatılmıştır. Daha sonra işlemler bittğinde cihazdan alınan videolar izlenmiş ve erime noktaları kaydedilmiştir.

4.4. IR Spektrumlarının Eldesi

“Shimadzu-IR Affinity-1S” cihazı ile sentezlenen bileşiklere ait IR spektrumları elde edilmiştir. IR spektrofotometresinin ATR bölümüne sentezlenen maddelerin tatbik edilmesiyle spektrumlar elde edilmiştir.

4.5. ¹H-NMR Spektrumlarının Eldesi

¹H-NMR spektrumlarının eldesinde Bruker 300 MHz’lik NMR cihazı

kullanılmıştır. Elde edilen bileşikler DMSO- d_6 içerisinde çözüldükten sonra tetrametilsilan (TMS) referans bileşiği ile ilgili spektrometreye uygulanmışlardır.

4.6. ^{13}C -NMR Spektrumlarının Eldesi

^{13}C -NMR spektrumlarının eldesinde Bruker 300 MHz'lik NMR cihazı kullanılmıştır. Elde edilen bileşikler DMSO- d_6 içerisinde çözüldükten sonra tetrametilsilan (TMS) referans bileşiği ile ilgili spektrometreye uygulanmışlardır.

4.7. Kütle Spektrumlarının Eldesi

Tez dahilinde sentezlenen bileşiklere ait kütle spektrumlarının eldesinde, ilk olarak sentezlenen bileşikler asetonitril içerisinde çözülmüşlerdir. Daha sonra bu çözeltiler "LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto, Japonya)" cihazına enjeksiyon yoluyla tatbik edilmiş ve elektron sprey iyonizasyon (ESI) iyonlaştırma tekniğinden faydalanılarak negatif ve pozitif modda spektrumlar alınmıştır.

4.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Tez dahilinde sentezlenen bileşiklerin MAO ve ChE inhibisyon potansiyelleri araştırılmıştır. Biyolojik aktivite çalışmalarının her basamağında kullanılacak distile sular, Milipor/Milli-Q Synthesis A10 adlı saflaştırma cihazından temin edilmiştir. Biyolojik aktive çalışmaları için gerekli olan tüm çözeltilerin yeni hazırlanmış olmasına ve 1 hafta içerisinde tüketilmesine dikkat edilmiştir. İlgili çalışmalar için hazırlanan çözeltilerin taksim edilmesi, 96 kuyucuklu plakalara test edilecek bileşiklerin, enzim-substrat çözeltilerinin tatbiki işlemlerinde "BioTek-Precision Power (Amerika Birleşik Devletleri)" robotik pipetleme sistemi kullanılmıştır.

BioTek-Synergy H1 Microplate Reader (Amerika Birleşik Devletleri) cihazı enzim protokolünün oluşturulmasında, takibinde ve spektrofotometrik ölçümlerin yapılmasında kullanılmıştır. %2 oranında hazırlanmış dimetilsülfoksit (DMSO) çözeltisi ile bileşiklerin 10^{-3} M ve 10^{-4} M olmak üzere iki farklı konsantrasyonda çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltiler biyolojik aktive çalışmalarında kullanılmıştır. Aktivite değerlerinin tespiti hususunda her bileşik için %0 ile %100 arasında değerler belirlenmiştir.

4.8.1. Antikolinesteraz enzim aktivite çalışmaları

Modifiye Ellman metodu ile tez dahilinde elde edilen bileşiklerin AChE ve BChE enzimlerine karşı göstermiş oldukları inhibitör aktiviteleri incelenmiştir (Acar Cevik vd., 2019; Demir Özkay vd., 2016, 2017; Ellman vd., 1961; Hussein vd., 2018; Levent vd.,

2017; Osmaniye vd., 2019; Sağlık vd., 2014, 2016, 2022; Tok vd., 2019).

4.8.1.1. AChE ve BChE enzim çözeltilerinin hazır hale getirilmesi

İlk olarak %1'lik jelatin çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra bu çözelti liyofilize halde bulunan AChE / BChE enzimlerini çözmek amacıyla kullanılmıştır. Jelatin çözeltisi içerisinde 500U/mL konsantrasyonda AChE / BChE enzimi olacak şekilde yeni bir enzim çözeltisi hazırlanmıştır. Bu işlemin ardından hazırlanmış olan enzim çözeltisinden 1mL alınmış ve 100 mL'lik bir balon jojeye aktarılmıştır. Daha sonra balon jojeye su ilavesi ile hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır. Bu işlemlerin sonucunda 5 U/mL konsantrasyon değerine sahip stok enzim çözeltisi elde edilmiştir. Yeni hazırlanan stok enzim çözeltisi, her biri 0.7 mL olacak şekilde taksim edilmiş ve -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Aktivite çalışmalarından önce stok enzim çözeltileri oda ısısına getirilmiş ardından konsantrasyonların metoda uygun olması adına her bir çözelti 1.4 mL'ye su ile tamamlanmıştır. Elde edilen 2,5 U/mL'lik enzim çözeltileri enzim aktivite çalışmalarında kullanılmıştır.

4.8.1.2. Asetiltiyokolin iyodür (ATC) çözeltisinin hazır hale getirilmesi (0.075 M)

İlk olarak ATC (0.217 g) tartımı gerçekleştirilmiş ardından bir miktar suda çözülmüştür. Çözme işleminin tamamlanmasından sonra 10 mL'ye su ile tamamlanmıştır. Daha sonra hazırlanan çözelti, kullanılmadan evvel 0.4 mL'lik porsiyonlar halinde -20 °C 'de saklanmıştır.

4.8.1.3. Bütiltiyokolin iyodür (BTC) çözeltisinin hazır hale getirilmesi (0.075 M)

İlk olarak BTC (0.237 g) tartımı gerçekleştirilmiş ardından bir miktar suda çözülmüştür. Çözme işleminin tamamlanmasından sonra 10 mL'ye su ile tamamlanmıştır. Daha sonra hazırlanan çözelti, kullanılmadan evvel 0.4 mL'lik porsiyonlar halinde -20 °C'de saklanmıştır.

4.8.1.4. 5-5-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) solüsyonunun hazır hale getirilmesi (0.01 M)

İlk olarak DTNB (0.396 g) tartımı gerçekleştirilmiş ardından bir miktar suda çözülmüştür. Çözme işleminin tamamlanmasından sonra bu çözeltiye NaHCO₃ (0.15 g) ilave edilmiş ve hacim 100 mL'ye su ile tamamlanmıştır. Daha sonra hazırlanan çözelti, kullanılmadan evvel 3 mL'lik porsiyonlar halinde -20 °C'de saklanmıştır.

4.8.1.5. Fosfat tamponunun hazır hale getirilmesi (pH=8.0)

Potasyum dihidrojen fosfat (13.61 g) tartım işleminin tamamlanmasıyla birlikte 1

L su içerisinde çözülmüştür. Ardından pH metre yardımı ile bu çözeltinin pH'sı 0.1 N NaOH çözeltisi ile kontrollü biçimde 8.0±0.1'e ayarlanmıştır. Daha sonra hazırlanan ayarlı tampon çözelti tek kullanımlık ve 0.22 µm por çapı olan filtrelerden süzölmüş ve aktivite çalışmalarında kullanılabilecek tampon çözelti elde edilmiştir. Hazırlanan çözelti, kullanılmadan evvel 4°C'de saklanmıştır.

4.8.1.6. AChE ve BChE inhibisyon çalışması

Kolorimetrik Ellman metodunun modifiye edilerek elde edilen bileşiklerin enzim inhibisyonları incelenerek antikolinesteraz enzim aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Acar Cevik vd., 2019; Demir Özkay vd., 2016, 2017; Ellman vd., 1961; Hussein vd., 2018; Levent vd., 2017; Osmaniye vd., 2019b; Sağlık vd., 2014, 2016, 2022; Tok vd., 2019). İnhibisyon çalışmalarını başlatmadan önce ilk olarak tüm çözeltiler 20-25 °C'ye getirilmiştir. Çalışmalar esnasında 96 adet kuyucuğa sahip plaklar kullanılmıştır. Her bir hücreye eklenecek çözeltiler sonucunda her hücrede 210 µL hacme ulaşılmıştır. Bu 210 µL'lik hacme iki farklı test çözeltisiyle ulaşılmıştır. Bunlardan ilki olan birinci test çözeltisi her kuyucuk için, 20 µL enzim çözeltisi, 20 µL DTNB çözeltisi ve 70 µL fosfat tamponu içermektedir. İkinci test çözeltisi ise her kuyucuk için 10 µL ATC/BTC ve 70 µL fosfat tamponu içermektedir. Enzim inhibitörlerinin de ilavesiyle birlikte her kuyucukta 10 µL ATC/BTC, 20 µL enzim çözeltisi, 20 µL inhibitör çözelti, 20 µL DTNB çözeltisi, 140 µL fosfat tamponu olmak üzere her bir kuyucukta 210 µL hacim elde edilmiştir.

İlk olarak 110 µL birinci test çözeltisinden ve değişik konsantrasyonlarda 20 µL inhibitör bileşiklerin çözeltilerinden Biotek Precision XS (Amerika Birleşik Devletleri) robotik sistemi yardımı ile 96 kuyucuklu plakalara ilave edilmiştir. İnhibitör bileşikler her bir konsantrasyon için 4 tekrarlı olacak şekilde plaklara uygulanmıştır. Hazırlanan plakalar, BioTek-Synergy H1 (Amerika Birleşik Devletleri) adlı mikrolaka okuyucusuna koyularak ilk adımda 5 dakikalık bir karıştırma işleminin sonrasında 15 dakikalık bir inkübasyon süreci 25 °C'de gerçekleştirilmiştir.

15 dakikanın sonunda inkübasyon tamamlanmış ve mikrolaka okuyucusunun dispenser haznesinin içerisinde yer alan ikinci test çözeltisine ait stoktan 80 µL hacimlerde her bir kuyucuğa ilave edilmiştir. İkinci test çözeltisinin ilavesinin ardından 30 saniyelik karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Deneyin bir sonraki aşamasında 412 nm dalga boyunda ilk absorbans okuması yapılmıştır. Reaksiyonun devam etmesini sağlamak için 5 dakika sürecek bir karıştırma işlemi gerçekleştirilmiş ve bu sürenin

bitiminde ikinci absorbans okuması yapılmıştır. Aşağıdaki formülde (1), yapılan okuma işlemleri sonucunda elde edilen iki absorbans değeri arasındaki farklar kullanılarak % inhibisyon oranları tespit edilmiştir:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{[(A(K)-A(B))-(A(I)-A(B))]}{(A(K)-A(B))} \times 100$$

B : Blank (İnhibitör bileşik ve substrat içermeyen kuyucuk)

K : Kontrol (Sadece inhibitör bileşik içeren kuyucuk)

A(B) : Blank kuyucuğuna ait absorbans değerleri arasındaki okuma farkı

A(K) : Kontrol kuyucuğuna ait absorbans değerleri arasındaki okuma farkı

A(I) : İnhibitör maddelere ait absorbans değerleri arasındaki okuma farkı

Elde edilen bileşiklere ait IC₅₀ değerlerinin hesaplanmasında Microsoft Office Excel-2013 programı kullanılmıştır. İlgili programın non-lineer regresyon analizinin sigmoid doz-yanıt modelinden yardım alınarak inhibisyon eğrileri çizilmiştir.

4.8.2. Monoamin oksidaz enzim aktivite çalışmaları

Elde edilen bileşiklerin, MAO A ve MAO B enzimlerine karşı göstermiş oldukları inhibitör aktivitelerinin tespiti fluorometrik metod ile gerçekleştirilmiştir (Tok vd., 2019).

MAO enzimlerinin inhibisyon deneylerinde kullanılmak üzere aynı gün içerisinde 3 farklı çözelti hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden ilki, sentezlenen bileşiklerden ve referans ilaç bileşiklerinin farklı konsantrasyonlarda hazırlanan inhibitör madde çözeltileridir. İkinci çözelti ise enzim çözeltileridir. Bu çözeltiler hazırlanırken ilk olarak fosfat tamponu içerisinde hMAO A (0.5 U/mL) ve rekombinant hMAO B (0.64 U/mL) enzimleri çözülür ve çözeltinin hacmi son olarak 10 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır. Bu işlemin ardından son olarak çalışma çözeltileri hazırlanır, bu safhada fosfat tamponu içerisinde Horseradish Peroksidaz (200 U/mL, 100 µL), tiramin (100 mM, 200 µL) ve AmplifluTM Red (20 mM, 200 µL) çözdürülür ve çözeltinin hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır. Siyah renkli ve düz tabanlı 96 kuyucuklu mikro test plakasının her bir kuyucuğuna 20 µL inhibitör çözeltilerinden, 100 µL her iki enzim çözeltisinden birinden ilave edilmiştir. Daha sonra 30 dakika süren ve 37 °C'de ilerleyen inkübasyon süreci tamamlanmıştır. Inkübasyon işleminin tamamlanmasının ardından 100 µL çalışma çözeltisi eklenmiştir ve böylece reaksiyon başlatılmıştır. Bu işlemin ardından 30 dakika boyunca 37 °C'de inkübasyona devam edilmiştir. Fakat bu ikinci inkübasyon süreci esnasında 5 dakikalık periyotlarla flüoresan (Ex/Em=535/587 nm) ölçümü yapılmıştır. Daha sonra kontrol deneyi ise inhibitör çözelti yerine %2 oranında DMSO çözeltisinin

tatbik edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. İnhibitörlerin horseradish peroksidaz üzerindeki inhibitör etkinliklerinin takibi için ise enzim çözeltileri yerine %3 oranında H₂O₂ (20 mM) çözeltisi kullanılmış ve böylece paralel okumalar yapılarak horseradish peroksidaza karşı inhibitör aktiviteler kontrol altına alınmıştır. Kör, kontrol ve tüm inhibitör konsantrasyonlarından her biri dört tekrar olacak şekilde uygulanmış ve aşağıdaki denklem (2) yardımıyla inhibisyon değerleri hesaplanmıştır:

$$\%Inhibition = \frac{(F_{Ct2} - F_{Ct1}) - (F_{It2} - F_{It1})}{F_{Ct2} - F_{Ct1}} \times 100 \quad (2)$$

F_{Ct2} : Kontrolün t2 zaman aralığında ölçülen flüoresans değeri

F_{Ct1} : Kontrolün t1 zaman aralığında ölçülen flüoresans değeri

F_{It2} : İnhibitörün t2 zaman aralığında ölçülen flüoresans değeri

F_{It1} : İnhibitörün t1 zaman aralığında ölçülen flüoresans değeri

Elde edilen bileşiklere ait IC₅₀ değerlerinin hesaplanmasında Microsoft Office Excel-2013 programında non-lineer regresyon analizinin sigmoid doz-yanıt modeli kullanılmış ve çizilen inhibisyon eğrilerinden IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

4.9. Moleküler Docking Çalışmaları

Tez dahilinde sentezi gerçekleştirilen bileşikler arasından AChE, BChE ve MAO B enzimlerine karşı en etkili bileşik olarak ön plana çıkan **4g** kodlu bileşiğin AChE enzimi ile olası etkileşim ve bağlanma noktalarını ortaya çıkarmak amacıyla, yapı temelli in silico docking metodu uygulanmıştır. Bu bağlamda AChE enzimi için PDB: 4EY7 (Cheung vd., 2012) kristal yapısı üzerinden protein-ligand etkileşim analizi gerçekleştirilmiştir.

İlk olarak kristal yapı Schrödinger Suite 2015 Update 2'de (Schrödinger, L., 2016) yer alan “Protein Preparation Wizard” protokolü uygulanmış ve kristal yapı docking çalışmalarına hazır hale getirilmiştir. Daha sonra bağ uzunlukları OPLS 2005 kuvvet alanı kullanılarak düzenlenmiş ve yüklü amino asitlerin üzerindeki atomların belirtilen ortam koşullarındaki olası yükleri otomatik olarak belirlenmiştir. LigPrep 3.8 (Release, S., 2016) modülü ile moleküler docking çalışmaları yürütülecek bileşikler docking için hazırlanmıştır. Grid oluşturulurken Glide 7.1 (Schrödinger, L. Glide, 2016) kullanılmış ve yine aynı modülün yardımı ile single precision (SP) ile docking çalışmaları tamamlanmıştır.

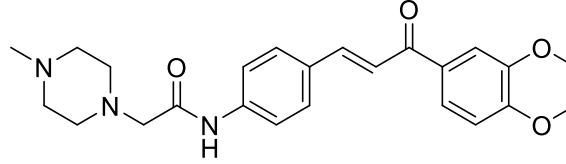
4.10. Moleküler Dinamik Çalışmaları

Moleküler dinamik (MD) simülasyonları bir ilaç-reseptör kompleksi için aktif bir bölgedeki bir ligandın zamana bağlı stabilitesini değerlendirmek için önemli bir hesaplama aracı olarak kabul edilmektedir, bu çalışma kapsamında ise bileşik **4g** için yapılmıştır (Liu vd., 2018). Yerleştirme sonucundan belirlenen komplekslerin kararlılığını sağlamak için 100 ns boyunca MD simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Dinamik çalışmaları, desmond uygulamasını (Schrödinger Release 2018-3: Prime, 2018), 3 noktalı (TIP3P) bir su modeli ve ardından kompleksin enerji minimizasyonu (Sureshkumar vd., 2018) ile transfer edilebilir bir moleküller arası potansiyele sahip *Schrödinger Suite*'in standart kuvvet alanı (OPLS3e) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tek değerli iyonların fizyolojik konsantrasyonunu simüle ederken bir yandan da sistemin nötralizasyonunu sağlamak amacıyla Na^+ ve Cl^- iyonları kullanılarak 0.15 M'lik bir nihai tuz konsantrasyonu sağlar (S. Release, 2014). Sabit sıcaklık (310.55 K) ve basınç (1.01325 bar), topluluk sınıfı olarak NPT (sabit sayıda parçacık, basınç ve sıcaklık) ile kullanılmıştır. Hareket denklemlerini bütünleştirmek için RESPA entegratörü (Humphreys vd., 1994) kullanılmıştır. Simülasyon sıcaklığını sabit tutmak için NH termostatları (Hoover, 1985) kullanılmış ve basıncı kontrol etmek için MTK yöntemi (Martyna vd., 1994) uygulanmıştır. Uzun menzilli elektrostatik etkileşimler, pmE yöntemi (Essmann vd., 1995) ile hesaplanmıştır. Van der Waals ve kısa menzilli elektrostatik etkileşimler için sınır 9,0 Å olarak ayarlanmıştır. Sistemin dengelenmesi, sistemi yavaşça gevşetmek için kullanılan bir dizi sınırlandırılmış minimizasyon ve moleküler dinamik simülasyonlarından oluşan Desmond'da sağlanan varsayılan protokolle gerçekleştirilmiştir. MD simülasyonu, yukarıdaki ayarlar kullanılarak ve sistem kurulumunun tamamlanmasının ardından gerçekleştirilmiştir. Rg (dönme yarıçapı), kök ortalama kare dalgalanma (RMSF) ve kök ortalama kare sapma (RMSD) değerleri Desmond uygulaması (Schrödinger Release 2018-3: Prime, 2018) tarafından hesaplanmıştır.

5. BULGULAR VE YORUM

5.1. Sentez Çalışmaları

5.1.1. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)asetamid (4a)



Şekil 5.1. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)asetamid (4a) molekülünün kimyasal yapısı

DeneySEL E.N.: 68,6 °C. Verim: %81.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3258 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1676 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1647 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1148 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

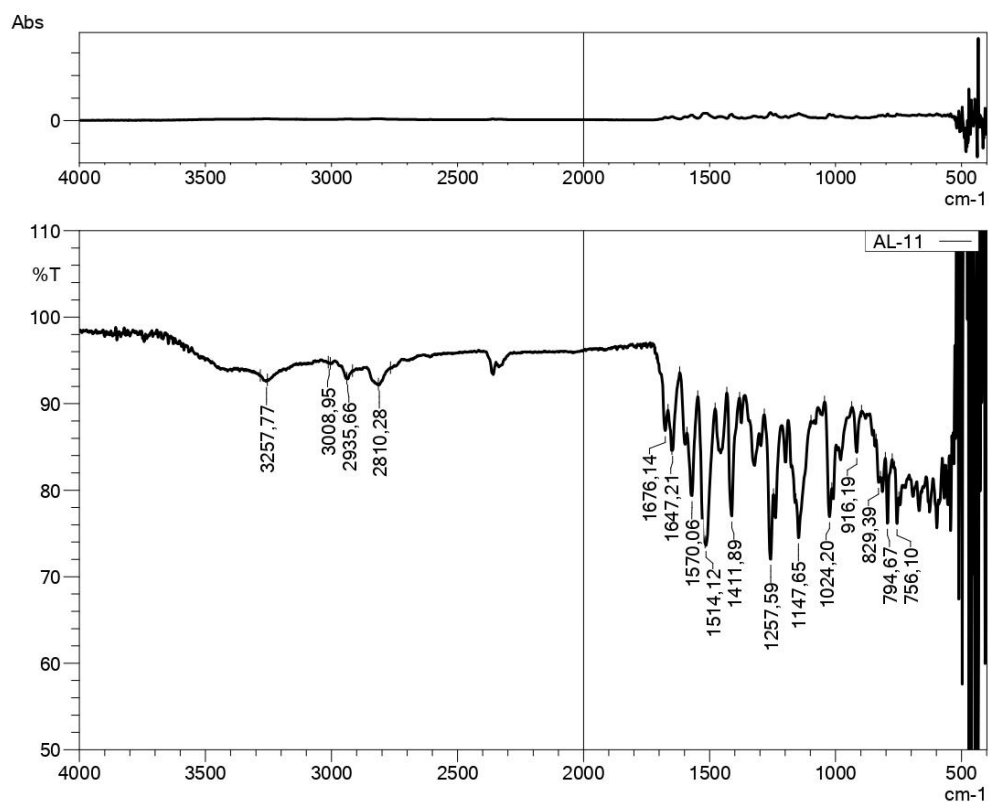
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2.16 (3H, s, -CH₃), 2.26-2.49 (8H, y, piperazin), 3.14 (2H, s, -CH₂), 3.86 (3H, s, -OCH₃), 3.87 (3H, s, -OCH₃), 7.10 (1H, d, $J=8.59$ Hz, trisüstitüebenzen), 7.60 (1H, d, $J=1.95$ Hz, Ar-CH), 7.69 (1H, s, trisüstitüebenzen), 7.74 (2H, d, $J=8.74$ Hz, disüstitüebenzen), 7.83 (1H, m, trisüstitüebenzen), 7.87 (2H, m, disüstitüebenzen), 7.91 (1H, m, Ar-CH), 9.94 (1H, s, sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 46.24, 53.16, 54.97, 56.05, 62.31, 111.10, 111.30, 119.71, 120.66, 123.72, 130.16, 130.27, 131.08, 141.14, 143.28, 149.22, 153.57, 169.12, 187.66.

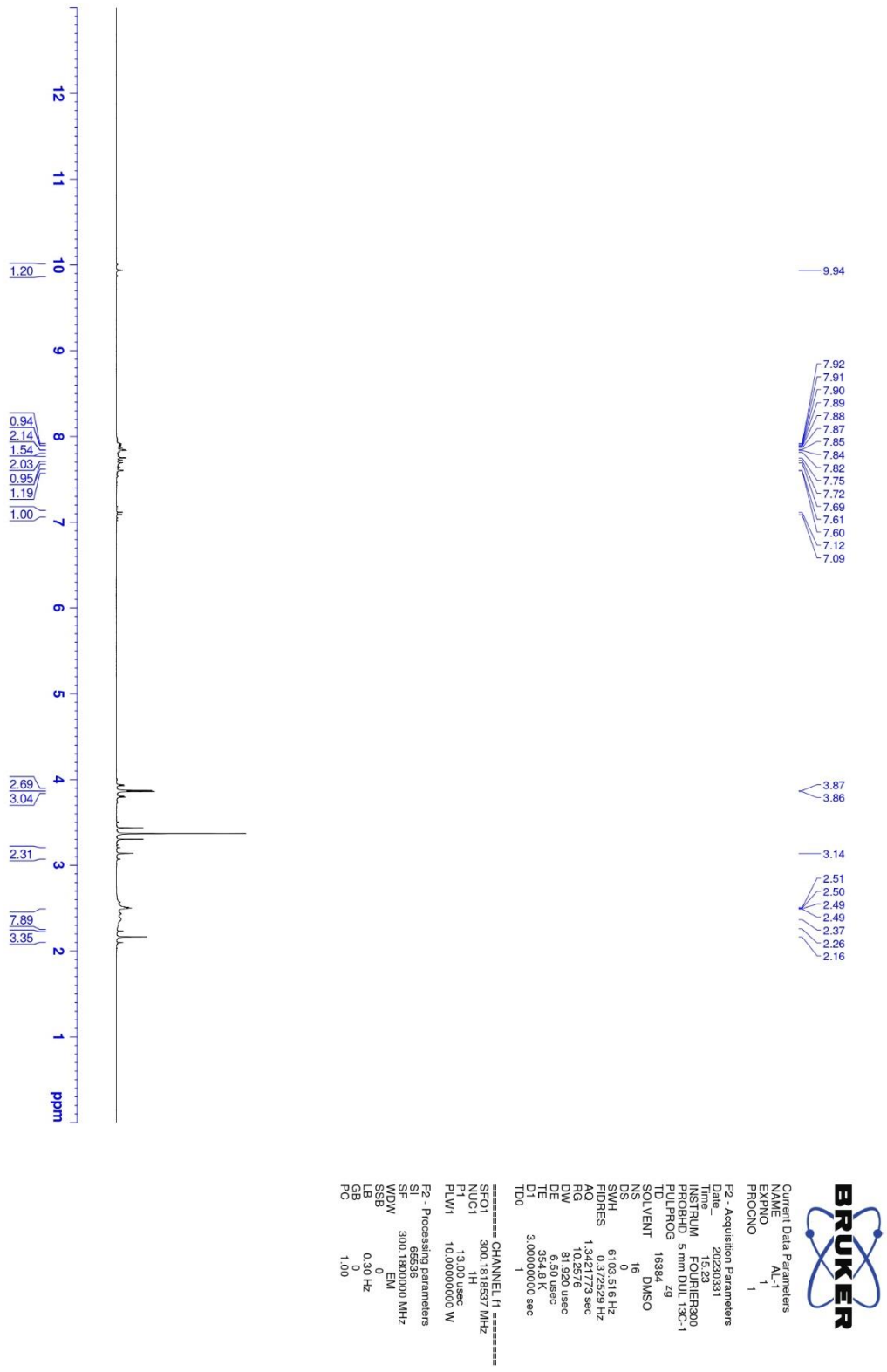
HRMS (ESI) (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$: C₂₄H₂₉N₃O₄ için hesaplanan: 424.2231, bulunan: 424.2239.

DOPNALAB

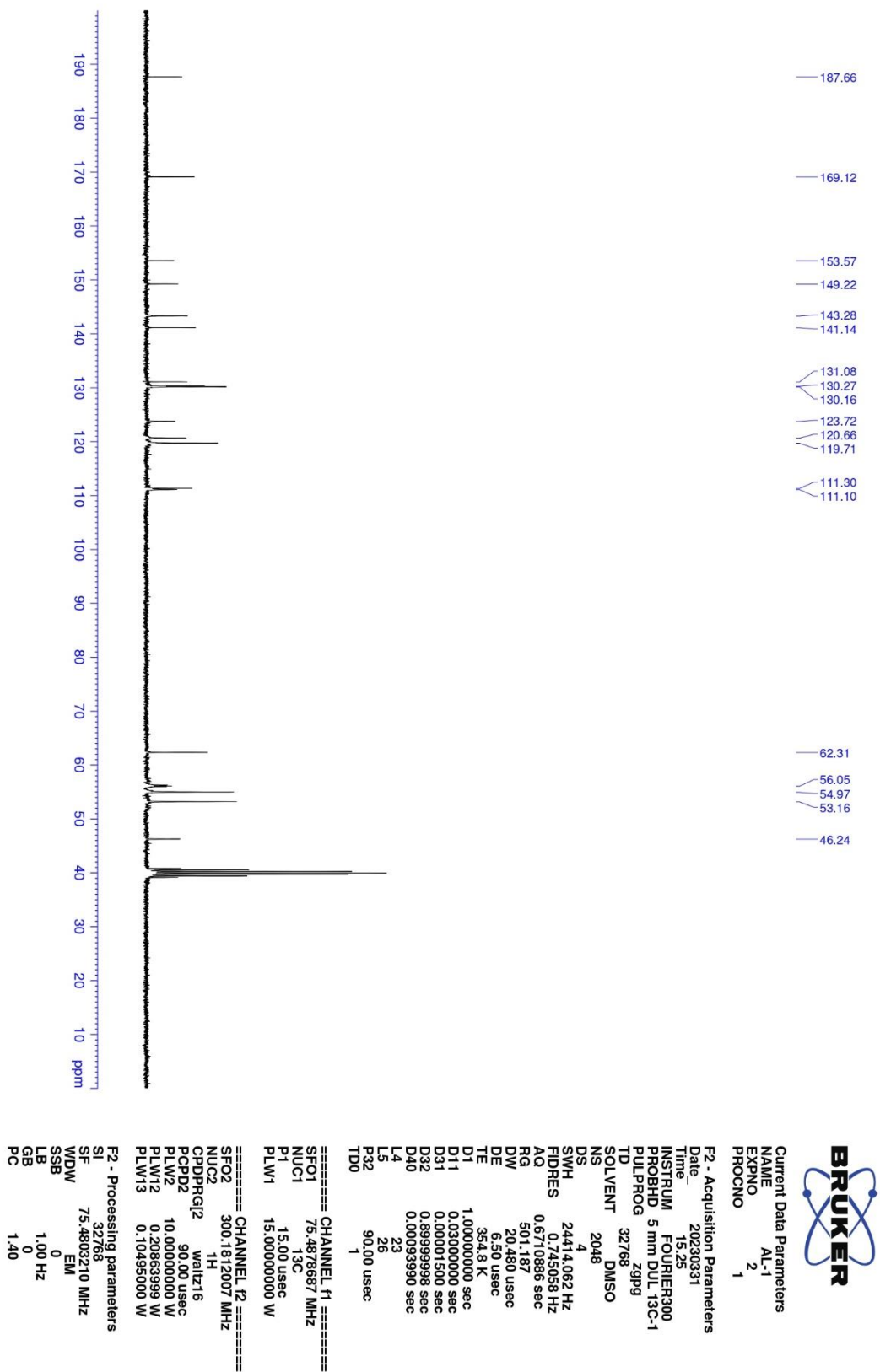
Item	Value
Acquired Date& Time	17.05.2023 14:43:27
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAÜSTÜ'derya\berkant\AL seri\AL-11.ispd
Spectrum name	AL-11
Sample name	AL-1
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.2. IR spektrumu (4a)



Şekil 5.3. ^1H -NMR spektrumu (4a)



Şekil 5.4. ^{13}C -NMR spektrumu (4a)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-1_197.lcd

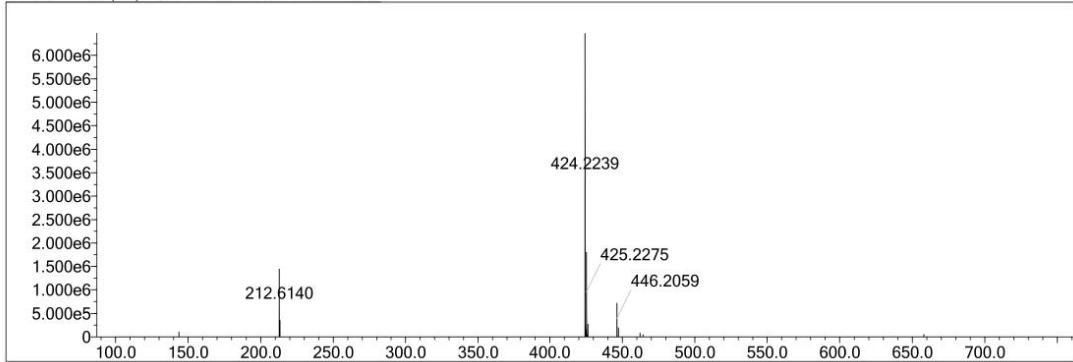
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	30	O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

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

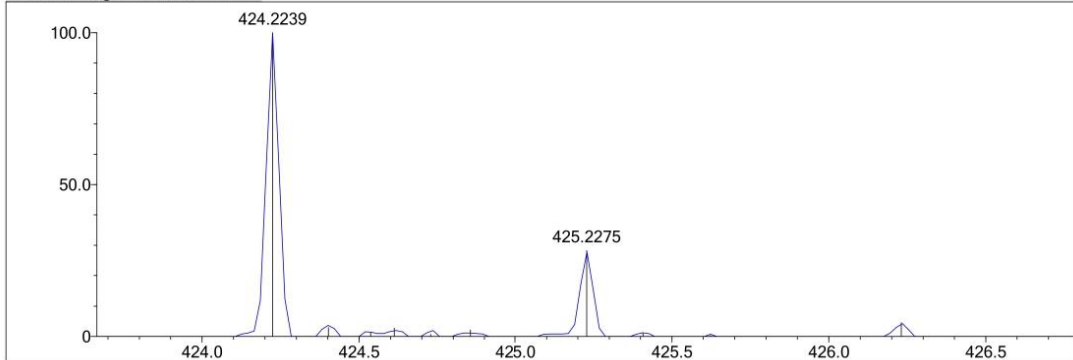
DBE Range: 5.0 - 25.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

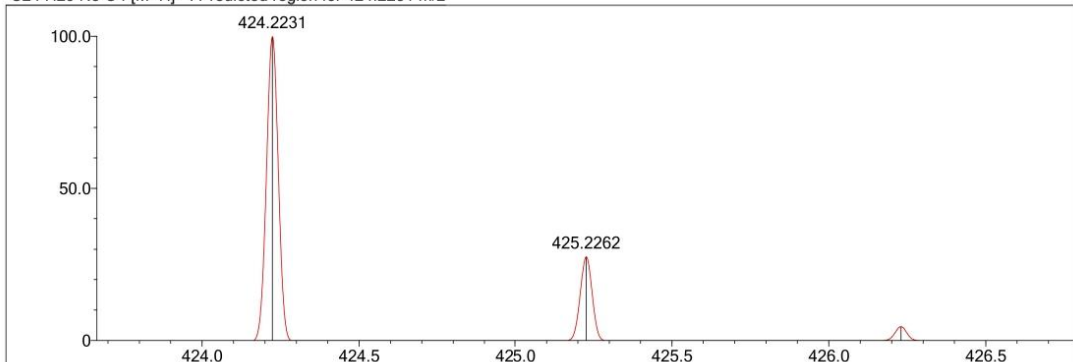
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.893 Scan#: 285



Measured region for 424.2239 m/z



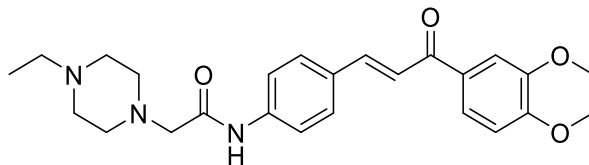
C24 H29 N3 O4 [M+H]+ : Predicted region for 424.2231 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	97.78	C24 H29 N3 O4	[M+H] ⁺	424.2239	424.2231	0.8	1.89	100.00	12.0

Şekil 5.5. HRMS spektrumu (4a)

5.1.2. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-etilpiperazin-1-il)asetamid (4b)



Şekil 5.6. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-etilpiperazin-1-il)asetamid (**4b**)
molekülünün kimyasal yapısı

Deneyisel E.N.: 61,7 °C. Verim: %82.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3271 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1678 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1647 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1147 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

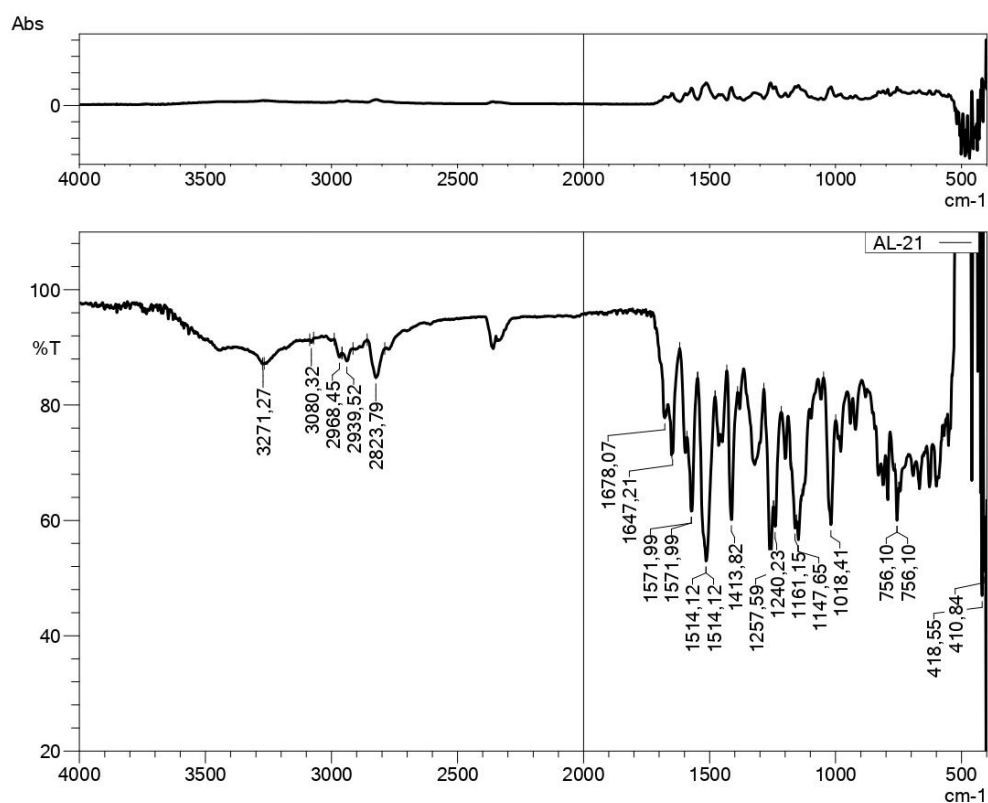
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 0.98 (3H, t, $J=7.17$ Hz, $-\text{CH}_3$), 2.14-2.44 (10H, m, piperazin, $-\text{CH}_2-$), 3.13 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 3.86 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.87 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 7.10 (1H, d, $J=8.56$ Hz, trisüstitübenzen), 7.60 (1H, d, $J=1.93$ Hz, Ar-CH), 7.69 (1H, s, trisüstitübenzen), 7.74 (2H, d, $J=8.74$ Hz, disüstitübenzen), 7.83 (1H, m, trisüstitübenzen), 7.87 (2H, m, disüstitübenzen), 7.91 (1H, m, Ar-CH), 9.94 (1H, s, sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 12.53, 52.07, 52.66, 53.31, 56.04, 62.39, 111.05, 111.28, 119.71, 120.64, 123.71, 130.16, 130.26, 131.07, 141.15, 143.29, 149.20, 153.56, 169.12, 187.65.

HRMS (ESI) (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_4$ için hesaplanan: 438.2387, bulunan: 438.2386.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 14:51:56
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAUSTU\derya\berkant\AL seri\AL-21.ispd
Spectrum name	AL-21
Sample name	AL-2
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.7. IR spektrumu (4b)

9.94

7.91
7.90
7.89
7.88
7.87
7.85
7.84
7.82
7.75
7.72
7.69
7.61
7.60
7.11
7.08

3.87
3.86
3.13
2.51
2.50
2.49
2.44
2.43
2.43
2.42
2.41
2.39
2.36
2.34
2.32
2.30
2.27
2.25
2.23
2.20
2.19
2.14
1.00
0.98
0.95



Current Data Parameters

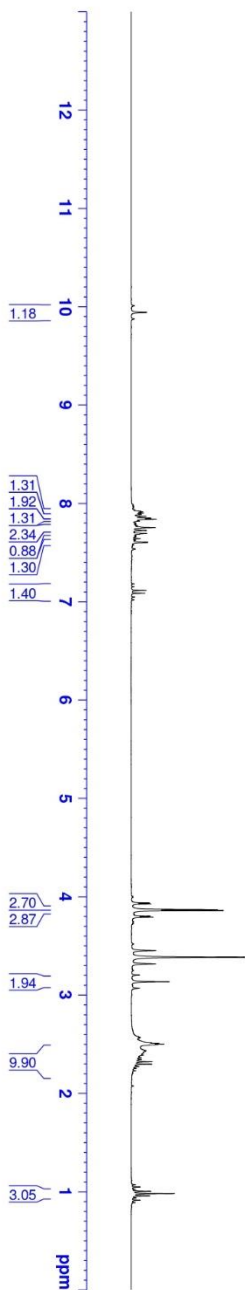
NAME AL-2
EXPNO 1
PROCNO 1

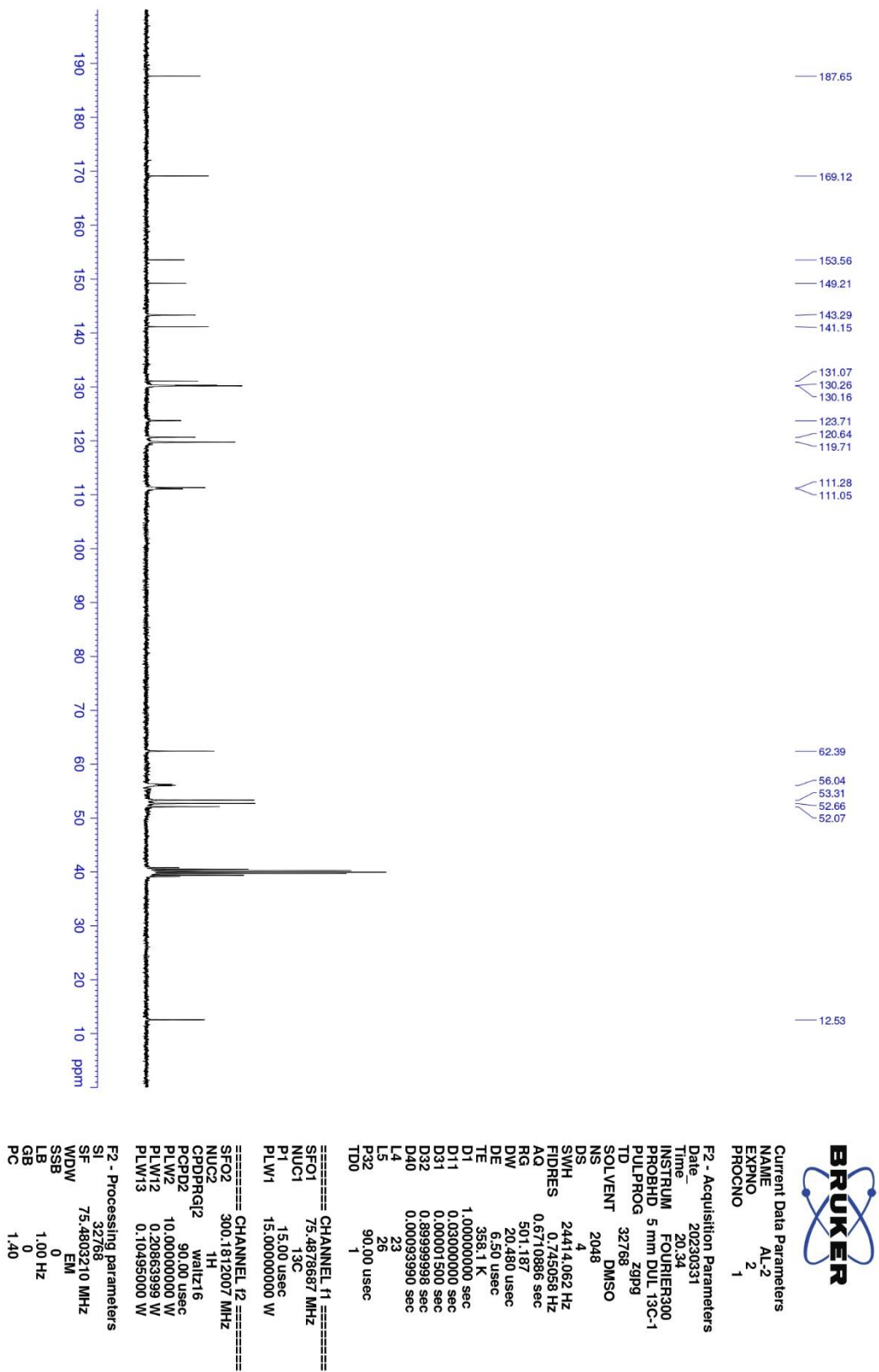
F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20230331
Time 20:33
INSTRUM FOUER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.375529 Hz
AQ 1.342173 sec
RG 1410.0
DW 81.320 usec
DE 6.50 usec
TE 358.2 K
TD0 3.00000000 sec
1

===== CHANNEL f1 =====

SFO1 300.1815937 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
GB 0.30 Hz
CB 0
PC 1.00





Şekil 5.8. ¹H-NMR spektrumu (4b)

Şekil 5.9. ^{13}C -NMR spektrumu (**4b**)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-2_198.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	32	O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

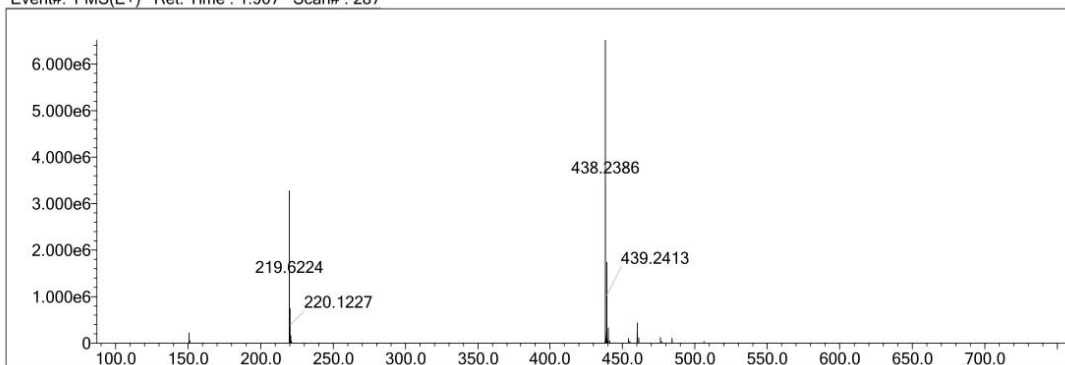
Electron Ions: odd

Use MSn Info: yes

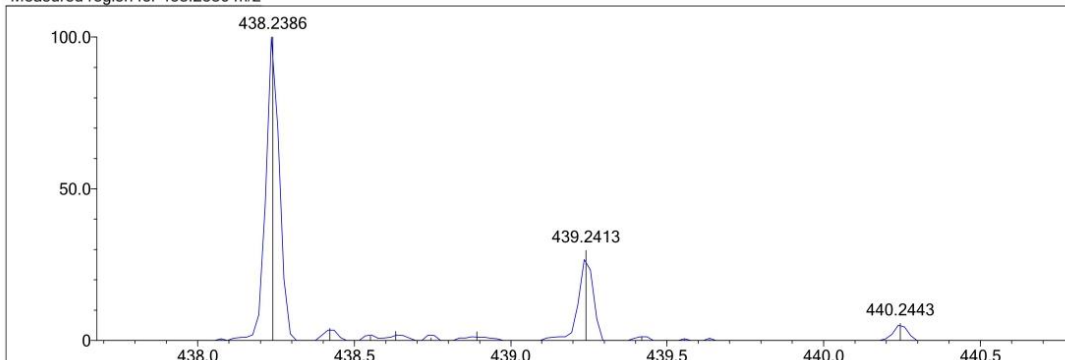
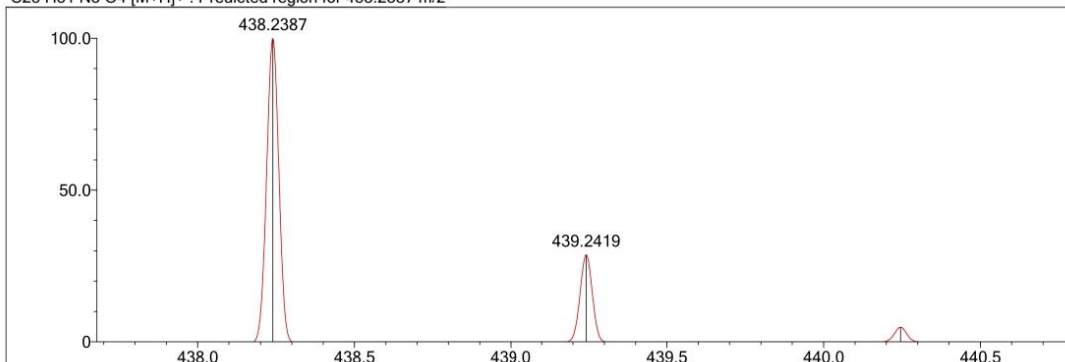
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.907 Scan#: 287



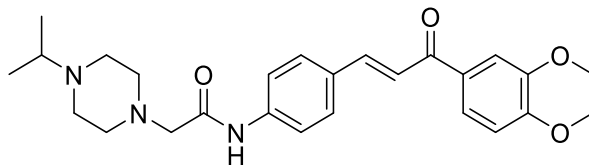
Measured region for 438.2386 m/z

C25 H31 N3 O4 [M+H]⁺ : Predicted region for 438.2387 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	87.09	C25 H31 N3 O4	[M+H] ⁺	438.2386	438.2387	-0.1	-0.23	87.09	12.0

Şekil 5.10. HRMS spektrumu (4b)

5.1.3. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-izopropilpiperazin-1-il)asetamid (4c)



Şekil 5.11. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-izopropilpiperazin-1-il)asetamid (4c) molekülünün kimyasal yapısı

DeneySEL E.N.: 127,6 °C. Verim: %77.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3269 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1680 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1649 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1161 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

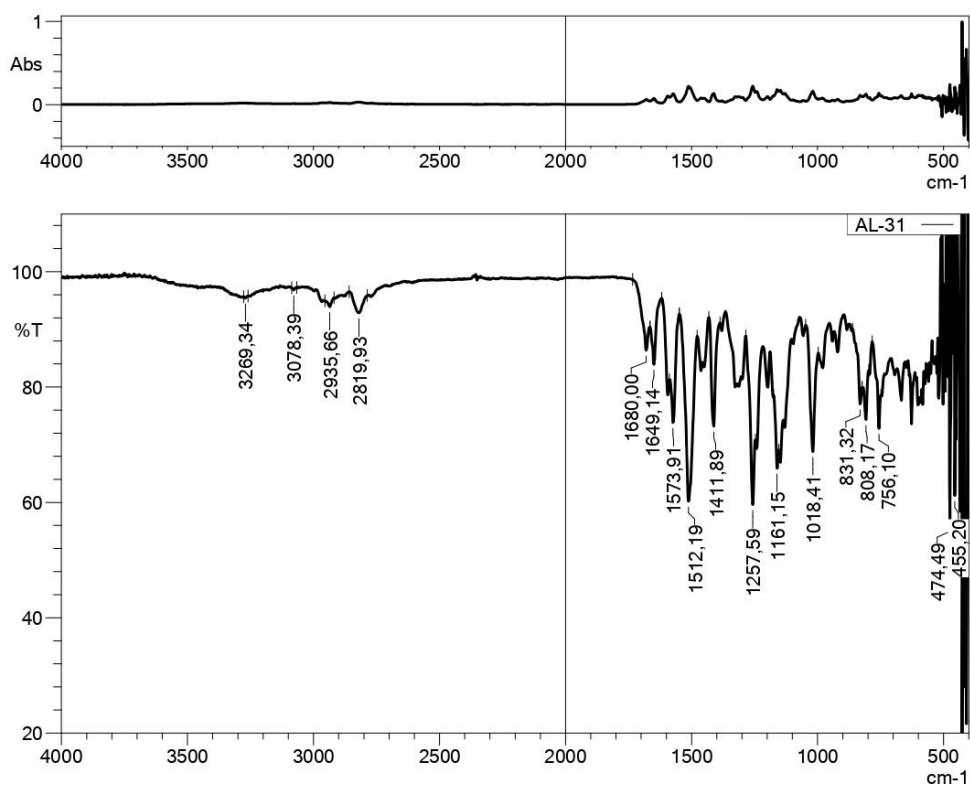
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 0.96 (6H, d, $J=6.51$ Hz, -CH₃), 2.36-2.44 (4H, y, piperazin), 2.56-2.72 (5H, m, piperazin, -CH-), 2.64 (1H, m, CH), 3.12 (2H, s, -CH₂), 3.386 (3H, s, -OCH₃), 3.87 (3H, s, -OCH₃), 7.10 (1H, d, $J=8.56$ Hz, trisüstitübenzen), 7.60 (1H, d, $J=1.92$ Hz, Ar-CH), 7.69 (1H, s, trisüstitübenzen), 7.74 (2H, d, $J=8.74$ Hz, disüstitübenzen), 7.84 (1H, m, trisüstitübenzen), 7.88 (2H, m, disüstitübenzen), 7.91 (1H, m, Ar-CH), 9.92 (1H, s, sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 18.73, 48.27, 53.72, 54.07, 56.05, 62.48, 111.09, 111.29, 119.74, 120.65, 123.71, 130.16, 130.26, 131.08, 141.15, 143.29, 149.22, 153.56, 169.14, 187.65.

HRMS (ESI) (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$: C₂₆H₃₃N₃O₄ için hesaplanan: 452.2544, bulunan: 452.2550.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 14:58:49
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAUSTU\derya\berkant\AL seri\AL-31.ispd
Spectrum name	AL-31
Sample name	AL-3
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.12. IR spektrumu (4c)



Current Data Parameters

NAME AL-3
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20230331
Time 17:28
INSTRUM FOCUS300
PROBHD 5 mm BBO-1
PULPROG zgpg30

TD 16384
SOLVENT DMSO

NS 16
DSH 0

SWH 610.516 Hz
FIDRES 0.372523 Hz

RG 1.3421773 sec
AQ 11.3553

DW 81.920 usec
DE 6.50 usec

TE 300.2 K
D1 3.000000 sec

TD0 1

===== CHANNEL f1 =====

SFO1 300.1318537 MHz
NUC1 ¹H

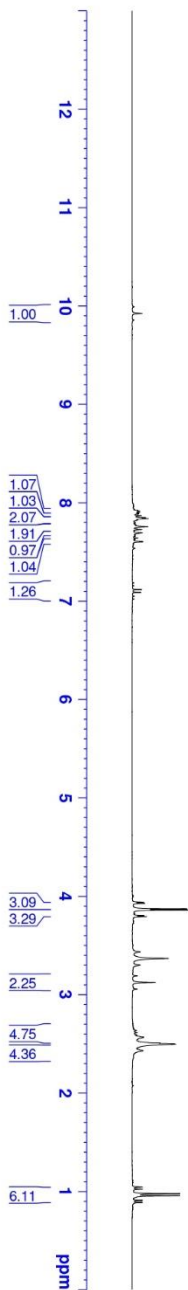
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters

SI 65536
WDW 300.1800000 MHz

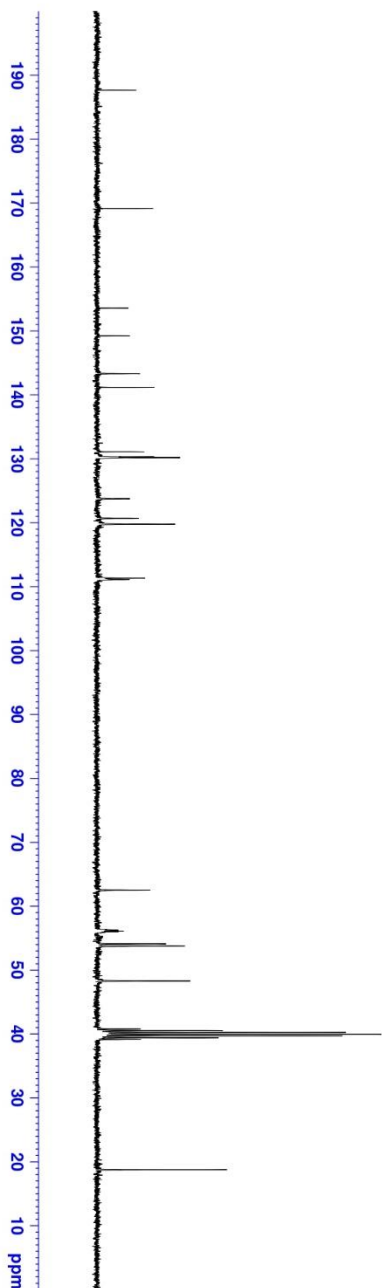
SSB 0
LB 0.30 Hz

GB 0
PC 1.00



Şekil 5.13. ^1H -NMR spektrumu (**4c**)

187.65
169.14
153.56
149.22
143.29
141.15
131.08
130.26
130.16
123.71
120.65
119.74
111.29
111.09
62.48
56.05
54.07
53.72
48.27
18.73



Current Data Parameters
NAME AL-3
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230331
Time 17:28
INSTRUM FOUJER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg
TD 32768
SOLVENT DMSO
NS 2048
DS 4
SWH 2441.062 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
DW 20.480 usec
DE 6.50 usec
TE 356.1 K
D1 1.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
D31 0.00001500 sec
D32 0.89999998 sec
D40 0.00093990 sec
L4 23
L5 26
P32 90.00 usec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.4678687 MHz
NUC1 13C
P1 15.00 usec
PLW1 15.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.1812007 MHz
NUC2 1H
CPCPRG12 waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLW2 10.00000000 W
PLW12 0.20863999 W
PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4603210 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

Şekil 5.14. ^{13}C -NMR spektrumu (**4c**)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-3_199.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	35	O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

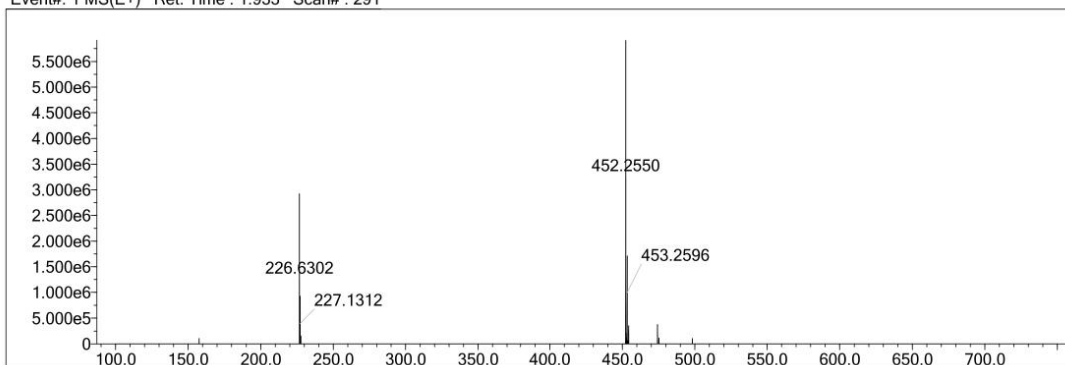
Electron Ions: odd

Use MSn Info: yes

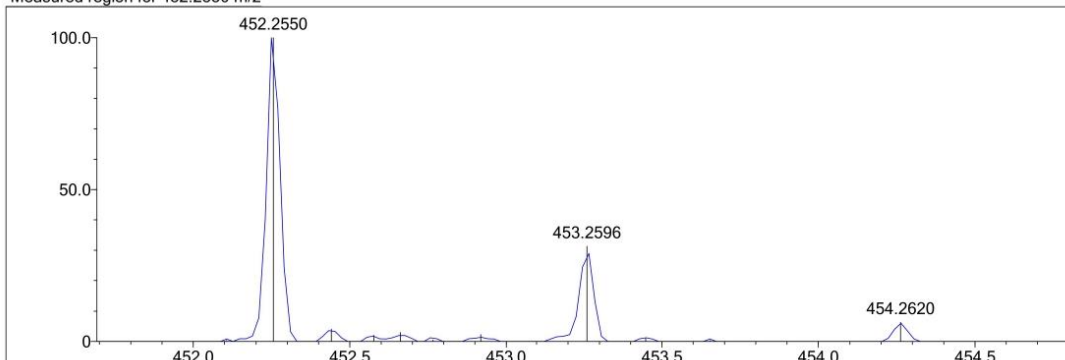
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

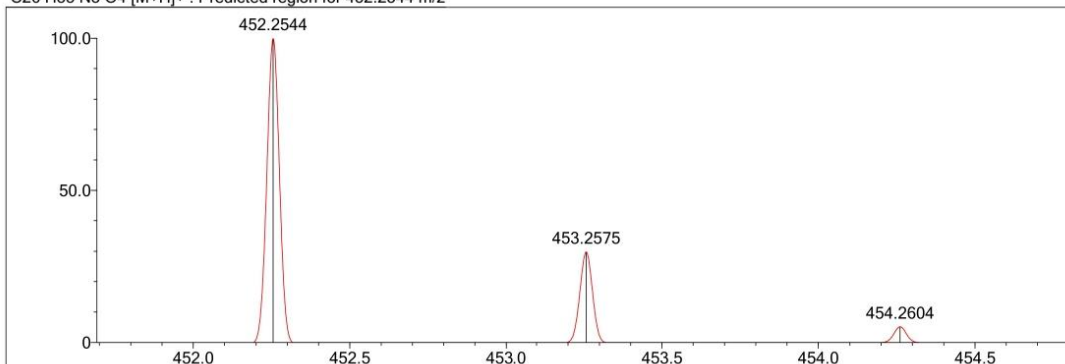
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.933 Scan# : 291



Measured region for 452.2550 m/z



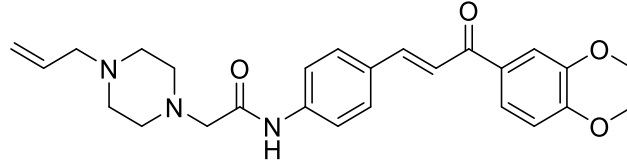
C26 H33 N3 O4 [M+H]+ : Predicted region for 452.2544 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	87.25	C26 H33 N3 O4	[M+H] ⁺	452.2550	452.2544	0.6	1.33	87.98	12.0

Şekil 5.15. HRMS spektrumu (4c)

5.1.4. 2-(4-Allilpiperazin-1-il)-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (4d)



Şekil 5.16. 2-(4-Allilpiperazin-1-il)-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (4d) molekülünün kimyasal yapısı

DeneySEL E.N.: 120,8 °C. Verim: %79.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3265 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1680 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1649 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1147 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

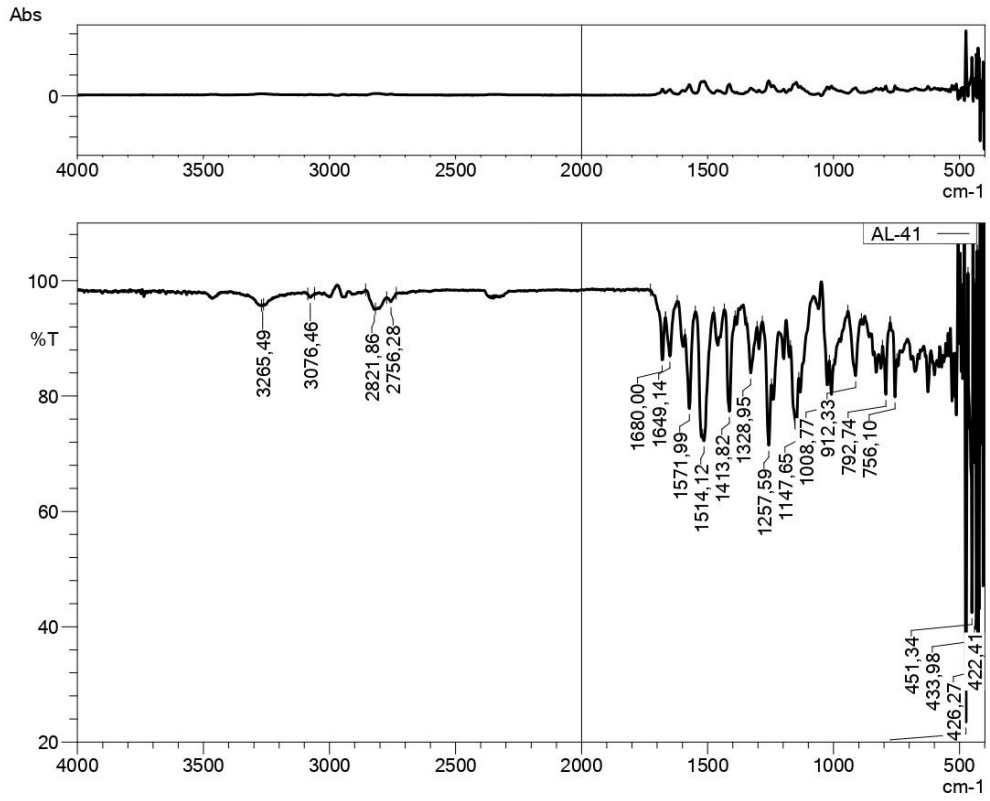
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2.37-2.44 (4H, y, piperazin), 2.51-2.63 (4H, y, piperazin), 2.94 (2H, d, $J=6.36$ Hz, $-\text{CH}_2$), 3.14 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 3.86 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.87 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 5.14 (2H, m, $-\text{CH}_2$ allil), 5.80 (1H, m, $-\text{CH}$ allil), 7.10 (1H, d, $J=8.56$ Hz, trisüstitübenzen), 7.60 (1H, d, $J=1.95$ Hz, Ar-CH), 7.69 (1H, s, trisüstitübenzen), 7.74 (2H, d, $J=8.74$ Hz, disüstitübenzen), 7.84 (2H, d, $J=2.55$ Hz, disüstitübenzen), 7.88 (1H, m, trisüstitübenzen), 7.91 (1H, m, Ar-CH), 9.93 (1H, s, sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 52.85, 53.23, 56.06, 61.33, 62.33, 111.09, 111.30, 117.91, 119.72, 120.67, 123.72, 130.16, 130.27, 131.08, 136.07, 141.14, 143.28, 149.22, 153.57, 169.10, 187.65.

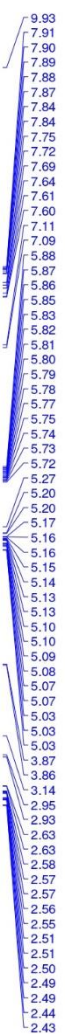
HRMS (ESI) (m/z) [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_4$ için hesaplanan: 450.2387, bulunan: 450.2388.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 15:05:12
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAUSTU\derya\berkant\AL seri\AL-41.ispd
Spectrum name	AL-41
Sample name	AL-4
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



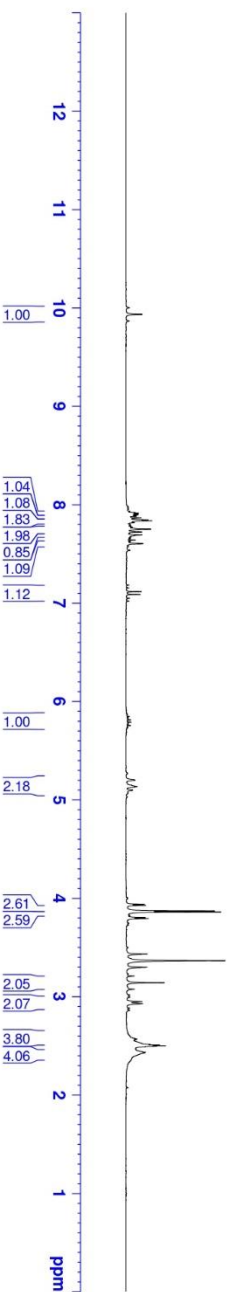
Şekil 5.17. IR spektrumu (4d)



Current Data Parameters
NAME AL-4
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220331
Time 11.08
INSTRUM FOUJER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
SOLVENT 16394
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.342173 sec
RG 3854.63
DW 81.820 usec
DE 6.50 usec
TE 352.7 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.181837 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.180000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.18. ^1H -NMR spektrumu (**4d**)



Current Data Parameters
NAME AL-4
EXPNO 2
PROCNO 1

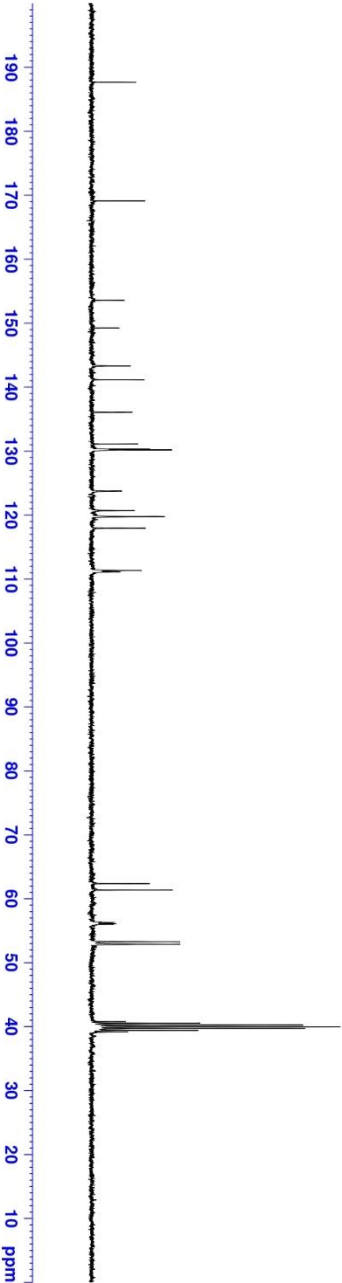
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230331
Time_ 11.10
INSTRUM FOUJIER300
PROBHD 5 mm DUL-13C-1
PULPROG zgpg
TD 32768
SOLVENT DMSO
NS 2048
DS 4
SWH 24414.062 Hz
FIDRES 0.745098 Hz
AQ 0.6710686 sec
RG 501.187
DW 20.480 usec
DE 6.50 usec
TE 352.5 K
D1 1.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
D31 0.00001500 sec
D32 0.89999998 sec
D40 0.00093990 sec
L4 23
L5 26
L6 26
P32 90.00 usec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.4878687 MHz
NUC1 13C
P1 15.00 usec
PLW1 15.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.1812007 MHz
NUC2 1H
CPDPRG2 waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLW2 10.00000000 W
PLW12 0.20863999 W
PLW13 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

187.65
169.10
153.57
149.22
143.28
141.14
136.07
131.08
130.27
130.16
123.72
120.67
119.72
117.91
111.30
111.09
62.33
61.33
56.06
53.24
52.85



Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-4_200.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	35	O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

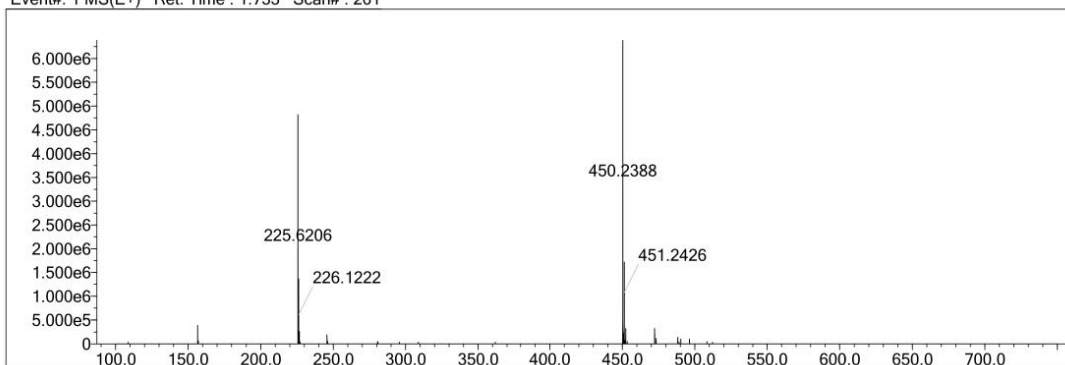
Electron Ions: odd

Use MSn Info: yes

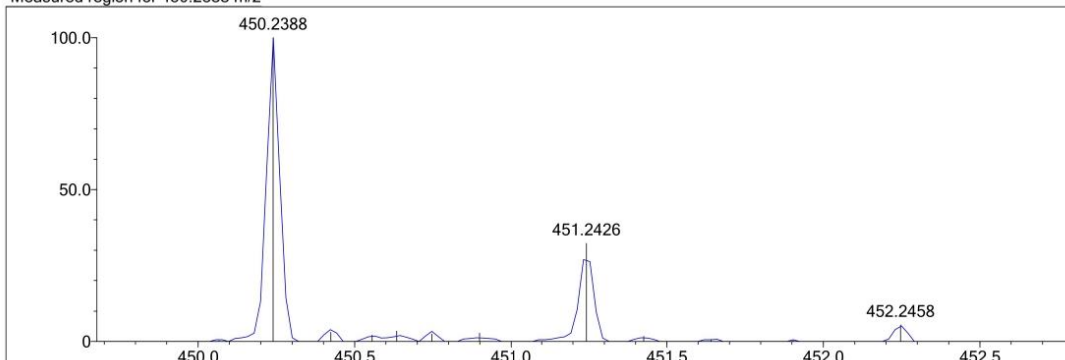
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

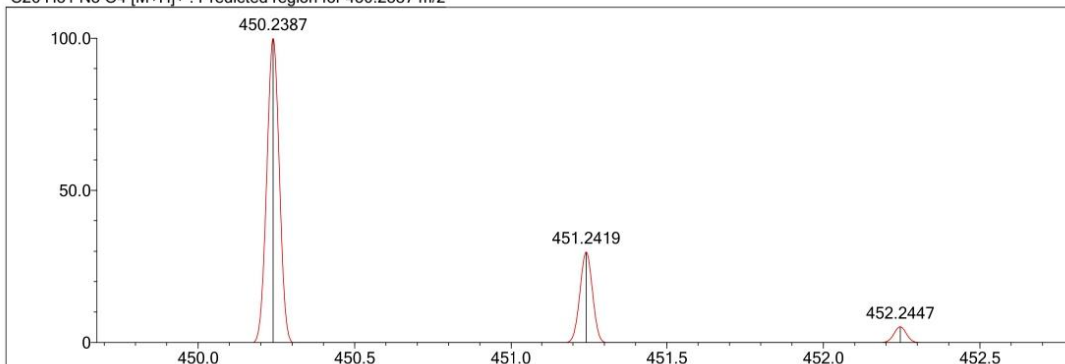
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.733 Scan# : 261



Measured region for 450.2388 m/z



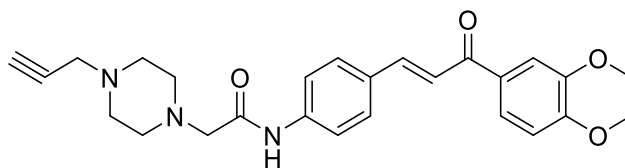
C26 H31 N3 O4 [M+H]+ : Predicted region for 450.2387 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	100.00	C26 H31 N3 O4	[M+H] ⁺	450.2388	450.2387	0.1	0.22	100.00	13.0

Şekil 5.20. HRMS spektrumu (4d)

5.1.5. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(prop-2-in-1-il)piperazin-1-il)asetamid (4e)



Şekil 5.21. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(prop-2-in-1-il)piperazin-1-il)asetamid (4e) molekülünün kimyasal yapısı

DeneySEL E.N.: 74,5 °C. Verim: %78.

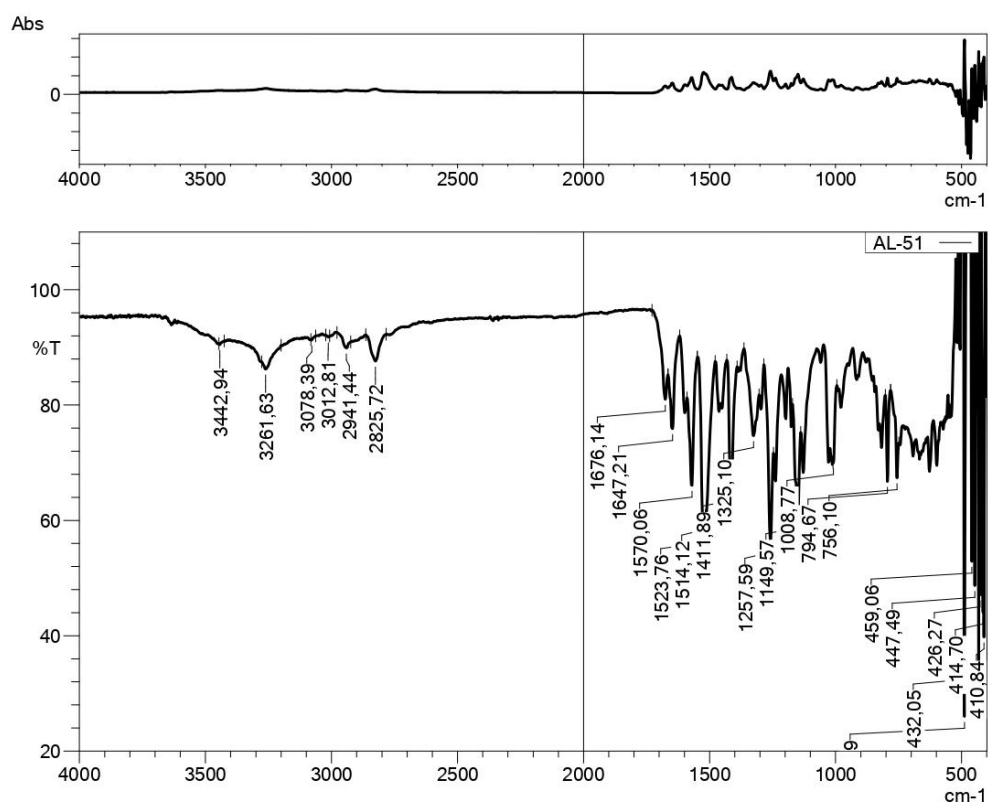
IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3261 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1676 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1647 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1149 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2.37-2.49 (4H, y, piperazin), 2.52-2.59 (4H, y, piperazin), 3.15 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 3.17 (1H, s, $-\text{CH}$), 3.26 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 3.86 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.87 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 7.10 (1H, d, $J=8.56$ Hz, trisüstitüebenzen), 7.60 (1H, d, $J=1.95$ Hz, Ar-CH), 7.69 (1H, s, trisüstitüebenzen), 7.70 (2H, d, $J=7.83$ Hz, disüstitüebenzen), 7.75 (1H, s, trisüstitüebenzen), 7.84 (2H, d, $J=1.98$ Hz, disüstitüebenzen), 7.88 (1H, m, trisüstitüebenzen), 7.91 (1H, m, Ar-CH), 9.96 (1H, s, sekonder amin)
 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 46.45, 51.47, 53.07, 56.06, 62.31, 76.18, 79.94, 111.08, 111.30, 119.75, 120.67, 123.71, 130.15, 130.26, 131.08, 141.18, 143.29, 149.22, 153.57, 169.08, 187.66.

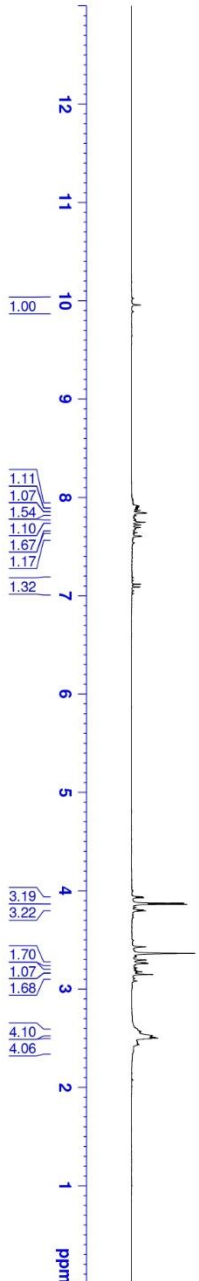
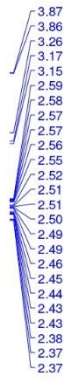
HRMS (ESI) (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_4$ için hesaplanan: 448.2231, bulunan: 448.2248.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 15:10:38
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAÜSTÜ\derya\berkant\AL seri\AL-51.ispd
Spectrum name	AL-51
Sample name	AL-5
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.22. IR spektrumu (4e)

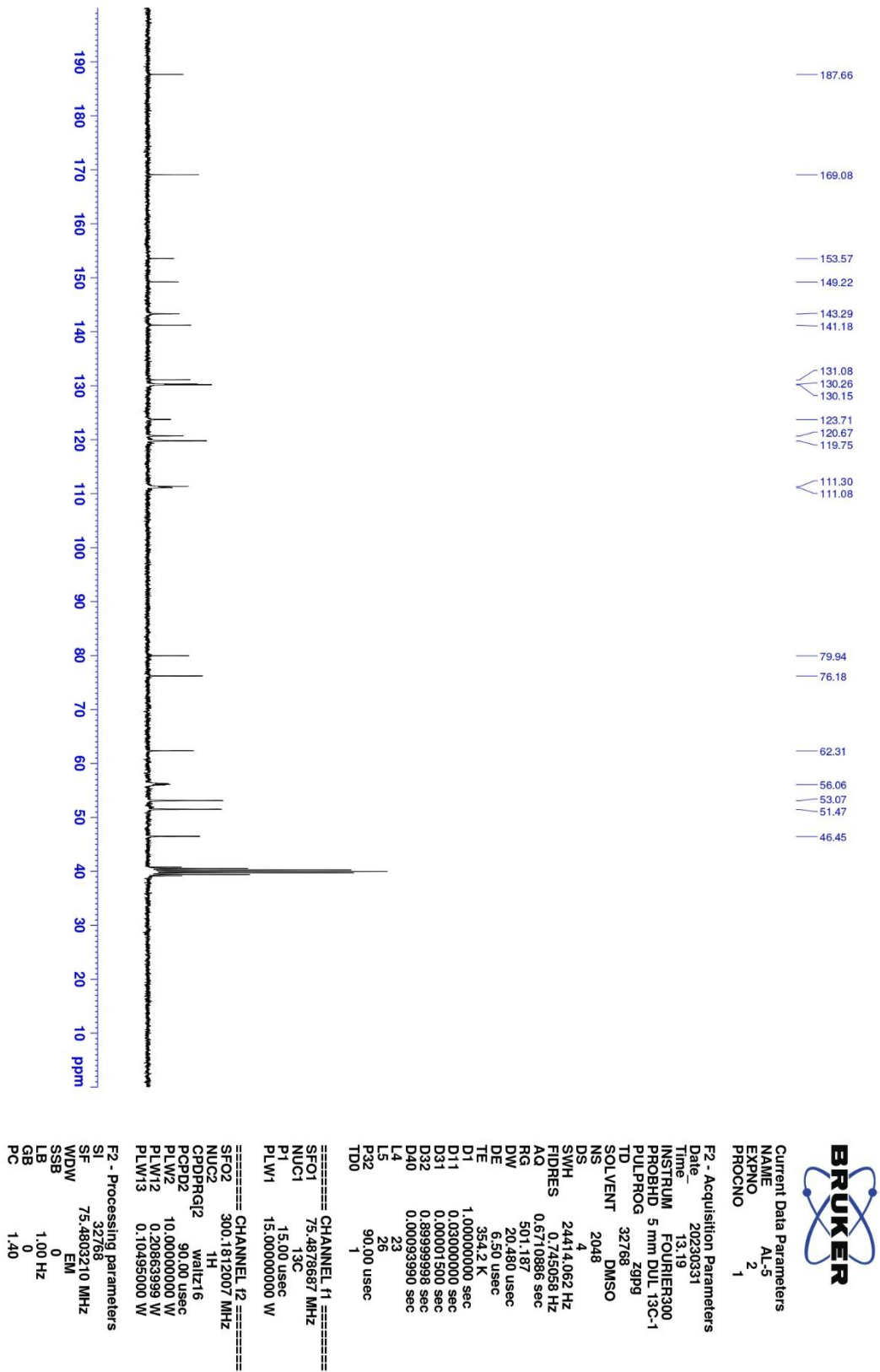


Current Data Parameters
 NAME AL-5
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20230331
 Time 13.17
 INSTRUM FIDRES
 PULPROG 16384 z9
 SOLVENT 16 DMSO
 NS 0
 DS 0
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 0.372529 Hz
 AQ 1.342173 sec
 RG 105273
 DW 81.920 usec
 DE 6.50 usec
 TE 354.4 K
 D1 3.00000000 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 300.1815537 MHz
 NUC1 1H
 P1 13.00 usec W
 PLW1 10.00000000 W
 F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 300.1800000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Şekil 5.23. ^1H -NMR spektrumu (4e)



Şekil 5.24. ^{13}C -NMR spektrumu (**4e**)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-5_201.lcd

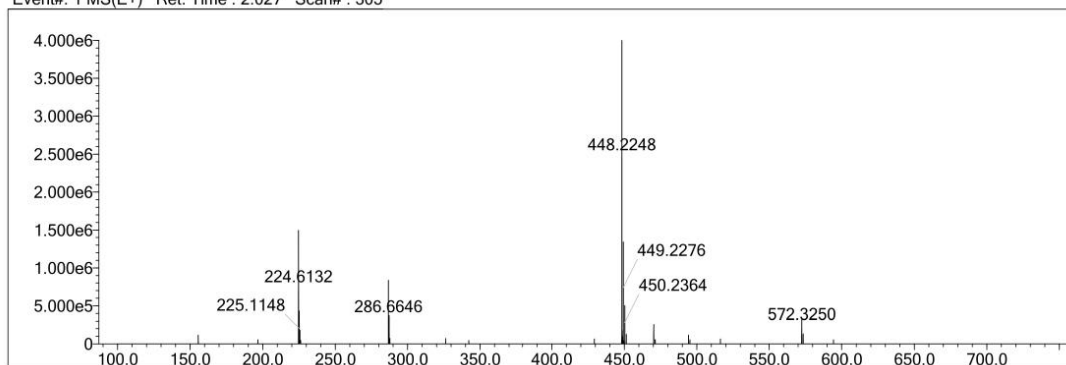
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	35	O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

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

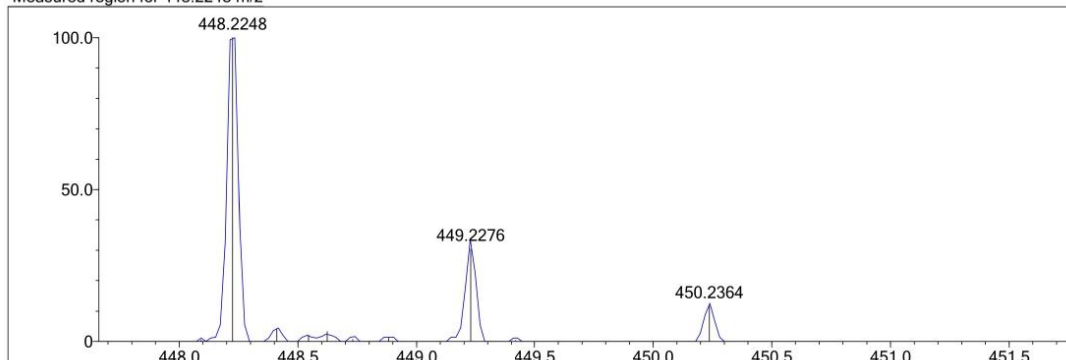
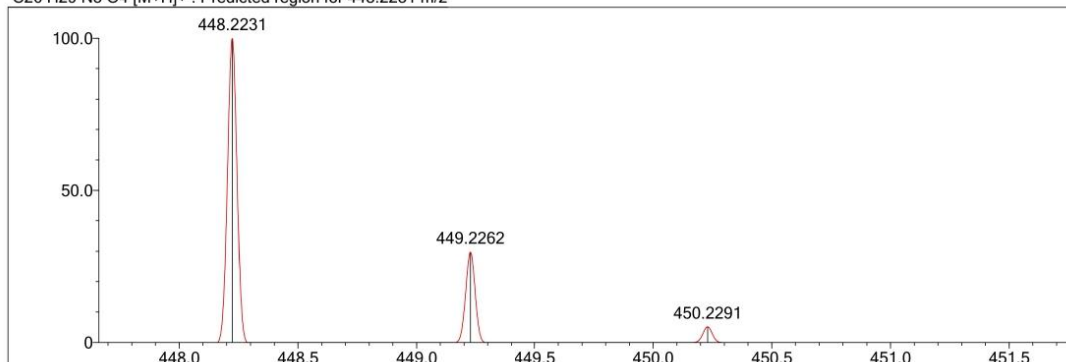
DBE Range: 5.0 - 25.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.027 Scan#: 305



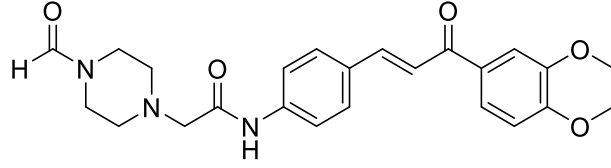
Measured region for 448.2248 m/z

C26 H29 N3 O4 [M+H]⁺ : Predicted region for 448.2231 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
2	60.88	C26 H29 N3 O4	[M+H] ⁺	448.2248	448.2231	1.7	3.79	65.44	14.0

Şekil 5.25. HRMS spektrumu (4e)

5.1.6. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-formilpiperazin-1-il)asetamid (4f)



Şekil 5.26. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-formilpiperazin-1-il)asetamid (4f) molekülünün kimyasal yapısı

DeneySEL E.N.: 104,1 °C. Verim: %83.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3277 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1651 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1573 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1146 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

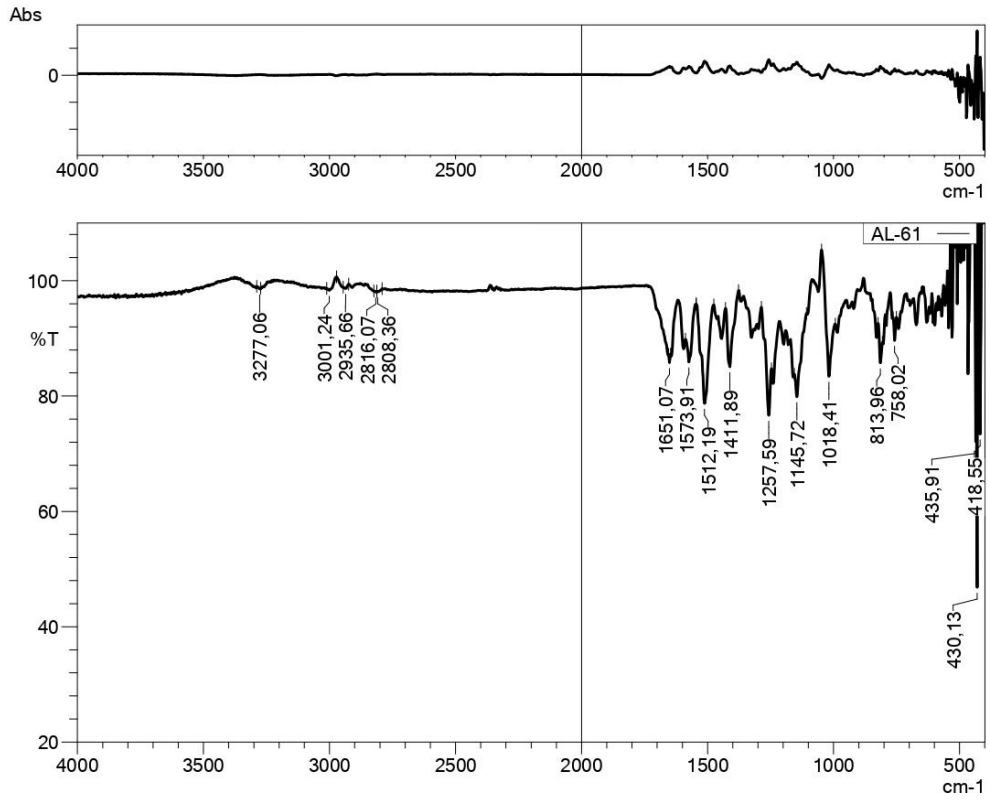
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2.37-2.49 (2H, y, piperazin), 2.53-2.63 (2H, m, piperazin), 3.22 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 3.41-3.54 (4H, m, piperazin), 3.86 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.87 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 7.10 (1H, d, $J = 8.55$ Hz, trisüstitüebenzen), 7.60 (1H, d, $J = 1.91$ Hz, Ar-CH), 7.70 (1H, s, trisüstitüebenzen), 7.75 (2H, d, $J = 8.68$ Hz, disüstitüebenzen), 7.85 (1H, m, trisüstitüebenzen), 7.88 (2H, m, disüstitüebenzen), 7.91 (1H, m, Ar-CH), 8.01 (1H, s, -CH), 10.02 (1H, s, sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 44.09, 45.13, 52.44, 53.59, 56.04, 61.87, 111.05, 111.28, 119.80, 120.67, 123.73, 130.16, 130.31, 131.06, 141.13, 143.28, 149.21, 153.56, 161.23, 165.39, 168.95, 187.64.

HRMS (ESI) (m/z) [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5$ için hesaplanan: 438.2023, bulunan: 438.2043.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 15:25:31
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAUSTU\derya\berkant\AL seri\AL-61.ispd
Spectrum name	AL-61
Sample name	AL-6
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.27. IR spektrumu (4f)



Current Data Parameters

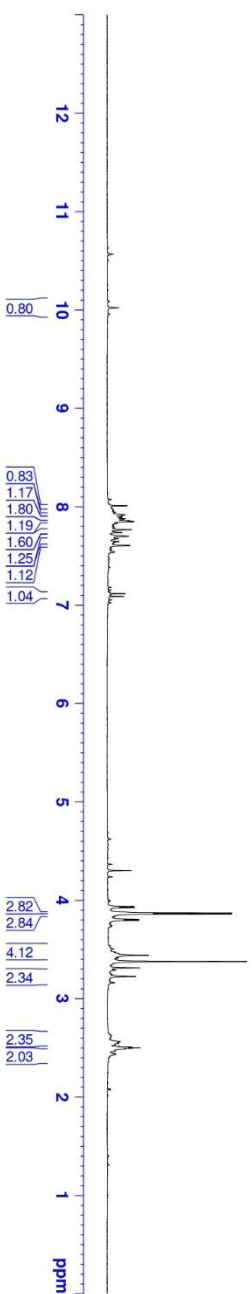
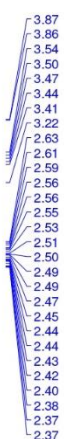
NAME AL-6
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

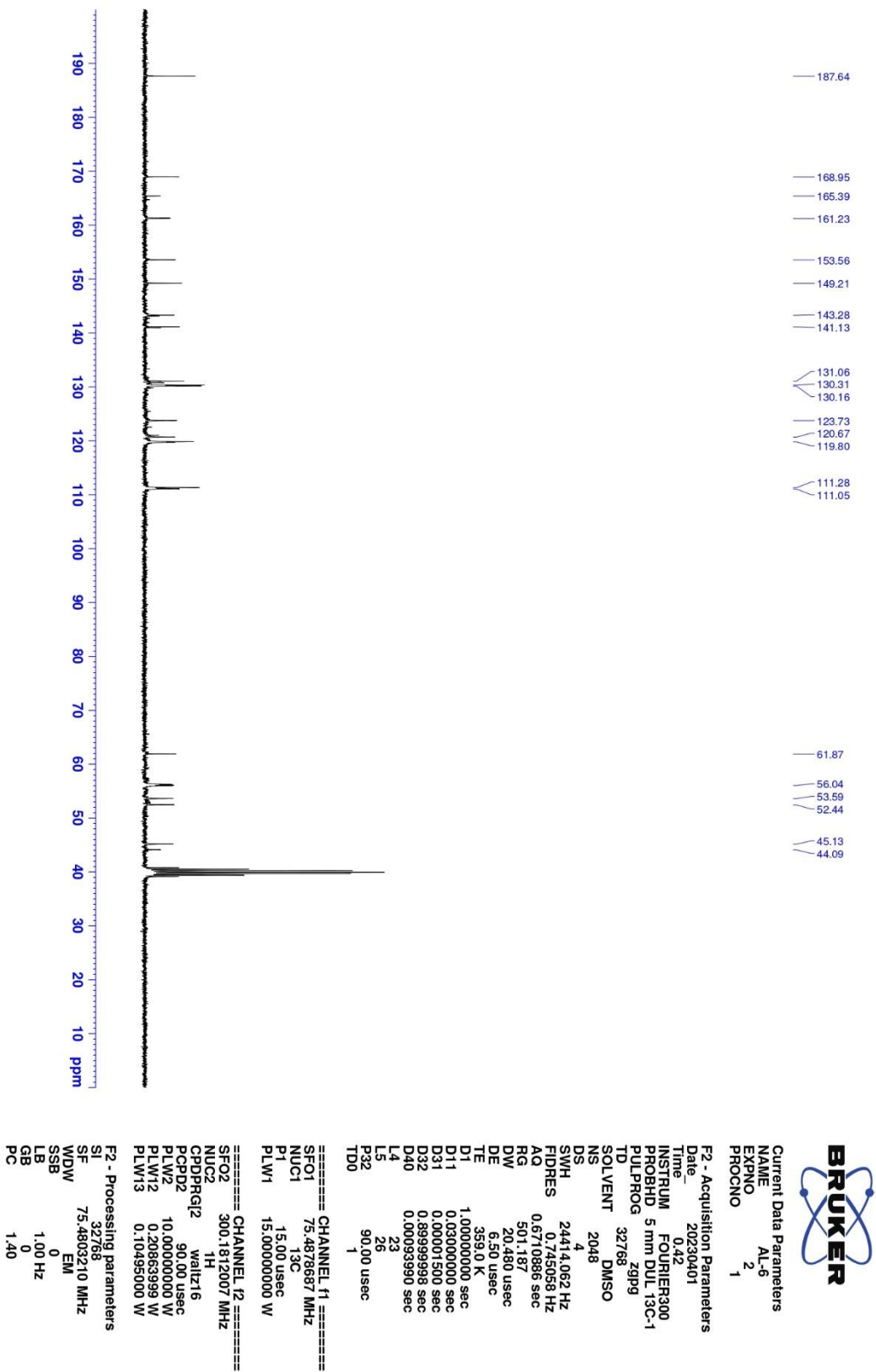
Date_ 20230401
Time 0.40
INSTRUM FOUJER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.342173 sec
RG 115.53
DW 81.820 usec
DE 6.50 usec
TE 358.3 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====

SFO1 300.181837 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.28. ¹H NMR spektrumu (4f)



Şekil 5.29. ^{13}C -NMR spektrumu (4f)

Formula Predictor Report - AL-6_202.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-6_202.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	30	O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

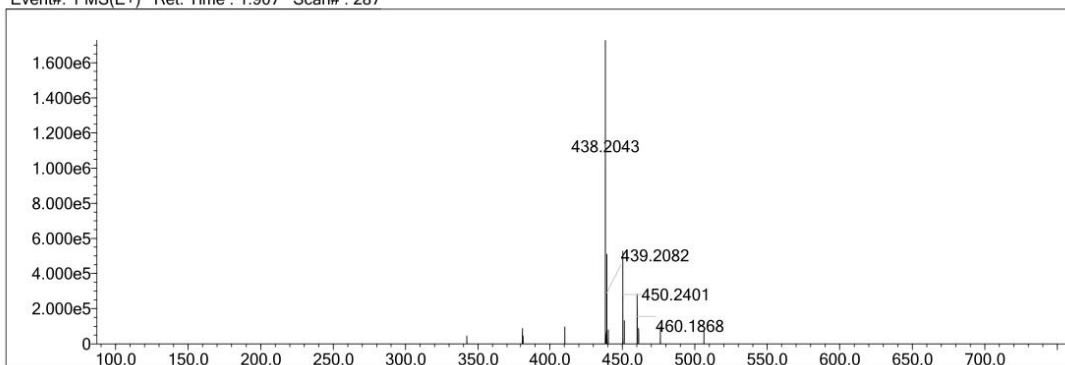
Electron Ions: odd

Use MSn Info: yes

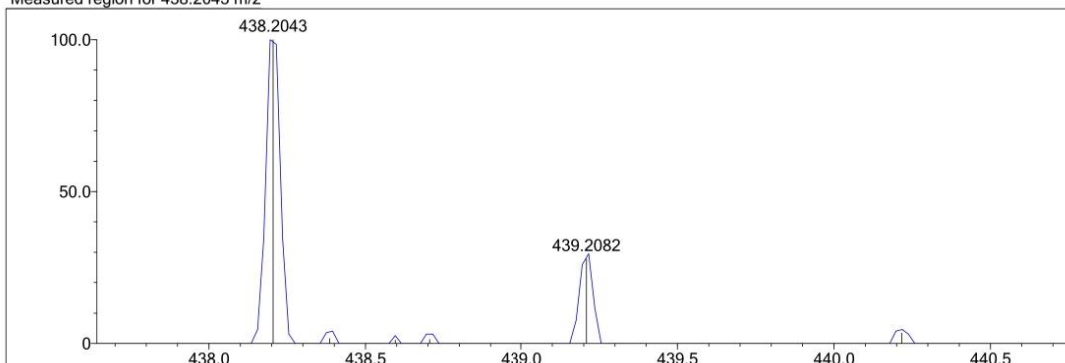
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

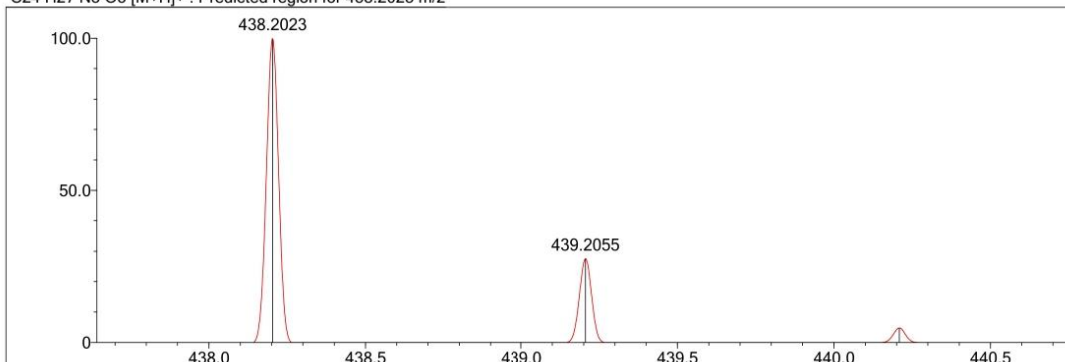
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 1.907 Scan#: 287



Measured region for 438.2043 m/z



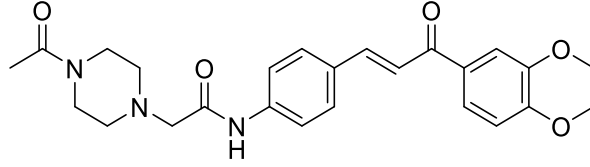
C24 H27 N3 O5 [M+H]⁺ : Predicted region for 438.2023 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
2	78.70	C24 H27 N3 O5	[M+H] ⁺	438.2043	438.2023	2.0	4.56	86.39	13.0

Şekil 5.30. HRMS spektrumu (4f)

5.1.7. 2-(4-Asetilpiperazin-1-il)-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (4g)



Şekil 5.31. 2-(4-Asetilpiperazin-1-il)-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (4g) molekülünün kimyasal yapısı

Deneyisel E.N.: 81,8 °C. Verim: %82.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3279 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1620 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1562 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1139 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

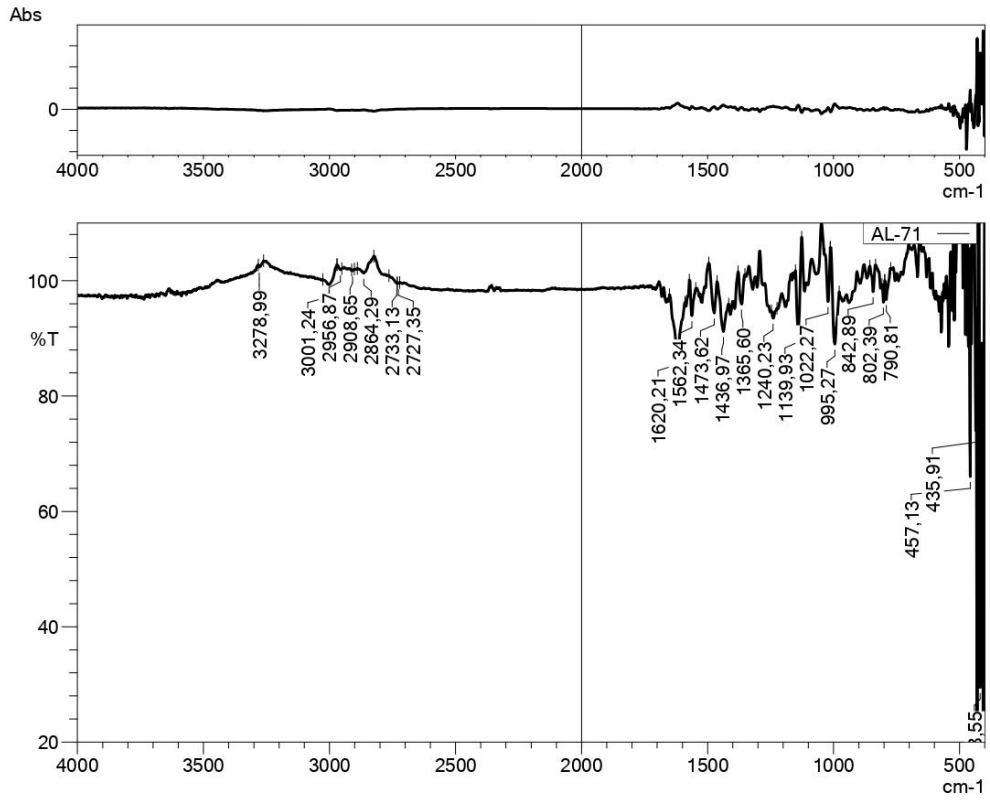
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.99 (3H, s, -CH₃), 2.45-2.49 (2H, y, piperazin), 2.51-2.57 (2H, y, piperazin), 3.20 (2H, s, -CH₂), 3.47-3.55 (4H, y, Piperazine), 3.86 (3H, s, -OCH₃), 3.87 (3H, s, -OCH₃), 7.10 (1H, d, J = 8.57 Hz, trisüstitüebenzen), 7.60 (1H, d, J =1.89 Hz, Ar-CH), 7.70 (1H, s, trisüstitüebenzen), 7.75 (2H, d, J =8.68 Hz, disüstitüebenzen), 7.85 (1H, m, trisüstitüebenzen), 7.88 (2H, m, disüstitüebenzen), 7.91 (1H, m, Ar-CH), 10.02 (1H, s, Sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 21.69, 46.01, 52.82, 56.04, 61.92, 111.06, 111.28, 119.78, 120.66, 123.72, 130.16, 130.30, 131.06, 141.14, 143.28, 149.21, 153.56, 168.62, 168.99, 187.64.

HRMS (ESI) (m/z) [$M+H$]⁺: C₂₅H₂₉N₃O₅ için hesaplanan: 452.2180, bulunan: 452.2192.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 15:31:40
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAUSTU\derya\berkant\AL seri\AL-71.ispd
Spectrum name	AL-71
Sample name	AL-7
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.32. IR spektrumu (4g)

10.02

7.92
7.92
7.91
7.89
7.88
7.85
7.85
7.76
7.74
7.70
7.61
7.11
7.09

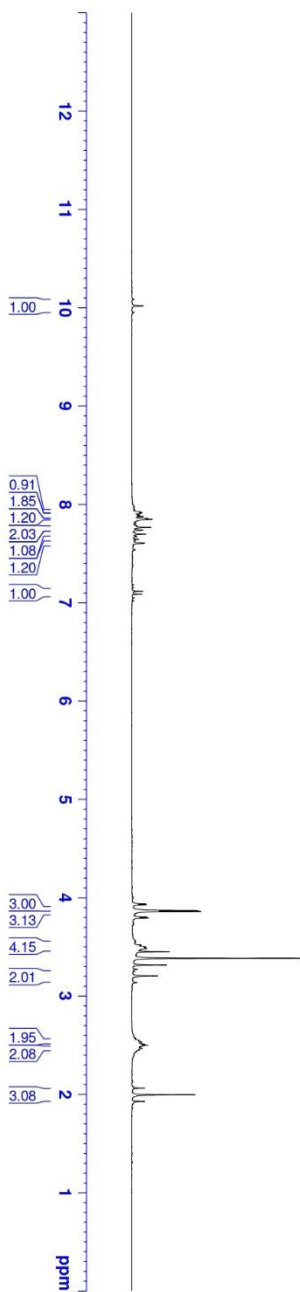
3.87
3.86
3.55
3.53
3.52
3.50
3.48
3.47
3.20
2.57
2.55
2.53
2.51
2.51
2.50
2.49
2.49
2.47
2.45
1.99



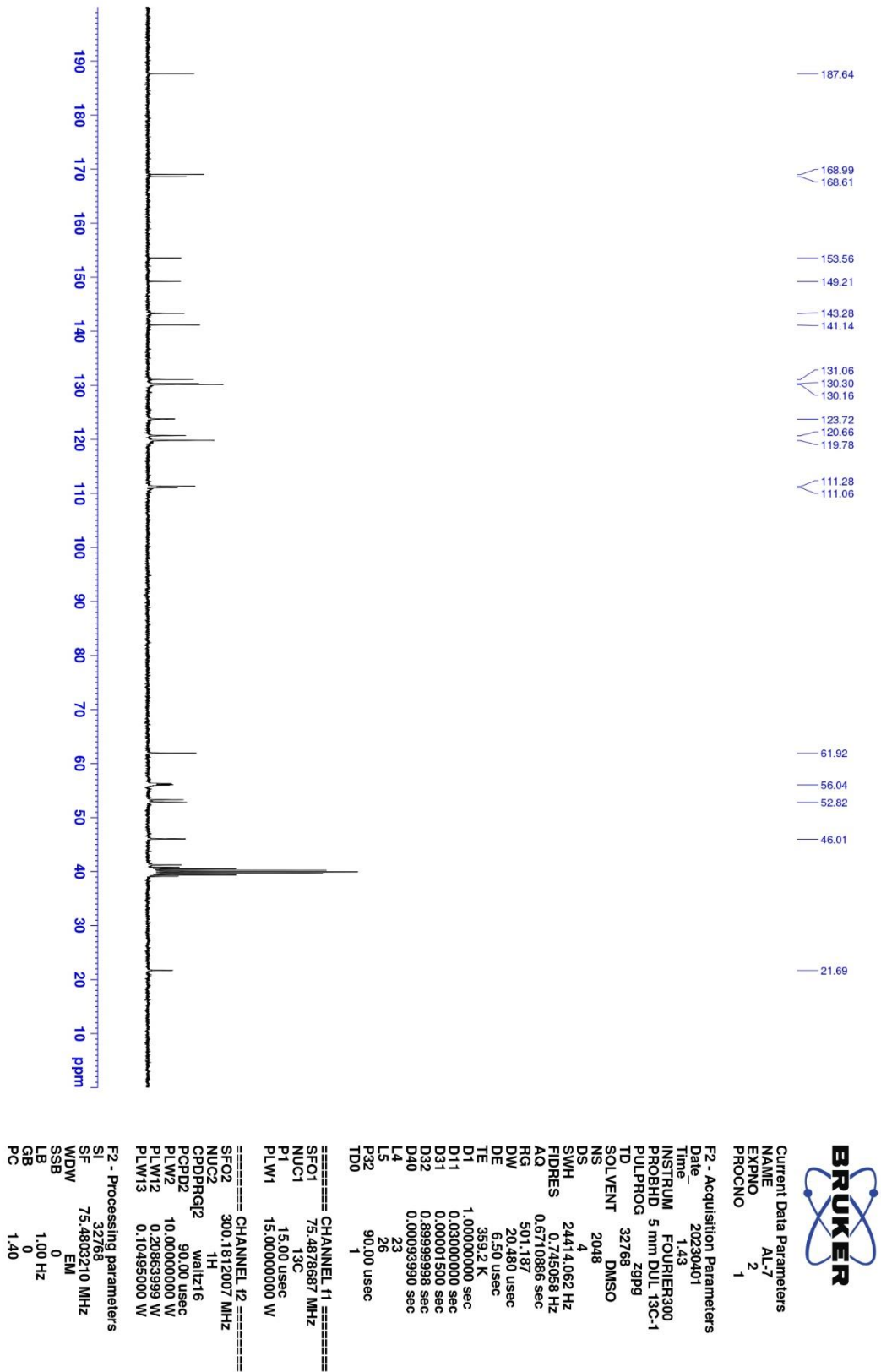
Current Data Parameters
NAME AL-7
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230401
Time 1.42
INSTRUM FOUER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.342773 sec
RG 327.5
DE 6.50 usec
TE 359.5 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1815537 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.33. ^1H -NMR spektrumu (4g)



Şekil 5.34. ^{13}C -NMR spektrumu (4g)

Formula Predictor Report - AL-7_203.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-7_203.lcd

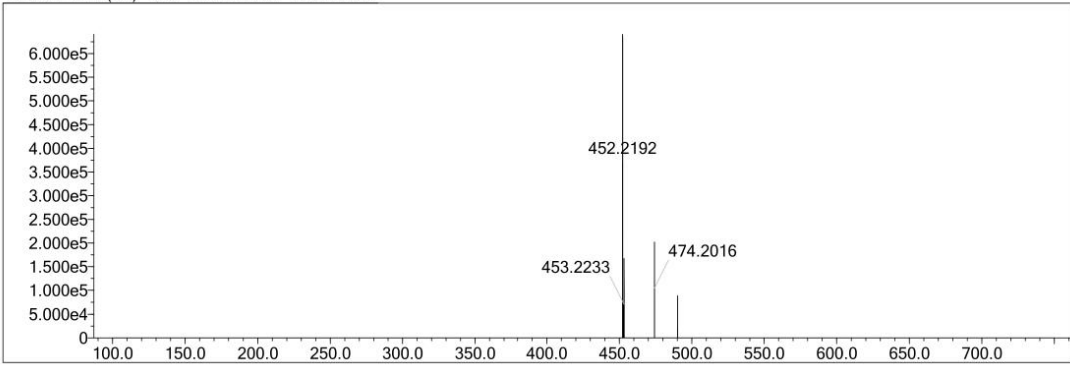
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	30	O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

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

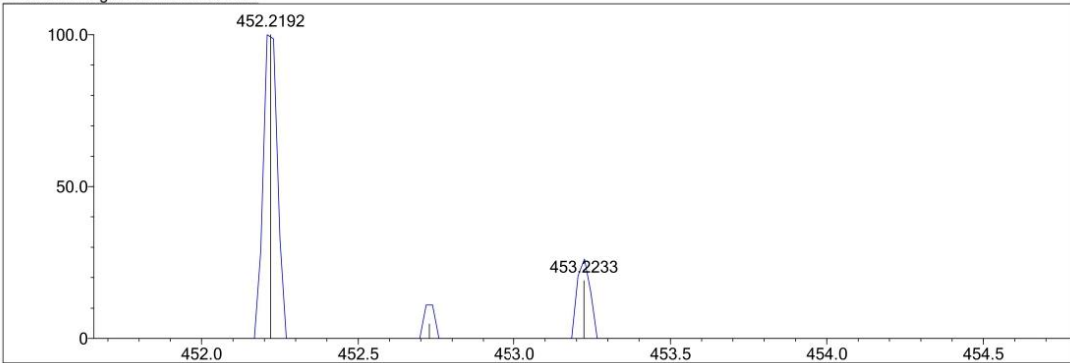
DBE Range: 5.0 - 25.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

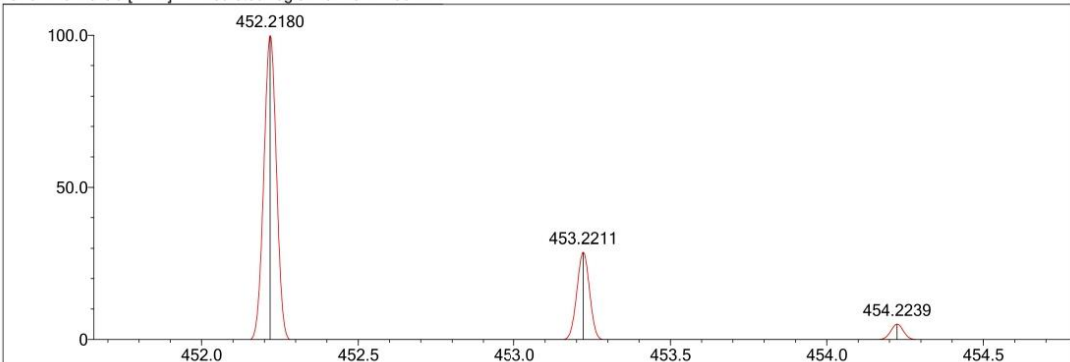
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.720 Scan#: 259



Measured region for 452.2192 m/z



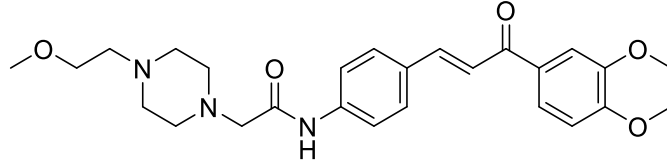
C25 H29 N3 O5 [M+H]⁺ : Predicted region for 452.2180 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	85.47	C25 H29 N3 O5	[M+H] ⁺	452.2192	452.2180	1.2	2.65	89.15	13.0

Şekil 5.35. HRMS spektrumu (4g)

5.1.8. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(2-metoksietil)piperazin-1-il)asetamid (4h)



Şekil 5.36. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(2-metoksietil)piperazin-1-il)asetamid (4h) molekülünün kimyasal yapısı

Deneyisel E.N.: 53,5 °C. Verim: %77.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3265 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1676 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1645 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1148 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

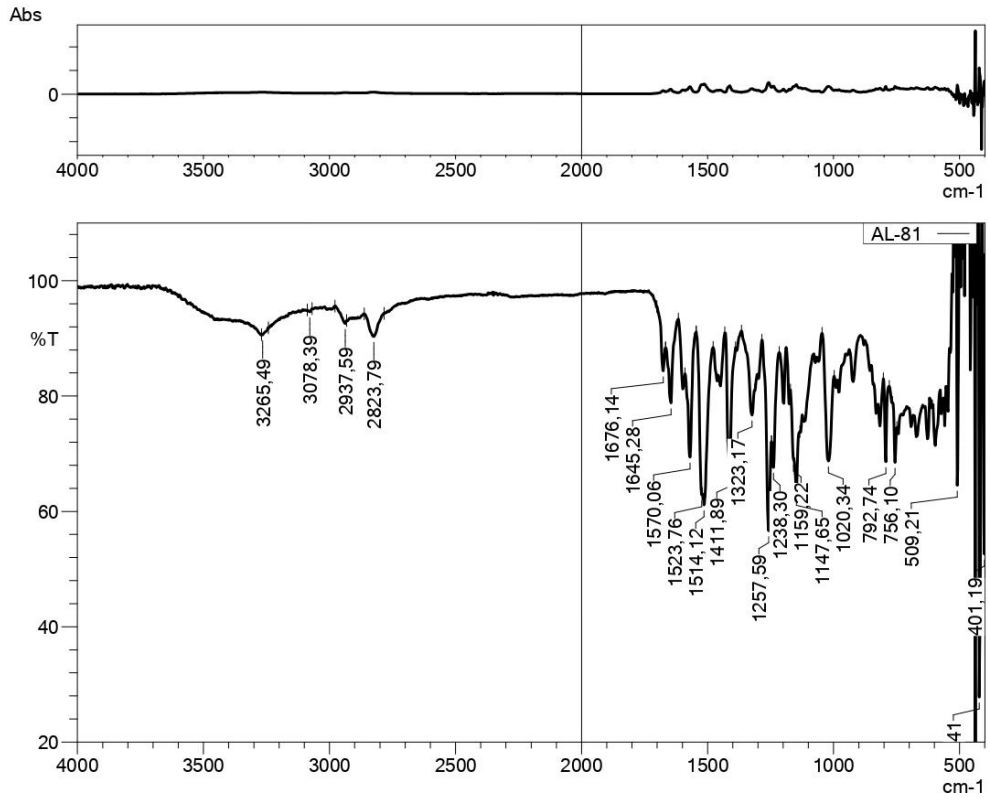
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-*d*6) δ (ppm): 2.38-2.49 (8H, m, Piperazine), 3.14 (2H, d, $J=7.90$ Hz, $-\text{CH}_2$), 3.22 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 3.29 (2H, d, $J=4.95$ Hz, $-\text{CH}_2$), 3.42 (3H, m, $-\text{CH}_3$), 3.86 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.87 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 7.10 (1H, d, $J=8.56$ Hz, trisüstitüebenzen), 7.60 (1H, d, $J=1.95$ Hz, Ar-CH), 7.69 (1H, s, trisüstitüebenzen), 7.74 (2H, d, $J=8.77$ Hz, disüstitüebenzen), 7.84 (1H, m, trisüstitüebenzen), 7.88 (2H, m, disüstitüebenzen), 7.92 (1H, m, Ar-CH), 9.94 (1H, s, Sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO-*d*6) δ (ppm): 53.28, 53.43, 56.26, 57.51, 58.46, 62.36, 70.39, 111.09, 111.29, 119.72, 120.66, 123.73, 130.17, 130.26, 131.08, 141.15, 143.29, 149.22, 153.56, 169.12, 187.66.

HRMS (ESI) (m/z) [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5$ için hesaplanan: 468.2493, bulunan: 468.2500.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 15:37:31
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAUSTU\derya\berkant\AL serisi\AL-81.ispd
Spectrum name	AL-81
Sample name	AL-8
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel

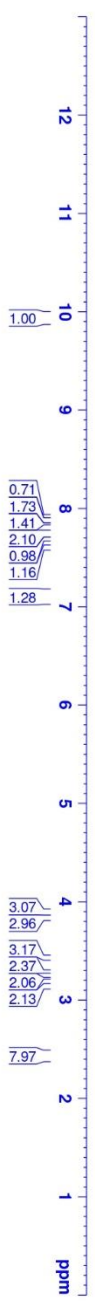


Şekil 5.37. IR spektrumu (4h)

9.94

7.92
7.91
7.90
7.89
7.88
7.87
7.85
7.84
7.75
7.72
7.69
7.61
7.60
7.12
7.09

3.87
3.86
3.43
3.41
3.30
3.28
3.22
3.16
3.13
2.49
2.48
2.46
2.44
2.43
2.42
2.40
2.38

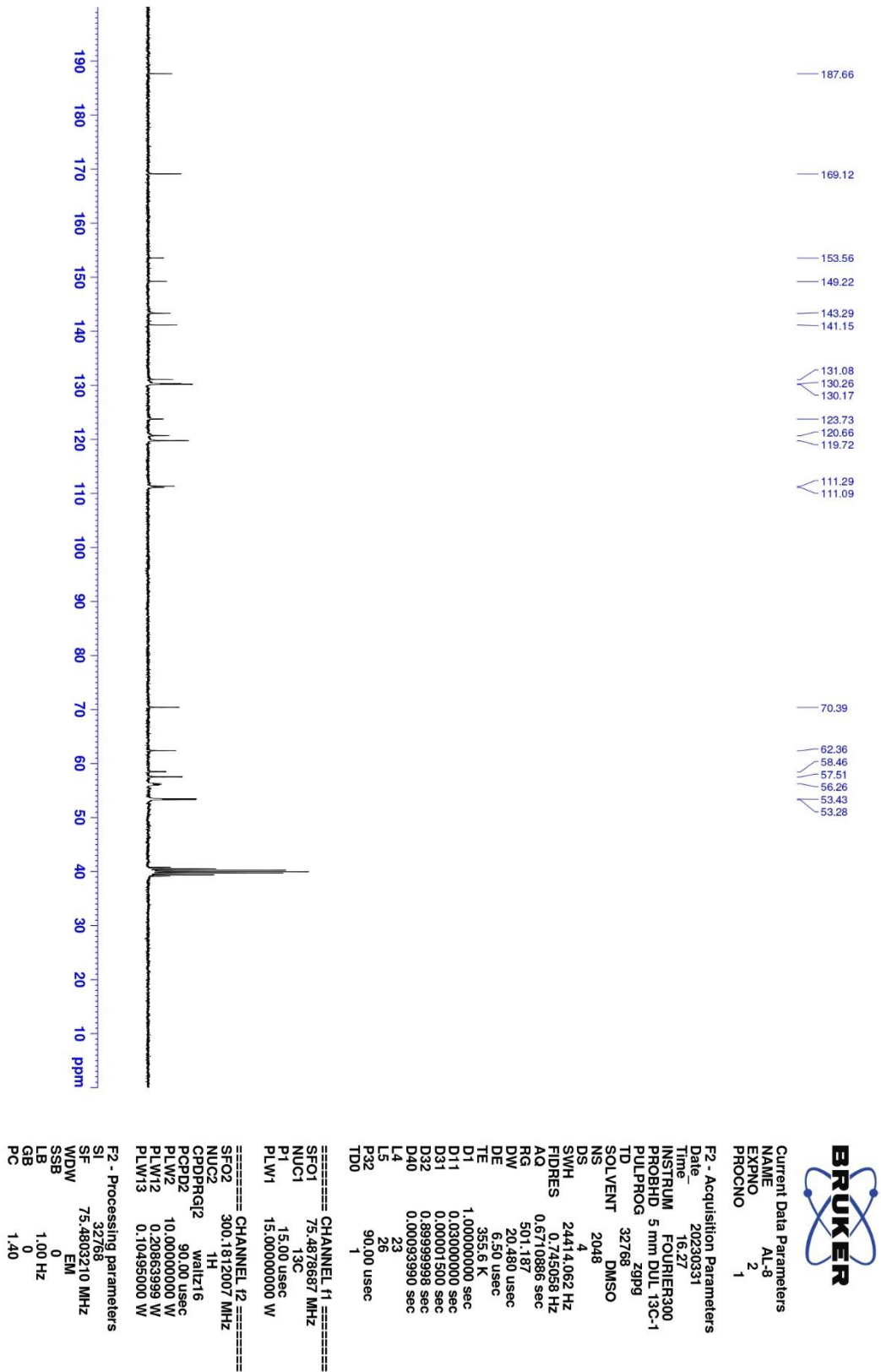


Current Data Parameters
NAME AL-8
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230331
Time 16.25
INSTRUM FIDRES300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.342773 sec
RG 320
DE 181.920 usec
TE 300.2 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.181557 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec W
PLW1 10.00000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.180000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

Şekil 5.38. ^1H -NMR spektrumu (4h)



Şekil 5.39. ^{13}C -NMR spektrumu (4h)

Formula Predictor Report - AL-8_204.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-8_204.lcd

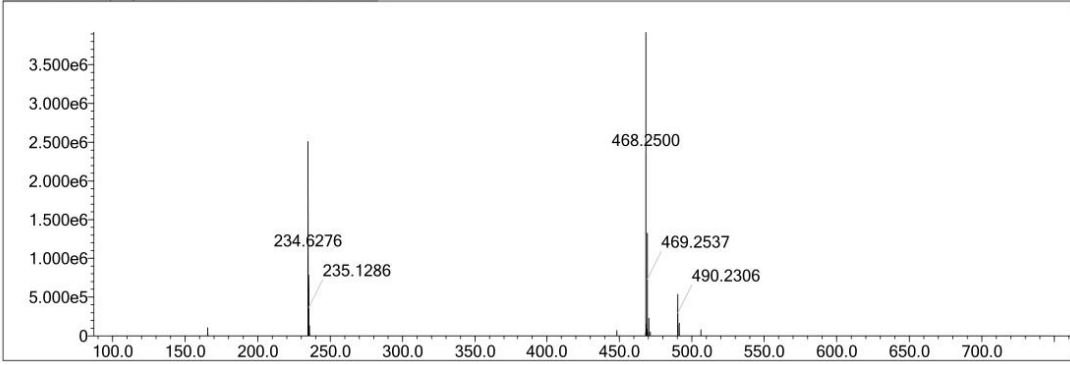
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	33	O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

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

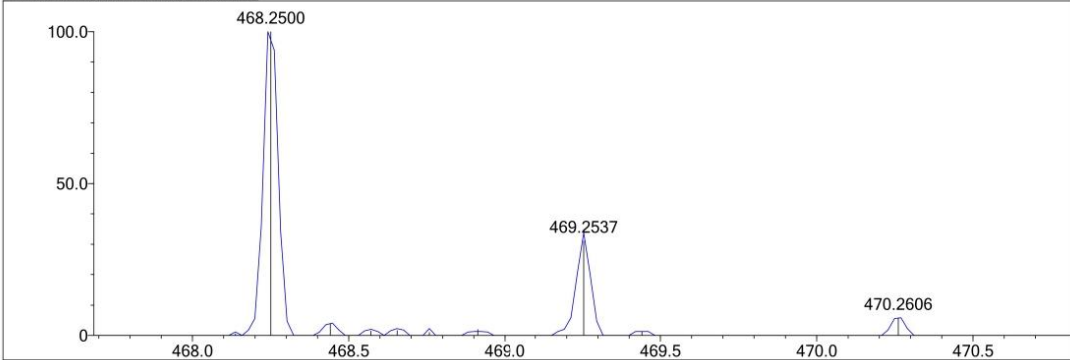
DBE Range: 5.0 - 25.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

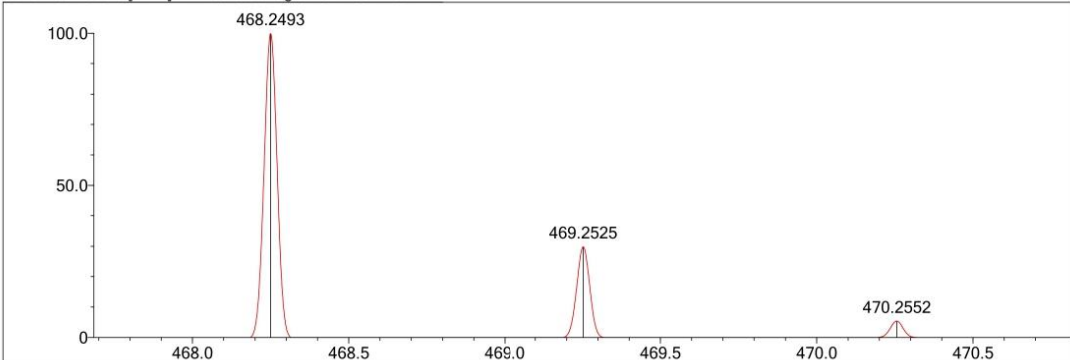
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.920 Scan#: 289



Measured region for 468.2500 m/z



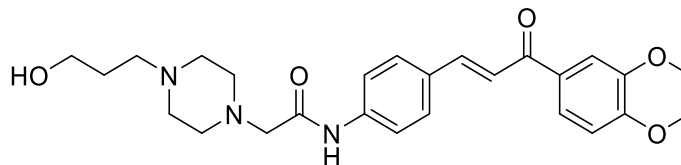
C26 H33 N3 O5 [M+H]⁺ : Predicted region for 468.2493 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	97.82	C26 H33 N3 O5	[M+H] ⁺	468.2500	468.2493	0.7	1.49	99.03	12.0

Şekil 5.40. HRMS spektrumu (4h)

5.1.9. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(3-hidroksipropil)piperazin-1-il)asetamid (4i)



Şekil 5.41. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(3-hidroksipropil)piperazin-1-il)asetamid (4i) molekülünün kimyasal yapısı

Deneyisel E.N.: 152,9 °C. Verim: %78.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3287 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1688 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1651 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1150 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

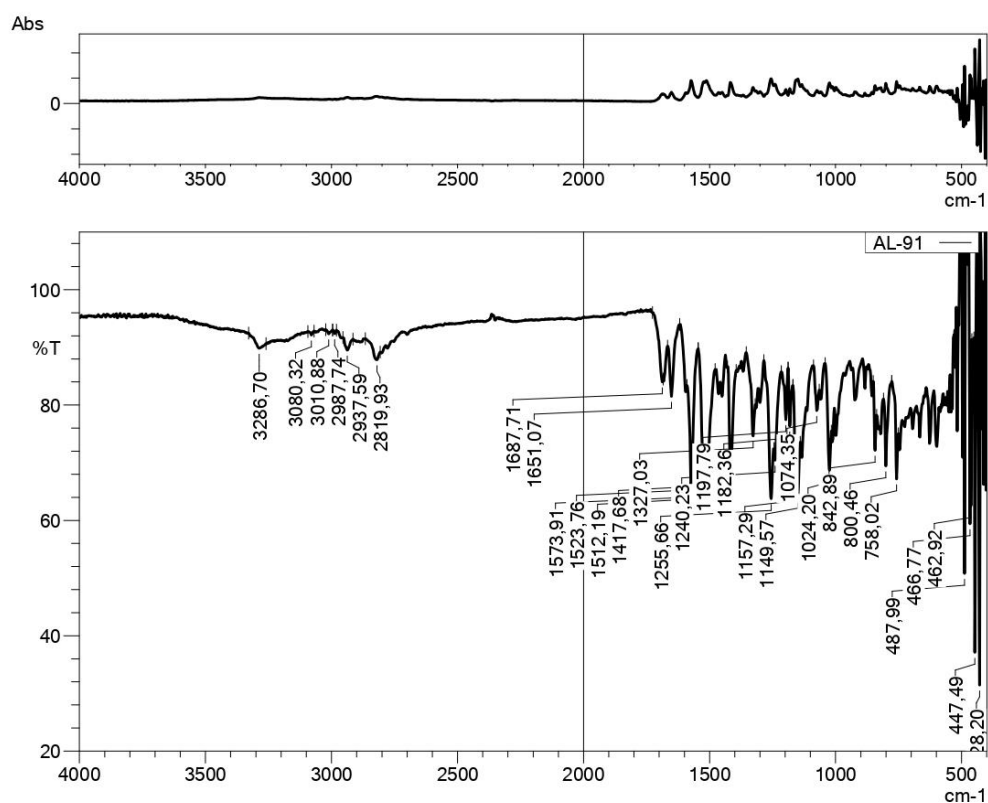
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.56 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.20-2.49 (10H, m, piperazin, $-\text{CH}_2$ -), 2.64 (1H, m, CH), 3.14 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 3.44 (2H, d, $J=6.25$ Hz, $-\text{CH}_2$), 3.86 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.87 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 4.49 (1H, y, $-\text{OH}$), 7.10 (1H, d, $J=8.57$ Hz, trisüstitüebenzen), 7.60 (1H, d, $J=1.92$ Hz, Ar-CH), 7.69 (1H, s, trisüstitüebenzen), 7.74 (2H, d, $J=8.74$ Hz, disüstitüebenzen), 7.84 (2H, d, $J=3.22$ Hz, disubstitutedbenzene), 7.88 (1H, m, trisubstitutebenzene), 7.91 (1H, m, Ar-CH), 9.94 (1H, s, Sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 30.03, 53.14, 53.32, 55.60, 56.04, 59.90, 62.35, 111.05, 111.28, 119.71, 120.64, 123.72, 130.17, 130.26, 131.07, 141.15, 143.29, 149.21, 153.55, 169.12, 187.64.

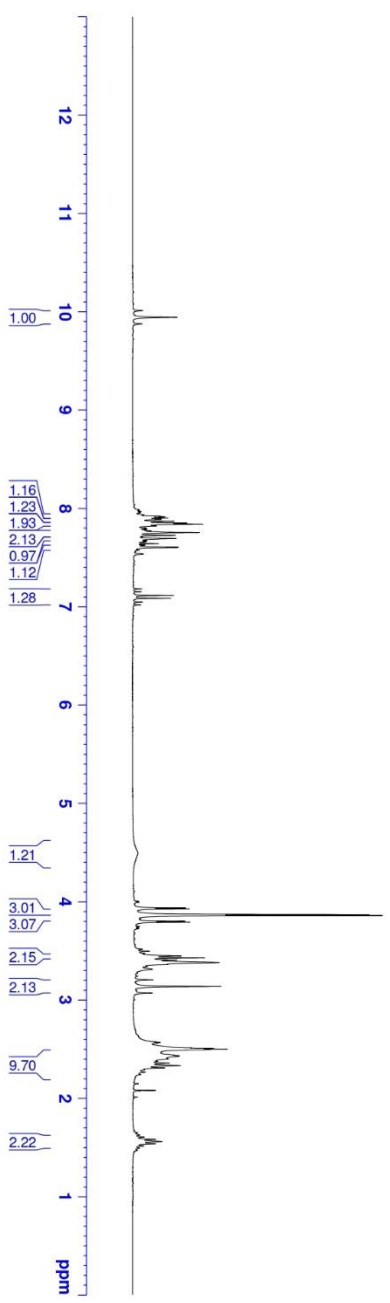
HRMS (ESI) (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5$ için hesaplanan: 468.2493, bulunan: 468.2503.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 15:42:32
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAUSTU\derya\berkant\AL seri\AL-91.ispd
Spectrum name	AL-91
Sample name	AL-9
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel

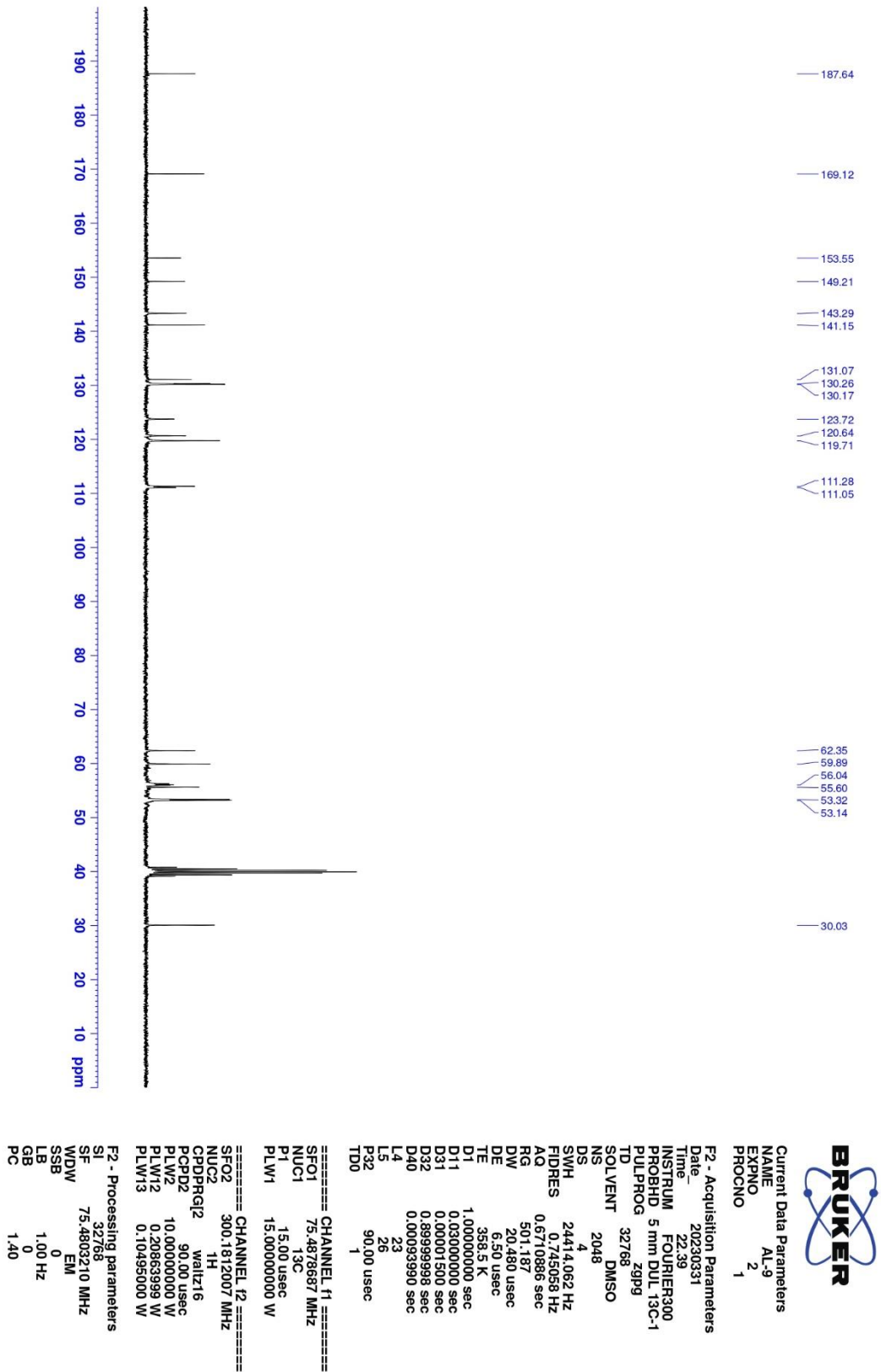


Şekil 5.42. IR spektrumu (4i)



Current Data Parameters
NAME AL-9
EXPNO 1
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230331
Time 22:37
INSTRUM FORTIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.345173 sec
RG 327.5
DE 6.50 usec
TE 358.4 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1
===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1815537 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

Şekil 5.43. ^1H -NMR spektrumu (4i)



Şekil 5.44. ^{13}C -NMR spektrumu (4i)

Formula Predictor Report - AL-9_205.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-9_205.lcd

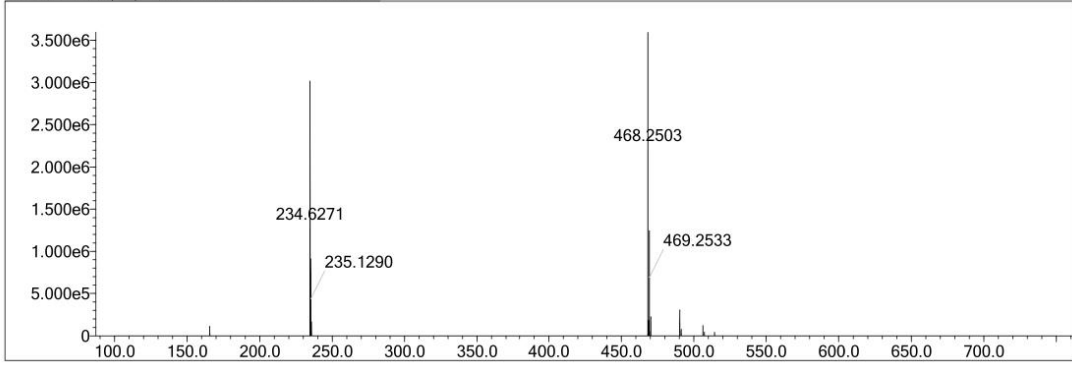
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	33	O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

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

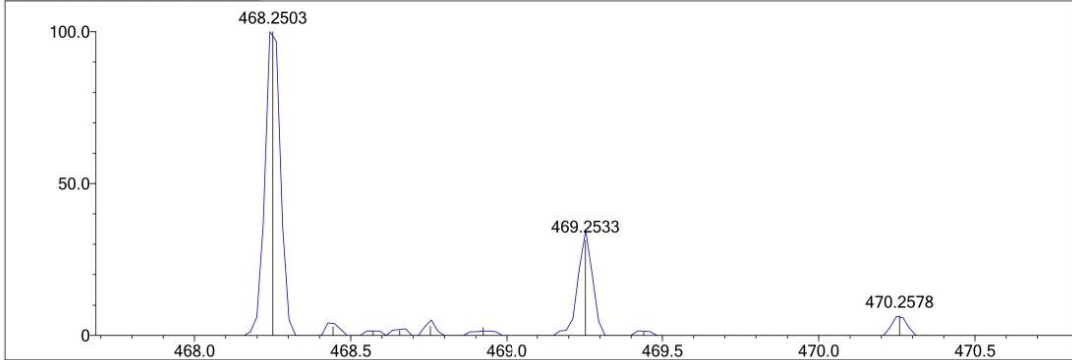
DBE Range: 5.0 - 25.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

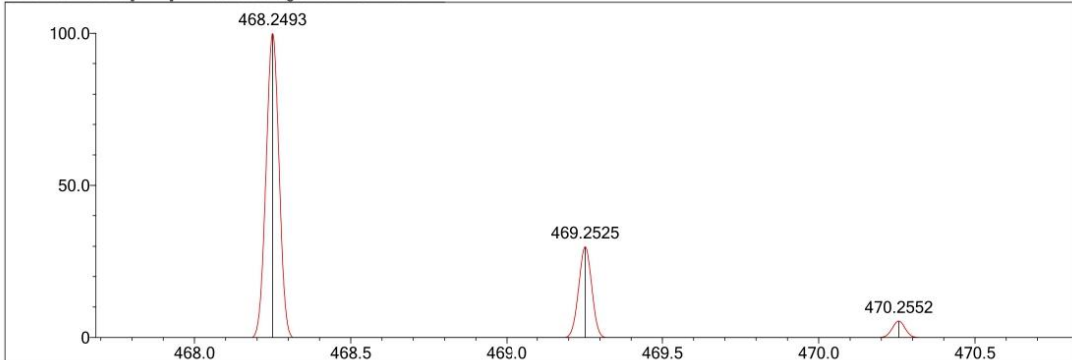
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.813 Scan#: 273



Measured region for 468.2503 m/z



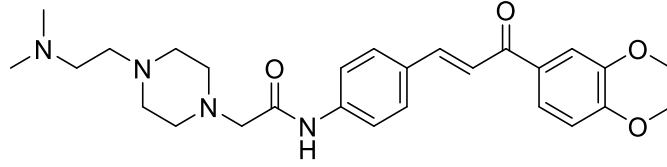
C26 H33 N3 O5 [M+H]⁺ : Predicted region for 468.2493 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	94.46	C26 H33 N3 O5	[M+H] ⁺	468.2503	468.2493	1.0	2.14	97.23	12.0

Şekil 5.45. HRMS spektrumu (4i)

5.1.10. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)asetamid (4j)



Şekil 5.46. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)asetamid (4j) molekülünün kimyasal yapısı

Deneyisel E.N.: 149,0 °C. Verim: %84.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3289 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1682 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1647 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1152 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

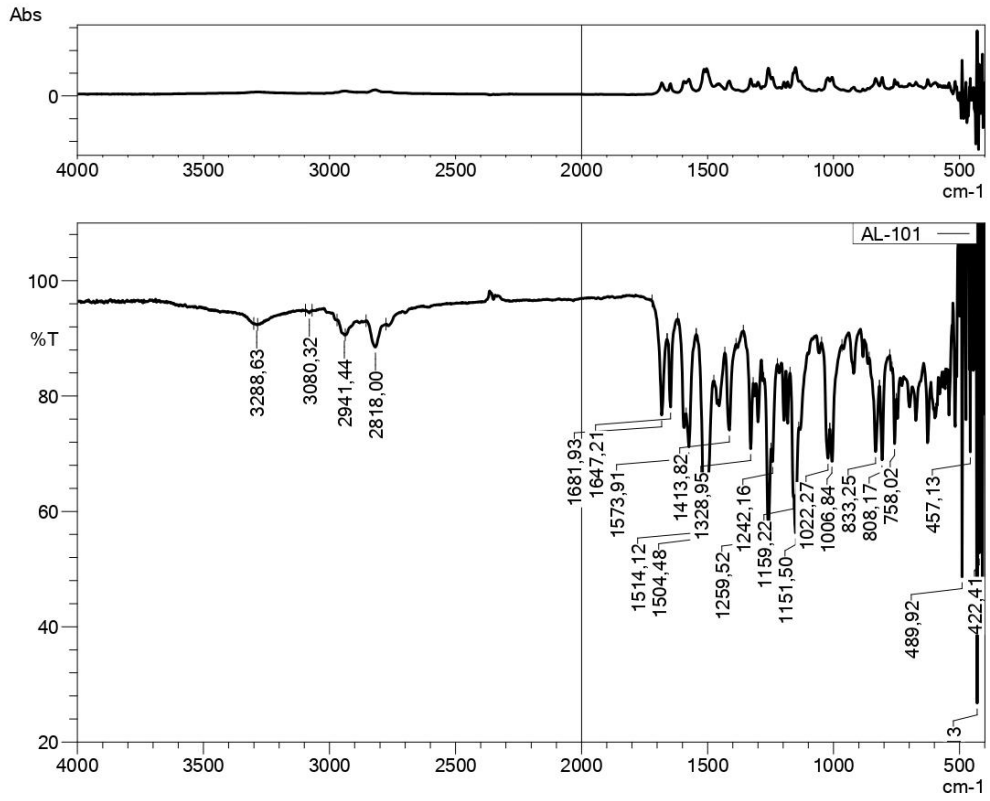
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-*d*6) δ (ppm): 2.11 (6H, s, dimetilamino), 2.24-2.41 (8H, m, piperazin), 2.44 (4H, d, $J=1.80$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.13 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 3.86 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.87 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 7.10 (1H, d, $J=8.59$ Hz, trisüstitüebenzen), 7.60 (1H, d, $J=1.98$ Hz, Ar-CH), 7.69 (1H, s, trisüstitüebenzen), 7.74 (2H, d, $J=8.74$ Hz, disüstitüebenzen), 7.84 (1H, d, $J=3.30$ Hz, trisüstitüebenzen), 7.88 (2H, m, disüstitüebenzen), 7.91 (1H, d, $J=2.10$ Hz, Ar-CH), 9.99 (1H, s, Sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO-*d*6) δ (ppm): 46.02, 53.30, 53.40, 56.05, 56.40, 57.12, 62.35, 111.09, 111.29, 119.71, 120.64, 123.71, 130.15, 130.24, 131.08, 141.18, 143.29, 149.22, 153.56, 169.12, 187.65.

HRMS (ESI) (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4$ için hesaplanan: 241.1441, bulunan: 241.1442.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 15:46:43
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAUSTU\derya\berkant\AL serisi\AL-101.ispd
Spectrum name	AL-101
Sample name	AL-10
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.47. IR spektrumu (4j)

9.99

7.92
7.91
7.90
7.89
7.88
7.86
7.85
7.83
7.75
7.73
7.69
7.61
7.60
7.11
7.08

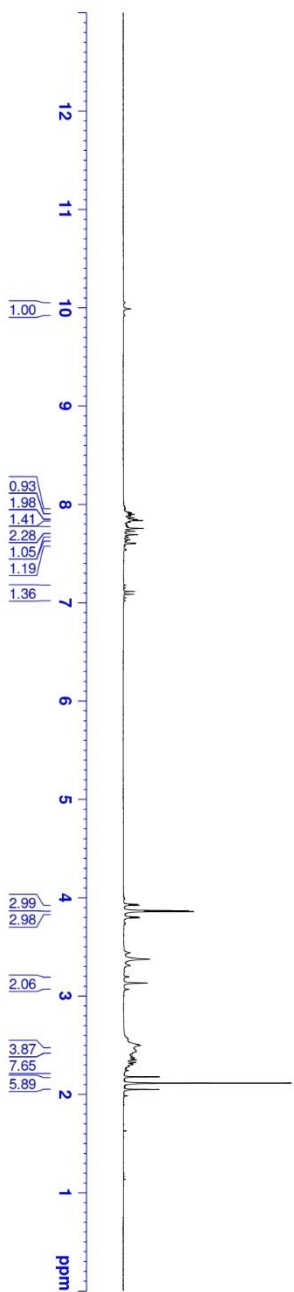
3.87
3.86
3.13
2.50
2.50
2.49
2.44
2.44
2.41
2.40
2.39
2.37
2.36
2.35
2.32
2.31
2.30
2.29
2.28
2.27
2.26
2.24
2.11



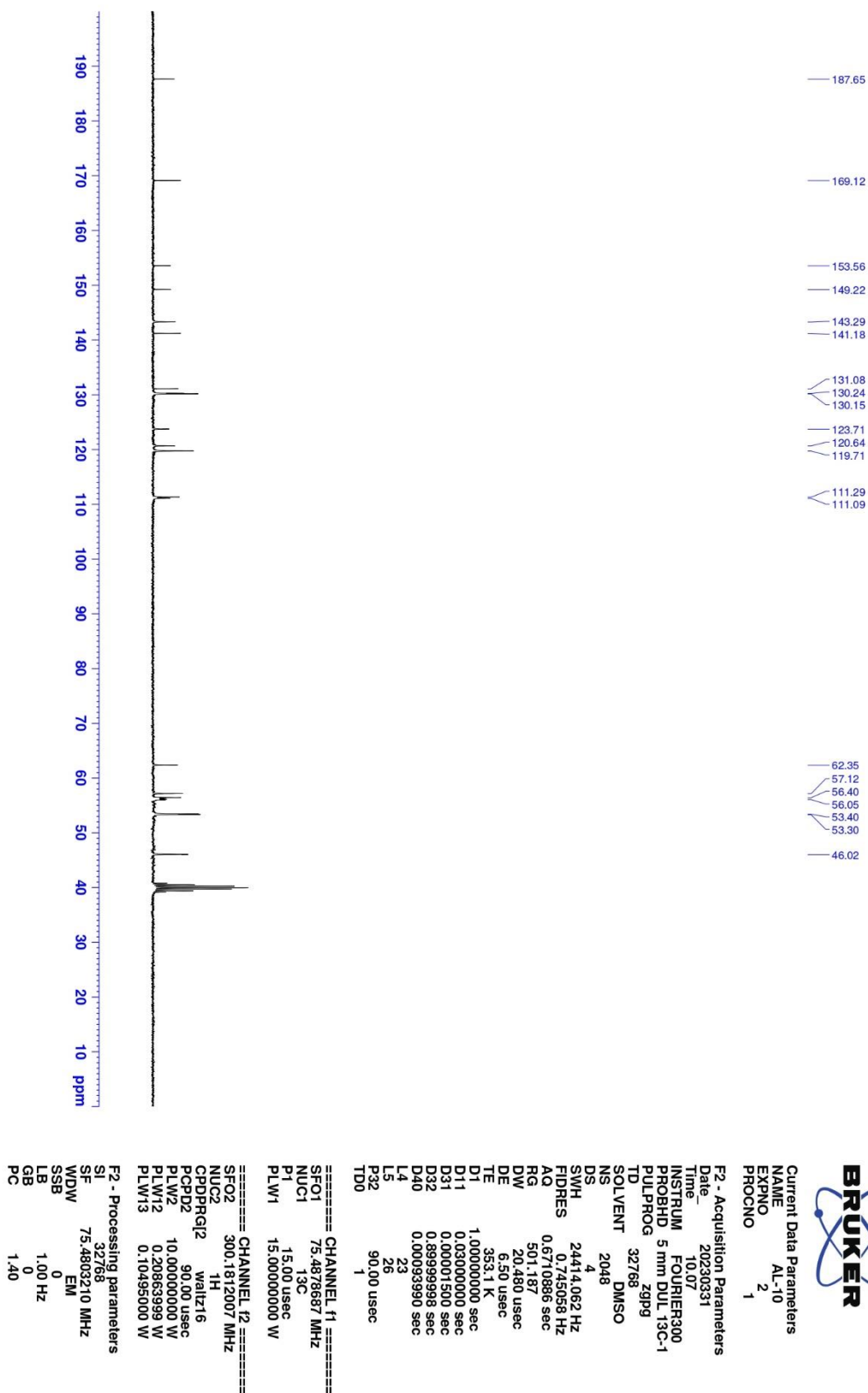
Current Data Parameters
NAME AL-10
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230331
Time 10.05
INSTRUM FOUER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.345173 sec
RG 327.500
DE 81.920 usec
TE 353.8 K
TD0 1
D1 3.00000000 sec

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.181557 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.180000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.20 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.48. ^1H -NMR spektrumu (4j)



Şekil 5.49. ^{13}C -NMR spektrumu (4j)

Formula Predictor Report - AL-10_206.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-10_206.lcd

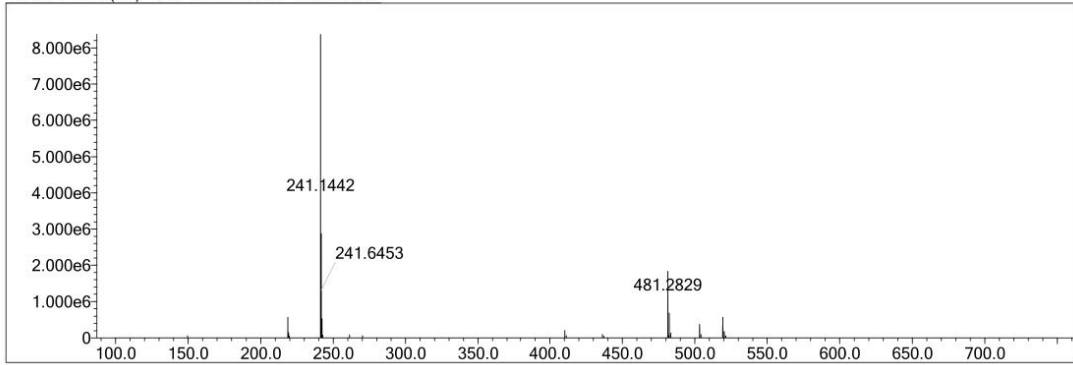
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	36	O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

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

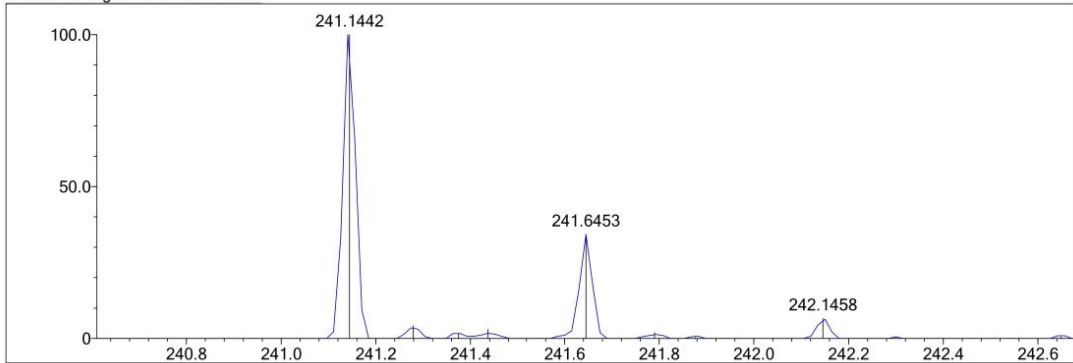
DBE Range: 5.0 - 25.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

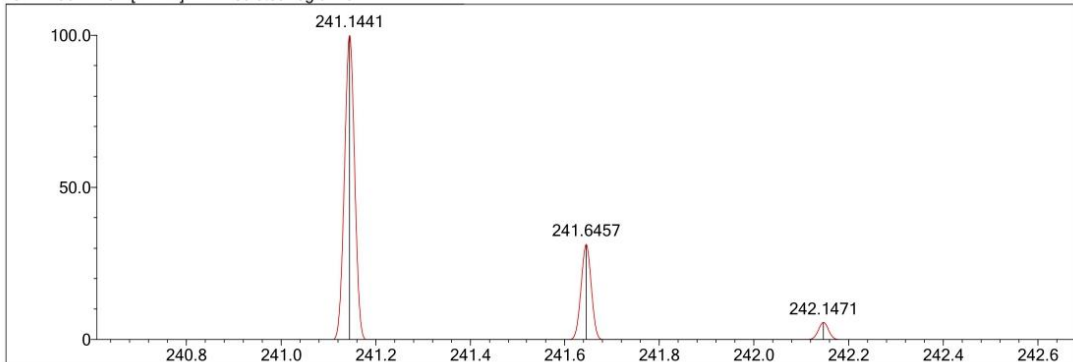
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.720 Scan#: 259



Measured region for 241.1442 m/z



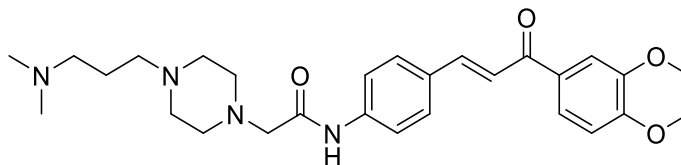
C27 H36 N4 O4 [M+2H]²⁺ : Predicted region for 241.1441 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	80.57	C27 H36 N4 O4	[M+2H] ²⁺	241.1442	241.1441	0.1	0.41	80.57	12.0

Şekil 5.50. HRMS spektrumu (4j)

5.1.11. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)asetamid (4k)



Şekil 5.51. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)asetamid (**4k**) molekülünün kimyasal yapısı

Deneyisel E.N.: 129,3 °C. Verim: %80.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3291 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1682 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1649 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1152 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

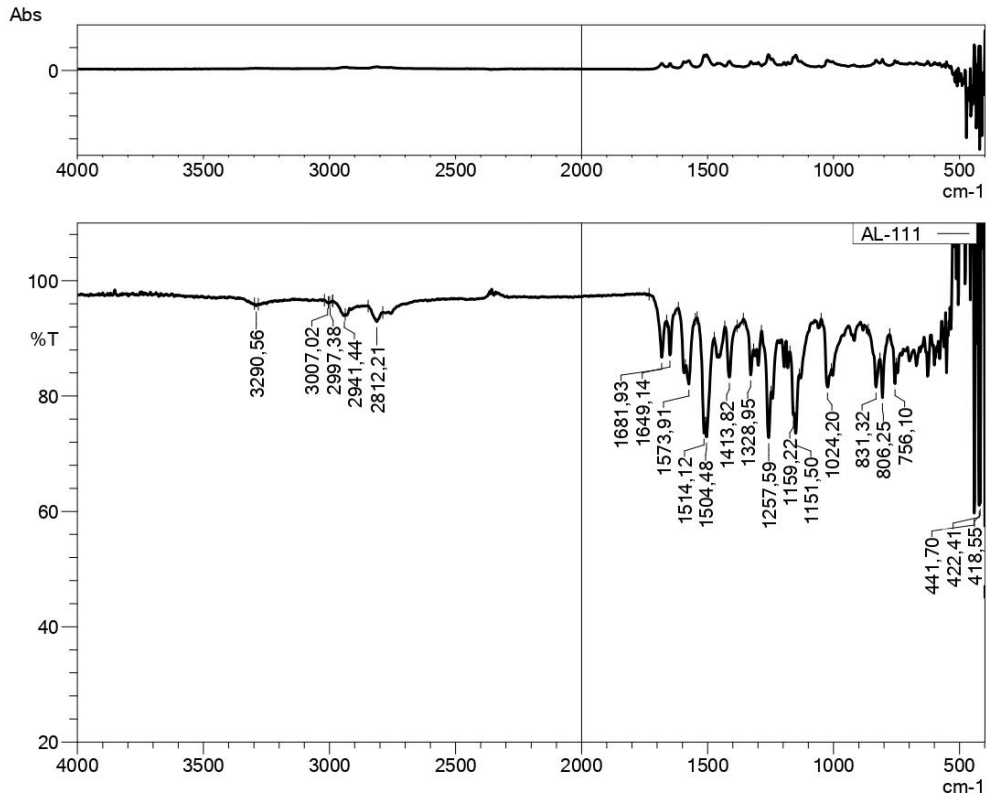
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-*d*6) δ (ppm): 1.51 (2H, m, -CH₂), 2.08 (6H, s, dimetilamino), 2.18 (2H, d, $J=7.17$ Hz, -CH₂), 2.24 (2H, d, $J=7.35$ Hz, -CH₂) 2.28-2.49 (8H, y, piperazin), 3.14 (2H, s, -CH₂), 3.86 (3H, s, -OCH₃), 3.87 (3H, s, -OCH₃), 7.10 (1H, d, $J= 8.59$ Hz, trisübstütüebenzen), 7.60 (1H, d, $J=1.86$ Hz, Ar-CH), 7.69 (1H, s, trisübstütüebenzen), 7.75 (2H, d, $J=8.71$ Hz, disübstütüebenzen), 7.84 (1H, d, $J=3.87$ Hz, trisübstütüebenzen), 7.88 (2H, m, disübstütüebenzen), 7.92 (1H, d, $J=1.86$ Hz, Ar-CH), 10.02 (1H, s, Sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO-*d*6) δ (ppm): 25.03, 45.67, 53.13, 53.30, 56.04, 56.47, 57.77, 62.34, 111.06, 111.27, 119.71, 120.62, 123.71, 130.15, 130.23, 131.08, 141.20, 143.30, 149.21, 153.55, 169.13, 187.64.

HRMS (ESI) (m/z) [$\text{M}+\text{H}$]⁺: C₂₈H₃₈N₄O₄ için hesaplanan: 248.1519, bulunan: 248.1513.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 15:50:52
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAUSTU\derya\berkant\AL seri\AL-111.ispd
Spectrum name	AL-111
Sample name	AL-11
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm ⁻¹]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.52. IR spektrumu (4k)

10.02

7.92
7.91
7.90
7.89
7.88
7.86
7.85
7.83
7.76
7.73
7.69
7.61
7.11
7.08

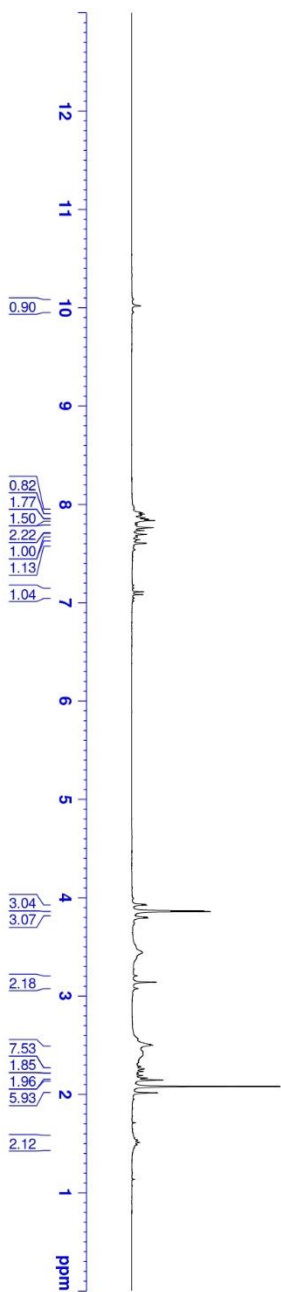
3.87
3.86
3.14
2.51
2.50
2.49
2.49
2.46
2.43
2.43
2.40
2.35
2.32
2.30
2.28
2.26
2.23
2.19
2.16
2.08
1.57
1.56
1.53
1.51
1.48
1.46



Current Data Parameters
NAME AL-11
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 2023031
Time 19.31
INSTRUM FIDRES300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.341773 sec
RG 326.40
DE 81.920 usec
TE 357.1 K
TD0 1
3.000000000 sec

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1815537 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
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. ^{13}C -NMR spektrumu (4k)

Formula Predictor Report - AL-11_207.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-11_207.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	38	O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

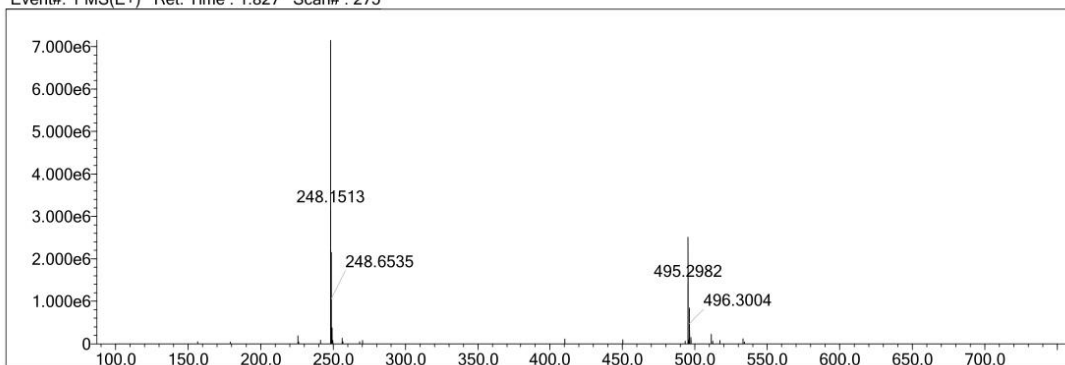
Electron Ions: odd

Use MSn Info: yes

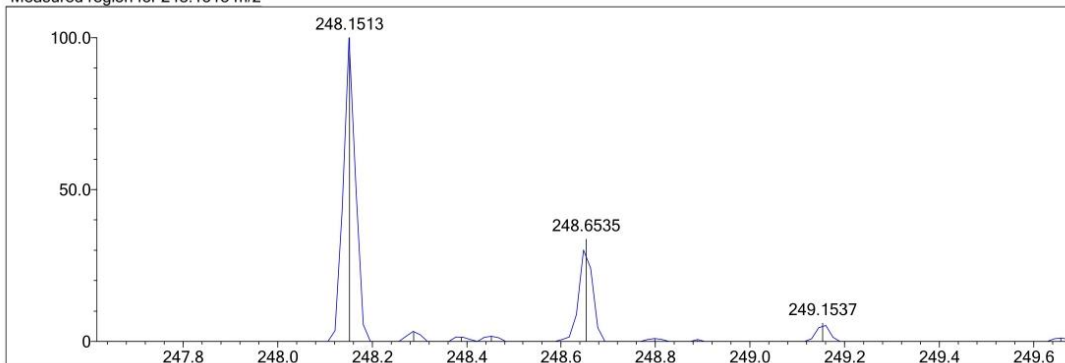
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

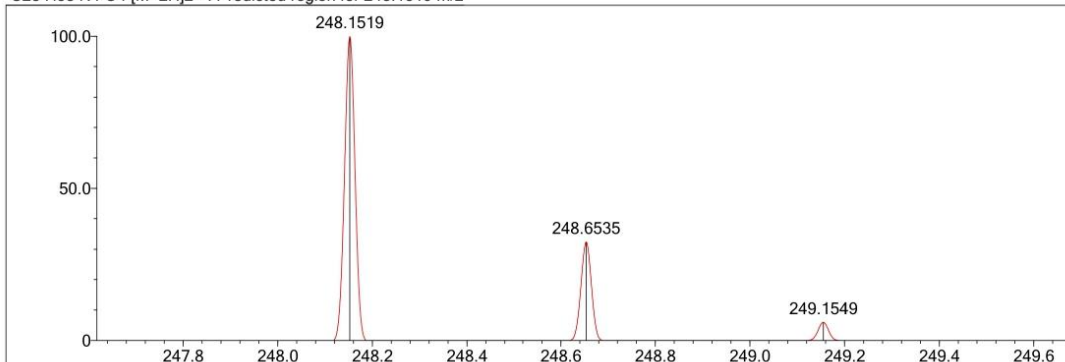
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.827 Scan#: 275



Measured region for 248.1513 m/z



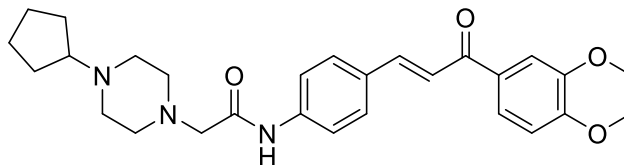
C28 H38 N4 O4 [M+2H]²⁺ : Predicted region for 248.1519 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	77.68	C28 H38 N4 O4	[M+2H] ²⁺	248.1513	248.1519	-0.6	-2.42	80.54	12.0

Şekil 5.55. HRMS spektrumu (4k)

5.1.12. 2-(4-Siklopentilpiperazin-1-il)-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (4I)



Şekil 5.56. 2-(4-Siklopentilpiperazin-1-il)-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (4I) molekülünün kimyasal yapısı

Deneyisel E.N.: 72,8 °C. Verim: %78.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3265 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1694 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1657 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1163 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

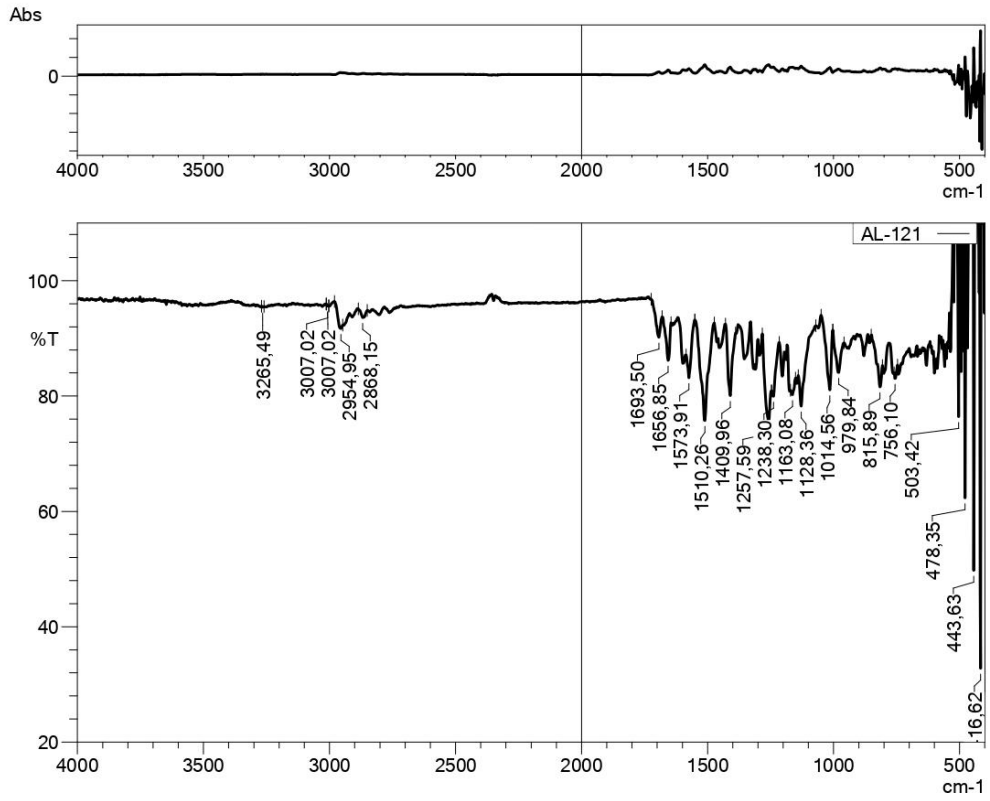
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.28 (2H, m, siklopentil), 1.47 (2H, m, siklopentil), 1.55 (2H, m, siklopentil), 1.75 (2H, m, siklopentil), 2.33-2.49 (8H, y, piperazin), 2.56 (1H, m, siklopentil), 3.12 (2H, s, -CH₂), 3.86 (3H, s, -OCH₃), 3.87 (3H, s, -OCH₃), 7.10 (1H, d, J = 8.59 Hz, trisüstitüebenzen), 7.60 (1H, d, J =1.98 Hz, Ar-CH), 7.69 (1H, s, trisüstitüebenzen), 7.74 (2H, d, J =8.80 Hz, disüstitüebenzen), 7.84 (1H, d, J =3.81 Hz, trisüstitüebenzen), 7.88 (2H, m, disüstitüebenzen), 7.92 (1H, d, J =1.89 Hz, Ar-CH), 9.98 (1H, s, Sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 24.11, 30.43, 51.98, 53.39, 56.04, 62.40, 67.17, 111.08, 111.28, 119.71, 120.62, 123.72, 130.16, 130.24, 131.07, 141.19, 143.29, 149.21, 153.55, 169.12, 187.64.

HRMS (ESI) (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$: C₂₈H₃₅N₃O₄ için hesaplanan: 478.2700, bulunan: 478.2718.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 15:56:06
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAUSTU\derya\berkant\AL seri\AL-121.ispd
Spectrum name	AL-121
Sample name	AL-12
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.57. IR spektrumu (4I)

9.98
7.92
7.91
7.90
7.89
7.89
7.87
7.85
7.84
7.76
7.73
7.69
7.61
7.11
7.09

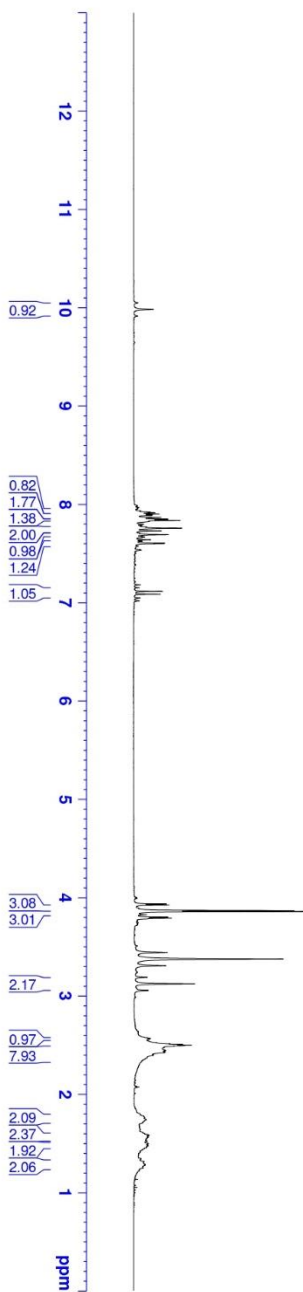
3.87
3.86
3.12
2.57
2.57
2.56
2.55
2.51
2.51
2.50
2.49
2.49
2.48
2.45
2.44
2.43
2.43
2.42
2.40
2.37
2.36
2.33
1.78
1.76
1.74
1.71
1.58
1.57
1.56
1.55
1.54
1.52



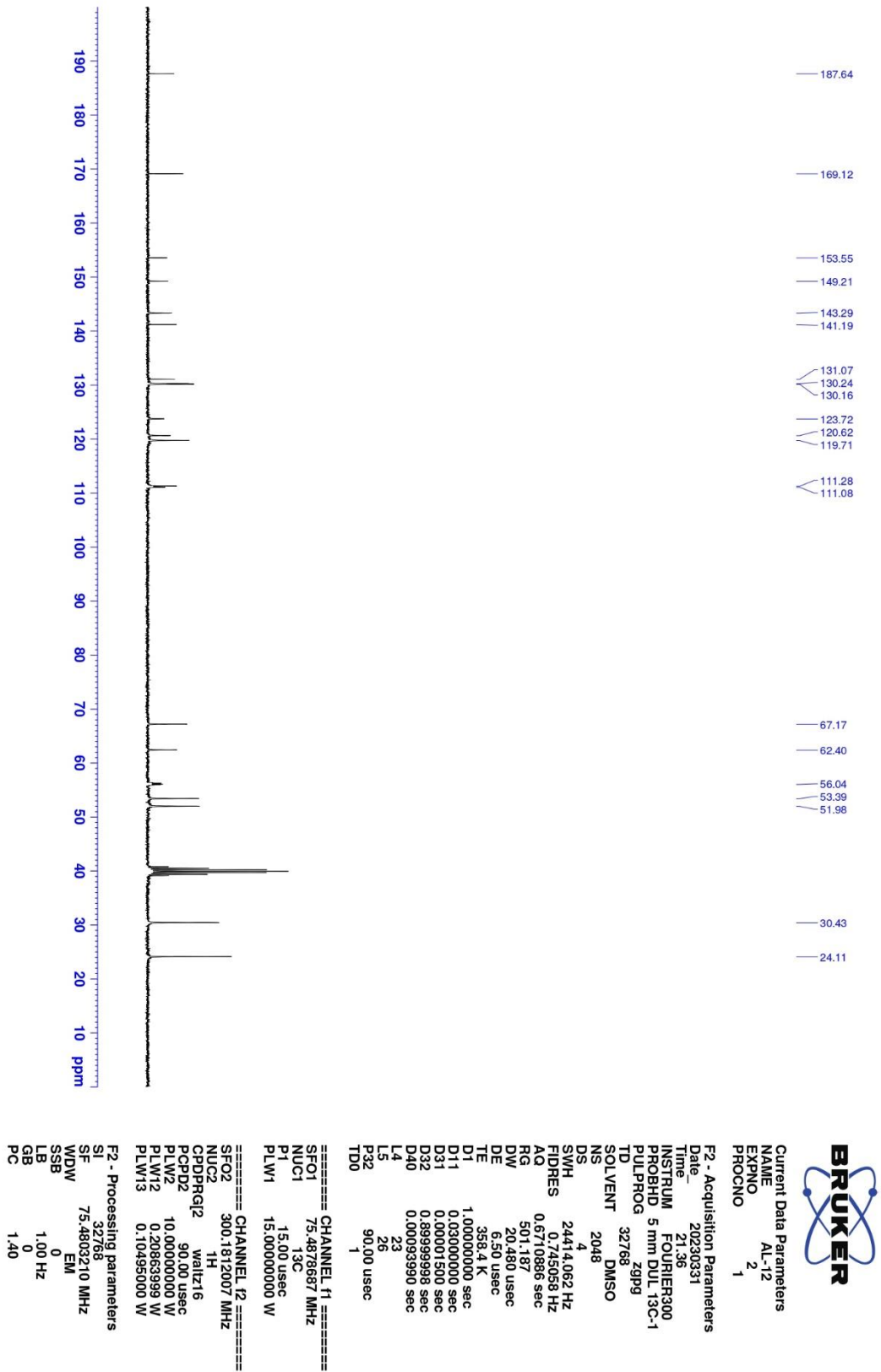
Current Data Parameters
NAME AL-12
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230331
Time 21.34
INSTRUM FOUER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.342173 sec
RG 655.513
DE 81.920 usec
TE 358.6 K
TD0 1
3.000000000 sec

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1815537 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.58. ^1H -NMR spektrumu (4I)



Şekil 5.59. ^{13}C -NMR spektrumu (**4l**)

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-12_208.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	38	O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

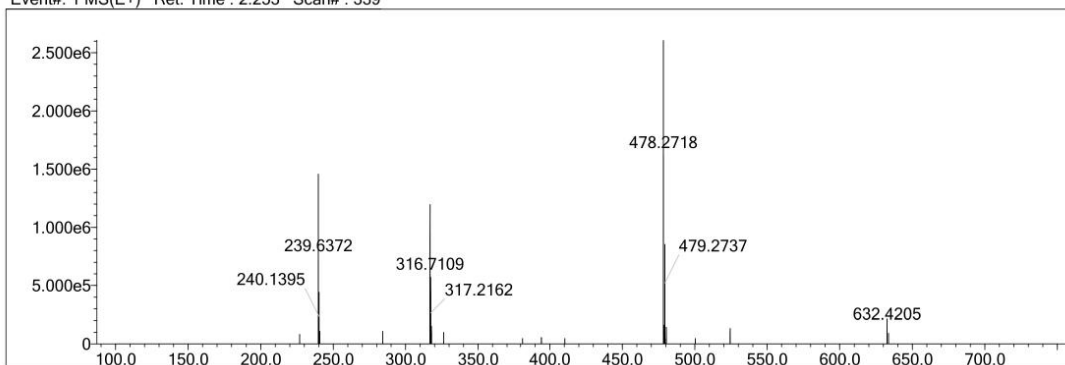
Electron Ions: odd

Use MSn Info: yes

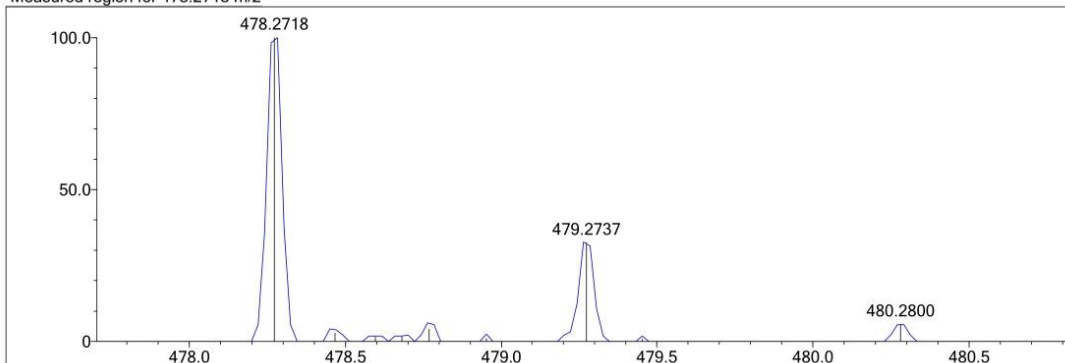
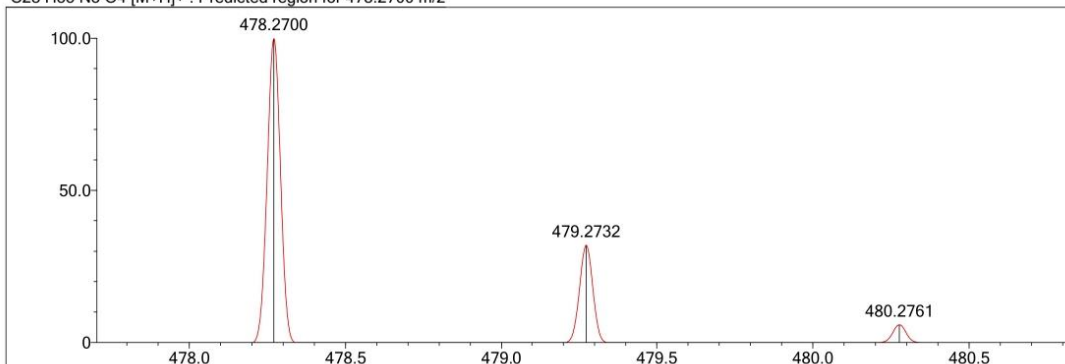
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.253 Scan# : 339



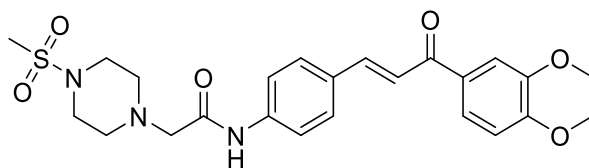
Measured region for 478.2718 m/z

C28 H35 N3 O4 [M+H]⁺ : Predicted region for 478.2700 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	93.10	C28 H35 N3 O4	[M+H] ⁺	478.2718	478.2700	1.8	3.76	100.00	13.0

Şekil 5.60. HRMS spektrumu (4I)

5.1.13. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(metilsülfonil)piperazin-1-il)asetamid (4m)



Şekil 5.61. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(metilsülfonil)piperazin-1-il)asetamid (**4m**) molekülünün kimyasal yapısı

DeneySEL E.N.: 112,6 °C. Verim: %79.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3308 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1682 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1651 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1157 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

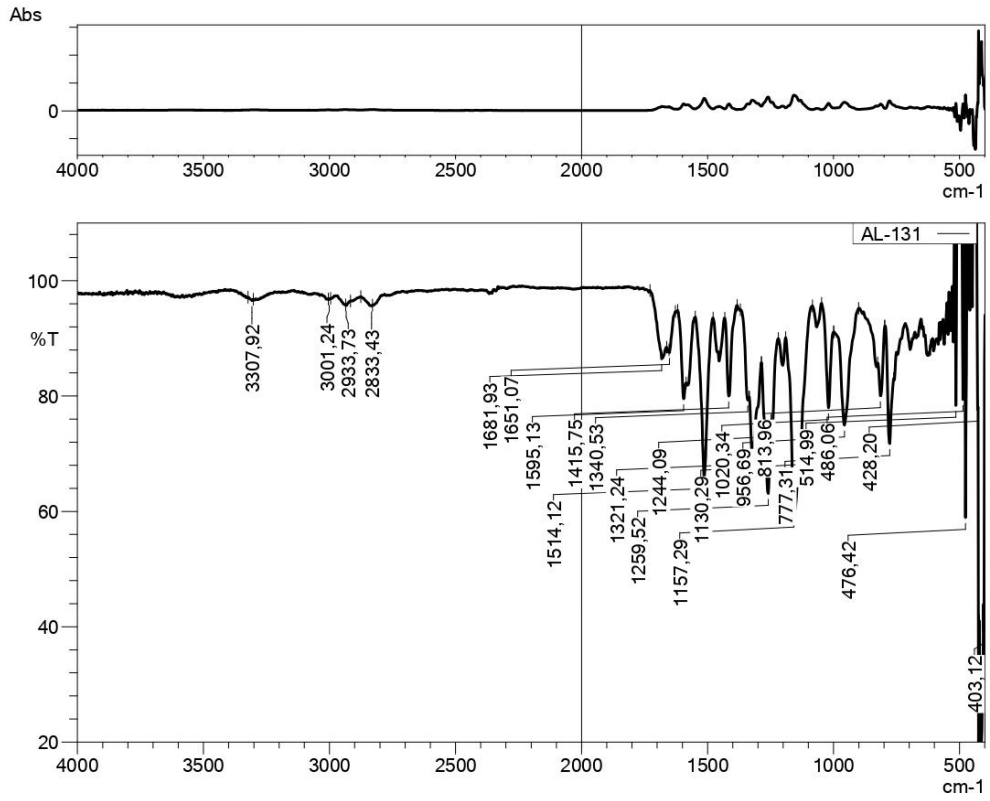
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2.62-2.65 (4H, m, piperazin), 2.82 (2H, s, -CH₂), 2.90 (3H, s, -CH₃), 3.16-3.19 (4H, m, piperazin), 3.86 (3H, s, -OCH₃), 3.87 (3H, s, -OCH₃), 7.10 (1H, d, J = 8.57 Hz, trisüstitübenzen), 7.60 (1H, d, J =1.89 Hz, Ar-CH), 7.69 (1H, s, trisüstitübenzen), 7.74 (2H, d, J =8.83 Hz, disüstitübenzen), 7.84 (2H, m, disubstitutedbenzene), 7.88 (1H, m, trisubstitutebenzene), 7.91 (1H, m, Ar-CH), 10.04 (1H, s, Sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 34.20, 45.77, 52.30, 56.05, 61.53, 111.07, 111.29, 119.77, 120.69, 123.74, 130.16, 130.31, 131.07, 141.15, 143.27, 149.22, 153.57, 168.90, 187.65.

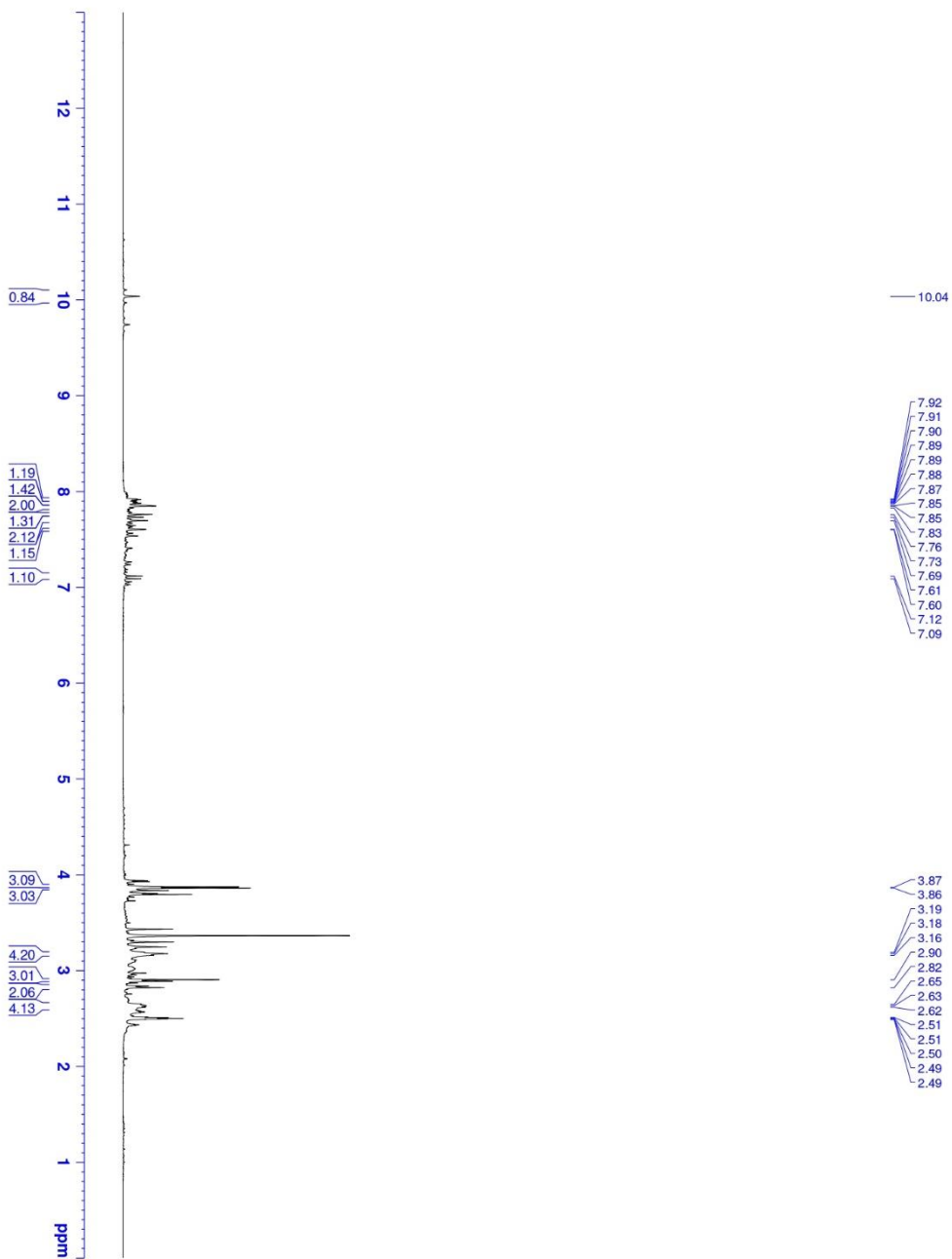
HRMS (ESI) (m/z) [$\text{M}+\text{H}$]⁺: C₂₄H₂₉N₃O₆S için hesaplanan: 488.1850, bulunan: 488.1855.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 16:01:29
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAUSTU\derya\berkant\AL seri\AL-131.ispd
Spectrum name	AL-131
Sample name	AL-13
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.62. IR spektrumu (4m)

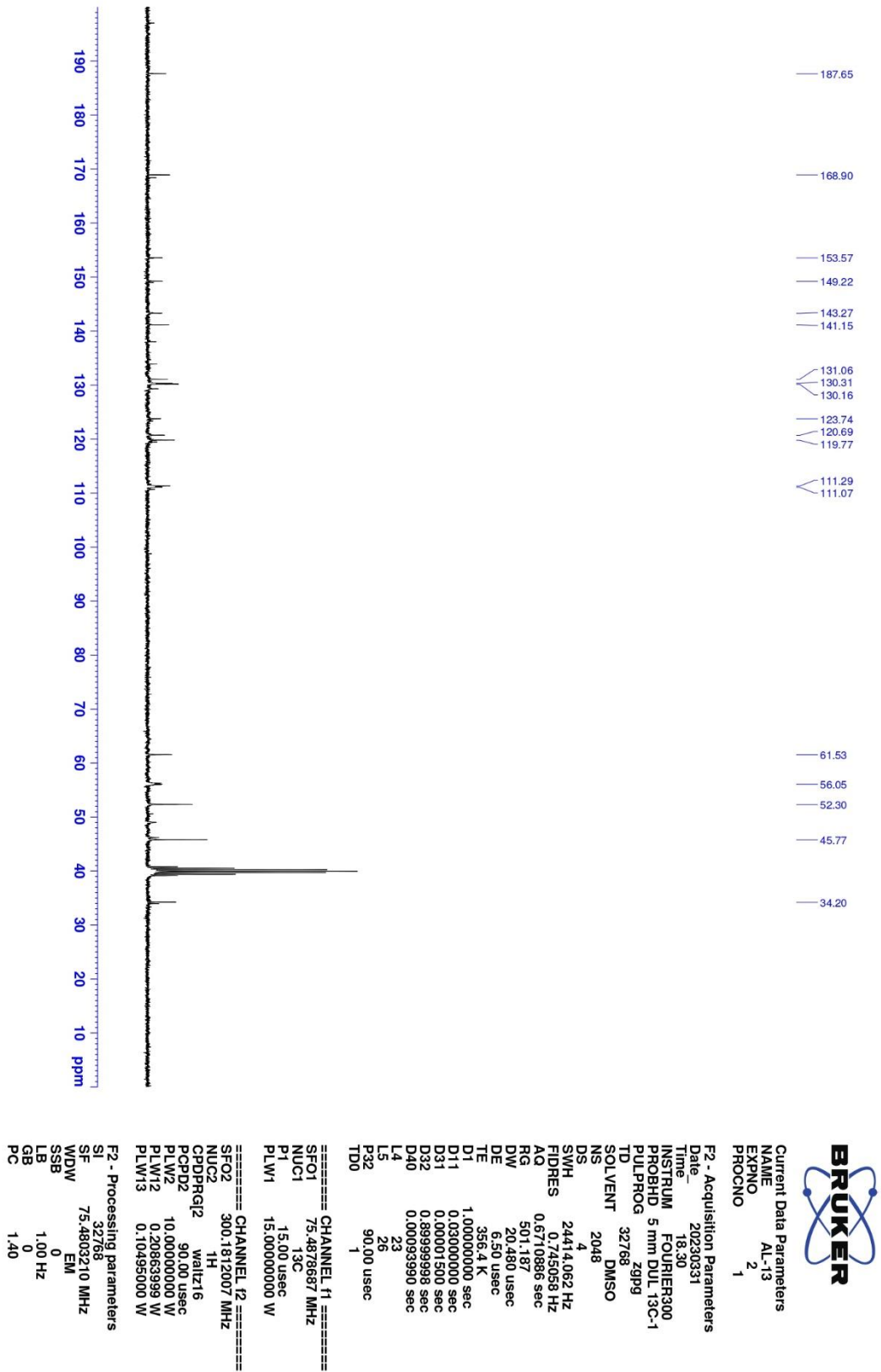


Current Data Parameters
NAME AL-13
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230331
Time 18.28
INSTRUM FOUER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.342173 sec
RG 327.50
DE 6.50 usec
TE 300.2 K
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1815537 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

Şekil 5.63. ^1H -NMR spektrumu (4m)



Şekil 5.64. ^{13}C -NMR spektrumu (4m)

Formula Predictor Report - AL-13_209.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-13_209.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	38	O	2	0	6	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

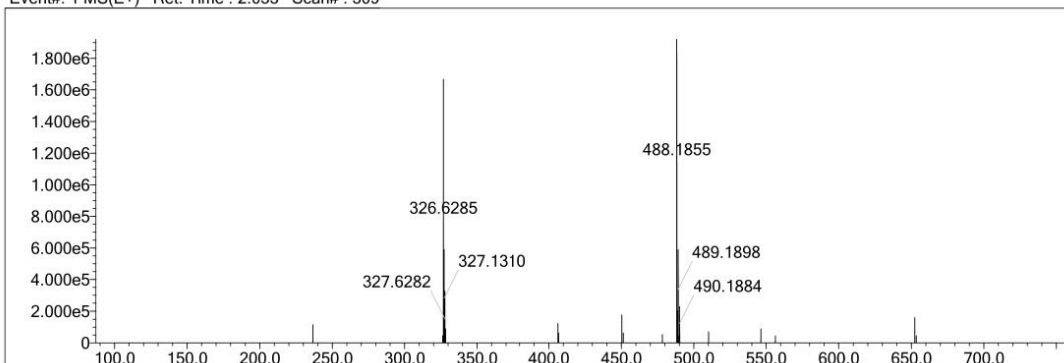
Electron Ions: odd

Use MSn Info: yes

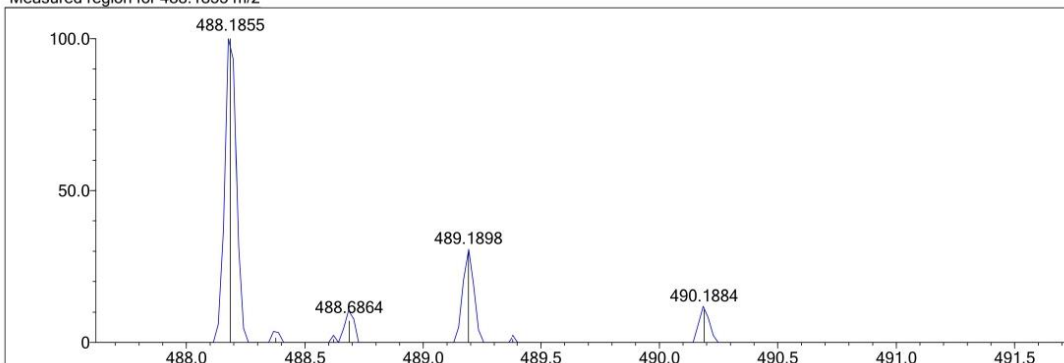
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

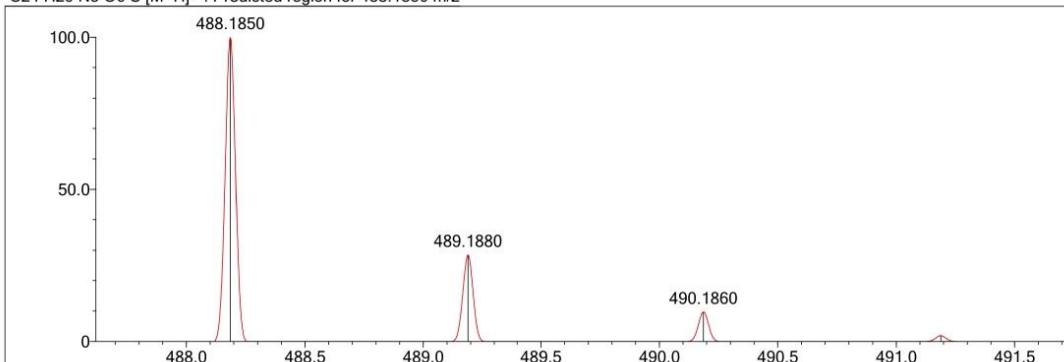
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.053 Scan# : 309



Measured region for 488.1855 m/z



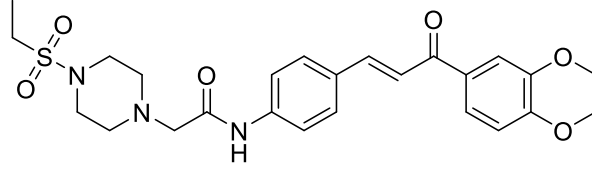
C24 H29 N3 O6 S [M+H]⁺ : Predicted region for 488.1850 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	94.60	C24 H29 N3 O6 S	[M+H] ⁺	488.1855	488.1850	0.5	1.02	94.65	12.0

Şekil 5.65. HRMS spektrumu (4m)

5.1.14. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(etilsülfolil)piperazin-1-il)asetamid (4n)



Şekil 5.66. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-(4-(etilsülfolil)piperazin-1-il)asetamid (4n) molekülünün kimyasal yapısı

Deneyisel E.N.: 100,9 °C. Verim: %80.

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3298 (N-H yapısına ait gerilim bandı), 1682 (şalkon C=O yapısına ait gerilim bandı), 1655 (amit C=O yapısına ait gerilim bandı), 1150 (C-O yapısına ait gerilim bandı).

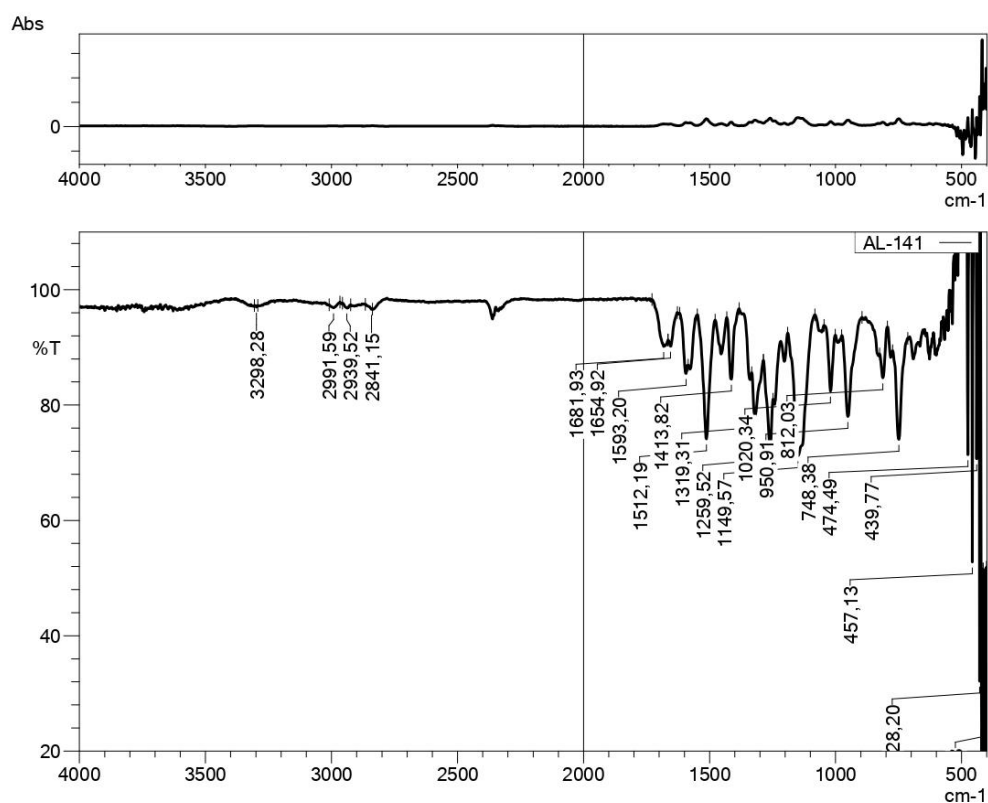
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.22 (3H, m, -CH₃), 2.59-2.72 (4H, m, piperazin), 3.08 (2H, m, -CH₂), 3.17 (2H, s, -CH₂), 3.24 (4H, s, piperazin), 3.86 (3H, s, -OCH₃), 3.87 (3H, s, -OCH₃), 7.10 (1H, d, J = 8.59 Hz, trisüstitüebenzen), 7.60 (1H, d, J =1.95 Hz, Ar-CH), 7.69 (1H, s, trisüstitüebenzen), 7.75 (2H, d, J =8.65 Hz, disüstitüebenzen), 7.85 (1H, d, J =2.04 Hz, trisüstitüebenzen), 7.89 (2H, m, disüstitüebenzen), 7.91 (1H, m, Ar-CH), 10.05 (1H, s, Sekonder amin).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7.95, 42.78, 45.59, 52.65, 56.05, 61.59, 111.07, 111.29, 119.79, 120.67, 123.72, 130.16, 130.30, 131.06, 141.15, 143.28, 149.21, 153.56, 168.93, 187.64.

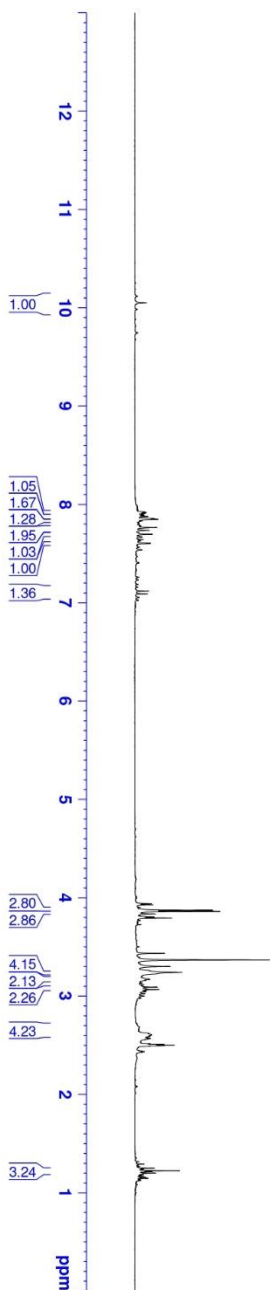
HRMS (ESI) (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$: C₂₅H₃₁N₃O₆S için hesaplanan: 502.2006, bulunan: 502.2022.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	17.05.2023 16:05:08
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\MASAUSTU\derya\berkant\AL_serisi\AL-141.ispd
Spectrum name	AL-141
Sample name	AL-14
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.67. IR spektrumu (4n)

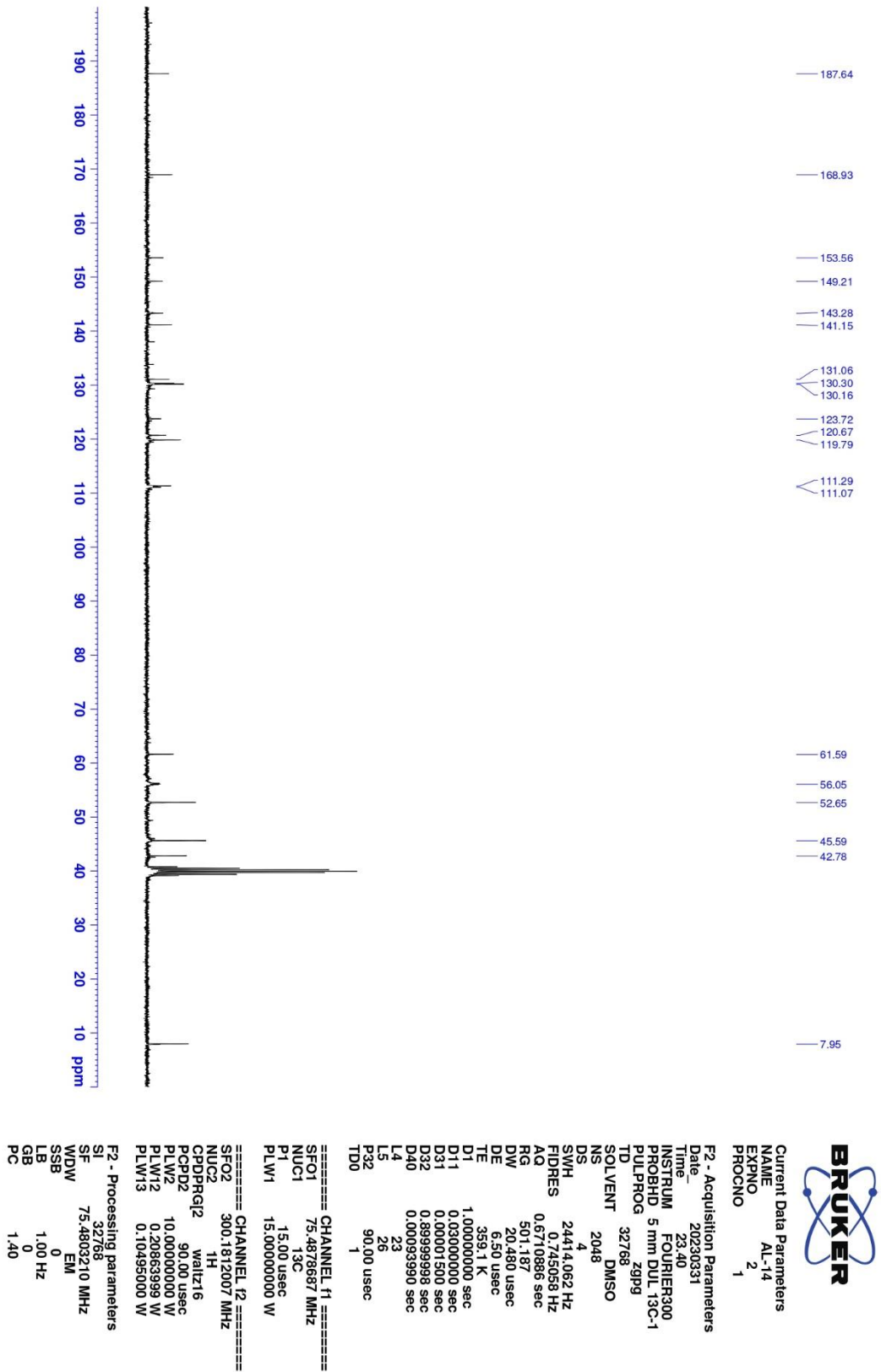


Current Data Parameters
NAME AL-14
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230331
Time 23.38
INSTRUM FOUER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.342173 sec
RG 327.153
DE 6.50 usec
TE 359.1 K
TD0 1
3.000000000 sec

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.181557 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec W
PLW1 10.00000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

Şekil 5.68. ^1H -NMR spektrumu (4n)



Şekil 5.69. ^{13}C -NMR spektrumu (4n)

Formula Predictor Report - AL-14_210.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\AL-14_210.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	38	O	2	0	6	Cl	1	0	0	I	3	0	0	H
B	3	0	0	F	1	0	0	Br	1	0	0					
C	4	0	32	P	3	0	0	Ru	2	0	0					
N	3	0	5	S	2	0	2	Pd	2	0	0					

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 25.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

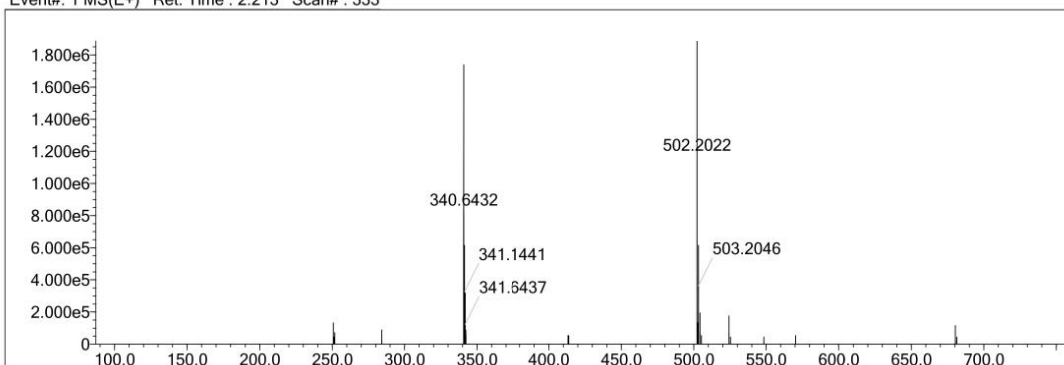
Electron Ions: odd

Use MSn Info: yes

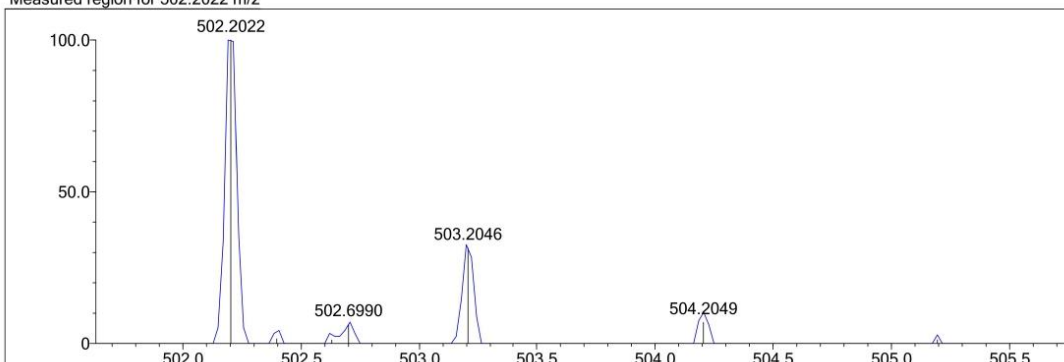
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

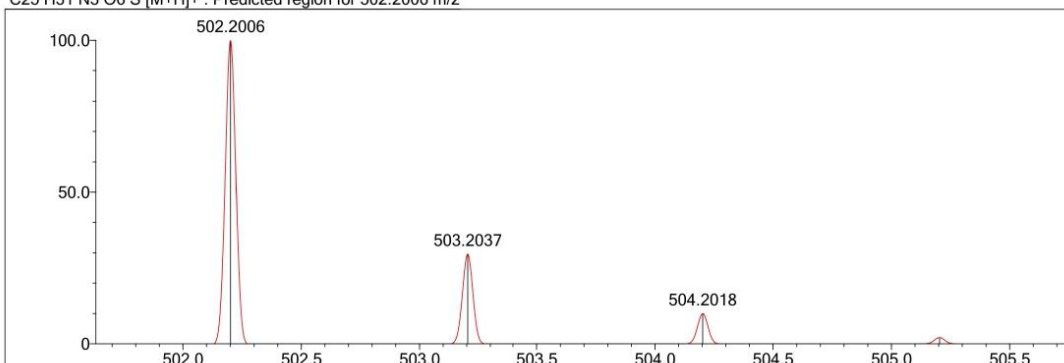
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.213 Scan#: 333



Measured region for 502.2022 m/z



C25 H31 N3 O6 S [M+H]⁺ : Predicted region for 502.2006 m/z

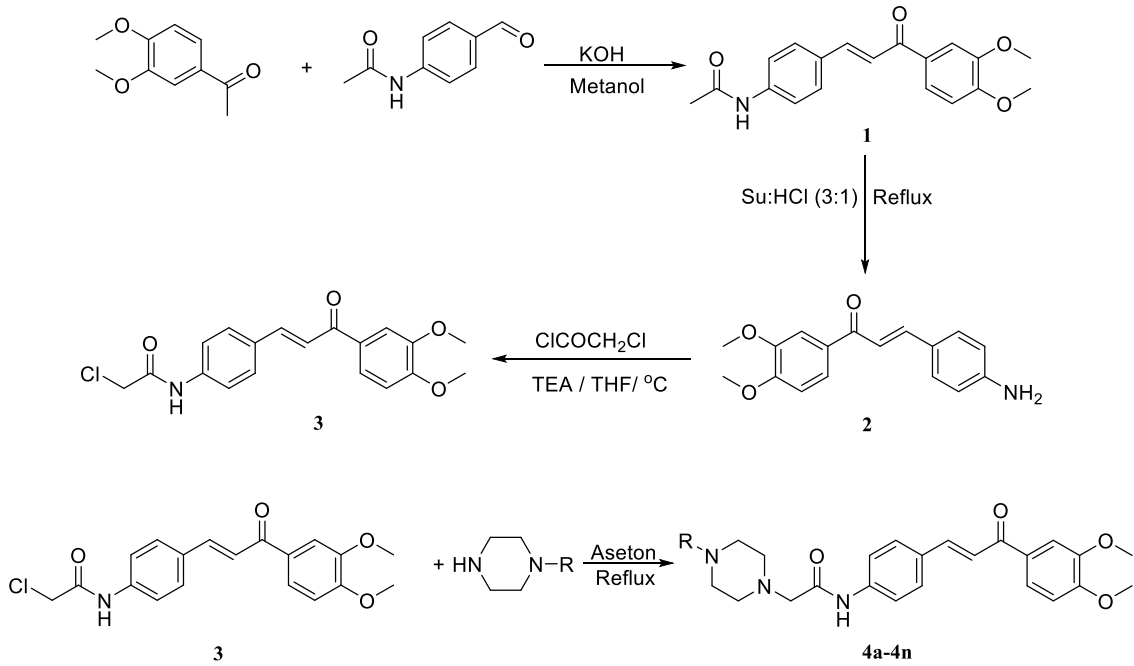


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	81.27	C25 H31 N3 O6 S	[M+H] ⁺	502.2022	502.2006	1.6	3.19	85.98	12.0

Şekil 5.70. HRMS spektrumu (4n)

5.2. Sentez Çalışmalarının Tartışılması

Bu tez kapsamında 14 adet yeni piperazin ve şalkon içeren bileşik sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin sentezi 4 ayrı basamakta gerçekleştirilmiştir. İlk sentez basamağında bir aldehit ile bir ketonun reaksiyonu sonucunda şalkon eldesi gerçekleştirilmiştir. İkinci sentez basamağında ise benzen halkasına bağlı halde bulunan amit grubunun hidrolizi gerçekleştirilmiştir. 3. basamakta ise hidroliz sonucu oluşan benzen halkasına bağlı primer aminin kloroasetil klorür ile birlikte asetillenmesi gerçekleştirilmiştir. Son basamakta ise çeşitli piperazin türevlerinin ana yapıya süstitüsüyonu sağlanmıştır. Tüm sentez basamaklarının başarıyla tamamlanmasının ardından yapının aydınlatılması adına spektral analizlere geçilmiştir (Şekil 5.71.).



Şekil. 5.71. Hedef bileşiklerin sentezi

5.3. Spektral Verilerin Tartışılması

Bu tez dahilinde sentezleri gerçekleştirilen ve literatürde kayıtlı olmayan bileşiklerin (4a-4n) yapıları IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve HRMS spektral yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Bu yöntemlere ait spektral verilerin değerlendirmeleri ilgili yöntemlere ait başlıklar altında verilmiştir.

5.3.1. IR verilerinin tartışılması

Elde edilen bileşiklerin sahip oldukları amit, şalkon ve metoksi gruplarına ait spesifik pikler IR spektrumlarında gözlemlenmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin tamamında amit yapısı mevcut olduğu görülmüştür. Amit gruplarının N-H gerilim bantları 3298 cm^{-1} ile 3258 cm^{-1} aralığında gözlemlenmiştir. Amit grubunun karbonillerine ait gerilim bantları 1657 cm^{-1} ile 1562 cm^{-1} aralığında gözlemlenmiştir. Elde edilen bu veriler literatürde yer alan veriler ile uyum içerisindedir (Dastyafteh vd., 2023).

Şalkon yapıları sentezlenen tüm bileşiklerin ana iskeletini oluşturmaktadır ve bu şalkon yapılarının içerisindeki karbonil gruplarına ait spesifik pikler 1694 cm^{-1} ile 1620 cm^{-1} aralığında gözlemlenmiştir. Bileşiklerin ilgili karbonil gruplarına ait bu pikler literatürde yer alan veriler ile kıyaslandığında, bu veriler ile arasında herhangi bir uyumsuzluk görülmemektedir (Sharshira vd., 2022).

Sentezlenen bileşiklerin tümünün şalkon yapılarında yer alan benzen halkasına bağlanmış vaziyette metoksi grupları bulunmaktadır. Bu metoksi gruplarına ait C-O gerilim bantları 1163 cm^{-1} ile 1139 cm^{-1} aralığında gözlemlenmiştir. Gözlemlenen pikler literatürde yer alan ilgili verilerle kıyaslanmış ve elde edilen piklerin literatürle uyum içerisinde olduğu görülmüştür (Verma vd., 2022).

Bileşiklerin tamamında aromatik C-H gerilim bantları yaklaşık 3000 cm^{-1} 'de, 1,4-disüstitüe benzene ait pikler ise yaklaşık 800 cm^{-1} 'de gözlemlenmiştir.

5.3.2. NMR verilerinin tartışılması

5.3.2.1. ^1H -NMR verilerinin tartışılması

^1H -NMR verilerinin incelendiğinde sentezlenen bileşiklere ait beklenen kayma değerlerine sahip ve bileşiklerin proton sayıları göz önünde bulundurulduğunda beklenen sayıda pikler gözlemlenmiştir.

Elde edilen bileşiklerin tamamının yapısında yer alan piperazin halkası ve amit grubuna ait protonlar beklenen bölgelerde pik vermişlerdir. Piperazin halkasına ait protonlar 2.26 ppm ile 3.72 ppm arasında multiplet veya yayvan pikler halinde gözlemlenmişlerdir. Piperazin halkasının ^1H -NMR verileri literatürde yer alan verilerle mukayese edilmiş ve elde edilen piklerin literatür ile uyum içerisinde olduğu gözlemlenmiştir (Acar Çevik vd., 2020).

Piperazin halkası ile amit grubu arasında yer alan metile ait protonlar 3.12 ppm ile 3.22 ppm arasında gözlemlenmiştir. Amit grubunun azotuna bağlı protonlar ise 9.92 ppm

ile 10.05 ppm aralığında singlet pikler şeklinde gözlemlenmiştir. İlgili protonların pikleri literatür verileriyle uyum sağlamaktadır (Xiang vd., 2019).

1,3,4-trisüstitüe benzen tüm yapılar da ortak olarak bulunmaktadır. 1,3,4-trisüstitüe benzenin 2., 5. ve 6. konumlarında yer alan protonlar 3 farklı kayma değ erinde ^1H 'lık integrasyon değ erleriyle 3 farklı pik vermiş lerdir. Spesifik olarak diğ er aromatik bölge protonlarından ayrılan 1,3,4-trisüstitüe benzenin 5. Konumunda yer alan protonlar 7.10 ppm'de dublet olarak gelmiş lerdir. Bu piklerin J değ erleri ise 8.56 Hz ile 8.59 Hz aralığındadır. 1,3,4-trisüstitüe benzenin 2. konumunda yer alan protonlara ait pikler ise 7.69 ppm ile 7.70 ppm aralığında singlet olarak tespit edilmiş lerdir. 1,3,4-trisüstitüe benzenin 5. konumunda bulunan protonlara ait pikler 7.83 ppm ile 7.85 ppm aralığında multipler veya dublet olacak şekilde gelmiş lerdir. Dublet şeklinde gelen piklerin J değ erleri 2.04 Hz ile 3.87 Hz aralığındadır. Dimetoksi fenil yapısında yer alan metoksi gruplarına ait protonların kayma değ erleri 3.86 ppm ve 3.86 ppm olarak tespit edilmiştir. Metoksi gruplarına ait bu piklerin yarıma değ erleri singlet olarak tayin edilmiştir.

Sentezlenen tüm bileşikler ş alkon yapısına sahiptirler ve bu yapı üzerindeki protonlardan her bileş ikte iki farklı pik gözlemlenmiştir. Ş alkon iskeletinin üzerinde 2 numaralı karbona ait protonlar 7.60 ppm'de dublet şeklinde gelmiş lerdir. Bu protonlara ait dublet piklerin J değ erleri ise 1.86 Hz ile 1.98 Hz aralığında değ iş im göstermektedir. Ş alkon iskeleti üzerinde disüstitüe benzen ile süstitüsyon gerçekleşt irmiş olan karbon atomu üzerinde yer alan protonlara ait pikler 7.90 ppm ile 7.92 ppm aralığında dublet ya da multipler olarak tespit edilmiş lerdir. İlgili karbona ait protonlardan dublet şeklinde yarılan piklerde J değ erleri 2.10 Hz ile 1.86 Hz arasında değ iş im göstermektedir.

Benzen halkasının 1. ve 4 konumlarından süstitüsyonlar söz konusu olduğ unda benzen halkası AA'BB' spin sistemlerine uyum sağlar. Aynı zamanda benzen halkasının 7.27 ppmde gelmesi beklenen pikleri, süstitüsyonların elektronegatiflikleriyle birlikte değ iş ime uğ ramaktadır. Daha elektronegatif karakterde bir süstitüsyon söz konusu olduğ unda elektron perdelemesi azalır ve piklerin daha aşı ğı alanda gelmesi beklenir. Tam tersi bir elektronegatif karakterde bir grup bağ landığı nda ise elektron perdelemesi artacağı için artık pikler daha yukarı alanda elde edilir. 1,4-disüstitüe benzen halkası sentezlenen tüm bileşiklerin yapısında yer almakla birlikte elde edilen ^1H -NMR verilerine göre 1,4-disüstitüe benzen halkasında bulunan protonlar iki farklı pik vermiş lerdir. Bu piklerden amit grubuna yakın olan protonlar 7.74 ppm ile 7.75 ppm arasında dublet

şeklinde gözlemlenmektedir. Bu piklere ait J değerleri 8.65 Hz ile 8.74 Hz arasında değişmektedir. 1,4-disüstitüe benzenin şalkona yakın karbonlarına ait protonların pikleri 7.87 ppm ile 7.89 ppm arasında multiplet şeklinde gelmiştir. Elde edilen tüm veriler literatür ile kıyaslandığında verilerin literatürle uyum içerisinde olduğu görülmüştür (Ören vd., 1999).

Tüm $^1\text{H-NMR}$ verileri göz önünde bulundurulduğunda bileşiklerin alifatik nitelikteki protonlarına ait pikler 3.87 ppm ile daha düşük ppm değerlerinde tespit edilmişlerdir. Bileşiklerin aromatik karakterdeki protonları ise 7.10 ppm ile daha yüksek ppm değerlerinde tayin edilmişlerdir. Fakat bileşik **4d** sahip olduğu allil yapısı ile diğer 13 bileşikten bu noktada ayrılmaktadır. Bileşik **4d**'nin yapısında bulunan allil grubunun protonları 5.14 ppm ile 5.80 ppm aralığında pik vermişlerdir.

Bileşik **4l**'nin sahip olduğu siklopentil grubunun da oldukça karakteristik piklere sahip olduğu görülmektedir. Siklopentil halkasının 2,3,4 ve 5 numaralı karbonlarının her biri iki adet protoma sahiptir ve bu protonlar siklopentilin yapısı gereği 2 farklı noktada pik verme eğilimdedirler. Fakat siklopentil halkasının 2. ve 5. karbonları ile 3. ve 4. karbonlarının sahip olduğu simetri ve elektron çevrelerindeki benzerlik nedeniyle 1.28 ppm ile 1.75 ppm aralığında siklopentil grubuna ait 4 farklı pik elde edilmiştir. Son olarak siklopentil halkasının 1. karbonuna bağlı protona ait pik ise 2.56 ppmde tespit edilmiştir. Bileşik **4l**'nin siklopentil grubuna ait pikler literatürdeki verilerle uyum içerisinde (Budakoti vd., 2006).

5.3.2.2. $^{13}\text{C-NMR}$ verilerinin tartışılması

Elde edilen bileşiklerin $^{13}\text{C-NMR}$ verileri incelendiğinde amit karbonillerinin (C=O) spesifik pikleri, şalkon karbonillerinin (C=O) spesifik pikleri ve metoksi gruplarının (C-O) spesifik pikleri ön plana çıkmaktadır. Amit karbonillerine (C=O) ait pikler 168.90 ppm ile 169.13 ppm aralığında gözlemlenmiştir. Şalkon karbonillerinin (C=O) spesifik pikleri ise 187.64 ppm ile 187.66 ppm aralığında gözlemlenmiştir. Metoksi gruplarına (C-O) ait spesifik pikler ise 56.04 ppm ile 56.26 ppm aralığında gözlemlenmiştir. İlgili spesifik pikler dışında aromatik yapıların karbonlarına pikler 111.07 ppm ve üzerinde gözlemlenmiştir, alifatik yapıların karbonlarına ait pikler ise 79.94 ppm ve aşağısında gözlemlenmişlerdir.

Tüm bunların dışında en aktif olan bileşik **4g**'de diğer karbonil grupları haricinde sahip olduğu asetil karboniline ait 168.99 ppm'de spesifik bir pik gözlemlenmiştir.

5.3.3. HRMS verilerinin tartışılması

Yüksek çözünürlüklü kütle analizi, elektron spray yöntemi ile pozitif iyonlaştırma tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiş ve bileşiklerin kütle spektrumları elde edilmiştir.

Kütle spektrumları, katyonların ve radikal katyonların molekül ağırlığı değerleri baz alınarak değil, katyonların ve radikal katyonların m/e değerlerine karşı bağıl bolluklarının grafiğe alınması sonucu elde edilmiştir. Molekül iyonu ve kaydedilen molekül bölünmeleri +1 yük taşıdıklarından m/e değerleri molekül ağırlığı değerleri arasında korelasyon söz konusudur. Bu sebeptendir ki spektrumlarda hesaplanan molekül ağırlıklarından bir fazla sayısal değere sahip piklerin gözlenmesi beklenir. İlgili spektrumlar incelendiğinde öngörüldüğü üzere, bileşiklerin molekül ağırlıklarının bir fazlası olacak şekilde elde edilen M+1 pikleri varlık göstermektedir.

5.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Tartışılması

5.4.1. AChE ve BChE enzimlerinin aktivite çalışmalarının tartışılması

Tablo 5.1.'de verilen, elde edilen bileşiklerin kolin estera enzimleri üzerindeki aktiviteleri incelendiğinde, özellikle AChE inhibisyonunda bileşikler yüksek inhibisyon değerlerine sahiptirler. 10^{-3} M konsantrasyonda referans molekül olan Donepezil %99.156±1.302 oranında bir inhibisyona sahipken elde edilen bileşiklerden arasından bileşik **4a**, **4b**, **4f**, **4g**, **4h**, **4i**, **4j**, **4k**, **4m** ve **4n** sırasıyla %93.462±3.162, %92.641±2.447, %96.805±2.926, %98.027±2.557, %90.641±2.745, %94.168±2.062, %94.027±1.938, %97.449±2.811, %89.361±2.590 ve %88.928±3.148 oranında inhibisyon değerlerine sahip olarak, sentezlenen tüm bileşiklerin yarısından fazlası %90 inhibisyon oranının üzerine çıkmıştır. 10^{-4} M konsantrasyonda referans molekül olan Donepezil %97.395±1.255 oranında bir inhibisyona sahipken elde edilen bileşiklerden arasından bileşik **4a**, **4b**, **4f**, **4g**, **4i**, **4j**, **4k**, **4m** ve **4n** sırasıyla %90.251±1.862, %88.667±2.235, %94.837±3.957, %96.441±2.499, %90.469±2.827, %92.154±3.484, %94.087±2.963, %87.648±1.718 ve %85.791±1.397 oranında inhibisyon değerlerine sahip olmuşlardır ve AChE enzimi için IC₅₀ değerleri hesaplanmak üzere ikinci basamağa geçen bileşikler olmuşlardır. Bileşiklerin IC₅₀ değerleri incelendiğinde elde edilen bileşiklerin büyük bir kısmının IC₅₀ değeri 0.1 µM'ın altında kalmıştır. Bu bileşiklerden **4a**, **4f**, **4g**, **4j** ve **4k**'nin AChE enzime karşı IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.068±0.003 µM, 0.048±0.002 µM, 0.027±0.001 µM, 0.043±0.002 µM ve 0.039±0.001 µM olarak tespit edilmiştir. Özellikle bileşik **4g**'nin AChE enzime karşı sahip olduğu IC₅₀ değeri (0.027±0.001 µM) referans molekül olan Donepezil'in AChE enzime karşı sahip olduğu IC₅₀ değeri

(0.0201±0.0014 µM) ile mukayese edildiğinde bileşik **4g**'nin AChE üzerinde göstermiş olduğu aktiviteyle AH tedavisinde umut vadettiği açıktır. Bunun yanı sıra elde edilen bileşikler 10⁻³ M konsantrasyonda BChE enzimini %30.416±0.823 ila %45.967±1.921 aralığında inhibe etmişlerdir. 10⁻⁴ M konsantrasyonda ise bu aralık %20.119±0.964 ila %33.314±1.221 şeklindedir.

Elde edilen bileşikler arasında AChE enzimi üzerinde en düşük aktiviteyi bileşik **4c**, **4d**, **4e** ve **4l** göstermişlerdir. Bu bileşiklerin piperazin halkaları ile süstitüe halde sahip oldukları izopropil, allil, propin ve siklopentil grupları yapıları gereği AChE enziminin CAS bölgesiyle sağlıklı etkileşimler kuramadıkları, bunun sonucunda hem CAS hem PAS aktif yöreleriyle etkileşemedikleri için ilgili bileşiklerin AChE enzim inhibisyon değerlerinde düşüş görüldüğü düşünülmektedir. Sentezlenen 14 bileşik arasından en yüksek AChE aktivite değerlerine sahip olan bileşik **4g** ve bileşik **4k** olmak üzere bu bileşiklerin iskeletlerine piperazin halkaları üzerinden süstitüe olan asetil, dimetilamino propil gibi grupların AChE enzimin CAS bölgesiyle etkileşimde bulundukları ve bu bağlamda yüksek aktiviteye sahip bileşiklerin AChE enziminin her iki aktif yöresiyle başarılı bir şekilde etkileşime girdikleri düşünülmektedir.

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

Bileşik	AChE % inhibisyon		AChE IC ₅₀ (µM)	BChE % inhibisyon		BChE IC ₅₀ (µM)
	10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M		10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M	
4a	93.462 ±3.162	90.251 ±1.862	0.068 ±0.003	42.462 ±1.852	24.558 ±0.974	>1000
4b	92.641 ±2.447	88.667 ±2.235	0.093 ±0.003	31.141 ±1.034	27.034 ±0.877	>1000
4c	79.168 ±3.028	48.248 ±1.984	>100	45.967 ±1.921	25.474 ±1.098	>1000
4d	80.719 ±3.339	40.020 ±1.019	>100	40.328 ±1.205	20.119 ±0.964	>1000
4e	67.223 ±2.110	39.369 ±1.320	>100	38.019 ±0.964	21.922 ±0.835	>1000
4f	96.805 ±2.926	94.837 ±3.957	0.048 ±0.002	31.703 ±1.366	24.336 ±0.829	>1000
4g	98.027 ±2.557	96.441 ±2.499	0.027 ±0.001	36.426 ±0.954	29.884 ±0.920	>1000
4h	90.641 ±2.745	86.522 ±1.351	0.120 ±0.005	30.184 ±1.126	21.467 ±0.874	>1000
4i	94.168 ±2.062	90.469 ±2.827	0.084 ±0.003	39.637 ±1.336	23.619 ±1.069	>1000

4j	94.027 ±1.938	92.154 ±3.484	0.043 ±0.002	42.719 ±2.055	28.438 ±1.156	>1000
4k	97.449 ±2.811	94.087 ±2.963	0.039 ±0.001	45.952 ±1.874	29.020 ±1.039	>1000
4l	76.855 ±2.357	40.323 ±1.820	>100	41.008 ±1.998	32.733 ±1.354	>1000
4m	89.361 ±2.590	87.648 ±1.718	0.158 ±0.006	37.346 ±0.961	33.314 ±1.221	>1000
4n	88.928 ±3.148	85.791 ±1.397	0.205 ±0.009	30.416 ±0.823	24.764 ±0.954	>1000
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

5.4.2. MAO A ve MAO B enzim inhibisyonu aktivite çalışmalarının tartışılması

Tablo 5.2.'de verilen, elde edilen bileşiklerin MAO A ve MAO B enzimlerine karşı göstermiş oldukları inhibitör aktivite değerleri incelendiğinde, bileşiklerin büyük bir çoğunluğunun MAO B enzimi üzerinde daha etkili olduğu dolayısıyla selektif bir MAO B inhibisyonundan söz edilebileceği ortadadır. 10^{-3} M konsantrasyonda referans molekül olan moklobemid %99.827±1.378 oranında bir inhibisyona sahipken elde edilen bileşikler arasından bileşik **4a**, **4b**, **4c**, **4d**, **4e**, **4f**, **4g**, **4h**, **4i**, **4j**, **4k**, **4l**, **4m** ve **4n** sırasıyla %47.664±2.041, %53.118±2.165, %47.429±.836, %55.003±2.057, %61.367±1.949, %40.841±0.955, %68.957±2.516, %59.864±2.241, %41.110±2.058, %47.657±1.936, %63.049±2.857, %36.726±0.984, %39.430±1.369 ve %44.974±1.955 oranında inhibisyon değerlerine sahip olmuşlardır. 10^{-4} M konsantrasyonda referans molekül olan moklobemid %98.651±1.402 oranında bir inhibisyona sahipken elde edilen bileşikler arasından bileşik **4a**, **4b**, **4c**, **4d**, **4e**, **4f**, **4g**, **4h**, **4i**, **4j**, **4k**, **4l**, **4m** ve **4n** sırasıyla %38.722±1.061, %31.167±1.236, %39.049±0.933, %41.428±1.958, %44.213±1.874, %28.802±0.861, %39.367±1.108, %28.558±1.047, %29.067±0.962, %32.294±1.141, %41.311±1.936, %30.430±1.247, %33.625±1.320 ve %24.118±0.933 oranında inhibisyon değerlerine sahip olmuşlardır. 10^{-3} M konsantrasyonda bileşik **4b**, **4d**, **4e**, **4g**, **4h** ve **4k** olmak üzere altısı yüzde 50 inhibisyon değerine ulaşmıştır. Fakat 10^{-4} M konsantrasyonda bileşiklerden hiçbiri yüzde 50 inhibisyon değerine ulaşamamış ve böylece IC₅₀ değerlerinin elde edildiği ikinci basamağa hiçbir bileşik geçememiştir. 10^{-3} M konsantrasyonda referans molekül olan selejilin MAO B enzimi üzerinde %99.827±1.378 oranında bir inhibisyona sahipken elde edilen bileşikler arasından bileşik

4a, 4b, 4e, 4f, 4g, 4h, 4i, 4j, 4m ve **4n** sırasıyla %83.952±1.925, %60.441±2.269, %78.228±2.484, %90.749±2.620, %92.322±2.160, %79.462±2.864, %74.137±2.422, %82.248±3.026, %58.035±1.628 ve %52.948±1.774 oranında inhibisyon değerlerine sahip olmuşlardır. 10^{-4} M konsantrasyonda referans molekül olan selejilin MAO B enzimi üzerinde %98.651±1.402 oranında bir inhibisyona sahipken elde edilen bileşikler arasından bileşik **4a, 4f** ve **4g** sırasıyla %80.528±2.240, %88.62±1.829 ve %89.154±2.168 oranında inhibisyon değerlerine sahip olmuşlardır. Bileşiklerin yüzde ellisinden daha fazlası 10^{-3} konsantrasyonunda yüzde ellinin üzerinde inhibisyona sahiptir yalnız bu değer 10^{-4} konsantrasyonda üçe düşmektedir. Bileşik **4a, 4f** ve **4g**'nin IC_{50} değerleri 1 μM 'dan daha azdır ve referans molekül olan selejiline de yakın değerlerdedirler. Bu bileşikler sırasıyla 0.274±0.012 μM , 0.137±0.005 μM , 0.114±0.003 μM 'lık IC_{50} değerlerine sahiptirler. Elde edilen bileşikler arasında metil, aldehit veya asetil grubu gibi görece uzayda daha küçük hacme sahip gruplara sahip bileşikler en aktif bileşikler olmuşlardır. Fakat eğer bileşikler izopropil, dimetilamino propil, metilsülfonil veya etilsülfonil gibi uzun zincirli ve uzayda görece daha büyük hacme sahip gruplar içerdiklerinde aktivitelerinde gözle görülür bir şekilde düşüş gözlemlenmiştir. Bileşik **4g** MAO B enzime karşı sahip olduğu IC_{50} değeri (0.114±0.003 μM) ile tıpkı kolin esteraz enzimlerinde olduğu gibi MAO B enzime karşı da en aktif bileşik olmuştur. Bileşik **4g**'nin hem AChE enzime hem de MAO B enzime karşı yüksek inhibitör etkinlik göstermiş olması çoklu inhibitör özelliğe sahip olduğunu göstermektedir.

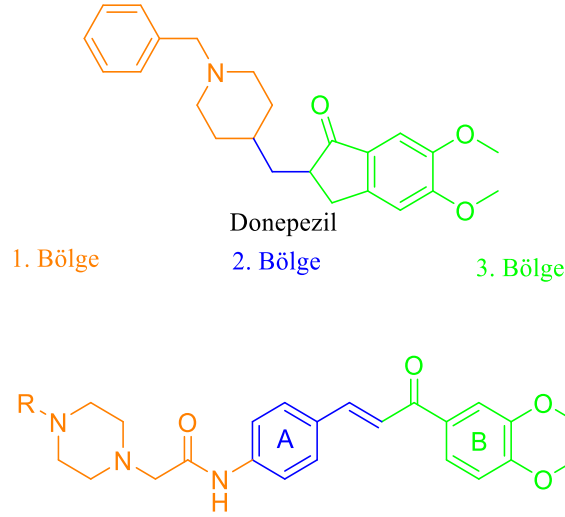
Tablo 5.2. Elde edilen bileşiklerin MAO A ve MAO B enzime karşı 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında % inhibisyon oranları ve IC_{50} (μM) değerleri.

Bileşik	MAO A % inhibisyon		MAO A IC_{50} (μM)	MAO B % inhibisyon		MAO B IC_{50} (μM)
	10^{-3} M	10^{-4} M		10^{-3} M	10^{-4} M	
4a	47.664 ±2.041	38.722 ±1.061	>1000	83.952 ±1.925	80.528 ±2.240	0.274 ±0.012
4b	53.118 ±2.165	31.167 ±1.236	>100	60.441 ±2.269	40.103 ±1.969	>100
4c	47.429 ±836	39.049 ±0.933	>1000	41.137 ±0.941	28.864 ±1.023	>1000
4d	55.003 ±2.057	41.428 ±1.958	>100	36.664 ±1.037	30.097 ±0.957	>1000
4e	61.367 ±1.949	44.213 ±1.874	>100	78.228 ±2.484	39.310 ±1.484	>100
4f	40.841 ±0.955	28.802 ±0.861	>1000	90.749 ±2.620	88.628 ±1.829	0.137 ±0.005

4g	68.957 ±2.516	39.367 ±1.108	>100	92.322 ±2.160	89.154 ±2.168	0.114 ±0.003
4h	59.864 ±2.241	28.558 ±1.047	>100	79.462 ±2.864	41.320 ±0.916	>100
4i	41.110 ±2.058	29.067 ±0.962	>1000	74.137 ±2.422	47.436 ±1.623	>100
4j	47.657 ±1.936	32.294 ±1.141	>1000	82.248 ±3.026	40.124 ±1.057	>100
4k	63.049 ±2.857	41.311 ±1.936	>100	48.691 ±1.839	36.087 ±0.964	>1000
4l	36.726 ±0.984	30.430 ±1.247	>1000	46.720 ±1.154	29.702 ±0.841	>1000
4m	39.430 ±1.369	33.625 ±1.320	>1000	58.035 ±1.628	28.989 ±0.826	>100
4n	44.974 ±1.955	24.118 ±0.933	>1000	52.948 ±1.774	27.841 ±1.174	>100
Moklobemid	99.156 ±1.302	97.395 ±1.255	0.0201 ±0.0014	-	-	-
Selejilin	-	-	-	99.827 ±1.378	98.651 ±1.402	0.0064 ±0.0002

5.5. Yapı Etki İlişkilerinin Değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasında sentezlenen **4a-4n** bileşikler 3 farklı bölgeden oluşmaktadır. Sentezlenen 14 farklı bileşik 2. ve 3. Bölgeler aynı yapıya sahipken, bu bileşikler 1. Bölgede yer alan piperazin halkasının süstituentleri üzerinden türevlendirilmişlerdir. Bileşiklerin ana iskeletini incelersek bileşiklerin birinci bölgesinde piperazin halkası ve asetamid yapısı görmektedir. Donepezil'in de benzer bölgesinde hetero atomlu bir halka olan piperidin yer almaktadır. Donepezil'in ilgili bölgesi AChE enziminin CAS bölgesiyle etkileşime girerek Donepezil'in AChE inhibitör etkinliğine önemli katkı sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar göstermektedir ki AChE enziminin inhibisyonu söz konusu olduğunda, bileşiklerin AChE enziminin CAS bölgesi ile etkileşime girmesi beklenen kısımlarında piperazin gibi heterosiklik yapıların bulunması aktiviteyi olumlu yönde etkilemektedir. Bileşiklerin 1. Bölgelerinde yer alan sekonder aminlerin iyi birer hidrojen donörü olarak görev yaptıkları bilinmektedir. Bu nedenle elde edilen bileşikler AChE gibi enzimlerle karşılaştıklarında bileşiklerin sahip oldukları sekonder aminler aktiviteyi artıracak etkileşimlere girerler (Şekil 5.72.).



Şekil 5.72. Hedef bileşikler ile Donepezil'in kıyaslanması

Sentezlenen bileşiklerin 2. bölgelerinde şalkon grubunun A kodlu benzen halkası ve yine şalkon grubuna ait 2 karbonlu doymamış zincirden oluşmaktadır. 2. bölge 1. ve 3. bölgeler arasında bağlantı görevini üstlenmektedir. Bileşiklerin tasarım sürecinde MAO B ve kolin esteraaz enzimleri üzerinde çoklu etki hedeflendiği için bağlantı rolünü üstlenen 2. bölgede şalkon yapısı tercih edilmiştir. Bunun sebebi ise yapılarında şalkon grubu içeren bileşiklerin selektif MAO B inhibisyonuna sebebiyet verdikleri bilinmektedir (Mathew, Parambi, vd., 2019).

Sentezlenen bileşiklerin 3. bölgelerinde ise B kodlu benzen halkası ile bu halkaya 3. ve 4. Konumlarında süstitüe olmuş metoksi grupları ve şalkon grubuna ait karbonil bulunmaktadır. Bu bölge Donepezil ile kıyaslandığında Donepezil'in indanon halka sisteminin yer aldığı bölgeyle eşleştirilebilir. Donepezil başta olmak üzere AChE inhibitörleri ve inhibitör adayları bileşikler için iki komşu metoksi grubunun varlığı aktiviteyi dramatik bir şekilde iyileştirmektedir. Donepezil'in indanon halka sisteminin AChE enziminin PAS bölgesiyle etkileşime girdiği göz önünde bulundurularak sentezlenen bileşiklerin 3. bölgelerinin AChE enziminin PAS bölgesiyle etkileşime girmesi beklenmektedir (Costanzo vd., 2016; Kuzu vd., 2019).

Elde edilen bileşikler arasında AChE enzimi üzerinde en düşük aktiviteyi bileşik **4c**, **4d**, **4e** ve **4l** göstermişlerdir. Bu bileşiklerin piperazin halkaları ile süstitüe halde sahip oldukları izopropil, allil, propin ve siklopentil grupları yapıları gereği AChE enziminin CAS bölgesiyle sağlıklı etkileşimler kuramadıkları, bunun sonucunda hem CAS hem PAS aktif yöreleriyle etkileşemedikleri için ilgili bileşiklerin AChE enzim inhibisyon

değerlerinde düşüş görüldüğü düşünülmektedir. Bileşiklerden **4a**, **4f**, **4g**, **4j** ve **4k**'nin AChE enzimine karşı IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.068±0.003 µM, 0.048±0.002 µM, 0.027±0.001 µM, 0.043±0.002 µM ve 0.039±0.001 µM olarak tespit edilmiştir. Sentezlenen 14 bileşik arasından en yüksek AChE aktivite değerlerine sahip olan bileşik **4g** ve bileşik **4k** olmak üzere bu bileşiklerin iskeletlerine piperazin halkaları üzerinden süstitüe olan asetil, dimetilamino propil gibi grupların AChE enzimin CAS bölgesiyle etkileşimde bulundukları ve bu bağlamda yüksek aktiviteye sahip bileşiklerin AChE enziminin her iki aktif yöresiyle başarılı bir şekilde etkileşime girdikleri düşünülmektedir. Bileşikler 1. bölgelerinde yer alan piperazin halkalarının 4. konumunda uzun zincirli, geniş hacimli yapılara sahip olduklarında AChE enzimi inhibisyon değerlerinde kayda değer düşüşler gözlemlenmiştir.

AChE enzim inhibisyonu değerleri üzerinden benzer yapıya sahip bileşikler kendi aralarında kıyaslanmıştır. Bileşik **4a** tek karbonlu metil grubuna sahipken, bileşik **4b** ise iki karbonlu etil grubuna sahiptir. Bu bileşiklerin IC₅₀ değerleri ise sırasıyla 0.068±0.00 µM ve 30.093±0.003 µM olarak tespit edilmiştir. Benzer yapılar taşıyan bu iki bileşik ele alındığında yan gruplarda bir zincir uzaması gerçekleştiğinde AChE enzim inhibisyonunda da bir düşüş gözlemlenmektedir. Bileşik **4a** ve bileşik **4b** örneklerine benzer bir şekilde bileşik **4m** tek karbonlu metil sülfonil yapısı taşımaktayken bileşik **4n** ise iki karbonlu etil sülfonil yapısını taşımaktadır. Tıpkı ilk örnekte olduğu gibi bileşiklerin taşıdıkları gruplarda meydana gelen bir zincir uzaması AChE enzimi aktivitelerini negatif olarak etkilemiştir.

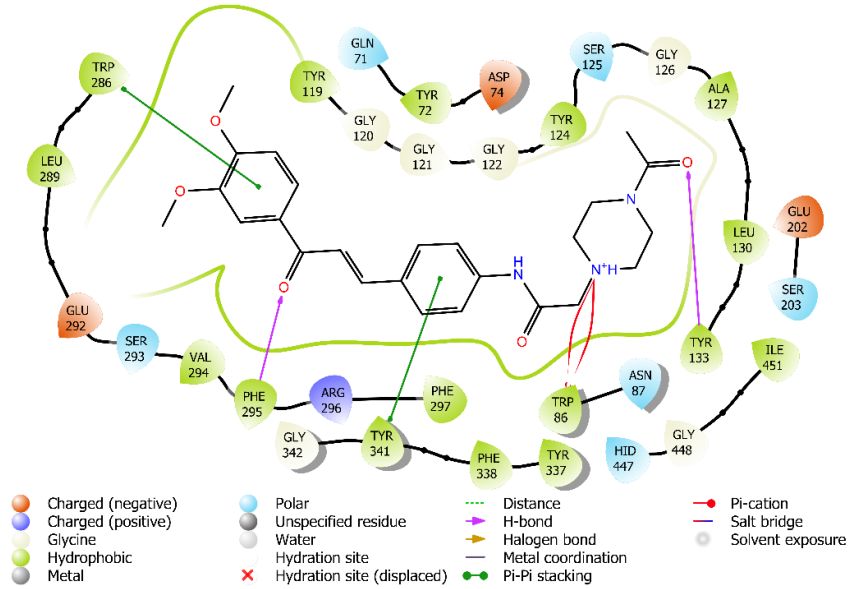
Bileşik **4a**, **4f** ve **4g**'nin MAO B enzimine karşı sahip oldukları IC₅₀ değerleri 1 µM'dan daha azdır ve referans molekül olan selejiline de yakın değerlerdedirler. Bu bileşikler sırasıyla 0.274±0.012 µM, 0.137±0.005 µM, 0.114±0.003 µM'lık IC₅₀ değerlerine sahiptirler. Elde edilen bileşikler arasında metil, aldehit veya asetil grubu gibi görece uzayda daha küçük hacme sahip gruplara sahip bileşikler en aktif bileşikler olmuşlardır. Fakat eğer bileşikler izopropil, dimetilamino propil, metilsülfonil veya etilsülfonil gibi uzun zincirli ve uzayda görece daha büyük hacme sahip gruplar içerdiklerinde aktivitelerinde gözle görülür bir şekilde düşüş gözlemlenmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarla paralel olarak 4-asetil piperazin yapısına sahip olan bileşik **4g** en yüksek MAO B inhibisyonuna sahip bileşik olmuştur. İlgili grubun bileşiğin MAO B enziminin aktif yöresinde bulunan Tyr188 amino asidi ile etkileşime girmesini

sağlayarak bileşiğin flavin adenin dinükleotit koenzimini taklit ettiği düşünülmektedir (Knez vd., 2022).

5.6. Moleküler Docking Çalışmalarının Tartışılması

Tez dahilinde elde edilen bileşikler arasından başta AChE enzimin inhibisyonu olmak üzere en yüksek aktivite değerlerine sahip olan bileşik **4g**, AChE enziminin aktif bölgesi ile nasıl etkileşebileceğini tespit etmek adına AChE enzimine ait (PDB Kodu: 4EY7) kristal yapısı ile birlikte docking çalışmalarına tabi tutulmuştur. Güncel literatür bilgileri ışığında yürütülen bu çalışmalar için kristal yapısı tercih edilirken Donepezil ligandının yer alması ve enzim aktif bölgesinin her iki paketini de içermesi sebepleriyle Homo sapiens sınıfı tercih edilmiştir. Çalışmalar esnasında “Glide 7.1” programı ile gerçekleştirilen docking tekniği kullanılırken en olası pozlar ise “GlideScore Sp” ile elde edilmiştir. Bunun yanı sıra ilgili bileşik **4g**’nin enzim aktif bölgesindeki amino asitlerle olan elektrostatik ve Van der Waals etkileşimleri “Per-Residue Interaction” paneli aracılığıyla görüntülenmiştir (Şekil 5.73.).



Şekil 5.73. AChE enziminin aktif bölgesiyle bileşik **4g**’nin etkileşiminin iki boyutlu görünümü

Katalitik bölge (CAS) ve periferik anyonik bölge (PAS) olmak üzere iki farklı bağlanma bölgesi, AChE enzimi için inhibitör aktivite söz konusu olduğunda mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır. Yüksek inhibisyon değerleri için her iki bölgede yer alan çeşitli amino asitlerle etkileşim kurulması gerektiği bilinmektedir. Bunlar CAS bölgesi için Phe338, Tyr337, Tyr133, Tyr130, Trp86, His447, Glu334 ve Ser203 amino asitleridir. PAS bölgesine bağlanmada ise Trp286, Tyr341, Tyr124, Asp74 ve Tyr72

amino asitleri oldukça büyük önem arz etmektedirler (Atanasova vd., 2015; Dvir vd., 2010; Wu vd., 2016). CAS ve PAS bölgesinin bir arada oluşturdıkları geçide başarılı bir şekilde yerleşen bileşikler yüksek AChE enzim inhibisyon değerlerine sahip olmaktadır.

Donepezil sahip olduğu dimetoksi indanon grubuyla AChE enzimin PAS bölgesinde yer alan Trp286 amino asidiyle π - π etkileşimine sahiptir. Bunun yanı sıra Donepezil yine sahip olduğu dimetoksi indanon grubu ile PAS bölgesinde yer alan Phe295 amino asidiyle de hidrojen bağı kurmaktadır. Ayrıca Donepezil sahip olduğu monosüstitüe benzen halkasıyla AChE enziminin CAS bölgesinde yer alan Trp86 amino asidiyle de π - π etkileşimi içerisindedir. Donepezil, AChE enzimin hem PAS hem de CAS bölgesiyle bağ kurması, AH tedavisindeki kullanımı ve sahip olduğu aktivite değerleri ile birlikte moleküler docking çalışmamızda da öncül molekülümüz olmuştur.

Sentezlenen bileşikler arasında uzun zincirlere, dallanmalara sahip ve görece uzayda fazla yer kaplayan gruplara sahip bileşikler moleküler docking çalışmalarında daha kısa zincirlere sahip ve görece uzayda daha az yer kaplayan gruplara sahip bileşiklerden daha az başarılı olmuşlardır. Bunun başlıca sebebi uzun zincirlere, dallanmalara sahip ve görece uzayda fazla yer kaplayan gruplara sahip bileşiklerin AChE enzimin her iki bölgesiyle, sahip oldukları gruplar nedeniyle sağlıklı bağlar kuramamaları olarak görülmektedir.

İlk olarak bileşik **4g**'nin tıpkı Donepezilde de görüldüğü üzere enzimin hem CAS hem de PAS bölgelerine yerleşerek bağlar kurduğu görülmektedir. Donepezil başta olmak üzere AChE inhibitörlerinin başat niteliklerinden olan enzimin her iki yöresiyle de etkileşim içerisinde olma hususu bileşik **4g** için de geçerli olmuştur. Bu nedenledir ki bileşik **4g** biyolojik aktivite testlerinden başarılı sonuçlar elde etmiştir.

Bileşik **4g**'nin sahip olduğu dimetoksifenil grubu Trp286 amino asidiyle π - π etkileşimi göstermiştir. Bileşik **4g**'nin Trp286 amino asidiyle göstermiş olduğu bu π - π etkileşimi Donepezil'de de gözlemlenmektedir ve etkileşimin AChE enzimi üzerinde bir aktivite söz konusu olduğunda kıymetli olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla bu etkileşimin görülmesi, bileşiklerin hangi amaç doğrultusunda tasarlandıkları göz önünde bulundurulduğunda oldukça kıymetlidir.

Bileşiklerin enzimin aktif yöresine bağlanmasında önemli bir parametre olarak kabul edebileceğimiz Phe295 amino asidiyle kurulan hidrojen bağı, bileşik **4g**'nin şalkon

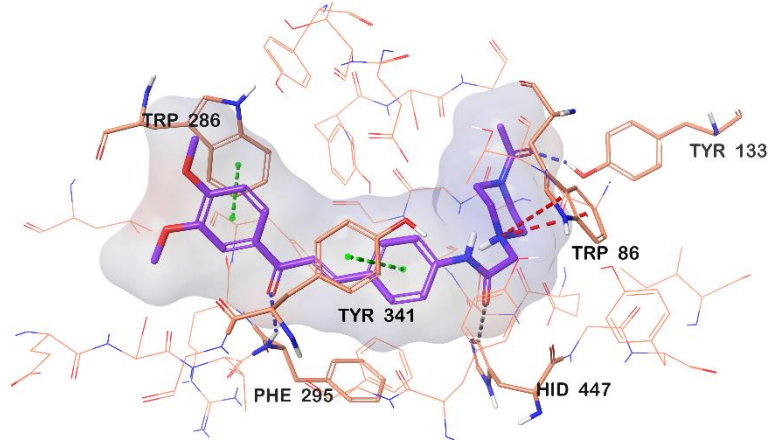
grubuyla Phe295 amino asidi arasında da gözlemlenmiştir. Söz konusu etkileşimin bileşik **4g**'nin moleküler docking çalışmalarında gözlemlenmesi, bileşiğin enzim aktif yoresine bağlanması hususunda oldukça olumlu bir bulgudur.

Enzim aktif yoresine bağlanmada önemli bir rolü olan Tyr341 amino asidi ile bileşik **4g**'nin sahip olduğu benzen halkası arasında π - π etkileşimi gözlemlenmiştir. İlgili amino asidle bileşik **4g**'nin etkileşim halinde olması bileşiğin AChE enzimi üzerindeki aktivitesi açısından oldukça kıymetlidir.

Enzimin CAS bölgesinde yer alan Tyr133 amino asidiyle bileşik **4g**'nin hidrojen bağı kurduğu tespit edilmiştir. Diğer bileşiklerden farklı olarak yapısında bulundurduğu asetil grubu ve bu grubun Tyr133 amino asidiyle etkileşim halinde olması bileşik **4g**'nin biyolojik aktivite çalışmalarında ön plana çıkmasını açıklar niteliktedir. Aynı zamanda bileşiğin amit ve şalkon gruplarına daha yakın konumda bulunan piperazine ait azot atomu katarnize olarak enzimin CAS bölgesinde bulunan Trp86 amino asidi ile π -katyon etkileşimi içerisinde bulunmuştur.

Bahsedilen etkileşimlerin tamamı bir arada değerlendirildiğinde bileşik **4g** hedeflenen etkileşimleri göstermiştir. Tüm bu bilgiler ışığında moleküler docking çalışmaları göstermektedir ki bileşik **4g** AChE enziminin her iki aktif bölgesiyle de etkileşime girerek biyolojik aktivite sonuçlarını destekler ve AChE enzim inhibisyonu konusunda tatmin edici sonuçlar ortaya koymuştur.

Moleküler docking çalışmalarında bileşik **4g**'nin Donepezil'le benzer şekilde AChE enzimin gerek CAS gerekse PAS aktif yörelerinde bağlar kurduğu yani ikili bağlanma özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bileşik **4g** AChE enziminin PAS bölgesinde Trp286 amino asidi ile dimetoksifenil grubu ve Tyr341 amino asidiyle de 1,4-disüstitüe benzen grubu π - π etkileşimi içerisinde bulunmuştur. Yine PAS bölgesinde yer alan Phe295 amino asidiyle de şalkon grubunun karbonili hidrojen bağı kurmuştur Bileşik **4g**'nin AChE enziminin CAS bölgesiyle olan etkileşimleri incelendiğinde ise Trp86 amino asidiyle piperazin halkasının azot atomu π -katyon bağı kurmuştu. Bunun yanı sıra bileşik **4g** sahip olduğu asetil grubu ile AChE enziminin CAS bölgesinde ye alan Tyr133 aminoasidiyle hidrojen bağı kurmuştur. Bileşik **4g**, moleküler docking çalışmalarında Donepezil'le benzer bir tablo sergilemiş bununla da kalmamış Donepezil'in etkileşim içerisinde olamadığı Tyr133 amino asidiyle de etkileşime girmiştir.



Şekil 5.74. AChE enziminin aktif bölgesiyle bileşik **4g**'nin etkileşiminin üç boyutlu görünümü

5.7. Moleküler Dinamik Çalışmalarının Tartışılması

Proteinlerin veya protein ligand komplekslerinin dinamik davranışlarının anlaşılabilmesi için moleküler dinamik simülasyon yöntemine sıklıkla başvurulmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında, gelecek vaat eden molekül bileşik **4g** ile AChE (PDB ID:4EY7) arasında oluşan kenetlenme kompleksinin stabilitesini değerlendirmek için, açık bir hidrasyon ortamında 100 ns MD simülasyon çalışması gerçekleştirilmiştir.

Şekil 5.73'de, sonuçlar bileşik **4g**-AChE kompleksi içindir. RMSD ve RMSF parametrelerinden moleküler dinamik simülasyonu esnasında oluşturulan modelin kararlılığını ölçmek için faydalanılmıştır. Simülasyonlar esnasında RMSD parametresi üzerinden, oluşturulan modelin kararlılığı kontrol edilmiştir. Simülasyon süresinin bir fonksiyonu olarak RMSD çizimi, **Şekil 5.73.A**'da sunulmuştur. RMSD değeri söz konusu iken hedeflenen değer aralığı 1 ila 3 arasındadır. Elde edilen grafikte RMSD değeri ilgili aralık içerisinde olduğu için (Max 2.7 Å) oluşturulan modelin kararlılığının korunduğunu söylemek mümkündür. 40.20 ns'ye kadar artış ve dalgalanmalar gösteren RMSD değeri bu ns civarında sabitlenmiştir. Bu sabitlenme zamanında meydana gelen değişiklikler incelendiğinde (**Şekil 5.73.D**) bileşik **4g** ile Gly121, Ser125, Tyr133, Tyr337 ve His447 aminoasitleri arasındaki etkileşimlerin başladığı ve kuvvetlendiği görülmüştür. Dolayısıyla bu söz konusu aminoasidin stabiliteye katkı sağladığı düşünülmektedir. AChE-**4g** kompleks proteini RMSD analizine göre, simüle edilen sistem oldukça etkili bir şekilde dengelenmiştir.

Moleküler dinamik simülasyon çalışmalarında bireysel amino asitler, protein-ligand kompleksinin stabilitesinin sağlanmasında oldukça önemli bir yere sahiptir.

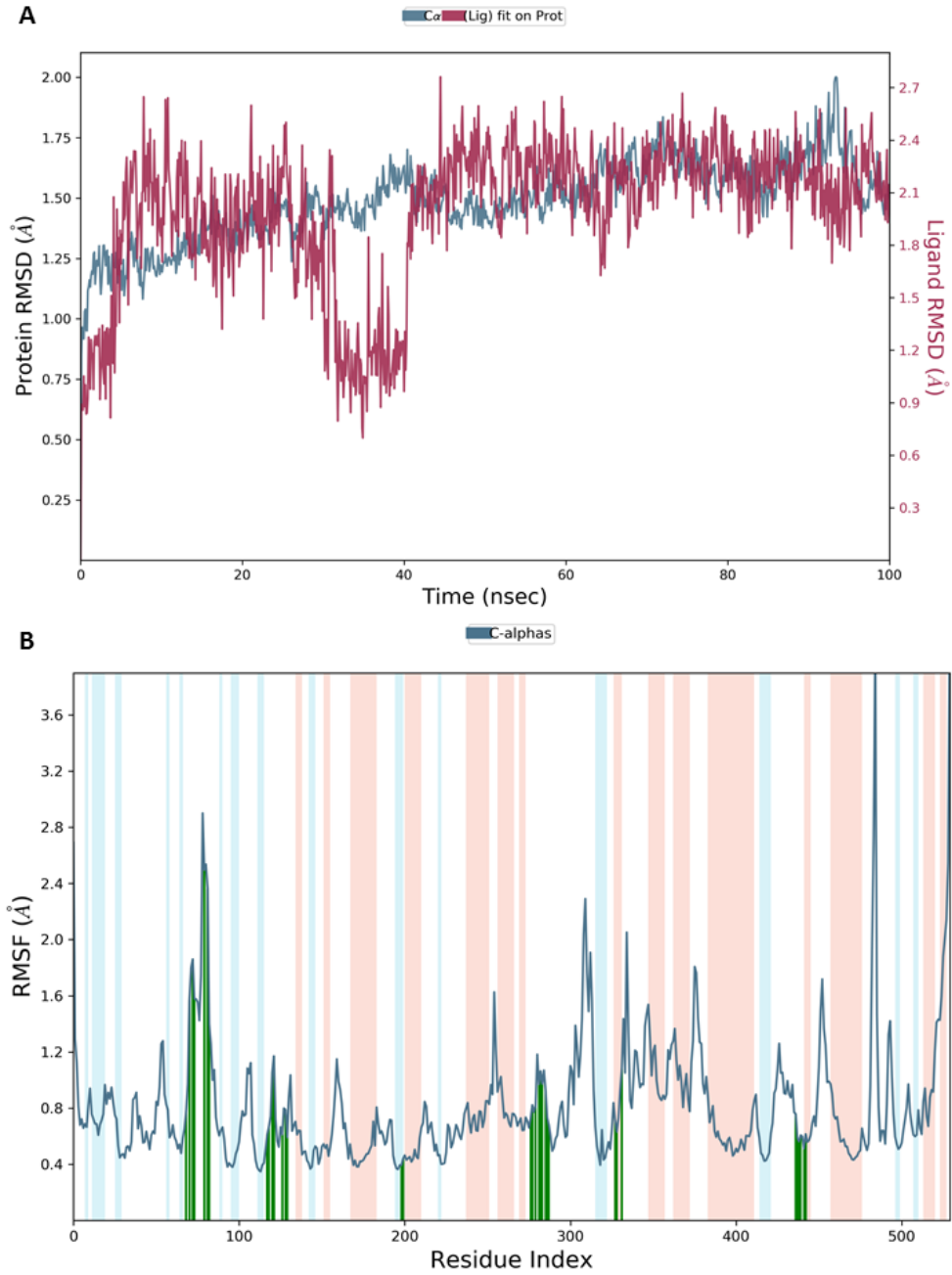
RMSF parametresi, simülasyon esnasında protein zinciri boyunca bireysel kalıntı dalgalanmasını ve konformasyonel değişiklikleri gözlemlemede kullanılabilir (**Şekil 5.73.B**). RMSF grafiğinde kırmızı renk α -sarmal bölgeleri; mavi renkli arka planla ise β -bantlı bölgeler temsil edilir; beyaz renge sahip arka plan döngü bölgesini temsil etmektedir. Proteinin ilmek bölgesi ile karşılaştırıldığında protein α -sarmal ve β -sarmal bölgeleri daha serttir. Bu nedenle bu bölgedeki dalgalanmaların daha az olması gerekir. Çizimin X ekseninde dikey yeşil çizgilerle, her bir protein zinciri ve ligand arasındaki temas eden kalıntıların katkısı gösterilmiştir.

RMSF raporuna göre, bileşik **4g**, AChE proteininin 36 amino asidiyle etkileşim halindedir. Bu aminoasitler şu şekilde sıralanabilir: Tyr72, Asp74, Thr75, Leu76, Tyr77, Thr83, Met85, Trp86, Gly121, Gly122, Tyr124, Ser125, Leu130, Val132, Tyr133, Glu202, Ser203, Trp286, His287, Leu289, Gln291, Glu292, Ser293, Val294, Phe295, Arg296, Phe297, Tyr337, Phe338, Tyr341, Phe446, His447, Gly448, Tyr449, Ile451, Glu452. AChE-**4g** kompleksinde, elde edilen RMSF grafiği dalgalanmalarında önemli bir değişiklik yoktur.

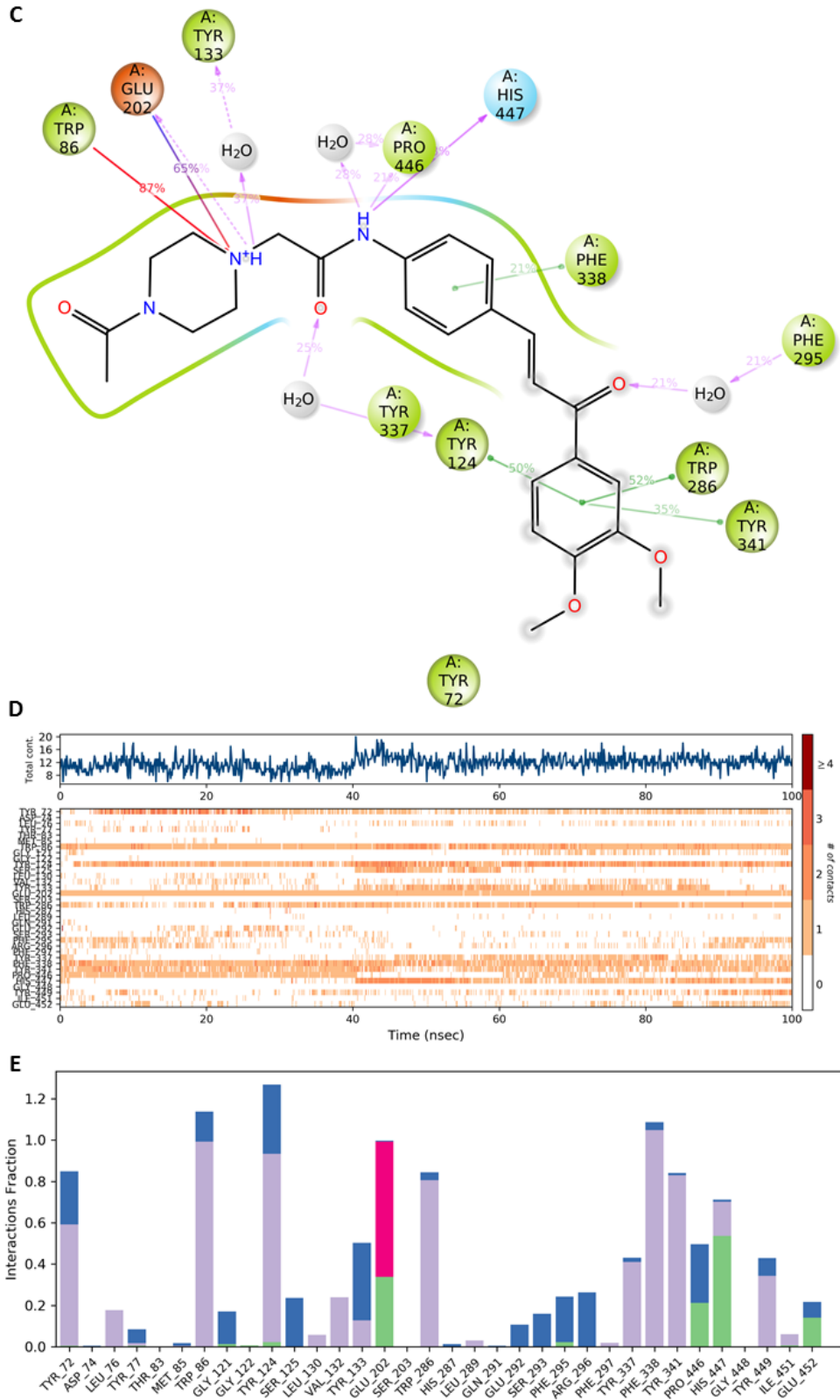
MD Simulation videosu izlenerek 100 ns boyunca oluşturulan aromatik hidrojen bağları belirlendi. **4g** bileşiğinin Tyr72, Gly122, Tyr124, Phe297, Tyr337 ve Tyr449 amino asitleri ile aromatik hidrojen bağı yaptığı görülmektedir. Bileşik **4g**'de yer alan benzen halkalarının Gly122, Tyr124, Phe297 ve Tyr337 aminoasitlerinin karbonil grubu ile aromatik hidrojen bağı yaptığı görülmektedir. Ayrıca **4g** bileşiğinin dimetoksibenzen halkasındaki metoksi grupları Tyr72 aminoasidinin fenil halkası ile aromatik hidrojen bağı oluşturmaktadır. Son olarak benzer bir etkileşim, yapıda piperazin halkasına komşu konumda yer alan karbonil grubu ile Tyr449'un fenil halkası arasında tespit edilmiştir.

Şekil 5.75.C, D ve 1E bileşik **4g**'nin aktif bölgede aminoasitler ile etkileşimini göstermektedir. **Şekil 5.75.(C)** ise enzim aktif bölgesinde %20 üzerinde etkileşim gösteren aminoasitleri sergilemektedir. **Şekil 5.75.(D)** etkileşim sayısı ve kalıntı grafiğini sunmaktadır. Burada özellikle Trp86, Tyr124, Glu202, Trp286 ve Phe338 ile bileşik **4g**'nin kesintisiz etkileşim içerisinde olduğu görülmektedir. Gly121, Ser125, Tyr133, Tyr337 ve His447 aminoasitleri ile 40.20 ns civarında etkileşim başlamış ve büyük çoğunlukla kesintisiz devam etmiştir. Bu aminoasitlerin hepsi stabilitenin sağlanmasında rol oynamıştır. Özellikle AChE enzim aktif bölgesi için önemli olan Trp86, Glu202,

Trp286, Tyr337, Phe338 ve His447 aminoasitleri ile yapılan kesintisiz etkileşim bileşiğin potansiyelini bir kez daha gözler önüne sermektedir. **Şekil 5.75. (E)** simülasyon sırasında tortuya göre etkileşim fraksiyonlarını sunmaktadır (Mavi: su aracılı H-bağı; yeşil: H-bağı, pembe: iyonik etkileşim, mor: hidrofobik etkileşim). Burada da enzim aktif bölgesi için önemli olan aminoasitler ile etkileşimler net bir şekilde görülmektedir.



Şekil 5.75. Bileşik 4g-AChE kompleksi ile gerçekleştirilen MD simülasyon sonuçları.



Şekil 5.75. Bileşik 4g-AChE kompleksi ile gerçekleştirilen MD simülasyon sonuçları (devamı).

6. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

AH hafıza, konuşma ve düşünme gibi beyin sorumluluğundaki yetileri doğrudan etkileyen bir nörodejeneratif rahatsızlık olmakla birlikte, günümüzde en sık görülen nörodejeneratif hastalıklardan birisidir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre başta AH kaynaklı olmak üzere 2050 yılında 139 milyon demans hastası birey olması beklenmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 65 yaş üstü bireylerin %10,7'sinde AH nedeniyle demans görülmektedir. Aynı zamanda AH ölüme en çok sebebiyet veren nörodejeneratif hastalık olmakla birlikte Türkiye'de her yıl 10.000'den fazla 65 yaş üstü bireyin ölümüne sebebiyet vermektedir. Günümüzde hala radikal bir tedavisinin olmaması, insidansı ve mortalitesi AH tedavisi üzerine yapılan araştırmalara merak uyandırmakta ve onları kıymetli hale getirmektedir.

AChE, BChE ve MAO B enzim inhibisyonunu aynı anda hedefleyen ve nörodejeneratif hastalıkların özellikle de AH'nın tedavisinin geleceğine ışık tutmayı hedefleyen moleküllerdir. AH gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde çok sınırlı sayıda tedavi seçeneği olması bunun yanı sıra halihazırda kullanılmakta olan bileşiklerin tam olarak istenilen seviyede olmaması nörodejeneratif hastalıklar ve ilgili enzimler üzerinde aktivite çalışmaları yürütmeye yönlendirmektedir. İlgili moleküllerin tasarım süreçlerinde daha önce etkinlikleri kanıtlanmış farmakofor grupların yapı-etki ilişkileri incelenmiş ve bu grupların gerekli görülen modifikasyonlar yapılarak bir araya getirilmeleriyle 14 adet piperazin ve şalkon yapılarına sahip yeni bileşik tasarlanmış, sentezlenmiş, yapıları aydınlatılmış ve aktiviteleri incelenmiştir. Bileşiklerin tasarımı ve sentezi esnasında güncel literatür bilgilerinden yararlanılmıştır. Bileşiklerin sentezi 4 basamakta gerçekleştirilmiştir. İlk sentez basamağında bir aldehit ile bir ketonun reaksiyonu sonucunda şalkon eldesi gerçekleştirilmiştir. İkinci sentez basamağında ise benzen halkasına bağlı halde bulunan amit grubunun hidrolizi gerçekleştirilmiştir. 3. basamakta ise hidrol sonucu oluşan benzen halkasına bağlı primer aminin kloroasetil klorür ile birlikte asetillenmesi gerçekleştirilmiştir. Son basamakta ise çeşitli piperazin türevlerinin ana yapıya süstitüsüyonu sağlanmıştır. Bileşiklerin yapılarının aydınlatılmasında ise IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve HRMS yöntemleri kullanılmıştır. Elde edilen bileşiklerin AChE, BChE, MAO A ve MAO B enzimleri üzerindeki aktiviteleri araştırılmıştır. AChE, BChE, MAO A ve MAO B enzimlerinin seçilmesinin başlıca sebebi, ilgili enzimlerin nörodejeneratif hastalıklarla özellikle de AH ile doğrudan ilişkili oldukları düşünülmektedir. Bu sebeple ChE enzimleri ve MAO B enzimi üzerinde yüksek

aktivite değerlerine ulaşılması hedeflenirken, daha güvenli yan etki profiline sahip bileşiklerin sentezlenmesi için MAO A enziminin inhibisyonunun görülmemesi istenmiştir. Bu amaçla üstüne kurulan hipotezi doğrular nitelikte biyolojik aktivite çalışmaları, moleküler docking çalışmaları ve moleküler dinamik çalışmaları yrtlmştir.

Bileşiklerin aktiviteleri incelenirken enzim inhibisyonları incelenmiş daha sonra moleküler docking ve moleküler dinamik çalışmalarına geçilmiştir.

Bileşik **4g**'nin AChE enzimi üzerinde neredeyse Donepezil'e yakın inhibisyon değerlerine sahip olması ve selektif olarak MAO B enzimini inhibe etmesi nedeniyle moleküler docking ve moleküler dinamik çalışmalarına taşınan bileşik olmuştur.

Sentezlenen bileşikler arasında uzun zincirlere, dallanmalara sahip ve görece uzayda fazla yer kaplayan gruplara sahip bileşikler moleküler docking çalışmalarında daha kısa zincirlere sahip ve görece uzayda daha az yer kaplayan gruplara sahip bileşiklerden daha az başarılı olmuşlardır. Bunun başlıca sebebi uzun zincirlere, dallanmalara sahip ve görece uzayda fazla yer kaplayan gruplara sahip bileşiklerin AChE enzimin her iki bölgesiyle sahip oldukları gruplar nedeniyle sağlıklı bağlar kuramamaları olarak görülmektedir. Moleküler docking çalışmalarında bileşik **4g**'nin Donepezil'le benzer şekilde AChE enziminin gerek CAS gerekse PAS aktif yörelerinde bağlar kurduğu yani ikili bağlanma özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bileşik **4g** AChE enziminin PAS bölgesinde Trp286 ve Tyr341 amino asitleriyle π - π etkileşimi içerisinde bulunmuştur. Yine PAS bölgesinde yer alan Phe295 amino asidiyle de hidrojen bağı kurmuştur Bileşik **4g**'nin AChE enziminin CAS bölgesiyle olan etkileşimleri incelendiğinde ise Trp86 amino asidiyle π -katyon bağı kurmuştur. Bunun yanı sıra bileşik **4g** sahip olduğu asetil grubu ile AChE enziminin CAS bölgesinde yer alan Tyr133 aminoasidiyle hidrojen bağı kurmuştur. Bileşik **4g**, moleküler docking çalışmalarında Donepezil'le benzer bir tablo sergilemiş ve bununla da kalmayarak Donepezil'in etkileşim içerisinde olamadığı Tyr133 amino asidiyle de etkileşime girmiştir.

Biyolojik aktivite çalışmaları ve moleküler docking çalışmaları göz önünde bulundurularak bileşik **4g** moleküler dinamik çalışmalarına dahil edilmiştir. Bu çalışmaların bileşik **4g**'nin elde ettiği sonuçlar AChE enzimi inhibitörü olarak yüksek potansiyele sahip bir bileşik olduğunu ortaya koymuştur. alışmalar kapsamında bileşik **4g**'nin 36 farklı amino asitle bağ yapıyor olması, bunun yanı sıra bu amino asitlerden Trp86, Tyr124, Glu202, Trp286 ve Phe338 ile kesintisiz, Gly121, Ser125, Tyr133,

Tyr337 ve His447 aminoasitleri ile 40.20 ns civarında başlayan etkileşimler bileşik **4g**-AChE kompleksinin stabilitesini doğrudan etkilemiş ve kompleksi daha sağlam hale getirmiştir. Bu yorumu yaparken AChE enzim aktif bölgesi için önemli olan Trp86, Glu202, Trp286, Tyr337, Phe338 ve His447 aminoasitleriyle bileşik **4g** arasındaki kesintisiz etkileşimlerin de payı oldukça büyüktür.

Biyolojik aktivite çalışmalarından, moleküler docking çalışmalarından ve moleküler dinamik çalışmalarından birbirlerini destekler sonuçlar alınması bileşik **4g**'nin ve onun nezdinde bu tez kapsamında tasarlanan ve sentezlenen bileşiklerin yapı-etki ilişkileri doğrultusunda literatürden hareketle tasarımlarının doğru temeller üzerine oturtulduğunu göstermektedir.

AChE ve MAO B enzimlerini aynı anda inhibe eden çoklu etkili inhibitörlerin AH tedavisi için kıymetli olmaları nedeniyle AH tedavisinin geleceği için de çoklu etkili inhibitörler büyük önem arz etmektedirler. Bileşik **4a**, **4f** ve **4g** hem AChE enzimine karşı hem de MAO B enzimine karşı sahip oldukları inhibitör etkinlikler nedeniyle AH tedavisinde etkin olarak kullanılabilecek ümit verici bileşikler olmuşlardır.

Yapılan tüm çalışmalar neticesinde elde edilen bileşiklerin sahip oldukları aktiviteler neticesinde önümüzdeki süreçte benzer yapıya sahip bileşiklerin tasarlanması, sentezlenmesi ve aktivitelerinin araştırılması ile daha yüksek aktivite değerlerine sahip bileşiklerin ortaya çıkmasının mümkün olduğu görülmüş ve bu doğrultuda yeni bileşiklerin geliştirilmesi hedeflenmiştir.

KAYNAKÇA

- 2022 Alzheimer's disease facts and figures. (2022). *Alzheimer's ve Dementia*, 18 (4), 700-789.
- Acar Cevik, U., Saglik, B. N., Levent, S., Osmaniye, D., Kaya Cavuşoglu, B., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z. A. (2019). Synthesis and AChE-Inhibitory Activity of New Benzimidazole Derivatives. *Molecules*, 24 (5), 861.
- Acar Çevik, U., Sağlık, B. N., Osmaniye, D., Levent, S., Kaya Çavuşoğlu, B., Karaduman, A. B., Atılı Eklioğlu, Ö., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z. A. (2020). Synthesis, anticancer evaluation and molecular docking studies of new benzimidazole-1,3,4-oxadiazole derivatives as human topoisomerase types I poison. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35 (1), 1657-1673.
- Ahmad, F. B., & Anderson, R. N. (2021). The Leading Causes of Death in the US for 2020. *JAMA*, 325 (18), 1829–1830.
- Anand, P., ve Singh, B. (2013). A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Archives of Pharmacal Research*, 36 (4), 375-399.
- Andrews-Zwilling, Y., Bien-Ly, N., Xu, Q., Li, G., Bernardo, A., Yoon, S. Y., Zwilling, D., Yan, T. X., Chen, L., ve Huang, Y. (2010). Apolipoprotein E4 causes age- and Tau-dependent impairment of GABAergic interneurons, leading to learning and memory deficits in mice. *Journal of Neuroscience*, 30 (41), 13707-13717.
- Atanasova, M., Stavrakov, G., Philipova, I., Zheleva, D., Yordanov, N., ve Doytchinova, I. (2015). Galantamine derivatives with indole moiety: Docking, design, synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity. *Bioorganic ve Medicinal Chemistry*, 23 (17), 5382-5389.
- Barnham, K. J., Masters, C. L., ve Bush, A. I. (2004). Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3 (3), 205-214.
- Bartus, R. T., Dean, R. L., Beer, B., ve Lippa, A. S. (1982). The Cholinergic Hypothesis of Geriatric Memory Dysfunction. *Science*, 217 (4558), 408-414.
- Bayraktar, Y., Isik, E., Isik, I., Ozyilmaz, A., Toprak, M., Guloglu, F. K., ve Aydin, S. (2022). Analyzing of Alzheimer's Disease Based on Biomedical and Socio-Economic Approach Using Molecular Communication, Artificial Neural Network, and Random Forest Models. *Sustainability (Switzerland)*, 14 (13), 7901.
- Borenstein, A. R., Copenhaver, C. I., ve Mortimer, J. A. (2006). Early-Life Risk Factors for Alzheimer Disease. *Alzheimer Disease ve Associated Disorders*, 20 (1), 63-72.
- 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., ve 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.
- Budakoti, A., Abid, M., ve Azam, A. (2006). Synthesis and antiamebic activity of new 1-N-substituted thiocarbamoyl-3,5-diphenyl-2-pyrazoline derivatives

- and their Pd(II) complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 41 (1), 63-70.
- Cacabelos, R. (2017). Parkinson's disease: From pathogenesis to pharmacogenomics. *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (3), 551.
- Carradori, S., ve Silvestri, R. (2015). New Frontiers in Selective Human MAO-B Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58 (17), 6717-6732.
- Chen, Y., Zhang, Z.-X., Zheng, L.-P., Wang, L., Liu, Y.-F., Yin, W.-Y., Chen, Y.-Y., Wang, X.-S., Hou, S.-T., Chen, J.-F., ve Zheng, R.-Y. (2019). The adenosine A2A receptor antagonist SCH58261 reduces macrophage/microglia activation and protects against experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *Neurochemistry International*, 129, 104490.
- Cheung, J., Rudolph, M. J., Burshteyn, F., Cassidy, M. S., Gary, E. N., Love, J., Franklin, M. C., ve Height, J. J. (2012). Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55 (22), 10282-10286.
- Chimenti, F., Fioravanti, R., Bolasco, A., Chimenti, P., Secci, D., Rossi, F., Yáñez, M., Orallo, F., Ortuso, F., ve Alcaro, S. (2009). Chalcones: A Valid Scaffold for Monoamine Oxidases Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52 (9), 2818-2824.
- Christen, Y. (2000). Oxidative stress and Alzheimer disease¹². *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71 (2), 621-629.
- Čolović, M. B., Krstić, D. Z., Lazarević-Pašti, T. D., Bondžić, A. M., ve Vasić, V. M. (2013). Acetylcholinesterase inhibitors: Pharmacology and toxicology. *Current Neuropharmacology*, 11 (3), 315-335.
- Costanzo, P., Cariati, L., Desiderio, D., Sgammato, R., Lamberti, A., Arcone, R., Salerno, R., Nardi, M., Masullo, M., ve Oliverio, M. (2016). Design, Synthesis, and Evaluation of Donepezil-Like Compounds as AChE and BACE-1 Inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 7 (5), 470-475.
- Craig, L. A., Hong, N. S. and McDonald, R. J. (2011). Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease. *Neuroscience ve Biobehavioral Reviews*, 35 (6), 1397-1409.
- Dastyafteh, N., Noori, M., Nazari Montazer, M., Zomorodian, K., Yazdanpanah, S., Iraj, A., Khalili Ghomi, M., Javanshir, S., Asadi, M., Dianatpour, M., Biglar, M., Larijani, B., Amanlou, M., Mahdavi, M. (2023). New thioxothiazolidinyl-acetamides derivatives as potent urease inhibitors: design, synthesis, in vitro inhibition, and molecular dynamic simulation. *Scientific Reports*, 13 (1), 21.
- Demir Özkay, Ü., Can, Ö. D., Sağlık, B. N., Acar Çevik, U., Levent, S., Özkay, Y., Ilgın, S., ve Atlı, Ö. (2016). Design, synthesis, and AChE inhibitory activity of new benzothiazole-piperazines. *Bioorganic ve Medicinal Chemistry Letters*, 26 (22), 5387-5394.

- Demir Özkay, Ü., Can, Ö. D., Sağlık, B. N., ve 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.
- Dugger, B. N., ve Dickson, D. W. (2017). Pathology of neurodegenerative diseases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9 (7).
- Dvir, H., Silman, I., Harel, M., Rosenberry, T. L., ve Sussman, J. L. (2010). Acetylcholinesterase: From 3D structure to function. *Chemico-Biological Interactions*, 187 (1), 10-22.
- El-Damasy, A. K., Park, J. E., Kim, H. J., Lee, J., Bang, E. K., Kim, H., ve Keum, G. (2023). Identification of New N-methyl-piperazine Chalcones as Dual MAO-B/AChE Inhibitors. *Pharmaceuticals*, 16 (1), 83.
- El-Halaby, L. O., El-Husseiny, W. M., El-Messery, S. M., ve Goda, F. E. (2021). Biphenylpiperazine Based MAO Inhibitors: Synthesis, Biological Evaluation, Reversibility and Molecular Modeling Studies. *Bioorganic Chemistry*, 115, 105216.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., ve Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7 (2), 88-95.
- Essmann, U., Perera, L., Berkowitz, M. L., Darden, T., Lee, H., ve Pedersen, L. G. (1995). A smooth particle mesh Ewald method. *The Journal of Chemical Physics*, 103 (19), 8577-8593.
- Finberg, J. P. M., ve Rabey, J. M. (2016). Inhibitors of MAO-A and MAO-B in Psychiatry and Neurology. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 340.
- Fišar, Z. (2016). Drugs related to monoamine oxidase activity. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 69, 112-124.
- González-Reyes, R. E., Nava-Mesa, M. O., Vargas-Sánchez, K., Ariza-Salamanca, D., ve Mora-Muñoz, L. (2017). Involvement of astrocytes in Alzheimer's disease from a neuroinflammatory and oxidative stress perspective. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10, 427.
- Greig, N. H., Utsuki, T., Ingram, D. K., Wang, Y., Pepeu, G., Scali, C., Yu, Q.-S., Mamczarz, J., Holloway, H. W., Giordano, T., Chen, D., Furukawa, K., Sambamurti, K., Brossi, A., ve Lahiri, D. K. (2005). Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer β -amyloid peptide in rodent. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102 (47), 17213-17218.
- Gutti, G., Kakarla, R., Kumar, D., Beohar, M., Ganeshpurkar, A., Kumar, A., Krishnamurthy, S., ve Singh, S. K. (2019). Discovery of novel series of 2-substituted benzo[d]oxazol-5-amine derivatives as multi-target directed ligands for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 182, 111613.

- Hampel, H., Mesulam, M.-M., Cuello, A. C., Farlow, M. R., Giacobini, E., Grossberg, G. T., Khachaturian, A. S., Vergallo, A., Cavedo, E., Snyder, P. J., ve Khachaturian, Z. S. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain*, 141 (7), 1917-1933.
- Hardy, J. A., ve Higgins, G. A. (1992). Alzheimer's Disease: The Amyloid Cascade Hypothesis. *Science*, 256 (5054), 184-185.
- Hardy, J., ve Selkoe, D. J. (2002). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 297 (5580), 353-356.
- Hoover, W. G. (1985). Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. *Physical Review A*, 31 (3), 1695-1697.
- Hosseini-Gerami, L., Ficulle, E., Humphries-Kirilov, N., Airey, D. C., Scherschel, J., Kananathan, S., Eastwood, B. J., Bose, S., Collier, D. A., Laing, E., Evans, D., Broughton, H., ve Bender, A. (2023). Mechanism of action deconvolution of the small-molecule pathological tau aggregation inhibitor Anle138b. *Alzheimer's Research and Therapy*, 15 (1).
- Humphreys, D. D., Friesner, R. A., ve Berne, B. J. (1994). A Multiple-Time-Step Molecular Dynamics Algorithm for Macromolecules. *The Journal of Physical Chemistry*, 98 (27), 6885-6892.
- Hussein, W., Sağlık, B. N., Levent, S., Korkut, B., Ilgın, S., Özkay, Y., ve Kaplancıklı, Z. A. (2018). Synthesis and Biological Evaluation of New Cholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease. *Molecules*, 23 (8).
- Iacovino, L. G., Pinzi, L., Facchetti, G., Bortolini, B., Christodoulou, M. S., Binda, C., Rastelli, G., Rimoldi, I., Passarella, D., Di Paolo, M. L., ve Dalla Via, L. (2021). Promising Non-cytotoxic Monosubstituted Chalcones to Target Monoamine Oxidase-B. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 12 (7), 1151-1158.
- Ibach, B., ve Haen, E. (2004). Acetylcholinesterase Inhibition in Alzheimers Disease. *Current Pharmaceutical Design*, 10, 231-251.
- Jack, C. R., Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., Haeberlein, S. B., Holtzman, D. M., Jagust, W., Jessen, F., Karlawish, J., Liu, E., Molinuevo, J. L., Montine, T., Phelps, C., Rankin, K. P., Rowe, C. C., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H. M. ve Sperling, R. (2018). NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia*, 14 (4), 535-562.
- Kaur, S., ve 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.
- Kaya, B., Özkay, Y., Temel, H. E., Kaplancikli, Z. A. (2016). Synthesis and Biological Evaluation of Novel Piperazine Containing Hydrazone Derivatives. *Journal of Chemistry*, 2016.

- Kinney, J. W., Bemiller, S. M., Murtishaw, A. S., Leisgang, A. M., Salazar, A. M., ve Lamb, B. T. (2018). Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia: Translational Research and Clinical Interventions*, 4, 575-590.
- Knez, D., Hrast, M., Frlan, R., Pišlar, A., Žakelj, S., Kos, J., ve Gobec, S. (2022). Indoles and 1-(3-(benzyloxy)benzyl)piperazines: Reversible and selective monoamine oxidase B inhibitors identified by screening an in-house compound library. *Bioorganic Chemistry*, 119, 105581.
- Kumar, A., Singh, A. and Ekavali. (2015). A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacological Reports*, 67 (2), 195-203.
- Kumar, B., Sheetal, Mantha, A. K., ve Kumar, V. (2018). Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies of phenyl-/benzhydrylpiperazine derivatives as potential MAO inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 77, 252-262.
- Kunkle, B. W., Grenier-Boley, B., Sims, R., Bis, J. C., Damotte, V., Naj, A. C., Boland, A., Vronskaya, M., van der Lee, S. J., Amlie-Wolf, A., Bellenguez, C., Frizatti, A., Chouraki, V., Martin, E. R., Sleegers, K., Badarinarayan, N., Jakobsdottir, J., Hamilton-Nelson, K. L., Moreno-Grau, S., Lieberman, A. P. (2019). Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates Aβ, tau, immunity and lipid processing. *Nature Genetics*, 51 (3), 414-430.
- Kuzu, B., Tan, M., Taslimi, P., Gülçin, İ., Taşpınar, M., ve Menges, N. (2019). Mono- or di-substituted imidazole derivatives for inhibition of acetylcholine and butyrylcholine esterases. *Bioorganic Chemistry*, 86, 187-196.
- Lee, V. M.-Y., Goedert, M., ve Trojanowski, J. Q. (2001). Neurodegenerative Tauopathies. *Annual Review of Neuroscience*, 24(1), 1121-1159.
- Levent, S., Acar Çevik, U., Sağlık, B. N., Özkay, Y., Can, Ö. D., Özkay, Ü. D., ve 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.
- Liu, X., Shi, D., Zhou, S., Liu, H., Liu, H., ve Yao, X. (2018). Molecular dynamics simulations and novel drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 13 (1), 23-37.
- Livingston, G., Sommerlad, A., Orgeta, V., Costafreda, S. G., Huntley, J., Ames, D., Ballard, C., Banerjee, S., Burns, A., Cohen-Mansfield, J., Cooper, C., Fox, N., Gitlin, L. N., Howard, R., Kales, H. C., Larson, E. B., Ritchie, K., Rockwood, K., Sampson, E. L., Quincy, S., Schneider, L.S., Selbæk, G., Teri, L., Mukadam, N. (2017). Dementia prevention, intervention, and care. *The Lancet*, 390 (10113), 2673-2734.
- Makhaeva, G. F., Lushchekina, S. V, Kovaleva, N. V, Yu. Astakhova, T., Boltneva, N. P., Rudakova, E. V, Serebryakova, O. G., Proshin, A. N., Serkov, I. V, Trofimova,

- T. P., Tafeenko, V. A., Radchenko, E. V., Palyulin, V. A., Fisenko, V. P., Korábečný, J., Soukup, O., ve Richardson, R. J. (2021). Amiridine-piperazine hybrids as cholinesterase inhibitors and potential multitarget agents for Alzheimer's disease treatment. *Bioorganic Chemistry*, 112, 104974.
- Mallia, A., ve Sloop, J. (2023). Advances in the Synthesis of Heteroaromatic Hybrid Chalcones. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28 (7).
- Markesbery, W. R. (1997). Oxidative Stress Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(1), 134-147.
- Martyna, G. J., Tobias, D. J., ve Klein, M. L. (1994). Constant pressure molecular dynamics algorithms. *The Journal of Chemical Physics*, 101 (5), 4177-4189.
- Mathew, B., Baek, S. C., Thomas Parambi, D. G., Lee, J. P., Mathew, G. E., Jayanthi, S., Vinod, D., Rapheal, C., Devikrishna, V., Kondarath, S. S., Uddin, M. S., ve Kim, H. (2019). Potent and highly selective dual-targeting monoamine oxidase-B inhibitors: Fluorinated chalcones of morpholine versus imidazole. *Archiv der Pharmazie*, 352 (4).
- Mathew, B., Oh, J. M., Baty, R. S., Batiha, G. E.-S., Parambi, D. G. T., Gambacorta, N., Nicolotti, O., ve Kim, H. (2021). Piperazine-substituted chalcones: a new class of MAO-B, AChE, and BACE-1 inhibitors for the treatment of neurological disorders. *Environmental Science and Pollution Research*, 28 (29), 38855-38866.
- Mathew, B., Parambi, D. G. T., Mathew, G. E., Uddin, Md. S., Inasu, S. T., Kim, H., Marathakam, A., Unnikrishnan, M. K., ve Carradori, S. (2019). Emerging therapeutic potentials of dual-acting MAO and AChE inhibitors in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Archiv der Pharmazie*, 352 (11), 1900177.
- Meena, P., Nemaysh, V., Khatri, M., Manral, A., Luthra, P. M., ve Tiwari, M. (2015). Synthesis, biological evaluation and molecular docking study of novel piperidine and piperazine derivatives as multi-targeted agents to treat Alzheimer's disease. *Bioorganic ve Medicinal Chemistry*, 23 (5), 1135-1148.
- Mellado, M., González, C., Mella, J., Aguilar, L. F., Viña, D., Uriarte, E., Cuellar, M., ve Matos, M. J. (2021). Combined 3D-QSAR and docking analysis for the design and synthesis of chalcones as potent and selective monoamine oxidase B inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 108.
- Merde, İ. B., Önel, G. T., Türkmenoğlu, B., Gürsoy, Ş., ve Dilek, E. (2022). Pyridazinones containing the (4-methoxyphenyl)piperazine moiety as AChE/BChE inhibitors: design, synthesis, in silico and biological evaluation. *Medicinal Chemistry Research*, 31 (11), 2021-2031.
- Mishra, C. B., Kumari, S., Manral, A., Prakash, A., Saini, V., Lynn, A. M., ve Tiwari, M. (2017). Design, synthesis, in-silico and biological evaluation of novel donepezil derivatives as multi-target-directed ligands for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 125, 736-750.

- Mohamed, T., Shakeri, A., ve Rao, P. P. N. (2016). Amyloid cascade in Alzheimer's disease: Recent advances in medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 113, 258-272.
- 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., ve Taslimi, P. (2022). New 4-phenylpiperazine-carbodithioate-N-phenylacetamide hybrids: Synthesis, in vitro and in silico evaluations against cholinesterase and α -glucosidase enzymes. *Archiv der Pharmazie*, 355 (5), 2100313.
- Moya-Alvarado, G., Yañez, O., Morales, N., González-González, A., Areche, C., Núñez, M. T., Fierro, A., ve García-Beltrán, O. (2021). Coumarin-chalcone hybrids as inhibitors of MAO-B: Biological activity and in silico studies. *Molecules*, 26 (9).
- Mozaffarnia, S., Teimuri-Mofrad, R., ve Rashidi, M.-R. (2020). Design, synthesis and biological evaluation of 2,3-dihydro-5,6-dimethoxy-1H-inden-1-one and piperazinium salt hybrid derivatives as hAChE and hBuChE enzyme inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 191, 112140.
- Naoi, M., Maruyama, W., Inaba-Hasegawa, K., ve Akao, Y. (2011). Type A monoamine oxidase regulates life and death of neurons in neurodegeneration and neuroprotection. *International Review of Neurobiology*, 100, 85-106.
- Osmaniye, D., Evren, A. E., Sağlık, B. N., Levent, S., Özkay, Y., ve Kaplancıklı, Z. A. (2022). Design, synthesis, biological activity, molecular docking, and molecular dynamics of novel benzimidazole derivatives as potential AChE/MAO-B dual inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, 355 (3), 2100450.
- Osmaniye, D., Sağlık, B. N., Acar Çevik, U., Levent, S., Kaya Çavuşoğlu, B., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z. A., ve Turan, G. (2019). Synthesis and AChE Inhibitory Activity of Novel Thiazolylhydrazones Derivatives. *Molecules*, 24(13).
- Ören, İ., Temiz, Ö., Yalçın, İ., Şener, E., ve Altanlar, N. (1999). Synthesis and antimicrobial activity of some novel 2,5- and/or 6-substituted benzoxazole and benzimidazole derivatives. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7 (2), 153-160.
- Parambi, D. G. T., Oh, J. M., Baek, S. C., Lee, J. P., Tondo, A. R., Nicolotti, O., Kim, H., ve Mathew, B. (2019). Design, synthesis and biological evaluation of oxygenated chalcones as potent and selective MAO-B inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 93, 103335.
- Petersen, R. C., Thomas, R. G., Grundman, M., Bennett, D., Doody, R., Ferris, S., Galasko, D., Jin, S., Kaye, J., Levey, A., Pfeiffer, E., Sano, M., van Dyck, C. H., ve Thal, L. J. (2005). Vitamin E and Donepezil for the Treatment of Mild Cognitive Impairment. *New England Journal of Medicine*, 352 (23), 2379-2388.

- Piplani, P., ve Danta, C. C. (2015). Design and synthesis of newer potential 4-(N-acetylamino)phenol derived piperazine derivatives as potential cognition enhancers. *Bioorganic Chemistry*, 60, 64-73.
- Pohanka, M. (2011). Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomedical Papers*, 155 (3), 219-230.
- Prince, P. R., Hochmair, J., Brognaro, H., Gevorgyan, S., Franck, M., Schubert, R., Lorenzen, K., Yazici, S., Mandelkow, E., Wegmann, S., ve Betzel, C. (2023). Initiation and modulation of Tau protein phase separation by the drug suramin. *Scientific Reports*, 13 (1).
- Reisberg, B., Doody, R., Stöffler, A., Schmitt, F., Ferris, S., ve Möbius, H. J. (2003). Memantine in Moderate-to-Severe Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, 348 (14), 1333-1341.
- Reitz, C., ve Mayeux, R. (2014). Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochemical Pharmacology*, 88 (4), 640-651.
- Release, S. (2016). 2: LigPrep, version 3.8 (2016) Schrödinger. LLC, New York, NY.
- Rodríguez-Lavado, J., Gallardo-Garrido, C., Mallea, M., Bustos, V., Osorio, R., Hödar-Salazar, M., Chung, H., Araya-Maturana, R., Lorca, M., Pessoa-Mahana, C. D., Mella-Raipán, J., Saitz, C., Jaque, P., Reyes-Parada, M., Iturriaga-Vásquez, P., ve Pessoa-Mahana, H. (2020). Synthesis, in vitro evaluation and molecular docking of a new class of indolylpropyl benzamidopiperazines as dual AChE and SERT ligands for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 198, 112368.
- S. Release, 1: Desmond molecular dynamics system, version 3.7, DE Shaw Research, New York, NY, Maestro-Desmond Interoperability Tools, version, 3 (2014).
- Sağlık, B. N., Ilgın, S., ve Özkay, Y. (2016). Synthesis of new donepezil analogues and investigation of their effects on cholinesterase enzymes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 124, 1026-1040.
- Sağlık, B. N., Levent, S., Osmaniye, D., Evren, A. E., Karaduman, A. B., Özkay, Y., ve Kaplancıklı, Z. A. (2022). Design, Synthesis, and In Vitro and In Silico Approaches of Novel Indanone Derivatives as Multifunctional Anti-Alzheimer Agents. *ACS Omega*, 7 (50), 47378-47404.
- Sağlık, B. N., Özkay, Y., Demir Özkay, Ü., ve Karaca Genç, H. (2014). Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel Dithiocarbamate Derivatives. *Journal of Chemistry*, 2014, 387309.
- Sahin, Z., Biltekin, S. N., Bülbül, E. F., Yurttaş, L., Berk, B., ve Demirayak, Ş. (2021). Design and synthesis of new donepezil analogs derived from arylpiperazine scaffold as acetylcholinesterase inhibitors. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 196 (3), 283-293.
- Sang, Z., Bai, P., Ban, Y., Wang, K., Wu, A., Mi, J., Hu, J., Xu, R., Zhu, G., Wang, J., Zhang, J., Wang, C., Tan, Z., ve Tang, L. (2022). Novel donepezil-chalcone-

- rivastigmine hybrids as potential multifunctional anti-Alzheimer's agents: Design, synthesis, in vitro biological evaluation, in vivo and in silico studies. *Bioorganic Chemistry*, 127, 106007.
- Sang, Z., Song, Q., Cao, Z., Deng, Y., Tan, Z., ve Zhang, L. (2021). Design, synthesis and evaluation of novel dimethylamino chalcone-O-alkylamines derivatives as potential multifunctional agents against Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 216.
- Sarı, S., ve Yılmaz, M. (2021). Acetylcholinesterase inhibition, molecular docking and ADME prediction studies of new dihydrofuran-piperazine hybrid compounds. *Medicinal Chemistry Research*, 30 (11), 2114-2126.
- Sasidharan, R., Eom, B. H., Heo, J. H., Park, J. E., Abdelgawad, M. A., Musa, A., Gambacorta, N., Nicolotti, O., Manju, S. L., Mathew, B., ve Kim, H. (2021). Morpholine-based chalcones as dual-acting monoamine oxidase-B and acetylcholinesterase inhibitors: synthesis and biochemical investigations. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 36 (1), 188-197.
- Scheltens, P., Blennow, K., Breteler, M. M. B., de Strooper, B., Frisoni, G. B., Salloway, S., ve Van der Flier, W. M. (2016). Alzheimer's disease. *The Lancet*, 388 (10043), 505-517.
- Schrödinger, L. (2016). Glide, version 7.1. Schrödinger, LLC: New York, NY, USA.
- Schrödinger, L. (2016). New York, NY, USA, 2012. LigPrep. version, 3.
- Schrödinger Release 2018-3: Prime, (2018). M.-D.I. Tools, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2020.
- Selkoe, D. J., ve Hardy, J. (2016). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Molecular Medicine*, 8 (6), 595-608.
- Sharshira, E. M., Ataalla, A. A., Hagar, M., Salah, M., Jaremko, M., ve Shehata, N. (2022). Novel Novolac Phenolic Polymeric Network of Chalcones: Synthesis, Characterization, and Thermal–Electrical Conductivity Investigation. *Molecules*, 27 (17).
- Shrivastava, S. K., Nivrutti, A. A., Bhardwaj, B., Waiker, D. K., Verma, A., Tripathi, P. N., Tripathi, M., ve Saraf, P. (2022). Drug reposition-based design, synthesis, and biological evaluation of dual inhibitors of acetylcholinesterase and β -Secretase for treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Molecular Structure*, 1262, 132979.
- Singla, S., ve Piplani, P. (2016). Coumarin derivatives as potential inhibitors of acetylcholinesterase: Synthesis, molecular docking and biological studies. *Bioorganic ve Medicinal Chemistry*, 24 (19), 4587-4599.
- Soreq, H., ve Seidman, S. (2001). Acetylcholinesterase--new roles for an old actor. *Nature reviews. Neuroscience*, 2 (4), 294–302.

- Soria Lopez, J. A., González, H. M., ve Léger, G. C. (2019). Chapter 13 - Alzheimer's disease. S. T. Dekosky ve S. Asthana (Ed.), *Handbook of Clinical Neurology*, 167, 231-255.
- Sureshkumar, B., Mary, Y. S., Resmi, K. S., Suma, S., Armačić, S., Armačić, S. J., Van Alsenoy, C., Narayana, B., ve Sobhana, D. (2018). Spectroscopic characterization of hydroxyquinoline derivatives with bromine and iodine atoms and theoretical investigation by DFT calculations, MD simulations and molecular docking studies. *Journal of Molecular Structure*, 1167, 95-106.
- Thomas T. (2000). Monoamine oxidase-B inhibitors in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 21(2), 343–348.
- Tok, F., Koçyiğit-Kaymakçioğlu, B., Sağlık, B. N., Levent, S., Özkay, Y., ve Kaplancıklı, Z. A. (2019). Synthesis and biological evaluation of new pyrazolone Schiff bases as monoamine oxidase and cholinesterase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 84, 41-50.
- Tok, F., Sağlık, B. N., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z. A., ve Koçyiğit-Kaymakçioğlu, B. (2022). Design, synthesis, biological activity evaluation and in silico studies of new nicotinohydrazide derivatives as multi-targeted inhibitors for Alzheimer's disease. *Journal of Molecular Structure*, 1265, 133441.
- Tripathi, A., Choubey, P. K., Sharma, P., Seth, A., Tripathi, P. N., Tripathi, M. K., Prajapati, S. K., Krishnamurthy, S., ve Shrivastava, S. K. (2019). Design and development of molecular hybrids of 2-pyridylpiperazine and 5-phenyl-1,3,4-oxadiazoles as potential multifunctional agents to treat Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 183, 111707.
- Tripathi, P. N., Srivastava, P., Sharma, P., Tripathi, M. K., Seth, A., Tripathi, A., Rai, S. N., Singh, S. P., ve Shrivastava, S. K. (2019). Biphenyl-3-oxo-1,2,4-triazine linked piperazine derivatives as potential cholinesterase inhibitors with anti-oxidant property to improve the learning and memory. *Bioorganic Chemistry*, 85, 82-96.
- Uddin, M. S., Kabir, M. T., Rahman, M. M., Mathew, B., Shah, M. A., ve Ashraf, G. M. (2020). TV 3326 for Alzheimer's dementia: a novel multimodal ChE and MAO inhibitors to mitigate Alzheimer's-like neuropathology. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 72 (8), 1001-1012.
- Ulku, I., Liebsch, F., Akerman, S. C., Schulz, J. F., Kulic, L., Hock, C., Pietrzik, C., Di Spiezio, A., Thinakaran, G., Saftig, P., ve Multhaup, G. (2023). Mechanisms of amyloid- β 34 generation indicate a pivotal role for BACE1 in amyloid homeostasis. *Scientific Reports*, 13 (1).
- Umar, T., Shalini, S., Raza, M. K., Gusain, S., Kumar, J., Seth, P., Tiwari, M., ve Hoda, N. (2019). A multifunctional therapeutic approach: Synthesis, biological evaluation, crystal structure and molecular docking of diversified 1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine derivatives against Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 175, 2-19.

- Unzeta, M., Esteban, G., Bolea, I., Fogel, W. A., Ramsay, R. R., Youdim, M. B. H., Tipton, K. F., ve Marco-Contelles, J. (2016). Multi-target directed donepezil-like ligands for Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*, 10, 205.
- Verma, R., Lamba, N. P., Dandia, A., Srivastava, A., Modi, K., Chauhan, M. S., ve Prasad, J. (2022). Synthesis of N-Benzylideneaniline by Schiff base reaction using Kinnow peel powder as Green catalyst and comparative study of derivatives through ANOVA techniques. *Scientific Reports*, 12 (1).
- Walczak-Nowicka, Ł. J., ve Herbet, M. (2021). Acetylcholinesterase inhibitors in the treatment of neurodegenerative diseases and the role of acetylcholinesterase in their pathogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17).
- World Health Organization (2021). Global status report on the public health response to dementia.
- Wu, M.-Y., Esteban, G., Brogi, S., Shionoya, M., Wang, L., Campiani, G., Unzeta, M., Inokuchi, T., Butini, S., ve Marco-Contelles, J. (2016). Donepezil-like multifunctional agents: Design, synthesis, molecular modeling and biological evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 121, 864-879.
- Xiang, W., Dekhne, A., Doshi, A., O'Connor, C., Hou, Z., Matherly, L. H., ve Gangjee, A. (2019). Discovery of amide-bridged pyrrolo[2,3-d]pyrimidines as tumor targeted classical antifolates with selective uptake by folate receptor α and inhibition of de novo purine nucleotide biosynthesis. *Bioorganic ve Medicinal Chemistry*, 27 (23), 115125.
- Xie, S.-S., Wang, X., Jiang, N., Yu, W., Wang, K. D. G., Lan, J.-S., Li, Z.-R., ve Kong, L.-Y. (2015). Multi-target tacrine-coumarin hybrids: Cholinesterase and monoamine oxidase B inhibition properties against Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 95, 153-165.
- Youdim, M. B. H., Edmondson, D., ve Tipton, K. F. (2006). The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. *Nature Reviews Neuroscience*, 7 (4), 295-309.
- Zhang, P., Xu, S., Zhu, Z., ve Xu, J. (2019). Multi-target design strategies for the improved treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 176, 228-247.
- Zhang, Q., Li, Q., Zhao, H., Shu, M., Luo, M., Li, Y., Ding, Y., Shi, S., Cheng, X., ve Niu, Q. (2023). Neurodegenerative disease and antioxidant biomarkers: A bidirectional Mendelian randomization study. *Frontiers in Neurology*, 14.
- Zhang, X., Wang, J., Hong, C., Luo, W., ve Wang, C. (2015). Design, synthesis and evaluation of genistein-polyamine conjugates as multi-functional anti-Alzheimer agents. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5 (1), 67-73.