



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**BİR GRUP HETEROSİKLİK BİLEŞİĞİN
HİDRAZİT VE HİDROKSAMİK ASİT
TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Ecz. İrem TATAR

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

İzmir
2022

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**BİR GRUP HETEROSİKLİK BİLEŞİĞİN
HİDRAZİT VE HİDROKSAMİK ASİT
TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ecz. İrem TATAR

Danışman
Prof. Dr. M. Varol PABUÇÇUOĞLU

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Doktora Programı

İzmir
2022

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

Danışman:	Prof. Dr. M. Varol PABUÇÇUOĞLU
Üye:	Prof. Dr. Zeynep SOYER
Üye:	Prof. Dr. Aysun PABUÇÇUOĞLU
Üye:	Prof. Dr. Vildan ALPTÜZÜN
Üye:	Prof. Dr. Halise İnci GÜL
Üye:	Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin İSTANBULLU

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 05.09.2022

Önsöz

Kendimi bildim bileli öğrenmeyi hep sevdim. İlgimi çeken bir konuda kitaplara, defterlere gömülmek, yazmak, çizmek gerçekten “ben” gibi hissetmeme sebep olan parçalarım. Yeni bir şeyler öğrenmediğim, kendimi geliştirmedeğim, bir önceki günden daha iyi olmak için çabalamadığım günlerde kaybolmuş hissediyorum. “Okul” dediğimiz yer bu nedenle bana hep bir mutluluk yuvası oldu. Evet, arkadaşlarımla zaman geçirecek olmak da okula gitmeyi istememenin bir nedeniydi belki ama benim asıl amacım herkes gibi teneffüslerde bahçeye koşmak değil, öğretmenimin anlattıklarını dinlemek, bana yaşadığımı hissettiren o “öğrenme” hissini bulmaktı. Bu hislerin bana eğitim-öğretim hayatımda iyi bir öğrenci olabilme şansını sağladığını söylersem herhalde çok da yanlış olmaz.

Üniversiteye gelince yepyeni bir kapı açıldı önümde, yepyeni bilgiler beni bekliyordu. Başarılı geçen dört yılın ardından Erasmus öğrenci değişimi programıyla Roma Sapienza Üniversitesi’ne yaz stajına gittiğimde akademisyenliğin kapılarını da hafifçe araladığımı hissettim. Kendi başıma hayatta kalamayacağım, yabancı dilde konuşamayacağım, bilimsel çalışmalarda başarılı olamayacağım gibi korkularım yavaşça silinirken önümde bir ışık yandı. Son sınıf öğrencisi olarak üniversiteme geri döndüğümde, çok sevdiğim Farmasötik Kimya alanında doktora yapmak istediğimi artık biliyordum. Hiç kopmak istemediğim “profesyonel öğrencilik” kariyerime de böylece devam edecektim. Benim hikayem böyle başladı.

Stajla geçen son sınıfın ardından doktoramın ilk yıllarında o çok sevdiğim “öğrenme” hissine yeniden kavuştum. Her şey yolundaydı. Sonra “araştırma” geldi. İşte ben orada bocalamaya başladım.

Çocukken kendinizi kocaman bir krallıktaki her şeyi yapmaya muktedir, en cesur şövalye gibi hissedersiniz. Büyüdükçe insan yapamadıklarıyla sınanır. Nerede olduğunu bilmiyorum, o şövalyeyi bir yerlerde kaybettim. Kendime olan güvenim, başarabileceğime olan inancım bir yerlerde sarsıldı. Sanırım “profesyonel öğrencilik” kariyerim bana bir “araştırmacı” olabilmek için yeterince tecrübe sağlamamıştı. Artık benim için sınav tarihleri ve yetiştirilecek konular değil, proje raporu son tarihleri ve tamamlanması gereken deneyler vardı. Bir gün, aynı anda pek çok şeye yetişmeye

alışırken ipin ucunu bir yerlerde kaçırdığımı fark ettim ve sonra da geri tutamayacağıma inandım.

Hayat enteresan bir yolculuk. Net bir başlangıcı var ama varış durağı nerede bilemiyoruz. Farklı duraklarda inip farklı deneyimler yaşıyor, kendimize güzel bir rota çizmeye çalışıyoruz. Amacımız nihai bir durağa varmak değil, çantaya her duraktan bir şeyler atabilmek, yolculuktan keyif alabilmek aslında. Ben doktoramın bocaladığım araştırma kısmında bunu unutmuş, yolculuğumda öğrendiklerimle mutlu olmak yerine sadece varış durağına odaklanmışım. O öğrenmeyi seven, çalışmaktan keyif alan, kendine inanan kızı kaybetmişim.

“Keşke”lerim “iyi ki”lerimin önünü kapattığında geri dönmek, kendime bir çıkış yolu bulmak için çok çabaladım ve ipin ucunu yakaladım. Evet, bu doktora sürecinde maksimum kapasitemle yapabileceğimin en iyisini yapamadım belki. Ve evet, bunu biliyor olmak içimde bazı yaralar da açtı. Pek çok doktora öğrencisinin de benim gibi hissettiğine eminim. Ama o yaralar sayesinde çok şey öğrendim. Mükemmelin peşinde koşmak yerine elimden gelenin en iyisini yapmaya odaklanmanın değerini anladım.

Benim için doktora sürecimin en önemli farkındalıklarından biri şudur ki, doktora yapmak demek, alanında bir eğitimin sağlayabileceği en yüksek diplomaya ulaşmak demek olabilir ama sadece bundan ibaret değil. Doktora yapmak demek, çabalamak demek; düşmek, kalmak, yürümek, durmak, koşmak ama hep abalamak. Eğer devam etmek istiyorsan abalayacak ve abandan keyif almayı öğreneceksin, kendini geliştirmeye devam ettiğin sürece başarılı olacaksın. Bu bir yolculuk, son durağa değil manzaraya odaklanacaksın. Bunu ancak varış durağına yaklaştığım şu günlerde daha iyi görebiliyorum. Geçtiğimiz yılların bana pek çok değer kattığı bir gerçek ama belki de yaşamımın geri kalanında bana en büyük faydayı sağlayacak olan şey bu hayat dersidir.

İzmir, 22.07.2022

İrem TATAR

Özet

Bir Grup Heterosiklik Bileşiğin Hidrazit ve Hidroksamik Asit Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması

Enflamasyon, vücudun stres yaratan bir uyarana karşı savunma amaçlı verdiği cevaptır ve iyileşme sürecinin başlaması ile doku onarımının gerçekleşmesi için gerekli bir süreçtir. Enflamasyonda, vücutta oluşan hasar durumunun ortadan kaldırılması temel amaç olmasına rağmen, bu yanıt doğru şekilde kontrol edilemediği durumlarda vücutta daha büyük bir stres oluşumuna neden olabilir ve çeşitli kronik hastalıkların başlamasına zemin hazırlar. Ateroskleroz, romatoid artrit, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, çeşitli kanserler, tip2 diyabet bu hastalıklara verilebilecek örneklerdendir.

Miyeloperoksidaz (MPO), oluşturduğu reaktif ürünlerle mikroorganizmaların yok edilmesine aracılık eden, bağışıklık sisteminde görevli bir enzimdir. MPO'nun aktivitesi “halojenasyon döngüsü” ve “peroksidasyon döngüsü” adı verilen iki döngü aracılığıyla gerçekleşmektedir. Her iki döngü de hidrojen peroksitin enzimin aktif bölgesine bağlandığı ortak bir basamak ile başlar. Enzimin antimikrobiyal etkisinden sorumlu olduğu düşünülen temel bileşik hipokloröz asittir (HOCl) ve halojenasyon döngüsü sırasında oluşmaktadır. Peroksidasyon döngüsü sırasında ise çeşitli reaktif serbest radikalik bileşikler ortaya çıkar.

MPO, bağışıklık sistemi üzerindeki etkisini fagolizozom adı verilen yapılar içerisinde gerçekleştirir. Bununla birlikte henüz tam olarak anlaşılamayan bazı sebeplerle MPO'nun ve reaktif ürünlerinin ekstraselüler sıvılara döküldüğü ve konak biyomoleküllerinde hasara ve kronik enflamasyon gelişimine bağlı olarak pek çok hastalığa neden olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu nedenle, MPO enzimini inhibe edecek yeni ilaç adayı moleküllerin geliştirilmesi ilgi çeken bir terapötik strateji haline gelmiştir.

Tez çalışması kapsamında, potansiyel MPO inhibitörü olduğu düşünülen bir grup 2(3H)-Benzoksazolon türevi bileşik tasarlanmış, sentezlenmiş, yapılarının doğrulanmasını takiben MPO inhibitör etkinlikleri saptanmıştır. Serinin en etkin bileşiklerinin enzimle muhtemel etkileşimleri moleküler modelleme çalışmalarıyla değerlendirilmiştir.

Literatür çalışmaları sonucunda, 2(3*H*)-Benzoksazolon halkası ve 5-kloro-2(3*H*)-Benzoksazolon halkaları üzerindeki azot atomuna metilen köprüsü aracılığıyla hidrazit ve hidroksamik asit işlevsel grupları taşıyan bileşikler tasarlanmıştır. Ayrıca hidrazit türevleri çeşitli aldehitlerle açıl hidrazonlar verecek şekilde türevlendirilmiş, hidroksamik asitlerin de metil esterleri hazırlanmıştır.

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin yapıları IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, Kütle Spektroskopileri ve elementel analiz çalışmalarıyla doğrulanmıştır.

Sentezlenen ve yapıları doğrulanan bileşiklerin MPO enziminin klorinasyon ve peroksidasyon döngüsü üzerindeki inhibitör etkinlikleri sırasıyla taurin-kloramin ve Ampleks Red deneyleri ile belirlenmiştir. En aktif olduğu belirlenen bileşiklerin IC₅₀ değerleri tayin edilmiş ve bu türevlerin enzime afinitelerini değerlendirmek amacıyla “Gayakol oksidasyon testi” gerçekleştirilmiştir. Ayrıca IC₅₀ değeri belirlenen bileşiklerin HOCl süpürme aktivitesi de tayin edilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda **C21** kodlu *N'*-[(furan-2-il)metilen]-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit bileşiği, IC₅₀=0.42 ± 0.06 µM değeriyle en aktif bileşik olarak tespit edilmiştir.

Bileşiklerin MPO enzimi ile muhtemel etkileşimlerinin belirlenmesi amacıyla moleküler modelleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Taurin kloramin yöntemiyle IC₅₀ değeri belirlenen bileşikler için moleküler kenetlenme çalışmaları yapılmış ve enzim aktif bölgesindeki farklı bağlanma durumları tespit edilmiştir. Serinin en aktif türevi olan **C21** için ayrıca oluşturulan moleküler dinamik (MD) simülasyonlar ile molekülün reseptör yöre içindeki davranışları daha ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Tez çalışması ile elde edilen veriler, hidrazit işlevsel grubu taşıyan 2(3*H*)-Benzoksazolon ve 5-kloro-2(3*H*)-Benzoksazolon türevi bileşiklerin MPO inhibitör aktivite açısından ümit vadeden yapılar olduklarını ve bu alanda gerçekleştirilecek yeni çalışmalar için iyi bir başlangıç noktası olabileceklerini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler; 2(3*H*)-Benzoksazolon, hidrazit, hidroksamik asit, açıl hidrazon, enflamasyon, miyeloperoksidaz

Abstract

Synthesis and Biological Activity Studies of Hydrazone and Hydroxamic Acid Derivatives of a Group of Heterocyclic Compounds

Inflammation is the body's defensive response to a stressful stimulus and is a necessary process for the healing and tissue regeneration. Although the main purpose of inflammation is to eliminate the damage in the body, when this response is not properly controlled, it can cause greater stress in the body and lead to the onset of various chronic diseases. Atherosclerosis, rheumatoid arthritis, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, cancer, type 2 diabetes are examples of these diseases.

Myeloperoxidase (MPO) is an enzyme in the immune system that mediates the destruction of microorganisms with the reactive products it creates. The activity of MPO takes place through two cycles called the "halogenation cycle" and the "peroxidation cycle". Both cycles begin with a common step in which hydrogen peroxide binds to the enzyme's active site. The main compound thought to be responsible for the antimicrobial effect of the enzyme is hypochlorous acid (HOCl) and is formed during the halogenation cycle. On the other hand, various reactive free radical compounds occur during the peroxidation cycle.

MPO exerts its effect on the immune system in structures called phagolysosomes. However, in recent years, it has been revealed that MPO and its reactive products spill into extracellular fluids for some reasons that are not yet fully understood and cause many diseases due to the damage on the host biomolecules. It causes development of chronic inflammation, and diseases, so MPO inhibition has become an interesting therapeutic strategy.

In this dissertation, a group of 2(3*H*)-Benzoxazolone derivatives that potential MPO inhibitors were designed and synthesized, their biological activities were studied and their possible interaction with the enzyme was evaluated by molecular modeling studies.

The 2(3*H*)-Benzoxazolone ring, that has been previously reported in the literature with its MPO inhibitory activity, was chosen as the pharmacophore structure, and hydrazone and hydroxamic acid functional groups, which were determined to be effective in terms of MPO inhibitory activity in previous studies, were also included in the

molecular design. It is planned to connect hydrazide and hydroxamic acid functional groups via the methylene bridge over the nitrogen atom on the 2(3*H*)-Benzoxazolone and 5-chloro-2(3*H*)-Benzoxazolone rings. In order to evaluate the structure-activity relationships from a wider perspective, acyl hydrazone and methyl hydroxamate functional groups are also included in the study.

The structures of the compounds were confirmed by IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, Mass Spectroscopical techniques and elemental analysis studies.

The inhibitory activities of the synthesized compounds on the chlorination and peroxidation cycle of the MPO enzyme were determined by taurine-chloramine and Ampleks Red experiments, respectively. In addition, the IC₅₀ concentrations of the most active compounds were determined, and the "Guaiacol oxidation test" was performed to evaluate the enzyme affinity of these derivatives. In addition, the HOCl scavenging activity of these compounds was also determined.

According to obtained data, **C21** namely N'-[(furan-2-yl)methylene]-2-(2,3-dihydro-5-chloro-2-oxobenzoxazol-3-yl)acetohydrazide was found as the most active compound with an IC₅₀ value of 0.42 ± 0.06 μM.

Molecular modeling studies were carried out in order to determine possible interactions of the compounds with the enzyme. Docking studies were performed for the compounds selected by % inhibition screening study and different binding states with the enzyme active site were determined. In addition, molecular dynamics (MD) simulations created for **C21**, the most active derivative of the series, were investigated for further understanding the behavior of the molecule in the receptor site.

In conclusion, this study revealed that 2(3*H*)-Benzoxazolone and 5-chloro-2(3*H*)-Benzoxazolone derivatives carrying hydrazide functional group are promising structures in terms of MPO inhibitory activity and can be a good starting point for new studies to be carried out in this field.

Keywords; 2(3*H*)-Benzoxazolone, hydrazide, hydroxamic acid, acyl hydrazone, inflammation, myeloperoxidase

İçindekiler

Önsöz	I
Özet.....	III
Abstract.....	V
İçindekiler	VII
Tablolar Dizini.....	XII
Şekiller Dizini	XIII
Şemalar Dizini	XV
Kısaltma Listesi	XVI
1. Giriş	1
2. Genel Bilgiler	5
2.1. Enflamasyon	5
2.1.1. Enflamasyon Süreci	7
2.1.1.1. Sitokinler	7
2.1.1.2. Lipit Yapıdaki Mediyatörler	8
2.1.1.3. Diğer Mediyatörler.....	8
2.1.2. Enflamasyonun İyileşmesi	9
2.2. Miyeloperoksidaz (MPO)	10
2.2.1. Yapısı.....	10
2.2.2. Mekanizması.....	11
2.2.2.1. Halojenasyon Döngüsü	12
2.2.2.2. Peroksidasyon Döngüsü.....	12
2.2.2.3. Bileşik III Oluşumu.....	13
2.2.3. Miyeloperoksidazın Oksidatif Stres ve Enflamasyondaki Rolü	14
2.2.4. Hastalıklarla İlişkisi.....	15
2.2.4.1. Santral Sinir Sistemi Hastalıkları.....	15
2.2.4.2. Renal Hastalıklar	16
2.2.4.3. Kardiyovasküler Hastalıklar	16
2.2.4.4. Kanser	17
2.2.5. MPO İnhibisyon Mekanizmaları	19
2.2.5.1. İrreversibl (Geri Dönüşsüz) İnhibisyon	19
2.2.5.2. Reversibl (Geri Dönüştü) İnhibisyon.....	20
2.2.5.3. MPO'nun Reaktif Ürünlerinin Ortamdan Uzaklaştırılması	21

2.2.6. MPO İnhibitörü Bileşik Geliştirme Çalışmaları	21
2.2.6.1. Doğal Bileşikler	22
2.2.6.2. Tedavide Farklı Amaçlarla Kullanılmakta Olan ve MPO İnhibitör Aktiviteleri Tayin Edilmiş Olan İlaçlar	24
2.2.6.3. Benzoik Asit Hidrazitleri	27
2.2.6.4. Hidroksamik Asitler	28
2.2.6.5. Tiyoksantinler	29
2.2.6.6. Benzoksazolon Türevleri	29
2.2.6.7. İndol Türevleri	30
2.2.6.8. İndazol ve İndazolon Türevleri	32
2.2.6.9. Triazolopirimidin Türevleri	33
2.2.6.10. Kinazolin Türevleri	34
2.2.6.11. Klinik Deneme Aşamasındaki MPO İnhibitörleri	35
3. Gereç ve Yöntem	36
3.1. Sentez Çalışmaları	36
3.1.1. Materyal	36
3.1.2. Spektral Analizler	36
3.1.3. Sentez Yöntemi	37
3.1.3.1. Etil 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetat / Etil 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetat bileşiklerinin sentezi	37
3.1.3.2. 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidrazit bileşiklerinin sentezi	38
3.1.3.3. 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit türevlerinin sentezi	39
3.1.3.4. 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit metil esteri / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit metil esteri sentezi	40
3.1.3.5. N'-sübstitüye-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit / N'-sübstitüye-2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidrazit türevi bileşiklerin sentezi	41
3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	42
3.2.1. Materyal	42

3.2.2. Çözeltiler	42
3.2.2.1. Taurin Kloramin Yönteminde Kullanılan Çözeltiler	42
3.2.2.2. Ampleks Red Yönteminde Kullanılan Çözeltiler	44
3.2.2.3. Gayakol Oksidasyon Yönteminde Kullanılan Çözeltiler	44
3.2.2.4. HOCl Süpürücü Aktivite Tayini Yönteminde Kullanılan Çözeltiler	45
3.2.3. Yöntemler.....	46
3.2.3.1. Taurin Kloramin Yöntemi	46
3.2.3.2. Ampleks Red Yöntemi ile MPO Enziminin Peroksidasyon Aktivitesi İnhibisyonunun Tayini	49
3.2.3.3. Gayakol Oksidasyon Yöntemi.....	52
3.2.3.4. HOCl (Hipokloröz Asit) Süpürme Aktivitesi Tayini	53
3.3. Moleküler Modelleme Çalışmaları	54
3.3.1. Moleküler Kenetlenme Çalışmaları	54
3.3.2. Moleküler Dinamik Simülasyon Çalışmaları	54
4. Bulgular.....	58
4.1. Spektral Bulgular	58
4.1.1. B1 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	58
4.1.2. B2 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	59
4.1.3. B3 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	60
4.1.4. B4 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	61
4.1.5. B5 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	63
4.1.6. B6 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	64
4.1.7. B7 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	65
4.1.8. B8 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	66
4.1.9. B9 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	67
4.1.10. B10 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	68
4.1.11. B11 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	69
4.1.12. B12 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	70
4.1.13. B13 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	71
4.1.14. B14 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	72
4.1.15. B15 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	73
4.1.16. B16 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	75
4.1.17. B17 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	76

4.1.18. B18 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	77
4.1.19. B19 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	78
4.1.20. B20 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	79
4.1.21. B21 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	80
4.1.22. B22 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	81
4.1.23. B23 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	82
4.1.24. B24 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	83
4.1.25. B25 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	84
4.1.26. C1 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	85
4.1.27. C2 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	86
4.1.28. C3 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	87
4.1.29. C4 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	88
4.1.30. C5 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	90
4.1.31. C6 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	91
4.1.32. C7 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	93
4.1.33. C8 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	94
4.1.34. C9 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	96
4.1.35. C10 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	97
4.1.36. C11 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	98
4.1.37. C12 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	99
4.1.38. C13 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	100
4.1.39. C15 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	101
4.1.40. C16 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	102
4.1.41. C18 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	103
4.1.42. C21 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	104
4.1.43. C22 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	106
4.1.44. C23 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	107
4.1.45. C24 kodlu bileşimin spektral bulguları	108
4.2. Biyolojik Aktivite Bulguları	109
4.2.1. Taurin kloramin deneyine ait bulgular	109
4.2.2. Ampleks Red deneyine ait bulgular	115
4.2.3. Gayakol deneyine ait bulgular	117
4.2.4. HOCl Süpürme Aktivitesi Tayini	118

4.3. Moleküler Modelleme Bulguları.....	119
5. Tartışma	128
5.1. Spektral Bulguların Değerlendirilmesi	132
5.1.1. IR Bulgularının Değerlendirilmesi	133
5.1.2. NMR Bulgularının Değerlendirilmesi	136
5.1.2.1. ¹ H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi.....	136
5.1.2.2. ¹³ C Bulgularının Değerlendirilmesi	150
5.1.3. Kütle Bulgularının Değerlendirilmesi	151
5.1.4. Elementel Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi	152
5.2. Biyolojik Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi	152
5.2.1. Taurin Kloramin Deneyi Bulgularının Değerlendirilmesi.....	152
5.2.2. Ampleks Red Deneyi Bulgularının Değerlendirilmesi.....	154
5.2.3. Gayakol Deneyi Bulgularının Değerlendirilmesi	154
5.2.4. HOCl Süpürme Aktivitesi Deneyi Bulgularının Değerlendirilmesi	155
5.3. Moleküler Modelleme Bulgularının Değerlendirilmesi.....	156
5.3.1. Moleküler Kenetlenme Bulgularının Değerlendirilmesi	156
5.3.2. Moleküler Dinamik (MD) Simülasyonları Bulgularının Değerlendirilmesi	157
5.3.2.1. Yapısal Stabilité Analizi	158
5.3.2.2. Bağlanma Modu Analizi.....	158
5.3.2.3. MM-GBSA Serbest Bağlanma Enerjisi Hesaplamaları ve Enerji Ayrıştırma Analizi.....	159
Sonuç ve Öneriler.....	161
Kaynaklar	163
Teşekkür	179
Özgeçmiş	180

Tablolar Dizini

Tablo 1. Vücutta etkili olduğu sistemlere göre MPO'nun neden olduğu bazı hastalıklar ve bulguları.....	18
Tablo 2. Ampleks Red deneyi için hazırlanan çalışma grupları	51
Tablo 3. Taurin kloramin yönteminde gerçekleştirilen optimizasyon çalışması sonucunda elde edilen absorbans değerleri	109
Tablo 4. ABAH bileşiği ile gerçekleştirilen IC ₅₀ çalışmasına ait bulgular	111
Tablo 5. Bileşiklerin MPO enzimi klorinasyon döngüsü üzerindeki % inhibisyon değerleri.....	112
Tablo 6. %60 ve üzerinde MPO klorinasyon inhibisyonu gösteren bileşiklerin % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri	114
Tablo 7. %60 ve üzerinde MPO klorinasyon inhibisyonu gösteren bileşiklerin % MPO peroksidasyon inhibisyonu ve IC ₅₀ değerleri	115
Tablo 8. %60 ve üzerinde MPO klorinasyon inhibisyonu gösteren bileşiklerin % gayakol oksidasyonu değerleri	117
Tablo 9. %60 ve üzerinde MPO klorinasyon inhibisyonu gösteren bileşiklerin % HOCl süpürme aktivitesi sonuçları.....	118
Tablo 10. İnsan miyeloperoksidaz enzimi içerisinde çalışılan bileşiklere ait parantez içerisinde poz sırası verilen ilaç kenetlenme çalışması uyumluluk fonksiyon skorları (GoldScore) ve inhibitör konsantrasyon değerleri	119
Tablo 11. C21 bileşiği ve insan miyeloperoksidaz enzimi arasında oluşan hidrojen bağları*.....	122
Tablo 12. C21 bileşiği ve su molekülleri arasında oluşan hidrojen bağları*.....	122
Tablo 13. C21 bileşiği ile insan miyeloperoksidaz enziminin su aracılı köprü oluşumu sonucunda hidrojen bağları meydana getiren artıkları	123
Tablo 14. Bileşik C21 in benzen grubu atomları ile HEM yapısının pirol atomları arasındaki ölçülen ortalama mesafeler	124
Tablo 15. İnsan miyeloperoksidaz enzimi içerisindeki bileşik C21 'in ortalamanın standart hatası ile hesaplanan MM-GBSA serbest bağlanma enerjisi (Delta Toplam Enerji) ve enerji komponentleri	126
Tablo 16. İnsan miyeloperoksidaz enzimi içerisindeki bileşik C21 'in ortalamanın standart hatası ile hesaplanan enerji ayrıştırma analizi enerjileri.....	127
Tablo 17. Sentezi yapılan bileşiklerin majör/minör izomer oranları	137

Şekiller Dizini

Şekil 1. Tasarlanan bileşiklerin genel yapısı.....	3
Şekil 2. Akut enflamasyon süreci	6
Şekil 3. Miyeloperoksidazın yapısı	10
Şekil 4. MPO enziminin mekanizması.....	11
Şekil 5. Miyeloperoksidazın, klorinasyon ve peroksidasyon döngülerinde ürettiği ve fizyolojik ve patolojik rollerle ilişkilendirilen, primer ve sekonder metabolizma ürünleri	15
Şekil 6. Kuersetin bileşiğinin açık formülü ve IC ₅₀ değeri	22
Şekil 7. En aktif 4'-aminoşalkon türevlerinin açık formülleri ve IC ₅₀ değerleri	23
Şekil 8. Kafeik asit ve Ferulik asit bileşiklerinin açık formülleri ve IC ₅₀ değerleri...	23
Şekil 9. Melatonin bileşiğinin açık formülü ve IC ₅₀ değeri	24
Şekil 10. En aktif flufenamik asit türevlerinin açık formülleri ve IC ₅₀ değerleri	25
Şekil 11. Dapson ve nimesulid bileşiklerinin açık formülü ve IC ₅₀ değerleri	25
Şekil 12. Serotonin ve paroksetin bileşiklerinin açık formülleri ve paroksetin bileşiğinin IC ₅₀ değeri	26
Şekil 13. ABAH bileşiğinin açık formülü ve IC ₅₀ değeri	27
Şekil 14. En aktif hidrazit türevi bileşiklerin açık formülleri ve IC ₅₀ değerleri.....	27
Şekil 15. Salisilhidroksamik asit ve HX1 bileşiklerinin açık formülleri ve IC ₅₀ değerleri.....	28
Şekil 16. En aktif tiyoksantin türevlerinin açık formülleri ve IC ₅₀ değerleri.....	29
Şekil 17. En aktif 2(3H)-Benzoksazolon türevi bileşiğin açık formülü ve % inhibisyon değeri.....	29
Şekil 18. Triptofan bileşiğinin açık formülü ve IC ₅₀ değeri.....	30
Şekil 19. En aktif 3-(aminoalkil)-5-floroindol türevlerinin açık formülleri ve IC ₅₀ değerleri.....	31
Şekil 20. En aktif indazol ve indazolon türevi bileşiklerin açık formülleri ve IC ₅₀ değerleri.....	32
Şekil 21. En aktif triazolopirimidin türevlerinin açık formülleri ve IC ₅₀ değerleri ...	33
Şekil 22. En aktif kinazolin türevlerinin açık formülleri ve IC ₅₀ değerleri.....	34
Şekil 23. Klinik deneme aşamasındaki bileşiklerin açık formülleri	35
Şekil 24. Taurin kloramin deneyi reaksiyon şeması	46

Şekil 25. MPO enzimi tarafından katalize edilen reaksiyon sonucunda Amplex® Red bileşiğinin rezorufine oksidasyonu	49
Şekil 26. Gayakol bileşiğinin H ₂ O ₂ ile reaksiyonu sonunca tetragayakol yapısına oksidasyonu.....	52
Şekil 27. Taurin kloramin yönteminde gerçekleştirilen optimizasyon çalışması sonucunda elde edilen bulgular	110
Şekil 28. ABAH bileşiği ile gerçekleştirilen IC ₅₀ çalışmasına ait grafik.	111
Şekil 29. BS1, BS2, BS18, C21 ve C24 kodlu bileşiklerinin Ampleks Red deneyine ait IC ₅₀ grafikleri	116
Şekil 30. B serisi bileşiklerin MPO enzimi içerisindeki önerilen doking pozları....	119
Şekil 31. C serisi bileşiklerin MPO enzimi içerisindeki önerilen doking pozları....	120
Şekil 32: C21 bileşiğinin MPO enzimi içerisindeki önerilen doking pozu ile pirazol türevi bileşiğin MPO enzimi içerisindeki kristal yapısı	120
Şekil 33. C21 bileşiğinin MPO enzimi içerisindeki önerilen ve MD simülasyonunda başlangıç yapısı olarak kullanılan doking pozu	121
Şekil 34. MPO apo formu ve C21 -MPO kompleksinin ortalama karekök sapması grafiği.....	121
Şekil 35. C21 bileşiğinin MPO enzimi içerisindeki MD simülasyonundan elde edilen ortalama bağlanma modu	123
Şekil 36. MPO enziminin aktif yöresinde bulunan hem yapısının pirol halkası atomları ile C21 bileşiğinin benzen halkası atomları arasındaki mesafelerin çiziti.....	125
Şekil 37. C21 bileşiğinin benzen halkası atomları ile MPO enziminin hem yapısının pirol halkası atomlarının isimleri	126
Şekil 38. İnsan miyeloperoksidaz enzimi içerisindeki bileşik C21 'in bağlanmasına katkı sağlayan aminoasit artıkları ve artık başına enerji katkıları.....	127

Şemalar Dizini

Şema 1. Etil 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetat / Etil 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetat bileşiklerinin sentez şeması	37
Şema 2. 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidrazit bileşiklerinin sentez şeması.....	38
Şema 3. 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit türevlerinin sentez şeması.....	39
Şema 4. 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit metil esteri / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit metil esteri sentez şeması.....	40
Şema 5. N'-süstitüe-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit / N'-süstitüye-2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidrazit türevi bileşiklerin sentez şeması.....	41
Şema 6. BEst ve CEst kodlu bileşiklerin sentez şeması	129
Şema 7. B1 ve C1 kodlu bileşiklerinin sentez şeması	129
Şema 8. B2, B3 ve C2, C3 kodlu bileşiklerin sentez şeması	130
Şema 9. B4-B25 ve C4-C13, C15, C16, C18, C21-C24 kodlu bileşiklerin sentez şeması.....	130
Şema 10. 2,3-dihidro-2-okso-benzoksazol-3-asetohidrazit hidrazonu türevlerde rotamerik/geometrik izomerleri	133
Şema 11. Bileşiklerin öngörülen fragmantasyon şeması	151

Kısaltma Listesi

ABAH :	4-aminobenzoik asit hidraziti
ANCA :	Anti-nötrofil sitoplazmik antibody
APO-A1:	Apolipoprotein A1
Arg:	Arjinin
Asn :	Asparajin
Asp :	Aspartik asit
BHA :	Benzil hidroksamik asit
Cys :	Sistein
DMF:	Dimetilformamit
DMSO:	Dimetil sülfoksit
DNA :	Deoksiribonükleik asit
DTNB:	5,5'-Ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)
Gln :	Glutamin
Glu :	Glutamik asit
HDL :	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
His :	Histidin
IC ₅₀ :	%50 inhibitör konsantrasyon
İ.T.K. :	İnce Tabaka Kromatografisi
LDL :	Düşük yoğunluklu lipoprotein
Lys :	Lizin
Met :	Metiyonin
MPO :	Miyeloperoksidaz
MS :	Multipl skleroz
Phe :	Fenilalanin
Pro :	Prolin

RNA :	Ribonükleik asit
Ser :	Serin
SHA :	Salisilhidroksamik asit
TauNHCl :	Taurin kloramin
Thr :	Treonin
TMB :	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin
TNB:	5-tiyo-2-nitrobenzoik asit



1. Giriş

Enflamasyon, bağışıklık sisteminin patojenler, hasarlı hücreler, toksik bileşikler gibi zararlı uyarılara karşı oluşturduğu yanıttır (Medzhitov, 2010). Enflamasyon oluşumu sırasında amaç, vücutta tespit edilen tehlikeli bir durumun ortadan kaldırılması ve iyileşme sürecinin başlatılmasıdır. Enflamasyon bu nedenle sağlık için hayati önem taşıyan bir savunma mekanizmasıdır (Nathan ve Ding, 2010). Genellikle, akut enflamatuvar cevap sırasında vücutta hücresel ve moleküler olaylar ile hücreler arası etkileşimler yavaşlatılarak, enflamasyona neden olan hasar veya enfeksiyonun ortaya çıkarabileceği olumsuz etkiler en aza indirilir. Bu hafifletme süreci dokunun restorasyonuna katkıda bulunur ve dokuda homeostazın sağlanması ve sonrasında akut enflamasyonun ortadan kalkması şeklinde süreç tamamlanır. Bununla birlikte, kontrolsüz akut enflamasyon, kronik enflamasyona dönüşerek çok çeşitli enflamatuvar hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olabilir (Chen ve ark., 2018; Libby, 2007).

Enfeksiyon, yaralanma, doku hasarı veya kardiyak enfarktüs gibi pek çok patolojik faktör enflamasyon oluşumuna yol açabilir (Chen ve ark., 2018). Herhangi bir doku hasarı durumunda vücut, iyileşme sürecini başlatabilmek için öncelikle bir kimyasal sinyalizasyon süreci başlatır. Bu sinyaller, enflamasyon mediyatörlerinin salınmasını ve lökosit kemotaksisini aktive eder. Süreçte görevli olan hücreler hasarlı bölgeye doğru hareket eder ve bu bölgede birikir. Aktive olan bu lökositler, enflamasyon sürecini indükleyen sitokinleri üretir. Bu şekilde hasarlanan bölgede akut enflamasyon yanıtı oluşur (Kaminska, 2005; Kyriakis ve Avruch, 2001).

Enflamasyonun etiyolojileri, en basit olarak bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan nedenler olarak ikiye ayrılabilir. Bunlardan bulaşıcı olan sebepler; bakteriler, virüsler ve diğer mikroorganizmalar olarak sınıflandırılırken, bulaşıcı olmayan sebepler; yanık, donma, kesilme, çarpma gibi fiziksel travmalar, toksinler, kimyasal iritanlar, yağ asitleri, glikoz gibi kimyasal maddeler, hasarlı hücreler, vücut tarafından çeşitli amaçlarla salgılanan reaktif metabolitler gibi biyolojik etkenler veya uyarılma gibi fizyolojik durumlar olarak sayılabilir (Chen ve ark., 2018).

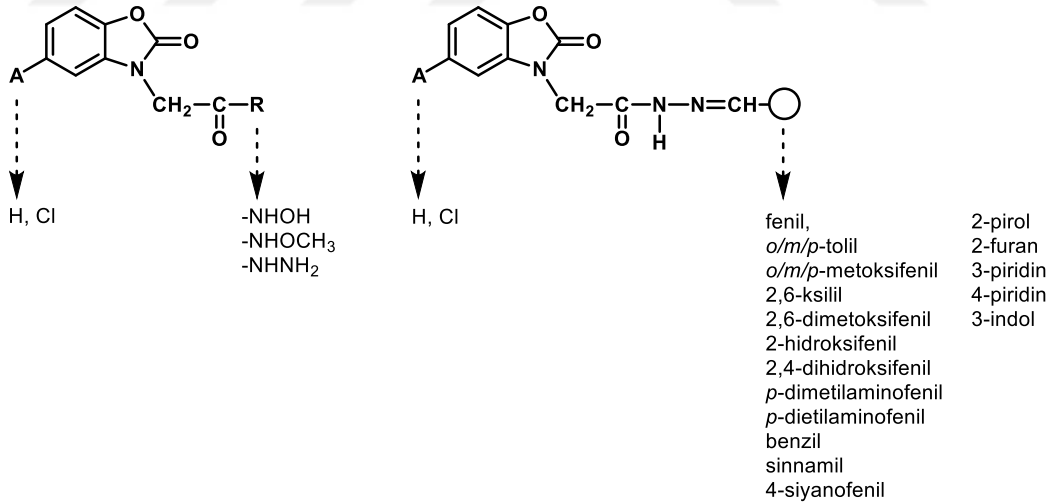
Miyeloperoksidaz (MPO), vücutta çeşitli reaktif ürünler oluşturarak mikroorganizmaların yok edilmesine aracılık eden, bağışıklık sisteminde görevli bir enzimdir. HOCl, kloramin, tirozil radikali ve azot dioksit gibi yüksek oranda oksitleyici türler bu reaktif ürünlerden bazılarıdır (Davies, Hawkins, Pattison ve Rees, 2008; Klebanoff, 2005; Zamocky, Jakopitsch, Furtmüller, Dunand ve Obinger, 2008).

MPO etkinliğini halojenasyon döngüsü ve peroksidasyon döngüsü adı verilen iki döngü üzerinden gerçekleştirir. Enzim dinlenme durumundayken yapısındaki hem grubu MPO- PorFe^{3+} halindedir ve bu yapıya Ferrik MPO (Ferric MPO) adı verilir. Enzimin aktivitesi Ferrik MPO'nun H_2O_2 aracılığıyla iki elektron kaybetmesi sonucunda Bileşik I adı verilen $\text{MPO}^{\cdot+}\text{PorFe(IV)}^+=\text{O}$ yapısının oluşmasıyla başlar, bu basamak her iki döngüde de ortak ve ilk basamaktır. Oluşan Bileşik I yapısı, halojenlerin kullanıldığı tek basamakta Ferrik MPO'ya geri dönebilir. Bu sırada MPO'nun karakteristik ürünleri sayılan hipohalöz asitler oluşur. Bu döngüye “Halojenasyon döngüsü” adı verilir. Fizyolojik şartlarda halojenasyon döngüsünün tercihli substratı klor olduğundan, bu döngü için bazı kaynaklarda “Klorinasyon döngüsü” adı da kullanılmaktadır. Enzimin aktivitesinden sorumlu olduğu kabul edilen HOCl bileşiği bu döngü sırasında oluşur (Klebanoff, 2005). Peroksidasyon döngüsü adı verilen ikinci döngüde ise Bileşik I'den Ferrik MPO'nun oluşumu iki basamakta gerçekleşir. Peroksidasyon döngüsünde, ilk basamağın sonunda MPO- $\text{PorFe}^{4+}\text{-OH}$ yapısındaki Bileşik II oluşur ve radikalik bir yan ürün ortaya çıkar. Bileşik II yeniden radikalik bir tepkime ile Ferrik MPO'ya dönüşür. Dolayısıyla peroksidasyon döngüsü sırasında radikalik reaktif ürünlerin oluştuğu bilinmektedir (Klebanoff, 2005; Lazarevic-Pasti, Leskovac ve Vasic, 2015; Soubhye, Aldib ve ark., 2016).

MPO, reaktif ürünlerini mikroorganizma girişi ile aktive olan fagositlerin içinde üretir ve fagolizozom adı verilen yapılar ortaya çıkar. Bununla birlikte, MPO ve reaktif ürünlerinin nedeni henüz tam olarak belirlenemeyen nedenlerle kontrolden çıkması durumunda fagolizozomlar parçalanır ve içeriği ekstraselüler sıvılara karışır. Bu durumda büyük bir oksidatif stres oluşur (Lazarevic-Pasti ve ark., 2015). Oksidatif stres önemli bir enflamasyon sebebidir. Dolayısıyla MPO oluşturduğu oksidatif stres nedeniyle ilgili pek çok kronik enflamatuvar hastalıkla ilişkilendirilmiş ve önemli bir terapötik hedef haline gelmiştir (Davies, 2010). MPO aktivitesinin ve pek çok hastalık

üzerindeki potansiyel rolünün ortaya çıkmasıyla, MPO inhibitörü bileşik geliştirme çalışmaları hız kazanmıştır (Desikan, Narasimhulu, Khan, Rajagopalan ve Parthasarathy, 2017; Galijasevic, 2019; Lazarevic-Pasti ve ark., 2015; Malle, Furtmüller, Sattler ve Obinger, 2007; Van Antwerpen ve Zouaoui Boudjeltia, 2015).

Tez çalışmamız kapsamında, daha önce MPO inhibitör etkisi açısından ümit vadeden bir çekirdek yapı olan 2(3*H*)-Benzoksazolon halkası temel olarak alınmış ve bu halkanın üzerindeki azot atomundan, metilen köprüsü aracılığıyla, yine MPO inhibitör aktivite açısından önemli olduğu önceki çalışmalarla belirlenmiş olan hidrazit ve hidroksamik asit işlevsel grupları bağlanmıştır (Davies ve Edwards, 1989; Forbes ve ark., 2013; Kettle, Gedye, Hampton ve Winterbourn, 1995; Kettle, Gedye ve Winterbourn, 1997; Malvezzi, Queiroz, De Rezende, Augusto ve Amaral, 2011; Soyer, Bas, Pabuccuoglu ve Pabuccuoglu, 2005) Tasarlanan bileşiklerde, hidrazit fonksiyonu çeşitli aldehitlerle hidrazonlarına dönüştürülmüş, hidroksamik asit türevlerinde ise metil esterleri hazırlanmıştır. 2(3*H*)-Benzoksazolon halkası üzerinde 5-kloro sübstitüentinin aktiviteye etkisinin değerlendirilmesi amacıyla, 5-kloro-2(3*H*)-Benzoksazolon halkası da çalışmaya dahil edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Tasarlanan bileşiklerin genel yapısı

Çalışmamızda tasarlanan bileşikler sentez edilmiş, MPO enziminin klorinasyon döngüsü üzerindeki inhibitör etkinlikleri tayin edilmiştir. Önemli ölçüde inhibitör etkinlik gösterdiği belirlenen bileşiklerin peroksidasyon döngüsü üzerindeki inhibitör etkinlikleri de belirlenmiş, ayrıca enzim afinitelerini tayin etmek amacıyla gayakol oksidasyon testi uygulanmıştır. Bu bileşiklerin HOCl süpürme aktivitesi de tayin edilmiştir (Van Antwerpen ve ark., 2007; Capeillère-Blandin, 1998; Debski ve ark., 2016; Li ve ark., 2015; Nève, Parij ve Moguilevsky, 2001; Roth ve ark., 2014; Soubhye, Meyer ve ark., 2016). MPO enziminin klorinasyon döngüsünde en yüksek etkinlik gösteren ve IC₅₀ değerleri belirlenmiş olan bileşiklerin enzimle muhtemel etkileşimleri de moleküler modelleme çalışmaları ile değerlendirilmiştir.



2. Genel Bilgiler

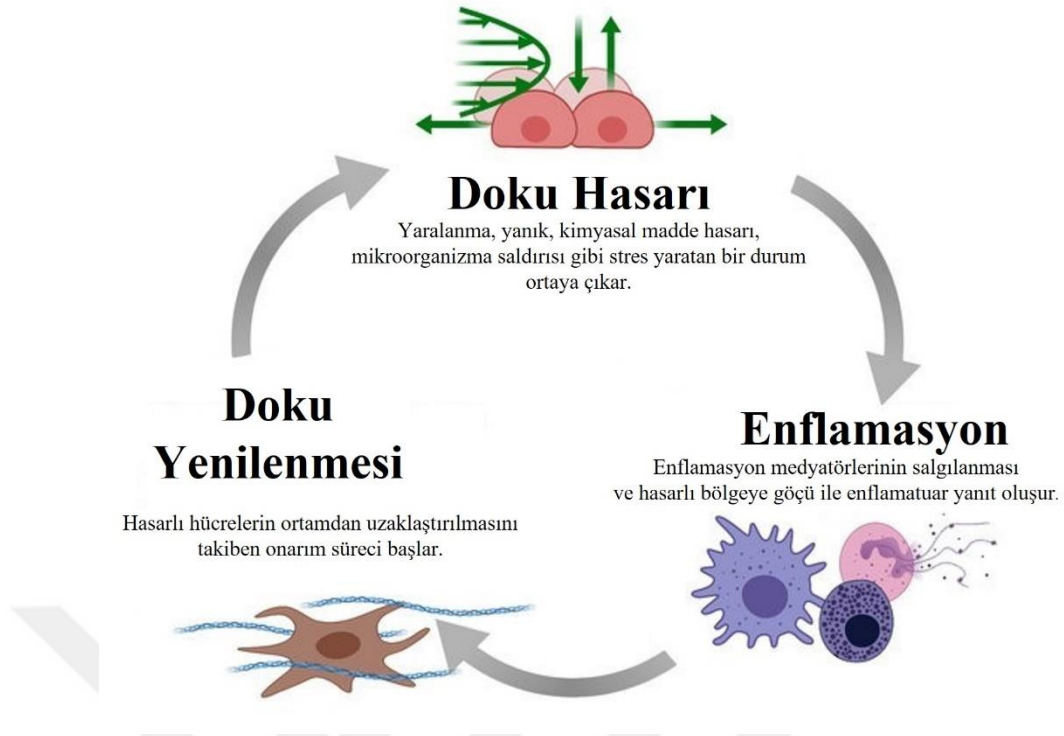
2.1. Enflamasyon

Enflamasyon, vücuttaki fiziksel, kimyasal ya da mikroorganizma kaynaklı hasarlanmalara karşı gelişen biyolojik yanıttır. Bu nedenle enflamasyon, konakçıyı her türlü hasar ve tehditten koruyan ve bu tehdidin uzaklaştırılmasına aracılık eden bir savunma mekanizmasıdır (Chen ve ark., 2018; Libby, 2007).

Enflamatuvar yanıtın şekli uyarının tipine ve vücudun hangi bölümünün etkilendiğine göre değişiklik gösterse de temelde benzer bir mekanizma sonucunda ortaya çıkar ve basitçe şu şekilde özetlenebilir (Kaminska, 2005; Kyriakis ve Avruch, 2001; Medzhitov, 2010);

- Konakçı için tehdit oluşturan bir durum ortaya çıkar (doku bütünlüğünün bozulması, kimyasal maruziyeti, vücuda mikroorganizma girişi vb.).
- Hücrelerin yüzeyindeki enflamatuvar süreçte görevli reseptörler uyarıyı algılar.
- Enflamatuvar yollar aktif hale geçer.
- Enflamasyon mediyatörleri salınır.
- Süreçte görevli olan hücreler etkilenen bölgeye göç eder ve birikir.

Bu mekanizmanın sonucunda, öncelikle bölgede hasar görmüş hücrelerin temizlenmesi ve uzaklaştırılması, sonrasında ise dokunun tamiri ve yeniden yapılandırılması şeklinde iyileşme süreci tamamlanır (Şekil 2) (Chen ve ark., 2018; Libby, 2007).



Şekil 2. Akut enflamasyon süreci (Viola ve ark., 2019)

Fizyolojik şartlar altında enflamatuvar yanıt, dokudaki iyileşmenin ardından ortadan kalkar. Bu süreç genellikle dokudaki stresi yaratan durumun ortaya çıkışından sonra dakikalar içinde başlayan ve 7-10 gün içinde tamamlanan bir süreçtir ve “akut enflamasyon” olarak adlandırılır (Hunter, 2012; Libby, 2007; Medzhitov, 2010). Adından da anlaşıldığı üzere genellikle yara, yanık gibi fiziksel bir hasar, kimyasal maruziyeti ya da vücuda mikroorganizma girişi gibi aniden ortaya çıkan sebeplere dayanır, hızlı bir cevap oluşturur. Hasar gören hücrelerin ortamdan uzaklaştırılması ve tamiri sonrasında enflamasyon süreci tamamlanır (Chen ve ark., 2018).

Bazı durumlarda enflamatuvar yanıt, enflamasyonun oluşmasına neden olan etkeni ve etkilenen dokuyu aşarak sistemik bir hale gelebilir. Bu durum “kronik enflamasyon” adıyla anılır (Ferrero-Miliani, Nielsen, Andersen ve Girardin, 2007; Furman ve ark., 2019). Kronik enflamasyon, akut enflamasyonda olduğu gibi bir iyileşme süreci değil, aksine etkilediği dokularda strese ve harabiyete yol açan bir durumdur ve pek çok kronik hastalığın oluşmasında temel etkindir. Bu nedenle kronik enflamasyonun önlenmesi ve tedavisi araştırmacılar için ilgi çeken bir terapötik hedeftir (Chen ve ark., 2018; Furman ve ark., 2019; Hunter, 2012; Reuter, Gupta, Chaturvedi ve Aggarwal, 2010).

2.1.1. Enflamasyon Süreci

Dokuda hasar oluşması sonucunda, hücre zarında bulunan enflamasyon sürecinden sorumlu reseptörler uyarılır ve sinyal yolları devreye girer, hücreler aktive olur. Bunun sonucunda hasarlı bölgeye enflamatuar süreçte görevli olan hücrelerin göçü başlar ve enflamatuar yanıtı oluşturacak olan kimyasal maddeler üretilir. Bu maddeler “enflamasyon mediyatörleri” olarak bilinirler ve enflamasyon sürecinden sorumludurlar (Chen ve ark., 2018; Hunter, 2012; Lopresti, Maker, Hood ve Drummond, 2014; Medzhitov, 2010).

2.1.1.1. Sitokinler

Sitokinler, hücrelerdeki kendilerine özel olan reseptörlere bağlanarak immün yanıtı destekleyen sinyal molekülleridir. Reseptöre bağlanmalarını takiben hücreyi aktif hale getirir ve enflamatuar süreci başlatır veya bitirirler. Enflamasyon sürecini başlatan türler “pro-enflamatuar sitokinler”, bitiren türler ise “anti-enflamatuar sitokinler” olarak adlandırılır (Chen ve ark., 2018; Zhang ve An, 2007).

Düşük molekül ağırlıklı olmaları ve suda kolay çözünabilmeleri sayesinde kolayca taşınabilirler, bu sayede sınırlı bir bölgede etkili olabildikleri gibi sistemik olarak da etki göstermeleri mümkün olur (Turner, Nedjai, Hurst ve Pennington, 2014; Zhang ve An, 2007).

Sitokinlerin sağladığı aktivasyon sonrasında, interlökinler sentezlenir ve ortama salınır. Bunlar, özellikle edinilmiş bağışıklığın sağlanmasında önemli rolü olan yapılardır. Enflamasyon sürecinin ilerleyişini kontrol ederler. Özellikle, lökositlerin üretimi ve hasarlı bölgeye ulaştırılması aşamalarında önemli görevleri vardır. Bununla birlikte, lökositlerin enflamasyon alanına kemotaksisini sağlayan diğer bir grup mediyatör “kemokinler” olarak adlandırılır (Chen ve ark., 2018; Reuter ve ark., 2010).

Tümör Nekrozis Faktör (TNF), makrofajlardan salınan ve pro-enflamatuar dönemde önemli rol oynayan bir başka mediyatördür. TNF’nin rolü hasarlı dokudaki apoptozun başlatılmasıdır (Ferrero-Miliani ve ark., 2007; Lopresti ve ark., 2014; Reuter ve ark., 2010).

Bir diğerk grup mediyatörler, interferonlar (IFN) adı verilen yapılardır. Bu yapıların asıl görevi, virüslere karşı gelişen edinilmiş bağışıklıkta oynadıkları roldür (Libby, 2007; Lopresti ve ark., 2014; Netea ve ark., 2017).

2.1.1.2. Lipit Yapıdaki Mediyatörler

Genellikle enflamasyonun ilk dönemlerinde etkilidirler. Sitokinler gibi bu maddeler de enflamasyon alanına gerçekleşen kemotaksis olaylarının düzenlenmesinde rol oynadıkları gibi, hücrelerin hasarlı bölgeye ulaşımını hızlandırmak ve kolaylaştırmak için kan akımını artırmak amacıyla, vazodilatasyon, düz kaslarda gevşeme ve vasküler geçirgenlikte artış sağlama gibi etkiler de oluşturabilirler. Bu yapılar; Prostaglandinler (PG), Tromboksanlar (TX), Lökotrienler (LT) ve Doku faktörü (TF) olarak sayılabilir (Fullerton ve Gilroy, 2016; Libby, 2007; Netea ve ark., 2017).

2.1.1.3. Diğerk Mediyatörler

Bazı maddeler kimyasal özellikleri nedeniyle enflamasyon kaynağı olarak davranabilirler, mevcut enflamasyon sürecini şiddetlendirebilir ve iyileşmeyi engelleyebilirler. Bu maddelerin en bilinen örneklerinden bazılarının Reaktif Oksijen Türevleri (ROS-Reactive Oxygen Species) ve Reaktif Azot Türevleri (RNS-Reactive Nitrogen Species) olduğu söylenebilir. Bu yapılar, serbest radikalik yapıdadır ve kimyasal kararsızlıkları nedeniyle önemli bir oksidatif stres kaynağıdırlar (Ramachandra ve ark., 2020; Reuter ve ark., 2010).

Bu maddelerle birlikte, serbest radikal yapıda olmasalar da hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloröz asit ($HOCl$), hipobromöz asit ($HOBr$), ozon (O_3), nitröz asit (HNO_2), organik peroksitler ($ROOH$), aldehytler ($HCOR$) ve peroksinitrit ($ONOOH$) gibi bileşikler benzer etkiye sahip olan maddeler olarak sayılabilirler (Chen ve ark., 2018; Kaminska, 2005).

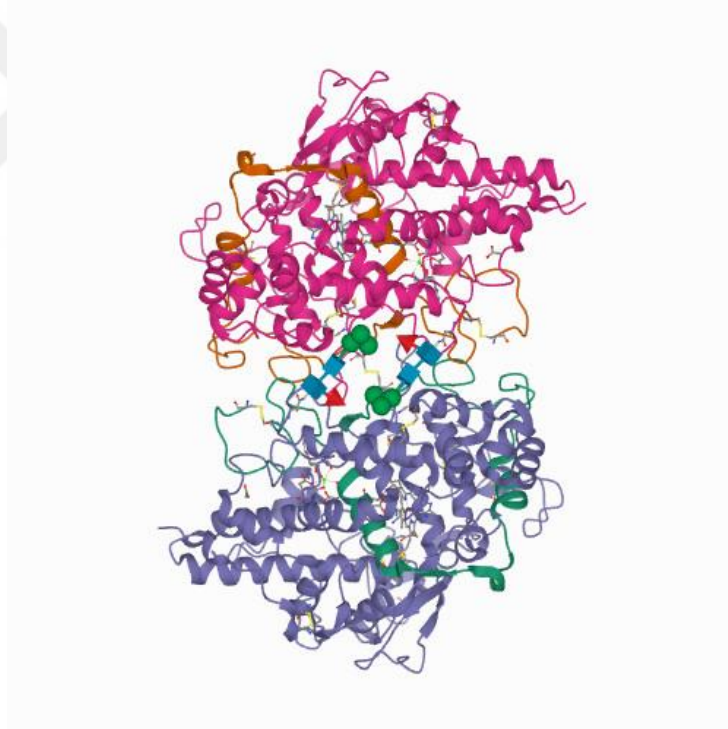
2.1.2. Enflamasyonun İyileşmesi

Akut enflamasyonun ilerleyerek kronik enflamasyona dönüşmesini ve dolayısıyla dokularda harabiyete sebep olmaya başlamasını önlemek için enflamatuvar cevap mekanizmalarının baskılanması gerekmektedir. Normal şartlar altında enflamasyonun iyileşmesi vücut tarafından iyi yönetilen bir süreçtir ve enflamasyona cevap olarak üretilmiş olan mediyatörlerin miktarının zaman içerisinde kontrollü olarak azalması ile seyreder (Chen ve ark., 2018; Fullerton ve Gilroy, 2016; Furman ve ark., 2019; Medzhitov, 2010; Netea ve ark., 2017). Mediyatörlerin miktarı, hücrelerin bunları algılamadığı seviyeye düştüğünde enflamasyon cevabı süreci tamamlanmış olur. Bu sürecin düzenlenmesinde ortaya çıkan sorunlar akut enflamasyonun çözülememesine ve kronik enflamasyona dönüşmesine yol açar. Kronik enflamasyonun, kardiyovasküler hastalıklar, çeşitli kanserler, tip2 diyabet, romatoid artrit, nörodejeneratif hastalıklar gibi pek çok hastalığın oluşmasında etken olduğu bilinmektedir (Ferrero-Miliani ve ark., 2007; Furman ve ark., 2019; Libby, 2007; Reuter ve ark., 2010). Bu mekanizmanın anlaşılması ve kronik enflamasyonun oluşmasına ortam hazırlayan etkenlerin ortadan kaldırılması hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde önemli bir yaklaşımdır (Chen ve ark., 2018; Fullerton ve Gilroy, 2016; Libby, 2007).

2.2. Miyeloperoksidaz (MPO)

2.2.1. Yapısı

MPO yapısal olarak 146 kDa kütleye sahip katyonik, dimerik bir proteindir. Cys153 amino asidinden bir sistin köprüsü ile bağlanan 73 kDa kütleli iki monomerden oluşur. Eşit ve işlevsel olarak bağımsız olan her monomer, 58.5 kDa kütleli, 467 amino asitten oluşan ağır zincir ve 14.5 kDa kütleli, 106 amino asitten oluşan hafif zincir olmak üzere iki birimden meydana gelir. Bunlardan ilki glikozillenir ve protoporfirin IX aktif bölgesini oluşturur. Hem grubu, çoğu molekülün erişimini engelleyen derin bir cebin içinde olup H_2O_2 ve küçük anyonlar demir atomuna ulaşabilirler. Bunlar dışında kalan moleküller çoğunlukla distal hem boşluğunun girişinde bulunan hidrofobik cep kısmında enzime bağlanır (Davies ve Hawkins, 2020; Davies ve ark., 2008; Malle ve ark., 2007). Miyeloperoksidaz enziminin yapısı Şekil 3'te gösterilmiştir.

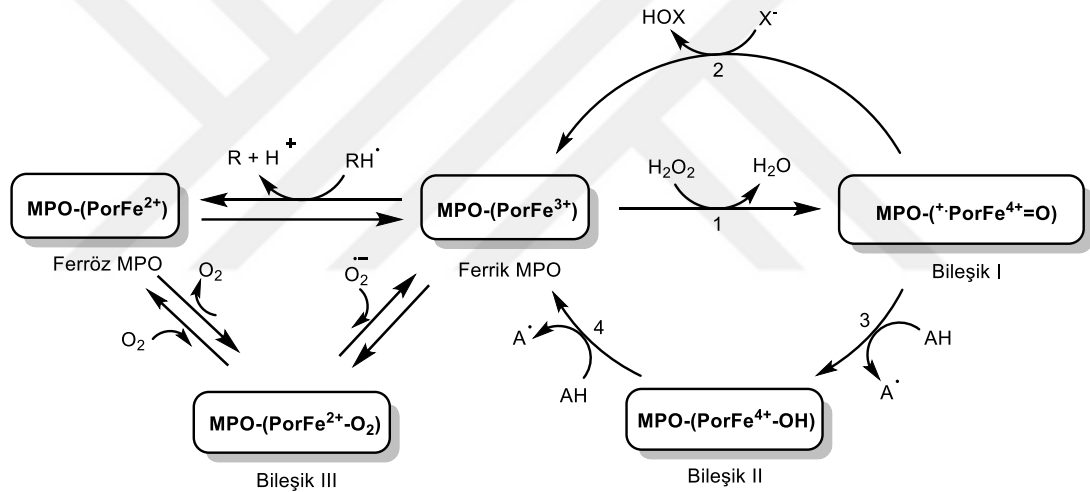


Şekil 3. Miyeloperoksidazın yapısı* (Fiedler, Davey ve Fenna, 2000)

*Birinci alt ünitedeki ağır zincir pembe, hafif zincir turuncu renkle, ikinci alt ünitedeki ağır zincir mor, hafif zincir yeşil renkle temsil edilmiştir. Yapıdaki “hem” grupları gri renk ile gösterilmiştir.

2.2.2. Mekanizması

MPO aktivasyonu H_2O_2 'nin aktif yöreyle bağlanması ile gerçekleşir. Enzim doğal durumundayken yapısındaki hem grubu Ferrik (Fe^{3+}) haldedir. H_2O_2 'nin aktif bölgeye bağlanması ve heterolitik olarak parçalanması sonucunda, demir atomuna oksijen bağlanır ve Bileşik I adı verilen, hem grubunda oksiferril (Fe(IV)=O) yapısı taşıyan formu oluşur. Bu yapı 6 değerlik elektronu taşıdığından oldukça kararsızdır ve oksidan özelliği yüksektir. Bileşik I indirgenerek yeniden enzimin doğal formu olan Ferrik MPO'yu oluşturma eğilimindedir. Bu geri dönüşüm tek basamakta iki elektronu içeren bir redüksiyonla (Halojenasyon döngüsü) veya her basamakta tek elektron değişimi içeren ardışık iki basamaklı bir redüksiyonla (Peroksidasyon döngüsü) gerçekleşebilir (Desikan ve ark., 2017; Klebanoff, 2005; Lazarevic-Pasti ve ark., 2015; Soubhye, Aldib ve ark., 2016) (Şekil 4).



Şekil 4. MPO enziminin mekanizması*

* H_2O_2 'nin enzime bağlanmasıyla Ferrik MPO'nun Bileşik I'e dönüştüğü 1 numaralı basamak her iki döngüde ortak ve ilk basamaktır. 1 ve 2 numaralı basamaklar "Halojenasyon Döngüsü"; 1, 3 ve 4 numaralı basamaklar "Peroksidasyon Döngüsü" adıyla bilinmektedir.

2.2.2.1. Halojenasyon Döngüsü

Bu döngüde oluşan Bileşik I ($\text{MPO}^{\cdot+}\text{-PorFe(IV)}^+=\text{O}$), halojenür veya psödohalojenürlerin aracılık ettiği iki elektronluk bir indirgenme sonucunda üzerindeki oksijeni kaybeder ve Ferrik MPO (MPO-PorFe^{3+}) haline geri döner. Bu sırada hipohalöz/psödohipohalöz asitler ortaya çıkar (Şekil 4; 1 ve 2 numaralı basamaklar). Ortaya çıkan bu reaktif ürünlerin, MPO'nun hem fizyolojik hem patofizyolojik rolü üzerindeki en önemli etkenler olduğu düşünülmektedir (Desikan ve ark., 2017; Klebanoff, 2005; Lazarevic-Pasti ve ark., 2015).

Enzimin halojen bağlanma bölgesi Met-243 ile hem arasındaki pozitif yüklü bölgedir. Bu bölge taşıdığı sülfonyum yapısından dolayı elektronca fakirdir ve halojenlerin bağlanması için uygun bir ortam oluşturur (Fiedler ve ark., 2000; Forbes ve Kettle, 2017).

MPO'nun halojenasyon döngüsünde fizyolojik ortamda bulunan tüm halojenlerin yükseltgenme eğilimi aynı değildir ve bazı faktörlere bağlıdır. Bu faktörler, halojenlerin yapısal farklılıkları, yükseltgenme potansiyelleri, fizyolojik ortamdaki konsantrasyonları gibi etkenler olarak sayılabilir. Bu nedenle halojenasyon döngüsü sonucunda oluşan hipohalöz asitlerin miktarı çeşitlilik gösterir. Örneğin, iyodürün oksidasyon potansiyeli yüksektir ancak fizyolojik ortamdaki konsantrasyonu düşüktür ($0.1\text{-}0.6\ \mu\text{M}$), ayrıca yapısal olarak halojen bağlanma bölgesi için büyük bir atomdur. Bu nedenle iyodürün MPO halojenasyon döngüsünde iyi bir substrat olduğu söylenemez. Bileşik I için en iyi substratlar klorür ve tiyosiyanattır (Van Dalen, Whitehouse, Winterbourn ve Kettle, 1997). Tiyosiyanatın oksidasyon potansiyeli daha iyi olmasına rağmen fizyolojik ortamda az miktarda bulunduğundan ($20\text{-}100\ \mu\text{M}$), halojenasyon döngüsündeki birinci tercihtir anyon fizyolojik ortamda en fazla bulunan ($100\text{-}150\ \text{mM}$) klorürdür ve dolayısıyla en fazla miktarda oluşan ürün hipokloröz asittir (Furtmüller, Burner ve Obinger, 1998).

2.2.2.2. Peroksidasyon Döngüsü

Bu yolla bileşik I iki basamakta gerçekleşen tek elektronlu reaksiyonlar sonucunda önce Bileşik II adı verilen oksoferril kompleksine ($\text{MPO-PorFe}^{4+}\text{-OH}$), daha sonra enzimin başlangıç formu olan Ferrik MPO'ya dönüşür (Şekil 4; 1,3 ve 4 numaralı basamaklar) (Desikan ve ark., 2017; Klebanoff, 2005; Lazarevic-Pasti ve ark., 2015).

Bileşik I önce uygun bir substrattan tek bir elektron alır ve bu tepkime sonucunda bir serbest radikalik ürün ve enzimin Bileşik II adı verilen formu oluşur. Bileşik II düşük indirgenme eğilimine sahiptir. Bileşik I'e göre etkileşim gösterebileceği substratlar daha sınırlıdır, indirgenme hızı da Bileşik I'e göre daha yavaştır. Dolayısıyla peroksidasyon döngüsünün hızını belirleyen basamak Bileşik II'nin indirgenerek Ferrik MPO'yu oluşturduğu basamaktır (Furtmüller, Arnhold, Jantschko, Pichler ve Obinger, 2003; Klebanoff, 2005).

Bu döngüde kullanılabilen substratlara örnek olarak serotonin, ürik asit, tirozin ve askorbik asit verilebilir (Lazarevic-Pasti ve ark., 2015; Soubhye, Aldib ve ark., 2016)

Bileşik I için iyi, Bileşik II için kötü substrat olan bileşikler enzimin Bileşik II formunda birikmesine yol açmaktadır ve bu potansiyel bir inhibisyon mekanizması olarak önerilmiştir (Furtmüller ve ark., 1998; Soubhye, Meyer ve ark., 2016).

2.2.2.3. Bileşik III Oluşumu

Enzimin katalitik döngüsünde daha az dikkat çeken bir diğer süreç, Bileşik III adı verilen formun oluşumudur. Gerekli koşullar sağlandığında, ortamda bulunan süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), Ferrik MPO'ya bağlanır ve Bileşik III ($MPO-Por(Fe^{2+})-O_2$) yapısı oluşur (Kettle, Anderson, Hampton ve Winterbourn, 2007; Winterbourn ve Kettle, 2004). Bileşik III oluşumunun bir diğer yoluysa, Ferrik MPO'nun bir serbest radikal ile reaksiyonu sonucunda Fe^{2+} atomu içeren Ferröz MPO ($MPO-Por(Fe^{2+})$) oluşumunu takiben bu yapıya bir adet O_2 molekülünün katılmasıdır (Burner, Obinger, Paumann, Furtmüller ve Kettle, 1999).

Bileşik III enzimin inaktif kabul edilen halidir. Ferrik MPO'nun geri kazanılması ancak çok yavaş bir reaksiyon sonucunda gerçekleşebildiğinden, Bileşik III formu enzimin “kör uç/çıkılmaz (dead-end)” noktası kabul edilir. Bu nedenle, Bileşik III'ün oluşması hem halojenasyon hem peroksidasyon döngülerinin inhibe olması anlamına gelmektedir (Burner ve ark., 1999; Kettle ve Winterbourn, 1988).

2.2.3. Miyeloperoksidazın Oksidatif Stres ve Enflamasyondaki Rolü

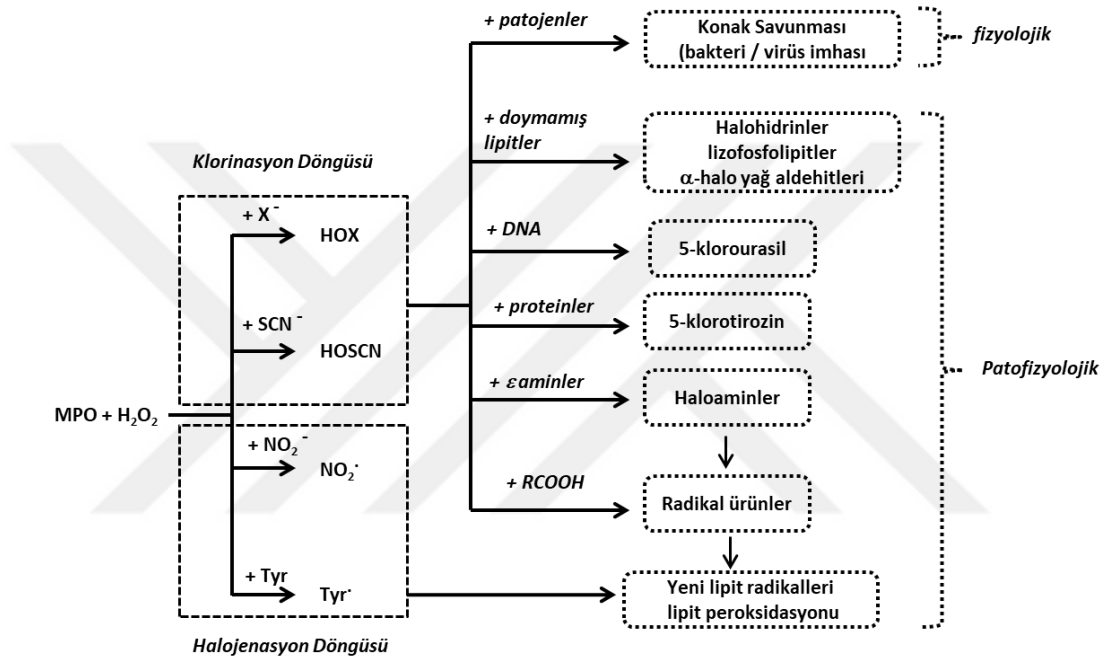
Enflamasyon, pek çok kronik hastalıkta önemli rol oynar. Oksidatif stresin çoğunlukla enflamasyonun kaynağı olduğu düşünülmektedir. Antioksidan bileşiklerin enflamasyon tedavisinde etkili olduklarına dair pek çok çalışma mevcuttur (Boufadi ve ark., 2014; Nastasijević ve ark., 2012; Podrez, Abu-Soud ve Hazen, 2000; M. L. Zeraik ve ark., 2012).

MPO, ürettiği reaktif ürünler ile bağışıklık sisteminde mikroorganizmaların yok edilmesinde görev almaktadır. MPO'nun ürettiği HOCl, kloramin, tirozil radikali, azot dioksit gibi bileşikler oldukça oksidan karakterlidir ve normal şartlar altında fagositlerin aktivasyonunu takiben fagolizozom adı verilen yapıların içerisinde salgılanırlar. Ancak MPO ve bu reaktif ürünler sadece fagolizozomların içinde değil hücre dışında da aktiftirler. Patolojik durumlarda fagolizozomların içeriğinin ekstraselüler alana salınmasıyla MPO ve reaktif ürünleri konak dokuda oksidatif stres ve hasar oluşturmaya başlar (Tiden ve ark., 2011).

MPO'nun hangi şartlar altında kontrolden çıktığı ve nötrofillerden dışarı salındığı hala tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte potansiyel birkaç senaryo üzerinde durulmaktadır. Bunlar,

- Nötrofilin uyarılması sonucu artan oksidatif stres nedeniyle sistemin kontrolden çıkması ve içeriğinin ekstraselüler ortama salınması
- Nötrofilin dolayısıyla fagozomun içine almaya çalıştığı bakterinin fazla büyük olması nedeniyle fagolizozomun tam olarak kapanamaması ve içeriğinin ekstraselüler ortama salınması
- Nötrofilin mikroorganizmaları hücrenin dışında yok etmek için içeriğini istemli olarak dışarı salgılaması
- Nötrofilin apoptozu sonucunda içeriğinin hücre dışına salınması şeklinde özetlenebilir (Forbes ve Kettle, 2017).

MPO'nun ve reaktif ürünlerinin hücre dışına salınması konağın dokularında oksidatif strese ve dolayısıyla hasara neden olur. Oksidatif stres daha önce belirtildiği gibi bilinen en önemli enflamasyon sebeplerindendir. Dolayısıyla MPO kaynaklı hücre hasarı özellikle kronik enflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (Van Antwerpen ve ark., 2007; Aratani, 2018; Lazarevic-Pasti ve ark., 2015; Malle ve ark., 2007; Soubhye, Aldib ve ark., 2016; Soubhye, Meyer ve ark., 2016; Van Antwerpen ve ark., 2008; Van Antwerpen ve Zouaoui Boudjeltia, 2015). Miyeloperoksidazın ürettiği fizyolojik ve patofizyolojik metabolitler Şekil 5'te özetlenmiştir.



Şekil 5. Miyeloperoksidazın, klorinasyon ve peroksidasyon döngülerinde ürettiği ve fizyolojik ve patolojik rollerle ilişkilendirilen, primer ve sekonder metabolizma ürünleri

2.2.4. Hastalıklarla İlişkisi

2.2.4.1. Santral Sinir Sistemi Hastalıkları

Nörodejeneratif hastalıklar, çoğunlukla beyinde nöron kaybı ile karakterize hastalıklardır. Bu hastalıklara örnek olarak Alzheimer, Parkinson, multipl skleroz, depresyon, inme ve epilepsi hastalığı verilebilir (Green ve ark., 2004; Pravalika ve ark., 2018).

Beyinde MPO'nun da katkılarıyla artmış oksidatif stres, nöronların hasarlanmasına ve hücre ölümüne yol açar. Aynı zamanda, hücrelerdeki enerji metabolizmasının bozulması da bu hastalıkların oluşmasına ortam hazırlayan sebeplerden biridir (Pravalika ve ark., 2018; Ray ve Katyal, 2016).

2.2.4.2. Renal Hastalıklar

Glomerüler membranlarda MPO aracılığıyla oluşan hasar renal hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Bu hasardan çoğunlukla MPO'nun en temel ürünü kabul edilen HOCl sorumludur (Klebanoff, 2005; Soubhye, Aldib ve ark., 2016).

Glomerülonefrit hastalığı oluşmasında, “Antinötrofil Sitoplazmik Antibody (ANCA)” adı verilen bir yapının önemli etkisi vardır. Bu yapı, fizyolojik şartlarda nötrofilleri hedef alan bir otoantikordur. ANCA tarafından hedef alınan nötrofil uyarılır ve MPO salgılamaya başlar ve sonuç olarak MPO üretimini takiben ortamda artan HOCl, oksidatif stres ve endotelial hasara sebep olur (Malle, Buch ve Grone, 2003).

2.2.4.3. Kardiyovasküler Hastalıklar

Yapılan çalışmalar, MPO'nun ateroskleroz hastalığına neden olduğunu ortaya koymuştur. Bu hastalığın oluşmasında MPO'nun nasıl bir etkisinin olduğuyla ilgili birkaç farklı açıklama önerilmiştir (Daugherty, Dunn, Rateri ve Heinecke, 1994; C. Liu ve ark., 2012; Podrez ve ark., 2000).

Ekstraselüler ortama salınmış olan MPO, LDL ve HDL'yi oksitleyerek yapılarının bozulmasına sebep olur (Hazen ve Heinecke, 1997; Koeth, Haselden ve Tang, 2013; Nicholls ve Hazen, 2005).

LDL'nin oksitlenmesi, “köpük hücresi” adı verilen ve damar duvarında birikerek hasara neden olan hücrelerin oluşumu ile sonuçlanır (Koeth ve ark., 2013). LDL'nin yapısında bulunan L-tirozin yapısı, MPO tarafından üretilen HOCl tarafından klorlanır ve 3-klorotirozin yapısı oluşur. Bu yapının aterosklerotik plaklarda saptanması sonucunda, 3-klorotirozin yapısı, MPO'nun aterosklerozdaki etkisini tespit etmek için kullanılan bir biyobelirteç (biyomarker) olarak değerlendirilmiştir (Hazen ve Heinecke, 1997; Nicholls ve Hazen, 2005).

HDL, ateroskleroza karşı koruyucu özelliktedir. Fazla kolesterolün karaciğere taşınmasından ve dolaşımdaki yükün hafifletilmesinden sorumludur. HDL'nin MPO

tarafından oksitlenmesi bu görevini yapmasına engel olur ve HDL ateroprotektif özelliğini kaybeder (Koeth ve ark., 2013; Nicholls ve Hazen, 2005).

Nitrik oksit (NO) de normal endotelial fonksiyonun sürdürülmesinde görevli olan bir maddedir. NO'nun azalması aterosklerozun karakteristik özelliklerindendir. NO, MPO'nun doğal bir substratıdır. Dolayısıyla ortamda serbest MPO bulunduğu durumlarda NO tüketilmekte ve miktarı azalmaktadır. Bu süreçte NO miktarının azalmasının zaten damar duvarı üzerinde olumsuz etkileri söz konusuysa, aynı zamanda reaksiyon sırasında ortaya çıkan reaktif ürünler de oluşan hasarı artırmaktadır (Koeth ve ark., 2013; Nicholls ve Hazen, 2005)

MPO'nun neden olduğu kardiyovasküler hastalıklar aterosklerozla sınırlı değildir. Miyokard infarktüsü, atriyal fibrilasyon, hipertansiyon, abdominal aort anevrizmaları gibi daha pek çok hastalıkta MPO'nun etkisini gösteren çalışmalar mevcuttur (Koeth ve ark., 2013; Ndrepepa, 2019; Nicholls ve Hazen, 2005; Ramachandra ve ark., 2020; Ruggeri ve ark., 2015).

2.2.4.4. Kanser

MPO ve oluşturduğu reaktif ürünler konağın DNA ve RNA'sı üzerinde hasar oluşumuna sebep olursa, bunu izleyen mutasyonları takiben kanser oluşumuna yol açabilir.

Bu süreçte MPO doğrudan DNA ve RNA üzerinde oksidasyon ile hasar oluşturabileceği gibi, nükleik asitlerin/bazların sentezinde görevli olan lipit ya da protein yapılı ara ürünleri bozarak yanlış sentezlenmelerine de neden olabilir. Her iki durumda da mutasyon ve dolayısıyla kanser oluşumu kaçınılmaz bir sonuç olarak görülmektedir (Reuter ve ark., 2010; Valadez-Cosmes, Raftopoulou, Mihalic, Marsche ve Kargl, 2022).

MPO'nun istenmeyen etkilerinin sebep olduğu diğer hastalıklardan bazıları; romatoid artrit, solunum sistemi hastalıkları (astım, kistik fibröz, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), Tip2 Diyabet olarak sayılabilir (M. J. Davies, 2010; Klebanoff, 2005; E. Malle ve ark., 2007; Soubhye, Aldib ve ark., 2016). Yapılan çalışmalarla her geçen gün MPO'nun hastalıkların gelişimi üzerindeki yeni rolleri ortaya çıkmakta ve

bu da terapötik bir strateji olarak MPO inhibisyonu üzerindeki ilginin artmasına neden olmaktadır.

MPO'nun sözü geçen hastalıklarla ilişkilendirilmesine sebep olan bulgular aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Vücutta etkili olduğu sistemlere göre MPO'nun neden olduğu bazı hastalıklar ve bulguları (Soubhye, Aldib ve ark., 2016)

Sistem	Hastalık	Bulgular
Santral Sinir Sistemi	Multipl Skleroz (MS)	MS lezyonlarında nötrofil ve MPO birikimi.
	Alzheimer Hastalığı (AD)	Beyinde ditirozin, (di-Tyr) klorotirozin (Cl-Tyr) ve MPO bulunması.
	Parkinson Hastalığı (PD)	Substantia nigra'da MPO birikimi.
	Nörodejenerasyon	Serebrospinal sıvıda oksitlenmiş serotonin ürünlerinin (serotonin dimeri ve triptamin-4,5-dion) bulunması
Böbrekler	Glomerülonefrit	Membranlarda MPO ve nötrofil birikimi. MPO spesifik antinötrofil sitoplazmik antibody (MPO-ANCA) artışı.
	Tübülointerstisyel Nefrit	MPO-ANCA artışı, tübüllerde Cl-Tyr bulunması
	Böbrek Yetmezliği	Hemodiyaliz hastalarında Cl-Tyr artışı
Kalp-Damar Sistemi	Ateroskleroz	Aterom plaklarda MPO birikimi. LDL, HDL ve endotelial hücrelerin yapısında Cl-Tyr ve 3-nitrotirozin (3-nitro-Tyr) bulunması
Kanser	Akciğer Kanseri	DNA ve RNA hasarı, klorlanmış, okside olmuş ve çapraz bağlanmış nükleotidler
	Over Kanseri	
	Renal Kanser	
	Larinks Kanseri	
	Mesane Kanseri	
	Hepatoblastoma Tümörü	
	Özofajiyal Karsinoma	

2.2.5. MPO İnhibisyon Mekanizmaları

Miyeloperoksidazın hastalıklarla ilişkisinin anlaşılması üzerine, enzimin inhibe edilmesi ilgi çeken bir tedavi stratejisi haline gelmiştir. Bu bağlamda MPO inhibisyonunun, hastalıkların temelinde yatan etkeni hedeflemesi nedeniyle, yeni bir tedavi ve profilaksi sağlayabileceği yönünde ümitler vardır.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda enzimin olumsuz etkilerinin ortadan kaldırılmasına yönelik genel olarak üç yaklaşım üzerinde durulmuştur (Lazarevic-Pasti ve ark., 2015). Bunlar;

- Enzimin irreversibl (geri dönüşsüz) inhibisyonu
- Enzimin reversibl (geri dönüşlü) inhibisyonu
- MPO'nun reaktif ürünlerinin ortamdan uzaklaştırılması

2.2.5.1. İrreversibl (Geri Dönüşsüz) İnhibisyon

Bu inhibitörler “intihar substratları” veya “mekanizma temelli inhibitörler” olarak da bilinirler (Forbes ve Kettle, 2018; Tiden ve ark., 2011). Enzimin aktif bölgesindeki yapılara kovalent olarak bağlanarak enzimi geri dönüşsüz olarak inhibe ederler. Bu grupta bulunan MPO inhibitörlerinden bazıları; 4-aminobenzoikasit hidraziti (ABAH) ve 2-tiyoksantin türevleridir (Kettle ve ark., 1995; Kettle ve ark., 1997; Tiden ve ark., 2011; Ward ve ark., 2013)

ABAH etkisini, Bileşik III oluşumunu içeren bir inhibisyon mekanizması ile gösterir. MPO ile etkileşimi sonucunda oluşan ABAH[•] radikali süperoksit anyonu varlığında enzimin inaktif hali olan Bileşik III'ü oluşturur ve enzim hem halojenasyon hem de peroksidasyon döngüleri için inhibe edilmiş olur (Kettle ve ark., 1995).

2-tiyoksantinler, mekanizma bazlı inhibitörler olarak bilinirler. Bu türevler, enzimin Bileşik I formu için iyi substratlardır ve etkileşimleri sonucunda “Tiyoksantin radikali” oluşur. Bu radikal enzimin Bileşik II formundaki hem merkezine yapılarındaki kükürt atomundan kovalent olarak bağlanır ve bu şekilde enzimi inhibe ederler (Tiden ve ark., 2011; Ward ve ark., 2013).

2.2.5.2. Reversibl (Geri Dönüşlü) İnhibisyon

Bu inhibisyon türünde enzimle kuvvetli bir etkileşme söz konusu değildir. Geri dönüşlü inhibisyon, inhibitörlerin enzimin substratlarıyla enzimin aktif cebi için yarışmaları ve bu şekilde enzimin döngülerinin çalışmasının engellenmesi şeklinde gerçekleşebilir. Bu tür bileşikler enzimle zayıf kompleksler yaparak etkileşirler. Etkilerinin ne kadar fazla olduğu, bu etkileşimin gücüyle ve cebi aktif olarak ne kadar süre kapatabildikleriyle doğru orantılıdır (Duclos ve ark., 2017; Forbes ve ark., 2013; Soubhye ve ark., 2017; Soubhye, Meyer ve ark., 2016).

Bir diğer reversibl inhibisyon sağlama stratejisi, enzimin Bileşik II formunda tutularak biriktirilmesidir (Furtmüller ve ark., 1998; Jantschko ve ark., 2005; Soubhye, Meyer ve ark., 2016). Bu yaklaşım, MPO'nun formlarının karakteristik bir özelliği olan redoks potansiyellerindeki farktan kaynaklanmaktadır. Enzimin Bileşik I formu, iyi oksidan özelliktedir ve pek çok substratla kolaylıkla etkileşerek döngünün devam etmesini sağlar. Bununla birlikte Bileşik II formu görece daha stabil bir yapıda olduğundan etkileşebileceği substratlar daha sınırlıdır. Bileşik I'den Bileşik II oluşumu için gerekli olan reaksiyonunun redoks potansiyeli 1.35 V, Bileşik II'den Ferrik MPO'nun geri kazanılması için gerekli olan redoks potansiyeli 0.97 V değerleridir. Görüldüğü üzere, redoks potansiyeli 0.97 V ile 1.35 V değerleri arasında olan bir bileşik, Bileşik I formundan Bileşik II formuna kolaylıkla dönüşecek, ancak Bileşik II formundan Ferrik MPO formuna ilerleyemeyecektir. Bu durumda enzim, Bileşik II formunda tutulmuş olacak ve döngülerin yürümesi ve dolayısıyla reaktif ürünlerin oluşumu engellenmiş olacaktır. Bu tarz etki gösteren inhibitörler bazı kaynaklarda "psödoreversibl inhibitörler" olarak adlandırılmaktadır (Furtmüller ve ark., 2003; Jantschko ve ark., 2005; Klebanoff, 2005; Lazarevic-Pasti ve ark., 2015). Bu inhibisyon stratejisinin temeldeki sıkıntısı, Bileşik II formunun fizyolojik substratlarının bulunmasıdır. Bileşik II bu substratlarla etkileşerek kolaylıkla Ferrik MPO formuna geri dönebileceğinden, fizyolojik şartlarda Bileşik II birikiminin gerçekçi bir inhibisyon stratejisi olmadığı düşünülmektedir (Soubhye, Meyer ve ark., 2016).

2.2.5.3. MPO’nun Reaktif Ürünlerinin Ortamdan Uzaklaştırılması

Bu gruptaki bileşiklerle MPO’nun spesifik bir inhibisyonu söz konusu olmamaktadır. Bununla birlikte enzimin istenmeyen etkilerinden sorumlu olduğu bilinen reaktif ürünlerin ortamdan uzaklaştırılması da mantıklı bir tedavi stratejisi olarak görülmektedir. Bu grupta öncelikle antioksidan bileşikler sayılabilir. Enzimin ortaya çıkardığı oksidatif stresi azaltmaya yönelik olarak bu bileşiklerin kullanılabileceği fikri, antioksidan özelliğiyle bilinen pek çok bileşiğin MPO inhibitör bileşik arama çalışmalarında öncü maddeler olarak kullanılmasıyla sonuçlanmıştır (Galijasevic, 2019; Malle ve ark., 2007; Soubhye, Aldib ve ark., 2016).

Bununla birlikte bir diğer grup bileşik “Hipokloröz asit (HOCl) yakalayıcılar” olarak tanımlanmakta ve özellikle enzimin en önemli ürünü kabul edilen ve hasar oluşumunda payı en büyük olduğu düşünülen ürünü olan HOCl’yi hedef olarak almaktadır (Davies ve ark., 2008; Jantschko ve ark., 2005; Malle ve ark., 2007).

2.2.6. MPO İnhibitörü Bileşik Geliştirme Çalışmaları

MPO inhibisyonunun pek çok hastalıkta ümit vadeden bir terapötik strateji olarak ortaya çıkmasıyla birlikte inhibitör bileşik geliştirme çabaları hız kazanmıştır.

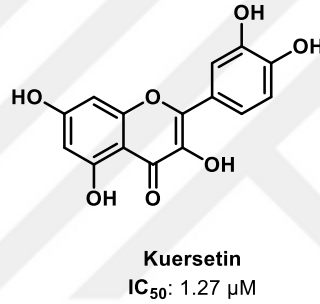
MPO’nun ve reaktif ürünlerinin daha çok oksidatif stres ve enflamatuar hastalıklarla ilişkilendirilmiş olması, bu hastalıklar için mevcut durumda kullanılan ilaçların ve antioksidan bileşiklerin MPO inhibitör aktivitelerinin test edilmesi fikrini ortaya çıkarmıştır (Boufadi ve ark., 2014; Nastasijević ve ark., 2012).

Farklı aktiviteleri bilinen ve kullanılan doğal bileşikler ve sentetik ilaçların, MPO inhibitör aktiviteleri açısından değerlendirilmeleri ve alınan olumlu sonuçlar neticesinde bu kimyasal yapılardan yola çıkılarak MPO inhibitörü olma potansiyeli taşıyan bileşikler tasarlanmış, sentezlenmiş ve aktivite mekanizmalarının aydınlatılmasına yönelik pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir.

2.2.6.1. Doğal Bileşikler

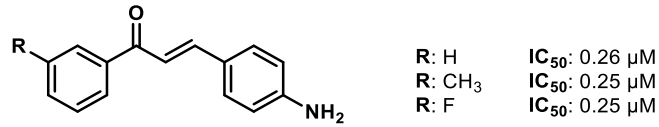
Antioksidan özellikleriyle öne çıkan flavonoidler, polifenoller, şalkonlar ve indol türevleri MPO inhibitör potansiyelleri açısından ilk test edilen doğal bileşiklerdendir (Lazarevic-Pasti ve ark., 2015; Soubhye, Aldib ve ark., 2016).

Flavonoidler, bitki ve mantarların sekonder metaboliti olan ve flavon halkası taşıyan bileşiklerdir. *Pterogyne nitesn* bitkisinden elde edilen flavonoidlerle gerçekleştirilen bir çalışmada, pterogynoside, kemferol, afzelin, kaempferitin, kuersetin, izokuersetin ve rutin bileşikleri MPO inhibitör aktiviteleri açısından değerlendirilmiş ve tamamı değişen oranlarda MPO inhibitör aktivite göstermiştir. İçlerinde en aktif olanı 1.27 μM IC_{50} değeriyle kuersetin bileşiğidir. Kuersetin bileşiğinin MPO'nun distal hem boşluğunun girişine bağlandığı belirlenmiştir (Şekil 6) (Shiba ve ark., 2008).



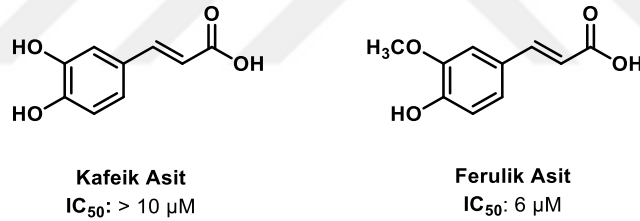
Şekil 6. Kuersetin bileşiğinin açık formülü ve IC_{50} değeri

Şalkonlar, kısaca α,β -doymamış keton yapıları olarak tanımlanabilir ve flavonoid sentezinde ara ürün olarak kullanılırlar. Yapılan bazı çalışmalarda 4'-aminoşalkon türevleri, MPO inhibitör aktiviteleri açısından değerlendirilmiş ve bu bileşiklerin en aktif türevlerinin $0.25 \mu\text{M}$ gibi oldukça düşük bir IC_{50} konsantrasyonunda MPO inhibitör aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Şekil 7) (Edwards, Stemerick, Sabol, Diekema ve Dinerstein, 1994; Zeraik ve ark., 2012).



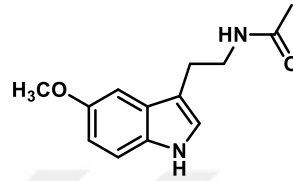
Şekil 7. En aktif 4'-aminoşalkon türevlerinin açık formülleri ve IC_{50} değerleri

Polifenoller, yüksek antioksidan özellikleriyle bilinen bir başka doğal bileşik grubudur. Polifenoller, isimlerinden de anlaşıldığı üzere yapılarında birden fazla fenol grubu taşıyan bileşiklerdir. Resveratrol bileşiği, kafeik asit ve ferulik asit MPO inhibitör aktivitesi için test edilen ve düşük konsantrasyonlarda etkili oldukları bulunan polifenollere örnek olarak verilebilir (Şekil 8) (Boufadi ve ark., 2014).



Şekil 8. Kafeik asit ve Ferulik asit bileşiklerinin açık formülleri ve IC_{50} değerleri

Melatonin, insan vücudunda bulunan ve uykuyu düzenleyen, indol halkası taşıyan bir hormondur. Yapılan çalışmalar melatoninin MPO'nun Bileşik I formu için iyi bir elektron donörü ve substrat olduğunu, aynı şartlarda Bileşik II formu için daha düşük afinitesi bulunduğunu göstermiştir. Bu bilgiye paralel olarak melatoninin 3 μM IC_{50} değerinde inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 9) (Allegra ve ark., 2001; Galijasevic, Abdulhamid ve Abu-Soud, 2008).



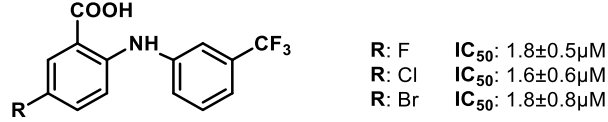
Melatonin
 IC_{50} : 3 μM

Şekil 9. Melatonin bileşiğinin açık formülü ve IC_{50} değeri

2.2.6.2. Tedavide Farklı Amaçlarla Kullanılmakta Olan ve MPO İnhibitör Aktiviteleri Tayin Edilmiş Olan İlaçlar

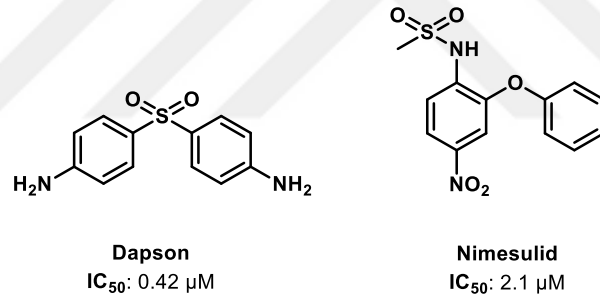
MPO'nun temel patolojisinin enflamasyonla ilişkili olduğunun belirlenmesi üzerine mevcut non-steroidal antienflamatuar ilaçların MPO inhibitör potansiyelinin değerlendirilmesi ilgi çeken bir strateji olarak ortaya çıkmıştır (Kettle ve Winterbourn, 1991). Bu grup ilaçlardan indometazin, flufenamik asit ve naproksen bileşikleri ile yürütülen çalışmalarda bu bileşiklerin değişen konsantrasyonlarda MPO inhibisyonu gösterdiği belirlenmiş ve bu gruptaki diğer ilaçların MPO inhibitör potansiyellerinin değerlendirilmesinin önü açılmıştır (Nève ve ark., 2001). Özellikle flufenamik asit, ümit vadeden bir farmakofor yapı olarak kabul edilerek yeni bileşik tasarımlarında öncü bileşik olmuştur (Van Antwerpen ve ark., 2007; Van Antwerpen ve ark., 2008).

Flufenamik asit, iyi bir elektron donörüdür. 5- konumu hem Bileşik I hem de Bileşik II'nin oksidasyonunda önem taşır. Bu konumdan halojenle süstitüsyon yapıldığı durumda flufenamik asidin Bileşik II'ye olan reaktivitesinin azaldığı ve Bileşik II'nin biriktiği tespit edilmiştir. Bu durumda MPO inhibitör etkinlik artmaktadır (Şekil 10) (Antwerpen ve ark., 2007).



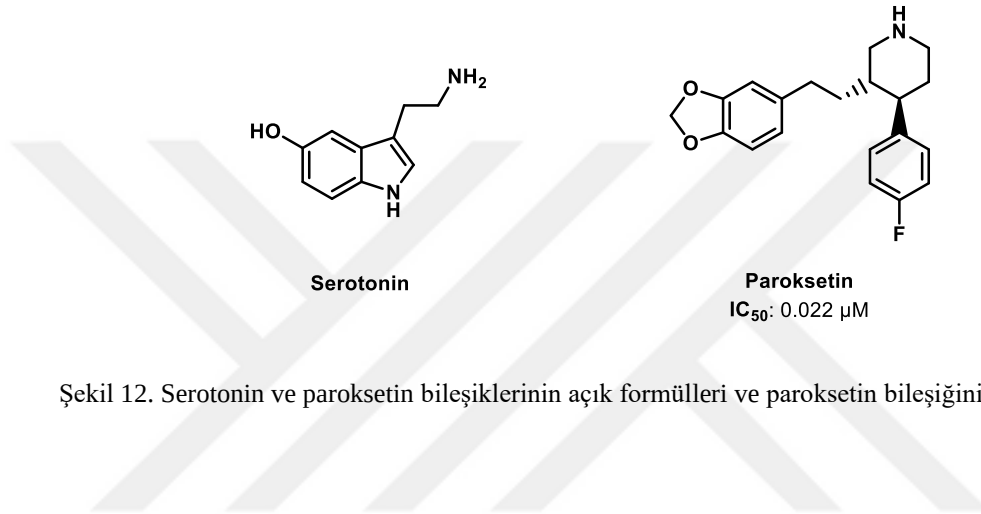
Şekil 10. En aktif flufenamik asit türevlerinin açık formülleri ve IC₅₀ değerleri

Sülfon ve sülfonamit türevleri de MPO inhibitör aktiviteleri açısından değerlendirilmiş olan ilaç gruplarındandır. Özellikle sülfon yapısı taşıyan dapson ve sülfonamit yapısı taşıyan oksikam türevi antienflamatuvar ilaçlardan nimesulid iyi düzeyde MPO inhibitör aktivite gösteren bileşikler olarak belirlenmişlerdir (Şekil 11) (Van Antwerpen ve ark., 2007; Kettle ve Winterbourn, 1991).



Şekil 11. Dapson ve nimesulid bileşiklerinin açık formülü ve IC₅₀ değerleri

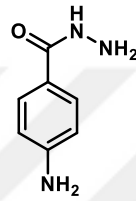
Serotonin, MPO inhibisyonu gösteren doğal bileşiklerdendir. Serotonin geri alım inhibitörü ilaç grubundaki bileşikler yapısal olarak serotonine benzerlik gösterdiğinden MPO inhibitör aktivitelerinin değerlendirilmesi fikri ortaya çıkmıştır. Bu bilgiden hareketle sitolapram, essitolapram, fluvoksamin, fluoksetin ve paroksetin bileşiklerinin MPO inhibitör potansiyelleri değerlendirilmiş ve bunlardan sadece paroksetin bileşiğinin 22 nM gibi oldukça düşük bir IC₅₀ değerinde aktivite gösterdiği, diğerlerinin MPO inhibitör aktivite açısından etkisiz olduğu belirlenmiştir (Şekil 12) (Soubhye ve ark., 2014).



Şekil 12. Serotonin ve paroksetin bileşiklerinin açık formülleri ve paroksetin bileşiğinin IC₅₀ değeri

2.2.6.3. Benzoik Asit Hidrazitleri

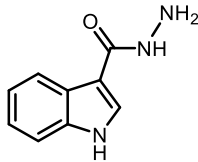
Benzoik asit hidrazitleri, MPO inhibitör etkinlik açısından değerlendirilmiş olan ilk kimyasal yapılardandır. Fenil halkasının üzerinde farklı konumlardan farklı süstitüsyonlar gerçekleştirilerek bir grup bileşik sentezlenmiş ve bu değişikliklerin MPO inhibitör aktivite üzerinde etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada en aktif bileşik, 0.3 μM IC_{50} değeriyle 4-aminobenzoik asit hidraziti (ABAH) bileşiğidir (Şekil 13). ABAH bileşiğinin aktif olduğunun belirlenmesinin ardından etki mekanizmasının aydınlatılması için yapılan çalışmalar sonucunda, bu bileşiğin MPO üzerinde geri dönüşsüz bir inhibisyona yol açtığı saptanmıştır (Kettle ve ark., 1997).



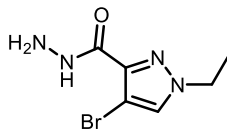
4-aminobenzoik asit hidraziti
(ABAH)
 IC_{50} : 0.3 μM

Şekil 13. ABAH bileşiğinin açık formülü ve IC_{50} değeri

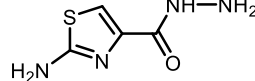
Başka bir çalışmada MPO enzimi inhibitörü aktivite taşıması beklenen bileşikler belirlemek amacıyla sanal taramalar gerçekleştirilmiş ve bir grup hidrazit türevi bileşik tespit edilmiştir. Sanal tarama sırasında hepsi hidrazit işlevsel grubu taşıyan 8 bileşik belirlenmiş ve MPO klorinasyon döngüsü üzerine inhibitör etkinlikleri değerlendirilmiştir. MPO inhibitör etkinliği tespit edilmiş olan bileşikler Şekil 14’de özetlenmiştir (Malvezzi ve ark., 2011).



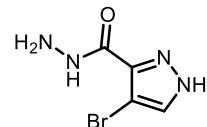
IC_{50} : 1.0 $\pm$ 0.1 μM



IC_{50} : 2.5 $\pm$ 0.3 μM



IC_{50} : 1.3 $\pm$ 0.2 μM



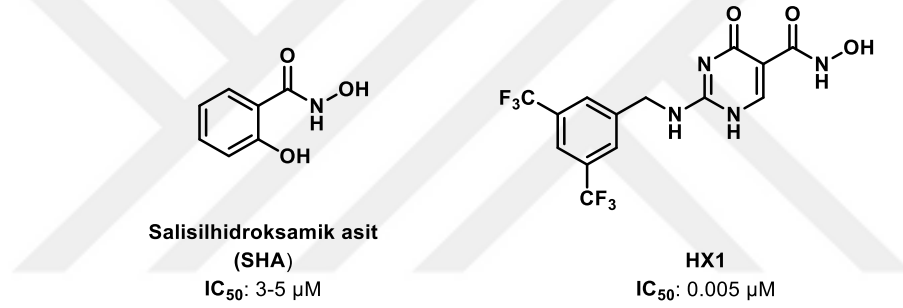
IC_{50} : 2.8 $\pm$ 0.3 μM

Şekil 14. En aktif hidrazit türevi bileşiklerin açık formülleri ve IC_{50} değerleri

2.2.6.4. Hidroksamik Asitler

Bu grupta MPO inhibitör etkisi saptanan bileşikler salisilhidroksamik asit (SHA) ve benzohidroksamik asit (BHA) bileşikleridir. Bu bileşiklerden, SHA'nın H_2O_2 ile yarışmalı bir mekanizma ile geri dönüşlü MPO inhibisyonu sağladığı belirlenmiştir. BHA'nın MPO inhibitör etkisinin SHA'ya göre daha az olduğu tespit edilmiştir (B. Davies ve Edwards, 1989). Bu durum fenil halkasında bulunan hidroksil grubunun aktivite açısından önem taşıdığı şeklinde yorumlanabilir.

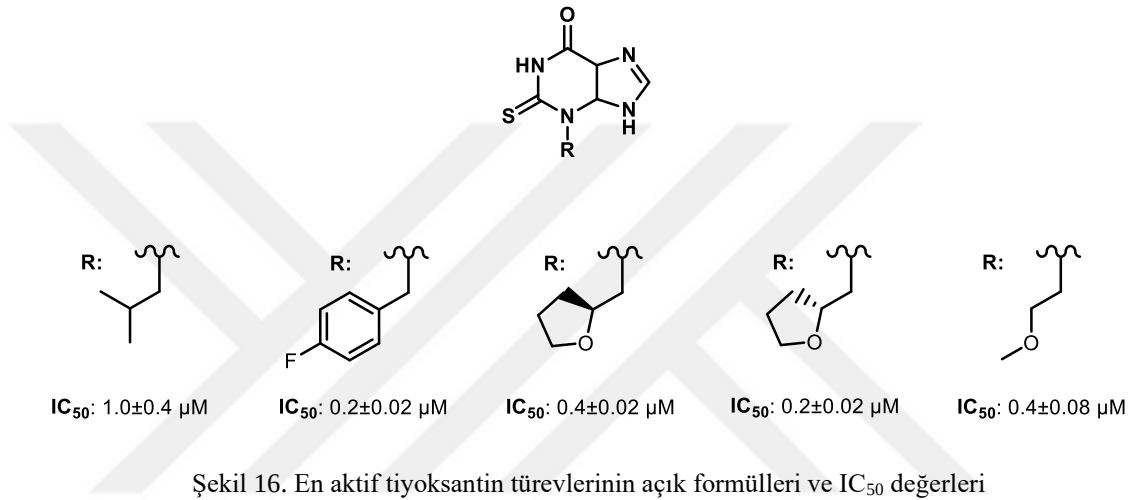
Farklı bir çalışmada, pirimidin halkası üzerinde hacimli gruplarla birlikte hidroksamik asit işlevsel grubu taşıyan bir grup bileşiğin MPO inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiştir. HX kodu verilen bu bileşiklerin enzimin aktif yoresini işgal ederek geri dönüşümlü inhibisyon sağladıkları belirlenmiştir. **HX1** kodlu bileşik, $IC_{50}=5$ nm değeri ile serinin en aktif bileşiği olarak bulunmuştur (Şekil 15) (Forbes ve ark., 2013).



Şekil 15. Salisilhidroksamik asit ve HX1 bileşiklerinin açık formülleri ve IC_{50} değerleri

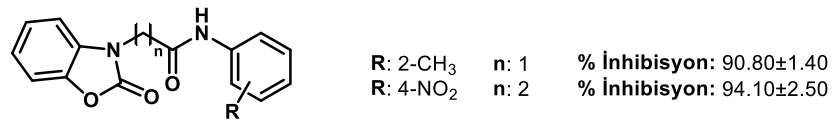
2.2.6.5. Tiyoksantinler

Tiyoksantinler ilk çalışılan MPO inhibitörü bileşiklerdendir ve pek çok kaynakta mekanizma temelli geri dönüşsüz inhibitörler olarak sınıflandırılmışlardır. Enzimin hem grubunun yapısında bulunan Pirel D halkasındaki metil ile kovalent bir bağ oluşturarak inhibisyon sağladıkları kristalografik analizlerle belirlenmiştir. Tiyoksantinlerin umut vadeden farmakofor yapılar olarak belirlenmesinin ardından bu yapı temel alınarak yapısal modifikasyonlar ile bir grup bileşik tasarlanmış ve MPO inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiştir (Şekil 16) (Tiden ve ark., 2011).



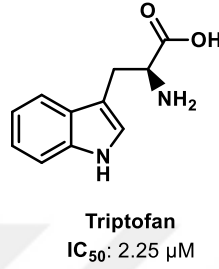
2.2.6.6. Benzoksazolon Türevleri

Benzoksazolon halkası pek çok biyoaktivite için ilgi çeken bir heterosiklik halka olarak ortaya çıkmaktadır. 2(3H)-Benzoksazolon halkasının azot atomu üzerinden asetamit ve propanamit türevi bir grup bileşik sentezlenmiş ve MPO inhibitör etkileri açısından değerlendirilmiştir. Bu bileşiklerin değişen oranlarda MPO inhibitör aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir (Şekil 17) (Soyer ve ark., 2005).



2.2.6.7. İndol Türevleri

Esansiyel bir aminoasit olan triptofanın fizyolojik şartlarda MPO inhibitör etkinliği bulunduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Triptofan MPO'yu ortamda klorun varlığı ve yokluğuna göre değişen seviyelerde inhibe etmektedir ve bu inhibisyonu MPO'ya bağlanıp inaktif kompleksler oluşturarak gerçekleştirir (Şekil 18) (Kettle ve Candaeis, 2000).



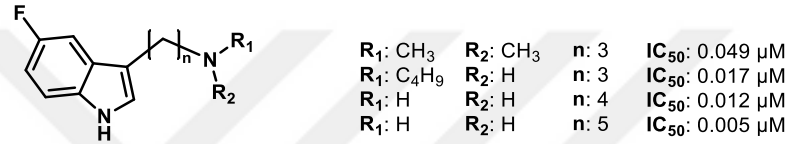
Şekil 18. Triptofan bileşiğinin açık formülü ve IC₅₀ değeri

Triptofanın bu etkisinden yola çıkılarak, MPO inhibitör aktivite gösterecekleri beklentisiyle triptamin türevleri tasarlanmıştır.

Triptamin türevleri, indol halkasına 3- konumundan iki karbon aracılığıyla bağlanmış olan amin işlevsel grubu taşıyan bileşiklerdir. Bu bileşiklerin redoks potansiyelleri MPO inhibisyonu için gerekli olan 0.97 V < E < 1.35 V değerleri arasındadır. Bu redoks potansiyeli, triptamin türevi bileşiklerin enzimin Bileşik I formu ile kolaylıkla reaksiyona girebileceğini ancak Bileşik II formu ile reaksiyona giremeyeceklerini göstermektedir. Bu durumda, enzim inaktif hali olan Bileşik II formunda tutulur ve inhibisyon gerçekleşir (Jantschko ve ark., 2005).

Triptamin yapısından yola çıkılarak, 5- konumunda halojen ve 3- konumunda farklı uzunluklarda zincir taşıyan bir grup bileşik tasarlanmış, sentezlenmiş ve MPO inhibitör etkinlik açısından değerlendirilmiştir. 5- konumundan farklı halojenlerle sübstitüe olmuş triptamin türevlerinin etkinliğinde non-sübstitüe türevlere göre bir artış olduğu ve 0.73-0.79 µM gibi oldukça düşük IC₅₀ değer aralığında MPO inhibitör özellik gösterdikleri belirlenmiştir. Bu halojenlerden aktiviteyi en olumlu yönde değiştirenin flor olduğu saptanmıştır (Jantschko ve ark., 2005)

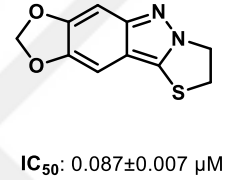
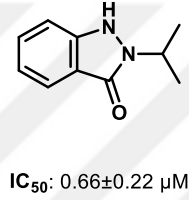
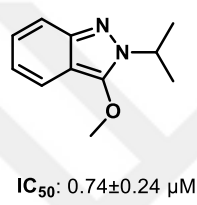
Bu bilgiden yola çıkılarak çeşitli 3-(aminoalkil)-5-floroindol türevleri tasarlanmış ve MPO inhibitör aktiviteleri çalışılmıştır. En aktif türevlerin 4-5 karbon uzunluğunda yan zincire sahip ve azot üzerinde sübstitüsyon taşımayan yapılar olduğu belirlenmiştir (Şekil 19). Bu yapıların inhibisyon mekanizmasının, Bileşik I oksidasyonu sırasında oluşan floroindol radikalının Bileşik II'ye bağlanması suretiyle olduğu öngörülmektedir. 3-(aminoalkil)-5-floroindol türevleri özellikle LDL oksidasyonu üzerindeki nanomolar düzeyindeki inhibitör aktiviteleri ve yüksek dozlarda bile düşük toksisite profili göstermeleri nedeniyle ümit vadeden yapılar olarak ortaya çıkmıştır. LDL oksidasyonu açısından en aktif olduğu belirlenen bileşiklerin yapısı aşağıda gösterilmiştir (Soubhye ve ark., 2013).



Şekil 19. En aktif 3-(aminoalkil)-5-floroindol türevlerinin açık formülleri ve IC₅₀ değerleri

2.2.6.8. İndazol ve İndazolon Türevleri

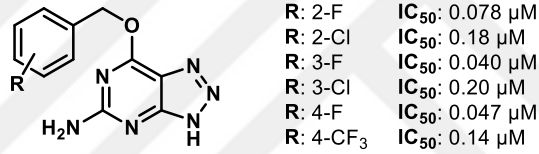
Literatürde daha önce MPO inhibitör aktiviteleri belirlenmiş olan indol ve hidroksamik asit türevlerine yapısal benzerliklerinden yola çıkılarak bir grup 1*H*-indazolon, 3-alkoksi-2*H*-indazol ve 2,3-konumlarından farklı bir halka ile kaynaşmış 2*H*-indazol türevi bileşik tasarlanmış, sentezlenerek MPO inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda her grupta değişen düzeylerde MPO inhibitör aktivite tespit edilmiştir. Özellikle 2,3 konumundan tiyazolin halkası ve 4,5 konumundan 1,3-benzodioksol halkası ile kaynaşmış olan 2*H*-indazol türevinde 87 nM gibi oldukça düşük bir IC₅₀ değerinde aktif olduğu belirlenmiştir. Aşağıda her serideki en aktif bileşiğin açık formülü verilmiştir (Şekil 20) (Roth ve ark., 2014).



Şekil 20. En aktif indazol ve indazolon türevi bileşiklerin açık formülleri ve IC₅₀ değerleri

2.2.6.9. Triazolopirimidin Türevleri

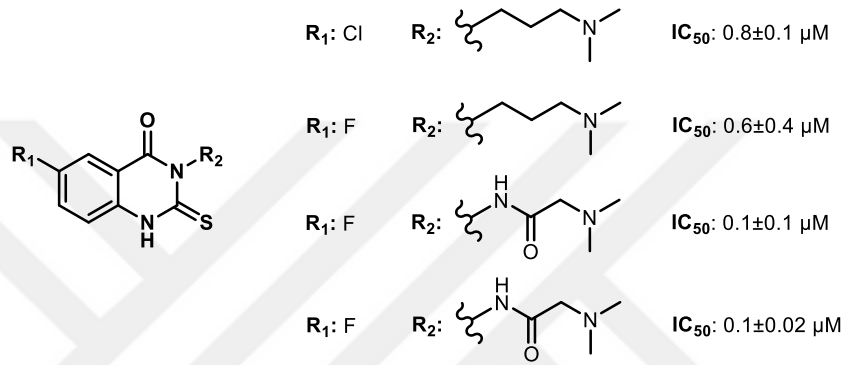
Triazolopirimidinlerin, MPO aktif yöresinde hem yapısının yakınına bağlanarak enzimin aktif yöresine girişi engellediği ve her iki döngü üzerinde inhibitör etki gösterdiği yönünde bilgiler mevcuttur. Bu bileşiklerin *in vitro* testlerde, fareler üzerinde Apo-A1 klorinasyonunu ve nötrofillerden HOCl üretimini engellediği gösterilmiştir. Serinin öncüsü olan ve non-süstitüe benzen halkası taşıyan bileşikteki benzil eter köprüsü asidik şartlarda stabil değildir. Daha stabil türevler elde etmek amacıyla benzen halkası üzerinde çeşitli süstitüsyonlar gerçekleştirilmiştir. Bu yapıların gerçekten asidik ortam şartlarında daha stabil olduğu belirlenmiştir. Bu serideki bileşiklerden MPO inhibitör aktiviteleri açısından değerlendirilmiş olan ve en aktif oldukları belirlenenlerin yapıları ve IC₅₀ değerleri Şekil 21’de verilmiştir (Duclos ve ark., 2017; Wurtz ve ark., 2018).



Şekil 21. En aktif triazolopirimidin türevlerinin açık formülleri ve IC₅₀ değerleri

2.2.6.10. Kinazolin Türevleri

Kinazolin türevleri, tiyoüre yapısı taşıması nedeniyle yapısal olarak tiyoksantin türevlerine benzerlik göstermekle birlikte, MPO inhibisyon mekanizmasının reversibl olmasıyla bu bileşiklerden farklılaşmaktadır. Enzimin Bileşik II formunda tutulmasını sağlayarak etki gösteren reversibl inhibitörlerin aksine bu gruptaki bileşiklerin etkisini yarışmalı şekilde, enzim substratlarının aktif yöreye girişini engellemek yoluyla gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Serideki en aktif türevlerin kimyasal yapıları aşağıda sunulmuştur (Şekil 22) (Li ve ark., 2015).



Şekil 22. En aktif kinazolin türevlerinin açık formülleri ve IC_{50} değerleri

2.2.6.11. Klinik Deneme Aşamasındaki MPO İnhibitörleri

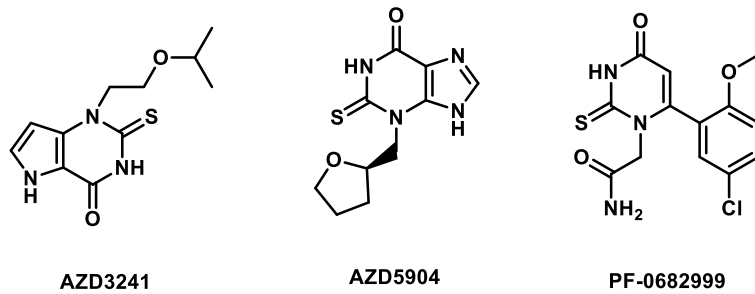
MPO inhibitörü geliştirme çalışmalarının ilgi çeken bir alan haline gelmesi ve bu konudaki çalışmaların yoğunlaşmasını takiben, umut vadenen bileşikler üzerinde klinik çalışmalar başlamıştır (Galijasevic, 2019).

AstraZeneca firması tarafından **AZD3241** kodlu 1-(2-izopropoksietil)-2-tiyokso-1,2,3,5-tetrahidropirolo[3,2-d]pirimidin-4-on isimli bileşik, klinik test aşamasına geçen MPO inhibitörü bileşiklerden biridir. Saf enzimde 0.63µM gibi oldukça düşük bir IC₅₀ değerinde etkin olan bileşiğin, *in vivo* klinik testlerde sıçanlar üzerinde parkinson hastalığına karşı nöroprotektif etkilerinin bulunduğu belirlenmiş olsa da etkinliğin düşük olması nedeniyle çalışmalar sürdürülmemiştir (Jucaite ve ark., 2015).

Yine AstraZeneca firması tarafından (S)-3-[(tetrahidrofuran-2-il)metil]-2-tiyokso-1,2,3,7-tetrahidro-6H-purin-6-on yapısındaki ve **AZD5904** kodlu bileşik ile Faz I çalışmalar gerçekleştirilmiştir ve KOAH ile MS hastalıklarının tedavisi hedeflenmiştir. Fareler ve sıçanların izole nötrofilleri ile gerçekleştirilen ilk testlerde iyi sonuçlar gözlenmiş olmasına rağmen çalışmalar sürdürülmemiştir (Hosseini ve ark., 2019; L. Liu ve ark., 2021).

Pfizer firması, **PF-06282999** kodlu [2-(6-(5-kloro-2-metoksifenil)-4-okso-2-tiyokso-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-asetamit isimli bileşik ile klinik test aşamasına geçmiştir. Bu bileşik bir tiyourasil türevidir ve tiyoksantin türevlerine benzer bir mekanizma ile irreversibl inhibisyon gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Kardiyovasküler hastalıklar için ümit vadeden bir ilaç adayı olmasına karşın molekül üzerindeki çalışmalar devam etmemiştir (Dong ve ark., 2016).

Klinik deneme aşamasına geçen bu bileşiklerin açık formülleri Şekil 23’de özetlenmiştir.



Şekil 23. Klinik deneme aşamasındaki bileşiklerin açık formülleri

3. Gereç ve Yöntem

3.1. Sentez Çalışmaları

3.1.1. Materyal

Sentez çalışmalarında kullanılan 2(3*H*)-benzoksazolon, 5-kloro-2(3*H*)-benzoksazolon bileşikleri ACROS firmasından, metoksilamin hidroklorür bileşiği ABCR firmasından, 2,6-dimetoksibenzaldehit Alfa Aesar firmasından; etil bromoasetat, hidrazin hidrat, 2-metilbenzaldehit, 3-metilbenzaldehit, 4-metilbenzaldehit, 2-metoksibenzaldehit, 4-siyanobenzaldehit, 2-furfural bileşikleri, TLC Silica gel 60 F254 alüminyum plaklar Merck firmasından; potasyum karbonat, 3,4,5-trimetoksi anilin ve hidroksilamin hidroklorür, hidroksilamin hidroklorür, 3-metoksibenzaldehit, 4-metoksibenzaldehit, 2,6-dimetilbenzaldehit, salisilaldehit, 2,4-dihidroksibenzaldehit, 4-(dimetilamino)benzaldehit, 4-(dietilamino)benzaldehit, 2-fenilasetaldehit, sinnamaldehit, pirol-2-karbaldehit, piridin-3-karbaldehit, piridin-4-karbaldehit, indol-3-karbaldehit ve tiyofen-2-karbaldehit bileşikleri Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Çözücü olarak kullanılan etil asetat, aseton, absolü etanol, metanol, kloroform, *n*-hekzan ise Merck, VWR ve Sigma-Aldrich firmalarına ait olup, hepsi analitik saflıktadır.

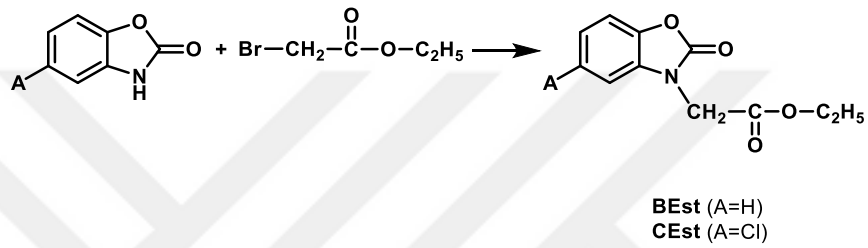
3.1.2. Spektral Analizler

Ara ürünlerin yapılarını teyit etmek amacıyla, erime derecesi değerleri, IR ve ¹H NMR spektroskopisi yöntemleri, sentezlenen final bileşiklerin yapılarını doğrulamak amacıyla ise IR, kütle, ¹H NMR ve ¹³C NMR spektroskopisi yöntemleri ve elementel analiz metodu kullanıldı. Bileşiklerin IR spektrumları, Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spektrofotometresinde ATR (Attenuated Total Reflectance) tekniği kullanılarak alındı ve dalga sayısı (cm⁻¹) cinsinden gösterildi. ¹H ve ¹³C NMR spektrumları DMSO-*d*₆ ve CDCl₃ çözücülerinde Varian AS 400 Mercury Plus NMR (Ege Üniversitesi-NMR Uydu Laboratuvarı), Agilent Technologies Varian 400 MHz NMR (İYTE-Kimya Bölümü-NMR Lab.) ve Varian Mercury (Agilent) 400 MHz (Ankara Üniversitesi-Eczacılık Fakültesi) spektrometresinde alındı. Kimyasal kayma değerleri δ skalasına göre ve referans olarak çözücü kullanılarak ppm cinsinden değerlendirildi, etkileşme değişmezleri Hertz (Hz) cinsinden verildi. Kütle spektrumları analitik saflıktaki kloroform içerisinde Thermo MSQ Plus marka LCMS cihazlarında

atmosferik basınçta kimyasal iyonizasyon (APCI-MS) ve elektrosprey iyonizasyon (ESI-MS) yöntemleri ile alındı. Bileşiklerin erime derecesi tayinleri Stuart SMP30 marka erime derecesi tayin cihazında gerçekleştirildi ve erime derecesi değerleri düzeltilmeden verildi. Elementel analizler (C, H, N, S), LECO CHNS 932 Elementel Analiz cihazı kullanılarak yapıldı.

3.1.3. Sentez Yöntemi

3.1.3.1. Etil 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetat / Etil 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetat bileşiklerinin sentezi

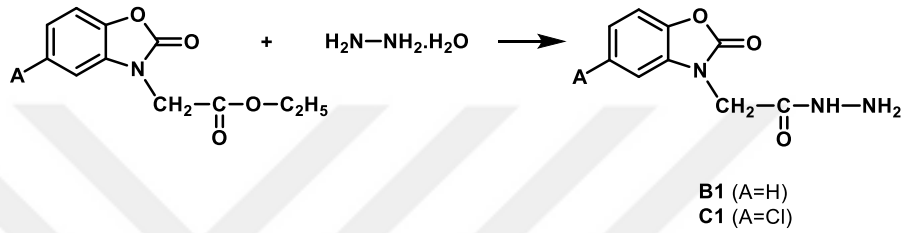


Şema 1. Etil 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetat / Etil 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetat bileşiklerinin sentez şeması

Benzoksazol-2(3*H*)-on / 5-kloro-benzoksazol-2(3*H*)-on bileşiği (0.001 mol), 20 ml aseton içinde çözüldü. K₂CO₃ (0.001 mol) varlığında etil bromoasetat (0.001 mol) ile geri çeviren soğutucu altında 2 saat kaynatıldı. Reaksiyonun tamamlandığı İTK ile tespit edildi. Ortamdaki K₂CO₃ süzülerek uzaklaştırıldı. Kalan sıvı bakiye düşük basınç altında rotaevaporatör cihazında yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün bir sonraki basamakta kullanıldı (Soyer ve ark., 2005).

3.1.3.2. 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidrazit / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidrazit bileşiklerinin sentezi

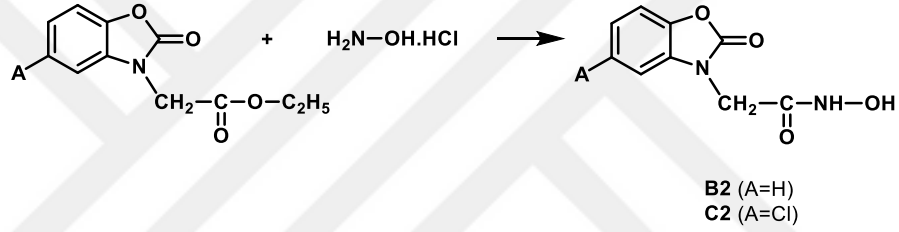
Etil 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetat / etil 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetat bileşiği (0.001 mol) absolü etanol içinde çözüldü. Üzerine hidrazin hidrat (0.001 mol) eklendi ve oda sıcaklığında karıştırıldı. İTK ile reaksiyon izlendi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra katı ürün süzüldü, soğuk etanol ile yıkandı, kurutuldu. Ham ürün etanolden kristallendirildi (D'amico, Bollinger ve Dahl, 1988).



Şema 2. 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidrazit / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidrazit bileşiklerinin sentez şeması

3.1.3.3. 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit türevlerinin sentezi

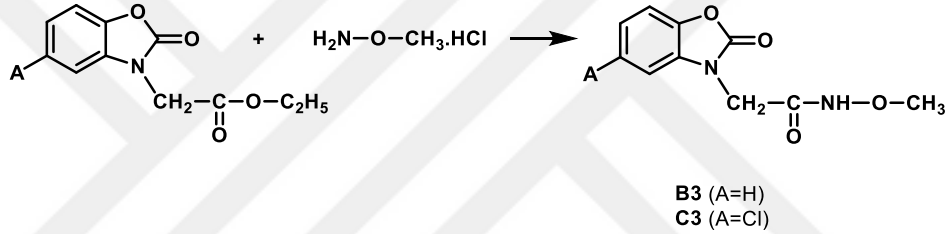
Hidroksilamin hidroklorürün metanol içindeki çözeltisi (0.001 mol) buz banyosunda soğutuldu, üzerine K_2CO_3 (0.001 mol) eklendi. 15 dakika karıştırıldıktan sonra çöken katı süzülerek ortamdan uzaklaştırıldı. Buz banyosunda soğutulan süzüntüye etil 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetat / etil 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetat bileşiği (0.01 mol) ilave edildi. Soğukta karıştırılmaya devam edildi. Reaksiyon İ.T.K. ile takip edildi, tamamlandıktan sonra çöken katı madde süzüldü ve soğuk metanol ile yıkandı. Etanolden kristallendirildi (Cerniauskaite, Rousseau, Sackus, Rollin ve Tatibouët, 2011).



Şema 3. 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit türevlerinin sentez şeması

3.1.3.4. 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit metil esteri / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit metil esteri sentezi

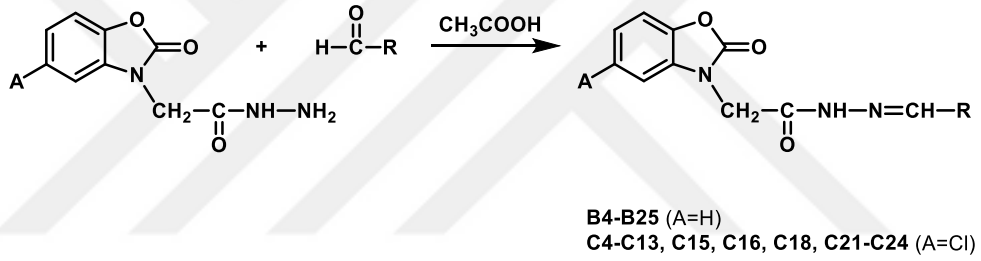
Metoksilamin hidroklorürün metanol içindeki çözeltisi (0.002 mol) buz banyosunda soğutuldu, üzerine K_2CO_3 (0.002 mol) eklendi. 15 dakika karıştırıldıktan sonra çöken katı süzülerek ortamdan uzaklaştırıldı. Buz banyosunda soğutulan süzüntüye etil 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetat / etil 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetat bileşiği (0.01 mol) ilave edildi. Soğukta karıştırılmaya devam edildi. Reaksiyon İ.T.K. ile takip edildi, tamamlandıktan sonra çöken katı madde süzüldü ve soğuk metanol ile yıkandı. Etanolden kristallendirildi (Cerniauskaite ve ark., 2011).



Şema 4. 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit metil esteri / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidroksamik asit metil esteri sentez şeması

3.1.3.5. N'-sübstitüye-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit / N'-sübstitüye-2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidrazit türevi bileşiklerin sentezi

2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit / 2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidrazit bileşiği (0.001 mol) 10 ml etanol içerisinde çözündürüldü ve 2-3 damla glasiyel asetik asit ilave edildi. Reaksiyon ortamına elde edilmesi planlanan türe ve uygun olan aldehit bileşiği (0.001 mol) eklendi ve 70°C'lık yağ banyosunda geri çeviren soğutucu altında 12-18 saat karıştırıldı. İ.T.K ile izlenen reaksiyonun tamamlanmasından sonra reaksiyon ortamı oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Reaksiyon karışımı bir gece buzdolabında bekletildi. Oluşan katı ürün süzöldü ve soğuk etanol ile yıkandı, kurutuldu. Kuruyan ham ürün etanolden kristallendirildi (Singh ve Kumar, 2015).



Şema 5. N'-sübstitüye-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit / N'-sübstitüye-2-(2,3-dihidro-2-okso-5-klorobenzoksazol-3-il)asetohidrazit türevi bileşiklerin sentez şeması

3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.2.1. Materyal

Biyoaktivite çalışmalarında kullanılan miyeloperoksidaz enzimi (MPO, E.C.1.11.1.7, tür Human Polymorphonuclear Leukocytes), 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin (TMB), katalaz (E.C.1.11.1.6, tip Bovine Liver (sığır karaciğeri), DMSO ($\geq 99.9\%$), dimetilformamid (DMF), 5,5'-Ditiyobis-(2-Nitrobenzoik asit) (DTNB), 4-aminobenzoik asit hidraziti (4-ABAH), dietilentriaminpentaasetik asit (DTPA), gayakol ve taurin ($\geq 99\%$) Sigma-Aldrich firmasından; sodyum borohidrür (NaBH_4), sodyum dihidrojen fosfat, disodyum hidrojen fosfat, potasyum dihidrojen fosfat ve dipotasyum hidrojen fosfat Merck firmasından; potasyum iyodür ve sodyum hipoklorit (NaOCl) Carlo Erba firmasından; sodyum klorür ve hidrojen peroksit VWR firmasından, Ampleks Red Thermo Scientific firmasından temin edilmiştir.

Biyolojik aktivite deneylerinde spektrofotometrik ve spektrofluorometrik ölçümler Thermo Scientific Varioskan Flash marka çoklu mikrolak okuyucu kullanılarak yapılmıştır.

Hipokloröz asit süpürücü aktivite tayini deneyleri Thermo Scientific Evolution Array spektrofotometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tartım için Denver Instrument SI-234 model hassas terazi kullanılarak tartılmıştır.

Çözelti hazırlanmasında kullanılan ultra saf su PURELAB Prima marka cihazdan elde edilmiştir.

3.2.2. Çözeltiler

3.2.2.1. Taurin Kloramin Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

- **Taurin Çözeltisi (100 mM):** 12.5 mg taurin tartılarak 1 ml ultra saf su ile çözüldü.

- **H₂O₂ Çözeltisi (1 mM):** Stok H₂O₂ (%30) çözeltisinden 100 µl alınarak 8.690 ml ultra saf su içerisine eklendi. Ardından 100 mM konsantrasyonda H₂O₂ içeren bu ara stoktan 100 µl alındı ve üzerine 9.900 ml ultra saf su ilave edilerek 1 mM konsantrasyonda H₂O₂ çözeltisi hazırlandı.
- **Katalaz Çözeltisi (1 mg/ml):** 1 mg katalaz 1 ml 50 mM (pH:7.4) NaCl içermeyen fosfat tamponu içerisinde çözündürüldü.
- **Asetik Asit Çözeltisi (0.8 mM):** 22.8 ml glasiyel asetik asit distile su ile 500 ml'ye tamamlandı.
- **KI Çözeltisi (200 µM):** 17 mg KI 500 ml 0.8 mM glasiyel asetik asit çözeltisi içerisinde çözündürüldü.
- **TMB Çözeltisi (14 mM):** 15 mg TMB 2.5 ml DMF içerisinde çözündürüldü. Üzerine 2.5 ml 200 µM KI çözeltisi ilave edildi.
- **Fosfat Tamponu (50 mM, pH: 7.0):** 21.1 ml 1 M KH₂PO₄ ve 28.9 ml 1 M K₂HPO₄ çözeltileri karıştırıldı. Üzerine 750 ml ultra saf su ilave edildi ve pH değeri 7.0'a ayarlandı. Ardından hacmi 1 litreye tamamlandı.
- **Fosfat Tamponu (10 mM, pH: 7.4):** 9.4 ml 1 M KH₂PO₄ ve 40.6 ml 1 M K₂HPO₄ çözeltileri karıştırıldı. Üzerine 600 ml ultra saf su ilave edildi ve pH değeri 7.4'e ayarlandı. Ardından çözeltiye 16.33 g NaCl eklendi ve hacmi ultra saf su ile 1 litreye tamamlandı.
- **MPO İnhibitörü Referans Bileşiğin Çözeltisi:** 1.5 mg 4-aminobenzoik asit hidraziti (4-ABAH) tartıldı ve 1 ml DMSO içerisinde çözündürülerek maddenin 10 mM konsantrasyondaki çözeltisi hazırlandı. Deney protokolü için gereken konsantrasyonları bu stok kullanılarak hazırlandı.
- **Stok MPO Enzim Çözeltisi (800nM):** Liyofilize halde tüpte bulunan 100 µg MPO enzimi üzerine 834 µl ultra saf su ilave edilerek enzimin 800 nM konsantrasyondaki çözeltisi hazırlandı. Deney için kullanılacak farklı konsantrasyonlardaki enzim çözeltisi bu stoktan seyreltilerek hazırlandı.

3.2.2.2. Ampleks Red Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

- **DTPA (1 mM):** 3.93 mg DTPA tartılarak 1 ml ultra saf su ile çözüldü.
- **Hidrojen Peroksit (40 µM):** Stok H₂O₂ (%30) çözeltisinden 100 µl alınarak 9.690 ml ultra saf su içerisine eklenerek 100 mM konsantrasyonda H₂O₂ stok çözeltisi hazırlandı. Stok çözeltinin ultra saf su ile seri dilüsyonu sonucunda 40 µM konsantrasyonda H₂O₂ çalışma çözeltisi hazırlandı.
- **Sodyum Fosfat Tamponu (50 mM, pH: 7.4):** 7.6 ml 1 M NaH₂PO₄ ve 42.4 ml 1 M Na₂HPO₄ çözeltileri karıştırıldı. Üzerine 750 ml ultra saf su ilave edildi ve pH değeri 7.4'e ayarlandı. Ardından hacmi 1 litreye tamamlandı.
- **Amplex Red Çözeltisi (200 µM):** 5 mg Amplex Red tartılarak 0.972 ml ultra saf su ile çözüldü.
- **Stok MPO Enzim Çözeltisi (1 nM):** 800 nM konsantrasyonda hazırlanan stok MPO enziminin tampon çözelti ile seri dilüsyonu sonucunda 1 nM konsantrasyonda MPO enzim çözeltisi hazırlandı.

3.2.2.3. Gayakol Oksidasyon Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

- **Hidrojen Peroksit (100 µM):** Stok H₂O₂ (%30) çözeltisinden 100 µl alınarak 9.690 ml ultra saf su içerisine eklenerek 100 mM konsantrasyonda H₂O₂ stok çözeltisi hazırlandı. Stok çözeltinin ultra saf su ile seri dilüsyonu sonucunda 1000 µM konsantrasyonda H₂O₂ çalışma çözeltisi hazırlandı.
- **Sodyum Fosfat Tamponu (20 mM, pH: 7.4):** 0.59 g NaH₂PO₄ ve 2.1411 g 1 M Na₂HPO₄ çözeltileri karıştırıldı. Üzerine 750 ml ultra saf su ilave edildi ve pH değeri 7.4'e ayarlandı. Ardından hacmi 1 litreye tamamlandı.
- **Gayakol Çözeltisi (20 mM):** 10 ml ultra saf su içerisine 22.14 µl Gayakol eklenerek hazırlandı.
- **Katalaz Çözeltisi (40 µg/ml):** 4 mg katalaz tartılarak 1 ml 20 mM (pH:7.4) NaCl içermeyen fosfat tamponu içerisinde çözündürüldü. Stok çözeltinin 100 kat dilüsyonu ile 40 µg/ml konsantrasyonda katalaz çalışma çözeltisi hazırlandı.

- **Stok MPO Enzim Çözeltisi (80 nM):** 800 nM konsantrasyonda hazırlanan stok MPO enzimi tampon çözelti ile 1:10 dilüe edildi ve 80 nM konsantrasyonda MPO enzim çözeltisi hazırlandı.

3.2.2.4. HOCl Süpürücü Aktivite Tayini Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

- **Potasyum Fosfat/NaOH Tamponu (10 mM, pH: 7.4):** 1.36 g KH_2PO_4 ve 0.32 g NaOH tartılarak bir miktar distile suda çözüldü. Üzerine 8.19 g NaCl (140 mM) eklendi. Çözeltinin pH değeri 7.4'e ayarlandı ve 1 litreye tamamlandı.
- **Taurin Çözeltisi (150 mM):** 187.7 mg taurin tartılarak 10 ml ultra saf su ile çözüldü.
- **NaBH_4 Çözeltisi (20 mM):** 7.57 g NaBH_4 tartılarak 100 ml distile su ile çözüldü.
- **DTNB çözeltisi (2 mM):** 79.27 mg DTNB tartılarak 100 ml sodyum fosfat tamponu (pH:6.6) içerisinde çözüldü.
- **TNB çözeltisi (0.45 mM):** TNB çözeltisi DTNB molekülünün NaBH_4 ile parçalanmasıyla elde edildi. Bu amaçla, 100 ml 2 mM DTNB çözeltisi üzerine 25 ml 20 mM NaBH_4 çözeltisi ilave edildi. Hazırlanan çözelti 37 °C sıcaklığa ayarlanan su banyosu içerisinde, 30 dakika süre inkübe edildi. Süre sonunda oluşan TNB miktarını belirlemek için, çözeltinin 412 nm dalga boyunda gösterdiği absorpsiyon değeri spektrofotometrede ölçüldü. Lambert-Beer yasası formülü kullanılarak TNB konsantrasyonu hesaplandı (TNB, $\epsilon = 13.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Deneyde kullanılmak üzere stok 0.45 mM olacak şekilde tampon çözelti ile seyreltildi.
- **HOCl çözeltisi (0.6 mM):** Ticari olarak satın alınan NaOCl stok çözeltisinin içerdiği HOCl konsantrasyonu, her çalışmadan önce spektrofotometrik olarak belirlendi. Bu amaçla stok çözelti farklı oranlarda tampon çözelti ile seyreltildi (1:100, 1:500, 1:1000, 1:2000, 1:3000 ve 1:4000). Her bir çözeltinin 412 nm dalga boyunda gösterdiği absorpsiyon değeri spektrofotometrede ölçüldü. Lambert-Beer yasası formülü kullanılarak konsantrasyon hesabı yapıldı (HOCl

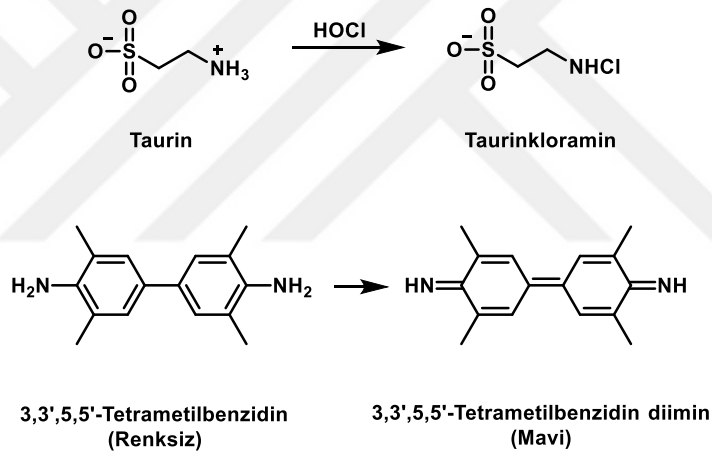
$\epsilon = 350 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Deneyde kullanmak üzere stok, 0.6 mM olacak şekilde tampon çözelti ile seyreltilti.

3.2.3. Yöntemler

3.2.3.1. Taurin Kloramin Yöntemi

Sentezlenen final bileşiklerin MPO enzim aktivitesine yönelik inhibitör etkinlikleri taurin kloramin deneyi ile test edilmiştir (M. Zeraik ve ark., 2012).

Deneyin prensibi, MPO enziminin klorinasyon döngüsü sırasında açığa çıkan hipokloröz asitin (HOCl) ortamda bulunan taurin ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan taurin kloramin (TauNHCl) bileşiğinin, TMB'yi oksitleyerek 655 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon gösteren mavi renkli kararlı bir son ürün açığa çıkarması esasına dayanmaktadır (Şekil 23).



Şekil 24. Taurin kloramin deneyi reaksiyon şeması (Kettle ve ark., 1997)

Çalışmamızda gerçekleştirilen klorinasyon aktivitesi deneyleri 96 kuyucuklu, düz tabanlı, şeffaf polistiren plaklarda gerçekleştirilmiştir.

Deney koşullarında, enzim aktivitesi için en önemli unsurlardan birisi olan sıcaklık faktörüne göz önünde bulundurulmuş olup reaksiyon ortamı hazırlandıktan sonra inkübasyon süresince 37°C sıcaklığa sabitlenmiş mikropalak okuyucu cihaz içerisinde bekletilmiştir Her çalışma öncesinde deneyde kullanılan çözeltilerin pH'sı kontrol edilmiştir.

Deneyin optimizasyonu ve tekrarlanabilir doğru sonuçları elde etmek amacıyla ile taurin kloramin deneyi ile bileşikleri test etmeye başlamadan önce, çalışmada kullanılacak en uygun MPO enzim konsantrasyonunun belirlenmesi ve standart MPO inhibitörü olan ABAH bileşiği kullanılarak MPO enzim aktivitesi % inhibisyonunun belirlenmesine yönelik ön çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

- **Çalışmalarda Kullanılacak MPO Konsantrasyonunun Belirlenmesine Yönelik Deneyler**

Taurin kloramin deneyinde kullanılacak en uygun MPO enzim konsantrasyonunu tespit etmek amacıyla, deney farklı konsantrasyonlarda tekrar edildi ve reaksiyon ortamlarındaki absorpsiyon düzeylerinin zamana karşı değişikliği 655 nM dalga boyunda ölçülerek karşılaştırılmıştır.

Bu amaçla, kuyucuklara sırası ile 0.1 mM, 0.2 mM, 0.4 mM ve 0.8 mM MPO stok çözeltisi (10 µl), 0.1 mM taurin çözeltisi (10 µl), 10 mM PBS çözeltisi (170 µl), 1 mM'lık H₂O₂ çözeltisi (10 µl) eklenmiştir. Hazırlanan plak 30 dk süreyle 37°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Süre sonunda her kuyucuğa 1mg/ml'lik katalaz çözeltisi (5 µl) ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Son olarak reaksiyon ortamına 14 mM TMB çözeltisi (50 µl) eklenmiştir. Plaklarda oluşan rengin şiddeti 655 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Deneyde kör olarak enzim dışındaki diğer reaksiyon çözeltilerini içerecek şekilde hazırlanan kuyucuklar kullanılmıştır.

- **Standart MPO İnhibitörü (ABAH) ile MPO Enzim Aktivitesi % İnhibisyonunun Belirlenmesi**

Çalışmamızda oluşturduğumuz MPO enzim aktivitesi inhibisyonu tayini protokolünün doğruluğunu ve sonuçların tekrarlanabilirliğini test etmek amacıyla, farklı konsantrasyonlarda ABAH çözeltisi ile taurin kloramin deneyi gerçekleştirilmiştir.

Bu amaçla, kuyucuklara sırası ile 0, 1.5, 3, 6, 12 veya 18 µM'lık ABAH çözeltisi (10 µl), 0.2 mM MPO stok çözeltisi (10 µl), 0.1 mM taurin çözeltisi (10 µl); 10 mM PBS çözeltisi (160 µl), 1 mM'lık H₂O₂ çözeltisi (10 µl) eklenmiştir. Hazırlanan plak 30 dk süresince 37 °C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda kuyucuklara 1mg/ml'lik katalaz çözeltisi (5 µl) ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştu. Son olarak reaksiyon ortamına 14 mM TMB çözeltisi (50 µl) eklenmiştir. Mikroplak okuyucu

spektrofotometrede, her bir kuyucuğun 655 nm dalga boyundaki absorbens değişimi ölçülmüştür. Deneyde enzim hariç tüm reaksiyon çözeltilerini içerecek şekilde hazırlanan kuyucuk kör olarak kullanılmıştır. İnhibitör eklenmeyen ancak MPO içeren kuyucuklardaki absorbens değişimi, %100 klorinasyon aktivitesi olarak hesaplanmıştır ve ABAH bileşiğinin inhibitör etkinliği bu değere göre % inhibisyon olarak ifade edilmiştir.

- **Sentezlenen Bileşiklerin MPO Enzim Aktivitesi % İnhibisyonunun Belirlenmesi**

Çalışmamız kapsamında sentez edilen bileşiklerin son konsantrasyonları 20 µM olacak şekilde DMSO içerisinde çözeltileri hazırlanmıştır ve her bir bileşik ile taurin kloramin deneyi gerçekleştirilmiştir.

Bu amaçla, kuyucuklara sırası ile test edilecek bileşiğin 0.4 mM'lık DMSO içerisindeki çözeltisi (10 µl), 0.2 mM MPO stok çözeltisi (10 µl), 0.1 mM taurin çözeltisi (10 µl); 10 mM PBS çözeltisi (160 µl), 1 mM'lık H₂O₂ çözeltisi (10 µl) eklenmiştir. Hazırlanan plak 30 dk süresince 37°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda kuyucuklara 1 mg/ml'lik katalaz çözeltisi (5 µl) ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Son olarak reaksiyon ortamına 14 mM TMB çözeltisi (50 µl) eklenmiştir. Mikroplak okuyucu spektrofotometrede, her bir kuyucuğun 655 nm dalga boyundaki absorbens değişimi ölçülmüştür. Deneyde enzim hariç tüm reaksiyon çözeltilerini içerecek şekilde hazırlanan kuyucuk kör olarak kullanılmıştır. İnhibitör dışındaki tüm reaksiyon çözeltilerini ve enzimi içeren kuyucuklardaki absorbens değişimi, %100 klorinasyon aktivitesi olarak hesaplanmıştır ve test edilen bileşiklerin MPO aktivitesi üzerine inhibitör etkinliği bu değere göre % inhibisyon olarak ifade edilmiştir.

- **Sentezlenen Bileşiklerin MPO Enzim Aktivitesi İnhibisyonuna Yönelik IC₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi**

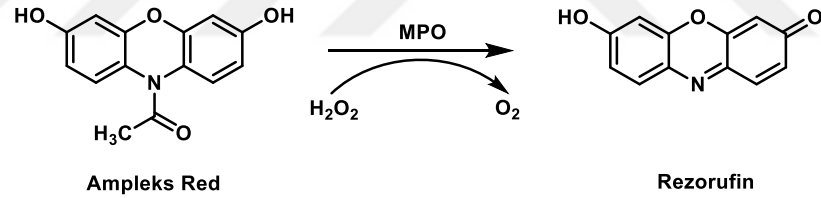
Genel tarama deneyleri sonucunda elde edilen bulgulara 20 µM konsantrasyonda %70 ve üzeri oranlarda MPO enzim aktivitesinde inhibisyona neden olduğu belirlenen her bir bileşiğin farklı konsantrasyonları (0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10 ve 20 µM) ile taurin kloramin deneyi gerçekleştirilmiştir. Deneyde enzim hariç tüm reaksiyon çözeltilerini içerecek şekilde hazırlanan kuyucuk kör olarak kullanılmıştır. İnhibitör dışındaki tüm

reaksiyon çözeltilerini ve enzimi içeren kuyucuklardaki absorbans değişimi, %100 klorinasyon aktivitesi olarak hesaplanmıştır ve test edilen bileşiklerin MPO aktivitesi üzerine inhibitör etkinliği bu değere göre % inhibisyon olarak saptanmıştır. Ardından GraphPad Prism 5.0 istatistik programı kullanılarak, MPO enzim aktivitesinde %50 inhibisyona yol açan bileşik konsantrasyonları (IC₅₀) hesaplanmıştır.

3.2.3.2. Ampleks Red Yöntemi ile MPO Enziminin Peroksidasyon Aktivitesi

İnhibisyonunun Tayini

Sentez edilen bileşiklerin MPO enziminin peroksidaz aktivitesi üzerine etkileri Ampleks Red yöntemi ile incelenmiştir. Yöntemin temeli, MPO enziminin peroksidaz aktivitesi ile Amplex® Red (10-asetil-3,7-dihidroksifenoksazin) reaktifinin fluoaran özellik gösteren rezorufine okside olmasına dayanmaktadır. Deney ortamında oluşan rezorufin miktarı ve fluoarsans ışık şiddeti, MPO enziminin peroksidaz enzim aktivitesi ile orantılı olarak artmaktadır (Şekil 25) (Debski ve ark., 2016; Ward ve ark., 2013).



Şekil 25. MPO enzimi tarafından katalize edilen reaksiyon sonucunda Amplex® Red bileşiğinin rezorufine oksidasyonu

Çalışmamız kapsamında gerçekleştirilen Ampleks Red deneyleri, 96 kuyucuklu, düz tabanlı, siyah polistiren mikrolaklar içerisinde gerçekleştirilmiştir. Her çalışmadan önceden kullanılan çözeltiler oda sıcaklığına getirilmiş ve pH değerleri kontrol edilmiştir.

- **Yeni sentezlenen Bileşiklerin % MPO Enzim Peroksidasyon Aktivitesi İnhibisyonunun Belirlenmesi**

Taurin kloramin deneyi sonucunda 20 µM konsantrasyonda MPO enzim aktivitesinde %60 ve üzeri inhibitör etkinlik gösterdiği belirlenen bileşiklerin, enziminin peroksidatif aktivitesi üzerine olan olası inhibitör etkileri Ampleks Red yöntemi ile test edilmiştir.

Bu amaçla, 96 kuyucuklu plaklarda, her bir kuyucuktaki son hacim 100 µl olacak şekilde sırasıyla 1 nM MPO çözeltisi (10 µl), 10 mM test edilecek molekül (1 µl) veya DMSO (1 µl), 50 mM sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH 7.4) (68 µl), 10 mM DTPA (10 µl) ve 20 mM Ampleks Red® (1 µl) eklenmiştir. Plak dikkatlice karıştırıldıktan sonra kuyucuklara 40 µM H₂O₂ (10 µl) çözeltisi eklenmesi ile reaksiyon başlatılmıştır. Plak tekrar karıştırılarak, mikropak okuyucu spektrofotometreye yerleştirilmiştir. Oda sıcaklığına sabitlenen cihaz içerisinde, her 20 saniyede bir, 530 nm (uyarılma) ve 590 nm (emisyon) dalga boylarında kuyuculardaki floresans şiddeti ölçülmüştür.

Her çalışma plağında inhibitör içermeyen, DMSO (1 µl) eklenerek hazırlanan kuyucuklardaki floresans şiddeti değişimi, %100 MPO peroksidasyon aktivitesi olarak hesaplanmış ve test edilen bileşiklerin MPO aktivitesi üzerine inhibitör etkinliği bu değere göre % inhibisyon olarak ifade edilmiştir. Çalışmalarda negatif kontrol olarak iki ayrı reaksiyon ortamı kullanılmıştır. Negatif kontrol 1 olarak isimlendirilen kuyucuklara H₂O₂ bileşiği, negatif kontrol 2 olarak isimlendirilen kuyucuklara ise Ampleks Red bileşiği eklenmemiştir. Plaklarda MPO enzimi eklenmeden hazırlanan reaksiyon ortamı ise kör olarak kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan deney grupları ve içerikleri Tablo 2’de detaylı olarak sunulmuştur.

Tablo 2. Ampleks Red deneyi için hazırlanan çalışma grupları

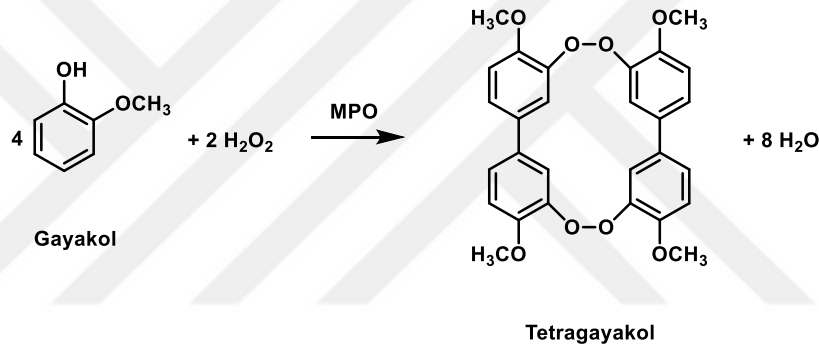
	Çalışma Kuyucuğu				
	Kör	% 100 Peroksidasyon aktivitesi	Test Edilen bileşiğe ait peroksidasyon aktivitesi	Negatif kontrol (1)	Negatif kontrol (2)
MPO (1 nM)	-	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl
H₂O₂ (40 µM)	10 µl	10 µl	10 µl	-	10 µl
DMSO	1 µl	1 µl	-	1 µl	2 µl
Test Edilecek Bileşik (100 µM)	-	-	1 µl	1 µl	1 µl
Ampleks Red (20 mM)	1 µl	1 µl	1 µl	1 µl	-
DTPA (10 mM)	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl
Tampon Çözelti	78 µl	68 µl	68 µl	78 µl	68 µl

Çalışılan bileşikler arasından 100 µM konsantrasyonda MPO enziminin peroksidasyon aktivitesi üzerine %20 üzerinde etki gösteren bileşikler IC₅₀ değerlerinin belirlenmesi amacıyla için seçilmiştir. Bu bileşikler beş farklı konsantrasyonda (0, 12.5, 25, 50, 75 ve 100 µM) kullanılarak Ampleks Red deneyi tekrar edilmiştir. İnhibitör bileşik içermeyen, DMSO eklenerek hazırlanan kuyucuklardaki fluoresan şiddeti değişimi, %100 peroksidasyon aktivitesi olarak kabul edilmiştir. Test edilen bileşiklerin MPO enzimi peroksidasyon aktivitesi üzerine gösterdikleri inhibitör etkinlik ise bu değere göre % inhibisyon olarak hesaplanmıştır. Daha sonra GraphPad Prism 5.0 istatistik

programını kullanılarak, MPO enzimi peroksidasyon aktivitesinde %50 inhibisyona yol açan bileşik konsantrasyonları (IC₅₀) belirlenmiştir.

3.2.3.3. Gayakol Oksidasyon Yöntemi

Tez çalışmamız kapsamında taurin kloramin deneyi sonucunda MPO aktivitesine yönelik güçlü inhibitör etkinlik gösterdiği belirlenen bileşiklerin, MPO enziminin aktif bölgesine olan afiniteleri gayakol oksidasyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. (Capeillère-Blandin, 1998). Gayakol bileşiğinin enzimin aktif bölgesi ile etkileşime geçmesi sonucunda tetragayakol adı verilen renkli ürün oluşur (Şekil 26). Yöntemin temeli oluşan tetragayakolün 470 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanmaktadır. İnhibitör bileşiklerin enzim aktif bölgesine yüksek afinite göstermeleri ve gayakolün girişini engellemeleri durumunda bu renkli ürün oluşmaz.



Şekil 26. Gayakol bileşiğinin H₂O₂ ile reaksiyonu sonunca tetragayakol yapısına oksidasyonu

Gayakol oksidasyon deneyleri, 96 kuyucuklu şeffaf, düz tabanlı, polistiren mikrolaplarda gerçekleştirilmiştir. Kuyucuklara 20 mM gayakol (10 µl), 2 mM test edilecek bileşik (5 µl), 800 nM rekombinant MPO enzimi (10 µl) ve 65 µl distile su eklenmiştir. Plak yavaşça karıştırıldıktan sonra bu içeriğin üzerine 10 µl 100 mM H₂O₂ eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Plak mikrolak okuyucuya yerleştirilip, 37°C sıcaklıkta, 10 dk süresince 470 nm dalga boyunda gayakol oksidasyonuna bağlı gerçekleşecek absorbans artışı ölçülmüştür. Reaksiyonunun 10. dakikasında 40 µg/ml'lik katalaz çözeltisinden 5 µl eklenerek reaksiyon durduruldu ve son ölçüm alınmıştır. İnhibitör eklenmeyen kuyucuklardaki absorbans değişimi, %100 okside gayakol olarak hesaplanmıştır ve test edilen bileşiklerin gayakol oksidasyonu inhibitör etkinlikleri bu değere göre % inhibisyon olarak ifade edilmiştir.

3.2.3.4. HOCl (Hipokloröz Asit) Süpürme Aktivitesi Tayini

Tez çalışmamız kapsamında sentezlenen ve güçlü MPO inhibitör etkinlik gösterdiği belirlenen bileşiklerin, deney ortamında oluşan reaktif HOCl  zerine potansiyel etkileri hipokloröz asit süpürme aktivitesi yöntemi ile incelenmiştir. Yöntemin temeli, taurinin HOCl ile reaksiyonu sonucu oluşan taurin kloramin bileşiğinin, sarı renkteki TNB bileşiğini renksiz DTNB yapısına dönüştürmesine ve renk değişikliği şiddetinin 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak  l  lmesine dayanmaktadır (Ching, Dejong ve Bast, 1994). Reaksiyon ortamında gözlenen absorbsiyon azalması HOCl süpürme aktivitesi ile ters orantılıdır. Ortamda HOCl süpürücü etkili bir bileşiğin bulunması durumunda ise absorbsiyonda azalma gözlenir.

Çalışmamızda hipokloröz asit süpürme aktivitesi deneyleri cam tüpler içerisinde gerçekleştirilmiştir. Spektrofotometrik  l  mler 1 cm genişlikteki kuvars küvetler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Deneyde kullanılacak TNB   zeltisi deney günü taze olarak hazırlamıştır. Her çalışmadan önce stok çözeltinin HOCl konsantrasyonu belirlenmiş ve dilüsyonları taze olarak yapılmıştır. Her  alışma öncesinde deneyde kullanılan çözeltilerin pH'sı kontrol edilmiştir.

Hipokloröz asit süpürme aktivitesi deneyinde son hacim 4 ml olacak şekilde, tüpler sırası ile 10 mM test edilecek bileşik (100  l), 0.6 mM NaOCl (100  l), 150 mM taurin (100  l) ve 10 mM K₂HPO₄/NaOH (pH:7.4, 700  l) eklendikten sonra tüplerin ağzı kapatılarak karıştırılmıştır. Tüpler 10 dakika süre ile 37 C sıcaklığa sabitlenmiş su banyosunda inkübe edilmiştir. Inkübasyon süresi sonunda tüplere 0.45 mM TNB (750  l) ve distile su (2250  l) eklenmiştir. T p içeriği karıştırıldıktan sonra 412 nm dalga boyunda HOCl asit süpürme aktivitesine bağlı gelişen absorbsiyon değişiklikleri ölçülmüştür. Inhibitör içermeyen, sadece DMSO ile hazırlanan tüpteki absorbans değişimi, %100 HOCl asit olarak kabul edilmiştir. Test edilen bileşikleri içeren tüplerin absorbsiyon değerleri ise bu değere oranlanarak % HOCl asit süpürücü aktivite olarak saptanmıştır.

3.3. Moleküler Modelleme Çalışmaları

3.3.1. Moleküler Kenetlenme Çalışmaları

Bileşiklerin kimyasal yapıları MOE2020.09 programının bileşik oluşturma paneli kullanılarak oluşturulmuştur, üç boyutlu protonlandırma protokolü kullanılarak bileşiklerin hidrojenleri eklenmiş ve oluşturulan yapılar MMFF94x güç alanı kullanılarak MOE2020.09 programı ile enerji minimizasyonuna tabi tutulmuştur (Chemical Computing Group Incorporation, 2020; Halgren, 1996). İnsan miyeloperoksidaz (MPO) enziminin (PDB ID: 1DNW 1.90 Å'da çözümlenmiştir) kristal yapısı RCSB Protein Veri Bankasından (<http://www.rcsb.org/pdb>) elde edilmiştir (Blair-johnson, Fiedler ve Fenna, 2001). MPO enziminin A zinciri seçildi. B zinciri, heteroatomlar ve su molekülleri silinmiştir. Protein MOE2020.09 programı ile AMBER14SB güç alanı şartlarında enerji minimizasyonuna tabi tutulmuştur (Maier ve ark., 2015). Bileşiklerin doking çalışmaları varsayılan jenerik algoritma parametreleri kullanılarak GOLD 5.2.1 programı ile gerçekleştirilmiştir (Maier ve ark., 2015). Bileşikler, MPO için bağlanma bölgesindeki Gln91 aminoasit artığının amit grubu azotunu (NE2) merkez alan 10 Å yarıçapındaki alan içerisinde, bağlanma yönelimini belirlemek amacıyla kenetlenme işlemine tabi tutulmuştur. Her bir yapı için yüz adet konformasyon oluşturulmuştur. GoldScore uygunluk fonksiyonu skoreleme fonksiyonu olarak kullanılmıştır (Maier ve ark., 2015). Şekiller MOE2020.09 programı ile oluşturulmuştur.

3.3.2. Moleküler Dinamik Simülasyon Çalışmaları

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerden bileşik C21'in biyolojik aktivite çalışmaları sonucunda MPO üzerine en iyi inhibitör etkinliğe sahip bileşik olduğu belirlenmiştir. İnhibitör etkinliği belirlenen bu bileşik, MPO enzimi içerisindeki kovalent olmayan etkileşimlerinin değerlendirilmesi amacıyla Moleküler Dinamik (MD) simülasyon ve serbest bağlanma enerjisi hesaplama çalışmaları için seçilmiştir. Başlangıç protein-ligand komplekslerinin hazırlaması için bileşiğin MPO enzimi içerisindeki GOLD 5.2.1 programı kullanılarak elde edilen en iyi skor değerine sahip konformasyonu tercih edilmiştir. Proteinin apo formu ve protein-ligand kompleksi için MD simülasyonları AmberTools20 programı kullanılarak oluşturulmuştur. Bileşiğin kısmi atomik yükleri AmberTools20 programının antechamber modülü kullanılarak AM1-

BCC şarj modeliyle hesaplanmıştır (Case ve ark., 2021; Jakalian, Bush, Jack ve Bayly, 2000).

Hem grubunun demir iyonu ve protoporfirin IX yapısı AmberTools20 programının awk modülü ile ayrılmıştır (Case ve ark., 2021). Protoporfirin IX yapısına AmberTools20 programının reduce modülü ile hidrojenleri eklenmiş ve pdb4amber modülü ile yapının atomları yeniden numaralandırılmıştır (Case ve ark., 2021) Protoporfirin IX yapısının kısmi atomik yükleri AmberTools20 programının antechamber modülü kullanılarak AM1-BCC şarj modeliyle hesaplanmıştır (Case ve ark., 2021; Jakalian ve ark., 2000). Demir iyonunun metalpdb2mol2.py modülü ile 3 yüklü mol2 dosyası oluşturulmuştur (Case ve ark., 2021)

Bütün standart artıkları içeren pdb dosyasına webserver H++ ile hidrojenleri eklenmiştir. Webserver H++ ile sistemin Amber topoloji ve koordinat dosyaları oluşturulmuştur (Gordon ve ark., 2005). AmberTools20 programının ambpdb modülü ile topoloji ve koordinat dosyaları kullanılarak AMBER isimlendirmesine sahip pdb dosyası oluşturulmuştur. Pdb4amber modülü ile Pdb dosyasının atomları yeniden numaralandırılmıştır. Pdb dosyaları tek bir dosyada birleştirilip pdb4amber modülü ile dosyanın atomları yeniden numaralandırılmıştır.

GAMESS-US programıyla kuantum mekaniği hesaplamaları yapılacak olan dosyalar ve GAMESS-US veri giriş dosyaları MCPB.py modülü ile oluşturulmuştur (Gordon ve ark., 2005). Bu aşamada küçük, standart ve büyük modellerin pdb ve parmak izi dosyaları hazırlanmıştır. Küçük modelin geometri optimizasyonu güç sabiti hesaplamaları ile büyük modelin hesaplamaları B3LYP/6-31G* teori seviyesinde GAMESS-US programıyla gerçekleştirilmiştir (Gordon ve ark., 2005). MCPB.py modülü ile Seminario metodu kullanılarak güç alanı parametreleri oluşturulmuştur (Seminario, 1996). Aynı modül ile ChgModB kullanılarak metal bölgesindeki artıkların yükleri RESP yük uygunluk algoritmasına göre düzenlenmiş ve bu artıkların mol2 dosyaları hazırlanmıştır (Lin ve Wang, 2010). Yine MCPB.py modülü ile metal bölgesi artıklarının yeniden isimlendirildiği bir pdb dosyası ve tleap modülünde kullanılmak üzere veri giriş dosyası oluşturulmuştur (Case ve ark., 2021). MPO apo formu ve MPO-ligand kompleksi AmberTools20'nin tleap modülü kullanılarak enerji minimizasyonları ve MD simülasyonları için hazırlanmıştır. Modellerin hazırlanmasında genel AMBER güç alanı (gaff) ligand ve AMBERff19SB güç alanı

protein için kullanılmıştır (Tian ve ark., 2020; Wang, Wolf, Caldwell, Kollman ve Case, 2004).

MPO apo formu ve MPO-ligand kompleksi protein yüzeyi ve kutu sınırı arasındaki mesafenin 10 Å olduğu bir oktahedral kutu içerisinde TIP3P su molekülleri ile çözündürülmüştür (Jorgensen, Chandrasekhar, Madura, Impey ve Klein, 1983). Protein ve protein-ligand komplekleri uygun sayıdaki klorür iyonu ile nötrleştirilmiştir. Protein ve protein-ligand kompleksleri için enerji minimizasyonları AmberTools20'nin Sander.MPI modülü ile ve MD simülasyonları Amber20'in pmemd.cuda modülü ile gerçekleştirilmiştir (Case ve ark., 2021). Sterik kontaklardan kaçınmak amacıyla başlangıç sistemleri iki basamakta enerji minimizasyona tabi tutulmuştur. İlk basamakta enerji minimizasyonu sırasıyla steepest descent algoritması ve eşlenik gradyan yöntemi ile 1000'er tekrarlama yapılarak sadece iyonların ve su moleküllerinin relaksasyonuna izin verilerek uygulanmıştır. İkinci basamakta ise enerji minimizasyonu tüm sistemlere sırasıyla steepest descent algoritması ve eşlenik gradyan yöntemi ile 2500'er tekrarlama yapılarak uygulanmıştır. Minimizasyon basamaklarından sonra 0.1 ns süresince su moleküllerinin ve iyonların serbestçe hareketine izin verilerek sistemler 10 kcal/mol/Å kısıtlama kuvvetiyle 0'dan 300 K'e ısıtılmıştır. Tüm sistemler, sıcaklığı 300 K'de tutmak için sabit hacimli periyodik sınırlarda 1.0 ps⁻¹ çarpışma frekansı ile Langevin dinamiklerine tabi tutulmuştur. Sıcaklık sabit tutulduktan sonra basıncı 1 bar'da dengelemek için çözünenin pozisyonel sınırlandırılmasını koruyarak 2ns süresince sisteme izotropik pozisyon ölçüm yöntemiyle sabit basınç periyodik sınır şartları uygulanmıştır. Serbest MD simülasyonunda pozisyonel sınırlandırmalar sıcaklık 300 K ve basınç 1 bar'da tutularak kademeli olarak kaldırılmıştır. Denge ve serbest MD basamaklarında, SHAKE algoritması hidrojen atomlarının dahil olduğu bant titreşimlerini zorlamak için uygulanmıştır. Parçacık ağ Ewald yöntemi kısa mesafe ve uzun mesafe elektrostatik etkileşimler için uygulanmıştır (Ryckaert, Ciccotti ve Berendsen, 1977). Bağ olmayan etkileşimler için 10 Å kesme değeri ve zaman entegratörü için 2 fs zaman basamağı kullanılmıştır. Bütün sistemler 100 ns süresince serbest MD simülasyonuna tabi tutulmuştur. Xmgrace programı ile yörüngeler görüntülenmiştir. AmberTools20'nin MMPBSA.py.MPI modülü ile sınırlandırılmamış MD simülasyonunun 100'er aralıklı anlık görüntülerinden bileşiğin moleküler mekanik jeneralize Born yüzey alanı (MM-GBSA) serbest bağlanma enerji

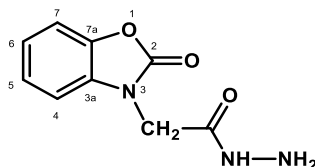
hesaplamaları ve enerji ayrıştırma analizi gerçekleştirilmiştir (Miller ve ark., 2012). Hidrojen bağı analizleri AmberTools20'nin Cpptraj modülü ve varsayılan ayarları ile gerçekleştirilmiştir (Roe ve Cheatham, 2013). Şekiller MOE2020.09 programı ile oluşturulmuştur.



4. Bulgular

4.1. Spektral Bulgular

4.1.1. B1 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %89, Erime derecesi: 190°C (189-190°C, Srikanth ve ark., 2010)

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3350, 3306 (N-H gerilme), 3069 (Aromatik C-H gerilme), 2990, 2947 (Alifatik C-H gerilme), 1765 (C=O gerilme), 1645 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1605 (NH₂ eğilme), 1545 (Amit II bandı) 1487 (C=C gerilme)

MS (ESI+) m/z (% bağıl bolluk)

208.27 (100, M+H)⁺, 148.26 (45)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.24 (2H, s, -NH₂), 4.44 (min-2H, s), 4.85 (2H, s, -CH₂-), 6.84 (1H, td, *J*= 7.8; 1.4 Hz, H-6**), 6.93 (1H, dd, *J*= 8.2; 1.3 Hz, H-7*), 7.11-7.14 (min-1H, m), 7.17 (1H, td, *J*= 7.8; 1.7 Hz, H-5**), 7.20-7.22 (min-1H, m), 7.27 (1H, dd, *J*= 7.8; 1.6 Hz, H-4*), 7.34 (min-1H, dd, *J*= 7.5; 0.9 Hz), 9.45(min-1H, bs), 9.81 (1H, bs, -NH-NH₂) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir, ** İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

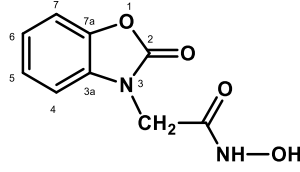
δ 42.9, 43.4, 109.8, 110.0, 110.0, 122.5, 122.7, 124.2, 124.2, 131.8, 132.2, 142.4, 142.4, 154.4, 154.7, 165.6, 169.7 ppm.

Elementel Analiz (%) C₉H₉N₃O₃

Hesaplanan: C, 52.17; H, 4.38; N, 20.28

Bulunan: C, 52.23; H, 4.35; N, 20.56

4.1.2. B2 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-hidroksi-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetamit

Verim: %52, Erime Derecesi: 215°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3235 (N-H gerilme), 1750 (C=O gerilme), 1582 (C=O gerilme), 1487 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

207.17 (75, M-H^-), 134.09 (100)

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

δ 4.01 (2H, s, $-\text{CH}_2-$), 6.39 (1H, td, $J = 7.4; 1.3$ Hz, H-6**), 6.76 (1H, dd, $J = 8.2; 1.3$ Hz, H-7*), 6.94 (1H, td, $J = 7.7; 1.8$ Hz, H-5**), 6.99 (1H, dd, $J = 7.7; 1.8$ Hz, H-4*) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir, ** İki protonun yeri değişebilir.

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

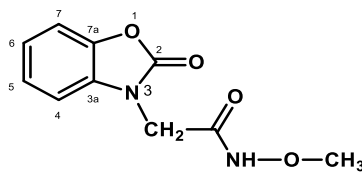
δ 46.2, 49.7, 109.4, 110.0, 113.9, 119.3, 121.8, 123.9, 126.2, 128.5, 128.6, 157.3, 160.4, 166.9 ppm.

Elementel Analiz (%) $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4$

Hesaplanan: C, 51.93; H, 3.87; N, 13.46

Bulunan: C, 46.22; H, 3.58; N, 11.05

4.1.3. B3 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-metoksi-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetamit

Verim: %37, Erime Derecesi: 305°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3290 (N-H gerilme), 1768 (C=O gerilme), 1597 (C=O gerilme), 1488 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

221.21 (10, M-H)⁻, 192.08 (20), 134.15 (20), 120.05 (100)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆)

δ 3.60 (3H, s, -OCH₃), 4.42 (2H, s, -CH₂-), 6.76 (1H, dd, $J=7.1$; 1.9 Hz, H-7*), 6.94-7.06 (3H, m, H-4*, H-5, H-6) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

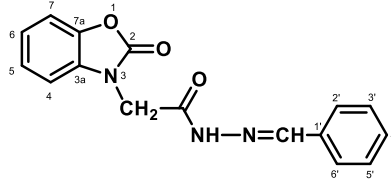
δ 40.6, 46.3, 109.4, 110.0, 121.7, 123.8, 132.8, 142.3, 154.7, 167.2 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₀H₁₀N₂O₄

Hesaplanan: C, 54.05; H, 4.54; N, 12.61

Bulunan: C, 41.22; H, 3.30; N, 4.63

4.1.4. B4 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-benziliden-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %62, Erime Derecesi: 257°C (235-240°C, Srikanth ve ark., 2010)

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3187 (N-H gerilme), 3094 (Aromatik C-H gerilme), 2988 (Alifatik C-H gerilme), 1765 (C=O gerilme), 1675 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1615 (C=N gerilme), 1488 (C=C gerilme)

MS (APCI+) m/z (% bağıl bolluk)

296.49 (100, $M+H$)⁺, 148.31 (85), 118.31 (25)

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6)

δ 4.65 (min-2H, s), 5.09 (2H, s, -CH₂-), 7.14 (1H, td, $J=7.7$; 1.0 Hz, H-6**); min-1H), 7.21 (1H, td, $J=7.6$; 1.0 Hz, H-5**); min-1H), 7.26 (min-2H, m), 7.32 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-7*), 7.38 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-4*, min-1H), 7.44-7.48 (3H, m, H-3', H-4', H-5'; min-2H), 7.69-7.71 (min-2H, m), 7.75 (2H, dd, $J=7.2$; 2.3 Hz, H-2' ve H-6'), 8.06 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.24 (min-1H, s), 11.86 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir, ** İki protonun yeri değişebilir.

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 + CDCl₃)

δ 4.49 (min-2H, s), 4.93 (2H, s, -CH₂-), 6.85 (1H, td, H-7*), 6.98-7.07 (2H, H-5 ve H-6), 7.11 (1H, d, $J=7.1$ Hz, H-4*), 7.29-7.31 (3H, m, H-3', H-4', H-5'), 7.69-7.71 (min-2H, m), 7.56-7.58 (2H, m, H-2' ve H-6'), 7.87 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.13 (min-1H, s), 11.20 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6)

δ 43.5, 43.9, 110.0, 110.1, 110.1, 122.7, 122.9, 124.4, 124.4, 127.5, 127.6, 129.3, 130.6, 130.7, 131.9, 132.1, 134.3, 134.4, 142.4, 144.9, 148.1, 154.5, 154.6, 163.0, 167.8 ppm.

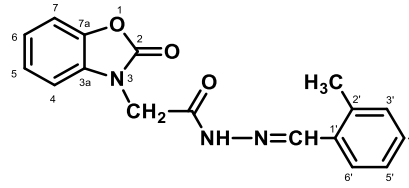
Elementel Analiz (%) $C_{16}H_{13}N_3O_3$

Hesaplanan: C, 65.08; H, 4.44; N, 14.23

Bulunan: C, 65.46; H, 4.87; N, 13.82



4.1.5. B5 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(2-metilbenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %58, Erime Derecesi: 233°C (228°C, Çakır, Dağ, Yıldırım, Erol ve Şahin, 2001)

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3182 (N-H gerilme), 3096 (Aromatik C-H gerilme), 2987, 2902 (Alifatik C-H gerilme), 1767 (C=O gerilme), 1678 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1615 (C=N gerilme), 1489 (C=C gerilme)

MS (APCI+) m/z (% bağıl bolluk)

310.51 (100, M+H)⁺, 148.32 (35)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 2.43 (min-3H, s), 2.45 (3H, s, -CH₃), 4.65 (min-2H, s, -CH₂-), 5.06 (2H, s, -CH₂-), 7.12-7.38 (7H, m, H-4, H-5, H-6, H-7, H-3', H-4', H-5'; min-7H), 7.77 (min-1H, d, *J*=7.0 Hz), 7.81 (1H, d, *J*=7.0 Hz, H-6'), 8.33 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.50 (min-1H, s), 11.76 (1H, bs, -NH-N=CH-) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

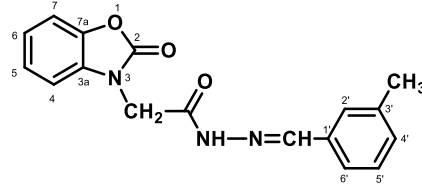
δ 19.5, 19.9, 43.5, 43.9, 109.9, 110.1, 110.1, 110.2, 122.7, 122.9, 124.4, 124.4, 126.5, 126.6, 127.1, 130.2, 130.4, 131.3, 131.4, 131.9, 132.1, 132.2, 132.3, 137.2, 137.4, 142.4, 144.2, 146.8, 154.5, 154.6, 162.9, 167.7 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₇H₁₅N₃O₃

Hesaplanan: C, 66.01; H, 4.89; N, 13.58

Bulunan: C, 65.61; H, 4.92; N, 13.35

4.1.6. B6 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(3-metilbenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %67, Erime Derecesi: 230°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3189 (N-H gerilme), 3071 (Aromatik C-H gerilme), 2988 (Alifatik C-H gerilme), 1776, 1764 (C=O gerilme), 1677 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1628 (C=N gerilme), 1489 (C=C gerilme)

MS (APCI+) m/z (% bağıl bolluk)

310.54 (100, $M+H$)⁺, 148.32 (95), 118.30 (25)

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.34 (min-3H, s), 2.35 (3H, s, -CH₃), 4.65 (min-2H, s), 5.08 (2H, s, -CH₂-), 7.14 (1H, td, $J=7.7$; 1.2 Hz, H-6*), 7.20 (1H, td, $J=7.7$; 1.2 Hz, H-5*; min-1H), 7.24-7.28 (1H, m, H-5'; min-2H), 7.31-7.38 (3H, m, H-4, H-7 ve H-4'; min-3H), 7.49 (min-1H, d, $J=7.5$ Hz), 7.53 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-6'; min-1H), 7.58 (1H, s, H-2'), 8.03 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.20 (min-1H, s), 11.79 (1H, bs, -NH-N=CH-) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100MHz, DMSO- d_6)

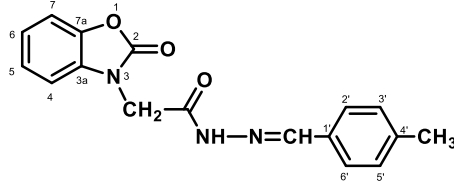
δ 21.3, 21.3, 43.6, 43.9, 109.9, 110.1, 110.1, 122.7, 122.9, 124.4, 124.4, 124.9, 125.0, 127.8, 127.9, 129.1, 131.3, 131.4, 131.9, 132.1, 134.2, 134.3, 138.5, 142.4, 145.1, 148.2, 154.5, 154.6, 162.9, 167.8 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₇H₁₅N₃O₃

Hesaplanan: C, 66.01; H, 4.89; N, 13.58

Bulunan: C, 65.59; H, 4.88; N, 13.14

4.1.7. B7 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(4-metilbenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %70, Erime Derecesi: 280°C (281°C, Çakır ve ark., 2001)

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3182 (N-H gerilme), 3094 (Aromatik C-H gerilme), 2990, 2920 (Alifatik C-H gerilme), 1776, 1764 (C=O gerilme), 1673 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1618 (C=N gerilme), 1489 (C=C gerilme)

MS (APCI+) m/z (% bağıl bolluk)

310.52 (100, M+H)⁺, 148.32 (55)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 2.33 (min-3H, s), 2.34 (3H, s, -CH₃), 4.64 (min-2H, s), 5.07 (2H, s, -CH₂-), 7.14 (1H, t, *J*=7.7 Hz, H-6**; min-1H), 7.20 (1H, t, *J*=7.7 Hz, H-5**; min-1H), 7.27 (2H, d, *J*=7.9 Hz, H-3' ve H-5'; min-2H), 7.31 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-7*; min-1H), 7.37 (1H, d, *J*=7.7 Hz, H-4*; min-1H), 7.60 (min-2H, d, *J*=7.9 Hz), 7.64 (2H, d, *J*=7.9 Hz, H-2' ve H-6'), 8.02 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.20 (min-1H, s), 11.74 (1H, bs, -NH-N=CH-) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir, ** İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

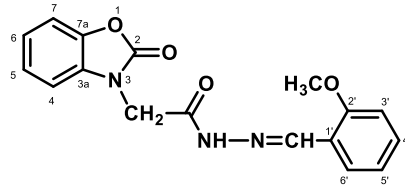
δ 21.5, 43.5, 43.9, 109.9, 110.0, 110.1, 122.7, 122.8, 124.4, 124.4, 127.4, 127.6, 129.9, 131.6, 131.7, 131.9, 132.1, 140.4, 140.6, 142.4, 145.0, 148.1, 154.5, 154.6, 162.9, 167.7 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₇H₁₅N₃O₃

Hesaplanan: C, 66.01; H, 4.89; N, 13.58

Bulunan: C, 66.43; H, 4.63; N, 13.93

4.1.8. B8 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(2-metoksibenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %65, Erime Derecesi: 238°C (240°C, Çakır ve ark., 2001)

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3186 (N-H gerilme), 3052 (Aromatik C-H gerilme), 2990, 2920 (Alifatik C-H gerilme), 1774 (C=O gerilme), 1688, 1664 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1600 (C=N gerilme), 1559 (Amit II bandı), 1488 (C=C gerilme), 1236 (C-O-C asimetric gerilme), 1060 (C-O-C simetric gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

324.23 (65, M-H)⁻

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.86 (3H, s, -OCH₃; ; min-3H), 4.62 (min-2H, s), 5.07 (2H, s, -CH₂-), 7.02 (1H, t, *J*=7.6 Hz, H-5'; min-1H), 7.09-7.16 (2H, m, H-6** ve H-3'; min-1H), 7.20 (1H, t, *J*=7.8 Hz, H-5**; min-2H), 7.26 (min-2H, t, *J*=7.5 Hz), 7.31 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-7*), 7.37 (1H, d, *J*=7.9 Hz, H-4*), 7.43 (1H, t, *J*=7.4; 1.2 Hz, H-4'; min-1H), 7.79 (min-1H, d, *J*=7.7 Hz), 7.91 (1H, d, *J*=7.7 Hz, H-6'), 8.40 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.58 (min-1H, s), 11.77 (1H, bs, -NH-N=CH-) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir, ** İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

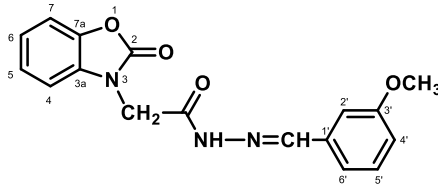
δ 43.5, 44.0, 56.1, 56.1, 109.9, 110.0, 110.1, 110.1, 112.2, 112.4, 121.0, 121.1, 121.2, 122.3, 122.3, 122.7, 122.9, 124.3, 124.4, 126.0, 126.0, 129.6, 131.9, 132.1, 132.1, 132.2, 140.6, 142.4, 142.4, 143.6, 154.5, 154.6, 158.1, 158.2, 162.8, 167.7 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₇H₁₅N₃O₄

Hesaplanan: C, 62.76; H, 4.65; N, 12.92

Bulunan: C, 62.74; H, 4.69; N, 13.10

4.1.9. B9 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(3-metoksibenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %60, Erime Derecesi: 222 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3186 (N-H gerilme), 3074 (Aromatik C-H gerilme), 2976 (Alifatik C-H gerilme), 1765 (C=O gerilme), 1681 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1610 (C=N gerilme), 1577 (Amit II bandı), 1491 (C=C gerilme), 1276 (C-O-C asimetric gerilme), 1045 (C-O-C simetrik gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

324.14 (40, M-H⁻), 279.88 (65), 146.92 (30), 137.13 (100), 112.74 (20)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.79 (min-3H, s), 3.81 (3H, s, -OCH₃), 4.65 (min-2H, s), 5.09 (2H, s, -CH₂-), 7.02 (1H, ddd, J=8.1; 2.6; 1.1 Hz, H-4'; min-1H), 7.14 (1H, td, J=7.8; 1.4 Hz, H-6*; min-1H), 7.20 (1H, td, J=7.7; 1.2 Hz, H-5*; min-1H), 7.24-7.39 (5H, m, H-4, H-7, H-2', H-5' ve H-6'; min-5H), 8.03 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.21 (min-1H, s), 11.83 (1H, bs, -NH-N=CH-) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

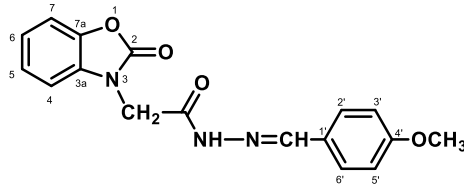
δ 43.6, 43.9, 55.6, 55.6, 109.9, 110.1, 110.1, 110.1, 111.9, 112.0, 116.6, 116.8, 120.2, 120.4, 122.7, 122.9, 124.4, 124.4, 130.4, 130.4, 131.9, 132.1, 135.7, 135.8, 142.4, 144.8, 148.0, 154.5, 154.6, 160.0, 160.0, 163.0, 167.8 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₇H₁₅N₃O₄

Hesaplanan: C, 62.76; H, 4.65; N, 12.92

Bulunan: C, 62.90; H, 4.75; N, 13.33

4.1.10. B10 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(4-metoksibenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %62, Erime Derecesi: 254°C (258°C, Çakır ve ark., 2001)

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3189 (N-H gerilme), 3071 (Aromatik C-H gerilme), 2988, 2841 (Alifatik C-H gerilme), 1775, 1762 (C=O gerilme), 1675 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1619 (C=N gerilme), 1520 (Amit II Bandı), 1488 (C=C gerilme), 1259 (C-O-C asimetrik gerilme), 1023 (C-O-C simetrik gerilme)

MS (APCI+) m/z (% bağıl bolluk)

326.48 (100, M+H)⁺, 218.42 (25), 118.31 (20)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.80 (min-3H, s), 3.81 (3H, s, -OCH₃), 4.63 (min-2H, s), 5.06 (2H, s, -CH₂-), 7.01 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3' ve H-5'; min-2H), 7.14 (1H, td, *J*=7.8; 1.4 Hz, H-6**), 7.20 (1H, td, *J*=7.7; 1.2 Hz, H-5**; min-1H), 7.23-7.27 (min-2H, m), 7.31 (1H, dd, *J*=7.7; 0.8 Hz, H-7*), 7.37 (1H, dd, *J*=7.7; 0.8 Hz, H-4*; min-1H), 7.65 (min-2H, d, *J*=8.8 Hz), 7.69 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2' ve H-6'), 8.00 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.18 (min-1H, s), 11.68 (1H, bs, -NH-N=CH-) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir, ** İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

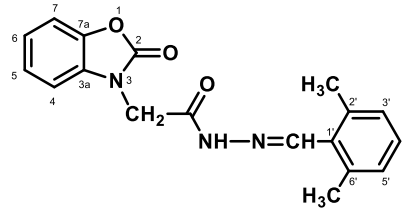
δ 43.5, 43.9, 55.7, 109.9, 110.0, 110.1, 114.7, 114.8, 122.7, 122.8, 124.4, 124.4, 126.9, 126.9, 129.1, 129.2, 131.9, 132.1, 142.4, 144.8, 148.0, 154.5, 154.6, 161.3, 161.4, 162.7, 167.5 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₇H₁₅N₃O₄

Hesaplanan: C, 62.76; H, 4.65; N, 12.92

Bulunan: C, 62.39; H, 4.69; N, 13.25

4.1.11. B11 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(2,6-dimetilbenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %45, Erime Derecesi: 219°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3192 (N-H gerilme), 3119 (N-H gerilme ve Aromatik C-H gerilme), 2988, 2968, 2902 (Alifatik C-H gerilme), 1770 (C=O gerilme), 1675 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1613 (C=N gerilme), 1488 (C=C gerilme)

MS (APCI+) m/z (% bağıl bolluk)

324.49 (100, M+H)⁺, 148.32 (50), 132.36 (25), 120.22 (20)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 2.40 (min-6H, s), 2.47 (6H, s, -CH₃), 4.66 (min-2H, s), 4.99 (2H, s, -CH₂-), 7.08-7.22 (5H, m, H-5, H-6, H-3', H-4' ve H-5'; min-5H), 7.30 (1H, dd, $J=7.8$; 1.3 Hz, H-7*; min-1H), 7.37 (1H, dd, $J=7.8$; 1.3 Hz, H-4*; min-1H), 8.44 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.54 (min-1H, s), 11.70 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

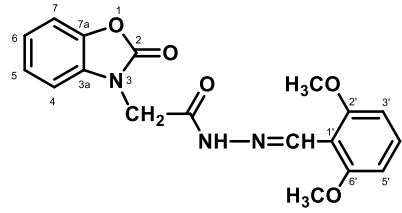
δ 21.4, 21.7, 43.5, 43.8, 110.0, 110.1, 122.7, 122.8, 124.3, 129.1, 129.3, 129.4, 130.8, 132.1, 137.7, 137.8, 142.4, 145.1, 148.0, 154.6, 162.8, 167.6 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₈H₁₇N₃O₃

Hesaplanan: C, 66.86; H, 5.30; N, 13.00

Bulunan: C, 66.87; H, 5.48; N, 12.80

4.1.12. B12 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(2,6-dimetoksibenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %58, Erime Derecesi: 232°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3186 (N-H gerilme), 3060 (Aromatik C-H gerilme), 2969, 2925, 2886 (Alifatik C-H gerilme), 1775 (C=O gerilme), 1674 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1605 (C=N gerilmesi), 1575 (Amit II bandı), 1595, 1489 (C=C gerilme), 1259 (C-O-C asimetrik gerilmesi), 1023 (C-O-C simetrik gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

353.85 (50, M-H)⁻

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6)

δ 3.78 (min-6H, s), 3.83 (6H, s, -OCH₃), 4.61 (min-2H, s), 4.96 (2H, s, -CH₂-), 6.73 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3' ve H-5'; min-2H), 7.14 (1H, t, $J=7.8$ Hz, H-6**), 7.18-7.25 (1H, m, H-5**; min-2H), 7.29 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-7*; min-1H), 7.33-7.38 (2H, m, H-4* ve H-4'; min-2H), 8.29 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.38 (min-1H, s), 11.59 (1H, s, -NH-N=CH-; min-1H) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir, ** İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6)

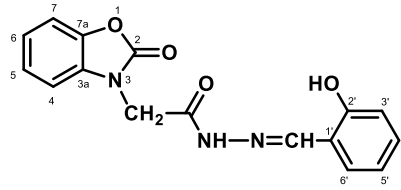
δ 43.4, 43.8, 56.4, 56.5, 104.6, 104.8, 104.9, 110.0, 110.1, 110.9, 111.0, 122.7, 122.8, 124.3, 131.8, 132.2, 140.1, 142.4, 142.4, 143.6, 154.5, 154.6, 159.1, 159.3, 162.4, 167.6, 167.6 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₈H₁₇N₃O₅

Hesaplanan: C, 60.84; H, 4.82; N, 11.83

Bulunan: C, 60.95; H, 4.92; N, 11.94

4.1.13. B13 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(2-hidroksibenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %37, Erime Derecesi: 274°C (248°C, Çakır ve ark., 2001)

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3189 (N-H gerilme), 3057 (Aromatik C-H gerilme), 2980, 2901 (Alifatik C-H gerilme), 1781 (C=O gerilme), 1676 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1623 (C=N gerilme), 1572 (Amit II bandı), 1609, 1491 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

310.21 (100, M-H)⁻

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.67 (min-2H, s), 5.06 (2H, s, -CH₂-), 6.85-6.93 (2H, m, H-3' ve H-5', min-2H), 7.12-7.32 (4H, m, H-5, H-6, H-7 ve H-4'; min-4H), 7.37 (1H, d, *J*=7.3 Hz, H-4; min-1H), 7.56 (min-1H, d, *J*=7.6 Hz), 7.77 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-6'), 8.37 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.46 (min-1H, s), 11.75 (1H, bs, -NH-N=CH-) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

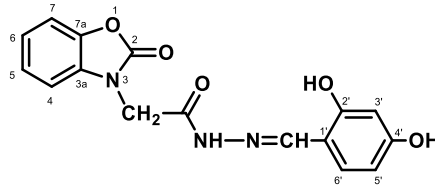
δ 43.5, 43.8, 109.9, 110.0, 110.1, 110.1, 116.6, 116.8, 117.1, 117.3, 119.0, 119.2, 119.7, 119.8, 119.8, 120.0, 120.5, 122.7, 122.9, 124.3, 124.4, 126.8, 129.3, 129.5, 129.7, 131.8, 132.1, 132.1, 133.7, 142.3, 142.4, 142.4, 148.2, 152.8, 153.9, 154.5, 154.6, 156.9, 157.2, 157.7, 158.4, 162.9, 166.9, 167.5ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₆H₁₃N₃O₄

Hesaplanan: C, 61.73; H, 4.21; N, 13.50

Bulunan: C, 61.86; H, 3.95; N, 13.86

4.1.14. B14 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(2,6-dihidroksibenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %33, Erime Derecesi: 285°C

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3371 (O-H gerilme), 3174 (N-H gerilme), 3071 (Aromatik C-H gerilme), 2939 (Alifatik C-H gerilme), 1747 (C=O gerilme), 1670 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1632 (C=N gerilme), 1586 (Amit II bandı), 1612, 1489 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

326.18 (100, M-H)⁻

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.64 (min-2H, s), 5.01 (2H, s, -CH₂-), 6.30-6.35 (2H, m, H-3' ve H-5', min-2H), 7.12-7.38 (4H, m, H-4, H-5, H-6 ve H-7; min-5H), 7.56 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-6'), 8.24 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.32 (min-1H, s), 9.22 (min-1H, s) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

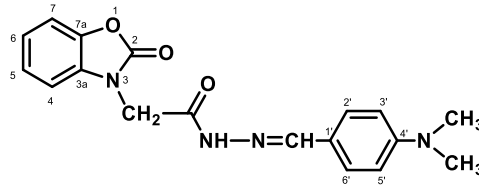
δ 43.4, 43.8, 102.8, 103.0, 108.2, 108.3, 109.9, 110.0, 110.1, 110.8, 112.0, 122.7, 122.9, 124.3, 124.4, 128.4, 131.5, 131.8, 132.1, 142.4, 142.4, 143.2, 149.2, 154.5, 154.6, 158.5, 159.4, 159.8, 161.1, 161.4, 162.4, 167.0 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₆H₁₃N₃O₅

Hesaplanan: C, 58.72; H, 4.00; N, 12.84

Bulunan: C, 58.63; H, 3.96; N, 12.97

4.1.15. B15 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(4-dimetilaminobenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %57, Erime Derecesi: 240°C (243°C, Çakır ve ark., 2001)

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3182 (N-H gerilme), 3094 (Aromatik C-H gerilme), 2988, 2902 (Alifatik C-H gerilme), 1768 (C=O gerilme), 1673 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1605 (C=N gerilme), 1532 (Amit II bandı), 1491 (C=C gerilme)

MS (APCI-) m/z (% bağıl bolluk)

337.31 (75, M-H)⁻, 148.13 (50), 134.09 (30), 120.02 (100)

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.96 (min-6H), 2.97 (6H, s, -CH₃), 4.35 (min2-2H), 4.60 (min-2H, s), 5.02 (2H, s, -CH₂-), 6.74 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3' ve H-5'; min-2H), 6.80-6.96 (min2-6H, m), 7.12-7.24 (2H, m, H-5 ve H-6; min-3H), 7.30 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-7*), 7.37 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-4*; min-1H), 7.51 (min-2H, d, $J=8.6$ Hz), 7.54 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2' ve H-6'), 7.66 (min2-2H, d, $J=8.8$ Hz), 7.92 (1H, s, -NH-N =CH-), 8.08 (min-1H, s), 8.90 (min2-1H, s), 11.50 (1H, s, -NH-N=CH-; min-1H) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ 3.01 (min-6H), 3.04 (6H, s, -CH₃), 4.57 (min-2H, s), 5.06 (2H, s, -CH₂-), 6.65 (min-2H, d, $J=8.8$ Hz), 6.70 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3' ve H-5'), 6.94-6.96 (1H, m), 7.09-7.26 (3H, m, H-5, H-6 ve H-7), 7.53 (2H, d, $J=8.9$ Hz, H-2' ve H-6'), 7.57 (min-2H, d, $J=8.8$ Hz), 7.63 (1H, s, -NH-N =CH-), 7.92 (min-1H, s), 8.99 (1H, s, -NH-N=CH-), 9.26 (min-1H, s) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6)

δ 43.5, 43.9, 109.9, 110.0, 110.1, 112.2, 121.6, 121.6, 122.7, 122.8, 124.3, 124.4, 128.8, 129.0, 131.9, 132.1, 142.4, 145.8, 148.9, 151.9, 152.1, 154.5, 154.6, 162.3, 167.1 ppm.

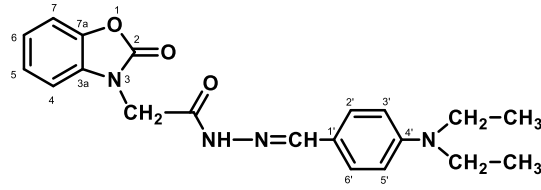
Elementel Analiz (%) $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3$

Hesaplanan: C, 63.89; H, 5.36; N, 16.56

Bulunan: C, 64.04; H, 5.41; N, 16.19



4.1.16. B16 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(4-diethylaminobenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %61, Erime Derecesi: 236°C

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3180 (N-H gerilme), 3096 (Aromatik C-H gerilme), 2968, 2928, 2899 (Alifatik C-H gerilme), 1765 (C=O gerilme), 1674 (C=O gerilme), 1603 (C=N gerilme), 1528 (Amit II Bandı), 1491 (C=C gerilme)

MS (APCI) m/z (% bağıl bolluk)

365.36 (100, M-H)⁺, 148.14 (35), 120.05 (45)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 1.08-1.12 (6H, m, -CH₂-CH₃; min-6H), 3.36-3.41 (4H, m, -CH₂-CH₃; min-4H), 4.60 (min-2H, s), 5.01 (2H, s, -CO-CH₂-N-), 6.69 (2H, d, *J*=9.1 Hz, H-3' ve H-5'; min-2H), 7.12-7.25 (2H, m, H-5 ve H-6; min-3H), 7.30 (1H, dd, *J*=7.7; 1.2 Hz, H-7*), 7.37 (1H, dd, *J*=7.8; 1.1 Hz, H-4*; min-1H), 7.47 (min-2H, d, *J*=9.0 Hz), 7.51 (2H, d, *J*=8.9 Hz, H-2' ve H-6'), 7.89 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.05 (min-1H, s), 11.47 (min-1H, bs), 11.49 (1H, bs, -NH-N=CH-) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

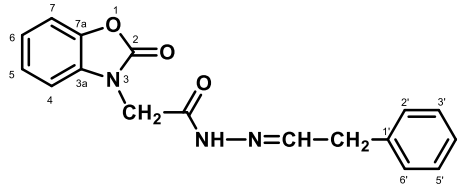
δ 12.9, 43.5, 43.9, 44.2, 44.3, 109.9, 110.0, 110.1, 110.1, 111.4, 111.5, 120.6, 120.7, 122.6, 122.8, 124.3, 124.4, 129.1, 129.3, 130.5, 131.9, 132.2, 142.4, 145.8, 149.0, 149.3, 149.4, 154.5, 154.6, 162.2, 167.0 ppm.

Elementel Analiz (%) C₂₀H₂₂N₄O₃

Hesaplanan: C, 65.56; H, 6.05; N, 15.29

Bulunan: C, 65.93; H, 5.83; N, 15.69

4.1.17. B17 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(2-feniletilden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %24, Erime Derecesi: 218°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3214 (N-H gerilme), 3078 (Aromatik C-H gerilme), 2945 (Alifatik C-H gerilme), 1780, 1761 (C=O gerilme), 1676 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1625 (C=N gerilme), 1568 (Amit II Bandı), 1489 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

308 (100, M-H)⁻, 175.73 (30), 138.51 (45), 135.37 (55), 133.37 (35), 108.74 (40)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.58 (2H, d, $J=5.8$ Hz, -NH-N=CH-CH₂-), 4.53 (min-2H, s), 4.91 (2H, s, -CO-CH₂-N-), 7.10-7.36 (9H, m, H-4, H-5, H-6, H-7, H-2', H-3', H-4', H-5' ve H-6'; min-9H), 7.43 (1H, t, $J=5.8$ Hz, -NH-N=CH-CH₂-), 7.60 (min-1H, t, $J=5.7$ Hz, -NH-N=CH-), 11.39 (min-1H, s), 11.45 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

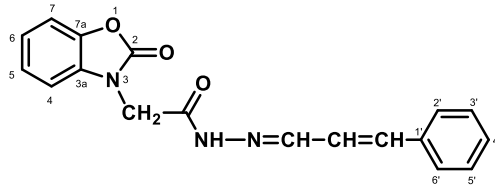
δ 38.6, 38.6, 43.4, 43.7, 109.9, 110.0, 110.1, 122.7, 122.8, 124.3, 124.4, 126.3, 127.1, 127.2, 128.5, 129.1, 129.1, 129.3, 129.3, 129.8, 129.9, 131.9, 132.1, 137.0, 137.1, 142.4, 147.9, 151.0, 154.4, 154.6, 162.6, 167.3 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₇H₁₅N₃O₃

Hesaplanan: C, 66.01; H, 4.89; N, 13.58

Bulunan: C, 65.87; H 5.01; N, 13.16

4.1.18. B18 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(3-fenilalliliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %37, Erime Derecesi: 245°C

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3183 (N-H gerilme), 3077 (Aromatik C-H gerilme), 2973, 2906 (Alifatik C-H gerilme), 1760 (C=O gerilme), 1676 (C=O gerilme; Amit I Bandı), 1628 (C=N gerilme), 1489 (C=C gerilme)

MS (APCI+) m/z (% bağıl bolluk)

322.50 (100, M+H)⁺, 148.34 (60), 145.35 (20), 118.30 (20), 115.29 (40)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.63 (min-2H, s), 4.96 (2H, s, -CH₂-), 6.96-7.41 (9H, m, H-4, H-5, H-6, H-7, H-3', H-4', H-5' ve -CH=CH-; min-9H), 7.62 (2H, d, *J*=8.1 Hz, H-2' ve H-6'; min-2H), 7.88 (1H, d, *J*=8.0 Hz, -NH-N=CH-), 8.01 (1H min, d, *J*=7.9 Hz), 11.73 (1H, s, -NH-N=CH) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

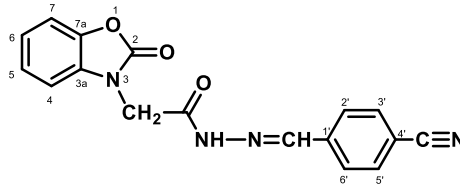
δ 43.4, 43.8, 109.9, 110.0, 110.1, 122.7, 122.8, 124.3, 124.4, 125.2, 125.7, 127.6, 127.6, 129.3, 129.4, 131.9, 132.1, 136.2, 136.2, 139.9, 140.1, 142.4, 147.5, 150.1, 154.4, 154.6, 162.8, 167.5 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₈H₁₅N₃O₃

Hesaplanan: C, 67.28; H, 4.71; N, 13.08

Bulunan: C, 67.18; H, 5.02; N, 12.71

4.1.19. B19 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(4-siyanobenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %46, Erime Derecesi: 309°C

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3199 (N-H gerilme), 3095 (Aromatik C-H gerilme), 2951 (Alifatik C-H gerilme), 2227 (C≡N gerilme), 1770 (C=O gerilme), 1676 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1603 (C=N gerilme), 1616, 1490 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

319.18 (100, M-H)⁻

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.69 (min-2H, s), 5.12 (2H, s, -CH₂-), 7.14 (1H, td, *J*=7.8; 1.4 Hz, H-6**), 7.20 (1H, td, *J*=7.7; 1.2 Hz, H-5**), min-1H), 7.24-7.28 (min-2H, m), 7.32 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-7*), 7.37 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-4*; min-1H), 7.89-7.99 (4H, m, H-2', H-3', H-4' ve H-5'; min-4H), 8.10 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.30 (min-1H, s), 12.04 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir, ** İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆)

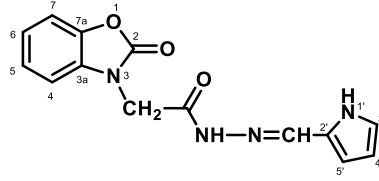
δ 43.6, 43.9, 109.9, 110.1, 110.2, 112.4, 112.5, 119.1, 122.8, 122.9, 124.4, 128.1, 128.2, 131.8, 132.0, 133.1, 133.2, 138.7, 138.9, 142.4, 143.0, 146.2, 154.4, 154.6, 163.4, 168.2 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₇H₁₂N₄O₃

Hesaplanan: C, 63.75; H, 3.78; N, 17.49

Bulunan: C, 63.67; H, 4.12; N, 17.17

4.1.20. B20 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-[(1*H*-pirol-2-il)metilen]-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %65, Erime Derecesi: 264°C

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3311, 3175, 3112 (N-H gerilme), 3048 (Aromatik C-H gerilme), 2985 (Alifatik C-H gerilme), 1743 (C=O gerilme), 1677 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1620 (C=N gerilme), 1490 (C=C gerilme)

MS (APCI+) m/z (% bağıl bolluk)

285.47 (100, M+H)⁺, 148.31 (65)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.59 (min-2H, s), 5.03 (2H, s, -CH₂-), 6.12-6.21 (1H, m, H-4'**, min-1H), 6.46-6.47 (1H, m, H-3'**, min-1H), 6.88-6.96 (1H, m, H-5'**, min-1H), 7.10-7.22 (2H, m, H-5 ve H-6; min-2H), 7.27 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-7*; min-1H), 7.36 (1H, d, *J*=7.7 Hz, H-4*; min-1H), 7.86 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.05 (min-1H, s), 11.40 (1H, s, -NH-N=CH-; min-1H), 11.49 (1H, s, Prol-NH; min-1H) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir, ** İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

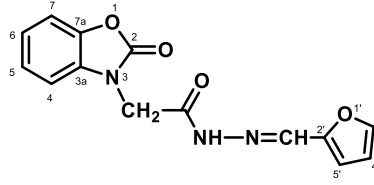
δ 43.5, 43.9, 109.7, 109.9, 110.0, 110.1, 110.1, 113.2, 114.2, 117.2, 122.5, 122.7, 122.8, 123.2, 124.4, 125.1, 127.0, 127.5, 131.9, 132.1, 137.4, 141.2, 142.4, 154.4, 154.7, 162.2, 167.2 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₄H₁₂N₄O₃

Hesaplanan: C, 59.15; H, 4.26; N, 19.71

Bulunan: C, 59.22; H, 4.53; N, 20.03

4.1.21. B21 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-[(furan-2-yl)metilen]-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %57, Erime Derecesi: 251°C (236°C, Verma, Gupta ve Yadav, 2015)

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3101 (N-H gerilme), 3063 (Aromatik C-H gerilme), 2996, 2926 (Alifatik C-H gerilme), 1762 (C=O gerilme), 1681 (C=O gerilme, Amit I Bandı) 1615 (C=N gerilme), 1515 (Amit II Bandı) 1487 (C=C gerilme)

MS (APCI+) m/z (% bağıl bolluk)

286.43 (100, $M+H$)⁺, 148.32 (30), 118.33 (40)

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6)

δ 4.63 (min-2H, s), 4.99 (2H, s, -CH₂-), 6.62 (min-1H, dd, $J=3.4$; 1.8 Hz), 6.64 (1H, dd, $J=3.5$; 1.8 Hz, H-4'), 6.93 (min-1H, d, $J=3.4$ Hz), 6.95 (1H, d, $J=3.4$ Hz, H-3'), 7.12-7.27 (2H, m, H-5 ve H-6; min-3H), 7.30 (1H, dd, $J=7.4$; 1.3 Hz, H-7*), 7.35-7.38 (1H, m, H-4*; min-1H), 7.83 (min-1H, d, $J=1.6$ Hz), 7.85 (1H, dd, $J=1.8$; 0.7 Hz, H-5'), 7.95 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.12 (min-1H, s), 11.75 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6)

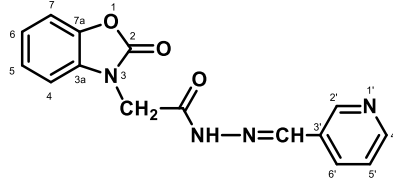
δ 43.4, 43.9, 109.9, 110.0, 110.1, 112.6, 114.4, 114.6, 122.7, 122.9, 124.3, 131.8, 132.1, 135.0, 137.9, 142.4, 145.6, 145.8, 149.3, 149.5, 154.4, 154.6, 162.9, 167.6 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₄H₁₁N₄O₄

Hesaplanan: C, 58.95; H, 3.89; N, 14.73

Bulunan: C, 58.79; H, 4.18; N, 14.71

4.1.22. B22 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-((piridin-3-il)metilen)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %51, Erime Derecesi: 288°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3072 (Aromatik C-H gerilme), 2984, 2950 (Alifatik C-H gerilme), 2759 (atama yapılamadı), 1766 (C=O gerilme), 1696 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1615 (C=N gerilme), 1488 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

295.17 (100, M-H⁻), 119.76 (30)

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6)

δ 4.67 (min-2H, s), 5.11 (2H, s, -CH₂-), 7.13-7.28 (2H, m, H-5, H-6; min-3H), 7.31 (1H, dd, $J=7.8$; 0.7 Hz, H-7), 7.37 (1H, dd, $J=7.8$; 0.7 Hz, H-4; min-1H), 7.45-7.49 (1H, m, H-5'; min-1H), 8.10 (1H, s, -NH-N=CH-; min-1H), 8.18 (1H, dt, $J=8.0$; 1.9 Hz, H-6'*), 8.30 (min-1H, s), 8.61 (1H, dd, $J=4.8$; 1.7 Hz, H-4'*; min-1H), 8.84 (min-1H, d, $J=1.8$ Hz), 8.91 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 11.99 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6)

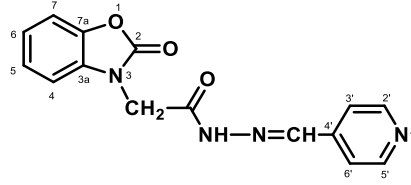
δ 43.5, 110.1, 122.7, 124.3, 124.4, 130.2, 130.3, 132.0, 134.0, 142.2, 142.4, 149.0, 149.3, 151.1, 154.6, 168.0 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₅H₁₂N₄O₃

Hesaplanan: C, 60.81; H, 4.08; N, 18.91

Bulunan: C, 60.81; H, 4.43; N, 18.66

4.1.23. B23 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-((piridin-4-il)metilen)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %58, Erime Derecesi: 228°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3195 (N-H gerilme), 3066 (Aromatik C-H gerilme), 2969 (Alifatik C-H gerilme), 1772 (C=O gerilme), 1698, 1682 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1600 (C=N gerilme), 1548 (Amit II Bandı), 1487 (C=C gerilme)

MS (APCI+) m/z (% bağıl bolluk)

297.47 (100, $M+H$)⁺, 148.31 (40), 146 (20), 105.29 (70)

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6)

δ 4.69 (min-2H, s), 5.13 (2H, s, -CH₂-), 7.12-7.29 (2H, m, H-5, H-6; min-3H), 7.33 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-7*), 7.38 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-4*; min-1H), 7.64 (min-2H, d, $J=6.0$ Hz), 7.71 (2H, d, $J=6.0$ Hz, H-3' ve H-5'), 8.04 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.24 (min-1H, s), 8.66 (2H, d, $J=6.0$ Hz, H-2' ve H-6'; min-2H), 12.10 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6)

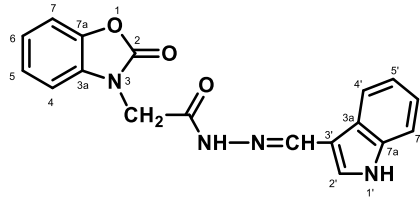
δ 19.0, 43.9, 44.1, 50.5, 56.5, 110.5, 110.6, 111.5, 111.5, 118.4, 121.4, 121.5, 122.4, 122.4, 122.5, 125.4, 128.5, 128.6, 128.7, 128.7, 133.2, 133.4, 141.1, 141.1, 141.4, 141.6, 142.5, 145.8, 150.7, 150.7, 152.7, 154.5, 155.5, 163.4, 168.1, 168.9 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₅H₁₂N₄O₃

Hesaplanan: C, 60.81; H, 4.08; N, 18.91

Bulunan: C, 60.93; H, 4.50; N, 18.91

4.1.24. B24 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-((1*H*-indol-3-il)metilen)-2-(2,3-dihidro2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %64, Erime Derecesi: 281°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3355, 3167 (N-H gerilme), 3062 (Aromatik C-H gerilme), 2989, 2946 (Alifatik C-H gerilme), 1767 (C=O gerilme), 1671 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1619 (C=N gerilme), 1539 (Amit II Bandı), 1579, 1494 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

333.25 (100, M-H)⁻, 279.91 (30)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.63 (min-2H, s), 5.12 (2H, s, -CH₂-), 7.08-7.29 (4H, m, H-5, H-6, H-2' ve H-5'; min-4H), 7.33-7.42 (2H, m, H-4 ve H-7; min-2H), 7.46 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-6'; min-1H), 7.82-7.84 (1H, m, H-7'; min-1H), 8.21 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-4'; min-1H), 8.26 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.41 (min-1H, s), 11.49 (1H, s, -NH-N=CH-*; min-1H), 11.59 (1H, s, indol-NH*; min-1H) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

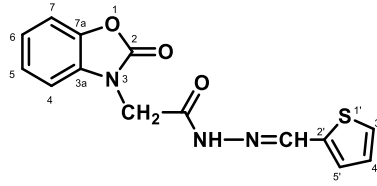
δ 43.5, 43.9, 110.0, 110.1, 110.2, 111.7, 111.8, 112.4, 120.9, 121.1, 122.2, 122.6, 122.8, 123.1, 124.3, 124.4, 124.5, 124.7, 131.1, 131.3, 132.0, 132.2, 137.5, 137.6, 142.4, 142.4, 145.3, 154.5, 154.7, 162.0, 166.8 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₈H₁₄N₄O₃

Hesaplanan: C, 64.67; H, 4.22; N, 16.76

Bulunan: C, 65.05; H, 4.48; N, 16.80

4.1.25. B25 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-((tiyofen-2-il)metilen)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %54, Erime Derecesi: 274°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3122 (N-H gerilme), 3063 (Aromatik C-H gerilme), 2944 (Alifatik C-H gerilme), 1774 (C=O gerilme), 1674 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1492 (C=C gerilme)

MS (APCI+) m/z (% bağıl bolluk)

302.41 (80, $M+H$)⁺, 148.32 (100)

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6)

δ 4.61 (min-2H, s), 4.96 (2H, s, -CH₂-), 7.06-7.25 (3H, m, H-5, H-6 ve H-4'; min-4H), 7.30 (1H, dd, $J=7.6$; 1.4 Hz, H-7**), 7.35 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-4**), 7.46 (1H, dd, $J=3.6$; 1.3 Hz, H-5'*; min-1H), 7.66 (1H, dd, $J=5.0$; 1.0 Hz, H-3'*; min-1H), 8.22 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.43 (min-1H, s), 11.77 (1H, s, -NH-N=CH-; min-1H) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir. ** İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6)

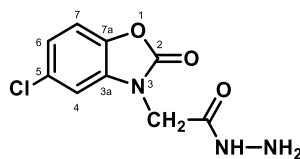
δ 43.3, 43.9, 109.9, 110.0, 110.1, 110.2, 122.7, 122.9, 124.3, 124.4, 128.3, 128.4, 129.3, 129.6, 131.4, 131.8, 131.8, 132.1, 134.8, 138.9, 139.0, 140.1, 142.4, 143.3, 154.4, 154.6, 162.8, 167.4 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₄H₁₁N₃O₃S

Hesaplanan: C, 55.81; H, 3.68; N, 13.95; S, 10.64

Bulunan: C, 56.04; H 4.76; N, 14.00; S, 11.79

4.1.26. C1 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %60, Erime Derecesi: 203°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3337, 3320 (N-H gerilme), 3080 (Aromatik C-H gerilme), 2969, 2923 (Alifatik C-H gerilme), 1770 (C=O gerilme), 1702 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1631 (NH₂ eğilme), 1592 (Amit II Bandı), 1498 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

240.01 (100, M-H)⁻, 242.18 (20, M+2-H)⁻ 168.04 (20)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.27 (2H, s, -NH-NH₂), 4.87 (2H, s, -CH₂-), 6.92 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-7), 7.20 (1H, dd, J = 8.8; 2.7 Hz, H-6), 7.36 (1H, d, J = 2.7 Hz, H-4) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

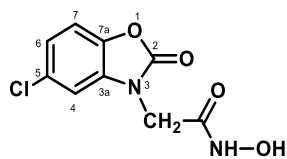
δ 50.5, 118.6, 121.8, 125.4, 128.5, 128.7, 153.2, 155.6, 169.0 ppm.

Elementel Analiz (%) C₉H₈ClN₃O₃. 0.5 C₂H₅OH

Hesaplanan: C, 45.38; H, 4.19; N, 15.88

Bulunan: C, 45.50; H, 4.16; N, 15.80

4.1.27. C2 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-hidroksi-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetamit

Verim: %31, Erime Derecesi: 286°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

2984, 2944 (Alifatik C-H gerilme), 1771 (C=O gerilme), 1614 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1487 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

226.03 (100, $\text{M}-16$)⁻, 228.15 (15, $\text{M}+2-16$)⁻, 182.09 (90), 184.08 (30), 163.36 (20), 154.04 (65), 115.00 (35)

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

δ 3.99 (2H, s, $-\text{CH}_2-$), 7.10 (1H, dd, $J = 8.5; 2.2$ Hz, H-6), 7.15 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-4), 7.30 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

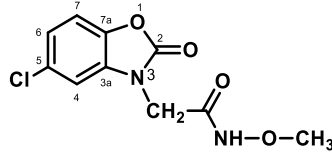
δ 46.4, 110.5, 110.8, 121.4, 128.1, 134.2, 141.0, 154.7, 167.2 ppm.

Elementel Analiz (%) $\text{C}_9\text{H}_7\text{ClN}_2\text{O}_4$

Hesaplanan: C, 44.56; H, 2.91; N, 11.55

Bulunan: C, 21.85; H, 1.73; N, 4.15

4.1.28. C3 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-metoksi-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetamit

Verim: %37, Erime Derecesi: 253°C

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3069 (Aromatik C-H gerilme), 2959 (Alifatik C-H gerilme), 1772, 1750 (C=O gerilme), 1611 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1487 (C=C gerilme), 1244 (C-O-C asimetrik gerilme), 1029 (C-O-C simetrik gerilme)

MS (APCI+) m/z (% bağıl bolluk)

182.34 (100, M-74)⁺, 184.32 (30)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.73 (3H, s, -OCH₃), 4.79 (2H, s, -CH₂-), 7.21 (1H, dd, *J* = 8.5; 2.2 Hz, H-6), 7.42 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-7), 7.56 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-4) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

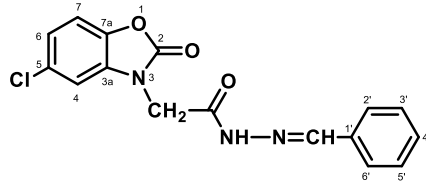
δ 43.4, 53.0, 110.5, 111.7, 122.8, 128.7, 132.6, 141.1, 154.1, 168.2 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₀H₉ClN₂O₄

Hesaplanan: C, 46.80; H, 3.53; N, 10.92

Bulunan: C, 48.57; H, 3.61; N, 4.64

4.1.29. C4 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-benziliden-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %64, Erime Derecesi: 265 °C (256-257 °C, Gökçe, Geciken, Yıldırım ve Tosun, 2008; Önkol ve ark., 2008)

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3182 (N-H gerilme), 3057, 3029 (Aromatik C-H gerilme), 2959, 2925 (Alifatik C-H gerilme), 1777, 1764 (C=O gerilme), 1691 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1601 (C=N gerilme), 1409 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

328.12 (100, M-H)⁻, 330.23 (45, M+2-H)⁻, 182.06 (45), 184.14 (15)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.27 (min3-2H, s), 4.40 (min4-2H, s), 4.67 (min-2H, s), 4.87 (min2-2H, s), 5.10 (1H, s, -CH₂-), 6.91-6.97 (min2-1H, m), 7.17-7.23 (1H, m, H-6; min-1H), 7.36-7.52 (4H, m, H-7, H-3', H-4' ve H-5'; min-5H), 7.59 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-4), 7.69-7.71 (min-2H, m), 7.74-7.76 (2H, m, H-2' ve H-6'), 7.85-7.87 (min2-2H, m), 8.06 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.24 (min-1H, s), 11.84 (1H, bs, -NH-N=CH-) ppm.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ 4.46 (min-2H, s), 5.03 (1H, s, -CH₂-), 6.92-6.96 (1H, m, H-4'), 7.03 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-7), 7.06-7.17 (1H, m), 7.19 (1H, dd, *J* = 8.7; 2.4 Hz, H-6), 7.35-7.51 (3H, m; H-4, H-3 ve H-4'; min-3H), 7.64-7.67 (1H, m, H-2'*), 7.77 (1H, s, -NH-N=CH-), 7.82-7.88 (1H, m, H-6'*), 9.00 (1H, bs, -NH-N=CH-), 9.38 (min-1H, s) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 43.9, 44.0, 110.5, 110.7, 111.4, 111.5, 122.4, 122.5, 127.4, 127.6, 128.6, 129.3, 130.6, 133.3, 133.4, 134.3, 134.4, 141.1, 144.9, 148.1, 154.5, 162.8, 167.7 ppm.

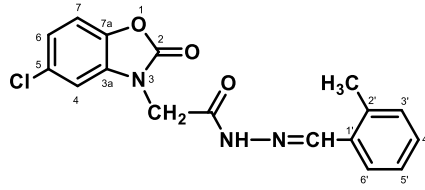
Elementel Analiz (%) $C_{16}H_{12}ClN_3O_3$

Hesaplanan: C, 58.28; H, 3.67; N, 12.74

Bulunan: C, 58.18; H, 3.85; N, 12.86



4.1.30. C5 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(2-metilbenziliden)-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %67, Erime Derecesi: 222°C (231-232 °C, Gökçe ve ark., 2008))

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3186 (N-H gerilme), 3091 (Aromatik C-H gerilme), 2977, 2846 (Alifatik C-H gerilme), 1776 (C=O gerilme), 1682 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1613 (C=N gerilme), 1488 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

342.22 (100, M-H)⁻, 344.26 (25, M+2-H)⁻, 182.17 (55), 184.10 (25)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 2.43 (min-3H, d, J = 2.2 Hz), 2.45 (3H, d, J = 2.2 Hz, -CH₃), 4.41 (min2-2H, d, J =2.3 Hz), 4.67 (min-2H, d, J = 2.2 Hz), 5.08 (2H, d, J = 2.2 Hz, -CH₂-), 6.97 (min2-1H, dd, J =8.8; 2.1 Hz), 7.20 (1H, dt, J = 8.5; 2.4 Hz, H-6; min-1H), 7.23-7.37 (3H, m, H-3', H-4' ve H-5'; min-3H), 7.41 (1H, dd, J = 8.5; 2.4 Hz, H-7; min-1H), 7.53 (min-1H, t, J = 2.4 Hz), 7.59 (1H, t, J = 2.4 Hz, H-4), 7.77 (min-1H, d, J = 8.1 Hz), 7.78-7.83 (1H, m, H-6'), 8.32 (1H, d, J =2.1 Hz, -NH-N=CH-), 8.49 (min-1H, d, J = 2.1 Hz), 8.92 (min2-1H, s), 9.52 (min2-1H, s), 11.77 (1H, s, -NH-N=CH-), 11.82 (min-1H, s) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

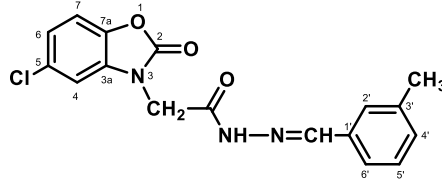
δ 19.5, 20.0, 43.9, 44.0, 110.5, 110.6, 111.4, 111.5, 122.4, 122.5, 126.6, 126.6, 126.6, 127.1, 128.6, 128.6, 130.2, 130.4, 131.3, 131.4, 132.2, 132.3, 133.3, 133.4, 137.2, 137.4, 141.1, 141.1, 144.2, 146.8, 154.4, 154.5, 162.7, 167.5 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₇H₁₄ClN₃O₃

Hesaplanan: C, 59.40; H, 4.11; N, 12.22

Bulunan: C, 59.74; H, 4.29; N, 12.61

4.1.31. C6 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(3-metilbenziliden)-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %52, Erime Derecesi: 217°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3189 (N-H gerilme), 3068 (Aromatik C-H gerilme), 2933 (Alifatik C-H gerilme), 1764 (C=O gerilme), 1694 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1600 (C=N gerilme), 1452, 1407 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

342.24 (100, M-H)⁻, 344.23 (20, M+2-H)⁻, 182.15 (30), 184.16 (10)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 2.34 (min2-3H, s), 2.35 (min-3H, s), 2.38 (3H, s, -CH₃), 4.40 (2H, s, -CH₂-), 4.66 (min2-2H, s), 5.10 (min-2H, s), 6.97 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-7), 7.19 (min-1H, dd, J = 8.5; 2.2 Hz), 7.26 (1H, dd, J = 8.8; 2.7 Hz, H-6; min-1H), 7.32-7.44 (2H, m, H-4' ve H-5'; min-2H), 7.48 (1H, d, J = 2.7 Hz, H-4), 7.51-7.54 (min-1H, m), 7.57-7.59 (min-2H, m), 7.65 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-6'), 7.68 (1H, s, H-2'), 8.03 (min-1H, s), 8.20 (min2-1H, s), 9.25 (1H, s, -NH-N=CH-), 10.20 (1H, bs, -NH-N=CH-), 11.73 (min2-1H, bs), 11.80 (min-1H, bs) ppm.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ 2.41 (3H, s, -CH₃), 2.44 (min-3H, s), 4.40 (min-2H, s), 4.48 (2H, s, -CH₂-), 7.05 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-7), 7.10 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-4), 7.21 (1H, dd, J = 8.7; 2.5 Hz, H-6), 7.30-7.38 (2H, m, H-4' ve H-5'), 7.61-7.63 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-6'), 7.72 (1H, s, H-2'), 9.36 (1H, s, -NH-N=CH-), 9.99 (min-1H, s) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 21.3, 23.0, 50.6, 118.6, 122.5, 124.7, 125.9, 128.6, 128.7, 129.2, 129.4, 133.0, 133.7, 138.8, 152.9, 152.9, 159.4, 166.8 ppm.

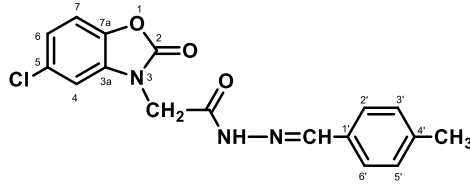
Elementel Analiz (%) $C_{17}H_{14}ClN_3O_3$

Hesaplanan: C, 59.40; H, 4.11; N, 12.22

Bulunan: C, 59.52; H, 4.32; N, 12.18



4.1.32. C7 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(4-metilbenziliden)-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %69, Erime Derecesi: 283°C (284-285 °C, Gökçe ve ark., 2008; Önkol ve ark., 2008)

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3176, 3118 (N-H gerilme), 3007 (Aromatik C-H gerilme), 2936 (Alifatik C-H gerilme), 1765 (C=O gerilme), 1694 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1600 (C=N gerilme), 1406 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

342.21 (100, M-H)⁻, 344.22 (40, M+2-H)⁻, 182.15 (65), 184.12 (40), 154.00 (45)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 2.35 (min-3H, s), 2.38 (3H, s, -CH₃), 4.40 (2H, s, -CH₂-), 4.65 (min2-2H, s), 5.08 (min-2H, s), 6.97 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-7), 7.19 (min-1H, dd, *J* = 8.5; 2.2 Hz), 7.26 (1H, dd, *J* = 8.8; 2.7 Hz, H-6; min-1H), 7.34 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, H-3' ve H-5'), 7.41 (min-2H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.48 (1H, d, *J* = 2.6 Hz, H-4), 7.58 (min-1H, d, *J* = 2.4 Hz), 7.63 (min-2H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.76 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-2' ve H-6'), 8.19 (min2-1H, s), 9.22 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.02 (min-1H, s), 10.18 (1H, bs, -NH-N=CH-), 10.73 (min2-1H, bs), 11.76 (min-1H, bs) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

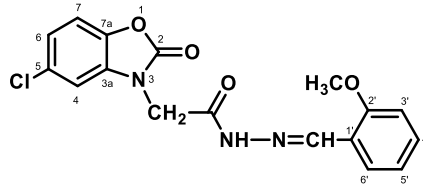
δ 21.6, 50.6, 118.6, 122.4, 124.7, 128.5, 128.7, 129.2, 130.1, 131.0, 142.4, 152.9, 152.9, 159.6, 166.8 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₇H₁₄ClN₃O₃

Hesaplanan: C, 59.40; H, 4.11; N, 12.22

Bulunan: C, 59.69; H, 4.36; N, 12.10

4.1.33. C8 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(2-metoksibenziliden)-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %61, Erime Derecesi: 255°C (244-245 °C, Gökçe ve ark., 2008)

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3337, 3186 (N-H gerilme), 3082 (Aromatik C-H gerilme), 2971 (Alifatik C-H gerilme), 1770 (C=O gerilme), 1702 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1632 (C=N gerilme), 1498 (C=C gerilme), 1210 (C-O-C asimetric gerilme), 1052 (C-O-C simetrik gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

358.23 (70, M-H)⁻, 360.26 (15, M+2-H)⁻, 182.20 (25), 184.11 (10)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.86 (3H, s, -OCH₃; min-3H), 4.03 (min-3H, s), 4.38(min2-2H, s), 4.64 (min-2H, s), 5.08 (2H, s, -CH₂-), 7.02 (1H, t, *J*= 7.5 Hz, H-5'; min-1H), 7.11 (1H, d, *J*= 8.4 Hz, H-7; min-1H), 7.19 (1H, dd, *J*= 8.5; 2.2 Hz, H-6), 7.21 (min-1H, d, *J*= 2.3 Hz), 7.26 (min2-1H, dd, *J*=8.5; 2.8 Hz), 7.36-7.45 (2H, m, H-3' ve H-4'), 7.48 (min2-1H, d, *J*=2.5 Hz), 7.50 (min-1H, d, *J*= 2.2 Hz), 7.57 (1H, d, *J*= 2.0 Hz, H-4), 7.79 (min-1H, dd, *J*= 7.8; 1.8 Hz), 7.89 (1H, dd, *J*= 7.8; 1.8 Hz, H-6'), 8.39 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.58 (min-1H, s), 9.55 (min2-1H, s), 11.77 (1H, bs, -NH-N=CH-) ppm.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ 3.89 (3H, s, -OCH₃), 3.94 (min-3H, s), 4.41 (min-2H, s), 4.48 (2H, s, -CH₂-), 6.95 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-7), 6.99-7.05 (3H, m, H-3' ve H-5'*; min-4H), 7.09 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-4), 7.20 (1H, dd, *J*=8.7; 2.5 Hz, H-6), 7.48 (1H, t, *J*=7.8 Hz, H-4'*), 7.56 (min-1H, t, *J*=8.0 Hz), 7.83 (min-1H, d, *J*=7.9 Hz), 8.11 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H-6'), 9.66 (1H, s, -NH-N=CH-), 10.48 (min-1H, s) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6)

δ 50.6, 56.3, 112.5, 118.6, 121.3, 121.6, 122.5, 124.7, 126.2, 128.7, 129.2, 134.0, 153.0, 154.6, 159.1, 166.9 ppm.

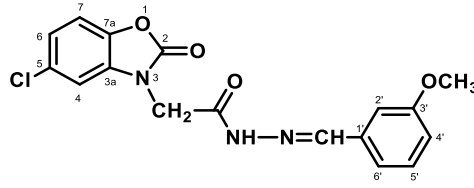
Elementel Analiz (%) $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_4$

Hesaplanan: C, 56.76; H, 3.92; N, 11.58

Bulunan: C, 57.19; H, 4.11; N, 11.36



4.1.34. C9 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(3-metoksibenziliden)-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %67, Erime Derecesi: 274°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3189 (N-H gerilme), 3076 (Aromatik C-H gerilme), 2972 (Alifatik C-H gerilme), 1780 (C=O gerilme), 1684 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1610 (C=N gerilme), 1491 (C=C gerilme), 1281, 1271 (C-O-C asimetrik gerilme), 1049 (C-O-C simetrik gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

358.23 (100, $M-H^-$), 360.26 (30, $M+2-H^-$), 182.16 (90), 184.15 (20)

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

δ 3.76 (min2-3H, s), 3.78 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.79 (min-3H, s), 4.38 (min-2H, s), 4.64 (min2-2H, s), 5.08 (2H, s, $-\text{CH}_2-$), 6.94 (min-1H, dd, $J=8.8$; 0.9 Hz), 6.99 (1H, ddd, $J=8.1$; 2.6; 1.3 Hz, H-4'*; min2-1H), 7.09-7.12 (min2-2H, m), 7.17 (1H, ddd, $J=8.5$; 2.2; 0.9 Hz, H-6'*; min2-1H), 7.22-7.42 (4H, m, H-6, H-7, H-2' ve H-5'), 7.45 (min-1H, dd, $J=2.7$; 0.9 Hz), 7.49 (min2-1H, d, $J=2.0$ Hz), 7.56 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-4), 8.00 (1H, s, $-\text{NH}-\text{N}=\text{CH}-$), 8.18 (min2-1H, s), 9.24 (min-1H, s), 10.17 (min-1H, bs), 11.79 (min2-1H, bs), 11.82 (1H, bs, $-\text{NH}-\text{N}=\text{CH}-$) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

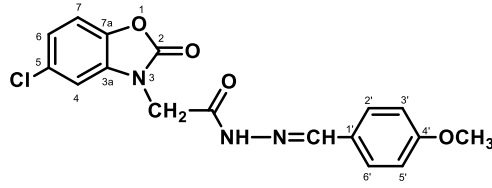
δ 43.9, 50.6, 55.6, 55.6, 55.7, 110.6, 111.4, 111.5, 112.0, 112.6, 116.5, 116.8, 118.4, 118.6, 120.2, 120.4, 121.2, 122.4, 122.5, 122.5, 124.7, 128.6, 128.6, 128.7, 129.2, 130.4, 130.6, 133.4, 135.1, 135.7, 135.8, 141.1, 141.1, 144.8, 148.0, 152.8, 152.9, 154.5, 159.1, 160.0, 160.0, 160.0, 162.9, 166.8, 167.7 ppm.

Elementel Analiz (%) $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_4$

Hesaplanan: C, 56.76; H, 3.92; N, 11.58

Bulunan: C, 57.01; H, 4.16; N, 11.33

4.1.35. C10 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(4-metoksibenziliden)-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %71, Erime Derecesi: 242 °C (262-263 °C, Gökçe ve ark., 2008; Önkol ve ark., 2008)

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3157 (N-H gerilme), 3077, 3029 (Aromatik C-H gerilme), 2966, 2834 (Alifatik C-H gerilme), 1765 (C=O gerilme), 1698 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1604 (C=N gerilme), 1451 (C=C gerilme), 1254 (C-O-C asimetrik gerilme), 1021 (C-O-C simetrik gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

358.19 (100, M-H)⁻, 360.30 (15, M+2-H)⁻, 182.09 (50), 182.55 (20)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.81 (min2-3H, s), 3.83 (min-3H, s), 3.84 (3H, s, -OCH₃), 4.39 (2H, s, -CH₂-), 5.07 (min2-2H, s), 6.97 (1H, dd, *J*=8.8; 1.2 Hz, H-7), 7.06 (2H, d, *J*= 8.9 Hz, H-3' ve H-5'; min2-2H), 7.19 (min2-1H, dd, *J*= 8.6; 2.3 Hz), 7.26 (1H, dd, *J*= 8.8; 2.7 Hz, H-6), 7.41 (min2-1H, d, *J*=8.4 Hz), 7.48 (1H, dd, *J*=2.6; 1.4 Hz, H-4), 7.57 (min2-1H, d, *J*=2.2 Hz), 7.69 (min2-1H, d, *J*=8.5 Hz), 7.82 (2H, dd, *J*=8.9, 2.7 Hz, H-2' ve H-6'; min2-2H), 8.00 (min2-1H, s), 8.63 (min-1H, s), 9.14 (1H, s, -NH-N=CH-), 10.19 (1H, bs, -NH-N=CH-), 11.70 (min2-1H, bs) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

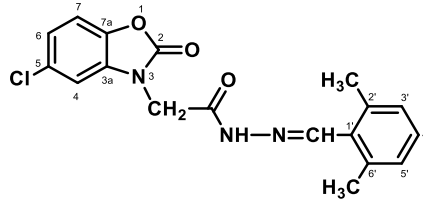
δ 50.6, 55.8, 55.9, 114.8, 115.0, 118.6, 122.4, 124.8, 126.1, 127.0, 128.7, 129.2, 130.3, 130.4, 152.9, 153.0, 159.9, 160.9, 162.1, 162.6, 166.8 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₇H₁₄ClN₃O₄

Hesaplanan: C, 56.76; H, 3.92; N, 11.58

Bulunan: C, 59.88; H, 4.41; N, 11.03

4.1.36. C11 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(2,6-dimetilbenziliden)-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-okso-1,2,3,4-tetrahidrobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %56, Erime Derecesi: 246°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3339, 3206 (N-H gerilme), 3064 (Aromatik C-H gerilme), 2969, 2921 (Alifatik C-H gerilme), 1768, 1702 (C=O gerilme), 1647 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1594 (C=N gerilme), 1536 (Amit II Bandı), 1489 (C=C gerilme)

MS (ESI+) m/z (% bağıl bolluk)

357.81 (45, M-H^+), 359.75 (15, $\text{M}+2\text{-H}^+$), 321.59 (50), 255.89 (80), 152.89 (25), 130.41 (90), 122.85 (50), 114.04 (55), 109.95 (100)

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

2.34 (min-6H, s), 2.41 (6H, s, $-\text{CH}_3-$), 4.27 (2H, s $-\text{CH}_2-$), 4.61 (min2-2H, s), 4.38 (min-2H, s), 6.93-7.29 (5H, m, H-6, H-7, H-3', H-4' ve H-5'; min-5H), 7.38 (min-1H, d, $J=2.7$ Hz), 7.44 (1H, d, $J=2.7$ Hz, H-4), 7.46 (min-2H, d), 8.38 (min-1H, s), 8.40 (1H, s, $-\text{NH-N}=\text{CH}-$), 8.41 (min2-1H, s), 8.53 (min2-1H, s), 9.80 (1H, s, $-\text{NH-N}=\text{CH}-$), 10.24 (min2-1H, s), 11.53 (min3-1H, s), 11.66 (min4-1H, s) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

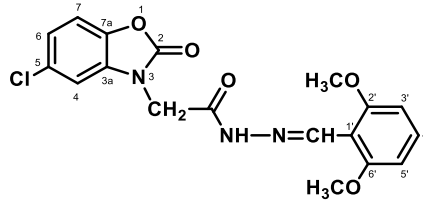
δ 21.4, 21.6, 21.6, 50.5, 51.1, 118.5, 119.1, 122.3, 122.7, 125.4, 128.4, 128.5, 128.7, 128.9, 129.1, 129.3, 129.5, 129.9, 130.8, 130.8, 132.1, 137.2, 137.2, 137.7, 137.7, 144.0, 144.9, 152.8, 153.4, 153.9, 155.5, 168.9, 171.9 ppm.

Elementel Analiz (%) $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_3$

Hesaplanan: C, 60.43; H, 4.51; N, 11.74

Bulunan: C, 59.58; H, 4.95; N, 12.29

4.1.37. C12 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(2,6-dimetoksibenziliden)-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %60, Erime Derecesi: 222°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3276 (N-H gerilme), 3064 (Aromatik C-H gerilme), 2951, 2839 (Alifatik C-H gerilme), 1784 (C=O gerilme), 1694, 1682 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1610 (C=N gerilmesi), 1597, 1489 (C=C gerilme), 1255 (C-O-C asimetric gerilmesi), 1017 (C-O-C simetrik gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

387.97 (35, M-H)⁻, 390.24 (10, M+2-H), 63.22 (100)

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6)

δ 3.80 (6H, s, -OCH₃), 3.81 (min-6H, s), 4.33 (2H, s, -CH₂-), 4.96 (min-2H, s), 6.71 (min-2H, d, $J=8.5$ Hz), 6.76 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3' ve H-5'), 6.94 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-7), 7.17 (min-1H, dd, $J=8.4$; 2.1 Hz), 7.25 (1H, dd, $J=8.8$; 2.7 Hz, H-6), 7.31-7.41 (min-2H, m), 7.42-7.49 (2H, m, H-4 ve H-4'), 7.55 (min-1H, d, $J=2.2$ Hz), 8.27 (min-1H, s), 9.16 (1H, s, -NH-N=CH-), 10.16 (1H, bs, -NH-N=CH-), 11.61 (min-1H, bs) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6)

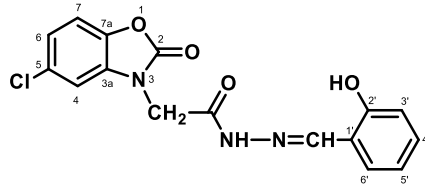
δ 50.8, 56.5, 104.8, 104.9, 109.9, 118.6, 122.4, 124.8, 128.6, 128.9, 129.3, 133.8, 153.1, 153.1, 157.5, 159.3, 159.8, 166.6, 167.5 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₈H₁₆ClN₃O₅ . 0.5 C₂H₅OH

Hesaplanan: C, 55.28; H, 4.64; N, 10.18

Bulunan: C, 55.35; H, 4.56; N, 10.22

4.1.38. C13 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(2-hidroksibenziliden)-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %25, Erime Derecesi 280°C (251-253 °C, Gökçe ve ark., 2008)

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3064 (Aromatik C-H gerilme), 2977, 2914 (Alifatik C-H gerilme), 1790 (C=O gerilme), 1677 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1624 (C=N gerilme), 1578 (Amit II Bandı), 1610, 1491 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

344.17 (100, M-H⁻), 346.15 (30, M+2-H⁻), 182.28 (30), 145.09 (25), 137.12 (60)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.40 (min2-2H, s), 4.68 (min2-2H, s), 5.07 (2H, s, -CH₂-), 6.85-6.99 (2H, m, H-3' ve H-5'; min-2H), 7.13-7.32 (2H, m, H-6 ve H-4'; min-2H), 7.41 (1H, d, *J*=8.8 Hz, H-7; min-1H), 7.48 (min2-1H, d, *J*=2.9 Hz), 7.53-7.58 (1H, m, H-4; min-2H), 7.76 (1H, d, *J*=7.7 Hz, H-6'), 8.36 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.46 (min-1H, s), 9.51 (min2-1H, s), 10.07 (min-1H, bs), 10.89 (min2-1H, bs), 11.75 (1H, bs, -NH-N=CH-) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

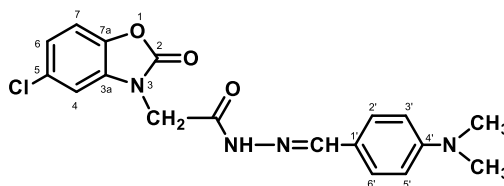
δ 43.8, 44.0, 110.5, 110.7, 111.4, 111.5, 116.6, 116.8, 119.1, 119.8, 120.4, 122.4, 122.5, 126.7, 128.6, 128.6, 129.4, 131.8, 132.0, 133.3, 133.5, 141.1, 141.2, 142.3, 148.1, 154.4, 154.5, 157.0, 157.0, 157.8, 162.8, 167.3 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₈N₁₄ClN₃O₃

Hesaplanan: C, 55.58; H, 3.50; N, 12.15

Bulunan: C, 56.23; H, 3.91; N, 11.55

4.1.39. C15 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-[4-(dimetilamino)benziliden]-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %52, Erime Derecesi: 233°C (248-249 °C, Gökçe ve ark., 2008)

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3337, 3225 (N-H gerilme), 3082 (Aromatik C-H gerilme), 2975, 2911 (Alifatik C-H gerilme), 1770 (C=O gerilme), 1703 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1629 (C=N gerilme), 1549 (Amit II Bandı), 1592, 1498 (C=C gerilme)

MS (ESI+) m/z (% bağıl bolluk)

372.68 (60, $M+H$)⁺, 374 (20, $M+2+H$)⁺, 340.29 (30), 335.17 (45), 324.77 (30), 250.50 (100), 101.88 (50)

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.99 (6H, s, -CH₃), 4.26 (2H, s, -CH₂-), 4.89 (min-2H, s), 6.76 (2H, d, $J=8.9$ Hz, H-3' ve H-5'), 6.93 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-7), 7.22 (1H, dd, $J=8.8$; 2.7 Hz, H-6), 7.38 (1H, d, $J=2.6$ Hz, H-4), 7.64 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2' ve H-6'), 8.50 (1H, s, -NH-N=CH-), 10.19 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6)

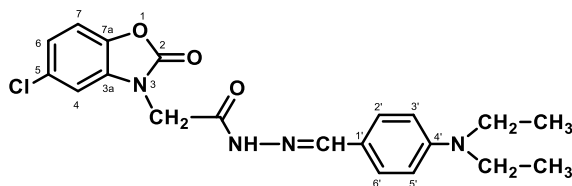
δ 50.5, 112.1, 118.4, 122.0, 122.4, 125.4, 128.6, 128.7, 129.9, 152.4, 152.7, 155.5, 160.3, 169.0 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₈H₁₇ClN₄O₃

Hesaplanan: C, 57.99; H, 4.60; N, 15.03

Bulunan: C, 57.68; H, 4.62; N, 15.42

4.1.40. C16 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(4-(dietilamino)benziliden)-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %56, Erime Derecesi: 241°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3336, 3218 (N-H gerilme), 3082, 3043 (Aromatik C-H gerilme), 2971, 2929, 2888 (Alifatik C-H gerilme), 1769 (C=O gerilme), 1702 (C=O gerilme), 1595 (C=N gerilme), 1551 (Amit II Bandı), 1518, 1500 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

398.79 (100, M-H^-), 400.83 (20, $\text{M}+2\text{-H}^-$), 382.60 (45), 346.40 (20), 299.80 (25), 279.61 (25), 216.58 (20), 120.16 (30), 117.90 (20)

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

δ 1.12 (6H, t, $J=6.9$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 3.40 (4H, q, $J=7.0$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 4.27 (2H, s, $-\text{CH}_2-$), 4.88 (min-2H, s), 6.71 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3' ve H-5'), 6.94 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-7), 7.22 (1H, dd, $J=8.8; 2.7$ Hz, H-6), 7.38 (1H, d, $J=2.6$ Hz, H-4), 7.61 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2' ve H-6'), 8.46 (2H, s, $-\text{NH-N}=\text{CH}-$), 10.18 (1H, bs, $-\text{NH-N}=\text{CH}-$) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

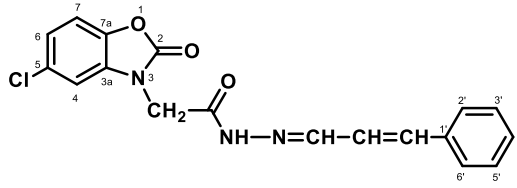
δ 12.9, 44.2, 50.6, 111.4, 118.4, 118.5, 122.3, 122.4, 125.4, 128.6, 128.7, 130.2, 152.7, 155.5, 155.5, 168.9 ppm.

Elementel Analiz (%) $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_3$

Hesaplanan: C, 59.93; H, 5.28; N, 13.98

Bulunan: C, 59.66; H, 5.42; N, 14.24

4.1.41. C18 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-(3-fenilalliliden)-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %41, Erime Derecesi 196°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3182 (N-H gerilme), 3065 (Aromatik C-H gerilme), 2967, 2936, 2900 (Alifatik C-H gerilme), 1791 (C=O gerilme), 1676 (C=O gerilme; Amit I Bandı), 1628, (C=N gerilme), 1613, 1491 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

353.75 (100, M-H)⁻, 355.99 (25, M+2-H)⁻

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6)

δ 4.36 (min-2H, s), 4.63 (min2-2H, s), 4.96 (2H, s, -CH₂-), 6.90-7.72 (10H, m, H-4, H-6, H-7, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6' ve -CH=CH-; min-10H), 7.86 (1H, d, $J=9.0$ Hz, -NH-N=CH-), 7.98 (min2-1H, d, $J=8.2$ Hz), 8.37 (min3-1H, d, $J=9.5$ Hz), 9.08 (min-1H, d, $J=9.5$ Hz), 11.71 (min2-1H, s), 11.74 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6)

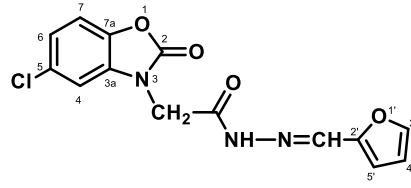
δ 43.7, 44.0, 50.6, 110.4, 110.7, 111.4, 111.5, 118.6, 122.4, 122.4, 124.7, 125.2, 125.4, 125.7, 125.8, 127.6, 127.6, 128.0, 128.1, 128.6, 128.6, 128.7, 129.2, 129.3, 129.4, 129.4, 130.1, 133.3, 133.4, 135.7, 136.0, 136.2, 136.2, 139.9, 140.1, 141.1, 141.1, 143.8, 144.5, 147.5, 150.1, 152.9, 152.9, 154.3, 154.5, 160.8, 162.7, 163.6, 166.8, 167.4 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₈H₁₄ClN₃O₃

Hesaplanan: C, 60.77; H, 3.97; N, 11.81

Bulunan: C, 62.01; H, 4.17; N, 11.01

4.1.42. C21 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-[(furan-2-il)metilen]-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %63, Erime Derecesi: 243°C

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3354 (N-H gerilme), 3090, 3061 (Aromatik C-H gerilme), 2968, 2926 (Alifatik C-H gerilme), 1774, 1717 (C=O gerilme), 1684 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1613 (C=N gerilme), 1487 (C=C gerilme)

MS (ESI-) *m/z* (% bağıl bolluk)

318.21 (100, M-H)⁻, 320.21 (25, M+2-H)⁻, 182.23 (40), 184.12 (20), 154.14 (30)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.24 (min2-2H, s), 4.36 (min4-2H, s), 4.62 (min-2H, s), 4.85 (min3-2H, s), 4.98 (2H, s, -CH₂-), 6.60 (min-1H, dd, *J*=3.6; 1.9 Hz), 6.62 (1H, dd, *J*=3.4; 1.7 Hz, H-4'), 6.68-6.70 (min4-1H, m), 6.89-6.95 (1H, m, H-3'; min-1H), 7.14-7.25 (1H, m, H-6; min-2H), 7.36-7.40 (1H, m, H-7; min-1H), 7.44 (min2-1H, d, *J*=2.7 Hz), 7.48 (min-1H, d, *J*=2.2 Hz), 7.54 (1H, d, *J*=2.2 Hz, H-4), 7.81-7.85 (1H, m, H-5'), 7.92 (1H, s, -NH-N=CH-), 7.95 (min2-1H, s), 8.09 (min-1H, s), 9.15 (min4-1H, s), 10.15 (min2-1H, s), 11.72 (min-1H, s), 11.75 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ 5.00 (2H, s, -CH₂-), 5.02 (min-2H, s), 6.53 (min-1H, dd, *J*=3.5; 1.8 Hz), 6.59 (1H, dd, *J*=3.6; 1.8 Hz, H-4'), 6.61 (min2-1H, dd, *J*=3.6; 1.7 Hz), 6.77-6.79 (1H, m, H-3'; min-1H), 6.92 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.93 (min-1H, d, *J*=2.0 Hz), 7.09 (min-1H, dd, *J*=2.0; 0.7 Hz), 7.11 (1H, dd, *J*=2.0; 0.7 Hz, H-7), 7.12-7.18 (2H, m, H-4; min-2H), 7.55-7.56 (min-1H, m), 7.65-7.66 (2H, m, H-5' ve -NH-N=CH-), 9.05 (min-1H, s), 9.67 (min2-1H, s), 10.54 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6)

δ 43.7, 110.7, 111.4, 112.6, 114.4, 122.4, 128.6, 133.4, 135.0, 137.9, 141.1, 145.6, 149.3, 154.5, 167.5 ppm.

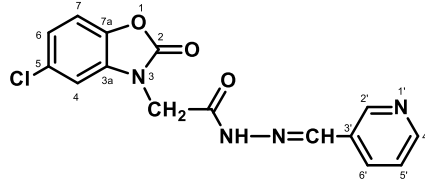
Elementel Analiz (%) $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{ClN}_3\text{O}_4 \cdot 0,25 \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

Hesaplanan: C, 52.58; H, 3.50; N, 12,69

Bulunan: C, 52.93; H, 3.37; N, 12.31



4.1.43. C22 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-[(piridin-3-il)metilen]-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %44, Erime Derecesi: 272°C

IR ν_{maks} (cm⁻¹)

3082, 3061 (Aromatik C-H gerilme), 2989, 2943 (Alifatik C-H gerilme), 1772, 1747 (C=O gerilme), 1697 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1617 (C=N gerilme), 1490 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

329.23 (100, M-H⁻), 331.22 (35, M+2-H⁻), 182.09 (30), 183.79 (25)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.25 (min3-2H, s), 4.40 (min4-2H, s), 4.67 (min-2H, s), 4.88 (min2-2H, s), 5.11 (2H, s, -CH₂-), 7.18 (1H, dd, *J*=8.5; 2.2 Hz, H-6; min-1H), 7.41 (1H, dd, *J*=8.5; 3.0 Hz, H-5*), 7.45-7.49 (1H, m, H-7*; min-1H), 7.52 (min-1H, d, *J*=2.1 Hz), 7.58 (1H, d, *J*=2.2 Hz, H-4), 8.08 (1H, s, -NH-N=CH-), 8.10 (min-1H, s), 8.16 (1H, dt, *J*=8.0; 2.0 Hz, H-4'), 8.27 (min-1H, s), 8.60 (1H, dd, *J*=4.8; 1.8 Hz, H-6'), 8.83 (min-1H, d, *J*=1.8 Hz), 8.90 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-2'), 12.01 (1H, s, -NH-N=CH-) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

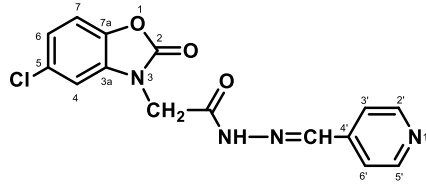
δ 43.5, 110.0, 122.7, 124.3, 124.4, 130.2, 130.3, 132.0, 134.0, 142.2, 142.4, 149.0, 149.3, 151.1, 154.6, 168.0 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₅H₁₁ClN₄O₃

Hesaplanan: C, 54.48; H, 3.35; N, 16.94

Bulunan: C, 56.69; H, 3.55; N, 16.63

4.1.44. C23 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N'-[(piridin-4-il)metilen]-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %59, Erime Derecesi: 219°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3337, 3225 (N-H gerilme), 3082 (Aromatik C-H gerilme), 2971 (Alifatik C-H gerilme), 1770 (C=O gerilme), 1703 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1632 (C=N gerilme), 1593, 1498 (C=C gerilme)

MS (ESI-) m/z (% bağıl bolluk)

329.21 (100, M-H^-), 331.30 (30, $\text{M}+2\text{-H}^-$), 311.13 (35), 307.96 (30), 240.05 (50), 234.87 (30), 203.37 (25), 183.34 (30), 167.94 (25), 163.70 (30), 153.42 (25), 126.56 (30), 120.73 (35), 117.43 (45)

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

δ 4.24 (2H, s, $-\text{CH}_2-$), 4.68 (min3-2H, s), 4.85 (min-2H, s), 5.11 (min2-2H, m), 6.91 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-7), 7.18 (1H, tdd, $J=7.4$; 2.4; 1.0 Hz, H-6; min-1H), 7.35 (1H, dd, $J=2.6$; 1.0 Hz, H-4), 7.39 (min-1H, d, $J=8.5$ Hz), 7.50-7.52 (min3-1H, m), 7.57 (min-1H, dd, $J=2.2$; 0.9 Hz), 7.62 (min-1H, d, $J=5.4$ Hz), 7.69 (1H, d, $J=4.9$ Hz, H-3' ve H-5'), 8.02 (1H, s, $-\text{NH-N}=\underline{\text{CH}}-$), 8.21 (min-1H, s), 8.63 (2H, d, $J=4.9$ Hz, H-2' ve H-6') ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

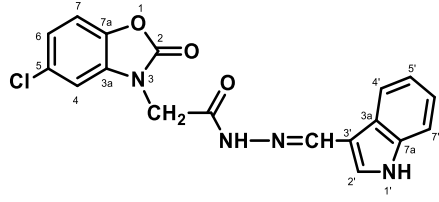
δ 19.0, 43.9, 44.1, 50.5, 56.5, 110.5, 110.6, 111.5, 111.5, 118.4, 121.4, 121.5, 122.4, 122.4, 122.5, 125.4, 128.5, 128.6, 128.7, 128.7, 133.2, 133.4, 141.1, 141.1, 141.4, 141.6, 142.5, 145.8, 150.7, 150.7, 152.7, 154.5, 155.5, 163.4, 168.1, 168.9 ppm.

Elementel Analiz (%) $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_4\text{O}_3 \cdot 1 \text{H}_2\text{O}$

Hesaplanan: C, 51.66; H, 3.76; N, 16.07

Bulunan: C, 51.93; H, 4.02; N, 15.63

4.1.45. C24 kodlu bileşiğin spektral bulguları



N'-[(1*H*-indol-3-il)metilen]-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit

Verim: %63, Erime Derecesi: 274°C

IR ν_{maks} (cm^{-1})

3337, 3221 (N-H gerilme), 3111, 3057 (Aromatik C-H gerilme), 2929 (Alifatik C-H gerilme), 1770 (C=O gerilme), 1702 (C=O gerilme, Amit I Bandı), 1624 (C=N gerilme), 1592, 1499 (C=C gerilme)

MS (ESI+) m/z (% bağıl bolluk)

368.77 (100, $M+H$)⁺, 370 (5, $M+2+H$)⁺, 354.00 (20), 351.69 (50), 339.62 (35), 310.60 (20), 289.87 (30) 279.33 (75), 265.67 (70), 262.79 (25)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.24 (2H, s, -CH₂-), 4.86 (min-2H, s), 6.91 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-7), 7.12-7.22 (3H, m, H-6, H-5' ve H-6'), 7.36 (1H, d, $J=2.7$ Hz, H-4), 7.45 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-7'), 7.88 (1H, d, $J=2.8$ Hz, H-2'**), 8.32 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-4'), 8.88 (1H, s, -NH-N=CH-**), 10.15 (1H, s, -NH-N=CH-*), 11.64 (1H, s, indol-NH*) ppm.

* İki protonun yeri değişebilir. ** İki protonun yeri değişebilir.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 50.6, 112.4, 112.6, 118.5, 121.0, 122.4, 122.6, 123.1, 125.2, 125.4, 128.6, 128.7, 132.3, 137.6, 152.7, 155.5, 155.6, 169.0 ppm.

Elementel Analiz (%) C₁₈H₁₃ClN₄O₃

Hesaplanan: C, 58.63; H, 3.55; N, 15.19

Bulunan: C, 58.25; H, 3.92; N, 15.10

4.2. Biyolojik Aktivite Bulguları

Bileşiklerin MPO enzimi üzerindeki inhibitör etkinlikleri, taurin kloramin, Ampleks Red ve gayakol oksidasyonu yöntemleriyle incelenmiştir. Ayrıca, taurin kloramin yönteminde en aktif bulunan bileşiklerin hipokloröz asit süpürücü aktiviteleri değerlendirilmiştir.

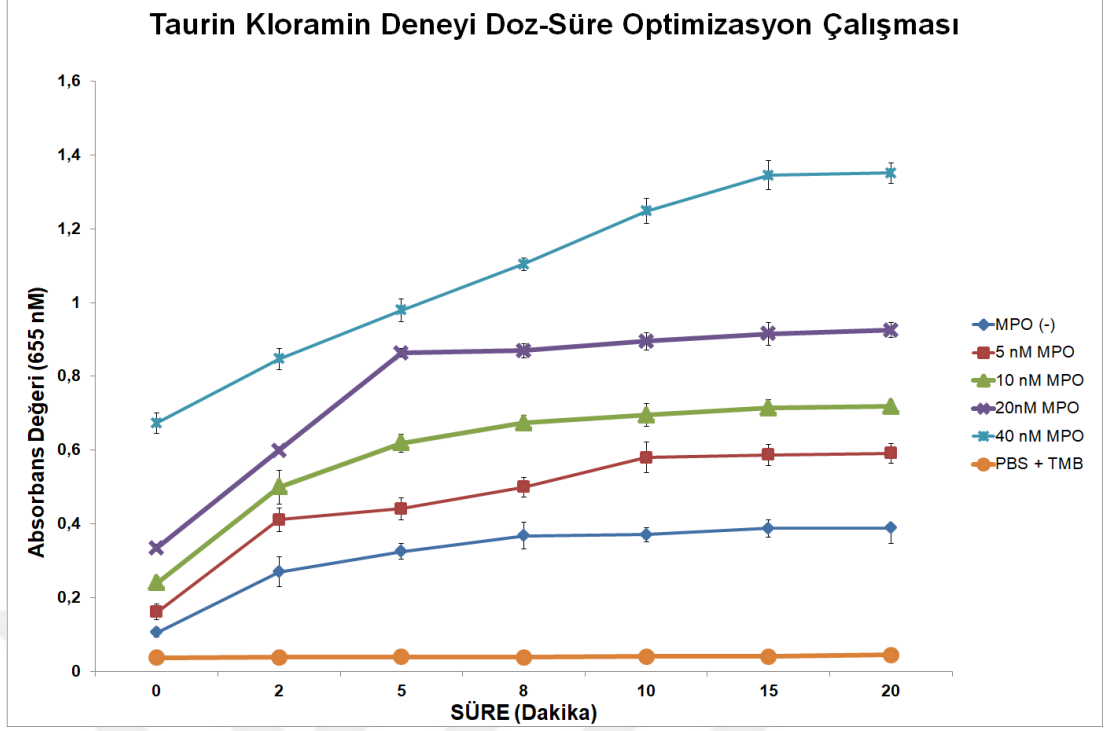
4.2.1. Taurin kloramin deneyine ait bulgular

Çalışmamızda, bileşiklerin MPO enzimi klorinasyon döngüsü üzerindeki potansiyel inhibitör etkilerini test etmek amacıyla taurin kloramin yöntemi kullanılmıştır.

Deneyde kullanılacak en uygun MPO enzim konsantrasyonunun ve reaksiyon süresinin belirlenebilmesi için deney, çeşitli konsantrasyonlarda MPO enzimi (0, 5, 10, 20 ve 40 nM) kullanılarak tekrarlanmış ve 655 nm dalga boyunda plaklardaki renk şiddetinin zamana bağlı değişiklikleri (0, 1, 5, 8, 10, 15 ve 20 dakika) ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri, ortalama absorbans ve standart sapma (Ort. $\pm$ S.S.) olarak **Tablo 3'te** verilmiştir (n=3). Bu değerlere ait süre-absorbans grafiği ise **Şekil 27'de** sunulmuştur.

Tablo 3. Taurin kloramin yönteminde gerçekleştirilen optimizasyon çalışması sonucunda elde edilen absorbans değerleri

		İnkübasyon Süresi (Dakika)						
		0. Dk	1. Dk	5. Dk	8. Dk	10. Dk	15. Dk	20. Dk
MPO Konsantrasyonu (nM)	0	0,106 $\pm$ 0,013	0,270 $\pm$ 0,041	0,326 $\pm$ 0,022	0,368 $\pm$ 0,036	0,376 $\pm$ 0,019	0,387 $\pm$ 0,024	0,389 $\pm$ 0,042
	5	0,161 $\pm$ 0,021	0,411 $\pm$ 0,032	0,441 $\pm$ 0,030	0,500 $\pm$ 0,027	0,580 $\pm$ 0,041	0,587 $\pm$ 0,029	0,591 $\pm$ 0,027
	10	0,240 $\pm$ 0,016	0,500 $\pm$ 0,046	0,619 $\pm$ 0,024	0,673 $\pm$ 0,021	0,695 $\pm$ 0,032	0,714 $\pm$ 0,022	0,718 $\pm$ 0,015
	20	0,335 $\pm$ 0,010	0,599 $\pm$ 0,010	0,864 $\pm$ 0,012	0,870 $\pm$ 0,019	0,895 $\pm$ 0,023	0,915 $\pm$ 0,031	0,926 $\pm$ 0,020
	40	0,673 $\pm$ 0,029	0,847 $\pm$ 0,029	0,979 $\pm$ 0,031	1,104 $\pm$ 0,017	1,248 $\pm$ 0,034	1,345 $\pm$ 0,039	1,351 $\pm$ 0,027



Şekil 27. Taurin kloramin yönteminde gerçekleştirilen optimizasyon çalışması sonucunda elde edilen bulgular

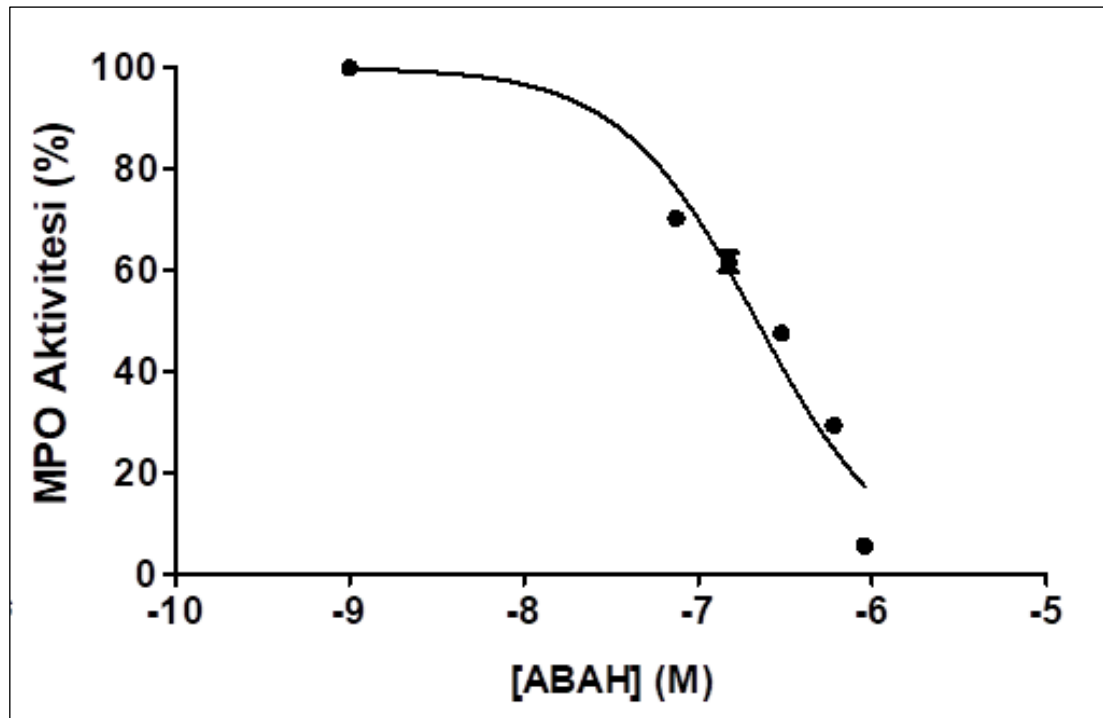
Çalışmamızda test edilen tüm MPO konsantrasyonlarında renk şiddetinde anlamlı artış olduğu tespit edilmiştir. Spektrofotometrik çalışmalarda değişikliklerin daha hassas bir şekilde gözlemlenebilmesi için, ölçülen absorbsiyon değerinin 1.00 değerini aşmayacak şekilde mümkün olan en yüksek değerde olması beklendiğinden, tüm bulgular karşılaştırıldığında çalışma için 10nM MPO enzim konsantrasyonunun kullanılması uygun bulunmuştur.

Ölçüm süreleri incelendiğinde, test edilen tüm konsantrasyonlarda inkübasyon süresinin 0. ve 5. dakikaları arasında absorbans değerlerinin artış gösterdiği, bununla birlikte 5, 10 ve 20 nM’lık MPO konsantrasyonları ile gerçekleştirilen deneylerde 5. dakika ve sonrasında alınan ölçümlerin absorbsiyon değerlerinde süreye bağlı anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir. Elde edilen bu bulgulardan, reaksiyon ortamına katalaz enzimi eklenmesiyle birlikte 5. dakikadan itibaren reaksiyonunun tamamen bittiği anlaşılmıştır. Bu nedenle, absorbsiyon değerlerinin katalaz ilavesini takiben 5. dakikada ölçülmesine karar verilmiştir.

Deney için en uygun enzim konsantrasyonu ve sürenin belirlenmesinin ardından literatürde standart MPO inhibitörü olarak belirtilen ABAH bileşiğinin, deney koşullarımızda MPO enzimi (10 nM) inhibitör etkinliği ve IC₅₀ konsantrasyonunu belirlemek için farklı konsantrasyonlarda ABAH çözeltileri (0, 75, 150, 300, 600 ve 900 nM) ile taurin kloramin deneyi tekrar edilmiştir. Elde edilen bulgular ortalama % MPO aktivitesi ve standart sapma (Ort. $\pm$ S.S.) olarak **Tablo 4’de** verilmiştir (n=3). Bu değerler kullanılarak çizilen grafik ise **Şekil 28’de** sunulmuştur. Elde edilen sonuçlar, referans olarak seçilen ABAH bileşiğinin MPO enzim inhibitör aktivitesi için IC₅₀ değerinin $0,217 \pm 0.035 \mu\text{M}$ olduğunu göstermiştir.

Tablo 4. ABAH bileşiği ile gerçekleştirilen IC₅₀ çalışmasına ait bulgular

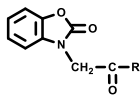
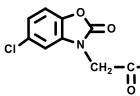
ABAH Konsantrasyonu (nM)	% MPO Aktivitesi
0	100 $\pm$ 0.3
75	70.23 $\pm$ 2.6
150	61.56 $\pm$ 3.3
300	47.58 $\pm$ 1.6
600	29.26 $\pm$ 0.5
900	5.48 $\pm$ 2.0

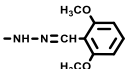
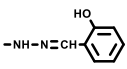
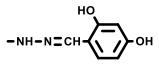
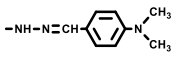
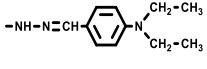
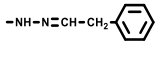
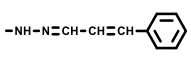
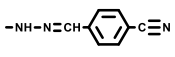
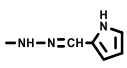
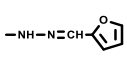
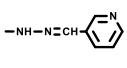
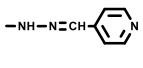
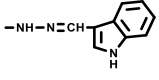
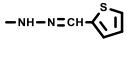


Şekil 28. ABAH bileşiği ile gerçekleştirilen IC₅₀ çalışmasına ait grafik.

Optimizasyon çalışmalarının ardından çalışmamızda sentezlenen bileşiklerin için taurin kloramin deneyi gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin 20 μ M konsantrasyonda MPO enzimi üzerine gösterdikleri inhibisyon aktivitesi, ortalama % inhibisyon değeri ve standart sapma (Ort. $\pm$ S.S.) olarak **Tablo 5'te** verilmiştir (n=3).

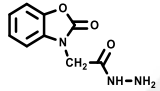
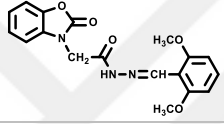
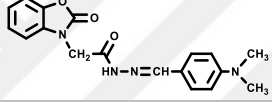
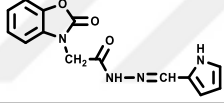
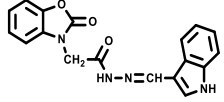
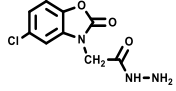
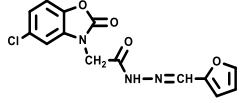
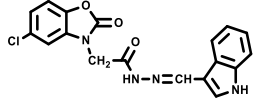
Tablo 5. Bileşiklerin MPO enzimi klorinasyon döngüsü üzerindeki % inhibisyon değerleri

R		% MPO İnhibisyonu (Ort $\pm$ S.S.)		% MPO İnhibisyonu (Ort $\pm$ S.S.)
$-\text{NH}-\text{NH}_2$	B1	95.33 $\pm$ 0.34	C1	71.98 $\pm$ 3.70
$-\text{NH}-\text{OH}$	B2	14.44 $\pm$ 3.39	C2	18.84 $\pm$ 2.96
$-\text{NH}-\text{O}-\text{CH}_3$	B3	36.75 $\pm$ 0.56	C3	41.67 $\pm$ 1.50
$-\text{NH}-\text{N}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_5$	B4	39.52 $\pm$ 0.22	C4	44.85 $\pm$ 0.32
$-\text{NH}-\text{N}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3$	B5	40.43 $\pm$ 2.01	C5	19.82 $\pm$ 2.64
$-\text{NH}-\text{N}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}_3$	B6	32.74 $\pm$ 1.40	C6	18.09 $\pm$ 1.28
$-\text{NH}-\text{N}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3$	B7	27.49 $\pm$ 2.85	C7	18.02 $\pm$ 1.78
$-\text{NH}-\text{N}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$	B8	35.25 $\pm$ 1.92	C8	2.26 $\pm$ 1.12
$-\text{NH}-\text{N}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_3\text{OCH}_3$	B9	34.98 $\pm$ 2.94	C9	1.33 $\pm$ 3.53
$-\text{NH}-\text{N}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$	B10	34.90 $\pm$ 1.60	C10	1.10 $\pm$ 2.25
$-\text{NH}-\text{N}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_2\text{CH}_3$	B11	32.12 $\pm$ 0.91	C11	2.51 $\pm$ 1.91

	B12	67.75 ± 1.30	C12	21.97 ± 9.83
	B13	52.29 ± 2.45	C13	2.74 ± 3.47
	B14	10.34 ± 2.28		
	B15	92.82 ± 2.30	C15	32.04 ± 1.35
	B16	43.67 ± 0.55	C16	37.83 ± 2.65
	B17	59.21 ± 2.20		
	B18	31.94 ± 1.50	C18	2.44 ± 1.16
	B19	34.93 ± 3.23		
	B20	92.99 ± 1.52		
	B21	36.69 ± 1.04	C21	97.33 ± 0.55
	B22	32.86 ± 2.66	C22	1.71 ± 3.77
	B23	29.86 ± 3.94	C23	20.41 ± 2.29
	B24	90.72 ± 1.79	C24	69.03 ± 0.62
	B25	28.55 ± 1.16		

Taurin kloramin yönteminde 20 μM konsantrasyonda MPO enzim aktivitesinde ortalama %MPO inhibisyon değerinin %60 ve üzeri olduğu belirlenen bileşiklerin IC_{50} konsantrasyonlarını belirlemek için, her bileşiğin 5 farklı konsantrasyonu ile çalışılmıştır. 3 farklı tekrar sonucunda elde edilen bulgular kullanılarak, GraphPad Prism 5.0 istatistik programında IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. Deney sonuçları **Tablo 6'da** sunulmuştur.

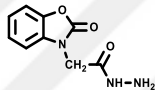
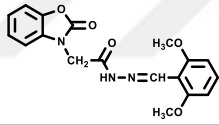
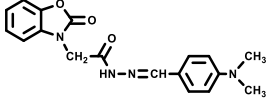
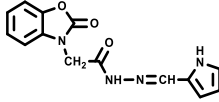
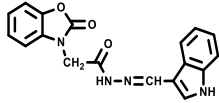
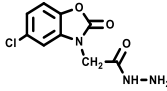
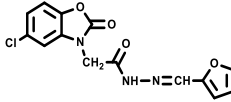
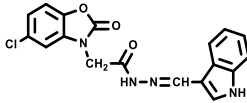
Tablo 6. %60 ve üzerinde MPO klorinasyon inhibisyonu gösteren bileşiklerin % inhibisyon ve IC_{50} değerleri

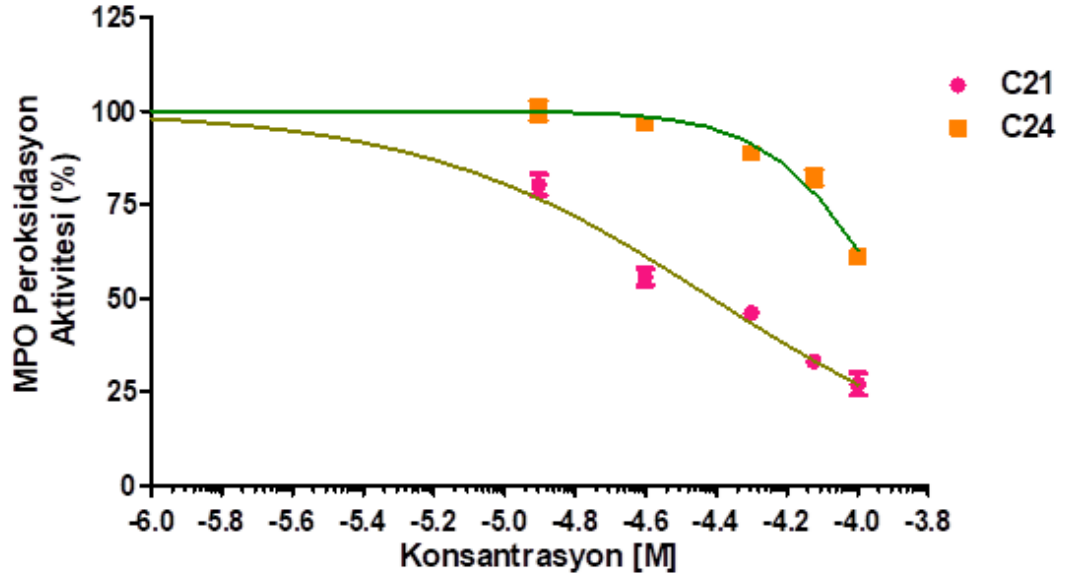
Bileşik Kodu	Açık Formülü	% MPO İnhibisyon (Ort $\pm$ S.S.)	IC_{50} (μM) (Ort $\pm$ S.S.)
B1		95.33 $\pm$ 0.34	3.16 $\pm$ 0.04
B12		67.75 $\pm$ 1.30	8.07 $\pm$ 0.06
B15		92.82 $\pm$ 2.30	2.70 $\pm$ 0.02
B20		92.99 $\pm$ 1.52	1.25 $\pm$ 0.05
B24		90.72 $\pm$ 1.79	1.28 $\pm$ 0.05
C1		71.98 $\pm$ 5.00	6.73 $\pm$ 0.06
C21		97.33 $\pm$ 1.71	0.42 $\pm$ 0.06
C24		69.03 $\pm$ 0.55	6.89 $\pm$ 0.06
ABAH			0.21 $\pm$ 0.03

4.2.2. Ampleks Red deneyine ait bulgular

Bileşiklerin, enzimin peroksidaz döngüsü üzerine olan etkilerini belirlemek üzere, taurin kloramin deneyinde %60 ve üzeri değerlerde MPO inhibiyonuna yol açtığı belirlenen 8 bileşik Ampleks Red yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda 100 μ M konsantrasyonda MPO peroksidaz aktivitesinde en yüksek inhibisyonu sağladığı belirlenen **C21** ve **C24** bileşiklerinin IC₅₀ konsantrasyonlarını belirlemek için, 5 farklı konsantrasyonda (0, 12.5, 25, 50, 75 ve 100 μ M) Ampleks Red deneyi tekrar edilmiştir. Elde edilen bulgular Tablo 7’de sunulmuştur (n=3). **C21** ve **C24** bileşiklerinin test edilen konsantrasyonlarına ait bulgular ile çizilen IC₅₀ grafiği Şekil 29’da gösterilmiştir.

Tablo 7. %60 ve üzerinde MPO klorinasyon inhibisyonu gösteren bileşiklerin % MPO peroksidasyon inhibisyonu ve IC₅₀ değerleri

Bileşik Kodu	Açık Formülü	% MPO Peroksidasyon Aktivitesi İnhibisyonu (Ort $\pm$ S.S.)	IC ₅₀ (μ M) (Ort $\pm$ S.S.)
B1		1.60 $\pm$ 0.18	-
B12		8.34 $\pm$ 0.26	-
B15		0	-
B20		12.72 $\pm$ 0.12	-
B24		0	-
C1		11.20 $\pm$ 0.54	-
C21		53.19 $\pm$ 0.34	38.69 $\pm$ 0.85
C24		28.12 $\pm$ 1.61	121.9 $\pm$ 0.96
Kontrol		100 $\pm$ 0.13	100 $\pm$ 0.13

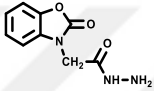
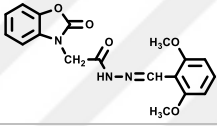
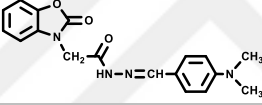
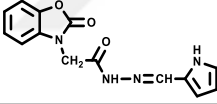
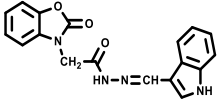
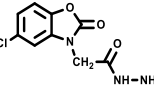
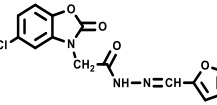
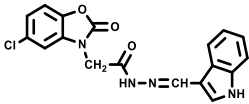


Şekil 29. BS1, BS2, BS18, C21 ve C24 kodlu bileşiklerinin Ampleks Red deneyine ait IC₅₀ grafikleri

4.2.3. Gayakol deneyine ait bulgular

Taurin kloramin deneyi sonucunda MPO enzim aktivitesinde %60 ve üstünde inhibisyona neden olduğu belirlenen bileşiklerin enzim aktif bölgesine afinitesini belirlemek için gayakol oksidasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Test edilen bileşiklerin 100 µM konsantrasyonda kullanıldığı deneyler sonucunda elde edilen sonuçlar % gayakol oksidasyonu (Ort. ± S.S.) olarak **Tablo 8’de** sunulmuştur (n=3).

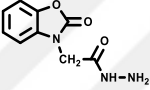
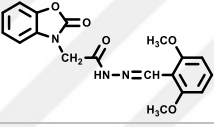
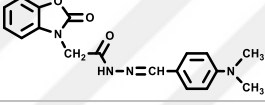
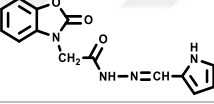
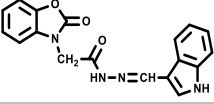
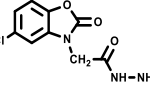
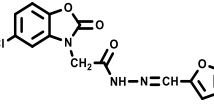
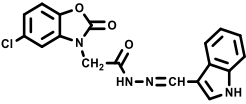
Tablo 8. %60 ve üzerinde MPO klorinasyon inhibisyonu gösteren bileşiklerin % gayakol oksidasyonu değerleri

Bileşik Kodu	Açık Formülü	% Gayakol Oksidasyonu (Ort ± S.S.)
B1		96.47 ± 2.05
B12		99.54 ± 1.86
B15		92.02 ± 2.72
B20		95.57 ± 2.62
B24		91.66 ± 0.83
C1		97.23 ± 0.14
C21		96.27 ± 1.07
C24		93.05 ± 1.07
Kontrol		100 ± 0.67

4.2.4. HOCl Süpürme Aktivitesi Tayini

Taurin kloramin deneyinde MPO enzim aktivitesi üzerinde %60 ve üzeri değerlerde inhibiyona yol açtığı belirlenen 8 bileşiğin, MPO enzim aktivitesi sırasında açığa çıkan HOCl ile doğrudan etkileşme potansiyelini değerlendirmek için hipokloröz asit süpürme aktivitesi tayini gerçekleştirilmiştir. Test edilen bileşiklerin 100 µM konsantrasyonda kullanıldığı deneyler sonucunda elde edilen değerler % HOCl süpürme aktivitesi (Ort. ± S.S.) olarak Tablo 9’da sunulmuştur (n=3).

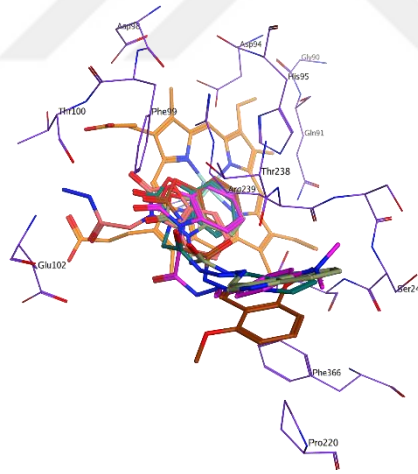
Tablo 9. %60 ve üzerinde MPO klorinasyon inhibisyonu gösteren bileşiklerin % HOCl süpürme aktivitesi sonuçları

Bileşik Kodu	Açık Formülü	% HOCl Süpürme Aktivitesi (Ort. ± S.S.)
B1		-
B12		-
B15		1,76 ± 0,03
B20		-
B24		-
C1		-
C21		-
C24		5,16 ± 0,09

4.3. Moleküler Modelleme Bulguları

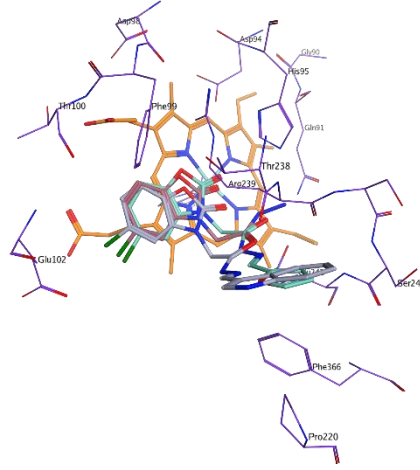
Tablo 10. İnsan miyeloperoksidaz enzimi (PDB ID: 1DNW) içerisinde çalışılan bileşiklere ait parantez içerisinde poz sırası verilen ilaç kenetlenme çalışması uyumluluk fonksiyon skorları (GoldScore) ve inhibitör konsantrasyon değerleri

Bileşikler	GoldScore	IC ₅₀ (μ M)
B1	52.4113 (1)	3.164
B12	57.7010 (35)	8.073
B15	59.3398(5)	2.7
B20	60.5950 (5)	1.247
B24	60.3746 (25)	1.283
C1	52.3667 (17)	6.731
C21	60.6942 (1)	0.418
C24	60.1628 (15)	6.893



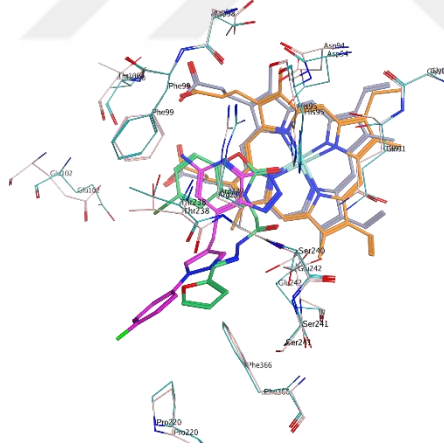
Şekil 30. **B** serisi bileşiklerin MPO enzimi (PDB ID: 1DNW) içerisindeki önerilen doking pozları*

***B1** bileşiği somon, **B12** bileşiği kahverengi, **B15** bileşiği eflatun, **B20** bileşiği koyu yeşil, **B24** bileşiği açık yeşil ve **hem** grubu turuncu renkli çubuklar olarak gösterilmiştir. Aktif yöre artıkları üç harfli kodla adlandırılmış ve aktif yöre artıkları mor renkli çubuklar olarak gösterilmiştir.



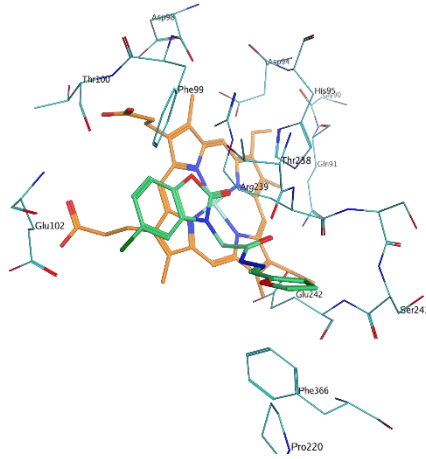
Şekil 31. C serisi bileşiklerin MPO enzimi (PDB ID: 1DNW) içerisindeki önerilen doking pozları*

***C1** bileşiği gül kuru, **C21** bileşiği cam göbeği, **C24** bileşiği açık eflatun ve **hem** grubu turuncu renkli çubuklar olarak gösterilmiştir. Aktif yöre artıkları üç harfli kodla adlandırılmış ve aktif yöre artıkları mor renkli çubuklar olarak gösterilmiştir.



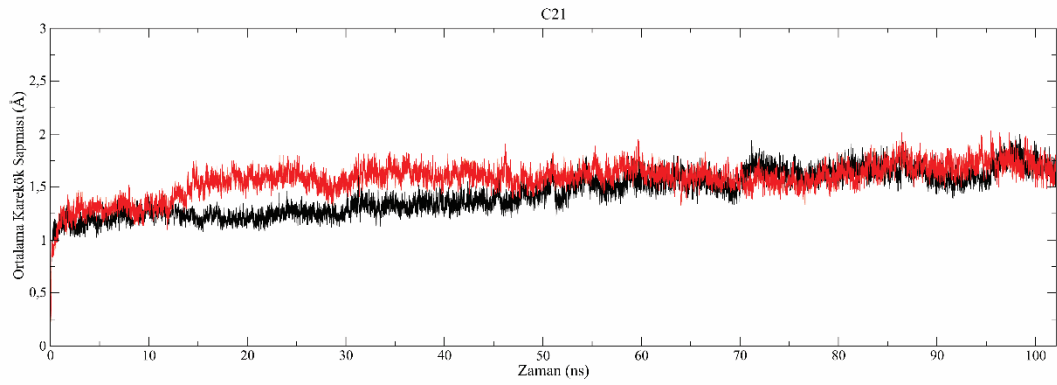
Şekil 32: **C21** bileşiğinin MPO enzimi (PDB ID: 1DNW) içerisindeki önerilen doking pozu ile pirazol türevi bileşiğin MPO enzimi içerisindeki kristal yapısı* (PDB ID: 7LAE)

***C21** bileşiği yeşil ve **pirazol türevi bileşik** eflatun renkli çubuklar olarak gösterilmiştir. 1DNW kodlu MPO enziminin **hem** grubu turuncu ve 7LAE kodlu MPO enziminin **hem** grubu açık eflatun rengi çubuklar olarak gösterilmiştir. Aktif yöre artıkları üç harfli kodla adlandırılmış ve aktif yöre artıkları 1DNW kodlu MPO enzimi için cam göbeği ve 7LAE kodlu MPO enzimi için pembe renkli çubuklar olarak gösterilmiştir.



Şekil 33. **C21** bileşiğinin MPO enzimi (PDB ID: 1DNW) içerisindeki önerilen ve MD simülasyonunda başlangıç yapısı olarak kullanılan doking pozu*

***C21** bileşiği yeşil renkli çubuklar olarak gösterilmiştir. MPO enziminin **hem** grubu turuncu renkli çubuklar olarak gösterilmiştir. Aktif yöre artıkları üç harfli kodla adlandırılmış ve aktif yöre artıkları 1DNW kodlu MPO enzimi için cam göbeği renkli çubuklar olarak gösterilmiştir.



Şekil 34. MPO apo formu ve **C21**-MPO kompleksinin ortalama karekök sapması grafiği*

*MPO apo formunun zamana karşı ortalama karekök sapması değerleri kırmızı çizitle, **C21**-MPO kompleksinin zamana karşı ortalama karekök sapması değerleri siyah çizitle gösterilmiştir.

Tablo 11. **C21** bileşiği ve insan miyeloperoksidaz enzimi (PDB ID:1DNW) arasında oluşan hidrojen bağları*

Bileşik	Akseptör	Donör-H	Donör	Sayı	Frekans	Ortalama Mesafe (Å)	Ortalama Açı (Derece)
C21	GLU242@OE2	H5	N1	58043	0.5685	2.8214	163.3975
	O3	SER241@H	SER241@N	18348	0.1797	2.9063	152.9974
	O1	ARG239@HH21	ARG239@NH2	15043	0.1473	2.8572	157.4777
	O2	HIS95@HE2	HIS95@NE2	12470	0.1221	2.8646	149.0014
	GLU242@OE1	H5	N1	6215	0.0609	2.8225	162.3314
	O1	HIS95@HE2	HIS95@NE2	3960	0.0388	2.8647	144.0342
	O	ARG239@HH21	ARG239@NH2	2700	0.0264	2.8854	153.6773

* Ambertools 20'nin Cpptraj modülü ile aynı modülünün varsayılan kriterleri kullanılarak hidrojen bağlanması analizi gerçekleştirilmiştir (Kesme değeri mesafe için 3.0 Å ve açı için 135° dir).

Tablo 12. **C21** bileşiği ve su molekülleri arasında oluşan hidrojen bağları*

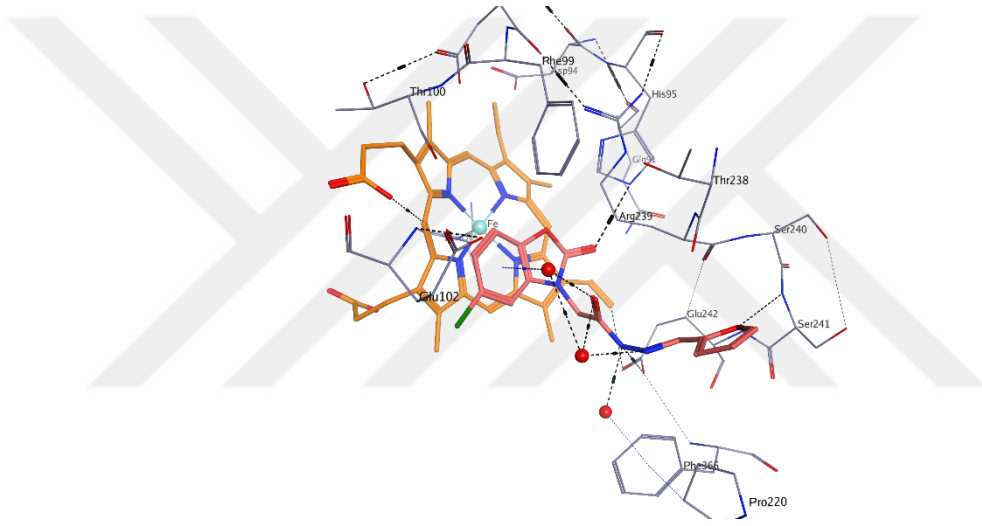
Bileşik	Akseptör	Donör-H	Donör	Sayı	Frekans	Ortalama Mesafe (Å)	Ortalama Açı (Derece)
C21	O2	Çözücü H	Çözücü Donör	54870	0.5374	2.7941	157.4543
	N2	Çözücü H	Çözücü Donör	13789	0.1351	2.8863	157.3735
	Çözücü Akseptör	H5	N1	10740	0.1052	2.8738	152.6200
	O2	HIS95@HE2	HIS95@NE2	12470	0.1221	2.8646	149.0014

* Ambertools 20'nin Cpptraj modülü ile aynı modülünün varsayılan kriterleri kullanılarak hidrojen bağlanması analizi gerçekleştirilmiştir (Kesme değeri mesafe için 3.0 Å ve açı için 135° dir).

Tablo 13. **C21** bileşiğı ile insan miyeloperoksidaz enziminin (PDB ID: 1DNW) su aracılı köprü oluşumu sonucunda hidrojen bağları meydana getiren artıkları*

Bileşik	Köprü Oluşturan Artıklar	Kare Sayısı
C21	Glu242	10328
	Thr238	9502

*Ambertools 20'nin Cpptraj modülü ile aynı modülünün varsayılan kriterleri kullanılarak hidrojen bağlanması analizi gerçekleştirilmiştir (Kesme değeri mesafe için 3.0 Å ve açı için 135° dir).



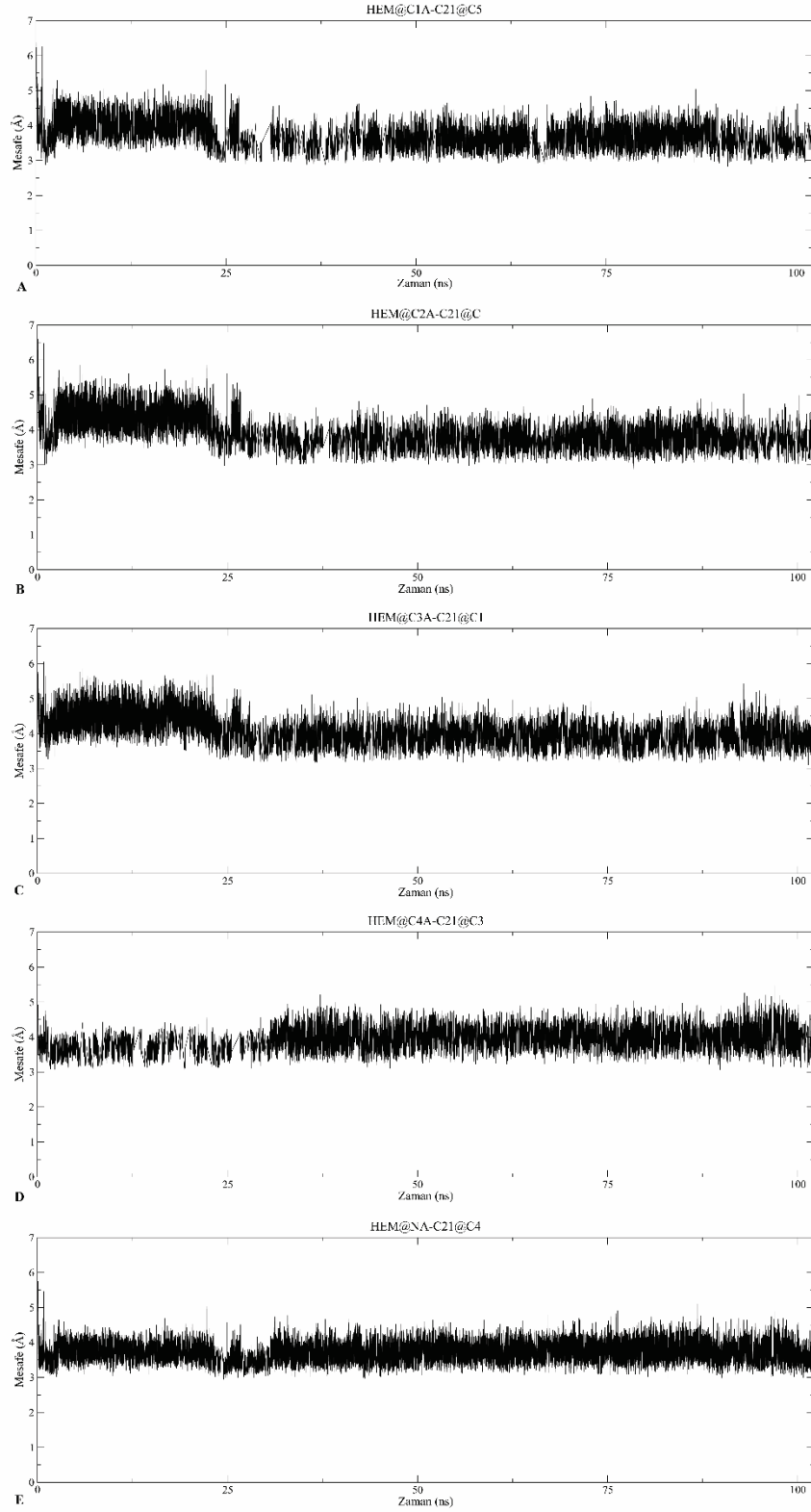
Şekil 35. **C21** bileşiğinin MPO enzimi (PDB ID: 1DNW) içerisindeki MD simülasyonundan elde edilen ortalama bağlanma modu*

***C21** bileşiğı somon renkli çubuklar olarak gösterilmiştir. MPO enziminin **hem** grubu turuncu renkli çubuklar olarak gösterilmiştir. Aktif yöre artıkları üç harfli kodla adlandırılmış ve aktif yöre artıkları 1DNW kodlu MPO enzimi için açık mor renkli çubuklar olarak gösterilmiştir.

Tablo 14. Bileşik **C21** in benzen grubu atomları ile HEM yapısının pirol atomları arasındaki ölçülen ortalama mesafeler*

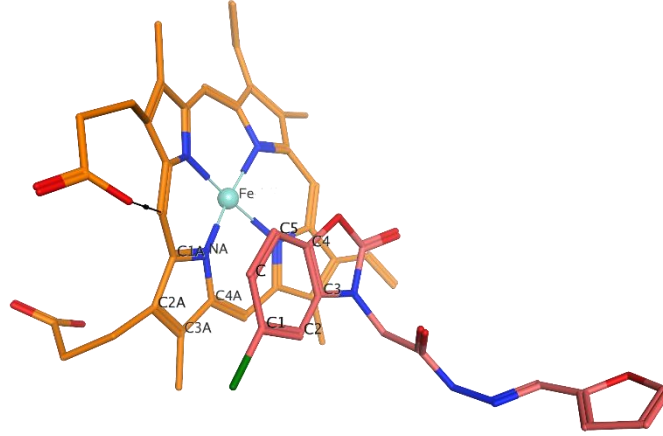
HEM Atomları	Bileşik C21 in benzen grubu atomları					
	C	C1	C2	C3	C4	C5
NA	4.22 Å	4.60 Å	4.56 Å	4.09 Å	3.69 Å	3.77 Å
C1A	3.77 Å	4.32 Å	4.67 Å	4.45 Å	3.93 Å	3.58 Å
C2A	3.78 Å	4.00 Å	4.46 Å	4.63 Å	4.42 Å	4.03 Å
C3A	4.13 Å	3.97 Å	4.07 Å	4.27 Å	4.40 Å	4.35 Å
C4A	4.13 Å	3.97 Å	4.07 Å	4.27 Å	4.40 Å	4.35 Å

*Ambertools 20 programının Cpptraj modülü ile atomlar arası mesafeler ölçülmüştür.



Şekil 36. MPO enziminin (PDB ID: 1DNW) aktif yöresinde bulunan **hem** yapısının pirol halkası atomları ile C21 bileşiğinin benzen halkası atomları arasındaki mesafelerin çiziti.

*(A) HEM@C1A-C21@C5 (B) HEM@C2A-C21@C (C) HEM@C3A-C21@C1 (D) HEM@C4A-C21@C3 (A) HEM@NA-C21@C4.



Şekil 37. **C21** bileşiğinin benzen halkası atomları ile MPO enziminin (PDB ID: 1DNW) **hem** yapısının pirol halkası atomlarının isimleri*

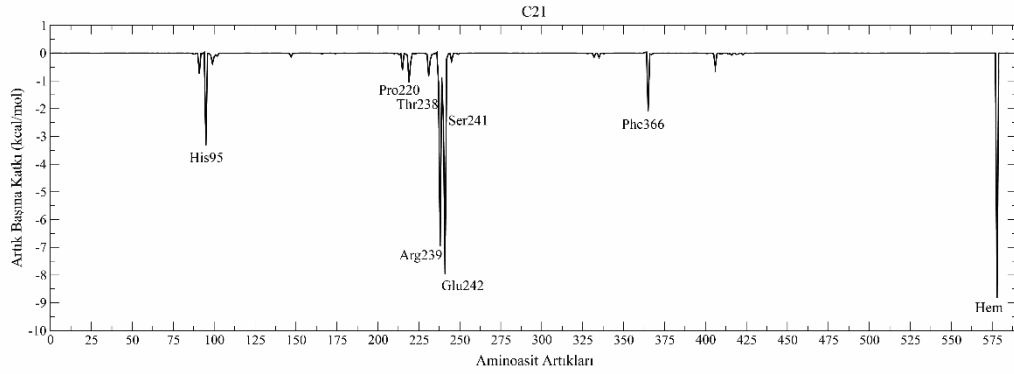
***C21** bileşiği somon renkli çubuklar olarak gösterilmiştir. MPO enziminin **hem** grubu turuncu renkli çubuklar olarak gösterilmiştir.

Tablo 15. İnsan miyeloperoksidaz enzimi (PDB ID:1DNW) içerisindeki bileşik **C21**'in ortalamanın standart hatası ile hesaplanan MM-GBSA serbest bağlanma enerjisi (Delta Toplam Enerji) ve enerji komponentleri

Bileşik	C21
Van der Waals Enerjisi (kcal/mol)	-42.4400 ± 0.1050
Elektrostatik Enerji (<i>vakumda</i>) (kcal/mol)	-33.0122 ± 0.2033
Polar Çözünme Enerjisi (<i>çözeltide</i>) (kcal/mol)	48.5223 ± 0.1271
Polar Olmayan Çözünme Enerjisi (kcal/mol)	-3.9891 ± 0.0058
Delta Gaz Fazı Serbest Enerjisi (kcal/mol)	-75.4522 ± 0.2187
Delta Çözünme Serbest Enerjisi (kcal/mol)	44.5333 ± 0.1263
Delta Toplam Enerji (kcal/mol)	-30.9189 ± 0.2150

Tablo 16. İnsan miyeloperoksidaz enzimi (PDB ID:1DNW) içerisindeki bileşik **C21**'in ortalamanın standart hatası ile hesaplanan enerji ayrıştırma analizi enerjileri

Artıklar	Van der Waals Enerjisi (kcal/mol)	Elektrostatik Enerji (kcal/mol)	Polar Çözünme Enerjisi (kcal/mol)	Polar Olmayan Çözünme Enerjisi (kcal/mol)	Toplam Enerji (kcal/mol)
His95	-0.621 +/- 0.318	-6.972 +/- 3.655	4.726 +/- 2.051	-0.454 +/- 0.088	-3.320 +/- 1.678
Pro220	-0.545 +/- 0.145	0.022 +/- 0.133	-0.058 +/- 0.104	-0.464 +/- 0.126	-1.046 +/- 0.263
Thr238	-0.720 +/- 0.213	0.410 +/- 0.424	-0.396 +/- 0.365	-0.370 +/- 0.100	-1.075 +/- 0.267
Arg239	-3.207 +/- 0.549	-4.706 +/- 1.846	2.986 +/- 0.838	-2.023 +/- 0.195	-6.950 +/- 1.309
Ser241	-1.123 +/- 0.325	-1.071 +/- 0.569	0.494 +/- 0.255	-0.737 +/- 0.125	-2.437 +/- 0.643
Glu242	-1.671 +/- 0.648	-9.881 +/- 2.610	5.026 +/- 0.972	-1.439 +/- 0.170	-7.965 +/- 1.859
Phe366	-1.123 +/- 0.314	-0.083 +/- 0.241	0.070 +/- 0.124	-0.961 +/- 0.155	-2.096 +/- 0.379
Hem	-6.333 +/- 0.905	0.334 +/- 1.754	0.346 +/- 1.808	-3.176 +/- 0.293	-8.830 +/- 1.594



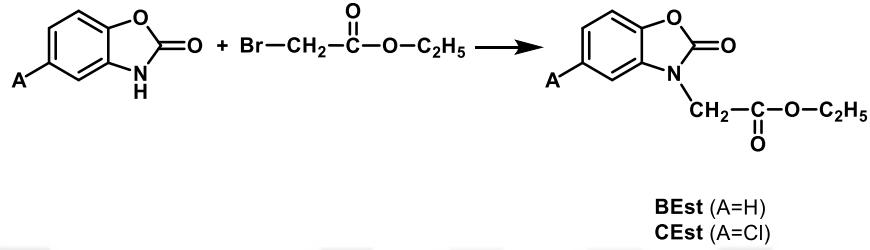
Şekil 38. İnsan miyeloperoksidaz enzimi (PDB ID:1DNW) içerisindeki bileşik **C21**'in bağlanmasına katkı sağlayan aminoasit artıkları ve artık başına enerji katkıları

5. Tartışma

Miyeloperoksidaz, nötrofillerde bulunan ve esas görevini bağışıklık sisteminde gerçekleştiren, hemoprotein yapısında bir enzimdir (M. J. Davies ve ark., 2008). Son yıllarda yapılan çalışmalar, miyeloperoksidaz enziminin kontrolden çıkması durumunda, oluşmasına aracılık ettiği çeşitli reaktif metabolitlerin pek çok hastalığa katkı sağladığını göstermiştir (Davies, 2010; Desikan ve ark., 2017; Klebanoff, 2005; Malle ve ark., 2007). Bu nedenle, MPO enziminin inhibe edilmesi umut vadeden bir terapötik strateji haline gelmiştir.

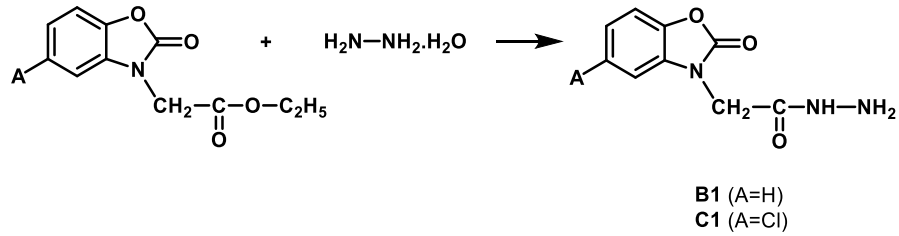
Çalışmamızda mevcut literatür verilerinden yola çıkılarak, MPO inhibitör etki açısından ümit vadeden bir çekirdek yapı olduğu bilinen 2(3*H*)-Benzoksazolon halkası temel olarak alınmış ve bu halkanın üzerindeki azot atomundan, metilen köprüsü aracılığıyla, yine MPO inhibitör aktivite açısından önemli olduğu önceki çalışmalarla belirlenmiş olan hidrazit ve hidroksamik asit işlevsel grupları bağlanmıştır (Davies ve Edwards, 1989; Forbes ve ark., 2013; Kettle ve ark., 1995; Kettle ve ark., 1997; Malvezzi ve ark., 2011; Soyer ve ark., 2005). Tasarlanan bileşiklerde, hidrazit fonksiyonu çeşitli aldehitlerle hidrazonlarına dönüştürülmüş, hidroksamik asit türevlerinde ise metil esterleri hazırlanmıştır. 2(3*H*)-Benzoksazolon halkası üzerinde 5-kloro sübstitüentinin aktiviteye etkisinin değerlendirilmesi amacıyla, 5-kloro-2(3*H*)-Benzoksazolon halkası da çalışmaya dahil edilmiştir. Bu kapsamda 2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol / 5-kloro-2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-asetohidroksamik asit / asetohidrazit ve asetohidrazit hidrazonları türevi olan 45 bileşiğin sentezi gerçekleştirilmiş ve yapıları doğrulanmıştır.

Bileşiklerin sentez çalışmalarında 2(3*H*)-Benzoksazolon / 5-kloro-2(3*H*)-Benzoksazolon halkaları başlangıç bileşikleri olarak kullanılmıştır. Bu halkaların etil bromoasetat bileşiği ile tepkimesi sonucunda karşılık gelen etil esteri türevleri elde edilmiştir (Soyer ve ark., 2005). Elde edilen bu ester bileşikleri (**BEst** ve **CEst**) hem hidrazit hem hidroksamik asit türevi bileşiklerin hazırlanmasında ara ürün olarak kullanılmıştır (Şema 6).



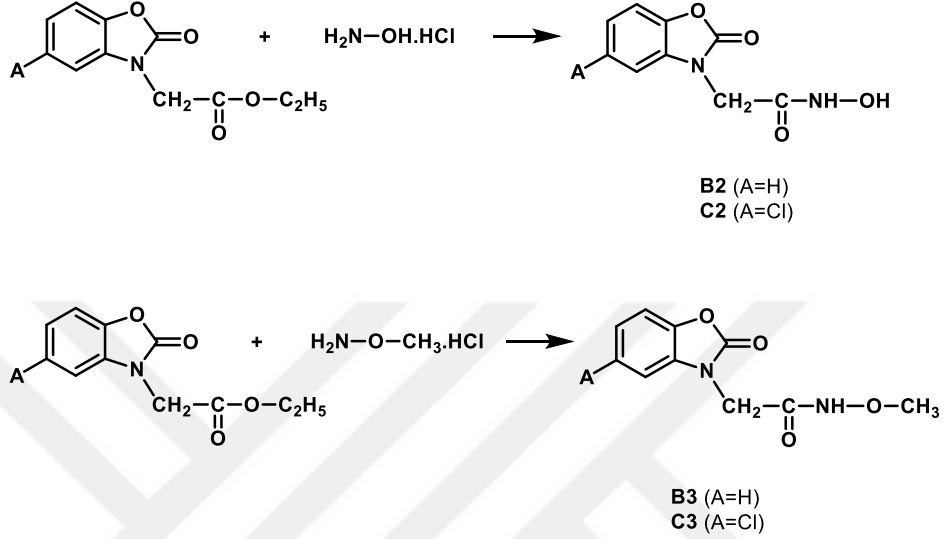
Şema 6. **BEst** ve **CEst** kodlu bileşiklerin sentez şeması

Ara ürü olarak hazırlanan ester bileşiklerinin hidrazin hidrat ile reaksiyonu ile asetohidrazit türevi **B1** ve **C1** bileşikleri hazırlanmıştır (D'amico ve ark., 1988) (Şema 7).



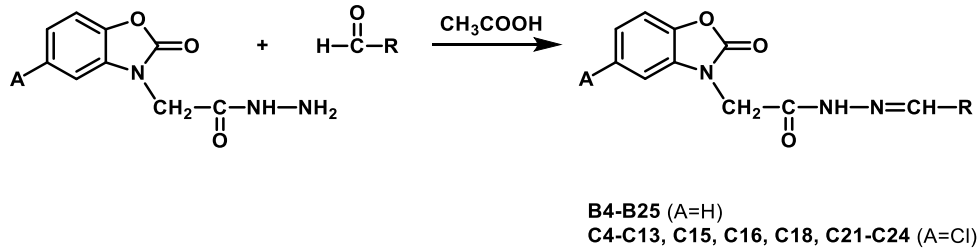
Şema 7. **B1** ve **C1** kodlu bileşiklerinin sentez şeması

2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-asetohidroksamik asit / 5-kloro-2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-asetohidroksamik asit bileşikleri (**B2** ve **C2**) ile karşılık gelen metil esterleri (**B3** ve **C3**), başlangıç maddesi olan ester bileşiklerinin hidroksilamin hidroklorür veya *O*-metilhidroksilamin hidroklorür ile tepkimesinden hazırlanmıştır (Cerniauskaite ve ark., 2011) (Şema 8).



Şema 8. **B2**, **B3** ve **C2**, **C3** kodlu bileşiklerin sentez şeması

Çalışmamızda, 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit (**B1**) ve 5-kloro-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit (**C1**) bileşikleri çeşitli aldehitlerle kondensasyon tepkimesine tabi tutularak hedef hidrazit hidrazonu yapısındaki bileşikler (**B4-B25** ve **C4-C13**, **C15**, **C16**, **C18**, **C21-C24**) elde edilmiştir (Singh ve Kumar, 2015) (Şema 9).



Şema 9. **B4-B25** ve **C4-C13**, **C15**, **C16**, **C18**, **C21-C24** kodlu bileşiklerin sentez şeması

Sentezlenen bileşiklerin MPO inhibitör etkinlikleri, klorinasyon ve peroksidasyon döngüleri için test edilmiş olup klorinasyon döngüsü üzerinde yüksek inhibitör aktivite gösterdiği belirlenen bileşiklerin MPO enzimine bağlanma ilgilerinin değerlendirilmesi amacıyla gayakol oksidasyon deneyi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bileşiklerin HOCl ile doğrudan etkileşme potansiyelini tayin etmek üzere HOCl süpürme aktivitesi deneyi yapılmıştır.

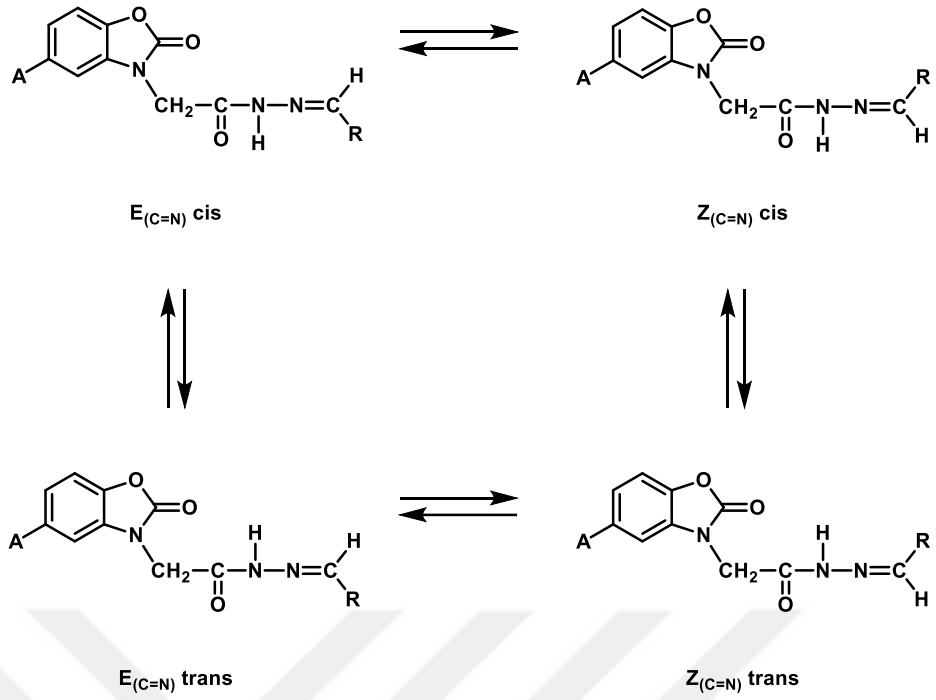
Çalışmamızda sentezini gerçekleştirdiğimiz ve MPO inhibitör aktivitelerini test ettiğimiz bileşiklerden **B1, B4** (Safakish ve ark., 2017; Srikanth ve ark., 2010, Salgin-Gökşen ve ark., 2013, Salgin-Goksen ve ark., 2021), **B5, B7, B8, B10, B13, B15** (Çakır ve ark., 2001, Singh ve Kumar, 2015), **B21** (Verma ve ark., 2015), **C1, C4, C5, C7, C8, C10, C13, C15** (Aydin ve ark., 2013; Gökçe ve ark., 2008; Gökçe ve ark., 2013; Önkol ve ark., 2008; Şahin ve ark.; 2011) kodlu bileşikler literatürde kayıtlıdır ancak MPO inhibitör aktiviteleri değerlendirilmemiştir. **B2** ve **B3** kodlu bileşiklerin Chemical Abstract Service (CAS) numarası (**B2**: 2143001-01-6, **B3**: 1459241-48-5) verilmiş olmasına karşın bu bileşikleri içeren bilimsel bir literatür bulunmamaktadır. Tez çalışmamız kapsamında sentezlenmiş olan **B6, B9, B11, B12, B14, B16-B20, B22-B25, C2, C3, C6, C9, C11, C12, C16, C18** ve **C21-C24** kodlu 26 adet bileşik yeni bileşikler olup sentez, spektral analiz ve biyoaktivite çalışmaları ilk kez bu tez çalışması kapsamında bildirilmektedir.

Bileşiklerin yapılarının doğrulanmasına yönelik gerçekleştirilen analitik ve spektral analiz sonuçları, MPO enzimine yönelik biyolojik aktivite çalışmalarının sonuçları ve moleküler modelleme çalışmalarından elde edilen sonuçlar ayrı başlıklar halinde değerlendirilerek tartışılacaktır.

5.1. Spektral Bulguların Değerlendirilmesi

Çalışmamızda sentezi gerçekleştirilen 2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol / 5-kloro-2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-asetohidroksamik asit / asetohidrazit ve asetohidrazit hidrazonu türevi 45 bileşiğin yapı doğrulamaları, bileşiklerin IR spektrumları, kütle spektrumları, ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları ve elementel analiz sonuçları değerlendirilerek gerçekleştirilmiştir.

Sekonder karboksamitlerdeki $\text{C}(=\text{O})\text{N}$ bağının kısmi çift bağ karakterinden ötürü (mezomerik faaliyet) tek bağ çevresindeki dönünün sınırlanmış olması nedeniyle rotamerler oluşturduğu bilinmektedir. Bu rotamerler amitlerde *cis* ve *trans* rotamerler olarak kabul edilir. Diğer yandan hidrazon işlevsel grubunun taşıdığı çift bağ nedeniyle *E* ve *Z* geometrik izomerleri halinde bulunabileceği de bilinmektedir (Palla, Predieri, Domiano, Vignali ve Turner, 1986; Syakaev ve ark., 2006). Bu kapsamda, açilhidrazon türevlerinin, (a) $\text{C}=\text{N}$ çift bağına bağlı olarak *E* ve *Z* geometrik izomerler şeklinde, (b) taşıdıkları amit bağı nedeniyle de $\text{C}(=\text{O})\text{N}$ bağı ekseninde *cis* ve *trans* konformerler şeklinde bulunduğu ve bulunabileceği, bu izomer/konformer olasılıklarının, kimyasal yapıya, ortama, ışık ve sıcaklığa bağlı olarak dinamik bir süreç içerisinde birbirlerine dönüşebileceği de bilinmektedir (Hamzi, Barhoumi-Slimi ve Abidi, 2016; Palla ve ark., 1986; Syakaev ve ark., 2006; Van Dijken, Kovaříček, Ihrig ve Hecht, 2015). Bu çerçevede açilhidrazonlarda diğer deyişle hidrazit hidrazonlarında *E* ($\text{E}_{\text{C}=\text{N}}$) ve ($\text{Z}_{\text{C}=\text{N}}$) geometrik izomerlerinin amit bağından kaynaklı *cis* ve *trans* konformerleri de dikkate alındığında hidrazit hidrazonu bir bileşiğin en az 4 konfigürasyonal/konformasyonal izomer göstereceği öngörülmektedir (Palla ve ark., 1986; Syakaev ve ark., 2006). Çalışmamızda benzer bir durumun, 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit ve 5-kloro-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit bileşiklerinden elde edilen hidrazonlarda da gözlemlendiği, taşıdıkları açilhidrazon yapısından dolayı hem rotamerik hem geometrik izomerler halinde bulundukları tespit edilmiştir. Bu durum, çalışmamızda sentezi gerçekleştirilen 2(3*H*)-benzoksazolon türevi asetohidrazit hidrazonlarında aşağıdaki şemada gösterilen formüllerle örneklenmektedir (Şema 10).



Şema 10. 2,3-dihidro-2-okso-benzokzsazol-3-asetohidrazit hidrazonu türevlerde rotamerik/geometrik izomerleri

Bu dönüşümün molekülün kimyasal özellikleri çerçevesinde kimyasal yapıya, ortama, ışık ve sıcaklığa bağlı olarak gerçekleşebileceği, *cis-trans* konformer değişiminin hızlı, buna karşın *E/Z* geometrik izomer dönüşümünün yavaş olduğu bilinmektedir (Palla ve ark., 1986). Normal olarak sterik faktörler dikkate alındığında *E* izomerin daha yüksek oranda ya da tamamıyla tercihli olarak oluşması beklenmekte, ancak *Z* izomeri stabilize eden intramoleküler hidrojen bağı gibi moleküler arası güçlerin varlığında konfigürasyonal tercihin ya da izomerler arası oranın değişebileceği de bildirilmektedir (Palla ve ark., 1986; Syakaev ve ark., 2006).

5.1.1. IR Bulgularının Değerlendirilmesi

Bileşiklerin infrared spektrumları ATR (Attenuated Total Reflectance) ünitesi kullanılarak katı fazda alınmıştır.

2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol / 5-kloro-2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-asetohidroksamik asit / asetohidrazit ve asetohidrazit hidrazonu türevi olan 45 bileşiğin IR spektrumlarında teşhis açısından önem taşıyan sinyallerin hidroksamik asit, hidrazit ve hidrazon yapısını doğrulayan absorpsiyonlar olduğu, bu nedenle de moleküllerin yapısında bulunan C=O, N-H ve C=N gerilme titreşimlerinin önem taşıdığı düşünülmektedir.

Yapılan literatür araştırmalarında hidrazit grubuna ait N-H gerilmelerinin, sekonder amit türevlerinde izlendiği üzere serbest halde 3400 cm^{-1} 'de orta şiddette, hidrojen bağı yaptığı durumlarda ise $3300\text{-}3070\text{ cm}^{-1}$ dalga sayıları arasında zayıf sinyaller vermesi beklenmektedir (Hamzi, Barhoumi-Slimi ve Abidi, 2016a; Hesse, Meier ve Zehe, 2014; Nakanishi ve Solomon, 1977). Benzer şekilde hidrazit karbonilinin içinde bulunduğu yapıya da bağlı olarak $1680\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$ civarında, hidrazit yapısının *trans* amit olduğu durumlarda da amit II bandının $1570\text{-}1510\text{ cm}^{-1}$ civarında gözlenmesinin beklendiği görülmektedir (Hamzi ve ark., 2016; Kumar ve ark., 2010; Nasr, Bondock ve Youns, 2014).

Hidroksamik asit ve hidroksamik asit esterlerinde ise karbonil grubunun kimyasal yapıya da bağlı olarak intramoleküler hidrojen bağının da katkısıyla $1660\text{-}1570\text{ cm}^{-1}$ arasında görüldüğü, O-H gerilme bandının $3150\text{-}2750\text{ cm}^{-1}$ arasında geniş bir bant olarak izlendiği, N-H gerilmesinin de sekonder amitlerdeki değere benzediği literatürde rapor edilmiştir (Adiguzel, Yılmaz, Emirik ve Ozil, 2017; Brown ve ark., 1996; Higgins, Magliocco ve Colthup, 2006; Şeşicha ve ark., 2005; Tsatsaroni ve ark., 2013).

2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit (**B1**) ve 5-kloro-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit (**C1**) bileşiklerinin IR spektrumlarının incelenmesi beklendiği üzere N-H gerilmelerinin $3350\text{-}3306\text{ cm}^{-1}$ aralığında, karbonil gerilmelerinin de benzoksazolon halkası için $1770\text{-}1765\text{ cm}^{-1}$, hidrazit karbonili için $1702\text{-}1645\text{ cm}^{-1}$ aralığında olduğunu göstermiştir.

N-hidroksi-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetamit (**B2**) bileşiğinin spektrumunda 1750 cm^{-1} dalga sayısında ve N-hidroksi-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetamit (**C2**) bileşiğinin spektrumunda 1771 cm^{-1} dalga sayısında izlenen şiddetli absorpsiyon bandının benzoksazolon halkasına ait karbonil gerilmesine, yine N-hidroksi-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetamit (**B2**) bileşiğinin spektrumunda 1582 cm^{-1} dalga sayısında ve N-hidroksi-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetamit (**C2**) bileşiğinin spektrumunda 1614 cm^{-1} dalga sayısında izlenen şiddetli absorpsiyon bandının ise hidroksamik asit karboniline ait olduğu düşünülmektedir. **B2** bileşiğinde N-H gerilmesi 3225 cm^{-1} de izlenmesine karşın, **C2** bileşiğinde muhtemelen bant şiddetinin çok düşük olması nedeniyle N-H

gerilmesi tespit edilememiştir. Her iki bileşikte de O-H gerilmeleri, muhtemelen çok yayvan bant halinde olması nedeniyle tespit edilememiş ve rapor edilememiştir.

N-metoksi-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetamit (**B3**) bileşiğinde 3290 cm⁻¹'de izlenen bandın N-H gerilmesine, 1768 cm⁻¹'de çıkan bandın benzoksazolon halkasına ait karbonile ve 1597 cm⁻¹'de çıkan bandın hidroksamik asit karboniline ait olduğu düşünülmüştür. Buna karşın *N*-metoksi-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetamit (**C3**) bileşiğinde N-H gerilme bandı bant şiddetinin çok düşük olması nedeniyle tespit edilememiştir. **C3** bileşiğinde 1772, 1750 cm⁻¹ değerlerinde izlenen ve fermi rezonans etkileşmesinden kaynaklandığı düşünülen dubletin benzoksazolon halkasının karboniline, 1611 cm⁻¹'de izlenen bandın ise hidroksamik asit esteri karboniline ait olduğu düşünülmüştür.

Benzoksazol-2(3*H*)-on / 5-klorobenzoksazol-2(3*H*)-on türevi hidrazit hidrazonlarının (**B4-B25**, **C4-C12**, **C13**, **C15**, **C16**, **C18**, **C21-C24**) IR spektrumlarında 2(3*H*)-benzoksazolon ve hidrazit foksiyonlarından kaynaklanan karbonil grubu gerilme bantları ve hidrazit grubuna ait N-H gerilme bantları öncelikli olarak aranmıştır. Bu kapsamda hidrazit hidrazonu yapısındaki 2(3*H*)-benzoksazolon (**B4-B25**) ve 5-kloro-2(3*H*)-benzoksazolon (**C4-C12**, **C13**, **C15**, **C16**, **C18**, **C21-C24**) türevi bileşiklerde hidrazit grubuna ait N-H gerilme bantları 3337-3100 cm⁻¹ dalga sayıları arasında izlenmiştir. Ayrıca yapısında pirol halkası taşıyan **B20**, indol halkası taşıyan **B24** ve **C24** bileşiklerindeki halka azotuna bağlı hidrojen gerilmeleri de 3337-3311 cm⁻¹ değerleri arasında, literatürde de belirtilen değerlere uygun olarak izlenmiştir (Hesse ve ark., 2014; Kumar ve ark., 2015; Silverstein, Webster, Kiemle ve Bryce, 2014)

Benzoksazol-2(3*H*)-on / 5-klorobenzoksazol-2(3*H*)-on türevi hidrazit hidrazonu yapısındaki türevlerde halka karbonil gerilmeleri 1791-1743 cm⁻¹ dalga sayıları arasında izlenmiştir. Bileşiklerimizin hidrazit karbonil grubu gerilmeleri ise 1702-1671 cm⁻¹ arasında saptanmıştır. Bazı türevlerde (**B6**, **B7**, **B10**, **B17**, **C4**, **C11**, **C21**, **C22**) hidrazit karbonil grubu gerilmelerinin dubletler halinde absorbsiyon yaptığı tespit edilmiştir. Benzer durum **B8**, **B23** ve **C12** kodlu bileşiklerde, amit karbonil grubu gerilmelerinde de saptanmıştır. Bu bant yarılmasının fermi rezonans etkileşmesi yanında geometrik izomerik çiftlerin absorbsiyon bantlarındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir (Podyachev ve ark., 2009). Bazı bileşiklerde (**B8-B10**, **B12-B17**, **B21**, **B23**, **B24**, **C11**, **C13**, **C15**, **C16**), 1592-1515 cm⁻¹

¹ arasında kısmen izole olarak izlenen bant, amit II bandı olarak atanmıştır. Literatürde belirtildiği üzere amit II bandının 1570-1515 cm⁻¹ arasında izlenmesi *trans* amit konformerini destekleyen bir bulgudur (Hesse ve ark., 2014; Silverstein ve ark., 2014). Ancak çalışmamızda bu bandın izlenmediği bileşiklerin katı halde *cis* konformer yapısı taşıdığı değerlendirilmesinin destekleyici başka bulgular olmadan yapılmasının doğru olmadığı, çift bağ gerilme bölgesi içinde kalan 1600-1500 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında farklı gerilmelerin de yer alabileceği, absorpsiyon bantlarının şiddet farkından ötürü birbirini örtebileceği ve bantların üst üste binebileceği gibi sebeplerle IR verilerindeki N-H gerilme bandı ve amit II bandı verileri kullanılarak *cis-trans* konformer değerlendirilmesi yapılmamıştır.

Sentezi daha önce yapılmış olan **B1, B4** (Srikanth ve ark., 2010), **B5, B7, B8, B10, B13, B15** (Çakır ve ark., 2001), **B21** (Verma ve ark., 2015), **C1, C4, C5, C7, C8, C10, C13, C15** (Gökçe ve ark., 2008; Önkol ve ark., 2008) bileşiklerimizin IR bulguları, literatürde rapor edilen değerlerle uygunluk göstermektedir.

5.1.2. NMR Bulgularının Değerlendirilmesi

5.1.2.1. ¹H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi

Sentezini gerçekleştirdiğimiz bileşiklerin yapı doğrulamalarında yararlı verilerin en önemlileri ¹H NMR spektrumlarından elde edilmiştir. Bileşiklerden **B2, B3, C1, C2** ve **C3** dışında kalanların tümünün proton spektrumlarında, konformasyonel ve/veya konfigürasyonel izomeri nedeniyle, değişen oranlarda ve şiddetlerde beklenenden daha fazla sinyal gözlenmiştir. Bu sinyaller, ana bileşiğin sinyal profiline uyan bir düzende ve uygun integrasyon değerlerinde izlenmiştir. Bu izomerik sinyallerin değerlendirilmesinde ve izomerlerin oranlarının tespit edilmesinde tüm bileşiklerimizde bulunan ve göreceli olarak izole bir alanda absorpsiyon yapan ve singlet olarak izlenen metilen protonları ve bu protonların integrasyon değerleri kullanılmıştır (Tablo 17).

Tablo 17. Sentezi yapılan bileşiklerin majör/minör izomer oranları

Maddenin Kodu	İzomer Oranları*		Maddenin Kodu	İzomer Oranları*	
	DMSO- <i>d</i> ₆	CDCl ₃		DMSO- <i>d</i> ₆	CDCl ₃
B1	1/0.19		C1		
B2			C2		
B3			C3		
B4	1/0.22	1/0.08**	C4	1/0.23/0.05/ 0.04/0.03	1/0.62
B5	1/0.23/0.02		C5	1/0.22/0.03/ 0.02	
B6	1/0.26/0.02		C6	1/0.16/0.04/ 0.01	1/0.09
B7	1/0.27/0.03		C7	1/0.12/0.03	
B8	1/0.24/0.03		C8	1/0.24/0.02	1/0.27
B9	1/0.24/0.02		C9	1/0.58/0.22	
B10	1/0.28/0.03		C10	1/0.06/0.01	
B11	1/0.16/0.01		C11	1/0.77/0.74	
B12	1/0.14/0.005		C12	1/0.11/0.02	
B13	1/0.57/0.03		C13	1/0.47/0.06	
B14	1/0.82/0.12				
B15	1/0.27/0.13	1/0.07	C15	1/0.98	
B16	1/0.0.27/0.005		C16	1/0.98/0.04	
B17	1/0.32/0.02				
B18	1/0.33/0.03		C18	1/0.37/0.3	
B19	1/0.24/0.03				
B20	1/0.26/0.06				
B21	1/0.31/0.04		C21	1/0.26/0.17/ 0.17/0.07	1/0.91/0.06
B22	1/0.24/0.01/ 0.01		C22	1/0.99/0.63/ 0.29/0.13	
B23	1/0.23		C23	1/0.98	
B24	1/0.22/0.04		C24		
B25	1/0.35/0.04				

(* Oranlar belirlenirken singlet olarak tespit edilen metilen sinyalleri kullanılmıştır, **DMSO-*d*₆ ve CDCl₃ karışımı kullanılmıştır)

Hidrazit, hidroksamik asit ve hidroksamik asit esterlerinde konformasyonel izomerinin, hidrazit hidrazonlarında ise konformasyonel ve/veya konfigürasyonel izomerinin solvan polaritesinden etkilendiği ve izomer oranlarında farklılıklar yarattığı bilinmektedir (Adiguzel ve ark., 2017; Hamzi ve ark., 2016; Palla ve ark., 1986; Syakaev ve ark., 2006; Tsatsaroni ve ark., 2013). Bileşiklerimizin NMR spektrumları en iyi çözüldükleri çözücü olan DMSO- d_6 'daki çözeltilerinde kaydedilmiştir. Bileşiklerin spektrumları DMSO- d_6 içerisinde alınmış olmakla birlikte gerek izomerik karışım varlığını doğrulamak gerekse solvan değişikliğinin konformasyonel ve/veya konfigürasyonel izomer oranlarına etkisinin incelemek amacıyla, bileşiklerin çözünürlüklerinin izin verdiği ölçüde $CDCl_3$ çözeltilerinin de NMR spektrumları alınmıştır. Bu kapsamda kloroformda yeterli ölçüde çözünebilen **B4, B15, C4, C6, C8, C21** bileşiklerinin NMR spektrumları $CDCl_3$ 'te alınabilmektedir.

Spektrumlarda izomerik sinyallerde en yüksek integrasyon değeri veren izomer dışındaki diğer izomerik sinyaller, minör ifadesinin kısaltması olarak “min” ifadesiyle gösterilmişlerdir. Minör sinyallerde proton ataması yapılmamış ancak sinyal şiddetine (integrasyon değerine) göre ait olduğu minör izomer (*min1*, *min2*, vb. şeklinde) öngörülmüştür.

Spektrumlarda majör izomerler, kimyasal kayma değerleri, literatür bilgileri, sübstituentlerin gölgeleme etkileri, protonların etkileşme şekilleri ve değişmezleri dikkate alınarak ait oldukları düşünülen protonlara atanmıştır. Benzer sinyal biçimlerine sahip, çok yakın kimyasal kayma değeri gösteren sinyallerin temsil ettiği protonlar ‘*’ ile işaretlenmiş ve “değerleri değişebilir” ifadesiyle belirtilmişlerdir.

Hidrazit fonksiyonu taşıyan 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit (**B1**) bileşiğinin ^1H NMR spektrumunda $C(=O)N$ bağının kısmi çift bağ karakterinden dolayı tek bağ çevresindeki dönünün sınırlanmış olması nedeniyle rotamerik cis/trans izomer karışımı izlenmiştir. Majör/minör rotamerik izomer karışım oranı 1/0.19 olarak tespit edilmiştir (Spektrum 3).

Hidrazit hidrazonu yapısına sahip benzoksazol-2(3*H*)-on / 5-klorobenzoksazol-2(3*H*)-on türevlerin spektrumlarında ise konformasyonel ve/veya konfigürasyonel izomeri nedeniyle, değişen oranlarda izomer sinyali saptanmıştır. Bu sinyallerden değerlendirilebilir ve integrasyon değeri saptanabilir olanlar tespit edilerek raporlandırılmıştır.

Hidrazit hidrazonlarında konformasyonel ve/veya konfigürasyonel izomerinin ve buna bağlı olarak izomer oranlarının çözücü polaritesinden ve ortam sıcaklığından etkilendiği bilinmektedir (Hamzi ve ark., 2016; Palla ve ark., 1986). CDCl₃'teki çözünürlüğü son derece az olan *N*'-benziliden-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit yapısındaki **B4** bileşiğimizin DMSO-*d*₆'daki çözeltisine, çökmeye sebep olmayacak kadar birkaç damla CDCl₃ eklenerek proton NMR spektrumu tekrar kaydedilmiştir. **B4** bileşiğinin DMSO-*d*₆ da alınan spektrumunda majör/minör oranı 1/0.22 iken, DMSO-*d*₆+CDCl₃ karışımında kaydedilen spektrumda majör/minör oranı 1/0.08 oranına kadar düşmüştür (Spektrum 16 ve Spektrum 17). **B15** bileşiğinin CDCl₃ spektrumu değerlendirildiğinde, DMSO-*d*₆ spektrumuna kıyasla hem oluşan izomer sayısında bir azalma, hem de minör/majör oranında ciddi bir düşüş gözlemlenmiştir. **B15** bileşiğinin DMSO-*d*₆ spektrumunda 3 farklı izomer tespit edilmiş ve bunların oranları sırasıyla 1/0.27/0.13 olarak belirlenmiştir (Spektrum 72). Bununla birlikte aynı bileşiğin CDCl₃ spektrumunda 2 izomer tespit edilmiş olup bu izomerlerin oranı 1/0.07'dir. (Spektrum 73). **C4** bileşiği için, DMSO-*d*₆ spektrumunda 5 izomer tespit edilmiştir. Bu izomerlerin oranı sırasıyla 1/0.23/0.05/0.04/0.03 olarak saptanmıştır (Spektrum 150). Yine **C4** bileşiğinin CDCl₃ spektrumu incelendiğinde ise 2 farklı izomerin bulunduğu ve bu izomerlerin oranının sırasıyla 1/0.62 olduğu tespit edilmiştir (Spektrum 151). Spektrum 151' de de görüldüğü gibi **C4** bileşiği için CDCl₃'te izomer sayısında bir azalma olmakla birlikte, bu izomerlerin birbirine daha yakın miktarlarda bulunduğu söylenebilir. **C6** bileşiğinin DMSO-*d*₆ spektrumunda 4 tane olan ve 1/0.16/0.04/0.01 oranlarında gözlemlenen izomerler (Spektrum 162), CDCl₃ spektrumunda 2 tane olarak 1/0.09 oranında izlenmişlerdir (Spektrum 163). **C8** bileşiğinin DMSO-*d*₆ spektrumunda 1/0.24/0.02 oranında izlenen 3 tane izomer sinyali (Spektrum 174), CDCl₃ spektrumunda 1/0.27 oranıyla iki tane olarak değişmiştir (Spektrum 175). Son olarak **C21** kodlu bileşiğimizin DMSO-*d*₆ spektrumunda 5 izomer 1/0.26/0.17/0.17/0.07 oranlarında izlenmiştir (Spektrum 221) Aynı bileşiğin CDCl₃ spektrumunda ise 3 izomerin oluştuğu ve bunların oranının 1/0.91/0.06 olarak

değiştiği belirlenmiştir (Spektrum 222). Özetlenen bulgular, daha önce de belirtilmiş olduğu gibi, hidrazit hidrazonlarında konformasyonel ve/veya konfigürasyonel izomerinin solvan polaritesinden etkilendiği ve izomer sayılarında ve oranlarında farklılıklar yarattığını doğrulanmıştır.

Solvan polaritesi haricinde ortam sıcaklığının da hidrazit hidrazonlarındaki konformasyonel/konfigürasyonel izomeri üzerindeki etkisi bilinmektedir. Ancak, hidrazit hidrazonlarında, izomerlerin tek bir izomere dönüştüğü koalesens sıcaklık için 50°C'den daha yüksek sıcaklıklar gerektiği de tespit edilmiştir (Hamzi ve ark., 2016). Bu kapsamda, çalıştığımız NMR merkezinin NMR cihazında 50°C'nin üzerinde ısıtma işlemi gerçekleştirilemediği için **B16**, **B18** ve **B23** bileşiklerinin DMSO-*d*₆ içinde 50°C'de ısıtılarak proton NMR spektrumları kaydedilmiştir. **B16** bileşiğinin oda sıcaklığında alınan ¹H NMR spektrumunda δ 11.45 ve 11.47 ppm'de izlenen N-H protonuna ait izomerik sinyallerin 50°C'de koalesens sıcaklığa ulaşarak birleştiği görülmektedir (Spektrum 81 ve Spektrum 82). **B18** bileşiğinde ısıtma işlemi spektrumlar arasında belirgin bir farklılığa yol açmamıştır (Spektrum 91 ve Spektrum 92). **B23** bileşiğinin oda sıcaklığında alınan ¹H NMR spektrumunda δ 8.66 ppm'de izlenen izomerik protonların oluşturduğu çok bacaklı dublet sinyalin 50°C'ye ısıtılmış olan spektrumda tam bir dublete dönüştüğü görülmektedir (Spektrum 118 ve Spektrum 119). Ayrıca **B23** bileşiğinde, piridin halkasının 2 ve 6 konumlarındaki izomerik protonlara ait sinyallerin 50°C'de koalesens sıcaklığa ulaştığı anlaşılmaktadır.

Bu bölümde bileşiklerimizin proton NMR bulguları rapor edilen majör sinyaller üzerinden tartışılacaktır.

Sentezini gerçekleştirdiğimiz 2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-asetohidroksamik asit / asetohidrazit ve asetohidrazit hidrazonu genel yapısını taşıyan bileşiklerimizin tamamında (**B1-B25**) α-karbondaki metilen protonları δ 4.01-5.09 ppm aralığında iki protonluk singlet sinyal vermiştir.

Benzoksazol-2(3*H*)-on türevlerinin tamamında ortak olan benzoksazol halkasına ait olan aromatik protonlar değerlendirildiğinde, H-4 ve H-7 no.lu protonların bir *orto* bir *meta* etkileşme nedeniyle dublet-dublet sinyal; H-5 ve H-6 no.lu protonların ise iki *orto* bir *meta* bölünme nedeniyle dublet-dublet-dublet sinyaller olarak izlenmesi beklenmektedir (Silverstein ve ark., 2014). Dolayısıyla, **B1** kodlu bileşiğin

spektrumunda δ 6.84 ve 7.17 ppm kimyasal kayma değerlerinde izlenen triplet-dublet bölünme tipindeki sinyallerin H-5 ve H-6 no.lu protonlara, δ 6.93 ve 7.27 ppm kimyasal kayma değerlerinde gözlenen bir *orto* bir *meta* bölünmeden kaynaklanan dublet-dublet sinyallerin ise H-4 ve H-7 no.lu protonlara ait olduğu düşünülmüştür. Çok yakın kimyasal kayma değerleri nedeniyle bu protonlara atanan değerler, kendi aralarında değişebilir değerler olarak belirtilmiştir. **B2** kodlu bileşik için H-5 ve H-6 protonları sırasıyla δ 6.94 ppm ve δ 6.39 ppm kimyasal kayma değerlerinde triplet-dublet sinyaller olarak gözlenmişlerdir ve bu kimyasal kaymaların birbirine yakın değerler olmaları nedeniyle değişebilir değerler olarak raporlanmışlardır. H-4 ve H-7 no.lu protonlara ait sinyaller ise sırasıyla δ 6.99 ppm ve δ 6.76 ppm’de dublet-dublet sinyaller olarak izlenmişlerdir ve bu protonlar da yakın kimyasal kayma değerleri nedeniyle değişebilir değerler olarak belirtilmişlerdir. **B3** kodlu bileşiğin spektrumunda benzoksazol halkasına ait aromatik protonlar izole olarak belirlenememiş ve δ 6.76 ppm’de bir protonluk bir dublet-dublet ve δ 6.94-7.06 ppm arasında üç protonluk bir multiplet sinyal olarak absorpsiyon yapmışlardır.

Hidrazit hidrazonu yapısındaki benzoksazol-2(3H)-on türevi bileşiklerde (**B4-B25**), benzoksazol-2(3H)-on halkasına ek olarak farklı bir aromatik/heteroaromatik halkanın varlığı nedeniyle aromatik alanda benzoksazol halkasına ait aromatik protonların izole olarak gözlenmesi zorlaşmıştır. Hidrazit hidrazonu yapısında *para*-disüstitüe benzen halkası taşıyan **B7**, **B10**, **B15** ve **B16** kodlu bileşiklerde, benzen halkası üzerindeki H-2’ ve H-6’ no.lu kimyasal eşdeğer protonlar ile H-3’ ve H-5’ no.lu kimyasal eşdeğer protonların, bu sistemler için karakteristik olan iki protonluk dublet sinyaller şeklinde gözlenmesinden dolayı, benzoksazol halkasına ait olan aromatik protonların seçilmesi ve belirlenmesi kolaylaşmıştır (Hesse ve ark., 2014). **B19** kodlu bileşik de *para*-disüstitüe sistem taşımaya rağmen gerek benzoksazolon halkasının gerekse fenil halkasının aromatik protonları belirgin olarak seçilememiş ve multiplet sinyaller içerisinde belirtilmiştir. Bu spektrumlardan elde edilen bilgilere ve bileşiklerimizin yapılarında bulunan ikinci aromatik/heteroaromatik halkasının cinsi, süstitüsyon biçimi, taşıdığı süstitüentün elektronik/sterik özelliklerine de dayanarak, bu serideki diğer bileşiklerin spektrumlarında benzoksazol-2(3H)-on halkasının aromatik protonlarına atama yapılmıştır.

Benzoksazol halkasının 4 konumundaki proton (H-4) **B7, B8, B10, B11, B16 ve B22** kodlu bileşiklerde δ 7.35-7.39 ppm kimyasal kaymaları arasında bir protonluk bir *orto* bir *meta* etkileşimli dublet-dublet sinyaller olarak izlenmiştir. Tüm bu bölünmeler için etkileşme değişmezi değerleri *orto* etkileşme için $J=7.7-7.8$ Hz aralığında, *meta* etkileşme için $J=0.8-1.4$ Hz aralığında hesaplanmıştır. Aynı proton, **B13, B15, B19, B20, B23 ve B25** kodlu bileşiklerde ise bir protonluk *orto* etkileşmeli dublet sinyal olarak absorpsiyon yapmıştır. H-4 protonu, **B5, B6, B9, B12, B14, B17, B18, B21 ve B24** kodlu bileşiklerde diğer sinyallerden net olarak ayrıştırılamamış ve multipler sinyaller içerisinde rapor edilmiştir. Benzoksazol halkasının 7 konumundaki proton (H-7) **B10, B11, B16, B21, B22 ve B25** kodlu bileşiklerde δ 7.30-7.31 ppm değerleri arasında bir protonluk bir *orto* bir *meta* etkileşimli dublet-dublet sinyaller olarak izlenmiştir. Bu sinyallerde bölünmeler *orto* etkileşme için $J=7.4-7.8$ Hz aralığında, *meta* etkileşme için $J=0.7-1.4$ Hz etkileşme değerine sahiptir. H-7 protonu, **B4, B7, B8, B12, B15, B19, B20 ve B23** kodlu bileşiklerde ise bir protonluk *orto* etkileşime sahip dublet sinyal olarak belirlenmiştir. **B5, B6, B9, B13, B14, B17, B18 ve B24** kodlu bileşiklerde H-7 protonu diğer sinyallerle birleşerek multipler sinyaller içerisinde tespit edilmiştir. H-4 ve H-7 protonları, kimyasal kaymaları birbirine yakın olduğundan kendi aralarında değişebilir değerler olarak belirtilmişlerdir.

Beklendiği üzere H-5 ve H-6 protonları, **B4, B6, B9, B10 ve B18** bileşiklerinde birer protonluk bir *orto* bir *meta* etkileşmeli triplet-dublet sinyaller olarak izlenmiştir. H-5 protonu δ 7.20-7.21 ppm değerleri arasında, H-6 protonu ise söz edilen tüm bu bileşiklerde δ 7.14 ppm'de bulunmaktadır ve bu kimyasal kaymaların birbirine çok yakın olmasından dolayı kendi aralarında değişebilir olarak belirtilmişlerdir. **B7** bileşiğinde H-5 ve H-6 protonları birer protonluk *orto* etkileşmeli triplet sinyaller olarak absorpsiyon yapmışlardır, **B6** bileşiğinde ise bu protonlardan sadece H-5 triplet sinyal olarak izlenirken diğeri multipler sinyal içerisinde raporlanmış, izole olarak ayrıştırılamamıştır. H-5 ve H-6 protonları, **B5, B8, B11, B12-B18 ve B20-B25** kodlu bileşiklerde çoklu sinyaller içinde bazı spektrumlarda birleşerek bazı spektrumlarda ise distorsiyona uğrayarak multipler sinyaller şeklinde görülmüştür.

2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol asetohidrazit hidrazonu türevi bileşiklerimizde benzoksazol halkası dışında, **B4-B19** kodlu bileşiklerde fenil halkası, **B20-B25** kodlu bileşiklerde ise heteroaromatik halkalar (2-pirol, 2-furan, 3-piridin, 4-piridin, 3-indol,

2-tiyofen) yer almaktadır. Fenil halkası taşıyan türevlerde (**B4-B19**), bu halkanın üzerindeki protonlar, halkanın taşıdığı süstitüsyonun cinsine, süstitüentin gölgeleme etkisine ve çoklu sinyallerin şekline göre atanmıştır. Teorik olarak, fenil halkası üzerinde *orto*-süstitüsyon bulunması durumunda halkadaki H-3' ve H-6' protonlarının birer protonluk dublet-dublet, H-4' ve H-5' protonlarının birer protonluk dublet-dublet-dublet sinyaller şeklinde absorbsiyon yapmaları beklenebilir. Fenil halkası üzerinde *meta*-süstitüsyon taşıyan türevlerde ise H-2' protonunun iki *meta* etkileşmeden kaynaklanan bir protonluk dublet-dublet, H-4' ve H-6' protonlarının 1 *orto* 2 *meta* etkileşmeden kaynaklanan birer protonluk dublet-dublet-dublet ve H-5' protonunun 2 *orto* etkileşmeden kaynaklanan bir protonluk dublet-dublet sinyal olarak izleneceği öngörülebilir. *Para*-disüstitüe fenil türevlerinde H-2' ve H-6' protonları ile H-3' ve H-5' protonları kimyasal olarak eşdeğer olduğundan, *para*-disüstitüe AA'BB' sistemleri için karakteristik olan 2 protonluk bir *orto*-bir *meta* etkileşmeden kaynaklanan dublet-dublet sinyaller olarak izlenmeleri beklenmektedir (Hesse ve ark., 2014; Silverstein ve ark., 2014).

Fenil halkası üzerinde *orto*-süstitüsyon taşıyan türevlerde (**B5, B8 ve B13**) ve *meta*-süstitüsyon taşıyan türevlerde (**B6 ve B9**), fenil halkası üzerindeki aromatik protonların sinyalleri gerek süstitüentlerin elektronik etkileri gerekse izomer sinyallerin varlığı nedeniyle net olarak ayrıştırılamamış ve bu durum sinyallerin teorik olarak beklenen şekilde izlenememesine yol açmıştır.

Karakteristik spektrum yapıları nedeniyle değerlendirmesi daha kolay olan *para*-süstitüe türevlerin tamamında (**B7, B10, B15, B16 ve B19**) süstitüentlerin elektronik katkıları dikkate alınarak, H-2' ve H-6' no.lu eşdeğer protonlar, H-3' ve H-5' no.lu eşdeğer protonlara göre daha aşağı alanda raporlanmıştır (Hesse ve ark., 2014). Bu bileşiklerden sadece **B19** kodlu bileşiğin spektrumunda fenil halkasının protonları net olarak ayrıştırılamamış ve benzoksazol halkasının protonlarıyla birlikte multipler sinyal içerisinde izlenmiştir. **B7, B10, B15 ve B16** kodlu bileşikler için H-2' ve H-6' no.lu protonlar δ 7.64-7.69 ppm kimyasal kaymaları arasında, H-3' ve H-5' no.lu protonlar ise δ 7.01-7.27 ppm değerleri arasında ikişer protonluk dublet sinyaller olarak absorbsiyon yapmışlardır.

Spektrumlarda, **B5-B7** bileşiklerimizde fenil halkası üzerinde bulunan metil sübstitüenti δ 2.34-2.47 ppm kimyasal kaymaları arasında üç protonluk singlet sinyal, **B8-B10** kodlu metoksi sübstitüenti taşıyan bileşiklerimizde ise metoksi protonları δ 3.81-3.86 ppm kimyasal kaymalar arasında üç protonluk singlet sinyal olarak izlenmiştir.

2,6-dimetil türevi **B11** kodlu bileşiğin metil protonları kimyasal olarak eşdeğer olduğundan δ 2.47 ppm kimyasal kaymada 6 protonluk singlet sinyal olarak, yine aynı sebepten 2,6-dimetoksi türevindeki metoksi protonları δ 3.78 ppm değerinde 6 protonluk singlet sinyal olarak saptanmıştır.

B15 kodlu bileşiğimizdeki dimetilamino sübstitüentinin metil protonlarının sinyali δ 2.97 ppm'de 6 protonluk singlet sinyal olarak absorpsiyon yapmıştır. Dietilamino sübstitüenti taşıyan **B16** kodlu bileşikte metil protonları δ 1.08-1.12 ppm'de 6 protonluk bir multipletin içinde, metilen protonları ise δ 3.36-3.41 ppm'de 4 protonluk bir multipletin içinde izlenmiştir.

Yapısında 2-pirolil halkası taşıyan **B20** bileşiğinde, pirol halkası üzerindeki aromatik protonların pozisyonlarına bağlı olarak farklı etkileşme değişmezleriyle bölünmüş olan dublet-dublet sinyaller olarak izlenmesi beklenmektedir (Hesse ve ark., 2014; Silverstein ve ark., 2014). Bununla birlikte **B20** kodlu bileşikle, izomer moleküllerin sinyallerinin de etkisiyle pirol halkası üzerindeki aromatik protonların sinyalleri birleşerek δ 6.12-6.96 ppm'de multiplet sinyal olarak tespit edilmiştir. Halkanın N-H protonu ise 11.49 ppm'de singlet sinyal olarak izlenmiştir.

Yapısında 2-furil halkası taşıyan **B21** kodlu bileşikteki tüm aromatik protonların pozisyonlarına göre farklı etkileşme değişmezlerine sahip dublet-dublet sinyaller şeklinde izlenmesi beklenmektedir (Hesse ve ark., 2014; Silverstein ve ark., 2014). Bileşikte H-3' protonu δ 6.95 ppm'de bir protonluk dublet, H-4' protonu δ 6.64 ppm'de bir protonluk dublet-dublet ve H-5' protonu δ 7.85 ppm'de bir protonluk dublet-dublet sinyaller olarak absorpsiyon yapmıştır.

B22 ve **B23** kodlu bileşikler, yapılarında sırasıyla 3-piridil ve 4-piridil halkaları taşımaktadır. Piridin halkasının H-2' ve H-6' protonları ile H-3' ve H-5' protonlarının kimyasal olarak eşdeğer olduğu, H-2' ve H-6' protonlarının en aşağı alanda, H-3' ve H-5' protonların en yukarı alanda ve pozisyonlarına göre farklı

etkileşme değişmezlerine sahip dublet-dublet sinyaller olarak izlendiği bilinmektedir (Hesse ve ark., 2014; Silverstein ve ark., 2014). **B22** bileşiğinde H-2' protonu δ 8.91 ppm kimyasal kaymada bir protonluk dublet, H-4' protonu δ 8.61 ppm kimyasal kaymada bir protonluk dublet-dublet, H-6' protonu δ 8.18 ppm kimyasal kaymada bir protonluk dublet-triplet sinyal verirken H-5' protonu δ 7.45-7.49 ppm kimyasal kaymaları arasındaki bir multiplet sinyalin içinde izlenmiştir. **B23** kodlu bileşikte ise kendi aralarında kimyasal eşdeğer olan H-2' ve H-6' protonları ile H-3' ve H-5' protonları sırasıyla δ 8.66 ppm ve δ 7.71 ppm kimyasal kayma değerlerinde ikişer protonluk dublet sinyaller olarak absorbsiyon yapmışlardır.

B24 kodlu bileşiğin yapısında 3-indolil halkası bulunmaktadır. Literatürde indol halkasının fenil protonlarının yukarı alandan aşağı alana doğru H-2', H-5', H-6', H-7' ve H-4' sırası içerisinde absorbsiyon yaptığı bildirilmektedir (Kumar T ve ark., 2015; Nugumanova ve ark., 2009). Bu çerçevede indol halkasına ait aromatik protonlardan H-2' ve H-5', δ 7.08-7.29 ppm kimyasal kaymaları arasındaki bir multiplet sinyalin içinde, H-6' protonu δ 7.42 ppm kimyasal kaymada bir protonluk dublet sinyal olarak, H-7' protonu δ 7.82-7.84 ppm kimyasal kaymaları arasındaki bir multiplet sinyalin içinde ve H-4' protonu δ 8.21 ppm kimyasal kaymada bir protonluk dublet sinyal olarak tespit edilmiştir. İndol halkasının N-H protonunun solvanla oluşturabileceği olası hidrojen bağı nedeniyle aşağı alana kayabileceği ve 11.59 ppm kimyasal kaymada singlet sinyal olarak izlenen sinyalin bu protona ait olduğu düşünülmüştür.

2-tiyenil halkası taşıyan **B25** kodlu bileşikte bu halka üzerinde bulunan tüm aromatik protonların pozisyonlarına göre farklı etkileşme değişmezlerine sahip dublet-dublet sinyaller şeklinde izleneceği öngörülmektedir (Hesse ve ark., 2014; Silverstein ve ark., 2014). Bu kapsamda, H-3' protonu δ 7.66 ppm kimyasal kaymada, H-5' protonu ise δ 7.46 ppm kimyasal kaymada bir protonluk dublet sinyaller olarak izlenirken, H-4' protonu net olarak ayırtılamamış ve δ 7.06-7.25 ppm kimyasal kaymalar arasındaki bir multiplet sinyalin içinde raporlanmıştır.

Benzilik protonlar, yapısında etiliden grubu taşıyan **B17** ve alliliden grubu taşıyan **B18** bileşiği dışındaki tüm bileşiklerde δ 7.89-8.44 ppm kimyasal kaymaları arasında olacak şekilde bir protonluk singlet sinyaller olarak izlenmişlerdir.

B17 kodlu bileşiğin etiliden grubunun metilen protonu δ 3.58 ppm kimyasal kaymada iki protonluk dublet sinyal olarak, metin protonu ise δ 7.43 ppm kimyasal kaymada bir protonluk triplet sinyal olarak absorpsiyon yapmıştır.

B18 kodlu bileşiğin alliliden grubunun iki adet dublet sinyal vermesi beklenen etilenik protonları δ 6.96-7.41 ppm kimyasal kaymaları arasında gözlenen multipler sinyalin içerisinde tespit edilmiştir. Alliliden grubunun allilik protonu ise δ 7.88 ppm kimyasal kaymada bir protonluk dublet sinyal olarak izlenmiştir.

Hidrazit grubunun N^1 protonu tüm bileşiklerde δ 9.81-12.10 ppm kimyasal kayma değerleri arasında bir protonluk singlet veya broad-singlet sinyaller şeklinde izlenmiştir. **B1** bileşiğinde hidrazit fonksiyonunun amino grubuna ait protonlar, δ 4.24 ppm'de iki protonluk bir singlet olarak izlenmiştir. Hidroksamik asit türevi **B2** ve **B3** bileşiklerinin spektrumlarında O-H ve N-H protonlarına ait sinyaller, bu protonların değişebilir protonlar olması nedeniyle saptanamamıştır.

5-klorobenzoksazol-2(3H)-on türevlerinde (**C1-C13**, **C15**, **C16**, **C18**, **C21-C24**) ortak olan metilen grubuna ait sinyaller, daha önce de sözü edildiği üzere spektrumda görece olarak izole bir alanda tespit edilmiştir. Metilen grubu üzerindeki protonlara ait olan sinyallerin iki protonluk integrasyona karşılık gelen singlet sinyaller olarak absorpsiyon yapması beklenmektedir. Bu beklentiyle uyumlu olarak **C5** kodlu bileşik dışındaki tüm bileşiklerin spektrumlarında δ 3.99-5.11 ppm kimyasal kayma değerleri aralığında iki protona karşılık gelen singlet sinyaller gözlenmiştir. **C5** bileşiğinde ise metilen grubuna ait protonlar δ 5.08 ppm kimyasal kaymada iki protonluk ve 2.2 Hz'lik bölünme değerine sahip dublet benzeri bir sinyal olarak izlenmiştir. Bu dublet benzeri sinyalin bileşiğimizin izomerik metilen sinyallerinin yaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

5-klorobenzoksazol-2(3H)-on halkasının H-4, H-6 ve H-7 no.lu protonları değerlendirildiğinde, H-4 no.lu protonun *meta* etkileşmeden kaynaklanan bir dublet sinyal, H-6 no.lu protonun *orto* ve *meta* etkileşmelerden kaynaklanan bir dublet-dublet sinyal ve H-7 no.lu protonun *orto* etkileşmeden kaynaklanan bir dublet sinyal olarak gözlenmesi beklenmektedir (Hesse ve ark., 2014; Silverstein ve ark., 2014). **C1-C3**, **C6-C8** ve **C16** kodlu bileşiklerin spektrumlarında bu beklentiyle uyumlu olarak H-4 no.lu protonlar; δ 7.15-7.57 ppm kimyasal kayma değerleri aralığında, etkileşme

değişmezleri $J=2.0-2.7$ Hz aralığında hesaplanan dublet sinyaller olarak izlenmiştir. Söz konusu bileşiklerde H-6 no.lu protonlar; δ 7.10-7.26 ppm kimyasal kayma değerleri aralığında, etkileşme değişmezleri $J=8.5-8.8$ Hz ve $J= 2.2-2.7$ Hz değerlerinde hesaplanan dublet-dublet sinyaller olarak gözlenmiştir. İlgili bileşiklerin H-7 no.lu protonları ise; δ 6.92-7.42 ppm kimyasal kayma değerleri aralığında, etkileşme değişmezleri $J=8.4-8.8$ Hz değerlerinde hesaplanan dublet sinyaller olarak izlenmiştir. Bu bileşikler dışında kalan bileşiklerde H-4, H-6 ve/veya H-7 no.lu protonlar multipler sinyaller içerisinde yer almışlardır.

Benzoksazol-2(3H)-on türevi bileşiklere benzer şekilde 5-klorobenzoksazol-2(3H)-on türevlerinde de **C4-C13**, **C15**, **C16**, **C18**, **C19** kodlu bileşikler fenil halkası, **C21-C24** kodlu bileşikler ise çeşitli heterosiklik halkalar taşımaktadır. Bu türevlerden *para*-disüstitüe fenil halkası taşıyan bileşikler (**C7**, **C10**, **C15**, **C16**), AA'BB' spin sisteminin karakteristik sinyal şekilleri nedeniyle öncelikli olarak değerlendirilmiştir (Hesse ve ark., 2014; Silverstein ve ark., 2014). **C7** ve **C16** kodlu bileşiklerde kimyasal eşdeğer olan H-2' ve H-6' protonları ile H-3' ve H-5' protonları iki protonluk dublet sinyaller olarak izlenmiştir. **C10** ve **C15** kodlu bileşiklerde ise bu protonlardan bazılarında *orto* bölünmenin yanı sıra *meta* bölünmenin de izlenmesi nedeniyle dublet-dublet sinyaller tespit edilmiştir. *Para*-disüstitüe fenil halkası taşıyan tüm bu bileşiklerde, halka üzerindeki süstitüentlerin elektronik katkıları dikkate alındığında H-2' ve H-6' no.lu protonların sinyalleri, H-3' ve H-5' no.lu protonlara göre daha aşağı alanda raporlanmıştır (Hesse ve ark., 2014). 5-kloro-2(3H)-benzoksazolon türevlerinde fenil halkası üzerinde *orto* süstitüent bulunması durumunda spektrumda H-3' ve H-6' protonlarının bir *orto* bir *meta* etkileşmeden kaynaklanan dublet-dublet, H-4' ve H-5' protonlarının iki *orto* bir *meta* etkileşmeden kaynaklanan dublet-dublet-dublet sinyaller olarak görülmesi beklenmektedir (Hesse ve ark., 2014; Silverstein ve ark., 2014). Fenil halkası üzerinde *meta* süstitüent taşıyan türevlerde ise H-2' protonunun bir *meta* etkileşmeden kaynaklanan dublet, H-4' ve H-6' protonlarının bir *orto* ve iki *meta* etkileşmeden kaynaklanan dublet-dublet ve H-5' protonunun iki *orto* etkileşmeden kaynaklanan dublet-dublet sinyal olarak tespit edilmesi beklenmektedir (Silverstein ve ark., 2014). Ancak bu türevlerin de pek çoğunda spektrumda majör/minör sinyallerin yarattığı kalabalık görünüm nedeniyle beklenen şekilde tespit edilememiştir.

C15 kodlu bileşimimizdeki dimetilamino sübstitüentinin metil protonlarının sinyali δ 2.99 ppm'de singlet sinyal olarak absorpsiyon yapmıştır. Dietilamino sübstitüenti taşıyan **C16** kodlu bileşikte metil protonları δ 1.12 ppm'de bir triplet, metilen protonları ise δ 3.40 ppm'de bir kuartet sinyal olarak izlenmiştir. **C15** ve **C16** kodlu bileşiklerimizin ^1H NMR spektrumlarında moleküllerin benzoksazon ve fenil halkalarında bulunan alifatik ve aromatik protonların sinyalleri arasında bir integrasyon uyumsuzluğu gözlenmiştir. Nedeni anlaşılamamış bu fenomenin izomer sinyallerin varlığıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Fenil halkası üzerinde metil sübstitüsyonu taşıyan türevlerden **C6** ve **C7** kodlu bileşiklerin metil protonları beklendiği üzere δ 2.38 ppm'de üç protonluk singlet sinyal olarak tespit edilmiştir. **C5** kodlu bileşiğin metil protonları δ 2.45 ppm'de üç protonluk bir dublet benzeri sinyal olarak izlenmiştir. Bu dublet benzeri sinyalin bileşiğin metilen protonlarında olduğu gibi izomerik metil sinyallerinin yaklaşmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Fenil halkasında metoksi sübstitüenti taşıyan türevlerde ise bu sübstitüent δ 3.78-3.86 ppm arasında üç protonluk singlet sinyaller olarak absorpsiyon yapmıştır. **C11** kodlu 2,6-dimetil türevinde, yapıdaki metil protonları kimyasal eşdeğer olmaları nedeniyle δ 2.41 ppm kimyasal kaymada 6 protonluk tek bir singlet ve **C12** kodlu 2,6-dimetoksi türevinde, yapıdaki metoksi protonları kimyasal eşdeğer olmaları nedeniyle δ 3.80 ppm kimyasal kaymada 6 protonluk tek bir singlet sinyal olarak gözlenmiştir.

C21 kodlu bileşik yapısında 2-furil halkası taşımaktadır ve bu halkadaki tüm aromatik protonların pozisyonlarına göre farklı etkileşme değişmezlerine sahip dublet-dublet sinyaller şeklinde izlenmesi beklenmektedir (Hesse ve ark., 2014; Silverstein ve ark., 2014). H-4' protonu δ 6.62 ppm'de bir protonluk dublet-dublet sinyal olarak saptanırken, H-3' protonu δ 6.89-6.95 ppm ve H-5' protonu δ 7.81-7.85 ppm'de multipletlerin içinde izlenmişlerdir.

3-piridil halkası taşıyan **C22** bileşiğinde beklendiği üzere, H-2' protonu δ 8.90 ppm'de bir protonluk dublet, H-6' protonu δ 8.60 ppm kimyasal kaymada bir protonluk dublet-dublet, H-4' protonu δ 8.16 ppm kimyasal kaymada bir protonluk dublet-triplet ve H-5' protonu δ 7.41 ppm kimyasal kaymada bir protonluk dublet-dublet sinyaller olarak izlenmiştir. 4-piridil halkası taşıyan **C23** kodlu bileşikte ise kendi aralarında eşdeğer olan H-2' ve H-6' protonları ile H-3' ve H-5' protonları sırasıyla δ 8.63 ppm ve δ 7.69

ppm kimyasal kaymalarda ikişer protonluk dublet sinyaller olarak absorpsiyon yapmışlardır.

C24 kodlu bileşikte beklendiği üzere, indol halkasına ait H-5' ve H-6' protonları δ 7.12-7.22 ppm arasındaki bir multiplet sinyalin içinde, H-7' protonu δ 7.45 ppm kimyasal kaymada bir protonluk dublet sinyal olarak ve H-4' protonu δ 8.32 ppm'de bir protonlu dublet sinyal olarak saptanmıştır. H-2' protonu ise δ 7.88 ppm kimyasal kaymada bir protonluk dublet sinyal olarak izlenmiştir. İndol halkasına ait olan N-H protonunun solvanla olası bir hidrojen bağına bağlı olarak aşağı alana kayabileceği ve δ 11.64 ppm'deki singlet sinyalin indol halkasının N-H protonuna ait olduğu düşünülmüştür (Kumar T ve ark., 2015; Nugumanova ve ark., 2009). Bununla birlikte, bileşiğin yapısında bulunan diğer N-H protonu olan ve δ 10.15 ppm'deki sinyale atanan hidrazit N¹ protonuyla değişebilir olduğu belirtilmiştir.

5-kloro-2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-asetohidrazit hidrazonu türevi bileşiklerin **C18** kodlu bileşik dışında kalanlarının tamamında benzilik bir proton mevcuttur ve bu proton **C5** kodlu bileşik dışındaki bileşiklerin tümünde δ 8.00-9.25 ppm kimyasal kayma değerleri arasında bir protonluk singlet sinyal olarak izlenmiştir. **C5** kodlu bileşikte ise bu benzilik proton δ 8.32 ppm'de bu bileğin metilen ve metil protonlarında da izlendiği üzere bir protonluk dublet sinyal olarak absorpsiyon yapmıştır.

C18 kodlu bileşiğin yapısındaki alliliden grubunun iki adet dublet sinyal vermesi beklenen etilenik protonları δ 6.90-7.71 ppm kimyasal kaymaları arasında gözlenen multiplet sinyalin içerisinde, allilik protonu ise δ 7.86 ppm' de beklendiği üzere bir protonluk dublet sinyal olarak izlenmiştir.

2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit (**C1**) bileşiğinde rotamerik izomer izlenmemiş olup hidrazit grubunun N² protonları δ 4.27 ppm'de iki protonluk singlet, olarak saptanmıştır. 5-kloro-2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-asetohidrazit ve asetohidrazit hidrazonları türevleri bileşiklerin tamamında (**C1** dışında) N¹ protonu δ 9.80-12.01 ppm kimyasal kaymalar arasında bir protonluk singlet veya broad-singlet sinyaller şeklinde absorpsiyon yapmışlardır. **C2** ve **C3** kodlu bileşiklerde hidroksamik asit işlevsel grubundan kaynaklı olan O-H ve N-H protonlarına ait sinyaller, bu protonların değişebilir protonlar olması nedeniyle spektrumda izlenmemişlerdir.

Özetlemek gerekirse çalışmamızda sentezi gerçekleştirilen 2(3*H*)-benzoksazolon türevlerinin (**B1-B25**) ve 5-kloro-2(3*H*)-benzoksazolon türevlerinin (**C1-C13**, **C15-C16**, **C18**, **C21-C24**) proton NMR spektrumlarında gerek alifatik gerekse aromatik alanda beklenen proton sinyalleri, beklenen kimyasal kayma değerlerinde, beklenen bölünme şekilleri ve etkileşme değişmezleriyle izlenmişlerdir. Çalışmamızda sentezi yapılan bileşiklerden **B4**, **B5**, **B7**, **B8**, **B10**, **B13** (Çakır vd., 2001), **B21** (Verma ve ark., 2015), **C4**, **C5**, **C7**, **C8**, **C10**, **C13**, **C15** (Gökçe ve ark., 2008; Önkol ve ark., 2008) bileşikleri farklı çalışmalarda sentez edilmişlerdir. Bu çalışmalarda rapor edilen proton NMR verilerinde, çalışmamızda sunulan veriler kadar detaylı olmamakla birlikte bileşiklerin rotamerik ve geometrik izomerinden kaynaklanan bazı sinyallerinin izomeriye atıf yapılarak rapor edildiği tespit edilmiştir (Gökçe vd., 2008; Önkol vd., 2008; Çakır vd., 2001). Bileşiklerimizden daha önce sentez edilmiş olanların proton NMR verileri literatür değerleriyle uyum içerisindedir.

5.1.2.2. ¹³C Bulgularının Değerlendirilmesi

Bileşiklerimizin birçoğunun ¹³C NMR spektrumlarında, konformasyonel ve/veya konfigürasyonel izomeri nedeniyle, değişen oranlarda ve şiddetlerde beklenenden daha fazla sinyal gözlenmiştir. Proton ile karbon sinyallerini eşlenmesine katkı sağlayacak ve eşlemeyi teyit edecek HMBC ve HSQC deneyleri yapılamadığı için karbon sinyalleri, ait oldukları karbonlara atanamamıştır.

Tüm bileşiklerin spektrumlarında teşhis için önem taşıyan karbonil sinyalleri δ 150-160 ppm ve δ 160-170 ppm kimyasal kaymalar arasında majör iki sinyal olarak belirlenmiştir.

¹³C NMR verileri literatür verileri ile uyum içerisinde olup sentezi yapılan bileşikleri doğrulamaktadır (Hesse ve ark., 2014; Silverstein ve ark., 2014).

5.1.3. Kütle Bulgularının Değerlendirilmesi

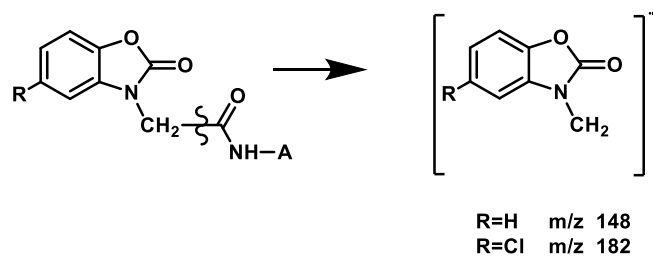
Sentezlenen tüm bileşiklerin kütle spektrumları APCI pozitif / negatif iyonizasyon ya da ESI pozitif / negatif iyonizasyon yöntemlerine göre alınmıştır. Bileşiklerin spektrumlarında farklı bağıl bolluklarda gözlenen $[M+H]^+$ veya $[M-H]^-$ moleküler iyon pikleri hesaplanan ve beklenen molekül ağırlıklarıyla uyum içerisinde.

Sentezini gerçekleştirdiğimiz 2(3*H*)-benzoksazolon ve 5-kloro-2(3*H*)-benzoksazolon türevi bileşiklerin birçoğunda temel pik (ana iyon), kullanılan iyonizasyon yöntemine bağlı olarak, moleküler iyon dan kaynaklanan $[M+H]^+$ veya $[M-H]^-$ iyonlarına ait sinyallerdir. Bu bileşikler **B1, B4-B7, B10-B14, B16-B25, C1, C2, C4-C10, C13, C16, C18** ve **C21-C24** türevleri olarak tespit edilmişlerdir.

Yapısında klor atomu içeren 5-kloro-2(3*H*)-benzoksazolon türevlerinde **C3** kodlu bileşik dışındaki tüm bileşiklerde (**C1, C2, C4-C13, C15, C16, C18, C21-C24**) kullanılan iyonizasyon yöntemine göre $[M+2+H]^+$ veya $[M+2-H]^-$ izotop pikleri gözlenmiştir (Hesse ve ark., 2014; Silverstein ve ark., 2014).

N-metoksi-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetamit yapısında olan **C3** bileşiğinin APCI pozitif iyonizasyon tekniğiyle alınan spektrumunda moleküler iyon piki tespit edilmemiş olup temel pik α -parçalanma ile oluşan m/z 182 iyonu temel sinyal olarak izlenmiştir.

2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol / 5-kloro-2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-asetohidroksamik asit / asetohidrazit ve asetohidrazit hidrazonları türevlerinde ana fragmentasyon yolunun α -parçalanma olduğu, bileşiklerin birçoğunun spektrumunda izlenen klorsuz türevlerde m/z 148 iyonunun, klorlu türevlerde ise m/z 182 iyonunun varlığından anlaşılmaktadır.



Şema 11. Bileşiklerin öngörülen fragmentasyon şeması

5.1.4. Elementel Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi

Hedef bileşiklerimiz olan 2(3H)-benzoksazolon ve 5-kloro-2(3H)-benzoksazolon türevi **B1**, **B4-B24**, **C4-C9**, **C15**, **C16** ve **C24** kodlu bileşiklerde elementel analiz sonuçları, her bir bileşik için hesaplanan karbon, hidrojen ve azot değerleri açısından $\pm\%0.4$ fark sınırlarının içinde kalmıştır. Buna karşın **C1**, **C12**, **C21** ve **C23** kodlu bileşiklerde elementel analiz sonuçları kristal yapının solvan kalıntısı taşıdığını göstermiştir.

2(3H)-Benzoksazolon türevi **B2**, **B3** ve **B25**, 5-kloro-2(3H)-benzoksazolon türevi **C2**, **C3**, **C10**, **C11**, **C13**, **C18** ve **C22** kodlu bileşiklerimizin bazı elementler açısından elementel analiz sonuçları $\pm\%0.4$ sınırının dışında kalmıştır. Elementel analiz sonuçlarındaki sapmanın **B2**, **B3**, **C2** ve **C3** kodlu bileşiklerde diğer bileşiklere göre daha yüksek olduğu görülmektedir.

5.2. Biyolojik Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi

5.2.1. Taurin Kloramin Deneyi Bulgularının Değerlendirilmesi

Tez çalışması kapsamında sentez edilen bileşiklerin MPO enzim aktivitesi üzerine potansiyel inhibitör etkinlikleri, enzim aktivitesinin halojenasyon yolağında oluşan HOCl miktarının ölçülmesi temeline dayanan taurin kloramin deneyi ile incelenmiştir (M. L. Zeraik ve ark., 2012). Bu çalışmalarda, 4-aminobenzoik asit hidraziti (ABAH), referans inhibitör bileşik olarak kullanılmıştır (Kettle ve ark., 1995). Bu bileşik, MPO enzimini geri-dönüşümsüz şekilde inhibe ederek HOCl sentezini engellemektedir.

Sentezlenen bileşiklerin taurin kloramin yöntemiyle öncelikle % MPO inhibitör aktiviteleri ölçülmüştür. Yüzde MPO inhibisyonu tespiti 20 μ M konsantrasyonda yapılmış ve bu konsantrasyon için tüm bileşikler değişen oranlarda MPO inhibitör aktivite göstermişlerdir (Tablo 5).

Taurin kloramin yöntemiyle gerçekleştirilen % inhibisyon tarama çalışmasında **B** serisinde %60 üzeri inhibisyon göstererek serinin en aktif bileşikleri olarak seçilen bileşikler non-süstitüe hidrazit yapısındaki **B1** bileşiğiyle, açıl hidrazon yapısındaki **B12**, **B15**, **B20** ve **B24** bileşikleridir. Bu bileşiklerin % MPO inhibisyonu aktivitesi, **B1** (95.33 ± 0.34), **B20** (92.99 ± 1.52), **B15** (92.82 ± 2.30), **B24** (90.72 ± 1.79) ve **B12** (67.75 ± 1.30) sırasında azalmaktadır. IC₅₀ sonuçları değerlendirildiğinde ise

serinin en aktif bileşiğinin **B20** kodlu *N'*-[(1*H*-pirol-2-il)metilen]-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit bileşiği ($1.25 \pm 0.05 \mu\text{M}$) olduğu belirlenmiştir. Bu bileşiği sırasıyla, *N'*-[(1*H*-indol-3-il)metilen]-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit yapısındaki **B24** ($1.28 \pm 0.05 \mu\text{M}$), *N'*-(4-dimetilaminobenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit yapısındaki **B15** ($2.70 \pm 0.02 \mu\text{M}$), 2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit yapısındaki **B1** ($3.16 \pm 0.04 \mu\text{M}$) ve *N'*-(2,6-dimetoksibenziliden)-2-(2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit yapısındaki **B12** ($8.07 \pm 0.06 \mu\text{M}$) kodlu bileşikler takip etmektedir (Tablo 6).

C serisindeki %60 üzerinde inhibisyon gösteren bileşikler non-süstitüe hidrazit türevi **C1** kodlu bileşik, açıl hidrazon türevi **C21** ve **C24** kodlu bileşiklerdir. Serideki bileşiklerden hem %MPO inhibisyon sonuçlarına göre, hem de IC_{50} sonuçlarına göre en aktif bileşik, *N'*-[(furan-2-il)metilen]-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit yapısındaki **C21** kodlu bileşik (%MPO inhibisyon: 97.33 ± 1.71 ; IC_{50} : $0.42 \pm 0.06 \mu\text{M}$) olarak belirlenmiştir. 2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit yapısındaki **C1** kodlu bileşik (%MPO inhibisyon: 71.98 ± 5.00 ; IC_{50} : $6.73 \pm 0.06 \mu\text{M}$) ve *N'*-[(1*H*-indol-3-il)metilen]-2-(2,3-dihidro-5-kloro-2-oksobenzoksazol-3-il)asetohidrazit yapısındaki **C24** kodlu bileşik (%MPO inhibisyon: 69.03 ± 0.55 ; IC_{50} : $6.89 \pm 0.06 \mu\text{M}$) serideki diğer aktif bileşikler olarak tespit edilmiştir (Tablo 6).

Çalışılan tüm türevler dikkate alındığında hidrazit işlevsel grubu taşıyan türevlerin daha yüksek aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Tüm bileşikler içinde aktivite, IC_{50} değerlerine göre **C21>B20>B24>B15>B1>C1>C24>B12** sırasında azalmaktadır. Bu sonuçlara göre asetohidrazit türevlerinde N^2 konumundan süstitüsyonun aktiviteye olumlu katkısı bulunduğu görülmüştür. En aktif türevlerden **B20**, **B24**, **C21** ve **C24** kodlu bileşiklerin N^2 konumunda süstitüent olarak heteroaromatik halkalar taşıması, heteroaromatik halkaların aktivite açısından tercih edilebilir yapılar olduğunu göstermiştir.

B ve **C** serisindeki aktivite sonuçlarının karşılaştırılması 5-konumundaki klor atomunun aktiviteye katkısının değişkenlik gösterdiğini düşündürmektedir. En aktif bileşğimiz olan **C21** bileşiği ile klorsuz analogu olan **B21** bileşiğinin inhibitör aktivite sonuçları klor atomunun aktiviteye olumlu katkı yaptığını göstermiştir. Bununla birlikte **B1** ve **C1** bileşikleri mukayese edildiğinde bu durumun tam tersi olduğu

görülmektedir. Sonuç olarak, 2(3H)-benzoksazolon halkasının 5-konumunda klor atomu bulunmasının MPO inhibitör aktivite açısından bir gereklilik olmamakla birlikte, bazı türevlerde aktiviteye olumlu katkı yaptığı söylenebilir.

Tez çalışmamız kapsamında sentezlenen bileşiklerden MPO klorinasyon döngüsü üzerinde en aktif bileşik olduğu belirlenen **C21** kodlu bileşik, IC_{50} : $0.42 \pm 0.06 \mu M$ değeri ile referans bileşik olan 4-ABAH'a ($0.21 \pm 0.03 \mu M$) yakın bir aktivite ortaya koymuştur.

5.2.2. Ampleks Red Deneyi Bulgularının Değerlendirilmesi

MPO enziminin klorinasyon aktivitesi üzerinde % 60 ve üzeri değerlerde inhibisyona neden olduğu tespit edilen bileşiklerin (**B1, B12, B15, B20, B24, C1, C21 ve C24**) enzimin peroksidaz döngüsü üzerindeki inhibitör aktivitelerini incelemek üzere Ampleks Red deneyi gerçekleştirilmiştir (Debski ve ark., 2016; Ward ve ark., 2013).

Bu gruptaki sekiz bileşik ile $100 \mu M$ konsantrasyonda gerçekleştirilen Ampleks Red deneyleri sonucunda, peroksidasyon yolağı üzerinde en güçlü inhibitör etkinliğe sahip olan bileşik, % MPO Peroksidasyon inhibisyonu aktivitesi %53 değeriyle **C21** olarak belirlenmiştir. Bu bileşiği %28 değeriyle **C24** bileşiği izlemiştir. Bu iki bileşik için Ampleks Red yöntemiyle IC_{50} çalışması da gerçekleştirilmiş ve IC_{50} değerleri **C21** için $38.69 \pm 0.85 \mu M$, **C24** için $121.9 \pm 0.96 \mu M$ olarak tespit edilmiştir. **B1, B12, B15, B20, B24 ve C1** kodlu bileşiklerin ise peroksidasyon yolağında anlamlı bir inhibitör aktivite göstermediği belirlenmiştir (Tablo 7, Şekil 29).

Taurin kloramin ve Ampleks Red deneylerinden elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, Ampleks Red deneyinde en etkili olan **C21 ve C24** kodlu bileşiklerin bile halojenasyon döngüsünü inhibe ettikleri dozda peroksidasyon döngüsünü inhibe etmedikleri görülmektedir.

5.2.3. Gayakol Deneyi Bulgularının Değerlendirilmesi

Gayakol, MPO enzimine karşı yüksek afiniteye sahip ve enzimin hem Bileşik I, hem de Bileşik II formuyla oksitlenebilen iyi bir MPO substratıdır. Bileşik I, Bileşik II formuna indirgendiğinde ortamda gayakol bulunması durumunda inhibitör bileşik aktif bölgeyi gayakole bırakır ve gayakol kendisi oksitlenirken enzimin Ferrik formuna geri dönmesini sağlar. (Soubhye, Meyer ve ark., 2016)

Sentezlenen bileşikler arasında taurin-kloramin yöntemiyle gerçekleştirilen % MPO inhibisyon tarama çalışmasında %60 ve üzerinde inhibitör etkinlik gösterdiği belirlenen bileşiklerin (**B1, B12, B15, B20, B24, C1, C21 ve C24**), MPO enzim cebine bağlanma afiniteleri gayakol oksidasyon yöntemi ile incelenmiştir (Capeillère-Blandin, 1998).

Gerçekleştirilen deneyler sonucunda bileşiklerinin gayakol oksidasyonunu engellemeleri açısından anlamlı bir değişikliğe neden olmadıkları belirlenmiştir (Tablo 8). Bu sonuç bileşiklerin gayakol varlığında enzimin aktif cebine yüksek bir ilgiyle bağlanmadıkları şeklinde yorumlanmıştır.

5.2.4. HOCl Süpürme Aktivitesi Deneyi Bulgularının Değerlendirilmesi

MPO aktivitesi sonucunda reaksiyon ortamında oluşan reaktif HOCl, klorinasyon döngüsünde ortaya çıkan ve enzimin hem fizyolojik hem de patofizyolojik etkilerinde anahtar rol oynayan bileşik olarak kabul edilmektedir (Nève ve ark., 2001). Taurin kloramin deneyi ile saptanan inhibitör etkinlik, test edilen bileşiğin doğrudan MPO ile etkileşmeden deney ortamındaki HOCl'yi süpürmesi sonucunda ortaya çıkabilir. Bu durumun incelenmesi amacıyla sentezlenen bileşikler arasında diğerlerine göre daha güçlü MPO inhibitör aktivite gösterdiği belirlenen bileşikler (**B1, B12, B15, B20, B24, C1, C21 ve C24**), hipokloröz asit süpürücü etkileri açısından incelenmiştir (Ching ve ark., 1994).

Elde edilen bulgularda, bileşiklerin anlamlı düzeyde HOCl süpürücü aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir (Tablo 9). Bu bulgu, taurin kloramin deneyi sonucunda inhibitör olduğu belirlenen bileşiklerin ortamdaki HOCl'yi süpürmediğini, dolayısıyla inhibisyonu MPO enzimi ile doğrudan etkileşerek gerçekleştirdiğini destekler niteliktedir.

5.3. Moleküler Modelleme Bulgularının Değerlendirilmesi

5.3.1. Moleküler Kenetlenme Bulgularının Değerlendirilmesi

Moleküler kenetlenme çalışmaları, ilaç adayı küçük moleküllerin, hedefledikleri proteinlere karşı bağlanma geometrileri ve etkileşimlerini teorik olarak belirleyen etkili bir yöntemdir (Meng Zhang, Mezei ve Cui, 2011).

Çalışmamızda bu teknik kullanılarak, sentezini gerçekleştirdiğimiz 2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol / 5-kloro-2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-asetohidrazit ve asetohidrazit hidrazonları türevlerinin, MPO enziminin aktif yörenesi içerisindeki kovalent olmayan etkileşimleri değerlendirilmiştir ve 1.90 Å'da çözümlenen 1DNW.pdb kodlu enzim kullanılmıştır.

Çalışmaya başlamadan önce RCSB PDB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank)'den alınan enzim haritaları, gereç ve yöntem bölümünün moleküler kenetlenme çalışmaları alt başlıklarında belirtilen metotlarla çalışma için hazırlanmıştır. Bileşiklerin enzim içerisindeki etkileşimleri GOLD 5.2.1 programı ile GoldScore skorumlama fonksiyonu kullanılarak ayrı ayrı hesaplanmış ve **Tablo 10**'da birlikte rapor edilmiştir.

Çalışmamızda, sentezi gerçekleştirilen bileşiklerden IC₅₀ değeri belirlenen 8 bileşik (**B1, B12, B15, B20, B24, C1, C21 ve C24**) için yapılan moleküler kenetlenme çalışması sonucunda tüm bileşikler için IC₅₀ değerleriyle uyumlu olarak olası bağlanma yönelimleri belirlenmiştir.

B serisi bileşikler için seçilen kenetlenme pozları değerlendirildiğinde, **B1** bileşiğı hariç tüm bileşiklerde (**B12, B15, B20 ve B24**) N² azotuna bağı aromatik halkalarının enzimin aktif yörenesi girişinde bulunan Pro220, Thr238, Arg239, Ser241, Glu242 ve Phe366 aminoasit artıklarının arasına yerleştığı gözlemlenmiştir (**Şekil 30**). Buna karşın **B1** bileşiğinin hidrazit grubu ise Thr100, Glu102 ve **hem** yapısının propiyonat grubu arasına yerleştığı saptanmıştır.

Bileşiklerdeki 2(3H)-benzoksazol halkasının **hem** yapısına doğru uzandığı ve benzoksazol halkasındaki benzen kısmının Gln91, His95 ve **hem** yapısının pirol grubu arasına, oksazol-2-on kısmının ise Arg239 ile **hem** yapısının propiyonat grubu arasına yerleştığı tespit edilmiştir.

MPO enzimi için en iyi inhibitör etkinliğe sahip olduğu belirlenen **C21** bileşiğinin de dahil olduğu C serisi bileşiklerin moleküler kenetlenme pozları incelendiğinde ise, bileşiklerin 5-kloro-2(3*H*)-benzoksazol halkasının MPO enziminin aktif yöreni içerisinde bulunan Arg239 ile **hem** arasına yerleştii ve halkanın oksazol-2-on kısmının Gln91 ve His95 artıklarına doğru yöneldii, bileşiğin klor sübstitüentinin ise Glu102'ye doğru uzandii gözlenmiştir. **C1** bileşiğinin hidrazit grubunun His95, Arg239 ve Glu242 arasına yerleştii tespit edilmiştir. **C21** ve **C24** bileşiklerinde N² azotuna bağı olan 2-furil ve 3-indolil gruplarının ise enzimin aktif yöreni girişinde bulunan Thr238, Arg239, Ser241, Glu242 ve Phe366 aminoasit artıklarının arasına yerleştii belirlenmiştir (**Şekil 31**).

C serisi bileşiklerinden **C21** bileşiğinin MPO enzimi (PDB ID:7LAE) içerisindeki kenetlenme pozu ile daha önce rapor edilen makrosiklik pirazol türevi bir MPO inhibitörü bileşiğin enzim içerisindeki kristal yapısı karşılaştırıldığında, bileşiklerin enzim içerisinde benzer yönelimler gösterdii belirlenmiştir (Hu ve ark., 2021). Söz edilen MPO inhibitörü bileşiğin yapısındaki triazolopiridin halkasının, **C21** bileşiğinin 2(3*H*)-benzoksazol halkası gibi enzimin Arg239 ile **hem** grupları arasına yerleştii ve triazol bölümünün Gln91 ve His95 artıklarına doğru yöneldii bildirilmiştir. Bileşiğin yapısındaki 4-florofenilpirazol grubunun ise enzimin aktif yöreni girişinde bulunan Thr238, Arg239, Ser241, Glu242 ve Phe366 aminoasit artıklarının arasına yerleştii belirlenmiştir (**Şekil 32**).

C21 kodlu bileşiğin kenetlenme çalışması belirlenen konformasyonu, bileşiğin protein içerisindeki etkileşimlerini daha detaylı incelemek amacıyla gerçekleştirilen moleküler dinamik (MD) simülasyonlarında başlangıç yapısı olarak kullanılmıştır.

5.3.2. Moleküler Dinamik (MD) Simülasyonları Bulgularının Değerlendirilmesi

Moleküler Dinamik Simülasyonları, genellikle bileşiğin tek bir konformasyonun değerlendirildiği moleküler kenetlenme çalışmalarının aksine, ligandlar ve bunlarla ilişkili proteinler arasındaki etkileşimlerin dinamik davranışlarının incelendiği etkili bir moleküler modelleme tekniğidir (Meng Zhang, H. X., Mezei, M. ve Cui, M., 2011). MD simülasyonu için biyolojik aktivite çalışmalarında en iyi inhibitör etkinliğe sahip olduğu belirlenen **C21** bileşiği seçilmiştir.

C21 bileşiği için oluşturulan MD simülasyonu protein stabilitesi, bağlanma modu analizi, serbest bağlanma enerji hesaplamaları ve enerji ayırıştırma analizi çalışmalarında kullanılmıştır. **C21** bileşiğinin GOLD 5.2.1 programından elde edilen en iyi GoldScore değerine sahip konformasyonu MD simülasyonunda kullanılmak üzere sečilmiřtir (**şekil 33**). MD simülasyonunda protein yapısı olarak 1DNW.pdb kodlu 1.90 Å'da çözümlenen insan MPO enzimi kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiğe ait protein-ligand kompleksi ve proteinin apo formu dengeleme basamağından sonra 100 ns süreli serbest MD simülasyonlara tabi tutulmuştur.

5.3.2.1. Yapısal Stabilité Analizi

Çalışmamızda, **C21** bileşiğinin MPO içerisindeki RMSD değerinin simülasyon süresinin genelinde yaklaşık 1.5 Å değerinin altında olduğu ve apo formunun RMSD değerinin ise simülasyon süresinin genelinde yaklaşık 1.5 Å değerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir (**şekil 34**). Kompleksin ortalama RMSD değeri 1.44 Å ve apo formun ortalama RMSD değeri 1.57 Å olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte, **C21**-protein kompleksi ve apo formun 102 ns'lik MD simülasyonlarından elde edilen yörünge grafikleri incelendiğinde, bileşiğin enzime bağlandığını ve kompleksin omurga artıklarının apo formunun omurga artıklarından ortalama karekök sapması değerinin (RMSD) az bir farkla da olsa düşük olduğu gözlemlenmiştir.

5.3.2.2. Bağlanma Modu Analizi

Hidrojen bağları, ligandın hedefi olan proteine bağlanmasında önemli rol oynayan etkileşimlerden biridir. Çalışmamızda, **C21** ile MPO enzimi arasındaki hidrojen bağlarının geometrileri ve stabiliteleri, **C21**-MPO kompleksi için oluşturulan MD simülasyonunun analiziyle belirlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde bileşiğin, proteinin iskelet yapısındaki aminoasit artıklarıyla, aktif yörede bulunan su molekülleriyle hidrojen bağları oluşturduğu ve ayrıca su molekülleri aracılığıyla iskelet yapının aminoasit artıkları ile su köprüleri oluşturduğu tespit edilmiştir (**Tablo 11-13, şekil 35**). Bileşiğin hidrazit azotunun (N^1) taşıdığı hidrojen atomu ile Glu242 artığının karboksilat grubu oksijenleri arasında hidrojen bağı oluşumu gözlenmiştir (**Tablo 11**). Bu iki yapı arasında oluşan bağlanmanın yaklaşık %57 görölme sıklığı oranında gerçekleştiği belirlenmiştir. Bununla birlikte bileşiğe ait diğer hidrojen bağı oluşumlarının Ser241, Arg239 ve His95 artıkları ile olduğu tespit edilmiştir. Bu artıklarla oluşan hidrojen bağlarının %20'den daha az bir sıklıkta gerçekleştiği

belirlenmiştir (**Tablo 11**). Bileşiğin hidrazit grubundaki oksijen atomunun, simülasyon süresince en fazla sayıdaki hidrojen bağı su molekülleri ile oluşturduğu tespit edilmiştir (**Tablo 12**). Ayrıca hidrazit grubunun diğer atomları ve 2-furil halkasındaki oksijen atomunun da su molekülleri ile hidrojen bağı oluşturduğu gözlenmiştir. **C21** bileşiği su aracılı hidrojen bağlarını ise Glu242 ve Thr238 artıkları ile gerçekleştirmiştir.

Hidrojen bağları dışında, bileşiğin enzim içerisinde kalmasını sağlayan diğer etkileşimler ise polar olmayan etkileşimlerdir. Burada en önemli etkileşme bileşiğin 5-kloro-2(3*H*)-benzoksazol halkasındaki benzen ile **hem** grubundaki pirol halkası arasında gözlenen π - π etkileşimleridir. Bu etkileşmenin varlığını bileşiğe ait atomlarla **hem** grubundaki pirol halkası arasında ölçülen mesafe ve enerji hesaplamaları ortaya koymuştur (**Tablo 14**, **Şekil 36-37**). Bununla birlikte bileşiğin 2-furil grubunun Pro220, Thr238, Arg239, Ser241, Glu242 ve Phe366 artıkları ile polar olmayan etkileşmeler de gerçekleştirdiği enerji hesaplamaları yardımıyla belirlenmiştir.

5.3.2.3. MM-GBSA Serbest Bağlanma Enerjisi Hesaplamaları ve Enerji Ayırıştırma Analizi

Serbest enerji hesaplamalarında (MM-GBSA ve MM-PBSA) entropinin katkısı ilave edilmediğinden bunlar gerçek serbest bağlanma enerjileri değildir, dolayısıyla göreceli serbest bağlanma enerjileri olarak belirtilirler. İlişkili sistemlerde, çözünen entropisi her bir sistem için aynı kabul edilir. Bu nedenle, göreceli serbest bağlanma enerjisi hesaplamalarında çözünen entropisini hesaplamaya gerek duyulmaz. Bu hesaplamalar MD yörüngeleri kullanılarak ligandların hedef proteinlerdeki bağlanma afinitelerini belirlemek için uygulanır (Miller ve ark., 2012).

Çalışmamızda MM-GBSA serbest bağlanma enerjileri **C21**-MPO kompleksinden oluşturulan MD simülasyonundan hesaplanmıştır. Bileşiğin protein içerisindeki serbest bağlanma enerjisi **Tablo 15**'de rapor edilmiştir. Aşağıda verilen denklemler kullanılarak MMPBSA.py.MPI modülü ile bileşiğin Amber MM-GBSA serbest bağlanma enerjisi ($\Delta G_{bağ}$) hesaplanmıştır;

$$\Delta G_{bağ} = \Delta E_{MM} + \Delta G_{\text{öz}} \text{ (Denklem 1)}$$

$$\Delta E_{MM} = E_{MM\text{kom}} - E_{MM\text{res}} - E_{MM\text{lig}} \text{ (Denklem 2)}$$

$$\Delta G_{\text{öz}} = G_{\text{özkom}} - G_{\text{özres}} - G_{\text{özlign}} \text{ (Denklem 3)}$$

Denklem 1’de, bağlanma enerjisine vakum alanda moleküler mekaniklerin katkısı (ΔE_{MM}) dahili, elektrostatik ve van der Waals enerjilerinden oluşmakta ve bağlanma enerjisine çözünme serbest enerjisinin katkısı ($\Delta G_{\text{öz}}$) polar ve polar olmayan çözünme serbest enerjilerinden oluşmaktadır. Denklem 2 ve 3’de “*kom*”, “*res*” ve “*lig*” kısaltmaları sırasıyla “*kompleks*”, “*reseptör*” ve “*ligand*” terimlerine karşılık gelmektedir.

Serbest bağlanma enerjisi hesaplamasından elde edilen sonuçlara göre **C21-MPO** kompleksi için van der Waals enerjileri, bağlanma serbest enerji komponentleri arasında en etkin faktör olarak belirlenmiştir. **C21** bileşiği için hesaplanan van der Waals ve polar olmayan çözünme enerjileri, **C21** bileşiğinin bağlanmasında polar olmayan etkileşmelerin majör etkileşimler olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte hesaplanan elektrostatik enerji ise hidrojen bağlarının ligand bağlanmasına katkısını desteklemektedir. Enerji ayrıştırma analizi sonuçlarına göre **hem** grubunun bileşik **C21**’in bağlanmasında majör katkıyı sağladığı, bunu van der Waals ve polar olmayan çözünme enerjileriyle gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. Bu sonuç bileşiğin π - π etkileşimi için **hem** grubunun katkısını ortaya koymuştur. Bileşiğin bağlanmasında katkı sağlayan diğer önemli iki artık ise sırasıyla Glu242 ve Arg239’dur. Polar enerjiler **C21** bileşiğinin Glu242 vasıtasıyla enzime bağlanmasında ana etken iken Arg239 ile bağlanmada polar olmayan enerjiler baskın enerji komponentidir. Enerji ayrıştırma analizi sonucunda belirlenen diğer önemli artıkların enerji katkıları **Tablo 16** ve **Şekil 38**’de rapor edilmiştir.

Sonuç ve Öneriler

Çalışmamız kapsamında, 2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol / 5-kloro-2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-asetohidroksamik asit / asetohidrazit ve asetohidrazit hidrazonları türevi bileşikler sentezlenmiş, MPO enziminin klorinasyon ve peroksidasyon döngüleri üzerindeki inhibitör aktiviteleri ve olası inhibisyon mekanizmaları değerlendirilmiş ve sonuçlar moleküler modelleme çalışmalarıyla desteklenmiştir.

Bu kapsamda elde edilen sonuçlar;

- (1) Tez çalışmamız kapsamında sentezlenen tüm bileşiklerin MPO enziminin klorinasyon döngüsü üzerinde %10-98 arasında değişen oranlarda inhibitör etkinlik gösterdiği,
- (2) Çalışılan tüm türevler dikkate alındığında hidroksamik asit ve hidroksamik asit esteri türevlerine göre hidrazit işlevsel grubu taşıyan türevlerin daha yüksek aktiviteye sahip olduğu,
- (3) Asetohidrazit türevlerinde N^2 konumundan hidrazon yapısı oluşturan sübstitüsyonun aktiviteye olumlu katkısı bulunduğu ve özellikle bu sübstitüsyonun heteroaromatik halka taşımasının aktiviteye olumlu katkı sağladığı,
- (4) 2(3*H*)-benzoksazolon halkasının 5-konumunda klor atomu bulunmasının MPO inhibitör aktivite açısından bir gereklilik olmamakla birlikte, bazı türevlerde aktiviteye olumlu katkı yaptığı,
- (5) Çalışılan tüm bileşikler çerçevesinde MPO klorinasyon döngüsü inhibitör aktivitesinin, tespit edilen IC_{50} değerlerine göre **C21>B20>B24>B15>B1>C1>C24>B12** sırasında azaldığı,
- (6) MPO klorinasyon döngüsü üzerinde en aktif inhibitör bileşik olduğu belirlenen **C21** kodlu bileşiğin IC_{50} : $0.42 \pm 0.06 \mu M$ değeri ile referans bileşik olan 4-ABAH'a ($0.21 \pm 0.03 \mu M$) yakın bir aktiviteye sahip olduğu,
- (7) Taurin kloramin ve Ampleks Red deneylerinden elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, çalışılan bileşiklerin halojenasyon döngüsünü inhibe ettikleri dozda peroksidasyon döngüsünü inhibe etmedikleri,

- (8) Gayakol oksidasyon deneyi değerlendirildiğinde, gayakol oksidasyonunda anlamlı bir azalma olmadığı ve dolayısıyla bileşiklerin gayakol varlığında enzimin aktif cebine afinitelerinin yüksek olmadığı,
- (9) HOCl süpürücü aktivite deneyinden elde edilen bulguların, bileşiklerin ortamdaki HOCl'yi süpürmediğini, dolayısıyla enzim inhibisyonunu MPO enzimi ile doğrudan etkileşerek gerçekleştirdiğini desteklediği,
- (10) İlaç-kenetlenme çalışması değerlendirildiğinde, en etkili inhibitör aktiviteye sahip **C21** bileşiğinin enzim aktif yoresi içerisindeki aminoasit kalıntıları ve **hem** grubu ile etkileşimlerinde asetohidrazit grubu ve 2-oksobenzoksazol halkasının aktiviteye olumlu katkısının bulunduğu şeklinde özetlenebilir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, 2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol / 5-kloro-2,3-dihidro-2-oksobenzoksazol-3-asetohidrazit ve asetohidrazit hidrazonlarının etkin MPO inhibitörü lider moleküller yaratma potansiyeli taşıdığını ve bu alanda gerçekleştirilecek olan ileri çalışmaların MPO enzimini hedefleyen yeni moleküllerin geliştirilmesine olanak sağlayacağını düşündürmüştür.

Kaynaklar

- Adiguzel, E., Yilmaz, F., Emirik, M., & Ozil, M. (2017). Synthesis and characterization of two new hydroxamic acids derivatives and their metal complexes. An investigation on the keto/enol, E/Z and hydroxamate/hydroximate forms. *Journal of Molecular Structure*, 1127, 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.07.081>
- Allegra, M., Furtmüller, P. G., Regelsberger, G., Turco-Liveri, M. L., Tesoriere, L., Perretti, M., ... Obinger, C. (2001). Mechanism of reaction of melatonin with human myeloperoxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 282(2), 380–386. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.4582>
- Aratani, Y. (2018). Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 640(January), 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.01.004>
- Aydin, A., Önkol, T., Akkurt, M., Büyükgüngör, O., & Şahin, M. F. (2013). Synthesis and crystal structure of 3-amino-1-(5-Chloro-2-Hydroxyphenyl) Imidazolidine-2,4-dione. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 570(1), 119–127. <https://doi.org/10.1080/15421406.2012.707593>
- Blair-johnson, M., Fiedler, T., & Fenna, R. (2001). Human Myeloperoxidase : Structure of a Cyanide Complex and Its Interaction with Bromide and Thiocyanate Substrates at 1.9 Å Resolution. *Biochemistry*, 40, 13990–13997.
- Boufadi, Y. M., Soubhye, J., Riazi, A., Rousseau, A., Vanhaeverbeek, M., Nève, J., ... Van Antwerpen, P. (2014). Characterization and antioxidant properties of six Algerian propolis extracts: Ethyl acetate extracts inhibit Myeloperoxidase activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(2), 2327–2345. <https://doi.org/10.3390/ijms15022327>
- Brown, D. A., Coogan, R. A., Fitzpatrick, N. J., Glass, W. K., Abukshima, D. E., Shiels, L., ... Perakyla, M. (1996). Conformational behaviour of hydroxamic acids: ab initio and structural studies. *J. Chem Soc.*, 2673–2679.
- Burner, U., Obinger, C., Paumann, M., Furtmüller, P. G., & Kettle, A. J. (1999). Transient and steady-state kinetics of the oxidation of substituted benzoic acid hydrazides by myeloperoxidase. *Journal of Biological Chemistry*, 274(14), 9494–9502. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.14.9494>

- Çakır, B., Dağ, Ö., Yıldırım, E., Erol, K., & Şahin, M. F. (2001). Synthesis and Anticonvulsant Activity of Some Hydrazones of 2[(3H)-oxobenzoxazolin-3-yl-aceto]hydrazide. *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University*, 18(2), 99–106.
- Capeillère-Blandin, C. (1998). Oxidation of guaiacol by myeloperoxidase: A two-electron-oxidized guaiacol transient species as a mediator of NADPH oxidation. *Biochemical Journal*, 336(2), 395–404. <https://doi.org/10.1042/bj3360395>
- Case, D. ., Aktulga, H. M., Belfon, K., Ben-Shalom, I. Y., Brozell, S. R., Cerutti, D. S., ... Kollman, P. A. (2021). Amber 2021. San Francisco: University of California.
- Cerniauskaite, D., Rousseau, J., Sackus, A., Rollin, P., & Tatibouët, A. (2011). Glucosinolate synthesis: A hydroxamic acid approach. *European Journal of Organic Chemistry*, (12), 2293–2300. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201001438>
- Chemical Computing Group Incorporation. (2020). Molecular Operating Environment (MOE 2020.09). 1010 Sherbrooke Street West, Suite 910, Montreal H3A 2R7, Canada.: Chemical Computing Group Incorporation.
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., ... Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204–7218. www.impactjournals.com/oncotarget/
- Ching, T. L., Dejong, J., & Bast, A. (1994). A Method for Screening Hypochlorous Acid Scavengers by Inhibition of the Oxidation of 5-Thio-2-Nitrobenzoic Acid: Application Anti-asthmatic Drugs. *Analytical Biochemistry*, 218(2), 377–381. <https://doi.org/10.1006/abio.1994.1195>
- D'amico, J. J., Bollinger, F. G., & Dahl, W. E. (1988). A New Route to 2H-(1,2,4)triazino(3,4b)benzothiazole-3(4H)-one. *Phosphorous and Sulfur and the Related Elements*, 35(1–2), 71–76. <https://doi.org/10.1080/03086648808079367>
- Daugherty, A., Dunn, J. L., Rateri, D. L., & Heinecke, J. W. (1994). Myeloperoxidase, a Catalyst for Lipoprotein Oxidation, Is Expressed in Human Atherosclerotic Lesions. *Journal of Clinical Investigation*, 94, 437–444. <https://doi.org/10.1172/JCI117342>.by
- Davies, B., & Edwards, S. W. (1989). Inhibition of myeloperoxidase by salicylhydroxamic acid. *Biochemical Journal*, 258(3), 801–806. <https://doi.org/10.1042/bj2580801>

- Davies, M. J. (2010). Myeloperoxidase-derived oxidation: mechanisms of biological damage and its prevention. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 48(1), 8–19. <https://doi.org/10.3164/jcbrn.11-006FR>
- Davies, M. J., & Hawkins, C. L. (2020). The Role of Myeloperoxidase in Biomolecule Modification, Chronic Inflammation, and Disease. *Antioxidants and Redox Signaling*, 32(13), 957–981. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8030>
- Davies, M. J., Hawkins, C. L., Pattison, D. I., & Rees, M. D. (2008). Mammalian heme peroxidases: From molecular mechanisms to health implications. *Antioxidants and Redox Signaling*, 10(7), 1199–1234. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1927>
- Debski, D., Smulik, R., Zielonka, J., Michałowski, B., Jakubowska, M., Debowska, K., ... Sikora, A. (2016). Mechanism of oxidative conversion of Amplex® Red to resorufin: Pulse radiolysis and enzymatic studies. *Free Radical Biology and Medicine*, 95, 323–332. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.027>
- Desikan, R., Narasimhulu, C. A., Khan, B., Rajagopalan, S., & Parthasarathy, S. (2017). *Myeloperoxidase (MPO): Do We Need Inhibitors? Mechanisms of Vascular Defects in Diabetes Mellitus*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60324-7>
- Dong, J. Q., Varma, M. V., Wolford, A., Ryder, T., Di, L., Feng, B., ... Kalgutkar, A. S. (2016). Pharmacokinetics and disposition of the thiouracil derivative PF-06282999, an orally bioavailable, irreversible inactivator of myeloperoxidase enzyme, across animals and humans. *Drug Metabolism and Disposition*, 44(2), 209–219. <https://doi.org/10.1124/dmd.115.067868>
- Duclos, F., Abell, L. M., Harden, D. G., Pike, K., Nowak, K., Locke, G. A., ... Kick, E. K. (2017). Triazolopyrimidines identified as reversible myeloperoxidase inhibitors. *MedChemComm*, 8(11), 2093–2099. <https://doi.org/10.1039/c7md00268h>
- Edwards, M. L., Stemerick, D. M., Sabol, J. S., Diekema, K. A., & Dinerstein, R. J. (1994). Inhibition of Myeloperoxidase Release from Rat Polymorphonuclear Leukocytes by a Series of Azachalcone Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 37(4), 4357–4362. <https://doi.org/doi.org/10.1021/jm00051a013>

- Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O. H., Andersen, P. S., & Girardin, S. E. (2007). Chronic inflammation: Importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *Clinical and Experimental Immunology*, 147(2), 227–235. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03261.x>
- Fiedler, T. J., Davey, C. A., & Fenna, R. E. (2000). X-ray crystal structure and characterization of halide-binding sites of human myeloperoxidase at 1.8 Å resolution. *Journal of Biological Chemistry*, 275(16), 11964–11971. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.16.11964>
- Forbes, L. V., & Kettle, A. J. (2017). Myeloperoxidase: Unleashing the Power of Hydrogen Peroxide. *Hydrogen Peroxide Metabolism in Health and Disease*, (October 2017), 283–305. <https://doi.org/10.1201/9781315154831-15>
- Forbes, L. V., & Kettle, A. J. (2018). A multi-substrate assay for finding physiologically effective inhibitors of myeloperoxidase. *Analytical Biochemistry*, 544(October 2017), 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.12.022>
- Forbes, L. V., Sjögren, T., Auchère, F., Jenkins, D. W., Thong, B., Laughton, D., ... Kettle, A. J. (2013). Potent reversible inhibition of myeloperoxidase by aromatic hydroxamates. *Journal of Biological Chemistry*, 288(51), 36636–36647. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.507756>
- Fullerton, J. N., & Gilroy, D. W. (2016). Resolution of inflammation: A new therapeutic frontier. *Nature Reviews Drug Discovery*, 15(8), 551–567. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.39>
- Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., ... Slavich, G. M. (2019). Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nature Medicine*, 25(12), 1822–1832. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0>
- Furtmüller, P. G., Arnhold, J., Jantschko, W., Pichler, H., & Obinger, C. (2003). Redox properties of the couples compound I/compound II and compound II/native enzyme of human myeloperoxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 301(2), 551–557. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)03075-9](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)03075-9)
- Furtmüller, P. G., Burner, U., & Obinger, C. (1998). Reaction of myeloperoxidase compound I with chloride, bromide, iodide, and thiocyanate. *Biochemistry*, 37(51), 17923–17930. <https://doi.org/10.1021/bi9818772>

- Galijasevic, S. (2019). The development of myeloperoxidase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 29(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.11.031>
- Galijasevic, S., Abdulhamid, I., & Abu-Soud, H. M. (2008). Melatonin is a potent inhibitor for myeloperoxidase. *Biochemistry*, 47(8), 2668–2677. <https://doi.org/10.1021/bi702016q>
- Gökçe, M., Geciken, A. E., Yıldırım, E., & Tosun, A. U. (2008). Synthesis and Anticonvulsant Activity of 5-chloro-2(3H)-benzoxazolinone-3- acetyl-2-(o/p-substituted benzal) hydrazone Derivatives. *Arzneimittel-Forschung (Drug Research)*, 58(11), 537–542. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1296554>
- Gökşen, U. S., Alpaslan, Y. B., Kelekçi, N. G., Işık, Ş., & Ekizoğlu, M. (2013). Synthesis, crystal structures and theoretical calculations of new 1-[2-(5-chloro-2-benzoxazolinone-3-yl)acetyl]-3,5-diphenyl-4,5-dihydro-(1H) -pyrazoles. *Journal of Molecular Structure*, 1039, 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2013.01.066>
- Gordon, J., Myers, J., Folta, T., Shoja, V., Heath, L., & Onufriev, A. (2005). H++: a server for estimating pKas and adding missing hydrogens to macromolecules. *Nucleic Acids Research*, 33, 368–371.
- Green, P. S., Mendez, A. J., Jacob, J. S., Crowley, J. R., Growdon, W., Hyman, B. T., & Heinecke, J. W. (2004). Neuronal expression of myeloperoxidase is increased in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 90(3), 724–733. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02527.x>
- Halgren, T. A. (1996). Merck Molecular Force Field. I. Basis, Form, Scope, Parameterization, and Performance of MMFF94*. *Journal of Computational Chemistry*, 17, 490–519. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(199604\)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P)
- Hamzi, I., Barhoumi-Slimi, T. M., & Abidi, R. (2016a). Synthesis, Characterization, and Conformational Study of Acylhydrazones of α,β -Unsaturated Aldehydes. *Heteroatom Chemistry*, 27(3), 139–148. <https://doi.org/10.1002/hc.21310>
- Hazen, S. L., & Heinecke, J. W. (1997). 3-Chlorotyrosine, a specific marker of myeloperoxidase-catalyzed oxidation, is markedly elevated in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic intima. *Journal of Clinical Investigation*, 99(9), 2075–2081. <https://doi.org/10.1172/JCI119379>

- Hesse, M., Meier, H., & Zeeh, B. (2014). Spectroscopic Methods in Organic Chemistry, 2nd Edition 2007, 450.
- Higgins, F. S., Magliocco, L. G., & Colthup, N. B. (2006). Infrared and Raman Spectroscopy Study of Alkyl Hydroxamic Acid and Alkyl Hydroxamate Isomers. *Applied Spectroscopy*, 60(3), 279–287. <https://doi.org/10.1366/000370206776342517>
- Hosseini, M., Rezvani, H. R., Aroua, N., Bosc, C., Farge, T., Saland, E., ... Sarry, J. E. (2019). Targeting myeloperoxidase disrupts mitochondrial redox balance and overcomes cytarabine resistance in human acute myeloid leukemia. *Cancer Research*, 79(20), 5191–5203. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-0515>
- Hu, C. H., Neissel Valente, M. W., Halpern, O. S., Jusuf, S., Khan, J. A., Locke, G. A., ... Smallheer, J. M. (2021). Small molecule and macrocyclic pyrazole derived inhibitors of myeloperoxidase (MPO). *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 42(January), 128010. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128010>
- Hunter, P. (2012). The inflammation theory of disease. the growing realization that chronic inflammation is crucial in many diseases opens new avenues for treatment. *EMBO Reports*, 13(11), 968–970. <https://doi.org/10.1038/embor.2012.142>
- Jakalian, A., Bush, B. L., Jack, D. B., & Bayly, C. I. (2000). Fast, Efficient Generation of High-Quality Atomic Charges. AM1-BCC Model: I. Method. *Journal of Computational Chemistry*, 21(2), 132–146. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(20000130\)21:2<132::AID-JCC5>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(20000130)21:2<132::AID-JCC5>3.0.CO;2-P)
- Jantschko, W., Furtmüller, P. G., Zederbauer, M., Neugschwandtner, K., Lehner, I., Jakopitsch, C., ... Obinger, C. (2005). Exploitation of the unusual thermodynamic properties of human myeloperoxidase in inhibitor design. *Biochemical Pharmacology*, 69(8), 1149–1157. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.02.006>
- Jorgensen, W. L., Chandrasekhar, J., Madura, J. D., Impey, R. W., & Klein, M. L. (1983). Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *The Journal of Chemical Physics*, 79(2), 926–935. <https://doi.org/10.1063/1.445869>

- Jucaite, A., Svenningsson, P., Rinne, J. O., Cselényi, Z., Varnäs, K., Johnström, P., ... Farde, L. (2015). Effect of the myeloperoxidase inhibitor AZD3241 on microglia: A PET study in Parkinson's disease. *Brain*, 138(9), 2687–2700. <https://doi.org/10.1093/brain/awv184>
- Kaminska, B. (2005). MAPK signalling pathways as molecular targets for anti-inflammatory therapy - From molecular mechanisms to therapeutic benefits. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, 1754(1–2), 253–262. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2005.08.017>
- Kettle, A. J., & Candaeis, L. P. (2000). Oxidation of tryptophan by redox intermediates of myeloperoxidase and inhibition of hypochlorous acid production. *Redox Report*, 5(4), 179–184. <https://doi.org/10.1179/135100000101535726>
- Kettle, A. J., Gedy, C. A., Hampton, M. B., & Winterbourn, C. C. (1995). Inhibition of myeloperoxidase by benzoic acid hydrazides. *Biochemical Journal*, 308(2), 559–563. <https://doi.org/10.1042/bj3080559>
- Kettle, Anthony J., Anderson, R. F., Hampton, M. B., & Winterbourn, C. C. (2007). Reactions of superoxide with myeloperoxidase. *Biochemistry*, 46, 4888–4897.
- Kettle, Anthony J., & Winterbourn, C. C. (1991). Mechanism of inhibition of myeloperoxidase by anti-inflammatory drugs. *Biochemical Pharmacology*, 41(10), 1485–1492. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(91\)90565-M](https://doi.org/10.1016/0006-2952(91)90565-M)
- Kettle, Anthony J, Gedy, C. A., & Winterbourn, C. C. (1997). Mechanism of inactivation of myeloperoxidase by 4-aminobenzoic acid hydrazide. *Biochemical Journal*, 321, 503–508. <https://doi.org/10.1042/bj3210503>
- Kettle, Anthony J, & Winterbourn, C. C. (1988). Superoxide modulates the activity of myeloperoxidase and optimizes the production of hypochlorous acid. *Biochemical Journal*, 252, 529–536.
- Klebanoff, S. J. (2005). Myeloperoxidase: friend and foe. *Journal of Leukocyte Biology*, 77(301), 598–625. <https://doi.org/10.1189/jlb.1204697.1>
- Koeth, R. A., Haselden, V., & Tang, W. H. W. (2013). *Myeloperoxidase in Cardiovascular Disease. Advances in Clinical Chemistry* (1st ed., Vol. 62). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800096-0.00001-9>

- Kumar, D., Judge, V., Narang, R., Sangwan, S., De Clercq, E., Balzarini, J., & Narasimhan, B. (2010). Benzylidene/2-chlorobenzylidene hydrazides: Synthesis, antimicrobial activity, QSAR studies and antiviral evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(7), 2806–2816. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.03.002>
- Kumar T, M., Mohan T, R., Branton, A., Trivedi, D., Nayak, G., Mishra, R. K., & Jana, S. (2015). Biofield Treatment: A Potential Strategy for Modification of Physical and Thermal Properties of Indole. *Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2(4), 2–9. <https://doi.org/10.4172/2380-2391.1000152>
- Kyriakis, J. M., & Avruch, J. (2001). Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiological Reviews*, 81(2), 807–869. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.2.807>
- Lazarevic-Pasti, T., Leskovac, A., & Vasic, V. (2015). Myeloperoxidase Inhibitors as Potential Drugs. *Current Drug Metabolism*, 16(3), 168–190. <https://doi.org/10.2174/138920021603150812120640>
- Li, Y., Ganesh, T., Diebold, B. A., Zhu, Y., McCoy, J. W., Smith, S. M. E., ... Lambeth, J. D. (2015). Thioxo-dihydroquinazolin-one Compounds as Novel Inhibitors of Myeloperoxidase. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 6(10), 1047–1052. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.5b00287>
- Libby, P. (2007). Inflammatory Mechanisms: The Molecular Basis of Inflammation and Disease. *Nutrition Reviews*, 65. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2007.tb00352.x>
- Lin, F., & Wang, R. (2010). Systematic derivation of AMBER force field parameters applicable to zinc-containing systems. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 6(6), 1852–1870. <https://doi.org/10.1021/ct900454q>
- Liu, C., Desikan, R., Ying, Z., Gushchina, L., Kampfrath, T., Deilius, J., ... Rajagopalan, S. (2012). Effects of a Novel Pharmacologic Inhibitor of Myeloperoxidase in a Mouse Atherosclerosis Model. *PLoS ONE*, 7(12), e50767. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050767>
- Liu, L., Shao, Y., Zhang, Y., Yang, Y., Huang, J., Li, L., ... Sun, B. (2021). Neutrophil-derived heparin binding protein triggers vascular leakage and synergizes with myeloperoxidase at the early stage of severe burns (With video). *Burns and Trauma*, 9. <https://doi.org/10.1093/burnst/tkab030>

- Lopresti, A. L., Maker, G. L., Hood, S. D., & Drummond, P. D. (2014). A review of peripheral biomarkers in major depression: The potential of inflammatory and oxidative stress biomarkers. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 48, 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.09.017>
- Maier, J. A., Martinez, C., Kasavajhala, K., Wickstrom, L., Hauser, K. E., & Simmerling, C. (2015). ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 11(8), 3696–3713. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00255>
- Malle, E., Furtmüller, P. G., Sattler, W., & Obinger, C. (2007). Myeloperoxidase: A target for new drug development? *British Journal of Pharmacology*, 152(6), 838–854. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707358>
- Malle, Ernst, Buch, T., & Grone, H.-J. (2003). Myeloperoxidase in chronic kidney disease. *Kidney International*, 64, 1956–1967. <https://doi.org/doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00336.x>
- Malvezzi, A., Queiroz, R. F., De Rezende, L., Augusto, O., & Amaral, A. T. D. (2011). MPO inhibitors selected by virtual screening. *Molecular Informatics*, 30(6–7), 605–613. <https://doi.org/10.1002/minf.201100016>
- Medzhitov, R. (2010). Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. *Cell*, 140(6), 771–776. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.006>
- Meng Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M., X. Y. (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided Drug Design*, 7(2), 146–157. <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cad/2011/00000007/00000002/art00008%0Ahttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
- Miller, B. R., McGee, T. D., Swails, J. M., Homeyer, N., Gohlke, H., & Roitberg, A. E. (2012). MMPBSA.py: An efficient program for end-state free energy calculations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 8(9), 3314–3321. <https://doi.org/10.1021/ct300418h>
- Nakanishi, K., & Solomon, P. A. (1977). *Infrared Absorption Spectroscopy. 2nd Edition*.

- Nasr, T., Bondock, S., & Youns, M. (2014). Anticancer activity of new coumarin substituted hydrazide-hydrazone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 76, 539–548. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.02.026>
- Nastasijević, B., Lazarević-Pašti, T., Dimitrijević-Branković, S., Pašti, I., Vujačić, A., Joksić, G., & Vasić, V. (2012). Inhibition of myeloperoxidase and antioxidative activity of *Gentiana lutea* extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 66, 191–196. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.03.052>
- Nathan, C., & Ding, A. (2010). Nonresolving Inflammation. *Cell*, 140(6), 871–882. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.029>
- Ndrepepa, G. (2019). Myeloperoxidase – A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta*, 493(January), 36–51. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.02.022>
- Netea, M. G., Balkwill, F., Chonchol, M., Cominelli, F., Marc, Y., Giamarellos-bourboulis, E. J., ... Mandrup-poulsen, T. (2017). A guiding map for inflammation. *Nat Immunol*, 18(8), 826–831. <https://doi.org/10.1038/ni.3790>
- Nève, J., Parij, N., & Moguilevsky, N. (2001). Inhibition of the myeloperoxidase chlorinating activity by non-steroidal anti-inflammatory drugs investigated with a human recombinant enzyme. *European Journal of Pharmacology*, 417(1–2), 37–43. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(01\)00895-0](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(01)00895-0)
- Nicholls, S. J., & Hazen, S. L. (2005). Myeloperoxidase and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 25(6), 1102–1111. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000163262.83456.6d>
- Nugumanova, G. N., Tagasheva, R. G., Bukharov, S. V., Krivolapov, D. B., Litvinov, I. A., Syakaev, V. V., ... Burilov, A. R. (2009). Isatin acylhydrazones with sterically hindered phenolic fragments: Synthesis and structures. *Russian Chemical Bulletin*, 58(9), 1934–1938. <https://doi.org/10.1007/s11172-009-0264-3>
- Önkol, T., Gökçe, M., Tosun, A. U., Polat, S., Serin, M. S., & Tezcan, S. (2008). Microwave synthesis and antimicrobial evaluation of 5-chloro-2(3H)-benzoxazolinone-3-acetyl-2-(p-substituted benzal)hydrazone and 5-chloro-2(3H)-benzoxazolinone-3-acetyl-2-(p-substituted acetophenone)hydrazone derivatives. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(3), 155–166.

- Palla, G., Predieri, G., Domiano, P., Vignali, C., & Turner, W. (1986). Conformational behaviour and E/Z isomerization of N-acyl and N-aroylehydrazones. *Tetrahedron*, 42(13), 3649–3654. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)87332-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)87332-4)
- Podrez, E. A., Abu-Soud, H. M., & Hazen, S. L. (2000). Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(12), 1717–1725. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00229-X](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00229-X)
- Podyachev, S. N., Burmakina, N. E., Syakaev, V. V., Sudakova, S. N., Shagidullin, R. R., & Konovalov, A. I. (2009). Synthesis, IR and NMR characterization and ion extraction properties of tetranonylcalix[4]resorcinol bearing acetylhydrazone groups. *Tetrahedron*, 65(1), 408–417. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.10.008>
- Pravalika, K., Sarmah, D., Kaur, H., Wanve, M., Saraf, J., Kalia, K., ... Bhattacharya, P. (2018). Myeloperoxidase and Neurological Disorder: A Crosstalk. *ACS Chemical Neuroscience*, 9(3), 421–430. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.7b00462>
- Ramachandra, C. J. A., Ja, K. P. M. M., Chua, J., Cong, S., Shim, W., & Hausenloy, D. J. (2020). Myeloperoxidase As a Multifaceted Target for Cardiovascular Protection. *Antioxidants and Redox Signaling*, 32(15), 1135–1149. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7971>
- Ray, R. S., & Katyal, A. (2016). Myeloperoxidase: Bridging the gap in neurodegeneration. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 68, 611–620. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.06.031>
- Řeřicha, R., Blechta, V., Soukupová, L., Císařová, I., Podlaha, J., & Schraml, J. (2005). On interpretation of a missing spectral band; IR spectra of acidic salts of benzohydroxamic acid. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 61(8), 1899–1903. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2004.07.020>
- Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, 49(11), 1603–1616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>
- Roe, D. R., & Cheatham, T. E. (2013). PTRAJ and CPPTRAJ: Software for processing and analysis of molecular dynamics trajectory data. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 9(7), 3084–3095. <https://doi.org/10.1021/ct400341p>

- Roth, A., Ott, S., Farber, K. M., Palazzo, T. A., Conrad, W. E., Haddadin, M. J., ... Kurth, M. J. (2014). Inhibition of myeloperoxidase: Evaluation of 2H-indazoles and 1H-indazolones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 22, 6422–6429. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.09.044>
- Ruggeri, R. B., Buckbinder, L., Bagley, S. W., Carpino, P. A., Conn, E. L., Dowling, M. S., ... Kalgutkar, A. S. (2015). Discovery of 2-(6-(5-Chloro-2-methoxyphenyl)-4-oxo-2-thioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)acetamide (PF-06282999): A Highly Selective Mechanism-Based Myeloperoxidase Inhibitor for the Treatment of Cardiovascular Diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(21), 8513–8528. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00963>
- Ryckaert, J. P., Ciccotti, G., & Berendsen, H. J. C. (1977). Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *Journal of Computational Physics*, 23(3), 327–341. [https://doi.org/10.1016/0021-9991\(77\)90098-5](https://doi.org/10.1016/0021-9991(77)90098-5)
- Safakish, M., Hajimahdi, Z., Zabihollahi, R., Aghasadeghi, M. R., Vahabpour, R., & Zarghi, A. (2017). Design, synthesis, and docking studies of new 2-benzoxazolinone derivatives as anti-HIV-1 agents. *Medicinal Chemistry Research*, 26(11), 2718–2726. <https://doi.org/10.1007/s00044-017-1969-8>
- Şahin, Z. S., Salgin-Gökşen, U., Gökhan-Kelekçi, N., & Işık, Ş. (2011). Synthesis, crystal structures and DFT studies of 1-[2-(5-methyl-2-benzoxazolinone-3-yl)acetyl]-3-phenyl-5-(3,4-dimethoxyphenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole and 1-[2-(5-chloro-2-benzoxazolinone-3-yl)acetyl]-3-phenyl-5-(4-methoxyphenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole. *Journal of Molecular Structure*, 1006(1–3), 147–158. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2011.08.061>
- Salgin-Goksen, U., Telli, G., Erikci, A., Dedecengiz, E., Tel, B. C., Kaynak, F. B., ... Gokhan-Kelekci, N. (2021). New 2-Pyrazoline and Hydrazone Derivatives as Potent and Selective Monoamine Oxidase A Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(4), 1989–2009. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01504>
- Salgin-Gökşen, U., Yabanoğlu-Çiftçi, S., Ercan, A., Yelekçi, K., Uçar, G., & Gökhan-Kelekçi, N. (2013). Evaluation of selective human MAO inhibitory activities of some novel pyrazoline derivatives. *Journal of Neural Transmission*, 120(6), 863–873. <https://doi.org/10.1007/s00702-013-0980-6>

- Seminario, J. M. (1996). Calculation of intramolecular force fields from second-derivative tensors. *International Journal of Quantum Chemistry*, 60(7), 1271–1277. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-461X\(1996\)60:7<1271::AID-QUA8>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-461X(1996)60:7<1271::AID-QUA8>3.0.CO;2-W)
- Shiba, Y., Kinoshita, T., Chuman, H., Taketani, Y., Takeda, E., Kato, Y., ... Kawai, Y. (2008). Flavonoids as substrates and inhibitors of myeloperoxidase: Molecular actions of aglycone and metabolites. *Chemical Research in Toxicology*, 21(8), 1600–1609. <https://doi.org/10.1021/tx8000835>
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., Kiemle, D. J., & Bryce, D. L. (2014). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 8th Edition, 2014.
- Singh, I., & Kumar, A. (2015). Synthesis of thiazolidinone and azetidinone derivatives of benzoxazolinone as antimicrobial agents. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2), 850–856. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6\(2\).850-56](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6(2).850-56)
- Soubhye, J., Aldib, I., Delporte, C., Prevost, M., Dufrasne, F., & Antwerpen, P. Van. (2016). Myeloperoxidase as a Target for the Treatment of Inflammatory Syndromes: Mechanisms and Structure Activity Relationships of Inhibitors. *Current Medicinal Chemistry*, 23(35), 3975–4008. <https://doi.org/10.2174/0929867323666160607111806>
- Soubhye, J., Aldib, I., Elfving, B., Gelbcke, M., Furtmüller, P. G., Podrecca, M., ... Van Antwerpen, P. (2013). Design, Synthesis, and Structure – Activity Relationship Studies of Novel 3 - Alkylindole Derivatives as Selective and Highly Potent Myeloperoxidase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(April 2013), 3943–3958.
- Soubhye, J., Aldib, I., Prévost, M., Elfving, B., Gelbcke, M., Podrecca, M., ... Dufrasne, F. (2014). Hybrid molecules inhibiting myeloperoxidase activity and serotonin reuptake: A possible new approach of major depressive disorders with inflammatory syndrome. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66(8), 1122–1132. <https://doi.org/10.1111/jphp.12236>

- Soubhye, J., Gelbcke, M., Van Antwerpen, P., Dufrasne, F., Boufadi, M. Y., Nève, J., ... Meyer, F. (2017). From Dynamic Combinatorial Chemistry to in Vivo Evaluation of Reversible and Irreversible Myeloperoxidase Inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 8(2), 206–210. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.6b00417>
- Soubhye, J., Meyer, F., Furtmüller, P., Obinger, C., Dufrasne, F., & Antwerpen, P. Van. (2016). Characterization of chemical features of potent myeloperoxidase inhibitors. *Future Medicinal Chemistry*, 8(11), 1163–1177. <https://doi.org/10.4155/fmc-2016-0031>
- Soyer, Z., Bas, M., Pabuccuoglu, A., & Pabuccuoglu, V. (2005). Synthesis of some 2(3H)-benzoxazolone derivatives and their in-vitro effects on human leukocyte myeloperoxidase activity. *Archiv Der Pharmazie*, 338(9), 405–410. <https://doi.org/10.1002/ardp.200500106>
- Srikanth, L., Naik, U., Jadhav, R., Raghunandan, N., Rao, J. V., & Manohar, K. R. (2010). Synthesis and evaluation of new phenylamino-thiadiazolo-oxadiazolo-1,3-benzoxazolones for their antifungal and anti-inflammatory activity. *Der Pharma Chemica*, 2(4), 231–243.
- Syakaev, V. V., Podyachev, S. N., Buzykin, B. I., Latypov, S. K., Habicher, W. D., & Konovalov, A. I. (2006). NMR study of conformation and isomerization of aryl- and heteroarylaldehyde 4-tert-butylphenoxyacetylhydrazones. *Journal of Molecular Structure*, 788(1–3), 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2005.11.018>
- Tian, C., Kasavajhala, K., Belfon, K. A. A., Raguette, L., Huang, H., Miguez, A. N., ... Simmerling, C. (2020). Ff19SB: Amino-Acid-Specific Protein Backbone Parameters Trained against Quantum Mechanics Energy Surfaces in Solution. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 16(1), 528–552. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.9b00591>
- Tiden, A. K., Sjögren, T., Svensson, M., Bernlind, A., Senthilmohan, R., Auchère, F., ... Kettle, A. J. (2011). 2-Thioxanthines are mechanism-based inactivators of myeloperoxidase that block oxidative stress during inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, 286(43), 37578–37589. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.266981>

- Tsatsaroni, A., Zoidis, G., Zoumpoulakis, P., Tsotinis, A., Taylor, M. C., Kelly, J. M., & Fytas, G. (2013). An E/Z conformational behaviour study on the trypanocidal action of lipophilic spiro carbocyclic 2,6-diketopiperazine-1-acetohydroxamic acids. *Tetrahedron Letters*, 54(25), 3238–3240. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.03.128>
- Turner, M. D., Nedjai, B., Hurst, T., & Pennington, D. J. (2014). Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1843(11), 2563–2582. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2014.05.014>
- Valadez-Cosmes, P., Raftopoulou, S., Mihalic, Z. N., Marsche, G., & Kargl, J. (2022). Myeloperoxidase: Growing importance in cancer pathogenesis and potential drug target. *Pharmacology and Therapeutics*, 236. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.108052>
- Van Antwerpen, P., Dufrasne, F., Lequeux, M., Boudjeltia, K. Z., Lessgyer, I., Babar, S., ... Nève, J. (2007). Inhibition of the myeloperoxidase chlorinating activity by non-steroidal anti-inflammatory drugs: Flufenamic acid and its 5-chloro-derivative directly interact with a recombinant human myeloperoxidase to inhibit the synthesis of hypochlorous acid. *European Journal of Pharmacology*, 570(1–3), 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.05.057>
- Van Antwerpen, P., Prévost, M., Zouaoui-Boudjeltia, K., Babar, S., Legssyer, I., Moreau, P., ... Dufrasne, F. (2008). Conception of myeloperoxidase inhibitors derived from flufenamic acid by computational docking and structure modification. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16(4), 1702–1720. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.11.025>
- Van Antwerpen, P., & Zouaoui Boudjeltia, K. (2015). Rational drug design applied to myeloperoxidase inhibition. *Free Radical Research*, 49(6), 711–720. <https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1027201>
- Van Dalen, C. J., Whitehouse, M. W., Winterbourn, C. C., & Kettle, A. J. (1997). Thiocyanate and chloride as competing substrates for myeloperoxidase. *Biochemical Journal*, 327(2), 487–492. <https://doi.org/10.1042/bj3270487>
- Van Dijken, D. J., Kovaříček, P., Ihrig, S. P., & Hecht, S. (2015). Acylhydrazones as Widely Tunable Photoswitches. *Journal of the American Chemical Society*, 137(47), 14982–14991. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b09519>

- Verma, P., Gupta, S., & Yadav, V. S. (2015). Catalyst-free and facile green synthesis of some novel oxazepine derivatives. *Der Chemica Sinica*, 6(5), 86–89. <http://pelagiaresearchlibrary.com/der-chemica-sinica/vol6-iss5/DCS-2015-6-5-86-89.pdf>
- Viola, H., Chang, J., Grunwell, J. R., Hecker, L., Tirouvanziam, R., Grotberg, J. B., & Takayama, S. (2019). Microphysiological systems modeling acute respiratory distress syndrome that capture mechanical force-induced injury-inflammation-repair. *APL Bioengineering*, 3(4). <https://doi.org/10.1063/1.5111549>
- Wang, J., Wolf, R. M., Caldwell, J. W., Kollman, P. A., & Case, D. A. (2004). Development and Testing of a General Amber Force Field. *Journal of Computational Chemistry*, 25(9), 1157–1174.
- Ward, J., Spath, S. N., Pabst, B., Carpino, P. A., Ruggeri, R. B., Xing, G., ... Ahn, K. (2013). Mechanistic characterization of a 2-thioxanthine myeloperoxidase inhibitor and selectivity assessment utilizing click chemistry-activity-based protein profiling. *Biochemistry*, 52(51), 9187–9201. <https://doi.org/10.1021/bi401354d>
- Winterbourn, C. C., & Kettle, A. J. (2004). Reactions of superoxide with myeloperoxidase and its products. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 57(5), 31–33.
- Wurtz, N. R., Viet, A., Shaw, S. A., Dilger, A., Valente, M. N., Khan, J. A., ... Kick, E. K. (2018). Potent Triazolopyridine Myeloperoxidase Inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 9(12), 1175–1180. rapid-communication. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.8b00308>
- Zamocky, M., Jakopitsch, C., Furtmüller, P. G., Dunand, C., & Obinger, C. (2008). The peroxidase-cyclooxygenase superfamily: Reconstructed evolution of critical enzymes of the innate immune system. *Proteins*, 72(2), 589–605. <https://doi.org/10.1002/prot.21950>
- Zeraik, M. L., Ximenes, V. F., Regasini, L. O., Dutra, L. A., Silva, D. H. S., Fonseca, L. M., ... Bolzani, V. S. (2012). 4'-Aminochalcones As Novel Inhibitors of the Chlorinating Activity of Myeloperoxidase. *Current Medicinal Chemistry*, 19(31), 5405–5413. <https://doi.org/10.2174/092986712803833344>
- Zhang, & An, J. (2007). Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesthesiol Clin*, 45(2), 27–37. <https://doi.org/10.1097/AIA.0b013e318034194e>

Teşekkür

Hem doktora eğitimim hem de bu tezin yazımı sırasında değerli bilgi ve katkılarını sabır ve hoşgörüsüyle paylaşarak yoluma ışık tutan, en zor anımda bile devam edebileceğimi görebilmem için bana hep destek olan çok değerli danışman hocam **Sayın Prof. Dr. M. Varol PABUÇÇUOĞLU'na,**

Değerli yardım ve destekleriyle doktora sürecime sağladıkları katkılardan dolayı **Sayın Prof. Dr. Zeynep SOYER ve Sayın Prof. Dr. Aysun PABUÇÇUOĞLU'na,**

Tezimin biyolojik aktivite değerlendirmeleri için özveriyle çalışan **Sayın Dr. Öğr. Üyesi Fadime AYDIN KÖSE'ye,**

Moleküler modelleme çalışmalarının gerçekleştirilmesindeki emeklerinden dolayı **Sayın Dr. Öğr. Üyesi Güneş ÇOBAN'a,**

IR, kütle spektroskopileri ve elementel analizlerin gerçekleştirilmesi için sağladıkları desteklerden dolayı **E.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Bilimler Araştırma Laboratuvarı FABAL'a,**

NMR spektrumlarının alınmasında **E.Ü. NMR EBİLTEM Uydu Laboratuvarı'na, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'na ve İYTE Kimya Bölümü NMR Laboratuvarı'na,**

Doktora sürecim boyunca sevgi ve desteklerini her zaman hissettiğim **sayın hocalarım ve sevgili çalışma arkadaşlarıma,**

Geçtiğimiz tüm bu yıllar içinde güzel günlerimde mutluluğuma mutluluk katan, kötü günlerimde destekleriyle beni düştüğüm yerden kaldıran sevgili arkadaşlarım **Gülşah BAYRAKTAR, Merve SAYLAM ve Şirin UYSAL'a,**

Yapmak istediğim her şeyde, gitmek istediğim her yolda bana hep destek olan, varlıklarıyla güç bulduğum **canım annem ve canım babama** en içten sevgi, saygı ve minnetlerimi sunar, sonsuz teşekkür ederim.

İzmir, 22.07.2022

İrem TATAR

Bu tez, E.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje No:17/ECZ/015) ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) (Proje No:319S004) tarafından desteklenmiştir.

Özgeçmiş

Lisans eğitimime Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde 2009 yılında başladım. 2013 yılında Erasmus Staj Hareketliliği kapsamında 3 ay süre ile Roma Sapienza Üniversitesi'nde bulundum. 2014 yılı haziran ayında lisans eğitimimden mezun oldum. Aynı yılın eylül ayında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Anabilim Dalı doktora programına kayıtlandım. Halen Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.





T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**BİR GRUP HETEROSİKLİK BİLEŞİĞİN
HİDRAZİT VE HİDROKSAMİK ASİT
TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ekler

Doktora Tezi

Ecz. İrem TATAR

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

İzmir
2022

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**BİR GRUP HETEROSİKLİK BİLEŞİĞİN
HİDRAZİT VE HİDROKSAMİK ASİT
TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ekler

Ecz. İrem TATAR

Danışman
Prof. Dr. M. Varol PABUÇÇUOĞLU

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Doktora Programı

İzmir
2022

Spektrumlar Dizini

Spektrum 1. B1 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	1
Spektrum 2. B1 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	1
Spektrum 3. B1 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	2
Spektrum 4. B1 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	2
Spektrum 5. B2 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	3
Spektrum 6. B2 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	3
Spektrum 7. B2 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	4
Spektrum 8. B2 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	4
Spektrum 9. B2 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	5
Spektrum 10. B3 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	6
Spektrum 11. B3 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	6
Spektrum 12. B3 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (CDCl_3 ve DMSO- d_6) Spektrumu.....	7
Spektrum 13. B3 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	7
Spektrum 14. B4 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	8
Spektrum 15. B4 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	8
Spektrum 16. B4 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	9
Spektrum 17. B4 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (CDCl_3 ve DMSO- d_6) Spektrumu.....	9
Spektrum 18. B4 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu..	10
Spektrum 19. B4 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3 ve DMSO- d_6) Spektrumu	10
Spektrum 20. B4 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	11
Spektrum 21. B5 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	12
Spektrum 22. B5 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	12
Spektrum 23. B5 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	13
Spektrum 24. B5 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	13
Spektrum 25. B6 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	14
Spektrum 26. B6 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	14
Spektrum 27. B6 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	15
Spektrum 28. B6 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu..	15
Spektrum 29. B6 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	16
Spektrum 30. B7 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	17
Spektrum 31. B7 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	17

Spektrum 32. B7 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	18
Spektrum 33. B7 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu..	18
Spektrum 34. B7 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	19
Spektrum 35. B8 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	20
Spektrum 36. B8 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	20
Spektrum 37. B8 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	21
Spektrum 38. B8 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu..	21
Spektrum 39. B8 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	22
Spektrum 40. B9 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	23
Spektrum 41. B9 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	23
Spektrum 42. B9 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	24
Spektrum 43. B9 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu..	24
Spektrum 44. B9 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	25
Spektrum 45. B10 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	26
Spektrum 46. B10 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	26
Spektrum 47. B10 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	27
Spektrum 48. B10 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	27
Spektrum 49. B10 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	28
Spektrum 50. B11 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	29
Spektrum 51. B11 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	29
Spektrum 52. B11 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	30
Spektrum 53. B11 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	30
Spektrum 54. B11 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	31
Spektrum 55. B12 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	32
Spektrum 56. B12 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	32
Spektrum 57. B12 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	33
Spektrum 58. B12 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	33
Spektrum 59. B12 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	34
Spektrum 60. B13 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	35
Spektrum 61. B13 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	35
Spektrum 62. B13 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	36
Spektrum 63. B13 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	36
Spektrum 64. B13 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	37

Spektrum 65. B14 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	38
Spektrum 66. B14 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	38
Spektrum 67. B14 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	39
Spektrum 68. B14 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	39
Spektrum 69. B14 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	40
Spektrum 70. B15 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	41
Spektrum 71. B15 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	41
Spektrum 72. B15 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	42
Spektrum 73. B15 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu.....	42
Spektrum 74. B15 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	43
Spektrum 75. B15 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu	43
Spektrum 76. B15 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	44
Spektrum 77. B16 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	45
Spektrum 78. B16 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	45
Spektrum 79. B16 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	46
Spektrum 80. B16 Kodlu Bileşimin 50°C Sıcaklıktaki ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	46
Spektrum 81. B16 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	47
Spektrum 82. B16 Kodlu Bileşimin 50°C Sıcaklıktaki Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	47
Spektrum 83. B16 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	48
Spektrum 84. B17 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	49
Spektrum 85. B17 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	49
Spektrum 86. B17 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	50
Spektrum 87. B17 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	50
Spektrum 88. B17 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	51
Spektrum 89. B18 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	52
Spektrum 90. B18 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	52
Spektrum 91. B18 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	53
Spektrum 92. B18 Kodlu Bileşimin 50°C Sıcaklıktaki ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	53
Spektrum 93. B18 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	54

Spektrum 94. B18 Kodlu Bileşiğın 50°C Sıcaklıktaki Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	54
Spektrum 95. B18 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	55
Spektrum 96. B19 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	56
Spektrum 97. B19 Kodlu Bileşiğın Kütle Spektrumu.....	56
Spektrum 98. B19 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	57
Spektrum 99. B19 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	57
Spektrum 100. B19 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	58
Spektrum 101. B20 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	59
Spektrum 102. B20 Kodlu Bileşiğın Kütle Spektrumu.....	59
Spektrum 103. B20 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	60
Spektrum 104. B20 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	60
Spektrum 105. B20 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	61
Spektrum 106. B21 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	62
Spektrum 107. B21 Kodlu Bileşiğın Kütle Spektrumu.....	62
Spektrum 108. B21 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	63
Spektrum 109. B21 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	63
Spektrum 110. B21 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	64
Spektrum 111. B22 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	65
Spektrum 112. B22 Kodlu Bileşiğın Kütle Spektrumu.....	65
Spektrum 113. B22 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	66
Spektrum 114. B22 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	66
Spektrum 115. B22 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	67
Spektrum 116. B23 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	68
Spektrum 117. B23 Kodlu Bileşiğın Kütle Spektrumu.....	68
Spektrum 118. B23 Kodlu Bileşiğın Oda Sıcaklığındaki ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	69
Spektrum 119. B23 Kodlu Bileşiğın 50°C Sıcaklıktaki ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	69

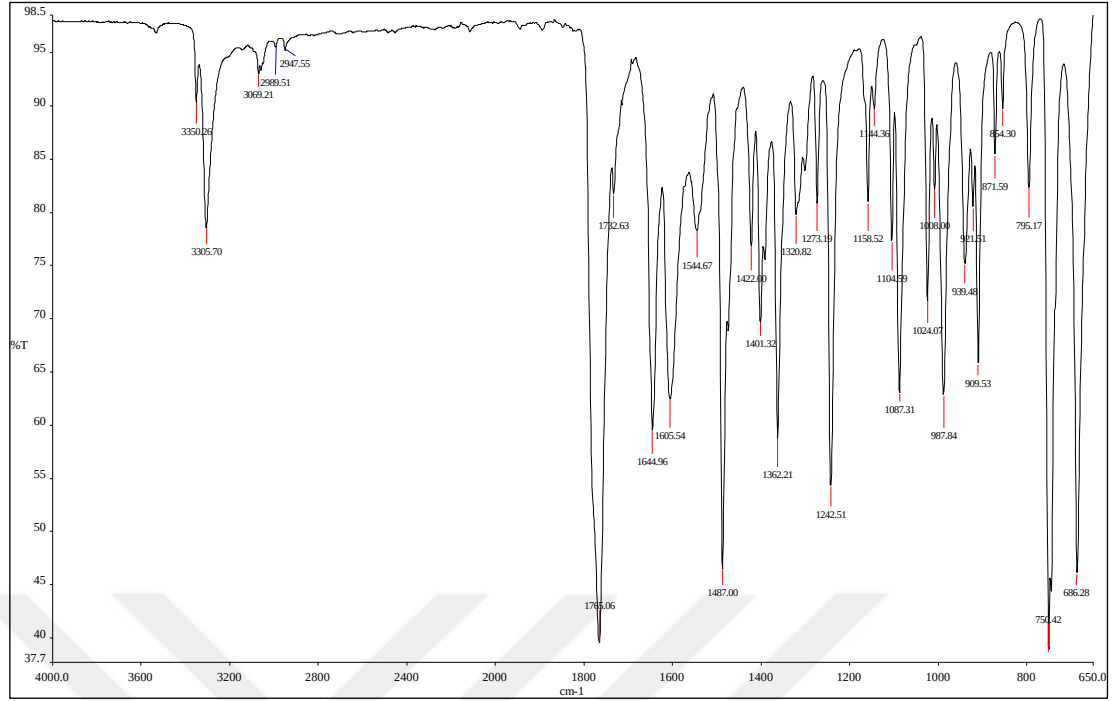
Spektrum 120. B23 Kodlu Bileşğin Oda Sıcaklığındaki Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	70
Spektrum 121. B23 Kodlu Bileşğin 50°C Sıcaklıktaki Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	70
Spektrum 122. B23 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	71
Spektrum 123. B24 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	72
Spektrum 124. B24 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	72
Spektrum 125. B24 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	73
Spektrum 126. B24 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	73
Spektrum 127. B24 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	74
Spektrum 128. B25 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	75
Spektrum 129. B25 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	75
Spektrum 130. B25 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	76
Spektrum 131. B25 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	76
Spektrum 132. B25 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	77
Spektrum 133. C1 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	78
Spektrum 134. C1 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	78
Spektrum 135. C1 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	79
Spektrum 136. C1 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	79
Spektrum 137. C1 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	80
Spektrum 138. C2 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	81
Spektrum 139. C2 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	81
Spektrum 140. C2 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	82
Spektrum 141. C2 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	82
Spektrum 142. C2 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	83
Spektrum 143. C3 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	84
Spektrum 144. C3 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	84
Spektrum 145. C3 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	85
Spektrum 146. C3 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	85
Spektrum 147. C3 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	86
Spektrum 148. C4 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	87

Spektrum 149. C4 Kodlu Bileşiğın K�t�le Spektrumu.....	87
Spektrum 150. C4 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	88
Spektrum 151. C4 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu.....	88
Spektrum 152. C4 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	89
Spektrum 153. C4 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu	89
Spektrum 154. C4 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	90
Spektrum 155. C5 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	91
Spektrum 156. C5 Kodlu Bileşiğın K�t�le Spektrumu.....	91
Spektrum 157. C5 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	92
Spektrum 158. C5 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	92
Spektrum 159. C5 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	93
Spektrum 160. C6 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	94
Spektrum 161. C6 Kodlu Bileşiğın K�t�le Spektrumu.....	94
Spektrum 162. C6 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	95
Spektrum 163. C6 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu.....	95
Spektrum 164. C6 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	96
Spektrum 165. C6 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu	96
Spektrum 166. C6 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	97
Spektrum 167. C7 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	98
Spektrum 168. C7 Kodlu Bileşiğın K�t�le Spektrumu.....	98
Spektrum 169. C7 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	99
Spektrum 170. C7 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	99
Spektrum 171. C7 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	100
Spektrum 172. C8 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	101
Spektrum 173. C8 Kodlu Bileşiğın K�t�le Spektrumu.....	101
Spektrum 174. C8 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	102
Spektrum 175. C8 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu.....	102
Spektrum 176. C8 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	103
Spektrum 177. C8 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu ...	103
Spektrum 178. C8 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	104
Spektrum 179. C9 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	105
Spektrum 180. C9 Kodlu Bileşiğın K�t�le Spektrumu.....	105

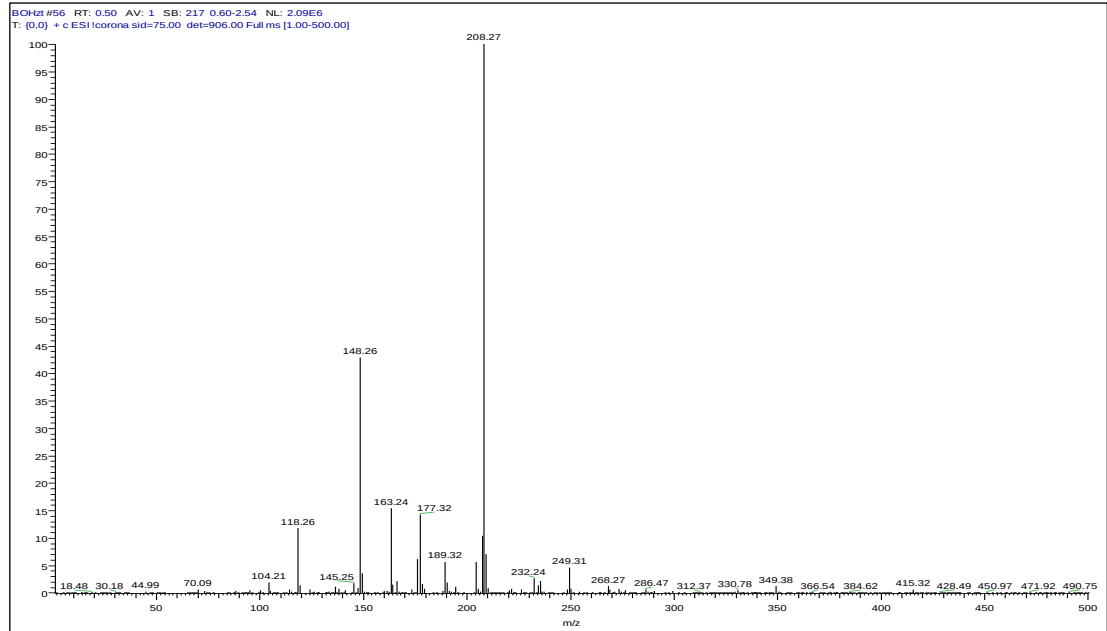
Spektrum 181. C9 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	106
Spektrum 182. C9 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	106
Spektrum 183. C9 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	107
Spektrum 184. C10 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	108
Spektrum 185. C10 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	108
Spektrum 186. C10 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	109
Spektrum 187. C10 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	109
Spektrum 188. C10 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	110
Spektrum 189. C11 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	111
Spektrum 190. C11 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	111
Spektrum 191. C11 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	112
Spektrum 192. C11 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	112
Spektrum 193. C11 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	113
Spektrum 194. C12 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	114
Spektrum 195. C12 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	114
Spektrum 196. C12 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	115
Spektrum 197. C12 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	115
Spektrum 198. C12 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	116
Spektrum 199. C13 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	117
Spektrum 200. C13 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	117
Spektrum 201. C13 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	118
Spektrum 202. C13 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	118
Spektrum 203. C13 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	119
Spektrum 204. C15 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	120
Spektrum 205. C15 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	120
Spektrum 206. C15 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	121
Spektrum 207. C15 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	121

Spektrum 208. C15 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	122
Spektrum 209. C16 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	123
Spektrum 210. C16 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	123
Spektrum 211. C16 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	124
Spektrum 212. C16 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	124
Spektrum 213. C16 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	125
Spektrum 214. C18 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	126
Spektrum 215. C18 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	126
Spektrum 216. C18 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	127
Spektrum 217. C18 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	127
Spektrum 218. C18 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	128
Spektrum 219. C21 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	129
Spektrum 220. C21 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	129
Spektrum 221. C21 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	130
Spektrum 222. C21 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu.....	130
Spektrum 223. C21 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	131
Spektrum 224. C21 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu .	131
Spektrum 225. C21 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	132
Spektrum 226. C21 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu .	132
Spektrum 227. C21 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	133
Spektrum 228. C22 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	134
Spektrum 229. C22 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	134
Spektrum 230. C22 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	135
Spektrum 231. C22 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	135
Spektrum 232. C22 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	136
Spektrum 233. C22 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	136
Spektrum 234. C23 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	137

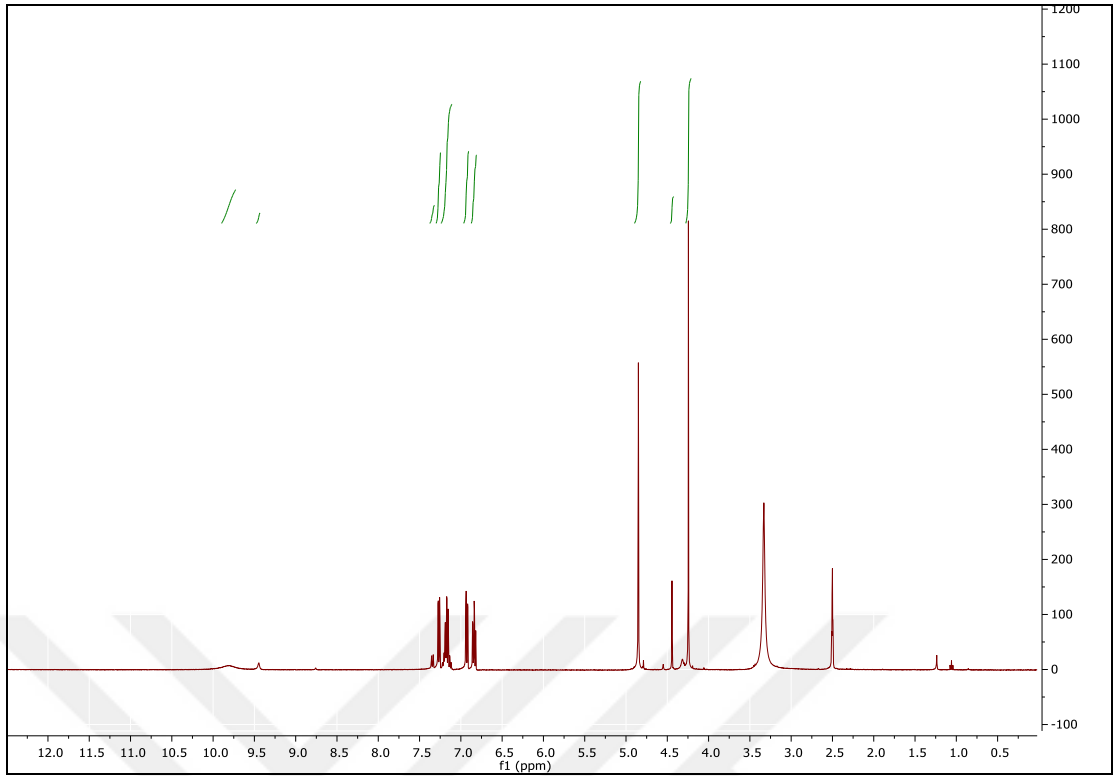
Spektrum 235. C23 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	137
Spektrum 236. C23 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	138
Spektrum 237. C23 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	138
Spektrum 238. C23 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	139
Spektrum 239. C23 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	139
Spektrum 240. C24 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	140
Spektrum 241. C24 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	140
Spektrum 242. C24 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	141
Spektrum 243. C24 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	141
Spektrum 244. C24 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	142



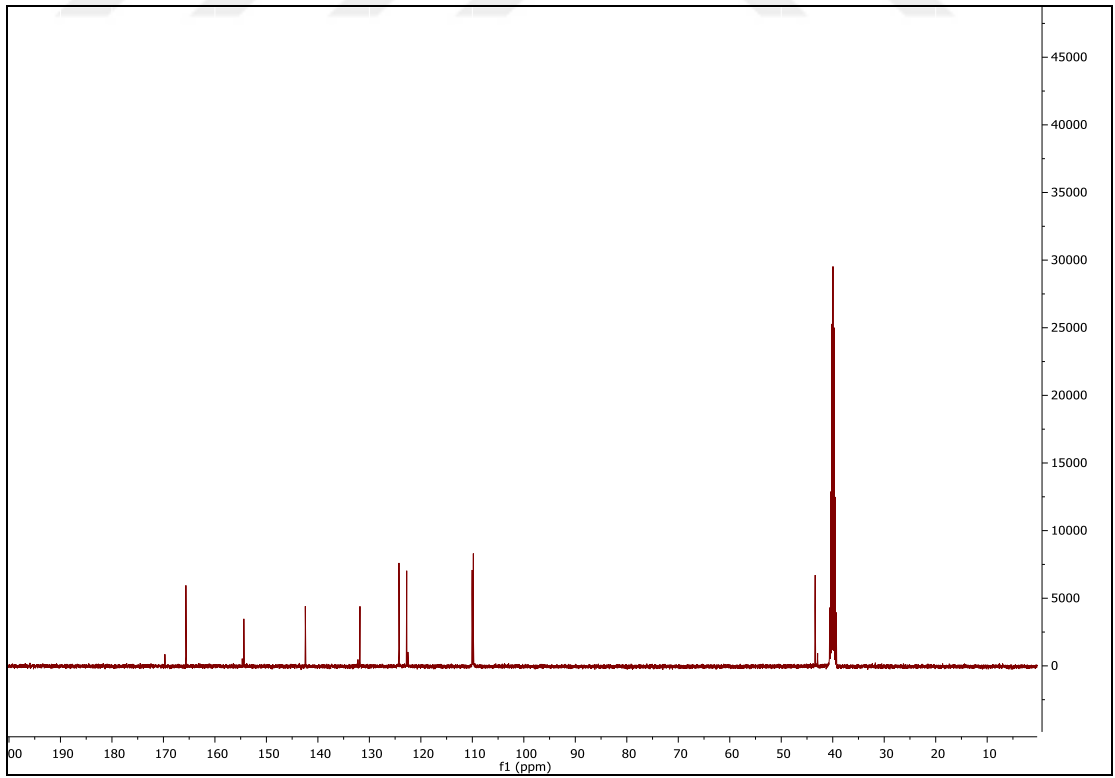
Spektrum 1. B1 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



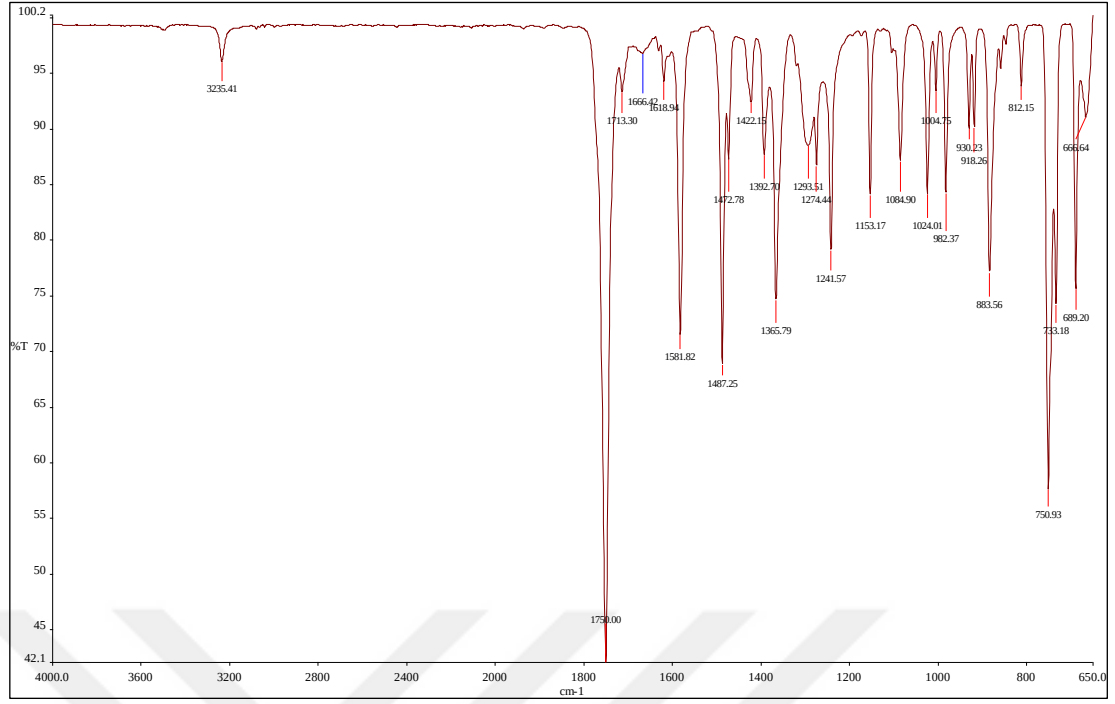
Spektrum 2. B1 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



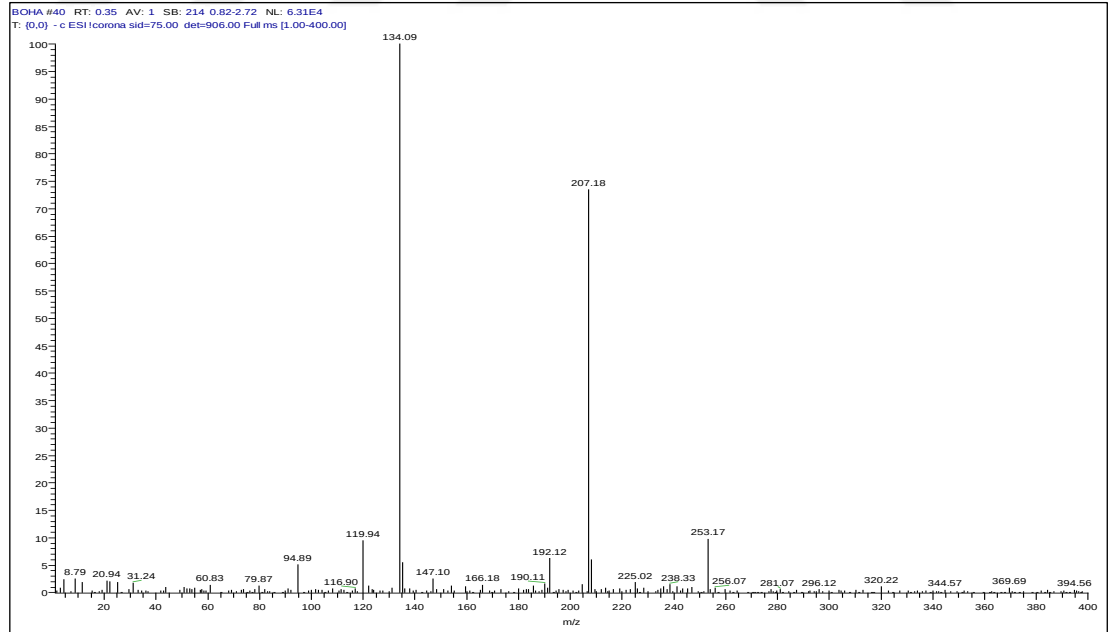
Spektrum 3. B1 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu



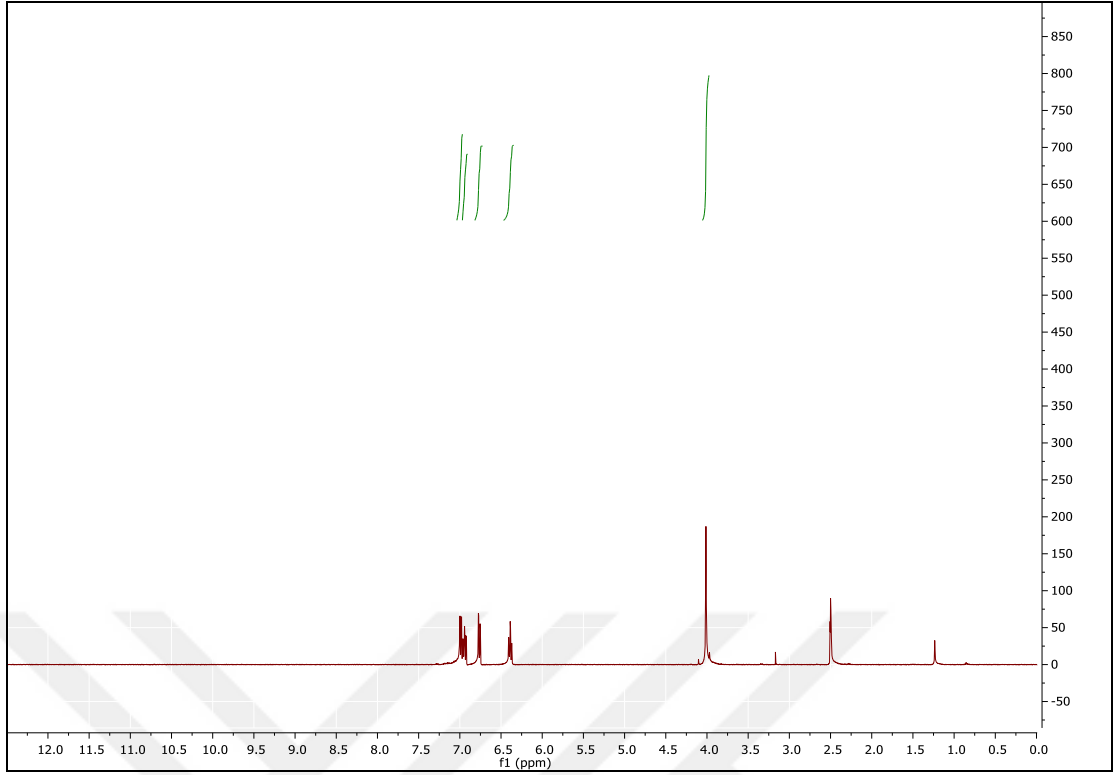
Spektrum 4. B1 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu



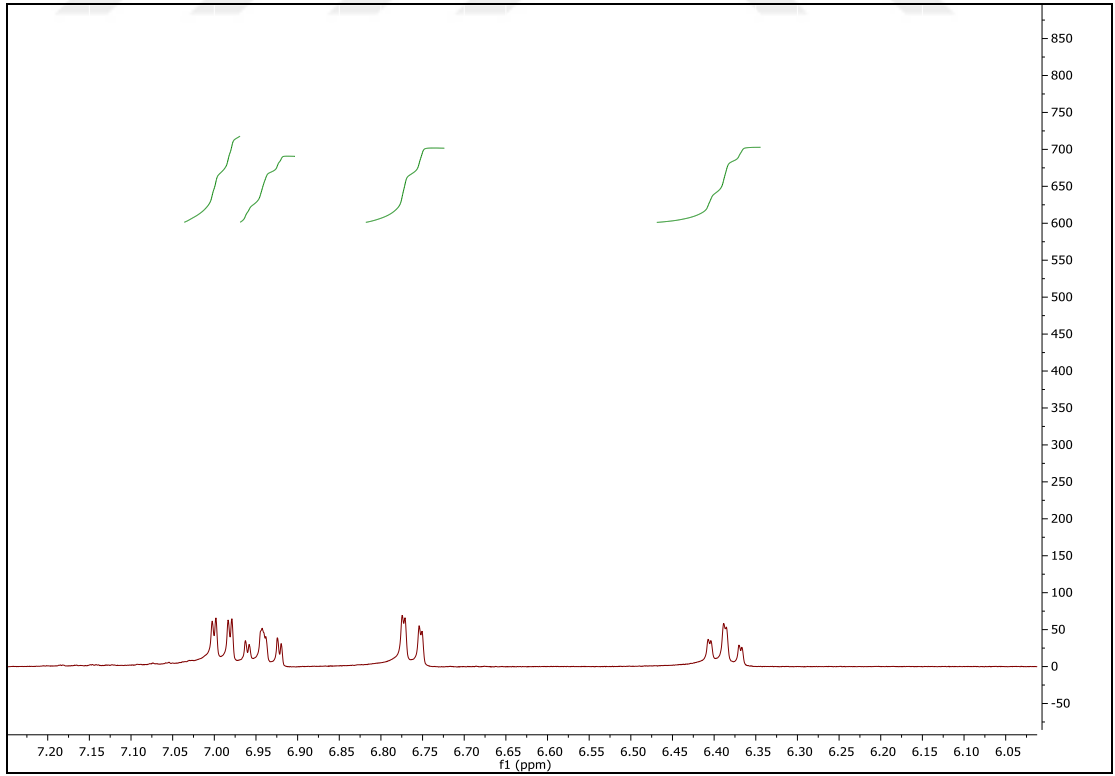
Spektrum 5. B2 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



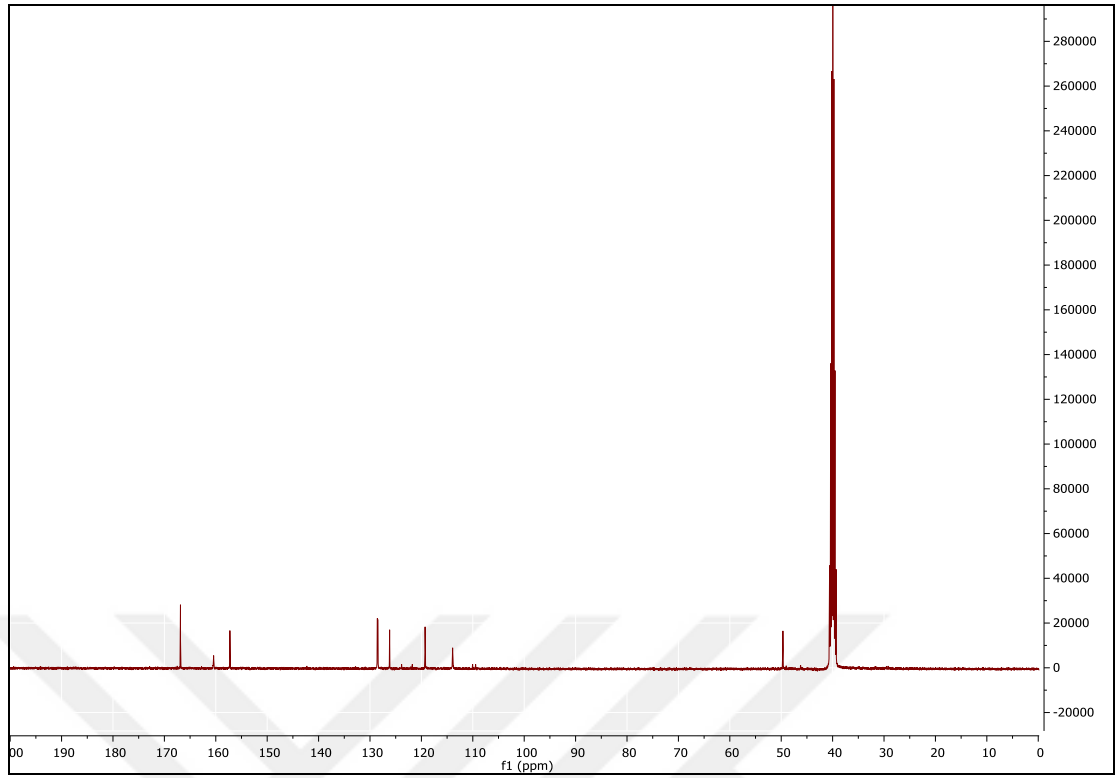
Spektrum 6. B2 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



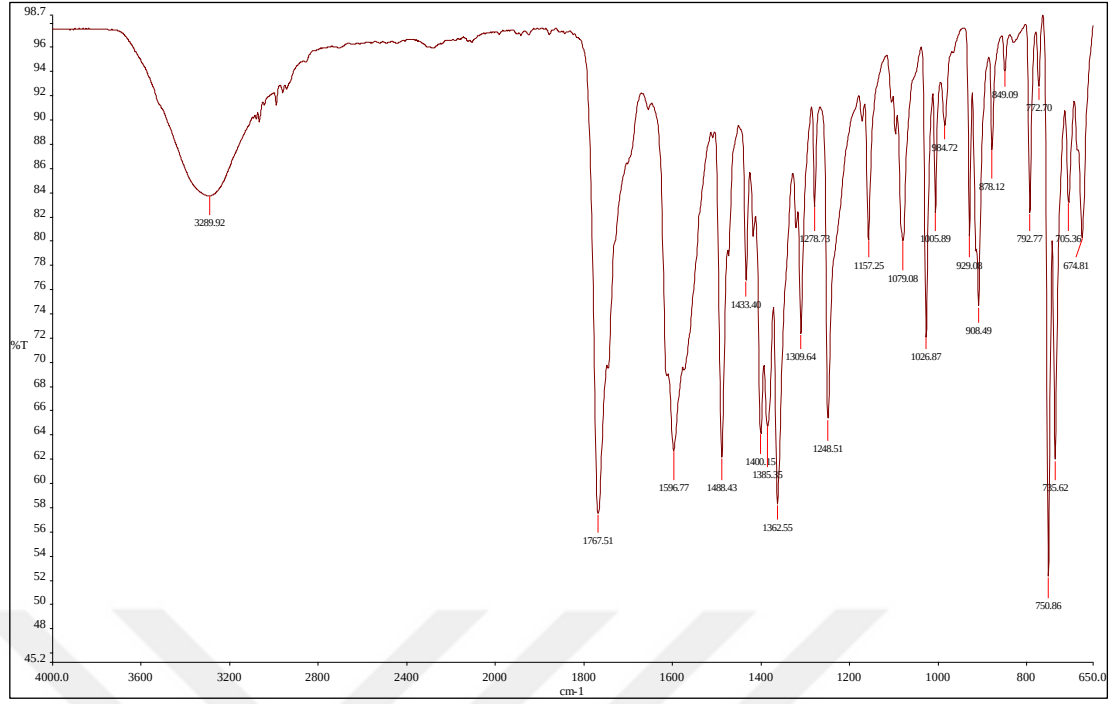
Spektrum 7. B2 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



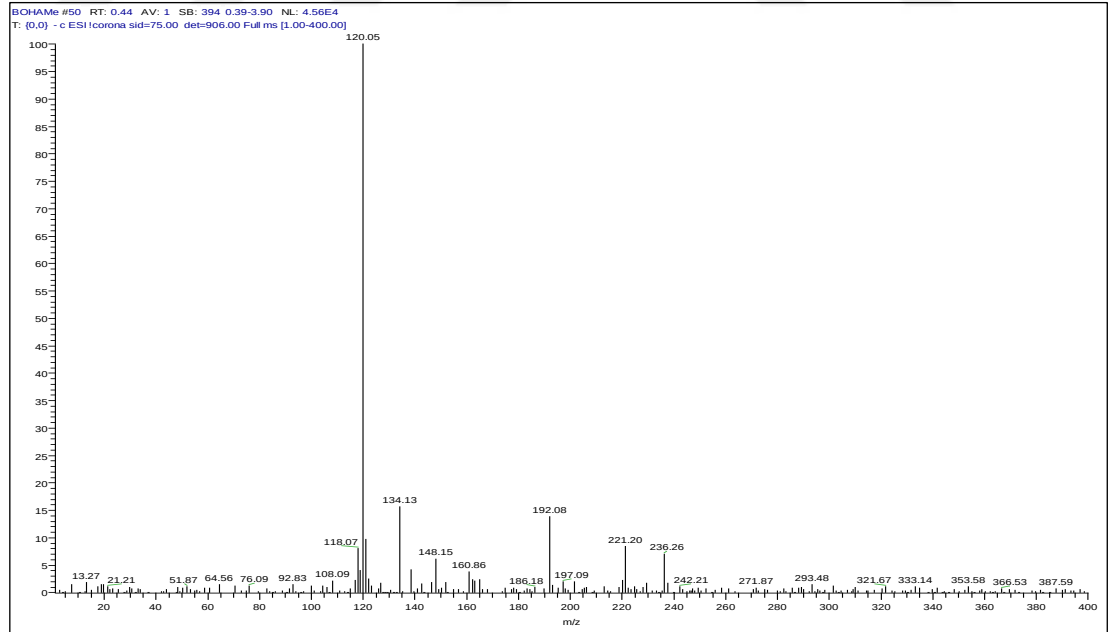
Spektrum 8. B2 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



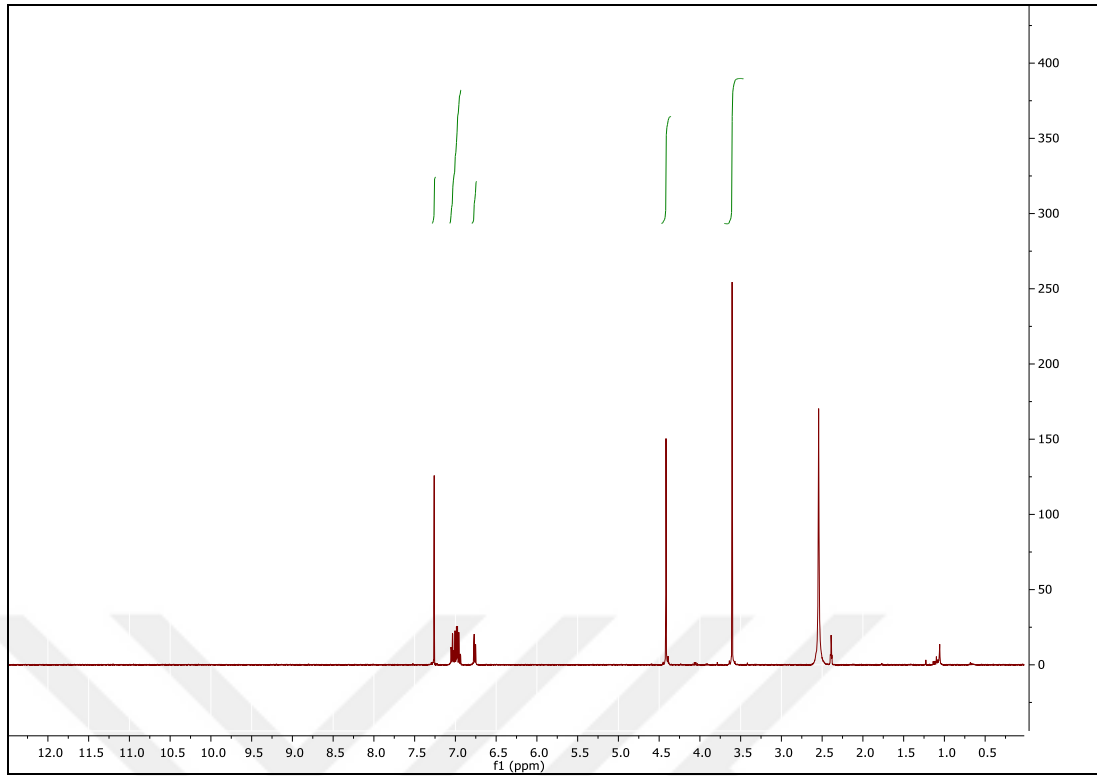
Spektrum 9. B2 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



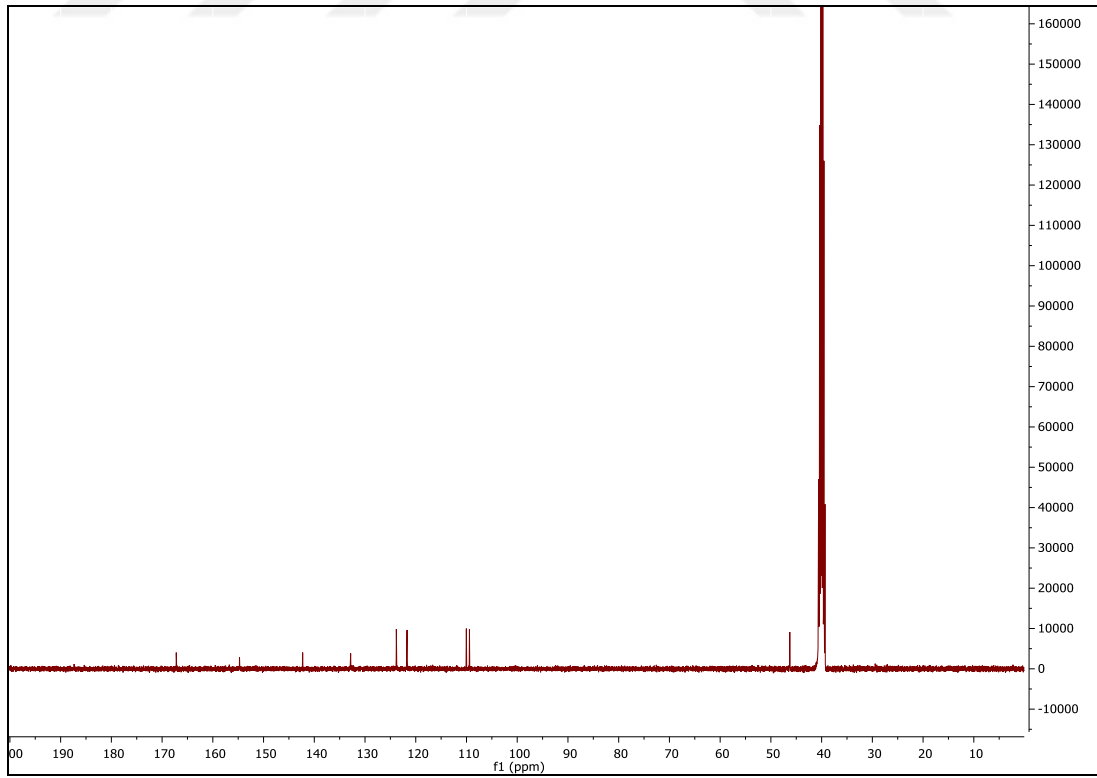
Spektrum 10. B3 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



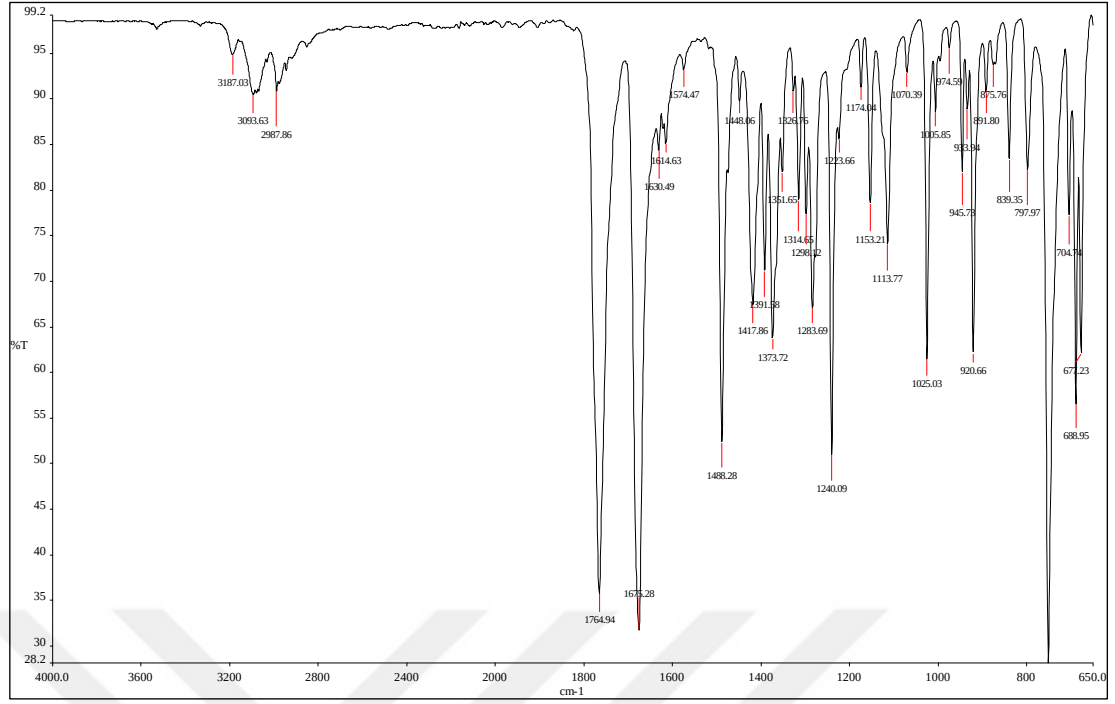
Spektrum 11. B3 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



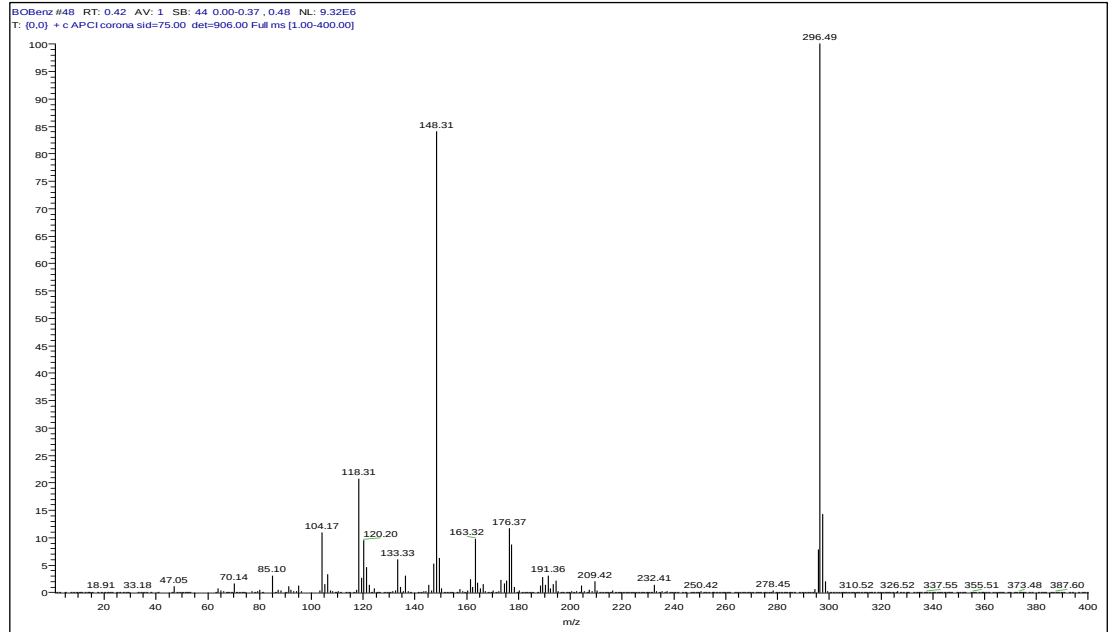
Spektrum 12. B3 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (CDCl_3 ve $\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



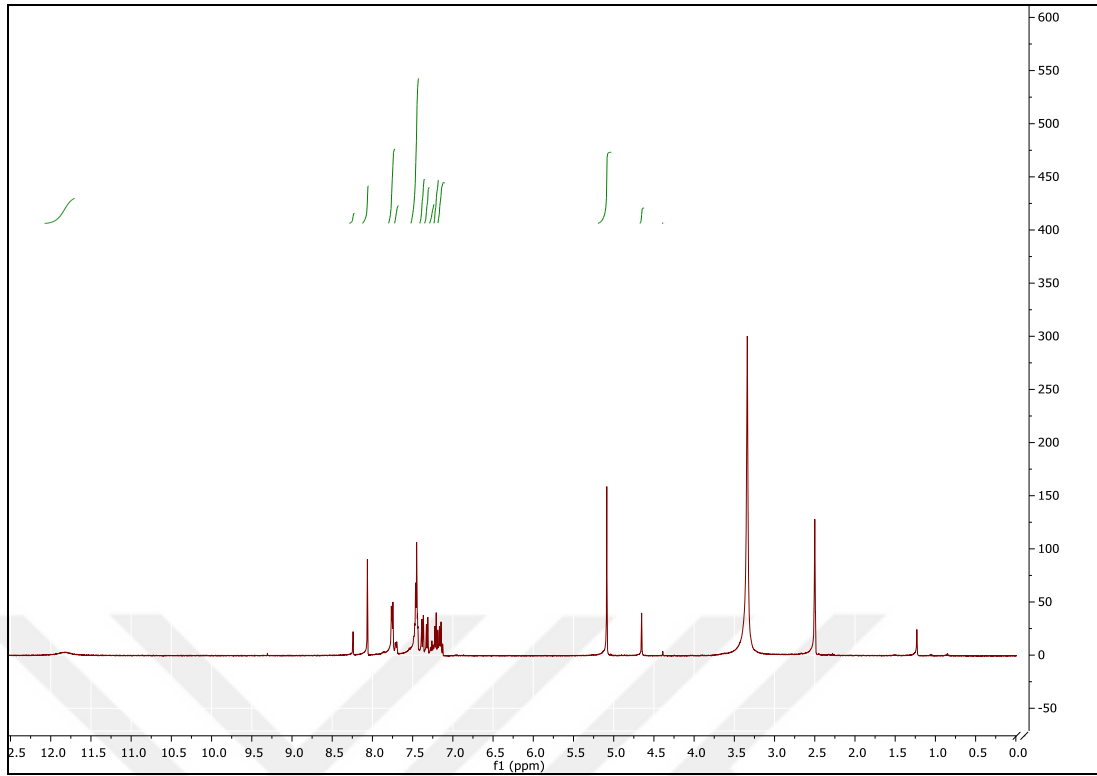
Spektrum 13. B3 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



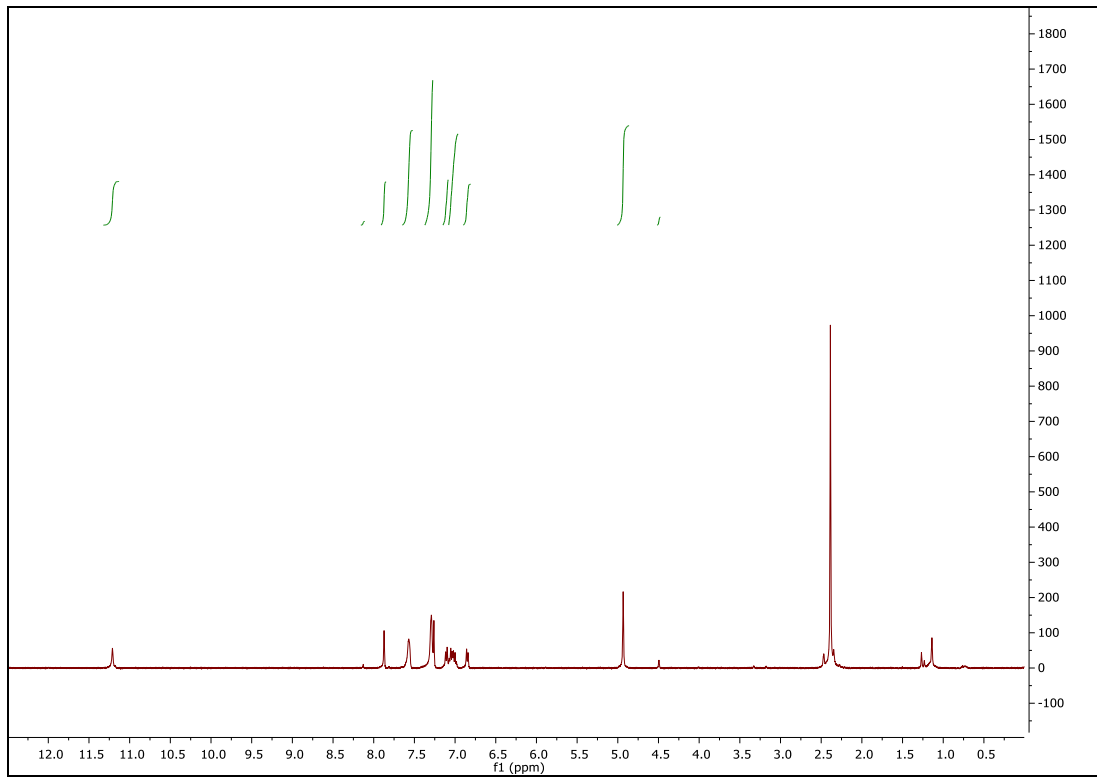
Spektrum 14. B4 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



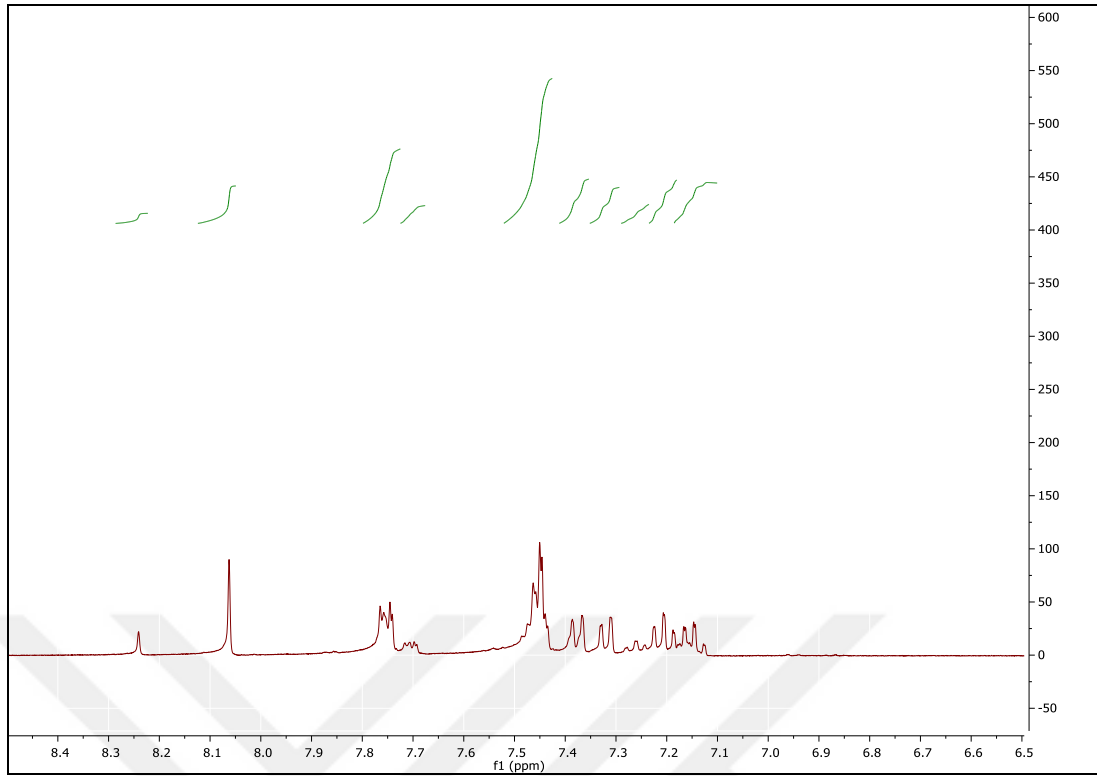
Spektrum 15. B4 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



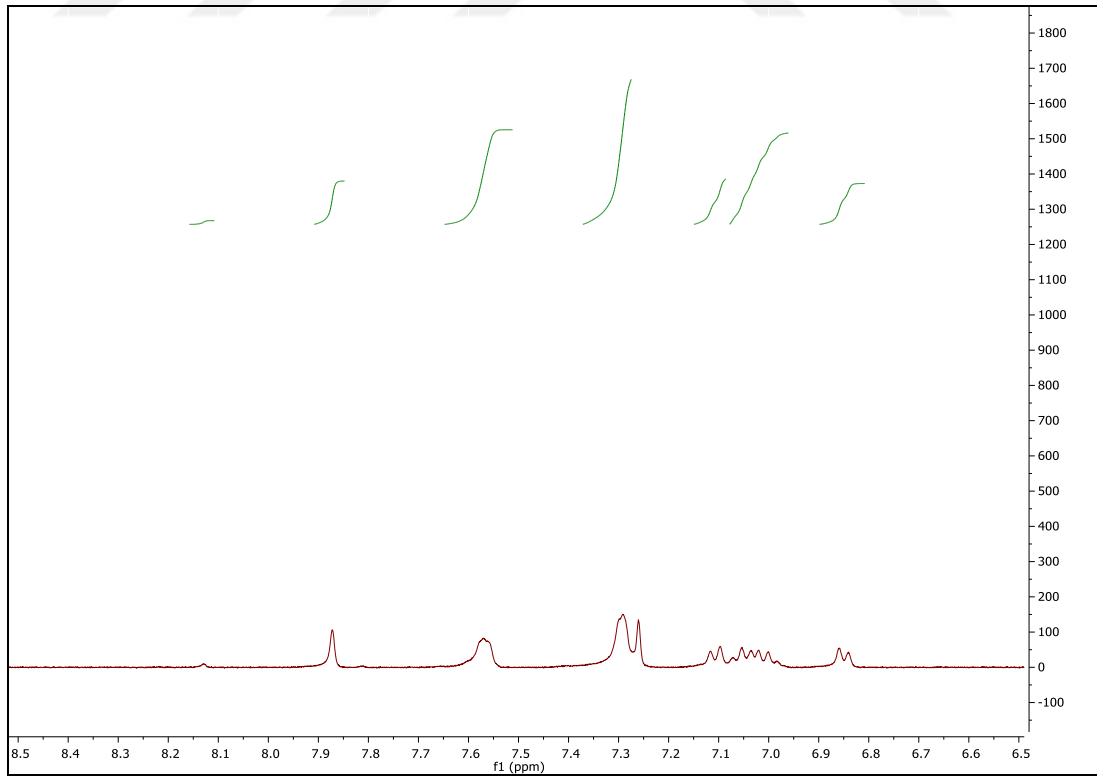
Spektrum 16. B4 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



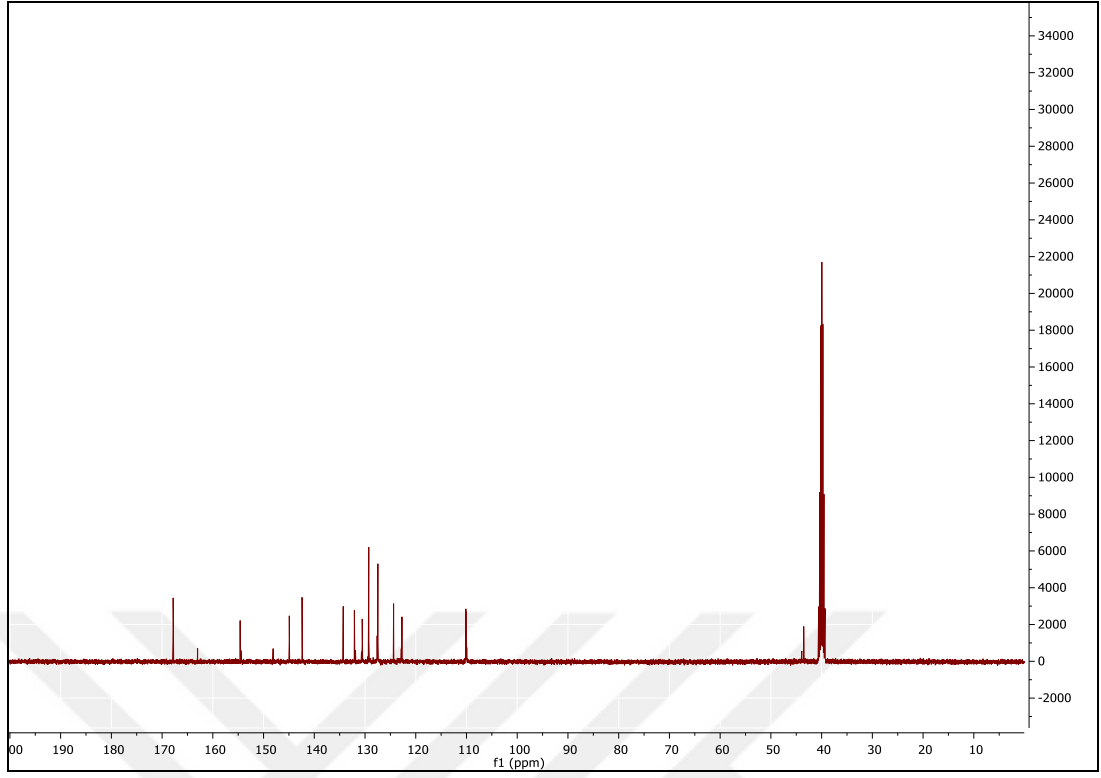
Spektrum 17. B4 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (CDCl_3 ve $\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



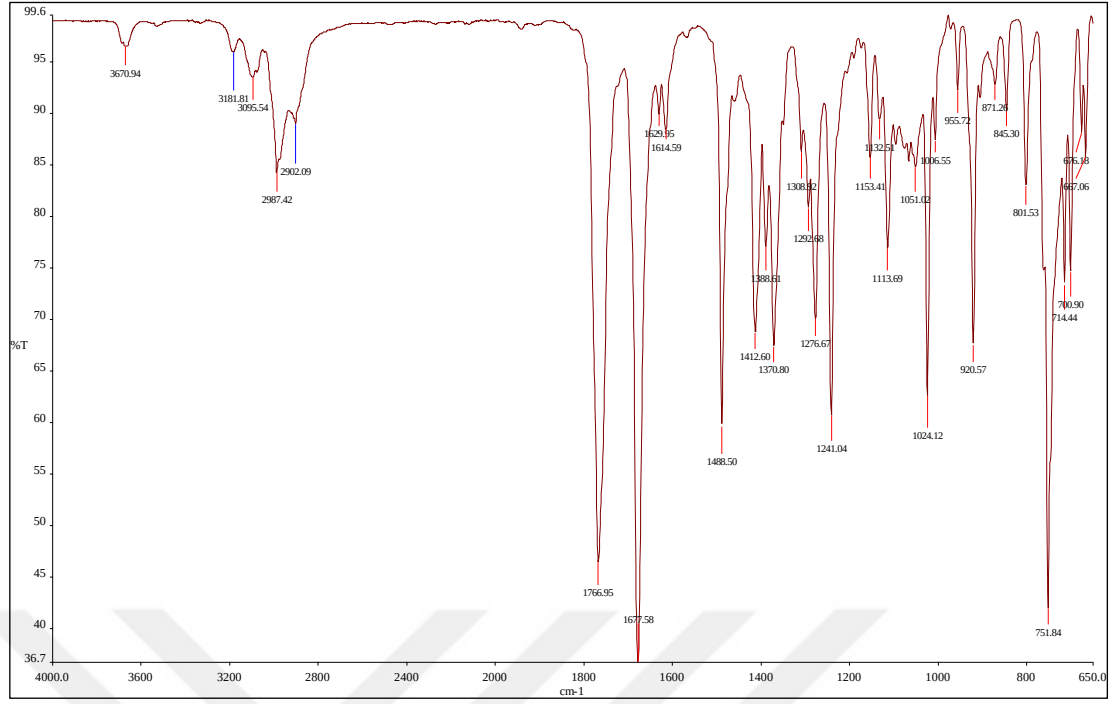
Spektrum 18. B4 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



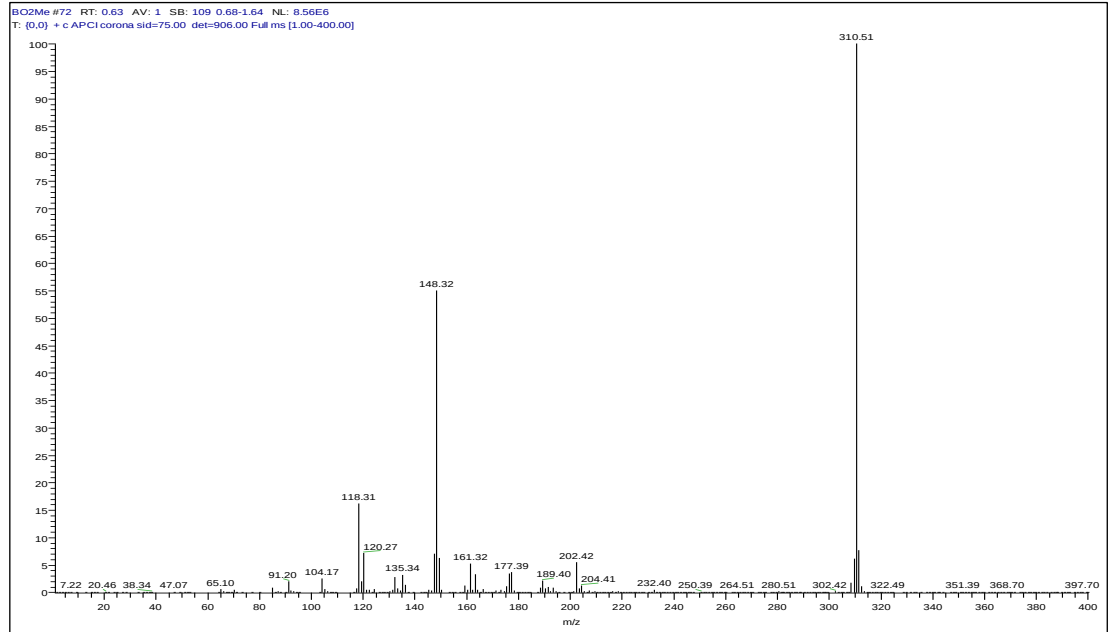
Spektrum 19. B4 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3 ve $\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



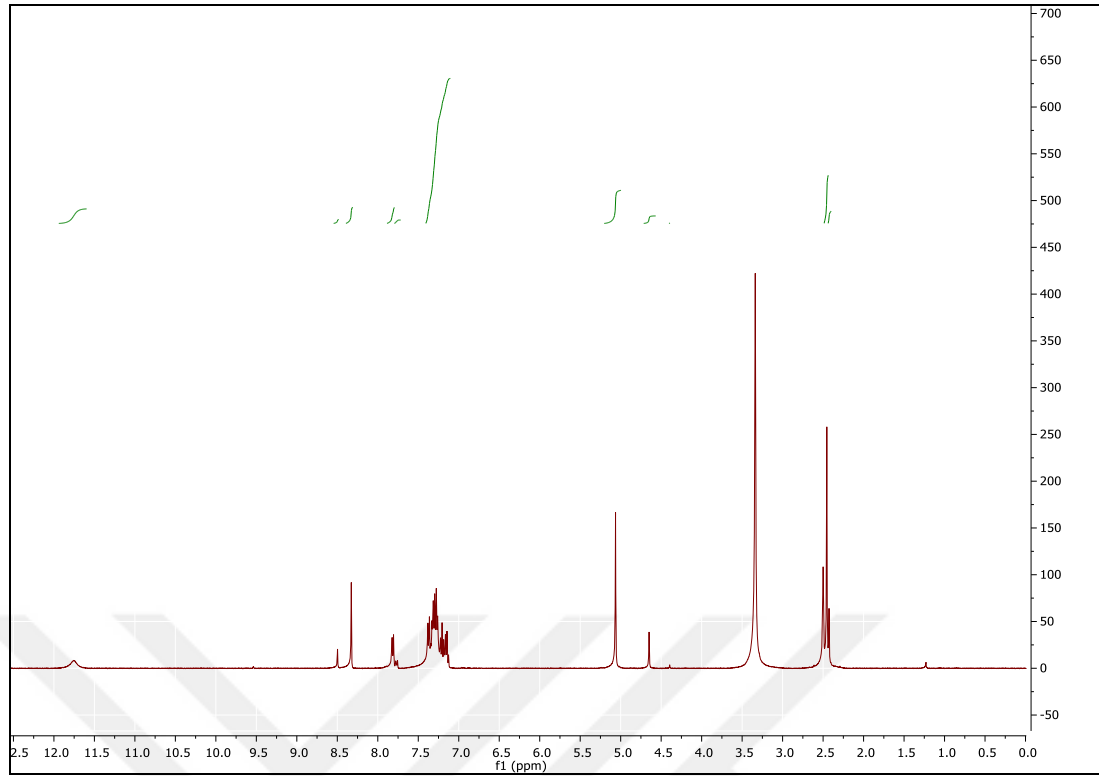
Spektrum 20. B4 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



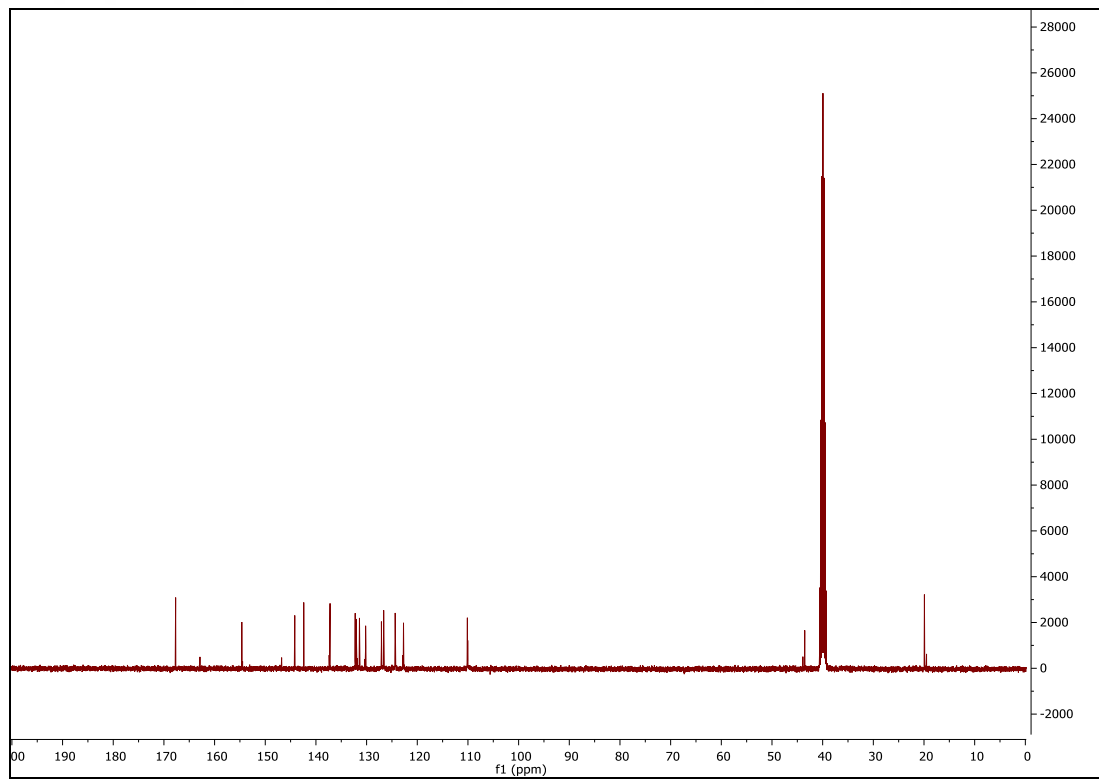
Spektrum 21. B5 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



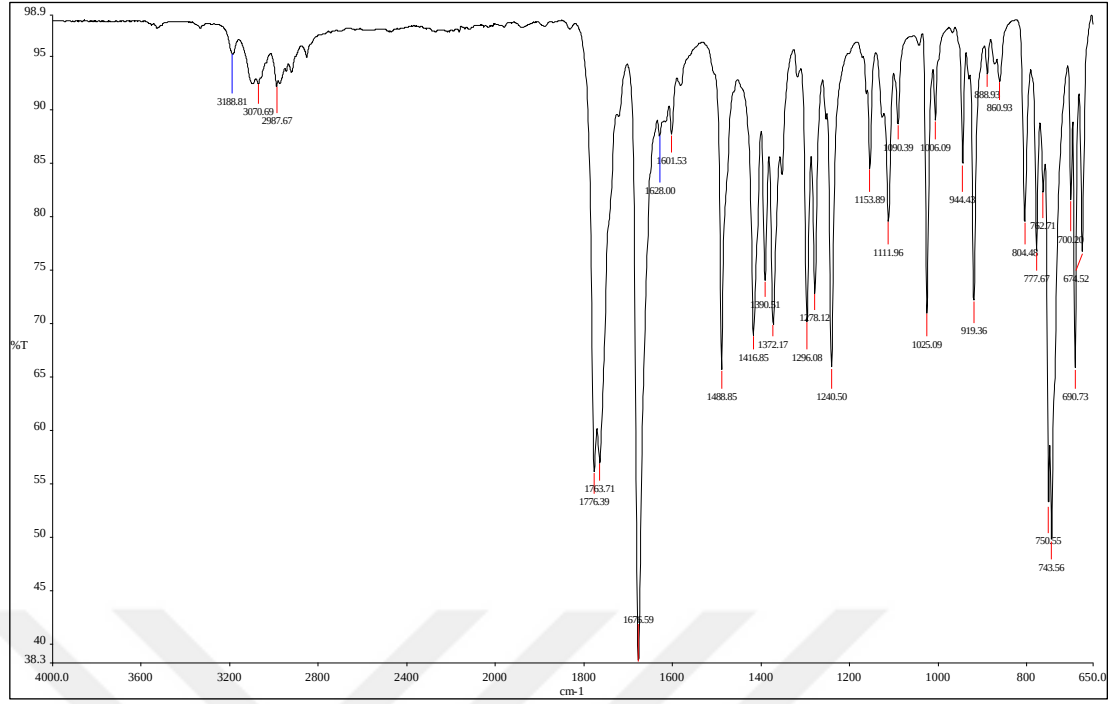
Spektrum 22. B5 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



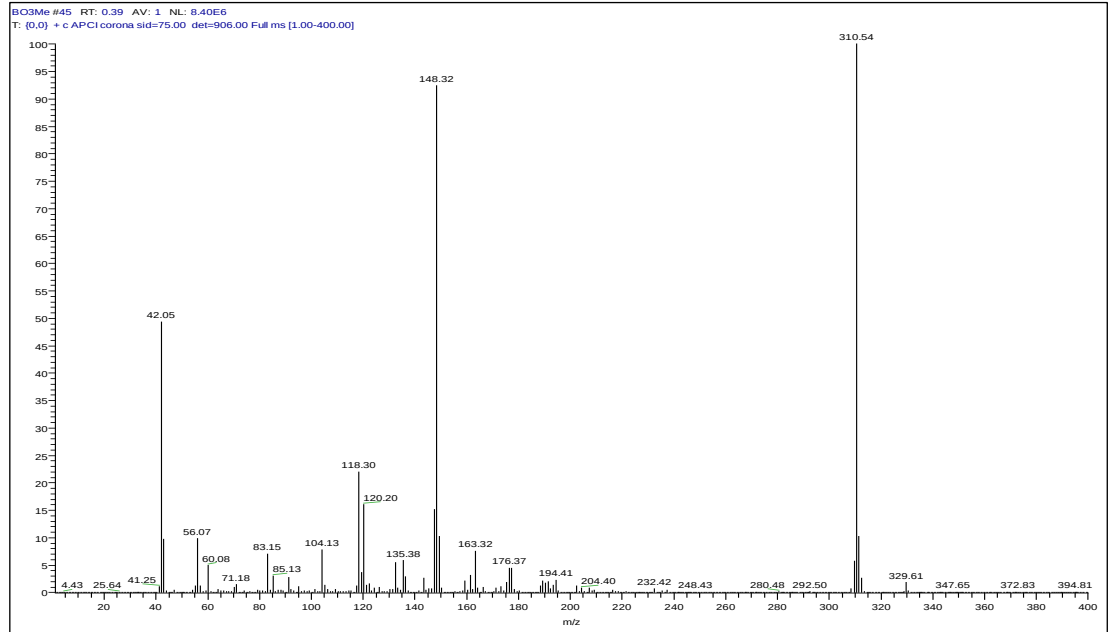
Spektrum 23. B5 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



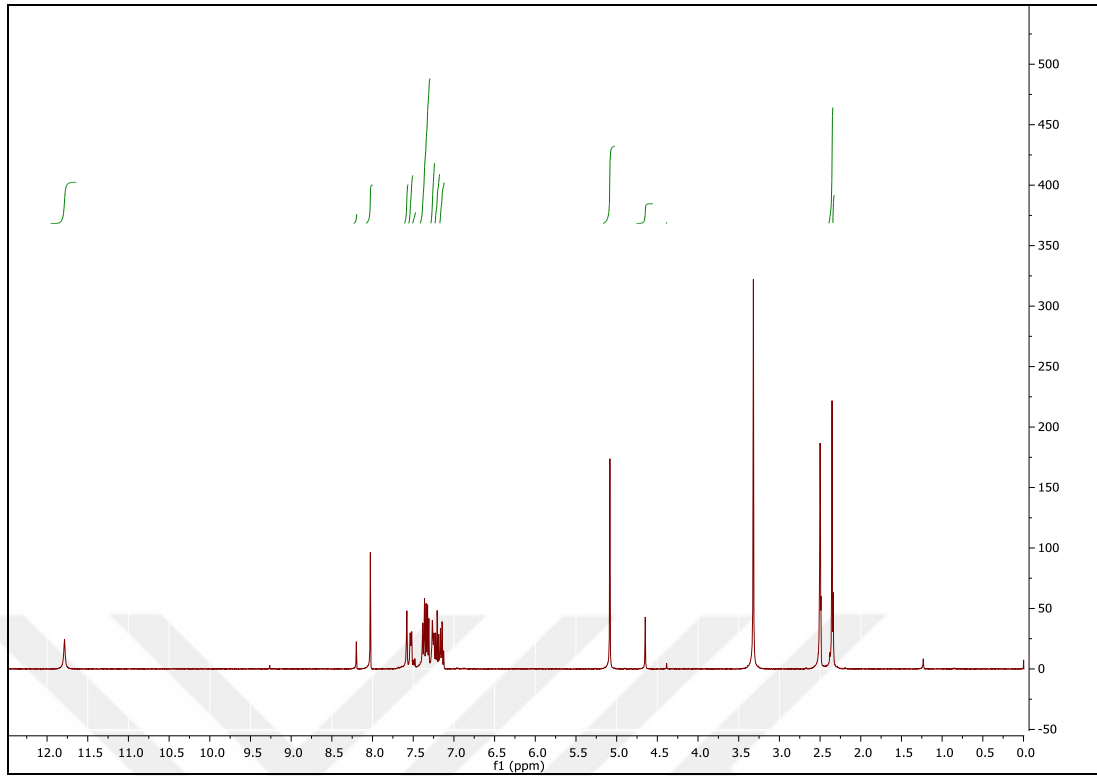
Spektrum 24. B5 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



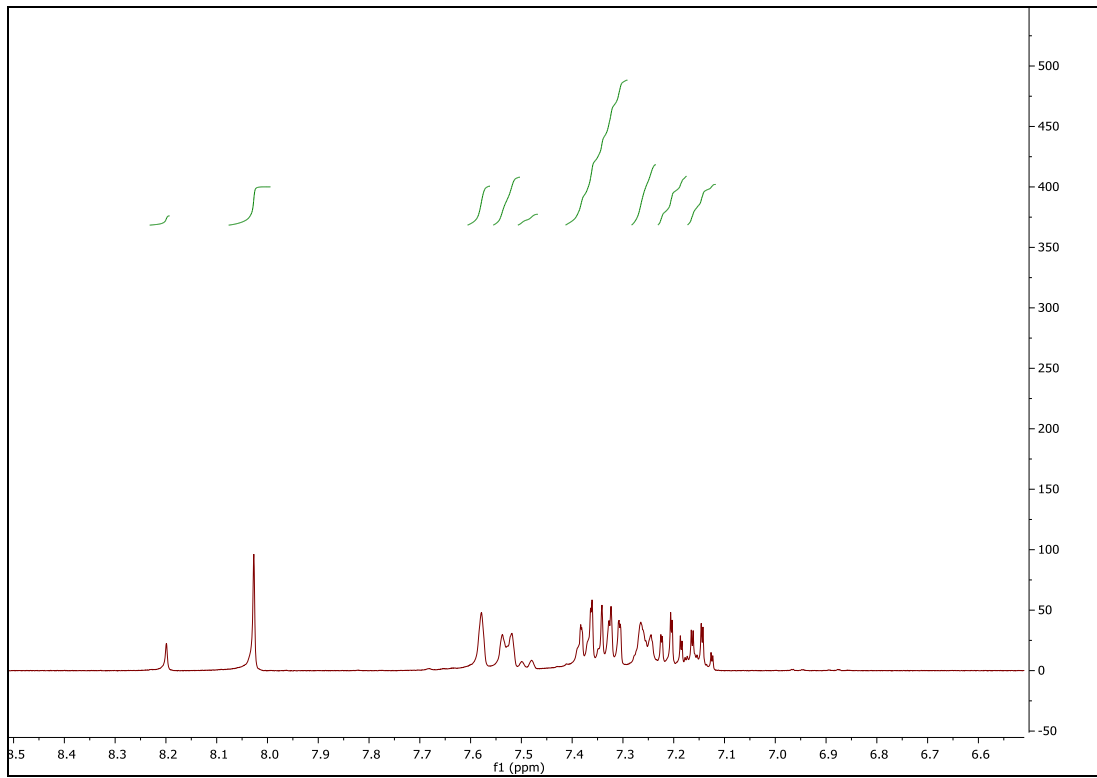
Spektrum 25. B6 Kodlu Bileşiğin IR Spektrumu



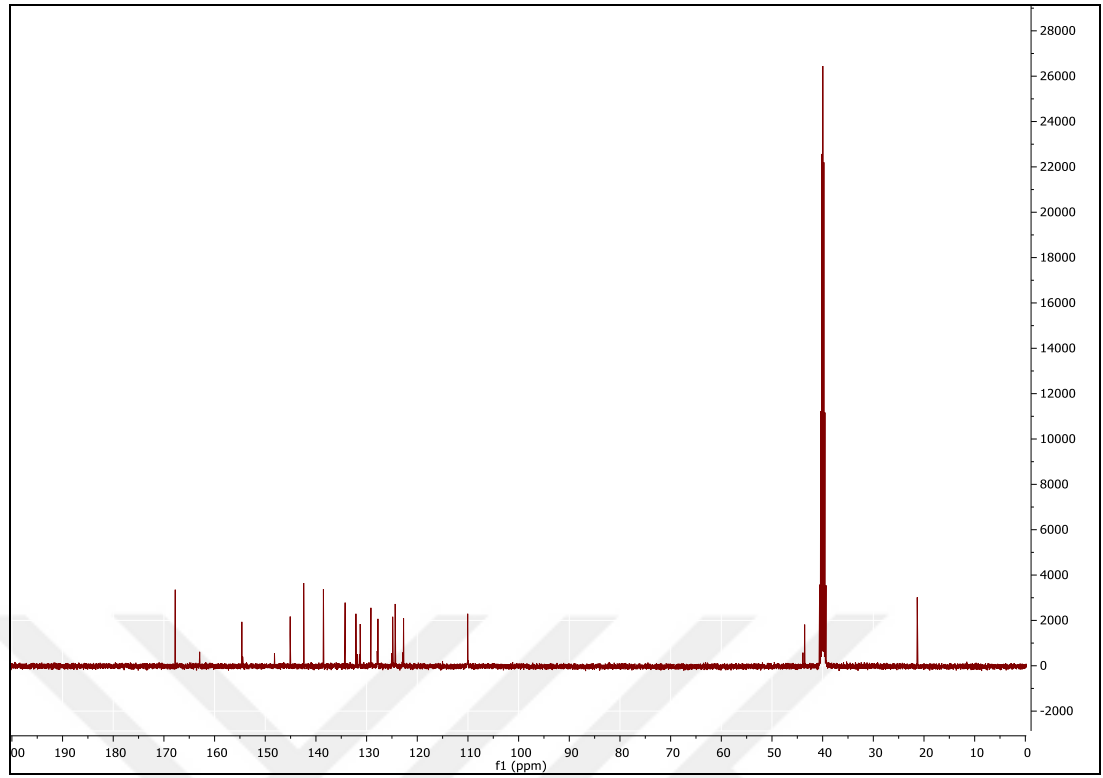
Spektrum 26. B6 Kodlu Bileşiğin Kütle Spektrumu



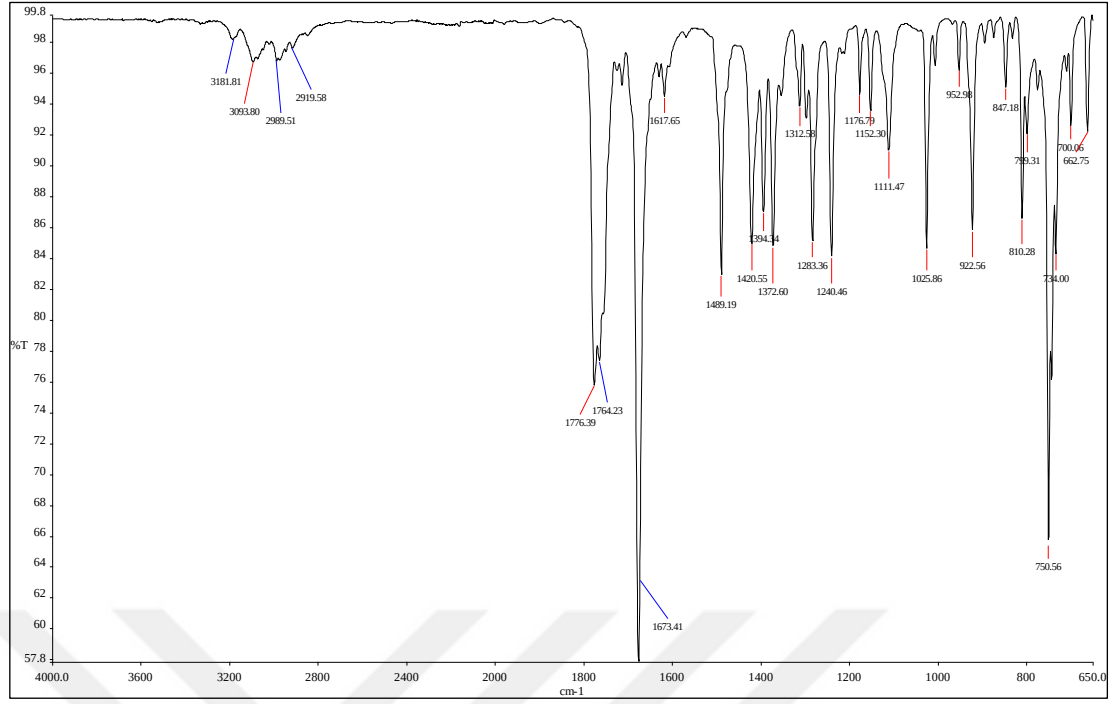
Spektrum 27. B6 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



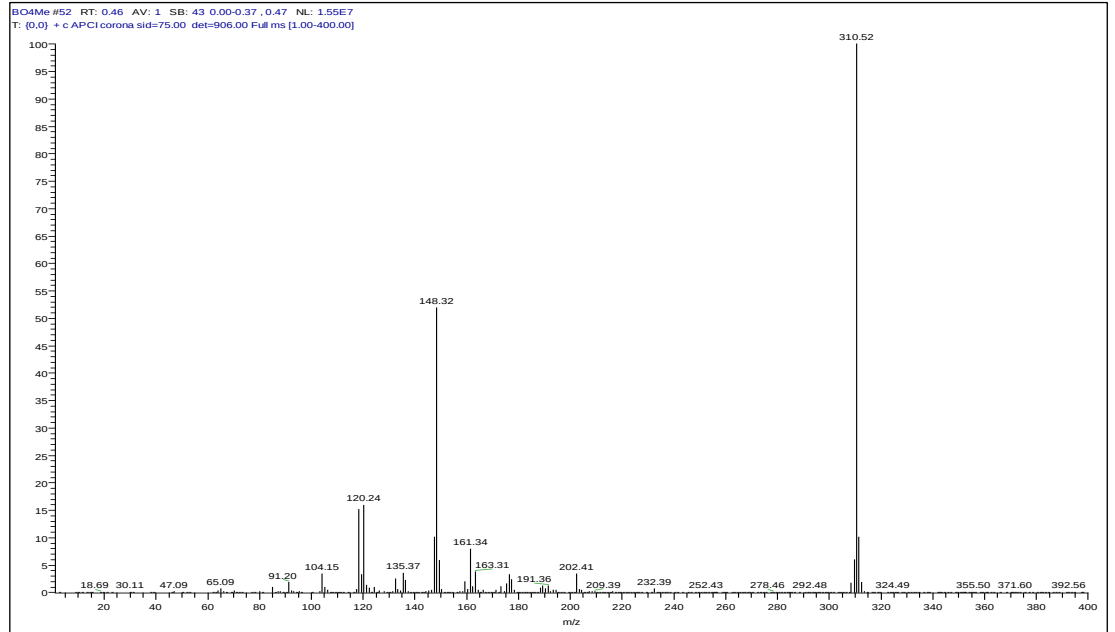
Spektrum 28. B6 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



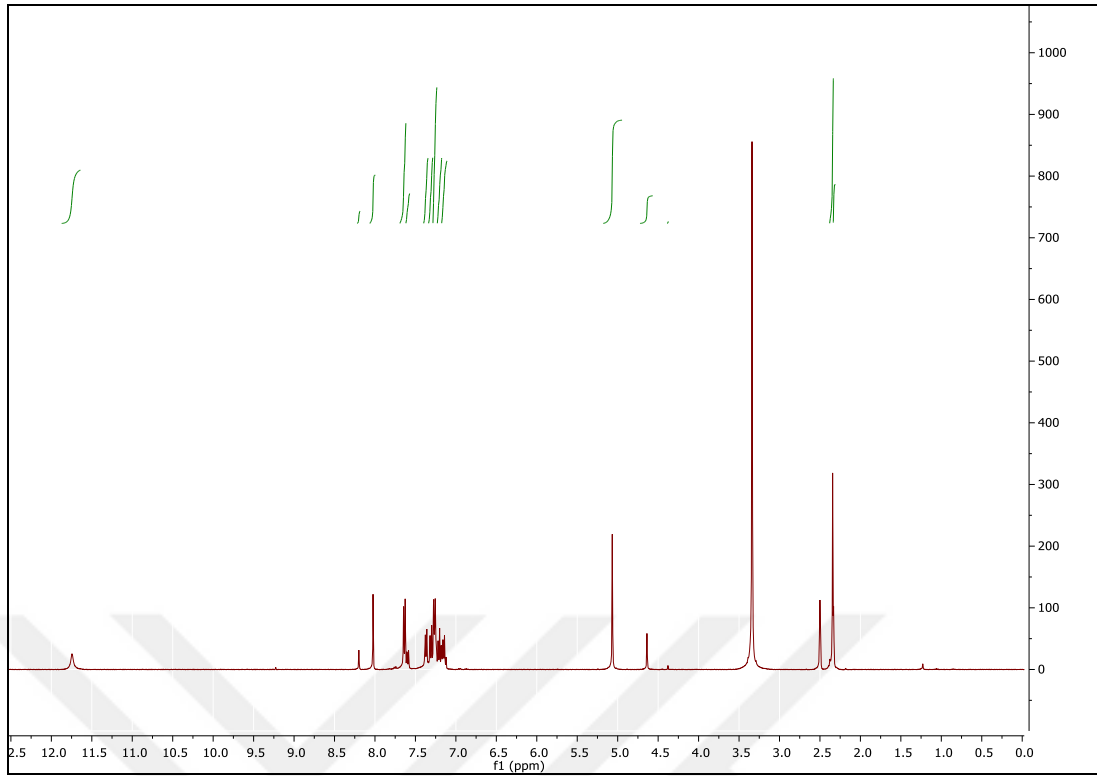
Spektrum 29. B6 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



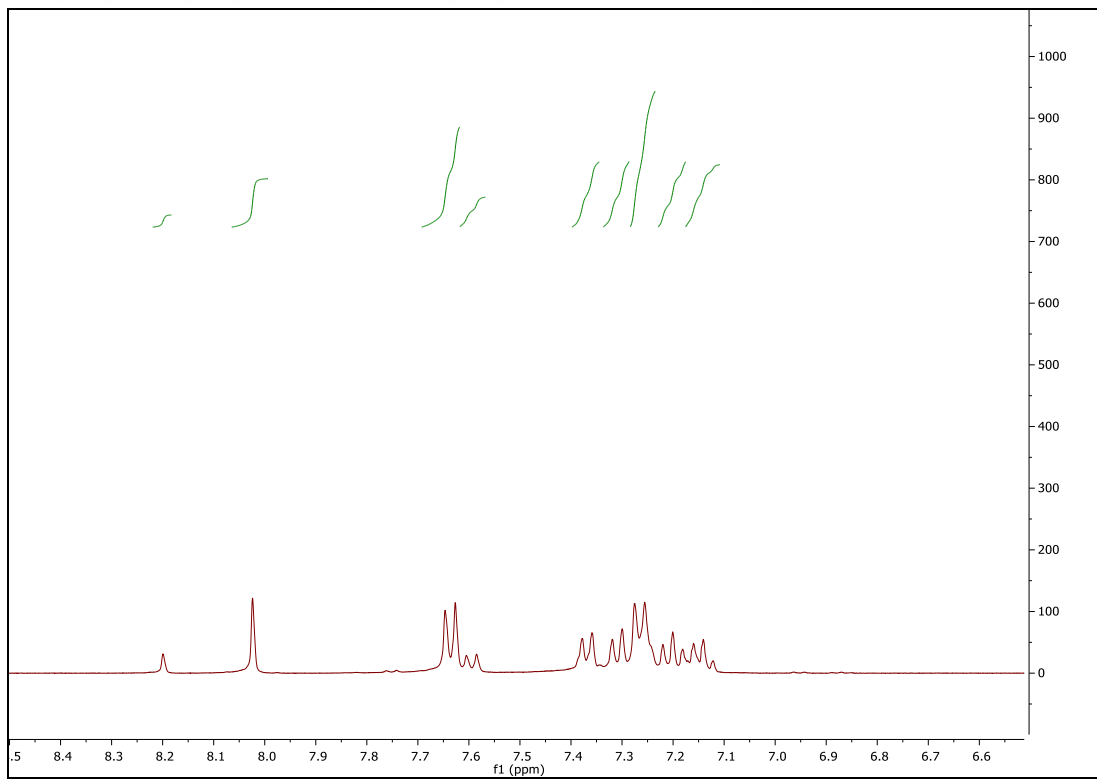
Spektrum 30. B7 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



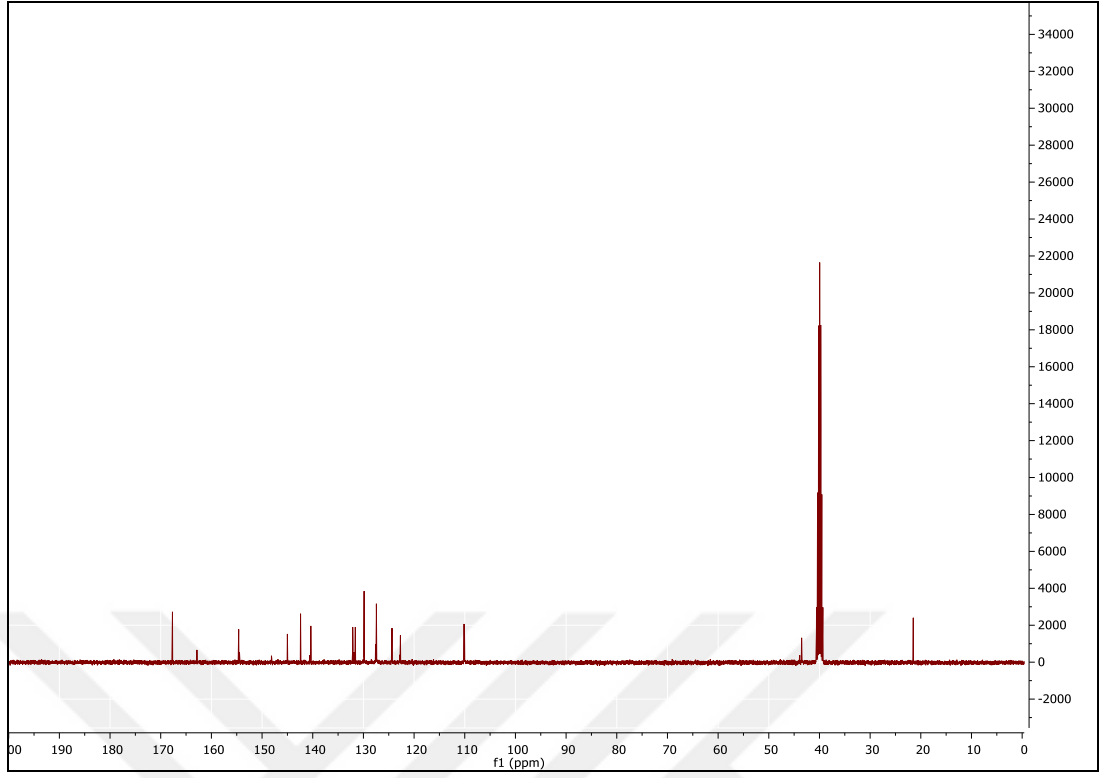
Spektrum 31. B7 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



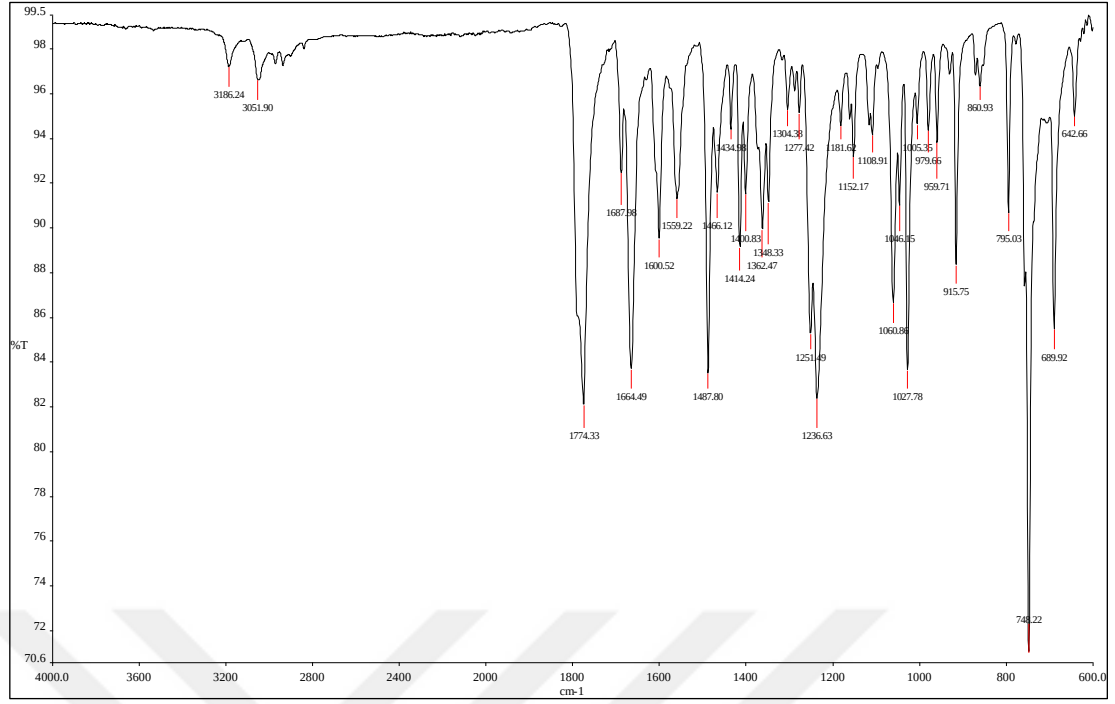
Spektrum 32. B7 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



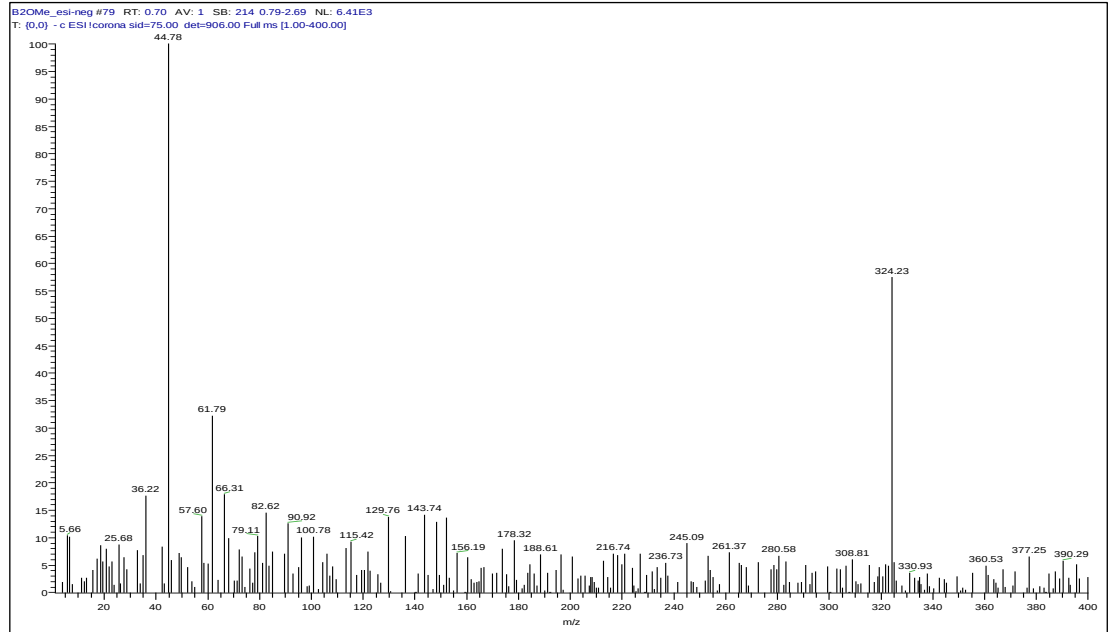
Spektrum 33. B7 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



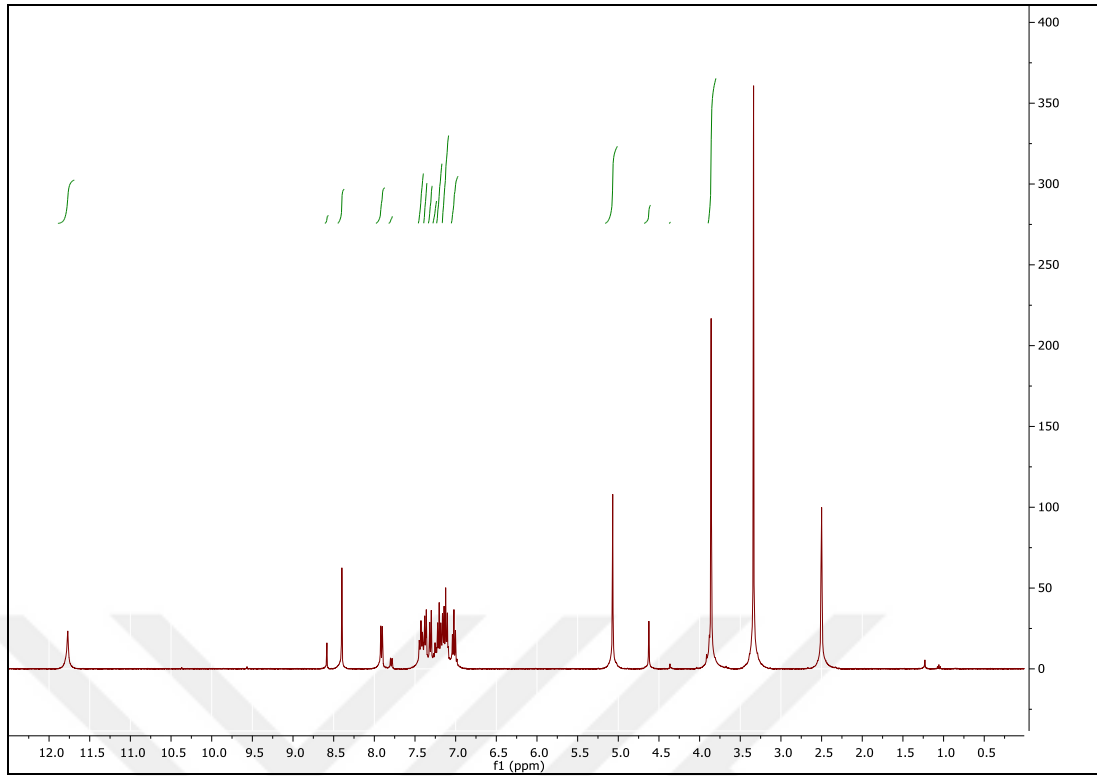
Spektrum 34. B7 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



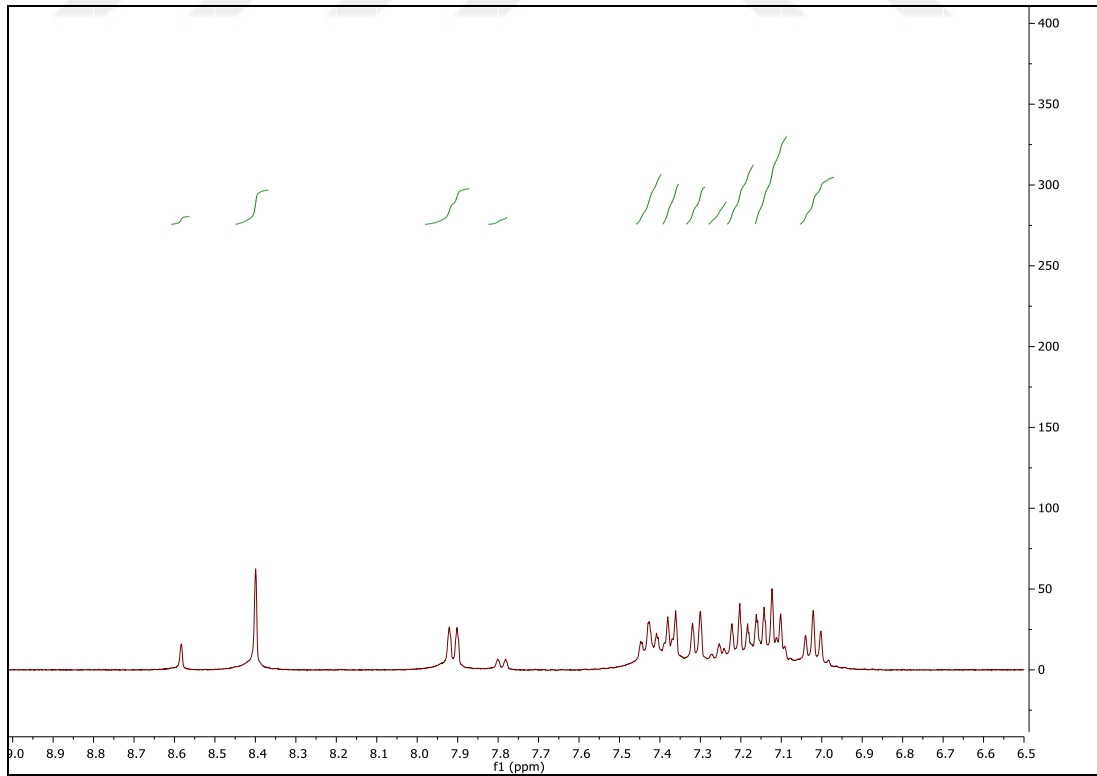
Spektrum 35. B8 Kodlu Bileşiğin IR Spektrumu



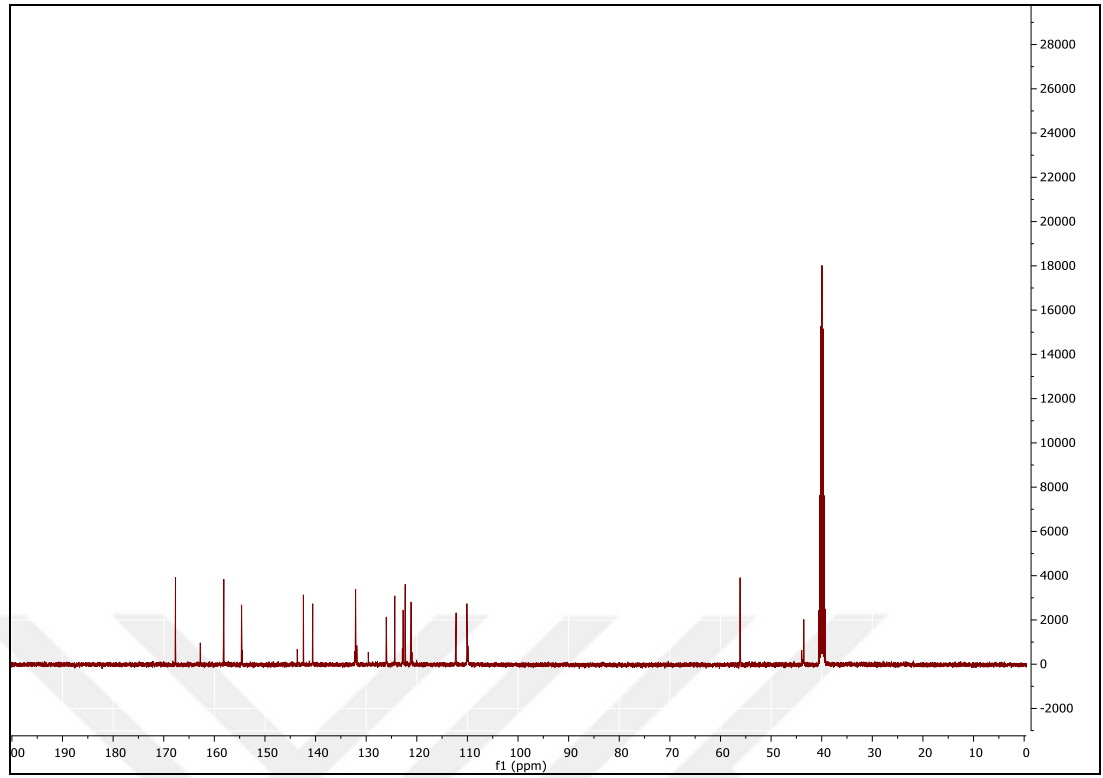
Spektrum 36. B8 Kodlu Bileşiğin Kütle Spektrumu



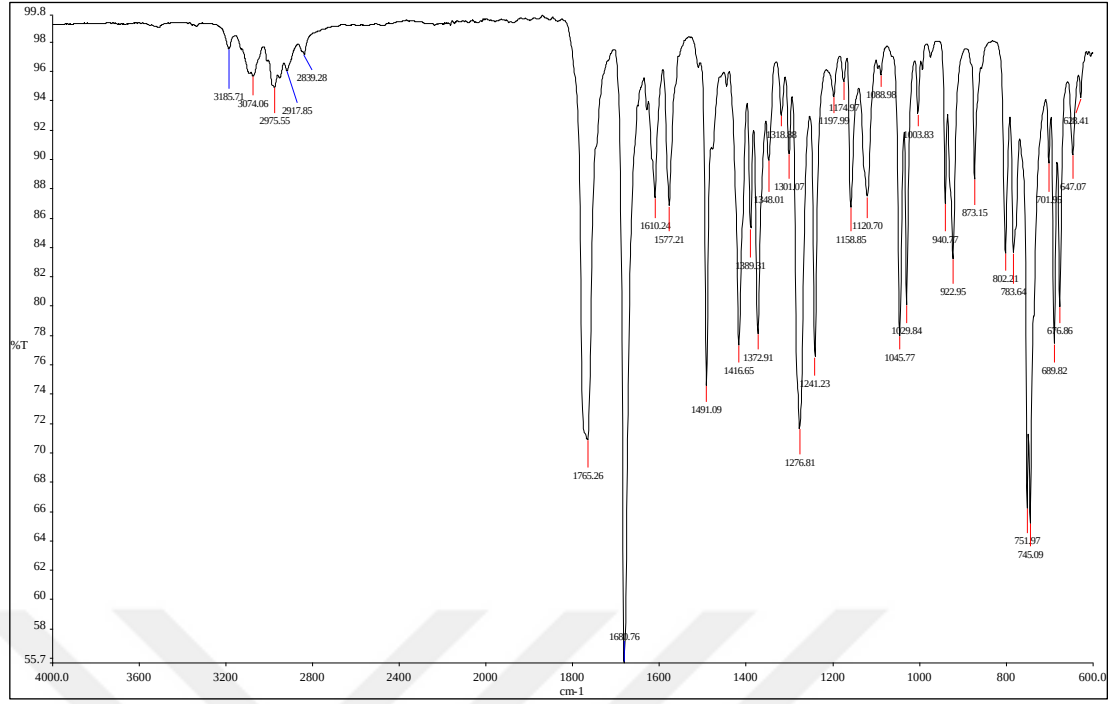
Spektrum 37. B8 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu



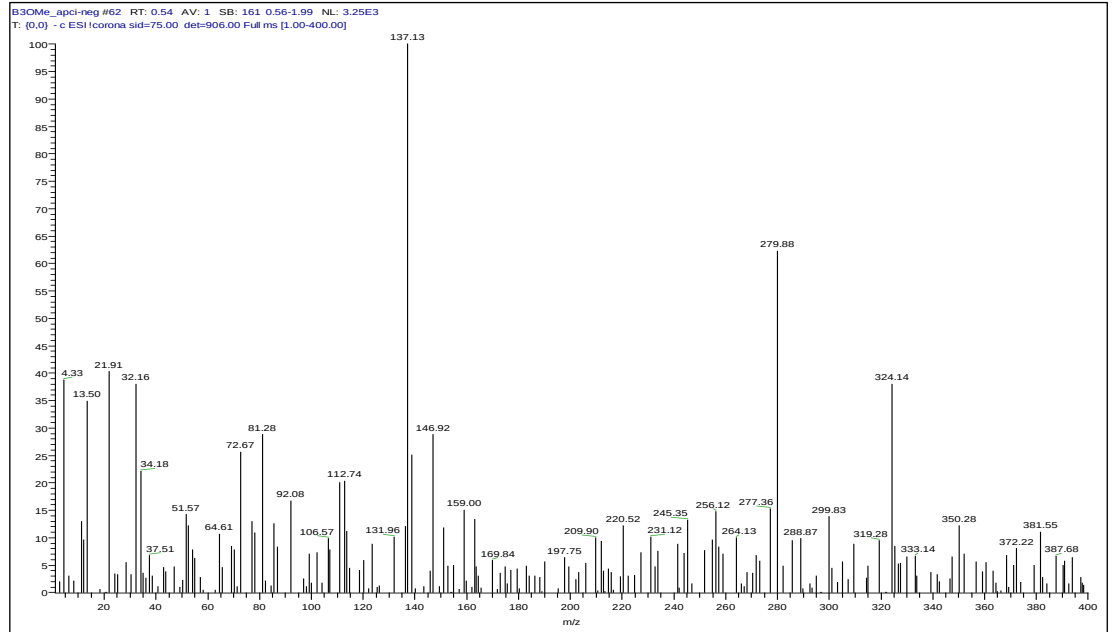
Spektrum 38. B8 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu



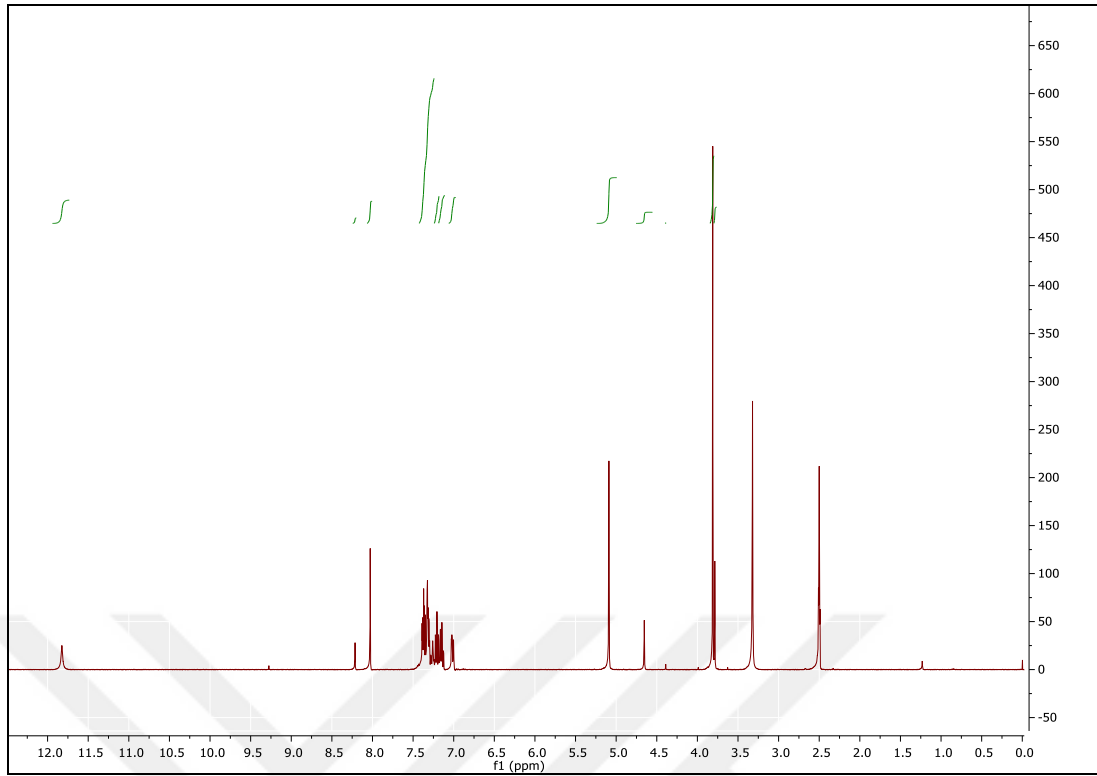
Spektrum 39. B8 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



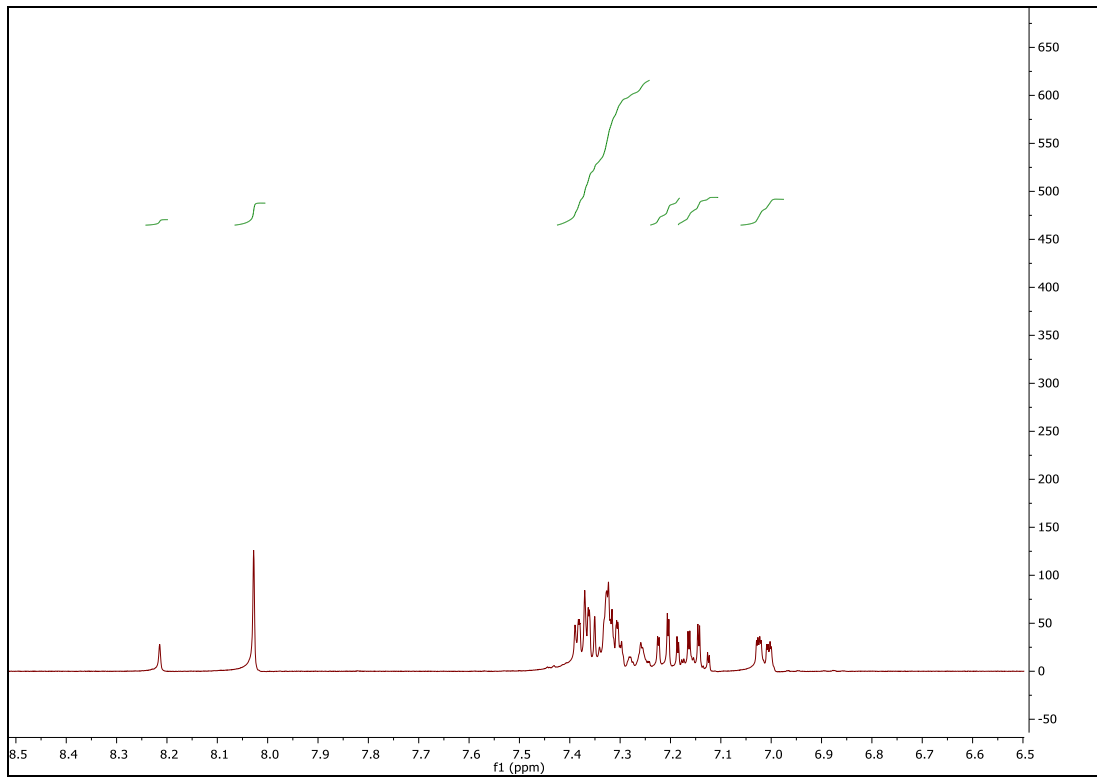
Spektrum 40. B9 Kodlu Bileşiğin IR Spektrumu



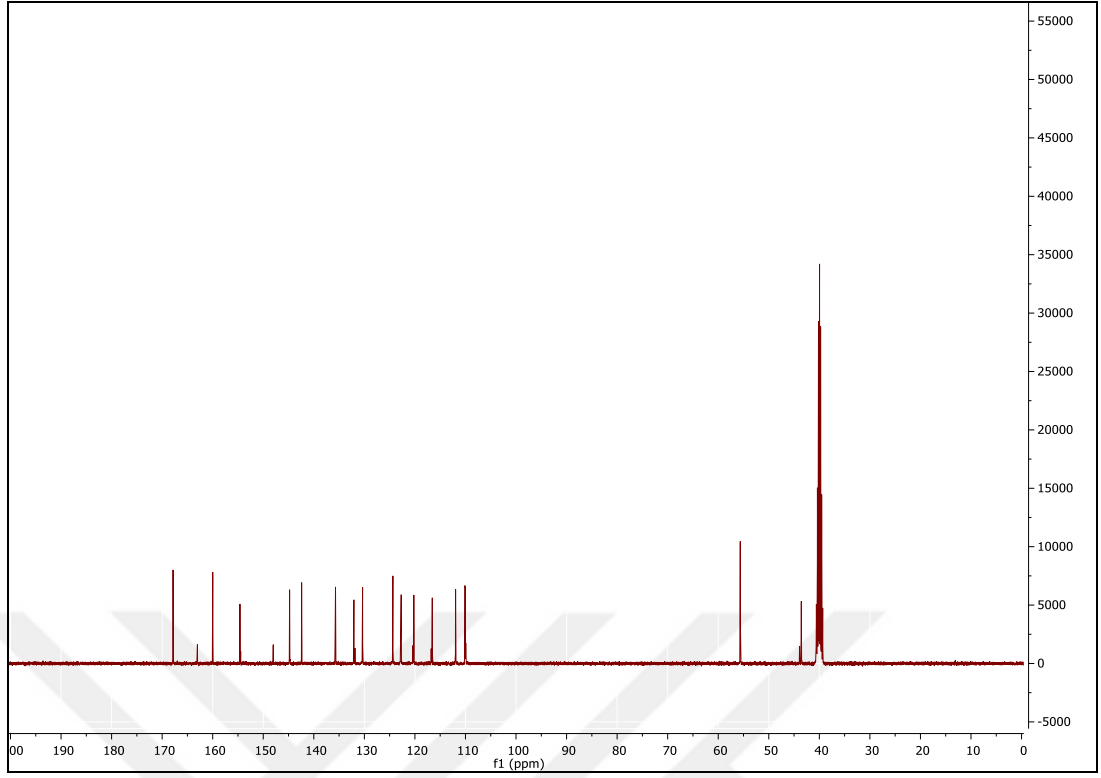
Spektrum 41. B9 Kodlu Bileşiğin Kütle Spektrumu



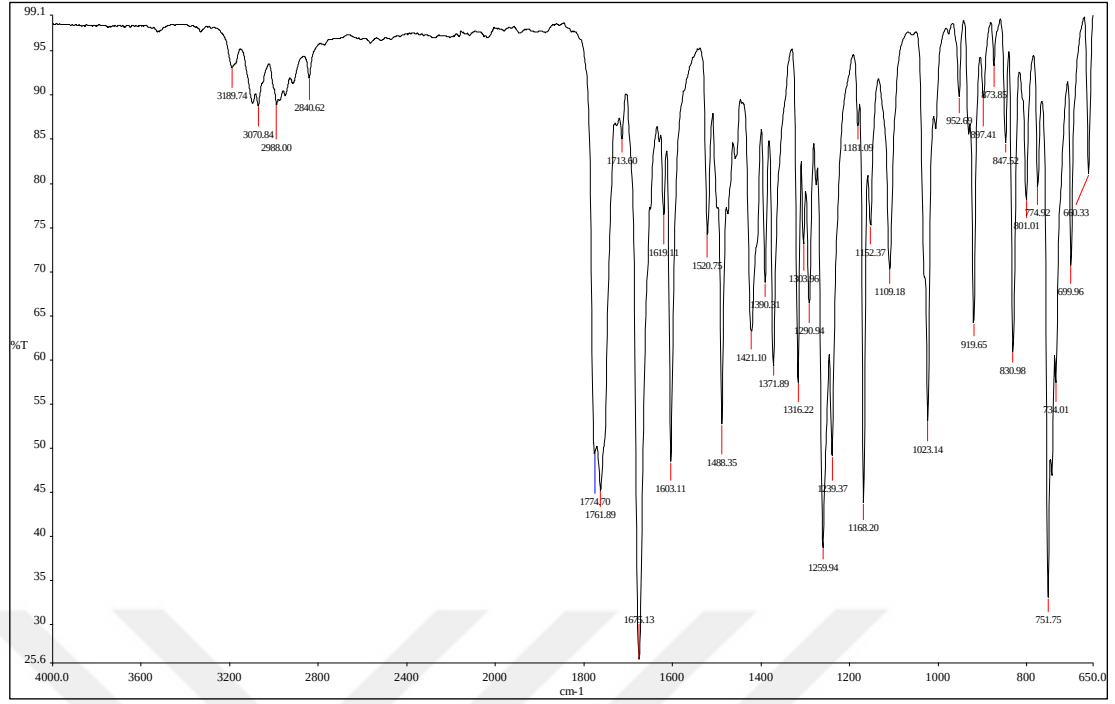
Spektrum 42. B9 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



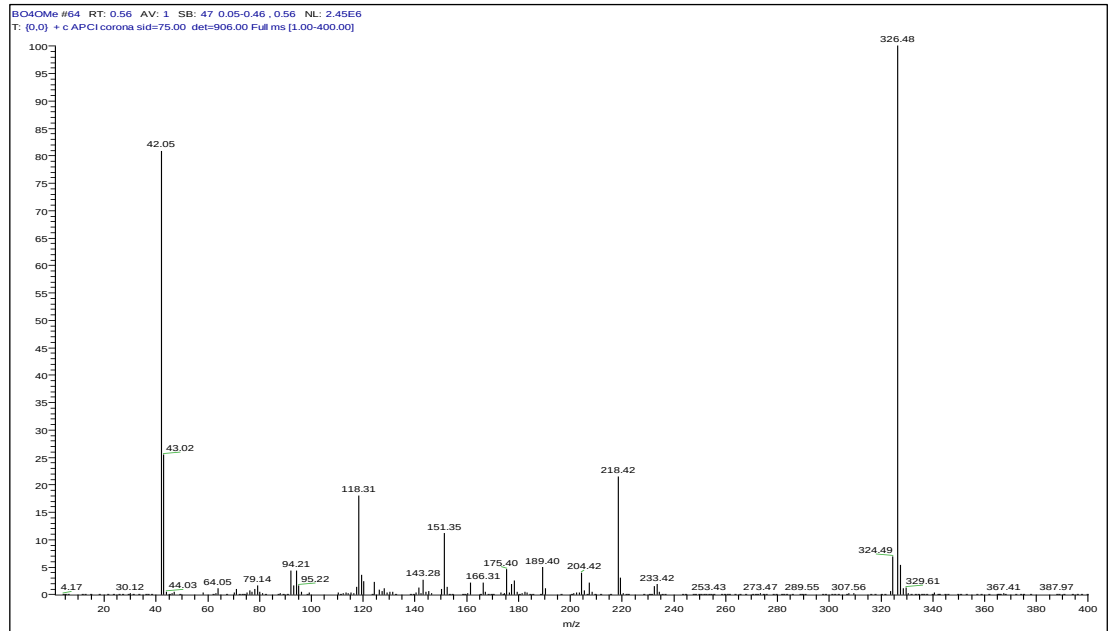
Spektrum 43. B9 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



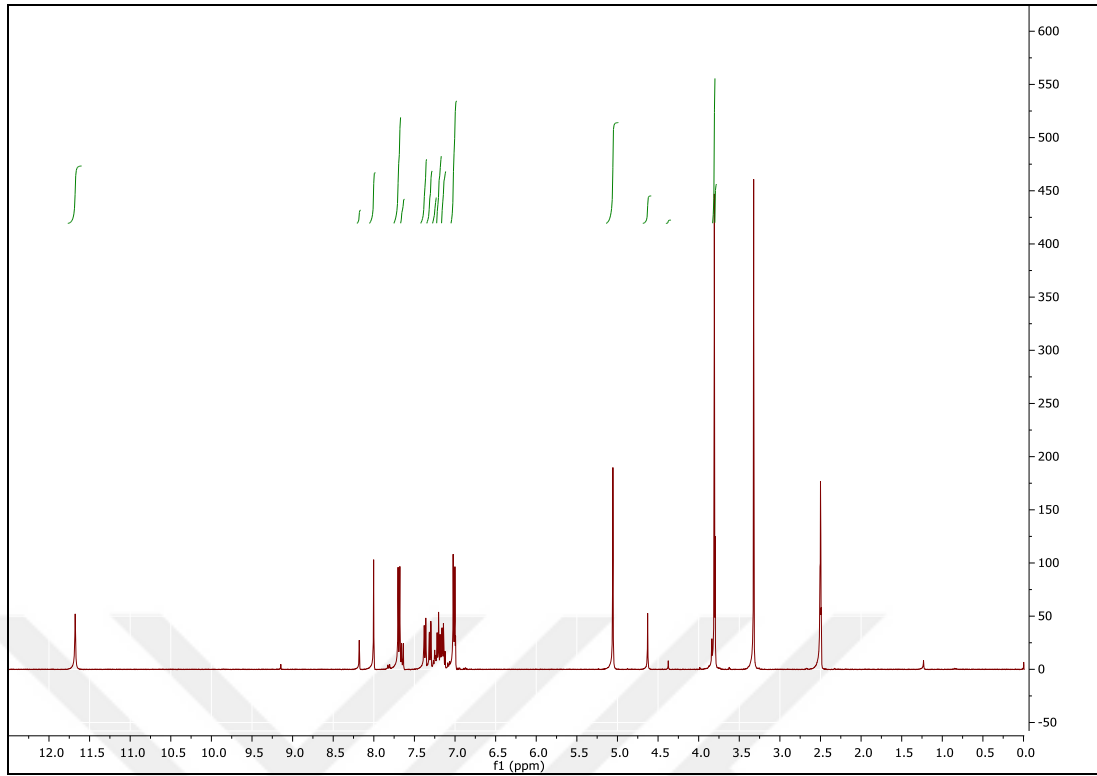
Spektrum 44. B9 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu



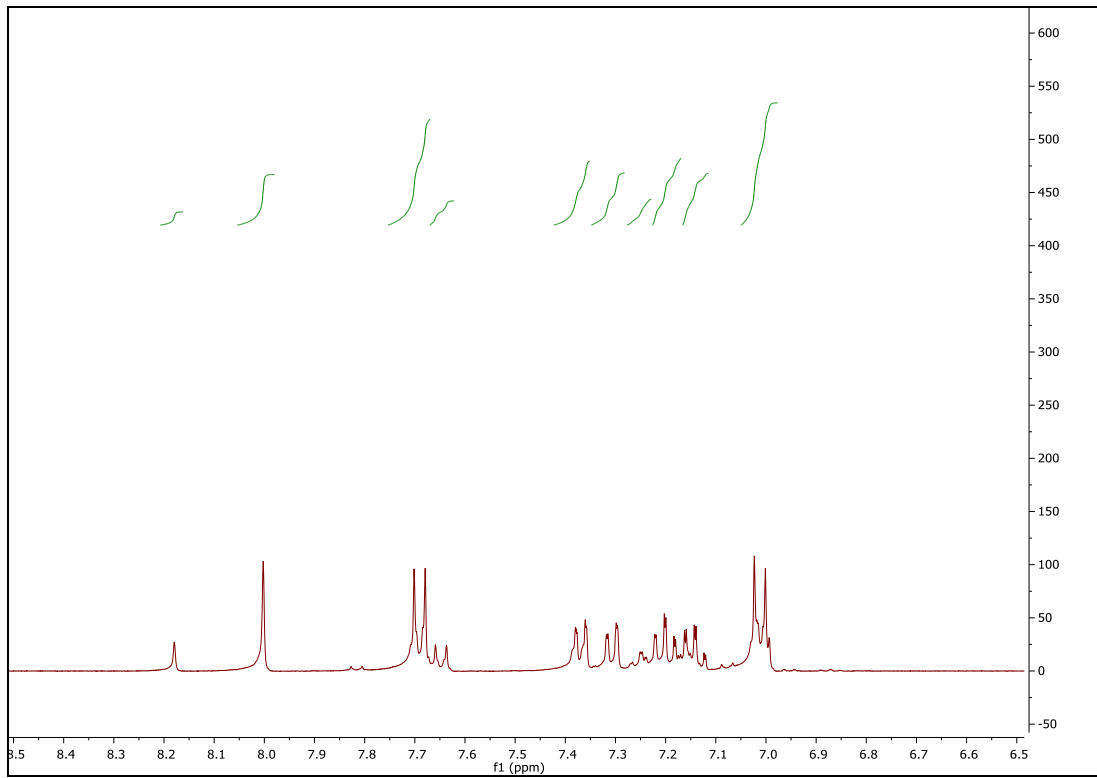
Spektrum 45. B10 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



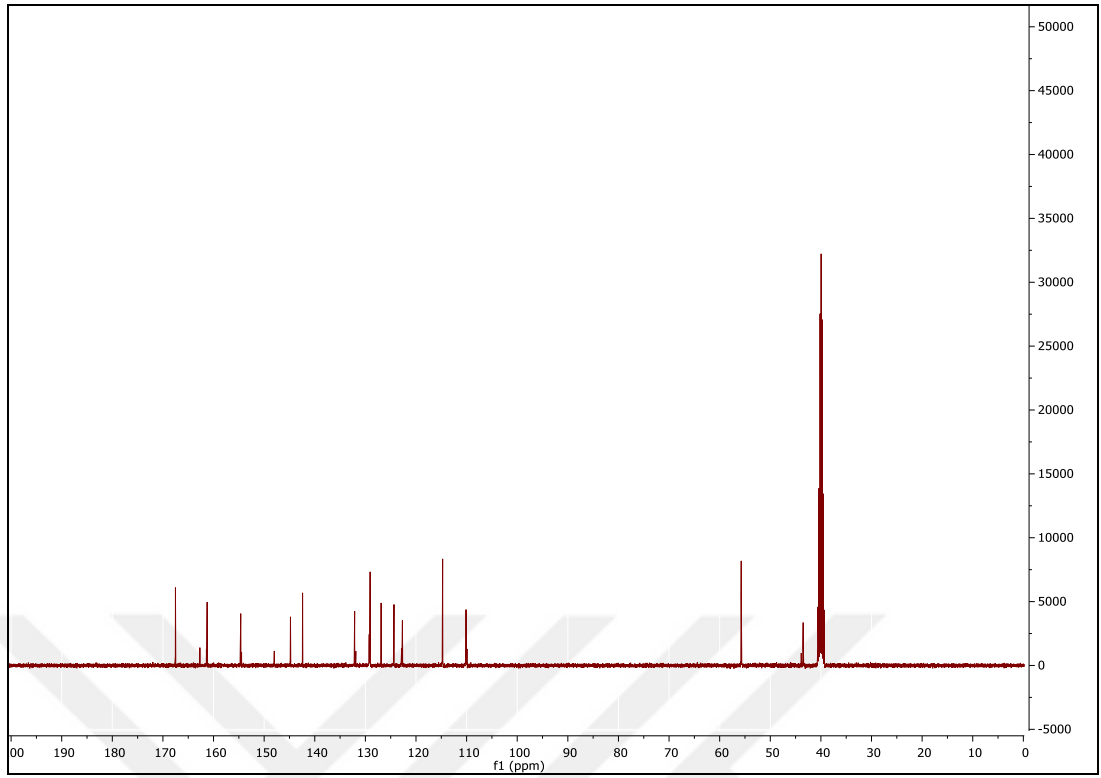
Spektrum 46. B10 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



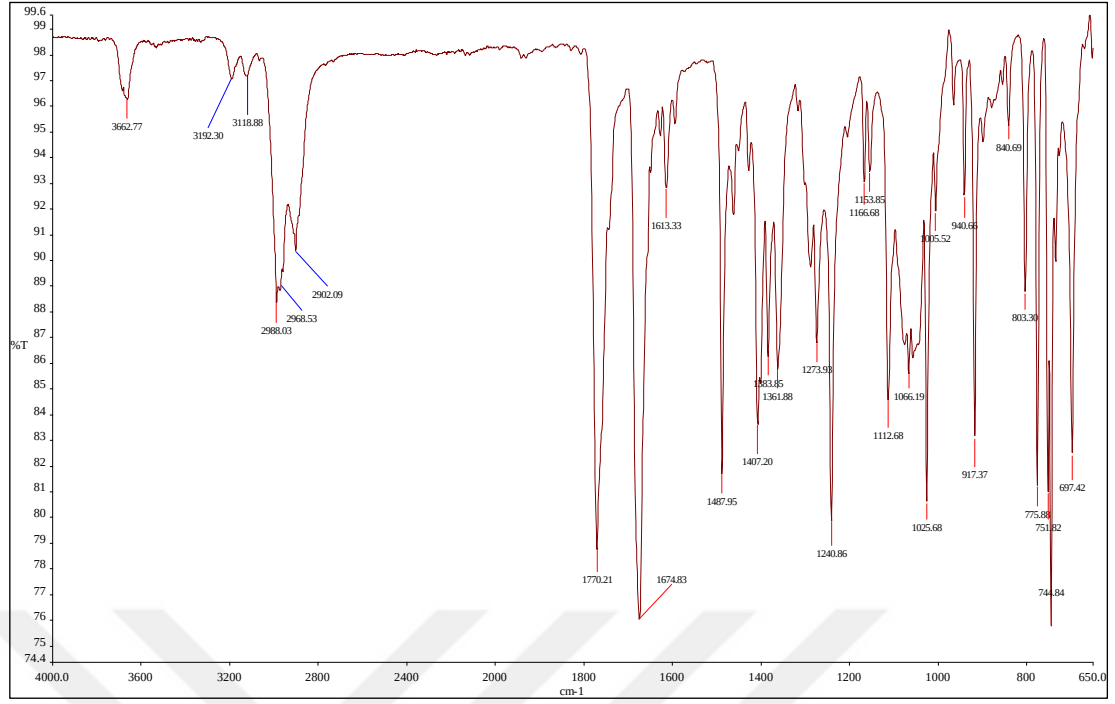
Spektrum 47. B10 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



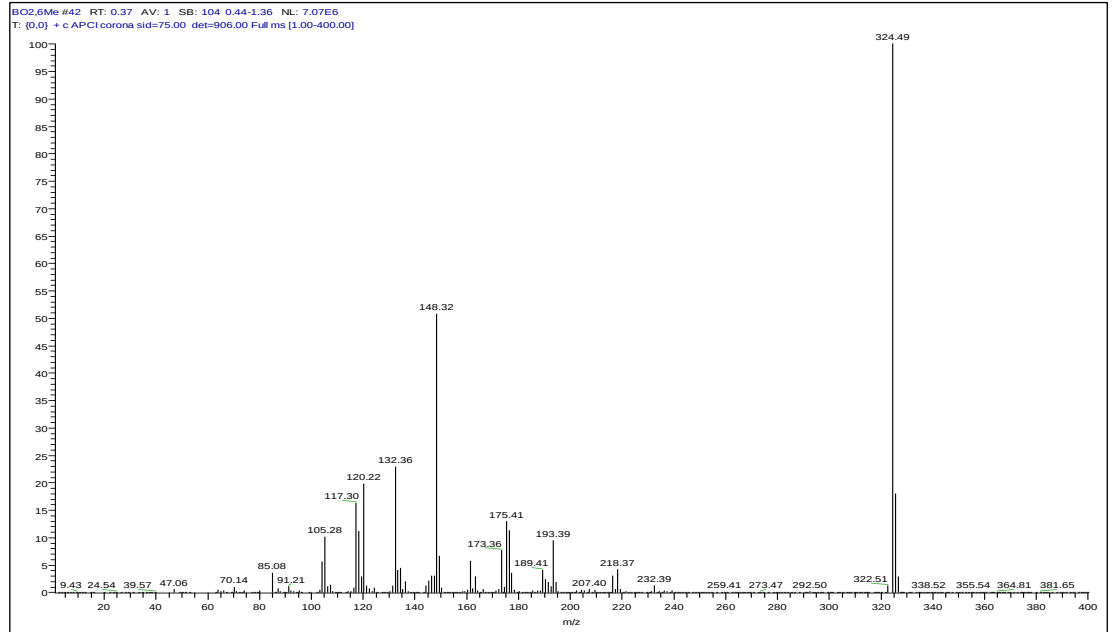
Spektrum 48. B10 Kodlu Bileşğin Geniştirilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



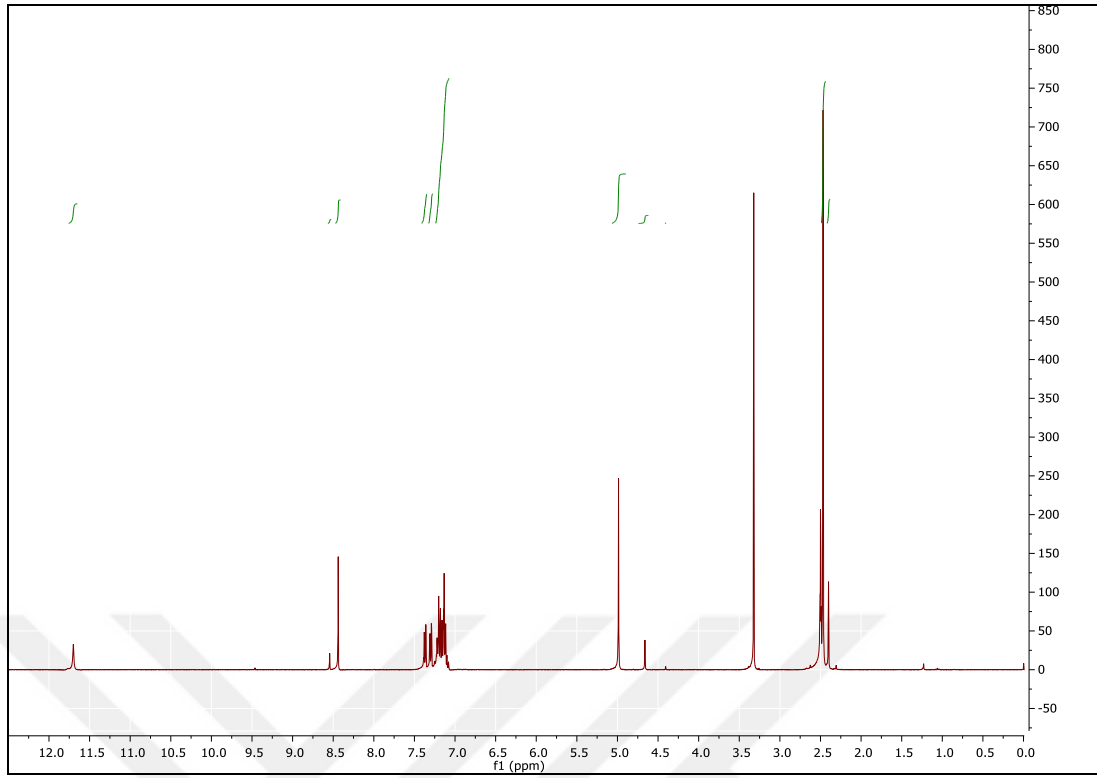
Spektrum 49. B10 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



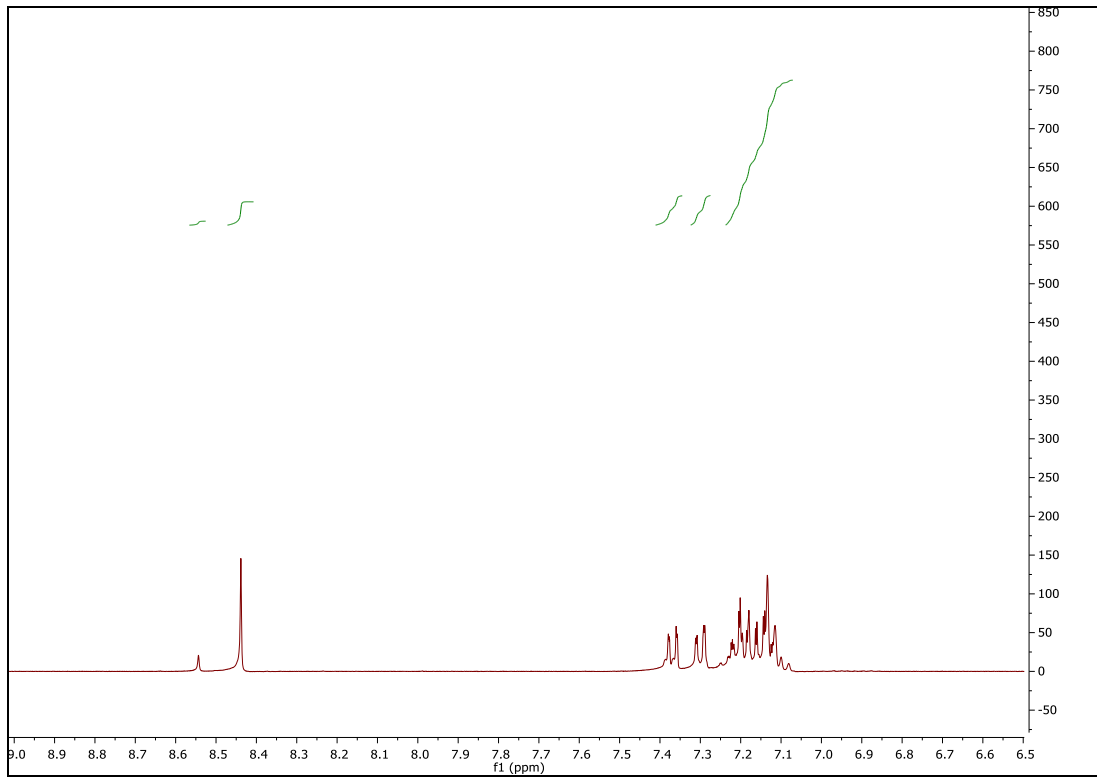
Spektrum 50. B11 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



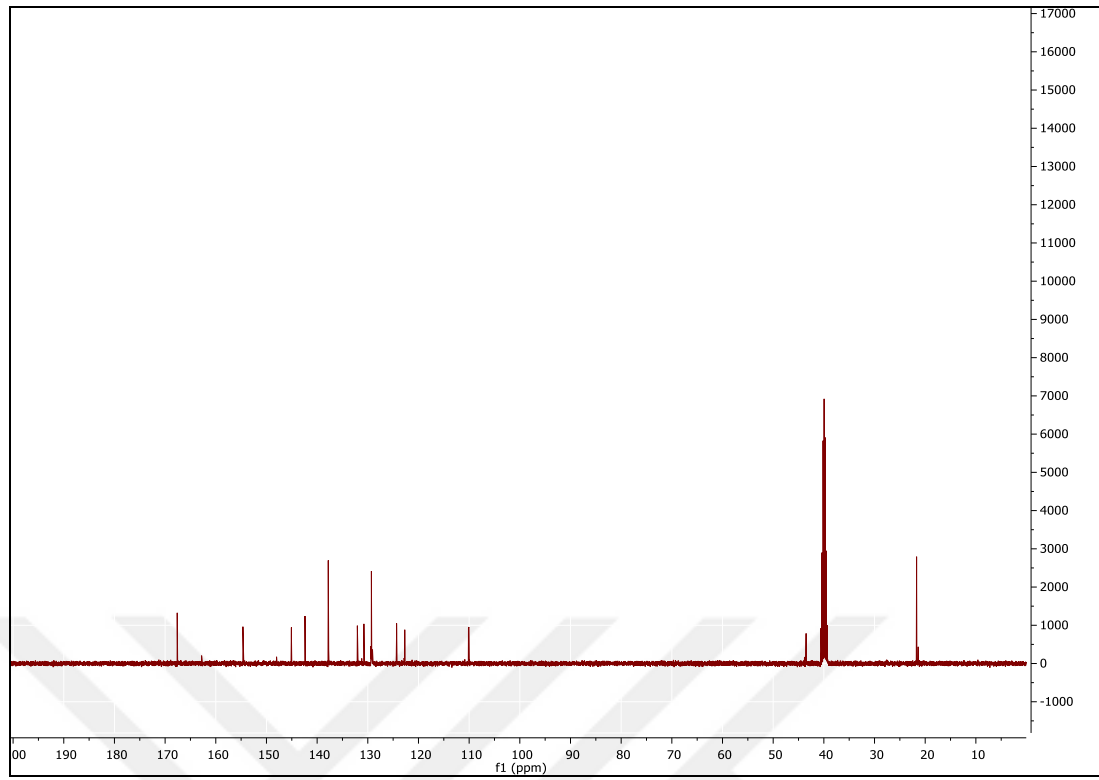
Spektrum 51. B11 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



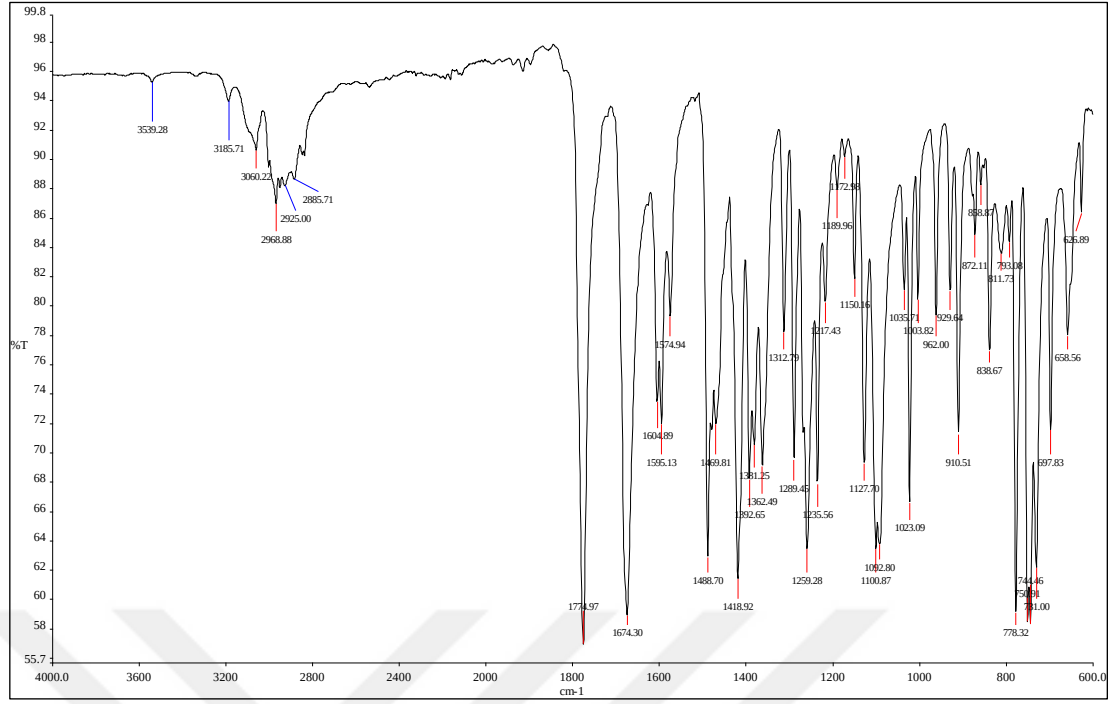
Spektrum 52. B11 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



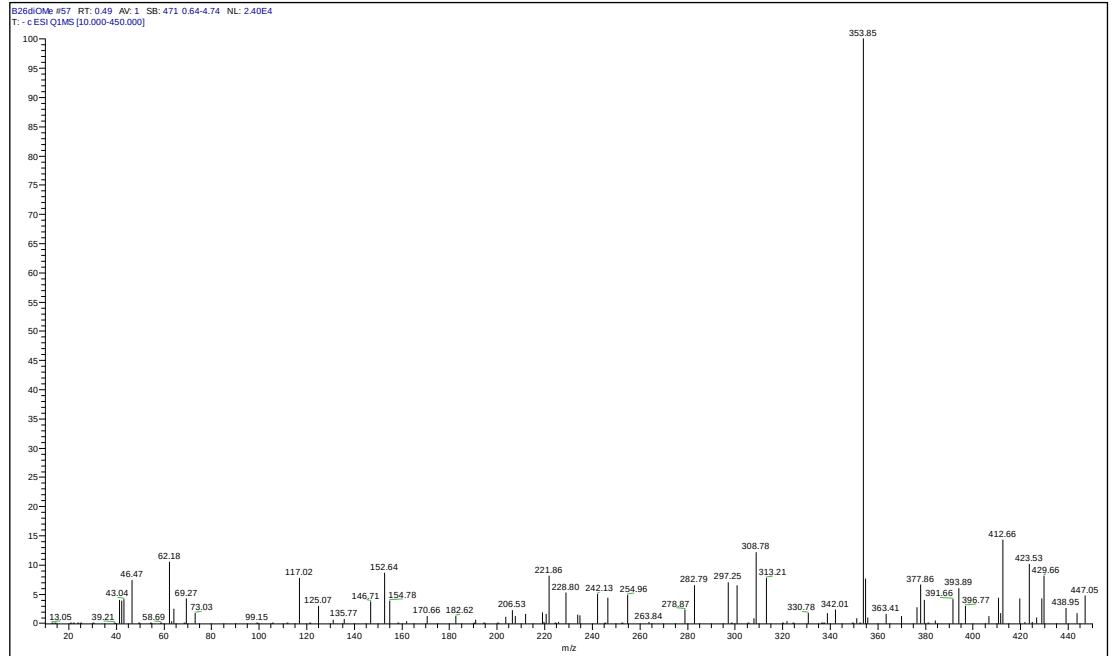
Spektrum 53. B11 Kodlu Bileşğin Geniştirilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



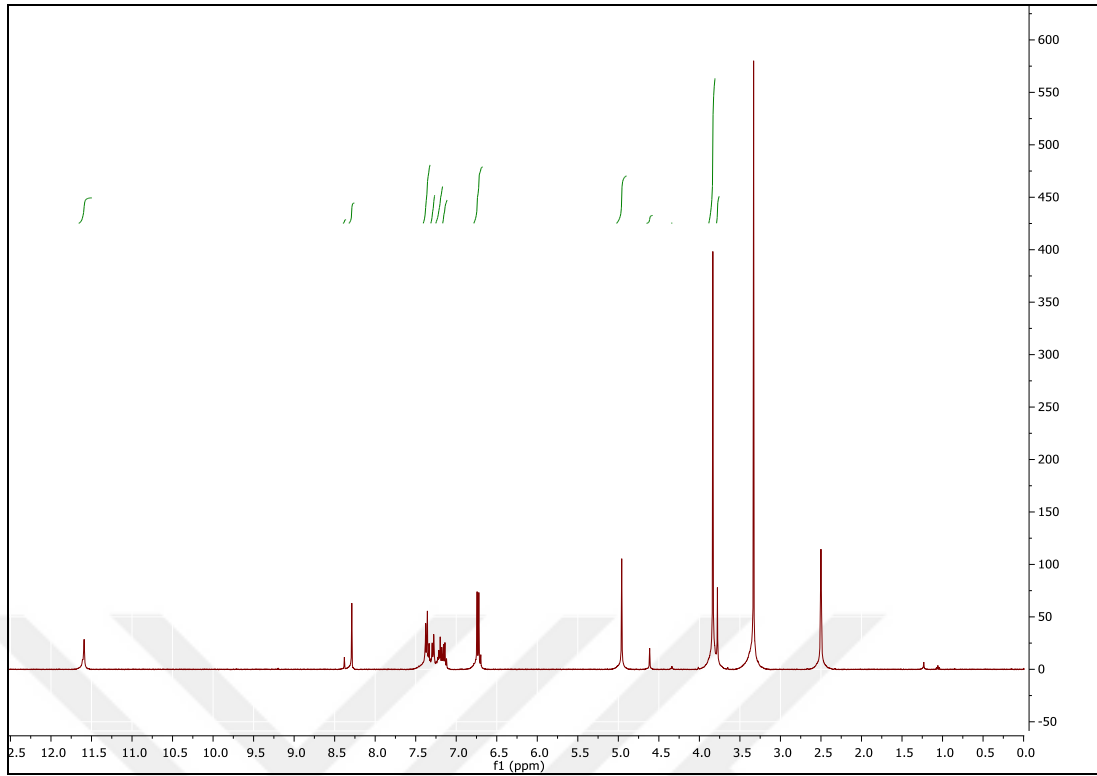
Spektrum 54. B11 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



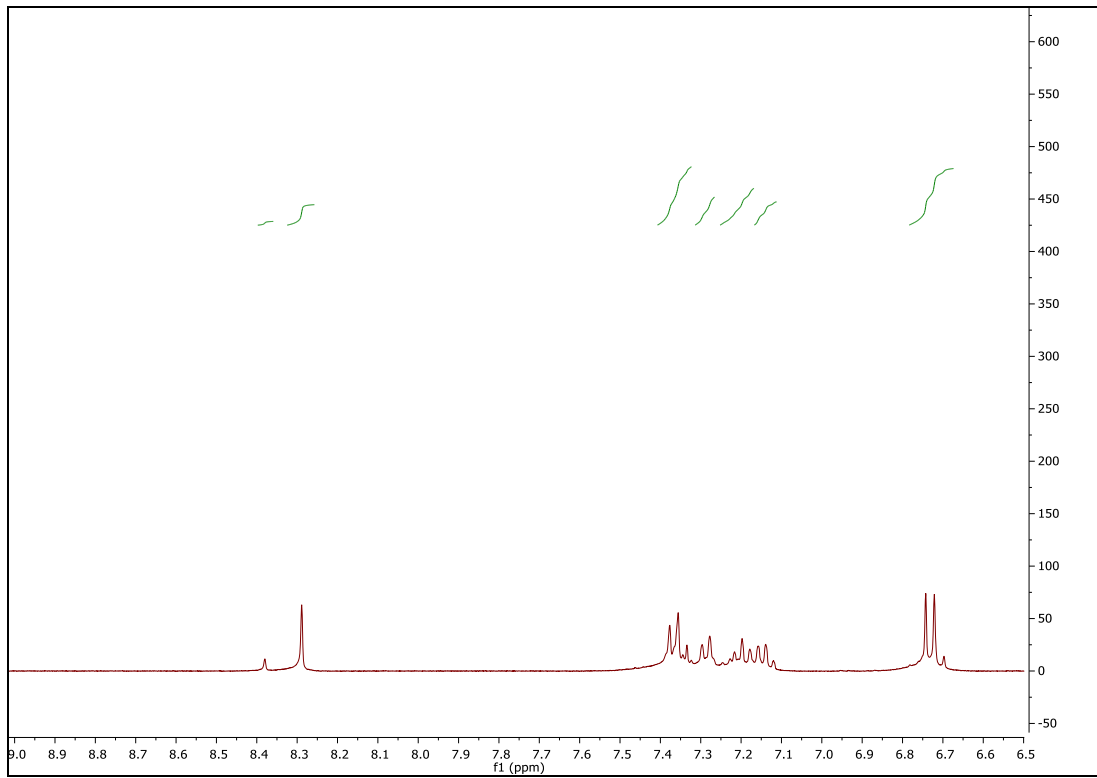
Spektrum 55. B12 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



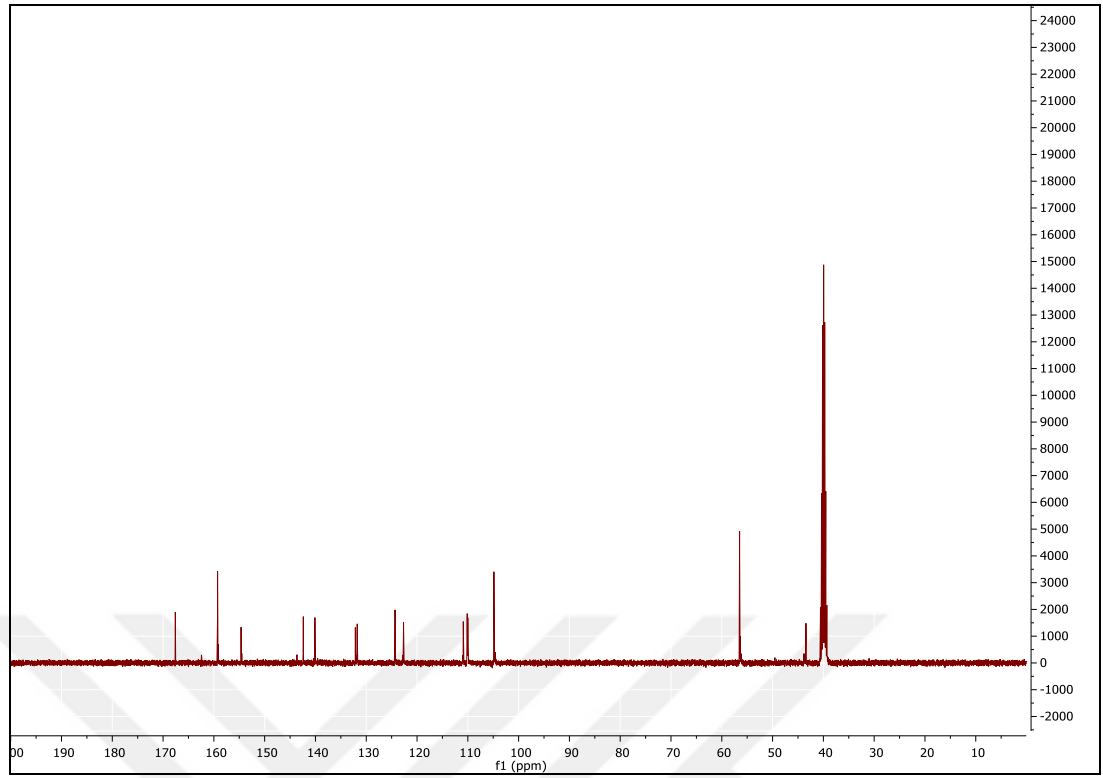
Spektrum 56. B12 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



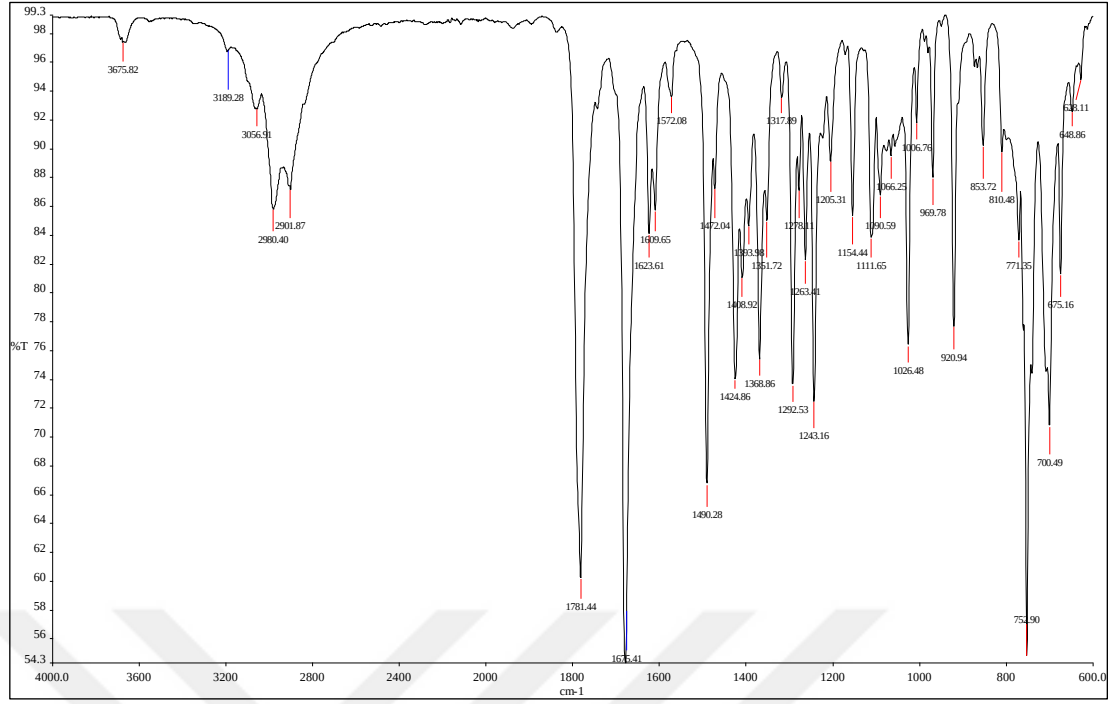
Spektrum 57. B12 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



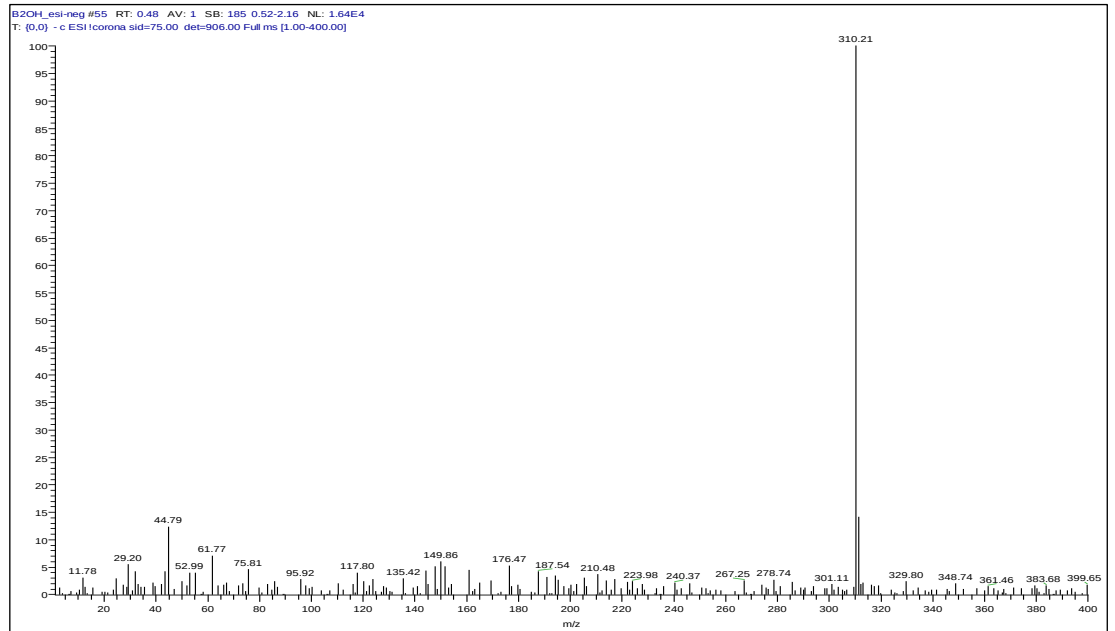
Spektrum 58. B12 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



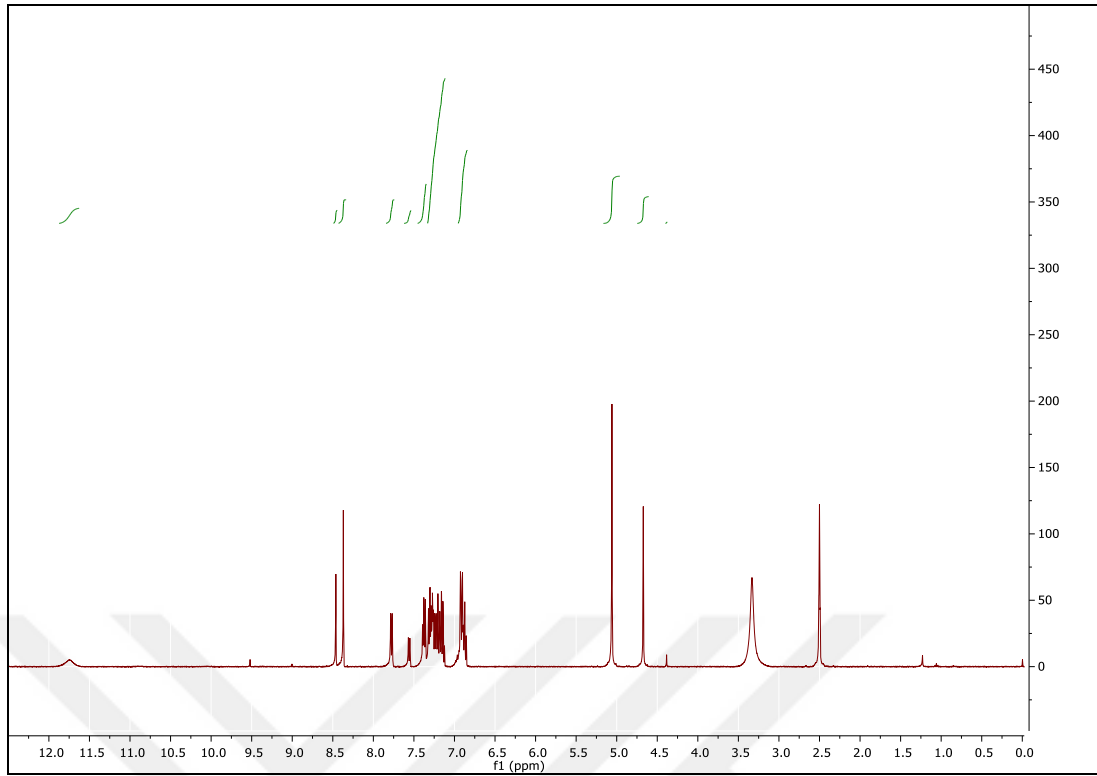
Spektrum 59. B12 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



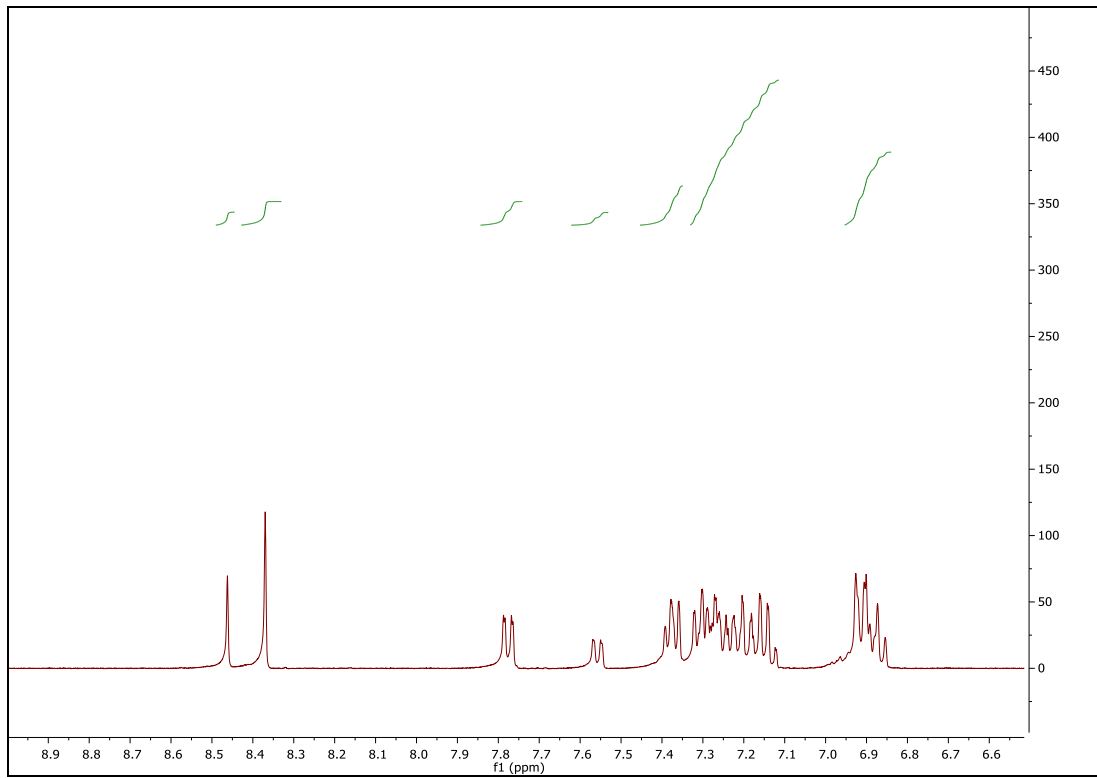
Spektrum 60. B13 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



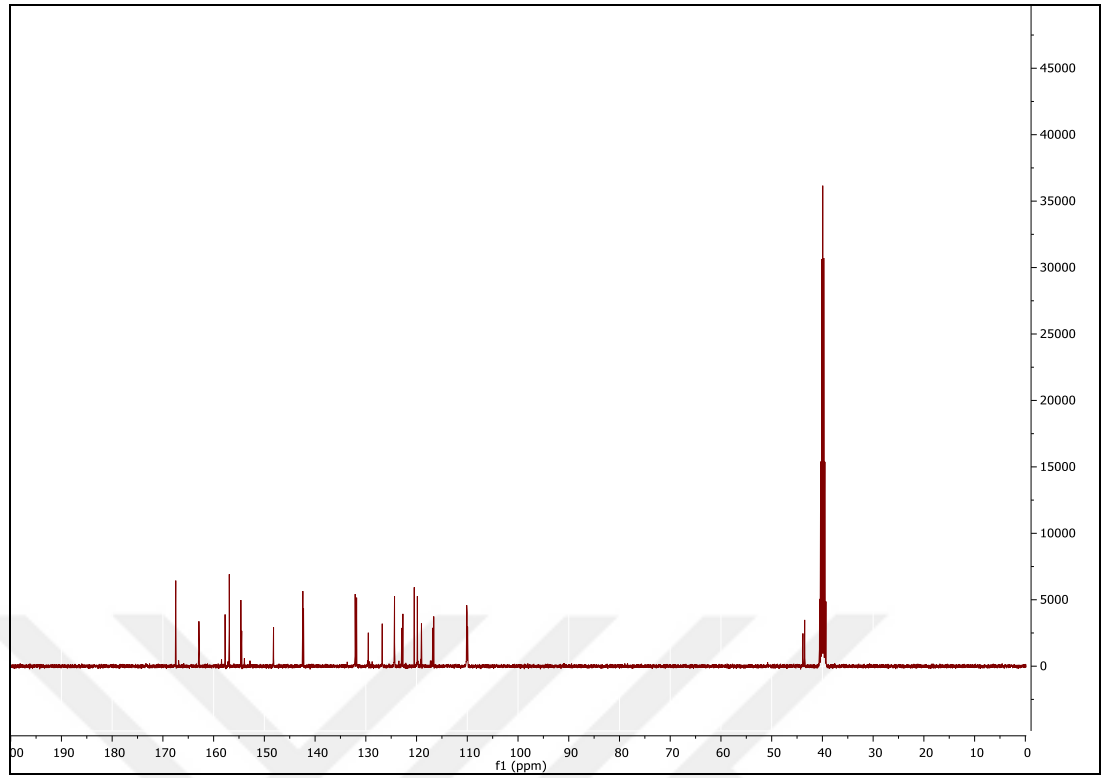
Spektrum 61. B13 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



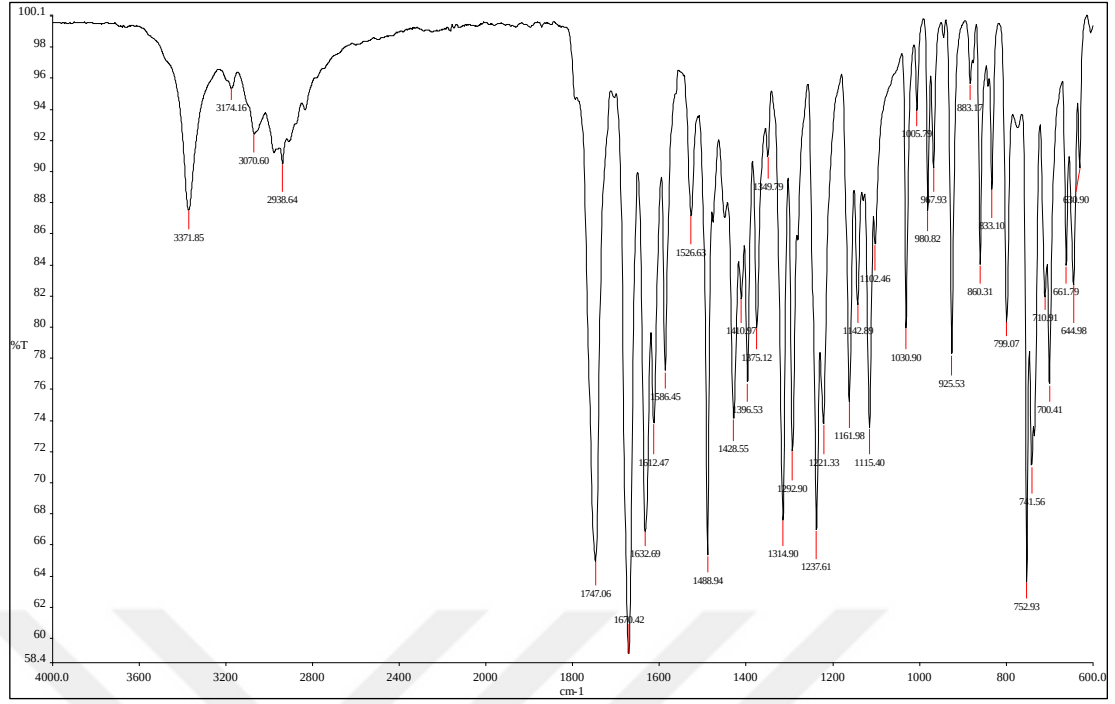
Spektrum 62. B13 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



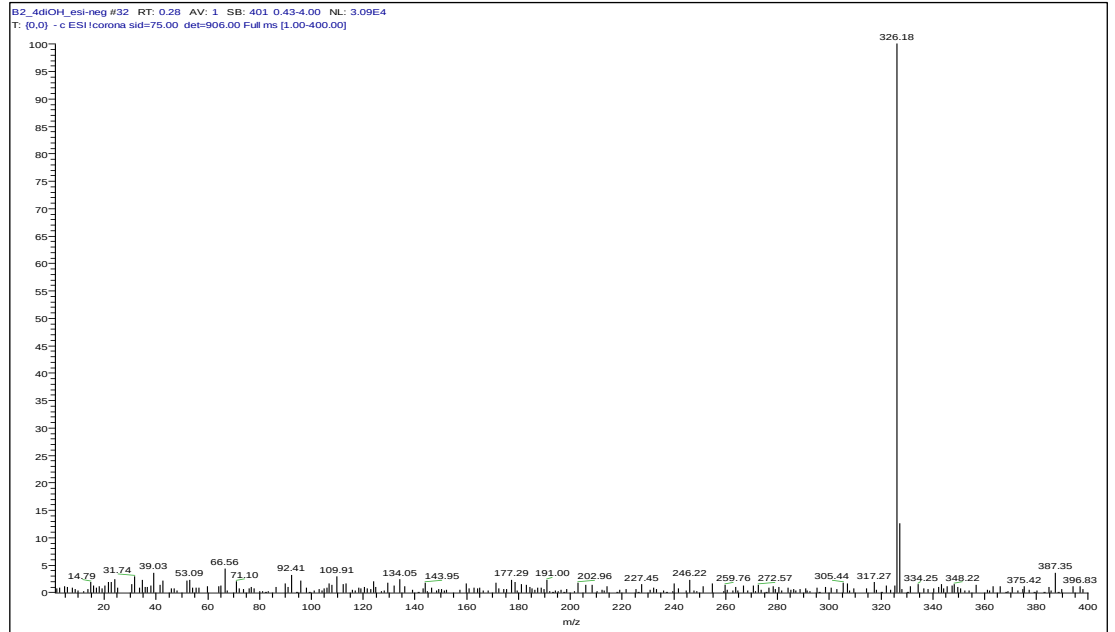
Spektrum 63. B13 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



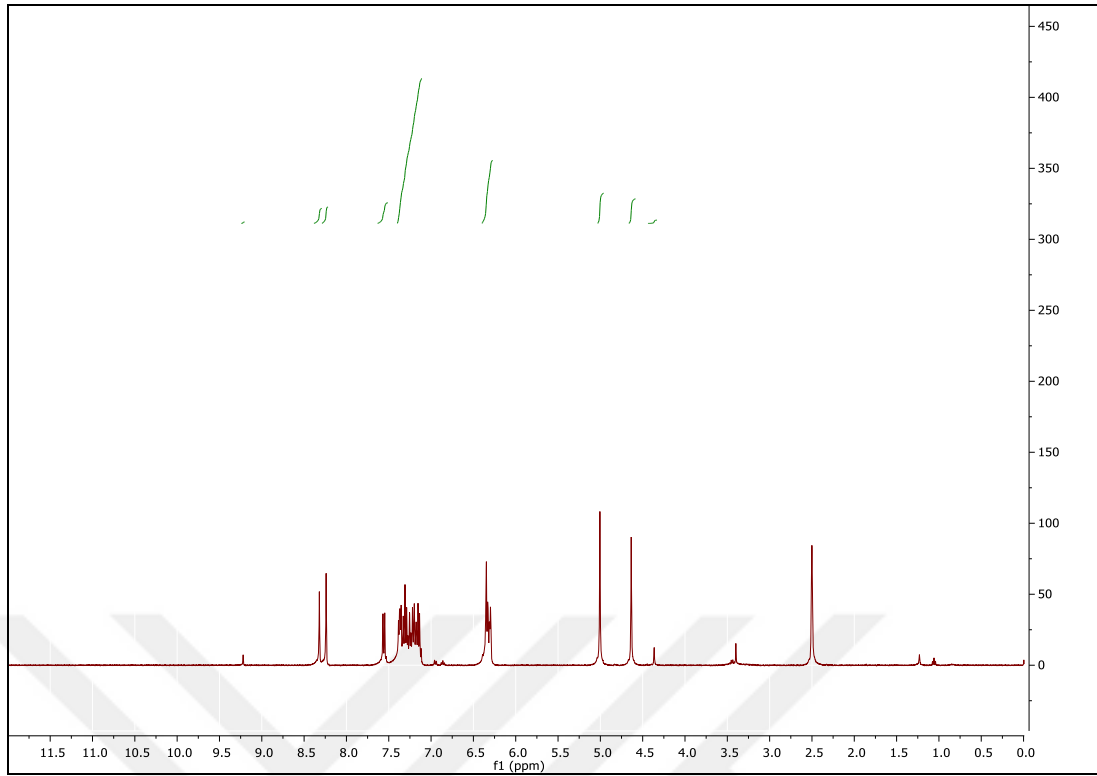
Spektrum 64. B13 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



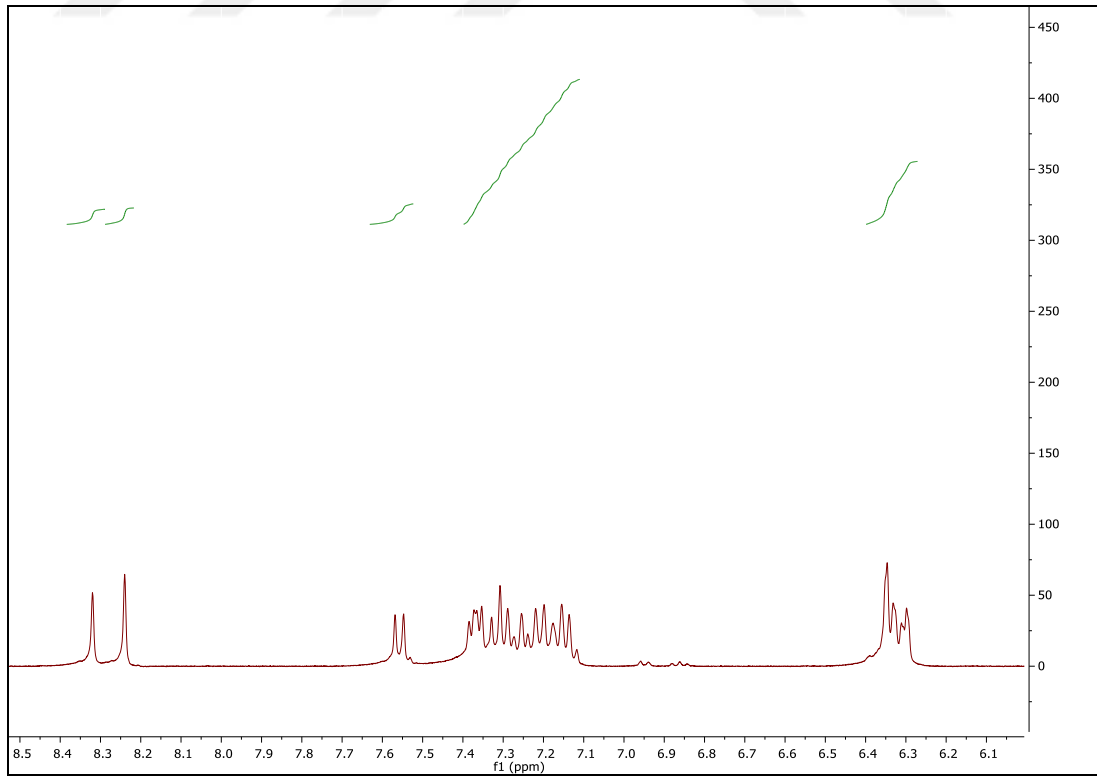
Spektrum 65. B14 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



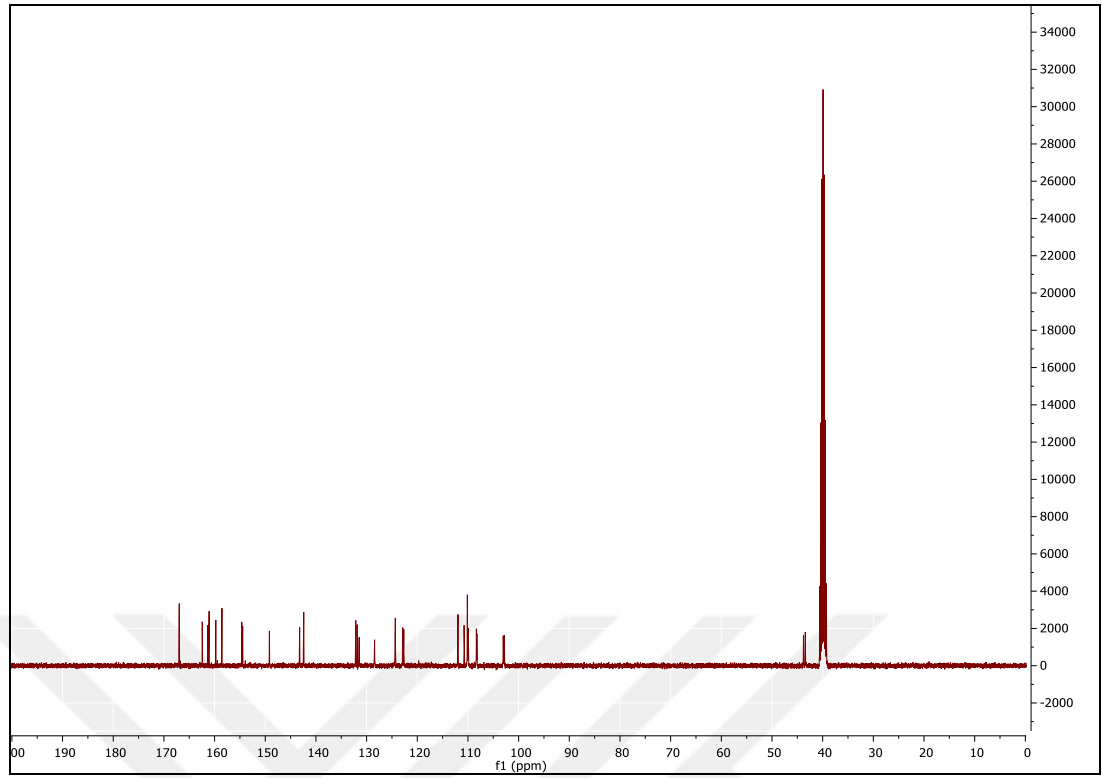
Spektrum 66. B14 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



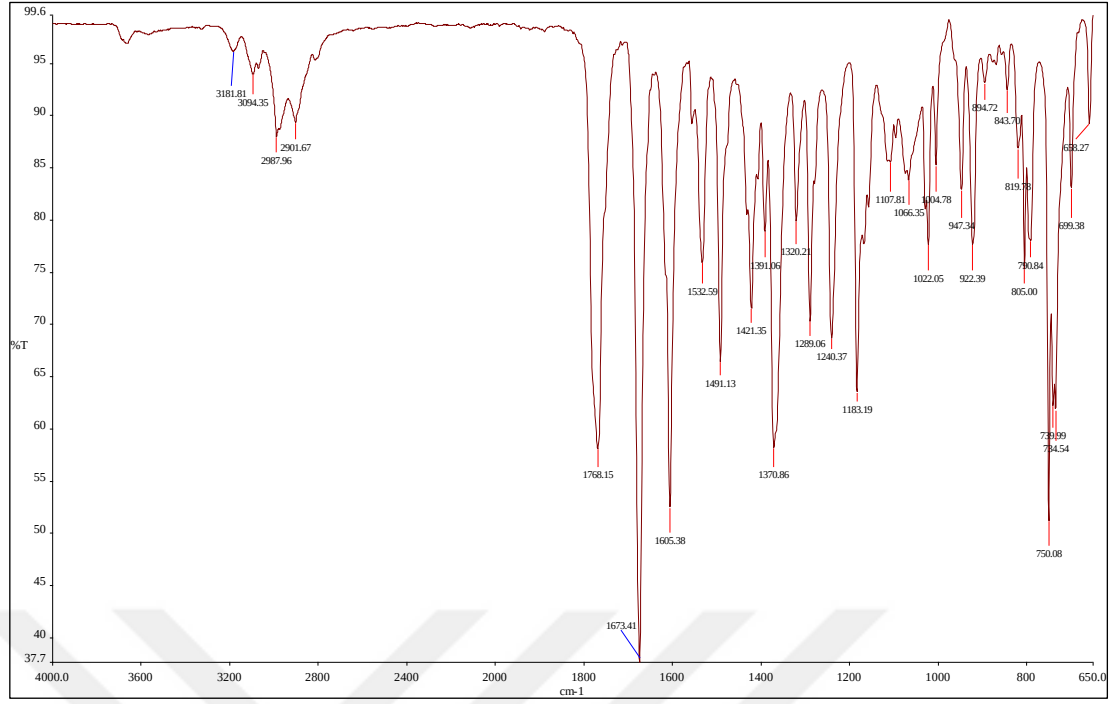
Spektrum 67. B14 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



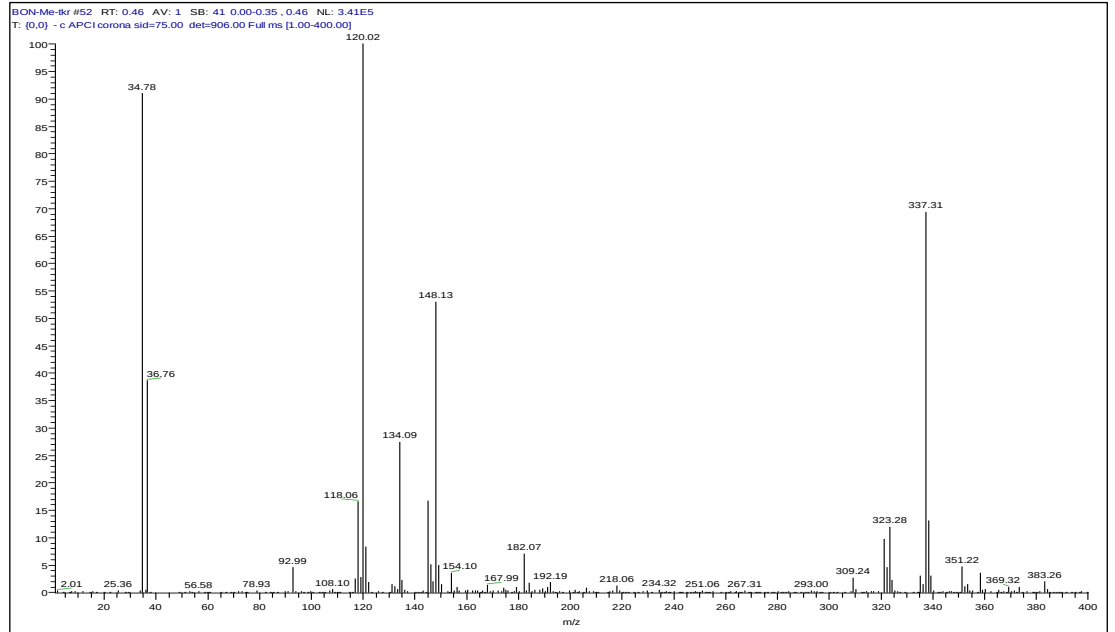
Spektrum 68. B14 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



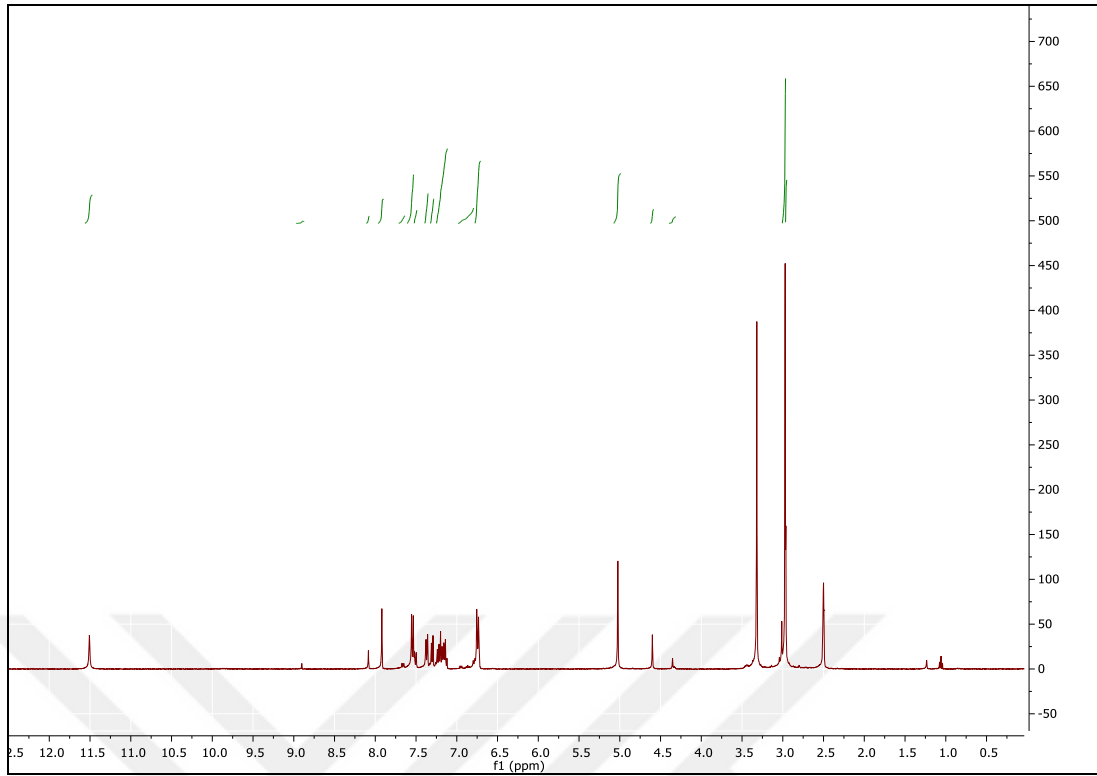
Spektrum 69. B14 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



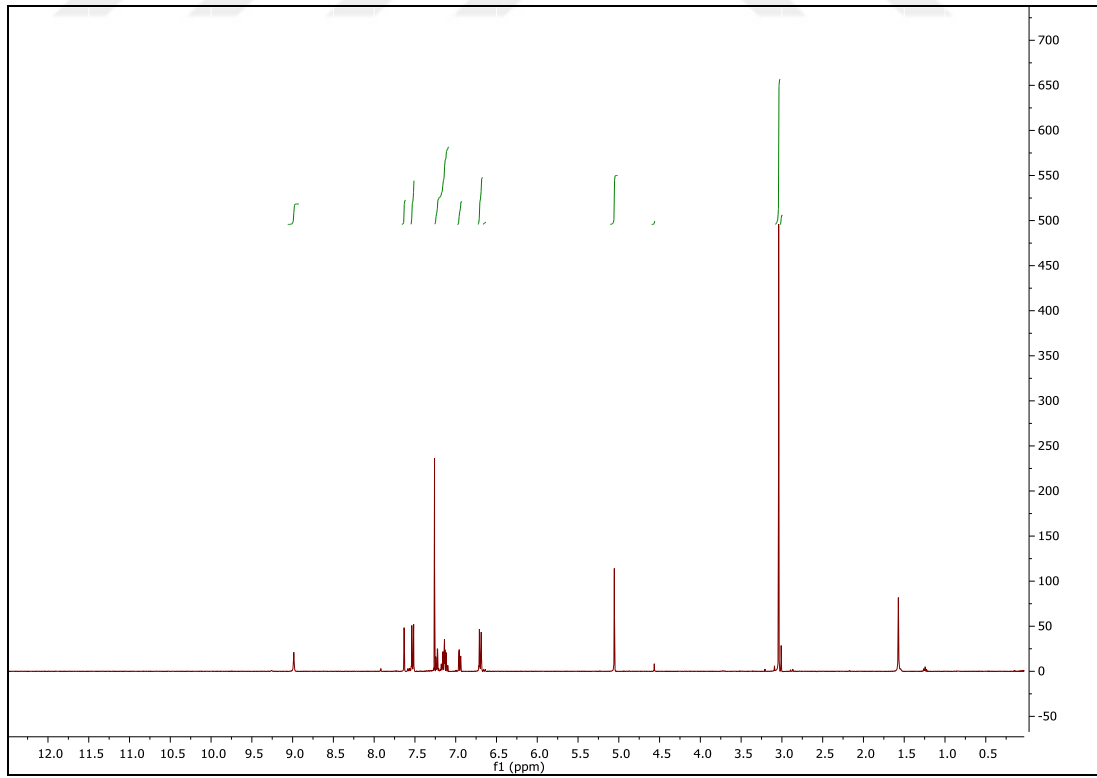
Spektrum 70. B15 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



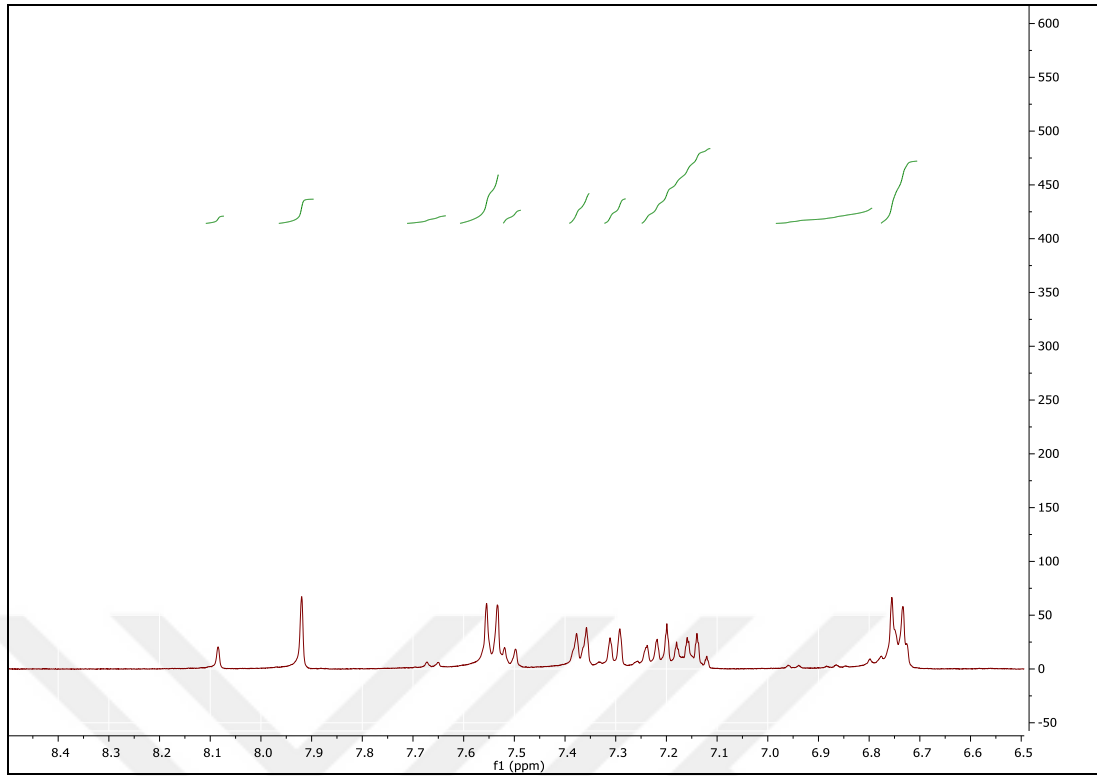
Spektrum 71. B15 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



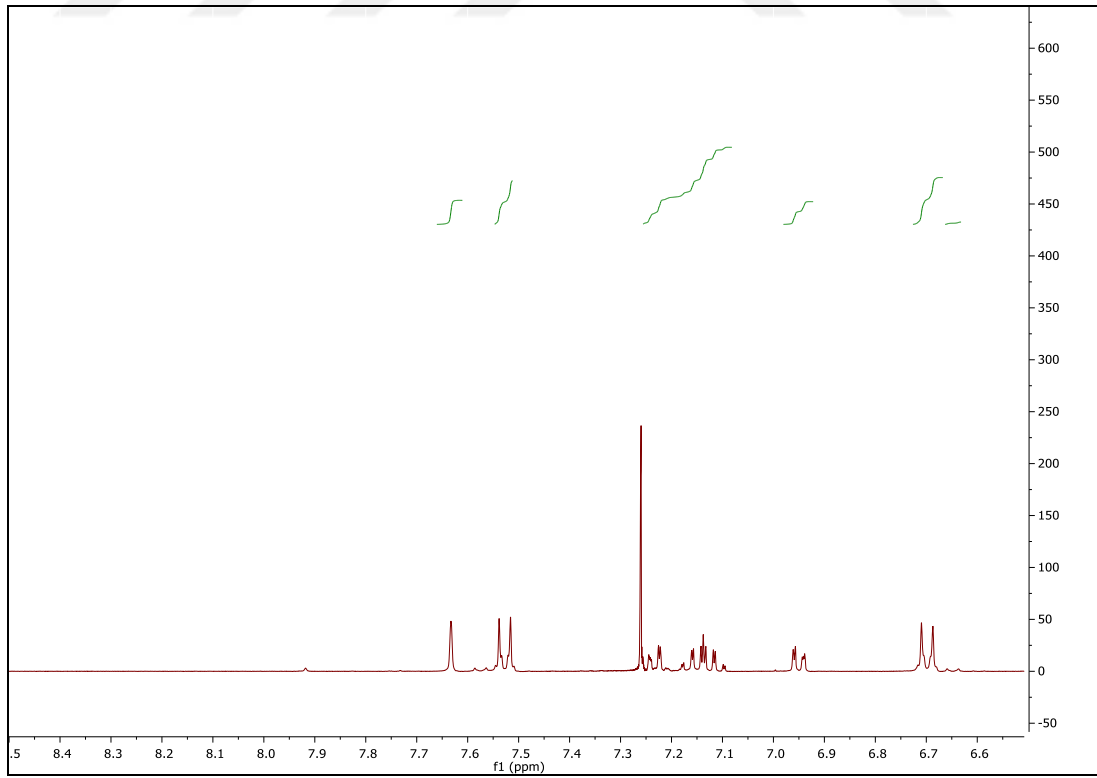
Spektrum 72. B15 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



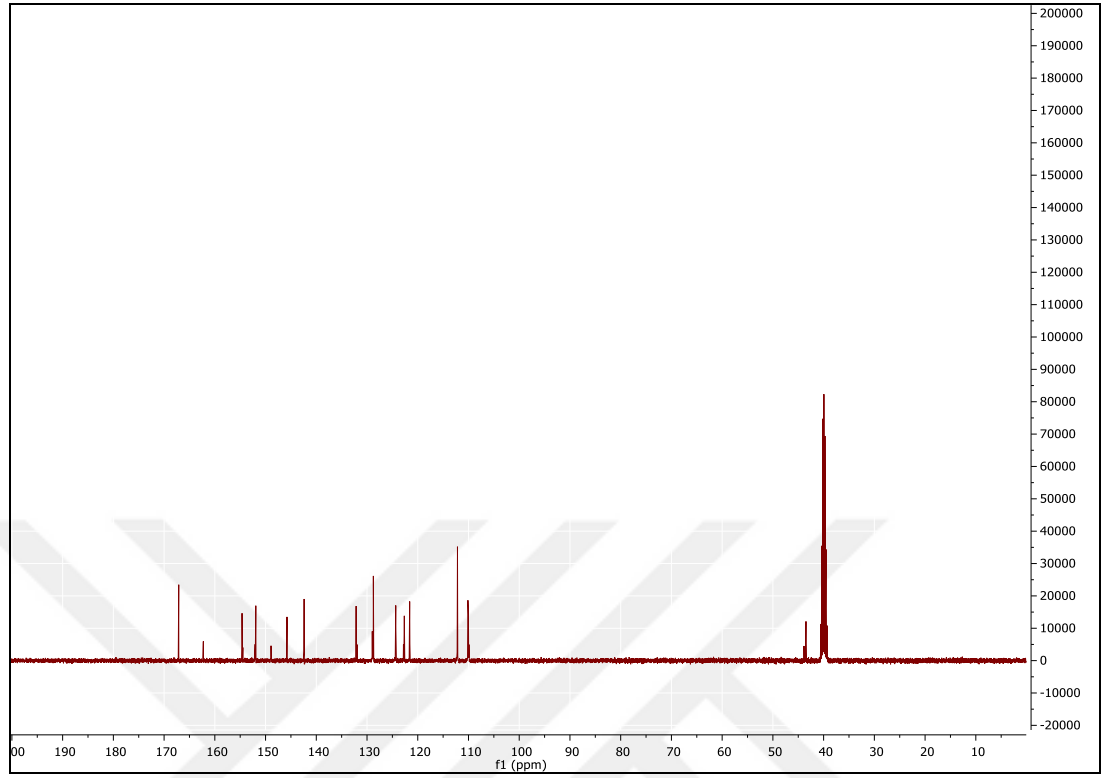
Spektrum 73. B15 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu



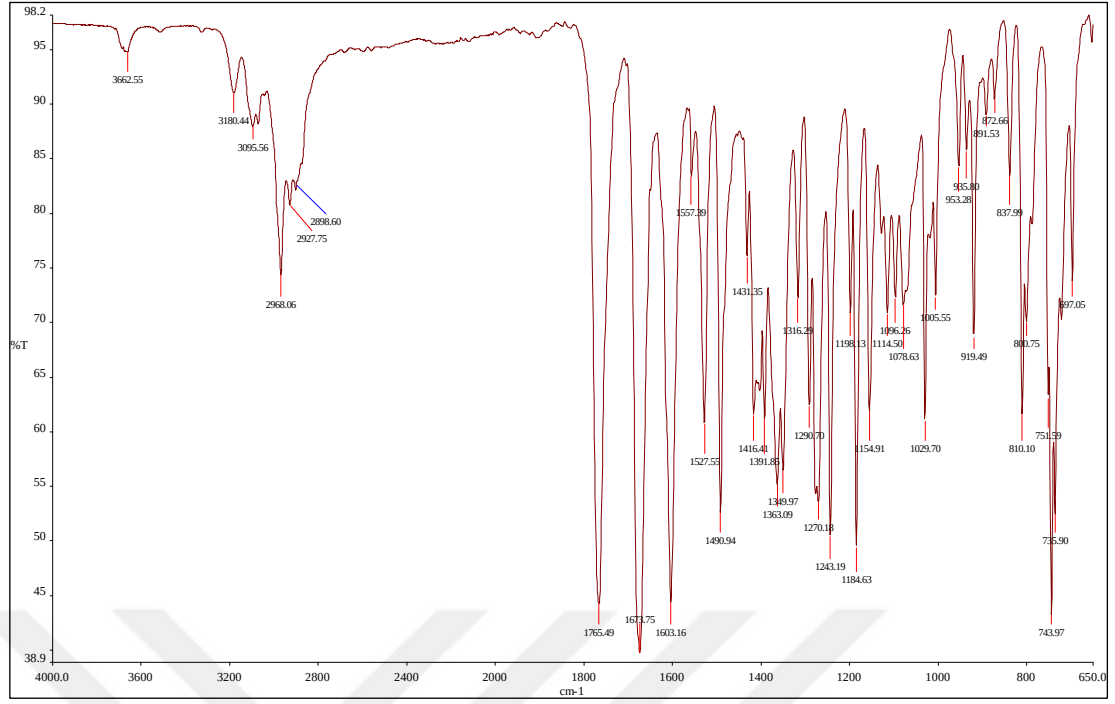
Spektrum 74. B15 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu



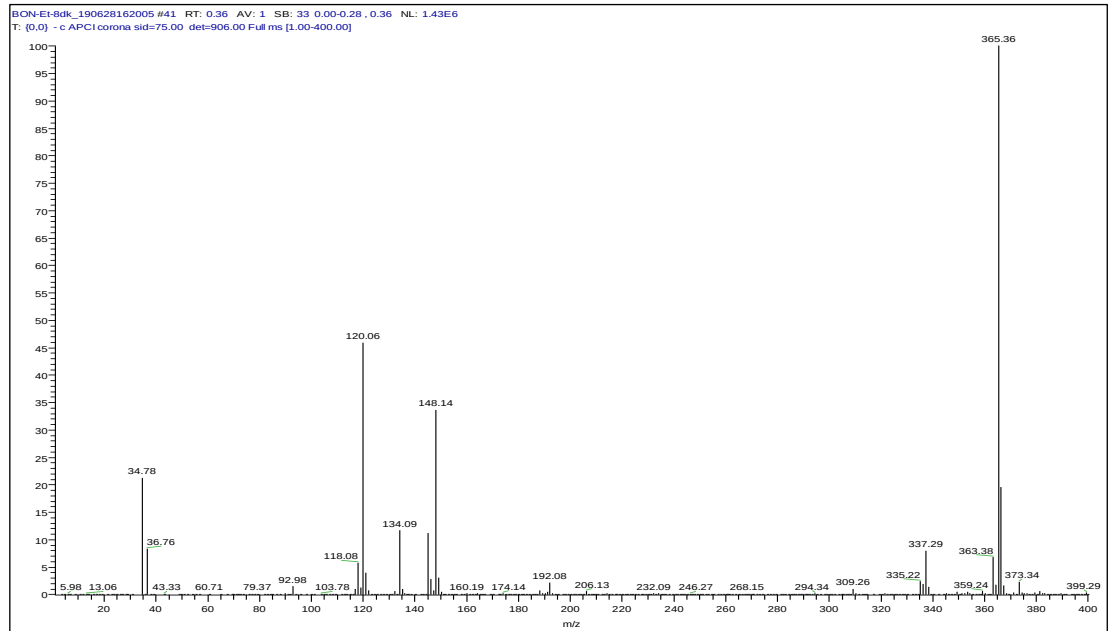
Spektrum 75. B15 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu



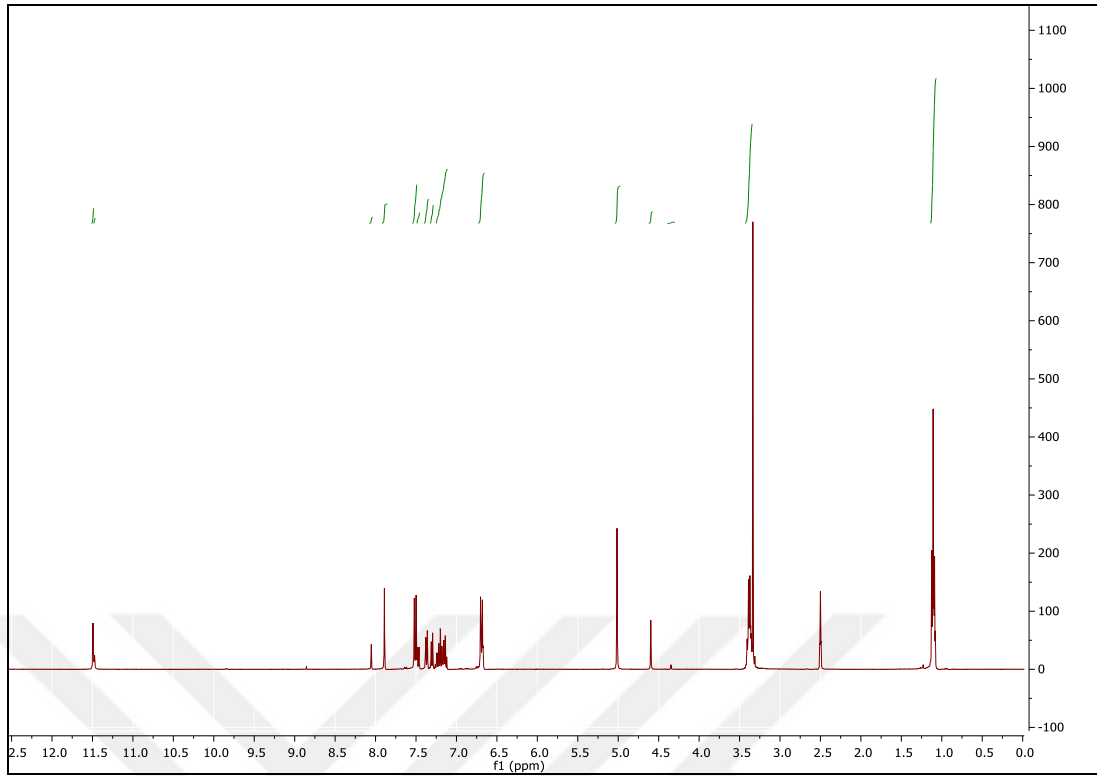
Spektrum 76. B15 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



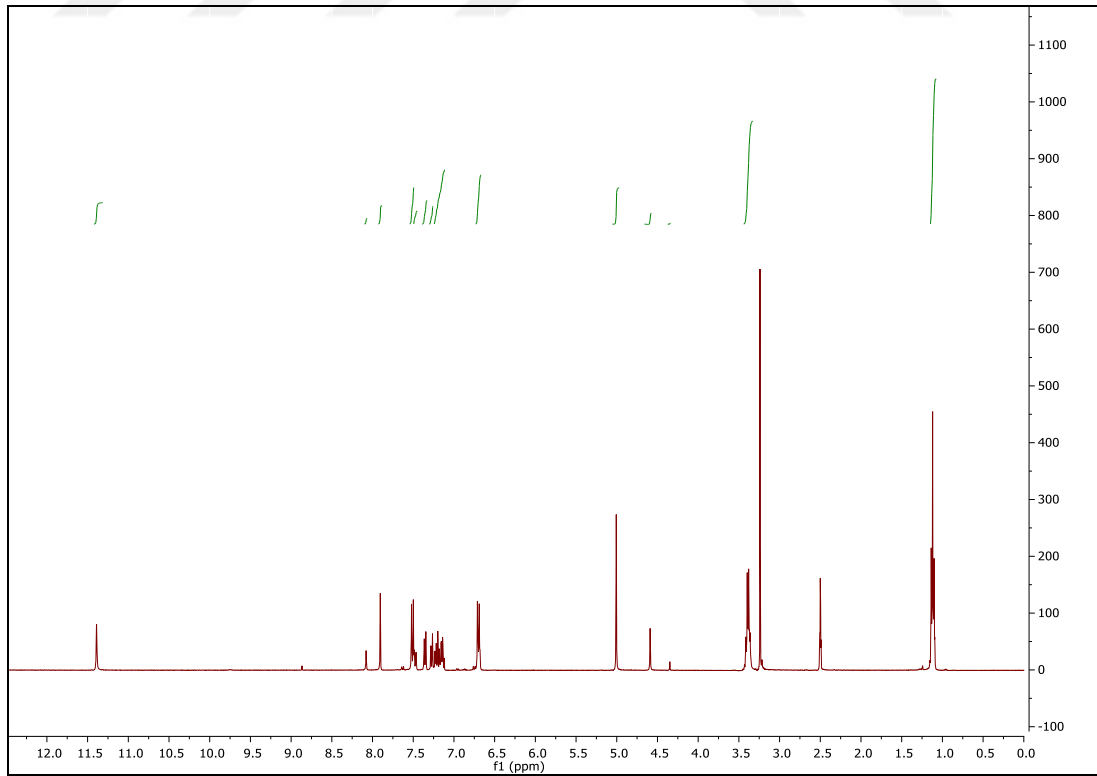
Spektrum 77. B16 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



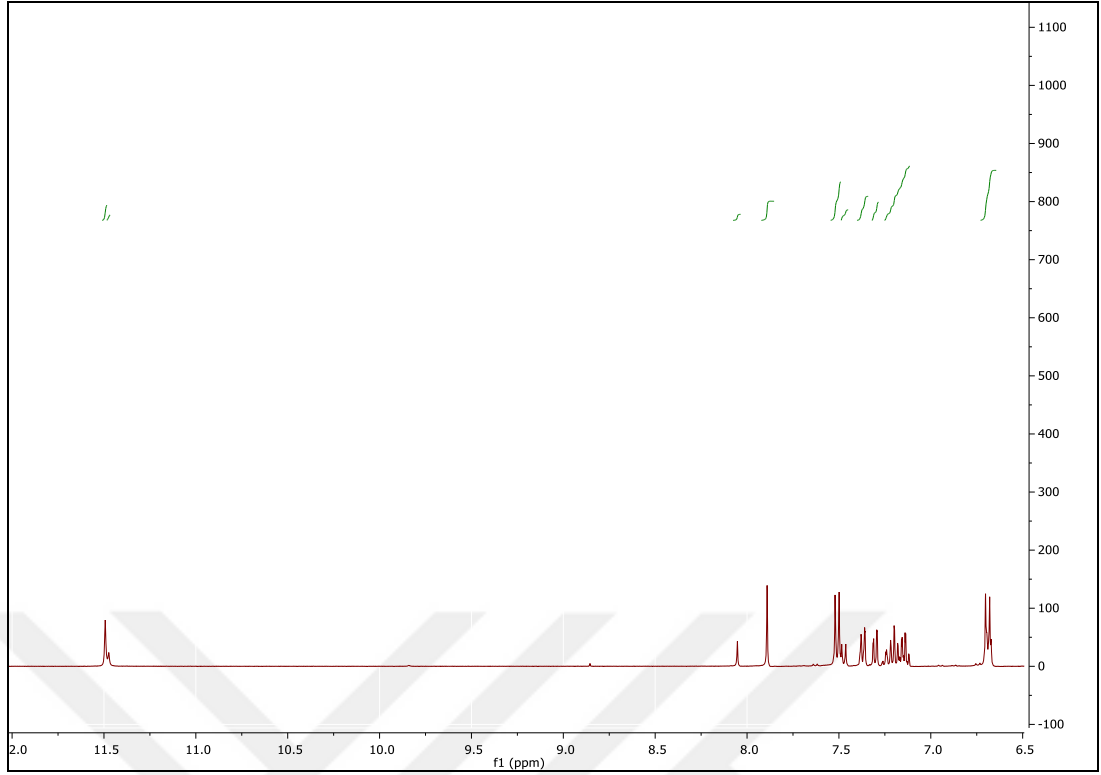
Spektrum 78. B16 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



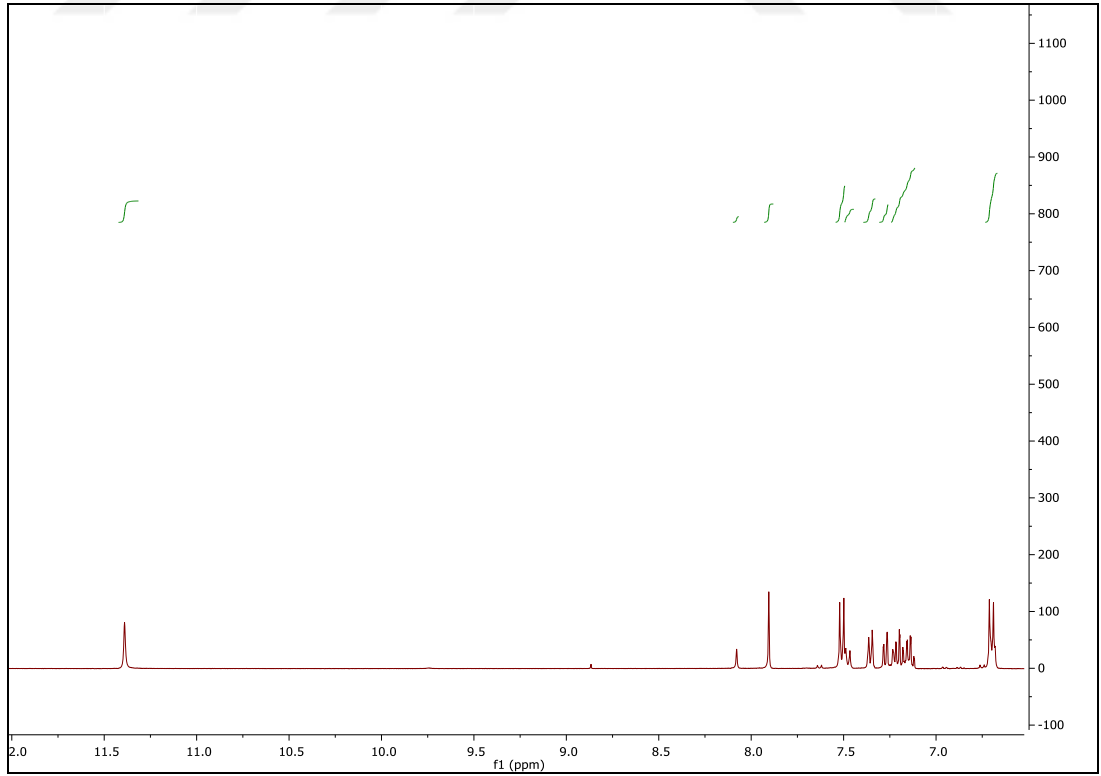
Spektrum 79. B16 Kodlu Bileşiğın ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu



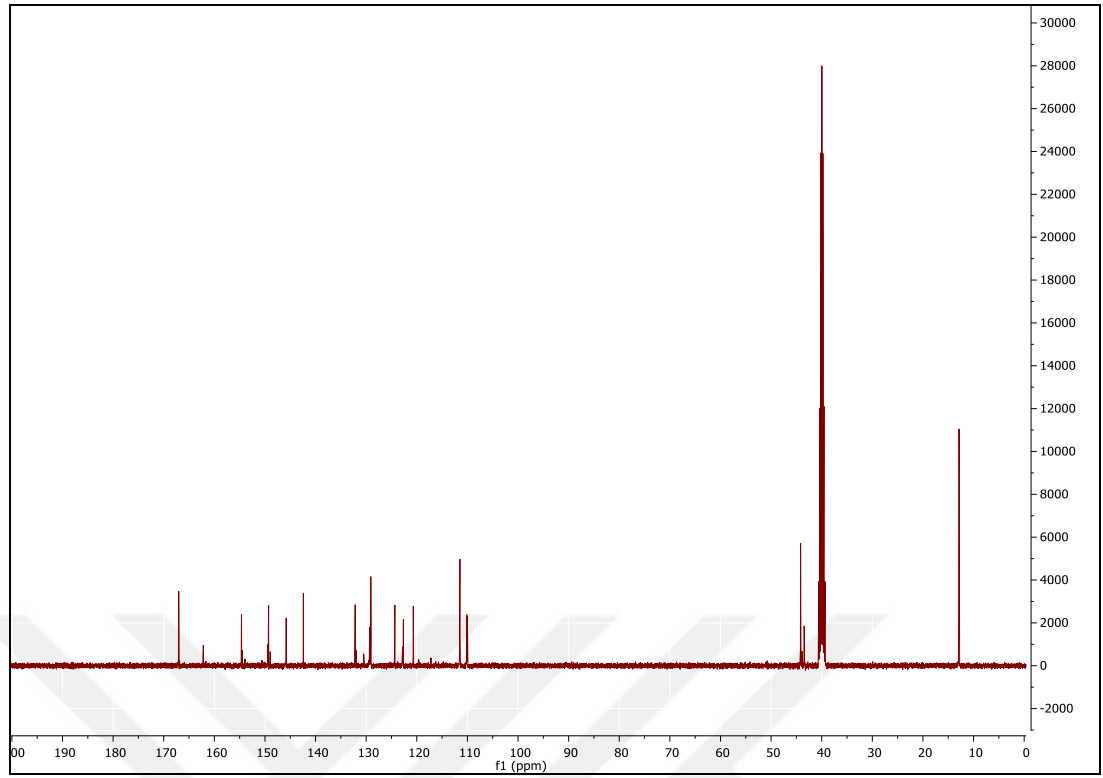
Spektrum 80. B16 Kodlu Bileşiğın 50°C Sıcaklıktaki ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu



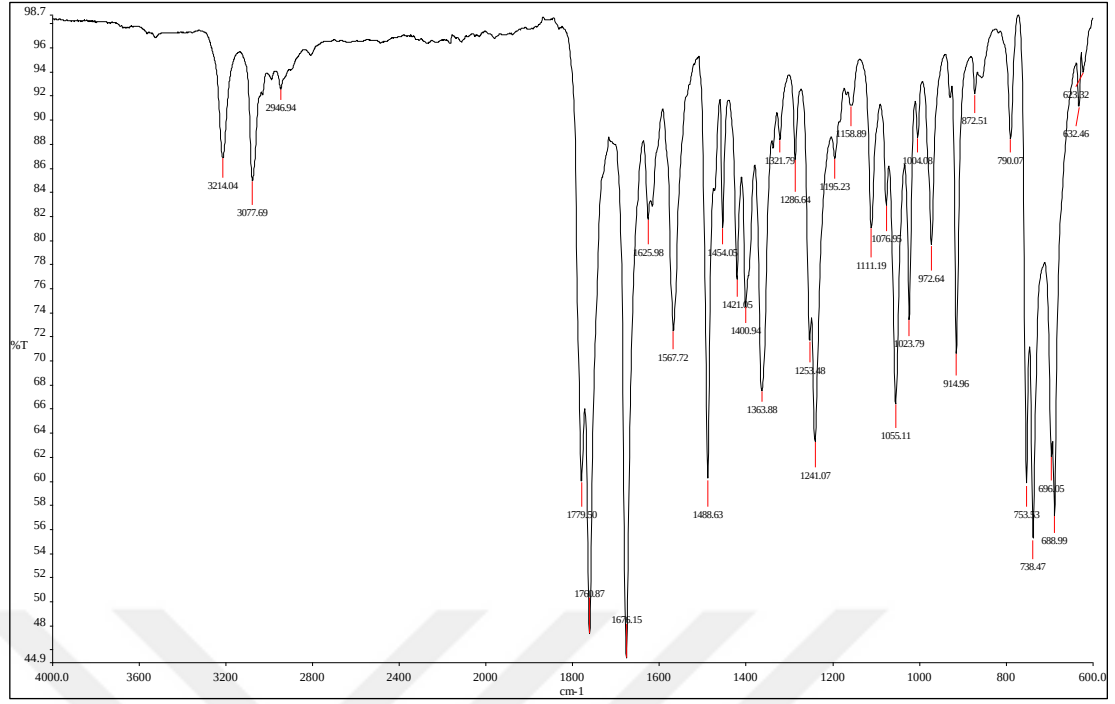
Spektrum 81. B16 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



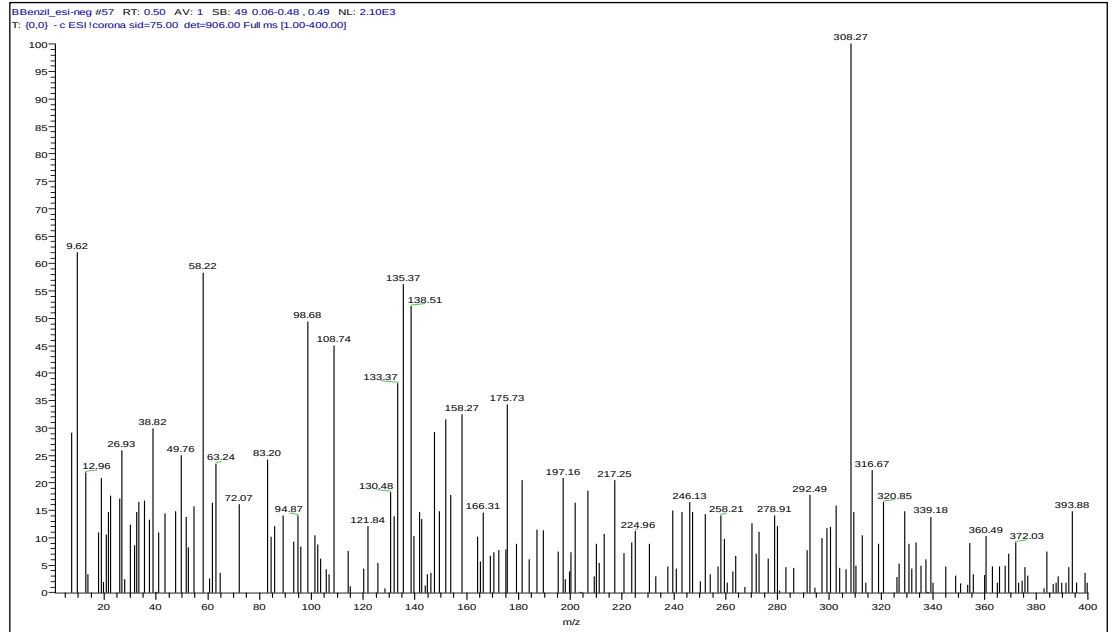
Spektrum 82. B16 Kodlu Bileşğin 50°C Sıcaklıktaki Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



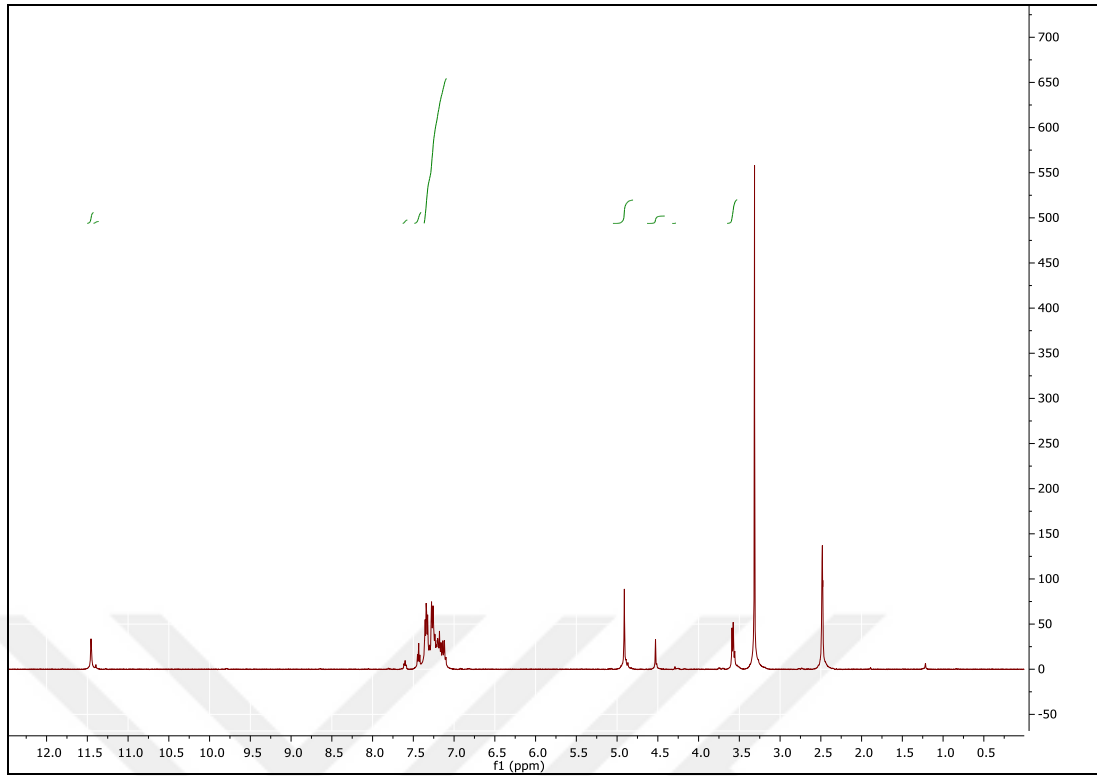
Spektrum 83. B16 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



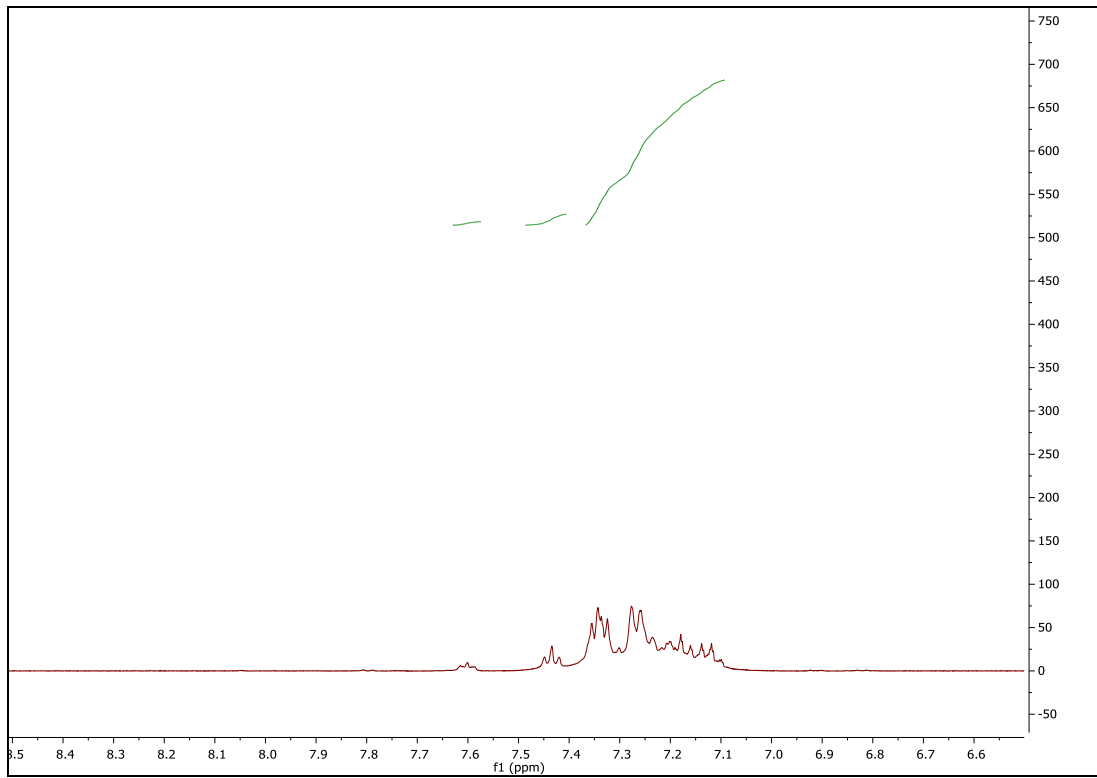
Spektrum 84. B17 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



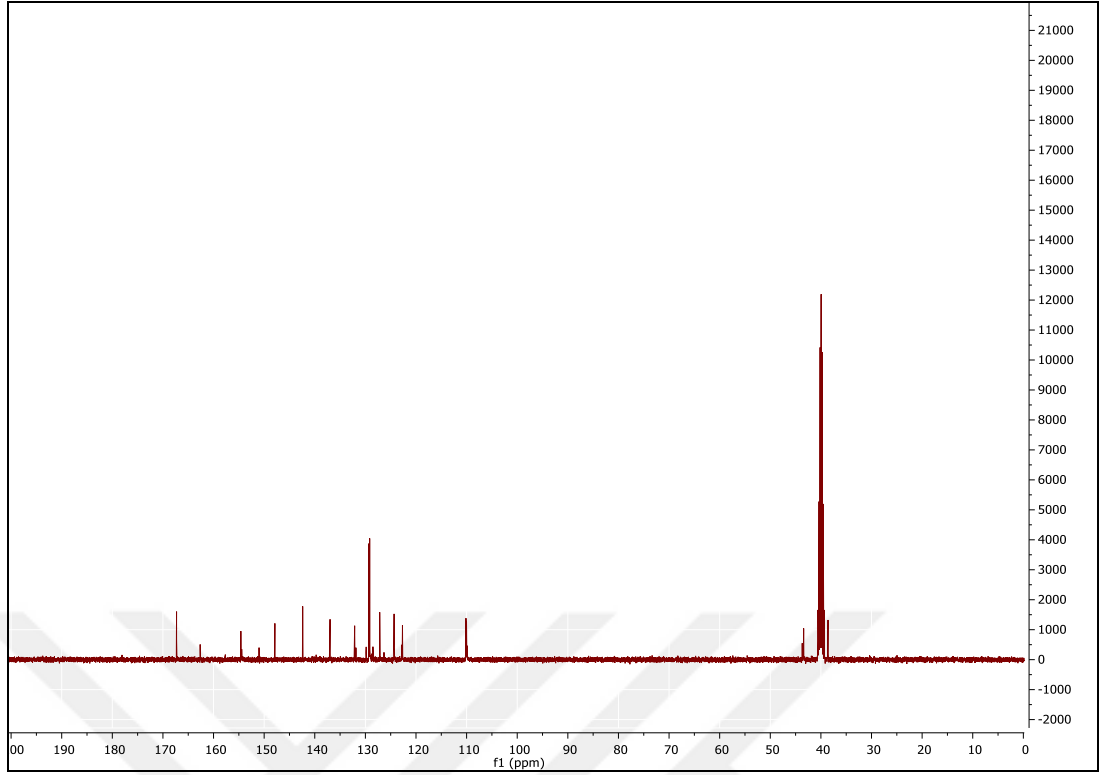
Spektrum 85. B17 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



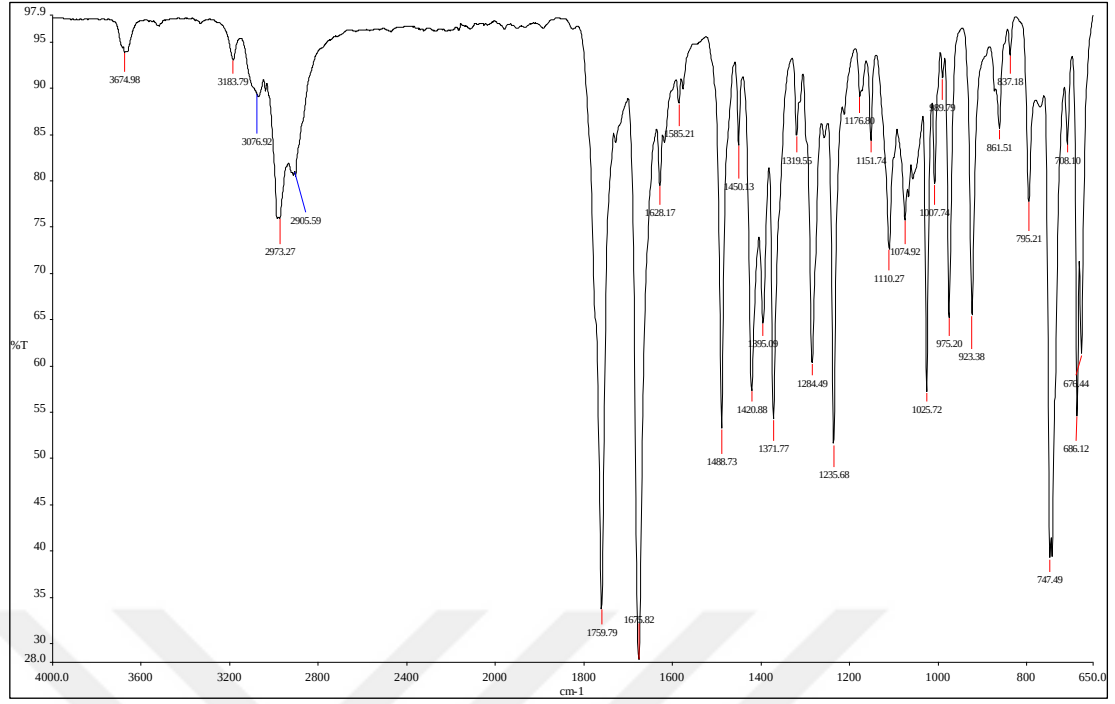
Spektrum 86. B17 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



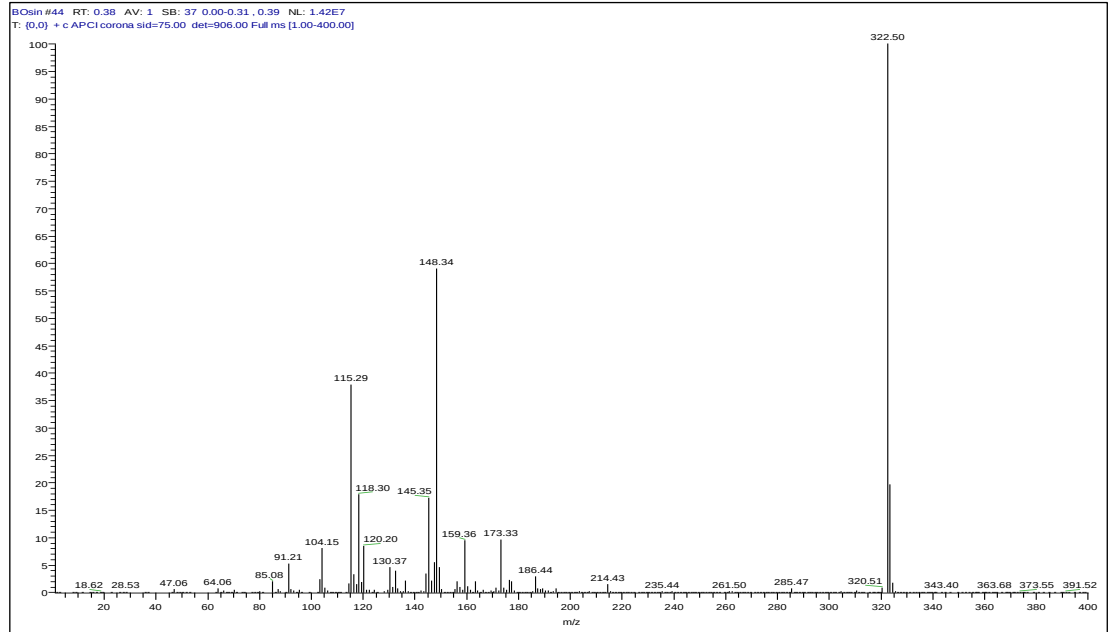
Spektrum 87. B17 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



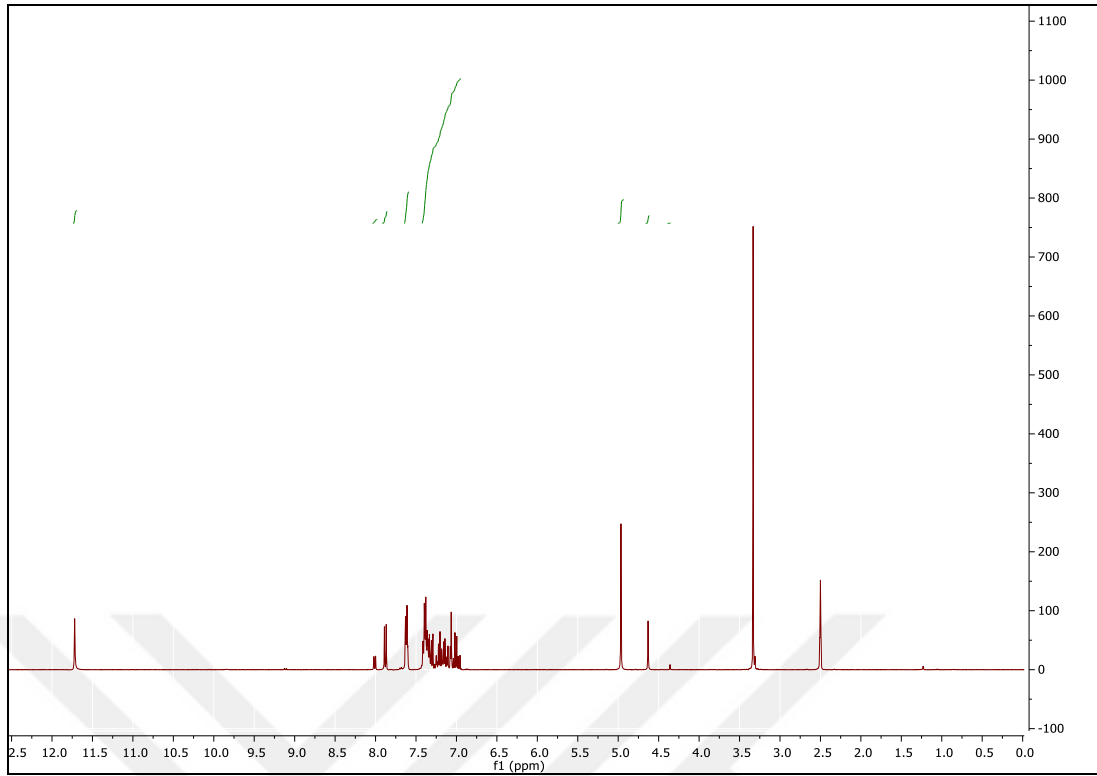
Spektrum 88. B17 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



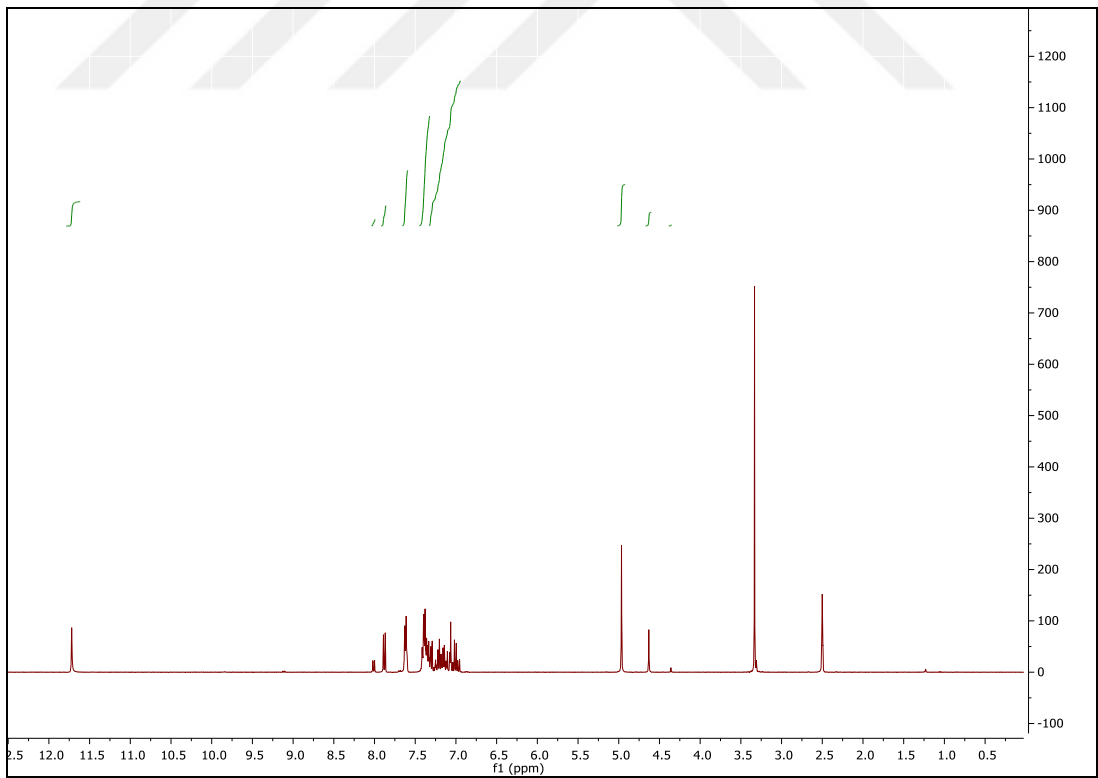
Spektrum 89. B18 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



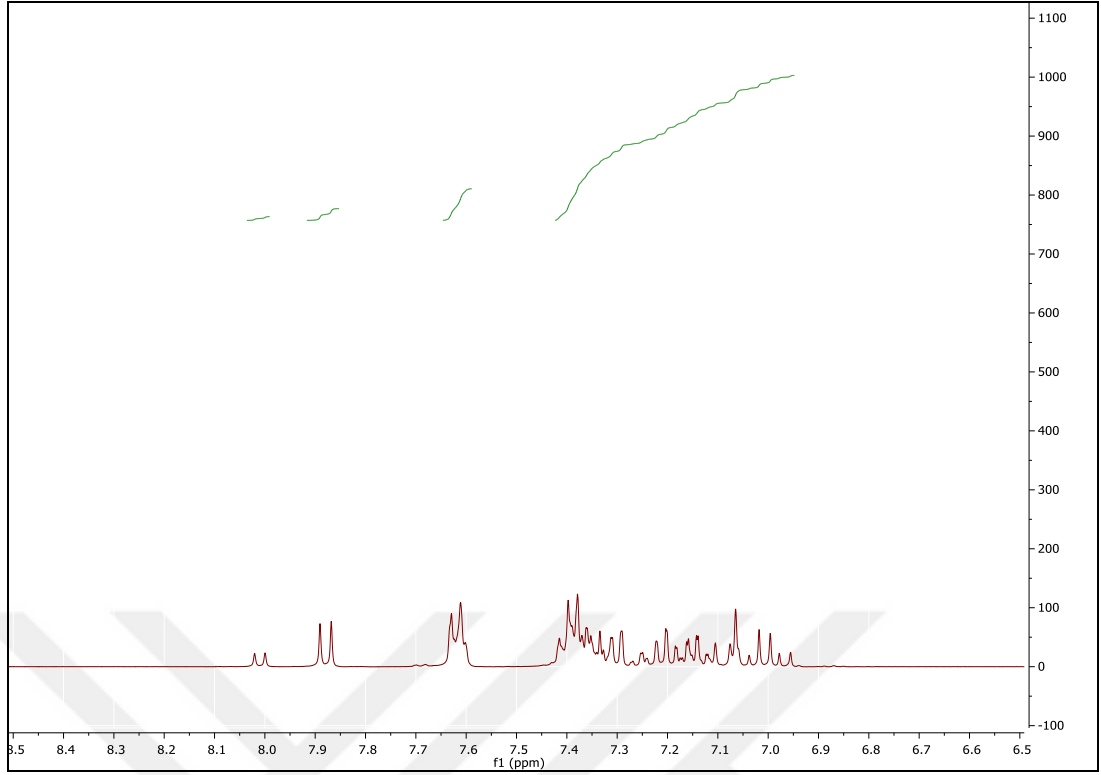
Spektrum 90. B18 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



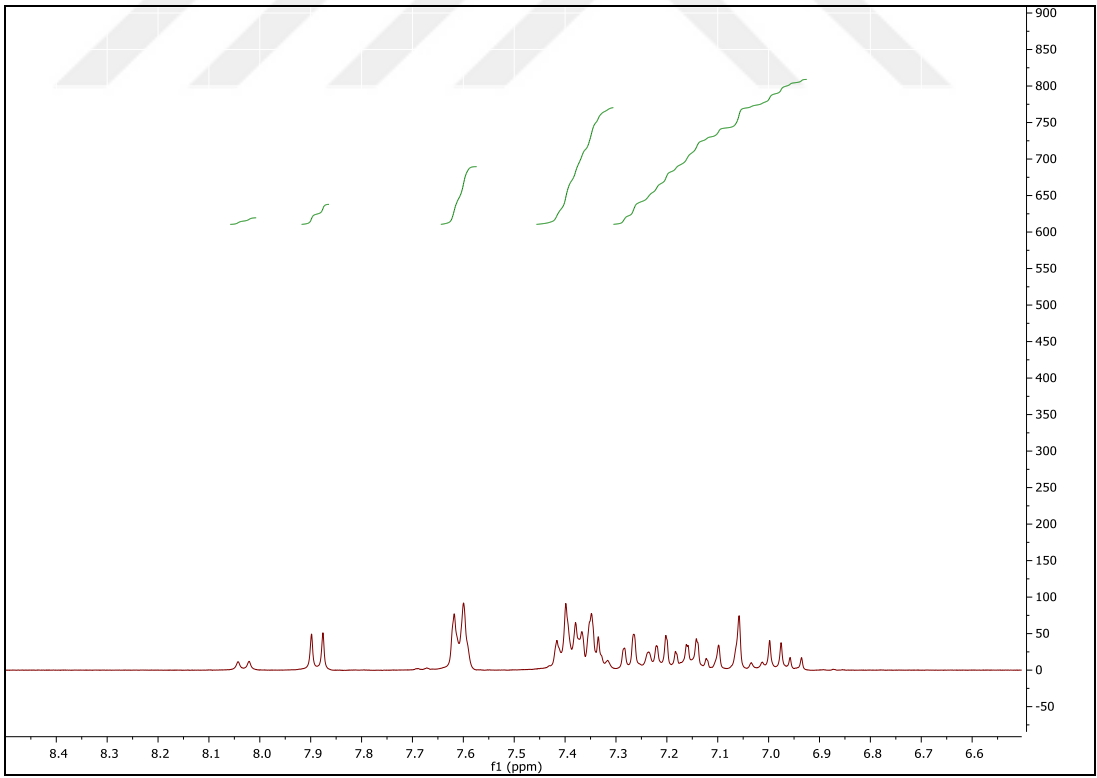
Spektrum 91. B18 Kodlu Bileşiğın ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu



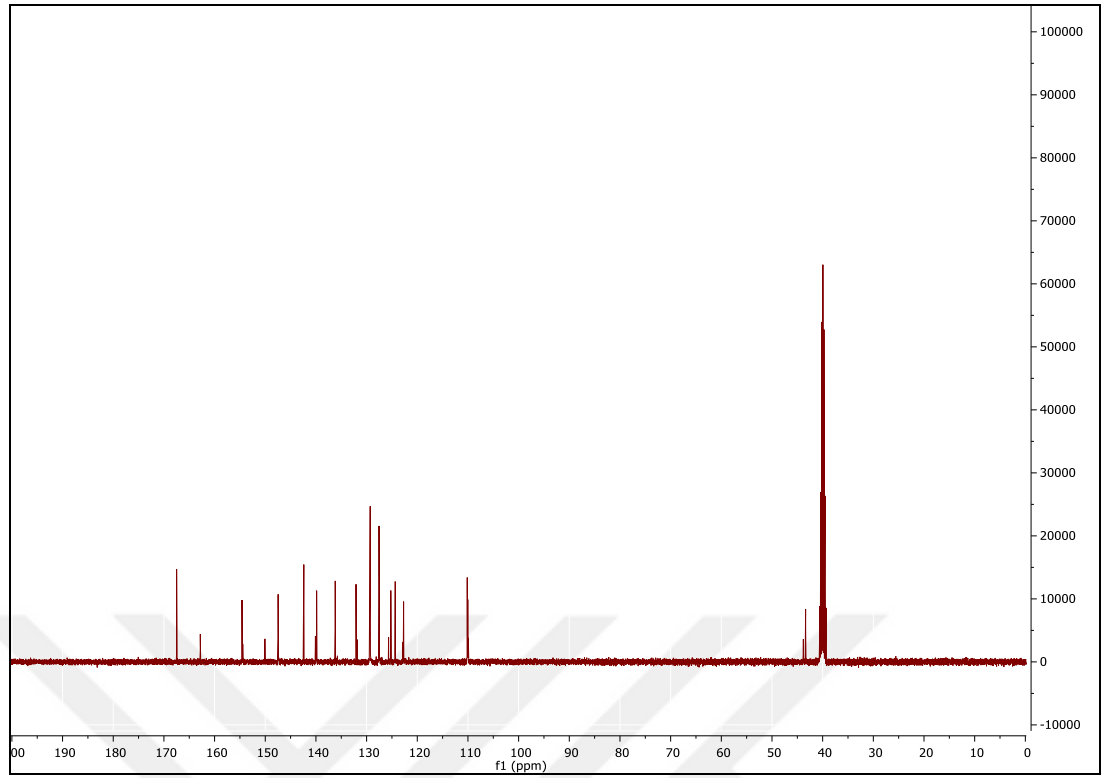
Spektrum 92. B18 Kodlu Bileşiğın 50°C Sıcaklıktaki ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu



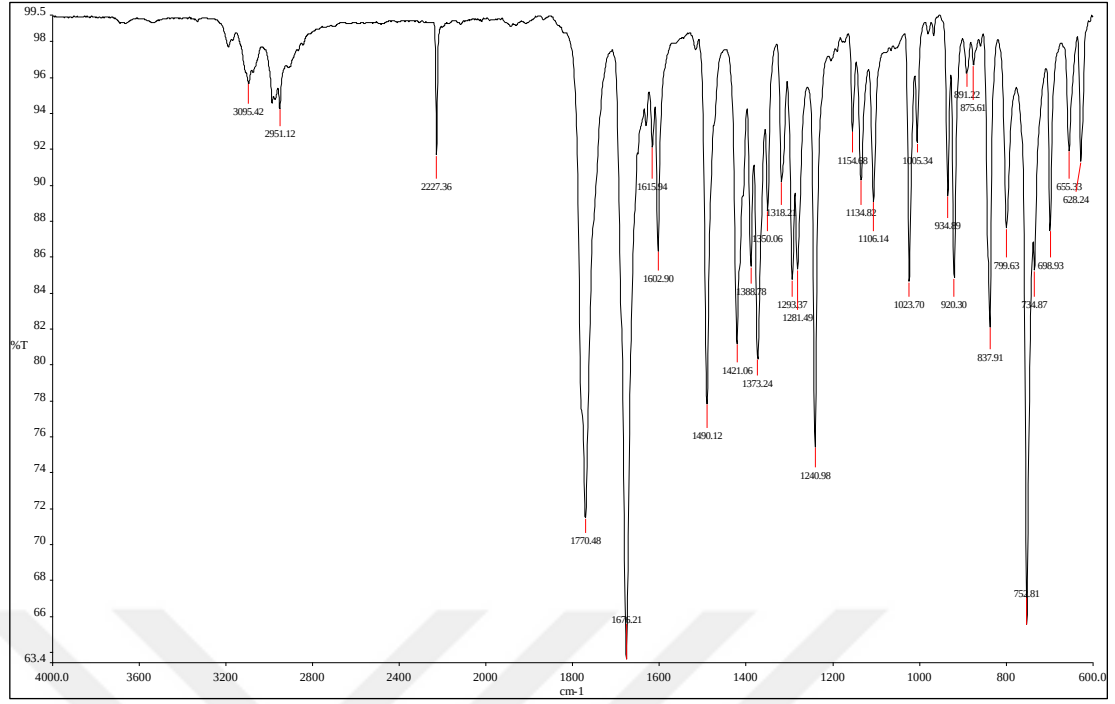
Spektrum 93. B18 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



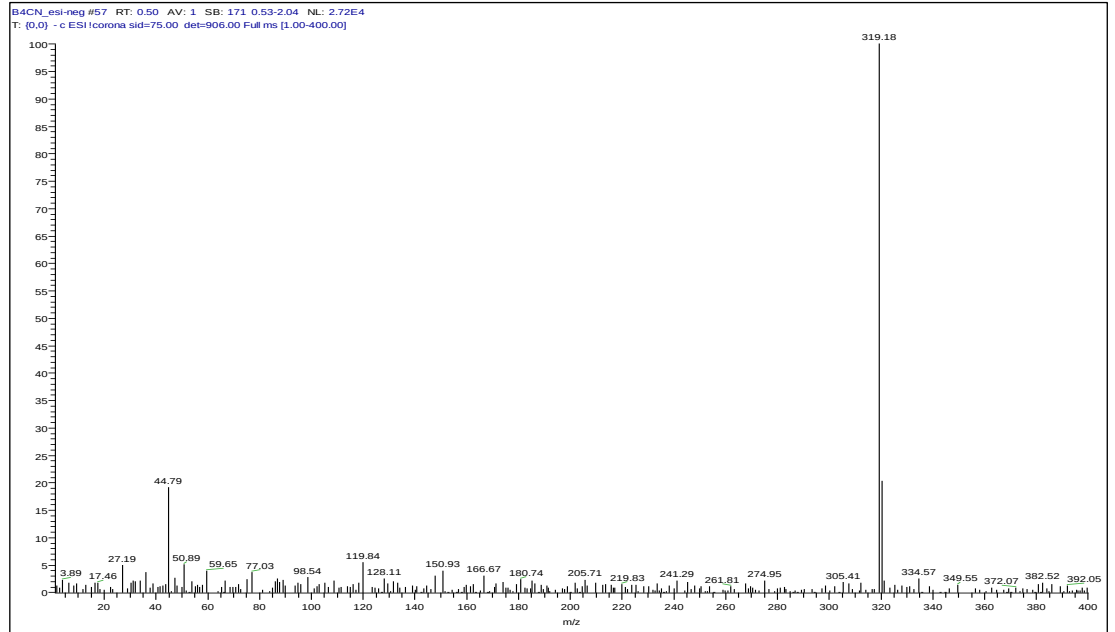
Spektrum 94. B18 Kodlu Bileşğin 50°C Sıcaklıktaki Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



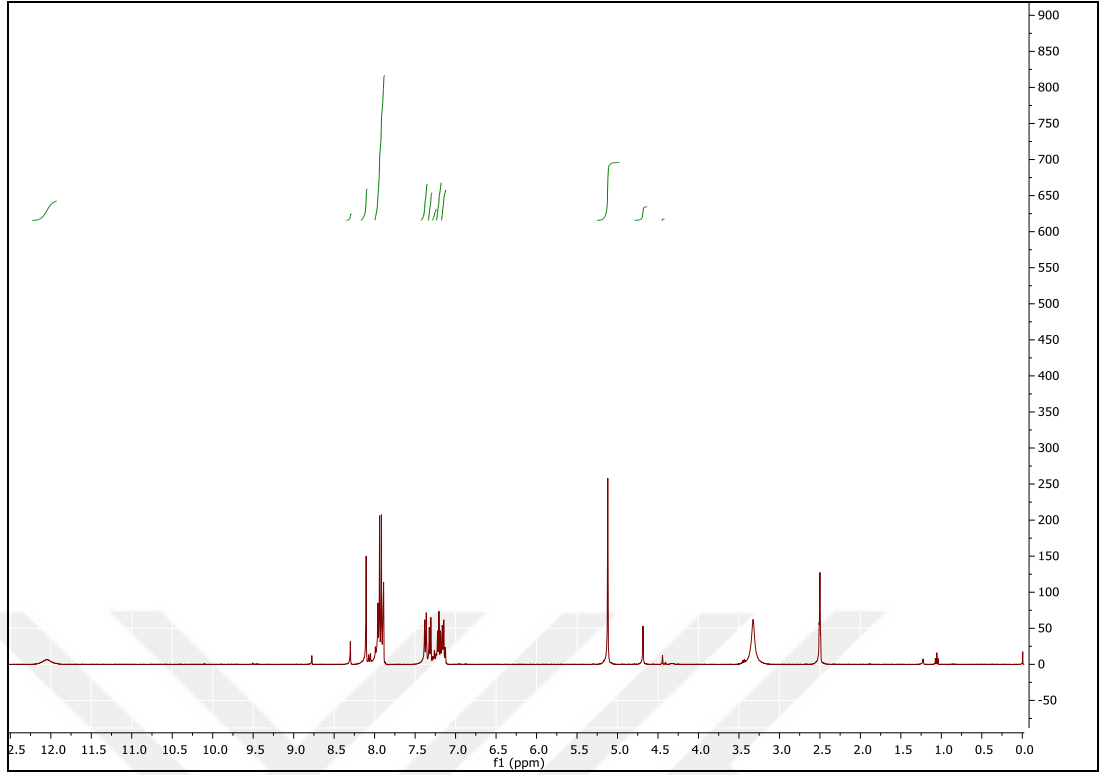
Spektrum 95. B18 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



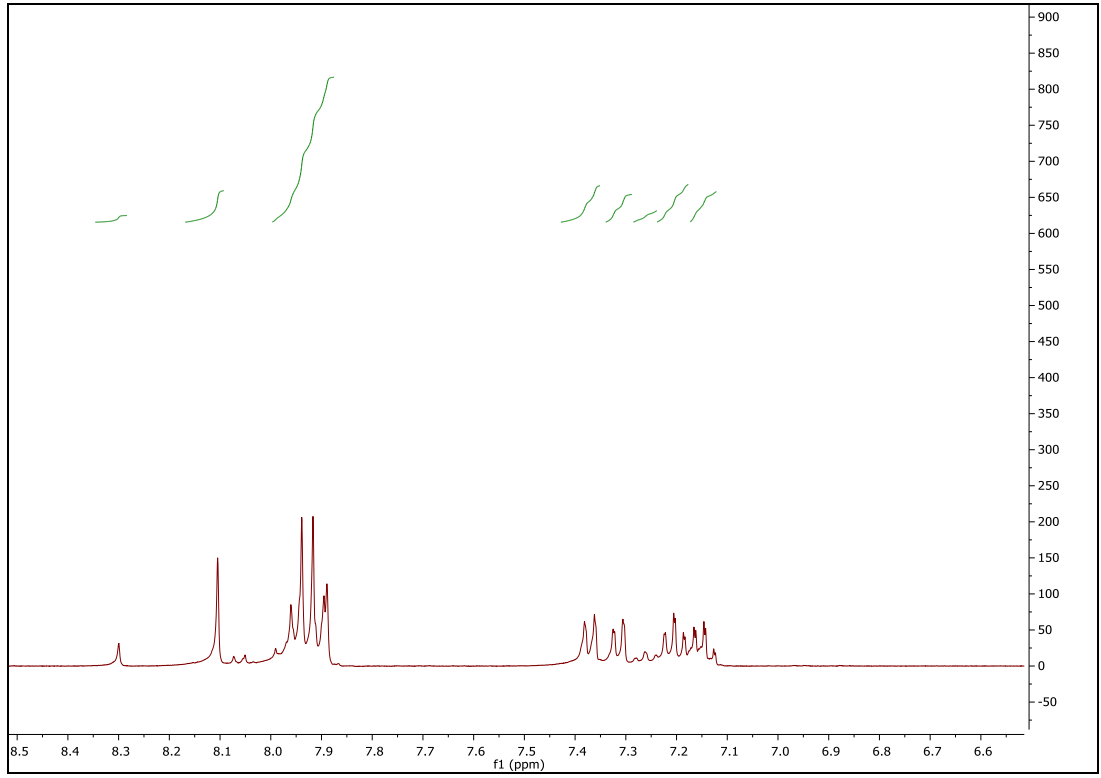
Spektrum 96. B19 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



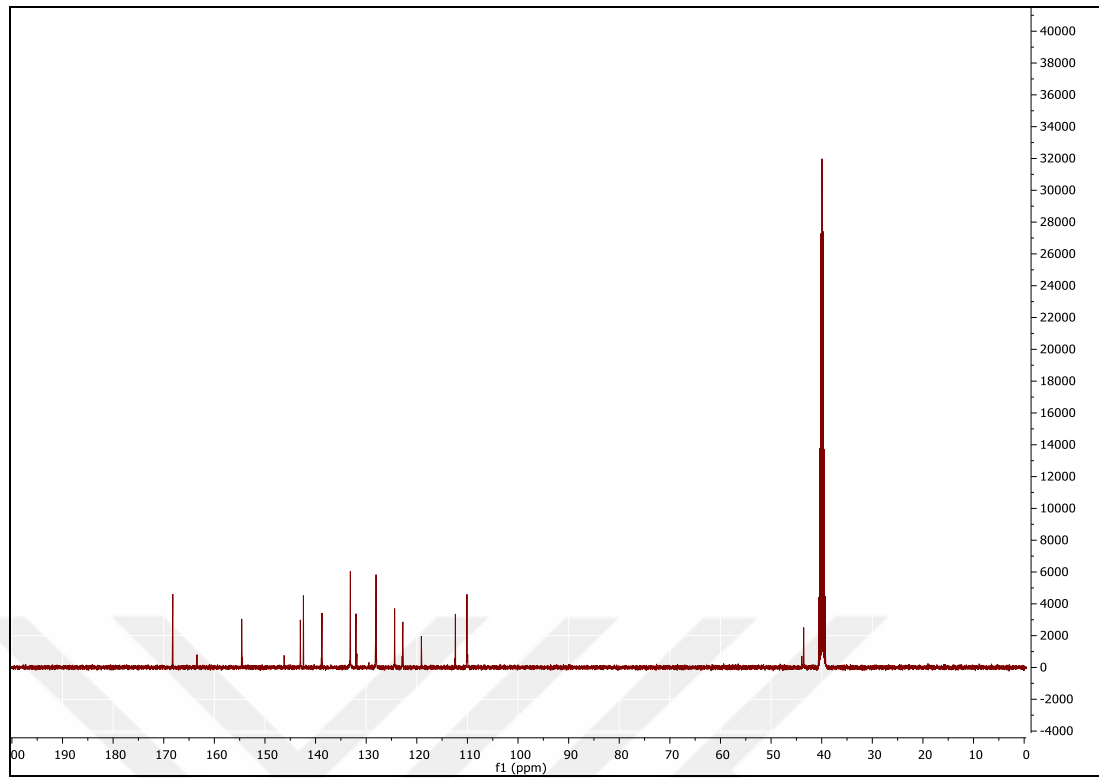
Spektrum 97. B19 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



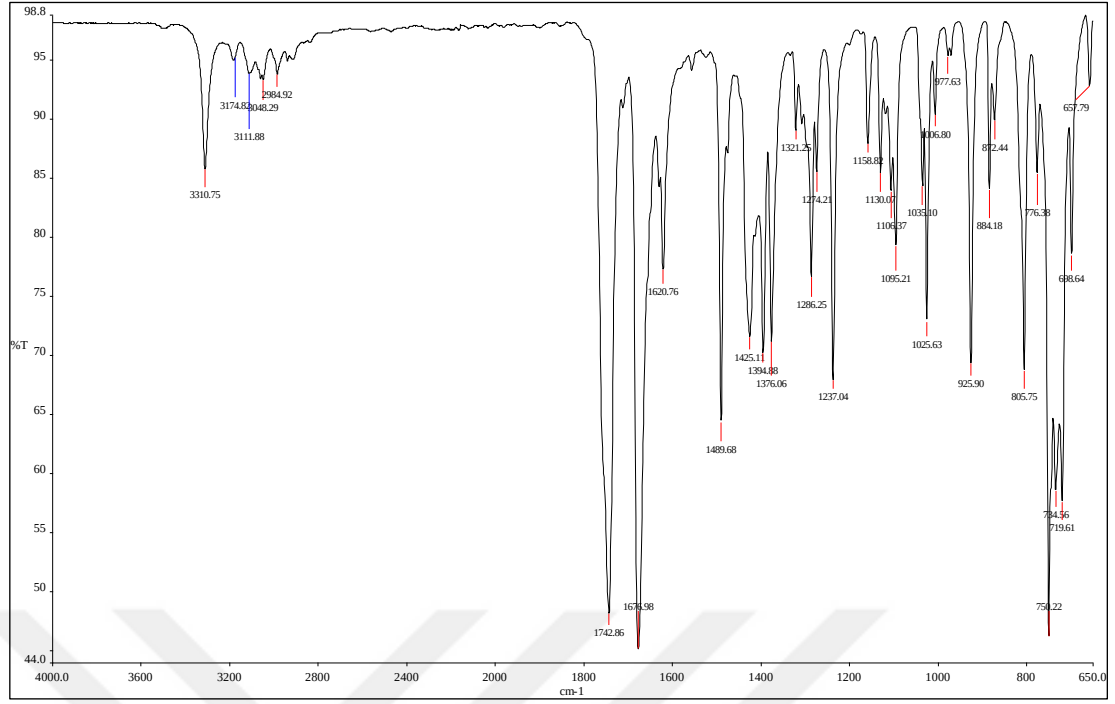
Spektrum 98. B19 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



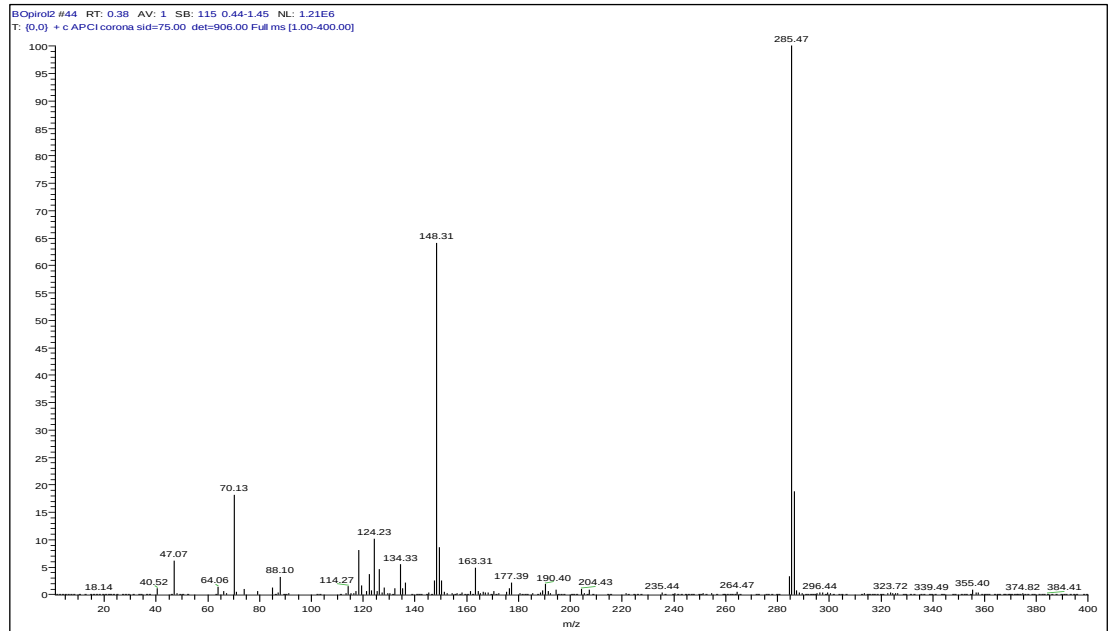
Spektrum 99. B19 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



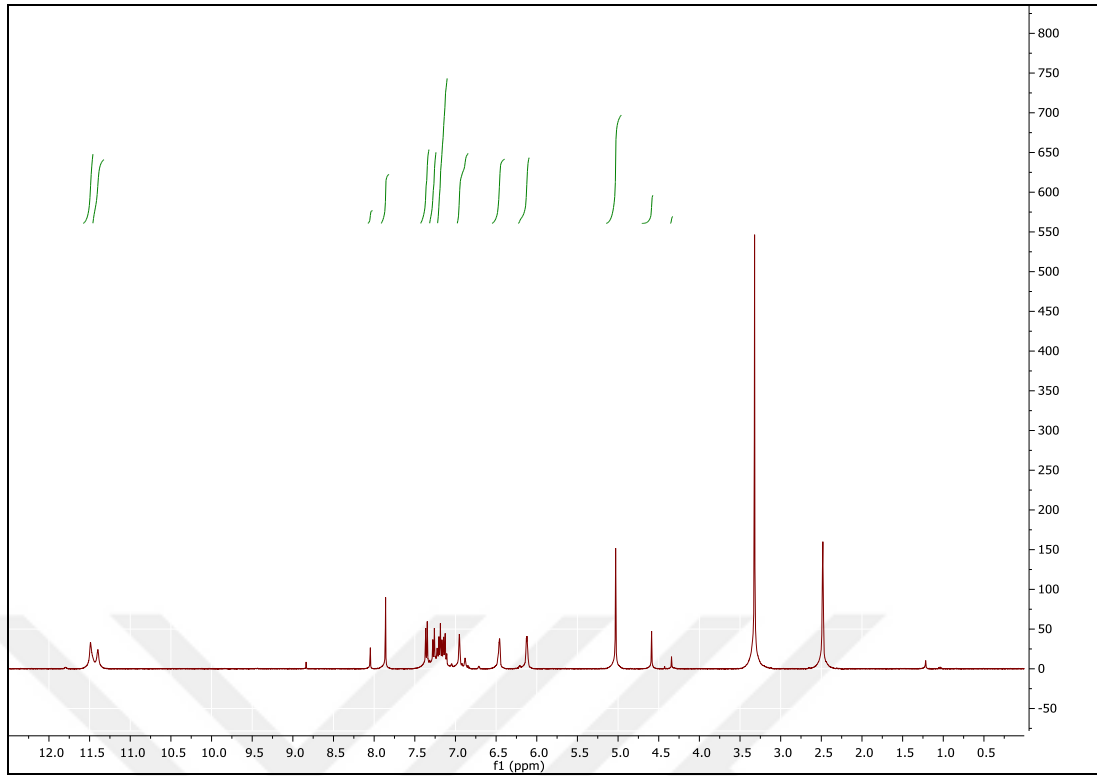
Spektrum 100. B19 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



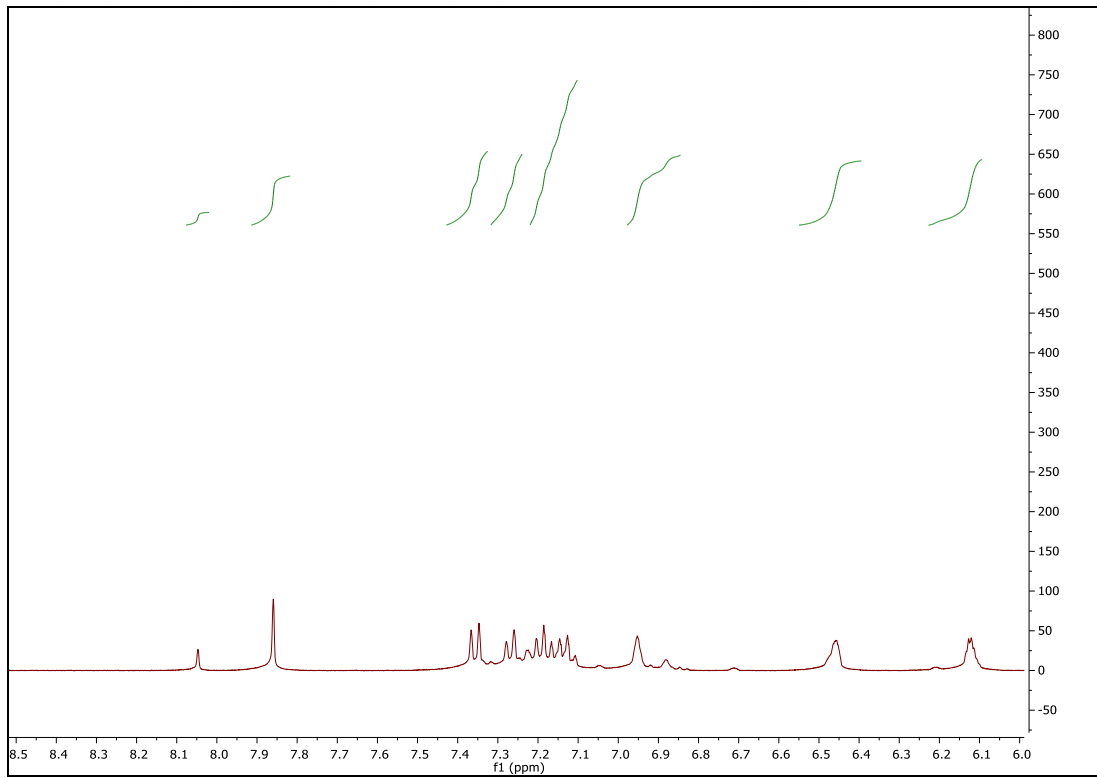
Spektrum 101. B20 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



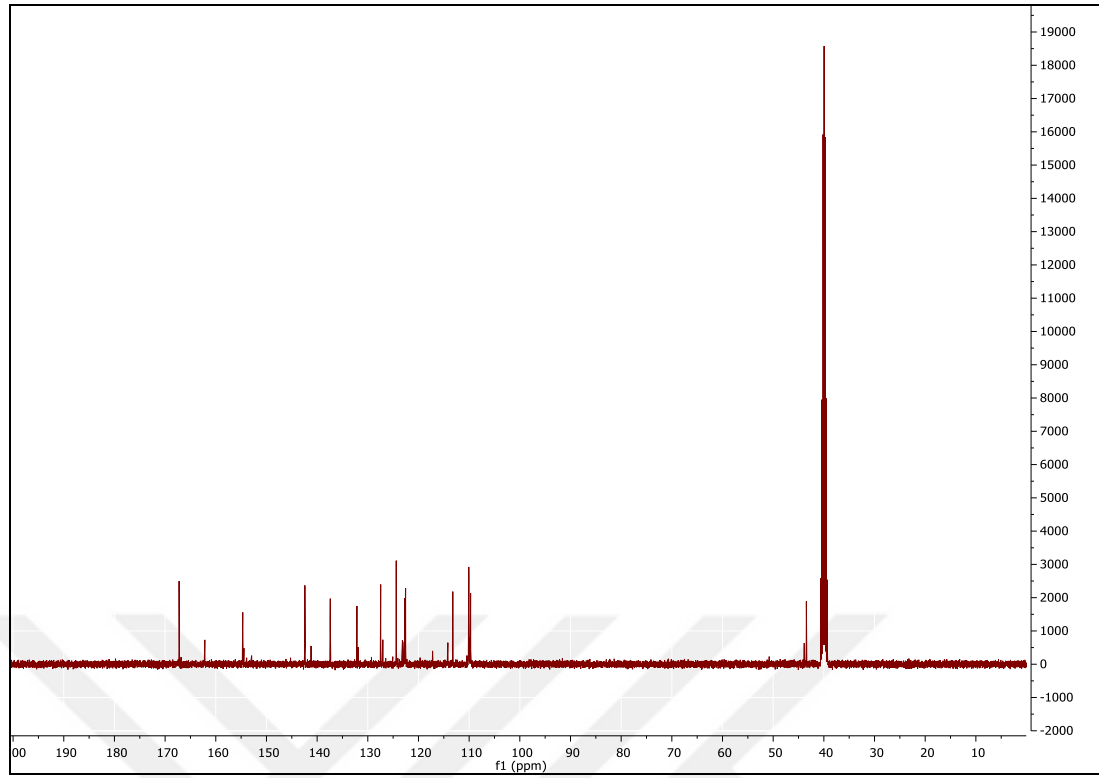
Spektrum 102. B20 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



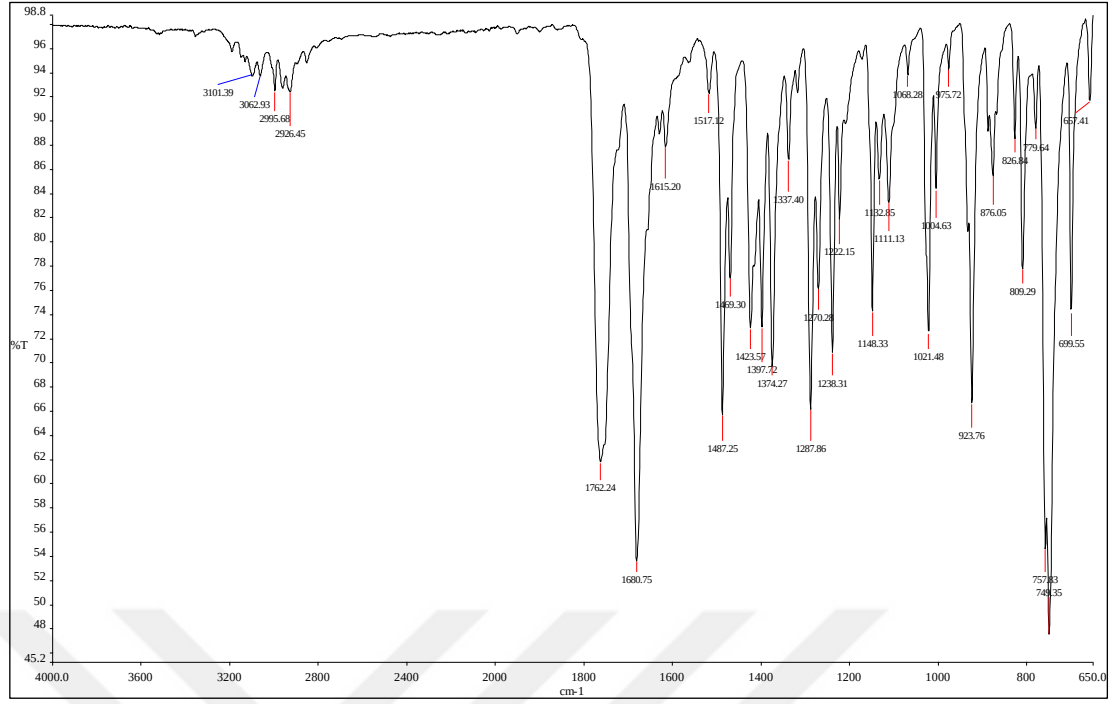
Spektrum 103. B20 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



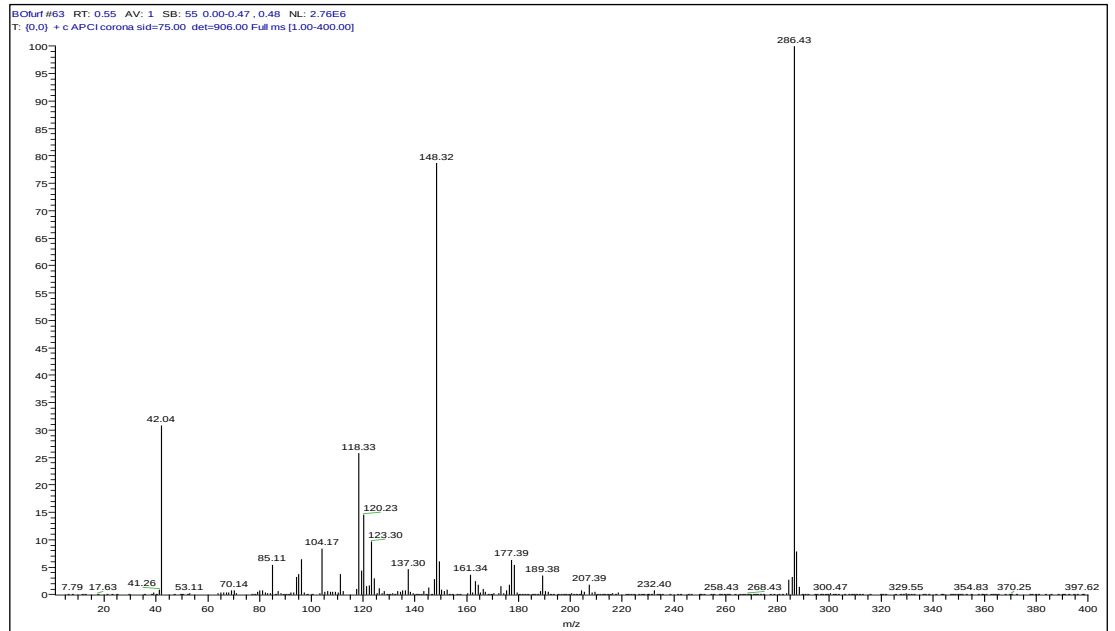
Spektrum 104. B20 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



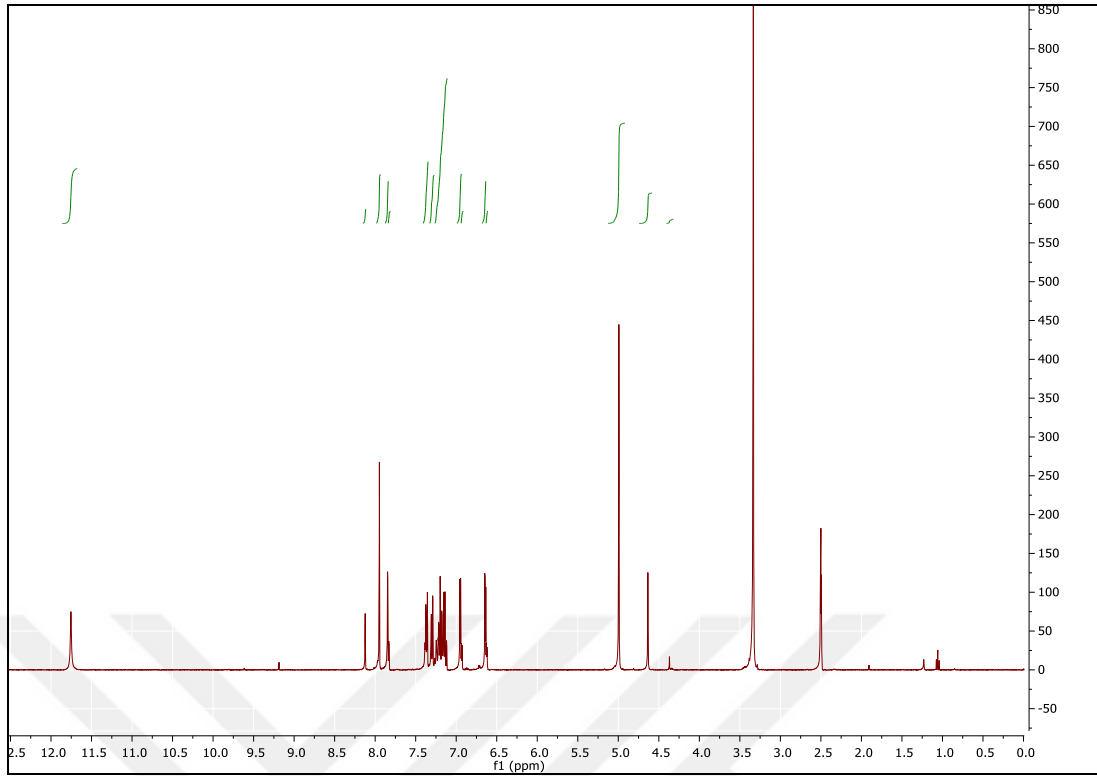
Spektrum 105. B20 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



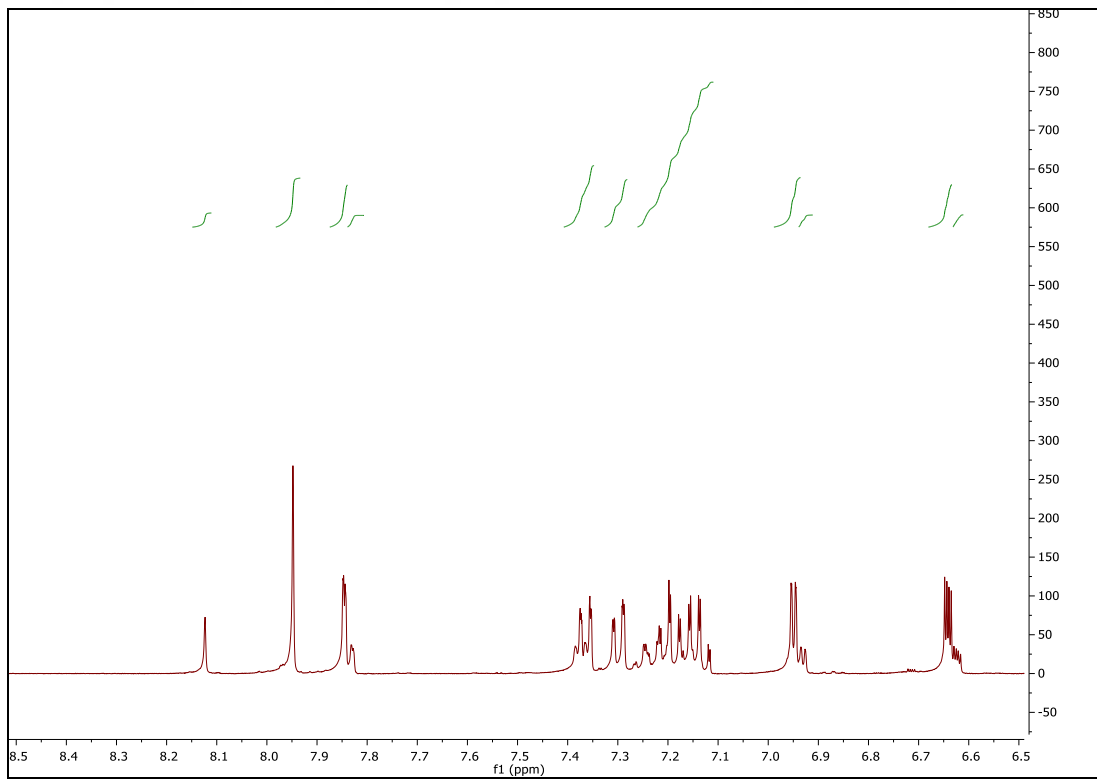
Spektrum 106. B21 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



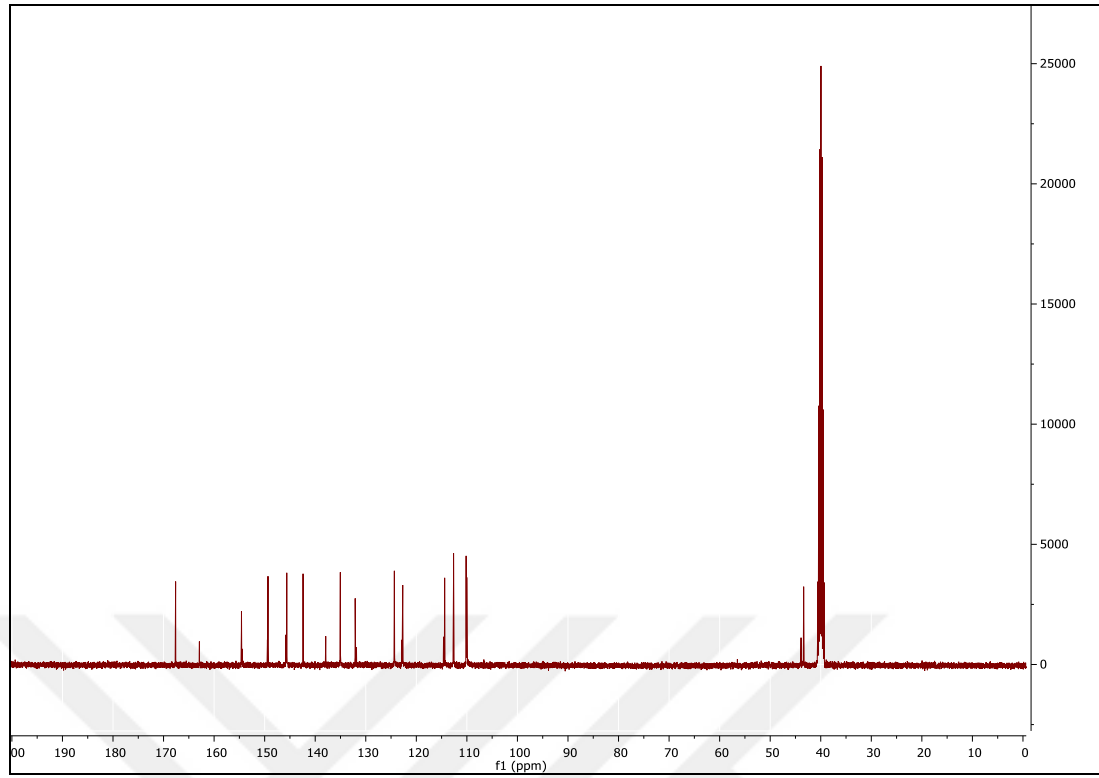
Spektrum 107. B21 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



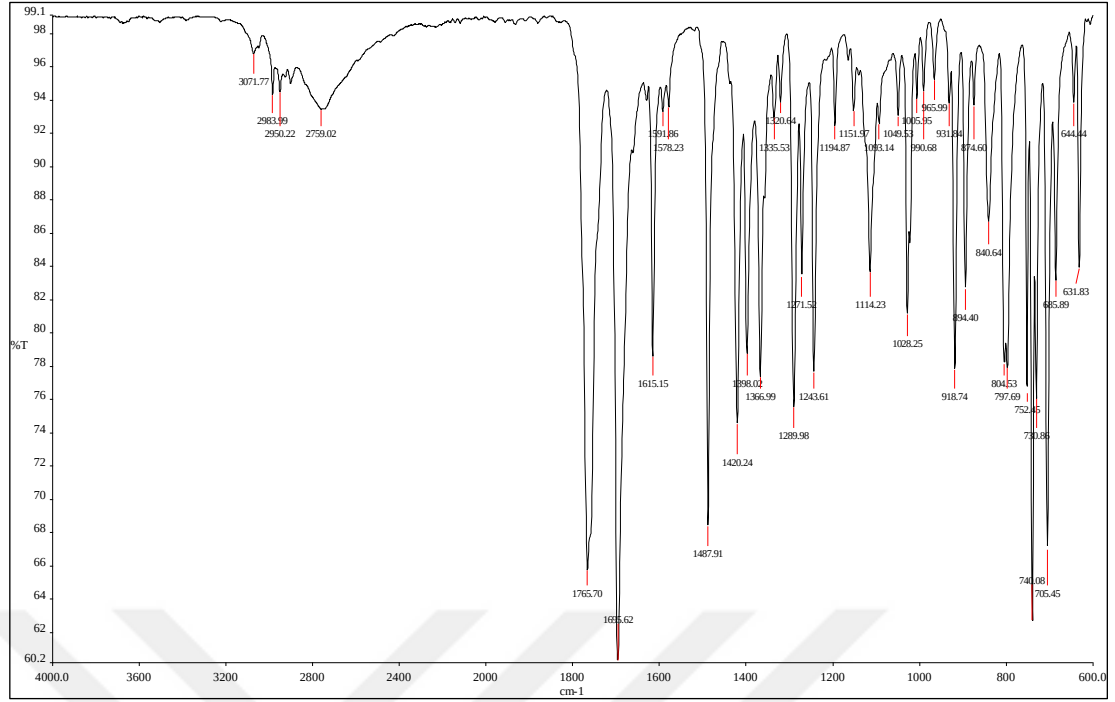
Spektrum 108. B21 Kodlu Bileşğin ¹H NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



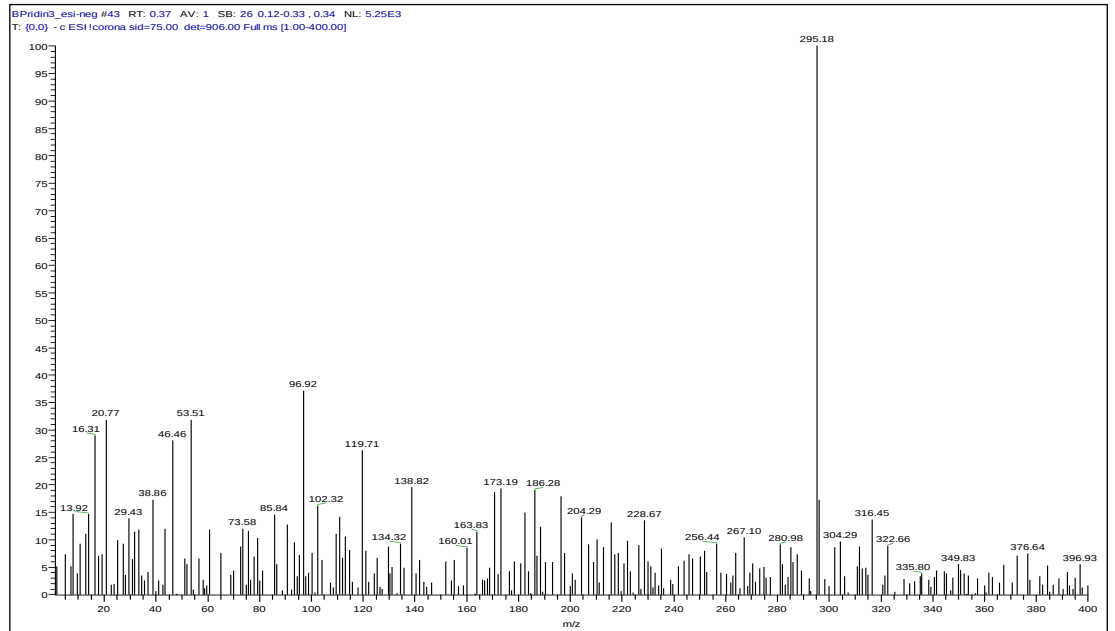
Spektrum 109. B21 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ¹H NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



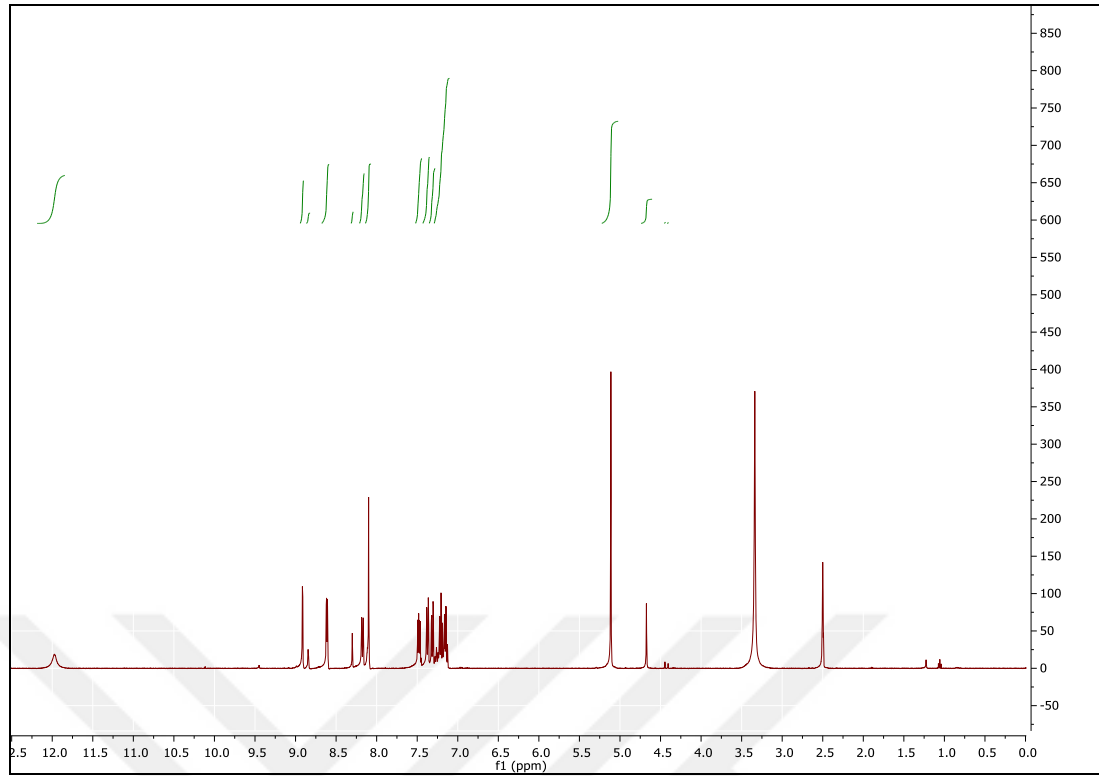
Spektrum 110. B21 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



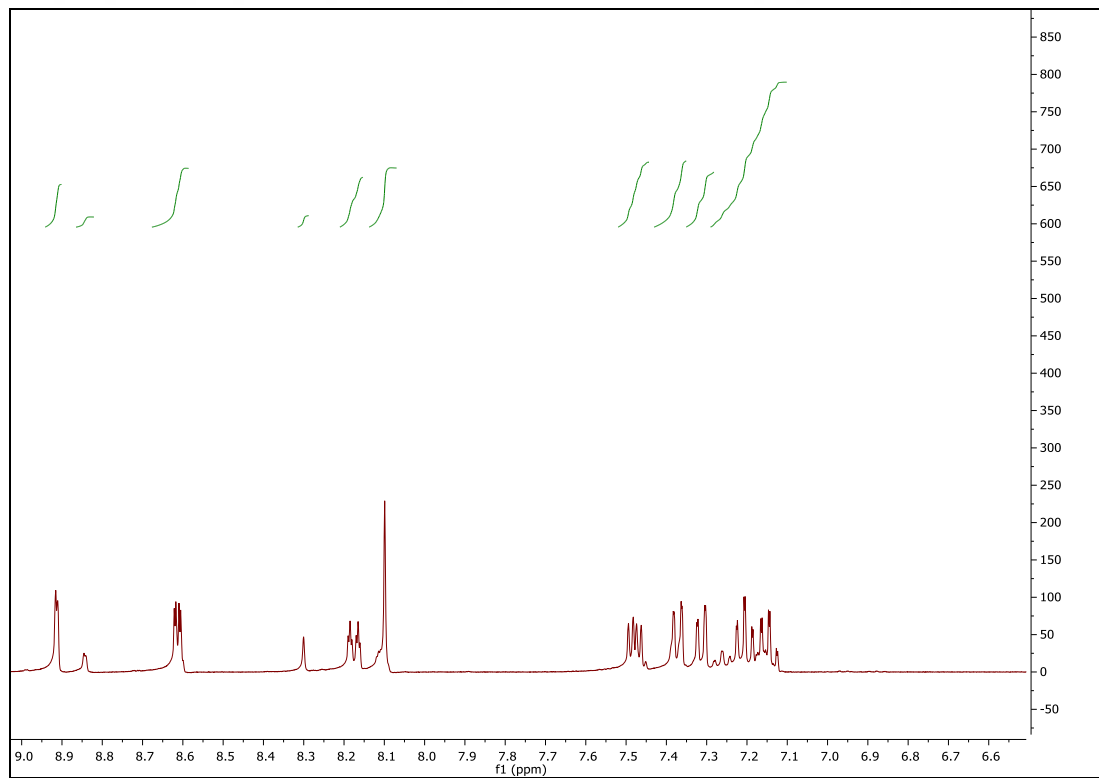
Spektrum 111. B22 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu



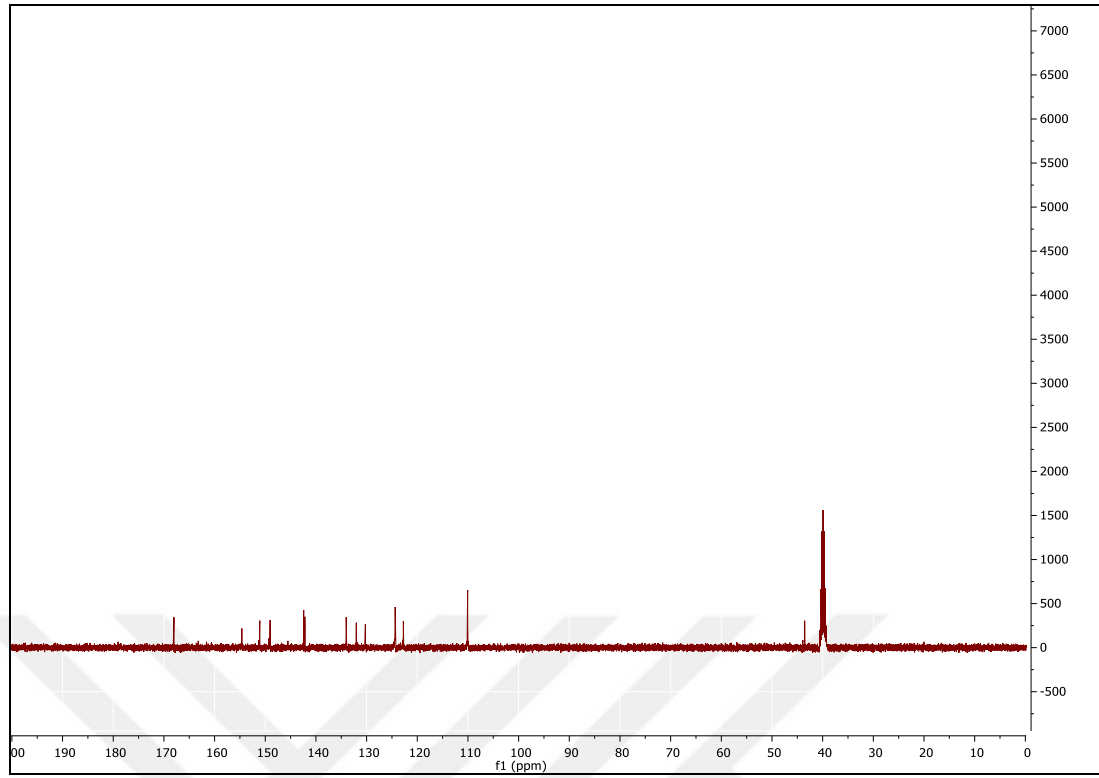
Spektrum 112. B22 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu



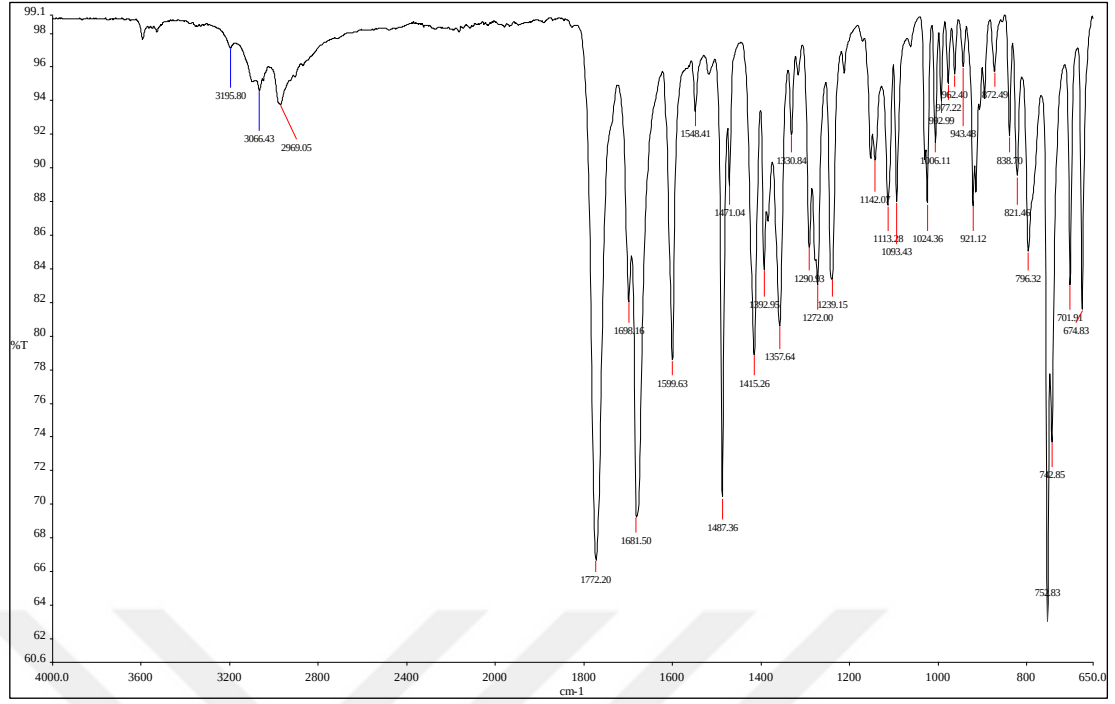
Spektrum 113. B22 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



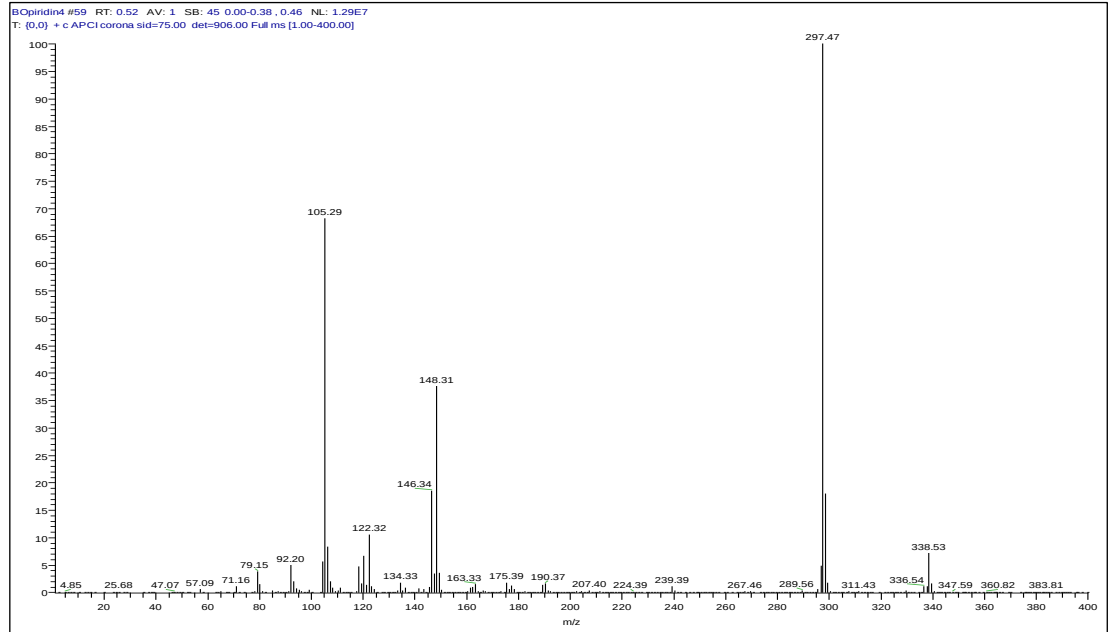
Spektrum 114. B22 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



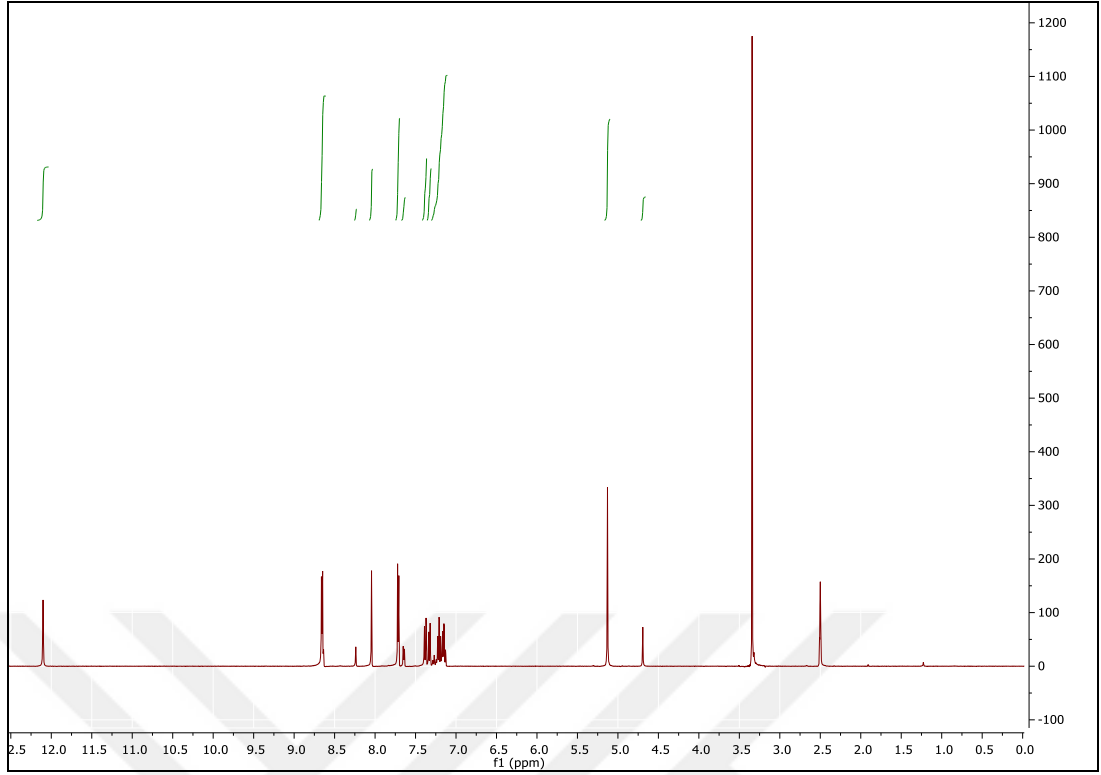
Spektrum 115. B22 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



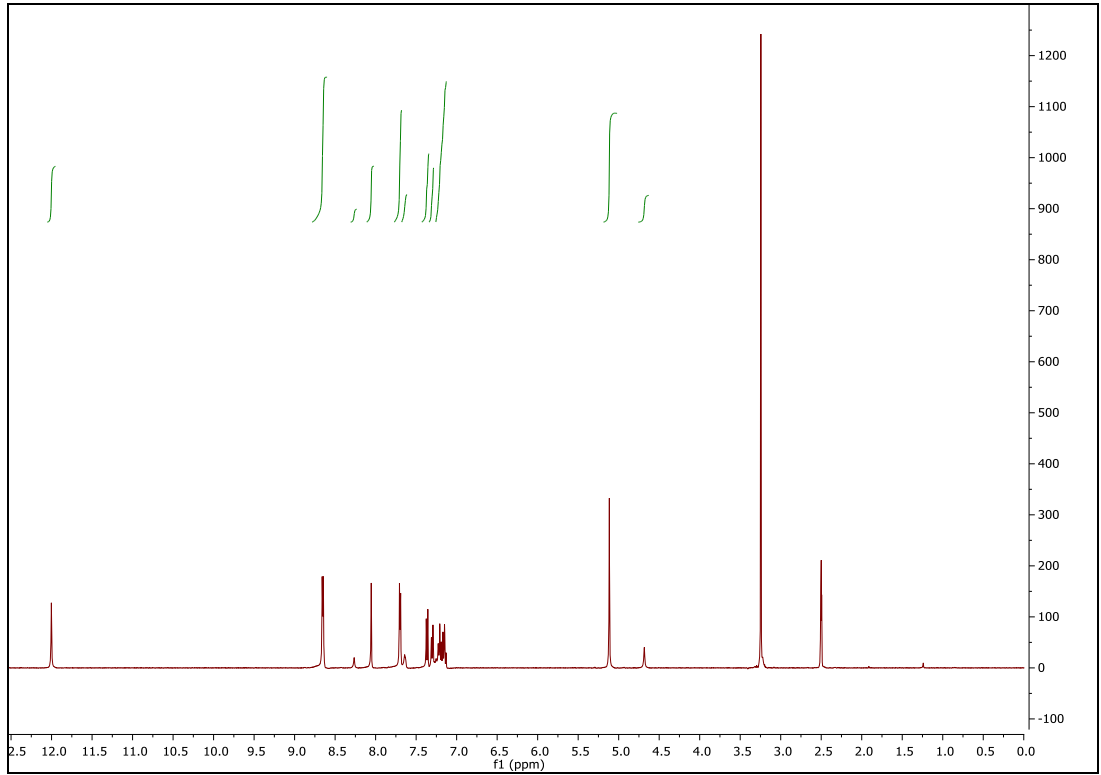
Spektrum 116. B23 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



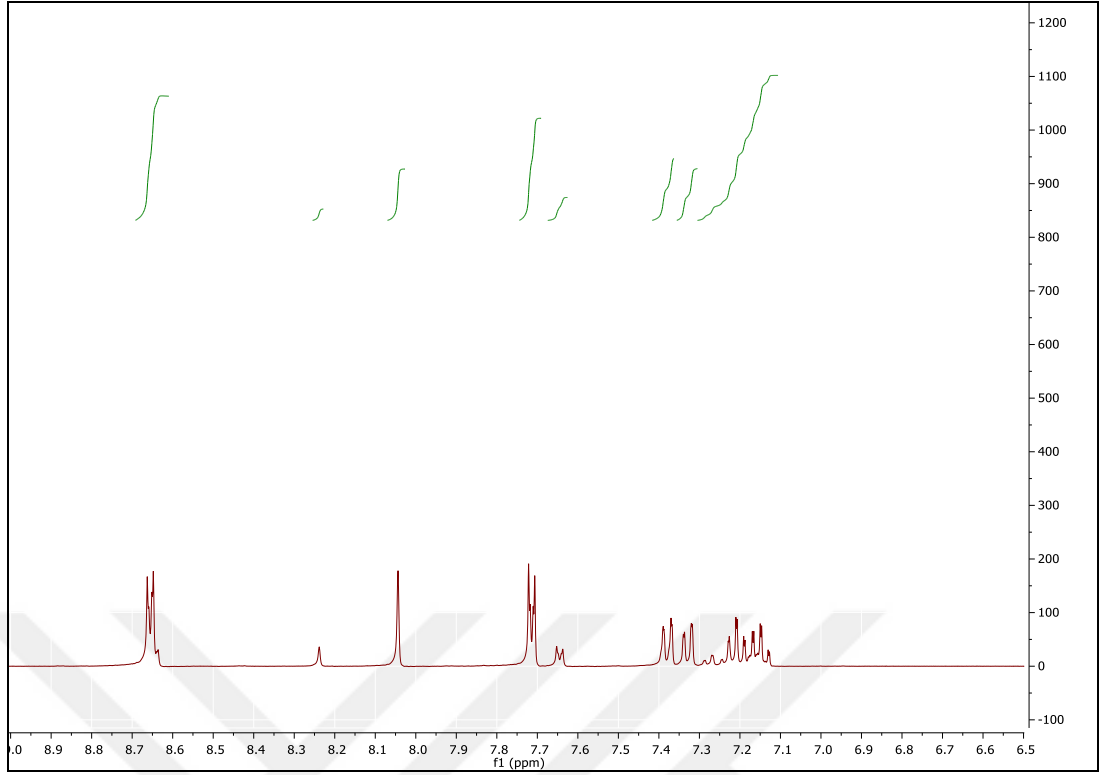
Spektrum 117. B23 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



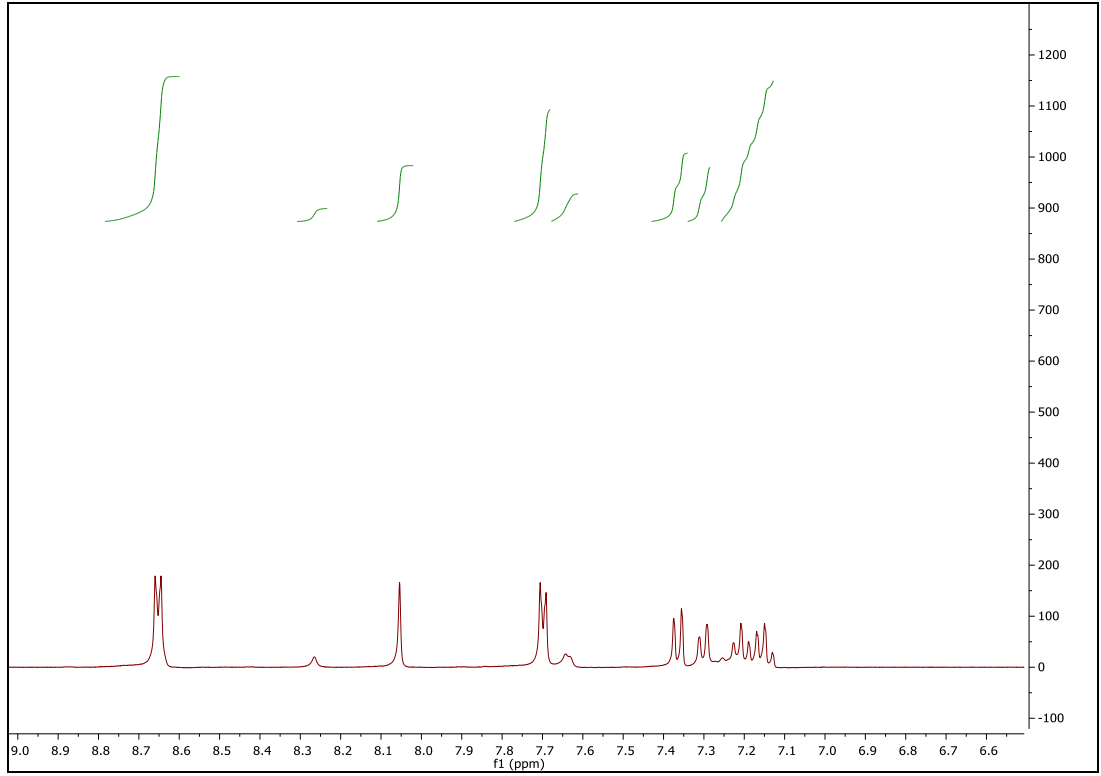
Spektrum 118. B23 Kodlu Bileşğin Oda Sıcaklığındaki ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



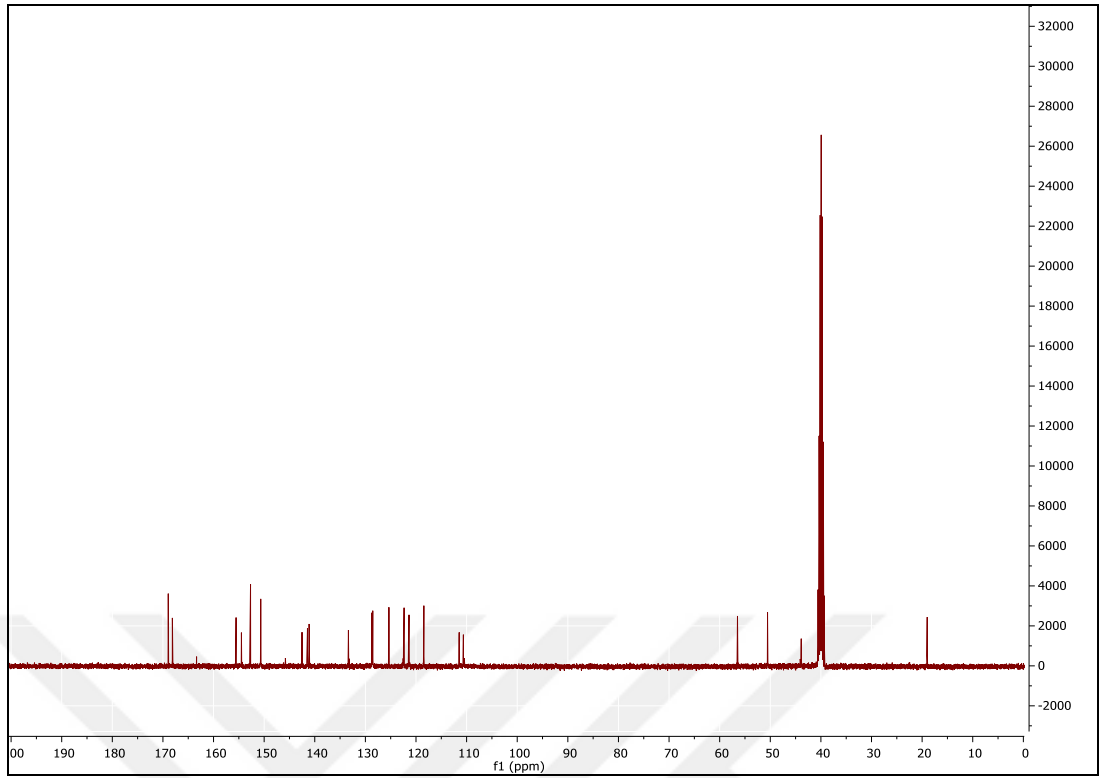
Spektrum 119. B23 Kodlu Bileşğin 50°C Sıcaklıktaki ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



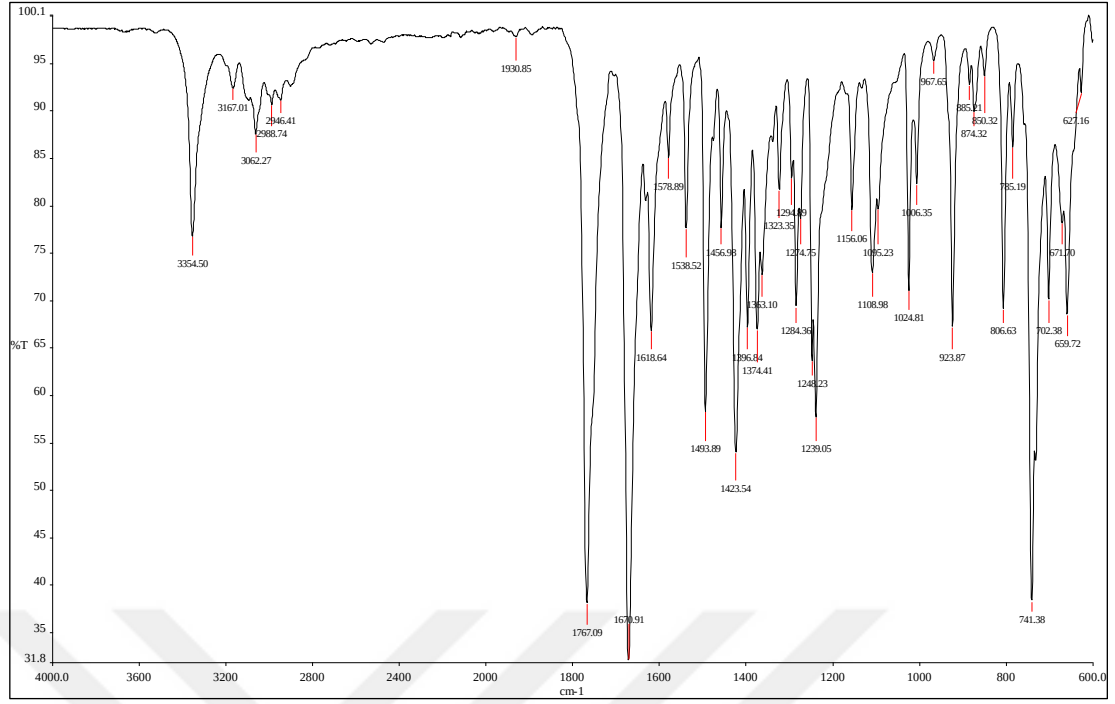
Spektrum 120. B23 Kodlu Bileşğin Oda Sıcaklığındaki Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



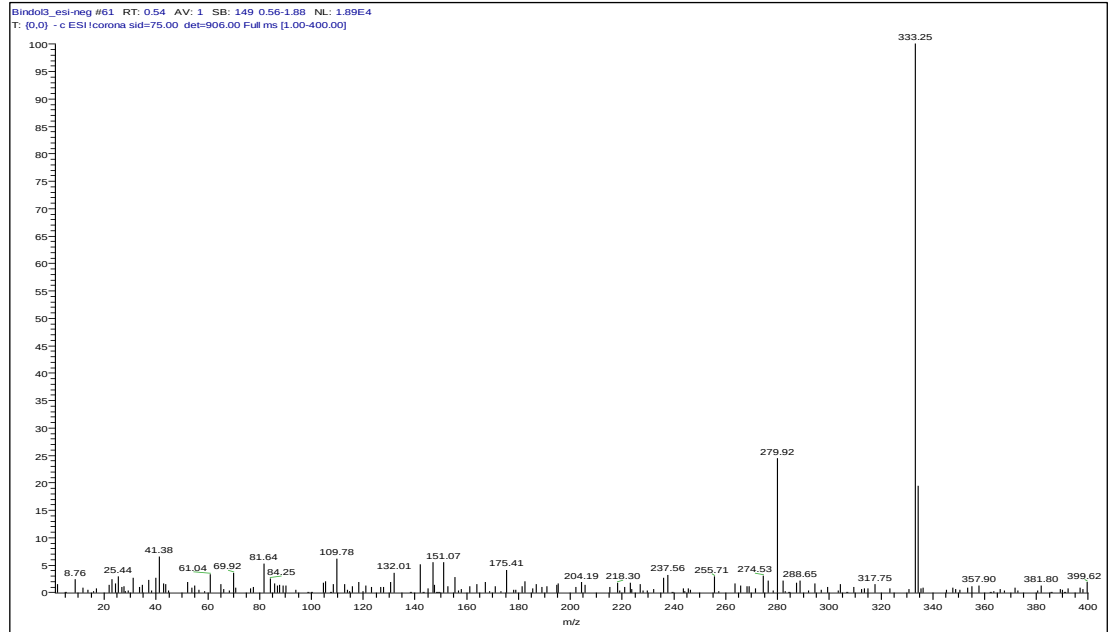
Spektrum 121. B23 Kodlu Bileşğin 50°C Sıcaklıktaki Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



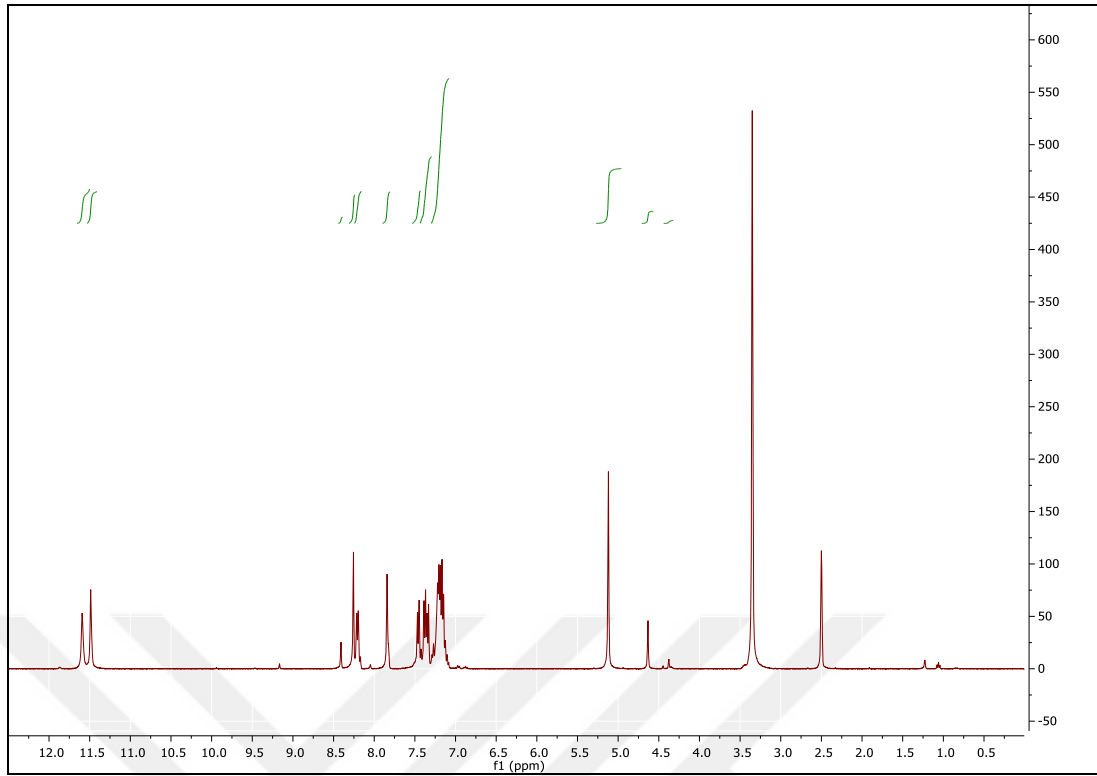
Spektrum 122. B23 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



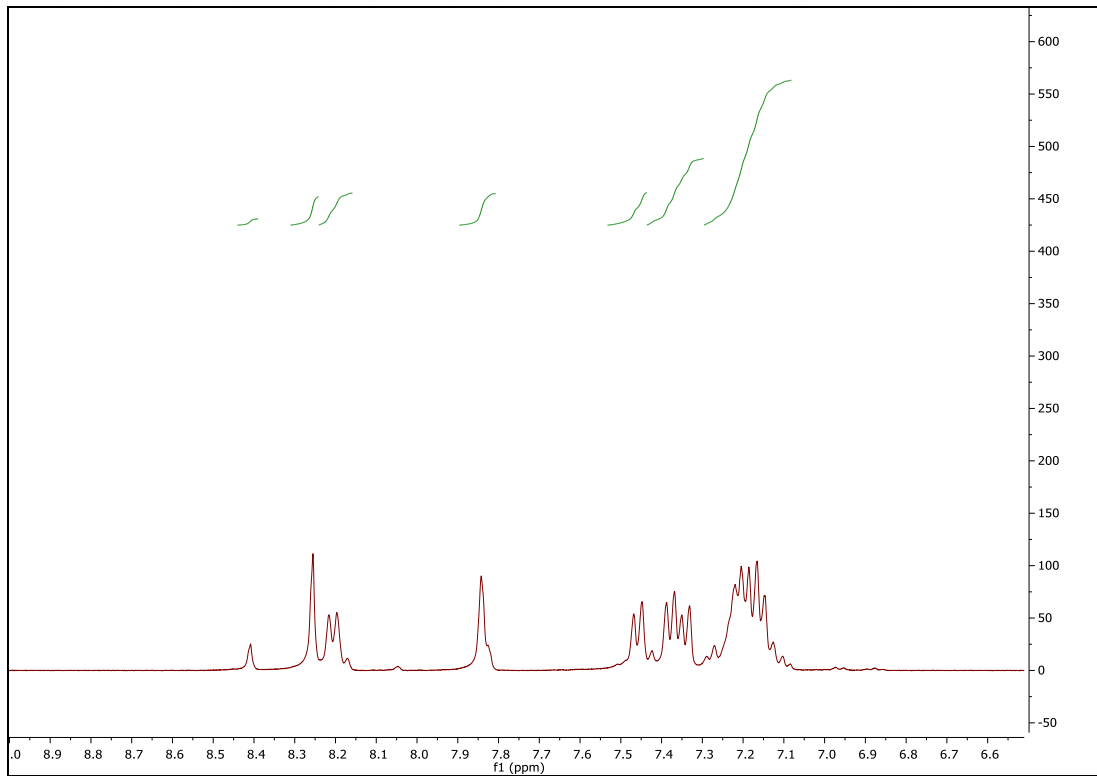
Spektrum 123. B24 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



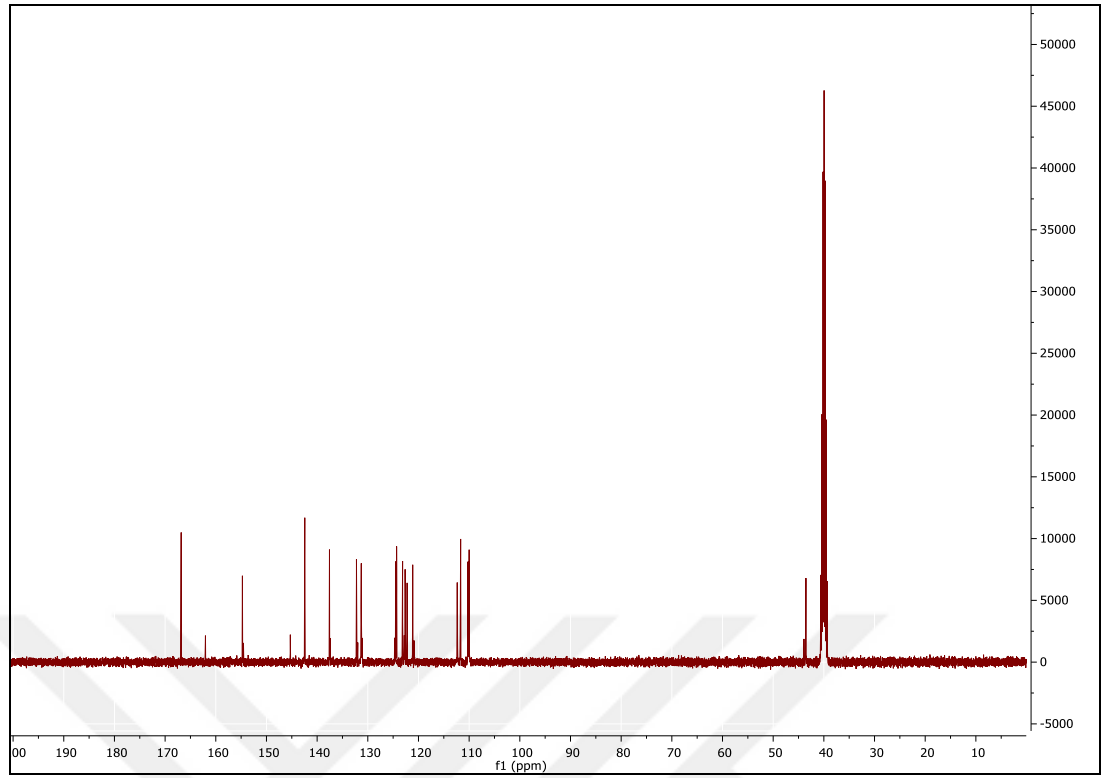
Spektrum 124. B24 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



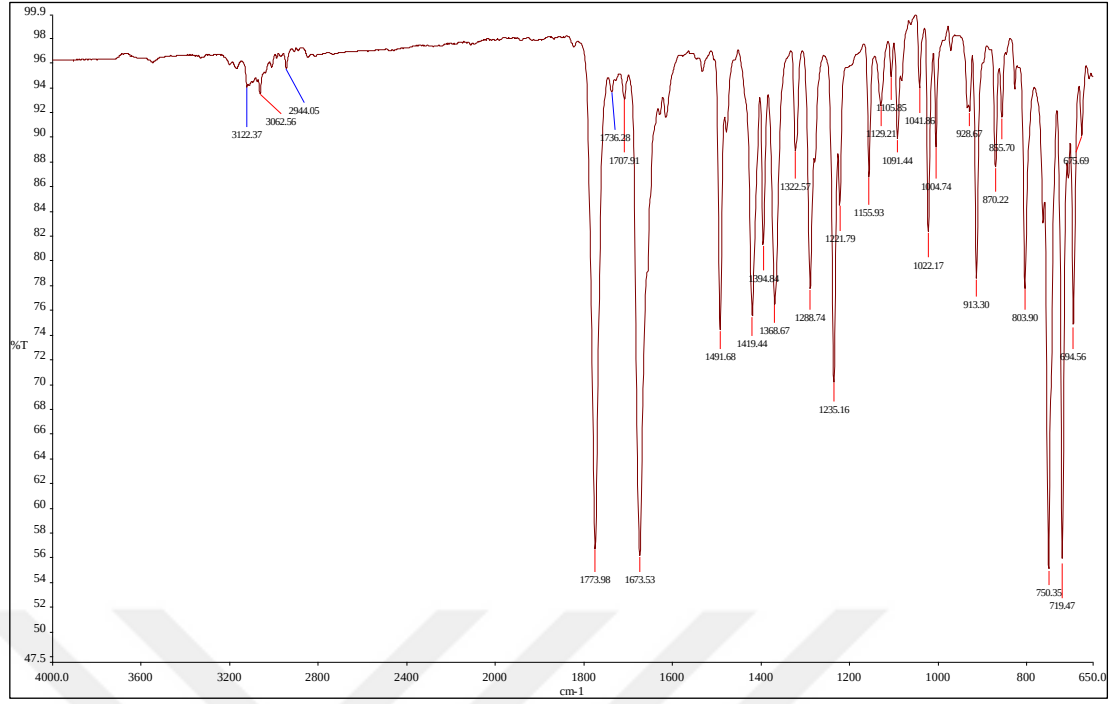
Spektrum 125. B24 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



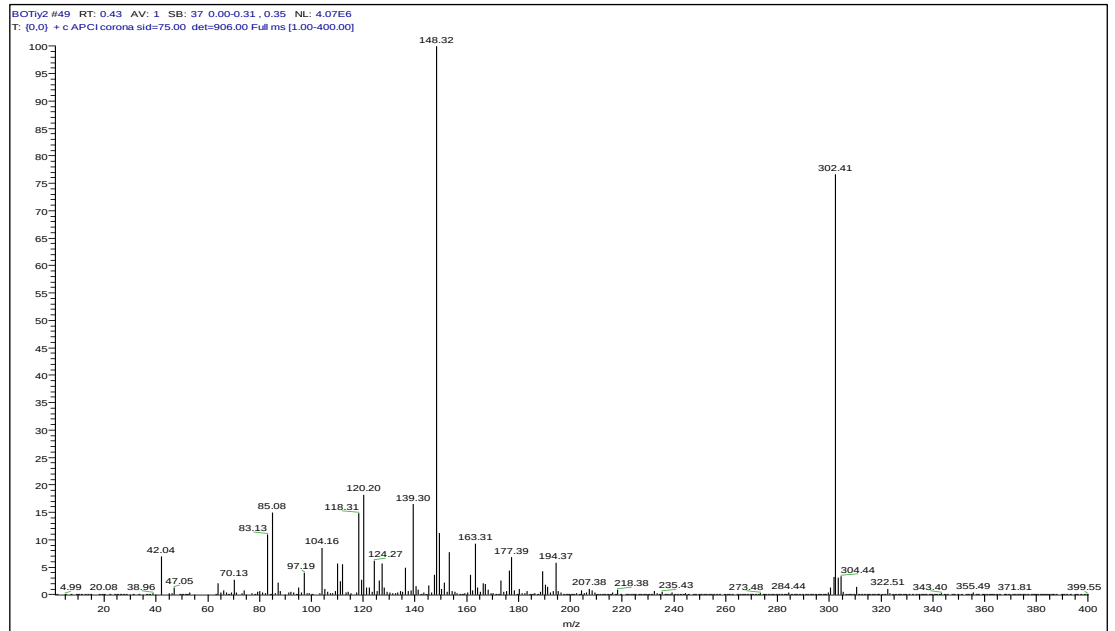
Spektrum 126. B24 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



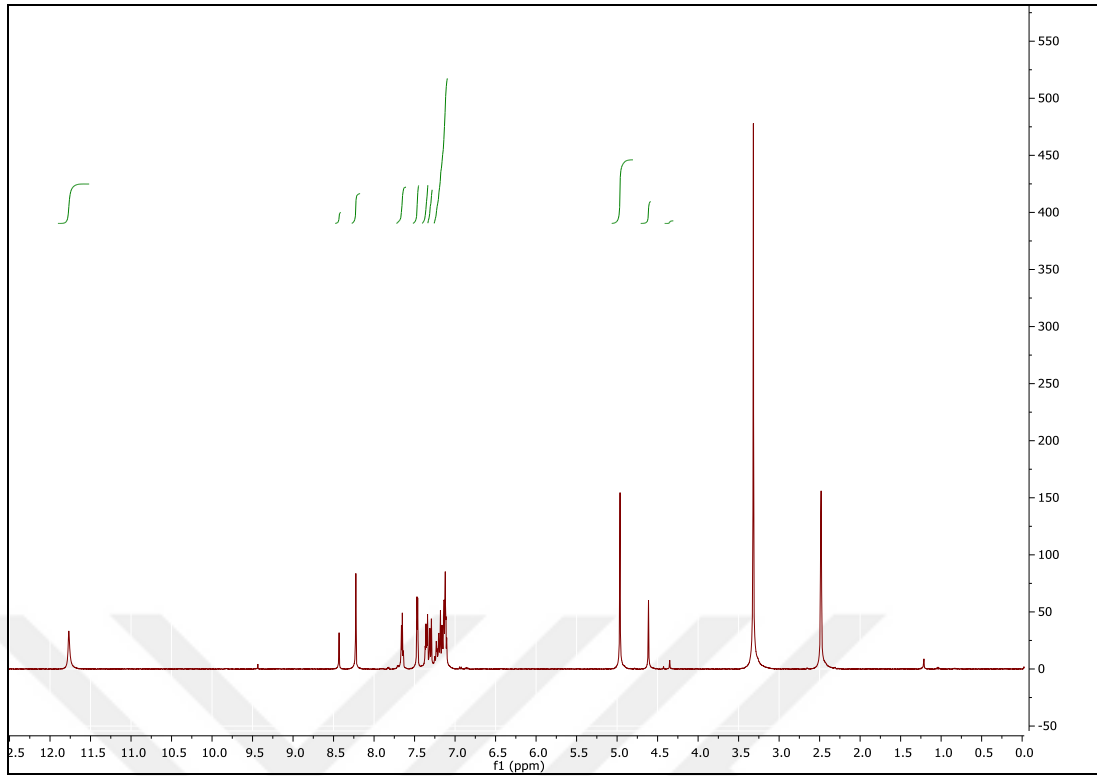
Spektrum 127. B24 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



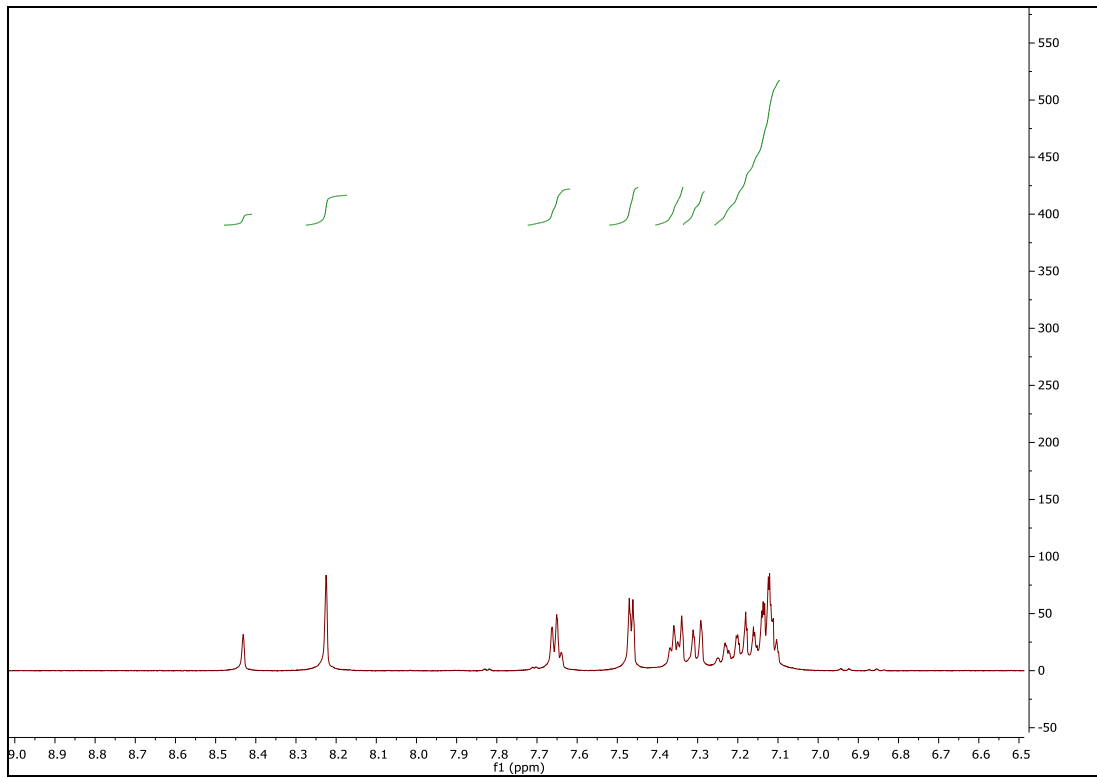
Spektrum 128. B25 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



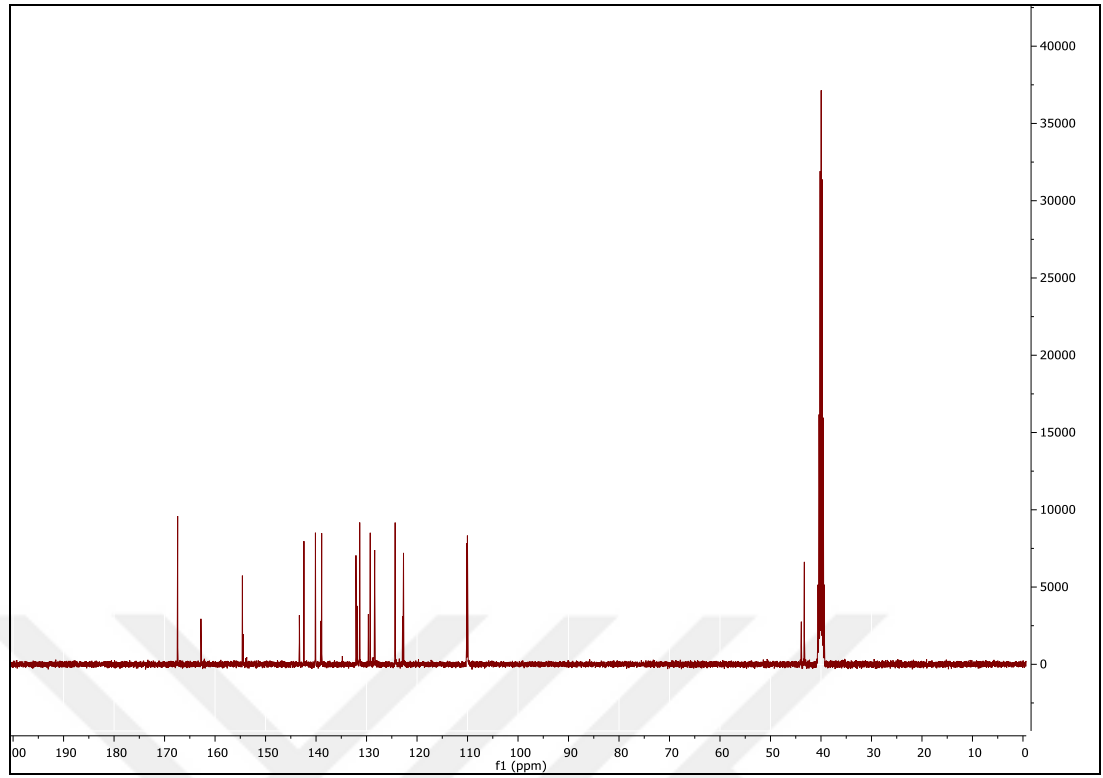
Spektrum 129. B25 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



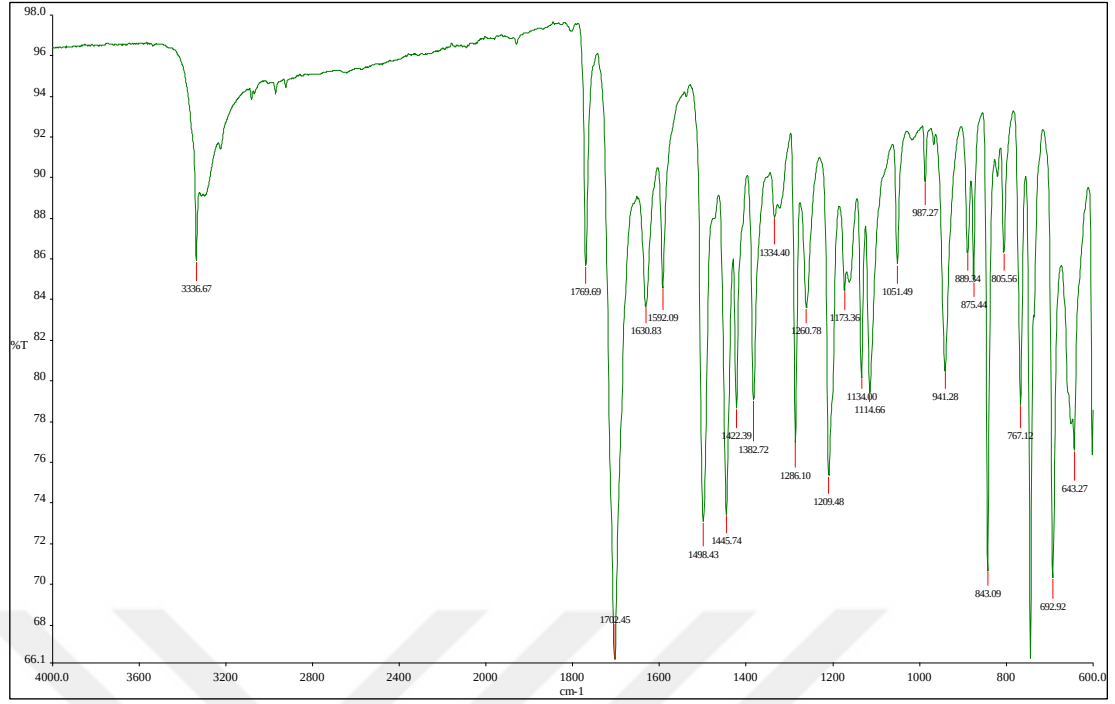
Spektrum 130. B25 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



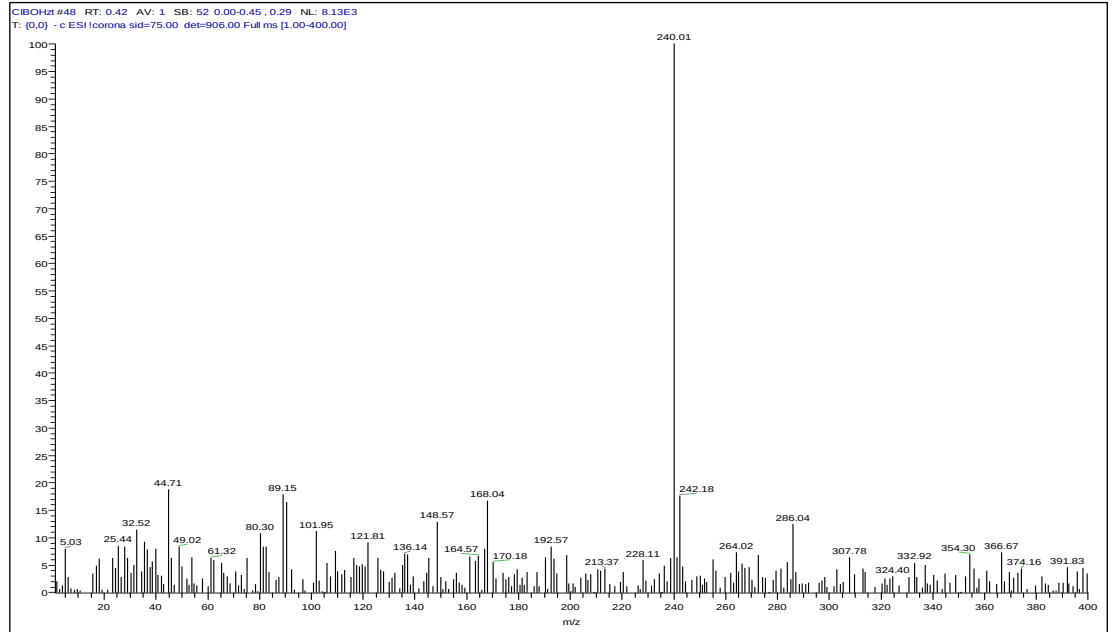
Spektrum 131. B25 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



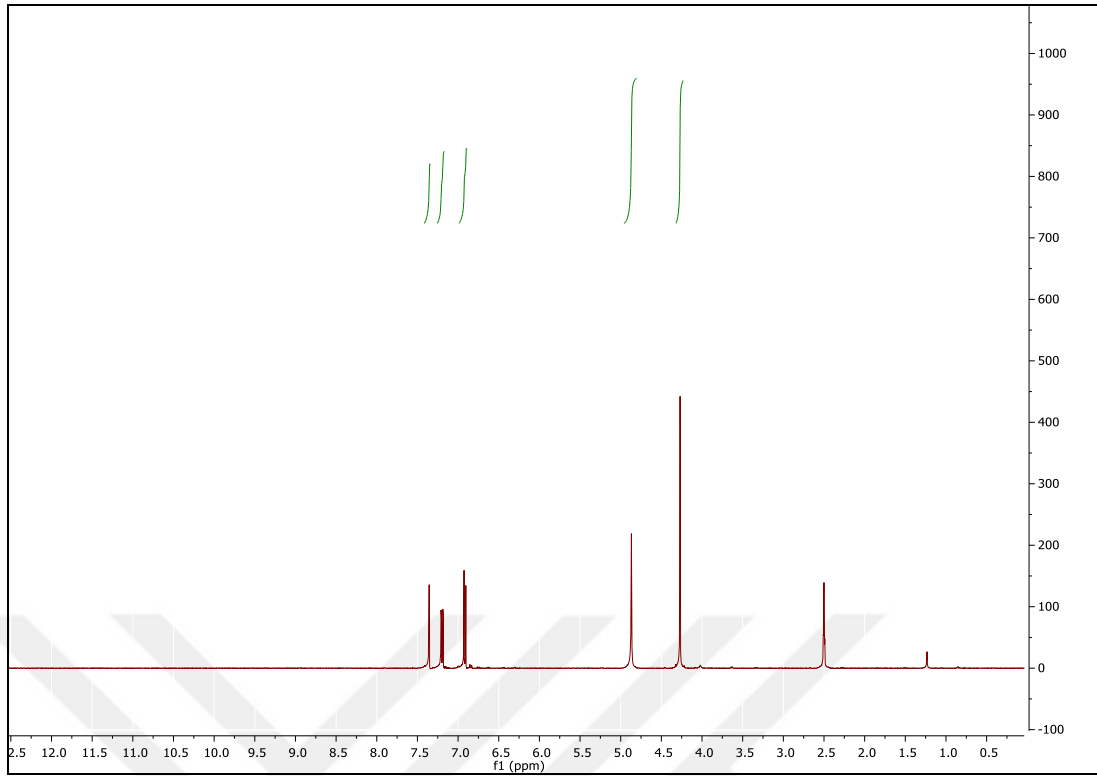
Spektrum 132. B25 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



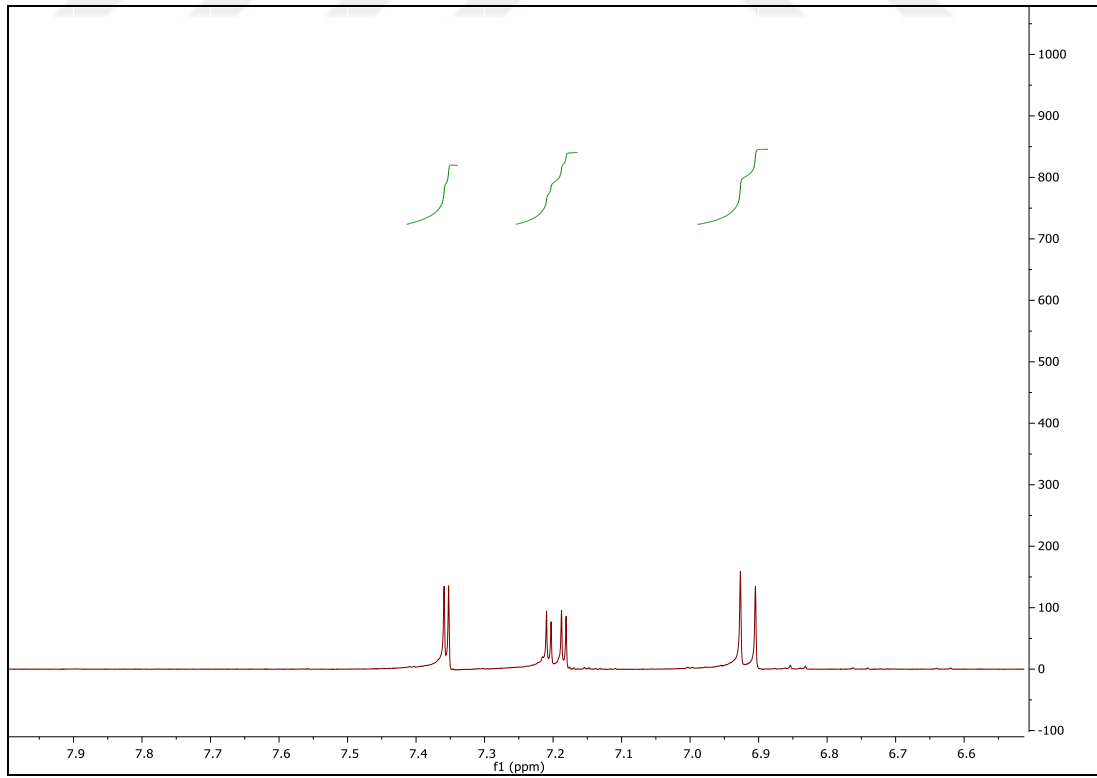
Spektrum 133. C1 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



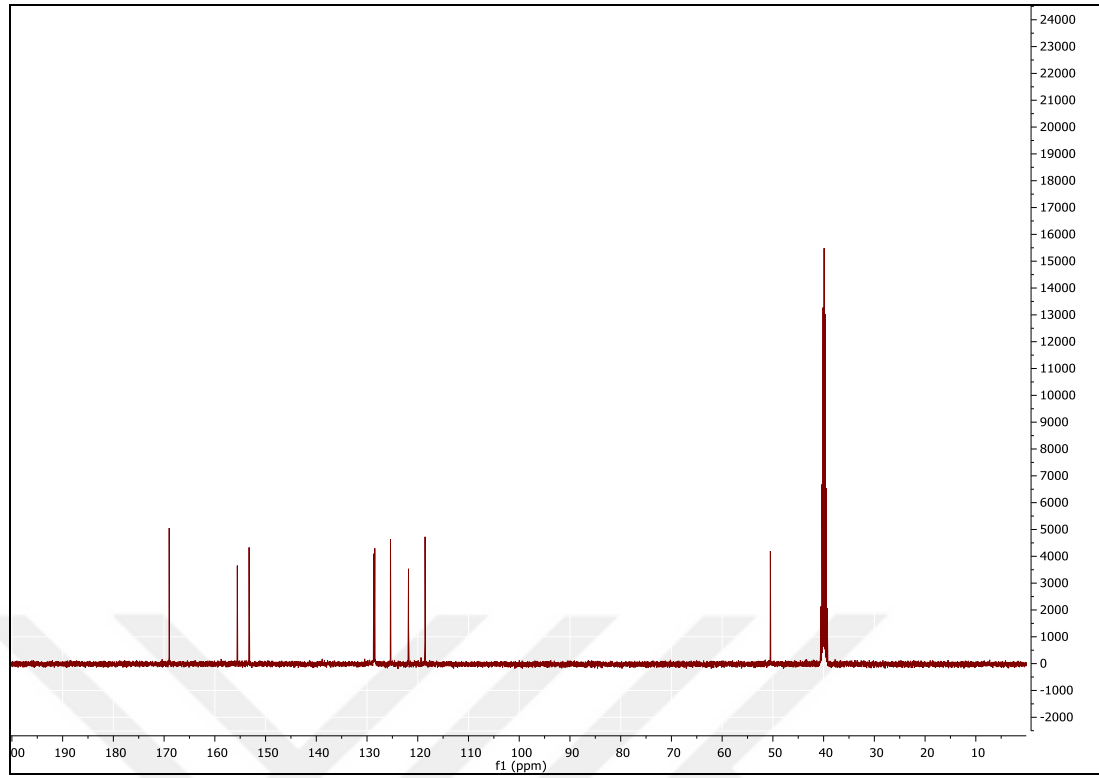
Spektrum 134. C1 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



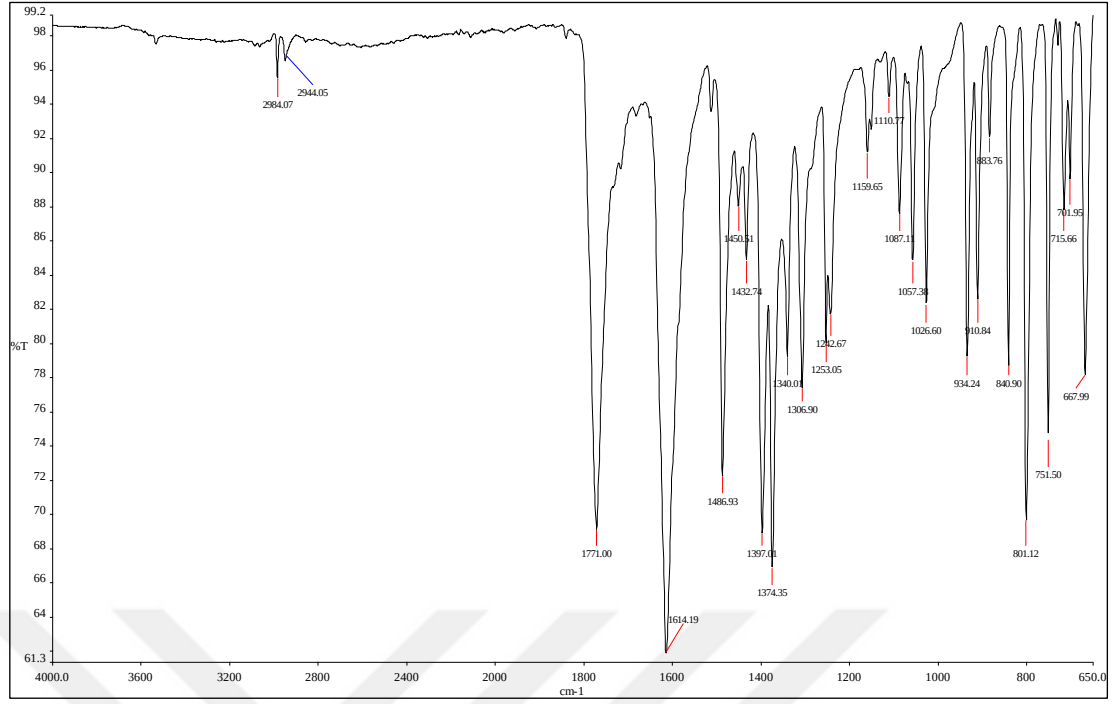
Spektrum 135. C1 Kodlu Bileşiğın ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu



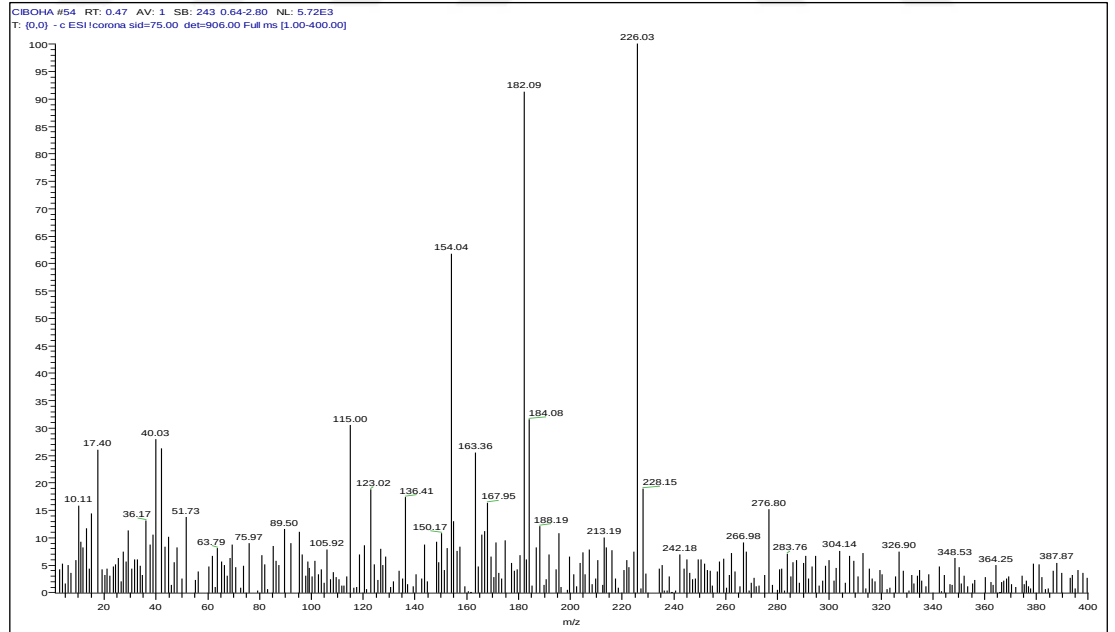
Spektrum 136. C1 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu



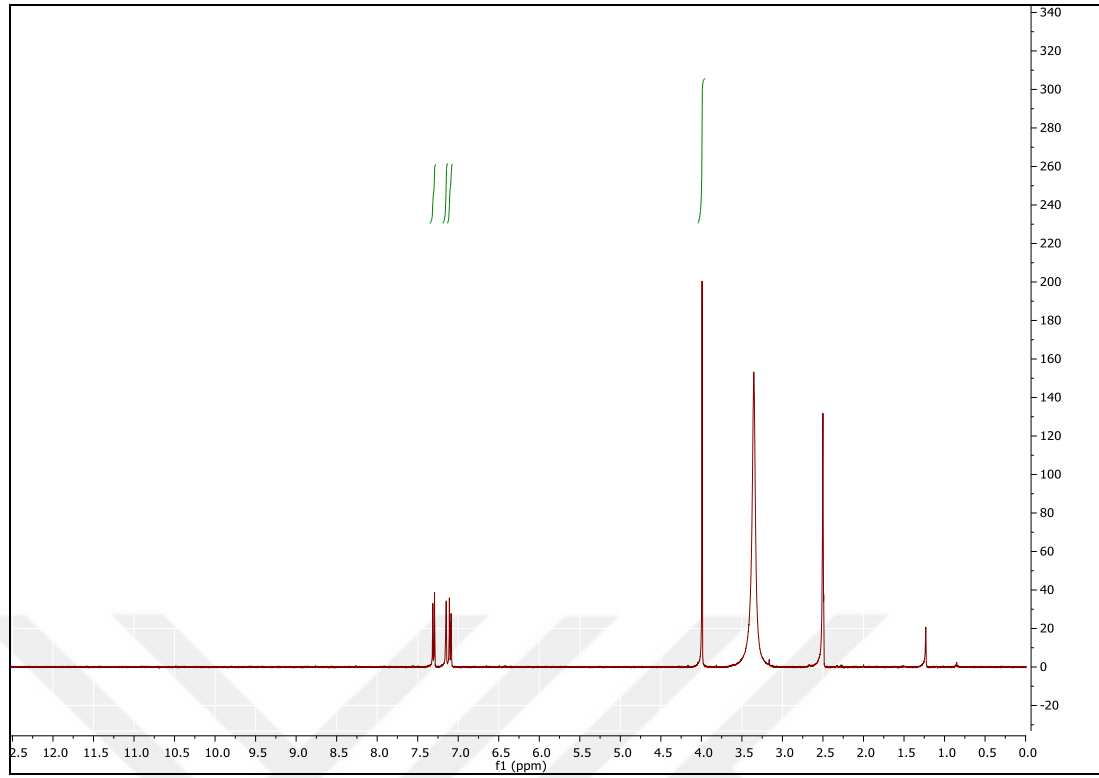
Spektrum 137. C1 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



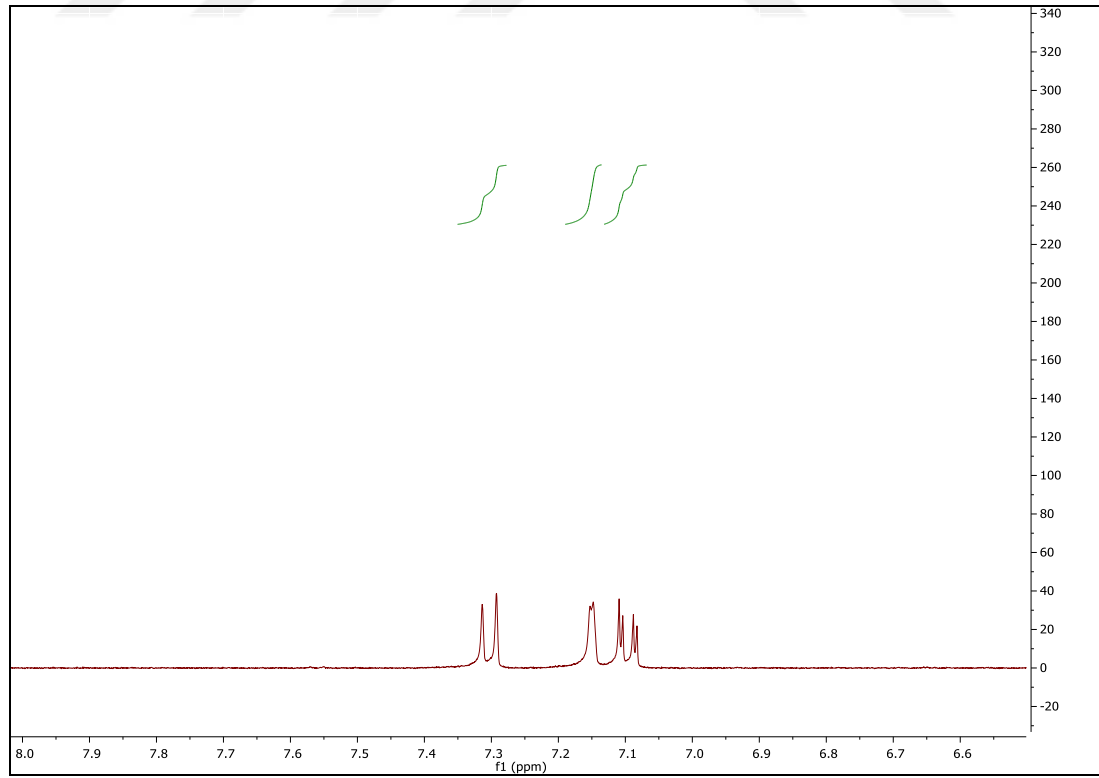
Spektrum 138. C2 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



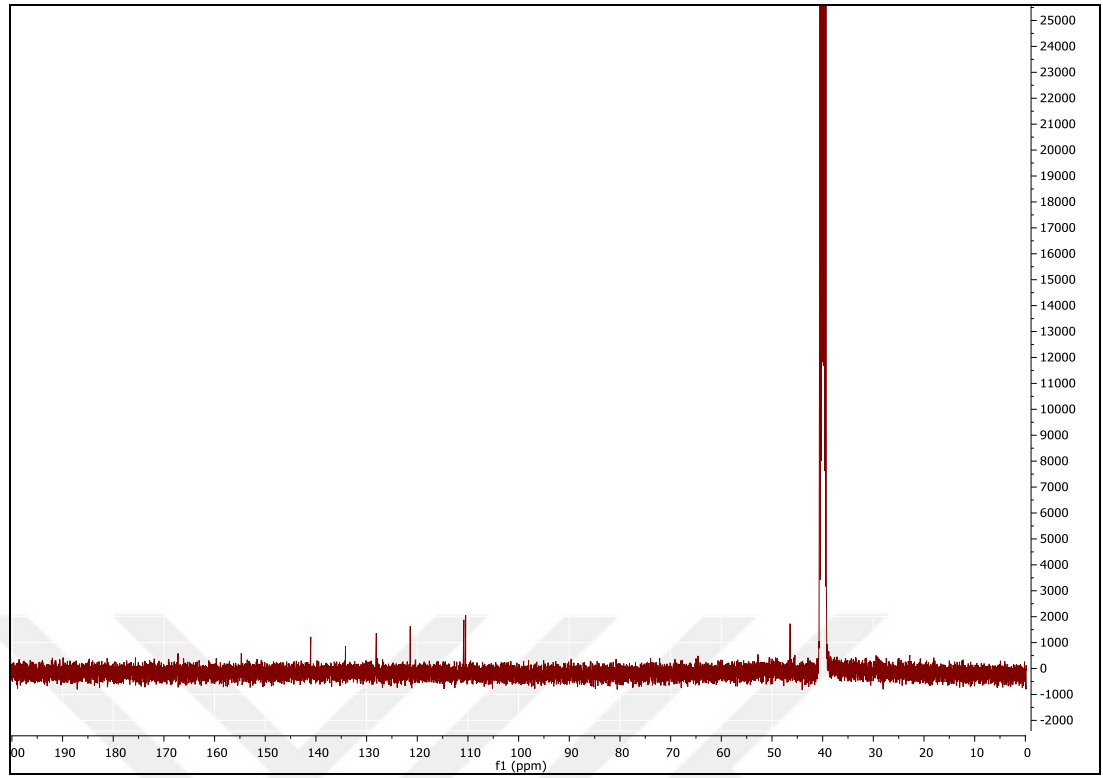
Spektrum 139. C2 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



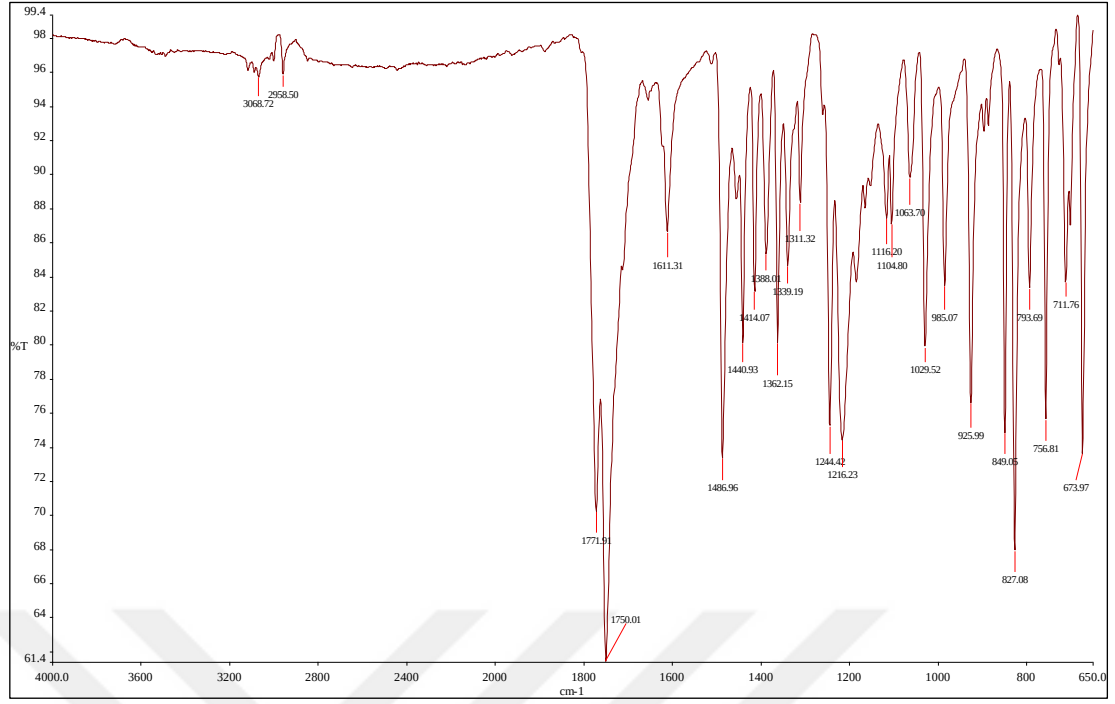
Spektrum 140. C2 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



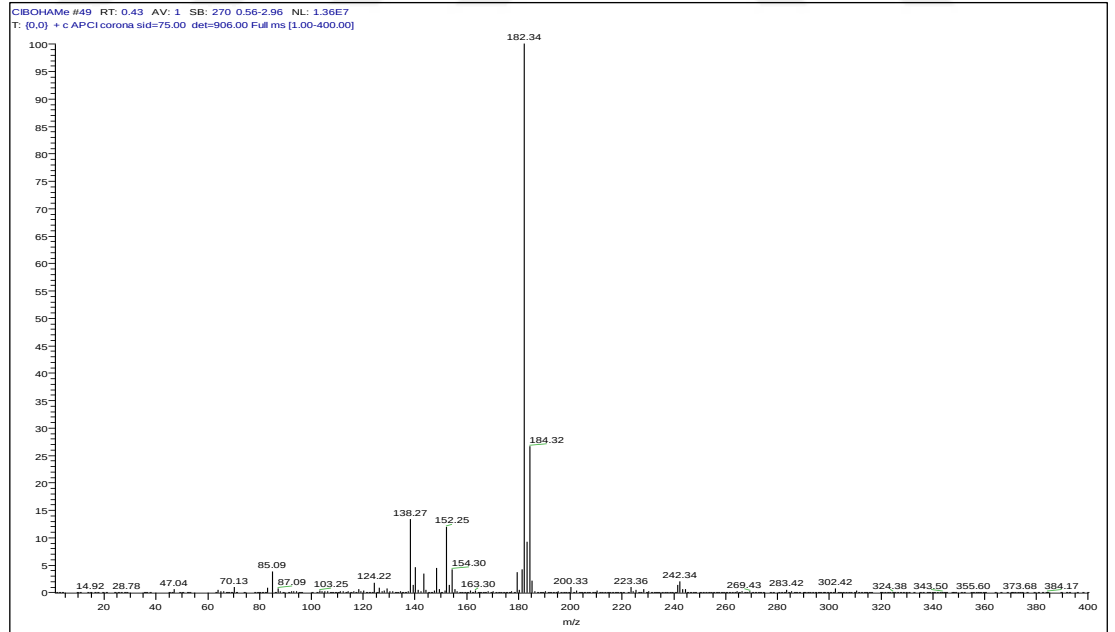
Spektrum 141. C2 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



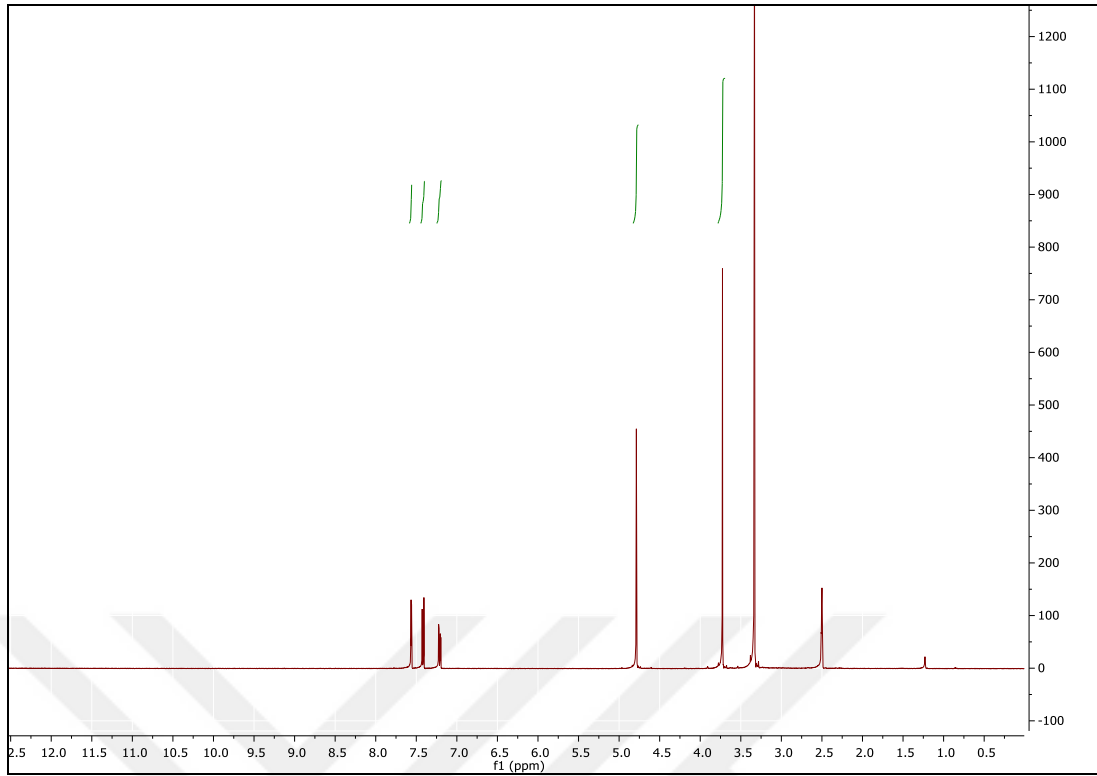
Spektrum 142. C2 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



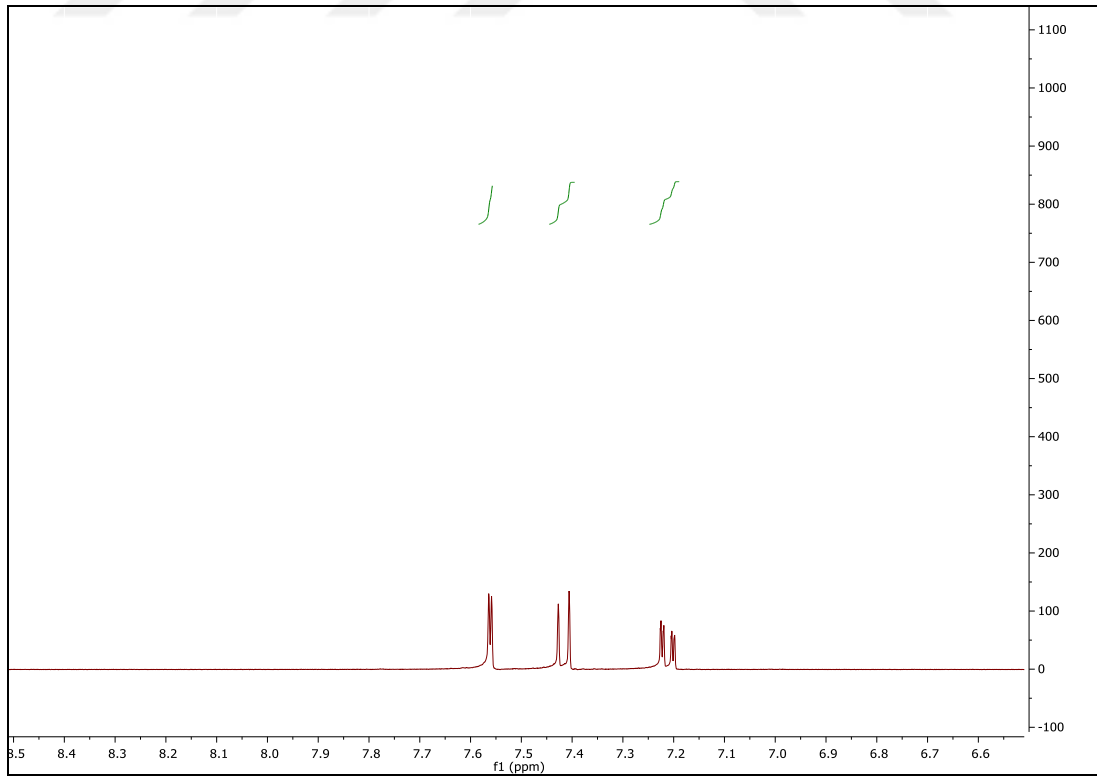
Spektrum 143. C3 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



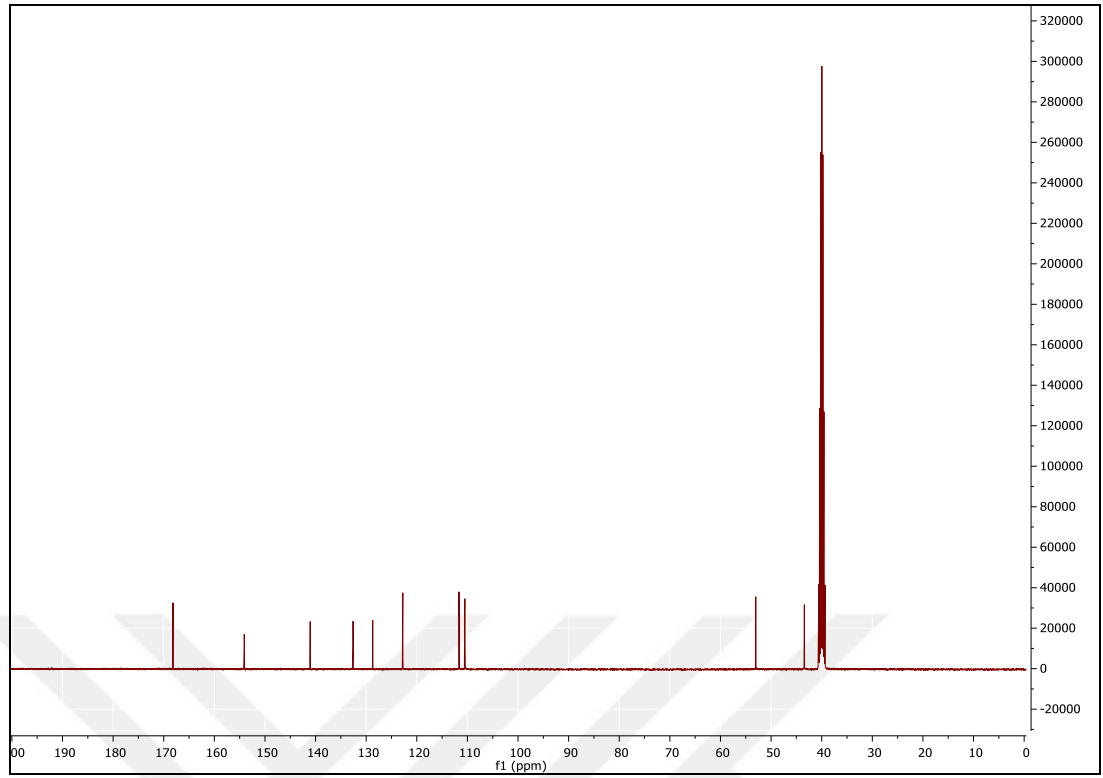
Spektrum 144. C3 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



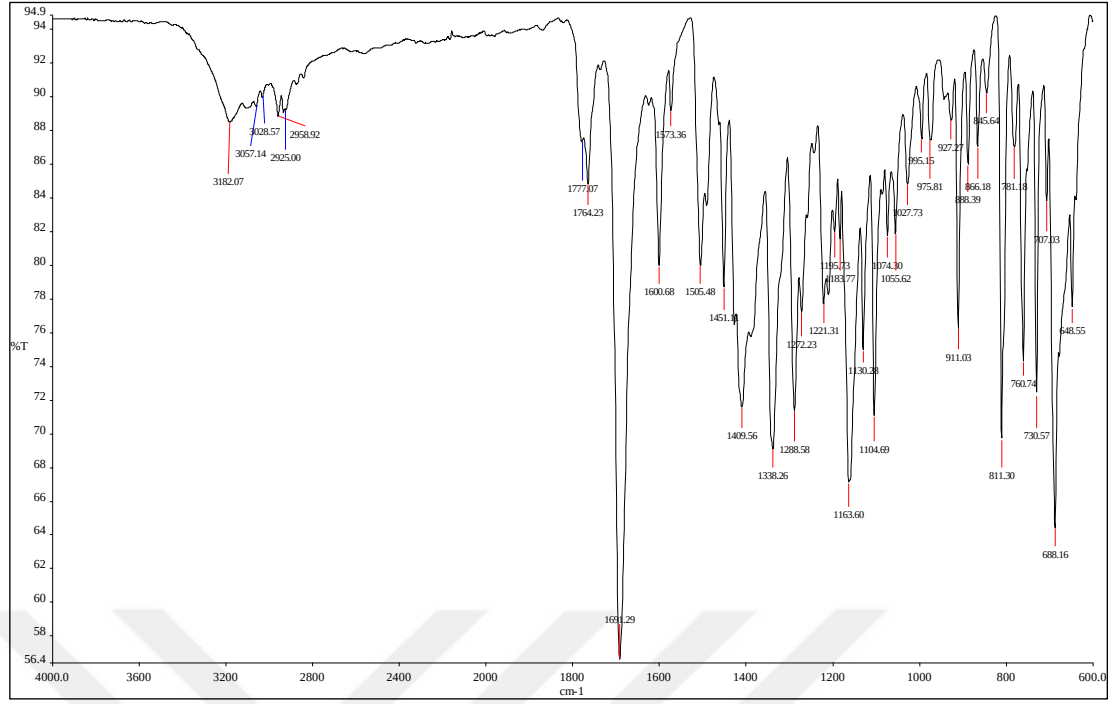
Spektrum 145. C3 Kodlu Bileşiğin ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu



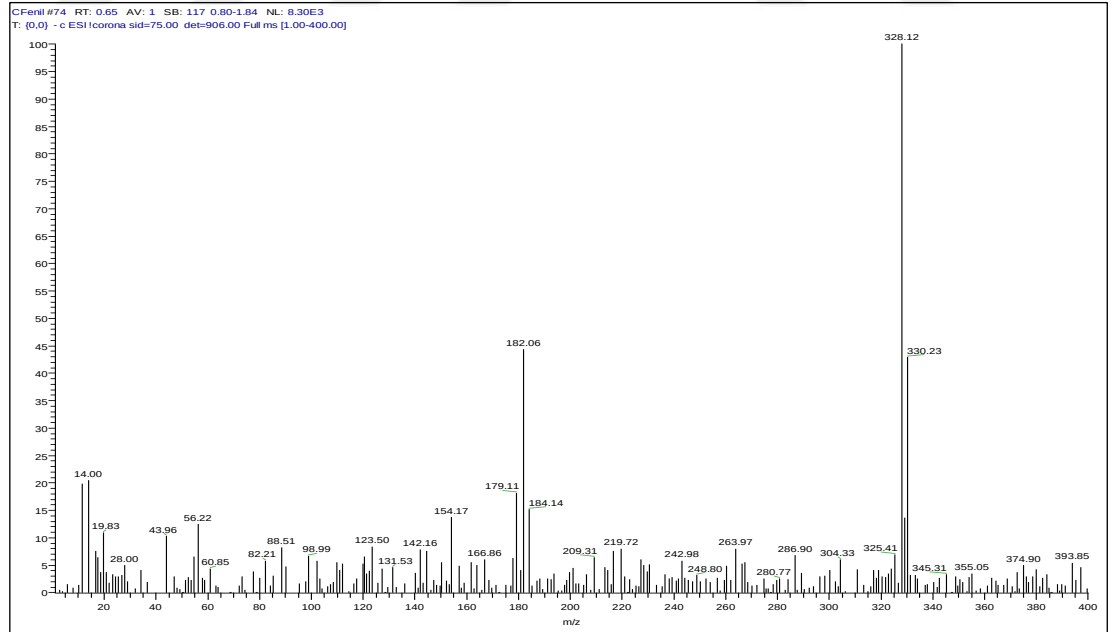
Spektrum 146. C3 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu



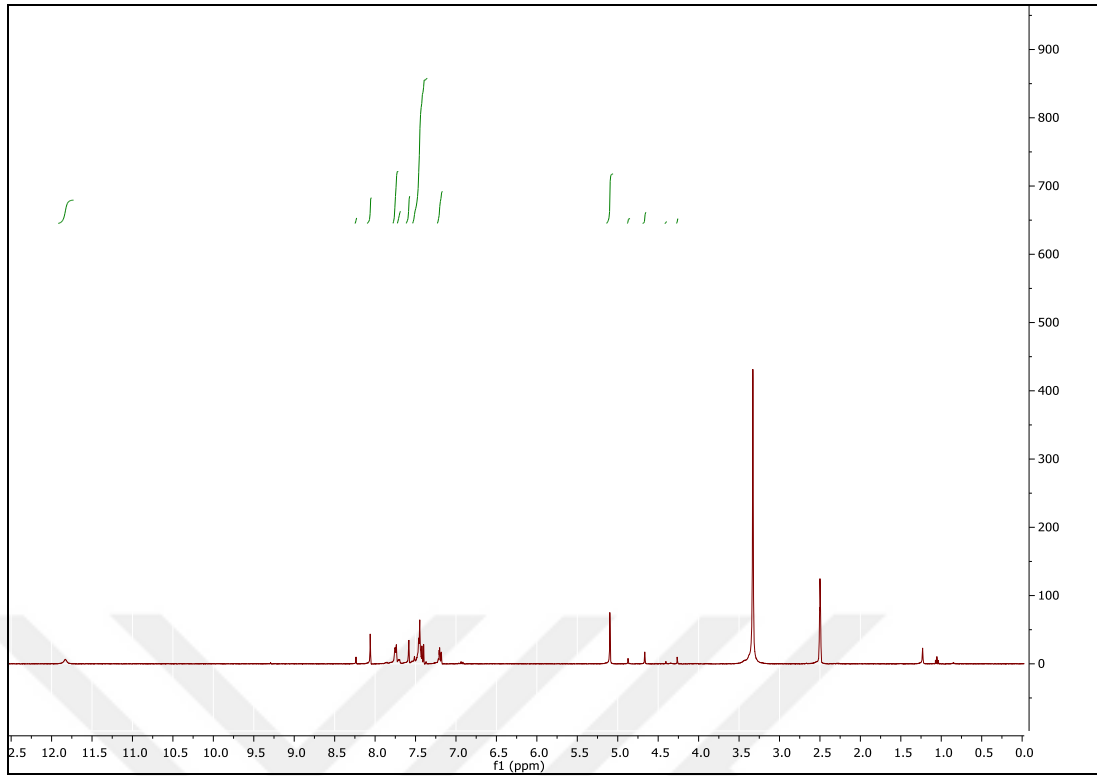
Spektrum 147. C3 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



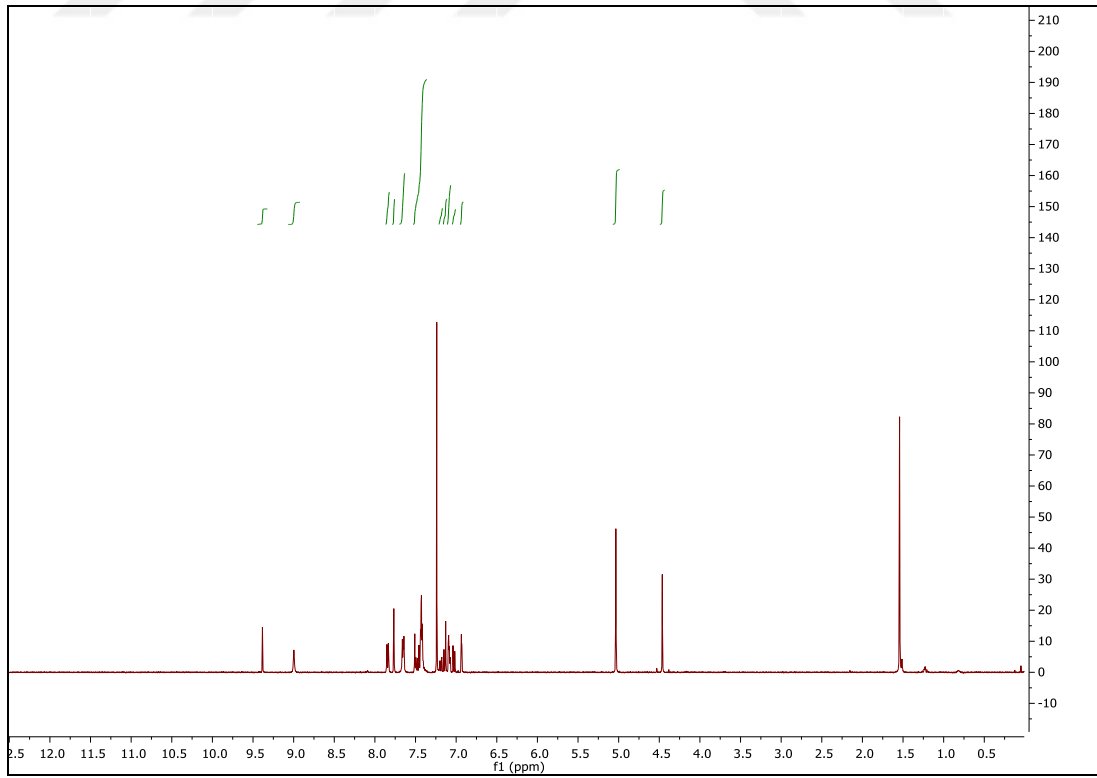
Spektrum 148. C4 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



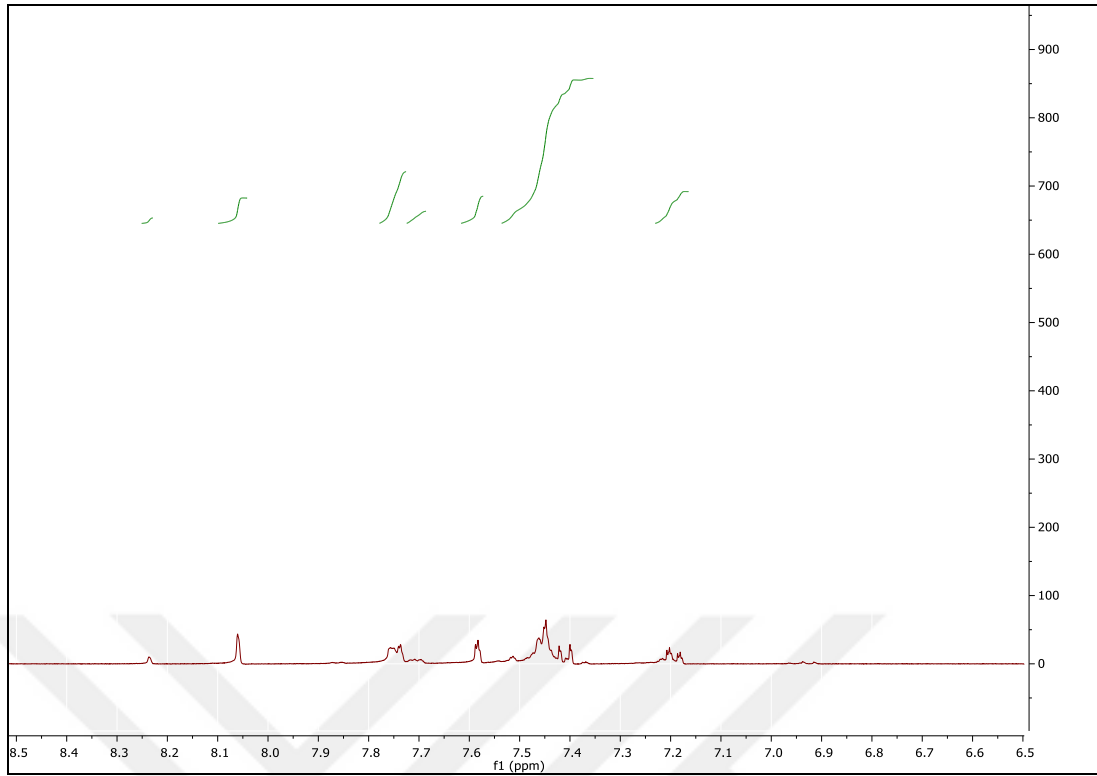
Spektrum 149. C4 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



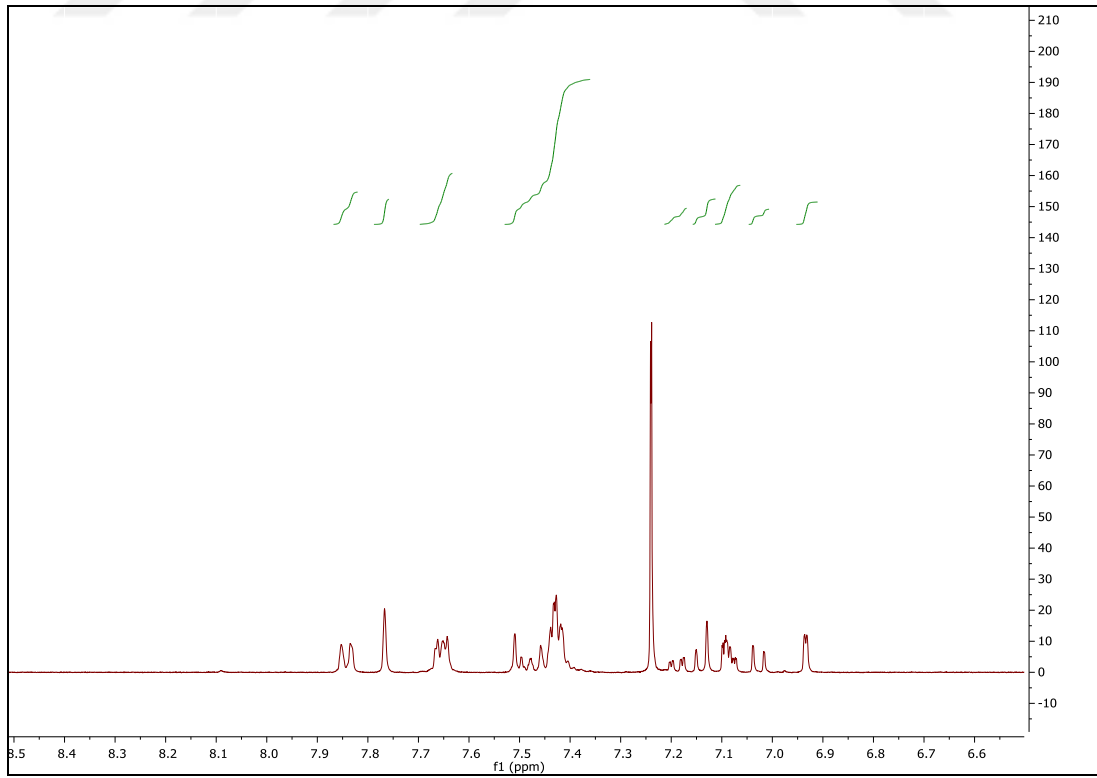
Spektrum 150. C4 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



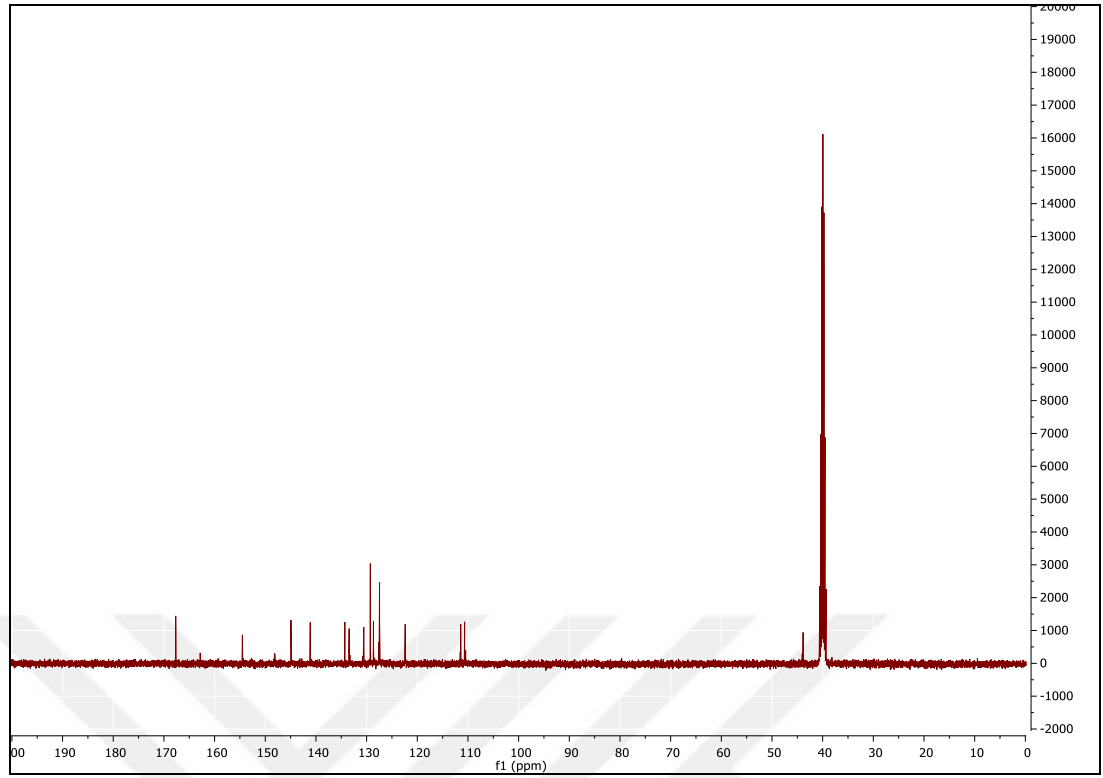
Spektrum 151. C4 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu



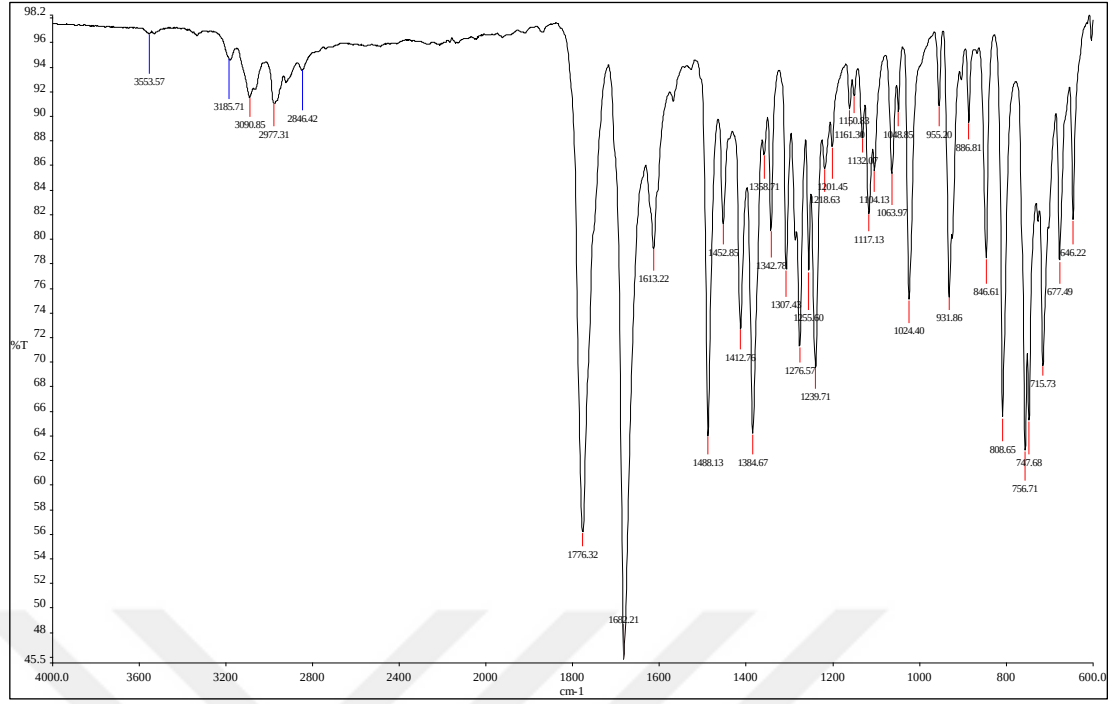
Spektrum 152. C4 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



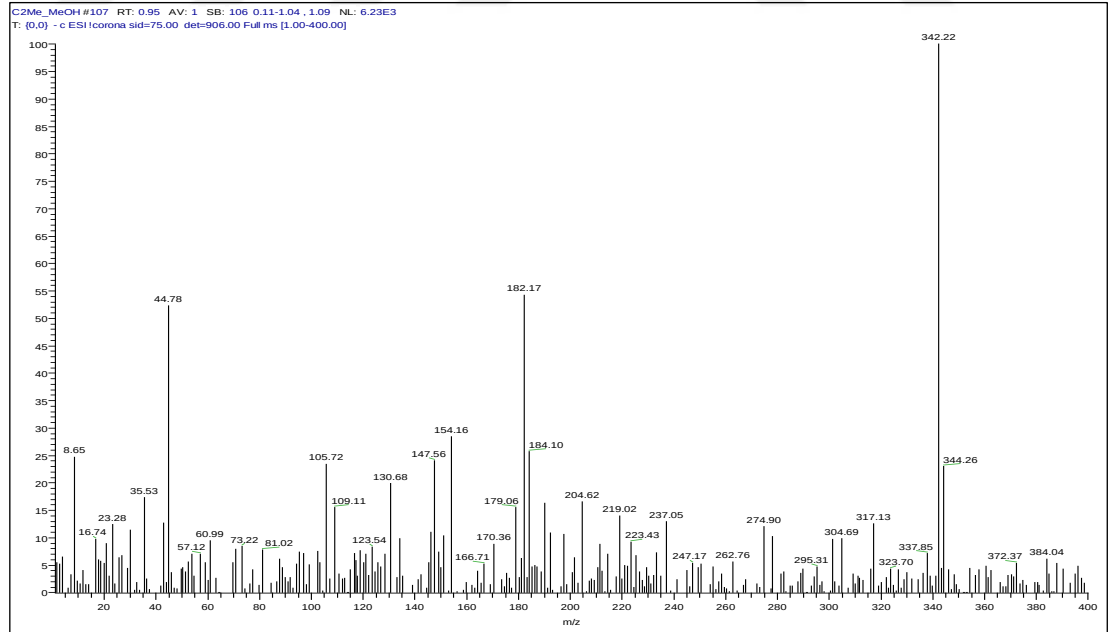
Spektrum 153. C4 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu



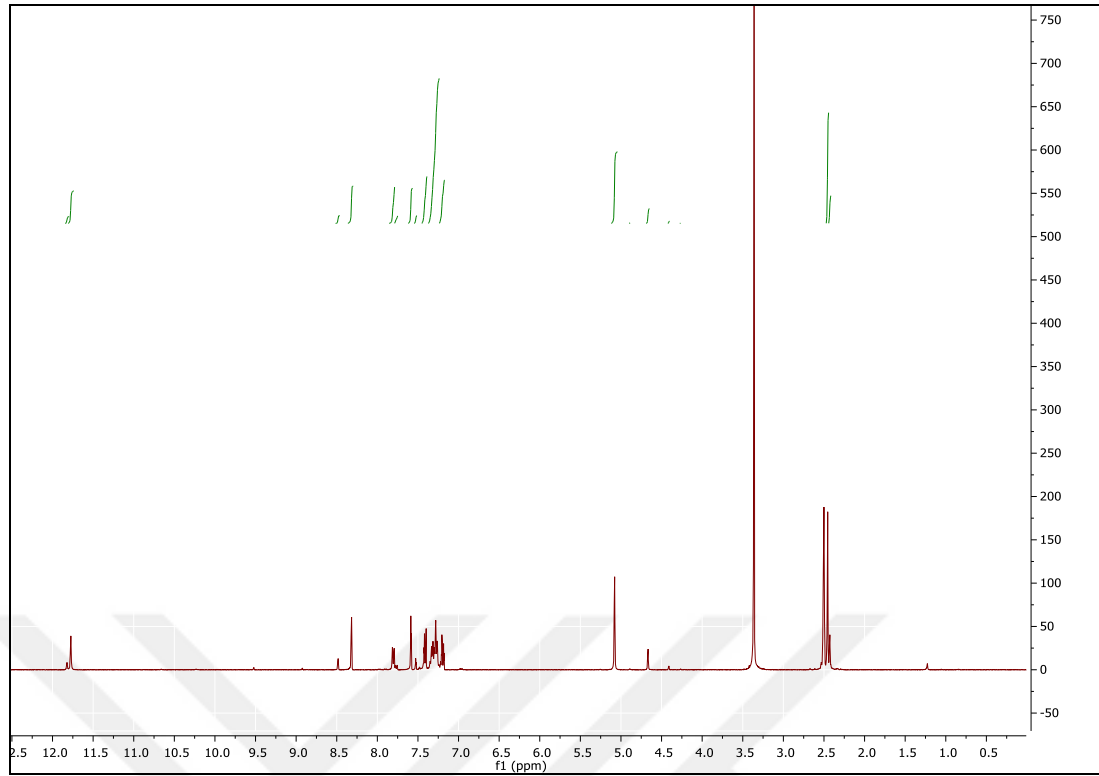
Spektrum 154. C4 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



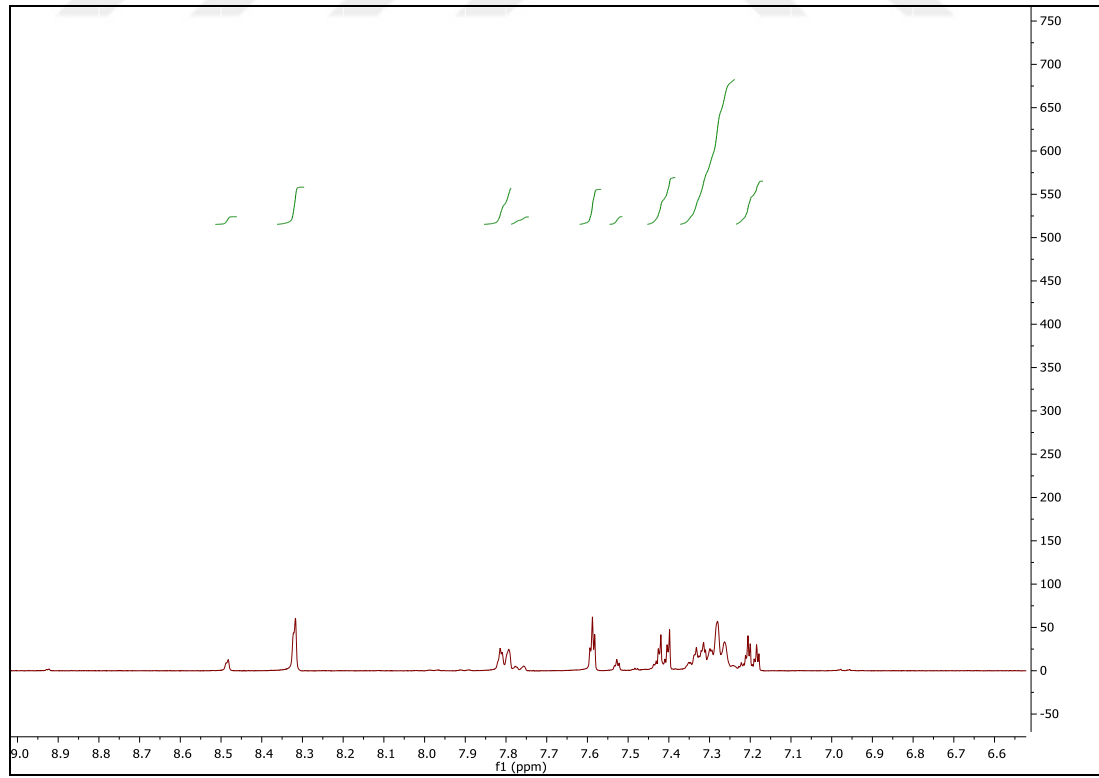
Spektrum 155. C5 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



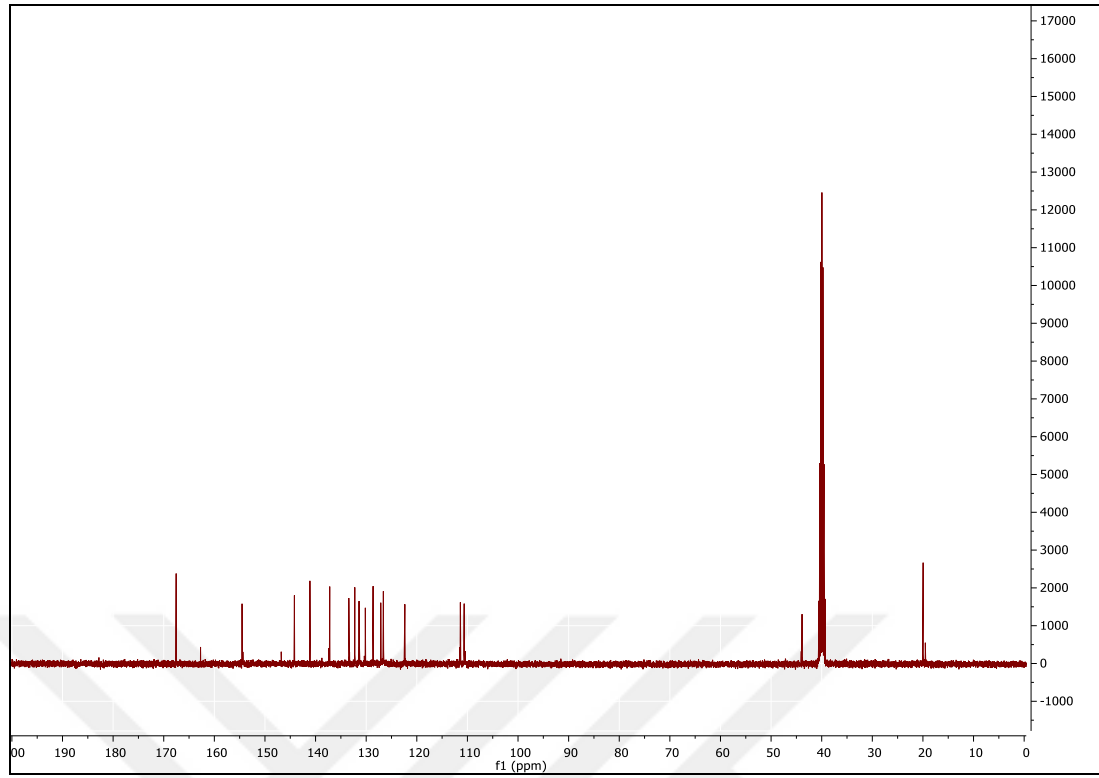
Spektrum 156. C5 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



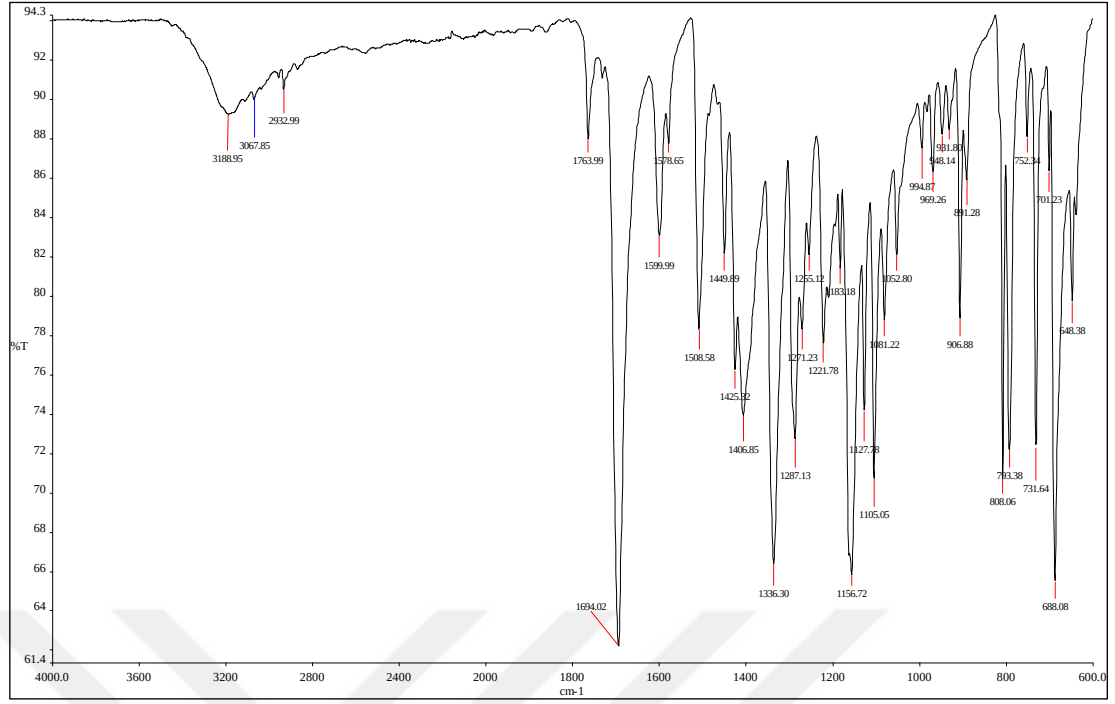
Spektrum 157. C5 Kodlu Bileşiğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



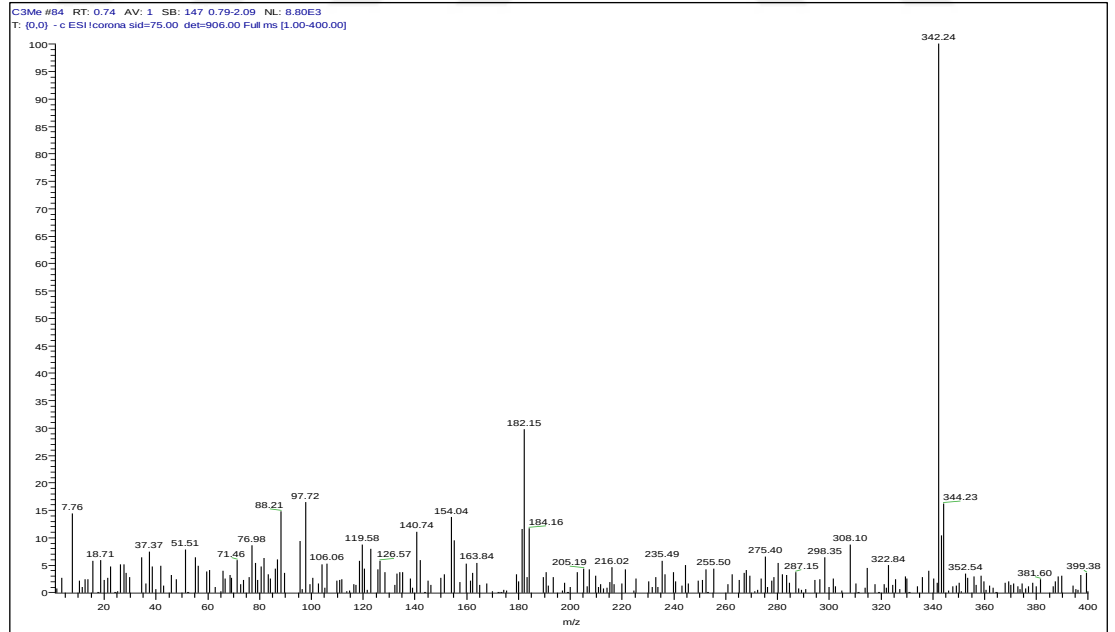
Spektrum 158. C5 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



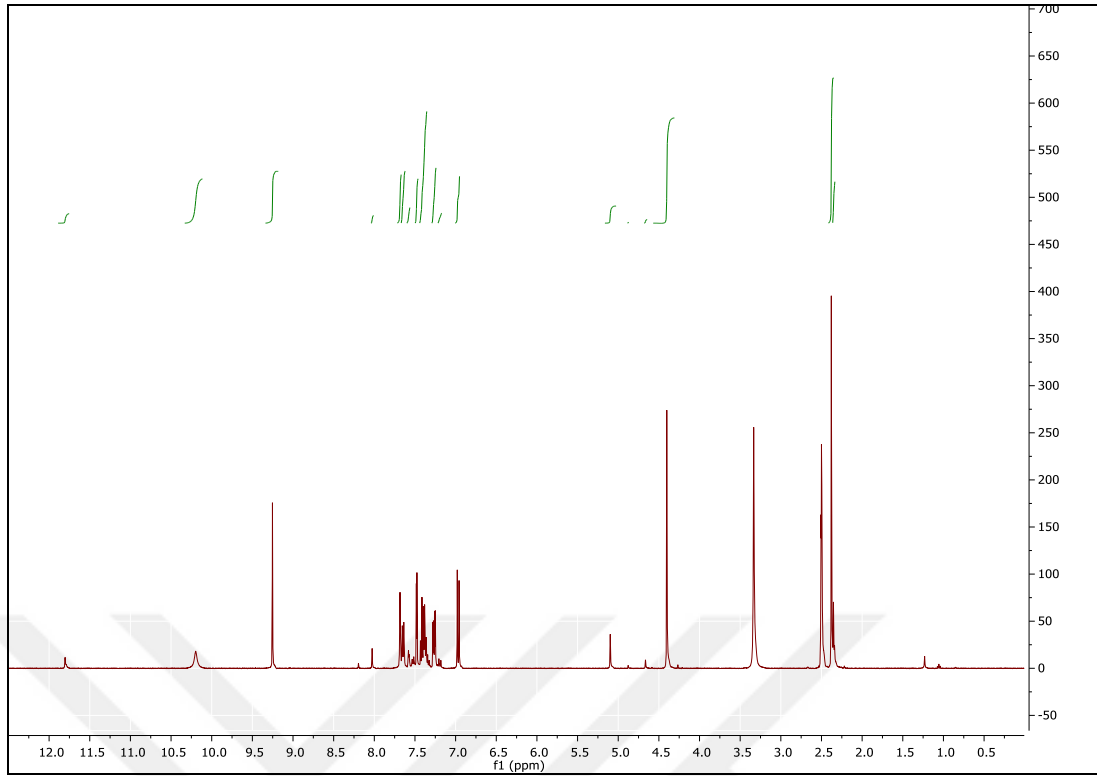
Spektrum 159. C5 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



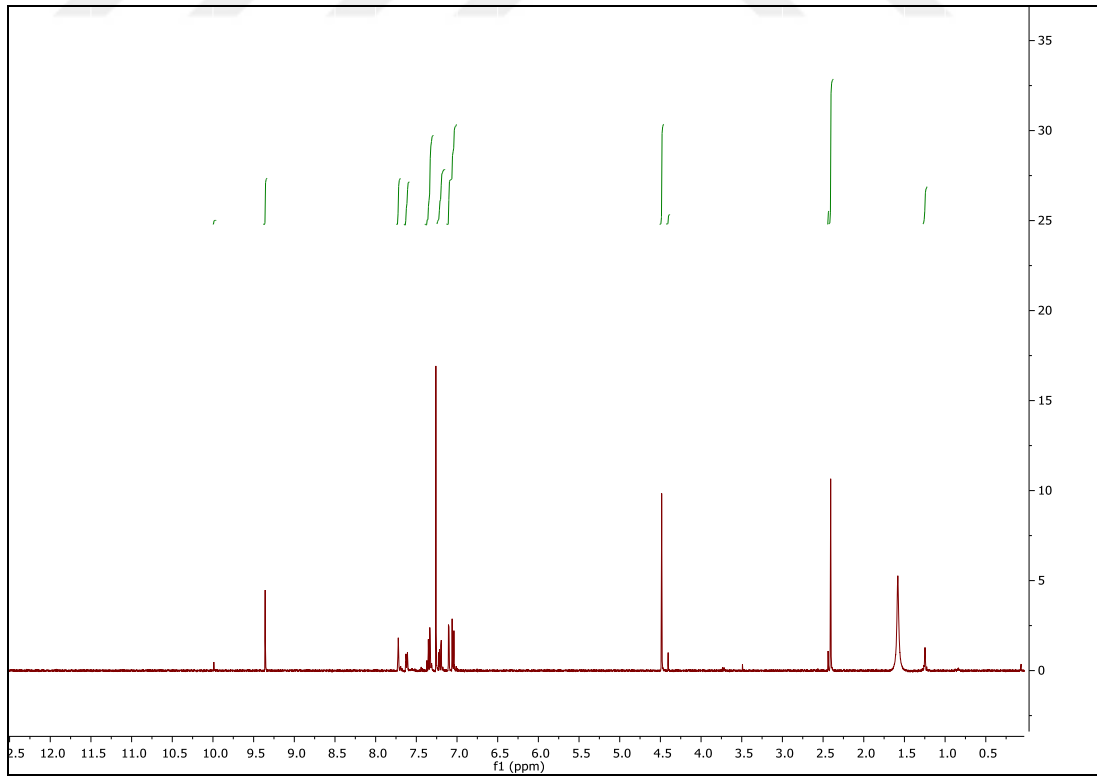
Spektrum 160. C6 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



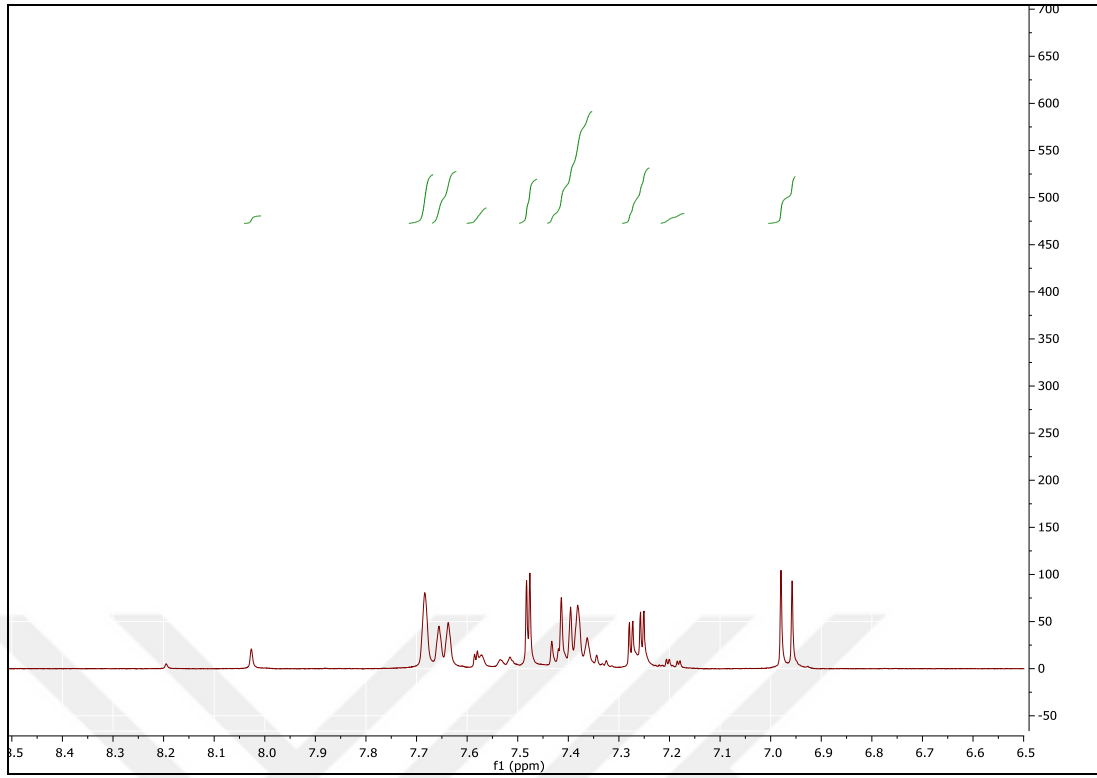
Spektrum 161. C6 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



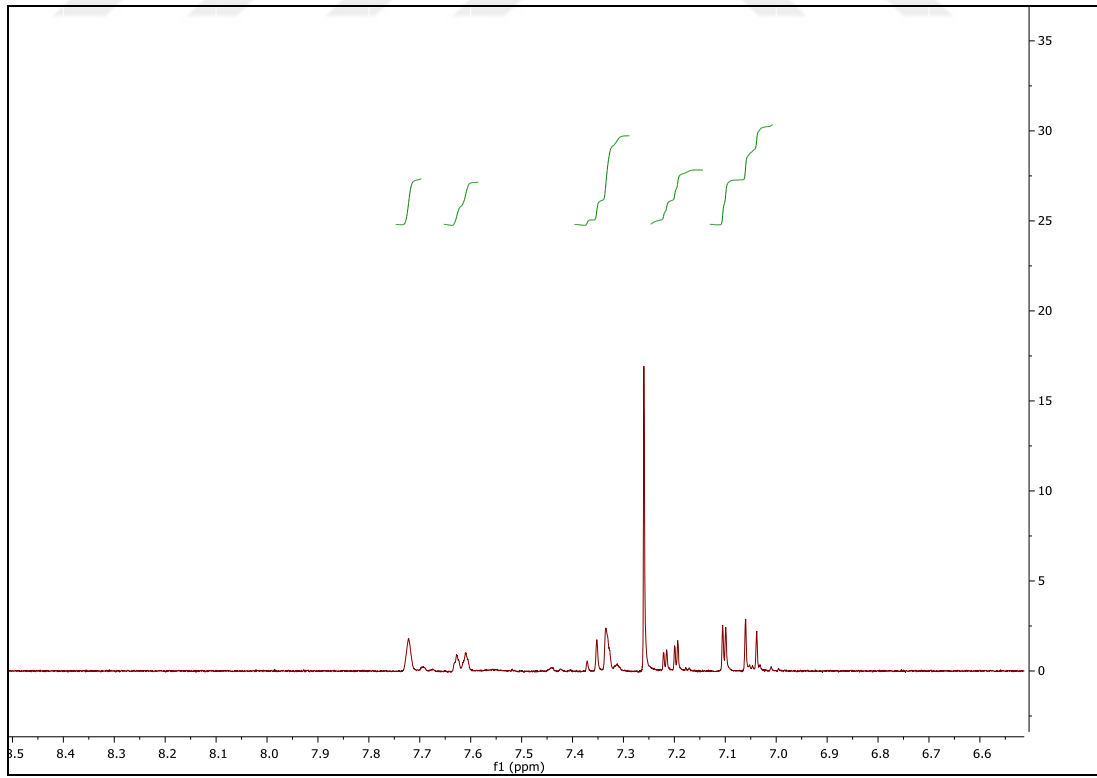
Spektrum 162. C6 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



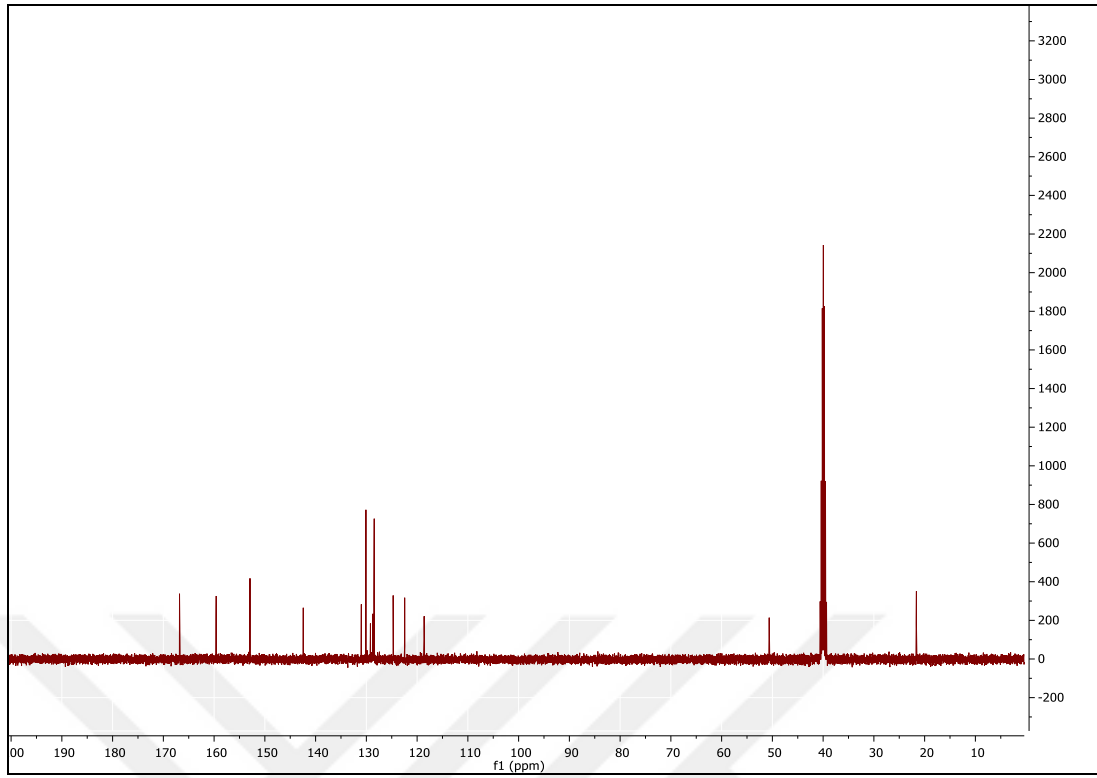
Spektrum 163. C6 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu



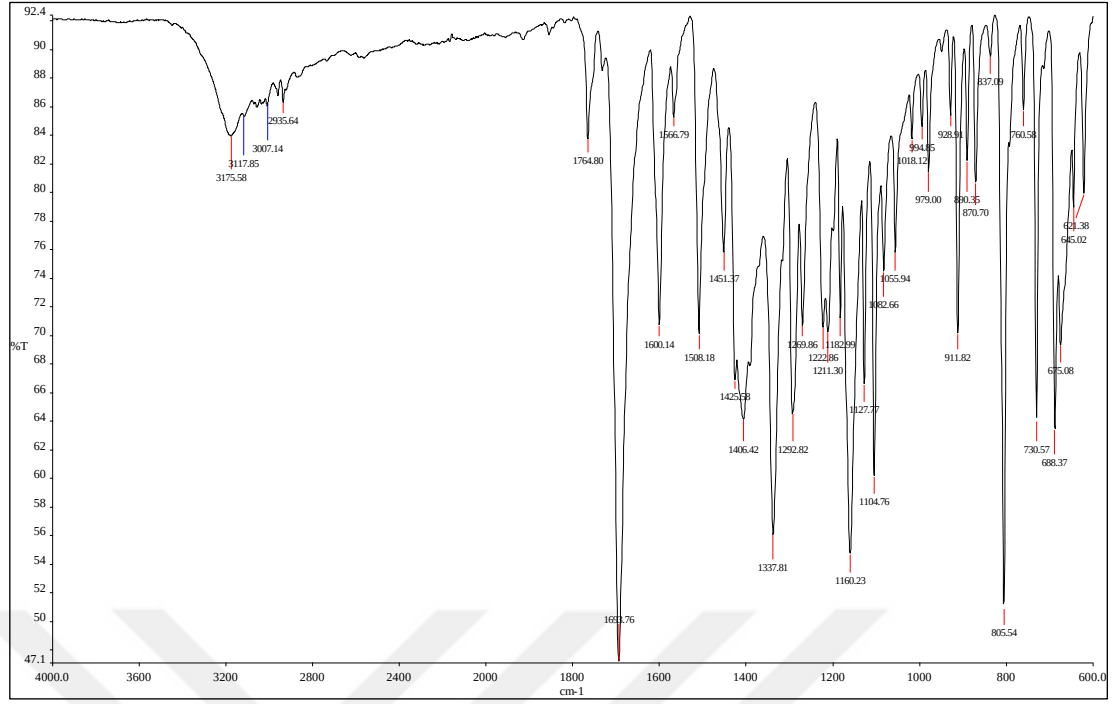
Spektrum 164. C6 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu



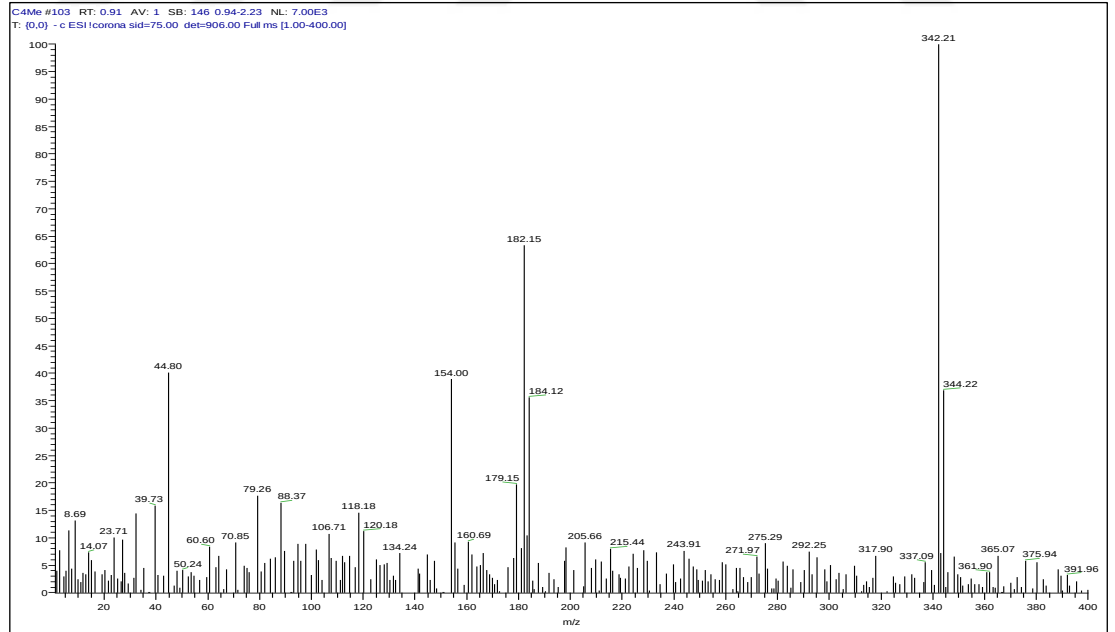
Spektrum 165. C6 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ¹H NMR (CDCl₃) Spektrumu



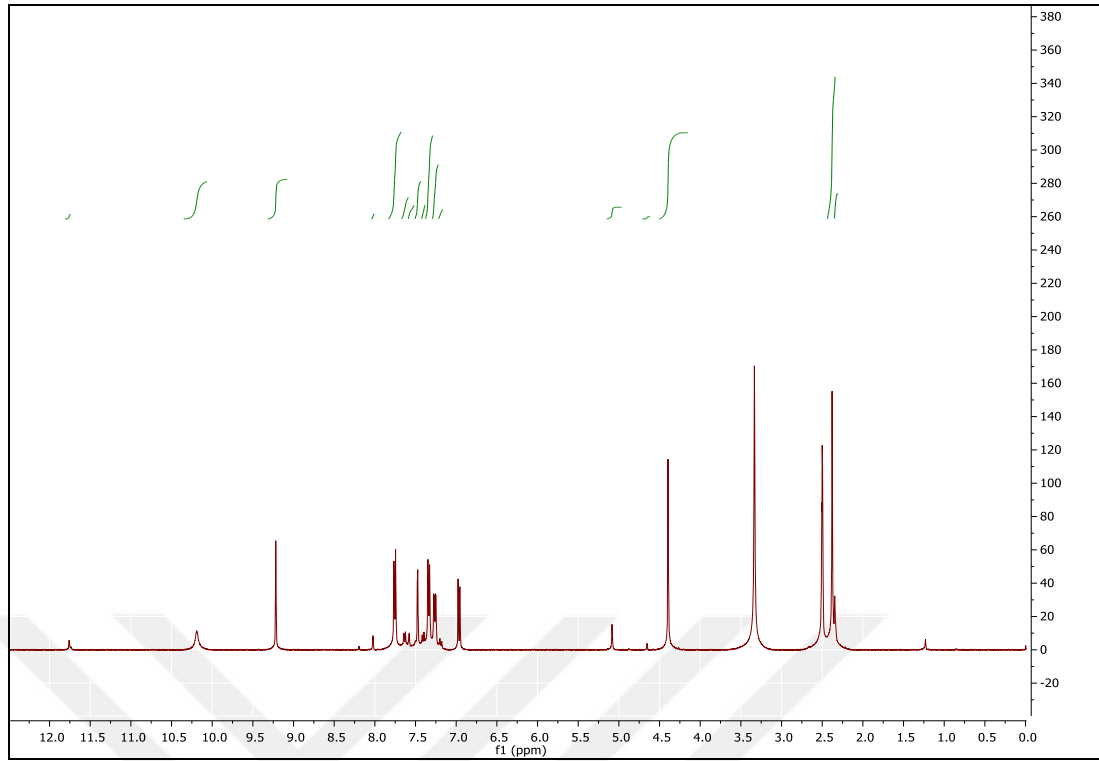
Spektrum 166. C6 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



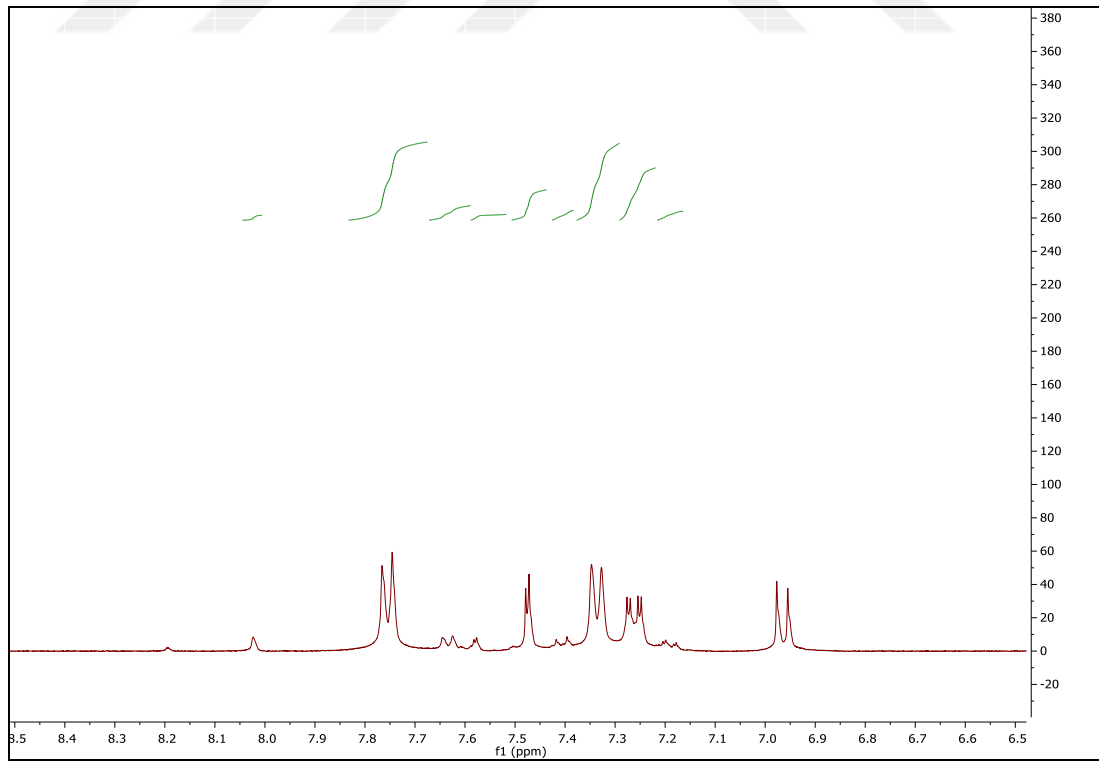
Spektrum 167. C7 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



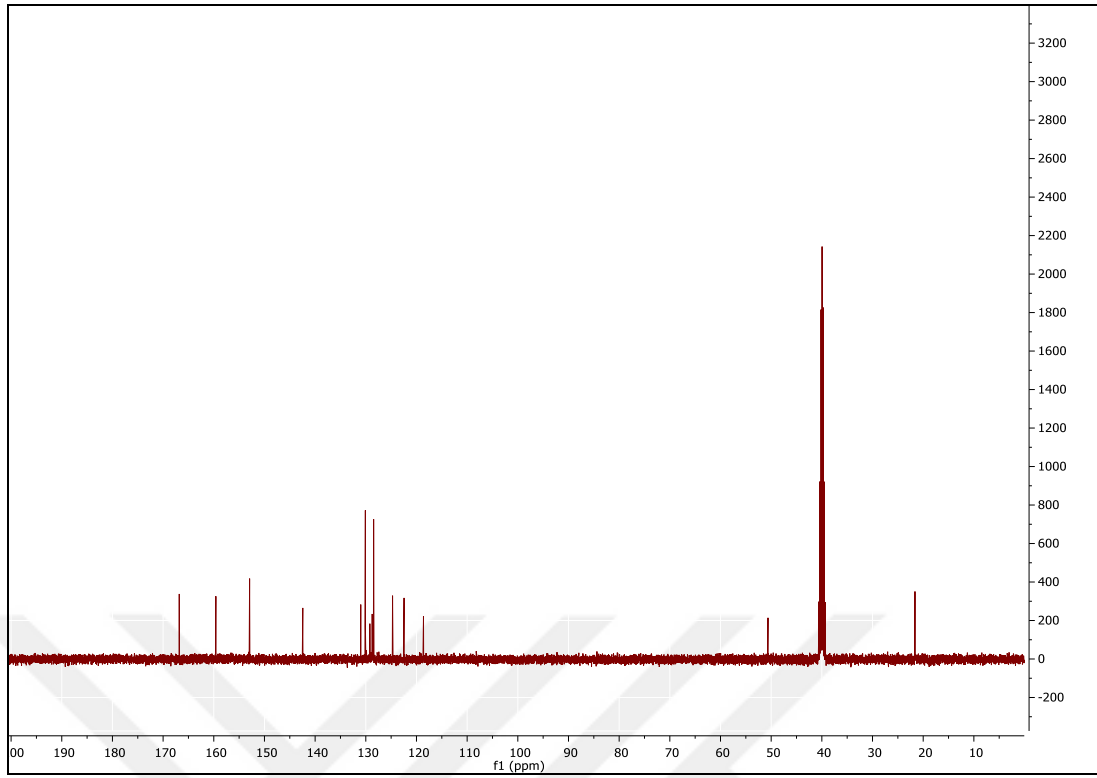
Spektrum 168. C7 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



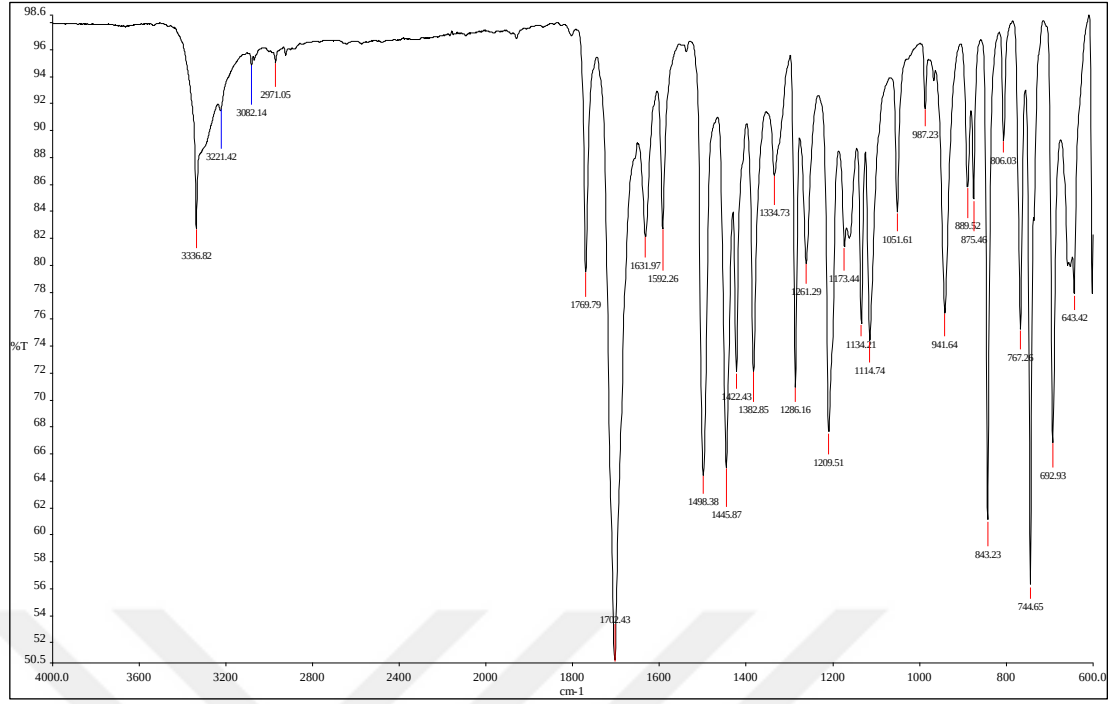
Spektrum 169. C7 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



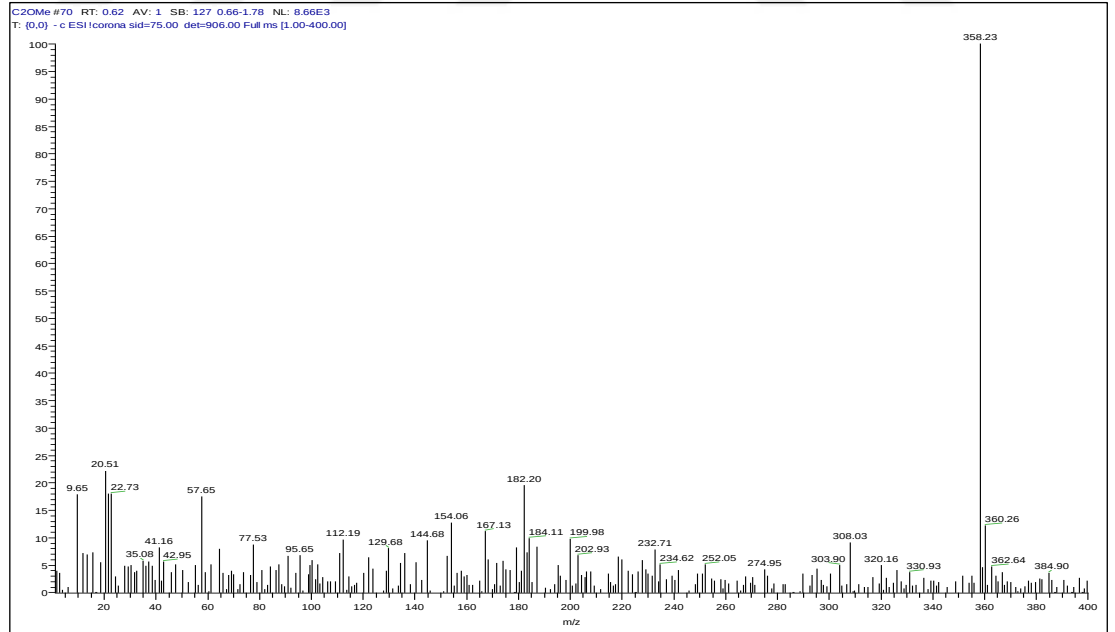
Spektrum 170. C7 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



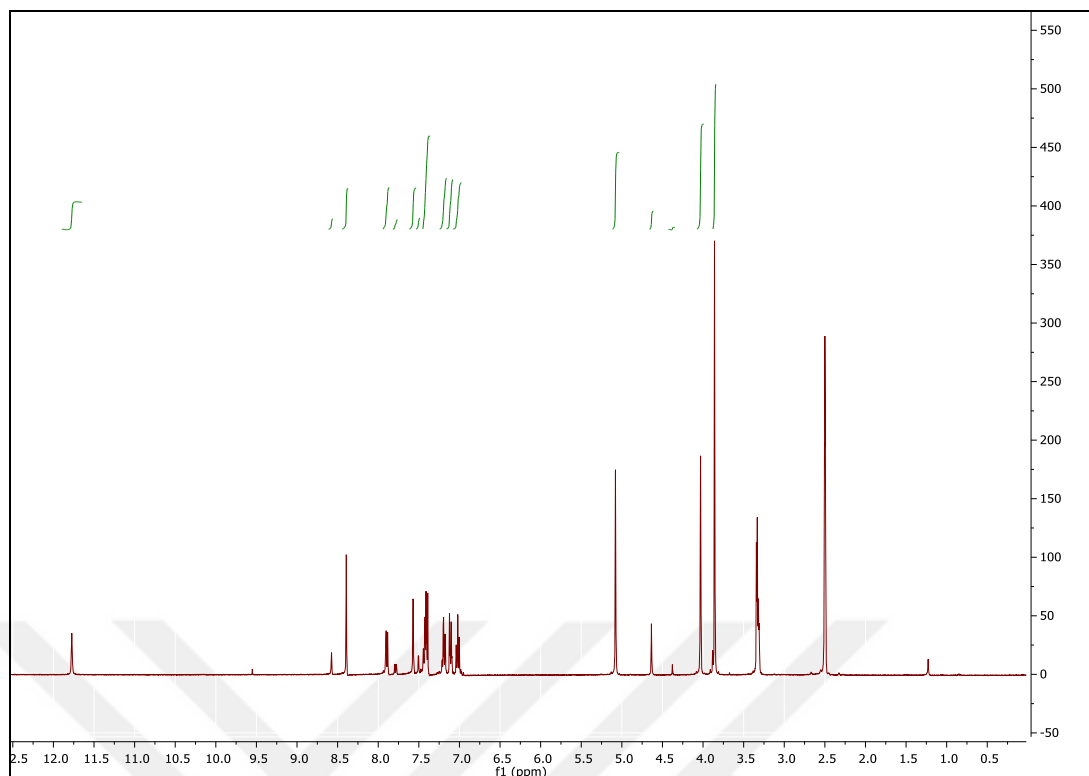
Spektrum 171. C7 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



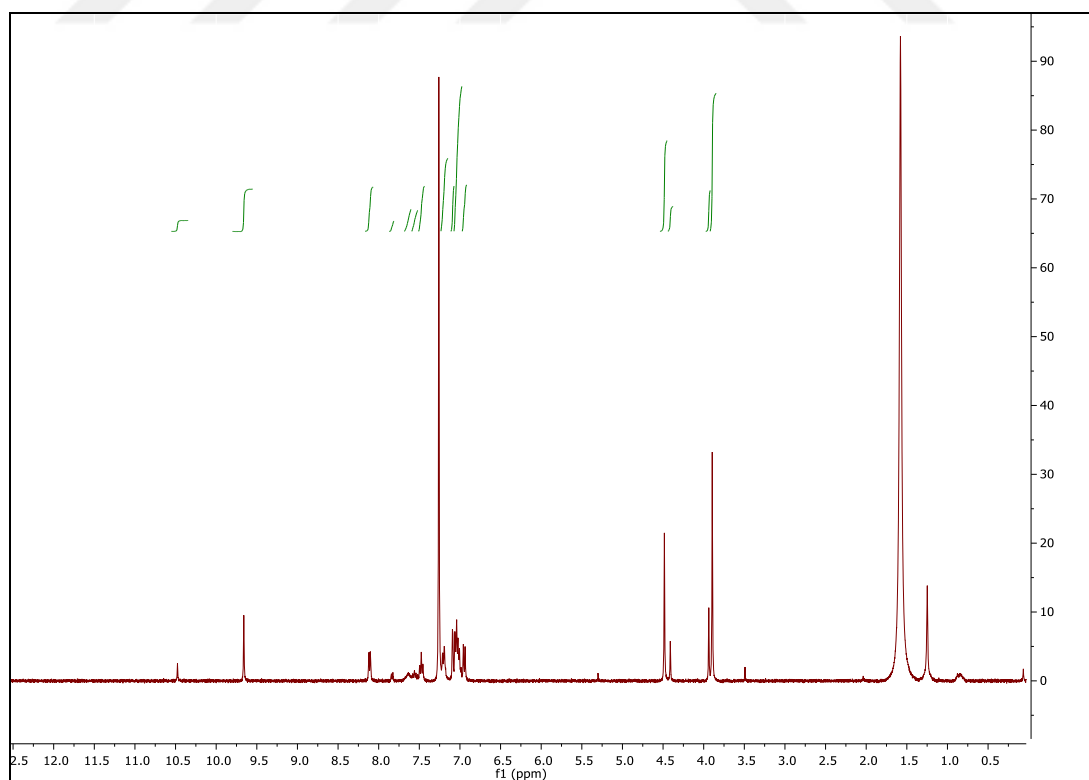
Spektrum 172. C8 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



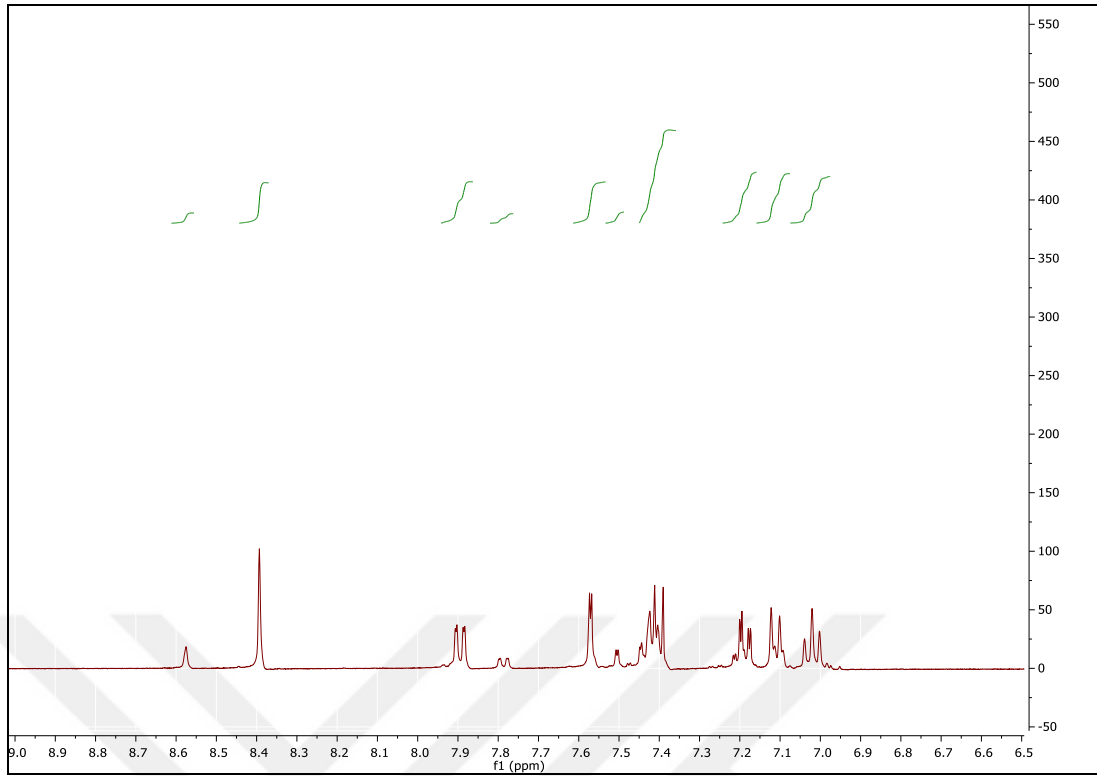
Spektrum 173. C8 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



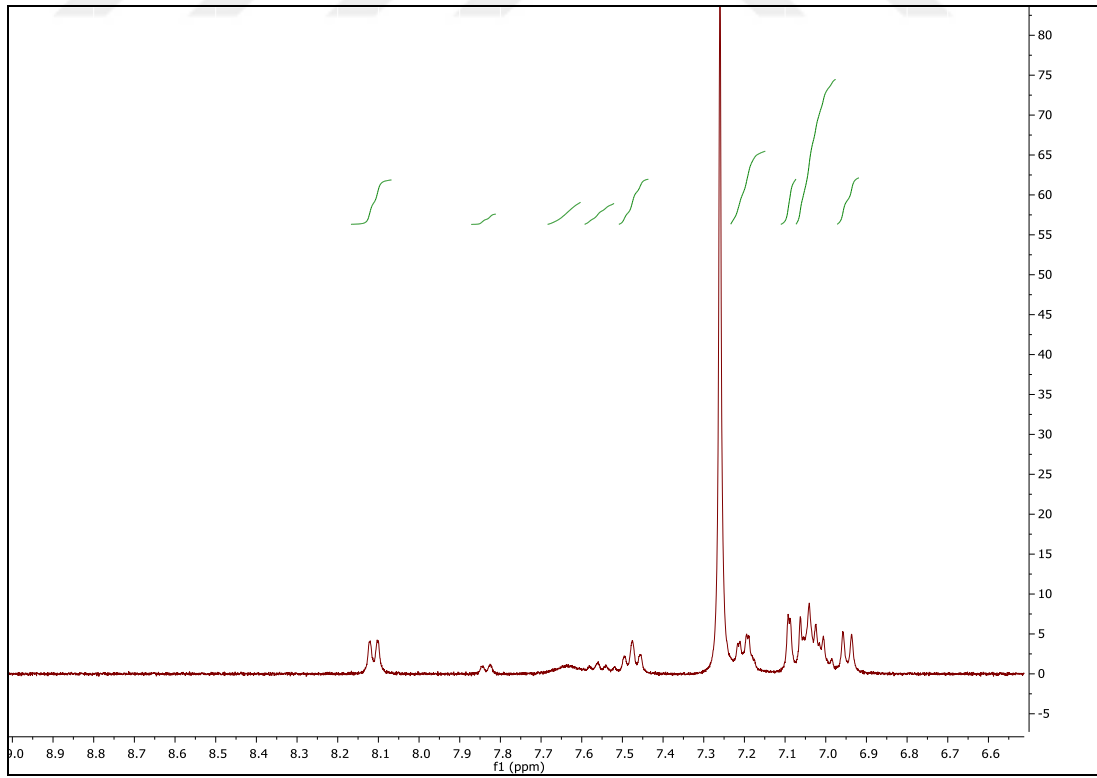
Spektrum 174. C8 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



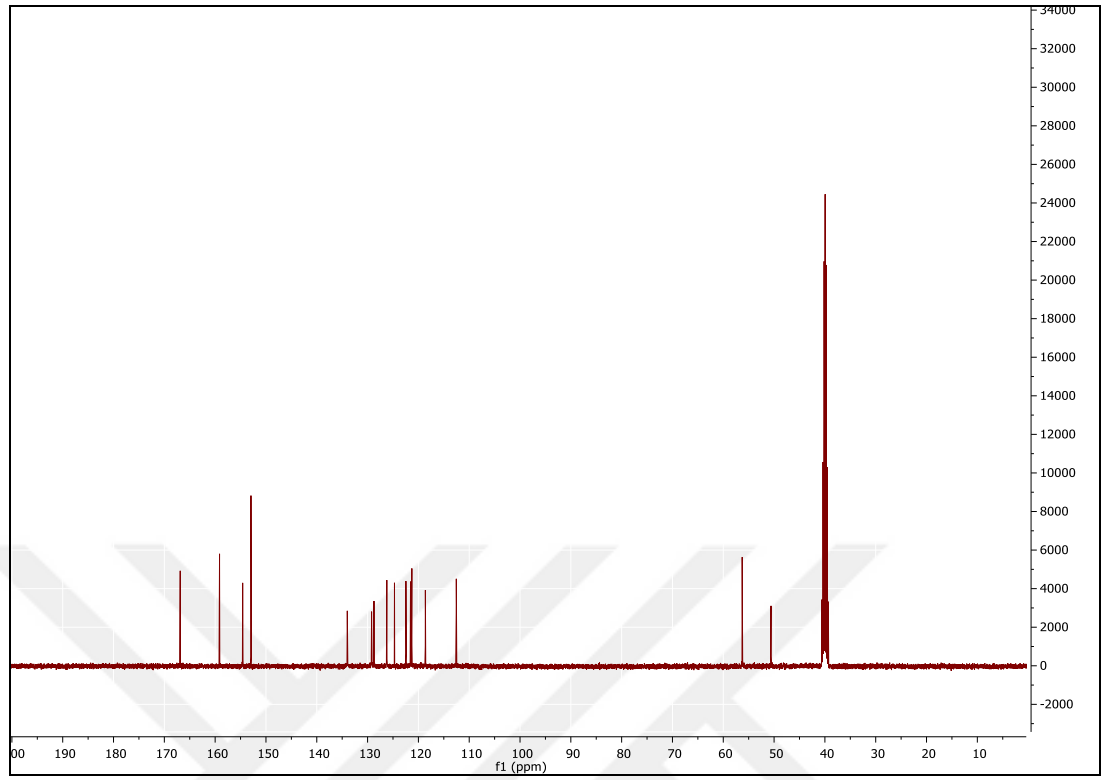
Spektrum 175. C8 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu



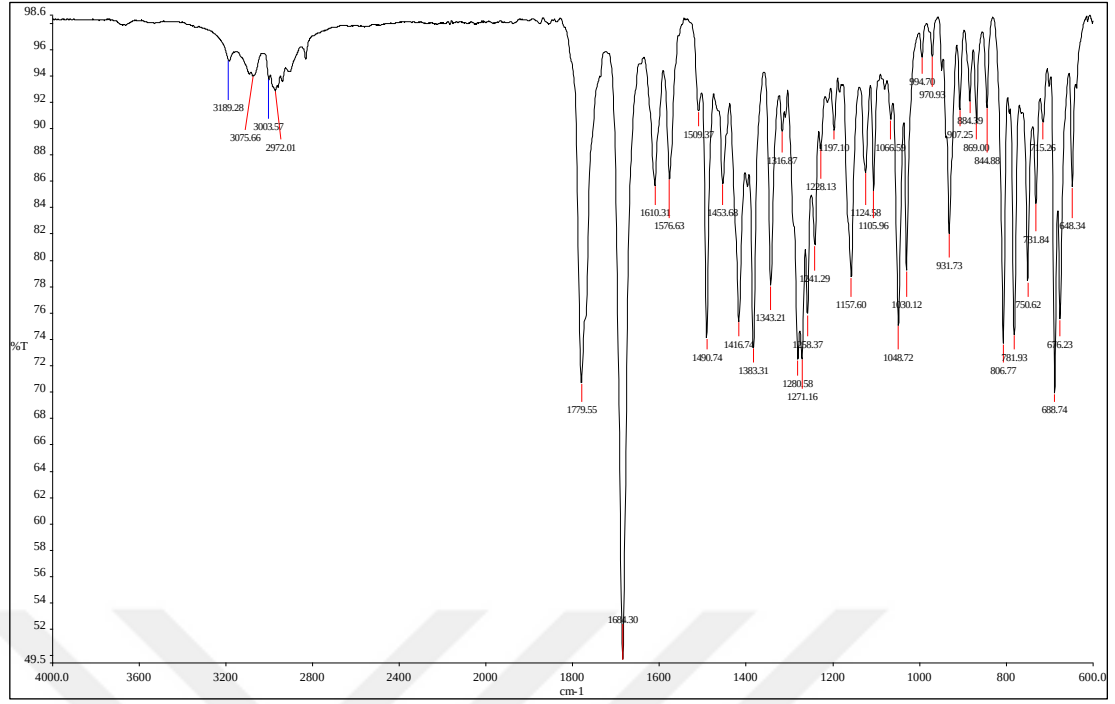
Spektrum 176. C8 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



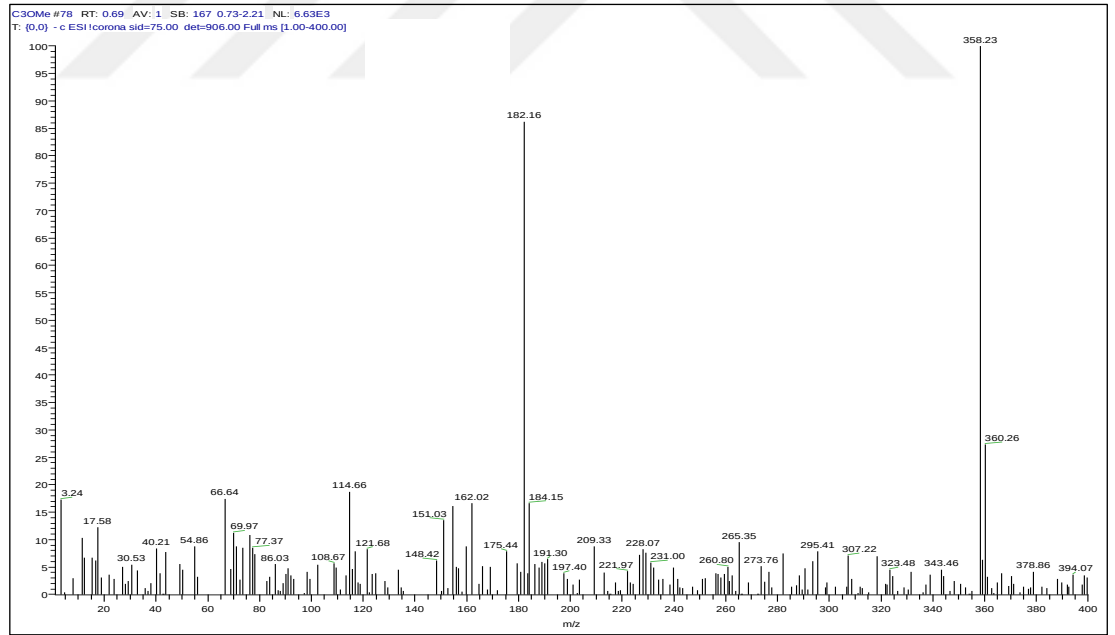
Spektrum 177. C8 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu



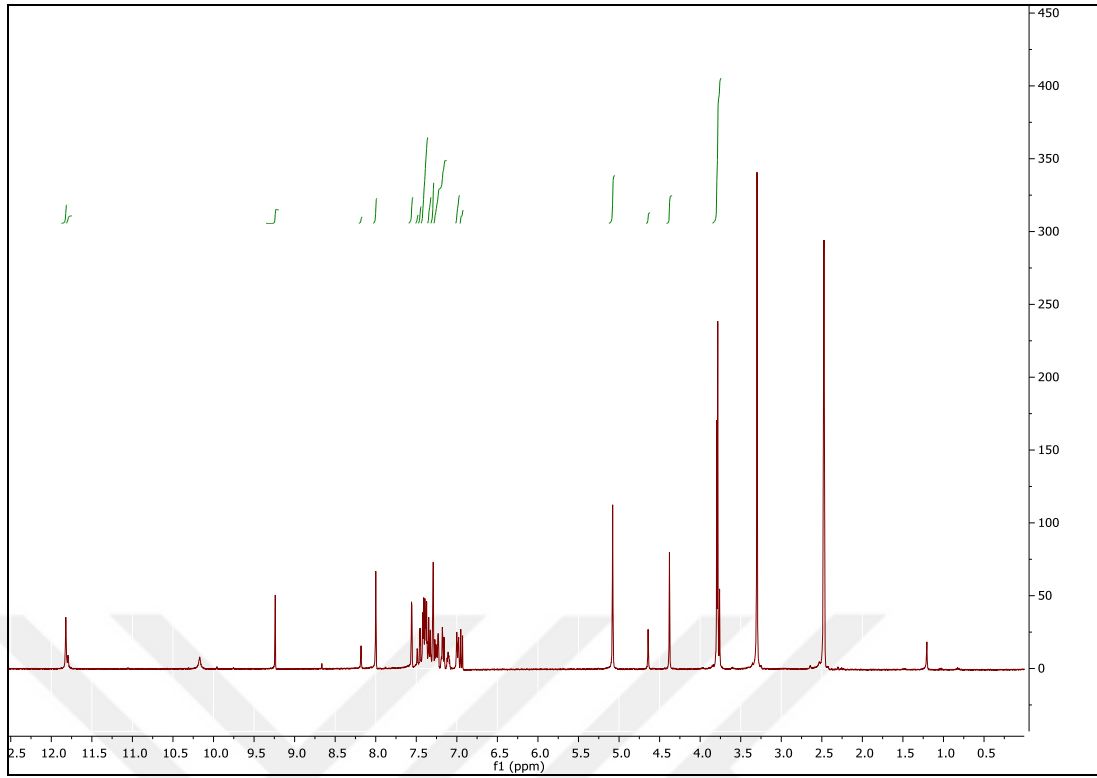
Spektrum 178. C8 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



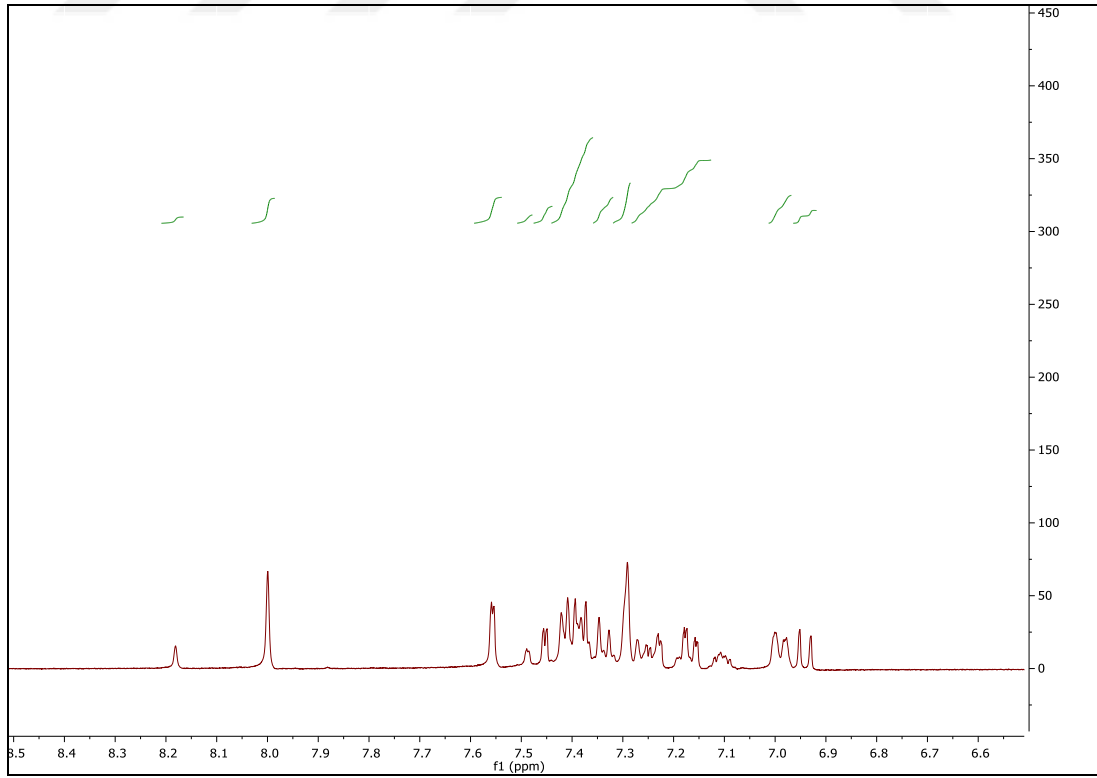
Spektrum 179. C9 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



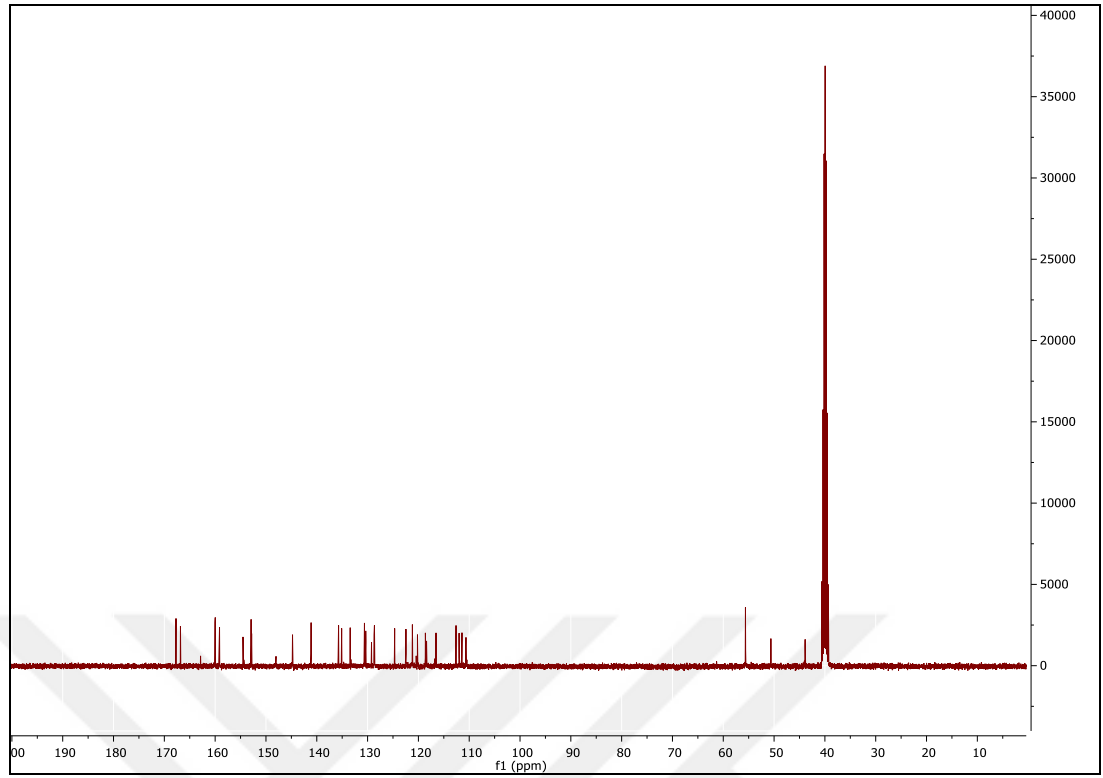
Spektrum 180. C9 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



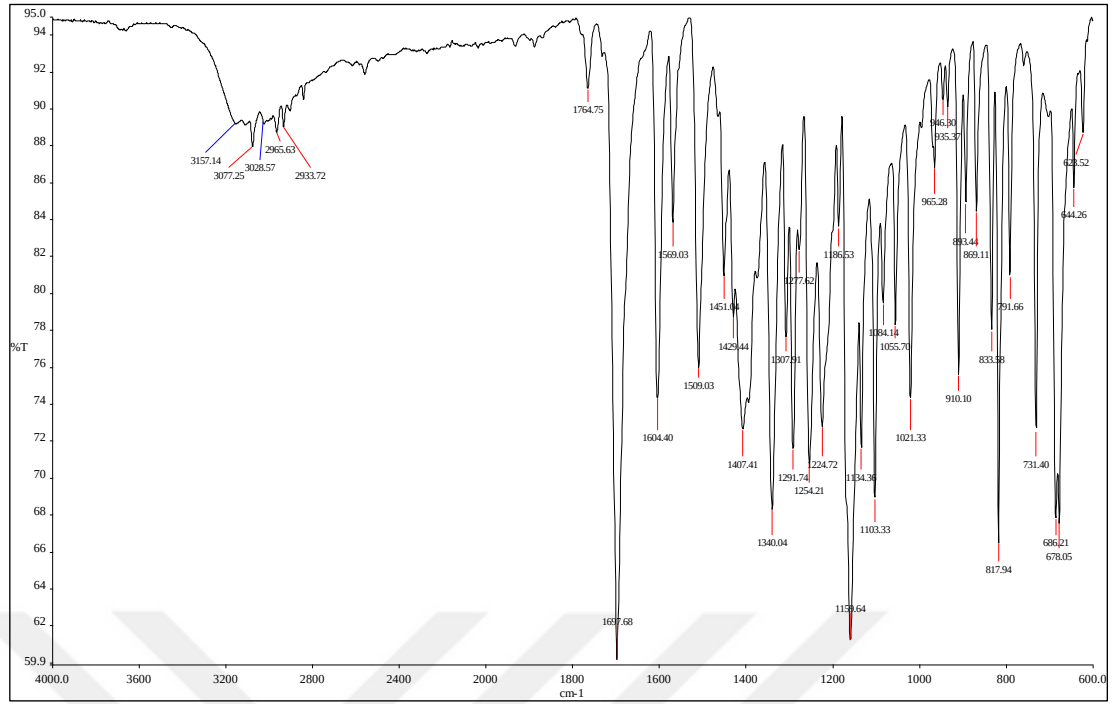
Spektrum 181. C9 Kodlu Bileşiğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



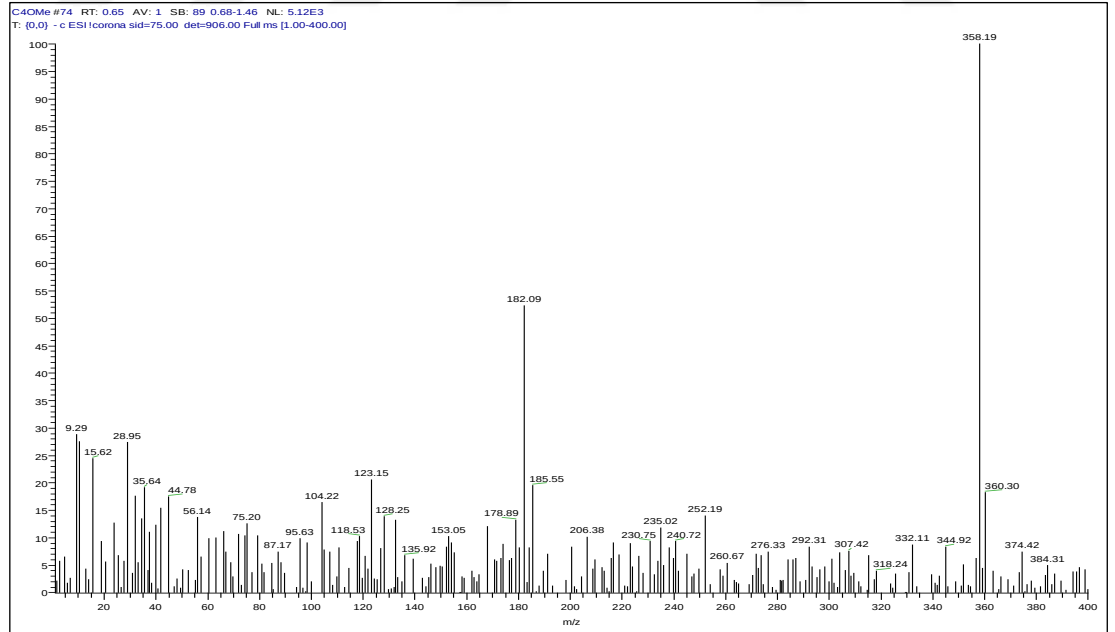
Spektrum 182. C9 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



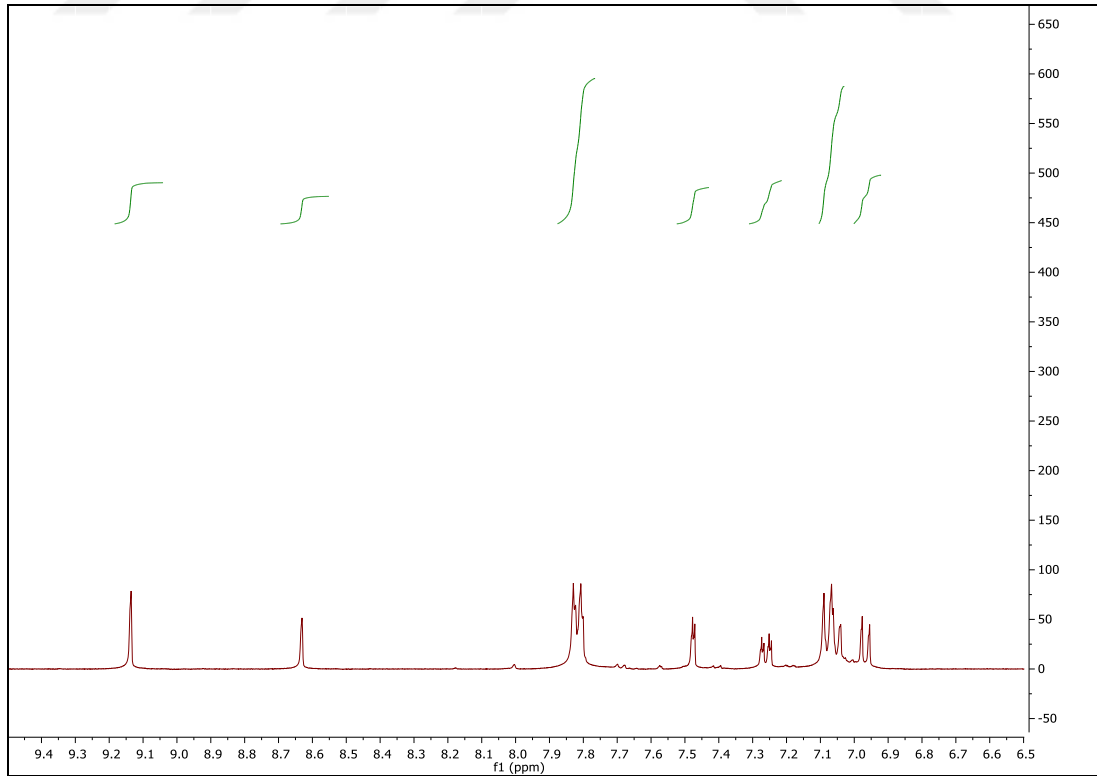
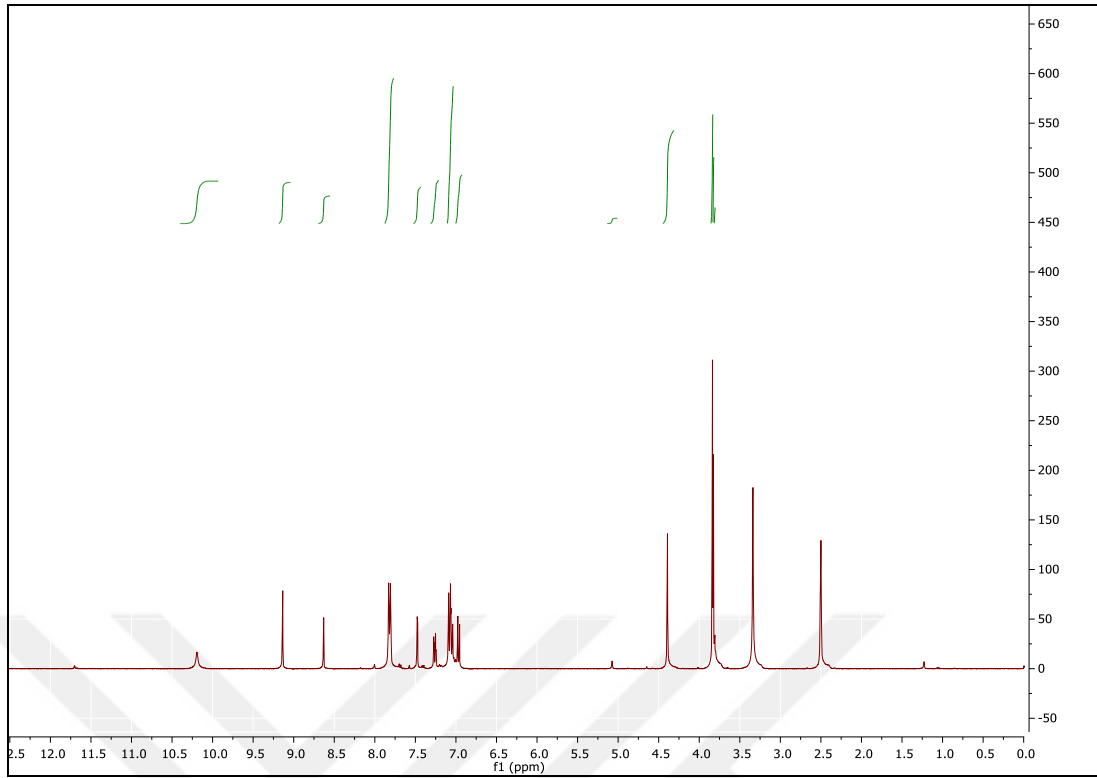
Spektrum 183. C9 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

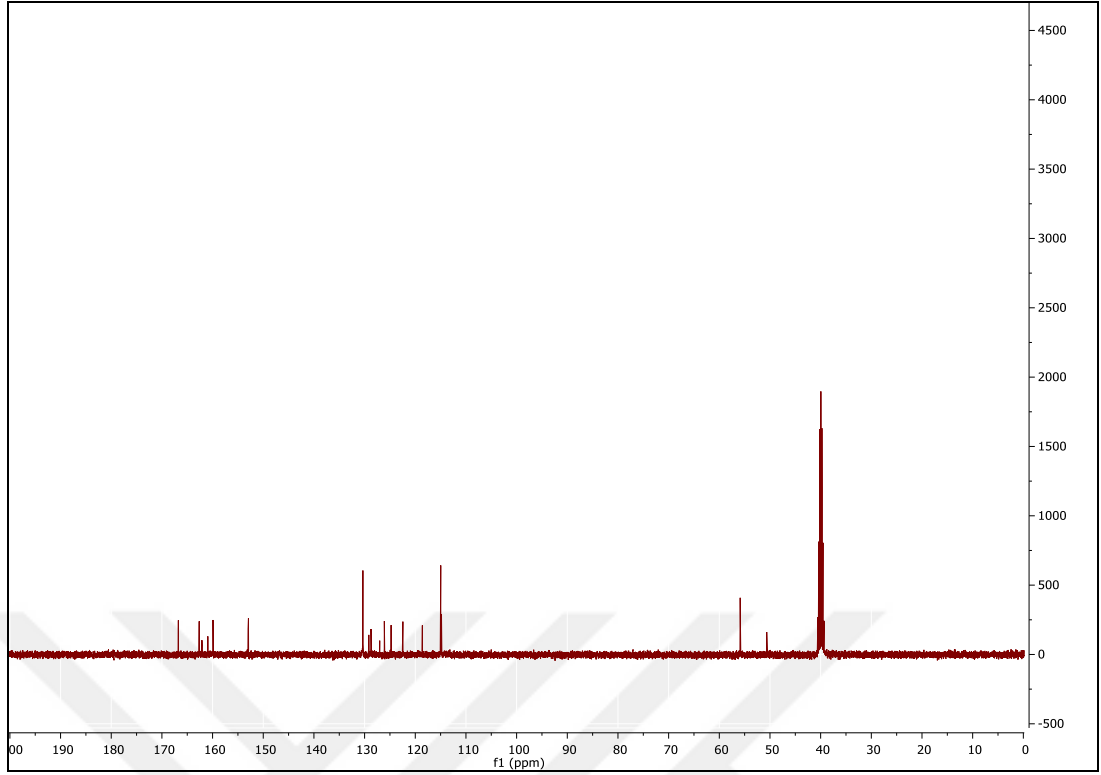


Spektrum 184. C10 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

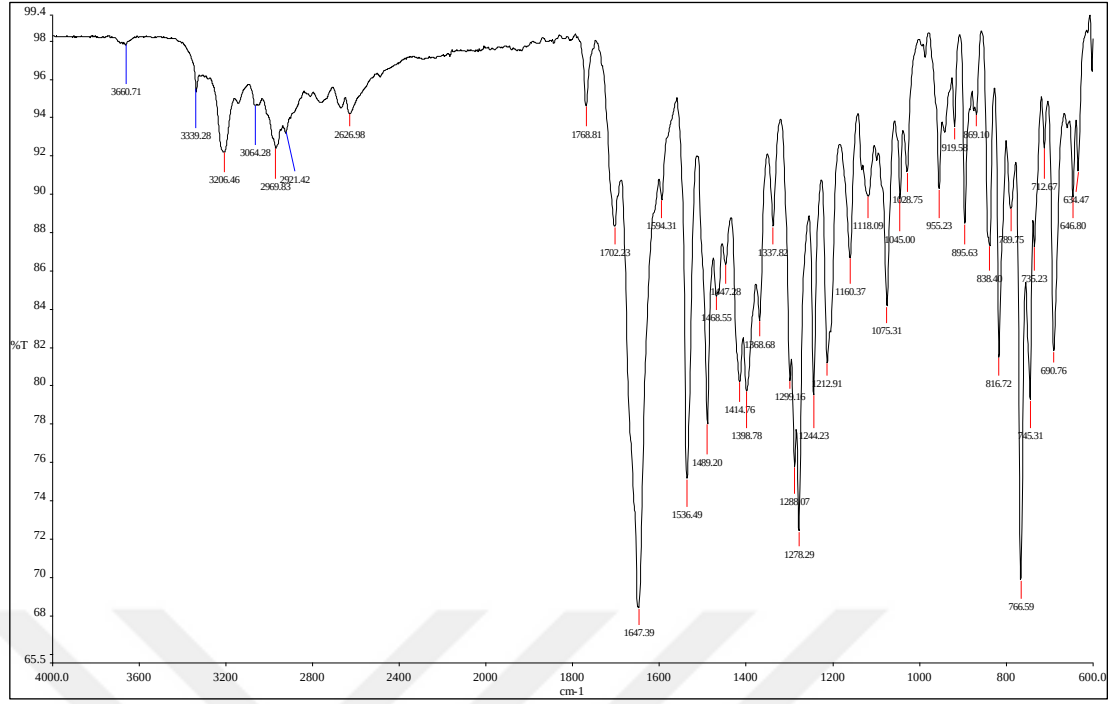


Spektrum 185. C10 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

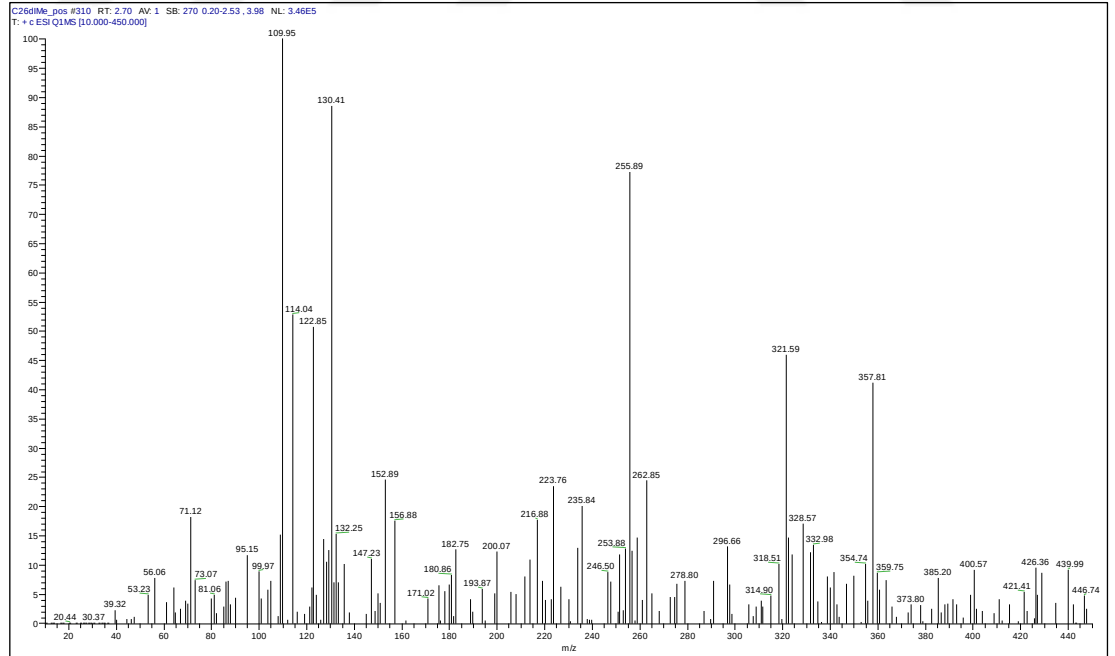




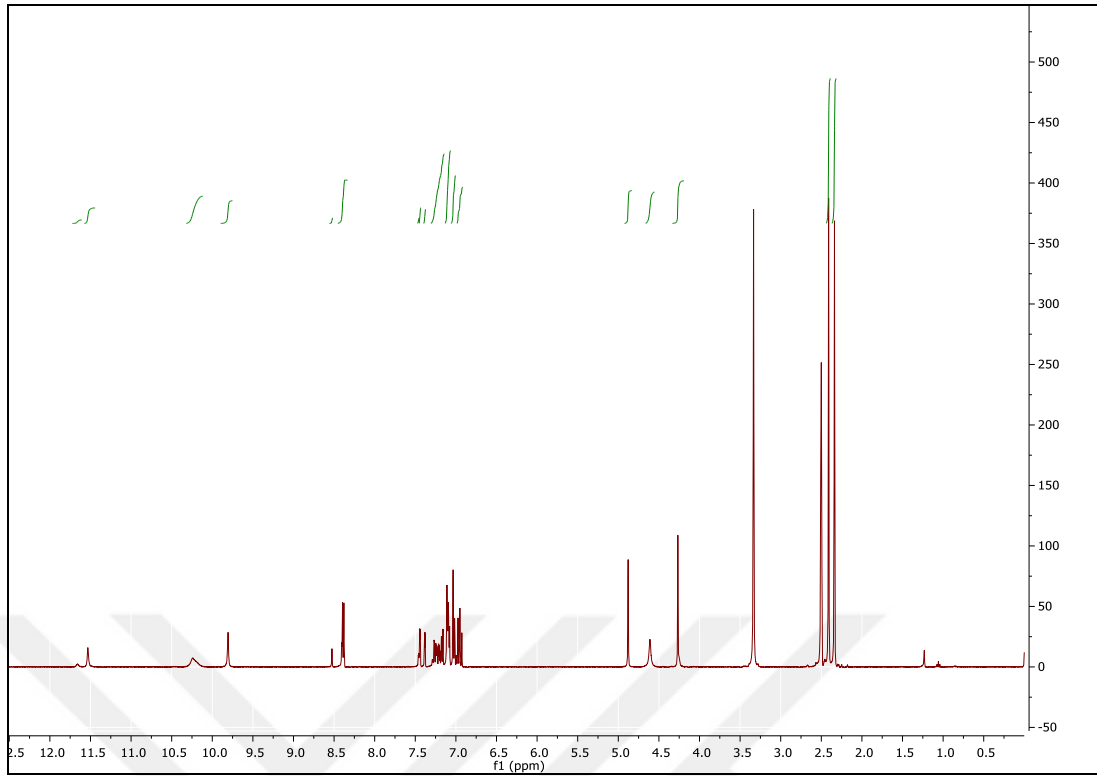
Spektrum 188. C10 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu



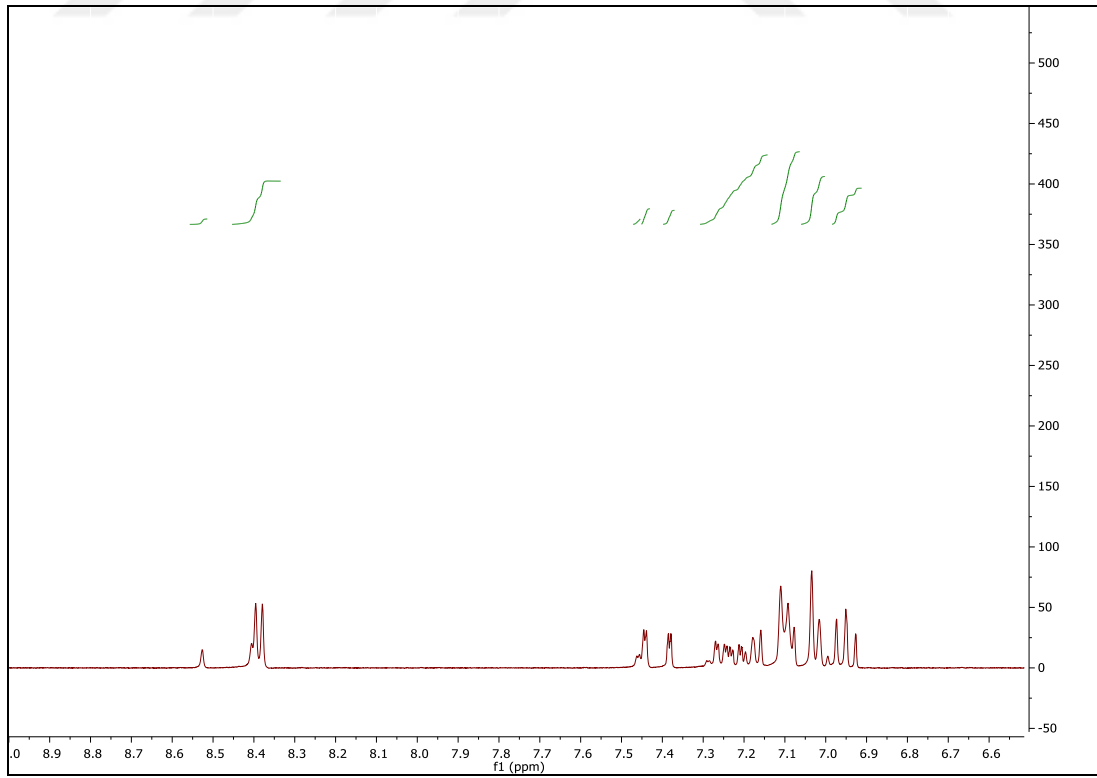
Spektrum 189. C11 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



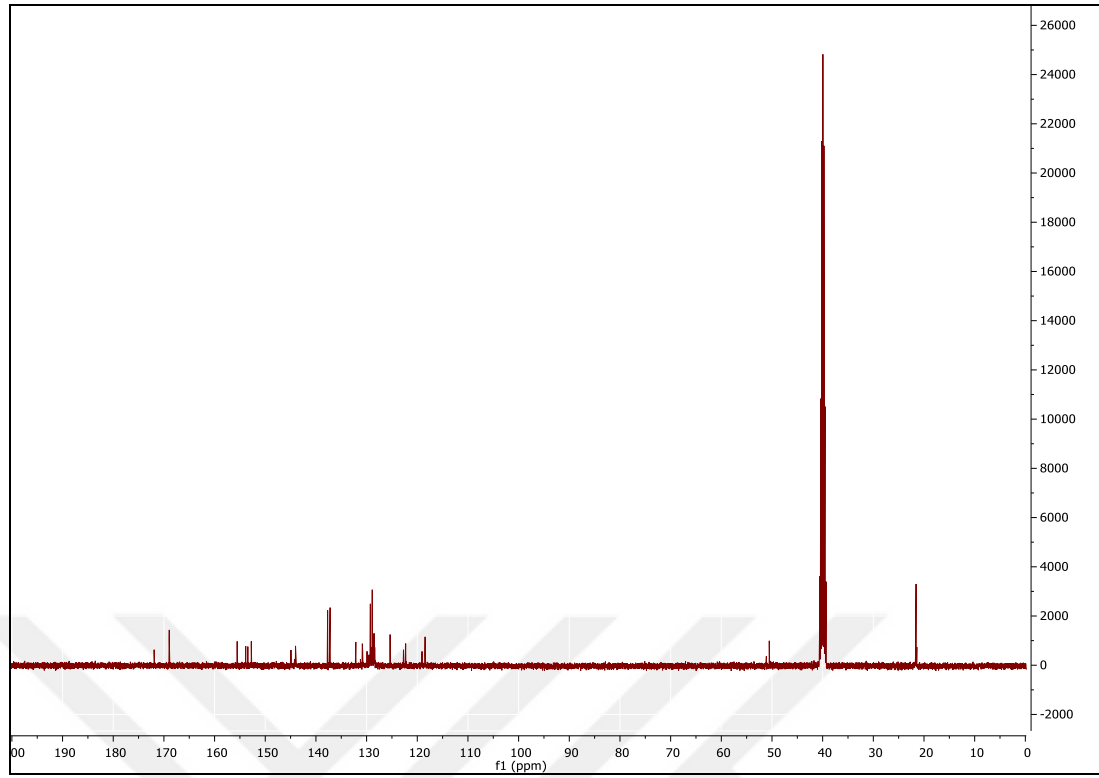
Spektrum 190. C11 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



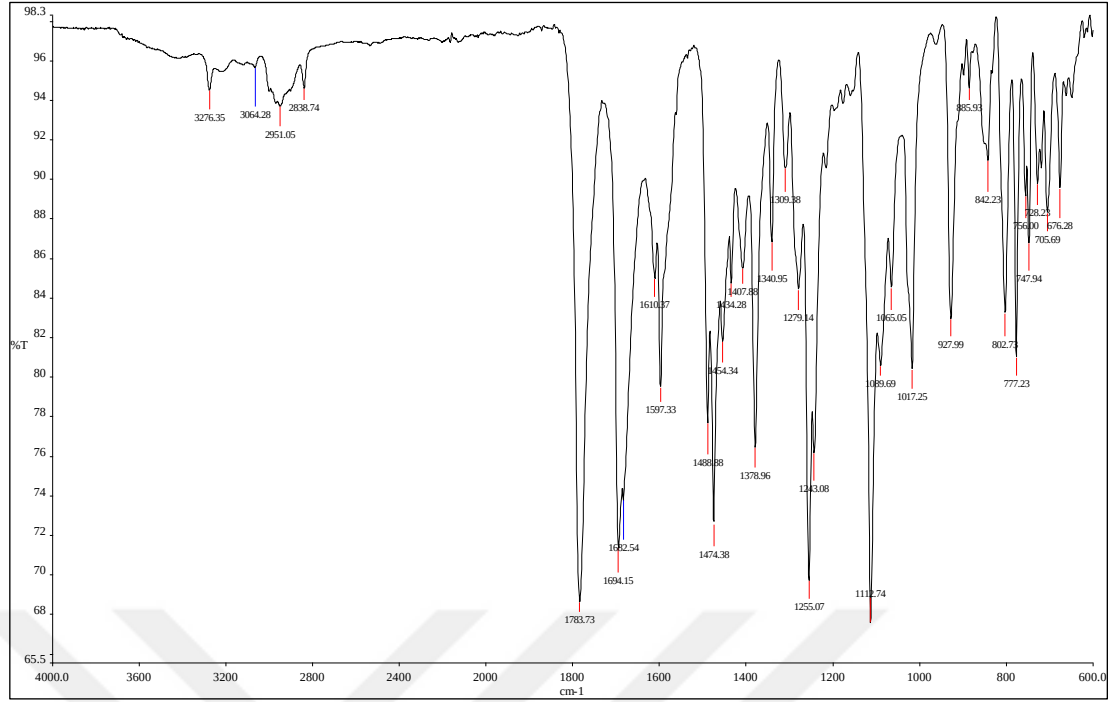
Spektrum 191. C11 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



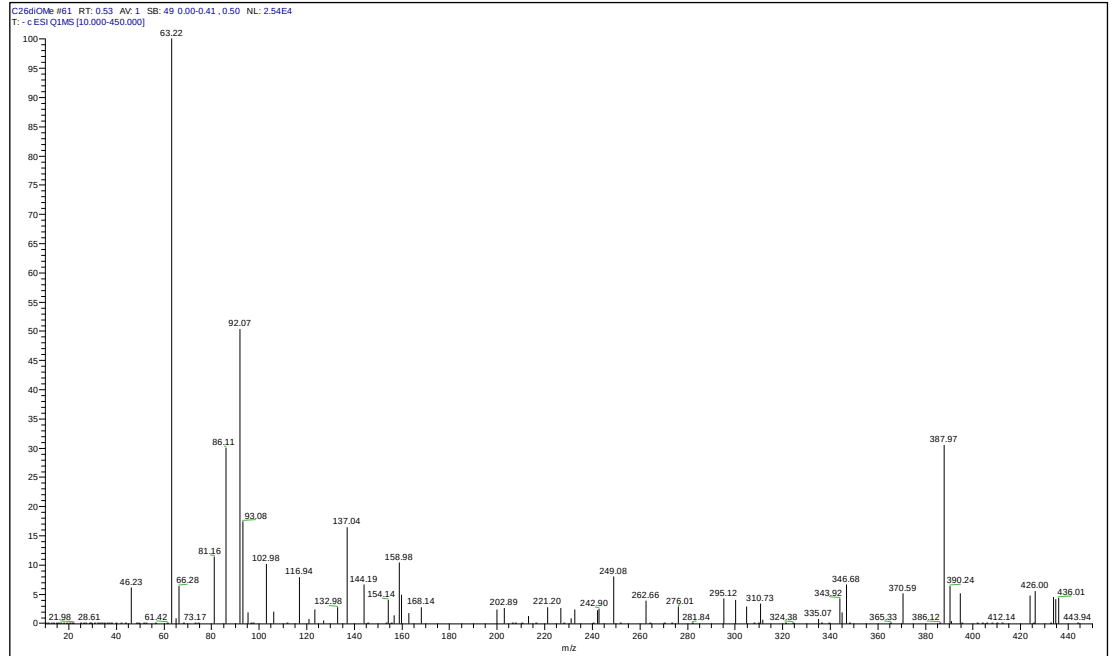
Spektrum 192. C11 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



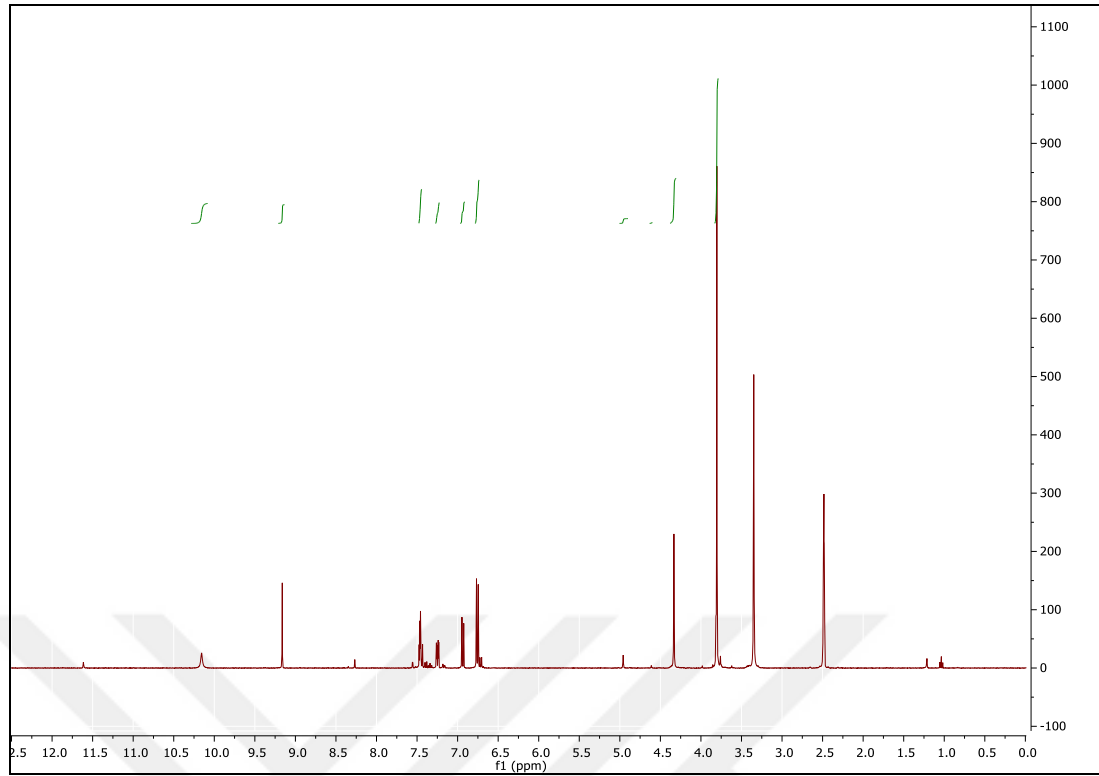
Spektrum 193. C11 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



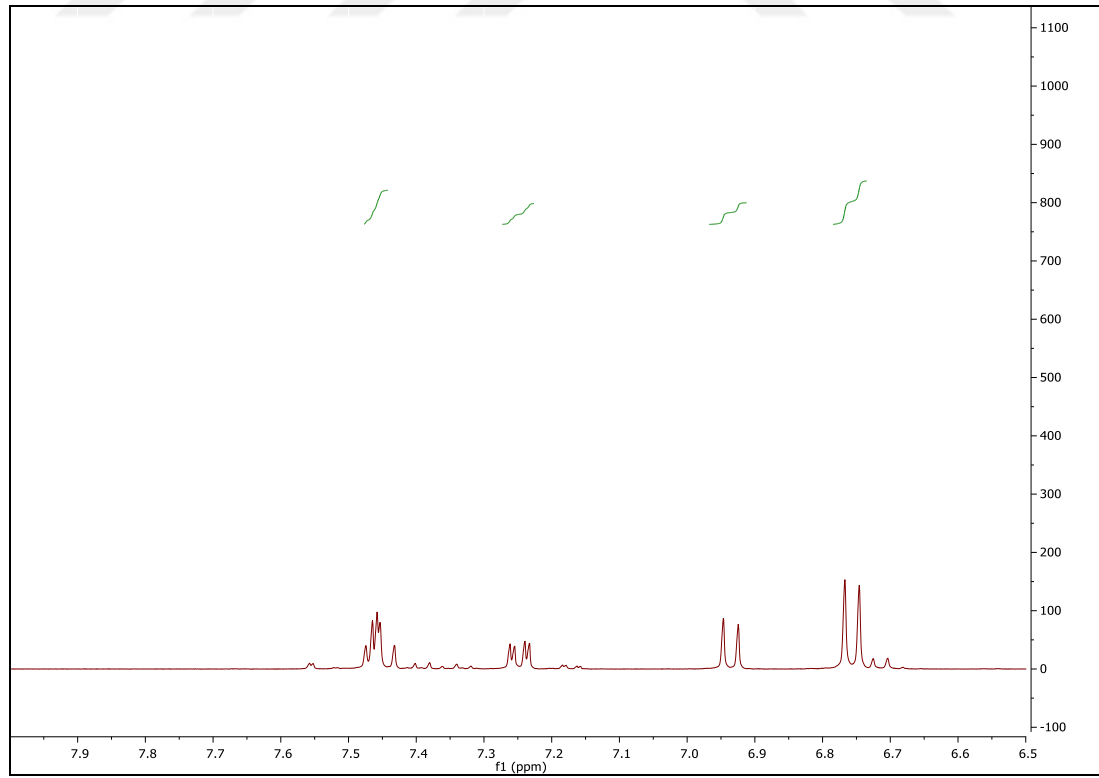
Spektrum 194. C12 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



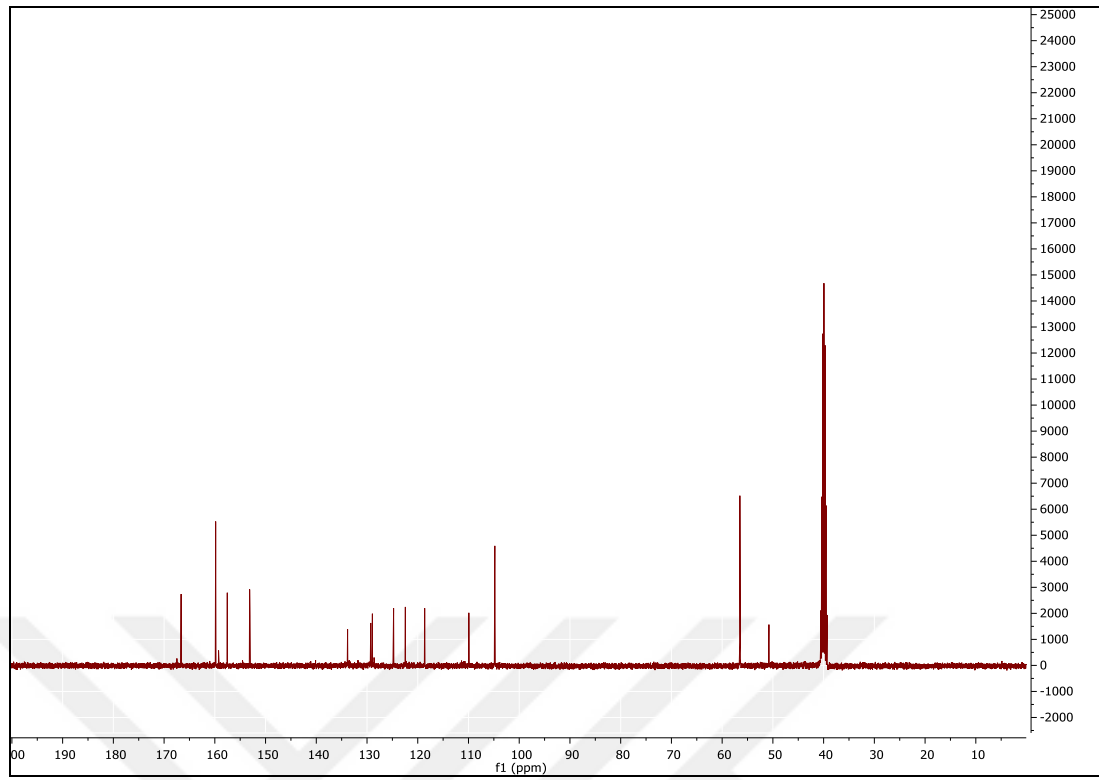
Spektrum 195. C12 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



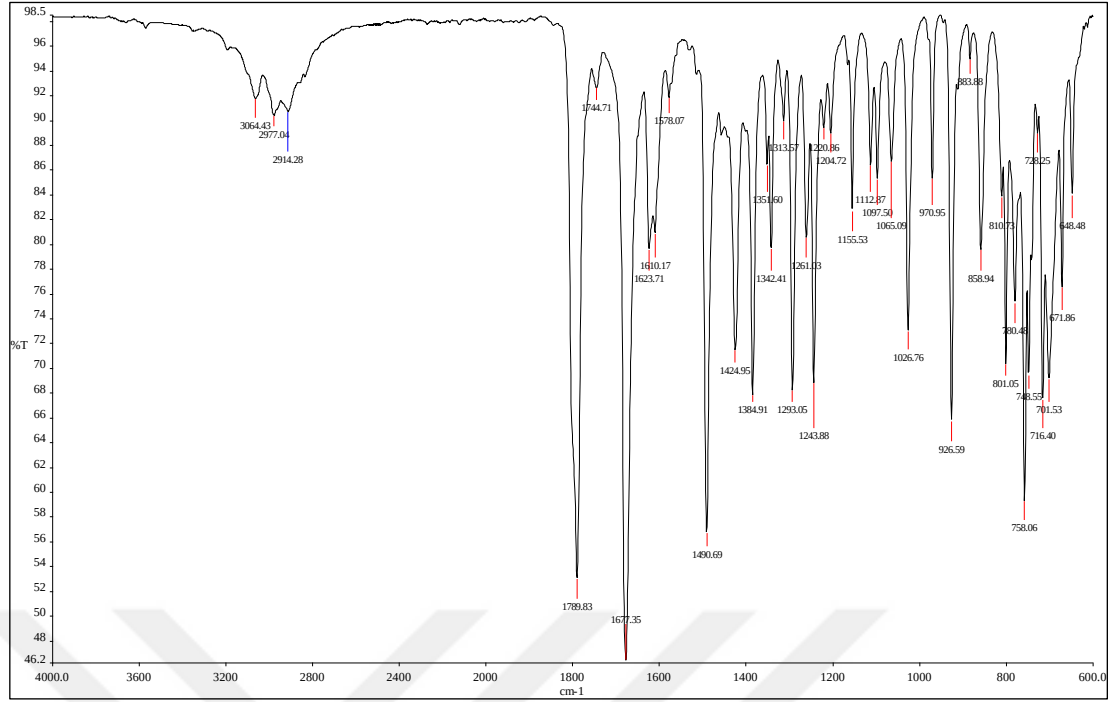
Spektrum 196. C12 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



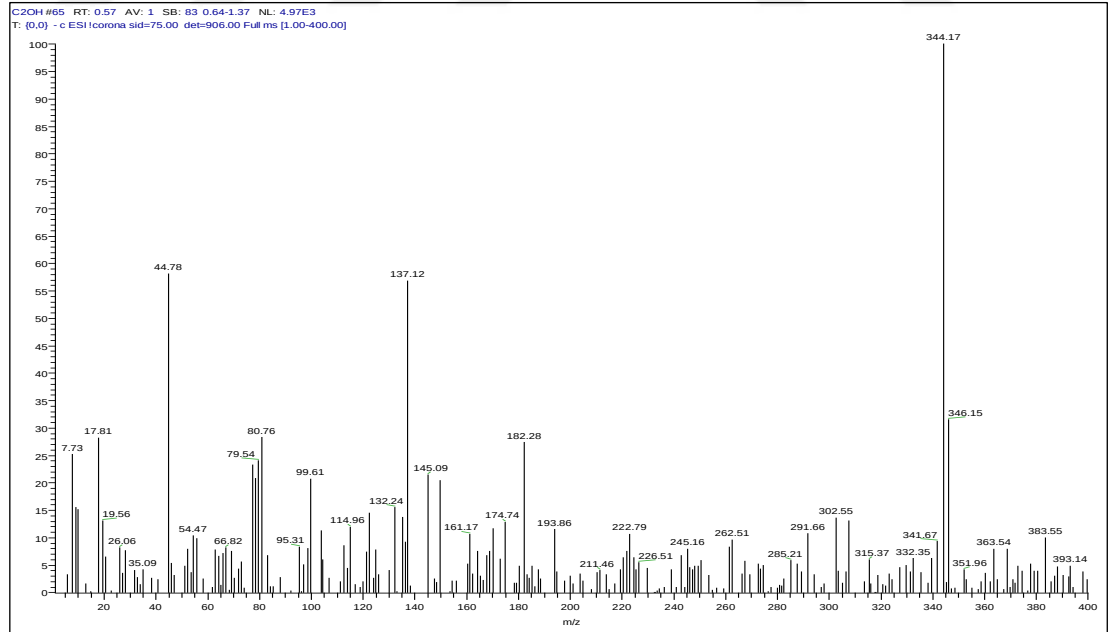
Spektrum 197. C12 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



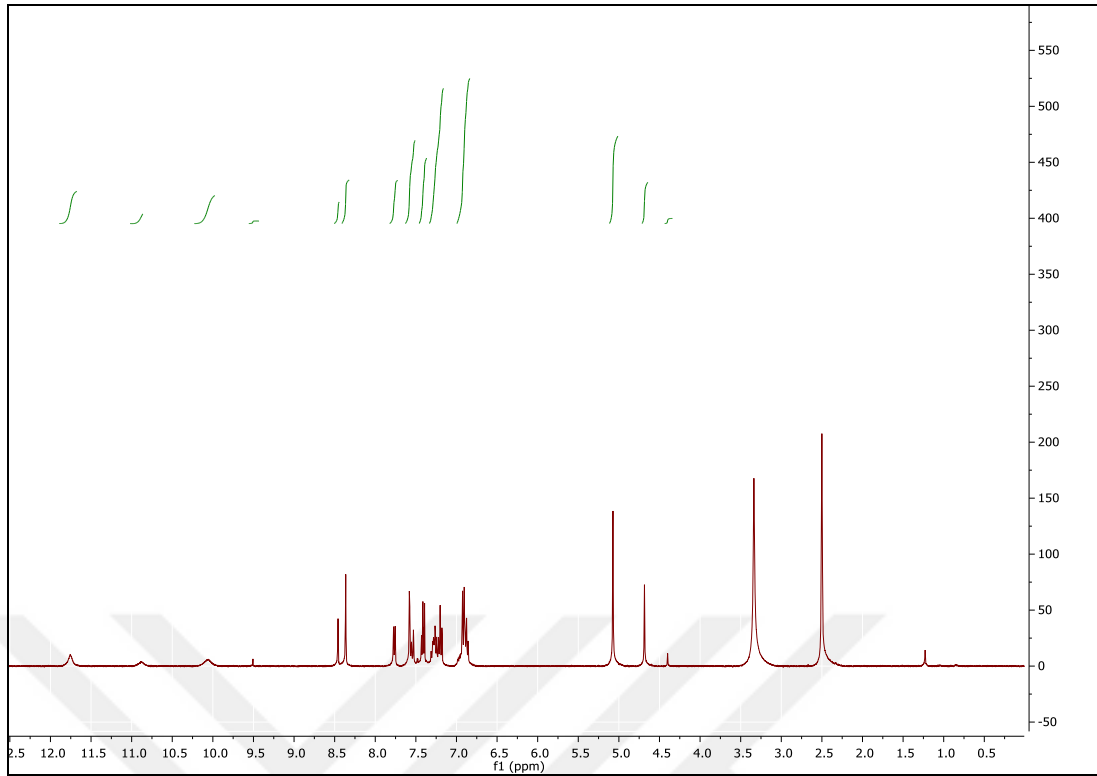
Spektrum 198. C12 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



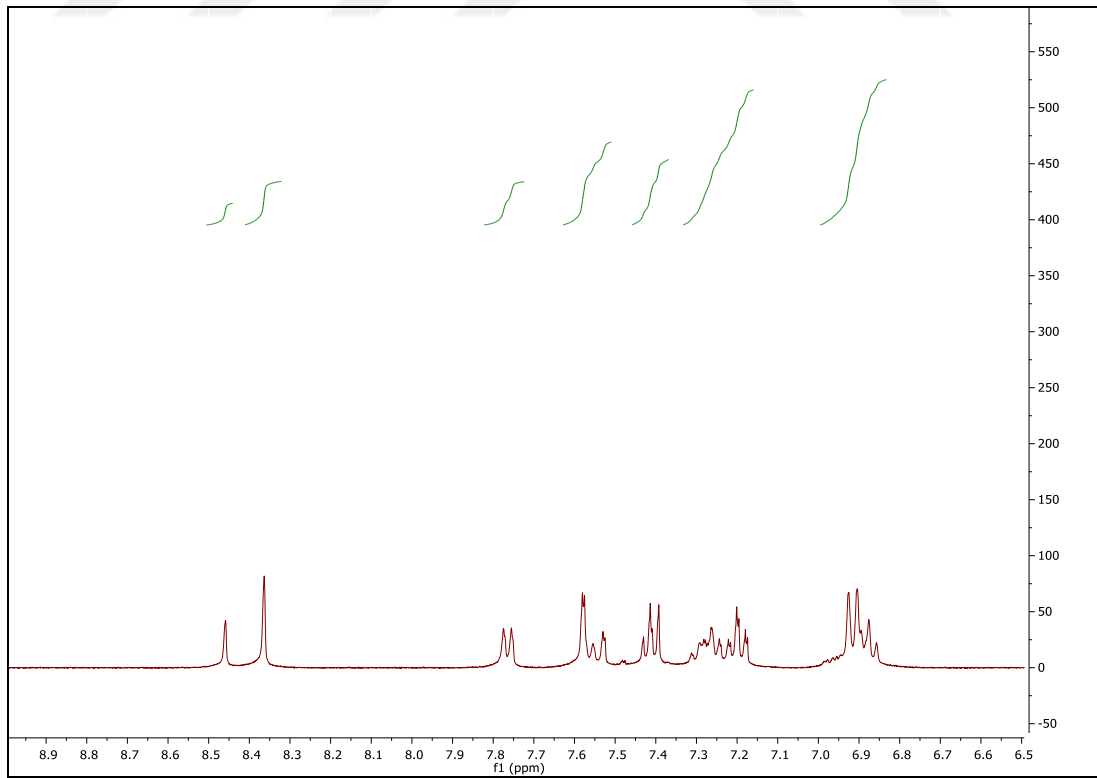
Spektrum 199. C13 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



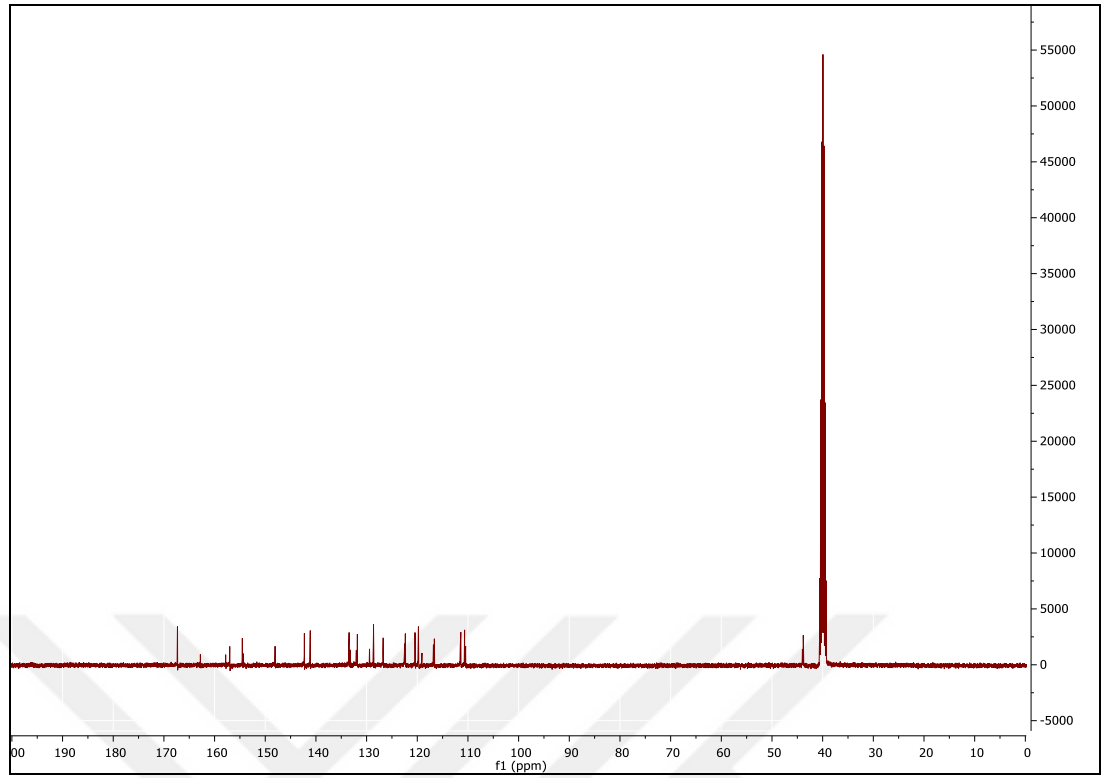
Spektrum 200. C13 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



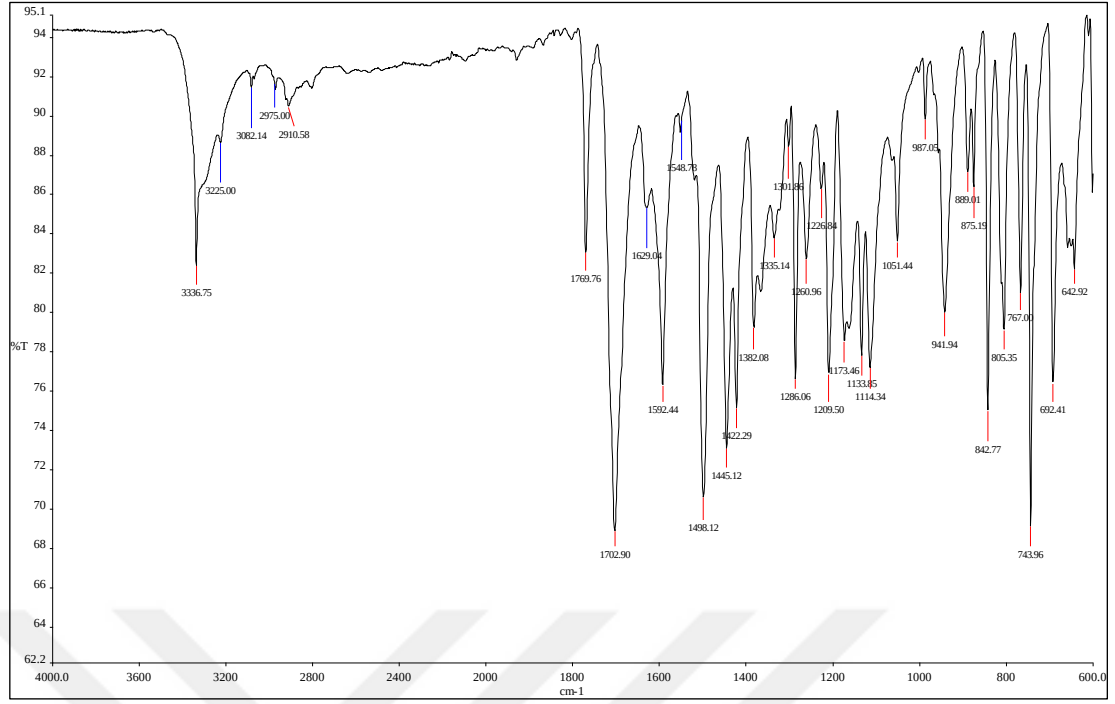
Spektrum 201. C13 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



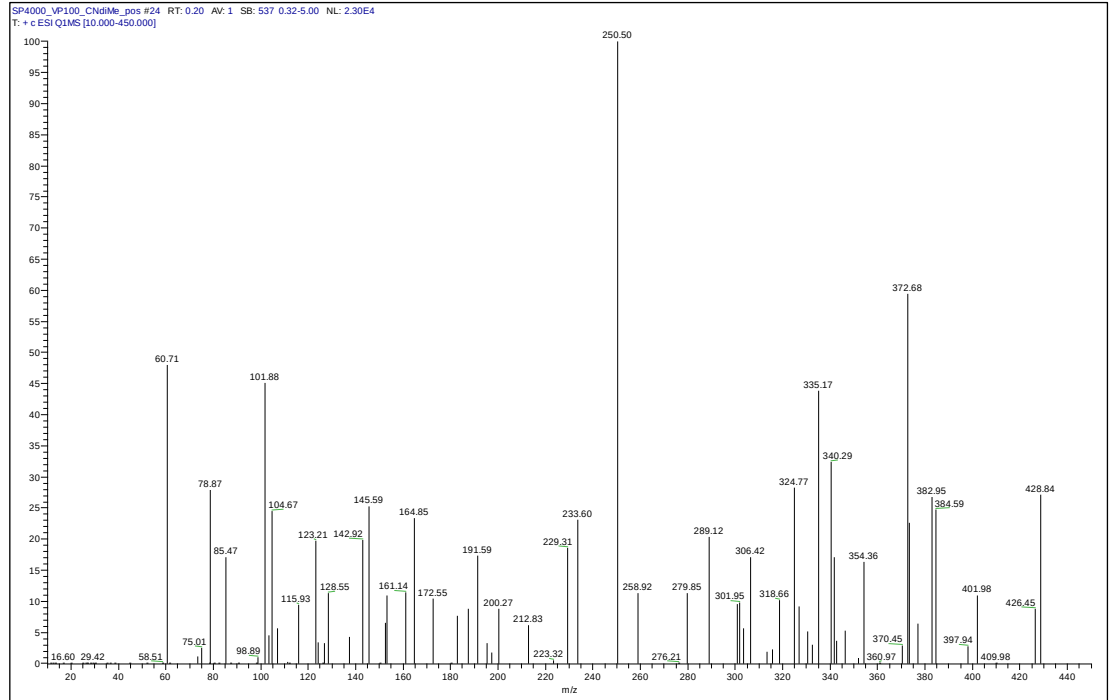
Spektrum 202. C13 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



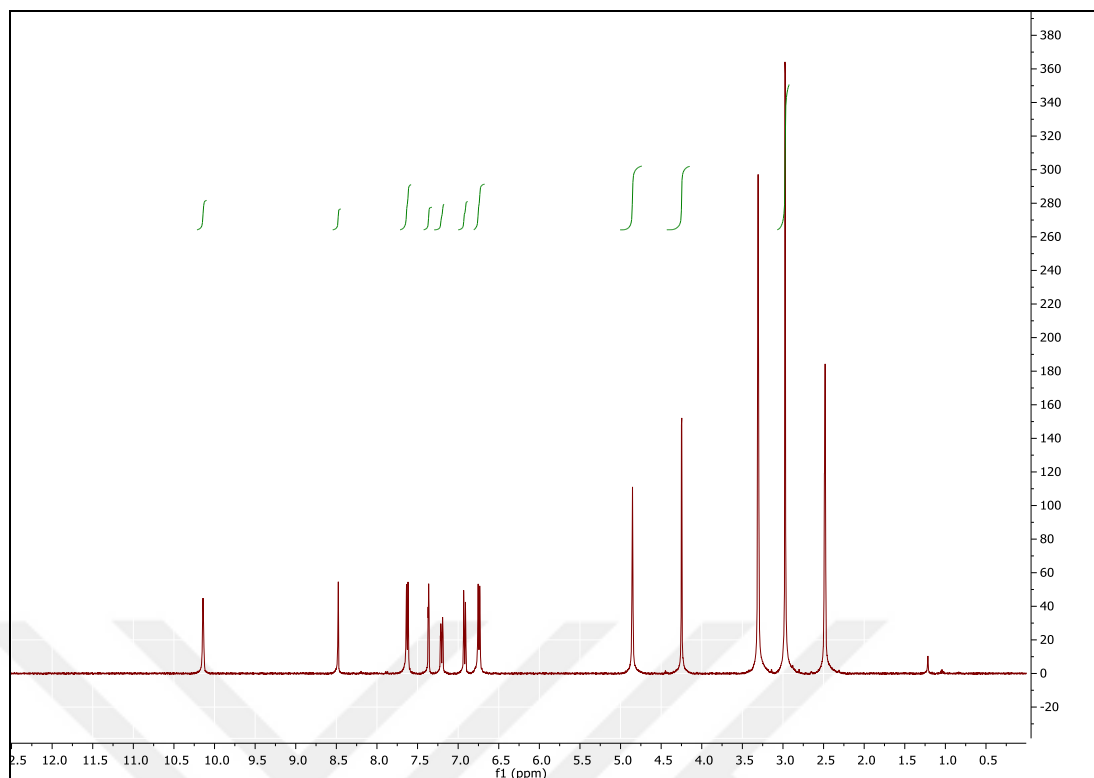
Spektrum 203. C13 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu



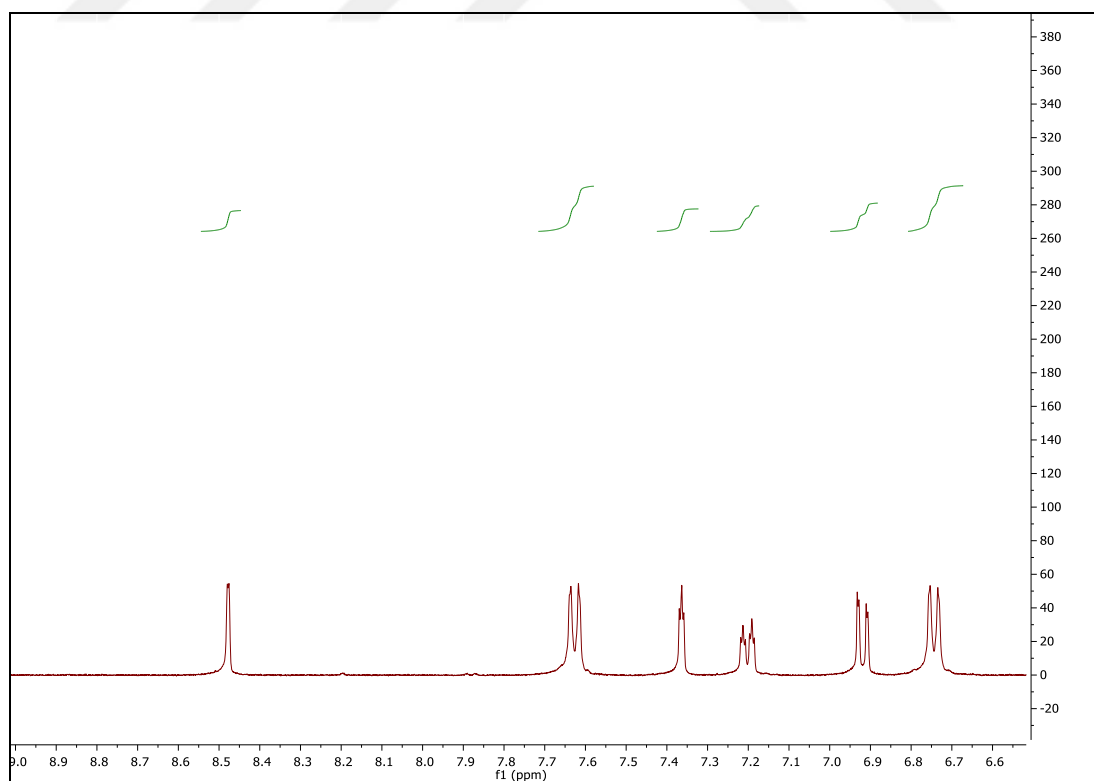
Spektrum 204. C15 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu



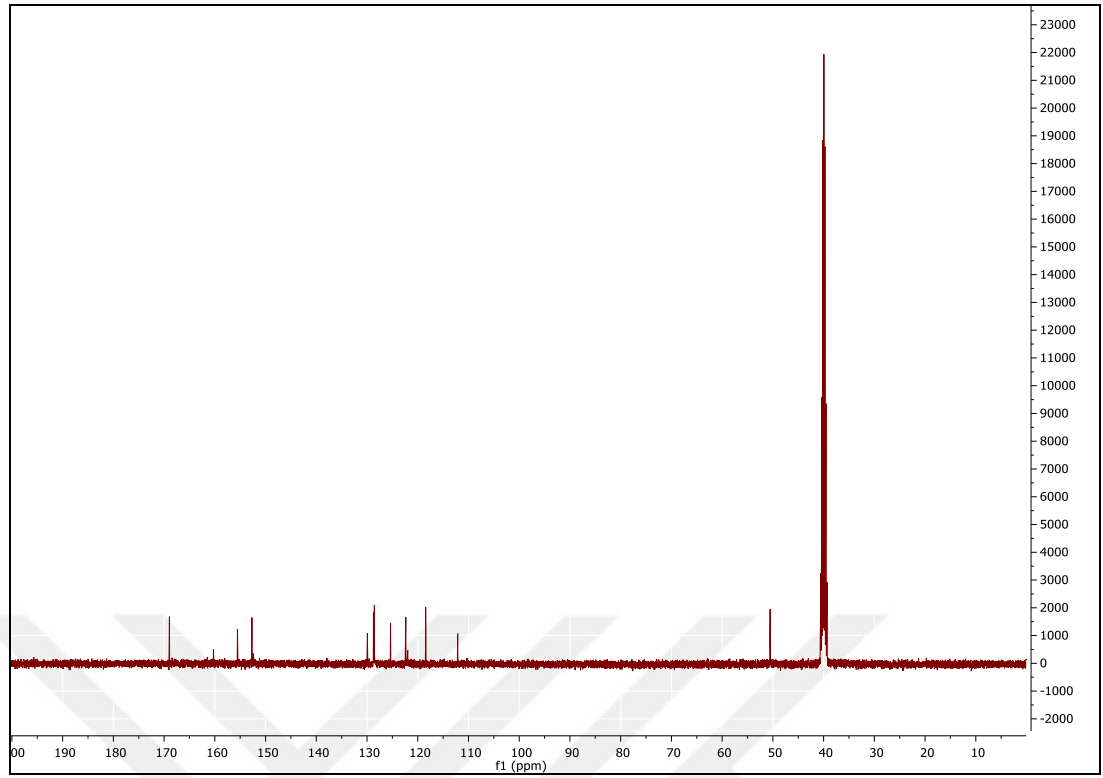
Spektrum 205. C15 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu



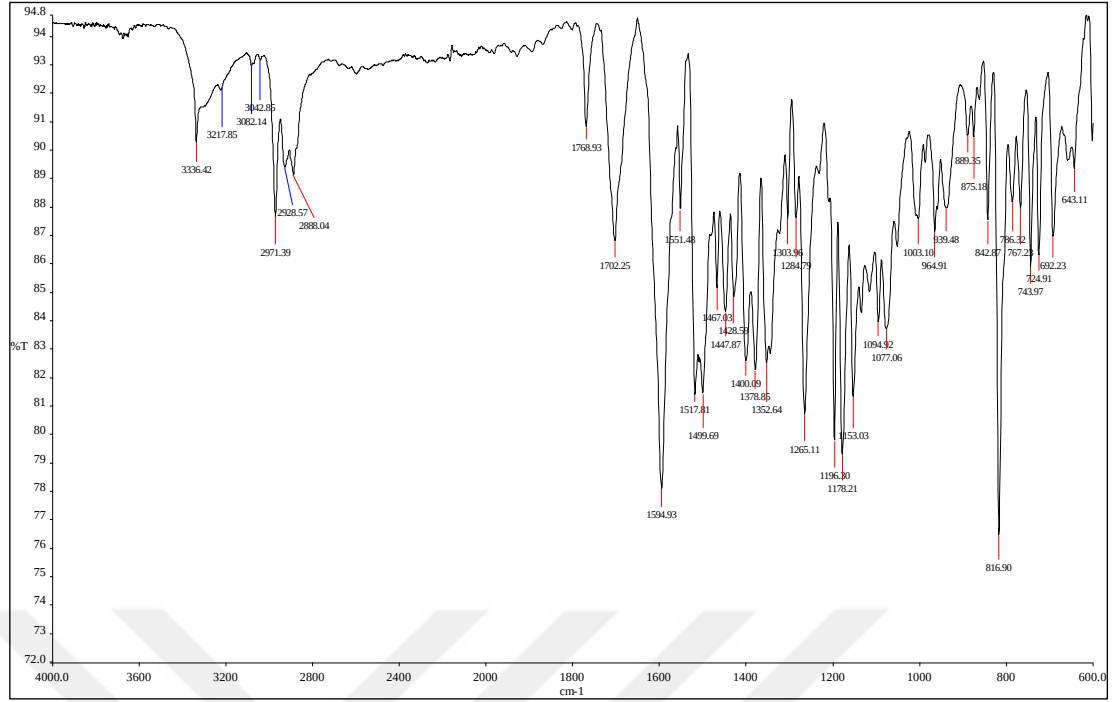
Spektrum 206. C15 Kodlu Bileşiğin ¹H NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



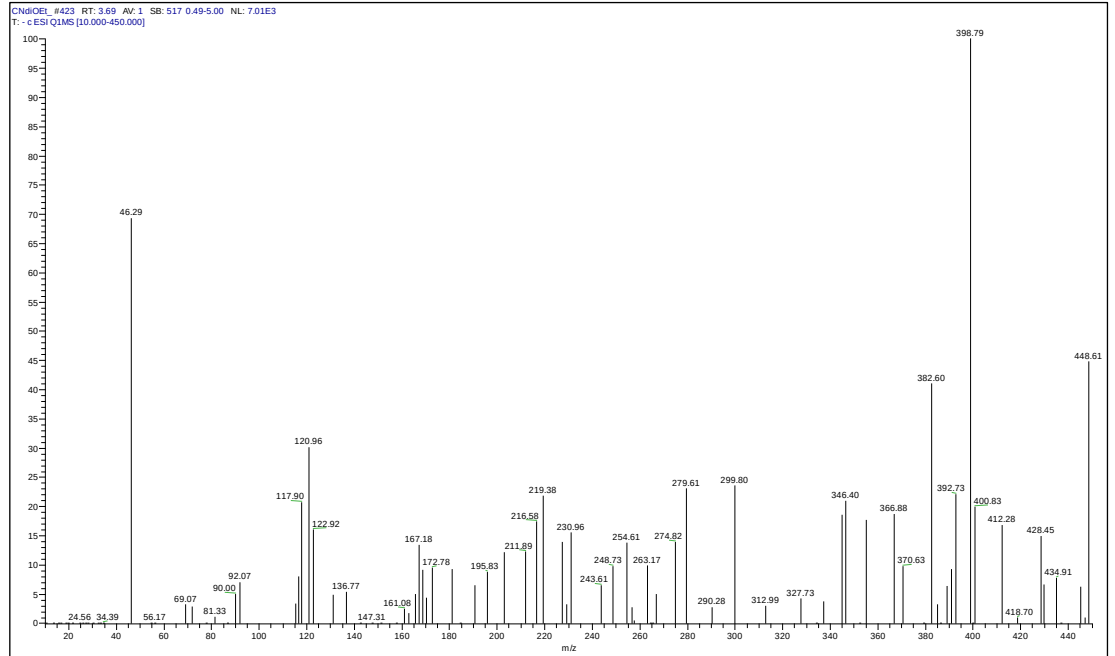
Spektrum 207. C15 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ¹H NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



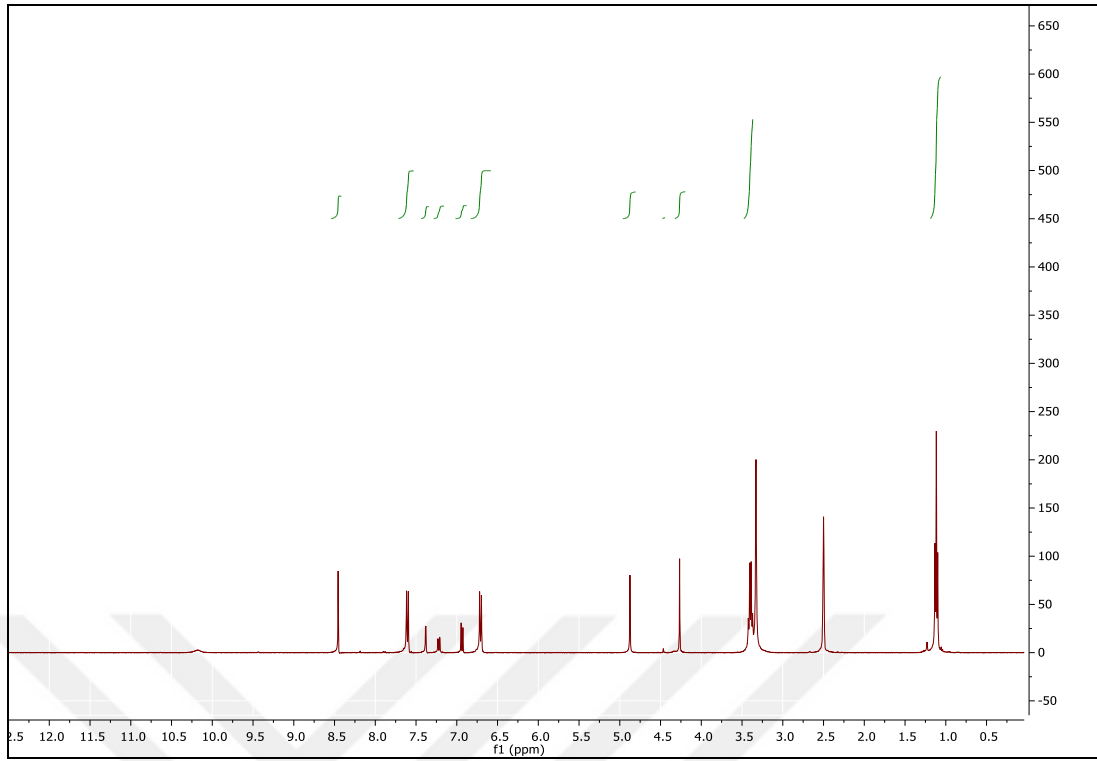
Spektrum 208. C15 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



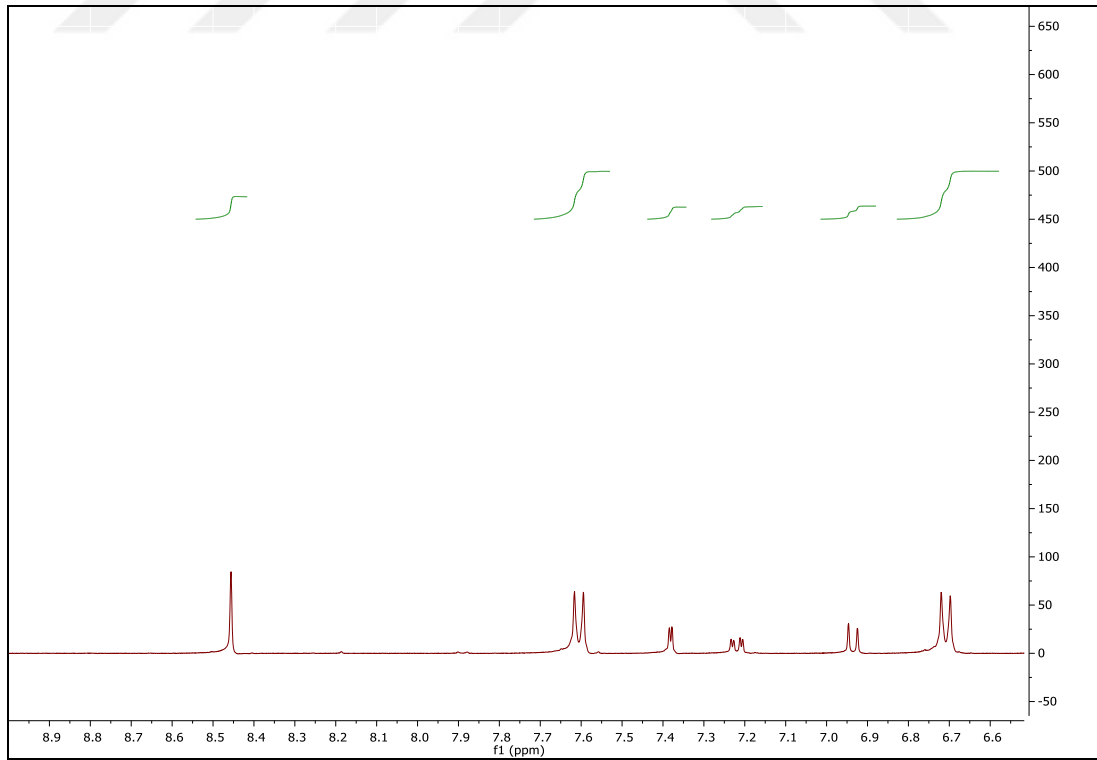
Spektrum 209. C16 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



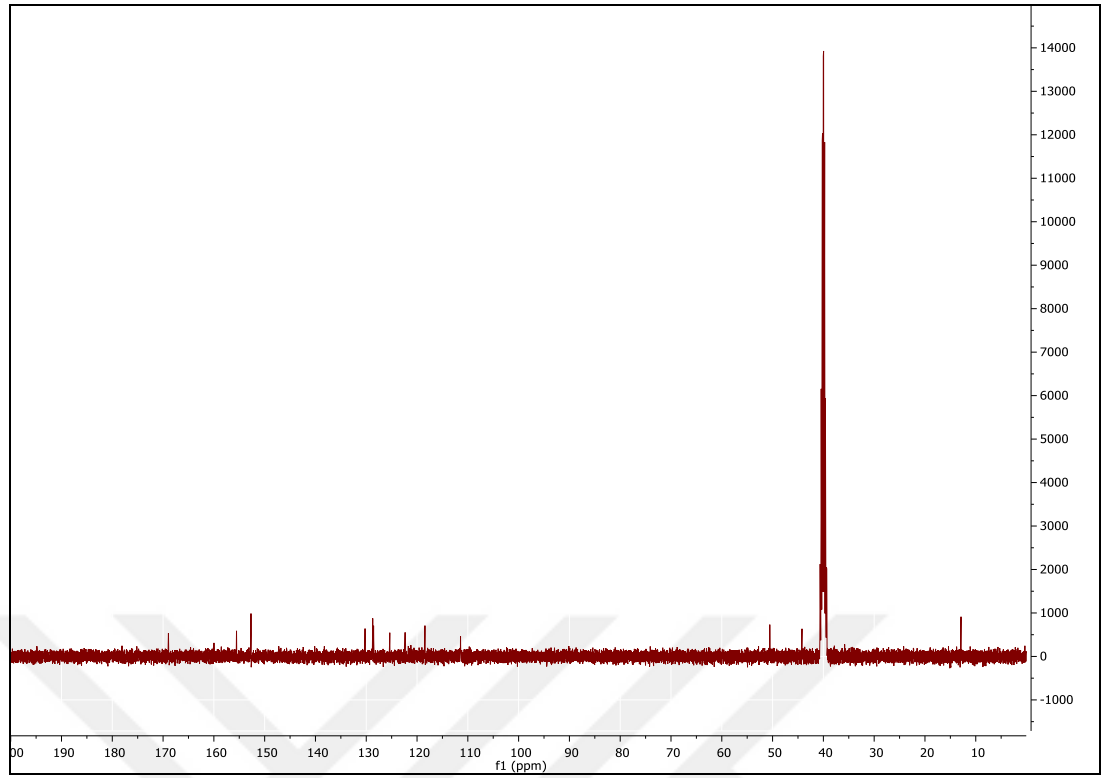
Spektrum 210. C16 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



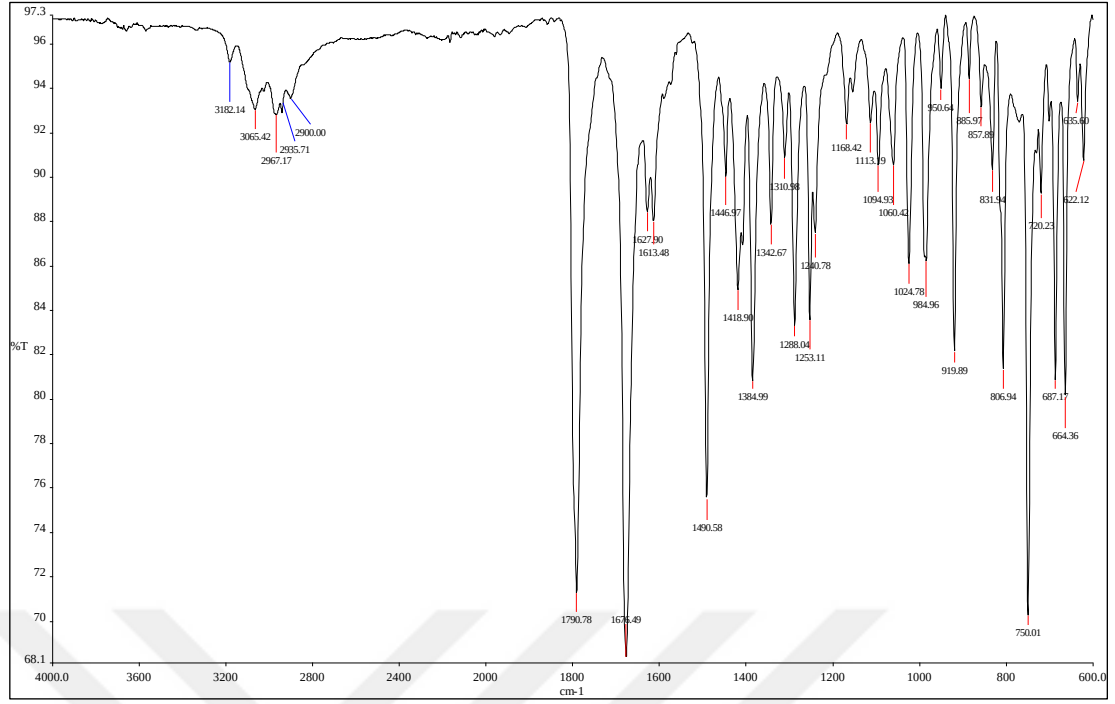
Spektrum 211. C16 Kodlu Bileşğin ¹H NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



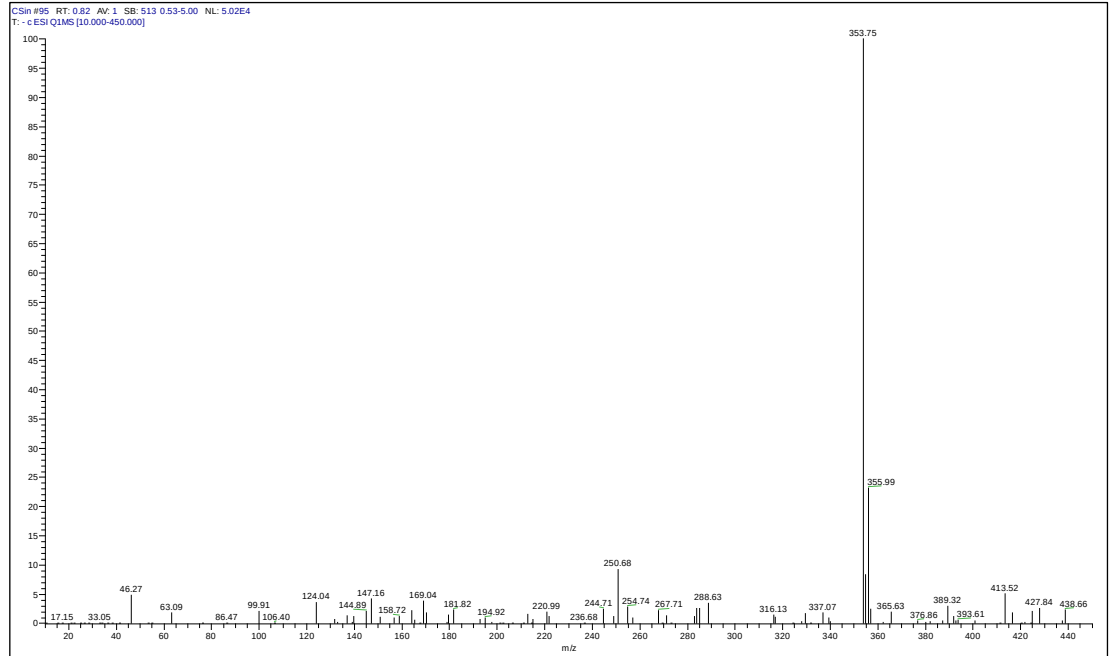
Spektrum 212. C16 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ¹H NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



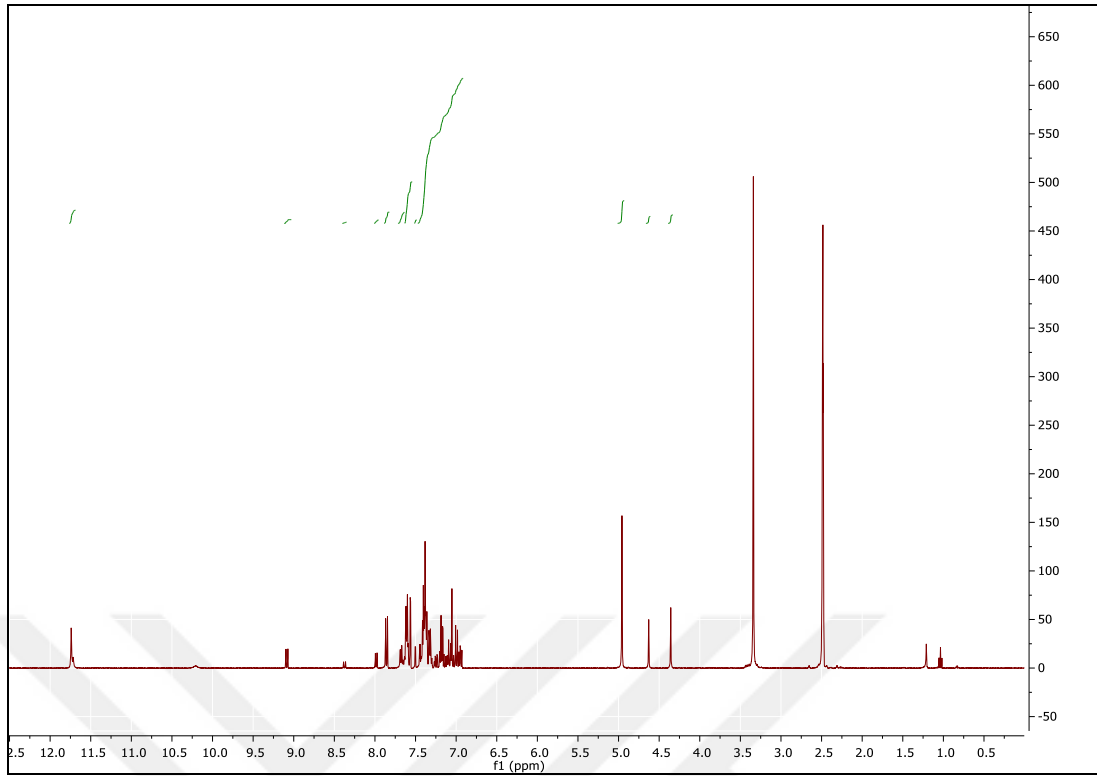
Spektrum 213. C16 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



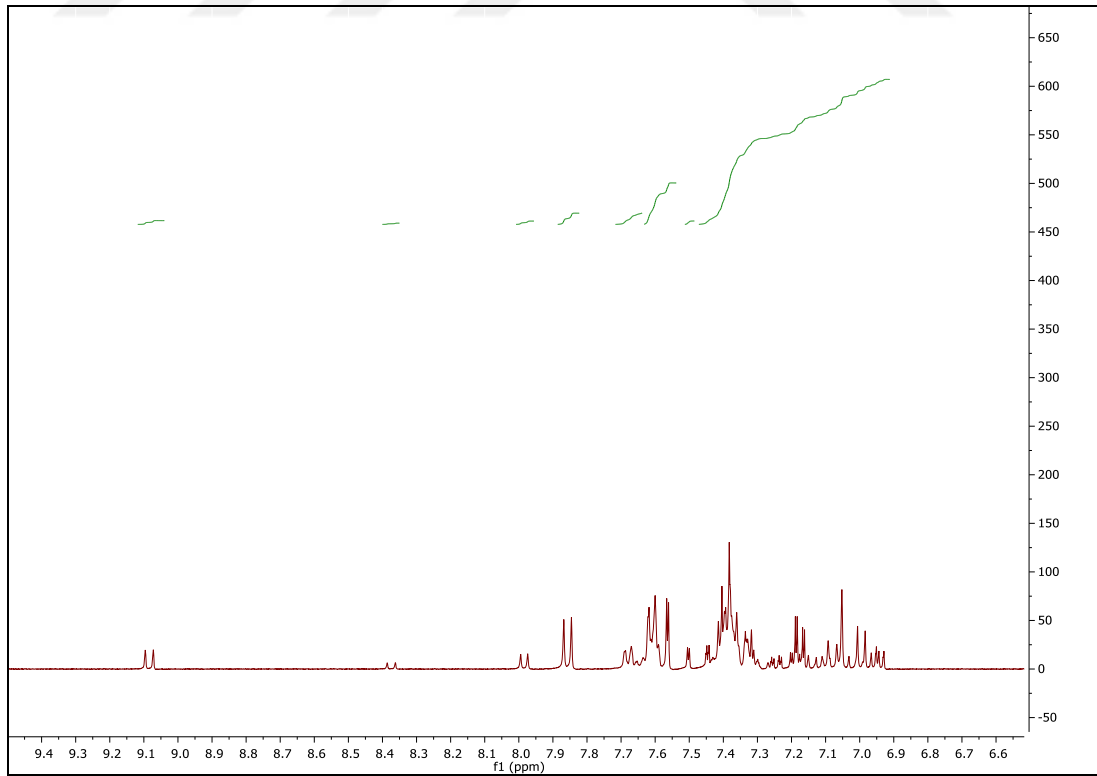
Spektrum 214. C18 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu



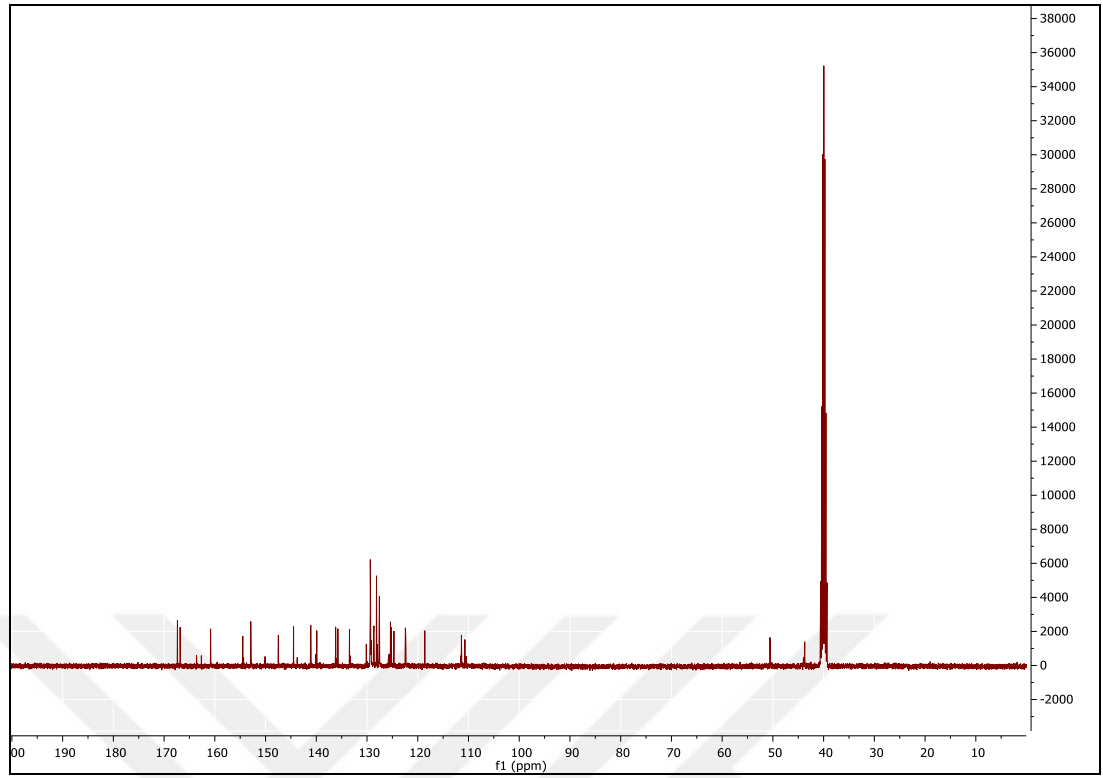
Spektrum 215. C18 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu



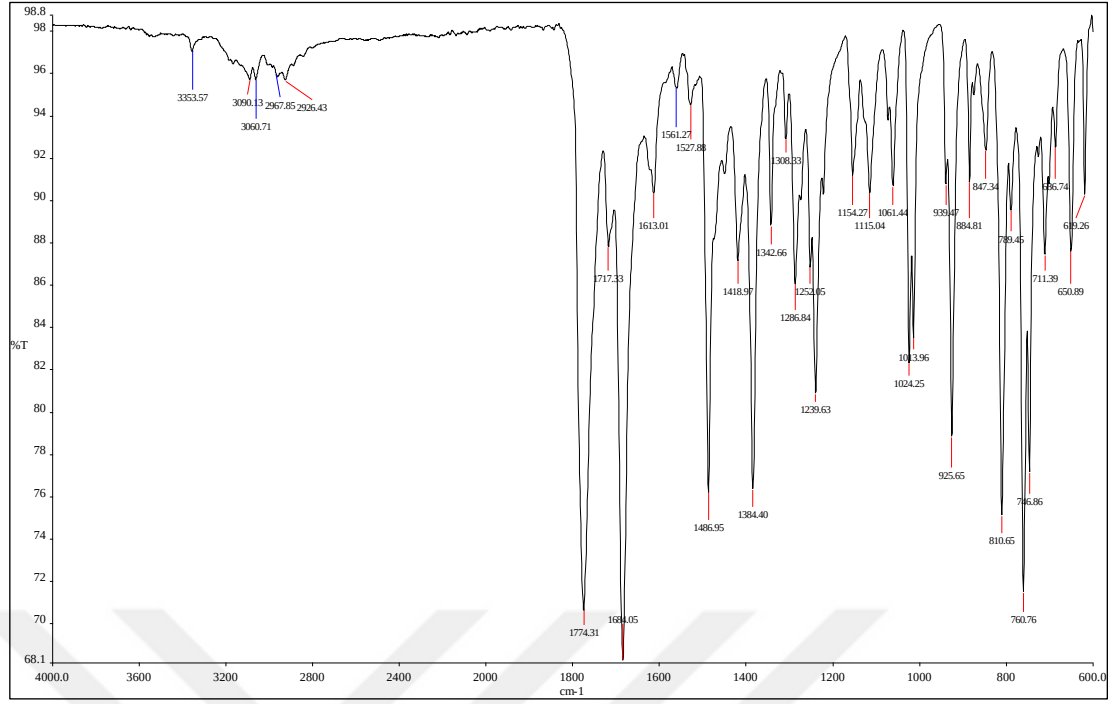
Spektrum 216. C18 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



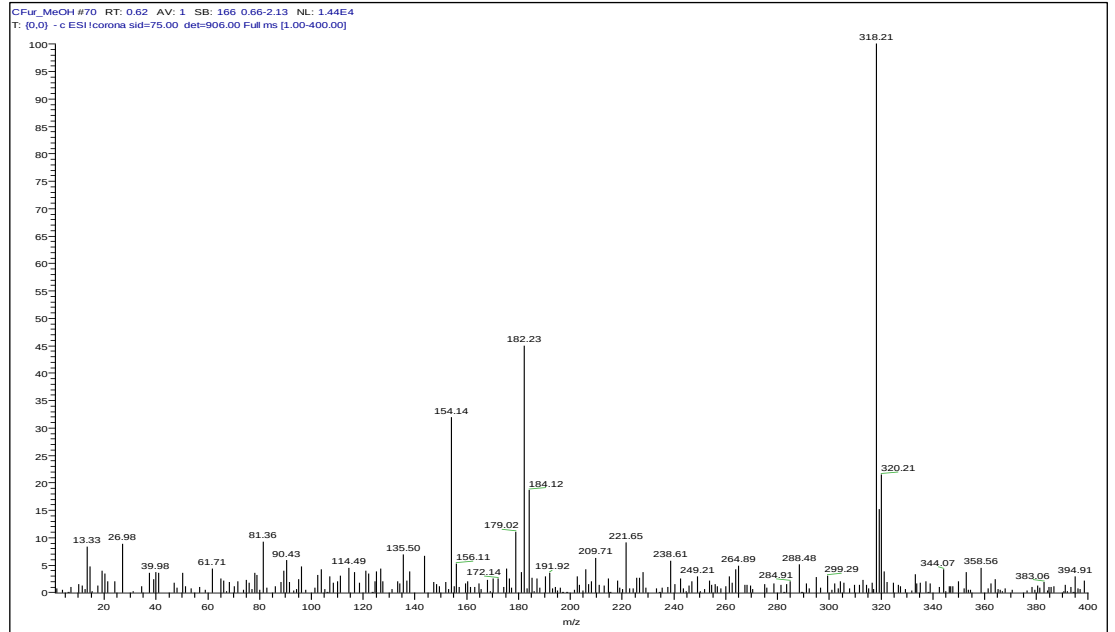
Spektrum 217. C18 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



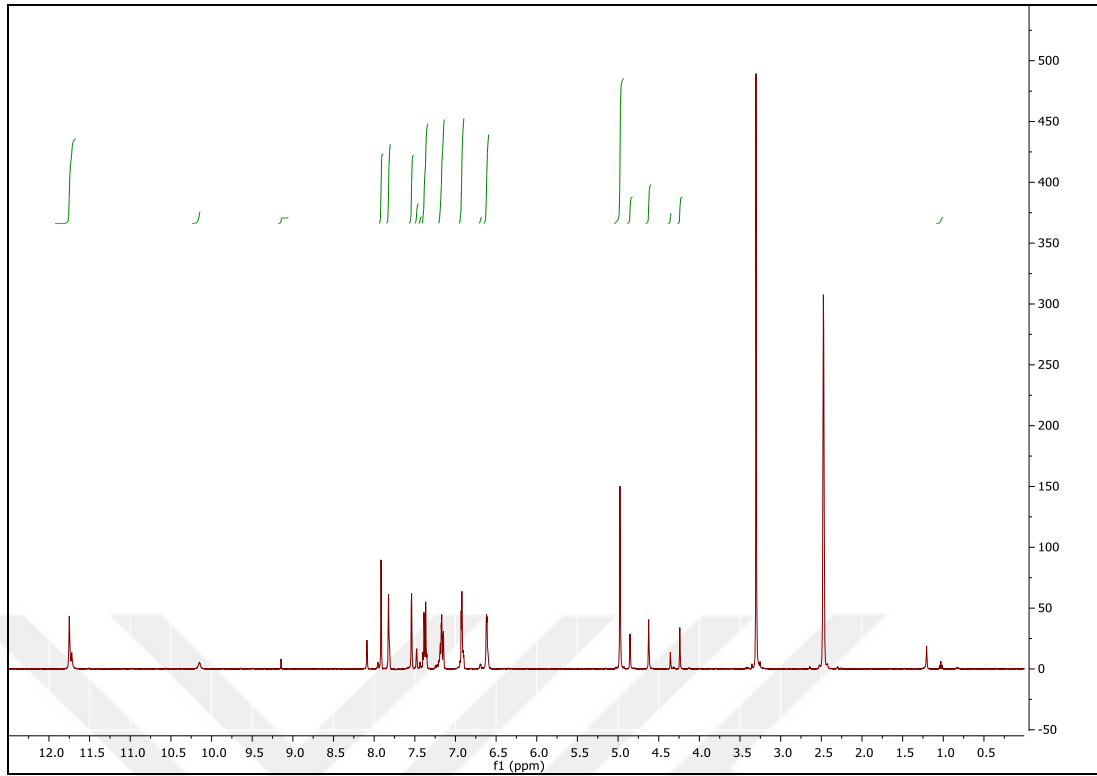
Spektrum 218. C18 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



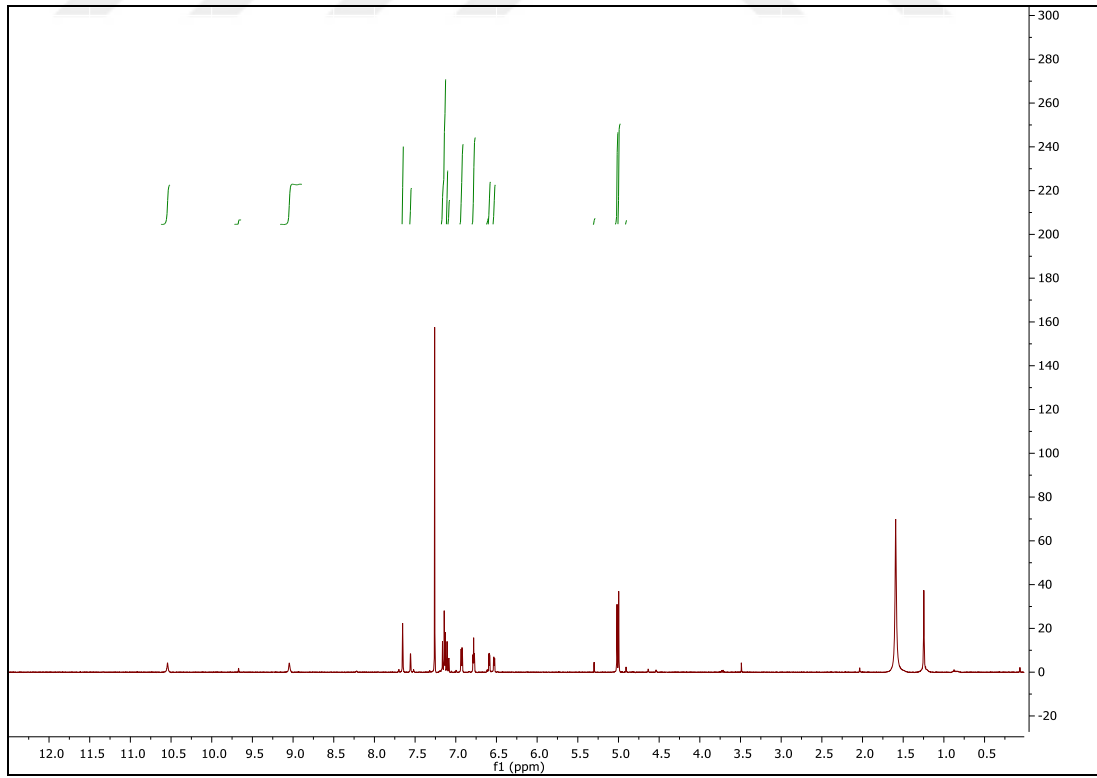
Spektrum 219. C21 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu



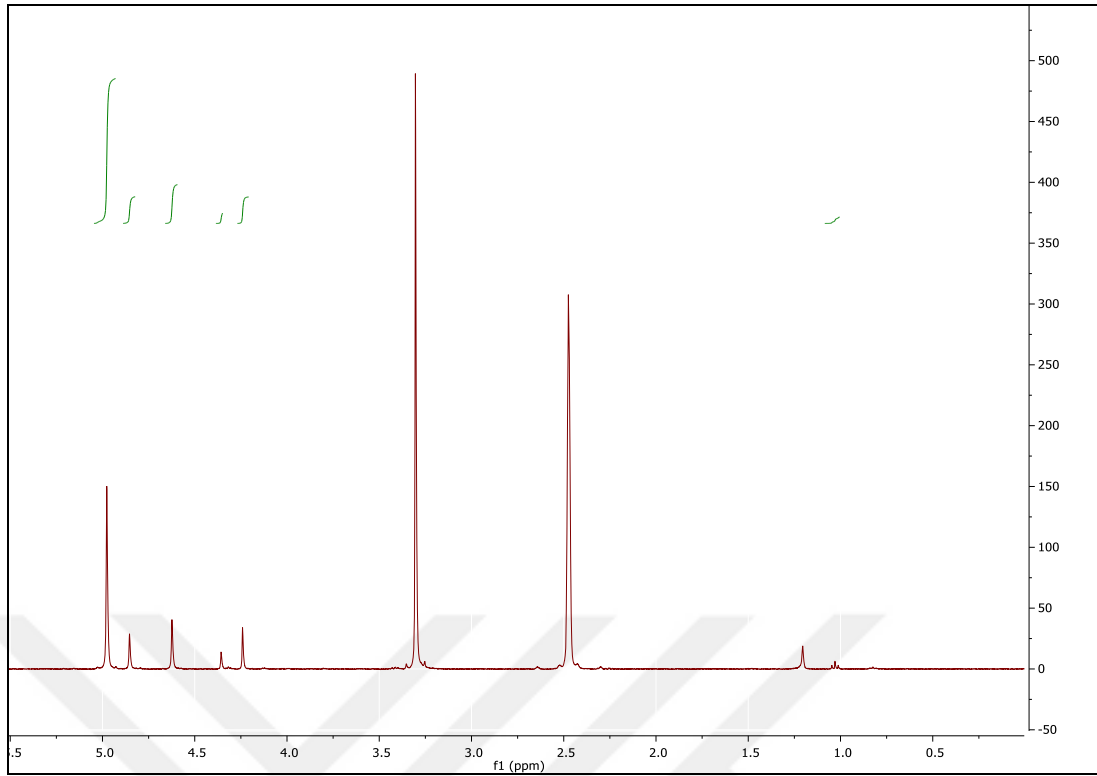
Spektrum 220. C21 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu



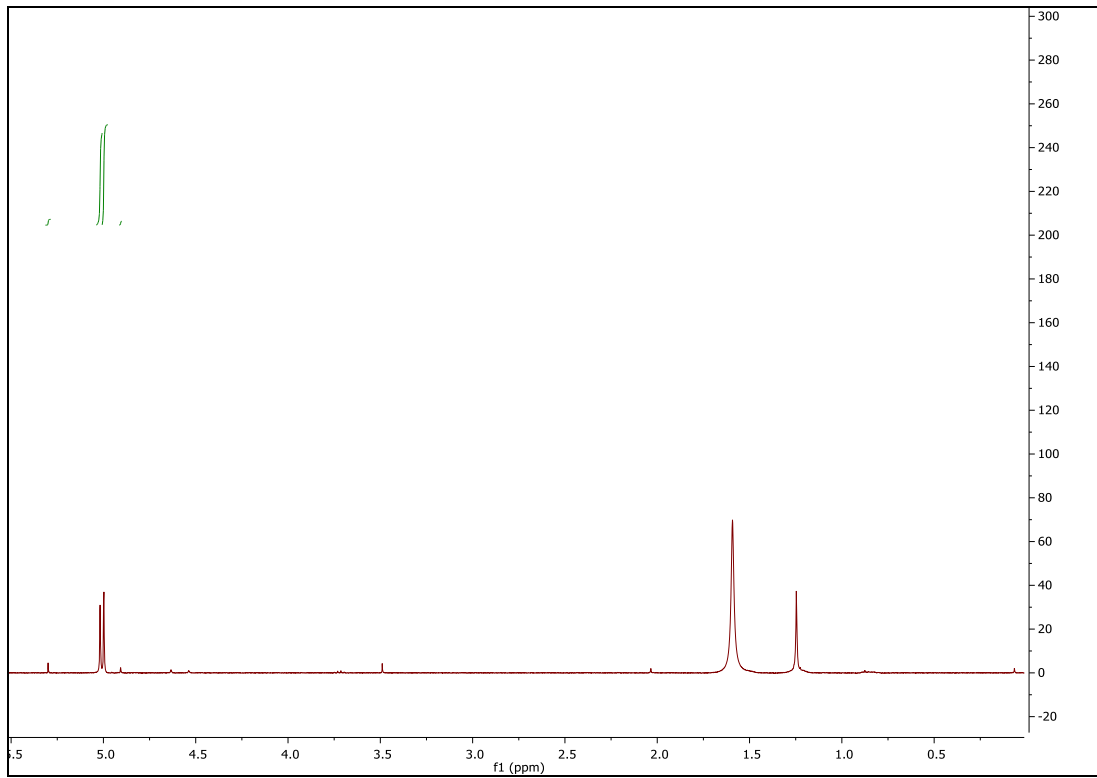
Spektrum 221. C21 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



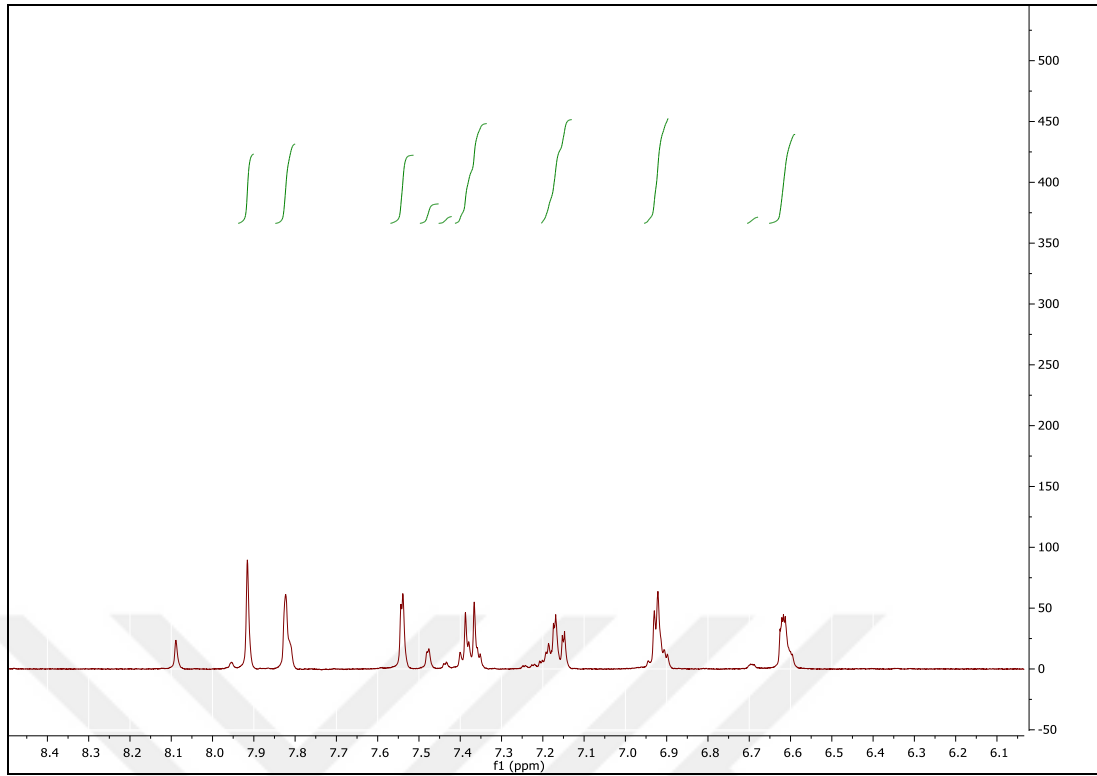
Spektrum 222. C21 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu



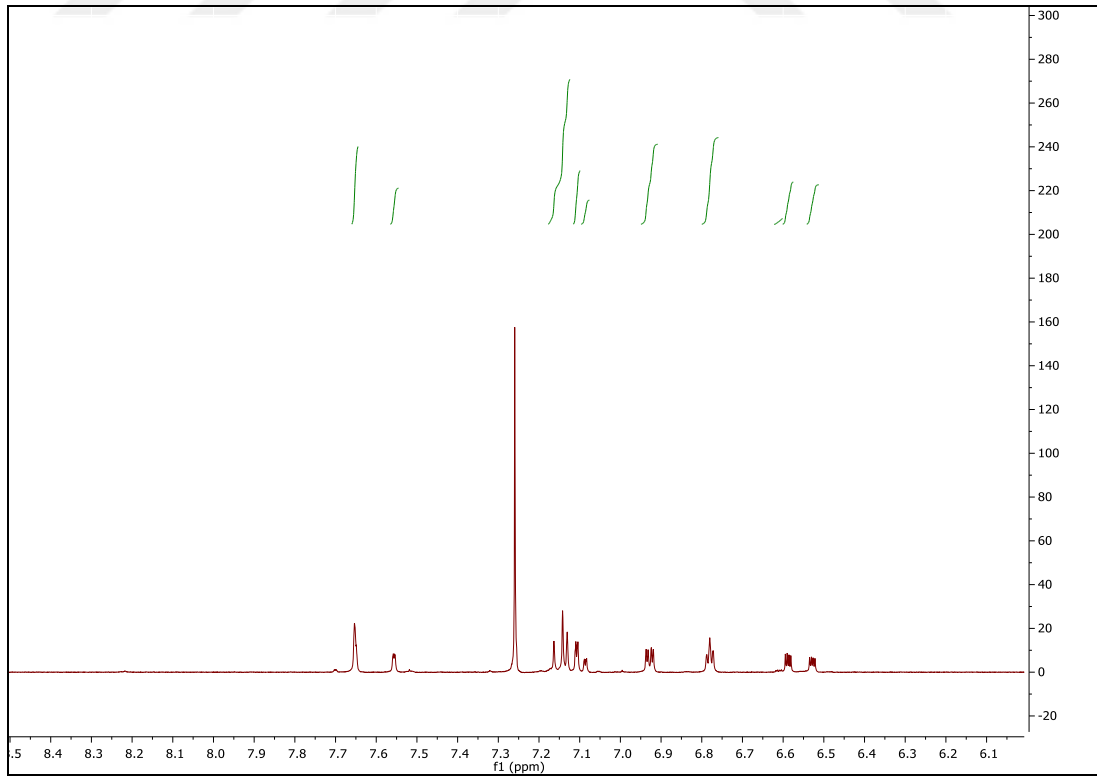
Spektrum 223. C21 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



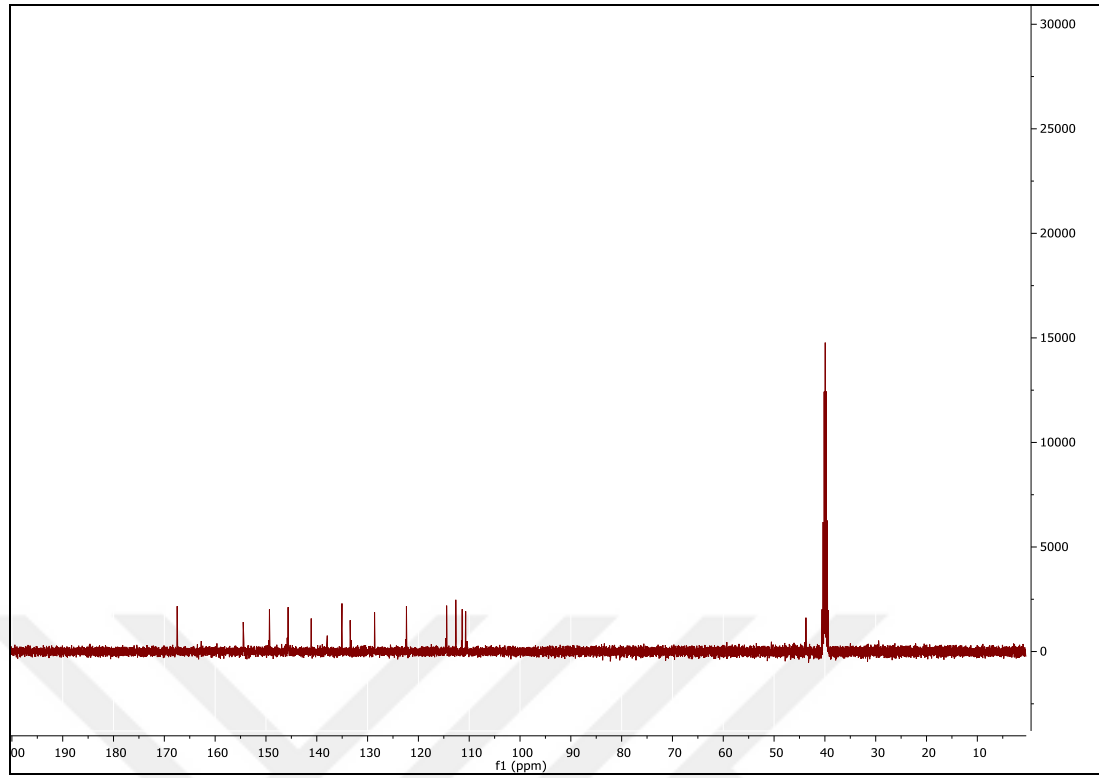
Spektrum 224. C21 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu



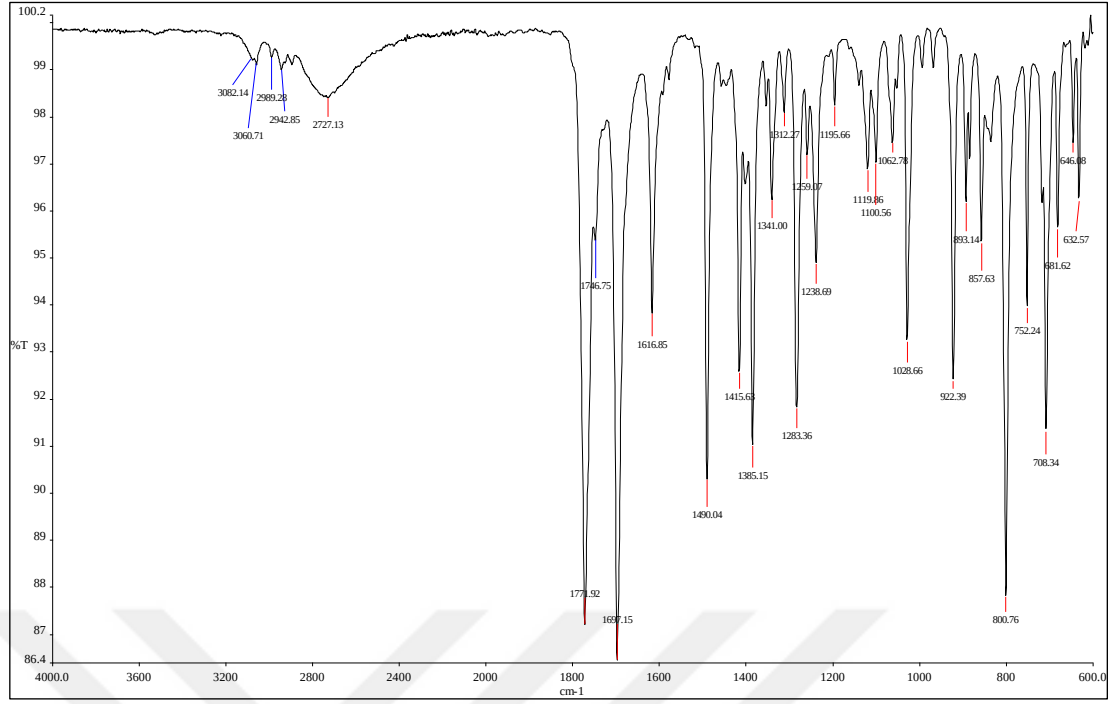
Spektrum 225. C21 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



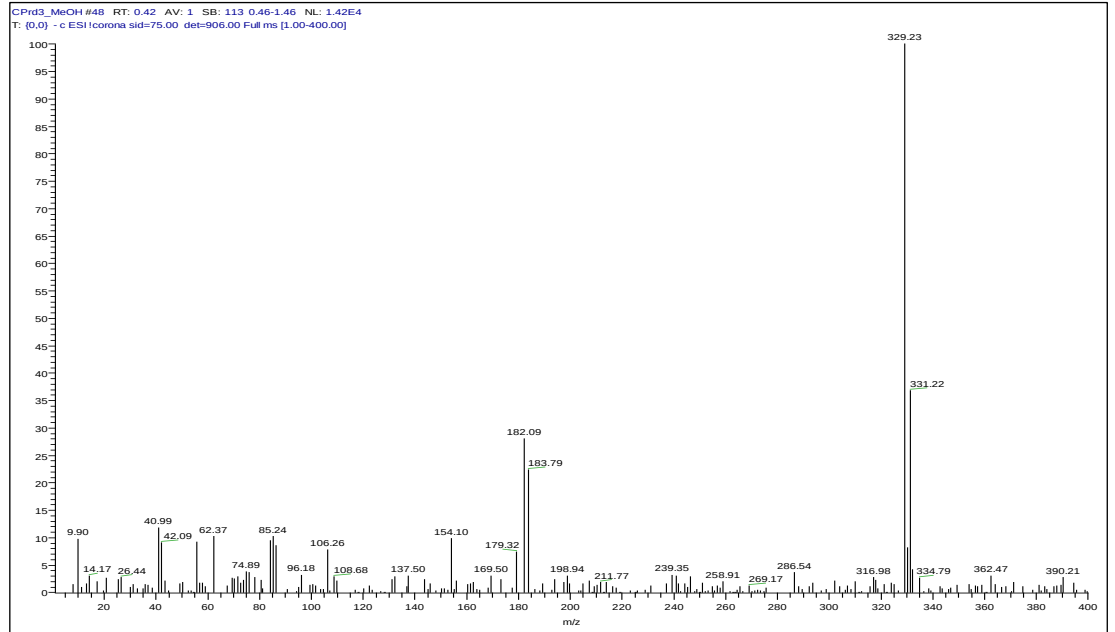
Spektrum 226. C21 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (CDCl_3) Spektrumu



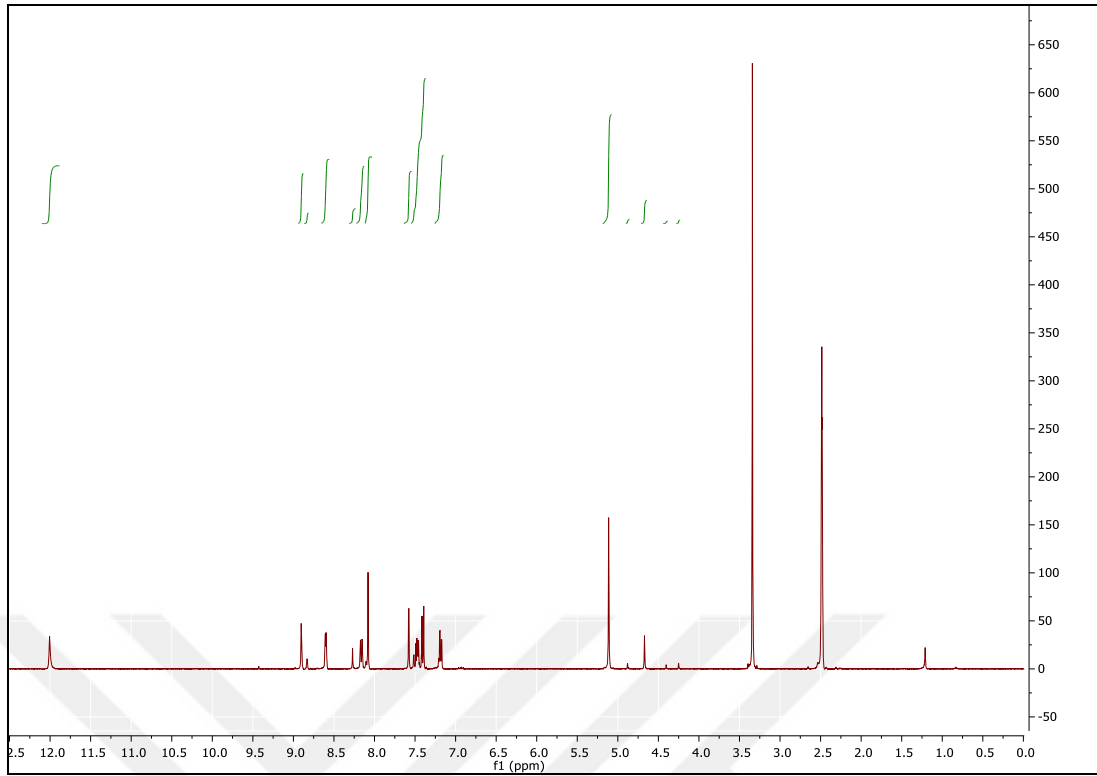
Spektrum 227. C21 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



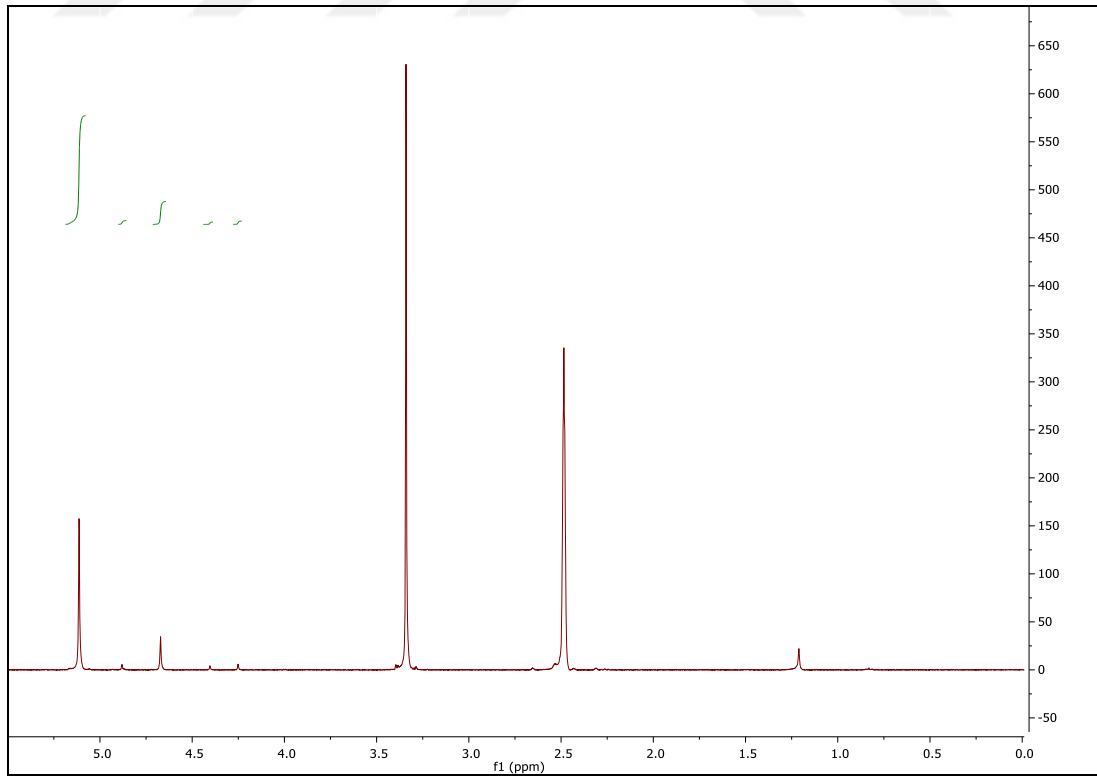
Spektrum 228. C22 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



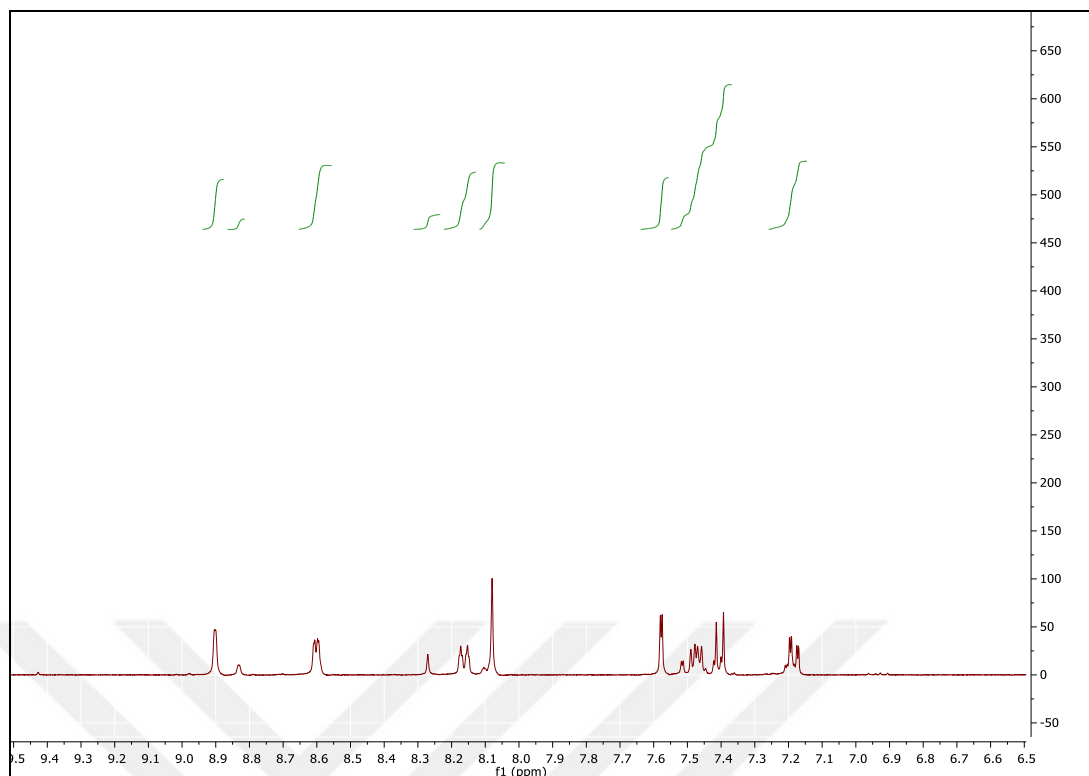
Spektrum 229. C22 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



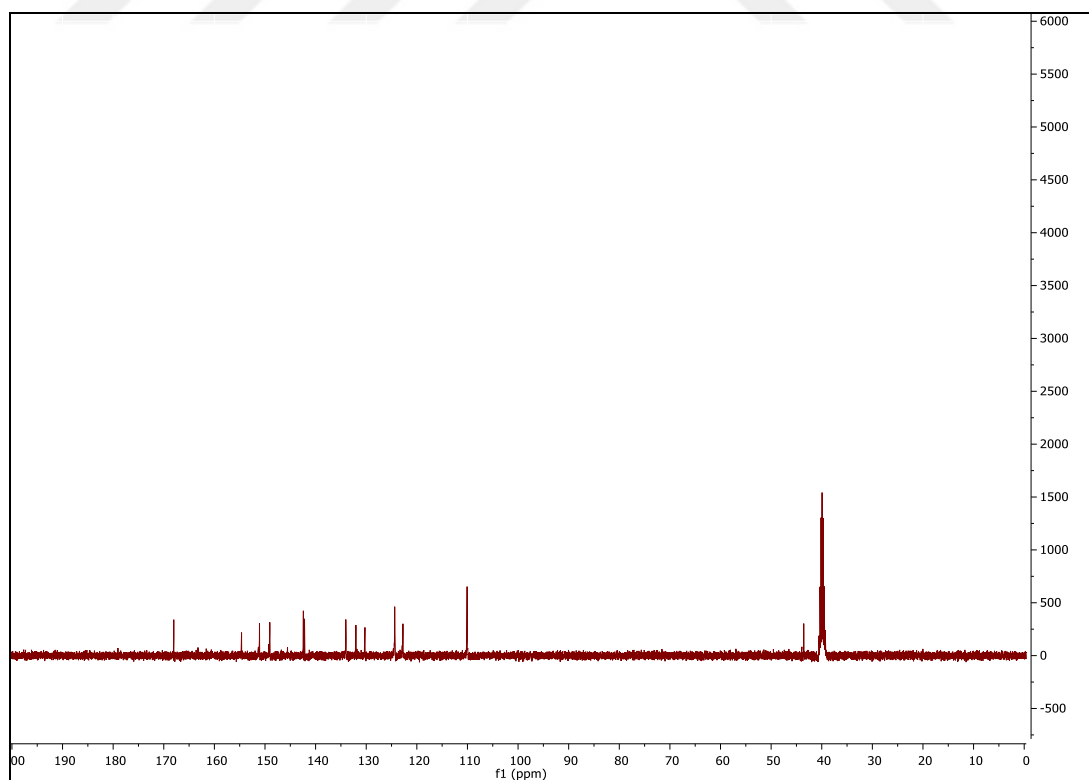
Spektrum 230. C22 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



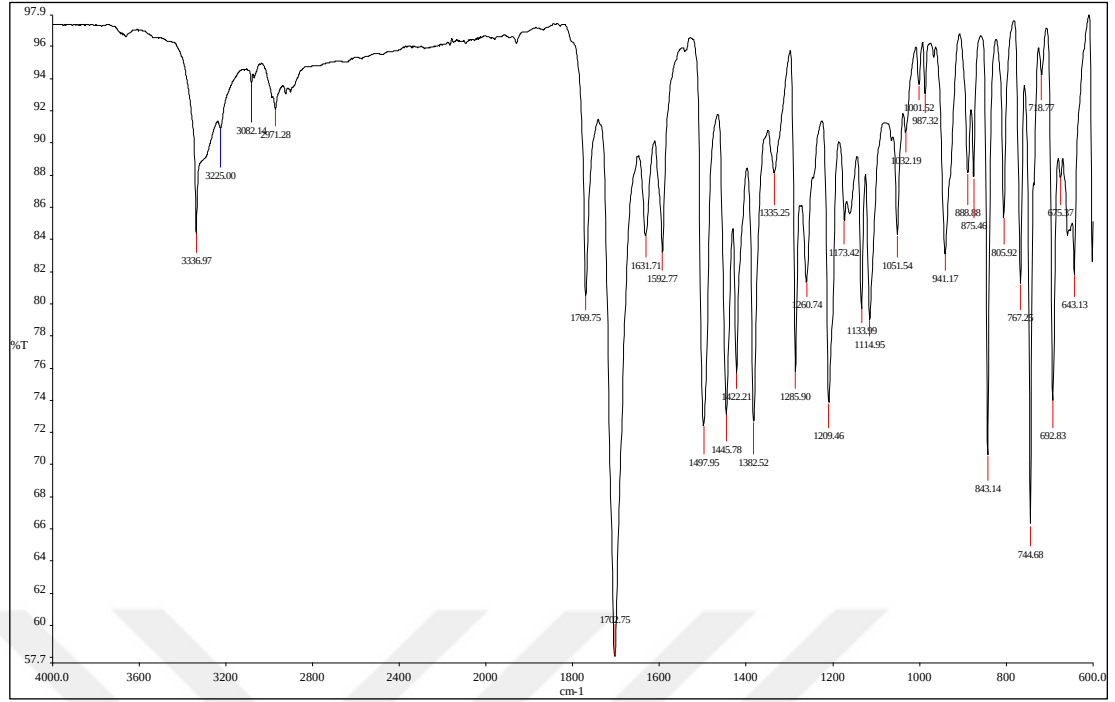
Spektrum 231. C22 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



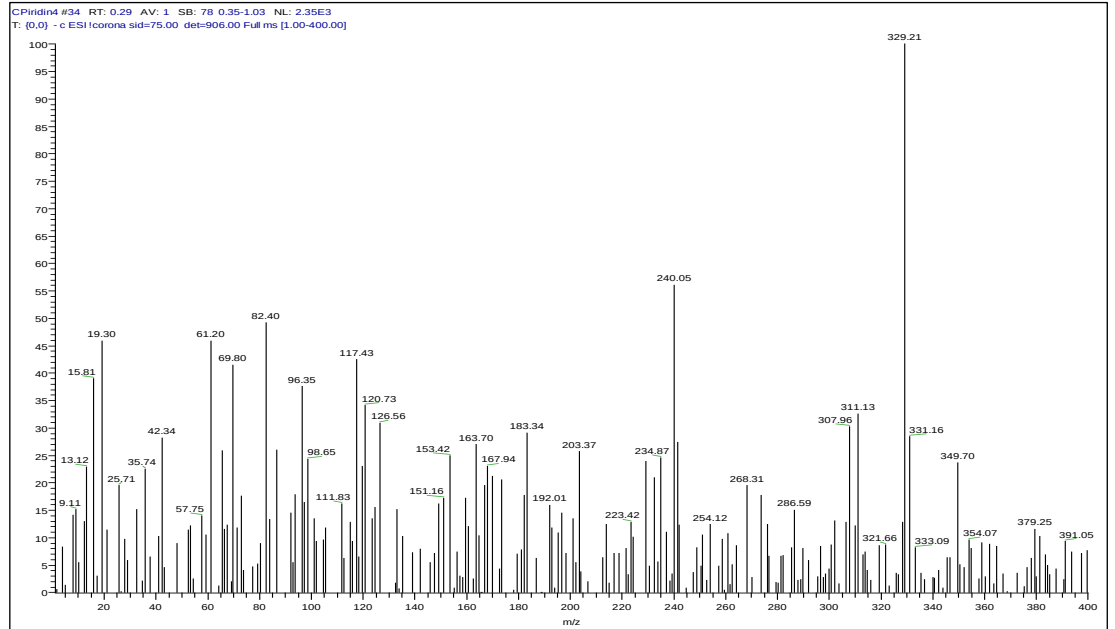
Spektrum 232. C22 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



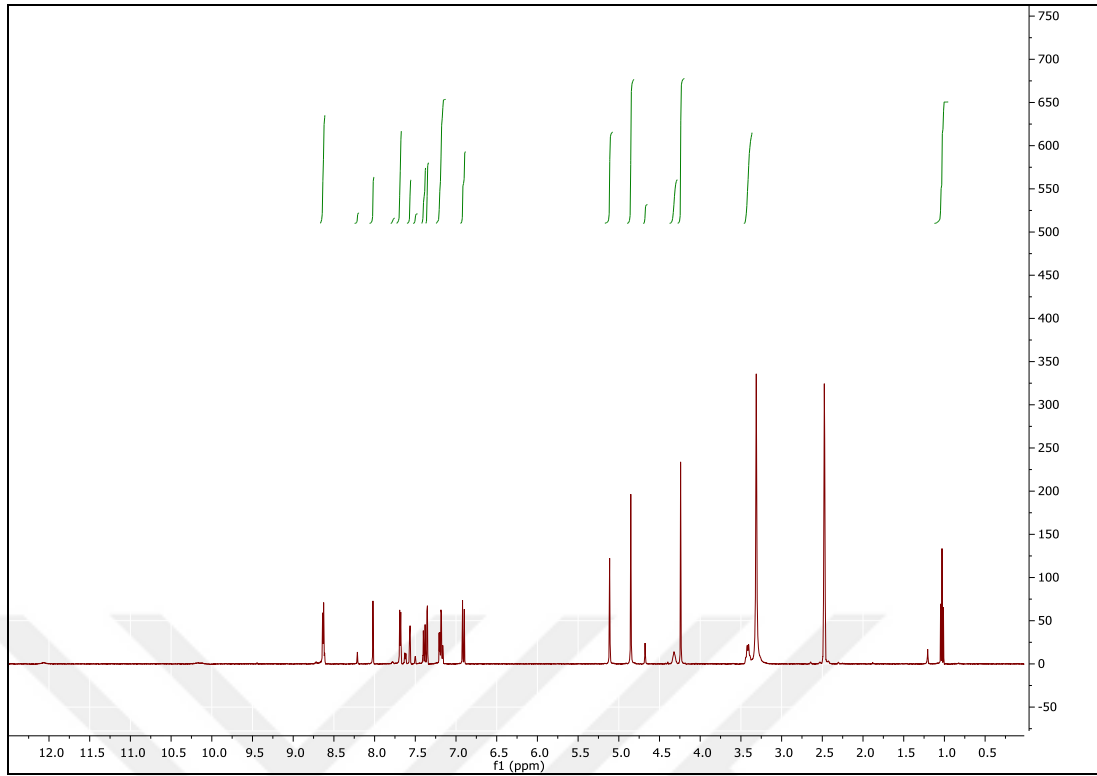
Spektrum 233. C22 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



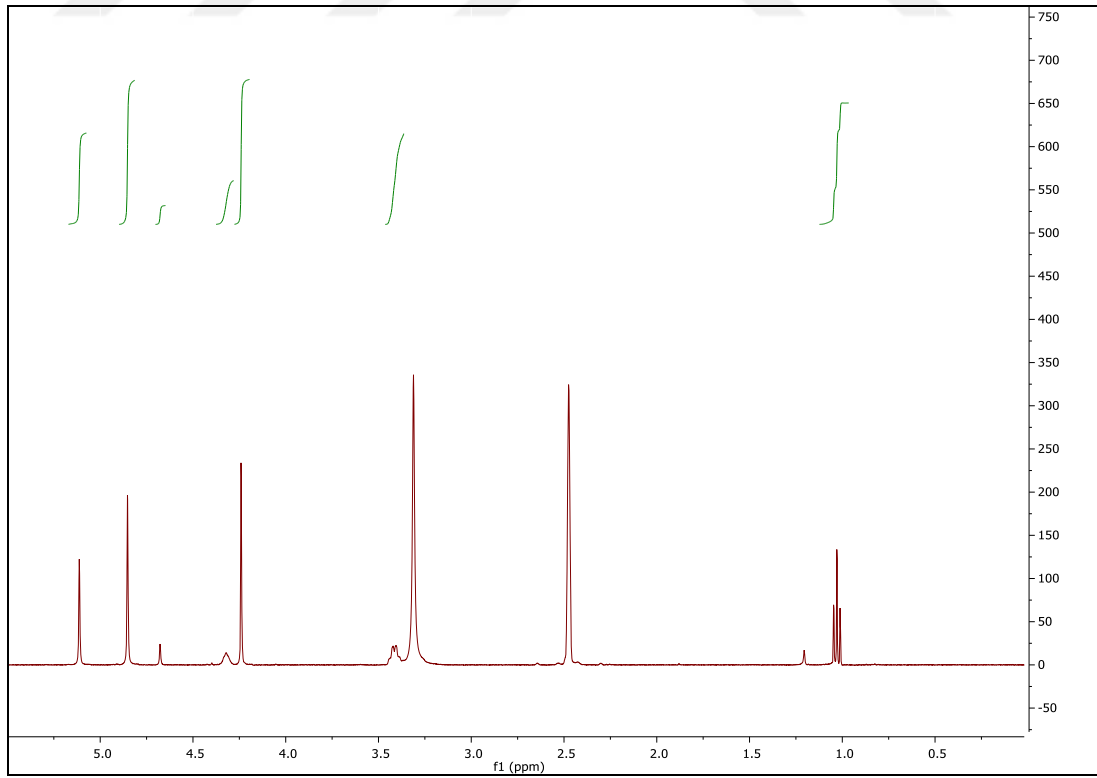
Spektrum 234. C23 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu



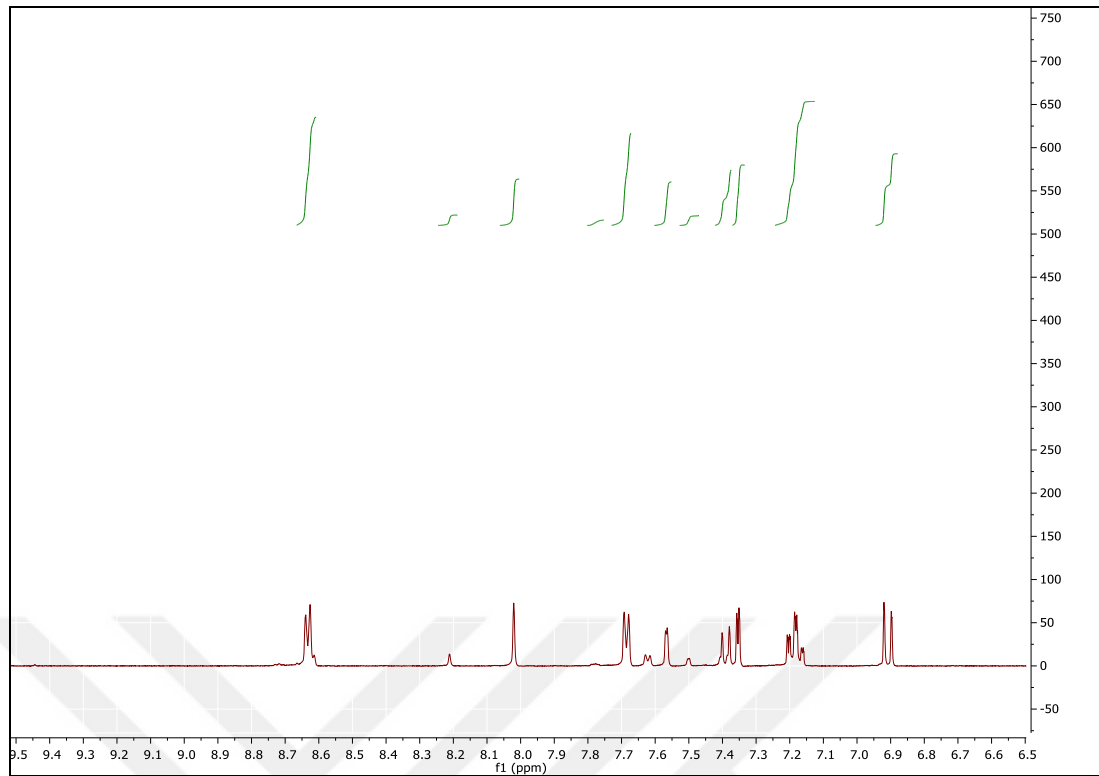
Spektrum 235. C23 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu



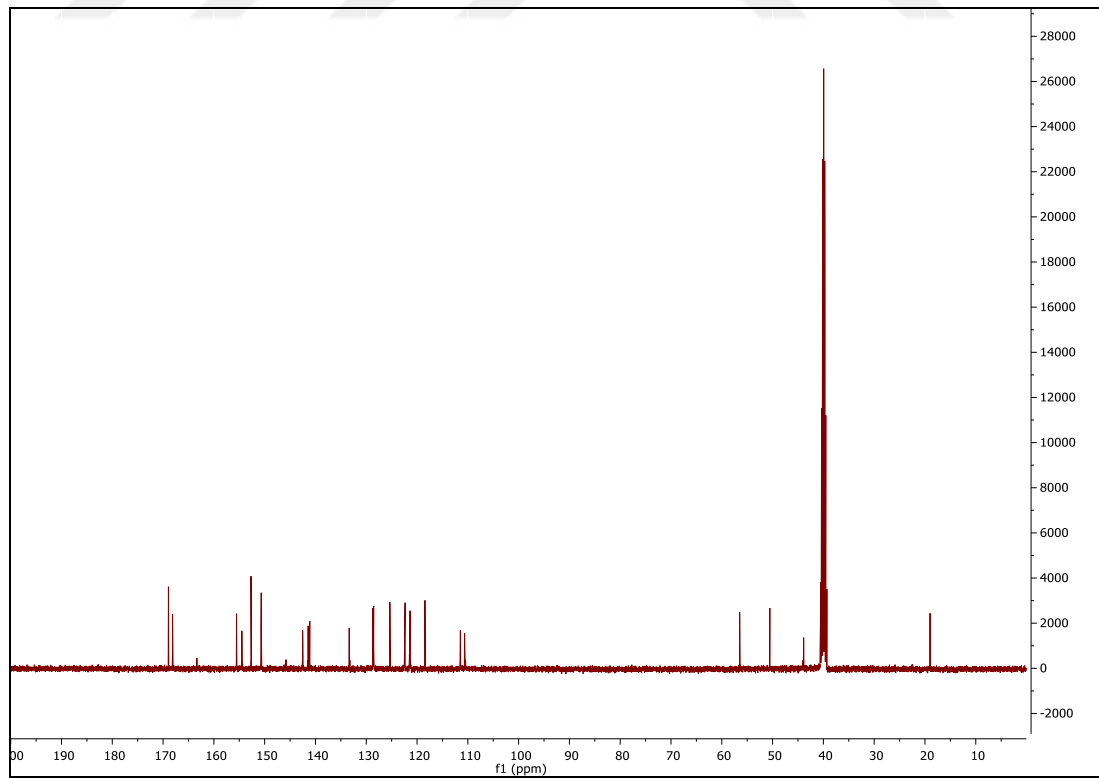
Spektrum 236. C23 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



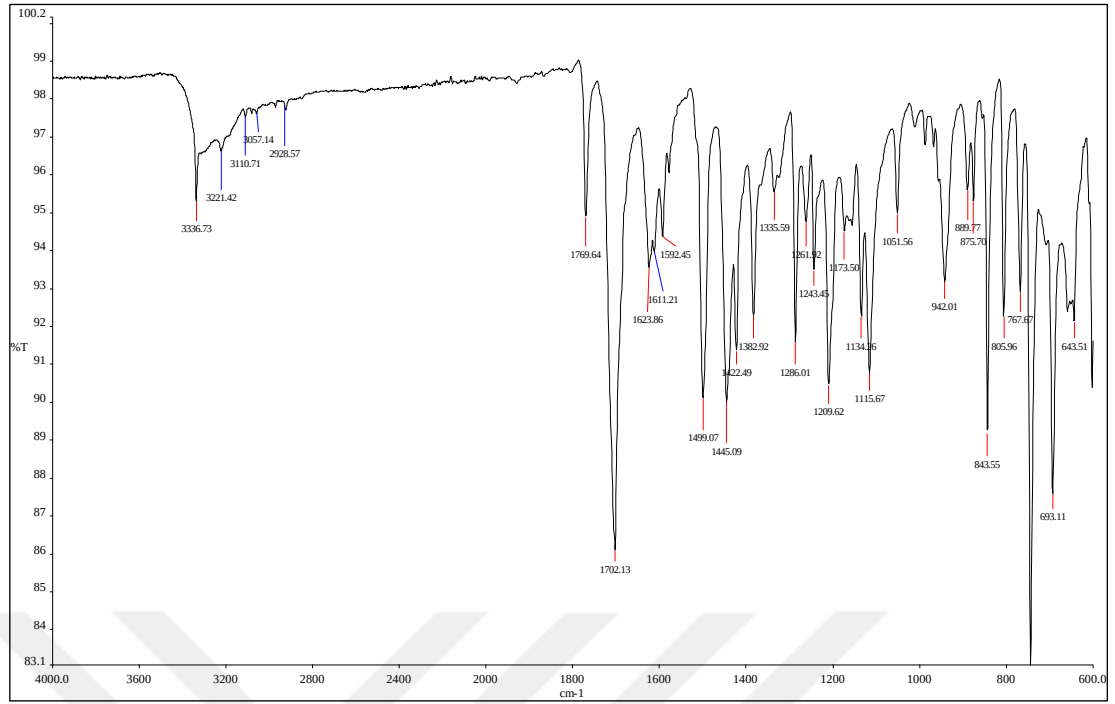
Spektrum 237. C23 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



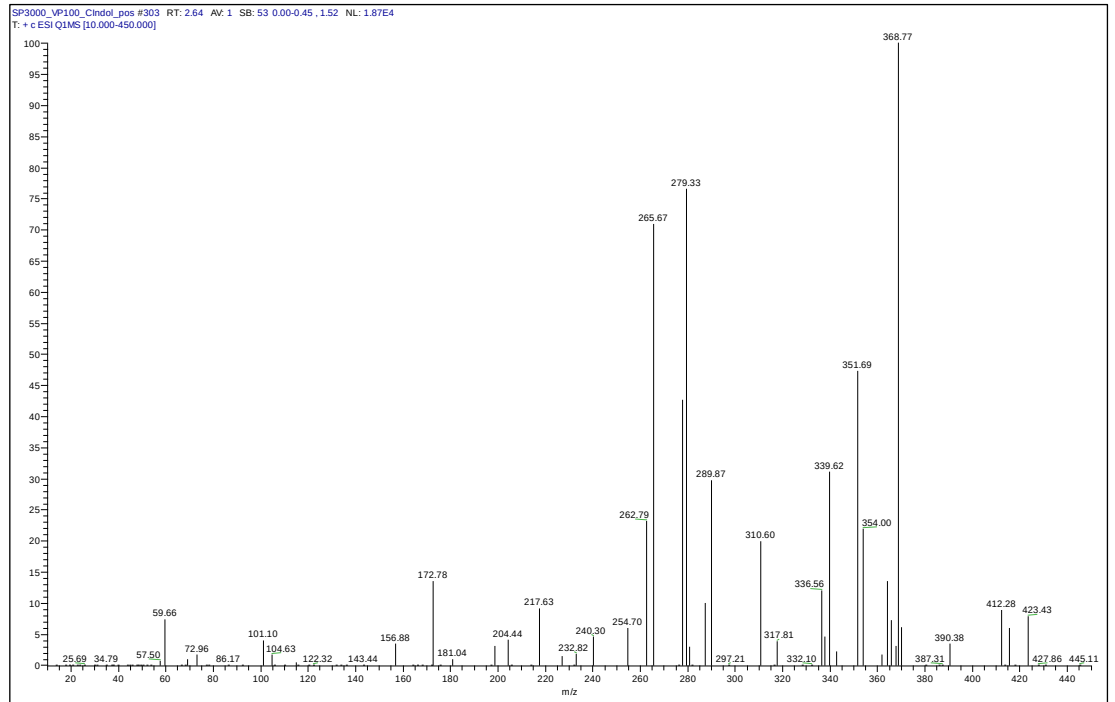
Spektrum 238. C23 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu



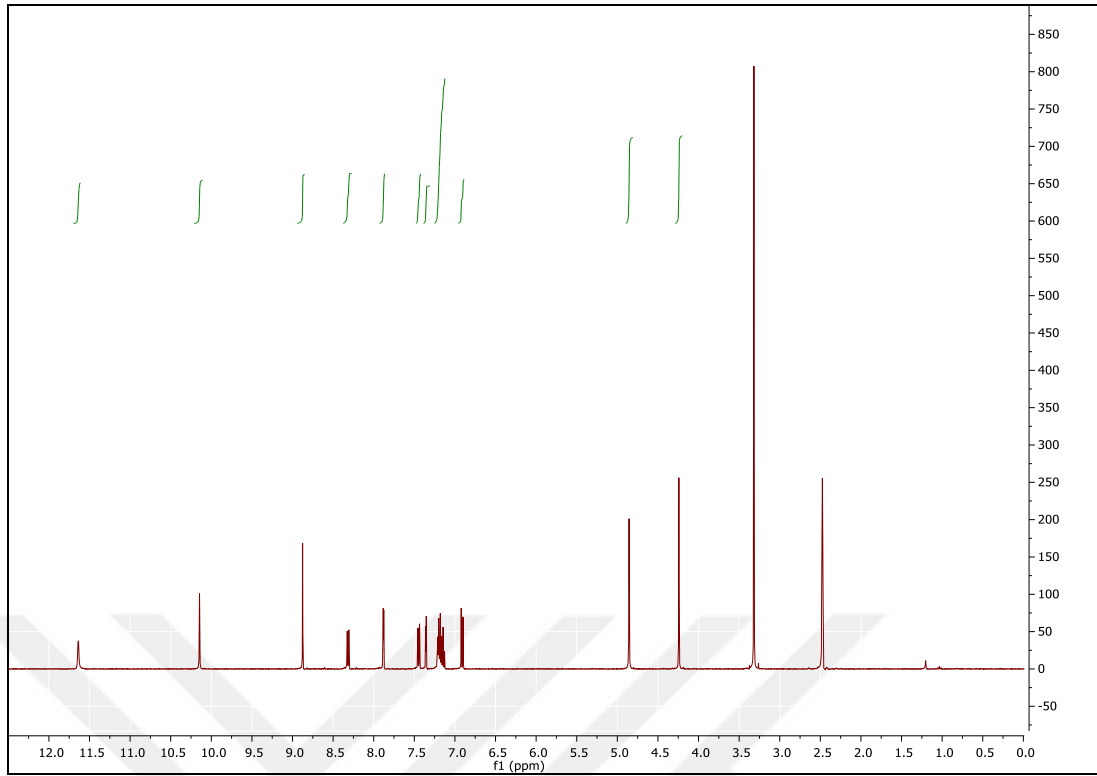
Spektrum 239. C23 Kodlu Bileşğin ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu



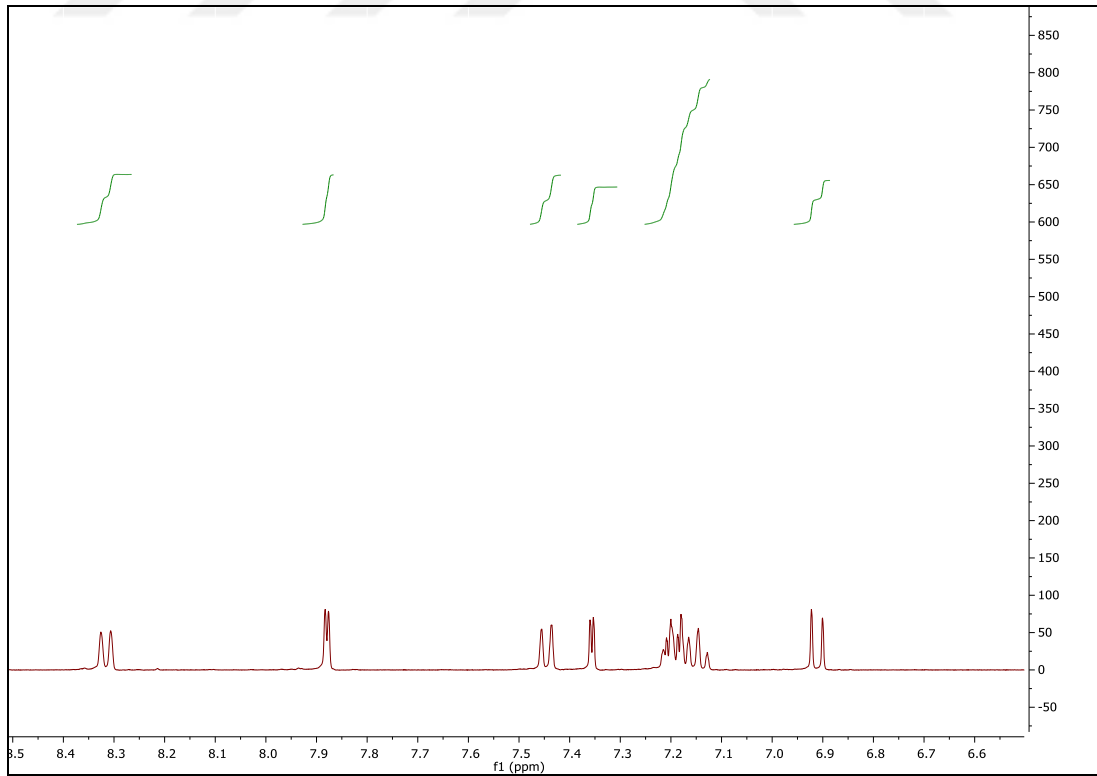
Spektrum 240. C24 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



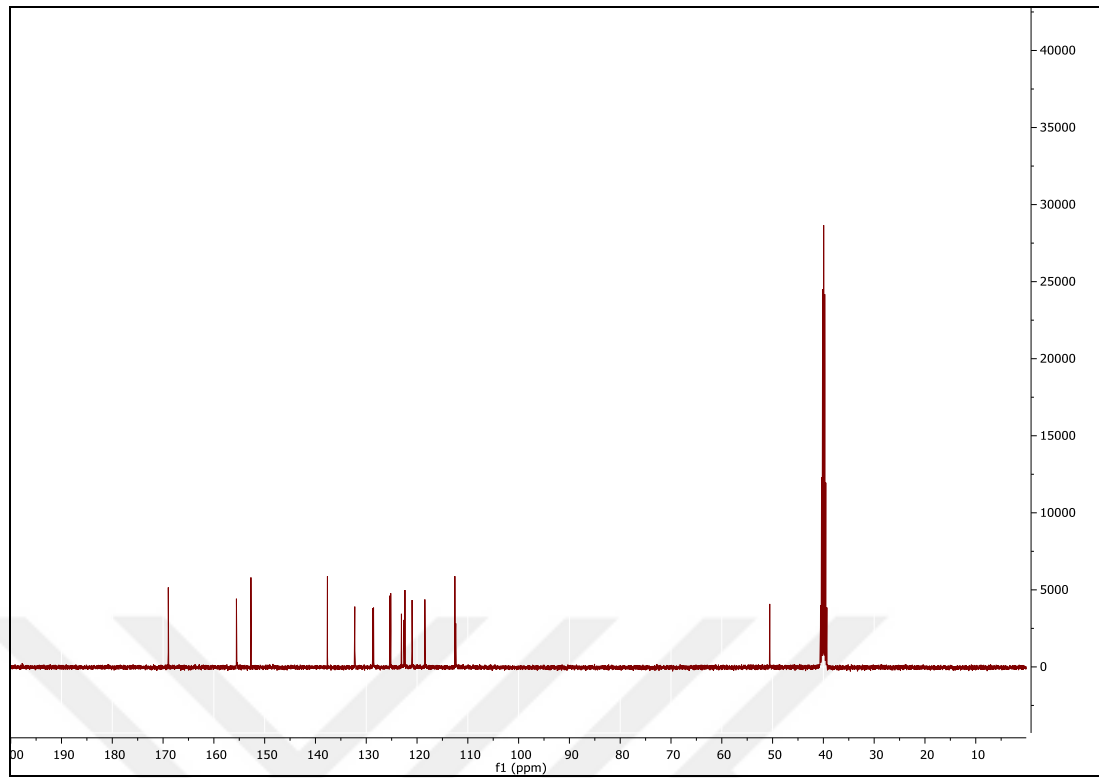
Spektrum 241. C24 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 242. C24 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



Spektrum 243. C24 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



Spektrum 244. C24 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu