

**ALZHEİMER VE PARKİNSON HASTALIKLARININ TEDAVİSİNDE ETKİLİ
OLABİLECEK YENİ BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ VE BİYOLOJİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Şafak ŞEPBOY

Eskişehir 2024

**ALZHEİMER VE PARKİNSON HASTALIKLARININ TEDAVİSİNDE ETKİLİ
OLABİLECEK YENİ BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ VE BİYOLOJİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Şafak ŞEPBOY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY
İkinci Danışman: Doç. Dr. Begüm Nurpelin SAĞLIK ÖZKAN**

**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ocak 2024**

Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından kabul edilen 2209S149 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Şafak ŞEPBOY'un "Alzheimer ve Parkinson hastalıklarının tedavisinde etkili olabilecek yeni bileşiklerin tasarımı, sentezi ve biyolojik etkilerinin araştırılması" başlıklı tezi 12/01/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	:
Üye	:
Üye	:
Üye	:
Üye	:

.....
Prof. Dr.
Enstitü Müdürü

ÖZET

ALZHEİMER VE PARKİNSON HASTALIKLARININ TEDAVİSİNDE ETKİLİ OLABİLECEK YENİ BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ VE BİYOLOJİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Şafak ŞEPBOY

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2024

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

İkinci Danışman: Doç. Dr. Begüm Nurpelin SAĞLIK ÖZKAN

Alzheimer ve parkinson hastalığı, kişinin hayat kalitesini bilişsel, duygusal ve davranışsal işlevlerdeki bozulmalar nedeniyle azaltmaktadır. İnsanların yaşam süresinin uzaması ve yaşlı nüfusunun artmasıyla birlikte modern tıp alanındaki gelişmelere rağmen bu iki hastalık dünya çapında önemli bir sorun olmaya başlamıştır. Bu iki hastalığın yaygınlaşması, hasta bakımı ve sağlık harcamaları konusunda ülke ekonomilerini olumsuz yönde etkilemektedir. Şu anda kullanılan ilaç tedavileri sadece semptomatik olup, bu konuda yeni ilaçlar bulmak için araştırmalar yapılmaktadır.

Antikolinesteraz ve monoamin oksidaz enzimlerini inhibe eden çeşitli şalkon türevleri son yıllarda yapılan araştırmalarda ortaya çıkmıştır. Bu projede, şalkon grubu içeren 9 yeni bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin yapıları ^1H NMR, ^{13}C NMR ve mass spektroskopisi yöntemleriyle aydınlatılmıştır. Son bileşiklerin kolinesteraz ve monoamin oksidaz enzimlerine karşı inhibisyon etkisi değerlendirilmiştir. Ayrıca, etkili bileşiklerin ilgili enzimlere bağlanma şekilleri moleküler modelleme ile analiz edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Antikolinesteraz, Monoamin oksidaz, Şalkon, Enzim inhibisyonu.

ABSTRACT

DESIGN, SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF THE BIOLOGICAL EFFECTS OF NEW COMPOUNDS THAT MAY BE EFFECTIVE IN THE TREATMENT OF ALZHEIMER AND PARKINSON'S DISEASES

Şafak ŞEPBOY

Department of Pharmaceutical Chemistry
Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, January 2024

Supervisor: Prof. Dr Yusuf ÖZKAY

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Begüm Nurlpelin SAĞLIK

Alzheimer's and Parkinson's disease reduce a person's quality of life due to impairments in cognitive, emotional and behavioral functions. Despite the advances in modern medicine as people's life expectancy increases and the elderly population increases, these two diseases have become an important problem worldwide. The spread of these two diseases negatively affects the country's economies in terms of patient care and health expenditures. The drug treatments currently used are only symptomatic, and research is being carried out to find new drugs in this regard.

Various chalcone derivatives that inhibit anticholinesterase and monoamine oxidase enzymes have emerged in recent studies. In this project, 9 new compounds containing chalcone groups were synthesized. The structures of the compounds were elucidated by ¹H NMR, ¹³C NMR and mass spectroscopy methods. The inhibition effect of the last compounds against cholinesterase and monoamine oxidase enzymes was evaluated. Additionally, the binding patterns of effective compounds to relevant enzymes were analyzed by molecular modelling.

Keywords: Anticholinesterase, Monoamine oxidase, Chalcone, Enzyme inhibition.

TEŞEKKÜR

Lisans ve lisansüstü eğitim hayatım boyunca desteğini her zaman hissettiğim, akademik çalışmalarını kendime örnek aldığım, zor zamanlarımda daima yanımda olan pek kıymetli ve değerli danışman hocam Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hocalarımlın hocası olan, kendisinden nasıl bir akademisyen ve eczacı olunması gerektiğini öğrendiğim sayın hocam Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI'ya çok teşekkür ederim.

Tez dönemim boyunca bana sürekli destek olan, tezimle ilgili her sıkıntıda yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Begüm Nurlpelin SAĞLIK'a ayrıca teşekkür ederim.

Son olarak meslek, eğitim ve aile hayatımda bana sürekli destek olan, kıymetli eşim Ecz. Ayşe Ece ŞEPBOY'a şükranlarımı 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.

.....
(İmza)

.....
(Adı-Soyadı)

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
YÜKSEK LİSANS TEZİ KAPAK 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.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	2
2.1. ALZHEİMER HASTALIĞI	2
2.1.1. Alzheimer hastalığının tanımı	2
2.1.2. Alzheimer hastalığının belirtileri	2
2.1.3. Hastalığın nedenleri.....	2
2.1.4. Alzheimer hastalığının tedavi yöntemleri	3
2.1.5. Kolinesteraz enzimi ve inhibitörleri.....	3
2.1.5.1. Takrin	4
2.1.5.2. Galantamin	4
2.1.5.3. Rivastigmin.....	5
2.1.5.4. Donepezil.....	5
2.1.5.5. Huperizin-A	6
2.1.6. Alzheimer tedavisinde kullanılan diğer ilaçlar	6
2.1.6.1. Memantin.....	6
2.2. PARKİNSON HASTALIĞI	7
2.2.1. Parkinson hastalığının tanımı	7
2.2.2. Parkinson hastalığının belirtileri	7
2.2.3. Parkinson hastalığının nedenleri.....	7
2.2.4. Parkinson hastalığının tedavi yöntemleri.....	8

2.2.5. Monoaminoksidaz enzimi ve inhibitörleri.....	8
2.2.5.1. Klorgilin	9
2.2.5.2. Moklobemid.....	9
2.2.5.3. Safinamid	9
2.2.5.4. Selejilin.....	10
2.3. TİYADİAZOL HALKA SİSTEMİYLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER	11
2.3.1. Bazı tiyadiazol türevi bileşiklerin sentezi	11
2.4. ŞALKONLAR HAKKINDA GENEL BİLGİLER.....	12
2.5. ASETİLKOLİNESTERAZ VE MOA AKTİVİTE ÇALIŞMALARINA KONU OLMUŞ ŞALKON VE TİYADİAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLER	13
3. GEREÇLER.....	29
3.1. KULLANILAN MADDELER.....	29
3.2. KULLANILAN CİHAZLAR	30
4. YÖNTEMLER	31
4.1. SENTEZ ÇALIŞMALARI.....	31
4.1.1. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid sentezi (1)	31
4.1.2. 3-(4-aminofenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on sentezi (2).....	31
4.1.3. 2-kloro-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid sentezi (3).....	31
4.1.4. N-sübstitüehidrazinkarbotiyoamid türevlerinin sentezi (4a-4i).....	32
4.1.5. 5-(Sübstitüeamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol türevlerinin sentezi (5a-5i). 32	
4.1.6. Hedef bileşiklerin sentezi (6a-6i)	33
4.2. İTK ÇALIŞMALARI	33
4.3. ERİME NOKTASI TESPİTİ.....	34
4.4. IR SPEKTRUMU ALINMASI	34
4.5. ¹ H NMR SPEKTRUMLARININ ALINMASI.....	34
4.6. ¹³ C NMR SPEKTRUMLARININ ALINMASI.....	34
4.7. KÜTLE SPEKTRUMU ÖLÇÜLMESİ	34
4.8. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI	35
4.8.1. Antikolinesteraz enzim aktivite çalışmaları.....	35
4.8.1.1 Kolin esteraz enzim solüsyonlarının hazırlanması	35
4.8.1.2. ATC çözeltisinin hazırlanması (0.075 M)	36

4.8.1.3. BTC çözeltisinin hazırlanması (0.075 M)	36
4.8.1.4. DTNB çözeltisi hazırlanması (0.01 M)	36
4.8.1.5. Fosfat tamponunun hazırlanması (pH=8.0)	36
4.8.1.6 AChE ve BChE inhibasyon çalışması	36
4.8.2 MOA enzim aktivite çalışmaları	37
4.8.3. Sitotoksisite etki çalışmaları	38
4.8.3.1. NIH3T3 hücrelerinin çoğaltılması.....	38
4.8.3.2. NIH3T3 hücrelerinin plakalara ekilmesi.....	39
4.8.3.3. NIH3T3 hücrelerine MTT sitotoksisite testinin uygulanması	39
4.9. MOLEKÜLER DOCKİNG ÇALIŞMALARİ	39
4.10. MOLEKÜLER DİNAMİK ÇALIŞMALARİ.....	40
5. BULGULAR VE TARTIŞMALAR	41
5.1. SENTEZ ÇALIŞMALARİ.....	41
5.1.1. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-((5-(etilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)asetamit (6a)	41
5.1.2 N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-((5-(propilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)asetamit (6b).....	44
5.1.3. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-((5-(izopropilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)asetamit (6c)	47
5.1.4. 2-((5-(bütilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamit (6d).....	50
5.1.5. 2-((5-(allilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamit (6e)	53
5.1.6. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-((5-(fenilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)asetamit (6f)	56
5.1.7. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-((5-(p-tolilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)asetamit (6g)	59
5.1.8. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-((5-((4 metoksifenil)amino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)asetamit (6h)	62
5.1.9. 2-((5-(sikloheksilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamit (6i).....	65
5.2. SENTEZ ÇALIŞMALARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	68
5.3. SPEKTRAL VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	69

5.3.1. ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	69
5.3.2. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi.....	69
5.4. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	69
5.4.1. AchE ve BchE enzimleri aktivite sonuçları ve değerlendirilmesi	70
5.4.2. MAO-A ve MAO-B enzimleri aktivite sonuçları ve değerlendirilmesi ..	71
5.5. MTT SİTOTOKSİSİTE TESTLERİ SONUÇLARI VE DEĞERLENDİRİLMESİ.....	72
5.6. MOLEKÜLER MODELLEME ÇALIŞMALARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	72
5.6.1. AchE Enzimi Üzerinde Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	73
5.6.2. MAO-B Enzimi Üzerinde Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	75
5.7. MOLEKÜLER DİNAMİK ÇALIŞMALARI.....	77
5.7.1. AChE Enzimi Üzerine Moleküler Dinamik Çalışmaları	77
5.7.2. MAO-B Enzimi Üzerine Moleküler Dinamik Çalışmaları	81
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	84
KAYNAKÇA	85
ÖZGEÇMİŞ	

TABLULAR DİZİNİ

	<u>sayfa</u>
Tablo 4.1. Sentezlenen bileşiklerin bileşiklerin R grupları.....	33
Tablo 5.1. Hedef bileşiklerin R grupları.....	69
Tablo 5.2. Test bileşikleri (6a-6i) ve referans maddelerin AchE ve BchE enzimlerine göre % inhibisyon oranları (10 ⁻³ ve 10 ⁻⁴ M konsantrasyonlarında) ve IC ₅₀ (μM) değerleri.....	70
Tablo 5.4. Test bileşikleri ve referans maddelerin MAO-A ve MAO-B enzimlerine göre % inhibisyon oranları (10 ⁻³ ve 10 ⁻⁴ M konsantrasyonlarında) ve IC ₅₀ (μM) değerleri.....	71
Tablo 5.4. Seçilen bileşiklerin enzimlere ve MTT sitotoksisite testi ile NIH3T3 hücrelerine karşı belirlenen IC ₅₀ değerleri.....	72

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Takrin Molekülü	4
Şekil 2.2. Galantamin'in Kimyasal Yapısı	5
Şekil 2.3. Rivastigmin Molekülü	5
Şekil 2.4. Donepezil Molekülü	5
Şekil 2.5. Huperizin-A Molekülü	6
Şekil 2.6. Memantin Molekülü	6
Şekil 2.7. Klorgilin Bileşiği Kimyasal Yapısı	9
Şekil 2.8. Moklobemid Bileşiği Kimyasal Yapısı	9
Şekil 2.9. Safinamid Bileşiği Kimyasal Yapısı	10
Şekil 2.10. Selejilin Bileşiğinin Kimyasal Yapısı	10
Şekil 2.11. Tiyadiazol Bileşikleri Kimyasal Formülleri	11
Şekil 2.12. Sentez Denklemi I	11
Şekil 2.13. Sentez Denklemi II	11
Şekil 2.14. 3-Metil-2bütenal Ve 1,3-Difenil-2-Büten-1on Bileşiklerinin Kimyasal Yapısı	12
Şekil 2.15. Şalkonların Genel Sentez Reaksiyon Denklemi	12
Şekil 2.16. I Ve II Numaralı Bileşikler	13
Şekil 2.17. 3u Kodlu Bileşiğin Kimyasal Yapısı	13
Şekil 2.18. I Ve II Nolu Bileşikler	14
Şekil 2.19. $IC_{50} = 0.087\mu m$ Değerli Bileşiğin Kimyasal Yapısı	14
Şekil 2.20. I Ve II Nolu Bileşiklerin Kimyasal Yapısı	15
Şekil 2.21. $IC_{50} = 0.0041$ değerine Sahip Bileşiğin Kimyasal Yapısı	15
Şekil 2.22. 1-[4-(6,7,8-Trimetoksikinazolin-4-İl)Aminofenil]-3-(3,5,6-Trimetilpirazin)Prop-2-En-1-On Bileşiği	15

Şekil 2.23. $IC_{50} = 0.57 \pm 0.01$ Mm Değerine Sahip Bileşiğin Kimyasal Yapısı	16
Şekil 2.24. $IC_{50} = 0.053 \pm 0.003$ Mm Değerine Sahip Bileşiğin Kimyasal Yapısı	16
Şekil 2.25. $IC_{50} = 8.19$ μ m Değerine Sahip Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	16
Şekil 2.26. I Ve II Nolu Bileşiklerin Kimyasal Yapıları	17
Şekil 2.27. I Ve II Nolu Bileşiklerin Kimyasal Yapıları	17
Şekil 2.28. I Ve II Nolu Bileşiklerin Kimyasal Yapıları	18
Şekil 2.29. (E)-3-(3-(2-Hidroksifenil)-3-Okzoprop-1-En-1-İl)Fenildimetilkarbamat Bileşiği	18
Şekil 2.30. (E)-3-(3-((5-(3,4-Dihidroizokinolin-2(1h)-İl)Pentil)Oksi)Fenil)-1-(2hidroksifenil)Prop-2-En-1-On Bileşiği.....	19
Şekil 2.31. (E)-1-(4-Klorofenil)-3-(4-Nitrofenil)Prop-2-En-1-On Bileşiği	19
Şekil 2.32. (Z)-2-(4-(Dimetilamino)Benziliden)-5,6-Dimetoksi-2,3-Dihidro-1h-İnden-1-On Bileşiği	19
Şekil 2.33. 0.14 ± 0.01 Mm IC_{50} Değerine Sahip Bileşiğin Kimyasal Yapısı	20
Şekil 2.34. $IC_{50} = 0.43 \pm 0.02$ μ M değerine sahip bileşiğin kimyasal yapısı.....	20
Şekil 2.35. 1 Ve 2 Numaralı Bileşiklerin Kimyasal Yapısı.....	20
Şekil 2.36. 3 Ve 4 Numaralı Bileşiklerin Kimyasal Yapısı.....	21
Şekil 2.37. 5 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	21
Şekil 2.38. 6 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	22
Şekil 2.39. 7 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	22
Şekil 2.40. 8 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	23
Şekil 2.41. 9, 10 Ve 11 Numaralı Bileşiklerin Kimyasal Yapısı.....	23
Şekil 2.42. 12 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	23
Şekil 2.43. 13 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	24
Şekil 2.44. 14 Numaralı Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	24
Şekil 2.45. 15 Ve 16 Numaralı Bileşiklerin Kimyasal Yapısı.....	25

Şekil 2.46. 3-(4-Klorofenil)-1-(5-Klorotiyofen-2-İl)Prop-2-En-1-On Bileşiği	25
Şekil 2.47. $IC_{50} = 9.3 \mu m$ Değerine Sahip Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	25
Şekil 2.48. Serideki En Aktif Bileşiğinin Kimyasal Yapısı	26
Şekil 2.49. Serideki En Aktif Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	26
Şekil 2.50. Serideki En Aktif Bileşiğin Kimyasal Yapısı.....	26
Şekil 2.51. Serideki En Aktif Bileşiğinin Ait Kimyasal Yapısı	27
Şekil 2.52. Serideki En Aktif Bileşiğinin Kimyasal Yapısı	27
Şekil 2.53. Serideki En Aktif Bileşiğinin Kimyasal Yapısı	27
Şekil 2.54. (E)-1-(3-Bromo-2,4,6-Trimetoksifenil)-3-(4-Klorofenil)Prop-2-En-1-On Bileşiğinin Kimyasal Yapısı	28
Şekil 2.55. Serideki En Aktif Bileşiğinin Kimyasal Yapısı	28
Şekil 3.1. Kullanılan Maddeler	29
Şekil 3.2. Kullanılan Cihazlar.....	30
Şekil 4.1. N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-Oksoprop-1-En-1-İl)Fenil)Asetamid Sentezi İçin Denklem.....	31
Şekil 4.2. 3-(4-Aminofenil)-1-(3,4-Dimetoksifenil)Prop-2-En-1-On Sentezi İçin Denklem.....	31
Şekil 4.3. 2-Kloro-N-(4-(3-(3,4-Dimetoksifenil)-3-Oksoprop-1-En-1-İl)Fenil)Asetamid Sentezi İçin Reaksiyon Denklemi.....	32
Şekil 4.4. N-Süstitüehidrazinkarbotiyoamid Türevlerinin Sentezi İçin Reaksiyon Denklemi.....	32
Şekil 4.5. 5-(Süstitüeamino)-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşikleri İçin Denklem	33
Şekil 4.6. Sentezlenmesi Amaçlanan Final Bileşikler İçin Denklem	33
Şekil 4.7. Yüzde Olarak İnhibisyon Oranları Formülü 1	37
Şekil 4.8. Yüzde Olarak İnhibisyon Oranları Formülü 2	38
Şekil 5.1. Bileşik 6a'ya Ait Kimyasal Yapı Formülü.....	41
Şekil 5.2. Bileşik 6a'ya Ait Kütle Spektrumu	42

Şekil 5.3. Bileşik 6a'ya Ait ^1H -Nmr Spektrumu	43
Şekil 5.4. Bileşik 6a'ya Ait ^{13}C -Nmr Spektrumu	43
Şekil 5.5. Bileşik 6b'ye Ait Kimyasal Yapı Formülü.....	44
Şekil 5.6. Bileşik 6b'ye Ait Kütle Spektrumu	45
Şekil 5.7. Bileşik 6b'ye Ait ^1H -Nmr Spektrumu.....	46
Şekil 5.8. Bileşik 6b'ye Ait ^{13}C -Nmr Spektrumu.....	46
Şekil 5.9. Bileşik 6c'ye Ait Kimyasal Yapı Formülü.....	47
Şekil 5.10. Bileşik 6c'ye Ait Kütle Spektrumu	48
Şekil 5.11. Bileşik 6c'ye Ait ^1H -Nmr Spektrumu	49
Şekil 5.12. Bileşik 6c'ye Ait ^{13}C -Nmr Spektrumu	49
Şekil 5.13. Bileşik 6d'ye Ait Kimyasal Yapı Formülü.....	50
Şekil 5.14. Bileşik 6d'ye Ait Kütle Spektrumu	51
Şekil 5.15. Bileşik 6d'ye Ait ^1H -Nmr Spektrumu.....	52
Şekil 5.16. Bileşik 6d'ye Ait ^{13}C -Nmr Spektrumu.....	52
Şekil 5.17. Bileşik 6e'ye Ait Kimyasal Yapı Formülü.....	53
Şekil 5.18. Bileşik 6e'ye Ait Kütle Spektrumu	54
Şekil 5.19. Bileşik 6e'ye Ait ^1H -Nmr Spektrumu	55
Şekil 5.20. Bileşik 6e'ye Ait ^{13}C -Nmr Spektrumu	55
Şekil 5.21. Bileşik 6f'e Ait Kimyasal Yapı Formülü	56
Şekil 5.22. Bileşik 6f'ye Ait Kütle Spektrumu.....	57
Şekil 5.23. Bileşik 6f'ye Ait ^1H -Nmr Spektrumu.....	58
Şekil 5.24. Bileşik 6f'ye Ait ^{13}C -Nmr Spektrumu	58
Şekil 5.25. Bileşik 6g'ya Ait Kimyasal Yapı Formülü.....	59
Şekil 5.26. Bileşik 6g'ye Ait Kütle Spektrumu	60
Şekil 5.27. Bileşik 6g'ye Ait ^1H -Nmr Spektrumu	61
Şekil 5.28. Bileşik 6g'ye Ait ^{13}C -Nmr Spektrumu	61

Şekil 5.29. Bileşik 6h'a Ait Kimyasal Yapı Formülü.....	62
Şekil 5.30. Bileşik 6h'ye Ait Kütle Spektrumu	63
Şekil 5.31. Bileşik 6h'ye Ait ¹ H-Nmr Spektrumu	64
Şekil 5.32. Bileşik 6h'ye Ait ¹³ C-Nmr Spektrumu.....	64
Şekil 5.33. Bileşik 6i'ye Ait Kimyasal Yapı Formülü	65
Şekil 5.34. Bileşik 6i'ye Ait Kütle Spektrumu.....	66
Şekil 5.35. Bileşik 6i'ye Ait ¹ H-Nmr Spektrumu	67
Şekil 5.36. Bileşik 6i'ye Ait ¹³ C-Nmr Spektrumu.....	67
Şekil 5.37. Sentez Basamakları	68
Şekil 5.38. Bileşik 6e'nin Ache Enzim Aktif Bölgesiyle Etkileşiminin İki Boyutlu (A) Ve Üç Boyutlu (B) Görünümü.....	74
Şekil 5.39. Bileşik 6e'nin Mao-B Enzim Aktif Bölgesiyle Etkileşiminin İki Boyutlu (A) Ve Üç Boyutlu (B) Görünümü.....	76
Şekil 5.40. Bileşik 6e'nin Ache Kompleksi İle Gerçekleştirilen Md Simülasyon Sonuçları	80
Şekil 5.41. Bileşik 6e'nin Mao-B Kompleksi İle Gerçekleştirilen Md Simülasyon Sonuçları	83

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AChE	: Asetilkolinesteraz
AH	: Alzheimer Hastalığı
ATC	: Asetiltiyokolin iyodür
BChE	: Bütirilkolinesteraz
BTC	: Bütiriltiyokolin iyodür
2D	: İki boyut
3D :	: Üç boyut
DMF	: Dimetilformamit
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DMSO-d ₆	: Dötorodimetilsülfoksit
DTNB	: 5,5'-Ditiyo-bis-(4-nitrobenzoik asiy)
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
E.N.	: Erime noktası
ESI :	: Elektron sprey iyonizasyon
IC ₅₀	: % 50 İnhibisyon konsantrasyonu
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
J	: Eşleşme sabiti
¹ H NMR	: Proton Nükleer Magnetik Rezonans
¹³ C NMR	: Karbon Nükleer Magnetik Rezonans
HRMS	: Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi

PH	: Parkinson hastalığı
m/z	: Kütle/yük
MAO-A	: Monoamin oksidaz A
MAO-B	: Monoamin oksidaz B
NIH3T3	: Fare fibroblast hücresi
TEA	: Trietil amin
THF	: Tetrahidrofur
TMS	: Tetrametilsilan

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer hastalığı (AH), tam olarak bilinmeyen çeşitli faktörlerle beyindeki bazı hücrelerin ölmesiyle ortaya çıkıp fiziksel ve davranışsal sorunlara yol açan, hastaların günden güne kötüleştiği bir beyin hastalığıdır[1]. Halk dilinde bunama olarak da bilinen AH'nı tarihte ilk defa Alois Alzheimer tanımlamıştır. Hastalığın belirtileri arasında; beyinde senil plak adı verilen birikimler, nörofibriler yumak denilen yapılar, sinir hücreleri arasındaki bağlantıların kopması ve nöron kaybı sayılabilir. Biyokimyasal çalışmalar, hastalıkta bazı nörotransmitterlerin (özellikle asetilkolin) azaldığını göstermiştir[2].

Reseptör agonistleri, kolinesteraz (ChE) inhibitörleri ve monoamin oksidaz (MAO) inhibitörleri, Alzheimer hastalığının farmakolojik tedavisinde kullanılmaktadır. Bu ilaçlardan ChE ve MAO enzim inhibitörleri, beyin hücrelerindeki nörotransmitter seviyesini artırmak için, bu enzimleri inhibe ederek nörotransmitterlerin parçalanmasını önler. Böylece, Alzheimer hastalarında eksik olan nörotransmitter seviyesini yükselterek, hastalığın ilerleyişini geciktirir[3].

Parkinson hastalığı (PH), sinir sisteminin kas hareketlerini kontrol etmesini engelleyen, zamanla kötüleşen bir hastalıktır. Titreme, kas sertliği, hareket yavaşlığı, denge ve yürüme sorunları gibi belirtiler gösterir[2]. Parkinson hastalığı, beyindeki bazal gangliyonlarda dopaminin azalmasıyla oluşmaktadır[3].

Parkinson hastalığı, beyin hücrelerinde azalan dopamin miktarı artırılarak tedavi edilebilmektedir. Dopamini metabolize eden MAO enzimi inhibe edilerek, dopamin seviyesi yükseltilebilmektedir[4].

Bu bilgilerden hareketle, tez kapsamında yapısında tiyadiazol halkası içeren salkon türevi, MAO ve ChE enzimleri üzerine etkili yeni bileşikler tasarlanıp, sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin MAO ve ChE enzimlerini inhibe etme potansiyellerine göre Alzheimer ve Parkinson hastalıklarındaki olası tedavi etkileri araştırılmıştır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Alzheimer Hastalığı

2.1.1. Alzheimer hastalığının tanımı

1907 yılında tanımlanan ve bunama olarak da bilinen Alzheimer Hastalığı(AH); hastalarda bilincin ve mental durumun zamanla bozulduğu progresif bir hastalıktır. AH'nda beyindeki sinir hücreleri zamanla tahribata uğramaktadır[5].

AH, yaşlılarda demansın en yaygın nedenidir[6]. Yapılan araştırmalara göre, dünya çapında yaklaşık 35.000.000 insan Alzheimer hastasıdır. Bu sayının 2030'da 2 katına; 2050'de 4 katına çıkabileceği tahmin edilmektedir[7]. Dünya çapında günden güne yaşlı nüfusun oranı artmaktadır. Bu sebeple yaşa bağlı olarak çıkan AH vb. hastalıkların insidans ve prevalansında yükselme beklenmektedir. AH hasta ve hasta yakınlarını maddi, manevi ve ekonomik olarak etkilemektedir. Alzheimer hastalığına yakalanan bireyler etkili bir tıbbi tedavi alamadığı sürece, hastalığın seyri ağır ekonomik yük ve sonrasında vefat olacaktır[6].

2.1.2. Alzheimer hastalığının belirtileri

Hastalık ilerledikçe bilişsel fonksiyonlar bozular. Hafıza kaybı, dil ve konuşma güçlüğü, zaman ve mekan kavramının yitilmesi ve kişilik değişimi hastalığın tipik belirtileridir. Bunların yanı sıra depresyon, anksiyete gibi psikolojik sorunlar da görülebilir. Bu sorunlar hem hastaların hem de bakıcılarının yaşam kalitesini olumsuz etkiler. Hastalar zamanla kendi bakımlarını yapamaz duruma gelir[8]. Hastalığın şiddetini ölçmek için Mini-Mental Durum Değerlendirmesi yapılır. Böylece çeşitli alanlarda hasta değerlendirir. MMDD, hastalığın başlangıcında iki veya daha fazla bilişsel alanda bozukluk olduğunu göstererek hastalığın ilerleyişini takip etmeye yardımcı olur. Tedavi edilmeyen hastalarda, MMDD puanı her yıl ortalama 2-4 puan azalır. Hastalığın ilk evrelerinde unutkanlıkla başlayan belirtiler, sinir hücrelerindeki tahribatın, beyindeki yaşamsal fonksiyonların yürütüldüğü bölgelere sıçraması sonucu felç ve ölümle sonuçlanmaktadır[9].

2.1.3. Hastalığın nedenleri

Alzheimer hastalığı nedeni tam olarak bilinmeyen ve çok faktörlü bir hastalıktır. AH'nin patomekanizmasıyla ilgili çok sayıda veri, hastalığın farklı etkenlerin bir araya

gelmesiyle ortaya çıktığını göstermektedir. Yapılan araştırmalar, merkezi sinir sisteminde (MSS) A β peptidi, α -sin κ leinin ve Tau gibi bazı ozel proteinlerin anormal bir şekilde birikmesi, ailevi genetik mutasyonlar ve beyindeki hasara yol a c an c evresel fakt or ler gibi c eşitli patojenik mekanizmaları ortaya koymuştur[10].

2.1.4. Alzheimer hastalığının tedavi y on temleri

AH, hafıza kaybı, d u ř u nmeye bozukluğu ve davranış değişikliği gibi belirtilere yol a c an bir beyin hastalığıdır. AH'nın tedavisi i c in hen u z kesin bir c oz u m yoktur, ancak bazı ila c lar semptomları azaltmaya yardımcı olabilir. AH'nın toplum ve bireyler u zerinde b u y u k bir mali ve insani y u k u vardır. Bu nedenle, AH'nın neden olduğu beyin hasarını on leyebilecek veya tersine c evirebilecek yeni ila c lar bulmak c ok on emlidir[6].

AH'nın ila c geliştirmesinde en c ok u zerinde durulan hedef, beyinde biriken ve sinir h u crelerinin ol um u ne yol a c an A β adlı proteindir. Ancak, A β 'yi hedef alan ila c adaylarının c oğu klinik denemelerde başarısız olmuştur. şu anda, AH tedavisi i c in FDA tarafından onaylanmış beş ila c vardır. Bunlardan d or d u , beyindeki asetilkolin adlı kimyasalın seviyesini artırarak sinir iletimini iyileştiren AChE inhibit or leridir. Takrin, galantamin, rivastigmin, donepezil ve Huperizin-A etken maddeleri kolinesteraz enzim inhibit or u olarak Alzheimer hastalığında kullanılmaktadır[11].

Beşinci ila c ise, A β 'yi hedef alan bir antik or olan Aduhelm ® 'dir. Bu ila c , AH tedavisinde bir devrim olarak g or l u lse de, etkinliği ve g u venliği konusunda hala tartışmalar devam etmektedir. AH i c in diğer potansiyel ila c lar, klinik denemelerin farklı aşamalarında test edilmektedir.

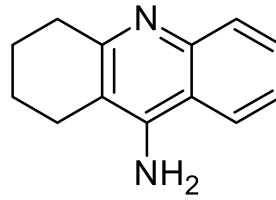
2.1.5. Asetilkolinesteraz inhibit or leri

Alzheimer n or odejeneratif hastalıklar arasında yaşlılarda en sık g or l u lenidir. Hafıza kaybı, bilişsel bozukluk ve davranış değişiklikleri gibi belirtilerle karakterizedir. AH'nın kesin nedeni hen u z bilinmemektedir, ancak bir c ok fakt or in rol oynadığı d u ř u nmektedir. Bunlardan bazıları, beyindeki izoprenoid metabolizmasının bozulması, tau proteininin anormal birikimi, amiloid beta peptidinin toksik etkisi ve kalsiyum homeostazının bozulmasıdır. Bu fakt or lerin hepsi, beyindeki kolinerjik sistemin işlevini etkileyebilir. Kolinerjik sistem, asetilkolin (ACh) adlı bir n or otransmitter aracılığıyla sinir h u creleri arasında iletişim sağlar. ACh, og renme ve hafıza gibi bilişsel s u re c lerde on emli bir rol oynar. AH hastalarında, beyindeki ACh seviyesi azalmıştır ve bu da hafıza

eksikliklerine yol açmaktadır. Bu nedenle, ACh seviyesini artırmak, AH tedavisinde potansiyel bir stratejidir. ACh seviyesini artırmanın bir yolu, ACh'yi parçalayan bir enzim olan asetilkolinesteraz (AChE)'i inhibe etmektir. AChE inhibitörleri, ACh'nin hidrolizini engelleyerek, sinaptik boşlukta daha uzun süre kalmasını ve kolinerjik sinyallerin iletilmesini sağlar[7].

2.1.5.1. Takrin

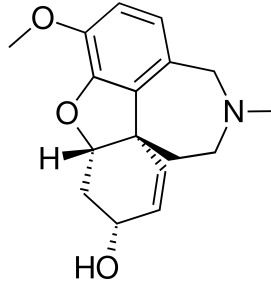
Bir aminoakridin türevi olan takrin, ilk kez 1949 yılında sentezlenmiştir. Kolinesteraz inhibitörleri arasında AH'da kullanılmak üzere onay alan ilk kolinesteraz inhibitörüdür ve Cognex adıyla satışa sunulmuştur[12]. Geri dönüşlü bir ChE enzim inhibitörü olan takrinin etki süresi 4-6 saat kadardır. Etkisi seçici değildir. Tüm kolinesteraz enzimlerini inhibe etmektedir. Kullanan hastalarda transaminaz enzimleri yüksekliğine neden olur. Hepatotoksik etkileri nedeniyle kullanımında dikkatli olunmalıdır. Bu sebeple tedavinin ilk 4 ayı, her hafta, karaciğer fonksiyon testlerine bakılmalıdır. AST, ALT enzimlerinin yükseldiği hastalarda ilaç kullanımı kesilmelidir. Alzheimer hastalarında görülen davranışsal bozuklukların düzeltilmesinde olumlu etkileri vardır. Etkisi doza bağımlı olup, hastanın durumuna göre doz ayarlanması gerekmektedir[13]. Etki süresinin kısa, yan etkilerinin fazla ve hepatotoksik olması nedeniyle günümüzde kullanımı yoktur.



Şekil 2.1. Takrin Molekülü

2.1.5.2. Galantamin

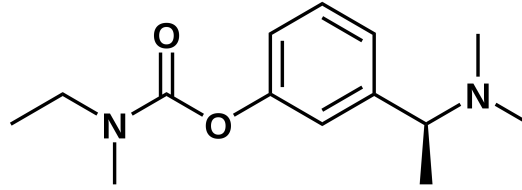
Reversibl, kompetitif ve selektif bir asetilkolinesteraz inhibitörü olan galantamin, *Galanthus nivalis* bitkisi ve bazı nergis türlerinden izole edilebilen bir alkaloiddir. Fakat doğal kaynakların az olması ve maliyet gibi sebeplerle günümüzde kimyasal olarak sentezlenmektedir[14]. Galantamin butirikolinesteraz enzimini de inhibe etmektedir. Aynı zamanda nikotinik reseptörlere de etkisi vardır. Günlük dozu 16-24 mg kadardır[15].



Şekil 2.2. Galantamin'in Kimyasal Yapısı

2.1.5.3. Rivastigmin

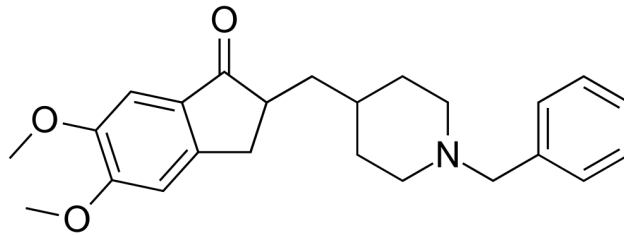
AH'nın başlangıcında ve hastalığın seyrinin orta şiddette ilerlediği durumlarda kullanılan rivastigmin geri dönüşümlü bir kolinesteraz inhibitörüdür. Butirilkolinesterazı da inhibe etmektedir. FDA, 2000 yılında AH tedavisinde kullanılmak üzere ilacın kullanımına onay vermiştir[16]. Ülkemizde oral solüsyon, transdermal flaster ve kapsül şeklinde ticari olarak pazarlanmaktadır.



Şekil 2.3. Rivastigmin Molekülü

2.1.5.4. Donepezil

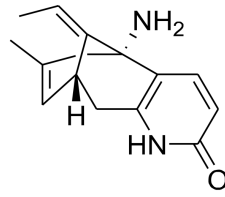
Donepezil spesifik, güçlü bir asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Geri dönüşümlü, nonkompetitif inhibasyon özelliği gösterir. Günde bir kez kullanılır. Gastrointestinal sistemde çeşitli yan etkileri (mide bulantısı, kusma, ağrı, ishal, kabız gibi) görülür ve baş ağrısı yapmaktadır. Fakat takrin gibi hepatotoksik etkileri bulunmamaktadır[17]. Hepatotoksik ve nefrotoksik etkisinin olmaması sebebiyle, karaciğer ve böbrek hastalarında güvenle kullanılır. Alzheimer hastalığının tüm evrelerinde kullanılır. Bir piperidin sınıfı olan donepezil günümüzde AH'da en çok kullanılan ilaçtır [18].



Şekil 2.4. Donepezil Molekülü

2.1.5.5. Huperizin-A

Çin kulüp yosunu olarak bilinen bir bitkiden elde edilen bir bileşik olan Huperzin-A, asetilkolinin parçalanmasını yavaşlatır. Bu yüzden, Alzheimer hastalığı gibi bilişsel bozuklukları olan kişiler için bir tedavi olabilir. Ayrıca beyin hücrelerini hasardan koruyabilir ve yeni beyin hücreleri oluşmasını teşvik edebilir. Hayvan deneylerinde ve insan çalışmalarında hafızayı ve zihinsel performansı iyileştirdiği görülmüştür. Ancak, etkinliği ve güvenliği hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Huperzin-A, şu anda sadece Çin’de Alzheimer hastalığı için onaylanmıştır[19].



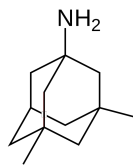
Şekil 2.5. Huperizin-A Molekülü

2.1.6. Alzheimer tedavisinde kullanılan diğer ilaçlar

Takrin, galantamin, rivastigmin, donepezil ve Huperizin-A etken maddeleri kolinesteraz enzim inhibitörü olarak Alzheimer hastalığında kullanılmaktadır. Fakat Alzheimer hastalığının tedavisinde NMDA reseptör antagonistleri de kullanılmaktadır. FDA tarafından onaylanıp piyasada kullanılan tek NMDA reseptör antagonisti memantin’dir[20].

2.1.6.1. Memantin

Memantin, Alzheimer hastalığı da dahil olmak üzere bir çok nörolojik hastalığın tedavisinde kullanılan bir NMDA reseptör antagonistidir. FDA tarafından 2003 yılında ruhsat vermiştir. Günümüzde Alzheimer hastalığında kullanılan piyasadaki tek NMDA reseptör antagonistidir[21]. Ülkemizde Melanda, Demax vb. ticari isimlerle pazarlanmaktadır.



Şekil 2.6. Memantin’in Molekülü

2.2. Parkinson Hastalığı

2.2.1. Parkinson hastalığının tanımı

Parkinson hastalığı, beyin ve MSS'deki bazı hücrelerin yavaşça kaybolmasıyla ilerleyen bir hastalıktır. Bu hücreler dopamin adı verilen bir kimyasal madde üretirler ve beyindeki hareketleri kontrol eden bir bölgeye gönderirler. Dopamin eksikliği, hareketlerde yavaşlama, titreme, kas sertliği ve denge bozukluğu gibi belirtilere yol açar. Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığının ardından en sık rastlanılan ikinci nörodejeneratif hastalıktır. Hastalık genellikle yaşlılık döneminde ortaya çıkmaktadır. Fakat bazı olgularda genç yaşta hastalığa yakalananlar da vardır[22]. 30-40 yaş arasında 100.000 kişide 41, 80 yaş ve üzerinde ise 100.000 kişide 1900 kişinin Parkinson hastalığına yakalandığı rapor edilmiştir. Erkekler, kadınlara göre hastalığa daha fazla yakalanma eğilimindedir. Dünya çapında yaklaşık 10 milyon insan Parkinson hastalığından etkilenmektedir. Bu oranın ilerleyen yıllarda daha da artması beklenmektedir[23].

2.2.2. Parkinson hastalığının belirtileri

Parkinson hastalığı, beyinde dopamin üreten hücrelerin azalması sonucu hareket bozukluğuna yol açan bir hastalıktır. Parkinson belirtileri şunlardır:

- Dinlenme halindeyken ellerde, çenede veya bacaklarda titreme
- Kaslarda sertlik ve katılık
- Hareketlerde yavaşlama ve zorlanma
- Yürümede dengesizlik ve düşme riski
- Mimiklerin azalması ve yüz ifadesinin donuklaşması
- Konuşmanın bozulması ve ses tonunun düşmesi
- Yazının küçülmesi ve okunaksızlaşması
- Depresyon, anksiyete, uyku bozuklukları, bilişsel gerileme gibi sorunlar[24].

2.2.3. Parkinson hastalığının nedenleri

Parkinson hastalığı (PH), beyindeki bazı sinir hücrelerinin ölmesiyle ortaya çıkan bir nörolojik bozukluktur. Bu hastalığın tek bir genin mutasyonu ile ilgili olduğu düşünülen bir türü vardır. Bu gene alfa-sinüklein (SNCA) denir. Ancak, bu genin hastalığa nasıl yol açtığı henüz tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca, hastaların çoğunda bu genle ilgili bir sorun yoktur. Hastalığın nedeni genetik ve çevresel faktörlerin birleşimi

olabilir. PH'nın riskini artıran bazı çevresel faktörler şunlardır: zirai ilaçlara maruz kalmak, kafaya darbe almak, bazı metaller ve kimyasallarla temas etmek, çok fazla kahve tüketmek[25].

2.2.4. Parkinson hastalığının tedavi yöntemleri

Günümüzde PH tedavisinde hala en etkili şekilde kullanılan ve standart kabul edilen ilaç levodopadır. Fakat levodopanın yan etkileri ve zamanla azalan tedavi özelliği nedeniyle PH tedavisinde tek başına kullanımından bahsetmek imkansızdır. Bu nedenle levodopa günümüzde ilaç kombinasyonları şeklinde piyasada bulunmaktadır (levodopa + benserazid, levodopa + karbidopa, levodopa + entakapon).

Ayrıca tedavi yaklaşımlarından bir diğeri de dopamin agonistlerini kullanmaktır. Bunlar apomorfin, piribedili prampipeksol, nopinirol, bromokriptin, kabergolin, lisurit ve porgolittir. PH semptomlarının tedavisinde levodopa'nın ardından kullanılan en güçlü ilaç grubudur. Levodopa'ya göre daha az yan etkilerinin bulunması sebebiyle tercih edilmektedirler. Genç yaşta yakalanılan PH olgularında tek ilaçla tedavide ilk seçenek olarak kullanılmaktadırlar.

Ayrıca PH'da amantadin, biperiden, bornapirin ve domperiden gibi ilaçlar da kullanılmaktadır[26].

Fakat bu tez kapsamında PH tedavi yöntemlerinden MAO inhibitörleri üzerinde durulacaktır.

2.2.5. Monoaminoksidaz enzimi ve inhibitörleri

Monoamin oksidaz (MAO), vücuttaki nörotransmitterlerin parçalanmasından sorumlu bir enzim türüdür. MAO, A ve B olarak iki alt tipe ayrılır. MAO-A, serotonin, norepinefrin ve dopamin gibi nörotransmitterleri parçalarken, MAO-B daha çok dopamin üzerinde etkilidir. MAO inhibitörleri sinir hücrelerindeki nörotransmitter miktarını artırır. Bu sebeplerle MAO-A inhibitörleri daha çok psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılırken, MAO-B inhibitörlerinin Parkinson ve Alzheimer gibi hastalıklarda kullanımı daha uygundur[27].

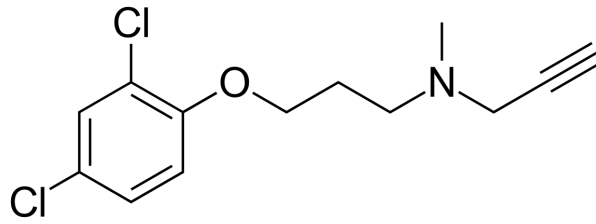
MAOI'lerin kullanımı, bazı gıda ve ilaçlarla ciddi etkileşimlere neden olmaktadır. Özellikle, tiramin içeren gıdalar (peynir, şarap, salam gibi) MAOI'lerle birlikte alındığında, kan basıncında tehlikeli bir yükselmeye yol açabilir. İlaç etkileşimi riskinden dolayı diğer antidepresanlarla birlikte kullanımında çok dikkatli olunmalıdır.

MAOI'ler, psikiyatrik tedavide önemli bir rol oynamış olsa da, günümüzde daha yeni ve daha güvenli antidepresanlar geliştirildiği için kullanımları azalmıştır[28].

MAOI'lerinden bazıları aşağıda değinilmiştir.

2.2.5.1. Klogilin

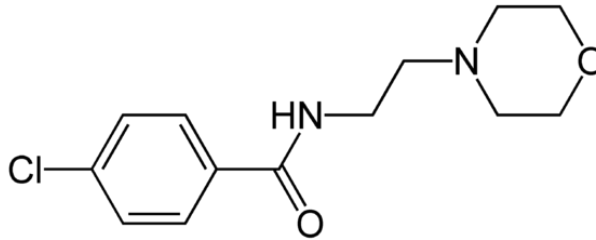
Klogilin seçici ve geri dönüşümsüz bir MAO-A inhibitörüdür. Bu sebeple depresyon gibi psikiyatrik hastalıklarda kullanılır[29].



Şekil 2.7. Klogilin bileşiği kimyasal yapısı

2.2.5.2. Moklobemid

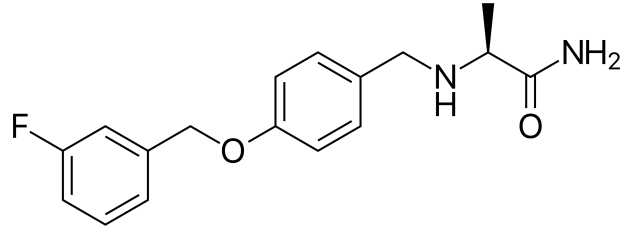
Moklobemid, geri dönüşümlü bir MAO-A inhibitörüdür. Bu nedenle daha çok psikiyatrik hastalıklarda kullanılmaktadır. Kimyasal olarak benzamid yapısındadır[30].



Şekil 2.8. Moklobemid bileşiği kimyasal yapısı

2.2.5.3. Safinamid

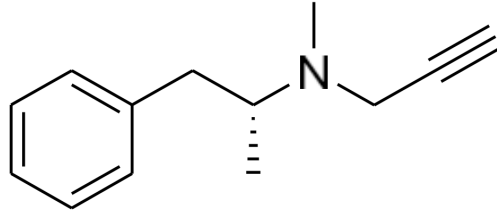
Orta ve ileri düzeydeki Parkinson hastaları için kullanılan bir ilaçtır. Geri dönüşümlü bir MAO-B inhibitörüdür. Tek başına veya L-dopa ile kombine bir şekilde kullanılır. Avrupa ve Amerika ve Kanada'da kullanımı için onay almıştır[31].



Şekil 2.9. Safinamid bileşiği kimyasal yapısı

2.2.5.4. Selegilin

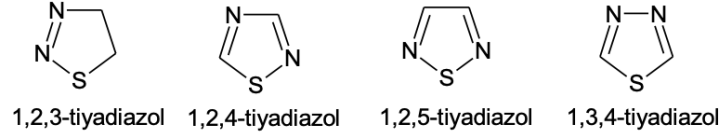
Selegilin'in sentezi ilk kez 1965 yılında Knoll tarafından yapılmıştır. [32] Selegilin 1975 yılından günümüze kadar PH'da kullanılmakta olan MAO-A ve MAO-B inhibitörüdür. Farmakolojik etkisini MSS'de dopaminin yıkımını azaltarak gösterir[33,34].



Şekil 2.10. Selegilin bileşiğinin kimyasal yapısı

2.3. Tiyadiazol Halka Sistemiyle İlgili Genel Bilgiler

Beş üyeli bir heterosiklik halka olan tiyadiazol; 2 azot, 2 karbon ve 1 tane de kükürt atomu taşımaktadır. Halkadaki hetero atomların yerine göre isimleri değişmektedir.

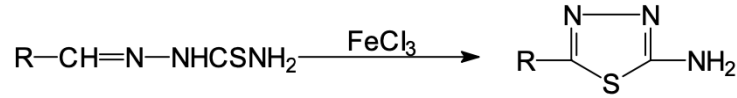


Şekil 2.11. tiyadiazol bileşikleri kimyasal formülleri

2.3.1. Bazı tiyadiazol türevi bileşiklerin sentezi

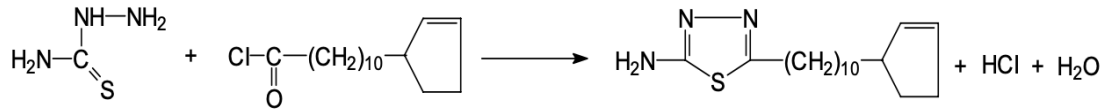
Tiyadiazol halkası içeren bileşikler ilk olarak 1894 yılında sentezlenmiştir. Bunlardan ilki 2-fenilamino-1,3,4-tiyadiazol bileşiği diğeri ise 2-(metil/allil)amino-1,3,4-tiyadiazol bileşiğidir[35].

1901 yılında 4-fenilbenzaltiyosemikarbazon, FeCl_3 ile okside edilerek 1,3,4-tiyadiazol yapısında bileşikler sentezlenmiştir[36].



Şekil 2.12. sentez denklemi 1

1942 yılında tiyosemikarbazit, hidnokarpik asit klorür ile reaksiyona sokularak 2-norhidnokarpil-5-amino-1,3,4-tiyadiazol bileşiği sentezlenmiştir[37].

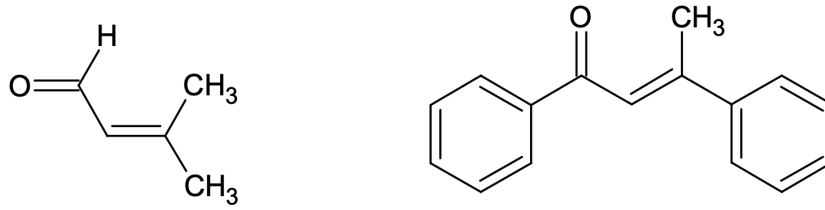


Şekil 2.13. sentez denklemi 2

1949 yılında 4-ariltiyosemikarbazit, H_2SO_4 ile tepkimeye sokulmuştur. Ardından 2-amino-5-aril-1,3,4-tiyadiazol bileşiği sentezlenmiştir[38].

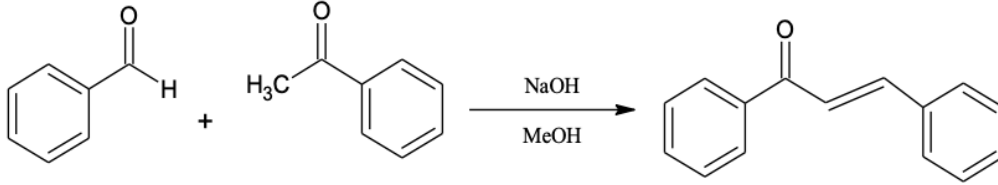
2.4. Şalkonlar Hakkında Genel Bilgiler

Şalkonlar $-\text{COCH}=\text{CH}-$ kimyasal formülüne sahip bileşiklerdir. En basit yapıdaki şalkon bileşiği 3-metil-2-bütenal'dır. Aromatik şalkonlar içerisinde ise 1,3-difenil-2-büten-1-on bileşiği en basit yapıya sahiptir. Şalkonlar; meyve, sebze, baharat, çay ve soya gibi gıdalarda bol miktarda bulunan doğal bileşiklerdir. Farmakolojik etkileri nedeniyle günümüzde çok geniş kullanım alanları vardır[39].



Şekil 2.14. 3-metil-2bütenal ve 1,3-difenil-2-büten-1on bileşiklerinin kimyasal yapısı

Şalkon sentezi aromatik aldehytlerin metil aril ketonlarla tepkimeye girdiği bir Claisen-Schmidt kondenzasyon tepkimesidir[40]. Tepkime NaOH veya KOH kullanılarak bazik ortamda gerçekleştirilir.

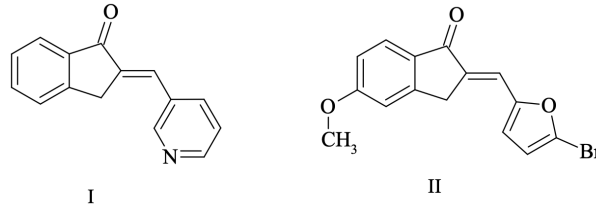


Şekil 2.15. şalkonların genel sentez reaksiyon denklemi

2.5. Asetilkolinesteraz ve MAO Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Şalkon ve Tiyadiazol Türevi Bileşikler

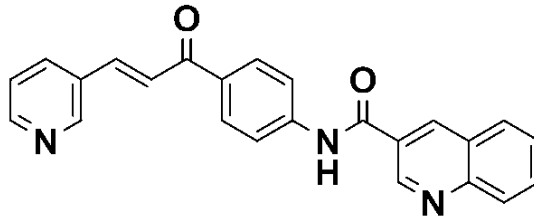
Son yıllarda yapılan çalışmalar şalkon ve tiyadiazol yapısı içeren bileşiklerin ChE ve MAO enzimleri üzerine inhibisyonda başarılı olabileceklerini göstermiştir. Bu bilgiler doğrultusunda şalkon-tiyadiazol yapısı içeren bileşiklerin Alzheimer ve Parkinson hastalıklarının tedavisi için yüksek potansiyele sahip oldukları düşünülmektedir. Yapılan çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

2018 yılında, şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından MAO aktivasyon testleri yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda, MAO-A enzimini en güçlü inhibe eden bileşiğin aşağıda formülü verilen I. Numaralı bileşik ($IC_{50} = 0.061 \mu M$) olduğunu, MAO-B'yi ise aşağıda formülü verilen II numaralı bileşik olduğu ($IC_{50} = 0.0044 \mu M$) olduğu tespit edilmiştir.[41].



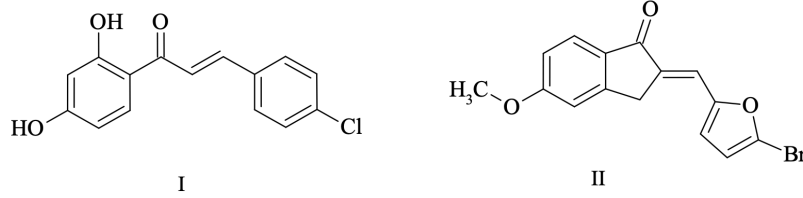
Şekil 2.16. I Ve II numaralı bileşikler

2019 yılında yapılan bir çalışmada bir dizi şalkon türevi bileşik sentezlenmiştir. Ardından aktivite testleri yapılmıştır. Yapılan aktivite testlerine göre serideki 3u kodlu bileşik ($IC_{50} = 7.50 \mu M$) asetilkolin esteraz enzimini %77 oranında inhibe etmiştir[42].



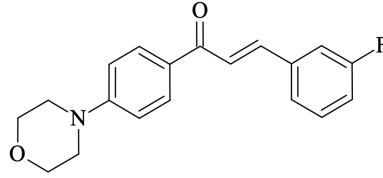
Şekil 2.17. 3u kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

2018 yılında yapılan bir araştırmada şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından sentezlenen bileşiklerle monoamin oksidaz enzimi aktivite çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda, aşağıda kimyasal yapısı gösterilen I nolu bileşiğin ($IC_{50} = 0.0051 \mu M$) ve II nolu bileşiğin ($IC_{50} = 0.0044 \mu M$) monoamin oksidaz-B enzimini güçlü bir şekilde inhibe ettiği görülmüştür[43].



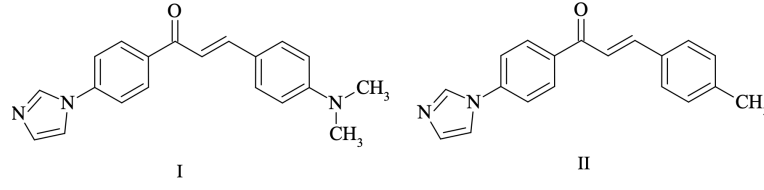
Şekil 2.18. I ve II nolu bileşikler

2018 yılında yapılan bir çalışmada şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından sentezlenen bileşiklerle MAO enzimi aktivasyon çalışmaları yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda, serideki bir bileşiğin MAO-B enzimini $IC_{50} = 0.087 \mu M$ değeriyle inhibe ettiği tespit edilmiştir[44].



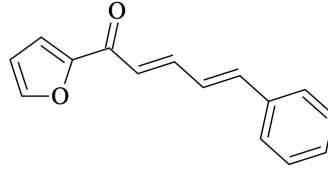
Şekil 2.19. $IC_{50} = 0.087 \mu M$ değerli bileşiğin kimyasal yapısı

2018 yılında şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından ilgili bileşiklerle MAO enzimleri aktivasyon testleri yapılmıştır. Sentezlenen I. bileşik MAO-A ve MAO-B enzimlerini sırasıyla 0.30 ± 0.010 ve $0.40 \pm 0.017 \mu M$ IC_{50} değerleriyle inhibe etmiştir. Sentezlenen II nolu bileşik ise MAO-A ($1.06 \pm 0.090 \mu M$ IC_{50}) ve MAO-B ($0.32 \pm 0.021 \mu M$ IC_{50}) enzimlerini inhibe etmiştir[45].



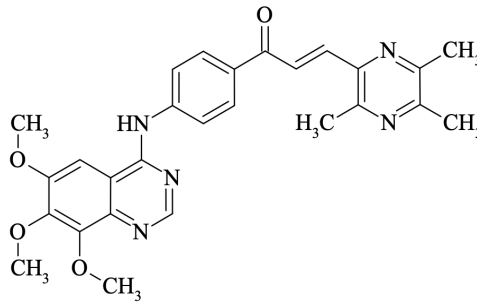
Şekil 2.20. I ve II nolu bileşiklerin kimyasal yapısı

2018 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından ilgili bileşikler ile MAO-B enzimi aktivite testleri yapılmıştır. Aktivite testlerine göre, $IC_{50} = 0.0041 \mu M$ değerine sahip bileşiğinin serideki en güçlü inhibitör olarak MAO-B enzimini inhibe ettiği tespit edilmiştir[46].



Şekil 2.21. $IC_{50} = 0.0041$ değerine sahip bileşiğin kimyasal yapısı

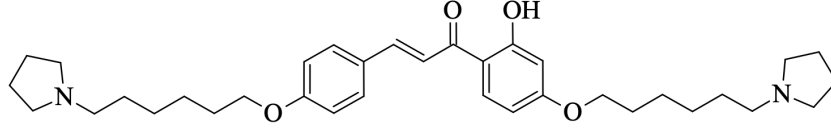
2018 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından MAO enzimi aktivasyon çalışmaları yapılmıştır. Yapılan aktivite çalışmalarına göre sentezlenen bir bileşik, serideki diğer bileşiklere göre MAO-B enzimini daha güçlü şekilde inhibe etmiştir. Bu bileşiğin kimyasal yapısı aşağıda verilmiştir[47].



Şekil 2.22. 1-[4-(6,7,8-Trimetoksikinazolin-4-il)aminofenil]-3-(3,5,6-trimetilpirazin)prop-2-en-1-on bileşiği

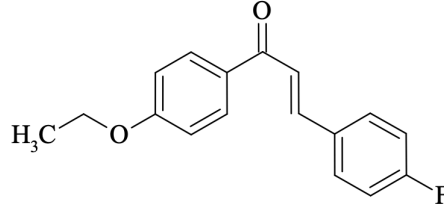
2019 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından MAO enzimleri aktivite çalışmaları yapılmıştır. Sentezlenen bileşikler içerisinde $IC_{50} = 0.57 \pm 0.01 \mu M$

değerine sahip bileşiğinin Monoaminoksidaz-B enzimini inhibe ettiği tespit edilmiştir[48].



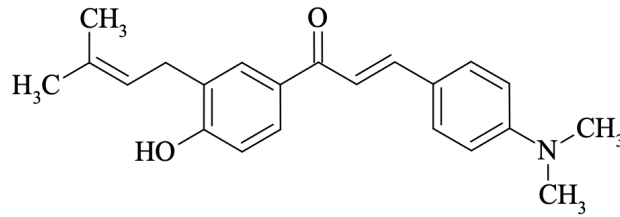
Şekil 2.23. $IC_{50} = 0.57 \pm 0.01 \mu M$ değerine sahip bileşiğin kimyasal yapısı

2019 senesinde yapılmış bir araştırmada şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından Monoaminoksidaz enzimleri aktivite çalışmaları yapılmıştır. Bu bileşiklerden birinin $IC_{50} = 0.053 \pm 0.003 \mu M$ değeriyle Monoaminoksidaz-B enzimini inhibe ettiği bulunmuştur[49].



Şekil 2.24. $IC_{50} = 0.053 \pm 0.003 \mu M$ değerine sahip bileşiğin kimyasal yapısı

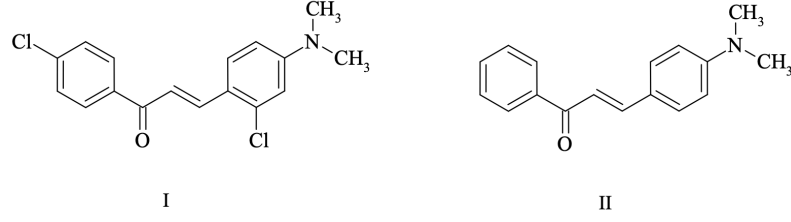
2019 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından MAO-B enzimi aktivite çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda, en etkili inhibitörün $IC_{50} = 8.19 \mu M$ değerine sahip olan bileşik olduğu tespit edilmiştir[50].



Şekil 2.25. $IC_{50} = 8.19 \mu M$ değerine sahip bileşiğin kimyasal yapısı

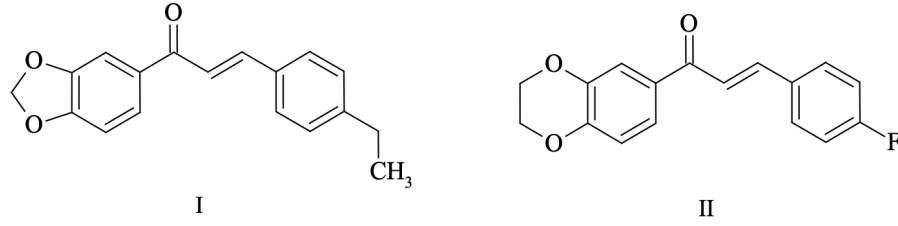
2019 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından MAO enzimleri aktivasyon testleri yapılmıştır. Aktivite testlerine göre MAO-A enzimi en güçlü şekilde inhibe eden bileşiğin aşağıda kimyasal yapısı verilen I nolu bileşik ($IC_{50} = 0.18 \mu M$)

olduğu ve MAO-B enzimi inhibe eden en aktif bileşiğin ise II nolu bileşik ($IC_{50} = 0.029 \mu M$) olduğu tespit edilmiştir[51].



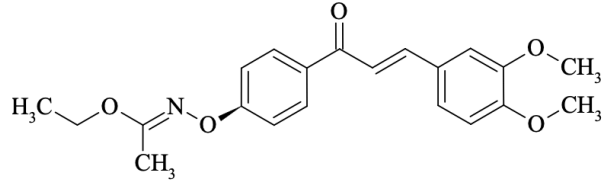
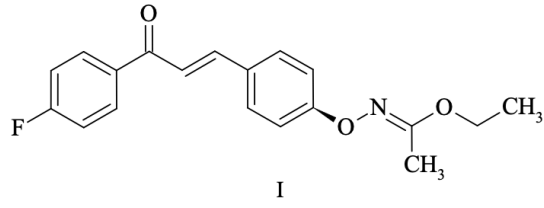
Şekil 2.26. I ve II nolu bileşiklerin kimyasal yapıları

2019 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından MAO enzimleri aktivite testleri yapılmıştır. Test sonuçlarına göre, MAO-A enzimini en güçlü inhibe eden bileşiğin aşağıda kimyasal yapısı verilen I nolu bileşik ($IC_{50} = 0.029 \mu M$) olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca MAO-B enzimini inhibe eden en aktif bileşiğin ise, II nolu ($IC_{50} = 0.0021 \mu M$) bileşik olduğu tespit edilmiştir[52].



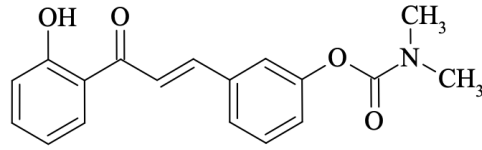
Şekil 2.27. I ve II nolu bileşiklerin kimyasal yapıları

2019 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından MAO enzimleri aktivasyon çalışmaları yapılmıştır. Aktivite çalışmalarına göre, aşağıda kimyasal yapısı verilen I nolu bileşiğin ($IC_{50} = 0.028 \pm 0.0016 \mu M$), MAO-B enzimi serideki diğer bileşiklere göre daha etkili bir şekilde inhibe ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca, II nolu ($IC_{50} = 0.51 \pm 0.051 \mu M$) bileşiğinin de, MAO-A enzimini serideki diğer bileşiklere göre daha yüksek oranda inhibe ettiği tespit edilmiştir[53].



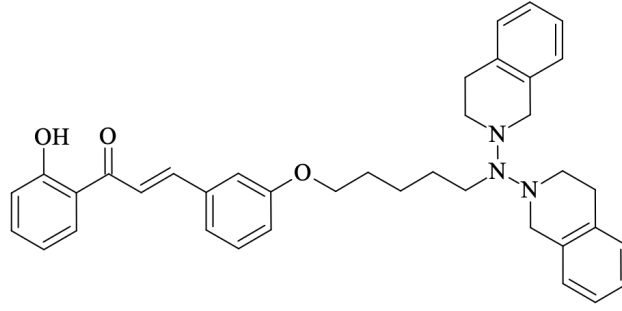
Şekil 2.28. I ve II nolu bileşiklerin kimyasal yapıları

2019 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından MAO-B enzimi aktivite çalışmaları yapılmıştır. Aktivite sonuçlarına göre serideki en aktif bileşiğin, aşağıda kimyasal yapısı verilen bileşik olduğu tespit edilmiştir[54].



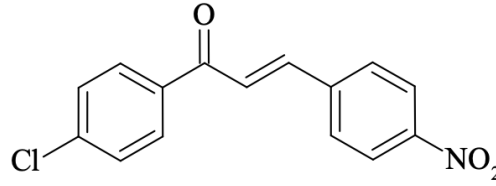
Şekil 2.29. (E)-3-(3-(2-Hidroksifenil)-3-okzoprop-1-en-1-il)fenildimetilkarbamat bileşiği

2019 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından MAO enzimleri Aktivite çalışmaları yapılmıştır. Aktivite sonuçlarına göre, aşağıda kimyasal yapısı verilen bileşiğinin seri içerisinde MAO-B enzimini en güçlü şekilde inhibe ettiği tespit edilmiştir[55].



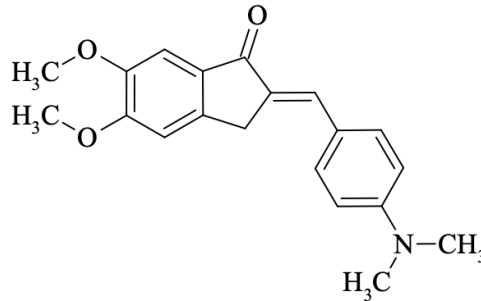
Şekil 2.30. *(E)-3-(3-((5-(3,4-Dihidroizokinolin-2(1H)-il)pentil)oksi)fenil)-1-(2hidroksifenil)prop-2-en-1-on bileşiği*

2019 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin MAO enzimi aktivite çalışmaları yapılmıştır. Yapılan çalışmalarına göre sentezlenen bileşikler içerisinde en aktif bileşiğin aşağıda kimyasal yapısı verilen bileşik olduğu belirlenmiştir[56].



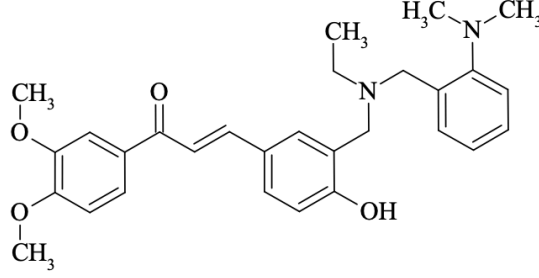
Şekil 2.31. *(E)-1-(4-Klorofenil)-3-(4-nitrofenil)prop-2-en-1-on bileşiği*

2019 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından MOA-B enzimi üzerindeki aktivasyon testleri yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu serideki en aktif bileşiğin aşağıda kimyasal yapısı verilen olduğu tespit edilmiştir[57].



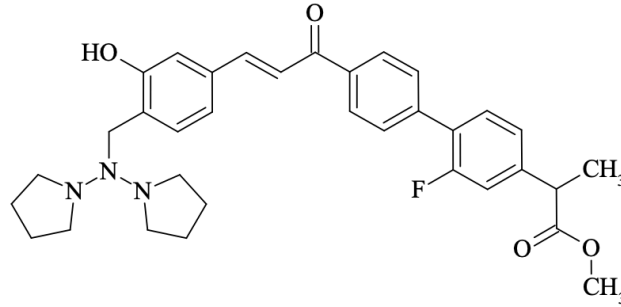
Şekil 2.32. *(Z)-2-(4-(Dimetilamino)benziliden)-5,6-dimetoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on bileşiği*

2019 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. MAO enzimleri üzerindeki inhibisyon aktiviteleri araştırılmıştır. İçlerindeki en etkili bileşiğin 0.14 ± 0.01 μM IC_{50} değerine sahip aşağıda kimyasal yapısı verilen bileşik olduğu tespit edilmiştir. [58].



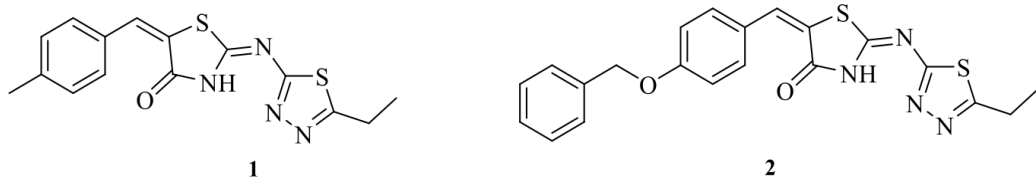
Şekil 2.33. 0.14 ± 0.01 μM IC_{50} değerine sahip bileşiğin kimyasal yapısı

2020 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından MAO enzimi aktivite çalışmaları yapılmıştır. Yapılan çalışmalarına göre $\text{IC}_{50} = 0.43 \pm 0.02$ μM değerine sahip bileşiğin, MAO enzimini güçlü bir şekilde inhibe ettiği tespit edilmiştir[59].



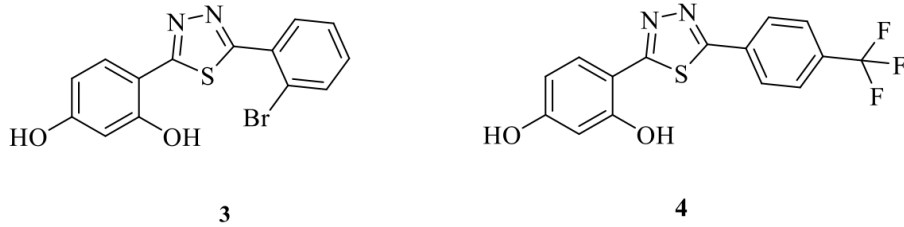
Şekil 2.34. $\text{IC}_{50} = 0.43 \pm 0.02$ μM değerine sahip bileşiğin kimyasal yapısı

2021 yılında yapılan çalışmada tiyazol ve tiyadiazol yapılarını içeren bir dizi bileşik sentezlenmiştir. Ardından ACh enzimi inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada bileşik 1 için $\text{IC}_{50}=1.30\pm 0.007$ ve bileşik 2 için $\text{IC}_{50}=1.22\pm 0.002$ mM değerleri tespit edilmiştir[60].



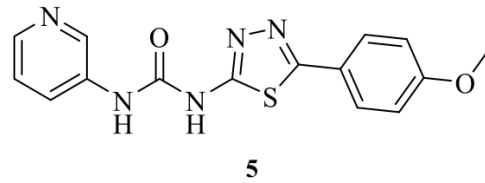
Şekil 2.35. 1 ve 2 numaralı bileşiklerin kimyasal yapısı

2013 yılında yapılan bir çalışmada bir dizi tiyadiazol türevi sentezlenmiştir. Ardından bu bileşiklerin AChE inhibisyon aktiviteleri araştırılmıştır. Bileşik **3** için $IC_{50}=0.006\pm 0.003 \mu M$ aktivite değeri ve bileşik **4** için $IC_{50}=0.009\pm 0.004$ aktivite değeri tespit edilmiştir[61].



Şekil 2.36. 3 ve 4 numaralı bileşiklerin kimyasal yapısı

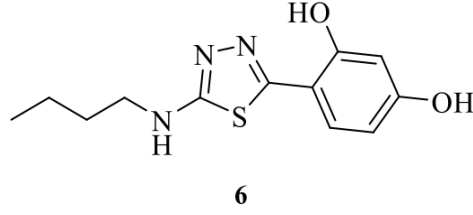
2014 yılında yapılan bir çalışmada bir dizi tiyadiazol türevi sentezlenmiştir. Ardından AChE inhibisyon aktiviteleri araştırılmıştır. Yapılan deneyler sonucu en aktif bileşiğin bileşik **5** olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiğin IC_{50} değeri ise $1.17\pm 0.06 \mu M$ 'dür[62].



Şekil 2.37. 5 numaralı bileşiğin kimyasal yapısı

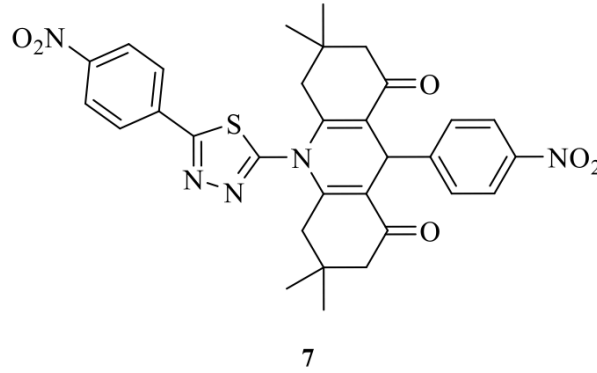
2021 yılında yapılan bir çalışmada bir dizi tiyadiazol türevi bileşik sentezlenmiştir. Ardından AChE inhibisyon aktiviteleri araştırılmıştır. Yapılan bu

araştırmaya göre bileşik 6 $0.029 \pm 0.005 \mu\text{M}$ IC_{50} değeriyle serideki en etkili bileşik olduğu bulunmuştur[63].



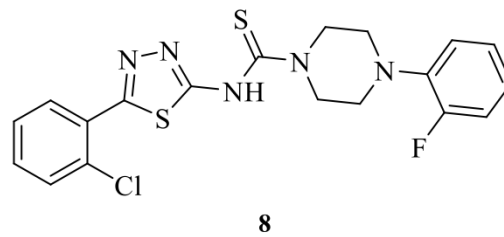
Şekil 2.38. 6 numaralı bileşiğin kimyasal yapısı

2020 yılında yapılan bir çalışmada tiyadiazol yapısı içeren bir dizi bileşik sentezlenmiştir. Ardından AChE inhibisyon aktiviteleri araştırılmıştır. Araştırma sonucu bileşik 7 $0.002 \pm 0.0003 \mu\text{M}$ IC_{50} değeri göstermiş ve içlerinde en aktif bileşik olduğu bulunmuştur[64].



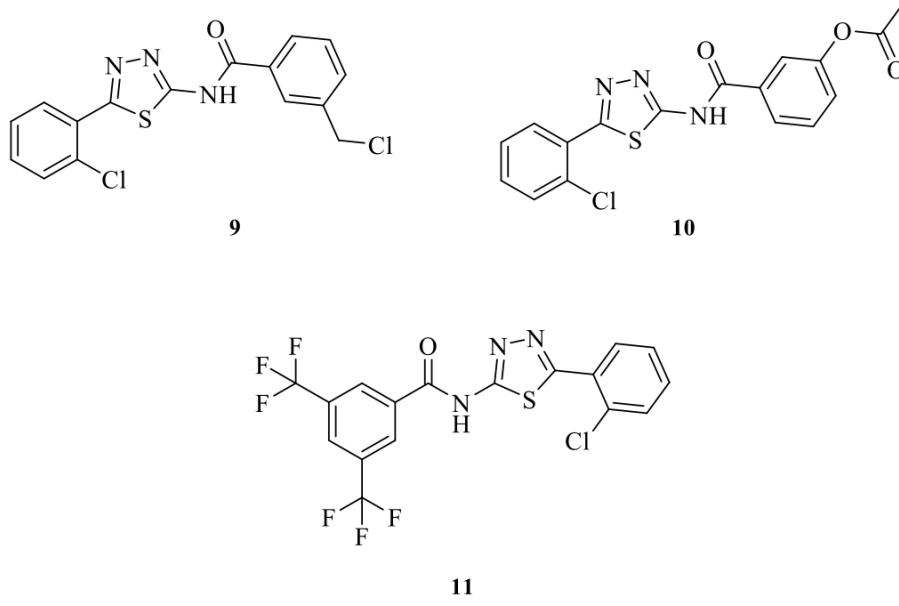
Şekil 2.39. 7 numaralı bileşiğin kimyasal yapısı

2018 yılında yapılan bir çalışmada tiyadiazol türevi bir dizi bileşik sentezlenmiştir. Ardından asetilkolin esteraz enzimi inhibisyon testleri yapılmıştır. Yapılan testler sonucunda IC_{50} değeri $1.51 \pm 0.25 \mu\text{M}$ olan bileşik 8 en yüksek aktiviteyi göstermiştir[65].



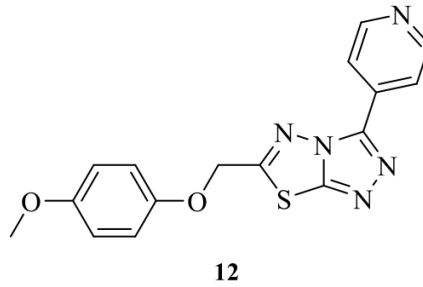
Şekil 2.40. 8 numaralı bileşiğin kimyasal yapısı

2016 yılında yayınlanan bir araştırmada tiyadiazol türevi bileşikler sentezlenmiş ve aktivite testleri yapılmıştır. Bu testler sonucunda en aktif bileşiklerin **9** ($IC_{50}=3.00\pm 0.5 \mu M$), **10** ($IC_{50}=3.03\pm 0.94$) ve **11** ($IC_{50}=2.74\pm 0.46 \mu M$) nolu bileşikler olduğu tespit edilmiştir[66].



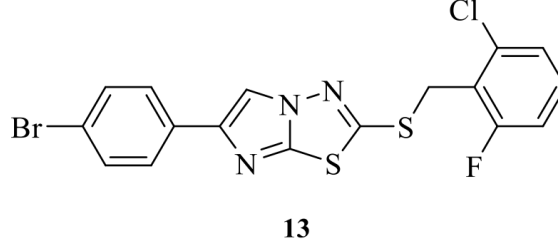
Şekil 2.41. 9, 10 ve 11 numaralı bileşiklerin kimyasal yapısı

2014 yılında yapılan bir çalışmada tiyadiazol halkası içeren bileşikler sentezlenmiştir. Ardından sentezlenen bileşiklerin aktivite testleri yapılarak, AChE inhibisyon potansiyelleri bulunmuştur. Sonuç olarak bileşik **12'nin** ($0.77\pm 0.08 \mu M IC_{50}$) içlerindeki en etkili bileşik olduğu bulunmuştur[67].



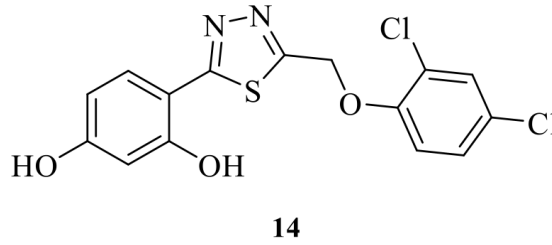
Şekil 2.42. 12 numaralı bileşiğin kimyasal yapısı

2021 senesinde tiyadiazol halkası içeren bileşik sentezlenmiştir. Daha sonra, bileşiklerin aktivite testleri yapılmıştır. Sonuç olarak sentezlenen bileşikler arasında **13** nolu bileşik ACh enzimine karşı en yüksek inhibisyon değerlerini göstermiştir[68].



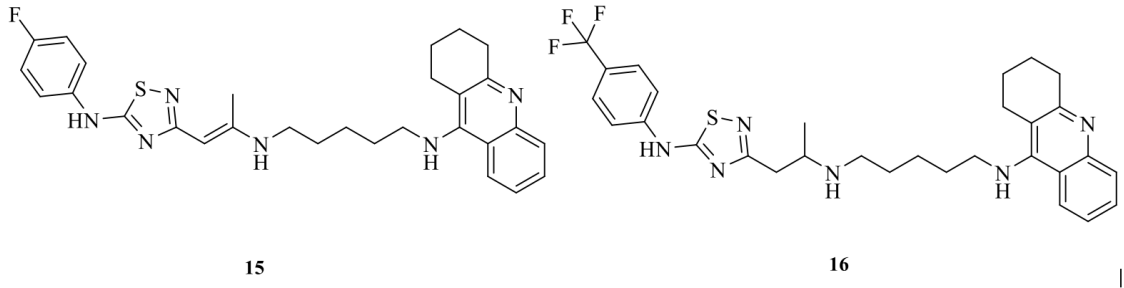
Şekil 2.43. 13 numaralı bileşiğin kimyasal yapısı

2013 yılında yapılan bir çalışmada bir dizi tiyadiazol halkası içeren bileşik sentezlenmiştir. Daha sonra bu bileşiklerin asetilkolin esteraz enzimi inhibisyonu üzerine aktivite testleri yapılmıştır. Sonuç olarak bileşik **14** ($0.053 \pm 0.003 \mu\text{M}$ IC₅₀) içlerindeki en etkili bileşik olarak bulunmuştur[69].



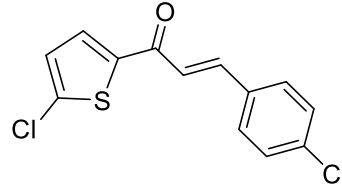
Şekil 2.44. 14 numaralı bileşiğin kimyasal yapısı

2020 yılında yapılan bir çalışmada tiyadiazol halkası içeren bileşikler sentezlenmiştir. Daha sonra bu bileşiklerin asetilkolin esteraz enzimi inhibisyonu üzerine aktivite testleri yapılmıştır. Sonuç olarak ise en yüksek aktivite değerlerine sahip olan bileşikler, bileşik **15** (IC₅₀= $1.24 \pm 0.06 \mu\text{M}$) ve bileşik **16** (IC₅₀= $0.361 \pm 0.014 \mu\text{M}$) olarak tespit edilmiştir[70].



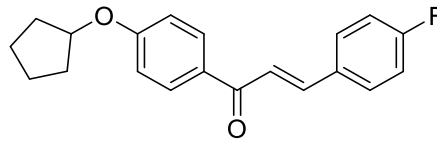
Şekil 2.45. 15 ve 16 numaralı bileşiklerin kimyasal yapısı

2018 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından AChE aktivite testleri yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonuçlarına göre aşağıda kimyasal yapısı verilen bileşiğin serideki en aktif bileşik olduğu tespit edilmiştir[71].



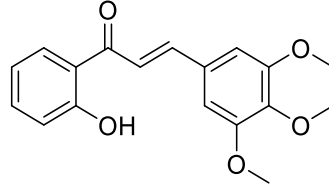
Şekil 2.46. 3-(4-Klorofenil)-1-(5-klorotiyofen-2-il)prop-2-en-1-on bileşiğinin kimyasal yapısı

2019 senesinde şalkon türevi bileşik sentezlenmiştir. Ardından AChE aktivite testleri yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonuçlarına göre aşağıda kimyasal yapısı verilen $IC_{50} = 9.3 \mu M$ değerine sahip bileşiğin serideki en aktif bileşik olduğu tespit edilmiştir[72].



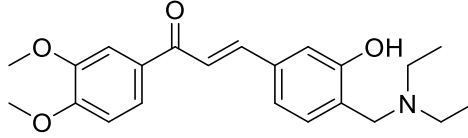
Şekil 2.47. $IC_{50} = 9.3 \mu M$ değerine sahip bileşiğin kimyasal yapısı

2019 senesinde şalkon türevi bileşik sentezlenmiştir. Ardından AChE aktivite testleri yapılmıştır. Yapılan testin sonuçlarına göre aşağıda kimyasal yapısı verilen $IC_{50} = 6.4 \pm 0.32 \mu M$ değerine sahip bileşiğin serideki en aktif bileşik olduğu tespit edilmiştir[73].



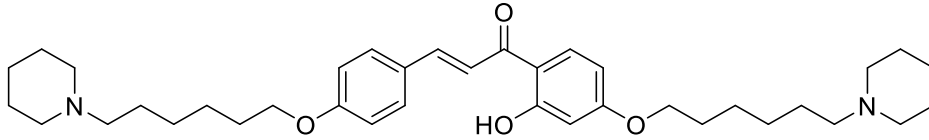
Şekil 2.48. serideki en aktif bileşiğinin kimyasal yapısı

2019 senesinde şalkon türevi bileşik sentezlenmiştir. Ardından AChE aktivite testleri yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonuçlarına göre aşağıda kimyasal yapısı verilen $IC_{50} = 0.44 \mu M$ değerine sahip bileşiğin içerisindeki en etkili bileşik olduğu bulunmuştur.[74].



Şekil 2.49. Serideki en aktif bileşiğin kimyasal yapısı

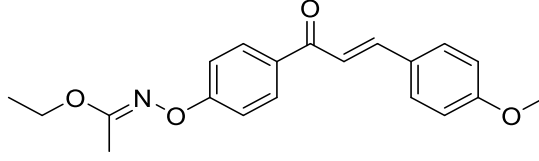
2019 senesinde şalkon-O-alkinamin türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından AChE aktivite testleri yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonuçlarına göre aşağıda kimyasal yapısı verilen $IC_{50} = 1.30 \mu M$ değerine sahip bileşiğin serideki en aktif bileşik olduğu tespit edilmiştir[75].



Şekil 2.50. Serideki en aktif bileşiğin kimyasal yapısı

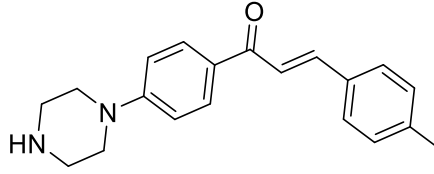
2019 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından AChE aktivite testleri yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonuçlarına göre aşağıda kimyasal yapısı verilen

$IC_{50} = 0.30 \pm 0.061 \mu\text{M}$ değerine sahip bileşiğin içlerindeki en etkili bileşik olduğu bulunmuştur[76].



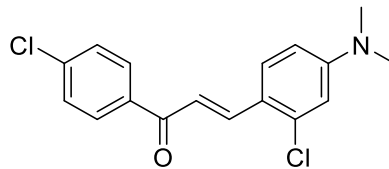
Şekil 2.51. Serideki en aktif bileşiğinin ait kimyasal yapısı

2019 senesinde bir seri Flurbiprofen-şalkon hibrid mannich bazı türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından AChE aktivite testleri yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonuçlarına göre aşağıda kimyasal yapısı verilen $IC_{50} = 7.15 \pm 0.023 \mu\text{M}$ değerine sahip bileşiğin içlerindeki en etkili bileşik olduğu bulunmuştur[77].



Şekil 2.52. Serideki en aktif bileşiğinin kimyasal yapısı

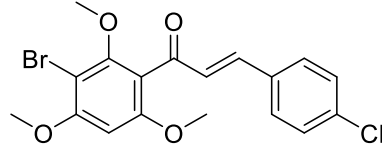
2019 senesinde bir seri şalkon türevi bileşik sentezlenmiştir. Ardından AChE aktivite testleri yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonuçlarına göre aşağıda kimyasal yapısı verilen $IC_{50} = 2.46 \pm 0.078 \mu\text{M}$ değerine sahip bileşiğin içlerindeki en etkili bileşik olduğu bulunmuştur[78].



Şekil 2.53. Serideki en aktif bileşiğinin kimyasal yapısı

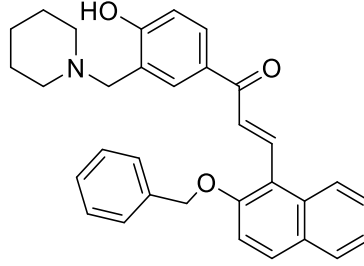
2020 senesinde bir seri şalkon türevi bileşik sentezlenmiştir. Ardından AChE aktivite testleri yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonuçlarına göre aşağıda kimyasal yapısı

verilen $IC_{50} = 2.97 \mu M$ değerine sahip bileşiğin serideki en aktif bileşik olduğu tespit edilmiştir[79].



Şekil 2.54. *(E)-1-(3-bromo-2,4,6-trimetoksifenil)-3-(4-klorofenil)prop-2-en-1-on bileşiğinin kimyasal yapısı*

2020 senesinde şalkon türevi bileşikler sentezlenmiştir. Ardından AChE aktivite testleri yapılmıştır. Yapılan aktivite testlerine göre aşağıda kimyasal yapısı verilen $IC_{50} = 1.0 \pm 0.003$ nM değerine sahip bileşiğin içlerindeki en etkili bileşik olduğu bulunmuştur[80].



Şekil 2.55. *Serideki en aktif bileşiğinin kimyasal yapısı*

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

2-Merkaptobenzotiyazol	: Merck, Almanya
2-Merkaptobenzoksazol	: Merck, Almanya
Potasyum karbonat	: Merck, Almanya
Dimetilformamit (DMF)	: Sigma-Aldrich, Almanya
Etanol	: Tekkim, Türkiye
Petrol eteri	: Merck, Almanya
4-Florobenzaldehit	: Merck, Almanya
Potasyum hidroksit	: Sigma-Aldrich, Almanya
Metanol	: Merck, Almanya
1-Metilpiperazin	: Merck, Almanya
1-Etilpiperazin	: Merck, Almanya
1-Allilpiperazin	: Sigma-Aldrich, Almanya
1-İzopropilpiperazin	: Sigma-Aldrich, Almanya
1-(2-Metoksietil)piperazin	: Merck, Almanya
1-[2-(Dimetilamino)etil]piperazin	: Merck, Almanya
Etil asetat	: Sigma-Aldrich, Almanya
Jelatin	: Sigma-Aldrich, Almanya
Silika jel 60 F ₂₅₄ kaplı alüminyum İTK plağı	: Merck, Almanya
DMSO-d 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
Asetiltiyokolin iyodür (ATC)	: Fluka, Almanya
Bütiriltiyokolin iyodür (BTC)	: Fluka, Almanya
5,5'-Ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB)	: Sigma, Almanya
Potasyum dihidrojen fosfat	: Sigma, Almanya
Dimetilsülfoksit (DMSO)	: Sigma, Almanya
Sodyum bikarbonat	: Sigma, Almanya
Donepezil	: Sigma, Almanya
Takrin	: Sigma, Almanya
Monoamine Oksidase-A human	: Sigma, Almanya
Monoamine Oksidase-A human	: Sigma, Almanya
Moklobemid	: Sigma, Almanya
Selejilin	: Sigma, Almanya
Horseradish Peroksidaz	: Sigma, Almanya
Ampliflu™ Red	: Sigma, Almanya
Tiramin	: Sigma, Almanya
Hidrojen Peroksit	: Sigma-Aldrich, Almanya

Şekil 3.1. Kullanılan maddeler

3.2. Kullanılan Cihazlar

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
İnkübatör	: Heraeus, Almanya
Nükleer manyetik rezonans spektrometresi	: Bruker, UltraShield 500 MHz, ABD
Kütle spektrometresi	: Shimadzu, APCI-MS, Japonya
Robotik pipetleme tablası	: BioTek-Preccision XS, ABD
Mikroplate okuyucu	: BioTek-Synergy H1, ABD
Vortex	: Wisemix, Güney Kore
Steril Kabin	: Class II TypeA2 (CHC-222A2-60), G.Kore

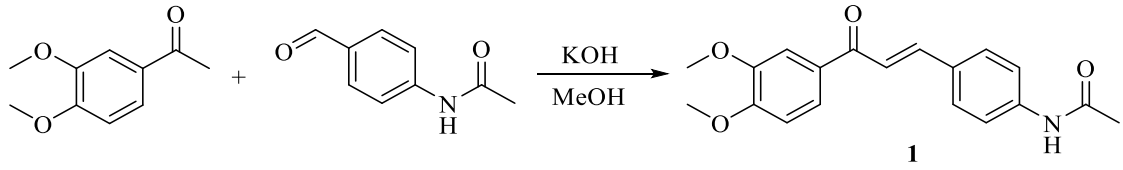
Şekil 3.2. Kullanılan cihazlar

4. YÖNTEMLER

4.1. Sentez Çalışmaları

4.1.1. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid sentezi (1)

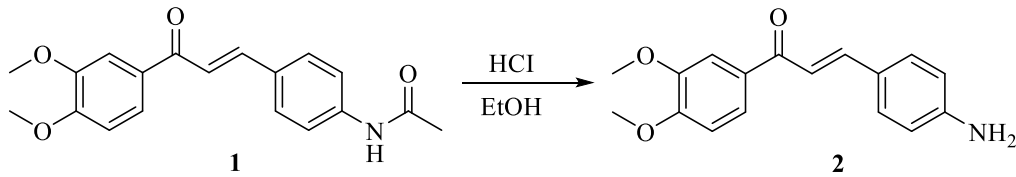
Potasyum hidroksit bileşiği (0,1 mol, 5,6 g) metanol içerisinde çözündürülmüştür. Çözeltiye 3',4'-dimetoksiasetofenon (0,1 mol) ve 4-asetamidobenzaldehyt (0,1 mol, 16,3 g) katılarak oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi 2 gün sürmüştür. Daha sonra oluşan çökelek süzümüştür. Süzüntü kurutulduktan sonra etanol ile kristallendirme işlemi yapılmıştır. Böylece 1 nolu bileşik elde edilmiştir.



Şekil 4.1. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid sentezi için denklem

4.1.2. 3-(4-aminofenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on sentezi (2)

N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (70 mmol) etanol (50 mL) içerisinde çözündürülmüştür. Daha sonra üzerine HCl (10 mL) eklenmiştir. Ardından geri çeviren soğutucu ile 12 saat boyunca ısıtılarak kaynamaya bırakılmıştır. İşlem sonunda deney ortamına buzlu su eklenip NH₃ ile nötrale edilmiştir. Çöken madde süzülerek alınmış, su ile yıkanıp kurutulmuştur. Son olarak etanol yardımıyla kristallendirme işlemi yapılmıştır. Böylece 2 nolu bileşik elde edilmiştir.

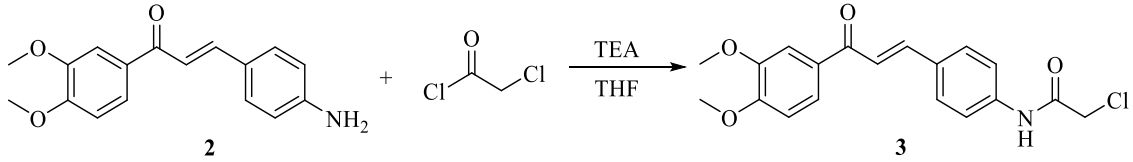


Şekil 4.2. 3-(4-aminofenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on sentezi için denklem

4.1.3. 2-kloro-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid sentezi (3)

3-(4-aminofenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on (0,05 mol) 200 mL THF içerisinde çözündürülerek buz banyosuna konulmuştur. Daha sonra çözeltiye TEA eklenmiştir. Kloroasetil klorür tetrahidrofuran içinde çözündürülerek damlatma hunisine

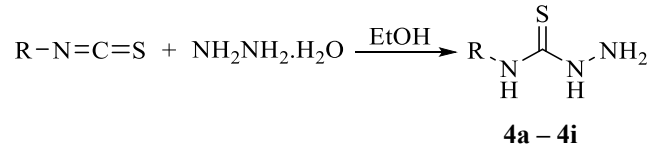
alınmıştır. 3-(4-aminofenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on çözeltisi üzerine kloroasetil klorür yavaşça eklenmiş ve sürekli karıştırma işlemi yapılmıştır. Reaksiyon bir saat boyunca sürdürülmüştür. Daha sonra THF uçurulmuştur. Ardından buz eklenmiştir. Donan kısım Süzülmüştür. Süzüntü bol su ile yıkanmıştır. En son kurutma işlemi yapılmış ve etanol ile kristallendirilmiştir. Böylece 3 nolu bileşik elde edilmiştir.



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

4.1.4. N-süstitüehidrazinkarbotiyoamid türevlerinin sentezi (4a-4i)

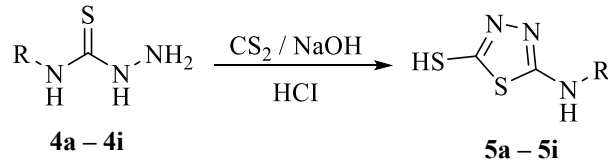
Uygun bir izotiyosiyanat türevi (10 mmol) ve hidrazin hidrat (20 mmol) etanol (100 mL) içinde oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Reaksiyonun tamamlanmasından sonra çöken ürün süzölmüş ve etanolden kristallendirilmiştir. Böylece 4a-4i nolu bileşikler sentezlenmiştir.



Şekil 4.4. N-süstitüehidrazinkarbotiyoamid türevlerinin sentezi için reaksiyon denklemi

4.1.5. 5-(Süstitüeamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol türevlerinin sentezi (5a-5i)

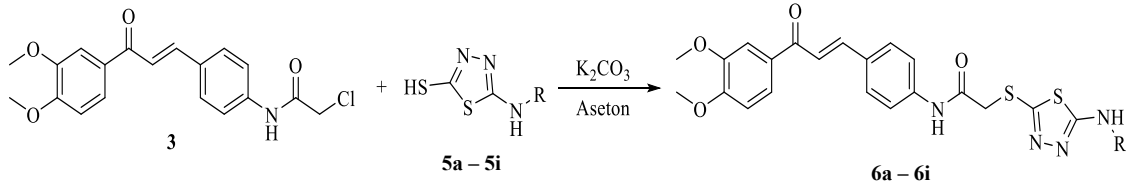
Bileşikler 4a-4i (9 mmol) etanol (100 mL) içerisinde çözöndürölüp, üzerine etanolde çözöndürölmüş NaOH (10 mmol, 0.4 g) solüsyonu ilave edilmiştir. Karbon disülfid (10 mmol, 0.6 mL) eklenmiştir. Karışım 8 saat boyunca kaynatılmıştır. Kaynatma işlemi geri çeviren soğutucu yardımıyla 8 saat sürdürölmüştür. Ardından çözelti soğutulmuş ve HCl çözeltisiyle pH asitleştirilmiştir. Ardından süzme ve etanol ile kristallendirme işlemi yapılmıştır. Böylece 5a-5i nolu bileşikler sentezlenmiştir.



Şekil 4.5. 5-(Süstitüeamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol bileşikleri için denklem

4.1.6. Hedef bileşiklerin sentezi (6a-6i)

Bileşik 3 ve K_2CO_3 birer mmol alınmıştır. Asetonda çözündürülüp üzerine uygun 5-(süstitüeamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol türevi (5a-5i) (1 mmol) ilave edilmiştir. Karışım geri çeviren soğutucu ile 40°C 'de 12 saat reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyonun bitip bitmediği İTK yöntemi ile kontrol edilmiştir. Daha sonra aseton uçurulmuştur. Son ürün su ile yıkayıp, süzülerek alınmıştır. En son kurutma işlemi yapıлып, etanol ile kristallendirme yapılmıştır. Böylece 6a-6j nolu bileşikler elde edilmiştir.



Şekil 4.6. Sentezlenmesi amaçlanan final bileşikler için denklem

Tablo 4.1. Sentezlenen bileşiklerin seri içerisindeki isimleri ve bileşiklerin R grupları

Bileşik	R	Bileşik	R
6a	Etil	6f	Fenil
6b	Propil	6g	4-Metilfenil
6c	İzopropil	6h	4-Metoksifenil
6d	Bütil	6i	Sikloheksil
6e	Allil		

4.2. İTK Çalışmaları

Tepekimelerin izlenmesinde her basamakta ince tabaka kromatografisi yöntemlerinden faydalanılmıştır. İTK deneylerinde, silikajel 60 F254 ile kaplanmış ve önceden belirlenmiş çözücü karışımlarıyla doyurulmuş alüminyum levhalar adsorban olarak seçilmiştir. Sentezlerde kullanılan reaktiflerin ve reaksiyon ortamından alınan örneklerin etanol çözeltileri, ince tüpler aracılığıyla levhalara aktarılmış ve hareketli

fazlarda taşınmaları sağlanmıştır. Levhalardaki noktaların durumu, UV (254 nm ve 366 nm) ile tespit edilmiştir. Tepkimelerin tamamlanıp tamamlanmadığına İTK sonuçlarına göre karar verilmiştir. Tezdeki her sentez aşamasında, İTK deneylerinde kullanılan uygun hareketli fazlar, farklı çözücü karışımları deneyerek bulunmuştur.

4.3. Erime Noktası Tespiti

Son ürünlerin erime noktalarının tespit edilmesi amacıyla, Mettler Toledo-MP90 erime noktası tespit cihazı kullanılmıştır. Son ürünlerden, bir ucu kapalı kılcal borulara 5mm civarında konularak örnekler alınmıştır. Kılcal borular cihaza yerleştirilip, video kaydı alınarak, örneklerin katı halden sıvı hale geçtikleri sıcaklıklar ölçülmüştür.

4.4. IR Spektrumu Alınması

Son ürünlerin IR spektrumlarını tespit etmek amacıyla Shimadzu-IR Affinity-1S cihazı kullanılmıştır. Cihaza bileşiklerden örnekler alınarak toz halde yerleştirilmiştir. Bu şekilde IR spektrumları tespit edilmiştir.

4.5. ¹H NMR Spektrumlarının Alınması

Sentezlenen bileşiklerin ¹H NMR spektrumlarının tespit edilmesi amacıyla, Bruker marka 300 MHz'lik NMR spektrumu ölçüm cihazı kullanılmıştır. sentezlenen maddeler DMSO-*d*₆ içerisinde çözüldürülmüşlerdir. Bu çözeltiler tetrametilsilana (TMS) karşı spektrometreye uygulanarak, spektrumları kaydedilmiştir.

4.6. ¹³C NMR Spektrumlarının Alınması

Son ürünlerin ¹³C NMR spektrumlarının tespit edilmesi amacıyla, Bruker marka 300 MHz'lik NMR spektrumu ölçüm cihazı kullanılmıştır. sentezlenen maddeler DMSO-*d*₆ içerisinde çözüldürülmüşlerdir. Bu çözeltiler tetrametilsilana (TMS) karşı spektrometreye uygulanarak, spektrumları kaydedilmiştir.

4.7. Kütle Spektrumu Ölçülmesi

Son ürünlerin kütle spektrumlarının alınması amacıyla Shimadzu LCMS-IT-TOF cihazı kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerden örnekler alınıp, asetonitril içerisinde çözüldürülmüştür. Çözeltiler cihaza enjekte edilip, cihazın pozitif ve negatif modunda

spektrumlar alınmıştır. Teknik olarak ESI – elektron spre y iyonizasyonu yöntemi kullanılmıştır.

4.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Sentezlenen bileşiklerin kolinesteraz ve monoamin oksidaz inhibasyon potansiyelleri araştırılmıştır. Ayrıca sentezlenen bileşiklerin sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmaların her aşamasında Milipor Milli-Q Syntesis A10 kullanılmıştır. Bu cihaz yardımıyla saf su elde edilmiştir. Biyolojik aktivite çalışmaları yapıldığı süre boyunca tüm çözeltiler taze olarak hazırlanmış olup, hazırlanan çözeltiler en fazla 1 hafta kullanılmıştır. Enzim inhibasyon deneylerinde tüm aşamalar otomatik olarak, BioTek-Precision Power (USA) robotik pipetleme sistemi kullanılarak, 96 kuyucuklu plakalarla yapılmıştır. Daha sonra bu plakalar BioTek-Synergy H1 Microplate Reader (USA) kullanılarak izlenmiş, enzim protokolü oluşturulup verileri alınmıştır.

Biyolojik aktivite çalışmalarında genellikle 10^{-3} ve 10^{-4} M'lık iki konsantrasyonlarda inhibasyon çalışmaları yapılmış olup, enzim aktivite değerleri yüzde olarak hesaplanmıştır. %50 ve daha yüksek inhibasyon görülmesi durumunda ise 10^{-9} M konsantrasyona kadar inilip hassas inhibasyon oranları hesaplanmıştır. Tüm konsantrasyonlar %2'lik DMSO çözeltisi içerisinde hazırlanmıştır.

4.8.1. Antikolinesteraz enzim aktivite çalışmaları

Sentezlenen bileşiklerin her iki kolin esteraz enzimi aktivite çalışmaları modifiye Ellman metoduyla gerçekleştirilmiştir.

4.8.1.1 Kolin esteraz enzim solüsyonlarının hazırlanması

AChE ve BChE enzimi başlangıçta liyofilize haldedir. Aktivite çalışmalarına başlamadan kısa bir süre önce %1'lik konsantrasyondaki jelatin çözeltisi kullanılarak enzim çözündürülmüş ve 500 U/mL konsantrasyonda enzim solüsyonu hazırlanmıştır. Fakat Ellman metodunda çalışma konsantrasyonu 2,5 U/mL olduğu için, aktivite çalışmalarına başlanmadan hemen önce seyreltilerek 2,5 U/mL konstrasyonda enzim solüsyonuyla işlemler yapılmıştır.

4.8.1.2. ATC çözeltisinin hazırlanması (0.075 M)

Çözelti aktivite çalışmalarından hemen önce hazırlanmıştır. Asetiltiyokolin iyodür bileşiğinden 0.217 gram alınıp suda çözündürülmüştür. Daha sonra çözelti 10 mL'ye tamamlanmıştır. En son 0.4 mL'lik kısımlara bölünüp kullanılmıştır.

4.8.1.3. BTC çözeltisinin hazırlanması (0.075 M)

Çözelti aktivite çalışmalarından hemen önce hazırlanmıştır. Bütiriltiyokolin iyodür bileşiğinden 0.237 gram alınıp suda çözündürülmüştür. Ardından çözelti hacmi suyla 10 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra karışım 0.4 mL'lik kısımlara bölünüp kullanılmıştır.

4.8.1.4. DTNB çözeltisi hazırlanması (0.01 M)

Bu çözeltisi aktivite çalışmalarından hemen önce hazırlanmıştır. DTNB bileşiğinden 0.396 g alınarak bir miktar suda çözündürülmüştür. Ardından 0.15 g sodyum bikarbonat ilave edilmiştir. Daha sonra suyla hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır. Son olarak solüsyon 3 mL'lik kısımlara bölünüp kullanılmıştır.

4.8.1.5. Fosfat tamponunun hazırlanması (pH=8.0)

Tampon aktivite çalışmalarından hemen önce hazırlanmıştır. 13.61 g potasyum dihidrojen fosfat 1 L suda çözündürülmüştür. Ardından 0.1 N KOH çözeltisiyle, dikkatli bir şekilde pH 8.0'e ayarlanmıştır. Daha sonra çözelti mikro boyutta por çaplı filtreler ile süzülüp aktivite çalışmalarında kullanılmıştır.

4.8.1.6 AChE ve BChE inhibasyon çalışması

AChE ve BChE inhibasyon çalışmalarında, kolorimetrik Ellman metodu, antikolinesteraz enzim inhibasyonunu incelemek için modifiye edilmiştir[81-91]. Çalışmalar oda sıcaklığında yapılmış olup, tüm çözeltilerin sıcaklığı oda sıcaklığı olan 25 °C'ye getirilmiştir. Bu çalışmada, enzim inhibitörü etkisini ölçmek için 96 kuyucuklu plaklar ile spektrofotometrik bir yöntem uygulanmıştır. Her bir kuyucukta, tampon (140 µL), enzim çözeltisi (20 µL), inhibitör çözeltisi (20 µL), DTNB (20 µL) ve ATC/BTC

çözeltisi (10 µL) olmak üzere toplam 210 µL çözelti bulunmaktadır. İki farklı test çözeltisi hazırlanmıştır: Birincisi, her kuyucuk için tampon (70 µL), enzim çözeltisi (20 µL) ve DTNB çözeltisi (20 µL) içeren enzim aktivitesi testi; ikincisi ise, her kuyucuk için fosfat tamponu (70 µL) ve ATC/BTC çözeltisi (10 µL) içeren substrat konsantrasyonu testidir.

Testler için, Biotek Precision XS (USA) robotik sistemi ile farklı inhibitör konsantrasyonları (20 µL) plaklara 4 tekrar eklenmiştir. Plaklar, BioTek-Synergy H1 (USA) mikropłaka okuyucusunda 5 dakika karıştırıldıktan sonra 25 °C’de 15 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, ikinci test çözeltisi (80 µL) her kuyucuğa eklendiği anda 412 nm’de ilk absorbans okunmuştur. Daha sonra, plaklar 5 dakika daha karıştırılarak reaksiyonun devam etmesi sağlanmış ve ikinci absorbans okunmuştur.

Elde edilen ölçümler arasındaki absorbans farkları kullanılarak, aşağıdaki formül ile yüzde inhibisyon oranları hesaplanmıştır:

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

- B : Blank (İnhibitör bileşik ve substratın eklenmediği kuyucuk)
K : Kontrol (Sadece inhibitör bileşiğın eklenmediği kuyucuk)
A(B) : Blank kuyucuğuna ait absorbans okuma farkı
A(K) : Kontrol kuyucuğuna ait absorbans okuma farkı
A(İ) : İnhibitör maddelere ait absorbans okuma farkı

Şekil 4.7. Yüzde olarak inhibisyon oranları formülü 1

Daha sonra veriler Microsoft Office Excell programına girilmiştir. IC₅₀ değerleri hesaplama yöntemi olarak non-lineer regresyon analizi kullanılmıştır.

4.8.2 MOA enzim aktivite çalışmaları

Son ürünlerin MOA-A ve MOA-B enzimleri üzerine inhibisyon aktiviteleri araştırılmıştır. Metod olarak fluorometrik yöntem kullanılmıştır[92-104].

Bu çalışmada, enzim inhibisyon deneyi için üç farklı çözelti günlük hazırlanmıştır. İlk çözelti, sentezlenen son ürünlerin ve karşılaştırma bileşiklerinin hazırlandığı çözeltidir. Enzim çözeltileri, MAO-A (0.5 U/mL) ve MAO-B (0.64 U/mL) enzimlerinin

10 mL fosfat tamponunda çözüldüğü çözeltilerdir. Çalışma solüsyonları ise, Horseradish Peroksidaz (200 U/1mL, 100 µL), Ampliflu™ Red (20 mM, 200 µL) ve tiramin (100 mM, 200 µL) bileşenlerinin 10 mL fosfat tamponunda çözüldüğü çözeltilerdir. Üç çözeltinin de hacmi 10 mL'dir.

İnhibitör çözeltileri (20 µL) ile hMAO-A (100 µL) ya da hMAO-B (100 µL) 96 haznesi olan mikro test plakasına alınmış ve 37°C'de yarım saat boyunca beklenmiştir. İnkübasyon bitiminde çalışma çözeltileri (100 µL) ilave edilerek tepkime gerçekleştirilmiştir. Bu karışım 37°C'de yarım saat daha beklenmiş ve 5 dakika aralıklarla flüoresan değerleri ölçülmüştür. Kontrol deneyinde inhibitör çözeltileri kullanılmamıştır. %2 DMSO kullanılmıştır. İnhibitörler maddelerin horseradish peroksidaz üzerindeki etkisini bulmak için enzim çözeltileri yerine %3 oksijenli su (20 mM) ile eş zamanlı okuma gerçekleştirilmiştir. Tüm testler dörder kez tekrar edilerek yapılmış ve yüzde olarak inhibisyon oranları hesaplanmıştır.

$$\%Inhibition = \frac{(FCt_2 - FCt_1) - (FI_t_2 - FI_t_1)}{FCt_2 - FCt_1} \times 100$$

- FCt₂ : Kontrolün t₂ zamanında ölçülen flüoresansı
FCt₁ : Kontrolün t₁ zamanında ölçülen flüoresansı
FI_{t₂} : İnhibitörün t₂ zamanında ölçülen flüoresansı
FI_{t₁} : İnhibitörün t₁ zamanında ölçülen flüoresansı

Şekil 4.8. Yüzde olarak inhibisyon oranları formülü 2

Sentezlenen ürünlerin IC₅₀ hesabı Microsoft Office Excel programında yapılmıştır. Buradan çizilen eğriler ile IC₅₀ değeri hesaplanmıştır.

4.8.3. Sitotoksosite etki çalışmaları

4.8.3.1. NIH3T3 hücrelerinin çoğaltılması

Deney için NIH3T3 hücreleri haftada 2-3 kere pasajlama şeklinde çoğaltılmıştır. Hücre kültürü inkübatörden çıkarıldıktan sonra atıkların besiyerine geçişi sağlamak için steril bir pipet yardımıyla besiyeri değiştirilmiştir. Ardından hücreleri yıkamak için 5 mL fosfat tamponu eklenmiş ve dökülmüştür. Hücre kültürüne tripsin EDTA çözeltisi ilave edilerek çalkalanmış ve inkübatörde 5 dakika bekletilmiştir. Sonra kültür şişesine 25 mL kadar besiyeri eklenerek hücre kültürü süspansiyon haline getirilmiş, 1:2 ve 1:3 oranında yeni şişelere aktarılmıştır. Kültür şişeleri inkübatöre alınmıştır.

4.8.3.2. NIH3T3 hücrelerinin plakalara ekilmesi

Hücre kültür şişesi inkübatörden çıkarıldıktan sonra, besiyerindeki ölü hücreleri uzaklaştırmak için hafifçe sallandı ve steril bir pipet kullanarak besiyeri boşaltılmıştır. Şişeye tripsin-EDTA çözeltisi eklenip ve şişe hafifçe sallanarak inkübatörde yaklaşık 5 dakika bekletilmiştir. Kültür şişesi buradan alınıp, besiyeri eklenmiştir. Ardından santrifüj tüpüne aktarılmıştır. Santrifüj tüpündeki hücre süspansiyonu karıştırılıp otomatik hücre sayıcıda sayılmıştır. Hücre süspansiyonu 96 kuyucuklu hücre kültür plakasına konulup 24 saat inkübe edilmiştir. Tüm inkübasyon işlemleri %5 CO₂, %95 nem ve 37 °C'de yapılmıştır.

4.8.3.3. NIH3T3 hücrelerine MTT sitotoksitesite testinin uygulanması

Plakalar 24 saat inkübe edildikten sonra ters çevrilip besiyeri ile hücreler ayrıştırılmıştır. Bileşiklerin 8 farklı konsantrasyonu (DMSO'da hazırlanan stok çözeltiler) pozitif kontrollerle birlikte plakalara eklenmiştir. Plakalar 24 saat daha inkübe edilmiştir. Hücreler fosfat tamponuyla yıkayıp yıkama sıvısı alınmıştır. MTT çözeltisi ve besiyeri 1'e 10 oranında karıştırılıp, bu karışımdan 100 µL/kuyucuk hücre kültür plakasına konulmuştur. Plakalar 3 saat daha inkübe edilmiştir. Hücre kültür plakasına 100 µL/kuyucuk şeklinde DMSO çözeltisi eklenip kuyucukların ELISA'da 540 nm'de OD değerleri alınmıştır. Test maddelerinin IC₅₀ değerleri hesaplanmış ve sitotoksitesite değerlendirilmiştir.

4.9. Moleküler Docking Çalışmaları

Tez kapsamında sentezlenen seri içerisindeki **6i** kodlu bileşiğin AChE ve MAO-B enzimleri üzerine etkili olduğu görülmüştür. Bileşiğin enzimlerle bağlanma ve etkileşim noktalarını belirlemek amacıyla in silico docking metodu uygulanmıştır. Bu hedefle AChE ve MAO-B enzimi için kristal yapıları üzerinde protein-ligand etkileşim analizi yapılmıştır.

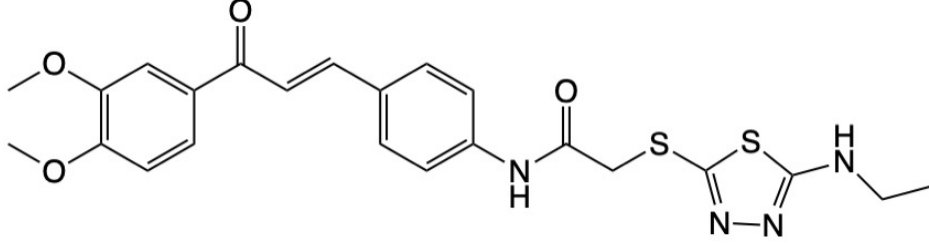
4.10. Moleküler Dinamik Çalışmaları

Bir ilaç-reseptör kompleksi için aktif bir bölgedeki bir ligandın zamana bağlı stabilitesini değerlendirmek için önemli bir hesaplama aracı olarak kabul edilen moleküler dinamik (MD) simülasyonları, bu çalışma kapsamında bileşik **6e** için yapılmıştır[105]. Yerleştirme sonucundan belirlenen komplekslerin kararlılığını sağlamak için 100 ns boyunca MD simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Dinamik çalışmaları, *desmond* uygulamasını[106], 3 noktalı (TIP3P) bir su modeli ve ardından kompleksin enerji minimizasyonu[107] ile transfer edilebilir bir moleküller arası potansiyele sahip Schrödinger Suite'in standart kuvvet alanı (OPLS3e) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sistemin nötralizasyonu, tek değerli iyonların fizyolojik konsantrasyonunu simüle etmek için 0.15 M'lik bir nihai tuz konsantrasyonu sağlamak üzere Na⁺ ve Cl⁻ iyonları kullanılarak sağlanmıştır[108]. 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[109] kullanılmıştır. Simülasyon sıcaklığını sabit tutmak için NH termostatları[110] kullanılmış ve basıncı kontrol etmek için MTK yöntemi[111] uygulanmıştır. Uzun menzilli elektrostatik etkileşimler, pmE yöntemi[112] 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[106] tarafından hesaplandı.

5. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

5.1. Sentez Çalışmaları

5.1.1. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-((5-(etilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)asetamid (6a)



Şekil 5.1. Bileşik 6a'ya ait kimyasal yapı formülü

DeneySEL E.N.: 78.9 °C

Verim: %89

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₃H₂₄N₄O₄S₂: 485.1312; bulunan 485.1325.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.15 (3H, t, *J* = 5.4 Hz, CH₃), 3.27 (2H, q, *J* = 5.4 Hz, CH₂), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 4.04 (2H, s, CH₂), 7.11 (1H, d, *J* = 6.4 Hz, dimetoksifenil CH), 7.66 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, dimetoksifenil CH), 7.66-7.70 (3H, m, dimetoksifenil CH, disüstitüefenil CH), 7.79-7.90 (5H, m), 10.51 (1H, s, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 14.6, 39.6, 40.7, 56.1, 56.3, 111.2, 111.4, 119.5, 120.9, 123.7, 130.3, 130.5, 131.1, 141.2, 143.2, 149.1, 149.3, 153.6, 166.6, 170.2, 187.7.

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\DS-1_124.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	5	35	O	2	0	4	S	2	2	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	1	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

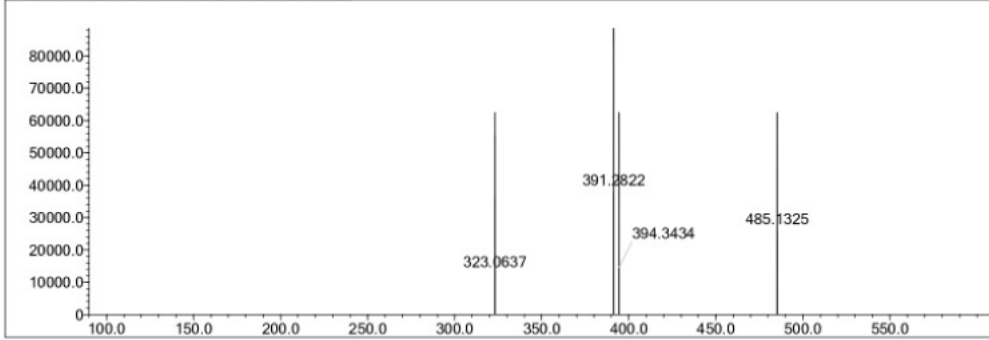
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

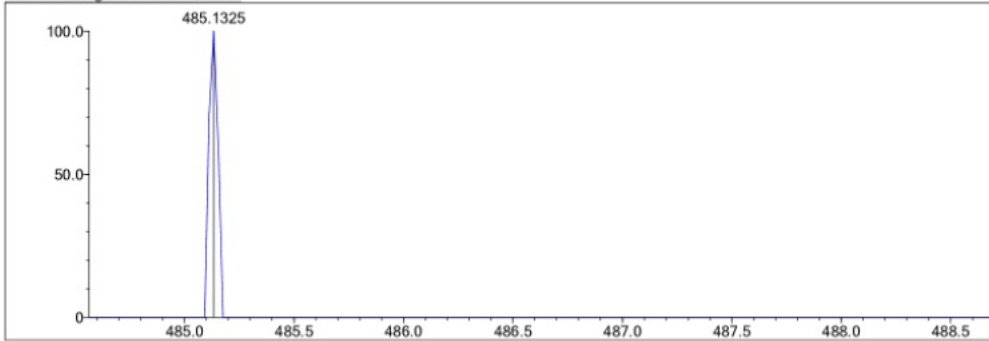
Isotope Res: 9000

Max Results: 500

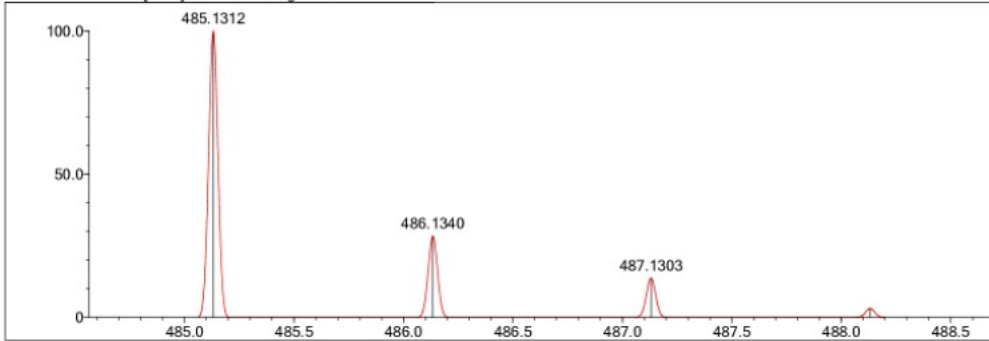
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 1.880 Scan#: 283



Measured region for 485.1325 m/z

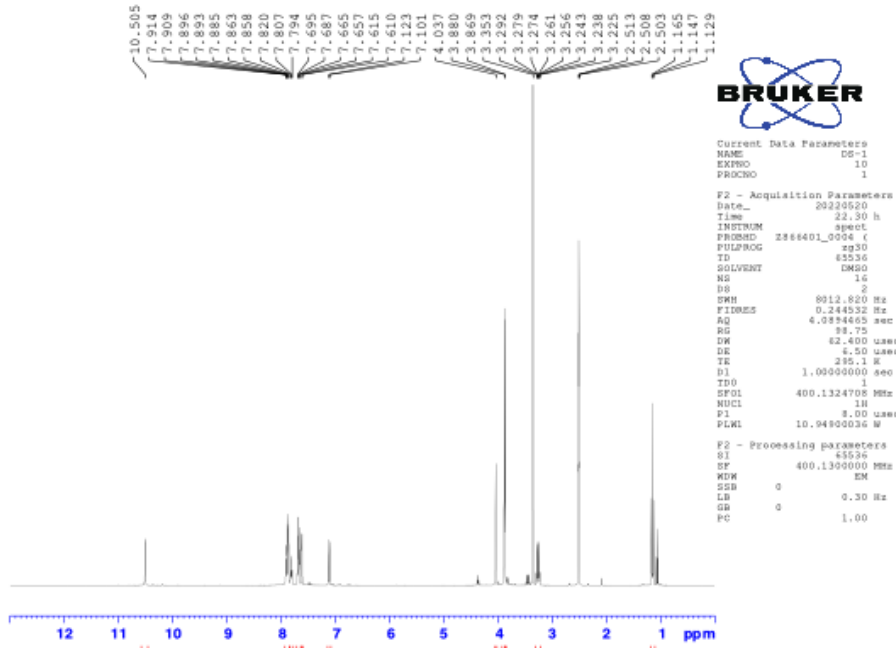


C23 H24 N4 O4 S2 [M+H]+ : Predicted region for 485.1312 m/z

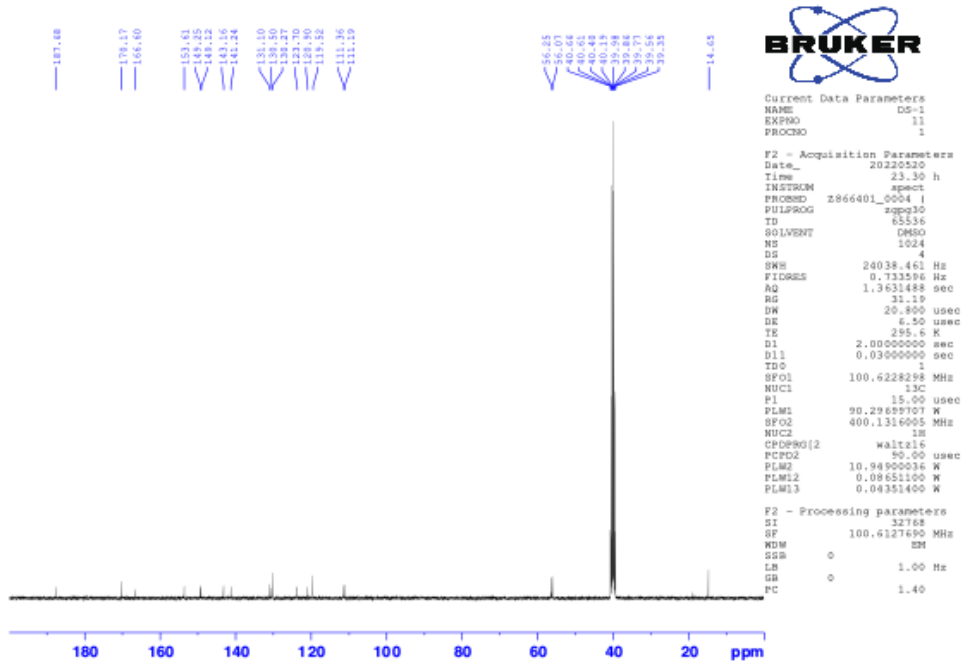


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	0.00	C23 H24 N4 O4 S2	[M+H] ⁺	485.1325	485.1312	1.3	2.68	0.00	14.0

Şekil 5.2. Bileşik 6a'ya ait kütle spektrumu

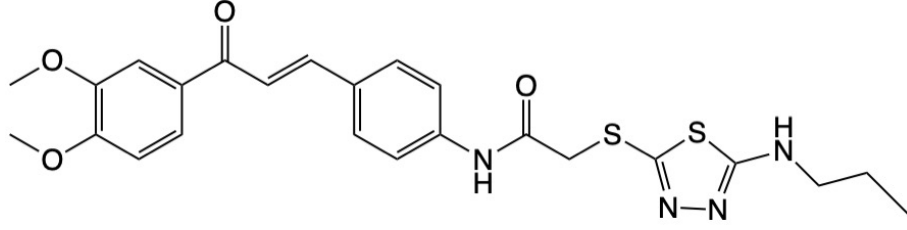


Şekil 5.3. Bileşik 6a'ya ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.4. Bileşik 6a'ya ait ^{13}C -NMR spektrumu

5.1.2 N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-((5-(propilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)asetamit (6b)



Şekil 5.5. Bileşik 6b'ye ait kimyasal yapı formülü

DeneySEL E.N.: 77.5 °C

Verim: %90

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₄H₂₆N₄O₄S₂: 499.1468; bulunan 499.1437.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 0.89 (3H, t, *J* = 5.6 Hz, CH₃), 1.52-1.58 (2H, m, CH₂), 3.17-3.22 (2H, m, CH₂), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 4.03 (2H, s, CH₂), 7.11 (1H, d, *J* = 6.4 Hz, dimetoksifenil CH), 7.66 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, dimetoksifenil CH), 7.66-7.69 (3H, m, dimetoksifenil CH, disübstitüefenil CH), 7.79-7.90 (5H, m), 10.51 (1H, s, NH).

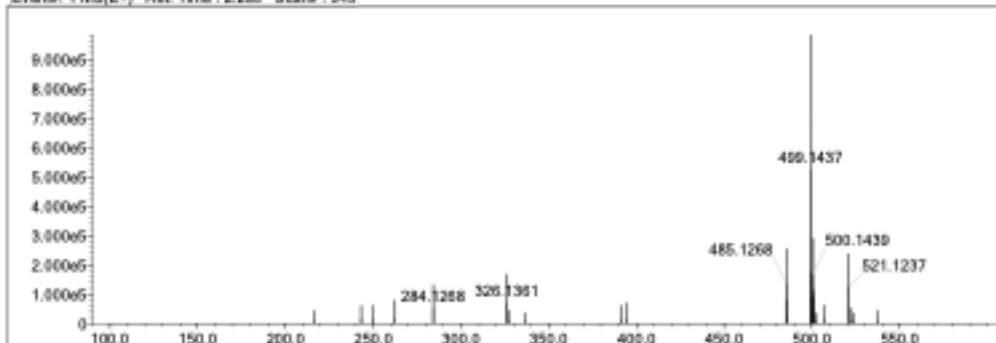
¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.8, 22.2, 40.7, 46.8, 56.1, 56.3, 111.2, 111.4, 119.5, 120.9, 123.7, 130.3, 130.5, 131.1, 141.3, 143.2, 149.0, 149.2, 153.6, 166.6, 170.4, 187.7.

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analtz\Serkan\DS-2_125.kcd

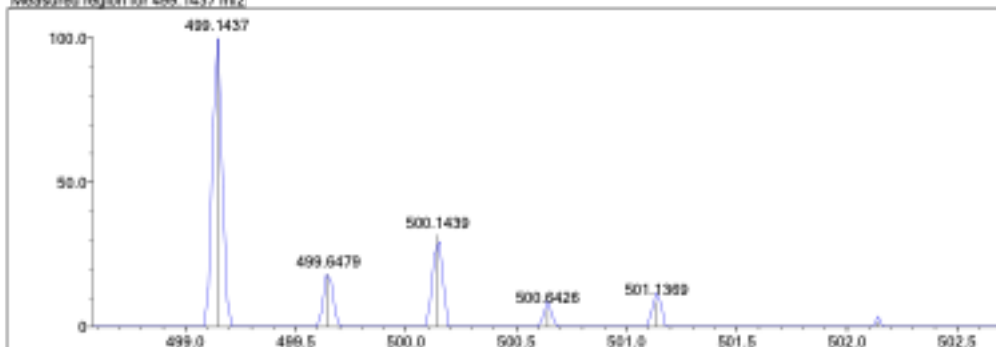
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	5	35	Cl	2	0	4	S	2	2	2	Fe	2	0	0	H
C	4	5	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	1	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm):	10	DBE Range:	5.0 - 20.0	Electron Ions:	both
HC Ratio:	unlimited	Apply N Rule:	yes	Use MSn Info:	yes
Max Isotopes:	3	Isotope RI (%):	1.00	Isotope Res:	9500
MSn Iso RI (%):	10.00	MSn Logic Mode:	AND	Max Results:	500

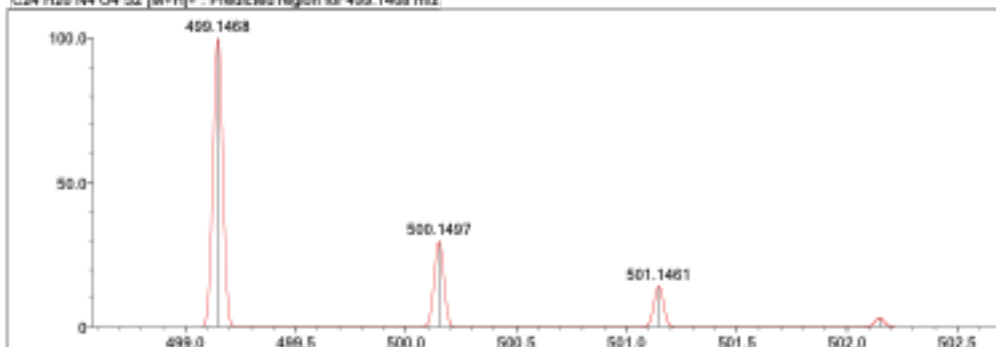
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.280 Scan#: 343



Measured region for 499.1437 m/z

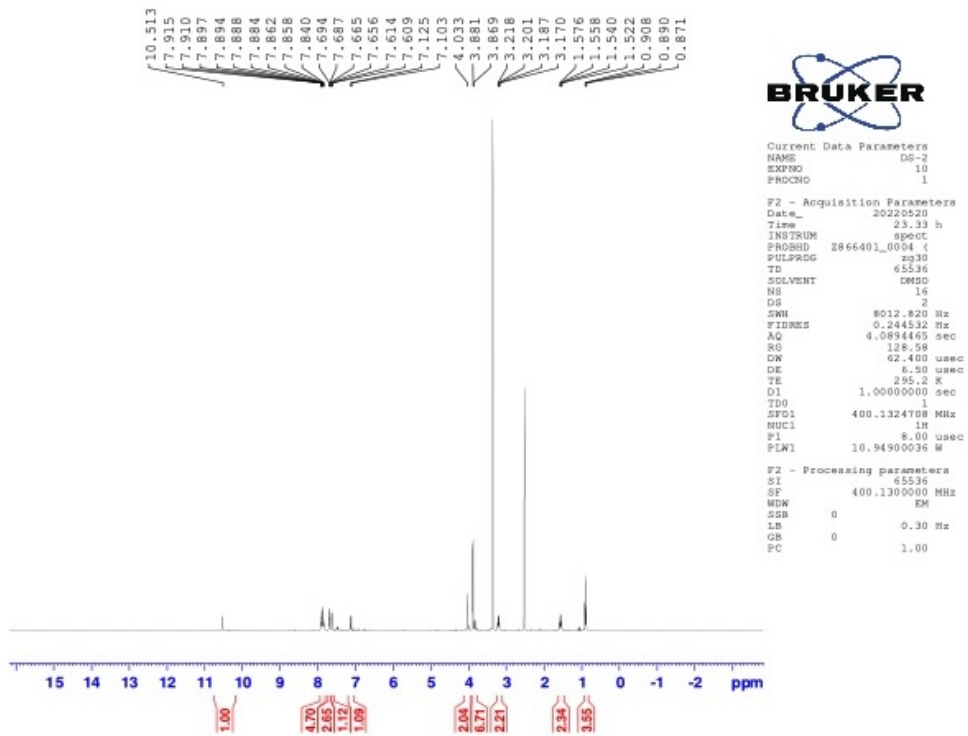


C24 H26 N4 O4 S2 [M+H]+ : Predicted region for 499.1468 m/z

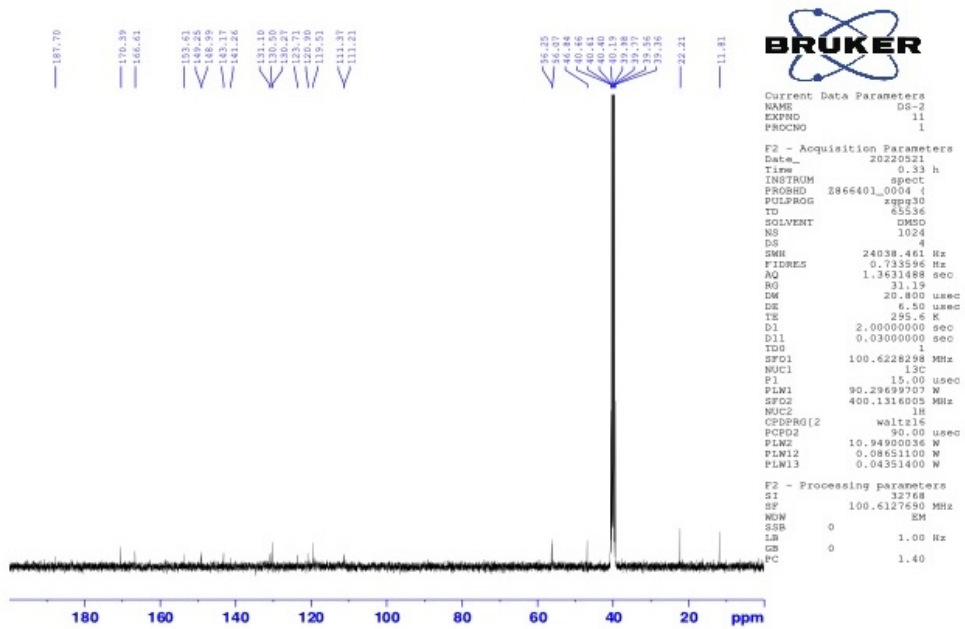


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	60.02	C24 H26 N4 O4 S2	[M+H]+	499.1437	499.1468	-3.1	-6.21	77.05	14.0

Şekil 5.6. Bileşik 6b'ye ait kütle spektrumu

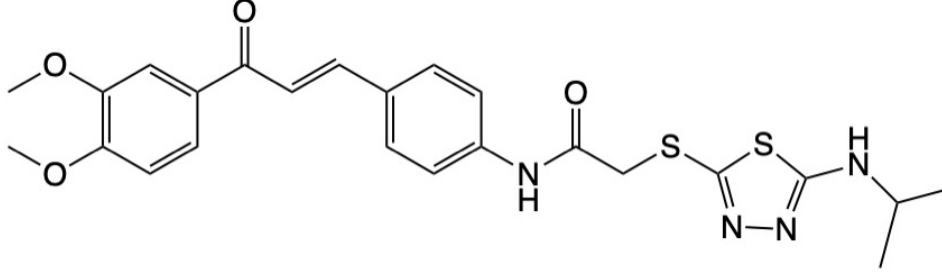


Şekil 5.7. Bileşik 6b'ye ait ¹H-NMR spektrumu



Şekil 5.8. Bileşik 6b'ye ait ¹³C-NMR spektrumu

5.1.3. *N*-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-((5-(izopropilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)asetamit (6c)



Şekil 5.9. Bileşik 6c'ye ait kimyasal yapı formülü

DeneySEL E.N.: 74.9 °C

Verim: %92

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₄H₂₆N₄O₄S₂: 499.1468; bulunan 499.1430.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.16 (6H, d, *J*= 4.8 Hz, CH₃), 3.41-3.48 (1H, m, CH), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 4.04 (2H, s, CH₂), 7.11 (1H, d, *J*= 6.4 Hz, dimetoksifenil CH), 7.61 (1H, d, *J*= 1.4 Hz, dimetoksifenil CH), 7.66-7.70 (3H, m, dimetoksifenil CH, disübstitüefenil CH), 7.86-7.91 (5H, m), 10.52 (1H, s, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 22.6, 47.0, 56.1, 56.3, 56.5, 111.2, 111.4, 119.5, 120.9, 123.7, 130.3, 130.5, 131.1, 141.3, 143.2, 149.0, 149.2, 153.6, 166.6, 169.4, 187.7.

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analtz\Serkan\DS-3_126.kd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	5	35	O	2	0	4	S	2	2	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	1	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 10

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

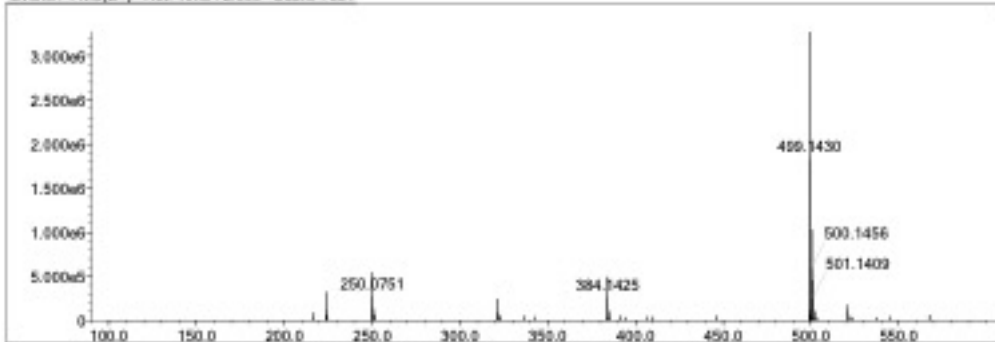
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

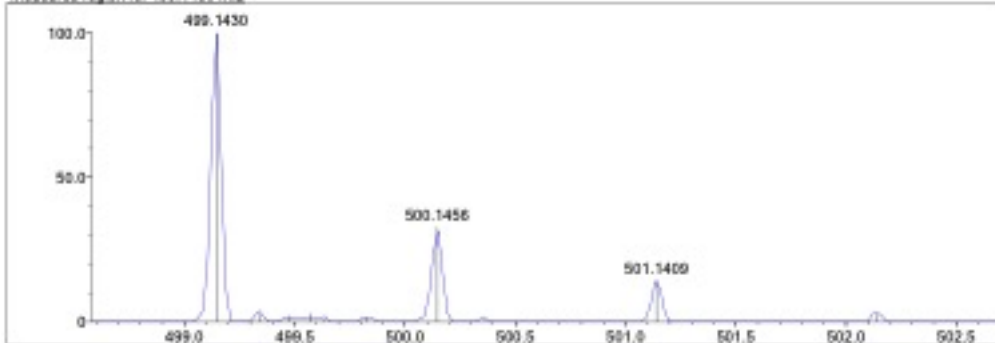
Isotope Res: 9500

Max Results: 500

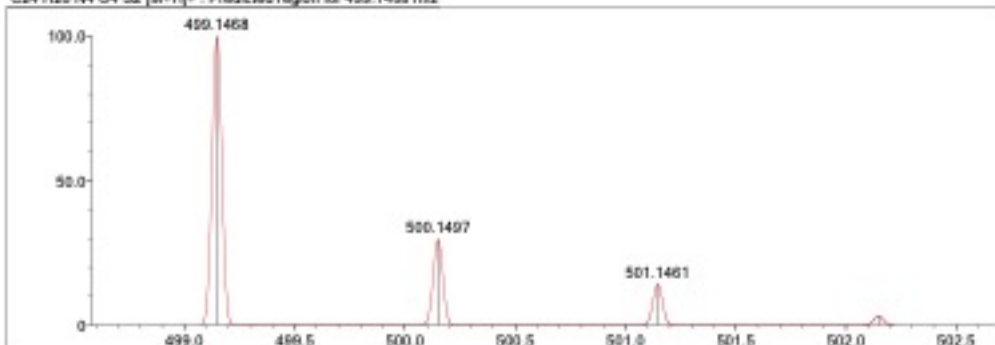
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.600 Scan#: 391



Measured region for 499.1430 m/z

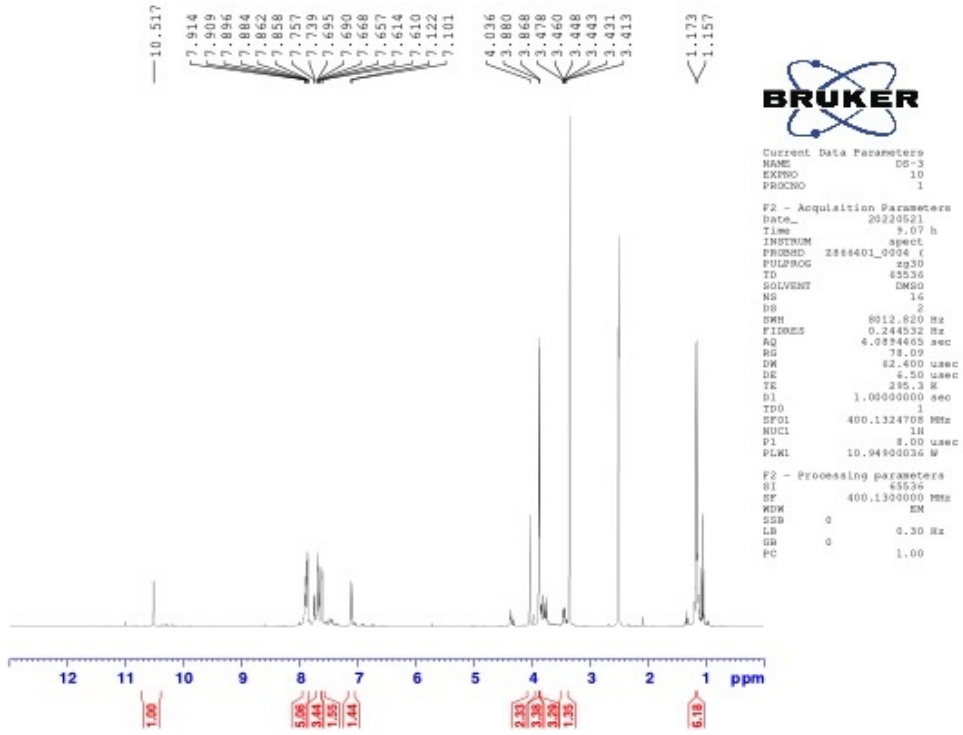


C24 H26 N4 O4 S2 [M+H]+ : Predicted region for 499.1468 m/z

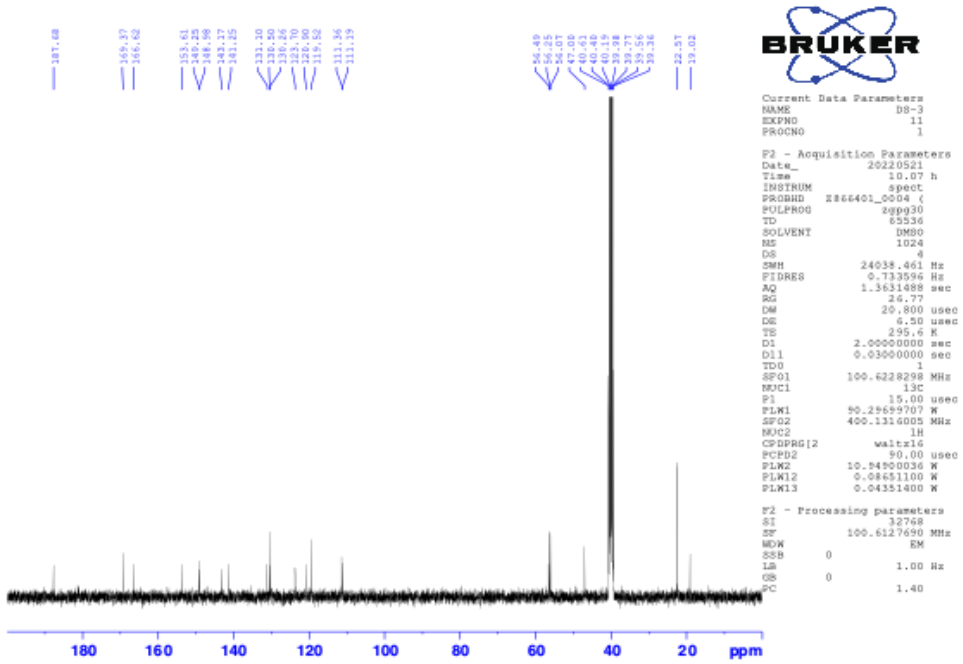


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	53.26	C24 H26 N4 O4 S2	[M+H] ⁺	499.1430	499.1468	-3.8	-7.61	83.34	14.0

Şekil 5.10. Bileşik 6c'ye ait kütle spektrumu

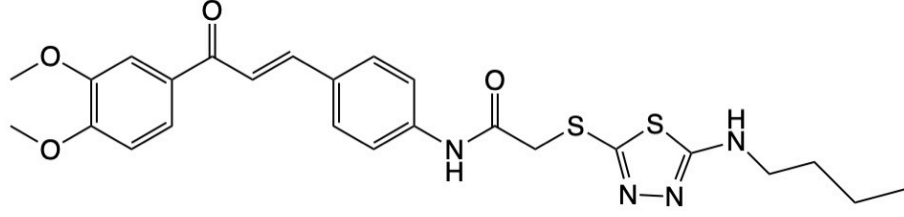


Şekil 5.11. Bileşik 6c'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.12. Bileşik 6c'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

5.1.4. 2-((5-(bütülamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (6d)



Şekil 5.13. Bileşik 6d'ye ait kimyasal yapı formülü

DeneySEL E.N.: 80.7 °C

Verim: %88

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₅H₂₈N₄O₄S₂: 513.1625; bulunan 513.1617.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 0.88 (3H, t, *J*= 5.5 Hz, CH₃), 1.29-1.35 (2H, m, CH₂), 1.48-1.53 (2H, m, CH₂), 3.20-3.25 (2H, m, CH₂), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 4.03 (2H, s, CH₂), 7.11 (1H, d, *J*= 6.4 Hz, dimetoksifenil CH), 7.61 (1H, d, *J*= 1.5 Hz, dimetoksifenil CH), 7.66-7.70 (3H, m, dimetoksifenil CH, disüstitüefenil CH), 7.80-7.91 (5H, m), 10.50 (1H, s, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 14.1, 19.0, 20.0, 31.0, 44.7, 56.1, 56.3, 111.2, 111.4, 119.5, 120.9, 123.7, 130.3, 130.5, 131.1, 141.2, 143.2, 149.0, 149.3, 153.6, 166.6, 170.4, 187.7.

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\DS-4_127.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	5	35	O	2	0	4	S	2	2	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	1	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

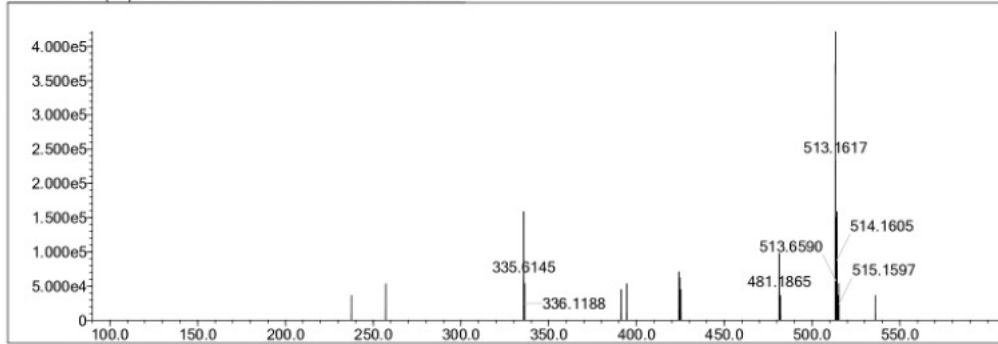
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

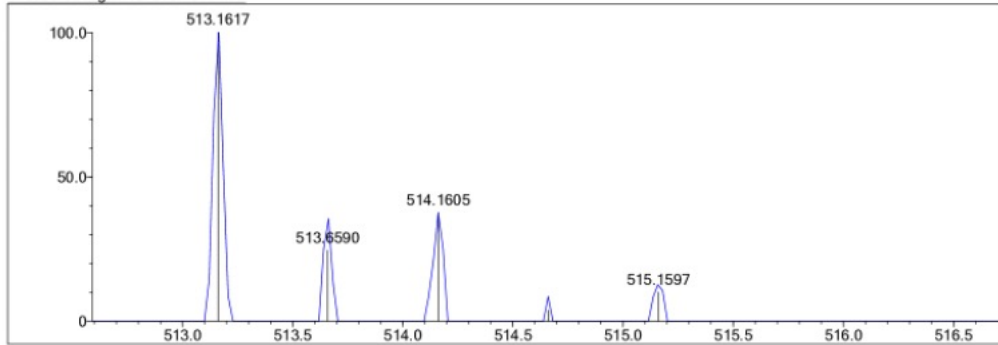
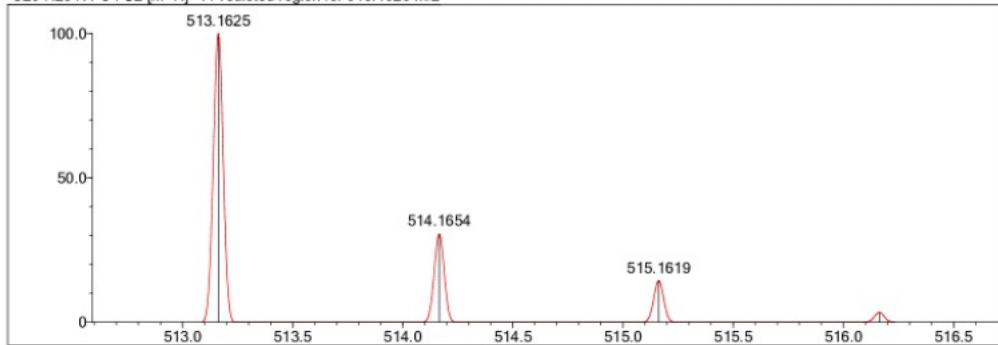
Isotope Res: 9000

Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.373 -> 3.373 Scan#: 507 -> 507

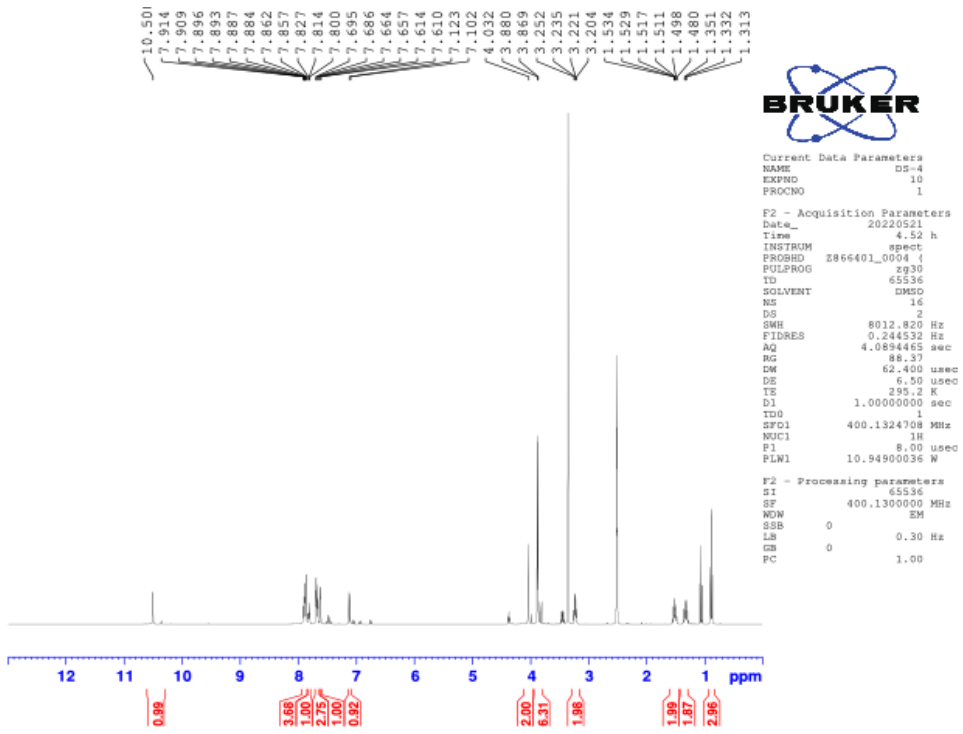


Measured region for 513.1617 m/z

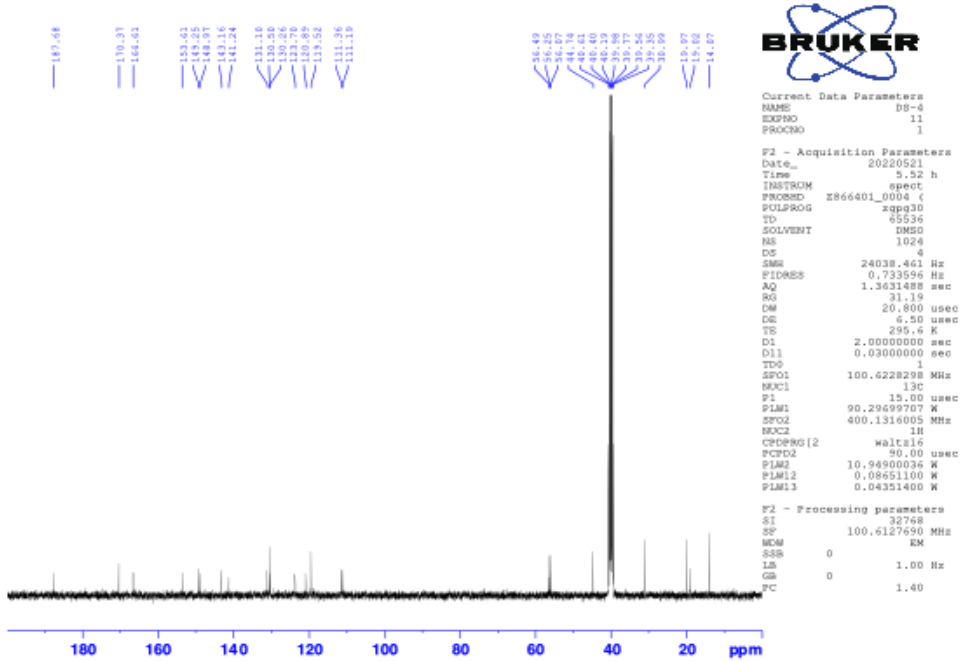
C25 H28 N4 O4 S2 [M+H]⁺ : Predicted region for 513.1625 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	71.58	C25 H28 N4 O4 S2	[M+H] ⁺	513.1617	513.1625	-0.8	-1.56	72.60	14.0

Şekil 5.14. Bileşik 6d'ye ait kütle spektrumu

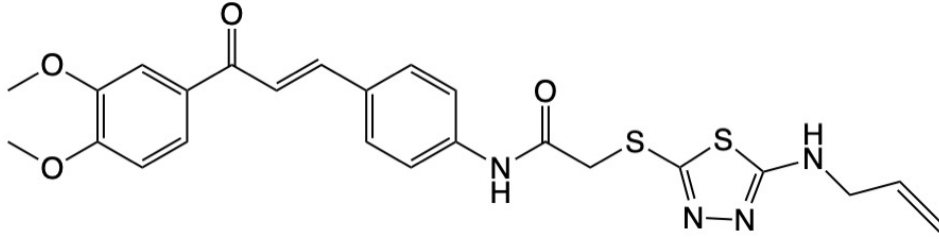


Şekil 5.15. Bileşik 6d'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.16. Bileşik 6d'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

5.1.5. 2-((5-(allilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamit (6e)



Şekil 5.17. Bileşik 6e'ye ait kimyasal yapı formülü

DeneySEL E.N.: 196.5 °C

Verim: %94

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₄H₂₄N₄O₄S₂: 497.1312; bulunan 497.1300.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3.86 (5H, br. s, CH₂, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 4.30 (2H, s, CH₂), 7.11 (1H, d, *J*= 8.5 Hz, dimetoksifenil CH), 7.60 (1H, d, *J*= 2.0 Hz, dimetoksifenil CH), 7.64-7.70 (4H, m, aromatic CH), 7.83-7.91 (6H, m, aromatic CH), 10.55 (1H, s, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 40.6, 44.1, 56.1, 56.3, 111.2, 111.4, 116.7, 119.7, 121.0, 123.7, 130.3, 130.7, 131.1, 141.2, 143.2, 149.0, 149.3, 153.6, 166.6, 170.4, 187.7.

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analz\Serkan\DS-6_129.lcd

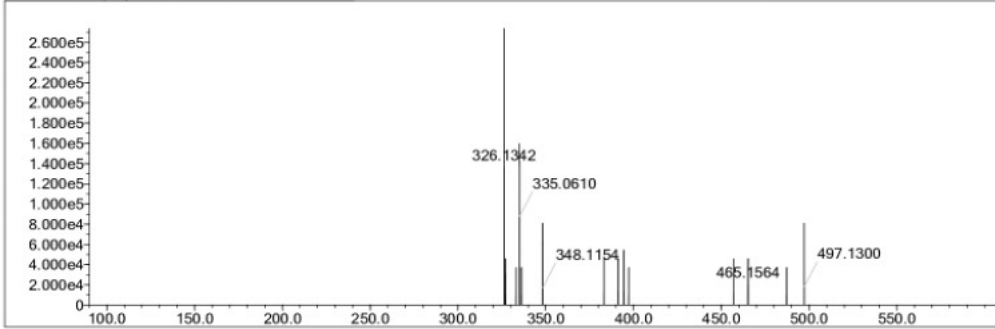
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	5	35	O	2	0	4	S	2	2	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	1	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 10
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso Rt (%): 10.00

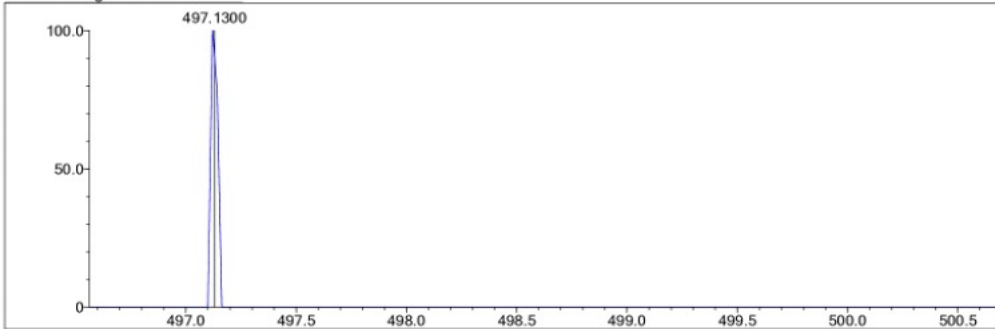
DBE Range: 5.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

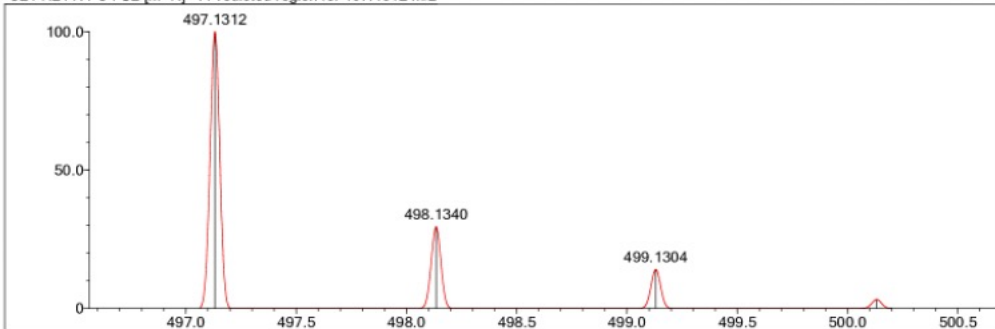
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.027 Scan#: 305



Measured region for 497.1300 m/z

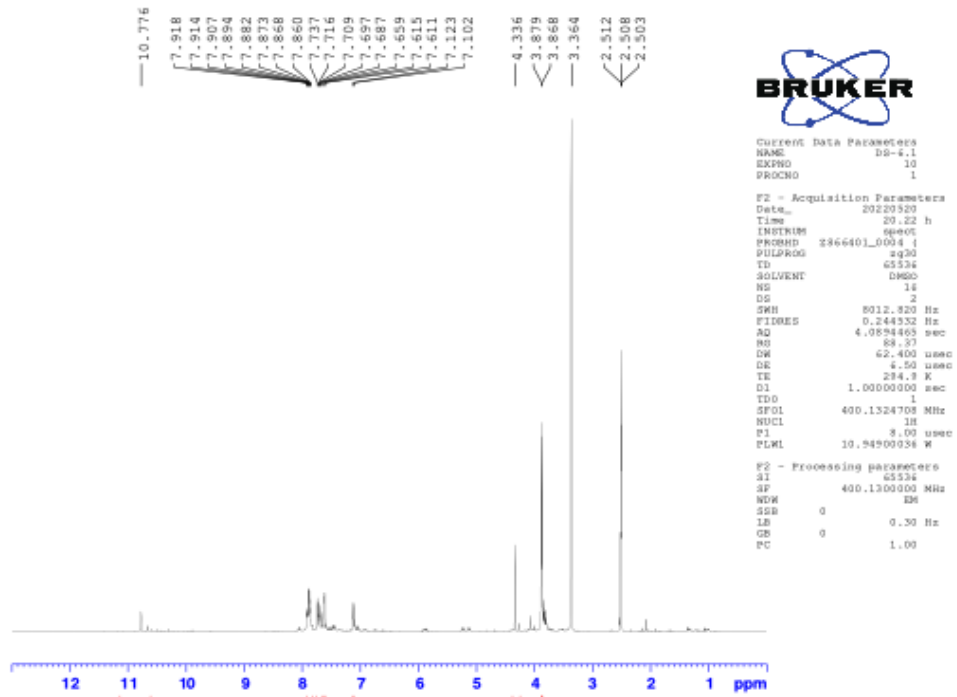


C24 H24 N4 O4 S2 [M+H]⁺ : Predicted region for 497.1312 m/z

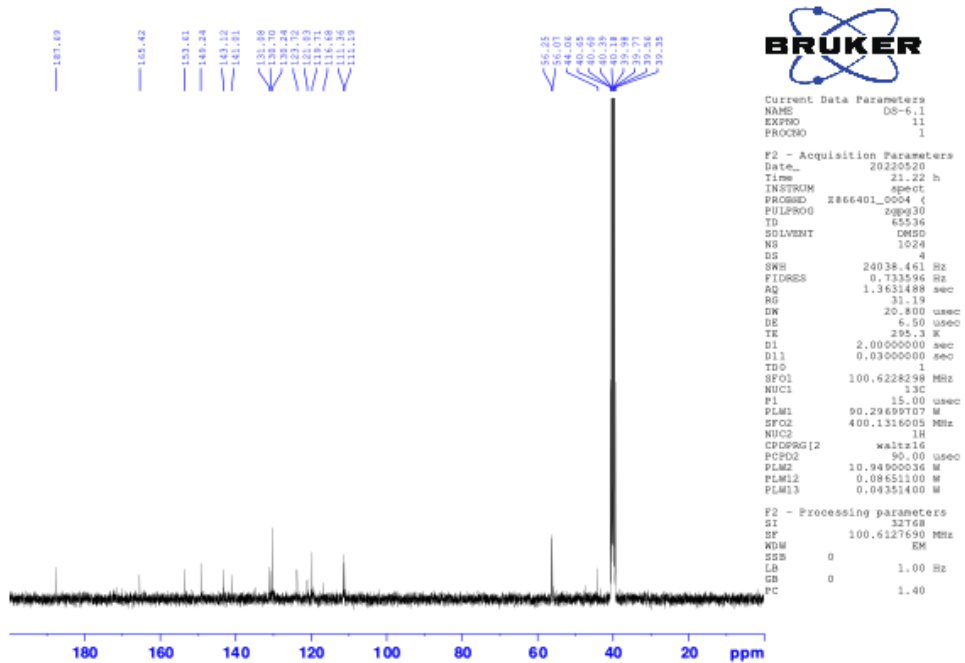


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	0.00	C24 H24 N4 O4 S2	[M+H] ⁺	497.1300	497.1312	-1.2	-2.41	0.00	15.0

Şekil 5.18. Bileşik 6e'ye ait kütle spektrumu

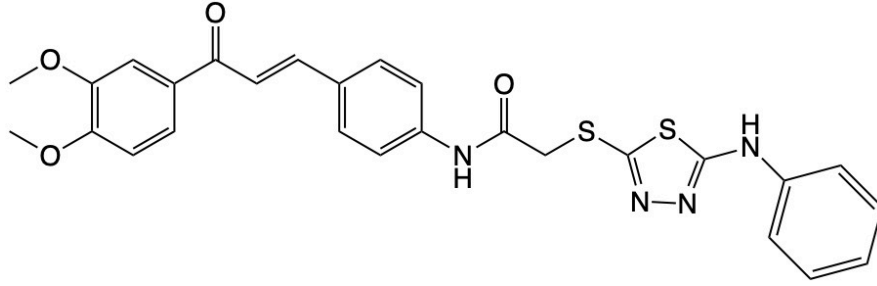


Şekil 5.19. Bileşik 6e'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.20. Bileşik 6e'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

5.1.6. *N*-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-((5-(fenilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)asetamit (6f)



Şekil 5.21. Bileşik 6f'e ait kimyasal yapı formülü

Deneysel E.N.: 67.1 °C

Verim: %90

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₇H₂₄N₄O₄S₂: 533.1312; bulunan 533.1312.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 4.17 (2H, s, CH₂), 7.00 (1H, t, *J*=5.5 Hz, monosubstituted benzen), 7.11 (1H, d, *J*= 6.4 Hz, dimetoksifenil CH), 7.33 (2H, t, *J*=6.0 Hz, monosubstituted benzene), 7.56 (2H, d, *J*=6.4 Hz, monosubstituted benzene), 7.61 (1H, d, *J*= 1.5 Hz, dimetoksifenil CH), 7.66-7.71 (3H, m, dimetoksifenil CH, disüstitüefenil CH), 7.86-7.92 (4H, m), 10.40 (1H, s, NH), 10.57 (1H, s, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 40.6, 56.1, 56.3, 111.2, 111.4, 117.9, 119.5, 120.9, 122.5, 123.7, 124.0, 129.6, 130.3, 130.5, 131.1, 140.8, 141.2, 143.2, 152.1, 153.6, 165.6, 166.6, 187.7.

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\DS-7_130.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	5	35	O	2	0	4	S	2	2	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	1	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 10

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 20.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

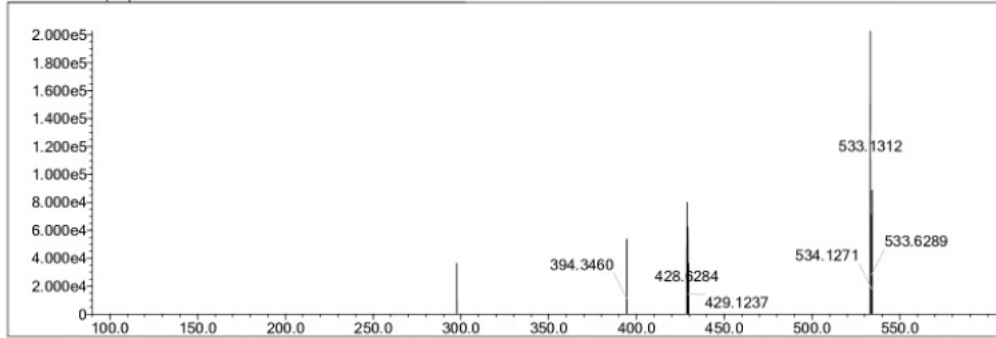
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

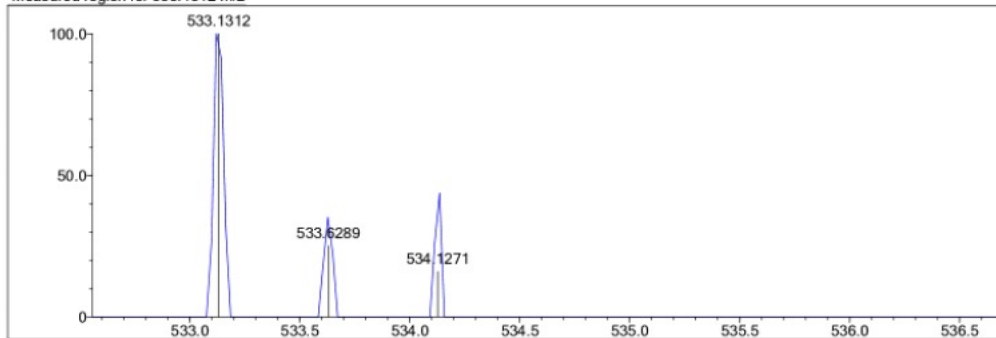
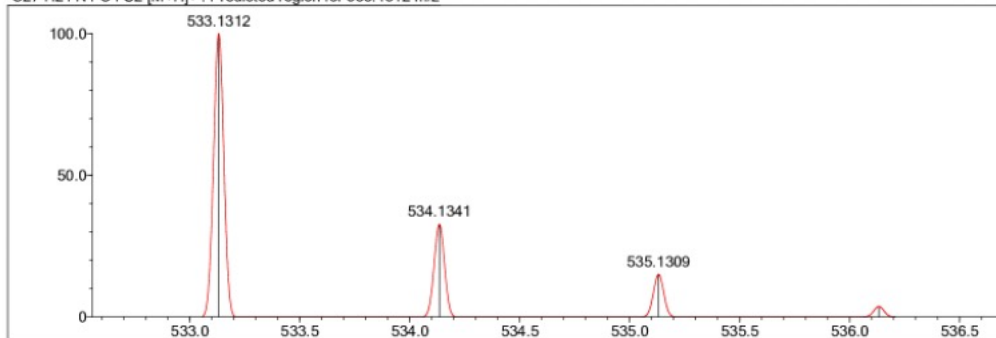
Isotope Res: 9000

Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.507 -> 3.507 Scan#: 527 -> 527

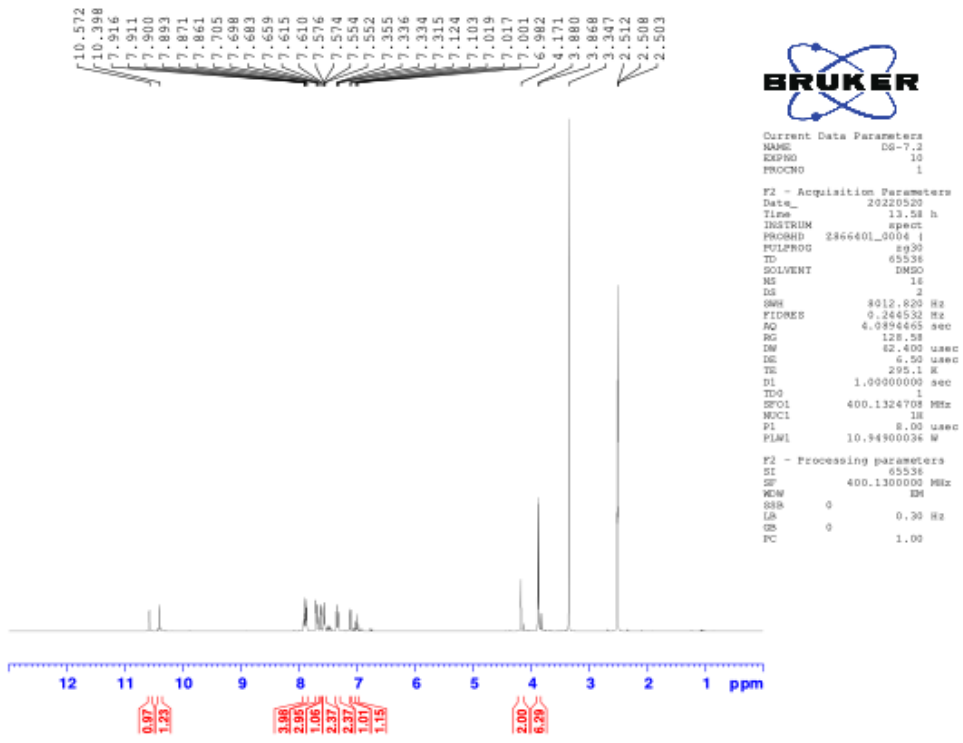


Measured region for 533.1312 m/z

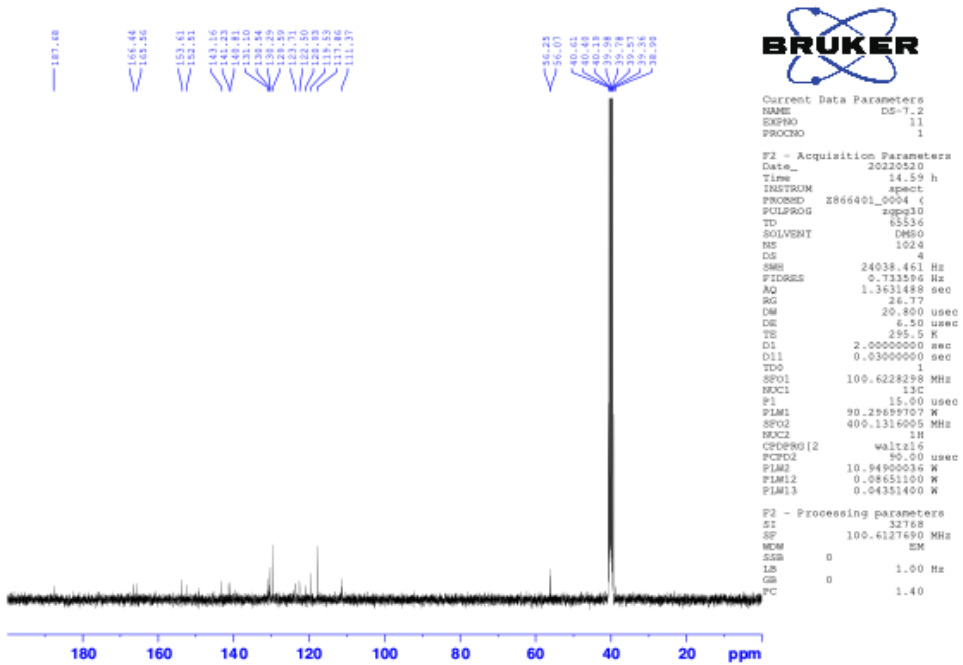
C27 H24 N4 O4 S2 [M+H]⁺: Predicted region for 533.1312 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	0.00	C27 H24 N4 O4 S2	[M+H] ⁺	533.1312	533.1312	0.0	0.00	0.00	18.0

Şekil 5.22. Bileşik 6f'ye ait kütle spektrumu

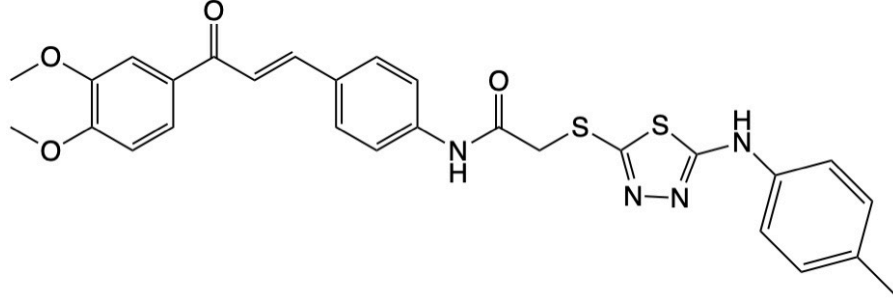


Şekil 5.23. Bileşik 6f'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.24. Bileşik 6f'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

5.1.7. *N*-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-((5-(*p*-tolilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)asetamit (6g)



Şekil 5.25. Bileşik 6g'ya ait kimyasal yapı formülü

Deneysel E.N.: 134.5 °C

Verim: %88

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₈H₂₆N₄O₄S₂: 547.1468; bulunan 547.1446.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 2.25 (3H, s, CH₃), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 4.15 (2H, s, CH₂), 7.00 (1H, t, *J*=5.5 Hz, monosüstitüe benzen), 7.11 (1H, d, *J*= 6.4 Hz, dimetoksifenil CH), 7.33 (2H, t, *J*=6.0 Hz, monosüstitüe benzen), 7.56 (2H, d, *J*=6.4 Hz, monosubstituted benzen), 7.61 (1H, d, *J*= 1.5 Hz, dimetoksifenil CH), 7.66-7.71 (3H, m, dimetoksifenil CH, disüstitüe fenil CH), 7.86-7.92 (4H, m), 10.40 (1H, s, NH), 10.57 (1H, s, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 20.8, 40.7, 56.1, 56.3, 111.2, 111.4, 118.0, 119.5, 120.9, 122.3, 122.4, 130.0, 130.3, 131.1, 131.5, 138.5, 139.0, 140.3, 143.2, 149.3, 153.6, 165.8, 166.5, 187.7.

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\DS-8_131.lcd

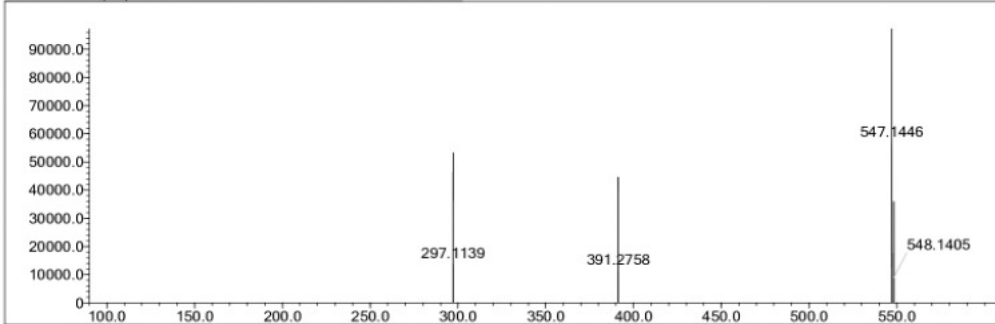
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	5	35	O	2	0	4	S	2	2	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	1	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 10
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

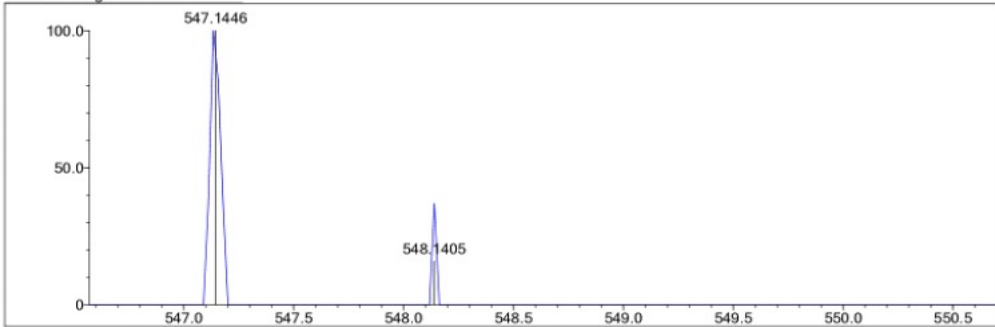
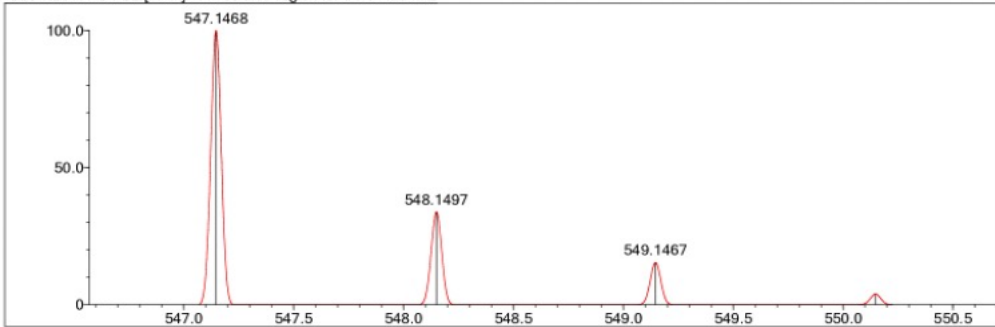
DBE Range: 5.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.760 -> 3.760 Scan#: 565 -> 565

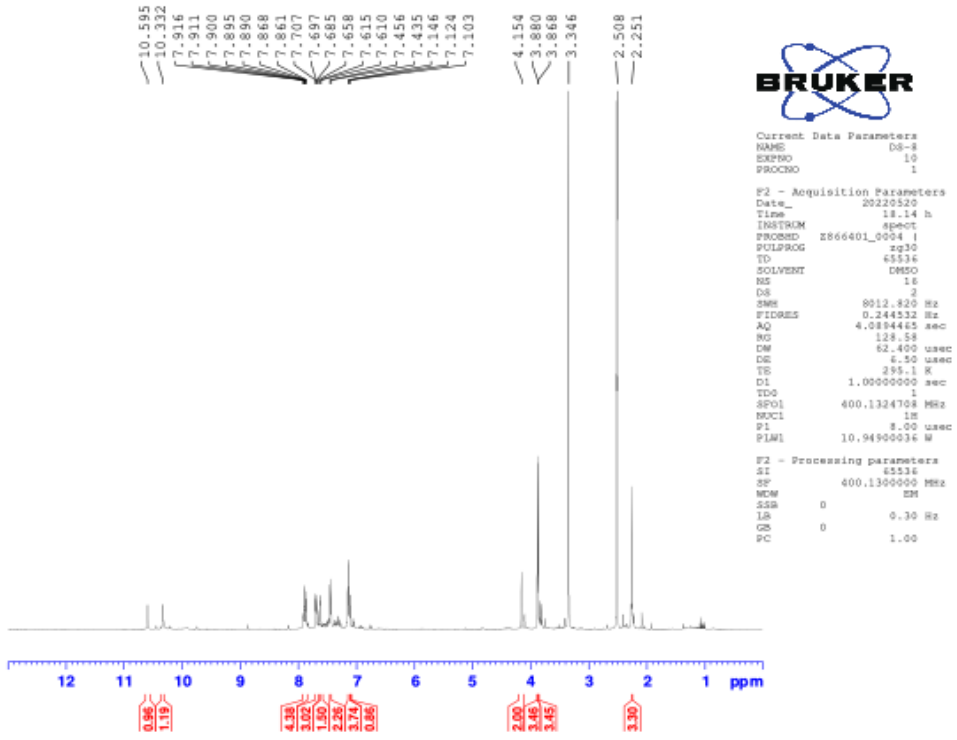


Measured region for 547.1446 m/z

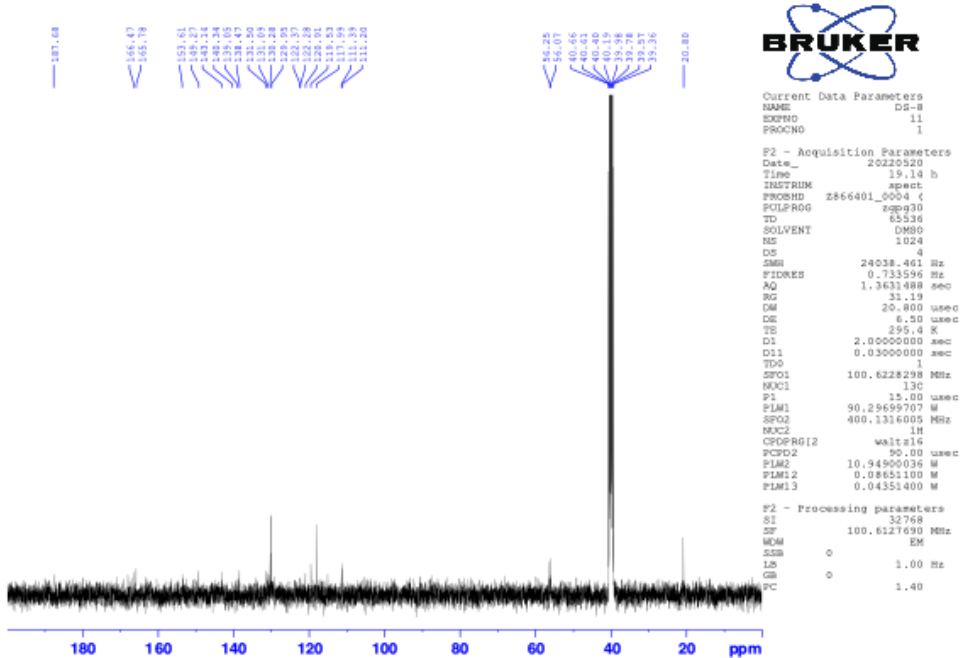
C28 H26 N4 O4 S2 [M+H]⁺ : Predicted region for 547.1468 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	0.00	C28 H26 N4 O4 S2	[M+H] ⁺	547.1446	547.1468	-2.2	-4.02	0.00	18.0

Şekil 5.26. Bileşik 6g'ye ait kütle spektrumu

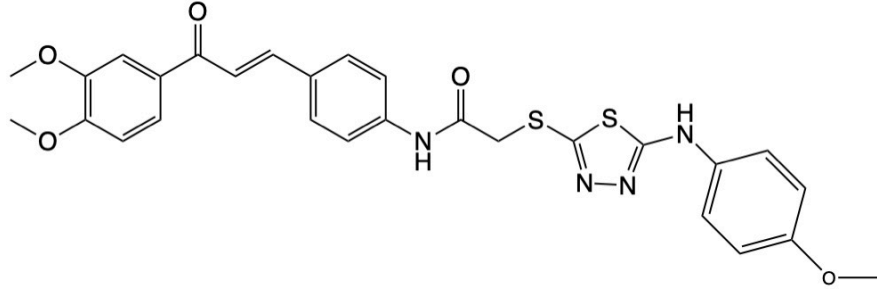


Şekil 5.27. Bileşik 6g'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.28. Bileşik 6g'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

5.1.8. N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)-2-((5-((4 metoksifenil)amino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)asetamit (6h)



Şekil 5.29. Bileşik 6h'a ait kimyasal yapı formülü

DeneySEL E.N.: 201.2 °C

Verim: %91

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₈H₂₆N₄O₅S₂: 563.1417; bulunan 563.1411.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3.72 (3H, s, OCH₃), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 4.14 (2H, s, CH₂), 7.00 (1H, t, *J*=5.5 Hz, monosubstituted benzene), 6.91 (2H, d, *J*=6.8 Hz, methoxybenzene), 7.11 (1H, d, *J*= 6.5 Hz, dimetoksifenil CH), 7.47 (2H, d, *J*=6.8 Hz, methoxybenzene), 7.61 (1H, d, *J*= 1.5 Hz, dimetoksifenil CH), 7.66-7.70 (3H, m, dimetoksifenil CH, disubstitüefenil CH), 7.86-7.90 (4H, m), 10.20 (1H, s, NH), 10.56 (1H, s, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 55.7, 56.1, 56.2, 111.2, 111.4, 114.8, 119.5, 119.8, 120.9, 123.7, 130.3, 130.5, 131.1, 134.3, 141.2, 143.2, 149.3, 151.4, 153.6, 155.1, 166.3, 166.5, 187.7.

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\DS-9_132.lcd

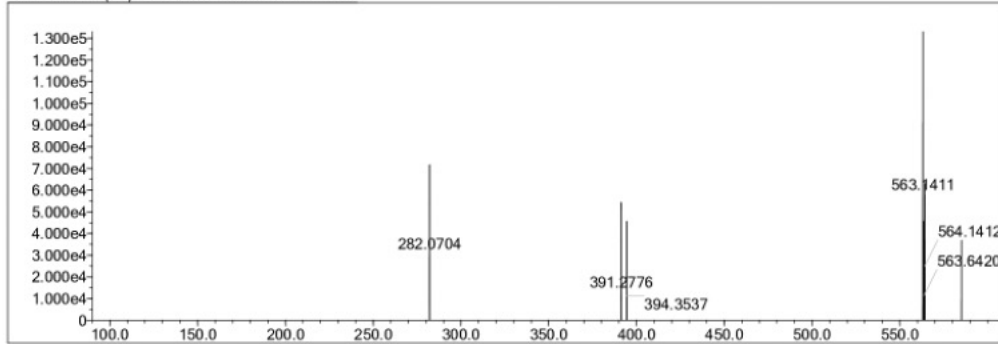
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	5	35	O	2	0	5	S	2	2	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	1	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

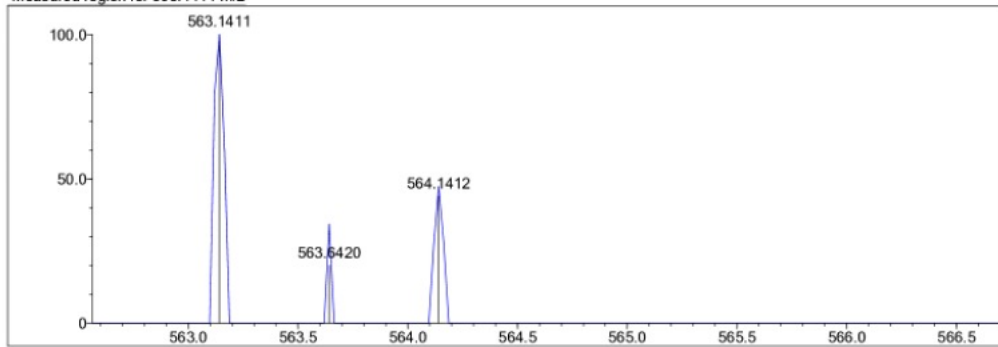
DBE Range: 5.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

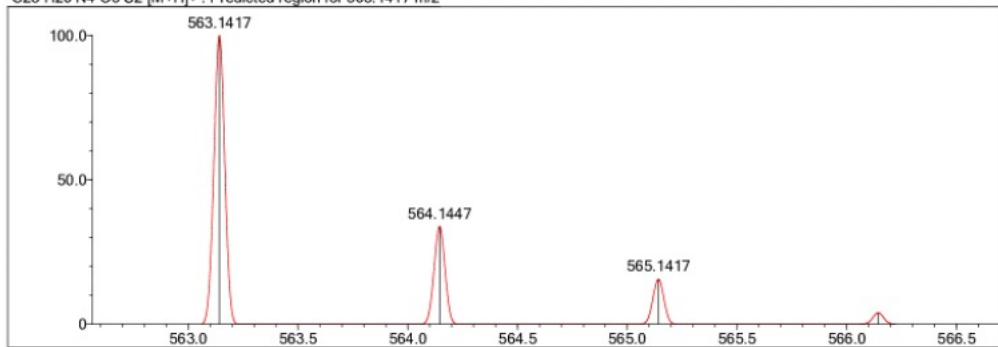
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.093 Scan#: 465



Measured region for 563.1411 m/z

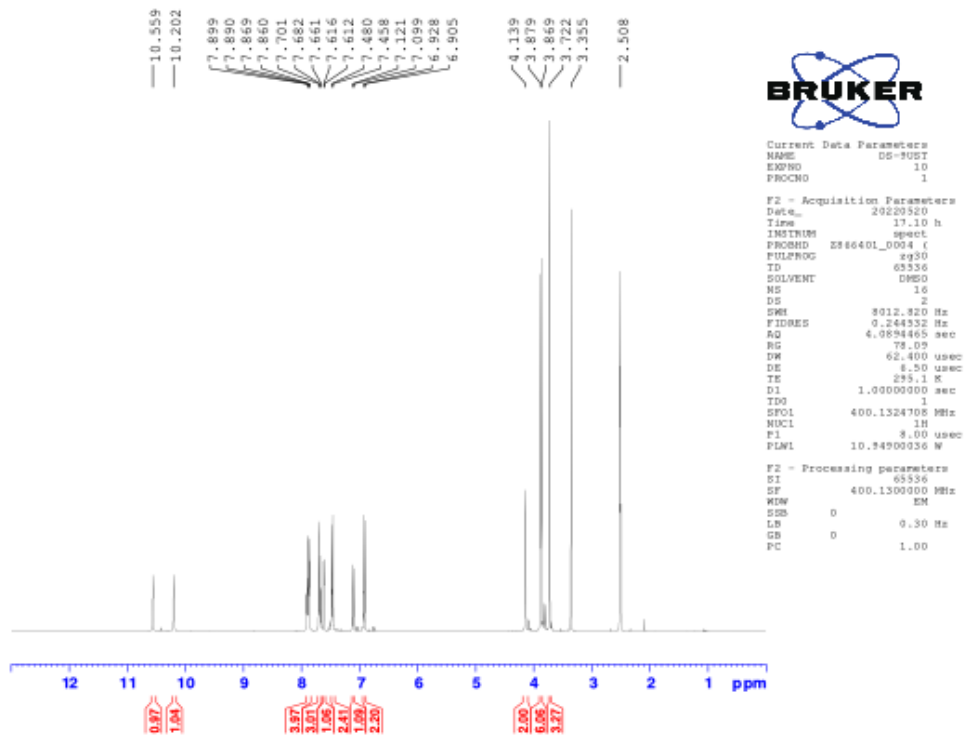


C28 H26 N4 O5 S2 [M+H]⁺ : Predicted region for 563.1417 m/z

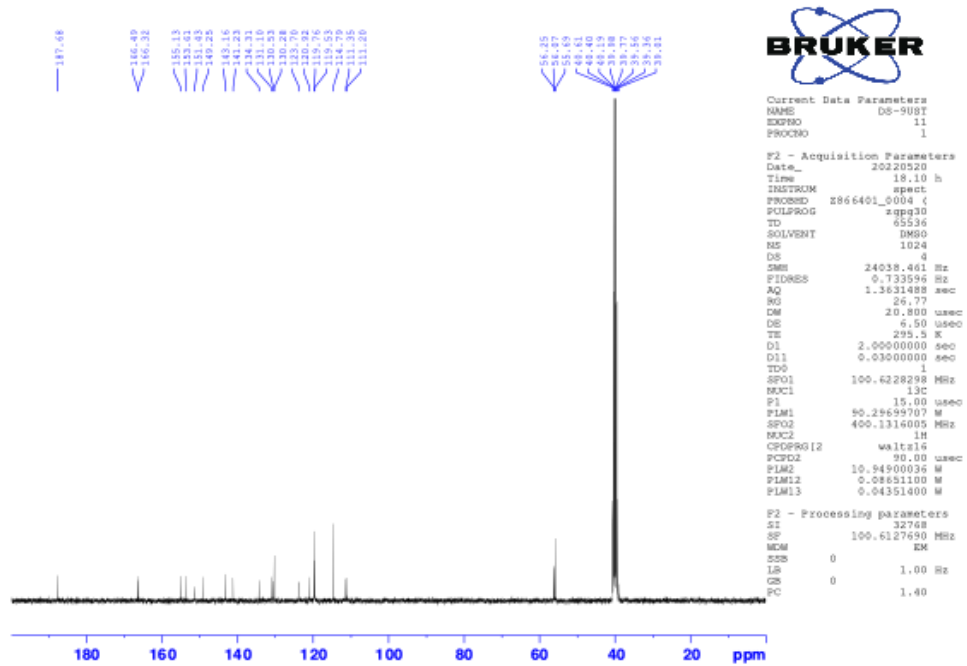


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	0.00	C28 H26 N4 O5 S2	[M+H] ⁺	563.1411	563.1417	-0.6	-1.07	0.00	18.0

Şekil 5.30. Bileşik 6h'ye ait kütle spektrumu

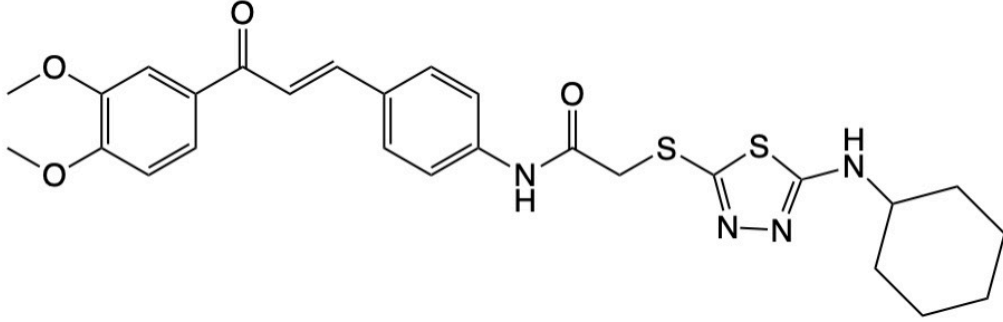


Şekil 5.31. Bileşik 6h'ye ait ¹H-NMR spektrumu



Şekil 5.32. Bileşik 6h'ye ait ¹³C-NMR spektrumu

5.1.9. 2-((5-(sikloheksilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid (6i)



Şekil 5.33. Bileşik 6i'ye ait kimyasal yapı formülü

DeneySEL E.N.: 98.6 °C

Verim: %89

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan C₂₇H₃₀N₄O₄S₂: 539.1781; bulunan 539.1767.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.21 (6H, br. S, CH₂), 1.85 (2H, br. S, CH₂), 1.90 (2H, br. S, CH₂), 3.45 (1H, br. S, CH), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.87 (3H, s, OCH₃), 4.01 (2H, s, CH₂), 7.10 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, dimetoksifenil CH), 7.60-7.69 (4H, m), 7.85-7.90 (4H, m), 10.51 (1H, s, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 14.1, 20.0, 31.0, 40.6, 44.7, 56.1, 56.3, 111.2, 111.4, 119.5, 120.9, 130.3, 131.1, 141.3, 143.2, 149.0, 149.3, 153.6, 166.6, 170.4.

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\Serkan\DS-11_134.lcd

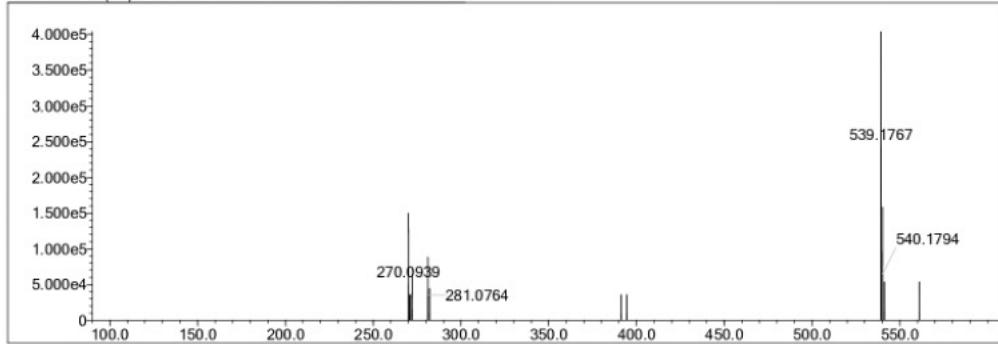
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	5	35	O	2	0	5	S	2	2	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	30	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	1	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

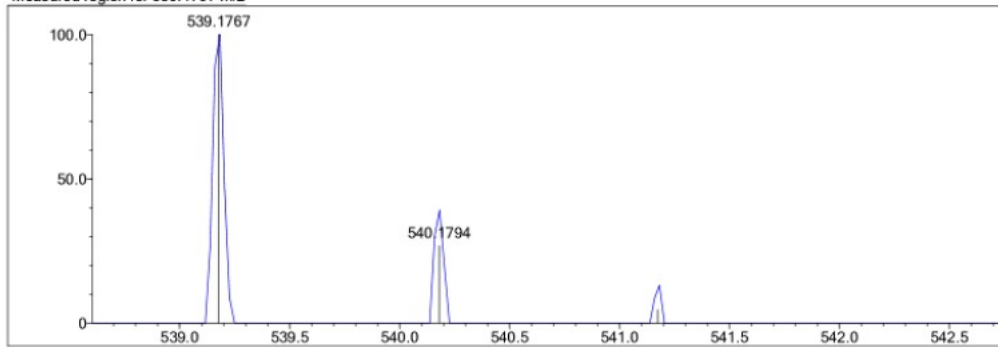
DBE Range: 5.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 500

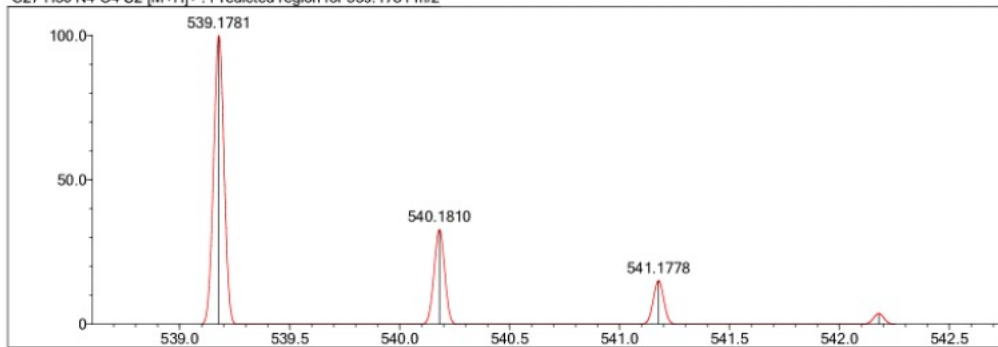
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.480 -> 3.480 Scan#: 523 -> 523



Measured region for 539.1767 m/z

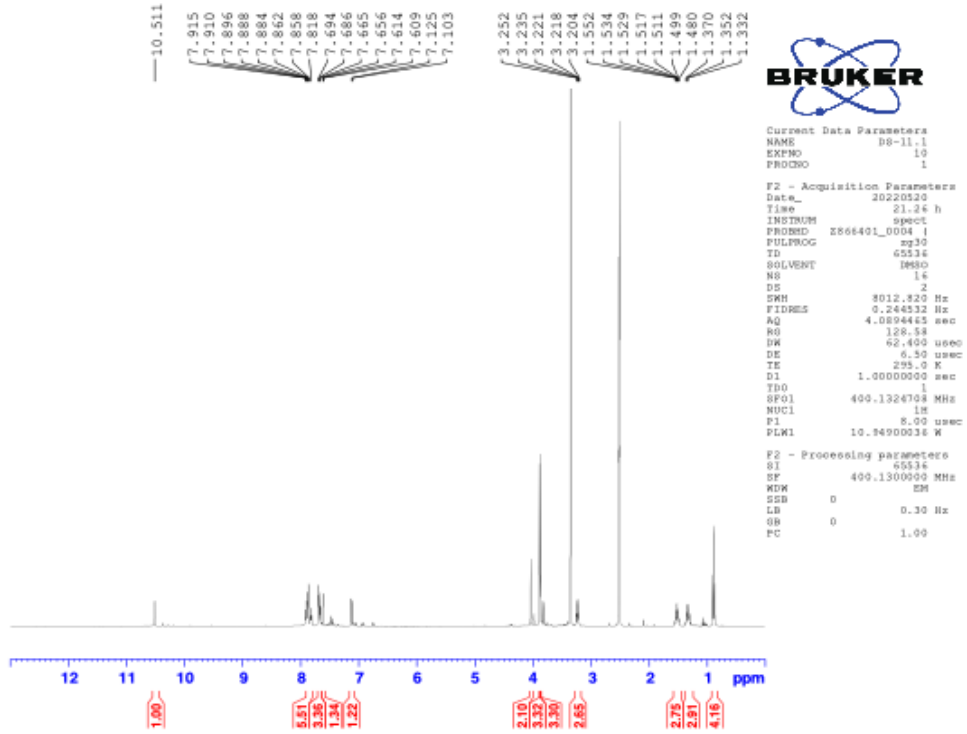


C27 H30 N4 O4 S2 [M+H]⁺ : Predicted region for 539.1781 m/z

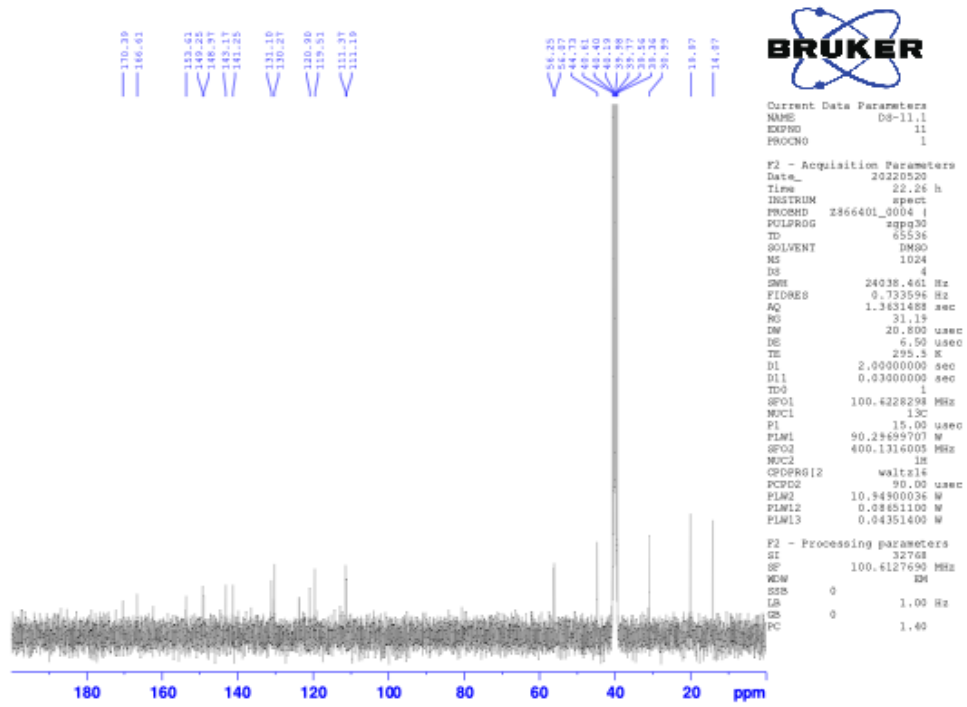


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	73.96	C27 H30 N4 O4 S2	[M+H] ⁺	539.1767	539.1781	-1.4	-2.60	77.04	15.0

Şekil 5.34. Bileşik 6i'ye ait kütle spektrumu



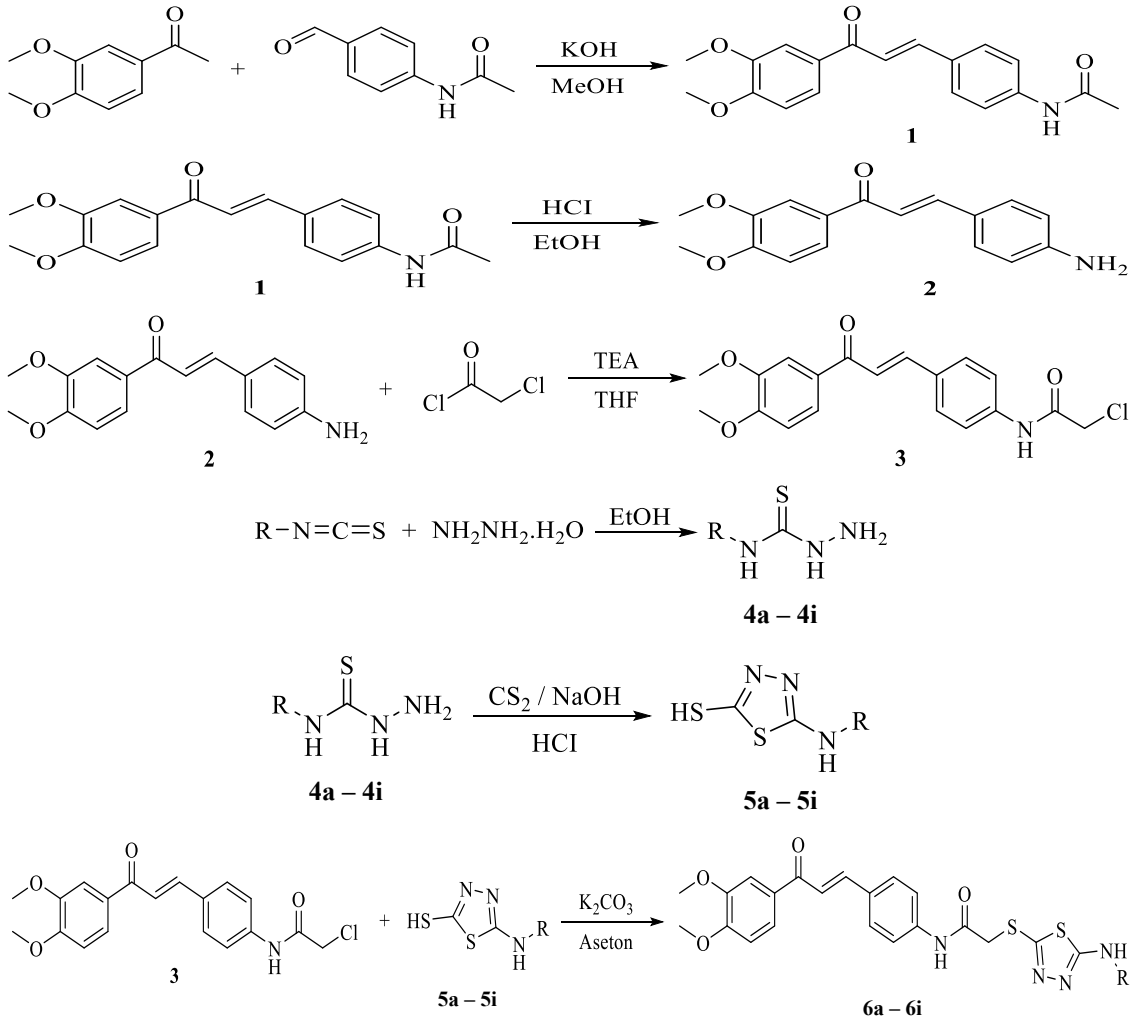
Şekil 5.35. Bileşik 6i'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.36. Bileşik 6i'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

5.2. Sentez çalışmalarının değerlendirilmesi

Bu tede tiyadiazol grubu taşıyan şalkon türevi 9 yeni bileşik sentezlenmiştir. Bileşikler aşağıdaki sentez şemasına uygun olarak sentezlenmiştir. Başlangıçta N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid sentezlenmiştir. İkinci olarak 3-(4-aminofenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on sentezlenmiştir. Üçüncü aşamada 2-kloro-N-(4-(3-(3,4-dimetoksifenil)-3-oksoprop-1-en-1-il)fenil)asetamid sentezlenmiştir. Ardından dördüncü ve beşinci basamakta R grupları aşağıdaki tablodaki gibi olan N-sübstitüehidrazinkarbotiyoamid türevleri sentezlenmiştir. Son basamakta ise 3. ve 5. Basamaktaki bileşikler reaksiyona sokularak hedef bileşikler olan 5-(Sübstitüeamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol türevi bileşikler sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları spektroskopi ile doğrulanmıştır.



Şekil 5.37. Sentez basamakları

Tablo 5.1. *Hedef bileşiklerin R grupları*

Bileşik	R	Bileşik	R
6a	Etil	6f	Fenil
6b	Propil	6g	4-Metilfenil
6c	İzopropil	6h	4-Metoksifenil
6d	Bütil	6i	Sikloheksil
6e	Allil		

5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

Sentezlenen **6a-6i** kodlu 9 bileşiğin yapıları, spektroskopi yöntemleri ile analiz edilip doğrulanmıştır.

5.3.1. ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin yapıları NMR spektrumları ile doğrulanmıştır. Ana iskeletteki metoksi grupları 3,8 ppm civarında singlet olarak ortaya çıkmıştır. Yine ana iskeletteki karbonil grubu ile kükürt atomu arasındaki metilen köprüsünün protonları 4,0 ppm civarında singletler halinde ortaya çıkmıştır. Amit protonları 10 ppm üzerinde izlenmiş ve diğer aromatik-alifatik protonlar beklendiği gibidir. Benzer şekilde ¹³C-NMR'de metoksi karbonlar ve metilen karbon sırasıyla 56 ppm ve 40 ppm civarında gözlenmiştir. Diğer karbonların spektrumları ise teorik değerlerle uyumludur.

5.3.2. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi

Kütle spektrumları alınırken elektron sprej pozitif iyonlaştırma tekniği kullanılmıştır. Spektrumların incelenmesi sonucu beklenen biçimde bir birim fazla şekilde veriler alınmış (kullanılan yöntemden dolayı) ve molekül ağırlıklarının doğruluğu kanıtlanmıştır.

5.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Enzim inhibisyon testlerinde referans bileşikler kullanılmıştır. Bu referans bileşikler asetilkolin esterase için donepezil, butirilkolin esterase için takrin, monoamin oksidaz A için moklobemid ve monoamin oksidaz B enzim aktivite testleri için

selejlidir. Ardından sentezlenen bileşiklerin 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarındaki yüzde inhibisyon değerlerinin hesaplanmasının ardından nonlineer regresyon analizi ile IC_{50} değerleri hesaplanmıştır.

5.4.1. AchE ve BchE enzimleri aktivite sonuçları ve değerlendirilmesi

Yapılan aktivite testlerine göre sentezlenen bileşikler AchE enzimine karşı anlamlı inhibitör aktivite sergilemiştir. 10^{-3} konsantrasyonda bileşik **6a** %95.104, **6b** %96.685, **6c** %96.498, **6d** %94.322, **6e** %97.318, **6f** %90.184, ve **6g** ise 88.020 oranında inhibisyon göstermiştir. Bileşik **6h** ve **6i** ise anlamlı bir inhibisyon gösterememiştir. Bu bileşiklerin arasında en aktif bileşiğimiz olan **6e** 0.025 μ M IC_{50} değeriyle referans bileşiğimiz olan donepezile oldukça yakın bir değer vermiştir.

Fakat BchE enzimine karşı önemli bir inhibitör aktivite görülememiştir. 10^{-3} konsantrasyonda Bileşik **6a** %53.841, **6b** %55.036, **6c** 59.159 ve **6e** ise %64.648 BchE inhibisyonu sergilemiş fakat bu değerler referansımız olan takrine göre oldukça uzak bir değerdir. Ayrıca IC_{50} değerlerinin 100 μ M'ün üzerinde olması takrine göre oldukça yüksektir. Bu nedenle sentezlenen bileşiklerimizin BchE inhibisyonunda kullanılması önerilmez.

Tablo 5.2. Test bileşikleri (**6a-6i**) ve referans maddelerin AchE ve BchE enzimlerine göre % inhibisyon oranları (10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında) ve IC_{50} (μ M) değerleri

Bileşik	AchE % İnhibisyon		AchE IC_{50} (μ M)	BchE % İnhibisyon		BchE IC_{50} (μ M)
	10^{-3} M	10^{-4} M		10^{-3} M	10^{-4} M	
6a	95.104 ± 2.362	91.945 ± 1.774	0.038 ± 0.001	53.841 ± 2.041	26.495 ± 0.995	>100
6b	96.685 ± 1.895	89.304 ± 2.434	0.044 ± 0.002	55.036 ± 1.864	29.518 ± 0.914	>100
6c	96.498 ± 2.120	92.267 ± 2.054	0.034 ± 0.001	59.159 ± 1.784	31.752 ± 0.964	>100
6d	94.322 ± 1.857	89.741 ± 2.103	0.093 ± 0.003	45.514 ± 1.351	38.369 ± 0.932	>1000
6e	97.318 ± 2.310	94.597 ± 1.854	0.025 ± 0.001	64.648 ± 1.902	31.527 ± 1.302	>100
6f	90.184 ± 1.862	83.684 ± 1.828	0.168 ± 0.006	32.497 ± 0.821	17.597 ± 0.768	>1000
6g	88.020 ± 1.974	80.720 ± 1.767	0.246 ± 0.011	40.916 ± 1.235	24.134 ± 0.865	>1000

Tablo 5.2. (Devam) *Test bileşikleri (6a-6i) ve referans maddelerin AchE ve BchE enzimlerine göre % inhibisyon oranları (10⁻³ ve 10⁻⁴ M konsantrasyonlarında) ve IC₅₀ (µM) değerleri*

6h	41.569 ±0.968	30.337 ±1.374	>1000	29.134 ±1.050	21.011 ±0.951	>1000
6i	32.955 ±0.851	19.846 ±0.825	>1000	36.028 ±1.187	33.338 ±1.041	>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 enzimleri aktivite sonuçları ve değerlendirilmesi

Yapılan aktivite çalışmalarına göre sentezlenen bileşiklerimiz MAO enzimine karşı anlamlı bir inhibisyon gösterememiştir. 10⁻³ konsantrasyonda bileşik **6a** %61.584, **6b** %67.716 ve **6e** %59.455 oranında inhibisyon değeri verse de IC₅₀ değerlerinin referans bileşiğimiz olan moklobemid bileşiğine göre oldukça fazla olması nedeniyle önemsizdir.

Fakat 10⁻³ konsantrasyonda sentezlenen bileşiklerimizden **6a** %92.662, **6b** %94.158, **6c** 95.467, **6d** %90.019, **6e** 96.327 MAO-B enzimine karşı bir inhibisyon değeri vermiştir. Referans bileşiğimiz olan selejiline oldukça yakın bir değerdir. Bu bileşikler içerisinde 0.044 IC₅₀ değeriyle en aktif bileşiğimiz **6e** bileşiğidir. MAO-B inhibisyonu ile tedavisi sağlanan hastalıklarda kullanılmasında gelecek vadetmektedir.

Tablo 5.4. *Test bileşikleri (6a-6i) ve referans maddelerin MAO-A ve MAO-B enzimlerine göre % inhibisyon oranları (10⁻³ ve 10⁻⁴ M konsantrasyonlarında) ve IC₅₀ (µM) değerleri*

Bileşik	MAO-A % İnhibisyon		MAO-A IC ₅₀ (µM)	MAO-B % İnhibisyon		MAO-B IC ₅₀ (µM)
	10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M		10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M	
6a	61.584 ± 2.167	43.832 ±1.336	>100	92.662 ± 2.964	88.946 ± 1.968	0.092 ± 0.003
6b	67.716 ± 1.894	39.057 ±0.954	>100	94.158 ± 2.112	88.728 ± 1.249	0.080 ± 0.003
6c	40.338 ±1.420	36.294 ±0.887	>1000	95.467 ± 1.805	91.437 ± 2.227	0.067 ± 0.002
6d	43.929 ±1.038	33.420 ±1.190	>1000	90.019 ± 2.037	85.335 ± 1.665	0.142 ± 0.006
6e	59.455 ± 1.348	42.636 ±1.525	>100	96.327 ± 1.805	93.519 ± 2.831	0.044 ± 0.002
6f	34.596 ±1.162	29.067 ±0.880	>1000	48.658 ±1.422	36.663 ±1.362	>1000

Tablo 5.4. (Devam) *Test bileşikleri (6a-6i) ve referans maddelerin MAO-A ve MAO-B enzimlerine göre % inhibisyon oranları (10⁻³ ve 10⁻⁴ M konsantrasyonlarında) ve IC₅₀ (µM) değerleri*

6g	44.384 ±1.908	30.848 ±0.962	>1000	45.013 ±1.668	34.704 ±1.041	>1000
6h	46.911 ±2.051	36.132 ±1.339	>1000	40.290 ±1.649	39.421 ±0.957	>1000
6i	42.761 ±1.536	34.310 ±1.152	>1000	47.405 ±1.831	40.277 ±1.832	>1000
Moklobemid	94.121 ±2.760	82.143 ±2.691	6.0613 ±0.2625	-	-	-
Selejilin	-	-	-	98.589 ±2.055	94.850 ±1.114	0.0374 ±0.0016

5.5. MTT Sitotoksitate Testleri Sonuçları ve Değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerimizden **6a**, **6b**, **6c**, **6d** ve **6e** AchE ve MAO-B üzerine önemli bir inhibisyon aktivitesi gösterdiği için bu bileşikler sitotoksitate testlerine sokulmuştur. IC₅₀ değerlerinin enzim ve ve NIH3T3 hücrelerine karşı gösterdiği değerlerde ortalama 100 kat fark görülmüştür. Testlerden çıkan sonuca göre bileşiklerimiz enzimleri inhibe ederken fare hücrelerine zarar vermemiştir.

Tablo 5.4. *Seçilen bileşiklerin enzimlere ve MTT sitotoksitate testi ile NIH3T3 hücrelerine karşı belirlenen IC₅₀ değerleri*

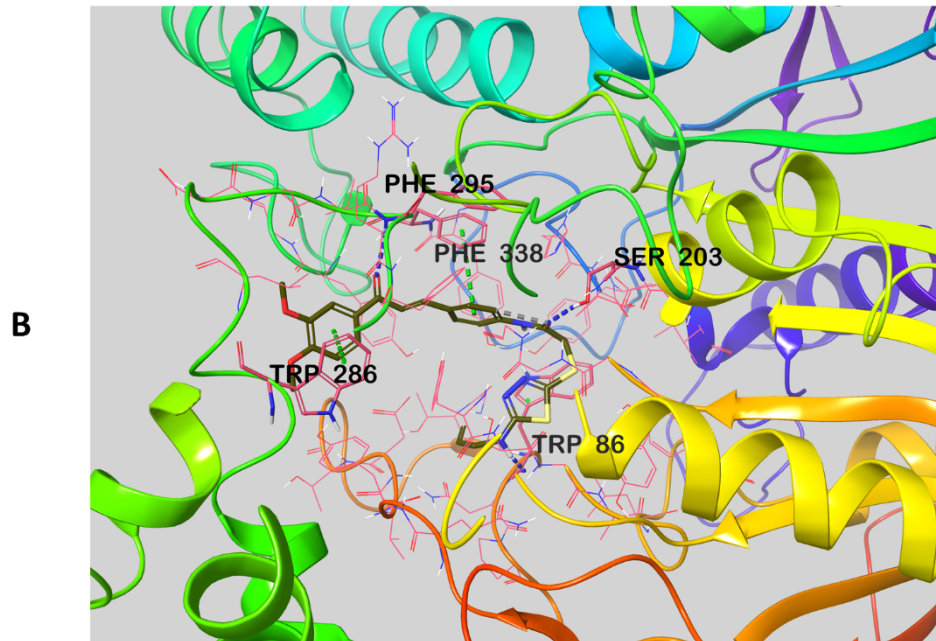
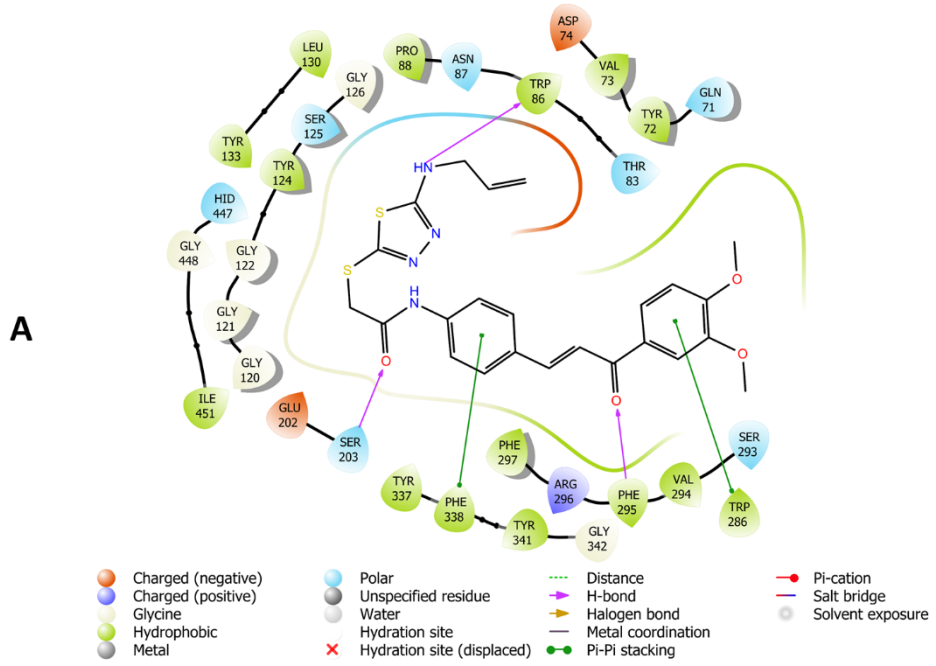
Bileşik	AchE Enzimi	MAO-B Enzimi	NIH3T3 Hücre dizisi
6a	0.038±0.001	0.092±0.003	10.651±0.481
6b	0.044±0.002	0.080±0.003	31.426±1.203
6c	0.034±0.001	0.067±0.002	5.137±0.204
6d	0.093±0.003	0.142±0.006	18.049±0.812
6e	0.025±0.001	0.044±0.002	23.828±1.063

5.6. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi

AchE ve MAO-B enzimleri üzerinde aktivitesi en yüksek olan bileşik **6e**'nin için docking çalışmaları yapılmıştır. Çalışmalarda *Glide* programı kullanılmıştır. **Şekil 5.38**'de AchE enzimi ile docking pozları alınmıştır. **Şekil 5.39**'da ise MAO-B enzimi ile docking pozları alınmıştır.

5.6.1. AchE Enzimi Üzerinde Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi

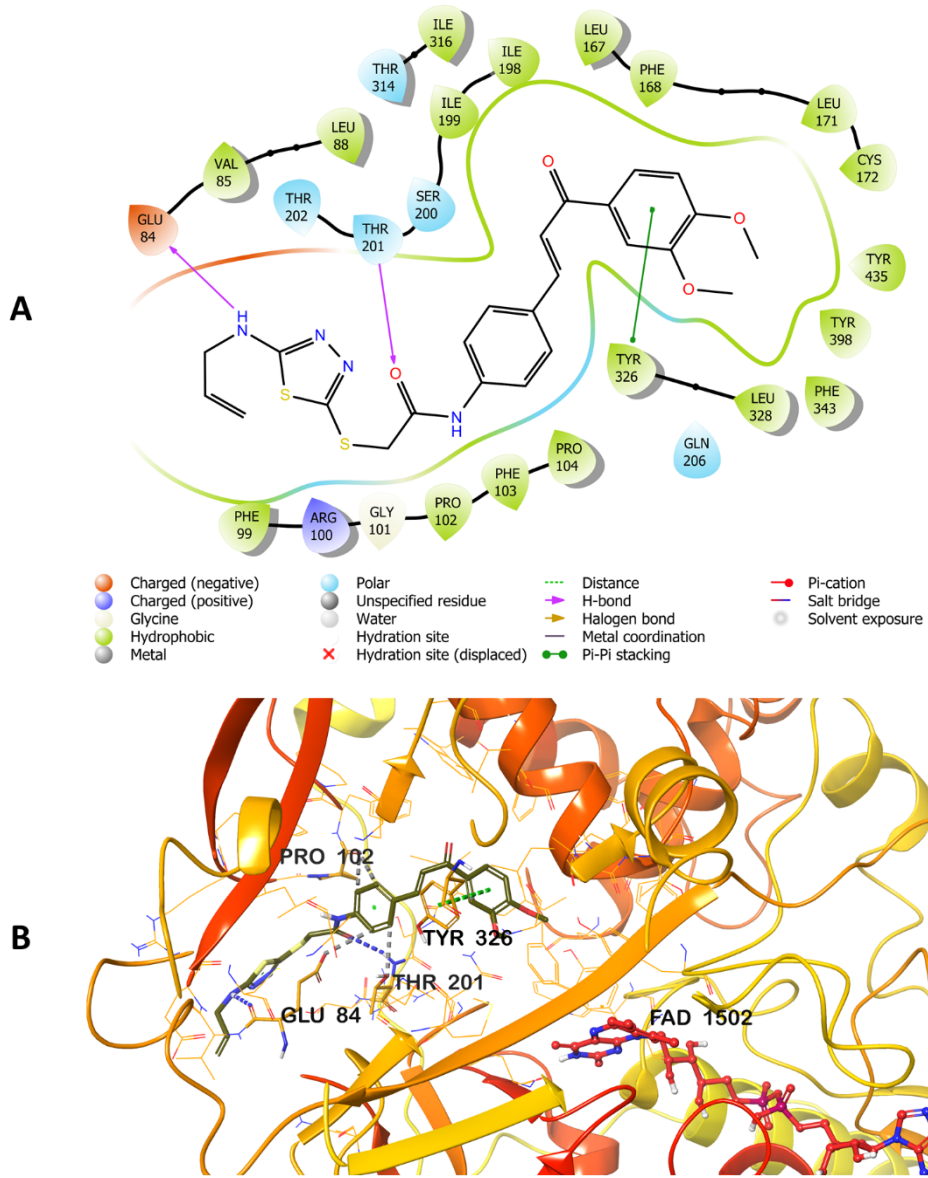
Şekil 5.38'de görülebildiği gibi, bileşik 6e'de bulunan 3,4-dimetoksibenzen halkası Trp286 amino asidi ile iki π - π bağı gerçekleştirmektedir. Komşu karbonil grubu Phe295 ile bir hidrojen bağı kurmaktadır. bu etkileşimlere göre, bileşik 6e'nin AchE enziminin PAS bölgesine anahtar kilit gibi yerleştiği görülmektedir. Bileşiminin ortasında bulunan benzen halkası ise Phe338 amino asidi ile π - π bağı yapmaktadır. Benzen halkasına komşu amit grubunda bulunan amin Ser203'ün hidroksili ile bir hidrojen bağı oluştururken; yapının terminal kısmında bulunan sekonder amin grubu ise Trp86'nın karbonili ile aynı etkileşimi gerçekleştirmektedir. Trp86, Ser203 ve Phe338 amino asitleriyle gözlenen etkileşimlere göre sentezlenen bileşimiz, enzimin CAS bölgesine anahtar kilit gibi yerleşmektedir. Elde edilen verilere göre sentezlenen bileşiminin inhibitör aktivitesinin nedeni ortaya çıkmaktadır.



Şekil 5.38. *bileşik 6e*'nin *AchE* enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu (**A**) ve üç boyutlu (**B**) görünümü.

5.6.2. MAO-B Enzimi Üzerinde Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Şekil 5.39'da bileşik 6e'nin MAO-B enzimi ile yapılan docking çalışmaları vardır. Bu çalışmalara göre bileşik 6e'nin MAO-B enziminin aktif bölgesine anahtar kilit gibi yerleştiği görülmektedir. Bileşimizdeki 3,4-dimetoksibenzen halkası Tyr326 amino asidinin fenili ile π - π bağı kurmaktadır. Bileşimizin ortasında bulunan benzen halkası ise Pro102 amino asidinin karbonili ile iki, Thr201'in hidroksili ile de bir tane olmak üzere toplamda üç aromatik-H bağı kurmaktadır. Bu halkaya komşu amit grubunun amin yapısı Thr201'in amin grubuyla bir hidrojen bağı oluşturmaktadır. Diğer bir hidrojen bağı ise terminal sekonder amin grubu ile Glu84'ün karbonili arasında görülmektedir. Elde edilen verilere göre bileşimizin enzimi nasıl inhibe ettiği açıkça bellidir.



Şekil 5.39. *bileşik 6e*'nin MAO-B enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu (A) ve üç boyutlu (B) görünümü.

5.7. Moleküler Dinamik Çalışmaları

MD simülasyon yöntemi, proteinlerin veya protein ligand komplekslerinin dinamik davranışını araştırmak için yaygın olarak kullanılır. Bu tez çalışması kapsamında, gelecek vaat eden molekül **6e** ile AchE (PDB kodu: 4EY7) [115] ve MAO-B (PDB kodu: 2V5Z) [116] enzimleri arasında oluşan kenetlenme kompleksinin stabilitesini değerlendirmek için, açık bir hidrasyon ortamında 100 ns MD simülasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. İlgili enzimlerle gerçekleştirilen moleküler dinamik simülasyon değerlendirmeleri aşağıda verilmiştir.

5.7.1. AChE Enzimi Üzerine Moleküler Dinamik Çalışmaları

Şekil 5.40'da, sonuçlar bileşik **6e-AchE** enzim kompleksi içindir. MD simülasyonu sırasında oluşturulan modelin kararlılığını ölçmek için RMSD ve RMSF parametreleri kullanılmıştır. Simülasyonlar sırasında modelin kararlılığını kontrol etmek için RMSD kullanılmıştır. Simülasyon süresinin bir fonksiyonu olarak RMSD çizimi, **Şekil 5.40.A**'da sunulmuştur. RMSD değeri 1-3 arasında olmalıdır. Elde ettiğimiz grafik bu belirtilen değerler arasında (Max 2.7 Å) kaldığı için kararlılığımızın korunduğunu söylemek doğru olacaktır. 5.10. ns'ye kadar artış gösteren RMSD değeri 9 ns civarında sabitlenmiştir. Bu sabitlenme zamanında meydana gelen değişiklikler incelendiğinde (**Şekil 5.40.D**) bileşik **6e** ile Leu76, Tyr124 ve Phe338 aminoasitleri arasındaki etkileşimlerin başladığı görülmüştür. Dolayısıyla bu aminoasitlerin stabiliteye katkı sağladığı düşünülmektedir. **6e-AchE** kompleks proteini RMSD analizine göre, simüle edilen sistem oldukça etkili bir şekilde dengelenmiştir.

Bireysel amino asitlerin, MD simülasyon çalışması sırasında protein-ligand kompleksinin stabilitesinde çok önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. RMSF parametresi, simülasyon süresi sırasında protein zinciri boyunca bireysel kalıntı dalgalanmasını ve konformasyonel değişiklikleri gözlemlemek için incelenebilir (**Şekil 5.40.B**). A-sarmal bölgeleri, RMSF grafiğinde kırmızıdır; β -bantlı bölgeler mavi bir arka planla temsil edilir; beyaz arka plan döngü bölgesini temsil etmektedir. Protein α -sarmal ve β -sarmal bölgeleri, proteinin ilmek bölgesine kıyasla daha serttir. Ve buradaki

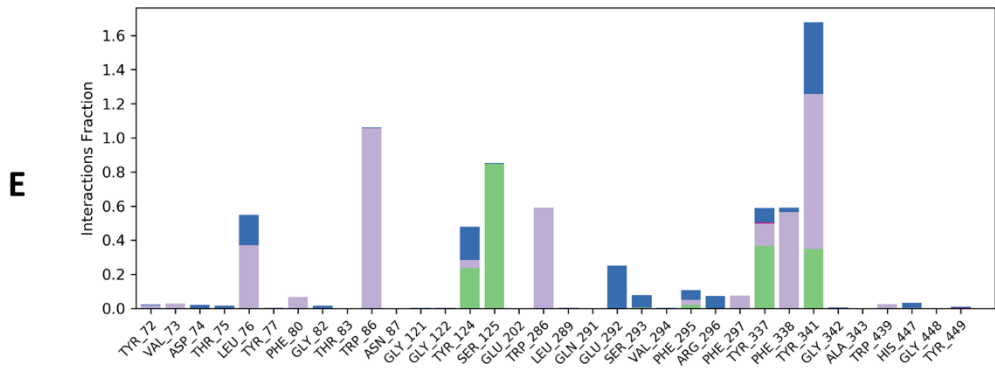
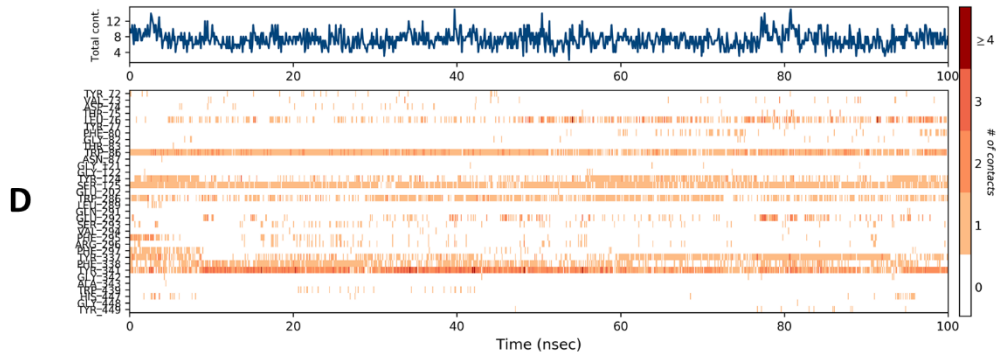
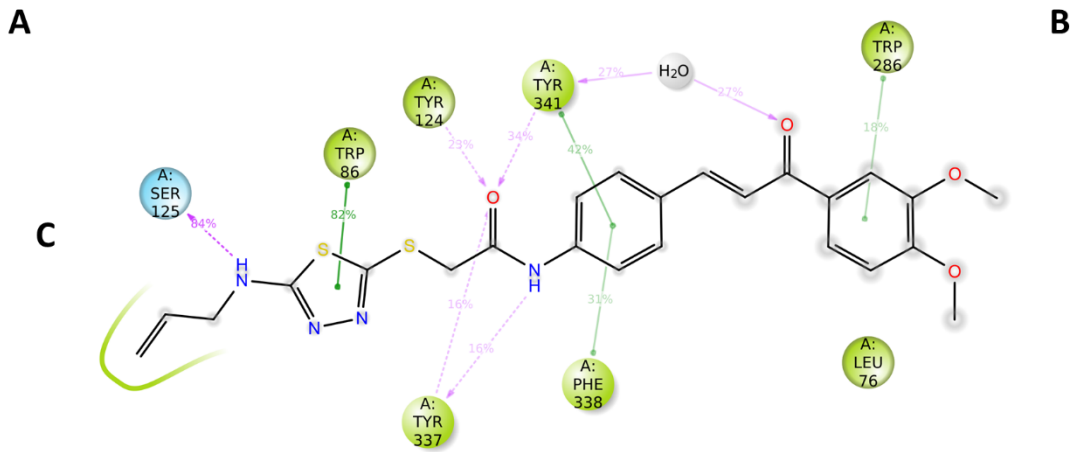
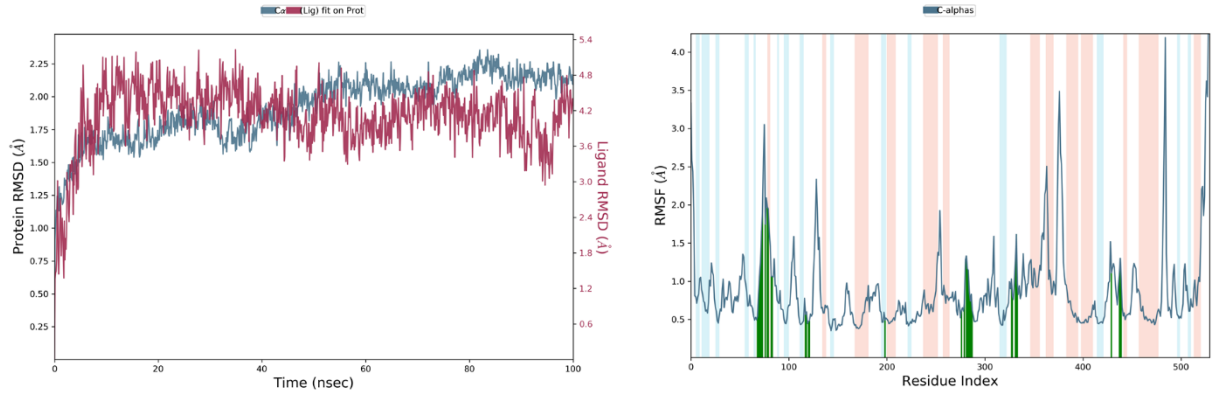
dalgalanmalar da daha az olmalıdır. Her bir protein zinciri ve ligand arasındaki temas eden kalıntıların katkısı, çizimin X ekseninde dikey yeşil çizgilerle gösterilmiştir.

RMSF raporuna göre, bileşik **6e**, AchE enziminin 34 amino asidiyle etkileşim halindedir. Bu aminoasitler şu şekilde sıralanabilir: Tyr72 (0.54 Å), Val73 (0.83 Å), Asp74 (1.07 Å), Thr75 (1.24 Å), Leu76 (1.66 Å), Tyr77 (1.88 Å), Phe80 (1.75 Å), Gly82 (1.97 Å), Thr83 (1.95 Å), Trp86 (1.07 Å), Asn87 (1.06 Å), Gly121 (0.57 Å), Gly122 (0.60 Å), Tyr124 (0.48 Å), Ser125 (0.48 Å), Glu202 (0.49 Å), Trp286 (0.62 Å), Leu289 (0.70 Å), Gln291 (1.33 Å), Glu292 (1.17 Å), Ser293 (1.14 Å), Val294 (0.86 Å), Phe295 (0.74 Å), Arg296 (0.83 Å), Phe297 (0.62 Å), Tyr337 (1.03 Å), Phe338 (0.81 Å), Tyr341 (1.26 Å), Gly342 (1.61 Å), Ala343 (0.97 Å), Trp439 (1.11 Å), His447 (1.10 Å), Gly448 (1.30 Å), Tyr449 (1.03 Å). **6e-AchE** kompleksinde, elde edilen RMSF grafiği dalgalanmalarında önemli bir değişiklik yoktur. Döngü bölgeleri dışında, çoğu kalıntının RMSF değerleri 1.00 Å'dan azdır ve bu durum kalıntı konformasyonunun simülasyon sırasında kararlı olduğunu gösterir.

Şekil 5.40.C, **5.40.D** ve **5.40.E** bileşik **6e**'nin aktif bölgede aminoasitler ile etkileşimini göstermektedir. **Şekil 5.40.E** ise enzim aktif bölgesinde %15 üzerinde etkileşim gösteren aminoasitleri sergilemektedir. Buna göre, bileşik **6e**; Trp286 (%18), Tyr341 (%42), Phe338 (%31) ve trp86 (%82) ile π - π etkileşimleri, Ser125 (%84), Tyr124 (%23), Tyr341 (%34) ve Tyr337 (%16) ile hidrojen bağları kurmaktadır. **Şekil 5.40.D** etkileşim sayısı ve kalıntı grafiğini sunmaktadır. Burada özellikle Trp86, Ser125, Phe338 ve Tyr341 ile bileşik **6e**'nin kesintisiz etkileşim içerisinde olduğu görülmektedir. Leu76 ile 10. Ns, Tyr124 ile 55. Ns, Trp286 ile 30. Ns, Tyr337 ile 13. 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, Tyr124, Ser125, Trp286, Tyr337, Phe338 ve Tyr341 aminoasitleri ile yapılan kesintisiz etkileşim bileşiğin potansiyelini bir kez daha gözler önüne sermektedir. **Şekil 5.40.E** simülasyon sırasında komplekse 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. Buna göre H-bağı; Tyr124, Ser125, Ser293, Phe295, Tyr337 ve Tyr341 aminoasitleriyle oluşmaktadır. Su aracılı H-bağı ise; Tyr72, Asp74, Thr75, Leu76, Gly82, Trp86, Gly121, Gly122, Tyr124, Ser125, Trp286, Gln291, Glu292,

Ser293, Val294, Phe295, Arg296, Tyr337, Phe338, Tyr341, Gly342, His447 ve Tyr449 aminoasitleriyle kurulmaktadır. Tyr337 ve Tyr449 aminoasitleriyle iyonik etkileşimlerin kurulduğu görülmektedir. Son olarak Tyr72, Val73, Leu76, Tyr77, Phe80, Thr83, Trp86, Asn87, Tyr124, Glu202, Trp286, Leu286, Phe295, Phe297, Tyr337, Phe338, Tyr341, Trp439, His447 ve Gly448 aminoasitleriyle de hidrofobik etkileşimlerin olduğu tespit edilmiştir.

MD simülasyon videosu izlenerek 100 ns boyunca oluşturulan aromatik hidrojen bağları belirlenmiştir. **6e** bileşiğinin Tyr124, Ser293, Phe297, Tyr337, Tyr341 ve Gly342 amino asitleri ile aromatik hidrojen bağı yaptığı görülmektedir. Bu etkileşimler bileşik **6e** ile Tyr124'ün hidroksili, Ser293'ün karbonili, Phe297'nin fenili, Tyr337'nin fenili ve hidroksili, Tyr341'in hidroksili, Gly342'nin amino ve karbonili arasında bulunmaktadır.



Şekil 5.40. Bileşik 6e'nin AchE kompleksi ile gerçekleştirilen MD simülasyon sonuçları

5.7.2.MAO-B Enzimi Üzerine Moleküler Dinamik Çalışmaları

Şekil 5.41'de, sonuçlar bileşik **6e-MAO-B** enzim kompleksi içindir. MD simülasyonu sırasında oluşturulan modelin kararlılığını ölçmek için RMSD ve RMSF parametreleri kullanılmıştır. Simülasyonlar sırasında modelin kararlılığını kontrol etmek için RMSD kullanılmıştır. Simülasyon süresinin bir fonksiyonu olarak RMSD çizimi, **Şekil 5.41.A**'da sunulmuştur. RMSD değeri 1-3 arasında olmalıdır. Elde ettiğimiz grafik bu belirtilen değerler arasında (Max 2.3 Å) kaldığı için kararlılığımızın korunduğunu söylemek doğru olacaktır. 6.30-14.60 ns aralığında değişkenlik gösteren RMSD değeri 2.3. Ns civarında sabitlenmiştir. Bu sabitlenme zamanında meydana gelen değişiklikler incelendiğinde (**Şekil 5.41.D**) bileşik **6e** ile Ile199, Trp326, Phe343, Tyr398 ve Tyr435 aminoasitleri arasındaki etkileşimlerin başladığı görülmüştür. Dolayısıyla bu aminoasitlerin stabiliteye katkı sağladığı düşünülmektedir. **6e-MAO-B** kompleks proteini RMSD analizine göre, simüle edilen sistem oldukça etkili bir şekilde dengelenmiştir.

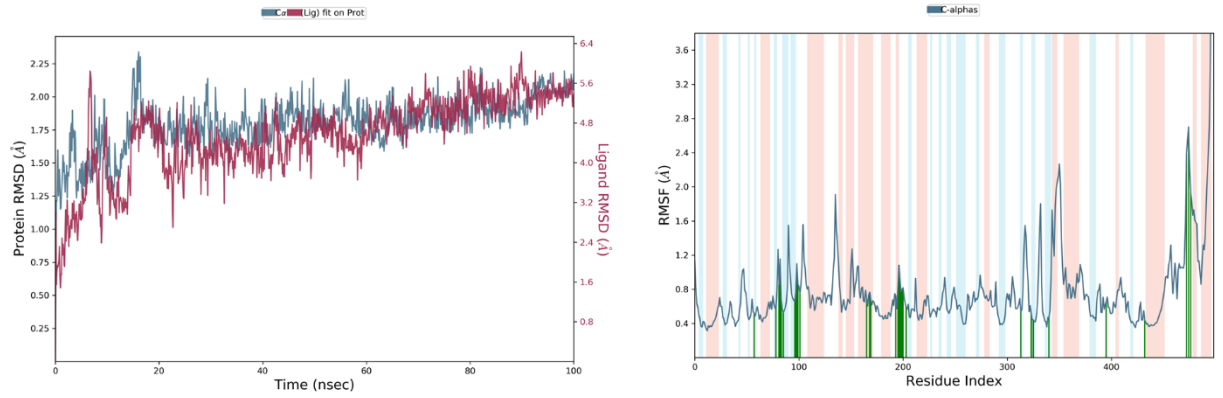
Bireysel amino asitlerin, MD simülasyon çalışması sırasında protein-ligand kompleksinin stabilitesinde çok önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. RMSF parametresi, simülasyon süresi sırasında protein zinciri boyunca bireysel kalıntı dalgalanmasını ve konformasyonel değişiklikleri gözlemlemek için incelenebilir (**5.41.B**). α -sarmal bölgeleri, RMSF grafiğinde kırmızıdır; β -bantlı bölgeler mavi bir arka planla temsil edilir; beyaz arka plan döngü bölgesini temsil etmektedir. Protein α -sarmal ve β -sarmal bölgeleri, proteinin ilmek bölgesine kıyasla daha serttir. Ve buradaki dalgalanmalar da daha az olmalıdır. Her bir protein zinciri ve ligand arasındaki temas eden kalıntıların katkısı, çizimin X ekseninde dikey yeşil çizgilerle gösterilmiştir.

RMSF raporuna göre, bileşik **6e**, MAO-B enziminin 28 amino asidiyle etkileşim halindedir. Bu aminoasitler şu şekilde sıralanabilir: Tyr60 (0.52 Å), Lys81 (0.57 Å), Glu84 (0.85 Å), Val85 (1.15 Å), Glu86 (0.68 Å), Leu88 (0.53 Å), Phe99 (0.65 Å), Arg100 (0.76 Å), Gly101 (1.10 Å), Pro102 (0.86 Å), Pro104 (0.75 Å), Phe168 (0.70 Å), Leu171 (0.77 Å), Cys172 (0.68 Å), Thr196 (0.72 Å), Ile198 (0.82 Å), Ile199 (1.08 Å), Ser200 (0.92 Å), Thr201 (0.77 Å), Thr202 (0.80 Å), Asn203 (0.82 Å), Gln206 (0.59 Å), Ile316 (0.54 Å), Tyr326 (0.52 Å), Leu328 (0.44 Å), Phe343 (0.47 Å), Tyr398 (0.65 Å) ve Tyr435 (0.44 Å). **6e-MAO-B** kompleksinde, elde edilen RMSF grafiği dalgalanmalarında önemli

bir değişiklik yoktur. Döngü bölgeleri dışında, çoğu kalıntının RMSF değerleri 1.00 Å'dan azdır ve bu durum kalıntı konformasyonunun simülasyon sırasında kararlı olduğunu gösterir.

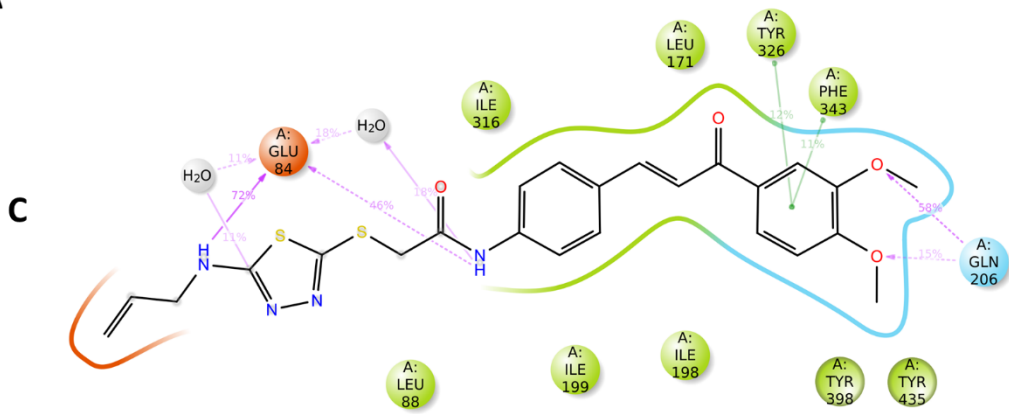
Şekil 5.41.C, 5.41.D ve 5.41.E bileşik **6e**'nin aktif bölgede aminoasitler ile etkileşimini göstermektedir. **Şekil 5.41.E** ise enzim aktif bölgesinde %15 üzerinde etkileşim gösteren aminoasitleri sergilemektedir. Buna göre, bileşik **6e**; Tyr326 (%15) ve Phe343 (%11) ile π - π etkileşimleri, Gln206 (%15 ve %58) ve Glu84 (%46 ve %72) ile hidrojen bağları kurmaktadır. **Şekil 5.41.D** etkileşim sayısı ve kalıntı grafiğini sunmaktadır. Burada özellikle Glu84, Gln206 ve Tyr326 ile bileşik **6e**'nin kesintisiz etkileşim içerisinde olduğu görülmektedir. Ile198 ile 7. ns, Phe343 ile 62. ns, Tyr398 ile 10. ns ve Tyr435 ile 40. ns civarında etkileşim başlamış ve büyük çoğunlukla kesintisiz devam etmiştir. Bu aminoasitlerin hepsi stabilitenin sağlanmasında rol oynamıştır. Özellikle MAO-B enzim aktif bölgesi için önemli olan Ile198, Gln206, Tyr326, Phe343, Tyr398 ve Tyr435 aminoasitleri ile yapılan kesintisiz etkileşim bileşiğinin potansiyelini bir kez daha gözler önüne sermektedir. **Şekil 5.41.E** simülasyon sırasında komplekse 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. Buna göre H-bağı; Glu84, Gly101, Cys172, Ile199, Ser200, Gln206, Tyr435 ve Thr479 aminoasitleriyle oluşmaktadır. Su aracılı H-bağı ise; Tyr60, Lys81, Glu84, Val85, Glu86, Arg100, Gly101, Pro102, Phe168, Ile198, Ile199, Ser200, Thr201, Thr202, Asn203, Gln206, Tyr326, Ile477 ve Thr479 aminoasitleriyle kurulmaktadır. Son olarak Tyr60, Val85, Leu88, Phe99, Pro104, Phe168, Leu171, Thr196, Ile198, Ile199, Ile316, Tyr326, Leu328, Phe343, Tyr398, Tyr435, Gln475 ve Ile477 aminoasitleriyle de hidrofobik etkileşimlerin olduğu tespit edilmiştir.

MD simülasyon videosu izlenerek 100 ns boyunca oluşturulan aromatik hidrojen bağları belirlenmiştir. **6e** bileşiğinin Val85, Phe99, Gly101, Pro102, Phe168, Cys172, Ile198, Ile199, Ser200, Thr201 ve Tyr326 amino asitleri ile aromatik hidrojen bağı yaptığı görülmektedir. Bu etkileşimler bileşik **6e** ile Val85'in amino grubu, Phe99'un fenili, Gly101'in karbonili, Pro102'nin hidroksili, Phe168'in fenili, Cys172'nin karbonili, Ile198'in amino grubu, Ile199'un karbonili, Ser200'ün karbonili, Thr201'in hidroksili ve Tyr326'nın hidroksili arasında bulunmaktadır.



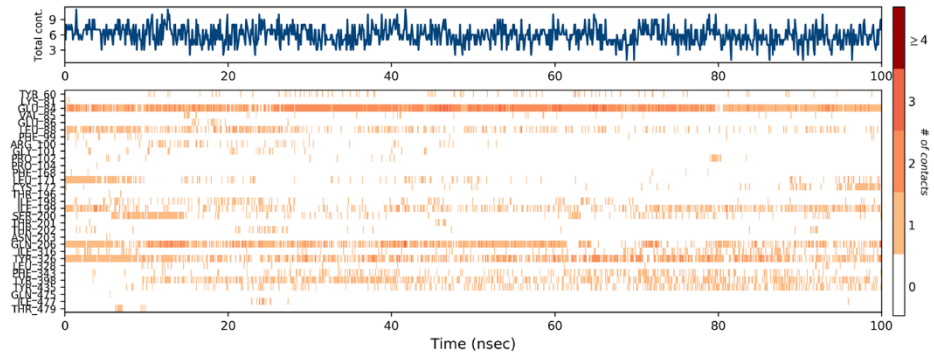
A

B

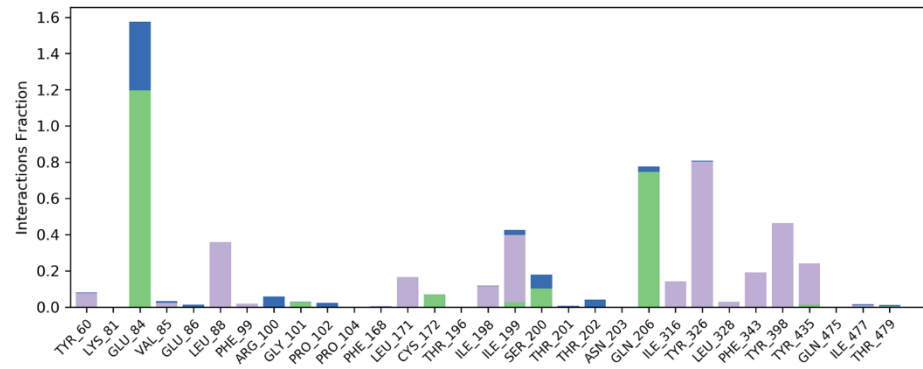


C

D



E



Şekil 5.41. Bileşik 6'nin MAO-B kompleksi ile gerçekleştirilen MD simülasyon sonuçları

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında yapısında tiyadiazol halkası içeren şalkon türevi 9 yeni bileşik tasarlanıp, sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları spektroskopi yöntemleri ile doğrulanmıştır. Hedef bileşikler, referans maddelerle birlikte biyolojik aktivite testlerine sokulmuştur.

AchE aktivite çalışmalarına göre bileşik **6a**, **6b**, **6c**, **6d**, **6e**, **6f**, **6g** oldukça önemli sonuçlar vermiştir. İçlerinden en aktif bileşik ise **6e**'dir. Yapılan sitotoksite, moleküler dinamik ve docking sonuçlarına göre oldukça kararlı ve etkili bir bileşik olduğu kanıtlanmıştır.

BchE aktivite sonuçlarına göre önemli bir aktivite saptanamamıştır.

Aynı şekilde MAO-A için yapılan aktivite testlerinden önemli bir sonuç çıkmamıştır

MAO-B aktivite testlerine göre bileşik **6a**, **6b**, **6c**, **6d** ve **6e** oldukça aktiftir. İçlerindeki en aktif bileşik ise AchE'de olduğu gibi **6e**'dir.

Son olarak ise yapılan çalışmalara göre bileşik **6e** dual etki göstermektedir ve Alzheimer ile Parkinson hastalığında kullanılmak üzere gelecek vadetmektedir. Daha sonra yapılacak ayrıntılı incelemelerle bu bileşik ve benzer yapıdaki bileşikler daha detaylı çalışılacaktır.

KAYNAKÇA

- [1] U. Calis, Alzheimer tedavisinde kullanılan ilaçlar, Farmasotik Kimya 1, 2016, p. 540-545
- [2] Howland, R.D., Mycek, M.J., Lipincott Pharmacology Turkish Edition, 2016, p. 101
- [3] Kayaalp, S.O., Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 2012, p 935-950
- [4] Champe, P.C., Harvey, R.A., Lipincott Biochemistry Turkis Edition, 1997, p. 267
- [5] Berman, H.A., P. Taylor, and J. Yguerabide, Fluorescence Energy Transfer on Acetylcholinesterase: Spatial Relationship Between Peripheral Site and Active Center. Biochemistry, 1980. 19(10): p. 2226-2235
- [6] Pont, C., et al., From virtual screening hits targeting a cryptic pocket in BACE-1 to a nontoxic brain permeable multitarget anti-Alzheimer lead with disease-modifying and cognition-enhancing effects. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021. 225: p. 113779.
- [7] Guan, L., et al., Design, synthesis, and cholinesterase inhibition assay of liquiritigenin derivatives as anti-Alzheimer's activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2021. 52: p. 128306.
- [8] Wichur, T., et al., Development and crystallography-aided SAR studies of multifunctional BuChE inhibitors and 5-HT6R antagonists with β -amyloid anti aggregation properties. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021. 225.
- [9] Barbara Wells, T.S., Joe DiPiro, Cecily DiPiro, Farmakoterapi El Kitabı, ed. T. Çelik. 2019.
- [10] Wichur, T., et al., Discovery of 1-(phenylsulfonyl)-1H-indole-based multifunctional ligands targeting cholinesterases and 5-HT6 receptor with anti-aggregation properties against amyloid-beta and tau. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021. 225.
- [11] Van Manh, N., et al., *Discovery of highly potent human glutaminyl cyclase (QC) inhibitors as anti-Alzheimer's agents by the combination of pharmacophore-based and structure-based design.* European Journal of Medicinal Chemistry, 2021: p. 113819.
- [12] Yiannopoulou, K.G., Papageorgiou, S.G., (2013). Current and future treatments for Alzheimer's disease. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, 6, 19–33.
- [13] Yüksel, N. (2000). Alzheimer hastalığının ilaçla tedavisi. *Klinik Psikiyatri*, 3, 137-141.
- [14] Prvulovic, D., Hampel, H., & Pantel, J. (2010). Galantamine for Alzheimer's disease. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 6(3), 345-354.

- [15] Cankurtaran, M., & Arıoğulu, S. (2002) Alzheimer Hastalığı ve Demans Tedavisinde Yenilikler. *Türkiye Tıp Dergisi*, 9(3), 128-136.
- [16] Williams, B. R., Nazarians, A., & Gill, M. A. (2003). A review of rivastigmine: a reversible cholinesterase inhibitor. *Clinical therapeutics*, 25(6), 1634-1653.
- [17] Harriet M. Bryson, Paul Benfield (1997). Donepezil. , *Drugs & Aging*, 10(3), 234–239.
- [18] Seltzer, B. (2005). Donepezil: a review. *Drug Metabolism & Toxicology*, 1(3), 527–536.
- [19] Yücel, N.T. and Ö.D. Can, *Huperzin A: Gölgede Kalmış Bir Nootropik Ajan*. FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences, 2019. 44(2): p. 133-146.
- [20] Johnson, J. W., & Kotermanski, S. E. (2006). Mechanism of action of memantine. *Current opinion in pharmacology*, 6(1), 61-67.
- [21] Lo, D., & Grossberg, G. T. (2011). Use of memantine for the treatment of dementia. *Expert review of neurotherapeutics*, 11(10), 1359-1370.
- [22] UĞUZ, Ş., YURDAGÜL, E., (2002). Noradrenerjik Sistem ve Depresyon. *Journal of Clinical Psychiatry*, 5, 19–23.
- [23] Valente, S., Tomassi, S., Tempera, G., Saccoccio, S., Agostinelli, E., Mai, A., (2011). Novel reversible monoamine oxidase A inhibitors: highly potent and selective 3-(1H-pyrrol-3-yl)-2-oxazolidinones. *Journal of Medicinal Chemistry*, 54, 8228–8232.
- [24] Singh, D., Kapahi, H., Rashid, M., Prakash, A., Majid. A.B.A., Mishra, N. (2016).Recent prospective of surface engineered Nanoparticles in the management of Neurodegenerative disorders. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*. 44, 780-791.
- [25] Kwakye, G.F., Paoliello, M.M.B., Mukhopadhyay, S., Bowman, A.B., Aschner, M., (2015). Manganese-Induced Parkinsonism and Parkinson’s Disease: Shared and Distinguishable Features. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12, 7519–7540.
- [26] Çakmur, R. (2011). Parkinson hastalığı ve medikal tedavisi. *Klinik Gelişim*, 23(1), 53-61.
- [27] Bolasco, A., Carradori, S., Fioravanti, R., (2010). Focusing on new monoamine oxidase inhibitors. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 20, 909–939.
- [28] Mallajosyula, J.K., Chinta, S.J., Rajagopalan, S., Nicholls, D.G., Andersen, J.K., (2009). Metabolic Control Analysis in a Cellular Model of Elevated MAO-B: Relevance to Parkinson’s Disease. *Neurotoxicity Research*, 16, 186–193.
- [29] Finberg, J. P. M., & Youdim, M. B. H. (1983). Selective MAO A and B inhibitors: their mechanism of action and pharmacology. *Neuropharmacology*, 22(3), 441-446.

- [30] TEZCAN, A. E., & OĞUZHANOĞLU, N. K. Moklobemid Kullanımı ile Ortaya Çıkan Bir Manik Atak Olgusu.
- [31] Blair, H. A., & Dhillon, S. (2017). Safinamide: a review in Parkinson's disease. *CNS drugs*, 31, 169-176.
- [32] Johnston, J.P., (1968). Some observations upon a new inhibitor of monoamine oxidase in brain tissue. *Biochemical Pharmacology*, 17, 1285–1297
- [33] Varga, E., Tringer, L., (1967). Clinical trial of a new type promptly acting psychoenergetic agent (phenyl-isopropyl-methylpropinyl-HCl, "E-250"). *Acta medica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 23, 289–295.
- [34] Knoll, J., Magyar, K., (1972). Some puzzling pharmacological effects of monoamine oxidase inhibitors. *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, 5,393–408.
- [35] Pulvermacher G. Ueber einige abkömmlinge des thiosemicarbazids und umsetzungsproducte derselben. *Ber.*, 27: 613-630, 1894.
- [36] Young G., Eyre W.: Oxidation of benzalthiosemicarbazone. *J. Chem. Soc.*, 79: 54-60, 1901.
- [37] Arnold H.: Über höher-C-alkylierte 2-amino-1,3,4-thiodiazole und ihre sulfanilamidderivate. *Ber.*, 75: 87-95, 1942.
- [38] Hoggarth E.: Compounds related to thiosemicarbazide. Part II.1 Benzoylthiosemicarbazides. *J. Chem. Soc.*, 1163-1167, 1949.
- [39] Nowakowska Z. (2007). A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *Eur J Med Chem*, 42: 125-137.
- [40] Solomons TWG, Fryhle CB. (2002). *Organik Kimya*. 7. Baskıdan Çeviri. Literatür Yayınları, 783-785
- [41] Amakali, K.T., Legoabe, L.J., Petzer, A., Petzer, J.P. (2018). Synthesis and Evaluation of 2-benzylidene-1-tetralone Derivatives for Monoamine Oxidase Inhibitory Activity. *Cent. Nerv. Syst. Agents Med. Chem*, 18, 136-149.
- [42] Polo, E., Ibarra-Arellano, N., Prent-Peñaloza, L., Morales-Bayuelo, A., Henao, J., Galdámez, A., & Gutiérrez, M. (2019). Ultrasound-assisted synthesis of novel chalcone, heterochalcone and bis-chalcone derivatives and the evaluation of their antioxidant properties and as acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 90, 103034
- [43] Engelbrecht, I., Petzer, J.P., Petzer, A. (2018). Nitrocatechol Derivatives of Chalcone as Inhibitors of Monoamine Oxidase and Catechol-O-Methyltransferase. *Cent. Nerv. Syst. Agents Med. Chem*, 18, 115-127.
- [44] Mathew, B., Baek, S.C., Parambi, D.G.T., Lee, J.P., Mathew, G.E., Jayanthi, S., Devaraji, V., Rapheal, C., Vinod, D., Kondarath, S.S., Uddin, Md.S., Kim, H.

- (2018). Potent and highly selective dual-targeting monoamine oxidase-B inhibitors: Fluorinated chalcones of morpholine versus imidazole. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci*, 352, 1-11.
- [45] Sasidharan, R., Baek, S.C., Manju, S.L., Kim, H., Mathew, B. (2018). Imidazole bearing chalcones as a new class of monoamine oxidase inhibitors. *Biomed. Pharmacother*, 106, 8-13.
- [46] Suresh, J., Baek, S.C., Ramakrishnan, S.P., Kim, H., Mathew, B. (2018). Discovery of potent and reversible MAO-B inhibitors as furanochalcones. *Int. J. Biol. Macromol*, 108, 660-664.
- [47] Wang, M., Qin, H.L., Leng, J., Ameenuzzafar, Amjad, M.W., Raja, M.A.G., Hussain, M.A., Bukhari, S.N.A. (2018). Synthesis and biological evaluation of new tetramethylpyrazine-based chalcone derivatives as potential anti-Alzheimer agents. *Chem. Biol. Drug Des*, 92, 1859-1866.
- [48] Bai, P., Wang, K., Zhang, P., Shi, J., Cheng, X., Zhang, Q., Zheng, C., Cheng, Y., Yang, J., Lu, X., Sang, Z. (2019). Development of chalcone-O-alkylamine derivatives as multifunctional agents against Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem*, 183, 111737.
- [49] Lakshminarayanan, B., Baek, S.C., Lee, J.P., Kannappan, N., Mangiatordi, G.F., Nicolotti, O., Subburaju, T., Kim, H., Mathew, B. (2019). Ethoxylated Head of Chalcones as a New Class of Multi-Targeted MAO Inhibitors. *Chemistry Select*, 4, 6614-6619.
- [50] Mellado, M., Salas, C.O., Uriarte, E., Vina, D., Jara-Gutiérrez, C., Matos, M.J., Cuellar, M. (2019). Design, Synthesis and Docking Calculations of Prenylated Chalcones as Selective Monoamine Oxidase B Inhibitors with Antioxidant Activity. *Chemistry Select*, 4, 7698-7703.
- [51] Oh, J.M., Kang, M.G., Hong, A., Park, J.E., Kim, S.H., Lee, J.P., Baek, S.C., Park, D., Nam, S.J., Cho, M.L., Kim, H. (2019). Potent and selective inhibition of human monoamine oxidase-B by 4-dimethylaminochalcone and selected chalcone derivatives. *Int. J. Biol. Macromol*, 137, 426-432.
- [52] Parambi, D.G.T., Oh, J.M., Baek, S.C., Lee, J.P., Tondo, A.R., Nicolotti, O., Kim, H., Mathew, B. (2019). Design, synthesis and biological evaluation of oxygenated chalcones as potent and selective MAO-B inhibitors. *Bioorg. Chem*, 93, 103335.
- [53] Reeta, Baek, S.C., Lee, J.P., Rangarajan, T.M., Ayushee, Singh, R.P., Singh, M., Mangiatordi, G.F., Nicolotti, O., Kim, H., Mathew, B. (2019). Ethyl Acetohydroxamate Incorporated Chalcones: Unveiling a Novel Class of Chalcones for Multitarget Monoamine Oxidase-B Inhibitors Against Alzheimer's Disease. *CNS Neurol. Disord-Dr*, 18, 643-654.
- [54] Sang, Z., Wang, K., Zhang, P., Shi, J., Liu, W., Tan, Z. (2019). Design, synthesis, in-silico and biological evaluation of novel chalcone-O-carbamate derivatives as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem*, 178, 726-739.

- [55] Sang, Z., Wang, K., Zhang, P., Shi, J., Liu, W., Tan, Z. (2019). Design, synthesis, in-silico and biological evaluation of novel chalcone derivatives as multi-function agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem*, 180, 238-252.
- [56] Shalaby, R., Petzer, J.P., Petzer, A., Ashraf, U.M., Atari, E., Alasmari, F., Kumarasamy, S., Sari, Y., Khalil, A. (2019). SAR and molecular mechanism studies of monoamine oxidase inhibition by selected chalcone analogs. *J. Enzym Inhib. Med. Chem*, 34, 863-876.
- [57] Wang, L., Wang, Y., Tian, Y., Shang, J., Sun, X., Chen, H., Wang, H., Tan, W. (2019). Design, synthesis, biological evaluation, and molecular modeling studies of chalcone-rivastigmine hybrids as cholinesterase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem*, 25, 360-371.
- [58] Zhang, X., Song, Q., Cao, Z., Li, Y., Tian, C., Yang, Z., Zhang, H., Deng, Y. (2019). Design, synthesis and evaluation of chalcone Mannich base derivatives as multifunctional agents for the potential treatment of Alzheimer's disease. *Bioorg. Chem*, 87, 395-408.
- [59] Tian, C., Qiang, X., Song, Q., Cao, Z., Ye, C., He, Y., Deng, Y., Zhang, L. (2020). Flurbiprofen-chalcone hybrid Mannich base derivatives as balanced multifunctional agents against Alzheimer's disease: Design, synthesis and biological evaluation. *Bioorg. Chem*, 94, 103477.
- [60] Aggarwal, N., Jain, S. ve Chopra, N., (2022), Hybrids of thiazolidin-4-ones and 1, 3, 4-thiadiazole: Synthesis and biological screening of a potential new class of acetylcholinesterase inhibitors, *Biointerface Res. Appl. Chem*, 12, 2800-2812.
- [61] Skrzypek, A., Matysiak, J., Niewiadomy, A., Bajda, M., & Szymański, P., (2013), Synthesis and biological evaluation of 1,3,4-thiadiazole analogues as novel AChE and BuChE inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*, 62, 311–319. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.12.060>
- [62] Xue, X. J., Wang, Y. B., Lu, P., Shang, H. F., She, J. X., Xia, L. X., Qian, H., & Huang, W. L., (2014)., Synthesis and in vitro evaluation of 1,3,4-thiadiazol-2-yl urea derivatives as novel AChE inhibitors, *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 62(6), 524–527. <https://doi.org/10.1248/cpb.c13-00964>
- [63] Skrzypek, A., Matysiak, J., Karpińska, M., Czarnecka, K., Kręcisz, P., Stary, D., ... ve Niewiadomy, A., (2021), Biological evaluation and molecular docking of novel 1, 3, 4-thiadiazole-resorcinol conjugates as multifunctional cholinesterases inhibitors, *Bioorganic Chemistry*, 107, 104617. A
- [64] Lotfi, S., Rahmani, T., Hatami, M., Pouramiri, B., Kermani, E. T., Rezvannejad, E., ... ve Zahedifar, M., (2020), Design, synthesis and biological assessment of acridine derivatives containing 1, 3, 4-thiadiazole moiety as novel selective acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 105, 104457.
- [65] Kulshreshtha, A., & Piplani, P., (2018), Design, synthesis and pharmacological evaluation of carboxamide and carbothioamide derivatives of 1, 3, 4-thiadiazole as the inhibitors of acetylcholinesterase and oxipiperazine) ative stress for the management of cognitive debility. *Medicinal Chemistry Research*, 27(7), 1800-

1821.

- [66] Kulshreshtha, A., & Piplani, P., (2016), Ameliorative effects of amide derivatives of 1, 3, 4-thiadiazoles on scopolamine induced cognitive dysfunction, *European journal of medicinal chemistry*, 122, 557-573.
- [67] Khan, I., Zaib, S., Ibrar, A., Rama, N. H., Simpson, J., ve Iqbal, J., (2014), Synthesis, crystal structure and biological evaluation of some novel 1, 2, 4-triazolo [3, 4-b]-1, 3, 4-thiadiazoles and 1, 2, 4-triazolo [3, 4-b]-1, 3, 4-thiadiazines, *European journal of medicinal chemistry*, 78, 167-177.
- [68] Askin, S., Tahtaci, H., Türkeş, C., Demir, Y., Ece, A., Çiftçi, G. A. ve Beydemir, Ş., (2021), Design, synthesis, characterization, in vitro and in silico evaluation of novel imidazo [2, 1-b][1, 3, 4] thiadiazoles as highly potent acetylcholinesterase and non-classical carbonic anhydrase inhibitors, *Bioorganic Chemistry*, 113, 105009.
- [69] Skrzypek, A., Matysiak, J., Karpińska, M. M. ve Niewiadomy, A., (2013), Synthesis and anticholinesterase activities of novel 1, 3, 4-thiadiazole based compounds, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 28(4), 816-823.
- [70] Makhaeva, G. F., Kovaleva, N. V., Boltneva, N. P., Lushchekina, S. V., Rudakova, E. V., Stupina, T. S., ... ve Richardson, R. J., (2020)., Conjugates of tacrine and 1, 2, 4-thiadiazole derivatives as new potential multifunctional agents for Alzheimer's disease treatment: Synthesis, quantum-chemical characterization, molecular docking, and biological evaluation, *Bioorganic Chemistry*, 94, 103387.
- [71] Parambi, D.G.T., Aljoufi, F., Murugaiyah, V., Mathew, G.E., Dev, S., Lakshminarayanan, B., Hendawy, O.M., Mathew, B. (2019). Cholinesterase Inhibitory Activities of Selected Halogenated Thiophene Chalcones. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 19 (1), 67-71.
- [72] Riswanto, F.D.O., Rawa, M.S.A., Murugaiyah, V., Salin, N.H., Istyastono, E.P., Hariono, M., Wahab, H.A. (2021). Anti-Cholinesterase Activity of Chalcone Derivatives: Synthesis, In Vitro Assay and Molecular Docking Study. *Med Chem*, 17 (5), 442-452.
- [73] Singh, M., Saini, B., Singh, T.G., Chander, J., Satija, S., Arora, S. (2019). Design, Synthesis and Biological Evaluation of Chalcone Based Compounds in Alzheimer's Disease. *Plant Archives*, 19 (2), 1317-1322.
- [74] Zhang, X., Song, Q., Cao, Z., Li, Y., Tian, C., Yang, Z., Zhang, H., Deng, Y. (2019). Design, synthesis and evaluation of chalcone Mannich base derivatives as multifunctional agents for the potential treatment of Alzheimer's disease. *Bioorg Chem*, 87, 395-408.
- [75] Bai, P., Wang, K., Zhang, P., Shi, J., Cheng, X., Zhang, Q., Zheng, C., Cheng, Y., Yang, J., Lu, X. (2019). Development of chalcone-O-alkylamine derivatives as multifunctional agents against Alzheimer's disease. *European journal of medicinal chemistry*, 183, 111737.

- [76] Reeta, Baek, S.C., Lee, J.P., Rangarajan, T.M., Ayushee, Singh, R.P., Singh, M., Mangiatordi, G.F., Nicolotti, O., Kim, H., Mathew, B. (2019). Ethyl Acetohydroxamate Incorporated Chalcones: Unveiling a Novel Class of Chalcones for Multitarget Monoamine Oxidase-B Inhibitors Against Alzheimer's Disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 18 (8), 643-654.
- [77] Tian, C., Qiang, X., Song, Q., Cao, Z., Ye, C., He, Y., Deng, Y., Zhang, L. (2020). Flurbiprofen-chalcone hybrid Mannich base derivatives as balanced multifunctional agents against Alzheimer's disease: Design, synthesis and biological evaluation. *Bioorg Chem*, 94, 103477.
- [78] Oh, J.M., Kang, M.G., Hong, A., Park, J.E., Kim, S.H., Lee, J.P., Baek, S.C., Park, D., Nam, S.J., Cho, M.L., Kim, H. (2019). Potent and selective inhibition of human monoamine oxidase-B by 4-dimethylaminochalcone and selected chalcone derivatives. *Int J Biol Macromol*, 137, 426-432.
- [79] Burmaoglu, S., Kazancioglu, E.A., Kaya, R., Kazancioglu, M., Karaman, M., Algul, O., Gulcin, I. (2020). Synthesis of novel organohalogen chalcone derivatives and screening of their molecular docking study and some enzymes inhibition effects. *Journal of Molecular Structure*, 1208.
- [80] Aljohani, G., Ali, A.A.-S., Said, M.A., Hughes, D.L., Alraqa, S.Y., Amran, S., Ahmad, F., Basar, N. (2020). 2-Benzyloxynaphthalene aminoalkylated chalcone designed as acetylcholinesterase inhibitor: Structural characterisation, in vitro biological activity and molecular docking studies. *Journal of Molecular Structure*, 1222, 128898.
- [81] Saglik, B.N., Ilgin, S., Ozkay, Y. (2016). Synthesis of new donepezil analogues and investigation of their effects on cholinesterase enzymes. *Eur. J. Med. Chem.*, 124, 1026-1040.
- [82] Acar Çevik, U., Levent, S., Sağlık, B.N., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A. (2017). Synthesis of novel 4-(dimethylaminoalkyl)piperazine-1-carbodithioate derivatives as cholinesterase inhibitors. *Lett. Drug Des. Discovery*, 14 (5), 528-539.
- [83] Acar Cevik, U., Saglik, B.N., Levent, S., Osmaniye, D., Kaya Cavusoglu, B., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2019). Synthesis and AChE-Inhibitory Activity of New Benzimidazole Derivatives. *Molecules*, 24 (5)
- [84] Demir Ozkay, U., Can, O.D., Saglik, B.N., Acar Cevik, U., Levent, S., Ozkay, Y., Ilgin, S., Atli, O. (2016). Design, synthesis, and AChE inhibitory activity of new benzothiazole-piperazines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 26 (22), 5387-5394.
- [85] Demir Ozkay, U., Can, O.D., Saglik, B.N., Turan, N. (2017). A benzothiazole/piperazine derivative with acetylcholinesterase inhibitory activity: Improvement in streptozotocin-induced cognitive deficits in rats. *Pharmacol. Rep.*, 69 (6), 1349-1356.
- [86] Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Feather-Stone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7 (2), 88-95.

- [87] Hussein, W., Saglik, B.N., Levent, S., Korkut, B., Ilgin, S., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2018). Synthesis and Biological Evaluation of New Cholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease. *Molecules*, 23 (8)
- [88] Levent, S., Acar Çevik, U., Sağlık, B.N., Özkay, Y., Can, Ö.D., Özkay, Ü.D., Uçucu, Ü. (2016). Anticholinesterase activity screening of some novel dithiocarbamate derivatives including piperidine and piperazine moieties. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, 192 (4), 469-474.
- [88] Osmaniye, D., Saglik, B.N., Acar Cevik, U., Levent, S., Kaya Cavusoglu, B., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A., Turan, G. (2019). Synthesis and AChE Inhibitory Activity of Novel Thiazolylylhydrazone Derivatives. *Molecules*, 24 (13)
- [89] Sağlık, B.N., Özkay, Y., Demir Özkay, Ü., Karaca Gençer, H. (2014). Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel Dithiocarbamate Derivatives. *J. Chem.*, 2014, 1-9.
- [90] Tok, F., Kocyigit-Kaymakcioglu, B., Saglik, B.N., Levent, S., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2019). Synthesis and biological evaluation of new pyrazolone Schiff bases as monoamine oxidase and cholinesterase inhibitors. *Bioorg. Chem.*, 84, 41-50.
- [91] Turan-Zitouni, G., Hussein, W., Saglik, B.N., Baysal, M., Kaplancikli, Z.A. (2018). Fighting Against Alzheimer's Disease: Synthesis of New Pyrazoline and Benzothiazole Derivatives as New Acetylcholinesterase and MAO Inhibitors. *Lett. Drug Des. Discovery*, 15 (4), 414-427.
- [92] Tok, F., Kocyigit-Kaymakcioglu, B., Saglik, B.N., Levent, S., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2019). Synthesis and biological evaluation of new pyrazolone Schiff bases as monoamine oxidase and cholinesterase inhibitors. *Bioorg. Chem.*, 84, 41-50.
- [93] Turan-Zitouni, G., Hussein, W., Saglik, B.N., Baysal, M., Kaplancikli, Z.A. (2018). Fighting Against Alzheimer's Disease: Synthesis of New Pyrazoline and Benzothiazole Derivatives as New Acetylcholinesterase and MAO Inhibitors. *Lett. Drug Des. Discovery*, 15 (4), 414-427.
- [94] Altintop, M.D., Sever, B., Osmaniye, D., Saglik, B.N., Ozdemir, A. (2018). Design, synthesis, in vitro and in silico evaluation of new pyrrole derivatives as monoamine oxidase inhibitors. *Arch. Pharm.*, 351 (7), e1800082.
- [95] Can, N.O., Osmaniye, D., Levent, S., Saglik, B.N., Inci, B., Ilgin, S., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2017). Synthesis of New Hydrazone Derivatives for MAO Enzymes Inhibitory Activity. *Molecules*, 22 (8)
- [96] Can, N.O., Osmaniye, D., Levent, S., Saglik, B.N., Korkut, B., Atli, O., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2018). Design, synthesis and biological assessment of new thiazolylylhydrazine derivatives as selective and reversible hMAO-A inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 144, 68-81.
- [97] Can, O.D., Osmaniye, D., Demir Ozkay, U., Saglik, B.N., Levent, S., Ilgin, S., Baysal, M., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2017). MAO enzymes inhibitory activity of new benzimidazole derivatives including hydrazone and propargyl side chains. *Eur. J. Med. Chem.*, 131, 92-106.

- [98] Cavusoglu, B.K., Saglik, B.N., Osmaniye, D., Levent, S., Acar Cevik, U., Karaduman, A.B., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2017). Synthesis and Biological Evaluation of New Thiosemicarbazone Derivative Schiff Bases as Monoamine Oxidase Inhibitory Agents. *Molecules*, 23 (1)
- [99] Ilgin, S., Osmaniye, D., Levent, S., Saglik, B.N., Acar Cevik, U., Cavusoglu, B.K., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2017). Design and Synthesis of New Benzothiazole Compounds as Selective hMAO-B Inhibitors. *Molecules*, 22 (12)
- [100] Kaya, B., Saglik, B.N., Levent, S., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2016). Synthesis of some novel 2-substituted benzothiazole derivatives containing benzylamine moiety as monoamine oxidase inhibitory agents. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 31 (6), 1654-1661.
- [101] Kaya, B., Yurttas, L., Saglik, B.N., Levent, S., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A. (2017). Novel 1-(2-pyrimidin-2-yl)piperazine derivatives as selective monoamine oxidase (MAO)-A inhibitors. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 32 (1), 193-202.
- [102] Kaya Cavusoglu, B., Saglik, B.N., Ozkay, Y., Inci, B., Kaplancikli, Z.A. (2018). Design, synthesis, monoamine oxidase inhibition and docking studies of new dithiocarbamate derivatives bearing benzylamine moiety. *Bioorg. Chem.*, 76, 177-187.
- [103] Saglik, B.N., Kaya Cavusoglu, B., Osmaniye, D., Levent, S., Acar Cevik, U., Ilgin, S., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z.A., Ozturk, Y. (2019). In vitro and in silico evaluation of new thiazole compounds as monoamine oxidase inhibitors. *Bioorg. Chem.*, 85, 97-108.
- [104] Turan-Zitouni, G., Hussein, W., Saglik, B.N., Tabbi, A., Korkut, B. (2018). Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel N-Pyridyl-Hydrazone Derivatives as Potential Monoamine Oxidase (MAO) Inhibitors. *Molecules*, 23 (1)
- [105] X. Liu, D. Shi, S. Zhou, H. Liu, H. Liu, X. Yao, Molecular dynamics simulations and novel drug discovery, *Expert opinion on drug discovery*, 13 (2018) 23-37.
- [106] M.-D.I. Tools, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2020, Schrödinger Release 2018-3: Prime, (2018).
- [107] B. Sureshkumar, Y.S. Mary, K. Resmi, S. Suma, S. Armaković, S.J. Armaković, C. Van Alsenoy, B. Narayana, D. Sobhana, 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 (2018) 95-106.
- [108] S. Release, 1: Desmond molecular dynamics system, version 3.7, DE Shaw Research, New York, NY, Maestro-Desmond Interoperability Tools, version, 3 (2014).
- [109] D.D. Humphreys, R.A. Friesner, B.J. Berne, A multiple-time-step molecular dynamics algorithm for macromolecules, *The Journal of Physical Chemistry*, 98 (1994) 6885-6892.
- [110] W.G. Hoover, Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions, *Physical review A*, 31 (1985) 1695.

- [111] G.J. Martyna, D.J. Tobias, M.L. Klein, Constant pressure molecular dynamics algorithms, *The Journal of chemical physics*, 101 (1994) 4177-4189.
- [112] U. Essmann, L. Perera, M.L. Berkowitz, T. Darden, H. Lee, L.G. Pedersen, A smooth particle mesh Ewald method, *The Journal of chemical physics*, 103 (1995) 8577-8593.
- [113] Cheung, J., Rudolph, M.J., Burshteyn, F., Cassidy, M.S., Gary, E.N., Love, J., Franklin, M.C., Height, J.J. (2012). Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands. *J. Med. Chem.*, 55 (22), 10282-10286.
- [114] Binda, C., Wang, J., Pisani, L., Caccia, C., Carotti, A., Salvati, P., Edmondson, D.E., Mattevi, A. (2007). Structures of human monoamine oxidase B complexes with selective noncovalent inhibitors: safinamide and coumarin analogs. *J. Med. Chem.*, 50 (23), 5848-5852.
- [115] Cheung, J., Rudolph, M. J., Burshteyn, F., Cassidy, M. S., Gary, E. N., Love, J., ... & Height, J. J. (2012). Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands. *Journal of medicinal chemistry*, 55(22), 10282-10286.
- [116] Binda, C., Wang, J., Pisani, L., Caccia, C., Carotti, A., Salvati, P., ... & Mattevi, A. (2007). Structures of human monoamine oxidase B complexes with selective noncovalent inhibitors: safinamide and coumarin analogs. *Journal of medicinal chemistry*, 50(23), 5848-5852.