



**ALZHEİMER HASTALIĞINA KARŞI
ETKİLİ OLABİLECEK YENİ
BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ,
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE
MOLEKÜLER DOKİNG
ÇALIŞMALARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Neslihan CONGER

Eskişehir 2023

**ALZHEİMER HASTALIĞINA KARŞI ETKİLİ OLABİLECEK YENİ
BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ, BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE
MOLEKÜLER DOKİNG ÇALIŞMALARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Neslihan CONGER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Temmuz 2023

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Neslihan CONGER'in "Alzheimer hastalığına karşı etkili olabilecek yeni bileşiklerin tasarımı, sentezi, biyolojik aktiviteleri ve moleküler doking çalışmalarının değerlendirilmesi" başlıklı tezi 31/07/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

|

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

Enstitü Müdürü

ÖZET

ALZHEİMER HASTALIĞINA KARŞI ETKİLİ OLABİLECEK YENİ BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ, BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE MOLEKÜLER DOKİNG ÇALIŞMALARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Neslihan CONGER

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temmuz 2023

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Alzheimer hastalığı (AH) beyin hücrelerinin zamanla ölümüne bağlı olarak bunama (demans), hafıza kaybı ve bilişsel fonksiyonların azalmasıyla gelişen tıbbi bir durum olarak tanımlanır ve bunların yanında yaygın olarak görülen demans türü olan nörolojik bir hastalıktır. Hastaların beyninde beta amiloid plaklarının görülmesiyle beraber yavaş yavaş unutkanlıklarla kendini belli etmeye başlar, gün geçtikçe yakın geçmişi, aile ve arkadaşlarını tanıyamayacak kadar ilerleyebilir. En ileri evrelerinde ise hastalar temel ihtiyaçlarını karşılamayacak duruma gelir.

Yürütülen bu çalışmada; hastalığın tedavisi için tiyosemikarbazon türevi olan 12 bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin analizlerini ¹³C-NMR, ¹H-NMR ve HRMS spektroskopik yöntemleri kullanarak ortaya çıkarılmıştır. Bulunan bileşiklerin monoaminoksidaz (MAO) enzimleri ve kolinesteraz üzerindeki inhibisyon etkileri araştırılmıştır. **3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 3f, 3g, 3h, 3i, 3j, 3k, 3l** koduna sahip bileşiklerin AH üzerine aktif bir yapı sergilediği bulunmuştur. *In silico* prosedürü kullanılarak moleküler kenetlenme çalışmaları yapılmış olup AChE aktif bölgelerinde aktif bileşiğin (**3a**) bağlanma modlarını tanımlamaya yarayan etkileşim sayısı ve kalıntı grafikleri sunuldu. Özellikle Trp86, Tyr124, Glu202, Trp286, Phe295 ve Tyr341 ile bileşik 3a'nın kesintisiz etkileşim içerisinde olduğu tespit edildi.

Tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin bağlanma noktaları ve enzim aktif bölgelerini aydınlatabilmek için yapılan bu *in silico* çalışmalarda **3a** kodlu bileşiğin diğerlerine göre aktifliğinin çok daha başarılı olduğu görülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Alzheimer, Asetilkolinesteraz, Monoaminoksidaz, Tiyosemikarbazon.

ABSTRACT

DESIGN, SYNTHESIS, BIOLOGICAL ACTIVITIES AND EVALUATION OF MOLECULAR DOCKING STUDIES OF NEW COMPOUNDS THAT MAY BE EFFECTIVE AGAINST ALZHEIMER'S DISEASE

Neslihan CONGER

Department of Pharmaceutical Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, July 2023

Supervisor: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Alzheimer's disease (AD) is defined as a medical condition that develops with dementia (dementia), memory loss and decreased cognitive functions due to the death of brain cells over time, and it is a neurological disease that is a common type of dementia. With the appearance of beta amyloid plaques in the brains of the patients, it gradually begins to manifest itself with forgetfulness, and it can progress to such an extent that it cannot recognize the recent past, family and friends. In the most advanced stages, patients become unable to meet their basic needs.

In this study carried out; 12 compounds, which are thiosemicarbazone derivatives, have been synthesized for the treatment of the disease. Analyzes of compounds were revealed using ^{13}C -NMR, ^1H -NMR, and Mass spectroscopic methods. The inhibition effects of the compounds found on monoaminoxidase (MAO) enzymes and cholinesterase were investigated. It was found that compounds with the code **3a**, **3b**, **3c**, **3d**, **3e**, **3f**, **3g**, **3h**, **3i**, **3j**, **3k**, **3l** exhibit an active structure on AD. Molecular docking studies were performed using the in silico procedure, and interaction number and residue graphs were presented to identify the binding modes of the active compound (**3a**) at AChE active sites. In particular, Trp86, Tyr124, Glu202, Trp286, Phe295 and Tyr341 and compound 3a were found to be in uninterrupted interaction.

In these in silico studies carried out to elucidate the binding points and enzyme active sites of the compounds synthesized within the scope of the thesis, the activity of the **3a** coded compound was found to be much more successful than the others.

Keywords: Alzheimer, Acetylcholinesterase, Monoaminoxidase, Thiosemicarbazone.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi yazımında desteklerini esirgemeyen bilgi ve donanımları ile yön gösterici olarak yanımda her daim bulunan Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY ve Dr. Öğr. Üyesi Derya OSMANİYE'ye minnetlerimi ve Őükranlarımı sunarım.

Aynı zamanda bu süreç boyunca Doç. Dr. Begüm Nurlpelin SAĞLIK'a, Öğr. Gör. Serkan LEVENT'e, Sazan HAJI ALI, Araş. Gör. Arzu HIDIR, Araş. Gör. Fatih DELİCE, Gökhan DİLSİZ ve Ebru PEKDOĞAN'a yardım ve destekleri için ayrıca teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca desteklerini, sevgilerini hiç esirgemeyen annem Semra CONGER ve babam Bekir CONGER'e sonsuz teşekkür ederim.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmamın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Neslihan CONGER

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	4
2.1. Alzheimer Hastalığı.....	4
2.1.1. Alzheimer hastalığının tanımı ve patalojisi	4
2.1.1.1. Amiloid Plaklar	4
2.1.1.2. Nöritik Plaklar	5
2.1.1.3. Nörofibriler Yumaklar (NFY) ve Nöropil İplikleri	5
2.1.1.4. Granülovakuolar Dejenerasyon (GVD).....	5
2.1.1.5. Hirano Cisimleri	6
2.1.1.6. Sinaptik Kayıp	6
2.1.1.7. Alzheimer Hastalığı Patogenezi.....	6
2.1.1.8. Kolinerjik Hipotez ve Nörotransmisyon.....	7
2.1.1.9. Tau-Proteini Hipotezi.....	12
2.1.1.10. Amiloid Kaskadı Hipotezi.....	13
2.1.2. Alzheimer hastalığının tedavisi.....	15

2.1.3. Asetilkolinin mekanizması	15
2.1.3.1. Asetilkolinesteraz (AChE) enzimi	15
2.1.3.2. Asetilkolinesteraz İnhibitörleri (AChEI)	16
2.1.3.3. N-Metil-D-Aspartat Reseptörü (NMDAR) Antagonisti.....	19
2.1.4. Aktivite çalışmalarına konu olmuş tiyosermikarbazon türevleri.....	19
3. GEREÇLER.....	26
3.1. Kullanılan Maddeler.....	26
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	27
4. YÖNTEMLER	28
4.1. Sentez Çalışmaları.....	28
4.1.1. Tiyosermikarbazid türevlerinin sentezi (1a – 1b) (Yöntem A).....	28
4.1.2. 4-Sübstitüe benzaldehit türevlerinin sentezi (2a-2f) (Yöntem B).....	28
4.1.3. Tiyosermikarbazon türevlerinin sentezi (3a-3l) (Yöntem C).....	29
4.2. İTK Çalışmaları	30
4.3. Erime Noktalarının Tespiti	30
4.4. ¹ H-NMR Spektrumlarının Alınması.....	30
4.5. ¹³ C-NMR Spektrumlarının Alınması.....	30
4.6. Kütle Spektrumlarının Alınması	31
4.7. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	31
4.8. Moleküler Modelleme Çalışmaları	31
5. BULGULAR VE TARTIŞMALAR	32
5.1. Sentez Çalışmaları.....	32
5.1.1. <i>N</i> -(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3a).....	32
5.1.2. <i>N</i> -(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-etilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3b)	36

5.1.3. <i>N</i> -(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-formilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3c).....	40
5.1.4. <i>N</i> -(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3d)	44
5.1.5. <i>N</i> -(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-(4-metoksifenil) piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3e).....	48
5.1.6. <i>N</i> -(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-(4-nitrofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3f)	52
5.1.7. <i>N</i> -(Benzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3g).....	56
5.1.8. <i>N</i> -(Benzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-etilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3h)	60
5.1.9. <i>N</i> -(Benzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-formilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3i)	64
5.1.10. <i>N</i> -(Benzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3j)	68
5.1.11. <i>N</i> -(Benzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-(4-metoksifenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3k)	72
5.1.12. <i>N</i> -(Benzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-(4-nitrofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3l) ...	76
5.2. Sentez Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	80
5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi	81
5.3.1. ¹ H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	81
5.3.2. ¹³ C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	81
5.3.3. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi	81
5.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi	81
5.5. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	84

	<u>Sayfa</u>
5.5.1. Moleküler Dinamik Çalışmaları	84
5.5.2. Moleküler Doking Çalışmaları	85
5.5.3. Moleküler Dinamik Çalışmaları	87
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	92
ÖZGEÇMİŞ	



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 5.1. Elde edilen bileşiklerin 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında AChE ve BChE enzimine karşı % inhibisyon oranları ve IC_{50} (μ M) değerleri.....	83
---	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Alzheimer hastalığının patolojik evrimi	1
Şekil 2.1. Asetilkolin sentezi.....	15
Şekil 2.2. Asetilkolin hidrolizi	15
Şekil 2.3. Takrin molekülünün kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2.4. Donepezil molekülünün kimyasal yapısı	18
Şekil 2.5. Rivastigmin molekülünün kimyasal yapısı.....	18
Şekil 2.6. Galantamin molekülünün kimyasal yapısı.....	19
Şekil 2.7. 3-Asetilkumarin tiyosemikarbazon.....	19
Şekil 2.8. 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil)bis [N-fenil-hidrazinkarbotiyoamid]..	20
Şekil 2.9. 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil)bis [N-etilhidrazinkarbotiyoamid]	20
Şekil 2.10. 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil)bis [N-(1-naftil)hidrazinkarbotiyoamid]	20
Şekil 2.11. 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil)bis [N-(p-metoksifenil)hidrazin karbotiyoamid]	21
Şekil 2.12. 2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil)bis(N-4-(3- izotiyosiyanatpropil)morfolinhidrazinkarbotiyoamid).....	21
Şekil 2.13. 2-((2-Klorokinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil) hidrazin-1- karbotiyoamid.....	22
Şekil 2.14. 2-((2-Kloro-6-metoksi kinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil) hidrazinkarbotiyoamid.....	22
Şekil 2.15. 2-((2-Kloro-7-metoksi kinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil) hidrazin-1-karbotiyoamid	22

Şekil 2.16. 2-((2-Kloro-7-metilkinolin-3-il)metilen)- <i>N</i> -(2-morfolinoetil) hidrazin-1-karbotiyoamid.....	23
Şekil 2.17. 2-((2-Kloro-7-diklorokinolin-3-il)metilen)- <i>N</i> -(2-morfolinoetil) hidrazin-1-karbotiyoamid	23
Şekil 2.18. 2-((2-klorokinolin-3-il)metilen)- <i>N</i> -fenilhidrazin-1-karbotiyoamid	23
Şekil 2.19. 2-((2-kloro-6-metoksikinolin-3-il)metilen)- <i>N</i> -fenilhidrazin-1-karbotiyoamid.....	24
Şekil 2.20. 2-((2-kloro-6-metilkinolin-3-il)metilen)- <i>N</i> -fenilhidrazin-1-karbotiyoamid.....	24
Şekil 2.21. 2-((2-kloro-7-metoksikinolin-3-il)metilen)- <i>N</i> -fenilhidrazin-1-karbotiyoamid.....	24
Şekil 2.22. 2-((2-kloro-7-metilkinolin-3-il)metilen)- <i>N</i> -fenilhidrazin-1-karbotiyoamid.....	25
Şekil 2.23. 2-((2,7-diklorokinolin-3-il)metilen)- <i>N</i> -fenilhidrazin-1-karbotiyoamid.....	25
Şekil 2.24. 2-(Benzofuran-2-il metilen)- <i>N</i> -(2-metoksietil) hidrazin-1-karbotiyoamid	25
Şekil 2.25. 2-(Benzo[b]tiyofen-2-il metilen)- <i>N</i> -(2-metoksietil) hidrazin-1-karbotiyoamid.....	25
Şekil 4.1. 4-Sübstiüe benzaldehit türevlerinin sentezi (2a-2f)	28
Şekil 4.2. Tiyosemikarbazid türevlerinin sentezi (1a – 1b)	28
Şekil 4.3. Tiyosemikarbazon türevlerinin sentezi (3a-3l)	29
Şekil 5.1. <i>N</i> -(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3a).....	32

Şekil 5.2. Bileşik 3a ' ya Ait ¹ H-NMR Spektrumu.....	33
Şekil 5.3. Bileşik 3a 'ya Ait ¹³ C-NMR Spektrumu.....	34
Şekil 5.4. Bileşik 3a 'ya ait kütle spektrumu	35
Şekil 5.5. <i>N</i> -(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-etilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3b)	36
Şekil 5.6. Bileşik 3b 'ye Ait ¹ H-NMR Spektrumu.....	37
Şekil 5.7. Bileşik 3b 'ye Ait ¹³ CNMR Spektrumu.....	38
Şekil 5.8. Bileşik 3b 'ye ait kütle spektrumu	39
Şekil 5.9. <i>N</i> -(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-formilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3c)	40
Şekil 5.10. Bileşik 3c 'ye Ait ¹ H-NMR Spektrumu	41
Şekil 5.11. Bileşik 3c 'ye Ait ¹³ C-NMR Spektrumu	42
Şekil 5.12. Bileşik 3c 'ye Ait Kütle Spektrumu.....	43
Şekil 5.13. <i>N</i> -(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3d).....	44
Şekil 5.14. Bileşik 3d 'ye Ait ¹ H-NMR Spektrumu.....	45
Şekil 5.15. Bileşik 3d 'ye Ait ¹³ C-NMR Spektrumu	46
Şekil 5.16. Bileşik 3d 'ye Ait Kütle Spektrumu	47
Şekil 5.17. <i>N</i> -(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-(4-metoksifenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3e)	48
Şekil 5.18. Bileşik 3e 'ye Ait ¹ H-NMR Spektrumu	49
Şekil 5.19. Bileşik 3e 'ye Ait ¹³ C-NMR Spektrumu.....	50

Şekil 5.20. Bileşik 3e'ye Ait Kütle Spektrumu.....	51
Şekil 5.21. N-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-(4-nitrofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3f)	52
Şekil 5.22. Bileşik 3f'ye Ait ¹ H-NMR Spektrumu	53
Şekil 5.23. Bileşik 3f'ye Ait ¹³ C-NMR Spektrumu	54
Şekil 5.24. Bileşik 3f'ye Ait Kütle Spektrumu	55
Şekil 5.25. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3g).....	56
Şekil 5.26. Bileşik 3g'ye Ait ¹ H-NMR Spektrumu.....	57
Şekil 5.27. Bileşik 3g'ye Ait ¹³ C-NMR Spektrumu.....	58
Şekil 5.28. Bileşik 3g'ye Ait Kütle Spektrumu.....	59
Şekil 5.29. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-etilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3h).....	60
Şekil 5.30. Bileşik 3h'a Ait ¹ H-NMR Spektrumu.....	61
Şekil 5.31. Bileşik 3h'a Ait ¹³ C-NMR Spektrumu	62
Şekil 5.32. Bileşik 3h'a Ait Kütle Spektrumu	63
Şekil 5.33. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-formilpiperazin-1il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3i).....	64
Şekil 5.34. Bileşik 3i'ye Ait ¹ H-NMR Spektrumu.....	65
Şekil 5.35. Bileşik 3i'ye Ait ¹³ C-NMR Spektrumu.....	66
Şekil 5.36. Bileşik 3i'ye Ait Kütle Spektrumu	67

Şekil 5.37. <i>N</i> -(Benzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3j)	68
Şekil 5.38. Bileşik 3j 'ye Ait ¹ H-NMR Spektrumu	69
Şekil 5.39. Bileşik 3j 'ye Ait ¹³ C-NMR Spektrumu	70
Şekil 5.40. Bileşik 3j 'ye Ait Kütle Spektrumu	71
Şekil 5.41. <i>N</i> -(Benzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-(4-metoksifenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3k).....	72
Şekil 5.42. Bileşik 3k 'ya Ait ¹ H-NMR Spektrumu.....	73
Şekil 5.43. Bileşik 3k 'ya Ait ¹³ C-NMR Spektrumu	74
Şekil 5.44. Bileşik 3k 'ya Ait Kütle Spektrumu	75
Şekil 5.45. <i>N</i> -(Benzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-(4-nitrofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3l).....	76
Şekil 5.46. Bileşik 3l 'ye Ait ¹ H-NMR Spektrumu.....	77
Şekil 5.47. Bileşik 3l 'ye Ait ¹³ C-NMR Spektrumu.....	78
Şekil 5.48. Bileşik 3l 'ye Ait Kütle Spektrumu	79
Şekil 5.49. Hedef bileşiklerin sentezi.....	80
Şekil 5.50. Bileşik 3a 'nın AChE (PDB ID: 4EY7) enzim aktif bölgesine yerleşiminin üç boyutlu görünümü. Bileşik 3a turuncu ile renklendirilmiştir.	85
Şekil 5.51. Bileşik 3a 'nın AChE (PDB ID:4EY7) enzim aktif bölgesi ile etkileşiminin iki boyutlu görünümü	86

Şekil 5.52. Bileşik **3a** ve 4EY7 kompleksinin MD simülasyon analizi stabilite özellikleri (RMSD ve Rg) sırasıyla A ve B bölümü olarak sunuldu.. 88

Şekil 5.53. Bileşik 3a-4EY7 kompleksinin MD simülasyon analizi RMSF sonucu 89

Şekil 5.54. Bileşik 3a-4EY7 kompleksinin MD simülasyon analizi; (A) Etkileşim sayısı-kalıntı indeksi grafiği, (B) Simülasyon sırasında tortuya göre etkileşim fraksiyonları (mavi:su aracılı H-bağı; yeşil:H-bağı, pembe:iyonik etkileşim, mor:hidrofobik etkileşim), (C) Etkileşim güçlerinin şeması (%20)..... 91

KISALTMALAR DİZİNİ

A β	: Beta amiloid
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
AH	: Alzheimer Hastalığı
BChE	: Bütilkolinesteraz
CAS	: Katalik anyonik bölge
¹³ C-NMR	: Karbon nükleer manyetik rezonans
DMF	: Dimetilformamit
E.n.	: Erime noktası
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi
¹ H-NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
HRMS	: Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi
IC ₅₀	: %50 İnhibisyon konsantrasyonu
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
J	: Eşleşme sabiti
m/z	: Kütle/yük
MAO	: Monoamin oksidaz
MD	: Moleküler Dinamik
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NFY	: Nörofibriler yumak

NMDA : N-metil-D-aspartik asit

PAS : Periferik anyonik bölge

PSEN1 : Presenilin 1

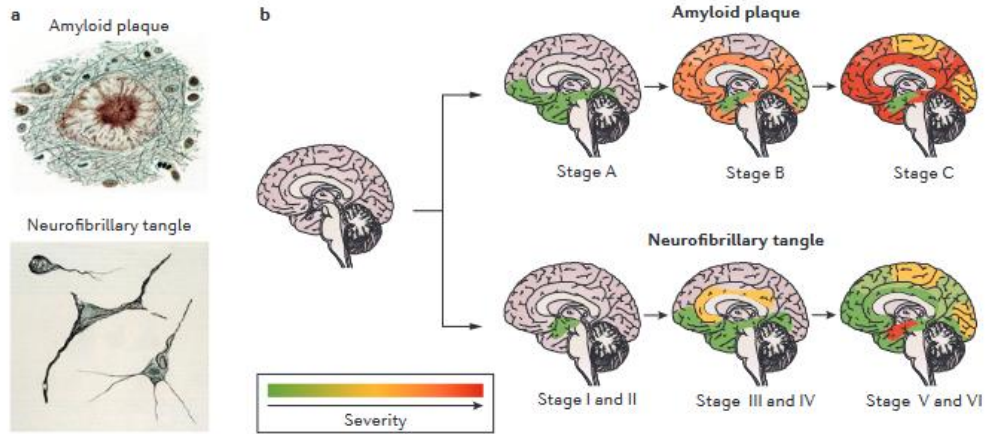
SP :Standart Prosedür



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer hastalığı (AH), bunamanın en yaygın şekli olup başlangıçta kendini bilişsel gerileme ile yavaş yavaş gösterip akabinde davranış, konuşma, görsel yönelim ve motor sistemini etkileyen ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır (DeTure ve Dickson, 2019). Semptomları ortaya çıkmadan 20 yıl veya daha önce ortaya çıktığı düşünülmektedir. Değişiklikler beyinde olduğundan fark edilmesi çok güçtür. Yıllar süren bu değişiminden sonra artık bireyler gözle görülür sorunlar yaşamaya başlarlar. Semptomlar, beynin düşünme, hafıza ve öğrenme ile ilgili kısımlarındaki sinir hücrelerinin hasar görmesi ya da yok olması ile ortaya çıkar. Hastalık ilerledikçe diğer kısımlarda da bu durum yaşanır ve bireyler yatağa bağımlı hale gelebilecek bir duruma gelebilir.

Alzheimer hastalığı son derece ölümcül bir hastalıktır (“2021 Alzheimer’s Disease Facts and Figures”, 2021). Serebral korteks ve hipokampüsün geniş alanlarını etkiler. Genellikle anormallikler ilk önce frontal ve temporal lobları içeren beyin dokusunda saptanır, sonrasında kişiden kişiye değişken oranlarda neokorteksin diğer kısımlarına ilerler (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Alzheimer hastalığının patolojik evrimi (Masters vd., 2015).

AH, hücre dışı boşluklardaki plaklarda çözünmeyen amiloid beta ($A\beta$) formlarının birikmesi ve nöronlardaki nörofibriler yumaklarda (NFY) mikrotübül protein taunun yığılması ile ilişkilidir (Masters vd., 2015). Klinik olarak AH, ailesel ve sporadik olarak iki bölüme ayrılır. Ailesel AH oran olarak daha az yer kaplayan kısmını oluşturur (Bateman vd., 2012). 1990’larda erken başlangıçlı ailesel AH’nin bağlantı analizleri,

amiloid öncü proteini (AÖP), presenilin 1 (PSEN1) ve presenilin 2 (PSEN2) olmak üzere üç gendeki mutasyonların ailesel AH'de yer aldığı belirlendi (Ertekin-Taner, 2007). Buradaki üç genden ayrı olarak, AH için 20 den fazla genetik risk lokusu tespit edilmiştir (Cuyvers ve Sleegers, 2016). AH için en güçlü genetik risk faktörü, apolipoprotein E'nin (APOE) E4 alelidir (P.-P. Liu vd., 2019). APOE geninin sırasıyla %8.4, %77.9 ve %13.7 frekanslarında E2, E3 ve E4 olmak üzere üç aleli vardır (Corder vd., 1993). Sporadik AH'nin ortalama başlangıç yaşı 80 olup AH vakalarının %95'inden fazlasını oluşturur. Altında yatan sebep ise A β peptidinin beyin dokusundan temizlenememesidir. Ortalama hastalık süresi 8-10 yıldır. Klinik semptomatik evrelerden önce tipik olarak yirmi yılı aşan klinik öncesi ve prodromal evreler gelir (Masters vd., 2015).

Kolinerjik hipotez (Davies, 1976) amiloid hipotezi, tau yayılma hipotezi (Frost vd., 2009) mitokondriyal kaskad hipotezi (Swerdlow ve Khan, 2004) kalsiyum homeostazi hipotezi (Mattson vd., t.y.), inflamatuvar hipotez (McGeer ve Rogers, 1992) nörovasküler hipotez gibi sporadik AH'nin nedenlerine ilişkin çeşitli açıklayıcı hipotezler mevcuttur (Iadecola vd., 1999). 2015 yılında dünya çapında demanslı olan insan sayısı 47,47 milyon olarak tahmin edilmekte olup 2030'da bu sayı 75,63 milyona ve 2050'de 135,46 milyona kadar çıkması beklenmektedir. Öngörülen artışların itici gücü nüfusun yaşlanmasıdır. Düşük gelir ve orta gelirli ülkelerde nüfusun yaşlanması daha hızlı gerçekleşmektedir. 2015'ten 2050 yılına kadar demanslı hasta sayısı Avrupa'da iki kattan daha az, Kuzey Amerika'da iki kat, Asya'da üç kat ve Afrika ve Latin Amerika'da dört kata kadar artması beklenmektedir. Demanslı kişilerin %37'si yüksek gelire sahip, %63'ü düşük ve orta gelire sahip ülkelerde yaşamaktadır (Hampel vd., 2018). AH'yi durduran bir ilaç mevcut olmasa da FDA (U.S. Food and Drug Administration) onaylı Asetilkolin esteraz (AChE) inhibitörleri olan galantamin, donepezil, rivastigmin ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti memantin, AH hastalığının semptomlarını gidermek suretiyle kullanılmaktadır (Özçelik vd., 2019).

Bu çalışmalar sonucunda 12 tiyosemikarbazon türevi yeni bileşikler tasarlanıp sentezlenmiştir. Bu tasarım sırasında AChE enzim aktif kısımları ile etkileşebilecek kısımlara uyumlu olmasına dikkat edilmiştir. Çalışmalar sonucunda sentezlenen bileşiklerin yapı tayinini HRMS, ¹³C-NMR ve ¹H-NMR spektroskopik yöntemleri ile ortaya çıkarılmıştır. Modifiye Ellman metoduyla aktivite çalışmaları *in vitro* ortamda

gerçekleştirilip, Schrödinger programıyla ise moleküler modelleme çalışmaları *in silico* olarak değerlendirilmiştir.



2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Alzheimer Hastalığı

2.1.1. Alzheimer hastalığının tanımı ve patalojisi

AH merkezi sinir sisteminin (MSS) nörodejeneratif bir hastalığıdır. Bilişsel işlevlerin yanında hafızada ilerleyici bozukluklar ve günlük yaşamı sürekli etkileyen özellik kayıplarıyla karakterize edilmektedir. MSS'de hiper-fosforile tau ve beta-amiloid (A β) plaklarının birikmesi patofizyolojik yanını açıklamaktadır. Alzheimer hastalarının birçoğunun patogeneğinde A β 'nin yetersiz olarak uzaklaştırılması, aşırı A β üretiminden daha çok önem arz etmektedir. Bu tür hastalıklarda sinaps kaybı ve akabinde nöronal ölümün derininde yatan mekanizma sinaptik kompartmanlarda lokal olarak ortaya çıkan apoptozisdir (Özçelik vd., 2019).

AH 'nin tanısı, lezyonların yoğunluğu, morfolojisi ve topografik dağılımındaki tanı, nöropatolojik değişiklikleri saptayabilen boyama yöntemleriyle kullanan beyin bölgelerinin mikroskopik incelemesi ile yapılması veya daha doğrusu bulunması mümkündür (Humphreys vd., 1994). Hücre dışarısında amiloid plak ve hücre içerisinde NFY varlıkları gereklidir. Bunların yanında, distrofik nöritler ve tau-pozitif nöropil iplikleri, aktive edilmiş reaktif astrositler ve mikroglia tespit edilebilmektedir. Bunlara ek olarak eozinofilik granülovakuolar dejenerasyon (GVD), hirano cisimcikleri ve serebral amiloid anjiyopati de olması yaygındır. Bulunan lezyonların sonucu, en yaygın olarak AH ile ilişkili semptomlara sebep olan hassas kısımlardaki nöronların ve sinapsların kaybıdır. Kanıtlar, beyindeki yapısal değişikliklerden on yıllar önce amiloid birikimi ve tau patolojisinin, gelebileceğini düşündürmektedir (Jack vd., 1999).

2.1.1.1. Amiloid Plaklar

AÖP'nin β ve γ sekretazlarla anormal bir şekilde işlenerek, üretim ve klirens yolunda dengesizlikler sonucu A β 40 ve A β 42 peptitlerinin hücrenin dışında birikmesi ile oluşur. Peptitler, büyük oranda fibrilojenik beta kıvrımlı tabaka yapısına katlanır. A β filamentler, ışığa maruz kaldığında kongofilik boyaları bağlar ve amiloid polarize çift kırılma üretir. A β 42 en fibrilojenik olandır ve AH'deki amiloid plaklarının en baskın bileşenidir (Masters vd., 2015).

AH'de yaygın olarak gözlemlenen iki tip amiloid plak bulunmaktadır. Bu plaklar yaygın plaklar ve yoğun çekirdek plaklardır. Yaygın plaklar nöropilde oluşur ve

thioflavin S, diğer amiloid bağ yapıcı boyalarla (örn., Kongo kırmızısı) zayıf olacak şekilde boyanır, yoğun çekirdek plaklarında ise yoğun retiküler veya yayılan kompakt yoğun amiloide sahip olup ve thioflavin S floresan mikroskobu ve Kongo kırmızısıyla yoğun biçimde pozitiftir, bu da fazla fibriljenik A β formları içerdiğini düşündürmektedir (Thal vd., 2006).

2.1.1.2. Nöritik Plaklar

Tau-pozitif nöritlerini içeren çekirdekli nöritik plaklar genelde merkezi yoğunlukta amiloid zonuna sahip ve kompakt bir çekirdek oluşturabilir. Yoğun olan çekirdek, yayılan A β fibrilleri bazen gösterip plağın periferik bölgelerinde, aktive edilmiş mikrogliaların ve distrofik nöritlerin yoğunlaştığı yerler olarak görünür. Bu durumda A β 'nin nöronal dejenerasyon ve bilişsel gerilemesine sebep olur (Perl, 2010).

Yeni yapılan bu çalışmalarda, hücre kültürü içeren modelide eksojen A β fibrillerinin ölümüne ayrıca membran bütünlüğünün bozulmasına yol açtığını görülmektedir (Han vd., 2017).

2.1.1.3. Nörofibriler Yumaklar (NFY) ve Nöropil İplikleri

NFY'ler ilk olarak, nöronların hücre yüzeyi yakınlarına kalınca demetler oluşturan “nörofibriller” şeklinde tanımlanmıştır. AH'nin nöropatolojik tanısında, amiloid plaklarla beraber özellikle çekirdekli nöritik plaklar ve filamentli tau proteinlerini içeren NFY'lerin olmasını gerektirir. İkinci olarak lezyonların bilişsel bozulma ve amiloid birikintilerinden daha iyi korele olabildiğini gösteren kanıtlarda vardır (DeTure ve Dickson, 2019).

2.1.1.4. Granülovakuolar Dejenerasyon (GVD)

1911'de Simchowitz ilk olarak GVD'yi tanımlayabilmiştir. Her biri tipik yaklaşık olarak 1 μ m çapında küçük, yoğunca bazofilik granül içeren, 2 ile 4 μ m çaplarında küçükçe vakuollerin intranöronal kümesinden oluşmakta ve tam olarak anlaşılmayan bir lezyondur. Yapılar öncelikle hipokampusta birikip, ardından entorinal kortekste ve temporal neokortekste son olarak talamus, amigdala, singulat girus ve assosiasyon kortekslerinde birikmektedir (Thal vd., 2011).

2.1.1.5. Hirano Cisimleri

Hirano cisimleri Guam hastalarındaki Parkinson hastalığı komplekslerine ilk olarak, GVD'lerin ve NFY'lerin varlıklarında bulunan, fakat amiloid plağının bulunmadığı eozinofilik intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri olarak tanımlanabilmiştir. Çubuk benzeri inklüzyonlar, nöronal dendritlerde bulunup, aktin ve F aktin bağlayıcı proteinlerce zengindir. Hematoksilin ve eozin boyama aracılığıyla görülebilir. Orta ve yaşlı normal bireyler ve AH'ye ek olarak bazı bozukluklarda bildirilmiştir (Hirano, 1994). En çok hipokampusun CA1 kısmında görülürler. AH'de normal kontrollere nazaran sık ve çokturlar. Yakın zamanlarda ise mutant aktin bağlayan proteinleri eksprese edebilen hayvan modelleriyle hirano cisimlerde azalmış uzamsal çalışma belleği ve bozulmuş sinaptik tepkilerle ilişkili olduğunu öne sürmüştür (Furgerson vd., 2014).

2.1.1.6. Sinaptik Kayıp

Limbik sistem ve neokorteksdeki sinaptik bir hasar hafızanın bozulmasına sebep olur. Genellikle hastalığın erken evrelerinde görülmektedir. Sinaptik kayıp mekanizmaları, mitokondriyal hasar, aksonal taşıma, oksidatif stres ve sinaptik bölgelerdeki tau ve A β birikimi gibi fraksiyonlara katkıda bulunan diğer süreçlerde olabilen kusurları içermektedir. Bu süreçler aksonal distrofinin, pre-sinaptik uçların ve dendritik dikenlerin kaybına yol açmaktadır (Overk ve Masliah, 2014).

2.1.1.7. Alzheimer Hastalığı Patogenezi

En yaygın olarak yaşın en büyük etkenlerinden biri olduğu, geç başlangıçlı karakterizasyonunda AH demansı, klinik olarak diğer bilişsel işlevler ve ilerleyici hafıza kaybı vardır. A β anormallikleriyle doğrudan bağlantılı hastalığın erken başlangıçlı otozomal dominant formları aksine, patofizyolojik olaylar dizisi geç başlangıçlı hastalıkta tam anlamıyla anlaşılammıştır. Güncel kanıtlar, geç başlangıç gösteren hastalığın, çeşitli moleküler yollar arasında anormal etkileşimi içeren grift poligenik olan hastalık olduğunu göstermektedir. İlerleyici yaşın güçlü risk faktörü olduğu görülmüş ve kanıtlanmıştır (Hebert vd., t.y.). Arkasından APOE4 alleli (C.-C. Liu vd., 2013), yaşam tarzı ve kardiyovasküler hastalıklar risk faktörlerindedir (De Bruijn ve Ikram, 2014). Alzheimer hastalığının nöropatolojik özellikleri olarak, NFY'lerde hiperfosforile tau ve plak kısımlarında A β ve gibi normal olmayan proteinlerin

birikimini içerir, böylece büyük sinaps, dendrit ve sonucunda nöron kayıplarına yol açmaktadır.

Araştırmaları sonucu, hastalığın ilerlemesini ve klinik belirtilerinin değiştirilebilmesini, durdurabilmek veya geciktirebilmek için müdahalelere yönlendirme olmuştur (Hampel vd., 2018).

2.1.1.8. Kolinerjik Hipotez ve Nörotransmisyon

2.1.1.8.1 Kolinerjik Hipotez

Asetilkolin, önemli bir nörotransmitter olup; korteks ve bazal ön beyin, bazal ganglionlar boyunca aktivasyona sahiptir (Mesulam, 2013). Peter Davies ve AJF Maloney Kolinerjik hipotezi 1976 yılında önermiştir (Davies, 1976). AH'nin nöropatolojik tanı ve teşhisini değerlendiren çalışmalarda, hastalığın prodromal veya asemptomatik evrelerinde çıkan kolinerjik lezyonun, postsinaptiğe nazaran esasen presinaptik olduğunu göstermiştir. Farklı deyişle, kolinerjik kayıp, Meynert'in nükleus bazalisi kolinerjik nöronlar ve serebral kortekse yansıtılan aksonların dejenerasyonuna dayandırılmaktadır. Kolinerjik lezyonların parçası olarak, muskarinik reseptörler ve serebral korteksin nikotinik reseptörleride değişikliğe uğramaktadır. Çalışmalar, serebral korteksin nikotinik reseptör kaybı yaşadığını göstermektedir (Nordberg ve Winblad, 1986).

Serebral korteksin muskarinik reseptörleriyle alakalı olarak, muskarinik reseptörlerin (çoğunlukla postsinaptik) azalmaması, bu duruma nazaran M2 reseptörlerin (çoğunlukla presinaptik) azalmasıyla dikkat çekmiştir (Mash vd., 1985). Bunlarla beraber, kalan postsinaptik M1 reseptörleri için işlevsiz olma gibi kanıtlar bulunmaktadır (Jiang vd., 2014). Bu nedenden ötürü, bazal kolinerjik olan nöronların progresif kaybı, serebral korteksle, hipokampus ve amigdalada sonra anterograd kortikal kolinerjik deafferentasyonuyla mühim bir nörokimyasal olay temsil edilmektedir (Sassin vd., 2000). Belirtilmiş olduğu üzere, çoğunlukla korunuyor olan M1 reseptörleri aksine, kortikal olan nikotinik reseptör kaybı bulunmaktadır. Postsinaptik a7 nikotinik reseptörü, öğrenme ve hafızanın bileşeni olan hipokampal uzun vadede güçlenmeye katkıda bulunmakta olan nöronal ateşleme oranını yükseltir (Francis vd., 2010).

Bu sebeple, hastalıkta değişen nikotinik ve muskarinik reseptör dağılımının paternleri, sinaptik fizyolojide oluşan bozulmalar yolu ile serebral korteks ve limbik bölümlerin birden fazla fonksiyonunu etkilemesi olağandır (Ikonovic vd., 2007).

AH'nin kolinerjik lezyonları, kortekste ve limbik alanlarda sinaptik iletimi bozar ve bu duruma ek olarak, nöroplastisitenin de birçok yönünü ayrıca serebral hemodinamik süreçlerinide etkileme durumuna sahiptir (Hampel vd., 2018). Ana patolojik özellikler için bakmak gerekirse sadece A β plakları ve NFY'ler olmakla beraber, değişmiş insülin direnci, nöroinflamasyon, oksidatif stres ile serebrovasküler anormallikler bulunmaktadır. Bu işaretlerin kolinerjik lezyonlar ile karmaşık ve karşılıklı etkileşimleri vardır. Önceden yapılmış olan ölüm sonrasındaki çalışmalarda, kortikal kolinerjik innervasyon kayıplarının, Meynert'in nükleus bazalisinde bulunan NFY ile alakadar olduğunu göstermiştir (Braak ve Del Tredici, 2013). Ön beyin kolinerjik nöronları, NFY oluşumuna ve nörofibriler dejenerasyona en duyarlı hücre gövdeleri arasında bulunmaktadır (Mesulam, 2013). Kolinerjik anormalliklerin A β patolojisiyle arasında köklü ilişkiler bulunmaktadır. Enzim kolin asetiltransferazın azalan aktivasyonunun AH olanların ölümden sonra beyinde artış yapan nöritik plakla ilişkilendirilmiştir (Perry vd., 1978). Hayvan deneylerinde, kolinerjik tüketimin, A β birikmesine ve tau patolojisinde bilişsel bozulmalara katkıda bulunduğu yinelenmektedir (Ramos-Rodriguez vd., 2013). AH hastalarından beyin sistematik biyokimyasal incelemesi sonucunda, normal beyinle karşılaştırılır ve serebral kortekstele beraber tüm alanlarda asetilkolinesteraz aktivitesinde miktarca azalma olduğu görülmüştür (Davies, 1976). Bowen ile çalışma arkadaşları 1976'da ölüm sonrasında insan beyin dokusunun serebral korteksine bakılınca kolin asetiltransferaz aktivitesinde azalma olduğu bildirmiştir (Bowen vd., 1976).

İn vitro çalışmalarda, A β peptidiyle kolinerjik sinir iletimi inhibe edildiği görülmektedir (Kar vd., 2002). Diğer çalışmalar ise, presinaptik kolinerjik terminaldeki nikotik ile muskarinik asetil kolin reseptörlerinin sayısında yaşanan azalmanın bilişsel işlevide azalttığını göstermiştir (Whitehouse vd., 1988). Hastalardan alınan biyopsi dokusunda ölüm sonrası beyin dokuları ile biyokimyasal araştırmada, kolin asetiltransferaz aktivitesi, asetilkolin sentezin, kolin alım ve asetilkolin salınımlarında iyi bir oranda azalma olduğu görülmüştür (Barage ve Sonawane, 2015). Ayrıca, yaşlı olan insanlarda güçlü antikolinerjik ilaca maruziyette artan demansın riskleri arasında ilişkiler bulunmuştur (Coupland vd., 2019). Donepezil, rivastigminle galantamin dahil üç asetilkolinesteraz inhibitörü, tedavi için FDA' dan olur alabilmiştir. Nikotik ile muskarinik asetilkolin reseptör agonistleride kolinerjik sinir iletimini artırma üzerindeki etkilerini değerlendirebilmek adına klinik deneylere sokulmuştur (Ju ve Tam, 2022).

2.1.1.8.2 AH'de Glutamaterjik Nörotransmisyon

Beyinde bulunan birincil uyarıcı nörotransmitter glutamat, glutaminaz aracılığı ile glutaminden üretilir, gamaaminobütirik asidin (GABA) ise öncüsüdür. Beyinde bolca bulunan L-Glutamat, serbest amino asitin ve omurgalı merkezi sinir sisteminin (MSS) başlıca uyarıcısı olan nörotransmitterdir. Öğrenme ve hafızanın oluşumunda büyük oranda önemli olduğu bilinen uzun vadeli güçlenmelerde glutamaterjik nörotransmisyon başrollerden birini oynamaktadır (Granger vd., 2013). Glutamat reseptörleri, G proteinine bağlı olan metabotropik glutamat reseptörleri ile ligand kapılı iyonotropik glutamat reseptörleri olan iki aileden oluşur (Reiner ve Levitz, 2018). Metabotropik glutamat reseptörleriyle glutamat bağlanması sonucunda, inositol fosfat üretimi ve hücreler iki çoklu sinyal yoluna etki eden ikinci mesaj sinyalleşmesine yol açmaktadır. İyonotropik glutamat reseptörleriyle glutamatın bağlanmasıyla hızlı uyarıcı akımlar üretilir. AMPA reseptörleri ile kâinat reseptörleri, fazlaca artan glutamat konsantrasyonlarında hızlı reseptörlerdir. AMPA Na^+ ile Ca^{2+} için geçirendir. Kâinat reseptörleri Na^+ ve K^+ için esasen geçirgen olmaktadır., AMPA ve kâinat reseptörlerine göre NMDA reseptörleri daha da yavaş olan bir aktivasyon ve çok daha yüksek Ca^{2+} geçirgenliği sergilmektedir. Glutamat, NMDA reseptörleri üzerine bağlanan reseptör ko-agonistiyle beraber, reseptör kanallarının (Mg^{2+}) iyonları bloğunu serbest hale getirebilmek için çok güçlü postsinaptik membran depolarizasyonu ile birleşir. Açılan bu NMDA reseptörleri, uyarıcı postsinaptik akımlara yol açan Na^+ , K^+ ile Ca^{2+} 'nın hücre iç kısmına geçişine izin verir. Hipokampusta AMPA reseptörleri ve NMDA reseptörlerinin aşağı regülasyonu ile beraber sinaps kayıpları ile glutamaterjik işlev bozuklukları görülmüştür (Jacob vd., 2007). Glutamaterjik sinyallemede uygun olmayan aktivasyon eksitotoksitesiyle sonuçlanır (Rudy vd., 2015).

Bu teoriyle, rekabetçi olmayan NMDA reseptör antagonisti görevi yapan memantin, klinikte orta şiddetli olan AH tedavisi için geliştirilip onay alınmıştır. Glutamat salınımında azaltmaya gidilmesi yolu ile nöroprotektif etki verebilmek adına AH ilaç geliştirme klinik deneylerde de ajanlar bulunmaktadır (Ju ve Tam, 2022).

2.1.1.8.3 AH'de GABAerjik Nörotransmisyon

Memeli merkezi sinir sistemindeki GABA, başlıca inhibitör nörotransmitterdir. Beyinde uyarıcı ve engelleyici dengenin sağlanmasında önemli rol oynamaktadır (Smart

ve Stephenson, 2019). Araştırmalar, GABAerjik yapılanmanın hastalığın patogenezinde katkıda bulunduğunu öne sürmüştür (Govindpani vd., 2017).

Presinaptik nöronlarda bulunan GABA, veziküler GABA taşıyıcısı aracılığıyla sinaptik veziküller kısmında toplanır. Sinaptik aralığa salınımının ardından, inhibitör postsinaptik potansiyeli oluşturabilmek adına ya iyonotropik GABAa reseptörlerine veya postsinaptik zar üstünde bulunan metabotropik GABAb reseptör kısmına bağlanır. GABA sinaptik yarıktan temizlenerek zara bağlı farklı GABA taşıyıcılarının aracılık yaptığı nöronlar ve astrositler tarafından alınır. Astrositlerde GABA, GABA transaminaz ve süksinat semialdehit dehidrojenaz tarafından çift aşamalı bir reaksiyonda süksinat için katalize edilir. Süksinat glutamat üretebilmek için trikarboksilik asit döngüsüne geri döndürülür, sonra ise glutamin sentaz aracılığı ile glutamine dönüştürülür.

Glutamin sonrasında astrositlerden salınarak ve presinaptik nöronlara taşınmış olur. GABA'nın GABAa reseptörlerinin ortosterik kısmına bağlanmasıyla, Clakışı arkasından hiperpolarizasyon ile inhibisyonu tetikler [51]. GABA'nın GABAb reseptörlerinde ortosterik kısmına bağlanmasıyla da, birleştirilmiş G proteininin ayrışır, arkasından presinaptik Ca²⁺ giriş kanalı inhibisyonu ve postsinaptik K⁺ akış kanalı için aktivasyona yol açar. Ayrıca hücre içi siklik AMP seviyesi bu ayrışmada azaltabilir. Siklik AMP sinyali ise, uyarıcı glutamaterjikle kolinerjik sinaptik plastisiteyi düzenler (Terunuma, 2018). Uyarıcı ve engelleyici dengenin beyin salınımları için gerekli olduğu ve fonksiyonel salınımın bozulmasının hafıza açıklarına sebep olduğu bulunmuştur (Missonnier vd., 2020). GABAerjik disfonksiyonun epilepsi ve status epileptikus gelişiminde rol alıyor gibi bir durum öne sürülmüştür (Jonesdavis ve Macdonald, 2003). Dolayısıyla gelişmiş ve gelişen GABAerjik inhibisyonu hedeflemenin tedavi için değerli terapötik bir seçenek olabileceği varsayılmıştır. Anti-epilepsi etkinliği olan ajanlar klinik deneylerde de yer almıştır (Xu vd., 2020).

2.1.1.8.4 AH'de Monoaminerjik Nörotransmisyon

Monoaminerjikteki eksikliklerin dopaminerjik ile noradrenerjik ve serotonerjik nörotransmisyonların AH'de görüldüğü öne sürülüp bildirilmiştir. Monoamin nörotransmitterleri, postsinaptik zarda karşılık bulan reseptörlere bağlanıp işlevlerini yerine getirirler. Dopaminerjik eksiklik en fazla rijidite, istirahat tremoru, bradikinezi ile

Parkinson hastalığında görülmüştür (Cacabelos, 2005). Bilişsel bozukluğu veya hafif AH'si olan hastaların %50'si ve üzeri bazal ganglionlarda rijidite, istirahatte titremeye, Parkinsonizm teşhisi konulmuştur (Sasaki, 2018). Dopaminerjik eksiklik, hastalarda bilişsel işlev bozukluklarıyla anlamlandırılmıştır (Cordella vd., 2018). Dopaminerjik disfonksiyonun ise AD'deki nöropsikiyatrik belirtilerden sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Dopamin agonistleriyle beraber dopamin geri alım inhibitörleri, AH'deki birçok semptomu iyileştirmek için klinik deneylere sokulmuştur (Mitchell vd., 2011). AH'deki bilişsel bozukluğun şiddetiyle ilişkili nöron kayıpları ve Locus coeruleus gibi noradrenerjik nörodejenerasyona ait raporlar tutulmuştur.

Bilişsel bozulmalar, yaşlanma ve AH'de locus coeruleus tauopatisiyle korelasyon görülmüştür (Grudzien vd., 2007). Beyin norepinefrin seviyelerinin yükselmesi, AH hayvan modellerinde vadesi uzun güçlenme eksiklikleriyle, bilişsel düşüşler ile nöroinflamasyon gibi AH işlev bozukluğunu tam tersine çevirebilir. Bu sebeple, Locus coeruleus noradrenerjik sistem bilişsel işlevi sürdürürebilmek için gereklidir ve AH'de bilişi iyileştirmeyi hedef olarak koyabilir. Normal olarak noradrenerjik sinir iletimlerini sürdürürebilmeyi amaçlayan ajanlar, AH tedavisi için klinik deneylerde görülmektedir (Ardestani vd., 2017).

Hem AH hastaları hem de AH hayvan modelleri üzerine kapsamlı olarak serotonerjik denervasyonla serotonerjik değişiklikler gözlenmiştir. Tüm bunların AH patogeneziyle ilişkili olduğu görülmüştür (Ouchi vd., 2009). Serotonin geri alım inhibitörleri ya da serotonin reseptör agonistleri ya da antagonistler aracılığıyla serotonerjik fonksiyon restorasyonu ile davranışsal ve bilişsel belirtileri modüle ettiği kanıtlanabilmiştir. Bu sebepten, serotonerjik sistemi hedefleyerek, AH semptomları tedavisi için umut verici yaklaşımlar söz konusu olacaktır. AH tedavisine uygun ve yönelik çalışmalarda serotonerjik sistemleri hedef alan ajanlar bulunmakatadır (Bostancıoğlu, 2020).

2.1.1.8.5 AH'deki Diğer Nörotransmisyonlar

Kannabinoid sinir iletimiyle oreksinerjik sinir iletimi gibi diğer sinir iletileri motor öğrenme ile nöropsikiyatrik yönlerde bulunur. KB¹ reseptör aktivasyonu ile hücre içi Ca²⁺ konsantrasyonunun, glutamat salınımı, nörotrofin ekspresyonu ile nörojenezini düzenlediği ortaya kondu. KB₂ aktivasyonu ise, mikroglia sitokin salınımı yapmada rol oynar ve AH'nin inflamatuvar patolojisinde öne sürülmüştür. Oreksin

nörotransmitteri, uyanıklık, iştah ve ruh halini düzenleme işlevlerine sahiptir. Araştırmalar, oreksinerjik sinyal aktivasyonuna sahip olmasıyla uyku-uyanıklık döngülerini değiştirebildiğini, A β ve tau patolojisinin yardım ettiği nörodejenerasyonu indüklediğini ileri sürmüştür. Bu sebeptendir ki, klinik çalışmalar AH'deki semptomları kannabinoid ve oreksin ile ilgili çalışmalar görülmektedir (Liguori, 2016).

2.1.1.9. Tau-Proteini Hipotezi

AH nöropatolojik olarak, tau proteinleri ile oluşum yapan intranöronal nörofibriler lezyon varlığının olmasıyla tanımlanmıştır (Barage ve Sonawane, 2015). Mikrotübülle ilişkili proteinler ailesine ait olan tau proteinleri esasen nöronlarda bulunur (Tucker, 1990). Erişkin beyinde, kromozom 17'ye ait uzun kolda yer alan tek bir genden alternatifçe eklemeler yolu ile türetilen tau proteinlerinde altı adet izoform tanımlanmıştır (Andreadis ve Brown, t.y.). Mikrotübül oluşumlarında ve nöronal mikrotübül ağlarının stabilizasyonunu korumada önemli olarak bulunmaktadır (Lee vd., 1989). Tau proteinindeki en ilginç özellik ise proteinin karboksi terminal yarısında yer alan 18 amino asidin büyük oranda korunuyor veya dört defa tekrar eden bir mikrotübül bağlanma kısmının varlığıdır. Buradaki mikrotübül bağlanma kısmı, mikrotübül polimerizasyonu ve stabilizasyonu ile alakalıdır. Tau'nun amino terminal kısmı, asidik amino asitlerden ve projeksiyon alanı şeklinde adlandırılan bazik proline zengin bölgeden oluşur. Projeksiyon alanı, plazma zarıyla hücre iskeleti elamanları etkileşime girebilmektedir (Brandt vd., 1995). Bu proteinin fosforilasyonu, süreç olarak fetal evreden sonra erişkin evreye kadar gelişimsel bir şekilde düzenlenmektedir. Olgunlaşmamış bir beyinde tau proteini, en kısa izoformlarda olan altıncı ve sekizinci bölgede fosforile edilmiş olur, oysa olgunlaşmış beyinde altı tane izoformda iki ya da üç fosforilasyon bölgesi mevcut görünmektedir (Ksiezak-Reding vd., 1992). Tau proteininin mikrotübülleri bağlayabilme kapasitesi, treonin-serin fosforilasyonunu modüle ederek translasyondan sonra etkili bir biçimde düzenlenebilmektedir. Tau'nun mikrotübül bağlanabilme bölgesi, serin ve treonle dört dizi tekrardan sonra hemen arkasından prolin oluşur. Bu amino asitlerin aktive edilişi glikojen sentaz kinaz 3, mitojenle aktive olan protein kinaz aracılığı ile hiperfosforile şekindedir. Aynı şekilde, Akt, Fyn ve mikrotübül afinite düzenleyici kinazlar proline ve bunun gibi elik olmayan kinazlarda tau proteininin hiperfosforilasyonunda kendini göstermektedir. Tau'nun hiperfosforilasyonu, mikrotübüllere karşı afinitesinde azaltma göstermektedir

(Mazanetz ve Fischer, 2007). Patolojik durumlar altında, sitozolde hiperfosforile olmuş tau proteinlerinin seviye ölçümlerinde anormal olarak artış gözlemlenmiştir (Kuret vd., 2005). Hiperfosforile olmuş tau proteinleri, NFY sarmal filamanlar ve düz filamanlar şeklinde polimerize edilmiştir (Köpke vd., 1993). Normal olmayan biçimde hiperfosforile halinde tau proteininin yığılımı, NFY'lerde tek değil, aynı zamanda da AH beyninin sitozolünde bulunmaktadır. Normal tau fonksiyonlarının kayıpları ile hücre iskeletinin düzenleyici ve yapısal fonksiyonlarında patolojik bozulmalara yol açabilmektedir. Durum olarak, mevcut morfolojinin korunabilmesi, aksonal taşıma, nörodejenerasyon ve sinaptik fonksiyon bozukluğu gibi nöronların normal olan hücresel fonksiyonlarında etkilemektedir (Roy vd., 2005). Genetik çalışmalarda görünen, tau geninde bulunan mutasyonların, kromozom 17'yle beraber bağlantılı frontotemporal demansa ayrıca parkinsonizme sebep olduğunu göstermektedir (Poorkaj vd., 1998). Hızlı fibrilizasyona uğrayan, frontotemporal demansla parkinsoniz-17 vakaları, hiperfosforile tau'lu filament içeren kapanımlar göstermektedir (Nacharaju vd., 1999). Mutant olan tau proteini çok basit bir şekilde fosforile olmakta ve defosforilasyona az eğilimli olmaktadır. Bu duruma bağlı olarak mikrotübül bağlama özelliklerinde bozulmalara yol açmaktadır (Dayanandan vd., 1999). Tau hiperfosforilasyonu ile tau kinazların ve tau fosfatazların düzenlenmesi birbirleriyle ek ilişkiler gözlemlenmiştir. Siklik AMP'ye GSK-3 β , CDK, bağımlı protein kinaz ve stresle protein kinaz gibi birkaç tau kinazı, tau'yu *in vitro* şekilde fosforile edebilme yeteneğine sahiptir (Ferrer vd., 2005). Bu sebeple, tau hiperfosforilasyonu ile sorumlu kinazların inhibisyonu, tau birikimlerini blokeleyebilmek adına strateji olarak görülmektedir.

2.1.1.10. Amiloid Kaskadı Hipotezi

İlk olarak 1991 senesinde John Hardy ile beraber David Allsop önemiştir (Hardy ve Allsop, t.y.). Bu hipotezde, hastalıktaki nörodejenerasyonun, beynimizin çeşitli bölgelerinde bulunan A β plakların anormal olarak birikmesi öne sürülmektedir. A β plaklarındaki birikimin hipoteze uygun olarak, nöritik hasarları barındıran bir kaskada patolojik tetikleyici görevi görmekte, tau proteini aracılığıyla NFY oluşumları AH'de nöronal fonksiyon bozulmalarına ve hücrenin ölümüne sebep olmaktadır (Barage ve Sonawane, 2015). Genetik ve patolojik kanıtlarda, A β plaklarının birikmesi, agregasyonun hastalığın ilk sebepleri olduğu hipotezini destek (Kayed vd., 2003). Temel proteinli bileşen olan A β peptidlerinden A β plakları oluşur (Masters vd., 1985).

A β peptitleri, yaygın olarak dağılmış β sekretaz ve γ -sekretazın sıralı enzimatik etkilerinden proteolitik olacak şekilde türetilen 39-43 amino asit kalıntılı peptit olarak bilinir (Coulson vd., 2000). Sağlıklı olan nöronlarda, üç adet alana sahip AÖP iki tane yöntem ile hidrolize edilmektedir. İlk olan yöntem α yolundan geçmektedir. AÖP, α - sekretaz arkasından γ -sekretaz aracılığıyla hidrolize edilmektedir, bu süreçte çözünemeyen A β üretmez. İkinci olan yöntem β yolundan geçmektedir. AÖP, β - sekretaz ardından γ -sekretaz aracılığıyla hidrolize edilmekte ve çözünmeyen A β üretilmektedir. A β peptitleri birleşerek toplanır ve hücre için bozulan A β plaklarını oluşturmaya başlar (Salehi vd., 2004). Yüksek konsantrasyona sahip ise A β proteini olgunlaşmış nöronlara nörotoksiktir, bunlar dendritik ve aksonal atrofiye sebep olurken nöronal ölüme kadar gitmektedir (Yankner vd., 1990). Çözünmeyen A β seviyelerinin sebebi bilişin azalmasıyla ilişkilidir (Wang vd., t.y.). A β , in vivo şekilde hipokampal uzunca süreli güçlenme durumunu inhibe etmektedir (Walsh vd., 2002). A β plakları olduğu zaman, hücrede minimum üç temel soruna sebep olabilirler. A β plakları iki tane sağlıklı olan nöron arasına yerleşebilir ve bu plaklar arasındaki sinyal süreçlerini bozabilir (Salehi vd., 2004). Nöronlar sinyal gönderemediğinde, beyin hasar görecektir ve hafıza işlevlerini ve buna benzer bazı işlevlerini kaybedecektir. Ayrıca ek olarak bir bağışıklık tepkisi şeklinde A β peptitleri, çevresindeki nöronlara zara ve hasar verebilecek iltihaplanmalara yol açabileceği bildirilmektedir (Walsh vd., 2002). A β plakları anjiyopati olarak bilindiği kan damarlarının da dış tarafında birikebilir. Anjiyopati sonucunda kanama ya da damarın yırtılması gibi durumlara neden olabilmektedir (Ashrafian vd., 2021). Dağınık plak oluşumu ve A β birikimi bölgesel mikroglyal aktivasyona, sitokin salınımlara, reaktif astrositoza yanıtı yol açmaktadır. Ayrıca AH'de sinapların kaybı, nöron kayıpları ve yaygın serebral atrofiyle karakterize olan çevreli aksonlar, dendrit ve nöronal hücre gövdelerindeki birçok yönlü biyokimyasal olan ve yapısal değişikliklere sebep olmaktadır (Barage ve Sonawane, 2015). Yapılan genetik tüm çalışmalar, ailesel hastalıkla ilişkili gen mutasyonlarını anlayabilmek adına önemlidir. Bunlara ek olarak çalışmalar, geç başlangıçlı ailesel AH için doza bağımlı risk faktörü olabilen APOE geni E4 alelini tanımlamıştır. APOE, A β peptit agregasyonunda artış yapmakta beynin temizlenmesini bozmaktadır (Saunders, 2000).

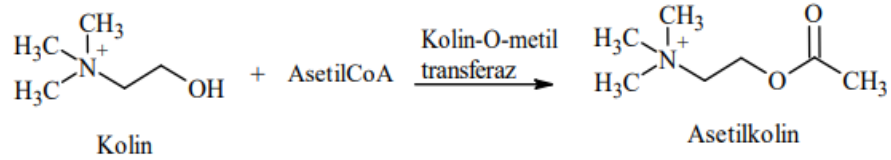
2.1.2. Alzheimer hastalığının tedavisi

AH'nin kronik ve derin etkilerine nazaran, bulunan tedaviler tam olarak terapötik etkiler elde edememekte ve hastalığın ilerlemesini maalesef durduramamaktadır. Bugün, FDA tarafından AH için beş ilaç onay almıştır: rivastigmin, donepezil, takrin, galantamin ve memantin. Bu ilaçlardan ilk dördü asetilkolinesteraz inhibitörlerine ait olup (AChEI'ler), sonuncusuysa bir NMDAR antagonistidir (Kevadiya vd., 2019).

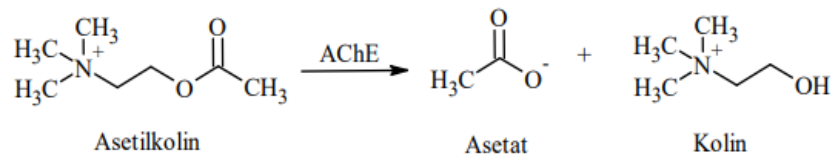
2.1.3. Asetilkolinin mekanizması

Kolin-O-metiltransferaz enzimi yardım ve aracılığıyla Asetil-CoA ve kolinin sentezlenmesi ile veziküller halinde presinaptik terminalde paketlenmektedir. Aksiyon potansiyeli presinaptik nöronun terminaline ulaştıktan sonra, voltaj kapılı olan Ca^{+2} kanallarının açılımı tetiklenir. Ca^{+2} iyonları, sinaptik boşluğa ekzositoz aracılığıyla vezikülleri ACh'yi serbest hale geçirmek için uyarır (Şekil 2.1).

Sinaptik boşluğa geçen ACh postsinaptik reseptörlere bağlanıp aktive ederek hücrenin depolarize olmasını sağlar (Şekil 2.2.). Aynı anda AChE ACh'yi kolin ve asetata hızla hidroliz edip, deaktive hale getirir, sinir impulsu daralır. ACh'nin resentezi için Kolin hücreye presinaptik terminal tarafından yeniden alınır (Shen vd., 2002).



Şekil 2.1. Asetilkolin sentezi



Şekil 2.2. Asetilkolin hidrolizi

2.1.3.1. Asetilkolinesteraz (AChE) enzimi

Kolinergic sinir sisteminde bulunan AChE, merkezi sinir sistemi ile beraber periferik sinir sisteminde içeren enzimlerden bir tanesidir. Eritrositlerde, kolinergic

nöronlarda plazmadave nöromusküler kavşak postsinaptik uç kısmında çok yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır (Islam ve Tabrez, 2017). AChE, 15 α -heliks yapısıyla çevrili, büyük çoğunluğu β yapraklarından oluşur. Üç boyutlu yapısı 1991 yıllarında *Torpedo californica* da yapılan X-ışını analiz yöntemiyle belirlenmiştir. Bu yapının keşfedilmesi ACh için protein bağlama cebinin görsele dökülmesine olanak sağlamıştır (Massoulié vd., 1993).

2.1.3.1.1 Katalitik aktif bölge (CAS) ve Periferik anyonik bölge (PAS)

AChE aktif bölge iki bağlanma alt kısmından oluşur. Birincisi, "Katalitik anyonik site" (CAS)' dır. His440, Glu327 ve Ser200'den oluşan katalitik üçlüyü kısmı, ACh'deki ester bağlarının hidrolizinde görevlidir. CAS'ın anyonik alt ünitesi görevi Tyr130, Trp84, Gly199, His444 ve His441 amino asitlerinden oluşur. ACh kuaterner amino grubu ile Trp 84'ün yan zinciri indol bir katyon- π etkileşimi yapar. Ligandların tanınmasında görevli amino asit ise Phe330'dur. Diğer bağlanma alt ünitesi olan "Periferik Anyonik site" (PAS)' dır. En büyük bileşeni ise Trp279'dir. Bu bölge Tyr70, Tyr12, Tyr334, Trp279 ve ASP72 amino asitlerini de içermektedir. Ala201, Gly118 ve Gly119 peptidik amino grupları ile yapılan oksianyon deliği esteratik alt ünite içinde başka önemli fonksiyonlu birimlerdenidir (Koçancı ve Aslim, 2016).

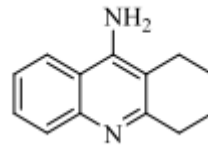
2.1.3.2. Asetilkolinesteraz İnhibitörleri (AChEİ)

Kolinerjik sistem, erişkin başlangıçlı bilişsel bozukluktan etkilenen nörotransmitter sistemlerden sadece biri olmayıp, AH dahil yetişkin başlangıçlı meydana gelen öğrenme ve hafıza bozukluğunun patofizyolojisinde eksik bir kolinerjik nörotransmisyon işlevi olarak rol oynamaktadır. Bu hipotez, AH'deki hipokampus ve serebral korteks gibi bilişle ilgili beyin kısımlarında asetikolin, biyosentetik enzim kolin asetiltransferazın azalmasının nörokimyasal olarak gösterilmesi ile desteklenmiştir (Amenta vd., 2001).

Kolinerjik nörotransmisyon, AH'de ve demans bozukluklarında bozulmuş bilişsel işlevde anahtar bir role sahiptir. Tau hiperfosforilasyonuna, A β birikimine ve immünoterapiye karşı gelmeye yönelik tedaviler önerilmiştir, fakat etki sağlamada başarısız olmuş ve faz II veya III klinik denemelerinde durdurulmuştur (Madav vd., 2019). Günümüzde, kolinerjik nörotransmisyonun güçlendirilmesi, hafif ve orta evre AH'nin davranışsal ve bilişsel semptomlarının semptomatik tedavisinde ana yaklaşımını

devam ettirmektedir. Bu strateji boyutunda hipokampal asetilkolin salınımını artıran bir ajan olan ksanomelin, linopirdin gibi muskarinik astilkolin reseptör agonistleri, fizostigmin ve takrin gibi asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri olan farklı moleküller kullanılmıştır. Beyinde iki kolinesteraz, AChE ve butirikolinesteraz (BuChE) tarafından hidrolitik olarak asetilkolin parçalanır. AH hastalarının beyin dokusunda AChE, hipokampus ve serebral kortekste asetilkolinin bozulmasına katkıda bulunan BuChE'den çok daha fazladır (Nordberg ve Winblad, 1986). İlk olarak, bozulmuş kolinerjik sinir iletimini yükseltmeye yönelik terapötik stratejiler, AChEİ'lerin tanımlanmasını ön plana koymuştu. Daha sonraki çalışmalarda ise AH patofizyolojisinde hem BuChE hem de AChE' nin aralarındaki ilişkiyi tanımlamış ve hem BuChE hem de AChE' nin inhibisyonunun terapötik ilgisini ortaya koymuştur (Lane vd., 2005). Çalışmalar, AH tedavisinde terapötik bir strateji olarak inhibisyonunun tanıtılmasına büyük oranda katkı sağlamıştır. BuChE ve AChE (kolinesteraz) inhibitörleri (ChE-İ), beyin asetilkolin düzeylerini yükselterek, nörotransmisyonunu artırarak nörotransmitterin bozulmasını önler. ChE-İ'ler, AH'nin semptomatik tedavisi için spesifik endikasyon için ABD ve Avrupa'da izin verilen ilk ilaçlardı. ChE-İ'ler, AChE, BuChE ve diğer kolinesterazları inhibe ettiklerinde nonspesifik ve sadece AChE'yi inhibe ettiklerinde spesifik olarak sınıflandırılır. Bu ilaçlar ayrıca enzim inhibisyonunun derecesine göre tersinede çevrilebilir, geri döndürülemez veya yalancı geri döndürülemez olarak sınıflandırılabilir (Giacobini, 1998).

2.1.3.2.1 Takrin

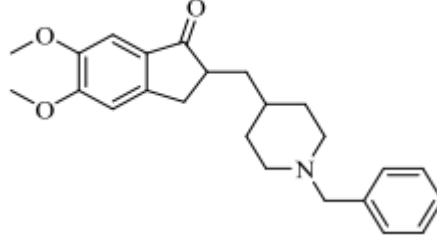


Şekil 2.3. Takrin molekülünün kimyasal yapısı

Takrin, AH tedavisinde klinik kullanıma sokulan ilk AChE inhibitörüdür (Şekil 2.3). Alzheimer tipi hafif-orta dereceli demans tedavisinde uygun olarak görülüp ve kullanılmıştır. Tedavi edilen hastaların bir kısmında alanin aminotransferaz yükselmesi normalin üç katı, bulantı ve kusma, ishal, dispepsi veya anoreksiya, miyalji

gözlendiğinden, yan etkileri sebebiyle 2013 yılında takrinin piyasadan çekilmiştir (Marucci vd., 2021).

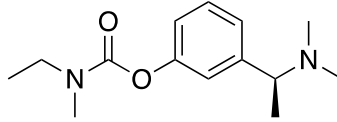
2.1.3.2.2 Donepezil



Şekil 2.4. Donepezil molekülünün kimyasal yapısı

Donepezil, 2010 yılında AH tedavisi için ABD'de onaylanmıştır (Şekil 2.4.). % 100 biyoyararlanıma sahiptir ve 3-4 saat içinde plazma zirvesine ulaşır ve metabolize olur. Yaklaşık 60-90 saatlik bir yarı ömre sahiptir. Donepezil hafif ila orta derecede AH ve aktivitesi olan hastalarda birincil tedavi olarak kabul edilip ve çeşitli klinik çalışmalarda analiz edilmiştir (Marucci vd., 2021).

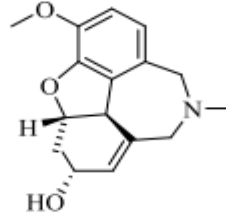
2.1.3.2.3 Rivastigmin



Şekil 2.5. Rivastigmin molekülünün kimyasal yapısı

Geri dönüşümlü çift AChE / BuChE inhibitörüdür (Şekil 2.5.). Serebral olarak korteks, AChE sinir sinaptik kavşaklarında bulunurken, BuChE glial hücreleri ve kolinerjik nörotransmisyonu modüle eder. Diğer AChE inhibitörlerinden farklı olarak, hepatik Sitokrom P-450 (CYP-450) sistemi rivastigmin metabolizmasında rol oynamaz. Rivastigmin kısa bir farmakokinetik yarı ömre sahipken, plazma konsantrasyonu AH'li hastalarda rivastigmin, sağlıklı yaşlı hastalara göre %30-50 daha yüksektir (Marucci vd., 2021)

2.1.3.2.4 Galantamin



Şekil 2.6. Galantamin molekülünün kimyasal yapısı

Galantamin, nergis soğanları dalil olmakla beraber fazlaca bitkide bulunan bir alkaloid türüdür (Fraser vd., 2016). AChE'nin seçici rekabetçi ve geri dönüşümlü bir inhibitörüdür, nörotransmitteri yavaşlatarak serebral korteksteki ACh seviyelerini yükseltir (Şekil 2.6.). Birden fazla yapılan klinik çalışmada hasta üzerinde ajitasyon, anksiyete, disinhibisyon ve anormal hareketler gibi davranışsal semptomları azalttığı görülmüştür (Marucci vd., 2021).

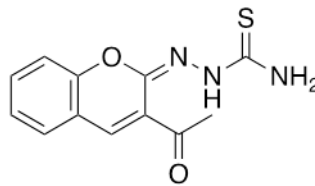
2.1.3.3. N-Metil-D-Aspartat Reseptörü (NMDAR) Antagonisti

NMDAR'ın nörondaki lokalizasyonu ile beraber iki gruba ayrılırlar:

1) Sinaptik NMDAR'ların nöronlar üzerinde presinaptik ve postsinaptik konumları bulunur. Presinaptik olan reseptörler, nöronal ağların sinaptik iletimi rol oynar. Ancak ikisi de hayatta kalma genlerinin ve nöronal koruyucunun aktivasyonunda rol oynamaktadır.

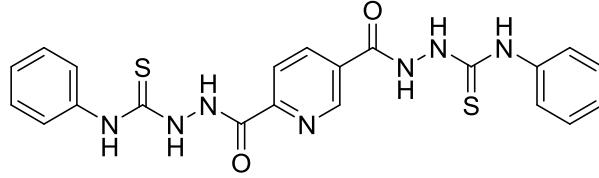
2) Ekstrasinaptik ise NMDAR'lar dendritlerde bulunup, aktive edilebilmeleri için glutamat konsantrasyonunun yüksek olması gerekmektedir. Bunun yanında Aβ üretiminin düzenlenmesinde ve dolayısıyla AH'nin nöropatolojisinde de işlev görmektedir. Memantin, AH tedavisine ve ekstrasinaptik NMDAR'lara karşı onaylanmış tek antagonisttir (Folch vd., t.y.).

2.1.4. Aktivite çalışmalarına konu olmuş tiyosermikarbazon türevleri



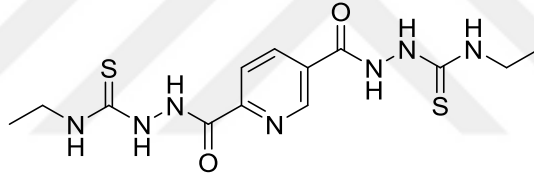
Şekil 2.7. 3-Asetilkumarin tiyosermikarbazon

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalardan Varma ve diğerlerinin sentezleyebildikleri 3-asetilkumarin tiyosemikarbazon bileşiğinin $IC_{50}=11.02 \mu M$ değeri bulunmuş (Şekil 2.7). İnhibitör etkinliği AChE enzimine karşı bu şekilde gözlemlenmiştir (Varma vd., 2021).



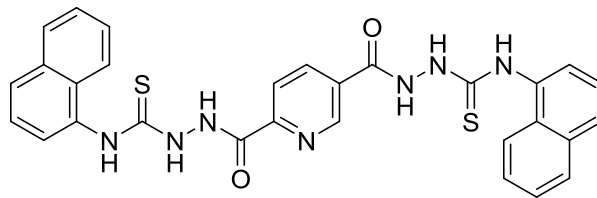
Şekil 2.8. 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil)bis [N-fenil-hidrazinkarbotiyoamid]

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalardan Bulut ve diğerleriyle yürütülen çalışmanın sonucunda 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil)bis [N-fenil-hidrazinkarbotiyoamid] bileşiği $IC_{50}=3.07\pm 0.76 \mu M$ değerinde bulunmuştur (Şekil 2.8). İnhibitör etkinliği AChE enzime karşı bu şekilde gözlemlenmiştir (Bulut vd., 2018).



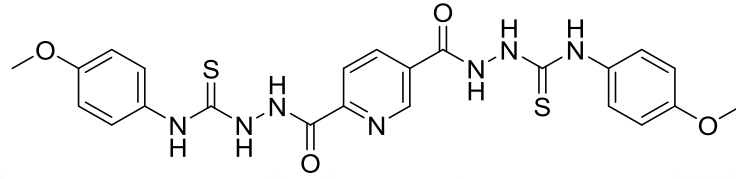
Şekil 2.9. 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil)bis [N-etilhidrazinkarbotiyoamid]

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalardan Bulut ve diğerleriyle yürütülen çalışmanın sonucunda 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil) bis [N-etilhidrazinkarbotiyoamid] bileşiği $IC_{50}=38.01\pm 6.73 \mu M$ değerinde bulunmuştur (Şekil 2.9). İnhibitör etkinliği AChE enzime karşı bu şekilde gözlemlenmiştir (Bulut vd., 2018).



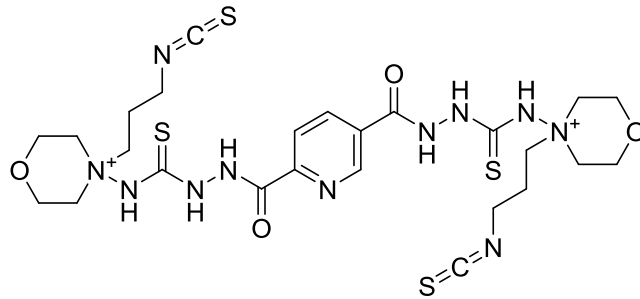
Şekil 2.10. 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil)bis [N-(1-naftil)hidrazinkarbotiyoamid]

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalardan Bulut ve diğerleriyle yürütülen çalışmanın sonucunda 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil)bis [*N*-(1-naftil)hidrazinkarbotiyoamid] bileşiği $IC_{50}=13.67\pm 3.30 \mu M$ değerinde bulunmuştur (Şekil 2.10.). İnhibitör etkinliği AChE enzimine karşı bu şekilde gözlemlenmiştir (Bulut vd., 2018).



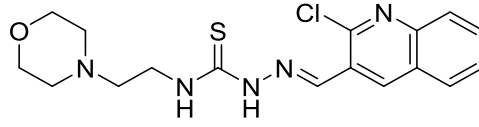
Şekil 2.11. 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil)bis[*N*-(*p*-metoksifenil)hidrazin karbotiyoamid]

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalardan Bulut ve diğerleriyle yürütülen çalışmanın sonucunda 2,2'-(Piridin-2,5-diildikarbonil) bis[*N*-(*p*-metoksifenil) hidrazin karbotiyoamid] bileşiği $IC_{50}=26.92\pm 5.72 \mu M$ değerinde bulunmuştur (Şekil 2.11). İnhibitör etkinliği AChE enzimine karşı bu şekilde gözlemlenmiştir (Bulut vd., 2018).



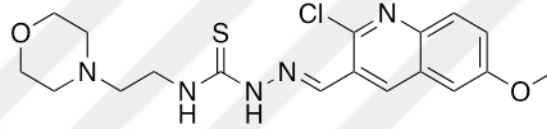
Şekil 2.12. 2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil)bis(*N*-4-(3-izotiyosiyanatpropil)morfolinhidrazinkarbotiyoamid)

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalardan Bulut ve diğerleriyle yürütülen çalışmanın sonucunda 2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil)bis(*N*-4-(3-izotiyosiyanatpropil)morfolinhidrazinkarbotiyoamid) bileşiği $IC_{50}=15.41\pm 1.01 \mu M$ değerinde bulunmuştur (Şekil 2.12.). İnhibitör etkinliği AChE enzimine karşı bu şekilde gözlemlenmiştir (Bulut vd., 2018).



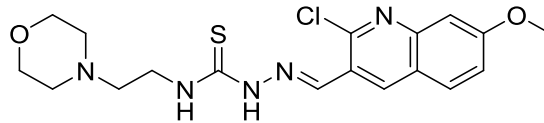
Şekil 2.13. 2-((2-Klorokinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil) hidrazin-1-karbotiyoamid

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalarda yukarıdaki yapı bulunmuştur (Şekil 2.13). Zaib ve diğerleriyle yürütülen çalışma sonucunda 2-((2-Klorokinolin-3-il)metilen)-N-(morfolinoetil) hidrazin-1-karbotiyoamid bileşiği $IC_{50}=2.95\pm \mu M$ değeriyle inhibitör etkinliğini AChE enzimine karşı bu şekilde ortaya koymuştur (Zaib vd., 2021).



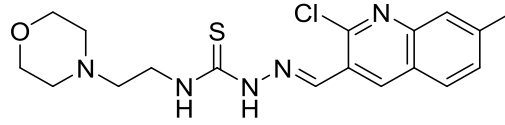
Şekil 2.14. 2-((2-Kloro-6-metoksi kinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil) hidrazinkarbotiyoamid

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalarda yukarıdaki yapı ortaya konmuştur (Şekil 2.14). Zaib ve diğerleriyle yürütülen çalışma sonucunda 2-((2-kloro-6-metoksi kinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil) hidrazinkarbotiyoamid bileşiği $IC_{50}=0.12\pm 0.02 \mu M$ değeriyle inhibitör etkinliğini AChE enzimine karşı bu şekilde ortaya koymuştur (Zaib vd., 2021).



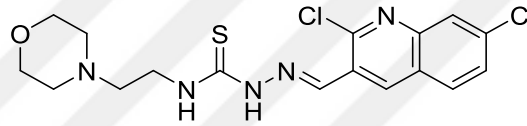
Şekil 2.15. 2-((2-Kloro-7-metoksi kinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil) hidrazin-1-karbotiyoamid

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalarda yukarıdaki yapı ortaya konmuştur (Şekil 2.15). Zaib ve diğerleriyle yürütülen çalışma sonucunda 2-((2-Kloro-7-metoksi kinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil) hidrazin-1-karbotiyoamid bileşiği $IC_{50}=5.53\pm 0.11 \mu M$ değeriyle inhibitör etkinliğini AChE enzimine karşı bu şekilde ortaya koymuştur (Zaib vd., 2021).



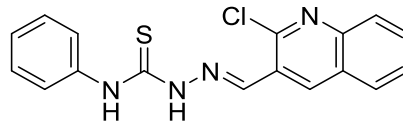
Şekil 2.16. 2-((2-Kloro-7-metilkinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil)hidrazin-1-karbotiyoamid

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalarda yukarıdaki yapı ortaya konmuştur (Şekil 2.16.). Zaib ve diğerleriyle yürütülen çalışma sonucunda 2-((2-Kloro-7-metilkinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil)hidrazin-1-karbotiyoamid bileşiği $IC_{50}=5.55 \pm 0.01 \mu M$ değeriyle inhibitör etkinliğini AChE enzimine karşı bu şekilde ortaya koymuştur (Zaib vd., 2021).



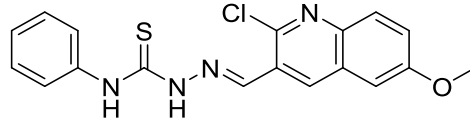
Şekil 2.17. 2-((2-Kloro-7-diklorokinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil)hidrazin-1-karbotiyoamid

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalarda yukarıdaki yapı ortaya konmuştur (Şekil 2.17.). Zaib ve diğerleriyle yürütülen çalışma sonucunda 2-((2-Kloro-7-diklorokinolin-3-il)metilen)-N-(2-morfolinoetil)hidrazin-1-karbotiyoamid bileşiği $IC_{50}=10.5 \pm 0.16 \mu M$ değeriyle inhibitör etkinliğini AChE enzimine karşı bu şekilde ortaya koymuştur (Zaib vd., 2021).



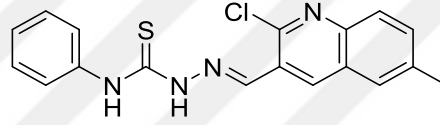
Şekil 2.18. 2-((2-klorokinolin-3-il)metilen)-N-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalarda yukarıdaki yapı ortaya konmuştur (Şekil 2.18). Zaib ve diğerleriyle yürütülen çalışma sonucunda 2-((2-klorokinolin-3-il)metilen)-N-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid bileşiği $IC_{50}= 23.2 \pm 1.28 \mu M$ değeriyle inhibitör etkinliğini AChE enzimine karşı bu şekilde ortaya koymuştur (Zaib vd., 2021).



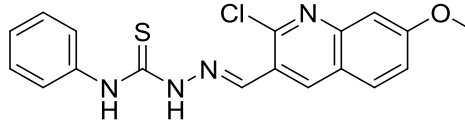
Şekil 2.19. 2-((2-kloro-6-metoksikinolin-3-il)metilen)-N-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalarda yukarıdaki yapı ortaya konmuştur (Şekil 2.19.). Zaib ve diğerleriyle yürütülen çalışma sonucunda 2-((2-kloro-6-metoksikinolin-3-il)metilen)-N-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid bileşiği $IC_{50}=34.2\pm 1.02 \mu M$ değeriyle inhibitör etkinliğini AChE enzimine karşı bu şekilde ortaya koymuştur (Zaib vd., 2021).



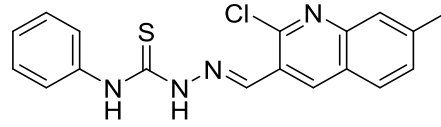
Şekil 2.20. 2-((2-kloro-6-metilkinolin-3-il)metilen)-N-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalarda yukarıdaki yapı ortaya konmuştur (Şekil 2.20). Zaib ve diğerleriyle yürütülen çalışma sonucunda 2-((2-kloro-6-metilkinolin-3-il)metilen)-N-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid $IC_{50}=49.3\pm 2.49 \mu M$ değeriyle inhibitör etkinliğini AChE enzimine karşı bu şekilde ortaya koymuştur (Zaib vd., 2021).



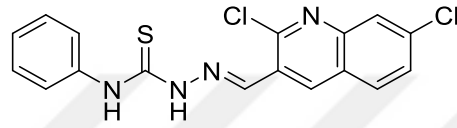
Şekil 2.21. 2-((2-kloro-7-metoksikinolin-3-il)metilen)-N-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalarda yukarıdaki yapı ortaya konmuştur (Şekil 2.21.). Zaib ve diğerleriyle yürütülen çalışma sonucunda 2-((2-kloro-7-metoksikinolin-3-il)metilen)-N-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid $IC_{50}= 60.9 \pm 6.57 \mu M$ değeriyle inhibitör etkinliğini AChE enzimine karşı bu şekilde ortaya koymuştur (Zaib vd., 2021).



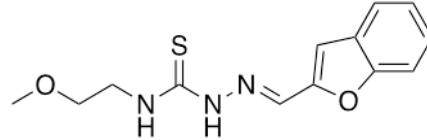
Şekil 2.22. 2-((2-Kloro-7-metilkinolin-3-il)metilen)-N-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalarda yukarıdaki yapı ortaya konmuştur (Şekil 2.22). Zaib ve diğerleriyle yürütülen çalışma sonucunda 2-((2-kloro-7-metilkinolin-3-il)metilen)-N-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid $IC_{50}=46.5\pm 3.12 \mu M$ değeriyle inhibitör etkinliğini AChE enzimine karşı bu şekilde ortaya koymuştur (Zaib vd., 2021).



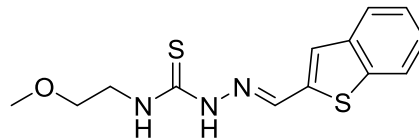
Şekil 2.23. 2-((2,7-Diklorokinolin-3-il)metilen)-N-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid

Tiyosemikarbazon türevi bileşikler üstüne yapılan çalışmalarda yukarıdaki yapı ortaya konmuştur (Şekil 2.23.). Zaib ve diğerleriyle yürütülen çalışma sonucunda 2-((2,7-diklorokinolin-3-il)metilen)-N-fenilhidrazin-1-karbotiyoamid $IC_{50}= 47.1\pm 1.45 \mu M$ değeriyle inhibitör etkinliğini AChE enzimine karşı bu şekilde ortaya koymuştur (Zaib vd., 2021).



Şekil 2.24. 2-(Benzofuran-2-il metilen)-N-(2-metoksietil) hidrazin-1-karbotiyoamid

Osmaniye ve diğerlerinin yapmış olduğu bu çalışmada tiyosemikarbazon türevleri sentezlenerek AChE ve MAO-B inhibitörlerine etkileri ortaya konulmuştur (Şekil 2.24.). Bakılan aktivite sonuçlarında 2-(Benzofuran-2-il metilen)-N-(2-metoksietil)hidrazin-1-karbotiyoamid bileşiğinin $IC_{50}=0.042 \pm 0.002 \mu M$ değeriyle AChE enzimine yönelik inhibitör etkinlik sergilediği ortaya konulmuştur (Osmaniye vd., 2021).



Şekil 2.25. 2-(Benzo[b]tiyofen-2-il metilen)-N-(2-metoksietil) hidrazin-1-karbotiyoamid

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

3,5-Dimetilpiperidin	: Sigma, Almanya
Dimetilsülfoksit	: Euroisotop, Almanya
Donepezil	: Merck, Almanya
4-Etilpiperazin	: Sigma, Almanya
Etanol	: Merck, Almanya
4-Fenilpiperazin	: Sigma, Almanya
4-Florobenzaldehit	: TCI, Japonya
4-Formilpiperazin	: Sigma, Almanya
İzotiyosiyonat	: TCI, Chemicals
4-Metilpiperazin	: Sigma, Almanya
4-Metoksifenilpiperazin	: Sigma, Almanya
4-Nitrofenilpiperazin	: Sigma, Almanya
Piperidin	: Sigma, Almanya
Potasyum karbonat	: Sigma-Aldrick, Almanya

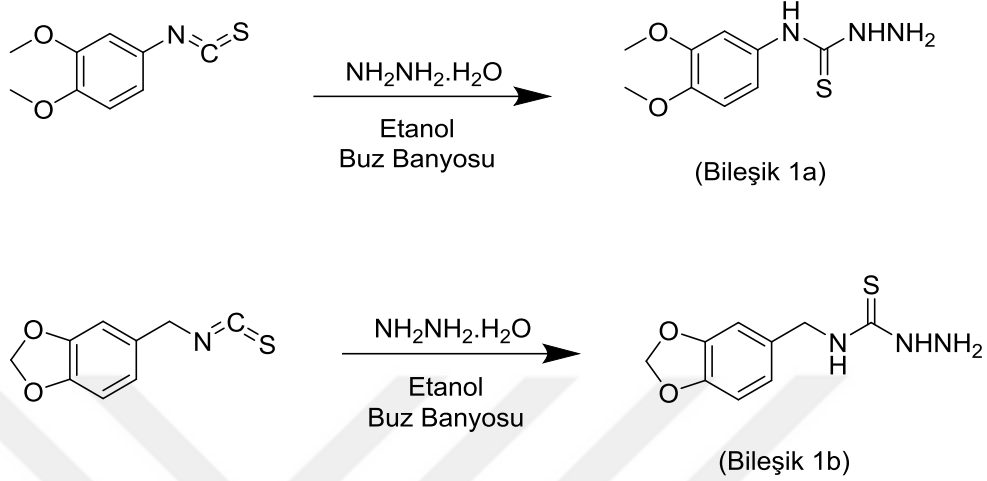
3.2. Kullanılan Cihazlar

Elektronik terazi	: Shimadzu, Libror EB-330 HU, Japonya
Nükleer manyetik rezonans spektrometresi	: Bruker, UltraShield 300 MHz, ABD
Ultraviyole lambası	: Camag, Cabinet, İsviçre
Mikroplate okuyucu	: BioTek-Synergy H1 ABD
Robotik pipetleme tablası	: BioTek-Preccision XS, ABD
Manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı	: Heidolph, MR 3003, Almanya
Kütle spektrometresi	: Shimadzu, LCMS-IT-TOF, Japonya
Erime derecesi tayin cihazı	: Mettler Toledo-MP90 Melting Point System

4. YÖNTEMLER

4.1. Sentez Çalışmaları

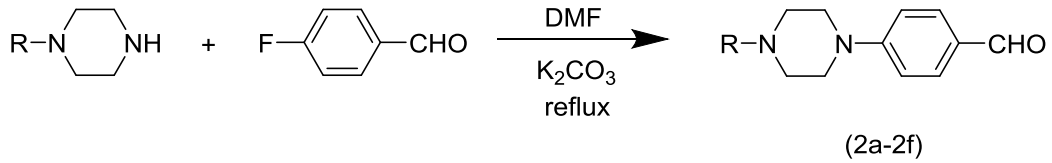
4.1.1. Tiyosemikarbazid türevlerinin sentezi (1a – 1b) (Yöntem A)



Şekil 4.1. Tiyosemikarbazid türevlerinin sentezi (1a–1b)

İzotiyosiyanat türevleri absöü etanolde çözüdüürülmüştür. Elde edilen karışım buz banyosuna alınmıştır. Başka bir beherde hidrolin hidrat absöü etanolde çözüdüürülmüştür ve bu karışım bir ayırma hunisine alınmıştır. İzotiyonit çözüdüüsüne damla damla ilave edilmiştir (Şekil 4.2). Damlatma işlemleri tamamlandıktan sonra reaksiyon İTK bakılarak sonlandırılmıştır. Sonlandırma basamağında çöken ürün süzülerek alınmış ve absöü etanol ile ve yıkanarak kurutulmuştur.

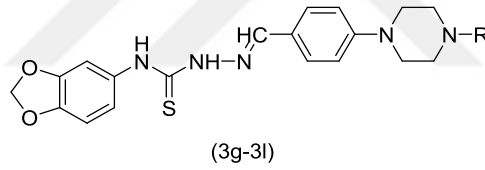
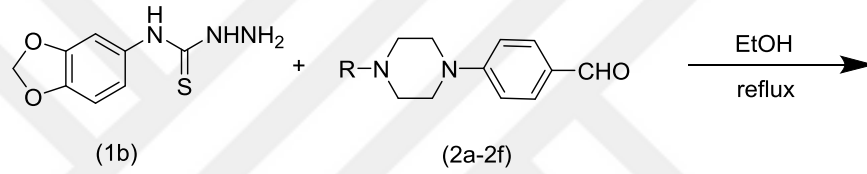
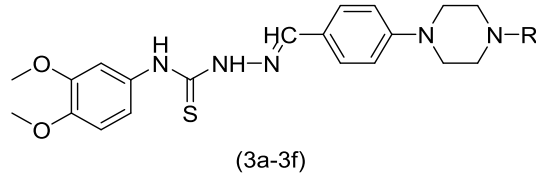
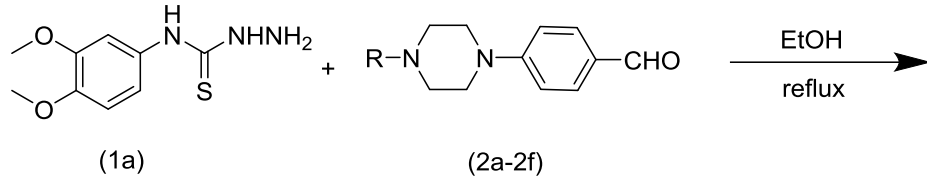
4.1.2. 4-Sübstiüü benzaldehit türevlerinin sentezi (2a-2f) (Yöntem B)



Şekil 4.2. 4-Sübstiüü benzaldehit türevlerinin sentezi (2a-2f)

Pipereazin türevleri ve 4-florobenzaldehit DMF içerisinde çözüdüürülmüştür (Şekil 4.1). Potasyum karbonat katalizör olarak ortama eklenmiştir. Elde edilen reaksiyon karışımı yaklaşık 36 saat saat geri çeviren soğutucu altında kaynatılmıştır. İTK bakılarak reaksiyon bitimine karar verildikten sonra reaksiyon içeriği soğutulmuş ve buzlu suya dökülmüştür. Çöken ürün süzülerek alınmış ve buzlu suya dökülmüştür. Çöken ürün süzülerek alınmış, kurutulmuş ve etanolde kristallendirilmiştir.

4.1.3. Tiyosemikarbazon türevlerinin sentezi (3a-3l) (Yöntem C)



Bileşik	R
3a	Metil
3b	Etil
3c	Formil
3d	Fenil
3e	4-Metoksifenil
3f	4-Nitrofenil
3g	Metil
3h	Etil
3i	Formil
3j	Fenil
3k	4-Metoksifenil
3l	4-Nitrofenil

Şekil 4.3. Tiyosemikarbazon türevlerinin sentezi (3a-3l)

Sentezlenen *N*-süstitüetiyosemikarbazit türevleri (**1a** ve **1b**) ve 4-sübsstitüe benzaldehyt türevleri (2a-2f) etanol içerisinde çözüdüürülmüş ve karışım geri çeviren soğutucu altında 8 saat boyunca kaynatılmıştır. Sabit aralıklarla deneyin tamamlanıp tamamlanmadığı İTK ile kontrol edilmiştir. Reaksiyon tamamlandıktan sonra çöken maddeler süzülerek alınmıştır (Şekil 4.4.).

4.2. İTK Çalışmaları

Tüm sentez çalışmaları boyunca reaksiyonların sonlanıp sonlanmadığını İTK bakılarak kontrol edilmiştir. Deney sürecinde başlangıç maddeleri ve alınan numunelerin ve etanoldeki çözeltisi ile adsorban olarak kullanılan silikajel 60 F254 kaplı, önceden uygun çözücü karışımlarıyla doyurulmuş alüminyum plaklara kılcal borular yardımı ile uygulanıp Petrol eteri-etil asetat (3:1) çözücü sisteminin kullanıldığı hareketli faz içerisinde sürüklenmiştir. Ultraviöle (254 nm ve 366 nm) ışığı altında absorpsiyon noktaları bakılıp belirlenmiştir. Reaksiyonlar İTK yardımı ile sürdürölüp, sonlandırılmıştır.

4.3. Erime Noktalarının Tespiti

Mettler Toledo-MP90 Melting Point System erime derecesi tayin cihazı kullanılarak gerçekleştirilen tayinide kapiler borulara minimal şekilde maddeler konulup erime dereceleri tayin edilmiştir.

4.4. ¹H-NMR Spektrumlarının Alınması

Sentezlenen bileşikler, Bruker 300 MHz NMR spektrometresi cihazı kullanılarak ¹H-NMR spektrumları elde edilmiştir. Dimetilsülfoksit-d₆ (Dimetilsülfoksit-d₆) çözücü olarak kullanılmıştır.

4.5. ¹³C-NMR Spektrumlarının Alınması

Sentezlenen bileşikler, Bruker 75 MHz NMR spektrometresi cihazı kullanılarak ¹³C-NMR spektrumları elde edilmiştir. Dimetilsülfoksit-d₆ (Dimetilsülfoksit-d₆) çözücü olarak kullanılmıştır.

4.6. Kütle Spektrumlarının Alınması

LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto, Japonya) cihazında elektron sprey iyonizasyon (ESI) iyonlaştırma tekniğiyle bileşiklerin kütle spektrumları elde edilmiştir. Çözücü olarak DMSO kullanılmıştır.

4.7. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin kolinesteraz, monoamin oksidaz üzerlerindeki inhibisyon durumu araştırılmıştır ve enzim aktif bölgesindeki yerleşimini gözlemek amacıyla moleküler yerleştirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Aktivite çalışmalarında Milipor, Milli-Q Synthesis A10 saflaştırma cihazından hareketle ortaya konulan distile su kullanılmıştır. Tüm çözeltilerin taze hazırlanarak maksimum 1 hafta aralığında tüketilmesine dikkat edilmiştir. BioTek-Precision Power (Amerika Birleşik Devletleri) robotik pipetleme sistemi yardımıyla test bileşiklerinin 96 kuyucuklu plakalara uygulanması, enzim substrat çözeltilerinin ilave edilmesi işlemleri gerçekleştirilmiştir. Enzim protokolünün oluşturulması, izlenmesi ve spektrofotometrik ölçümlerin alınması işlemleri, BioTek-Synergy H1 Microplate Reader (Amerika Birleşik Devletleri) cihazında ise enzim protokolü işlemleri, spektrofotometrik ölçümler alınması ve izlenimler gerçekleştirilmiştir.

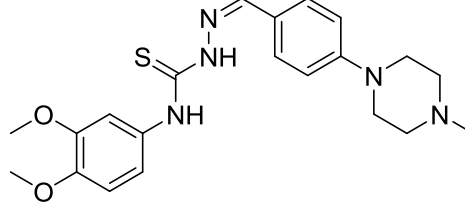
4.8. Moleküler Modelleme Çalışmaları

Aktif bileşiklerin moleküler modelleme çalışmaları enzimlerinin kristalleri kullanılmıştır. Doking çalışmaları Schrödinger Suite 2020 Update 2 programı kullanılarak standart prosedürler ile gerçekleştirilmiştir. LigPrep 3.8, Glide 7.1 ara yüzleri kullanılarak single precision (SP) ile docking işlemi gerçekleştirilmiştir. Standart prosedürler kullanılarak grid dosyaları hazırlanmış olup ChemDrawn programı sentez çalışmaları sonucunda elde edilen türevlerin (3a-3l) molekül şekilleri ile çizilmiştir. Doking prosedürü başlatılıp pozlar iki boyut ve üç boyut olarak alınarak sunulmuştur.

5. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

5.1. Sentez Çalışmaları

5.1.1. *N*-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3a)



Şekil 5.1. *N*-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3a)

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 187-3 °C – 185.2 °C. Verim: %85.

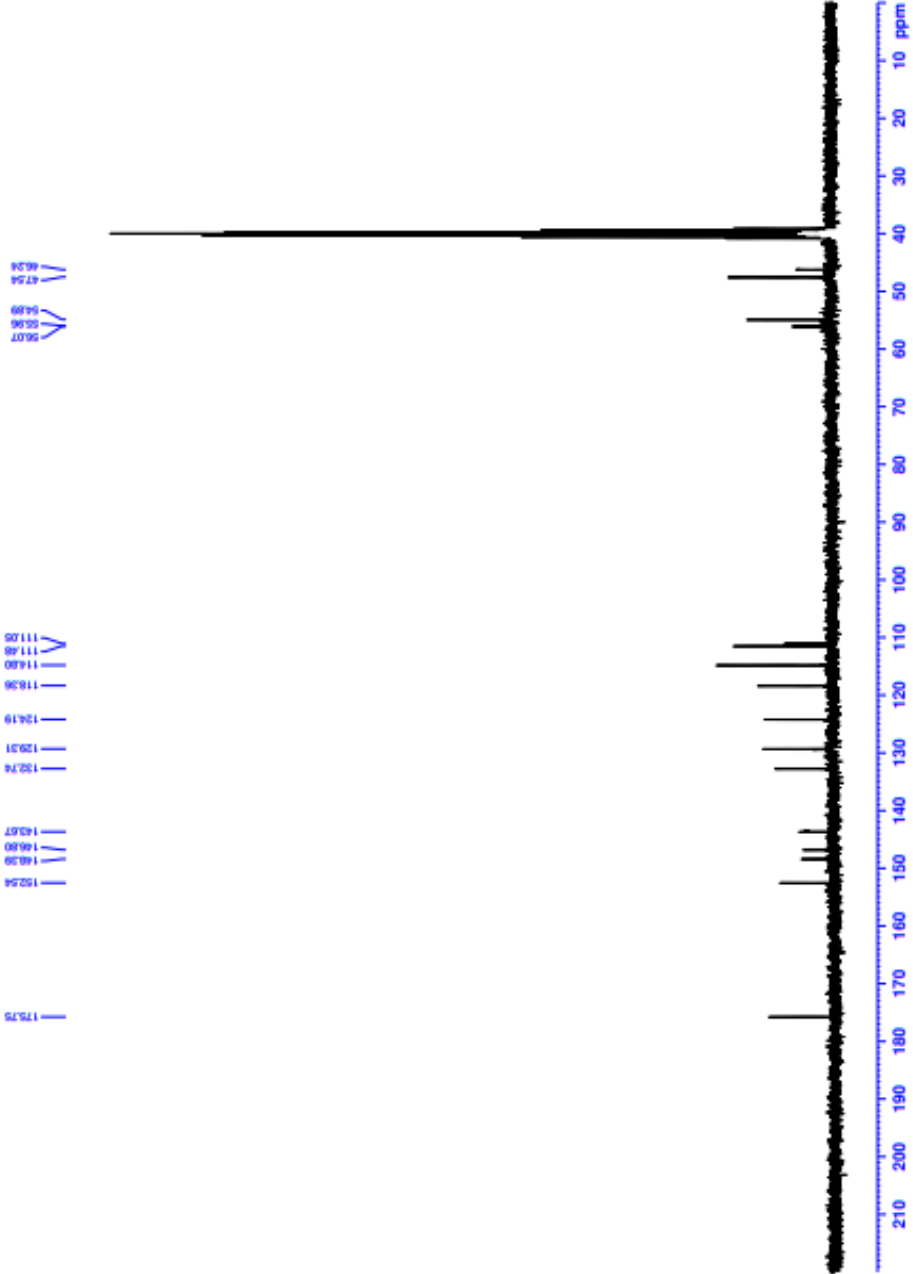
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 2.21 (3H, s, -CH₃), 2.41-2.44 (4H, t, *J*=8.97 Hz, piperazin) 3.21-3.25 (4H, t, *J*=10.17 Hz, piperazin), 3.74 (3H, s, -OCH₃), 3.75 (3H, s, -OCH₃), 6.90-6.96 (3H, m, Ar-H), 7.05-7.08 (3H, dd, *J*=8.67 Hz, Ar-H), 7.20-7.21 (1H, d, *J*=2.34 Hz, Ar-H), 7.69-7.72 (2H, d, *J*=8.85 Hz, Ar-H), 8.03 (1H, s, -CH=N-), 9.85 (1H, s, -NH), 11.56 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 46.24, 47.54, 54.89, 55.96, 56.07, 111.05, 111.48, 114.80, 118.36, 124.19, 129.31, 132.74, 143.67, 146.80, 148.39, 152.54, 175.75.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan: C₂₁H₂₇N₅O₂S: 414.1958; bulunan: 414.1958.



Current Data Parameters
NAME: DMS-JONGS
EXPNO: 5
PROCNO: 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_: 20230505
Time: 18:47
PULPROG: zgpg30
PCPDPRG2: 5 mm DUL 1.3C-1
PULPROG: zgpg30
TD: 32768
SOLVENT: DMS
NS: 4096
DS: 4
SWH: 24414.063 Hz
FIDRES: 0.740058 Hz
AQ: 0.101187 sec
RG: 511.187
DQ: 20.480 umax
DE: 6.50 umax
TE: 300.2 K
D1: 1.0000000 sec
D11: 0.0300000 sec
D31: 0.0001500 sec
D32: 0.8999998 sec
L4: 0.0000000 sec
L5: 23
L6: 26
L7: 15
L8: 24
L9: 90.00 umax
D90: 1
===== CHANNEL f1 =====
NUC1: 13C
P1: 15.00 umax
PL1: 15.0000000 W
===== CHANNEL f2 =====
NUC2: 13C
P2: 300.1812000 MHz
PL2: 0.0000000 W
===== Processing parameters =====
SFO1: 75.4873687 MHz
SFO2: 300.1350000 MHz
CF: 1.0000000
WDW: 1.0000000
SSB: 0.0000000
LB: 1.00 Hz
GB: 0.0000000
PC: 1.40



Şekil 5.3. Bileşik 3a' ya Ait ¹³C-NMR Spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\DAN-3_105.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	6	46	O	2	0	6	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	36	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 40.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

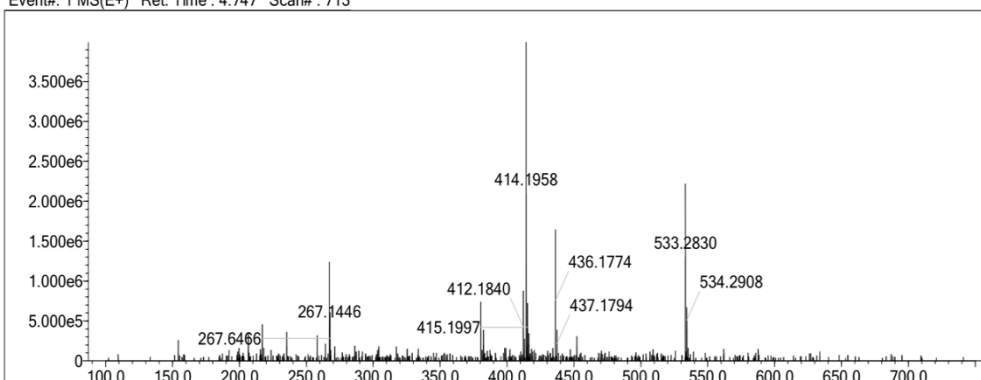
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

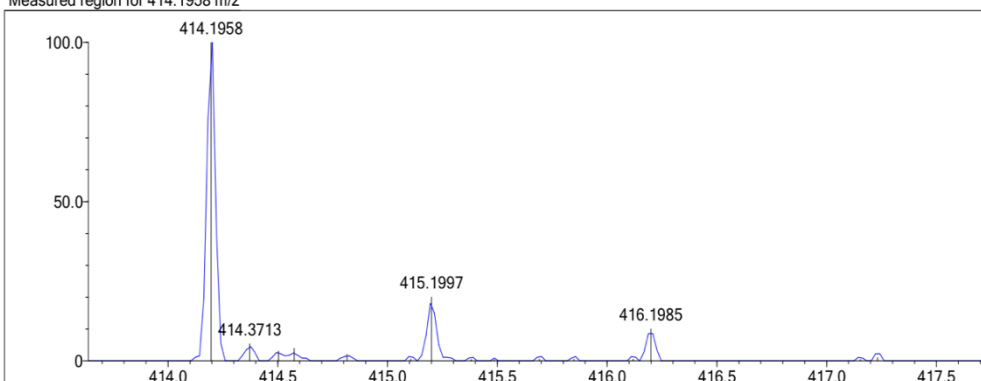
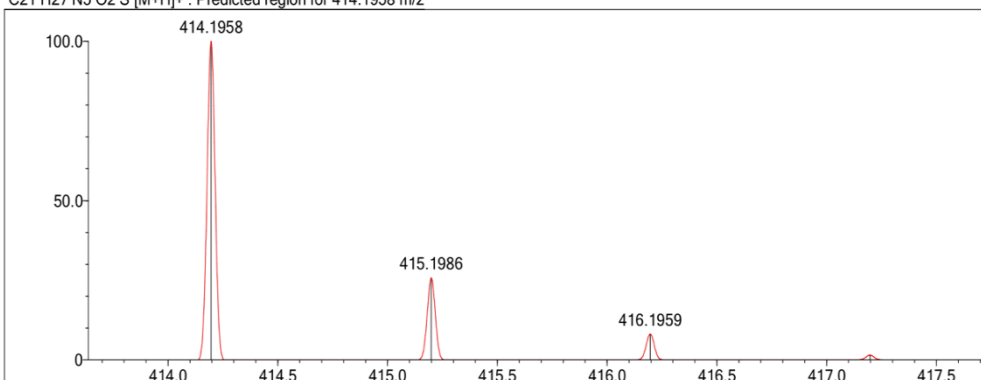
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.747 Scan#: 713



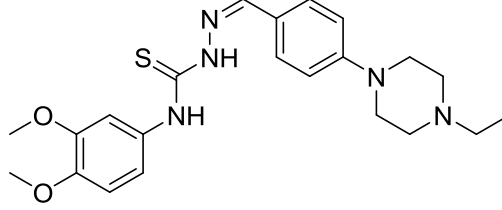
Measured region for 414.1958 m/z

C21 H27 N5 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 414.1958 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
2	69.95	C21 H27 N5 O2 S	[M+H] ⁺	414.1958	414.1958	-0.0	0.00	69.95	11.0

Şekil 5.4. Bileşik 3a' ya ait kütle spektrumu

5.1.2. N-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-etilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3b)



Şekil 5.5. N-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-etilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3b)

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 197-5 °C – 199.7 °C. Verim: %80.

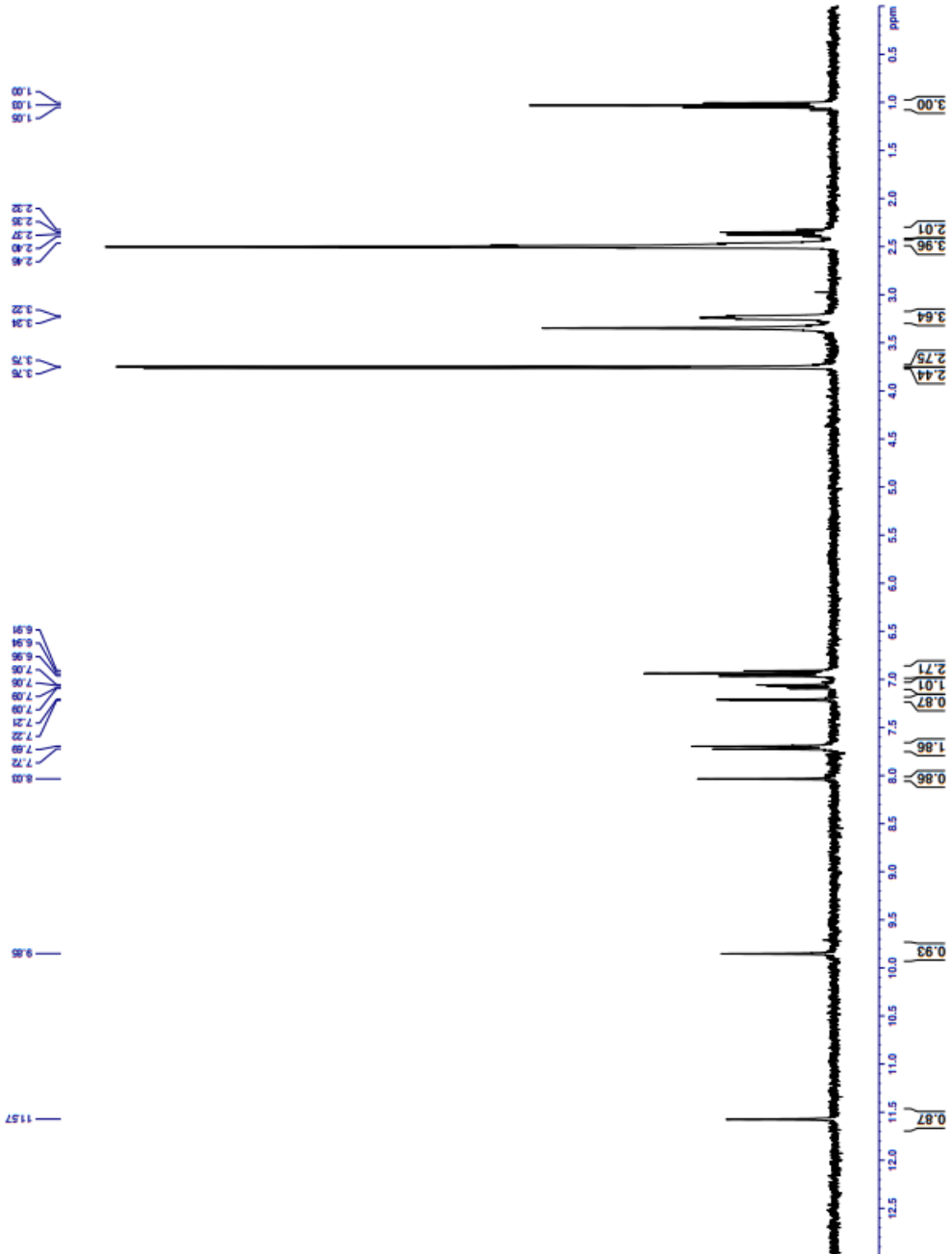
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.03-1.05 (2H, t, *J*=7.23 Hz -CH₃), 2.32-2.39 (2H, q, *J*=7.19 Hz, -CH₂-), 2.46 (4H, y, piperazin), 3.21-3.23 (4H, y, piperazin), 3.74 (3H, s, -OCH₃), 3.75 (3H, s, -OCH₃), 6.90-6.96 (3H, m, Ar-H), 7.05-7.09 (1H, dd, *J*=6.3 Hz, Ar-H), 7.20-7.21 (1H, d, *J*=2.38 Hz, Ar-H), 7.69-7.72 (2H, d, *J*=8.85 Hz, Ar-H), 8.03 (1H, s, -CH=N-), 9.85 (1H, s, -NH), 11.57 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.45, 47.65, 52.08, 52.65, 55.95, 56.01, 56.06, 56.12, 111.03, 111.47, 113.69, 114.76, 118.34, 124.18, 129.31, 131.93 132.73, 143.67, 146.79, 148.39, 152.56, 175.74.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan: C₂₂H₂₉N₅O₂S: 428.2115; bulunan: 428.2127.



Current Data Parameters
NAME DMSO
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230505
Time_ 13:30
INSTRUM FOCUS500
PROBRD 5 mm DUL13C-1
PULPROG zgpg30
TD 65536
SOLVENT DMSO
NS 64
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.342173 sec
RG 327.500
DM 81.950 usec
DE 6.50 usec
TE 285.1 K
D1 3.0000000 sec
TDO 1
----- CHANNEL f1 -----
SFO1 300.181837 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.0000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



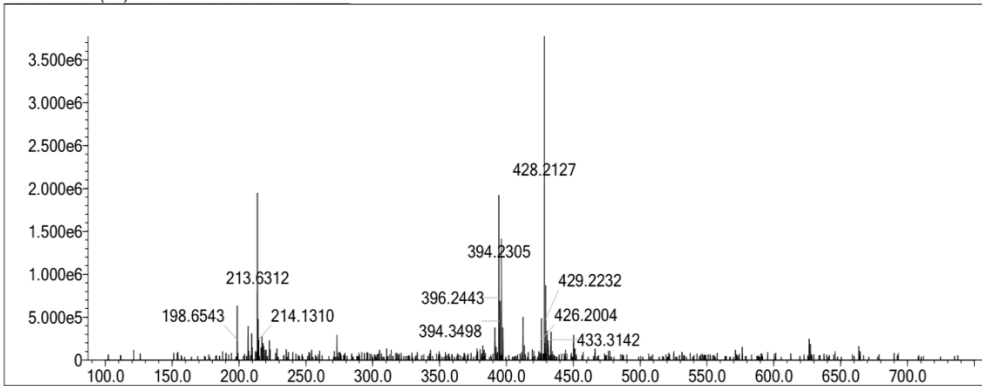
Şekil 5.6. Bileşik 3b'ye Ait ¹H-NMR Spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\DAN-4Y_137.lcd

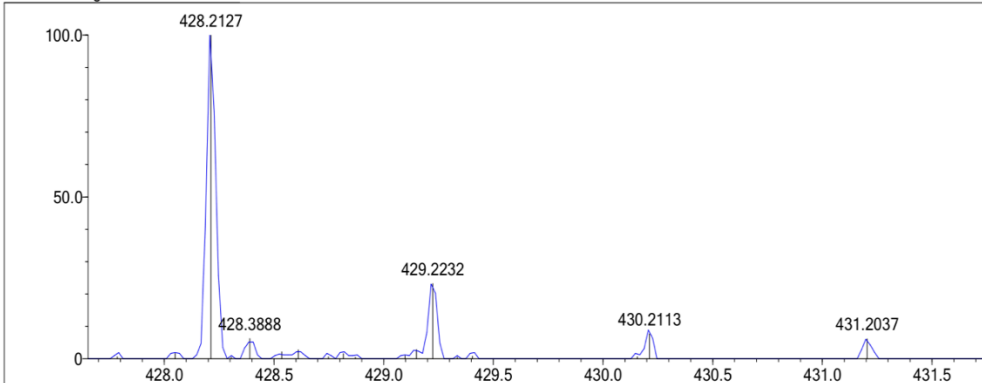
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	6	46	O	2	0	4	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	36	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5 DBE Range: 5.0 - 30.0 Electron Ions: both
 HC Ratio: unlimited Apply N Rule: yes Use MSn Info: yes
 Max Isotopes: 3 Isotope RI (%): 1.00 Isotope Res: 9000
 MSn Iso RI (%): 10.00 MSn Logic Mode: AND Max Results: 50

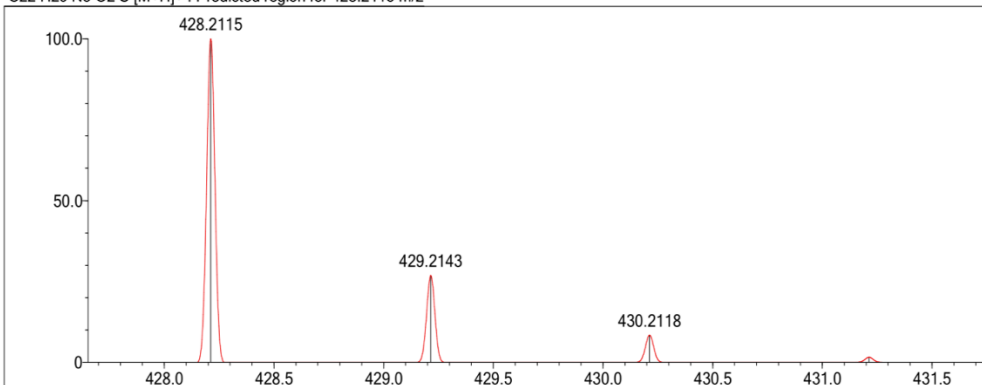
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.013 Scan#: 453



Measured region for 428.2127 m/z



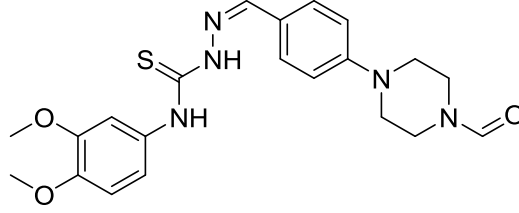
C22 H29 N5 O2 S [M+H]+ : Predicted region for 428.2115 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	56.85	C22 H29 N5 O2 S	[M+H]+	428.2127	428.2115	1.2	2.80	59.53	11.0

Şekil 5.8. Bileşik 3b'ye ait Kütle Spektrumu

5.1.3. N-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-formilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3c)



Şekil 5.9. *N*-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-formilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3c)

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 145 °C – 147.5 °C. Verim: %79.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3.22-3.29 (2H, m, piperazin), 3.42 (2H, y, piperazin), 3.50-3.52 (2H, m, piperazin), 3.73-3.74 (2H, m, piperazin), 3.75 (3H, s, -OCH₃), 3.76 (3H, s, -OCH₃), 6.91-6.98 (2H, m, Ar-H), 7.01-7.08 (3H, m, Ar-H), 7.20-7.21 (1H, m, Ar-H), 7.73-7.75 (1H, m, Ar-H), 7.77 (1H, s, CHO), 8.04-8.09 (1H, s, -CH=N-), 9.88 (1H, s, -NH), 11.60 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 47.49, 48.83, 55.95, 56.05, 111.03, 111.43, 115.01, 115.58, 118.39, 124.55, 129.36, 132.71, 143.58, 146.79, 148.37, 152.28, 175.77.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan: C₂₁H₂₅N₅O₂S: 428.1751; bulunan: 428.1745.

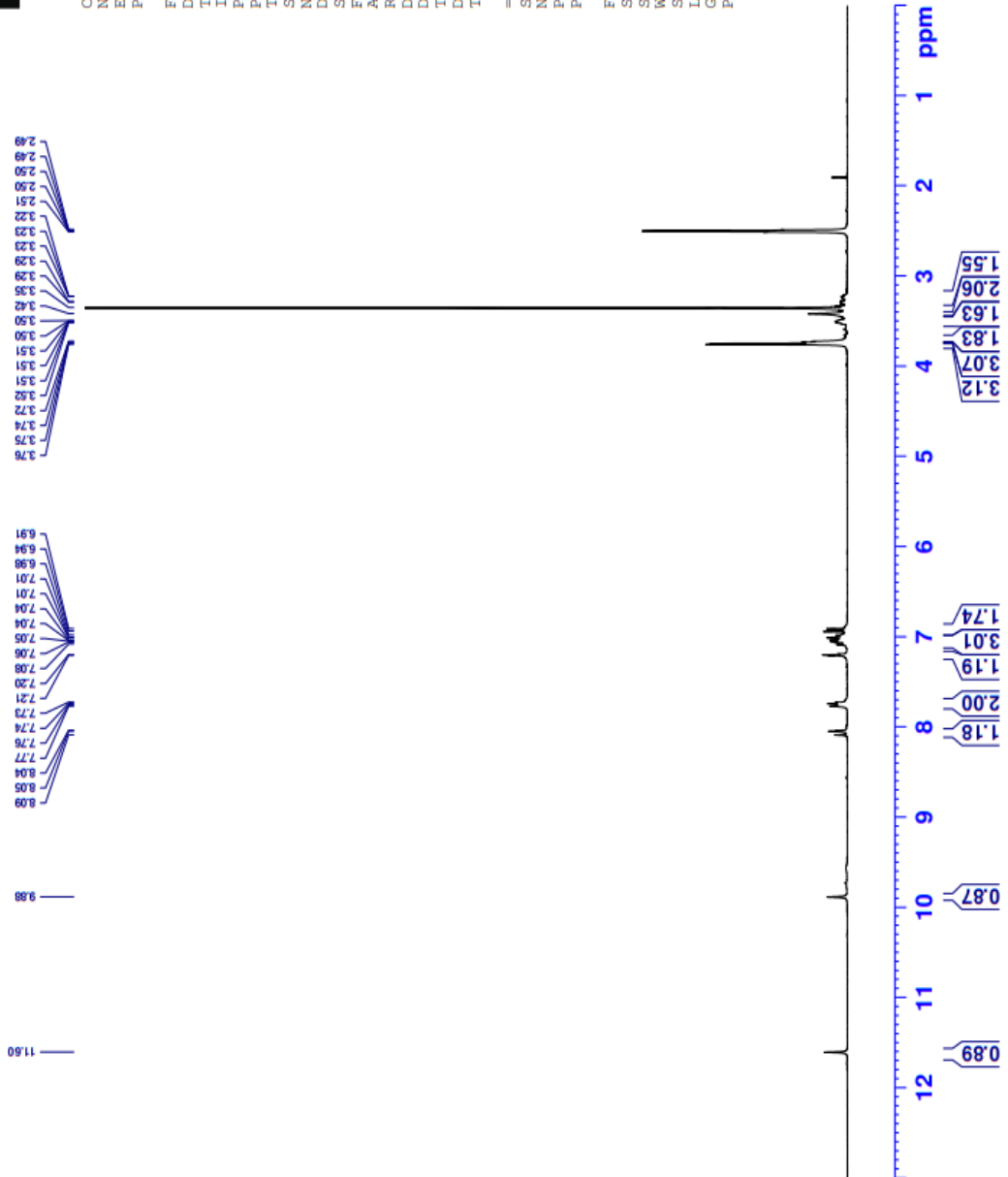


Current Data Parameters
 NAME DAN-5
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20230429
 Time_ 13.18
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zg
 ID 16384
 SOLVENT DMSO
 NS 16
 DS 0
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 0.372529 Hz
 AQ 1.3421773 sec
 RG 30.5169
 DW 81.920 usec
 DE 6.50 usec
 TE 291.9 K
 D1 3.00000000 sec
 TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
 SFO1 300.1818537 MHz
 NUC1 1H
 P1 13.00 usec
 PLW1 10.0000000 W

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 300.1800000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00



Şekil 5.10. Bileşik 3c' ye Ait ^1H -NMR Spektrumu



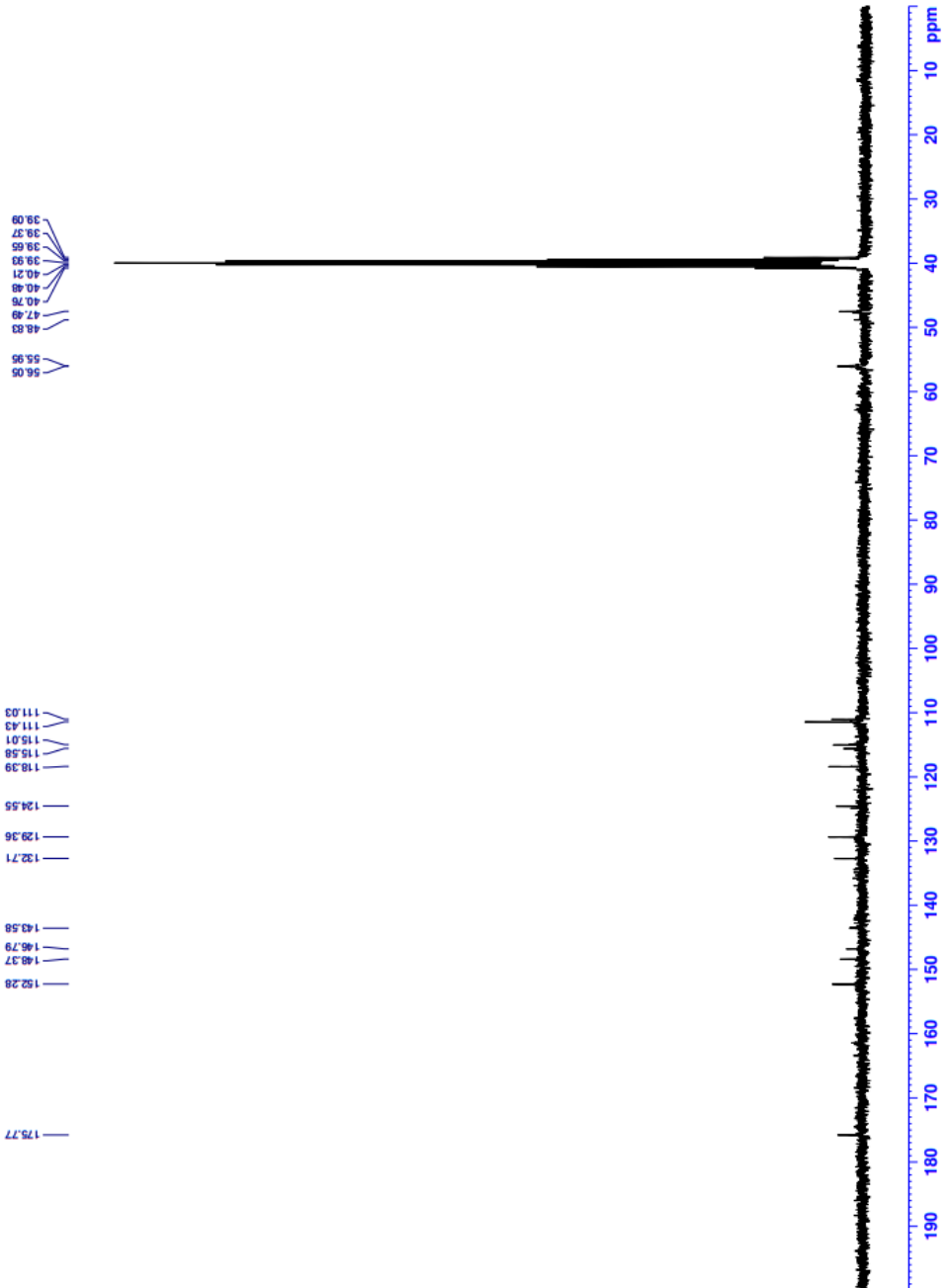
Current Data Parameters
NAME DAN12
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220828
Time 22:38
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm BBL 13C-1
PULPROG zgpg30
D1 1.0000000 sec
SOLVENT DMSO
NS 4096
DS 4
SWH 24415.553 Hz
FIDRES 0.745015 Hz
AQ 0.671415 sec
RG 501.187
DM 20.479 usec
DE 6.50 usec
TE 297.2 K
TD 65536
D11 0.0300000 sec
D31 0.00001500 sec
D32 0.8999998 sec
D40 0.00093990 sec
S 2
L 4
F32 90.00 usec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.487687 MHz
NUC1 13C
P1 15.00 usec
PL1 15.0000000 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 306.1812007 MHz
NUC2 1H
CFDPFG2 waltz16
PCPD2 90.00 usec
PL12 10.0000000 W
PL13 0.20863998 W
PL14 0.10495000 W

F2 - Processing Parameters
SI 32768
SF 75.4803210 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



Şekil 5.11. Bileşik 3c' ye Ait ¹³C-NMR Spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\DAN-5_109.lcd

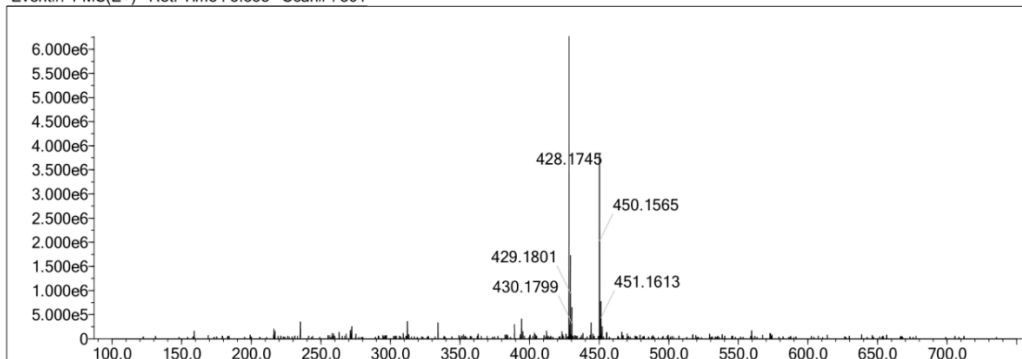
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	6	46	O	2	0	6	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	36	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

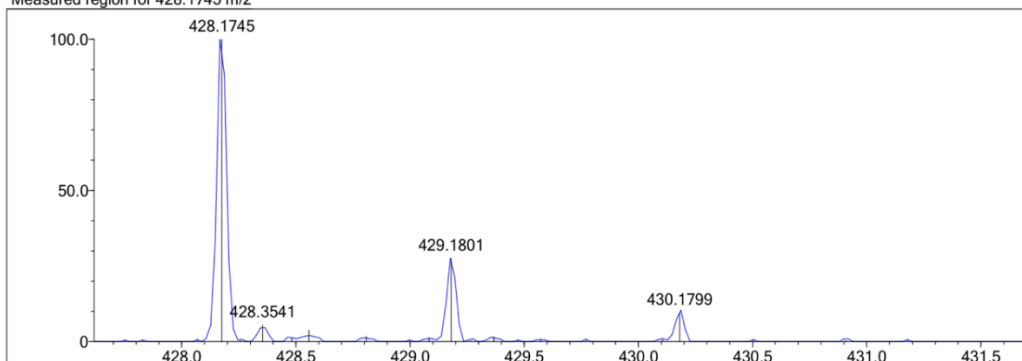
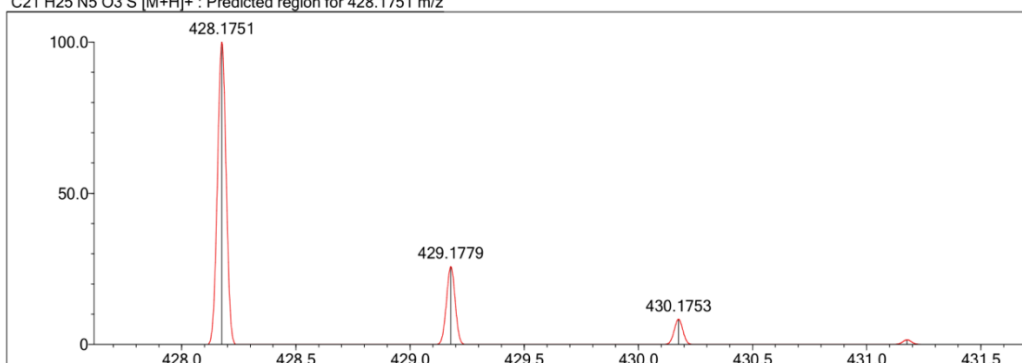
DBE Range: 0.0 - 40.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 5.333 Scan# : 801



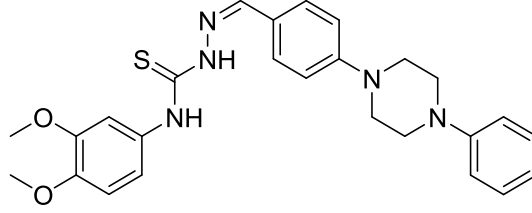
Measured region for 428.1745 m/z

C21 H25 N5 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 428.1751 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	87.18	C21 H25 N5 O3 S	[M+H] ⁺	428.1745	428.1751	-0.6	-1.40	88.06	12.0

Şekil 5.12. Bileşik 3c' ye Ait Kütle Spektrumu

5.1.4. N-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3d)



Şekil 5.13. N-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3d)

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 189.7-191.1 °C. Verim: %76.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3.27-3.29 (4H, m, piperazin), 3.39-3.42 (4H, m, piperazin), 3.75 (3H, s, -OCH₃), 3.76 (3H, s, -OCH₃), 6.81 (1H, t, *J*=7.2 Hz, Monosübstitüebenzen), 6.93 (1H, d, *J*=8.7 Hz, Trisübstitüebenzen), 6.98-7.05 (4H, m, Ar-H), 7.06-7.09 (1H, m, Ar-H), 7.20-7.27 (3H, m, Ar-H), 7.75 (2H, d, *J*=8.9 Hz, Ar-H), 8.05 (1H, s, -CH=N-), 9.89 (1H, s, -NH), 11.61 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 47.72, 48.62, 55.94, 56.10, 111.03, 115.07, 116.14, 118.39, 119.67, 124.55, 129.36, 129.47, 132.71, 143.55, 146.79, 148.37, 151.30, 152.41, 175.78.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan: C₂₆H₂₉N₅O₂S: 476.2115; bulunan: 476.2120.



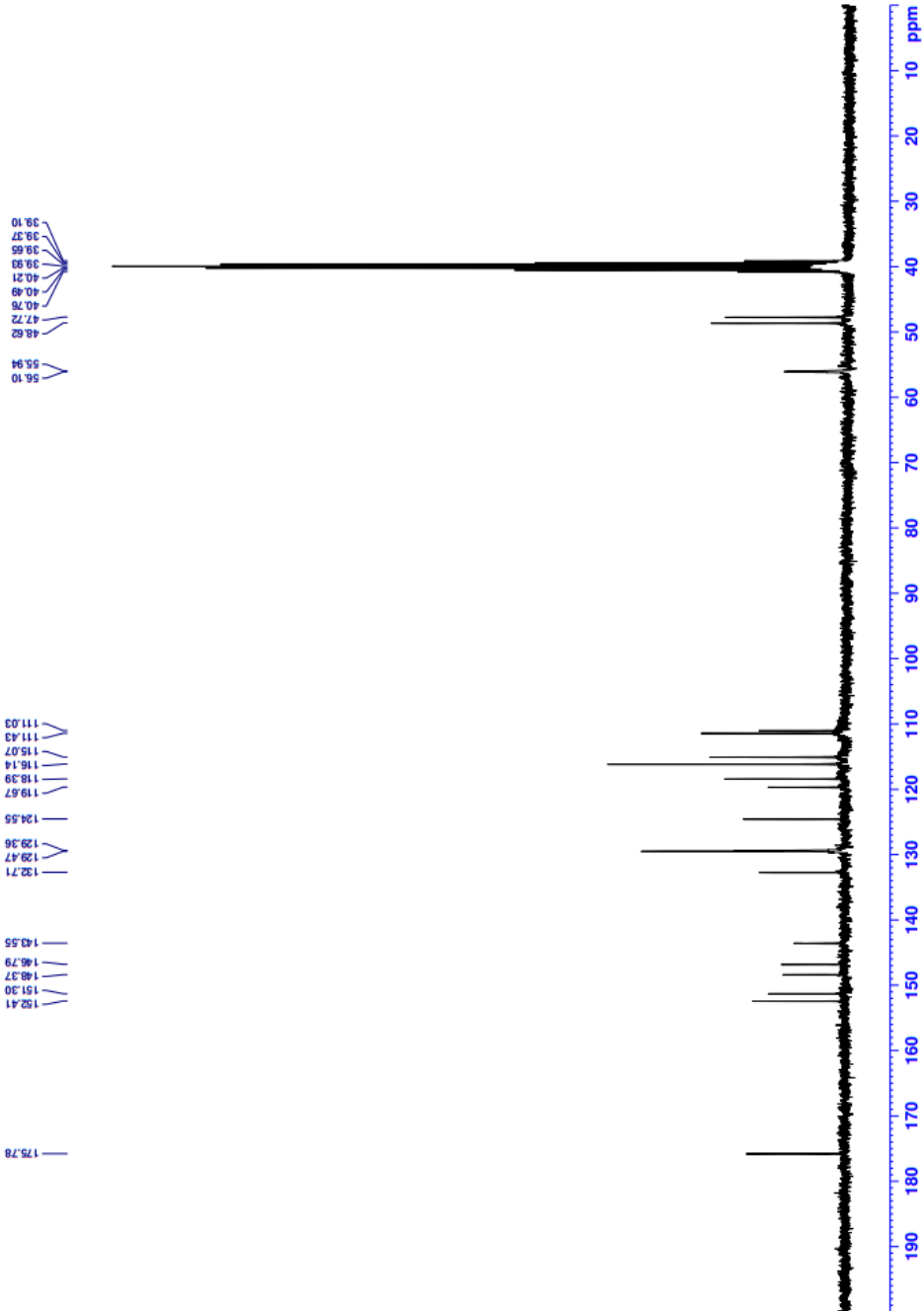
Current Data Parameters
NAME DMSO
EXNO DMSO
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230409
Time_ 0.52
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
SOLVENT DMSO
NS 4096
DS 24414.06 Hz
SFO1 0.745088 Hz
FIDRES 0.6710886 ssec
AQ 501.187
RG 20.460 usec
DE 29.71 Ksec
TE 300.2 K
D1 1.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
D31 0.00015000 sec
D40 0.00000000 sec
L4 2.3
L5 2.6
F32 90.00 usec
TD0 1

===== CHANNEL F1 =====
SFO1 75.4878687 MHz
NUC1 13C
P1 1.00 usec
PLW1 15.00000000 W

===== CHANNEL E2 =====
SFO2 300.1812007 MHz
NUC2 13C
CPDPRG22 waltz16
FCFD2 90.00 usec
PLM2 10.00000000 W
PLM12 0.20863999 W
PLM13 0.10431999 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4803210 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



Şekil 5.15. Bileşik **3d'** ye Ait ^{13}C -NMR Spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\DAN-6_110.lcd

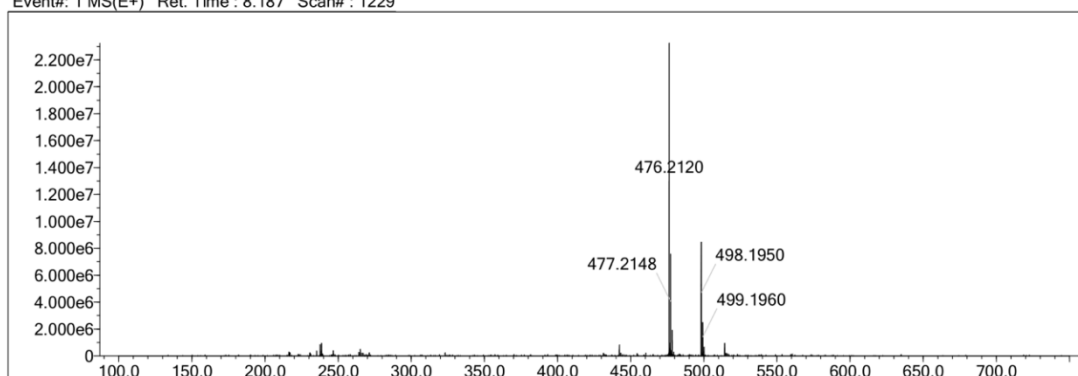
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	6	46	O	2	0	6	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	36	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

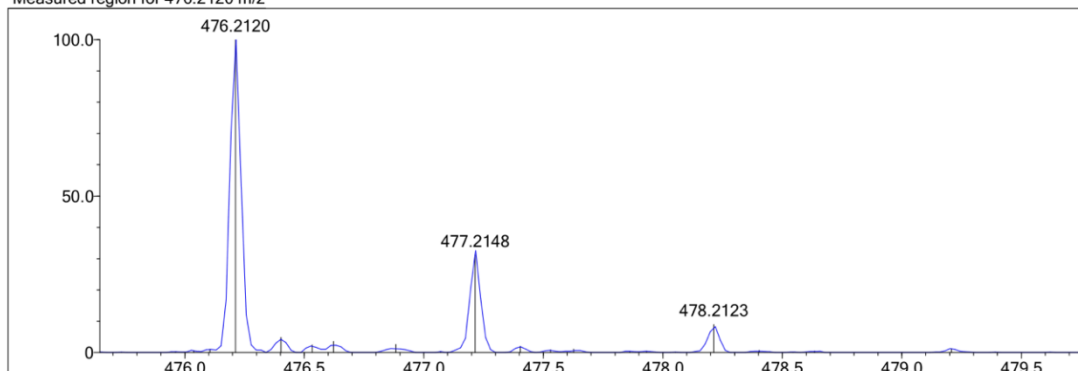
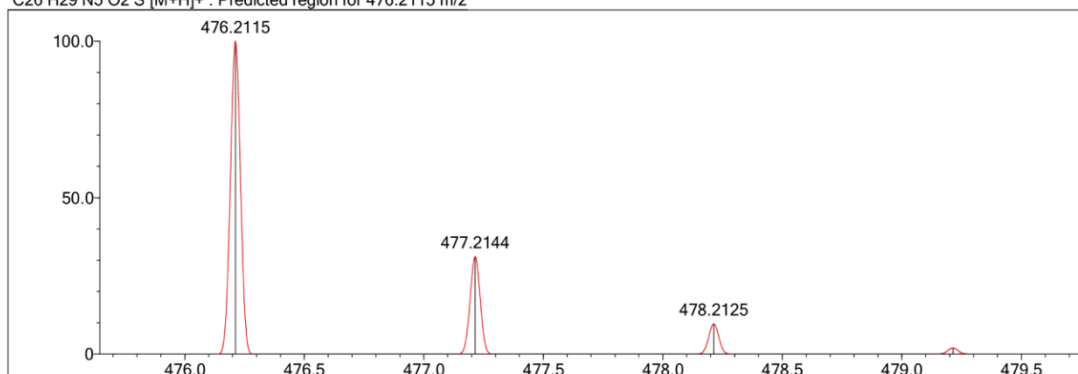
DBE Range: 0.0 - 40.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 8.187 Scan# : 1229



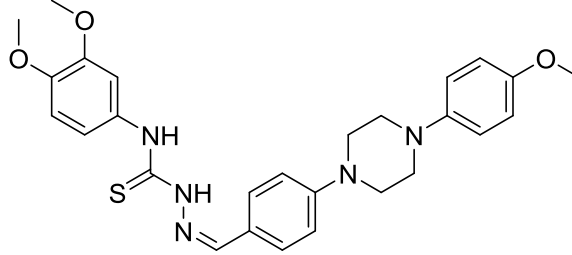
Measured region for 476.2120 m/z

C26 H29 N5 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 476.2115 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	89.03	C26 H29 N5 O2 S	[M+H] ⁺	476.2120	476.2115	0.5	1.05	89.14	15.0

Şekil 5.16. Bileşik 3d' ye Ait Kütle Spektrumu

5.1.5. *N*-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-(4-metoksifenil) piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3e)



Şekil 5.17. *N*-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-(4-metoksifenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (3e)

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 176.0°C – 179.2 °C. Verim: %80.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3.14 (4H, m, piperazin), 3.39 (4H, y, piperazin), 3.68 (3H, s, -OCH₃), 3.74 (3H, s, -OCH₃), 3.75 (3H, s, -OCH₃), 6.82-6.85 (2H, m, Ar-H), 6.91-6.97 (3H, m, Ar-H), 7.00-7.03 (2H, m, Ar-H), 7.05-7.09 (1H, m, Ar-H), 7.20 (1H, m, Ar-H), 8.05 (1H, s, -CH=N-), 9.88 (1H, s, -NH), 11.60 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 47.85, 50.12, 55.64, 55.99, 111.03, 111.42, 114.73, 115.06, 118.22, 118.38, 124.51, 129.35, 132.71, 143.59, 145.66, 146.78, 148.36, 152.46, 153.63, 175.77.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan: C₂₇H₃₁N₅O₃S: 506.2220; bulunan: 506.2230.



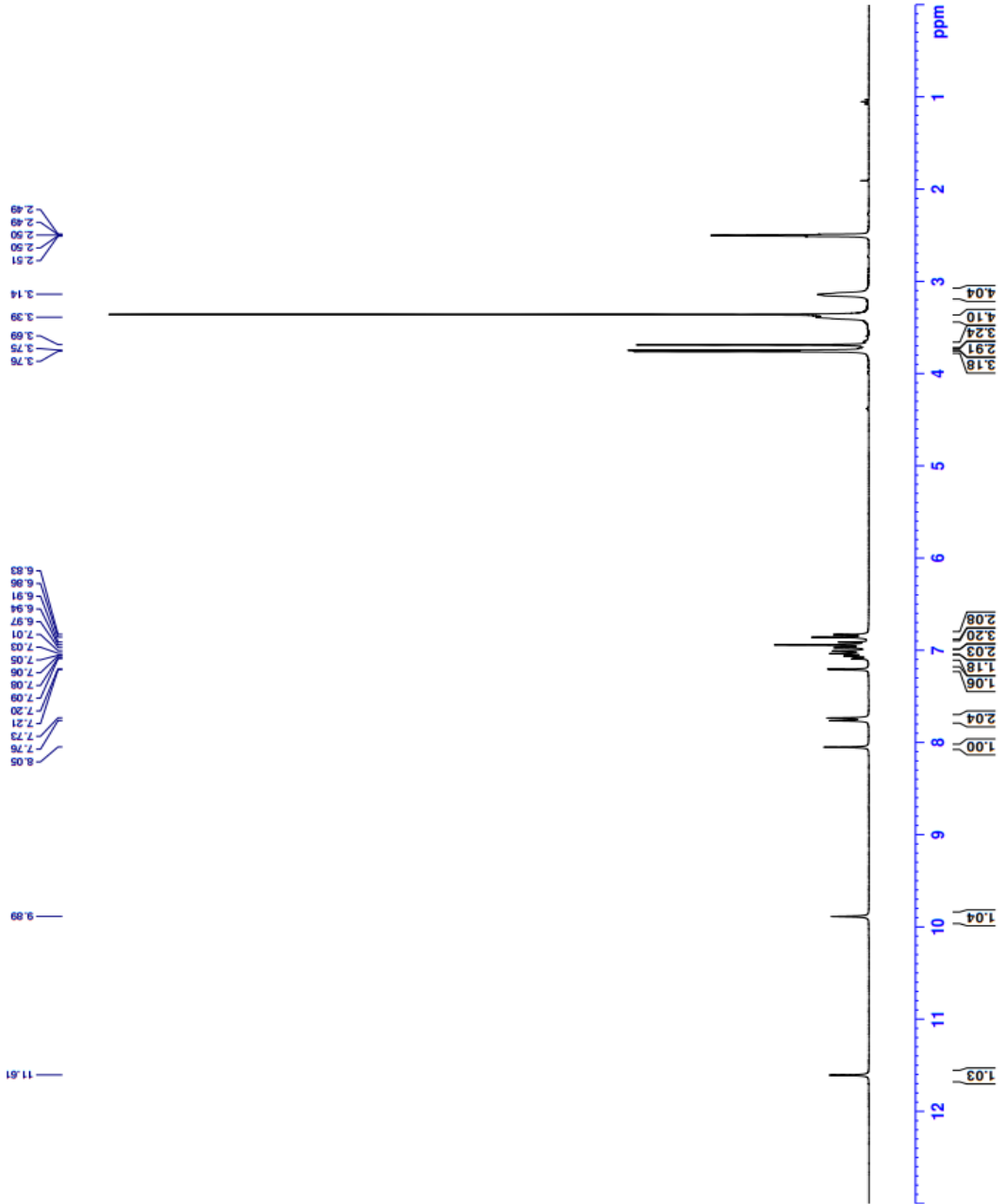
```

Current Data Parameters
NAME      DAN-7
EXPNO     2
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
File      20210228
Time     13.28
INSTRUM   FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG   zg
TD         16384
SOLVENT   DMSO
DS         16
SS         0
SWH        6103.516 Hz
FIDRES    0.372529 Hz
AQ         1.3421773 sec
RG         3.891
DW         81.920 usec
DE         6.500 usec
TE         300.2 K
D1         3.00000000 sec
TD0        1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1      300.1818537 MHz
NUC1      13
P1         13.00 usec
PL1        0.00 dB
FLM1      10.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI         65536
SF         300.1800000 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.30 Hz
GB         0
PC         1.00
  
```



Şekil 5.18. Bileşik 3e'ye Ait ¹H-NMR Spektrumu



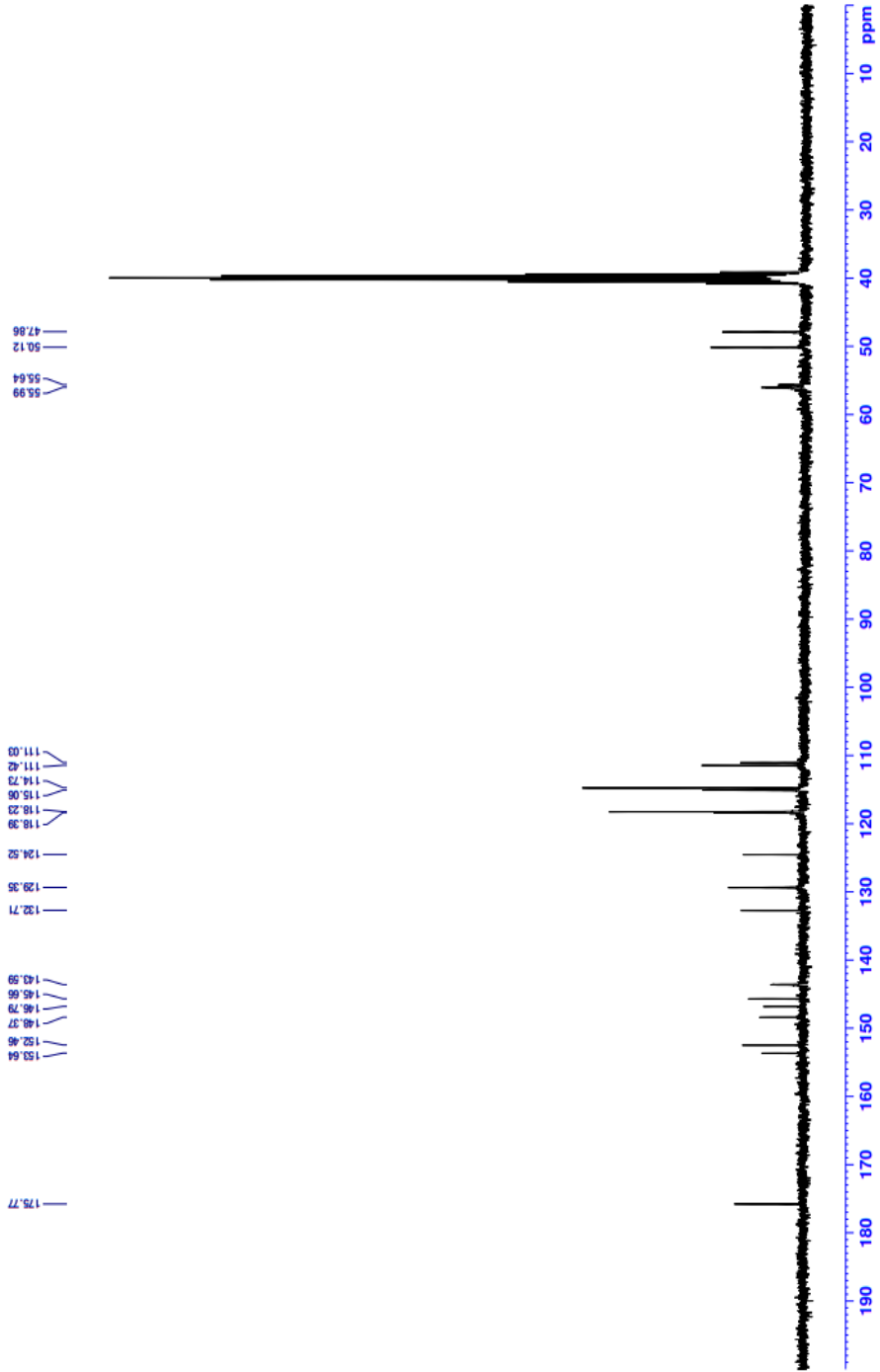
Current Data Parameters
NAME: DANI
EXPNO: 1
PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ Time: 20230429
INSTRUM: FOURIER300
PROBHD: 5 mm DUL 13C-1
PULPROG: zgpg30
TD: 32768
SOLVENT: DMSO
NS: 4096
DS: 4
SWH: 24414.063 Hz
FIDRES: 0.745058 Hz
AQ: 0.5710885 sec
RG: 327.68
DW: 20.480 usec
DE: 6.50 usec
TE: 300.2 K
D1: 1.00000000 sec
D11: 0.03000000 sec
D31: 0.00001500 sec
D32: 0.89999998 sec
L4: 0.00093923 sec
L5: 26
L6: 26
L7: 90.00 usec
L8: 1
L9: 1

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

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.1812007 MHz
NUC2 1H
CPDPRG2 waltz16
P2 10.00000000 usec
PLW2 10.00000000 W
PLW12 0.20863999 W
PLW13 0.10495000 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4803210 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
FC 1.40



Şekil 5.19. Bileşik 3e' ye Ait ^{13}C -NMR Spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\DAN-7_112.lcd

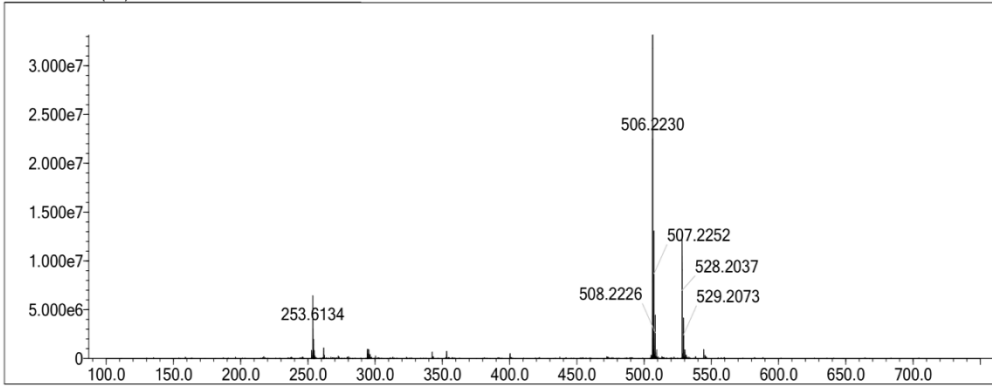
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	6	46	O	2	0	6	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	36	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

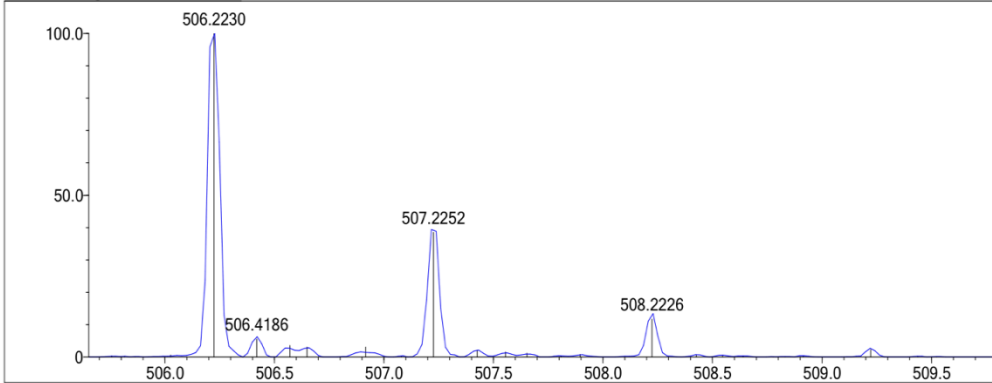
DBE Range: 0.0 - 40.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

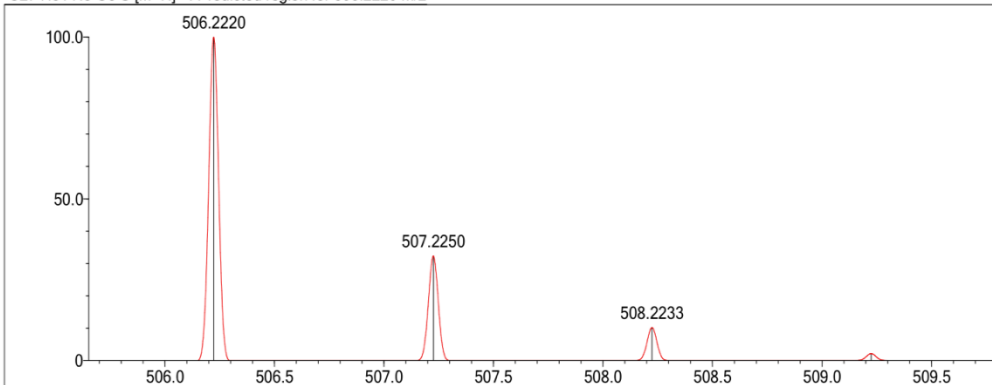
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 6.960 Scan#: 1045



Measured region for 506.2230 m/z



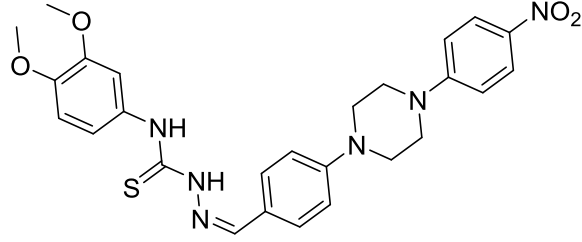
C27 H31 N5 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 506.2220 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	85.26	C27 H31 N5 O3 S	[M+H] ⁺	506.2230	506.2220	1.0	1.98	87.40	15.0

Şekil 5.20. Bileşik 3e'ye Ait Kütle Spektrumu

5.1.6. N-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-(4-nitrofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3f)



Şekil 5.21. *N-(3,4-Dimetoksifenil)-2-(4-(4-(4-nitrofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3f)*

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 195.0 °C-197.1 °C. Verim: %79.

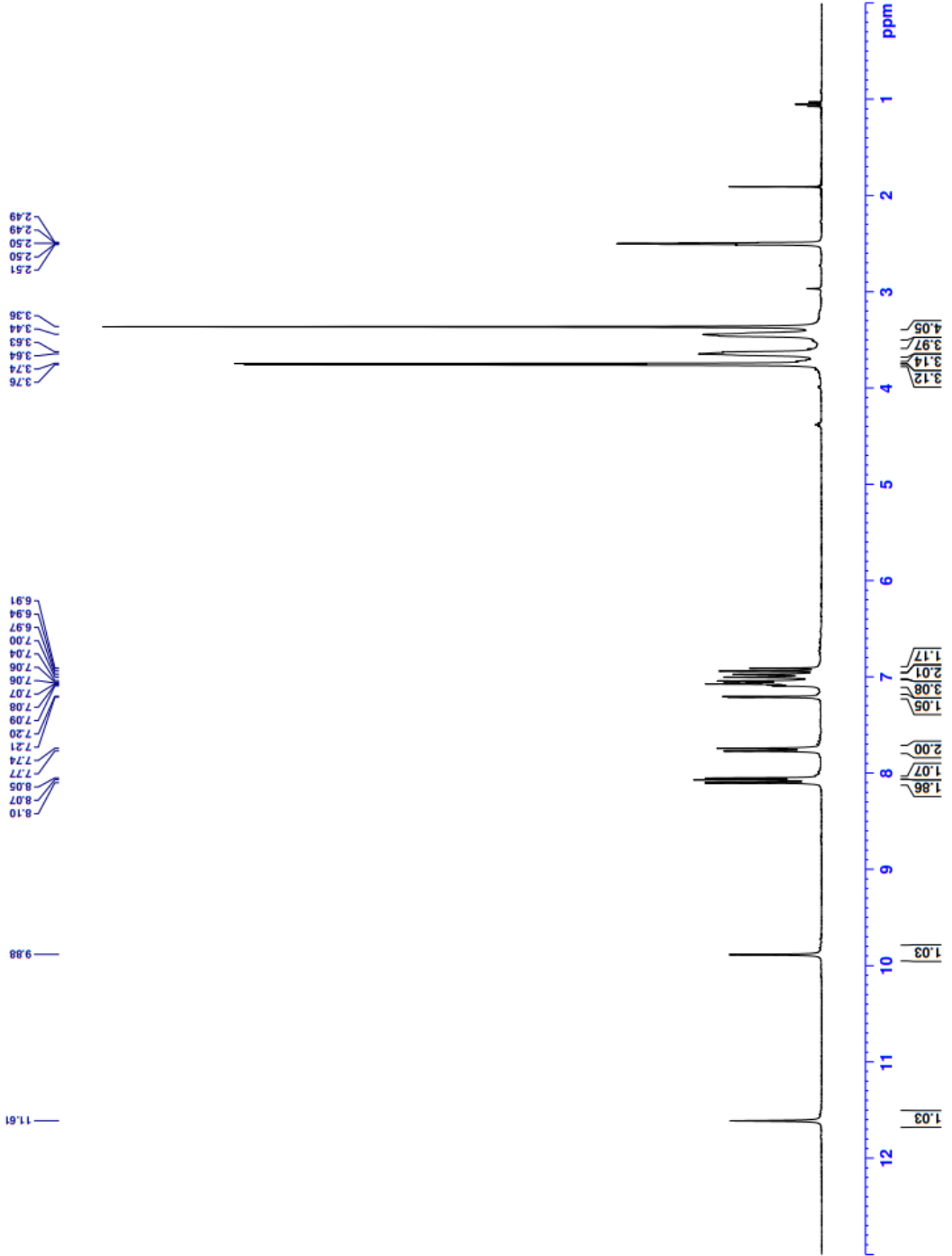
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3.44 (4H, y, piperazin), 3.64 (4H, y, piperazin), 3.74 (3H, s, -OCH₃), 3.75 (3H, s, -OCH₃), 6.90-6.93 (1H, m, Ar-H), 6.97-7.00 (2H, m, Ar-H), 7.04-7.09 (3H, m, Ar-H), 7.20-7.21 (1H, d, *J* = 2,34 Hz, Ar-H), 7.74-7.77 (2H, d, *J* = 8,67 Hz, Ar-H) 8.05 (1H, s, -CH=N-), 8.06-8.09, (2H, d, *J* = 9,27 Hz, Ar-H), 9.88 (1H, s, -NH), 11.61 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 47.85, 50.12, 55.64, 55.99, 111.03, 111.42, 114.73, 115.06, 118.22, 118.38, 124.51, 129.35, 132.71, 143.59, 145.66, 146.78, 148.36, 152.46, 153.63, 175.77.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan: C₂₆H₂₈N₆O₄S: 521.1966; bulunan: 521.1960.



Current Data Parameters
NAME DAN-9
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230429
Time 13.35
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 1JC-4
PULPROG zgpg30
TD 16384
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.51 Hz
FIDRES 0.972559 Hz
AQ 1.3421773 sec
RG 3.981
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 292.0 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1
===== CHANNEL f1 =====
SF01 300.181837 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W
F2 - Processing Parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
CB 0.30 Hz
PC 1.00



Şekil 5.22. Bileşik 3f 'ye Ait ¹H-NMR Spektrumu



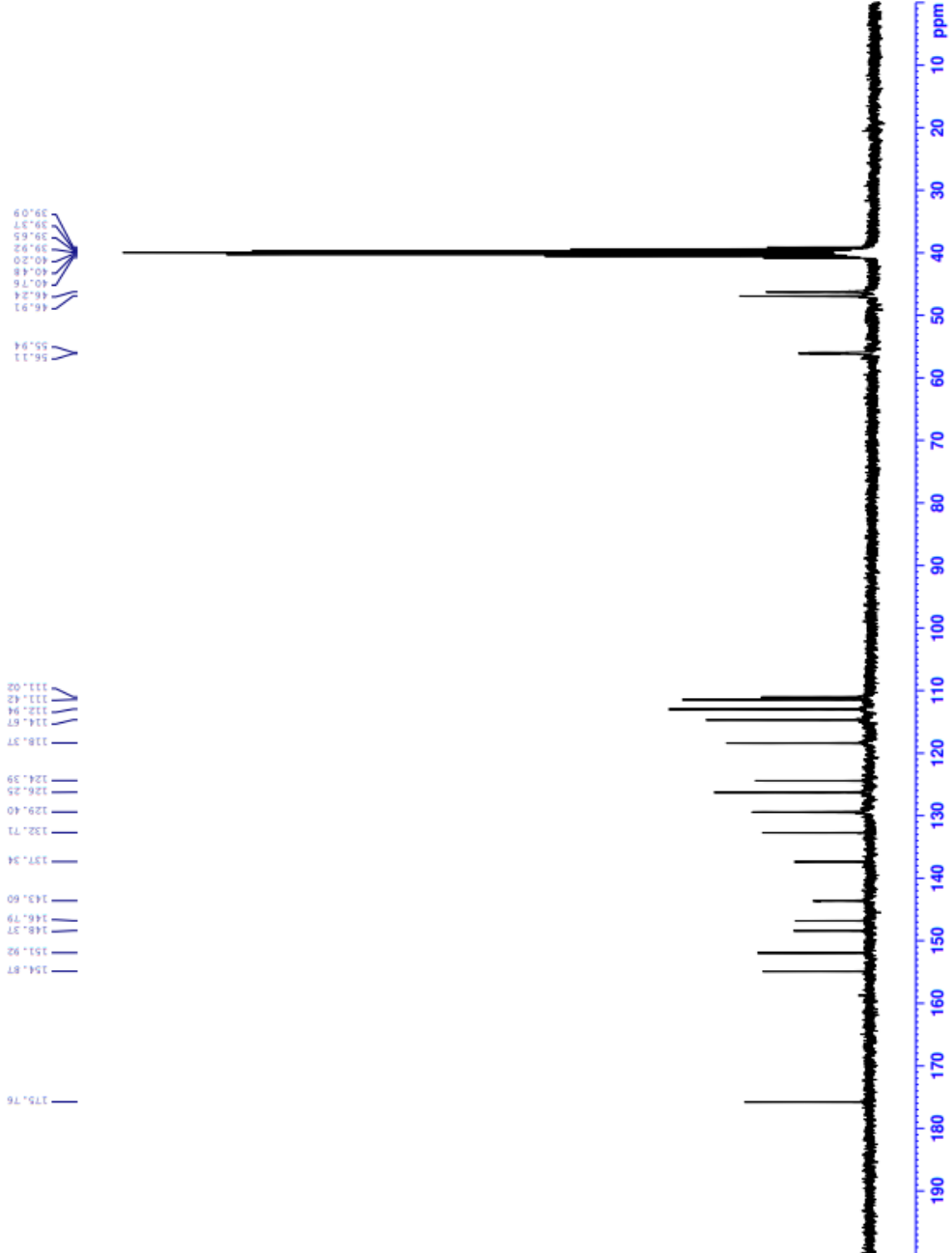
Current Data Parameters
NAME DAM-B
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230429
Time 4.28
INSTRUM FOURIER300
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT DMSO
NS 4096
DS 4
SWH 24414.06 Hz
FIDRES 0.74508 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
DW 20.480 usec
DE 8.50 usec
TE 300.2 K
D1 1.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
D31 0.00001500 sec
D32 0.89999988 sec
L40 0.00099999 sec
L5 2.26
F32 90.00 usec
TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.487687 MHz
NUC1 13C
P1 15.00 usec
PLW1 15.00000000 M

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.1812007 MHz
NUC2 1H
P2 15.00 usec
PLW2 15.00000000 M

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4803210 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



Şekil 5.23. Bileşik 3f 'ye Ait ¹³C-NMR Spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\DAN-8_1.lcd

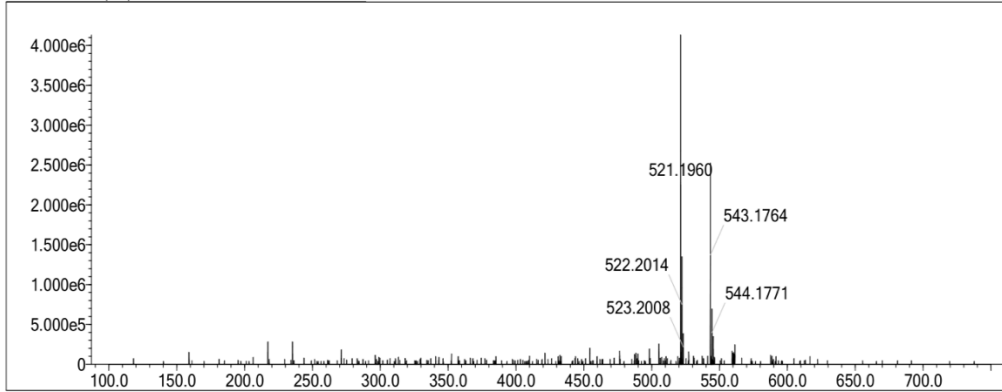
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	6	46	O	2	0	6	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	36	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

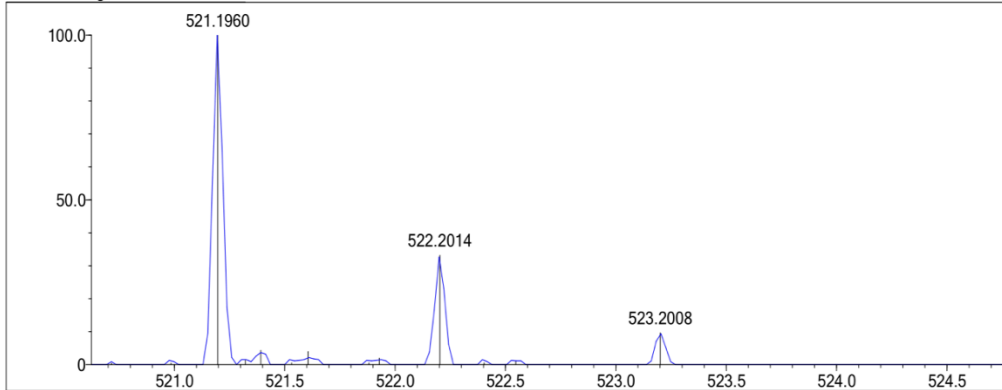
DBE Range: 0.0 - 40.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

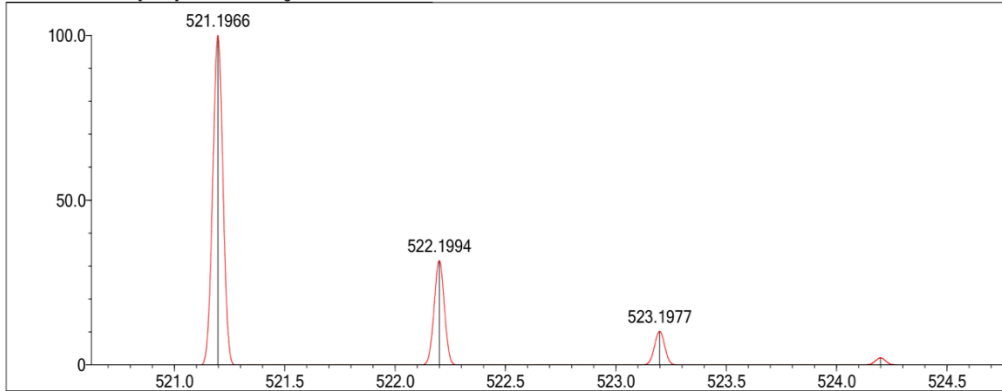
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 7.533 Scan#: 1131



Measured region for 521.1960 m/z



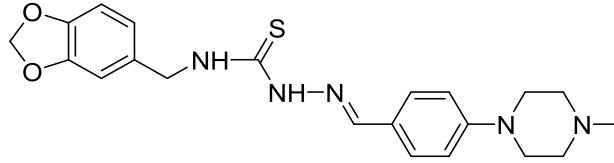
C26 H28 N6 O4 S [M+H]⁺ : Predicted region for 521.1966 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	90.09	C26 H28 N6 O4 S	[M+H] ⁺	521.1960	521.1966	-0.6	-1.15	90.43	16.0

Şekil 5.24. Bileşik 3f' ye Ait Kütle Spektrumu

5.1.7. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3g)



Şekil 5.25. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3g)

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 115.1 °C-117.9 °C. Verim: %80.

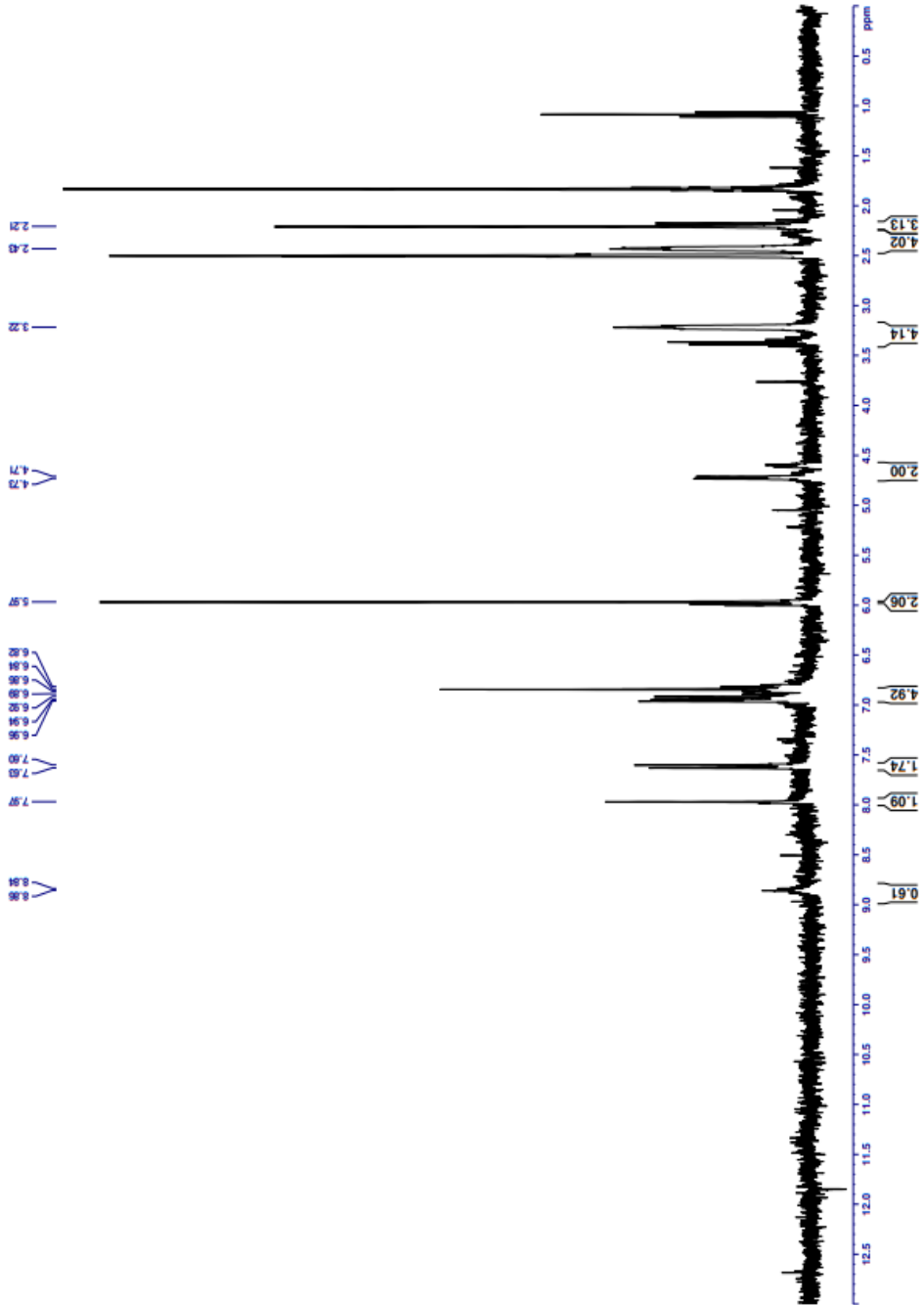
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 2.20 (3H, s, -CH₃), 2.43 (4H, y, piperazin), 3.21 (4H, y, piperazin), 4.71-4.72 (2H, d, *J*=6.28 Hz, -CH₃), 5.96 (2H, s, dioksol), 6.84-6.96 (5H, m, Ar-H), 7.05-7.08 (3H, dd, *J*=8.67 Hz, Ar-H), 7.59-7.62 (2H, d, *J*=8.86 Hz, Ar-H), 7.96 (1H, s, -CH=N-), 8.84 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 47.04, 47.55, 54.87, 56.63, 98.89, 101.21, 103.53, 107.28, 109.46, 113.77, 115.86, 124.41, 127.90, 130.04, 142.20, 144.34, 152.44, 173.29, 177.21.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan: C₂₁H₂₅N₅O₂S: 412.1802; bulunan: 412.1803.



Current Data Parameters
NAME DAN-11X
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230903
Time_ 10.00
INSTRUM FDR100
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.3421773 Hz
AQ 1.3421773 sec
RG 501.187
RC 81.920 usec
DW 81.920 usec
TE 296.1 K
DE 2.0000000 sec
D1 3.0000000 sec
TD0 1
===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1818637 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.0000000 W
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.26. Bileşik 3g' ye Ait ¹H-NMR Spektrumu



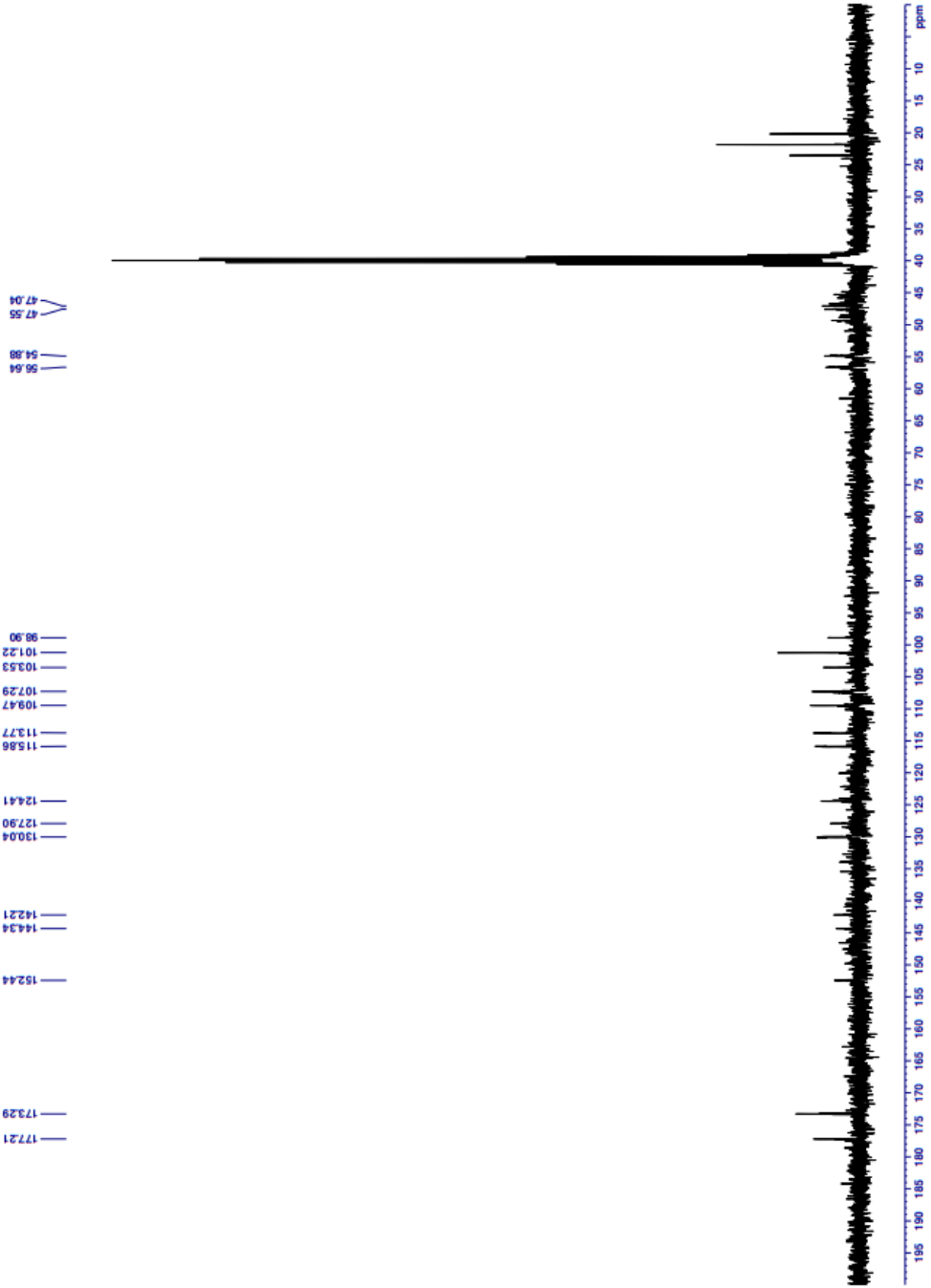
Current Data Parameters
NAME DAN-11X
PROCNO 1
PRGNAME 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230503
Time 12.15
PROGRAM zgpg30
PROBHD 5 mm QNP 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT DMSO
NS 2048
DS 4
SWH 24414.063 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
CW 20.480 usec
DE 26.50 usec
TE 300.2 K
D1 1.0000000 sec
D11 0.0300000 sec
D31 0.0001500 sec
D32 0.8999998 sec
D40 0.0009990 sec
L1 26
L2 26
F32 90.00 usec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
RF01 75.487687 MHz
NUC1 13C
P1 15.00 usec
PLM1 15.0000000 W

===== CHANNEL f2 =====
RF02 300.182000 MHz
NUC2 1H
P2 15.00 usec
PLM2 15.0000000 W
CFPRG12 waltz16
PCPD2 10.0000000 W
PLM12 0.2086399 W
PLM13 0.1043199 W

F2 - Processing Parameters
SI 32768
SF 75.4803210 MHz
WDW EM
SSB 0
GB 0
FC 1.40



Şekil 5.27. Bileşik 3g' ye Ait Kütle Spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\DAN-11_4.lcd

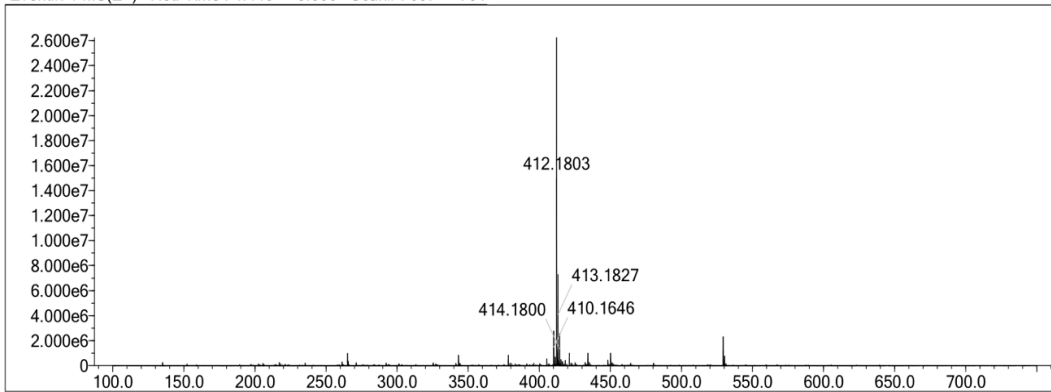
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	6	46	O	2	0	6	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	36	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

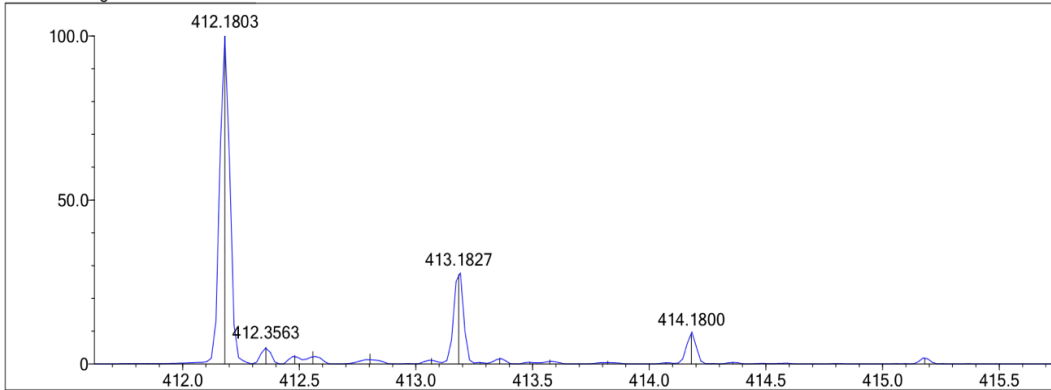
DBE Range: 0.0 - 40.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

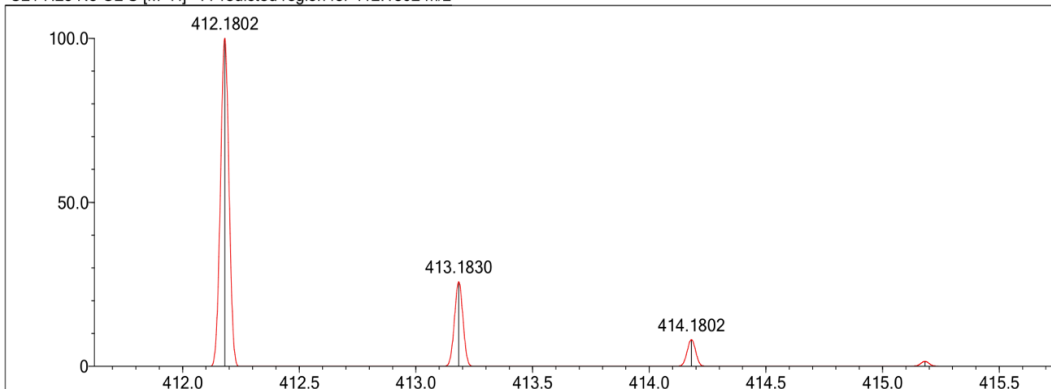
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.440 -> 5.000 Scan#: 667 -> 751



Measured region for 412.1803 m/z



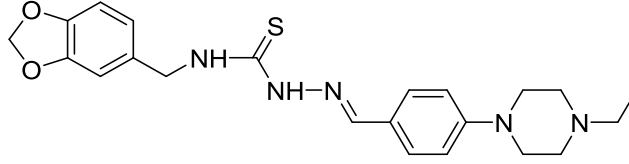
C21 H25 N5 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 412.1802 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	100.00	C21 H25 N5 O2 S	[M+H] ⁺	412.1803	412.1802	0.1	0.24	100.00	12.0

Şekil 5.28. Bileşik 3g' ye Ait Kütle Spektrumu

5.1.8. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-etilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3h)



Şekil 5.29. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-etilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3h)

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 146.0 °C – 149.5 °C. Verim: %75.

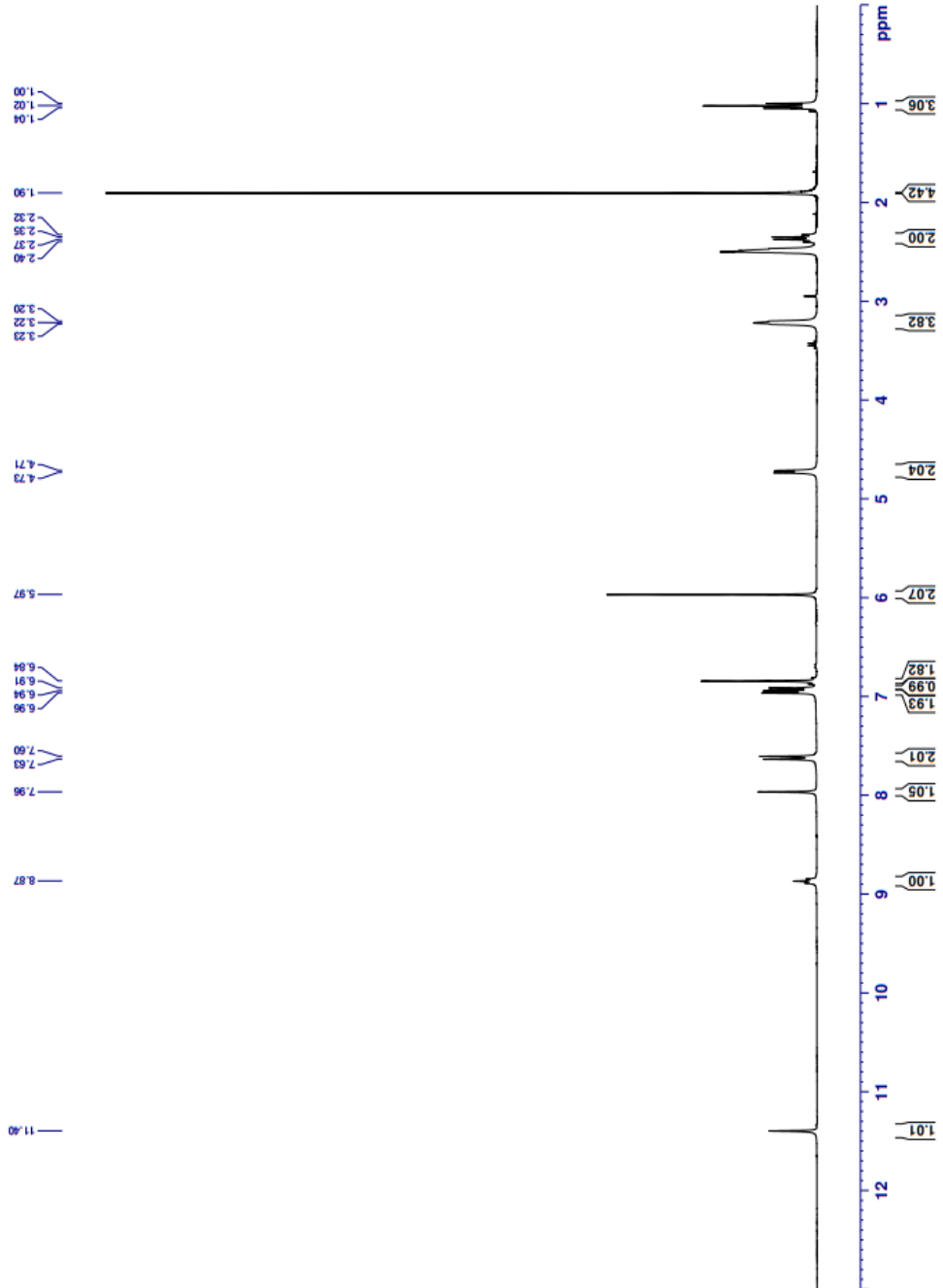
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 0.99-1.04 (3H, t, *J*=7.15 Hz, -CH₃), 1.90 (4H, s, piperazin), 2.32-2.39 (2H, q, *J*=7.15 Hz, CH₂), 3.20-3.23 (4H, y, piperazin), 4.72 (2H, d, *J*=6.16 Hz, -CH₃), 5.96 (2H, s, dioksol), 6.84 (2H, s, Ar-H), 6.91 (1H, s, Ar-H), 6.94-6.96 (2H, d, *J*=5.91 Hz, Ar-H), 7.60-7.63 (2H, d, Ar-H), 7.96 (1H, s, -CH=N-) 8.86 (1H, s, -NH), 11.39 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.34, 21.59, 46.67, 47.59, 52.02, 52.55, 101.21, 108.38, 108.52, 114.81, 121.08, 124.35, 128.96, 133.97, 143.22, 146.45, 147.49, 152.43, 172.57, 175.77.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan: C₂₂H₂₇N₅O₂S: 426.1958; bulunan: 426.1945.



Current Data Parameters
 NAME DAN-12
 EXPNO 2
 PROCNO 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20230429
 Time 13:05
 INSTRUM FOURIEM
 PROBHD 5 mm DUL-13C-1
 PULPROG zg
 TD 16384
 SOLVENT DMSO
 NS 16
 DS 4
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 0.37229 Hz
 AQ 1.341981 sec
 RG 327.981
 DW 81.920 usec
 DE 6.50 usec
 TE 300.2 K
 D1 3.0000001 sec
 TD0
 ===== CHANNEL f1 =====
 NU1 13
 NUC1 13C
 P1 13.00 usec
 PL1 0.00000000 W
 FLM1 10.00000000 W
 SFO 300.1800000 MHz
 SF 300.1800000 MHz
 EM 65536
 NSB 0
 CB 0
 GB 0
 PC 1.00



Şekil 5.30. Bileşik 3h'ye Ait ¹H-NMR Spektrumu



```

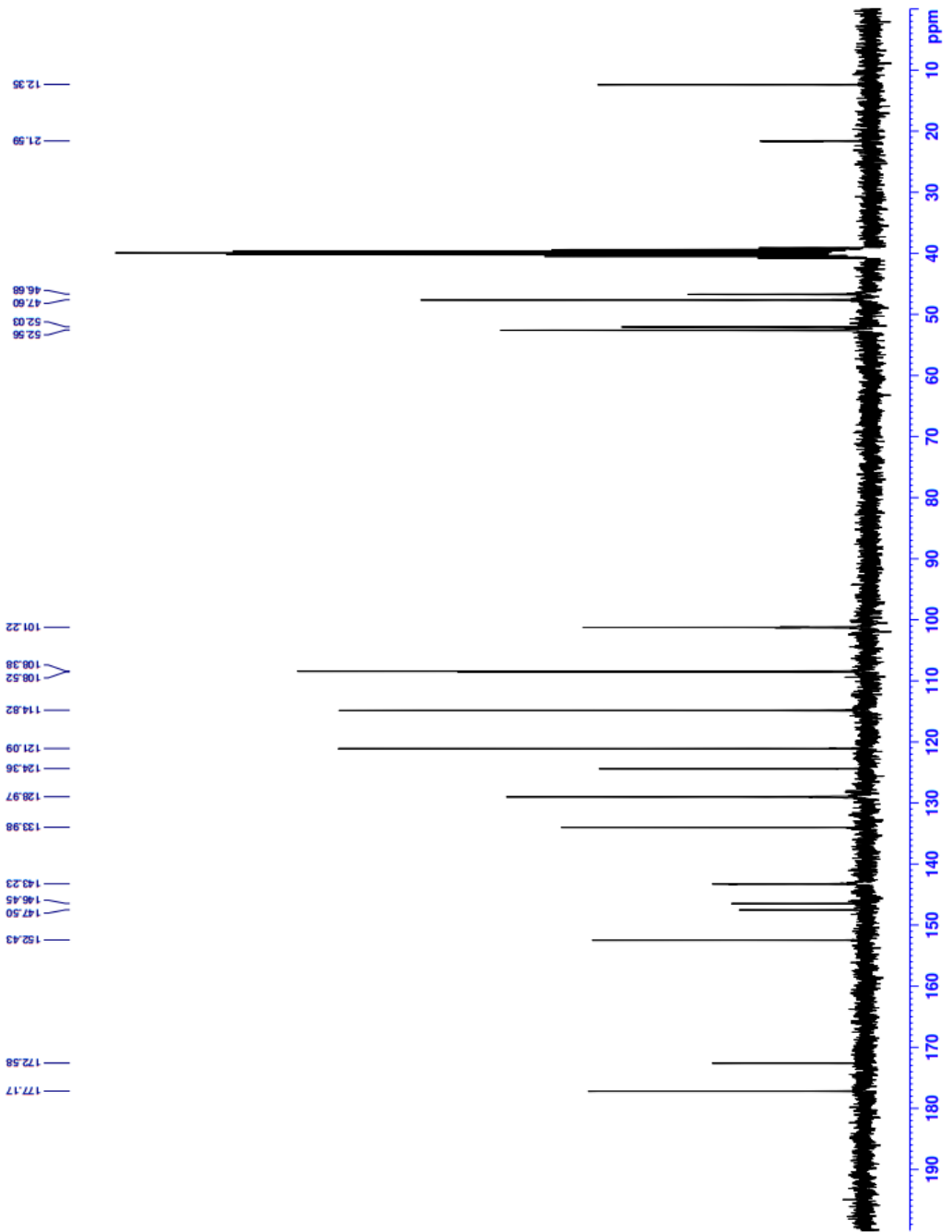
Current Data Parameters
NAME          DAN-12
EXPNO         1
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20230429
Time          12.22
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD        5 mm DUL 13C-1
PULPROG       zgpg30
TD            32768
SOLVENT       H2O
NS            1536
DS            4
SMH           24414.063 Hz
FIDRES        0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG            501.187
DM            20.480 usec
DE            282.0 K
TE            292.0 K
D1            1.00000000 sec
D11           0.03000000 sec
D31           0.00001500 sec
D32           0.89999998 sec
D40           0.00093990 sec
L1            2
L2            2
L3            2
F22           90.00 usec
TD0           1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1          75.4878687 MHz
NUC1          13C
P1            15.00 usec
PLM1          15.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2          300.1812007 MHz
NUC2          1H
CPDPRG2       waltz16
PCPDZ        10.000 90.00 usec
PLM2          0.20863999 W
PLM13         0.10495000 W

F2 - Processing parameters
SI            32768
SF            75.4803210 MHz
WDW           EM
SSB           0
GB            1.00 Hz
PC            1.40
  
```



Şekil 5.31. Bileşik 3h' ye Ait ^{13}C -NMR Spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\ DAN-12_5.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	6	46	O	2	0	6	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	36	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 0.0 - 40.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

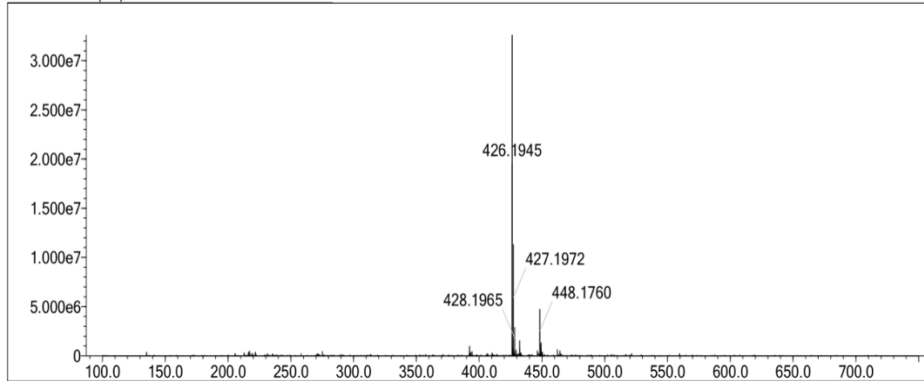
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

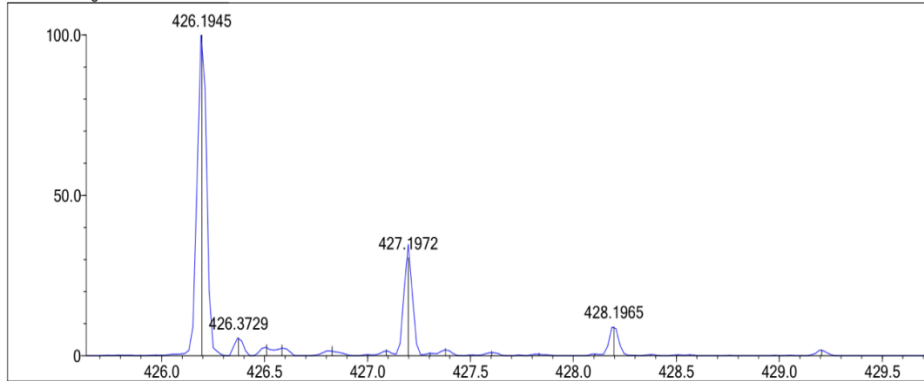
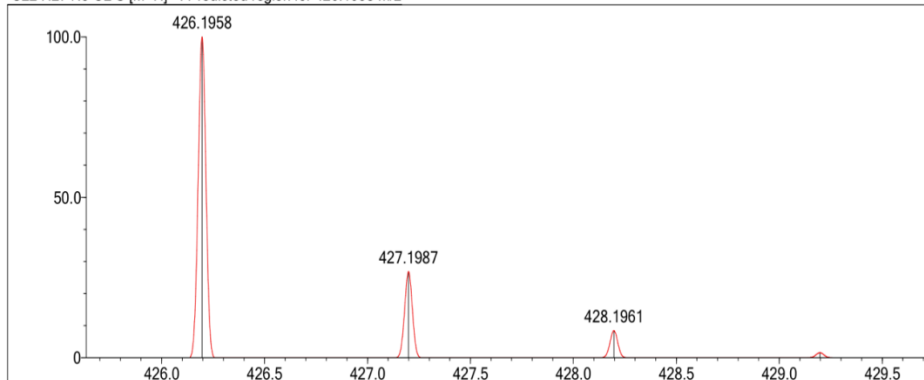
Isotope Res: 9000

Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.907 Scan# : 737



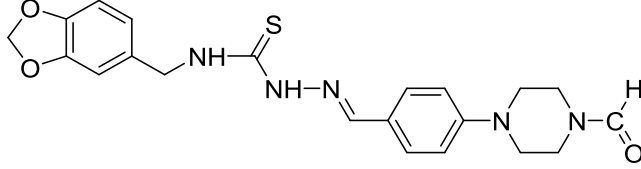
Measured region for 426.1945 m/z

C22 H27 N5 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 426.1958 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	80.19	C22 H27 N5 O2 S	[M+H] ⁺	426.1945	426.1958	-1.3	-3.05	84.52	12.0

Şekil 5.32. Bileşik 3h'ye Ait Kütle Spektrumu

5.1.9. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-formilpiperazin-1il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3i)



Şekil 5.33. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-formilpiperazin-1il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3i)

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 205.1 °C – 207.9 °C. Verim: %83.

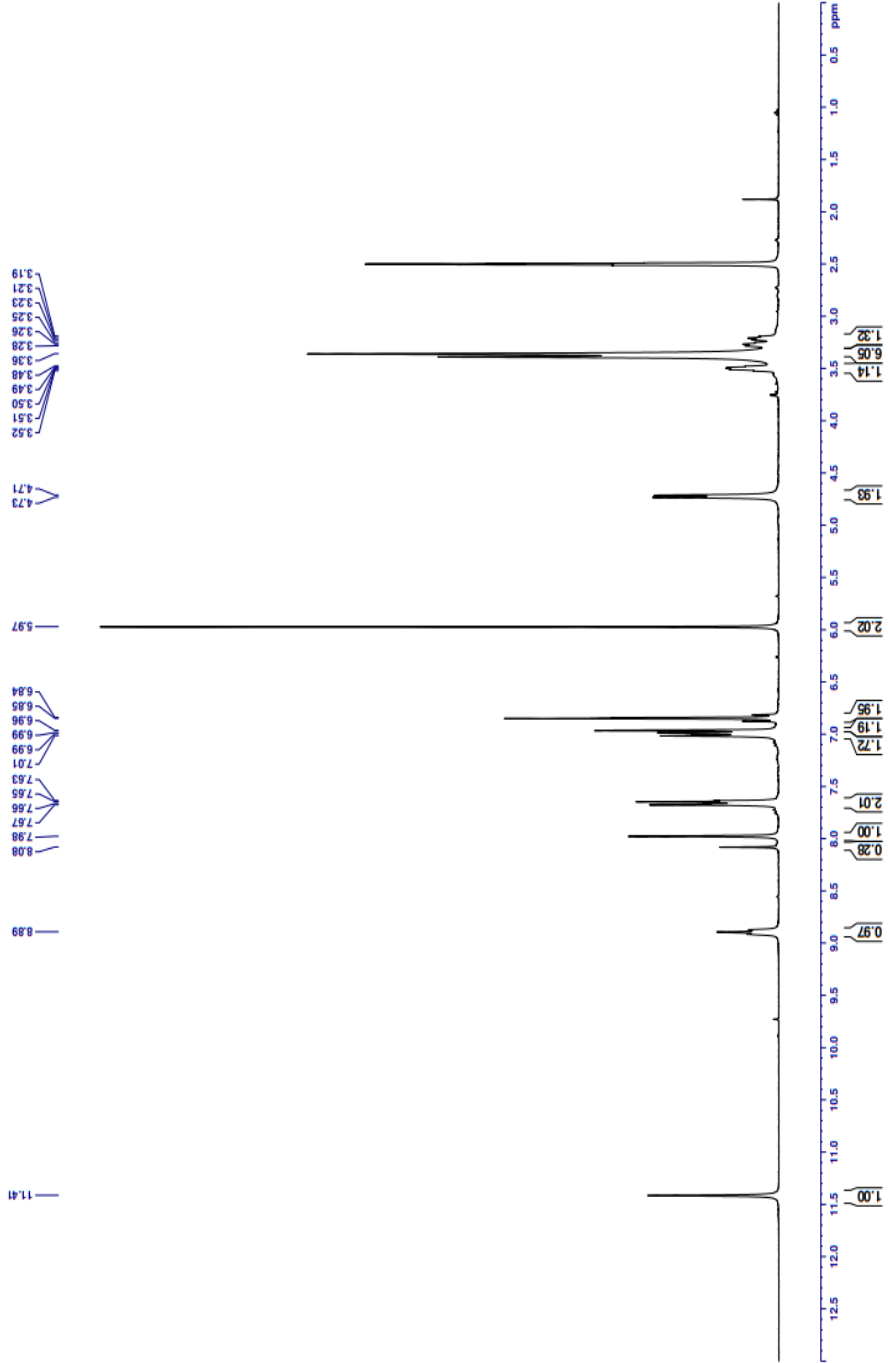
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3.19-3.52 (8H, m, piperazin), 4.72 (2H, d, *J*=6.10 Hz, -CH₃) 5.97 (2H, s, dioksol), 6.84 (2H, m, Ar-H), 6,96 (1H, s, Ar-H), 6.98-7.01 (2H, m, Ar-H), 7.63-7.67 (2H, m, Ar-H), 7.97 (1H, s, -CH=N-), 8.07 (1H, s, CHO), 8.89 (1H, s, -NH), 11.14 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 44.81, 46.67, 47.52, 48.81, 101.22, 108.40, 108.51, 115.08, 115.64, 121.08, 124.71, 125.03, 129.02, 133.97, 143.14, 146.45, 147.50, 152.19, 161.34, 177.19.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan: C₂₁H₂₅N₅O₃S: 426.1954; bulunan: 426.1591.



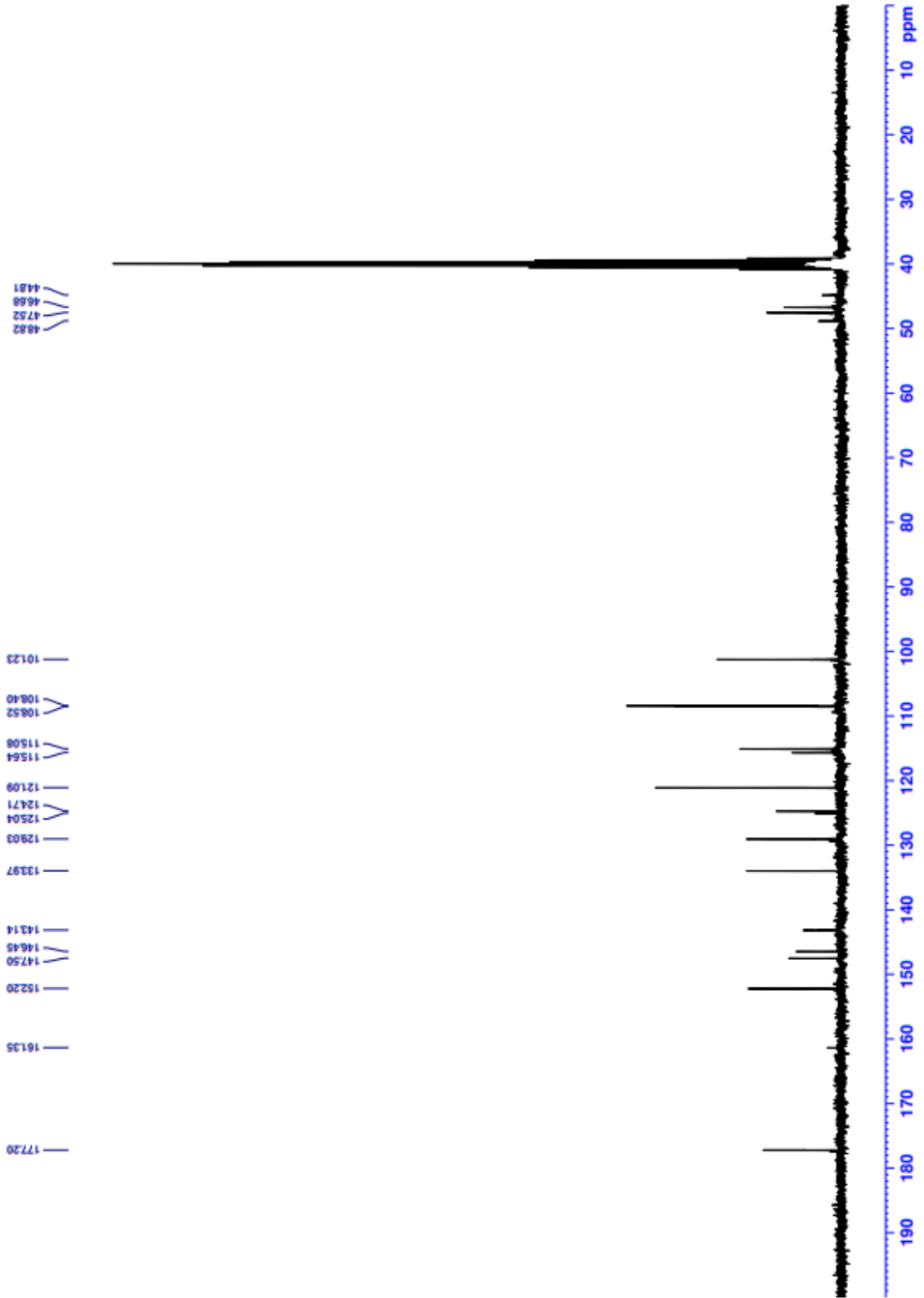
Current Data Parameters
Name: DM1-1
EXPNO: 1
PROCNO: 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230429
Time 12.50
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 1H-4G
PULPROG zgpg30
ID 16384
NAME 3
SOLVENT DMSO
DS 4
SWH 6103.516 Hz
AQ 0.08000000 sec
RG 3.981 sec
DW 81.900 usec
DE 19.100 usec
TE 292.0 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1
===== CHANNEL f1 =====
SF01 300.1818537 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W
F2 - Processing Parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



Şekil 5.34. Bileşik 3i' ye Ait ^1H -NMR Spektrumu



```
Current Data Parameters
NAME      DAN-13
PROCNO    1
F2 - Acquisition Parameters
Date_     20230429
Time      14:44
INSTRUM   FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG   zgpg
TD         32768
SOLVENT   DMSO
NS         4096
DS         4
SWH        24414.063 Hz
FIDRES     0.745058 Hz
AQ         0.571086 sec
RG         20.480 usec
DE         6.50 usec
TE         292.3 K
D1         1.0000000 sec
d11        0.0000000 sec
D31        0.0001500 sec
D32        0.89999998 sec
D40        0.00039990 sec
I4         23
Z3         2
PC         90.00 usec
TD0        1
===== CHANNEL f1 =====
NUC1       13C
P1         15.00 usec
PLW1       15.00000000 M
===== CHANNEL f2 =====
SFO2       300.1821007 MHz
NUC2       1H
waitz16
CPDPRG2    waitz16
PCPD2      90.00 usec
PLW2       10.00000000 M
===== CHANNEL f3 =====
PLW3       0.10485000 M
PLW13      0.10485000 M
F2 - Processing Parameters
SI         32768
SF         75.4803187 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         1.00 Hz
GB         0
PC         1.40
```



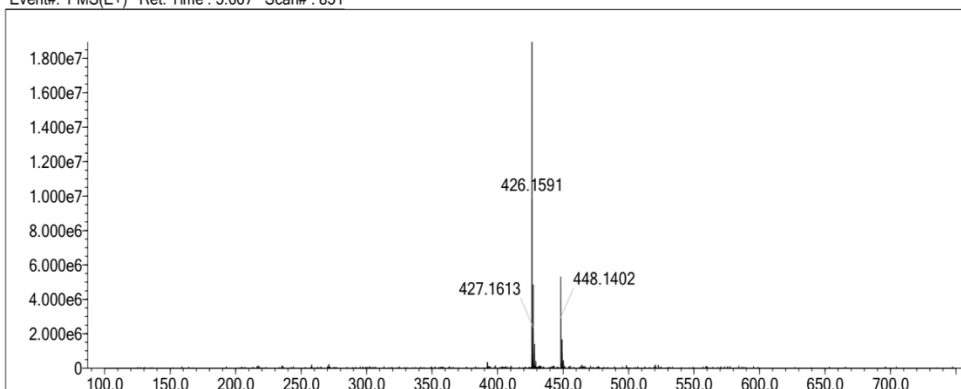
Şekil 5.35. Bileşik 3i' ye Ait ^{13}C -NMR Spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\DAN-13_7.lcd

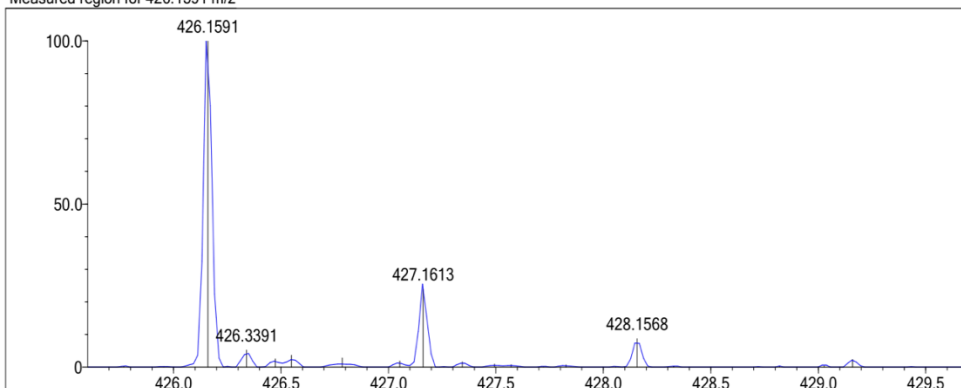
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	6	46	O	2	0	6	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	36	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 DBE Range: 0.0 - 40.0
 Electron Ions: both
 HC Ratio: unlimited
 Apply N Rule: yes
 Use MSn Info: yes
 Max Isotopes: 3
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Iso RI (%): 10.00
 MSn Logic Mode: AND
 Max Results: 50

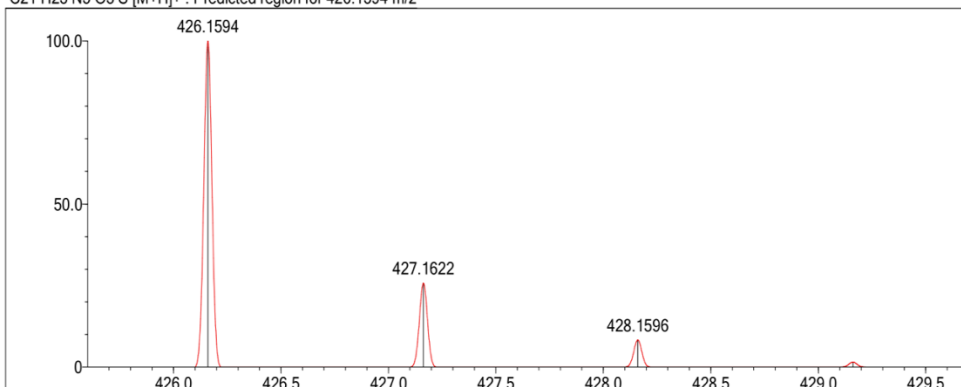
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 5.667 Scan#: 851



Measured region for 426.1591 m/z



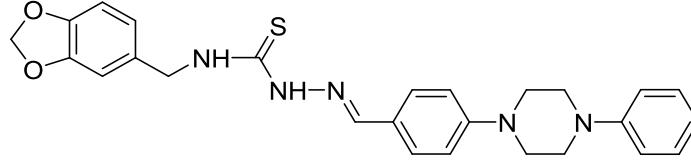
C21 H23 N5 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 426.1594 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	84.11	C21 H23 N5 O3 S	[M+H] ⁺	426.1591	426.1594	-0.3	-0.70	84.11	13.0

Şekil 5.36. Bileşik 3i' ye Ait Kütle Spektrogramı

5.1.10. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3j)



Şekil 5.37. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3j)

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 213°C – 215.2 °C. Verim: %77.

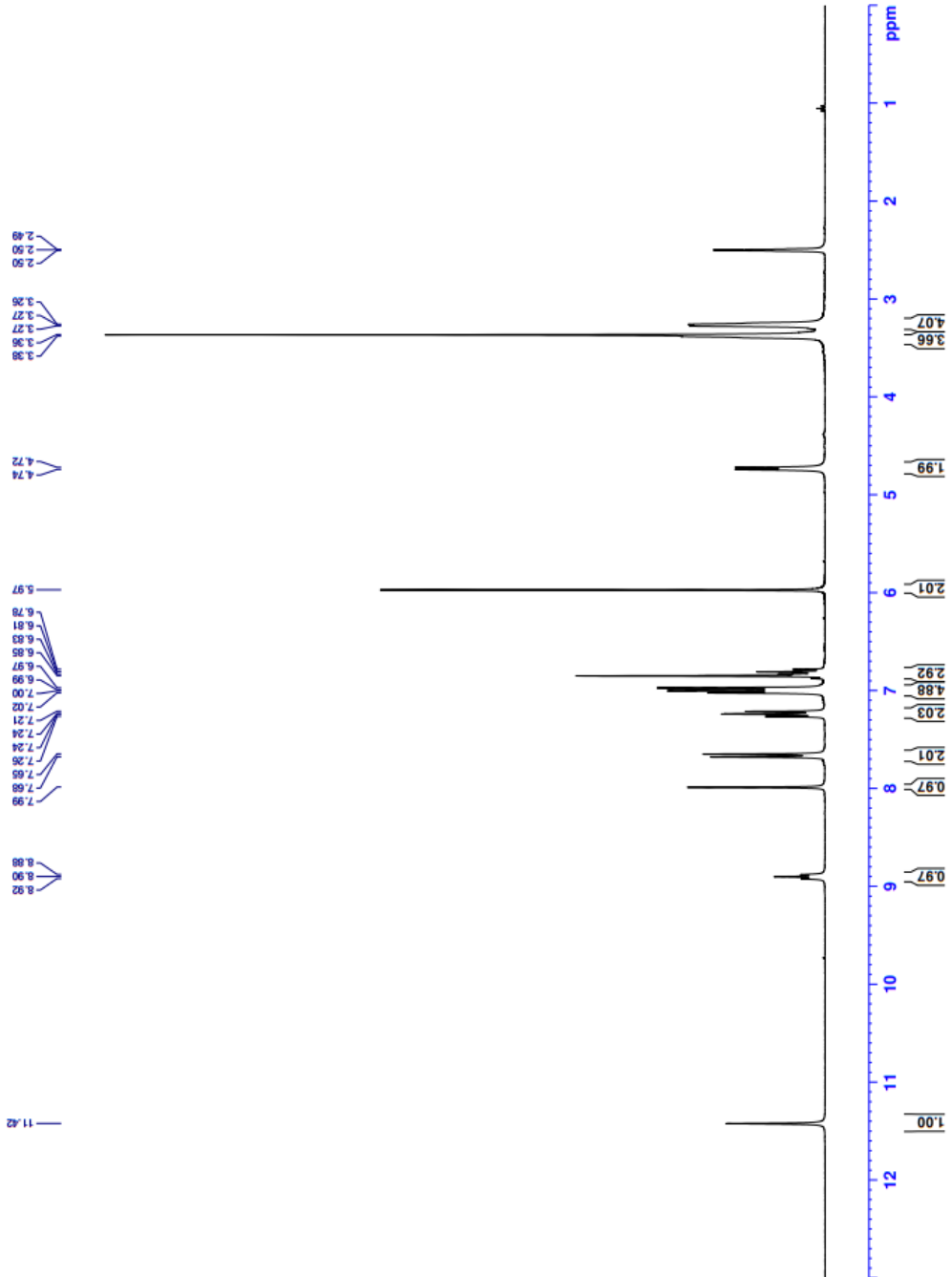
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3.25-3.27 (4H, y, piperazin), 3.65 (4H, y, piperazin), 4.73 (2H, d, *J*=6.15 Hz, -CH₃), 5.97 (2H, s, dioksol), 6.78-6.84 (3H, m, Ar-H), 6.97-7.02 (5H, m, Ar-H), 7.21-7.26 (2H, m, Ar-H), 7.64-7.67 (2H, d, Ar-H), 7.98 (1H, s, -CH=N-), 8.89 (1H, s, -NH), 11.42 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 46.68, 47.76, 48.61, 101.22, 108.40, 108.52, 115.12, 116.14, 117.00, 119.66, 121.09, 124.71, 129.02, 129.46, 133.98, 143.16, 146.45, 147.50, 151.29, 152.32, 177.20.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan: C₂₆H₂₇N₅O₂S: 474.1958; bulunan: 474.1955.



Current Data Parameters
 NAME DNN-18
 EXPNO 1
 PROCNO 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20230428
 Time_ 13.56
 INSTRUM FOURIER300
 PROBED 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zgpg30
 SOLVENT DMSO
 NS 16
 DS 0
 SWH 6103.6 Hz
 FWH 13725.8 Hz
 QRES 1.3421773 sec
 AQ 3.981
 RG 81.920 usec
 DE 6.50 usec
 TE 300.2 K
 D1 3.00000000 sec
 TDO 1
 ===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 300.181818 MHz
 NUCL1 13C
 P1 13.00 usec
 PL1 10.00000000 W
 F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 300.1800000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 GB 0
 CB 0
 FC 1.00



Şekil 5.38. Bileşik 3j' ye Ait ¹H-NMR Spektrumu



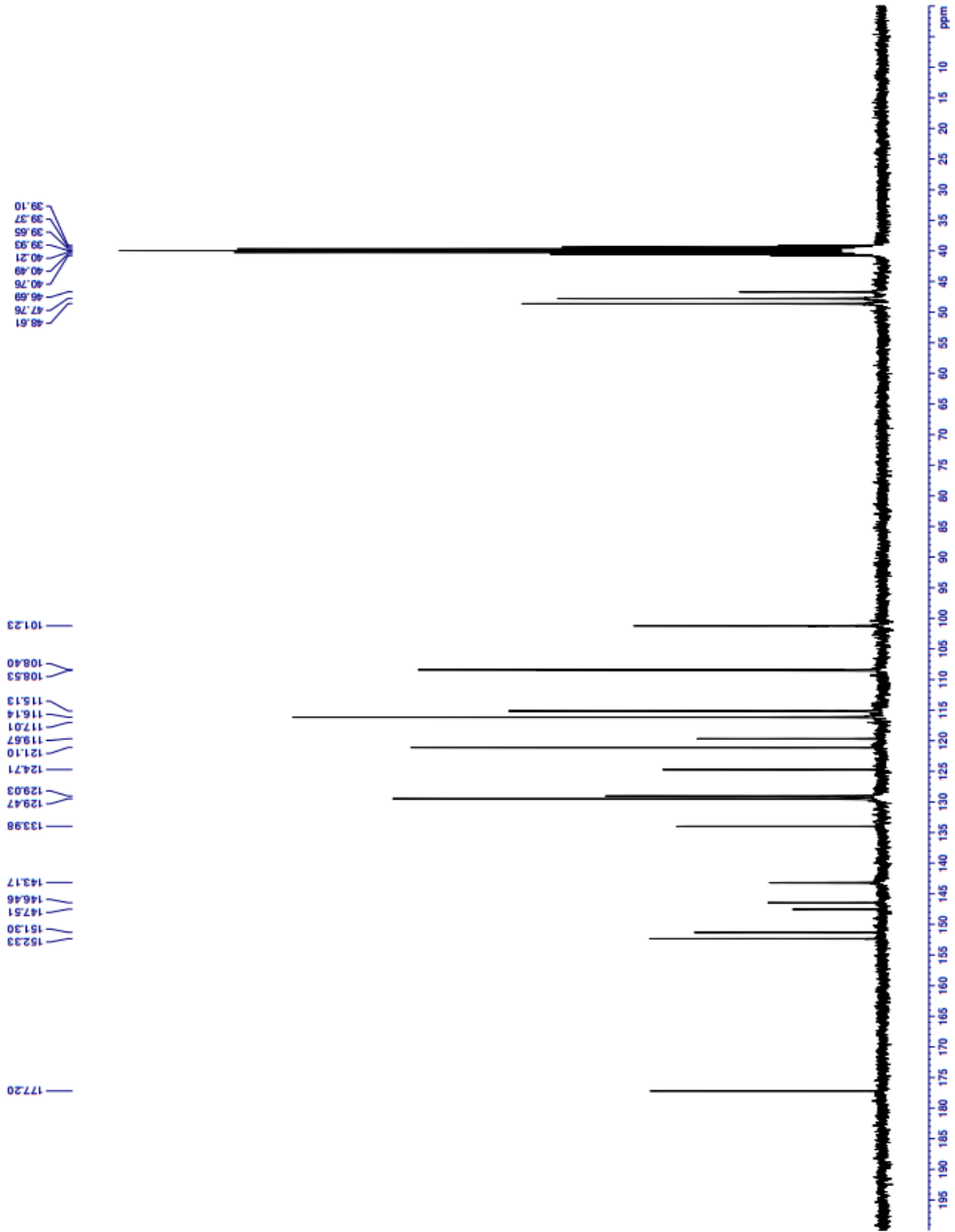
Current Data Parameters
NAME DAN-14
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20230429
Time 16.42
PROBHD 5 mm DUE-13C-1
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT DMSO
NS 4096
DS 4
SWH 24414.063 Hz
FIDRES 0.74509 Hz
AQ 0.01087 sec
RG 501.087
WDW 20.480 usec
DE 6.50 usec
TE 292.0 K
D1 1.0000000 sec
D11 0.0300000 sec
D31 0.0001500 sec
D32 0.8999998 sec
L4 0.2300000 sec
L5 26
P32 90.00 usec
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.4878687 MHz
NUC1 13C
P1 15.00 usec
PLM1 15.00000000 W

==== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.1812007 MHz
NUC2 1H
CFPRG[2] waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLM2 10.0000000 W
PLM3 0.10495000 W
PLM3 0.10495000 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4803210 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



Şekil 5.39. Bileşik 3j' ye Ait ^{13}C -NMR Spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\ DAN-14_9.lcd

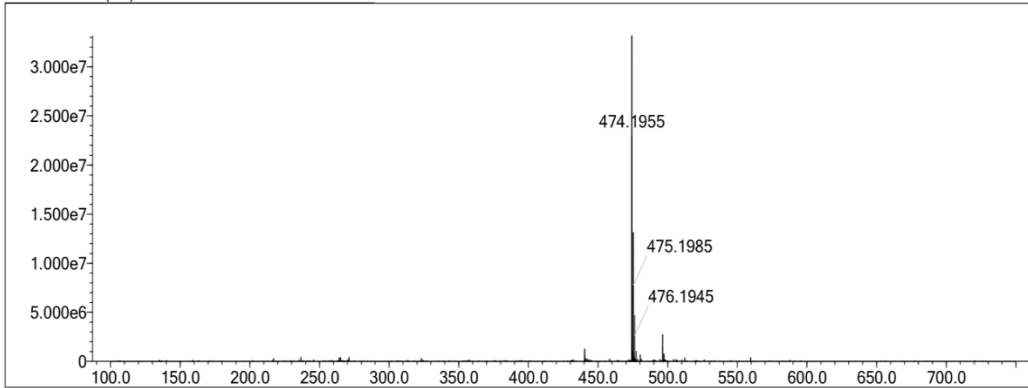
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	6	46	O	2	0	6	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	36	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

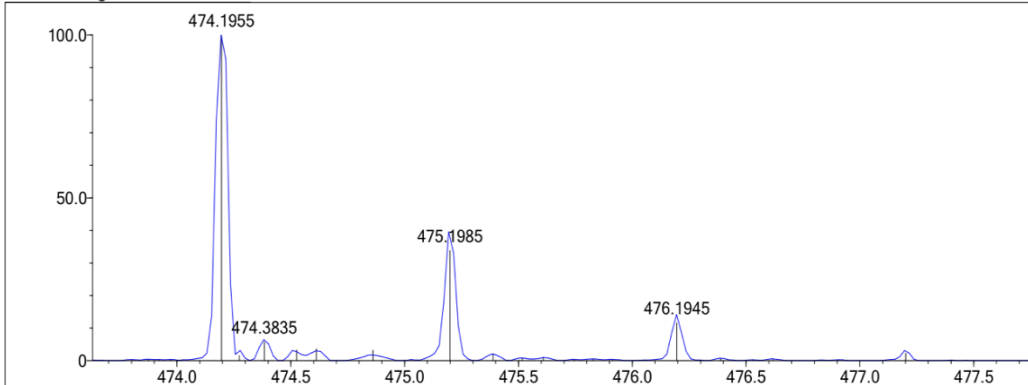
DBE Range: 0.0 - 40.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

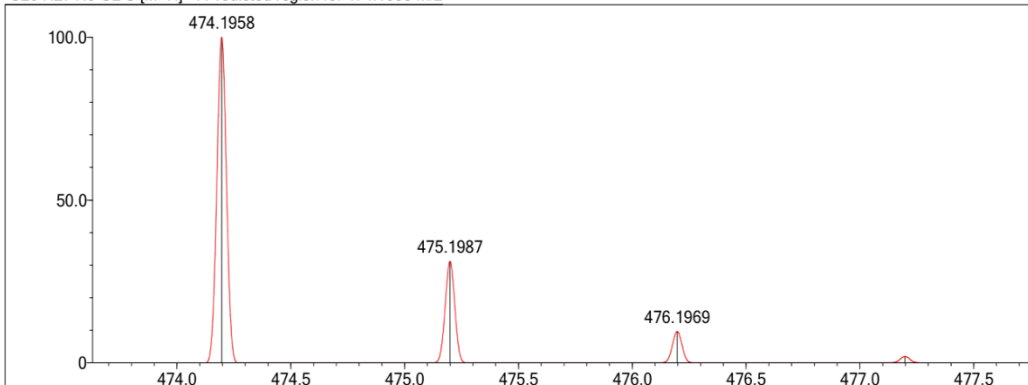
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 9.413 Scan#: 1413



Measured region for 474.1955 m/z



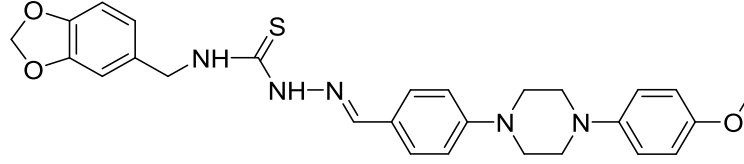
C26 H27 N5 O2 S [M+H]+ : Predicted region for 474.1958 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	86.36	C26 H27 N5 O2 S	[M+H]+	474.1955	474.1958	-0.3	-0.63	86.36	16.0

Şekil 5.40. Bileşik 3j' ye Ait Kütle Spektrumu

5.1.11. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-(4-metoksifenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3k)



Şekil 5.41. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-(4-metoksifenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3k)

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 202 °C – 204.2 °C. Verim: %78

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3.13 (4H, y, piperazin), 3.37 (4H, y, piperazin), 3.68 (3H, s, -OCH₃), 4.72 (2H, d, *J*=6.16 Hz, -CH₂), 5.97 (2H, s, dioksol), 6.82-6.85 (4H, m, Ar-H), 6.93-6.96 (3H, m, Ar-H), 6.98-7.01 (2H, m, Ar-H), 7.63-7.66 (2H, d, *J*=8.85 Hz, Ar-H), 7.97 (1H, s, -CH=N-), 8.89 (1H, s, -NH), 11.40 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 46.67, 47.90, 50.11, 55.64, 101.22, 108.40, 108.52, 115.12, 118.23, 121.08, 124.67, 129.01, 133.98, 143.19, 145.66, 146.45, 147.49, 152.37, 153.63, 177.19.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan: C₂₇H₂₉N₅O₃S: 504.2064; bulunan: 504.2076.

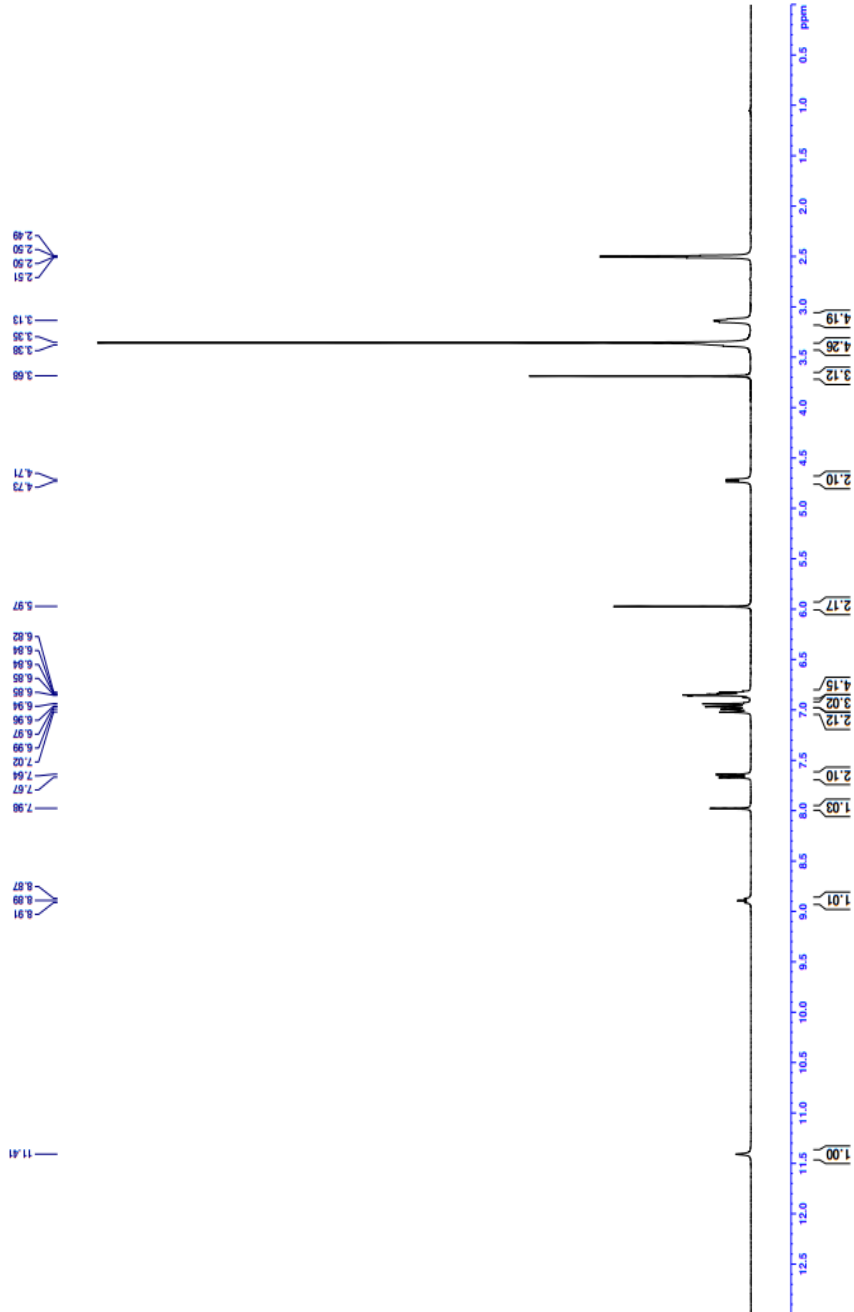


Current Data Parameters
NAME DAN-15
PROCNO 1
PROCNO 1

F2 Acquisition Parameters
Date_ 20230428
Time_ 14.00
INSTRUM FDRX300
PROBHD 5 mm DUL 131-zg
PULPROG zgpg30
TD 16384
SOLVENT DMSO-d6
NS 16
DS 0
SWH 6103.140 Hz
FWH 0.372256 Hz
AQ 1.3421773 sec
RG 3.381 usec
DE 8.750 usec
TE 292.1 K
TD0 3.0000000 sec

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.145377 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PL1 0.0000000 dB
SFO2
P2
PL2

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 300.1400000 MHz
WDW EM
SSB 0.30 Hz
GB 0.00 Hz
PC 1.00



Şekil 5.42. Bileşik 3k'ya Ait $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



```

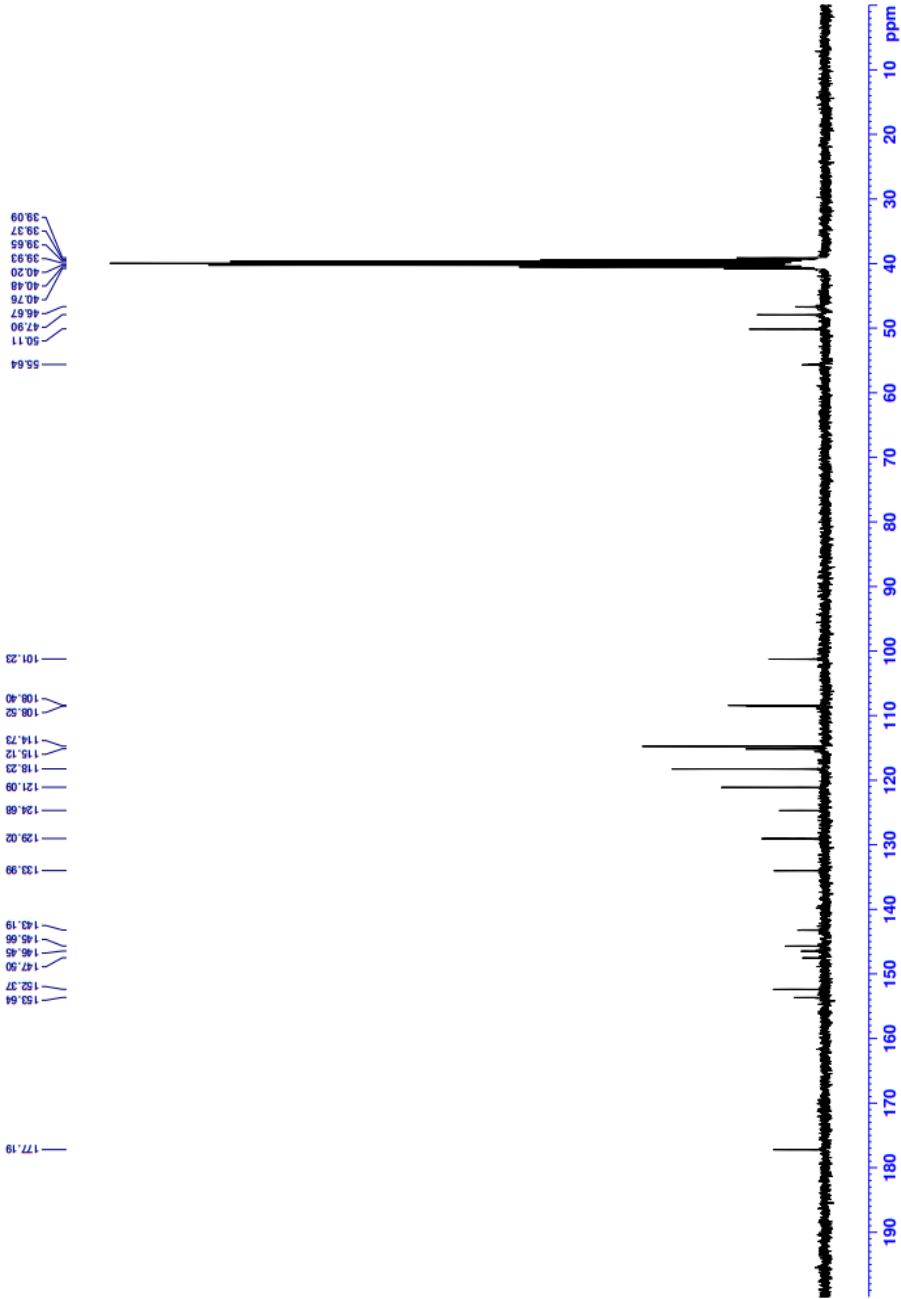
Current Data Parameters
NAME      DAN-15
EXPNO    2
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20230429
Time     14:56:46
INSTRUM  FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG  zgpg
TD       65536
SOLVENT  DMSO
NS       4096
DS       4
SWH      24614.664 Hz
FIDRES   0.74593 Hz
AQ       0.67710886 sec
RG       501.187
DW       20.480 usec
DE       1.818 usec
TE       291.8 K
D1       1.00000000 sec
D11      0.03000000 sec
D12      0.03000000 sec
D13      0.03000000 sec
D14      0.03000000 sec
D32      0.89999998 sec
D40      0.00093990 sec
L4       23
L5       23
PC       90.06 usec
TDO      1

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

===== CHANNEL f2 =====
SFO2     300.1812007 MHz
NUC2     1H
P2       15.00 usec
PLW2    15.00000000 W
===== CHANNEL f3 =====
SFO3     300.1812007 MHz
NUC3     1H
P3       15.00 usec
PLW3    15.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI       32768
SF       75.4803210 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       1.00 Hz
GB       0
PC       1.40
  
```



Şekil 5.43. Bileşik 3k'ya Ait ¹³C-NMR Spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\DAN-15_11.lcd

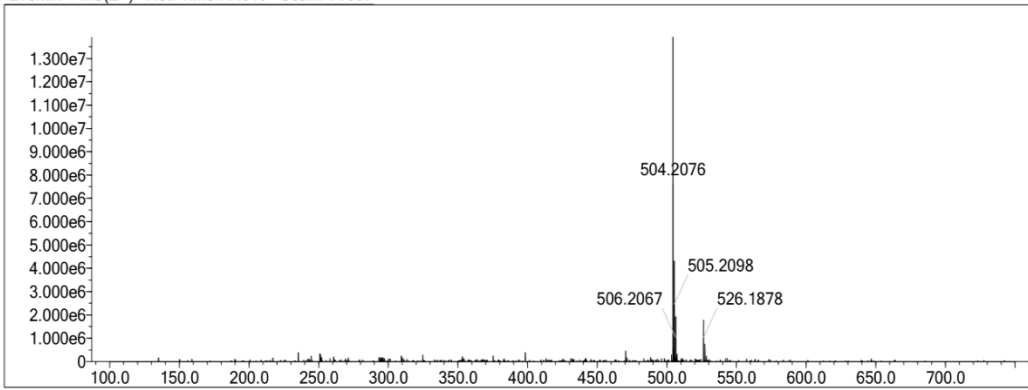
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	6	46	O	2	0	6	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	36	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

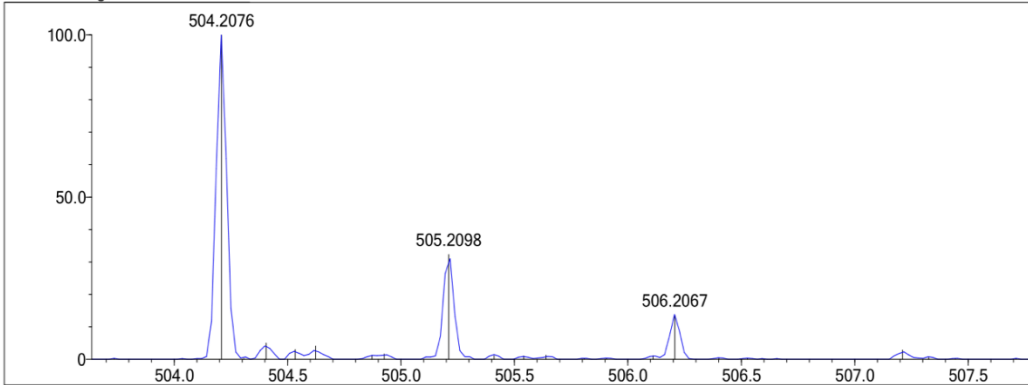
DBE Range: 0.0 - 40.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

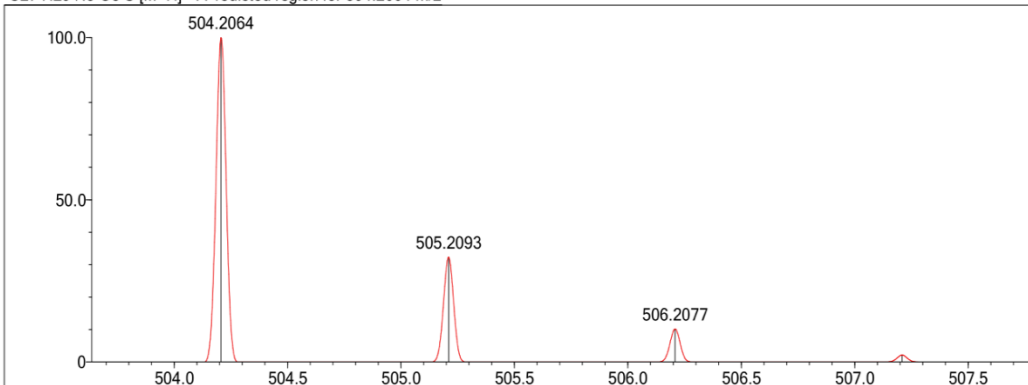
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 7.040 Scan# : 1057



Measured region for 504.2076 m/z



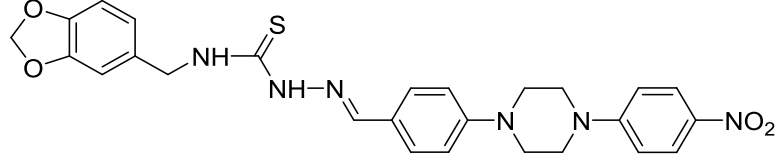
C27 H29 N5 O3 S [M+H]⁺ : Predicted region for 504.2064 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	96.55	C27 H29 N5 O3 S	[M+H] ⁺	504.2076	504.2064	1.2	2.38	100.00	16.0

Şekil 5.44. Bileşik 3k' ya Ait Kütle Spektrumu

5.1.12. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-(4-nitrofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3I)



Şekil 5.45. N-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetil)-2-(4-(4-(4-nitrofenil)piperazin-1-il)benziliden)hidrazin-1-karbotioamid (3I)

Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir. Deneysel E.n: 206.9 °C – 208.5.°C. Verim: %78.

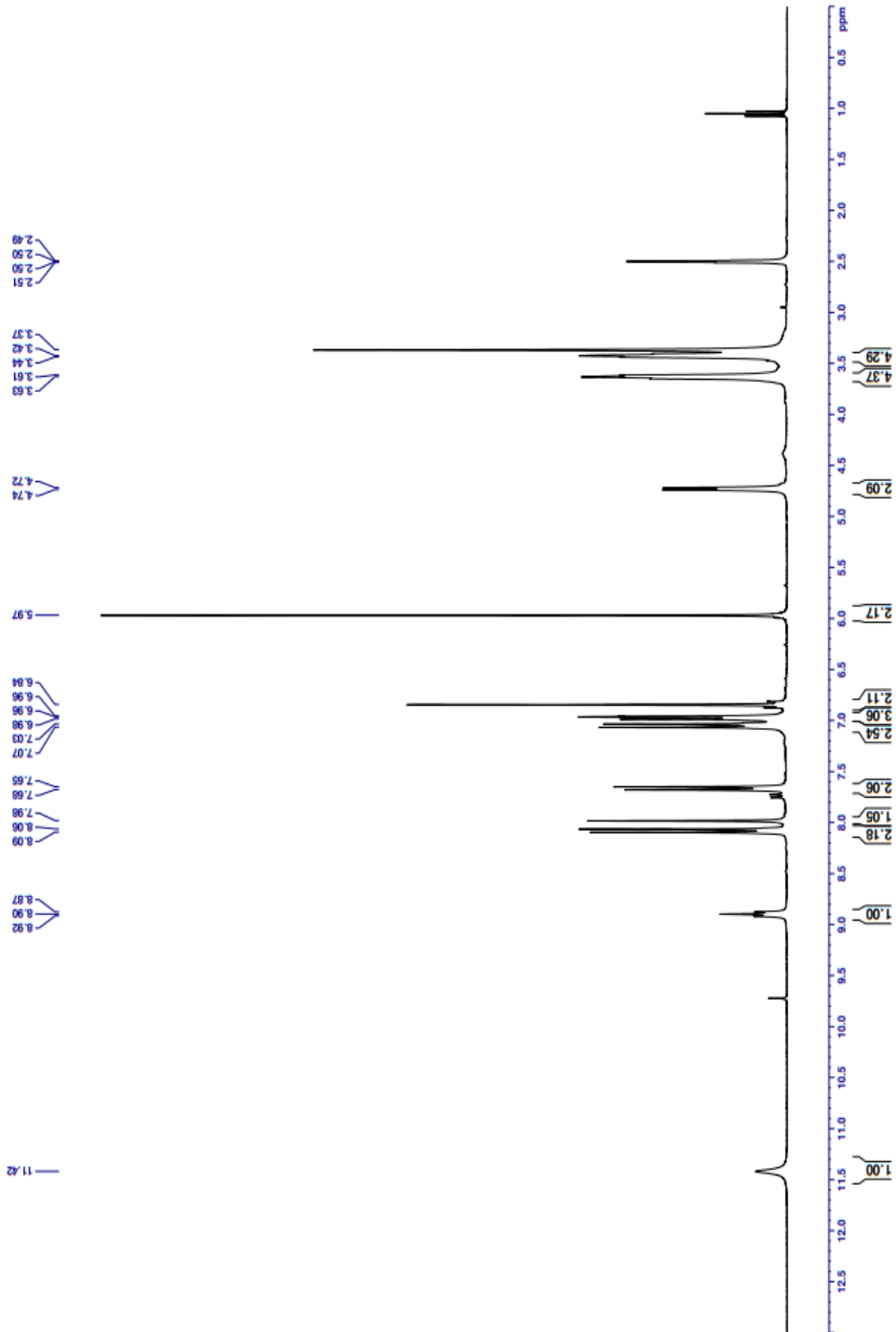
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3.42-3.43 (4H, y, piperazin), 3.61-3.63 (4H, y, piperazin), 4.72 (2H, d, *J*=6.12 Hz, -CH₃), 5.96 (2H, s, dioksol) , 6.84 (2H, s, Ar-H), 6,95-6.98 (3H, m, Ar-H), 7.03-7.06 (2H, d, Ar-H), 7.64-7.67 (2H, d, *J*=8.82 Hz, Ar-H), 7.97 (1H, s, -CH=N-), 8.06-8.09 (2H, d, *J*=9.42 Hz, Ar-H), 8.89 (1H, s, -NH), 11.41 (1H, s, -NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 45.79, 46.23, 46.68, 46.95, 101.22, 108.39, 108.52, 112.94, 114.73, 121.09, 124.56, 126.24, 129.06, 132.01, 133.97, 143.16, 145,66 146.45, 147.50, 154.86, 177.19.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ hesaplanan: C₂₆H₂₆N₆O₄S: 519.1809; bulunan: 519.1808.



Current Data Parameters
 NAME DAN-16
 PROCNO 1
 F2 - Acquisition Parameters
 File 202103
 Title 342
 INSTRUM FOURIER300
 PROBRD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zgpg30
 SOLVENT DMSO
 NS 16
 DS 0
 SWH 6103.810 MHz
 FIDRES 0.372529 Hz
 AQ 1.3421773 sec
 RG 3.981
 DW 81.500 usec
 DE 1.500 usec
 TE 292.1 K
 D1 3.00000000 sec
 TD0 1
 ===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 300.1818537 MHz
 NUC1 13
 P1 13.00 usec
 PLW1 10.00000000 W
 F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 300.1800000 MHz
 WCW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00



Şekil 5.46. Bileşik 3I' ye Ait ¹H-NMR Spektrumu



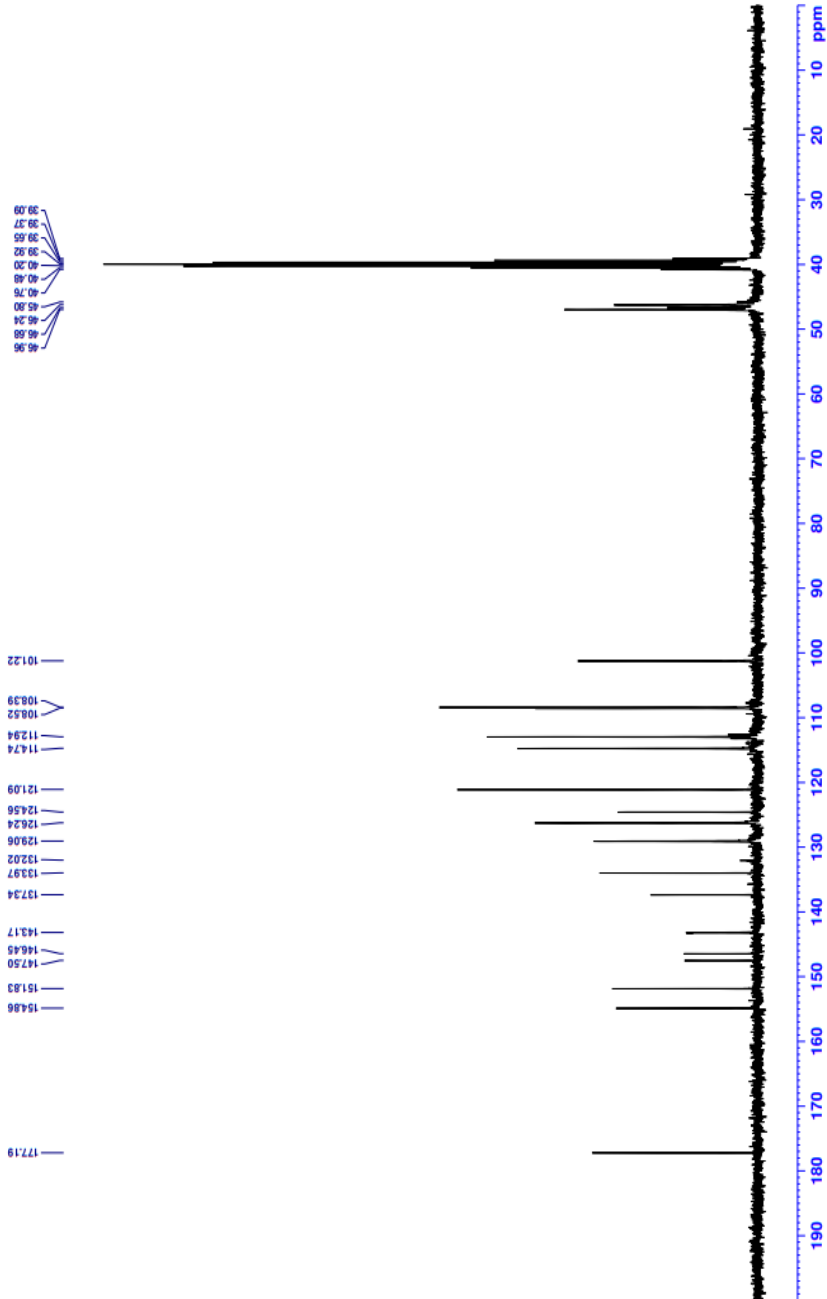
Current Data Parameters
NAME DAR-16
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 200914
Time 20:39
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT DMSO
DS 409.4
SS 2414.063 Hz
SWH 12.500000 MHz
FIDRES 0.6710886 Hz
AQ 0.501187 sec
RG 204.80 usec
CW 204.80 usec
TE 291.8 K
D1 1.0000000 sec
D11 0.0000000 sec
D31 0.0001500 sec
D32 0.8999998 sec
L40 7.23 sec
L5 2.6 sec
F32 90.00 usec
T30 1

==== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 15.00 usec
PL1 15.00000000 W

==== CHANNEL f2 =====
NUC2 13C
P2 300.1812004 MHz
PL2 0.00000000 W
CFPRG12 waltz16
PCPD2 90.00 usec
PL12 0.20863999 W
PLM12 0.10495000 M
PLM13 0.10495000 M

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4803210 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



Şekil 5.47. Bileşik 31' ye Ait ^{13}C -NMR Spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\DAN-16_13.lcd

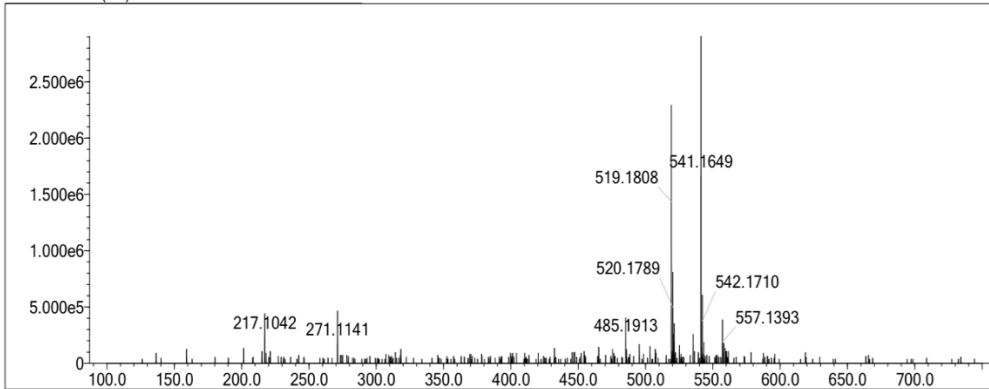
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	6	46	O	2	0	6	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	5	36	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	6	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

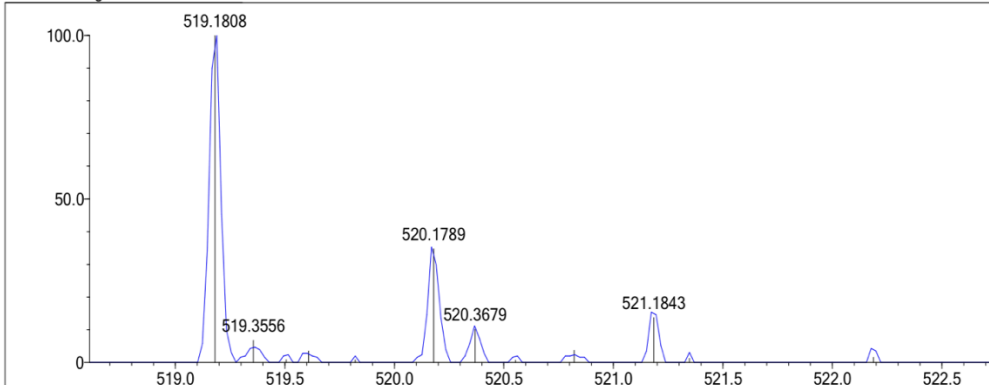
DBE Range: 0.0 - 40.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

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

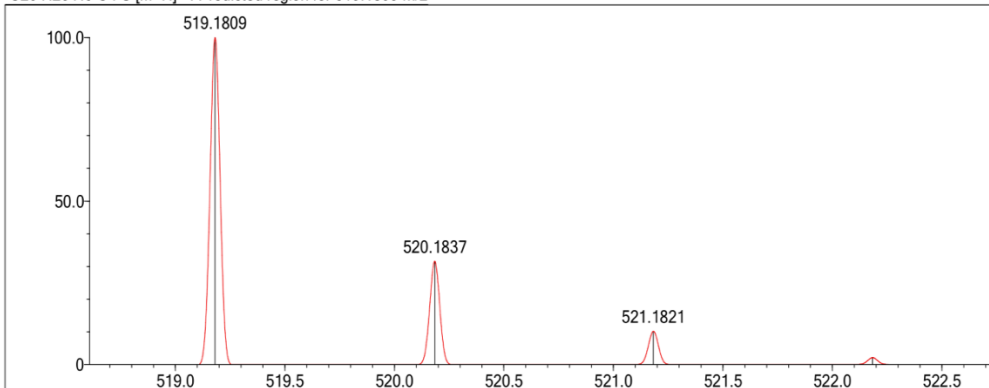
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 8.320 Scan#: 1249



Measured region for 519.1808 m/z



C26 H26 N6 O4 S [M+H]⁺ : Predicted region for 519.1809 m/z

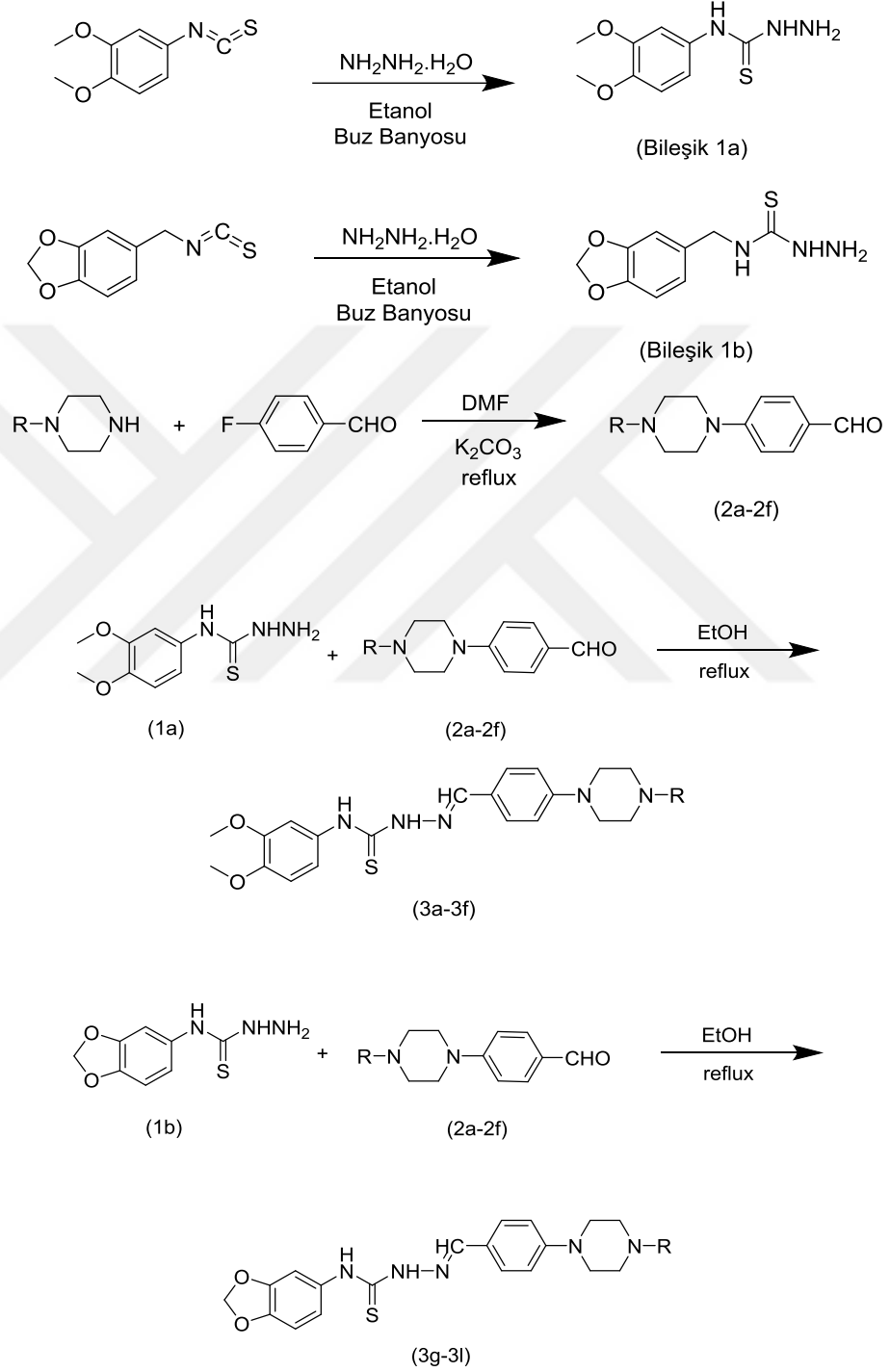


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	86.72	C26 H26 N6 O4 S	[M+H] ⁺	519.1808	519.1809	-0.1	-0.19	86.72	17.0

Şekil 5.48. Bileşik 3I' ye Ait Kütle Spektrumu

5.2. Sentez Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Yapılan tez çalışmaları kapsamında 12 yeni tiyosemikarbazon türevi bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin sentezi üç basamaklı yöntem kullanılarak sentezlenmiştir (Şekil 5.49).



Şekil 5.49. Hedef bileşiklerin sentezi

5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

Bu çalışmalar sonucunda 12 adet yeni tiyosemikarbazon türevi bileşik ortaya konmuştur. Spektroskopik yöntemlerle elde ettiğimiz bileşiklerin yapıları aydınlatılmıştır. ¹³C-NMR, HRMS, ¹H-NMR, teknikleri bu amaçla kullanılmıştır. Sonuçlar beklenildiği gibi sonuçlanmıştır. Elde edilen tüm bileşiklerin analiz sonuçları ve raporları tez kapsamında ortaya konmuştur.

5.3.1. ¹H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Bu çalışmalar sonucunda bileşiklerin aromatik ve alifatik protonları tahmin edildiği gibi gelmiştir. Yapılar incelendiğinde çoğunlukla ortak yapı olarak tiyosemikarbazon yapısı ve piperazin halkası bulunmaktadır. 2.4-2.5 civarında gelen pikler DMSO'ya aittir.

Ortak yapılar dışında bileşikler **3a** ve **3g**'de metil, **3b** ve **3j**'de etil, **3c** ve **3i**'de formil, **3d** ve **3j**'de fenil, **3e** ve **3k**'da 4-metoksifenil, **3f** ve **3l**'de 4-nitrofenil sübstituentlerini içermektedir. Alınan pikler beklendiği şekilde literatür verilerine uygun olarak gelmiştir.

5.3.2. ¹³C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

¹³C-NMR sonuçları incelendiğimizde yapıda bulunan alifatik ve aromatik karbonların beklenene uygun bir biçimde sonuç verdiği görülmüştür. 0-100 arasında alifatik, 100-200 ppm arasında aromatik yapılar gözlenmiştir. 40 ppm civarında gelen pikler genel olarak DMSO'ya aittir.

5.3.3. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi

Elde ettiğimiz bileşiklerin kütle spektrumları yüksek çözünürlüklü olan kütle spektroskopisi cihazı kullanılarak, elektrosprey iyonizasyon tekniğiyle pozitif modda incelenmiş olup sonuçlar uyumlu olarak kaydedilmiştir.

5.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasında 12 adet tiyosemikarbazon türevi olan yeni bileşik sentezlenmiştir. Yapı tayini yapılarak yapıları aydınlatılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin in vitro Ellman metodu ile kolinesteraz enzimine karşı olan inhibitör etkinlikleri

incelenmiştir. Aktivite testlerine uygun olarak bütün bileşikler ve referans ilaçlar için 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlanmış olup AChE ve BChE enzimlerine karşı olan inhibitör etkilerine bakılmıştır. İkinci adımda ise aktivite testleri yapılmıştır. Bileşiklerimizin 10^{-3} - 10^{-9} M konsantrasyonlarında çözeltileri hazırlanıp, aktif bulunan bileşiklerimizin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo-5.1'de sunulmuştur. Sentezlenen bileşiklerimizin BChE enzimi üzerine aktivite gösteremediği anlaşılmıştır. AH hedefi AChE enzimi olarak görülmektedir.

AChE enzimi üzerindeki aktivite değerleri incelendiğinde ise bileşikler **3a** ve **3g**'nin diğerlerine nazaran çok daha aktif olduğu görülmektedir. IC₅₀ değerleri sırasıyla $0.030 \pm 0.001 \mu\text{M}$ ve $0.044 \pm 0.00 \mu\text{M}$ olarak hesaplanmıştır. Donepezil IC₅₀= $0.0201 \pm 0.0014 \mu\text{M}$ değeri ile AChE enzimine yönelik aktivite sergilediği görülmektedir. Bileşik **3a** IC₅₀= $0.030 \pm 0.001 \mu\text{M}$ değeri ile donepezile yakın bir aktivite göstermiştir. Aktivite sonuçlarında (**3a**) bileşiği en aktif bulunmuştur. Süstitüent hacmi arttıkça Tiyosemikarbazon kalıntısına bağlı olarakta aktivitelerin azaldığı görülmüştür.

Tablo 5.1. Elde edilen bileşiklerin 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında AChE ve BChE enzimine karşı % inhibisyon oranları ve IC_{50} (μ M) değerleri.

Bileşik	AChE % İnhibisyon		AChE IC_{50} (μ M)	BChE % İnhibisyon		BChE IC_{50} (μ M)
	10^{-3} M	10^{-4} M		10^{-3} M	10^{-4} M	
3a	96.941 ± 3.162	95.084 ± 2.554	0.030 ± 0.001	60.495 ± 2.463	36.547 ± 0.928	>100
3b	93.662 ± 2.914	90.110 ± 2.987	0.082 ± 0.003	41.941 ± 1.310	30.081 ± 1.162	>1000
3c	71.435 ± 2.120	45.063 ± 1.719	>100	47.408 ± 1.248	29.429 ± 0.937	>1000
3d	49.084 ± 1.837	37.559 ± 1.156	>1000	40.163 ± 0.999	25.735 ± 1.149	>1000
3e	43.367 ± 1.984	39.420 ± 0.830	>1000	39.029 ± 1.457	31.360 ± 1.328	>1000
3f	90.790 ± 2.159	87.935 ± 3.928	0.136 ± 0.006	42.655 ± 1.728	30.027 ± 1.050	>1000
3g	95.911 ± 2.812	93.387 ± 1.607	0.044 ± 0.002	55.530 ± 2.061	35.697 ± 0.963	>100
3h	77.411 ± 2.841	41.328 ± 0.952	>100	42.195 ± 2.020	28.557 ± 0.942	>1000
3i	90.164 ± 2.952	85.457 ± 1.467	0.154 ± 0.007	38.641 ± 1.564	20.636 ± 0.857	>1000
3j	69.375 ± 1.838	38.139 ± 0.948	>100	32.237 ± 1.018	26.119 ± 1.181	>1000
3k	43.091 ± 1.359	34.641 ± 1.120	>1000	39.885 ± 0.937	30.427 ± 1.326	>1000
3l	73.503 ± 3.026	38.720 ± 1.313	>100	44.012 ± 1.664	31.254 ± 1.231	>1000
Donepezil	99.156 ± 1.302	97.395 ± 1.255	0.0201 ± 0.0014	-	-	-
Takrin	-	-	-	99.827 ± 1.378	98.651 ± 1.402	0.0064 ± 0.0002

5.5. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi

AChE aktif bölgelerinde aktif bileşiğin (**3a**) bağlanma modlarını tanımlamak için bir *in silico* prosedürü kullanılarak moleküler kenetlenme çalışmaları yapıldı. İnsan AChE (PDB ID: 4EY7) (Cheung vd., 2012) X-ışını kristal yapıları Protein Veri Bankası sunucusundan alınmıştır (www.pdb.org, erişim tarihi 01 Şubat 2023). Enzimlerin yapıları, Schrödinger Maestro arayüzü kullanılarak oluşturulmuş ve ardından Schrödinger Suite 2020'nin Protein Hazırlama Sihirbazı protokolüne gönderilmiştir. Ligand, protonasyon durumlarını da doğru şekilde atamak için LigPrep modülü (*LigPrep* | Schrödinger, t.y.) kullanılarak hazırlanmıştır. Grid oluşturma, Glide modülü kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve kenetleme çalışmaları, standart prosedür (SP) modunda gerçekleştirilmiştir.

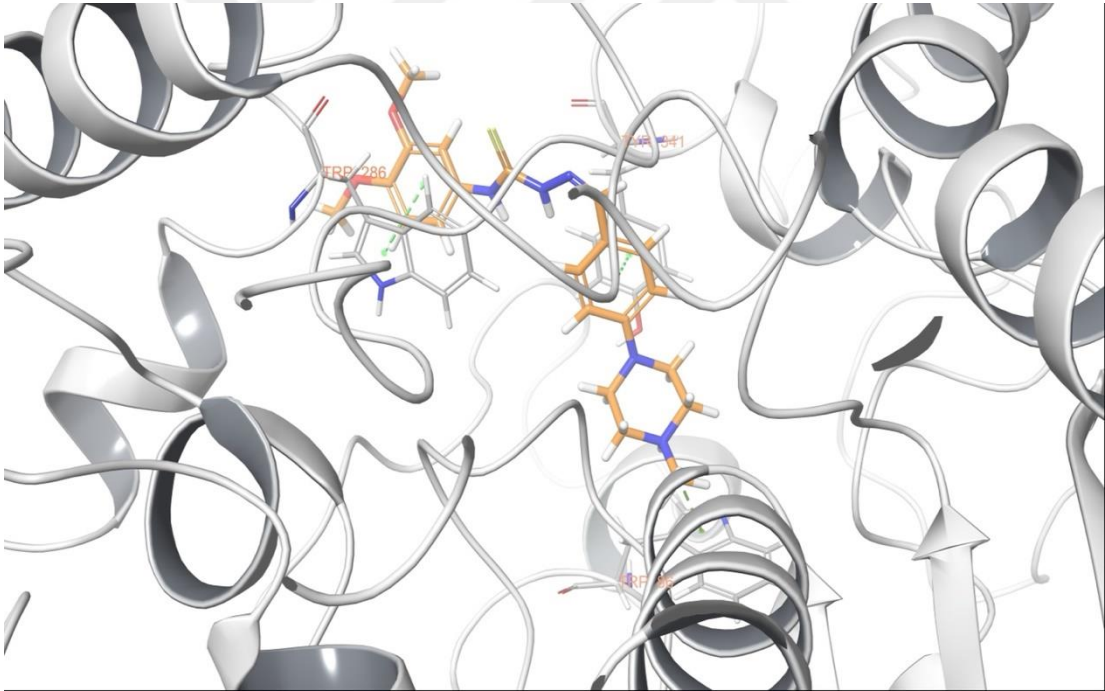
5.5.1. Moleküler Dinamik Çalışmaları

Bir ilaç-reseptör kompleksi için aktif bir bölgedeki bir ligandın zamana bağlı stabilitesini değerlendirmek için önemli bir hesaplama aracı olarak kabul edilen moleküler dinamik (MD) simülasyonları, bu çalışma kapsamında bileşik **3a** için yapılmıştır (X. Liu vd., 2018). Yerleştirme sonucundan belirlenen komplekslerin kararlılığını sağlamak için 100 ns boyunca MD simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Dinamik çalışmaları, desmond uygulamasını, 3 noktalı (TIP3P) bir su modeli ve ardından kompleksin enerji minimizasyonu (Sureshkumar vd., 2017) ile transfer edilebilir bir moleküller arası potansiyele sahip Schrödinger Suite'in standart kuvvet alanı (OPLS3e) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sistemin nötralizasyonu, tek değerli iyonların fizyolojik konsantrasyonunu simüle etmek için 0.15 M'lik bir nihai tuz konsantrasyonu sağlamak üzere Na⁺ ve Cl⁻ iyonları kullanılarak sağlanmıştır. Sabit sıcaklık (310.55 K) ve basınç (1.01325 bar), topluluk sınıfı olarak NPT (sabit sayıda parçacık, basınç ve sıcaklık) ile kullanılmıştır. Hareket denklemlerini bütünleştirmek için RESPA entegratörü (Humphreys vd., t.y.) kullanılmıştır. Simülasyon sıcaklığını sabit tutmak için NH termostatları (Hoover, 1985) kullanılmış ve basıncı kontrol etmek için MTK yöntemi (Martyna vd., 1994) uygulanmıştır. Uzun menzilli elektrostatik etkileşimler, pmE yöntemi (Essmann vd., 1995) ile hesaplanmıştır. Van der Waals ve kısa menzilli elektrostatik etkileşimler için sınır 9,0 Å olarak ayarlanmıştır. Sistemin dengelenmesi, sistemi yavaşça gevşetmek için kullanılan bir dizi sınırlandırılmış minimizasyon ve moleküler dinamik simülasyonlarından oluşan Desmond'da sağlanan

varsayılan protokolle gerçekleştirilmiştir. MD simülasyonu, yukarıdaki ayarlar kullanılarak ve sistem kurulumunun tamamlanmasının ardından gerçekleştirilmiştir. Rg (dönme yarıçapı), kök ortalama kare dalgalanma (RMSF) ve kök ortalama kare sapma (RMSD) değerleri Desmond uygulaması tarafından hesaplandı.

5.5.2. Moleküler Doking Çalışmaları

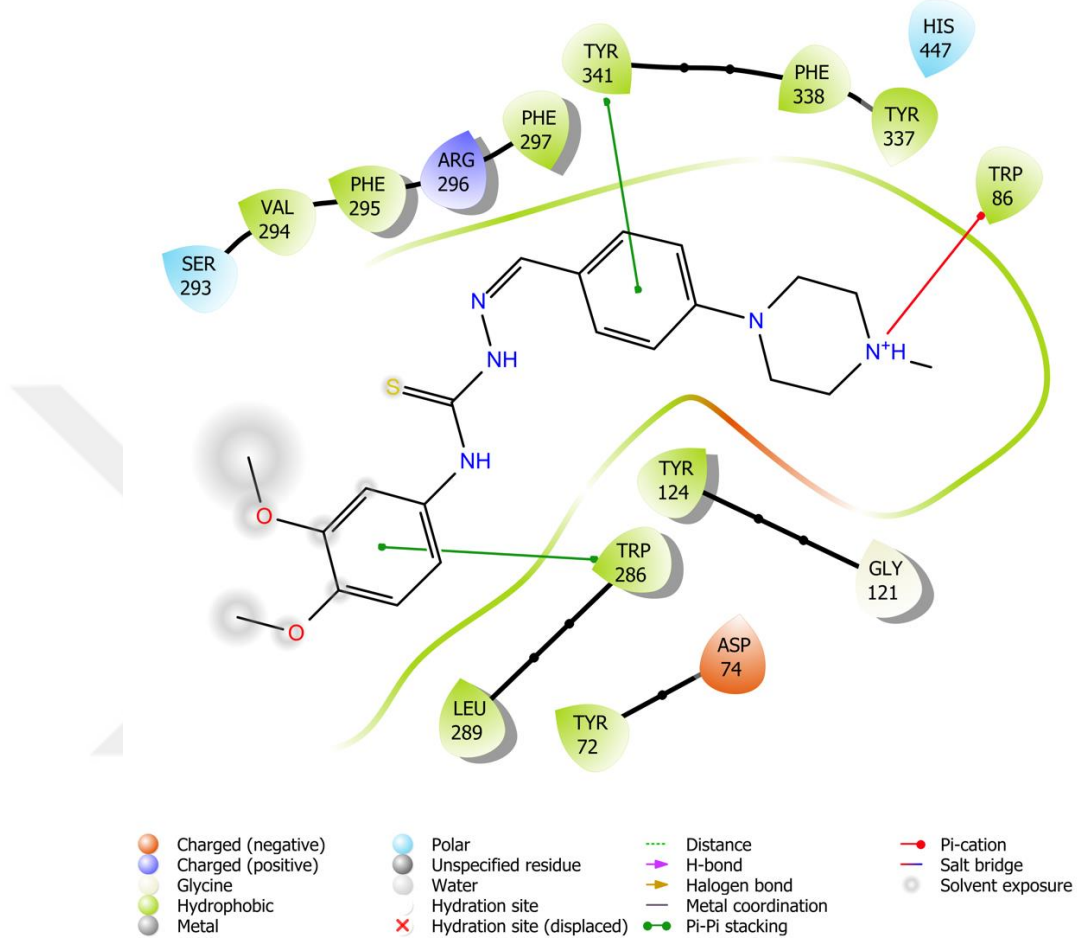
Bu tez kapsamında sentezlenen bileşiklerden (**3a-3l**) en yüksek aktivite potansiyeline sahip olan bileşiğin (**3a**) enzim aktif bölgesindeki yerleşimini gözlemek amacıyla moleküler yerleştirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla protein veri bankası aracılığıyla elde edilen AChE kristali (PDB ID:4EY7) kullanılmıştır (Cheung vd., 2012). Bileşik **3a**'nın enzim aktif bölgesindeki yerleşiminin üç boyutlu gösterimi **Şekil-5.50**'de sunulmuştur. Bu şekil incelendiğinde bileşik **3a**'nın enzim aktif bölgesine tam olarak yerleştiği görülmektedir.



Şekil 5.50. Bileşik **3a**'nın AChE (PDB ID: 4EY7) enzim aktif bölgesine yerleşiminin üç boyutlu görünümü. Bileşik **3a** turuncu ile renklendirilmiştir.

Şekil-5.51 bileşik **3a**'nın AChE enzim aktif bölgesi ile yerleşiminin iki boyutlu görüntüsünü sunmaktadır. Buna göre bileşik **3a**'nın 1,3,4-trisüstitübenzen halkası ile Trp286 aminoasidinin indol halkası arasında pi-pi etkileşimi görülmektedir. İkinci olarak, 1,4-disüstitüfenil halkası ile Tyr341 aminoasidinin fenil halkası arasında pi-pi

etkileşimi görülmektedir. Son olarak bileşik **3a**'nın piperazin halkasının protonize olmuş azotu ile Trp86 aminoasidinin indol halkası arasında katyon-pi etkileşimi kaydedilmiştir.

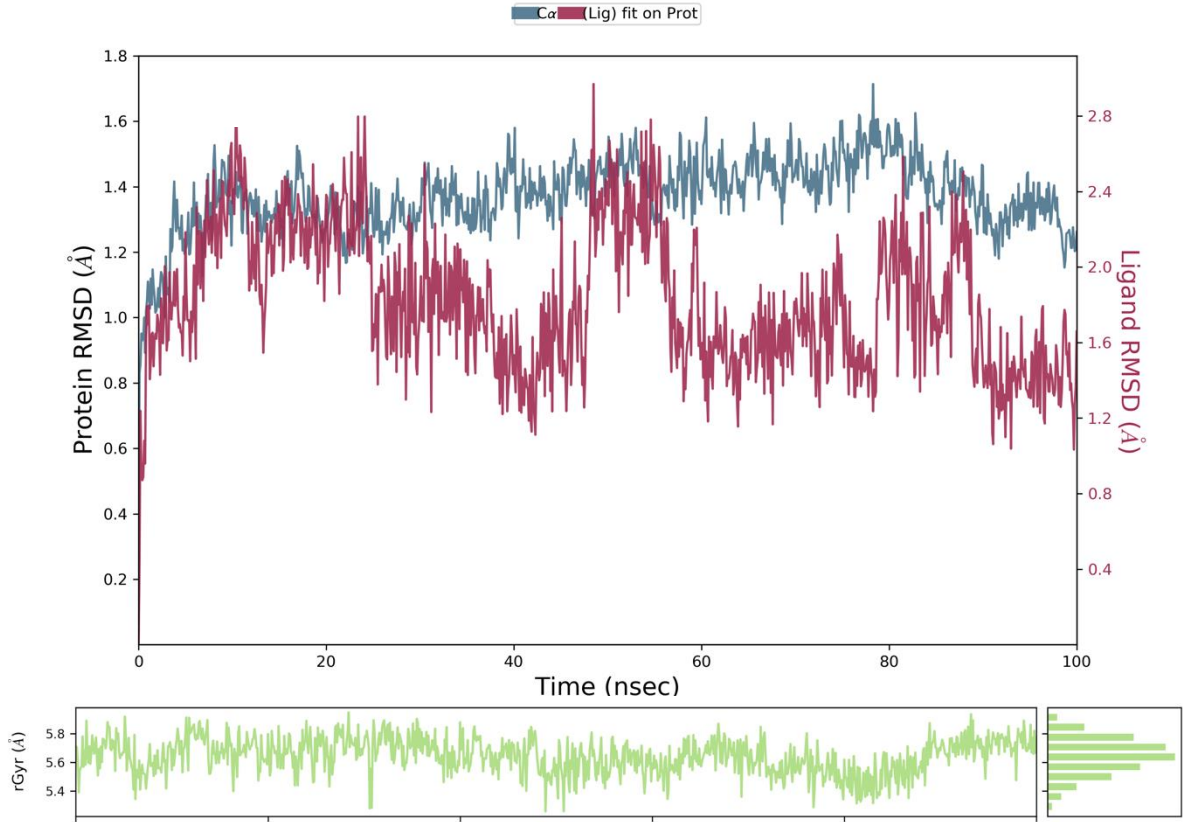


Şekil 5.51. Bileşik **3a**'nın AChE (PDB ID:4EY7) enzim aktif bölgesi ile etkileşiminin iki boyutlu görünümü

5.5.3. Moleküler Dinamik Çalışmaları

MD simülasyon yöntemi, proteinlerin veya protein ligand komplekslerinin dinamik davranışını araştırmak için yaygın olarak kullanılır. Bu tez çalışması kapsamında, gelecek vaat eden molekül (**3a**) ile AChE (PDB ID: 4EY7) arasında oluşan kenetlenme kompleksinin stabilitesini değerlendirmek için, açık bir hidrasyon ortamında 100 ns MD simülasyon çalışması gerçekleştirilmiştir.

Şekil 52-53'de, sonuçlar bileşik **3a**-AChE enzim kompleksi içindir. MD simülasyonu sırasında oluşturulan modelin kararlılığını ölçmek için RMSD, Rg ve RMSF parametreleri kullanılmıştır. Simülasyonlar sırasında modelin kararlılığını kontrol etmek için RMSD kullanılmıştır. Simülasyon süresinin bir fonksiyonu olarak RMSD çizimi, **Şekil 3A**'da sunulmuştur. RMSD değeri 1-3 arasında olmalıdır. Elde ettiğimiz grafik bu belirtilen değerler arasında kaldığı için kararlılığımızın korunduğunu söylemek doğru olacaktır. 4EY7-**3a** kompleks proteini RMSD analizine göre, simüle edilen sistem oldukça etkili bir şekilde dengelenmiştir. RMSD grafiğinin uygun parametreler içerisinde bulunması, bileşiğin stabilitesini göstermektedir. Simülasyon süresinin bir fonksiyonu olarak Rg grafiği, **Şekil 3B**'de rapor edilmiştir. Elde edilen sonuca göre, Rg grafiği, kararlı kompleksler için normal olan yaklaşık 5.6 ± 0.2 Å değerinde atonik dalgalanmalar göstermiştir.

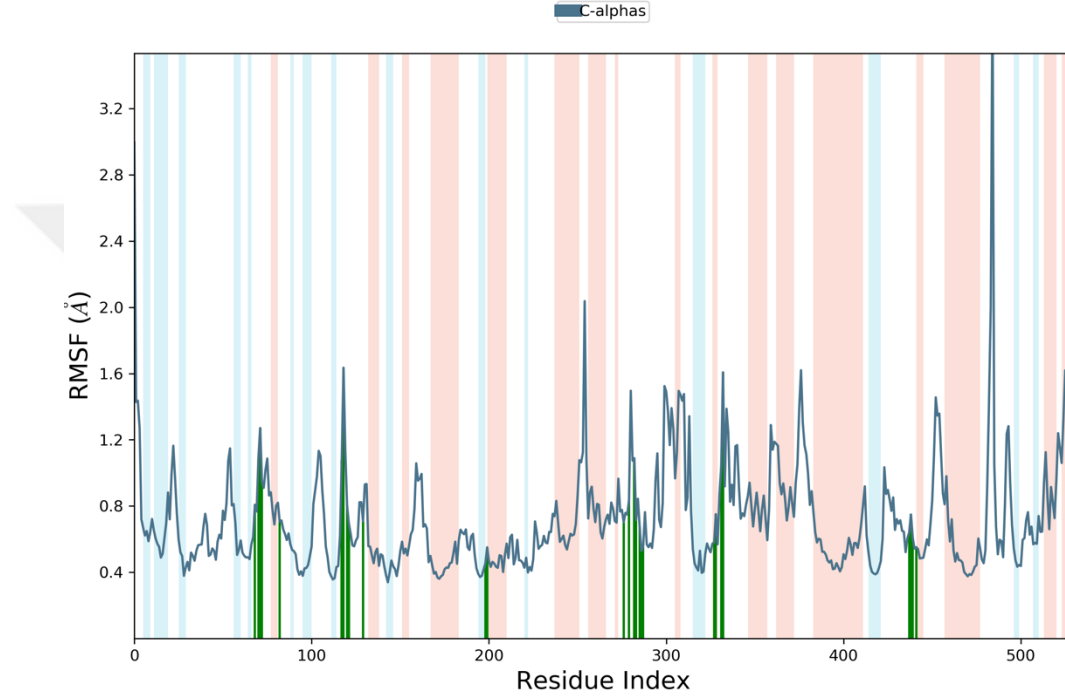


Şekil 5.52. Bileşik **3a** ve 4EY7 kompleksinin MD simülasyon analizi stabilite özellikleri (RMSD ve Rg) sırasıyla A ve B bölümü olarak sunuldu.

Bireysel amino asitlerin, MD simülasyon çalışması sırasında protein-ligand kompleksinin stabilitesinde çok önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. RMSF parametresi, simülasyon süresi sırasında protein zinciri boyunca bireysel kalıntı dalgalanmasını ve konformasyonel değişiklikleri gözlemlemek için incelenebilir (Şekil 53). α -sarmal bölgeleri, RMSF grafiğinde kırmızıdır; β -bantlı bölgeler mavi bir arka planla temsil edilir; beyaz arka plan döngü bölgesini temsil etmektedir. Protein α -sarmal ve β -sarmal bölgeleri, proteinin ilmek bölgesine kıyasla daha serttir. Ve buradaki dalgalanmalar da daha az olmalıdır. Her bir protein zinciri ve ligand arasındaki temas eden kalıntıların katkısı, çizimin X ekseninde dikey yeşil çizgilerle gösterilmiştir.

RMSF raporuna göre, bileşik **3a**, AChE proteininin 24 amino asidiyle etkileşim halindedir. Bu aminoasitler şu şekilde sıralanabilir: Tyr72 (0,81 Å), Asp74 (1,09 Å), Leu76 (0,95 Å), Trp86 (0,71 Å), Gly121 (1,08 Å), Tyr124 (0,80 Å), Gly126 (0,63 Å), Val132 (0,82 Å), Glu202 (0,46 Å), Ser203 (0,55 Å), Trp286 (0,70 Å), Leu289 (0,83 Å),

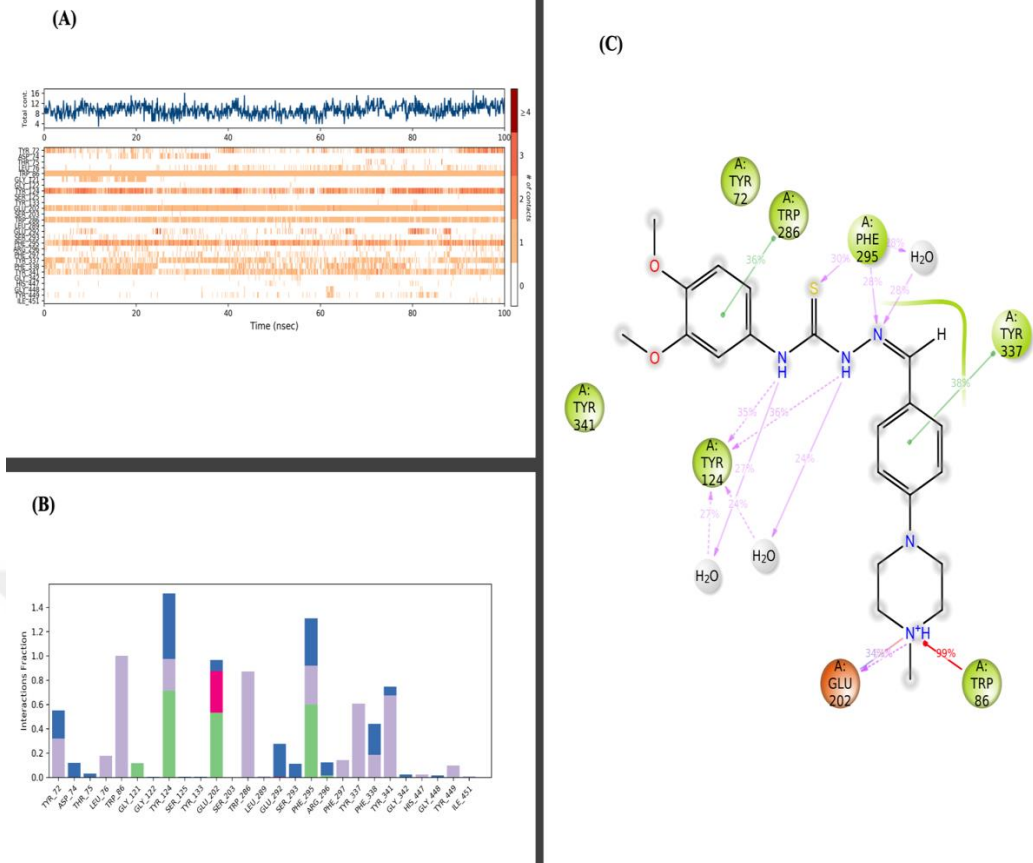
Glu292 (1.09 Å), Ser293 (0.72 Å), Phe295 (0.68 Å), Arg296 (0.53 Å), Phe297 (0.56 Å), Ser336 (0.57 Å), Phe338 (0.75 Å), Tyr341 (1.04 Å), His447 (0.64 Å), Gly448 (0.75 Å), Tyr449 (0.61 Å), Ile451 (0.55 Å). 4EY7-**3a** kompleksinde, simüle edilmiş bileşiğin dalgalanmalarında önemli bir değişiklik yoktur. Döngü bölgeleri dışında, çoğu kalıntının RMSF değerleri 1,09 Å'dan azdır ve bu, kalıntı konformasyonunun simülasyon sırasında nispeten kararlı olduğunu gösterir.



Şekil 5.53. Bileşik **3a**-4EY7 kompleksinin MD simülasyon analizi RMSF sonucu

MD Simulation videosu izlenerek 100 ns boyunca aromatik hidrojen bağları belirlendi. **3a** bileşiğinin Tyr124, Tyr337, Tyr72, Gly122, His447, Tyr337, Tyr341, Trp286 amino asitleri ile aromatik hidrojen bağı yaptığı görülmektedir. Bileşik **3a**'nın 1,4-Disüstitüebenzen halkası Tyr124 aminoasidinin hidroksi grubu ile, Tyr337 aminoasidinin fenil halkası ile, Gly122 aminoasidinin karbonil grubu ile, His447 aminoasidinin imidazol halkası ile ve son olarak Tyr337 aminoasidinin karbonil grubu ile aromatik hidrojen bağı oluşturmaktadır. Bileşik **3a**'nın metoksi süstitüenti Tyr72 aminoasidinin fenil halkası ile ve Trp286 aminoasidinin indol halkası ile aromatik hidrojen bağı oluşturmaktadır. Bileşik **3a**'nın 1,3,4-Trisüstitüebenzen halkası Tyr341 aminoasidinin karbonil grubu ile ve Tyr72 aminoasidinin fenil grubu ile aromatik hidrojen bağı oluşturmaktadır.

Şekil 54 bileşik **3a**'nın aktif bölgede aminoasitler ile etkileşimini göstermektedir. **Şekil 54(A)** etkileşim sayısı ve kalıntı grafiğini sunmaktadır. Burada özellikle Trp86, Tyr124, Glu202, Trp286, Phe295 ve Tyr341 ile bileşik **3a**'nın kesintisiz etkileşim içerisinde olduğu görülmektedir. Bu aminoasitlerin hepsi stabilitenin sağlanmasında rol oynamıştır. Özellikle AChE enzim aktif bölgesi için önemli olan Trp286, Trp86 ve Phe295 aminoasitleri ile yapılan kesintisiz etkileşim bileşiğin potansiyelini bir kez daha gözler önüne sermektedir. Trp286 aminoasidi enzimin periferik anyonik bölgesi için en önemli aminoasittir. Donepezil ilacında bu aminoasit ile etkileşimi 3,4-dimetoksiindol halkası sağlamaktadır. Bileşik **3a**'da indol halkası yerine kullanılan 3,4-dimetoksibenzen halkasının benzer etkileşimi sağladığı görülmektedir. Trp86 aminoasidi katyonik aktif bölge için önemlidir. Bileşik **3a**'nın protonize olmuş piperazin azotu bu aminoasit ile katyon- π etkileşimini 100 ns boyunca devam ettirmektedir. **Şekil 54(B)** simülasyon sırasında tortuya göre etkileşim fraksiyonlarını sunmaktadır (Mavi: su aracılı H-bağı; yeşil: H-bağı, pembe: iyonik etkileşim, mor: hidrofobik etkileşim). Burada da enzim aktif bölgesi için önemli olan aminoasitler ile etkileşimler görülmektedir. **Şekil 54(C)** ise enzim aktif bölgesinde %20 üzerinde etkileşim gösteren aminoasitleri sergilemektedir.



Şekil 5.54. Bileşik **3a-4EY7** kompleksinin MD simülasyon analizi; (A) Etkileşim sayısı-kalıntı indeksi grafiği, (B) Simülasyon sırasında ortaya göre etkileşim fraksiyonları (mavi:su aracılı H-bağı; yeşil:H-bağı, pembe:iyonik etkileşim, mor:hidrofobik etkileşim), (C) Etkileşim güçlerinin şeması (%20)

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

AH, yaşlı popülasyonu en fazla etkisi altına alan kronik nörodejeneratif bir hastalıktır. Patolojisinde A β birikimi, NFY ve hiperfosforile tau oluşumu bulunmaktadır. Oluşum mekanizması net olarak bilinmeyen bu hastalığın sebebi olduğu düşünülen mekanizmalar hakkında hipotezler geliştirilmiştir. Bunlardan en çok araştırılması yapılan tau proteini hipotezi, kolinerjik hipotez ve amiloid kaskad hipotezidir. Günümüzde dört bileşik (donezepil, galantamin, rivastigmin, ve memantin) AH'nin tedavisi için onaylıdır. Bileşikler ile sadece semptomatik iyileşme söz konusu olmaktadır. Günümüzde AH için radikal bir tedavi maalesef yoktur. Donezepil, galantamin ve rivastigmin AChEİ; memantin ise NMDAR antagonistidir. İlaç tasarımları yapılırken çoklu hedefli olan ajanları tercih edilmeye başlanmıştır. Bunun sebebi ise hastanın tedaviye uyuncunu arttırıp yan etkileri en aza indirerek tek ilaçta maksimum etki sağlamaktır.

Bu çalışma sonucunda 12 yeni tiyosemikarbazon türevi bileşik tasarlanıp sentezlenmiştir. Farmakofor ve hacimsel grupların doğru konumlanmasına özen gösterilmiştir. AChE enzim yapısı incelendiğinde katyonik anyonik bölge (CAS) ve periferik anyonik bölge (PAS)'ın varlığı saptanmaktadır. Donezepil yapısında bulunan benzil piperidin yapısı enzimin CAS kısmı ile etkileşime girmektedir. Tiyosemikarbazon yapısı hem AChE inhibitörü olarak kullanılan farmakofor bir gruptur. Bu nedenle en verimli sonuç elde edeceğimizi düşündüğümüz Tiyosemikarbazon grubu ile çalışma yapılmıştır. Tiyosemikarbazon içinse PAS ile etkileşimi olan aromatik ve alifatik yapılar tercih edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bileşiklerin yapı tayinleri HRMS, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik yöntemleriyle aydınlatılmıştır. Aktivite çalışmaları, modifiye Ellman metoduyla in vitro olarak gerçekleştirilmiş olup moleküler modelleme çalışmalarıyla Schrödinger programı kullanılarak in silico değerlendirilmiştir. Bileşiklerin etki profillerini incelenmek amacıyla AChE ve BChE, enzimleri üzerindeki inhibitör etkilerine bakılmıştır. Elde edilen bileşikler içerisinde **3a** en aktif yapıya sahip bileşik olarak görülmüş, IC₅₀=0.030±0.001 μ M değeri ile öne çıkmıştır.

Bu çalışmada molekül (3a) ile AChE (PDB ID: 4EY7) arasında oluşan kenetlenme kompleksinin stabilitesini değerlendirmek için, açık bir hidrasyon ortamında 100 ns MD simülasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. MD simülasyonu sırasında oluşturulan modelin kararlılığını ölçmek için ise RMSD, Rg ve RMSF

parametreleri kullanılmıştır. Simülasyonlar sırasında modelin kararlılığını kontrol etmek için kullandığımız RMSD’de elde edilen grafik sonucu 1-3 aralığında kararlılığını koruduğu sonucuna ulaşılmıştır. RMSD grafiğinin uygun parametreler içerisinde bulunması, bileşiminin stabil olduğunu göstermektedir. Simülasyon süresinin bir fonksiyonu olarak Rg grafiği elde edilmiştir. Elde edilen sonuca göre, Rg grafiği, kararlı kompleksler için normal olan yaklaşık 5.6 ± 0.2 Å değerinde atomik dalgalanmalar göstermiştir. RMSF raporuna göre, bileşik 3a, AChE proteininin 24 amino asidiyle etkileşim halindedir. Oluşan 4EY7-3a kompleksinde, simüle edilmiş bileşimin dalgalanmalarında önemli bir değişiklik yoktur. Döngü bölgeleri dışında, çoğu kalıntının RMSF değerleri 1,09 Å'dan azdır ve bu, kalıntı konformasyonunun simülasyon sırasında nispeten kararlı olduğu bulunmuştur. Bileşik 3a'nın aktif bölgede aminoasitler ile etkileşim yaptığı özellikle AChE enzim aktif bölgesi için önemli olan Trp286, Trp86 ve Phe295 aminoasitleri ile yapılan kesintisiz etkileşim bileşimin potansiyelinin iyi derecede olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak aktif bileşiklerle gerçekleştirilen moleküler doking çalışmaları aktivite çalışmaları ile uyumlu sonuçlar vermiştir. Tez çalışmaları kapsamında **3a** bileşiği baz alınarak çok daha aktif olabilecek etkili bileşiklere ulaşılacağı ön görülmektedir.

KAYNAKÇA

- 2021 Alzheimer's disease facts and figures. (2021). *Alzheimer's and Dementia*, 17 (3), 327-406.
- Amenta, F., Parnetti, L., Gallai, V., Wallin, A. (2001). Treatment of cognitive dysfunction associated with Alzheimer's disease with cholinergic precursors. Ineffective treatments or inappropriate approaches? *Mechanisms of Ageing and Development*, 122 (16), 2025-2040.
- Andreadis A, Brown WM, Kosik KS. Structure and novel exons of the human tau gene. *Biochemistry*. 1992 Nov; 31 (43) 10626-10633
- Ardestani, P.M., Evans, A.K., Yi, B., Nguyen, T., Coutellier, L., Shamloo, M. (2017). Modulation of neuroinflammation and pathology in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease using a biased and selective beta-1 adrenergic receptor partial agonist. *Neuropharmacology*, 116, 371-386.
- Ashrafian, H., Zadeh, E.H. and Khan, R.H. (2021). Review on Alzheimer's disease: Inhibition of amyloid beta and tau tangle formation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 167, 382-394.
- Barage, S. H., and Sonawane, K. D. (2015). Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *Neuropeptides*, 52, 1-18.
- Bateman, R. J., Xiong, C., Benzinger, T. L. S., Fagan, A. M., Goate, A., Fox, N. C., Marcus, D. S., Cairns, N. J., Xie, X., Blazey, T. M., Holtzman, D. M., Santacruz, A., Buckles, V., Oliver, A., Moulder, K., Aisen, P. S., Ghetti, B., Klunk, W. E., McDade, E., Morris, J. C. (2012). Clinical and Biomarker Changes in Dominantly Inherited Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, 367 (9), 795-804.
- Bostancıoğlu, M. (2020). Optogenetic stimulation of serotonin nuclei retrieve the lost memory in Alzheimer's disease. *Journal of Cellular Physiology*, 235 (2), 836-847.
- Bowen, D. M., Smith, C. B., White, P., and Davison, A. N. (1976). Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. *Brain*, 99 (3), 459-496.
- Braak, H., and Del Tredici, K. (2013). Reply: The early pathological process in sporadic Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*, 126 (4), 615-618.

- Brandt, R., Léger, J., and Lee, G. (1995). Interaction of tau with the neural plasma membrane mediated by tau's amino-terminal projection domain. *Journal of Cell Biology*, 131 (5), 1327-1340.
- Bulut, N., Kocyigit, U. M., Gecibesler, I. H., Dastan, T., Karci, H., Taslimi, P., Durna Dastan, S., Gulcin, I., and Cetin, A. (2018). Synthesis of some novel pyridine compounds containing bis-1,2,4-triazole/thiosemicarbazide moiety and investigation of their antioxidant properties, carbonic anhydrase, and acetylcholinesterase enzymes inhibition profiles. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32 (1), e22006.
- Cacabelos, R. (2005). Pharmacogenomics and therapeutic prospects in Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 6 (12), 1967-1987.
- Cheung, J., Rudolph, M. J., Burshteyn, F., Cassidy, M. S., Gary, E. N., Love, J., Franklin, M. C., and Height, J. J. (2012). Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55 (22), 10282-10286.
- Cordella, A., Krashia, P., Nobili, A., Pignataro, A., La Barbera, L., Viscomi, M. T., Valzania, A., Keller, F., Ammassari-Teule, M., Mercuri, N. B., Berretta, N., and D'Amelio, M. (2018). Dopamine loss alters the hippocampus-nucleus accumbens synaptic transmission in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 116, 142-154.
- Corder, E. H., Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D. E., Gaskell, P. C., Small, G. W., Roses, A. D., Haines, J. L., and Pericak-Vance, M. A. (1993). Gene Dose of Apolipoprotein E Type 4 Allele and the Risk of Alzheimer's Disease in Late Onset Families. *Science*, 261 (5123), 921-923.
- Coulson, E. J., Paliga, K., Beyreuther, K., and Masters, C. L. (2000). What the evolution of the amyloid protein precursor supergene family tells us about its function. *Neurochemistry International*, 36 (3), 175-184.
- Coupland, C. A. C., Hill, T., Denning, T., Morriss, R., Moore, M., and Hippisley-Cox, J. (2019). Anticholinergic Drug Exposure and the Risk of Dementia: A Nested Case-Control Study. *JAMA Internal Medicine*, 179 (8), 1084.
- Cuyvers, E., and Sleegers, K. (2016). Genetic variations underlying Alzheimer's disease: Evidence from genome-wide association studies and beyond. *The Lancet Neurology*, 15 (8), 857-868.

- Davies, P. (1976). Selective Loss Of Central Cholinergic Neurons In Alzheimer's Disease. *The Lancet*, 308 (8000), 1403.
- Dayanandan, R., Slegtenhorst, M. V., Mack, T. G. A., ve Ko, L. (1999). Mutations in tau reduce its microtubule binding properties in intact cells and affect its phosphorylation. *FEBS Letters*.
- De Bruijn, R. F., and Ikram, M. A. (2014). Cardiovascular risk factors and future risk of Alzheimer's disease. *BMC Medicine*, 12 (1), 130.
- DeTure, M. A., and Dickson, D. W. (2019). The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 14 (1), 32.
- Ertekin-Taner, N. (2007). Genetics of Alzheimer's Disease: A Centennial Review. *Neurologic Clinics*, 25 (3), 611-667.
- Essmann, U., Perera, L., Berkowitz, M. L., and Darden, T. (1995). A smooth particle mesh Ewald method. *J. Chem. Phys.*, 103 (19).
- Ferrer, I., Gomez-Isla, T., Puig, B., Freixes, M., Ribe, E., Dalfo, E., and Avila, J. (2005). Current Advances on Different Kinases Involved in Tau Phosphorylation, and Implications in Alzheimers Disease and Tauopathies. *Current Alzheimer Research*, 2 (1), 3-18.
- Folch, J., Busquets, O., Ettcheto, M., Sanchez-Lopez, E., Castro-Torres, R. D., Verdaguer, E., Garcia, M. L., Olloquequi, J., Casadesus, G., Beas-Zarate, C., Pegleri, C., Vilaplana, J., Auladell, C., and Camins, A. (t.y.). *2 Memantine for the Treatment of Dementia: 3 A Review on its Current and Future 4 Applications*.
- Francis, P. T., Ramirez, M. J., and Lai, M. K. (2010). Neurochemical basis for symptomatic treatment of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*, 59 (4-5), 221-229.
- Fraser, M. D., Davies, J. R. T., and Chang, X. (2016). New Gold in Them Thar Hills: Testing a Novel Supply Route for Plant-Derived Galanthamine. *Journal of Alzheimer's Disease*, 55 (4), 1321-1325.
- Frost, B., Jacks, R. L., and Diamond, M. I. (2009). Propagation of Tau Misfolding from the Outside to the Inside of a Cell. *Journal of Biological Chemistry*, 284 (19), 12845-12852.

- Furgerson, M., Clark, J. K., Crystal, J. D., Wagner, J. J., Fechheimer, M., and Furukawa, R. (2014). *Hirano body expression impairs spatial working memory in a novel mouse model.*
- Giacobini, E. (1998). Invited Review Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease therapy: From tacrine to future applications. *Neurochemistry International*, 32 (5-6), 413-419.
- Govindpani, K., Beatriz Calvo-Flores Guzmán, Vinnakota, C., Waldvogel, H., Faull, R., ve Kwakowsky, A. (2017). Towards a Better Understanding of GABAergic Remodeling in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (8), 1813.
- Granger, A. J., Shi, Y., Lu, W., Cerpas, M., and Nicoll, R. A. (2013). LTP requires a reserve pool of glutamate receptors independent of subunit type. *Nature*, 493 (7433), 495-500.
- Grudzien, A., Shaw, P., Weintraub, S., Bigio, E., Mash, D. C., and Mesulam, M. M. (2007). Locus coeruleus neurofibrillary degeneration in aging, mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 28 (3), 327-335.
- Hampel, H., Mesulam, M.-M., Cuello, A. C., Farlow, M. R., Giacobini, E., Grossberg, G. T., Khachaturian, A. S., Vergallo, A., Cavedo, E., Snyder, P. J., and Khachaturian, Z. S. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain*, 141 (7), 1917-1933.
- Han, S., Kollmer, M., Markx, D., Claus, S., Walther, P., and Fändrich, M. (2017). Amyloid plaque structure and cell surface interactions of β -amyloid fibrils revealed by electron tomography. *Scientific Reports*, 7 (1), 43577.
- Hardy, J., and Allsop, D. (t.y.). *Amyloic deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease.*
- Hebert, L. E., Beckett, L. A., and Funkenstein, H. H. (t.y.). *Age-Specific Incidence of Alzheimer's Disease.*
- Hirano, A. (1994). Hirano bodies and related neuronal inclusions. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 20 (1), 3-11.
- Hoover, W. G. (1985). Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. *Physical Review A*, 31 (3), 1695-1697.

- Humphreys, D. D., Friesner, R. A., and Berne', B. J. (t.y.). *A Multiple-Time-Step Molecular Dynamics Algorithm for Macromolecules*.
- Iadecola, C., Zhang, F., Niwa, K., Eckman, C., Turner, S. K., Fischer, E., Younkin, S., Borchelt, D. R., Hsiao, K. K., and Carlson, G. A. (1999). SOD1 rescues cerebral endothelial dysfunction in mice overexpressing amyloid precursor protein. *Nature Neuroscience*, 2 (2), 157-161.
- Ikonomovic, M. D., Abrahamson, E. E., Isanski, B. A., Wu, J., Mufson, E. J., and DeKosky, S. T. (2007). Superior Frontal Cortex Cholinergic Axon Density in Mild Cognitive Impairment and Early Alzheimer Disease. *Archives of Neurology*, 64 (9), 1312.
- Islam, B. U., and Tabrez, S. (2017). Management of Alzheimer's disease—An insight of the enzymatic and other novel potential targets. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 700-709.
- Jack, C. R., Petersen, R. C., Xu, Y. C., O'Brien, P. C., Smith, G. E., Ivnik, R. J., Boeve, B. F., Waring, S. C., Tangalos, E. G., ve Kokmen, E. (1999). Prediction of AD with MRI-based hippocampal volume in mild cognitive impairment. *Neurology*, 52 (7), 1397-1397.
- Jacob, C. P., Koutsilieri, E., Bartl, J., Neuen-Jacob, E., Arzberger, T., Zander, N., Ravid, R., Roggendorf, W., Riederer, P., ve Grünblatt, E. (2007). Alterations in Expression of Glutamatergic Transporters and Receptors in Sporadic Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 11 (1), 97-116.
- Jiang, S., Li, Y., Zhang, C., Zhao, Y., Bu, G., Xu, H., ve Zhang, Y.-W. (2014). M1 muscarinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease. *Neuroscience Bulletin*, 30 (2), 295-307.
- Jonesdavis, D., ve Macdonald, R. (2003). GABA receptor function and pharmacology in epilepsy and status epilepticus. *Current Opinion in Pharmacology*, 3 (1), 12-18.
- Ju, Y., ve Tam, K. (2022). Pathological mechanisms and therapeutic strategies for Alzheimer's disease. *Neural Regeneration Research*, 17 (3), 543.
- Kar, S., Issa, A. M., Seto, D., Auld, D. S., Collier, B., and Quirion, R. (2002). Amyloid β -Peptide Inhibits High-Affinity Choline Uptake and Acetylcholine Release in Rat Hippocampal Slices. *Journal of Neurochemistry*, 70 (5), 2179-2187.

- Kayed, R., Head, E., Thompson, J. L., McIntire, T. M., Milton, S. C., Cotman, C. W., and Glabe, C. G. (2003). Common Structure of Soluble Amyloid Oligomers Implies Common Mechanism of Pathogenesis. *Science*, 300 (5618), 486-489.
- Kevadiya, B. D., Ottemann, B. M., Thomas, M. B., Mukadam, I., Nigam, S., McMillan, J., Gorantla, S., Bronich, T. K., Edagwa, B., and Gendelman, H. E. (2019). Neurotheranostics as personalized medicines. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 148, 252-289.
- Koçancı, F. G., and Aslim, B. (2016). *Structure and Functions of Acetylcholinesterase and Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Plants*.
- Köpke, E., Tung, Y. C., Shaikh, S., Alonso, A. C., Iqbal, K., and Grundke-Iqbal, I. (1993). Microtubule-associated protein tau. Abnormal phosphorylation of a non-paired helical filament pool in Alzheimer disease. *Journal of Biological Chemistry*, 268 (32), 24374-24384.
- Ksiazek-Reding, H., Liu, W.-K., and Yen, S.-H. (1992). Phosphate analysis and dephosphorylation of modified tau associated with paired helical filaments. *Brain Research*, 597 (2), 209-219.
- Kuret, J., Congdon, E. E., Li, G., Yin, H., Yu, X., and Zhong, Q. (2005). Evaluating triggers and enhancers of tau fibrillization. *Microscopy Research and Technique*, 67 (3-4), 141-155.
- Lane, R. M., Potkin, S. G., and Enz, A. (2005). Targeting acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in dementia. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 9 (01), 101.
- Lee, G., Neve, R. L., and Kosik, K. S. (1989). The microtubule binding domain of tau protein. *Neuron*, 2 (6), 1615-1624.
- LigPrep Schrödinger. (t.y.). Geliş tarihi 31 Mayıs 2023, gönderen <https://www.schrodinger.com/products/ligprep>
- Liguori, C. (2016). Orexin and Alzheimer's Disease. İçinde A. J. Lawrence and L. De Lecea (Ed.). *Behavioral Neuroscience of Orexin/Hypocretin*, 33, 305-322.
- Liu, C.-C., Kanekiyo, T., Xu, H., ve Bu, G. (2013). Apolipoprotein E and Alzheimer disease: Risk, mechanisms and therapy. *Nature Reviews Neurology*, 9 (2), 106-118.

- Liu, P.-P., Xie, Y., Meng, X.-Y., and Kang, J.-S. (2019). History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer's disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 4 (1), 29.
- Liu, X., Shi, D., Zhou, S., Liu, H., Liu, H., and Yao, X. (2018). Molecular dynamics simulations and novel drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 13 (1), 23-37.
- Madav, Y., Wairkar, S., and Prabhakar, B. (2019). Recent therapeutic strategies targeting beta amyloid and tauopathies in Alzheimer's disease. *Brain Research Bulletin*, 146, 171-184.
- Martyna, G. J., Tobias, D. J., and Klein, M. L. (1994). Constant pressure molecular dynamics algorithms. *The Journal of Chemical Physics*, 101 (5), 4177-4189.
- Marucci, G., Buccioni, M., Ben, D. D., Lambertucci, C., Volpini, R., and Amenta, F. (2021). Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*, 190, 108352.
- Mash, D. C., Flynn, D. D., and Potter, L. T. (1985). Loss of M2 Muscarine Receptors in the Cerebral Cortex in Alzheimer's Disease and Experimental Cholinergic Denervation. *Science*, 228 (4703), 1115-1117.
- Massoulié, J., Sussman, J., Bon, S., and Silman, I. (1993). Chapter 15: Structure and functions of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Progress in Brain Research* 98, 139-146.
- Masters, C. L., Bateman, R., Blennow, K., Rowe, C. C., Sperling, R. A., and Cummings, J. L. (2015). Alzheimer's disease. *Nature Reviews Disease Primers*, 1 (1), 15056.
- Masters, C. L., Simms, G., Weinman, N. A., Multhaup, G., McDonald, B. L., ve Beyreuther, K. (1985). Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82 (12), 4245-4249.
- Mattson, P., Cheng, B., Davis, D., Bryant, K., Lieberburg, I., and Rydel, E. (t.y.). P-Amyloid Peptides Destabilize Calcium Homeostasis and Render Human Cortical Neurons Vulnerable to Excitotoxicity. *The Journal of Neuroscience*.
- Mazanetz, M. P., and Fischer, P. M. (2007). Untangling tau hyperphosphorylation in drug design for neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6 (6), 464-479.

- McGeer, P. L., and Rogers, J. (1992). Anti-inflammatory agents as a therapeutic approach to Alzheimer's disease. *Neurology*, 42 (2), 447-447.
- Mesulam, M.-M. (2013). Cholinergic circuitry of the human nucleus basalis and its fate in Alzheimer's disease: Human Cholinergic Circuitry. *Journal of Comparative Neurology*, 521 (18), 4124-4144.
- Missonnier, P., Prévot, A., Herrmann, F. R., Ventura, J., Padée, A., and Merlo, M. C. G. (2020). Disruption of gamma–delta relationship related to working memory deficits in first-episode psychosis. *Journal of Neural Transmission*, 127 (1), 103-115.
- Mitchell, R. A., Herrmann, N., and Lanctôt, K. L. (2011). The Role of Dopamine in Symptoms and Treatment of Apathy in Alzheimer's Disease: Apathy in the Treatment of Alzheimer's Disease. *CNS Neuroscience ve Therapeutics*, 17 (5), 411-427.
- Nacharaju, P., Lewis, J., Easson, C., Yen, S., Hackett, J., Hutton, M., and Yen, S.-H. (1999). Accelerated filament formation from tau protein with specific FTDP-17 missense mutations. *FEBS Letters*.
- Nordberg, A., and Winblad, B. (1986). Reduced number of [3H]nicotine and [3H]acetylcholine binding sites in the frontal cortex of Alzheimer brains. *Neuroscience Letters*, 72 (1), 115-120.
- Osmaniye, D., Kurban, B., Sağlık, B. N., Levent, S., Özkay, Y., and Kaplancıklı, Z. A. (2021). Novel Thiosemicarbazone Derivatives: In Vitro and In Silico Evaluation as Potential MAO-B Inhibitors. *Molecules*, 26 (21), 6640.
- Ouchi, Y., Yoshikawa, E., Futatsubashi, M., Yagi, S., Ueki, T., and Nakamura, K. (2009). Altered Brain Serotonin Transporter and Associated Glucose Metabolism in Alzheimer Disease. *Journal of Nuclear Medicine*, 50 (8), 1260-1266.
- Overk, C. R., and Masliah, E. (2014). Pathogenesis of synaptic degeneration in Alzheimer's disease and Lewy body disease. *Biochemical Pharmacology*, 88 (4), 508-516.
- Özçelik, A. B., Akdağ, M., Ergün, M., ve Uysal, M. (2019). Alzheimer Hastalığının Tedavisinde Kullanılan İlaçlar ve Yeni Yaklaşımlar. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12 (2), 1149-1159.

- Perl, D. P. (2010). Neuropathology of Alzheimer's Disease: D. P. Perl: Neuropathology Of Alzheimer's Disease. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine*, **77** (1), 32-42.
- Perry, E. K., Tomlinson, B. E., Blessed, G., Bergmann, K., Gibson, P. H., and Perry, R. H. (1978). Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia. *BMJ*, **2** (6150), 1457-1459.
- Poorkaj, P., Bird, T. D., Wijsman, E., Nemens, E., Garruto, R. M., Anderson, L., Andreadis, A., Wiederholt, W. C., Raskind, M., and Schellenberg, G. D. (1998). Tau is a candidate gene for chromosome 17 frontotemporal dementia. *Annals of Neurology*, **43** (6), 815-825.
- Ramos-Rodriguez, J. J., Pacheco-Herrero, M., Thyssen, D., Murillo-Carretero, M. I., Berrocoso, E., Spires-Jones, T. L., Bacskai, B. J., and Garcia-Alloza, M. (2013). Rapid A-Amyloid Deposition and Cognitive Impairment After Cholinergic Denervation in APP/PS1 Mice. *J Neuropathol Exp Neurol*, **72** (4).
- Reiner, A., and Levitz, J. (2018). Glutamatergic Signaling in the Central Nervous System: Ionotropic and Metabotropic Receptors in Concert. *Neuron*, **98** (6), 1080-1098.
- Roy, S., Zhang, B., Lee, V. M.-Y., and Trojanowski, J. Q. (2005). Axonal transport defects: A common theme in neurodegenerative diseases. *Acta Neuropathologica*, **109** (1), 5-13.
- Rudy, C. C., Hunsberger, H. C., Weitzner, D. S., and Reed, M. N. (2015). The Role of the Tripartite Glutamatergic Synapse in the Pathophysiology of Alzheimer's Disease. *Aging and Disease*, **6** (2), 131.
- Salehi, A., Delcroix, J.-D., and Swaab, D. F. (2004). Alzheimer's disease and NGF signaling. *Journal of Neural Transmission*, **111** (3), 323-345.
- Sasaki, S. (2018). High prevalence of parkinsonism in patients with MCI or mild Alzheimer's disease. *Alzheimer's ve Dementia*, **14** (12), 1615-1622.
- Sassin, I., Schultz, C., Thal, D. R., Rüb, U., Arai, K., Braak, E., and Braak, H. (2000). Evolution of Alzheimer's disease-related cytoskeletal changes in the basal nucleus of Meynert. *Acta Neuropathologica*, **100** (3), 259-269.
- Saunders, A. M. (2000). Apolipoprotein E and Alzheimer Disease: An Update on Genetic and Functional Analyses. *Journal of Neuropathology ve Experimental Neurology*, **59** (9), 751-758.

- Shen, T., Tai, K., Henchman, R. H., and McCammon, J. A. (2002). Molecular Dynamics of Acetylcholinesterase. *Accounts of Chemical Research*, 35 (6), 332-340.
- Smart, T. G., ve Stephenson, F. A. (2019). A half century of γ -aminobutyric acid. *Brain and Neuroscience Advances*, 3, 239821281985824.
- Sureshkumar, B., Sheena Mary, Y., Panicker, C. Y., Resmi, K. S., Suma, S., Armaković, S., Armaković, S. J., and Van Alsenoy, C. (2017). Spectroscopic analysis of 8-hydroxyquinoline-5-sulphonic acid and investigation of its reactive properties by DFT and molecular dynamics simulations. *Journal of Molecular Structure*, 1150, 540-552.
- Swerdlow, R. H., and Khan, S. M. (2004). A “mitochondrial cascade hypothesis” for sporadic Alzheimer’s disease. *Medical Hypotheses*, 63 (1), 8-20.
- Terunuma, M. (2018). Diversity of structure and function of GABA_B receptors: A complexity of GABA_B-mediated signaling. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 94 (10), 390-411.
- Thal, D. R., Capetillo-Zarate, E., Del Tredici, K., and Braak, H. (2006). The Development of Amyloid β Protein Deposits in the Aged Brain. *Science of Aging Knowledge Environment*, 2006 (6).
- Thal, D. R., Del Tredici, K., Ludolph, A. C., Hoozemans, J. J. M., Rozemuller, A. J., Braak, H., and Knippschild, U. (2011). Stages of granulovacuolar degeneration: Their relation to Alzheimer’s disease and chronic stress response. *Acta Neuropathologica*, 122 (5), 577-589.
- Tucker, R. P. (1990). The roles of microtubule-associated proteins in brain morphogenesis: A review. *Brain Research Reviews*, 15 (2), 101-120.
- Varma, M., Shravage, B., Tayade, S., Kumbhar, A., Butcher, R., Jani, V., Sonavane, U., Joshi, R., and Kulkarni, P. P. (2021). A simple methyl substitution of 3-acetylcoumarin thiosemicarbazone enhances cellular autophagy flux, reduces inflammation and ameliorates rough eye phenotype in the Drosophila model of Alzheimer’s disease. *Journal of Molecular Structure*, 1235, 130265.
- Walsh, D. M., Klyubin, I., Fadeeva, J. V., Cullen, W. K., Anwyl, R., Wolfe, M. S., Rowan, M. J., and Selkoe, D. J. (2002). *Naturally secreted oligomers of amyloid b protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo*, 416.

- Wang, J., Dickson, D. W., and Trojanowski, J. Q. (t.y.). *The Levels of Soluble versus Insoluble Brain A^β Distinguish Alzheimer's Disease from Normal and Pathologic Aging*.
- Whitehouse, P. J., Martino, A. M., Marcus, K. A., Zweig, R. M., Singer, H. S., Price, D. L., and Kellar, K. J. (1988). Reductions in Acetylcholine and Nicotine Binding in Several Degenerative Diseases. *Archives of Neurology*, 45 (7), 722-724.
- Xu, Y., Zhao, M., Han, Y., and Zhang, H. (2020). GABAergic Inhibitory Interneuron Deficits in Alzheimer's Disease: Implications for Treatment. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 660.
- Yankner, B. A., Duffy, L. K., and Kirschner, D. A. (1990). Neurotrophic and Neurotoxic Effects of Amyloid β Protein: Reversal by Tachykinin Neuropeptides. *Science*, 250 (4978), 279-282.
- Zaib, S., Munir, R., Younas, M. T., Kausar, N., Ibrar, A., Aqsa, S., Shahid, N., Asif, T. T., Alsaab, H. O., and Khan, I. (2021). Hybrid Quinoline-Thiosemicarbazone Therapeutics as a New Treatment Opportunity for Alzheimer's Disease—Synthesis, In Vitro Cholinesterase Inhibitory Potential and Computational Modeling Analysis. *Molecules*, 26 (21), 6573.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Neslihan CONGER

Yabancı Dil : İngilizce

Doğum Yeri ve Yılı : Malatya

Eğitim Durumu:

- Lisans : 2020, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
- Lise : 2015, Malatya Kernek Anadolu Öğretmen Lisesi
- İlk ve Orta Öğretim : 2011, Malatya Türkiyem İlköğretim Okulu

Mesleki Deneyimi:

- 2021, Eczacı, Konya Beyşehir Devlet Hastanesi
- 2020, Yardımcı Eczacı, Gül Eczanesi, Malatya