

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HEKZAHİDROİNDAZOL TÜREVLERİ ÜZERİNDE
ÇALIŞMALAR

Ecz. Ömer Özgün ŞİMŞEK

Farmasötik Kimya Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA

2009

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HEKZAHİDROİNDAZOL TÜREVLERİ ÜZERİNDE
ÇALIŞMALAR

Ecz. Ömer Özgün ŞİMŞEK

Farmasötik Kimya Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

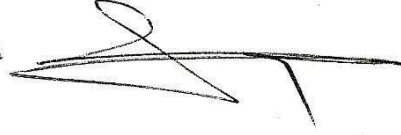
TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Nesrin GÖKHAN KELEKÇİ

ANKARA
2009

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne:

Bu çalışma jürimiz tarafından Farmasötik Kimya Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Erhan Palaska
Hacettepe Üniversitesi



Danışman: Doç. Dr. Nesrin Gökhan Kelekçi
Hacettepe Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Selma Saraç
Hacettepe Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Fügen Özkanlı
Hacettepe Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Kadriye Benkli
Anadolu Üniversitesi



ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun kararıyla kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Hakan S. Orer
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında ve laboratuvar çalışmalarında bana yön veren, ilgisini ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Sn. Doç. Dr. Nesrin GÖKHAN KELEKÇİ'ye,

Tez önerimin hazırlanmasında ve tezimin ilk aşamalarında bana yardımcı olan sayın hocam Prof. Dr. A. Altan BİLGİN'e,

Farmasötik Kimya programında yüksek lisans eğitimine başlamam hususunda beni teşvik eden lisans dönemi danışman hocam Sn. Prof. Dr. Cihat ŞAFAK'a,

Çalışmalarım sırasında Anabilim Dalı olanaklarından yararlanmamı sağlayan ve IR/kütle spektrumlarını alan Sn. Prof. Dr. Erhan PALASKA'ya,

NMR ve eleman analizlerinin yapılmasındaki katkılarından dolayı Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Prof. Dr. Hakan GÖKER'e ve kütle spektrumlarının alınmasındaki katkılarından dolayı Sn. Uzm. Kim. Ebru UÇAKTÜRK'e,

Biyokimyasal aktivite çalışmalarındaki katkılarından dolayı Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. Gülberk UÇAR ve Sn. Öğretim Görevlisi Dr. Ayşe ERCAN'a,

Docking çalışmalarındaki katkılarından dolayı Kadir Has Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Kemal YELEKÇİ'ye,

X-ışınları kristallografisinin alınmasındaki katkılarından dolayı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü Öğretim Üyesi Sn. Doç. Dr. Şamil IŞIK'a,

Tez çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen H. Ü. Hastaneleri Başeczacısı Sn. Ecz. H. Sedef HAKÇI'ya ve bütün çalışma arkadaşlarıma,

08D09301002 (4686) nolu proje ile tezimi destekleyen Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne

Çalışmalarım sırasındaki destek ve ilgilerinden dolayı tüm Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine, araştırma görevlisi ve çalışanlarına,

Ve elbette her konuda benim yanımda olan ve beni destekleyen aileme,

Sonsuz Teşekkürler...

ÖZET

Şimşek, Ö.Ö, Hekzahidroindazol Türevleri Üzerinde Çalışmalar, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara 2008. Bu çalışmada, ikisi 3-(2-furil/tiyenil)-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1*H*-indazol ve sekizi 3-(2-furil/tiyenil)-2-(*N*-substitüe tiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol yapısında on bileşiğin sentezi yapılmış (**Bileşik 1a-2e**) ve monoamin oksidaz (MAO) enzim inhibitörü etkileri incelenmiştir. Ayrıca tüm bileşikler için moleküler docking çalışması yapılarak bileşiklerin MAO izozimleri ile etkileşimleri irdelenmiştir. **Bileşik 1a** ve **2a**, 2-furfuriliden ve 2-(2-tiyenilmetilen)sikloheksanonun alkali ortamda tiyosemikarbazitle ısıtılmasıyla elde edilmiştir. Diğer bileşikler ise şalkon türevlerinin hidrazin hidratla ısıtılmasını takiben substitüe izotiyosiyanatlarla reaksiyonu sonucu elde edilmişlerdir. Sentezi yapılan bileşiklerin fiziksel özellikleri saptanmış, yapıları spektral yöntemler (UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR (**Bileşik 1a, 1e** ve **2c** için), kütle spektroskopisi ve eleman analizi) ile kanıtlanmıştır. Ayrıca **bileşik 1a** için COSY, HETCOR ve DEPT, **bileşik 2c** için HETCOR spektral analiz tekniklerinden yararlanılmıştır. **Bileşik 1e**'nin X-ışınları analizi ile kristal yapısı aydınlatılmış ve *trans* konfigürasyonu doğrulanmıştır. Bileşiklerin MAO enzim inhibitörü aktivite testleri, sıçan karaciğerinden elde edilen MAO izoformları kullanılarak yapılmıştır. Aktivite tarama testlerine göre tiyokarbamoil ve *N*-metiltiyokarbamoil grubu taşıyan **bileşik 1a, 1b, 2a** ve **2b**'nin (**1c** hariç) MAO-B selektif; *N*-allil ve *N*-fenil taşıyan bileşik **1d, 1e, 2d** ve **2e**'nin ise MAO-A selektif inhibitör aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bileşiklerin docking çalışmaları AutoDock 4.01 programı kullanılarak yapılmış ve elde edilen hesaplamalı K_i değerleri ile deneysel K_i değerlerinin birbirine paralel olduğu ve birbirini desteklediği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: MAO inhibitör, 2-pirazolin, docking, tiyokarbamoil, şalkon

Destekleyen Kurumlar: H.Ü.B.A.B, Tez Destekleme (08D09301002 (4686)).

ABSTRACT

Şimşek, Ö.Ö, Studies on Hexahydroindazole Derivatives, Hacettepe University Institute of Health Sciences, MS Thesis in Pharmaceutical Chemistry Program, Ankara 2008. In this study ten compounds two of which having 3-(2-furyl/thienyl)-2-thiocarbamoyl-1,3,4,5,6,7-hexahydro-2*H*-indazole structure and eight of which having 3-(2-furyl/thienyl)-2-(*N*-substitued thiocarbamoyl)-3,3a,4,5,6,7-hexahydro-2*H*-indazole structure have been synthesized (**Compound 1a-2e**) and their monoamine oxidase (MAO) inhibitory activities have been investigated. Furthermore, molecular docking study has been done for all compounds, compounds' interactions with MAO isozymes and selectivity properties have been screened. **Compounds 1a** and **2a** were synthesized by refluxing 2-furfurylidene/2-(2-thienylmethylene)cyclohexanone with thiosemicarbazide in alkali media. Other compounds were obtained by refluxing chalcone derivatives with hydrazine hydrate followed by reacting with substituted isothiocyanates. Physical properties of the synthesized compounds have been determined, and their structures have been proved by (UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR (for **compounds 1a, 1e** and **2c**), Mass Spectra and microanalyses) spectral techniques. Furthermore for **compound 1a**, COSY, HETCOR and DEPT and for **compound 2c**, HETCOR have been utilized. The crystal structure of **compound 1e** has been elucidated by X ray crystallography and *trans* configuration has been corrected. MAO inhibitory activity tests of compounds have been studied by using rat liver MAO isoforms. The screening activity tests have showed that compounds which have thiocarbamoyl and *N*-methylthiocarbamoyl moiety except **compound 1c** (**compounds 1a, 1b, 2a, 2b**) possess MAO-B selective inhibitory; compounds which have *N*-allyl and *N*-phenyl moiety (**compounds 1d, 1e, 2d, 2e**) possess MAO-A selective inhibitory activities. Docking studies of compounds have been done by means of Autodock 4.01 program and it is seen that obtained values of calculated *K_i* and experimental *K_i* are collateral and supporting each other.

Key Words: MAO inhibitory, cyclohexanone, docking, thiocarbamoyl

Supported by H.Ü.B.A.B. MSc. Thesis Grant (08D09301002 (4686)).

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. PİRAZOLİNLER	6
2.1.1. Sentez Yöntemleri	7
2.1.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	18
2.1.3. Spektral Özellikleri	23
2.1.4. Biyolojik Özellikleri	27
2.2. İNDAZOLLER	32
2.2.1. Sentez Yöntemleri	33
2.2.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	42
2.2.3. Biyolojik Özellikleri	46
2.3. HEKZAHİDROİNDAZOLLER	51
2.3.1. Sentez Yöntemleri	51
2.3.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler	59
2.3.3. Spektral Özellikleri	62
2.3.4. Biyolojik Özellikleri	69
2.4. MONOAMİN OKSİDAZ-A (MAO-A), MONOAMİN OKSİDAZ-B (MAO-B) ENZİMLERİ VE AKTİVİTE TAYİN YÖNTEMLERİ	73
2.4.1. Monoamin Oksidaz Enzim Aktivite Tayin Yöntemleri	79
2.5. MOLEKÜLER MODELLEME VE ÖNEMİ	80
3. GEREÇ VE YÖNTEM	83

3.1. KİMYASAL ÇALIŞMALAR	83
3.1.1. Materyal	83
3.1.2. Sentez Yöntemleri	83
3.1.3. Analitik Yöntemler	84
3.1.4. Spektrometrik Kontroller	85
3.2. DOCKING ÇALIŞMALARI	86
3.3. BİYOLOJİK ETKİ ÇALIŞMALARI	87
3.3.1. Biyokimyasal Çalışmalar	87
4. BULGULAR	90
4.1. KİMYASAL ÇALIŞMALAR	90
4.2. DOCKING ÇALIŞMALARI	104
4.2.1. MAO-A Enzimi ile Yapılan Docking Çalışmaları	105
4.2.2. MAO-B Enzimi ile Yapılan Docking Çalışmaları	111
4.3. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI	118
5. TARTIŞMA	120
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	152
KAYNAKLAR	153
ÖZGEÇMİŞ	179

SİMGELER VE KISALTMALAR

Å	Angstrom
ax	Aksiyel
COSY	Korelasyonlu spektroskopi
CTP	Katalitik çift fazlı sistem
DAD	Diyot array dedektör
DEPT	Kutuplaşma aktarılmasıyla bozunumsuz artırılma
DMSO	Dimetilsülfoksit
eq	Ekvatoryal
FAD	Flavin adenin dinükleotid
FLD	Fluoresans dedektör
ΔG	Enerji ihtiyacı
GC-MS	Gaz kromatografi tandem kütle spektroskopisi
HETCOR	2-D Heteronükleer korelasyonlu spektrum
HSQC	Heteronükleer tekil kuantum eşlemesi
IR	Kızılötesi
J	Etkileşim sabiti
K _i	İnhibisyon konsantrasyonu değeri
LOX	Lipoksijenaz
MAO	Monoamin oksidaz
MPTP	1-Metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
MO	Moleküler orbital
NMR	Nükleer manyetik rezonans
NOS	Nitrik oksit sentaz
PDE	Fosfodiesteraz
pK _a	Asit disosiasyon sabiti
R _f	Tutunma faktörü
Rms	Karesinin ortalamasının kökü
SAH/MTA	S-Adenozil homosistein/metiltiyoadenozin
SSAO	Semikarbazite hassas amin oksidaz
TEA	Trietilamin
TMS	Tetrametilsilan
UV	Ultraviyole

ŞEKİLLER

	Sayfa
1.1. Bileşiklerin genel sentez şeması	5
2.1. İnsan MAO-A ve MAO-B’inde aynı olan FAD-peptit kısmı	73
2.2. MAO-B içerisinde FAD’nin bağlanma bölgesi	74
2.3. Nörotransmitterlerin ve diğer endojen monoaminlerin MAO tarafından katalizlenen deaminasyon reaksiyonu	75
2.4. MAO’nun substrat oksidasyonunda ileri sürülen kimyasal mekanizma	76
2.5. MAO-A ve MAO-B’nin aktif bölge kavitelerinin karşılaştırmalı bir şekilde şematik gösterimi	78
2.6. 1,4-Difenil-2-bütenin giriş ve sübstrat kaviteleri kaynaşmış (kapı açık olduğu zaman) durumdaki görüntüsü	78
4.1. Bileşik 1a ’nın <i>R</i> izomerinin MAO-A’nın aktif bölgesine bağlanması	105
4.2. Bileşik 1b ’nin <i>cis</i> izomerinin MAO-A’nın aktif bölgesine bağlanması	106
4.3. Bileşik 1c ’nin <i>cis</i> izomerinin MAO-A’nın aktif bölgesine bağlanması	107
4.4. Bileşik 1d ’nin <i>cis</i> izomerinin MAO-A’nın aktif bölgesine bağlanması	107
4.5. Bileşik 1e ’nin <i>trans</i> izomerinin MAO-A’nın aktif bölgesine bağlanması	108
4.6. Bileşik 2a ’nın <i>R</i> izomerinin MAO-A’nın aktif bölgesine bağlanması	108
4.7. Bileşik 2b ’nin <i>cis</i> izomerinin MAO-A’nın aktif bölgesine bağlanması	109
4.8. Bileşik 2c ’nin <i>cis</i> izomerinin MAO-A’nın aktif bölgesine bağlanması	109
4.9. Bileşik 2d ’nin <i>cis</i> izomerinin MAO-A’nın aktif bölgesine bağlanması	110
4.10. Bileşik 2e ’nin <i>cis</i> izomerinin MAO-A’nın aktif bölgesine bağlanması	110
4.11. Bileşik 2e ’nin <i>trans</i> izomerinin MAO-A’nın aktif bölgesine bağlanması	111
4.12. Bileşik 1a ’nın <i>R</i> izomerinin MAO-B’nin aktif bölgesine bağlanması	112
4.13. Bileşik 1b ’nin <i>cis</i> izomerinin MAO-B’nin aktif bölgesine bağlanması	112
4.14. Bileşik 1c ’nin <i>cis</i> izomerinin MAO-B’nin aktif bölgesine bağlanması	113
4.15. Bileşik 1d ’nin <i>cis</i> izomerinin MAO-B’nin aktif bölgesine bağlanması	113
4.16. Bileşik 1e ’nin <i>cis</i> izomerinin MAO-B’nin aktif bölgesine bağlanması	114
4.17. Bileşik 2a ’nın <i>R</i> izomerinin MAO-B’nin aktif bölgesine bağlanması	114
4.18. Bileşik 2b ’nin <i>cis</i> izomerinin MAO-B’nin aktif bölgesine bağlanması	115

4.19. Bileşik 2c 'nin <i>cis</i> izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması	116
4.20. Bileşik 2d 'nin <i>cis</i> izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması	116
4.21. Bileşik 2e 'nin <i>cis</i> izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması	117
4.22. Bileşik 2e 'nin <i>trans</i> izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine	117
5.1. 3-Aril-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1 <i>H</i> -indazol ve ve 3-aril-2-(<i>N</i> -substitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro -2 <i>H</i> -indazol bileşiklerinin sentezi	120
5.2. Şalkon türevlerinin reaksiyon mekanizması	122
5.3. 3-Aril-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1 <i>H</i> -indazol türevlerinin reaksiyon mekanizması	123
5.4. 3-Aril-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2 <i>H</i> -indazol türevlerinin reaksiyon mekanizması	124
5.5. 3-Aril-2-(<i>N</i> -süstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2 <i>H</i> -indazol türevlerinin reaksiyon mekanizması	124
5.6. Bileşik 1a 'nin UV spektrumu	125
5.7. Bileşik 2c 'nin UV spektrumu	125
5.8. Bileşik 1a 'nın IR spektrumu	126
5.9. Bileşik 2c 'nin IR spektrumu	127
5.10. Bileşik 1a 'nın ¹ H-NMR spektrumu	128
5.11. Bileşik 1e 'nin ¹ H-NMR spektrumu	129
5.12. Bileşik 2c 'nin ¹ H-NMR spektrumu	129
5.13. Bileşik 2e 'nin ¹ H-NMR spektrumu	130
5.14. Bileşik 1a 'nın ¹³ C-NMR spektrumu	132
5.15. Bileşik 1e 'nin ¹³ C-NMR spektrumu	132
5.16. Bileşik 2c 'nin ¹³ C-NMR spektrumu	133
5.17. Bileşik 1a 'nın HETCOR spektrumu	135
5.18. Bileşik 1a 'nın 4, 5, 6, 7 numaralı konumlarına ait HETCOR spektrumu	135
5.19. Bileşik 1a 'nın COSY spektrumu	136
5.20. Bileşik 1a 'nın DEPT spektrumu	137
5.21. Bileşik 2c 'nin HETCOR spektrumu	138
5.22. Bileşik 2c 'nin 4, 5, 6, 7 numaralı konumlarına ait HETCOR spektrumu	138

5.23. Bileşik 1a 'nın CDCl ₃ içerisinde alınan ¹ H-NMR spektrumu	140
5.24. Bileşik 1a 'nın DMSO içerisinde alınan ¹ H-NMR spektrumu	140
5.25. Kütle spektroskopisinde Bileşik 1b-1e /2b-2e için öngörülen parçalanma ürünleri	141
5.26. Bileşik 2c 'nin Kütle spektrumu	142
5.27. Bileşik 1e 'nin X-ışınları ortep çizimi	143
5.28. Bileşik 1e 'nin X-ışınları kristallografisi genel görünümü	143
5.29. Sıçan karaciğer MAO-B izoziminin 2a bileşiği tarafından inhibisyon grafiği	151

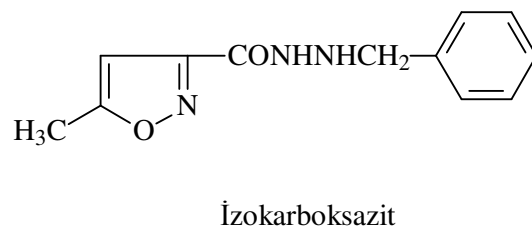
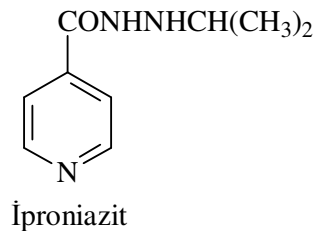
TABLOLAR

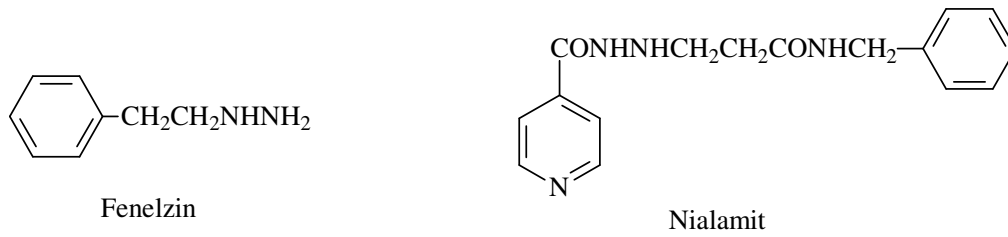
Sayfa		
4.1.	Sentezi yapılan bileşiklerimizin MAO-A ve MAO-B'ye karşı yapılan docking çalışmaları sonucu hesaplanan enerji ihtiyacı ve inhibisyon konsantrasyonu değerleri	104
4.2.	Sıçan karaciğer kaynaklı MAO izoformlarının yeni sentezlenen heksahidroindazol türevleri ile inhibisyonuna ilişkin deneysel kinetik veriler	118
4.3.	Sıçan karaciğer kaynaklı MAO izoformlarının yeni sentezlenen heksahidroindazol türevleri ile inhibisyonuna ilişkin hesapsal ve deneysel kinetik veriler	119
5.1.	Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları, yüzde verimleri, erime dereceleri ve kristalizasyon çözücülleri	121
5.2	Sentezi yapılan 3-aril-2-(<i>N</i> -substitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2 <i>H</i> -indazol türevi bileşiklerin (<i>bileşik 1b-e</i> , <i>bileşik 2b-e</i>) ¹ H-NMR bulguları	130
5.3	Bileşik 1a, 1e ve 2c 'nin ¹³ C-NMR bulguları	133
5.4.	Bileşik 1a ve 2c 'nin CDCl ₃ içerisindeki HETCOR (2D-Heteronükleer Korelasyonlu Spektrum) ¹ H- ¹³ C etkileşimleri	139
5.5.	Bileşik 1e 'nin X-ışınları kristalografisi çalışma ve kristal parametleri ile geometrik parametreleri	144
5.6.	Sıçan karaciğeri MAO enziminin kinetik özellikleri	149

1.GİRİŞ

Depresyon, günümüzde sık rastlanılan psikiyatrik bir rahatsızlık olup, tedavisi için geliştirilen yeni ilaçlara rağmen, hala önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Tedavide kırk yılı aşkın bir süredir kullanılan monoamin oksidaz inhibitörlerinin (MAOI) 1950'lerin sonlarında antidepresan olarak tedaviye sokulmalarını takiben gözlenen hepatotoksisite, tiramin içeren yiyeceklerle ve başka tip ilaçlarla birlikte alındıklarında meydana gelen hipertansif krizler ve kümülatif etkiler gibi yan etkilerinden dolayı klinik kullanımlarında azalma ve gerileme olmuş, ancak son yıllarda bu ilaçlara ilgi yeniden artmıştır (1). Bunun en önemli nedeni, peptid kimyası ve gen teknolojisi alanlarındaki gelişmeyle birlikte, MAO enziminin yapısı ve fonksiyonu hakkındaki bilgilerin artması, MAO'nun MAO-A ve MAO-B olarak adlandırılan ve yapısal farklılıklar gösteren en az iki izoziminin olduğunun anlaşılmış olmasıdır (2). Böylelikle nonselektif ve geri dönüşümsüz birinci nesil MAOI'nin yerine tiramin içeren yiyeceklerle etkileşme sonucu hipertansif etki meydana getirmeyen seçici, geri dönüşümlü bileşiklerin geliştirilmesi yönündeki çalışmalar yoğunlaşmış ve bu grup ilaçlar yeniden güncelleşmiştir. Araştırmalar sırasında, MAO-A'ya seçici inhibitörler depresyon tedavisinde önem kazanırken, MAO-B inhibitörleri Parkinson ve Alzheimer hastalıklarında umut verici ilaçlar olarak tedaviye girmişlerdir (3,4).

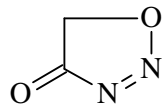
Klasik MAO inhibitörlerinden olan hidrazin türevlerinin prototipi, iproniazittir (N'-izonikotinoil-N''-izopropilhidrazin). İproniazit, tüberkülostatik olarak geliştirilen ancak sonradan Marsilid® ticari adı ile tedaviye giren ilk modern antidepresan ilaçtır (5). Daha sonra hidrazin yapısı taşıyan fenelzin (Nardil®), Isokarboksazid (Marplan®), Nialamid (Niamid®) gibi antidepresanlar geliştirilmiş ancak bu antidepresanların MAO alt tiplerine seçiciliklerinin olmadığı ya da çok az olduğu bulunmuştur.



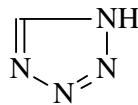


Ayrıca hidrazin türevlerinin N-asetilasyonla metabolize oldukları ve bu yolla oluşan asetilhidrazinlerin hızlı biyosentezlerinin, bu bileşiklerin hepatotoksik etkilerine neden olan mekanizmayı oluşturdukları bildirilmiştir (6). Metabolizmalarındaki sıkıntı ve MAO'nun izozimleri ile nonselektif etkileşimlerinden kaynaklanan yan etkilerine rağmen, etkinliği kesin olarak bilinen farmakoforik bir grup olan hidrazin grubu bileşiklerin seçiciliği artırılmış ve hepatotoksik yan etkileri azaltılmış yeni türevlerinin elde edilmesi ile tedaviye yeni öncü bileşikler kazandırılabilceği düşünüldüğünden konu üzerindeki çalışmalar devam etmiştir (7-9). Daha sonra hidrazon türevlerinin de MAO inhibitörü etki gösterdiğinin bulunmuş olması bu bulguyu güçlendirmiştir (10-13).

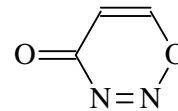
Konu üzerinde yapılan çalışmalar sırasında, azot atomu taşıyan değişik heterosiklik bileşiklerin de, geri dönüşümlü ve seçici MAO inhibitörü bileşik tasarımında yapı taşı rolü üstlendiği ve oksadiazolonların, tetrazollerin, 1,3,4-oksadiazol-3(2H)-karboksamit türevlerinin, 3,4-dihidrokinolin-(1H)-2-onların, piperin ve türevlerinin, oksadiazinonların ve indenopiridazinlerin güçlü, geri dönüşümlü ve seçici MAO-B inhibitörü etki gösterdiği bulunmuştur (14-21). Daha sonra bu grup substrat ve inhibitörlerin ortak özelliğinin, enzimin aktif yoresiyle etkileşmesinde rol oynayan amino ya da imino grubunun varlığı olduğu anlaşılmıştır (22).



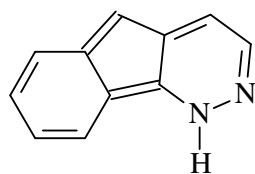
Oksadiazolon



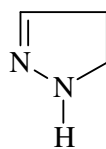
Tetrazol



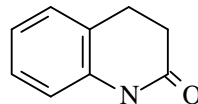
Oksadiazinon



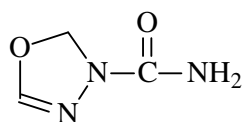
İndenopiridazin



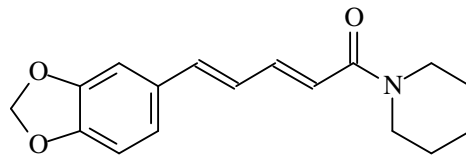
2-Pirazolin



3,4-Dihidrokinolin-(1H)-2-on

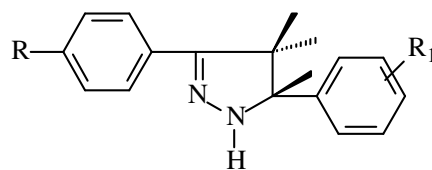


1,3,4-Oksadiazol-3(2H)-karboksamit

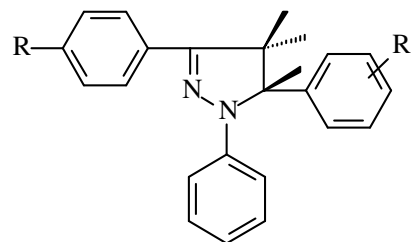


Piperin

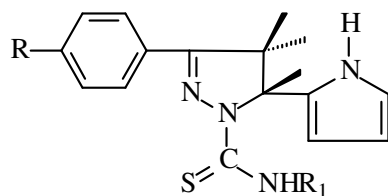
Halka kapama, halka içine alma ve izoster halka yaklaşımı, literatürde örnekleri bulunan ve yeni ilaç geliştirmede kullanılan klasik moleküler modifikasyon yöntemlerindendir (23). İki azot atomu içeren 2-pirazolin halkasının bu halkalara izoster ve halka içi hidrazon yapısında olması, bu bileşiklerin de selektif MAO inhibitörü etki gösterebileceği konusunda umut vermiş ve yapılan çalışmalar sonucunda 3,5-difenil (I), 1,3,5-trifenil (II), 1-tiyokarbamoil-3,5-difenil-2-pirazolin (III) ve 2-tiyokarbamoil-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol (IV) bileşiklerinin MAO alt tiplerine seçicilik gösterdiği, antidepresan/antiparkinson etkiye ve semikarbazide duyarlı amin oksidaz (SSAO) inhibitörü etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (24-34).



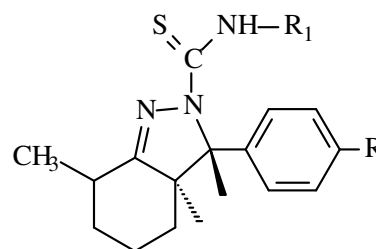
I



II

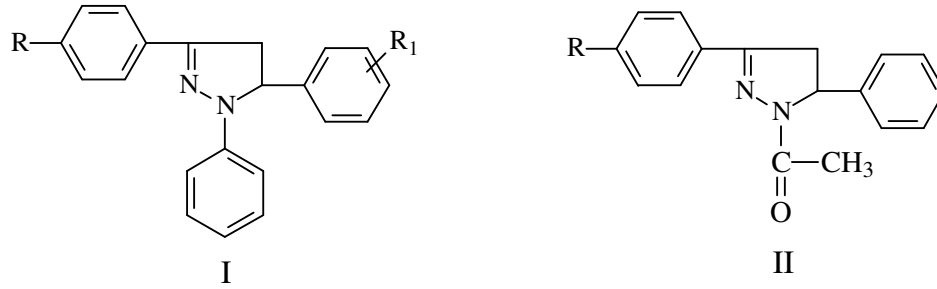


III



IV

Bununla birlikte son yıllarda 1,3,5-trifenil-2-pirazolin türevleri (I) üzerinde yapılan moleküler modelleme çalışmaları, bir numaralı konumdaki fenil halkasının; pirazolin halkasının iki numaralı konumundaki azot atomu ile enzimdeki isoalloksazinin beş numaralı konumundaki azot atomu arasında MAO inhibisyonu açısından önemli olan yük-transfer etkileşmesine izin vermediğini göstermiş, bu sonuç aktivite tarama sonuçları ile de desteklenmiştir (27). Daha sonra pirazolin halkasının bir numaralı konumunda yer alan fenil grubu yerine pozitif yük oluşumunu arttıracak bir grup olan asetil grubunun (II) gelmesinin isoalloksazin halkasıyla etkileşimi arttırarak daha güçlü bir inhibisyona yol açtığı bildirilmiştir (27).

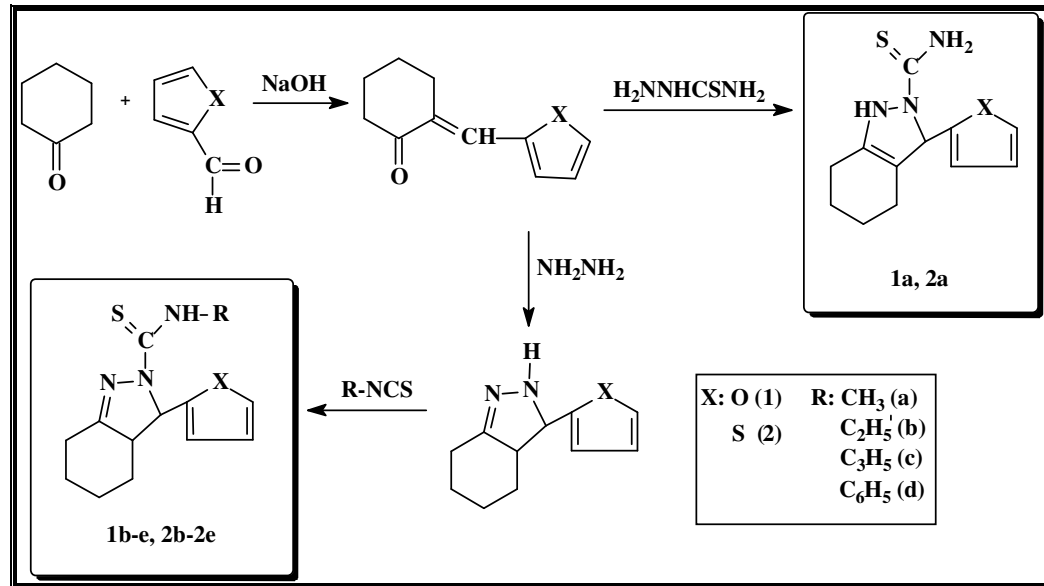


İlaç geliştirilmesi konusundaki geleneksel yaklaşımların genellikle basamaklı sentez işlemlerine dayanmaları ve aktivitenin optimizasyonu için çok sayıda bileşiğin sentezinin gerekmesi, araştırmacıları son yıllarda bilgisayar tabanlı moleküler modelleme teknikleri kullanmaya yöneltmiştir. Farmasötik araştırmalarda kullanılan moleküler modelleme tekniklerine bilgisayar yardımlı ilaç tasarımı veya bilgisayar yardımlı moleküler tasarım adı verilmektedir (35,36). Bu teknikler deneysel çalışmaları desteklemek ya da deneysel çalışma yapmadan önce sonuçları tahmin edebilmek amacıyla kullanılan yöntemlerdir.

Biz de tez çalışması kapsamında, daha önce Anabilim Dalı'mızda yapılan araştırmalar ve literatür verileri ışığında;

- MAO inhibitörü etki göstermesi beklenen 3-(2-furil/tiyenil)-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1*H*-indazol ve 3-(2-furil/ tiyenil)-2-(*N*-substitüe tiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol yapısında literatürde kayıtlı olmayan on yeni bileşiğin sentezini yapmayı,

- Sentezi yapılan bileşiklerin yapılarını UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, kütle, COSY, HETCOR, DEPT ve X ışınları spektroskopisi ve elementel analiz ile aydınlatmayı,
- Yapısı aydınlatılan bileşiklerin MAO inhibitör aktiviteleri ve selektivitelerinin sıçan karaciğer kaynaklı MAO enzimleri üzerinde tayin edilmesini,
- Ayrıca tasarlanan yeni bileşikleri, MAO-A/-B izozimlerinin aktif bölgelerine bilgisayar ortamında yerleştirerek; bağlanmanın nasıl olduğunu anlamayı, serbest enerji değişimleri (ΔG) ve kinetik sabitleri (K_i) hesaplamayı ve hesaplanan ile biyokimyasal deneylerden elde edilen K_i değerlerini karşılaştırmayı hedefledik.



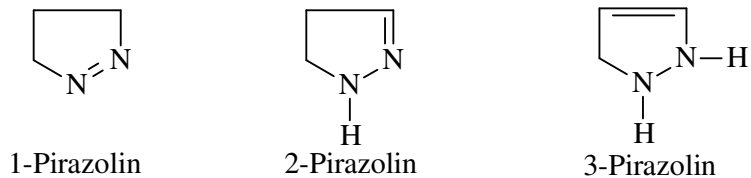
Şekil 1.1. Bileşiklerin genel sentez şeması

2. GENEL BİLGİLER

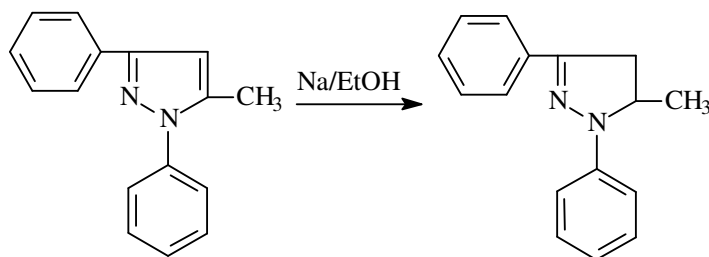
2.1. PİRAZOLİNLER

Dihidropirazol yapısında olan pirazolinler, pirazol halkasının kısmen redüklenmiş türevleridir ve üç totomerik yapı göstermektedirler (37). Çifte bağın konumuna göre isimlendirilen bu totomerik yapılar arasında en kararlı olanı, 2-pirazolin yapısıdır (38, 39).

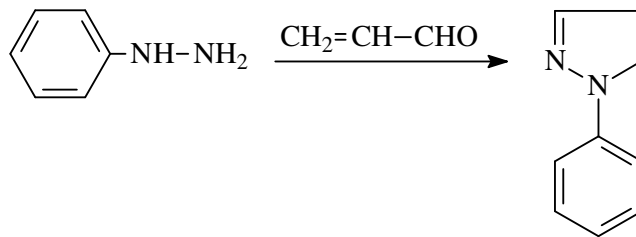
Halkanın numaralandırılması, azot atomlarına ve çifte bağa en küçük numara verilecek şekilde yapılır.



2-Pirazolin sentezi üzerinde çalışmalar, 1885 yılında Knorr ve Blank (40) adlı araştırmacıların 1,3-difenil-5-metilpirazölü sodyumla redükleyip 1,3-difenil-5-metil-2-pirazolini elde etmesiyle başlamıştır.



Redüksiyon yoluyla elde edilen pirazolinin ardından Fischer ve Knoevenagel (41), fenilhidrazin ve akroleinden halka kapatma suretiyle 1-fenil-2-pirazolinin sentezini gerçekleştirmişlerdir.



2.1.1. Sentez Yöntemleri

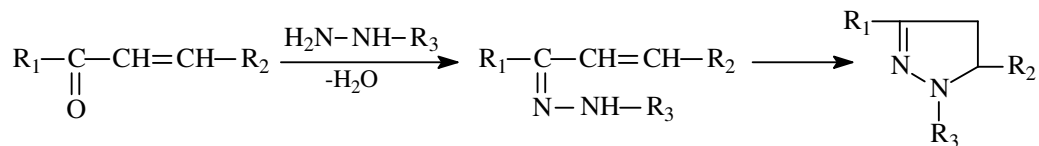
Pirazolin türevleri değişik sentez yöntemleri ile elde edilmektedirler. Bu yöntemleri aşağıdaki şekilde gruplandırmamız mümkündür:

- 1) Hidrazin ve türevlerinden hareketle yapılan sentezler
 - a) α,β -Doymamış karbonil türevleri ile yapılan reaksiyonlar
 - b) β -Süstitüe ketonlar ile yapılan reaksiyonlar
 - c) α,β -Doymamış nitrillerle yapılan reaksiyonlar
 - d) Aziridin ve oksiranlarla yapılan reaksiyonlar
 - e) Diğer hidrazin reaksiyonları
- 2) Redüksiyon ve oksidasyonla yapılan sentezler
- 3) Diazometan türevlerinden hareketle yapılan sentezler
- 4) Diğer yöntemler

1. Hidrazin ve Türevlerinden Hareketle Yapılan Sentezler

α,β -Doymamış karbonil türevleri ile yapılan reaksiyonlar

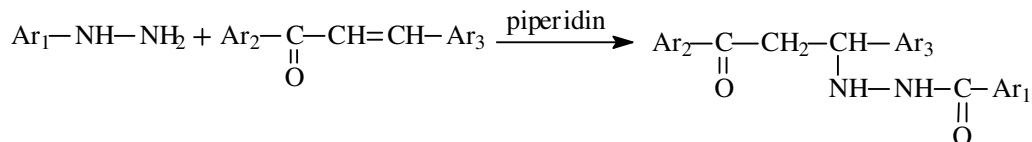
Pirazolin türevlerinin sentezi için en çok bilinen ve kullanılan sentez yöntemi, hidrazin veya türevlerinin, α,β -doymamış karbonil bileşikleriyle kondenzasyon reaksiyonudur. Bu reaksiyon etanol, asetik asit, sodyum hidroksitli etanol, potasyum karbonatlı etanol, dimetilformamit gibi çözücüler içinde yürütülebilmektedir (39, 42-54). Reaksiyon ortamında öncelikle, karbonil grubundan hidrazon yapısı oluşur ancak hidrazonların kararlılıklarının düşük olması nedeniyle çoğu zaman izole edilemez ve etilenik yapıya katım sonucu siklize olarak pirazolinleri verirler.



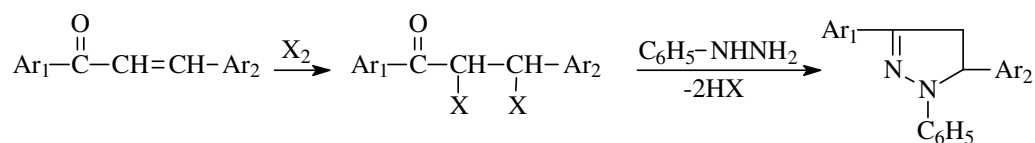
R_1, R_2 : Ar
 R_3 : Ar, $COCH_3$, H

İzole edilebilen hidrazonlar değişik yöntemlerle, örneğin kapalı bir tüpte yüksek ısıda ısıtılarak (55, 56), asetik asit içerisinde ısıtılarak veya formik asit içerisinde ısıtılarak pirazolinlere dönüştürülebilirler (57).

Reaksiyon piperidin varlığında yapıldığında hidrazonlar yerine β -hidrazinoketonlar oluşur (58).

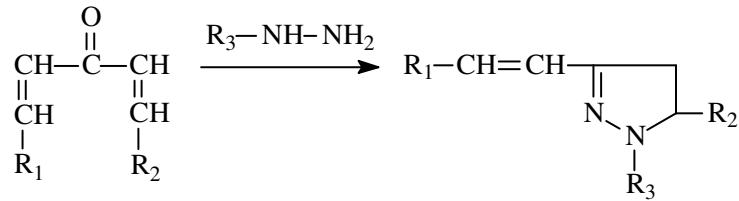


1,3-Diaril-2-propenonun etilenik bağına halojen (klor, brom veya iyot) katımıyla oluşan 2,3-dihalojeno-1,3-diarilpropanonların, fenilhidrazinin aşırı ile reaksiyonu sonucu, 1-fenil-3,5-diaril-2-pirazolinler elde edilirler (59).

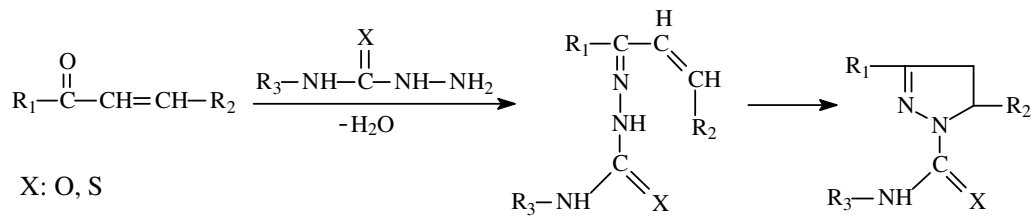


X: Cl, Br, I

Bis- α,β -doymamış keton bileşiklerinin hidrazinle reaksiyonu sonucu, 3-etenil-2-pirazolin molekülü oluşur (60, 61).



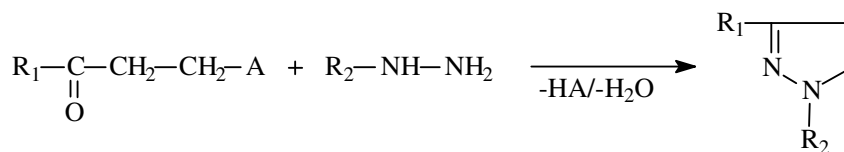
α,β -Doymamış karbonil bileşikleri semikarbazit/tiyosemikarbazit ve bunların sübstitüe türevleri ile etanol içerisinde asidik ve bazik reaktifler karşısında reaksiyona girerek 1-karbamoil veya 1-tiyokarbamoil-2-pirazolinleri verirler (55-57,62,63).



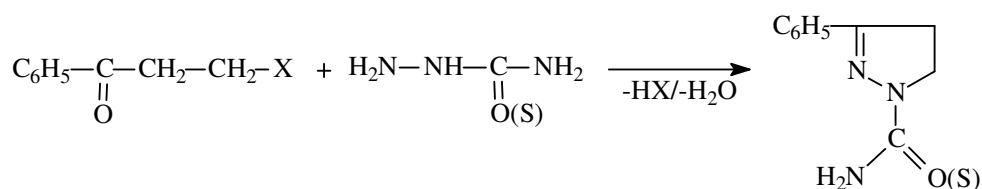
Yukarıdaki reaksiyonda ara ürün olarak oluşan semikarbazon veya tiyosemikarbazonlar, asitli ortamda kararlı bileşikler oldukları için siklizasyonları zordur (56, 57, 62, 63). Bu ara ürünler, kapalı bir tüp içinde kuru kuruya ısıtılarak ya da asetik asit içerisinde ısıtılarak siklize edilebilir ve bu şekilde pirazolin halkasının kapatılması sağlanmış olur. Bu yöntemin sakıncası ise, ısı etkisiyle 1-karbamoil veya 1-tiyokarbamoil gruplarının elimine olma riskidir. Bu nedenle asitli ortam yerine etanol içinde sodyum asetat veya sodyum hidroksit ile ısıtma tercih edilir (62-64).

β -Sübstitüe ketonlarla yapılan reaksiyonlar

β Konumunda klor, brom, hidroksi, alkoksi, amin gibi sübstitüentler taşıyan etilketonların, hidrazin veya alkil/aril hidrazin türevleriyle reaksiyonu sonucu 2-pirazolinler elde edilir. Bu reaksiyonlar başlangıç maddelerinin asetik asit, etanol ya da etanol-sodyum asetat içinde ısıtılmasıyla gerçekleştirilir (49, 65-71).

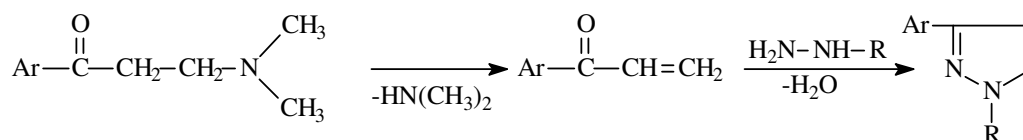
A: Cl, Br, OH, OR, NH₂R₁, R₂: Alkil, aril

β Konumunda halojen taşıyan keton bileşiklerinin semikarbazit veya tiyosemikarbazit türevleriyle reaksiyonu sonucu 1-karbamoil-/1-tiyokarbamoilpirazolinler oluşur (72, 73).



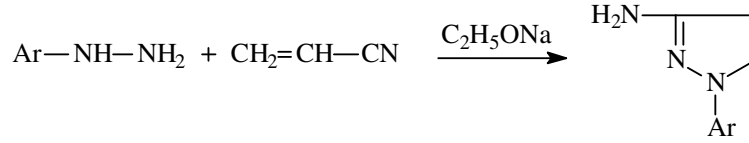
X: Br, Cl

Stamper ve Aycock (71), bir Mannich bazı olan β-dimetilaminopropiyofenondan önce amin ayrılması sonucu aril vinil ketonun oluştuğunu, takiben hidrazinle reaksiyonu sonucu pirazolin türevinin ele geçtiğini bildirmişlerdir.



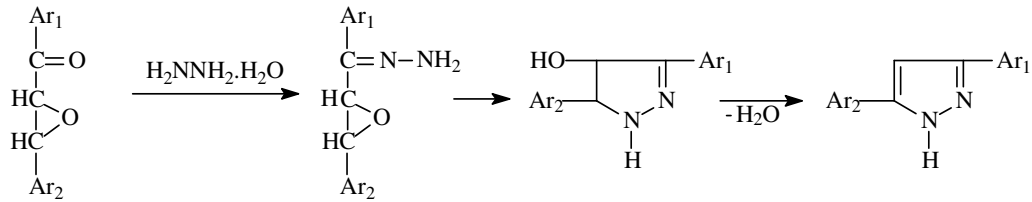
α,β-Doymamış nitrillerle yapılan reaksiyonlar

Aril hidrazin türevlerinin sodyum etoksit varlığında, akrilonitrille reaksiyonu sonucu 1-aril-3-amino-2-pirazolin türevleri hazırlanır (74). Reaksiyon nitril grubuna hidrojen katımı ile oluşan imin yapısının, karbon-karbon çifte bağına katımı ile tamamlanır.

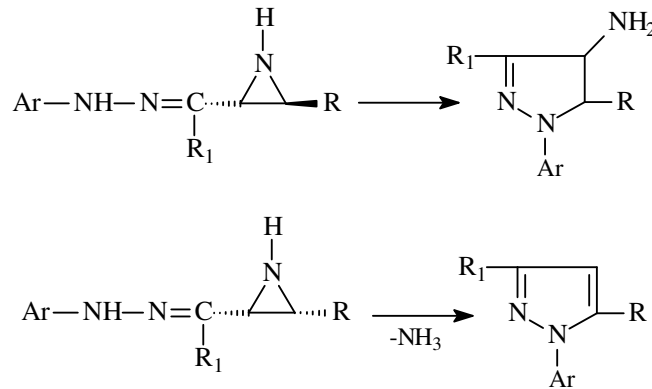


Aziridin ve oksiranlarla yapılan reaksiyonlar

Ketooksiran türevleriyle hidrazin hidratın reaksiyonu sonucu 4-hidroksi-2-pirazolin türevleri oluşur. Ancak oluşan pirazolin türevleri dayanıksız olmaları nedeniyle, asit ve alkali ortamda ısı karşısında su kaybederek pirazol türevlerine dönüşürler (75-78).



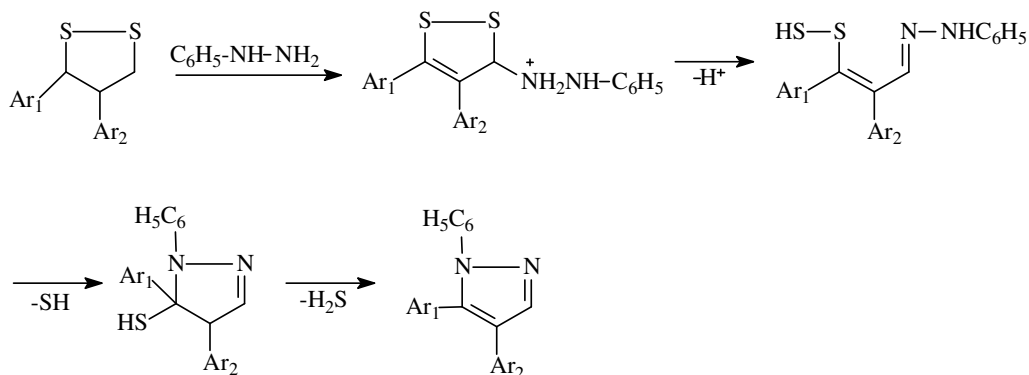
Ketoaziridinler de oksiranlara benzer şekilde reaksiyon verir. Aziridinin izomer şekli oluşan ürünün yapısını etkiler. *trans*-Ketoaziridin 4-amino-2-pirazolini verirken, *cis*-ketoaziridin amonyak çıkışıyla pirazol yapısına dönüşür (76).



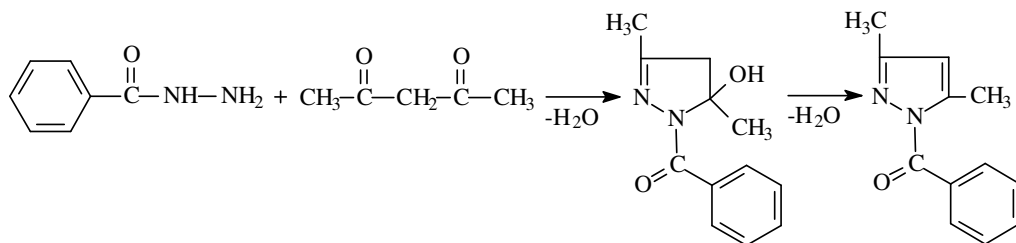
Değişik yapıdaki bileşiklerle hidrazin reaksiyonları

Yukarıda anlatılan reaksiyonlar, hidrazin türevlerinden 2-pirazolin türevlerini oluşturmada yaygın kullanılan reaksiyonlardır. Bu reaksiyonlar kadar çok kullanılsa da hidrazin türevleri kullanılarak yapılan başka sentez yöntemleri de vardır.

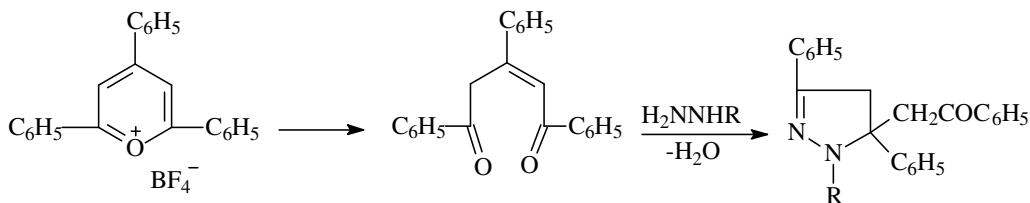
Bergeon ve diğ. (79), 3,4-diaril-1,2-ditiolyumların fenilhidrazinle reaksiyonu sonucu oluşan 5-merkapt-1-fenil-4,5-diaril-2-pirazolinlerin, hidrojen sülfür çıkışıyla 1-fenil-4,5-diarilpirazollere dönüştüklerini bildirmişlerdir.



Hedbom ve diğ. (80), benzoilhidrazin ile bir diketon türevi olan asetilasetonun reaksiyonu sonucu 1-benzoil-3,5-dimetil-5-hidroksi-2-pirazolinin oluştuğunu ve bu 2-pirazolin türevinin, asit ortamda ve sıcakta su kaybederek, 1-benzoil-3,5-dimetil-2-pirazol bileşiğine dönüştüğünü bildirmişlerdir.

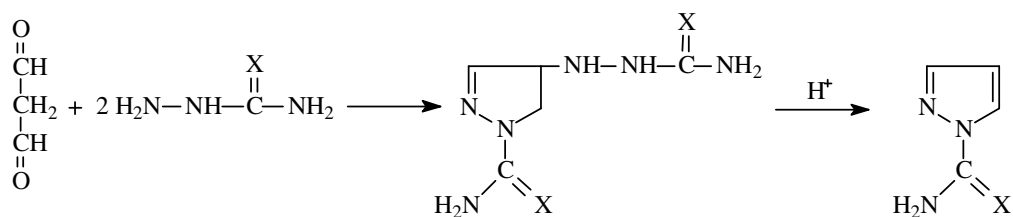


2,4,6-Trifenilpirilyum tetrafluoroboratın hidrazin, fenilhidrazin veya tiyosemikarbazit ile reaksiyonu sonucu 1-süstitüe-3,5-difenil-5-(benzoilmetil)-2-pirazolinler elde edilir (81, 82).



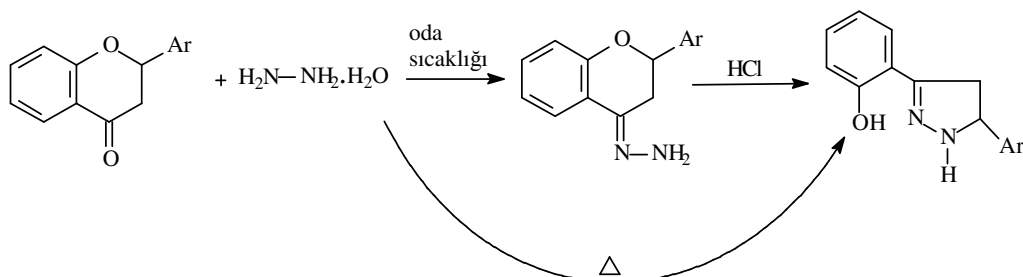
R: H, CSNH₂

Buttkus ve diğ. (83), malonaldehitin semikarbazit/tiyosemikarbazit ile reaksiyonu sonucu 1-karbamoil-/1-tiyokarbamoilpirazollerin oluştuğunu göstermişlerdir.



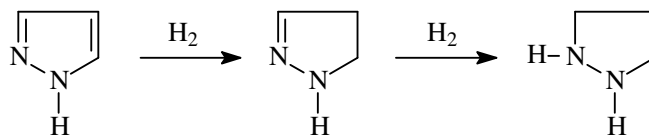
X: O, S

Kallay ve diğ. (55, 56), flavonon bileşikleriyle yaptıkları çalışmalarda, flavonon ile hidrazin hidratın yüksek sıcaklıktaki reaksiyonu sonucu pirazolin türevlerinin oluştuğunu, reaksiyonun oda sıcaklığında uygulanması halinde flavonon hidrazonunun oluştuğunu, bunun da kaynayan alkol çözeltisi içerisinde seyreltik hidroklorik asit ile hidrolizi sonucu pirazolin türevine dönüştüğünü göstermişlerdir.



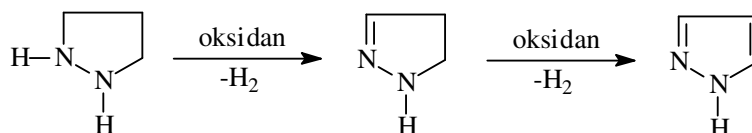
2. Redüksiyon ve Oksidasyonla Yapılan Sentezler

Pirazolinler, pirazollerin kısmen redüklenmiş türevleridir. Redüksiyon yoluyla pirazollerden pirazolin elde edilmesi (41, 84), halkanın parçalanabilmesi ve pirazolinin yanı sıra pirazolidinin de oluşabilmesi gibi sakıncaları nedeniyle çok tercih edilen bir yöntem değildir.



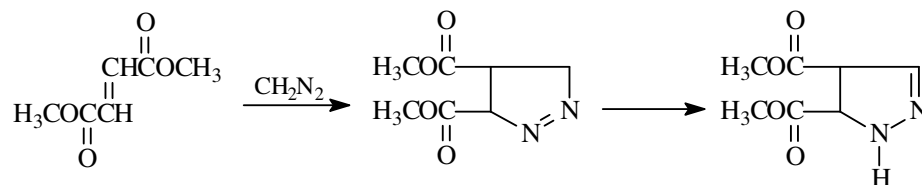
Pirazollerin 2-pirazolinlere redüksiyon işlemi, palladyum katalizörlüğünde hidrojen (85) kullanılarak yapılabildiği gibi, etanollü ortamda sodyum (40, 86, 87) veya asetik asit içerisinde çinko (41) gibi redükleyici bileşikler yardımıyla da yapılabilir. Ayrıca, pirazol halkasında halojen bulunması halinde redüksiyon ile 2-pirazolin türevinin oluşması yanısıra dehalojenasyonun olduğu da tespit edilmiştir (88, 89).

Pirazolidinlerin hidrojen peroksit, ferri klorür veya kromik asit gibi oksidanlarla kısmi oksidasyonu sonucu pirazolinler elde edilmektedir (87).



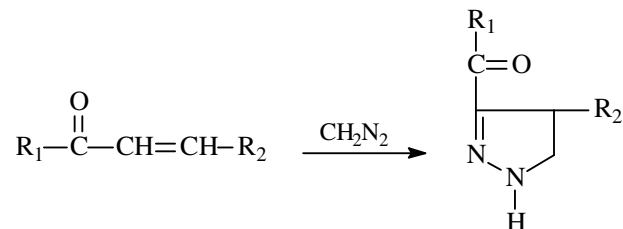
3. Diazometan Türevlerinden Hareketle 2-Pirazolin Sentezleri

İlk kez 1894 yılında Pechmann (90), diazometanı 2-pirazolin sentezinde kullanmış ve dimetil fumarat ile reaksiyonu sonucu halkayı elde etmiştir. Reaksiyon ortamında önce 1-pirazolin türevi oluşmuş; bu ürün daha sonra daha dayanıklı olan 2-pirazoline dönüşmüştür.



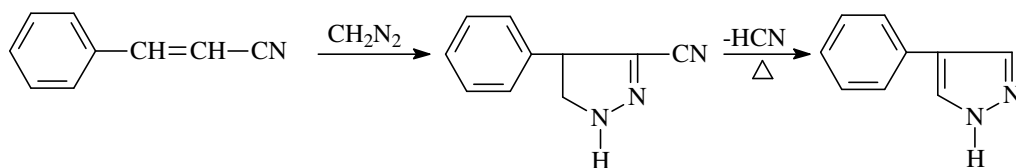
α,β -Doymamış ketonlarla diazometan arasındaki ilk reaksiyon, benzalaseton ile diazometandan 3-asetil-4-fenil-2-pirazolin elde edilmek suretiyle gerçekleştirilmiştir. Aynı reaksiyonda, benzalaseton yerine furil analogu olan şalkonlar kullanıldığında ise 4-aril-3-(2-furil)-2-pirazolinler elde edilmiştir (58).

Reaksiyonlardan da görüldüğü gibi, diazometandaki metilen grubu, α,β -enonun β karbonuna bağlanmaktadır.

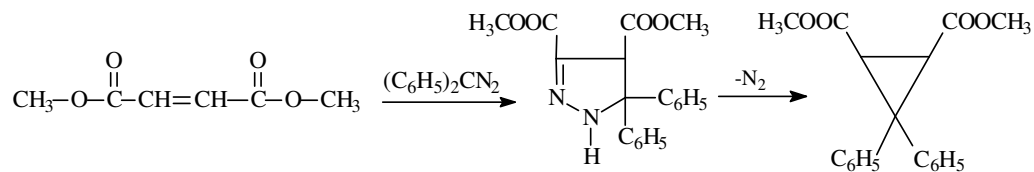


R_1, R_2 : alkil, aril

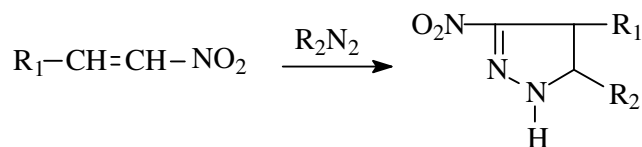
Diazometanın α,β -doymamış nitrillerle reaksiyonu sonucu 3-siyano-2-pirazolinler oluşur ve ısı etkisiyle hidrosiyanik asit çıkışını takiben pirazol türevlerine dönüşürler (91).



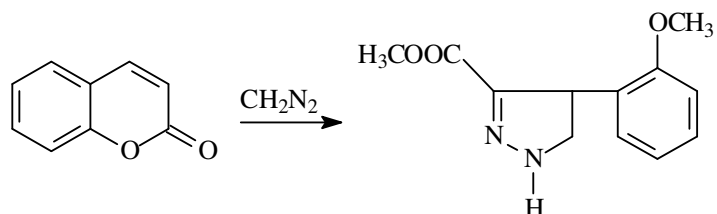
Van Alphen ve diğ. (92), difenildiazometan ile fumarik ve maleik asit metil esterlerinin reaksiyonu sonucu 5,5-difenil-3,4-dikarbmetoksi-2-pirazolinin elde edildiğini, bu ürünlerin ısıtılmasıyla ise azot çıkışı sonucu 1,2-dikarbmetoksi-3,3-difenilsiklopropanın oluştuğunu bildirmişlerdir.



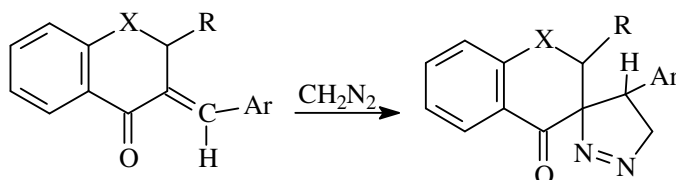
Nitroolefinlerle, diazometan ve difenildiazometanın reaksiyonu sonucu 3-nitropirazolin türevleri elde edilir (93).



Kumarinin diazometanla metanol içerisinde reaksiyonu sonucu 3-karbmekoksi-4-(2-metoksifenil)-2-pirazolin elde edilmiştir (94).



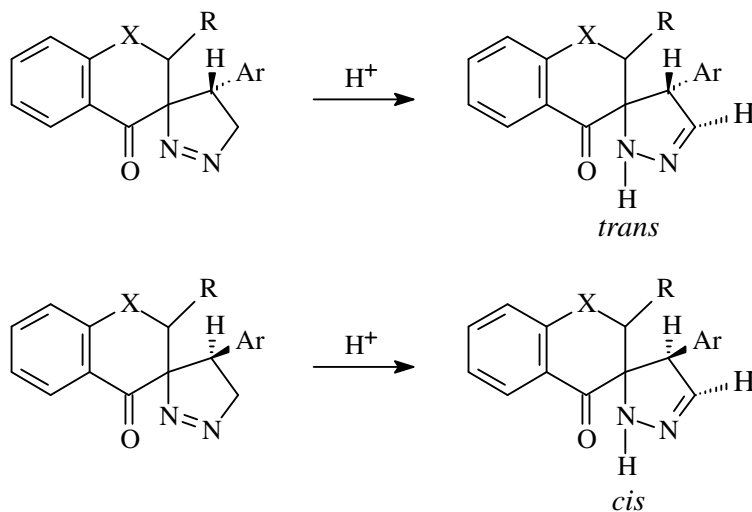
Toth ve diğ. (95-97), 3-ariliden-2-fenilkroman-4-on ve tiyo türevlerinin diazometanla reaksiyonu sonucu spiro-1-pirazolin türevlerini elde etmişlerdir.



X: O, S

R: H, C₆H₅

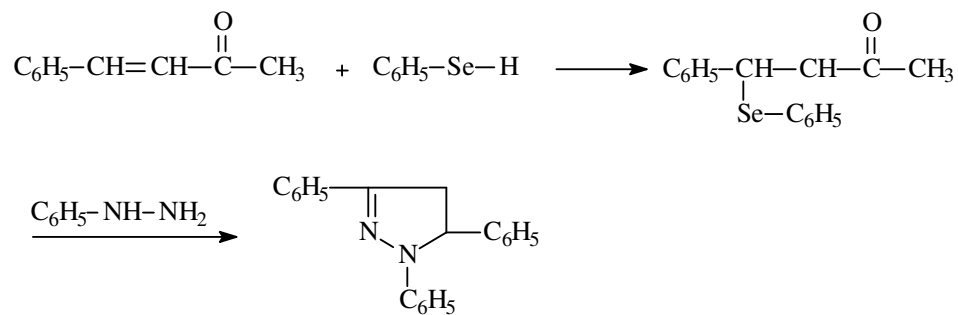
Spiro-1-pirazolinler diğer pirazolin türevlerinin aksine çok dayanıklı ürünlerdir, kendiliğinden 2-pirazolin türevlerine dönüşmezler. Dönüşüm için asit katalizörlüğü gerekir. Bununla beraber, *cis*-spiro-1-pirazolinlerin 2-pirazolin türevlerine dönüşümü oda sıcaklığında bir gün içinde gerçekleşirken, *trans* izomerde bu süre oda sıcaklığında bir ayı geçmektedir (97).



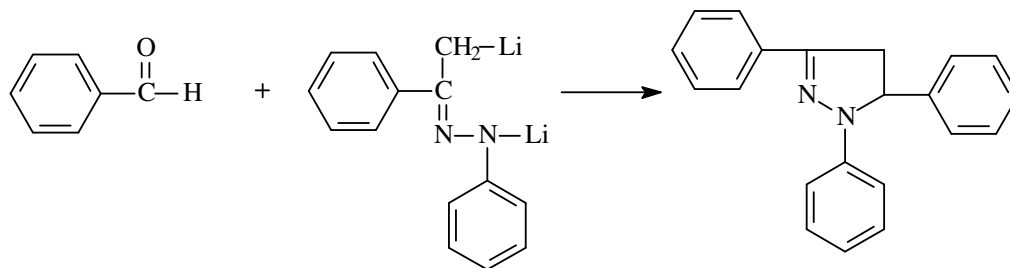
4. Diğer Yöntemler

Pirazolin türevleri sentezinde bazı araştırmacılar tarafından yukarıda belirtilenlerden farklı bazı sentez yöntemleri geliştirilmiştir. Fakat bu yöntemlerin verimlerinin düşük olması, ilkel maddelerinin kolay bulunabilir maddeler olmamaları sebebiyle kullanımları kısıtlı olmuştur.

Gilman ve Cason (69), 4-fenil-3-büten-2-on ve fenilselenolden 4-fenil-4-(fenilselenil)bütan-2-onu, bu ara ürünün de fenilhidrazinle reaksiyonu ile 1,3,5-trifenil-2-pirazolinleri hazırlamışlardır.



Benzaldehitin, asetofenon fenilhidrazonun C^α,N-dilyum türeviyle reaksiyonu 1,3,5-trifenil-2-pirazolini vermektedir (98).



2.1.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

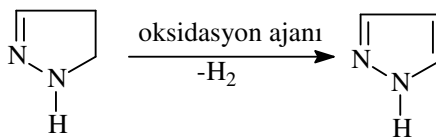
Fiziksel Özellikleri

Bir numaralı konumda süstitüent taşımayan pirazolinler, normal şartlarda sıvı halde olup, bu konuma süstitüent getirilmesiyle veya molekülün büyümesiyle, beyazdan sarının tonlarına kadar değişen renklere kristaller haline dönüşürler. Aseton, kloroform, benzen gibi organik çözücülerde çözünürken, suda çözünmezler. Zayıf baz karakterdedirler ve pKa değeri 4.62'dir (99).

Kimyasal Özellikleri

Oksidasyon reaksiyonları

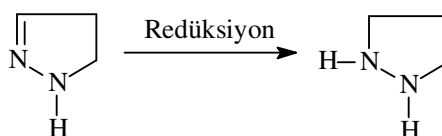
Pirazolinler N-bromosüksinimit (100), kurşun tetraasetat (101), perbenzoik asit (102), tetrakloro-*o*-benzokinon (103), trikloroizosiyanürik asit (104), diiyot pentoksit (105), civa oksit (106), gümüş nitrat (106), manganez dioksit (106), zirkonyum nitrat (106), kurşun oksit (106), triazol-3,5-dion (106) gibi oksidan bileşiklerin etkisiyle dehidrojenasyona uğrarlar ve pirazollere dönüşürler.



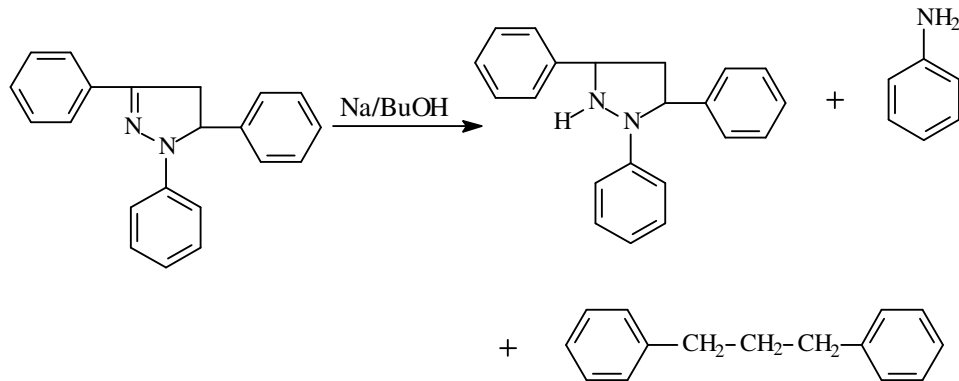
Bu bileşiklerin dışında, bromla oksidasyon yapıldığında, halkada brom süstitüsüyonu görülür (107). Permanganat ise oksidasyona duyarlı yan zincirlerin oksidasyonuna yol açabileceği gibi halkanın parçalanmasına da neden olabilir (100).

Redüksiyon reaksiyonları

2-Pirazolinler redüklendiklerinde pirazolidinleri verirler. Hidroklorik asitli ortamda kalay veya etanollü ortamda sodyum bu amaçla kullanılan reaktiflerdir. Raney nikeli katalizörlüğünde yapılan katalitik hidrojenasyon yöntemi de redüksiyon amaçlı kullanılabilir. Fakat bu reaksiyonda halka açılması gözlenebilmektedir (85, 108).

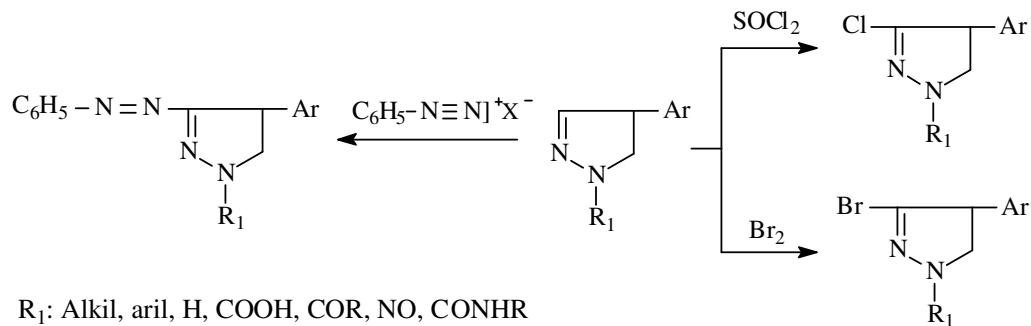


Redükleyici bileşiğe bağlı olarak yan ürünlerin de oluştuğu, 1,3,5-trifenil-2-pirazolin molekülünde gösterilmiştir. Metalik sodyum kullanılarak butanol içinde yapılan redüksiyon sonucu 1,3,5-trifenilpirazolidin yanında 1,3-difenilpropan ve anilin oluşmuştur (108, 109).

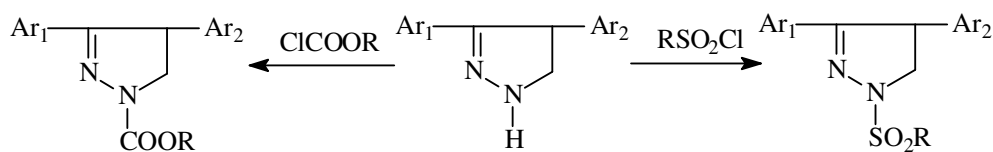


Sübstitüsyon reaksiyonları

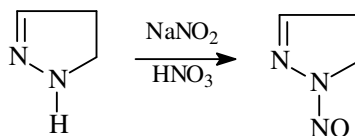
1,4-Disübstitüe-2-pirazolinlerde elektrofilik sübstitüsyon reaksiyonları üç numaralı konumdan gerçekleşir. Tiyonil klorürle 3-kloro, bromla 3-bromo, fenil diazoniyum tuzlarıyla 3-fenildiazo-2-pirazolinler oluşur (75, 110, 111).



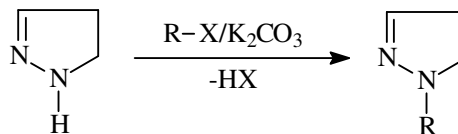
2-Pirazolinlerin, sülfonil klorürle 1-sülfonil-, kloroformik esterlerle ise 1-karbalkoksi-2-pirazolin türevlerini verdiği gösterilmiştir (48, 111, 112).



2-Pirazolinler nitrik asit varlığında sodyum nitrit ile 1-nitrozo-2-pirazolin oluştururlar (75, 111).

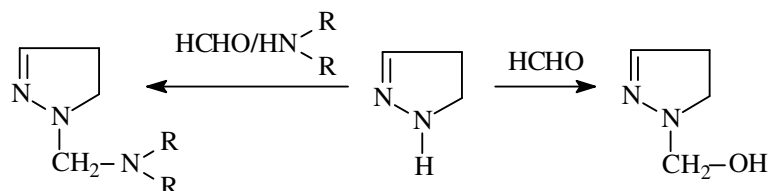


2-Pirazolinlerin potasyum karbonat karşısında alkil ve aril halojenürlerle reaksiyonuyla, 1-alkil/aril-2-pirazolin türevleri elde edilir (74, 111).

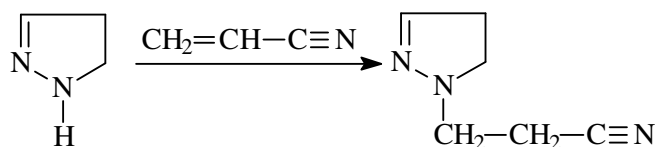


R: Alkil, aril

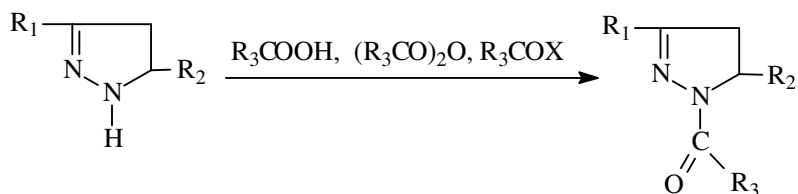
2-Pirazolinler, formaldehit ile 1-hidroksimetil-, formaldehit varlığında sekonder aminlerle 1-dialkilaminometil-2-pirazolin türevlerini (*Mannich bazları*) verirler (38, 113).



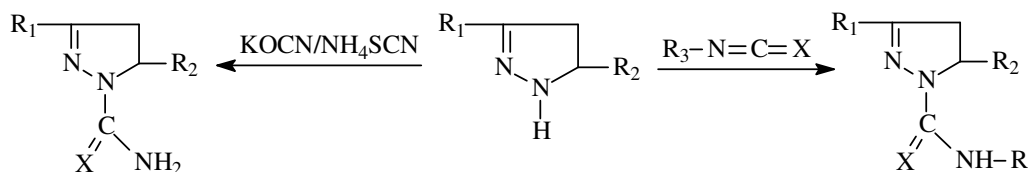
2-Pirazolinlerin akrilonitrile katım reaksiyonu sonucu 1-(2-siyanoetil)-2-pirazolinler elde edilir (108).



2-Pirazolinlerin karboksilli asit, anhidrit ve halojenürlerle reaksiyonu sonucu 1-açıl-2-pirazolin türevleri kazanılır (48, 52, 111, 114).



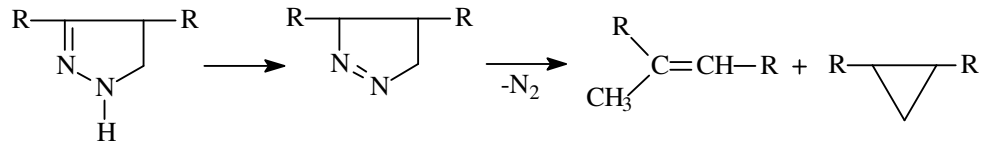
2-Pirazolinler, potasyum siyanatla 1-karbamoil, amonyum tiyosiyanatla 1-tiyokarbamoil-2-pirazolinleri, alkil/aril izosiyanat ve izotiyosiyanatlarla N-süstitüekarbamoil/tiyokarbamoil-2-pirazolin bileşiklerini oluştururlar (45, 48-51, 68, 75, 110, 115-117).



X: O, S

Piroliz reaksiyonları

Piroliz reaksiyonları sonucu 2-pirazolinlerin halka yapısı bozulur ve termal dekompozisyonla öncelikle 1-pirazolinler, takiben azot atomlarının eliminasyonu ile olefinler ve siklopropanlar oluşur. Bu işlemin platin, potasyum hidroksit, alüminyum hidroksit gibi çeşitli maddelerin katalizörlüğünde veya alçak basınç altında gerçekleştiği bildirilmiştir (92, 118-120).

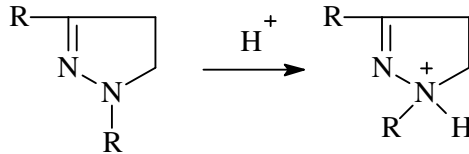


R: COOH, COOR

Bir numaralı konumda süstitüent taşımayan pirazolin türevlerinden iki azot eliminasyonu ile siklopropan halkası oluşması *Buchner Curtius* siklopropan sentezinin esasını oluşturur (57).

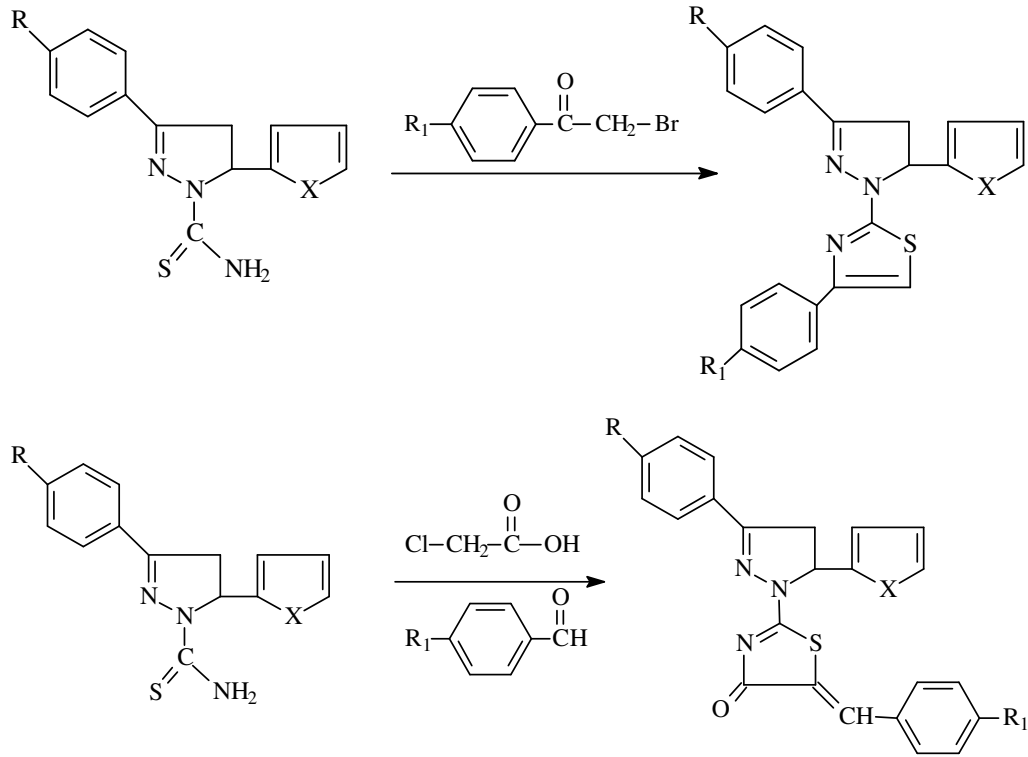
Tuz oluşturma reaksiyonları

Elguero ve Jacquier (99, 121), N-süstitüe-2-pirazolinlerin asitlerle, bir numaralı azot atomu üzerinden tuz oluşturduğunu saptamışlardır.



Diğer reaksiyonlar

Nasr ve Said (122), 1-tiyokarbamoilpirazolin yapısındaki bileşiklerin fenaçilbromür/klorür ile reaksiyonu sonucu tiyazolil halkası taşıyan pirazolin türevlerini, kloroasetik asit ve 4-süstitübenzaldehit ile reaksiyonu sonucu ise 4-okso-2-tiyazolil bileşiklerini elde etmişlerdir.



2.1.3. Spektral Özellikler

UV Spektrumları

UV spektrumları üzerine yapılan çalışmalarda (46, 123, 124), 3-/5-fenil-2-pirazolinlerin 240 ve 280 nm’de, 1,3-diaril- ve 1,3,5-triaril-2-pirazolinlerin 240 ve 350 nm civarında iki maksimum absorpsiyon gösterdiği ve bunlardan birincisinin C=N, ikincisinin ise Ar-N-N=C-Ar kromoforundan ileri geldiği bildirilmiştir. Ayrıca beş numaralı konumdaki aril grubunun, bileşiklerin UV absorpsiyonunun dalga boyunu etkilemediği gösterilmiştir.

1,3,5-Triaril-2-pirazolinlerde, üç ve beş numaralı konumlardaki fenil gruplarının heterosiklik halkalarla değiştirilmesinin UV absorpsiyonu üzerindeki etkileri incelenmiş; Lavrushin ve diğ. (125), 2-tiyenil-, Buryakovskaya ve diğ. (126), 2-furil-, Ladislav ve diğ. (127) ise 2-, 3- ve 4-piridil- grubu taşıyan bileşiklerden alınan UV spektrumları sonucu, heterosiklik halkaların 3 numaralı konuma gelmeleri halinde fenil grubu taşıyanlara kıyasla daha yüksek dalga boylarında absorpsiyon gösterdiklerini, 5 numaralı konuma gelmeleri halinde ise absorpsiyonda önemli bir değişiklik oluşturmadıklarını bildirmişlerdir.

Dimroth ve Lüderlitz (128), 1-karbamoil-3,5,5-trimetil-2-pirazolin ve bu yapının sikloheksanla kondanse türevlerinin 240 nm civarında, Jones ve diğ. (73) ise 1-N-metiltiyokarbamoil-3-fenil-2-pirazolinin 325 nm de absorpsiyon gösterdiğini bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda, 1-karbamoil-/N-sübstitüekarbamoil-3,5-difenil-2-pirazolinlerin 224 ve 297 nm de, 1-tiyokarbamoil-/N-sübstitüetiyokarbamoil-3,5-difenil-2-pirazolinlerin 220-233 ve 319-328 nm arasında iki maksimum absorpsiyon yaptıkları gözlenmiştir (62, 64, 129,130).

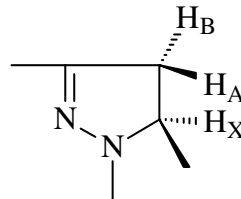
IR Spektrumları

3,5-Disübstitüe-2-pirazolinlerin IR spektrumları üzerinde yapılan çalışmalarda, C=N gerilim piklerinin $1600-1595\text{ cm}^{-1}$, C=C gerilim piklerinin $1420-1490$, C₅-N gerilim piklerinin $1160-1090$, dört numaradaki CH₂ grubuna ait C-H deformasyon piklerinin $1400-1350$, beş numaradaki CH grubuna ait C-H düzlem dışı deformasyon piklerinin $695-685\text{ cm}^{-1}$ ve 1-fenil türevlerindeki C-N gerilim piklerinin 1325 cm^{-1} de görüldüğü tespit edilmiştir (43, 103, 108, 111, 131, 132).

1,3-Difenil-5-(2-tiyenil)-2-pirazolinde 1600 cm^{-1} de C=N gerilim bantları, 1325 cm^{-1} de C-N gerilim pikleri saptanmıştır (103).

Bir numaralı konumda karbamoil ve tiyokarbamoil grubu içeren bileşiklerin IR spektrumları üzerine yapılan çalışmalar sonucunda, 1-karbamoil-2-pirazolinlerin $3474-3353\text{ cm}^{-1}$ de N-H, 1650 cm^{-1} civarında amit C=O gerilimi, 1-tiyokarbamoil-2-pirazolinlerin ise $3470-3289$ ve $3189-3155\text{ cm}^{-1}$ de N-H, $1360-1340\text{ cm}^{-1}$ arasında C=S gerilim piklerini verdikleri gözlenmiştir (56, 64, 109, 114).

¹H-NMR Spektrumları



Yukarıdaki şekilde de görüldüğü gibi 2-pirazolin yapısında beş numaralı konumdaki karbon optikçe aktif bir merkez olduğu için bu karbona bağlı hidrojen,

dört nolu karbona bağlı hidrojenlerle bir ABX sistemi oluşturur. Yapılan araştırmalarda, H_A protonu δ 2.80-3.30 ppm de (J_{AB} : 16-18 Hz, J_{AX} : 4-10 Hz); H_B protonu δ 3.30-3.90 ppm de (J_{BX} : 8-13 Hz); H_X protonu δ 4.80-6.15 ppm de gözlenmiştir (52, 63, 83, 113, 115, 124, 133, 134).

1,3,5-Triaril-2-pirazolinlerde beş numaralı konumda bulunan fenil halkasına bağlı süstitüentlerin, pirazolin halkasını etkilediği ve bu etkinin süstitüent konumuna bağlı olarak orto konumundan para konumuna doğru gittikçe azaldığı, ayrıca halka üzerindeki elektron çekici süstitüentlerin, dört ve beş numaralı konumlardaki protonların kimyasal kayma değerlerini daha da artırdığı bildirilmiştir (124, 135, 136).

Hiç süstitüent taşımayan 2-pirazolinde bir numaralı konumdaki NH protonuna ait pik, 6.90 ppm civarında görülürken (137), 1-tiyokarbamoil türevlerinde 8 ppm civarında (83), *N*-süstitüetiyokarbamoil türevlerinde ise 7-9 ppm civarında yayvan veya singlet (138) olarak görülebilmektedir.

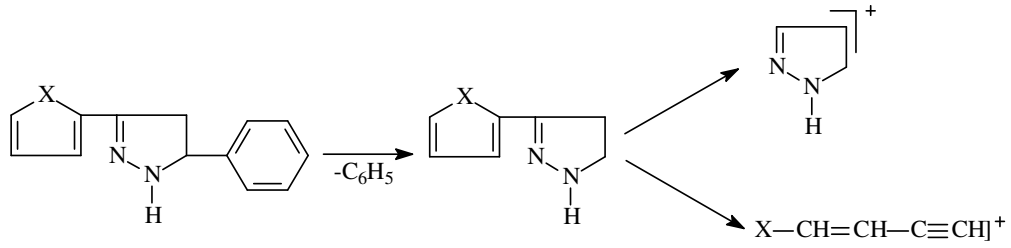
¹³C-NMR Spektrumları

3,5-Disüstitüe-2-pirazolin, 1-asetil-3,5-disüstitüe-2-pirazolin ve 1,3,5-trifenil-2-pirazolin türevlerinde, üç numaralı karbon atomu sırasıyla 151-173 ppm, dört numaralı karbon atomu 39-42 ppm ve beş numaralı karbon atomu 52-65 ppm civarında gözlenmiştir (139-142).

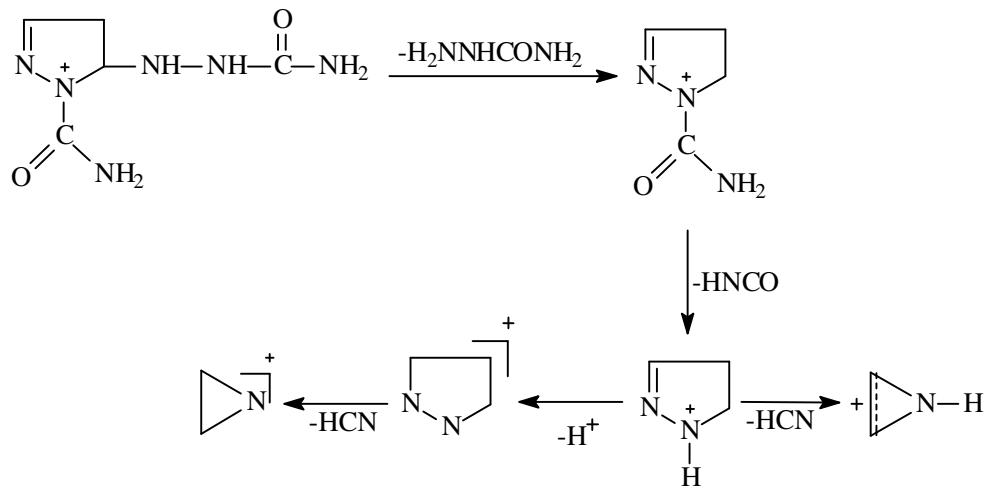
1-Tiyokarbamoil-2-pirazolinlerde de benzer şekilde halkadaki süstitüentlere bağlı olarak üç numaralı karbon atomu 153-159 ppm, dört numaralı karbon atomu 42-47 ppm, beş numaralı karbon atomu 61-68 ppm, tiyokarbamoil karbonu ise 175-177 ppm civarında gözlenmiştir (143-145).

Kütle Spektrumları

Kabli ve diğ. (146), 5-aril-3-(2-furil/2-tiyenil)-2-pirazolinlerin Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GC-MS) tekniği ile alınan kütle spektrumunda yapıdan önce beş numaralı konumdaki aril grubunun ayrıldığını, daha sonra 2-furil/2-tiyenil grubunun koptuğunu bildirmişlerdir.



Butkus ve diğ. (83), 1-karbamoil-/1-tiyokarbamoil-5-semikarbazido-2-pirazolinin elektron iyonizasyon tekniği ile alınan kütle spektrumunda molekülden semikarbazit ve bunu takiben karboksamit grubunun ayrılmasıyla 2-pirazolin iyonlarına ait piklerin tespit edildiğini, devamında 2-pirazolin halkasından hidrosiyamik asit ayrılmasıyla aziridin iyonuna ait piklerin oluştuğunu bildirmişlerdir.



X-Işınları Kristallografi Analizleri

1,3,5-Trifenil-2-pirazolin türevi bileşiklerde yapılan X-ışınları yapı analizi sonucunda, N1-C6:1.382 Å, N1-C5:1.488 Å, N1-N2:1.378 Å, N2-C3:1.291 Å olduğu; bağ açılarının ise C6-N1-N2:119°, N2-C3-C12:121°, N1-C5-C18:113° olduğu bildirilmiştir (147).

1-Formil-2-pirazolinde halkanın düzlemsele yakın formda, bağ uzunluğunun N1-N2 arası 1.39 Å, N2-C4 arası 1.28 Å, pirazolin ve fenil halkaları arası ortalama düzlem açısı 8.1°, formil grubu ile ise de 10.7° olarak verilmiştir (148).

Seebacher ve diğ. (145), 1-tiyokarbamoil-2-pirazolin yapısındaki bileşiklerde, iki pirazolin molekülünün tiyokarbamoil grubundaki NH ve S atomları arasında hidrojen bağı bulunduğunu, 2-pirazolin halkasının zarf formunda, beş numaralı konuma bağlı fenil halkasının 2-pirazolin düzlemine göre 86.68° açıda, tiyokarbamoil grubunun ise halkadaki azotlar arasındaki bağa göre koplanar pozisyonda olduğunu bildirmişlerdir.

2.1.4. Biyolojik Özellikleri

Pirazolinlerin monoamin oksidaz (MAO) enzim inhibitörü, antidepresan, antikonvülsan, antibakteriyel, antifungal, analjezik-antienflamatuvar, antihipertansif, lokal anestezik ve hipoglisemik etkileri üzerinde çeşitli araştırmacılar tarafından çalışmalar yapılmıştır.

MAO Enzim İnhibitörü Aktiviteleri

Bazı araştırmacılar (149, 150), 1,3,5-trifenil-2-pirazolin yapısındaki bazı bileşiklerin MAO inhibitör aktiviteye sahip olduklarını, beş numaralı konumdaki fenil halkası üzerinde elektron sunan grupların bulunmasının aktiviteyi arttırdığını göstermişlerdir. Ayrıca bu bileşiklerde düşük toksisite tespit edilmiştir.

Manna ve diğ. (27), 1-asetil-3,5-diaril-2-pirazolin yapısındaki bir grup bileşiğin domuz böbreği ve sığır serum MAO enzimini geri dönüşlü ve nonkompetitif olarak inhibe ettiğini, etkileşmenin pirazolin halkasının iki numaralı azotu ile MAO enziminin izoalloksazin çekirdeğinin beş numaralı azotu arasında gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Serideki en aktif bileşik 1-asetil-3-(2,4-dihidroksifenil)-5-(3-metilfenil)-2-pirazolin olmuştur.

Chimenti ve diğ. (151), kinuramin substratı varlığında izole sığır beyin mitokondrilerinden aldıkları enzime karşı 1-asetil-3,5-diaril-2-pirazolinlerin aktivitesini spektrofotometrik olarak yapmışlar ve 1-asetil-3-(4-hidroksi- ve 2,4-dihidroksifenil)-5-(2-metoksifenil)-2-pirazolinlerin geri dönüşlü selektif MAO-A enzim inhibitörleri olduğunu bulmuşlardır. Bileşiklerin kiral kolonla yapılan enansiyometrik ayrımı sonucu aktivitesinin ve selektivitesinin arttığı tespit edilmiştir.

Gökhan ve diğ. (28), 1-N-alkil ve 1-N-ariltiyokarbamoil-3-(4-süstitüe fenil)-5-tiyenil-2-pirazolin türevlerinin genel olarak MAO enzim inhibitörü etkilerinin olduğunu, fenil süstitüentine getirilen elektron çekici grupların inhibitör aktivite ve

selektiviteyi arttırdığını, 1-N-metil- ve 1-N-etiltiyokarbamoil-3-(4-metoksifenil)-5-tiyenil-2-pirazolin yapısındaki bileşiklerin en güçlü ve selektif MAO-B enzim inhibitörü olduklarını bildirmişlerdir.

Parmar ve diğ. (149), yaptıkları bir çalışmada 1,3,5-trifenil-2-pirazolinlerin monoamin oksidaz enzimini inhibe edici özelliklerini incelemiş, sübstrat olarak kinüramin kullanılmak suretiyle sıçan beyin homojenatı ile spektrofotometrik enzim tayini yapılmıştır. Beş numaralı konumdaki fenil grubu üzerinde elektron salan grup içeren bileşiklerin daha yüksek, elektron çekici grup içerenlerin ise daha zayıf enzim inhibisyonu yaptığı, birden fazla elektron çekici grup içeren bileşiklerde inhibisyon azalmasının daha da ileri gittiği gözlenmiştir.

Gökhan ve diğ. (34), MAO inhibitör aktivite göstermesi beklenen 1-tiyokarbamoil-3-süstitüe fenil-5-(2-pirrolil)-4,5-dihidro-(1*H*)-pirazol türevi bileşiklerin sentezini yapmış ve MAO'nun A ve B izozimlerine karşı selektif inhibitör aktivitelerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmalar sonucunda sentezini yaptıkları bileşiklerin çoğunun MAO A ve MAO B inhibitör aktivitelerinin olduğunu tespit etmişlerdir. Fenil grubundaki süstitüenti klor olan bileşiklerin MAO A selektif inhibitör; fenil grubu süstitüenti metoksi olan bileşiklerin MAO B selektif inhibitör aktivite gösterdiklerini, fenil grubu süstitüenti metil olan bileşiklerde ise belirgin bir MAO inhibitör aktivite bulunmadığını bildirmişlerdir.

Antidepresan Aktiviteleri

Bilgin ve diğ. (64), 1-tiyokarbamoil-3,5-diaril-2-pirazolin türevlerinin antidepresan aktivitelerini farelerde tranilsipramin sülfat ve parjilin hidroklorür ile karşılaştırmalı olarak incelemişler ve üç/beş numaralı konumlardaki süstitüentlerin değişmesi ile aktivitenin değiştiğini, en yüksek antidepresan aktivitenin üç numaralı konuma fenil- veya 4-klorofenil-, beş numaralı konuma 4-metilfenil- veya 4-metoksifenil- süstitüentleri geldiği zaman gözlendiğini bildirmişlerdir.

Palaska ve diğ. (139), 1,3,5-trifenil-2-pirazolin türevlerinde üç ve beş numaralı konumlardaki fenil grubuna klor, brom, metil ve metoksi süstitüentlerinin takılmasının antidepresan aktiviteyi nasıl etkilediğini incelemişler ve üç numaralı konumdaki fenil halkasına takılan metil süstitüentinin antidepresan aktiviteyi arttırdığını, klor ve brom süstitüsyonunun azalttığını, ayrıca beş numaralı

konumdaki fenil halkasına klor sübstütüsyonunun da antidepresan aktiviteyi azalttığını göstermişlerdir.

Antikonvülsan Aktiviteleri

Soni ve diğ. (150), bir dizi 1,3,5-trifenil-2-pirazolin türevleri üzerinde antikonvülsan aktivite çalışmaları yapmışlar ve monoamin oksidaz enzimi yanısıra süksinik dehidrojenaz enziminin inhibisyonunu da kontrol ederek, antikonvülsan etki ile enzim inhibisyonu arasında bağıntı ve yapı-aktivite ilişkisi kurmaya çalışmışlardır. Bileşiklerin kuvvetli enzim inhibisyonu yaptıkları belirlenmiş; ancak enzim inhibisyonu ile antikonvülsan etki arasında bir bağıntı bulunamamıştır.

Parmar ve diğ. (149), 1,3,5-trifenil-2-pirazolinlerin pentilentetrazol ile indüklenmiş konvülsiyonlara karşı etkilerini incelediklerinde, pirazolin halkasının beş numaralı konumunda 4-klorofenil grubu içeren bileşiğin en yüksek antikonvülsan etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Archana ve diğ. (152), 1-asetil-5-arilidenil-3-(2'-okso/tyobarbitürinil)-2-pirazolin türevleri üzerinde yaptıkları antikonvülsan aktivite çalışmaları sonucunda, sentezi yapılan bileşiklerden 1-asetil-5-(4-metoksifenil)-3-(2'-tyobarbitürinil)-2-pirazolinde standart olarak kullanılan fenitoin sodyuma göre daha yüksek antikonvülsan aktivite tespit edilmiştir. Yapı-etki çalışmaları sonucunda elde edilen veriler ise şu şekildedir:

- Sübstitüent olarak fenil grubu içeren bileşikler en düşük % inhibisyonu göstermişlerdir.
- Fenil halkasının para konumunda metoksi grubunun bulunması ile maksimum inhibisyon (%70-90) elde edilmiştir.
- Hidrazin hidratla şalkonların siklizasyonu sonucu elde edilen pirazolin türevleri, şalkon türevlerine göre daha yüksek aktivite göstermektedir.
- Tiyobarbitürik asit içeren bileşikler, barbitürik asit içeren analoglarına göre daha yüksek aktivite göstermektedirler.

Antibakteriyel-Antifungal Aktiviteleri

İlk olarak 1959 yılında Kost ve diğ. (153), 1-Açıl-3,5,5-trimetil-2-pirazolinlerin, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*

faecalis, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* türlerine karşı etkili olduğunu açıklamışlardır.

El-Bayouki ve Hamid (154), 1-N-fenilkarbamoil-3,5-disüstitüe-2-pirazolinlerin *Candida albicans*'a karşı etkili olduklarını ve 1-N-süstitüekarbamoil-3-fenil-5-naftil-2-pirazolin türevlerinde N-karbamoil grubundaki alkil zincirinin uzaması ile aktivitenin düştüğünü, β -naftil türevlerinin α -naftil türevlerine göre daha aktif olduğunu bildirmişlerdir.

Zvezdina ve diğ. (155), 1-tiyokarbamoil-3,5-difenil-5-benzoil-2-pirazolin bileşiğinin *Microsporum canis* ve *Trichophyton rubrum*'a karşı aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Şafak ve diğ. (156, 157), çeşitli 1-metil- ve 1-asetil-3,5-diaril-2-pirazolin türevlerinin *Candida albicans*, *C. stellatoidea*, *C. pseudotropicalis*, *C. parapsilosis*, *S. aureus*, *S. faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*' ya karşı antifungal ve antibakteriyel aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bilgin ve diğ. (53), 1-asetil-3,5-difenil-2-pirazolin türevleri üzerinde yaptıkları çalışmada, özellikle 1-asetil-3-fenil-5-(2-hidroksifenil)-, 1-asetil-3-fenil-5-(3-hidroksifenil) ve 1-asetil-3-(4-metoksifenil)-5-(4-hidroksifenil)-2-pirazolinin, *M. gypseum*'a karşı etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Yuluğ ve diğ. (158), 1,3,5-trifenil-2-pirazolin türevleri üzerinde yaptıkları araştırmada 1,3-difenil-5-(4-hidroksifenil)-2-pirazolinin *Aspergillus niger* ve *M. gypseum*'a karşı etkili olduğunu göstermiş ayrıca 1,3-difenil-5-(4-hidroksifenil)-, 1-fenil-3-(4-metoksifenil)-5-(4-hidroksifenil)-, 1-fenil-3-(4-klorofenil)-5-(4-hidroksifenil)-2-pirazolinin *T. mentagrophytes*'a karşı, önceden incelenen diğer bileşiklere göre daha aktif olduğunu bulmuşlardır.

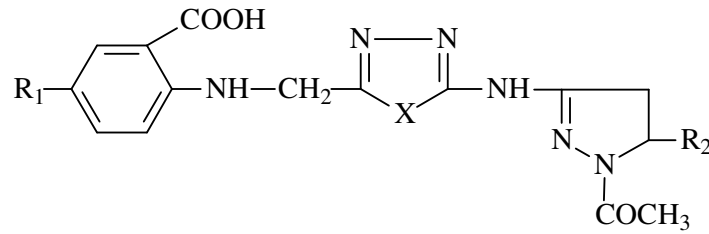
Antienflamatuvar Aktiviteleri

Sharma ve diğ. (159), 1-asetil-3-(1-naftilamino)-5-(fenil/4-metoksifenil)-2-pirazolinin karagenin ile indüklenen pençe ödemi testinde fenilbutazondan daha yüksek aktiviteye ve daha düşük ülserojenik yan etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Sharma ve diğ. (160), 2-((5-(1-asetil-5-(4-metoksifenil)-2-pirazolin-3-ilamino)-1,3,4-oksadiazol-2-il)metilamino)benzoik asit, 5-bromo ve 1,3,4-tiyadiazol

türevlerinin karagenin ile oluşturulan pençe ödemi testinde 50 mg/kg dozda yaklaşık % 50 inhibisyon gösterdiklerini, bunun yanında ülserojenik aktivitelerinin de standart olarak kullanılan fenilbutazona göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Yapı aktivite çalışmaları sonucu elde edilen bulgular ise şu şekildedir:

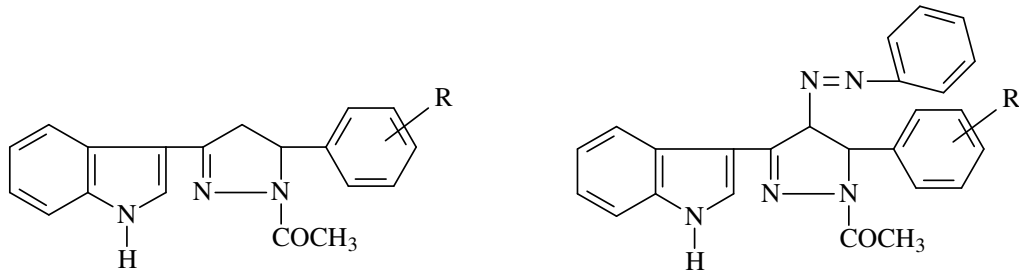
- Elde edilen pirazolin türevleri, sentez başlangıç maddeleri olarak kullanılan şalkon türevlerine göre daha aktiftir.
- Pirazolinin 5 numaralı konumundaki fenil halkasına 4-metoksi süstitüenti getirilmesi aktiviteyi artırır.



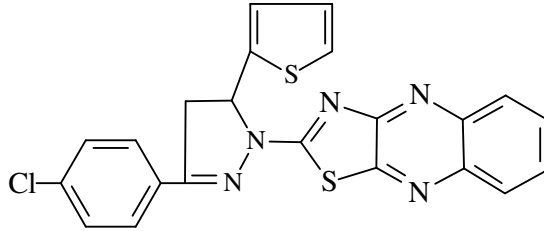
R₁: H, Br; R₂: Ar; X: O, S

Bansal ve diğ. (161), 1-asetil-3-(2-naftilamino)-5-aril-2-pirazolin türevi bazı bileşiklerin karagenin ile oluşturulan pençe ödemi testinde değişik düzeylerde antienflamatuvar aktivite gösterdiklerini bildirmişlerdir. Yapılan testler sonucunda, pirazolin halkasının beş numaralı konumuna 2- veya 4-metoksifenil gelmesi durumunda antienflamatuvar etkinin fenilbutazona göre daha yüksek olduğu, buna karşılık midede ülserasyona neden olan intraperitoneal dozun fenilbutazonla aynı, oral dozun ise indometazinle kıyaslandığında yaklaşık iki kat olduğu bildirilmiştir.

Rani ve diğ. (162), 1-asetil-3-(1-*H*-indol-3-il)-5-süstitüefenil-2-pirazolin ve bu bileşiklerin 4-diazonyum tuzlarının, karagenin ile oluşturulan pençe ödemi testinde antienflamatuvar aktivitelerini incelemişler ve şalkonların pirazolinlere siklizasyonu ile antienflamatuvar aktivitenin arttığını, diazonyum tuzu türevlerinin ise şalkonlardan daha aktif olmasına karşın pirazolinler kadar aktif bulunmadığını bildirmişlerdir.



Nasr ve Said (122), 3-(4-klorofenil)-5-(2-tiyenil)-1-(tiyazolo[4,5-b]kinoksalin-2-il)-2-pirazolinin ketoprofene yakın antienflamatuvar aktivite gösterdiğini ve düşük gastrik ülserasyona neden olduğunu bildirmişlerdir.



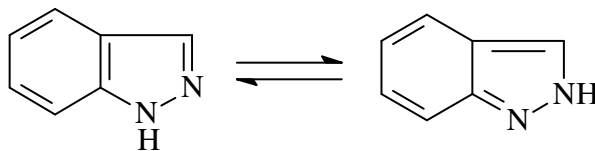
Godoy ve diğ. (163), 1-karbamoil-3-metil-5-hidroksi-5-triklorometil-2-pirazolin ve 3-fenil türevinin intraperitoneal asetik asit ile kıvrınma ve rotorot testinde antinosiseptif aktiviteye sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Diğer Aktiviteler

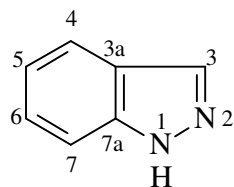
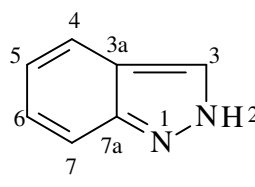
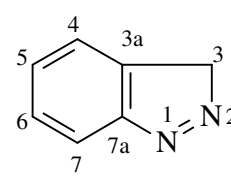
Çeşitli araştırmacılar, 2-pirazolin türevlerinin hipoglisemik (164), antihipertansif (165), lokal anestezi (166), antitümör (167) ve kolesterol düşürücü etkilerini (168) tespit etmişlerdir.

2.2. İNDAZOLLER

İndazol, benzen ile pirazol halkalarının kaynaşmasından oluşmuş heterosiklik bir halkadır. İndol halkasına analog olması sebebiyle halkaya indazol ismi verilmiştir. Auwers ve Meyenburg (169), indazol yapısının basit bir formülle gösterilemeyeceğini, halkanın totomerik yapılarının olduğunu ve bu totomerik türevlerde imino hidrojeni ve çift bağın yerinin değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir.

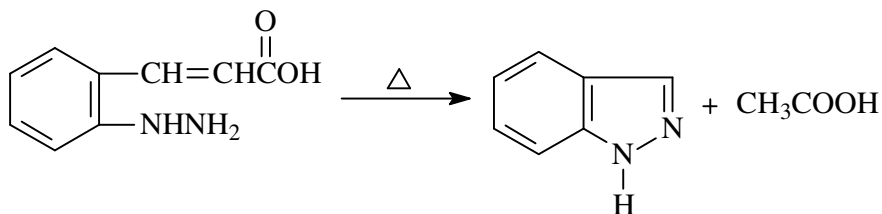


Behr (170)'in *The Chemistry of Heterocyclic Compounds: Pyrazoles, Pyrazolines, Pyrazolidines, Indazoles and Condensed Rings*'te belirttiğine göre Patterson ve Capell, 1*H*-indazol, 2*H*-indazol ve 3*H*-indazol olmak üzere indazollere ait üç farklı halka sistemi öngörmüştür.

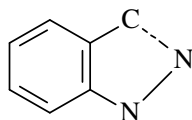
1*H*-İndazol2*H*-İndazol3*H*-İndazol

2.2.1. Sentez Yöntemleri

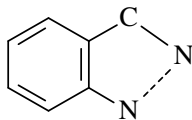
Halkanın sentezi ilk olarak *o*-hidrazinosinnamik asitin ısıtılması suretiyle gerçekleştirilmiştir (170).



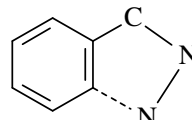
İndazol halkasının sentezi için daha sonra çeşitli yöntemler bildirilmiştir. Bunlar arasında en çok kullanılanı, *o*-disüstitüe benzen türevlerinden başlanarak üç farklı şekilde yapılan (*Tip A*, *Tip B* ve *Tip C*) pirazol halkasının siklizasyonudur.



Tip A



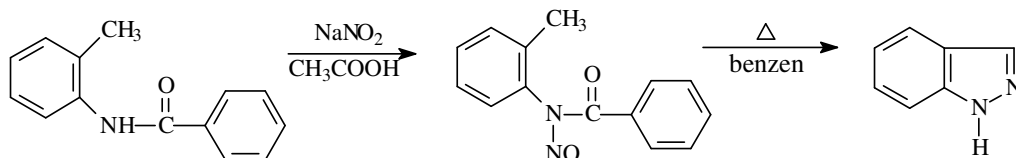
Tip B



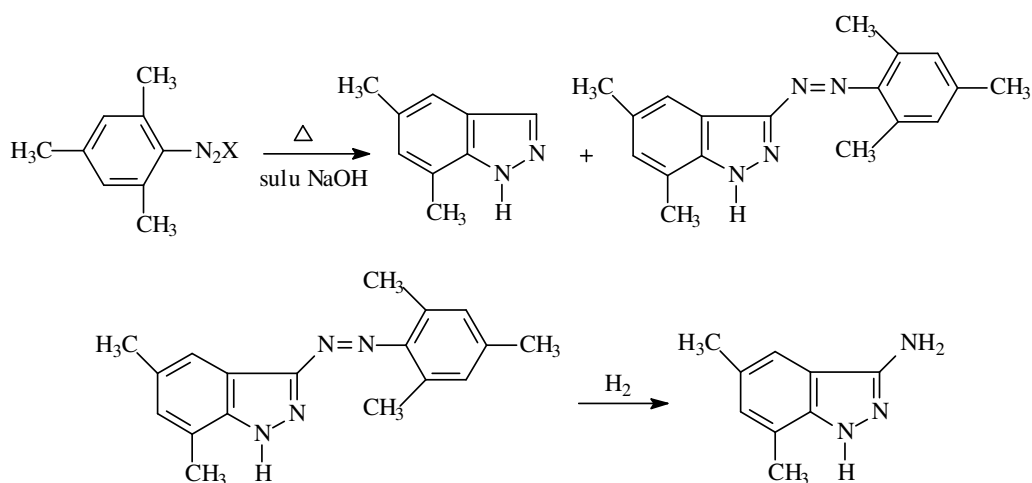
Tip C

Tip A Sentez Yöntemi

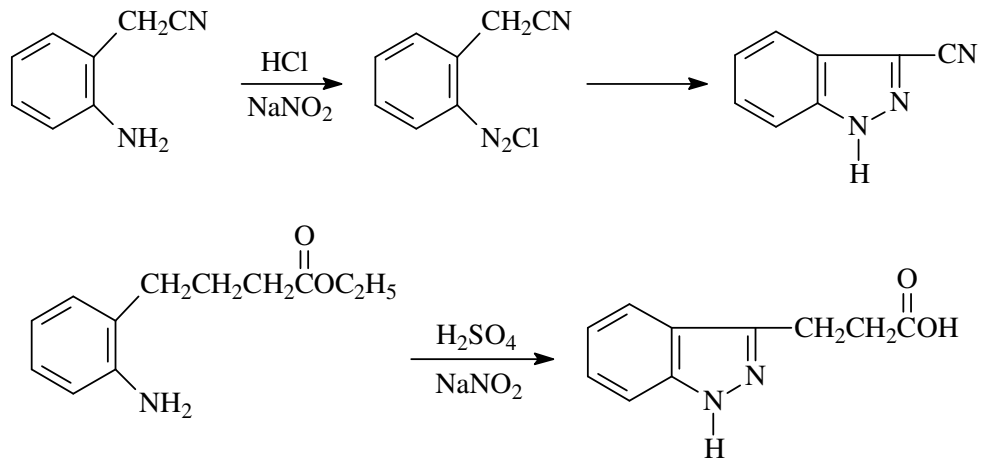
o-Alkilanilit gruplarının diazolandığı *Tip A* yöntemi bu üç yöntem arasında en çok kullanılandır (170, 171). Yapılan ilk sentezlerde verim düşük iken, çözücülerin değiştirilmesi ve tetrametilamonyum asetatın kullanılmasıyla verim yükseltilmiştir. En iyi verim %92 ile kloroform varlığında alınmıştır (170). Nitro süstitüenti taşıyan *o*-toluidinlerin reaksiyon verimlerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir.



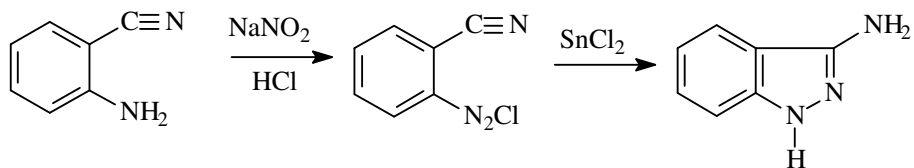
Diazolama esnasında yan ürün olarak, diazonyum çözeltisinin tepkime esnasında oluşmuş indazolle tepkimeye girmesi sonucu bir azo bileşiği oluşur (170). Oluşan azo bileşiğinin redüklenmesiyle de 3-aminoindazoller elde edilir.



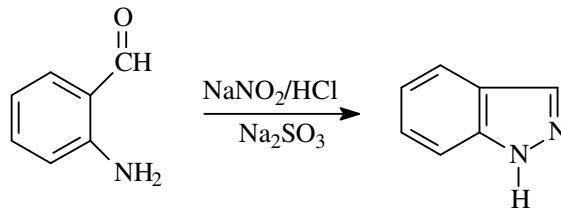
Diazolama reaksiyonu nitril, ester, formil ve keton gibi değişik fonksiyonel gruplar içeren anilin türevleri ile yapılabilir. Örneğin, *o*-aminofenilasetonitrilin diazolanması ile 3-siyanoindazol (172), etil 4-(2-aminofenil)bütanoatın sülfürik asit varlığında diazolanması ile 3-(1*H*-indazol-3-il)propanoik asit elde edilir (173).



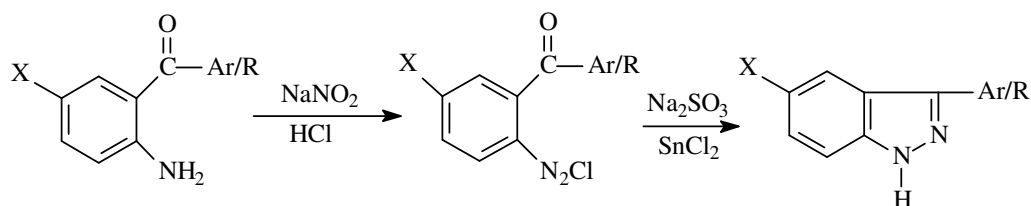
o-Aminobenzonitrilin diazolama işlemini takiben kalay (2) klorürle reaksiyonu sonucu ise 3-aminoindazol oluşur (174).



o-Aminobenzaldehitin diazolanmasını takiben sodyum sülfitle muamelesi sonucu düşük verimle indazol elde edilir (175).

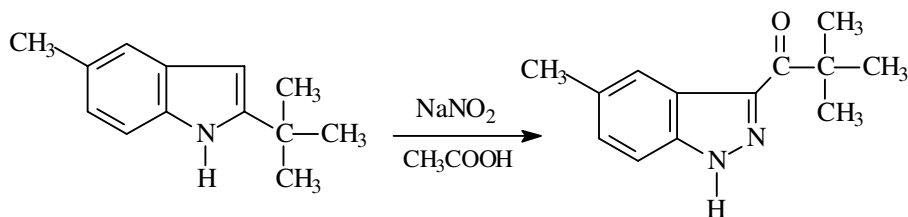


Tek alkil grubuna sahip *o*-aminoarilketonların diazolanması sonucu 3-alkil indazoller (176), aril ketonların diazolanması sonucu ise 3-arilindazol türevleri elde edilir (177).

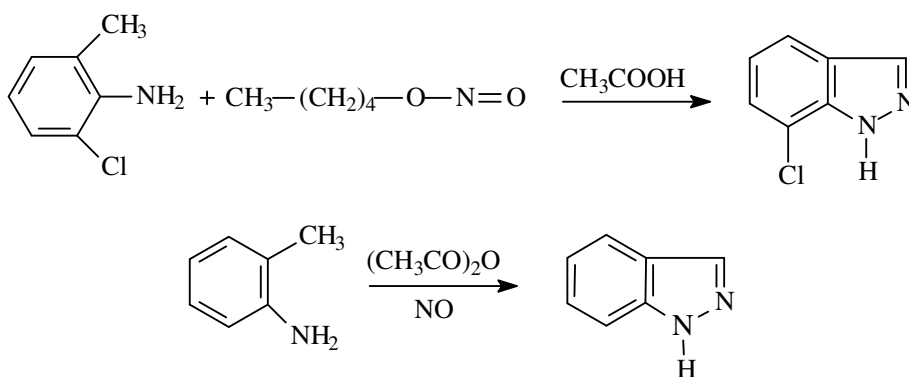


X: H, Cl, CH₃, Br

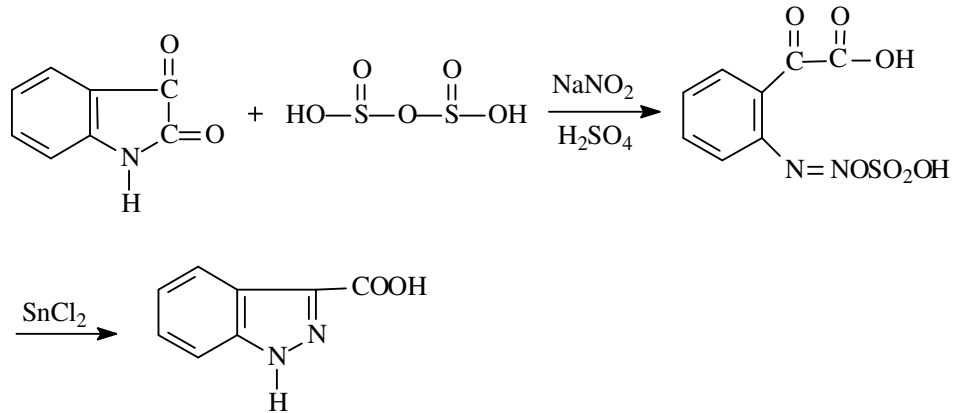
İndazol sentezine olanak veren, ancak çok kullanılmayan diğer bir yöntem de indollerin sodyum nitritle asetik asit varlığında verdiği reaksiyondur. Örneğin, 2-*t*-bütül-5-metilindolün asetik asit içerisinde sodyum nitritle reaksiyonu sonucu 5-metil-3-(2,2-dimetilpropanoil)-1*H*-indazol oluşur (170).



o-Toluidinlerin sırasıyla asetik asit varlığında amil nitrit ile (178) ve asetik anhidrit varlığında nitrojen oksitlerle (170) indazollere dönüştüğü bildirilmiştir.

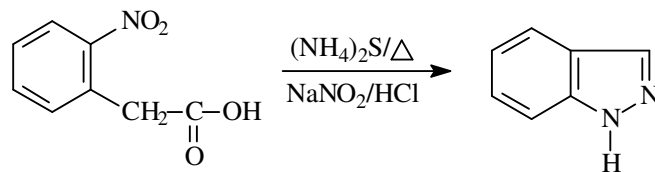


Schad (179), sodyum nitrit, sülfürik asit ve sülfüroz anhidrit varlığında izatinden önce *o*-hidroksisülfoniloksidadiazenilglioksilik asiti, sonrasında da bu ara üründen kalay (2) klorür varlığında indazol-3-karboksilik asiti elde ettiğini bildirmiştir.

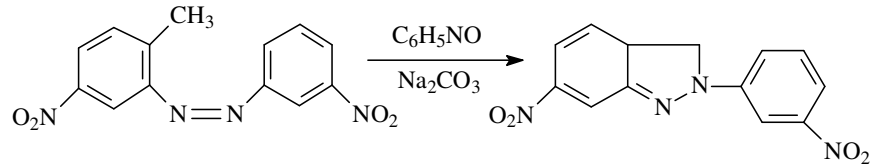


Amino grubu içeren başlangıç maddeleri dışında çeşitli fonksiyonel grupları taşıyan başlangıç maddeleriyle de indazol sentezleri yapılmıştır. Örneğin, *o*-hidrazinosinnamik asitin ısıtılması sonucu asetik asit çıkışına bağlı olarak indazol sentezi gerçekleşir. Bu sentez, indazol halkasına ait ilk sentez olarak kabul edilir (170).

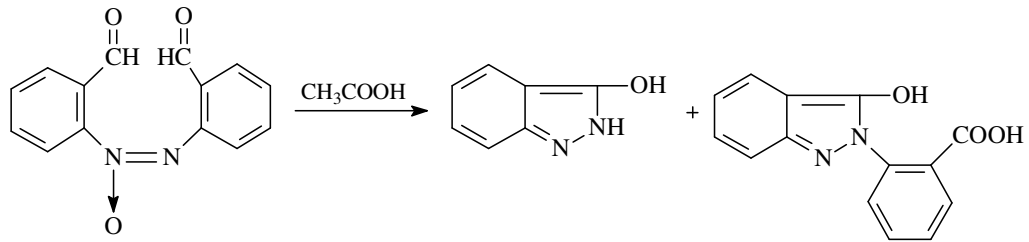
Orto konumunda karbon grupları taşıyan nitro bileşiklerinin redüklenmesi sonucu indazollerin olduğu *o*-nitrofenilasetik asitin amonyum sülfitle redüklenip takiben diazolanması ile gösterilmiştir (180).



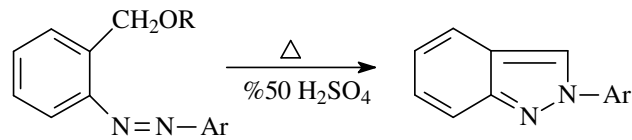
Azo grubuna orto konumunda metil taşıyan bileşiklerin sodyum karbonatlı ortamda nitrozobenzen ile indazol türevini verdiği, özellikle metil grubuna *para* konumunda nitro grubu taşıyan başlangıç maddeleriyle yapılan reaksiyonlarda veriminin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (170).



Metil yerine formil taşıyan türevlerde de benzer bir durum söz konusudur. *o,o'*-Azoksibisbenzaldehyten, asit ortamda 3-hidroksi-2*H*-indazol ve 2-(3-hidroksi-2*H*-indazol-2-il)benzoik asit elde edildiği bildirilmiştir (181).

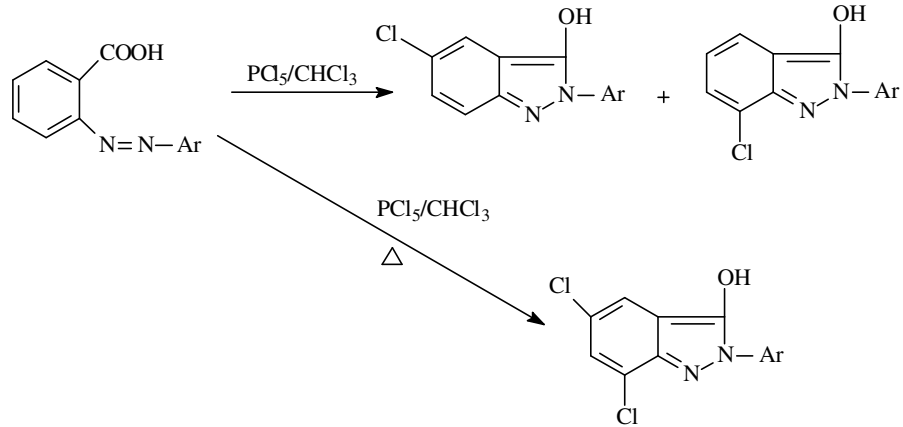


Arilazo-*o*-benzilalkol ve bu bileşiğin eter/ester türevleri %50 sülfürik asit varlığında ısıtıldığında yüksek verimle 2-arilindazoller elde edilir (170).

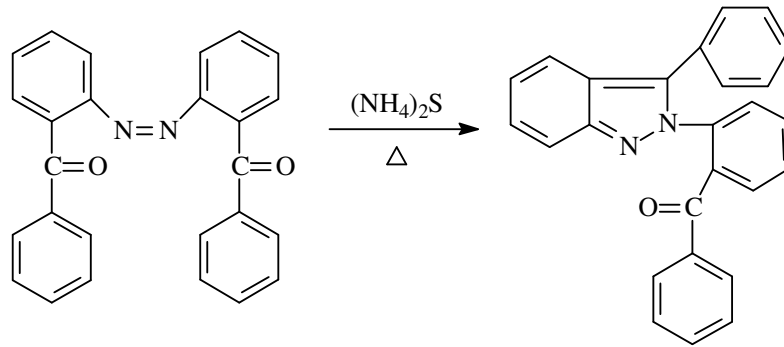


R: H, R, COR

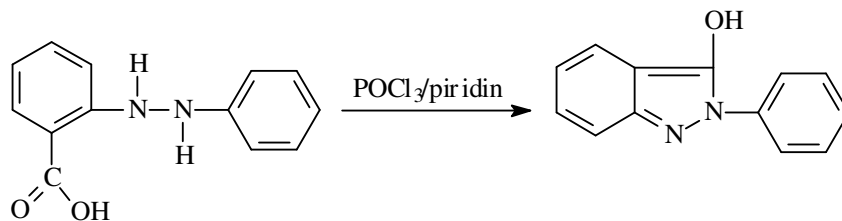
Aril-*o*-azobenzoik asitin fosforpentaklorür ile reaksiyonu sonucu 5-/7-kloro-3-hidroksi-2-arilindazoller elde edilir. Düşük sıcaklıklarda, 5-kloro ve 7-kloro türevlerinin bir karışımı elde edilirken, yüksek sıcaklıkta 5,7-dikloroindazol elde edilir (170).



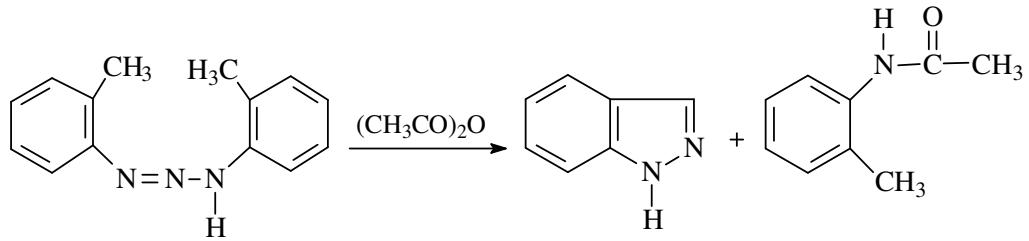
Azo-*o*-benzofenonun amonyum sülfid varlığında ısıtılması sonucu 2-(*o*-benzoilfenil)-3-fenilindazol oluşmuştur (170).



Hidrazino bileşiklerinden de indazol türevlerine geçilebilir. 2-(Fenilhidrazino)benzoik asit, fosforoksitriklorür ve piridin varlığında 3-hidroksi-2-fenilindazolü verir (170).

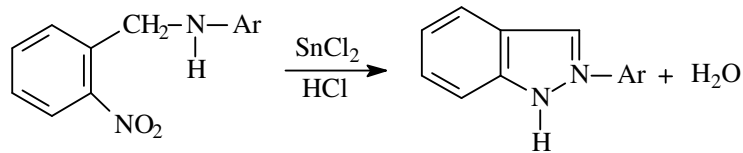


o-Tolilaminoazo-*o*-toluenin asetik anhidrit varlığında ısıtılmasıyla indazol ve *o*-metilasetanilit elde edilir (170).



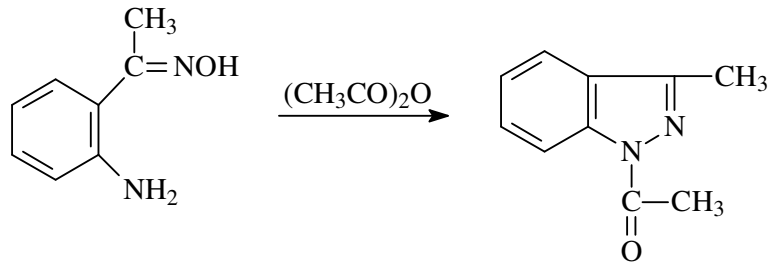
Tip B Sentez Yöntemi

o-Nitrobenzilanilinlerin kalay ve hidroklorik asit kullanılarak yapılan redüksiyonu sonucunda indazoller elde edilmiştir (170, 182).

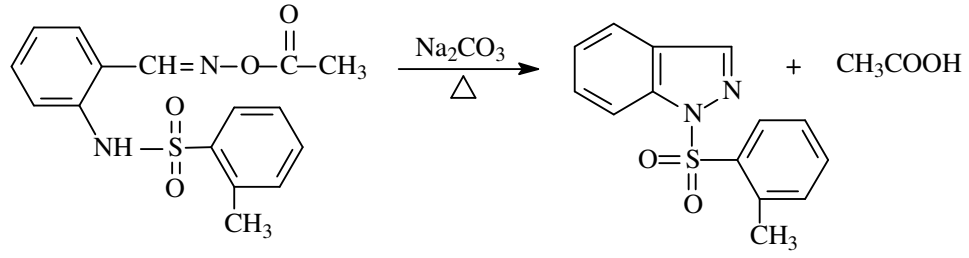


Aril grubu yapısının verim üzerinde etkili olduğu; aril grubunun fenil, *p*-tolil, *m*-karboksifenil olduğu zaman verimin iyi, *o*-tolil, *m*-klorofenil, *p*-klorofenil, *p*-anisil olduğu zaman ise düşük olduğu bildirilmiştir. Aril grubu *o*-bromofenil, *p*-bromofenil, *p*-etoksifenil, α -naftil veya β -naftil olduğu durumda ise reaksiyonun yürümediği ve indazol oluşumunun gözlenmediği tespit edilmiştir (170).

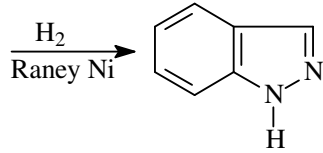
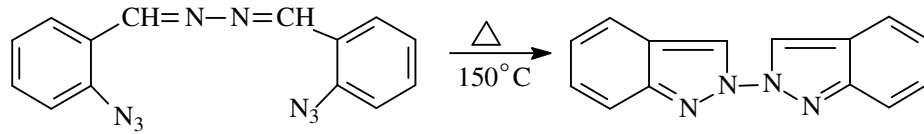
o-Aminoasetofenon oksiminin asetik anhidritle dehidrasyonu sonucu 1-asetil-3-metilindazolün oluştuğu bildirilmiştir (169).



Oksim asetatların tosil türevleri de sodyum karbonat varlığında ısıtıldığında indazoller verir (183).

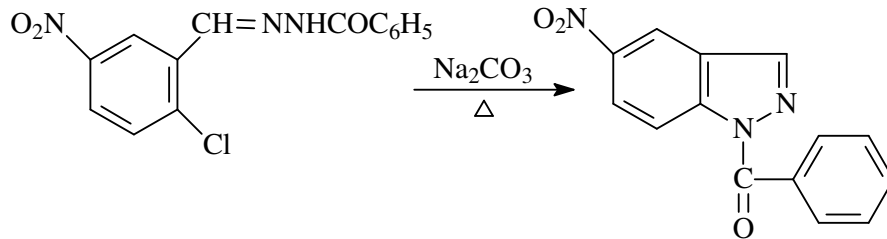


1,2-Bis(2-azidobenziliden)hidrazinin 150°C 'de ısıtılması ile bisindazol türevinin, bu maddenin de katalitik redüksiyonu ile indazol yapısının olduğu bildirilmiştir (184).

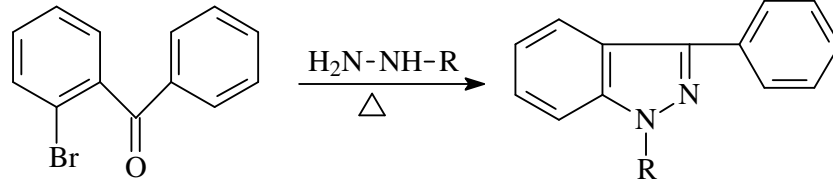


Tip C Sentez Yöntemi

Meisenheimer ve Senn (185), 2-kloro-5-nitrobenzaldehit N-benzoil hidrazonundan, yüksek sıcaklıkta ve potasyum karbonat varlığında 5-nitro-1-benzoilindazol elde ettiklerini bildirmişlerdir.



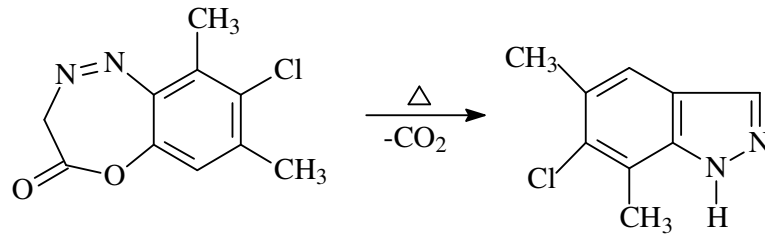
Hidrazin türevleriyle *o*-bromobenzofenonun reaksiyonu sonucu, 3-fenilindazol ya da 1,3-difenilindazol elde edilir (170).



R: H, C_6H_5

Diğer Yöntemler

7-Kloro-2-okso-6,8-dimetil-2,3-dihidro-1,4,5-benzoksadiazepinin pirolizi ile karbondioksit çıkışına bağlı olarak 6-kloro-5,7-dimetil-1*H*-indazol yapısının elde edildiği bildirilmiştir (170).



2.2.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

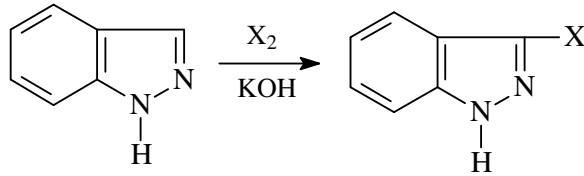
Fiziksel Özellikleri

Sıcak suda ve organik çözücülerin çoğunda çözünen indazolün erime derecesi 145-149 °C'dir. Kaynama noktası 743 mmHg altında 269-70 °C iken (170), 15 mmHg altında 146 °C'dir (186). Su banyosunda (170) veya buhar altında (170) süblime olabilir. Dipol moment, 1.83 D olarak (170), pK_a değeri ise 1.3 ± 0.2 olarak ölçülmüştür (187).

Kimyasal Özellikleri

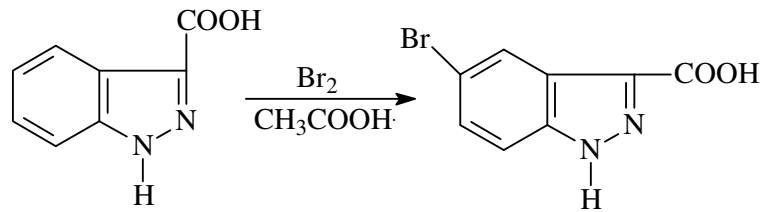
İndazol halkası üzerinde halojenlerle yapılan elektrofilik süstitüsyon reaksiyonlarının üçüncü, beşinci ve yedinci konumlardan yürüdüğü, halka azotu üzerinde süstitüent taşımayan indazollerin tercihen üçüncü konumdan

halojenlendiği belirtilmiştir. Halojenleme işlemi klorla yapılırken halkayı monokloro aşamasında tutmak kolay iken, bromlama yapılırken halkayı monobromo aşamasında tutmanın zor olduğu bildirilmiştir (188).

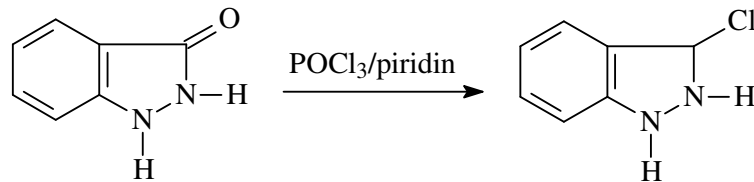


X: Cl, Br, I

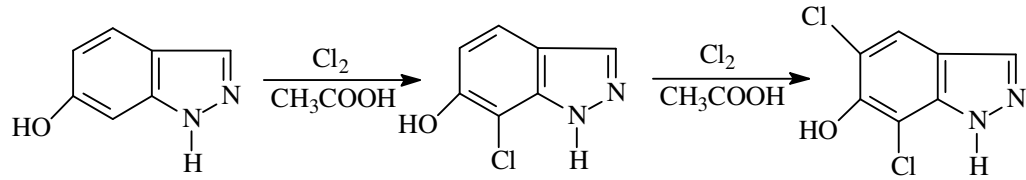
Eğer üçüncü konumda bir süstitüent varsa, halojenlemenin beşinci konumdan gerçekleştiği, örneğin indazol-3-karboksilik asitin bromlanmasıyla, 5-bromoindazol-3-karboksilik asitin elde edildiği belirtilmiştir (189).



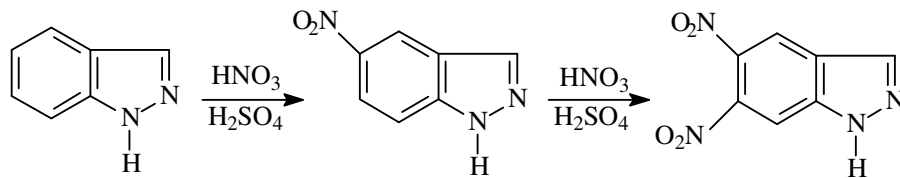
İndazol-3-onun fosforoksitriklorür ile piridin içerisindeki reaksiyonu sonucu 3-kloroindazolün oluştuğu bildirilmiştir (170).



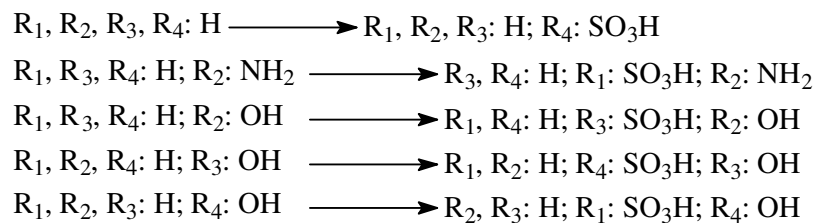
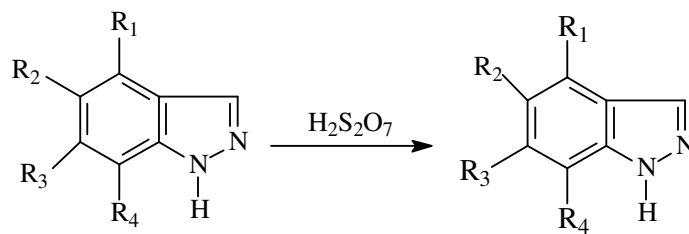
Elektrofilik süstitüsyonun yeri, indazol çekirdeğinin benzen halkasında aktive edici grupların bulunmasına göre değişiklik gösterir. Örneğin 6-hidroksiindazolün klorlanmasının 7-kloro-6-hidroksiindazolü verdiği, klorlama işlemi devam ettirilirse 5,7-dikloro-6-hidroksiindazolün oluştuğu bildirilmiştir (170).



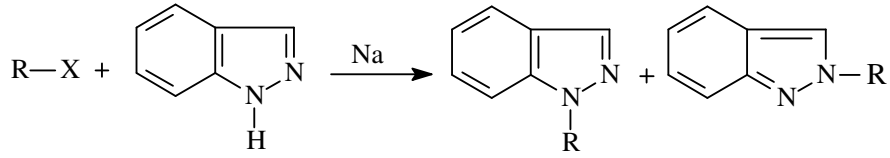
İndazolün dumanlı nitrik asitle nitrolanması sonucu öncelikle 5-nitroindazol, nitrolama işlemine devam edildiğinde ise 5,6-dinitroindazolün elde geçtiği tespit edilmiştir (170).



İndazollerin %20 dumanlı sülfürik asit (oleum) ile reaksiyonu sonucu indazol-7-sülfonik asitler elde edilir (170, 190). Ancak halkadaki sübstitüentlerin yapısına ve konumuna göre değişik türevlerin elde edildiği de bildirilmiştir. Örneğin 5-aminoindazolün dumanlı sülfürik asitle muamelesi sonucu 5-aminoindazol-4-sülfonik asit (190), 5-hidroksiindazolün reaksiyonu sonucu 6-sülfonik asit, 6-hidroksiindazolün reaksiyonu sonucu 7-sülfonik asit ve 7-hidroksiindazolün reaksiyonu sonucu ise 4-sülfonik asitin oluştuğu belirtilmiştir (191).

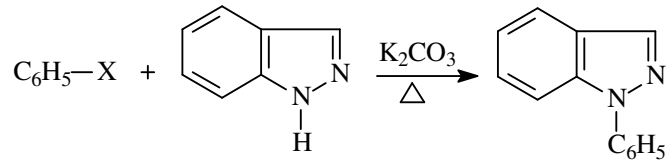


1-/2-Nonsüstitüe indazollerin alkil halojenürlerle reaksiyonu sonucu 1- ve 2-alkilindazollerin karışımının elde edildiği bildirilmiştir (192).



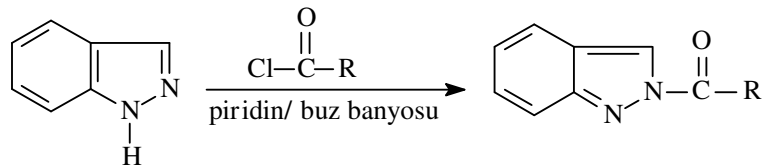
X: Cl, Br

İndazollere aril süstitüsyonunun zor olduğu, fakat halkanın potasyum karbonat varlığında aril halojenürlerle uzun süre ısıtılması sonucu süstitüsyonun gerçekleştiği tespit edilmiştir (170).



X: Cl, Br, I

İndazollerin iki numaralı konumdan açıl grubu ile süstitüe oldukları, reaksiyonun buz banyosunda, eter içindeki indazolün, piridin içerisinde asit klorürle reaksiyonu sonucu gerçekleştiği bildirilmiştir (170).



Alifatik ve aromatik asit klorürlerin yanında fosgen ve kloroformik esterleri de indazolleri açillemek için kullanılmaktadırlar (170, 188, 193, 194).

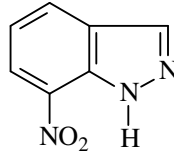
2.2.3. Biyolojik Özellikleri

Nitrik Oksit Sentez İnhibitörü

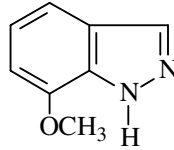
Nitrik oksit, arteriyel damarları genişleterek homeostaziyi sağlar ve merkezi sinir sisteminde, uzun süreli depresyon, ağrı iletimi, migren, merkezi etkili bileşiklere tolerans gelişimi gibi bir çok işlemde görev alır. Memelilerde, nitrik oksit sentezi L-arjinin aminoasidinin oksidasyonu ile gerçekleşir ve katalizör olarak nitrik oksit sentazın (NOS) üç majör izoformu kullanılır.

Moore ve diğ. (195), NOS₁ alt reseptörüne, NOS₂'den 10 kat daha fazla selektivite gösteren 7-nitroindazolün L-arjinin ve kofaktör BH₄ ile, NOS₁ alt reseptörünü inhibe etmesine bağlı olarak kan basıncını artırmadan ağrı kesici aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

7-Nitroindazolün aynı zamanda felç ve Parkinson'a karşı kullanılan çok iyi bir koruyucu bileşik olduğu bildirilmiştir (196).



7-Metoksiindazol üzerinde yapılan bir çalışmada, bileşiğin NOS₁ ve NOS₃ alt reseptörlerine selektivite gösterdiği, NOS₂ alt reseptörünü ise hiç etkilemediği saptanmıştır (197).

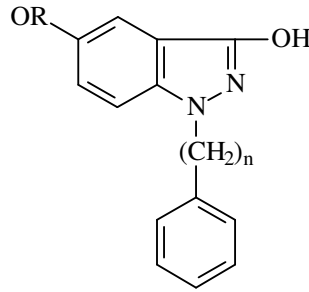


Antienflamatuvar Aktivite

Fosfodiesteraz-4 (PDE-4), enflamasyonun düzenlenmesi ve immün hücre aktivasyonunda önemli rol oynayan bir fosfodiesterazdır. İndazol yapısının da PDE-4'e karşı güçlü inhibitör etki gösterdiği belirtilmiştir. PDE-4'ü inhibe edip, diğer

PDE alt türlerine karşı düşük aktivite gösteren indazol moleküllerinin, enflamasyon mediyatörlerinin salımını engellediğinden, alerjik rinit, artrit, dermatit gibi bir çok enflamatuvar hastalık tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir (198).

5-Lipoksijenaz (5-LOX) enzimi tarafından oluşturulan lökotrienler, enflamasyon işleminde görev alan önemli mediyatörlerdendir. Bu enzimin inhibisyonu, astım ve diğer alerjik rahatsızlıkların tedavisinde umut verici olmuştur. Bu amaçla indazol-3-ol türevleri denenmiş ve 1-benzil-3-hidroksi-5-metoksi/hidroksi türevlerinde aktivite tespit edilmiştir. Benzil yapısına halojen geldiğinde aktivitenin arttığı, benzilin heterosiklik analoglarında ise aktivitenin görülmediği gözlenmiştir. İndazol iskeleti ile aril grubu arasındaki mesafenin yapı için önemli olduğu ve en yüksek aktivitenin propil ve allille yapılan bağlantılarda görüldüğü bildirilmiştir (199).

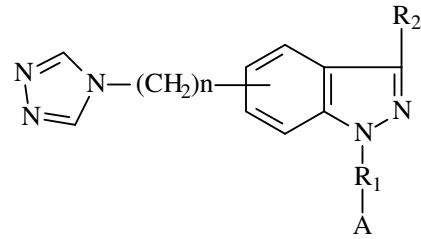


R: H, CH₃

Serotonin Agonist ve Antagonisti Aktivite

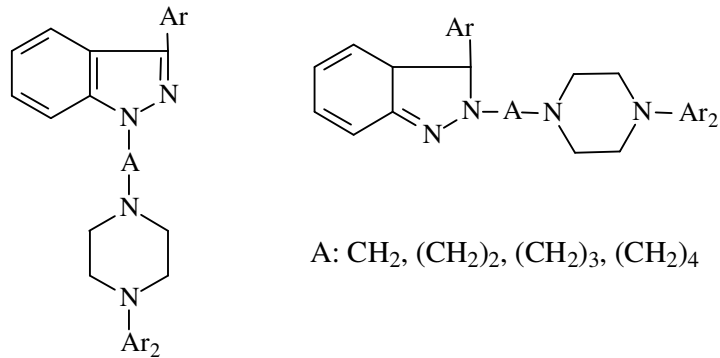
Serotonin reseptörleri (5-HT) kendi içinde alt gruplara ayrılır. Alt grup reseptörlerinden bazıları karakterize edilip isimlendirilmişken, bazılarının yapısı hala netlik kazanmamıştır. Serotonin reseptörleri, venöz sistem ve beyinde mevcuttur. Aktivasyonları veya inhibisyonlarının birçok santral sinir sistemi bozukluğunun kökeni olabileceği belirtilmiştir (198).

Siklik bir amin yan zinciri taşıyan ve alkyltriazol sübstitüe indazol türevlerinin, 5HT_{1B} ve 5-HT_{1D}' ye karşı selektivite gösterdiği ve bu nedenle venöz yetersizliklere bağlı ağrı, migren, hipertansiyon, obezite ve beslenme bozukluklarında, tedavi amaçlı kullanılabileceği bildirilmiştir (198).



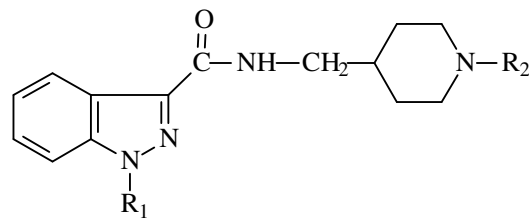
A: pirrolidin, piperidin

Arilpiperazinler 1-/2-indazol yapısına alifatik bir zincirle bağlandığında 5-HT_{1A} reseptörlerine afinite gösterdiği, alifatik zincir kısaysa antagonist; uzunsu kısmi agonist ve antagonist etki gösterdiği bildirilmiştir (200).



A: CH₂, (CH₂)₂, (CH₂)₃, (CH₂)₄

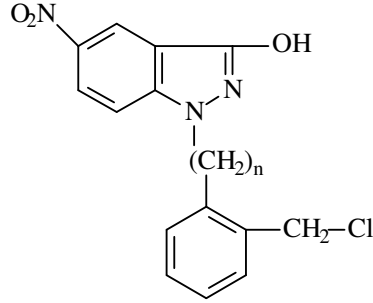
İndazol-3-karboksamit türevlerinin de 5-HT₄ reseptörüne karşı agonist aktivite gösterdiği ve bu nedenle kronik gastrit, peptik ülser, diabetes mellitus ve gastroözofagal reflü gibi hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir (198).



Antikanser Aktivite

İndazol-3-ol, 1-sübstitüe indazol türevleri ve kondanse indazol-3-on türevlerinde önemli sitostatik aktiviteler tespit edilmiştir. Sentezi yapılanlar arasında

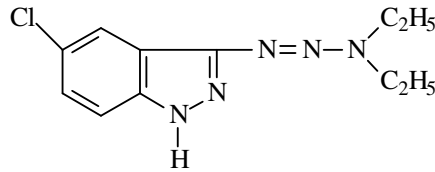
en aktif olan moleküller, 1-(o-klorometilbenzil)-5-nitro-1*H*-indazol-3-ol ve 1-(o-klorometilfenetil)-5-nitro-1*H*-indazol-3-ol olarak bulunmuştur (198).



n: 1, 2

Bazı araştırmacılar (198), indazol türevlerinin bazı kinazları modüle veya inhibe ettiğini bildirmişlerdir. 3-/ 6-Aril süstitüe indazol moleküllerinin tirozin kinaz sinyal transdüksiyonuna yardımcı oldukları, böylece istenmeyen hücre yenilenmesini önledikleri gösterilmiştir. Bu bileşiklerin, kanser tedavisinde ve istenmeyen anjiyogenez ve/veya hücre yenilenmesi ile birlikte gelişen diyabetik retinopati, neovasküler glokom, romatoid artrit gibi semptomlarda kullanılabileceği belirtilmiştir (198).

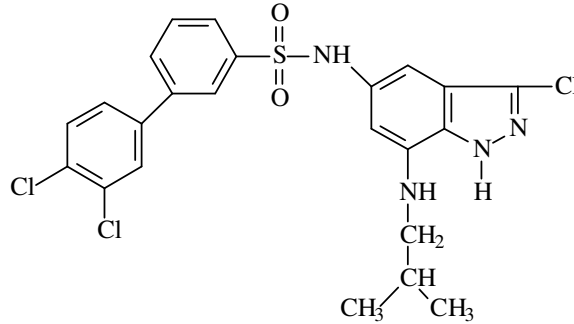
Bazı triazenoindazol türevleri de lösemi ve diğer tümörlü hücre dizilerine karşı alkilleyici olarak tedaviye girmiştir. Diana ve diğ. (201), yaptıkları çalışmalarda 3-(3,3-dietiltriazeno)-5-kloro-1*H*-indazol bileşiğini en aktif bileşik olarak belirlemişlerdir.



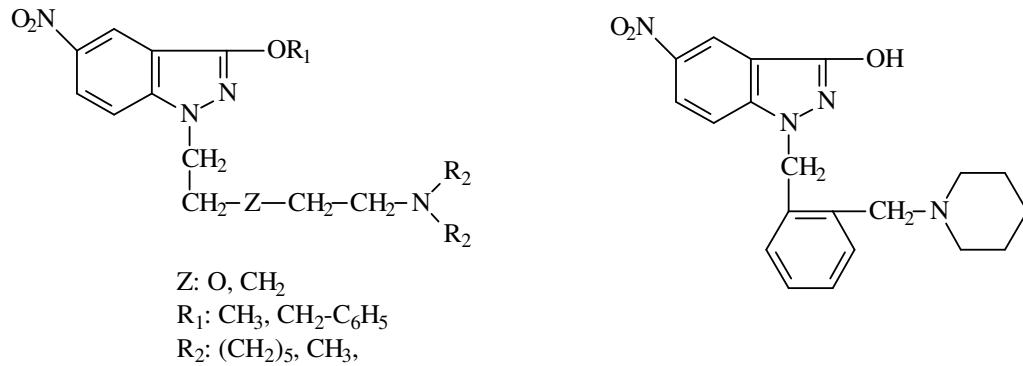
Antimikrobiyal ve Antiparazit Özellikleri

Li ve diğ. (202), sentezini yaptıkları 5-(biriarsülfonamido)indazol türevlerinin, DNA ve protein sentezinde etkin olan *S*-adenozil homosistein/metiltiyoadenozin (SAH/MTA) nükleozidaz enzimini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Sentezi yapılan bileşikler arasında en aktif bulunan, 3-kloro-5-[3-(3,4-diklorofenil)fenil]sülfonamido-7-izobütilamino-1*H*-indazoldür. Bu bileşik aynı zamanda *Neisseria*

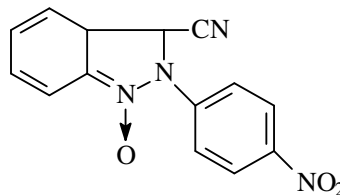
meningitidis, *Streptococcus pneumoniae* ve *S. pyogenes* türlerine karşı da etkili bulunmuştur.



Aran ve diğ. (203), 3-alkoksi veya 3-hidroksi-1-[ω-(dialkilamino)alkil]-5-nitroindazol türevlerinin antiprotozoal aktivitelerini çalışmışlar ve bileşiklerin bir kısmının *Trichomonas vaginalis* bir kısmının da *Trypanosoma cruzi*'ye karşı yüksek aktivite gösterdiğini bulmuşlardır.



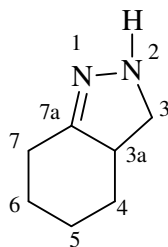
2-Alkil veya 2-aril-3-siyano-2*H*-indazol-1-oksit türevleri üzerine yapılan bir çalışmada 2-(4-nitrofenil)-3-siyano-2*H*-indazol-1-oksit molekülünde *T. cruzi*'ye karşı en yüksek aktivite tespit edilmiştir (198).



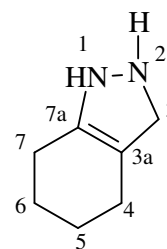
Bunların yanında, indazollerin çözünür guanilat siklaz enzim (sGC) aktivatörü, Rho Kinaz inhibisyonundan kaynaklı antiiskemik ve kalsiyum kanal regülatörü aktiviteleri de görülmüştür (198).

2.3. HEKZAHİDROİNDAZOLLER

3,3a,4,5,6,7-Hekzahidro-2*H*-indazol ve 2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1*H*-indazol olarak isimlendirilen hekzahidroindazoller, indazollerin redüklenmiş türevleridir ve çifte bağın yerine göre farklı şekillerde isimlendirilebilirler.



Hekzahidro-2*H*-indazol



Hekzahidro-1*H*-indazol

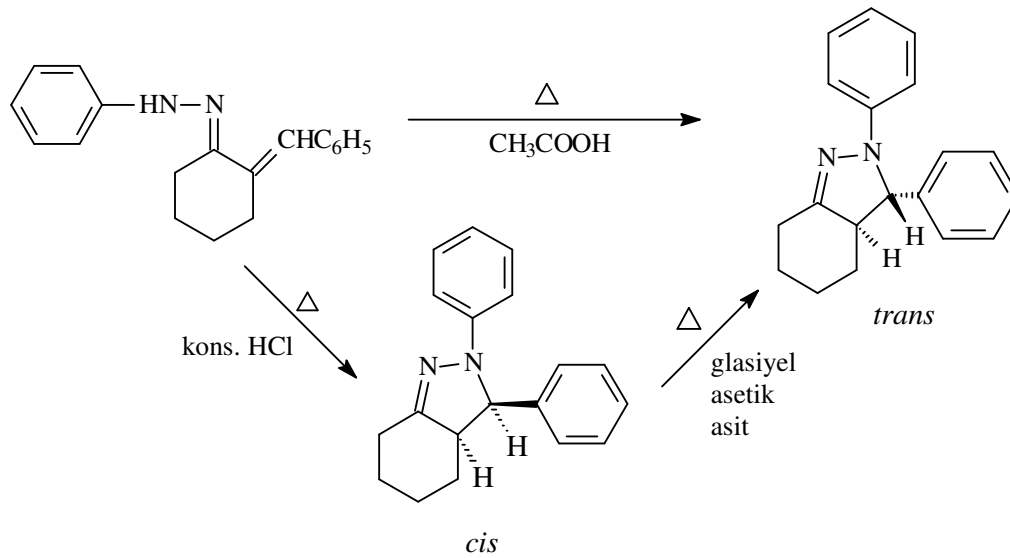
2.3.1. Sentez Yöntemleri

Hidrazin Türevlerinden Hareketle Yapılan Sentezler

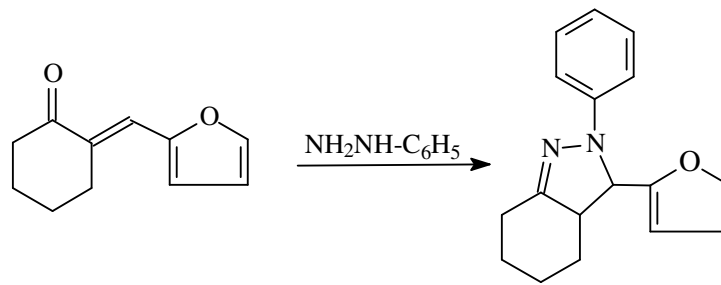
Hidrazin türevlerinden hareketle yapılan sentezler, hekzahidroindazol türevlerinin genel sentez yöntemidir. Hidrazin türevlerinin reaksiyona girdiği şalkonlara göre gruplara ayrılabilir.

Monosüstitüe sikloalkanon türevleri ile yapılan sentezler

Hassner ve Michelson (204), 2-benzilidensikloheksanon fenilhidrazonunu asetik asit içinde ısıttıklarında *trans*-2,3-difenil-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazolü, hidroklorik asit varlığında ısıttıklarında ise aynı bileşiğin *cis* izomerini elde etmişlerdir. Ayrıca *cis* izomerin derişik asetik asit içerisinde ısıtılmasıyla *trans* izomere döndüğünü de göstermişlerdir.

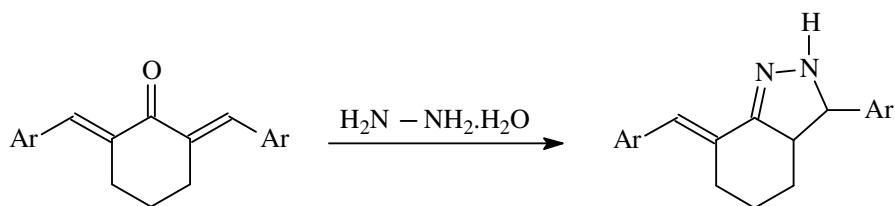


Kriven'ko ve diğ. (205), furfuralidensikloheksanonlar ile hidrazin ya da süstitüe hidrazinlerin reaksiyonu sonucu süstrat yapısına, aminleyici bileşimin nükleofilitesine ve reaksiyon koşullarına bağı olarak heksahidroindazol türevlerinin elde edildiğini, bunun yanında azinlerin, pirazolinlerin ve hidrazonların da oluştuğunu bildirmişlerdir. 3-(2-Furil)-2-fenil-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2*H*-indazol sentezi alkol içinde yapıldığında reçineleşme olduğu, eter-heksan gibi aprotik çözücüler içerisinde ise reçineleşme olmadan, düşük verimle yapılabildiği bildirilmiştir.



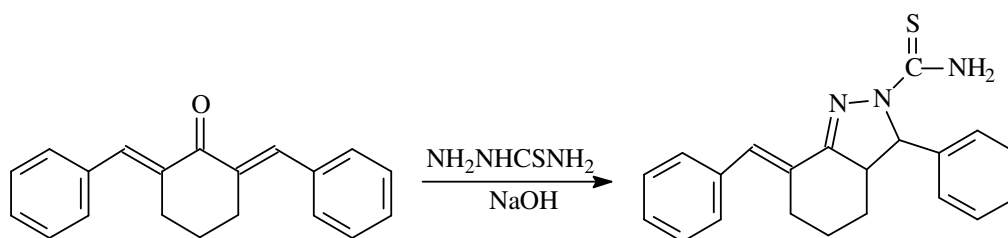
Disüstitüesikloalkanon türevleri ile yapılan sentezler (simetrik)

Diarilidensikloheksanonun hidrazin hidratla reaksiyonu sonucu 3-aril-7-ariliden-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2*H*-indazollerin oluştuğu bildirilmiştir (206, 207).

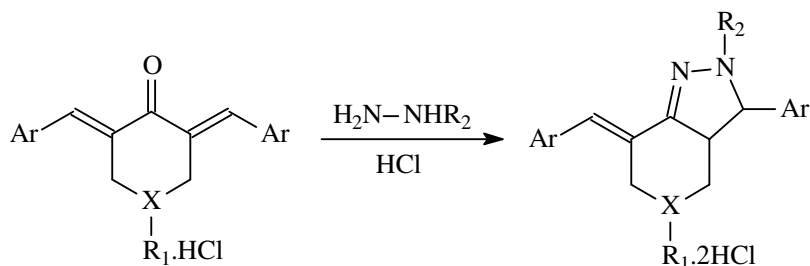


Ar: α -naftil, β -naftil, C_6H_5

Nasr ve Said (122), 2,6-bis-benzilidensikloheksanonun tiyosemikarbazitle sodyum hidroksit varlığında reaksiyonu sonucu 7-benziliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-3-fenil-2-tiyokarbamoil-2*H*-indazolü *cis* ve *trans* izomerleri (*trans* ürün major olmak üzere) halinde elde etmişler ve bu izomerlerin kolon kromatografisi ile ya da metanolden fraksiyonlu kristallendirme ile ayrılabilceğini bildirmişlerdir.

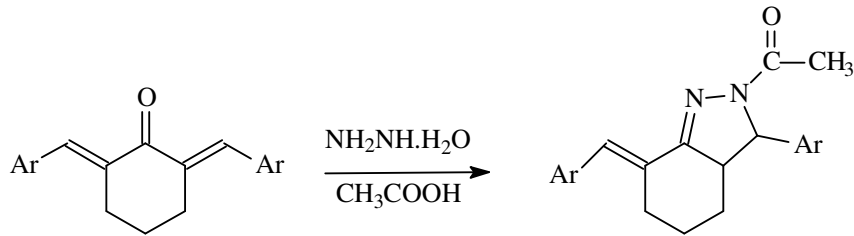


Krapcho ve Turk (208), 2,6-dibenzilidensikloheksanon ve 1-süstitüe-3,5-dibenziliden-4-piperidonu, süstitüe hidrazinlerle hidroklorik asit varlığında reaksiyona soktuklarında 7-benziliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2-süstitüe-3-fenil-2*H*-indazol ve 7-benziliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2,5-disüstitüe-3-fenil-2*H*-pirazolo[4,3-*c*]piridinin hidroklorür tuzunu elde etmişlerdir.

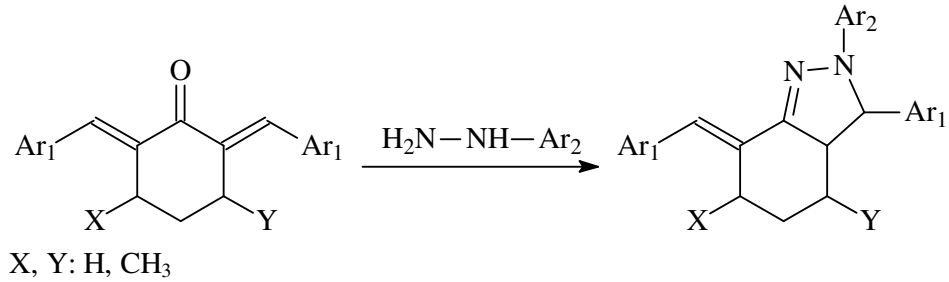


X: CH_2 , N; R_1 : R, H, COR, $CONH_2$, $CONHR$, $RCOR$; R_2 : R, COR,

Vijayabaskar ve diğ. (209), diarilidensikloheksanonlar ile hidrazin hidratın asetik asit içerisindeki reaksiyonu sonucu 2-asetil-3-aril-7-ariliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol türevlerini *cis* ve *trans* izomerleri halinde elde etmişler, aril grubunun fenil ve *p*-anisil olduğu bileşiklerde izomerlerin ayrıldığını, *p*-tolil ve *o*-klorofenil türevlerinde ise ayırlamadığını bildirmişlerdir.

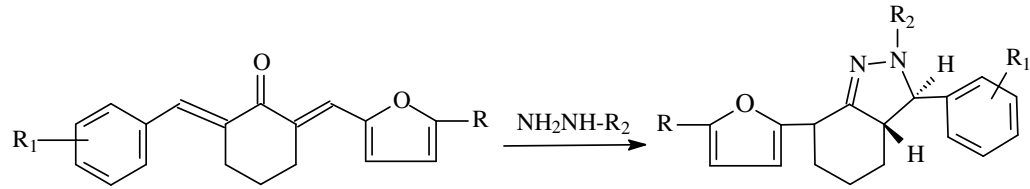


Abakumov ve diğ. (210), 2,6-bisaryliden-sikloheksanon türevlerini sübstitüe hidrazinlerle reaksiyona sokarak 3-aril-7-ariliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol türevlerini elde etmişlerdir. Elde ettikleri ürünlerin N-aril grubundaki sübstitüentlerin elektronik doğasına göre farklılık gösterdiğini, aril grubu nonsübstitüe fenilhidrazin olduğunda *trans* bileşiklerin, 4-nitrofenilhidrazin olduğunda ise *cis* bileşiklerin oluştuğunu bildirmişlerdir.



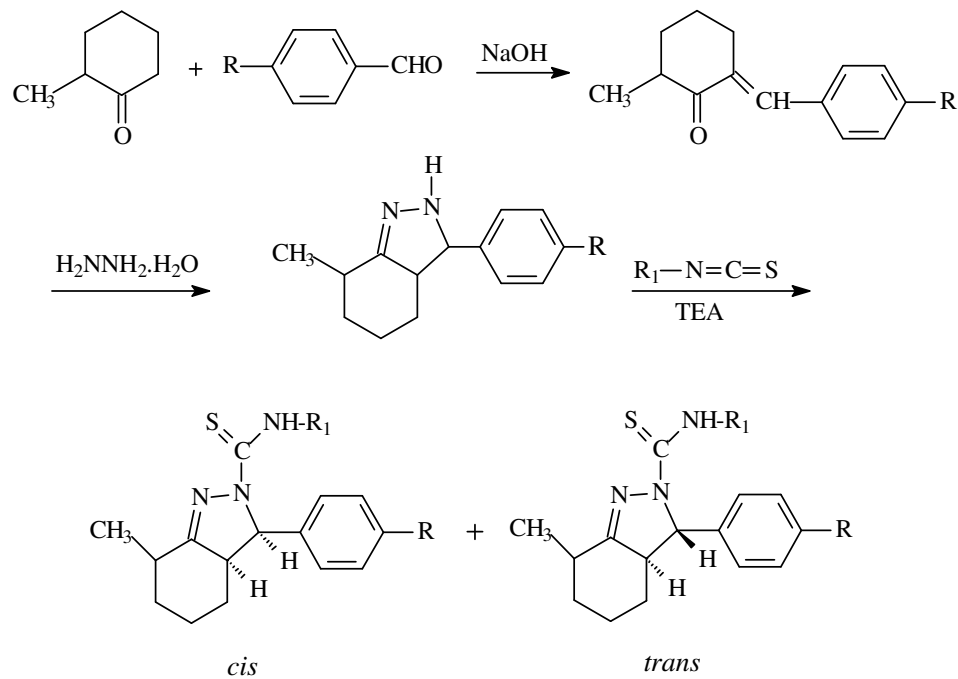
Disübstitüe sikloalkanon türevleri ile yapılan sentezler (asimetrik)

2-Furfuriliden-6-benziliden-sikloheksanon türevlerinin hidrazin (211) ve fenilhidrazin (211, 212) ile muamelesiyle *trans*-3-fenil-7-furfuriliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol türevlerinin sentezi yapılmıştır.



R: H, CH₃, NO₂; R₁: H, 3-NO₂, 4-OCH₃, 4-Br, 2-Cl, 2-F; R₂: H, C₆H₅

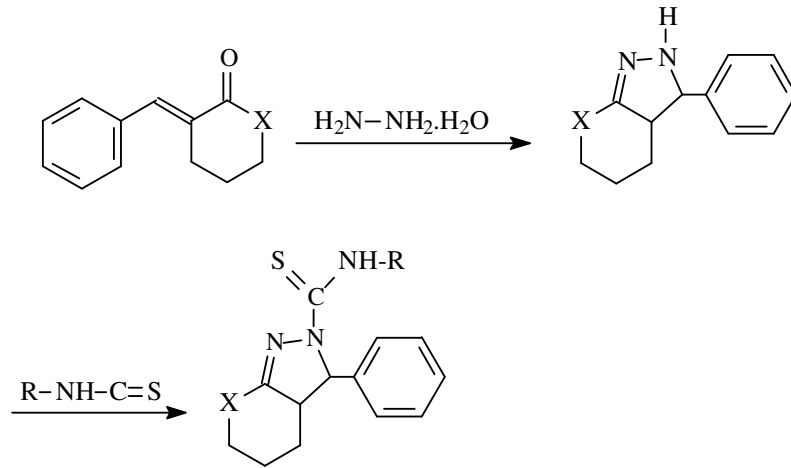
Yeşilada ve diğ. (25), 2-metilsikloheksanon ile benzaldehitin bazik ortamda reaksiyonu sonucu elde ettikleri şalkon türevlerinin hidrazin hidratla reaksiyonu sonucu 3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol türevlerini ve bunların trietilamin varlığında izotiyosiyanat bileşikleriyle reaksiyonu sonucu 7-metil-3-(fenil/4-metoksifenil)-2-(*N*-süstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol türevlerini *cis* ve *trans* izomerleri halinde elde etmişler; takiben bu izomerleri preparatif kromatografi ile ayırmışlardır.



R: H, OCH₃; R₁: C₂H₅, C₃H₅, C₆H₅

Mono ve disübstitüesikloalkanon türevleri ile yapılan sentezler

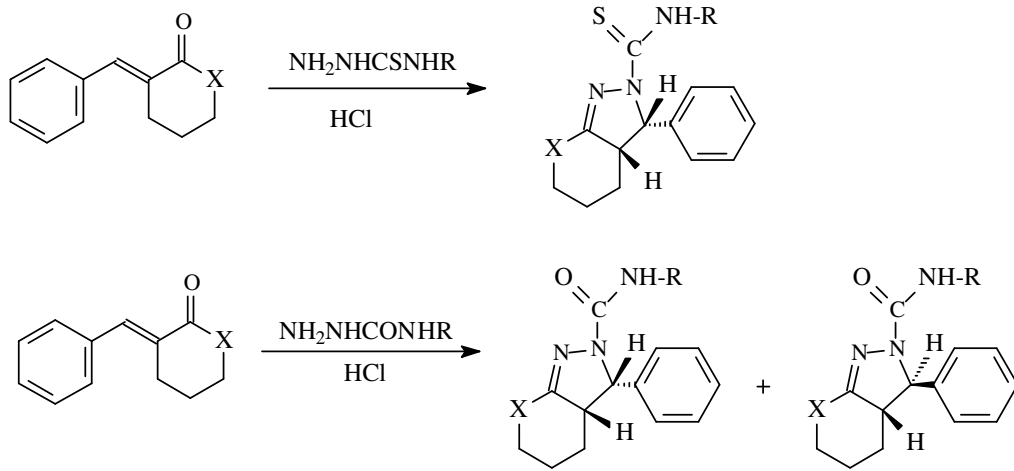
Bilgin ve diğ. (24), 2-benziliden ve 2,6-dibenzilidensikloheksanon ile hidrazin hidratın reaksiyonu sonucu 3-fenil-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol ve 3-fenil-7-benziliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol türevlerini elde etmişler; takiben ürünü izole etmeksizin, trietilamin varlığında izotiyosiyanat türevleri ile reaksiyona sokarak 3-fenil-7-benziliden-2-(*N*-sübstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol ve 3-fenil-2-(*N*-sübstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol bileşiklerinin sentezini yapmışlardır.



X: CH_2 , $\text{C}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_5$

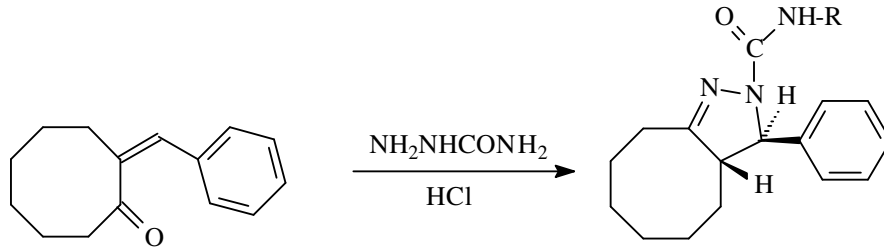
R: C_2H_5 , C_3H_5 , C_6H_5

Lorand ve diğ. (143, 213), benzilidensikloheksanon türevleri ile tiyosemikarbazit ve sübstitüe tiyosemikarbazitlerin asidik ortamda reaksiyonları sonucu 7-benziliden-2-tiyokarbamoil/sübstitüe tiyokarbamoil-3-fenil-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol ve 2-tiyokarbamoil/sübstitüe tiyokarbamoil-3-fenil-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol bileşiklerini *cis* izomerleri halinde, reaksiyonu aynı ortam şartlarında semikarbazitle denediklerinde ise *cis* ve *trans* izomerlerin karışımı halinde elde etmişlerdir.



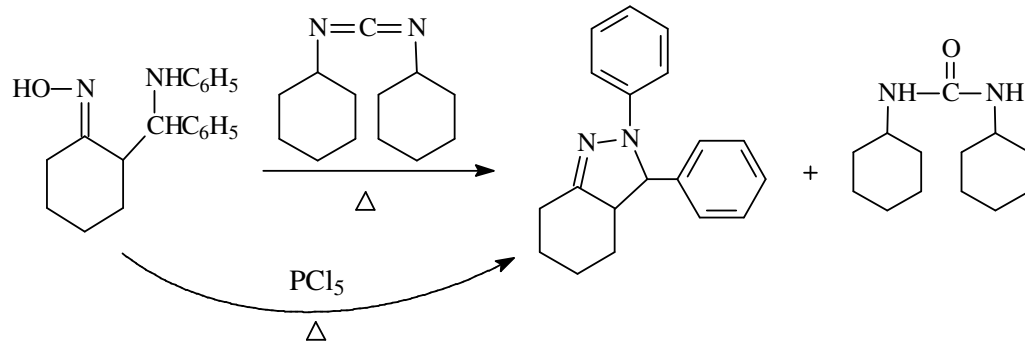
X: CH_2 , $(\text{CH}_2)_3$, $\text{C}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_5$; R: H, CH_3 , C_6H_5

Araştırmacılar semikarbaziti sikloheksanon yerine sikloheptanonla yaptıklarında ise sadece *trans* izomeri elde etmişlerdir (213).

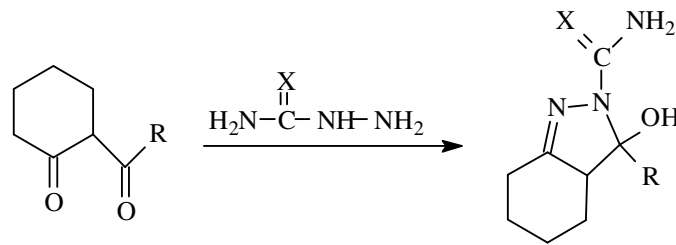


Diğer sentez yöntemleri

Hassner ve Michelson (204), 2-(α -anilinobenzil)sikloheksanon oksimi asetonitril içerisinde, *N-N'*-disikloheksilkarbodiimide ile ısıttıklarında *trans*-2,3-difenil-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol elde ettiklerini, aynı reaksiyonu tetrahidrofuran içinde yaptıklarında verimin düştüğünü bildirmişlerdir. Sonuç ürün, oksim türevinin fosfor pentaklorür ile kloroform içerisinde geri çeviren soğutucu altında ısıtılmasıyla da elde edilmiştir.

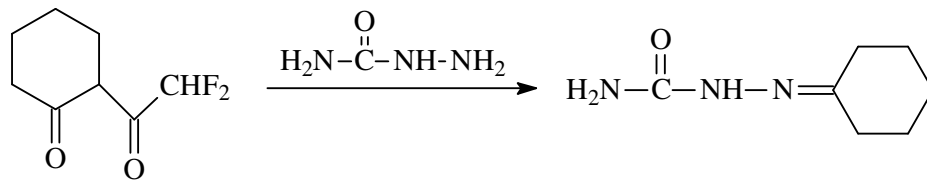


Pashkevich ve diğ. (214), 2-polifluoroaşılsikloheksanonların semikarbazit ve tiyosemikarbazitlerle reaksiyonu sonucu 2-karbamoil/tiyokarbamoil-3-hidroksi-3-sübstitüe-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol yapısının elde edildiğini bildirmişlerdir.



X: S, O; R: HCF_2 , CF_3 , $\text{H}(\text{CF}_2)_2$, $\text{n-C}_4\text{F}_9$, $\text{n-C}_6\text{F}_{13}$, nC_8F_{17}

Bu bileşiklerden farklı olarak 2-difluoroasetilsikloheksanonun, semikarbazitle reaksiyonu sonucu sikloheksanon semikarbazonu elde edildiği, bu duruma sikloheksanon türevi başlangıç ürününün ketonik yarılmasının neden olduğu ileri sürülmüştür (214).



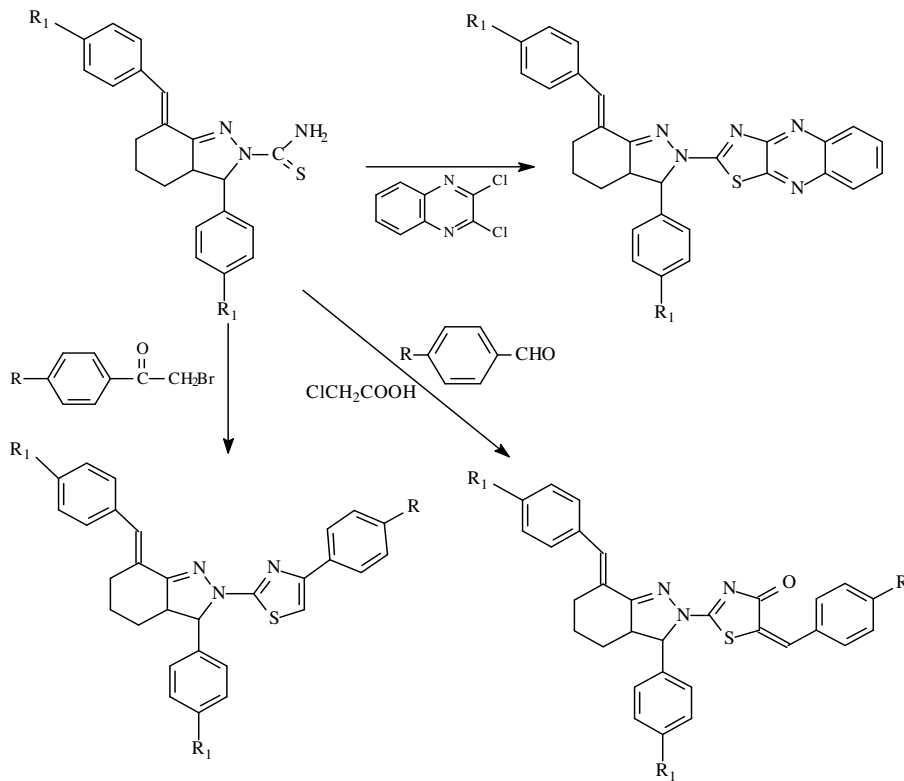
2.3.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Fiziksel Özellikleri

Zayıf bazik karakterde, pK_a değeri 5.55 ± 0.20 olan nonsüstitüe 3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol 12 torr basınç altında kaynama noktası 104-105 °C olan bir sıvıdır (215). Moleküle süstitüentlerin takılmasıyla beyaz veya sarı renkte kristaller oluşur. Aseton, kloroform, benzen gibi organik çözücülerde çözünürken, suda çözünmezler.

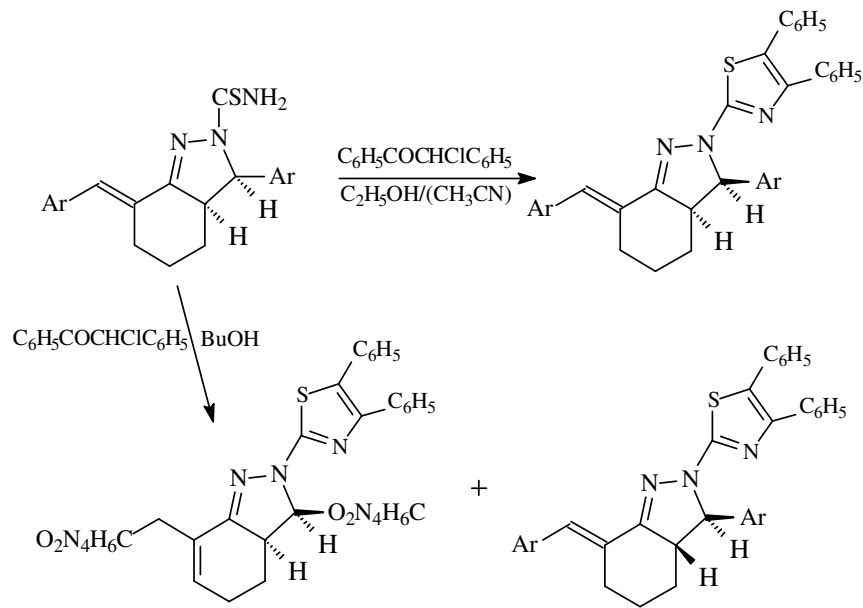
Kimyasal Özellikleri

Nasr ve Said (122), 2-tiyokarbamoil-3-fenil-7-benziliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazolün 4-süstitüe fenaçil bromür ile reaksiyonu sonucu 2-(4-aril-2-tiyazolil)-3-fenil-7-benziliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazolü, aromatik aldehit ve kloroasetik asit ile reaksiyonu sonucu 2-(5-ariliden-4,5-dihidro-4-okso-2-tiyazolil)-3-fenil-7-benziliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazolü ve 2,3-diklorokinoksalin ile reaksiyon sonucu 7-benziliden-3-fenil-2-(tiyazolo[4,5-*b*]kinoksalin-2-il)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazolü elde etmişlerdir.

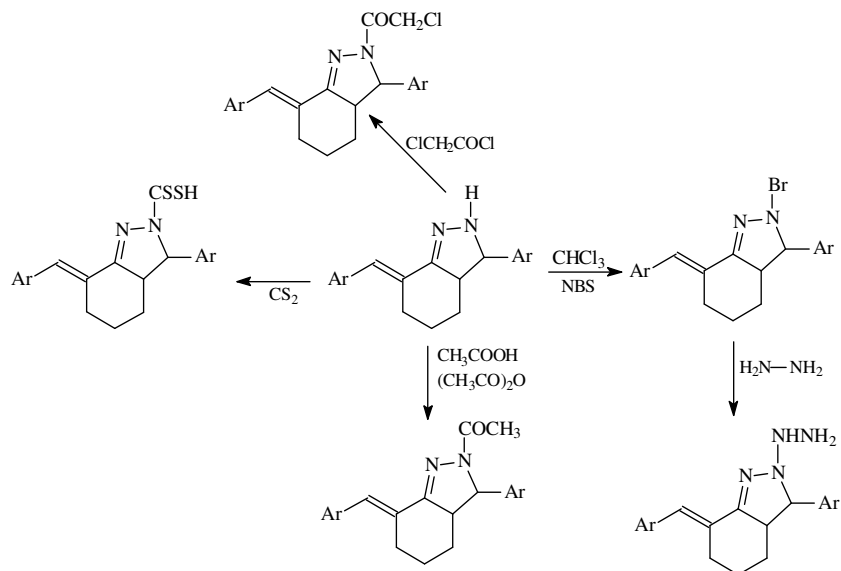


R: Br, Cl, NO₂, N(CH₃)₂; R₁: H, Br, C₆H₅

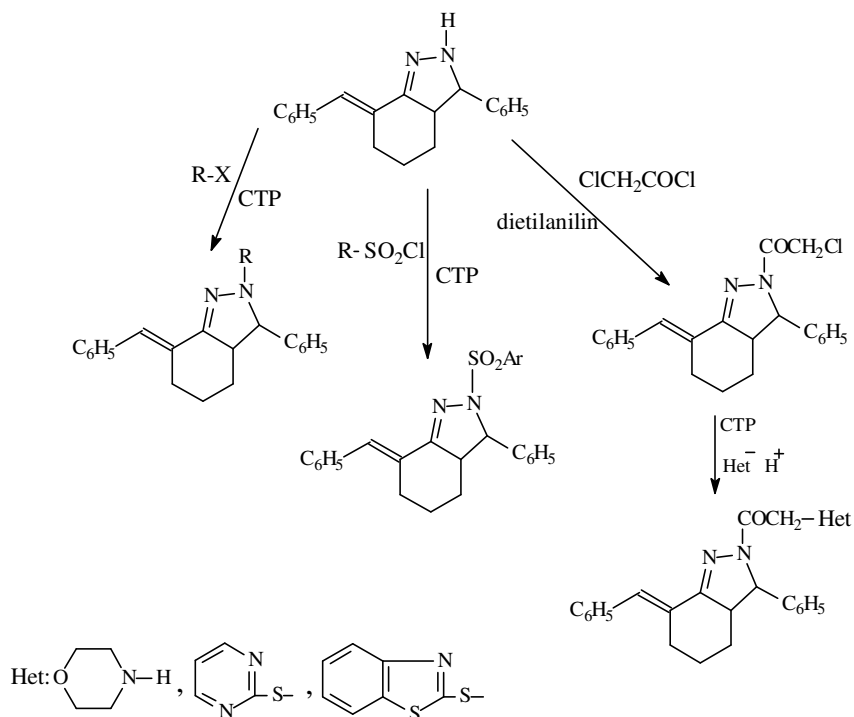
Gella ve diğ. (216), 3-aril-7-ariliden-2-tiyokarbamoil-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol ile α -klorodeoksibenzoini reaksiyona sokarak bileşiğin difeniltiyazolil türevlerini elde etmişlerdir. Aril grubu 4-nitrofenil olduğunda (nitro sübstitüenti çözünürlüğü düşürüp reaksiyon süresini uzattığı için) çözücü olarak bütanolü kullanmışlar ve bir izomer çifti elde etmişlerdir. Yapılan spektral analizde *trans* ürünün oluştuğu, *cis* izomerin ise etanole asetonitril ilavesiyle oluştuğu bildirilmiştir.



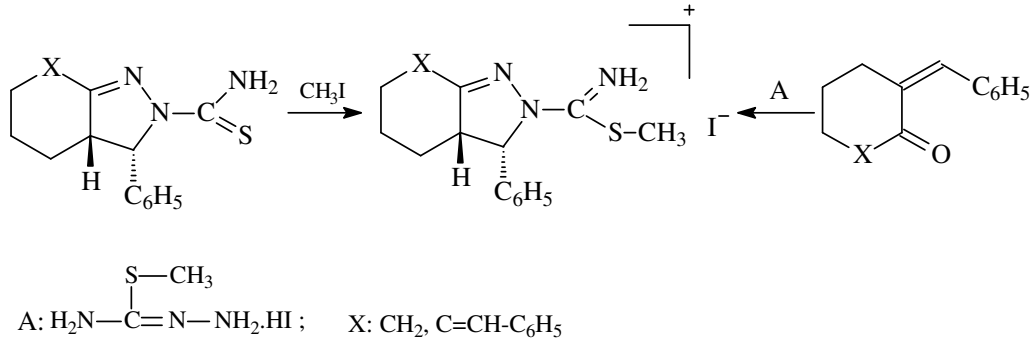
Hekzahidroindazol halkasının sübstitüsyon/katım reaksiyonlarının halkanın iki numaralı azotu üzerinden yürüdüğü bildirilmiştir. Halkanın kloroasetil klorür ve asetik asit ya da asetik anhidrit ile elektrofilik sübstitüsyon reaksiyonu sonucu sırasıyla 2-kloroasetil ve 2-asetil, N-bromosüksinimit (NBS) ile radikalik sübstitüsyon reaksiyonu ve takiben hidrazinle muamelesi sonucu sırasıyla 2-bromo ve 2-hidrazino, karbon sülfürle katım reaksiyonu sonucu ise 2-karboditiyoik asit türevi elde edilmiştir (207).



El-Shafei ve diğ. (2006), katı-sıvı çift fazlı sistemde (CTP) heksahidroindazol türevlerinin katalitik alkilleme, sülfolama ve açılme reaksiyonu sonucu 2-alkil, 2-arilsülfonil ve 2-asetil türevlerini elde etmişlerdir. Bu sistemlerde organik fazı oluşturan aprotik solvana katı sodyum veya potasyum karbonatın sıvı kısımda süspande edilerek katı-sıvı çift fazlı sistemin oluşturulduğu, katalizör olarak ise tetraalkilamonyum tuzlarının kullanıldığı bildirilmiştir.



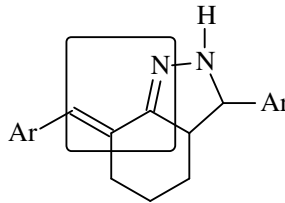
Lorand ve diğ. (143), iki konumundan tiyokarbamoil süstitüe edilmiş heksahidroindazol yapısındaki tiyokarbamoil grubunu, S konumundan metilleyerek bileşiğin suda çözünürlüğünü arttırmışlardır. Bu araştırmacılar, şalkon türevini doğrudan S-metiltiyosemikarbazit hidroiyodür ile reaksiyona sokarak da aynı ürünün elde edilebileceğini bildirmişlerdir.



2.3.3. Spektral Özellikler

UV Spektrumları

Gella ve diğ. (216), heksahidroindazollerin UV spektrumları üzerine yaptıkları çalışmalarda, elde ettikleri spektrumların iki veya üç bant içerdiğini (370-416/263-302 nm), en sıklıkla görülenlerin ise 260-300 nm de görülen kısa dalga boylu bantlar olduğunu tespit etmişlerdir. 1,5-Difenil-3-stiril-2-pirazolinde, en şiddetli bant 388 nm de olmasına rağmen heksahidroindazoller üzerine yapılan çalışmalarda bu bantın yoğunluğunun azaldığı ve hipsokromik kaymaya uğradığı görülmüştür. Bu değişikliğin sebebi, heksahidroindazol oluşturmak için pirazolin türevine getirilen tetrametilen köprüsünün kromoforik sistemin düzlemselliğini bozması olarak açıklanmaktadır. Gerçekten de yapılan X-ray çalışmasında, $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{N}$ yapısının $30-40^\circ$ döndüğü ve benziliden süstitüentinin altı numaralı konumundaki hidrojen atomlarının sterik itmesi sonucu çifte bağ düzleminden ayrıldığı görülmüştür.



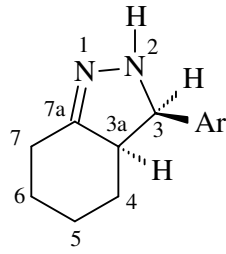
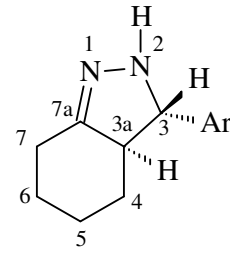
IR Spektrumları

3-(2-Furil/tiyenil)-2-(*N*-süstitüe tiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol türevleri üzerinde daha önce yapılan çalışmalarda, 3140-3400 cm^{-1} de N-H gerilim, 1595-1620 cm^{-1} de C=N gerilim, 1440-1590 cm^{-1} de aril ve furan molekülündeki C=C gerilim, 1220-1320 cm^{-1} de C=S gerilim, 1100-1160 cm^{-1} de C-N gerilim, 1020-1036 cm^{-1} de C-O-C gerilim (furan molekülü), 3072-3100 cm^{-1} de aromatik bölge C-H gerilimi ve 2864-2980 cm^{-1} de alifatik bölge C-H gerilimi bantlarının gözlemlendiği bildirilmiştir (205, 211, 212, 214).

Konuyla ilgili Anabilim Dalımızda daha önce yapılmış çalışmalarda N-H gerilim 3100-3500 cm^{-1} , C=S bandı 1030-1275 cm^{-1} , pirazolin kısmına ait C=N bandı 1591-1674 cm^{-1} , C=C gerilimi de 1430-1600 cm^{-1} aralığında gözlenmiştir (24, 217).

¹H-NMR Spektrumları

3,3a,4,5,6,7-Hekzahidro-2*H*-indazollerde üç numaralı karbon, asimetric merkez içerdiği için sentezi yapılan ürünler *trans* ya da *cis* izomeri halinde veya iki izomerin karışımı halinde bulunurlar. *cis* İzomerde H-3 protonu 5.20-6.20 ppm de dublet (J_{3-3a} 10-14 Hz), H-3a protonu 3.30-4 ppm de multipler olarak gözlenirken, *trans* izomerde H-3 protonu 4.50-5.10 ppm de dublet (J_{3-3a} 3-10 Hz), H-3a protonu 2.80-3.70 ppm de multipler olarak gözlenir. H-3 Protonunun, N üzerinde allil grubu içeren bileşiklerde allil protonlarıyla üst üste çıktığı tespit edilmiştir (209, 213, 217, 218).

*cis**trans*

Üç numaralı konuma fenil halkasının bağlı olduğu *cis* izomerde, dört numaralı konuma bağlı aksiyel protonun (H_{4ax}) fenil halkasının koruyucu etkisine maruz kaldığı ve daha yüksek alanda çıktığı, *trans* izomerde ise H_{4ax} 'in diğer sikloheksan protonlarıyla üst üste çıktığı görülmüştür (217).

Trans izomerde 3a protonu üç numaralı konumdaki fenil halkası tarafından korunduğu için kimyasal kayma değeri beklenenden farklı çıkarken, *cis* izomerde 3a protonu ve fenil halkası birbirinden bağımsız olduğundan kimyasal kayma değeri daha az etkilenir. Eğer yapıya bir halka daha eklenip trisiklik yapılırsa, 3a protonunun yeri ve *J* değerlerinin önemli bir değişim göstermediği, ancak H_{4ax} 'ten dolayı görülen multiplerin, fenil grubunun aldığı konum nedeniyle daha yüksek ppm değerinde çıktığı gözlenmiştir (213).

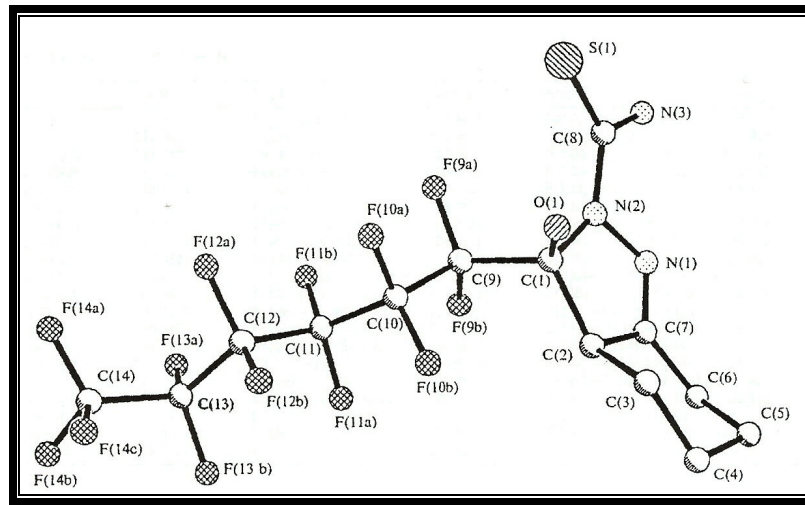
Üç numaralı konuma bağlı aromatik halka sübstituentlerinin H-3 protonunun kimyasal kaymasına etki ettiği, elektron salan sübstituentlerin kimyasal kayma değerlerini azalttığı, elektron çeken sübstituentlerin ise kimyasal kayma değerlerinde artmaya yol açtığı bildirilmiştir (212).

¹³C-NMR Spektrumları

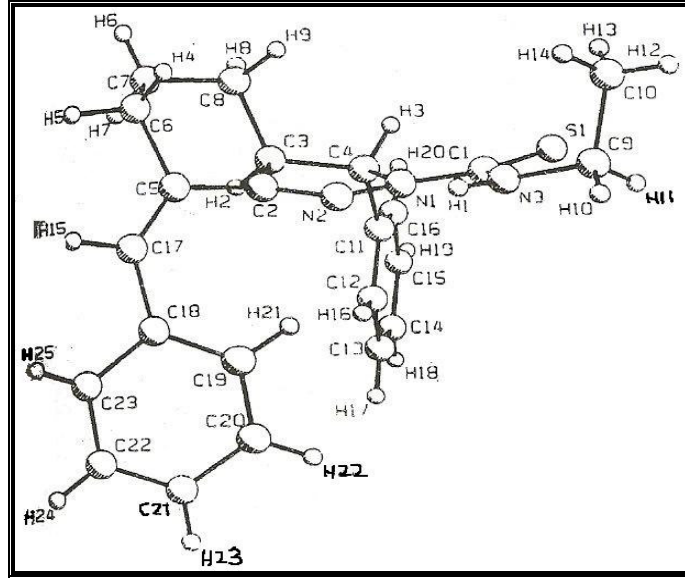
3-Aril-7-ariliden-2-fenil/tiyokarbamoil/karbamoil/açıl-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol türevi bileşiklerin *cis* izomerlerinde C-3 60.6-63.7 ppm de, C-3a 48.4-52.8 ppm de, C-7 129-135.2 ppm de, *trans* izomerlerinde ise C-3 66.5-72.72 ppm de, C-3a 52.69-56.6 ppm de, C-7 119.72-142.9 ppm de çıkmıştır (143, 209, 211, 213). Bu bileşiklerin 7-metil türevleri üzerine yapılan bir araştırmada da *cis* izomerlerde C-3 66.09-66.31 ppm de, C-3a 46.53-49.74 ppm de, C-7 27.69-27.76 ppm de, *trans* izomerlerde C-3 69.07-69.34 ppm de, C-3a 57.87-58.07 ppm de, C-7 28.05-28.14

X-Işınları Kristallografi Analizleri

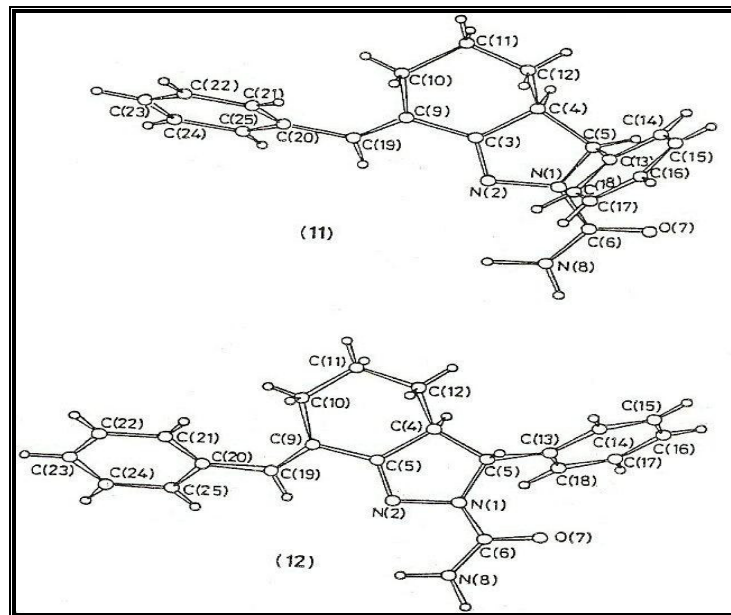
Pashkevich ve diğ. (214), 3-fluoroalkil-3-hidroksi-2-karbamoil/tiyokarbamoil-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazollere yaptıkları X-Işınları kristallografisi çalışmaları sonucunda sikloheksan halkasının sandalye, pirazolin halkasının ise katlanmış zarf konformasyonunda olduklarını; üç numaralı konuma bağlı hidroksi grubunun psödoekvatoryal, fluoroalkil grubunun ise psödoaksiyel konumda olduklarını bildirmişlerdir. Bağ açıları ise C(2)-C(1)-C(9): 111.3°, F(9a)-C(9)-C(1): 111.5°, N(2)-C(1)-C(9): 106.7°, F(9b)-C(9)-C(1): 108° olarak verilmiştir.



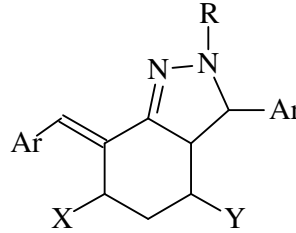
Ergin ve diğ. (219), 7-benziliden-3-fenil-2-(*N*-etiltiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol bileşiğindeki sikloheksan halkasının deforme olmuş sandalye konformasyonunda, 2-pirazolin halkasının ideal katlanmış zarf konformasyonunda bulunduğunu, üç numaralı konuma bağlı fenil sübstitüentinin aksiyel, iki numaralı konumdaki tiyokarbamoil sübstitüentinin ise ekvatoryal olarak konumlandığını bildirmişlerdir.



7-Benziliden-3-fenil-2-karbamoil-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol bileşiğinin *cis* ve *trans* izomerleri üzerinde yapılan X-ışınları çalışmaları sonucunda sikloheksan halkasının sandalye, yarı sandalye, zarf arasında geçiş konformasyonunda olduğu, 2-pirazolin halkasının ise neredeyse mükemmel bir zarf konformasyonu halinde bulunduğu bildirilmiştir. N(8)-N(2) arasındaki mesafe *cis* türevde 2.684, *trans* türevde ise 2.668 Å olarak, H(8a)-N(2) arasındaki mesafe de *cis* türevde 2.32, *trans* türevde ise 2.30 Å olarak ölçülmüştür (213).



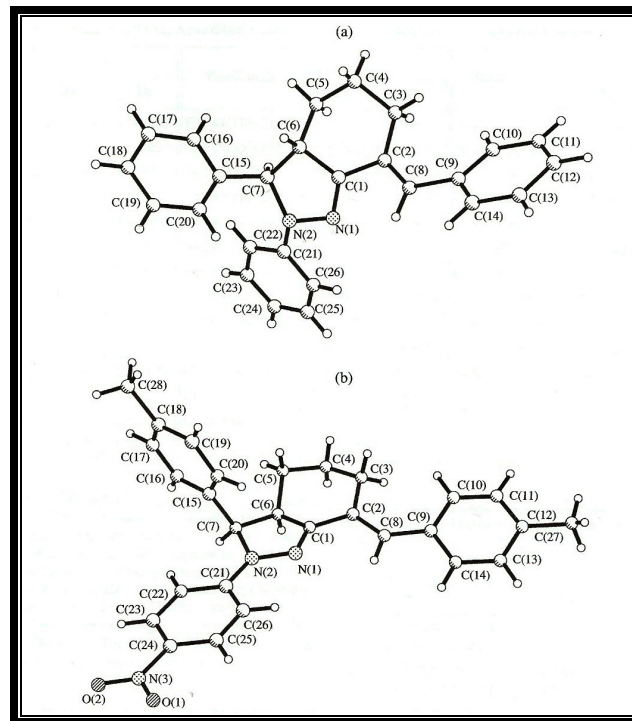
Abakumov ve diğ. (210), 3-aril-7-ariliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol türevleri üzerinde yaptıkları çalışmalarda şu sonuçları elde etmişlerdir:



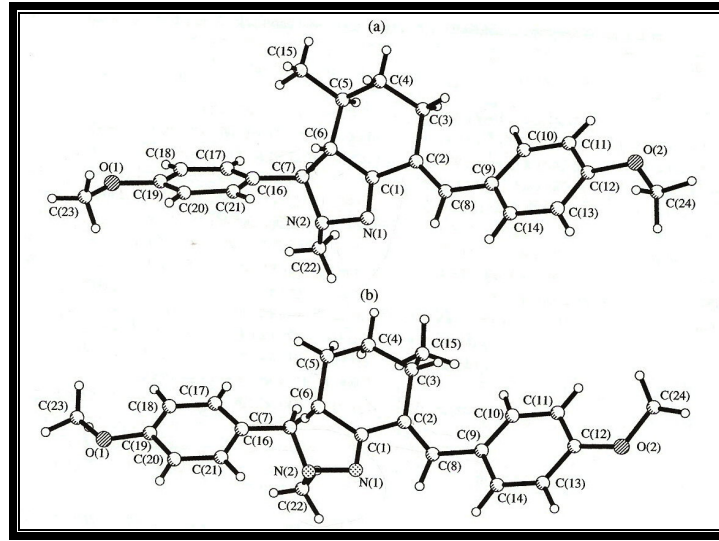
1a: R: Aril, X, Y: H; 1b: R: Aril, X, Y: H

2a: R: Alkil, X: H, Y: CH₃; 2b: R: Alkil, X: CH₃, Y: H

1a ve 1b bileşiklerinde sadece C(7) düzleminden sapmış, C(7)'ye bağlı aril grubu *trans* izomerde psödoekvatoryal, *cis* izomerde ise psödoaksiyel konumlanmıştır. Sikloheksan halkası asimetrik sandalye konformasyonunda, *cis* izomerde daha çok katlanmış durumdadır. 1b Bileşiğinde ekzosiklik ariliden grubu düzlemsele yakınken, 1a'da benzen halkası düzlemsellikten sapmıştır.



2a ve 2b Bileşiklerinde ise pirazolin halkaları yine zarf formunda, C(7)'ye bağlı aril grupları iki bileşikte de ekvatoryal konumdadır. Sikloheksan halkaları da yine deforme sandalye konformasyonundadır. 2a bileşiğindeki sikloheksan halkasının metil grubu ekvatoryal, 2b'deki sikloheksan halkasının metil grubu aksiyel konumdadır.



İki numaralı amin azotundaki süstitüent, bu amin atomuyla bağlı olduğu karbon atomu arasındaki uzunluğu etkiler. Rejiyoizomerik N-metil türevlerinde (2a-2b) bu bağın uzunluğu birbirinden çok farklı değilken, N-aril türevleriyle kıyaslandığında N-metil türevlerinde bu bağın daha uzun olduğu bildirilmiştir. N-Aril türevleri de kendi aralarında kıyaslandığında, 4-nitrofenil türevinde bu bağın fenil türevlerine göre daha kısa olduğu saptanmıştır. Bu farkın nedeninin, nitro süstitüentinin elektron çekici etkisinden kaynaklandığı bildirilmiştir.

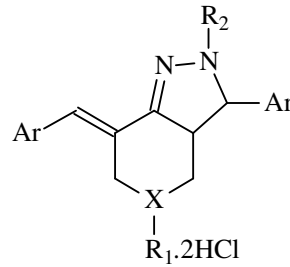
2.3.4. Biyolojik Özellikleri

Antidepresan Aktiviteleri

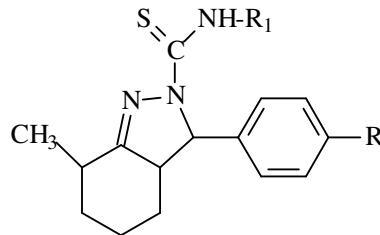
Bilgin ve diğ. (24), 3-fenil-7-benziliden-2-(N-süstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-2H-hekzahidro-2H-indazol ve 3-fenil-2-(N-süstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-2H-hekzahidro-2H-indazol türevlerinin antidepresan aktivitelerini farelerde, tranilsipramin sülfat ve parjilin hidroklorür standartlarına karşı

incelemişler ve N üzerinde allil ve etil taşıyan bileşiklerin güçlü antidepresan aktiviteye sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Krapcho ve Turk (208), 3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-pirazolo[4,3-*c*]piridin ve 3,3a,4,5,6,7-2*H*-hekzahidro-2*H*-indazol türevlerinin antidepresan aktivitelerini farelerde meprobamat ile karşılaştırmalı olarak incelemişler ve sırasıyla 7-benziliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-3-fenil-2-metil-2*H*-pirazolo[4,3-*c*]piridin hidro-klorürün ve 7-benziliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-3-fenil-2-dimetilaminopropil-2*H*-indazolün yüksek oranda antidepresan aktivite gösterdiğini saptamışlardır. Beş numaralı konumdaki metil grubunun ve iki numaralı konumdaki metilin uzun zincirli alkil, aralkil, hidroksialkil, trifluoroetil, asetil veya dimetilaminopropil gruplarıyla ve fenil grubunun klorofenil veya metoksifenil ile yer değiştirmesinin antidepresan aktiviteyi düşürdüğü ve aktivitedeki bu düşmenin sudaki çözünürlüğün azalmasına bağlı olabileceği bildirilmiştir.



Yeşilada ve diğ. (25), 3-(fenil/4-metoksifenil)-7-metil-2-(*N*-süstitüe tiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol yapısındaki bileşiklerin antidepresan ve MAO inhibitörü etkilerini amitriptilin ve moklobemit standartlarına karşı incelemişler ve bileşiklerin dikkat çekici bir antidepresan etkiye sahip olmadıklarını, buna karşılık bazı bileşiklerin oldukça yüksek MAO inhibitörü etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

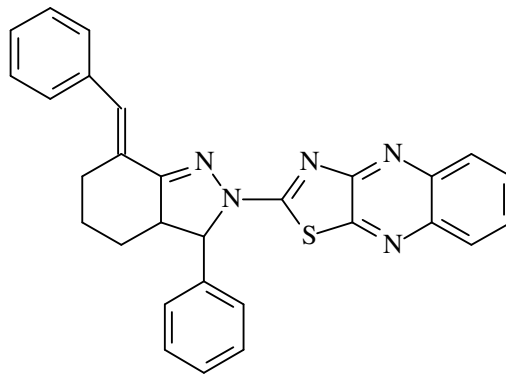


Analjezik-Antienflamatuvar Aktiviteleri

Krapcho ve Turk (208), 3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-pirazolo[4,3-*c*]piridin ve 3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol türevlerinin antienflamatuvar aktivitelerini farelerde, fenilbutazon standardına karşı incelemişler ve incelenen bileşiklerden 7-benziliden-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-5-metil-3-fenil-2-propil-2*H*-pirazolo[4,3-*c*]piridin, fenilbütazonla hemen hemen eşit antienflamatuvar aktiviteye sahip olduğunu ayrıca toksisite ve ülserojenik etkisinin fenilbutazondan daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Nasr ve Said (122), 3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol ve ariltiyazolilpirazolin türevlerinin selektif COX-2 inhibitör aktivitesini standart olarak kullanılan ketoprofenle karşılaştırmışlar ve yapılan çalışma sonucunda,

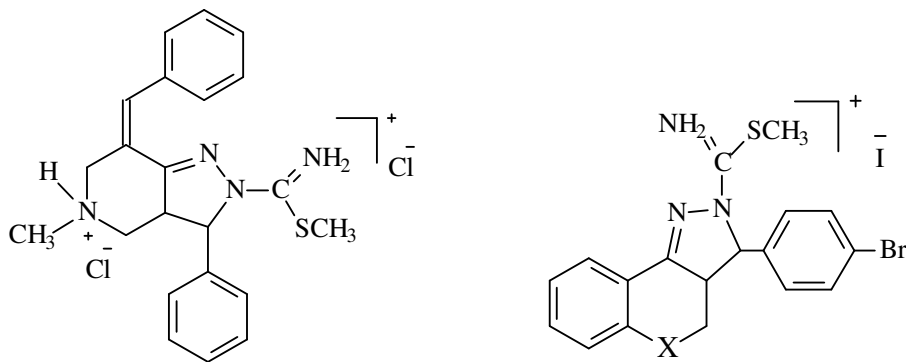
- Pirazolin türevlerinin hekzahidroindazol türevlerine göre daha güçlü aktiviteye sahip olduğunu,
- *cis* İzomerde 3 numaralı konumdaki fenil halkasının 2 numaralı konumdaki tiyokarbamoil grubuna yaklaşması aktiviteyi düşürür.
- Tiyokarbamoil halkasının kapatılmasının aktiviteyi etkilemediği, kapatılan türevler arasında kinoksalin ile kapatılmış 7-benziliden-3-fenil-2-(tiyazolo[4,5-*b*]kinoksalin-2-il)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol bileşiğinin ketoprofenden daha yüksek aktiviteye ve daha düşük ülserojenik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.



Antibakteriyel Aktiviteleri

Golikov ve diğ. (211), yedi numaralı konumda furfuriliden, üç numaralı konumda aril süstitüenti içeren heksahidroindazol türevlerinin *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus mirabilis* ve *Pseudomonas aeruginosa* türlerine karşı antibakteriyel aktivitelerini incelemişler ve 2,3-difenil-7-(5-nitrofurfuriliden)-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2*H*-indazolün, özellikle *S. aureus*'a karşı oldukça etkili olduğunu bulmuşlardır.

Lorand ve diğ. (143), 2-tiyokarbomoil grubu taşıyan süstitüe bisiklik ve trisiklik pirazolin türevlerinin ve bunların *S*-alkil türevlerinin antibakteriyel etkilerini Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriler üzerinde denemişlerdir. Gram-pozitif bakteri örneği olarak *S. aureus*, Gram-negatif bakteri örneği olarak *E. coli* kullanılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 7-benziliden-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-5-metil-2-*S*-metiltiyüreido-3-fenil-2*H*-pirazolo[4,3-*c*]piridin dihidroklorür tuzunun hem *S. aureus* hem de *E. coli* bakterilerine karşı, trisiklik bir pirazolin türevi olan (3-(4-bromofenil)-3,3a,4,5-tetrahidrobenzo[*g*]indazol-2-il)-*S*-metiltiyüre iydür tuzunun ise *S. aureus*'a karşı oldukça etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca, bu türevlerin, *S*-alkil türevi olmadan etkisiz olduğu, bir ariliden veya trisiklik yapının etki için gerekli olduğu, kondanse halka olmadan pirazolinlerin etkisiz olduğu, benz[*g*]indazol türevlerinde 5 numaralı konumdaki halka içi CH₂ grubunun kükürtle yer değiştirmesinin antimikrobiyal etkiyi kaldırdığı gösterilmiştir.

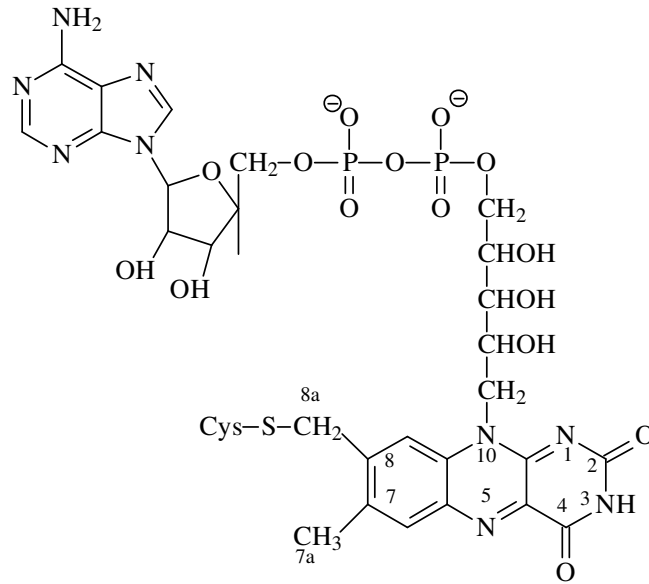


Raikova ve diğ. (220), 2-ariliden-6-furfurilidensikloheksanonlar ve bunlardan türeyen heksahidroindazoller, *Staphylococcus* türleri, *P. aeruginosa*, *Proteus* türleri ve *E. coli* üzerinde test etmişler ve 2,3-difenil-7-(5-nitrofurfuriliden)-3,3a,4,5,6,7-

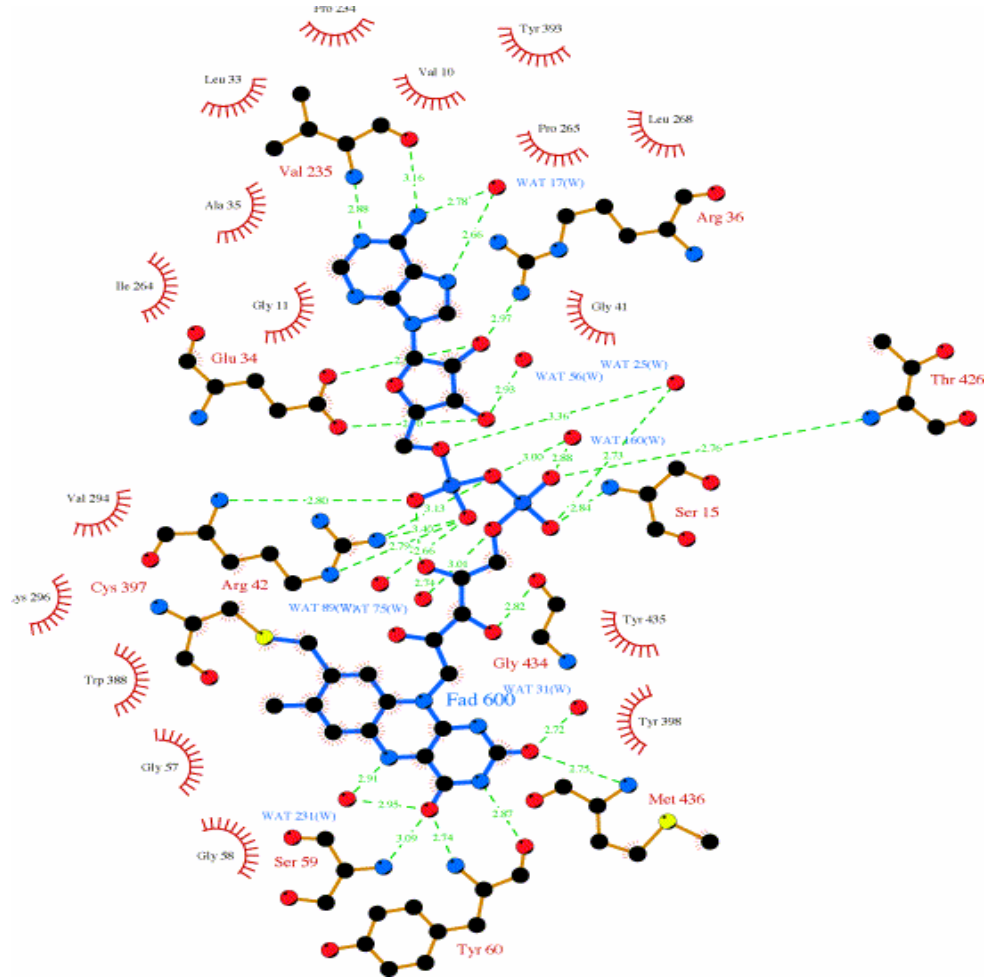
heksahidro-2*H*-indazolün *Staphylococcus* türlerine karşı yüksek aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

2.4. MONOAMİN OKSİDAZ-A (MAO-A), MONOAMİN OKSİDAZ-B (MAO-B) ENZİMLERİ VE AKTİVİTE TAYİN YÖNTEMLERİ

MAO flavin-adenin dinükleotid (FAD) taşıyan bir enzimdir. Dış mitokondriyal membrana bağlı olarak bulunur. c-DNA klonlama çalışmaları sonucunda MAO enziminin MAO-A ve MAO-B olarak isimlendirilen iki formunun olduğu ve bunların amino asit sıralamasının %70 benzerlik gösterdiği bulunmuştur. MAO-A 527, MAO-B 520 amino asitten oluşur. Amino asit sırasındaki üç polipeptid bölgesi çalışılan türlerdeki iki alt form arasında yüksek amino asit benzerliği gösterir. İki izoenzimde de aktif bölge, prostetik grup flavin adenin dinükleotidin (FAD) bağlı olduğu kısımdır (221). FAD'nin yapısı Şekil 2.1'de görülmektedir. MAO-B içerisinde FAD'nin bağlanma bölgesi ve hidrojen bağları ise Şekil 2.2' de görülmektedir.



Şekil 2.1. İnsan MAO-A ve MAO-B'inde aynı olan FAD-peptit kısmı



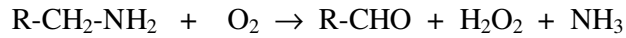
Şekil 2.2. MAO-B içerisinde FAD'nin bağlanma bölgesi. (Kesikli çizgiler hidrojen bağı göstermektedir)

Yapılan çeşitli histokimyasal, immünokimyasal ve otoradyografik incelemeler MAO-A ve MAO-B'nin merkezi sinir sisteminin ve periferik organların farklı hücre popülasyonlarında (plasenta ve bağırsakta MAO-A baskın iken (222), kan plateletlerinde (222) lenfositlerde (222) ve kromofin hücrelerinde (223) MAO-B baskındır) mevcut olduğunu ve farklı anatomik dağılım gösterdiğini ortaya çıkarmıştır.

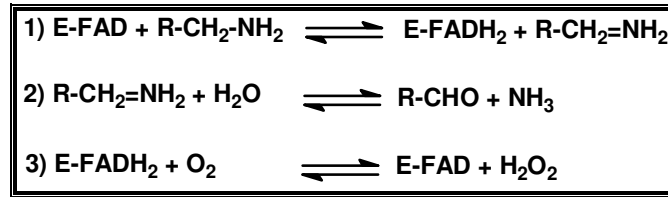
MAO-A ve B nöroaktif ve vazoaaktif aminlerin oksidatif deaminasyonunu, ksenobiyotiklerin (MPTP) ise oksidasyonunu katalizler. Bunlar için asıl substratlar klasik nörotransmitterler olan 5-hidroksitriptamin (5-HT, serotonin), dopamin, noradrenalin ve adrenalindir. Çoğu doğal substrat her iki MAO tarafından da

metabolize edilir. Çünkü kofaktör kısmı her iki MAO formunda da benzerlik gösterir, dolayısıyla sübstrat spesifikliğınden sorumlu olan yapısal farklılıkların proteinlerin diğer bölgelerinde olduğu düşünülmektedir (224). Bundan dolayı sübstratlar; MAO-A sübstratları (5-HT), MAO-B sübstratları (feniletıl amin ve benzıl amin) ve karışık olanlar (tıramın ve dopamin) şeklinde kabaca bir sınıflandırmaya tabi tutulabilir.

MAO, nörotransmitterlerin ve diğer endojen monoaminlerin deaminasyon reaksiyonunu aşağıdaki genel denkleme göre katalize eder:



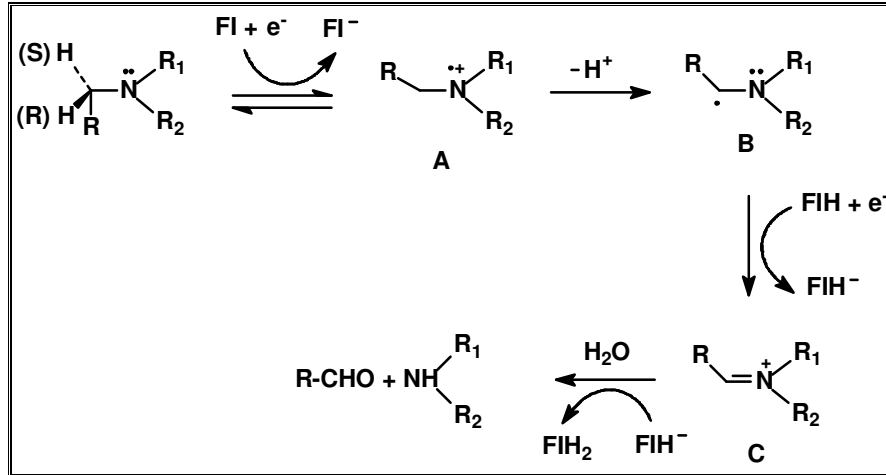
Bu reaksiyon Şekil 2.3'te görüldüğü gibi üç basamaklıdır ve kimyasal mekanizması hala tam olarak açıklanamamıştır.



Şekil 2.3. MAO tarafından katalizlenen reaksiyon

Mekanizma için hidrür transferi, polar nükleofilik mekanizma, tek elektron transferi gibi mekanizmalar önerilmiştir. Bunlar arasında en çok tartışılanı (Şekil 2.4) şu şekilde açıklanmıştır:

- Bu reaksiyonda, sübstratdan enzime iki defa elektron transferi olur (225).
- Önce sübstratın amino grubundan, enzimin flavinine bir elektron transferi ile amin radikal katyonu oluşur (A).
- Bu radikal, α proton kaybı ile karbon radikalini oluşturur (B).
- Daha sonra ikinci bir elektron transferi veya aktif bölge radikaliyle olan birleşmeyi takiben de β eliminasyon ile iminyum ürünü oluşur (C).
- Bu ürün spontan olarak amonyak veya primer amin çıkışıyla, aldehide hidroliz olur. Bunu FAD'nin moleküle oksijen tarafından yeniden oksidasyonu izler (226) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. MAO'nun sübstrat oksidasyonunda ileri sürülen kimyasal mekanizma

MAO'nun susbtratları ile etkileşimini stereokimyasal yönden incelemek amacıyla yapılan çalışmalar reaksiyonun ikinci basamağının (B), yani azot atomuna komşu proşiral metilen grubundan hidrojen kopmasının önemli olduğunu ve bu hidrojenlerden hangisinin öncelikli olarak kopacağını bunların konfigürasyonu ile tayin edildiğini göstermiştir. Yu ve diğ. (227), sübstrat olarak benzil amin veya dopamin kullanarak yaptıkları çalışmada MAO-A ve MAO-B'nin aynı stereospesifiteyi gösterdiğini, yani pro-R-hidrojenin her iki MAO formu tarafından da kopartıldığını (H_R, Şekil 2.4) tespit etmişlerdir.

MAO ile β pozisyonunda asimetrik merkez taşıyan sübstratlar arasındaki etkileşimi incelemek amacıyla β-feniletanol aminlerin R ve S enantiomerleri kullanılmış ve MAO-B'nin her iki enantiomeri de oksitlemesine karşın MAO-A'nin sadece R formu üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (221). Bu sonuçlar MAO-A'nin aktif bölgesinin aralkilamin sübstratlarındaki β karbonuna karşılık gelen pozisyonlarının sterik engellere sahip olduğunu, aynı şeyin MAO-B için mevcut olmadığını göstermektedir. Ayrıca araştırmalar MAO-A ve MAO-B'nin aktif bölgesinin stereospesifik özelliğinin yanı sıra N atomu ile aromatik halka arasındaki uzaklığın da sübstrat ya da inhibitör aktiviteyi etkilediğini göstermiştir.

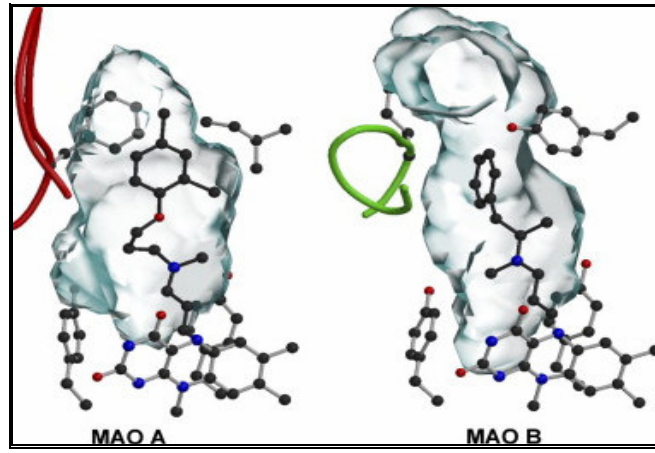
İnsan MAO'ın kristal yapısının tanımlanmış olması bu proteinler ve ligandlar arasındaki selektif etkileşmeyi açıklamada son derece önemlidir. Bu veriler katalitik

mekanizmanın araştırılmasında ve rasyonel ilaç tasarımı için gereken farmakoforik ihtiyaçların anlaşılmasında yardımcıdır. Binda ve diğ. (228-230), insan MAO-B'sinin kristal yapısını 2002 yılında, sıçan ve insan MAO-A'sının üç boyutlu yapısını ise 2004 ve 2005 yıllarında tespit edip aydınlatmışlardır. İnsan ve sıçan MAO-A'sı %90 benzerlik göstermesine rağmen (231), konformasyon ve hacim açısından aktif bölge yapısı farklılık gösterir (230).

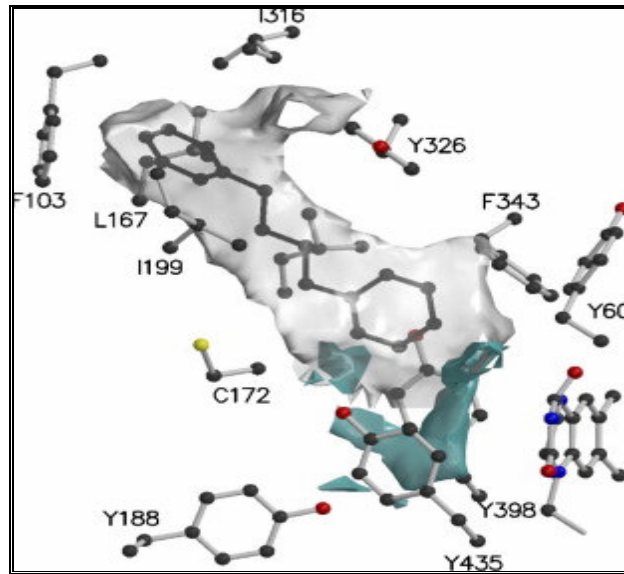
İnsan MAO-B'si dimer olarak kristallenir ve dimerik formun hidrodinamik özelliklerini gösterir. Yapıdaki önemli nokta, birbirine komşu iki kavitenin varlığıdır. En büyük kavite flavin kofaktörünün önünde yer alan sübstrat bağlanma bölgesidir ve bu kısım 390 Å³ büyüklüğündedir. Bu bölge düzdür ve lizin 171, tirozin 188, tirozin 326 ve fenil alanin 343 gibi aromatik ve alifatik amino asitlerden dolayı hidrofobik özelliktedir. Giriş kavitesi olarak isimlendirilen diğer kavite 290 Å³ büyüklüğünde ve hidrofobikdir. İzolösin bu iki kavite arasında kapı görevi üstlenir ve izolösinin yönlendirilmesine ya da sübstrat veya inhibitöre bağlı olarak kapı açılıp, kapanabilir. Kapı görevini gören bu amino asit, MAO-B'nin inhibitör spesifikliğinde önemlidir. Sübstrat kavitesinin sonunda sistein 397'e kovalen bağlı FAD koenzimi yer almaktadır. Katalitik öneme sahip ve flavine yakın birbirine paralel tirozin 398 ve tirozin 435 amino asitlerini içeren bu kavite aromatik kafes olarak adlandırılır. Aromatik kafes sübstratın amin grubunun yönelmesi ve tanınmasında önemlidir. İlgili sübstrat aminin bu amino asitler ile flavin arasındaki konumlanmasının, kovalen inhibisyon kadar kataliz mekanizması için de önemli olduğu, hatta kovalen olmayan inhibisyonda da aromatik kısım yer almasına rağmen, bu çeşit inhibitörlerin hidrojen bağı ve hidrofobik etkileşmeler yoluyla bağlandığı bildirilmiştir (232).

İnsan MAO-B'sine karşın, insan MAO-A'sı monomer olarak kristallenir. İnsan MAO-A'ının monomerik formu aynı zamanda dimer olarak kristallenen sıçan MAO-A'sının yapısal özelliklerinden farklıdır. Her iki MAO-A da girişteki protein boşluğuna ilaveten oldukça hidrofobik olan tek bir sübstrat bağlanma bölgesi içerir. Ölçüsü insan MAO-A'sı için 550 Å iken, sıçan MAO-A'sı için 450 Å'dur. Sübstrat bağlanma kavitesi MAO-B'de olduğu gibi, giriş boşluğuna zıt yöndedir. Aynı zamanda flavinin önünde birbirine paralel iki tirozin halkasının (tirozin 407, 444) yer aldığı aromatik kavite vardır (230).

İnsan MAO-A ve MAO-B'sinin karşılaştırmalı resmi şekil 2.5'te görülmektedir. MAO-B, iki bölümlü uzayan bir kaviteye sahiptir. İzolösün 199'un yan zinciri açık konformasyonda olduğu zaman (kapı açıldığında) kavite büyüklüğü 700 Å'a çıkmaktadır (Şekil 2.6). Buna karşın MAO-A yuvarlak şekilli ve MAO-B'nin sübstrat kavitesinden daha büyük sübstrat kavite hacmine sahiptir. Her iki isoenzimin aktif bölgesindeki amino asit yan zincirlerinin analizi, sübstratların MAO-B'de rotasyon için daha az serbestliğe sahip olduğunu gösterir.



Şekil 2.5. MAO-A ve MAO-B'nin aktif bölge kavitelerinin karşılaştırmalı bir şekilde şematik gösterimi



Şekil 2.6. 1,4-Difenil-2-bütenin giriş ve sübstrat kaviteleri kaynaşmış (kapı açık olduğu zaman) durumundaki görüntüsü

2.4.1. Monoamin Oksidaz Enzim Aktivite Tayin Yöntemleri

Kolorimetrik Yöntemler

MAO enzimi ile katalizlenen reaksiyonda oluşan aldehit miktarının doğrudan spektrofotometrik olarak ölçüldüğü bu yöntemin, ham doku homojenatları ile kullanıma elverişsiz olduğu bildirilmiştir (233).

Yöntemin sadece primer amin yapısındaki sübstratlarla çalışması kullanımını sınırlamaktadır. Primer amin yapısındaki sübstratlar hem SSAO hem de MAO enzimi ile etkileşirken, sekonder ve tersiyer aminler MAO enzimi ile katalizlenir (234).

Szutowitch ve diğ. nin (235) geliştirdiği peroksidaz oluşumuna dayalı kolorimetrik yöntem, reaksiyonun nötral pH'da gerçekleşmesi nedeniyle indirekt bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Holt ve diğ. (236), peroksidaz oluşumuna dayalı olarak, 4-aminoantipirinin vanilik asitle kondenzasyonu ile oluşan kırmızı kinonimit yapısının kolorimetrik ölçümünü yapmaktadır.

Fluorometrik Yöntemler

MAO ile oluşan hidrojen peroksinin miktar tayini floresan bir ürün oluşturmak üzere fluorometrik olarak tayin edilebilir. Sübstrat olarak kinuramin kullanımıyla oluşan 4-hidroksikinolin, spektrofluorometrik olarak tayin edilmiştir. Saflaştırılmış enzimin fazla miktarda gerekmesi ve tek sübstrat kullanılması yöntemi sınırlamaktadır (237).

Radyoaktif İşaretleme

Radyoaktif işaretli sübstrat kullanımıyla oluşan ürünün miktarı esas alınarak enzim aktivitesi tayini yapılabilmektedir (238).

Polarografik Yöntemler

Monoamin oksidaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyondaki oksijen tüketiminin ölçümüne dayanan bir yöntemdir (239).

Kromatografi Destekli Yöntemler

Herraiz ve diğ. (240), enzim aktivitesini sübstrat olarak kinuramin kullanımıyla oluşan 4-hidroksikinolin miktarını ters faz sıvı kromatografisi ile diyor

array (DAD) ve floresans (FLD) dedektörler kullanarak ölçmüşlerdir. Benzer şekilde, sıçan beyin hücrelerindeki MAO-A ve MAO-B enzim inhibisyonları, 5-hidroksitriptamin, 5-hidroksiindol-3asetik asit, triptofan ve 2-fenetilamin gibi endojenlerin MAO inhibitörleriyle değişen seviyelerinin saptanması halinde, sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile ölçülmüştür (241).

2.5. MOLEKÜLER MODELLEME VE ÖNEMİ

Hesaplamalı kimya, teorik kimyacılar tarafından geliştirilmiş matematiksel yöntemleri uygulayan ve elde edilen sonuçları yorumlayan, böylece deneysel kimya ile teorik kimya arasında köprü kuran bir daldır. Hesaplamalı kimya ile sadece kararlı molekülleri değil, aynı zamanda kısa-ömürlü, kararsız ara ürünler ve geçiş hallerini de çalışmak mümkün olur. Bu şekilde, gözlem yolu ile elde edilmesi mümkün olmayan moleküller ve tepkimeler hakkında bilgi sahibi olunabilir. Bu hesaplamalar ile elde edilen nitel veya nicel sonuçlar, kimyacıların çok faydalı öngörülerde bulunmasını sağlar (35).

Hesaplamalı kimya'nın en önemli uygulamalarından biri, moleküler modelledir. Bu teknik özetle bilgisayar programları ve özel hesaplamalarla moleküllerin üç boyutlu yapılarını ve tepkimelerini bulmak, diğer moleküllerle etkileşimini göstermektir (36). Bu modelleme için günümüzde *Schrödinger denkleminin* farklı yaklaşımlarla çözülmesi sonucu geliştirilen farklı programlar kullanılmaktadır. Molekül Modelleme yazılımları ve geliştirilen programlar aracılığı ile moleküller bilgisayar ekranında döndürülerek değişik açılardan görülebilmekte, geometrileri ve izomerik yapıları belirlenebilmekte, enerjileri tayin edilebilmekte, IR, UV, NMR spektrumları çizilebilmekte, MO (Moleküler orbital) diyagramları elde edilebilmektedir.

Moleküler modellemenin etkin olarak kullanıldığı alanlardan biri de, ilaç tasarımıdır. İlaçların etki mekanizmasının incelenmesinde oldukça sık olarak kullanılır. Kimyacılar bu yöntemleri kullanarak sentezden önce ilaçların yapıları hakkında ön bilgiye sahip olabilmekte; ilaçta istenen özellikleri belirleyebilmekte; sonra bu özelliklere uygun sentezleri gerçekleştirebilmektedirler. İlaçların yanısıra, vücuttaki bir çok biyokimyasal tepkimenin mekanizmalarının açıklanmasında, proteinlerin ve enzimlerin 3 boyutlu yapılarının bulunmasında da kullanılır (36).

Deneysel çalışmaları desteklemek veya deneysel çalışma yapmadan elde edilecek sonuçları önceden tahmin edebilmek amacıyla hesaplamalı yöntemleri kullanacak olan araştırmacılar için dört farklı seçenek vardır:

Moleküler mekanik (MM) ve moleküler dinamik (MD) yöntemleri

Bir kimyasal sistemde atomlar arasındaki etkileşimleri klasik mekanik kuralları ile tanımlar. Bu konuda son yıllarda en fazla AMBER, CHARM ve GROMACS moleküler mekanik programları kullanılmaktadır. Bu yöntemler oldukça hızlıdır ve temel haldeki sistemin enerjisi tam olarak hesaplanabilir. Enzimler gibi büyük yapıli sistemler için bile enerji minimizasyonu ve konformasyon kararlılığı gibi uygulamalar yapılabilir. Ancak, bu yöntemlerle elektronik yapıya bağıli olan özellikler elde edilemez (242).

***Ab initio* yöntemleri**

Kuantum mekaniğı esasına dayanır. Bu yöntemler ile molekül yapısı ve buna bağıli özellikler hesaplanabilir; bir tepkime mekanizması tam olarak modellenenebilir. Hesaplama süresi moleküler mekanik yöntemlere göre binlerce kere daha fazladır. GAUSSIAN, GAMESS HYPERCHEM, SPARTAN v.s. *ab initio* yöntemlerinin kullanıldığı bazı paket programlardır. *Ab initio* latince “başlangıçtan itibaren” anlamına gelir. Bu yöntem MM ve yarı deneysel yöntemlerden farklıdır: Deneysel parametre kullanmaz. *Ab initio* hesaplamalarında iki farklı matematiksel yaklaşım kullanılır:

- Hartree-Fock SelfConsistent Field (HF-SCF)
- Density Functional Theory (DFT)

HF modelinde, elektron-elektron etkileşimleri için ortalama bir potansiyel temel alınır. Bu yaklaşım, molekül frekanslarının hesaplanması ve molekül geometrisinin tayini için uygundur. DFT modelinde ise molekülün dalga fonksiyonları yerine, olası elektron yoğunluğu üzerinden hesaplanır, molekül özelliklerinin tayininde çok daha doğru sonuçlar verir (243).

Yarı deneysel (semi-empirik) yöntemler

Ab initio ve MM yöntemleri arasında yer alır ve kuantum mekaniğini kullanır. Bu yöntemlerde, molekül özelliklerin deneysel değerlere yakın sonuçlar vereceğı parametreler mevcuttur. Schrödinger eşitliğinin yaklaşık çözümünü elde etmek için o

sisteme uygun parametrelerin kullanılması gerekir. Etkileşim integralleri için yaklaşık fonksiyonların kullanılmasıyla hesaplama süresi *ab initio* yöntemlerinden çok daha kısadır. Yarı deneysel bazı yöntemler şunlardır: CNDO, INDO, MINDO, ZINDO, AM1 (Austin Model), PM3 (Parametric Method). Bu yöntemleri yapısında bulunduran paket programlarından bazıları MOPAC, AMPAC, HYPERCHEM vs. dir (35).

QM/MM hibrit yöntemler

Çok büyük sistemlere, örneğin bir enzimin tamamına, kuantum kimya yöntemleri uygulayabilmek mümkün değildir. Diğer yandan, son yıllarda geliştirilen hibrit QM/MM yöntemleri ile enzimlere kısmen de olsa QM hesapları yapılabilmektedir. Bunun için sistem iki veya daha fazla sayıda katmana ayrılarak toplam enerji hesaplanır. Enzimdeki en önemli kısım, örneğin aktif bölge, bir QM yöntemle, bunu çevreleyen kısımlar ise MM yöntemle hesaplanır. Morokuma ve diğ. (244) tarafından geliştirilmiş olan ONIOM da bir QM/MM yöntemi olup GAUSSIAN programı kullanarak uygulanabilmektedir.

3. G E R E Ç ve Y Ö N T E M

3.1. KİMYASAL ÇALIŞMALAR

3.1.1. Materyal

Sentez çalışmalarımızda kullanılan 2-furaldehit Sigma-Aldrich; sikloheksanon, tiyofen-2-karbaldehit, etil izotiyosiyanat, fenil izotiyosiyanat, metil izotiyosiyanat, allil izotiyosiyanat, trietilamin, tiyosemikarbazit, hidrazin hidrat (%100) ve sodyum hidroksit Merck firmalarının ürünleridir.

3.1.2. Sentez Yöntemleri

2-Furfuriliden/2-(2-tiyenilmetilen)sikloheksanon

4 g sodyum hidroksitin 100 ml çözeltisine 10 g (0.1025 mol) sikloheksanon ilave edilmiş ve karışma işlemi devam ederken 4.9 g (0.05 mol) furfural / (5.3 g tiyofen-2-karbaldehit) eklenmiştir. İşlem sırasında 34 °C olan karışımının sıcaklığı iki saat sonra 30 °C'ye düşürülüp, 4.9 g (0.05 mol) furfural / (5.3 g tiyofen-2-karbaldehit) daha eklenmiş ve iki saat daha karıştırılıp bir gece bekletilmiştir. Oluşan çökelti süzülerek alınmış, nötral oluncaya kadar su ve petrol eteriyle yıkanmıştır. Bileşiklerin erime dereceleri literatür verileriyle uyum içerisindedir (245, 246).

3-(2-Furil/tiyenil)- 2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1H-indazol (bileşik 1a, 2a)

0.01 mol uygun şalkon türevi ve 1.092 g (0.012 mol) tiyosemikarbazit, 25 ml etanolde çözüldükten sonra 1 g (0.025 mol) sodyum hidroksitin 5 ml sudaki çözeltisi ilave edilerek sekiz saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılmış, takiben 200 ml buzlu suya dökülmüştür. Çöken madde uygun çözücülerden kristallendirilerek saflaştırılmıştır.

3-(2-Furil/tiyenil)-2-(N-substitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol türevleri (bileşik 1b-1e, 2b-2e)

0.01 mol şalkon türevinin 20 ml etanoldeki çözeltisine, 1 g (0.02 mol) hidrazin hidrat (%100) eklenmiş ve geri çeviren soğutucu altında iki saat ısıtılmıştır. Soğutulduktan sonra çözücü alçak basınçta uçurulmuş, kalan yarı katı 20 ml kuru eter içerisinde çözülüp, üzerine 0.01 mol uygun izotiyosiyanat ve 4 damla trietilamin

eklenerek oda sıcaklığında 4 saat karıştırılmıştır. Bu süre sonunda reaksiyon ortamından çözücünün tamamen uçurulması ile elde edilen katı uygun çözücülerden kristallendirilerek saflaştırılmıştır.

3.1.3. Analitik Yöntemler

Erime Derecesi Tayinleri

Bileşiklerin erime dereceleri “*Thomas Hoover Capillary Melting Point Apparatus*” erime derecesi tayin cihazıyla saptanmış ve değerler düzeltilmeden verilmiştir.

İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller

Materyal

Plaklar: Çalışmalarımızda Kieselgel HF₂₅₄ Typ 60 (Merck) hazır plaklar kullanılmıştır.

Çözücü Sistemleri: Bileşiklerin kromatografik kontrollerinde tarafımızdan geliştirilen aşağıdaki çözücü sistemleri kullanılmıştır:

S-1 : Petrol eteri-aseton	90 : 10
S-2 : n-hekzan-etil asetat	80 : 20
S-3 : Benzen-aseton	95 : 5
S-4: n-hekzan-etil asetat:	60 : 40
S-5 : Petrol eteri-aseton	70 : 30

Yöntem

Sürüklenme şartları: Çözücü sistemleri kromatografi küvetlerine konulduktan sonra, küvetlerdeki doygunluğu sağlamak amacıyla 24 saat beklenmiştir. Plaklara hareket maddelerinin ve ürünlerin uygun çözücülerdeki çözeltileri tatbik edilmiş, R_f değerleri 20°C’de 10 cm sürüklenme sağlandıktan sonra hesaplanmıştır.

Lekelerin belirlenmesi: Kromatogramlarda sentez ürünlerine ve başlangıç maddelerine ait lekelerin belirlenmesinde UV ışığından (254 nm, 366 nm) ve aşağıda verilen belirteçlerden yararlanılmıştır:

İyot Buharı (247)

Plaklar, iyot buharıyla doyurulmuş kapalı bir küvet içerisine yerleştirilip, lekeler belirinceye kadar bekletilir.

Potasyum ferrisiyanür-ferri klorür (248)

Çözelti I: Potasyum ferrisiyanürün sudaki %1 lik çözeltisi.

Çözelti II: Ferri klorürün sudaki %2 lik çözeltisi.

Püskürtme çözeltisi: Kullanılmadan hemen önce eşit hacimde *Çözelti I* ve *II* karıştırılarak püskürtülür.

Dragendorff Belirteci (249)

Çözelti I: 0.85 g Bizmut III nitratın 10 ml glasiyel asetik asit ve 40 ml sudaki çözeltisi.

Çözelti II: 8 g Potasyum iyodürün 20 ml sudaki çözeltisi.

Stok çözelti: *Çözelti I* ve *II* eşit hacimde karıştırılır.

Püskürtme çözeltisi: Stok çözeltiden 1 ml alınıp, 2 ml glasiyel asetik asit ve 10 ml su ile karıştırılarak hemen püskürtülür.

3.1.4. Spektrometrik Kontroller***UV spektrumları***

Bileşiklerin UV spektrumları, metanol (Merck) deki yaklaşık 10^{-5} M çözeltilerinden, 1 cm kalınlığındaki kuvars küvetler kullanılarak “Agilent 8453 UV-Visible” spektrofotometresinde alınmıştır.

IR spektrumları

Maddelerin IR spektrumları, yaklaşık %1 oranında madde içeren ve 10 ton/cm² basınçta kurutulmuş potasyum bromür (Merck) diskler içinde hazırlanarak, “Perkin Elmer Spectrum BX FT-IR” spektrofotometresinde alınmış ve dalga sayısı (cm⁻¹) cinsinden değerlendirilmiştir.

¹H-NMR spektrumları

Bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları, dimetil sülfoksit-d₆ ve kloroform-d (Merck) içerisindeki yaklaşık %10'luk çözeltileriyle, TMS karşısında, Varian 400 MHz High Performance FT-NMR spektrometresinde alınmış, δ skalasında değerlendirilmiştir.

¹³C-NMR spektrumları

Bileşiklerin (**1a**, **1e**, **2c**) ¹³C-NMR spektrumları, bileşiklerin dimetilsülfoksit (DMSO-d₆, Merck) içerisindeki çözeltileri ile Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında *Varian Mercury 400, 400 MHz High Performance Digital FT-NMR* spektrometre cihazı ile alınmış, δ (ppm) skalasında değerlendirilmiştir.

Kütle spektrumları

Bileşiklerin kütle spektrumları, Fakültemiz Bölümler Arası Araştırma (BAAL) Laboratuvarında elektron iyonizasyon tekniği ile *HPP7-M Katı Probe Spektrometrede*, *Agilent 5973 Network Mass Selective Detector* kullanılarak alınmıştır.

X-ışınları kristallografisi analizi

Bileşik 1e'nin X-ışınları kristallografi analizi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü Kristallografi Laboratuvarında *STOE Ipds II X-Ray* difraktometresinde MoK α x-ışınları kullanılarak yapılmış ve yapı çözümü sırasında *SHELXS-97* yapı çözümleme programı kullanılmıştır. Bulunan sonuçları görsel hale getirmekte *ORTEP-III* ve *MERCURY* yazılımları kullanılmıştır.

Eleman analizleri

Bileşiklerin karbon, hidrojen, azot ve kükürt elementlerinin analizi Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Enstrümantal Analiz Laboratuvarında ve Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında “*Leco CHNS-93*”2 element analizi cihazı kullanılarak yaptırılmıştır. Değerler $\pm$ %0.4 olarak değerlendirilmiştir.

3.2. DOCKING ÇALIŞMALARI

Tüm docking hesaplamaları için *AutoDock 4.01*, docking veri girişi dosyalarını oluşturmak için *AutoDockTools* programı kullanılmıştır. Tüm dockinglerde x, y, z yönlerinde 80x80x80 nokta boyutlarında karelere ayrılmış bir küp oluşturulmuş ve komplekste inhibitörün yeri bulunduğu için eşlemelerde proteinin katalitik bölgesindeki flavinin (FAD) N5 atomu merkez olarak alınmıştır. 0.375 Å'luk bir boşluk (karbon-karbon kovalent bağının yaklaşık dörtte biri uzunluğunda) ve dielektrik sabitinin mesafe bağımlı bir fonksiyonu eşlemelerin enerji

hesaplanmasında kullanılmıştır. *Lamarckian* genetik algoritma mantığı kullanılarak on işlem yürütülmüştür. Başlangıç popülasyonu 50 olan rastgele yerleştirilmiş parçalar, maksimum 2.5×10^6 enerji değerleri ve maksimum 2.7×10^4 oluşumla varsayılan ayarlar kullanılmıştır. 0.02 Mutasyon oranı ve 0.8 genetik değişim oranı seçilmiştir. *Root mean square deviation* (RMSD) 'da $0.5 \text{ \AA}$ ' dan daha az farklılık gösteren sonuçlar bir araya toplanmış ve bağlanmanın en uygun serbest enerjisinin sonuçları, nihai kompleks yapılar olarak seçilmiştir. Tüm hesaplamalar Mac OS X işletim sistemli intel core duo işlemci ve 1 GB RAM belleği içeren bir makinede yürütülmüştür. Sonuç yapılarının dosyaları VMD (Visual Molecular Dynamics) görüntüleme programında analiz edilmiştir.

3.3. BİYOLOJİK ETKİ ÇALIŞMALARI

3.3.1. Biyokimyasal Çalışmalar

Materyal

Sıçan karaciğer dokusundan MAO enziminin izolasyonu

Mitokondrial MAO, sıçan karaciğer homojenatının mitokondrial pelletinden elde edilmiştir (236). Sıçan karaciğer dokusu (3-5 g) 1:40 (w/v) oranında 0.3 M süktroz içinde homojenize edilmiş, 1,000 x g de 10 dk santrifüjlenmiş, süpernatant alınıp 10,000 x g de 30 dk santrifüjlenerek kaba mitokondrial pellet elde edilmiştir.

Pellet, 3-[(3-kolamidopropil) dimetilamonyum] 1-propansulfonat (CHAPS) (%1) ile 37°C 'de 60 dk inkübe edilmiş ve 1,000 x g de 15 dk santrifüjlenmiştir. Takiben 0.3 M süktroz içinde yeniden süspande edilmiş, 1.2 M süktroz üstünde tabakalandırılıp 200,000 x g de 2 saat santrifüjlenerek 750 watta 45 saniye sonike edilmiştir. Daha sonra pH 7.4 de potasyum fosfat (KP) tamponu içinde tekrar süspande edilip -70°C 'de saklanmıştır.

Yöntem

Total MAO, MAO-A ve -B Aktivitelerinin Tayini

1 mM vanillik asit, 500 μM 4-aminoantipirin, ve 4 $\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$ peroksidaz II (0.2 M KP tamponu, pH 7.6 içinde hazırlanmış) içeren kromojenik çözelti hazırlanmıştır. Deney karışımı pH 7.6'da 167 μl kromojenik çözelti, 667 μl substrat çözeltisi (500 μM p-tiramin) ve 133 μl KP tamponundan oluşmaktadır. Karışım, enzim eklenmeden önce 37°C 'de 10 dk preinkübe edilmiş, reaksiyon 100 μl enzim eklenerek başlatılmış ve absorbans artışı 498 nm'de 60 dk takip edilmiştir. Reaksiyonun ilk hızı, molar soğurma katsayısı olan $4654 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ kullanılarak hesaplanmış, sonuçlar $\text{nmol} \cdot \text{saat}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ olarak ifade edilmiştir (236).

MAO-A ve MAO-B aktivitelerinin ölçümünde homojenat ikiye ayrılmış, substrat olarak p-tiramin (MAO-A için 500 μM ; MAO-B için 2.5 mM) kullanılmış ve bir izozim ölçülürken diğeri inhibe edilerek izozimlerin aktiviteleri tayin edilmiştir. Tayinden önce enzim, özgül MAO-A inhibitörü klorjilin veya özgül MAO-B inhibitörü parjilin (her ikisi de 50 μM) ile 1:100 oranında 37°C 'de 60 dk muamele edilmiştir (son inhibitör derişimleri 0.50 μM olacak). Daha sonra total MAO aktivitesi tayin edilmiştir.

Homojenatların Yeni İnhibitörlerle Etkileşimi ve Kinetiğinin Tayini

Sentezi yapılan bileşiklerin MAO ile etkileşiminin incelenmesinde, aktivite tayininden önce homojenatlar bileşiklerle 37°C 'de 0, 10, 20, 30, 45 ve 60 dakika ön inkübasyona tabi tutulmuştur. Bileşiklerin MAO isoformlarıyla etkileşim kinetikleri Lineweaver-Burk ikincil resiprokal grafiği, farklı substrat derişimlerinde $1/v$ nin $1/s$ 'e karşı grafiklenmesi ile hesaplanmıştır. İnhibisyon sabitleri ve diğerkinetik veriler non-regresyon analizi ve excel paket programı kullanılarak hesaplanmış, IC_{50} değerleri (enzim aktivitesini %50 azaltan inhibitör derişimi) ön inkübasyon yapılmaksızın veya yapılarak ve doz-cevap eğrilerinin nonlinear regresyonu yardımıyla hesaplanmıştır.

İnhibisyonların tersinirliği (geri dönebilirliği) dilüsyon tekniğiyle incelenmiştir. Son derişimin on katı derişimde hazırlanan enzim örnekleri 37°C 'de farklı konsantrasyondaki inhibitörlerle 60 dakika inkübe edilmiş, paralel bir deneyde

inhibitör yerine distile su girilerek, örneklerin tümü daha sonra on kez dilüe olacak şekilde ölçüm karışımına eklenmiş, tüm setlerde MAO aktivitesi tayin edilmiştir.

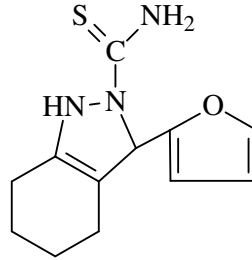
Protein tayini

Örneklerin protein içerikleri Bradford yöntemi (250) ile saptanmıştır.

4. B U L G U L A R

4.1. KİMYASAL ÇALIŞMALAR

3-(2-Furil)-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1H-indazol (*Bileşik 1a*)



1.76 g (0.01 mol) 2-furfurilidensikloheksanon ve 1.092 g (0.012 mol) tiyosemikarbazitten hareketle genel yöntemle elde edilmiş, metanolden kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim 1.344 g (% 54).

Koyu sarı renkte kristalize bir bileşik olup, erime derecesi 184-5°C'dir. Su, sikloheksan ve petrol eterinde çözünmez. Etanol, metanol ve benzende sıcakta; aseton ve kloroformda soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde S-2, S-3 ve S-4 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.22, 0.43 ve 0.61'dir. UV ışığında 254 ve 366 nm'de floresan zeminde floresan olmayan renkler verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferriklorürle açık kahverengi zeminde mavi, Dragendorff belirteciyle açık sarı zeminde turuncu lekeler halinde gözlenir.

UV spektrumunda, λ_{max}^{MeoH} 202 (log ϵ : 4.24) ve 342 (log ϵ : 4.32) nm'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3424, 3211, 3130 (N-H gerilim), 3035 (aromatik C-H gerilim), 2942, 2864 (alifatik C-H gerilim), 1497 (C=C gerilim), 1261 (C=S gerilim), 1151 (C-N gerilim), 1080 (C-O-C gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 1.59-1.64 (4H; m; H_{5ax} , H_{5eq} , H_{6ax} , H_{6eq}), 2.50 (2H; m; H_{4ax} , H_{4eq}), 2.68 (2H; t; H_{7ax} , H_{7eq}), 6.58 (2H; m; furan

H₃, furan H₄), 7.21 (1H; s; H₃), 7.74 (1H; d; furan H₅), 7.85 ve 8.21 (2H; s; NH₂), 9.97 ppm'de (1H; s; H₁) pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (CDCl₃-d, 400 MHz); δ 1.69-1.80 (4H; m; H_{5ax}, H_{5eq}, H_{6ax}, H_{6eq}), 2.43 (2H; t; H_{4ax}, H_{4eq}), 2.77 (2H; dt; H_{7ax}, H_{7eq}), 6.45-6.48 (3H; m; furan H₃, furan H₄, NH₂), 7.05 (1H; s; H₃), 7.26 (1H; s; NH₂), 7.46 (1H; d; furan H₅), 8.69 ppm'de (1H; s; H₁) pikler görülür.

¹³C-NMR spektrumunda (400 MHz, DMSO-d₆); δ 22 (C-5), 23 (C-6), 27 (C-4), 29 (C-7), 112 (Furan-C-3, Furan-C-4), 116 (C-3), 133 (C-3a), 144 (Furan-C-5), 151 (C-7a), 153 (Furan-C-2), 179 ppm'de (C=S) pikleri görülür.

¹³C-NMR spektrumunda (400 MHz, CDCl₃-d); δ 22 (C-5), 23 (C-6), 27 (C-4), 29 (C-7), 112 (Furan-C-3, Furan-C-4), 117 (C-3), 132 (C-3a), 143 (Furan-C-5), 152 (C-7a), 153 (Furan-C-2), 179 ppm'de (C=S) pikleri görülür.

HSQC (¹H-NMR-¹³C-NMR) (CDCl₃-d); δ 1.69-1.80/22 (H_{5ax}, H_{5eq}/C-5), 1.69-1.80/23 (H_{6ax}, H_{6eq}/C-6), 2.43/27 (H_{4ax}, H_{4eq}/C-4), 2.77/29 (H_{7ax}, H_{7eq}/C-7), 7.05/117 (H₃/C-3), 6.45-6.48/112 (furan H₃/furan C-3), 6.45-6.48/112 (furan H₄/furan C-4), 7.46/143 (furan H₅/furan C-5).

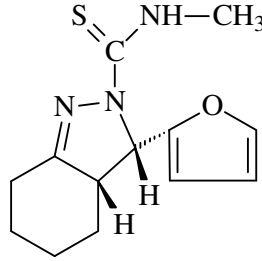
COSY (¹H-NMR-¹H -NMR) (CDCl₃-d); δ 7.05/2.43 (H₃/H_{4ax,eq}), 6.45-6.48/2.43 (furan H_{3,4}/H_{4ax,eq}), 1.69-1.80/2.77 (H_{5,6ax,eq}/H_{7ax,eq}), 1.69-1.80/2.43 (H_{5,6ax,eq}/H_{4ax,eq}), 6.45-6.48/7.46 (furan H_{3,4}/furan H₅).

Kütle spektrumunda, m/e 249 (M⁺, %100), 189 (M-CSNH₂, %67.82; [A]), 161 (M-CH₂N₃S, %31.57; [E]), 216 (M-SH, %18.42; [C]), 181 (M-C₄H₄O, %15.78; [I]), parçalanmaları görülür.

Analiz: C₁₂H₁₅N₃OS için (M.A.: 249.09)

	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	57.81	6.06	16.85	12.86
Bulunan	57.71	6.18	16.42	12.64

***cis*-3-(2-Furil)-2-(*N*-metiltiyokarbamoil)-3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol (*Bileşik 1b*)**



1.76 g (0.01 mol) 2-furfurilidensikloheksanon, 1 g (0.02 mol) hidrazin hidrat (%100) ve 0.73 g (0.01 mol) metil izotiyosiyannattan hareketle genel yöntemle göre elde edilmiş, metanol-sudan kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim 0.815 g (% 31).

Kirli beyaz renkte kristaller halinde olup, erime derecesi 167-8°C'dir. Su, sikloheksan, petrol eterinde çözünmez; etanol, metanol, benzen, aseton ve kloroformda soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde S-2, S-3 ve S-5 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.27, 0.58 ve 0.69'dur. UV ışığında 254 ve 366 nm'de floresan zeminde floresan olmayan renkler verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferriklorürle açık kahverengi zeminde mavi, Dragendorff belirteciyle açık sarı zeminde turuncu lekeler halinde gözlenir.

UV spektrumunda, λ_{max}^{MeOH} 201 (log ϵ : 4.36) ve 273 (log ϵ : 4.31) nm'dir.

IR spektrumunda (KBr), 3345 (N-H gerilim); 3112 (aromatik C-H gerilim), 2987, 2953, 2864 (alifatik C-H gerilim), 1649 (C=N gerilim), 1535 (C=C gerilim), 1322 (C=S gerilim), 1216 (C-N gerilim), 1144, 1106 (C-O-C gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

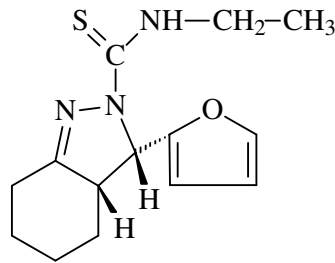
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 0.55 (1H; dq; H_{4ax}), 1.10-1.40 (2H; m; H_{5ax} , H_{6ax}), 1.66 (2H; m; H_{4eq} , H_{5eq}), 1.92 (1H; m; H_{6eq}), 2.26 (1H; dt; H_{7ax}), 2.58 (1H; d; H_{7eq}), 2.86 (3H; d; -CH₃), 3.40 (1H; m; H_{3a}), 5.80 (1H; d; H_3 ; J: 10.8), 6.08 (1H; d; furan H_4), 6.35 (1H; dd; furan H_3), 7.51 (1H; m; furan H_5), 8.12 ppm'de (1H; q; NH) pikler görülür.

Kütle spektrumunda, (EI, 70 eV); m/e 263 (M^+ , %100), 167 ($M-C_6H_{10}N$, %67.82; [G]), 81 ($M-C_8H_{12}N_3S$, %30.70; [F]), 181 ($M-C_6H_{10}$, %27.19; [D]), 195 ($M-C_4H_4O$, %23.68; [I]), 189 ($M-C_2H_4NS$, %17.54; [A]), 107 ($M-C_7H_{12}N_2S$, %14.42; [K]), parçalanmaları görülür.

Analiz: $C_{13}H_{17}N_3OS$ için (M.A.: 263.11)

	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	59.29	6.51	15.96	12.18
Bulunan	59.09	5.68	15.62	11.38

cis-3-(2-Furil)-2-(N-etiltiyokarbamoil)- 3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol (Bileşik 1c)



1.76 g (0.01 mol) 2-furfurilidensikloheksanon, 1 g (0.02 mol) hidrazin hidrat (%100) ve 0.87 g (0.01 mol) etil izotiyosiyannattan hareketle genel yöntemle elde edilmiş, etanolden kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim 1.412 g (% 51).

Beyaz renkte kristalize bir bileşik olup, erime derecesi $186^\circ C$ 'dir. Su, sikloheksan, petrol eterinde çözünmez; etanol, metanol, benzende sıcakta; aseton ve kloroformda soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde S-1, S-2 ve S-4 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.23, 0.35 ve 0.72'dur. UV ışığında 254 ve 366 nm'de floresan zeminde floresan olmayan renkler verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferriklorürle açık kahverengi zeminde mavi, Dragendorff belirteciyle açık sarı zeminde turuncu lekeler halinde gözlenir.

UV spektrumunda, λ_{max}^{MeoH} 202 (log ϵ : 4.34) ve 274 (log ϵ : 4.33) nm'dir.

IR spektrumunda (KBr), 3339 (N-H gerilim), 3110 (aromatik C-H gerilim), 2975, 2927, 2862 (alifatik C-H gerilim), 1637 (C=N gerilim), 1533 (C=C gerilim), 1323 (C=S gerilim), 1214 (C-N gerilim), 1145, 1112 (C-O-C gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

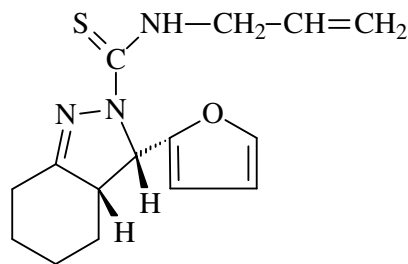
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 0.53 (1H; dq; $\text{H}_{4\text{ax}}$), 1.06 (3H; t; $-\text{CH}_3$), 1.10-1.40 (2H; m; $\text{H}_{5\text{ax}}$, $\text{H}_{6\text{ax}}$), 1.65 (2H; m; $\text{H}_{4\text{eq}}$, $\text{H}_{5\text{eq}}$), 1.92 (1H; m; $\text{H}_{6\text{eq}}$), 2.26 (1H; dt; $\text{H}_{7\text{ax}}$), 2.60 (1H; d; $\text{H}_{7\text{eq}}$), 3.40 (1H; m; $\text{H}_{3\text{a}}$), 3.50 (2H; m; $-\text{CH}_2-$), 5.81 (1H; d; H_3 ; J: 10.8), 6.08 (1H; d; furan H_4), 6.35 (1H; dd; furan H_3), 7.51 (1H; m; furan H_5), 8.10 ppm'de (1H; t; NH) pikler görülür.

Kütle spektrumunda, m/e 277 (M^+ , %100), 181 ($\text{M}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}$, %53.47; [G]), 81 ($\text{M}-\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_3\text{S}$, %31.57; [F]), 44 ($\text{M}-\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{OS}$, %29; [NHC_2H_5]), 195 ($\text{M}-\text{C}_6\text{H}_{10}$, %22; [D]), 209 ($\text{M}-\text{C}_4\text{H}_4\text{O}$, %18.42; [I]), 107 ($\text{M}-\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{S}$, %15; [K]), parçalanmaları görülür.

Analiz: $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{OS}$ için (M.A.: 277.12)

	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	60.62	6.90	15.15	11.56
Bulunan	60.45	6.97	15.05	10.88

cis-3-(2-Furil)-2-(N-alliltiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol (Bileşik 1d)



1.76 g (0.01 mol) 2-furfurilidensikloheksanon, 1 g (0.02 mol) hidrazin hidrat (%100) ve 0.99 g (0.01 mol) allil izotiyosiyanattan hareketle genel yöntemle elde edilmiş, metanol-sudan kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim 1.313 g (% 45).

Beyaz renkte kristalize bir bileşik olup, erime derecesi 161°C'dir. Su, petrol eterinde çözünmez; sikloheksanda, sıcakta zorlukla; etanol, metanol, benzen, aseton ve kloroformda soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde S-1, S-2 ve S-4 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.25, 0.42 ve 0.76'dır. UV ışığında 254 ve 366 nm'de fluoressan zeminde fluoressan olmayan renkler verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferriklorürle açık kahverengi zeminde mavi, Dragendorff belirteciyle açık sarı zeminde turuncu lekeler halinde gözlenir.

UV spektrumunda, λ_{max}^{MeoH} 202 (log ϵ : 4.32) ve 274 (log ϵ : 4.27) nm'dir.

IR spektrumunda (KBr), 3345 (N-H gerilim), 3112 (aromatik C-H gerilim), 2981, 2939, 2863 (alifatik C-H gerilim), 1642 (C=N gerilim), 1528 (C=C gerilim), 1322 (C=S gerilim), 1217 (C-N gerilim), 1147 (C-O-C gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

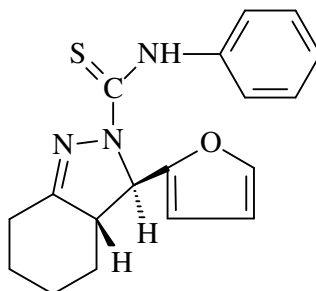
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 0.56 (1H; qd; H_{4ax}), 1.17 (1H; m; H_{5ax}), 1.32 (1H; m; H_{6ax}) 1.67 (2H; m; H_{4eq} , H_{5eq}), 1.92 (1H; m; H_{6eq}), 2.28 (1H; dt; H_{7ax}), 2.60 (1H; d; H_{7eq}), 3.42 (1H; m; H_{3a}), 4.10 (2H; m; $-CH_2-$), 5.06 (2H; dq; $=CH_2$), 5.80-5.87 (2H; m; $-CH=$ ve H_3 ; J: 10.8), 6.09 (1H; d; furan H_4), 6.36 (1H; dd; furan H_3), 7.52 (1H; m; furan H_5), 8.19 ppm'de (1H; t; NH) pikler görülür.

Kütle spektrumunda, m/e 289 (M^+ , %100), 81 ($M-C_{10}H_{14}N_3S$, %63.47; [F]), 107 ($M-C_9H_{14}N_2S$, %48.74; [K]), 193 ($M-C_6H_{10}N$, %43; [G]), 274 ($M-CH_3$, %37.72; [B]), 233 ($M-C_3H_6N$, %36; [J]) parçalanmaları görülür.

Analiz: $C_{15}H_{19}N_3OS$ için (M.A.: 289.12)

	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	62.25	6.62	14.52	11.08
Bulunan	62.37	6.49	14.48	11.19

***trans*-3-(2-Furil)-2-(*N*-feniltiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol (Bileşik 1e)**



1.76 g (0.01 mol) 2-furfurilidensikloheksanon, 1 g (0.02 mol) hidrazin hidrat (%100) ve 1.35 g (0.01 mol) fenil izotiyosiyannattan hareketle genel yöntemle elde edilmiş, etanolden kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim 2.37 g (% 73).

Beyaz renkte, kristalize bir bileşik olup erime derecesi 157-8°C'dir. Su, sikloheksan, petrol eterinde çözünmez; etanol, metanol, benzende sıcakta zorlukla; aseton ve kloroformda soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde S-1, S-2 ve S-4 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.29, 0.53 ve 0.79'dur. UV ışığında 254 ve 366 nm'de floresan zeminde floresan olmayan renkler verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferriklorürle açık kahverengi zeminde mavi, Dragendorff belirteciyle açık sarı zeminde turuncu lekeler halinde gözlenir.

UV spektrumunda, λ_{max}^{MeOH} 203 (log ϵ : 4.44) ve 278 (log ϵ : 4.36) nm'dir.

IR spektrumunda (KBr), 3490 (N-H gerilim), 3189 (aromatik C-H gerilim), 2937, 2856 (alifatik C-H gerilim), 1636 (C=N gerilim), 1509 (C=C gerilim), 1329 (C=S gerilim), 1214 (C-N gerilim), 1147, 1089 (C-O-C gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 1.40-1.60 (3H; m; H_{4ax} , H_{5ax} , H_{6ax}), 1.75 (1H; m; H_{4eq}), 2.03 (1H; m; H_{5eq}), 2.15 (1H; m; H_{6eq}), 2.45 (1H; m; H_{7ax}), 2.60 (1H; d; H_{7eq}), 3.12 (1H; m; H_{3a}), 5.41 (1H; d; H_3 ; J: 5.2), 6.28 (1H; d; furan H_4), 6.39 (1H; dd; furan H_3), 7.10 (1H; m; furan H_5), 7.26 (2H; m; fenil

halkasına ait pikler), 7.54 (3H; m; fenil halkasına ait pikler), 9.88 ppm'de (1H; s; NH) pikler görülür.

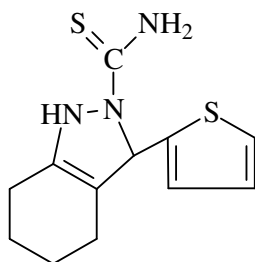
^{13}C -NMR spektrumunda (400 mHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_6$); δ 25 (C-5), 28 (C-6), 28 (C-4), 33 (C-7), 54 (C-3a), 62 (C-3), 108 (Furan-C-3), 111 (Furan-C-4), 124 (fenil C-2, 2'), 125 (fenil C-4), 129 (fenil C-3, 3'), 139 (fenil C-1), 142 (Furan-C-5), 153 (C-7a), 163 (Furan-C-2), 175 ppm'de (C=S) pikleri görülür.

Kütle spektrumunda, m/e 325 (M^+ , %100), 229 ($\text{M-C}_6\text{H}_{10}\text{N}$ %60.34; [G]), 77 ($\text{M-C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{OS}$, %51.72; [C_6H_5]), 243 ($\text{M-C}_6\text{H}_{10}$, %37; [D]), 81 ($\text{M-C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{S}$, %34.21; [F]), 257 ($\text{M-C}_4\text{H}_4\text{O}$, %28; [I]) parçalanmaları görülür.

Analiz: $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{OS}$ için (M.A.: 325.12)

	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	66.43	5.88	12.91	9.85
Bulunan	66.26	5.50	13.02	9.54

cis-3-(2-Tiyenil)-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1H-indazol
(Bileşik 2a)



1.92 g (0.01 mol) 2-(2-tiyenilmetilen)sikloheksanon ve 1.092 g (0.012 mol) tiyosemikarbazitten hareketle genel yöntemle göre elde edilmiş, metanolden kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim 1.476 g (% 56).

Sarı renkte kristalize bir bileşik olup, erime derecesi $191\text{-}2^\circ\text{C}$ 'dir. Su, sikloheksan, petrol eterinde çözünmez; etanol, metanol, benzende sıcakta; aseton ve kloroformda soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde S-2, S-3 ve S-4 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.25, 0.46 ve 0.62'dir. UV ışığında 254 ve 366 nm'de floresan zeminde floresan olmayan renkler verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde

kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferriklorürle açık kahverengi zeminde mavi, Dragendorff belirteciyle açık sarı zeminde turuncu lekeler halinde gözlenir.

UV spektrumunda, λ_{max}^{MeOH} 202 (log ϵ : 4.31) ve 344 (log ϵ : 4.37) nm'dir.

IR spektrumunda (KBr), 3401, 3236 (N-H gerilim), 3142 (aromatik C-H gerilim), 2926,2861 (alifatik C-H gerilim), 1500 (C=C gerilim), 1278 (C=S gerilim), 1205 (C-N gerilim), 1071 (C-S-C gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

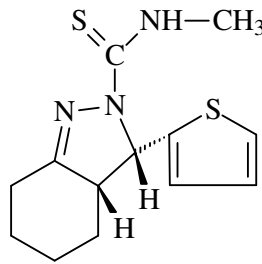
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 1.63 (4H; m; H_{5ax} , H_{5eq} , H_{6ax} , H_{6eq}), 2.50 (2H; m; H_{4ax} , H_{4eq}), 2.63 (2H; m; H_{7ax} , H_{7eq}), 7.14 (H; dd; tiyofen H_3), 7.30 (1H; d; tiyofen H_4), 7.65 (2H; m; H_3 ve tiyofen H_5), 7.90 ve 8.27 (2H; s; NH_2), 9.97 ppm'de (1H; s; H_1) pikler görülür.

Kütle spektrumunda, m/e 265 (M^+ , %64.03), 205 ($M-CSNH_2$, %100; [A]), 232 ($M-SH$, %39.60; [C]), 123 ($M-C_6H_{10}N_2S$, %33.61; [K]), 97 ($M-C_7H_{10}N_3S$, %30; [F]), 169 ($M-C_6H_{10}N$, %25.74; [G]) parçalanmaları görülür.

Analiz: $C_{12}H_{15}N_3S_2$ için (M.A.: 265.07)

	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	54.31	5.70	15.83	24.16
Bulunan	54.35	5.75	15.71	24.02

cis-3-(2-Tiyenil)-2-(N-metiltiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol (Bileşik 2b)



1.92 g (0.01 mol) 2-(2-tiyenilmetilen)sikloheksanon, 1 g (0.02 mol) hidrazin hidrat (%100) ve 0.73 g (0.01 mol) metil izotiyosiyattan hareketle genel yöntemle göre elde edilmiş, metanolden kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim 1.383 g (% 50).

Sarımsı beyaz renkte kristalize bir bileşik olup, erime derecesi 177-8°C'dir. Su, sikloheksan, petrol eterinde çözünmez; etanol, metanolde sıcakta; benzen, aseton ve kloroformda soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde S-2, S-3 ve S-5 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.27, 0.63 ve 0.76'dır. UV ışığında 254 ve 366 nm'de fluoressan zeminde fluoressan olmayan renkler verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferriklorürle açık kahverengi zeminde mavi, Dragendorff belirteciyle açık sarı zeminde turuncu lekeler halinde gözlenir.

UV spektrumunda, λ_{max}^{MeOH} 201 (log ϵ : 4.29), 245 (log ϵ : 4.20) ve 274 (log ϵ : 4.29) nm'dir.

IR spektrumunda (KBr), 3361 (N-H gerilim), 3066 (aromatik C-H gerilim), 2952, 2940, 2865 (alifatik C-H gerilim), 1642 (C=N gerilim), 1542 (C=C gerilim), 1345 (C=S gerilim), 1232 (C-N gerilim), 1133, 1106 (C-S-C gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

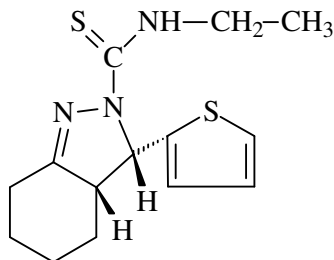
$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 0.60 (1H; dq; H_{4ax}), 1.11 (1H; m; H_{5ax}), 1.32 (1H; m; H_{6ax}) 1.65 (2H; m; H_{4eq} , H_{5eq}), 1.89 (1H; m; H_{6eq}), 2.28 (1H; dt; H_{7ax}), 2.60 (1H; d; H_{7eq}), 2.87 (3H; d; $-\text{CH}_3$), 3.40 (1H; m; H_{3a}), 6.09 (1H; d; H_3 ; J: 10.8), 6.76 (1H; d; tiyofen H_4), 6.94 (1H; dd; tiyofen H_3), 7.33 (1H; m; tiyofen H_5), 8.18 ppm'de (1H; q; NH) pikler görülür.

Kütle spektrumunda, m/e 279 (M^+ , %68), 183 (M- $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}$, %100; [G]), 246 (M-SH, %49; [C]), 197 (M- C_6H_{10} , %28; [D]), 97 (M- $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_3\text{S}$, %19; [F]), 123 (M- $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}$, %18; [K]) parçalanmaları görülür.

Analiz: $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{S}_2$ için (M.A.: 279.09)

	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	55.88	6.13	15.04	22.95
Bulunan	55.05	6.30	14.99	22.97

***cis*-3-(2-Tiyenil)-2-(*N*-etiltiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-(2*H*)-indazol (*Bileşik 2c*)**



1.92 g (0.01 mol) 2-(2-tiyenilmetilen)sikloheksanon, 1 g (0.02 mol) hidrazin hidrat (%100) ve 0.87 g (0.01 mol) etil izotiyosiyannattan hareketle genel yöntemle göre elde edilmiş, metanolden kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim 1.506 g (% 51).

Beyaz renkte kristalize bir bileşik olup erime derecesi 194°C'dir. Su, sikloheksan, petrol eterinde çözünmez; etanol, metanolde sıcakta; benzen, aseton ve kloroformda soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde S-1, S-2 ve S-4 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.22, 0.38 ve 0.75'dir. UV ışığında 254 ve 366 nm'de fluoresan zeminde fluoresan olmayan renkler verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferriklorürle açık kahverengi zeminde mavi, Dragendorff belirteciyle açık sarı zeminde turuncu lekeler halinde gözlenir.

UV spektrumunda, λ_{max}^{MeOH} 201 (log ϵ : 4.33), 246 (log ϵ : 4.24) ve 275 (log ϵ : 4.24) nm'dir.

IR spektrumunda (KBr), 3356 (N-H gerilim), 3075 (aromatik C-H gerilim), 2974, 2940, 2863 (alifatik C-H gerilim), 1643 (C=N gerilim), 1528 (C=C gerilim), 1320 (C=S gerilim), 1228 (C-N gerilim), 1110, 1149 (C-S-C gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 0.60 (1H; dq; H_{4ax}), 1.06 (3H; t; $-\text{CH}_3$), 1.10-1.40 (2H; m; H_{5ax} , H_{6ax}), 1.60-1.70 (2H; m; H_{4eq} , H_{5eq}), 1.90 (1H; m; H_{6eq}), 2.28 (1H; dt; H_{7ax}), 2.60 (1H; dd; H_{7eq}), 3.40 (1H; m; H_{3a}), 3.50 (2H; m;

-CH₂-), 6.10 (1H; d; H₃; J: 11.2), 6.76 (1H; d; tiyofen H₄), 6.95 (1H; dd; tiyofen H₃), 7.33 (1H; m; tiyofen H₅), 8.18 (1H; t; NH) ppm'de pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (CDCl₃-d, 400 MHz); δ 0.85 (1H; dq; H_{4ax}), 1.24 (3H; t; -CH₃), 1.27-1.41 (2H; m; H_{5ax}, H_{6ax}), 1.72-1.79 (2H; m; H_{4eq}, H_{5eq}), 1.97 (1H; m; H_{6eq}), 2.20 (1H; dt; H_{7ax}), 2.72 (1H; dd; H_{7eq}), 3.24 (1H; m; H_{3a}), 3.64 (2H; m; -CH₂-), 6.20 (1H; d; H₃; J: 11.2), 6.80 (1H; d; tiyofen H₄), 6.95 (1H; dd; tiyofen H₃), 7.17 (1H; m; tiyofen H₅), 7.27 (1H; t; NH) ppm'de pikler görülür.

¹³C-NMR (400 mHz, CDCl₃-d; δ 15 (CH₃), 24 (C-5), 25 (C-6), 27.2 (C-4), 27.8 (C-7), 39 (CH₂), 50 (C-3a), 62 (C-3), 124.1 (Tiyofen C-5), 124.7 (Tiyofen C-4), 127 (Tiyofen C-3), 142 (C-7a), 161 (Tiyofen C-2), 175 (C=S) ppm'de pikleri görülür.

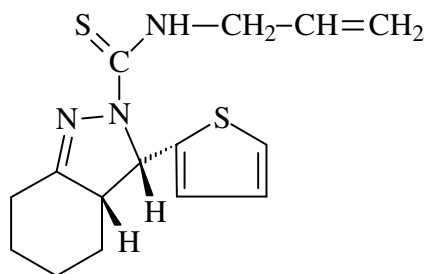
HSQC (¹H-NMR-¹³C-NMR) (CDCl₃-d); δ 1.24/15 (CH₃/CH₃) 0.85, 1.72-1.79/27.2 (H_{4ax}, H_{4eq}/C-4), 1.27-1.41, 1.72-1.79/24 (H_{5ax}, H_{5eq}/C-5), 1.27-1.41, 1.97/25 (H_{6ax}, H_{6eq}/C-6), 2.20, 2.72/27.8 (H_{7ax}, H_{7eq}/C-7), 3.24/50 (H_{3a}/C-3a), 3.64/39 (-CH₂-/-CH₂-), 6.20/62 (H₃/C-3), 6.95/127 (tiyofen H₃/tiyofen C-3), 6.80/124.7 (tiyofen H₄/tiyofen C-4), 7,17/124.1 (tiyofen H₅/tiyofen C-5)

Kütle spektrumunda, m/e 293 (M⁺, %100), 197 (M-C₆H₁₀N, %90.32; [G]), 260 (M-SH, %59.13; [C]), 44 (M-C₁₂H₁₃N₂S₂, %55.91; [NHC₂H₅]), 123 (M-C₈H₁₄N₂S, %32.57; [K]), 97 (M-C₉H₁₄N₃S, %30.43; [F]), parçalanmaları görülür.

Analiz: C₁₄H₁₉N₃S₂ için (M.A.: 293.1)

	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	57.30	6.53	14.32	21.85
Bulunan	57.44	6.30	14.26	21.82

cis-3-(2-Tiyenil)-2-(N-alliltiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol (Bileşik 2d)



1.92 g (0.01 mol) 2-(2-tiyenilmetilen)sikloheksanon, 1 g (0.02 mol) hidrazin hidrat (%100) ve 0.99 g (0.01 mol) allil izotiyosiyattan hareketle genel yöntemle göre elde edilmiş, metanolden kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim 1.288 g (% 42).

Beyaz renkte kristalize bir bileşik olup, erime derecesi 181-2°C'dir. Su, sikloheksan, petrol eterinde çözünmez; etanol, metanolde sıcakta; benzen, aseton ve kloroformda soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde S-1, S-2 ve S-4 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.25, 0.45 ve 0.77'dir. UV ışığında 254 ve 366 nm'de floresan zeminde floresan olmayan renkler verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferriklorürle açık kahverengi zeminde mavi, Dragendorff belirteciyle açık sarı zeminde turuncu lekeler halinde gözlenir.

UV spektrumunda, λ_{max}^{MeoH} 201 (log ϵ : 4.26), 246 (log ϵ : 4.15) ve 275 (log ϵ : 4.23) nm'dir.

IR spektrumunda (KBr), 3360 (N-H gerilim), 3074 (aromatik C-H gerilim), 2975, 2938, 2860 (alifatik C-H gerilim), 1642 (C=N gerilim), 1526 (C=C gerilim), 1320 (C=S gerilim), 1257 (C-N gerilim), 1116, 1149 (C-S-C gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

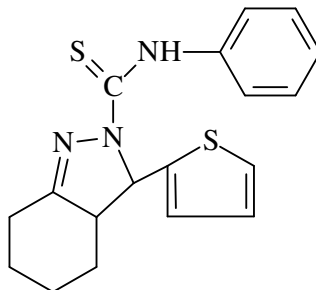
$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 0.60 (1H; dq; H_{4ax}), 1.11 (1H; tq; H_{5ax}), 1.32 (1H; m; H_{6ax}) 1.65 (2H; m; H_{4eq} , H_{5eq}), 1.89 (1H; m; H_{6eq}), 2.29 (1H; dt; H_{7ax}), 2.61 (1H; d; H_{7eq}), 3.42 (1H; m; H_{3a}), 4.09 (2H; m; $-\text{CH}_2-$), 5.06 (2H; qd; $=\text{CH}_2$), 5.84 (1H; m; $-\text{CH}=$), 6.10 (1H; d; H_3 ; J: 10.8), 6.77 (1H; d; tiyofen H_4), 6.94 (1H; dd; tiyofen H_3), 7.33 (1H; d; tiyofen H_5), 8.27 (1H; t; NH) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda, m/e 305 (M^+ , %55.07), 123 ($\text{M}-\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2\text{S}$, %100; [K]), 249 ($\text{M}-\text{C}_3\text{H}_6\text{N}$, %88.40; [J]), 272 ($\text{M}-\text{SH}$, %84.05; [C]), 97 ($\text{M}-\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{S}$ %66.66; [F]), 290 ($\text{M}-\text{CH}_3$, %45.63; [B]) parçalanmaları görülür.

Analiz: $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{S}_2$ için (M.A.: 305.1)

	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	58.98	6.27	13.76	20.99
Bulunan	59.17	6.08	13.73	21.05

3-(2-Tiyenil)-2-(N-feniltiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol
(Bileşik 2e)



1.92 g (0.01 mol) 2-(2-tiyenilmetilen)sikloheksanon, 1 g (0.02 mol) hidrazin hidrat (%100) ve 1.35 g (0.01 mol) fenil izotiyosiyannattan hareketle genel yöntemle göre elde edilmiş, metanolden kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Verim 2.393 g (% 70).

Sarımsı beyaz renkte kristalize bir bileşik olup, erime derecesi, erime derecesi 140-1 °C'dir. Su, sikloheksan, petrol eterinde çözünmez; etanol, metanolde sıcakta; benzen, aseton ve kloroformda soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde S-1, S-2 ve S-4 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.28, 0.52 ve 0.81'dir. UV ışığında 254 ve 366 nm'de floresan zeminde floresan olmayan renkler verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferriklorürle açık kahverengi zeminde mavi, Dragendorff belirteciyle açık sarı zeminde turuncu lekeler halinde gözlenir.

UV spektrumunda, λ_{max}^{MeoH} 202 (log ϵ : 4.50) ve 278 (log ϵ : 4.32) nm'dir.

IR spektrumunda (KBr), 3313 (N-H gerilim), 3059 (aromatik C-H gerilim), 2941, 2855 (alifatik C-H gerilim), 1640 (C=N gerilim), 1516 (C=C gerilim), 1330 (C=S gerilim), 1229 (C-N gerilim), 1152, 1192 (C-S-C gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 1.50 (3H; m; H_{4ax} , H_{5ax} , H_{6ax}), 1.75 (1H; m; H_{4eq}), 2.03 (1H; m; H_{5eq}), 2.22 (1H; m; H_{6eq}), 2.45 (1H; m; H_{7ax}), 2.60 (1H; m; H_{7eq}), 3.05 (1H; m; H_{3a}), 5.65 (1H; d; H_{3trans} ; J: 4.8), 6.22 (1H; d; H_{3cis} ; J: 11.2), 6.98 (1H; m; tiyofen H_4), 7.10 (1H; m; tiyofen H_3), 7.37 (1H; m; tiyofen H_5),

7,30 (2H; m; fenil halkasına ait pikler), 7.54 (3H; m; fenil halkasına ait pikler), 9.96 ppm'de (1H; s; NH) pikler görülür.

Kütle spektrumunda, m/e 341 (M^+ , %59.09), 308 (M-SH, %100; [C]), 245 (M-C₆H₁₀N, %79.09; [G]), 205 (M-C₇H₆NS, %26.36; [A]), 259 (M-C₆H₁₀, %21.81; [D]), parçalanmaları görülür.

Analiz: C₁₅H₁₉N₃S₂ için (MA.:341.1)

	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	63.31	5.61	12.30	18.78
Bulunan	63.48	5.45	12.29	18.86

4.2. DOCKING ÇALIŞMALARI

Bileşiklerimizin MAO-A ve MAO-B'ye karşı yapılan docking çalışmaları sonucu hesaplanan enerji ihtiyacı ve inhibisyon konsantrasyonu değerleri Tablo 4.1.'de, enzimle yaptıkları komplekslere ait şekiller şekil 4.1.- 4.22.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Sentezi yapılan bileşiklerimizin MAO-A ve MAO-B'ye karşı yapılan docking çalışmaları sonucu hesaplanan enerji ihtiyacı ve inhibisyon konsantrasyonu değerleri

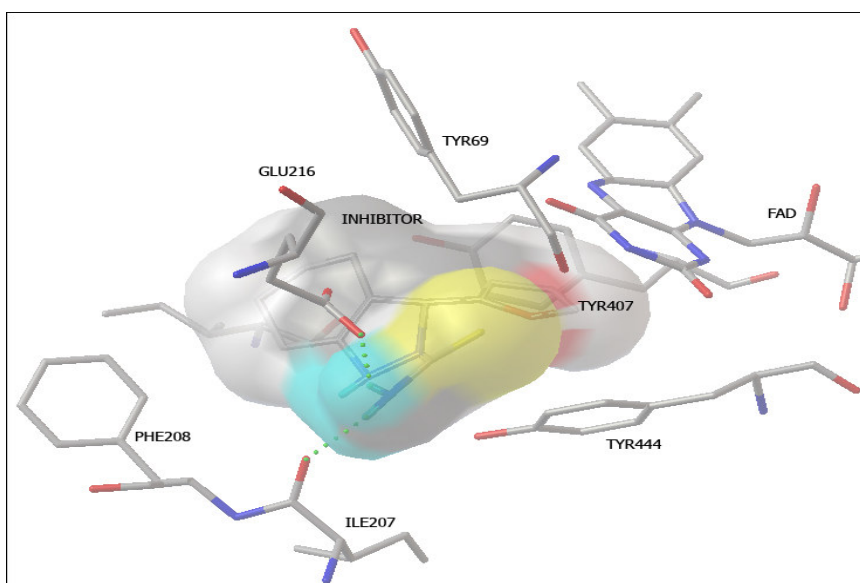
Bileşikler	MAO-B	MAO-A
1a (<i>R</i>)	$\Delta G = -8.05$ kcal/mol Ki= 1.27 microM	$\Delta G = -7.54$ kcal/mol Ki= 2.96 microM
1b (<i>Cis</i>)	$\Delta G = -7.56$ kcal/mol Ki= 2.90 microM	$\Delta G = -7.09$ kcal/mol Ki= 6.39 microM
1c (<i>Cis</i>)	$\Delta G = -7.59$ kcal/mol Ki= 2.73 microM	$\Delta G = -7.47$ kcal/mol Ki= 3.34 microM
1d (<i>Cis</i>)	$\Delta G = -7.43$ kcal/mol Ki= 3.58 microM	$\Delta G = -7.86$ kcal/mol Ki= 1.72 microM
1e (<i>Trans</i>)	$\Delta G = -9.76$ kcal/mol Ki= 70.22 nanoM	$\Delta G = -9.95$ kcal/mol Ki= 50.75 nanoM
2a (<i>R</i>)	$\Delta G = -8.12$ kcal/mol Ki= 1.11 microM	$\Delta G = -7.63$ kcal/mol Ki= 2.57 microM
2b (<i>Cis</i>)	$\Delta G = -7.87$ kcal/mol Ki= 1.70 microM	$\Delta G = -7.32$ kcal/mol Ki= 4.28 microM

2c (<i>Cis</i>)	$\Delta G = -7.65$ kcal/mol Ki= 2.47 microM	$\Delta G = -7.79$ kcal/mol Ki= 1.96 microM
2d (<i>Cis</i>)	$\Delta G = -7.78$ kcal/mol Ki= 1.99 microM	$\Delta G = -8.24$ kcal/mol Ki= 915.30 nanoM
2e (<i>Cis</i>)	$\Delta G = -9.59$ kcal/mol Ki= 93.08 nanoM	$\Delta G = -9.88$ kcal/mol Ki= 57.54 microM
2e (<i>Trans</i>)	$\Delta G = -9.77$ kcal/mol Ki= 69.46 nanoM	$\Delta G = -10.15$ kcal/mol Ki= 36.53 nanoM

4.2.1. MAO-A Enzimi ile Yapılan Docking Çalışmaları

Bileşik 1a

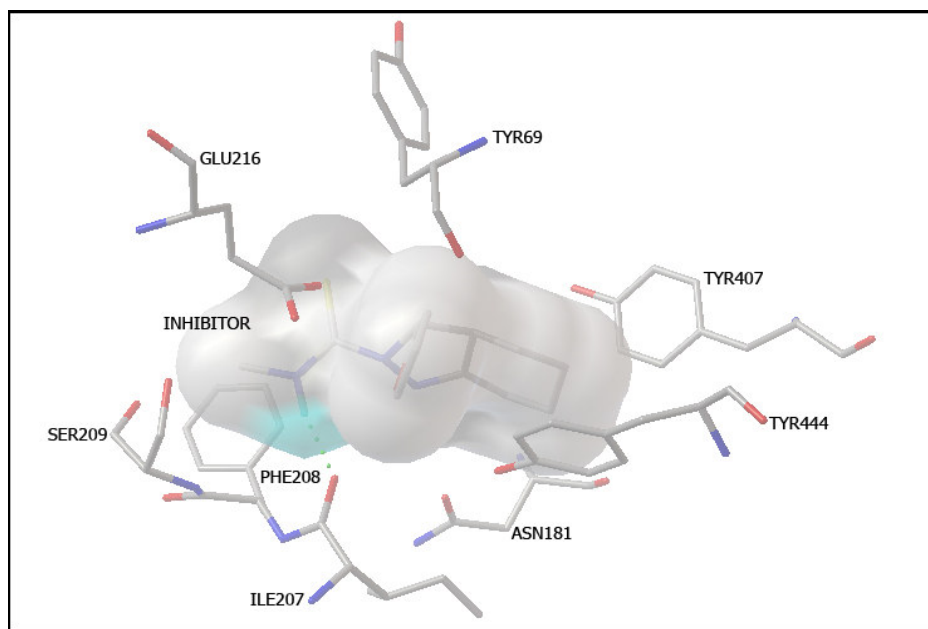
Bileşik 1a (R) MAO-A enziminin aktif bölgesine Şekil 4.1’de gösterildiği gibi yerleşmiştir (Ki= 2.96 μ M). Şekil dikkatle incelendiğinde furan halkasının Tyr444 ve Tyr407 aminoasitlerinin fenolik yan zincirleri arasına yatay konumda ve FAD nin *re* yüzüne ise paralel bir düzenlenme ile yanaştığı tespit edilmiştir. Amin grubu hidrojenlerinden biri Ile207 peptit bağının karbonil grubu ile diğeri ise Glu216 yan zincirinin karbonil grubu ile hidrojen bağı yapmaktadır. İnhibitörün etkileşimde bulunduğu diğer aktif bölge aminoasit yan zincirleri Tyr69 ve Phe208 dir.



Şekil 4.1. *Bileşik 1a*’nın R izomerinin MAO-A’nın aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 1b

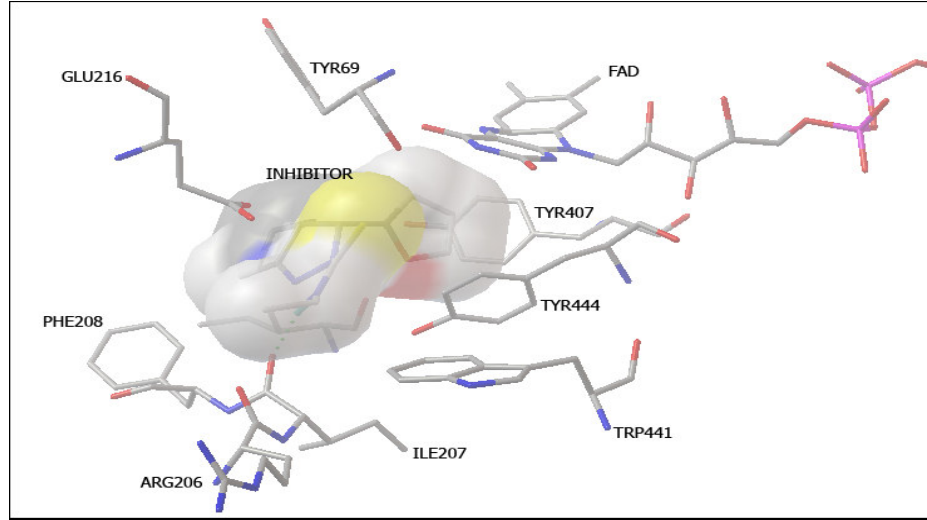
Sikloheksan grubu Tyr444 ve Tyr407 aminoasit yan zincirleri arasına doğru konumlanmıştır. Ile207 ve Phe208 peptit bağının karbonil grubu ile inhibitördeki azota bağlı hidrojen, hidrojen bağı yapmaktadır (2.0 Å). Tyr69, Glu216, Ser209 ise inhibitörleri çevreleyen diğer aktif bölge aminoasit yan zincirleridir.



Şekil 4.2. *Bileşik 1b*'nin *cis* izomerinin MAO-A'nın aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 1c

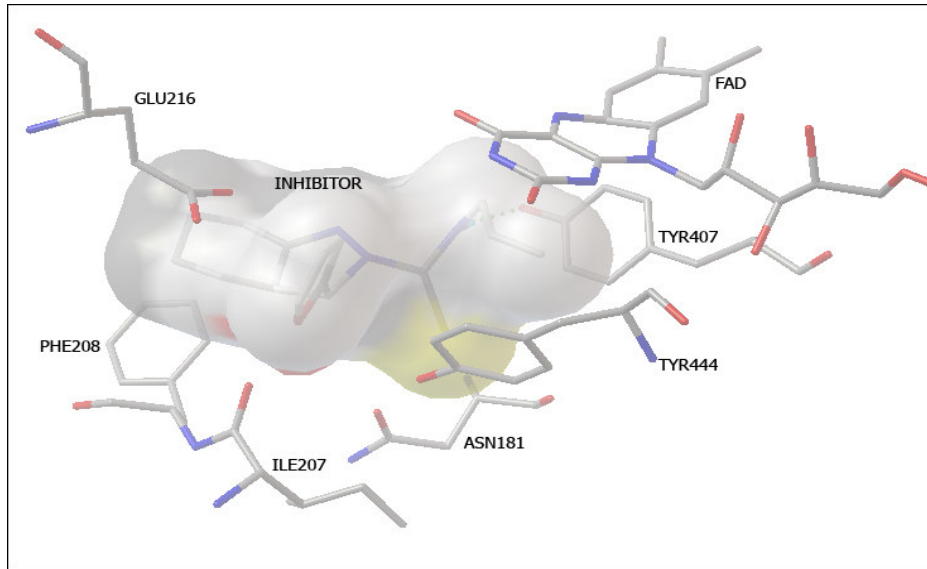
Furan halkası Tyr407 ve Tyr444 aminoasit yan zincirleri arasına yatay bir konumda ve FAD'a dik bir pozisyonda yaklaşarak her iki aromatik halka ile π - π girişimleri yapmıştır. Trp441, Tyr69, Glu216, Ile180 ise aktif kısımdaki inhibitörle girişimde bulunan diğer aminoasit yan zincirleridir. Phe208 ve Ile207'nin bağlandığı amid karbonili ile inhibitörde bulunan amin hidrojeni de ilave bir hidrojen bağı yaparak bu inhibitörün bağlanma katsayısını düşürmektedir.



Şekil 4.3. *Bileşik 1c*'nin *cis* izomerinin MAO-A'nın aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 1d

Aminometil grubu Tyr407 ve Tyr44 arasında girerek, mümkün olduğunca FAD'a yaklaşmıştır. Diğer taraftan bileşiğin N-H grubu ile Tyr407'nin fenolik halkasında bulunan –OH grubu da hidrojen bağı oluşturmaktadır. İnhibitörü saran diğer aminoasit yan zincirleri Glu216, Phe208, Ile207 ve Asn181'dir.

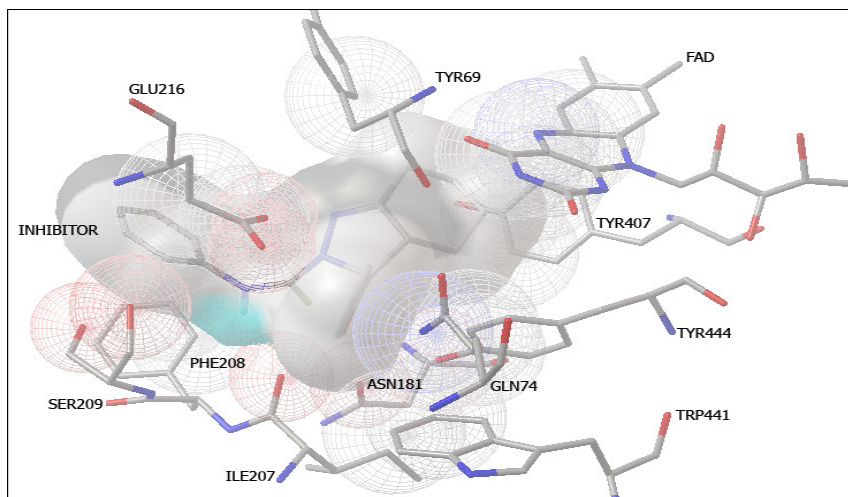


Şekil 4.4 *Bileşik 1d*'nin *cis* izomerinin MAO-A'nın aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 1e

Bu inhibitörde sikloheksan halkası Tyr444 ve Tyr407 arasında doğru yönelmiştir. Fenil grubu ise Phe208 ve Glu216 arasında yakın bir bölgeye

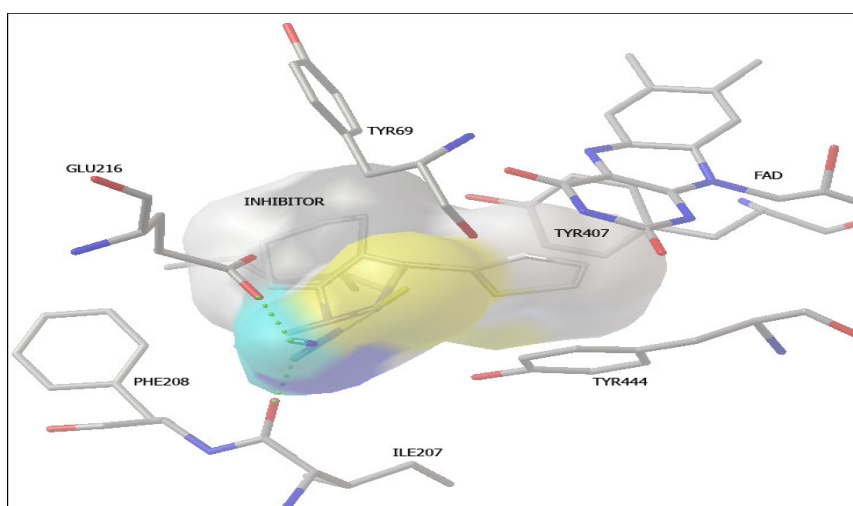
yerleşmiştir. Tyr69, Gln74, Asn181, Trp441, Ile207, Ser209 ise inhibitörü çevreleyen diğer aminoasit yan zincirleridir.



Şekil 4.5. *Bileşik 1e*'nin *trans* izomerinin MAO-A'nın aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 2a

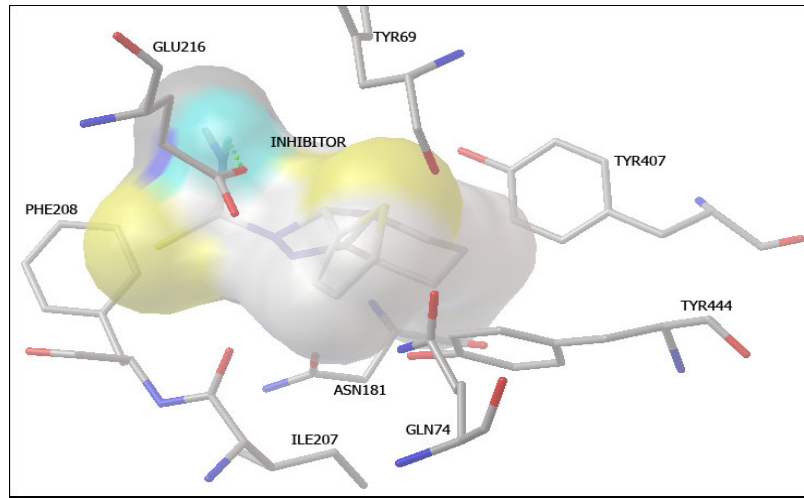
Tiyofen halkası Tyr444 ve Tyr407 aminoasitlerinin fenolik halkalarına dik olarak hidrofobik kafes bölgesinde konumlanmıştır. İnhibitörün amino grubu hidrojenlerinden birisi Glu216 aminoasit yan zincir karbonil grubu ile diğer hidrojeni ise Ile207 peptit karbonil grubu ile hidrojen bağı yapmaktadır. İnhibitör ile etkileşen diğer önemli aktif bölge aminoasit yan zincirleri Tyr69 ve Phe208 dir.



Şekil 4.6. *Bileşik 2a*'nın R izomerinin MAO-A'nın aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 2b

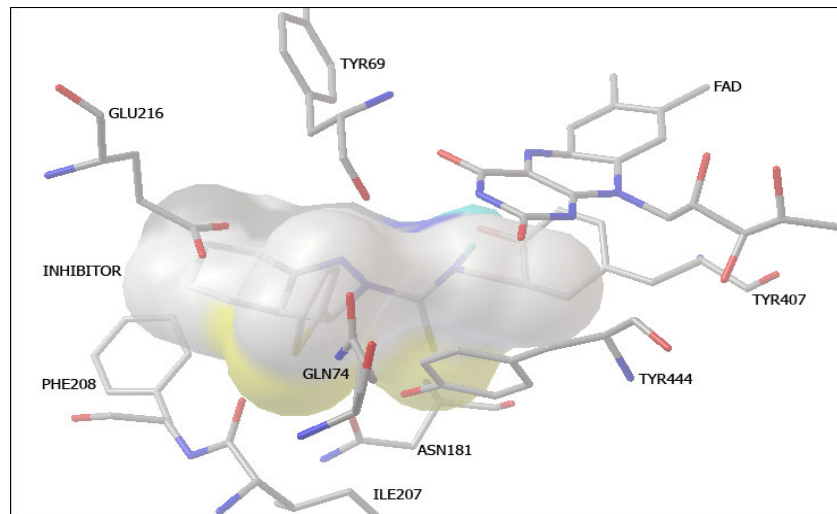
Glu216 yan zinciri ile amin hidrojeni bir hidrojen bağı yapmıştır. Sikloheksan halkası Tyr407 ve Tyr444 hidrofobik bölgeye mümkün olduğu kadar yanaşmıştır. Hidrojen bağının yanında Gln74, Ile207, Phe208, Tyr69 ve Asn181, inhibitörü çevreleyen diğer önemli aktif kısım aminoasit yan zincirleridir.



Şekil 4.7. *Bileşik 2b*'nin *cis* izomerinin MAO-A'nın aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 2c

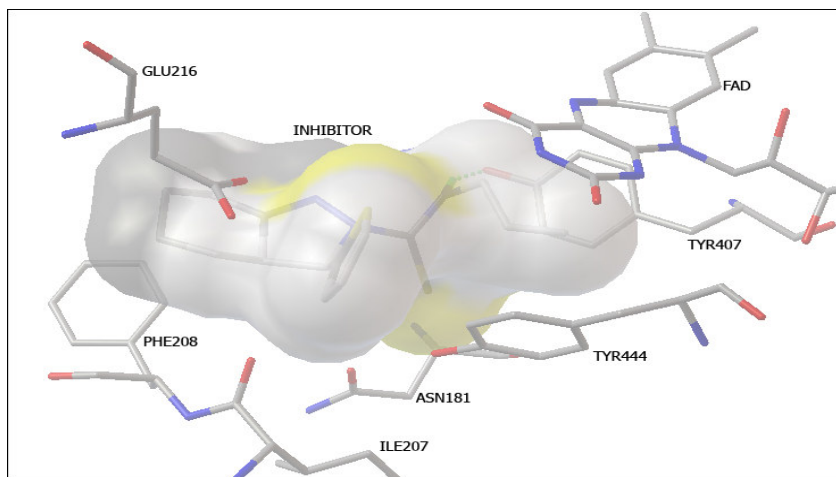
Etil grubu Tyr407 ve Tyr444 arasına yönelmiştir. Asn181, Gln74, Ile207, Phe208, Glu216 ve Tyr69 de inhibitörleri aktif kısımda saran diğer önemli aminoasit yan zincirleridir.



Şekil 4.8. *Bileşik 2c*'nin *cis* izomerinin MAO-A'nın aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 2d

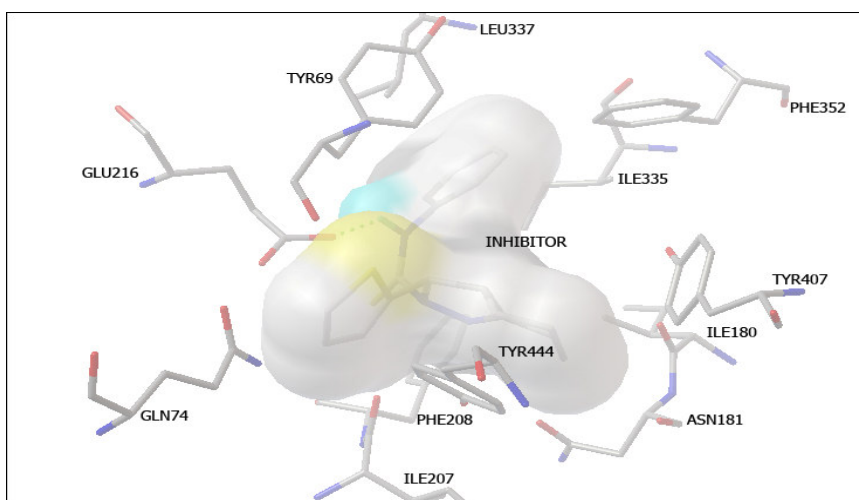
N-Alil grubu Tyr407 ve Tyr444 hidrofobik paket içerisine sokularak flavine oldukça yaklaşmıştır. İnhibitördeki N-H grubundaki hidrojen ile Tyr407'nin fenolik hidroksil grubu hidrojen bağı yapmıştır (2.07 Å). Asn181, Ile207, Phe208 ve Glu216 ise inhibitörü çevreleyen diğer aminoasit yan zincirleridir.



şekil 4.9. *Bileşik 2d*'nin *cis* izomerinin MAO-A'nın aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 2e (cis)

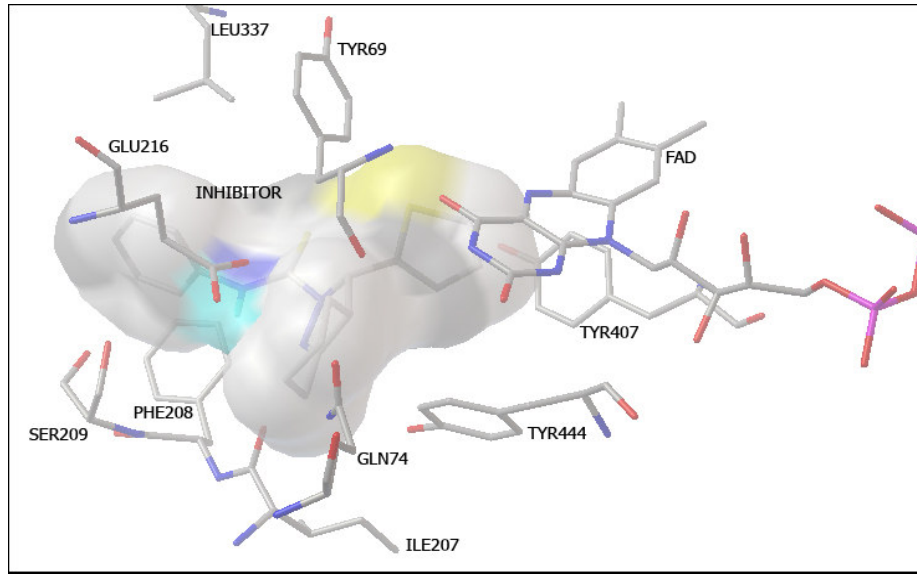
N-H grubu ile Glu216 yan zinciri aralarında kuvvetli bir hidrojen bağı (1.88 Å) yaparken aktif bölgede bulunan Gln74, Ile207, Phe208, Tyr444, Tyr407, Ile335, Phe352, Tyr69, Leu337 ve Asn181 aminoasit yan zincirleri ile yakın temasta olan inhibitör için inhibisyon katsayısı nanomolar düzeydedir.



şekil 4.10. *Bileşik 2e*'nin *cis* izomerinin MAO-A'nın aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 2e (trans)

Tiyofen halkası Tyr444 ve Tyr407 hidrofobik pakete doğru yaklaşmıştır. Fenil halkası ise giriş yolunda konumlanmıştır. Leu337, Tyr69, Glu216, Ser209, Phe208, Gln74 ve Ile207 inhibitörü çevreleyen ve yakın temasta bulunan aktif bölge aminoasit yan zincirleridir.

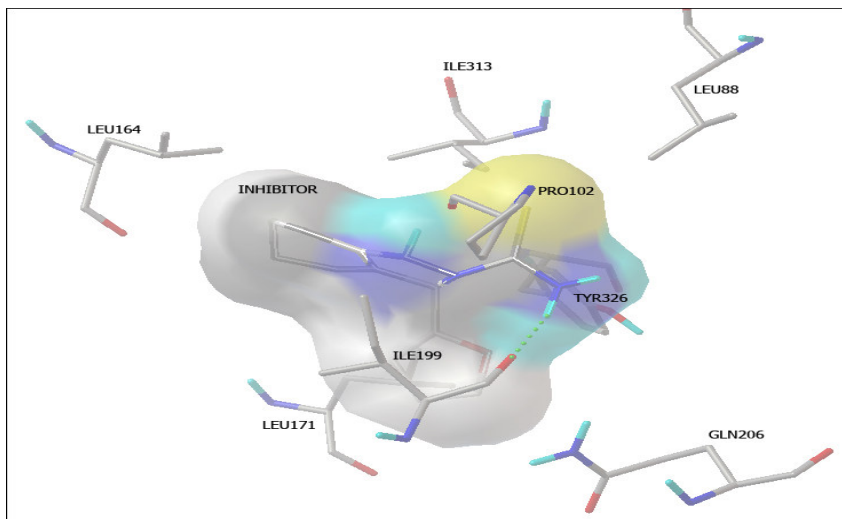


Şekil 4.11. *Bileşik 2e*'nin *trans* izomerinin MAO-A'nın aktif bölgesine bağlanması

4.2.2. MAO-B Enzimi İle Yapılan Docking Çalışmaları

Bileşik 1a

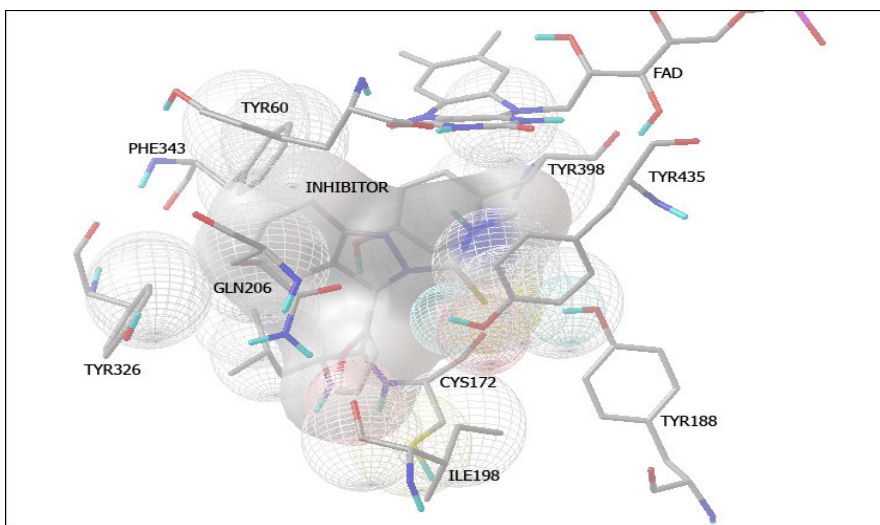
Aynı bileşik MAO-B enzimi ile değişik bir bağlanma motifi sergilemektedir. İnhibitör burada FDA hidrofobik kafes bölgesinden uzak daha çok giriş bölgesine yakın konumlanmıştır. İnhibitörün amin grubu hidrojenlerinden biri giriş bölgesi aminoasit yan zincirlerinden Ile199 ($K_i = 1.27 \mu M$) ile hidrojen bağı yapmaktadır. Bu konumu sabitleyen diğer aminoasit yan zincirleri Leu88, Gln206, Tyr326, Ile313, Leu164 ve Leu171 dir.



Şekil 4.12. *Bileşik 1a*'nın R izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 1b

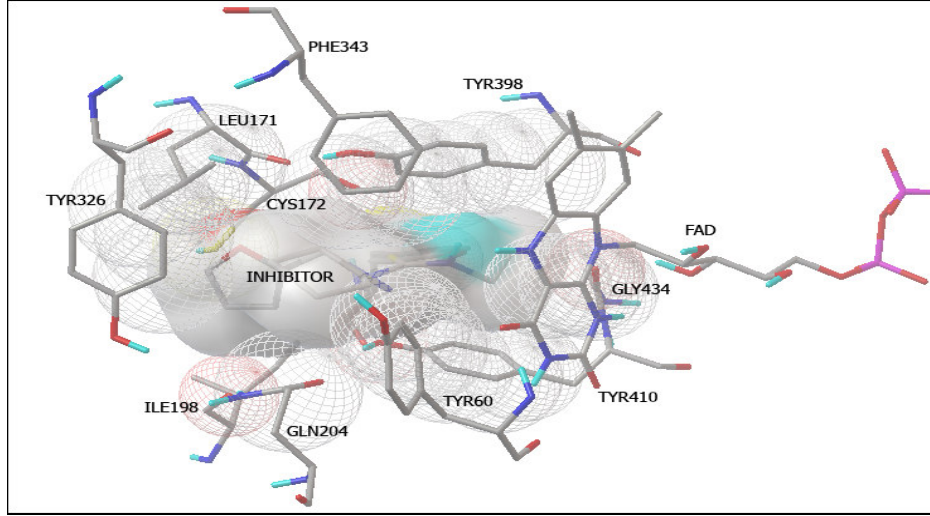
N-Metil grubu Tyr435 ve Tyr398 hidrofobik pakete iyice sokulmuştur. FAD halkasına da *re* yüzünden yanaşmıştır. Aktif kısımda bu inhibitörü çevreleyen diğer aminoasit yan zincirleri ise Tyr188, Cys172, Ile198, Gln206, Tyr60, Phe343 ve Tyr326'dır.



Şekil 4.13. *Bileşik 1b*'nin *cis* izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 1c

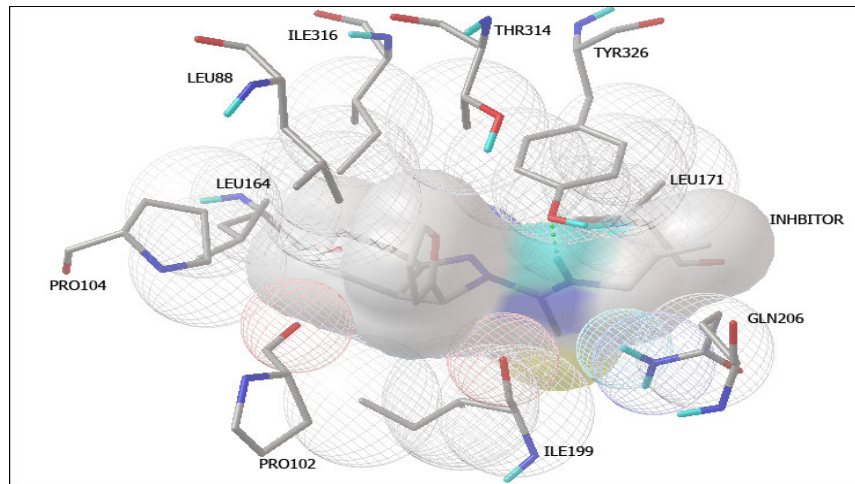
N-Etil grubu FAD'a oldukça yaklaşmıştır. Gly434, Tyr435, Tyr60, Phe343, Leu171, Cys172, Tyr 326, Ile198, Glu206 gibi aminoasit yan zincirleri bu inhibitörü çevrelemişlerdir.



Şekil 4.14. *Bileşik 1c*'nin *cis* izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 1d

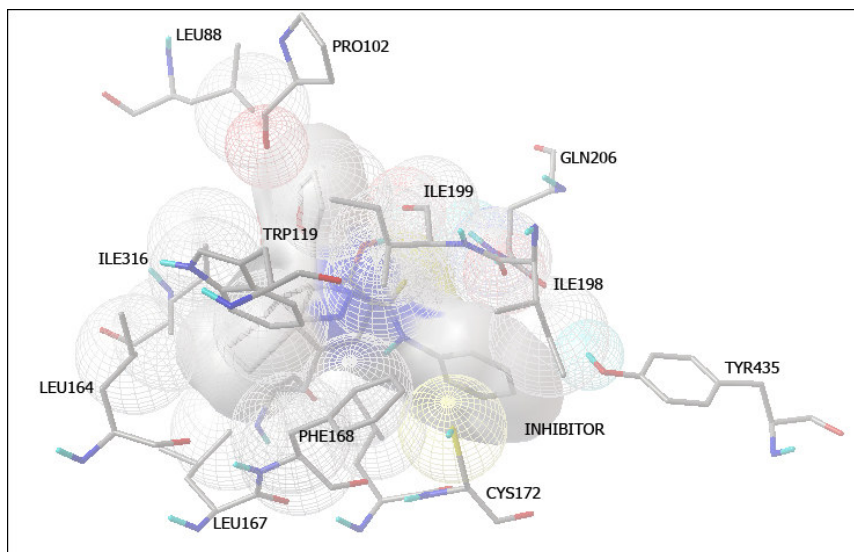
Tyr326 fenolik –OH ile amin hidrojeni arasında bir hidrojen bağı kurulur. Diğer inhibitörlerin tersine bu inhibitör FAD bölgesinden uzakta kalmıştır. İnhibitör Tyr326, Thr314, Ile316, Leu88, Leu164, Pro104, Pro102 ve Ile199 aminoasit yan zincirleri tarafından çevrelenmiştir.



Şekil 4.15. *Bileşik 1d*'nin *cis* izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 1e

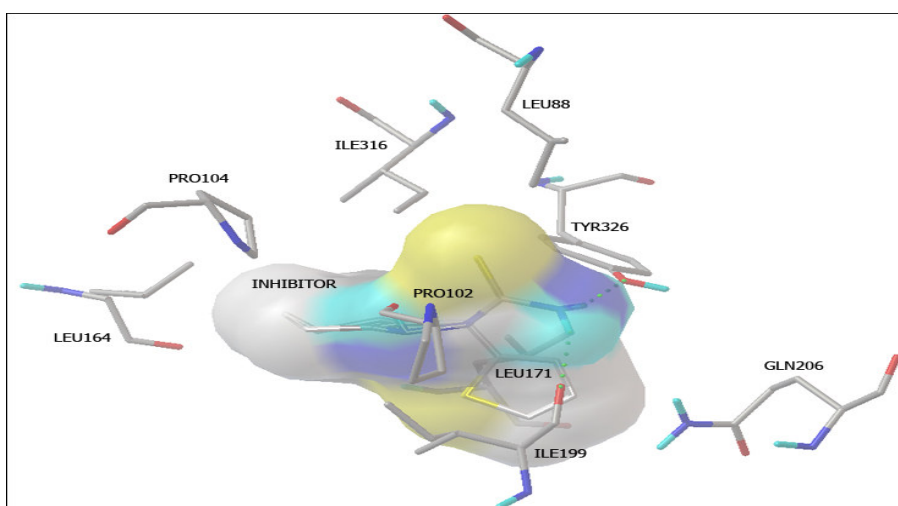
Bu inhibitör de FAD'a yeterince yanaşamamıştır. N-Fenil halkası Cys172 ve Ile198 arasına sokulmuştur. İnhibitörü çevreleyen diğer aminoasit yan zincirleri Phe168, Leu167, Leu164, Ile316, Trp119, Ile199 ve Glu206'dır.



Şekil 4.16. *Bileşik 1e*'nin *cis* izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 2a

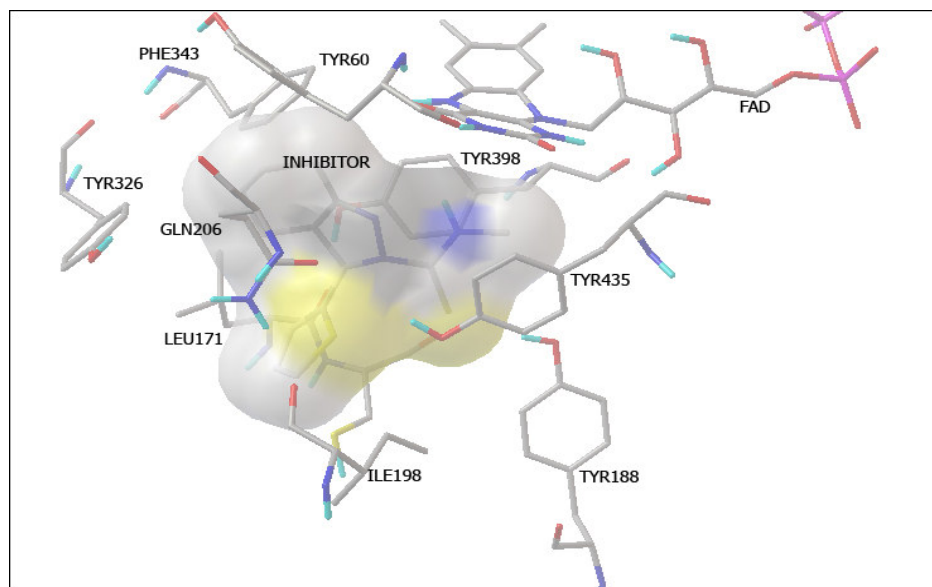
İnhibitörün amin grubu hidrojenlerinden biri Tyr326 aminoasit yan zincirindeki fenolik hidroksi grubu ile diğeri ise Ile199 peptit bağının karbonil grubu ile hidrojen bağı yapmaktadır. Aktif kısımda inhibitörle girişimde bulunan diğer aminoasit yan zincirleri ise Gln206, Leu171, Pro102, Leu88, Ile316, Pro104 ve Leu164 tür.



Şekil 4.17. *Bileşik 2a*'nın *R* izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 2b

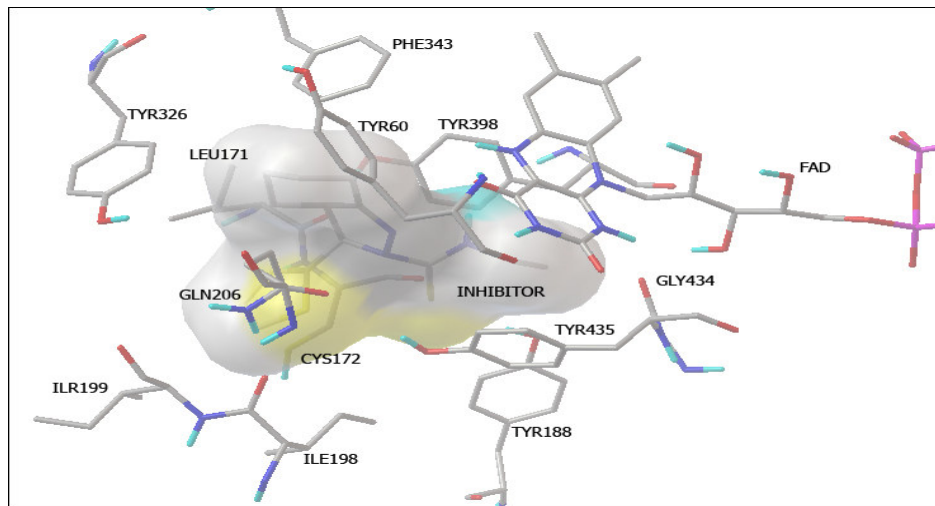
İnhibitörün N-metil grubu Tyr435, Tyr398, ve FAD hidrofobik paketinin tam ortasındadır. Tiyofen ise Leu171, Ile198 ve Gln206 aminoasit yan zincirleri arasına yönelmiştir. Sikloheksan halkası ise Tyr60, Phe343 ve Tyr326 aminoasit yan zincirlerine komşudur.



Şekil 4.18. *Bileşik 2b*'nin *cis* izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 2c

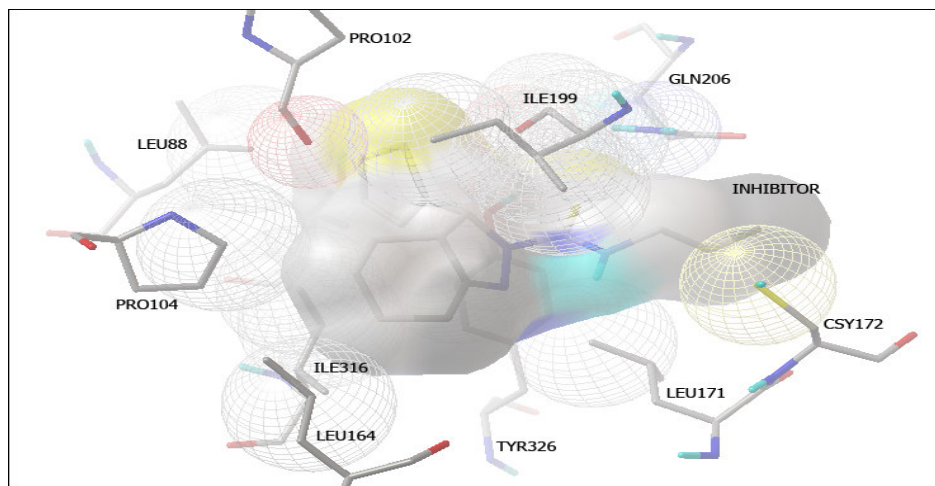
N-Etil grubu FAD, Tyr398, Tyr435 hidrofobik kafes bölgesine konumlanmıştır. Sikloheksan halkası ile Tyr60, Phe343, Leu171, Tyr326 aminoasit yan zincirleri tarafından çevrelenmiştir. Tiyofen halkası da Glu206, Cys172, Ile199 aminoasit yan zincirleri ile çevrelenmiştir.



Şekil 4.19. *Bileşik 2c*'nin *cis* izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 2d

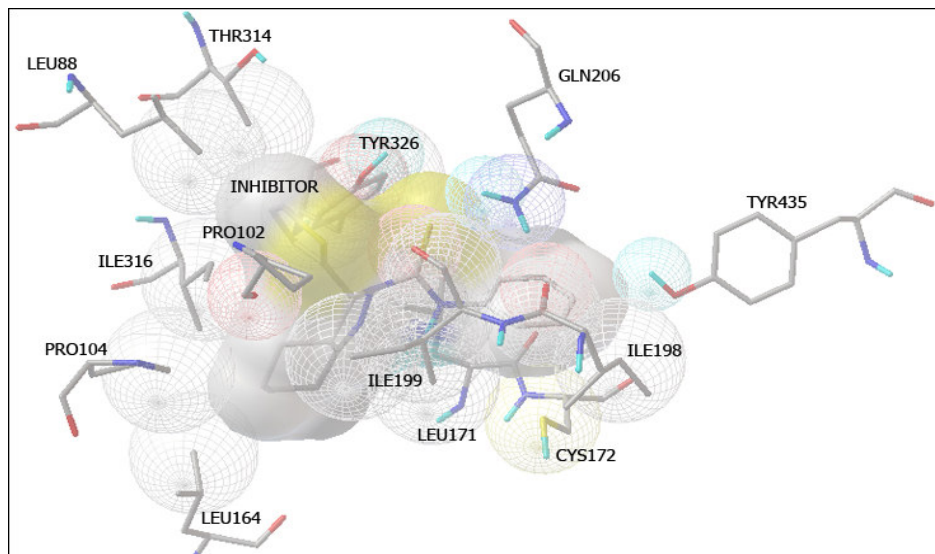
N-Allil grubu Cys172, Gln206, ve Ile199 aminoasitlerince çevrelenen bölgeye yönelmiştir. Sikloheksan halkası, Ile316, Tyr326'ya yaslanmıştır. Tiyofen yan grubu ise Pro102, Leu88 ve Pro104 aminoasit yan zinciri bölgesi içerisinde.



Şekil 4.20. *Bileşik 2d*'nin *cis* izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 2e (cis)

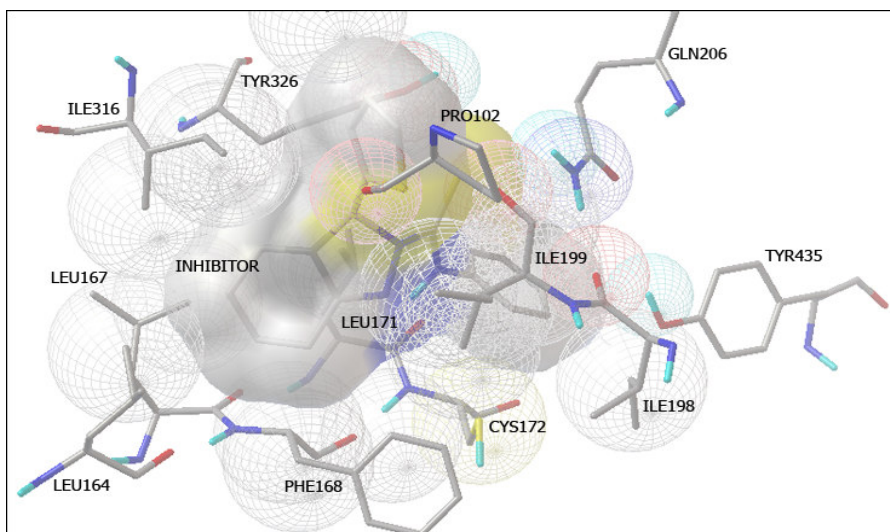
N-Fenil grubu Ile198, Ile199, Gln206, Tyr435 bölgesine konumlanmıştır. İnhibitörün sikloheksan halkası ise Pro104, Leu164 ve Ile316 aminoasit yan zincirleri ile çevrelenmiştir. Tiyofen halkası da Tyr326, Pro102, Leu88 ve Thr314 tarafından çevrelenmiştir.



Şekil 4.21. *Bileşik 2e*'nin *cis* izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması

Bileşik 2e (trans)

N-Fenil halkası bu inhibitörde Ile199 ve Gln206 tarafından çevrelenmiştir. Sikloheksan halkası ise Leu167, Leu164, Ile316 aminoasit yan zincirleri tarafından kuşatılmıştır. Tiyofen halkası ise Tyr326 ve Pro102 aminoasit yan zincirlerine komşudur.



Şekil 4.22. *Bileşik 2e*'nin *trans* izomerinin MAO-B'nin aktif bölgesine bağlanması

4.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Sentezi yapılan bileşiklerin MAO-A ve MAO-B inhibisyon aktiviteleri test sonuçları, Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Sıçan karaciğer kaynaklı MAO izoformlarının yeni sentez edilen hekzahidroindazol türevleri ile inhibisyonuna ilişkin deneysel kinetik veriler¹

Bileşik	MAO-A için K _i değeri ²	MAO-B için K _i değeri ²	İnhibisyon tipi	Tersinirlik	MAO inhibisyonunda seçicilik
1a	3.90±0.28 µM	0.96±0.01 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-B için seçici
1b (Cis)	8.82±0.61 µM	2.10±0.01 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-B için seçici
1c (Cis)	4.26±0.30 µM	1.95±0.05 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-B için seçici
1d (Cis)	0.65±0.03 µM	4.05±0.28 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-A için seçici
1e (Trans)	47.22±0.33 nM	1.23±0.01 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-A için seçici
2a	2.99±0.17 µM	0.90±0.01 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-B için seçici
2b (Cis)	5.01±0.38 µM	1.69±0.09 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-B için seçici
2c (Cis)	1.72±0.01 µM	3.01±0.23 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-A için seçici
2d (Cis)	0.88±0.01 µM	2.90±0.17 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-A için seçici
2e (Karışım)	39.15±2.70 nM	92.26±7.13 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-A için seçici
Parjilin	99.16±8.80 µM	3.36±0.27 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-B için seçici
Klorjilin	1.20±0.09 µM	88.25±6.30 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-A için seçici
Selejilin	105.66±9.21µM	1.35±0.12 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-B için seçici
Moklobemid	5.53±0.27 µM	90.08±7.34 µM	Yarışmalı	Tersinir	MAO-A için seçici

¹ Substrat (p-tiramin) MAO-A ölçülürken 500 µM; MAO-B ölçülürken 2.5 mM derişimde kullanıldı. A ve B formlarının tayininde inhibitör olarak klorjilin ve parjilin (0.50 µM) kullanıldı.

² Her değer, 3 bağımsız deneyin ortalama±standart hatasını ifade etmektedir.

MAO izoformlarının yeni sentez edilen hekzahidroindazol türevleri ile inhibisyonuna ilişkin hesapsal ve deneysel kinetik veriler Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Sıçan karaciğer kaynaklı MAO izoformlarının yeni sentez edilen hekzahidroindazol türevleri ile inhibisyonuna ilişkin hesapsal ve deneysel kinetik veriler¹

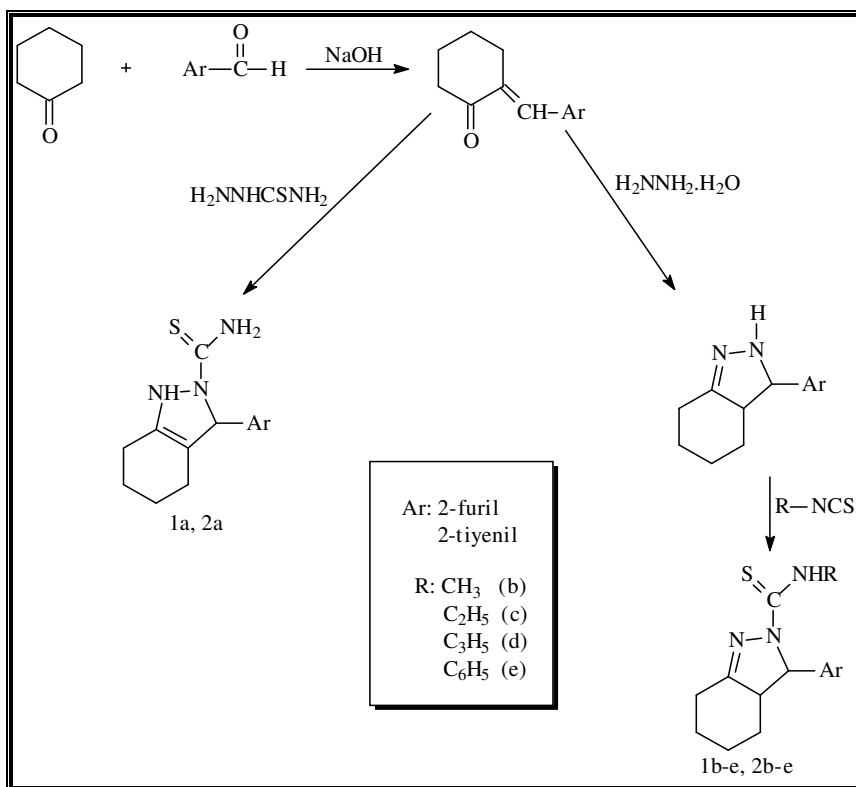
Bileşik	MAO-A için hesaplanan K_i değeri	MAO-A için deneysel K_i değeri ²	MAO-B için hesaplanan K_i değeri	MAO-B için deneysel K_i değeri ²	MAO inhibisyonun da seçicilik
1a	2.96 μ M	3.90 $\pm$ 0.28 μ M	1.27 μ M	0.96 $\pm$ 0.01 μ M	MAO-B için seçici
1b (Cis)	6.39 μ M	8.82 $\pm$ 0.61 μ M	2.90 μ M	2.10 $\pm$ 0.01 μ M	MAO-B için seçici
1c (Cis)	3.34 μ M	4.26 $\pm$ 0.30 μ M	2.73 μ M	1.95 $\pm$ 0.05 μ M	MAO-B için seçici
1d (Cis)	1.72 μ M	0.65 $\pm$ 0.03 μ M	3.58 μ M	4.05 $\pm$ 0.28 μ M	MAO-A için seçici
1e (Trans)	50.75 nM	47.22 $\pm$ 0.33 nM	70.22 nM	1.23 $\pm$ 0.01 μ M	MAO-A için seçici
2a	2.57 μ M	2.99 $\pm$ 0.17 μ M	1.11 μ M	0.90 $\pm$ 0.01 μ M	MAO-B için seçici
2b (Cis)	4.28 μ M	5.01 $\pm$ 0.38 μ M	1.70 μ M	1.69 $\pm$ 0.09 μ M	MAO-B için seçici
2c (Cis)	1.96 μ M	1.72 $\pm$ 0.01 μ M	2.47 μ M	3.01 $\pm$ 0.23 μ M	MAO-A için seçici
2d (Cis)	915.30 nM	0.88 $\pm$ 0.01 μ M	1.99 μ M	2.90 $\pm$ 0.17 μ M	MAO-A için seçici
2e (Trans)	36.53 nM	39.15 $\pm$ 2.70 nM	69.46 nM	92.26 $\pm$ 7.13 μ M	MAO-A için seçici
2e (Cis)	57.54 nM	-	93.08 nM	-	MAO-B için seçici
Parjilin	-	99.16 $\pm$ 8.80 μ M	-	3.36 $\pm$ 0.27 μ M	MAO-B için seçici
Klorjilin	-	1.20 $\pm$ 0.09 μ M	-	88.25 $\pm$ 6.30 μ M	MAO-A için seçici
Selejilin	-	105.66 $\pm$ 9.21 μ M	-	1.35 $\pm$ 0.12 μ M	MAO-B için seçici
Moklobe mit	-	5.53 $\pm$ 0.27 μ M	-	90.08 $\pm$ 7.34 μ M	MAO-A için seçici

¹ Substrat (p-tiramin) MAO-A ölçülürken 500 μ M; MAO-B ölçülürken 2.5 mM derişimde kullanıldı. A ve B formlarının tayininde inhibitör olarak klorjilin ve parjilin (0.50 μ M) kullanıldı.

² Her değer, 3 bağımsız deneyin ortalama $\pm$ standart hatasını ifade etmektedir.

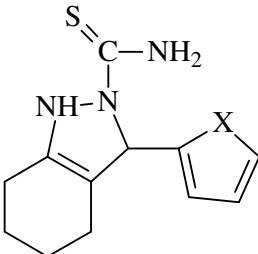
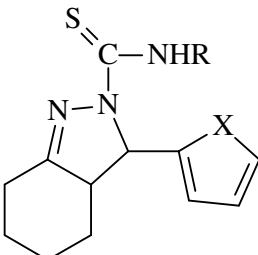
5. T A R T I Ş M A

Bu çalışmada 2-furfurilidensikloheksanon ve 2-(2-tiyenilmetilen)sikloheksanon yapısındaki şalkon bileşiklerinden hareketle MAO enzim inhibitörü aktivite göstermesi beklenen 3-aril-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1*H*-indazol yapısında iki bileşiğin ve 3-aril-2-(*N*-süstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol yapısında sekiz yeni bileşiğin sentezi yapılmış (Şekil 5.1.), bileşiklerin yapıları UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, kütle, COSY, HETCOR, DEPT ve X-ışınları kristallografisi ile aydınlatılmış, saflıkları elementel analiz ile doğrulanmıştır. Sentezi yapılan bileşiklerin erime dereceleri, reaksiyon verimleri ve kristallendirme çözücüler Tablo 5.1’de verilmiştir. Bileşiklerin MAO-A ve MAO-B izozimlerini inhibe edip etmedikleri araştırılmış, ayrıca moleküler docking çalışmaları yapılarak bileşiklerin enzimle etkileşmesinin nasıl olduğu anlaşılmaya çalışılmıştır.

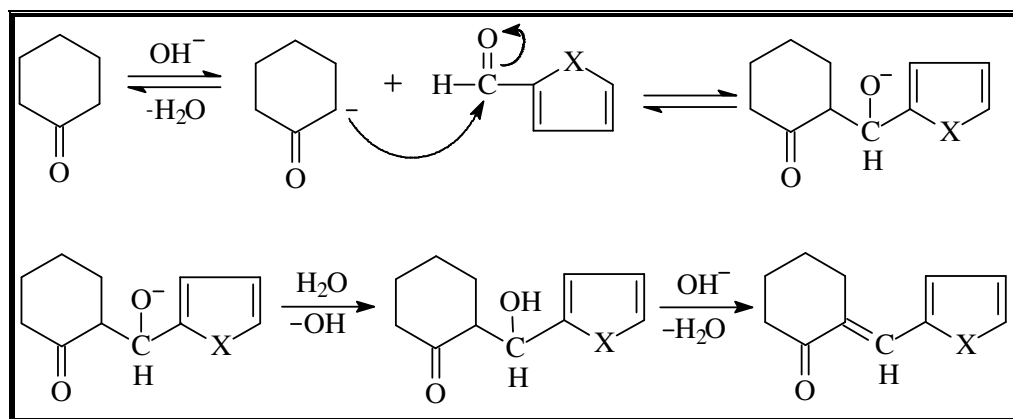


Şekil 5.1. 3-Aril-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1*H*-indazol ve 3-aril-2-(*N*-süstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol bileşiklerinin sentezi

Tablo 5.1. Sentezi Yapılan Bileşiklerin Yapıları, Yüzde Verimleri, Erime Dereceleri ve Kristalizasyon Çözücüler

					
Bileşik	X	Verim (%)	E.D. (°C)	Kristalizasyon Çözücüsü	
1a	O	54	184-5	Metanol	
2a	S	56	191-2	Metanol	
					
Bileşik	X	R	Verim (%)	E.D. (°C)	Kristalizasyon Çözücüsü
1b	O	CH ₃	31	167-8	Metanol+su
1c	O	C ₂ H ₅	51	186	Etanol
1d	O	C ₃ H ₅	45	161	Metanol+su
1e	O	C ₆ H ₅	73	157-8	Etanol
2b	S	CH ₃	50	177-8	Metanol
2c	S	C ₂ H ₅	51	194	Metanol
2d	S	C ₃ H ₅	42	181-2	Metanol
2e	S	C ₆ H ₅	70	140-1	Metanol

Bileşiklerimizin başlangıç maddesi olan şalkon bileşikleri için daha önce değişik şartlar denenmiştir. Örneğin Krapcho ve Turk (208), HCl varlığında 30°C sıcaklıkta, Golikov ve diğ. (211), %20 sulu NaOH çözeltisi içerisinde oda sıcaklığında, Kabli ve diğ. (206), %15 etanolik NaOH çözeltisi içerisinde buz banyosunda bu reaksiyonu yapmışlardır. Bizim kullandığımız yöntem daha önce Walton (245) tarafından uygulanan yöntemdir. Bu yöntemde 2-furfuriliden/2-(2-tiyenilmetilen)sikloheksanon, sikloheksanonun 2-furaldehit/2-tiyofen aldehit ile oda sıcaklığında sodyum hidroksit varlığında Claisen-Schmidt kondenzasyonuna sokulmasıyla elde edilmiştir. Reaksiyon kuvvetli alkali ortamda, sikloheksanonun α konumundaki metil üzerinden bir hidrojen kopmasıyla oluşan karbanyonun, aldehit karbonuna katılması sonucu oluşan aldolden su çıkışı ile tamamlanır (Şekil 5.2).



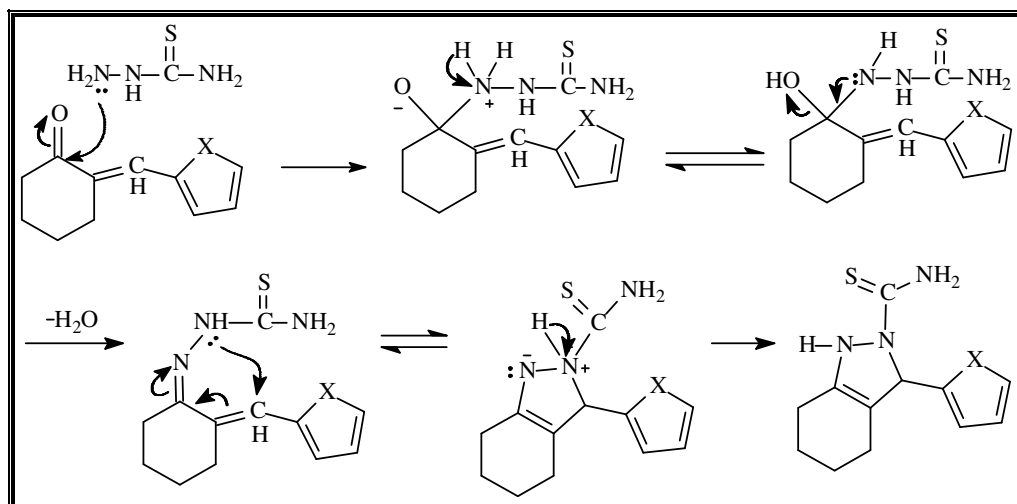
Şekil 5.2. Şalkon türevlerinin reaksiyon mekanizması

Sentezi yapılan şalkon bileşiklerinin erime dereceleri literatür verileri ile uyum içindedir (2-furfurilidensikloheksanon e.d.: 46-47°, 2-(2-tiyenilmetilen)sikloheksanon e.d.:176-180°) (245, 246).

Şalkonların, tiyosemikarbazitle sodyum hidroksit varlığında etanol içerisinde sekiz saat geri çeviren soğutucu altında kaynatılıp, takiben buzlu suya dökülmesi ile 3-aril-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1H-indazol türevleri (**Bileşik 1a, 2a**) elde edilmiştir (Şekil 5.3).

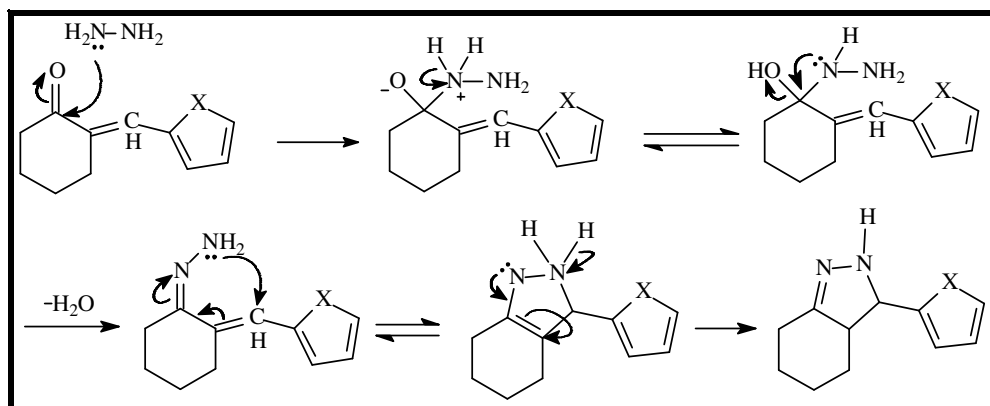
Lorand ve diğ. (143), aynı yöntemle fakat NaOH yerine hidroklorik asit kullanarak bu sentezi yapmışlar ve sentez sonucu 3-aril-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-

heksahidro-1*H*-indazol yerine 3-aril-2-tiyokarbamoil-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2*H*-indazolün *cis* konfigürasyonunu elde etmişlerdir. Nasr ve Said (122) de bazik ortamda aynı bileşiğin *trans* formu majör olmak üzere iki izomeri elde etmişlerdir. Anabilim Dalımızda da benzer çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde, 8 saatlik reaksiyonun ardından bir gece bekletildiğinde saflaştırılamayan reçinemsi bileşiklerin oluştuğu görülmüş; bunun üzerine bir gece bekletmenin gereksiz olduğu bildirilmiştir (138).



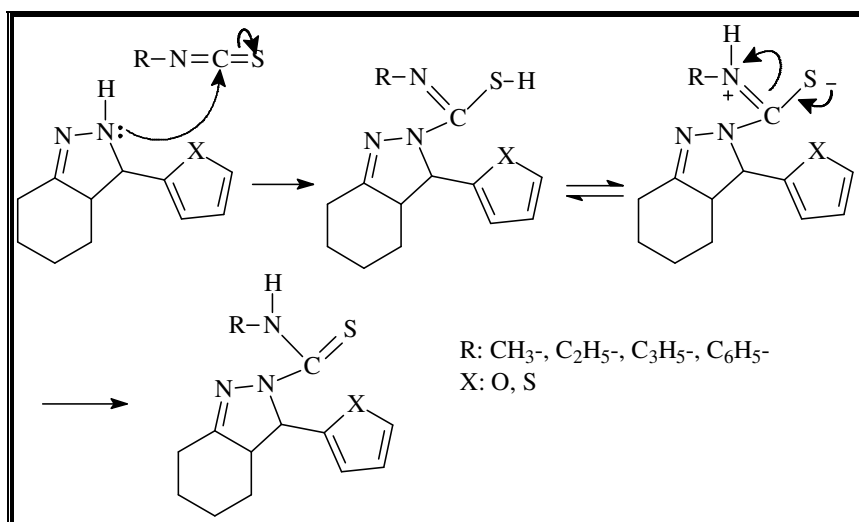
Şekil 5.3. 3-Aril-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-heksahidro-1*H*-indazol türevlerinin reaksiyon mekanizması

Şalkonların hidrazin hidratın aşırısı ile etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında iki saat ısıtılması ve soğutulması sonucu 3-aril-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2*H*-indazol türevleri (**Bileşik 1b-1e**, **2b-2e**) elde edilmiştir. Ancak bu bileşikler kararlı olmadıkları ve çoğu oda ısısı ve atmosferinde parçalanma ürünleri verdikleri için izole edilememişler ve sentezin ikinci aşaması için kullanılmışlardır (Şekil 5.4).



Şekil 5.4. 3-Aril-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol türevlerinin reaksiyon mekanizması

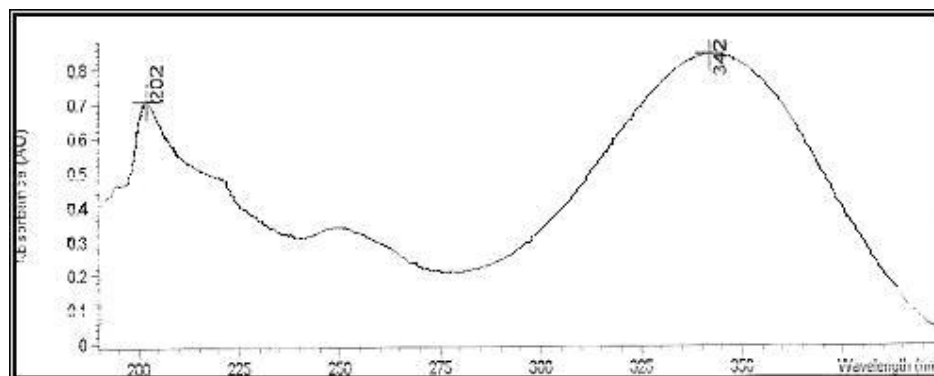
Bu aşamada N-süstitüe izotiyosiyanat türevleri, dietileter içinde ve TEA katalizörlüğünde reaksiyona sokularak, 3-aril-(2-N-süstitüetiyo-karbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol yapısındaki sonuç ürünlere ulaşılmıştır. Reaksiyon 3-aril-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazollerin iki numaralı konumundaki azot üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftinin, izotiyosiyanatın karbon atomuna nükleofilik olarak katılması ve halka üzerindeki hidrojen atomunun koparak 3-aril-2-(N-süstitüetiyo-karbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol bileşiklerini verme-siyle tamamlanmıştır (Şekil 5.5).



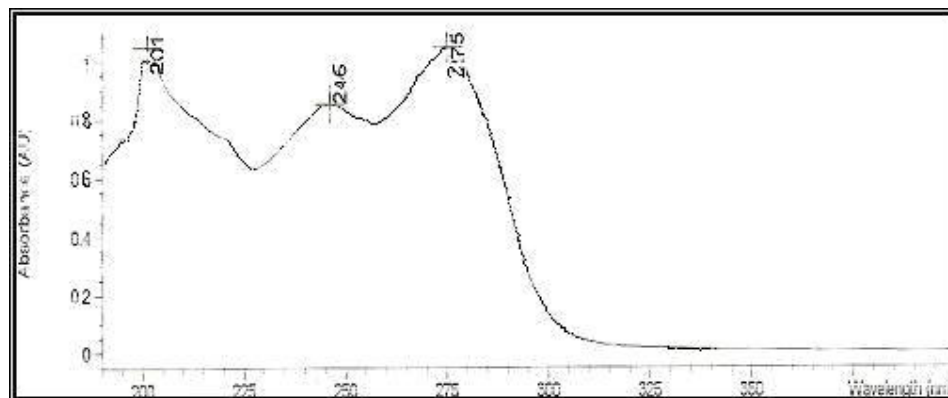
Şekil 5.5. 3-Aril-2-(N-süstitüetiyo-karbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol türevlerinin reaksiyon mekanizması

Bileşiklerin yapılarının kanıtlanmasında UV, IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR (*bileşik 1a*, *1e*, *2c*) ve kütle spektroskopisi analizlerinden, *bileşik 1a* için ayrıca COSY (Correlation Spectroscopy), HETCOR (Heteronuclear Correlation Spectroscopy) ve DEPT (Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer) spektral analiz tekniklerinden, *bileşik 2c* için HETCOR spektral analiz tekniklerinden yararlanılmıştır. *Bileşik 1e*'nin yapısı X-ışınları analiziyle aydınlatılmış, tüm bileşiklerin yapıları ve saflıkları elementel analiz sonuçları ile doğrulanmıştır.

Sentezi yapılan bileşiklerin UV spektrumları incelendiğinde, elde edilen bulguların literatür ve genel kaynaklardan elde edilen veriler ile uyum içerisinde olduğu görülür (216). İki ana gruba örnek teşkil etmesi açısından *bileşik 1a* ve *2c*'nin metanol içinde alınan UV spektrumları incelendiğinde, sırasıyla *1a* için 202 ve 342 nm de kuvvetli iki absorpsiyon bandı, *2c* için 201, 246 ve 275 nm de üç absorpsiyon bandı görülmüştür (Şekil 5.6 ve 5.7).

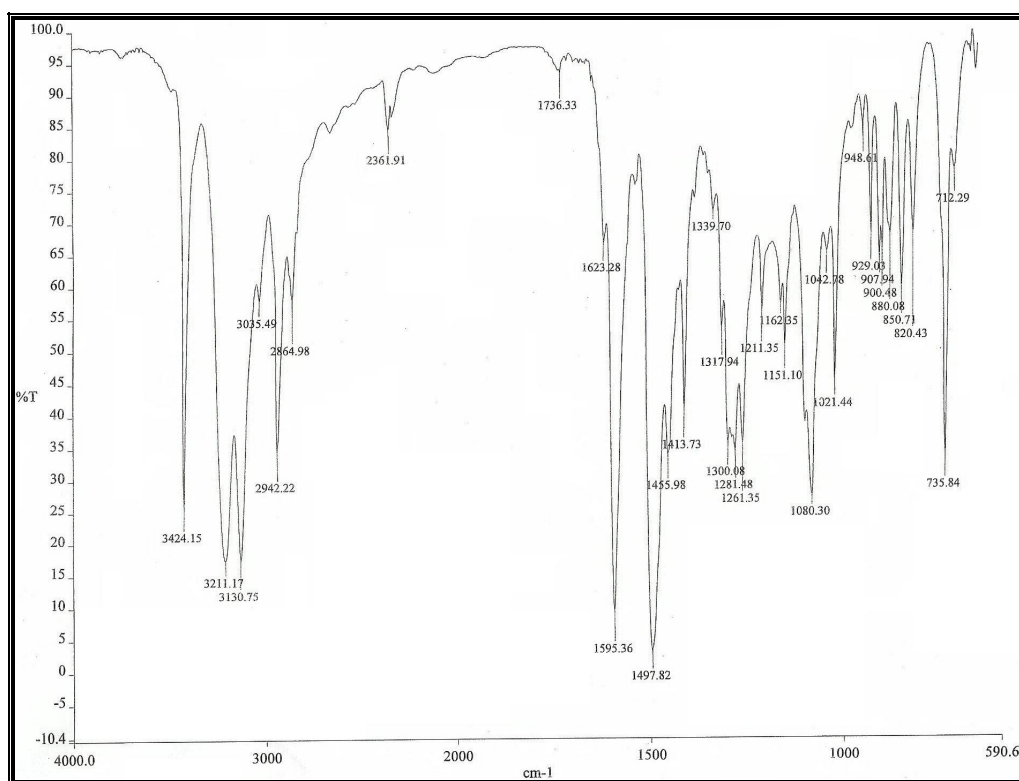


Şekil 5.6. *Bileşik 1a*'nin UV spektrumu

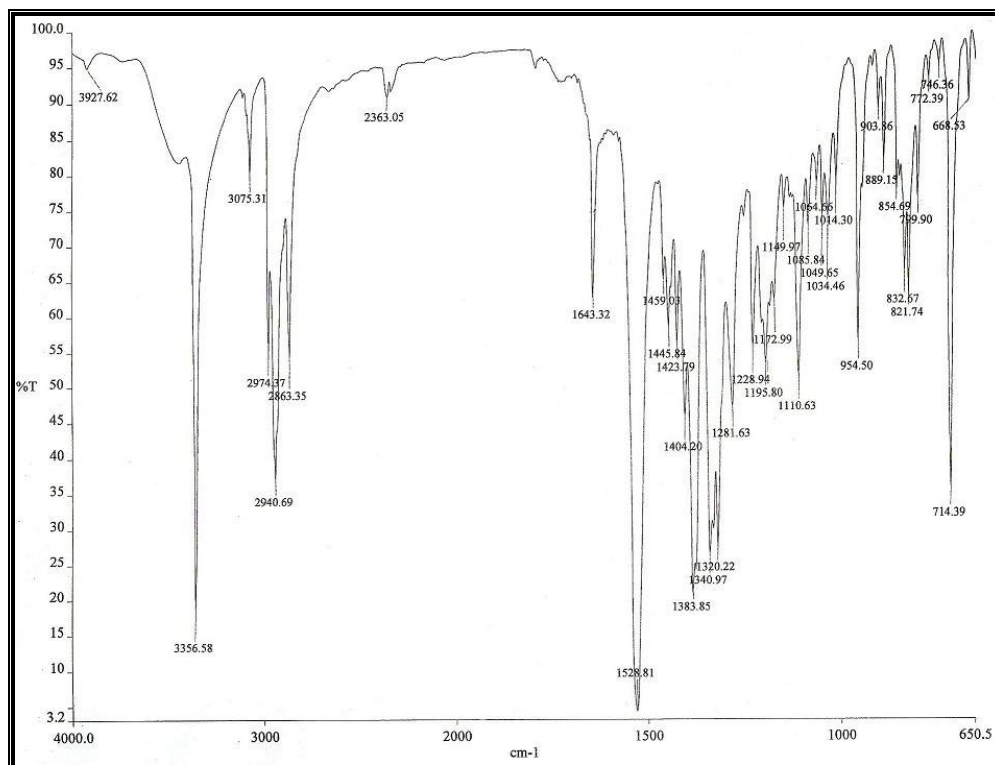


Şekil 5.7. *Bileşik 2c*'nin UV spektrumu

Bileşiklerimizden elde ettiğimiz IR spektrumları, literatürde benzer yapılar için bildirilen değerlerle uyum içerisinde (24, 138, 217). 2,3,4,5,6,7-Hekzahidro-1*H*-indazol (**1a**, **2a**) ve 3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol (**1b-e**, **2b-e**) yapısındaki bileşiklerimizin IR spektrumları incelendiğinde sırasıyla, 1636-1649/1585-1595 cm^{-1} de C=N gerilim, 1509-1542/1497-1500 cm^{-1} de C=C gerilim, 1214-1257/1151-1205 cm^{-1} de C-N gerilim, 1320-1345/1261-1278 cm^{-1} de C=S gerilim ve 1106-1152/1071-1080 cm^{-1} de furan halkasına ait C-O-C ve tiyofen halkasına ait C-S-C gerilim pikleri görülür. 3-Aril-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1*H*-indazol (**1a**, **2a**) yapısına sahip bileşiklerde N-H gerilim titreşimleri 3130, 3211 ve 3342 cm^{-1} de üç bant halinde gözlenirken (Şekil 5.8), 3-aril-2-(N-süstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazollerde 3356 cm^{-1} de tek bant olarak gözlenmiştir (Şekil 5.9).

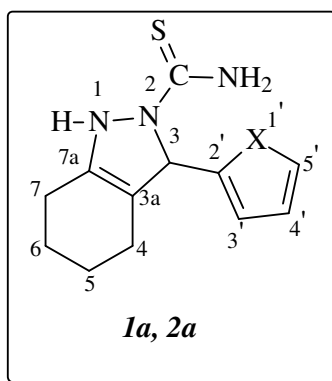


Şekil 5.8. Bileşik 1a'nın IR spektrumu



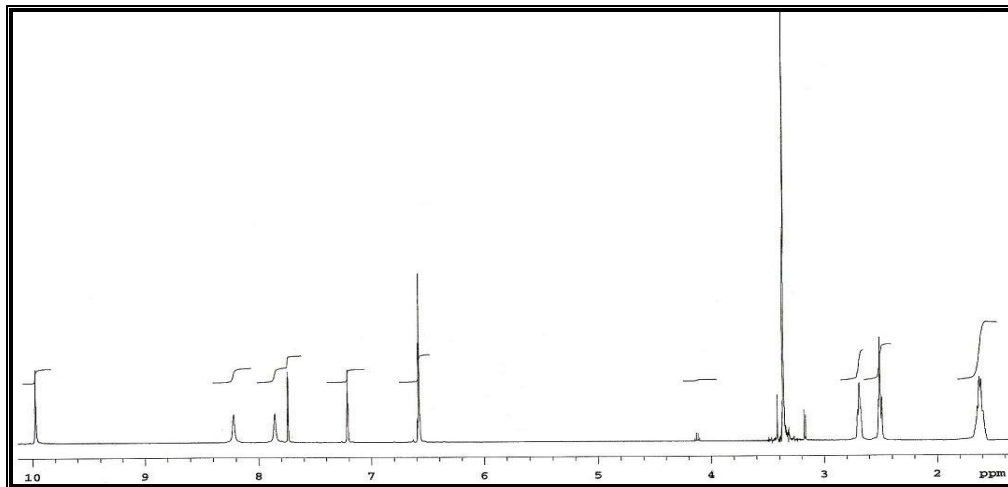
Şekil 5.9. *Bileşik 2c*'nin IR Spektrumu

Sentezi yapılan bileşiklerin ^1H -NMR spektrumları incelendiğinde, bulguların literatür verileri ile uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

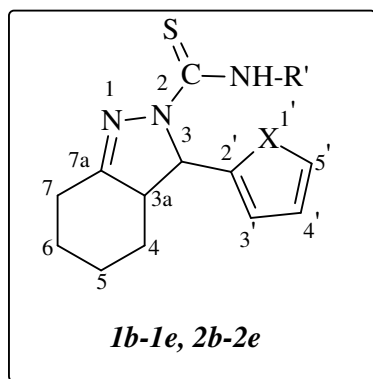


3-(2-Furil/tiyenil)-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1H-indazol türevlerinin (**1a, 2a**) ^1H -NMR verilerinde sikloheksan halkasına ait olan $\text{H}_{5\text{ax}}$, $\text{H}_{5\text{eq}}$, $\text{H}_{6\text{ax}}$ ve $\text{H}_{6\text{eq}}$ protonları 1.61 ve 1.63 ppm de, $\text{H}_{4\text{ax}}$ ve $\text{H}_{4\text{eq}}$ protonları 2.50 ppm de, $\text{H}_{7\text{ax}}$ ve $\text{H}_{7\text{eq}}$ protonları 2.63 ve 2.68 ppm de çıkmıştır. Heterosiklik halka protonları, 7.14-

7.30-7.65/6.58-6.58-7.74 ppm de, tiyokarbamoil azotuna bağı protonlar 7.85-8.21/7.90-8.27 ppm de, heksahidroindazol halkasının bir numaralı konumundaki azota bağı proton 9.97 ppm de gözlenmiştir (Şekil 5.10.). H-3 protonu furil taşıyan türevde 7.21, tiyenil taşıyan türevde 7.95 ppm de gözlenmiştir.

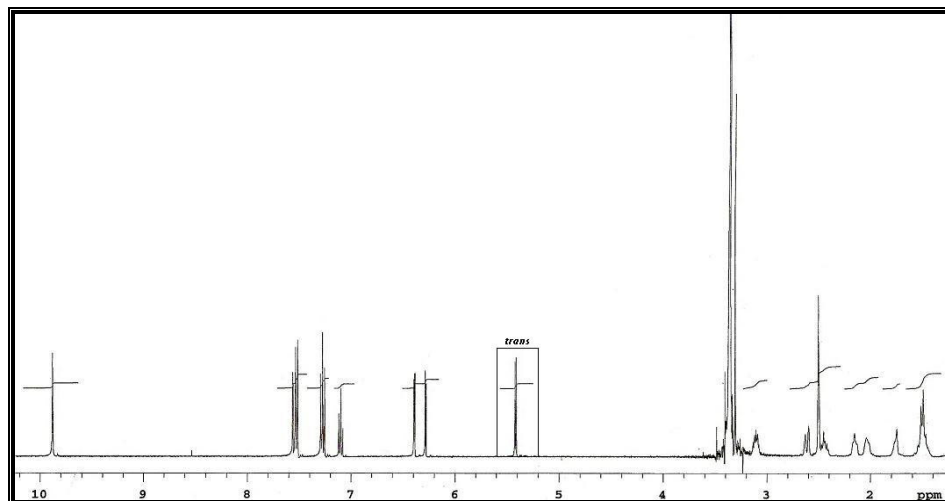


Şekil 5.10. *Bileşik 1a*'nın ^1H -NMR spektrumu

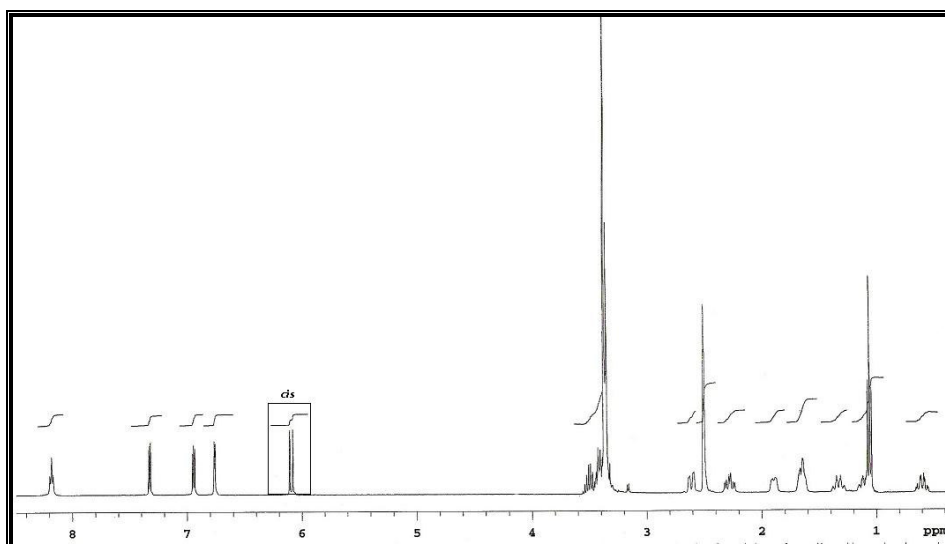


Literatürde 3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2*H*-indazol halkasındaki H-3 ve H-3a protonlarının konumlarına göre bileşiğin *cis* ya da *trans* konfigürasyonunda olabileceği ve buna göre bu protonların farklı kimyasal kayma göstereceği bildirilmiştir (143, 209, 213, 217). Yapılan literatür taramalarında *trans* izomerlerde H-3 protonunun 4.50-5.10 ppm, *cis* izomerlerde ise 5.20-6.20 ppm arasında görüldüğü, etkileşim sabitlerinin *trans* izomerlerde J_{3-3a} 3-10 Hz, *cis* izomerlerde ise J_{3-3a} 10-14 Hz arasında gözlemlendiği bildirilmiştir (122, 143, 209, 212, 213, 216-218).

Sentezini yaptığımız bileşiklerin ^1H -NMR verileri incelendiğinde sadece **bileşik 1e**'nin (3-(2-furil)-2-(*N*-feniltiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol) *trans* (Şekil 5.11.), diğerlerinin (**bileşik 1b-1d**, **2b-2d**) *cis* konfigürasyonunda olduğu görülür (Şekil 5.12.).



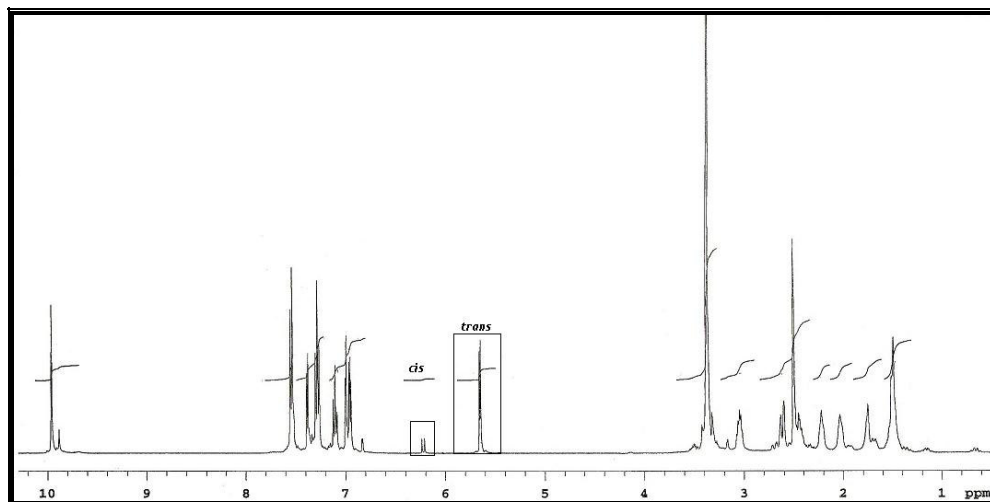
Şekil 5.11. **Bileşik 1e**'nin ^1H -NMR Spektrumu



Şekil 5.12. **Bileşik 2c**'nin ^1H -NMR Spektrumu

3-(2-Tiyenil)-2-(*N*-feniltiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol yapısındaki **bileşik 2e** ise *cis/trans* izomerleri ayırlamadığı için karışım halinde elde

edilmiştir (Şekil 5.13). **Bileşik 1b-e** ve **2b-e**'nin H₃ ve H_{3a} protonlarının ppm cinsinden kimyasal kayma değerleri ve J değerleri Tablo 5.2'te verilmiştir.



Şekil 5.13. **Bileşik 2e**'nin ¹H-NMR Spektrumu

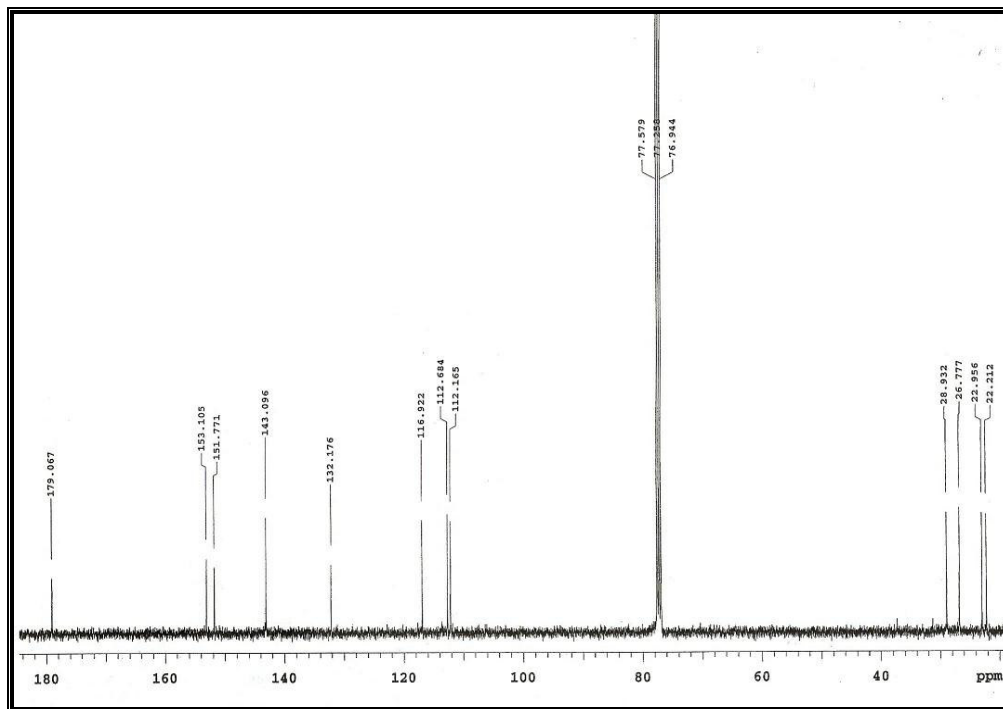
Tablo 5.2. Sentezi Yapılan 3-Aril-2-(*N*-Süstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol Türevi Bileşiklerin (**Bileşik 1b-e**, **Bileşik 2b-e**) ¹H-NMR Bulguları

Bileşik	H _{3a} (ppm)	H ₃ (ppm)	J _{3-3a} (Hz)
1b	3.40	5.80	10.8
1c	3.40	5.81	10.8
1d	3.42	5.80-5.87	10.8
1e	3.12	5.41	5.2
2b	3.40	6.09	10.8
2c	3.40	6.10	11.2
2d	3.42	6.10	10.8
2e	3.05	5.65-6.22	4.8-11.2

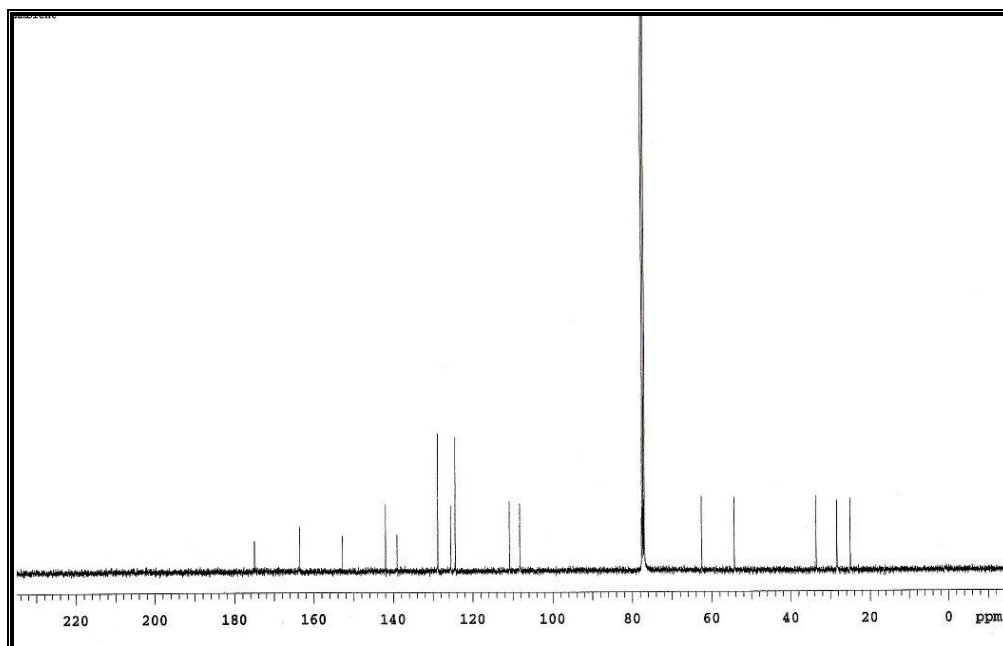
3-(2-Furil)-2-(*N*-süstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol (**bileşik 1b-e**) ve 3-(2-tiyenil)-2-(*N*-süstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol (**bileşik 2b-e**) türevlerinde heterosiklik halkanın dört numaralı karbonuna

bağlı protonlar 6,08-6,28/6.76-6.98 ppm; üç numaralı karbonuna bağlı protonlar, 6.35-6.39/6.94-7.10 ppm ve beş numaralı karbona bağlı protonlar ise 7.10-7.52/7.33-7.37 ppm arasında gözlenmiştir. Sikloheksan halkası protonlarından H_{4ax} sırasıyla 0.53-1.40/ 0.60-1.50 ppm; H_{4eq} 1.65-1.75/ 1.60-1.75 ppm; H_{5ax} 1.10-1.60/ 1.11-1.50 ppm; H_{5eq} 1.65-2.03/ 1.65-2.03 ppm; H_{6ax} 1.10-1.60/ 1.10-1.50 ppm; H_{6eq} 1.92-2.15/ 1.89-2.22 ppm; H_{7ax} 2.26-2.45/ 2.28-2.45 ppm ve H_{7eq} 2.58-2.60/ 2.60-2.61 ppm aralığında gözlenmiştir. Sikloheksan halkasına ait protonların yerleri üzerinde heterosiklik halkanın furan veya tiyofen olmasının çok etkisinin olmadığı, buna karşılık molekülün *cis/trans* durumunun, özellikle dört, beş ve altı numaralı karbonlara ait protonların ppm değerlerini değiştirdiği tarafımızdan gözlenmiştir. Verilerdeki üst uç değerleri, bileşiklerin *trans* izomerlerine aittir. (**bileşik 1e, 2e**). Tiyokarbamoil azotu üzerindeki gruplardan fenil grubu protonları beklenildiği gibi 7 ppm civarında; metil grubu protonları 2.86-2.87 ppm de; etil grubuna ait $-CH_2-$ 3.50 ppm, $-CH_3$ 1.06 ppm de, allil grubu protonlarından da CH_2- 4.10/4.09, $CH=$ 5.84/5.80-5.87, $=CH_2$, 5.06/ 5.06 ppm değerleri arasında gözlenmiştir. Tiyokarbamoil grubu protonları komşusundaki proton sayısına göre singlet (**bileşik 1e, 2e**), triplet (**bileşik 1c, 1d, 2c, 2d**) ve kuartet (**bileşik 1b, 2b**) olarak 8.10-9.96 ppm değerleri arasında gözlenmiştir. Bu veriler, literatür verileri ile de uyum içindedir. (138, 209, 217).

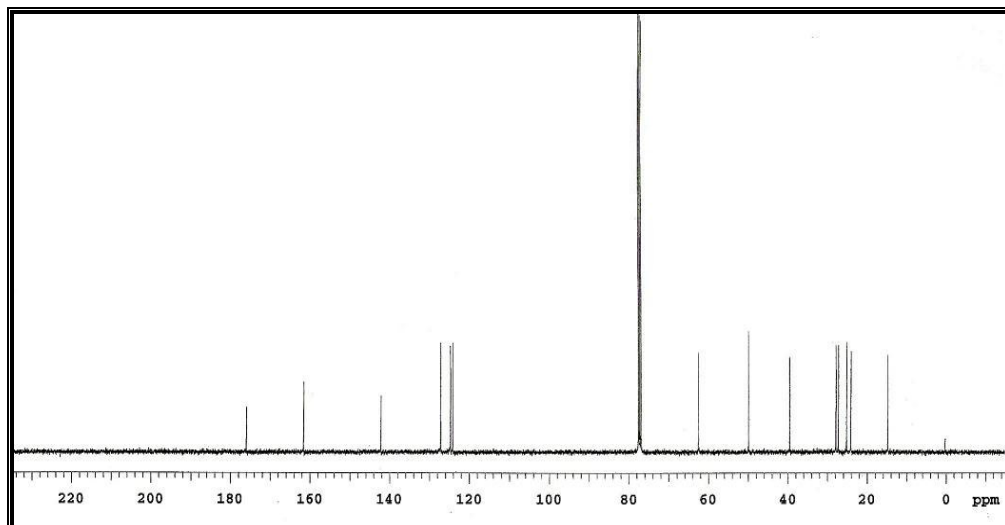
Tez kapsamında **bileşik 1a, 1e** ve **2c**'nin ^{13}C -NMR spektrumları alınmıştır. (Şekil 5.14., Şekil 5.15, Şekil 5.16.) Bileşiklerin kloroform-d içerisinde alınan ^{13}C -NMR spektrumlarında 3, 3a, 4, 5, 6, 7 ve 7a konumlarındaki karbonlar sırasıyla 117/62/62, 132/54/50, 27/28/27.2, 22/25/24, 23/28/25, 29/33/27.8 ve 152/153/142 ppm de, tiyokarbamoil grubu karbonları ise 179/175/175 ppm değerlerinde gözlenmiştir. *Trans* konfigürasyonunda olan **bileşik 1e** ile *cis* konfigürasyonundaki **bileşik 2c** karşılaştırıldığında, *trans* bileşiğin *cis* bileşiğe oranla genellikle daha yüksek ppm değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Diğer sübstitüentlerin kimyasal kayma değerlerinin genel kaynaklarda verilen kimyasal kayma değerleri ile uygunluk içinde olduğu saptanmıştır. (Tablo 5.3.)



Şekil 5.14. *Bileşik 1a*'nın kloroform-d içerisinde alınan ^{13}C -NMR spektrumu

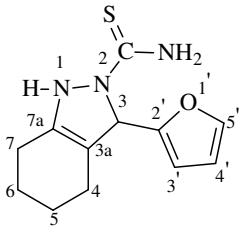
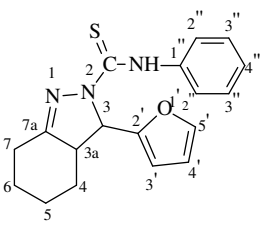
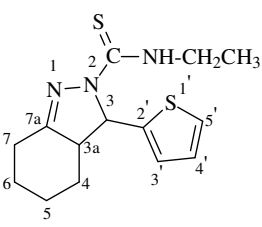


Şekil 5.15. *Bileşik 1e*'nin kloroform-d içerisinde alınan ^{13}C -NMR spektrumu



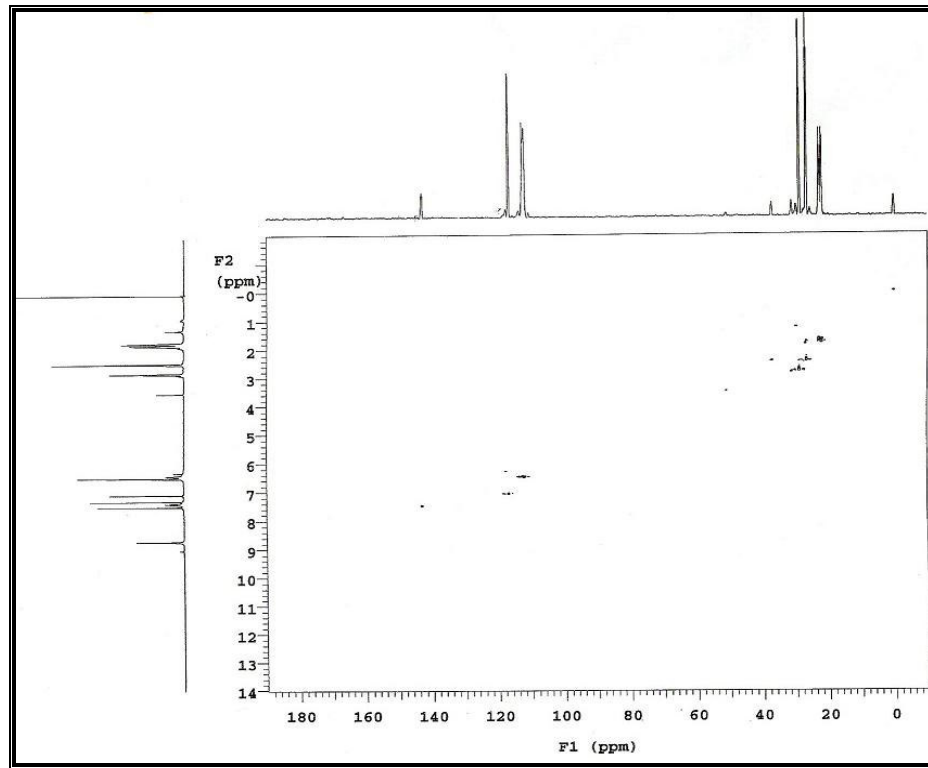
Şekil 5.16. *Bileşik 2c*'nin kloroform-d içerisinde alınan ^{13}C -NMR spektrumu

Tablo 5.3. *Bileşik 1a, 1e ve 2c*'nin ^{13}C -NMR Bulguları

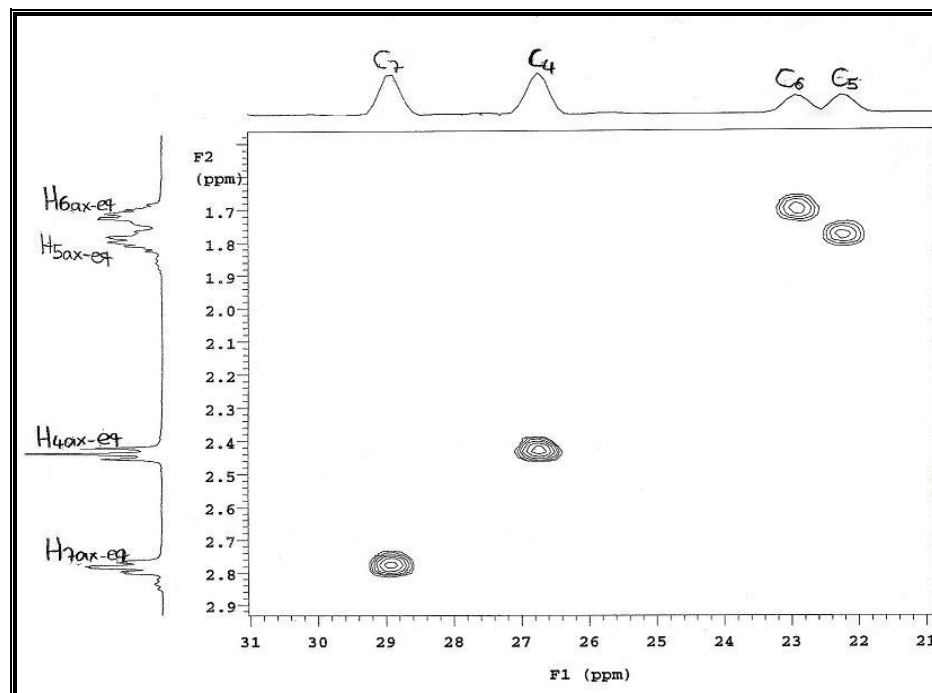
			
	<i>Bileşik 1a</i> (ppm)	<i>Bileşik 1e</i> (ppm)	<i>Bileşik 2c</i> (ppm)
C-3	117	62	62
C-3a	132	54	50
C-4	27	28	27.2
C-5	22	25	24
C-6	23	28	25
C-7	29	33	27.8
C-7a	152	153	142
Furan/tiyofen C-2	153	163	161
Furan/tiyofen C-3	112	108	127

Furan/tiyofen C-4	112	111	124.7
Furan/tiyofen C-5	143	142	124.1
C=S	179	175	175
-CH ₂ -	-	-	39
-CH ₃	-	-	15
Fenil C-1	-	139	-
Fenil C-2	-	124	-
Fenil C-3	-	129	-
Fenil C-4	-	125	-

Bileşik **1a**'nın HETCOR spektrumunda ¹H-NMR skalasında 2.50 ve 2.68 ppm de ikiyeşer hidrojene karşılık gelen piklerin ¹³C-NMR skalasında ayrı ayrı birer karbonla etkileştiği, 1.61 ppm de iki hidrojene karşılık gelen pikin ise iki karbonla ayrı ayrı etkileştiği saptanmıştır. Çifte bağa ve heterosiklik halkaya yakınlık dikkate alındığında 2.50 ve 2.68 ppm deki piklerin, sikloheksan halkasındaki 4 ve 7 nolu konumların aksiyel ve ekvatoryal protonlarına ait olduğunu, 1.61 deki pikin ise sikloheksan halkasının 5 ve 6 nolu konumlarının aksiyel ve ekvatoryal protonlarına ait olduğu düşünülmüştür (Şekil 5.17, Şekil 5.18).

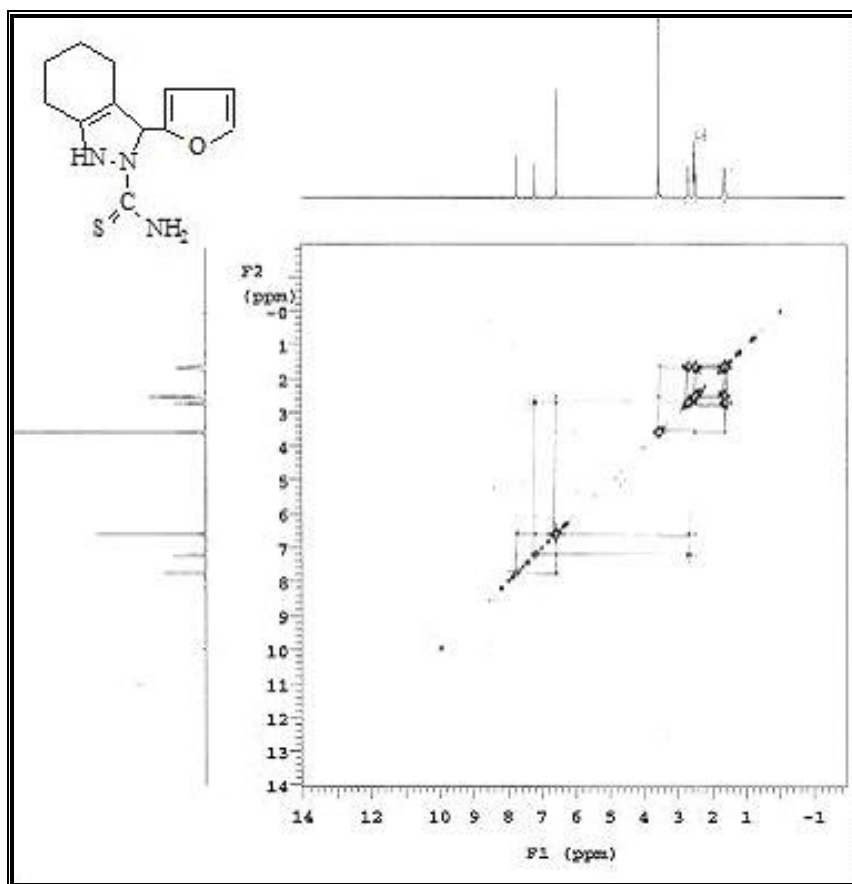


Şekil 5.17. *Bileşik 1a*'nın HETCOR spektrumu



Şekil 5.18. *Bileşik 1a*'nın 4, 5, 6, 7 numaralı konumlarına ait HETCOR spektrumu

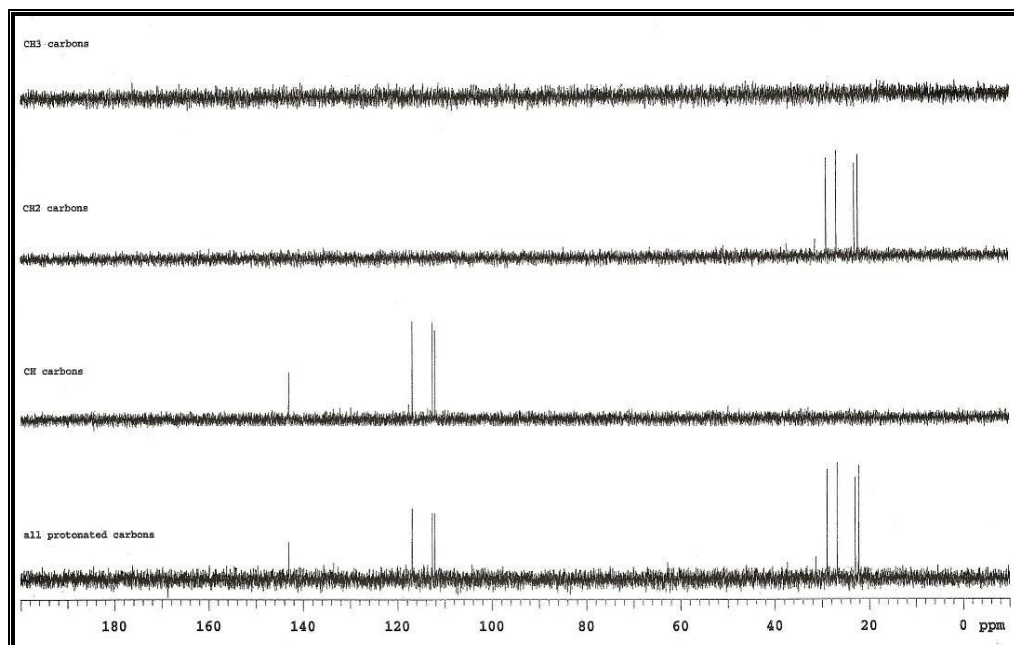
2.50 ve 2.68 ppm deki piklerden hangisinin dört, hangisinin yedi nolu karbona ait olduğunu belirlerken, COSY spektrumundan yararlanılmıştır (Şekil 5.19). **Bileşik 1a**'nın COSY spektrumunda üç numaralı konuma ait protonun (6.45-6.48 ppm) ve furan halkasının üç, dört ve beş numaralı konumlarındaki protonların (6.45-6.48/6.45-6.48/7.47 ppm) 2.50 ppm deki pikle etkileştiği, bu nedenle 2.50 ppm deki pikin H₄'ün aksiyel ve ekvatoryal protonlarına, 2.68 ppm deki pikin ise H₇'nin aksiyel ve ekvatoryal protonlarına ait olduğu belirlenmiştir.



Şekil 5.19. **Bileşik 1a**'nın COSY spektrumu

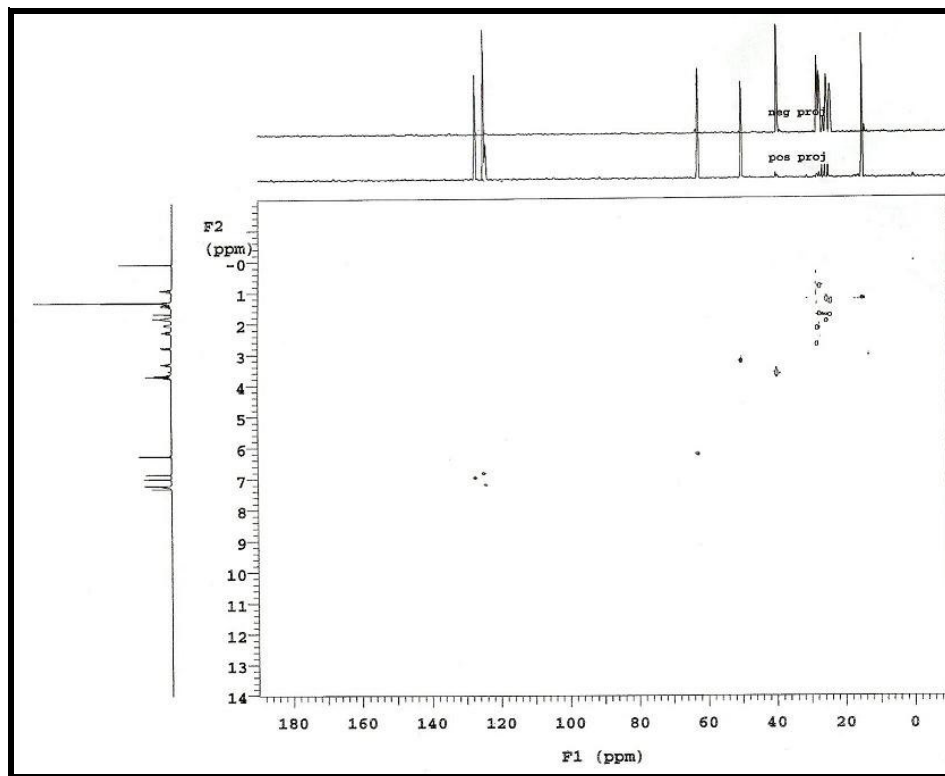
Bileşik 1a'nın DEPT-135 spektrumları kloroform-d içinde alınmış ve spektrumlardaki metil, metilen ve metin karbonlarına ait sinyaller yapılarla uyumlu bulunmuştur. **Bileşik 1a**'nın ¹³C-NMR spektrumunda sekiz karbon rezonansı gözlen-

miştir. DEPT-135 spektrumunda; 4 metin ve 4 metilen rezonansı gözlenmiş, metil rezonansı gözlenmemiştir. Bu sinyaller ve kimyasal kayma değerleri yapıları doğrular niteliktedir (Şekil 5.20).

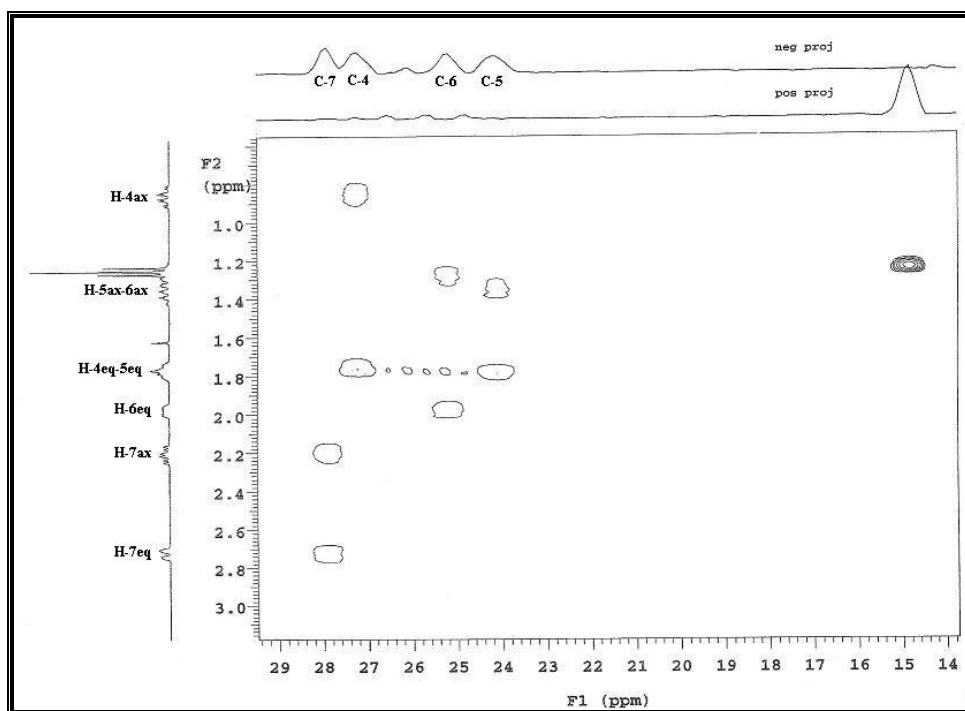


Şekil 5.20. *Bileşik 1a*'nın DEPT spektrumu

Bileşik 2c'nin HETCOR spektrumu incelendiğinde, ^1H -NMR'da sırasıyla 2.20 ile 2.72 ppm deki piklerin 27.8 ppm deki karbonla, 0.85 ile 1.72-1.79 ppm deki piklerin 27.2 ppm deki karbonla, 1.27-1.41 ile 1.97 ppm deki piklerin 25 ppm deki karbonla etkileştiği görülür (Şekil 5.21, Şekil 5.22). Daha önce yapılan çalışmalardan elde ettiğimiz veriler ve alınan spektrumlar ışığında bahsettiğimiz bu piklerin sırasıyla $\text{H}_{7\text{ax}}$, $\text{H}_{7\text{eq}}$, $\text{H}_{4\text{ax}}$, $\text{H}_{4\text{eq}}$, $\text{H}_{5\text{eq}}$, $\text{H}_{5\text{ax}}$, $\text{H}_{6\text{ax}}$ ve $\text{H}_{6\text{eq}}$ protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 5.21. *Bileşik 2c*'nin HETCOR spektrumu



Şekil 5.22. *Bileşik 2c*'nin 4, 5, 6, 7 numaralı konumlarına ait HETCOR spektrumu

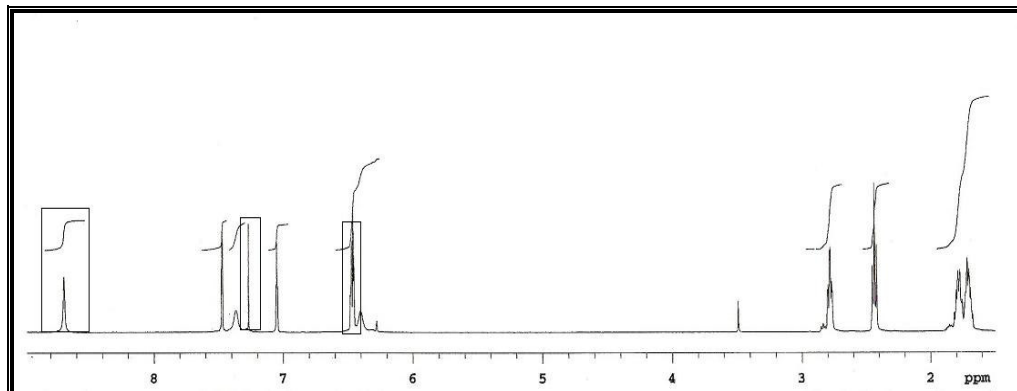
Bileşik 1a ve **2c**'nin CDCl_3 içerisindeki ^1H - ^{13}C etkileşmelerini gösteren HETCOR sonuçları Tablo 5.4'te gösterilmiştir.

Tablo 5.4. Bileşik 1a ve 2c'nin CDCl_3 içerisindeki HETCOR ^1H - ^{13}C Etkileşmeleri

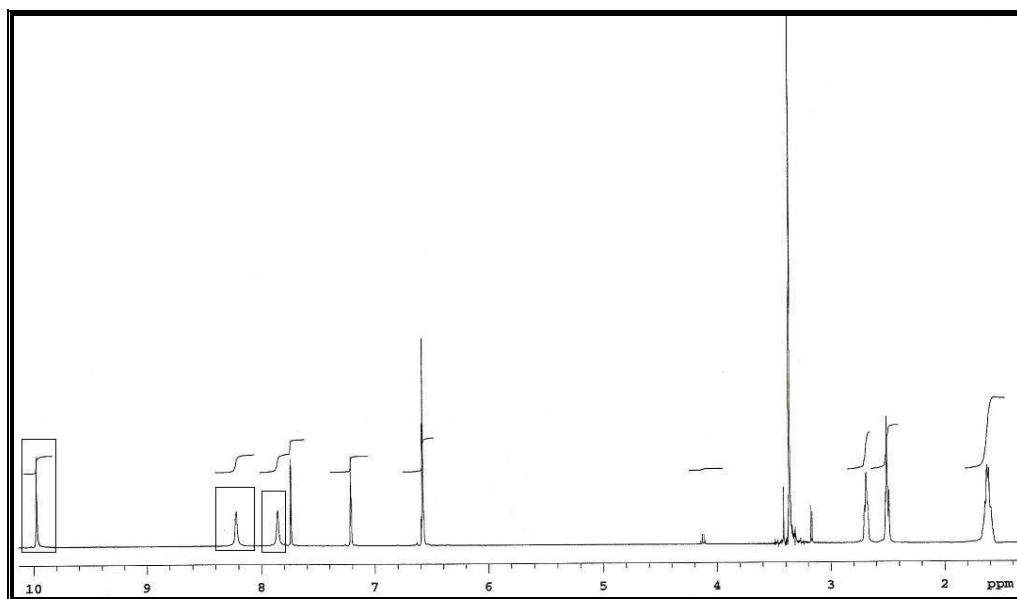
Bileşik 1a		Bileşik 2c	
^1H -NMR (ppm)	^{13}C -NMR (ppm)	^1H -NMR (ppm)	^{13}C -NMR (ppm)
4ax, 2.43	C ₄ , 27	4ax, 0.85	C ₄ , 27.2
4eq, 2.43		4eq, 1.72-1.79	
5ax, 1.69-1.80	C ₅ , 22	5ax, 1.27-1.41	C ₅ , 24
5eq, 1.69-1.80		5eq, 1.72-1.79	
6ax, 1.69-1.80	C ₆ , 23	6ax, 1.27-1.41	C ₆ , 25
6eq, 1.69-1.80		6eq, 1.97	
7ax, 2.77	C ₇ , 29	7ax, 2.20	C ₇ , 27.8
7eq, 2.77		7eq, 2.72	
Furan H ₃ , 6.45-6.48	Furan C ₃ , 112	Tiyofen H ₃ , 6.95	Tiyofen C ₃ , 127
Furan H ₄ , 6.45-6.48	Furan C ₄ , 112	Tiyofen H ₄ , 6.80	Tiyofen C ₄ , 124.7
Furan H ₅ , 7.46	Furan C ₅ , 143	Tiyofen H ₅ , 7.17	Tiyofen C ₅ , 124.1
H ₃ , 7.05	C ₃ , 117	H ₃ , 6.20	C ₃ , 62
-	-	H _{3a} , 3.24	C _{3a} , 50
-	-	-CH ₂ -, 3.64	-CH ₂ -, 39
-	-	-CH ₃ , 1.24	-CH ₃ , 15

Sentezini yaptığımız maddelerin ^1H -NMR spektrumlarında çözücü etkisi açıkça gözlenmektedir. 3-(2-Furil)-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1H-indazolün (**bileşik 1a**) CDCl_3 -d'da içinde alınan ^1H -NMR spektrumunda hekzahidroindazol halkasının bir numaralı konumundaki NH protonuna ait pik 8.69 ppm de, tiyokarbamoil grubundaki NH protonlarına ait pikler 6.45-6.48 ve 7.26 ppm de gözlenirken (Şekil 5.23), DMSO-d₆'da alınan ^1H -NMR spektrumunda bir numaralı konumdaki NH protonuna ait pik 9.97 ppm de, tiyokarbamoil grubundaki

NH protonlarına ait pikler ise NH ile DMSO-d₆ arasında oluşan hidrojen bağından dolayı 7.85 ve 8.21 ppm de gözlenmiştir (Şekil 5.24).



Şekil 5.23. *Bileşik 1a*'nın CDCl₃-d içerisinde alınan ¹H-NMR spektrumu

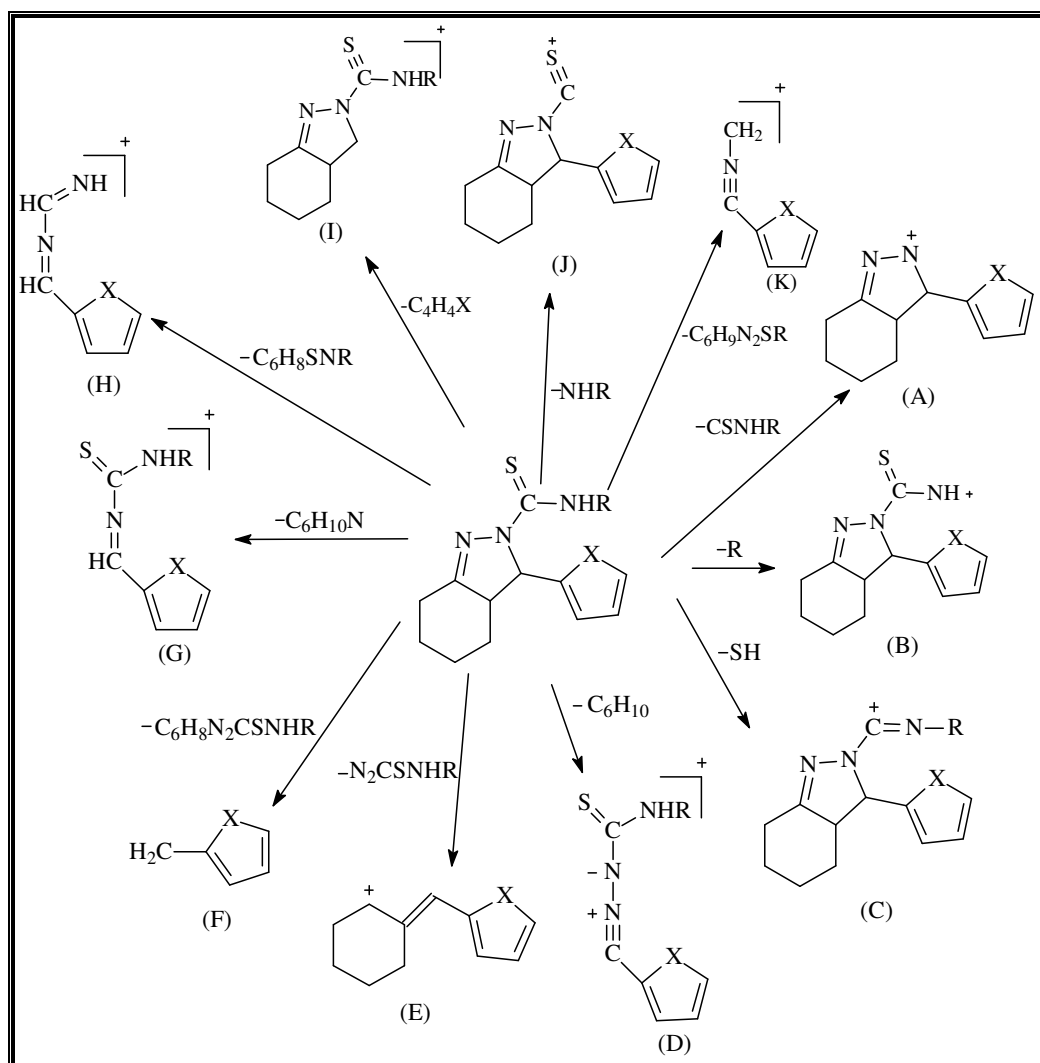


Şekil 5.24. *Bileşik 1a*'nın DMSO-d₆ içerisinde alınan ¹H-NMR spektrumu.

Bileşiklerimizin elektron iyonizasyon (EI) tekniği ile alınan kütle spektrumunda elde edilen bulgular, bileşiklerin yapılarıyla uyum içindedir. Moleküler iyon piki bütün bileşiklerimizin spektrumlarında görülmekte, altı bileşikte bu pikler aynı zamanda temel piki oluşturmaktadır. Bileşiklerimizin parçalanmaları

ortak bir kalıba uymamakla birlikte, sübstitüentlerin hekzahidroindazol halkasından ayrılmasına ve hekzahidrazol yapısındaki sikloheksanona komşu pirazolin halkasının parçalanma-sına ait ortak öğeler bulunmaktadır. Parçalanmaların bir kısmı, daha önce yapılmış çalışmalarda elde edilen verilerle de doğrulanmaktadır (217).

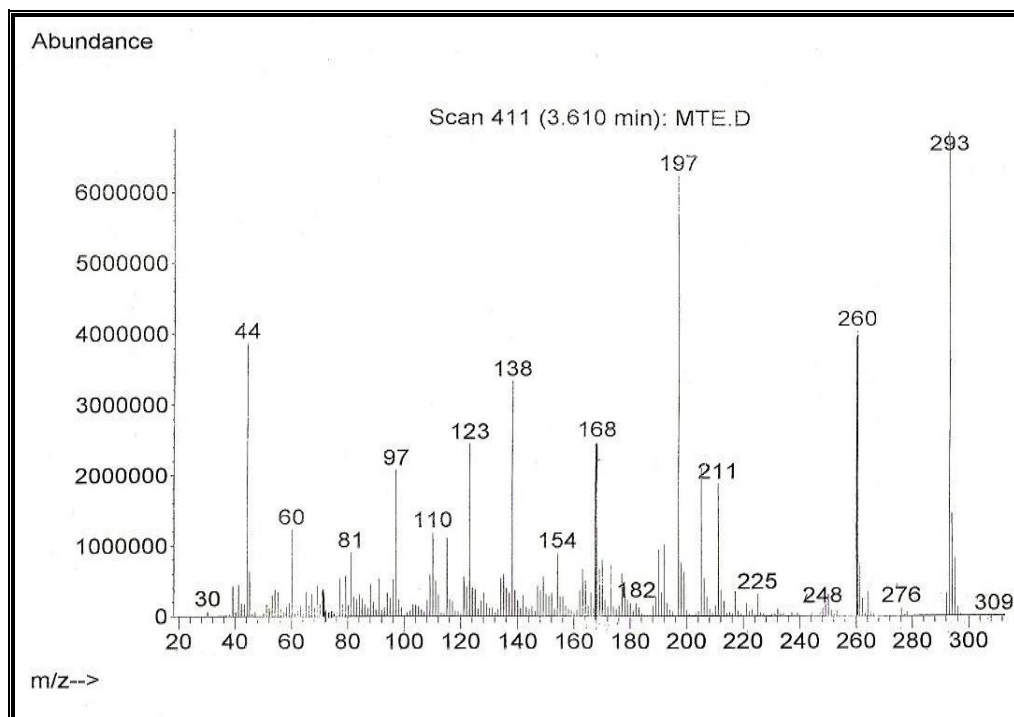
2-Tiyokarbamoil ve 2-(*N*-sübstittie tiyokarbamoil) türevlerinden amino (-NHR), merkpto (-SH) ve tiyokarbamoil (-CSNHR) gruplarının tamamen kopması sonucu oluşan iyonlara ait piklerin yanısıra hekzahidroindazol halkasının çeşitli şekillerde parçalanmasına ait pikler de kütle spektrumlarında gözlenmektedir (Şekil 5.25).



Şekil 5.25. Bileşik 1b-1e/2b-2e için öngörülen parçalanma ürünleri

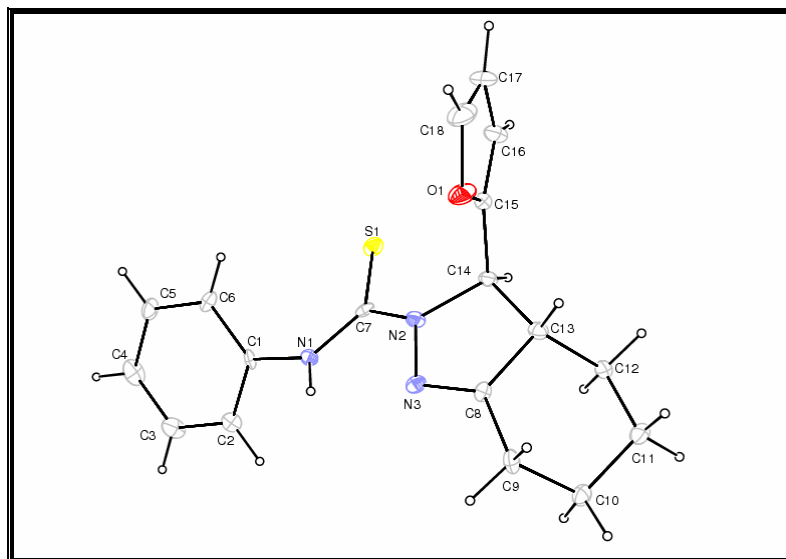
Bu temel parçalanmalara ek olarak, bazı bileşiklerde farklı parçalanmalar sonucu değişik kütleli iyon oluşumu gözlenmiştir. Tiyokarbamoil ayrılması sonucu 205'te oluşan pik **bileşik 2a**'da, $C_6H_{10}N$ parçalanması sonucu m/e 183 de oluşan iyon **bileşik 2b**'de ve $C_9H_{14}N_2S$ parçalanması sonucu m/e 123 de oluşan iyon da **bileşik 2d**'de temel piki vermiştir. Feniltiyokarbamoil taşıyan **bileşik 1e** ve **2e**'de, fenilizotiyosiyana ait pik de spektrumlarda görülmektedir.

Bileşik 2c'ye ait kütle spektrumu şekil 5.26'de görülmektedir.

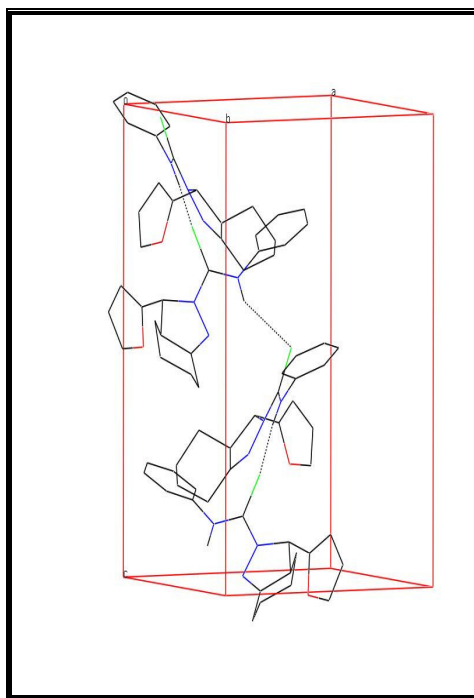


Şekil 5.26. **Bileşik 2c**'nin EI yöntemiyle alınan kütle spektrumu

Bileşik 1e'nin kristal yapısı, tek kristal X-ışınları kırınımı yöntemi ile aydınlatılmış, X-ışınları kristallografisi analizi ortep çizimleri şekil 5.27.'te, kristallerin genel görünümü şekil 5.28'te, kristalografik deneysel parametreler ve geometrik parametreler tablo 5.5.'te gösterilmiştir.



Şekil 5.27. *Bileşik 1e*'nin X-ışınları Ortep Çizimi



Şekil 5.28. *Bileşik 1e*'in X-ışınları Kristallografisi Genel Görünümü

X-ışınları kristallografik analizi sonucunda kristal türünün tetragonal, birim hücre boyutlarının a:10.600 Å, b:10.600 Å, c:14.863 Å olduğu ve N1-H1 ile N3 ve N1-H1 ile S1 arasında iki intermoleküler hidrojen bağı olduğu saptanmıştır.

Tablo 5.5. Bileşik 1e'nin X-Işınları Kristallografisi Çalışma ve Kristal Parametreleri ile Geometrik Parametreleri

Kristal Parametreleri		Geometrik Parametreleri	
		Önemli bağ uzunlukları (Å)	
Kristal şekli	Tetragonal, P4 ₁	S1-C7	1.666 (9)
Birim hücre boyutları	a = 10.600 (2) Å b = 10.600 (2) Å c = 14.863 (4) Å	N1-C7	1.355 (10)
Birim hücre hacmi	V = 1670.0 (7) Å ³	C1-N1	1.430 (10)
Birim hücredeki molekül sayısı	Z = 4	N2-N3	1.400 (8)
Yoğunluk	D _x = 1.294 Mgm ⁻³	O1-C15	1.380 (12)
Radyasyon tipi/kaynağı	MoKα (λ = 0.7107 Å)	O1-C18	1.371(12)
Tarama açısı	θ = 1.9-26.5°	N3-C8	1.277 (9)
Isı	T = 296 K	N2-C7	1.348 (10)
Soğurma katsayısı	μ = 0.20 mm ⁻¹	N2-C14	1.500 (9)

H13 ve H14 atomlarının konumları elektron yoğunluğu haritasına göre belirlenip serbest olarak arıtıldığında ve C8-N3-N2-C14-C13 halkasının oluşturduğu düzleme göre H13 ve H14 atomlarının “*root mean square*” sapmaları hesaplandığında, H13 atomunun halka düzleminin altına doğru 0.39 Å sapma gösterdiği, H14 atomunun ise halka düzleminin üstüne doğru 0.4 Å sapma gösterdiği saptanmıştır. Dolayısıyla bu iki hidrojen atomunun rms sapmaları ve bağlı oldukları karbon atomlarının konumları dikkate alındığında H13 ve H14 atomlarının birbirine göre *trans* konumda olduğu X ışınları çalışması ile de desteklenmektedir.

Bileşiklerin eleman analizi sonuçları da kabul edilen sınırlar içerisindedir ve bileşiklerin yapılarını doğrulamaktadır.

MAO-A ve MAO-B'ye seçici etkili yeni inhibitör moleküllerin izozimlerle nasıl etkileştiğinin ya da enzimle nasıl kompleks yaptığının anlaşılabilmesi için tez çalışmamız içinde docking çalışması da yapılmıştır. Bileşiklerimizin biyokimyasal

etkilerinin araştırılması yanında docking çalışmasının yapılması MAO enziminin farklı izozimlerinin enzim-substrat ilişkilerine temel olan ve henüz tam olarak bilinmeyen mekanizmalarının aydınlatılmasına katkıda bulunacağı düşünülmüştür.

Docking çalışması sonucu elde edilen hesaplamalı K_i değerleri, deneysel K_i değerleri ile karşılaştırmalı olarak tablo 4.3'te gösterilmiştir. Çoğunlukla her iki sonucun birbirine paralel olduğu ve birbirini desteklediği görülür. Yalnız **bileşik 2e**'nin *cis/trans* hesaplamalı değerlerine karşı, bulunan deneysel sonuç değerleri (93.08 nM, 69.46 nM / 92.76 ± 7.13 μ M) diğer bileşiklere kıyasla biraz farklıdır. Serideki en etkili bileşikler hem MAO-A'ya hem MAO-B'ye karşı etkili olan **bileşik 1e** ve **2e**'dir. Bu bileşiklerin etkinlikleri yüksek olmasına rağmen seçicilikleri referans bileşikler kadar yüksek değildir. Bütün bileşiklerin MAO-A ve MAO-B ile ayrıntılı etkileşim şekilleri bölüm 4.2'de verilmiştir.

Genel bir inceleme sonucunda bileşiklerin çoğunun enzimin aktif yoresiyle etkileşime girdiği, bazı bileşiklerde tiyokarbamoil azot hidrojeninin, MAO-A enziminin Ile 207 ve Phe 208 peptit bağının karbonil grubu (**bileşik 1a, 1b, 1c, 2a**) ile, Glu 216 yan zinciri ile (**bileşik 1a, 2a, 2b, 2e**), NHCH_3 grubu ile Tyr 407'nin fenolik -OH grubu arasında (**bileşik 1d, 2d**) hidrojen bağı yaptığı tespit edilmiştir. Hidrojen bağının uzunluğu bileşikler için (**bileşik 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2d, 2e**) sırasıyla 2.09/2.13, 2.0, 2, 1.99/2.07, 1.99, 2.07 ve 1.88 Å'dır. Ayrıca **bileşik 1b, 1c** ve **2b, 2c**'nin MAO-B enzimi ile olan komplekslerinde N-metil ve N-etil gruplarının FAD, Tyr 398 ve Tyr 435'in yer aldığı hidrofobik kafes bölgesine doğru konumlandığı, **bileşik 2c, 1d** ve **2d**'de ise etil ve allil gruplarının MAO-A'nın Tyr 407 ve Tyr 444 hidrofobik paketi içinde yer alarak FAD'ye yaklaştığı tespit edilmiştir. **Bileşik 2c**'nin N-etil grubunun hem MAO-A, hem de MAO-B'de etkin bölgeye girmiş olması bileşiğin her iki enzimi de inhibe etmesine ancak seçici olmamasına yol açmıştır. (MAO-A için hesaplanan: 1.96 μ M, deneysel: 1.72 ± 0.01 μ M; MAO-B için hesaplanan: 2.47 μ M, deneysel: 3.01 ± 0.23 μ M). Aynı şekilde **bileşik 1b, 2b** ve **1e**'de sikloheksan halkası, **bileşik 1c** ve **2e**'de heterosiklik halkalar MAO-B'nin etkin bölgesiyle daha iyi etkileşime girebilmişlerdir.

Bileşiklerin genel olarak her iki enzimle nasıl etkileştiği karşılaştırmalı olarak ayrıntılı incelenecek olursa;

Bileşik 1a (R) MAO-A enziminin aktif bölgesine Şekil 4.1’de gösterildiği gibi yerleşmiştir ($K_i = 2.96 \mu\text{M}$). Şekil dikkatle incelendiğinde furan halkasının Tyr444 ve Tyr407 aminoasitlerinin fenolik yan zincirleri arasına yatay konumda ve FAD nin *re* yüzüne ise paralel bir düzenlenme ile yanaştığı tespit edilmiştir. Amin grubu hidrojenlerinden biri Ile207 peptit bağının karbonil grubu ile diğeri ise Glu216 yan zincirinin karbonil grubu ile hidrojen bağı yapmaktadır. İnhibitörün etkileşimde bulunduğu diğer aktif bölge aminoasit yan zincirleri Tyr69 ve Phe208 dir. Aynı bileşik MAO-B enzimi ile değişik bir bağlanma motifi sergilemektedir. İnhibitör burada FDA hidrofobik kafes bölgesinden uzak daha çok giriş bölgesine yakın konumlanmıştır. İnhibitörün amin grubu hidrojenlerinden biri giriş bölgesi aminoasit yan zincirlerinden Ile199 ($K_i = 1.27 \mu\text{M}$) ile hidrojen bağı yapmaktadır. Bu konumu sabitleyen diğer aminoasit yan zincirleri Leu88, Gln206, Tyr326, Ile313, Leu164 ve Leu171 dir.

Bileşik 1b’nin *cis* konfigürasyonunun MAO-A ile olan kompleksinde sikloheksan grubu Tyr444 ve Tyr407 aminoasit yan zincirleri arasına doğru konumlanmıştır. Ile207 ve Phe208 peptit bağının karbonil grubu ile inhibitördeki azota bağlı hidrojen, hidrojen bağı yapmaktadır ($2.0 \text{ \AA}$). Tyr69, Glu216, Ser209 ise inhibitörleri çevreleyen diğer aktif bölge aminoasit yan zincirleridir. Aynı bileşiğin MAO-B ile olan kompleksinde N-Metil grubu Tyr435 ve Tyr398 hidrofobik pakete iyice sokulmuştur. FAD halkasına da *re* yüzünden yanaşmıştır. Aktif kısımda bu inhibitörü çevreleyen diğer aminoasit yan zincirleriyse Tyr188, Cys172, Ile198, Gln206, Tyr60, Phe343 ve Tyr326’dır.

Bileşik 1c’nin *cis* konfigürasyonunun MAO-A ile olan kompleksinde furan halkası Tyr407 ve Tyr444 aminoasit yan zincirleri arasına yatay bir konumda ve FAD’a dik bir pozisyonda yaklaşarak her iki aromatik halka ile π - π girişimleri yapmıştır. Trp441, Tyr69, Glu216, Ile180 ise aktif kısımdaki inhibitörle girişimde bulunan diğer aminoasit yan zincirleridir. Phe208 ve Ile207’nin bağlandığı amid karbonili ile inhibitörde bulunan amin hidrojeni de ilave bir hidrojen bağı yaparak bu inhibitörün bağlanma katsayısını düşürmektedir. Aynı bileşiğin MAO-B ile olan kompleksinde N-Etil grubu FAD’ a oldukça yaklaşmıştır. Gly434, Tyr435, Tyr60, Tyr435, Phe343, Leu171, Cys172, Tyr326, Ile198, Glu206 gibi aminoasit yan zincirleri bu inhibitörü çevrelemişlerdir.

Bileşik 1d'nin MAO-A ile olan kompleksinde aminoallil grubu Tyr407 ve Tyr444 arasına girerek mümkün olduğunca FAD'a yaklaşmıştır. Diğer taraftan bileşiğin N-H grubu ile Tyr407'nin fenolik halkasında bulunan –OH grubu da hidrojen bağı oluşturmaktadır. Aynı bileşiğin MAO-B ile olan kompleksinde Tyr326'ın fenolik –OH'ı ile amin hidrojeni arasında bir hidrojen bağı kurulmuştur. Ancak etkiyi artıran hidrojen bağına rağmen, bu inhibitör FAD bölgesinden uzakta kaldığı için etkinliği MAO-A ile olan kadar değildir.

Bileşik 1e'nin *trans* konfigürasyonunun MAO-A ile olan kompleksinde sikloheksan halkası Tyr444 ve Tyr407 arasına doğru yönelmiştir. **Bileşik 2e**'de bu grup tiyofen halkasıydı. Fenil grubu ise bileşik **2e** ile aynı şekilde Phe208 ve Glu216 arasına yakın bir bölgeye yerleşmiştir. Aynı bileşiğin MAO-B ile olan kompleksinde ise inhibitör FAD'e yeterince yanaşamamıştır. N-fenil halkası bileşik **2e**'nin N-fenil halkasının yer aldığı Ile199 ve Gln206 bölgesinden biraz daha aşağıda Cys172 ve Ile198 arasına sokulmuştur.

Bileşik 2a (R) MAO-A enzimi ile Şekil 4.6'daki gibi etkileşmektedir ($K_i = 2.57 \mu M$). Tiyofen halkası FAD nin *re* yüzüne paralel konumda Tyr444 ve Tyr407 aminoasit yan zincirlerinin fenolik halkalarına dik olarak hidrofobik kafes bölgesinde konumlanmıştır. İnhibitörün amino grubu hidrojenlerinden birisi Glu216 aminoasit yan zincir karbonil grubu ile diğer hidrojeni ise Ile207 peptit karbonil grubu ile hidrojen bağı yapmaktadır. İnhibitör ile etkileşen diğer önemli aktif bölge aminoasit yan zincirleri Tyr69 ve Phe208 dir. **2a** (R) bileşiği MAO-B ile MAO-A dan farklı olarak aktif bölgenin sonuna değil de aktif bölgenin giriş kısmına yerleşmiştir. İnhibitörün amin grubu hidrojenlerinden bir tanesi Tyr326 aminoasit yan zincirindeki fenolik hidroksi grubu ile diğeri ise Ile199 peptit bağının karbonil grubu ile hidrojen bağı yapmaktadır. Aktif kısımda inhibitörle girişimde bulunan diğer aminoasit yan zincirleri ise Gln206, Leu171, Pro102, Leu88, Ile316, Pro104 ve Leu164 tür.

Bileşik 2b'nin MAO-A ile olan kompleksinde Glu216 aminoasit yan zinciri ile amin hidrojeni bir hidrojen bağı yapmıştır. Sikloheksan halkası Tyr407 ve Tyr444 hidrofobik bölgeye mümkün olduğu kadar yanaşmıştır. **Bileşik 2b**'nin MAO-B ile olan kompleksinde ise inhibitörün N-metil grubu Tyr435, Tyr398 ve FAD hidrofobik paketinin tam ortasında olduğu için etkinliği MAO-A'ya kıyasla yüksektir. Tiyofen halkası Leu171, Ile198 ve Gln206 aminoasit yan zincirleri arasına yönelmiş,

sikloheksan halkası ise Tyr60, Phe343 ve Tyr326 aminoasit yan zincirlerine komşudur.

Bileşik 2c'nin MAO-A ile olan kompleksinde etil grubu **bileşik 1d**'de olduğu gibi Tyr407 ve Tyr444 arasına yönelmiştir. **Bileşik 2c**'nin MAO-B ile olan kompleksinde N-Etil grubu FAD, Tyr398, Tyr435 hidrofobik kafes bölgesine konumlanmıştır. Sikloheksan halkası ve tiyofen halkaları ise **bileşik 2b**'de olduğu gibi sırasıyla Tyr60, Phe343, Leu171, Tyr326 ve Glu206, Cys172, Ile199 aminoasit yan zincirleri ile çevrelenmiştir.

Bileşik 2d'nin *trans* konfigürasyonunun MAO-A ile olan kompleksinde N-allil grubu Tyr407 ve Tyr444 hidrofobik paket içerisine sokularak flavine oldukça yaklaşmıştır. İnhibitördeki N-H grubundaki hidrojen ile Tyr407'nin fenolik hidroksil grubu hidrojen bağı yapmıştır (2.07 Å). Asn181, Ile207, Phe208 ve Glu216 ise inhibitörü çevreleyen diğer aminoasit yan zincirleridir. Aynı bileşiğin MAO-B ile olan kompleksinde ise N-allil grubu Cys172, Gln206, ve Ile199 aminoasitlerinin çevrelediği bölgeye yönelmiştir. Sikloheksan halkası, Ile316, Tyr326; tiyofen yan grubu ise Pro102, Leu88 ve Pro104 aminoasit yan zinciri bölgesi içerisinde.

Bileşik 2e'nin *trans* konfigürasyonunun MAO-A ile olan kompleksinde tiyofen halkası Tyr444 ve Tyr407'nin oluşturduğu hidrofobik pakete doğru yaklaşmışken, fenil halkası giriş yolunda Glu216 ile Phe208 arasında konumlanmıştır. Aynı bileşiğin MAO-B ile olan kompleksinde ise fenil halkası Ile199 ve Gln206 tarafından çevrelenmiştir. Sikloheksan halkası ise Leu167, Leu 164 ve Ile316 tarafından kuşatılmıştır. Tiyofen halkası ise Tyr326 ve Pro102 aminoasit yan zincirlerine komşudur.

Bileşik 2e'nin *cis* konfigürasyonunun MAO-A ile kompleksinde N-H grubu ile Glu216 aminoasit yan zinciri arasında kuvvetli bir hidrojen bağı (1.88 Å) görülür. Bileşiğin aktif bölgede bulunan Gln74, Ile207, Phe208, Tyr444, Tyr407, Ile335, Phe352, Tyr69, Leu337 ve Asn181 aminoasit yan zincirleri ile yakın temasta olması inhibisyonun *trans* konfigürasyonu kadar yüksek olmasa da nanomolar düzeyde olmasını sağlamıştır.

Bu bilgilerin ışığında MAO enzim inhibitörü etki gösterebileceğini düşünerek sentezini yaptığımız ve docking çalışması yapılan bileşiklerin MAO enzim inhibitör özellikleri spektrofotometrik olarak saptanmıştır.

MAO enzimi sıçan karaciğerinden elde edilmiş, total MAO enziminin spesifik aktivitesi substrat olarak p-tiramin kullanıldığında 43.45 ± 6.80 nmol/mg protein olarak bulunmuştur. K_m ve V_{max} değerleri karaciğer kaynaklı MAO-A ve B için sırasıyla 20.31 ± 3.45 μ M ve 23.81 nmol/h/mg protein olarak hesaplanmıştır.

Referans bileşikler klorjilin ve parjilin, substrat olarak p-tiramin kullanıldığında sıçan karaciğer MAO-A ve MAO-B aktivitelerini 0.50 μ M derişimde sırasıyla % 97 ve % 94 azaltmıştır (Tablo 5.6.). Bütün bileşiklerin total MAO enzimini inhibe edici etki gösterdiği bulunmuştur.

Tablo 5.6. Sıçan karaciğeri MAO enziminin kinetik özellikleri (substrat olarak p-tiramin kullanıldı)¹

İnhibitor	Kalan isoform	K_m (μ M)	$V_{maks.}$ (nmol/saat/mg protein)
Yok	A and B	35.32 ± 2.87	55.22 ± 2.80
Parjilin	A	31.13 ± 1.96	33.01 ± 2.30
Klorjilin	B	145.34 ± 2.77	40.00 ± 3.20

¹Değerler 3 deneyin ort $\pm$ SH'dır.

Homojenatlar, aktivite tayini öncesi 37°C 'de su veya inhibitörle (son derişim 0.50 μ M) 60 dak. preinkübe edildi. p-tiramin derişimi MAO-A için $10-100$ μ M; MAO-B için $50-500$ μ M'dir.

Sentezini yaptığımız bileşiklerin sıçan karaciğer kaynaklı MAO izozimlerini nasıl inhibe ettiği, inhibisyon şekli ve K_i değerleri Tablo 4.2.'de verilmiştir. Tüm bileşikler MAO-A ve B izozimlerini yarışmalı ve tersinir olarak inhibe etmektedirler. **Bileşik 1d, 1e, 2c, 2d** ve **2e** (MAO-A için K_i değeri: 0.65 ± 0.03 μ M, 47.22 ± 0.33 nM, 1.72 ± 0.01 μ M, 0.88 ± 0.01 μ M, 39.15 ± 2.70 nM) MAO-A'yı inhibe ederken **1a, 1b, 1c, 2a** ve **2b** (MAO-B için K_i değeri: 0.96 ± 0.01 μ M, 2.10 ± 0.01 μ M 1.95 ± 0.05 μ M, 0.90 ± 0.01 μ M, 1.69 ± 0.09 μ M)' nin MAO-B yi inhibe ettiği görülmüştür.

Bileşiklerin yapıları incelendiği zaman azot üzerinde fenil sübstitüenti taşıyan 3-(2-furil)-2-(N-feniltiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazol (**1e**) ve 3-(2-tiyenil)-2-(N-feniltiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2H-indazolün (**2e**) MAO-A enzimini en kuvvetli inhibe eden bileşikler olduğu görülür. **Bileşik 1e** ve **2e** arasındaki fark, üç numaralı konumdaki furil /tiyenil gruplarının varlığıdır.

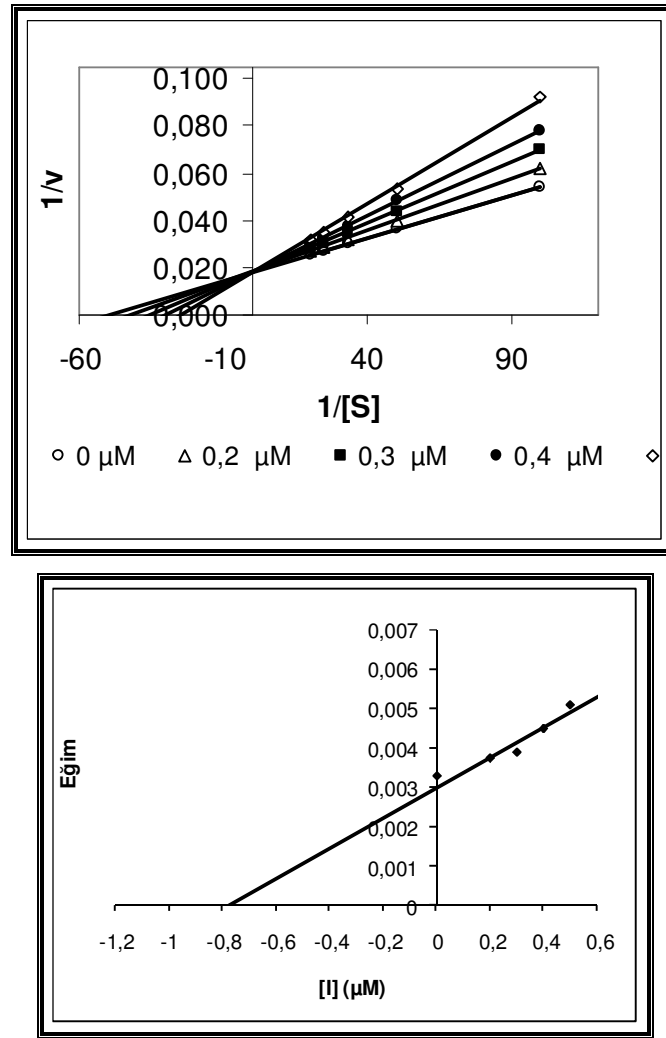
Referans olarak kullanılan MAO-A inhibitörü klorjilinin MAO-A/MAO-B selektivitesi 73.5 iken (MAO-A K_i : $1.20 \pm 0.09 \mu\text{M}$, MAO-B K_i : $88.25 \pm 6.30 \mu\text{M}$), furil taşıyan **bileşik 1e**'nin selektivitesi 26, tiyenil taşıyan **bileşik 2e**'nin selektivitesi ise 2356 olarak bulunmuştur.

Bileşik 1e'nin trans konfigürasyonuna göre (MAO-A için hesaplanan K_i değeri: 50.75 nM, deneysel K_i değeri: $47.22 \pm 0.33 \text{ nM}$), **bileşik 2e**'nin ise *cis* ve *trans* konfigürasyonuna göre yapılan teorik hesaplamalı sonuçlar deneysel sonuçları (MAO-A için hesaplanan K_i değeri: 36.53 nM (*trans*), 57.54 nM (*cis*), deneysel K_i değeri: $39.15 \pm 2.70 \text{ nM}$) destekler niteliktedir (Bkz. Tablo 4.3). **Bileşik 2e**'nin izomerlerine ayrımı yapılamadığı için (*trans* izomer daha yoğun ama saf değil) deneysel sonuçlar karışım hali üzerinden, teorik sonuçlar bileşiğin *cis* ve *trans* izomerleri üzerinden bulunmuştur.

Bileşik 1e ve **2e** kadar yüksek olmamakla birlikte azot üzerinde allil türevi taşıyan **bileşik 1d** (MAO-A/MAO-B selektivitesi 6) ve **2d** (MAO-A/MAO-B selektivitesi 3)'nin de oldukça yüksek MAO-A inhibisyon gösterdiği bulunmuştur. N-etil sübtitüe türevlerden furil artığı taşıyan **bileşik 1c** MAO-B'ye seçiciyken, tiyenil grubu taşıyan **bileşik 2c** MAO-A'ya seçicidir. N-metil sübtitüe ve N-nonsübtitüe türevler incelendiğinde ise furil taşıyan **bileşik 1a** ve **1b**'nin, tiyenil taşıyan **2a** ve **2b**'ye göre MAO-B enzimine daha selektif olduğu, buna karşın **bileşik 2a** ve **2b**'in benzerlerine kıyasla daha güçlü MAO-B inhibitörü olduğu görülür.

Tüm bileşikler içinde en güçlü MAO-A inhibitörü, *trans* konfigürasyonu baskın olan **bileşik 2e** ($39.15 \pm 2.70 \text{ nM}$), en güçlü MAO-B inhibitörü ise **bileşik 2a** ($0.90 \pm 0.01 \mu\text{M}$)'dır (Şekil 5.29.). Her iki bileşiğin de aktivitesi MAO-A (Klorjilin: $1.20 \pm 0.09 \mu\text{M}$, moklobemit: $5.53 \pm 0.27 \mu\text{M}$) ve MAO-B (Parjilin: $3.36 \pm 0.27 \mu\text{M}$, selejilin: $1.35 \pm 0.12 \mu\text{M}$) için standart olarak kullanılan referans bileşiklerden çok daha iyi bulunmuştur. **Bileşik 1a** ($0.96 \pm 0.01 \mu\text{M}$) her iki bileşikten (parjilin ve selejilin) daha etkin, **bileşik 1b** ($2.10 \pm 0.01 \mu\text{M}$), **1c** ($1.95 \pm 0.05 \mu\text{M}$) ve **2b** ($1.69 \pm 0.09 \mu\text{M}$) ise parjilinden daha etkin bulunmuştur. **Bileşik 1d** ($0.65 \pm 0.03 \mu\text{M}$), **1e** ($47.22 \pm 0.33 \text{ nM}$), **2c** ($1.72 \pm 0.01 \mu\text{M}$) ve **2d** ($0.88 \pm 0.01 \mu\text{M}$) ise hem klorjilinden hem de moklobemitten daha etkin bulunmuştur.

Enzim inhibisyon sonuçları bir saatlik inkübasyon sonunda elde edilen sonuçlardır ve tüm bileşiklerin inhibitör etkilerinin enzim-inhibitör karışımının 37°C de bir saatlik inkübasyonu ile arttığı gözlenmiştir. İnkübasyon süresinin, inhibitörlerin enzimin aktif bölgesine ulaşmaları, gerekli bağların oluşarak etkileşmeleri ve substratla yer değiştirebilmeleri için gerekli olduğu düşünülmektedir.



Şekil 5.29. Sıçan karaciğer MAO-B izoziminin **2a** bileşiği tarafından inhibisyonu. Inhibitör derişimleri şekil altında gösterilmiştir. K_i değeri grafikten hesaplanmıştır.

$[S]$ = p-tiramin (mM), v = hız (nmol/saat/mg), $K_i = 0.77 \mu\text{M}$

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmamızda, MAO inhibitörü etki göstermesini beklediğimiz 3-aril-2-tiyokarbamoil-2,3,4,5,6,7-hekzahidro-1*H*-indazol yapısında iki bileşiğin ve 3-aril-2-(*N*-sübstitüetiyokarbamoil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidro-2*H*-indazol yapısında sekiz yeni bileşiğin sentezi yapılarak, bileşiklerin yapıları UV, IR, ¹H-NMR, kütle spektroskopisi ile kanıtlanmıştır. Ayrıca, tez kapsamındaki bileşiklerden **1a**, **1e** ve **2c** için ¹³C-NMR, **1a** için COSY (Correlation Spectroscopy), HETCOR (Heteronuclear Correlation Spectroscopy) ve DEPT (Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer) spektral analiz tekniklerinden, bileşik **2c** için HETCOR spektral analiz tekniklerinden yararlanılmıştır. Bütün bileşiklerin saflıkları elementel analiz ile doğrulanmıştır. Bileşik **1e**'nin yapısı da X-ışınları analiziyle aydınlatılmıştır.

Sentezi yapılan bileşiklerin MAO inhibitör aktiviteleri ve selektiviteleri sıçan karaciğer kaynaklı MAO enzimleri üzerinde tayin edilmiştir. Ayrıca bileşiklerimizin MAO-A ve MAO-B'ye karşı docking çalışmaları yapılarak enzimle nasıl etkileştiği çıkarılıp, sonuçlar *in vitro* deney sonuçları ile beraber değerlendirilmiştir.

Çalışma kapsamında sentezi yapılan bileşiklerde, standart olarak kullanılan bileşiklere kıyasla güçlü MAO inhibitör aktivitenin, bunun yanında MAO A veya MAO B izozimlerine karşı selektivitenin gözlenmesi, molekülün 3 numaralı konumundaki aril grubu ve 2 numaralı konumundaki tiyokarbamoil sübstitüenti üzerinde yapılacak değişikliklerle yeni bileşiklerin sentezinin yapılması, yapılarının aydınlatılması ve farmakolojik etkilerinin incelenmesi için teşvik edici olmuştur.

Pirazolin halkasına kondanse siklohekzanon halkasının aktiviteye katkısının incelenmesi amacıyla, bazı yeni 5 üyeli siklopentanon ve 7 üyeli sikloheptanon halkalarıyla kondanse pirazolin bileşikleri ve 3 numaralı konumda farklı aril grupları taşıyan bileşiklerin sentezi üzerinde çalışmalar yapılmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Ayrıca imkanlar elverdiği takdirde, bu bileşiklerin antikonvülsan ve antidepresan aktivite testlerinin de yapılmasının umut verici sonuçlar doğurabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Coutts, R. T., Baker, G. B., Danielson, T. J. (1986). New Developments in Monoamine Oxidase Inhibitors. In Gorrod, J.W., Gibson, G. G., Mitchard, M. (Ed.) *Developments of Drugs and Modern Medicines Part I. Drug Design* (s. 40-48). Chichester: Ellis Horwood Ltd.
2. Powell, J. F. (1991). Amines Oxidases: Structure, Function and Expression, Molecular Biological Studies of Monoamine Oxidase: Structure and Function. *Biochemical Society Transactions*. 19, 199-201.
3. Olanow, C. W. (1993). MAO-B Inhibitors in Parkinson's Disease. *Advances in Neurology*. 60:(*Parkinson's Disease*), 666-671.
4. Sandler, M., Glover, V., Clow, A., Jarman, J. (1993). Monoamine Oxidase-B, Monoamine Oxidase-B Inhibitors and Parkinson's Disease. A Role for Superoxide Dismutase. *Advances in Neurology*. 60:(*Parkinson's Disease*), 238-241.
5. Cesura, M. A., Pletscher, A. (1992). The New Generation of Monoamine Oxidase Inhibitors. *Progress in Drug Research*. 38, 171-297.
6. Kayaalp, O. (2002). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* (10.bs.). Ankara: Hacettepe-Taş.
7. Tipton, K. F. (1972). Inhibition of Monoamine Oxidase by Substituted Hydrazines. *Biochemical Journal*. 128, 913-919.
8. Mc Kenna, K. F., Baker, G. B., Coutta, R. T. (1991). N2-Acetylphenelzine: Effects on Rat Brain GABA, Alanine and Biogenic Amines. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 343, 478-482.
9. Yamada, N., Takahashi, S., Todd, K. G., Baker, G. B., Paetsch, P. R. (1993). Effects of Two Substituted Hydrazine Monoamine Oxidase (MAO) Inhibitors on Neurotransmitter Amines, gamma-Aminobutyric Acid, and Alanine in Rat Brain. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 82, 934-937.
10. Pignatello, R., Mazzone, S., Castelli, F., Mazzone, P., Raciti, G., Mazzone, G. (1994). MAOI Activity of Thiosemicarbazides and Related 2-Thiazolylhydrazines. *Pharmazie*. 49, 272-276.

11. Raciti, G., Mazzone, P., Raudino, A., Mazzone, G., Cambria, A. (1995). Inhibition of Rat Liver Mitochondrial Monoamine Oxidase by Hydrazine-thiazole Derivatives: Structure-activity Relationships. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 3, 1485-1491.
12. Cambria, A., Raudino, A., Geronikaki, A., Buemi, G., Raciti, G., Mazzone, P., Guccione, S., Ragusa, S. (1999). Thiazole Derivatives as Inhibitors of Purified Bovine Liver Mitochondrial Monoamine Oxidase-B: Structure-activity Relationships and Theoretical Study. *Journal of Enzyme Inhibition*. 14, 307-321.
13. Chimenti, F., Maccioni, E., Secci, D., Bolasco, A., Chimenti, P., Granese, A., Befani, O., Turini, P., Alcaro, S., Ortuso, F., Cardia, M. C., Distinto, S. (2007). Selective Inhibitory Activity against MAO and Molecular Modeling Studies of 2-Thiazolylhydrazones Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*. 50, 707-712.
14. Belleau, B., Moran, J. (1962). The Mechanism of Action of the 2-Phenylcyclopropylamine Type of Monoamine Oxidase Inhibitors. *Journal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*. 5, 215-219.
15. Kneubuehler, S., Thull, U., Altomare, C., Carta, V., Gaillard, P., Carrupt, P. A., Carotti, A., Testa, B. (1995). Inhibition of Monoamine Oxidase-B by 5H-Indeno[1,2-c]pyridazines: Biological Activities, Quantitative Structure-Activity Relationships (QSARs) and 3D-QSARS. *Journal of Medicinal Chemistry*. 38(19), 3874-3883.
16. Wouters, J., Ooms, F., Jegham, S., Koenig, J. J., George, P., Durant, F. (1997). Reversible Inhibition of Type B Monoamine Oxidase. Theoretical Study of Model Diazo Heterocyclic Compounds. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 32, 721-730.
17. Ooms, F., Frederick, R., Durant, F., Petzer, J. P., Castagnoli, N., Van der Schyf, C. J., Wouters, J. (2003). Rational Approaches Towards Reversible Inhibition of Type B Monoamine Oxidase. Design and Evaluation of a Novel 5H-Indeno[1,2-c]pyridazin-5-one Derivative. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 13(1), 69-73.

18. Frederick, R., Norberg, B., Durant, F., Ooms, F., Wouters, J. (2004). Three 5H-Indeno[1,2-c]pyridazin-5-one Derivatives, Potent Type-B Monoamine Oxidase Inhibitors. *Acta Crystallographica, Section C: Crystal Structure Communications*. C60(9), 623-626.
19. Li S., Wang C., Li W., Koike K., Nikaido T., Wang M. W. (2007). Antidepressant-like Effects of Piperine and its Derivative, Antiepilepsirine. *Journal of Asian Natural Products Research*. 9(5), 421-30.
20. Sunal, S. G., Yabanoglu, S., Yesilada, A., Ucar, G. (2007). Monoamine Oxidase Inhibitory Activities of Novel 3,4-Dihydroquinolin-(1H)-2-one Derivatives. *Journal of Neural Transmission*. 114(6), 717-719.
21. Ke, S., Li, Z., Qian, X. (2008). 1,3,4-Oxadiazole-3(2H)-carboxamide Derivatives as Potential Novel Class of Monoamine Oxidase (MAO) Inhibitors : Synthesis, Evaluation, and Role of Urea Moiety. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 16(16), 7565-7572.
22. Kneubuehler, S., Carta, V., Altomare, C., Carotti, A., Testa, B. (1993). Synthesis and Monoamine Oxidase Inhibitory Activity of 3-Substituted 5H-indeno[1,2-c]pyridazines. *Helvetica Chimica Acta*. 76(5), 1956-1963.
23. Korolkovas, A. (1988). *Essentials of Medicinal Chemistry* (2.bs.). New York: John Wiley Sons.
24. Bilgin, A. A., Yesilada, A., Palaska, E., Sunal, R. (1992). Synthesis and Antidepressant Activity of Some New 8-Thiocarbamoyl-7,8- diazabicyclo [4.3.0]non-6-ene Derivatives. *Arzneimittel-Forschung*. 42(11), 1271-1273.
25. Yesilada, A., Gokhan, N., Ozer, I., Vural, K., Erol, K. (1996). 5-Methyl-8-N-substituted-thiocarbamoyl-7,8- diazabicyclo [4.3.0]non-6-enes: Evaluation as BSAO Inhibitors and Pharmacological Activity Screening. *Farmaco*. 51(12), 775-781.
26. Palaska, E., Aytemir, M., Uzbay, İ. T., Erol, D. (2001). Synthesis and Antidepressant Activities of Some 3,5-diphenyl-2-pyrazolines. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 36, 539-543.
27. Manna, F., Chimenti, F., Bolasco, A., Secci, D., Bizzari, B., Befani, O., Turini, P., Mondovi, B., Alcaro, S., Tafi, A. (2002). Inhibition of Amine

- Oxidases Activity by 1-Acetyl-3,5-diphenyl-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 12, 3629-3633.
28. Gökhan, N., Yeşilada, A., Uçar, G., Erol, K., Bilgin, A. A. (2003). 1-N-Substituted Thiocarbamoyl-3-phenyl-5-thienyl-2-pyrazolines. Synthesis and Evaluation as MAO inhibitors. *Archiv der Pharmazie*. 336, 362-371.
 29. Uçar, G., Gökhan, N., Yeşilada, A., Yabanoğlu, S., Bilgin, A.A. (2005). Interaction of Some 1-N-Substituted thiocarbamoyl-3-phenyl-5-thienyl-2-pyrazolines with Rat Liver Semicarbazide-Sensitive Amine Oxidase (SSAO). *Hacettepe University, Journal of Faculty of Pharmacy*. 25(1), 23-34.
 30. Chimenti, F., Maccioni, E., Secci, D., Bolasco, A., Chimenti, P., Granese, A., Befani, O., Turini, P., Alcaro, S., Ortuso, F., Cirilli, R., La Torre, F., Cardia, M. C., Distinto, S. (2005). Synthesis, Molecular Modeling Studies, and Selective Inhibitory Activity against Monoamine Oxidase of 1-Thiocarbamoyl-3,5-diaryl-4,5-dihydro-(1H)- pyrazole Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*. 48, 7113-7122.
 31. Prasad, Y. R., Rao, A. L., Prasoon, L., Murali, K., Kumar, P. R. (2005). Synthesis and Antidepressant Activity of Some 1,3,5-Triphenyl-2-pyrazolines and 3-(2"-Hydroxynaphthalen-1"-yl)-1,5-diphenyl-2-pyrazolines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 15, 5030-5034.
 32. Chimenti, F., Bolasco, A., Manna, F., Secci, D., Chimenti, P., Granese, A., Befani, O., Turini, P., Alcaro, S., Ortuso, F. (2006). Synthesis and Molecular Modelling of Novel Substituted-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole Derivatives as Potent and Highly Selective Monoamine Oxidase-A Inhibitors. *Chemical Biology And Drug Design*. 67, 206-214.
 33. Chimenti, F., Bolasco, A., Manna, F., Secci, D., Chimenti, P., Granese, A., Befani, O., Turini, P., Cirilli R., La Torre, F., Alcaro, S., Ortuso, F., Langer, T. (2006). Synthesis, Biological Evaluation and 3D-QSAR of 1,3,5-Trisubstituted-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole Derivatives as Potent and Highly Selective Monoamine Oxidase A Inhibitors. *Current Medicinal Chemistry*. 13, 1411-1428.
 34. Gökhan-Kelekçi, N., Yabanoğlu, S., Küpeli, E., Salgın, U., Özgen, Ö., Uçar, G., Yeşilada, E., Kend, E., Yeşilada, A., Bilgin, A.A. (2007). A New

- Therapeutic Approach in Alzheimer Disease: Some Novel Pyrazole Derivatives as a Dual MAO-B Inhibitors and Antiinflammatory Analgesics. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 15, 5775-5786.
35. Stewart, J.J.P. (1990). Semiempirical Molecular Orbital Methods, In. Lipkowitz, K.B., Boyd, D.B. (eds), *Reviews in Computational Chemistry*, VCH Publishers. 1, 45-81.
 36. Lybrand, T.P. (1990). Computer Simulation of Biomolecular Systems Using Molecular Dynamics and Free Energy Perturbation Methods, In Lipkowitz, K.B., Boyd, D.B. (Eds.) *Reviews in Computational Chemistry*, VCH Publishers. 1, 295-320.
 37. Auwers, K. V., Cauer, E. (1929). Über Δ^1 und Δ^2 -Pyrazolines. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. 470, 284-312. Ref C.A. 23:31280.
 38. Smith, L. I., Howard, K. L. (1943). The Action of Diazo Compounds Upon α,β -Unsaturated Ketones. III. Benzalacetone and Diazomethane. *Journal of the American Chemical Society*. 65, 165-166.
 39. Ferres, H., Jackson, W. R. (1969). The Kinetics and Stereochemistry of Pyrazoline-ring Formation. Evidence for Stereoselective Enamine Imine Tautomerism. *Chemical Communications*. 6, 261.
 40. Knorr, L., Blank, A. (1885). Ueber die Einwirkung des Benzoylacetessigesters auf Phenylhydrazin. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 18, 311-317.
 41. Fischer, E., Knoevenagel, O. (1887). Ueber die Verbindungen des Phenylhydrazine mit Acrolein, Mesityloxyd und Allylbromid. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. 239, 194-206. Ref C.A. 0:201040
 42. Auwers, K. V., Lammerhirt, E. (1921). Über Phenylhydrazin-Derivative ungesättigter fett-aromatischer Ketone und ihre Umwandlungsprodukte. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 54, 1000-1024.
 43. Vorlander, D. (1925). Saure, Salz. Ester und Addukt. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 58, 118-143.
 44. Beech, S. G., Turnbull, J. H., Wilson, W. (1952). Alicyclic Compounds. Part I. The Formation of Cyclopropanes in the Kishner-Wolff Reduction of α,β -

Unsaturated Carbonyl Compounds. *Journal of the Chemical Society*. 4686-4690.

45. Smith, L. I., Showell, F. S. (1952). Cyclopropanes. XIV. Identical Experiments and an Attempt to Synthesize Bicyclopropyl. *The Journal of Organic Chemistry*. 17, 839-844.
46. Wiley, R. H., Jarboe, C. H., Hayes, F. N., Hansbury, E., Nielsen, J. T., Callahan, P. X., Sellars, M. C. (1958). 1,3,5-Triaryl-2-pyrazolines For Use as Scintillation Solutes; *The Journal of Organic Chemistry*. 23, 732-738.
47. Grandberg, I. I., Kost, A. N., Sibiryakova, D. V. (1960). Synthesis of Furylpyrazoles. *Zhurnal Obshchei Khimii*. 30, 2920-2925. Ref. C.A. 55: 87450.
48. El-Kerdawy, M. M., Tolba, M. N., El-Agamey, A. A. (1976). Synthesis and Characterisation of 1,3,5-Trisubstituted-2-pyrazoline; *Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 17, 7-14.
49. Wellinga, K., Grosscurt, A. C., van Hes, R. (1977). 1-Phenylcarbamoyl-2-pyrazolines: A New Class of Insecticides. 1. Synthesis and Insecticidal Properties of 3-Phenyl-1-phenylcarbamoyl-2-pyrazolines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 25, 987-992.
50. van Hes, R., Wellinga, K., Grosscurt, A. C. (1978). 1-Phenylcarbamoyl-2-pyrazolines: A New Class of Insecticides. 1. Synthesis and Insecticidal Properties of 3,5-Diphenyl-1-phenylcarbamoyl-2-pyrazolines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 26, 915-918.
51. Grosscurt, A. C., van Hes, R., Wellinga, K. (1979). 1-Phenylcarbamoyl-2-pyrazolines: A New Class of Insecticides. 1. Synthesis and Insecticidal Properties of 3,4-Diphenyl-1-phenylcarbamoyl-2-pyrazolines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 27, 406-409.
52. Thakare, V. G., Wadodkar, K. N. (1986). Synthesis of Isomeric Δ^2 -Pyrazolines; *Indian Journal of Chemistry*. 25B, 610-612.
53. Bilgin, A. A., Yuluğ, Y., Saraç, S., Tayhan, A. (1989). Bazı 1-Asetil-3,5-difenil-2-pirazolin Türevleri Üzerinde Çalışmalar. *FABAD Farmasötik Bilimler Dergisi*. 14, 135-144.

54. Hozien, Z. A. (1993). Synthesis of Some New Heterocyclic Systems Derived From 2-Acetylbenzimidazole. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 57, 335-341.
55. Kallay, F., Janzso, G., Koczor, I. (1965). Thermal Rearrangement of 2'-Hydroxychalcone Hydrazone and Flavanone Hydrazone Derivatives. *Tetrahedron*. 21, 3037-3041.
56. Kallay, F., Janzso, G., Koczor, I. (1967). The Reaction of Flavanone With Substituted Hydrazines. *Tetrahedron*. 23, 4317-4321.
57. Buchner, E. (1888). Einwirkung von Diazoessigäther auf die Aether ungesättigter Säuren. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 21, 2637-2647.
58. Levai, A. (1997). Synthesis of Pyrazolines by the Reactions of α,β -Enones with Diazomethane and Hydrazines. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 33(6), 647-659.
59. Weber, F. G., Brosche, K., Seedorf, C., Rinow, A. (1969). 1,3,5-Triaryl- Δ^2 -Pyrazoline. *Monatshefte Für Chemie*. 100, 1924-1927.
60. Kohler, E. P., Steele, L. L. (1919). Colored Condensation Products from Ketonic Pyrazoline Derivatives. *Journal of the American Chemical Society*. 41, 1105-1108.
61. Raiford, L. C., Manley, R. (1940). Formation of Pyrazolines From Unsymmetrically Substituted Dibenzalacetones. *Journal of Organic Chemistry*. 5, 590-597.
62. Avramovici, S., Gabe, I., Zugravescu, I. (1965). Über die Struktur der Benzalacetophenon-Semicarbazone und -Thiosemicarbazone. *Revue Roumaine de Chimie*. 10, 471-480.
63. Balaban, A. T., Zugravescu, I., Avramovici, S., Silhan, W. (1970). NMR-Spektren von trans-Chalkon-oxim, -Semicarbazone und -Thiosemicarbazone und ihren cyclischen Isomeren (3,5-Diphenyl-2-isoxazolin und 1-substituierte-3,5-diphenyl-2-pyrazoline). *Monatshefte für Chemie*. 101, 704-708.
64. Bilgin, A. A., Palaska, E., Sunal, R. (1993). Studies on The Sythesis and Antidepressant Activity of Some 1-Thiocarbamoyl-3,5-Diphenyl-2-Pyrazolines. *Arzneimittel-Forschung*. 43, 1041-1044

65. Mannich, C., Heilner, G. (1922). Über Umsetzungen einer sekundären β -Ketobase. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 55, 365-374.
66. Vorlander, D., Osterburg, J., Meye, O. (1923). Über β -Phenylbenzalacetophenon. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 56, 1136-1144.
67. Mannich, C., Bauroth, M. (1924). Über eine Synthese von Amino-ketosäuren. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 57, 1108-1115.
68. Auwers, K. V., Ludewig, H. (1936). Umlagerung acylierter Pyrazoline. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 69, 2347-2351.
69. Gilman, H., Cason, L. F. (1951). Some Addition Reaction of Chalcones. II. The Preparation of Some γ -Ketoseniden. *Journal of the American Chemical Society*. 73, 1074-1076.
70. Wear, R. L. (1951). The Structure of Ethylketene Dimer. *Journal of the American Chemical Society*. 73, 2390-2391.
71. Stamper, M., Aycok, B. F. (1954). The Reaction of Hydrazine with Mannich Bases. *Journal of the American Chemical Society*. 76, 2786-2788.
72. Smith, A. C. B., Wilson, W. (1955). Experiments on Halogenated Ketones. The Conversion of 1-Bromo-1,3-diphenylpropan-2-one into 1-Phenylindan-2-one. *Journal of the Chemical Society*. 1342-1347.
73. Jones Jr. W. D., Kane, J. M., Sill, A. D. (1983). The Reaction of 4-Alkyl-3-thiosemicarbazides with β -Haloketones. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 20, 1359-1361.
74. Duffin, G. F., Kendall, J. D. (1954). The Reaction of Diazonium Salts with 1-Aryl- Δ^2 -pyrazolines. *Journal of the Chemical Society*. 408-415.
75. Jörlander, H. (1916). Über das Anisoyl-phenyl-oxidoäthan. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 49, 2782-2795.
76. Cromwell, N. H., Graff, M. A. (1952). Three-Ring Carbonyl Hyperconjugation in cis and trans Aryl-Aroyl Ethylene Imines and Related compounds. *The Journal of Organic Chemistry*. 17, 414-425.
77. Neubauer, A., Litkei, G., Bogner, R. (1972). Reaction of Trans-chalcone Epoxides and Stereoisomers of Chlorohydrins with Hydrazine. *Tetrahedron*. 28(12), 3241-3250.

78. Dupuy, C., Luche, J. L. (1989). New Developments in the Wharton Transposition. *Tetrahedron*. 45(11), 3437-3444.
79. Bergeon, M. T., Metayer, C., Quiniou, H. (1971). Recherches sur les Composés Sulfurés Organiques VIII. Action de la Phénylhydrazine sur les Hydrogénosulfates d'Aryl-3 dithiole-1,2 ylium et les Perchlorates de Diaryl-3,5 dithiole-1,2 ylium: Aryl-3 phényl-1 pyrazoles, Aryl-5 phényl-1 pyrazoles et Diaryl-3,5 phényl-1 pyrazoles. *Bulletin de la Societe Chimique de France*. 3, 917-924.
80. Hedbom, C., Helgstrand, E. (1970). A Study of The Structures of Intermediates in the Reaction of 1,3-Diketones and Hydrazines. *Acta Chemica Scandinavica*. 24, 1744-1748.
81. Balaban, A. T. (1970). Reaction of Pirylium Salts with Nucleophiles-IX. Formation of 1,2-Diazepine or 2-Pyrazoline Derivatives from 2,4,6-Triphenylpyrylium Salts and Hydrazine. *Tetrahedron*. 26, 739-742.
82. Molina, P., Tarraga, A., Serrano, C. (1984). Bridgehead Nitrogen Heterocycles from 2,4,6-Triphenylpyrylium and Thiosemicarbazide or Thiocarbonylhydrazide. *Tetrahedron*. 40, 4901-4910.
83. Buttkus, H., Bose, R. J. (1971). Contribution to the Cyclization of Hydrazones of α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds. The Biscarbamyl- and Bisthiocarbamylhydrazones of Malondialdehyde. *The Journal of Organic Chemistry*. 36(25), 3895-3897.
84. Jarboe, T. L. (1962). Pyrazolines and Pyrazolidines. Wiley, R.H. (Ed.). *The Chemistry of Heterocyclic Compounds: Pyrazoles, Pyrazolines, Pyrazolidines, Indazoles and Condensed Rings*. New York: John Wiley and Sons Inc.
85. Thoms, H. V., Schnupp, J. (1923). Beitrag zur Kenntnis der Konstitution des Antipyrins. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. 434, 296-312.
86. Knorr, L. (1887). Ueber die Isomerie der aus Benzoylacetessigester und Benzal-acetessigester Gewonnenen Pyrazol-derivative. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 20, 1096-1106.
87. Knorr, L. (1893). Notiz Über die Pyrazolinreaction. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 26, 100-103.

88. Michaelis, A., Schwabe, G. (1900). Ueber das 1-p-Brom-phenyl-3-methyl-5-chlor-pyrazol. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 33, 2607-2614.
89. Michaelis, A., Voss, U., Greiss, M. (1901). Ueber Einige Phenylalkyl-5-halogenpyrazole. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 34, 1300-1308.
90. Pechmann, H. V. (1894). Diazomethane. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 27, 1888-1891.
91. Auwers, K. V., Ungemach, O. (1933). Vermischte Beobachtungen über den Auf-und Abbau von Pyrazolin-Derivaten. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 66, 1198-1204.
92. Alphen, J. V. (1943). *cis* and *trans*-1,1-Diphenylcyclopropanedicarbonic Acid-2,3 (Pyrazole and Pyrazoline Derivatives I). *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas et de la Belgique*. 62, 210-214.
93. Parham, W. E., Hasek, W. R. (1954). Reaction of Diazo Compounds with Nitroolefins III. Group Migrations in the Decomposition of Nitropyrazolines. *Journal of the American Chemical Society*. 76, 799-801.
94. Spencer, E. Y., Wright, G. F. (1941). The Action of Diazomethane on Lactones and on Lignins. *Journal of the American Chemical Society*. 63, 2017-2020.
95. Toth, G., Szollosy, A., Levai, A., Kotovych, G. (1986). Synthesis and Stereochemistry of Spiropyrazolines. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2: Physical Organic Chemistry*. 12, 1895-1898.
96. Toth, G., Levai, A., Duddeck, H. (1992). Synthesis, Tautomerism and Stereochemistry of Spiropyrazolines. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 30(3), 235-239.
97. Toth, G., Levai, A., Szöllosy, A., Duddeck, H. (1993). Synthesis and Conformational Analysis of Some Spiropyrazoline Isomers. *Tetrahedron*. 49, 863-880.
98. Reames, D. C., Harris, C. E., Dasher, L. W., Sandfier, R. M., Hollinger, W. M., Beam, C. F. (1975). Reactions of C(α)-N-Dilithiophenylhydrazones with

- Aldehydes. Acid-Cyclization to 2-Pyrazolines. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 12, 779-781.
99. Elguero, J., Gonzales, E., Jacquier, R. (1969). Relations Basicité-Structure dans la Série des Pyrazolines-2. 1^{re} partie: Pyrazolines non N-Substituées et N-Méthylées. *Bulletin de la Societe Chimique de France*. 6, 2054-2061.
 100. Auwers, K. V., Heimke, P. (1927). Über Pyrazoline. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. 458, 186-220. Ref. C.A. 22:3437.
 101. Gladstone, W. A. F., Norman, R. O. C. (1966). Reactions of Lead Tetraacetate. Part VII. Some Reactions Leading to Pyrazoles. *Journal of the Chemical Society [Section] C*. 17, 1536-1540.
 102. Bapat, J. P., Black, D. S. C., Clark, R. W. (1972). Nitrones and Oxazirans, V. Peracid Oxidation of 1,3,5-Triphenyl-2-Pyrazoline. *Australian Journal of Chemistry*. 25, 1321-1323.
 103. Latif, N., Mishriky, N., Girgis, N. S. (1976). Tetrachloro-o-benzoquinone, a New Dehydrogenating Agent of Pyrazolines. *Chemistry & Industry*. 1, 28-29.
 104. Zolfigol, M. A., Azarifar, D., Maleki, B. (2004). Trichloroisocyanuric Acid as a Novel Oxidizing Agent for the Oxidation of 1,3,5-Trisubstituted Pyrazolines Under Both Heterogeneous and Solvent Free Conditions. *Tetrahedron Letters*. 45, 2181-2183.
 105. Chai, L., Zhao, Y., Sheng, Q., Liu, Z. Q. (2006). Aromatization of Hantzsch 1,4-Dihydropyridines and 1,3,5-Trisubstituted Pyrazolines with HIO₃ and I₂O₅ in Water. *Tetrahedron Letters*. 47, 9283-9285.
 106. Zolfigol, M. A., Azarifar, D., Mallakpour, S., Baltork, I. M., Forghaniha, A., Maleki, B., Alibeik, M. A. (2006). 4-(p-Chloro)phenyl-1,2,4-triazole-3,5-dione as a novel and reusable reagent for the oxidation of 1,3,5-trisubstituted pyrazolines under mild conditions. *Tetrahedron Letters*. 47, 833-836.
 107. Elguero, J., Jacquier, R. (1963). Bromation des Pyrazolines-2. *Compte Rendus*. 256, 720-722.
 108. Kost, A. N., Golubeva, G. A. (1960). Reaction of Hydrazine Derivatives XXVII. Reduction and Alkylation of Pyrazolines. *Zhurnal Obshchei Khimii*. 30, 494-497. Ref. C.A. 54:128871

109. Kost, A. N., Golubeva, G. A. (1963). Reaction of Hydrazine Derivatives XXXVI. Hydrogenation of 1-Acylpyrazolines and Preparation of Pyrazolidine. *Zhurnal Obshchei Khimii*. 33, 248-252. Ref. C.A. 58:81486
110. Bouchet, P., Elguero, J., Jacquier, R. (1967). Resherches dans le Série des Azoles. XXXII. Comportement 'Enamine' des Pyrazolines-2. *Bulletin de la Societe Chimique de France*. 12, 4716-4728.
111. Sayed, G. H. (1980). Synthesis of Some New Pyrazolines from 4-Nitro and 4-Chloro-4'-metoxybenzalacetophenones. *Indian Journal of Chemistry*. 19B, 364-367.
112. Oluwadiya, J. O. (1981). Some New Pyrazoles from 2'-Hydroxychalcones. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 18, 1293-1295.
113. Sammour, A., Selim, M. I. B., El-Sayed, G. H. (1971). Sythesis of some New Pyrazolines from Chalcones. *United Arab Republic Journal of Chemistry*. 14, 235-247.
114. Kashima, C., Harada, E., Kita, I., Fukuchi, I., Hosomi, A. (1994). The Preparation of N-Acylpyrazoles and Their Behaviour Toward Alcohols. *Synthesis*. 1, 61-65. Ref. C.A. 121:9228.
115. Balaban, A. T., Silhan, W. (1970) NMR Spectra of 5-Substituted-1,3,5-triphenyl-2,4-pentadien-1-ones and 1,3,5-Triphenyl-5-imino-3-penten-1-ones. Magnetic Non-equivalence of Phenacyl Methlene Protons in 3,5-Diphenacyl-2-pyrazolines. *Tetrahedron*. 26, 743-749.
116. Freudenberg, K., Stoll, W. (1924). Die Isomerie C-substituierter Pyrazoline. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. 440, 38-45.
117. Blythin, D. J., Waight, E. S. (1967). The Mass Spectrometry of Semicarbazones of α,β -Unsaturated Aldehydes and Ketones and of Some Related Compounds. *Journal of Chemical Society Section B*. 583-589.
118. Adamson, D. W., Kenner, J. (1937). Improved Preparations of Aliphatic Diazo Compounds ans Certain of Their Properties. *Journal of Chemical Society*. 1551-1556.
119. Jones, W. M. (1959). Pyrazolines.III. The Stereochemistry of the Decomposition of 2- Pyrazolines. *Journal of the American Chemical Society*. 81, 5153-5156.

120. Jones, W. M. (1960). Pyrazolines.III. On The Mechanism of Decomposition and Conformational Analyses of 2- Pyrazolines. *Journal of the American Chemical Society*. 82, 3136-3137.
121. Elguero, J., Jacquier, R. (1965). Protonation of 2-Pyrazolines. *Tetrahedron Letters*. 25, 1175-1179.
122. Nasr, M. N. A., Said, S. A. (2003). Novel 3,3a,4,5,6,7-Hexahydroindazole and Arylthiazolylpyrazoline Derivatives as Anti-Inflammatory Agents. *Archiv der Pharmazie*. 336(12), 551-559.
123. Bonnett, R., David, N. J., Hamlin, J., Smith, P. (1963). The Ultraviolet Absorption of the Unconjugated Azomethine Group. *Chemistry & Industry*. 16, 1836-1837.
124. Laude, B., Khanh, Le.Q. (1975). Étude Spectroscopique (UV, IR et NMR) de Diphényl-1,3 aryl-5 pyrazolines-2. Influence de la Substitution du Noyau Aromatique en 5. *Spectrochimica Acta*. 31A, 1121-1126.
125. Lavrushin, V. F., Tsukerman, S. V., Buryakovskaya, E. G., Vinetskaya, Y. M. (1967). Synthesis and Optical Properties of 1-Phenyl-2-pyrazolines Containing Heterocyclic Radicals in the 3rd and 5th Positions. *Promyshlennost Khimicheskikh Reaktivov i Osobo Chistykh Veshchestv*. 8, 77-88. Ref. C.A. 70:28865
126. Buryakovskaya, E. G., Tsukerman, S. V., Lavrushin, V. F., Poduzhailo, V. F. (1967). Heterocyclic Analogs of 1,3,5-Triphenyl-2-pyrazoline as Spectra Displacers in Liquid Scintillators. *Zhurnal Prikladnoi Spektroskopii*. 7, 738-742. Ref. C.A. 68:55778
127. Ladislav, L., Bradlerova, A., Nagy, A., Durinda, J., Heger, J. (1977). Derivatives of α - and β -Unsaturated Ketones Derived from Acetylpyridine. VIII. Spectral Properties of Some Pyridine Analogs of 1,3,5-Triphenyl-2-pyrazoline. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae*. 30, 127-146. Ref. C.A. 88:169217.
128. Dimroth, K., Lüderlitz, O. (1948). Über die Ultraviolettabsorption α,β -ungesättigter Ketone und ihrer Semicarbazone. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 81, 242-247.

129. Sadler, P. W. (1961). Hydrogen Bonding in Some Thiosemicarbazones and Thioamides. *Journal of Chemical Society*. 957-960.
130. Weber, F. G., Brosche, K. (1972). Über 1-Thiocarbamoyl- und 1-Carbamoyl-3,5-diaryl- Δ^2 -pyrazoline. *Zeitschrift fuer Chemie*. 12, 132-133.
131. Knorr, L., Laubman, H. (1888). Ueber das Verhalten den Pyrazole und Pyrazoline. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 21, 1205-1212.
132. Grandberg, I. I., Vepy Din, Kost, A. N. (1960). Pyrazoles VII Dehydrogenation of Phenylpyrazolines with Functional Groups in the Benzene Ring. *Zhurnal Obshchei Khimii*. 30, 1373-1377. Ref. C.A. 55:2636.
133. Ried, W., Lantzsch, R. (1969). Notiz zur Dehydrierung von Δ^2 -Pyrazolinen mit N-Brom-Succinimid. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 102, 378-379.
134. El-Rayyes, N. R., Hovakeemian, G. H., Hmoud, H. S. (1984). Synthesis and Spectral Data of Some 2-Pyrazolines. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 29, 225-229.
135. Sustmann, R., Huisgen, R., Huber, H. (1967). 1,3-Dipolare Cycloadditionen, XXX. Substituenteneffekte in den Kernresonanzspektren von 1,3-Diphenyl- Δ^2 -pyrazolinen und 3-Phenyl- Δ^2 -isoxazolinen. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 100, 1802-1813.
136. Elguero, J., Marzin, C., Pappalardo, L. (1974). Études RMN en Série Hétérocyclique. XIV. Phénomènes de Rotation Restreinte dans Quelques Dérivés N-COR d'Azoles et de Pyrazolines-2. *Bulletin de la Societe Chimique de France*. 5, 1137-1141.
137. Engel, P. S., Bodager, G. A. (1988). Photochemistry of azocyclopropane. *Journal of Organic Chemistry*. 53, 4748-4758.
138. Özdemir, Z. (2005). *3-Heteroaril-2-pirazolin Türevleri Üzerinde Çalışmalar*. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
139. Palaska, E., Erol, D., Demirdamar, R. (1996). Synthesis and Antidepressant Activities of Some 1,3,5-Triphenyl-2-pyrazolines. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 31, 43-47.

140. Vijayabaskar, V., Perumal, S., Selvaraj, S., Lycka, A., Murugan, R., Balasubramanian, M. (1999). Synthesis and Multinuclear NMR Study of (E)-s-trans-1-Acetyl-5-aryl-3-styryl-2-pyrazolines. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 37, 133-139.
141. Pinto, D. C. G. A., Silva, A. M. S., Cavaleiro, J. A. S., Elguero, J. (2003). New Bis(chalcones) and Their Transformation into Bis(pyrazoline) and Bis(pyrazole) Derivatives. *European Journal of Organic Chemistry*. 747-755.
142. Levai, A., Artur, M. S., Silva, A. M. S., Pinto, D. C. G. A., Cavaleiro, J. A. S., Alkorta, I., Elguero, J., Jekö, J. (2004). Synthesis of Pyrazolyl-2-pyrazolines by Treatment of 3-(3-Aryl-3-oxopropenyl)-chromen-4-ones with Hydrazine and Their Oxidation to Bis(pyrazoles). *European Journal of Organic Chemistry*. 4672-4679.
143. Lorand, T., Kocsis, B., Emody, L., Sohar, P. (1999). 2-Substitued Indazoles. Synthesis and Antimicrobial Activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 34, 1009-1018.
144. Rezessy, B., Zubovics, Z., Kovacs, J., Toth, G. (1999). Synthesis and Structural Elucidation of New Thiazolotriazepines. *Tetrahedron*. 55, 5909-5922.
145. Seebacher, W., Michl, G., Belaj, F., Brun, R., Saf, R., Weis, R. (2003). One-Pot Syntheses of 2-Pyrazoline Derivatives. *Tetrahedron*. 59, 2811-2819.
146. Kabli, R. A., Khalaf, A. A., Zimaity, M. T., Khalil, A. M., Kaddah, A. M., Al-Rifale, H. A. (1991). Sythesis of New Series of Furyl and Tienyl Substituted Pyrazolines Starting With Furyl and Thienyl Chalcones. *Journal of Indian Chemical Society*. 68, 47-51.
147. Fahrni, C. J., Yang, L., Van der Veer, D. G. (2003). Tuning the Photoinduced Electron-Transfer Thermodynamics in 1,3,5-Triaryl-2-pyrazoline Fluorophores: X-Ray Structures, Photophysical Characterization, Computational Analysis and *in vivo* Evaluation. *Journal of American Chemical Society*. 125, 3799-3812.
148. Alkorta, I., Elguero, J., Fruchier, A., Jagerovic, N., Yap, G. P. A. (2004). The Structure of 1-Formyl-3-phenyl-2-pyrazoline in the Gas Phase (DFT

- Calculations) in Solution (NMR) and in the Solid State (X-Ray Crystallography). *Journal of Molecular Structure*. 689, 251-254.
149. Parmar, S. S., Pandey, B. R., Dwivedi, C., Harbison, R. D. (1974). Anticonvulsant Activity and Monoaminoxidase Inhibitory Properties of 1,3,5-Trisubstituted Pyrazolines. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 63, 1152-1155.
 150. Soni, N., Pande, K., Kalsi, R., Gupta, T. K., Parmar, S. S., Barthwal, J. P. (1987). Inhibition of Rat Brain Monoamin Oxidase and Succinic Dehydrogenase by Anticonvulsant Pyrazolines. *Research Communications in Chemical Pathology & Pharmacology*. 56(1), 129-132.
 151. Chimenti, F., Bolasco, A., Mana, F., Secci, D., Chimenti, P., Befani, O., Turini, P., Giovannini, V., Mondovi, B., Cirilli, R., La Torre, F. (2004). Synthesis and Selective Inhibitory Activity of 1-Acetyl-3,5-diphenyl-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole Derivatives Against Monoamine Oxidase. *Journal of Medicinal Chemistry*. 47, 2071-2074.
 152. Archana, Srivastava, V. K., Kumar, A. (2002). Synthesis and Anticonvulsant Activity of 1-Acetyl-5-arylidanyl-3-(2'-oxo/thiobarbituriny)-2-pyrazolines. *Arzneimittel-Forschung*. 52(11), 787-791.
 153. Kost, A. N., Pershin, G. N., Ershov, V. V., Milovanova, S. N., Evreniova, E. B. (1959). Reaction of Hydrazine Derivatives; 1-Acyl-pyrazolines and Their Action on Pathogenic Microorganisms. *Vestnik Moskovskogo Universiteta Seriya Matematiki, Mekhaniki, Astronomii, Fiziki Khimii*. 14, 211-216.
 154. El-Bayouki, K.A.H.M., Abdel Hamid, M.M. (1979). Synthesis and Biological Screening of Some New Naphthyl-Pyrazolines, Pyrazoles and Their Carbanilide Derivatives. *Egyptian Journal of Chemistry*. 22, 37-48.
 155. Zvezdina, E. A., Zhdanova, M. P., Nechayuk, I. I., Barchan, I. A., Simkina, Y. N., Buchnaya, T. A. (1986). Investigation of Pharmacological Properties of Some Pyridinium Salts, Pyrazolines and Pyrazoles. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 20, 1328-1331.; Ref. C.A. 106:95597.
 156. Şafak, C., Saraç, S., Balkan, A., Ertan, M., Yuluğ, N. (1990). Studies on Some 1-Metyl-3,5-diphenyl-2-pyrazoline Derivatives. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 10, 39-48.

157. Şafak, C., Tayhan, A., Saraç, S., Yuluğ, N. (1990). Synthesis of Some 1-Acetyl-3,5-diaryl-2-pyrazoline Derivatives and Their Antimicrobial Activities. *Journal of Indian Chemical Society*. 67, 571-574.
158. Yuluğ, N., Bilgin, A. A., Saraç, S., Tayhan, A. (1989). Antifungal Activities of Some 1,3,5-Triphenyl-2-pyrazoline Derivatives Against Molds. *Acta Pharmaceutica Turcica*. 31, 111-114.
159. Sharma, S., Srivastava, V. K., Kumar, A. (2003). Antiinflammatory Activity of Some Novel α -Amino Naphtalene Derivatives. *Arzneimittel-Forschung*. 53(1), 44-52.
160. Sharma, S., Srivastava, V. K., Kumar, A. (2002). Newer N-Substituted Anthranilic Acid Derivatives as Potent Anti-inflammatory Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 37(8), 689-697.
161. Bansal, E., Srivastava, V. K., Kumar, A. (2001). Synthesis and Antiinflammatory Activity of 1-Acetyl-5-Substitued aryl-3-(β -aminonaphthyl)-2-pyrazolines and β -(substitued aminoethyl) amidonaphthalenes. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 36, 81-92.
162. Rani, P., Srivastava, V. K., Kumar, A. (2004). Synthesis and Anti-inflammatory Activity of Heterocyclic Indole Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 39(5), 449-452.
163. Godoy, M. C. M., Figuera, M. R., Souza, F. R., Flores, A. E., Rubin, M. A., Oliveira, M. R., Zanatta, N., Martins, M. A. P., Bonacorso, H. G., Mello, C. F. (2004). α_2 -Adrenoceptors and 5-HT Receptors Mediate the Antinociceptive Effect of New Pyrazolines, But Not of Dipyrone. *European Journal of Pharmacology*. 496(1-3), 93-97.
164. Brzozowski, Z., Angielski, S., Wojcikowski, C. (1974). New Compounds and Reactions of Sulfonamides With Amines XIV. Hypoglysemic Properties of Some Derivatives of N-(Benzensulphonyl)- Δ^2 -pyrazoline-1-carboxamide. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 31, 601-606.
165. Malhotra, V., Pathak, S., Nath, R., Mukerjee, D., Shanker, K. (2002). Substitued Pyrazolines and Their Cardiovascular Activity. *Indian Journal of Chemistry*. 41B, 1310-1313. Ref. C.A. 137:370021

166. Levvy, G. A., Nisbet, H. B. (1938). Pyrazoline Local Anaesthetics. Part III. Derivatives of o-Alkoxybenzylidenacetones. *Journal of Chemical Society*. 1572-1574.
167. Brzozowski, Z., Saczewski, F., Gdaniec, M. (2000). Synthesis, Structural Characterization and Antitumor Activity of Novel 2,4-Diamino-1,3,5-triazine Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 35(12), 1053-1064.
168. Jeong, T. S., Kim, K. S., Kim, J. R., Cho, K. H., Lee, S., Lee, W. S. (2004). Novel 3,5-Diarylpyrazolines and Pyrazole as Low-density Lipoprotein (LDL) Oxidation Inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 14(11), 2719-2723.
169. Auwers, K., Meyenburg, F. V. (1891). Ueber eine neue Synthese von Derivaten des Isindazols. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 24, 2370-2388.
170. Behr, L. C. (1962). Indazoles and Condensed Types. Wiley, R.H. (Ed.). *The Chemistry of Heterocyclic Compounds: Pyrazoles, Pyrazolines, Pyrazolidines, Indazoles and Condensed Rings*. New York: John Wiley and Sons Inc.
171. Jacobson, P., Huber, L. (1908). Über Bildung von Indazolkörpern aus orthomethylierten Anilinbasen. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 41, 660-671.
172. Pschorr, R., Hoppe, G. (1910). Über das o-Amino-benzylcyanid und seine Umwandlung in α -Amino-indol und in Indol. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 43, 2543-2552.
173. Braun, J. v., Rawicz, M. (1916). Synthesen in der fettaromatischen Reihe XII. (Derivate des m-Phenylendiamins und m-Nitranilins in ihrer Geschmacks- und hämolytischen Wirkung.). *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 49, 799-809.
174. Reissert, A., Grube, F. (1909). Beiträge zur Kenntnis des o-Amido-benzonitrils. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 42, 3710-3721.

175. Eliasberg, J., Friedländer, P. (1892). Ueber einige Condensationen des o-Amidobenzaldehyds. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 25, 1752-1760.
176. Hannig, E., Kollmorgen, C., Koerner, M. (1976). The Preparation of Certain 3 - Alkylindazoles. *Pharmazie*. 31(8), 534-536.
177. Fujimura, Y., Ikeda, Y., Matsunaga, I. (1986). Synthesis and Pharmacological Activities of 3-Phenylindazole Derivatives. *Yakugaku Zasshi*. 106(11), 995-1001. Ref. C.A. 107:198158.
178. Beaven, G. H., Mare, P. B. D. De la, Johnson, E. A., Klassen, N. V. (1961). Kinetics and Mechanisms of Aromatic Halogen Substitution. XII. Products of Chlorination of Fluorene in Acetic Acid. *Journal of the Chemical Society*. 988-993.
179. Schad, P. (1893). Synthese Ringförmiger Verbindungen aus Benzolderivaten mit Offenen Seitenketten. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 26, 216-224.
180. Cai, K., Zong, Zhi-min., Wei, X. (2007). Simple Synthesis of Indazole. *Huaxue Shiji*. 29(1), 53-54. Ref. C.A. 147:502293.
181. Bamberger, E. (1911). Über o,o'-Azoxy-benzaldehyd. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 44, 1966-1979.
182. Paal, C. (1891). Zur Kenntniss der Indazole. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 24, 3058-65.
183. Auwers, K. V. (1925). Die Konstitution der stabilen und labilen Acyl-indazole. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 58B, 2081-2088.
184. Krbecek, L., Takimoto, H. (1964). The Thermal Decomposition of 2-Azidobenzylideneamines. *Journal of Organic Chemistry*. 29, 1150 – 1152.
185. Meisenheimer, J., Senn, O. (1926). Über Acyl-indazole. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 59B, 199-202.
186. Auwers, K. v., Düesberg, M. (1920). Über Struktur- und Stereo-Isomerie bei Indazol-Derivaten und die Konstitution der Indazole. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 53B, 1179-1210.
187. Albert, A., Goldacre, R. J., Phillips, J. (1948). Strength of Heterocyclic Bases. *Journal of the Chemical Society*. 2240-2249.

188. Auwers, K. V., Lange, H. (1922). Über halogenierte Indazole und Raumisomerie bei Freien Indazolen. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 55B, 1139-1173.
189. Schmidt, A., Snovydovych, B., Habeck, T., Drottboom, P., Gjika, M., Adam, A. (2007). N-Heterocyclic Carbenes of 5-Haloindazoles Generated by Decarboxylation of 5-Haloindazolium-3-carboxylates. *European Journal of Organic Chemistry*. 29, 4909-4916.
190. Petitcolas, P., Sureau, R. (1950). Sulfonated and Amino Sulfonated Derivatives of Isoindazole. *Bulletin de la Societe Chimique de France*. 466-478.
191. Sureau, R. F. M. (1956). Indazole Series. Acidity of the Hydroxyl Group in Various Hydroxyl Derivatives. Acidity-reactivity Relationships. *Bulletin de la Societe Chimique de France*. 622-628.
192. Auwers, K. V., Schaich, W. (1921). Über N-Alkylderivate und N-Carbonsäure-ester des Indazols. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 54B, 1738-1770.
193. Auwers, K. V. (1919). Über Isomerie-Erscheinungen bei Indazol-Derivaten. (Vorläufige Mitteilung.) *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 52B, 1330-1339.
194. Auwers, K. v., Frese, E. (1926). Über 5-Methyl-7-amino-indazol und 2-Methyl-7(4)-amino-benzimidazol. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 59B, 539-555.
195. Moore, P. K., Wallace, P., Gaffen, Z., Hart, S. L., Babbedge, R. C. (1993). Characterization of the Novel Nitric Oxide Synthase Inhibitor 7-Nitro indazole and Related Indazoles: Antinociceptive and Cardiovascular Effects. *British Journal of Pharmacology*. 110(1), 219-224.
196. Wolff D. J., Gribin B. J. (1994). The Inhibition of the Constitutive and Inducible Nitric-Oxide Synthase Isoforms by Indazole Agents. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 311(2), 300-306.
197. Schumann, P., Collot, V., Hommet, Y., Gsell, W., Dauphin, F., Sopkova, J., MacKenzie, E. T., Duval, D., Boulouard, M., Rault, S. (2001). Inhibition of Neuronal Nitric Oxide Synthase by 7-Methoxyindazole and Related

Substituted Indazoles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 11(9), 1153-1156.

198. Cerecetto, H., Gerpe, A., Gonzalez, M., Aran, V. J., Ocariz de C. O. (2005). Pharmacological Properties of Indazole Derivatives: Recent Developments. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 5, 869-878.
199. Schindler, R., Fleischhauer, I., Höfgen, N., Sauer, W., Egerland, U., Poppe, H., Heer, S., Szelenyi, I., Kutscher, B., Engel, J. (1998). 1,5-Disubstituted Indazol-3-ols with Anti-Inflammatory Activity. *Archiv der Pharmazie*. 331, 13-21.
200. Andronati, S., Sava, V., Makan, S., Kolodeev, G. (1999). Synthesis of 3-Aryl-1-[(4-phenyl-1-piperazinyl)butyl]indazole Derivatives and Their Affinity to 5-HT_{1a} Serotonin and Dopamine D₁ Receptors. *Pharmazie*. 54(2), 99-101.
201. Diana, P., Baraja, P., Lauria A., Almerico, A. M., Cirrincione, G., Loi, A. G., Musiu, C., Pani, A., La Colla, P., Marongiu, M. E. (1999). 2-Triazenopyrroles: Synthesis and Biological Activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 34(4), 353-360.
202. Li, X., Chu, S., Feher, V. A., Khalili, M., Nie, Z., Margosiak, S., Nikulin, V., Levin, J., Sprankle, K. G., Tedder, M. E., Almassy, R., Appelt, K., Yager, K. M. (2003). Structure-based Design, Synthesis, and Antimicrobial Activity of Indazole Derived SAH/MTA Nucleosidase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. 46(26), 5663-5673.
203. Arán, V. J., Ochoa, C., Boiani, L., Buccino, P., Cerecetto, H., Gerpe, A., González, M., Montero, D., Nogal, J. J., Gómez-Barrio, A., Azqueta, A., de Ceráin, A. L., Piro, O. E., Castellano, E. E. (2005). Synthesis and Biological Properties of New 5-Nitroindazole Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 13, 3197-3207.
204. Hassner, A., Michelson, M. J. (1962). Formation of the N-N Bond in Pyrazolines. *Journal of Organic Chemistry*. 27, 298-301.
205. Kriven'ko, A. P., Zapara, A. G., Ivannikov, A. V., Klochkova, I. N. (2000). Furfurylidenecyclanones in Reactions with Hydrazines. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 36(4), 399-402.

206. El-Shafei, A. K., El-Sayed, A. M., Khalaf, A. A. (1983). Catalytic Alkylation, Sulfonation, and Heteroarylation of Some Bicyclic Pyrazolines in Solid-Liquid Two Phase Systems. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 56(3), 918-920.
207. Kabli, R. A., Kaddah, A. M., Khalil, A. M., Khalaf, A. A. (1986). New Aziridines & Pyrazolines Derived from Diarylidenecycloalkanones. *Indian Journal of Chemistry*. 25B, 152-156.
208. Krapcho, J., Turk, C. F. (1979). Bicyclic Pyrazolines, Potential Central Nervous System Depressants and Antiinflammatory Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. 22(2), 207-210.
209. Vijayabaskar, V., Perumal, S., Selvaraj, S., Hewlins, M. J. E. (1999). Synthesis and ¹H and ¹³C NMR Study of the Stereochemistry of (E)-2-Acetyl-3-aryl-7-arylidene-3,3a,4,5,6,7-hexahydroindazoles. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 37(1), 65-68.
210. Abakumov, V. V., Shishkina, S. V., Zubatyuk, R. I., Gella, I. M., Pivnenko, N. S., Kutulya, L. A., Shishkin, O. V. (2007). Molecular and Crystal Structures of Some Novel Derivatives of 3-Aryl-7-arylidene-3,3a,4,5,6,7-hexahydroindazoles. *Crystallography Reports*. 52(2), 243-252.
211. Golikov, A. G., Raikova, S. V., Bugaev, A. A., Kriven'ko, A. P., Shub, G. M. (2005). Synthesis and Antimicrobial Activity of Some (Nitro)furfurylidene-Containing Hexahydroindazoles. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 39(2), 76-78.
212. Bugaev, A. A., Golikov, A. G., Kriven'ko, A. P. (2005). Synthesis of Substituted Hexahydroindazoles. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 41(7), 831-834.
213. Lorand, T., Szabo, D., Foldesi, A., Parkanyi, La., Kalman, A., Neszmelyi, A. (1985). Synthesis and Stereochemistry of Substituted Bi- and Tricyclic 4,5-Dihydropyrazoles. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. 3, 481-486.
214. Pashkevich, K. I., Sevenard, D. V., Khomutov, O. G., Shishkin, O. V., Solomovich, E. V. (1999). Reaction of 2-(Polyfluoroacyl)cyclohexanones with Semicarbazides. *Russian Chemical Bulletin*. 48(2), 359-363.

- 215.** Kost, A. N., Ershov, V. V. (1957). Reactions of Hydrazine Derivatives. XIV. New Method of Synthesis of 3-Alkylpyrazolines. *Zhurnal Obshchei Khimii*. 27, 1722-1726. Ref. C.A. 52:21068.
- 216.** Gella, I. M., Amadu, R. Y., Cherkaev, G. V., Fialkova, S. V., Orlov, V. D. (1997). 2-Pyrazolines on the Basis of Diarylidene-cyclohexanones. Synthesis and Stereochemistry of N-Thio-carbamoyl and N-Thiazolyl derivatives. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 33(12), 1425-1429.
- 217.** Yesilada, A., Gokhan, N., Bilgin, A., Akaji, M., Shingu, T., Fujita, T. (1996). Structural and Stereochemical Analysis of Some 9-Phenyl-8-N-substituted thiocarbamoyl-7,8-diazabicyclo[4.3.0]non-6-enes by NMR and Mass Spectrometric Techniques. *Spectroscopy Letters*. 29(8), 1481-1496.
- 218.** Hassner, A., Michelson, M. J. (1962). N.m.r. Spectra and Stereoisomerism in Pyrazolines. *Journal of Organic Chemistry*. 27, 3974-3976.
- 219.** Ergin, O., Sillanpaa, R., Yesilada, A. (1996). 5-Benzylidene-8-ethylthiocarbamoyl-9-phenyl-7,8-diazabicyclo [4.3.0]non-6-ene. *Acta Crystallographica, Section C: Crystal Structure Communications*. C52(7), 1770-1772.
- 220.** Raikova, S. V., Shub, G. M., Golikov, A. G., Kriven'ko, A. P. (2004). Antimicrobial Activity of New Unique 2-Aryliden-6-furfurylidene cyclohexanones and Their Hexahydroindazole Derivatives. *Antibiotiki i Khimioterapiya*. 49(4), 21-24. Ref. C.A. 142:89658.
- 221.** Dostert, P., Strolin Benedetti, M. (1991). Structure-modulated Recognition of Substrates and Inhibitors by Monoamine Oxidases A and B. *Biochemical Society Transactions*. 19, 207-211.
- 222.** Kyburz, E. (1989). New Developments in the Field of Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOI). Von Der Goot, H., Domany, G., Pallos, L., Timmerman, H. (Ed.). *Trends in Medicinal Chemistry'88* (s. 523-543). Amsterdam: Elsevier Science Publishers.
- 223.** Youdim, M. B. H., Finberg, J. P. M. (1991). New Directions in Monoamine Oxidase A and B Selective Inhibitors and Substrates. *Biochemical Pharmacology*. 41, 155-162.

- 224.** Richards, J. G., Saura, J., Ulrich, J., Da Prada, M. (1992). Molecular Neuroanatomy of Monoamine Oxidases. *Psychopharmacology*. 106, 21-23.
- 225.** Silverman, R. B., Hoffman, S. J., Catus III, W. B. A. (1982). Mechanism for Mitochondrial Monoamine Oxidase Catalyzed Amine Oxidation. *Journal of the American Chemical Society*. 102, 7126-7128.
- 226.** Silverman, R. B. (1991). The Use of Mechanism-based Inactivators to Probe the Mechanism of Monoamine Oxidase. *Biochemical Society Transactions*. 19, 201-206.
- 227.** Yu, P. H., Davis, B. A. (1988). Stereospecific Deamination of Benzylamine Catalyzed by Different Amine Oxidases. *International Journal of Biochemistry*. 20, 1197-1201.
- 228.** Binda, C., Newton-Vinson, P., Hubálek, F., Edmondson, D. E., Mattevi, A. (2002). Structure of Human Monoamine Oxidase B, a Drug Target for the Treatment of Neurological Disorders. *Nature Structural & Molecular Biology*. 9, 22-26.
- 229.** Ma, J., Yoshimura, M., Yamashita, E., Nakagawa, A., Ito, A., Tsukihara, T. (2004). Structure of Rat Monoamine Oxidase A and Its Specific Recognitions for Substrates and Inhibitors. *Journal of Molecular Biology*. 338, 103-114.
- 230.** De Colibus, L., Li, M., Binda, C., Lustig, A., Edmondson, D. E., Mattevi, A. (2005). Three-dimensional Structure of Human Monoamine Oxidase A (MAO A): Relation to the Structures of Rat MAO A and Human MAO B. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 102, 12684-12689.
- 231.** Edmondson, D. E., Binda, C., Mattevi, A. (2004). The FAD Binding Sites of Human Monoamine Oxidases A and B. *Neurotoxicology*. 25, 63-72.
- 232.** Hubálek, F., Binda, C., Khalil, A., Li, M., Mattevi, A., Castagnoli, N., Edmondson, D. E. (2005). Demonstration of Isoleucine 199 as a Structural Determinant for the Selective Inhibition of Human Monoamine Oxidase B by Specific Reversible Inhibitors. *Journal of Biological Chemistry*. 280, 15761-15766.
- 233.** Tabor, C. W., Tabor, H., Rosenthal, S. M. (1954). Purification of Amine Oxidase from Beef Plasma. *Journal of Biological Chemistry*. 208, 645-661.

234. Weissbach, H., Smith, T. E., Daly, J. W., Witkop, B., Udenfriend, S. (1960). A Rapid Spectrophotometric Assay of Monoamine Oxidase Based on the Rate of Disappearance of Kynuramine. *Journal of Biological Chemistry*. 235, 1160-1163.
235. Szutowicz, A., Kobes, R. D., Orsulak, P. J. (1984). Colorimetric Assay for Monoamine Oxidase in Tissues Using Peroxidase and 2,2'-Azinodi(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) as Chromogen. *Analytical Biochemistry*. 138(1), 86-94.
236. Holt, A., Sharman, D. F., Baker, G. B., Palcic, M. M. (1997). A Continuous Spectrophotometric Assay for Monoamine Oxidase and Related Enzymes in Tissue Homogenates. *Analytical Biochemistry*. 244(2), 384-392.
237. Wu, W., Zhu, X. (1999). Involvement of Monoamine Oxidase Inhibition in Neuroprotective and Neurorestorative Effects of Ginkgo Biloba Extract Against MPTP-Induced Nigrostriatal Dopaminergic Toxicity in C57 Mice. *Life Sciences*. 65(2), 157-164.
238. Robinson, D. S., Lovenberg, W., Keiser, H. R., Sjoerdsma, A. (1968). Effects of Drugs on Human Blood Platelet and Plasma Amine Oxidase Activity *in vitro* and *in vivo*. *Biochemical Pharmacology*. 17(1), 109-119.
239. Krueger, M. J., Singer, T. P. (1993). An Examination of the Reliability of the Radiochemical Assay for Monoamine Oxidases A and B. *Analytical Biochemistry*. 214(1), 116-123.
240. Herraiz, T., Chaparro, C. (2005). Human Monoamine Oxidase is Inhibited by Tobacco Smoke: β -Carboline Alkaloids Act as Potent and Reversible Inhibitors. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 326(2), 378-386.
241. Lang, W., Masucci, J. A., Caldwell, G. W., Hageman, W., Hall, J., Jones, W. J., Rafferty, B. M. (2004). Liquid Chromatographic and Tandem Mass Spectrometric Assay for Evaluation of *in vivo* Inhibition of Rat Brain Monoamine Oxidases (MAO) A and B Following a Single Dose of MAO Inhibitors: Application of Biomarkers in Drug Discovery. *Analytical Biochemistry*. 333(1), 79-87.

- 242. Allinger, N.L., Burkert, U. (1982). *Molecular Mechanics*, ACS Monograph 177, Washington, DC: American Chemical Society.
- 243. Cioslowski, J. (1993). *Ab Initio* Calculations on Large Molecules: Methodology and Applications. Lipkowitz, K. B., Boyd, D. B. (Ed.). *Reviews in Computational Chemistry* (s. 1-33). VCH Publishers.
- 244. Morokuma, K., Karadkov, P. B. (2000). ONIOM as an Efficient Tool for Calculating NMR Chemical Shielding Constants in Large Molecules. *Chemical Physics Letters*. 317, 589-596.
- 245. Walton, H. M. (1957). Reaction of Peroxyacetic Acid with α - Aralkylidenecyclanones. *Journal of Organic Chemistry*. 22, 1161-1165.
- 246. Tsukerman, S. V., Kutulya, L. A., Lavrushin, V. F. (1964). Spectra and Halochromism of Dibenzylidenecycloalkanones and Their Thiophene and Furan Analogs. *Zhurnal Obshchei Khimii*. 34(11), 3597-3605. Ref. C.A. 62:51479.
- 247. Barrett, G. C. (1962). Iodine as a 'Non Destructive' Reagent in Paper- and Thin-Layer Chromatography. *Nature*. 194, 1171-1172.
- 248. Barton, G. M., Evans, R. S., Gardner, J. A. F. (1952). Paper Chromatography of Phenolic Substances. *Nature*. 170, 249-250.
- 249. Stahl, E. (1969). *Thin-Layer Chromatography* (2. bs.). Berlin: Springer Verlag.
- 250. Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding. *Analytical Biochemistry*. 72, 248-254.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Ankara’da doğdu. 1994 yılında Niğde 23 Nisan Havacılar İlk Okulu’nu, 2001 yılında Ankara Yıldırım Beyazıt Anadolu Lisesi’ni bitirdi. Aynı yıl girdiği Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’nden 2005 yılında mezun olarak Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Yüksek Lisans programına başladı. Halen Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri’nde eczacı olarak çalışmaktadır.